

발간등록번호

11-1543000-002818-01

# 해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화 최종보고서

2019. 07. 19.

주관연구기관 / 일동후디스(주)  
협동연구기관 / 단국대학교  
협동연구기관 / 삼성서울병원

해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제  
개발 및 산업화

2019

농림축산식품부  
농림식품기술기획평가원

농림축산식품부  
농림식품기술기획평가원

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 "해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화"(개발기간: 2016. 07. 07. ~ 2019. 04. 30.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019 . 06 . 10 .

주관연구기관명 : ㈜일동후디스

(대표자) 이 준 수 (인)

협동연구기관명 : 단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단

(대표자) 김 철 현

협동연구기관명 : 삼성서울병원

(대표자) 권 오 정 (인)

주관연구책임자 : 이 준 수  
협동연구책임자 : 김 철 현  
권 오 정

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

## 보고서 요약서

과제고유번호	31606103	해 당 단 계 연 구 기 간	2018. 01. 01 ~2019. 04. 30	단 계 구 분	총 단 계
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화			
연구책임자	신 현 수	해당단계 참여연구원 수	총: 19명 내부: 19명 외부: 0명	해당단계 연구개발비	정부:300,000천원 민간:200,000천원 계:500,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 29명 내부: 29명 외부: 0명	총 연구개발비	정부:780,000천원 민간:520,000천원 계:1,300,000천원
연구기관명 및 소속부서명	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단 삼성서울병원			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

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

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	보고서 202-202 p 참조		-	-	-	-	-	-	-	-	-

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약

- 시제품 표준규격 설정 및 시제품 제조
  - 유산균 액상캡슐제제 표준규격 설정 및 시제품 제조
  - 분말 유산균 2종(국내용·수출용) 표준규격 설정 및 시제품 제조
- 시제품 보존검사 및 관능검사 실시
  - 유산균 액상캡슐제제 보존검사 및 관능검사 실시
  - 분말 유산균 2종(국내용·수출용) 보존검사 및 관능검사 실시
- 수출 타겟 국가 마케팅 및 영업 전략 수립을 통한 현지 진출 준비
  - 브랜드 개발, 디자인, 홍보 및 유통전략 수립
- 신제품 출시
  - 국내최초 유산균 액상캡슐제제 1종 개발 및 신제품 출시
  - 어린이/온가족용 분말 유산균 2종 개발 및 신제품 출시
- 번역기능 개선 효과가 우수한 혼합균주 모델 개발
- 혼합균주 모델 구축 및 상용화 적용성 검증
  - 선발 균주의 freeze-thaw를 통한 내냉성 실험 및 내열성 실험을 통한 선발 균주의 상용화 공정적합성 확인
  - 선발 균주의 법적규격 기반의 안전성 평가
  - 선발 균주의 저장 안정성(Broth 가속실험 및 동결건조 가속실험) 평가 확인
- 최종 혼합균주 모델의 베트남 과민성대장증후군 환자에서의 효과 평가
  - 베트남인 과민성대장증후군 환자 그룹 모집
  - 베트남인 과민성대장증후군 환자 60명 대상의 이중맹검 무작위 위약 대조 연구 진행 (안전성 및 효능 평가)
- 최종 혼합균주 모델의 베트남 과민성대장증후군 환자에서의 안전성 및 위장관 증상 개선 효과 평가

보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 베트남 시장을 타겟으로 한 맞춤형 유산균 정장제 연구개발 및 상용화를 통한 국내 유산균 제품 출시 및 해외시장 진출 준비             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 개발 제품 판매를 위한 브랜드 출시 및 마케팅 전략·유통 채널 확보</li> <li>- 해외시장 진출을 위한 타당성 검토</li> <li>- 수출 관련 법적 사항 검토</li> </ul> </li> <li>○ 베트남인(동남아 국가) 대상자 장내 미생물총 분석을 통한 core microbiota DB 구축 및 제품 활용             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 과민성대장증후군(IBS)-비환자군간 microbiota 비교 연구</li> </ul> </li> <li>○ 분석 결과에 기반한 보존성 및 안전성이 검증된 혼합균주 모델 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 균주별 혼합도간 <i>in-vivo</i>, <i>in-vitro</i> 유효성 검증</li> <li>- IRB 임상시험을 통한 혼합균주 모델 유효성 검증</li> </ul> </li> <li>○ 열악한 유통조건하에서도 유산균 활성이 보장될 수 있는 기술 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 유지를 활용한 국내최초 액상 유산균캡슐 제제 개발</li> </ul> </li> <li>○ 베트남인(동남아 국가) 맞춤형 기능성 제품개발 및 상용화 가능성 확보             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 베트남인(동남아 국가)을 활용한 신제품 출시 소비자조사(FGI) 진행</li> </ul> </li> </ul>				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 베트남인의 과민성대장증후군 등 면역질환에 대한 맞춤형 제품개발로 안전하고 효과적인 예방 및 치료전략을 제시하여 환자와 가족의 삶의 질 향상 및 막대한 의료비용 절감 효과</li> <li>○ 장내 미생물총 분석, 면역기능 개선 혼합균주 모델 개발 및 기능성 검증을 통한 실용화 기술개발의 가시적 성과 도출</li> <li>○ (사업화 지표) 기술이전 1건, 기술제품 상용화 3건, 고용창출 1건 등</li> <li>○ (지적재산권 출원) SCI급 논문 1편, 비 SCI급 1건</li> <li>○ (기술적 성과) 생물정보(자원) 2종 등록·기탁, 제품화 3종</li> </ul>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 베트남인 맞춤형 혼합균주 모델 및 제품을 개발하여 국내 유산균 산업 활성화 및 해외 시장 개척을 통한 유산균산업 세계화에 기여</li> <li>○ 베트남에서 빈번하게 발생하는 과민성대장증후군을 타겟으로 한 맞춤형 제품 개발 및 국내 유산균 제품의 베트남시장 및 동남아 시장 진출</li> <li>○ 맞춤형 기능성 식품으로 베트남 (동남아 국가) 소비자의 기능성 제품 구입 촉진 및 의료비용 절감효과 기대</li> <li>○ 베트남 시장을 선점 후 인도차이나 반도의 주변 동남아 국가(미얀마, 라오스 및 캄보디아)로의 확장 발판 마련</li> </ul>				
<p>국문핵심어</p>	유산균	장내균총	정장작용	장내 세균총	지속성
<p>영문핵심어</p>	Probiotics	Microflora	Intestinal Regulation	Intestinal Microbiota	Sustainability

## < 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 .....	1
1-1. 연구개발 목적 .....	1
1-2. 연구개발의 필요성 .....	2
1-3. 연구개발 범위 .....	5
2. 연구수행 내용 및 결과 .....	19
2-1. 연구개발 추진전략·방법 및 추진체계 .....	19
2-1-1. 연구개발 추진전략 및 방법 .....	19
2-1-2. 연구개발 추진체계 .....	209
2-2. 연구개발 추진일정 .....	210
2-3. 연구개발 성과 .....	213
2-3-1. 논문 게재 성과 .....	213
2-3-2. 특허성과 .....	213
2-3-3. 국내 및 국제학술회의 발표 .....	214
2-3-4. 전문연구 인력양성 .....	215
2-3-5. 산업기술 인력양성 .....	215
2-3-6. 생명자원(생명정보) 성과 .....	215
2-4. 연구결과 .....	215
2-4-1. 기술적 성과 .....	215
2-4-1-1) 기술이전 .....	215
2-4-1-2) 제품화 .....	217
2-4-2. 경제적 성과 .....	222
2-4-2-1) 사업화성과 및 매출실적 .....	222
2-4-2-2) 사업화계획 및 매출실적 .....	222
2-4-2-3) 고용창출 .....	222
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	223
4. 연구결과의 활용 계획 등 .....	227
붙임. 참고 문헌 .....	228

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발 목적

가. 연구개발 대상 및 기술·제품의 개요

○ 연구개발 개요 : 베트남인 (동남아 국가)의 과민성장증후군 등 면역질환에 효과가 있으며 보존성이 우수한 해외 수출용 기능성 정장제 제품 개발 및 해외 시장 개척

○ 핵심기술

- 베트남인들의 core microbiota DB 구축 기술

: 베트남 국민 중 정상인을 대상으로 장내 미생물총 분석을 수행하여 타겟 국가인들에 공통적으로 존재하는 core microbiota DB를 확립함.

- 베트남인의 과민성장증후군 등 면역질환에 효과적인 기능성 균주 선발 기술

: 장내 미생물총 분석 정보와 *in vitro* 기능성 평가를 비교하여 과민성장증후군 등 면역질환 개선을 위한 후보 균주 선정 및 확보

- 베트남 (동남아 국가) 수출용 유산균 보존력 증대 기술

: 유산균 분리동정 시 조건에 따른 스크리닝 실시

- 검증된 정장제를 적용시킨 다양한 식품군 개발

: 프로바이오틱스(분말), 발효유(액상 또는 호상)

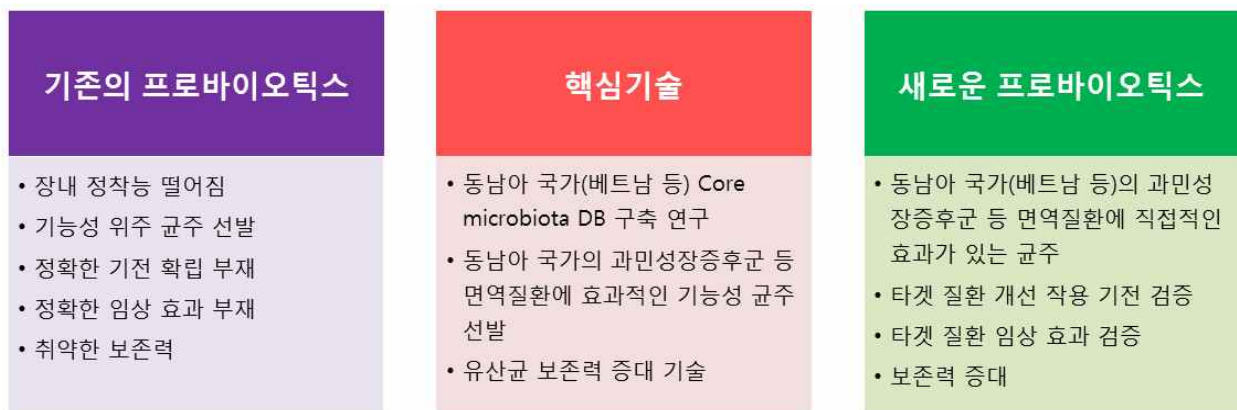


Fig. 1. 연구개발 대상 및 기술·제품의 개요(핵심기술)

## 1-2. 연구개발의 필요성

### 가. 베트남 (동남아 국가)에서의 유용 유산균 정장제의 필요성 및 특정 질환의 개선 및 치료를 위한 장내 미생물총 연구

- 최근 몇 년 동안 인기 있는 치료법으로 떠올랐던 프로바이오틱스가 병이나 증상의 치료 관점에 있어 그리 강력한 효과를 발휘하지 않는 것에 따른 것으로 보임에 따라 최근 거대 제약사들과 바이오벤처들은 인체 장내 세균과 숙주간의 상호작용을 연구하여 보다 강력한 치료법을 개발하고자 하는 동향을 보이고 있음. 2014년 화이자(Pfizer)를 기점으로 하여 여러 바이오업계에서 마이크로바이옴 연구를 통한 신약 개발에 대규모 투자계획을 잇달아 발표함에 따라 수년 내에 이러한 신약이 시장에 출시될 것으로 기대됨
- 특히 프랑스 파리에 본사를 둔 엔테롬(Enterome)은 “1,000만 유로(미화 1,380만 달러)를 들여, 위장관 세균의 구성(composition of gut bacteria)을 이용하여 염증과 간질환(liver diseases)을 진단하는 방법을 개발하겠다”고 발표하였음
- 동남아 국가는 주로 상하수도시설이 열악하여 면역력을 떨어트리고 세균에 감염되기 쉬워 설사환자 발생이 매우 빈번함
- 현재 동남아 국가에 대한 장내 미생물총 분석 및 질병과의 연관성에 대해 활발히 연구하고 있는 미국, 유럽, 일본 등에 비하여 이러한 문제점을 가진 동남아인을 대상으로 한 장내 미생물총 분석 연구가 부족한 실정임

업체	질환	비고
세컨드지놈, 화이자	대사장애	900명의 사람들을 대상으로 연구
세컨드지놈, 안센	궤양성대장염, 당뇨병, 자가면역질환 치료	약물표적 확인, 신약개발
엔테롬	염증, 간질환	위장관 세균의 구성을 이용하여 염증과 간질환 진단
엔테롬	염증성 장질환(IBD)	대변 속의 미생물 변화를 탐지함으로써 IBD 진단, 진행상황 체크
미오믹스	다발성경화(MS), 류마티스관절염(RA)	위장관 세균을 투여함으로써 MS와 RA 치료
베단타 바이오사이언시스	위장관 염증	미생물이 포함된 알약 개발, 임상시험 진행중
베단타 바이오사이언시스, 존슨앤존슨	IBD, 자가면역질환	치료제 개발
마이크로바이옴 세라퓨틱스	당뇨병	소분자를 이용하여 '좋은 세균'을 선별함으로써 당뇨병 환자들의 인슐린 흡수를 향상
엑토제닉스, 비테라 파마슈티컬스	위장관 염증	유전자변형 세균을 이용하여 항염제를 위장관에 전달



Fig. 2. 제약사, 바이오벤처의 마이크로바이옴 관련 연구개발 동향 (출처: BRIC, 2014)

- 국적에 따라 서로 다른 core gut microbiota를 보유하고 있기 때문에 해외 시장 개척을 목적으로 하는 맞춤형 제품 개발을 위해서는 타겟 국가인 베트남 (동남아 국가)의 국민을 대상으로 한 core gut microbiota에 관한 연구가 반드시 수행되어야 하며, 특히 이를 건강한 사람군과 특정 질환자군(과민성대장증후군; 동남아에서 빈번하게 발생하는 질환)으로 나누어 분석한다면 타겟 질환에 관련된 장내 미생물총이 무엇인지 파악할 수 있음
- 2010년에 Qin J 등이 Nature에 발표한 논문에서는 NGS 기술을 이용하여 124명의 유럽인의 장내 미생물총을 분석하였으며, 이들로부터 57개의 core bacteria가 존재하는 것을 밝혀냈음
- 이처럼 NGS 기술 발전에 따라 장내 미생물총에 대한 연구가 다양하게 이루어지고 있지만, 대부분 미국인 또는 유럽인 특유의 장내 미생물총에 대한 연구이며 베트남인 특유의 장내 미생물총에 대한 연구는 거의 전무하며, 특히 분변 샘플링의 어려움 때문에 전반적인 연령대에 대한 장내 미생물총 연구가 이루어지기 힘든 실정임
- 따라서 동남아인을 대상으로 한 베트남인 특유의 장내 미생물총 분석 연구가 반드시 수행되어야 하며 특히, 동남아 국가 특유의 환경 때문에 과민성대장증후군(IBS)을 앓고 있는 환자의 장내 미생물총과 정상인의 장내 미생물총을 함께 비교 분석하여 정상인 및 장질환 환자 간의 장내 미생물총과 core gut microbiota 정보가 반드시 분석되어야 함
- 동남아인의 장내 환경에 잘 적응되어 있는 core gut microbiota로부터 과민성대장증후군 등 면역기능 개선 균주를 선발하여 동남아 국가(베트남 등) 수출용 제품을 개발한다면 기존의 프로바이오틱스가 갖는 장내 정착률 저하로 인한 손실을 최소화시킨 동남아인을 위한 고품질의 제품을 개발할 수 있을 것으로 기대됨
- 또한 유산균 분리동정 시 조건에 따른 스크리닝을 실시한 연구를 통하여 수출 시 취약점이 될 수 있는 유산균 보존력을 증대시킬 수 있는 방안을 확립하여, 효율성이 극대화된 수출용 국내 유산균 제품의 개발이 이루어질 수 있을 것으로 사료됨

#### 나. 장내 미생물총 조성이 건강에 미치는 영향

- 인체에 존재하는 미생물은 인간 세포보다 약 10배가 많으며, 사람의 장에는 약 g당  $10^{14}$  마리의 미생물이 서식하고 있어 장내 미생물이 인체의 또 다른 기관이라는 인식이 널리 확산되어 있음.
- 건강한 성인의 장내 미생물총 조성은 유해균 (*E. coli*, *Clostridium*, *Salmonella* 등)과 유익균 (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* 등)이 서로 평형을 이룬 상태로 자리를 잡게 되며, 오랜 기간 동안 변화하지 않고 안정된 상태를 유지함
- 그러나 식이 방법에 따라 이러한 조성이 다르게 형성되기 때문에 각기 다른 식습관을 가진 나라의 성인 장내 미생물총의 조성이 매우 다른 것으로 밝혀졌음(Wu GD et al. 2011)
- 유용균의 장내 기능으로서는 유해균과의 경쟁에 따른 건강한 장내 미생물총 형성 및 항생제 복용 후 건강한 장내 미생물총의 재형성, 유해균 억제에 따른 설사예방, 유당불내증 감소, 변비 완화, 면역력 강화, 항암능력 증가 및 체내 콜레스테롤 저하 등이 보고됨 (Lee JH and O'Sullivan DJ. 2010)
- 최근 장내 미생물의 메타지노믹스 연구결과는 특정한 장내 미생물 무리가 소화성이 떨어지는 올리고당이나 식이섬유를 활용하여 추가적인 칼로리를 공급하는 역할을 하기 때문에 장내미생물의 조성에 따라서 인체 내에서 비만을 유발할 수 있다고 보고함 (Turnbaugh et al. 2006)
- 또한 장내 미생물의 균형이 붕괴되었을 경우 유해균의 증가에 따른 장내 감염 및 장 질환을 유발하여 장내 건강을 위협하며 인체의 전체적인 면역기능에도 이상 초래하여 알러지 및 피부질환 등에까지도 영향을 미치게 됨 (Bang M et al. 2012)
- 장내 미생물총은 인체 내 전반적인 건강과 직결되는 주요한 역할을 수행함. 특히 식습관에 따른 미생물총의 차이가 존재하기 때문에 베트남 (동남아 국가) 수출 제품 개발이 목적인 본 연구에서 타겟 국가 거주인을 대상으로 한 장내 미생물총 조성 연구 및 특이적 유산균종 밸런스(혼합균주 배합비)를 도출하는 것이 매우 중요할 것으로 사료됨

#### 다. 유산균 활성 보존 기술 개발의 중요성

- 현재 캡슐레이션(코팅) 기술을 기반으로 한 보존력 증대 유산균 개발이 활발한 실정임
- 타겟 국가로의 정상제 수출을 목표로 하는 본 연구에서는 제품 수출 시 노출 가능한 다양한 가혹조건(온도 등)에서 살아남기 위한 우수한 보존력을 갖춘 정상제 개발이 필수적

입.

- 캡슐레이션(코팅) 기술을 통한 보존력 증대도 유용 기술이지만, 유산균 자체가 강한 생존력을 갖추는 것 또한 매우 중요하기 때문에 조건 별 스크리닝을 통한 보존력 우수 유산균 선별이 본 연구에서 주요한 목표가 될 것임

#### 라. 제품 산업화 및 해외시장 진출의 필요성

- 현재 국내 정장제 시장은 매우 활성화되어 있으며 기술력 또한 빠르게 발전하고 있는 추세임. 이러한 기술력을 바탕으로 국내 유산균 제품의 해외 시장 진출을 통한 전반적 산업 부가가치 향상 및 생산 기업의 매출 증대를 꾀함
- 과학적인 제품설계 및 기능성 검증을 통하여 안전성이 확보된 베트남 (동남아 국가)의 맞춤형 기능성 제품군(베트남인의 특이적 유산균 분리 균주 도출을 통한) 출시는 베트남에서의 긍정적인 한국의 기능성식품 이미지를 바탕으로 국내 유산균 제품의 본격적인 동남아 국가들의 해외시장 진출로 이어질 것으로 기대됨. 더불어 베트남 (동남아 국가)의 잦은 질병인 과민성대장증후군 예방 및 의료비용 절감 효과를 기대함
- 베트남 시장에서의 신뢰성 확보 및 목표 매출 달성을 바탕으로 인도차이나 반도의 주변 동남아 국가(미얀마, 라오스 및 캄보디아)로의 확장 발판 마련으로 신규 시장을 선점 할 수 있음

### 1-3. 연구개발 범위

#### 가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

##### (1) 기술현황

- 국내의 경우 유일하게 쉐바이오텍이 4세대 원천 코팅기술을 인정받아 유산균 업체로 활약하고 있으나 이 외에 중소기업체들의 성과는 미비한 실정으로 추가적인 업체들의 진입이 요구됨. 그러나 건강기능식품 특성 상 낮은 성공확률 및 장기간의 R&D 투자에 대한 부담, 특허 및 제품 인증 프로세스의 복잡성 및 국가별 차별화 포인트가 존재하기 때문에 중소기업이 시장에 진입함에 있어 큰 장벽으로 작용하고 있음
- 국내를 비롯 일본, 미국에 특허를 취득한 ‘이중코팅’ 기술을 적용한 쉐바이오텍의 ‘듀오락’은 2006년 유산균 종주인 덴마크에 지사를 설립, 덴마크 내 약국 판매 1위를 달성, 현재 전 세계 30여 개국에 진출해 세계 5위 프로바이오틱스 생산 기업으로 입지를 굳힘

## (2) 시장현황

- 한국건강기능식품협회에 따르면 국내 유산균 시장은 2011년 이후 매년 30% 가까운 급성장을 보이며 2013년 대비 2014년 55%가량 폭발적인 성장세를 나타냈으며, 2013년 804억 원, 2014년에는 1천억 원을 웃도는 실적을 보임
- 국내 대표적 건강기능성 식품인 홍삼과 비타민을 제치고 가장 높은 성장세를 보이며, 한국건강식품협회 회원사 대상 시장 트렌드 전망 조사에서 유산균(25%)을 가장 주목 받는 품목으로 선정되었음
- 최근 백수오 등 건강기능식품에 대한 안전성 논란이 도마에 오르게 되자 비교적 오랜기간 애용되던 유산균을 선택하는 소비자가 늘고 있음. 실제로 한국건강기능식품협회에 따르면 국내 유산균 시장은 2011년 이후 매년 30% 가까운 급성장을 보이며 2013년 대비 2014년 55% 가량 폭발적인 성장세를 나타냄
- 국내 프로바이오틱스 시장은 매년 잠재적인 성장을 보일 것으로 예상됨
  - 2012년도부터 연평균 15%의 성장률을 보이며, 2018년도에는 1,395억 매출액 시장을 형성하여 잠재 성장시장이 될 것으로 예측됨

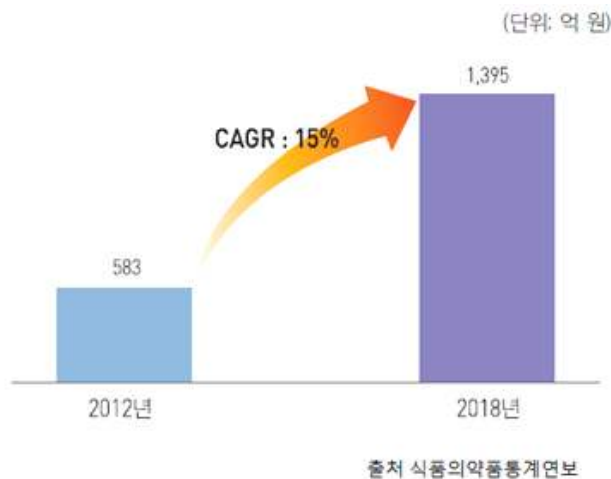


Fig. 3. 국내 프로바이오틱스 시장규모(식품의약품 통계연보, 2018)




## (3) 경쟁기관현황


- LG생명과학은 한국인의 장 상태에 최적화하고 유산균이 장까지 파괴되지 않고 도달 할 수 있는 캐나다 프로바이오틱스 기업 ‘로셀’사의 프로바이오 코팅 캡슐 유산균인 락토 바실러스균 5종, 비피더스균 5종, 씨모필러스균 1종등 복합 유산균 10종 500억마리를 배

합해 만든 ‘리튬 프로바이오 밸런스’ 를 출시함

- CJ제일제당은 기존 제품보다 김치 유산균이 오랫동안 살아남을 수 있도록 한 ‘피부 유산균 CJLP133’ 에 체내에서 유산균이 잘 자랄 수 있도록 도와주는 프리바이오틱 성분인 프락토올리고당과 이눌린을 함유시켜 출시하였음
- 대상웰라이프는 ‘피부생성 락토프로바이오틱스’ 를 출시, 이 제품은 김치로부터 분리한 100% 식물성 유산균이며 섭취 후 피부 가려움이 감소하는 기능성을 인정받음
- 조아제약의 액상형 유산균 ‘프로바이오틱스 드롭스’ 는 140년 전통의 유산균 제조 업체인 데마크 크리스찬한센이 보유한 1만6000종의 유산균 중에 온도와 습도에 안정성이 뛰어난 품종인 BB-12 유산균을 함유한 제품을 출시하였음

Table 1. 국내 경쟁기관 출시 제품

제품 이미지	제품 특징	비고
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명: 듀오락</li> <li>○ 형태: 캡슐</li> <li>○ 회사: 쉐바이오텍</li> <li>○ 특이사항:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- ‘이중코팅’ 기술을 적용한 제품</li> </ul> </li> </ul>	60캡슐 /1병
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명: 듀오락 츄어블</li> <li>○ 형태: 정제</li> <li>○ 회사: 쉐마비오텍</li> <li>○ 특이사항:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 씹어서 섭취할 수 있는 제품</li> <li>- 엔테로코커스 패숨, 락토바실러스 플란타럼, 락토바실러스 에시도필러스, 스트렙토코커스 쉐모필러스, 비피도박테리움 롱검 등</li> </ul> </li> </ul>	60캡슐 /1병
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명: 바이오리브 장건강 프로바이오틱스</li> <li>○ 형태: 분말</li> <li>○ 회사: 한국야쿠르트</li> <li>○ 특이사항:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 락토바실러스 에시도필러스, 비피도박테리움 비피둠, 락토바실러스 카제이, 락토바실러스 플란타럼, 비피도박테리움 락티스, 비피도박테리움 롱검, 치커리뿌리추출물 분말 등</li> </ul> </li> </ul> <p>* 2000 mg/1포</p>	30포/ 1개월

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명: BYO 피부 유산균</li> <li>○ 형태: 분말</li> <li>○ 회사: CJ 제일제당</li> <li>○ 특이사항: <ul style="list-style-type: none"> <li>- 김치유래 유산균 CJLP133 (락토바실러스 플란타럼 CJLP133), 말토덱스트린, 에리스리톨, 프락토올리고당, 이눌린/치커리 추출물 등</li> <li>* 2000 mg/1포</li> <li>* 기능성: 면역과민반응에 약한 피부 상태 개선에 도움을 줄 수 있음.</li> </ul> </li> </ul>	120포/ 60일분
---	---	---------------

**(4) 지식재산권현황**

○ NCBI Pubmed를 통해 키워드를 “Probiotics and Food“ 로 해서 최초 10년간 논문 동향을 검색

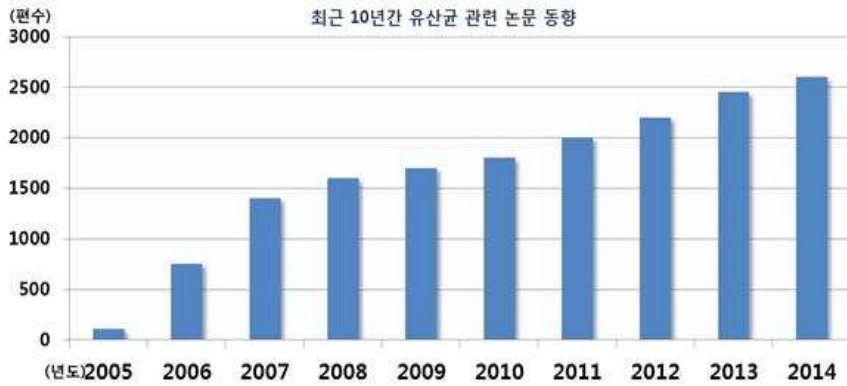


Fig. 4. 국내 프로바이오틱스 연구논문 동향(2014)

○ 국내특허검색은 KIPRIS를 통해 키워드를 “유산균 + 프로바이오틱스” 으로 하여 최초 10년간 국내 특허 동향을 검색함.

○ 유산균 관련 국내 특허는 2005년부터 2014년 약 700건수 까지 꾸준히 증가하고 있음

**나. 국외 기술 수준 및 시장 현황**

**(1) 기술현황**

○ 살아있는 생균제 형태의 유산균제품 이외에도 유산균에 열처리를 한 사균체의 면역조절기능에 관련된 제품도 출시되고 있음. 일본콤비사의 EC-12는 젖산구균 *Enterococcus faecalis*의 일종으로 장관의 세포벽에 둘러싸여 생물의 면역력을 강하게 활성화 시키는 특징이 있음. 키타사토 연구소와 공동연구로 EC-12의 장관내 면역부활 작용에 의한 생체방어 효과를 확인함. 작년에 일본 피부알레르기학회에서 항염증효과 발표, 금년에는 EC-12의 정상효과를 확인한바 있음. 이 제품은 1조개/g(0.2g)을 인체에 첨가했을 때 유익균을 증

식시킨다는 결과도 나왔음. 금년에 일반 식품분야에도 이제품의 PR을 강화, 신규 확관을 추진하고 있음.

- 오쿠라제약 건강사업부에서는 메이지유업의 비피더스균 연구를 기초로 하여 비피더스균 제품을 기획, 개발, 판매하고 있음. 비피더스균종은 *longum*을 취급하며 위산내성이 높은 것을 특징으로 하는 특허균주로 스틱 포장한 것을 주제품으로 판매하고 있음. 균분말 원료로 공급할 경우는 출하시의 균수를 보증하기위하여 800억/g 이상의 제품 공급도 가능함. 또한 캡슐·과립품 등 OEM 공급품 중에는 양적으로 배합제한이 있는 제품을 위해서 1,500~2,000억/g의 고농도제품이 있으며 prebiotics·biogenics 소재의 응용기획, 수탁업무도 행하고 있음.
- 일본의 세터사는 작년 말부터 캐나다의 Institute Rossel사의 생균을 취급하기 시작했음. 식물성 지방산으로 생균 표면을 코팅하는 마이크로캡슐기술을 적용하였기 때문에 보존성이 좋으며 내열, 내산, 내압성이 향상되고 정제도 가능함. *Longum* “R175ME“, *acidophilus* “R52ME“ *rhamnosus* “R11ME“의 3종류의 제품을 개발하여 금년부터 판매를 준비하고 있음.
- 최근 포자를 형성하는 젖산 생성균의 출시를 증가하고 있으며 균수는 60억/g, 회백색의 미세분말로 내열, 내산성을 가지며 식품, 의약품에서 사료까지 폭넓게 이용된다. 실온에서 균수의 변화도 적고, 물리적 스트레스에도 강하며 정제품도 가능함.

## (2) 시장현황

### ① 세계 시장현황

- 세계시장 규모는 2013년 기준 약 29조 원에 육박하였으며, 아시아 시장은 3,500억 원 규모로 아직 미미한 수준이지만 성장은 상대적으로 빠른 편임.
- 해외 전체 프로바이오틱스 시장 규모는 계속 증가세를 나타낼 것으로 전망됨
  - 2013년도 28.8억 달러인 전 세계 프로바이오틱스 제품 시장 규모는 연평균 고도의 성장을 지속하여 2018년 43.3억 달러로 2배의 시장 성장을 보일 것으로 예측됨.

(단위: 억 달러)

개요	년도	시장 규모		CAGR(%) (2013년~2018년)
		2013년	2018년	
세계 시장		28.8	43.4	7.6

Fig. 5. 세계 프로바이오틱스 시장규모  
(Frost&ullivan, BCC Research, Nutrition Business Journal)

- 해외 학계에서는 유산균의 효능에 대한 연구 결과가 잇따라 발표되고 있음.
- 미국 시장 조사기관인 그랜드뷰리서치에 따르면 2020년에 세계 유산균 시장의 규모는 60조 원대에 육박 할 것이라 전망함.
- 현재 유산균 시장은 미주, 유럽 중심으로 형성되어있으므로 아시아의 경우 현재 일본 중심 시장이나, 한국을 비롯 대만, 동남아 시장 등에서 가파른 성장 기대
- 유산균의 기능에 대한 과학적 증거의 신뢰도 향상, 소비자 인지도 상승, 건강에 대한 관심 증대 및 초고령화 사회형성이 시장 성장을 더욱 가파르게 할 것으로 예상됨.
- 농업생명산업의 분야별 국내 기술수준과 경제적 파급효과를 비교·분석한 결과, 가장 효과가 높을 것으로 예상되는 산업은 [기능성식품, 전통발효식품, 미생물산업]으로 나타났으며, 이러한 사업의 기대효과가 높은 만큼 유산균 정장제에 대한 비전이 높이 평가되고 있음.
- 미국은 2000년대 초반까지 영양보조제의 선진국이지만 일본과 유럽에 비해 유산균 정장제에 대한 인지도는 그렇게 높지 않았지만 최근 수년간 다양한 유통 경로를 통해 소비자 급증하고 있으며, 일본 야쿠르트사는 최근 미국내 기능성 유산균식품의 인지도를 바탕으로 확대 판매를 추진하고 있음. 한편 네슬레, 다농 사도 기능성 유산균 발효유제품을 미국 시장에 진입, 건강식품점이나 자연식품점을 중심으로 보충제제품을 기획하고 있음.

## ② 베트남 시장현황

- 베트남의 기능성 식품 시장은 매년 25~30%의 성장률을 보이며 급성장중임. 베트남 국민 소득이 높아지고 경제규모가 확대됨에 따라 고성장 개도국 소비구조로 서서히 변모하고 있으며, 이에 따라 건강기능식품 등의 소비시장도 지속 확대될 것으로 전망됨.
- 2012년 베트남의 전체 기능성 식품은 수입산 58%, 베트남산 42%로 나누어지며, 2017년에는 수입제품이 전체 기능성 제품 시장의 65~70%를 차지할 것으로 예상됨.

Table 2. 최근 3년간 베트남 기능성 식품 시장규모 및 성장률

(단위 : US\$ 천, %)

구분	2010		2011		2012	
	시장규모	증가율	시장규모	증가율	시장규모	증가율
시장규모 및 성장률	257,808	38.18	383,705	48.33	439,384	14.51

\* 동 시장의 전체 시장규모에 대한 공식발표 통계 부재, 수입규모 등으로 추정

출처 : www.trademap.org



Table 3. 베트남 국민소득 증가 추세

구분	단위	2009	2010	2011	2012	2013	2014(전망)
GDP	억달러	964	1,059	1,238	1,360	1,703	1,940
GDP 증가율	%	5.3	6.7	5.9	5.0	5.42	5.6
1인당 GDP	달러	1,110	1,205	1,394	1,540	1,855	2,096

- 베트남에서 한국 홍삼제품에 대한 신뢰도가 높게 형성되어 있음. 한국 제품이 베트남에서 인지도가 있는 것으로 파악됨.
- 베트남에서는 주로 건강보조식품, 홍삼, 인삼 등이 인기가 있으며 주요 구매자는 40~60대 주부들임. 고소득자들이 전체 구매의 60% 이상을 주도하고 있으나 최근 중산층의 구매비율도 빠르게 성장하고 있는 추세임.
- 베트남은 네덜란드, 미국, 인도네시아, 말레이시아 등 다양한 국가로부터 수입하고 있으며 각 국은 약 10% 정도의 점유율을 보임. 다양한 국가로부터 다품종 제품이 수입되고 있음을 알 수 있음. 다음의 표는 최근 3년간 베트남 수입규모 및 상위 10개국의 수입 동향임. 한국에 8위를 차지하고 있으며 2011년 대비 2012년 16.85%의 증가율을 보이고 있음.

Table 4. 베트남 기타 조제식품 주요 수입국 현황(HS Code 210690 기준)

(단위 : US\$ 천, %)

순위	국가	금액			점유율			증감률 12/11
		2010	2011	2012	2010	2011	2012	
	총계	149,529	222,549	254,843	100	100	100	14.51
1	네덜란드	2,498	10,730	43,700	1.67	4.82	17.15	307.27
2	미국	17,868	34,221	33,168	11.95	15.38	13.01	-3.07
3	인도네시아	24,641	31,595	32,429	16.48	14.19	12.72	2.64
4	말레이시아	16,804	22,185	29,173	11.24	9.96	11.45	31.49
5	태국	18,338	17,362	17,777	12.26	7.80	6.97	2.39
6	오스트리아	263	423	15,841	0.17	0.19	6.21	3644.92
7	중국	8,679	14,813	13,848	5.80	6.66	5.43	-6.51
<b>8</b>	<b>한국</b>	<b>6,813</b>	<b>9,433</b>	<b>11,023</b>	<b>4.55</b>	<b>4.24</b>	<b>4.32</b>	<b>16.85</b>
9	싱가포르	3,964	25,663	8,568	2.65	11.53	3.36	-66.61
10	아르헨티나	528	99	7,646	0.35	0.04	3.00	7623.23


- 베트남의 수입규제 내용은 다음과 같음.

- 관세 규제 : 27개 품목에 대해 5~20%까지 다양하게 관세가 부과되며, 콩 가공 식품 등 베트남에서 생산되는 품목에 대해서는 20% 이상의 고관세가 적용됨.
  - 비관세 규제 : 식품을 수입 유통하기 위해서는 ‘식품영업’으로 표기된 제조사의 영업등록증 및 베트남 ‘식품안전규정’에 따라 제조되었다는 인증서가 요구됨.
  - 필수 인증 : 원산지증명서, 선하증권, 상업송장, 패키징(포장)리스트, 품질증명서(CQ 취득 시)
- 주요 유통채널은 수입기타제조식품과 같은 경우 수입 유통상이 도매상의 역할을 담당하고 있으며, 제품 전문매장, 슈퍼마켓, 백화점 등에서 최종 판매됨.

### (3) 경쟁기관현황

- 일본의 칼피스사는 금년에 L-92 유산균을 이용한 “인터밸런스 L-92” 계열의 3제품을 출시하였다. Dgs-CVS를 중심으로 판매 1개월 만에 연간 목표액 30억 엔의 50%를 출하하였음. 칼피스사는 L-92유산균의 항 allergy에 대한 면역기능을 계속 연구하고 있음.
- 일본 야쿠르트사는 예방의학, 건강장수라는 생각을 기본으로 하여 유산균 제품은 “모두 특정보건용제품”이라고 하는 스탠스(stuns) 상품을 개발하고 있음. 작년에 “야쿠르트 400”이 호황을 이루었고 유산균 정장제 해외보급에 총력을 기울이고 있음. 구미(歐美)는 물론 아시아와 중남미에도 판매를 확대하고 있음.
- 유럽을 근거로 하는 다니스코사는 1998년에 Wisby사를 매수한 이래 유산균 제품개발에 주력해 왔음. 유산균으로는 내산성능과 내담즙산성이 높은 *Bifidobacterium* spp 420균주를 사용한다. 요구르트와 여러 가지 식품중에 이균의 생존율이 높기 때문에 소비자로부터 호평을 받고 있음. 또한 다니스코사는 2002년에 HOWARUTM 브랜드와 함께 프리미엄 유산균으로서 두 종류의 제품을 판매하고 있음. 또한 여러 가지 연구 성과와 더불어 소비자가 받아들이기 쉬운 브랜드로 보급시킴으로써 시장의 정착을 시도하고 있음. 해외에서는 고급 슈퍼마켓에서 HOWARU 브랜드 유제품을 비롯하여 여러 가지 식품군을 판매하는데 성공함. 다니스코사의 유산균 제품은 미쓰에이젠 F.F.I를 통해서 판매하고 있음.

Table 5. 경쟁기관 제품 출시 현황

제품 이미지	제품 특징	비고
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명: BB536</li> <li>○ 형태: 캡슐</li> <li>○ 회사: 모리나가 유업</li> <li>○ 특이사항:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 500억/g의 높은 비피도 균수</li> <li>- 1,500억/g의 고농도 제품</li> </ul> </li> </ul>	90캡슐/1병

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명: 프로바이오틱 500억 유산균</li> <li>○ 형태: 캡슐</li> <li>○ 회사: 호와루, 뉴트라라이프</li> <li>○ 특이사항: <ul style="list-style-type: none"> <li>- 11종의 유산균 함유</li> <li>- 글루텐, 유가공품, 달걀, 인공색소, 인공향, 인공감미료, 인공첨가물 미사용</li> </ul> </li> </ul>	30캡슐/1병
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명: 프로바이오틱 100</li> <li>○ 형태: 캡슐</li> <li>○ 회사: 자미에슨</li> <li>○ 특이사항: <ul style="list-style-type: none"> <li>- 락토바실러스 람노서스, 락토바실러스 파라카세이, 비피도박테리움 브리브, 프락토 올리고당 함유</li> <li>- 캐나다 건강식품 1위</li> </ul> </li> </ul>	60캡슐 /1병
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명: 유산균체 EC-12</li> <li>○ 형태: 분말</li> <li>○ 회사: 콤비</li> <li>○ 특이사항: <ul style="list-style-type: none"> <li>- 가열처리 유산균체</li> </ul> </li> </ul>	1 g

**(4) 지식재산권현황**

○ 해외특허검색은 KIPRIS를 통해 키워드를 “Lactic acid bacteria + Probiotics ‘로 하여 최근 10년간 해외 특허 동향을 검색함.

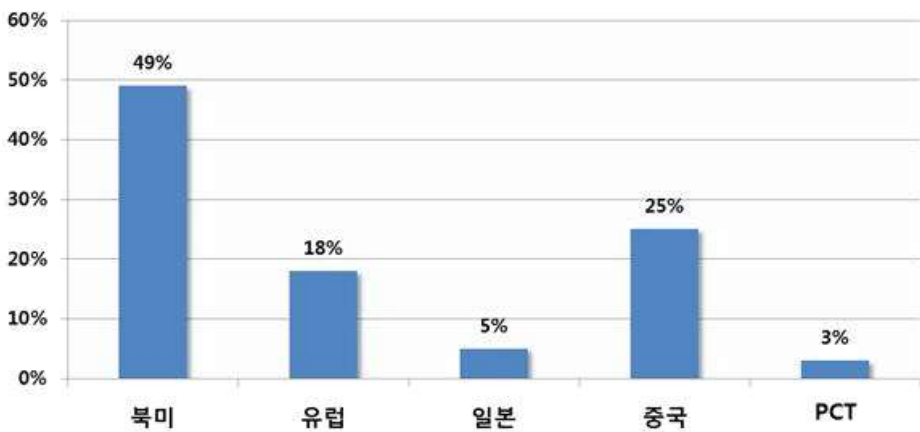


Fig. 6. 프로바이오틱스 관련 해외특허검색(KIPRIS, 2006-2016)

○ 유산균 관련 특허는 2005년부터 2016년 까지 꾸준히 증가하고 있으며, 북미에서 전체의

49%로 가장 많은 출원건수를 보이고 있음.

(5) 참여기관 연구개발 범위

▶ 협동연구기관1 (단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단)

가. 협동연구기관 1 (단국대학교 동물자원학과)

- 전국의 각 시·도에서 한국 전통식품을 대상으로 샘플링을 한 후 총 109개의 샘플을 확보하고 이후 기초생리활성 실험을 통한 유산균을 선발 함.



Fig. 7. 한국 전통식품 샘플 확보를 위한 모식도

- 기초생리활성이 우수한 유산균 자원을 다수 확보하고 있으며, 후보 유산균 선별을 위한 형태학적 특성과 생화학적 특성, 유산균의 담즙산 내성 및 내산성 실험 등의 체계적인 유산균 분리방법 확립과 항산화 활성 등의 기능성 검증연구를 통해 우수 유산균주를 다수 보유하고 있으며 이를 이용한 상용화 경험이 있음

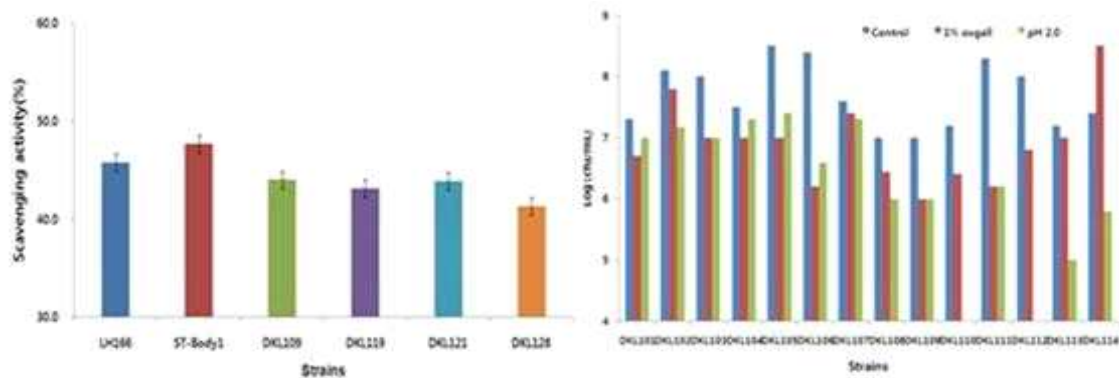


Fig. 8. 분리 유산균주 기초생리활성 검증

- 또한 분리균주의 GSU(Georgia State University) 면역질환연구센터와 공동연구를 통한 분

리 유산균주의 항염증, 면역력 증진효과 검증으로 보유 유산균주의 기능성 연구 자료를 확보하였음.

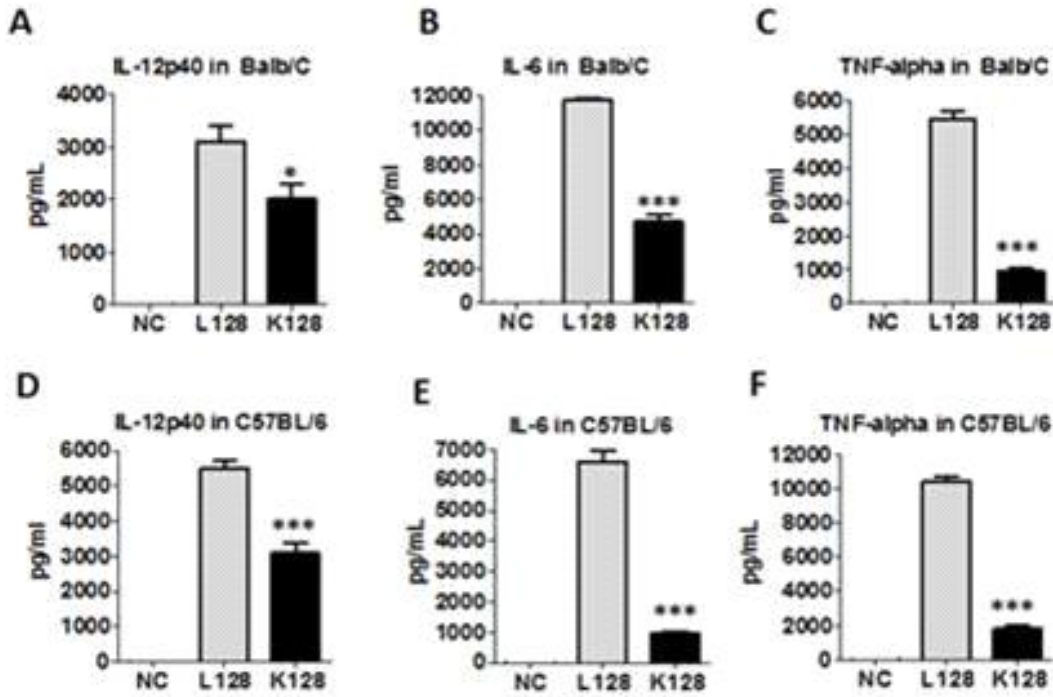


Fig. 9. 분리 유산균체, 사균체에 의한 수지상세포의 사이토카인 분비량 비교

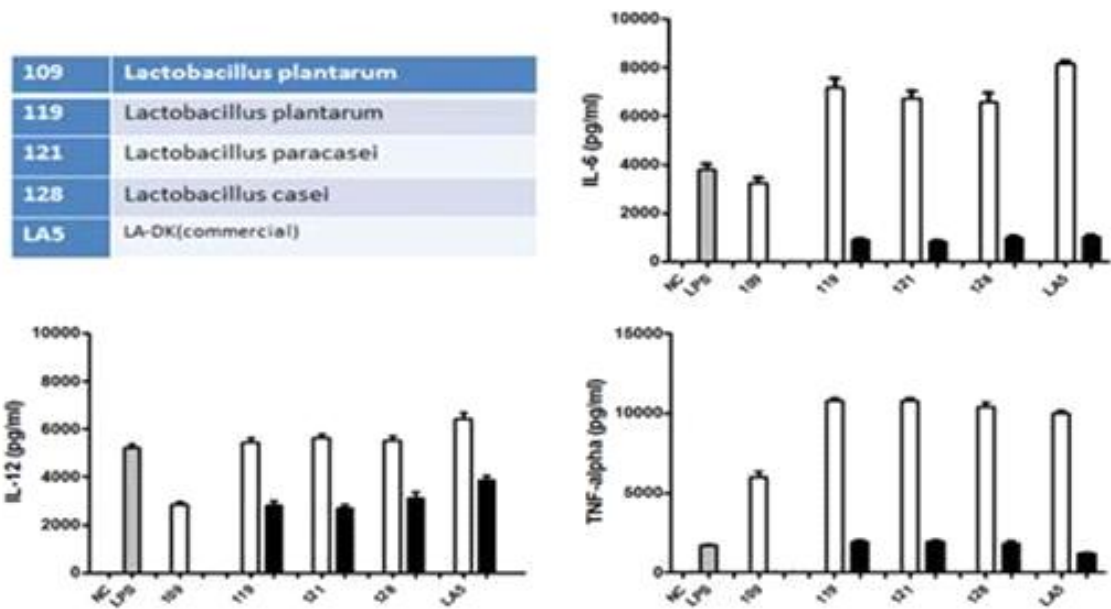


Fig. 10. 분리 유산균주와 상용균주의 항염증 및 면역력향상 비교 검증

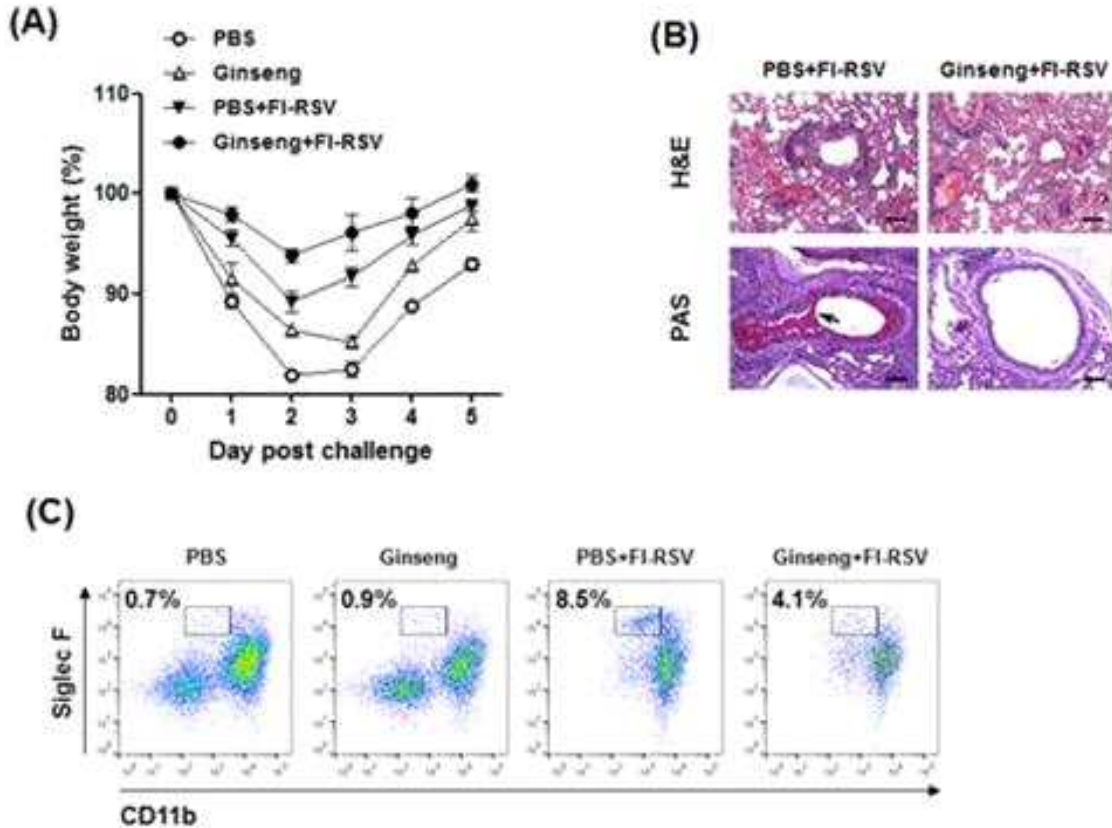


Fig. 11. 분리 유산균주를 이용한 천연물 발효산물 급여쥐의 사이토카인 분비 비교 실험

- 이를 통해 기능성이 검증된 유산균주를 이용한 특허 및 논문 발표 중에 있으며, 체계화된 균주 기능성 검증 방법과 검증된 유산균주의 상용화 적용능 확인을 통하여 지속적인 유산균주의 분리·동정 및 기능성 검증체계를 확립하였음.

▶ 협동연구기관2 (삼성서울병원)

- *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis* 등을 함유한 functional yogurt (synbiotics) 복용이 metabolic syndrome을 개선한다는 무작위 대조군 연구를 수행하여 Eur J Clin Nutr (IF=2.462) 에 발표하였음.

Table 6. Synbiotics 치료의 대사증후군 개선 효과

	Functional yogurt NY-YP901 (n = 53)	Control yogurt (n = 48)	P-value
Body weight (kg)	-0.24 ± 1.50	+0.64 ± 1.39	0.006
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	-0.10 ± 0.58	+0.24 ± 0.50	0.006
Waist circumference (cm)	-0.45 ± 2.78	+0.42 ± 2.78	0.447
Systolic BP (mm Hg)	-1.07 ± 9.22	+0.91 ± 10.91	0.276
Diastolic BP (mm Hg)	-0.32 ± 8.41	-0.43 ± 10.05	0.825
Fasting glucose (mg/dl)	+1.03 ± 6.49	+1.08 ± 7.01	0.973
HbA1c (%)	+0.03 ± 0.18	-0.02 ± 0.17	0.170
Total cholesterol (mg/dl)	-2.96 ± 24.34	+3.58 ± 23.16	0.181
HDL-cholesterol (mg/dl)	-0.77 ± 6.55	+0.00 ± 7.72	0.951
Triglyceride (mg/dl)	-1.64 ± 41.37	+3.06 ± 52.86	0.300
LDL-cholesterol (mg/dl)	-7.71 ± 14.14	-0.43 ± 15.32	0.044

- *Bifidobacterium lactis*와 acacia dietary fiber를 함유한 synbiotics 복용이 과민성대장증후군 환자의 증상 개선에 효과적이라는 무작위대조군 연구를 수행하여 World J Gastroenterol (IF=2.547)에 발표하였음.

Table 7. Synbiotics 치료의 과민성대장증후군 증상 개선 효과

	Test group (n = 58)				Control group (n = 59)				P value <sup>a</sup>
	Baseline	wk 8	Δ wk 8	P value	Baseline	wk 8	Δ wk 8	P value	
<b>Abdominal symptoms</b>									
Abdominal pain or discomfort (VAS)	34.05 ± 18.55	12.93 ± 14.99	-21.12	0	33.05 ± 19.94	16.5 ± 17.7	-16.53	< 0.001	0.26
Frequency of abdominal pain or discomfort/d	1.73 ± 2.03	0.81 ± 0.83	-0.89	0.004	1.21 ± 1.17	0.7 ± 0.8	-0.48	0.001	0.214
Abdominal distension or bloating (VAS)	44.40 ± 21.99	25.86 ± 18.1	-18.53	0	39.83 ± 20.82	28.8 ± 21.2	-11.02	< 0.001	0.096
Flatulence/d	5.19 ± 4.01	5.69 ± 5.08	0.5	0.391	4.98 ± 2.88	5.5 ± 4.0	0.51	0.266	0.991
<b>Bowel habits</b>									
Defecation frequency/wk	6.38 ± 5.98	7.23 ± 4.28	0.85	0.289	5.69 ± 3.87	6.7 ± 4.2	1.04	0.052	0.843
Defecation duration (min)	8.68 ± 6.35	7.47 ± 4.95	-1.22	0.07	8.85 ± 5.59	6.7 ± 3.9	-2.12	< 0.001	0.301
Urgency	23 (39.7%)	16 (27.6%)	-7	0.118	22 (37.3%)	22 (37.3%)	0	1	0.146
Straining	39 (67.2%)	22 (37.9%)	-17	0	37 (62.7%)	20 (33.9%)	-17	0.002	0.959
Feeling of incomplete evacuation	39 (67.2%)	19 (32.8%)	-20	0	44 (74.6%)	23 (39.0%)	-21	< 0.001	0.815
Stool consistency (BSS)	3.95 ± 1.64	3.72 ± 1.02	-0.22	0.274	3.53 ± 1.59	3.88 ± 1.15	0.36	0.047	0.118
Bowel habit satisfaction (VAS)	32.33 ± 17.53	59.48 ± 19.21	27.16	0	31.95 ± 18.22	47.5 ± 20.1	15.51	< 0.001	0.01
Discomfort related to daily life (VAS)	36.21 ± 22.54	21.98 ± 19.91	-14.22	0	30.93 ± 17.58	22.9 ± 17.5	-8.05	0.007	0.199
Improvement in overall IBS symptoms (VAS)		64.2 ± 17.0				50.4 ± 20.5			< 0.001

- 장내 미생물총과 장 면역과의 관련성에 대한 최신 지견을 Clinical Therapeutics (IF 2.731)에 발표하였음.

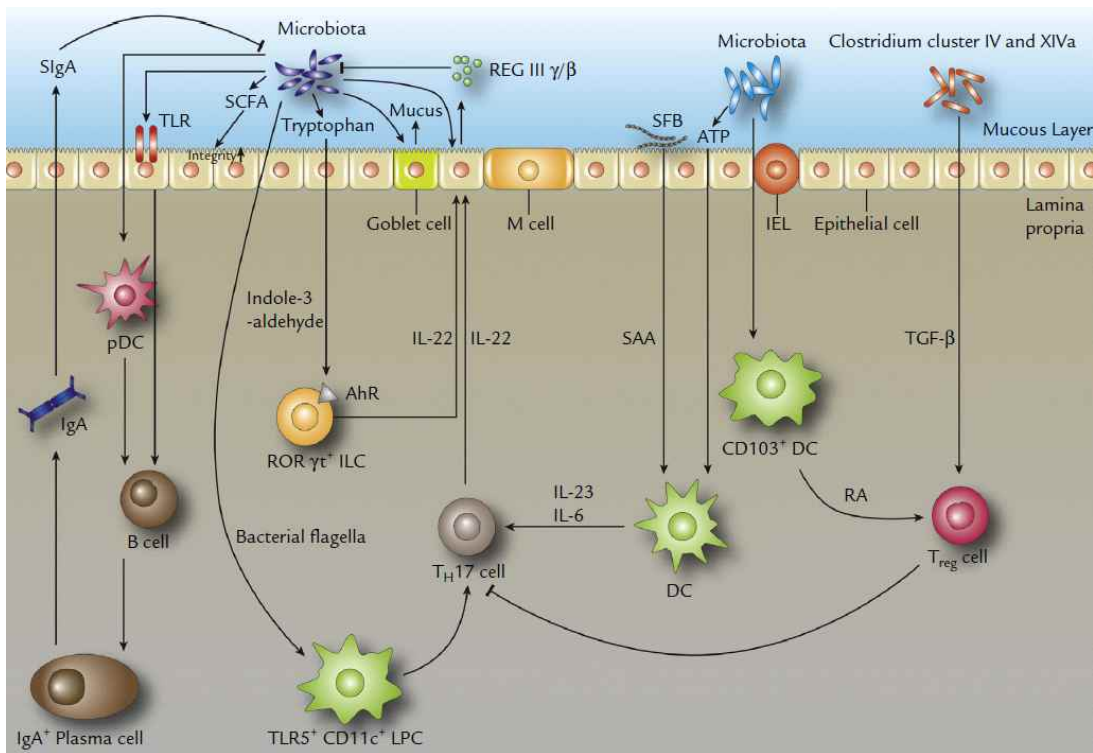


Fig. 12. 장내 미생물총-장 면역과의 관련 최신 지견(Clinical Therapeutics)



## 2. 연구수행 내용 및 결과

### 2-1. 연구개발 추진전략·방법 및 추진체계

#### 2-1-1. 연구개발 추진전략·방법

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2016)	해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화	관련 제품 탐색 및 시장조사	<ul style="list-style-type: none"> <li>국내시장 및 제품분석</li> <li>- 제품분석 및 시장현황 분석</li> <li>해외시장 및 제품분석</li> <li>해외 제품분석 유통조건 확인</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>국내 유산균 제품(건기식, 기타가공품 등) 시장규모 파악(공식 통계자료 첨부), 유니기획 의뢰(유산균제품 관련 소비자조사)</li> <li>국내 유통 유산균제품 및 타겟군 및 유통조건 확인, 비교분석 완료</li> <li>해외 유산균제품 관련 시장 및 제품 분석 준비(16.12.14~16 베트남 출장 계획, 시장조사 및 샘플 구매 예정)</li> <li>국내 유산균제품 법적규격, 표시기준 검토 완료</li> </ul>
		국내·외 유산균 정장제 제조 기술 조사	<ul style="list-style-type: none"> <li>문헌 고찰을 통한 기술분석(국내·외)</li> <li>양산테스트 가능 여부 검토</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>세계 유산균제품 제조 업체 및 기술 검토 진행</li> <li>국내 유산균제품 양산 조건 설정 가능 업체 미팅을 통한 양산테스트 가능여부 검토(2016.11.24. 업체 미팅진행)</li> </ul>
		수출 관련 법적 규격 및 제한 사전 검증	<ul style="list-style-type: none"> <li>베트남 수출 관련 자료 수집(KOTRA, 무역관)</li> <li>수출 계획 검토를 위한 업체 미팅 실시</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>공공기관 자료를 통한 베트남 수출조건 검토 진행(KOTRA, 무역관)</li> <li>베트남 수출 이력 일동계약 담당자 미팅 진행(비오비타 제품)</li> </ul>
	베트남인 microbiota 기반 IBS 개선 유산균 개발 및 상용화 적용성 검증	베트남인(거주인) 분변유래 LAB 분리	<ul style="list-style-type: none"> <li>베트남인 분변에서의 유산균 분리</li> <li>유산균의 형태학적 특성 분석</li> <li>유산균의 당 이용성 분석</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>단국대학교 공식협력기관인 글로벌산학협력센터를 통한 베트남인 분변 샘플링 완료</li> <li>순수분리를 위해 도말평판법을 통한 1차 후보균주 분리함</li> <li>Gram staining을 통한 2차 후보균주 분리함</li> <li>50CHL API kit를 이용한 유산균의 당 이용성 분석을 통한 8종의 3차 후보균주 분리함</li> </ul>
		베트남인(거주인) 분변유래	<ul style="list-style-type: none"> <li><math>\beta</math>-glucuronidase,</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>3차 후보균주 8종의 <math>\beta</math>-glucuronidase, tryptophanase 활성능 측정을 통해 장</li> </ul>

		LAB 기초생리활성 측정	tryptophanase 활성 • 내산성실험 및 담즙산 내성 측정	내 유해균 억제 활성을 확인함 • 3차 후보균주 8종의 내산성실험 및 담즙산 내성 측정하여 상용균주와의 비교를 통해 내성을 확인함
		베트남인(거주인) 분변유래 LAB 동정	• 유용균주의 선발 및 library 구축	• 3차 선발 후보균주를 통한 기초생리 활성 측정을 확인한 결과 library 구축을 위한 유용균주의 선발 • 16s rDNA 염기서열 분석을 통한 후보균주 동정 진행중
	베트남 과민성대장증후군 증상 개선 유산균 개발	베트남 (동남아 국가) 과민성대장증후군 환자군 30명과 건강한 베트남(동남아 국가) 대조군 30명 모집  두 모집군의 기초 평가 (인구학적 평가, 위장관 증상 평가, 기초 혈액검사)  두 모집군의 분변수집	• 임상시험 과제 기획 및 Budgeting • 임상시험계획서 및 임상시험 기본 문서 작성 및 검토 • IRB 승인 신청 (신규 및 변경) • 연구 Set up 및 베트남인 대상자 모집 공고  • 대상자 선정 및 제외 기준에 따라 모집 후 기초 및 증상 평가 추진 예정  • 증상평가 결과에 따라 과민성대장증후군 환자군과 건강한 대조군의 분변 샘플링 추진 예정	• 임상시험계획서, 증례기록서, 연구동의서 등 임상시험 기본문서 개발 • 삼성서울병원 IRB 승인 통지 (IRB File No. SMC 2016-08-173)
2차년도 (2017)	해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화	혼합균주 모델의 생산 공정 적합성 확인	• 분리균주에 대한 실험실 스케일의 식품 산업용 균주 생산법 확립 준하는 제조공정 구축 • 혼합균주제제의 적정 산도 (Titratable acidity) 및 pH 측정 • 개발 유산균제제 초기 유산균수 측정	• 분리균주의 산업용으로 제조공정을 구축하기 위해 배지조성을 확립한 생산법을 정립 • 혼합균주제제의 이화학적(TA, pH) 측정 및 초기 유산균수 측정하여 안정성을 확보 • 혼합균주제제 내성을 확인하여 안정성 확보 • 현지 유통조건(온도)을 고려한 혼합균주 모델 제제 보존 시험 실시하여 안정성을 확보 다른 유통조건은 3차년도에 실행

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 인공위액 내성 시험 실시</li> <li>• 현지 유통조건 (기후, 보관창고 조건 등)을 고려한 혼합균주 모델 제제 보존 시험 실시</li> </ul>	
	선별된 혼합균주 캡슐레이션 공정 적용 가능성 검토	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 일동제약 4중코팅 기술 활용 가능성 여부 검토</li> <li>• 국내 캡슐레이션 공정 가능 업체 위탁 개발 검토</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 일동제약 4중코팅 기술의 안정성을 확인</li> <li>• 국내 캡슐레이션 공정 가능 업체에서 안정성이 확보된 제품 출시 가능 여부를 확인</li> </ul>
	적용 제품 개발 및 대량생산 공정 검토 및 품질 관리 표준화 규격 설정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 제형별 실험실적 테스트를 실시하여 개발가능여부 검토 및 제형 설정</li> <li>• 분말제품 제조 공정 검토</li> <li>• 정제제품 제조 공정 검토</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 제형별 실험실적 테스트를 실시하여 개발가능여부 검토 및 제형 설정</li> <li>• 분말제품 제조공정 검토</li> <li>• 정제제품 제조공정 검토</li> </ul>
베트남(동남아국가)인 특유의 core gut microbiota 정보 획득 및 후보균주의 in vitro상 후보균주의 IBS 개선 효과 확인	베트남인(거주인) 분변유래 LAB 동정(1차년도)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 선발 후보균주 동정</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 후보균주의 동정을 통한 균주 확보</li> <li>• 최종 상용화 가능성 균주 기능성 검증</li> </ul>
	한국전통식품유래 유산균 정장제 후보 선정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 한국전통식품 유래 기 보유 유산균 후보균주 선발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 기초생리활성 및 최종 후보균주 확보</li> </ul>
	베트남인 microbiota 정보 획득	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 정상인-환자(IBS) 간의 장내 미생물총간 연관성 분석</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 생물정보학을 활용한 베트남(동남아국가)인 중 정상인과 과민성대장증후군(IBS) 환자간의 장내 미생물총간의 연관성 분석</li> <li>• 장내 유용균에 대한 정보 획득 및 유산균 정장제 후보균 제시 (<i>Lactobacillus</i> 속)</li> </ul>
	후보 선발균주의 IBS 개선효과 확인(In-vitro)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• In-vitro mucin 부착능 측정</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mucin 부착능을 통한 장내부착능 측정</li> </ul>
	항산화 활성 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 항산화 측정</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DPPH assay</li> <li>• FRAP assay</li> <li>• ABTS assay</li> </ul>
	항염증 활성 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ELISA kit을 이용한 cytokine 측</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MTT assay</li> <li>• Nitric oxide assay</li> </ul>

			정(세포실험 및 항염실험)	<ul style="list-style-type: none"> <li>IL-6, IL-12, TNF-<math>\alpha</math></li> </ul>
베트남 과민성대장 증후군 증상 개선 유산균 개발	Core gut microbiota DB 를 위한 베트남인 모집군의 분변 수집	<ul style="list-style-type: none"> <li>대상자 선정 및 제외 기준에 따라 모집 후 기초 및 증상 평가</li> <li>증상평가 결과에 따라 과민성대장증후군 환자군과 건강한 대조군의 분변 샘플링</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>IRB 변경 승인 및 종료 보고 완료 (IRB File No. SMC 2016-08-173)</li> <li>당초 계획대로 피험자 60명 등록 완료 및 분변 샘플 확보</li> </ul>	
	동물실험을 통해 선별된 유산균 및 혼합균주 모델의 과민성대장증후군에서 증상 개선 효능 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>Wistar rats을 restraining하여 과민성대장증후군 동물 모델 확립</li> <li>유산균 섭취에 따른 과민성대장증후군 발생 분석의 feasibility test</li> <li>선별된 유산균 및 혼합균주 투약으로 구축된 동물 모델에서 과민성대장증후군 증상 개선 효과 평가 진행 중임</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>과민성대장증후군 동물모델을 통해 유산균 3종의 과민성대장증후군에서 증상 평가 결과 개선의 효과를 보임</li> <li>선별된 유산균과 베트남 유래 혼합균주의 독성 확인 및 적정 용량 결정</li> </ul>	
	베트남인 과민성대장증후군 환자 그룹 모집을 위한 임상시험계획 및 대상모집	<ul style="list-style-type: none"> <li>임상시험 과제 기획 및 Budgeting</li> <li>임상시험계획서 및 임상시험 기본 문서 작성 및 검토</li> <li>IRB 승인 신청 (신규)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>임상시험계획서, 증례기록서, 연구동의서 등 임상시험 기본문서 개발</li> </ul>	
3차년도 (2018) 해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화	시제품 표준규격 설정 및 시제품 제조	<ul style="list-style-type: none"> <li>대량생산 공정 검토</li> <li>시제품 표준규격 설정</li> <li>시제품 제조</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>유산균 액상캡슐 개발 및 대량생산 공정 검토</li> <li>유산균 분말제제 대량생산 공정 검토</li> <li>유산균 액상캡슐/분말제제 표준규격 설정</li> <li>유산균 액상캡슐/분말제제 시제품 제조</li> </ul>	
	시제품 보존검사 및 관능검사 실시	<ul style="list-style-type: none"> <li>시제품 보존검사</li> <li>시제품 관능검사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>포장재 검토</li> <li>시제품 보존검사 실시</li> <li>유산균 액상캡슐/분말제제 관능검사 및 수용도 조사 실시</li> </ul>	

	수출 타겟 국가 마케팅 및 영업 전략 수립을 통한 현지 진출 준비	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 브랜드 개발</li> <li>• 디자인</li> <li>• 홍보 및 유통 전략 수립</li> <li>• 현지 진출 검토 및 준비</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유산균 액상캡슐/분말제제 브랜드 개발</li> <li>• 유산균 액상캡슐 디자인 완료</li> <li>• 유산균 분말제제 디자인 진행중</li> <li>• 홍보 및 유통 전략 수립</li> <li>• 법적 사항 검토 및 현지 진출 준비</li> </ul>
베트남인 microbiota 기반 IBS 개선 유산균 개발 및 상용화 적용성 검증	혼합균주 모델 구축 및 상용화 적용성 검증	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 면역기능 개선 효과가 우수한 혼합균주 모델 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 개발 균주의 aggregation (auto-aggregation 및 co-aggregation) assay를 통한 <i>in vitro</i> 상 인체 이송 (delivery)부가 연구 및 장내 정착능 확인</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 최종 선발 균주의 상용화 적용성 검증</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 선발 균주의 최적 고농도 배양 배지 (탄소원 및 질소원 농도) 선정 및 연속, 유가식배양을 통한 최적 배양 방법 선정</li> <li>• 선발 균주의 freeze-thaw를 통한 내냉성 실험 및 내열성 실험을 통한 선발 균주의 상용화 공정적합성 확인</li> <li>• 선발 균주의 법적규격 기반의 안전성 평가</li> <li>• 선발 균주의 저장 안정성(Broth 가속 실험 및 동결건조 가속실험) 평가 확인</li> </ul>
베트남 과민성대장 증후군 증상 개선 유산균 개발	최종 혼합균주 모델의 베트남 과민성 대장증후군 환자에서의 효과 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 베트남인 과민성 대장 증후군 환자 그룹 모집</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 베트남인 과민성 대장 증후군 환자 60명 대상의 이중맹검 무작위 위약 대조 연구 진행 (안전성 및 효능 평가)</li> </ul>	

◎ 주관연구기관 (일동후디스(주))

▶ 관련 제품 탐색 및 시장조사

(1) 국내 시장 현황 - 프로바이오틱스(건강기능식품)

○ 품목별 매출액 기준

- 2015 건강기능식품 국내 시장 규모 동향 분석에 의하면, 고시형 품목 중 매출액 기준 홍삼제품이 6천 943억으로 1위를 차지하고 있으며, 비타민 및 무기질, 프로바이오틱스 순으로 3위를 차지함

구 분	총 매출액(억원)	비율(%)
계	15,034.6	100
홍삼	6,942.9	46.2
비타민 및 무기질	2,078.7	13.8
프로바이오틱스	1,578.7	10.5
밀크씨슬 추출물	705.2	4.7
알로에	560.0	3.7
EPA 및 DHA 함유 유지	484.7	3.2
인삼	306.9	2.0
가르시니아카ம்ப오지아 추출물	276.9	1.8
루테인	203.5	1.4
클로렐라	165.3	1.1
스피루리나	144.8	1.0
차전자피식이섬유	136.0	0.9
감마리놀렌산 함유 유지	128.1	0.9
코엔자임Q10	125.7	0.8
녹차추출물	120.7	0.8
키토산/키토올리고당	104.9	0.7
프로폴리스추출물	99.0	0.7
N-아세틸글루코사민	92.6	0.6
쏘팔메토 열매 추출물	86.2	0.6
난소화성말토덱스트린	74.4	0.5

Fig. 13. 건강기능식품 고시형품목 품목별 매출현황  
(건강기능식품 생산실적 통계 분석 자료, 2015)

○ 품목별 판매실적

- 2015 건강기능식품 국내 시장 규모 동향 분석에 의하면, 고시형 품목 중 판매실적 기준 프로바이오틱스 점유율이 4위를 차지하는 것을 볼 수 있음

순위	구분	2014		2015	
		매출액(억원)	점유율	매출액(억원)	점유율
계		16,310	100	18,230	100
1	홍삼	6,330	38.8	6,943	38.1
2	개별인정형	3,177	19.5	3,195	17.5
3	비타민 및 무기질	1,415	8.7	2,079	11.4
4	프로바이오틱스	1,388	8.5	1,579	8.7
5	밀크씨슬 추출물	676	4.1	705	3.9
누계 (5품목)		12,987	79.6	14,501	79.5

Fig. 14. 건강기능식품 고시형품목 품목별 판매실적  
(건강기능식품 생산실적 통계 분석 자료, 2015)

- 또한 판매추이를 보면 2014년 대비 2015년 13.8%로 높은 성장률을 보이는 것으로 나타남
- 이로써, 국내 프로바이오틱스의 꾸준한 성장을 확인할 수 있음

(총 매출액, 단위 : 억원)

구분	2014	2015
홍삼	6,330	6,943
전년대비 성장률(%)	7.9	9.7
개별인정형	3,176	3,195
전년대비 성장률(%)	36.7	0.6
비타민 및 무기질	1,415	2,079
전년대비 성장률(%)	-19	46.9
프로바이오틱스	1,388	1,579
전년대비 성장률(%)	72.6	13.8
밀크씨슬 추출물	676	704
전년대비 성장률(%)	119.5	4.1
알로에	575	560
전년대비 성장률(%)	-8.4	-2.6
EPA 및 DHA 함유 유지	396	485
전년대비 성장률(%)	-19.2	22.5
인삼	426	307
전년대비 성장률(%)	-8.6	-27.9
가르시니아카모보지아 추출물	221	277
전년대비 성장률(%)	-59.1	25.3
루테인	111	204
전년대비 성장률(%)	17.9	83.0

Fig. 15. 건강기능식품 고시형품목 품목별 판매추이  
(건강기능식품 생산실적 통계 분석 자료, 2015)

○ 품목별 매출현황(내수용, 수출용)

- 2015 건강기능식품 국내 시장 규모 동향 분석에 의하면, 고시형 제품의 대부분은 내수용으로 판매되는 것으로 나타남

구 분	매출액(억원)		
	총 매출액	내수용	수출용
계	15,034.6	14,202.4	832.2
홍삼	6,942.9	6,685.1	257.8
비타민 및 무기질	2,078.7	2,041.3	37.4
프로바이오틱스	1,578.7	1,320.3	258.4
밀크씨슬 추출물	705.2	697.7	7.5
알로에	560.0	530.3	29.6
EPA 및 DHA 함유 유지	484.7	474.2	10.4
인삼	306.9	239.4	67.5
가르시니아카모보지아 추출물	276.9	258.8	18.2
루테인	203.5	203.5	-
클로렐라	165.3	107.0	58.3
스피루리나	144.8	131.1	13.7
차전자피식이섬유	136.0	110.8	25.2
감마리놀렌산 함유 유지	128.1	123.9	4.2
코엔자임Q10	125.7	125.6	0.1
녹차추출물	120.7	120.4	0.3
키토산/키토올리고당	104.9	103.4	1.6
프로폴리스추출물	99.0	98.3	0.8
N-아세틸글루코사민	92.6	63.1	29.5
쏘팔메토 열매 추출물	86.2	86.2	-
난소화성말토덱스트린	74.4	73.9	0.5

Fig. 16. 건강기능식품 고시형품목 품목별 판매추이  
(건강기능식품 생산실적 통계 분석 자료, 2015)

○ 품목별 주요 업체 매출현황

- 2015 건강기능식품 국내 시장 규모 동향 분석에 의하면, 고시형 품목별 주요 업체 매출 순위는 다음의 그림과 같음

품목유형	순위	업체명	매출액(억원)		
			총 매출액	내수용	수출용
프로바이오틱스	1	(주)벨바이오텍	464.4	293.9	170.4
	2	폴마비엔에이치(주)푸디팜사업부문	155	155	-
	3	종근당건강(주)	142.7	142.6	0.2
	4	일동제약(주)포승공장	117.2	117.2	-
	5	(주)비피도	101.8	95.6	6.2

Fig. 17. 건강기능식품 품목별 주요 업체 매출 현황  
(건강기능식품 생산실적 통계 분석 자료, 2015)



○ 품목별 수입실적 순위

- 2015 건강기능식품 국내 시장 규모 동향 분석에 의하면, 비타민 및 무기질, EPA, DHA 함유 유지, 프로바이오틱스 등의 순으로 나타남. 국내 판매실적 상위 제품과 유사함을 확인할 수 있음

순위	품목유형	수입액(억원)		수입량(톤)	
			점유률(%)		점유률(%)
계		5,965	100	9,507	100
1	비타민 및 무기질	2,791	46.8	2,629	27.7
2	EPA 및 DHA 함유 유지	652	10.9	1,435	15.1
3	프로바이오틱스	519	8.7	198	2.1
4	개별인정형	432	7.2	558	5.9
5	단백질	205	3.4	1,232	13.0
누계 (5품목)		4,599	77.1	6,052	63.7

Fig. 18. 건강기능식품 품목별 수입실적 순위  
(건강기능식품 생산실적 통계 분석 자료, 2015)

(2) 국내 제품 현황 - 프로바이오틱스 제품

○ 국내 출시 프로바이오틱스 제품은 건강기능식품 및 기타가공품 형태로 출시중에 있음

○ 국내 대표적 프로바이오틱스 건강기능식품으로는 쉐바이오텍 ‘듀오락’, 일동제약 ‘지큐랩’, CJ제일제당 ‘BYO’ 등이 있음

○ 기타가공품 형태로는 주로 영유아 타겟 제품이 많으며, 영유아식품 제조 및 판매 업체에서 출시되고 있음

○ 국내 제품 분류 카테고리로는 크게 제형(분말, 정제(츄어블)), 함유 유산균종, 유통방법(상온, 냉장) 등으로 나누어볼 수 있음

○ 아래의 표는 대표적인 국내 출시 프로바이오틱스 제품임

Table 6. 쉐바이오텍 - 듀오락(분말)

브랜드	듀오락		
제형	분말		
제품명	듀오락 베이비 세트(60일분)	듀오락 골드(30일분)	듀오락 에이티퍼(30일분)

이미지				
규격	60g(1g*60포)	150g(2.5g*60포)	60g(1g*60포)	
포장용기	스틱	스틱	스틱	
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	30,000	60,000	80,000	
유형	건강기능식품 프로바이오틱스	건강기능식품 프로바이오틱스	건강기능식품 프로바이오틱스	
섭취대상	영유아	성인	영유아	
섭취량 및 섭취방법	1일 2회, 1회 1포(1g), 직접 또는 물, 분유에 타서 섭취	1일 1회, 1회 2포(5g), 직접 또는 물과 함께 섭취	1일 1회, 1회 2포(2g), 직접 또는 물과 함께 섭취	
제품특징	개별	<p>분말타입(스틱포장)          식약처고시기준대비고함량(100억마리이상기능성분함량대비, 투입균수하루400억마리/보장균수하루30억마리)          비타민6종(부원료)          프락토, 갈락토올리고당함유신바이오틱스          이오티스          인체적용시험연구개발</p> <p>하루100억마리이상투입및2년유통기한까지하루최소10억마리이상보장</p>	<p>분말타입(스틱포장)          식약처고시기준대비고함량(100억마리이상기능성분함량대비, 투입균수하루400억마리/보장균수하루30억마리)          비타민6종(부원료)          프락토, 갈락토올리고당함유신바이오틱스          이오티스          인체적용시험연구개발</p> <p>하루400억마리이상투입및2년유통기한까지하루최소30억마리이상보장</p>	<p>분말타입(스틱포장)          식약처고시기준대비고함량(100억마리이상기능성분함량대비, 투입균수하루295억마리/보장균수하루10억마리)          프락토올리고당함유신바이오틱스          민감한아이용고함량프로바이오틱스</p>
	공통	한국형 유산균, 복합균주, 듀얼코팅		
균주 조성	CBT-LP3( <i>L. plantarum</i> ) CBT-LR5( <i>L. rhamnosus</i> ) CBT-BL3( <i>B. lactis</i> ) CBT-BG7( <i>B. longum</i> )	CBT-ST3( <i>S. thermophilus</i> ) CBT-LA1( <i>L. acidophilus</i> ) CBT-LR5( <i>L. rhamnosus</i> ) CBT-BL3( <i>B. lactis</i> ) CBT-BG7( <i>B. longum</i> ) CBT-BF3( <i>B. bifidum</i> )	CBT-LC5( <i>L. casei</i> ) CBT-LR5( <i>L. rhamnosus</i> ) CBT-LP3( <i>L. plantarum</i> ) CBT-BL3( <i>B. lactis</i> )	
균주 배합비율	유산균(50%) 비피더스균(50%)	유산균(53%) 비피더스균(47%)		
유통기한	2년			
유통방법	상온	상온	상온	
업소명 및 소재지(제조)	(주)셀바이오텍			
원재료명 및 함량	락토바실러스 플란타룸 유산균( <i>Lactobacillus plantarum</i> CBT-LP3 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 락토바실러스 람노수스 유산균( <i>Lactobacillus rhamnosus</i> CBT-LR5 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 비피도박테리움 락티스 비피더스균( <i>Bifidobacterium lactis</i> CBT-BL3 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 비피도박테리움 롱굼 비피더스균( <i>Bifidobacterium longum</i> CBT-BG7 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 맥아당, 폴리덱스트로스, 프락토올리고당, 페디오코쿠스 펜토사세우스균( <i>Pediococcus</i>	스트렙토코쿠스써모필루스유산균( <i>Streptococcus thermophilus</i> CBT-ST3생균으로100,000,000,000개/g이상), 락토바실루스아시도필루스유산균( <i>Lactobacillus acidophilus</i> CBT-LA1생균으로100,000,000,000개/g이상), 락토바실루스 람노수스( <i>Lactobacillus rhamnosus</i> CBT-LR5생균으로100,000,000,000개/g이상), 비피도박테리움 락티스 비피더스균( <i>Bifidobacterium lactis</i> CBT-BL3생균으로100,000,000,000개/g이상), 비피도박테리움 롱굼 비피더스균( <i>Bifidobacterium longum</i> CBT-BG7생균으로100,000,000,000개/g이상), 비피도박테리움 롱굼 비피더스균( <i>Bifidobacterium longum</i> CBT-BF3생균으로100,000,000,000개/g이상), 비피도박테리움 비피둠 비피더스균( <i>Bifidobacterium bifidum</i> CBT-BF3생균으로100,000,000,000개/g이상), 프	락토바실루스 카제이 유산균( <i>Lactobacillus casei</i> CBT-LC5 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 락토바실루스 람노수스 유산균( <i>Lactobacillus rhamnosus</i> CBT-LR5 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 락토바실루스 플란타룸 유산균( <i>Lactobacillus plantarum</i> CBT-LP3 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 비피도 박테리움 락티스 비피더스균( <i>Bifidobacterium lactis</i> CBT-BL3 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 폴리덱스트로스, 결정(분말)포도당, 프락토올리고당,	

