

117073

보안 과제( ), 일반 과제( O ) / 공개( O ), 비공개( ) 발간등록번호( O )

고부가가치식품기술개발사업 2019년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003066-01

유색미,  
블루베리  
복합생물전  
환  
신소재를  
활용한  
환경오염성  
인자 유도  
피부면역  
이상 개선  
건강기능식  
품 개발  
최  
종  
보  
고  
서

유색미, 블루베리  
복합생물전환 신소재를  
활용한 환경오염성인자  
유도 피부면역 이상 개선  
건강기능식품 개발

최종보고서

2020

2020. 03. 30.

주관연구기관 / 안국건강(주)  
협동연구기관 / 가천대학교  
협동연구기관 / 건국대학교

농 립 축 산 식 품 부

(전문기관) 농림식품기술기획평가원

농림식품기술기획평가원  
농림축산식품부

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “고부가가치식품기술개발”(개발기간 : 2017. 06. 15 ~ 2019. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 03. 30.

주관연구기관명 : 안국건강주식회사 (대표자) 어  
협동연구기관명 : 건국대학교글로벌산학협력단 (대표자) 이  
협동연구기관명 : 가천대학교산학협력단 (대표자) 황

주관연구책임자 : 이택환

협동연구책임자 : 임병우, 진미림

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	117073	해 당 단 계 연 구 기 간	2019.01.01 ~ 2019. 12.31	단 계 구 분	2/2
연구 사업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발			
연구 과제 명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	유색미, 블루베리 복합생물전환 신소재를 활용한 환경오염성 인자 유도 피부면역 이상 개선 건강기능식품 개발			
연구 책임자	이택환	해당단계 참여연구원 수	총: 7 명 내부: 7 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부:170,000천원 민간: 56,670천원 계:226.670천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 34 명 내부: 34 명 외부: 명	총 연구개발비	정부:550,000천원 민간:183,340천원 계:733,340천원
연구기관명 및 소속부서명	안국건강(주) 부설연구소			참여기업명 안국건강(주)	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	해당사항없음.
-------------------------	---------

## 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	4	4	1								

### 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

#### 요약

1. 블루베리의 항염증성 조성물로서 특허 3건을 출원하였으며, SCI논문 3편을 완료함.
2. 본 연구과제의 참여를 통해 주관기관은 박사 1명, 사원2명의 고용창출을 하였으며, 협동기관에서는 2명의 인력양성을 하였음.
3. 출원 특허 “클로로겐산을 표준물질로 함유하는 블루베리의 항염증 조성물”에 관여하여 기술을 제공하고 독점적 전용 실시권의 기술이전을 체결함
4. 유색미(흑미), 블루베리 복합생물전환 신소재를 활용하여 피부보습 임상연구 진행하였으며, 추후 건강기능식품 원료인정을 확보를 예정임.
5. 본 연구를 진행하면서 유색미(흑미), 블루베리 복합생물전환 신소재를 활용하여, 안국건강(주)가 주체로 건강기능식품 식약처 인증 고시형 “모닝프리하루유산균” 시제품을 생산하였음.
6. 분말형태로 제조함으로써 유색미(흑미), 블루베리 복합생물전환 신소재의 고부가가치소재로서의 활용하여 산협화함.

#### 보고서 면수

<요약문>

<p style="text-align: center;">연구의 목적 및 내용</p>	<p>1, 연구의 목적 미세먼지 등 환경성 오염인자로 인해 유도되는 피부면역 기능 저하를 개선하는 유색미, 블루베리 생물전환 복합 신소재를 개발하고, 이의 최적 복합소재로 구성된 개별인정형 건강기능식품 개발 및 상품화하고자함.</p> <p>2. 연구 내용</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 유색미, 블루베리의 안정적 원물 공급 방안 확보 및 표준화             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 복합물질 신소재의 지표물질 분석법 확립 및 유효 성분 검증</li> </ul> </li> <li>○ 유색미, 블루베리를 이용한 복합 생물전환 소재 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 유색미와 블루베리 등을 이용한 최적 생물전환 공정 개발</li> <li>- 피부면역관련 세포주에서 각 후보소재 및 유효성분의 피부면역증강 효능 평가</li> <li>- 최적 복합 소재 비율 설정 및 선정된 복합소재의 피부면역증강 효능 평가</li> </ul> </li> <li>○ 후보 소재의 피부염 및 면역증강 개선 효능 검증             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 환경성 오염인자 (미세먼지 등)로 유도된 질환모델에서의 원료 및 복합소재의 염증제어 및 각질 세포 기능유지 등 효능 평가</li> <li>- 선정된 단독 및 복합소재의 면역개선능 및 작용기전 검증 (시너지 효능 검증)</li> </ul> </li> <li>○ 최적복합물질 신소재의 동물모델에서 피부면역 증강 효능검증             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 환경성 오염인자 (미세먼지 등) 유도 NC/Nga mice동물을 이용한 피부면역 증진 후보소재 검색법 확립</li> <li>- 동물모델에서의 피부면역증진 유효성 검증 (복합소재의 시너지 효능 검증)</li> <li>- 피부면역 기능제어용 기전 연구 수행</li> </ul> </li> <li>○ 표준화된 기능성 원료를 이용한 안전성 평가             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 단회/반복 투여 독성시험</li> <li>- 유전독성 시험</li> </ul> </li> <li>○ 복합물질 신소재 시제품의 유효 성분 검증             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 공정별 시제품의 활성지표성분 분석법 확립 및 적용</li> </ul> </li> <li>○ 원료 제형 개발 설계 (분말, 젤리, 또는 정제)</li> <li>○ 표준화된 기능성 원료를 이용한 안정성 평가</li> <li>○ 복합물질 신소재 시제품의 인체적용시험             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 인체적용시험 및 결과 보고서 작성</li> <li>- 개별인정형 완료 인증을 위한 식약처 자료 제출</li> </ul> </li> <li>○ 건강기능식품 개발 및 상품화</li> </ul>
<p style="text-align: center;">연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국산 유색미를 이용한 농업경제 활성화             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 영농업체와 연계하여 표준화된 유색미 활용</li> </ul> </li> <li>○ 임상시험을 거친 제품화 등록             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 미세먼지로 인하여 피부염을 느끼는 대상자에 직접적으로 작용하는 안정화된 식약품 소재 개발에 응용</li> </ul> </li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 특허 출원 3건, SCI급 논문 3건, 비SCI급 논문 1건, 학회발표 8건의 성과를 창출</li> <li>○ 기술이전 1건</li> </ul>				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 과학적으로 연구 결과를 기반으로 유색미의 신규 기능성 도출</li> <li>○ 생물 전환을 통하여 천연 유효 활성성분 증강 및 최적화 방법 확보</li> <li>○ 기술우위 선점 및 건강기능식품산업의 기술적인 진보와 지역의 유색미, 블루베리 경쟁력 확보 기대됨</li> <li>○ 지역 내 유색미, 블루베리 등의 이미지 제고 및 고용창출</li> <li>○ 유색미, 블루베리 등의 우수한 활성을 통해서 고부가가치를 높여 지역의 농업 경제 발전 기대됨</li> </ul>				
국문핵심어 (5개 이내)	유색미	블루베리	환경성 오염인자	피부건강	생물전환
영문핵심어 (5개 이내)	Colored rice	Blueberry	Environmental factor	Skin health	Bioconversion

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 .....	1
2. 연구수행 내용 및 결과 .....	19
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	70
4. 연구결과의 활용 계획 등 .....	71

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발 목적

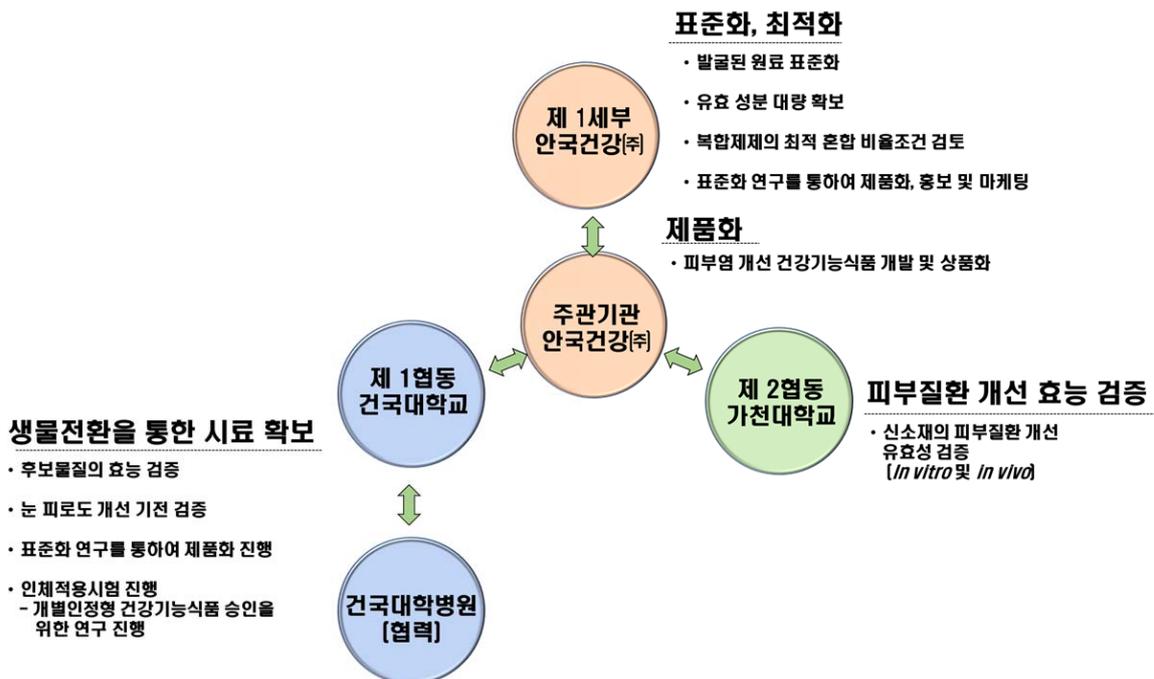
### 1-1. 연구개발의 개요

#### ○ 본 연구개발의 목표

- ✓ 현재 전 세계적으로 사업화 자동차 배출가스 증대 등으로 인하여 급속히 대기오염이 악화됨에 따라 고농도 미세먼지가 자주 발생하여 국민 건강을 위협하고 있는 실정임.
  - ▶ 특히, 피부는 인체에서 가장 넓은 부위를 차지하고 있어 미세먼지와와의 접촉이 많고 이로 인한 면역이상 염증성 반응이 나타날 수 있음. 최근에는 이를 반영하듯 면역력이 상대적으로 약한 어린이, 청소년 피부염 환자수의 증가율이 가속화 되고 있음.
  - ▶ 본 연구진은 미세먼지에 의한 피부염을 예방할 수 있는 천연물 유래 신소재 복합물을 개발하여 피부면역력을 증진시키는 건강기능식품을 개발하고자 함.
- ✓ 국내의 곡류 중 항염증 효능이 뛰어난 유색미와 블루베리를 활용한 생물전환 기술을 통해 유효성분의 함량을 증대시킨 기능성 소재를 개발하고 미세먼지에 의한 피부면역력 증대를 극대화하고자 함.
  - ▶ 유색미의 신규 기능성 연구 결과를 통해 지역 곡류 소비 증진 및 농가 소득 향상 등 농가활성화에 기여할수 있음.



○ 본 연구진의 상품화 될 건강기능식품 개발에 필요한 추진체계는 다음과 같음.



○ 각 세부 및 협동의 목표 및 연구개요

1) 제 1세부: 안국건강(주)

◎ 피부염증 관련 시장 조사 및 소비자 파악 (1차년도)

- 선행 시장 조사, 특허 및 소비자들의 성향 파악
- 시장 세분화를 통해 시장 기회를 창출할 수 있는 제품 설정
- 경쟁사 파악하여 독창적이고 차별성을 높일 수 있는 마케팅 전략 계획 수립

◎ 연구대상 후보 농산물의 안정적 원물 공급 방안 확보 (1차년도)

- 면역 저하 및 염증 질환으로 인한 피부염에 걸린 소비자에게 가장 적합하고 섭취하기 편리한 형태의 제품을 제공하도록 사전에 분석

◎ 원료 확보 및 균질화 (1차년도)

- 유색미, 블루베리 등 최적 추출 공정 확립
- 지표성분을 LC-TOF-MS를 이용하여 선정
- 주요공정별 기능성분 (또는 지표성분) 함량 및 주요공정별 수율 변화

◎ 원료 제형 개발 설계 (2차년도)

- 복합물질 신소재 시제품 설계 및 제작
  - 시제품 제형의 다양화 (분말, 젤리, 또는 정제)
- 인체적용 시험용을 위한 제형화 연구
  - 유색미, 블루베리 등 복합물질의 preformulation 연구
  - 첨가제 screening 제형결정, 제제개발 및 제조방법 확립

◎ 표준화된 기능성 원료를 이용한 안정성 평가 (2차년도)

- 유해물질 항목별 분석 (납, 카드뮴, 총비소, 총수은 등)
- 잔류용매 및 잔류농약 검사
- 미생물 검사

◎ 건강기능식품 개발 및 상품화(3차년도)

- 인체 적용시험 완료
- 3년간의 연구결과를 토대로 식약처 개별인정 신청
- 기능성 신소재의 산업화(대량생산) 공정 확립
- 국내·외 유통망 구축 : 대형 유통업체, TV 홈쇼핑 및 수출촉진체계 구축

2) 제 1협동: 건국대학교글로벌산학협력단

◎ 후보 소재의 생물전환 (1차년도)

- 유색미 중 면역 개선효능을 가진 최적 품종 선별
- 선별된 품종과 블루베리 등을 이용한 생물전환 평가
- 단독 소재들의 면역개선 효능 평가
- 최적 복합 소재 비율 설정 및 선정된 복합소재의 면역개선 효능 평가

◎ 표준화된 기능성 원료를 이용한 안전성 평가 (2차년도)

- 단회/반복 투여 독성시험
- 유전독성 시험

◎ 건국대학병원과 협력하여 복합 소재의 임상시험 준비 (2차년도)

- 복합제제의 인체적용시험 프로토콜 작성

- CRO, IRB 심의를 통한 인체적용시험 진행 (2차년도 후반)
- ◎ 복합물질 신소재 시제품의 임상시험 (3차년도)
  - 인체적용시험 완료, 통계처리 및 결과 보고서 작성
  - 개별인정형 건강기능식품 인증을 위한 식약처 자료 제출

### 3) 제 2협동: 가천대학교산학협력단

- ◎ 후보 소재의 미세먼지로 인한 피부염 질환 개선 효능 검증 (1차년도)
  - 환경성 오염인자(미세먼지)로 유도한 염증성 피부 각질세포에서 원료 단일 물질의 염증 억제 및 세포생존을 개선 효능 평가
  - 환경성 오염인자(미세먼지)로 유도한 염증성 피부 각질세포에서 원료 복합 물질의 염증 억제 및 세포생존을 개선 효능 평가(복합 물질의 시너지 효과 검증)
  - 선정된 복합소재의 염증 억제 유효성 평가 및 기전 검증
- ◎ 복합물질 신소재의 동물모델에서 피부염개선 효능검증 (2차년도)
  - NC/Nga mice에 환경성 오염인자를 처리하여 피부염 모델 확립
  - 유도된 피부염 동물모델에서 복합물질의 염증 개선 유효성 검증 (단일 소재 군과 비교하여 복합소재의 시너지 상승효과 검증)
  - 염증 완화 기전 연구 수행

### ○ 기술개발 대상의 기대효과



### 1) 제 1세부: 안국건강(주)

- 신규 개발 제품을 통한 피부면역 증강 제품의 매출 및 수출 증대
  - 기술개발을 통한 원가 절감 및 생산성 향상 효과
  - 국산 농산물을 활용한 새로운 고부가가치 기능성제품 개발 ⇨ 생산농가의 소득증대에 기여
  - 개발 상품의 지역브랜드화 ⇨ 지역사회 홍보 (예: 진안, 익산, 정읍 등)
  - 판매 유통망 확보 및 신규 판매망 운영, 마케팅 프로모션 계획 수립 및 시행
- => 명확한 판매계획 수립을 통해 안정적인 공급과 판매, 그리고 연계상품의 개발을 통한 부가수익 창출 등의 직간접효과가 예상되며 이를 전제로 한 지역 개발계획 수립 등이 가능할 것으로 판단됨.

따라서, 부가적인 지역경제 활성화 및 지역개발의 파급효과를 가져올 것으로 기대하며, 향후 타상품 개발 시 근거자료로서의 활용도 가능함.

2) 제 1협동: 건국대학교산학협력단

- 유색미, 블루베리 등을 생물전환 하여 주요성분 증대시킴으로써 독창적인 복합 신소재로 활용 가능
- 항염증 및 항산화 효과가 검증된 소재를 이용함으로써 미세먼지로 인한 피부염증 질환 개선 외의 복합적인 소재로 활용도를 증대가능

3) 제 2협동: 가천대학교산학협력단

- 피부염 개선 관련 기전을 검증하여 신소재 개발에 기여
- 환경성 오염인자(미세먼지)에 의한 피부면역 저하 실험모델 확립

1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

- 현재까지 주요 국가별 동향을 확인하였을 때, 대부분이 비타민 이 대다수 인 것으로 보였으며, 그 외에는 프로바이오틱스 분야가 가장 성장세가 높은 것으로 나타났음.

<주요 국가별 동향>

구분	미국	중국	일본
시장 규모	· 404억 달러(45조 원) · 연평균 성장률 : 7.1%	· 163억 달러(18조 원) · 연평균 성장률 : 13.8%	· 109억 달러(12조 원) · 연평균 성장률 : 2.3%
주요 소비 분야	· 멀티 비타민 · 천연물/전통 식품보충제	· 비타민 및 무기질	· 비타민 및 무기질
성장 분야	· 비타민 B, D · 프로바이오틱스	· 칼슘제	· 시력 보호 · 수면 보조
기업 동향	· 대형 기업이 시장 선점 · 대규모 유통망을 통해 판매	· 점유율 10위 기업 중 외국 기업 3개 포함 · 직소판매형식	· 드럭 스토어, 통신 판매 등 다양한 판매 · 자체 브랜드 제품의 성장

(건강기능식품 시장 동향, 연구성과실용화진흥원, 2016)

○ 시장현황

◎ 시장 규모

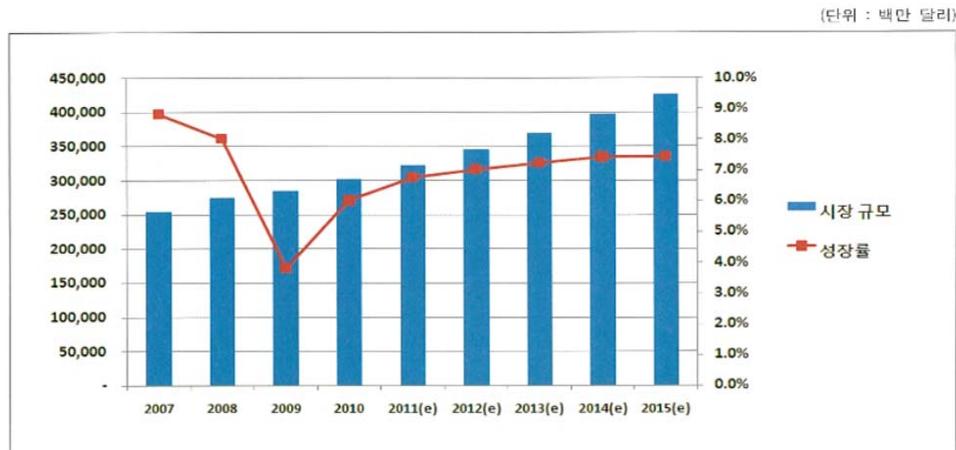
- 세계 건강기능식품 시장 규모는 1,179억 달러(약 131조 원, 2015년 기준) 규모로 추산되며, 연평균 7.3% 성장하여 1,677억 달러(약 187조 원, 2020년)에 이를 것으로 전망됨.



(출처 : NBJ's global supplement & nutrition industry report, Nutrition Business Journal, 2014)

<세계 건강기능식품 시장 규모 및 성장률>

- 세계 건강식품 시장은 고령화 및 만성질환 증가, 삶의 질 향상에 대한 욕구가 높아지면서 꾸준한 성장세를 보이고 있음( 2010 \$301 bil. 성장률 6%) 가장 큰 건강식품 시장인 미국 건식 시장 규모는 2012년 \$32.5 bil. (성장률 7.5% )이며, 비타민/미네랄 제품군이 40%, Specialty, 허브류 가 17-19%, 대용식 및 스포츠영양제품군이 각 11-12% 수준임.



[Reference: 한국건강기능식품협회, 『2013년 건식 시장 현황 및 소비자 실태 조사』 ]

<세계 기능성 식품 규모>

- 세계 시장에서 가장 큰 규모를 차지하는 곳은 미국으로 약 404억 달러(약 45조 원, 점유율 34.3%) 규모이며, 중국 약 163억 달러(약 18조 원, 점유율 13.8%), 일본 약 109억 달러(약 12조 원, 점유율 9.2%) 순임.
- 한국은 21억 달러 규모의 시장을 형성하고 있으며 세계 시장에서의 점유율은 1.78%를 차지하고 있음(2015년 기준).

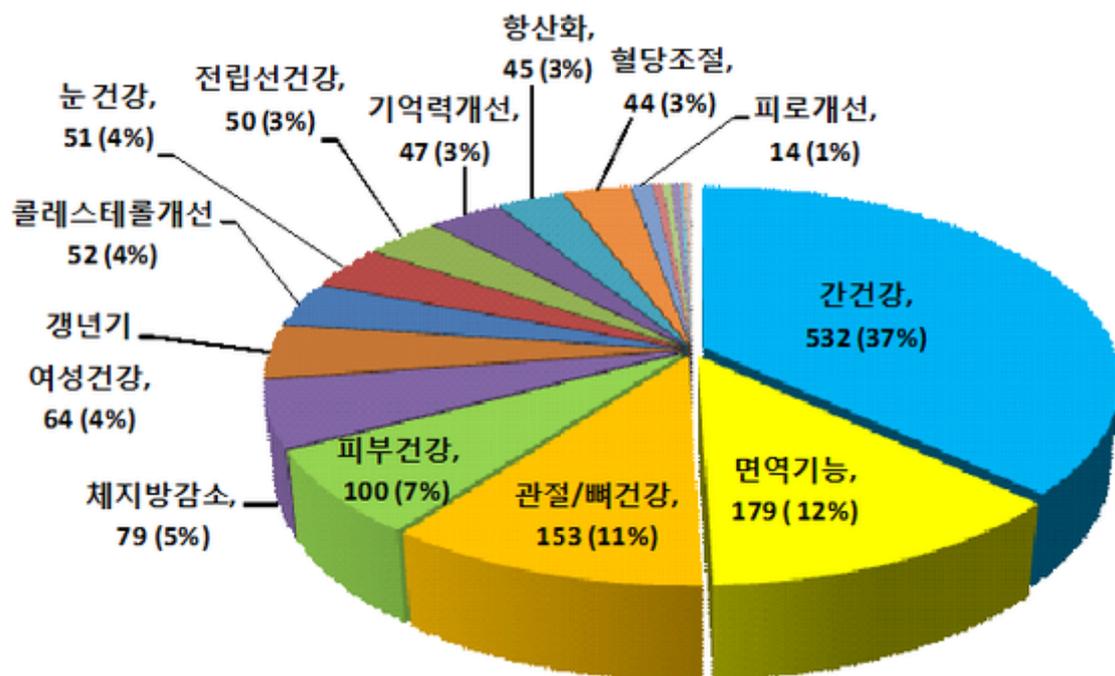
◎ 국내 피부건강 건강기능식품

- 피부건강기능식품은 피부세포에 영양을 주는 식품을 으로 피부세포에 활력을 줌

- 피부건강기능식품은 피부보습에 도움, 햇볕 또는 자외선에 의한 피부손상으로부터 피부건강을 유지하는데 도움을 주는 식품임.
- 개별인정형 원료로 소나무껍질추출물등 복합물, 핑거루트추출분말, 프로바이오틱스 HY7714, 쌀겨 추출물등 22종이 현재 인정을 받고 있음.
- 그 외 고시형으로 엽록소 함유식품, 클로렐라, 스피루리나 등 8종이 있음.
- 최근 피부에 도움을 주는 건강기능 식품으로 먹는 콜라겐, 히알루론산과같은 제품이 많이 차지하고 있음.



- 국내의 건강기능식품은 다양한 효능을 가지고 있고, 이 중에서 피부건강에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품은 약 7%의 비중을 차지하고 있음.
- 최근에는 미세먼지로 인한 피부건강에 도움을 주는 건강기능식품을 많이 출시 하고 있음.



<국내 피부건강 건강기능식품 차지비율>

(단위 : 억 달러 또는 %)

구분	2015년	2020년	연평균 성장률	점유율 (2015년 기준)
미국	404	568	7.1	34.3
서유럽	168	190	2.5	14.2
중국	163	267	10.4	13.8
아시아(중국, 일본 제외)	118	187	9.5	10.0
일본	109	122	2.3	9.2
남미	89	155	11.7	7.5
그 외	127	188	8.2	10.8
합계	1,179	1,677	7.3	100.0

(출처 : NBJ's global supplement & nutrition industry report, Nutrition Business Journal, 2014)

### <국가별 건강기능식품 시장 규모 및 전망>

#### ◎ 주요 국가별 동향

##### 1) 미국 시장

- 시장규모 : 미국 건강기능식품 시장은 약 404억 달러(약 45조 원, 2015년) 규모로 연평균 7.1% 성장하여 약 568억 달러(약 63조 원, 2020년)에 이를 것으로 전망됨.

▶ 전체 건강기능식품 시장의 67.3%를 차지하고 있는 비타민 및 식품보충제는 272억 달러(약 30조 원, 2015년)의 규모를 형성함.

▶ 비타민 분야 : 비타민 시장은 104.9억 달러(약 11조 7,907억 달러)의 규모를 형성하고 있으며, 멀티 비타민이 49.3%로 가장 큰 점유율을 차지하고 있음.

▶ 비타민 B 및 D가 비타민 분야에서 가장 높은 성장률(전년 대비 각각 7.7%, 6.8%)을 나타내며 20.7억 달러(약 2조 2,022억 원)와 8.8억 달러(약 9,787억 원) 규모를 형성하였음.

▶ 식품보충제 분야 : 식품 보충제 시장은 천연물/전통 식품 보충제가 가장 큰 시장을 형성하고 있으며 34.7억 달러(약 3조 9,002억 달러) 규모를 형성함.

▶ 소화기능이 저하되어 영양분 섭취에 어려움을 겪는 미국인들의 소화 기능 촉진을 위한 보조제로서 프로바이오틱스 제품은 17.2억 달러 규모를 형성하였으며 식품보충제 분야에서 가장 높은 성장률을 기록함(연평균 14.2%).

(단위 : 억 달러 또는 %)

구분	2014년	2015년	성장률	점유율 (2015년 기준)
멀티 비타민	50.2	51.7	3.0	49.3
비타민 A	4.1	4.2	2.4	4.0
비타민 B	19.3	20.8	7.7	19.8
비타민 C	11.3	11.9	5.1	11.4
비타민 D	8.3	8.9	6.8	8.5
비타민 E	2.8	2.7	-2.5	2.6
그 외 비타민	4.6	4.8	4.2	4.6
합계	100.5	104.9	4.3	100.0

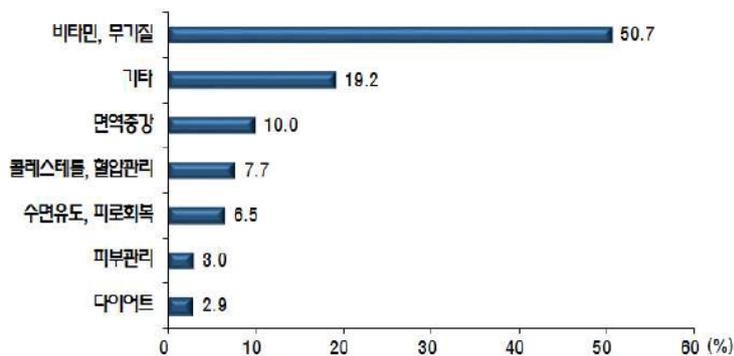
(출처 : 미국 비타민·식품보충제 수요 증가, KOTRA 해외시장뉴스, 2016)

### <미국 비타민 시장 규모 및 성장률>

- 소비자의 대부분이 자국 제품을 이용하고 있으나, 인삼 및 홍삼 제품은 중국과 한국 등에서 수입하고 있음.
  - ▶ 국내 대형 기업들이 시장을 선점하고 있으며, 중소형 후발업체들은 틈새시장을 공략하고 있는 실정임.
- 한국 제품의 판매 동향 : 미국 내에서 한국 건강기능식품에 대한 인지도는 낮은 실정이나 아시아 지역 인삼 중 고려 인삼의 효능은 우수하다고 인정받고 있음.
  - ▶ (주)KT&G, 대상(주), NH한삼인 등이 독립점포를 통해 영업하고 있으며 주로 한인 교포를 대상으로 판매하고 있음.

### 2) 중국 시장

- 시장 규모 : 중국 건강기능식품 시장은 약 163억 달러(약 18조 원, 2015년)규모로 연평균 13.8% 성장하여 약 267억 달러(약 30조 원, 2020년)에 이를 것으로 전망됨.
- 건강관리에 대한 인식 확산 및 인구 규모 등을 고려할 때 중국 시장은 더욱 성장할 것으로 예측됨.
- 건강관리에 대한 관심 증가 이외에도 중국 시장의 성장 요인으로는 다음의 3가지가 있음.
- 사스, 조류인플루엔자 등의 전염병 발생으로 국민들이 면역력 강화를 목적으로 다수의 건강기능식품을 이용하게 됨.
  - ▶ 건강기능식품은 중국 정부의 가격 간섭을 받지 않아 최근 가격상승 경향이 계속되고 있음
- 중국의 건강기능식품 소비 계층으로는 중·노년층이 약 50%, 여성층이 약 35%를 차지하고 있으며 나머지 부분은 아동·청소년층으로 점차 소비자 평균 연령이 낮아지는 추세임.
  - ▶ 건강기능식품시장에서 비타민 및 무기질이 점유율 50.7%로 1위를 차지함(2015년 3/4분기)
  - ▶ 영양소 보충제 중 최근 인기 품목은 칼슘제로 2014년 판매액은 약 24억 달러(약 2조 7,000 억 원)으로 2010년 대비 약 2배 성장함.
  - ▶ 보건식품 소비 품목은 주로 면역 조절, 항피로, 항노화, 혈중 지방 조절 등의 기능으로 집중되어 있으며 천연 보건식품의 끊임없는 요구로 천연 영양 보건식품 수요가 증가할 것으로 예측됨.



[출처 : 1. CFDA 남방 의약경제연구소 데이터센터, 2. KOTRA 해외비즈니스포털 홈페이지]

### <중국 시장 건강기능식품 판매 점유율>

- 중국의 한국 건강기능식품 수입 금액은 0.1억 달러(112억 원, 2011년)에서 0.4억 달러(483억 원, 2015년)로 연평균 44.3% 증가하고 있는 추세임.
- (주)KT&G, 일양약품(주), 일동제약(주), (주)풀무원, (주)개성인삼협동조합 등에서 제조한 건강기능식품이

수출 등록되어 있음(2016년 3월 말 기준).

### 3) 일본 시장

- 시장 규모 : 일본 건강기능식품 시장은 약 109억 달러(약 12조 원, 2015년) 규모로 연평균 2.3% 성장하여 약 122억 달러(약 14조 원, 2020년)에 이를 것으로 전망됨.
- 급속히 고령화되는 사회, 라이프 스타일의 변화로 야기된 질병, 건강관리에 대한 관심 등이 꾸준하기 때문에 완만한 성장은 계속될 것으로 전망됨.
- 시력 보호 및 수면 보조 관련 제품이 2015년 주목을 받았음.
  - ▶ 시력보호 제품 : 중년 이후 원시 증상을 완화해 주는 눈 영양제를 기능성 표시 식품으로 출시되면서 시력보호 기능 시장은 전년 대비 7.6% 성장함.
  - ▶ 수면 보조 제품 : 일본 후생노동성의 설문조사에 따르면 성인의 70% 이상이 수면의 질에 문제가 있다고 답변하여 수면 보조 기능성 식품시장이 주목받고 있음.
  - ▶ 수출입 동향 : 대부분의 완제품 형태의 건강기능식품은 「식품위생법」이나 「건강증진법」 하의 엄격한 규제를 피하기 위해 일본 국내에서 제조되고 있음.
- 제품에 함유된 첨가제, 보존제, 식용 색소 및 향료 등의 주요 성분에 대한 자세한 기술사항 및 증명서가 없이는 통관이 되지 않는 등 규제가 엄격함.
- 그러나 비타민 제품의 경우에는 완제품 또는 원재료 형태로 수입되고 있음.
  - ▶ 완제품은 미국에서의 수입 수량이 제일 많고 원재료의 경우 중국에서의 수입이 가장 많은 것으로 나타남

## ○ 경쟁기관현황

### ◎ 주요 국가별 경쟁기관

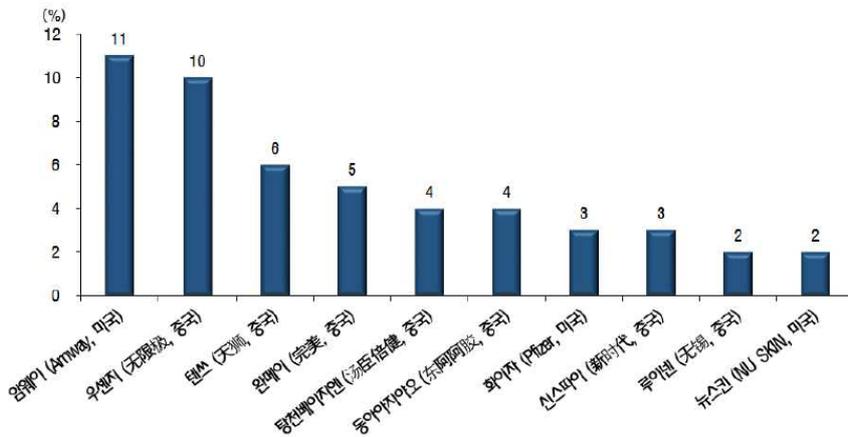
#### 1) 미국 시장

- NBTY는 대규모의 유통망 확보를 통하여 주요 브랜드인 Nature's Bounty와 Sundown를 소매점에서 판매하고 있으며 다른 자사 브랜드들도 인터넷과 건강식품 전문점 운영을 통해 판매 중임.
  - General Nutrition Center(GNC)는 비타민과 식이보조제품, 운동 보조제, 체중 감량제를 주로 제조하며 미국 전역에서 5,300여개의 전문 상점을 운영하고 있음.
  - CVS Health는 미국 전역에 1,660개 이상의 매장을 가지고 있는 약국·클리닉 사업부 인수(2015년 6월)를 통해 오프라인 매장을 확대함.
  - 소규모 업체들은 다른 시장의 대형업체와 파트너십을 통해 시장 경쟁력을 기르고 있음.
  - Private Label 업체인 Perrigo Company는 Ferrara Candy Company와 공급 계약(2015년 1월)을 통해 다양한 비타민 제품 출시를 준비하고 있음.
- => 미국 같은 경우에는 멀티 비타민이 대부분을 이루고 있는 상황임. 즉, 경쟁기관은 미미한 것으로 나타남.

#### 2) 중국 시장

- 점유율 10위 내 기업 중 외국 기업은 3개 (암웨이, 화이자, 뉴스킨)로 초기 중국시장에 진출하여 직접 판매하는 형식으로 영업 활동을 진행하고 있음.
- 최근에는 미국, 호주, 영국의 건강기능식품 업체들이 중국 본토기업과 합작하는 방식으로 시장 진입 중임.

- 암웨이(AMWAY, 미국)는 뉴트리라이트 시리즈의 판매로 11%의 점유율(판매율 1위)을 차지하고 있음
  - 우젠지(无限极)는 아동 건강 보건의료식품의 수요 증가와 함께 매출액이 매년 증가하고 있음
  - 탕천베이지엔(汤臣倍健)은 연간 매출의 3% 이상을 신제품과 특히 개발에 투자하고 있으며 By-Health(면역력 증진 기능) 제품이 대표적임.
  - 화이자는 칼슘제 브랜드인 칼트레이트와 센트룸 시리즈의 판매량이 높으며 이들 제품의 확대 생산을 위하여 쑤저우 공장 건설에 착수함.
- => 사스, 미세먼지 등으로 인한 면역 증진 관련 건강기능식품 개발이 급증되고 있으며, 특히 탕천베이지엔과 같은 기관과 경쟁이 될 것으로 판단됨.



(출처 : 중국 건강보조식품산업 현황분석, 한국무역협회, 2016)

### <중국 시장 건강기능식품 기업 동향>

#### 3) 일본 시장

- 제품 판매가 방문판매에 한정되어 있었으나 규제 완화로 인하여 드럭 스토어, 통신판매 등 판매 방식이 다양해지고 있음.
  - 소비자들의 가격 대비 가치를 따지는 성향이 강해지면서 유통업체의 자체 브랜드 제품의 성장세가 나타남.
  - 일본 내 가장 많은 점포를 보유하고 있는 드럭 스토어인 마츠모토키요시가 자체 브랜드의 비타민 제품 및 식이보조 제품군을 출시하여 유통하고 있음.
  - 드럭 스토어 연합인 HapYcom는 자체 브랜드의 비타민 및 식이보조제품을 출시하여 유통하고 있음.
- => 면역 개선 보다는 대부분 시력 보호, 수면 보조 분야에 많은 투자를 하고 있는 실정임.

#### ○ 지식재산권현황

- 현재 일본에서 염증 및 알레르기성 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 대한 지식재산권이 있음 (미국 및 유럽 권에서는 발견되지 않았음).
- => 대부분의 경우는 치료용 조성물이었으며, 건강기능식품에 관련된 지적재산권은 적은 실정임.  
=> 특히, 서두에서 말한 바와 같이 생물전환하여 아토피 등과 같은 피부염 개선에 대한 지적재산권은 없음.

#### ○ 표준화현황

- 중국에서는 HPLC를 이용한 fingerprint analysis를 천연물 소재와 Qingkailing(주사제), Danshen Dropping pill, Yiqing 제제 등의 품질동등성 연구에 도입하고 있으며 chemical fingerprint를 이용한 천연물 주사제의 품질관리를 SFDA에서 규정하고 있음. 유럽에서는 HPLC, MS, NMR 등을 이용하여 식품 또는 원료생약에 대한 chemical fingerprint를 확보하는 연구가 다수 이루어지고 있으며, 최대한의 정보를 담기 위한 분석법 개발, 산지별 또는 다른 요인에 따른 classification, 여기에 기여하는 성분의 확인 등을 주목적으로 하는 metabolomics 연구가 주를 이루고 있음.

### 1-3. 연구개발의 중요성

#### ○ 연구 목적

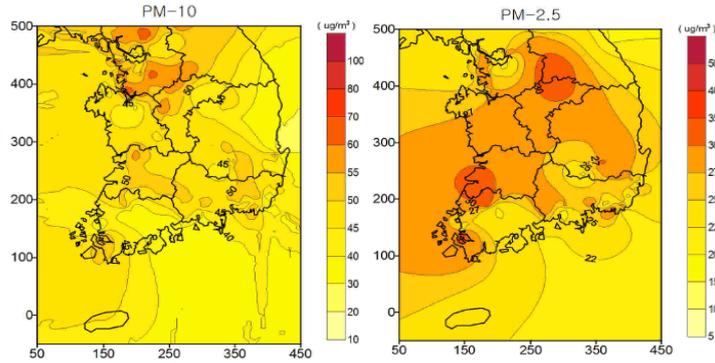
- 본 연구진은 미세먼지에 의한 피부염 발병 증가에 따른 질환 예방 소재를 개발하기 위하여 유색미, 블루베리를 이용한 생물전환 공법 통하여 유효성분을 증대시키고, 국산 농산물 자원을 발굴하고자 함. 나아가 확보된 유효소재에 대한 전임상시험 및 건강기능식품 개별인정을 위한 임상시험 승인을 목표로 함.

#### ○ 연구 배경

##### ◎ 미세먼지의 위험성 증가

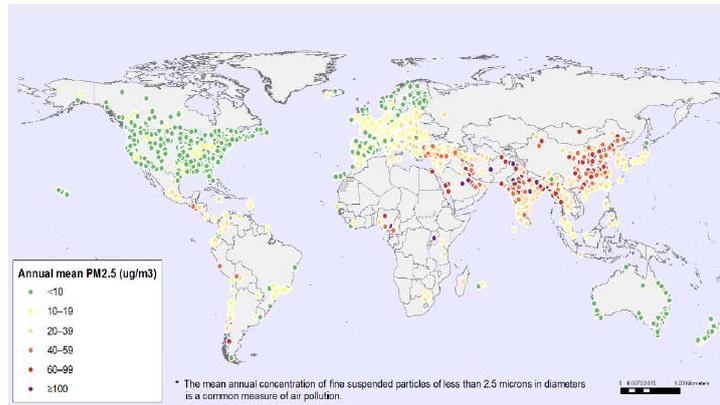
- 최근 도시공기 오염으로 인한 미세먼지입자 ( $\leq 2.5 \mu\text{m}$  (PM2.5)이하)의 증가가 도시지역 심혈관계 질환 사망률의 증가와 상관성이 높다는 보고가 되고 있음(Rakesh Ghosh, 2016). 이러한 환경오염이 증가함에 따라 인체 노성분에 환경성 오염물질의 종류와 양이 증가하고 있고 유사하게 혈중에서 지질친화적인 환경오염 물질이 증가되고 있다고 보고되었음(Phillips et al. 1989; Schisterman et al. 2005, Barr et al. 2005; Thorne 2008, Katie M et al. 2016).

- ▶ 우리나라의 미세먼지 농도는 세계보건기구(WHO)의 권고기준보다 높을 뿐 아니라 도쿄나 파리, 런던, 워싱턴과 같은 주요 선진국 도시에 비해서도 높은 편임.
- ▶ 세계보건기구(WHO)에서 발표한 주요 대도시의 지도에 따르면 북유럽과 북아메리카에 위치한 OECD 국가는 양호한 미세먼지 농도를 보이는데 비해 한반도의 연평균 농도는  $20\sim 39\mu\text{g}/\text{m}^3$ 임.
- ▶ 2015년 서울의 농도는 연평균  $23.1\mu\text{g}/\text{m}^3$ 이고 일평균 최대값은  $70\mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 세계보건기구의 권고기준을 크게 초과함.
- ▶ ‘2016 환경성과지수(EPI)’에서도 우리나라의 공기질은 세계 180개국 가운데 173위 였으며, 특히 부문은 중국과 같은 174위였다. OECD의 2016년 보고서 ‘더 나은 삶 지수’ 조사에서 환경부문 중 세부항목 대기오염은 38개국 중 38위로 최하위였음.