		<i>pentosaceus</i> CBT-PP1 생균으로 100,000,000,000개/g 이상)	락토올리고당, 이성화유당혼합분말[이성화유당, 텍스트린], 유당혼합분말[유당, 텍스트린], 갈락토올리고당, 오렌지맛분말[오렌지분말, 정백당, 텍스트린, 오렌지향혼합제, 무수구연산, 제삼인산칼슘, 치자황색소, 효소처리스테비아, 카르복시메틸셀룰로오스나트륨, 정제염], 밀크향혼합제, 오렌지향혼합제, 이산화규소, 비타민C(L-Ascorbicacid), 비타민E혼합제(dl- $\alpha$ -토코페릴초산염, 변성전분, 텍스트린, 이산화규소), 비타민A혼합제(텍스트린, 아라비아검, 옥수수전분, 비타민A초산염, dl- $\alpha$ -토코페롤), 비타민B6염산염, 비타민B1염산염, 비타민B2(Riboflavin)	결정셀룰로오스, 요구르트향분말, 밀크향분말, 스테아린산마그네슘	
영양성분	1회 섭취량		2g	5g	2g
	열량	kcal	5	15	5
	탄수화물	g	2	4	2
	나트륨	mg		5	
	프로바이오틱스수	CFU	10억	30억	10억

Table 7. 쉐바이오틱 - 듀오락(정제, 캡슐)

브랜드		듀오락		
제형		정제		캡슐
제품명		듀오락 얄얄(40일분)	듀오락 스태프 츠어블(15일분)	듀오락 케어(30일분)
이미지				
규격		320g(2.5g*60포*2케이스)	30g(1g*30정)	21g(350mg*60캡슐)
포장용기		PE(용기)	PE(필름)	PE(용기)
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)		36,000	24,000	50,000
유형		건강기능식품 프로바이오틱스	건강기능식품 프로바이오틱스	건강기능식품 프로바이오틱스
섭취대상		유아	성인	성인
섭취량 및 섭취방법		1일 1회, 1회 2정, 씹어서	1일 1회, 1회 2정(2g), 씹어서	1일 1회, 1회 2캡슐, 물과 함께
제품특징	개별	츠어블타입 아기장내주요유산균배합( <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> ) 프락토올리고당함유신바이오틱스 무설탕(자일리톨(부원료)함유) 하루150억마리이상투입및2년유통기한까지하루최소10억마리이상보장)	츠어블타입 투입균수하루58억마리 보장균수하루1억마리	캡슐타입 식약처고시기준대비고함량(100억마리이상기능성분함량대비, 투입균수하루250억마리/보장균수하루20억마리) 식물성캡슐 인체적용시험연구개발 하루250억마리이상투입및2년유통기한까지하루최소20억마리이상보장
	공통	한국형 유산균, 복합균주, 듀얼코팅		

균주 조성	CBT-EF4( <i>E.faecium</i> ) CBT-LP3( <i>L.plantarum</i> ) CBT-BG7( <i>B.longum</i> ) CBT-BR3( <i>B.breve</i> )	CBT-ST3( <i>S.thermophilus</i> ) CBT-LA1( <i>L.acidophilus</i> ) CBT-BL3( <i>B.lactis</i> ) CBT-LP3( <i>L.plantarum</i> )	CBT-ST3( <i>S.thermophilus</i> ) CBT-LA1( <i>L.acidophilus</i> ) CBT-LR5( <i>L.rhamnosus</i> ) CBT-BL3( <i>B.lactis</i> ) CBT-BG7( <i>B.longum</i> ) CBT-BF3( <i>B.bifidum</i> )		
균주 배합비율	유산균(67%) 비피더스균(33%)		유산균(51%) 비피더스균(49%)		
유통기한	2년				
유통방법	상온	상온	상온		
업소명 및 소재지(제조)	(주)셀바이오틱				
원재료명 및 함량	엔테로코쿠스 폐쇄 유산균( <i>Enterococcus faecium</i> CBT-EF4 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 락토바실루스 플란타룸 유산균( <i>Lactobacillus plantarum</i> CBT-LP3 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 비피도박테리움 롱굼 비피더스균( <i>Bifidobacterium longum</i> CBT-BG7 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 비피도박테리움 브레브 비피더스균( <i>Bifidobacterium breve</i> CBT-BR3 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 이소말트, 자일리톨 혼합제제(자일리톨, 카르복시메틸셀룰로오스나트륨) , D-소르비톨, 프락토올리고당, 결정셀룰로오스, 옥수수전분, 요구르트향혼합제제, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 밀크향혼합제제, 스테아린산마그네슘, 사과산	스트렙토코쿠스 써모필루스 유산균( <i>Streptococcus thermophilus</i> CBT-ST3 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 비피도박테리움 락티스 비피더스균( <i>Bifidobacterium lactis</i> CBT-BL3 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 락토바실루스 아시도필루스 유산균( <i>Lactobacillus acidophilus</i> CBT-LA1 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 락토바실루스 플란타룸 유산균( <i>Lactobacillus plantarum</i> CBT-LP3 생균으로 100,000,000,000개/g 이상), 이소말트, D-소르비톨, 유산균배양건조물(프로바이오틱 스발효분말, 에스디여액건조물(유산균배양액 , 텍스트린), 결정(분말)포도당, 자일리톨혼합제제(자일리톨, 카르복시메틸셀룰로오스나트륨) , 파인애플향혼합제제(파인애플향 (푸라네올, 알릴헥사노에이트, 말톨, 에틸프로피오네이트, 에틸부티레이트, 오렌지오일, 감마데카라톤, 델타데카라톤, 아세틱에시드, 에틸아세테이트, 헥사노익에시드), 말토덱스트린, 포도당, 아라비아검, 펙틴), 스테아린산마그네슘, 프로바이오틱스농축액분말, 사과산	스트렙토코쿠스써모필루스유산 균( <i>Streptococcus thermophilus</i> CBT-ST3생균으로100,000,000,00 0개/g이상),락토바실루스아시도 필루스유산균( <i>Lactobacillus acidophilus</i> CBT-LA1생균으로100,000,000,00 0개/g이상),락토바실루스람노수 스유산균( <i>Lactobacillus rhamnosus</i> CBT-LR생균으로100,000,000,000 개/g이상,비피도박테리움락티스 비피더스균( <i>Bifidobacterium lactis</i> CBT-BL3생균으로100,000,000,00 0개/g이상),비피도박테리움롱굼 비피더스균( <i>Bifidobacterium longum</i> CBT-BG7생균으로100,000,000,00 0개/g이상),비피도박테리움비피 둠비피더스균( <i>Bifidobacterium bifidum</i> CBT-BF3생균으로100,000,000,00 0개/g이상),말토덱스트린,옥수수 전분,스테아린산마그네슘 *캡슐기제:히드록시프로필메틸 셀룰로오스,이산화티타늄(합성 착색료)		
영양성분	1회 섭취량	1.5g	2g	700mg	
	열량	kcal	0	10	0
	탄수화물	g	1	2	1g 미만
	프로바이오틱스수	CFU	10억	1억	20억

Table 8. 일동제약 - 지큐랩(분말)

브랜드	지큐랩		
	캡슐	분말	
제품명	지큐랩 데일리 프로바이오틱스	지큐랩 에스 프로바이오틱스	지큐랩 키즈 프로바이오틱스

이미지				
규격		500mg*32캡슐(16g)	2,500mg*30포(75g)	2,000mg*30포*2박스
포장용기			스틱	스틱
가격		₩ 35,000	₩ 45,000	₩ 60,000
유형		건강기능식품	건강기능식품	건강기능식품
섭취대상				
섭취량 및 섭취방법		1일 1회, 1회 1캡슐	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1포
제품특징	개별	아연 먼억	자일로올리고당분말 배변활동	아연먼억 비타민D빠건강
	공통	특히4중코팅프로바이오틱스로안전하게장까지 신바이오틱스 한국형맛츄프로바이오틱스		
균주 조성		락토바실러스람노서스 락토바실러스아시도필루스 락토바실러스카제이 락토바실러스플란타럼 락토바실러스헬베티쿠스 엔테로코커스페시움 비피도박테리움롱검 비피도박테리움비피덤 비피도박테리움락티스 비피도박테리움브레베	락토바실러스람노서스 락토바실러스카제이 락토바실러스아시도필루스 락토바실러스플란타럼 락토바실러스루테리 엔테로코커스페시움 비피도박테리움롱검 비피도박테리움비피덤 비피도박테리움락티스	락토바실러스람노서스 락토바실러스카제이 락토바실러스아시도필루스 락토바실러스루테리 락토바실러스헬베티쿠스 엔테로코커스페시움 비피도박테리움비피덤 비피도박테리움브레베
유통기한		18개월		
유통방법		상온		
업소명 및 소재지(제조)		일동제약		
원재료명 및 함량		일동퀴드락10플러스분말(일동 락토바실러스 람노서스 IDCC 3201, 일동 락토바실러스 아시도필루스 IDCC 3302, 일동 락토바실러스 카제이 IDCC 3451, 일동 락토바실러스 플란타럼 IDCC 3501, 일동 락토바실러스 헬베티쿠스 IDCC 3801, 일동 엔테로코커스 페시움 IDCC 2102, 일동 비피도박테리움 롱검 IDCC 4101, 일동 비피도박테리움 비피덤 IDCC 4201, 일동 비피도박테리움 락티스 IDCC 4301, 일동 비피도박테리움 브레베 IDCC 4401), 산화아연, 락토바실러스아시도필루스 사균체 혼합, 일동 바실루스 코아글란스균, 유당 혼합분말[유당(미국산), 말토덱스트린], 프락토올리고당, 결정셀룰로오스, 시클로덱스트린(베타), 이산화규소, 스테아린산마그네슘	일동퀴드락9플러스더블유분말( 일동 락토바실러스 람노서스 IDCC 3201, 일동 락토바실러스 카제이 IDCC 3451, 일동 락토바실러스 아시도필루스 IDCC 3302, 일동 락토바실러스 플란타럼 IDCC 3501, 일동 락토바실러스 루테리 IDCC 3701, 일동 엔테로코커스 페시움 IDCC 2102, 일동 비피도박테리움 롱검 IDCC 4101, 일동 비피도박테리움 비피덤 IDCC 4201, 일동 비피도박테리움 락티스 IDCC 4301, 자일로올리고당 분말, 난소화성말토덱스트린, 전지분유, 치커리추출분말(벨기에산), 에리스리톨, 유산균사균체분말, 푸룬농축액분말(미국산), 자일리톨, 결정포도당, 일동바실루스코아글란스균, 이산화규소, 스테아린산마그네슘	일동퀴드락7플러스분말(일동 락토바실러스 람노서스 IDCC 3201, 일동 락토바실러스 카제이 IDCC 3451, 일동 락토바실러스 루테리 IDCC 3701, 일동 락토바실러스 헬베티쿠스 IDCC 3801, 일동 엔테로코커스 페시움 IDCC 2102, 일동 비피도박테리움 비피덤 IDCC 4201, 일동 비피도박테리움 브레베 IDCC 4401), 산화아연 혼합제분말, 비타민D3 혼합제분말, 난소화성말토덱스트린, 결정(분말)포도당, 에리스리톨, 유산균사균체분말, 전지분유, 프락토올리고당, 말기동결분말(국산), 요구르트 혼합분말(국산), 일동 바실루스 코아글란스균, 초유분말, 이산화규소, 스테아린산마그네슘
반소염양	1회 섭취량	500mg	2.5g	2g
	열량	kcal	0	10
	탄수화물	g	0	2
	단백질	g	0	0
	지방	g	0	0

나트륨	mg	0	0	0
프로바이오틱스수	CFU	100억	100억	50억
자일로 올리고당	mg		700	
비타민D	μg			5
아연	mg	4		5

Table 9. 일동제약 - 하이락토(캡슐, 정제, 분말)

브랜드		하이락토		
제형		캡슐	정제	분말
제품명		하이락토 프로바이오틱스	하이락토 키즈 츄어블정	하이락토 키즈
이미지				
규격		500mg*60캡슐(30g)	1000mg*120정(120g)	2.5g*30포*2박스(150g)
포장용기		유리병	PE	스틱
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)		40,000	50,000	60,000
유형		건강기능식품	건강기능식품	건강기능식품
섭취대상		성인	유아	유아
섭취량 및 섭취방법		1일 1회, 1회 2캡슐	1일 1정, 1일 2회	1일 1회, 1회 1포
제품특징	개별	유산균 100억	한국인장과모유분리맛츄유산균 유산균5억	한국인장과모유분리맛츄유산균 유산균50억 아연함유
	공통	4중코팅 프로바이오틱스		
균주 조성		락토바실러스람노서스 락토바실러스아시도필루스 엔테로코커스페시움 바실러스코아글란스	락토바실러스람노서스 락토바실러스가세리 락토바실러스루테리 엔테로코커스페시움 비피도박테리움락티스 비피도박테리움롱검	락토바실러스람노서스 락토바실러스가세리 락토바실러스루테리 엔테로코커스페시움 비피도박테리움락티스 비피도박테리움롱검
유통기한		18개월		
유통방법		상온	상온	상온
업소명 및 소재지(제조)		일동제약/일동바이오사이언스	일동제약/(주)팜크로스	일동제약/일동바이오사이언스
원재료명 및 함량		일동 락토바실루스 람노서스 IDCC 3201, 일동 락토바실러스 아시도필루스 IDCC 3302, 일동 엔테로코커스 페시움 IDCC 2102, 유당혼합분말[유당(우유/미국), 말토덱스트린], 일동 바실러스 코아글란스, 스테아린산마그네슘	일동 락토바실러스 람노서스 IDCC 3201, 일동 락토바실러스 가세리 IDCC 3101, 일동 락토바실러스 루테리 IDCC 3701, 일동 엔테로코커스 페시움 IDCC 2102, 일동 비피도박테리움 롱검 IDCC 4101, 일동 비피도박테리움 락티스 IDCC 4301, 산화아연, 결정포도당, 식물성크림분말(물엿, 식물성경화유, 카제인(우유), 제이인산칼륨, 유화제, 제삼인산칼슘, 폴리인산칼륨), 프락토올리고당,	일동락토바실루스람노서스IDCC3201,일동락토바실루스가세리 IDCC3101,일동락토바실루스루테리IDCC3701,일동엔테로코커스페시움IDCC2102,일동비피도박테리움락티스IDCC4301,일동비피도박테리움롱검IDCC4101,산화아연,식물성크림분말(우유,야자경화유:수입산),결정(분말)포도당,요구르트농축액(농축물)분말(국산),난소화성말토덱스트린,프락토올리고당,밀크향분말(합성착향료),전지분유,바실루스코아글란스,초유분

			딸기추출물분말(딸기추출물(국내), 텍스트린), 바실루스 코아글란스(Bacillus coagulans), 딸기향분말(합성착향료), 이산화규소, 스테아린산마그네슘, 비타민 C, 니코틴산아미드, 판토텐산칼슘, 비타민 B12 혼합제제(말토덱스트린, 구연산삼나트륨, 구연산, 비타민B12), 비타민 B2	말,이눌린, 스테아린산마그네슘, 이산화규소, 바닐라향분말, 알로에베라농축액,비타민C	
영양 성분	1회 섭취량		1g	2g	2.5g
	열량	kcal	0	5	10
	탄수화물	g	1g 미만	2	2
	단백질	g	0	0	0
	지방	g	0	0	0
	나트륨	mg	0	0	0
	프로바이오틱스수	CFU	100억	5억	50억
	아연	mg			5

Table 10. CJ제일제당 - BYO (분말, 캡슐)

브랜드		BYO			
제형		분말			캡슐
제품명		CJ BYO 멀티유산균	CJ BYO 피부생유산균	CJ BYO 장유산균	CJ BYO 장유산균(캡슐)
이미지					
규격		총50g(2.5g*20포)	총80g(2g*40포)	총60g(2g*30포)	270mg*60캡슐
포장용기		스틱	스틱	스틱	캡슐
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)		39,900	37,900	34,900	16,900
유형		건강기능식품	건강기능식품	건강기능식품	건강기능식품
섭취량 및 섭취방법		1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1캡슐
제품특징	개별	장건강,면역조절을 통한피부개선 프리바이오틱스(귀리식이섬유)성분함유(보조) 화학첨가물무첨가	면역과민반응에의한피부상태개선에도움을줄수있음(생리활성기능2등급) 유아인체시험개선효과 확인	강한 생명력, 우수한 장 부착력 가진 유산균	강한 생명력, 우수한 장 부착력 가진 유산균
	공통	CJ특허유산균(김치유산균)			
균주 조성		락토바실러스 플란타룸	락토바실러스 플란타룸	락토바실러스 플란타룸	락토바실러스 플란타룸
유통기한		제조일로부터 9개월			18개월
유통방법		상온/냉장	냉장	상온	냉장
업소명 및 소재지(제조)		CJ제일제당/㈜노바렉스			CJ제일제당/㈜서흥
원재료명 및 함량		과채유래유산균CJLP133(락토바실러스플란타룸,분말결정포도당,말	과채유래유산균CJLP133(락토바실러스플란타룸CJLP133,	락토바실러스 플란타룸(락토바실러스 플란타룸, 텍스트린,	락토바실러스 플란타룸(락토바실러스 플란타룸,

			토텍스트린, 락토바실러스플란타룸(CJLP243), 락토바실러스플란타룸(CJLP55), 산화아연, 에리스리톨, 분말결정포도당, 텍스트린, 프락토올리고당, 귀리식이섬유(독일산)[우유, 대두함유]	말도텍스트린, 무수결정포도당(우유, 대두), 텍스트린, 에리스리톨	분말결정포도당, 산화아연, 텍스트린, 분말결정포도당, 에리스리톨, 치커리뿌리 추출물(벨기에산), 대두식이섬유(미국산), 혼합제제(저지방요구르트분말, 요구르트향, 구연산, 유당, 우유단백질)	말도텍스트린, 분말결정포도당, 결정셀룰로오스, 프락토올리고당, 스테아린산마그네슘 - 캡슐기제: 허드록시프로필메틸셀룰로오스, 정제수, 카라기난, 자당지방산에스테르, 펙틴, 염화마그네슘, 피로인산칼륨 (우유, 대두 함유)
영양성분	1회 섭취량		2.5g	2g	2g	270mg
	열량	kcal	10	10	10	0
	탄수화물	g	2	2	2	0
	단백질	g	0	0	0	0
	지방	g	0	0	0	0
	나트륨	mg	0		0	0
	프로바이오틱스수	CFU	10억	50억	10억	10억
	아연	mg	5		4.25	

Table 11. 종근당건강 - 락토피트 (분말)

브랜드	락토피트		
제형	분말		
제품명	생유산균 베베	생유산균 키즈	생유산균 골드
이미지			
규격	2,000mg*60포(120g)	2,000mg*60포(120g)	2,000mg*50포(100g)
포장용기	스틱	스틱	스틱
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	38,000	30,000	41,100
유형	건강기능식품	건강기능식품	건강기능식품
섭취대상	만 1~3세	생후 36개월 이상	온가족용
섭취량 및 섭취방법	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1포
제품특징	모유유래유산균(락토바실러스루테리) 갈락토올리고당(부원료)함유 초유(부원료)함유 신바이오틱스 3無(합성감미료, 착색료, 착향료) 좋은용해성	19종유산균 신바이오틱스 장건강 비타민D(200%)빠진강 아연면역 유산균10억CFU	신바이오틱스 유산균10억CFU
균주 조성	락토바실러스루테리 락토바실러스에시도필러스 비피도박테리움에니멀리스락티스 스트렙토코커스써모필러스 엔테로코커스패숨	건강기능식품공전 등재 유산균 전종(19종)	락토바실러스에시도필러스 락토바실러스퍼맨텀 비피도박테리움비피덤 비피도박테리움에니멀리스락티스 스트렙토코커스써모필러스 엔테로코커스패숨
유통기한	15개월	15개월	15개월



유통방법	상온	상온	상온		
업소명 및 소재지(제조)	종근당건강㈜				
원재료명 및 함량	<p>락토바실러스루테리, 락토바실러스에시도필러스, 비피도박테리움비피덤, 비피도박테리움에니멀리스락티스, 스트렙토코커스씨모필러스, 엔테로코커스패슈, 유산균혼합분말(락토바실러스플란타룸, 락토바실러스파라카제이, 락토바실러스라모노시스, 락토바실러스카제이, 락토바실러스에시도필러스, 락토바실러스루테리, 락토바실러스불가리쿠스, 락토바실러스퍼멘텀, 락토바실러스가제리, 락토바실러스살리바리어스, 락토바실러스헬베타쿠스, 락토코커스락티스, 스트렙토코커스씨모필러스, 엔테로코커스패슈, 엔테로코커스패칼리스, 비피도박테리움롱굶, 비피도박테리움비피덤, 비피도박테리움브레베, 비피도박테리움에니멀리스락티스, 분말결정포도당, 말도텍스트린, 식물성크립), 비타민D혼합제제(비타민D3, 아라비아검, 설탕, 옥수수전분, 가공유지, 이산화규소, 비타민E), 산화아연, 분말결정포도당, 식물성크립혼합분말(전분당, 야자경화유, 카제인나트륨, 제이인산칼륨, 글리세린지방산에스테르, 이산화규소, 정제염, 메타인산나트륨, 피로인산나트륨, 레시틴), 요구르트분말(분말결정포도당, 요구르트분말, 요구르트향1, 혼합분유, 이산화규소, 요구르트향2, 구연산, 파인애플과즙분말, 효소처리스테비아, 요구르트향), 난소화성말도텍스트린, D-소르비톨, 갈락토올리고당, 요구르트향, 구연산, 유청, 갈슘, 비타민E혼합제제(DL-<math>\alpha</math>-토코페릴초산염, 변성전분, 텍스트린, 이산화규소), 비타민C, 니코틴산아미드, 판토텐산칼슘, 비타민B6염산염, 비타민B2혼합제제(비타민B2, 글리세린지방산에스테르, 옥수수전분), 비타민B1염산염</p>	<p>락토바실러스에시도필러스, 락토바실러스퍼멘텀, 비피도박테리움비피덤, 비피도박테리움에니멀리스락티스, 스트렙토코커스씨모필러스, 엔테로코커스패슈, 식물성크립혼합분말(전분당, 야자경화유, 카제인나트륨, 제이인산칼륨, 글리세린지방산에스테르, 이산화규소, 정제염, 메타인산나트륨, 피로인산나트륨, 레시틴), 무수결정포도당, 적포도분말(결정포도당, 네오크리마, 적포도농축분말, 구연산, 포도향, 이산화규소), 자일리톨, 갈락토올리고당, 포도향, 유청갈슘, 비타민E혼합제제(DL-<math>\alpha</math>-토코페릴초산염, 변성전분, 텍스트린, 이산화규소), 비타민C, 니코틴산아미드, 판토텐산칼슘, 비타민B6염산염, 비타민B2혼합제제(비타민B2, 글리세린지방산에스테르, 옥수수전분), 비타민B1염산염</p>			
분	1회 섭취량	2g	2g	2g	
	열량	kcal	10	10	10
	탄수화물	g	2	2	2
	단백질	g	0	0	0
	지방	g	0	0	0
	나트륨	mg	0	0	0
	프로바이오틱스수	CFU	10억	10억	10억
	비타민D	µg		10	
아연	mg		2.55		

Table 12. 종근당건강 - 베이비락토픳(분말), 기타(캡슐)

브랜드	베이비락토		-
제형	분말		캡슐
제품명	베이비락토프리미엄생유산균 프로바이오틱스+아연	베이비락토 베베 생유산균	울트라프로바이오틱스

이미지			
규격	2,000mg*60포(120g)	1500mg*60포(90g)	15g(500mg*30캡슐)
포장용기	스틱	스틱	
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	26,900	25,900	9,900
유형	건강기능식품	건강기능식품	건강기능식품
섭취대상			온가족용
섭취량 및 섭취방법	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1캡슐, 물과 함께
제품특징	개별 혼합생유산균13종이상 투입균수100억마리/포,보장균수 1억마리/포 아연면역 비타민,미네랄(부원료)추가	개별 혼합생유산균11종 투입균수90억마리/포,보장균수1 억마리/포 3無(합성감미료,합성착향료,합성 착색료) 우유성분배제-우유알러지,유당 불내증아이들도안전히섭취 비타민(부원료)추가	개별 프로바이오틱스 아연면역 셀렌항산화 식품성캡슐
균주 조성	개별 비피도박테리움비피덤 비피도박테리움애니멀리스락티 스 락토바실러스에시도필러스 스트렙토코커스썬모필러스 엔테로코커스패숨 유산균혼합(19종)	개별 락토바실러스에시도필러스 비피도박테리움비피덤 비피도박테리움애니멀리스락티 스 스트렙토코커스썬모필러스 엔테로코커스패숨 유산균혼합(13종)	개별 엔테로코커스패숨 비피도박테리움아니마리스락티 스 비피도박테리움롱검 비피도박테리움비피덤 비피도박테리움브레베 락토바실러스플란타룸 스트렙토코커스썬모필러스 락토바실러스람노서스 락토바실러스에시도필러스 엔테로코커스패칼리스
유통기한	24개월	24개월	1년
유통방법	상온		
업소명 및 소재지(제조)	종근당건강㈜		종근당건강㈜ (콜마비엔에이치㈜)
원재료명 및 함량	비피도박테리움 비피덤(1000억 CFU/g이상)0.152%, 비피도박테리움 애니멀리스 락티스(7000억CFU/g이상)0.41%, 락토바실러스 에시도필러스(3000억CFU/g이상) 0.126%, 스트렙토코커스 썬모필러스(4000억CFU/g이상)0. 01%, 엔테로코커스 패숨(2000억CFU/g이상)0.77%, 유산균혼합(락토바실러스 플란타룸, 락토바실러스 파라카제이, 락토바실러스 람노서스, 락토바실러스 카제이, 락토바실러스 에시도필러스, 락토바실러스 루테리, 락토바실러스 불가리쿠스, 락토바실러스 퍼넨덤, 락토바실러스 가제리, 락토바실러스 살리마리우스, 락토바실러스 헬베티쿠스, 락토코커스 락티스, 스트렙토코커스 썬모필러스, 엔테로코커스 패숨, 엔테로코커스 패칼리스, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 비피덤, 비피도박테리움 브레베, 비피도박테리움 애니멀리스 락티스)(2000억CFU/g이상) 0.01%, 산화아연,	락토바실러스 에시도필러스(3000억CFU/g이상) 0.01%, 비피도박테리움 비피덤(1000억CFU/g이상)0.64%, 비피도박테리움 애니멀리스 락티스(7000억CFU/g이상)0.43%, 스트렙토코커스 썬모필러스(4000억CFU/g이상)0. 01%, 엔테로코커스 패숨(2000억CFU/g이상)1%, 유산균혼합(락토코커스 락티스, 락토바실러스 람노서스, 스트렙토코커스 썬모필러스, 엔테로코커스 패숨, 엔테로코커스 패칼리스, 락토바실러스 카제이, 락토바실러스 파라카제이, 락토바실러스 플란타룸, 락토바실러스 에시도필러스, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 브레베, 비피도박테리움 비피덤, 비피도박테리움 애니멀리스 락티스)(3000억CFU/g이상)0.1%, 폴리덱스트로스, 무수결정포도당, 결정셀룰로오스, 난소화성말토덱스트린, 프락토올리고당, 자일리톨, 요구르트혼합분말, 비타민C, 알로에베라겔농축분말(200:1),	엔테로코커스 패숨, 비피도박테리움 아니마리스 락티스, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 비피덤, 비피도박테리움 브레베, 락토바실러스 플란타룸, 건조효모(셀렌), 스트렙토코커스 썬모필러스, 락토바실러스 람노서스, 락토바실러스 에시도필러스, 엔테로코커스 패칼리스, 산화아연(아연), 유당혼합분말(유당(우유), 덱스트린), 말토덱스트린, 프락토올리고당, 체소혼합농축액분말(덱스트린, 체소혼합농축액(당근, 돼지감자, 사탕무, 오이, 레드비트, 흑당근, 노랑당근, 토마토농축분말, 호박, 부추, 양파, 셀러리, 양배추, 환두분말, 상추, 적파프리카분말, 황파프리카분말, 회향, 파스닙, 마늘)], 유청칼슘, 당화균혼합분말(말도덱스트린, 바실러스 셉틸리스), 초유분말, 카르복시메틸셀룰로오스칼슘

		무수결정포도당, 식물성크림혼합분말[천분당, 야자경화유, 카제인나트륨(우유), 제이인산칼슘, 글리세린지방산에스테르, 이산화규소, 정제염, 메타인산나트륨, 피로인산나트륨, 레시틴(대두), 적포도분말[결정포도당, 네오크리마(우유), 적포도농축분말, 구연산, 포도향, 이산화규소], 자일리톨, 포도당, 프락토올리고당, 난소화성말토덱스트린(밀), 유청칼슘(우유), 비트민E혼합제제(DL- $\alpha$ -토코페 릴초한염, 변성전분, 덱스트린, 이산화규소), 비타민C, 니코틴산아미드, 판토텐산칼슘, 비타민B6염산염, 비타민B2혼합제제(비타민B2, 글리세린지방산에스테르, 옥수수전분), 비타민B1염산염	판토텐산칼슘, 비타민B6염산염, 비타민B2, 비타민B1염산염, 니코틴산아미드		
분양양양양	1회 섭취량	2g	1.5g	500mg	
	열량	kcal	10	5	10
	탄수화물	g	2	1	0
	단백질	g	0	0	0
	지방	g	0	0	0
	나트륨	mg	0	0	0
	프로바이오틱스수	CFU	10억	10억	50억
	아연	mg			2.6

Table 13. 에프앤디넷 (분말)

제형	분말			
제품명	락피도엘 프리미엄	락피도 프리미엄	이지바울 프리미엄	
이미지				
규격	1.5g*30포	2g*30포	2g*30포	
포장용기	스틱	스틱	스틱	
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	24,000	27,000	34,000	
유형	건강기능식품	건강기능식품	건강기능식품	
섭취대상	15개월 미만 유아	15개월부터 13세 미만	13세이상 성인, 임산부	
섭취량 및 섭취방법	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1포	
제품특징	개별	투입균수 50억	투입균수 60억	투입균수 60억
	공통	한국인유래균종사용(한국인장내정착력, 생존력, 내산성강함) 특허균주사용(서울대지근역교수팀개발비피더스균) 신바이오틱스		
균주 조성	비피도박테리움비피덤 비피도박테리움롱검 락토바실러스에시도필러스 락토바실러스퍼멘텀	비피도박테리움비피덤 비피도박테리움롱검 비피도박테리움락티스 락토바실러스에시도필러스	비피도박테리움비피덤 비피도박테리움롱검 비피도박테리움락티스 락토바실러스에시도필러스	

		락토바실러스카제이 엔테로코커스페슈	락토바실러스퍼멘텀 락토바실러스카제이 엔테로코커스페슈	락토바실러스퍼멘텀 락토바실러스카제이 엔테로코커스페슈
<b>유통기한</b>	<b>24개월</b>			
<b>유통방법</b>	<b>상온</b>			
업소명 및 소재지(제조)	(주)에프앤디넷/㈜비피도			
원재료명 및 함량	비피도박테리움 비피덤 분말( <i>Bifidobacterium bifidum</i> BGN4 1g당 700억마리 이상)1.43%, 비피도박테리움 롱검 분말( <i>Bifidobacterium longum</i> BOR1 1g당 700억마리 이상)1.34%, 비피도박테리움 락티스 분말( <i>Bifidobacterium AD011</i> 1g당 500억마리 이상)1.2%, 락토바실러스 퍼멘텀 분말( <i>Lactobacillus fermentum</i> 1g당 500억마리 이상)0.14%, 엔테로코커스 페슈 분말( <i>Enterococcus faecium</i> 1g당 500억마리 이상)0.14%, 기타올리고당1(말토오스, 말티톨, 올리고파우더), 기타올리고당2(말티톨, 말토오스, 올리고파우더), 맥아당과립(말토오스, 말티톨, 비타민B2), 무수결정포도당, 난소화성말토덱스트린, 아카시아검(식이섬유 90% 이상), 요구르트향 분말((요구르트향베이스(천연착향료, 오렌지오일), 합성착향료(템플오렌지플레버, 가공유지)), 텍스트린, 구연산), 비타민C, 스테아린산마그네슘, 비타민B6염산염, 비타민B2, 비타민B1염산염, 비타민B12혼합제제(말토덱스트린, 구연산삼나트륨, 구연산, 비타민B12)	비피도박테리움 비피덤 분말( <i>Bifidobacterium bifidum</i> BGN4 1g당 375억마리 이상)2.67%, 비피도박테리움 롱검 분말( <i>Bifidobacterium longum</i> BOR1 1g당 375억마리 이상)2.67%, 비피도박테리움 락티스 분말( <i>Bifidobacterium AD011</i> 1g당 375억마리 이상)1.34%, 락토바실러스 에시도필러스 분말( <i>Lactobacillus acidophilus</i> AD0311g당 375억마리 이상)1.34%, 락토바실러스 카제이분말( <i>Lactobacillus casei</i> 1g당 200억마리 이상)0.25%, 락토바실러스 퍼멘텀 분말( <i>Lactobacillus fermentum</i> 1g당 200억마리 이상) 0.25%, 엔테로코커스 페슈 분말( <i>Enterococcus faecium</i> 1g당 200억마리 이상)0.25%, 기타올리고당1(말토오스, 말티톨, 올리고파우더), 기타올리고당2(말티톨, 말토오스, 올리고파우더), 맥아당과립(말토오스, 말티톨, 비타민B2), 무수결정포도당, 난소화성말토덱스트린, 아카시아검(식이섬유 90% 이상), 요구르트향 분말((요구르트향베이스(천연착향료, 오렌지오일), 합성착향료(템플오렌지플레버, 가공유지)), 텍스트린, 구연산), 비타민C, 스테아린산마그네슘, 비타민B6염산염, 비타민B2, 비타민B1염산염, 비타민B12혼합제제(말토덱스트린, 구연산삼나트륨, 구연산, 비타민B12)	비피도박테리움 비피덤 분말( <i>Bifidobacterium bifidum</i> BGN4 1g당 375억마리 이상)4%, 비피도박테리움 롱검 분말( <i>Bifidobacterium longum</i> BOR1 1g당 375억마리 이상)1.2%, 비피도박테리움 락티스 분말( <i>Bifidobacterium AD011</i> 1g당 375억마리 이상)1.2%, 락토바실러스 에시도필러스 분말( <i>Lactobacillus acidophilus</i> AD0311g당 375억마리 이상)1.2%, 락토바실러스 카제이분말( <i>Lactobacillus casei</i> 1g당 200억마리 이상)0.25%, 락토바실러스 퍼멘텀 분말( <i>Lactobacillus fermentum</i> 1g당 200억마리 이상) 0.25%, 엔테로코커스 페슈 분말( <i>Enterococcus faecium</i> 1g당 200억마리 이상)0.25%, 기타올리고당1(말토오스, 말티톨, 올리고파우더), 기타올리고당2(말티톨, 말토오스, 올리고파우더), 맥아당과립(말토오스, 말티톨, 비타민B2), 무수결정포도당, 난소화성말토덱스트린, 치커리뿌리추출물분말, 요구르트향 분말((요구르트향분말C80054A, 텍스트린, 구연산, 요구르트향베이스(천연착향료, 오렌지오일), 합성착향료(템플오렌지플레버, 가공유지)), 텍스트린, 구연산), 비타민C, 스테아린산마그네슘	
	1회 섭취량	1.5g	2g	2g
열량	kcal	5	5	5
탄수화물	g	1	2	2
단백질	g	0	0	0
지방	g	0	0	0
나트륨	mg	0	0	0
프로바이오틱스수	CFU	1억	1억	1억

Table 14. 비피도(분말)

제형	분말			
	제품명	Pro G	지근역비피더스 프리미엄	지근역비피더스 베이비 프리미엄

이미지			
규격	9g*30포	60g(2g*30포)	60g(2g*30포)
포장용기	스틱	스틱	스틱
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	40,000	30,000	25,000
유형	건강기능식품	건강기능식품	건강기능식품
섭취대상	성인	생후 36개월부터 성인	3-36개월
섭취량 및 섭취방법	1일 1회, 1회 1포 물에타서 섭취	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1포
제품특징	개별	한국인맞춤특허유산균(한국인 장에서분리) 신바이오틱스(프락토올리고당 함유) 비피도특허유산균(지근억교수) 합성첨가물無	비피더 특허유산균(지근억교수)
	공통	-	100억특허유산균투입 살아있는인체유래기능성프로바이오틱스 장정착력우수인체유래균주사용
균주 조성	비피도박테리움비피덤 비피도박테리움롱검 락토바실러스에시도필러스 엔테로코커스폐쇄	비피도박테리움비피덤 비피도박테리움롱검 락토바실러스에시도필러스 엔테로코커스폐쇄	비피도박테리움비피덤 비피도박테리움롱검 락토바실러스에시도필러스 엔테로코커스폐쇄
균주 배합비율	-	비피더스균80% 유산간균10% 유산구균10%	비피더스균80% 유산간균10% 유산구균10%
유통기한	18개월	24개월	18개월
유통방법	상온		
업소명 및 소재지(제조)	(주)비피도		
원재료명 및 함량	프락토올리고당, 비피도박테리움 비피덤분말[Bifidobacterium bifidum BGN4(1g당 300억CFU이상)]1.12%, 비피도박테리움 롱검분말[Bifidobacterium longum BORI(1g당 300억CFU이상)]1.12%, 락토바실러스 에시도필러스분말[Lactobacillus acidophilus ad031(1g당 100억CFU이상)]1.12%, 엔테로코커스 폐쇄분말[Enterococcus faecium BH06(1g당 340억CFU이상)]1%, 에리스리톨, 말토덱스트린	비피도박테리움 비피덤분말[Bifidobacterium bifidum BGN4(1g당 500억CFU이상)]5%, 비피도박테리움 롱검분말[Bifidobacterium longum BORI(1g당 500억CFU이상)]3%, 락토바실러스 에시도필러스분말[Lactobacillus acidophilus ad031(1g당 500억CFU이상)]1%, 엔테로코커스 폐쇄분말[Enterococcus faecium BH06(1g당 500억CFU이상)]1%, 기타올리고당1(말토오스, 말티톨, 올리고파우더), 맥아당과립(말토오스, 말티톨, 비타민B2), 기타올리고당2(말티톨, 말토오스, 올리고파우더), 갈락토올리고당, 자일로올리고당, 아카시아검(식이섬유 90% 이상), 요구르트향 분말[요구르트향분말C80054A( 텍스트린, 구연산, 요구르트향베이스(천연착향료( 오렌지오일), 합성착향료(베타오렌지플레버, 가공유지), 텍스트린, 구연산, 비타민C, 스테아린산)마그네슘	비피도박테리움비피덤분말[Bifi dobacterium bifidum BGN4(1g당500억CFU이상)]5%, 비피도박테리움롱검분말[Bifido bacterium longum BORI(1g당500억CFU이상)]3%, 락토바실러스에시도필러스분말 [Lactobacillus acidophilus ad031(1g당500억CFU이상)]1%, 엔테로코커스폐쇄분말[Enteroc occus faecium BH06(1g당500억CFU이상)]1%, 난소화성말토덱스트린,기타올 리고당1(말토오스,말티톨,올리 고파우더),기타올리고당2(말티 톨,말토오스,올리고파우더),갈 락토올리고당,자일로올리고당, 옥수수분말, 맥아당과립(말토오스, 말티톨, 비타민B2), 해조분말(칼슘32%이상), 아카시아검(식이섬유 90% 이상), 비타민B6염산염, 비타민B2, 비타민B1염산염, 비타민B12혼합제(말토덱스트 린, 구연산,산나트륨, 구연산, 비타민B12)


일반섭취량	1회 섭취량		9g	2g	2g
	열량	kcal	35	10	5
	탄수화물	g	8	2	2
	단백질	g	0		
	지방	g	0		
	나트륨	mg	5미만		
	프로바이오틱스수	CFU	10억	1억	1억
	프락토올리고당	g	3.5		

Table 15. 한국야쿠르트 - 바이오리브 (분말)

브랜드	브이푸드 바이오리브
제형	분말
제품명	바이오리브 장건강 프로바이오틱스
이미지	
규격	60g(2g*30포)
포장용기	스틱
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	44,000
유형	건강기능식품
섭취대상	전연령
섭취량 및 섭취방법	1일 1회, 1회 1포
제품특징	한국야쿠르트특허유산균4종 콜드체인시스템
균주 조성	락토바실러스카제이 락토바실러스플란타룸 락토바실러스헬베티쿠스 비피도박테리움 롱검 락토바실러스애시도필러스 비피도박테리움 락티스 락토바실러스람노서스 비피도박테리움 비피덤
유통기한	제조일로부터 9개월
유통방법	냉장
업소명 및 소재지(제조)	(주)한국야쿠르트/(주)노바렉스
원재료명 및 함량	유산균 혼합분말(한국야쿠르트 혼합 프로바이오틱스( <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> )), 락토바실러스 애시도필러스( <i>Lactobacillus acidophilus</i> ), 비피도박테리움 락티스( <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. lactis), 락토바실러스 람노서스( <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ), 비피도박테리움 비피덤( <i>Bifidobacterium bifidum</i> ), 치커리(뿌리)추출물분말(칠레산), 유당혼합분말(유당(우유/미국산), 말토덱스트린), 에리스리톨, 레몬라임농축액분말(텍스트린, 레몬농축액(이스라엘산), 라임농축액(이탈리아산)), 자일리톨, 요구르트농축액분말, 갈락토올리고당, 프락토올리고당, 탈지분유, 요구르트향분말(합성착향료)

영양성분	1회 섭취량		2g
	열량	kcal	8
	탄수화물	g	2
	단백질	g	0
	지방	g	0
	나트륨	mg	0
	프로바이오틱스수	CFU	100억

Table 16. 일동후디스 - 비오타민(분말)

브랜드		비오타민	
제형		과립분말	
제품명		후디스 비오타민	
이미지			
규격		100g(1g*100포)	
포장용기		스틱/캔	
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)		22,800	
유형		기타가공품	
섭취대상		영유아	
섭취량 및 섭취방법		1일 1회, 1회 1포	
제품특징		특허유산균&비피더스, 프락토올리고당, 각종 비타민 및 미네랄, 초유유래성분, 유당분해효소 함유	
균주 조성		락토바실러스스포로게네스 락토바실러스람노수스 비피도박테리움락티스 락토바실루스존소니	
유통기한		2년	
유통방법		상온	
업소명 및 소재지(제조)		일동후디스(주)	
원재료명 및 함량		일동락토바실루스 스포로게네스[Lactobacillus sporogenes(2.0 x 10 <sup>9</sup> cfu/g 이상)], 일동락토바실루스 람노수스유산균[Lactobacillus rhamnosus(1.0 x 10 <sup>8</sup> cfu/g 이상)], 일동비피더스 BL[Bifidobacterium lactis(1.0 x 10 <sup>8</sup> cfu/g 이상)], 일동락토바실루스 존소니[Lactobacillus johnsonii(1.0 x 10 <sup>8</sup> cfu/g 이상)], 옥수수전분(수입산), 유당[유당(우유, 미국산), 텍스트린], 정백당, 제이인산칼슘, 불활성건조효모, 제삼인산칼슘, 비타민C, 초유단백분말, 프락토올리고당, 무수구연산, 산화아연, 니코틴산아미드, 비타민B1염산염, 비타민B2, 비타민D3, DL-알파토코페롤, 락토펜농축물, 효소제(락타아제)	
영양성분	1회 섭취량		1g
	열량	kcal	3.6
	탄수화물	g	0.9
	당류	g	0.8
	단백질	g	0
	지방	g	0

포화지방	g	0
트랜스지방	g	0
콜레스테롤	mg	0
나트륨	mg	0
비타민D3	µg	1
비타민B1	mg	0.025
비타민B2	mg	0.14
니코틴산아미드	mg	0.25
비타민C	mg	5
칼슘	mg	13
아연	mg	0.25
프락토올리고당	mg	5
IgG	mg	0.5
락토페린	µg	80

Table 17. 일동제약 - 비오비타 (분말, 정제) / 그녀는프로다 (음료)

브랜드	비오비타		그녀는 프로다
제형	과립분말	정제(츄어블)	액상음료
제품명	비오비타	비오비타큐	그녀는프로다 (깔끔한맛,부드러운맛)
이미지			
규격	120g	90정	450ml/1,000ml
포장용기	PE	-	PET
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	15,000	생산중단	1,350 (450ml)
유형	일반의약품	일반의약품	유산균음료(살균제품)
섭취대상	소아		성인
섭취량 및 섭취방법	1회 5 ~ 7세 4 g 3 ~ 4세 3 g 1 ~ 2세 2 g 3개월 ~ 1세 1 g 1일 2 ~ 4회 물, 우유, 이유식 등에 타서 복용	1일 3회	1회 1컵(100ml)
제품특징	내열성, 내산성 뛰어난활성유보자성 유산균, 낙산균과 활성소화균, 비타민 배합	-	마시는 프로바이오틱스 발효액 특허 등록 유산균 사용 아미노산 8종 함유
균주 조성	락토바실러스스포로게네스 클로스트리디움부티리쿰 바실러스섭틸리스	락토바실러스스포로게네스 바실러스섭틸리스	락토바실러스 람노서스 IDCC3201(발효액)
유통기한	-	-	12개월



유통방법		상온	상온	개봉 후 냉장보관
업소명 및 소재지(제조)		-	-	일동제약(삼양패키징)
원재료명 및 함량		락토바실러스 스포로게네스, 클로스트리디움 부틸리쿰, 바실러스 섭틸리스, 티아민질산염, 리보플라빈, 아스코르브산, 니코틴산아미드, 인산수소칼슘수화물, 건조효모	리보플라빈, 니코틴산아미드3배산, 판토텐산칼슘, 락토바실러스스포로게네스균, 바실루스서브틸리스균, 제피아스코르브산, 피리독신염산염3배산, 비오틴, 티아민질산염3배산	깔끔한맛:정제수,설탕,락토바실루스 람노서스IDCC3201발효액,(L-아스파르트산,구연산삼나트륨,L-아르기닌,L-라이신염산염,정제소금,젖산칼슘,합성착향료(자몽향),L-알라닌,화이트클라우드(정제가공유지,유화제,D-소르비톨,아라비아검,글리세린,에탄올),염화칼륨,합성착향료(오렌지향),L-글루타민산,L-이소로이신,L-로이신,L-발린,일동락토바실루스람노서스아이디씨씨(IDCC)3201(우유)) 부드러운맛:정제수,설탕,액상과당,탈지분유(우유,국산),락토바실루스 람노서스IDCC3201발효액,(무수)구연산,프락토올리고당,자몽농축액(자몽과즙으로1%,이스라엘산),대두다당류(대두),합성착향료(요구르트향),난소화성말토덱스트린,구연산삼나트륨,비타민C,합성착향료(자몽향),일동락토바실루스람노서스아이디씨씨(IDCC)3201(우유)
영양성분	1회 섭취량	-	-	100ml
	열량	cal	-	36(46)
	탄수화물	g	-	7(11)
	당류	g	-	7(10)
	식이섬유	g	-	(0.2)
	단백질	g	-	0
	지방	g	-	0
	포화지방	g	-	0
	트랜스지방	g	-	0
	콜레스테롤	mg	-	0
	나트륨	mg	-	10(10)

Table 18. 매일유업 - 바이오 (분말)

브랜드	BIO
제형	분말
제품명	L-GG 유산균 플러스 멀티프로바이오틱스 100억
이미지	
규격	57g(1.9g*30포)
포장용기	스틱
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	38,900
유형	기타가공품
섭취대상	가급적 24개월 이상부터
섭취량 및 섭취방법	1일 1회, 1회 1포
제품특징	1일1포100억 L-GG, BB-12 유산균 9종
균주 조성	락토바실러스 람노서스 GG 비피도박테리움 락티스 BB12 락토바실러스 플랜타룸 락토바실러스 카제이 락토바실러스 람노서스

			락토바실러스락티스 비피도박테리움락티스 비피도박테리움브레베 비피도박테리움롱검
유통기한			6개월
유통방법			0~10℃ 냉장보관
업소명 및 소재지(제조)			매일유업(주)/쥬뉴팜
원재료명 및 함량			무수결정포도당, 폴리덱스트로즈20%(식이섬유70%이상), 텍스트린, 자일리톨 15%, 요거트과우더 10%[탈지분유 100%(우유), 독일산], 결정과당, 비타민C, 혼합유산균(프랑스산)2.7%, 레몬분말, L-GG 유산균(덴마크산, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG)1.8%, BB-12 유산균(덴마크산)0.5%, 합성착향료(플레인향분말)
영양성분	1회 섭취량		1.9g
	열량	kcal	10
	탄수화물	g	2
	당류	g	1
	단백질	g	0
	지방	g	0
	포화지방	g	0
	트랜스지방	g	0
	콜레스테롤	mg	0
	나트륨	mg	0
	비타민C	mg	60

Table 19. 아이배넷 (분말, 정제)

브랜드	-	
제형	분말	정제(츄어블)
제품명	아이배넷 베베 생유산균	아이배넷 키즈 유산균 츄어블
이미지		
규격	2g*30포(60g)	1.2g*60정(72g)
포장용기	스틱	PE
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	9,900	17,900
유형	기타가공품	건강기능식품
섭취대상	영유아	유아
섭취량 및 섭취방법	1일 1회, 1회 1포	1일 1회, 1회 1정
제품특징	혼합유산균12종 식이섬유,비타민,아연,칼슘보강 프리바이오틱스합유(프락토,갈락토올리고당,자일리톨) 초유단백분말,정백당,합성착향료,이산화규소무함유	19종유산균(식약처고시형) 유산균1억CFU/g보장 설탕,합성착향료,합성착색소무첨가
균주 조성	락토바실러스아시도필루스 엔테로코커스페숨 락토바실러스플란타룸 락토바실러스람노서스 비피도박테리움아니말리스락티스 락토바실러스살리바리우스 스트렙토코커스써모필러스 비피도박테리움롱검 락토바실러스카제이 비피도박테리움비피덤 비피도박테리움브레베 락토바실러스헬베티쿠스	락토바실러스플란타룸 락토바실러스파라카제이 락토바실러스람노서스 락토바실러스카제이 락토바실러스아시도필루스 락토바실러스루테리 락토바실러스델브루키ssp불가리쿠스 락토바실러스퍼멘텀 락토바실러스가제리 락토바실러스살리바리우스 락토바실러스헬베티쿠스 락토코커스락티스 스트렙토코커스써모필러스

			엔테로코커스페숨 엔테로코커스페칼리스 비피도박테리움통검 비피도박테리움비피덤 비피도박테리움브레베 비피도박테리움아니말리스ssp락티스	
<b>유통기한</b>			<b>제조일로부터 18개월</b>	
<b>유통방법</b>		<b>상온</b>	<b>상온</b>	
업소명 및 소재지(제조)		아이패넷㈜/㈜비오팜	아이패넷㈜/㈜남양F&B	
원재료명 및 함량		혼합유산균12종[락토바실러스아시도필루스(2.0x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,10%),엔테로코커스페숨(1.0x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,8%),락토바실러스플란타룸(4.0x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,6%),락토바실러스람노서스비피도박테리움아니말리스SSP,락티스(4.5x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,2%),락토바실러스살리바리우스(3.0x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,3%),스트렙토코커스써모필러스(4.0x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,2%),비피도박테리움통검,락토바실러스카제이(3.0x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,1%),비피도박테리움비피덤(4.5x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,1%),비피도박테리움브레베(3.0x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,1%),락토바실러스헬베티쿠스(6.0x10 <sup>10</sup> *11CFU/g이상,1%),덱스트린,1%,프락토올리고당,혼합탈지분유(네덜란드산),유당혼합분말[유당(미국산),덱스트린],덱스트린,이눌린,키키리추출분말,자일리톨,갈락토올리고당,구연산칼슘,DL-사과산,산화아연,비타민D3,비타민B1엽산엽,비타민C	프로바이오틱스분말, 탈지분유(국산), 분말결정포도당, 버티유분말(독일), 분말결정포도당(무수), 요거트과우더, 자일리톨, 스테아린산마그네슘	
영양성분	1회 섭취량		2g	2.4g
	열량	kcal	5	10
	탄수화물	g	1	2
	당류	g	0	
	단백질	g	0	0
	지방	g	0	0
	포화지방	g	0	
	트랜스지방	g	0	
	콜레스테롤	mg	0	
	나트륨	mg	0	0
	프로바이오틱스	CFU		1억

Table 20. 롯데제과(과자, 초콜릿)

제형	과자			초콜릿	
	제품명	요하이그릭요거트 샌드	요하이유산균워하우스	요하이토이플레이	유산균 쇼콜라
이미지					
규격	222g	62g	7g	52g	46g
가격(원) (*판매처마다 다를 수 있음)	3,580	1,390	1,050	2,400	2,000
유형	과자	과자	초콜릿	초콜릿	초콜릿
제품특징	살아있는1억마리 유산균함유 프로바이오틱스 로인정된유산균2종함유 그릭요거트크림	살아있는 4억마리 유산균 함유	유산균 1백만마리 함유	살아있는 20억마리 유산균 함유	살아있는 10억마리 유산균 함유
균주 조성	스트렙토코커스 써모필러스 락토바실러스플란타룸	스트렙토코커스 써모필러스	스트렙토코커스 써모필러스 락토바실러스플란타룸	스트렙토코커스 써모필러스 락토바실러스플란타룸	스트렙토코커스 써모필러스 락토바실러스플란타룸

업소명 및 소재지(제조)			롯데제과(주)/홍양 산업(주)	롯데제과(주)/주대 웅	롯데제과(주)/주삼 광식품	롯데제과(주)/주대 웅	
원재료명 및 함량			밀가루(밀;미국산), 쇼트닝(말레이시 아산), 백설탕, 쇼트닝II(부분경화 유;가공유지(말레 이시아산), 우지(호주산), 팜유, 레시틴, 토코페놀), 기타설탕(원당, 옥수수전분), 전지분폴디, 혼합식용유, 유청분말, 곡류가공품, 산도조절제, 전란액, 분말, 결정포도당, 유산균프리믹스(국 내산;말도텍스 트린, 유산균(S.thermop hilus, L.plantarum)), 유당, 정제소금, 그릭요거트분말(그 리스산), 유청단백분말, 합성착향료(요거 트향, 밀크향, 레시틴, 혼합제제(효모, 밀가루), 바닐린, 효소제	밀가루(밀;미국산), 쇼트닝[가공유지9 팜에스테르화유(말 레이시아산), 야자에스테르화유 (외국산, 인도네시아, 필리핀, 말레이시아), 대두에스테르화유 ( , 식물성유지(팜에 스테아린유(말레 이시아산), 팜올레인부분경화 유(말레이시아산) , 기타설탕(원당, 옥수수전분), 전지분폴디(유청 분말(외국산;프랑 스, 캐나다, 미국), 유당(미국산), 버터유, 팜유, 유크림, 유청분말, 옥수수전분, 백설탕, 분말, 결정포도당, 유당, 유산균프리믹스(국 내산;덱스트린, 분말결정포도당, 유산균혼합분말(L B-9유산균분말, S.thermophilus), 그릭요거트분말(그 리스산)혼합분, 전란액, 정제소금, 유화제, 합성착향료(요거 트향, 밀크향, 레몬향), 산도조절제, 미강유, 바닐린, 밀, 대두, 우유, 계란함유	스위트[백설탕, 코코아매스(코코 아빈;가나산, 에콰도르산), 코코아프리퍼레이 션(외국산(싱가포 르, 프랑스, 네덜란드)), 식물성유지, 유당, 준초콜릿, 혼합분유(네덜란 드산), 백설탕, 식물성유지(싱가 포르산), 코코아버터, 그릭요거트분말(발 효유분말(그리스 산), 백설탕, 아라비아검, 물엿, 복합코팅유산균프 리믹스(국내산;말 도텍스트린, 무수결정포도당, 유산균(S.thermop hilus, L.plantarum)), 합성착향료(바닐 라향, 바닐린)	백설탕, 코코아프리퍼레이 션(수입산;전지분 유, 코코아매스), 코코아매스(코코 아빈;가나산, 에콰도르산), 코코아매스(코코 아빈;가나산, 말레이시아산), 식물성유지, 레시틴, 복합코팅유산균프 리믹스(국내산;말 도텍스트린, 무수결정포도당, 유산균(S.thermop hilus, L.plantarum)), 합성착향료(바닐 라향, 바닐린)	M스위트(백설탕, 코코아프리퍼레이 션(수입산;전지분 유, 코코아매스), 식물성유지(싱가 포르산), 유당, 코코아매스(코코 아빈;가나산,에콰 도르산), 아몬드블레이, 레시틴, D스위트[백설탕, 코코아매스(코코 아빈;가나산, 에콰도르산), 코코아프리퍼레이 션(수입산;전지분 유, 코코아매스), 식물성유지, 유당, 레시틴II, 아몬드(미국산), 백설탕, 피막제, 복합코팅유산균프 리믹스(국내산;말 도텍스트린, 무수결정포도당, 유산균(S.thermop hilus, L.plantarum)), 아라비아검, 물엿
단위 평균 영양 성분	1회 섭취량		37g	30g	7g	24g	46g
	열량	kcal	190	170	40	130	265
	탄수화물	g	23	18	4	13	21
	당류	g	9	9	3	12	18
	단백질	g	2	2	1g 미만	2	5
	지방	g	10	10	2.4	8	18
	포화지방	g	6	6	1.5	5	8
	트랜스지방	g	0	0	0	0	0
	콜레스테롤	mg	5 미만	5	0	5 미만	5
나트륨	mg	140	55	5	15	20	

### (3) 베트남 시장 현황 (식품)

#### ○ 베트남

Table 19. 베트남 국가개요

면적	약 33만 km <sup>2</sup>	
인구	약 9,342만명( '14)	불교 12%, 가톨릭 7% 등
기온	연평균 23℃	열대 몬순 기후
GDP	GDP 1,878억\$	(2,073\$/1인)
비고	개발도상국 인구 절반 30대 미만 젊은 국가(35세 이하 56%) 수출 : 전화기, 섬유, 신발 등 수입 : 기계, 플랜트, 의류 등	

## ○ 베트남 시장

- 두터운 젊은층 · 도시화, 외국투자 증가로 성장세(5개년 11.5%↑)
- 낮은 냉장고 보급률로 근처 마켓에서 소량 구매하는 것이 일반적임
- 최근 베트남 식품시장 3대 키워드는 ‘유기농’, ‘안전’, ‘위생’으로 볼 수 있음
- 9,300만 명의 풍부한 인구, 총 인구 절반 이상이 30대 미만으로 젊은 인구층이 두터움, 경제 성장에 따른 가계소득 상승 등으로 베트남 식품시장이 성장할 가능성이 높음(시장 양분화(최상층, 최하층))
- 베트남 산업무역부(MOTI)에 의하면 2016년 베트남인의 식품 지출액이 5.1% 증가, 약 295억 달러에 달할 것으로 예상됨(소비지출 약 60% 식품류 지출(꾸준한 증가세))
- 시장조사기관 BMI에 따르면, 베트남 소비자들이 점점 고품질의 식료품에 대한 관심이 증가하고 있음. 이로 인해 위생 및 품질을 신뢰할 수 있는 유명 브랜드 제품에 대한 선호가 점점 높아지고 있는 것으로 파악됨. 동시에 유기농 식품에 대한 선호도도 함께 증가하고 있음
- 시장조사기관 DI Marketing에 의하면 94% 베트남 소비자들이 베트남 식품을 위생적이지 않다고 생각하는 것으로 나타남. 원산지 불분명 및 독성물질이 있다고 생각하는 경향이 있음
- 중산층에 속하는 소비자들은 품질이 더 좋다는 이유로 수입제품을 선호함. 베트남 국민 소득 향상과 건강에 대한 관심 증가에 힘입어 추후 기능성식품 시장은 꾸준히 성장할 전망이다
- 현재 베트남 도시인 하노이와 호찌민 시에 거주하는 50%가 넘는 성인 인구가 건강보조식품을 구입하는 것으로 보여짐. 오메가3, 멀티비타민제, 비타민C,E, 글루코사민, 미네랄, 인삼추출물, 콜라겐, 로열젤리 등이 주요 히트상품임.
- 베트남 건강기능식품 유통구조를 살펴보면, 직접판매, 약국, 헬스케어&뷰티 소매점, 해외제품 전문점 등이 있음. 전체 유통 시장 중 직접판매는 55%, 약국 35%, 전문 판매점 및 기타는 10%를 차지함
- 기능성식품은 정부에 의해 규제되고 있으며, 약국판매만 주로 허용되고 있음. 베트남의 약국은 대부분 대도시나 주요 지방에 밀집되어 있음. 시골 지역의 침투율은 높지 않음.
- 인터넷 유통은 존재하나, 사용자가 많지 않음. 따라서 건강기능식품은 당분간 슈퍼마켓을 통해 유통될 것으로 추정됨.

- 또한, 베트남 소비자는 약사 또는 의사와 상담하는 것을 선호함. 따라서 이를 활용하는 것은 제품홍보에 매우 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료됨.

○ 한국식품 베트남 수출

- 2013년 기준 한국식품의 베트남수출 25% 신장
- 품목 : 오징어, 갈치, 김, 팥이버섯, 소금, 과자, 면류, 홍삼, 소주 등
- 주 판매시장은 한인슈퍼, 최근 현지 유통채널로 진출 확대
- 주목받는 k-food : 팥이버섯, 유아용식품, 인삼류, 과자류

○ 베트남 내 가공식품 유통현황 및 구조 검토

- 신선식품은 주로 재래시장 유통, 가공식품은 현대식 유통매장 통한 거래가 주임.
- 닐슨에 따르면 베트남은 아직 동남아시아 국가 중 재래시장 다수 존재하지만, 2009년 이후 외국계 유통업체가 베트남 시장에 진출, 유통매장 수가 늘어나고 있는 추세임.

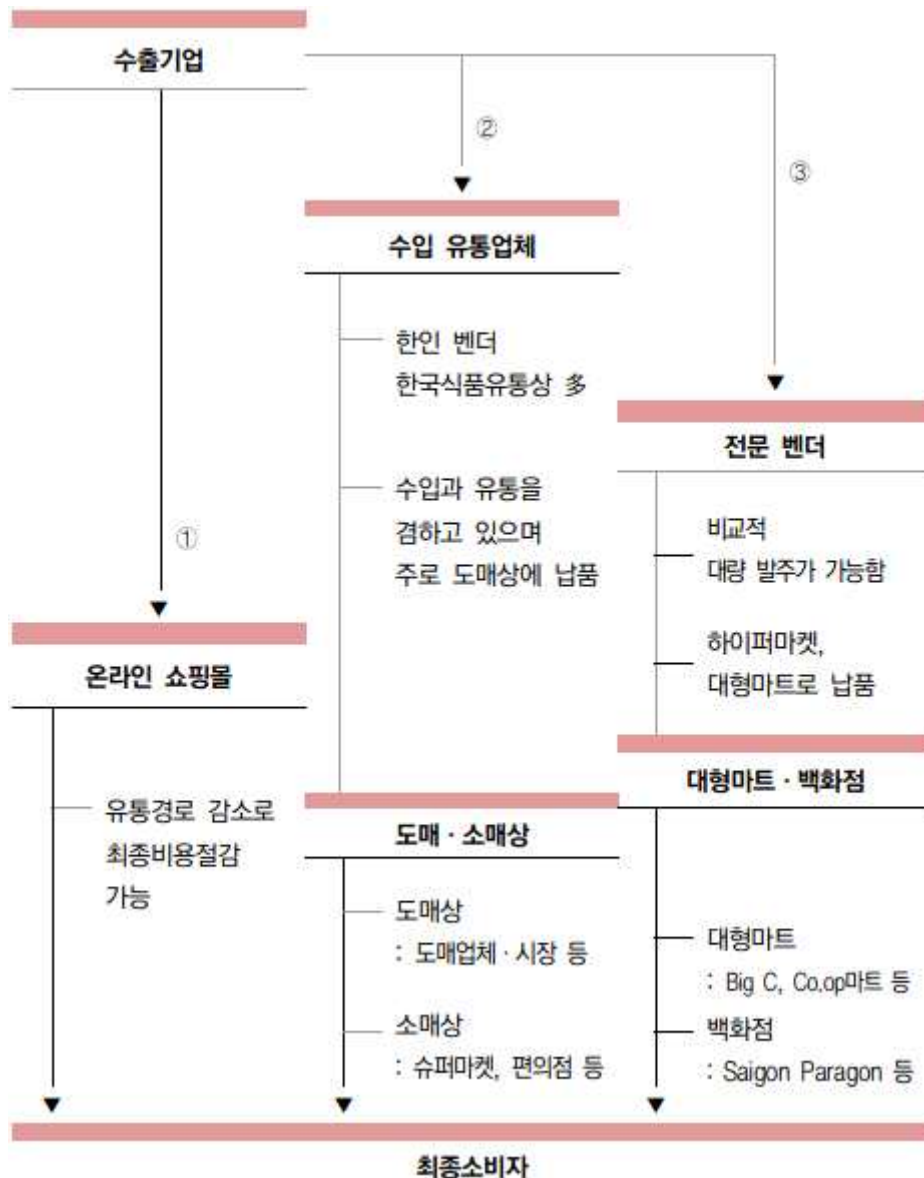


Fig. 21. 베트남 유통 현황

(유망시장 진출보고서 베트남-가공식품, 산업통상자원부/한국무역협회, 2015 VOL.01 JULY)

- 진출방법 : 온라인 쇼핑물, 수입입유통 업체를 통한 소매시장 진출, 전문 유통망을 통한 대형 마트 공략

Type 1	수입 유통업체	➡	소매업체	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 통관부분에 있어서 유용</li> <li>• 다양한 소매업체 진출가능</li> <li>• 비교적 대량납품 가능</li> </ul>
Type 2	전문 벤더	➡	하이퍼마켓/대형마트	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 전담딜러가 있으므로 사전 조사 필수</li> </ul>
Type 3	온라인 쇼핑물			<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유통구조 단축으로 비용절감</li> </ul>

Fig. 22. 베트남 유통경로 별 특징

(유망시장 진출보고서 베트남-가공식품, 산업통상자원부/한국무역협회, 2015 VOL.01 JULY)

(4) 베트남 제품 현황 - 프로바이오틱스 제품

- 출장 후 2차년도 연차실적계획서 반영 예정


(5) 결과 도출

- 전 세계적으로 프로바이오틱스 시장은 성장하고 있는 추세이며, 단순 건강기능식품 형태가 아닌 다양한 연령 및 다양한 목적(컨셉)을 가지는 제품군으로 확대되고 있음
- 또한 국내 제품의 경우 대표적인 한국 음식인 김치유산균 또는 한국인 장내 분리균주를 활용한 제품을 강조하는 경향을 보임

# 세계가 주목하는 발효과학 “김치유산균”


① 3500여개 김치유산균 중 가장 우수한 유산균 3종만 엄선하여, **한 포 120억 마리 유산균 함유!**

② 짜고 매운 김치의 가혹한 환경에서 살아남은 생명력 강한 김치유산균



**CJLP란?**  
락토바실러스 플란타룸(LP)는 대표적인 식물성 유산균으로, CJ제일제당이 김치에서 찾아 특허 받은 특집 유산균입니다.

③ 강한 생명력으로 장 끝까지 도달 & 장에 착 붙는 높은 부착력

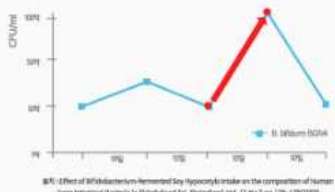


- 1 위산의 공격을 이겨내고
- 2 십이지장에서 분비되는 담즙산을 거뜬히 통과하여,
- 3 **장에 착!**  
달라붙어 장 보호막을 형성!  
유해균 억제 & 유익균 증식에 도움을 줄 수 있는 **CJ 김치유산균!**

Fig. 23. CJ제일제당 BYO 김치유산균(K-food) 마케팅 포인트(CJ제일제당)

## 01. **한국인 맞춤형 유산균 함유**

한국인 장에서 분리한 장부착력이 높은 **한국인 맞춤형 유산균**

10일 섭취시 장내균총에서 비피더스 유산균 10배 증가 ↑

**왜 맞춤형 유산균을 먹어야 할까??**  
서양인보다 길고 구불구불한 한국인의 장! 식습관, 생활환경, 인종에 따라 장속에 사는 유산균종류도 다르다!

한국인 서양인

Fig. 24. 비피도 지근역유산균 마케팅 포인트(비피도)

- 이에 따라, 본 과제를 통하여 도출될 베트남인 분리 균주를 적극 마케팅 포인트로 활용한다면 충분히 베트남 시장에서 긍정적인 시장 반응을 보일 수 있을 것으로 기대됨



2) 국내·외 유산균 정장제 제조 기술 조사

(1) 국내·외 기술동향

- 프로바이오틱스가 장내 환경 개선에 도움을 주는 연구결과가 지속적으로 발표됨에 따라, 건강에 이롭다는 인식이 확산되면서 프로바이오틱스 함유 제품이 다수 출시되고 있음
- 하지만 실제 그 효과가 그대로 나타나는지에 대한 검증이 확실히 이루어지는 경우는 드물며, 살아있는 미생물 균이기 때문에 여러 환경 인자들에 의하여 그 효능 효과를 제대로 발휘될 수 있도록 하는 기술이 매우 중요함.
- 현재 프로바이오틱스 직접 생산 및 일차 가공이 가능한 업체는 CHR. Hansen Holdings A/S (덴마크), Danone(프랑스), Nestle S.A.(스위스)등의 유럽회사, 일본의 Yakult Honsha Co. Ltd., 미국의 E. I. DuPont de Nemours가 있으며, 이들이 시장 대부분을 차지하고 있음.
- 그 외, BioGaia AB(스웨덴), Lifeway Foods, Inc.(미국), Probi AB(스웨덴), Nebraska Cultures Inc.(미국), Probiotics International Ltd.(영국) 등의 중소기업체들이 있음. 이들은 독자적 엔지니어링을 통해 프로바이오틱스 특허 확보 및 프로바이오틱스 시장 진출중에 있음.

Table 21. 상업적 프로바이오틱스

Microorganism	Strain	Company(product)
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	ATCC 15703	
<i>Bifidobacterium animalis</i>	Bb-12	Chr.Hansen
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Bb-11	Chr.Hansen
<i>Bifidobacterium breve</i>		
<i>Bifidobacterium essencis</i>		Danone(Activia)
<i>Bifidobacterium infantis</i>	Shirota Immunitas	Yakult Danone
<i>Bifidobacterium lactis</i>	Bb-02, Lafti™ B94	DSM
<i>Bifidobacterium</i>	CRL 431	
<i>Bifidobacterium longum</i>	BB-536 SBT-2928 UCC 35624	Moringa Milk Industry Snow Brand Milk Products UCCork
<i>Bacillus lactis</i>	DR10	Danisco(Howaru™)
<i>Enterococcus faecium</i>		
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	LA-1/LA-5 NCFM DDS-1 SBT-2062	Chr.Hansen Rhodia Nebraska Cultures Snow Brand Milk Products
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Lb12	
<i>Lactobacillus casei</i>	Shirota	Yakult(Yakult)
<i>Lactobacillus casei</i>	Immunitas	Danone
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>		

<i>Lactobacillus fermentum</i>	RC-14	Urex Biotech
<i>Lactobacillus GG</i>		
<i>Lactobacillus helveticus</i>	B02	
<i>Lactobacillus lactis</i>	L1A	Essum AB
<i>Lactobacillus paracasei</i>	CRL 431	Chr.Hansen
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	GG GR-1 LB21 271	Valio Urex Biotech Essum AB Probi AB
<i>Lactobacillus plantarum</i>	299v Lp01	Probi AB
<i>Lactobacillus reuteri</i>	SD2112/MM2	Biogaia
<i>Lactobacillus salivarius</i>		
<i>Saccharomyces boulardii</i>		

(C. Lacroix, S. Yildirim, Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality, Curr. Opin. Biotechnol. 18(2007) 176-183)

- 프로바이오틱스 적용 제품은 주로 건강기능식품을 꼽을수 있으며, 그 외 가축사료 등에도 사용되고 있음. 살아있는 생균으로, 제품 내 컨트롤 조건이 맞을 경우 다양한 제품군에 적용이 가능함.
- 프로바이오틱스 포함 제품으로는 발효 제품들이 주를 이루고 있음(발효유, 아이스크림 등). 이와 같은 제품은 콜드체인 시스템이 필요함.
- 프로바이오틱스 포함 상온 제품은 주로 기능성식품으로, 최근에는 이눌린, 프락토올리고당 등과 같은 프리바이오틱스(Prebiotics)를 함께 함유한 신바이오틱스(Synbiotics) 제품이 다수 출시되고 있음.
- 프로바이오틱스는 다음과 같은 조건이 충족되도록 상품화되어야 함
  - 안전성 확보 : 섭취 시 숙주에 대한 해로운 영향이 최소화되어야 함. 오랫동안 섭취되어왔던 발효식품 유래 균이 적절할 수 있음
  - 소화기관 내 높은 저항성 : 낮은 산도의 위, 췌장 분비 항균제 및 소화효소로부터 강한 저항성을 지녀 생균상태로 장에 도달할 수 있는 것이 중요함
  - 상피세포 정착 및 항균 활성화 : 대장 내에는 많은 미생물들이 밀집되어 있음. 따라서 프로바이오틱스는 항균활성을 지니고, 기존 장내 미생물과 함께 장내 상피세포에 정착할 수 있어야 함
  - 병원성균에 대한 경쟁력 : 프로바이오틱스가 병원성균보다 장내 정착능이 커야 체내 효과가 있음

- 적용 제품에서의 안정성 : 생균은 주변환경에 민감하여 환경 컨트롤이 매우 중요함. 제품 적용 시 다양한 환경에 노출될 수 있기 때문에 제품 내 다양한 형태의 첨가물 및 음식물 매트릭스 내에서 안정성이 확보되어야 함. 또한, 프로바이오틱스가 생성하는 대사체는 식품의 맛에 영향을 미칠 수 있음을 고려해야 함.

○ 프로바이오틱스 기술

- 프로바이오틱스는 산도, 산소, 열 등의 주변 환경조건에 매우 민감함.
- 따라서 제형 제조 가공에 있어 가장 큰 핵심은 두 가지로, 첫째, 섭취 후 장내 생존률 최대화, 둘째, 유통 및 소화과정 중 프로바이오틱스 개체수 감소율 최소화로 볼 수 있음

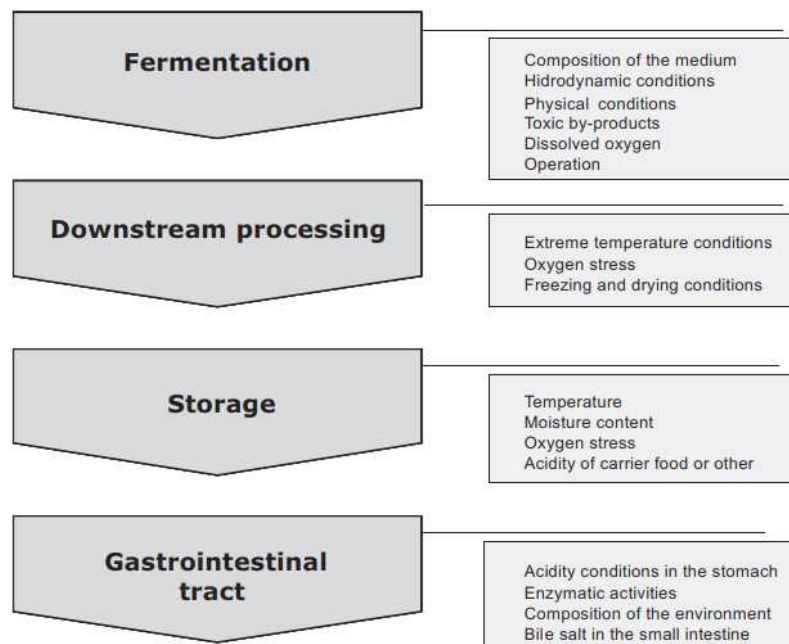


Fig. 25. 프로바이오틱스 생산 단계별 프로세스 중 안정성에 영향을 미치는 요인 (C. Lacroix, S. Yildirim, Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality, Curr. Opin. Biotechnol. 18(2007) 176-183)

- 섭취 후 장내 생존률 최대화 : 제조과정 중 대용량 고효율 생산 및 적절한 가공과정이 필수임
- 지속적 발효, 마이크로필터 이용 지속적 신선 배양액 주입, 산소 차단 컨테이너, 2단계 발효, 스트레스 적용, 펩타이드 및 아미노산 등의 미량 영양소 주입, 세포 고정화 방법 등이 대용량 배양에 사용되고 있음

- 유통 및 소화과정 중 프로바이오틱스 개체 수 감소를 최소화 : 생균이기 때문에 어떠한 조건에서도 개체수는 줄어들 수밖에 없음.
- 프로바이오틱스 포장기술로 안정성 향상, 대표적으로 캡슐레이션 공법이 있음.  
→ 예시 : 국내 일동제약 4중코팅 기술
- 프로바이오틱스를 캡슐로 감싸는 것으로, 섭취 시 장까지 운반되기까지 과정 중에 주변환경으로부터 노출되는 스트레스를 최소화할 수 있어 목표지점에서의 활성과 생존율을 증가시키는 것이 가장 큰 장점인 기술임.
- 마이크로캡슐 원료 (Food-grade) : alginate, chitosan, carboxymethyl cellulose(CMC), carrageenan, gelatin, pectin

Table 22. 프로바이오틱스 종류 및 마이크로캡슐 기술

박테리아	폴리머	마이크로캡슐 기술	기능
<i>Bifidobacterium</i>	alginate/glycerol	gel beads	biomass production
<i>Bifidobacterium</i>	carrageenan/locust bean gum	gel beads	
<i>Bifidobacterium</i>	alginate/chitosan	gel beads	acid/storage stable
<i>Bifidobacterium</i>	alginate/pectin/whey protein	gel beads	acid/storage stable
<i>Bifidobacterium</i>	resistant starch	gel beads	acid/storage stable
<i>Bifidobacterium</i>	waxy maize starch	gel beads/emulsification	acid/storage stable
<i>Bifidobacterium</i>	alginate/starch	gel beads	acid/storage stable
<i>Bifidobacterium</i>	modified waxy maize starch	spray-dried powder	
<i>B.bifidum</i>	alginate	gel beads	acid/thermo/storage stable
<i>B.bifidum</i>	$\kappa$ -carrageenan		freeze-dried powder
<i>B.breve</i>	alginate microspheres	emulsification	acid stable
<i>B.breve</i>	powder of freeze-dried culture	micronization	thermo/storage stable
<i>B.longum</i>			
<i>B.infantis</i>	gellan gum and zantan gum	gel beads	acid/storage stable
<i>B.lactis</i>	alginate	gel beads/extrusion	acid/bile salt stable
<i>B.lactis(Bb-12)</i>	cellulose acetate phthalate	gel beads	
<i>B.longum</i>	whey protein	micronization	acid stable
<i>B.longum</i>	$\kappa$ -carrageenan	gel beads/emulsion	
<i>B.longum</i>	$\kappa$ -carrageenan/locust bean gum	gel beads/emulsion	
<i>B.longum</i>	alginate	gel beads/extrusion	
<i>B.pseudolongum</i>	cellulose acetate phthalate	gel beads	acid and bile salt stable
<i>Lactobacillus</i>	carrageenan	gel beads	biomass production
<i>Lactobacillus</i>	alginate	gel beads	acid stable
<i>Lactobacillus</i>	alginate/starch	gel beads	acid/storage stable
<i>Lactobacillus</i>	carrageenan/locust bean gum	gel beads	
<i>L.acidophilus</i>	alginate	direct compression	acid stable
<i>L.acidophilus LA14 and B.lactis BI07</i>	alginate/xanthan gum	gel beads	acid/storage stable
<i>L.acidophilus(La-05)</i>	cellulose acetate phthalate	gel beads	acid/bile salt stable
<i>L.acidophilus</i>	alginate	gel beads	acid/thermo/storage stable
<i>L.acidophilus</i>	powder of freeze-dried culture	micronization	thermo/storage stable
<i>L.rhamnosus</i>	alginate	gel beads	acid/storage stable
<i>L.bulgaricus</i>	carrageenan/locust bean gum	gel beads	biomass production
<i>L.casei</i>	carrageenan/locust bean gum	emulsification	acid stable
<i>L.casei</i>	alginate	gel beads	acid stable

<i>L.delbrueckii</i>	alginate/sodium lauryl sulfate	gel beads	biomass production
<i>L.lactis</i>	gelatin/toluene-2, 4-diisocyanate	gel beads	biomass production
<i>L.reuteri</i>	Ca-alginate and $\kappa$ -carrageenan	gel beads	storage
<i>P.acidilactici</i>	corn and olive oil microcapsules emulsified by peptides	emulsification	acid/storage stable

(프로바이오틱 개발과 시장 동향, 김용규, Bric View 동향리포트, 2016 / C.R.Soccol, L.P.S.Vandenberghe, M.R.Spier, et. al(2010) The potential of probiotics: A review. Food Technol. Biotechnol. 48:413-434)

### 3) 소비자 조사

#### ○ 유니기획 의뢰

- 본 연구개발목표인 유산균 정장제 해외 시장 개척을 위해 베트남 현지 시장 조사 보고를 의뢰하여, 향후 신제품 출시 및 수출관련 최신 동향을 파악하고자 유니기획 브랜드전략연구소에 소비자 조사(FGI) 의뢰 하였음. (첨부자료)

### 4) 수출 관련 법적 규격 및 제한 사전 검증 (베트남건강기능식품 수출가이드 참조, 2014년)

#### (1) 베트남 수출 개요

##### ○ 일반

- 보건부(Ministry of Health of Vietnam, MOH)의 식품관리청(Department of Food Administration) 담당
- 비효율적인 행정처리, 각종 검역 검사 절차 시간 소요(일반적으로 건강기능식품 1년 6개월 소요)
- CODEX기준 : 일반식품 규정 적용
- 식품기준신고제도 : 자국생산, 수입식품 공통 적용(보건부 식품위생안전국)
- 아세안 통일상품분류(AHTN) 사용 : HS코드 기입할 때 유의사항

Table 23. 통관 및 검역 준비 사항

구분	내용
허가 및 등록사항	식품기준신고(보건부) → 검역검사 등록(검사기관) → 수입신고 및 통관(세관)
병해충위험분석(PRA)	한국산 농산품 대상 품목별 자료 제공
식품 위생검사 실시	지정 시설대상
수입 쿼터 제도 시행	수시 변경 가능, 무역부 통제
식품 안전 증명서 필수	베트남 식품 관리청 발행 품목당 30\$
동물성식품	국가농림수산업 품질보장부서(NAFIQAD) 품질보장 허가필

	(동물성식품 : 가공축육, 닭고기, 식용내장, 계란 및 제품, 꿀)
건강보조식품	수출국 발행 자유판매증명서(CFS) 필요 (건강식품 : 기능성식품, 미량영양소, 보조식품, 식품첨가물, 음용수, 광천수)
라벨링	89/2006/ND규정, 베트남어표기 식품첨가물, 음료(주류 외), 주류, 식품, 식품류 별 내용 상이

○ 인증제

- 고품질 인증마크 : 고품질베트남제품기업협회 발급

(2) 베트남 기능성식품(국내 건강기능식품 카테고리 분류)

○ 베트남 기능성식품(Functional Food) 정의

- 효능, 성분함유량, 사용지침에 따라 다음의 4가지로 분류됨

Table 24. 베트남 기능성식품 분류

구분	내용
영양보충식품 (Supplements)	일반 식품에 비타민 또는 무기질을 강화한 식품
미량영양성분보충식품 (Micronutrient Supplementation)	미량영양소를 보충하기 위한 비타민 또는 무기질
건강유지식품 (Health Protection)	중국의 보건식품과 비슷한 식품
의학영양제품 (Medical Nutrition)	임상시험을 통과하고 생산업체가 발표한 기능성을 가진다는 것이 증명되고 권한 있는 기관에 의해 유통에 대한 허락을 받았으며 약사의 지원, 감시 하에 사용방법 및 지정 사항이 있는 특별한 식품

Table 25. 베트남 기능성식품의 유형

구분	내용
변형되지 않은 제품 (Non-altered products)	높은 영양소를 함유한 식품
변형된 제품 (Altered products)	원치 않는 요소들을 제거한 제품
강화된 제품 (Fortified products)	존재하는 영양소가 강화된 제품
영양가를 높인 제품 (Enriched products)	새로운 영양성분이 추가된 제품

증대한 제품 (Enhanced products)	유전자 조작 등의 요소로 한 가지 요소가 자연스레 증대하게 된 제품
-------------------------------	---------------------------------------

○ 베트남 기능성식품(Functional Food) 관련 법규

- 베트남 보건성에서는 2003년 「식품의 위생과 안전성에 대한 법령」 공표함
- 베트남의 기능성식품은 “신체의 모든 기관의 기능을 지원하고 영양기능을 가지는 식품을 말하며 신체를 상쾌한 상태로 만들고 질병에 걸리는 위험을 감소할 수 있는 식품”으로 정의됨
- 베트남 기능성식품 인정 현황 : 2005년 299종, 2006년 1,097종 인정

○ 기능성식품 관리에 대한 지침서(08/2004/TT-BYT)에 의한 기능성식품의 조건

- 비타민, 무기질 함유 식품의 경우, 제품생산업체가 ‘기능성식품’임을 공표해야 함
- 생산국 혹은 상품유통허용국의 권한이 있는 국가기관은 제품이 식품법 규정에 부합하고 다음과 같은 조건을 충족시킬 시 기능성식품으로 여길 수 있음

Table 26. 기능성식품 관리에 대한 지침서(08/2004/TT-BYT)에 의한 기능성식품의 조건

구분	내용	
미량영양소 보충식품	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 라벨 상 보충 영양소가 영양 요구 권장표 2002(Recommended Nutrient Intakes)의 권장량의 3배 이상일 시 안전성 인증서 필요</li> <li>· 라벨의 미량영양소 RNI 만족도 명확히 작성 필요</li> </ul>	
생리활성물질이 있는 기능성식품	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 해당 작용에 대한 임상실험보고서 또는 제품생산국 또는 제품유통 허용국의 권한기관 증명서 必</li> </ul>	
기능성식품 라벨	특별 사용목적 상품의 사용안 내내용	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 분류명(예: 보충식품, 건강보호식품, 기능성식품, 다이어트식품, 의학영양식품)</li> <li>· 사용대상</li> <li>· 식품의 효능효과</li> <li>· 복용량</li> <li>· 사용금지사유</li> <li>· 주의사항 또는 부작용</li> </ul>
	생리활성물질 포함 제품	<ul style="list-style-type: none"> <li>· “본 식품은 약이 아니라 질병치료약품을 대체할 수 없음” 문구 표기</li> </ul>
	기능성식품	<ul style="list-style-type: none"> <li>· “구체적인 질병을 치료할 수 있거나 질병치료약을 대체할 수 있다”는 내용 표기 불가</li> </ul>
비고	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 식품위생안전국이 베트남 제약관리국 및 한약의학국과 협력하여 구분, 관리 및 책임을 지는 경우</li> <li>- RNI 비언급 비타민 또는 무기질 함유 제품</li> <li>- 식품 또는 약의 명확한 구분의 유무(베트남생산제품)</li> </ul>	

- 생리활성물질 포함 제품임에도 안전성 또는 효능 관련 서류 부족

○ 베트남 기능성식품 제조 및 수출입 관련 기관

- 보건부의 식품위생안전국

→ 기능성식품의 생산 및 판매 관리업무 담당

→ “기능성식품 관리에 대한 지침서” 수행, 지도, 검사, 검증 및 감시에 대한 책임이 있음

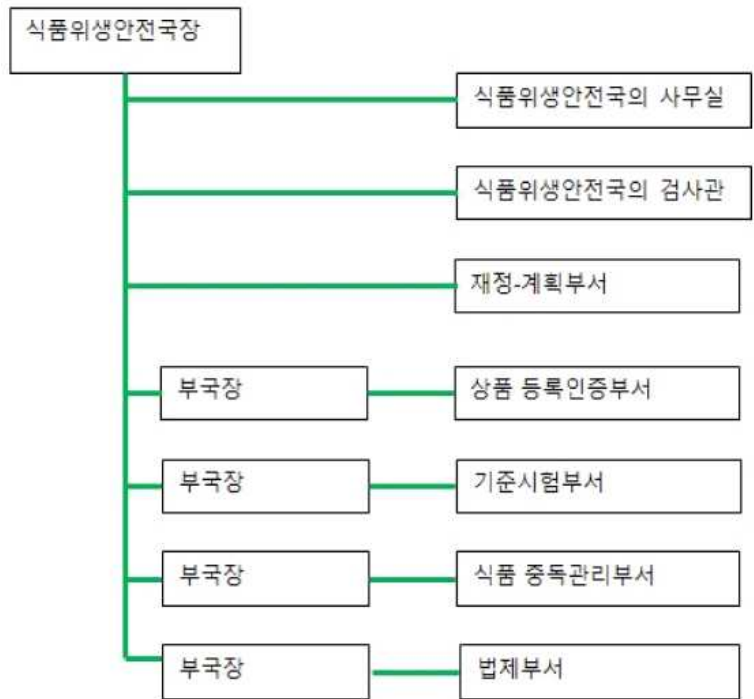


Fig. 26. 베트남 식품위생안전국 조직도

(3) 베트남 기능성식품 등록 및 심사 절차

○ 베트남 보건부 식품위생안전국의 허가 필요

○ 총 5단계의 절차

Table 27. 베트남 기능성식품의 등록 절차

구분	내용	
1단계	식품위생안전국에 우편 또는 직접 방문 제출 원본 1부, 사본 1부	
	필수서류	① 식품기준공보문서 ② 사업자 발행 기본기준서(도장) - 관능지표(색, 상태, 냄새, 맛), 주요 품질지표, 품질중점기준, 위생지표(화학적, 물리적, 미생물학적, 중금속), 자료의 성분 및 식



	<p>품보조제, 사용기간, 사용방법 및 보관방법, 표지의 자료 및 포장방법, 생산절차</p> <p>③ 베트남 업체 사업자등록증 또는 외국 새안자 대리점 설립 허가서</p> <p>④ 공인분석기관 시험결과서(주요 품질지표, 품질중점기준 및 관련 위생지표)</p> <p>⑤ 라벨, 라벨내용 요약서, 라벨 부착 샘플(검사 요청 시)</p> <p>⑥ 국내외 해외 공증 인증서 사본(GMP, HACCP 등)</p> <p>⑦ 자유판매 허가서(Certificate of free sale) 또는 보건인증서(Health certificate)(원산지 국가 관리기관 발급분)</p> <p>⑧ 제품 임상연구결과, 특별효능효과 및 안전성 관련 서류</p> <p>⑨ 수입국의 해당 국가에 동일 목적으로 사용한 허가서 사본 또는 생산 공전 설명서(발광식품, 유전자 변형식품 또는 발광식품과 유전자변형식품을 원료로 사용한 경우)</p> <p>⑩ 제품 샘플 2개</p>
2단계	서류 접수 후 접수증 발급
3단계	접수일 기준 워킹데이 7일 후 보완서류 문서 전송
4단계	접수일 기준 워킹데이 10일 내 심사 진행 이후 승인 대기
5단계	결과 수령

(2005년 12월 8일에 고시한 보건부 장관의 결정문서번호42/2005/QĐ-BYT와 같이 발행함)

**상품기준공보서**

문서번호:.....

사업자: .....  
주소: .....  
전화번호: .....  
팩스: .....  
이메일: .....

다음과 같이 공보함

기본기준번호:

다음 식품에 적용됨:

근원(생산자 및 생산국)

저희는 상기 공보된 기본기준에 맞게 상품을 생산하고 영업하기 약속하며, 공보된 품질기준에 위반하면 소비자 및 국가관리기관 앞에 모든 책임을 질 것이다.

년 월 일  
사업자 대표  
(서명 및 도장)

Fig. 26. 상품기준공보문서

(2005년 12월 8일에 고시한 보건부 장관의 결정문서 42/2005/QĐ-BYT와 같이 발행함)

주관기관명	기본기준	기준번호
생산업체명	상품명	년 ..월 ..일부터 효력이 있음

(결정문서번호 :...와 같이 발행됨/ 업체명...의 사양이름 ...)  
본 기준은 .....에 적용한다(상품명용 작성함)

1. 기술적 요구:
  - 1.1. 감관에 관한 지표:
    - 상태:
    - 색깔:
    - 냄새 및 맛:
  - 1.2. 주요 품질 지표, 품질중점지표, 영양가치, 배원 영양공급량(규정된 생물학활성이 있는 물질만 적용함)
  - 1.3. 미생물에 관한 지표: .....
  - 1.4. 중금속함량:.....
  - 1.5. 희망이 없는 화학물질함량(식품보호 화학물질, 기타 화학물질)
2. 성분(식품을 가공할 때 필요한 모든 재료 및 첨가물)
3. 사용기간(상품의 표지에서 어디에서 작성한 지 명확하게 작성해야 함)
4. 사용방법 및 보관방법(특별한 상품 경우 작용기계, 효능효과, 사용대상, 복용량, 등 포함됨)
5. 표지의 질 및 포장방식
6. 생산절차(약도 같은 것으로 작성할 수 있음) 및 생산절차의 설명서, 기술, 이 부분은 국내식 품안 요구함
7. 진짜인지 가짜인지 구분하는 방법(있으면)
8. 상표의 작성내용(혹은 사용하고 있는 상표의 작성내용)
9. 근원 및 수입사업자(수입식품 경우).

Fig. 27. 기본기준서



Fig. 28. 베트남 기능성식품의 등록 절차

○ 수입 기능성식품 등록 신청

- 소요기간 : 20일 이상(신청 10일 이상, 심사 10일 정도)
- 서류심사 비용 : 1품목 당 VND 5만동(2,800원 정도)
- 수입식품 기준인증서 발급 비용 : 1품목 당 VND 5만동(2,800원 정도)

(4) 표시사항

○ 라벨링

- 베트남어 표기. 외국어 표기의 경우 베트남어보다 작게 부착 가능
- 크기는 기업이나 개인이 자체적으로 지정 가능  
(제 11조항과 12조항에 따라 필요 요구조건 모두 갖추되 육안 확인 가능토록 기재)
- 예외사항(라틴계열 언어 표기 가능 경우)  
: 국제적 사용 이름이 베트남어 미존재시  
해외 제조 & 생산업체명 및 주소
- 라벨링 정보

Table 28. 라벨링 기준

구분	내용
공통 필수표시사항	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 상품의 이름</li> <li>· 상품에 대한 책임을 지는 개인, 단체의 성함 및 주소</li> <li>· 상품의 원산지</li> </ul>
식품 필수표시사항	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 중량</li> <li>· 제조일자</li> <li>· 유통기한</li> <li>· 성분이나 중량 성분</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 위생, 안전에 대한 경고 및 안내</li> <li>· 사용법, 보관 안내</li> </ul>
건강기능식품 표시사항	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 공통 + 식품필수표시사항</li> <li>· 주요품질기준(제품 효과에 따른 안전성과 부합성 보장 위한 사용가치 결정 지수 포함)</li> <li>· 영양소가 많은 제품 : 단백질, 지방, 탄수화물 포함</li> <li>· 특정작용이 있는 제품 : 해당 작용 성분 열거</li> <li>· 영양보충식품 : 보충물질명, 함유량, 적용대상, 복용량, 사용법</li> <li>· 다이어트제품 : “다이어트” 표기, 주요 작용 식품명 옆에 표기</li> </ul> <p>식품원산지</p>

○ 라벨표시 위반 행위

- 규정된 라벨 없이 유통
- 제품 본질에서 벗어나는 그림이나 글자
- 손상된 라벨, 흐릿한 내용
- 규정 내용 미기재
- 크기, 위치, 기록방법, 언어 미준수
- 라벨 내용 임의 삭제 및 수정
- 소비자를 속이는 목적의 라벨 교체
- 법률이 보호한 라벨 사용(소유자 승인 없이, 타 상인의 라벨과 동일한 라벨)



Fig. 29. 수입식품 라벨링(예시)

(출처 : 주요국 수출현안 모니터링-베트남, 2012)

(5) 건강기능식품 수입 및 통관 절차

○ 수출절차

- 베트남 기능성 식품의 분류는 아래의 그림과 같음
- 본 과제 검토중인 제품의 경우 모든 카테고리에 적용 가능성이 있음
- 임상시험을 통하여 검증된 원료(프로바이오틱스)를 첨가한 제품이 가장 가능성 높을 것으로 사료됨(식품의 유형 : 의학영양제품)

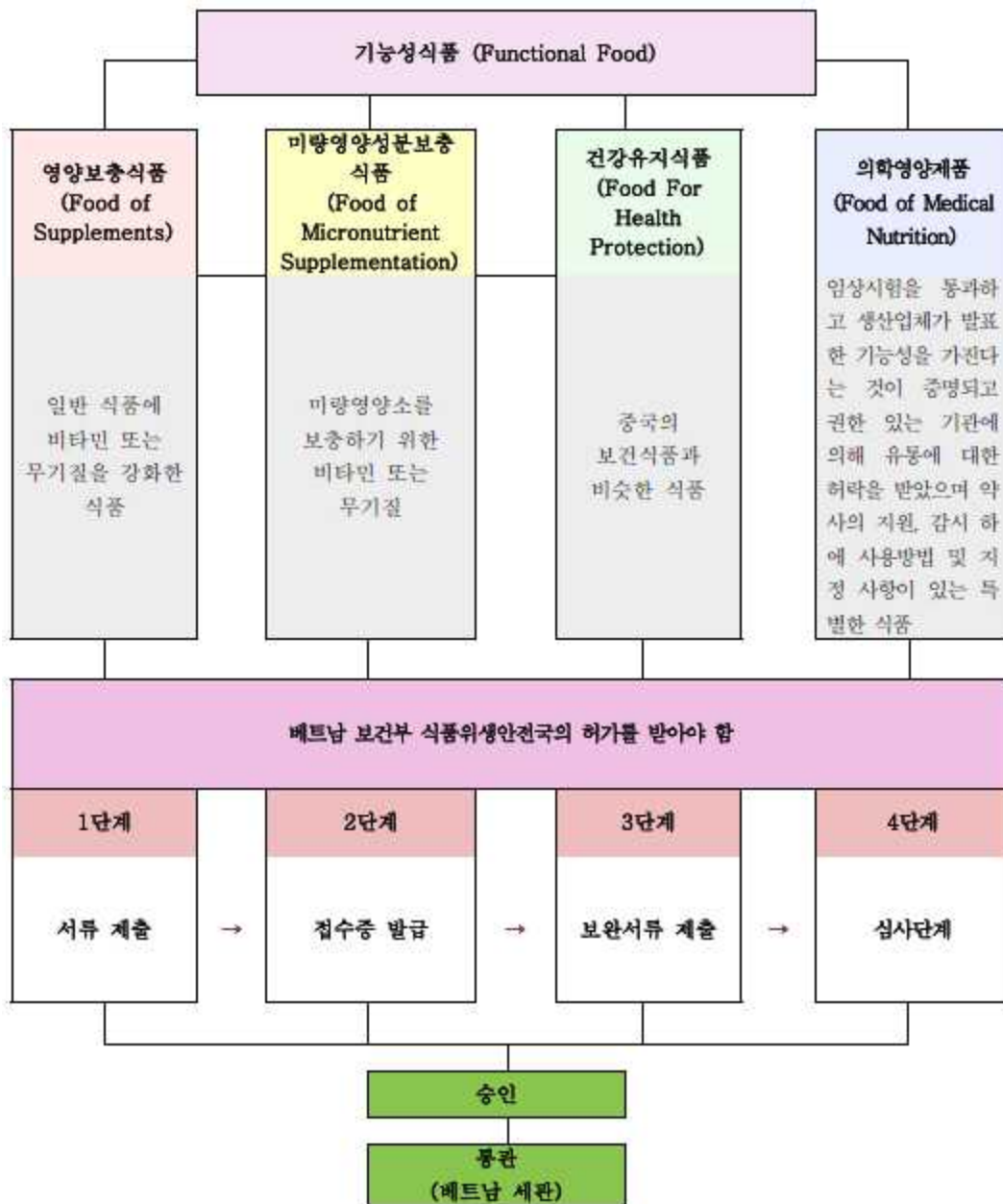


Fig. 30. 베트남 기능성 식품의 분류

○ 수입식품 관리제도

- 베트남 기능성식품 수입 시 일반식품과 같은 제도 하 관리
- 단, 어린이를 위한 영양식품, 정맥영양식품, DNA 변형식품, 방사식품과 함께 특수식품으로 분류됨
- 일반식품 서류 외 추가제출서류가 있음
- 수입검사기관 : 보건부(Ministry of Health of Vietnam)

○ 수입식품 통관절차

- 수입식품의 통관절차는 다음과 같음.

Table 29. 수입식품 통관절차

구분	내용
수입절차	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 베트남 수입 식품은 베트남 생산 제품 적용 일반적 표준 및 규정 준수</li> <li>- 국제적 표준 또는 수출국의 식품안전법에 부합되는 식품은 일반적으로 수입이 허용됨</li> <li>- 베트남에서 생산되는 식품에 비해 더 엄격한 기준이 적용되지 않음</li> </ul>
수입식품 신고	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 베트남 수입 식품에 대해서는 신고의무가 있음</li> <li>- 신고 내용이 규정에 적합하다는 확인이 있어야 함</li> </ul>
신고서류 심사	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 식품안전, 위생 및 품질관리국에서 접수, 베트남 법규 준수 여부 심사 진행</li> <li>- 서류 접수 시점 기준 15일 이내 검토</li> <li>- 규정 준수 정확한 품질기준 신고 시 서류심사 종료 후 식품안전, 위생 및 품질 관리국의 직인 첨부 기업의 기초 기준서 사본 1부 반환</li> <li>- 부적합 경우 기업 통보 및 지침 제공, 품질기준신고 재작성</li> </ul>
식품안전, 위생 및 품질검사	<ul style="list-style-type: none"> <li>- “식품안전, 위생 및 품질 등록을 위한 검사 지침” 에서 제시하는 기준에 따라 검사 실시</li> </ul>
검사인증서 발급	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 식품의 안전, 위생 및 품질검사에서 적합 판정 인증 필요</li> </ul>
검사결과 조치	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 적합 시 인증서 세관 통보</li> <li>- 부적합 시 폐기, 역수출</li> <li>- 재처리 승인 식품은 재검사 후 검사인증서 발급 가능</li> </ul>

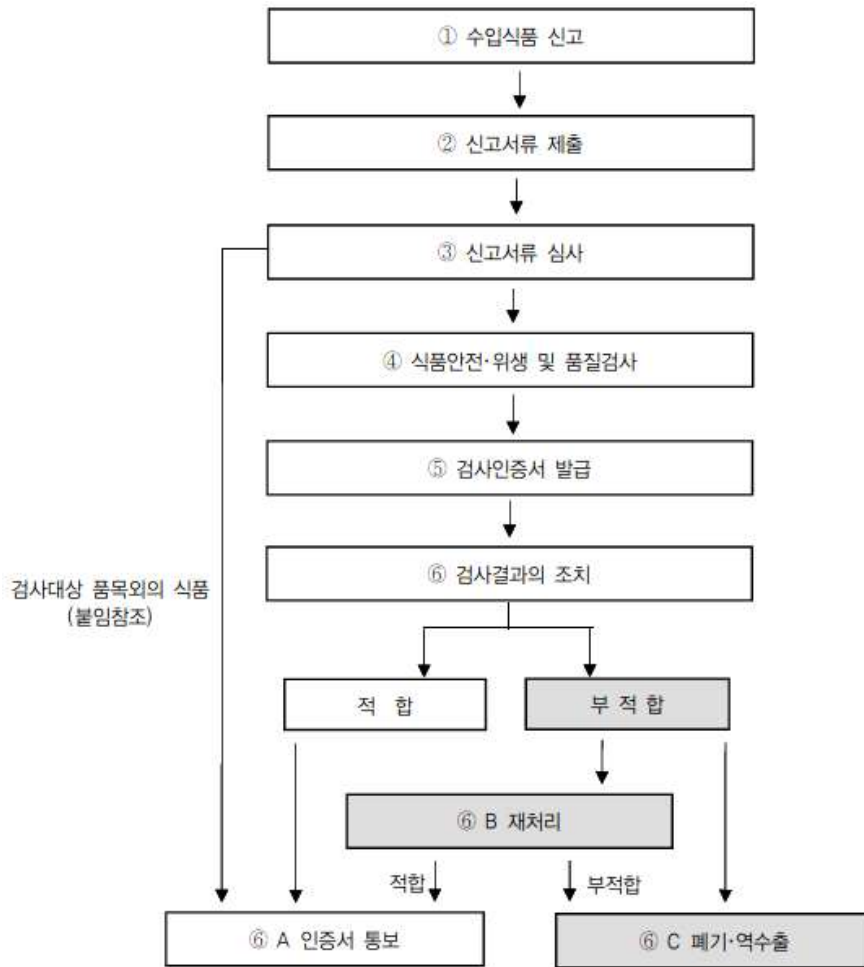


Fig. 31. 베트남 식품관리청의 수입식품 검사 과정  
(출처 : 주요국 수출현황 모니터링-베트남, 한국농수산물유통공사, 2012)

○ 관세 및 통관제도

- 관세 및 통관제도는 다음과 같음

Table 30. 관세 및 통관제도

구분	내용
통관수속의 흐름	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 수출입자 코드 취득 의무</li> <li>- 신청은 관할세관, 5일 정도에 취득 가능</li> <li>- 수속흐름 : 수입신고 → 세관서류의 등록 → 화물검사 → 관세액 심사 → 관세납부 → 화물인수</li> <li>- 과거 전수검사, 현재 대략 10% 정도의 화물만 검사(실시 기준은 신고자의 프로필, 정부의 수입정책, 수입선 등 다양한 정보 종합을 통해 판단)</li> </ul>

○ 수입식품 검사제도

- 수입식품 검사제도는 다음과 같음.

Table 31. 수입식품 검사제도

구분		내용
관리대상		- 생산가공 거친 식품재료, 더 이상 가공 없이 바로 생산 또는 재포장 가능 식품 재료 - 식품가공에 사용되는 물질(가공첨가제 또는 식품첨가물) - 인스턴트용으로 사전 포장된 제품 등
검사방법	엄격추출검사	- good lot의 모든 product lot에 대하여 충분한 최소수량으로 식품안전 검사 또는 포괄적인 평가를 위해 확률표본 또는 의심지점표본을 취함
	일반검사	- 감별조사와 식품안전, 위생, 안전기준에 따른 조사를 위한 충분한 확률표본 또는 무작위표본을 취함
	완화추출검사	감별조사와 good lot의 라벨링과 동질성 조사(원산지, 제품번호)를 위한 대표표본 취함 <예외사항-표본검사 미 실시 경우> - 식품 위험수준 낮은 경우 - 제품기준 준수 마크 포함한 경우(GHP, HACCP) - 동일 종류, 원산지 식품 2주 연속 안정품질 결과 시, 또는 완화추출검사 자격이 있다는 보건부 서면증서가 있는 경우 - 동일 종류, 원산지 식품이 제품표본검사 통과할 경우 - 동일 종류, 원산지, product lot 식품이 수입 전 검사 받았거나 제조업 국가 제 3자로부터 검사결과 통보 수반한 경우

(6) 제품 배합테스트 진행

○ 프로바이오틱스 분말 타입

- 일시 및 장소 : 2016년 10월 17일, 일동후디스 춘천공장
- 목적 : 양산 전 배치식 과립조건 확립, 관능검토 및 포장테스트
- 결과
  - 공정 : 현 배합비 초기 과립조건 설정(대외비)
  - 원료 : 유산균 제제 1종 추가 및 초유배합 제외(관능) 변경 검토 예정
  - 포장 : 1.5g 스틱포장 문제 없음
  - 보존테스트 : 진행중

○ 프로바이오틱스 분말 타입 2차

- 일시 및 장소 : 2016년 11월 21일, 일동후디스 춘천공장

- 목적 : 원료 추가 변경, 관능개선 검토 및 포장테스트
- 결과
  - 초유배합 제외 : 관능개선 확인
  - 원료 변경으로 인한 과립 성상 문제없음

○ 프로바이오틱스 추어블 타입 2종

- 일시 및 장소 : 2016년 12월 13일, 일동후디스 춘천공장
- 목적 : 양산 전 타정 조건, 관능검토
- 결과
  - 1차 : 현 타정 조건 문제없음, 관능 검토 예정
  - 2차 : 원료 변경으로 인한 정제 성상 및 경도 문제없음, 관능선호도 다소 떨어짐(효모), 추후 재검토 필요

▶ 혼합균주 모델의 생산 공정 적합성 확인

1. 혼합균주 모델의 생산 공정 적합성 확인

(1) 분리균주에 대한 실험실 스케일의 식품 산업용 균주 생산법 확립 준하는 제조공정 구축

가. *Lactobacillus paracasei* DKIH1

○ *L. paracasei* DKIH1균주의 탄소원에 따른 산업용 배지조성 결과

- 산업규모에서 배지의 가격대비 효율성을 높이기 위한 기본배지 조성 결정을 위해 탄소원 농도에 따른 유산균의 증식을 비교하였음(Table 1).
- Fig.1과 Fig. 2를 확인하면 탄소원인 glucose의 함량을 0.5%인 Test 4에서 유산균 함량은  $1.4 \pm 0.6 \times 10^{10}$  CFU/mL로 가장 높은 결과를 pH는 Test 4에서 3.59로 가장 낮게 나타내었다. 이러한 결과를 통해 본 조건하에서 유산균의 증식에는 탄소원의 영향이 큰 것으로 판단하여, 탄소원의 함량을 0.5%로 맞추는 기본배지 조성을 결정하였음.

Table 33. Various culture media composition on the cell growth of *L. paracasei* DK121

Componets(%)	Test1	Test2	Test3	Test4	Test5	Test6
glucose	1	2	3	0.5	1	1.5
Lactose	-	-	-	0.5	1	1.5
Yeast extract	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Soy pepton	1	1	1	1	1	1
Casein pepton	1	1	1	1	1	1
Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
K2HPO4	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO4	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO4	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005



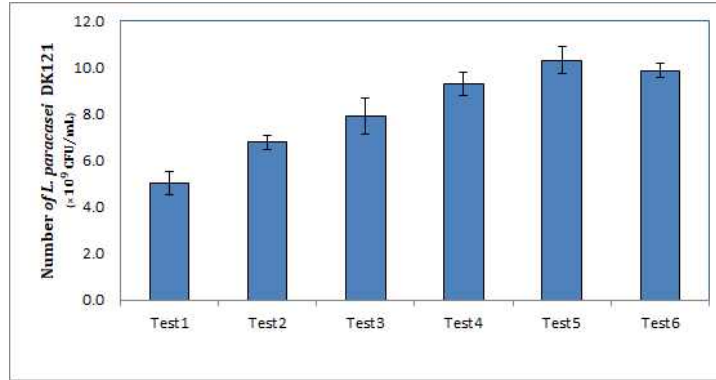


Fig. 32. Effect of growth of *L. paracasei* DK1H1 in a basal medium.

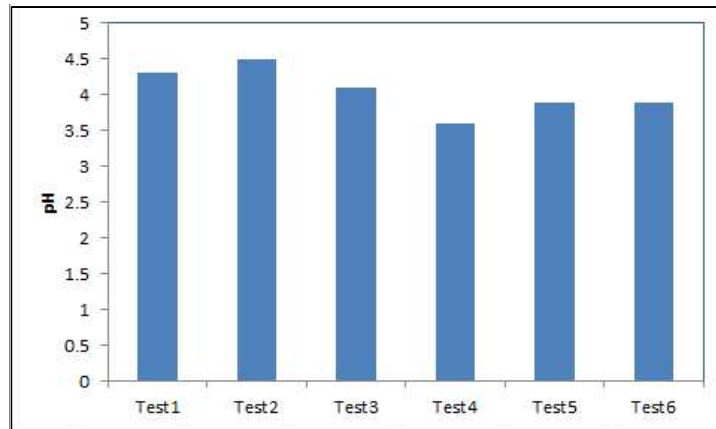


Fig. 33. pH of Effect of growth of *L. paracasei* DK1H1 in a basal medium.

○ *L. paracasei* DK1H1 균주의 질소원에 따른 산업용 배지조성 결과

- 산업규모에서 배지의 가격대비 효율성을 높이기 위한 기본배지 조성 결정을 위해 질소원 농도에 따른 유산균의 증식을 비교하였다(Table 2).
- Fig. 32과 Fig. 33를 확인하면 질소원인 Yeast extract, soy peptone, casein peptone의 함량을 각각 0.5%, 1, 1%로 조성한 Test5에서 유산균 함량은  $6.9 \pm 0.1 \times 10^9$  CFU/mL로 가장 높은 결과를 pH 또한 Test5에서 3.67로 가장 낮게 나타내었다. 이러한 결과를 통해 본 조건하에서 유산균의 증식에는 탄소원의 영향이 큰 것으로 판단하여, 질소원의 함량을 yeast extract, soy pepton, casein pepton의 함량을 각각 0.5%, 1, 1%로 맞추는 기본배지 조성을 결정하였다.

Table 34. Various culture media composition on the cell growth of *L. paracasei* DK1H1

Componets(%)	Test1	Test2	Test3	Test4	Test5
glucose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Lactose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Yeast extract	2.5	-	-	1	0.5
Soy pepton	-	2.5	-	1	1
Casein pepton	-	-	2.5	1	1

Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	-	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO <sub>4</sub>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO <sub>4</sub>	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

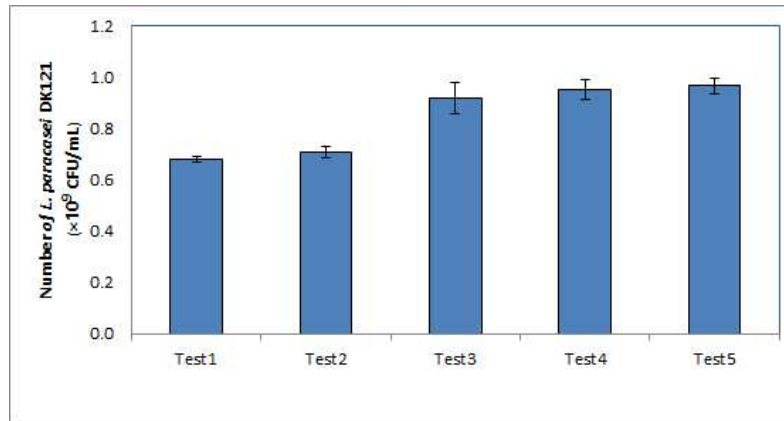


Fig. 34. Effect of growth of *L. plantarum* in a basal medium.

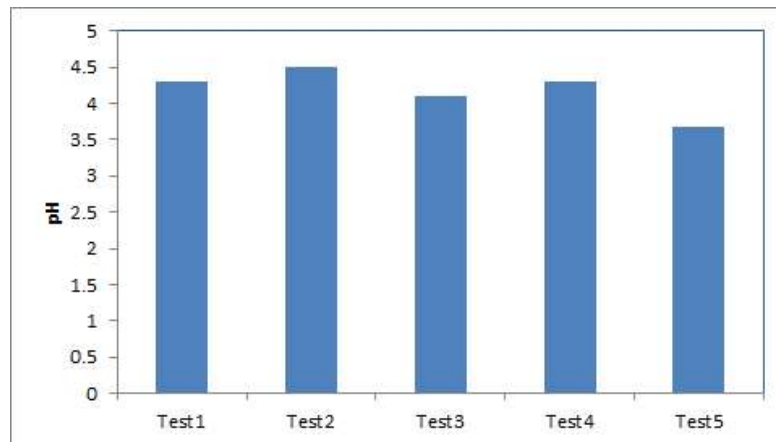


Fig. 35. pH of Effect of growth of *L. plantarum* in a basal medium.

○ *L. paracasei* DK121균주에 관한 선정된 산업용 배지조성의 유산균수, pH 측정결과

- 산업규모에서 배지의 가격대비 효율성을 높이기 위해 설정된 기본배지 조성 Table 34와 같음
- 선정된 배지조성을 사용하여 *L. paracasei* DK121을 시간별로 유산균수를 측정된 결과 초기에는  $1.15 \pm 0.1 \times 10^4$  CFU/mL였으나 시간이 지남에 따라 균수는 증가하였으며 최종 24시간 후에는  $1.1 \pm 0.15 \times 10^{10}$  CFU/mL으로 증가하였음(Fig. 34)
- 선정된 배지조성을 사용하여 *L. paracasei* DK121을 시간별로 pH를 측정된 결과 초기에는 6.46으로 높은 결과값을 나타냈지만 시간이 지남에 따라 pH 결과값은 감소하였으며 최종 24시간 후에는 3.71의 결과값을 나타내었음(Fig. 35)

Table 35. Various culture media composition on the cell growth of *L. paracasei* DKIH1

Lactose	0.5
Yeast extract	0.5
Soy pepton	1
Casein pepton	1
Sodium acetate	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.2
Sodium citrate	0.2
tween 80	0.1
MgSO <sub>4</sub>	0.01
MnSO <sub>4</sub>	0.005

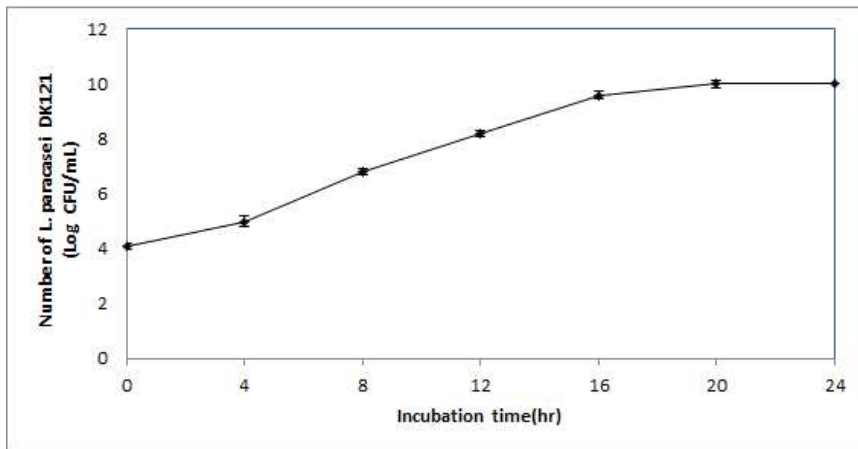


Fig. 36. Number of *L. paracasei* DKIH1 in a basal medium during incubator

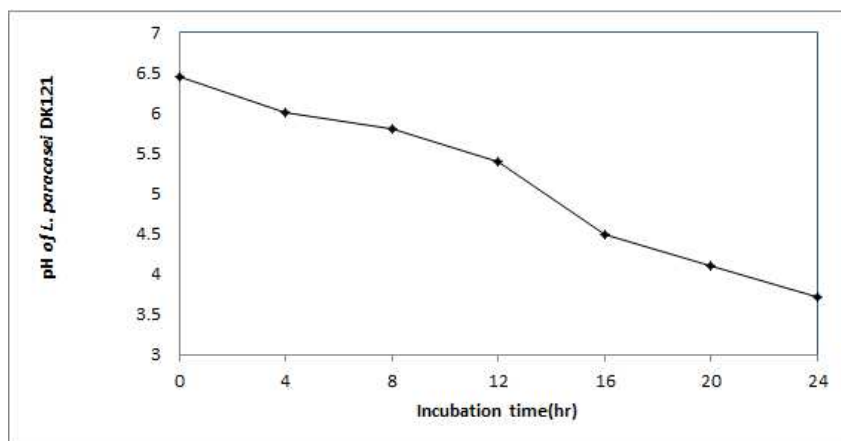


Fig. 37. pH of *L. paracasei* DKIH1 in a basal medium during incubator

나. *Lactobacillus acidophilus* V4

○ *L. acidophilus* V4 균주의 탄소원에 따른 산업용 배지조성 결과

- 산업규모에서 배지의 가격대비 효율성을 높이기 위한 기본배지 조성 결정을 위해 탄소원 농

도에 따른 유산균의 증식을 비교하였음(Table 35).

- Fig. 36과 Fig. 37을 확인하면 탄소원인 glucose의 함량을 0.5%인 Test 4에서 유산균 함량은  $4.03 \pm 0.03 \times 10^9$  CFU/mL로 가장 높은 결과를 pH 또한 Test 4에서 3.57로 가장 낮게 나타내었다. 이러한 결과를 통해 본 조건하 에서 유산균의 증식에는 탄소원의 영향이 큰 것으로 판단하여, glucose의 함량을 1%로 맞추는 기본배지 조성을 결정하였음

Table 36. Various culture media composition on the cell growth of *L. acidophilus* V4

Componets(%)	Test1	Test2	Test3	Test4	Test5	Test6
glucose	1	2	3	0.5	1	1.5
Lactose	-	-	-	0.5	1	1.5
Yeast extract	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Soy pepton	1	1	1	1	1	1
Casein pepton	1	1	1	1	1	1
Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
K2HPO4	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO4	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO4	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

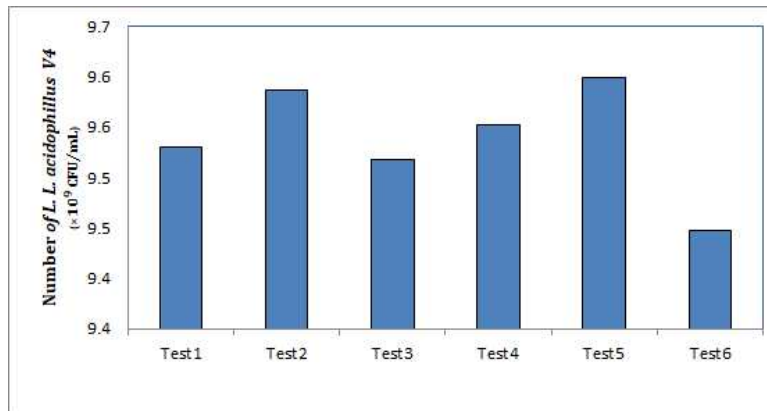


Fig. 38. Effect of growth of *L. acidophilus* V4 in a basal medium.

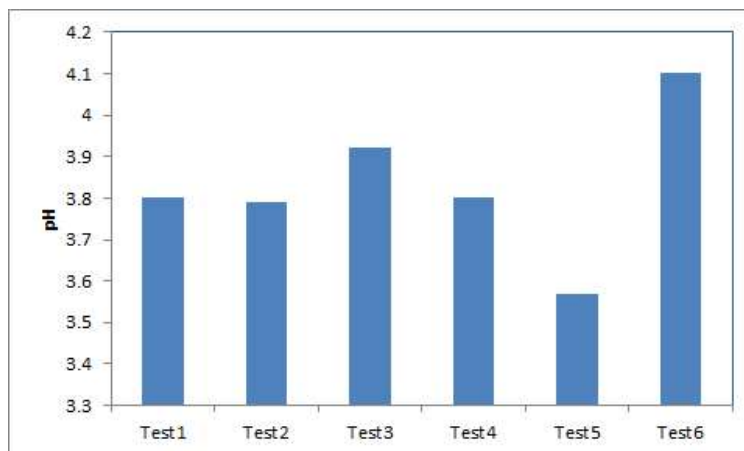


Fig. 39. pH of Effect of growth of *L. acidophilus* V4 in a basal medium.

○ *L. acidophilus* V4 균주의 질소원에 따른 산업용 배지조성 결과

- 산업규모에서 배지의 가격대비 효율성을 높이기 위한 기본배지 조성 결정을 위해 질소원 농도에 따른 유산균의 증식을 비교하였음(Table 36)
- 질소원인 Yeast extract, soy pepton, casein pepton의 함량을 각각 0.5%, 1, 1%로 조성한 Test5에서 유산균 함량은  $8.09 \pm 0.5 \times 10^9$  CFU/mL로 가장 높은 결과를 pH는 Test5에서 3.5로 가장 낮게 나타내었다. 이러한 결과를 통해 본 조건하에서 유산균의 증식에는 탄소원의 영향이 큰 것으로 판단하여, 질소원의 함량을 yeast extract, soy pepton, casein pepton의 함량을 각각 0.5, 1, 1%로 맞추는 기본배지 조성을 결정하였음

Table 37. Various culture media composition on the cell growth of *L. acidophilus* V4

Componets(%)	Test1	Test2	Test3	Test4	Test5
glucose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Lactose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Yeast extract	2.5	-	-	1	0.5
Soy pepton	-	2.5	-	1	1
Casein pepton	-	-	2.5	1	1
Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	-	0.5
K2HPO4	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO4	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO4	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

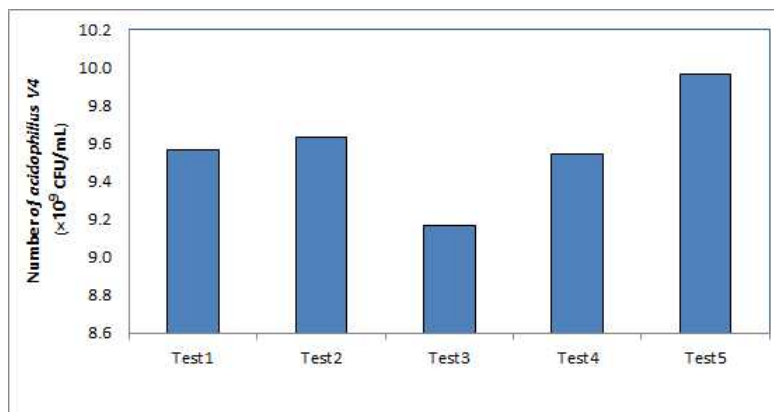


Fig. 40. Effect of growth of *L. acidophilus* V4 in a basal medium.

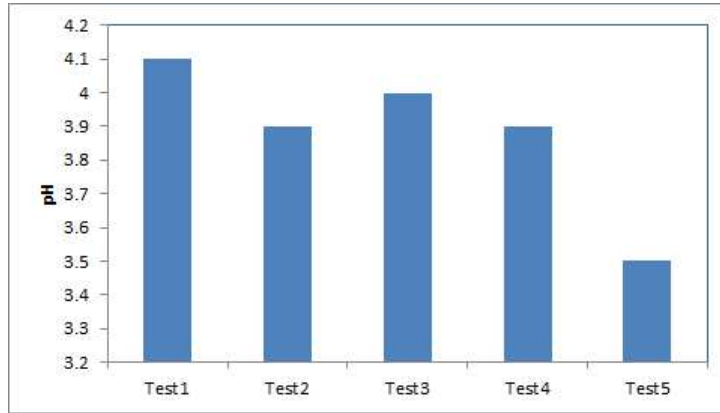


Fig. 41. pH of Effect of growth of *L. acidophilus* V4 in a basal medium.

○ *Lactobacillus acidophilus* V4 균주에 관한 선정된 산업용 배지조성의 유산균수, pH 측정결과

- 산업규모에서 배지의 가격대비 효율성을 높이기 위해 설정된 기본배지 조성 Table 37과 같음
- 선정된 배지조성을 사용하여 *L. acidophilus* V4를 시간별로 유산균수를 측정한 결과 초기에는  $1.15 \pm 0.12 \times 10^3$  CFU/mL였으나 시간이 지남에 따라 균수는 증가하였으며 최종 24시간 후에는  $1.81 \pm 0.13 \times 10^{10}$  CFU/mL으로 증가하였음(Fig. 40)
- 선정된 배지조성을 사용하여 *L. paracasei* DKIH1를 시간별로 pH를 측정한 결과 초기에는 6.49로 높은 결과값을 나타냈지만 시간이 지남에 따라 pH 결과값은 감소하였으며 최종 24시간 후에는 3.7의 결과값을 나타내었음(Fig. 41)

Table 38. Various culture media composition on the cell growth of *L. acidophilus* V4

	Componets(%)
glucose	1
Lactose	0.5
Yeast extract	0.5
Soy pepton	1
Casein pepton	1
Sodium acetate	0.5
K2HPO4	0.2
Sodium citrate	0.2
tween 80	0.1
MgSO4	0.01
MnSO4	0.005

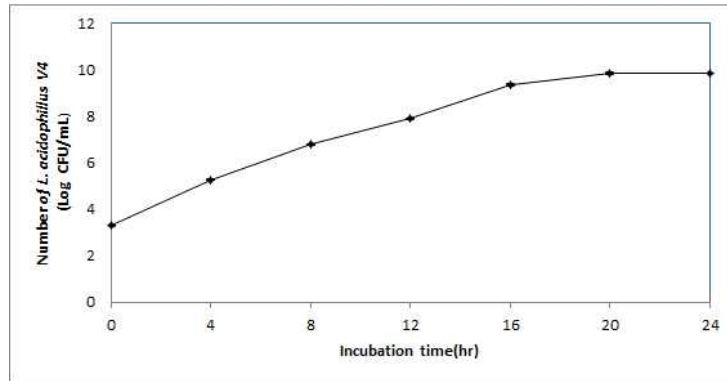


Fig. 42. Number of *L. acidophilus* V4 in a basal medium during incubator

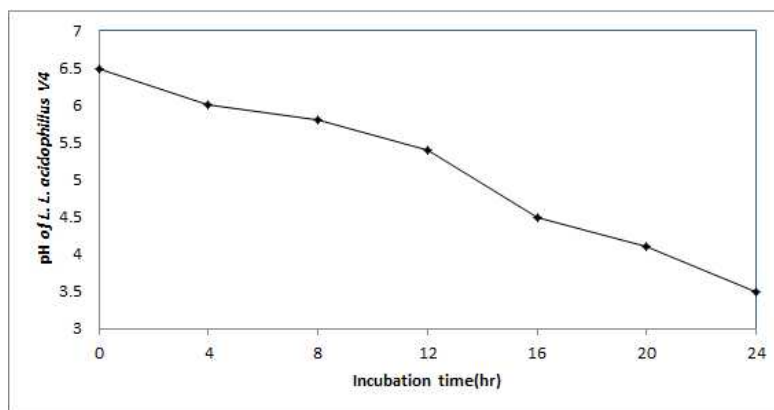


Fig. 43. pH of *L. acidophilus* V4 in a basal medium during incubator

다. *L. plantarum* V7

○ *L. plantarum* V7 균주의 탄소원에 따른 산업용 배지조성 결과

- 산업규모에서 배지의 가격대비 효율성을 높이기 위한 기본배지 조성 결정을 위해 탄소원 농도에 따른 유산균의 증식을 비교하였음(Table 38)
- Fig. 42과 Fig. 43을 확인하면 탄소원인 glucose의 함량을 0.5%인 Test5에서 유산균 함량은  $3.2 \pm 0.6 \times 10^9$  CFU/mL로 가장 높은 결과를 pH는 Test4에서 3.61로 가장 낮게 나타내었다. 이러한 결과를 통해 본 조건하 에서 유산균의 증식에는 탄소원의 영향이 큰 것으로 판단하여, 탄소원의 함량을 0.5%로 맞추는 기본배지 조성을 결정하였음

Table 39. Various culture media composition on the cell growth of *L. plantarum* V7

Componets(%)	Test1	Test2	Test3	Test4	Test5	Test6
glucose	1	2	3	0.5	1	1.5
Lactose	-	-	-	0.5	1	1.5
Yeast extract	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Soy pepton	1	1	1	1	1	1
Casein pepton	1	1	1	1	1	1
Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
K2HPO4	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO4	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO4	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

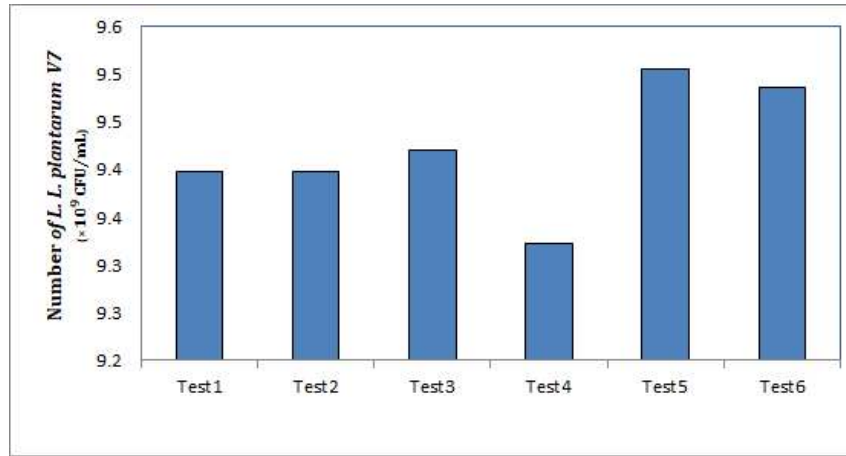


Fig. 44. Effect of growth of *L. plantarum* V7 in a basal medium

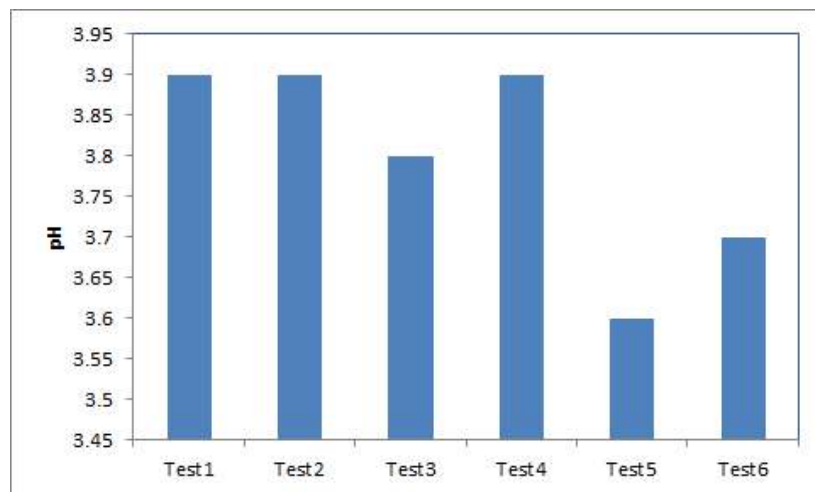


Fig. 45. pH of Effect of growth of *L. plantarum* V7 in a basal medium

○ *L. plantarum* V7균주의 질소원에 따른 산업용 배지조성 결과

- 산업규모에서 배지의 가격대비 효율성을 높이기 위한 기본배지 조성 결정을 위해 질소원 농도에 따른 유산균의 증식을 비교하였음(Table 39).
- 질소원인 Yeast extract, soy pepton, casein pepton의 함량을 각각 0.5, 1, 1%로 조성한 Test5에서 유산균 함량은  $3.2 \pm 0.5 \times 10^9$  CFU/mL로 가장 높은 결과를 pH는 Test5에서 3.67로 가장 낮게 나타내었음. 이러한 결과를 통해 본 조건하에서 유산균의 증식에는 탄소원의 영향이 큰 것으로 판단하여, 질소원의 함량을 yeast extract, soy pepton, casein pepton의 함량을 각각 0.5%, 1, 1%로 맞추는 기본배지 조성을 결정하였음.



Table 40. Various culture media composition on the cell growth of *L. plantarum* V7

Componets(%)	Test1	Test2	Test3	Test4	Test5
glucose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Lactose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Yeast extract	2.5	-	-	1	0.5
Soy pepton	-	2.5	-	1	1
Casein pepton	-	-	2.5	1	1
Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	-	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO <sub>4</sub>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO <sub>4</sub>	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

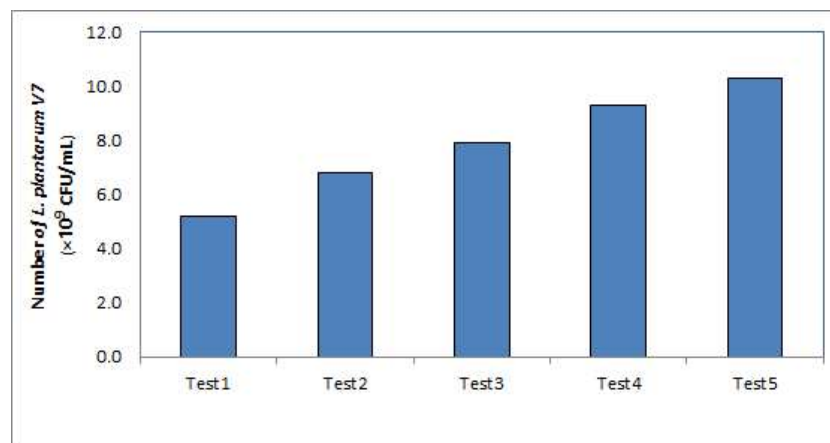


Fig. 46. Effect of growth of *L. plantarum* V7 in a basal medium.

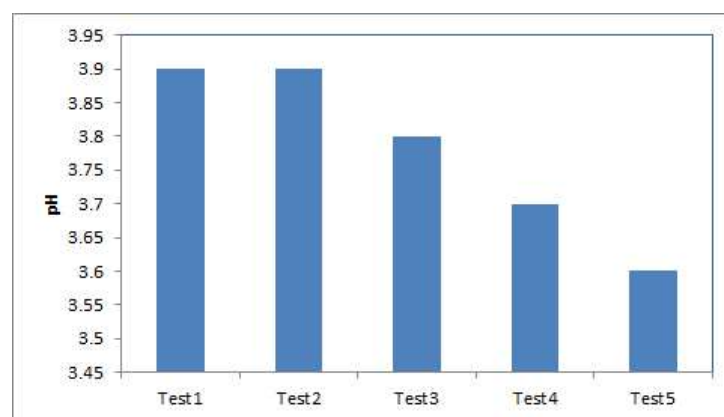


Fig. 47. pH of Effect of growth of *L. plantarum* V7 in a basal medium.

○ *L. plantarum* V7균주에 관한 선정된 산업용 배지조성의 유산균수, pH 측정결과

- 산업규모에서 배지의 가격대비 효율성을 높이기 위해 설정된 기본배지 조성 Table. 40과 같음
- 선정된 배지조성을 사용하여 *L. plantarum* V7을 시간별로 유산균수를 측정한 결과 초기에는  $1.56 \pm 0.6 \times 10^4$  CFU/mL였으나 시간이 지남에 따라 균수는 증가하였으며 최종 24시간 후에는  $5.2 \pm 0.5 \times 10^9$  CFU/mL으로 증가하였음(Fig. 46)
- 선정된 배지조성을 사용하여 *L. plantarum* V7을 시간별로 pH를 측정한 결과 초기에는 6.36으로 높은 결과값을 나타냈지만 시간이 지남에 따라 pH 결과값은 감소하였으며 최종 24시간 후에는 3.75의 결과값을 나타내었다.

Table 41. Various culture media composition on the cell growth of *L. plantarum* V7

	Componets(%)
glucose	0.5
Lactose	0.5
Yeast extract	0.5
Soy pepton	1
Casein pepton	1
Sodium acetate	0.5
K2HPO4	0.2
Sodium citrate	0.2
tween 80	0.1
MgSO4	0.01
MnSO4	0.005

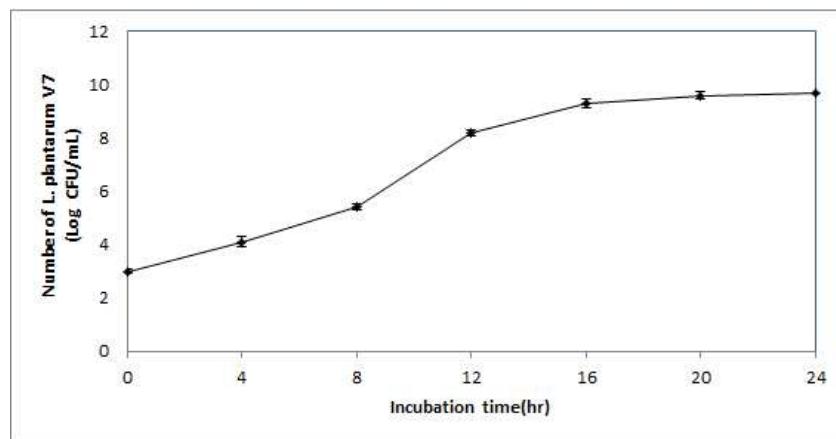


Fig. 48. Number of *L. plantarum* V7 in a basal medium during incubator

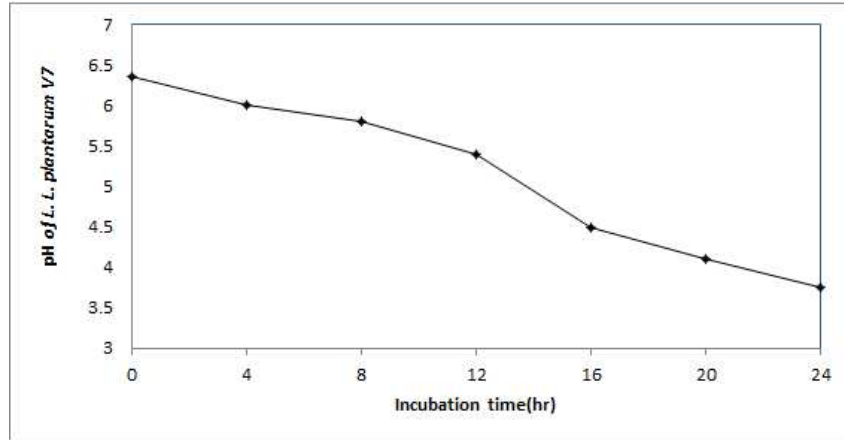


Fig. 49. pH of *L. plantarum* V7 in a basal medium during incubator

(2) 인공위액 내성 실험을 통한 유산균의 생존율

- MRS 액체배지에 pepsin 1% (w/v)를 첨가하고 1 N HCL로 pH 2.5로 조정한 인공위액을 사용하여 위액에 대한 내성을 테스트하였다. 균주를 MRS배지에 37 °C 24시간 배양한 다음 각각의 비된 인공위액의 1% 씩 종한 후 37°C 인큐베이터에서 2시간동안 배양하였다. 처리 균수와 처리 후 균수를 측정하기 위해 Lactobacilli MRS agar (이하 MRA, Difco)에 도말하여 37 °C에서 48시간 배양하였고, 균수는 그람 당 콜로니형성단위(CFU/g)로 측정하였으며 3회 반복 실험하였다. 1 mL균 배양액을 9 mL saline용액으로 희석하여 MRS agar plate 에 도말한 다음 37 °C에서 24시간 배양 후 균 수 측정을 하다.
- 분리 동정된 균주들의 프로바이오틱 유산균으로서의 적합성을 확인하기 위해 인공 위액과 담즙액 내에서의 생존율을 조사한 결과는 Table 10과 같다. Pepsin이 첨가된 pH 2.5에서 3종의 균주를 37°C에서, 2시간 배양한 결과 *L. acidophilus* v4 균주 모두 10배 이하의 균수가 감소하여 위액에 대한 저항성이 높은 결과를 나타내었다.

Table 42. Survival of Lactic acid bacteria in stimulate gastric juice pH 2.5

sample	처리 전 균수(cfu/ml)			처리 후 균수(cfu/ml)		
	<i>L. paracasei</i> DK121	<i>L. salivarius</i> V4	<i>L. plantarum</i> V7	<i>L. paracasei</i> DK121	<i>L. salivarius</i> V4	<i>L. plantarum</i> V7
1	$5.1 \times 10^9$	$3.8 \times 10^{10}$	$2.1 \times 10^{10}$	$7.9 \times 10^8$	$5.5 \times 10^9$	$4.3 \times 10^9$
2	$5.3 \times 10^9$	$4.2 \times 10^{10}$	$2.3 \times 10^{10}$	$8.3 \times 10^8$	$5.1 \times 10^9$	$3.9 \times 10^9$
Av	$5.2 \times 10^9$	$4.0 \times 10^{10}$	$2.2 \times 10^{10}$	$8.1 \times 10^8$	$5.3 \times 10^9$	$4.1 \times 10^9$

2) 선별된 혼합균주 캡슐레이션 공정 적용 가능성 검토

○ 일동제약 4중 코팅 기술 활용 가능여부검토

- 장기 보존실험: 25 °C 보관하여 실험기간 12개월이며 1개월 마다 실험
- 보존실험: 32.5 °C 보관하여 실험기간 9개월이며 1개월 마다 실험
- 가속실험: 40 °C 보관하여 실험기간 6개월이며 0.5개월 마다 실험

- 4 중 코팅을 하지 않은 일반적인 혼합 균주는 빠른 속도로 유산균수가 감소하였으며 40 °C 의 온도 에서는 15일 안으로 모두 사멸 하는 것으로 확인되었음(Table 42)
- 모든균에서 3개월 동안 안정성 시험 결과 성상은 적합하였고 유산균수 기준이상으로 적합하였고 대장균군도 음성으로 적합하였다. 실험을 이어서 진행하여 안정성 여부를 정확하게 확인하고 유산균수 결과에 따라 Arrhenius 식으로부터 유통기한을 산출할 예정(Table 42)

Table 43. 일반 유산균의 보존실험 결과

보존 온도	구분	기준규격	보존일수(month)						
			0	0.5	1	1.5	2	2.5	3
25°C	성상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2100	1870	1530	1201	910	755	599
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
32.5°C	성상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2180	1510	999	603	305	105	26
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
40°C	성상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2210	0	0	0	0	0	0
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성

Table 44. 4중 코팅 기술의 보존실험 결과

보존 온도	구분	기준규격	보존일수(month)						
			0	0.5	1	1.5	2	2.5	3
25°C	성상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2200	2120	2050	2005	1910	1982	1950
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
32.5°C	성상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2180	-	2035	-	1910	-	1800

	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
40℃	정상	미황색 의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2210	-	2050	-	1870	-	1700
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성

▶ 선별된 혼합균주 캡슐레이션 공정 적용 가능성 검토

○ 유지를 첨가한 4중 코팅 기술에 캡슐기술 활용 가능여부검토

- 캡슐레이션의 공정에서 유산균을 캡셀에 주입을 용이하기 위한 목적과 추후 오메가3 오일을 활용하여 제품의 기능성을 높이기 위한 목적
- 오일은 시중에서 판매되고 있는 식용유를 유산균과 7:3의 비율로 섞어 사용하였음
- 장기 보존실험: 25 ℃ 보관하여 실험기간 12개월이며 1개월 마다 실험
- 보존실험: 32.5 ℃ 보관하여 실험기간 9개월이며 1개월 마다 실험
- 가속실험: 40 ℃ 보관하여 실험기간 6개월이며 0.5개월 마다 실험
- 모든균에서 3개월 동안 안정성 시험 결과 정상은 적합하였고 유산균수 기준이상으로 적합하였고 대장균군도 음성으로 적합하였음. 실험을 이어서 진행하여 안정성 여부를 정확하게 확인하고 유산균수 결과에 따라 Arrhenius 식으로부터 유통기한을 산출할 예정(Table 13)
- 4중 코팅 유산균에 오일을 첨가 시 유산균의 생존율에는 커다란 영향을 미치지 않았음.

Table 45. 유지를 첨가한 4중 코팅 기술의 보존실험 결과

보존 온도	구분	기준규격	보존일수(month)						
			0	0.5	1	1.5	2	2.5	3
25℃	정상	미황색 의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2150	2110	2060	2015	1919	1991	1959
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
32.5℃	정상	미황색 의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2170	-	2043	-	1921	-	1890
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
40℃	정상	미황색 의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수	100이상	2211	-	2060	-	1879	-	1715

	( $\times 10^7$ cfu/g)								
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성

▶ 적용 제품 개발 및 대량생산 공정검토 및 품질관리 표준화 규격 설정

(1) 연질캡슐을 이용한 대량생산 공정 검토

- 유산균의 특성상 온도, 습도 등 환경의 변화에 유산균이 민감하므로 제형의 연구에 있어 생균의 안정성이 무엇보다 중요함. 제품의 안정성과 혼합 유산균수 함량을 조사하여 제형에 따른 유산균수 변화를 확인하였음
- 혼합유산균의 캡셀제형에 따른 공정확립을 위한 시작품 제조의 공정은 아래와 같이 확립하였음

- ① 칭량: 위생적으로 미생물의 오염도가 전혀 없는 원료 칭량실에서 분할하여 칭량한다.
- ② 혼합: 정확하게 칭량된 원료를 믹서에 충분히 혼합한다.
- ③ 충전(캡셀, 성형기): 캡셀 충전기를 이용하여 정량에 맞게 충전한다.
- ④ 턴블러 드라이어: 턴블러 드라이어를 통해 건조한다.
- ⑤ 건조 및 선별: 건조 후 캡셀 충전 후 선별기를 통해 불량 캡슐을 선별한다.
- ⑥ 포장: 반제품 또는 완제품을 포장하며 후 공정으로 병, PTP 포장한다.

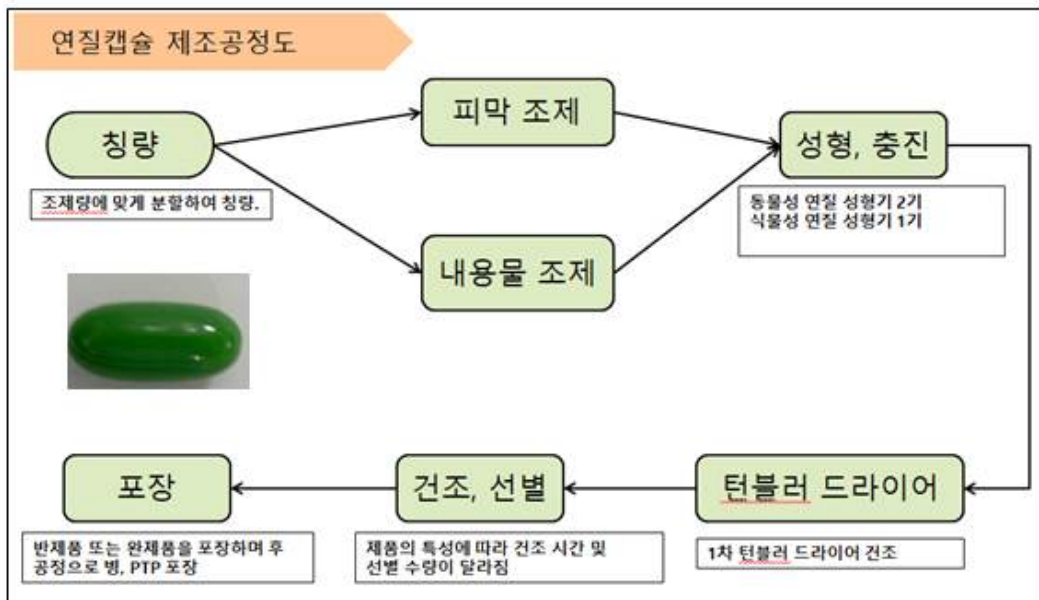


Fig. 50. 연질캡슐의 제조공정도

○ 연질캡슐 기술 활용 가능여부검토

- 유산균의 보존력을 더 높이기 위해 연질캡슐에 주입하여 제품으로 제작하는 기술을 활용하였음
- 4중코팅 유산균에 시중에서 판매되고 있는 식용유를 유산균과 7:3의 비율로 섞어 사용하였음

- 장기 보존실험: 25 °C 보관하여 실험기간 12개월이며 1개월 마다 실험
- 보존실험: 32.5 °C 보관하여 실험기간 9개월이며 1개월 마다 실험
- 가속실험: 40 °C 보관하여 실험기간 6개월이며 0.5개월 마다 실험
- 모든군에서 3개월 동안 안정성 시험 결과 성상은 적합하였고 유산균수 기준이상으로 적합하였고 대장균군도 음성으로 적합하였음. 실험을 이어서 진행하여 안정성 여부를 정확하게 확인하고 유산균수 결과에 따라 Arrhenius 식으로부터 유통기한을 산출할 예정
- 연질캡슐에 주입한 제품의 보존력 테스트 결과 월등히 좋은 유산균 생존률을 보였음

Table 46. 연질캡슐 기술의 보존실험 결과

보존 온도	구분	기준규격	보존일수(month)						
			0	0.5	1	1.5	2	2.5	3
25°C	성상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2150	2170	2110	2132	2060	2085	2015
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
32.5°C	성상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2170	-	2110	-	2043	-	1990
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
40°C	성상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2211	-	2120	-	2060	-	1915
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성

(2) 스틱포를 이용한 대량생산 공정 검토

- 유산균의 특성상 온도, 습도 등 환경의 변화에 유산균이 민감하므로 제형의 연구에 있어가 생균의 안전성이 무엇보다 중요함. 제품의 안정성과 혼합 유산균수 함량을 조사하여 제형에 따른 유산균수 변화를 확인하였음
- 혼합유산균의 스틱포 제형에 따른 공정 확립을 위한 시작품 제조의 공정은 아래와 같이 확립하였음
  - ① 칭량: 위생적으로 미생물의 오염도가 전혀 없는 원료 칭량실에서 분할하여 칭량한다.
  - ② 배합 및 혼합: 정확하게 칭량된 원료를 믹서에 충분히 혼합한다.
  - ③ 충전(스티포): 혼합된 원료를 10열 스틱포 충전기를 통하여 충전한다.

④ 포장: 단케이스 포장 및 카톤 박스 포장한다.

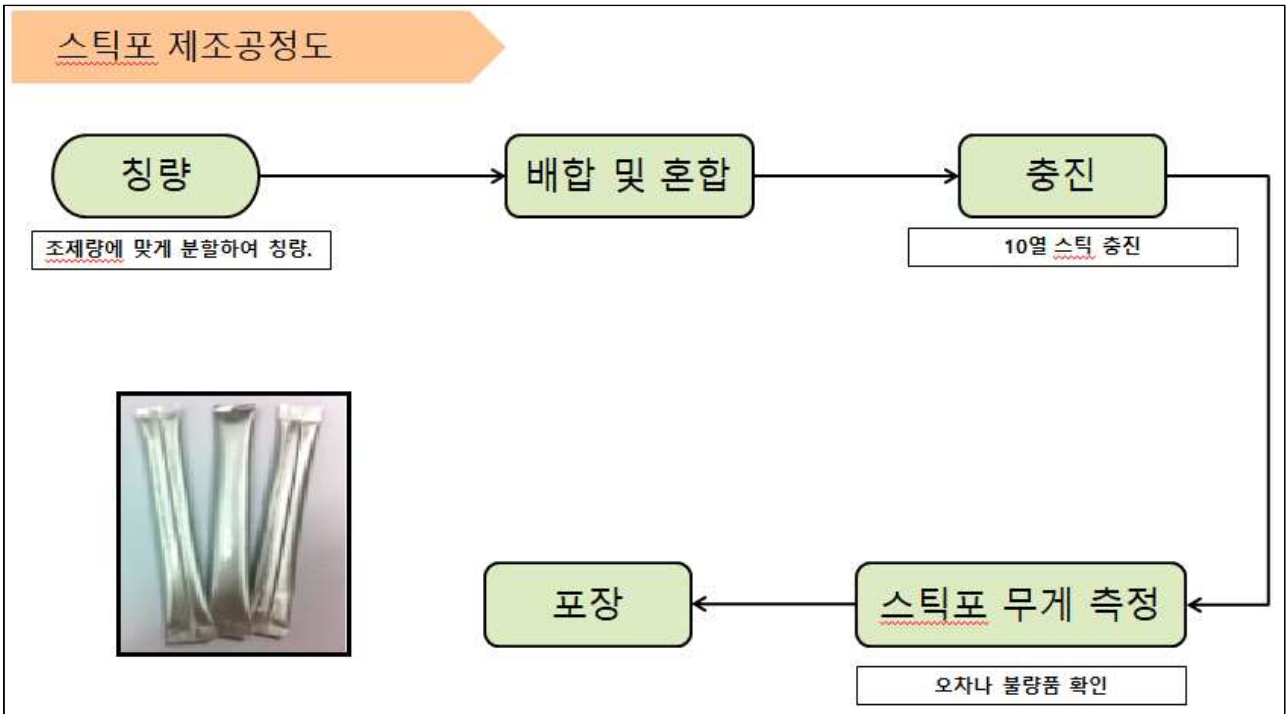


Fig. 51. 스틱포의 제조공정도

○ 스틱포 기술 활용 가능여부검토

- 유산균의 보존력을 더 높이기 위해 4코팅 유산균을 스틱에 주입하여 제품으로 제작하는 기술을 활용하였음
- 유산균주, 설탕, 탈지분유, 말토덱스트린, 유청분말, 카르복시메틸셀룰로오스나트륨, 히알루론산, 유당을 혼합하여 사용하였음
- 장기 보존실험: 25 °C 보관하여 실험기간 12개월이며 1개월 마다 실험
- 보존실험: 32.5 °C 보관하여 실험기간 9개월이며 1개월 마다 실험
- 가속실험: 40 °C 보관하여 실험기간 6개월이며 0.5개월 마다 실험
- 모든군에서 3개월 동안 안정성 시험 결과 성상은 적합하였고 유산균수 기준이상으로 적합하였고 대장균군도 음성으로 적합하였음. 실험을 이어서 진행하여 안정성 여부를 정확하게 확인하고 유산균수 결과에 따라 Arrhenius 식으로부터 유통기한을 산출할 예정(Table 47)
- 스틱포에 포장한 제품의 보존력 테스트 결과 안정성이 보증되는 유산균 생존률을 보였음

Table 47. 스틱포 기술의 보존실험 결과

보존 온도	구분	기준규격	보존일수(month)							
			0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	
25°C	성상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합



	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2160	2120	2080	2015	1921	1995	1962
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
32.5℃	성상	미황색 의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2130	-	2033	-	1925	-	1893
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
40℃	성상	미황색 의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 ( $\times 10^7$ cfu/g)	100이상	2221	-	2090	-	1899	-	1733
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성

▶ 시제품 표준규격 설정 및 시제품 제조

• 개발 유산균주의 대량생산공정 검토

- 연구과제 수행결과 개발된 유산균 3종인 *Lactobacillus salivarius* V4, *Lactobacillus plantarum* V7, *Lactobacillus paracasei* DKIH1의 대량생산을 위해 유산균 대량 scale-up을 진행하였으며, 제품화를 위한 후배합 공정을 거쳐 대량생산공정을 확립하였음

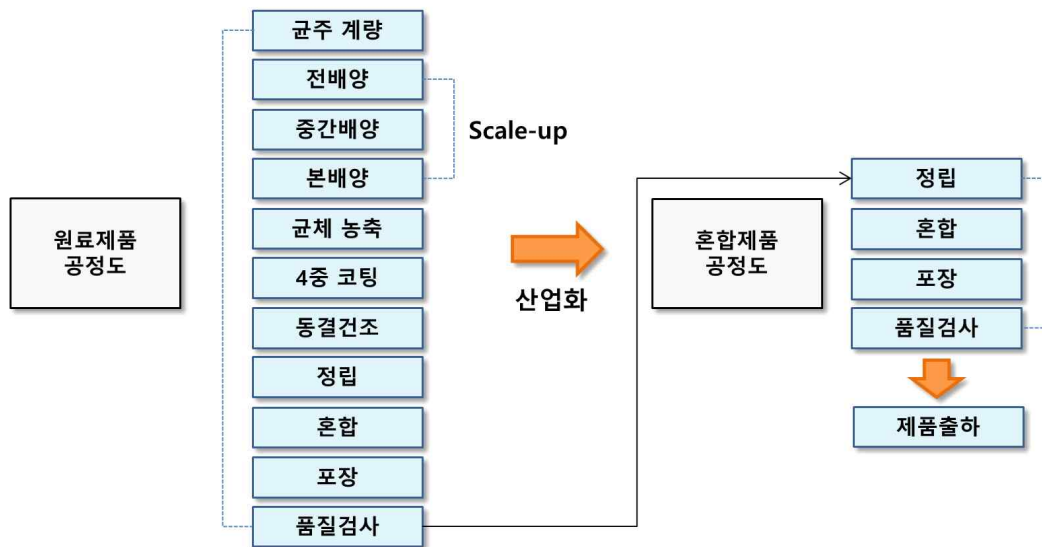


Fig. 52. 개발 유산균의 대량생산 공정도

- 연구과제 수행기간 내에 개발된 김치유래 1종 및 인체유래 유산균주 2종의 경우, scale-up 과정 중의 가공비가 자사가 공급하는 7종 프리바이오틱스 혼합품 대비 단가가 약 15배/kg 정도 차이 나는 것으로 확인됨. 따라서, 시제품 제작에는 자사가 현재 검토 중인 7종 프리바이오틱스와 개

발균주 3종을 모두 검토하여 시생산 진행하였음.