자료: 환경부, 「2015년 대기환경연보」, 2016.

<국내 미세먼지의 연평균 농도 분포(2015년)>



주: PM<sub>2.5</sub> 농도는 주요 대도시의 연평균 농도를 의미함.

자료: 세계보건기구(WHO), *Global Health Observatory Map Gallery*, 2016.

[http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global\\_pm25\\_cities\\_2008\\_2015.png](http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_pm25_cities_2008_2015.png)

<주요 대도시의 초미세먼지 농도(2016년)>

- 중국에서 날아드는 미세먼지 안에는 머리카락 굵기(70 $\mu$ m)의 7분의 1 정도인 미세먼지(PM10)와 이보다 크기가 작은 초미세먼지(PM2.5)의 성분 중에서 가장 많이 차지하는 것은 탄소성분과 이온 성분이지만 인체에 유해한 중금속과 발암물질로 알려진 벤조피렌 등 유해화학물질도 들어 있음.



<초미세먼지 크기비교>

- 황사는 모래가 주성분 인 반면 미세먼지는 질산염, 암모늄, 카드뮴, 납, 비소 등 맹독성 물질이 주요 성분을 이룸. 또한 호흡기에서 걸러지지 않고 폐 속에 들어가 배출되지 않고 쌓이므로 천식, 기관지염, 폐렴, 폐암 등 호흡기 질환을 유발함.
- 초미세먼지는 체내로 침투하기도 하며 혈관에 침투하면 뇌졸중, 뇌경색, 심근경색 등 심혈관 질환

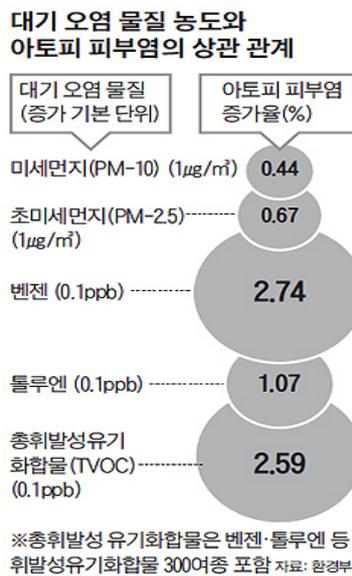
의 원인이 되기도 함.

- ▶ 국립환경과학원이 초미세먼지 성분을 분석한 결과, 인체에 해로운 중금속인 납(Pb)이 m<sup>3</sup>당 60 ng(나노그램, 1 ng=10억분의 1g)으로 평상시(1~10월 평균치 34 ng)의 두 배 수준이었음.

◎ 미세먼지로 인한 만성 **염증성 피부질환 발생**

1) 미세먼지로 인한 피부염증 질환 증대

- 대기오염물질 중 미세먼지는 표피 장벽기능을 손상시키고 피부염을 악화시킴.
- 대기 중 미세먼지·벤젠 등의 농도가 짊어질수록 피부염도 심해진다는 상관관계를 확인.
- 봄에는 온도가 낮고 대기오염 물질 가운데 스타이렌(새집 증후군의 주요 원인 중 하나) 농도가 짊어질수록, 여름엔 이산화질소·톨루엔 농도가 짊어질 때 증상이 심해짐. 가을엔 온도가 높을수록, 겨울엔 초미세먼지(PM-2.5) 농도가 짊어질수록 피부염이 나빠짐.



<대기오염 물질과 아토피 등과 같은 피부염의 상관 관계>

- 피부염 환자의 지속적 증가

▶ **국내 피부염 환자는 신생아에서 두드러지게 증가하고 있음. 최근 유병률이 급속히 증가하고 있으며 15%의 높은 유병률을 보고하고 있음.** 피부염은 미국과 유럽에서는 접촉성 피부염과 비슷한 유병율을 나타내는 반면, 일본을 비롯한 아시아의 경우 미국과 유럽과는 달리 피부염이 가장 큰 비율을 차지하며, 성인을 포함한 소아, 유아의 대표적인 피부질환으로 분류됨.

2) 미세먼지에 의한 피부염 병리 기전

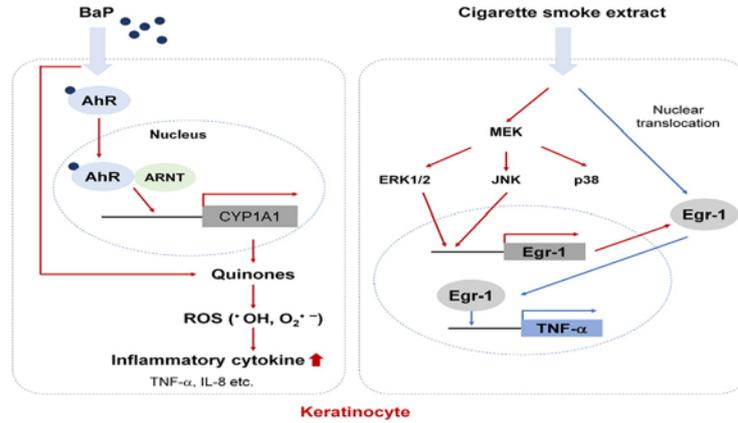
- 벤조 피렌에 의한 염증 기전

벤조피렌은 ROS 생성과정을 통해 염증성 cytokines인 TNF- $\alpha$ , IL-8을 생성함. 벤조피렌은 Aryl hydrocarbon receptor (AhR)에 결합하여 벤조피렌-AhR 복합체를 구성함. 복합체는 핵내로 이동하여 AhR nuclear translocator와 결합하고 그 결과 CYP1A1의 전사가 활성화 됨. CYP1A1에 의한 ROS의 생성은 결과적으로 TNF- $\alpha$  와 IL-8 생성을 유도하게 됨.

- Cigarette smoke extract (CSE)에 의한 염증 기전

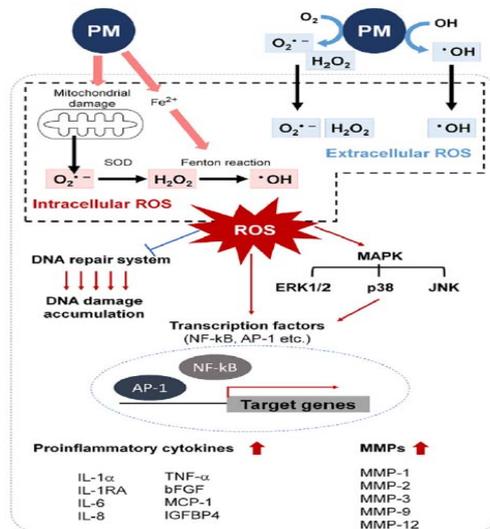
Cigarette smoke extract (CSE)는 피부 각질 세포주에서 Egr-1의 전사 및 번역을 조절하고 이를 통해 TNF- $\alpha$ 를 생성시킴. 특히 ERK1/2, JNK, p38 과 같은 MAPK pathway를 통해 TNF- $\alpha$ 를 생성하며 이로

인해 염증성 피부질환을 일으키게 됨.



<미세먼지에 의한 각질세포의 염증 기전 (Life Sci. 2016 May 1;152:126-34)>

- ▶ Keratinocytes: 선천성 면역을 담당하고 있으며 다양한 외부 침입자에 대항하는 역할을 수행함. 피부에 가려움을 일으키는 물질을 분비함으로써 긁는 행동을 유도하여 외부침입자를 제거하도록 함. 피부 신경세포와 근접한 곳에 위치하며 가려움을 감지하는 protease-activated receptor-2, opioid receptor, cannabinoid and histamine 4 receptor 존재하고 NGF 및 neurotrophin-4 를 분비하여 비만세포 (mast cells)가 가려움증 유발 인자 (substance P)를 분비하도록 함. Keratinocytes는 endocannabinoid를 분비하여 가려움을 억제하는 작용을 나타냄.
- ▶ IL-31: 대표적 가려움 유발 사이토카인으로 활성화된 T 세포 ( CL4+ T cells, and CD4+ T cells, Th2 세포에서 더 많이 발현됨) 에서 생산되는데 IL-6 사이토카인 가족 (family)에 속한함. IL-31수용체는 gp-130수용체 (GPL, or IL-31RA) 와 oncostatin M receptor (OSMR)로 구성되며, 상피세포와 케라티노사이트에 상시 존재함. 피부염 환자의 피부조직에서는 IL-31의 발현이 현저히 증가되어 있으며 IL-4 와 IL-13 같은 Th2 사이토카인 증가를 유도한다고 여겨짐.
- ▶ 피부염 환자의 피부 조직에는 IL-4와 IL-13을 발현하는 TH2 세포가 증가되어 있는 것을 확인할 수 있으며 상처 난 피부에는 IL-4, IL-5, IL-13의 mRNA level이 현저히 증가되어 있는 것을 알 수 있음.
- ▶ 피부염은 각질세포의 사멸사 및 fillagrin 소실등으로 피부 장벽이 약화되고, 수분의 손실이 증가되며 각질층의 세라마이드 함량이 감소되는데 이는 감염, 항원침입 위험성을 증가시켜 피부염을 악화시킴.



<미세먼지에 의한 각질세포의 염증 기전 (Life Sci. 2016 May 1;152:126-34)>

▶ 미세먼지는 superoxide와 hydroxyl radical을 생성하며 세포의 산화적 스트레스를 유도함. 또한 세포내 ROS는 미토콘드리아의 데미지 및 redox cycling을 유도함. 미세먼지는 피부 염증성 사이토카인인 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8 뿐만 아니라 피부노화와 관련된 MMPs의 생성을 증가시킴. 결론적으로 미세먼지는 피부 염증 및 노화의 원인이 됨.

- 피부염 발생에 따른 사회적 비용 증가

▶ 천식 및 피부염 등 환경성질환의 만성질환은 제대로 치료관리가 이루어지지 않을 경우 **삶의 질 저하를 초래, 사회 경제적 손실을 유발하는 바 환자의 치료를 위한 결석, 결손, 업무능력저하, 이직, 실직, 수입 감소, 사회활동제약 등에 따른 사회적 비용이 발생함.**

▶ 또한 초기 관리가 제대로 이루어지지 못해 중증질환으로 이행하는 사례가 늘고 있으며, 과학적 근거가 입증된 치료보다는 검증되지 않는 민간요법에 의존하는 등 알레르기 질환의 적절한 관리가 이루어지지 않아 잦은 재발과 악화, 의료비 상승으로 사회경제적 부담을 초래하고 있음.

=> 2010년도에 한국의 피부염 환자는 질환치료를 위해 직간접비용으로 1년에 416만원 정도의 비용을 지출하였으며, 한국사회에서 직접비만 1조원, 간접비 포함 1조원 이상의 사회적 손실이 발생. 미국의 경우에도 연간 1 - 4.3조원의 사회 경제적 손실이 발생하는 것으로 추정 됨 (2011, 서성준, 아토피피부염에 대한 국민인식 수준 및 사회적 손실조사, 질병관리본부).

### ◎ 장건강과 피부건강

- 장은 우리 몸에 들어오는 외부 물질을 처음으로 방어하는 곳임. 세균, 소화가 덜 된 영양소 등 해로운 물질이 혈액에 바로 흡수되지 않게 막아주는 것임. 그런데 장 점막이 손상되면 방어 반응이 제대로 이루어지지 않아 독성이 그대로 혈관계로 퍼져 면역력을 떨어뜨리고 알레르기나 피부염 같은 증상을 일으킴. 이 '장누수증후군'이 아토피성 피부염을 악화시킨다는 연구 결과가 미국 소아학회지에 보고되기도 함 (미국소아과학회, 2004). 또한, 장내 유해 세균을 줄임과 동시에 장내 유익균을 늘리는 것이 중요함. 장내 유익균은 유산균으로 대표됨. 유산균은 변비 예방의 효과도 있지만, 아토피, 천식, 비염 등에도 효과가 있는 것으로 밝혀짐. 한마디로 장 건강을 지켜야 피부 염증 질환을 해결할 수 있는 것임.

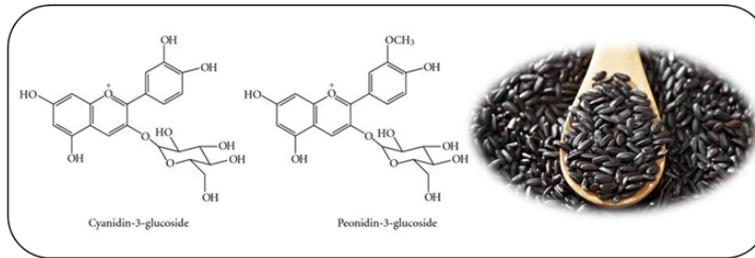
### ◎ 흑미 등과 같은 유색미의 특성

- 특수미 중 흑미는 품종이 개량된 고기능성 쌀로서 독특한 향미와 각종 무기질, 비타민 불포화지방산 및 단백질 등이 함유되어 있어 향암, 항산화 작용과 면역기능을 강화시켜 노화방지, 특정 질병 예방 등 건강기능성 소재로서의 이용치가 높음(Seo등 2008).

▶ 흑미의 색소는 적갈색에서 흑자색에 이르는 다양한 안토시아닌 색소임.

=> 특히 쌀에 존재하는 안토시아닌은 Cyanidin-3-Glucoside 및 Peonidin-3-Glucoside등이 많이 보고되고 있음(Cho emd 1996). 유색미의 색소 분획은 높은 항산화 활성과 항암 활성, 그리고 염증 발생에 대한 억제 활성 등이 보고되고 있음(Stoclet등 2004;Manach등 2005;Ling등 2001;Xia등 2003;McGhie등 2003;Williams등 2002).

<유색미의 주요 성분>



- 유색미의 색소는 대부분 과피인 미강에 존재함. 그리고 유색미의 미강에는 안토시아닌뿐만 아니라 오리자놀(oryzanol), 피틴산(phytic acid), 페루릭산(ferulic acid), 헤미셀룰로오스(hemicelluloses), 토코페롤(tocopherol), 옥타코사놀 (Octacosanol) 등이 함유되어 있음.
  - ▶ 이 중 식물체의 세포벽을 구성하는 헤미셀룰로오스는 오탄당과 육탄당, 우론산(uronic acid) 등을 함유하고 있고, 비셀룰로오스계 고분자 다당류로서 미강에 약 20~21% 함유되어 있음.
- 유색미의 안토시아닌 색소 함량이 검은콩의 4배로 항산화 작용이 매우 뛰어나며, 껍질에는 특히 **비타민 E가 풍부하여 활성산소를 제거하고 면역을 강화시켜 주는 것으로 알려져 있음.**
  - ▶ 백미에 비해 식이섬유 풍부하여 장 운동을 도와 변비예방
  - ▶ 칼슘, 단백질, 철, 비타민 B1, B2 등의 영양소 풍부
  - ▶ 미네랄 성분에 의해 빈혈 예방 및 개선에 도움
- 최근에는 2010년부터 2014년 까지 5년간 서울, 경기, 인천의 수도권 소비자 패널 703가구의 쌀 구매행동을 조사한 결과, 가구 당 연평균 쌀 구입액은 18만 9,269 원으로 나타났으며, 쌀 유형별로는 일반미가 14만 2,123원으로 가장 많고 현미 2만 9,481원, 찰쌀 1만 1,919원, 유색미 5,359원, 기타 387원 순이었음.



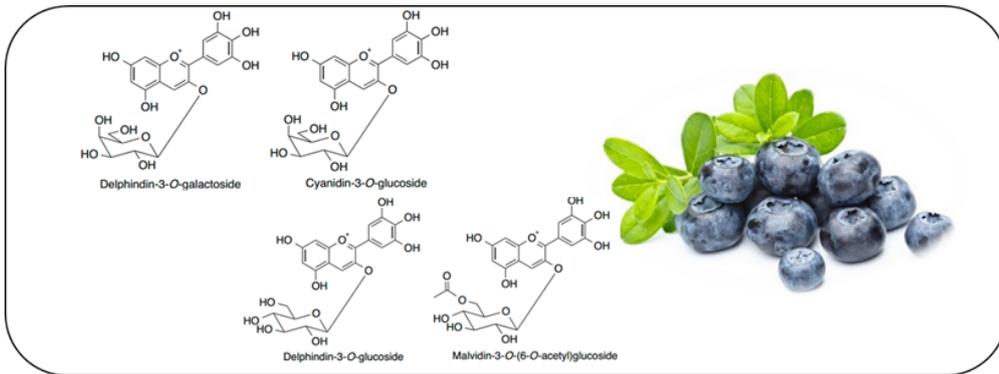
(농촌진흥청, 2015)

- ▶ 현미는 2만 5,308원에서 3만 1,730원으로 증가했고 구입액 비중은 14.1%에서 16.0%로 증가하였는데 이는 건강에 대한 관심의 증가로 현미의 구입이 늘어난 것으로 풀이되나, 유색미는 5,201원에서 5,760원으로 구입액은 현미에 비해 낮은 구입 비중을 두고 있음.
  - => 흑미, 현미와 같은 유색미는 높은 생리활성 효능이 있음에도 불구하고 여전히 소비량은 증대되지 않고 있음. 따라서, 이에 대한 활용방안이 필요한 실정임.

◎ 블루베리의 특성

- 블루베리는 세계적으로 약 400여종이 존재하고, 주로 동남아시아에 분포되어 있으며 염증성 장 질환 개선 외에 시력증진작용 등 다양한 기능을 보유한 원예작물의 하나로 병해충이 적어 무농약으로도 재배 가능한 친 환경적인 작물로 알려져 있음.
- 블루베리는 진달래과(Ericaceae) 산앵두나무속(*Vaccinium*)에 속하는 관목성 식물로써, 주로 하이부시 블루베리(*V. corymbosum*), 로우부시 블루베리(*V. angustifolium*) 및 래빗아이 블루베리(*V. ashei*) 등 세 종류가 상업적으로 중요한 과실로서 재배 되고 있으며 항산화, 항염 그리고 적혈구에서의 활성산소종 (Reactive Oxygen Species)의 저하 등의 작용을 하는 것으로 알려져 있음.

<블루베리의 주요 성분>



- 블루베리는 일반적으로 노화 방지 및 뇌의 노화로 인한 치매 예방에 효과적이라고 알려진 녹차나 양파보다 많은 양의 항산화 물질을 함유하고 있고, 이러한 유해산소를 제거해 주는 항산화 작용은 블루베리 효능 중에서도 가장 두드러지는 효능이라 할 수 있음.
- 특히, 블루베리는 풍미가 뛰어나고 과실에는 강력한 항산화 효과를 가지는 여러 가지 생리활성 성분 즉, 비타민, 카로티노이드 및 플라보노이드와 같은 페놀화합물 등 각종 성분을 다양하게 함유되어 있고, 특히, 안토시아닌은 블루베리에 다량 함유되어 있는 대표적인 항산화 물질이라 할 수 있음.
- 최근 국내에서도 블루베리에 대한 관심이 매우 높아져서 과실은 생과 외에 잼, 와인, 소스 등으로 가공되고 있으며, 항산화 활성 등과 같은 생리활성을 가지는 화합물을 얻고자 하는 관심이 점차적으로 증가하고 있어 이에 대한 연구도 활발히 진행되어지고 있음.
- 그러나 아직까지 블루베리의 염증 질환 개선 및 면역 증진 성분의 검색과 더불어 그들 추출물의 생리활성을 뒷받침해 줄 과학적인 증거가 부족하고 특히 제조된 건강보조식품에 대한 구체적인 효능 연구가 제시되지 못하여 소비자로부터 신뢰성과 홍보부족으로 그 이용도가 낮으므로 과학적인 효능규명이 절실히 요구되고 있음.
- 블루베리에 다량 함유되어 있는 안토시아닌 색소는 최근 독성 및 발암 등의 안전성의 문제가 제기되고 있는 합성착색료를 대체할 수 있는 천연 착색료로 크게 각광을 받고 있음.
  - ▶ 아울러 안토시아닌 색소는 천연항산화물질로써 뿐만 아니라 항균, 항염증 및 항경련 작용을 지니고 있어 기능성 식품, 화장품 및 의약품의 신소재로써 크게 주목을 받고 있다. 따라서 식이성 천연항산화성 안토시아닌 색소를 많이 함유하고 있는 블루베리를 이용한 고부가가치의 식품 첨가물의 개발이 필요함.
  - ▶ 블루베리의 안토시아닌 색소는 대부분 cyanidin 배당체 (cyanidin-3-glucoside, delphinidin-3-O-glucoside 등)로 구성되어 있으며, 다른 식품(포도, 고구마, 및 양배추 등)의

안토시아닌 색소에 비해 열, pH, 금속 및 효소 등 여러 물리화학적인 요인에 대해 매우 불안정하여 식품의 가공 및 저장 중 쉽게 탈색 및 변색을 초래한 함.

=> 따라서 유색미 뿐만 아니라 블루베리를 이용한 고품질의 기능성건강보조식품을 개발하기에 앞서 먼저 안토시아닌 색소의 특성을 조사하고 나아가 그들 색소를 안정화시킬 수 있는 기술 개발이 필요함.