- 향후 제품화를 위해서는 원가설정에 따라 판매가격에 직접적으로 영향을 미치기 때문에(배합량 1-2%/2 g당), 유산균scale-up 대량생산 공정시, 공정 단가가 예상가보다 높게 책정되어 원료로서 가격 경쟁력이 약해 적용 불가하여 당장에 신제품에는 개발균주만을 활용한 유산균으로 완제품 보장균수를 제품화 할 수 없으나, 현재 자사 제품에 사용되는 일동프로바이오틱스-7에 일부 배합하는 방안으로 수출을 위한 컨셉안에 적용 가능할 것으로 판단됨
- 따라서, 3종의 개발 유산균주를 포함한 시제품의 품질규격은 반영하였으나, 신제품 출시는 기존 자사에서 수급하는 일동프로바이오틱스-7로 신제품을 우선 출시하며, 향후 수출 제품으로는 본 연구과제 궁극목표인 동남아인(베트남)을 위해 기존 자사 적용 균주에 개발 유산균주를 포함한 신제품으로 수출을 진행하고자 함

Table 48. 개발 유산균 3종에 대한 대량생산 공정 단가 및 프로바이오틱스 제품 규격서

품목	<i>Lactobacillus salivarius</i> LS IDF1	<i>Lactobacillus planratum</i> LP IDF2	<i>Lactobacillus paracasei</i> LPA IDF3	일동프로바이오틱스-7
단가	약 6,000,000원/kg (VAT 별도)	약 6,000,000원/kg (VAT 별도)	약 6,000,000원/kg (VAT 별도)	약 400,000원/kg (VAT 별도)
성상	이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 미황색의 분말			
프로바이오틱스 수	1,000억 CUF/g 이상			
*안전율 적용가	120원/ stick			8원/stick
대장균군 수분	음성	음성	음성	음성
활성도	0.15 이하	0.15 이하	0.15 이하	0.15 이하

안전율 적용가 : stick 단가 내 프로바이오틱스 단가이며, 원·부자재 미포함 가격임

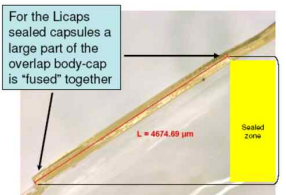
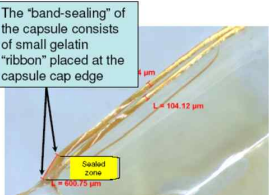
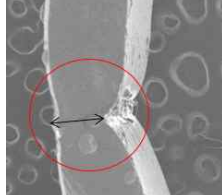
- 2차년도 주관연구기관에서 검토한 연질캡슐을 이용한 대량생산 공정 검토 중 향후 수출 타겟 국가가 동남아지역인 것을 고려할 때, 유산균의 특성상 온도·습도 등 환경에 민감하여 경질캡슐 제형을 검토하여 제품화 적용 가능성을 탐색함
- 유산균 액상캡슐(Liquid-Filled capsules)을 이용한 대량생산 공정

Table 49. 유산균 액상캡슐(Liquid-Filled capsules) 컨셉안

유산균 액상캡슐 컨셉안 (Liquie-Filled capsules)	내용
• 하드캡슐 + Liquid 형태	✓ 생산라인이 기존 연질캡슐과 비교하여 <b>단순하고 청결하며</b>

<ul style="list-style-type: none"> <li>기존 연질캡슐 내용액 충전가능</li> <li>생산성 업그레이드</li> <li>액상 하드캡슐(banding) 충전방식 업그레이드</li> </ul>	<p><b>생산효율이 높아 품질관리에 용이</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 프리미엄 연질캡슐 타입으로 제형화, 신제품 출시가 가능</li> <li>✓ 기존 Band sealing과 비교하여 충전 후 내구성, 유통 안정성이 높음</li> <li>✓ 불필요한 오일 첨가 없이 신소재 농축물 등 제형화 가능 → 홍삼농축액, 강황농축액, 프리미엄 오일 등</li> <li>✓ 캡슐 space 질소치환으로 내용액 안정성 향상 → 정제어유 함유(DHA 등) 함유 제품 관능 개선 가능</li> <li>✓ 냄새, 맛의 차폐로 소재 적용 다양성 향상</li> <li>✓ 식물성 소재 캡슐 사용 가능</li> <li>✓ Gelatin 반응에 의한 봉해 지연 문제 해결</li> </ul>
--	--

Table 50. 기 제품제형과 유산균 공정기술 비교표

	액상캡슐(개발제품)	실링캡슐	연질캡슐
내용물	Liquid, Oil, Suspension	Liquid, Oil, Suspension	Liquid, Oil, Suspension
부형제	Flexible excipient options	Flexible excipient options	Limited excipient options
생산공정	조제, 충전(실링), 건조, 검사	조제, 충전, Band sealing, 건조 검사	조제(피막, 내용물), 성형, 건조, 검사
특징	LEMS (Liquid Encapsulated Microsprary Sealing) 기술	Band sealing 기술	피막 조제과정 필요
안정성			

- 개발하고자 하는 액상캡슐의 LEMS(Liquid Encapsulated Microsprary Sealing) 기술 도입 시, 물과 에탄올을 캡슐의 캡과 바디사이에 분사하여 실링 되며, 실링면적이 기존의 밴딩 보다 크기 때문에 새어나오는 경우가 없음

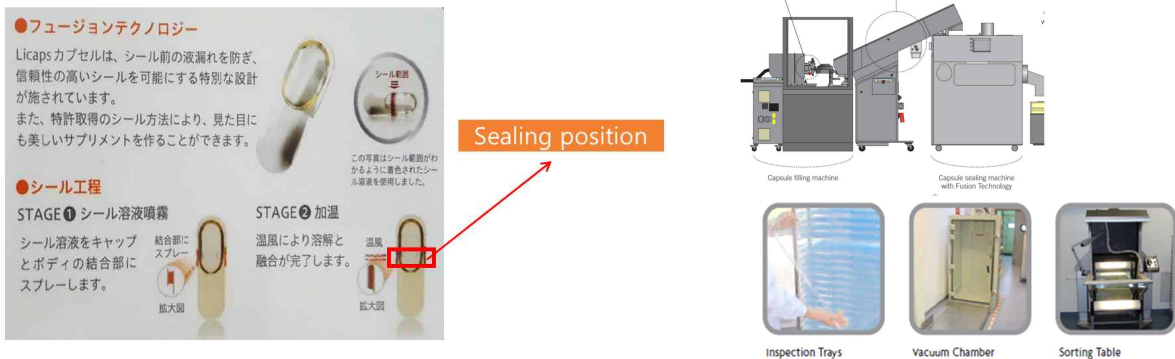


Fig. 53. 유산균 액상캡슐 실링(Sealing) 공정과정(도식화)

Table 51. 유산균 액상캡슐 실링(Sealing) 공정과정

단계	내용
1단계(Spraying)	실링액이 캡과 바디사이에 분사
2단계(Warming)	열풍(40 ℃이하)을 이용한 캡과 바디 실링(sealing)
3단계(Setting)	턴블러 건조(2~3 min) 및 트레이 정치(Over night)

- 제조공정과정은 혼합(Mixing)→충진(Filling)→실링(Sealing)→검사판정(Inspection)→포장(Packing) 순으로 단시간 제조가 가능하여 생산효율이 높음

Table 52. 유산균 액상캡슐 개발안

구분	내용	
기능성 소재	유산균(Probiotics)	
부원료	인지질	세포막 구성의 중요 성분으로 흡수율 고려
	올리브 오일	유산균 안정성 향상 및 불포화지방산 함유
	부아메라 오일	각푸룻(God's fruit)로 최신 연구된 항산화 오일
제품 차별화	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기존 Drop 제품 대비 정량 및 균질화된 제품 섭취 가능</li> <li>- 유산균 안정성 확보</li> <li>- 항산화 오일 및 프리미엄 오일 배합으로 영양성분 함유</li> <li>- 식물유래 캡슐 사용</li> <li>- 캡슐 space 질소충전으로 산소와의 접촉 차단(유산균 안정성 확보)</li> </ul>	
컨셉안	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 국내최초 액상 유산균 캡슐</li> <li>✓ 프로바이오틱스 100억/1일(720 mg), 비타민A 230 ugRE(RDA 33%), 비타민D 10 ug(RDA 100%), 비타민E 3.3 mgα-TE(RDA 30%)</li> </ul>	

Table 53. 유산균 액상캡슐 제조방법 설명서

제품명	인헬씨 캡슐유산균
원료 및 성분함량	일동 프로바이오틱스-7(일동 락토바실루스 람노서스IDCC 3201, 일동 락타바실루스 카세이 IDCC 3451, 일동 엔테로코커스 페시움 IDCC 2102, 일동 락토바실루스 가세리 IDCC 3101, 일동 락토바실루스 루테리 IDCC 3701, 일동 비피도박테리움 락티스 IDCC 4301, 일동 비피도박테리움 롱검 IDCC 4101), 비타민A (비타민E, 레티널 팔미트산염, 땅콩오일), 비타민D3 혼합제제유지(비타민D3, 비타민E, 중쇄중성지방유), 비타민E 혼합제제분말( d-a-토코페롤, 콩기름),식물성스타놀에스테르(핀란드), 포스파티딜세린[포스파티딜세린(고시형,미국산),가공유지(말레이시아산)], 올리브유[압착올리브유(스페인산), d-토코페롤(혼합형)], 생깃기름, 난황레시틴(고시형), 부아메라오일, 프락토올리고당
섭취방법	1일 1회, 1회 2캡슐을 충분한 물과 함께 섭취하십시오.
섭취 시 주의 사항	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 질환이 있거나 의약품 복용 시 전문가와 상담하십시오.</li> <li>✓ 알레르기 체질 등은 개인에 따라 과민반응을 나타낼 수 있습니다.</li> <li>✓ 어린이가 함부로 섭취하지 않도록 일일섭취량 방법을 지도하십시오.</li> <li>✓ 이상사례 발생 시 섭취를 중단하고 전문가와 상담하십시오.</li> <li>✓ 섭취 전 제품에 이상이 있는 경우 섭취를 금하십시오.</li> <li>✓ 제품 개봉 시 포장재에 의해 상처를 입을 위험이 있으니 주의하십시오.</li> <li>✓ 내용물이 분리될 수 있으나 품질에는 이상이 없으므로 안심하고 드십시오.</li> </ul>
포장방법	캡슐포장(질소충전)
포장단위	21.6 g (360 mg × 60캡슐)
포장재질	PVC, AL-roil(알미늄)
성상	이미, 이취가 없고 고유의 향미가 나는 주황색 내용물을 함유한 경질캡슐
기능성내용	프로바이오틱스   ① 유산균 증식 및 유해균 억제에 도움을 줄 수 있음

		② 배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음
	비타민A	① 어두운 곳에서 시각 적응을 위해 필요 ② 피부와 점막을 형성하고 기능을 유지하는데 필요 ③ 상피세포의 성장과 발달에 필요
	비타민D	① 칼슘과 인이 흡수되고 이용되는데 필요 ② 뼈의 형성과 유지에 필요 ③ 골다공증발생 위험 감소에 도움을 줌
	비타민E	① 유해산소로부터 세포를 보호하는데 필요
제조방법	원료검사	식품 기준 및 규격에 적합한 원료를 사용한다.
	칭량	기준규격에 적합한 원료를 전자저울을 이용하여 제품의 배합 비율에 따라 정확하게 칭량한다.
	원료가열	난황레시틴을 가열하여 페이스트화 하고, Stanol도 따로 가열하여 오일의 상태로 만든다.
	혼합1	포스파티딜세린, 생깃기름, 부아메라오일을 조제탱크에서 혼합하고, 여기에 가열한 난황레시틴과 stanol을 혼합하여 교반한다.
	혼합2	혼합1을 상온까지 냉각하여 배산시킨 원료를 혼합하여 교반한다.
	혼합3	혼합2에 유산균분말을 몽치지 않도록 조심하여 혼합한다.
	충전	혼합물을 내용량에 맞게 캡슐에 충전한다.
	선별	낮은 압력조건에서 캡슐의 leak를 테스트하고, 선별작업한다.
	포장	선별하여 적합한 캡슐을 포장한다.
	품질검사	완제품 기준규격에 적합한지 품질검사한다.
출하	품질시험을 통과한 적합한 완제품을 출하한다.	
기준규격	프로바이오틱스 함량(CFU)	10000000000(100억) CFU/ 720 mg 이상
	비타민A 함량(ug)	230 ugRE (RDA 33%)의 80~150%
	비타민D 함량(ug)	10 ug (RDA 100%)의 80~180%
	비타민E 함량(mga-TE)	3.3 mga-TE (RDA 30%)의 80~150%
	대장균균 봉해도	음성 물에서 20분 이내
	보존 및 유통기준	수분, 열에 의해 품질에 영향을 받을 수 있으므로 직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관하십시오.
유통기한	24개월	
기타	제조과정중 칭량~선별까지의 공정은 삼겹제약(주)에서 진행하며, 이후 포장~출하까지의 공정은 코스팜에서 진행할 수 있다. - 코스팜: 충청남도 천안시 서북구 새터길 156 성거읍, 건강기능식품 제조업 허가번호: 20182880236, GMP 인증번호: 20170025	

• 유산균 분말제제를 이용한 대량생산 공정 검토

- 유산균 분말제제의 경우, 자사 기 출시된 분말유산균제제(비오타민, 락토프라임Q)를 보완하여 원료검토 및 안정성을 확보하여 국내 판매용과 수출 판매용 2종으로 나누어 진행하였음. 또한, 자사 제조가 가능하여 향후 자사 춘천공장의 생산률 가동 증대에 기여할 것으로 판단됨.

Table 54. 유산균 분말제제 컨셉안

유산균 분말제제 컨셉안	내용
어린이 분말 유산균제제 (국내 판매용)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 장건강(프로바이오틱스) + 면역기능(아연) + 뼈건강(비타민D) + 유해 산소로부터 세포보호 기능(셀렌)</li> <li>✓ 7종 프로바이오틱스(일동바이오사이언스 4중코팅 특허기술)</li> <li>✓ 합성향료 無, 합성감미료 無</li> <li>✓ 프로바이오틱스 10억/1일(2 g), 비타민D 10ug(RDA 100%), 셀렌 55 ug(RDA 100%), 산화아연 8.5 mg(RDA 100%)</li> <li>✓ 타겟 : 어린이용</li> </ul>
수출용 분말 유산균제제 (수출용)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 베트남인 인체 유래 프로바이오틱스 3종</li> <li>✓ 7종 프로바이오틱스(일동바이오사이언스 4중코팅 특허기술)</li> <li>✓ 합성향료 無, 합성감미료 無</li> <li>✓ 프로바이오틱스 10억/1일(4 g), 비타민D 10ug(RDA 100%), 셀렌 27.5 ug(RDA 50%), 산화아연 4.25 mg(RDA 50%)</li> <li>✓ 타겟 : 영유아용</li> </ul>

Table 55. 유산균 분말제제 제조방법 설명서(어린이 분말 유산균제제\_국내 판매용)

제품명	후디스 생유산균 (가안)
원료 및 성분함량	일동 프로바이오틱스-7(일동 락토바실루스 람노서스IDCC 3201, 일동 락타바실루스 카세이 IDCC 3451, 일동 엔테로코커스 페시움 IDCC 2102, 일동 락토바실루스 가세리 IDCC 3101, 일동 락토바실루스 루테리 IDCC 3701, 일동 비피도박테리움 락티스 IDCC 4301, 일동 비피도박테리움 롱검 IDCC 4101), 락토바실루스 살리바리우스 LS IDF1, 락토바실루스 플라타룸 LP IDF2, 락토바실루스 파라카제이 LPA IDF3, 프락토올리고당, 갈락토올리고당, 초유단백분말, 프롤린, 산화아연, 셀렌(효모추출물), 비타민D3 혼합제제 분말(자당, 아라비아검, 전분, MCT유, 비타민D3, dl-α-토코페롤), 프롤린
섭취방법	1일 2회, 1회 1포를 그대로 또는 물이나 음료와 함께 섭취하시기 바랍니다.
섭취 시 주의 사항	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 본 제품은 섭취자의 신체상태에 따라 반응에 차이가 있을 수 있습니다.</li> <li>✓ 특이체질, 알레르기 체질의 경우에는 성분을 확인한 후 섭취 여부를 결정하십시오.</li> <li>✓ 어린이에게 섭취시키고자 하실 경우에는 보호자의 관찰 하에 섭취하도록 하십시오.</li> <li>✓ 필요 시 충분한 양의 물과 함께 섭취하십시오.</li> <li>✓ 분말 상태로 섭취할 때, 뭉칠 수 있으나 이는 올리고당 원료 고유의 성질로 제품에는 이상이 없으니 안심하고 드십시오.</li> <li>✓ 섭취량을 확인하신 후 섭취하십시오.</li> <li>✓ 제품 개봉 또는 섭취 시 포장재에 의해 상처를 입을 수 있으니 주의하시기 바랍니다.</li> <li>✓ 본 제품은 알류, 땅콩, 밀, 토마토, 복숭아, 호두, 돼지고기, 쇠고기, 잣을 사용한 제품과 같은 제조시설에서 제조하고 있습니다.</li> </ul>
포장방법	스틱포장(질소충전)
포장단위	120g (2 g × 60포)
포장재질	폴리에틸렌 (내포장재질)

성상	미백색 및 백색의 혼합분말	
기능성내용	프로바이오틱스	① 유산균 증식 및 유해균 억제에 도움을 줄 수 있음 ② 배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음
	아연	① 정상적인 면역기능에 필요 ② 정상적인 세포분열에 필요
	비타민D	① 칼슘과 인이 흡수되고 이용되는데 필요 ② 뼈의 형성과 유지에 필요 ③ 골다공증발생 위험 감소에 도움을 줌
	셀렌	① 유해산소로부터 세포를 보호하는데 필요
제조방법	<p>(1) 원료: 건강기능식품공전, 식품공전 및 식품첨가물공전의 기준 및 규격에 적합한 원료를 구입한다.</p> <p>(2) 원료의 검체 채취 및 검사: 검체 채취 및 보관에 관한 규정에 따라 시험검체를 채취하여 품질검사실에서 당해 시험항목(외관 및 물리적, 미생물학적, 화학적 시험)에 대한 품질검사를 실시한다.</p> <p>(3) 칭량: 품질검사에 적합한 원료를 전자저울을 사용하여 정밀하게 각각 칭량한다.</p> <p>(4) 내용물 제조: 칭량한 원료 중 프락토올리고당, 갈락토올리고당, 초유단백분말, 프롤린을 투입하여 혼합교반한다.</p> <p>(5) 과립 조건에 맞추어 과립을 실시한다.</p> <p>(6) 후배합: 칭량한 원료 중 일동프로바이오틱스-7, 락토바실루스 살리바리우스 LS IDF1, 락토바실루스 플란타륨 LP IDF2, 락토바실루스 파라카제이 LPA IDF3 산화아연, 셀렌(효모추출물), 비타민D(효모추출물)을 투입하여 혼합교반한다.</p> <p>(7) 내용물의 공정검사: 제조된 내용물의 성상, 수분, 부피, 미립자, 이물을 검사한다.</p> <p>(8) 충전: 스틱 충전 포장기기를 이용하여 내용물을 1스틱당 2 g으로 중량을 맞추어 충전, 질소 충전한다.</p> <p>(9) 선별 및 포장: 중량 및 불량선별은 자동선별기를 통과시켜 선별하여 포장한다.</p> <p>(10) 품질검사 및 출하: 제품의 기준 및 규격에 따라 품질검사를 실시하여 적합한 제품만을 출하한다.</p>	
기준규격	<p>(1) 성상: 미백색 및 백색의 혼합분말</p> <p>(2) 프로바이오틱스 함량(CFU): 1,000,000,000 CFU/4,000 mg 이상</p> <p>(3) 비타민D 함량(ug): 10 ug/4,000 mg (RDA 100%)의 80~180%</p> <p>(4) 아연의 함량(mg): 4.25 mg/4,000 mg (RDA 50%)의 80~150%</p> <p>(5) 셀렌의 함량(ug): 27.5 ug/4,000 mg (RDA 50%)의 80~150%</p> <p>(6) 대장균군: 음성</p>	
보존 및 유통기준	<p>✓ 직사광선이나 고온 다습한 곳을 피하여 청결하고 서늘한 곳에 뚜껑을 잘 닫아 보관하십시오.</p> <p>✓ 영유아 및 어린이의 손에 닿지 않는 곳에 보관하십시오.</p> <p>✓ 잘못된 사용 및 남용을 피하고 품질 보존을 위해 다른 용기에 넣지 마십시오.</p> <p>✓ 본 제품은 살아있는 생균이 들어 있으므로 냉장 보관하시면 더욱 좋습니다.</p>	
유통기한	제조일로부터 18개월	
기타	1일 2회, 1회당 1포	





Fig. 55. 유산균 액상캡슐 시험·검사성적서(의뢰: 한국식품과학연구원)

발급번호 : 1TRK-GJL-L125-K98K-1202

제 2017282014943 호

**건강기능식품 품목제조신고증**

○ 영업허가(번호) : 제 20172020149 호

○ 업 소 명 : 삼성제약(주)

○ 소 재 지 : 경기도 화성시 재약공단2길 35 삼성제약(주)

○ 영업의 종류 : 건강기능식품제조업

○ 제 품 명 : 인빌씨 캡슐유산균 (유형: 프롤바이옵스, 비타인A.) 비타인D, 비타인E

제조방법·원료나 성분의 명칭과 함량·제품의 형태·기준과 규격 : (뒤쪽 작성)  
 「건강기능식품에 관한 법률」 제7조와 같은 법 시행규칙 제8조에 따라 건강기능식품품목제조신고를 수리합니다.

2018년 12월 27일

경인지방식품의약품안전청

발급번호 : 1TRK-GJL-L125-K98K-1202

제품명	인빌씨 캡슐유산균
상처방법	1.용, 1.8: 2.용, 1.8: 2.용을 혼합한 분말을 용해, 성형하십시오.
상처 시 주의사항	
포장방법	PTP포장, 별도포장(내면 PET포장)
포장단위	580 mg X 1-300
포장재료	PVC + Al-foil, HDPE, PE
성상	이비, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 주황색 내용물을 함유한 경질캡슐
가능성내역	프롤바이옵스: ①유산균 종식 및 유해균 억제에 도움됨 비타인A: ①비타민 B12를 보충할 수 있음 ②지방산 합성을 통한 콜레스테롤 수치를 낮출 수 있음 비타인D: ①칼슘 흡수를 도와 뼈 건강을 증진시킴 비타인E: ①항산화 작용을 통해 노화를 예방함 ②피부 건강을 증진시킴

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 사용안전정보포털(<http://www.foodsafekorea.go.kr>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 사용안전정보포털(<http://www.foodsafekorea.go.kr>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

발급번호 : 1TRK-GJL-L125-K98K-1202

제조방법

원료조사: 식품 기준 및 규격에 적합한 원료를 사용한다.

포장: 기준규격에 적합한 용량의 건조재료를 이용하여 제품의 레팅비율에 따라 정확하게 포장한다.

제조방법: 난황리시한을 가열하여 웨이스트와 후고, Stano도, 건조 가열하여 오일과 당류로 만든다.

혼합: 프롤바이옵스, 생착기, 비타인A, 비타인D, 비타인E를 혼합하여 제조한다. 여기에 가열한 프롤바이옵스, 생착기, 비타인A, 비타인D, 비타인E를 혼합하여 제조한다.

분쇄: 분쇄기에 분쇄하여 분쇄한다.

혼합: 혼합기에 프롤바이옵스, 생착기, 비타인A, 비타인D, 비타인E를 혼합하여 제조한다.

성형: 분쇄된 혼합물을 성형기에 투입하여 성형한다.

포장: 성형된 캡슐을 포장한다.

품질관리: 원재료 기준규격에 적합한 원재료를 사용한다.

출력: 품질시험을 통과한 제품을 출하한다.

제조공정 중 원료·성형 장치의 운영은 삼성제약(주)에서 진행한다. 이후 포장-출하 과정의 운영은 제조사에서 진행한다.

-크스양: 송형남도 전주시 서북구 새터길 156 송기름, 건강기능식품 제조업 허가번호: 20172898236, GMP인증번호: 20173025

발급번호 : 1TRK-GJL-L125-K98K-1202

제품의 형태	캡슐
기준과 규격	1. 성상: 이비, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 주황색 내용물을 함유한 경질캡슐 2. 프롤바이옵스: 수: 10억 CFU(10,000,000,000 CFU/720mg) 이상 3. 비타인 A: 표시량(200 µg/720mg)의 80~150% 4. 비타인 D: 표시량(10 µg/720mg)의 80~150% 5. 비타인 E: 표시량(30 mg/720mg)의 80~150% 6. 당류: 용량 20% 이내 7. 향미: 용량 20% 이내
보존 및 유통기준	수분, 불이 의해 품질이 영향을 받을 수 있으므로 적사양을 위해 서늘한 곳에 보관하십시오.
유통기간	24개월
기타	제조공정 중 원료·성형 장치의 운영은 삼성제약(주)에서 진행한다. 이후 포장-출하 과정의 운영은 제조사에서 진행한다. 수: 10억 CFU(10,000,000,000 CFU/720mg) 이상, 프롤바이옵스 수: 10억 CFU(10,000,000,000 CFU/720mg) 이상, 비타인 A: 표시량(200 µg/720mg)의 80~150%, 비타인 D: 표시량(10 µg/720mg)의 80~150%, 비타인 E: 표시량(30 mg/720mg)의 80~150%, 당류: 용량 20% 이내, 향미: 용량 20% 이내

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 사용안전정보포털(<http://www.foodsafekorea.go.kr>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 사용안전정보포털(<http://www.foodsafekorea.go.kr>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

Fig. 56. 유산균 액상캡슐 건강기능식품 품목제조신고증

• 시제품 제조

- 유산균 액상캡슐 시제품 생산을 위해 유산균 액상캡슐 제조방법 설명서를 통한 시제품 생산을 진행하였음. 제조는 (주)삼성제약(GMP인증)에서 진행하였으며, 포장재료는 PVC(PTP), Al-foil(알미늄)으로 진행하였음

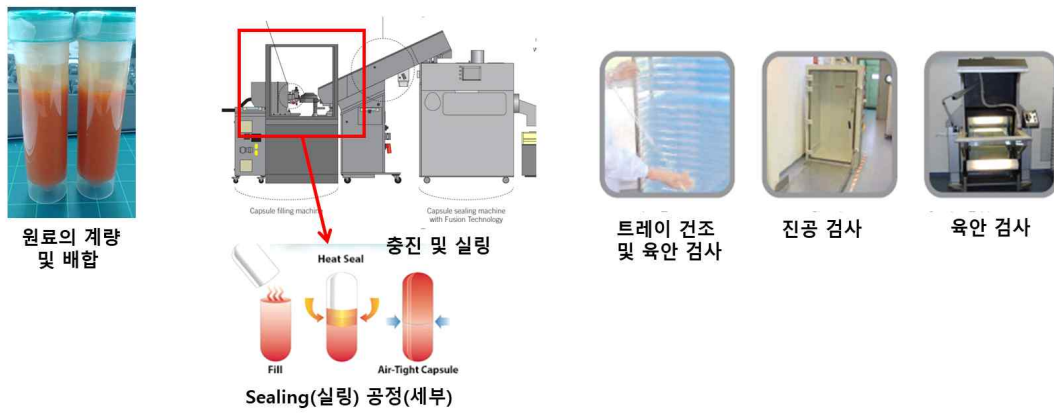


Fig. 57. 유산균 액상캡슐 생산공정 프로세스



Fig. 58. 유산균 액상캡슐 시제품

- 유산균 분말제제 시제품 생산을 위해 자사 춘천공장에서 제조 방법 설명서를 통한 시제품 생산을 진행하였음. 초기 시제품 생산에는 본생산물 공정 batch당 400 kg임을 감안하여 pilot-test 수준인 100 kg를 50 kg로 두 번 나누어 진행하고, 무지롤지에 이지컷(eazy-cut)으로 포장진행 하였음.



Fig. 59. 유산균 분말제제 생산공정 프로세스

Table 56. 과립테스트 규격 측정

구분	배합테스트-1	배합테스트-2	배합테스트-3
수분(%)	1.7	2.71	2.56
부피(BD)	1.83(0.55)	2.44(0.41)	2.38(0.42)
미립자(g)	70.6	70	77.3

- 유산균 분말제제의 배합테스트 중 기능성 원료와 함께 과립 진행하였을 때, 기능성 영양성분 분석치가 투입량대비(영양소 계획 대비 130%이상 투입) 손실이 발생하여 기존에 설계하였던 영양성분기준치에 도달하지 못함. 따라서, 유산균을 투입하는 과정인 후배합 과정에 기능성 원료(비타민D, 셀렌, 아연 등)를 투입 진행하였음.



Fig. 60. 유산균 분말제제 시제품

▶ 시제품 보존검사 및 관능검사 실시

• 시제품 보존검사

(1) 포장재 검토

- 유산균 액상캡슐 포장재 검토를 위해 '산소차단, 안정성, 프리미엄' 등의 키워드를 중심으로 멀

티팩, PTP(필로우백), 알루미늄 용기 등을 검토하였으며, 최신 제약 및 캡슐형 유산균 포장재 동향과, 원가 절감등을 고려하여 PTP(필로우백) 포장재(가로 x 세로 x 높이 = 67 mm × 45 mm × 105 mm)로 출시하고자 함.

- 멀티팩과 알루미늄 용기는 현재, 일본에서 많이 사용되는 포장재로 현재까지는 국내에 인지도가 낮고 안정성, 최신 동향, 휴대성, 부자재비용등에 적합하지 않음. 향후, 유산균 안정성과 마케팅 소구점을 활용하여 최신 트렌드에 부합한다면 멀티팩과 알루미늄 용기도 검토할 수 있음.



Fig. 61. 유산균 액상캡슐의 포장재 검토

- 유산균 분말제제의 경우, 타겟제품인 베이비 생유산균(파스퇴르) 기준으로 자사 포장설비가 구축하고 있는 규격으로 폴리에틸렌(내포장재질)로(가로 x 세로 = 24 mm × 100 mm) 출시하고자 함.



Fig. 62. 유산균 분말제제의 포장재 검토(오른쪽)

## (2) 시제품 보존검사

- 유산균 액상캡슐의 원료별 안정성 테스트를 위해 삼성제약에서 시생산을 진행하였으며, 유산균 경질캡슐(대조군), 유산균 액상캡슐(올리브오일, 시험군1), 유산균 액상캡슐(해바라기 MCT오일,

시험군2) 총 세 종류로 제조하여 각 원료별 저장 안정성 테스트를 진행함.

- 안정성 테스트에는 수출타겟국(동남아 국가)임을 고려하여, 온도별(1, 20, 30, 35 °C)과 습도조건 (30 °C, 75%RH)을 12-16주간 테스트 진행하였으며 시험 결과 목표균수인 100억 CFU/2 cap에 모두 적합함을 확인하였음

Table 57. 유산균 액상캡슐 안정성 테스트 시험방법

온도조건	1 °C, 20 °C, 30 °C 75%RH, 35 °C
샘플조건	PTP, pillow 백 충전(협기조건)
측정법	- BCP 배지의 락토바실러스 유산균수 측정법 - TOS-MUP 배지의 비피더스 유산균 측정법 → 유산균 시험법에 따라, BCP배지와 TOS-MUP배지의 유산균, 비피더스수를 합하여 산정
시험준비	각 샘플 3종(대조군, 시험군1, 시험군2), BCP, TOS-MUP, Supplement, 0.85% NaCl
시험방법	1) 지퍼팩에 각 샘플 28 캡슐(10 g)과 55 °C이하의 0.85% NaCl을 넣고 스토마커로 2분간 혼합 2) 1 g(무게기준) 칭량 후 십진희석 실시 3) BCP 배지 및 Supplement 첨가 TOS-MUP 배지 pouring 4) 37 °C 인큐베이터 24±12 시간 배양 5) 카운팅 및 캡슐당 프로바이오틱스수 환산



Fig. 63. 유산균 경질·액상캡슐의 보존테스트 결과

Table 58. 유산균 경질캡슐(대조군) 보존테스트 결과

날짜		유산균 (CFU/g)	비피더스 (CFU/g)	캡슐당 (/cap)	판정
initial		310억	63억	134.7억	적합
1주차	냉장	260억	25억	102.9억	적합
	상온	410억	22억	156억	적합
	챔버	320억	9억	188.8억	적합
2주차	냉장	260억	90억	126.4억	적합
	상온	223억	27억	90.3억	적합
	챔버	360억	8억	132.9억	적합
3주차	냉장	270억	25억	106억	적합
	상온	226억	14억	87억	적합
	챔버	230억	3억	87.5억	적합

4주차	냉장	236억	29억	95.7억	적합
	상온	206억	8억	77.3억	적합
	챔버	199억	2억	72.6억	적합
5주차	냉장	253억	27억	101.1억	적합
	상온	203억	14억	78.3억	적합
	챔버	188억	2억	68.6억	적합
6주차	냉장	220억	25억	88.4억	적합
	상온	193억	13억	74.4억	적합
	챔버	198억	3억	72.6억	적합
7주차	냉장	29억	92.4억	92.4억	적합
	상온	11억	94.2억	94.2억	적합
	챔버	1억	68.6억	68.6억	적합
8주차	냉장	26억	98.2억	98.2억	적합
	상온	11억	81.6억	81.6억	적합
	챔버	0.9억	69.3억	69.3억	적합
9주차	냉장	23억	85.2억	85.2억	적합
	상온	10억	75.8억	75.8억	적합
	챔버	0.3억	70.5억	70.5억	적합
10주차	냉장	25억	89.2억	89.2억	적합
	상온	10억	69.7억	69.7억	적합
	챔버	2억	61.4억	61.4억	적합
11주차	냉장	25억	86.3억	86.3억	적합
	상온	10억	69.7억	69.7억	적합
	챔버	0.8억	56.2억	56.2억	적합
12주차	냉장	27억	102억	102억	적합
	상온	10억	68.2억	68.2억	적합
	챔버	0.3억	64.7억	64.7억	적합
13주차	냉장	26억	89.7억	89.7억	적합
	상온	11억	72.2억	72.2억	적합
	챔버	0.1억	67.9억	67.9억	적합
14주차	냉장	212억	27억	86.3억	적합
	상온	183억	10억	69.7억	적합
	챔버	146억	0.5억	52.9억	적합
15주차	냉장	234억	27억	94.2억	적합
	상온	185억	10억	70.4억	적합
	챔버	151억	N.C	54.5억	적합

Table 59. 유산균 액상캡슐(해바라기오일, 시험군1) 보존테스트 결과

날짜		유산균 (CFU/g)	비피더스 (CFU/g)	캡슐당 (/cap)	판정
initial		290억	56억	124.9억	적합
1주차	냉장	186억	26억	76.5억	적합
	상온	243억	26억	97.1억	적합
	챔버	220억	8억	82.3억	적합
2주차	냉장	273억	35억	111.2억	적합
	상온	303억	30억	120.2억	적합
	챔버	220억	9억	82.7억	적합
3주차	냉장	303억	25억	188.4억	적합
	상온	288억	14억	109억	적합
	챔버	233억	8억	87억	적합
4주차	냉장	238억	30억	96.8억	적합
	상온	215억	13억	82.3억	적합
	챔버	200억	5억	74억	적합

5주차	냉장	252억	30억	101.8억	적합
	상온	225억	14억	86.3억	적합
	챔버	194억	7억	72.6억	적합
6주차	냉장	279억	44억	116.6억	적합
	상온	244억	19억	94.9억	적합
	챔버	200억	7억	74.7억	적합
7주차	냉장	254억	30억	102.5억	적합
	상온	215억	16억	83.4억	적합
	챔버	183억	5억	67.9억	적합
8주차	냉장	257억	31억	104억	적합
	상온	226억	11억	85.6억	적합
	챔버	200억	0.4억	72.2억	적합
9주차	냉장	237억	28억	95.7억	적합
	상온	200억	11억	76.2억	적합
	챔버	177억	2억	644.6억	적합
10주차	냉장	219억	29억	89.5억	적합
	상온	185억	12억	71.1억	적합
	챔버	163억	2억	59.6억	적합
11주차	냉장	216억	32억	89.5억	적합
	상온	206억	12억	78.7억	적합
	챔버	171억	0.2억	61.8억	적합
12주차	냉장	251억	31억	101.8억	적합
	상온	210억	11억	79.8억	적합
	챔버	182억	2억	66.4억	적합
13주차	냉장	233억	29억	94.6억	적합
	상온	196억	11억	74.4억	적합
	챔버	178억	2억	64.6억	적합
14주차	냉장	125억	20억	52.3억	적합
	상온	186억	16억	72.9억	적합
	챔버	139억	0.8억	50.5억	적합
15주차	냉장	214억	28억	87.4억	적합
	상온	196억	13억	75.5억	적합
	챔버	164억	0.7억	59.5억	적합

Table 60. 유산균 경질캡슐(올리브오일, 시험군2) 보존테스트 결과

날짜		유산균 (CFU/g)	비피더스 (CFU/g)	캡슐당 (/cap)	판정
initial		280억	40억	115.5억	적합
1주차	냉장	200억	22억	80.1억	적합
	상온	210억	21억	83.4억	적합
	챔버	237억	8억	88.4억	적합
2주차	냉장	313억	30억	123.8억	적합
	상온	240억	22억	94.6억	적합
	챔버	287억	6억	105.8억	적합
3주차	냉장	303억	20억	166.6억	적합
	상온	347억	11억	129억	적합
	챔버	311억	0.2억	112.3억	적합
4주차	냉장	221억	22억	87.7억	적합
	상온	220억	10억	83억	적합
	챔버	240억	3억	87.7억	적합
5주차	냉장	233억	29억	94.6억	적합
	상온	218억	14억	83.8억	적합
	챔버	181억	5억	67.1억	적합

6주차	냉장	219억	31억	90.3억	적합
	상온	212억	12억	80.9억	적합
	캡버	203억	2억	74억	적합
7주차	냉장	239억	26억	95.7억	적합
	상온	189억	11억	72.2억	적합
	캡버	168억	2억	61.4억	적합
8주차	냉장	271억	30억	108.7억	적합
	상온	212억	12억	80.9억	적합
	캡버	155억	2억	56.7억	적합
9주차	냉장	218억	28억	88.8억	적합
	상온	192억	11억	73.3억	적합
	캡버	156억	2억	57.0억	적합
10주차	냉장	217억	29억	88.8억	적합
	상온	162억	11억	62.5억	적합
	캡버	153억	2억	56억	적합
11주차	냉장	201억	26억	81.9억	적합
	상온	196억	11억	74.7억	적합
	캡버	160억	4억	59.2억	적합
12주차	냉장	229억	28억	92.8억	적합
	상온	189억	12억	72.6억	적합
	캡버	185억	2억	67.5억	적합
13주차	냉장	228억	29억	92.8억	적합
	상온	198억	10억	75.1억	적합
	캡버	181억	0.5억	65.5억	적합
14주차	냉장	208억	24억	83.8억	적합
	상온	173억	8억	65.3억	적합
	캡버	146억	0.3억	54.8억	적합
15주차	냉장	191억	27억	78.7억	적합
	상온	160억	10억	61.4억	적합
	캡버	144억	0.3억	52.1억	적합

- 본 실험은 주관연구기관과 삼성제약에서 동시에 진행되었으며, 결과를 종합한결과 모든군에서 약 3개월 동안 안정성 시험 결과 정상 적합, 유산균수 기준치 이상으로 적합하였고, 유통기한설정을 위해 두 기관 데이터를 합산한 유산균수 결과에 따라 Arrhenius 식으로 산정한 결과 기존 유통기한 설정(24개월)에 적합하였음
- 또한, 기존 분말·경질캡슐의 경우 유산균수 보장을 위해 투입량이 약 10배인 것에 비해 본 개발 제품은 약 2.5배 정도 투입했을 시에도 유통기한 목표치인 24개월에 도달하므로, 원재료 단가 확보에 산업적으로도 유리하게 작용함
- 결과적으로, 시제품인 유산균 경질·액상캡슐의 보존테스트 결과 시중 제품인 경질캡슐 대비 안정성이 떨어지지 않으며, 상업화 가능성을 확인하였음. 또한, 본 개발제품인 액상캡슐 제제로 진행될 경우 향후 신소재 농축물 등 제형화가 가능하여 자사 건강기능식품 출시에 SKU 확대 컨셉으로 유리할 것으로 판단하여 최종 캡슐 제품을 액상캡슐로 개발하고자 함
- 유산균 분말제제의 온도별 안정성 테스트를 위해 자사 춘천공장에서 2종에 대한 배합테스트용 시생산을 진행하였음

Table 61. 유산균 분말제제 안정성 테스트 시험방법



온도조건	4 °C, 25 °C, 35 °C, 45 °C
샘플조건	폴리에틸렌(내포장재질)
측정법	- BCP 배지의 락토바실러스 유산균수 측정법 - TOS-MUP 배지의 비피더스 유산균 측정법 → 유산균 시험법에 따라, BCP배지와 TOS-MUP배지의 유산균, 비피더스수를 합하여 산정
시험준비	각 샘플 2종(자사 기존품(대조균), 개발 유산균 분말제제 제품(시험균)), BCP, TOS-MUP, Supplement, 0.85% NaCl
시험방법	1) 지퍼팩에 각 샘플 10 g과 55 °C이하의 0.85% NaCl을 넣고 스토마커로 2분 간 혼합 2) 1 g(무게기준) 칭량 후 십진희석 실시 3) BCP 배지 및 Supplement 첨가 TOS-MUP 배지 pouring 4) 37 °C 인큐베이터 24±12 시간 배양 5) 카운팅 및 캡슐당 프로바이오틱스수 환산

Table 62. 개발 유산균 분말제제 보존시험 결과

보존 온도	구분	기준규격	보존일수(month)						
			0	0.5	1	1.5	2	2.5	3
4 °C	정상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 (5.0×10 <sup>8</sup> cfu/g)	10억/2g 이상	76억	75억	73억	71억	68억	64억	61억
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
25 °C	정상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 (5.0×10 <sup>8</sup> cfu/g)	10억/2g 이상	67억	64억	63억	61억	57억	53억	51억
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
35 °C	정상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 (5.0×10 <sup>8</sup> cfu/g)	10억/2g 이상	58억	56억	53억	48억	47억	43억	38억
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
45 °C	정상	미황색의 분말	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
	유산균수 (5.0×10 <sup>8</sup> cfu/g)	10억/2g 이상	45억	36억	32억	28억	26억	24억	14억
	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성

- 기존 자사 생산품인 '락토프라임큐Q 프로바이오틱스'과 비교하였을 때, 본 제품으로 설정한 규격에 적합하여 신제품 출시 가능성을 확인함. 또한, 배합테스트를 검토하였을 때, 건강기능식품 프락토올리고당 원료 사용시, 마케팅 소구점으로 건강기능식품원료(프락토올리고당)·복합기능성 등의 장점이 있음

- 시제품 관능검사

(1) 유산균 액상캡슐 관능검사 및 소비자조사 실시

- 유산균 액상캡슐의 관능적 검사(7점 척도법) 및 마케팅 활용을 위한 소비자 수용도조사를 위해 일동후디스에 재직중인 임직원 50명을 대상으로 개발제품과 경쟁제품과의 선호도 조사를 실시함. 7점 척도 평가에는 컨셉안을 고려하여 6가지(색상의 좋은 정도, 이취의 정도, 목넘김의 좋은 정도, 경도의 좋은 정도, 외관 좋은 정도, 전반적 기호도)를 7점 척도로 설정하였음

Table 63. 유산균 액상캡슐의 관능검사 및 수용도조사 준비

평가 준비	내용
패널	- 대상 : 일동후디스 재직중인 임직원 - 인원 : 50명
시료	- 유산균 액상캡슐(시제품), 유산균 경질캡슐(비교군) - 섭취방법 : 물과 함께 2캡슐 섭취 - 온도 : 상온(25 ℃ 내외), 물(5 ℃) - 시료 및 입가심물(정수) 제공
용기	- 이취를 일으키지 않는 투명 플라스틱컵(50 ml)
시점	- 시생산 직후의 시료는 금하며, 필로우백에 포장된 상태로 생산 후 7일 후 뜯어 PTP 형태로 2캡슐씩 소분하여 진행
제공순서	- 두 가지의 시료이므로 선호도 검사로 진행
표시	- 3자리 난수 적용(1, 4, 7 지양)
환경	- 밝고 쾌적하며 편안한 공간 - 관능검사 시료 세팅을 위한 블라인드 막 등 별도 공간 확보(접견실)
평가실시	- 평가 30분 이내에 물 이외의 음식물 섭취를 금함 - 시료 준비는 별도의 공간(접견실)에서 미리 준비함 - 시료에 관한 설명은 수용도조사를 통해 숙지하게 됨 - 평가지 및 수용도조사 제공 후, 시료와 물을 함께 제공하여 두 시료를 충분히 음용할 수 있게 함

해외시장 개척을 위한 유산균-정장제 개발 및 산업화

온가족 장건강 위한 유산균 액상캡슐

본 제품은 일동푸드스(주)와 단국대학교, 삼성서울병원이 공동으로 진행하는 연구를 통해 개발된 제품으로, 해외시장 개척을 위한 정장제 개발 컨셉의 유산균 액상캡슐입니다. 성분은 크게 두 가지 파트로 나누어져 있으나 아래와 같은 방법으로 평가해 주시길 바랍니다.

- Part I. 소비자조사 : 설문에 응답
- Part II. 관능평가 : 각 항목 당 7점 평점법

소중한 시간을 할애해 주셔서 대단히 감사합니다.

일동푸드스 연구소장 신연수  
단국대학교 동물자원학과 연구원 김다영  
삼성서울병원 연구원 장연실

전화번호 : 장진아 연구원 (010-9108-5127)  
이메일 주소 : 장진아 연구원 jinahmon@foods.com

※ 다음은 연구 참여자의 개인정보를 위한 설명문입니다.

본 연구의 참여로 귀하에게서 수집되는 개인정보는 다음과 같습니다. 이름, 나이에 대한 정보는 연구용 위해 5개월 후부터의 수집된 정보는 개인정보보호법에 따라 처리하겠습니다. 관련 정보는 일동푸드스 연구소장에게서 보편하여 연구책임자, 연구담당자만이 접근 가능합니다. 설문지를 통해 얻은 모든 개인 정보의 비밀 보장을 위해 최선을 다할 것입니다. 이 연구에서 얻어진 개인 정보가 학술회나 회의에 공개될 때 귀하의 이름과 다른 개인 정보는 사용하지 않을 것입니다.

그러나 만일 법이 요구하면 귀하의 개인 정보는 제공될 수도 있습니다. 또한 모니터 요원, 점검 요원, 일동푸드스 연구원들은 연구대상자의 비밀보장을 침해하지 않고 관련 규정이 정하는 범위 안에서 본 연구의 실시 절차와 자료의 신뢰성을 검증하기 위해 연구 절차를 직접 확인할 수 있습니다. 귀하가 본 동의서에 서명하는 것은 이러한 사항에 대하여 동의하고 있으며 이를 적용하고자 위주로 간주할 것입니다. 설문조사결과에 의하여 연구책임자는 연구 종료 후 연구대상자와 관련된 기록전사서류 포함을 연구가 종료된 시점부터 3년간 보관하여야 하며 이에 따라 자료는 연구가 종료된 시점부터 3년간 보관된 후 파기하는 방법으로 폐기될 것입니다.

Part I. 소비자 조사

1. 귀하의 나이는 어떻게 되십니까?  
① 20-28세    ② 29-37세    ③ 38-46세    ④ 47-55세    ⑤ 56-64세    ⑥ 65세 이상
2. 현재 가장 신경쓰이는 부분은 어떤 부분입니까? (복수선택 가능)  
① 장건강    ② 스트레스    ③ 빈뎀    ④ 영양    ⑤ 기타 ( )
3. 건강기능식품중에 특별히 선호하는 식품이 있으십니까?  
① 예    ② 아니오
4. 선호하는 건강기능식품이 있으시면 적어주세요.  
( )
5. 장 건강을 위한 식품이 있을 때 어떤 제품만을 가장 선호하십니까?  
① 일반 식품 (유제품)  
② 건강기능식품 (약 형태의 영양제)  
③ 일반의약품 (정장제)  
(선택 : 병원에서 진단을 받아 약국에서 구입하는 정장제)  
④ 기타 ( )
6. 다음은 현재 개발 중인 유산균 액상캡슐에 대한 설명입니다. 제품설명(컨셉보드)을 보시고 문항별 보기의 적도에 평가해 주십시오.

개발명	후디스 유산균 액상캡슐(가안)	
컨셉	- 국내최초 액상형 유산균 캡슐! - 국내 최초 프로바이오틱스 액상 캡슐 - 4종 프랑 유산균* 항산과 부아에라 소일 배합 - 프로바이오틱스, 비타민A, 비타민D, 비타민B 함유로 4종 복합 기능성 - 국내최대 함유량 100억 CFU - 대량 유산균 비피디스균 4종, 소장 유산균 락토바실러스 2종 등 3종 함유 - 일동프로바이오틱스-기밀용 락토바실러스 IDCC3201, 일동 락토바실러스 카세이 IDCC3451, 일동 열티로코쿠스 제시움 IDCC2102, 일동 락토바실러스 가세리 IDCC3101, 일동 락토바실러스 루테리 IDCC3701, 일동 비피도박테리움 락티스 IDCC4301, 일동 비피도박테리움 용밀 IDCC4101, 비타민A(레티놀) 필리프산염, 항산화제, 비타민B, 비타민D3 혼합제제유지 (후배증성기반유, 비타민D3, 비타민B, 비타민D 혼합제제분말(d-α-토코페롤, 풍기름), 식물스타놀레스테르(민달산), 포스파티딜세틴(미국산), 가공유지(일렉시시안), 올리브유(말착유리브유(스페인산), d-토코페롤(혼합형)), 맛기름, 난황레시틴, 부아에라소일, 프락토올리고당	
원재료명		
구분	그렇다	아니다
1. 이러한 제품은 나에게 필요하다.		
2. 이러한 제품이 출시되면 구매하고 싶다.		

7. 위 제품을 구매하신다면 얼마까지 지불할 의사가 있으십니까? (30일치 / 1 box)  
① 25,000-29,900원    ② 30,000-34,900원    ③ 35,000-39,900원    ④ 40,000원 이상
8. 장건강을 생각하는 세대를 위한 유산균 액상캡슐 제품에 대해 어느 정도 태도를 느끼십니까?  
① 전혀 아니다    ② 아니다    ③ 보통이다    ④ 편찮다    ⑤ 아주 편찮다

Part II. 관능평가

1. Color: (색상의 좋은 정도)

색상	가우 나쁘다	← →					가우 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

2. Off-flavor: (이취의 정도)

비인 상	나간 맛없	← →					가우 심하다
	1	2	3	4	5	6	7

3. Swallow: (복넘김의 좋은 정도)

복넘김	가우 나쁘다	← →					가우 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

4. Hardness: (경도의 좋은 정도)

딱딱함	가우 나쁘다	← →					가우 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

5. Appearance: (외관 좋은 정도)

외관	가우 나쁘다	← →					가우 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

6. Overall quality: (전반적 기호도)

전반적 기호도	가우 나쁘다	← →					가우 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

2. 기타 의견이 있으시면 적어주세요.

☺ 조사에 참여해 주셔서 대단히 감사합니다 ☺

Fig. 64. 유산균 액상캡슐의 관능검사 및 수용도 조사 설문지

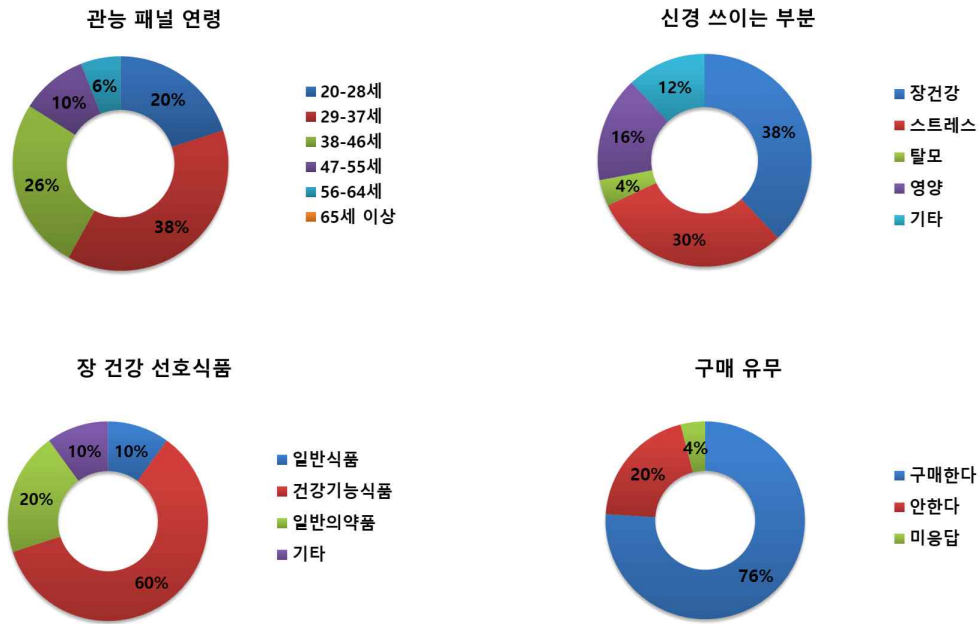


Fig. 65. 유산균 액상캡슐의 수용도조사 결과

- 유산균 액상캡슐의 수용도조사 결과, 장건강, 스트레스, 탈모, 영양 중 가장 신경쓰이는 부분에 '장건강'이 38%(50명중 19명)으로 가장 높았음. 특히, 스트레스와의 상관관계가 있는 만큼 이러한 장 건강을 위한 석호식품으로 건강기능식품의 선호도가 높게 나타남.
- 또한 개발제품의 구매유무에서 '구매한다'가 78%(50명중 39명)으로 높았는데, 국내최초·국내최대 합량 100억 프로바이오틱스·주황색의 외관 등의 마케팅적 요소들이 소비자 입장에서 높은 구매도 결과로 도출되어 향후, 신제품 출시에 소비자 인식 또한 변화될 것으로 기대됨.

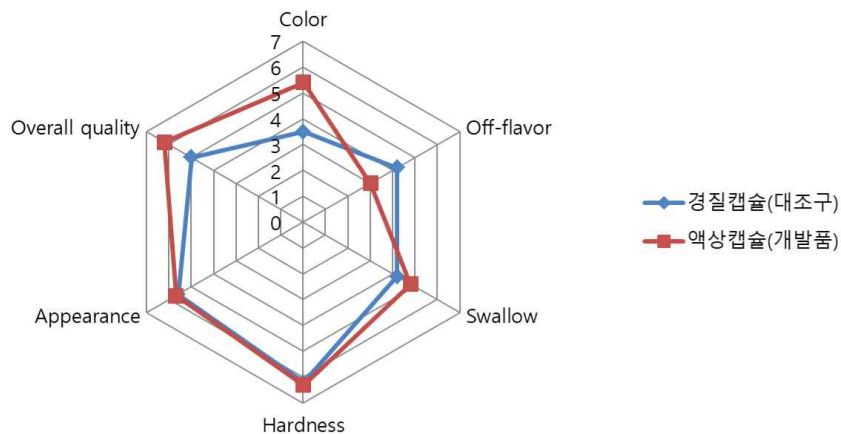


Fig. 66. 유산균 액상캡슐의 관능검사 결과

- 관능검사 결과 대조구인 경질캡슐에 비해 개발제품인 액상캡슐의 색상 및 전반적인 선호도에서는 유의적인 차이가 났음. 이는 개발제품의 외관이 원료의 특성상(부아메라오일) 시중에 판매되는 미백색 분말색에 대비하여 주황빛을 띄고 있는데, 전반적인 소비자기호도에 높은 점수를 얻은 것으로 판단됨. 실제로, 의견란에 색이 눈에 잘 띄고, 유산균 이미지를 연상케 한다는 긍정적

인 결과가 있었음.

(2) 유산균 분말제제 관능검사 및 수용도 조사 실시

- 유산균 분말제제의 관능적 검사 및 마케팅 활용을 위한 소비자 수용도 조사를 위해 일동후디스에 재직중인 임직원 50명을 대상으로 대내관능조사(7점 척도법&수용도 조사)를 실시하였음. 경쟁제품으로는 유산균 분말제제(P사)를 사용하였음.
- 7점 척도 평가에는 컨셉안을 고려하여 6가지(색상의 좋은 정도, 향의 좋은 정도, 맛의 좋은 정도, 문침의 정도, 외관 좋은 정도, 전반적 기호도)를 7점 척도로 설정하였음.

Table 64. 유산균 분말제제의 관능검사 및 수용도 조사 준비

평가 준비	내용
패널	- 대상 : 일동후디스 재직중인 임직원 - 인원 : 50명
시료	- 유산균 분말제제(시제품), P사 유산균 분말제제(비교군) - 섭취방법 : 물과 함께 1포 섭취 - 온도 : 상온(25 ℃ 내외), 물(5 ℃) - 시료 및 입가심물(정수) 제공
용기	- 이취를 일으키지 않는 투명 플라스틱컵(50 ml)
시점	- 시생산 직후의 시료는 금하며, 폴리에틸렌(내포장재질)에 포장된 상태로 생산 후 7일 후 뜯어 2 g씩 용기에 넣어 제공
제공순서	- 두 가지의 시료이므로 선호도 검사로 진행
표시	- 3자리 난수 적용(1, 4, 7 지양)
환경	- 밝고 쾌적하며 편안한 공간 - 관능검사 시료 세팅을 위한 블라인드 막 등 별도 공간 확보(접견실)
평가실시	- 평가 30분 이내에 물 이외의 음식물 섭취를 금함 - 시료 준비는 별도의 공간(접견실)에서 미리 준비함 - 시료에 관한 설명은 수용도조사를 통해 숙지하게 됨 - 평가지 및 수용도조사 제공 후, 시료와 물을 함께 제공하여 두 시료를 충분히 음용할 수 있게 함

해외시장 개척을 위한 유산균-정장제 개발 및 산업화

온가족 장건강 위한 분말유산균

본 제품은 일동푸드(주)와 단국대학교, 삼성서울병원이 공동으로 진행하는 연구를 통해 개발된 제품으로, 해외시장 개척을 위한 정장제 개발 권역의 유산균 역상검출입니다. 설문은 크게 두 가지 파트로 나누어져 있으나 아래와 같은 방법으로 평가해 주시기 바랍니다.

- Part I. 소비자조사 : 설문에 응답  
- Part II. 관능평가 : 각 항목 당 7점 평점법

소중한 시간을 할애해 주셔서 대단히 감사합니다.

일동푸드 연구소장 신현수  
단국대학교 동물자원학과 연구원 김다영  
삼성서울병원 연구원 장연실

전화번호 : 장건강 연구원 (010-9108-5127)  
이메일 주소 : 장건강 연구원 jinahmon@foods.com

※ 다음은 연구 참여자의 개인정보를 위한 설명입니다.  
본 연구의 참여로 귀하에게서 수집되는 개인정보는 다음과 같습니다. 이름, 나이에 대한 정보는 연구를 위해 5개월 사용되며 수집된 정보는 개인정보보호법에 따라 적절한 관리됩니다. 관련 정보는 일동푸드-식물연구소 케비넷에 보관되며 연구책임자, 연구담당자만이 접근 가능합니다. 설문지를 통해 받은 모든 개인정보의 비밀 보장을 위해 최선을 다할 것입니다. 이 연구에서 얻어진 개인 정보가 학술이나 학회에 공개될 때 귀하의 이름과 다른 개인 정보는 사용되지 않을 것입니다. 그러나 만일 법이 요구하면 귀하의 개인 정보는 제공될 수도 있습니다. 또한 모더나 요원, 일동푸드 연구원들은 연구대상자의 비밀보장을 침해하지 않고 관련 규정이 정하는 범위 안에서 본 연구의 실시 목적과 자료의 신뢰성을 확보하기 위해 연구 결과를 적절히 열람할 수 있습니다. 귀하가 본 동의서에 서명하는 것은 이러한 사항에 대하여 사전에 알고 있었으며 이를 허용한다는 의사를 나타낼 것입니다. 설명을 이해에 의거하여 언제든지 연구 종료 후 언제든지 본인의 기록(전자문서)을 포함한 사본을 열람할 권리가 있습니다. 열람을 열람하기 위하여 언제든지 연구 종료 후 언제든지 본인의 기록(전자문서)을 포함한 사본을 열람할 권리가 있습니다. 열람을 열람하기 위하여 언제든지 연구 종료 후 언제든지 본인의 기록(전자문서)을 포함한 사본을 열람할 권리가 있습니다.

7. 위 제품을 구매하신다면 얼마까지 지불할 의사가 있으십니까? (30일치 / 1 box)  
① 15,000-19,900원 ② 20,000-24,900원 ③ 25,000-29,900원 ④ 30,000원 이상
8. 장건강을 생각하는 온가족을 위한 유산균 분말정장제 제품에 대해 어느 정도 매력을 느끼십니까?  
① 전혀 아니다 ② 아니다 ③ 보통이다 ④ 괜찮다 ⑤ 아주 괜찮다

Part I. 소비자 조사

- 귀하의 나이는 어떻게 되십니까?  
① 20-29세 ② 29-37세 ③ 38-46세 ④ 47-55세 ⑤ 56-64세 ⑥ 65세 이상
- 현재 가장 신경쓰이는 부분은 어떤 부분입니까? (복수선택 가능)  
① 장건강 ② 스트레스 ③ 발효 ④ 영양 ⑤ 기타( )
- 건강기능식품중에 특별히 선호하는 식품이 있으십니까?  
① 예 ② 아니오
- 선호하는 건강기능식품이 있으시면 적어주세요.  
( )
- 장 건강을 위한 식품이 있을 때 어떤 제품을 가장 선호하십니까?  
① 일반 식품 (유제품)  
② 건강기능식품 (약 형태의 영양제)  
③ 일반의약품 (정장제)  
(설명 : 병원에서 진단을 받아 약국에서 구입하는 정장제)  
④ 기타 ( )
- 다음은 현재 개발 중인 유산균 분말정장제에 대한 설명입니다. 제품설명(핀셋보드)을 보고도 문항별 보기의 척도에 평가해 주십시오.

제품명	후디스 분말유산균(가안)		
컨셉	- 어린이~성인 온가족을 분말 유산균		
	- 4종 로팅 특허 유산균 - 건강기능식품 프락토올리고당 복합 - 프로바이오틱스, 비타민D, 아연, 셀렌 함유 - 10억/1포(2g) 보장 - 합성향료, 합성감미료		
원재료명	일동 프루바이오틱스-기일동 락토바실러스 합노서스IDCC 3201, 일동 락타바실러스 카세이 IDCC 3451, 일동 엔테로코커스 페시용 IDCC 2102, 일동 락토바실러스 가베리 IDCC 3101, 일동 락토바실러스 루테리 IDCC 8701, 일동 비피도 발테리움 락티스 IDCC 4301, 일동 비피도 락테리움 종균 IDCC 4101, 락토바실러스 실리바리우스 LG IDP1, 락토바실러스 플란타룸 LP IDP2, 락토바실러스 파라가제이 LPA IDP3, 프락토올리고당, 갈락토올리고당, 초유단백분말, 프롤린, 산화아연, 셀렌(요오드추출물), 비타민D3 혼합정제 분말(자당, 아라비아검, 전분, MCT유, 비타민D3, 디-α-토르메콜), 프롤린		
	구분	그렇다	아니다
1. 이러한 제품은 나에게 필요하다.			
2. 이러한 제품이 출시되면 구매하고 싶다.			

Part II. 관능평가

1. Color: (색상의 좋은 정도)

색상	아주 나쁘다						아주 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

2. Flavor: (향의 좋은 정도)

고소한 향	아주 나쁘다						아주 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

3. Taste: (맛의 좋은 정도)

맛	아주 나쁘다						아주 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

4. Conglomerate: (뭉침의 정도)

뭉침	아주 나쁘다						아주 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

5. Appearance: (외관 좋은 정도)

외관	아주 나쁘다						아주 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

6. Overall quality: (전반적 기호도)

전반적 기호도	아주 나쁘다						아주 좋다
	1	2	3	4	5	6	7

2. 기타 의견이 있으시면 적어주세요.

☺ 조사에 참여해 주셔서 대단히 감사합니다 ☺

Fig. 67. 유산균 분말정장제의 관능검사 및 수용도 조사 설문지

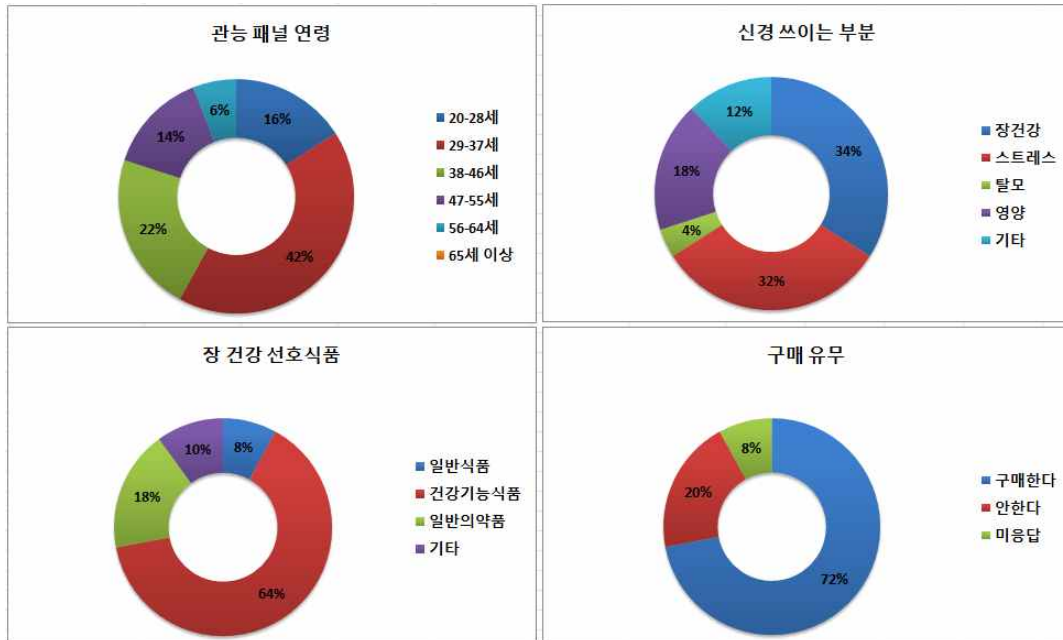


Fig. 68. 유산균 분말제제의 수용도조사 결과

- 유산균 분말제제의 수용도 조사 결과, 장건강, 스트레스, 탈모, 영양 중 가장 신경쓰이는 부분에 '장건강'이 34%(50명중 17명)으로 '스트레스' 32%(50명중 16명)와 비슷한 수준으로 나타남.
- 개발제품의 구매유무에서 '구매한다'가 72%(50명중 36명)으로 높았는데, 경쟁제품(P사) 대비 관능적 의견에서 입안에 뭉침이 덜하여 입감이 덜하고, 기능성 영양성분(비타민D, 셀렌, 아연)이 있어 건강기능식품에 관심도가 높은 소비자 니즈를 만족시킨 결과로 예상됨. 또한, 분말제제로 영유아세대부터 중장년층까지 온가족이 섭취할 수 있는 장점이 있어 타겟층이 넓어 높은 매출액이 예상됨.

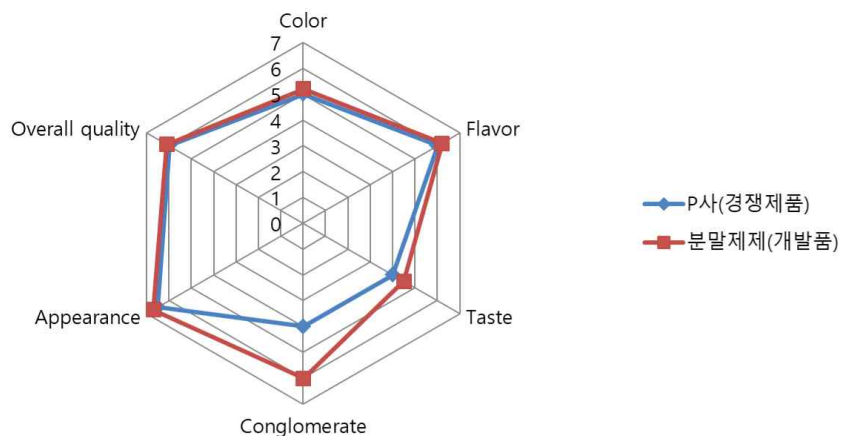


Fig. 69. 유산균 분말제제의 관능검사 결과

- 관능검사 결과 경쟁제품인 P사에 보다 개발제품인 유산균 분말제제의 관능적인 부분에서 뭉치는 정도(입감)의 평가가 높았음. 이는 배합 원료 검토중, 기존에 대중적으로 사용하는 프락토올리고당을 건강기능식품 프락토올리고당으로 대체하였을 때, 시생산 진행 시 기존 프락토올리고당 과립품보다 미립자가 크고, 과립 시에도 기존품보다 입자가 잘잡히는 것을 확인할 수 있었고 결

과적으로 관능에도 영향을 미친 것으로 예상됨

- 기타 의견으로는 합성향료無, 합성감미료無 컨셉이 트렌드 반영이 잘 되어 부모들에게는 긍정적으로 작용하나, 아직까지는 시중에 판매되는 유산균 분말제제가 합성향료로 관능이 잡혀있는 수준이기 때문에, 향후 마케팅적으로 영유아를 아우를 수 있는 마케팅 포인트가 필요할 것으로 예상됨

• 신제품 본생산 실시

- 프로바이오틱스 액상캡슐 출시를 위

해, 6월 말 삼성제약(주)에서 본생산을 진행하였으며, 신제품 출시를 위한 기능성 성분에 대한 공인 분석결과 모두 적합으로 판정되었으며, 자사 공장에 입고되어 현재 신제품 출시 준비중임

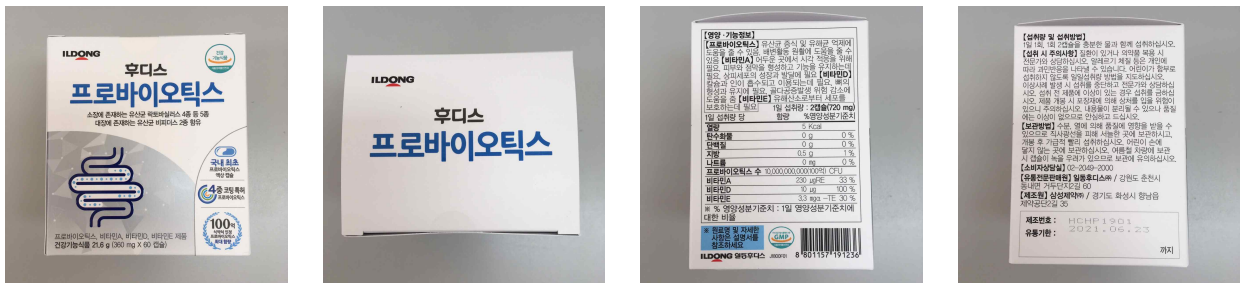


Fig. 70. 유산균 캡상캡슐 신제품(본생산)

▶ 수출 타겟 국가 마케팅 및 영업 전략 수립을 통한 현지 진출 준비

• 브랜드 개발

(1) 유산균 액상캡슐 브랜드 개발



후디스 티지컷

후디스 오메가3

후디스 DHA 키즈

Fig. 71. 후디스 건강기능식품 라인

- 유산균 액상캡슐의 브랜드의 경우 금년 출시 브랜드인 '인헬시(In Healthy)'로 출시 예정이었으나, 소비자조사·폐사 전문기관 등의 자료결과를 통해 폐사에서 현재 건강기능식품라인을 통폐합하는 새로운 브랜드 출시를 검토 중에 있음. 하지만, 개발제품인 유산균 액상캡슐이 내달 출시 예정이므로 '후디스' 자체 브랜드로 런칭 예정이며, 향후 브랜드 정식 런칭 이후 귀속시킬 예정



입

(2) 유산균 분말제제 브랜드 개발

- 브랜드 런칭에 앞서 18.12~19.1 마케팅/영업 3대 할인점 유통사 MD 인터뷰 및 키즈 시장 Needs 조사를 진행하였음

Table 65. 유통사 MD 인터뷰 및 키즈 시장 니즈

유통사	내용
이마트	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 키즈 카테고리 확대 환영, Fast Mover 지원 의지</li> <li>✓ 아이밀과 차별화 위한 소비자 커뮤니케이션 필요</li> <li>✓ 맛&amp;유형 일반 과자 수준 상품성 필요</li> <li>✓ Market POG 확대 가능</li> </ul>
홈플러스	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 베이비 ZONE 외 추가 POG 확대 검토중(시니어 축소)</li> <li>✓ 홈플러스 직소싱/경쟁사(주식) 라인업 확대 진행</li> <li>✓ 일반과자와의 KIDS 제품화(자사 강점 역량 집중 요청)</li> <li>✓ 선개발/제안 제품 단독 운영: 미투/유사 제품 입점 불가</li> </ul>
롯데마트	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 키즈카테고리 확대 TEST 중(3개점: 금천/인천/이천)</li> <li>✓ 경쟁사(주식류) 매출 양호, 키즈 시장 Needs 존재</li> <li>✓ ISP 운영 가능하나, 입점 후 1개월후 가능(점별 협의 필수)</li> <li>✓ 선개발/제안 제품 단독 운영: 미투/유사 제품 입점 불가</li> </ul>
결론	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 영유아 매출 감소(분유)에 따른 키즈(3~9세) 식품 시장 개발 필요성 有</li> <li>- 성인 식품의 Kids 제품화로 맛&amp;유형 등 상품성 중요</li> <li>- 선제안 제품 우선 입점, 유사제품 입점 어려움</li> <li>- 따라서, 자사 경쟁력을 강화하는 고영양·저탄수화물 간식류 중심 개발 요청</li> </ul>



Fig. 72. 키요 브랜드 런칭 전략(카테고리별)

- 현재까지 출시된 제품으로는 감자불(2종), 리조또소스(2종), 두부와플(2종), 맥앤치즈(2종), 그릭요

거트젤리(3종)이며, 향후 출시될 제품으로는 군밤·찐밤(2종), 어린이 유산균 분말제제, 쿠키류 SKU확대 등이 있음

Table 66. 어린이 브랜드 '키요' 컨셉보드

구분	내용	
전략	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 자사 이미지인 대표적 유아식 브랜드의 강점</li> <li>- 국내 영유아, 성인을 위한 식품&amp;건강기능식품은 존재하나, 어린이(3~9세)인 키즈 먹거리 사업은 부재</li> <li>- 자사 소비자 타겟인 영유아~성인 중간을 아우르는 키즈사업으로 신규 비즈니스 사업 확장 전략</li> </ul>	
확장성	효율적 사업확장	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 유아식 → 어린이 타겟으로 확장</li> <li>- 엄마라는 동일 구매층 확보</li> <li>- 효율적인 비즈지스 영역 확대</li> </ul>
	긍정적 기업이미지 확대	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 자사 인지도와 이미지에 관심이 많은 엄마라는 핵심타겟</li> <li>- 프리미엄 건강 컨셉 제품군 제안</li> <li>- 기존 타겟 소비자 구매영역 내 비즈니스로 기업 이미지 상승</li> </ul>
	후디스 미래먹거리 발굴	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 과자/캔디류, 스낵, 레포트트식품, 즉석식, 음료, 건강기능식품 등</li> <li>- 다양한 카테고리 접목 가능 타겟</li> <li>- 향후 자사 전문 제조 설비투자 검토 가능</li> </ul>

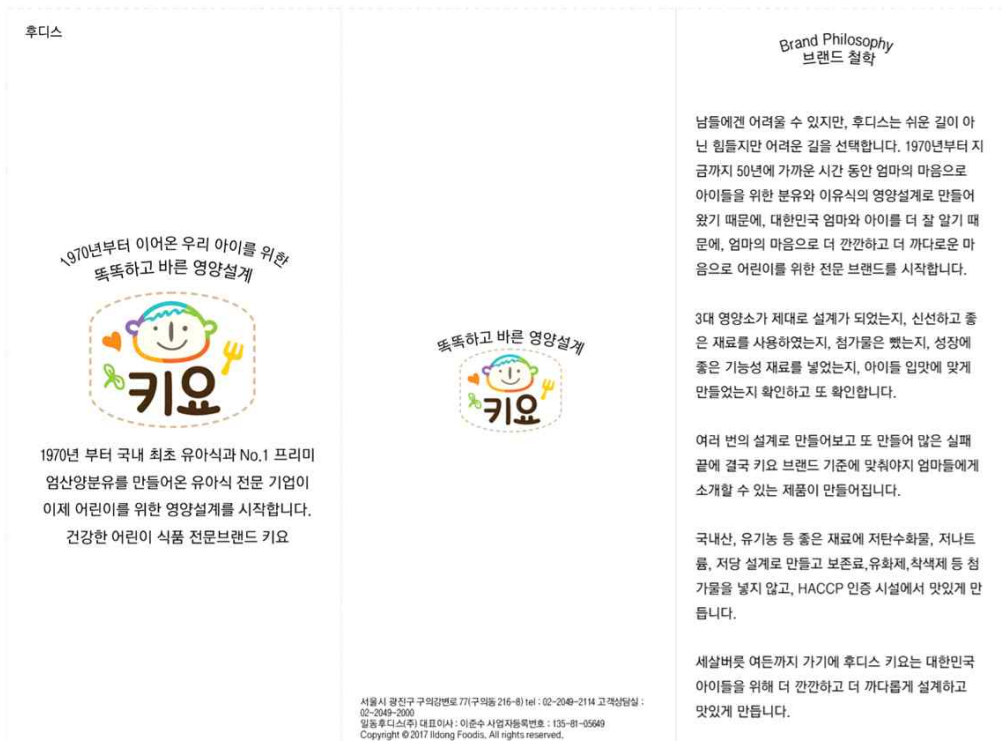


Fig. 73. 키요 브랜드 리플렛



Fig. 74. 키요 브랜드 컨셉 및 Key Claims

최신기사

일동후디스, 3~9세 어린이 식품 브랜드 '키요' 출시

송고시간 | 2019-05-02 10:14



어린이 식품 브랜드 '키요'  
[일동후디스 제공]

런칭 기사 발취(출처: 연합뉴스, 5/2)

• 보도자료: 일동후디스 '키요' 브랜드로 어린이 식품 시장 공략  
• 자료 배포: 2019. 5. 2 (목)  
• 검색 기간: 2019. 5. 2 (목) ~ 2019. 5. 3 (금) 오전 9시  
• 검색 포함: 네이버, 다음, 구글, 네이버  
• 미디어 커버리지(Media Coverage Table): 총 41건 (온라인 41)

자세한 내용은 첨부파일 및 본문 통해 확인 부탁드립니다.

감사합니다. 수고하세요.

No	Media	Date	Headline
1	연합뉴스	5/2	일동후디스, 3~9세 어린이 식품 브랜드 '키요' 출시
2	뉴스1	5/2	일동후디스, '키요' 브랜드로 어린이식품 시장 공략
3	매일경제	5/2	일동후디스, 3~9세용 식품 브랜드 '키요' 런칭
4	매일경제TV	5/2	일동후디스, 3~9세용 식품 브랜드 '키요' 런칭
5	파이낸셜뉴스	5/2	일동후디스, 신규 브랜드 '키요' 앞세워 어린이 식품 시장 진출
6	헤럴드경제	5/2	일동후디스, 신규 브랜드 '키요' 앞세워 어린이 식품 시장 진출
7	머니투데이	5/2	일동후디스, 어린이 식품 브랜드 '키요' 론칭
8	분당저장채	5/2	일동후디스, '키요' 브랜드로 어린이 식품 시장 공략
9	이투데이	5/2	일동후디스, '키요' 브랜드로 어린이 식품 시장 공략
10	해럴드경제	5/2	일동후디스, 어린이 식품시장 도전
11	매니저경제	5/2	일동후디스, 어린이 식품 시장 '키요' 브랜드 론칭
12	IT조선	5/2	일동후디스, '키요'로 3~9세 어린이 식품 시장 개척
13	뉴스핌	5/2	일동후디스, 어린이 식품 브랜드 '키요' 론칭
14	뉴스웨이	5/2	일동후디스, 어린이 식품 브랜드 '키요' 론칭
15	EBN	5/2	일동후디스, 어린이 식품시장 '키요' 론칭
16	아이뉴스24	5/2	일동후디스, '키요'로 어린이식품시장 공략

보도자료(출처: 후디스 전사 홍보메일)

Fig. 75. 어린이 식품 브랜드 '키요' 런칭 관련 기사

- 유산균 분말제제의 경우, 금년도 초부터 유관부서(MKT2)와 협업하여 '2019년 키요 런칭 계획 브랜드&커뮤니케이션' 프로젝트를 진행하였음. 이후, 금년 5월 2일 자사에서 '키요' 브랜드로 어린이 식품 신시장에 성공적으로 진입하였고, 5월 2일 온라인 41건의 보도자료를 배포하였음.

• 디자인

(1) 유산균 액상캡슐 디자인



Fig. 76. 유산균 액상캡슐 케이스(후디스 프로바이오틱스)



Fig. 77. 유산균 액상캡슐 설명서 & 아웃박스(후디스 프로바이오틱스)

(2) 유산균 분말제제 디자인

- 유산균 분말제제의 경우, 현재 디자인 진행 중이며 국내판매용 디자인으로 표기사항 변경 이후 수출용 디자인을 입힐 예정이다.

• 홍보 및 유통전략 수립

- 신제품 출시 및 수출을 위해, 소비자조사(FGI: Focus Group Interview)를 datagram(빅데이터분석·디자인리서치·마케팅리서치)에 의뢰하여 국내에 거주중인 동남아인을 대상으로 진행함. 본 진행에 앞서, 주관연구기관과 datagram간 가이드라인을 설정함으로써, 최종 목표인 수출시 소비자 니즈의 형태 및 가격설정에 포커싱하여 의뢰를 진행함.

국내 및 베트남 시장 정장제 신제품 컨셉 평가 GUIDELINE  
2019/04/10

Key Breaking

- 진행자 소개
- 응답자 자기 소개 (나이, 결혼 여부, 자녀여, 해외/한국 거주기간)

Part 1. 인식할 및 건강 관리 형태

- 평소 식사는 잘하시는 편이세요?
- 건강을 위해 먹고 있는 영양제나 건강기능식품은 어떤 제품? 복용 이유는?
- 평소 장 관련 증상이 있으신가요? 복부 팽만감, 변비, 설사 등
- 과민성 대장 증후군 적어 보실 것일까요?

베트남 응답자만 경우

- 베트남과 한국의 식생활과 건강기능식품 섭취는 어떤 차이가 있나요?
- 베트남에 사일 데, 베달이나 벤틀로 고생한 경험은? 베트남 길거리 음식 문화가 발달할 것으로 알고 있는데, 어떤 문화로 발달이 자주 나는 편인가요?

Part 2. 프로바이오틱스에 대한 인식 및 구매 형태

- 프로바이오틱스에 대한 주변에 반응이나 생각? 계속 많이 사 먹는 추세인지, 비싸고 있는지?
- 최근 가장 유명하거나 핫한 제품은? 이유는?
- 프로바이오틱스를 구입할 때, 어느 정도 가격이 적당하다고 생각하시나요? 1개월 기준으로 말씀해 주세요. 이 가격은 어디에서 구매할 때 가장 적당하나요? 약국? 인터넷쇼핑몰? 후문마켓?

베트남 응답자만 경우

- 베트남에서는 항균에 비해 프로바이오틱스의 인식이 다른가요?
- 베트남인을 위한 베트남인 장내 유익 균주 프로바이오틱스를 출시한다면 인식이 어떤지?

- 프로바이오틱스하면 어떤 것이 가장 먼저 생각나요? 상향, 항문, 보편, 효과, 먹는 사람 등 무엇이든지 할 문제 주세요.
- 이상적인 프로바이오틱스는 어떤 제품이어야 할까요?

• 보가이드 케이스 #1, KBF 카드 케이스

- 프로바이오틱스를 구매하면서 가장 중요하게 고려하는 점은? 제조국, 제조사, 가격, 유산균수, 1일 복용 횟수, 저장, 구입 방법, 보관 방법, 유통기한 등 중요하게 생각하는 3가지를 순서대로 말씀해 주세요.

베트남 응답자만 경우

- 베트남에서는 중요하게 고려하는 점이 달라지나요? 이유는? 유통지와 유통기한, 보관 방법 확인

- 함의 드시고 있는 프로바이오틱스는 어떤 브랜드?
- 그 제품을 선택하신 이유는 무엇이었나요?
- 이 제품을 샀게 된 경위는? 광고, 추천, 소셜이나 블로그 등
- 주로 구매하는 사람은 누구?
- 주로 복용하는 사람은?
- 복용은 주로 언제 하는 편인가요? 식전, 식후, 잠자기 전 등
- 프로바이오틱스는 총 복용 기간이 어떻게 되나요? 워킹데이 드시는 편인가요? 증상이 있는 경우에만 드시는 편인가요?
- 구입은 어디를 주로 이용하시나요? 약국, 온라인몰, 마트, 드럭스토어 등. 주로 이용하시는 이유는?
- 다른 제품 샀 적, 함께 사는 제품인지, 단독으로 사는 편인가요?

베트남 응답자만 경우

- 베트남에서는 어떤 제품을 복용하시거나 알고 계시나요?
- 한국 제품과 어떤 차이가 있나요? 이미지, 맛, 저장, 포장, 보관 방법, 구입 채널 등

Part 3. 복용 중인 제품 만족도 및 복용 선호도 평가

- 일반적으로 드셨던 제품에 대한 만족도는? 어떤 정도? 이유는?
- 프로바이오틱스 영양실용 보충 중 선호하는 것? 이유는?
- 프로바이오틱스 제품 선택시(구매) 필수는? 이유는?
- 함이 드시고 계시는 제품의 성분이나, 유통, 균형을 아시고 있나요? 어디까지 알고 계시는지 구체적으로 말씀해 주세요.

Part 4. 신제품 컨셉 평가 (베트남 응답자만 경우, 베트남 시장을 고려하여 응답 받을 것)

컨셉 케이스 #2, 신제품 컨셉 보드 케이스

- 전반적으로 구입하고 싶은지? (5점 척도)
- 마음에 드는 점 3순위? 이유는?
- 마음에 들지 않는 점 3순위? 이유는?
- 이상 가격은? 시중에 100원대 유산균 1개월분 제품의 인터넷가 4~5만원일 때, 어느정도 가격이 적당할까요?
- 1인/세~13세 미만의 키즈 유산균 신제품(분말/말이)이 출시된다면, 구입 희망할? 이유는?
- 키즈 유산균을 위한 성분 조합은 어떤 것이 좋을지?

- 일몰후디스가 제조한 제품이라는 것을 알고있을 때, 구입의향이나 예상 가격의 변화는?

- 프로바이오틱스 가격이 가장 영향을 미치는 상품 요소는? 균수, 보관 방법, 유통기한?
- 좀 전에 '베트남인 장내 유익 균주 신제품'이라는 표현 대신 '베트남 유아의 분변에서 채취한' '실용성'을 들으셨다면, 어떤 생각이 드시나요? 구입하실 생각이 있으시나요?

- 올리트 오일과 부아에라 오일 배합으로 상온의 안정성과 항산화효과를 올 수 있다고 했는데, 오일 배합에 대한 느낌은 어떤가요? 혹시 걱정되는 점은?
- 여기에 로열젤, 상온은 온도 어떻게 드시나요? 가장 마음에 드는 성분은?
- 후가 드는 제품이라 한다고 생각하시는 성분은?
- 프로바이오틱스 제조 과정, 균량 과정은 어떻게 이루어 지어 한다고 생각하시나요?

제품 케이스 #3, 제품 신개 체험 케이스

- 제품을 보시면 어떤 느낌, 어떤 제품 같나요?
- 외장이나 속장은 만족하시나요? (5점 척도)
- 구입의향이 달라지시나요? (5점 척도)

보가이드 케이스 #4, 외부장 디자인

- 제품 외포장 디자인은 만족하시나요? (5점 척도)
- 마음에 드는 점은? 디자인, 이미지, 글꼴, 색상 등 구체적으로 말씀해 주세요.
- 개선할 점은 무엇인가요? 디자인, 이미지, 글꼴, 색상 등 구체적으로 말씀해 주세요.
- 외부장에 있는 "국내제조", "식용료", "100% "내용은 적절하다고 생각하시나요?

- 이 제품을 구입한다고 할 때, 가장 구입하고 싶은 채널은? 이유는?
- 이 제품의 브랜드 '후디스'인질서 프로바이오틱스는 어떤 느낌이 드나요? 제품과 잘 어울리나요?
- 제품의 컨셉, 체험 디자인, 외포장디자인, 브랜드를 모두 아시고 난 후, 적당 가격에 변화는? 이유는?

베트남 응답자만 경우

- 베트남 건강기능식품 시장이 한국 시장과 달리 차이점이 있다면? 유통채널은?
- 베트남에 출시할 때, 주의하거나, 고려해야 할 점은?

인터뷰 종료

- 사례에 지금 같이 인사말

Fig. 78. datagram 의뢰서 가이드라인

Table 67. 신제품 브랜드 커뮤니케이션 및 예산

항목	ITEM	세부 내용	효과
제품	특별패키지 제작	-VIP 및 이벤트 경품용 제작 -구성: 제품 샘플+관촉물	컨텐츠아이템 흥미,구매자극
	제품 리플렛 제작	-브랜드 스토리 및 제품 정보 리플렛 제작 -활용 할인점 POP 비치 및 소매점/특판채널 입점 용	제품정보제공 입점상담
	런칭 ISP	-할인점 100점 도우미 투입 시식 및 제품 판매 -행사 매대 Display POP 및 유니폼/시식용 제작	제품trial기회 판매확대기여 브랜드인지도 ↑
In store	2nd VMD	-할인점/소매점/특수채널용 500대 제작 -1회 진열량: 매출 6.6억 기여 -키즈 관련 특수채널(키즈카페 약 2,300개) 입점 진 행	제품진열확대 특수채널 입점 추가 매출 기여
	매대 POP	-할인점 415점 본매대 ZONE POP구성 -소매점용 와블러/스티커 제작 -할인점 100점 LCD 사이니지 운영	제품정보제공 브랜드인지도 ↑
소비자 Communication	체험단 운영	-채널: 온라인(카페,블로그)/SNS(인스타그램)/모바일 (엄선) -제품 제공(특별패키지) 통합 Trial 및 Viral -키요 관련 긍정적 여론 형성 및 브랜드 인지 확대	제품 체험 긍정 여론 형성 소비자 관심 ↑
	클래스 운영 및 콜라보 이벤트	-서울/경기권 문화센터(50점) 연계 1Day 클래스 운 영 -부모와 아이가 함께 키요 제품 체험 -키즈 산업 타사 브랜드 연계 콜라보 이벤트	타겟제품체험 2차컨텐츠생성 브랜드활용인지 도 ↑
	전시회 참가	-베이비&키즈 페어 참가 -키즈 산업 브랜드 콜라보 이벤트 운영	제품trial기회 제품정보제공 제품구입유도
	영상 콘텐츠 제작 및 On-Air	-키즈 관여매체 On-Air(EBS/IPTV/키즈채널/유튜브 키즈) -아이의 흥미를 유발할 수 있는 영상 콘텐츠 제작 (키요송 등) -브랜드 스토리, 흥미유발 통한 제품 구입 유도(3개 월 운영)	타겟흥미유발 제품구입유도 브랜드인지도 ↑
	SNS 운영	-네이버 블로그/SNS(인스타그램) 콘텐츠 제작 -이벤트 및 자사 커뮤니케이션 Viral 진행 -팔로우/구독자 확대	소비자관심 ↑ News 확산 긍정여론확산 구입자극
	자사 보유 매체 PR	-제품 출시 NEWS PR 집행 -자사 홈페이지 외 키요 브랜드 페이지 구축	Newx 고지 소비자관심 ↑ 제품정보제공
<b>19년 키요 브랜드 목표 72억 (마케팅 비율 14.4%)</b>			

키요 런칭 패키지 제작 [1,000 Set]

키요 출시 기념 **특별 패키지** 제작

이벤트 (SNS 및 체험단) 경품 활용 및 VIP(인플루언서, 언론사, 유명MD) 제공  
**브랜드 인지도 상승 기여**

키요 패키징으로 **2차 바이엘** 효과

브랜드 긍정적 여론 형성과 구매욕구 자극

일시	준비사항	비용	협업부서
'19. 3월	판촉물 제작	15백만	구매팀 생산팀



예시) 구성 : 제품 + 기념품(키요 앞치마 등) + 리플렛  
제품 : 유아용 2종, 감자볼 2종, 콜리플라워, 소스 2종  
\* 어린이날/제민친용 기어

키요 런칭 패키지 제작

키요 브랜드 2nd VMD 제작 배포

- 할인점 외 소매점/약국 제철 등 배포
- 1년 이상 지속 운영 관리 (설치 정보 조직 관리)
- 규격 : 600 x 300 x 1500 (mm)
- 제작 수량 : 500대
- 500대 운영(월1회전 기준) 연간 13.6억 매출 기여(금공가)

구분	진열기준	소비가가	진열액(W)	년(12회)
두부우유	32EA	3900	77,120	
감자볼	16EA	3900	38,560	
요거트발리	48EA	1800	53,568	
백엔차즈	10EA	2500	15,500	
소스	16EA	4200	41,536	
1대 합			226,284	
500대 기준			113.2백만	1,357.7백만

일시	준비사항	비용	협업부서
'19. 4월	운영정보	6천만 (12만/EA)	구매팀 디자인



키요 브랜드 런칭 In Store Promotion 진행

별도 행사 매대 확보 키요 제품 진열

**제품 소비자 노출**

도우미 제품 고지 및 시식 판촉

**소비자 구입 및 Trial 기회 제공**

**키요 브랜드 초기 Boom up**

일시	준비사항	비용	협업부서
'19. 4월	기획제품 이벤트기획	제작비 20백만 인건비 44백만	유통1팀 구매/디자인



예시) 맨드캡 행사 매대 시물라이선

키요 브랜드 런칭 In Store Promotion 진행

특수 채널(키즈카페) 내 키요 VMD 활용

핵심타겟(3-5세, 육아맘) 높이 체험 학습 공간

**키즈 카페 전국적 확대**

비스킷 스낵 PPC용으로 등 간식류 중심 입점

2nd VMD 제공으로 진열 공간 확대

**키요 제품 구입 및 Trial**

일반 과자 제품 대비 자사 제품 비고 및 차별화

**키요 브랜드 인지도 제고**

일시	준비사항	비용	협업부서
'19. 4월	제품 진열	협의중	영업본부

2011년~2018년 사이  
**키즈카페 급성장**



2011년 전국약 1,130여 곳  
2018년 전국 약 2,300여 곳



예시) 제품 진열 및 2nd VMD 배포

키요 브랜드 2nd VMD 제작

키요 브랜드 In Store POP 미디어 진행

**브랜드 스토리 전달 및 소비자 관심 유도**



• 소비자 키요 ZONE POP 통한 브랜드 인지



• 영상 콘텐츠 활용 LCD 사이니지 광고 집행

일시	준비사항	비용	협업부서
'19. 4월	기획제품 이벤트기획	제작비 15백만 매체비 30백만	유통1팀 구매/디자인

In Store POP 미디어 제작

키요 브랜드 콜라보 이벤트

동일 타겟(어린이) 브랜드와 콜라보 이벤트 진행

**키요 브랜드 인지도 확산 효과**

공유/장난감/기초생활용품 등 소비자 관심 유도

**인지도 확보된 타브랜드 활용 상품링**

오르라인 연계 시 제품 생활링 유용 통한

**제품에 대한 직관적 경험 제공**

일시	준비사항	비용	협업부서
'19. 5월	소비자경험 (특별패키지)	1천만원 (경품/홍보)	홍보팀 마케팅팀

콜라보 이벤트



키요 브랜드 런칭 체험단 이벤트

실제 육아맘 심의, 제품 후기 배포 **긍정 여론 형성**

포털(네이버, 다음), SNS(인스타그램) 키워드/해시태그 검색 시

**키요 콘텐츠 진입**

특목한 참여율이 역이는 건강관 간식

**브랜드 인식 생성**

신뢰성 있는 콘텐츠 지속 노출로

**브랜드 및 제품 인지도 상승**

일시	준비사항	비용	협업부서
'19. 3월	기획제품 이벤트기획	3천만원 (송가합)	홍보팀 마케팅팀

체험단 이벤트



- 키요 핵심 타겟(육아맘) 제품 체험 (시식 Trial)
- 키요 제품 진열 전시 및 판매 (런칭 패키지 100SET 포함)
- 구입고객 브랜드 리플렛 & 판촉용 주먹밥 가방 증정
- 현장 해쉬태그 이벤트 진행으로 자발적 2차 콘텐츠 생성(SNS)

일시	준비사항	비용	협업부서
'19. 4월	푸스운영 시식팀, 리플렛	협의중	서울1지점 홍보팀



예시) '18년 10월 코백(인텍스) 매대 구성, 판촉물 부치로 기방

베이비페어 및 전시회 참가

Fig. 79 키요 브랜드 홍보 방법

- 상기의 홍보 방법 외에도 어린이 클래스, 비주얼·콘텐츠 제작 및 광고집행, 온라인 브랜드 바이럴, 언론 PR, 일동 후디스 홈페이지 브랜드 사이트 구축 등을 통하여 확대해나갈 예정임

◆ 현지 진출 검토 및 준비

- 본 연구과제 수행결과에 따른 신제품 현지 진출 검토를 위해 국내 베트남 연계 바이어와 자사 해외사업팀과 수출에 관련된 법적사항을 검토하였음.

[ 기능성식품 등록 및 심사 절차 ]

- 본 연구수행 기간중 1차년도에 베트남 수출을 위한 법적 검토 절차를 마쳤으나, 2018년 2월 2일부터 시행된 수출 법규내용이 일부 수정되어 재조사를 시행함

베트남에 기능성식품을 수출하기 위해서는 5개의 단계를 거쳐야 하며, 베트남 보건복지부 식품위생안전국의 허가를 받아야 함

- ① 서류제출  
등록을 원하는 회사는 식품위생안전국에 필수서류를 제출해야 함. 제출 시, 서류는 원본 1부, 사본 1부를 제출하고 우편이나 식품위생안전국으로 직접 방문하여 제출함
- ② 접수증 발급  
식품위생안전국은 서류 접수 후 신청자에게 접수증을 발급함
- ③ 보완서류 제출  
서류접수기관은 서류를 검사하며 서류에 미비한 사항이 있을 경우에는 접수한날로부터 근무일 기준으로 7일 이내에 등록을 원하는 회사 또는 개인에게 법 규정에 따라 보완서류에 대한 문서를 전송함
- ④ 심사  
필수서류를 모두 갖추면 접수한 날로부터 근무일 10일 동안 심사를 진행. 10일 후 심사신청서를 권한기관에 제출해야 함
- ⑤ 심사결과 발표 & 승인  
등록을 원하는 회사에게 심사결과를 보내고 서류를 보관함

베트남에 수입 기능성식품 등록을 신청하기 위해서는 10일 이상 소요되며, 심사도 10일 정도 소요됨. 심사비용은 한 개의 상품을 한 번 심사하는데 50,000동(한화 약 2,800원), 수입식품기준인증서 발급에 50,000동이 소요됨.

Table 68. 베트남 기능성식품 등록 시 제출서류

서류목록	비고
식품기준공보문서	
사업자가 발행한 기본기준서 (도장있는 것)	관능지표, 주요품질지표, 품질중점기준, 화학·물리·미생물·중금속 등 위생에 관한 지표, 성분, 사용기간, 사용방법, 보관방법, 포장방법, 생산절차 등의 내용이 포함될 것
베트남 업체의 사업등록증이나 외국 생산자의 설립 허가서	
권한이 있는 시험기관이나 인정된 독립시험기관의 시험결과서	주요 품질지표, 품질중점기준 및 관련 위생지표
국내나 해외 공증이 있는 GMP인증서, HACCP 또는 그에 상당한 인증서	
원산지 국가의 관리기 관으로부터 발급된 자유판매 허가서나 보건인증서	
상품의 임상연구결과나 특별효능효과 및 안전성에 관한 서류	
라벨이나 라벨을 찍은 사진, 라벨내용요약서, 라벨이 부착된 샘플	
제품 샘플 2개	



● **통관 및 검역 절차 단계**

**Step 01. 신고 전 통관정보 확인**

통관 절차 내 수입 신고는 서면신고, 전자신고 등으로 구성됨. 신고 자격을 갖춘 회사는 해관에 등록된 통관 전문회사, 통관 대행회사로 자체적으로 통관 업무를 수행하는 회사임

**Step 02. 수입신고**

전자신고(E-customs)를 통한 신고 수리의 경우, 일련번호를 부여하고 3가지 Channel로 분류하여 전자서류 심사 또는 물품 검사를 진행함

입항지에 수입물품이 도착하는 시점을 기준으로, 상업적 계약에 의한 수입여부, 재수출 용도의 수입인지 여부, 수출 물품 제조용 원재료의 수입 여부등에 대해 수입 관련 증빙 서류를 세관에 제출하여 신고해야 함. 또한, 국경에 도착한 날로부터 30일 이내 수입신고를 진행해야 함

신고 시 첨부해야하는 필요 서류로는 수입신고서, 수입계약서, 상업송장, 포장명세서, 수입허가, 원산지 증명서 등이 있음<sup>36</sup>.

**Step 03. 세관 서류 심사 및 통관검사**

(기존) 수입대행사의 실적에 따라 그린(Green), 옐로우(Yellow), 레드채널(Red Channel) 중 한 가지 방식으로 서류심사 및 물품검사를 진행함. 통관 이후에는 식물·동물성 제품에 대한 검역이 이루어짐

그린채널(Green Channel)은 관세법을 엄격히 준수하는 수입업자를 대상으로 진행하는 절차로 서류제출과 물품검사가 면제됨. 옐로우채널(Yellow Channel)의 경우, 물품검사는 진행하지 않더라도 서류는 반드시 제출을 해야 함. 레드채널(Red Channel)은 서류제출은 물론이고 물품 검사에서 ① 전수 검사

② 무작위 10%검사 ③ 무작위 5%검사 3가지 중 한 가지 검사를 진행하게 됨

일반 통관의 경우, 샘플검사는 물량의 10%를 진행하고 있지만 통관절차 위반, 관세법 위반의 전례가 있는 경우 전수 조사를 시행하였음

Table 69. 베트남 수입통관 채널별 주요 심사 절차

채널(Channel)	필요 심사절차
그린채널(Green Channel)	전자신고로 수리 가능하며, 세관서류 심사 및 물품 검사 면제
옐로우채널(Yellow Channel)	전자서류 혹은 종이서류를 세관에 제출 및 심사 시행
레드채널(Red Channel)	종이서류로 제출 및 세관에서 물품 검사 시행

[출처: 베트남 관세청([www.customs.gov.vn](http://www.customs.gov.vn))]

**(변경) (통관) 수입업체, 포장식품 식품등록증 자체 발급 가능\***

\*베트남 정부 시행령 No. 15/2018/ND-CP (2018년 2월 2일 공포, 2018년 2월 2일 발효)에 따르면, 수입업체는 포장식품 식품등록증을 자체 발급이 가능하도록 하는 법안이 발효되었음. 이는 기존의 수입업체가 해당상품의 식품검사를 실시하는 동안 발생하는 시간·비용이 감소됨으로서 수출 준비가 가속화될 전망이다

- 대상 주체 : 베트남/해외의 식품 생산/판매/무역을 하는 기업/개인
- 대상 식품 : 포장식품(라벨이 부착되어있고, 추가가공 또는 바로 섭취가 가능한 제품), 식품첨가물, 식품가공보조물질, 식품포함용기, 식품과 직접 접하는 포장물질
- 제외식품

관리기관 식품등록증 발급 상품

- 1) 건강보호식품
  - 2) 36개월 이하 유아대상 영양식품
  - 3) 새로운 효과가 있는 혼합식품첨가물, 의사처방으로 환자가 호스로 섭취하는 식품
- 국내시장에서 소비되지 않는 상품

- 1) 수출용으로 생산/가공한 상품
- 2) 개인/기관이 내부적으로 사용하기 위하여 생산한 상품
- 3) 수출상품의 생산/가공만을 위해 수입한 생산원료

Table 70. 식품등록증 자체발급

기존	현재 (2018-02-02이후)
수입업체가 기존에 해당상품을 검사소에서 식품 검사를 실시하고 베트남 정부에서 식품등록증을 발급받아 식품 수입을 하는 형태	수입하는 포장식품 대부분에 대하여 베트남 보건부의 <u>식품등록증 발급없이</u> 수입업체가 자체발급하여 시장에 상품 공급이 가능

- 수입식품 검사의 경우 새로운 시행령에 따라 검사하며, 특히 품질등록을 한 제품과 GMP/HACCP 인증을 받은 공장에서 생산된 제품에 대하여 집중검사를 실시함. 수입시 세관은 서류만 확인하나, 경보 발생 또는 시장에 공급된 상품에서 문제 발생시 검사하도록 함

Table 71. 수입식품 검사

기존	현재 (2018-02-02이후)
수입에 대한 식품안전규정 인증을 연관부처에서 시행	보건부를 건강보호식품과 새로운 효과가 있는 혼합첨가식품을 관리하며, 이외의 상품에 대해서는 지방에서 등록 시행

[출처: 관세청 해외통관지원센터, 주베트남한국대사관(관세관), 베트남 통관, 베트남 산업무역부, 베트남 식품위생안전국(VFA)]

**[법적 서류 준비 사항]**

- 현재 자사에서 수출을 위해 하기의 서류 구비들을 준비 중에 있음. 이후, 견적 송장(초기 발주, Proforma invoice), 상업운송장(Commercial Invoice), 포장 명세서(Packing List), 선하증권(Bill of Landing) 등의 기본서류 확보 후 수출 검토 예정임.

Table. 72. 베트남 식품 수출시 구비 서류(일반)

항목	발급기관	비고
자유판매 증명서	식약처	기관 발급
영문포장 라벨	업체	
성분표	업체	
제조공정도	업체	
원산지 증명서	상공회의소	수입자 관세 경감, 기관발급
COA	업체	
ISO 인증	업체	
시험성적서	업체	

Table 73. 선적 전후 후속조치 사항

구분	내용
거래서 발주서 수신	견적 송장(Proforma invoice) 업체 발송
제품 생산 후 선적 전	상업운송장(Commercial invoice), 포장 명세서(Packing list) 업체 및 선사 발송
선적 후	선하증권(Bill of landing) 인수(from 선사)



◎ 협동연구기관1 (단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단)

▶ 베트남인 microbiota 정보 획득

○ (베트남인 Microbiota 정보 수집) 연구에 앞서 베트남인 microbiota 정보 수집 및 활용을 위하여 삼성서울병원에서 임상시험심사위원회(IRB) 승인 이 후 기초질환증상을 통해 모집된 한국 거주 6개월 미만 베트남인 분변을 모집하여 초저온냉장고(-27 ℃)에서 냉동보관 하였으며, 이후 0.85% NaCl에 현탁하여 균질화 한 뒤 실험에 사용하였음

(1) 분변 DNA 실험

- 분변 샘플들은 QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit(QIAGEN,USA)을 사용하여, Extraction Kit 매 뉴얼대로 DNA를 추출하였으며, Extraction 된 DNA 샘플들을 TAKARA PCR Kit을 이용하여 Master Mix를 만든 후 799F 1114R Primer를 사용하여 PCR를 진행하였음
- PCR products의 DNA를 확인하기 위해 전기영동을 실시하고, DNA가 확인된 PCR products를 가지고 Wizard SV Gel and PCR clean-Up System(Promega) Purification Kit을 사용하여 DNA purification을 실시함. Purified DNA를 확인하기 위해 전기영동을 실시하였음

(2) Core microbiota DB 구축

- Purified DNA 샘플들은 Mothur Software를 사용하여 베트남인의 NGS Raw Data를 Trimming 하였음. Trimming된 데이터는 QIIME Software를 사용하여 Taxonomy abundance phylum level, Taxonomy abundance Genus level 분석을 진행하고, Community richness & diversity 에서는 총 read count, Picking OTU, coverage, diversity 분석을 진행하였음. PCA와 Dendrogram에서는 R program을 이용하여 분석 진행함

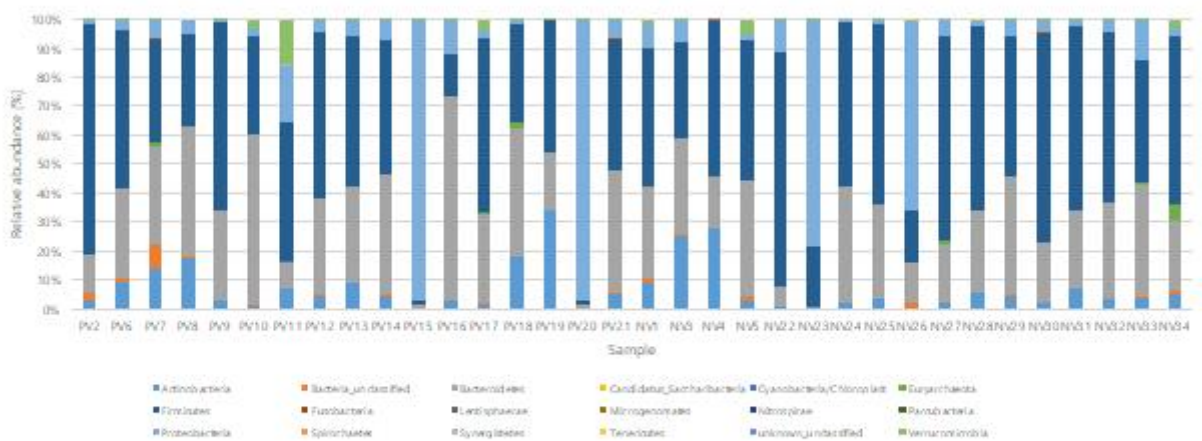


Fig. 73. Taxonomic identification at phylum level in each sample from moderate-to-severe (labeled with NV) and advanced (labeled with PV) irritable bowel syndrome (IBS) patients.

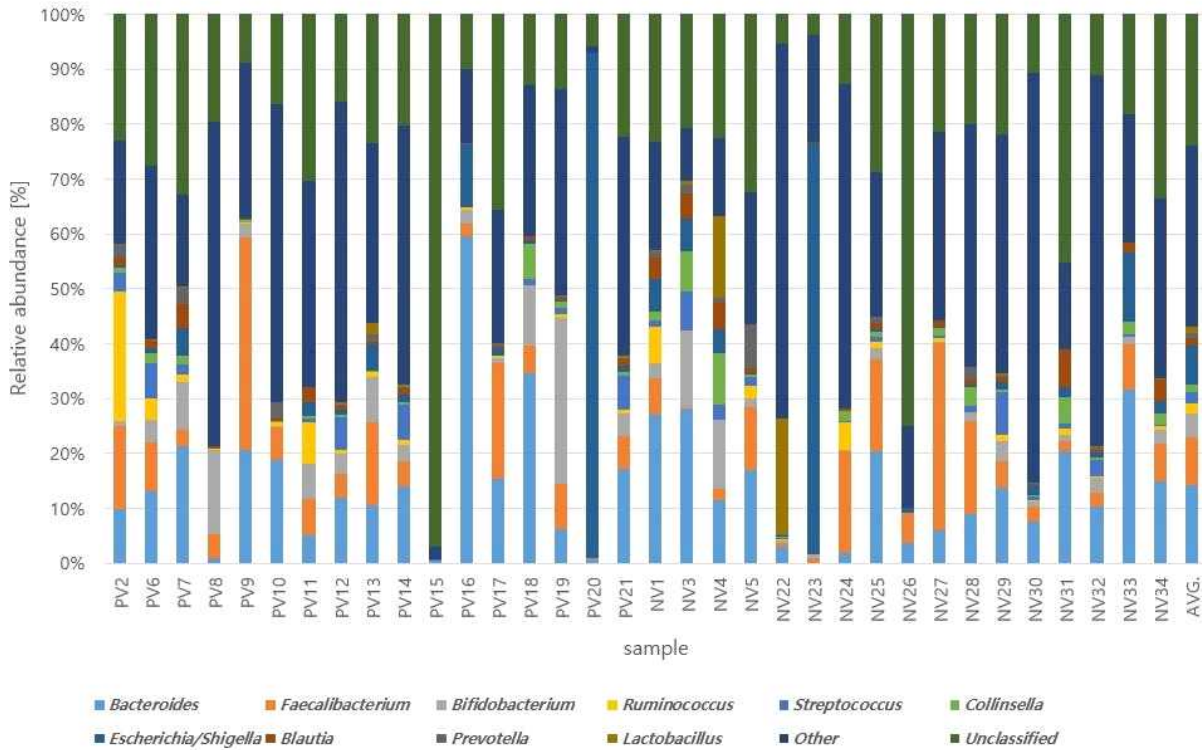


Fig. 74. Relative genus-level distribution of assigned operational taxonomic units (OTUs) for shipped stool and DNA samples as revealed by reanalysis of the quality assessment raw data for each participant(PV2 to NV34).



Fig. 75. Community richness and diversity in genus level in each sample from moderate-to-severe (labeled with NV) and advanced (labeled with PV) irritable bowel syndrome (IBS) patients.

- Fig. 75에서 볼 수 있듯이 생물정보학 기반 장내미생물총 분석 기술을 활용한 베트남인 정상인과 과민성대장증후군 환자의 분석 결과 genus level 내에서의 유익균종 *Lactobacillus* spp.가 정상인의 분포가 2.36%에 비해 과민성대장증후군 환자의 분포가 0.21%로 현저히 낮았음
- *Bifidobacterium* spp.의 경우 정상인의 분포가 2.87%, 과민성대장증후군 환자의 분포가 6.03%로 본 연구과제에서 예상했던 결과와 상이했음
- 따라서, 베트남인이 가지는 주요한 장내 유산균 정보 분석을 통해 최종적으로 Lactobacilli 분리를 진행하고, 기초생리활성 측정 및 분석결과에 따른 *Lactobacillus* spp. 및 한국전통식품유래 유산균주의 혼합균주 모델 가능성을 모색하기로 함

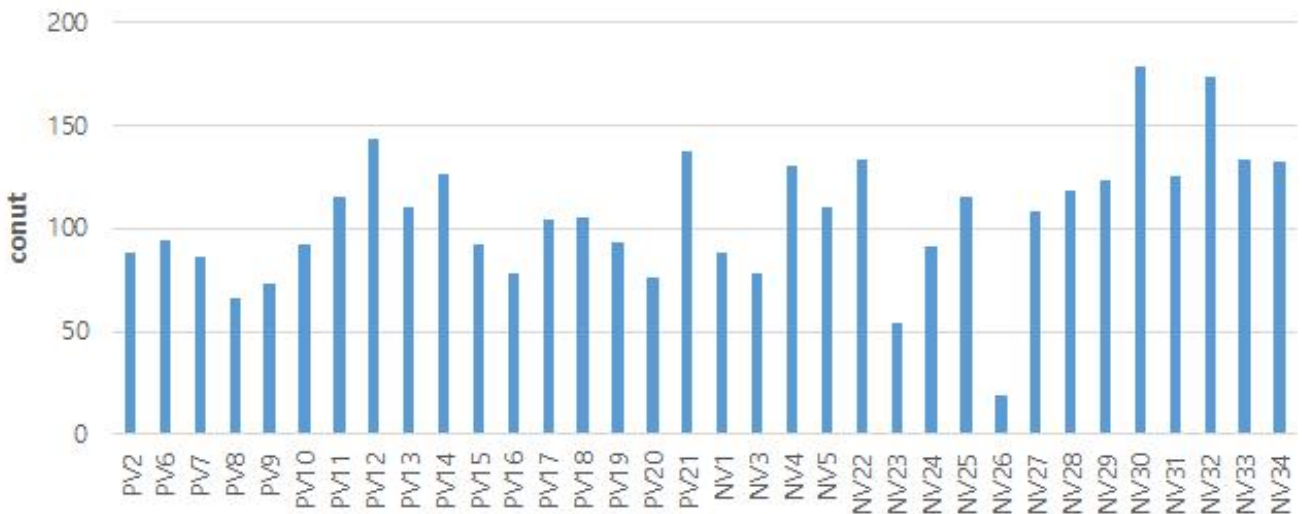


Fig. 76. Detection of each OTU in the Vietnamese fecal samples.

\* OTUs : Operational Taxonomic Unit is an operational definition of a species or group of species often used when only DNA sequence data is available

\* Chao1 : returns the Chao1 richness estimate for an OTU definition

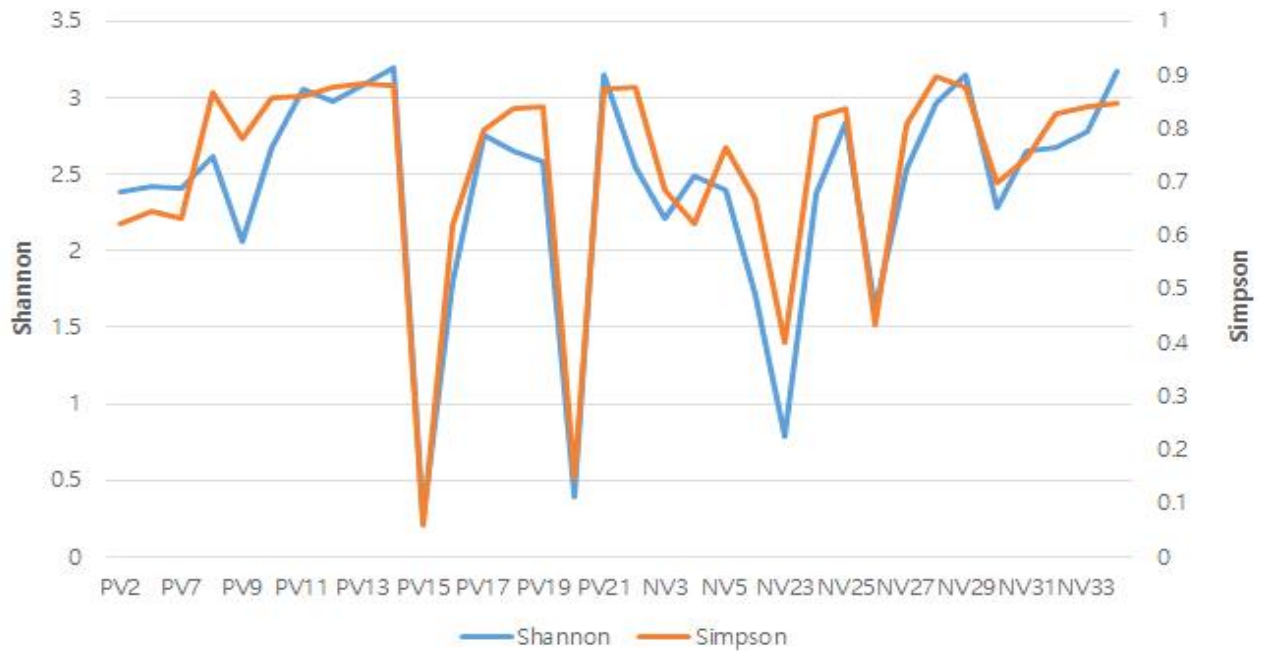


Fig. 77. Shannon diversity and simpson dominance of the Vietnamese fecal samples.

\* Shannon : The Shannon index takes into account the number and evenness of species

\* Simpson : The Simpson index represents the probability that two randomly selected individuals in the habitat will belong to the same species

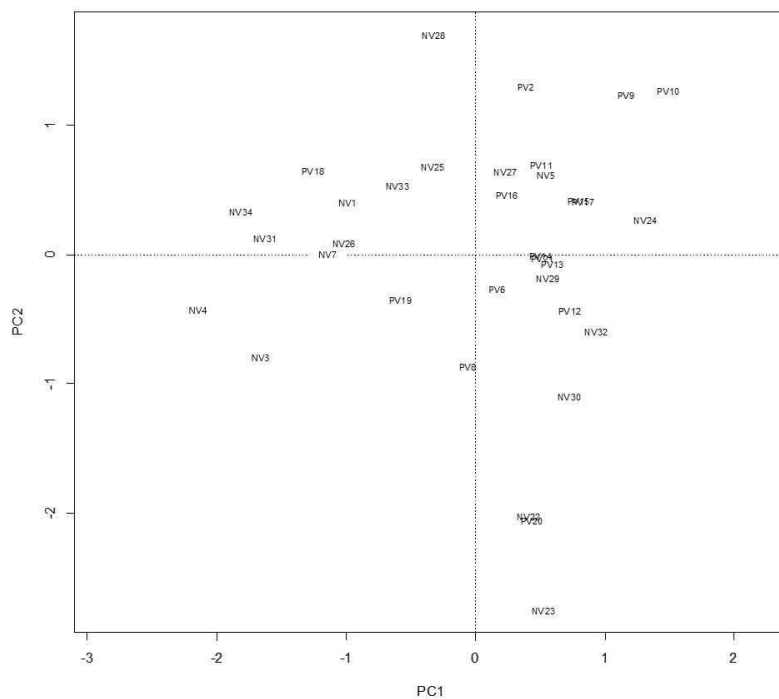


Fig. 78. Principal component analysis(PCoA) based on the NGS data set at the family level on the data set from the first generation of Veitnamese fecal samples.

\*PCoA is a technique that helps to extract and visualize a few highly informative components of variation from complex, multidimensional data.

\*This is a transformation that maps the samples present in the distance matrix to a new set of orthogonal axes such that a maximum amount of variation is explained by the first principal coordinate, the second largest amount

of variation is explained by the second principal coordinate.

\*The two dimensional principal coordinates provide an intuitive visualization of the data structure and look at differences between the samples.

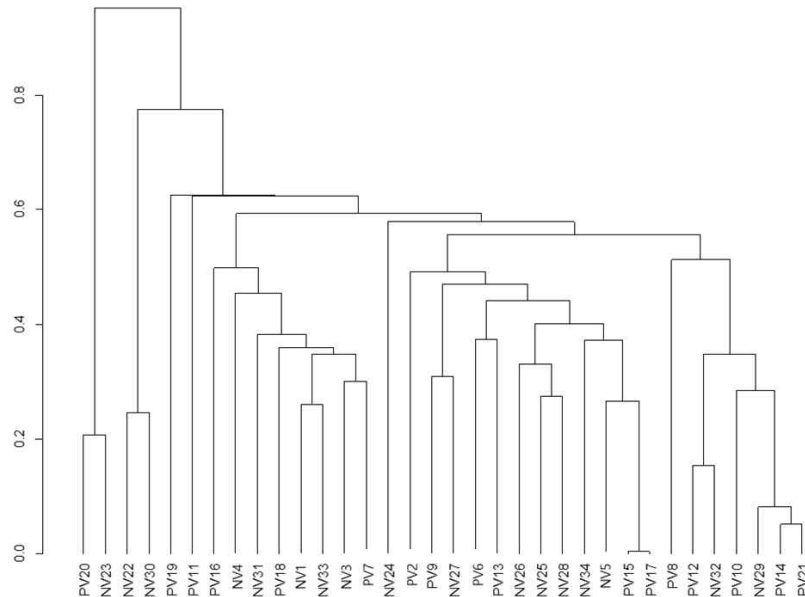


Fig. 79. Cluster dendrogram of Vietnamese fecal samples.

\*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA) is type of hierarchical clustering method using average linkage and can be used to interpret the distance matrix

\*For your own purposes, the distance matrix file can be used to draw your own phylogenetic tree using a suitable tool

- 베트남인의 Microbiota 분석 결과 과민성대장증후군 베트남인들에 있어서 지역에 상관없이 대부분 전세계적 Probiotics 종인 *Lactobacillus* spp.의 분포가 취약한 것으로 1차조사 결과 나타났음. 본 연구 목적은 베트남인 다수가 필요한 균주를 만드는 것이 목적이기 때문에 연구방향을 *Lactobacillus* spp.로 결정하였음

▶ 베트남인(거주인) 분변 유래 유산균 분리

○ (베트남인 분변 샘플링) 단국대학교와 베트남 공식 협력 기관인 글로벌 산학협력센터를 통한 베트남인의 분변 수집을 통하여 분변 샘플링을 실시함

- 모집군은 과민성대장증후군 증상이 있는 자와 위장관 증상이 전혀 없는 자 모두 모집하였으며, 소화기관 수술을 받은 경우, 최근 한 달 이내에 항생제 복용력이 있는 경우는 모집군에서 제외됨

- 대상 기준에 적합한 모집군에게 멸균된 분변 채취용 면봉으로 분변을 5 g정도 채취하여



Conical tube(15 mL)로 샘플링하였고, 초저온냉동상태(-27 ℃)로 보관되어 실험실로 운송함

- (1차 베트남인 분변 유래균주 분리) 베트남인 분변 샘플 수집이 완료된 후, 균주의 분리를 위해 초저온냉동상태(-27 ℃)로 보관중인 샘플들을 37 ℃ 인큐베이터에서 해동시켜 사용하였음

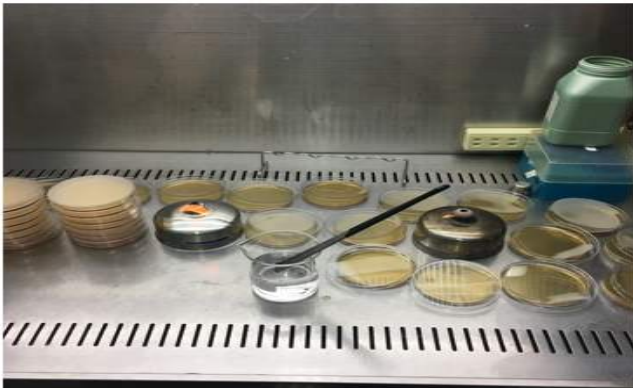


Fig. 80. 분산 도말 실시

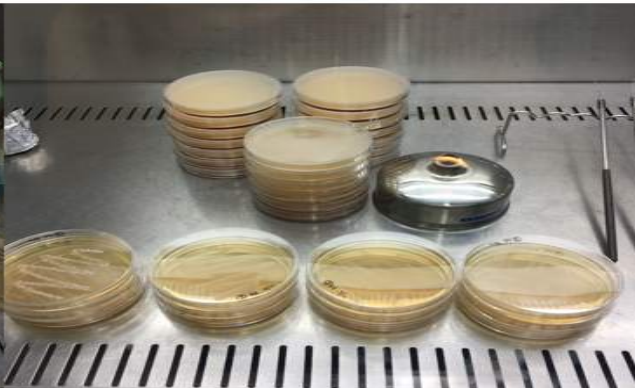


Fig. 81. 37 ℃, 72시간 배양 완료 샘플

- 해동된 분변을 적당량의 시료를 취하여 glass homogenizer (Hielscher, Germany)에서 균질화 한 후, 멸균 헝기 희석액으로 십진 희석함. 희석액을 MRS agar(Difco, USA)에 도말 접종한 다음 Anaerobic system (BBL, USA)을 이용하여 37 ℃에서 72시간 헝기 배양함(1차 분리)
- 균주의 분리를 위해 베트남인 분변 시료를 배양(37 ℃, 24h) 후 Lactobacilli, Bifidobacteria의 선택적인 분리를 위해 Dextrose를 Maltose로 대체하고, MRS agar에 백금이로 분산 도말 실시함
- 37 ℃ 인큐베이터에서 약 72시간 배양한 후 MRS Agar 배지 상에 나타난 특징적인 균락을 백금이로 채집하여 MRS broth(Difco Lab, USA)에 접종하고 배양하여 -60 ℃에서 보관하여 사용하였음
- 백금이로 채집하여 MRS broth에 18시간 간격, 3번 연속계대배양을 통해 균주의 형태학적 특성을 분석하려는 과정에서 MRS broth에 균의 활성이 제대로 띄지 않았음. 이후 균주의 성장에 이상이 있는 것으로 판단되어 미생물학실험 대장균군 검사법을 실시함

#### (1) 대장균군 추정시험

- 대장균군 추정시험은 Lactose Broth(BD Difco, France)가 담긴 시험관에 18시간 간격으로 3번 연속계대배양을 통해 활력을 준 뒤 배지속에 투입된 듀랍관의 세균이 성장하는 동안 만들어진 가스를 확인함

- 37 °C에서 24±2 시간 경과한 후 발효관내에 가스가 발생했으므로 추정실험 양성 확정실험을 진행하기로 함



Fig. 82. 가스 발생 확인



Fig. 83. 가스 발생 확인

## (2) 대장균군 확정실험

- 대장균군 추정실험을 통해 유당발효에 의한 가스를 확인했으므로 확정실험에는 BGLB(BD Difco, France) ,EMB(BD Difco, France) 배지를 이용하여 1, 2차 실험을 진행함



Fig. 84. 가스 발생 확인

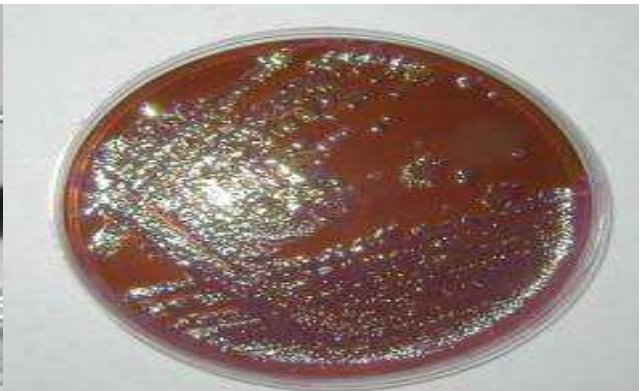


Fig. 85. 청색 colony 확인

\*Brilliant green lactose bile broth(BGLB; BD Difco, France) : 대장균군의 그람음성의 특징을 이용한 실험으로 양성일 경우 그람음성균이 생성되었다고 판단함

\*Eosin methylene blue agar(EMB; BD Difco, France) : 대장균군의 산을 생성하는 특징을 이용한 실험으로 청색의 colony가 확인될 경우 산을 생성하는 균이 생성되었다고 판단함

○ (균주의 보관) 균주의 2차 분리에도 불구하고 대장균군 검사법에 의해 대장균의 존재를 확인하였으므로 균주의 보관에 사용되는 MRS broth 액체배지와는 적합하지 않다고 판단하여, 보존료의 역할인 0.02% Sodium azide(Sigma, USA)가 첨가된 pH 5.5의 MRS Agar 무균적으로 접종하고 초저온냉동상태(-27 °C)로 보관하고 사용함

▶ 베트남인(거주인) 분변 유래 균주의 형태학적 특성 분석

○ (2차 균주 분리) 분리된 균주들은 crystal violet 용액으로 분리 균주를 염색한 후 광학현미경(Leitz Ltd., Germany)을 이용하여 Lactobacilli, Bifidobacteria의 형태를 관찰하였음(2차 분리)

(1) Gram staining(그람염색)을 통한 형태학적 분석

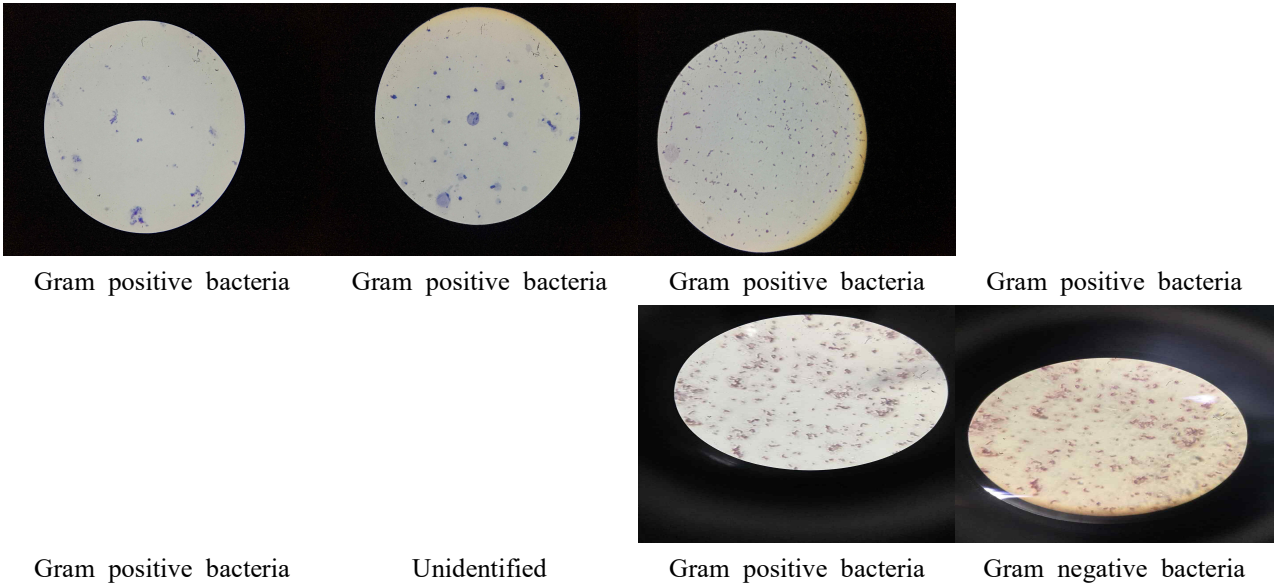


Fig. 86. Result of gram staining for Vietnamese feces.

(2) 유산균의 당 이용성 분석

○ (균주의 당 이용성 분석) 선발된 Lactobacilli, Bifidobacteria의 당 이용성을 측정하기 위해 API kit(API50 CHL, bioMerieux, France)를 이용하여 49종의 당 발효실험을 진행함

- 시험 균주를 MRS 액체배지에서 16시간 배양한 후 0.1% peptone 용액으로 세척한 다음 적당한 비율로 희석하였음. API kit의 사용법에 따라 접종액(inoculum)을 만들고 API 50 CHL 배지에 접종하여 strip을 만든 다음 37 °C에서 48시간 배양한 후 색 변화를 관찰하였으며, 실험 결과는 Bergey' s manual과 API LAB PLUS 프로그램(API50 CHL, bioMerieux, France)으로 비교분석하였음

○ (3차 균주 분리) API kit 결과 김치에 대표적인 균인 Lactobacilli 계열 젖산균이 가장 많이 나왔으며 본 실험에 적합하다고 판정되는 균 8종을 선발하였음 (3차 분리)

Table 78. Identification of isolated strains using API 50 API-kit

Strains	API 50 CHL	% ID <sup>1)</sup>
V1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	84.7
V2	<i>Weissella confusa</i>	92.3
V3	<i>Lactobacillus brevis</i>	89.5
V4	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	96.9
V5	<i>Lactobacillus brevis</i>	99.9
V6	<i>Lactobacillus brevis</i>	99.9
V7	<i>Lactobacillus brevis</i>	90.6
V8	<i>Lactobacillus brevis</i>	99.0

<sup>1)</sup>Level of similarity between the biochemical pattern of the strain and the biochemical pattern of the most similar strain present in the API database

▶ 베트남인(거주인) 분변 유래 유산균 기초생리활성 측정

○ (분리된 *Lactobacilli*, *Bifidobacteria*의 기초생리활성 측정) 3차 선발된 8종의 후보 균주들의 기초 생리활성을 측정하여 유용균주의 선발 및 library 구축에 이용함

(1) 유해효소( $\beta$ -glucuronidase, tryptophanase)활성 억제능 측정

-  $\beta$ -glucuronidase activity은 10  $\mu$ M phenolphthalein- $\beta$ -D-glucuronic acid (Sigma Chemical Co., Louise) 25  $\mu$ l를 기질로 사용해 효소액 37.5  $\mu$ l와 45 °C에서 15분간 반응시킴. 1.25  $\mu$ l 0.2 M glycine-NaOH buffer를 첨가하여 반응을 중지시키고 540 nm에서 흡광도를 측정함. 효소 역가 1 unit는 1분당 1  $\mu$ mol의 PNP 또는 phenolphthalein을 생산하는 효소의 양으로 정함

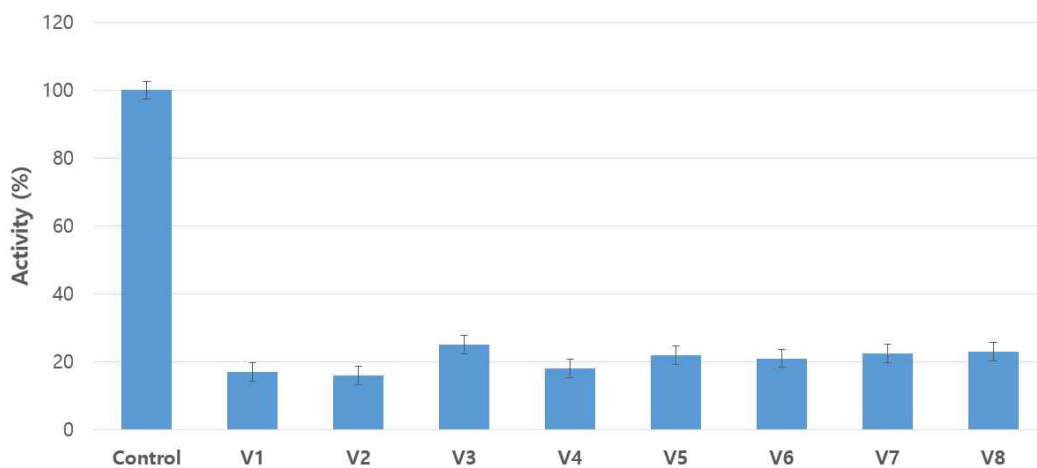


Fig. 87.  $\beta$ -glucuronidase activities in the feces of Vietnamese with different LAB strains

- $\beta$ -glucuronidase 활성 측정 결과 8종의 베트남인 분변 유래 균주가 모두 Control 군에 비하여 낮은 활성을 보였음
- Tryptophanase activity는 complete reagent solution (2.75 mg pyridoxal phosphate, 19.6 mg disodium EDTA dehydrate, 10 mg bovine serum albumin을 0.05 M potassium phosphate buffer, pH 7.5 100 ml에 넣은 용액), 20 mM tryptophan 0.2 ml, enzyme solution (분변샘플이 탁 되어있는) 0.1 ml로 구성되어 있는 reaction mixture 2.5 ml를 37° C에서 1시간 동안 incubation하였음
- 후에 color reagent solution (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52 ml과 95% ethanol 948 ml 혼합용액에 p-dimethylaminobenzaldehyde 14.7 g을 넣은 것) 2 ml을 첨가하여 반응을 종결시켰으며, 종결된 reaction mixture는 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고, 550 nm 흡광도에서 효소활성을 측정함

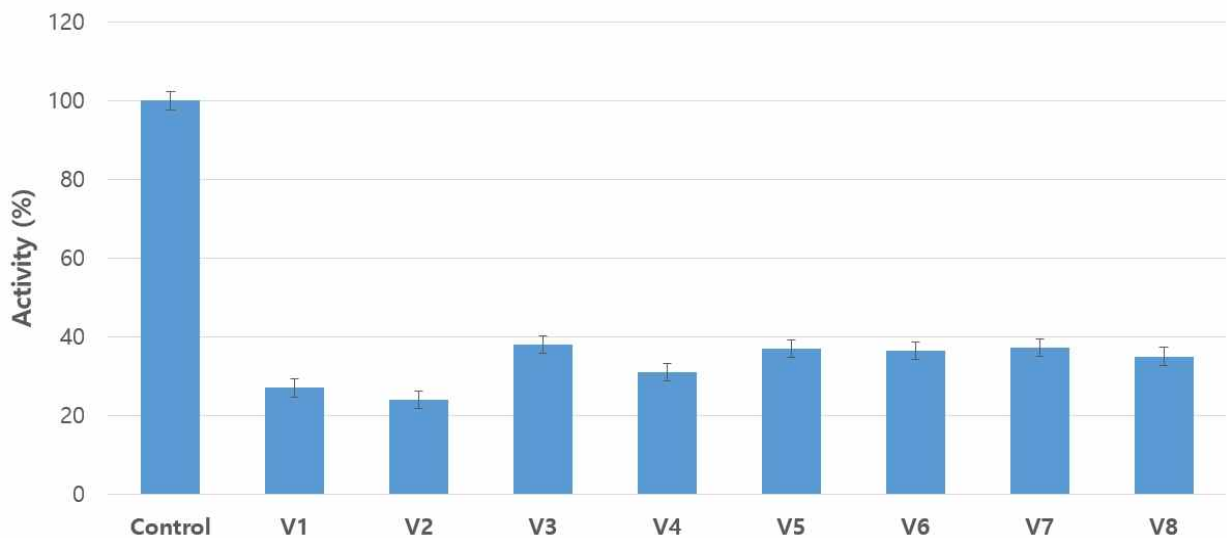


Fig. 88. Tryptophanase activities in the feces of Vietnamese with different LAB strains

- Tryptophanase 활성 측정 결과  $\beta$ -glucuronidase와 마찬가지로 Control군에 비하여 모두 낮은 활성을 보였음. 또한 균주마다의 활성이 비슷하 srudgid을 보였음

(2) 내산성 및 담즙산 내성 측정

- 분리균주의 내산성시험은 Berrada 등(1991)의 방법을 인용하여, MRS broth를 pH 2.0, 2.5, 3.0 및 7.0으로 조절된 0.05 M sodium phosphate 완충용액에 10<sup>7</sup> cfu/mL 수준이 되도록 한 후 분리 균주를 접종하고 37 °C에서 2시간 동안 배양한 후 생존율을 측정함

$$\% \text{ survival} = \frac{\text{Log}_{10} \text{ number of viable cells survived (cfu/mL)}}{\text{Log}_{10} \text{ number of initial viable cells inoculated (cfu/mL)}} \times 100$$

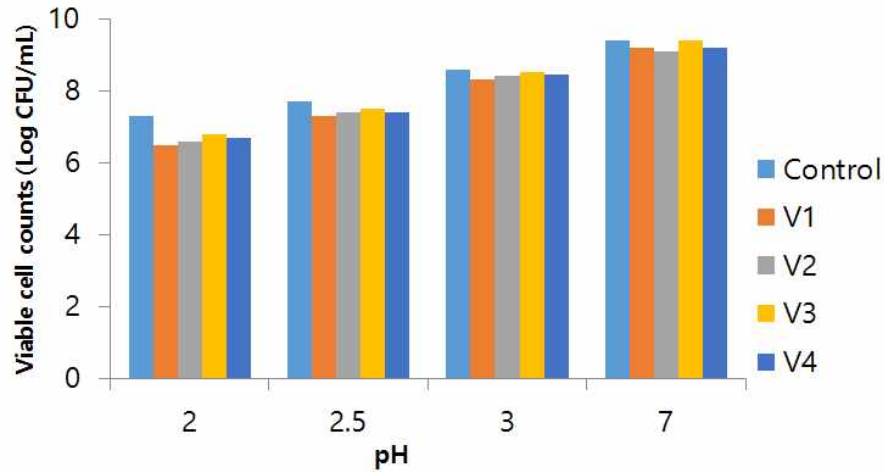


Fig. 89. Survivals of lactic acid bacteria treated in various pH condition for 2 h.

\*All strains were precultured MRS broth at 37 °C for 18 h

\*Control : ST-Body 1

- 담즙산 내성 측정은 인공위액에서 3시간 처리한 후 0.3% oxgall(Difco, France)이 첨가된 인공 담즙산액(pH 6.5)을 1:1 (v/v) 비율로 첨가하여 37 °C에서 48시간 동안 배양하여 담즙산액에 대한 내성을 측정함

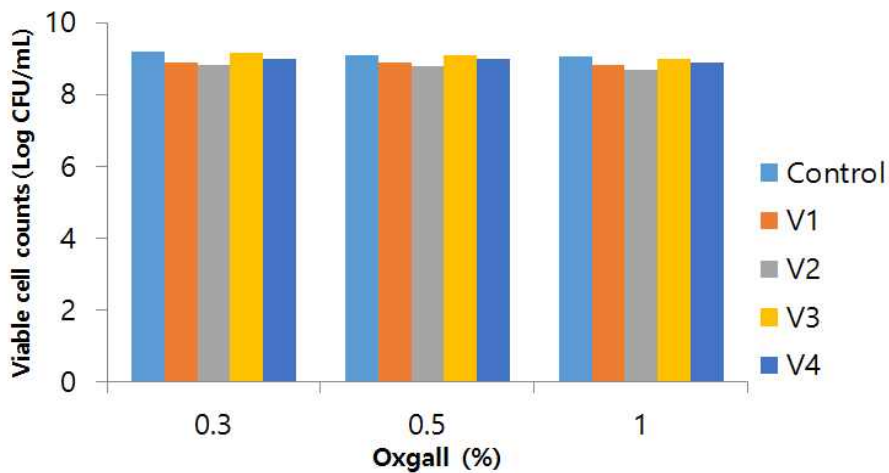


Fig. 90. Survivals of lactic acid bacteria treated in artificial bile juice at 37 °C for 48 h.

\*All samples were incubated after pre-treated same condition of artificial gastric juice at 37 °C for 2h

\*Control : ST-Body 1

▶ 베트남인(거주인) 분변 유래 균주 재분리 및 동정

(1) 베트남인 분변에서의 유산균 재분리

○ (베트남인 분변 샘플링) 1차년도에 분리된 후보균주는 국내에서 상용화될 수 없으므로 삼성서울병원에서 임상시험심사위원회(IRB) 통과에 따른 모집군(국내 거주중인 6개월 미만의 베트남인) 60명 중 정상인 30명, 과민성대장증후군 환자군 30명의 분변을 재수집하여 재실험에 사용하였음

○ (균주의 분리) 1차년도에 실시한 ‘베트남인 분변유래 LAB 분리’와 동일한 방법으로 균주 스크리닝을 진행하였음

- 분변수집 이후 -27 °C로 보관중인 샘플을 적당량 취하여 glass homogenizer (Hielscher, Germany)에서 균질화 한 후, 멸균 혐기 희석액으로 십진 희석함. 희석액을 MRS agar(Difco, USA)에 도말 접종한 다음 Anaerobic system (BBL, USA)을 이용하여 37 °C에서 72시간 혐기 배양하여 *Lactobacilli*의 선택적인 분리를 위해 Dextrose를 Maltose로 대체하고, 그람 음성균의 생육 억제를 위해 0.02% sodium azide를 첨가한 MRS agar에 백금이로 분산 도말 실시함
- 37 °C 인큐베이터에서 약 72시간 배양한 후 MRS Agar 배지 상에 나타난 특징적인 균락을 백금이로 채집하여 MRS broth(Difco Lab, USA)에 접종하여 순수분리 실시하였으며, 채집된 균주는 18시간 간격으로 3번 연속계대배양이후 -72 °C에서 보관하여 사용하였음

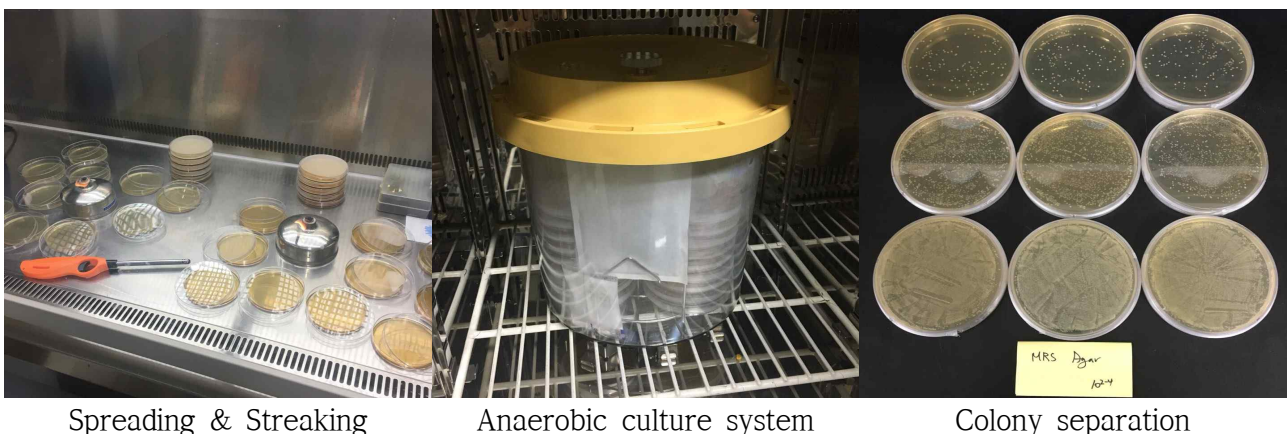


Fig. 91. Separation of strains from Vietnamese feces.

○ (균주의 보관) 분리된 총 300여종의 단일균주 보관은 25% glycerol stock으로 -72 °C에서 보관하여 실험에 사용함

○ (분리균주의 특성 확인) 분리된 균주들의 특성을 탐색하기 위해 형태학적 특성 조사는 그람 염색(Gram stain) 후 현미경으로 관찰하였으며, 생리적, 생화학적 특성 조사는 API 50 CHL Kit(biomerieux, France)를 이용하여 37 °C에서 48시간 배양 후 실시하였음

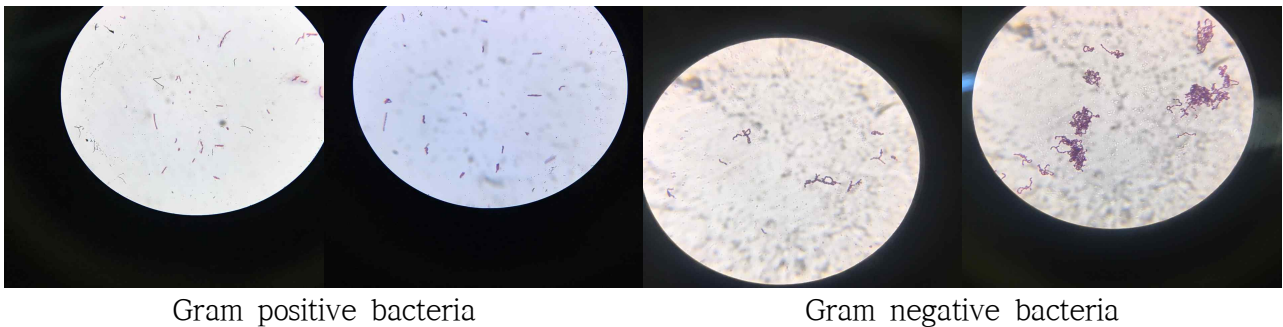


Fig. 92. Result of gram staining for Vietnamese feces.

○ (분리균주의 동정) 선발된 후보균주들의 16s rRNA gene sequencing을 수행하였음. 유전자 증폭을 위해 rRNA primers (27F and 1492R)를 사용하였고, 각 과정은 Microgen Co. (Daejeon, Korea)을 통하여 분석되었으며, Genbank의 database와 비교하여 진행하였음

Table 79. Identification of DK strains with the 16s-rRNA sequence

Sample name	Species
V4	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
V7	<i>Lactobacillus plantarum</i>
V9	<i>Lactobacillus plantarum</i>
V10	<i>Lactobacillus plantarum</i>
V11	<i>Lactobacillus plantarum</i>
V12	<i>Lactobacillus plantarum</i>

- 분리된 후보균주의 동정을 위해 형태학적, 생화학적 특성과 16s rRNA sequencing 분석 결과 *Lactobacillus acidophilus* 1종, *Lactobacillus plantarum* 5종으로 나타남.

▶ 분리된 후보균주의 기초생리활성 측정

(1) 내산성 및 담즙산 내성 측정

○ (인공위액 저항성 시험) 각각의 균주를 MRS 액체배지에 18시간 간격으로 3번 연속계대배양한 후, 배양액을 원심분리(7,000 rpm, 4 °C, 10 min)하여 균체를 회수하였음. 이후 pH 1.5, 2.0, 3.0으로 각각 조정된 인공위액을 상징액과 동량으로 첨가하여 2시간 동안 배양하고 생



균수를 측정하였음

Table 80. Acid tolerance of lactic acid bacteria isolated from Vietnamese fecals. The strains were incubated in modified pH 1.5, 2.0, 3.0 MRS broth containing HCl at 37 °C for 2 h

Name	Viable cell counts (Log CFU/mL)				
	0 h	2 h			
		pH 7.0 (Control)	pH 1.5	pH 2.0	pH 3.0
V4	$2.7 \times 10^9$	$1.5 \times 10^9$	$2.8 \times 10^7$	$3.5 \times 10^8$	$8.2 \times 10^8$
V7	$2.3 \times 10^9$	$1.8 \times 10^9$	$3.3 \times 10^5$	$1.4 \times 10^9$	$1.7 \times 10^9$
V9	$2.7 \times 10^9$	$2.5 \times 10^9$	$1.5 \times 10^7$	$1.6 \times 10^9$	$2.3 \times 10^9$
V10	$2.7 \times 10^9$	$2.8 \times 10^9$	N.D <sup>1)</sup>	$2.2 \times 10^9$	$2.6 \times 10^9$
V11	$2.8 \times 10^9$	$2.7 \times 10^9$	$1.2 \times 10^6$	$2.5 \times 10^9$	$2.4 \times 10^9$
V12	$3.2 \times 10^9$	$3.1 \times 10^9$	$3.8 \times 10^6$	$2.2 \times 10^9$	$2.2 \times 10^9$

1)N.D : Not Detected <  $10^5$

○ (인공담즙 저항성 시험) 인공담즙 저항성 시험은 인공위액 저항성 시험 이 후 연속적 실험을 위해 pH 1.5, 2.0, 3.0으로 각각 조정된 인공위액을 2시간 동안 배양한 배양액을 원심분리 (7,000 rpm, 4 °C, 10 min)하여 상징액 제거 후 0.3%로 설정된 인공담즙(Oxgall)을 동량 첨가 후 37 °C에서 24시간 배양 후 생균수를 측정하였음

Table 81. Bile acid tolerance of lactic acid bacteria isolated from Vietnamese fecals. The strains were incubated at 37 °C for 24 h in MRS broth containing 0.3 % Oxgall

Name	Viable cell counts (Log CFU/mL)						
	24h						
	pH 7.0 (Control)	pH 1.5 (0%)	pH 1.5 (0.3%)	pH 2.0 (0%)	pH 2.0 (0.3%)	pH 3.0 (0%)	pH 3.0 (0.3%)
V4	$1.5 \times 10^9$	$1.1 \times 10^8$	$2.0 \times 10^5$	$3.0 \times 10^7$	$7.5 \times 10^6$	$3.2 \times 10^7$	$2.9 \times 10^7$
V7	$1.8 \times 10^9$	$1.8 \times 10^8$	$3.0 \times 10^6$	$2.9 \times 10^8$	$3.4 \times 10^6$	$3.5 \times 10^8$	$8.0 \times 10^6$
V9	$2.5 \times 10^9$	$1.5 \times 10^8$	$3.0 \times 10^7$	$3.6 \times 10^8$	$3.2 \times 10^7$	$4.7 \times 10^8$	$8.6 \times 10^7$
V10	$2.8 \times 10^9$	$1.9 \times 10^8$	$7.7 \times 10^6$	$3.9 \times 10^8$	$5.8 \times 10^7$	$4.5 \times 10^8$	$8.7 \times 10^7$
V11	$2.7 \times 10^9$	$3.2 \times 10^8$	$3.6 \times 10^7$	$4.0 \times 10^8$	$4.7 \times 10^7$	$6.9 \times 10^8$	$8.7 \times 10^7$
V12	$3.1 \times 10^9$	$4.2 \times 10^8$	$5.9 \times 10^6$	$4.3 \times 10^8$	$3.2 \times 10^7$	$9.4 \times 10^8$	$1.0 \times 10^8$

1)N.D : Not Detected <  $10^5$

(2) 선발 후보균주의 향산화능 측정

- 향산화 측정을 위한 선발 유산균의 전처리에는 MRS broth에서 37 °C, 18시간 간격으로 3회 계대배양한 배양액을 원심분리(8,000 rpm, 10 min)하여, 0.45 μm filtration 이후 걸러진 상

등액을 사용하였음

- 선발 유산균의 DPPH radical 소거활성을 측정하기 위해 Rivero-Pérez M.D 등 (2008) 의 방법을 일부 수정하여 실험함. DPPH solution과 전처리한 베트남인 분변유래 균주 Sample을 1:1 비율로 혼합하여 상온 암실에서 30분간 방치함. 이 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였음
- Control 균으로는 상용균주인 *L. paracasei* BGP2를 사용하였으며, 표준곡선으로는 Trolox를 사용하였음

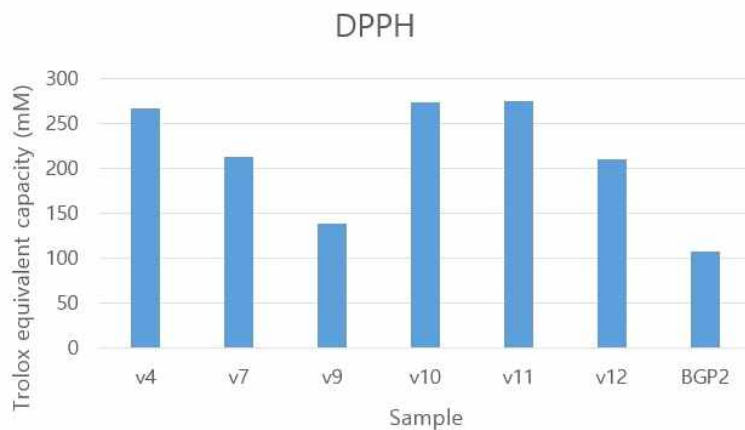


Fig. 93. DPPH radical scavenging activity of each samples.

\*BGP 2 : *Lactobacillus paracasei* (SACCO, USA)

- 후보균주의 DPPH radical 소거 활성능이 상용균주인 *Lactobacillus paracasei* BGP2보다 *Lactobacillus plantarum* V4, V10, V11의 활성능이 2배 이상 높은 것을 확인함
- 선발 유산균의 FeSO<sub>4</sub> 철 이온의 환원력을 측정하기 위해 균주를 FRAP 시약을 사용하여 흡광도를 측정하고 Fe<sup>2+</sup>의 농도를 FeSO<sub>4</sub>의 표준곡선에 대입하여 환산하였음

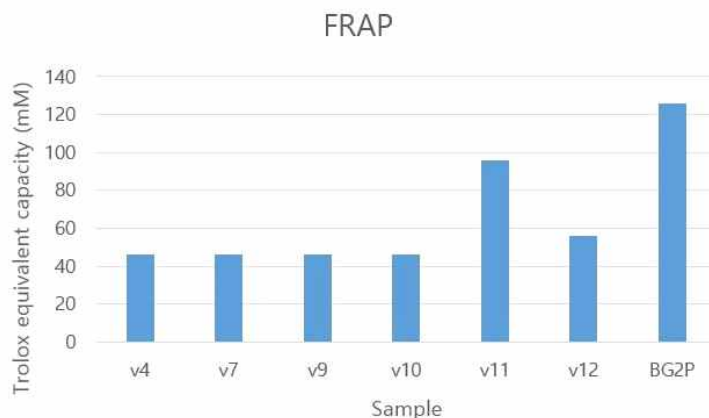


Fig. 94. Ferric reducing actioxidant power of each samples.

\* BGP 2 : *Lactobacillus paracasei* (SACCO, USA)

- 선발균주들의 철 이온 환원력은 상용균주인 BGP2보다 전반적으로 낮았으며 V11의 활성이 가장 높게 측정되었음
- 선발 유산균의 ABTS radical 소거활성을 측정하기 위해 항산화 시약인 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)와 potassium persulfate 를 혼합하여 radical 소거능을 측정하였음

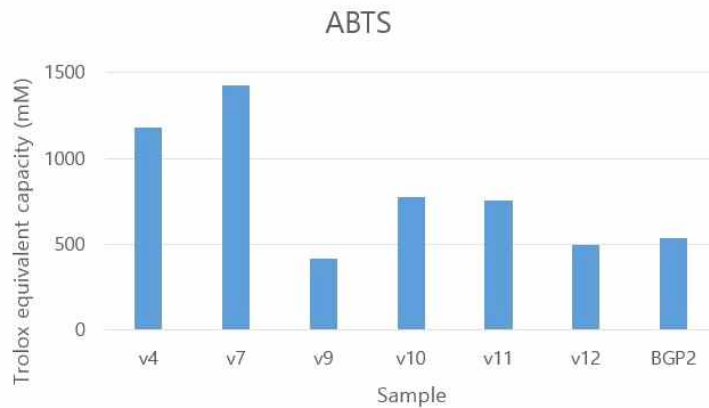


Fig. 95. ABTS radical scavenging activity of each samples.

\* BGP 2 : *Lactobacillus paracasei* (SACCO, USA)

- 항산화능 측정 결과 베트남인유래 후보균주중 *Lactobacillus plantarum* V4, *Lactobacillus plantarum* V7이 다른 후보균주에 비해 항산화능이 높은 것을 확인함
- 따라서, 베트남인 Microbiota 정보 수집과 위 기초생리활성 및 기능성 실험을 토대로 우수한 활성을 보였던 최종 후보균주 *L. acidophilus* V4 균주와 *L. plantarum* V7 균주 2종을 선정하였음
- 또한 베트남인(거주인) 분변 유래 균주와 혼합균주로 사용될 유산균주 분리를 위해 단국대학교 김철현 교수팀에서 기 보유하고 있는 한국전통식품유래 유산균 60종 중 후보균주를 선정하기로 하였음

▶ 한국전통식품유래 유산균 후보균주 선정

- 선행연구를 통해 확보된 김치유래 유산균 60 종을 분리·동정 후 기초 생리활성을 검증하고, 1차 선발된 36개 유산균에 대한 HCl을 이용한 내산성 실험, bile salt를 이용한 담즙산 내성 실험을 진행하였음
- 또한 순차적인 균주 선발 후 단백질 분해활력 및  $\beta$ -galactosidase 활성, Escullin agar test 실험을 실시하였음

(1) 김치에서 분리한 유산균의 분리 및 동정 (1차 선발)

Table 82. Identification of DK strains with the 16s-rRNA sequence

Sample name	Species
DK 119	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 121	<i>Lactobacillus paracasei</i>
DK 128	<i>Lactobacillus casei</i>
DK 201	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 202	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 203	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 204	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 205	<i>Lactobacillus brevis</i>
DK 206	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 207	<i>Lactobacillus casei</i>
DK 208	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 209	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 210	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 211	<i>Lactobacillus casei</i>
DK 212	<i>Lactobacillus casei</i>
DK 213	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 214	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 215	<i>Lactobacillus paracasei</i>
DK 301	<i>Lactobacillus sakei</i>
DK 303	<i>Lactobacillus plantarum</i>
DK 304	<i>Lactobacillus pentosus</i>
DK 305	<i>Leuconostoc citreum</i>
DK 306	<i>Weissella cibaria</i>
DK 307	<i>Weissella cibaria</i>
DK 308	<i>Weissella cibaria</i>
DK 309	<i>Weissella cibaria</i>
DK 310	<i>Lactobacillus sakei</i>
DK 311	<i>Lactobacillus sakei</i>
DK 312	<i>Lactobacillus sakei</i>
DK 313	<i>Lactobacillus sakei</i>
DK 314	<i>Weissella confusa</i>
DK 315	<i>Lactobacillus sakei</i>
DK 316	<i>Lactobacillus sakei</i>

DK 317	<i>Weisella cibaria</i>
DK 318	<i>Weisella cibaria</i>

(2) 김치 유래 유산균의 기초생리활성 및 기능성 검증(2차 선발)

○ (김치 유래 유산균의 내산성) 분리·동정한 유산균의 내산성을 측정하기 위해 pH 2.0로 조절된 MRS broth에서 2시간 배양후 생존력을 확인함. 방법은 위 배트남인 분변유래 균주의 내산성 실험과 동일한 방법으로 진행하였음

Table 83. Acid tolerance of lactic acid bacteria isolated from korean traditional fermented foods. The strains were incubated in modified pH 2.0 MRS broth containing HCl at 37 °C for 2 h

Sample name	Counting (Log CFU/mL)		Survival rate (%)
	0 h	2 h	
DK 119	8.78	8.30	94.53
DK 120	7.36	7.00	95.11
DK 121	8.15	7.48	91.78
DK 122	7.30	7.00	95.89
DK 123	7.90	7.00	88.61
DK 124	8.30	N.D	-
DK 125	7.30	7.26	99.45
DK 126	8.08	7.00	86.63
DK 127	7.95	7.48	94.09
DK 128	7.30	7.00	95.89
DK 201	9.30	N.D	-
DK 202	9.60	7.00	78.92
DK 203	9.70	N.D	-
DK 204	9.70	N.D	-
DK 205	8.32	7.60	91.35
DK 206	9.60	N.D	-
DK 207	9.48	7.00	73.84
DK 208	9.48	7.00	73.84
DK 209	9.70	N.D	-
DK 210	9.48	7.00	73.84
DK 211	9.90	7.30	73.74
DK 212	9.48	8.30	87.55
DK 213	8.30	N.D	-
DK 214	9.85	N.D	-
DK 215	9.78	7.00	71.57

DK 301	9.30	9.48	101.94
DK 303	9.60	N.D	-
DK 304	9.48	N.D	-
DK 306	9.70	N.D	-
DK 307	9.70	8.48	87.42
DK 308	9.48	N.D	-
DK 309	9.30	N.D	-
DK 310	9.04	10.00	110.62
DK 311	9.00	8.70	96.67
DK 312	9.00	N.D	-
DK 313	9.30	9.00	96.77
DK 314	9.00	9.00	100
DK 315	9.60	N.D	-
DK 316	8.00	N.D	-
DK 317	9.70	7.00	72.16
DK 318	9.00	8.00	88.89

1)N.D : Not Detected < 10<sup>5</sup>

- pH 2.0 조건에서 2시간 배양 후에 DK 101, DK 102, DK 104, DK 107, DK 109, DK 119, DK 121, DK 128, DK 207, DK 211, DK 212, DK 215, DK 301, DK 303 총 14종의 유산균 생존력이 배양 0시간과 비슷한 수준을 유지하여 내산성이 높은 것으로 나타남

○ (김치 유래 유산균의 담즙산 내성) 유산균의 담즙산 내성을 측정하기 위해 Table. 83과 같이 1.0% oxgall을 첨가한 MTS broth에서 37 °C에서 2시간 배양 후 생존력을 확인하였음. 유산균의 담즙산 내성은 총 32종이 DK 균주가 10<sup>7</sup> CFU/mL 이상의 생존력을 나타냄

Table 84. Bile acid tolerance of lactic acid bacteria isolated from korean traditional fermented foods. The strains were incubated at 37 °C for 24 h in MRS broth containing 1.0 % Oxgall

Sample name	Counting (Log CFU/mL)		Survival rate (%)
	0 h	24 h	
DK 119	8.78	8.48	96.58
DK 120	7.36	N.D	-
DK 121	8.15	8.00	98.16
DK 122	7.30	N.D	-
DK 123	7.90	N.D	-
DK 124	8.30	7.78	93.73
DK 125	7.30	N.D	-
DK 126	8.08	N.D	-
DK 127	7.95	N.D	-
DK 128	7.30	7.00	95.89
DK 201	9.00	N.D	-

DK 202	9.30	N.D	-
DK 203	9.48	N.D	-
DK 204	9.30	N.D	-
DK 205	7.48	N.D	-
DK 206	9.30	N.D	-
DK 207	9.60	8.45	88.02
DK 208	8.60	N.D	-
DK 209	9.00	N.D	-
DK 210	9.30	N.D	-
DK 211	9.00	9.00	100
DK 212	9.48	8.70	91.77
DK 213	9.30	N.D	-
DK 214	9.30	N.D	-
DK 215	9.00	9.66	107.33
DK 301	8.48	8.00	94.34
DK 303	8.78	8.30	94.53
DK 304	9.00	N.D	-
DK 306	9.48	N.D	-
DK 307	8.00	N.D	-
DK 308	8.00	N.D	-
DK 309	7.48	N.D	-
DK 310	7.30	N.D	-
DK 311	8.00	N.D	-
DK 312	7.78	N.D	-
DK 313	8.30	N.D	-
DK 314	10.00	N.D	-
DK 315	8.48	N.D	-
DK 316	8.70	N.D	-
DK 317	9.00	N.D	-
DK 318	9.60	N.D	-

1)N.D : Not Detected < 10<sup>5</sup>

- 이 중 활성이 대체적으로 우수한 8종의 균주를 선발하여 유단백질 분해활력실험을 진행하였음

○ (유단백질 분해 활력) 선발유산균의 유단백질 분해능을 측정하기 위해 Well diffusion 방법을 응용하여 실험함. 탈지유 한천 배지 상에서 주입한 균 주위의 생성된 환을 보고 선발된 유산균의 유단백질 분해능에 대한 활성을 확인하였음

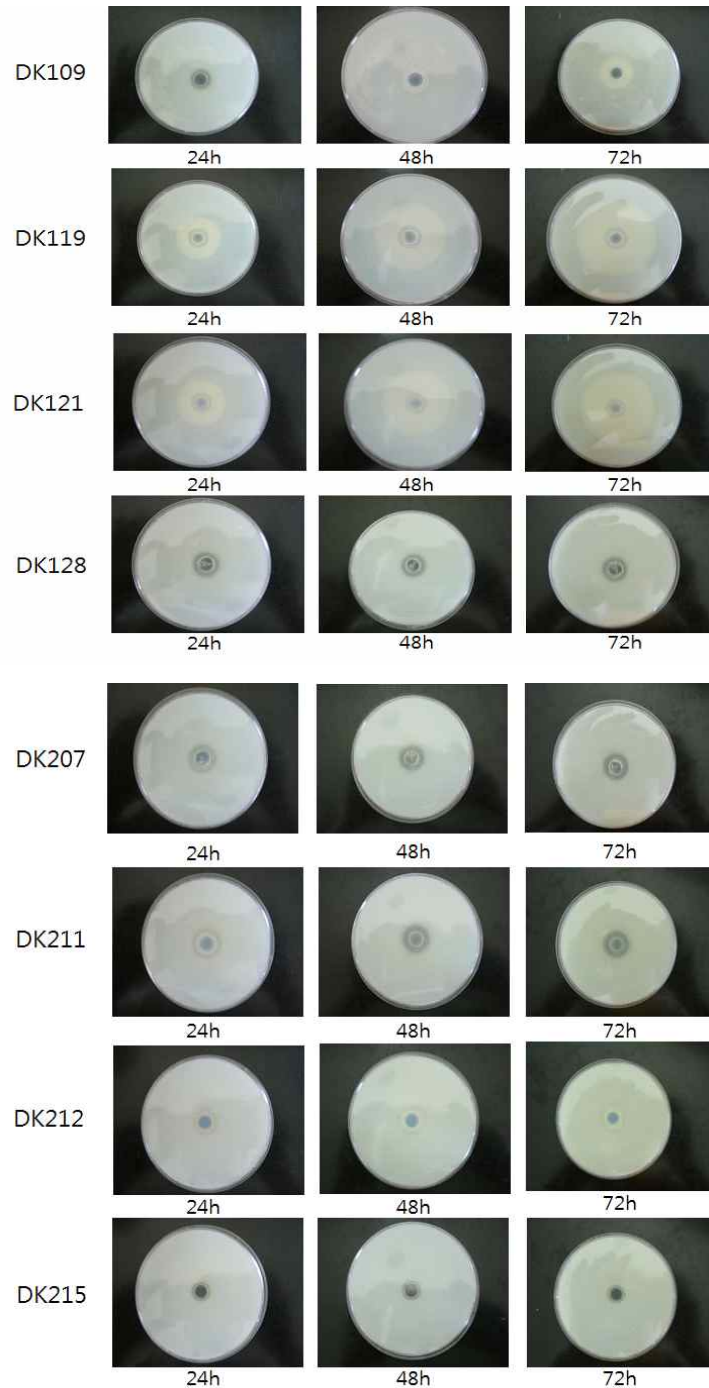


Fig. 96. Proteolysis activity of DK strains on skim milk agar plate for 72 h at 37 °C.