◎ 생물 전환 연구의 필요성

- 염증 또는 알레르기의 발생은 감염성 질환을 겪지 않는 집단의 경우 현저히 증가하지만 알레르기의 예방을 위하여 병원성균을 사용 할 수는 없는 실정임.
  - ▶ 최근 Saacerda의 보고(Saaverda *et al.*, 1994)에서 유용 유산균으로 면역계를 변화시킴으로서 아토피의 발생을 50%로 줄였다는 결과는 알레르기 발생의 기본 메커니즘에 대한 매우 효과적인 방어 기술을 제시하였음. 알레르기 발생을 설명하는 하나의 이론인 위생 가설에 의하면 영·유아시기에 너무 위생적인 환경에서 자라면 면역적 자극이 부족하여 면역을 비롯한 신체의 면역계 불균형이 발생하여 알레르기 체질이 될 수 있음. 이에 근거하며 인체에 유익한 비피더스(Bifidobacterium) 등의 유산균으로 면역 자극을 주는 방법들이 연구되고 있음.
- 특히, 면역 증진 및 피부염 개선 수요에 대한 신제품 개발은 국제적으로 차별화된 제품을 개발하는 것이 필요함.
  - ▶ 본 연구진에서는 프로바이오틱스 및 식용 미생물의 생물전환능을 기반으로 유색미에 속하는 유색미와 면역 증진 효능이 있는 블루베리를이용하여 생리 활성 전환체를 고상발효로 탐색하여 면역 개선 및 아토피 등과 같은 피부염 개선 저 감화 작용이 우수한 제품을 개발할 것임.
- 수많은 천연물에 존재하는 성분들의 미생물 변환 연구는 아직 체계적으로 이루어지고 있지 못함.
  - ▶기능성식품소재로 활용되고 있는 유산균, 효모, 조류, 바실러스 등의 GRAS (Generally recognized as safe) 미생물을 이용하면 매우 안전한 방법으로 천연 생리활성 물질의 변환 및 활성 증대가 가능 하고 신물질 개발이 가능함. 또한 이러한 미생물 및 효소를 이용할 경우 매우 안전하고 minimal process (최소가공공정)을 통하여 신규하며 활성이 증진된 생물전환체를 생산할 수 있음.



<생물전환의 기술 개요>

▶ 프로바이오틱스란 살아있는 미생물 형태로 섭취하여 인체 또는 동물의 건강 상태를 증진시키는 생균 소재로서 기능성식품소재 중 그 과학적 효능이 잘 검증되어있음. 이들 중 특히 비피더스균은 전체 염기 서열 분석 결과 전체 유전자의 약 10%가 당전환 효소 유전자이며 그 배당체 효소가 가장 광범위하게 존재하는 배당체 전환 효소의 보고임이 밝혀졌음(Schell 등, PNAS, 2002).

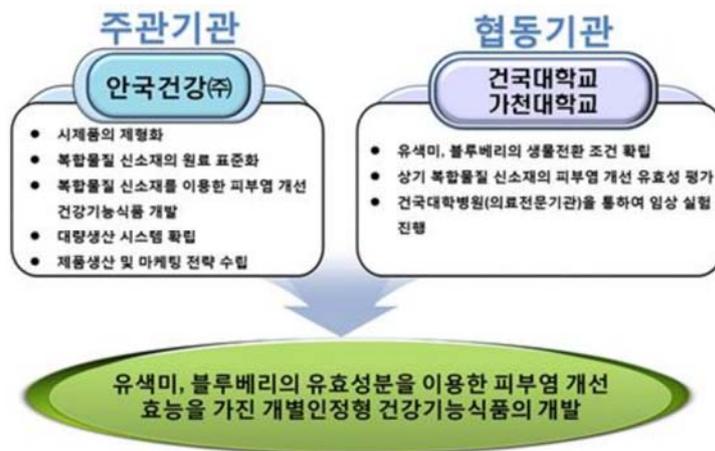
=> 본 연구진은 생물 전환능을 기반으로 새로운 피부염 개선 소재를 발굴하고자함. 또한 신소재에 적합한 발효균주를 선별하고 유색미와 블루베리로부터 나오는 유효성분을 안정적으로 확보하여 연구를 진행할 예정임.

## 2. 연구수행 내용 및 결과

### 2-1. 연구개발 추진전략 및 방법

○ 대학교 등 외부 네트워크 활용 방안

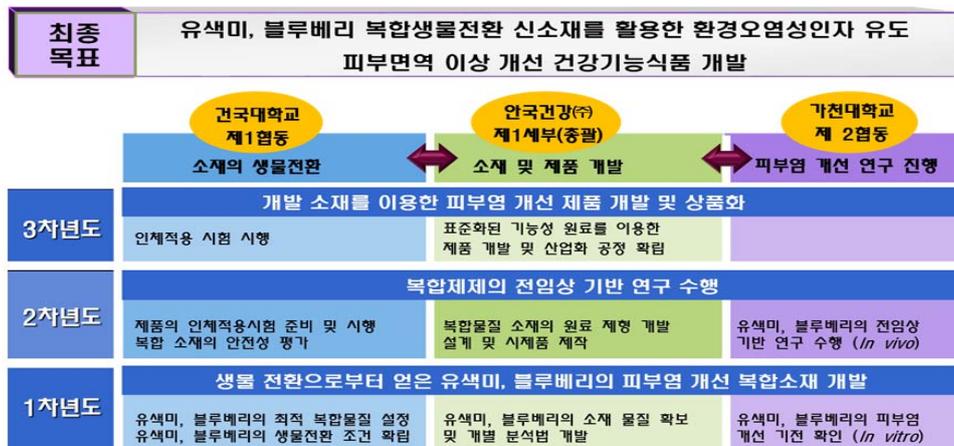
- 유색미, 블루베리 등의 복합 신소재 물질의 생리활성 연구 및 노하우를 보유한 제 1협동 건국대학교와 피부염증 연구 전문 기관인 제 2협동 가천대학교를 통하여 기능성 검증 후, 건국대학병원(위탁기관)과 임상연구를 공동으로 진행하여 건강기능성 제품 개발 및 상품화를 이룩하고자 함.



### 2-2. 연구개발 추진체계

○ 개발 추진 체계

- 본 연구는 아래와 같이 추진될 것임.



○ 본 연구를 위한 기관별 참여 현황

연구개발과제		총 참여 연구원
과제명	유색미, 블루베리 복합생물전환 신소재를 활용한 환경오염성인자 유도 피부면역 이상 개선 건강기능식품 개발	주관연구책임자 (이택환)외 총 12 명

기관 별 참여 현황		
구 분	연구기관수	참여연구원수
대 기 업		
중견기업		
중소기업	1	5
대 학	2	8
국공립(연)		
출 연 (연)		
기 타		

제 1세부 안국건강(주)
유색미, 블루베리 생물전환 신소재 활용 미세먼지에 의한 피부염 개선 개별인정형 건강기능식품 개발
연구책임자명 (이택환)외 4 명
담당기술개발내용
1. 시제품의 제형화 2. 복합물질 신소재의 원료표준화 3. 피부염 개선 건강기능식품 개발 4. 제품생산 및 마케팅 전략 수립

제 1협동 건국대학교글로벌산학협력단
유색미, 블루베리를 이용한 생물전환 소재 개발 및 효능평가
연구책임자명 (임병우)외 5 명
담당기술개발내용
1. 유색미, 블루베리의 생물전환 조건 확립 2. 상기 복합물질 신소재의 인체적용 시험 검증

제 2협동 가천대학교산학협력단
유색미, 블루베리 복합물질 신소재의 피부염 개선 전임상 기반 연구 수행
연구책임자명 (정민선)외 1 명
담당기술개발내용
1. 유색미, 블루베리의 복합물질 신소재의 전임상시험 ( <i>In vitro</i> 와 <i>in vivo</i> 시험 진행)

2-3. 연구개발 추진일정

1차년도														
일련 번호	연구내용	일별 추진 일정												책임자 (소속기관)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	제품화를 위한 후보 기능성 소재의 검토					■								이택환 (안국건강(주))
2	시장 소비자 타겟 제품 분석					■								이택환 (안국건강(주))
3	효능 평가를 위한 천연물 소재 추출물 및 원료 제공						■	■	■	■	■	■	■	이택환 (안국건강(주))
4	연구대상 표준시료 확보						■	■	■	■	■	■	■	이택환 (안국건강(주))
5	원료의 스크리닝 및 생물전환 조건 확립					■	■	■	■					임병우 (건국대학교 글로벌신약협력단)
6	복합소재의 면역개선능 평가							■	■	■	■	■	■	임병우 (건국대학교글로벌산 약협력단)
7	복합소재의 피부염 개선 효능 검증								■	■	■	■	■	정민선 (가천대학교 신약협력단)
2차년도														
일련 번호	연구내용	일별 추진 일정												책임자 (소속기관)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	복합물질 신소재 시제품 설계 및 제작	■	■											이택환 (안국건강(주))
2	원형 제형 개발 및 인체적용 시험용을 위한 제형화 연구	■	■	■	■	■	■	■						이택환 (안국건강(주))
3	제제 지표성분 분석 및 소비자 조사							■	■	■	■	■	■	이택환 (안국건강(주))
4	복합소재 분석법 확립	■	■	■	■									이택환 (안국건강(주))
5	최종 제품의 안전성 평가 (단회 투여독성, 반복 투여독성 등)					■	■	■	■	■	■	■	■	임병우 (건국대학교글로벌산 약협력단)
6	제품의 인체적용시험 준비 (CRO, IRB 승인) 및 시행	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	임병우 (건국대학교글로벌산 약협력단)
7	복합소재의 동물모델 전임상 평가				■	■	■	■	■	■	■	■	■	정민선 (가천대학교 신약협력단)

3차년도														
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정											책임자 (소속기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		12
1	최종 제품의 생산을 위해 대량생산 생산과 품질기준, 포장, 디자인 등의 설정 및 시장 진입 전략 수립													이택환 (안국건강(주))
2	표준화된 기능성 원료를 이용한 제품개발													이택환 (안국건강(주))
3	기능성 신소재의 산업화(대량생산) 공정 확립													이택환 (안국건강(주))
4	복합물질 신소재 시제품의 안정성 평가 및 위해물질 분석													이택환 (안국건강(주))
5	대량생산 제조공정별 지표성분 분석													이택환 (안국건강(주))
6	인체적용 시험 및 개별인정형 원료 인증을 위한 식약처 자료 제출													임병우 (건국대학교글로벌산학협 력단)

## 2-4. 연구 결과

### 2-4-1. 1차년도 연구결과

#### ○ 유색미의 항산화 활성 분석

##### 1) 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석

<표 1. 유색미들의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석>

Extract	Total Phenolic (mg GAE†/100 g of dry mass)	Total flavonoid (mg CE††/100 g of dry mass)	Yield (%)
흑미 열수추출물	37.62 ± 1.76	2.43 ± 0.10	2.98
흑미 에탄올추출물	63.36 ± 0.63	2.90 ± 0.10	4.00
적미 열수추출물	35.10 ± 1.38	0.41 ± 0.02	3.26
적미 에탄올추출물	50.79 ± 2.26	2.53 ± 0.00	11.84
녹미 열수추출물	14.67 ± 0.93	1.46 ± 0.02	3.39
녹미 에탄올추출물	53.14 ± 1.32	2.29 ± 0.05	19.42

All data are expressed as mean ± standard deviation (n=3)  
 †GAE: gallic acid equivalent, ††CE: catechin equivalent

- 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 흑미 에탄올추출물 > 적미 에탄올추출물 > 녹미 에탄올추출물로 나타났다.
- 대부분 에탄올추출물에서 유효 성분이 많이 함유 된 것으로 나타났다.

2) DPPH 라디칼 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능

<표 2. 유색미들의 라디칼 소거능>

Extract	DPPH radical		ABTS <sup>+</sup> radical	
	Scavenging activity (%) (2mg/mL)	IC <sub>50</sub> /value mg/mL	Scavenging activity (%) (2mg/mL)	IC <sub>50</sub> /value mg/mL
흑미 엠티추출물	51.16 ± 4.46	1.33 ± 0.22	97.50 ± 2.05	0.78 ± 0.02
흑미 에탄올추출물	92.21 ± 0.42	0.25 ± 0.04	98.79 ± 0.75	0.10 ± 0.004
적미 엠티추출물	31.63 ± 3.04	3.33 ± 0.41	26.95 ± 3.15	3.56 ± 0.14
적미 에탄올추출물	48.42 ± 3.05	2.09 ± 0.17	79.73 ± 1.01	0.47 ± 0.02
녹미 엠티추출물	33.81 ± 5.29	2.60 ± 0.18	85.62 ± 1.91	0.93 ± 0.01
녹미 에탄올추출물	91.97 ± 0.64	0.37 ± 0.02	98.50 ± 0.86	0.18 ± 0.01
Positive control (BHT)	95.36 ± 0.37	0.02 ± 0.001	99.43 ± 1.27 (Ascorbic acid)	0.01 ± 0.001

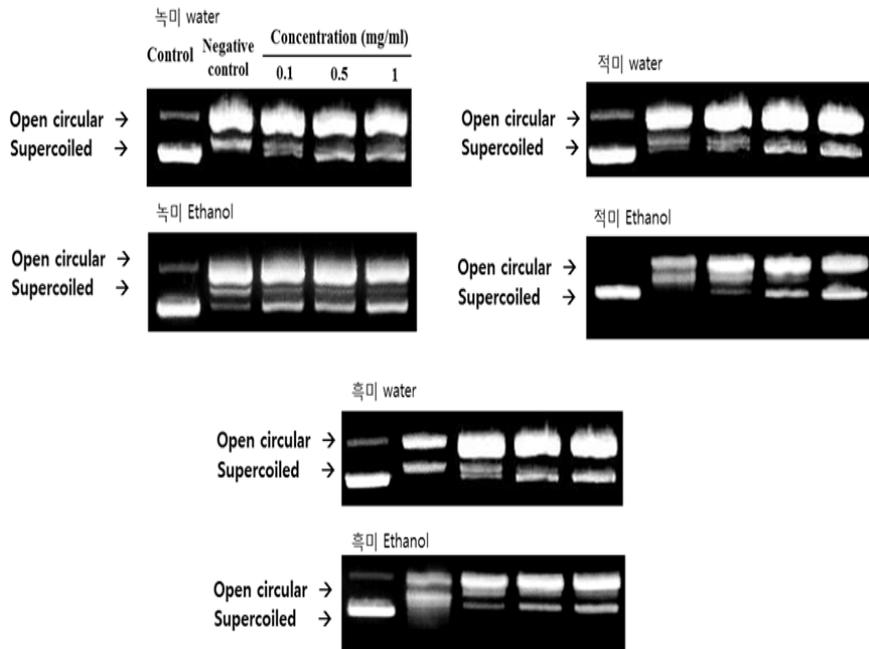
<표 3. 유색미들의 IC<sub>50</sub> 값>

Extract	DPPH radical		ABTS radical	
	Scavenging activity (%) (2mg/mL)	IC <sub>50</sub> /value mg/mL	Scavenging activity (%) (2mg/mL)	IC <sub>50</sub> /value mg/mL
녹미 DW	31.63 ± 3.04	3.33 ± 0.41	26.95 ± 3.15	3.56 ± 0.14
녹미 EtOH	48.42 ± 3.05	2.09 ± 0.17	79.73 ± 1.01	0.47 ± 0.02
적미 DW	33.81 ± 5.29	2.60 ± 0.18	85.62 ± 1.91	0.93 ± 0.01
적미 EtOH	91.97 ± 0.64	0.37 ± 0.02	98.50 ± 0.86	0.18 ± 0.01
흑미 DW	51.16 ± 4.46	1.33 ± 0.22	97.50 ± 2.05	0.78 ± 0.02
흑미 EtOH	92.21 ± 0.42	0.25 ± 0.04	98.79 ± 0.75	0.10 ± 0.004
Positive control (BHT)	95.36 ± 0.37	0.02 ± 0.001	99.43 ± 1.27 (Ascorbic acid)	0.01 ± 0.001

All data are expresses as mean ± standard deviation (n=3)

- DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능을 확인한 결과, 표1과 같이 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높은 에탄올 추출 물에 효능이 높은 것으로 나타났음.
- 특히 흑미와 녹미 에탄올 추출물에서 우수한 효능이 나타나는 것으로 확인되었음.
- 유색미의 IC<sub>50</sub> (50%억제시키는 최적 농도) 값을 확인한 결과, 표2과 흑미 에탄올 추출물에서 0.25 ± 0.04로 positive control과 유사한 높은 활성이 있음을 확인할 수 있었음 (표3).

3) 산화적 DNA 손상 보호능 평가

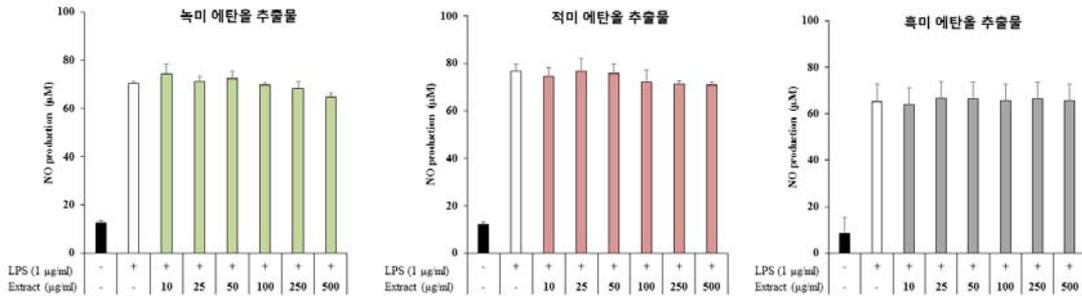


<그림 1. 유색미의 산화적 DNA 손상 보호능 평가>

Lane 1: untreated control DNA; lane 2: FeSO<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (DNADamage control); lanes3-5: FeSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and different concentration of sampels (0.5, 1, and 2 mg/ml). All data are expresses as mean ± standard deviation (n=3)

- 산화적 DNA 손상 보호능을 평가한 결과 각 유색미들은 농도 의존적으로 회복하는 것을 나타내었음.

#### 4) 유색미의 NO 억제능 평가



<그림 2. 유색미의 NO 억제능 평가>

All data are expresses as mean  $\pm$  standard deviation (n=3)

- 염증 유도인자인 LPS(lipopolysaccharide, 1  $\mu$ g/ml)를 처리한 RAW264.7 세포에 유색미를 다양한 농도로 처리한 결과, NO억제능이 미미한 것으로 확인되었음.

#### ○ 블루베리의 생리활성 분석

##### 1) 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석

<표 4. 유색미들의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석>

Extract	Total Phenolic (mg GAE <sup>†</sup> /100 g of dry mass)	Total flavonoid (mg CE <sup>††</sup> /100 g of dry mass)	Yield(%)
BBD	26,785.19 $\pm$ 339.45	215.14 $\pm$ 4.81	10.5
BBE	64,192.59 $\pm$ 678.90	360.97 $\pm$ 14.63	13.1

All data are expresses as mean  $\pm$  standard deviation (n=3)

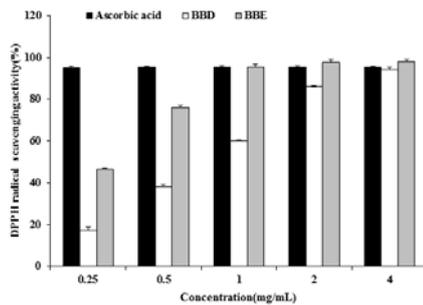
<sup>†</sup>GAE: gallic acid equivalent, <sup>††</sup>CE: catechin equivalent

BBD: blueberry water extract, BBE: blueberry ethanol extract.

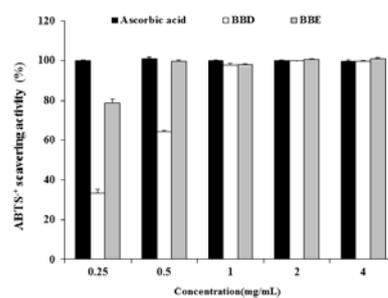
- BBE에서 BBD의 함량이 높은 것으로 나타났음.

##### 2) 항산화 효능 검증

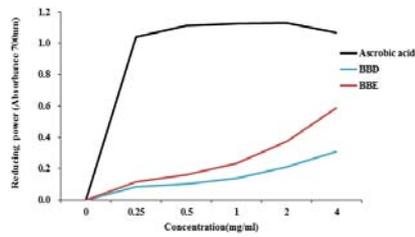
###### (A) DPPH 라디칼 소거능



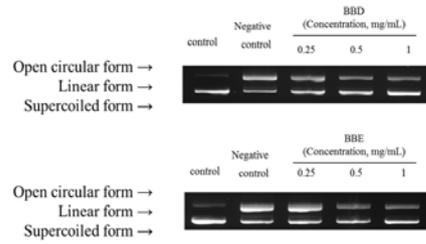
###### (B) ABTS<sup>•+</sup> 라디칼 소거능



(C) 환원력



(D) DNA 회복능



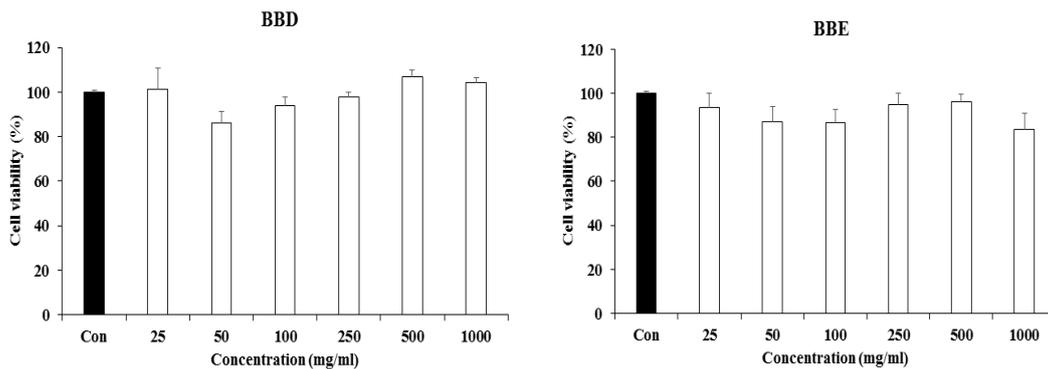
<그림 3. 블루베리 추출물의 항산화 효능>

The data of DPPH and ABTS assay, and reducing power are expresses as mean  $\pm$  standard deviation (n=3). The protective effect of DNA damage assay was examined as following belows: Lane 1: untreated control DNA; lane 2: FeSO<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (DNAdamage control); lanes3-5: FeSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and different concentration of sampels (0.5, 1, and 2 mg/ml).