확인결과 DK 119, DK 121의 유단백질분해능이 우수한 것으로 확인되었으며 DK 109은 배양 72시간부터 환이 확인되었고, DK 128, DK 207, DK 211, DK 212, DK 215의 유단백질분해능은 다른 선발균주에 비해 낮은 것으로 확인되었음

- 위 기초생리활성 및 유단백질 분해활력 실험을 통하여 우수한 활성을 보인 DK 109, DK 121, DK 128 균주를 2차적으로 선발하였음



○ (선발 유산균의 항산화 활성) 선발 유산균의 항산화 활성 측정을 위해 DPPH radical scavenging assay, ABTS, FRAP 방법을 사용하였음

- 선발된 유산균 3종의 DPPH radical 소거활성을 측정하기 위해 Rivero-Pérez M.D 등 (2008) 의 방법을 일부 수정하여 실험함. DPPH solution과 전처리된 Sample을 1:1 비율로 혼합하여 상온 암실에서 30분간 방치한 뒤 517 nm에서 흡광도를 측정하였음
- Control군으로는 상용균주인 *L. paracasei* BGP2를 사용하였으며, 표준곡선은 Trolox를 사용하였음

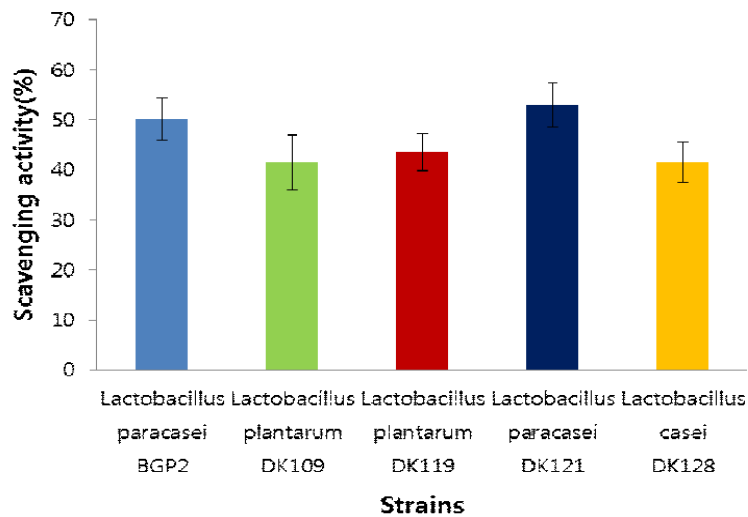


Fig. 97. DPPH radical scavenging activity for *Lactobacillus paracasei* BGP2 and DK strains

\**Lactobacillus paracasei* BGP2 : Commercial strain

- DK 121의 DPPH 소거활성은 상업용 균주에 비해 높게 나타났으며 40% 이상의 소거활성능이 나타남, 나머지 DK 균주의 DPPH radical 소거활성이 상업용 균주에 비해 낮게 나타났음
- 선발 유산균의  $FeSO_4$  철 이온의 환원력을 측정하기 위해 균주를 FRAP 시약을 사용하여 Sample과 혼합한 후 30분동안 상온암실에서 반응시키고, 흡광도를 측정하였음. 이 후  $Fe^{2+}$ 의 농도를  $FeSO_4$ 의 표준곡선에 대입하여 환산하였음

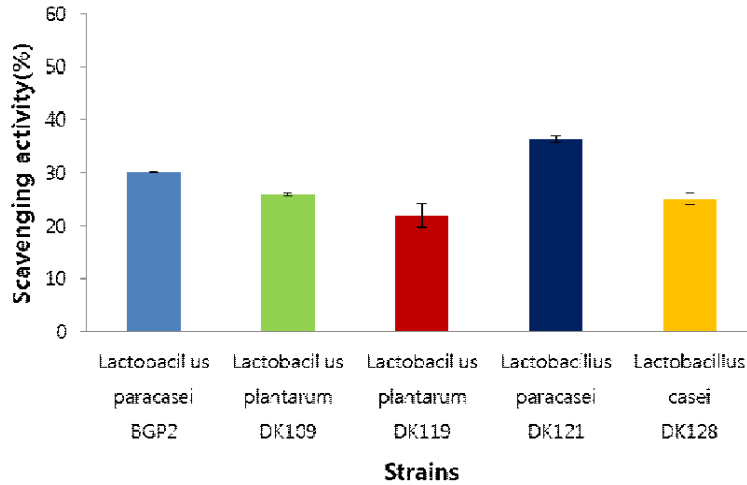


Fig. 98. Scavenging activities of ABTS of *Lactobacillus paracasei* BGP2 and DK strains

\**Lactobacillus paracasei* BGP2 : Commercial strain

- DK 121의 철 환원력은 상업용 균주에 비해 높게 나타났으며, 나머지 DK 균주의 FeSO<sub>4</sub> 철 이온의 환원력은 상업용 균주에 비해 낮게 나타남
- 선발 유산균의 ABTS radical 소거활성을 측정하기 위해 항산화 시약인 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)와 potassium persulfate 를 혼합하여 radical 소거능을 측정하였음

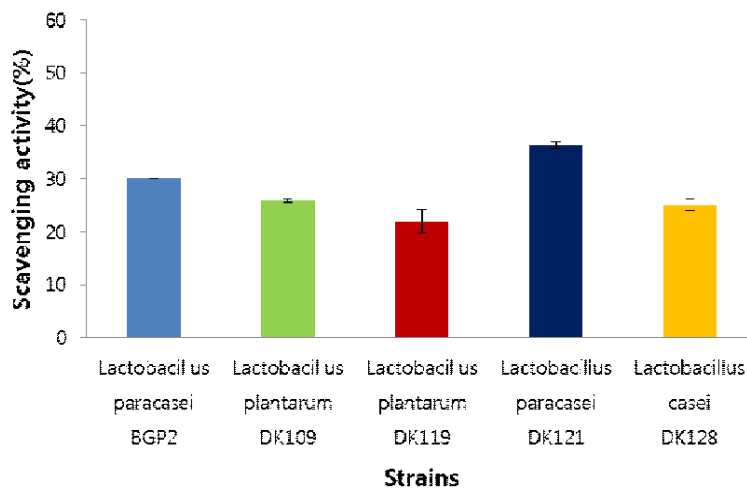


Fig. 99. Scavenging activities of ABTS of *Lactobacillus paracasei* BGP2 and DK strains

- ABTS 소거능 측정 결과, DK 121을 제외한 DK 균주의 radical 소거활성이 상업용 균주에 비해 낮게 나타남
- 선발 유산균의 hydroxyl radical 소거활성을 측정하기 위해 항산화 시약인 brilliant green과

FeSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 혼합하여 발생한 hydroxyl radical 소거능을 측정하였음

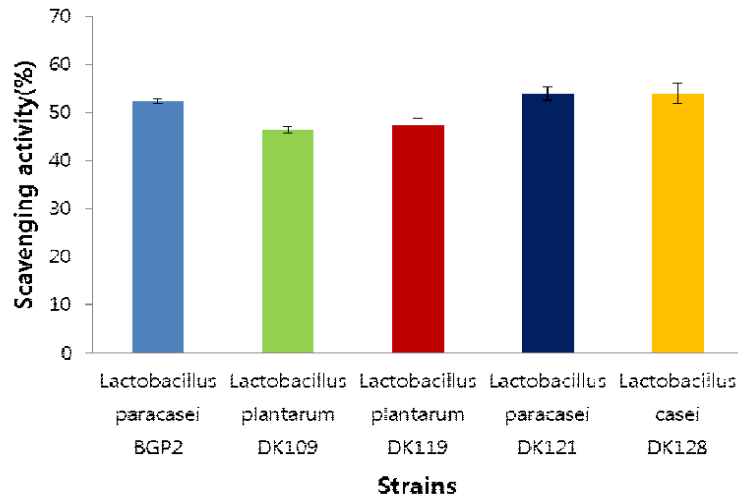


Fig. 100. Superoxide anion scavenging activities of superoxide anion of *Lactobacillus paracasei* BGP2 and DK strains incubated at 37° C for 18 h.

- DK 균주들의 hydroxyl radical 소거활성이 상업용 균주에 비해 높게 나타났음
- 한국전통식품유래 기 보유중인 유산균 후보균주 선정을 위해 기초생리활성 및 선발 유산균의 항산화 활성 확인 결과 *Lactobacillus paracasei* DK 121의 효과가 전반적으로 높아 최종 균주로 선정함. 이후, 베트남인 분변 유래 유산균과의 혼합균주 가능성을 모색하기로 함

▶ 후보 선발균주의 IBS 개선효과 확인(*in-vitro*) 및 기능성 검증

(1) 후보 선발균주의 장내부착능 측정

- 후보 선발균주의 장내부착능 측정은 Azcarate-Peril et al(2009)의 방법을 이용하여 측정함. 혼합균주간의 부착능을 위해 항산화능 측정을 통해 선발한 최종 후보균주 2종(*Lactobacillus acidophilus* V4, *Lactobacillus plantarum* V7)과 한국전통식품유래 최종 균주인 *Lactobacillus paracasei* DK 121, 그리고 3종의 균주를 5:4:1(w/v)으로 혼합한 혼합제제를 실험에 사용하였음
- 96 well plate(BD falcon, USA)에 Mucin solution(10 mg/mL in dH<sub>2</sub>O) 100 μl을 분주하고, 4 °C 에서 하룻밤 동안 mucin을 well 표면에 부착시켜 후보균주를 1.0×10<sup>7</sup> CFU/ml 수준으로 반응시킨 뒤 생균수를 측정하였음

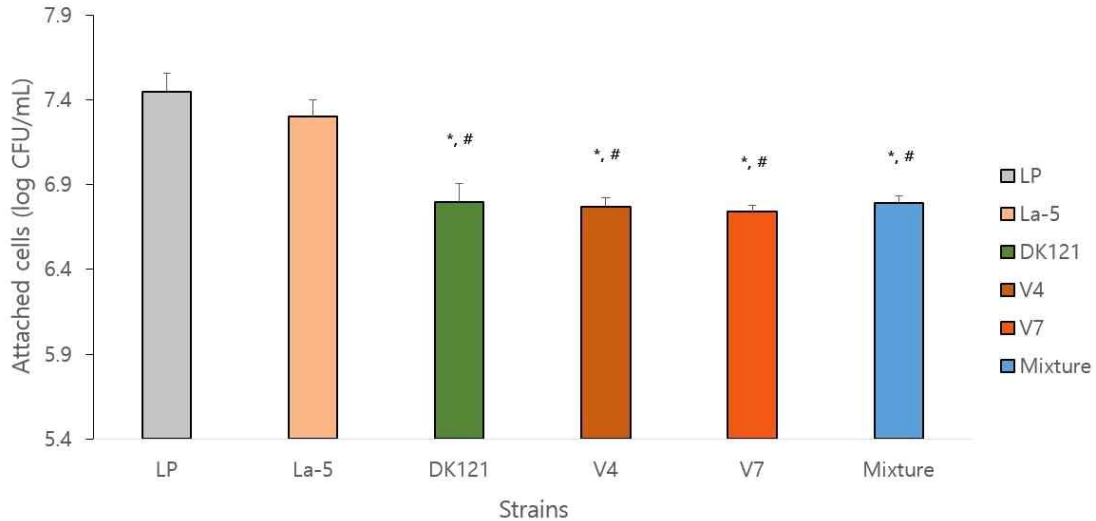


Fig. 101. Attachment of the LAB strains to the mucin surface in 96 well plates. The results are calculated as a logarithm units of the *L. plantarum* LP, *L. acidophilus* LA-5 as positive control strain. Data are expressed as the mean  $\pm$  standard deviation(SD) of three experiments.

\*Mixture : *Lactobacillus paracasei* DK 121:*Lactobacillus acidophilus* V4:*Lactobacillus plantarum* V7 = 5:4:1(w/v)

\*The results are calculated as a logarithm units of the *L. plantarum* LP, *L. acidophilus* LA-5 as positive control strain.

\*All values are presented as mean  $\pm$  SEM from triplicates.

\*Statistical difference : \*p<0.05 LP vs LABs, #p<0.05 La-5 vs LABs

- 실험결과 positive control인 *L. plantarum* LP, *L. acidophilus* LA-5의 부착된 생균수를 기준으로 장내 부착능을 비교하였음. Fig. 29과 같이 상용균주와 유의적으로 부착능의 차이는 관찰되었으나( $p<0.05$ ) 실험에 사용된 상용균주 및 혼합균주 모두 6.4 log CFU/mL 이상으로 우수한 결합능을 나타내었음

▶ 후보 균주의 기능성 검증

(1) 열 안정성

- 후보균주의 열안정성 실험에는 각 후보균주들을 18시간 간격으로 3회 연속계대배양하여 실험에 사용하였으며, 37(대조군), 55, 65 °C에서 5, 15분씩 열처리하여 대조구(37 °C)와 생균수를 비교하였음. 각 후보균주들과 혼합제제의 내열성 실험 결과 55 °C 조건에서의 생존율은 *Lactobacillus acidophilus* V4, *Lactobacillus plantarum* V7, *Lactobacillus paracasei* DK 121 모두 상용균주인 *Lactobacillus plantarum*(Cultersystem, USA)보다 높은 생존율을 보였음

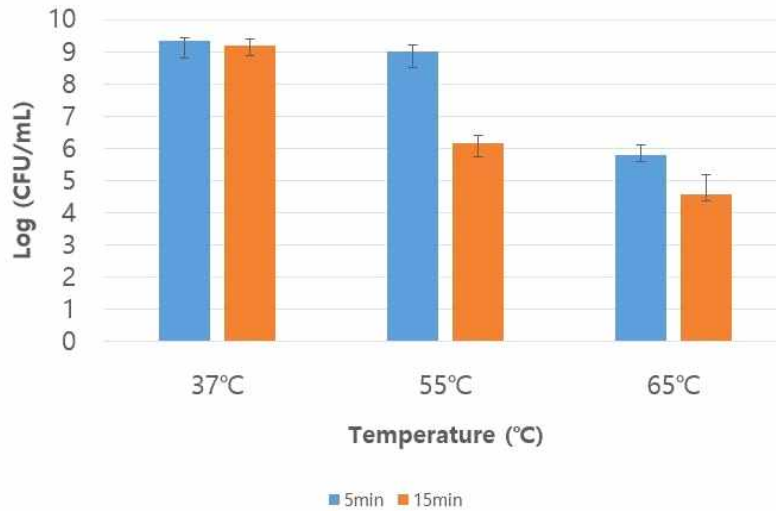


Fig. 102. Stability of mixture of Strain *Lactobacillus plantarum*(LP) in various temperature conditions for 15 min.

- 후보균주간 내열성을 비교를위한 비교균으로 상용균주인 *Lactobacillus plantarum*(Cultersystem, USA)를 각각 37, 55, 65 °C에서 5, 15분씩 열처리하여 대조구(37 °C)와 생균수를 비교하면, 55 °C에서 5분 96.8%, 15분 62.3%의 생존율을 보였고, 65 °C에서 5분 66.9%, 15분 50%의 생존율을 나타냈음

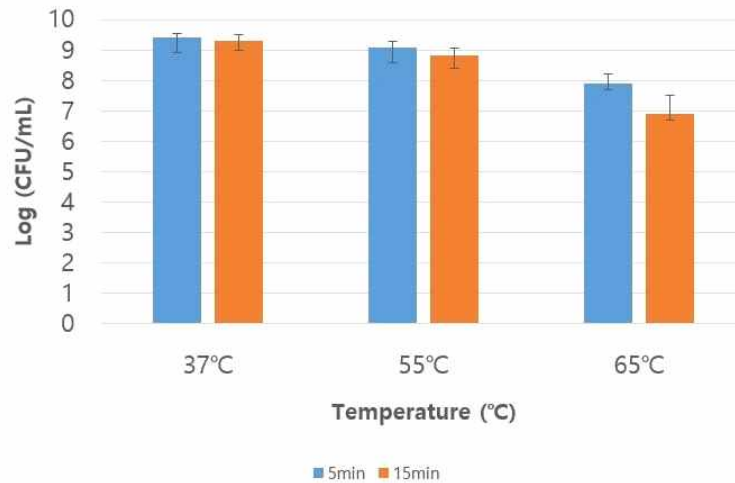


Fig. 103. Stability of strain *Lactobacillus acidophilus* V4 in various temperature conditions for 15 min.

- 베트남인 분변으로부터 분리하여 후보균주로 선발된 *Lactobacillus acidophilus* V4를 각각 37, 55, 65 °C에서 5, 15분씩 열처리하여 대조구(37 °C)와 생균수를 비교하면, 55 °C에서 5분 96.4%, 15분 83.9%의 생존율을 보였고, 65 °C에서 5분 94.7%, 15분 74.1%의 생존율을 나타냈음

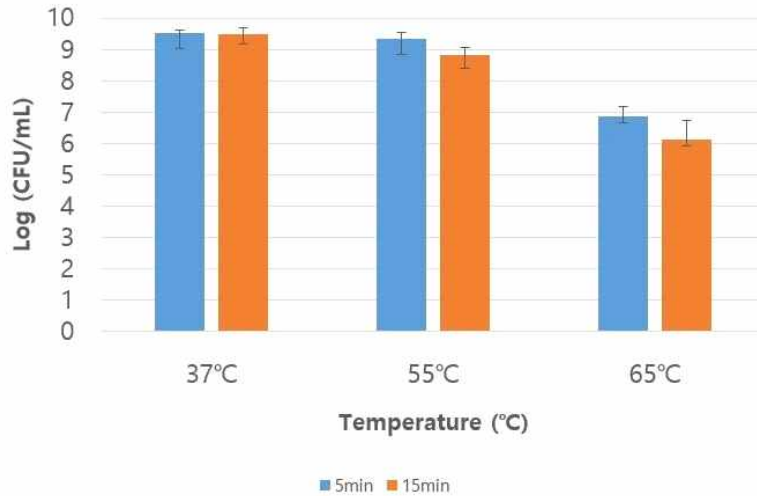


Fig. 104. Stability of strain *Lactobacillus plantarum* V7 in various temperature conditions for 15 min.

- 베트남인 분변으로부터 분리하여 후보균주로 선발된 *Lactobacillus plantarum* V7를 각각 37, 55, 65 °C에서 5, 15분씩 열처리하여 대조구(37 °C)와 생존수를 비교하면, 55 °C에서 5분 98.2%, 15분 72%의 생존율을 보였고, 65 °C에서 5분 93%, 15분 64.4%의 생존율을 나타냈음

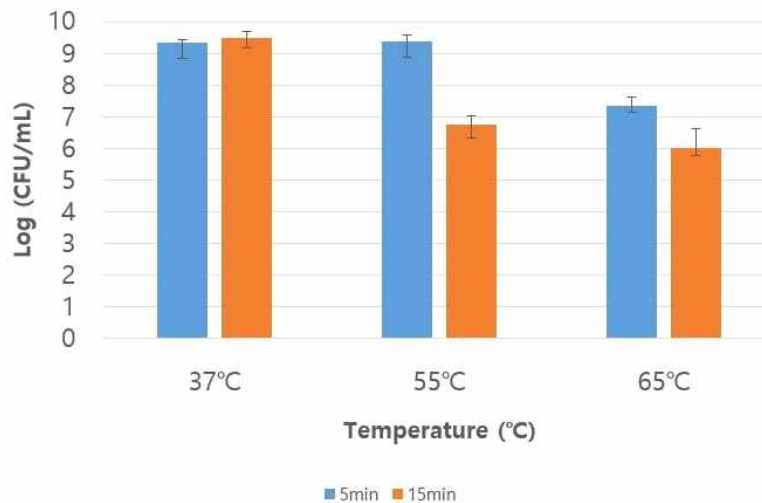


Fig. 105. Stability of strain *Lactobacillus paracasei* DK 121 in various temperature conditions for 15 min.

- 한국전통식품 김치로부터 분리하여 후보균주로 선발된 *Lactobacillus paracasei* DK 121을 각각 37, 55, 65 °C에서 5, 15분씩 열처리하여 대조구(37 °C)와 생존수를 비교하면, 55 °C에서 5분 100%, 15분 78.6%의 생존율을 보였고, 65 °C에서 5분 71.2%, 15분 63.2%의 생존율을 나타냈음

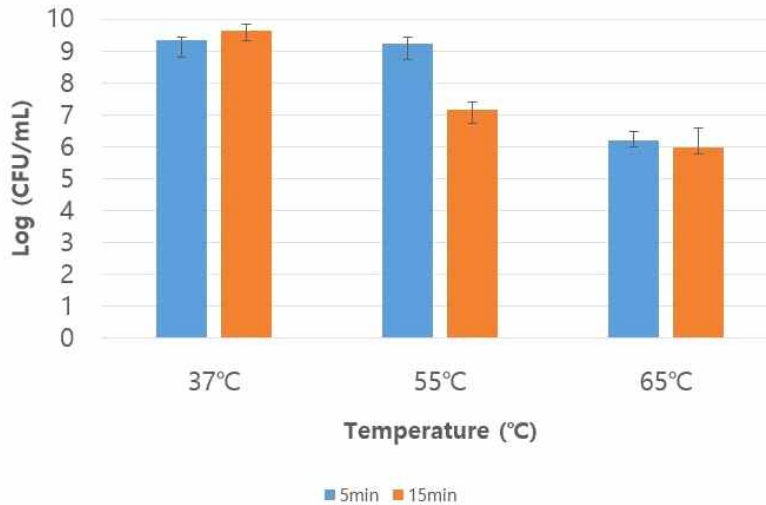


Fig. 106. Stability of mixture of Lactic Acid Bacteria (LAB) in various temperature conditions for 15 min.

- 베트남인과 한국전통식품유래 후보균주의 혼합제제는 *Lactobacillus paracasei* DK 121과 *Lactobacillus acidophilus* V4, *Lactobacillus plantarum* V7를 각각 5:4:1 비율(w/v)로 혼합하였으며, 각각 37, 55, 65 °C에서 5, 15분씩 열처리하여 대조구(37 °C)와 생존수를 비교하면, 55 °C에서 5분 99.1%, 15분 66.3%의 생존율을 보였고, 65 °C에서 5분 74.4%, 15분 62%의 생존율을 나타냈음
- 이는 단일 후보균주와 비교하였을 때 *Lactobacillus paracasei* DK 121의 내열성이 다른 후보균주에 비해 낮은 내열성을 나타내었는데, 본 혼합제제중 가장 많은 비율을 차지하였기 때문에 단일균주와 비교하였을 때 보다 내열성이 낮은 것으로 판단됨. 따라서 차년도 균주간 혼합도 실험에 있어서 중요한 기초 자료로 활용할 예정임

(2) 선발 후보균주의 세포독성 및 NO production 변화 탐색

- (세포주 및 세포배양) 실험에 사용한 마우스의 RAW 264.7 대식세포는 Korean Cell Line Bank (KCLB; Korea)에서 구입하여 사용하였음. 배지는 10% FBS가 함유된 DMEM(Welgene, South Korea) 배지를 이용하여 37 °C 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하여 사용하였음. 세포는 75 T 플라스크에 배양하였으며 배지는 2일마다 교환해 주었음
- (염증반응 유도 및 유산균의 전처리) RAW 264.7 세포에 염증반응을 유도하기 위해 세포는 96well plate (2×10<sup>4</sup>/well)에 DMEM배지를 분주하고 3시간 동안 부착시킴. 유산균 전처리를 위하여 MRS broth에서 18시간 간격으로 계대배양한 배양액을 원심분리(8,000 rpm, 10 min)하여 상등액을취해 pH 7.4로 처리하였음. 이후 유산균 상등액(300, 400, 500, 600, 700, 800 μg/ml)을 농도별로 처리하고 1시간 후에 LPS (0.05 μg/ml)을 20시간 처리하였음
- (MTT assay) 선발 유산균의 세포독성을 측정하기 위해 MTT-based cytotoxicity assay를 시

행하였음. 선발 유산균 및 혼합 유산균과 LPS가 처리된 RAW 264.7 세포를 20시간 배양한 후, 5 mg/ml 농도의 MTT 용액을 넣고 3시간 배양시킴. 이후 lysis buffer를 가하여 용해시킨 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였음

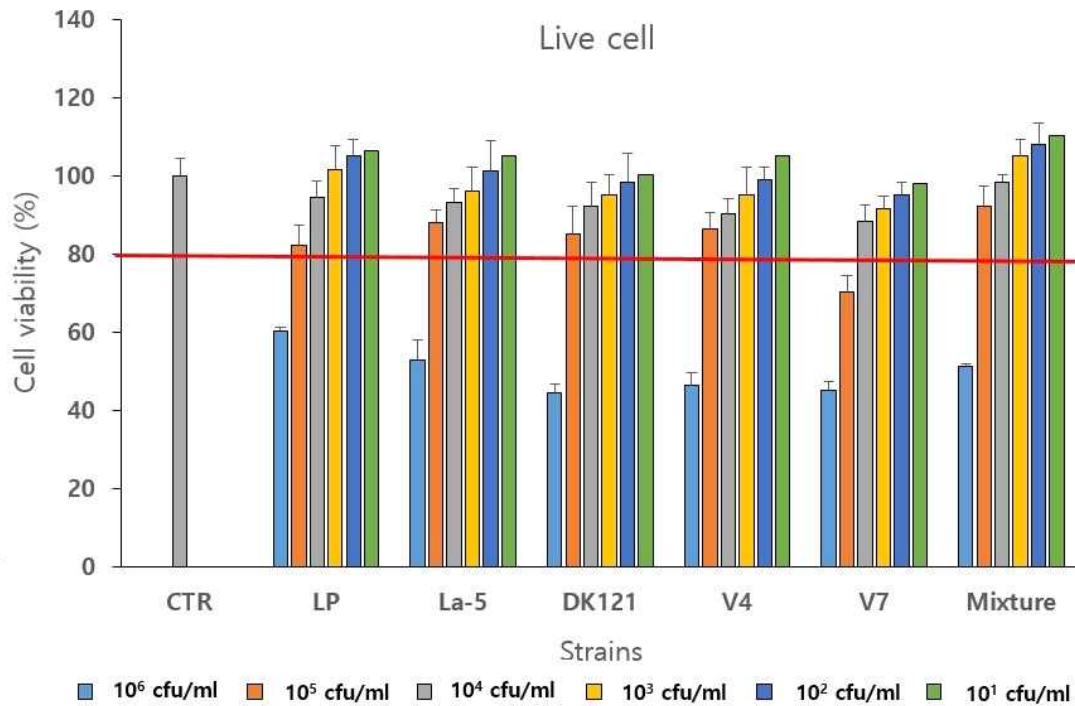


Fig. 107. Effect of selected LAB strains(Live cell) cytotoxicity in RAW 264.7 cell.

\*Mixture : *Lactobacillus paracasei* DK 121:*Lactobacillus acidophilus* V4:*Lactobacillus plantarum* V7 = 5:4:1(w/v)

\*All samples were pretreated each strains 2 h at 37 °C and then control treated LPS(0.05mg/uL) 20 h at 37 °C.

\*All values are presented as mean ± standard error mean from triplicates.



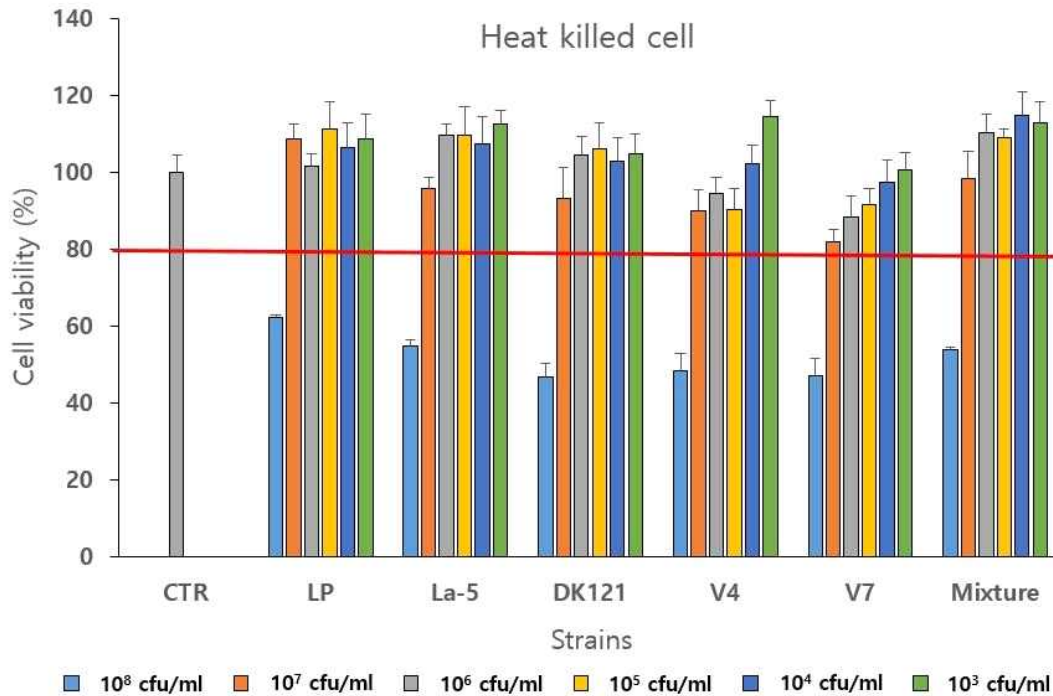


Fig. 108. Effect of selected LAB strains(Heat killed cell) cytotoxicity in RAW 264.7 cell.

\*Mixture : *Lactobacillus paracasei* DK 121:*Lactobacillus acidophilus* V4:*Lactobacillus plantarum* V7 = 5:4:1(w/v)

\*All samples were pretreated each strains 2 h at 37 °C and then control treated LPS(0.05mg/uL) 20 h at 37 °C.

\*All values are presented as mean ± standard error mean from triplicates.

- 마우스 대식세포인 RAW264.7 세포를 96well에  $5 \times 10^4$  cells/well당 의 농도로 생균과 사균체를 농도별로 처리한 세포독성 MTT assay 결과 사균의 경우  $10^8$ , 생균의 경우  $10^6$ 의 농도를 제외하고는 나머지 농도에서 세포독성 또는 성장촉진 작용을 확인할 수 없었음. 이후 MTT assay에서 세포생존능 기준점이되는 80%이상을 기준으로 확인할수 있었음

○ (Nitric oxide assay) 선발 유산균의 RAW 264.7 세포로부터 생성된 NO의 양은 Griess reagent를 이용하여 세포 배양액 중에 존재하는 NO<sub>2</sub>의 형태로서 측정하였음. 선발 유산균 및 혼합 유산균과 LPS를 20시간 처리한 세포의 상등액 50 ul와 Griess reagent (1% sulfanilamide + 2% phosphoric acid, 0.1% α-naphthylethylene diamide dihydrochloride) 50 ul를 혼합하여 상온에서 15분 동안 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였음

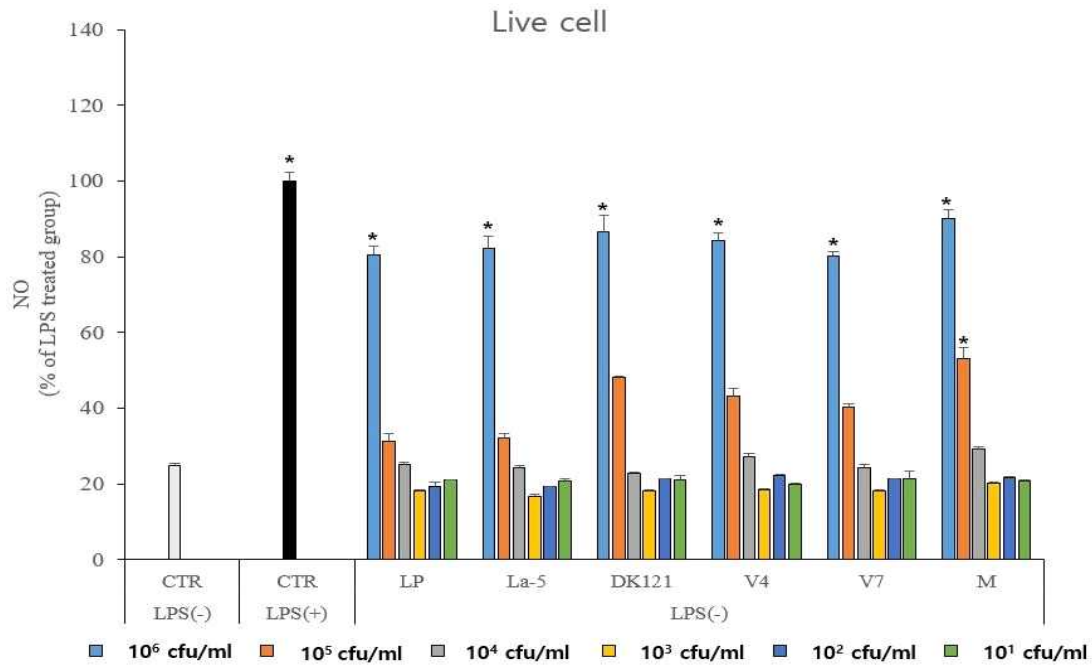


Fig. 109. The inhibitory effects of selected strains(Live cell) on non-LPS-induced NO production.

\*Mixture : *Lactobacillus paracasei* DK 121:*Lactobacillus acidophilus* V4:*Lactobacillus plantarum* V7 = 5:4:1(w/v)

\*All samples were pretreated each strains 2 h at 37 °C and then control treated LPS(0.05mg/uL) 20 h at 37 °C.

\*All values are presented as mean ± standard error mean from triplicates.

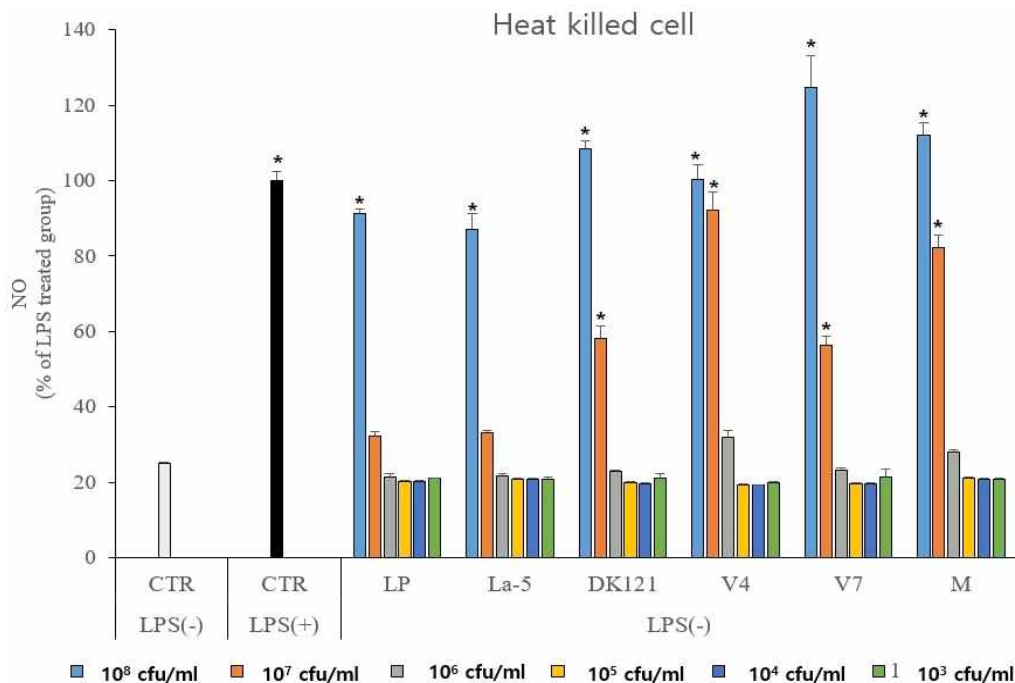


Fig. 110. The inhibitory effects of selected strains(Heat killed cell) on non-LPS-induced NO production.

\*Mixture : *Lactobacillus paracasei* DK 121:*Lactobacillus acidophilus* V4:*Lactobacillus plantarum* V7 = 5:4:1(w/v)

\*All samples were pretreated each strains 2 h at 37 °C and then control treated LPS(0.05mg/uL) 20 h at 37 °C.

\*All values are presented as mean  $\pm$  standard error mean from triplicates.

- LPS는 lipopolysaccharide로 bacteria의 표면에 존재하는 구조체로써 Host 로 하여금 면역반응을 유발하게 하는 항원으로 사용할 수 있는 물질로 알려져 있음. NO는 이러한 면역반응에 의해서 생성되는 물질로서 그 생성량을 살펴보면 사균은  $10^8$ 과  $10^7$ 의 농도에서 LPS(-)보다 NO 증가 양상을 보였고 생균은  $10^6$ 과  $10^5$ 의 농도에서 염증반응을 통해 상용균주보다 더 큰 면역촉진반응을 확인할 수 있었음
- 따라서, 세포독성이 확인되지 않은 농도로 12 well에 scale up하여 배지에 분비된 면역관련 cytokine들을 ELISA kit을 이용하여 profiling 하기로 함

### (3) 선발 후보균주의 항염효과 검증(ELISA)

- 염증성 사이토카인의 발현 변화에 미치는 영향을 알아보기위해 RAW 264.7 세포에서 선발유산균의 농도별 상등액이 LPS로 유도하였음. RAW 264.7 세포에 전처리한 유산균 (300, 400, 500, 600, 700, 800  $\mu$ g/ml)을 농도별로 Treatment하여 1시간 동안 전처리 한 후 0.05  $\mu$ g/mL의 LPS를 6시간 동안 처리하여 LPS에 의해 유도되는 TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6의 생성 변화를 ELISA kit(KOM A, Korea) 를 사용하여 실시하였음
- 유산균 상등액 50  $\mu$ l를 assay diluent 100  $\mu$ l와 함께 anti-mouse IL-1, anti-mouse IL-6, anti-mouse TNF- $\alpha$  가 부착된 well에 첨가하여 반응시킨 후 biotinylated detection antibody를 첨가하였음. PBS buffer로 3-4번 워싱후 streptavidin-horseradish peroxidase conjugate를 첨가하여 부착된 peroxidase conjugate를 검출하고, 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 100  $\mu$ l를 첨가하여 반응을 종료시킴. well은 microplate reader로 450 nm 흡광도를 측정하였음. Cytokine의 표준곡선은 linear doseresponse standard curve를 이용하여 농도정량 하였음

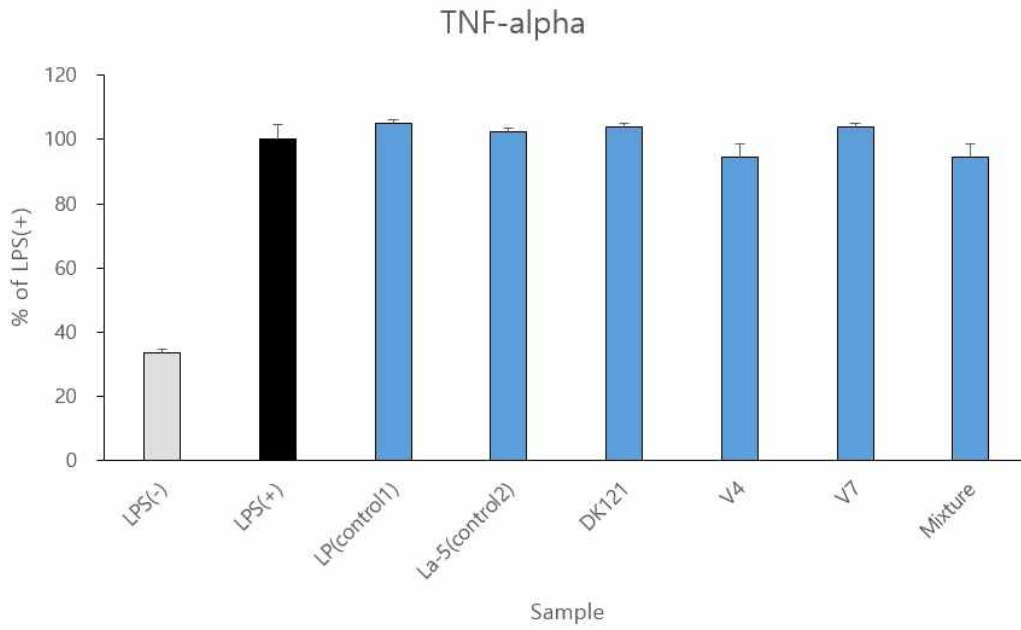


Fig. 111. Comparison of TNF- $\alpha$  production of plant in LPS-unstimulated RAW264.7 cells.

\*Data are expressed as mean $\pm$ SD(n=4)

\*All sample treated LPS-unstimulated.

- TNF- $\alpha$  생성량을 측정하였을 때 선발균주는 LPS 미처리 control군보다 높은 생성량을 보였음. *L. paracasei* DK 121, *L. acidophilus* V4, *L. plantarum* V7 그리고 DK 121:V4:V7=5:4:1(v/w) 혼합균주는 각각 104.05 $\pm$ 0.95, 94.59 $\pm$ 3.95, 104.03 $\pm$ 0.93 및 94.6 $\pm$ 3.97%의 생성량을 보였음. V4, 혼합균주에서는 LPS 처리 control군보다는 낮은 생성량을 보였고, 나머지 시료에서는 control군에 비해 높은 사이토카인 생성능을 확인했음

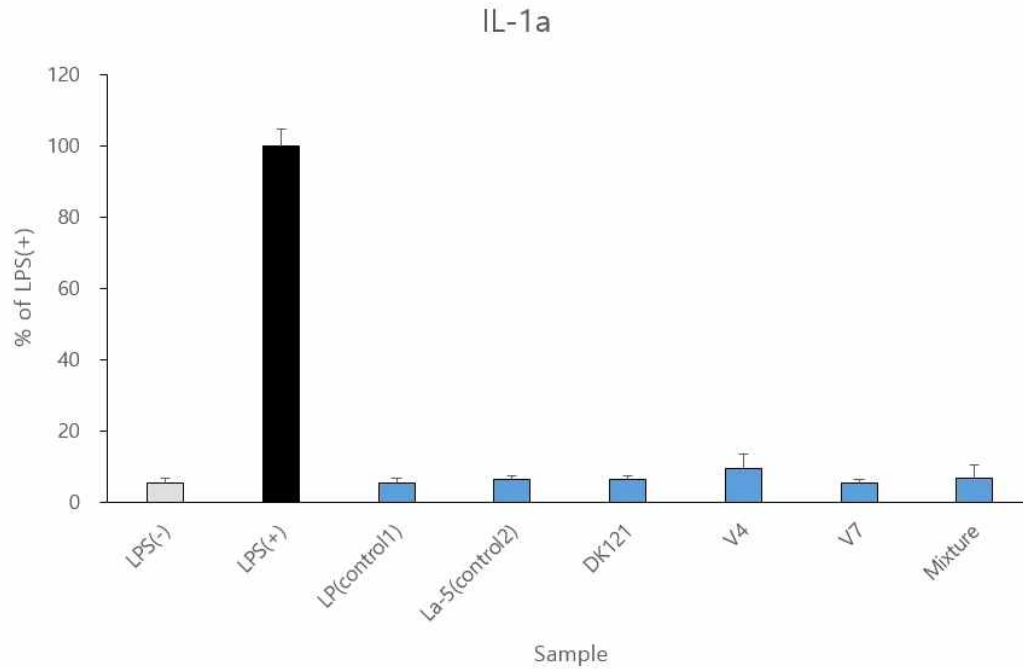


Fig. 112. Comparison of IL-1a production of plant in LPS-unstimulated RAW264.7 cells.

\*Data are expressed as mean±SD(n=4)

\*All sample treated LPS-unstimulated

- IL-1a 생성량을 측정하였을 때 선발균주는 LPS 미처리 control군보다 전반적으로 높은 생성량을 보였음. *L. paracasei* DK 121, *L. acidophilus* V4, *L. plantarum* V7 그리고 DK 121:V4:V7=5:4:1(v/w) 혼합균주는 각각  $6.5 \pm 0.05$ ,  $9.63 \pm 0.03$ ,  $5.63 \pm 0.03$  및  $6.7 \pm 0.07\%$ 의 생성량을 보였음. 특히, V4는 LPS 미처리 control군보다 약 2배정도 높은 사이토카인 생성능을 확인하여 단일균주로서의 면역증진효과도 기대됨

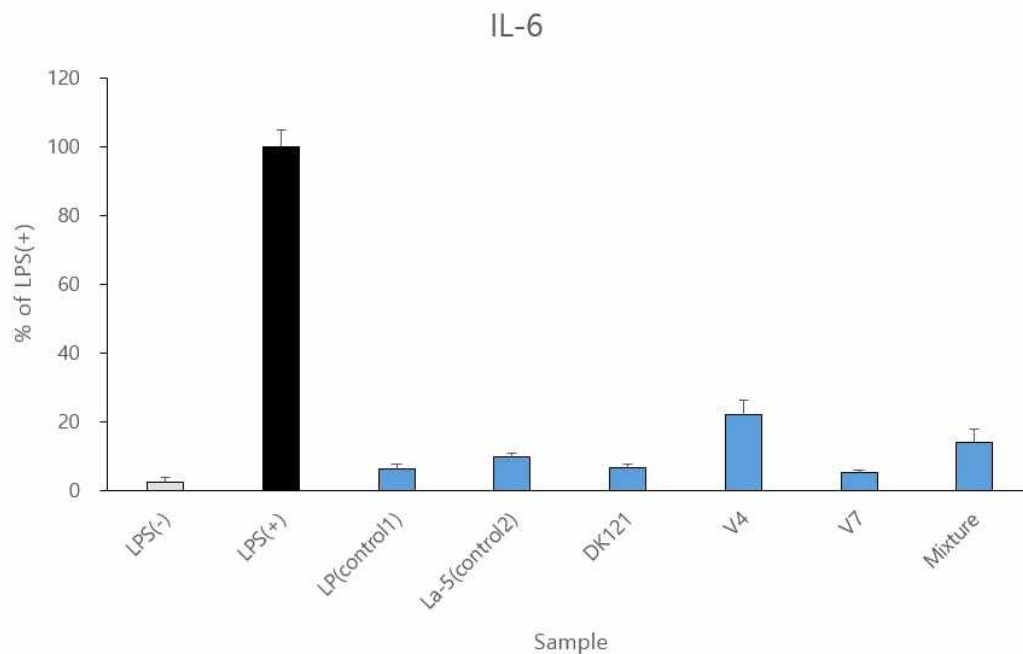


Fig. 113. Comparison of IL-6 production of plant in LPS-unstimulated RAW264.7 cells.

\*Data are expressed as mean±SD(n=4)

\*All sample treated LPS-unstimulated.

- IL-6 생성량을 측정하였을 때 선발균주는 LPS 미처리 control군보다 전반적으로 높은 생성량을 보였음. *L. paracasei* DK 121, *L. acidophilus* V4, *L. plantarum* V7 그리고 DK 121:V4:V7=5:4:1(v/w) 혼합균주는 각각  $6.87 \pm 0.22$ ,  $22.3 \pm 0.31$ ,  $5.3 \pm 0.12$  및  $13.97 \pm 0.54\%$ 의 생성량을 보였음
- 특히, V4는 LPS 미처리 control군보다 약 22배정도 높은 사이토카인 생성능을 확인하여 단일 균주로서의 면역증진효과를 확인하였음. 혼합균주의 경우도 LPS 미처리 control군보다 약 6배정도의 면역증진 효과를 확인하였음. 차년도 균주간 혼합도를 통하여 V4의 비율을 높힌다면 면역증진 혼합균주로서의 개발도 기대됨
- 또한 위 3종의 유산균주의 혼합균주 모델 개발을 위해 *L. salivarius* V4, *L. plantarum* V7, *L. paracasei* DK 121 균주기탁을 완료하였음



**Korean Collection for Type Cultures (KCTC)**  
Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB)  
181 Ipsin-gil, Jeongeup-si, Jeonbuk 56212, South Korea  
Tel: +82-63-570-5602, FAX: +82-63-570-5609  
E-mail: deposit@kribb.re.kr

## Certificate of Deposit

Ref.: 20181184

Date of issue: DEC 26, 2018

Taxonomic designation : *Lactobacillus salivarius*  
Accession number : **KCTC 21144**  
Depositor(s) : Cheol-hyun Kim  
Strain code by the depositor(s) : **V4**

The above microorganism has been successfully deposited into the general collection of microorganism of the Korean Collection for Type Cultures (KCTC) and confirmed the identity of the microorganism under this KCTC number.

This microorganism will be available without restrictions for research and academic purposes in the publicly accessible section of the KCTC. It will be included in published and online catalogues after publication of this number by the authors.

Curator of Bacteria  
Jung-Sook Lee Ph.D.

Telephone: +82-63-570-5618  
Fax: +82-63-570-5609  
E-mail: jslee@kribb.re.kr  
Web: <http://kctc.kribb.re.kr>

Fig. 114. *Lactobacillus salivarius* V4 균주 기탁증



**Korean Collection for Type Cultures (KCTC)**  
Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB)  
181 Ipsin-gil, Jeongeup-si, Jeonbuk 56212, South Korea  
Tel: +82-63-570-5602, FAX: +82-63-570-5609  
E-mail: deposit@kribb.re.kr

## Certificate of Deposit

Ref.: 20181078

Date of issue: NOV 29, 2018

Taxonomic designation : *Lactobacillus plantarum*  
Accession number : **KCTC 21145**  
Depositor(s) : Cheol-hyun Kim  
Strain code by the depositor(s) : V7

The above microorganism has been successfully deposited into the general collection of microorganism of the Korean Collection for Type Cultures (KCTC) and confirmed the identity of the microorganism under this KCTC number.

This microorganism will be available without restrictions for research and academic purposes in the publicly accessible section of the KCTC. It will be included in published and online catalogues after publication of this number by the authors.

Curator of Bacteria  
Jung-Sook Lee Ph.D.

Telephone: +82-63-570-5618  
Fax: +82-63-570-5609  
E-mail: jslee@kribb.re.kr  
Web: <http://kctc.kribb.re.kr>

Fig. 115. *Lactobacillus plantarum* V7 균주 기탁증





**Korean Collection for Type Cultures (KCTC)**  
Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB)  
181 Ipsin-gil, Jeongeup-si, Jeonbuk 56212, South Korea  
Tel: +82-63-570-5602, FAX: +82-63-570-5609  
E-mail: deposit@kribb.re.kr

## Certificate of Deposit

Ref.: 20181079

Date of issue: NOV 29, 2018

Taxonomic designation : *Lactobacillus paracasei*

Accession number : **KCTC 21146**

Depositor(s) : Cheol-hyun Kim

Strain code by the depositor(s) : **DKIH1**

The above microorganism has been successfully deposited into the general collection of microorganism of the Korean Collection for Type Cultures (KCTC) and confirmed the identity of the microorganism under this KCTC number.

This microorganism will be available without restrictions for research and academic purposes in the publicly accessible section of the KCTC. It will be included in published and online catalogues after publication of this number by the authors.

Curator of Bacteria  
Jung-Sook Lee Ph.D.

Telephone: +82-63-570-5618  
Fax: +82-63-570-5609  
E-mail: jslee@kribb.re.kr  
Web: <http://koto.kribb.re.kr>

Fig. 116. *Lactobacillus paracasei* DKIH1 균주 기탁증

▶ 면역기능 개선 효과가 우수한 혼합균주 모델 개발

○ 개발 균주의 aggregation (auto-aggregation 및 co-aggregation) assay를 통한 *in vitro* 상 인체 이송(delivery)부가 연구 및 장내 정착능 확인

- *in-vitro* 상에서 면역개선 기능을 검증하여 선발된 베트남인 분변 유래 유산균 및 기초생리 활성이 우수한 기 보유 유산균과의 혼합도와 종균 간 길항작용 및 시너지 효과를 검증한 후, 최종적으로 항염증 활성 및 항산화 효과 확인한 후 항염증 활성과 항산화 활성이 우수한 각 혼합균주 모델을 선발하였음
- 선발 균주의 *in-vitro* 상의 장내 정착능을 Co-aggregation 방법을 통해 확인하였음. 실험을 위하여 선발 균주 *Lactobacillus salivarius* V4, *Lactobacillus plantarum* V7과 *Lactobacillus paracasei* DKIH1을 병원체균인 *Salmonella enterica* 및 *Staphylococcus aureus*와의 응집력을 탐색하는데 사용하였음
- 응집력은 분광 광도계 방법을 사용하여 선발 균주의 현탁액으로 측정하였음. *S. enterica*는 Xylose Lysine Deoxycholate agar(XLD agar), *S. aureus*는 Tryptic soy broth(TSB)에서 18시간 간격으로 3회 계대배양하여 사용하였음
- 선발균주는 MRS broth(BD Difco., U.S.A.)에서 18시간 간격으로 3회 계대배양하여 사용하였음. 활성화된 균주를  $10^8$  CFU/mL 수준으로 준비한 뒤 5,000 g에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 수거하였음. Phosphate buffer(pH 6.5)를 사용하여 동량으로 2회 현탁한 후 Pellet을 4 mL Phosphate buffer(pH 6.5)로 희석하여 선발균주와 병원균주 희석액을 각각 2 mL씩 1:1 비율로 혼합하였음
- 혼합된 균주를 Test tube에 소분한 후 상온에서 0시간, 5시간 경과 상등액을 각각 0.1 mL 취하여 3.9 mL Phosphate buffer(pH 6.5)와 혼합한 후 600 nm에서 흡광도를 측정하였음
- 0시간대의 유산균주 및 대장균주의 상등액을 비교군으로 사용함. 응집력의 비육은 Handley *et al.* (1987)의 방법을 사용하여 통계처리함

$$A_0 - A_5 \times 100(\%) = \text{aggregation}(\%)$$

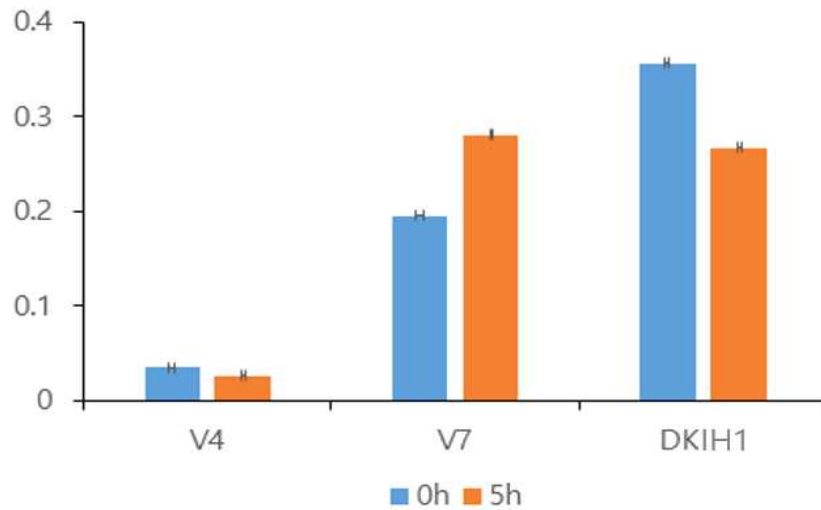


Fig. 117. Co-aggregation(%) by strains ratio(v/v) isolated from Vietnamese feces of *salmonella enterica*.

\*All strains were more than  $10^8$  CFU/mL

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

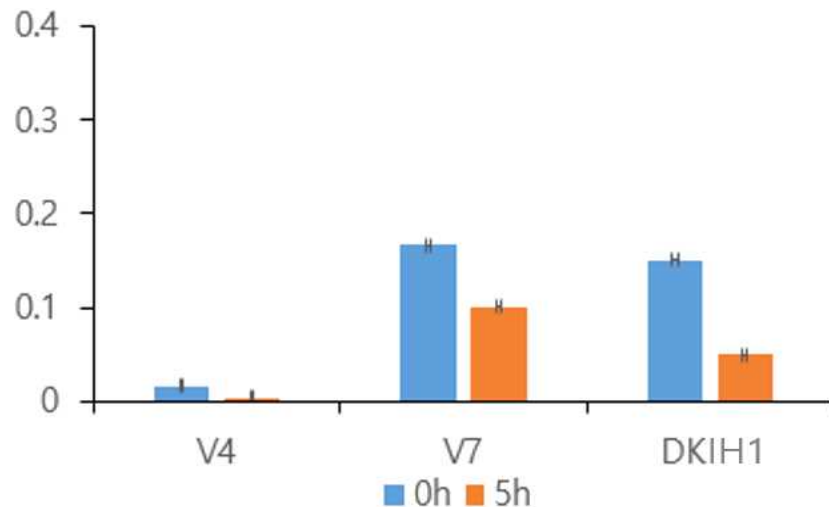


Fig. 118. Co-aggregation(%) by strains ratio(v/v) isolated from Vietnamese feces of *Staphylococcus aureus*.

\*All strains were more than  $10^8$  CFU/mL

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

- 베트남인 분변 유래 유산균 2종 및 한국 전통 식품 김치 유래 유산균 1종과 병원균 2종과의 응집력 결과는 Fig. 42, 43과 같음. *Salmonella enterica*와의 응집력은 0시간대의 DKIH1, V7, V4 순으로 높은 응집력을 보였고, 5시간 대에는 V7, DKIH1, V4 순으로 높은 응집력을 보였음. *Staphylococcus aureus*와의 응집력은 0 H, 5 H 모두 V7, DKIH1, V4순으로 높은 응집력을 보였음

- 선발 균주의 *In vitro* 상의 장내 정착능을 Auto-aggregation 방법을 통해 확인하였음. 자가

응집력 검증은 Del Re *et al.* (2000)의 방법에 의해 수행되었으며, 실험을 위하여 베트남인 분변에서 추출한 *Lactobacillus salivarius* V4, *Lactobacillus plantarum* V7 과 한국 전통 식품 김치에서 추출한 *Lactobacillus paracasei* DKIH1을 사용하였음

- 응집력은 분광 광도계 방법을 사용하여 분리균주의 현탁액으로 측정하였음. 선발균주는 MRS Broth(BD Difco, U.S.A)에서 18시간 간격으로 3회 계대배양하여 사용하였으며, 활성 균주를 각 비율별로 혼합한 뒤  $10^8$  CFU/mL수준으로 준비함
- 5,000 g에서 15분간 원심분리 후 상등액을 수거하고, Phosphate buffer(pH 6.5)를 동량으로 2회 현탁하여 사용하였음. 현탁 후 Pellet을 4 mL Phosphate buffer(pH 6.5)와 희석한 후 Test tube에 소분하고, 상온에서 0시간, 5시간 경과 상등액을 0.1 mL 취하여 3.9 mL Phosphate buffer(pH 6.5)와 혼합 후 600 nm에서 흡광도를 측정하였음
- 응집력의 비율은 Handley *et al.* (1987)의 방법을 사용하여 통계처리함

$$A_0 - A_5 \times 100(\%) = \text{aggregation}(\%)$$

Table 85. The ratio of mixed strains of IH1 isolated from Vietnamese feces and V4 and V7 isolated from Korean traditional food Kimchi.

Sample number	Strain ratio		
	V4	V7	DKIH1
R1	1	1	1
R2	5	1	1
R3	1	5	1
R4	1	1	5
R5	1	4	5
R6	1	5	4
R7	4	1	5
R8	4	5	1
R9	5	1	4
R10	5	4	1

\*V4 : *Lactobacillus salivarius* V4

\*V7 : *Lactobacillus plantarum* V7

\*DKIH1 : *Lactobacillus paracasei* DKIH1

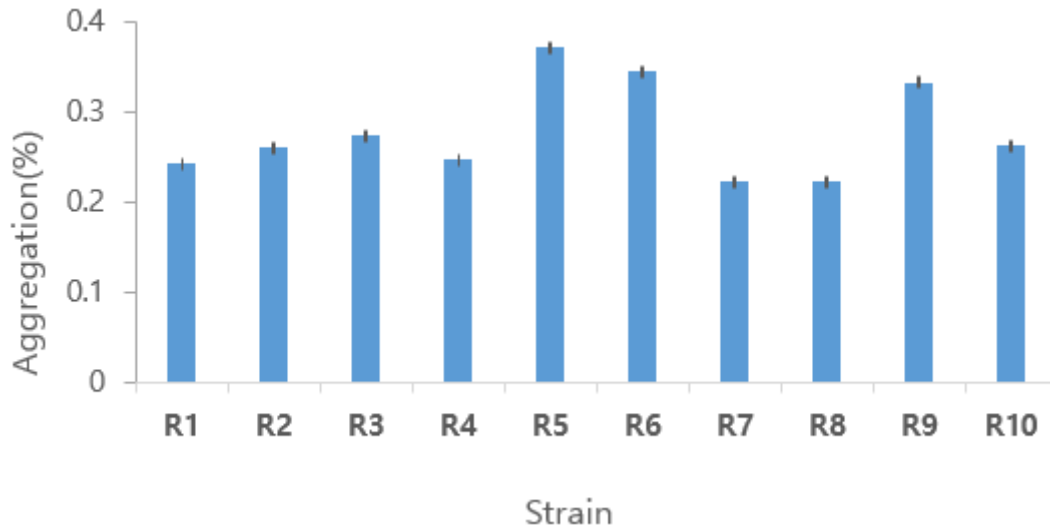


Fig. 119. Auto-aggregation(%) by strains ratio(v/v) isolated from Vietnamese feces.

\*All strains were more than  $10^8$  CFU/mL

\*R# : Sample number of strain ratio(v/v)

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

- V4, V7, DKIH1 균주의 비율별 자가 응집력(%)의 결과는 Fig. 119에 나타내었음. 비율별 혼합 균주의 자가 응집력(%) 확인 결과 R5(V4 : V7 : DKIH1 = 1 : 4 : 5)가 가장 높은 자가 응집력을 보여 혼합 균주 비율로 선발하였음

▶ 최종 선발 균주의 상용화 적용능 검증

- 선발 균주의 최적 고농도 배양 배지(탄소원 및 질소원 농도) 선정 및 연속, 유가식배양을 통한 최적 배양 방법 선정

- 상업용 Yeast extract, Peptone의 선정 및 선발 균주의 배양 배지성분인 Carbohydrate, Protein, SCFA source 성분의 농도별 성장성 연구를 통한 최적 고농도 배양( $10^{10}$  CFU/mL 이상)용 배지를 선정하고, 연속배양(continuous culture) 및 유가식배양(fed batch culture)을 통한 최적 배양 방법을 선정함으로써 고농도 배양 프로토콜 확보 및 충격(shock)조건 검증 도구를 구축함

- 균주의 배양 배지 성분인 탄소원 농도를 조절하여 농도별 생존을 탐색을 통한 최적 고농도 배양( $10^{10}$  CFU/mL 이상) 배지를 선정하였음

- MRS Broth(BD Difco, U.S.A)에서 18시간 간격으로 3회 계대배양하여 활성시킨 균주를  $10^8$  CFU/mL 수준으로 준비하였음. 배양 배지의 탄소원인 Glucose와 Lactose를 MC1부터 MC6까지 각각 다른 6가지 농도별로 조절한 후 균주를 1 mL 접종하여 37 °C Incubator에서 24시간 배양시키고, 아래와 같은 방법으로 생균수를 측정하였으며, pH meter(Thermo, U.S.A)를 이용하여 pH를 측정하였음

$$\text{존율 (\%)} = [\text{생존균수 (FU/g)} / \text{초기균수 (CFU/g)}] \times 100$$

Table. 86. Select the medium by carbon source ratio(w/w) of V4, V7, DKIH1.

	MC1	MC2	MC3	MC4	MC5	MC6
Glucose	1	2	3	0.5	1	1.5
Lactose	-	-	-	0.5	1	1.5
Yeast exreact	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Soy pepton	1	1	1	1	1	1
Casein pepton	1	1	1	1	1	1
Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO <sub>4</sub>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO <sub>4</sub>	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

\*MC# : medium number of different carbon source ratio(w/w)

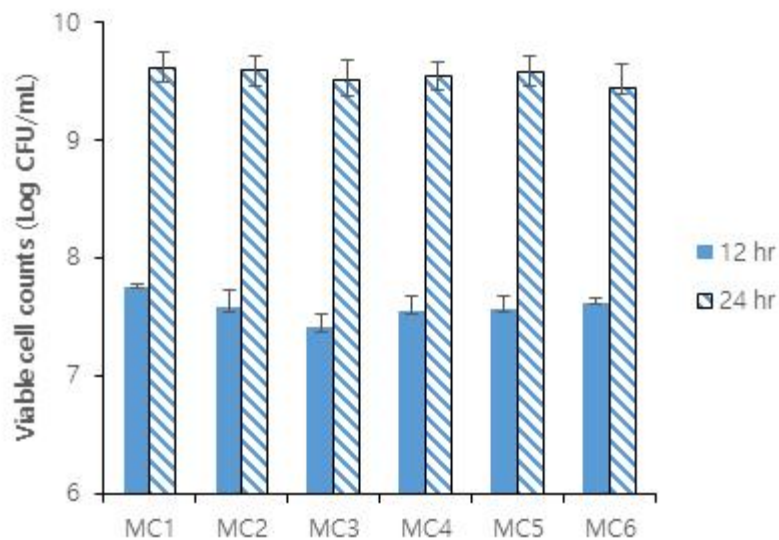


Fig. 120. Total viable counts of *L. salivarius* V4 the medium by carbon source ratio(w/w).

\*All value are means  $\pm$  SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MC# : medium number of different carbon source ratio(w/w).

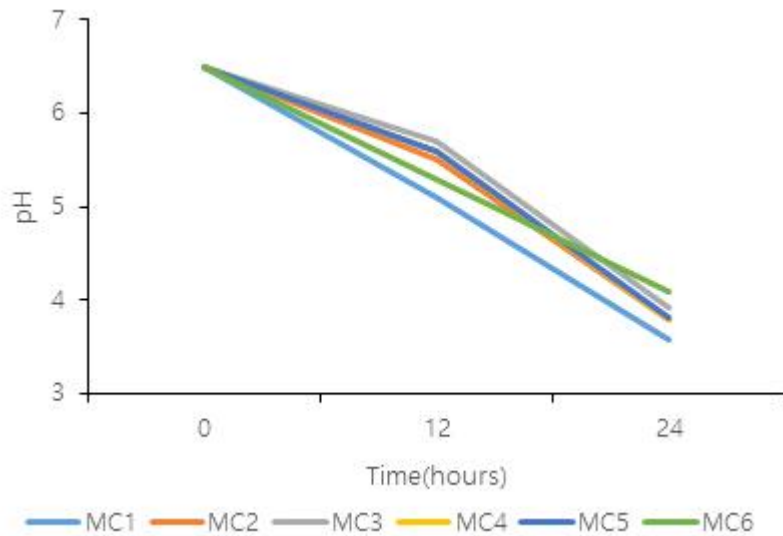


Fig. 121. pH of *L. salivarius* V4 the medium by carbon source ratio(w/w).

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 for 24 hours.

\*MC# : medium number of different carbon source ratio(w/w).

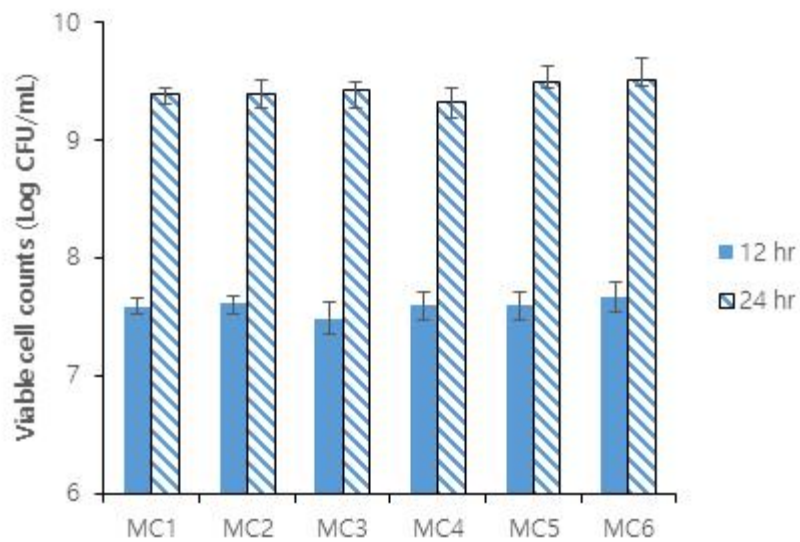


Fig. 122. Total viable counts of *L. plantarum* V7 the medium by carbon source ratio(w/w).

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MC# : medium number of different carbon source ratio(w/w).

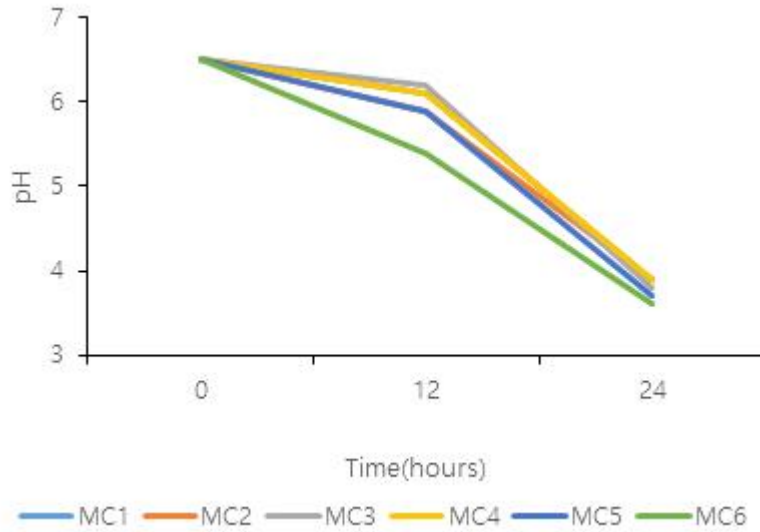


Fig. 123. pH of *L. plantarum* V7 the medium by carbon source ratio(w/w).

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MC# : medium number of different carbon source ratio(w/w).

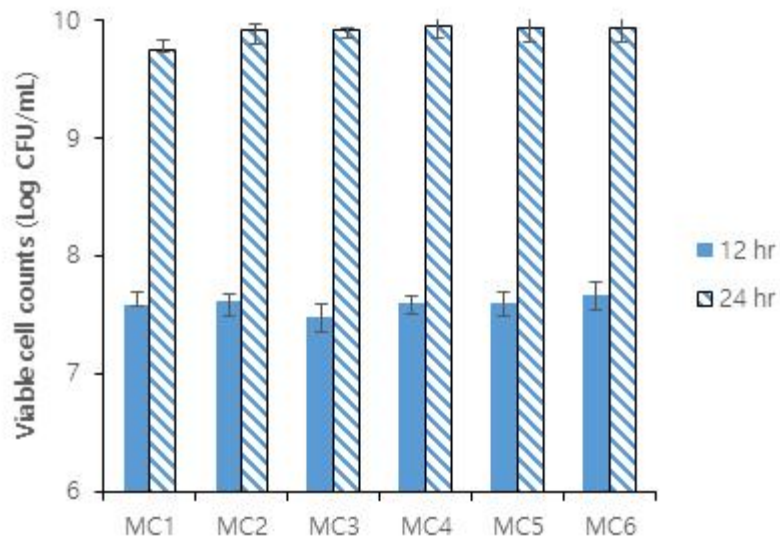


Fig. 124. Total viable counts of *L. paracasei* DKIH1 the medium by carbon source ratio(w/w).

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MC# : medium number of different carbon source ratio(w/w).



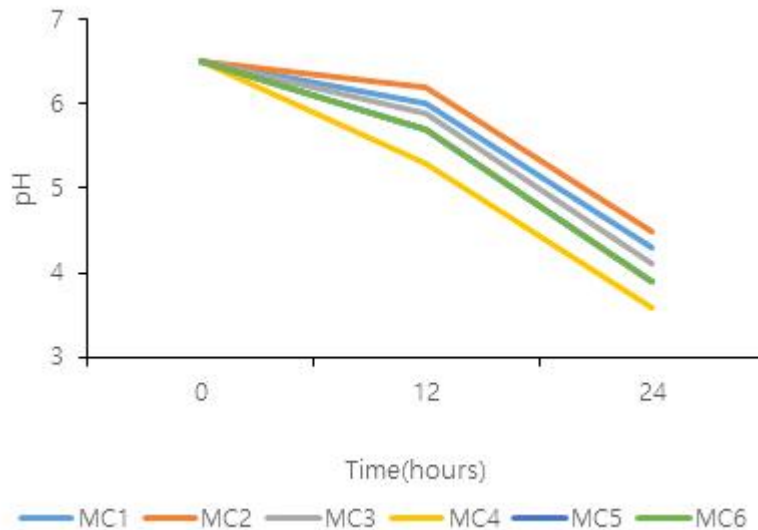


Fig. 125. pH of *L. paracasei* DKIH1 the medium by carbon source ratio(w/w).

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MC# : medium number of different carbon source ratio(w/w).

- V4, V7, DKIH1 에 대한 탄소원 비율별 배지에 배양하여 37 °C에서 12, 24시간 생균수 및 pH를 확인한 결과를 Fig. 45부터 Fig. 50까지 나타내었음
- V4의 경우 MC1 질소원 배지 조건에서 가장 높은 성장율을 보였으며, V7의 경우 MC6 질소원 배지에서 가장 높은 성장율을 보였고, DKIH1의 경우 MC4 탄소원 배지 조건에서 가장 높은 성장율을 보이는 것을 확인하였음. 해당 탄소원 비율을 각 균주별 최적 배지에서의 탄소원 비율로 확립하였음
- 상업용 Yeast extract, Peptone의 선정 및 선발 균주의 배양 배지성분인 Carbohydrate, Protein, SCFA source 성분의 농도별 성장성 연구를 통한 최적 고농도 배양( $10^{10}$  CFU/mL 이상)용 배지를 선정하고, 연속배양(continuous culture) 및 유가식배양(fed batch culture)을 통한 최적 배양 방법을 선정함으로써 고농도 배양 프로토콜 확보 및 충격(shock)조건 검증 도구를 구축함
- 균주의 배양 배지 성분인 질소원 농도를 조절하여 농도별 생존을 탐색을 통한 최적 고농도 배양( $10^{10}$  CFU/mL이상) 배지를 선정하였음
- MRS Broth(BD Difco, U.S.A)에서 18시간 간격으로 3회 계대배양된 유산균을  $10^8$  CFU/mL 수준으로 준비한 뒤 균주에 맞는 탄소원 농도를 조절한 배양 배지에 질소원인 Yeast extract, Soy, Peptone, Casein peptone, Sodium acetate를 MN1부터 MN5까지 각각 다른 6가지 농도 별로 조절하였음. 이 후 균주를 1 mL 접종하여 37 °C Incubator에서 24시간 배양시킨 후

다음과 같은 방법으로 측정하고, pH meter(Thermo, USA)를 이용하여 pH를 측정하였음

$$\text{존율 (\%)} = [\text{생존균수 (FU/g)} / \text{초기균수 (CFU/g)}] \times 100$$

Table. 87. Select the medium by nitrogen source ratio(w/w) of *L. salivarius* V4.

	MN1	MN2	MN3	MN4	MN5
Glucose	1	1	1	1	1
Lactose	-	-	-	-	-
Yeast exreact	2.5	-	-	1	0.5
Soy pepton	-	2.5	-	1	1
Casein pepton	-	-	2.5	1	1
Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	-	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO <sub>4</sub>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO <sub>4</sub>	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

\*MN# : medium number of different nitrogen source ratio(w/w)

Table. 88. Select the medium by nitrogen source ratio(w/w) of *L. plantarum* V7.

	MN1	MN2	MN3	MN4	MN5
Glucose	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Lactose	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Yeast exreact	2.5	-	-	1	0.5
Soy pepton	-	2.5	-	1	1
Casein pepton	-	-	2.5	1	1
Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	-	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO <sub>4</sub>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO <sub>4</sub>	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

\*MN# : medium number of different nitrogen source ratio(w/w)

Table. 89. Select the medium by nitrogen source ratio(w/w) of *L. paracasei* DKIH1.

	MN1	MN2	MN3	MN4	MN5
Glucose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Lactose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Yeast exreact	2.5	-	-	1	0.5
Soy pepton	-	2.5	-	1	1
Casein pepton	-	-	2.5	1	1
Sodium acetate	0.5	0.5	0.5	-	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium citrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
tween 80	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO <sub>4</sub>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
MnSO <sub>4</sub>	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

\*MN# : medium number of different nitrogen source ratio(w/w)

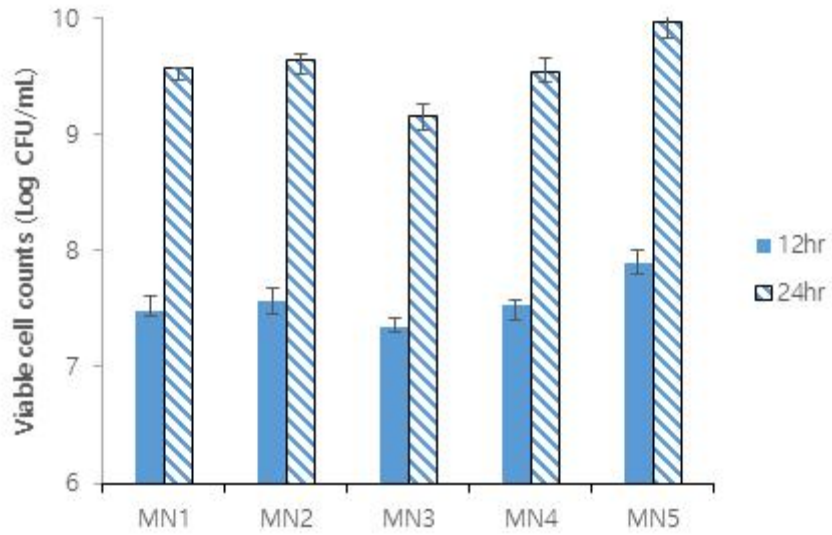


Fig. 126. Total viable counts of *L. salivarius* V4 the medium by nitrogen source ratio(w/w).

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MN# : medium number of different nitrogen source ratio(w/w).

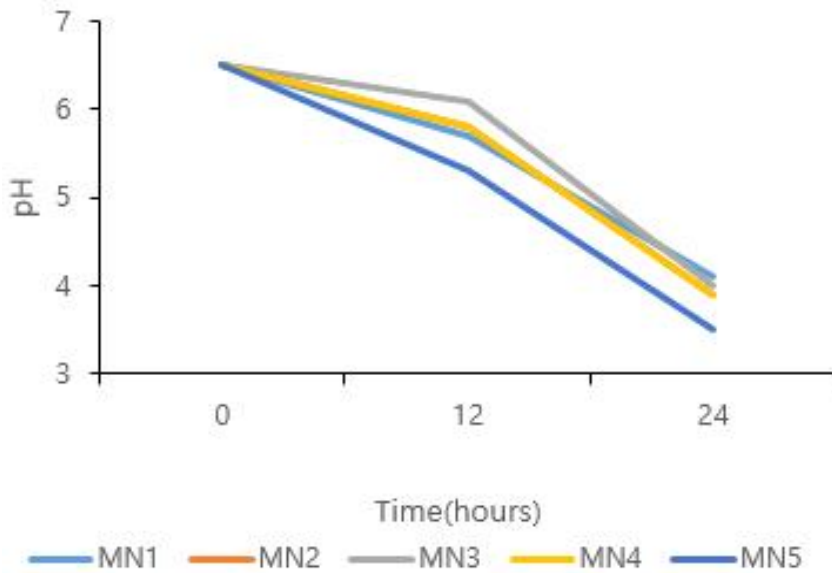


Fig. 127. pH of *L. salivarius* V4 the medium by nitrogen source ratio(w/w).

\*All value are means $\pm$ SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MN# : medium number of different nitrogen source ratio(w/w).

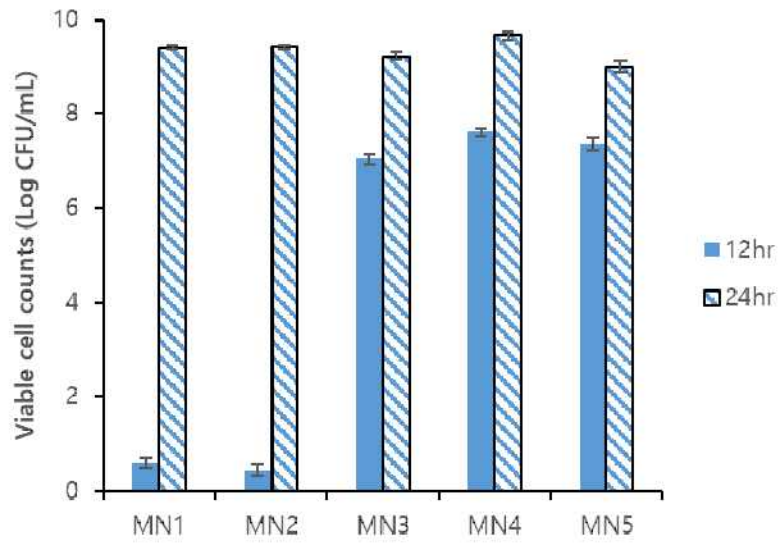


Fig. 128. Total viable counts of *L. plantarum* V7 the medium by nitrogen source ratio(w/w).

\*All value are means±SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MN# : medium number of different nitrogen source ratio(w/w).

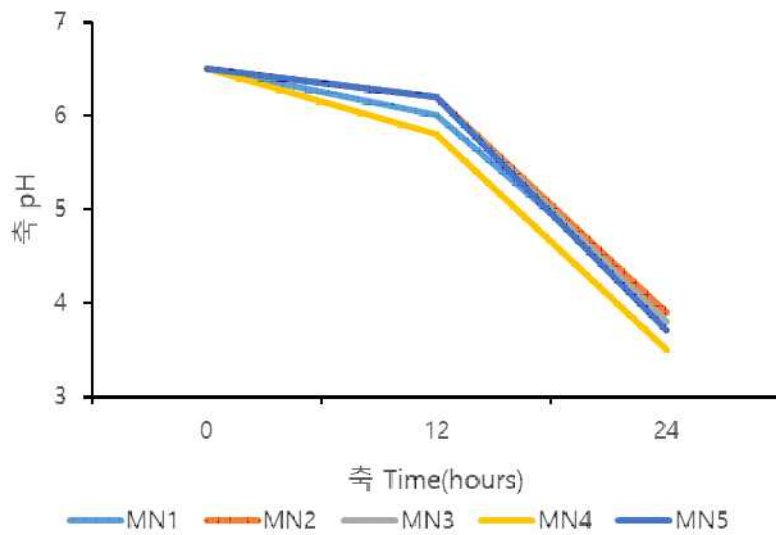


Fig. 129. pH of *L. plantarum* V7 the medium by nitrogen source ratio(w/w).

\*All value are means±SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MN# : medium number of different nitrogen source ratio(w/w).

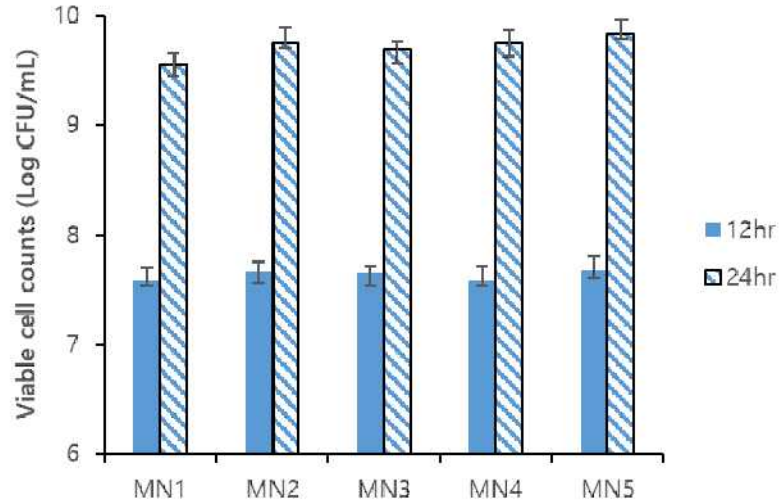


Fig. 130. Total viable counts of *L. paracasei* DKIH1 the medium by nitrogen source ratio(w/w).

\*All value are means±SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MN# : medium number of different nitrogen source ratio(w/w).

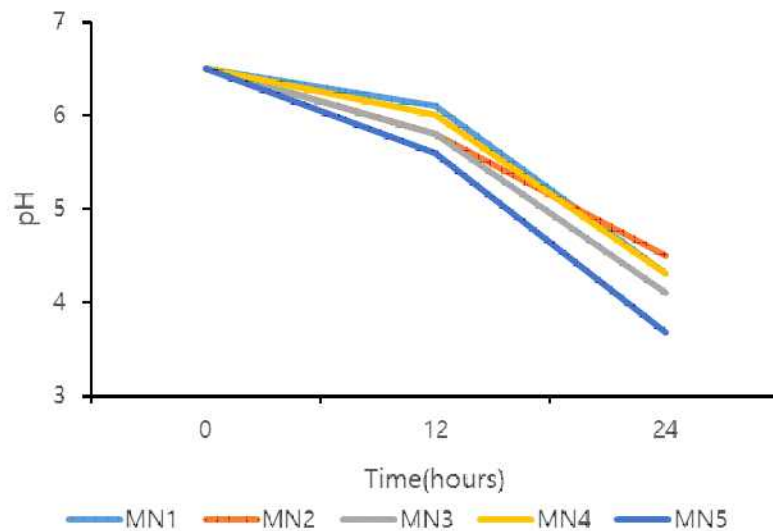


Fig. 131. pH of *L. paracasei* DKIH1 the medium by nitrogen source ratio(w/w).

\*All value are means±SD of triplicates.

\*All samples were incubated by 37 °C for 24 hours.

\*MC# : medium number of different nitrogen source ratio(w/w).