- BBE가 BBE보다 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 유사한 결과로 약 2배가 높은 항산화 효능을 확인할 수 있었음.
- 특히, BBE는 항산화 소거활성이 높으므로 산화적 스트레스에 관련된 질병 예방에 효과적일 것으로 판단됨.

3) 항염증 효능 검증

○ RAW 264.7 세포에서의 세포독성

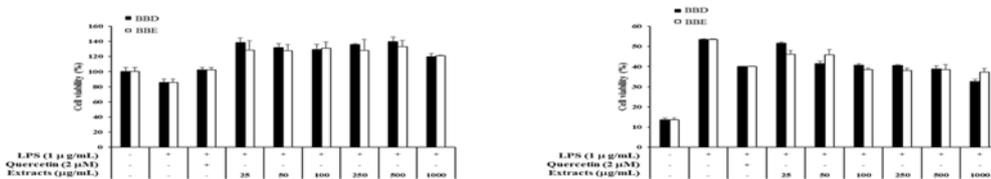


<그림 4. 블루베리 추출물의 세포독성>

All data are expresses as mean  $\pm$  standard deviation (n=3).

- RAW 264.7 세포에서 각 추출물을 농도별로 처리한 결과, 세포독성이 없음을 확인할 수 있었음.

○ LPS(Lipopolysaccharide)가 유도된 RAW 264.7 세포에서의 세포독성 및 NO 측정



<그림 5. 블루베리 추출물의 NO 억제능>

All data are expresses as mean  $\pm$  standard deviation (n=3).

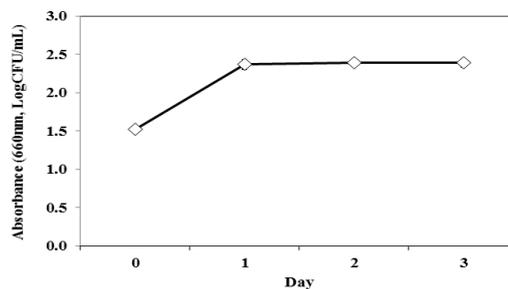
- 유색미 중 흑미 에탄올추출물은 다른 유색미에 비해 항산화 효능이 우수함을 확인함.
- 본 연구진은 피부염 개선 소재를 개발하기 위하여 흑미 추출물과 함께 활용할 수 있는 천연물을 탐

색하였고, 그 중에서 항염증을 지닌 블루베리를 첨가하여 본 과제를 진행하고자 하였음.

- 실질적, 블루베리 에탄올 추출물은 High glucose medium을 첨가하여 염증을 유도하였을 때, NO생성능이 농도의존적으로 억제시키는 것으로 드러남.
- 특히, 블루베리는 건국대학교에서 항염증이 있음을 검증하였기에 이를 기준으로 연구를 수행함. (PERVIN, Mehnaz, et al. Preventive and therapeutic effects of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) extract against DSS-induced ulcerative colitis by regulation of antioxidant and inflammatory mediators. The Journal of nutritional biochemistry, 2016, 28: 103-113.)
- 따라서, 본 연구진은 상의 두 시료를 조합하여, 유산발효를 위한 최적 비율을 설정하고자 하였음.

○ 유산균의 최적발효 조건 확립

1) 균주의 최적시간 확립



<그림 6. *Lactobacillus casei* KCTC 3109의 순수 배양시간>

All data are expresses as mean ± standard deviation (n=3).

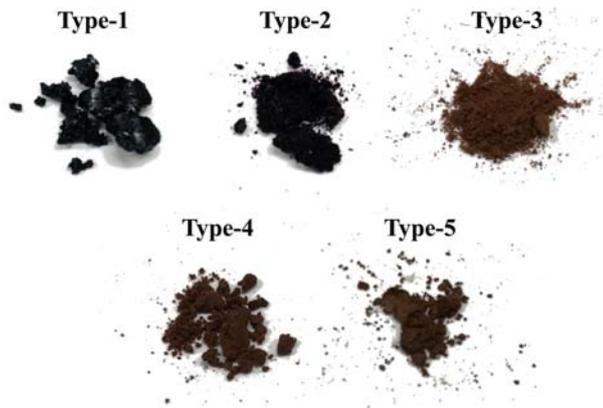
- *Lactobacillus casei* KCTC 3109를 순수배양 시에 1일 이후부터는 증대되지 않았음.
- 따라서, 이를 기반으로 유산발효 하고자 하였음.

2) 유산발효를 위한 복합소재 최적 농도 확립

<표 5. 복합소재 개발을 위한 비율 조건 및 수율>

	흑미 추출물 (10 mg/ml)	블루베리 추출물 (10 mg/ml)	수율
Type 1	1	9	34.7%
	100 ml	900 ml	
Type 2	3	7	34.4%
	300 ml	700 ml	
Type 3	5	5	30.0%
	500 ml	500 ml	
Type 4	7	3	32.7%
	700 ml	300 ml	
Type 5	9	1	36.9%
	900 ml	100 ml	

<그림7. 만들어진 시료>



- 본 연구진은 유산발효를 위해 5가지의 비율을 임의적으로 설정하였음.
- MRS 배지에서 하룻밤 배양한 유산균을 2% (v/v) 접종한 후, 24시간 동안 37°C에서 혐기적 조건으로 일정기간 발효함.
- 수율은 표4에서 보여주는 것과 같이 각 소재들은 30%에서 36.9% 사이로 나타났고, 그림7과 같이 흑

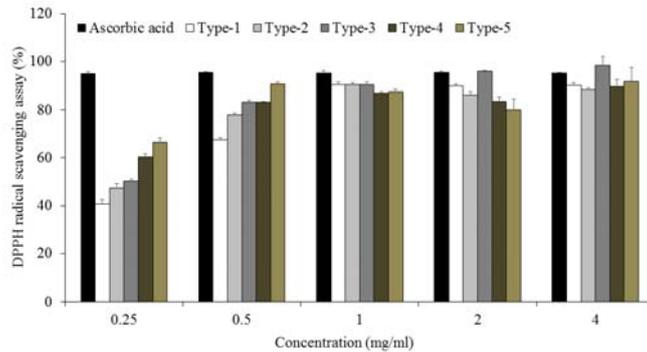
미 함유량이 적을수록 색 진하기가 열리는 것으로 나타났음.

- 발효된 각 복합 혼합물을 필터 한 후, 여과하여 동결건조를 하였고 이 중에서 가장 우수한 소재를 찾고자 하였음.

=> 본 연구진은 항산화 및 항염증을 검토하여 최적 소재로 선정하고, 이를 기반으로 항염증 기전을 조사하고자 하였음.

○ 항산화 및 항염증 효능을 통한 최적 복합소재 비율 설정

1) 각 비율별 DPPH 라디칼 소거능



<그림 8. 각 비율별 DPPH 라디칼 소거능>

All data are expresses as mean ± standard deviation (n=3).

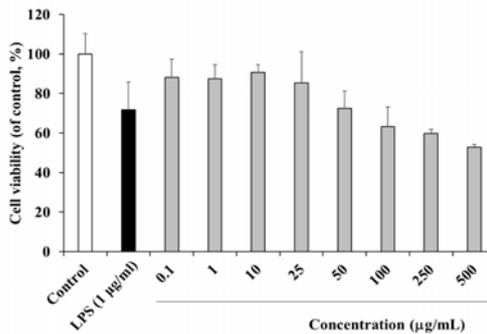
- 전반적으로 고농도에서는 positive control인 ascorbic acid와 비교하였을 때, 높은 소거능을 보이는 것으로 나타났음.

- 각 비율별 DPPH 라디칼 소거능은 0.25 mg/ml과 0.5 mg/ml에서 흑미 추출물의 함량이 높을수록 우수한 것으로 나타났음.

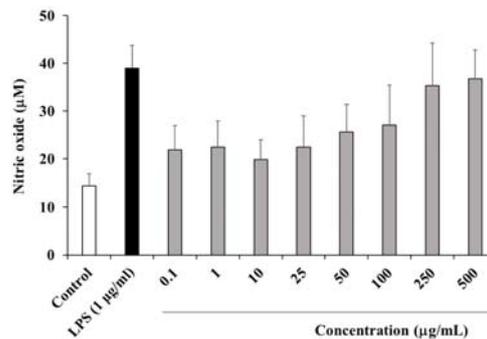
2) 각 비율별 항염증 효능 검증

2-1) 미세먼지 유도 조건 확립

(A) MTT assay



(B) NO assay



<그림 9. 미세먼지의 NO 생성능>

All data are expresses as mean ± standard deviation (n=3).

- 미세먼지를 그림 7에서 보는 바와 같이 다양한 농도로 RAW 264.7 cells에 처리하여 LPS (1 µg/ml)와 유사한 수준으로 NO 생성량을 나타내는 최적 농도를 설정하고자 하였음.

- LPS(1 µg/ml)의 농도에서는 NO 억제능이 38 µM로 나왔으며, 정상군에 비해 약 24%로 감소된 것으로 나타났음.

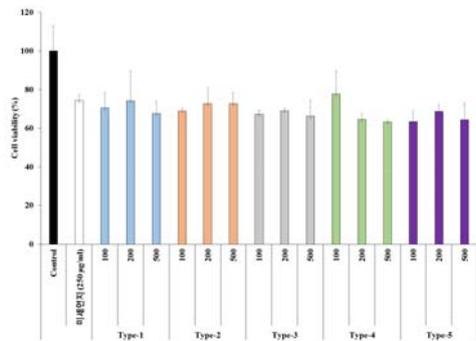
- 반면, 250 µg/ml과 500 µg/ml의 농도에서는 LPS와 유사한 NO 생성을 보였음.

- 다소 세포독성은 있으나 250 µg/ml 농도로 미세먼지를 처리 시에 *in vitro*상에서 항염증 효능을 검증하는 것에 있어 적절할 것으로 판단되어졌으며, 이들을 이용하여 각 비율별로 제조 되어진 복합 소재들

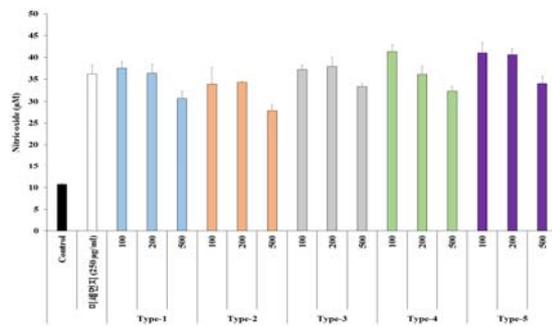
을 측정하기로 하였음.

2-2) 미세먼지로 유도된 RAW 264.7 세포에서의 NO 억제능 검토

(A) 세포 독성



(B) NO 억제능



<그림 10. 미세먼지로 유도된 RAW264.7세포에서 비올별 복합소재들의 NO 생성능>

All data are expresses as mean ± standard deviation (n=3).

- 250 µg/ml 농도의 미세먼지는 control보다 약 3.5배의 NO 생성률을 보였고, 40%로 감소된 세포 생존률을 보이는 것으로 나타났음.
- 미세먼지로 유도된 세포에 각 type별로 100, 200 및 500 µg/ml의 농도로 처리한 결과는 그림 8과 같음. 각 type별에서는 세포생존률은 미세먼지만 처리한 군과 별다른 차이가 없었음. 즉, 세포독성은 없는 것으로 판단됨.
- 또한, NO 생성능을 확인한 결과에서는 항산화 결과와 반비례적으로 블루베리 추출물이 많이 함유된 type-1과 type-2에서 농도의존적으로 억제되는 것을 확인되었음.
- 특히, type-2에서 가장 높은 NO 억제능을 보였고 그림 2과 그림5에서 보여주는 단독 추출물들 (흑미 및 블루베리 추출물)의 NO억제능 보다 우수한 것으로 보아, 유산발효에 의하여 항염증 효능이 높아진 것으로 예상함.

- 본 연구에서는 미세먼지로 유도되는 피부염을 예방하는 복합 소재를 개발하기 위하여 유색미와 천연물을 탐색하였음.

- 그 결과, 흑미와 블루베리의 복합소재가 우수하였으며, 이들을 3:7로 혼합하여 유산발효 할 시에 항산화와 항염효과가 증진되는 것을 확인할 수 있었음.

- 최적화된 소재의 항산화 및 항염증 효능을 다음 단계로 구체적으로 확인하고자 하였음.

○ 최종 복합소재의 항산화 효능 검증

1) 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

<표 6. 복합소재의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정>

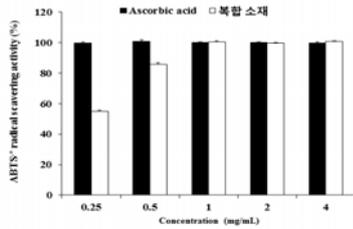
Extract	Total Phenolic (mg GAE†/100 g of dry mass)	Total flavonoid (mg CE†/100 g of dry mass)
복합 소재 (30% 흑미 에탄올 추출물 + 70% 블루베리 에탄올 추출물)	137,930.37 ± 4,895.62	1265.14 ± 14.63

All data are expresses as mean ± standard deviation (n=3).

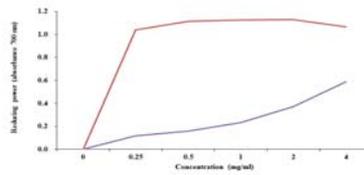
- 표1과 표4에서 나타난 각 추출물의 함량보다 유산발효 한 복합 소재의 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높아졌음.
- 이는 유산발효로 인하여 복합 소재 속에 존재하는 생리활성 효능이 증대된 것으로 판단됨.

2) 항산화 효능

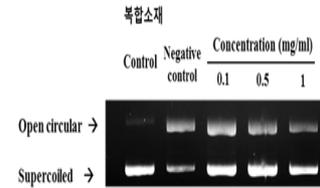
(A) ABTS<sup>+</sup>라디칼 소거능



(B) 환원력



(C) DNA 회복능



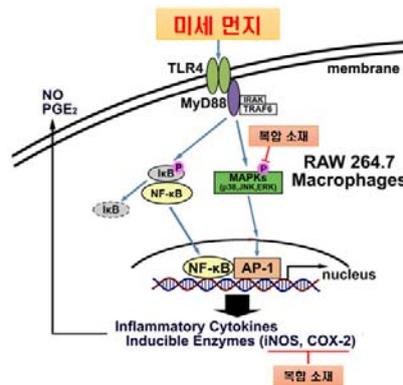
<그림 11. 항산화 효능 평가>

DPPH assay data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (n=3).

- 항산화 지표들도 또한 단독 추출물들에 비하여 유산발효로 인하여 증대된 것으로 나타났음.

○ 최종 복합소재의 항염증 기전 연구

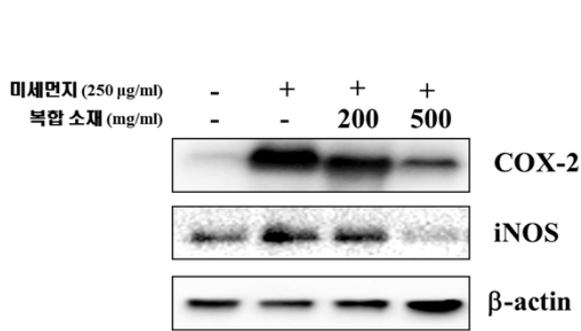
1) 예상되는 기전 모델



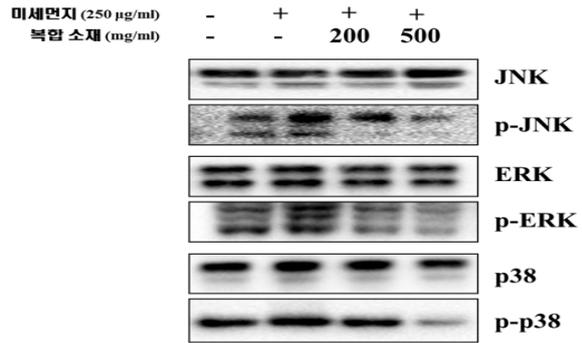
<그림 12. 미세먼지로 유도되는 염증 기전>

- 그림 12와 같이 미세먼지는 LPS와 유사하게 MAPK signaling을 통하여 염증을 유발할 것으로 예상하였음.
- 따라서 본 연구진은 iNOS, COX-2 및 MAPK signaling (p38, JNK, ERK)을 확인하였음.

2) 염증 반응을 유도하는 COX-2와 iNOS의 발현 정도



<그림 13. COX-2와 iNOS의 발현>



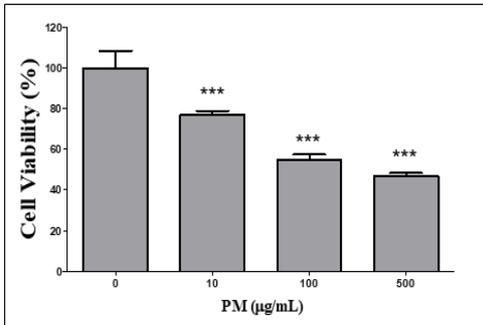
<그림 14. MAPK signaling의 발현>

- 그림 13과 같이, 염증 반응에 발현되는 iNOS와 COX-2물질들은 250 µg/ml의 미세 먼지를 처리하였을 때에 많은 양이 발현되는 것으로 나타났음. 반면에, 복합소재를 200 µg/ml과 500 µg/ml로 함께 처리한 결과에서는 감소되는 것을 확인하였기에 MAPK signaling을 통하여 반응되는지에 대해서도 조사하였음.
- 그림 14에서 보이는 바와 같이 복합소재의 처리는 대식세포에서 인산화된(p)-p38, p-JNK 및 p-ERK의 발현양이 줄어드는 것을 확인할 수 있었음.

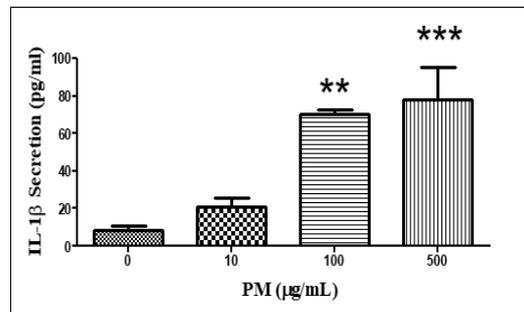
- 본 연구에서는 미세먼지로 유도되어 생성된 염증반응에 관여하는 단백질 인자들이 발효하여 제조된 복합 소재로 인하여 감소되는 것을 확인할 수 있었음.  
 - 이러한 사항들은 2차년도 동물실험을 통하여 확인해져야 할 것으로 판단됨.

<제 2협동- 가천대학교 산학협력단>

- 각질형성세포주(HaCaT)에서 미세먼지 유도성 염증반응 검증



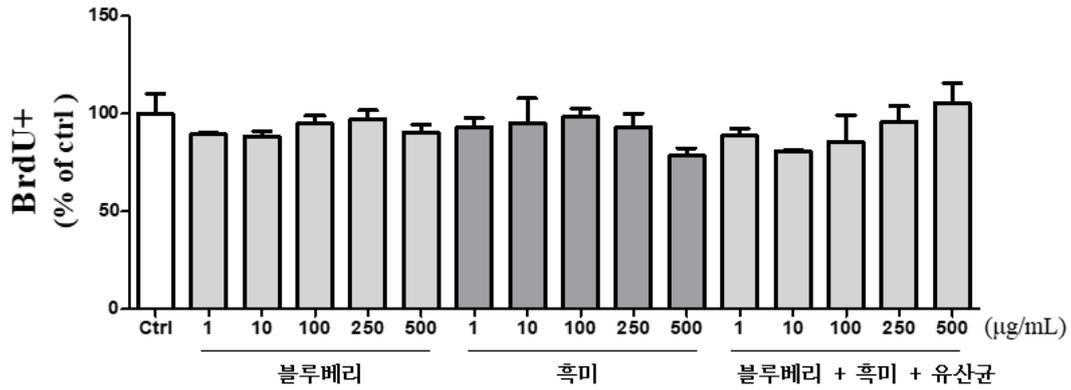
<그림 15. 미세먼지의 세포독성 평가>



<그림 16. 미세먼지에 의한 염증성 사이토카인의 분비 측정>

- 그림 1과 같이, 인간유래각질형성세포주(HaCaT)에 미세먼지를 처리하고 MTT assay를 통해 세포생존률을 측정한 결과, 미세먼지가 농도의존적으로 세포생존률을 감소시킴을 확인함.
- 그림 2에서와 같이, 인간유래각질형성세포주(HaCaT)에 미세먼지를 처리하고 염증성 사이토카인인 IL-1β의 분비량을 측정한 결과, 미세먼지의 농도가 증가함에 따라 IL-1β의 분비량이 증가하였음.

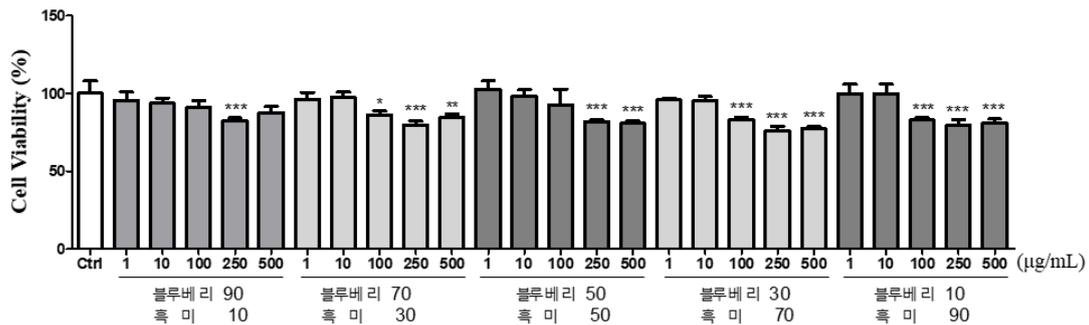
- 단일소재(블루베리, 흑미) 및 복합소재의 세포독성 평가



<그림 17. 단일소재(블루베리, 흑미) 및 복합소재의 세포독성 평가>

- 그림 3에서와 같이, 인간유래각질형성세포주(HaCaT)에서 BrdU assay를 통해 원료 단일물질(블루베리 및 흑미의 에탄올 추출물)과 복합소재(블루베리와 흑미 혼합물의 유산균 발효물질)의 세포독성을 확인한 결과, 세 종류의 물질 모두 유의미한 수준에서의 세포독성은 없는 것으로 보임.

○ 블루베리, 흑미 조성에 따른 복합소재의 세포독성 평가

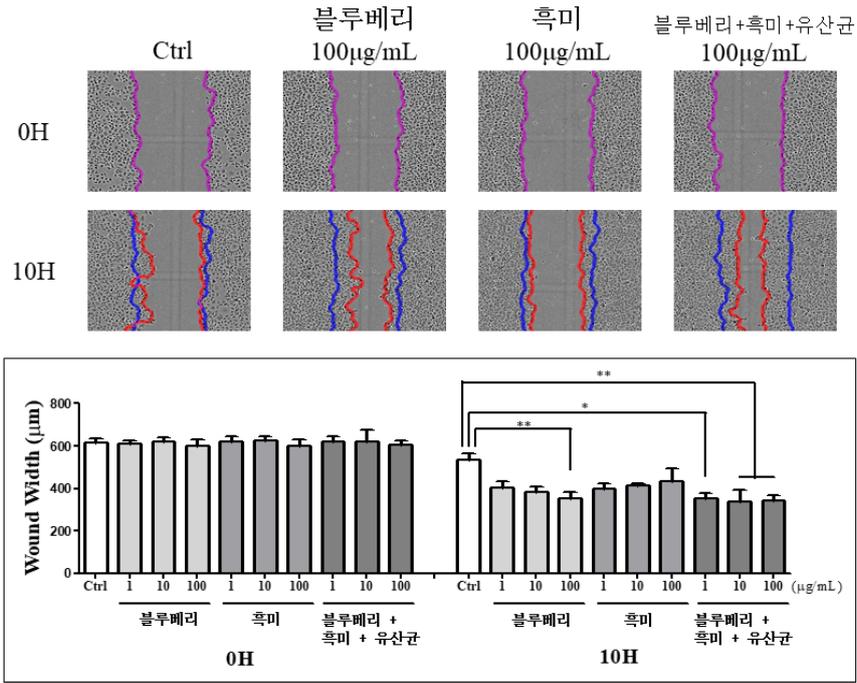


<그림 18. 블루베리, 흑미 조성에 따른 복합소재의 세포독성 평가>

- 그림 4에서와 같이, 인간유래각질형성세포주(HaCaT)에서 BrdU assay를 통해 복합소재의 세포독성을 측정할 결과, 복합소재의 블루베리, 흑미 조성에 따라 세포독성에서 차이가 남을 확인함. 전반적으로, 흑미의 비율이 증가할수록 복합소재의 세포독성이 증가하는 경향을 보임.

- 고농도(250µg/mL 이상) 시료 처리 시에도 약 80% 이상의 높은 세포생존률을 나타내는 것을 보아, 본 실험에서 사용한 모든 복합소재가 대체적으로 낮은 세포독성을 가짐을 알 수 있음.

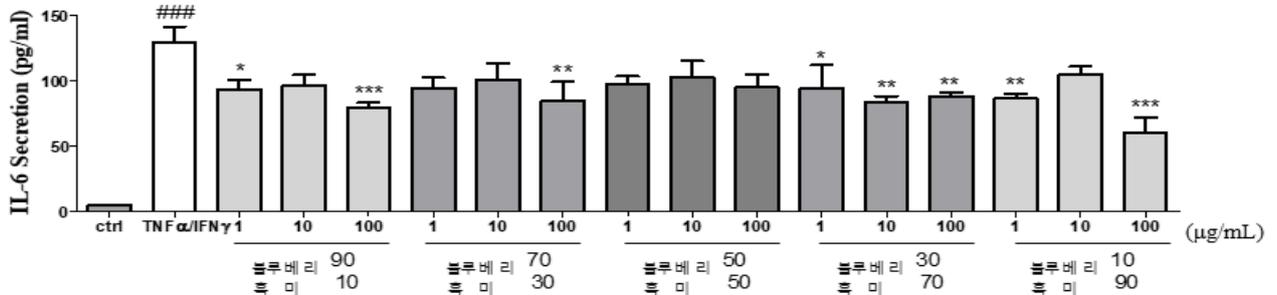
○ 단일소재(블루베리, 흑미) 및 복합소재의 상처치유능력 평가



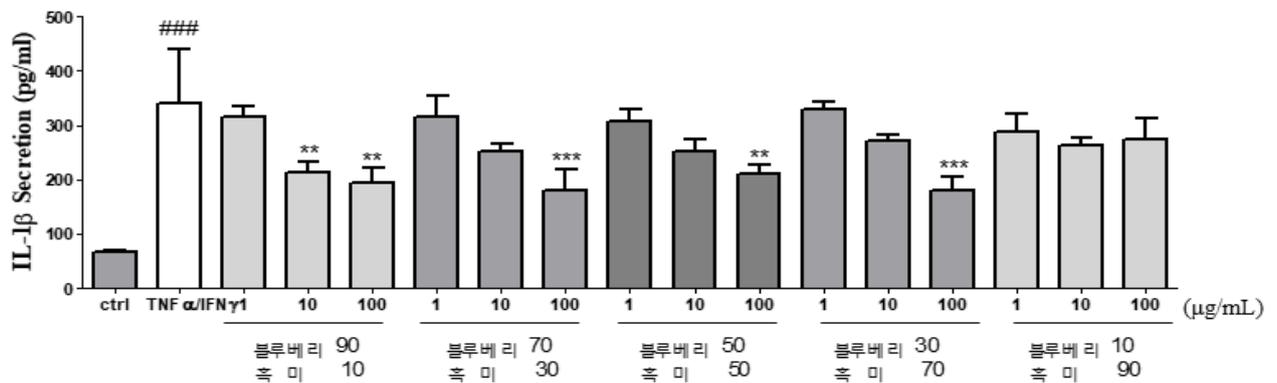
<그림 19. 단일소재(블루베리, 흑미) 및 복합소재의 상처치유능력 평가>

- Wound healing assay를 통해 인간유래각질형성세포주(HaCaT)에서 원료 단일물질(블루베리 및 흑미의 에탄올 추출물)과 복합소재(블루베리와 흑미 혼합물의 유산균 발효물질)의 상처치유능력을 평가한 결과, 단일소재 처리군에 비해 복합소재 처리군에서 상처치유능력이 가장 크게 증가하였음.

○ 블루베리, 흑미 조성에 따른 복합소재의 염증성사이토카인 분비억제능 평가



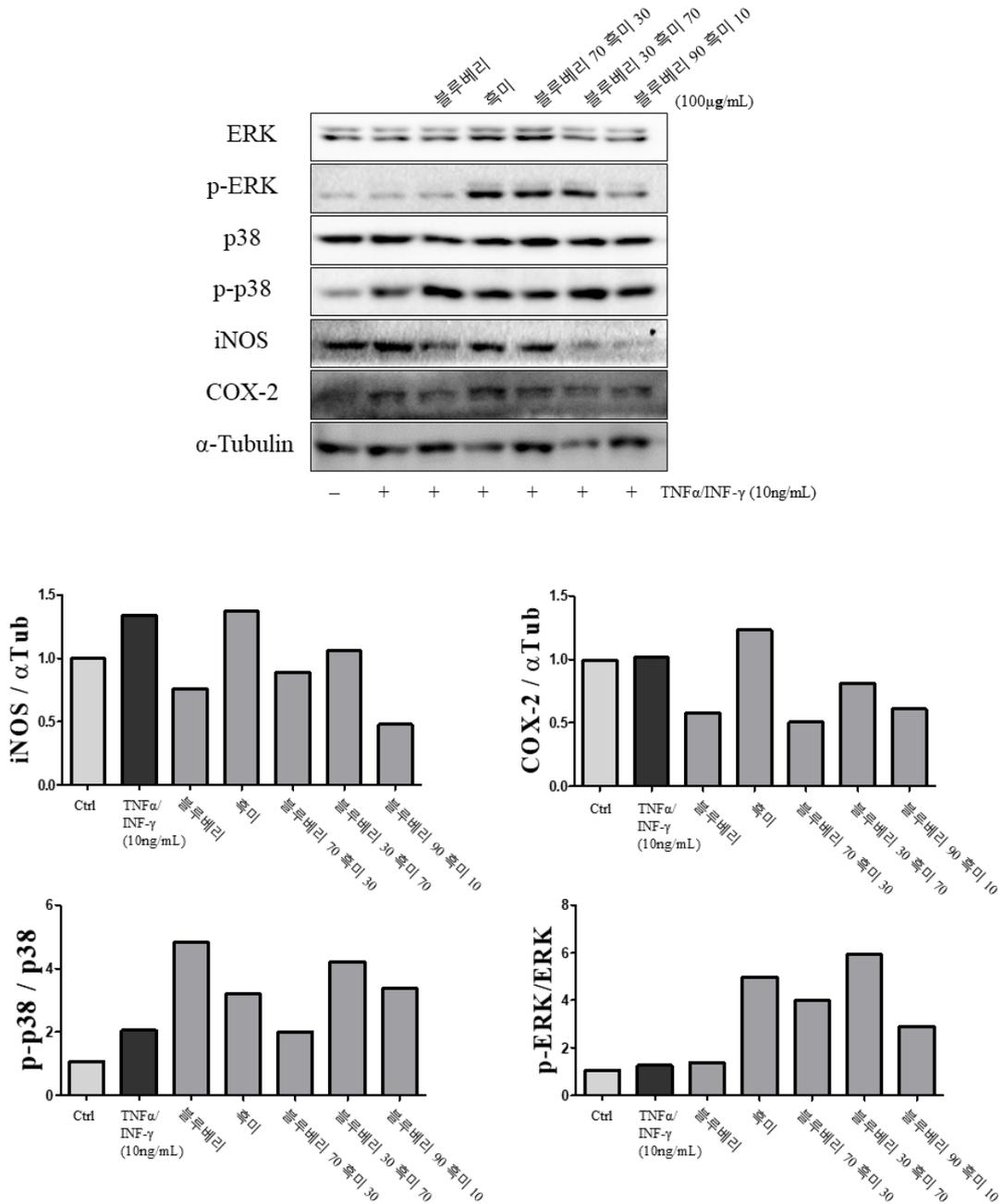
<그림 20. HaCaT에서 시료처리에 따른 IL-6 분비량 측정>



<그림 21. HaCaT에서 시료처리에 따른 복합소재의 IL-1β 분비량 측정>

- 그림 6, 7에서와 같이, TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  로 유도된 각질형성세포주에서 염증성 사이토카인인 IL-6와 IL-1 $\beta$ 의 분비량을 ELISA assay를 통해 측정한 결과, 고농도 (100  $\mu$ g/mL)의 시료 처리시, IL-6 혹은 IL-1 $\beta$ 의 분비량이 유의미하게 감소함을 알 수 있음.
- 특히, 블루베리 90/흑미 10, 블루베리 70/흑미 30, 블루베리 30/흑미 70 비율의 복합소재들이 IL-6와 IL-1 $\beta$ 의 분비량을 모두 감소시킴을 관찰함.

○ 단일소재(블루베리, 흑미) 및 복합소재 처리에 따른 염증성 인자 발현량 측정



<그림 22. HaCaT에서 시료처리에 따른 염증관련 신호단백질 발현량 측정>

- Western blot analysis를 통해 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  로 유도된 HaCaT 세포에서 단일소재(블루베리, 흑미) 및 복합소재

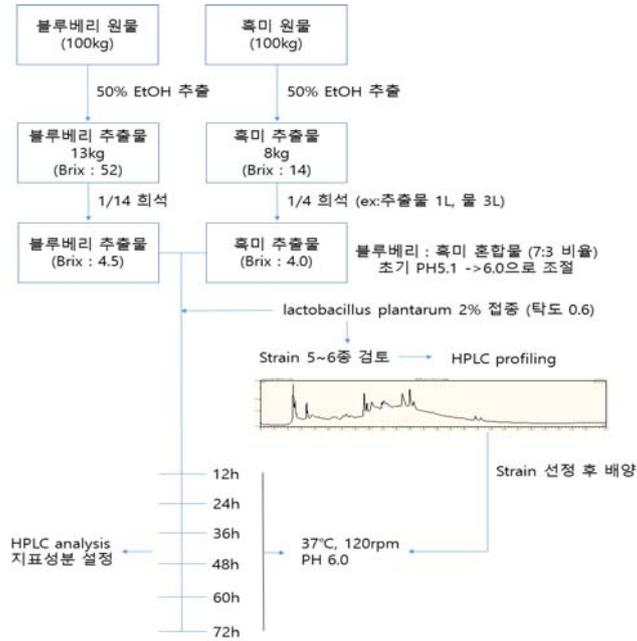
처리에 따른 염증성 인자 발현량을 측정된 결과, 복합소재 처리군에서 iNOS와 COX-2의 발현량이 감소함을 확인함.

- 특히, 흑미 단일물질 추출물은 iNOS와 COX-2의 발현량에 영향이 없으나, 블루베리와 혼합하여 발효시켰을 경우, 이 두 가지 염증관련 인자의 발현량을 감소시킴을 확인함.
- iNOS와 COX-2의 상위 신호분자인 p38와 ERK 등의 MAPK 인산화 정도는 추후 실험을 통해 확인해야 할 것으로 보임.

2-4-2. 2차년도 연구결과

<주관기관- 안국건강(주)>

○ 복합물질 신소재 시제품 설계 및 제작



<흑미, 블루베리 유산균 제조 공정도>



<흑미, 블루베리 유산균 분말화 시제품>

- 원형 제형 개발 및 인제적용 시험을 위한 제형화 연구



<흑미, 블루베리 유산균 환제, 분말, 정제 타입>

○ 복합물질 신소재 안정성 평가 (중금속)

시험항목		기준	실측치
중금속(mg/kg)	납	1이하	0.02
	총비소	1이하	0.16
	카드뮴	0.9이하	0.01
	총수은	0.6이하	불검출

○ 복합물질 신소재 안정성 평가 (잔류농약 58종)

항목	결과 (ppm)	항목	결과 (ppm)
메톡시페노자이드	불검출	보스칼리드	0.03
아세타미프리드	불검출	아족시스트로빈	0.01
아트라진	불검출	아이소프로티올레인	불검출
카바릴	불검출	캡탄	불검출
톨클로포스메칠	불검출	트리플루무론	불검출
티아메톡삼	불검출	펜헥사미드	0.01
프로페노포스	불검출	블루벤디아마이드	불검출
플로페녹수론	불검출	피라클로스트로빈	불검출
피리메타닐	불검출	피리미포스메틸	불검출
다이아지논	불검출	디디티	불검출
디코폴	불검출	디클로르보스	불검출
말라티온	불검출	메토밀(티오디카브 포함)	불검출
비에치시	불검출	비펜트린	불검출
사이퍼메트린	불검출	사이프로디닐	불검출
사이할로트린	불검출	에티온	불검출
엔도설판	불검출	이마잘릴	0.2
이프로디온	불검출	카보퓨란	불검출
퀸토젠	불검출	클로로탈로닐	불검출
클로르피리포스	불검출	클로르피리포스-메틸	불검출
클로르페나피르	불검출	트리아디메폰	불검출
트리아조포스	불검출	트리플루미졸	불검출
파라티온	불검출	파라티온메틸	불검출
파클로부트라졸	불검출	퍼메트린	불검출
페나리몰	불검출	페니트로티온	불검출
펜발러레이트	불검출	펜토에이트	불검출
펜프로파트린	불검출	포스멧	불검출
프로사이미돈	불검출	프로클로라즈	불검출
피리미카브	불검출	플루디옥소닐	0.01
메티다티온	불검출	디메토에이드	불검출



일반 제 15448 호

## 시 험 성 적 서

검 채 명	블루베리 흑미 유산균				
회 사 명	안국건강(주)		대 표 자	어광	
주 소	경기도 화성시 향남읍 제약공단1길 40				
시험항목	메톡시페노자이드 외 63항목		제조번호	18F0906-B	
의뢰목적	제출용	제조일자	2018.09.12	유통기한	
				접수일자	2018.10.02

귀하가 우리 연구원에 검사 의뢰한 결과는 다음과 같습니다.

알칸.....미검사의 분말임 메톡시페노자이드(ppm).....불검출 아세 타이프리드(ppm).....불검출 아르칸진(ppm).....불검출 카바닐(ppm).....불검출 톨루엔포스페닐(ppm).....불검출 티아메톡살(ppm).....불검출 프로피노포스(ppm).....불검출 클루로녹수론(ppm).....불검출 피리피탈(ppm).....불검출 다이아지논(ppm).....불검출 디코롤(ppm).....불검출 알라티온(ppm).....불검출 비에지시(ppm).....불검출 사이메트랄(ppm).....불검출 사이할로트랄(ppm).....불검출 엔도살판(ppm).....불검출 이프로디온(ppm).....불검출 엔도진(ppm).....불검출 글루코미리프스(ppm).....불검출 글루코클로나피루(ppm).....불검출 프리아조포스(ppm).....불검출 파라티온(ppm).....불검출 파탈로부트랄(ppm).....불검출 페나르올(ppm).....불검출 펜살라렌이브(ppm).....불검출 푼프로파르틴(ppm).....불검출 프로사이미온(ppm).....불검출 피리피카브(ppm).....불검출 테티타론(ppm).....불검출 ㄴ(mg/kg).....0.02 총비소(mg/kg).....0.10	보스칼리드(ppm).....0.03 마복시스로빈(ppm).....0.01 마이소프롤티올레인(ppm).....불검출 헵탄(ppm).....불검출 트리클로푸루온(ppm).....불검출 퀸텍사이드(ppm).....0.01 플루벤디아마이드(ppm).....불검출 피라글로스트로빈(ppm).....불검출 피리메포스페닐(ppm).....불검출 디디타(ppm).....불검출 디클로로보스(ppm).....불검출 메토일(디오디카보 포함)(ppm).....불검출 비엔트린(ppm).....불검출 사이프로다닐(ppm).....불검출 테티온(ppm).....불검출 이마글릴(ppm).....0.2 카보퓨란(ppm).....불검출 클로로탈로닐(ppm).....불검출 글루코미리프스-이탈(ppm).....불검출 프리아디피렌(ppm).....불검출 프라클루미롤(ppm).....불검출 파라티온메틸(ppm).....불검출 페어트린(ppm).....불검출 페니트로탄(ppm).....불검출 퀴노에이브(ppm).....불검출 모스넷(ppm).....불검출 프로클로라즈(ppm).....불검출 푼투디옥소닐(ppm).....0.01 디테오에이트(ppm).....불검출 카드(mg/kg).....0.01 총수은(mg/kg).....불검출 값
--	--

2018년 10월 19일

**한국식품과학연구원**

16001 경기도 의왕시 봇들로 50 (포일동 660-4) T:02-3470-8200 F:02-523-2072



이 성적은 제출된 검체에 한하며, 의뢰목적 이외의 상품 선전 등 상업용 및 자가품질검사용으로 사용할 수 없음.

○ 소비자 기호도 평가

- 총 참여 명수 : 102명 (남 : 45/ 여 : 57)



<소비자 기호도 검사 현장 사진>

**소비자 기호도 검사**

제품 Code: # \_\_\_\_\_ 성별 : \_\_\_\_\_ 나이 : \_\_\_\_\_

1. 위의 시료를 맛보신 후 귀하의 의견을 가장 잘 표현한 난(□)에 표시(V)해 주십시오.

색/Color (5점)

매우 좋다(5)	좋다(4)	보통이다(3)	싫다(2)	매우 싫다(1)

향/Flavor (5점)

매우 좋다(5)	좋다(4)	보통이다(3)	싫다(2)	매우 싫다(1)

맛/Taste (5점)

매우 좋다(5)	좋다(4)	보통이다(3)	싫다(2)	매우 싫다(1)

입안에서의 느낌 /mouthfeel (5점)

매우 좋다(5)	좋다(4)	보통이다(3)	싫다(2)	매우 싫다(1)

종합적인 기호도/Overall acceptance (5점)

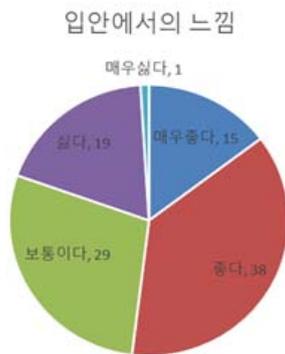
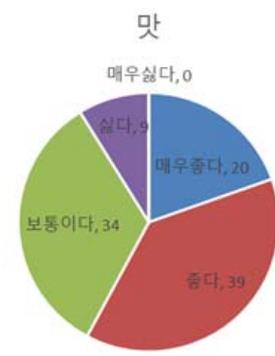
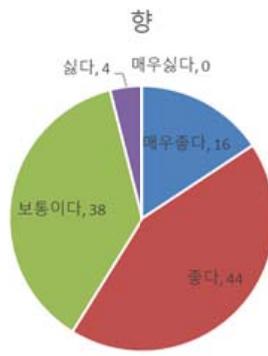
매우 좋다(5)	좋다(4)	보통이다(3)	싫다(2)	매우 싫다(1)

의견 \_\_\_\_\_

\* 대단히 감사합니다.