- V4, V7, DKIH1 각각 균주에 대한 확립된 탄소원 비율별 배지를 기준으로 서로 다른 비율의 질소원 배지에 배양하여 37 °C에서 12, 24시간 생균수 및 pH를 확인해 본 결과, V4, V7, DKIH1 모두 MN5 배지 조건에서 가장 높은 성장율을 보였으며, 이에 따라 MN5의 탄소

원 및 질소원 비율을 각 균주의 최적 배지 조건으로 확립하였음

- 연속식 배양 및 유가식 배양 테스트로 최적 배양 방법을 설정하기 위해 MRS Broth(BD Difco, U.S.A)에서 18시간 간격으로 3회 계대배양하여 활성시킨 균주를  $10^8$  CFU/mL수준으로 준비하였음
- 연속배양 방법으로는 배양 중의 일정한 속도로 신선한 배지를 공급하여 배양액을 일정하게 유지하면서 균주를 배양시켰음. 기질의 농도와 pH 등 환경조건을 일정하게 유지시켜 증식 속도를 임의로 조절하였음
- 10, 15, 20 h에 8,000 g에서 10분간 원심분리 후 상등액을 제거하고, 동량의 신선한 배지를 첨가한 뒤, 일정 시간마다(0, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5 h) 생균수를 측정하였음
- 유가식 배양 방법으로는 배지를 일정시간에 간헐적으로 공급하여 배양액 중의 기질농도를 임의로 제어하였으며, 10, 15, 20 h에 본래 배양액과 동량의 신선한 배지를 첨가하였으며, 배지 투입 전, 후 및 일정 시간마다 생균수를 측정하였음

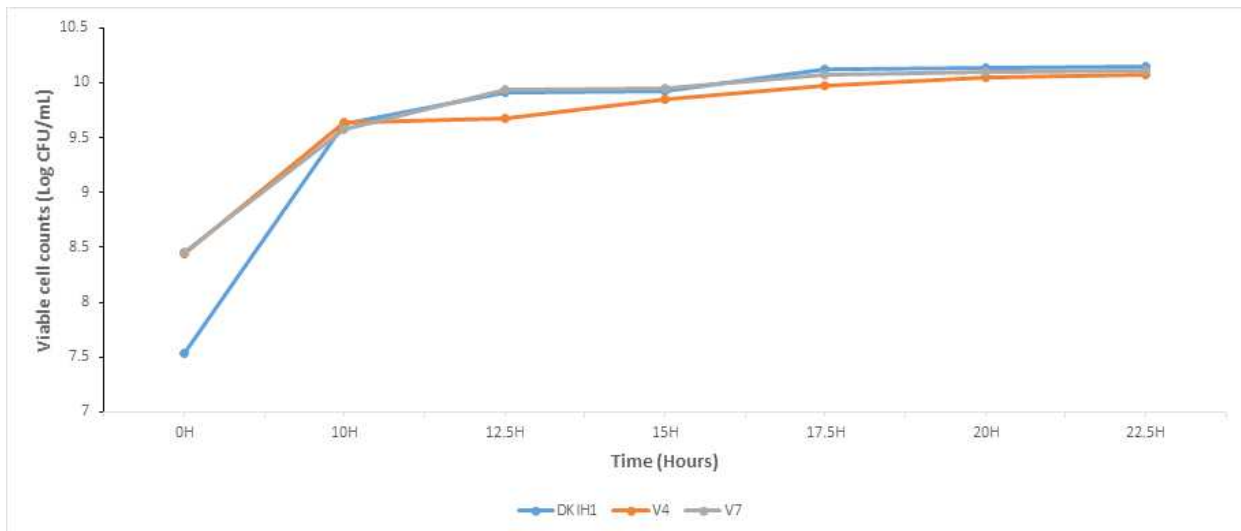


Fig. 132. Continuous culture of LAB strains from isolated Vietnamese feces and Korean traditional food Kimchi.

\*DKIH1 : *Lactobacillus paracasei*, V4 : *L. acidophilus*, V7 : *L. plantarum*

\*H : Culture time

\*All values are presented as means  $\pm$  standard error mean from triplicates.

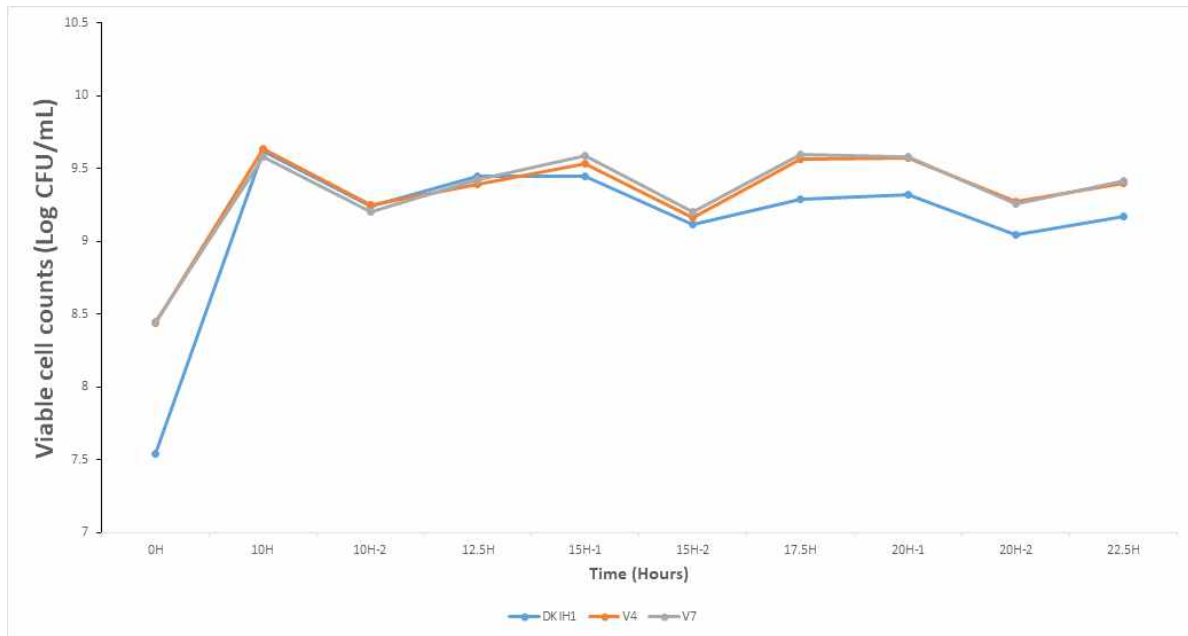


Fig. 133. Fed-batch culture of LAB strains from isolated Vietnamese feces and Korean traditional food Kimchi.

\*DKIH1 : *Lactobacillus paracasei*, V4 : *L. acidophilus*, V7 : *L. plantarum*

\*H : Culture time

\*All values are presented as means  $\pm$  standard error mean from triplicates.

- 선발균주의 유가식 배양 및 유가식 배양 결과 연속식 배양에서는 일정한 증식 속도와 증가하는 성장곡선을 보였으며, 연속식 배양이 유가식 배양과 비교하여 상대적으로 우수한 증식속도와 성장을 유지하는 경향을 보였음
- 따라서 차후 선발균주의 MRS 배지를 이용한 연속식 배양의 적합성을 확인하였음
- 선발 균주의 freeze-thaw를 통한 내냉성 실험 및 내열성 실험을 통한 선발 균주의 상용화 공정적합성 확인
- Freeze-thaw 방법을 이용한 동결건조와 냉동저장 조건에서 균주의 내냉성 실험을 통하여 선발 균주의 상용화 공정적합성을 확인함
- 선발균주는 MRS broth(BD Difco., U.S.A.)에서 18시간 간격으로 3회 계대배양하여 사용하였음. 활성화된 균주를 0 CFU/mL 수준으로 준비한 뒤 1 mL의 배양액을 counting 실시하였음. 남은 배양액은 7,500 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 수거하였음. Phosphate buffer(pH 6.5)를 사용하여 동량으로 2회 현탁한 후 cap tube에 10 mL씩 소분하여 온도별(3, 7, 4, -20, -70 °C)로 냉각처리 시켰음
- 냉각처리 24시간 후 1일 counting 실시한 후, 2일마다(1, 3, 5, 7일) counting 실시하였음

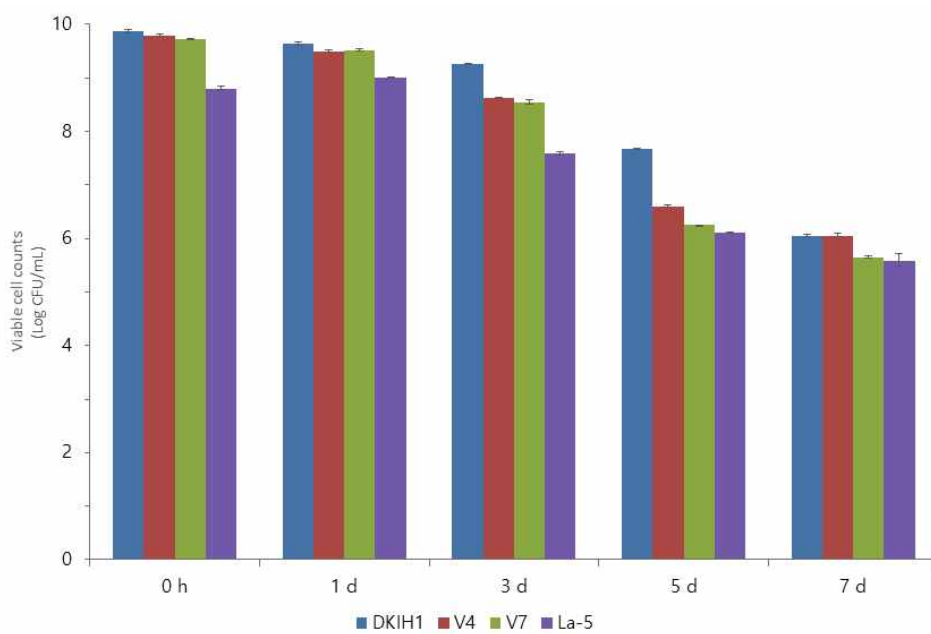


Fig. 134. Total viable counts of cold resistance at 37 °C.

\*All value are means±SD of triplicates

\*All samples were incubated by 37 °C for 0 h, 1, 3, 5, 7 d.

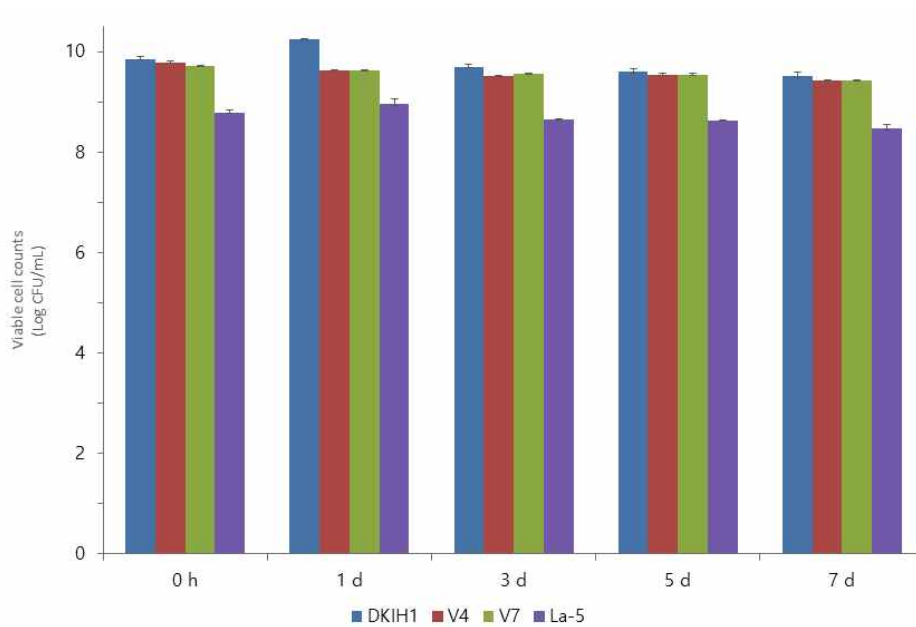


Fig. 135. Total viable counts of cold resistance at 4 °C.

\*All value are means±SD of triplicates

\*All samples were incubated by 4 °C for 0 h, 1, 3, 5, 7 d.



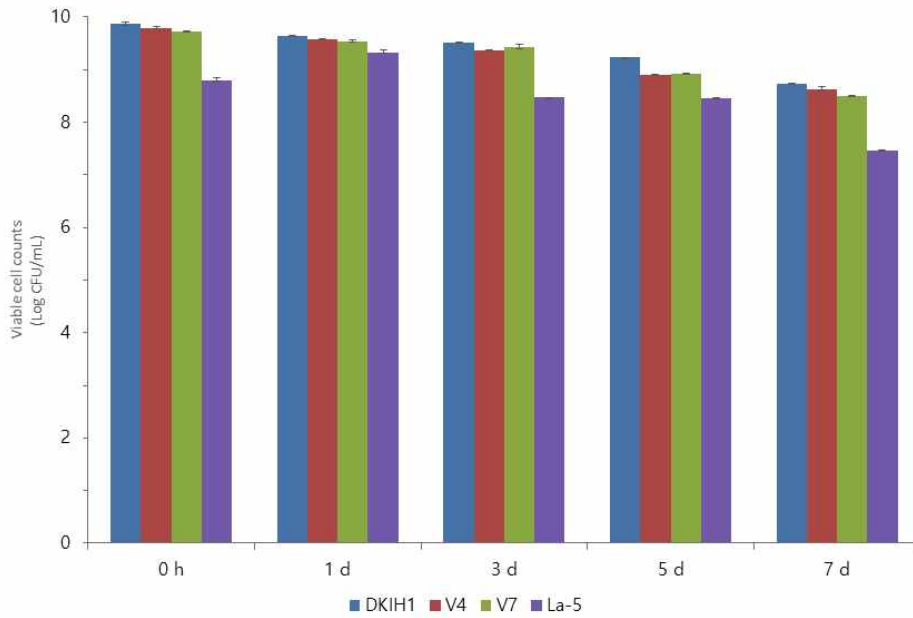


Fig. 136. Total viable counts of cold resistance at -20 °C.

\*All value are means±SD of triplicates

\*All samples were incubated by -20 °C for 0 h, 1, 3, 5, 7 d.

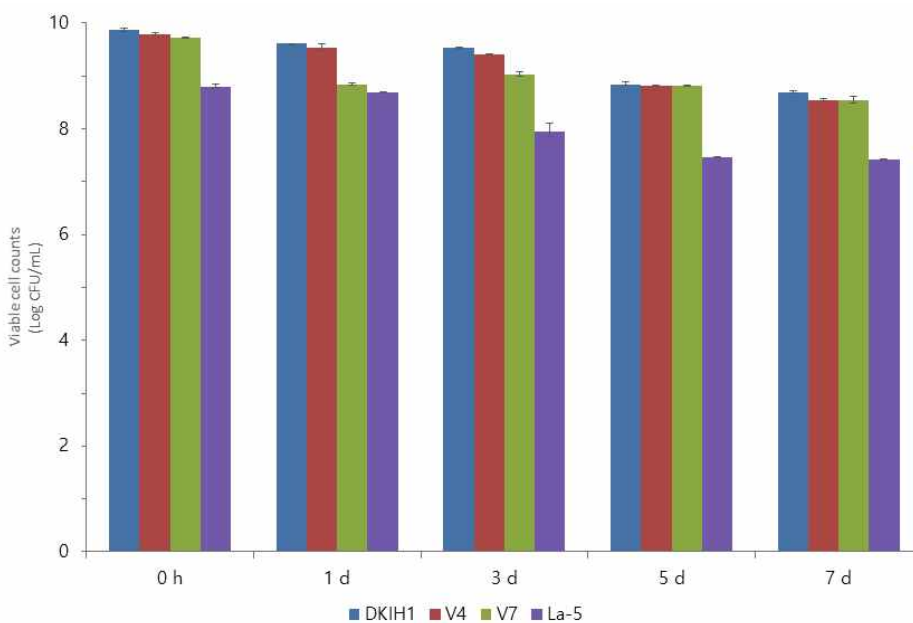


Fig. 137. Total viable counts of cold resistance at -70 °C.

\*All value are means±SD of triplicates

\*All samples were incubated by -70 °C for 0 h, 1, 3, 5, 7 d.

- Freeze-thaw 방법을 이용한 동결건조와 냉동저장 조건에서 배양하여 37, 4, -20, -70 °C에 배양한 결과, 0 h에서 7 d로 갈수록 다른 온도 처리조건(4, -20, -70 °C)에서보다 37 °C에서 배양된 모든 균주의 활성이 떨어졌음을 확인하였음

- DKIH1의 경우 다른 균주보다 모든 온도(37, 4, -20, -70 °C)에서 가장 높은 생균수를 보였으며, V4, V7, La-5순으로 생균수를 보임을 확인하였음
- 열처리 조건을 달리하여 조건별(37, 72, 99 °C)로 열처리 후 생균수 측정을 이용한 내열성 실험을 통하여 선발균주의 상용화 공정적합성을 확인함
- Sample(유산균 분말) 1 g을 멸균용기에 정량 취한 후 일정량(1-10 g)의 희석액과 혼합하였음. 희석액을 37, 72, 99 °C Water bath에서 3, 20초 열처리시켰음. 이 후 심진희석하여 35-37 °C에서 48-72 ± 3시간 호기배양 후 발생한 황색의 집락(colony)을 계수하였음

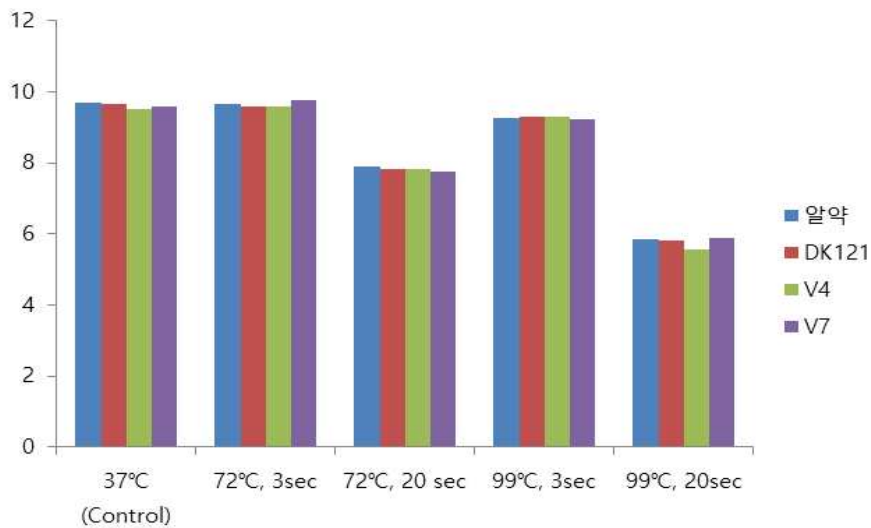


Fig. 138. Total viable counts of Lactic acid bacteria powder in heat resistance.

\*All value are means±SD of triplicates

\*All samples were aerobic culture at 35-37 °C for 48-72 ± 3 h.

- 37 °C와 72, 99 °C에서 3, 20초 열처리시킨 균주의 생균수는 Fig. 138에 나타난 바와 같음. 모든 균주가 72 °C 20 sec와 99 °C 20 sec를 제외한 온도에서 control인 37 °C에서보다 높은 생균수를 보였음

○ 선발 균주의 법적규격 기반의 안정성 평가

- 법적 규격(한국식품의약품안전처 기준) 기반의 안전성을 평가하고, EFSA, QPS, PROSAFE, FAO/WHO, Health-Canada 등 global standard를 고려하여 평가시스템의 국제적 등가성을 확인하는 과정에서 기존 Human-origin Lactobacillus 계열의 GRAS 인정과 본 과제 내 삼성서울병원에서의 동물임상시험 및 인체임상시험에서 특이사항이 없었으므로 법적규격기반 안전성 평가를 생략하였음

○ 선발 균주의 저장 안정성(Broth 가속실험 및 동결건조 가속실험) 평가 확인

- 선택 혼합균주를 다양한 온도(상온, 30, 40, 50 °C)에서 보관하면서 총 30일간 6일 간격으로 생존성을 평가함으로써 선택 균주의 저장 안정성(Broth 가속실험 및 동결건조 가속실험)을 평가함
- 균주의 안정성 test를 위하여 sample(유산균 분말) 1 g을 멸균용기에 정량 취하였고, 일정량 (1-10 g)의 9배 양의 희석액과 혼합하였음
- TOS-MUP 배지는 115 °C, 15분 고압멸균 후 50 °C 이하로 냉각하여 500 mL 기준 supplement(MUP 25 mL 희석액) 1 vial을 주입하여 충분히 섞은 후 사용하였음
- 초기균수는  $0 - 10^{11}$  이후 안정성 시험에 맞게 시험자가 조정하여 counting 실시하였고 십진희석하여 counting 실시 후 35-37 °C에서 48-72 ± 3시간 호기(BCP) 또는 혐기(TOS-MUP) 배양하여 발생한 황색의 집락(colony)을 계수하였음

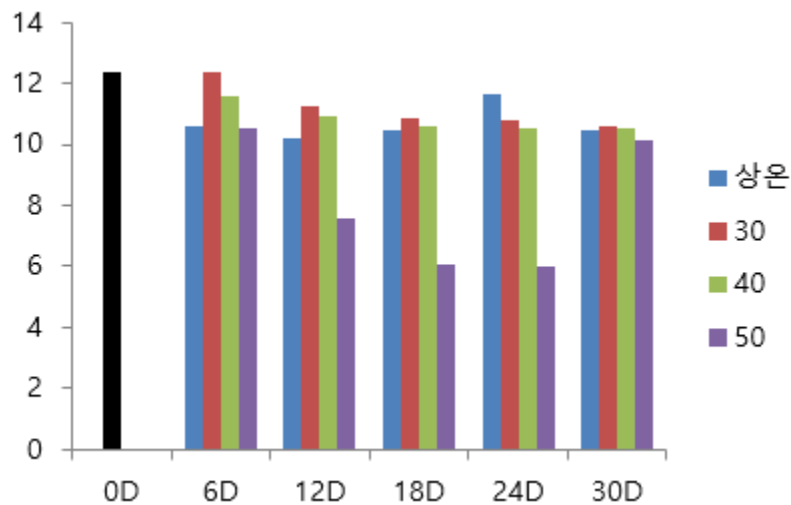


Fig. 139. Total viable counts of Tablet each temperature for total 30 days in 6 days' interval.

\*상온, 30, 40, 50 : Temperature condition.

\*All value are means±SD of triplicates

\*BCP Agar was used for counting.

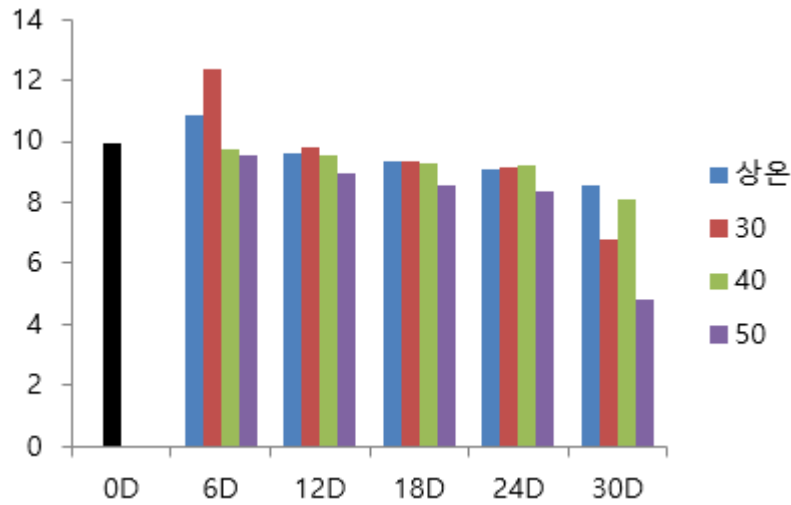


Fig. 140. Total viable counts of Tablet each temperature for total 30 days in 6 days' interval.

\*상온, 30, 40, 50 : Temperature condition.

\*All value are means±SD of triplicates

\*TOS-MUP Agar was used for counting.

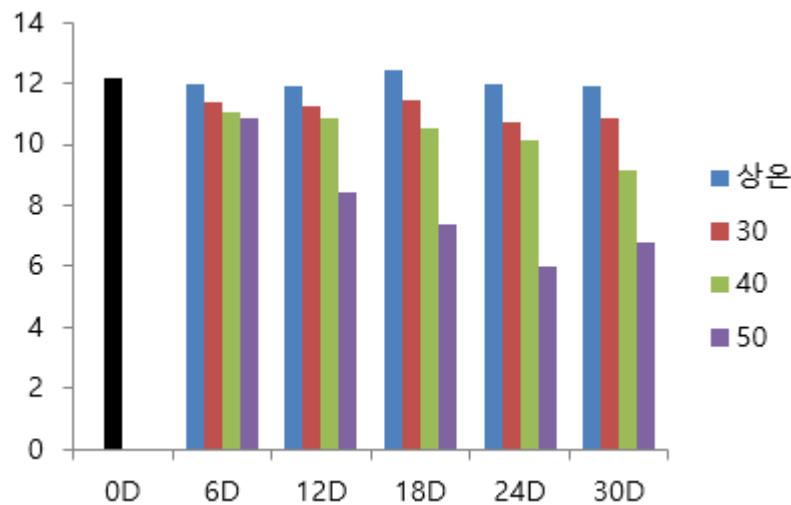


Fig. 141. Total viable counts of DKIH1 each temperature for total 30 days in 6 days' interval.

\*상온, 30, 40, 50 : Temperature condition.

\*All value are means±SD of triplicates

\*BCP Agar was used for counting.

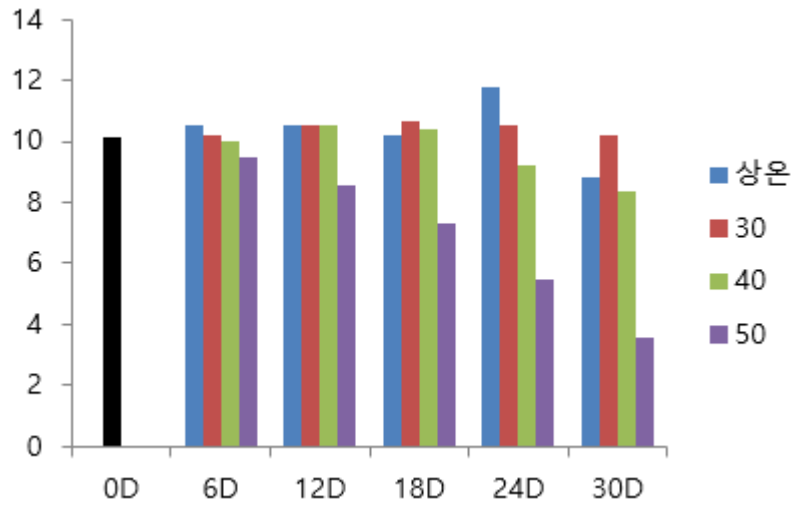


Fig. 142. Total viable counts of DKIH1 each temperature for total 30 days in 6 days' interval.

\*상온, 30, 40, 50 : Temperature condition.

\*All value are means±SD of triplicates

\*TOS-MUP Agar was used for counting.

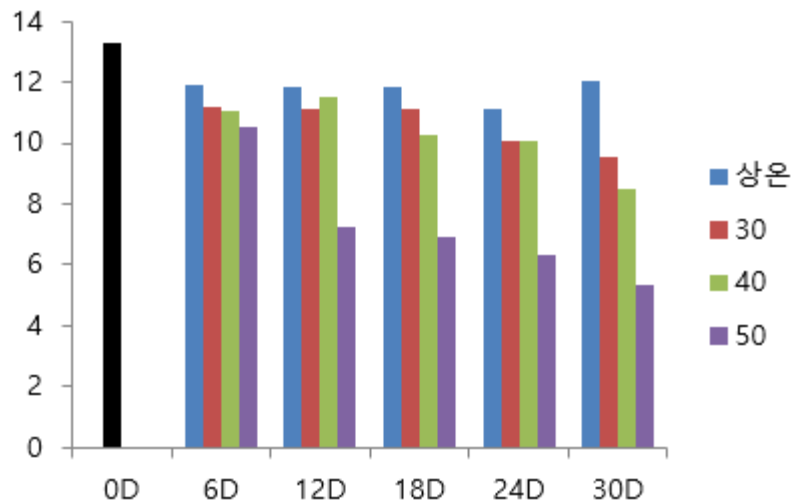


Fig. 143. Total viable counts of V4 each temperature for total 30 days in 6 days' interval.

\*상온, 30, 40, 50 : Temperature condition.

\*All value are means±SD of triplicates

\*TOS-MUP Agar was used for counting.

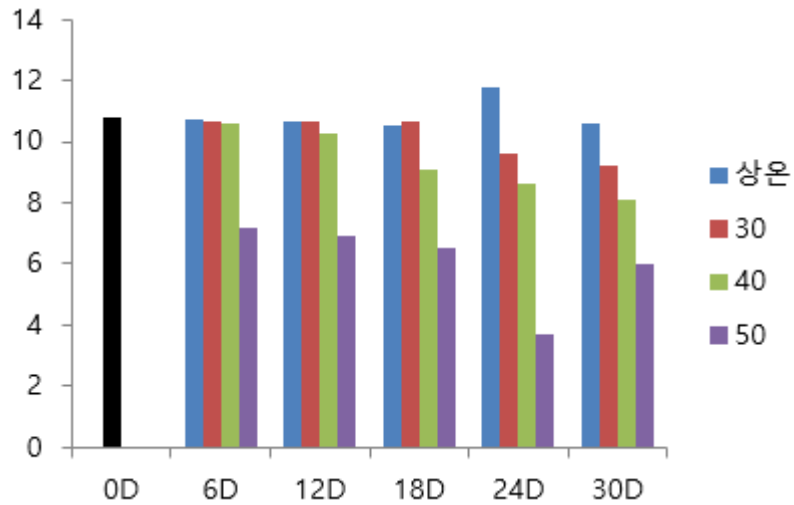


Fig. 144. Total viable counts of V4 each temperature for total 30 days in 6 days' interval.

\*상온, 30, 40, 50 : Temperature condition.

\*All value are means±SD of triplicates

\*BCP Agar was used for counting.

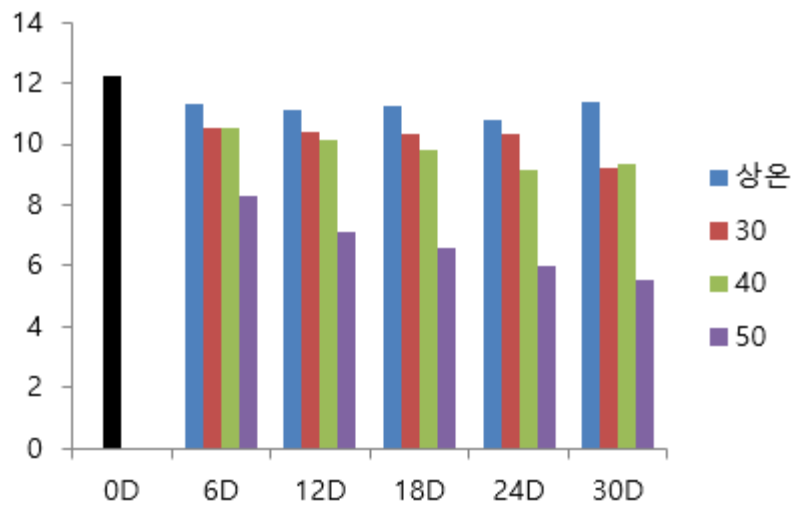


Fig. 145. Total viable counts of V7 each temperature for total 30 days in 6 days' interval.

\*All value are means±SD of triplicates

\*BCP Agar was used for counting.

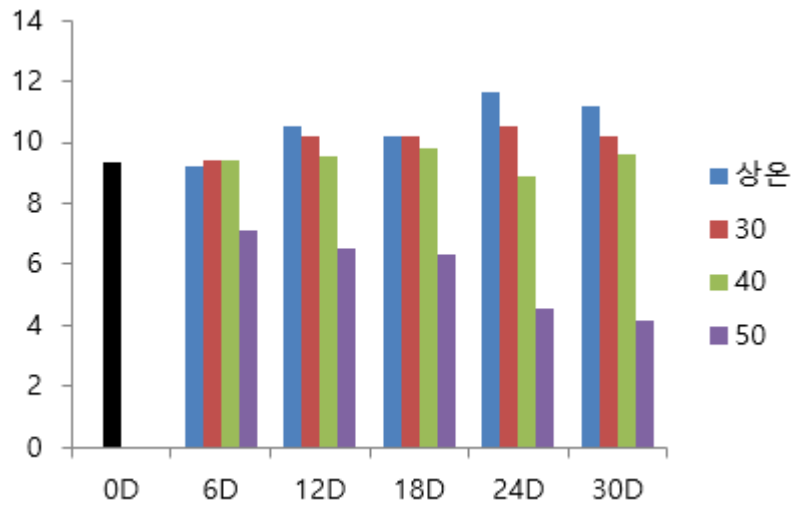


Fig. 146. Total viable counts of V7 each temperature for total 30 days in 6 days' interval.

\*All value are means±SD of triplicates

\*BCP Agar was used for counting.

- 균주별 6일 간격으로 30일간 온도별(상온, 30, 40, 50 °C) 안정성 시험 생균수의 결과는 Fig. 139에서 Fig. 146

까지 나타난 바와 같음. 상온에서 모든 균주는 생존능의 차이가 크지 않음을 확인하였음. 30 °C에서 모든 균주의 생존능도 차이가 크지 않았으나 상온에서보다 낮은 생존율을 보였음. 또한 모든 균주에서 40, 50 °C의 순으로 30 °C에서보다 낮은 생존능을 보였음

◎ 협동연구기관2 (삼성서울병원)

▶ Core gut microbiota DB를 위한 베트남인 모집군의 분변 수집

○ 기초 및 증상 설문 방법을 통한 증례 기록

- 기초 정보 및 추가 정보: 인구학적 평가, 피험자 제외기준 확인
- 복부 증상 설문: 변비형을 제외한 과민성대장증후군 환자군 및 건강한 대조군 선정
- 기초 및 증상 설문

① 기초 정보

생년월일: __ __ 년 __ 월 __ 일	성별: <input type="checkbox"/> 남 <input type="checkbox"/> 여
키: _____ cm	몸무게: _____ kg
술	<input type="checkbox"/> 안마심 <input type="checkbox"/> 월1회 이상 <input type="checkbox"/> 주1회 이상 <input type="checkbox"/> 주4회이상
담배	<input type="checkbox"/> 전혀 없음 <input type="checkbox"/> 끊었음 <input type="checkbox"/> 최근까지 있음
동반질환	고혈압: <input type="checkbox"/> 있음 <input type="checkbox"/> 없음
	당뇨: <input type="checkbox"/> 있음 <input type="checkbox"/> 없음
	허혈성 심질환: <input type="checkbox"/> 있음 <input type="checkbox"/> 없음
	심부전: <input type="checkbox"/> 있음 <input type="checkbox"/> 없음
	암질환: <input type="checkbox"/> 있음 <input type="checkbox"/> 없음

② 추가 정보

소화기관 수술을 받은 경우	<input type="checkbox"/> 있음 <input type="checkbox"/> 없음
최근 한 달 이내에 항생제 복용력이 있는 경우	<input type="checkbox"/> 있음 <input type="checkbox"/> 없음

③ 대변 평가 : 평소 변 형태를 표시 (IBS-M, IBS-D 경우 환자군에 해당함)

- 1형
- 2형
- 3형
- 4형
- 5형
- 6형
- 7형

대변평가 형태

- (1) 1형, 2형이 배변횟수의 25%이상을 차지하고, 6형, 7형이 배변횟수의 25% 미만(IBC-C)
- (2) 6형, 7형이 배변횟수의 25%이상을 차지하고, 1형, 2형이 배변횟수의 25% 미만(IBC-D)
- (3) 1형, 2형이 배변횟수의 25%이상을 차지하고, 6형, 7형도 배변횟수의 25% 이상(IBC-M)



(4) 위 3가지 모두 해당하지 않는 경우(IBS-M)

④ 증상 평가 (복통/복부불쾌감이 있으면 환자군에 해당함)

지난 1주간 느낀 증상의 정도를 표시하여 주십시오.

배변 빈도	지난 일주일간 하루 동안의 배변 횟수의 평균 ( )회
복통/복부불쾌감	<input type="checkbox"/> 증상 없음 <input type="checkbox"/> 약한 증상 <input type="checkbox"/> 중간정도 증상 <input type="checkbox"/> 심한증상 <input type="checkbox"/> 매우심한증상
복부팽만감	<input type="checkbox"/> 증상 없음 <input type="checkbox"/> 약한 증상 <input type="checkbox"/> 중간정도증상 <input type="checkbox"/> 심한증상 <input type="checkbox"/> 매우심한증상
배변 급박감	<input type="checkbox"/> 증상 없음 <input type="checkbox"/> 약한 증상 <input type="checkbox"/> 중간정도증상 <input type="checkbox"/> 심한증상 <input type="checkbox"/> 매우심한증상

○ 베트남인 과민성대장증후군 환자군과 건강한 베트남인 대조군의 두 그룹 구축

- 베트남인 대상자 기초 평가 (인구학적 평가, 위장관 증상 평가)
- 증상평가 결과에 따라 과민성대장증후군 환자군 30명과 건강한 대조군 30명의 분변 샘플링 완료

등록 완료 (60명)		피험자의 국내거주기간	
정상군	환자군	2-8개월	13-30개월
28명	32명	56명	4명

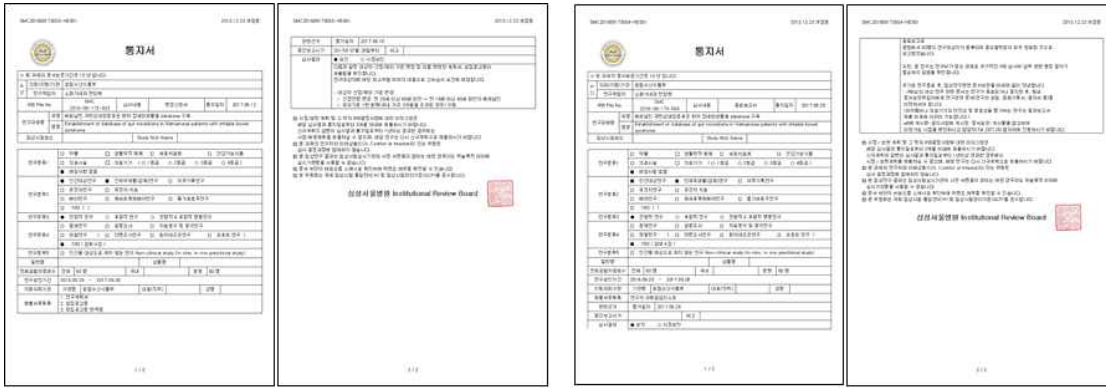
- 분변 60개 샘플을 단국대학교 군 배양 실험실로 전달 (2개 샘플의 분변 부족)

○ IRB (Institutional Review Board, 의학연구윤리심의위원회) 변경 및 종료

- 임상시험계획 변경 승인 : 대상자 모집의 어려움을 고려한 피험자 선정 및 제외기준의 변경을 신청하고 연구대상자에 대한 최소위험 이하의 내용으로 신속심사 요건에 해당하여 승인 받음

- ✓ 선정 기준 (key inclusion criteria) : 만 20세 이상 60세 미만 → 만 18세 이상 60세 미만의 베트남인
- ✓ 피험자 제외 기준 (exclusion criteria) : 국내 거주 3개월을 초과한 경우 삭제

- 임상시험 종료 보고 : 목표 피험자 수 60명의 모집 및 중도탈락 없음으로 보고하고 임상시험이 완료된 것을 승인 받음



<IRB 변경신청 승인 통지서>

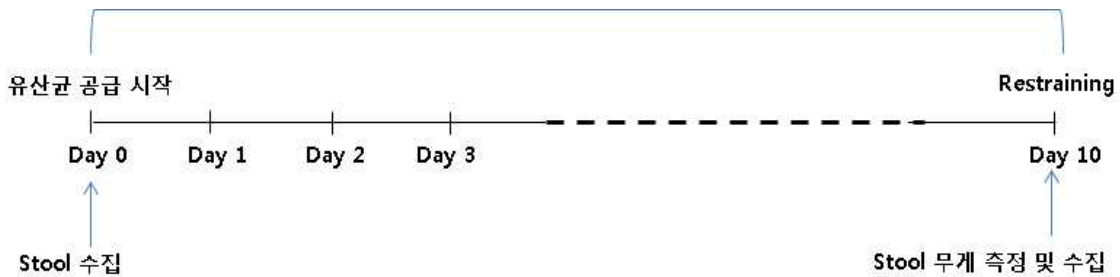
<IRB 종료보고 승인 통지서>

Fig. 147. IRB 보고 및 승인 통지서

▶ 동물실험을 통해 선별된 유산균 및 혼합균주 모델의 과민성대장증후군에서 증상 개선 효능 평가

- 실험 내용

- 유산균 공급 후 Restrained stress 에 따른 분변 배설 양 관찰
- Wistar rat strain 사용 : 전체 10마리 (11 주령)
- 유산균 strain : *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* (단국대학교 제공, 일동 후디스 양산)
- 유산균 공급 : 1일 1회, 1회당  $2 \times 10^9$  / rat, Oral administration
- control 군(vesicle) : 4마리
- 시험군 (*L. casei* 군, *L. plantarum* 군, *L. paracasei* 군) : 각 2마리
- body weight 측정
- Day 0, stool sample collection
- Day 10, 1 h 동안 Restraining 후 mouse stool weight 측정과 stool sample collection



유산균 투여 (10 days)



Restraining (1hr)



분변 채취 (1hr)

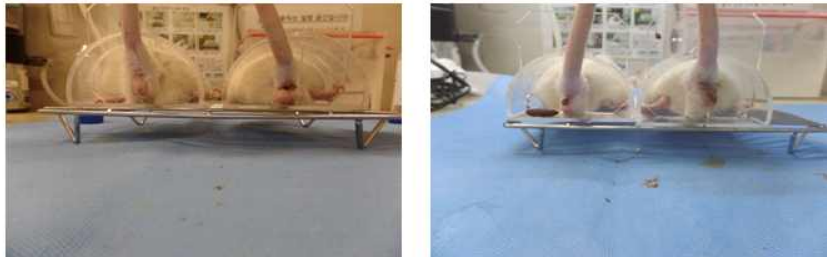


Fig. 148. Restrainer 이용한 IBS 동물 모델 구축

- IBS 모델은 대장 과민성에 대한 연구 및 스트레스에 의한 IBS 연구에 많이 사용되는 Wistar Kyoto (WKY) rat strain을 모델을 사용
- Wistar rats 에 restraining stress를 가해 IBS 모델 확립
- IBS 발생과 상관관계를 가지는 유산균을 확인 : control 군에 비해 시험군에서 배변의 양이 줄어들고 굳기가 굳어짐으로 보아 IBS 증상이 완화됨을 알수있음

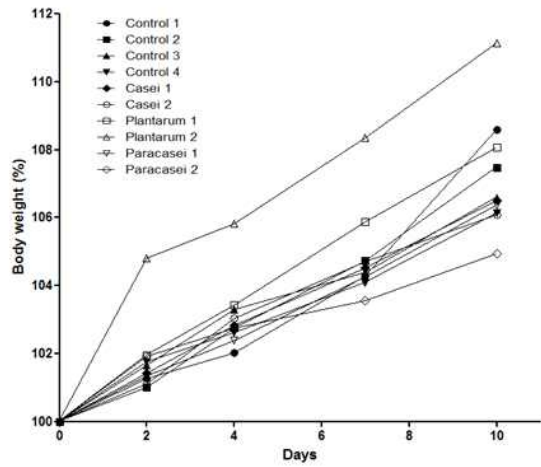
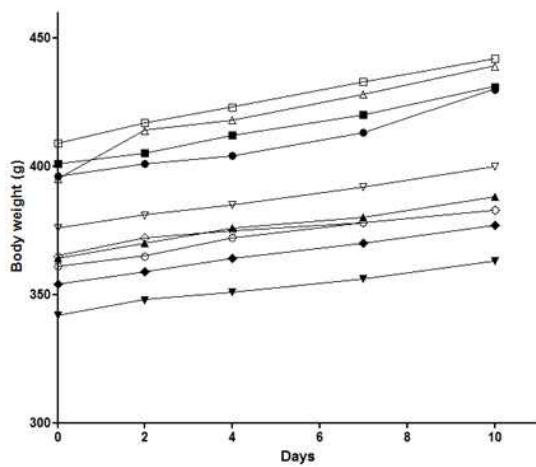


Fig. 149. 모델 몸무게 변화 측정

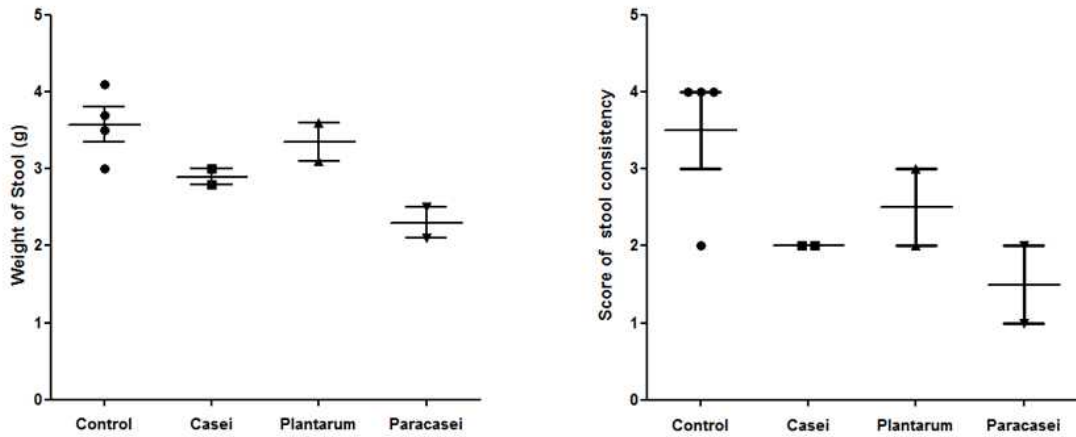


Fig. 150. 동물 모델 분변 배설 양 및 분변 굳기 측정

○ 구축된 core gut microbiota DB를 활용하여 선별된 유산균 및 혼합균주 모델투약으로 동물모델에서 과민성대장증후군 증상 개선 효과 평가

1) 예비실험 (유산균/혼합균주의 용량 실험을 통한 독성 확인 및 적정 용량 결정)

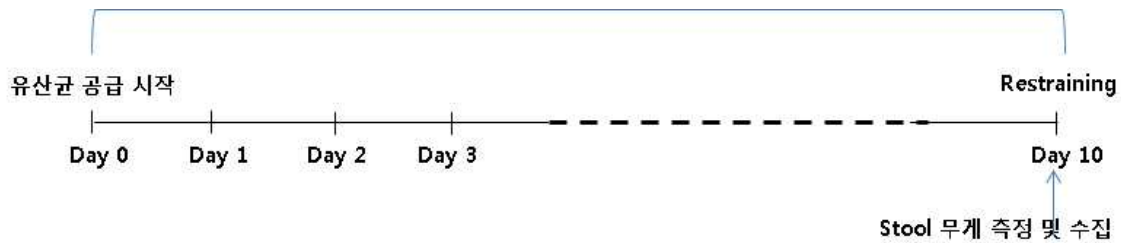
- 실험 내용

- 유산균 공급 후 Restrained stress 에 따른 분변 배설 양 관찰
- Wistar rat strain 사용 : 전체 21마리 (8 주령)
- 유산균 strain : *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, V4, V7, Mixture (단국대학교 제공, 일동 후디스 양산)

- (1) Vehicle control (DW)
- (2) *Lactobacillus paracasei* (DK121)
- (3) 베트남인 유래 *Lactobacillus acidophilus*(V4)
- (4) 베트남인 유래 *Lactobacillus plantarum* (V7)
- (5) (2) + (V4) + (V7) : 혼합균주

- 유산균 공급 : 1일 1회, 1회당  $1 \times 10^9$  이하 / rat
- 균주의 낮은 CFU으로 oral administration 어려움이 있었음
- control 군(vesicle), 시험군 : 각 3마리
- body weight 측정

- Day 10, 1 h 동안 Restraining 후 mouse stool weight 측정과 stool sample collection



- 유산균/혼합균주에 투여 결과 몸무게가 꾸준히 증가하며 급격한 감소는 없었음
- Mixture 군의 몸무게 감소는 낮은 CFU의 균주를 배합하여 투여함으로써 유동식 형태의 Feeding으로 인한 영향인 것으로 보임
- 본 실험에서는 최소  $10^{10}$  CFU/g의 균주 확보가 필요하며 대조군(vehicle) 또한 유당을 포함할 필요성을 보임
- 동물 모델 성장 속도를 고려한 restrainer 크기 조절이 필요함
- control에 비해 유산균/혼합균주 처리군은 Restraining stress를 가할 시 rat의 반응이 눈에 띄게 적고 잘 적응하는 경향성을 보임 (*L. paracasei* 군도 같은 반응)
- IBS 발생과 상관관계를 가지는 유산균을 확인하기에는 다소 유의성이 떨어지는 실험 결과이지만, 본 실험 이전 문제점을 확인하고 보완할 수 있었음

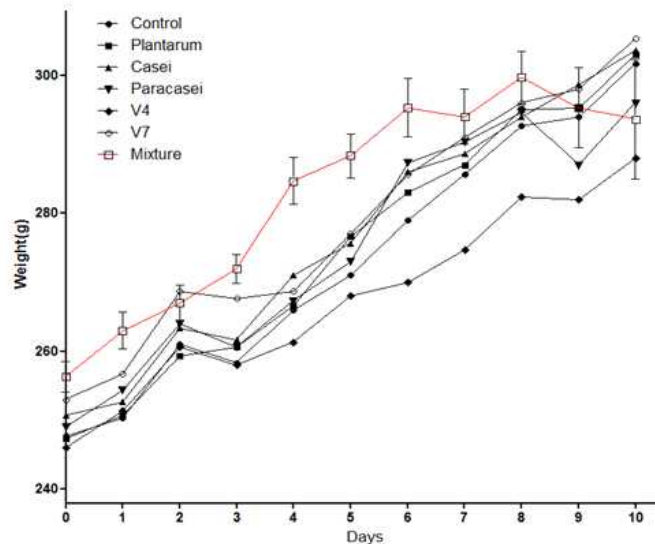


Fig. 151. 몸무게 변화 측정

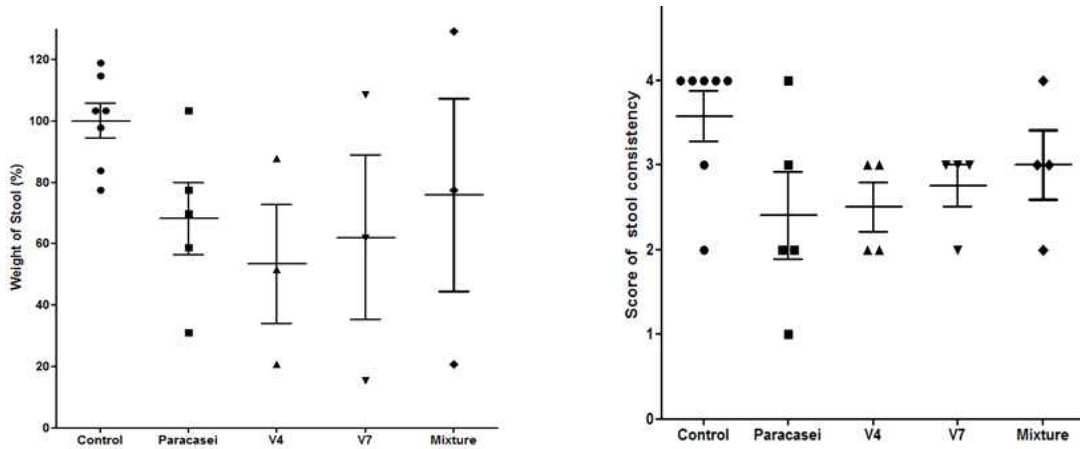
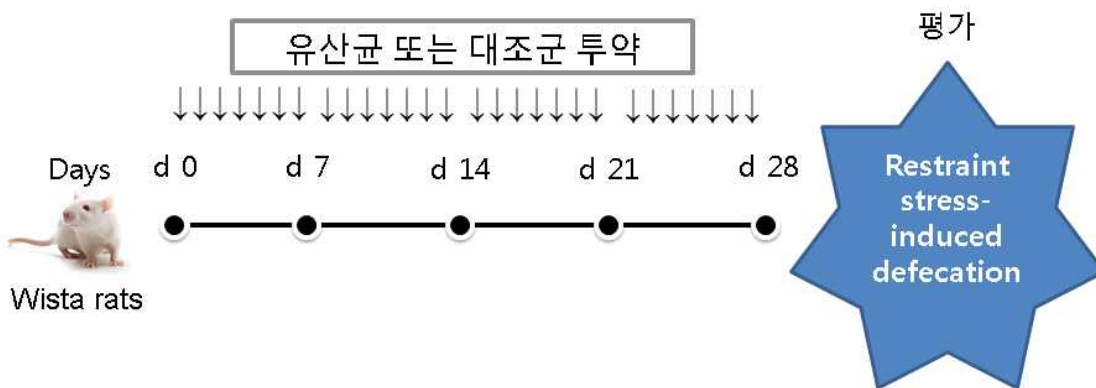


Fig. 152. 분변 배설 양 및 굳기 측정

## 2) 본실험

### - 연구 설계

- 지속적 4주간 유산균/혼합균주를 섭취한 실험군과 섭취하지 않은 대조군을 확보
- Restrainer에 동물을 넣고 1시간 동안 Restraining stress (숙박스트레스)를 가했을 시 stress-induced defecation 측정 : 1시간 restraining 중 배설한 total stool weigh 및 대장 팽만 등을 분석
- 지속적 유산균 및 혼합균주 섭취에 따른 장내 생착 및 미생물군 변화 분석을 위한 분변 샘플링 및 DNA 분리
- 대장에서 유산균 섭취와 IBS 유도에 따른 유전자 발현 변화 분석을 위한 대장 조직 샘플링 및 RNA 확보



- ▶ Primary outcome : 4주째 defecation 비교
- ▶ Secondary outcome : 1,2,3주째 defecation 비교
- ▶ 4주 짜 fecal microbiota composition 비교

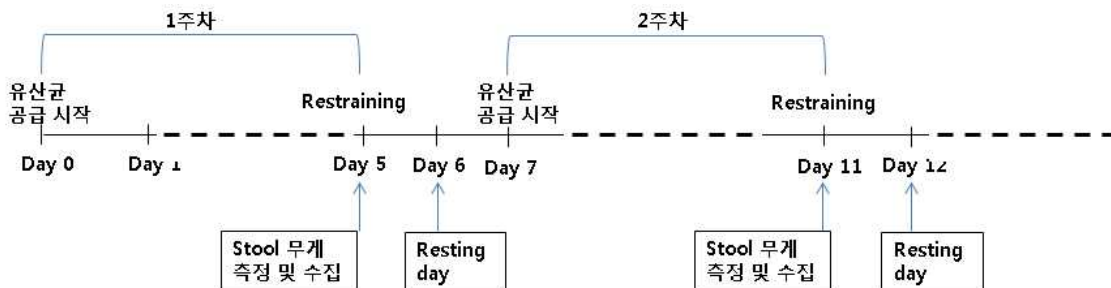
Fig. 153. 동물모델 이용 연구 설계

- 실험 내용

- 유산균 공급 후 Restrained stress 에 따른 분변 배설 양 관찰
- Wistar rat strain 사용 : 전체 40 마리 (10 주령)
- 유산균/혼합균주 strain : *Lactobacillus paracasei*, V4, V7, Mixture (단국대학교 제공, 일동 후디스 양산)

- (1) Vehicle control (유당 포함)
- (2) *Lactobacillus paracasei* (DK121, from Korean traditional fermented food)
- (3) 베트남인 유래 *Lactobacillus acidophilus* (V4)
- (4) 베트남인 유래 *Lactobacillus plantarum* (V7)
- (5) (2) + (V4) + (V7) : 혼합균주 (혼합비율 5:4:1)

- 유산균 공급 : 1일 1회, 1회당  $2 \times 10^9$  이하 / rat, oral administration
- control 군에 유산균 공급군과 동량의 유당 공급
- control 군(vesicle), 시험군 : 각 8마리
- body weight 측정
- Day 5, 1 h 동안 Restraining 후 mouse stool weight 측정과 stool sample collection



- 유산균/혼합균주에 투여 4주 진행 중 1주째 결과 : 동물 개체 수가 늘어나서 한 군에서도 개체 간에 variation이 있긴 하지만 분변의 양과 굳기, 분변 횡수와 pellet 수에서 유산균/혼합균주의 IBS 증상 개선의 경향성을 보임

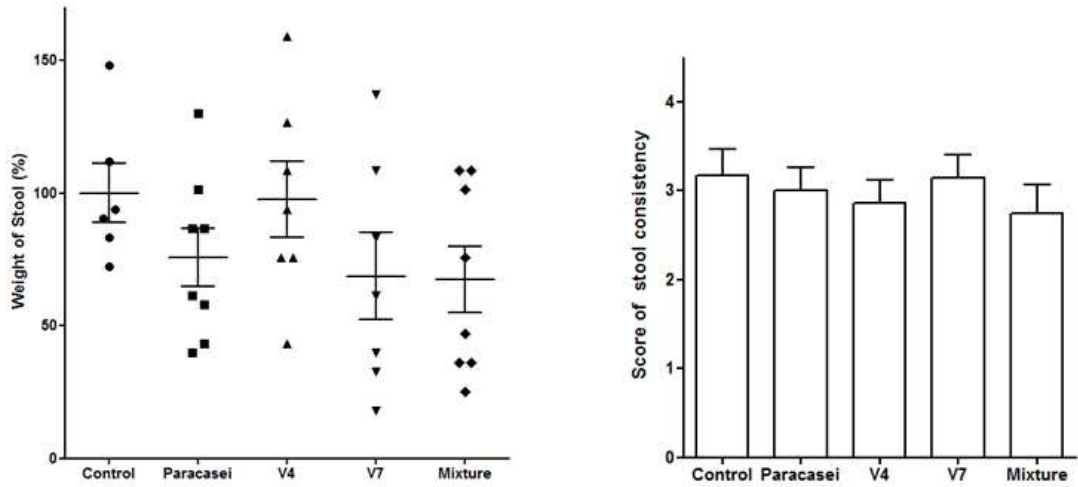


Fig. 154. 본 실험 1주째 분변 배설 양 및 굳기 비교

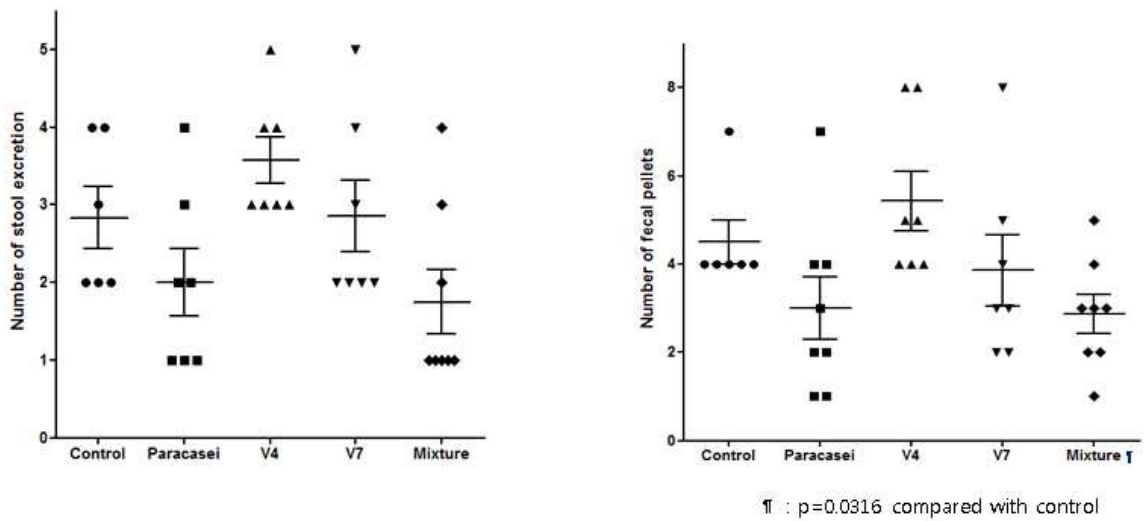


Fig. 155. 본 실험 1주째 배변 횟수 및 분변 pellet 수 비교

- 유산균/혼합균주에 투여 4주 진행 중 2주째 결과 : 분변의 양은 1주차와 유사했으며, 분변의 굳기 측정 결과 유산균/혼합균주 투여군에서 설사증상이 감소하는 것을 확인하였음. 그 중 베트남인 유래 V7(*Lactobacillus plantarum*)와 베트남인 유래 균2종과 *Lactobacillus paracasei* (DK121)의 혼합균주 Mixture에서 IBS 증상 개선 효과를 뚜렷하게 보임



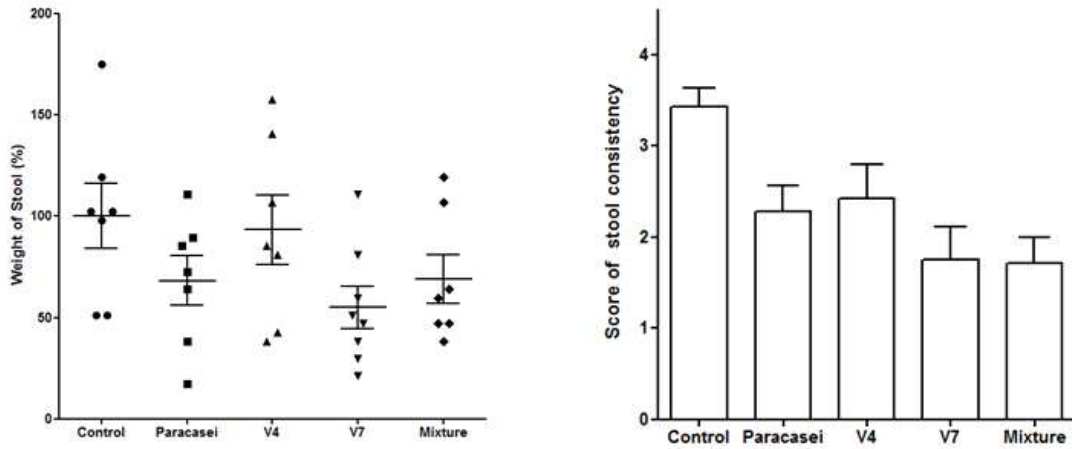


Fig. 156. 본 실험 2주째 분변 배설 양 및 굳기 비교

- 유산균/혼합균주에 투여 4주 진행 중 3주째 결과 : 분변의 굳기 양상은 1주차와 유사했으나, 분변의 배설 양 측정 결과 유산균/혼합균주 투여군 모두에서 배설 양의 감소하는 것을 확인하였음. 그 중 베트남인 유래균 V7(*Lactobacillus plantarum*)에서 분변 배설 양의 감소 효과가 유의한 결과를 보임. 3주째까지의 결과로 볼 때 베트남인 유래균 V7에서 IBS 증상 개선 효과가 가장 크게 나타날 것으로 기대됨.

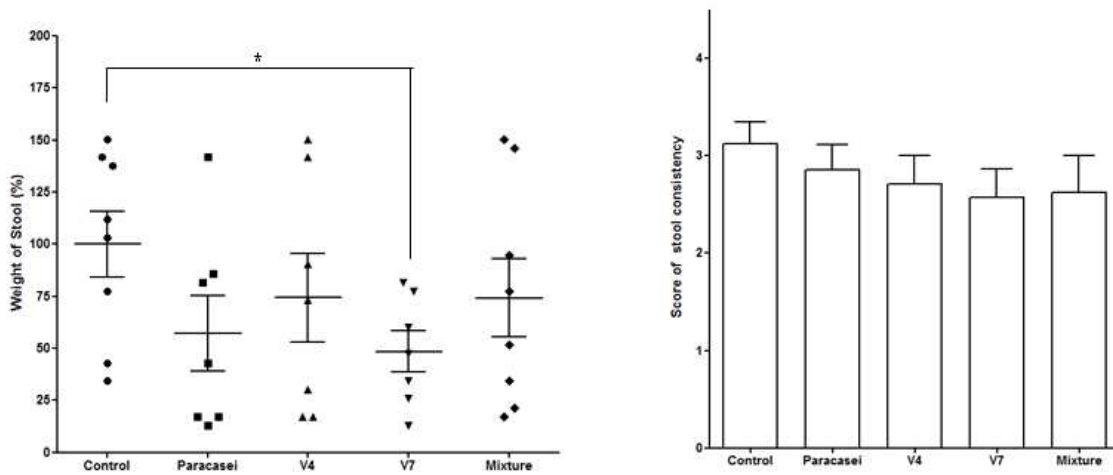


Fig. 157. 본 실험 3주째 분변 배설 양 및 굳기 비교

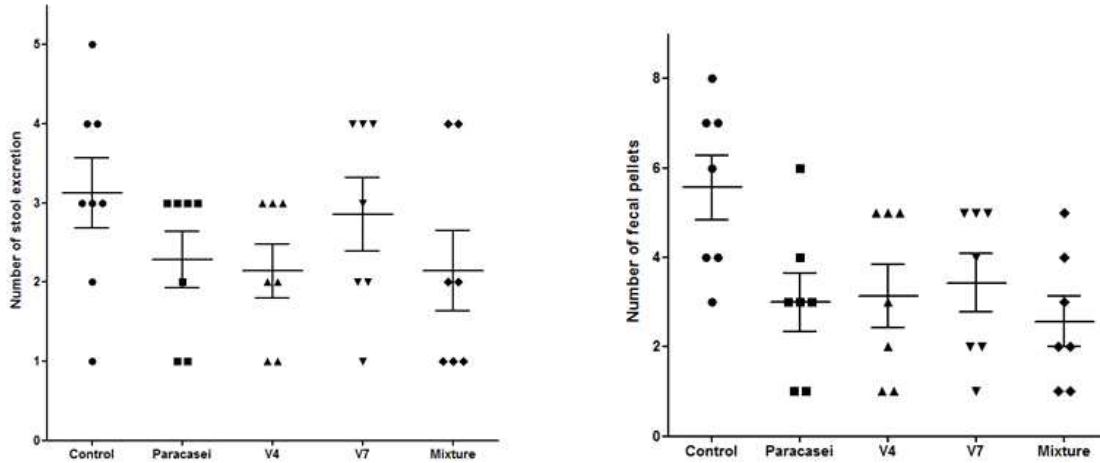


Fig. 158. 본 실험 3주째 배변 횟수 및 분변 pellet 수 비교

- 유산균/혼합균주에 투여 4주 진행 중 4주째 결과 : 분변 배설 양의 감소는 크지 않지만, 분변의 균기 측정 결과 유산균/혼합균주 투여군에서 설사증상이 감소하는 것을 확인하였음. 그 중 *Lactobacillus paracasei* (DK121), 베트남인 유래 V7 (*Lactobacillus plantarum*), 및 혼합균주 Mixture의 IBS 증상 개선 효과는 연속성을 보임

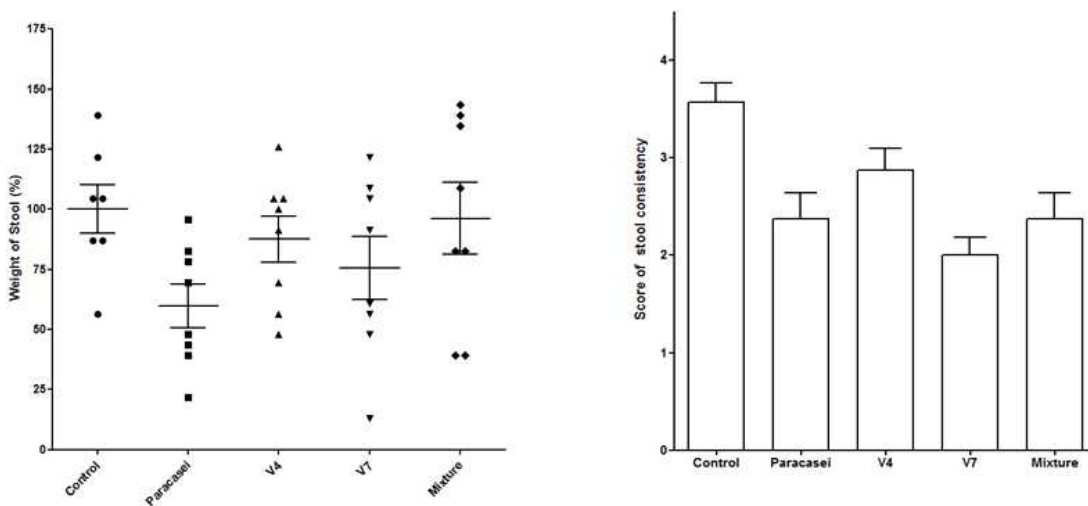


Fig. 159. 본 실험 4주째 분변 배설 양 및 균기 비교

- 1, 2, 3주째 defecation 비교 (Secondary outcome) 결과, 유산균/혼합균주의 투여로 IBS 증상 개선의 경향성을 확인하였음
- 4주째 defecation 비교 (Primary outcome) 결과, IBS 동물 모델에서 유산균/혼합균주 4종은 대조군에 비해 IBS 증상 개선의 양호한 효과를 보였으며, 균주의 우월성은 4주째 fecal microbiota composition 비교 실험을 추가 진행하여 평가할 수 있을 것으로 기대함
- 본 실험 4주 진행 중 각 유산균주 공급군에서 이상반응 및 중대한 이상반응(사망) 없었음.

▶ 베트남인 과민성대장증후군 환자 그룹 모집을 위한 임상시험계획 및 대상 모집

○ 베트남인 과민성대장증후군 환자군 30명과 건강한 베트남인 대조군 30명 모집 : 임상시험 계획 수립 및 IRB 승인

• 임상시험 과제 기획 및 Budgeting

- 연구자 주도형 임상시험 및 단일기관 임상시험으로 과제를 기획하고 예산을 편성
- 기획단계에서 필요한 사전 점검 (선정 및 제외 기준의 검토, 대상자의 특성 및 탈락률, 방문 횟수, 검사항목 및 절차) 시행

• 임상시험계획 및 임상시험 기본문서 마련

- 임상시험의 명칭 : 베트남인 비변비형 과민성대장증후군에서 새로운 프로바이오틱스 효과 및 안전성 평가 연구 (Efficacy and safety of novel probiotics in Vietnamese patients with irritable bowel syndrome without constipation)
- 임상시험의 목적 : Rome III criteria 에 따른 비변비형 베트남인 과민성대장증후군 환자에서 새롭게 발견된 프로바이오틱스의 효과 및 안전성의 평가
- 임상시험 기본문서: 임상시험계획서, 증례기록지, 연구동의서 및 피험자 설명서, 임상연구 피험자 모집공고문, 연구자 서약서 및 이력서 등

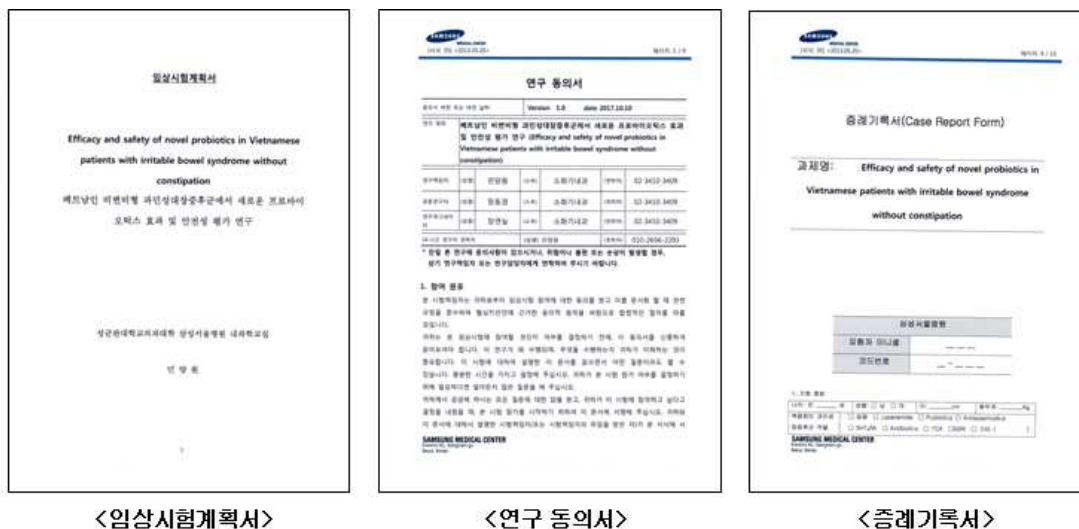


Fig. 160. 임상시험의 기본 문서

- 피험자 선정 기준 (key inclusion criteria)

- ① Rome III criteria 에 따른 과민성대장증후군 (6개월 이전에 발생하였고 지난 3개월 동안 월 3일 이상 복부 불편감 또는 복부통증이 있으면서 배변 양상의 변화를 동반한 경

우)

- ② 만18세 이상 60세 미만
- ③ 복부 불편감 또는 복부통증의 주 평균 강도가 VAS 3점 이상 (0-10점)
- ④ 베트남인 국내 거주자

- 피험자 제외 기준 (exclusion criteria)

- ① 변비 우세형 과민성대장증후군 (대변양상이 딱딱한 변(Bristol Stool Form Score 1-2 점)이 25% 이상이고 무른 변 (6-7점)이 25% 미만인 경우)
- ② 과거 복부 수술력 (맹장수술, 제왕절개 제외)
- ③ 염증성 장질환 환자
- ④ 주 정신과질환자
- ⑤ 심한 심폐질환 및 악성질환자
- ⑥ 우울증약을 복용중인자
- ⑦ 직전 한 달 이내에 항생제 또는 프로바이오틱스를 복용한자
- ⑧ 국내 거주 3개월을 초과한 경우

- 임상시험방법 (전체일정표)

방문	Visit 1	Visit 2	Visit 3
방문일	Screening -4주(±7일)	Baseline D-0	4주후 +4주(±7일)
임상시험 설명 및 동의	●		
선정 제외 기준 확인 1. 인구학적 정보 2. 약물력, 과거력 등 3. 신체검사 4. 복부 증상 및 대변 양상 평가	●		
증상 평가		●	●
무작위 배정		●	
시험약 지급		●	

- 두 모집군의 기초 평가 (인구학적 평가, 위장관 증상 평가, 기초혈액검사)  
→ 대상자 모집 후, 기초 및 증상 평가 추진 예정
- 두 모집군의 분변수집  
→ 대상자 모집 후, 증상평가 결과에 따라 환자군과 대조군 분변 샘플링 추진 예정

▶ 최종 혼합군주 모델의 베트남 과민성 대장증후군 환자에서의 효과 평가

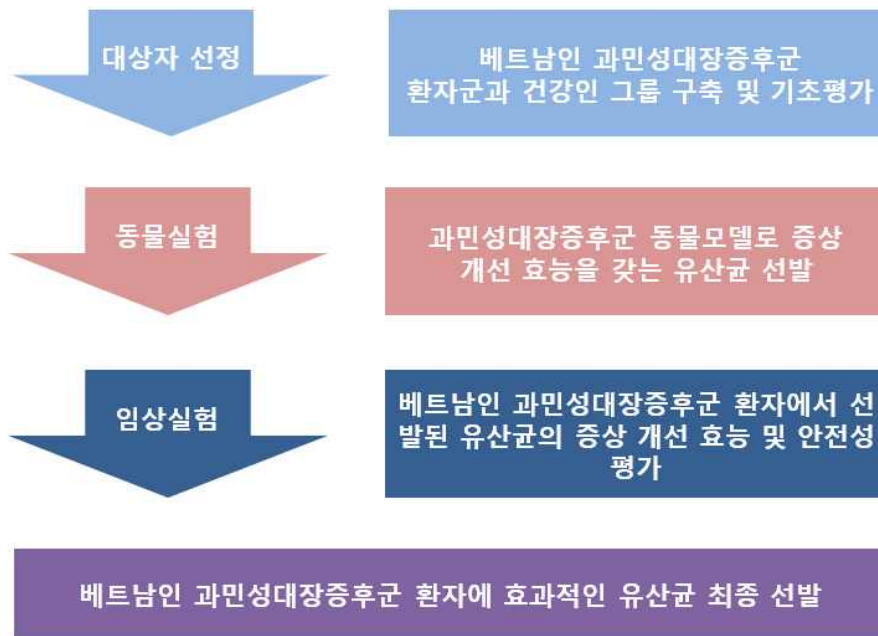


Fig. 161. 연구개발 추진 전략 및 방법

○ 베트남인 과민성대장증후군 환자 그룹 모집

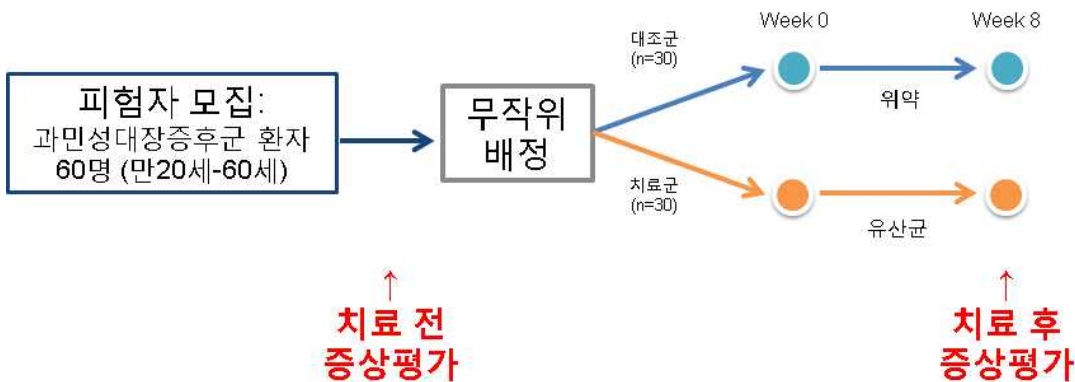


Fig. 162. 과민성대장증후군 환자 대상 증상 개선 효과검증 연구 설계

(1) 임상시험계획 IRB (Institutional Review Board, 의학연구윤리심의위원회) 승인

- 임상시험 기본문서 마련 완료: 임상시험계획서, 증례기록지, 연구동의서 및 피험자 설명서, 임상연구 피험자 모집광고문, 피험자 일지, 기초 및 증상평가지, 인체적용시험자 자료집, 연구자 서약서 및 이력서 등
- 베트남어 번역본 문서 마련 및 통역사 섭외 완료: 외국인 대상자가 임상시험에 참여하는 경우 대상자가 한국어를 유창하게 쓰고 듣고 말한다 하더라도 대상자 설명서 및 그 밖의 문서화된 정보는 해당 외국어로도 제공되거나, 대상자 동의 시 입회자(통역사)가 동의를 얻는 전 과정에 참석하여야 함.

- IRB 신규계획 및 시정계획 승인 (SMC IRB File No. 2018-01-051-001~002)
- 수행단계 이전 필요한 사전 점검 (선정 및 제외 기준의 검토, 대상자의 특성 및 탈락률, 방문 횟수, 검사항목 및 절차)

임상시험계획서

Efficacy and safety of novel probiotics in Vietnamese patients with irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial

베트남인 과민성대장증후군에서 새로운 프로바이오티스 효능 및 안전성 평가 연구

베트남인 과민성대장증후군에서 새로운 프로바이오티스 효능 및 안전성 평가 연구 (Randomized, double-blind, placebo-controlled trial)

임상시험계획서

연구 동의서

베트남인 과민성대장증후군에서 새로운 프로바이오티스 효능 및 안전성 평가 연구

Efficacy and safety of novel probiotics in Vietnamese patients with irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial

연구 동의서

베트남어 연구 동의서

[Title in Vietnamese]

[Content in Vietnamese]

중례기록서(Case Report Form)

과제명 : 베트남인 과민성대장증후군에서 새로운 프로바이오티스 효능 및 안전성 평가 연구

중례기록서, 허위보고, 위약-대조군 연구

중례기록서

기초 및 증상평가

베트남인 과민성대장증후군에서 새로운 프로바이오티스 효능 및 안전성 평가 연구

기초 및 증상평가

[Title in Vietnamese]

[Content in Vietnamese]

베트남어 증상평가 설문

피험자 모집 공고문

연구제목: 베트남인 과민성대장증후군에서 새로운 프로바이오티스 효능 및 안전성 평가 연구

피험자 모집 공고문

피험자 일지

[Title in Vietnamese]

[Content in Vietnamese]

피험자 일지

[Title in Vietnamese]

[Content in Vietnamese]

베트남어 피험자 일지

<임상시험계획서>

<연구 동의서>

<베트남어 연구 동의서>

<중례기록서>

<증상평가 설문>

<베트남어 증상평가 설문>

<피험자 모집 공고문>

<피험자 일지>

<베트남어 피험자 일지>

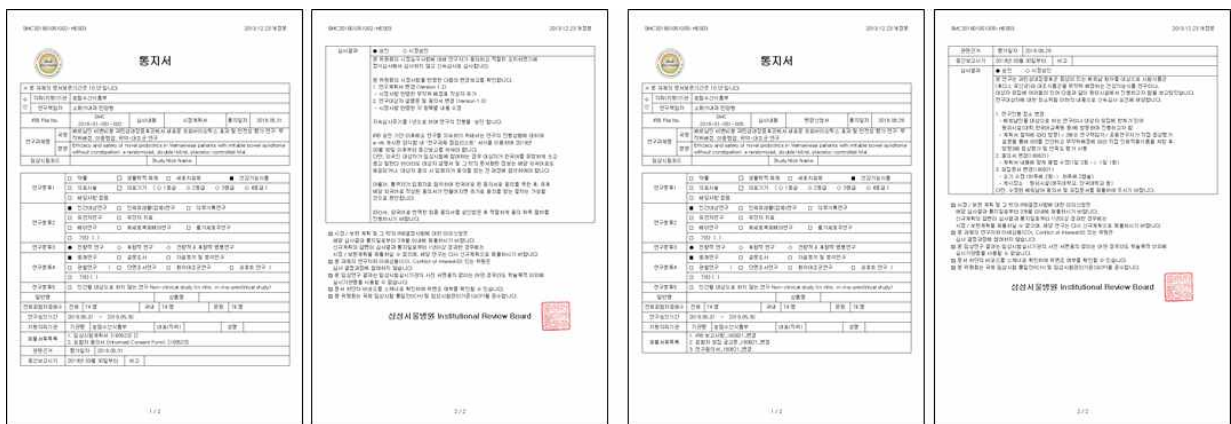
Fig. 163. 임상시험의 기본 문서 승인

(2) IRB 변경계획 승인

- 임상시험계획 변경 승인 : 연구대상자에 대한 최소위험 이하의 내용으로 신속심사 요건에 해당하여 승인 받음
  - ✓ 시험식품 생산 제형 및 균수 변경에 따라 IP 투여용량 및 투여방법 변경
  - ✓ 인체적용시험자 자료집 갱신 (Ver,3.0)
  - ✓ 베트남어 번역 문서의 교정 및 certification 보고 (연구동의서, 피험자 모집 공고문, 피험자 일지, 기초 및 증상 평가 설문)
- IRB 변경계획 승인 (SMC IRB File No. 2018-01-051-003-004 )

(3) 베트남인 피험자 모집을 위한 IRB 추가 변경계획 승인

- 임상시험계획 변경 승인 : 특정 외국인 대상(베트남인)의 연구 피험자 모집이 국내 임상연구 조건에서는 어렵고 한국인과 동일 조건으로 진행이 불가능한 점을 고려하여 연구계획 변경을 신청함. 대상 질환의 진단의 최소 수준으로 피험자 선정제외기준 완화하고, 임상연구의 원외 모집 및 진행을 보고함. 연구대상자에 대한 최소위험 이하의 내용으로 신속심사 요건에 해당하여 승인 받음.
  - ✓ 피험자 선정 기준 (key inclusion criteria) : 참여 연령 변경(만 20세 이상 60세 미만 → 만 19세 이상 75세 미만의 베트남인), Rome III criteria 에 따른 과민성대장증후군 진단으로 VAS scale 선정기준 삭제
  - ✓ 피험자 제외 기준 (exclusion criteria) : 변비 제외기준 삭제, 국내 거주 3개월을 초과한 경우 삭제
- IRB 변경계획 승인 (SMC IRB File No. 2018-01-051-005-010)



<IRB 시정계획 승인 통지서>

<IRB 변경계획 승인 통지서>

Fig. 164. IRB 보고 및 승인 통지서

○ 베트남인 과민성대장증후군 환자 60명 대상의 이중맹검 무작위 위약 대조 연구 진행 (안전성 및 효능 평가)

## (1) 임상시험계획서

- 임상시험 명칭

- 과민성대장증후군에서 새로운 프로바이오틱스 효과 및 안전성 평가 연구: 무작위배정, 이중 맹검, 위약대조군 연구(Efficacy and safety of novel probiotics in Vietnamese patients with irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial)

- 연구 목표

- Rome III criteria 에 따른 비변비형 베트남인 과민성대장증후군 환자에서 새롭게 발견된 프로바이오틱스의 효과 및 안전성의 평가

- 연구 배경 및 필요

- 과민성대장증후군은 만성복통과 배변이상을 특징으로 하는 흔한 위장관 질환임. 현재 여러 약제가 과민성대장증후군 치료에 적용되고 있지만 각 환자들의 병태생리학적 기전이 상이하여 전반적으로 효과적인 약물이 없는 실정임.
- 과민성대장증후군의 발생에 기여하는 인자 중 하나로, 대장 세균총은 다양한 방면으로 관련이 있는 것으로 알려져 있음. 비정상적인 대장 세균총은 장관의 면역상태를 변화 시키고, Brain -Gut axis 에 영향을 미쳐 불안감을 증가시키거나 복통에 대한 역치를 낮춤으로서 증상 발현에 기여함. 이는 설사형에서 더 큰 역할을 할 것으로 생각이 되어 감염 후 설사형 과민성대장증후군의 치료약제로 장내 항생제의 일종인 rifaximin 을 투여, 장관내 세균총을 변화시킴으로써 증상완화에 효과가 있다는 것이 보고된 바 있음.
- 프로바이오틱스도 여러 연구를 통해 과민성대장증후군 환자의 증상을 감소시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있음. 하지만 일부 연구에서는 프로바이오틱스의 효과가 위약에 비해 유의하게 나타나지 않기도 하였음.
- 과민성대장증후군에서의 프로바이오틱스의 효과는 대장 세균총의 정상화를 통한 것으로 이해되고 있음. 따라서 환자군의 대장 세균총을 분석하여 필요한 프로바이오틱스를 선별해 낼 수 있다면 그 효과는 더욱 클 것으로 기대됨. 이에 본 연구에서는 변비를 동반하지 않는 과민성대장증후 환자과 무증상 대조군의 대변 세균총을 비교 분석하여 선별해 낸 프로바이오틱스의 효과를 과민성대장증후군 환자에게 투약하였을 때 치료 효과 및 안전성을 평가하고자 함.

- 인체적용시험용 식품(시험식품 및 대조식품, 제공처 : 일동후디스)

- 시험식품(명칭: 후디스 유산균)

- ① 주성분: *Lactobacillus paracasei* (DKIH1), *Lactobacillus salivarius* (V4), *Lactobacillus plantarum* (V7), 식물성유지
- ② 분량: 1 X 10<sup>10</sup>cfu이상/2 capsule당
- ③ 제형: 이미, 이취가 없는 적갈색의 액상 캡슐

- 대조식품: 대조식품은 시험식품의 부형제로 이용된 말토덱스트린 등을 각각 정량으로 캡슐



안에 채운 제제로 시험식품과 색, 모양, 양이 동일함.

- 시험식품의 기원

유산균명	학명	분리원
DKIH1	<i>Lactobacillus paracasei</i>	한국전통식품(김치)유래 유산균
V4	<i>Lactobacillus salivarius</i>	베트남인 분변유래 유산균
V7	<i>Lactobacillus plantarum</i>	베트남인 분변유래 유산균

- 시험식품의 안전성 정보 및 피험자에 대한 조치 : 본 인체적용시험에서 섭취하는 유효성분인 *Lactobacillus* 는 건강기능식품의 기준 및 규격 고시전문(제20 11 -68 호)에 II.2.5 발효미생물류 II.2.5.1 프로바이오틱스에 식용으로 적합한 고시형 균종으로 국내·외에서 널리 이용되고 있는 그 안전성이 인정된 균주이다. 별도의 안전성 시험 없이 식품으로 사용될 수 있는 균주이며, 용혈성, 항생제 내성 등 유산균에서 검증이 필요한 안전성에 대한 시험에서 안전함이 확인된 균임. 비침습적 시행방법을 통해 피험자가 최소한의 위험에 노출되도록 할 것이며 피험자의 병원 방문 시마다 소화기내과 의사가 직접 진찰하도록 하며, 담당자의 연락처를 미리 피험자에게 알려주어 언제라도 인체적용시험과 관련된 이상반응과 관련된 치료를 받을 수 있도록 함.

• 대상질환 : Rome III criteria 에 따른 과민성대장증후군

• 피험자의 선정기준 및 제외기준

- 피험자 선정 기준 (key inclusion criteria)

- ① Rome III criteria 에 따른 과민성대장증후군
- ② 만19세 이상 75세 미만
- ③ 베트남인 국내 거주자

- 피험자 제외 기준 (exclusion criteria)

- ① 과거 복부 수술력 (맹장수술, 제왕절개 제외)
- ② 염증성 장질환 환자
- ③ 주 정신과질환자
- ④ 심한 심폐질환 및 악성질환자
- ⑤ 우울증약을 복용중인자
- ⑥ 직전 한 달 이내에 항생제 또는 프로바이오틱스를 복용한자

• 목표한 피험자의 수 및 그 근거

- 치료군은 70%에서 증상 개선이 있고 위약군은 35%에서 증상 개선이 있다고 가정하면 80% 검정력과 5% 유의수준 하에 31명의 환자가 필요하며, 15%의 탈락률을 계산하여 각군당 최종 37명씩 모집할 예정이다.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} \sqrt{2PQ} + Z_{\beta} \sqrt{P_c Q_c + P_t Q_t})^2}{\Delta_A^2}$$

- 임상시험 방법 (투여/사용량, 투여/사용방법, 투여/사용기간, 병용요법 등)

- 동의서 확보

- ✓ 피험자에게 연구 참여 동의서 취득할 때 본 연구는 외국인(베트남인)을 대상으로 하는 임상시험이므로 피험자 모집 공고문과 피험자 동의서 및 증상설문지를 현지어(베트남어) 형태로 제공하여 피험자가 충분한 이해 하에 임상시험에 참여할 수 있도록 함. 베트남어로 제공할 임상시험용 문서는 번역회사에 의뢰하여 작성하고 제공함.
- ✓ 피험자에게 연구에 대한 설명은 연구책임자 및 공동연구자가 직접 할 것이며 필요시 베트남어로 설명이 가능하도록 별도의 통역사가 함께 동석함. 통역은 외부업체 또는 자원봉사단체의 통역사에게 의뢰하여 진행함.
- ✓ 임상연구 동의서에서 연구의 배경 및 목적, 연구 방법, 시험 참여와 종료, 시험 참여에 따른 위험성, 시험 참여에 따른 이점, 비밀 보장, 피해 발생시 보상 및 치료 대책에 대하여 충분히 설명을 하고 질문에 대한 답변 후 환자의 자발적 의사에 따라 동의서를 취득함.

- 무작위 배정 방법 : 사전에 작성된 블록화 무작위 배정법의 할당 코드에 따라 참여한 순서대로 대상자를 복용군과 위약군으로 1:1 무작위 배정함. 연구자 중 누구도 알 수 없도록 Sealed Envelope 프로그램 온라인 버전(<https://www.sealedenvelope.com/simple-randomiser/v1/lists>)을 활용하여 2 x 4 블록으로 생성한 난수표로 randomization code를 생성함(무작위 배정표 작성자/ Samsung Advanced Institute for Health Sciences & Technology (SAIHST) 강단비 박사)

- 투여방법 및 기간

① 투여용량: 2캡슐(1 X 10<sup>10</sup> cfu이상)

② 투여방법: 1일 1회 식사와 상관없이 2캡슐을 물이나 음료와 함께 복용한다. (단, 오렌지 주스 등 산성이 강한 주스와 콜라와 같은 탄산음료는 제외한다. 타 약물 복용시 2 시간 간격을 두고 복용하도록 한다.)

③ 투여기간: 4주(28일)간 복용

- 보관 방법 : 직사광선 및 고온을 피하고 가능한 냉장(2-8℃) 보관(단, 처방 받은 시험식품을 피험자가 운반하거나 소지할 경우 10일 이내에서는 실온에 보관할 수 있다.)

- 인체적용시험용 식품(시험식품 및 대조식품)의 공급 및 관리 : 일동후디스(주)에서 인체적용

시험용 식품(시험식품 및 대조식품)을 시험기관으로 공급함. 인체적용시험용식품은 시험기관의 지정된 관리담당자에 의해 수령되고 안전하고 적절하게 취급, 보관되어야 하며 지정된 관련자만이 접근할 수 있는 안전한 장소에 보관되어야 함. 인체적용시험용식품은 본 인체적용시험계획서에 따라 사용, 관리되어야 함. 관리담당자는 일동후디스(주)로부터 공급받은 인체적용시험용 식품의 수량, 피험자에게 사용한 수량, 인체적용시험 종료 후 사용되지 않고 남아있는 수량에 대한 정확한 기록을 보관해야 함. 인체적용시험을 종료하였을 때 사용 또는 미사용한 모든 인체적용시험용 식품을 일동후디스(주)에 반납해야 함. 수불기록에 대한 책임은 관리담당자에게 있으며, 관리담당자는 수불내용을 문서화하고 이를 보관하여야 함.

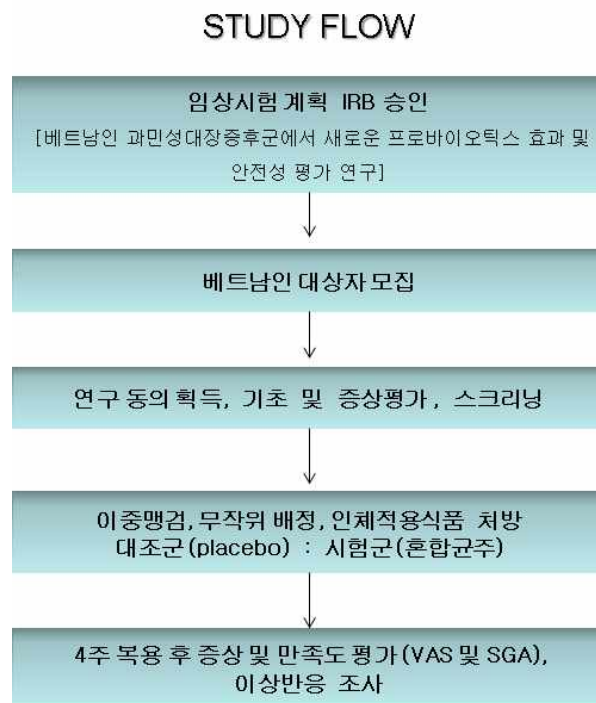


Fig. 165. Clinical trial flow chart

- 방문 별 관찰 및 검사

- Visit 1 (Screening)

- ① 임상 시험참여자에게 연구자는 충분한 설명을 제공한 뒤 이해한 후 동의서를 취득함
- ② 선정/제외 기준 확인
- ③ 인구학적 정보 (대상자의 성별, 연령, 국내거주기간)
- ④ 의학적 과거력, 동반 질환, 음주력 및 흡연력
- ⑤ 약물력 조사(시험 시작 전 2주 이내에 복용했던, 현재 복용 중인 병용약물)

⑥ 신체검사(신장, 체중 등)

⑦ 복부 증상 및 대변 양상 평가(지난 주 복부 불편감/통증 정도VAS 0-10점, 대변 횟수, 대변 양상Bristol Stool Form Score 1-7 )

- Visit 2 (Visit 1과 Visit 2는 동일한 날에 진행될 수 있다)

① 선정/제외기준 재확인 및 무작위배정

② 인체적용시험용 식품 지급 및 피험자 일지 배포 (일일 증상 및 배변 일기)

③ 복부 증상 및 대변 양상 평가(지난 주 복부 불편감/통증 정도VAS 0-10점, 대변 횟수, 대변 양상Bristol Stool Form Score 1-7 )

- Visit 3 (Evaluation)

① 시험식품 또는 대조식품을4주간 복용 후 증상 평가 및 만족도 평가(SGA)

② 피험자일지 회수 및 검토

③ 이상반응 조사

- 전체일정표

방문	Visit 1	Visit 2	Visit 3
방문일	Screening -4주(±7일)	Baseline D-0	4주후 +4주(±7일)
임상시험 설명 및 동의	●		
선정제외기준 확인 1. 인구학적 정보 2. 약물력, 과거력 등 3. 신체검사 4. 복부 증상 및 대변 양상 평가	●		
증상평가		●	●
무작위 배정		●	
시험식품 및 대조식품 지급		●	
만족도 평가			●
이상반응 조사			●

• 관찰 및 검사방법

- 피험자의 전반적인 증상 호전 정도(Subject global assessment; SGA)는 한 주 동안 복통과 복부 불편감 및 배변 증상의 전반적인 증상의 호전 여부를 연구 시작 전과 비교하여 변화 없는 경우는 0점, 약간 호전된 경우 1점, 중간 정도로 호전된 경우 2점, 상당히 호전된 경우 3 점, 완전히 호전된 경우 4점으로 평가한다.

- 피험자들은 임상 증상 평가에서 증상의 심한 정도를visual analogue scale (VAS)을 이용하여 증상이 없는 경우 0점, 매우 심한 경우 10점(0-10점)으로 하여 기재한다(증상 일지에 매일 기

록). 배변 횟수는 하루 횟수를 숫자로 기재하도록 한다. 배변 고통은 Bristol Stool Scale에 따라 1-7점으로 한다.

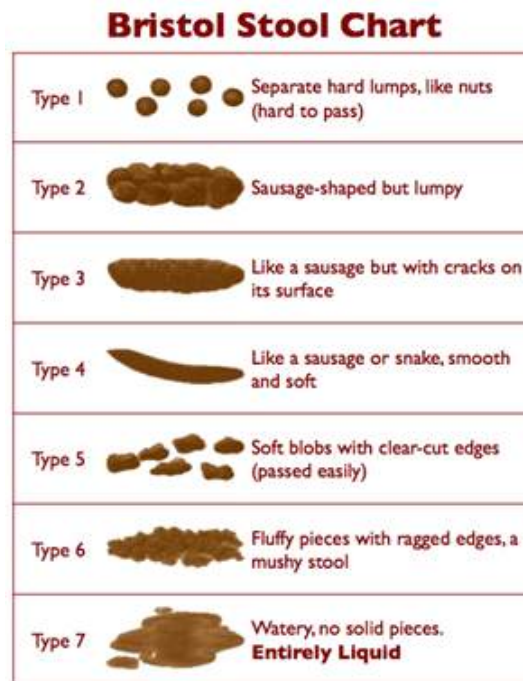
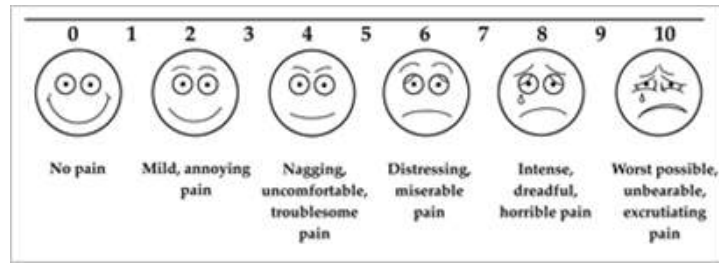


Fig. 166. VAS(visual analogue scale) and BSC(Bristol Stool Chart)

- 일차목표

✓ 4주 복용 후 과민성 장증후군 증상 개선 효과에 대한 전반적인 만족도(SGA)

- 이차목표

✓ 1,2,3주 복용 후 과민성 장증후군 증상 개선 효과에 대한 전반적인 만족도(SGA)

✓ 1,2,3,4주 복용 후VAS core 변화

- 예측 부작용 및 사용상의 주의사항 : 인체 유래 유산균이며 동물실험을 통해 안전성을 확인하여 부작용 발생 가능성은 매우 낮을 것으로 판단됨. 일부 증례 보고로 프로바이오틱스를 통한 감염성 부작용이 제시되었지만 모두 중환자실 환자 또는 면역이 저하된 환자의 경우여서 이러한 조건을 배제한 연구 참가자를 모집하겠음.

• 중지/탈락기준

- 피험자의 동의 철회가 있을 경우
- 연구 참여의 결과로 어떠한 형태로든 연구 참여자에게 해가 있게 되면, 연구를 중단하고 연구자가 속한 기관병원에서 응급조치 및 입원 치료 등의 적절한 의학적 치료를 받도록 계획함. 만일 안전성에 문제가 있다고 판단되는 경우 시험을 중단함.
- 다음에 해당되는 경우, 귀하는 귀하의 동의 없이도 본 연구의 참여로부터 제한될 수 있습니다.

- A. 시험 담당의사의 지시를 따르지 않음
- B. 연구 참여와 관계없는 중대한 질환이 발생함
- C. 시험 담당의사가 귀하에게 있어 연구가 최선의 방법이 아니라고 결정함

- 효과평가기준, 평가방법 및 해석방법 (통계분석방법)

- 인구통계학적 정보 및 투여 전 특성 : 범주형 변수들은 빈도, 백분율로, 연속형 변수들은 평균, 표준편차, 최소값, 최대값, 중위수로 제시
- 유효성 평가변수의 분석
  - ✓ 매주 SGA를 평가한다. 1점 이상을 치료반응 양성으로 판정
  - ✓ 매일 기록된 복부 증상(VAS)과 대변 양상(BSFS)의 평균으로 주간 값을 각각 계산
  - ✓ 투약 전에 비해 복부 증상(VAS) 값이 30% 이상 감소 시 치료반응 양성으로 판정
  - ✓ 두 군간의 비교는 unpaired t-test 또는 Mann-Whitney U test를 이용
- 안전성 평가 변수의 분석 : 빈도, 백분율로 제시하고, 두 군간 비교 시 Pearson's  $\chi^2$  test 또는 Fisher's exact test를 이용

- 부작용을 포함한 안전성의 평가기준, 평가방법 및 보고방법

- 임상시험 부작용 모니터
  - 담 당 : 연구코디네이터
  - 주 소 : 서울특별시 강남구 일원로 81 삼성서울병원 소화기내과
  - 전 화 : 02-3410-3409
- 평가기준과 평가 방법
  - ✓ “이상반응” 이란 연구에 사용되는 의약품의 투여, 의료기기의 적용, 연구절차의 시행과 관련하여 연구대상자에 발생한 모든 의도하지 않은 증후, 증상 또는 질병을 말하며, 해당 의약품, 의료기기, 연구절차와 반드시 인과관계를 가져야 하는 것은 아님
  - ✓ “중대한 이상반응(Serious Adverse Event, SAE)” 이란 연구에 사용되는 의약품의 투여, 의료기기의 적용, 연구절차의 시행으로 인해 발생한 이상반응 중에서 다음의 어느 하나에 해당하는 경우를 말함
    - A. 사망하거나 생명에 대한 위협이 발생한 경우

- B. 입원할 필요가 있거나 입원 기간을 연장할 필요가 있는 경우
- C. 영구적이거나 중대한 장애 및 기능 저하를 가져온 경우
- D. 태아에게 기형 또는 이상이 발생한 경우
- E. 가목부터 라목까지 사례외에 약물 의존성이나 남용의 발생 또는 혈액질환 등 그 밖에 의학적으로 중요한 상황이 발생하는 사례

- ✓ “연구와 인과관계가 있는 중대하고 예상하지 못한 이상반응(Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction, 이하 ‘SUSAR’ 라 한다)” 이란 임상시험자 자료집 또는 의약품/의료기기의 첨부 문서 등 이용 가능한 연구 관련 정보에 비추어 이상반응의 양상이나 위해의 정도에서 차이가 나고, 연구에 사용되는 의약품, 의료기기, 연구절차와의 인과관계를 부정할 수 없는 중대한 이상반응을 말함

- 보고방법 (원내 이상반응)

1. 연구책임자는 해당 사건이 SUSAR 에 해당하는지 여부를 판단하여 의견을 제시하여야 한다. 만일 SUSAR 여부가 불분명하다면, 의뢰자 또는 다른 전문가와 상의하여 정할 수 있음
  2. 본원 연구대상자에서 발생한 SUSAR 의 경우, 연구책임자는 해당 사실을 알게 된 날로부터 7 일 이내(달력일 기준, 상세한 정보는 최초 보고일로부터 8 일 이내 추가 보고) 보고함
  3. SUSAR 에 해당하지 않지만 본원 연구대상자에서 사망 또는 생명에 대한 위험이 발생한 경우, 연구책임자는 해당 사실을 알게 된 날로부터 15 일 이내(달력일 기준) 보고함 단, IRB 승인된 연구계획서나 임상시험자 자료집 등에서 신속히 보고하지 않아도 된다고 정한 경우(예: 생존추적조사 중에 발생한 사망) 주기적으로 데이터를 모아서 보고하거나, 중간/종료보고 시 보고할 수 있음
  4. ‘[서식 43] 원내 이상반응 보고서’ 를 작성하여 eIRB 시스템 내 보고서에 첨부한다.
  5. 최초 보고 이후에도 해당 이상반응이 종결(해당 이상반응의 소실 또는 추적조사 불가)될 때까지 추적하여 보고함
- 피험자동의서 : 원내 서식을 따름. IRB 승인이 필요한 기본 문서에 해당함.
  - 증례기록서 : 원내 서식을 따름. IRB 승인이 필요한 기본 문서에 해당함.
  - 피해자 보상에 대한 규약 : 연구에 참여하지 않았을 경우에는 발생하지 않을 손상이 연구 계획서에 따른 절차로 인해 발생하였다면 연구자가 해당 연구비로 필요한 치료비 등 비용을 부담함
  - 임상시험 후 피험자의 진료 및 치료기준 : 환자의 진료와 치료는 본 연구와 관련 없이 기존의 통상적인 과민성대장증후군에 대한 지침에 따름

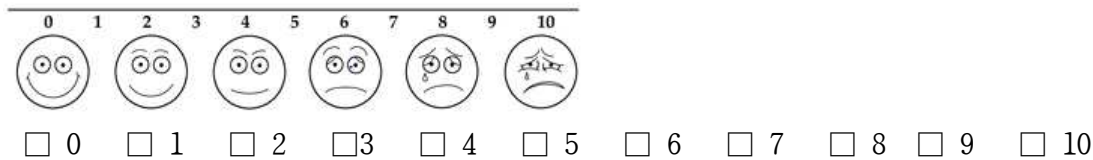
- 피험자의 안전보호에 관한 대책 : 환자의 의무기록번호는 주관연구자의 책임 하에 별도의 파일로 보관할 것이며 이를 코드화하여 본 연구와 관련된 자료에서 개인 신상확인이 불가능하도록 관리함. 또한 연구가 종결된 후 이러한 데이터는 기관 관련 지침에 따라 보관 및 폐기(연구종료일로부터 10년간 보존)함.

(2) 과민성 대장증후군 증상 평가 방법

- 과민성장증후군 진단[Rome III IBS Test]
- Rome III criteria (증상 있었음의 경우 환자군에 해당함)

과민성장증후군 증상을 6개월 이상 가지고 있었음	<input type="checkbox"/> 있었음(Yes)	<input type="checkbox"/> 없었음(No)
지난3개월간 한 달에3일 이상 다음3가지 증상 중2가지 증상이 있었음	<input type="checkbox"/> 있었음(Yes)	<input type="checkbox"/> 없었음(No)
1. 복통이나 복부 불편감이 배변 후 호전됨	<input type="checkbox"/> 예(Yes)	<input type="checkbox"/> 아니오(No)
2. 복통이나 복부 불편감과 함께 배변 횟수가 증가함	<input type="checkbox"/> 예(Yes)	<input type="checkbox"/> 아니오(No)
3. 복통이나 복부 불편감과 함께 대변의 형태가 물러짐	<input type="checkbox"/> 예(Yes)	<input type="checkbox"/> 아니오(No)

- 복용 전 증상평가(VAS): 지난 1주간 하루 중 가장 불편했을 때의 복통이나 복부 불편감 정도(VAS)



- 복용 전 대변평가: 평소 대변 형태 (IBS-M, IBS-C 경우 비변비형 과민성대장증후군 환자군에 해당함)

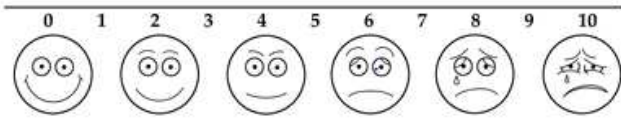
- 1형
- 2형
- 3형
- 4형
- 5형
- 6형
- 7형

복용 전 대변평가 형태

- ① 1형, 2형이 배변횟수의25%이상을 차지하고, 6형, 7형이 배변횟수의25% 미만(IBC)
- ② 6형, 7형이 배변횟수의25%이상을 차지하고, 1형, 2형이 배변횟수의25% 미만(IDS-D)
- ③ 1형, 2형이 배변횟수의25%이상을 차지하고, 6형, 7형도 배변횟수의25% 이상(IBM)
- ④ 위3가지 모두 해당하지 않는 경우(IBM)



- 복용 후 증상 평가(VAS): 지난 1주간 하루 중 가장 불편했을 때의 복통이나 복부 불편감 정도



1주 후	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9	<input type="checkbox"/> 10
2주 후	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9	<input type="checkbox"/> 10
3주 후	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9	<input type="checkbox"/> 10
4주 후	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9	<input type="checkbox"/> 10

- 복용 후 만족도 평가(SGA): 지난 1주간 느낀 증상의 호전 정도

0	변화 없음
1	약간 호전됨
2	중간 정도로 호전됨
3	상당히 호전됨
4	완전히 호전됨

1주 후	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
2주 후	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
3주 후	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
4주 후	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4

- 이상반응 평가

(3) 이중맹검, 무작위 배정을 통해 베트남인 과민성대장증후군 대조군 및 비교군의 두 그룹 구축

- 당초 계획의 목표 피험자 수 60명 이상의 피험자를 등록함
- Exclusion criteria 및 중도탈락자를 제외한 피험자 50명에서 대조군 (Placebo group) 및 비교군 (Probiotics group)의 두 그룹을 24 : 26의 비율로 구축하고 데이터를 분석함 (피험자 탈락률을 고려한 74명 목표 피험자 수보다는 적음)

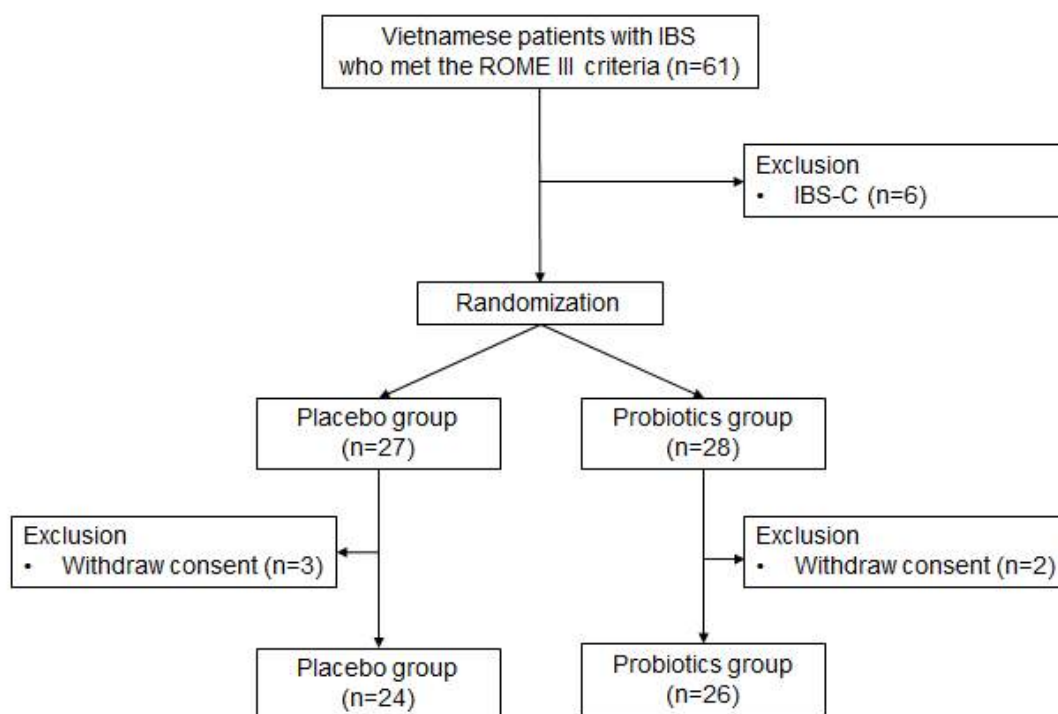


Fig. 167. Participants

Table 90. Baseline characteristics

	Placebo (n=24)	Probiotics (n=26)	P value
Age(year)	33.0 (28.0-44.5)	32.5 (26.5-39.0)	0.28
Female	19 (79.2)	17 (65.4)	0.28
BMI	20.7 (18.3-22.3)	22.2 (19.9-23.6)	0.08
Smoker (no)	24 (100)	24 (92.3)	0.17
Alcohol (no)	19 (79.2)	20 (76.9)	0.70
Stay period	31.0 (7.0-67.0)	36.0 (14.7-102.0)	0.48
IBS subtype			0.75
IBS-D	10 (41.7)	11 (42.3)	
IBS-M	6 (25.0)	4 (15.4)	
IBS-U	8 (33.3)	11 (42.3)	
Duration of symptom ( $\geq 6$ )	17 (70.8)	21 (80.8)	0.41
VAS (abd. pain)	4.0 (3.0-5.0)	4.0 (2.7-5.0)	0.53
BSC (stool form)	5.0 (5.7)	4.5 (4.0-6.0)	0.71

(4) 임상시험 결과 분석

- 인체적용시험식품의 4주 복용 후, 증상 호전 정도(전반적인 만족도, SGA)와 VAS 점수로 평가한 치료 반응률을 비교한 결과, 시험식품(후디스 유산균)을 복용한 비교군(probiotics)에서 대조군(placebo)에 비해 유의하게 치료 반응률이 모두 높게 관찰되었음

Table 91. Proportion of overall responders

	Placebo (n=24)	Probiotics (n=26)	P value
SGA	11 (45.8)	21 (80.8)	0.009
VAS (30%)	10 (41.7)	18 (69.2)	0.048

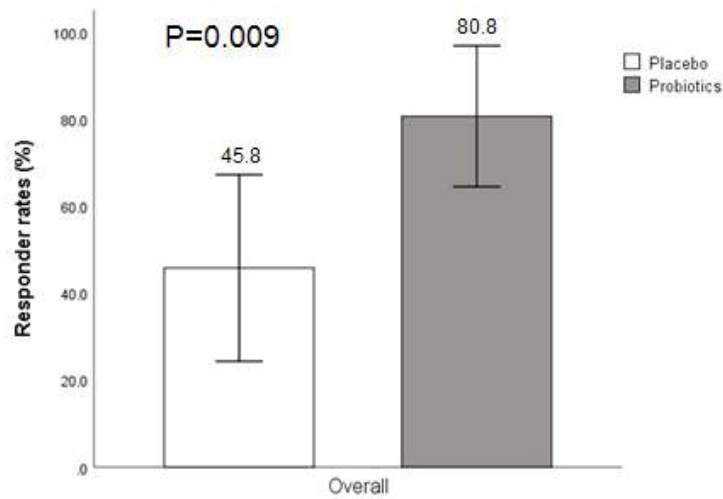


Fig. 168. Overall responders (SGA)

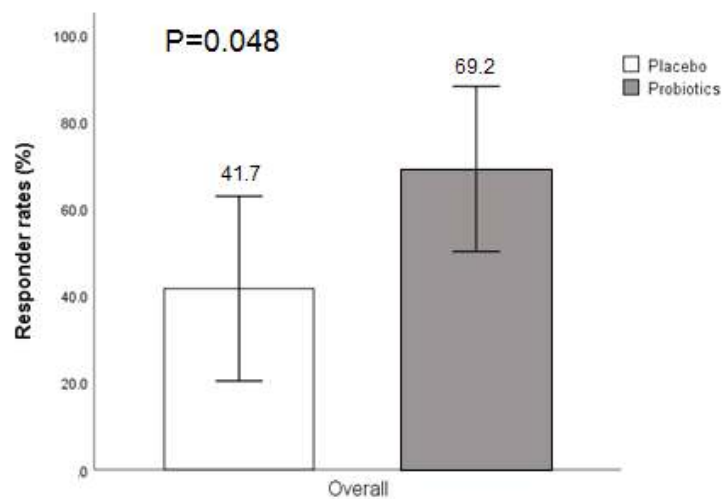
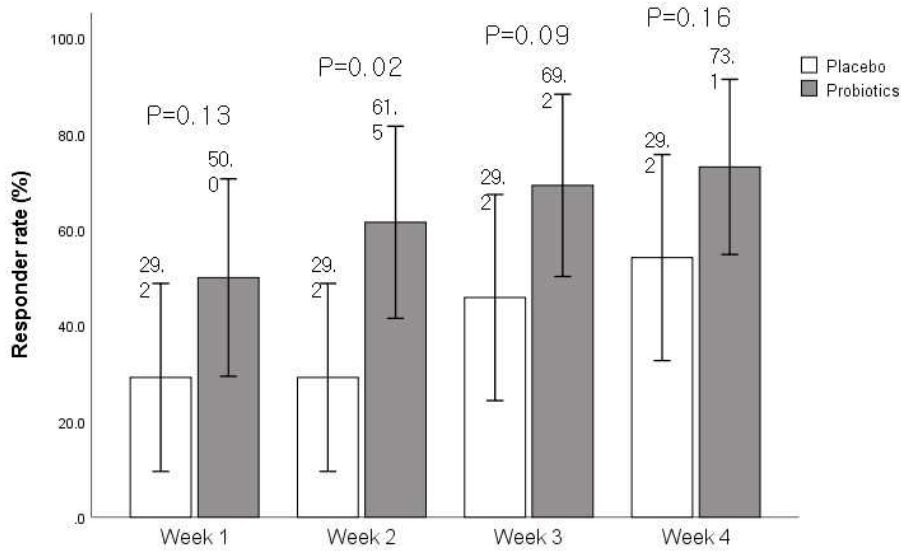
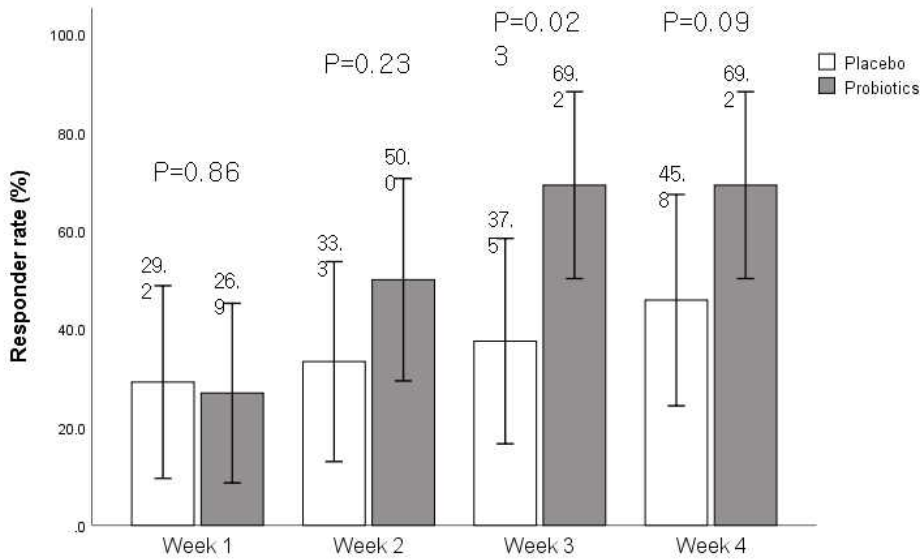


Fig. 169. Overall responders (VAS)

- 인체적용시험식품의 매주 복용 후 증상 호전 정도(SGA)와 VAS 점수로 평가한 주 단위 치료 반응률을 비교한 결과, 비교군(probiotics)에서 대조군(placebo)에 비해 치료 반응률 높은 경향을 보였으나 샘플 크기가 작아 통계적 유의성에 도달하진 못하였음.



Weekly responder rates of SGA



Weekly responder rates of VAS

Fig. 170. Weekly responders SGA and VAS

Table 92. Comparison of the weekly responder rates

	Placebo (n=24)	Probiotics (n=26)	P value
SGA			
1 <sup>st</sup> week	7 (29.2)	13 (50.0)	0.13
2 <sup>nd</sup> week	7 (29.2)	16 (61.5)	0.02
3 <sup>rd</sup> week	11 (45.8)	18 (69.2)	0.09
4 <sup>th</sup> week	13 (54.2)	19 (73.1)	0.16
VAS (30%)			
1 <sup>st</sup> week	7 (29.2)	7 (26.9)	0.86
2 <sup>nd</sup> week	8 (33.3)	13 (50.0)	0.23
3 <sup>rd</sup> week	9 (37.5)	18 (69.2)	0.023
4 <sup>th</sup> week	11 (45.8)	18 (69.2)	0.09

- 본 연구 결과, 비교군(probiotics)에 사용된 유산균은 대조군(placebo)에 비해 유의하게 과민성대장증후군 증상과 복부통증을 개선시키는 효과를 보여주었음.
- 본 연구에서 검증된 유산균 복합제(후디스 유산균)는 향후 비변비형 과민성대장증후군 환자의 증상 개선 약제로 사용될 수 있겠음.

(5) 점검(Audit) 실시

- 삼성서울병원 피험자보호감독실(ORSP, Office of Research Subject Protection)에서 임상시험의 품질보증(Quality Assurance)을 위하여 [IRB File No.2018-01-051] 과제를 대상으로 점검(Audit)을 실시함
  - ✓ 일반적 사항(대상자 선정, 대상자 동의서 취득의 절차, 임상시험용 의약품의 처방 및 수불, 실험실적 검사의 확인 등)에 관하여 확인
  - ✓ 기본문서와 근거문서들이 적절하게 보관되고 관리되고 있는지 검토
  - ✓ 일부 대상자에 한해 증례기록서와 대상자의 의무기록, 근거문서를 대조하여 자료가 정확하게 모두 기재되었는지 확인
- Audit report
  - ✓ 점검 결과 중요하거나 심각한 위반사항 없었음
  - ✓ 주의(Minor finding)로 구분된 사항에 대해 CAPA 수립(시험책임자의 적절한 시정조치 및 재발방지조치)
  - ✓ Audit certificate(No. 2019-10) 득함



Fig. 171. Audit Report 및 Certification

(6) IRB 종료 보고

- 61명 피험자 모집 중도탈락 없음, 이상반응 없음을 보고하고 임상시험이 완료된 것을 승인 받음
- IRB 종료보고 승인 (SMC IRB File No. 2018-01-051-012)

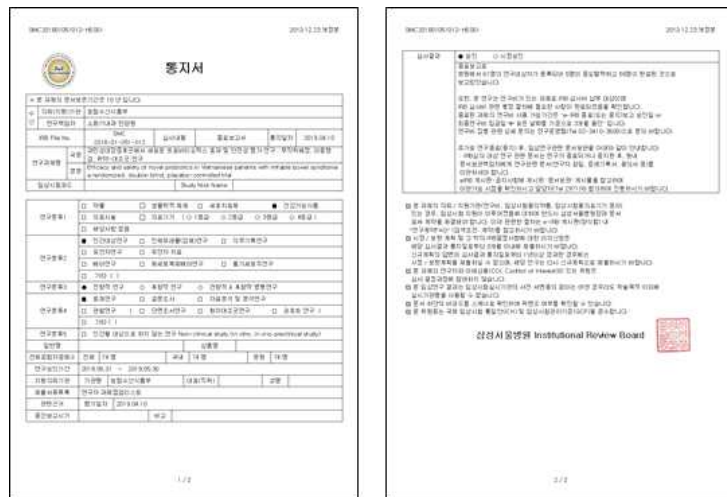
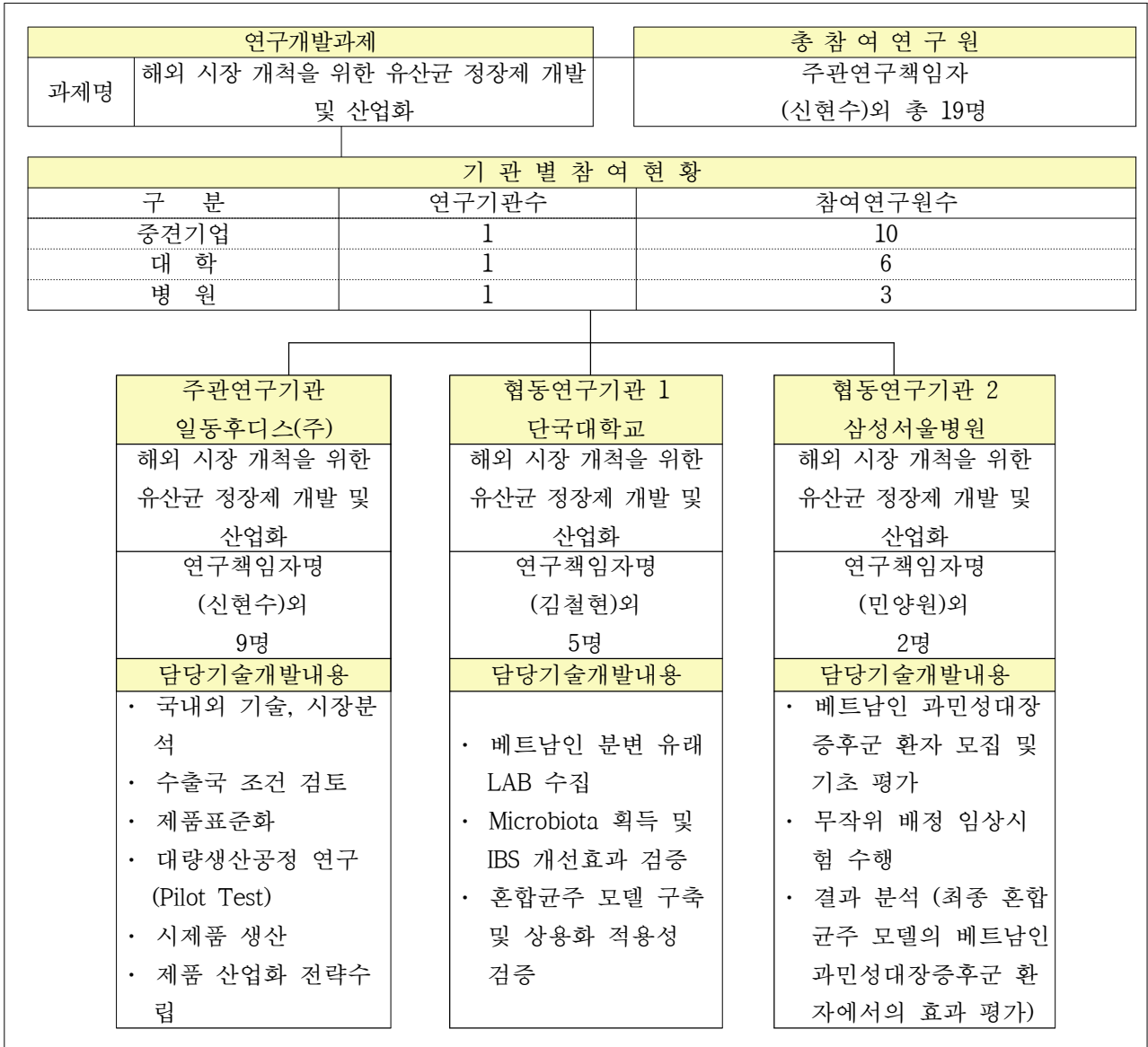


Fig. 172. IRB 종료보고 승인 통지서

○ 국립보건연구원 임상연구정보서비스(CRIS) 등록 완료

- 본 임상연구 정보를 CRIS 등록함 (등록번호 KCT0003831)

2-1-2. 연구개발 추진체계



2-2. 연구개발 추진일정

1																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원, 현물제 외)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	국내외 시장 분석														33,200	신현수 (일동후디스(주 ))
2	국내외 기술 분석														19,200	
3	타겟 수출국 조건 검토														13,200	
4	베트남인 분변 샘플 확보 및 균 분리														30,000	김철현 (단국대학교)
5	분리 균주 기초생리활성 측정														30,000	
6	분리 균주 기초동정 및 최종 후보균주 동정														20,000	
7	타겟국가 환자균 및 대조균 모집														20,000	민양원 (삼성서울병원)
8	모집균 기초평가														10,000	
9	모집균 분변수집														20,000	
2차년도																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원, 현물제 외)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	선별 균주 생산 공정 검토														20,000	신현수 (일동후디스(주 ))
2	제품 대량생산														40,000	



	검토														
3	품질관리 표준화 규격 설정													16,000	
4	베트남 core gut microbiota 정보 수집 및 활용													20,000	김철현 (단국대학교)
5	후보 선발 균주의 IBS 개선효과 확인 (In vitro)													40,000	
6	후보 균주의 기능성 검증 (항염, PBMC, 세포실험, 항산화)													40,000	
7	동물실험 모델 구축 (초기독성 및 용량 결정실험)													30,000	민양원 (삼성서울병원)
8	유산균/혼합균주 모델 효능 평가 (본실험)													50,000	
9	결과 분석													30,000	
10	타겟국가 과민성대장증후 군 환자 모집 및 기초평가													40,000	

3차년도

일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원, 현물제 외)	책임자 (소속 기관)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
1	시제품 제조													40,000	신현수 (일동후디스(주))
2	시제품 관능검사 및 보존실험 실시													20,000	
3	수출 타겟국가 진출 전략 수립													16,000	
4	혼합균주 구축 및 상용화 가능성 검증													30,000	김철현 (단국대학교)
5	개발 균주(베트남-한국) 간 혼합도 및 시너지 효과 검증													30,000	
6	최종 선발 혼합균주 최적													10,000	

	및 배양 조건 설정																
7	개발 균주의 제품 적용능 및 안정성 검증															30,000	
8	무작위 배정 임상시험															120,000	민양원 (삼성서울병원)
9	결과 분석														30,000		

## 2-3. 연구개발 성과

### 2-3-1. 논문 게재 성과

No	게재 연도	논문명	저자명	학술지명	Vol. (No.)	국내 외 구분	SCI 구분	ISSN
1	2017	베트남인 분변 및 김치로부터 분리된 유산균의 프로바이오틱스 기능성 연구	김철현 외 4명	Journal of milk science and biotechnology	35	국내	비SCI	2384-0269
2	2019	Effects of Novel Probiotics Isolated from Kimchi and Healthy Vietnamese Feces in a Murine Model of Irritable Bowel Syndrome	민양원 외 5명	Nutrients		국외	SCI	투고 심사중
3	2019	The Effects of Three Novel Probiotics Isolated from the Korean Fermented Food Kimchi on the Stress-Induced Defecation of Rats	민양원 외 7명 또는 김민지 외 7명	The Korean Journal of Gastroenterology		국내	비SCI	투고 심사중
4	2019	Efficacy and Safety of New Lactobacilli Probiotics for Unconstipated Irritable Bowel Syndrome: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial	민양원 외 4명 E는 오주현 외 4명	Clinical and Translational Gastroenterology		국외	SCI	투고 심사중

### 2-3-2. 특허성과

- 개발균주 특허 출원을 위한 특허미생물 기탁 진행을 완료하여 미생물 기탁번호를 부여받았으며 (KCTC18768P), 3차년도 삼성서울병원의 임상시험 결과를 바탕으로 특허출원 준비중에 있음. 따라서, 특허출원 이후 과제 RFP 목표성과인 기술가치평가 보고서를 후속조치 하고자 함

## 특허미생물 기탁증

2019 년 5 월 31 일

단국대학교 김철현 귀하

충청남도 천안시 동남구 단대로 119

2019 년 04 월 03 일 제 6601호 귀하가 보관 기탁 신청

한 특허미생물에 대하여 이를 수리하고 다음과 같이 미생물 기탁번호

호를 통지합니다(기탁증재발행).

— 다 음 —

1. 미생물 기탁번호 : KCTC18768P

2. 미생물의 명칭 : *Lactobacillus paracasei* DKIH1

한국생명공학연구원 생물자원센터장 (인)

<특허 미생물 기탁증(*Lactobacillus paracasei* DKIH1)>

### 2-3-3. 국내 및 국제학술회의 발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	XXXIst International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer	민양원 외 4명	2018-09-15	빌리우스	리투아니아
2	Effects of novel probiotics isolated from Kimchi and healthy Vietnamese feces in murine model of irritable bowel syndrome	민양원 외 10명	2018-09-15	빌리우스	리투아니아
3	Characterization of the exopolysaccharide-producing	김철현	2017-06-30	마드리드	스페인

	g lactic acid bacteria isolated from Vietnamese feces.				
4	The effect of intestinal immunity with lactic acid bacteria isolated from Vietnamese feces and Korean traditional food Kimchi	김철현	2018-06-11	더블린	아일랜드
5	The selection of candidate strains for the commercialization of lactic acid bacteria isolated from Vietnamese feces	원지영	2018-06-27	부산	대한민국
6	The Antioxidant Activity and Intestinal Adhesion of Lactic Acid Bacteria Isolated from Vietnamese feces and Kimch.	원지영	2018-06-27	부산	대한민국

2-3-4. 전문연구 인력양성

- 해당 없음

2-3-5. 산업기술 인력양성

- 해당 없음

2-3-6. 생명자원(생명정보) 성과

No	성과발생년도	생명정보(자원) 또는 화합물명	등록·기탁번호	등록·기탁기관
1	2018	<i>Lactobacillus plantarum</i> V7	BP1421505	한국생명공학연구원 바이오의약인프라사업부 전담부서 생물자원센터
2	2018	<i>Lactobacillus salivarius</i> V4	BP1421504	한국생명공학연구원 바이오의약인프라사업부 전담부서 생물자원센터

2-4. 연구결과

2-4-1. 기술적 성과

2-4-1-1) 기술이전

(단위: 천원)

No	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황
1	물질이전	미생물 기탁번호(KCTC18768 P) <i>Lactobacillus paracasei</i> DKIH1 균주 포함 외 2균주(총 3균주)	일동후디스 (주)	2019.06.05.	10,000 (5,000) (VAT 미포함)	-

물질이전계약서  
(Material Transfer Agreement)

단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단(이하 (갑)이라 한다)과 일동후디스㈜(이하 (을)이라 한다)는 (갑)이 연구개발성과물로 보유하고 있는 「미생물 기탁번호(KCTC18768P) *Lactobacillus paracasei* DKIH1 균주」을 (을)에게 제공함에 있어 다음과 같이 물질이전계약(이하, "본 계약"이라 한다)을 체결한다.

제 1 조 (계약의 목적)

[첨부1]에 기재된 물질(이하, "대상물질"이라 한다)의 정당한 권리자인 (갑)이 (을)에게 "대상물질"을 이전하고, (을)은 "대상물질"에 대하여 (갑)과의 공동연구, 기술이전 등 그 사업화 및 상업화를 위한 목적으로 사용하고자 하는 바, 본 계약은 이와 관련하여 양 당사자의 권리와 의무 등 제반 사항을 규정하는 데 그 목적이 있다.

제 2 조 (용어의 정의)

본 계약서에서 사용되는 다음 각호에 기재되어 있는 용어는, 다른 특별한 언급이 없는 한, 각각 다음의 의미를 갖는다.

1. "대상물질"이라 함은, (갑)으로부터 (을)에게 제공되는 「미생물 기탁번호(KCTC18768P) *Lactobacillus paracasei* DKIH1 균주」으로서, [첨부1]에 기재된 물질뿐만 아니라, 그 자손 및 비변형 유도체를 포함한다.
2. "비밀정보"라 함은, (갑)에 의해서 (을)에게 서면, 전자에게 뿐만 아니라 구두를 통해서 전달된, 일체의 비공개 정보를 의미하는 것으로서, (갑)의 노하우 및 "대상물질"과 관련된 데이터를 포함한다. 단, 다음 각 목에 해당하는 정보는 제외한다.
  - (i) (갑)의 제공 또는 (을)의 인지 시점 이전에 공지되어 있던 정보
  - (ii) (갑)의 제공 또는 (을)의 인지 시점 이전부터 (을)이 이미 지득하고 있었음을 시면 증거로써 입증할 수 있는 정보
  - (iii) (갑)의 제공 또는 (을)의 인지 시점 이후에 (갑)이 일반 대중에게 공개하거나 기타 (을)의 과실 없이 공지의 사실이 된 정보
  - (iv) (갑)의 제공 또는 (을)의 인지 시점 이후에 (을)이 해당 정보에 대해 비밀 유지의무를 부담하지 않는 제3자로부터 입수한 정보
  - (v) (을)입력한 및 기타 대리인을 포함한다(갑)의 제공 이전에 독자적으로 개발하여 제공 이후에 취득한 정보
  - (vi) 관계법령, 법원의 판결, 정부기관의 명령 등에 의해 "을"이 불가피하게 공

명 날인한 후 각 1통씩 보유하기로 한다.

2019년 6월 05일

"갑"

주소 : 충남 천안시 동남구 단국로 119  
기연 : 단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단  
대표 : 단장 김 철 현  
연구책임자 : 동분자원학과 김  
연락처 : 041-550-3656

"을"

주소 : 서울특별시 광진구 구의동 216-8  
상호 : 일동후디스㈜  
대표 : 대표이사 이 준 수  
실무책임자 : 식품연구소 장진아  
연락처 : 02-2049-2045



<기술이전 계약서(물질이전 계약서)>

2-4-1-2) 제품화

- 본 과제 연구개발사업을 통해 개발된 유산균 3종은 향후 제품화를 위해 품목제조보고가 선조치 되어야 하여 품목제조신고 완료하였음

발급번호 : Q6TU-VX2L-JPRP-LNR4-R3G4



식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명)	생년월일(법인번호)	
	조형래	1968년 01월 06일	
	주소	전화번호	
	경상남도 진주시 문산읍 월아산로950번길 25-15(1,2층)	휴대전화	01085358728
영업소	명칭(상호)	영업등록번호	
	(주)글루킨	20140601224	
	소재지	경상남도 진주시 문산읍 월아산로950번길 25-15(1,2층)	
제품정보	식품의 유형	기타가공품	요청하는 품목제조 보고번호
	제품명	엘에스 아이디에프1(LS IDF1)	
	유통기한	제조일부터 24개월	
	품질유지기한	제조일부터 24개월	
	원재료 또는 성분명, 배합비율	핏장에 기재	
	용도 용법	핏장에 기재	
	보관방법 및 포장재질	핏장에 기재	
	포장방법 및 포장단위	1kg,2.5kg,5kg,10kg,20kg,100kg,200kg,500kg	
	성상	얇은 미황색의 분말로 약한 특이취를 가짐	
	품목의 특성	■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input checked="" type="checkbox"/> 해당 없음 ■ 알칼리성 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 ■ 영,유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오	
기타			

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2019년 05월 23일

보고인 조형래

경상남도 진주시장 귀하

품목보고번호	20140601224-74				
처리부서	문화관광국 위생과	처리자성명	박태정	처리일자	2019년 06월 01일



본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며, 신청이 저지된 경우 <http://www.foodsafetykorea.go.kr>에 접속하여 해당 증명서를 조회할 수 있습니다.  
 Fig. 173. 유산균(*Lactobacillus salivarius* LS IDF1) 품목제조보고서



### 식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명) 조형래	생년월일(법인번호) 1968년 01월 06일
	주소 경상남도 진주시 문산읍 월아산로950번길 25-15(1,2층)	전화번호 01085358728
영업소	명칭(상호) {주}글루칸 소재지 경상남도 진주시 문산읍 월아산로950번길 25-15(1,2층)	영업등록번호 20140601224
	식품의 유형 기타가공품	요청하는 품목제조 보고번호 2014060122475
제품정보	제품명 별피 아미다제프2(LP-IDF2)	
	유통기한 제조일부더 24개월	
	품질유지기한 제조일부더 24개월	
	원재료 또는 성분명, 비밀비율 맛감에 기재	
	용도·용법 맛감에 기재	
	보관방법 및 포장재질 맛감에 기재	
	포장방법 및 포장단위 1kg,2.5kg,5kg,10kg,20kg,100kg,200kg,500kg	
	상상 얇은 미황색의 분말로 약한 특이취를 가짐	
품목의 특성: <input checked="" type="checkbox"/> 고열량·저열량 식품 해당 여부 [ ]에 [ ]아니오 [O]해당 없음 <input checked="" type="checkbox"/> 알칼리성 식품 해당 여부 [ ]에 [O]아니오 <input checked="" type="checkbox"/> 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 [ ]에 [O]아니오		
기타		

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항들 보고합니다. 2019년 05월 23일  
 경상남도 진주시장 귀하  
 보고인 조형래

품목보고번호	20140601224-75
처리부서	분원권공국 위생과
처리자성명	박다경
처리일자	2019년 06월 01일



본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

Fig. 174. 유산균(*Lactobacillus plantarum* LP IDF2) 품목제조보고서





### 식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명) 조형래	생년월일(법인번호) 1968년 01월 08일		
	주소 경상남도 진주시 문산읍 월야산로950번길 25-15(1,2층)	전화번호 01085358728		
영업소	영점(상호) (주)금루칸	영업등록번호 20140601224		
	소재지 경상남도 진주시 문산읍 월야산로950번길 25-15(1,2층)			
제품정보	식품의 유형	기타기능품	연결하는 품목제조 보고번호	2014060122476
	제품명	열혈메이 아마디에프3(LPA IDF3)		
	유통기한	제조일부터 24개월		
	품질유지기한	제조일부터 24개월		
	원재료 또는 성분명, 내용비율	덧장에 기재		
	용도 용법	덧장에 기재		
	보관방법 및 포장재질	덧장에 기재		
	포장방법 및 포장단위	1kg,2.5kg,5kg,10kg,20k,100kg,200kg,500kg		
	설명	많은 미생물의 분말로 약한 특이취를 가짐		
	특색의 특성	<input checked="" type="checkbox"/> 고열량·저열량 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니요 <input type="checkbox"/> 해당 없음 <input checked="" type="checkbox"/> 알콜인공 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니요 <input checked="" type="checkbox"/> 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니요		
기타				

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2019년 05월 23일

보고인 조형래

### 경상남도 진주시장 귀하

품목보고번호	20140601224-76	처리부서	문화관광체육성과	처리자성명	박태웅	처리일자	2019년 06월 01일
--------	----------------	------	----------	-------	-----	------	---------------



본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

Fig. 175. 유산균(*Lactobacillus plaracasei* LPS IDF3) 품목제조보고서

- 본 과제 연구개발사업을 통하여 개발된 제품 3종(유산균 액상캡슐, 분말유산균제제 국내 판매용, 분말유산균제제 수출용)중 유산균 액상캡슐은 품목제조신고 완료 하였으며, 분말유산균제제는 현재 품목제조신고를 위해 한국식품연구원에 공인분석 의뢰 중에 있으며, 결과수령 이후 품목제조신고 예정임

[QR Code]

발급번호 : 1TBX-0J2L-L12S-X98X-1Z6C

제 2017282014943 호

### 건강기능식품 품목제조신고증

○ 영업허가(번호) : 제 20172020149 호

○ 업 소 명 : 삼성제약(주)

○ 소 재 지 : 경기도 화성시 제약공단2길 35 삼성제약(주)


○ 영업의 종류 : 건강기능식품전문제조업

○ 제 품 명 : 민헬씨 캡슐유산균 (유형: 프로바이오틱스, 비타민A, )  
비타민D, 비타민E

제조방법·원료나 성분의 명칭과 함량·제품의 형태·기준과 규격 : (뒤쪽 작성)  
「건강기능식품에 관한 법률」 제7조와 같은 법 시행규칙 제8조에 따라 건강기능식품품목제조신고를 수리합니다.

2018년 12월 27일

경인지방식품의약품안전청장




본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

Fig. 176. 유산균 액상캡슐 건강기능식품 품목제조보고 신고증

- 분말유산균제제 수출용의 경우, 현재 자사에서 해외사업부와 서류 준비 중에 있으며, 국내 품목제조신고가 완료 되는대로 자사 벤더를 통해 수출 절차를 진행할 예정임
- 유산균 액상캡슐 디자인의 경우 내부 결재 완료되었으며, 현재 본생산 일정 조율에 있음



Fig. 177. 유산균 액상캡슐 디자인(케이스)

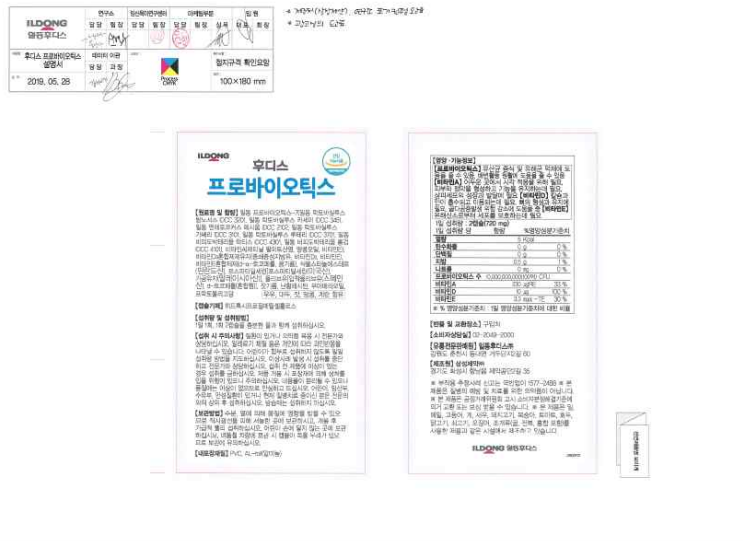


Fig. 178. 유산균 액상캡슐 디자인(설명서)



510\*410\*230(5\*5\*2) 내경 50개입

Fig. 179. 유산균 액상캡슐 디자인(아웃박스)

## 2-4-2. 경제적 성과

### 2-4-2-1) 사업화성과 및 매출실적

항목	세부항목			성과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0억원
			향후 3년간 매출	45억원
		관련제품	개발후 현재까지	0억원
			향후 3년간 매출	0억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0%
			향후 3년간 매출	국내 : 0%
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0%
			향후 3년간 매출	국내 : 0%
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		40위
		3년 후 제품 세계시장 경쟁력 순위		20위

### 2-4-2-2) 사업화계획 및 매출실적

항목	세부 항목		성과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		1		
	소요예산(백만원)		4,500		
	예상 매출규모(억원)		현재까지	3년후	5년후
			0	4,500	6,000
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0	0.1	1.2
		국외	0	0	0.1
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		본 액상캡슐 유산균 출시로, 향후 타 기능성분을 함유하는 건강기능식품 제품 개발(오메가, 홍삼 등)			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)		현재	3년후	5년후
	수입대체(내수)		0	35	50
	수출			5	30

### 2-4-2-3) 고용창출

- 본 과제 연구개발사업을 통한 고용창출효과로 현재 2018년(3차년도)에 연구소 인원 3명(연구원), 2019년(3차년도)에 제품화 출시를 위한 마케팅 인원 1명(과장급)을 채용하여 고용창출 성과 발생

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

- 수출국(베트남) 맞춤형 유산균 정장제 연구개발 및 상용화를 통한 국내 유산균 제품의 해외시장 진출
- 베트남 (동남아 국가) 대상자 장내 미생물총 분석을 통한 core microbiota DB 구축 및 제품 활용
- 분석 결과에 기반한 보존성 및 안전성이 검증된 혼합균주 모델 개발
- 열악한 유통조건하에서도 유산균 활성이 보장될 수 있는 기술 개발
- 베트남 (동남아 국가) 맞춤형 기능성 제품개발 및 상용화
- 인도차이나 반도의 주변 동남아 국가(미얀마, 라오스 및 캄보디아)로의 확장 발판 마련

#### 3-2. 목표 달성여부

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구결과	달성률 (%)
1차 년도 (2016)	해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화	관련 제품 탐색 및 시장조사	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내·외 프로바이오틱스 제품 조사 (분말, 츄어블, 과자, 초콜릿 등)</li> <li>• 해외(동남아) 시장·유통 조사</li> </ul>	100
		국내·외 유산 균 정장제 제조 기술 조사	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내·외 기술 동향 조사</li> <li>• 프로바이오틱스 생산단계별 기술 조사</li> <li>• 마이크로캡슐 기술 조사</li> </ul>	100
		수출 관련 법적 규격 및 제한 사전 검증	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 소비자 조사 실시</li> <li>• 건강기능식품 수출 통관 및 검역 검토</li> <li>• 제품화를 위한 법적 규격 및 표시사항 검토</li> </ul>	100
	베트남인 microbiota 기반 IBS 개선 유산균 개발 및 상용화 적용성 검증	베트남인(거주 인) 분변유래 LAB 분리	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 베트남인 분변에서의 유산균 분리</li> <li>• 유산균의 형태학적 특징 분석</li> <li>• 유산균의 당 이용성 분석</li> </ul>	100
		베트남인(거주 인) 분변유래 LAB 기초생리활 성 측정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta</math>-glucuronidase, tryptophanase 활성</li> <li>• 내산성실험 및 담즙산 내성 측정</li> </ul>	100
		베트남인(거주 인) 분변유래 LAB 동정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유용균주의 선발 및 library 구축</li> </ul>	100
	베트남 과민성대장 증후군 증상 개선 유산균 개발	베트남 (동남아 국가) 과민성대 장증후군 환자 군 30명과 건강 한 베트남(동남 아 국가) 대조군 30명 모집	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 임상시험계획서, 증례기록서, 연구동의서 등 임상시험 기본문서 개발</li> <li>• 삼성서울병원 IRB 승인 통지 (IRB File No. SMC 2016-08-173)</li> </ul>	100

		두 모집군의 기초 평가 (인구학적 평가, 위장관 증상 평가, 기초 혈액검사)	<ul style="list-style-type: none"> <li>2차년도 반영(동일 내용)</li> </ul>	100
		두 모집군의 분변수집	<ul style="list-style-type: none"> <li>2차년도 반영(동일 내용)</li> </ul>	100
2차 년도 (2017)	해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화	혼합균주 모델의 생산 공정 적합성 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>분리균주의 산업용으로 제조공정을 구축하기 위해 배지조성을 확립한 생산법을 정립</li> <li>혼합균주제제의 이화학적(TA, pH) 측정 및 초기 유산균수 측정하여 안정성을 확보</li> <li>혼합균주제제 내성을 확인하여 안정성 확보</li> <li>현지 유통조건(온도)을 고려한 혼합균주 모델 제제 보존 시험 실시하여 안정성을 확보 다른 유통조건은 3차년도에 실행</li> </ul>	80
		선별된 혼합균주 캡슐레이션 공정 적용 가능성 검토	<ul style="list-style-type: none"> <li>일동제약 4중코팅 기술의 안정성을 확인</li> <li>국내 캡슐레이션 공정 가능 업체에서 안정성이 확보된 제품 출시 가능여부를 확인</li> </ul>	100
		적용 제품 개발 및 대량생산 공정검토 및 품질관리 표준화 규격 설정	<ul style="list-style-type: none"> <li>제형별 실험실적 테스트를 실시하여 개발가능 여부 검토 및 제형 설정</li> <li>분말제품 제조공정 검토</li> <li>정제제품 제조공정 검토</li> </ul>	100
	베트남(동남아국가)인 특유의 core gut microbiota 정보 획득 및 후보균주의 in vitro상 후보균주의 IBS 개선 효과 확인	베트남인(거주인) 분변유래 LAB 동정(1차년도)	<ul style="list-style-type: none"> <li>후보균주의 동정을 통한 균주확보</li> <li>최종 상용화 가능성 균주 기능성 검증</li> </ul>	100
		한국전통식품유래 유산균 정장제 후보 선정	<ul style="list-style-type: none"> <li>기초생리활성 및 최종 후보균주 확보</li> </ul>	100
		베트남인 microbiota 정보 획득	<ul style="list-style-type: none"> <li>생물정보학을 활용한 베트남(동남아 국가)인 중 정상인과 과민성대장증후군(IBS) 환자간의 장내 미생물총간의 연관성 분석</li> <li>장내 유용균에 대한 정보 획득 및 유산균 정장제 후보균 제시(<i>Lactobacillus</i> 속)</li> </ul>	100
		후보 선발균주의 IBS 개선효과 확인(In-vitro)	<ul style="list-style-type: none"> <li>mucin 부착능을 통한 장내부착능 측정</li> </ul>	100
		항산화 활성 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>DPPH assay</li> <li>FRAP assay</li> <li>ABTS assay</li> </ul>	100
		항염증 활성 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>MTT assay</li> <li>Nitric oxide assay</li> <li>IL-6, IL-12, TNF-<math>\alpha</math></li> </ul>	100
	베트남 과민성대장 증후군 증상을 위한 베트남	Core gut microbiota DB	<ul style="list-style-type: none"> <li>IRB 변경 승인 및 종료 보고 완료 (IRB File No. SMC 2016-08-173)</li> <li>당초 계획대로 피험자 60명 등록 완료 및 분변</li> </ul>	100

	개선 유산균 개발	인 모집군의 분 변 수집	샘플 확보	
		동물실험을 통 해 선별된 유산 균 및 혼합균주 모델의 과민성 대장증후군에서 증상 개선 효능 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>과민성대장증후군 동물모델을 통해 유산균 3종 의 과민성대장증후군에서 증상 평가 결과 개선 의 효과를 보임</li> <li>선별된 유산균과 베트남 유래 혼합 균주의 독 성 확인 및 적정 용량 결정</li> </ul>	100
		베트남인 과민 성 대 장 증 후 군 환자 그룹 모집 을 위한 임상시 험계획 및 대상 모집	<ul style="list-style-type: none"> <li>임상시험계획서, 증례기록서, 연구동의서 등 임 상시험 기본문서 개발</li> </ul>	100
3차 년도 (2018)	해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화	시제품 표준규 격 설정 및 시 제품 제조	<ul style="list-style-type: none"> <li>유산균 액상캡슐 1종, 유산균 분말제제 2종 시 제품 표준규격 설정</li> <li>유산균 액상캡슐 1종, 유산균 분말제제 2종 시 제품 제조</li> </ul>	100
		시제품 보존검 사 및 관능검사 실시	<ul style="list-style-type: none"> <li>유통조건별 시제품 보존검사 실시</li> <li>시제품별 관능검사 실시</li> </ul>	100
		수출 타겟 국가 마케팅 및 영업 전략 수립을 통 한 현지 진출 준비	<ul style="list-style-type: none"> <li>수출 타겟국가 진출 전략 수립</li> <li>수출용 유산균 분말제제 품목제조보고 진행중</li> </ul>	100
	베트남인 microbiota 기반 IBS 개선 유산균 개발 및 상용화 적용성 검증	혼합균주 모델 구축 및 상용화 적용성 검증	<ul style="list-style-type: none"> <li>면역기능 개선 효과가 우수한 혼합균주 모델 개발</li> <li>최종 선발 균주의 상용화 적용능 검증</li> </ul>	100
	베트남 과민성대장 증후군 증상 개선 유산균 개발	최종 혼합균주 모델의 베트남 과민성 대장증 후군 환자에서 의 효과 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>무작위 배정 임상시험</li> <li>결과 분석</li> </ul>	100

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

#### ○ 논문 4건

- 현재 협동연구기관2인 삼성서울병원에서 SCI 2건과 비SCI 1건 투고심사중에 있으며 금년도에 게재될 예정임
- 본 연구개발 결과를 포함한 결과를 토대로 협동연구기관1인 단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단에서 SCI 1건 투고 예정임

○ 특허출원 3건

- 본 연구개발과제를 통해 개발된 유산균은 특허기탁을 완료하여 현재, 임상시험 결과를 토대로 특허출원 준비 중에 있음
- 향후 제품화 이후, 제품 조성에 관한 유산균 안정성에 관한 특허출원을 주관기관 내에서 협의 및 준비 중에 있음(비밀유지상 계약기간 준수)

○ 제품화 2건

- 현재, 유산균 액상캡슐 제품화 1건은 완료되어 내달 본생산 및 신제품 출시 예정임
- 유산균 분말제제 2건(국내 판매용, 수출용)은 건강기능식품 품목신고를 위해 기능성 성분을 공인분석 의뢰하여 결과 대기 중에 있음. 결과 수령 이후, 건강기능식품으로 품목신고 예정임



#### 4. 연구결과의 활용 계획 등

- 본 연구개발과제를 토대로 최종목표인 베트남(동남아 국가) 맞춤형 유산균 3종과 이를 이용한 혼합균주모델을 구축하였으며, 향후 산업화에 적용된다면 K-food로서 기 수출하고 있는 일반식품에서 향후 수출제품인 건강기능식품군까지 현지 소비자의 자사 브랜드 이미지를 확대 할 수 있을 것으로 기대됨
- 본 연구개발과제를 통해 개발된 유산균 3종을 포함하는 유산균은 동남아인을 대상으로 진행된 임상시험을 통해 과민성대장증후군 증상과 복부통증을 개선하는 효과를 보여주었음. 이는 향후 유산균 복합제제로 비변비형 과민성대장증후군 환자를 위한 프로바이오틱스 제품 출시에 학술 및 연구적으로 중요한 성과임
- 본 연구 과제를 통해 개발된 유산균 분말제제는 향후 국내 판매용으로 출시 예정이며, 자사가 기존에 판매하는 영유아 타겟에서 새로운 브랜드 런칭을 활용하여 소비 타겟층의 영역을 확장하고자 함
- 또한 개발된 유산균 분말제제 출시로, 자사 춘천공장의 가동률을 증대하여 지속적인 매출확보에도 유리할 것으로 예상됨
- 주관기관인 일동후디스(주)는 내달 국내 최초로 유산균 액상캡슐을 출시하는 성과를 통해, 향후 본 연구개발 진행과정에서 확인된, 다양한 조건에서의 안정성을 포함하는 건강기능식품 SKU를 확대해갈 수 있는 발판을 마련하였으며, 액상캡슐 제형을 활용한 다양한 기능성을 포함하는 신제품을 지속적으로 개발 및 출시하고자 함
- 현재 주관기관은 하이키드(Hi-kid) 제품이 동남아국가(베트남 현지)에서 높은 브랜드가치와 신뢰도를 쌓아 꾸준한 수출성장세를 보임. 이를 토대로 인체유래 프로바이오틱스와 한국 전통식품유래 프로바이오틱스(K-food)를 포함한 유산균 제제 수출을 추진중에 있으며, 향후 소비자 타겟층을 넓히는 새로운 사업 비전을 제시하고자 함

## 붙임. 참고문헌

1. C. Lacroix, S. Yildirim, Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality, *Curr. Opin. Biotechnol.* 18(2007) 176-183
2. Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, et al. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut* 1999;45 Suppl 2:II43-7.
3. Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, et al. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006;130:1480-91.
4. Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:712-21 e4.
5. American College of Gastroenterology Task Force on Irritable Bowel S, Brandt LJ, Chey W D, et al. An evidence-based position statement on the management of irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2009;104 Suppl 1:S1-35.
6. Hasler WL. Traditional thoughts on the pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am* 2011;40:21-43.
7. Camilleri M. Mechanisms in IBS: something old, something new, something borrowed. *Neurogastroenterol Motil* 2005;17:311-6.
8. Camilleri M. Peripheral mechanisms in irritable bowel syndrome. *N Engl J Med* 2012;367:1626-35.
9. World Gastroenterology Organization Global Guidelines. Irritable Bowel Syndrome : a Global Perspective. 2015
10. Karczewski J. The effects of the microbiota on the host immune system. *Autoimmunity.* 2014; 14:1-11.
11. Macpherson AJ. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 478-85.
12. O' Sullivan M. Increased mast cells in the irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2000; 12: 449-57.

13. Murray CD. Effect of acute physical and psychological stress on gut autonomic innervation in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2004; 127: 1695–703.
14. Lyte M. Anxiogenic effect of subclinical bacterial infection in mice in the absence of overt immune activation. *Physiol Behav* 1998; 65:63–8.
15. Pimentel M. Rifaximin therapy for patients with irritable bowel syndrome without constipation. *N Engl J Med*. 2011; 364:22–32.
16. Moayyedi P. The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Gut* 2010; 59: 325–32.
17. Hod K. A double-blind, placebo-controlled study to assess the effect of a probiotic mixture on symptoms and inflammatory markers in women with diarrhea-predominant IBS. *Neurogastroenterol Motil* 2017 [Epub].

<별첨> 자체 평가의견서

## 자체평가의견서

1.

		과제번호		31606103	
사업구분	고부가가치식품기술개발사업				
연구분야	식품개발		과제구분	단위	
사업명	고부가가치식품개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	해외시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화		과제유형	(기초,응용,개발√)	
연구기관	일동후디스(주)		연구책임자	신현수	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2016.07.07.- 2016.12.31.	180,000	120,000	300,000
	2차연도	2017.01.01.- 2017.12.31.	300,000	200,000	500,000
	3차연도	2018.01.01.- 2019.04.30.	300,000	200,000	500,000
	계	2016.07.07.- 2019.04.30.	780,000	520,000	1,300,000
참여기업	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단 삼성서울병원				
상대국	-	상대국연구기관		-	

2. 평가일 : 2019. 06. 18.

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
일동후디스(주)	연구소장	신현수

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

<b>확약</b>	
-----------	--

## I. 연구개발실적

### 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (우수)

- 해외 시장 개척을 위한 유산균 정장제 개발 및 산업화 목표로 협동기관 및 전문기관과의 협업을 통해 제품화를 실현하고, 향후 국내·외 시장 개척과 해외 수출에 필요한 제품 출시 경쟁력을 확보함

### 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수)

- 본 연구결과를 바탕으로 유산균 액상 및 분말제제 3종에 대한 개발 및 출시 준비를 마쳤으며, 특히 국내최초 액상 유산균캡슐제제의 신제품 출시로 기술력과 파급력을 확보한 신시장 개척 및 해외 시장 개척에 유리할 것으로 기대됨
- 주관기관인 일동후디스(주)는 유산균 분말 제제 사업화를 위한 브랜드(키요)를 금년도에 출범하였으며, 현재까지 꾸준한 라인업을 기반으로, 현재 유산균 분말제제 신제품 출시 준비 중에 있으며, 자사 공장을 확보하고 있기에 가동률 증대 및 매출에도 기대됨
- 따라서, 본 연구 과제를 통해 도출된 기술과 제품을 바탕으로 국내 우선출시를 통해 안정적인 시장 및 가격경쟁력을 확보하고, 이후 해외 수출로 시장을 확대하여 자사 신규 사업 구축에 활용하고자 함

### 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (우수)

- 본 연구 과제를 통해 개발된 유산균 3종을 포함하는 액상캡슐 유산균 제제는 임상시험 연구를 통해 과민성대장증후군 증상과 복부통증을 개선하는 효과를 보여주었음. 하지만, 제품화를 위해서는 개발 유산균의 대량생산 공정 및 단가 안정화 확보가 가장 중요하며 이를 개선할 필요가 있음.
- 개발 유산균 3종을 이용한 유산균제제의 제품개발 및 시제품 제조에는 확보가 되어 있으며, 상기 문제인 단가 안정화 문제 해결에 따라 자사가 보유하고 있는 브랜드 2종을 통해 신속하게 제품화 될 수 있음

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수)

- 연구 수행기간 동안 주관기관 및 협동기관·타 협력기관과 유산균의 대량생산공정, 액상캡슐제제 검토, 유산균 안정성 확보를 위한 원료 검토, 임상시험 등 지속적인 커뮤니케이션과 연구를 진행하였으며 그 과정에서 신제품의 유산균 제제를 출시하는 성과를 얻었음
- 연구 수행을 위한 협업 과정에서 주관기관은 신규 사업 구축을 위해 유산균제제를 포함한 건강기능식품을 아우르는 유관부서를 신설하고 신규인력을 고용하였음(마케팅 3팀). 따라서, 본 연구과제를 통한 신제품 출시에 확보된 연구력·마케팅적인 커뮤니케이션을 통해 탄력적으로 출시가 가능할 것으로 기대됨
- 또한, 본 연구과제 수행을 진행하면서 다수의 신규 협력업체를 확보하였으며, 향후 유산균제제를 포함한 타제품 출시 검토에도 긍정적인 효과가 있음

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (보통)

- 본 연구과제 수행기간 내에 SCI급 1편, 비SCI급 1편을 확보하였으며, 현재 SCI급 2편, 비SCI급 1편 논문투고 심사 중에 있어 금번년도 내에 성과 발생 예정임. 또한, 임상시험 결과를 바탕으로 개발 유산균주에 대해 특허출원 및 등록 1건을 협동기관에서 준비 중에 있으며, 주관기관에서는 본 과제를 위하여 연구소 내에 정규직 신규인력 3명을 고용하는 등 다양한 성과를 거두었음. 따라서, 금년도 신제품 출시에 따라 매출발생이 예상되며 향후 수출 준비를 통한 현지 진출을 진행하고자 함

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
지식재산권	10	0	부족함
기술이전(실시)	10	100	양호함
사업화	40	100	양호함
학술성과	5	33	양호함
합계	65점	-	-

## III. 종합의견

### 1. 대한 종합의견

- 베트남인(동남아 국가)을 타겟으로 하는 정장제 개발을 통해 유산균주 3종을 확보하였고, 신제품 3종을 출시예정에 있으며, 국내·외 및 해외시장 진출을 위한 제품 경쟁력을 학술·연구·마케팅 등 전 협력업체와의 신규 사업을 구축하는 기회가 되었음
- 또한, 신제품 출시를 위해 런칭한 자사 브랜드를 통해 유산균제제를 포함한 제품군을 확장하여 국내·외 및 해외시장 시장을 선점하고자 함

### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 연구수행 과정 내에 정량적 지표 목표달성에 미미한 부분이 있었지만, 금년도내에 모든 성과지표 목표를 달성하기 위해 주관기관을 포함한 각 협동기관에서 현재 진행 중에 있음. 특히, 임상시험 대상자가 국내 6개월 거주 미만 베트남인(동남아인)임을 고려할 때, 시험군 모집에 있어 많은 시간과 비용이 소모되었고 과제 연장신청을 통해 이를 해결하였음. 따라서, 정량적 지표 결과까지에도 향후 다소의 시간이 소요될 것으로 판단됨
- 다만, 정성적 성과인 유산균 및 신규제형의 개발 등 학술·임상적으로는 향후 신규 시장을 선점할 수 있을 만큼의 과급적인 결과를 얻었음. 따라서, 이와 같은 연구수행 결과를 바탕으로 신제품 출시에 전념하고자 함

3. 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 주관기관인 일동후디스(주)는 본 연구과제 수행결과를 바탕으로 출시하는 유산균 액상캡슐의 신제품을 삼성제약(주)와 독점계약을 맺고 국내·외 시장에 진입하고자 함
- 향후, 출시될 유산균 액상캡슐은 삼성제약(주)에서, 분말유산균제제 2종은 자사 춘천공장에서 생산될 예정임. 본 연구개발과제를 통하여 확보한 연구결과가 신제품출시 및 마케팅 포인트에 큰 역할을 할 것으로 기대되며, 폐사의 신사업 진출에 성공적으로 진입할 수 있을 것으로 기대됨
- 총 연구개발 수행기간인 34개월 동안, 과제 수행에 있어서 예외사항이 다소 발생하였으나, 과제 연장신청 협조 등의 농림축산식품부의 지원을 통해 본 과제의 임상시험 결과 및 신제품 출시까지 사업화 경쟁력을 확보할 수 있도록 도움 주신 것에 대해 깊이 감사드리며, 향후 신제품 출시에 따른 국내·외 매출증진에 이바지 할 수 있도록 성실하게 임하도록 하겠습니다.



#### IV. 보안성 검토

##### 1. 의견

- 미비한 정량적 지표가 금년도에 발생 예정임에 따라 본 연구개발 과제를 성실히 마무리하고자 함

##### 2. 연구기관 자체의 검토결과

- 이상없음

주 의

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