<소비자 기호도 평가지>

- 총 5가지 항목을 평가 : 색, 향, 맛, 입안에서의 느낌, 종합적인 기호도, 기타 의견



- 5점 만점 기준 : 색 (3.87점), 향 (3.71점), 맛 (3.69 점), 입안에서의 느낌 (3.46 점), 종합적인 기호도 (3.75 점), 평균 (3.69 점)

○ 복합소재 분석법 확립

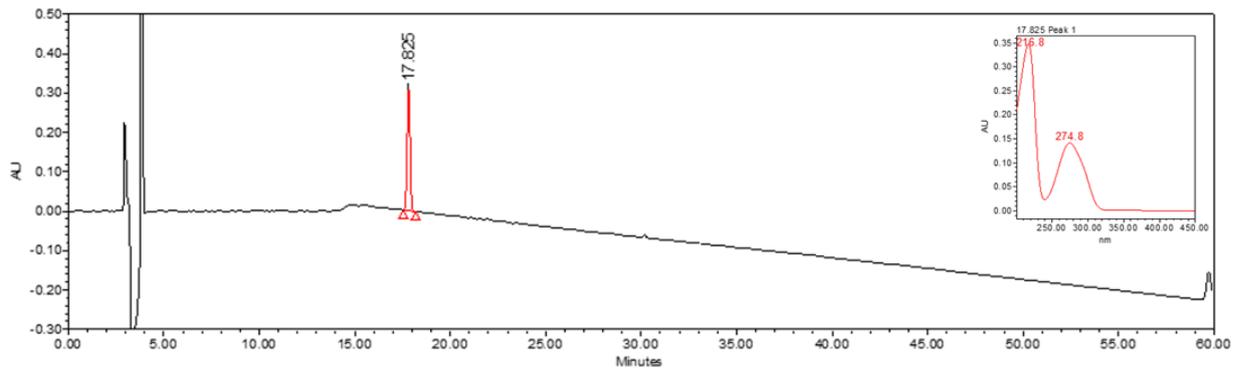
- HPLC 분석 조건 확립
- Temperature.Nominal = 40.0 [°C]
- Temperature.LowerLimit = 35.0 [°C]
- Temperature.UpperLimit = 45.0 [°C]
- EquilibrationTime = 1.0 [min]
- ReadyTempDelta = 1.0 [°C]
- Pressure.LowerLimit = 0 [psi]
- Pressure.UpperLimit = 8992 [psi]
- DrawSpeed = 5.000 [µl/s]
- DrawDelay = 3000 [ms]
- DispSpeed = 20.000 [µl/s]
- DispenseDelay = 0 [ms]
- WasteSpeed = 32.000 [µl/s]
- SampleHeight = 2.000 [mm]
- InjectWash = AfterDraw
- WashVolume = 100.000 [µl]
- WashSpeed = 20.000 [µl/s]
- LoopWashFactor = 2.000
- Data\_Collection\_Rate = 2.5 [Hz]

- TimeConstant = 0.60 [s]
- UV\_VIS\_1.Wavelength = 290 [nm]
- UV\_VIS\_2.Wavelength = 520 [nm]

	A용매 (0.5% Phosphoric acid in DW)	B용매 (Water-acetonitrile(50:50, V/V))
0min	%	18%
23min	50%	50%
28min	72%	18%
33min	72%	18%
40min	0%	0%

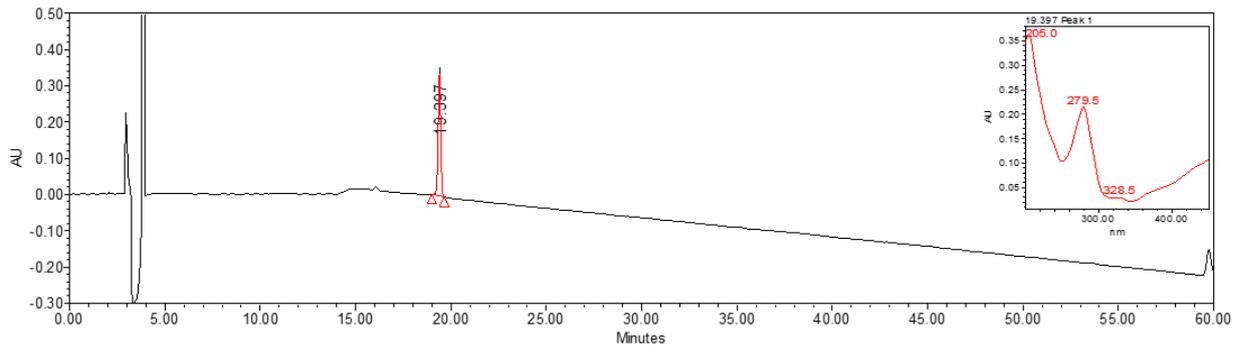
○ 복합물질 신소재의 지표성분 설정 및 함량 분석

- 지표성분 1 : Syringic acid (UV 210nm)



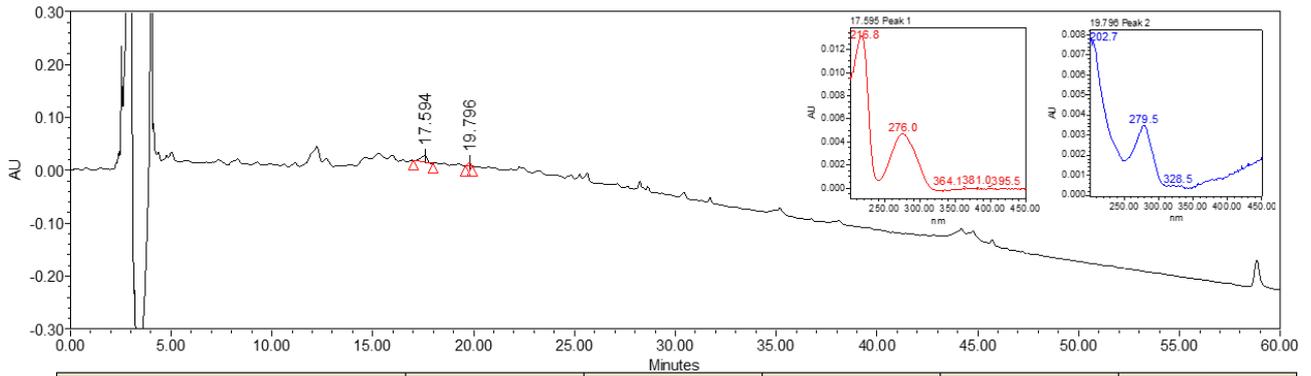
<복합물질 신소재의 지표성분인 Syringic acid의 HPLC 결과>

- 지표성분 1 : Kuromanin chloride (UV 210nm)



<복합물질 신소재의 지표성분인 Kuromanin chloride의 HPLC 결과>

<복합물질 신소재에 함유된 지표성분인 Syringic acid, Kuromanin chloride의 HPLC 결과>



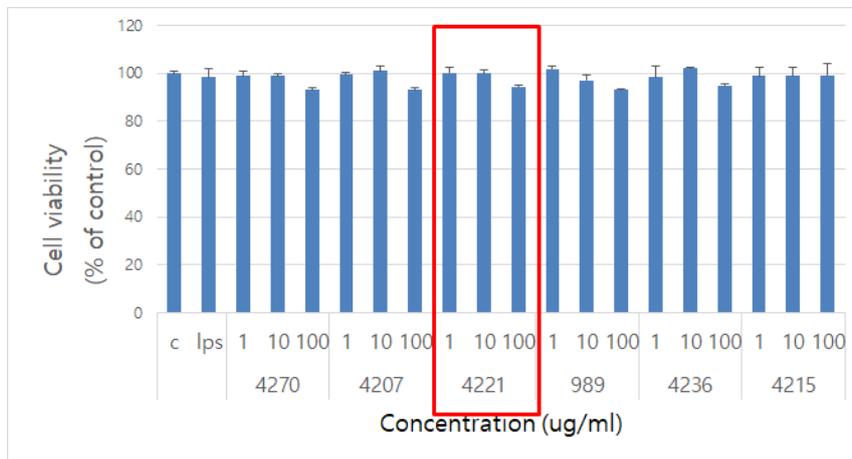
Name	농도 (mg/ml)	UV (nm)	Rt (min)	Area (348nm)	함량 (ug/g)
Syringicacid	0.1	210	17.825	3147489	
Sample	40	210	17.594	314643	62.479
Kuromanin Chloride	0.1	210	19.397	3203049	
Sample	40	210	19.796	49616	9.681

<복합물질 신소재의 지표성분 함량 분석 결과>

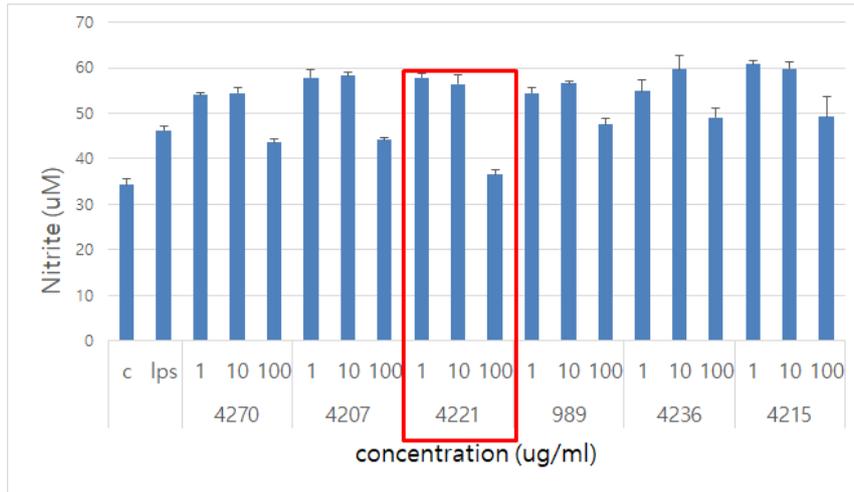
<제 1협동- 건국대 글로컬산학협력단>

○ 최종 제품의 안전성 평가

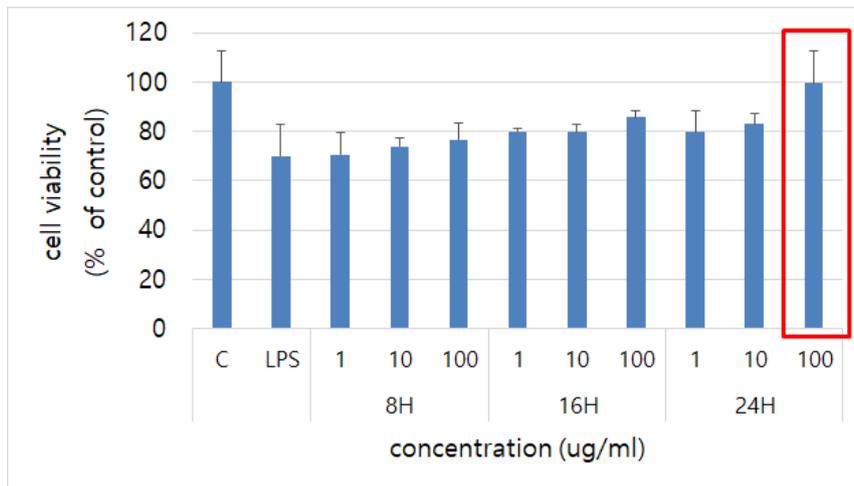
- RAW 264.7 cell line에 대한 유산균 (*L. Plantarum*) 6종의 세포 독성시험을 한 결과 *L. Plantarum* MG4221의 세포독성이 확인되지 않았음.



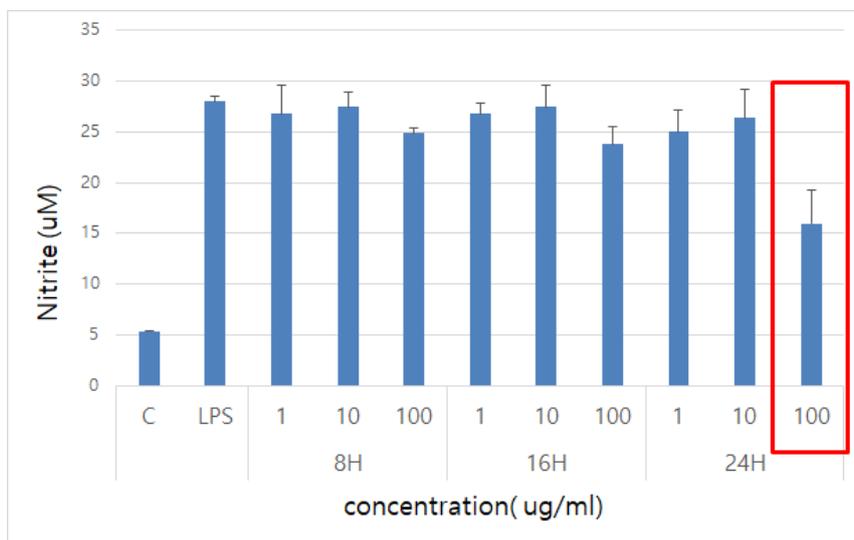
- 유산균 (*L. Plantarum*) 6종 (MG4270, MG4207, MG4221, MG989, MG4236, MG4251)의 항염증 활성 평가를 하기 위하여 LPS를 처리한 raw cells에 유산균을 처리한 결과 (200ml 배양) *L. Plantarum* MG 4221이 가장 NO 생성 억제 효과가 뛰어남.



- LPS를 처리한 raw cells에 *L. Plantarum* MG 4221을 처리 후 경시적으로 세포 생존율을 측정한 결과 *L. Plantarum* MG 4221와 함께 24H(배양시간)배양한 100ug/ml 농도의 세포 생존율은 100% 수준으로 증가되었음.



- LPS를 처리한 raw cells에 *L. Plantarum* MG 4221을 처리한 후 경시적으로 NO 생성 억제 효과를 측정한 결과 24H(배양시간) 배양한 유산균의 100ug/ml 농도에서 45%의 NO 생성 억제 효과가 나타났음.



- 결론적으로 *L. Plantarum* MG 4221는 LPS를 처리한 raw cells에서 세포 독성을 나타내지 않았으며 NO 생성을 억제함으로써 항염 효과를 나타냄.
- 독성평가 결과 (GLP인증 기관, 한국건설생활환경시험연구원(KCL))

**<Sprague-Dawley 랫드를 이용한 블루베리-흑미 유산균의 단회 경구투여 독성시험>**

1. 시험목적

시험물질 블루베리-흑미 유산균을 Sprague-Dawley 랫드에 단회 경구투여하였을 때 나타나는 독성증상과 개략의 치사량(Approximate LD)을 조사하기 위해 수행

2. 시험군의 구성

군	성별	동물수 (마리)	투여액량 (ml/kg)	투여용량 (mg/kg)
G1	Male	5	10	0
	Female	5		
G2	Male	5	10	500
	Female	5		
G3	Male	5	10	1,000
	Female	5		
G4	Male	5	10	2,000
	Female	5		

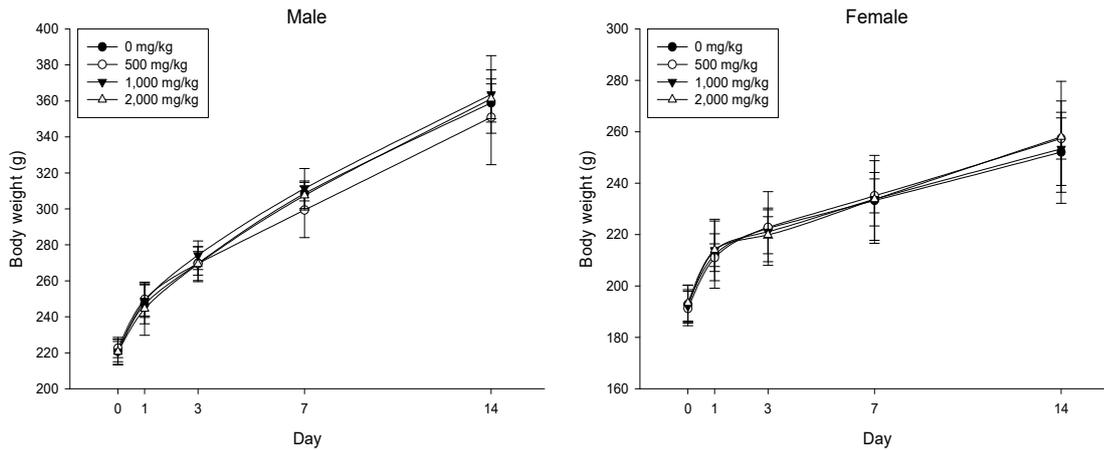
G1 : 부형제 대조군, G2 ~ G4 : 시험물질 투여군

3. 시험항목

- 1) 일반증상관찰 : 투여 당일에는 투여 후 30 분까지 최소 1 회 이상, 이후 6 시간까지 매 시간마다 관찰하고 이후 투여 후 14 일까지 매일 1 회 이상 일반증상관찰을 실시
- 2) 체중측정 : 모든 동물에 대하여 입수 시, 군분리 시, 투여 전, 투여 후 1, 3, 7 및 14 일째(부검 전)에 측정
- 3) 부검 : 투여 후 14 일째에 모든 생존동물을 CO<sub>2</sub> 가스를 이용하여 마취시킨 후 개복하여 복대동맥과 후대정맥을 절단하는 방법으로 방혈 치사시켜 육안적으로 모든 장기를 검사

4. 시험결과

- 1) 사망률 및 일반증상 : 실험기간 동안 모든 시험군에서 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않음
- 2) 체중변화 : 실험기간 동안 모든 시험동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었으며, 부형제 대조군과 시험물질 투여군 간 통계학적 유의성이 나타나지 않음.



<Body weights of rats in single dose oral toxicity study>

3) 부검조건 : 수컷 1,000 mg/kg 투여군의 1/5 레에서 양측 고환의 소형화(small, bilateral)가 관찰되었으나, 용량-반응 상관성을 보이지 않는 단발성 발생으로 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단됨

5. 고찰 및 결론

이상의 결과로 보아 본 시험조건에서 시험물질 블루베리-흑미 유산균에 의한 독성증상은 관찰되지 않았으며, 개략의 치사량은 >2,000 mg/kg로 판단됨

6. Tables

1) Table 1. Mortalities and clinical signs of rats

SUMMARY OF MORTALITIES AND CLINICAL SIGNS					
SEX : MALE					
		GROUP(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
<b>MORTALITIES</b>	No. of dead animals	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
	%	0	0	0	0
<b>CLINICAL SIGNS</b>	No abnormalities detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
SEX : FEMALE					
		GROUP(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
<b>MORTALITIES</b>	No. of dead animals	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
	%	0	0	0	0
<b>CLINICAL SIGNS</b>	No abnormalities detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the signs / Number of animals examined

2) Table 2. Body weights of rats

SUMMARY OF BODY WEIGHTS(g)				
SEX : MALE				
Day	GROUP(mg/kg)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	220.97 ± 7.62 (5)	222.51 ± 5.14 (5)	220.68 ± 5.63 (5)	220.51 ± 6.93 (5)
1	246.98 ± 10.86 (5)	249.66 ± 9.23 (5)	248.80 ± 9.12 (5)	244.46 ± 14.76 (5)
3	269.74 ± 6.59 (5)	269.57 ± 9.35 (5)	274.21 ± 7.95 (5)	269.27 ± 9.68 (5)
7	308.55 ± 4.09 (5)	299.40 ± 15.36 (5)	311.33 ± 11.14 (5)	307.45 ± 8.09 (5)
14	358.87 ± 10.58 (5)	350.91 ± 26.36 (5)	363.59 ± 21.56 (5)	361.17 ± 11.02 (5)

SEX : FEMALE				
Day	GROUP(mg/kg)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	192.87 ± 7.38 (5)	191.26 ± 6.69 (5)	192.18 ± 6.38 (5)	193.38 ± 7.03 (5)
1	212.22 ± 13.10 (5)	211.02 ± 5.35 (5)	213.93 ± 6.33 (5)	214.01 ± 11.95 (5)
3	222.39 ± 14.34 (5)	222.79 ± 4.15 (5)	221.10 ± 8.52 (5)	219.88 ± 10.43 (5)
7	233.28 ± 15.50 (5)	235.08 ± 6.60 (5)	233.79 ± 10.42 (5)	233.70 ± 17.14 (5)
14	252.10 ± 19.91 (5)	257.36 ± 7.99 (5)	253.35 ± 14.24 (5)	258.03 ± 21.60 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

3) Table 3. Gross findings of rats

SUMMARY OF GROSS FINDINGS					
SEX : MALE					
ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Testis	Small, bilateral	0 / 5	0 / 5	1 / 5	0 / 5
Other organs	No gross finding detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

SEX : FEMALE					
ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross finding detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the signs / Number of animals examined

<ICR 마우스를 이용한 블루베리-흑미 유산균의 소핵시험(예비시험)>

1. 시험목적

시험물질 블루베리-흑미 유산균의 유전독성을 평가하기 위하여 마우스 (ICR mouse) 골수세포를 이용한

소핵시험을 수행

## 2. 시험군의 구성

군	성별	동물수 (마리)	투여액량 (mℓ/kg)	투여용량 (mg/kg)
G1	Male	3	10	0
	Female	3		
G2	Male	3	10	500
	Female	3		
G3	Male	3	10	1,000
	Female	3		
G4	Male	3	10	2,000
	Female	3		

G1 : 부형제 대조군, G2 ~ G4 : 시험물질 투여군

## 3. 시험방법

- 1) 시험물질 준비 : 시험물질의 순도를 100 %로 가정하여 조제를 실시하고 투여 당일 각 시험군별 용량에 따라 정량의 시험물질을 칭량하여 멸균증류수에 용해시켜 조제함
- 2) 시험계 : 약 8 주령의 특정병원균 부재(SPF) CrIjOri:CD1(ICR)마우스, 7 일 순화
- 3) 투여경로 : 경구투여

## 4. 시험결과

- 1) 사망률 및 일반증상 : 실험기간 동안 모든 시험군에서 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않음
- 2) 체중변화 : 실험기간 동안 모든 시험동물에서 정상적인 체중증가가 관찰됨

## 5. 고찰 및 결론

예비시험의 결과를 기초로 2000 mg/kg를 최고 투여농도로 하여 공비 2 의 3 단계(500, 1000 및 2000 mg/kg)의 용량으로 본시험 실시 예정

## 6. Tables

Groups		Dose (mg/kg bw/day)	Animal No.	Body weight (gram)				
				Administration		Sacrifice		
Male	Vehicle control	Vehicle	0	1	35.16		36.40	
				2	35.98		35.70	
				3	35.67	35.60±0.41	37.24	36.45±0.77
	Test substance	블루베리-흑미 유산균	1000	4	35.44		37.46	
				5	36.67		37.30	
				6	36.30	36.14±0.63	37.66	37.47±0.18
				7	38.38		39.60	
				8	35.67		36.93	
				6	37.87	37.31±1.44	37.99	38.17±1.34
	2000	10	35.36		35.80			
		11	36.29		36.93			
		12	37.76	36.47±1.21	39.26	37.33±1.76		
Female	Vehicle control	Vehicle	0	13	27.47		26.51	
				14	28.78		28.88	
				15	28.25	28.17±0.66	28.06	27.82±1.20
	Test substance	블루베리-흑미 유산균	1000	16	24.98		26.32	
				17	28.66		29.86	
				18	28.87	27.50±2.19	29.59	28.59±1.97
				19	27.71		28.27	
				20	28.75		29.57	
				21	27.45	27.97±0.69	27.20	28.35±1.19
	2000	22	28.15		28.43			
		23	28.43		27.77			
		24	29.88	28.82±0.93	31.54	29.25±2.01		

<제 2협동- 가천대학교 산학협력단>

○시험방법

1) 각질세포주 (HaCaT) 세포주에 미세먼지 또는 TNF- $\alpha$ +IFN- $\gamma$ 로 유도한 피부질환 모델에서 항염증 및 보습 개선 효능 평가

- 복합 신소재 처리에 따른 세포 독성 평가

시료의 세포독성 측정을 위해 HaCaT 세포주를  $3 \times 10^5$ /mL로 96 well에 분주하고 24시간 동안 안정화 시킴. 시료를 1, 10, 100, 250, 500  $\mu$ g/mL의 농도별로 각각 처리하고 24시간 동안 CO<sub>2</sub>배양기에 배양 하였음. 이후, 배양액을 제거 후, MTT 시약 (0.5 mg/mL)을 처리하여 2시간 동안 CO<sub>2</sub>배양기에 방치시킴. MTT 시약을 제거 후, DMSO를 처리하여 다시 30분 동안 CO<sub>2</sub>배양기에 두었다가 570 nm 파장에서 마이크로스펙트로포토미터로 측정하였음.

- 시료 처리에 따른 염증성 사이토 카인 측정

환경성 인자 자극으로 유도된 염증성 사이토카인 분비량에 대한 블루베리 및 흑미 발효 추출물의 효과를 평가하고자 하였다. 구체적으로, 염증성 사이토카인인 IL-6, IL-1 $\beta$  및 IL-8 측정을 위해 HaCaT 세포를  $2 \times 10^5$ /mL로 48 well에 분주하고 24시간 동안 안정화시킴. 시료를 1, 10, 100, 250, 500  $\mu$ g/mL의 농도별로 각각 처리하고, 한 시간 후 TNF- $\alpha$  (0.1, 1 ng/ml) +IFN- $\gamma$  (0.1, 1 ng/ml) 또는 미세먼지 (500  $\mu$ g/mL)로 유도시켜 24시간 동안 CO<sub>2</sub>배양기에 배양하였음. 이후 각각의 배양액을 얻어 농도별로 희석한 뒤 제조사의 지시에 따라 ELISA를 수행하였으며, 450nm 파장에서 마이크로스펙트로포토미터로 분석하였음.

- Scratch를 입힌 HaCaT 세포주에 시료 처리 후 각질세포 재생효능 검증

시료 처리에 따른 치유 효과가 있는지 여부를 확인하고자 하였다. 구체적으로, 접촉된 HaCaT 세포 세포 층에 상처를 내고 시료를 1, 10, 100, 250, 500  $\mu$ g/mL의 농도별로 각각 처리하고, 한 시간 후 TNF- $\alpha$ (0.1, 1 ng/mL)+IFN- $\gamma$ (0.1, 1 ng/mL) 또는 미세먼지 (500  $\mu$ g/mL)로 활성화시켜 Incucyte Zoom (Essen Bioscience, Michigan, USA)에서 2시간 간격으로 스캔하면서 24시간 동안 배양하심. 배지만으로 세포를 배양한 경우를 대조군으로 사용하였음.

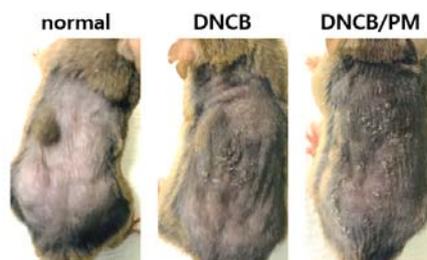
- 시료의 항염증 및 보습 관련 인자 확인 (Western blotting assay)

미세먼지로 유도된 HaCaT에서 본 소재의 항염증 기전을 검증하였음. 구체적으로 HaCaT 세포는 6-well plate에  $3 \times 10^5$ /ml/well의 밀도가 되도록 분주하여 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin 이 포함된 DMEM에 24시간 동안 안정화시킴. 24시간이 지난 후, PBS로 추출한 미세먼지 용액을 (500  $\mu$ g/mL)를 처리하여 유도한 후, 시료를 100, 250 및 500  $\mu$ g/mL 농도로 각각 처리한 뒤 배양기에 24 시간 배양함. lysis buffer를 이용하여 protein을 분리한 후, BSA kit를 이용하여 protein을 정량하고 동일한 protein 양으로 희석하여 acrylamide gel에 전기영동하고 nitrocellulose membrane 에 옮긴 후 일차 항체 MAPK, filaggrin, AQP-3, Involucrin 등으로 반응시켰음. Membrane 수세 후 이차 항체로 한 시간 동안 반응시키고 ECL solution kit이 포함된 용액에 1분간 반응시킨 후, 화학발광 (chemiluminescence) 검출 시스템 (Bio-Rad, California, USA)으로 단백질을 검출함.

## 2) NC/Nga 마우스에 DNCB/미세먼지로 유발된 아토피 피부염 모델에서 피부염증 개선 효능 평가

- 아토피 모델인 NC/Nga 마우스에서의 아토피 피부염 유도

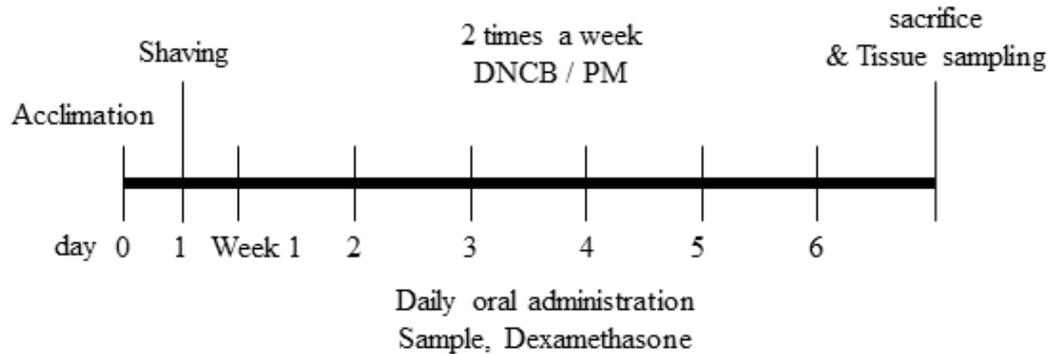
5주령의 NC/Nga 마우스를 구입하여 1주일간 적응시킨 뒤 실험에 사용하였음. NC/Nga 마우스의 등 부위를 제모한 뒤, 정상군을 제외한 대조군과 실험군에 0.4% DNCB 용액(아세톤 : 올리브오일 = 1:3) + 미세먼지 (NIST1650B, PM 2.5; 500  $\mu$ g/ml) 200 $\mu$ l 를 제모가 된 등 부위에 일정하게 도포하였음.



<정상군과 아토피 피부염 실험군>

- 시료 투여

실험은 정상군, 대조군에는 DNCB, DNCB+미세먼지, 양성대조군에는 10 mg/kg-cage 의 Dexamethasone (이하 Dex), 실험군에는 시료 10 mg/kg-cage, 50 mg/kg-cage 와 100 mg/kg-cage 를 6주간 경구 투여하였음.



<동물실험 스케줄>

- Scratching behavoir 시험

시험물질 처리 후 매 주 1회 가려운 행동 teat를 실시하였다. 시험물질 도포 30분 후 20분 동안 긁는 횟수(scratching counts)를 측정하였음.

- 관능 평가 시험

아토피성 피부염의 심각성 정도를 다음의 5가지 항목을 각각 평가한 점수의 총합으로 나타내었다. 평가항목은 홍반(erythema), 건조피부(dry skin), 부종과 혈종(edema & excoriation), 짓무름(erosion), 그리고 태선화(lichenification)이다. 각각의 항목에 대해 증상 없음(0점), 증상 약함(1점), 보통(2점), 심함(3점)으로 채점한 후 5항목의 점수를 합산함으로써 최소0점(아무 증상이 없는 상태)에서 최고 15점(모든 항목의 증상이 심한 상태) 사이의 평가점수를 부여함.

- Derma Combo system을 이용하여 시료처리 전후 피부 물리적, 생리적 변화 측정

경피수분손실량(transepidermal water loss, TEWL), 각질층 수분량, 피부 pH를 Derma Combo system을 이용하여 시료 처리 전 측정하였음.

- 혈중 IgE 함량의 측정

마우스에서 혈액 1ml를 채취하여 ELISA Kit(ebioscience, USA)를 사용하여 혈청 중 IgE 함량을 측정하였음.

- 조직 염색

피부조직을 소량 취하여 4% 포르말데하이드에 24시간동안 고정 후, 6시간 동안 흐르는 물에서 수세를 하고 ethanol에서 xylene에 이르는 탈수 과정을 거쳐서 파라핀 블록을 제작. Microtome을 이용하여 파라핀 블록을 10 µm의 두께로 박절한 후 파라핀 제거 과정을 거쳐 hematoxylin-eosin 염색 및 염증에 관여하는 주요 단백질인 IL-6 등과 피부장벽 기능에 이상이 생기면 피부의 염증 및 각질화가 심해지고 보습 기능이 저하될 수 있다는 연구결과에 따라 피부장벽 기능에 관여하는 인자인 involucrin과 loricrin의 발현정도를 측정하였음.

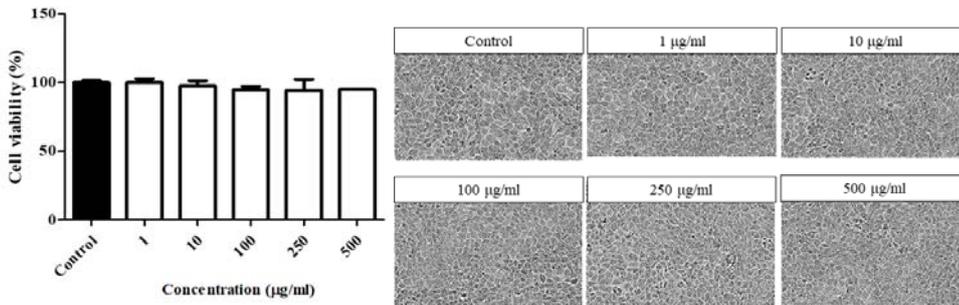
-- 시료의 피부 보습 관련 인자 확인 (Western blotting assay)

DNCB/미세먼지로 유도된 마우스 피부조직에서 본 소재의 보습 관련 인자를 검증하였음. 구체적으로 시료 투여가 종료된 시점에 마우스를 희생하여 피부 조직을 분리시킴. 피부조직을 액체질소를 이용하여 균질화하고 lysis buffer를 이용하여 protein을 분리한 후, BSA kit를 이용하여 protein을 정량함. 동일한 protein 양으로 희석하여 acrylamide gel에 전기영동하고 nitrocellulose membrane 에 옮긴 후 일차 항체 filaggrin, Involucrin으로 반응시켰음. Membrane 수세 후 이차 항체로 한 시간 동안 반응시키고 ECL solution kit이 포함된 용액에 1분간 반응시킨 후, 화학발광 (chemiluminescence) 검출 시스템 (Bio-Rad, California, USA)으로 단백질을 검출함.

○주요 결과

<각질세포주 (HaCaT) 세포주에 미세먼지 또는 TNF- $\alpha$ +IFN- $\gamma$ 로 유도한 피부질환 모델에서 항염증 및 보습 개선 효능 평가>

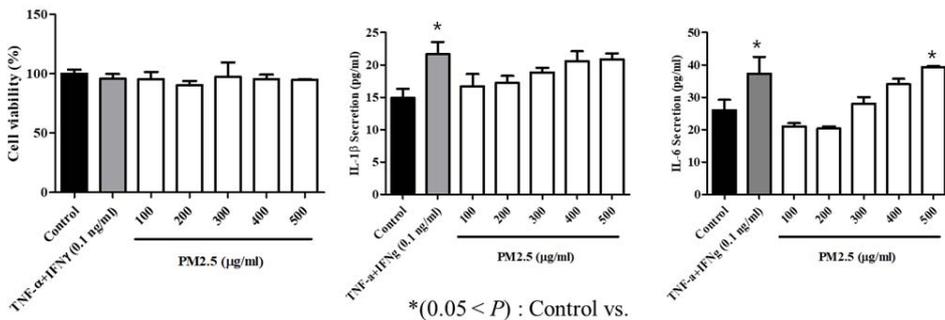
1) 각질형성세포주(HaCaT)에서의 복합 신소재 독성평가



<복합 신소재의 독성 평가>

- 1차년도에 최적화된 비율로 제조된 복합 신소재의 독성 평가를 위해 인간유래 각질형성 세포주 (HaCaT)에 농도별로 처리한 결과 독성이 없음을 확인함.
- 또한, 형태학적으로 세포의 변화가 없음을 알 수 있어, 전 임상 실험에 문제가 없을 것으로 판단되었음.

2) 각질형성세포주(HaCaT)에서의 미세먼지 유도성 염증 반응 검증을 통한 조건 확립



\*(0.05 < P) : Control vs.

<HaCaT에서 시료처리에 따른 복합소재의 IL-6, -1 $\beta$  분비량 측정>

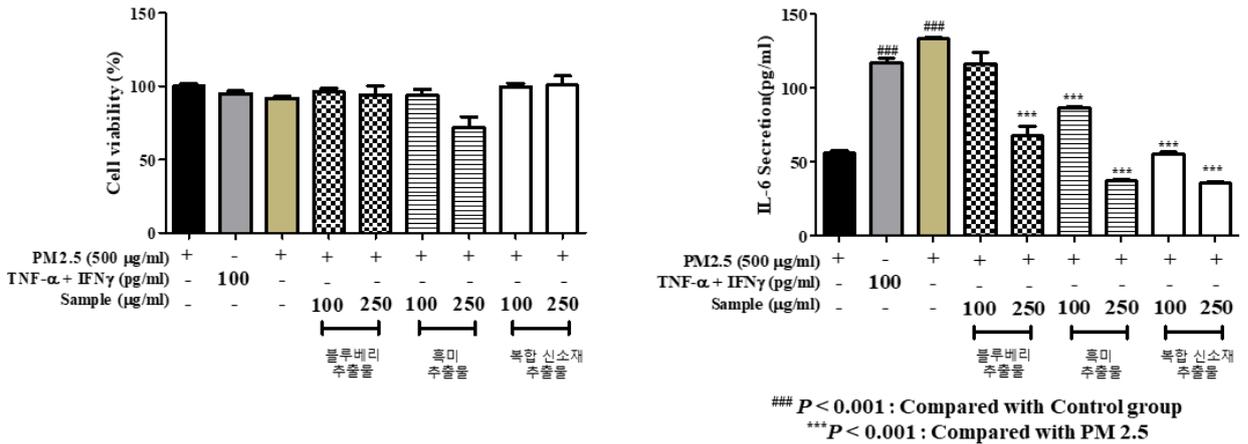
- 전임상 모델을 위한 미세먼지 적정 농도를 최적화하기 위하여 우선적으로 세포내에서 확인한 결과임. 전년도에서는 세포내에 미세먼지를 직접적으로 처리하여 형태학적으로 신뢰를 할 수 없었기에, 2차년도에서 재설정을 하였음. 특히, 본 실험에서는 미세먼지를 PBS에서 72시간 반응시켜 추출한 후, 추출물을 이용하여 HaCaT 세포주에서

확인하였음.

- 상위 그림과 같이 인간유래각질형성세포주에서 미세먼지를 쬐었을 경우, 500 µg/ml의 미세먼지 추출물에서 negative control (0.1 ng/ml TNF-α+IFNγ)와 동등한 염증성 사이토카인인 IL-6, -1β의 분비량을 증가시키는 것으로 확인되었음.

- 따라서 전 임상 실험에 앞서 복합 신소재의 효능을 알기 위하여, 500 µg/ml의 미세먼지 추출물로 HaCaT 세포주에 유도하여 피부염증 및 보습 개선에 효능을 검증하고자 하였음.

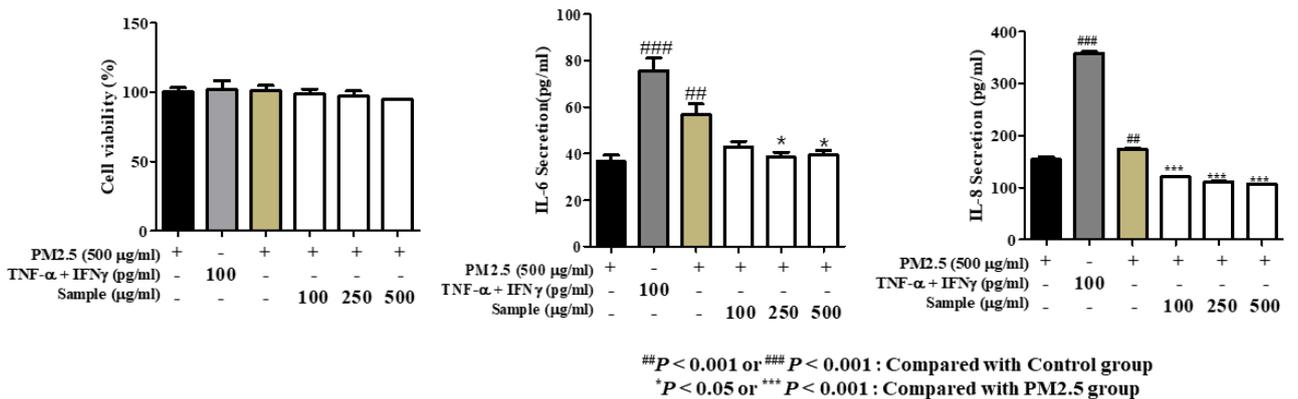
3) 각질형성세포주(HaCaT)에서의 복합 신소재의 시너지 효과 검증



<복합 신소재의 시너지 효과 검증>

- 상위 그림은 단독 물질과 비교하여 본 과제를 통하여 개발된 복합 신소재의 시너지 효과를 확인한 결과임. 복합 신소재에서는 단독 물질에 비하여 독성이 확인되지 않았으며, 염증성 사이토카인 분비량도 또한 감소시키는 것으로 확인되었음.

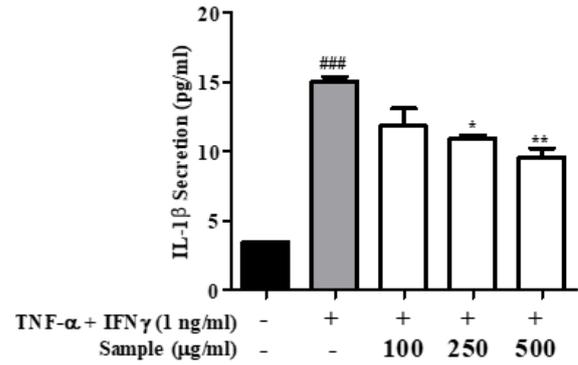
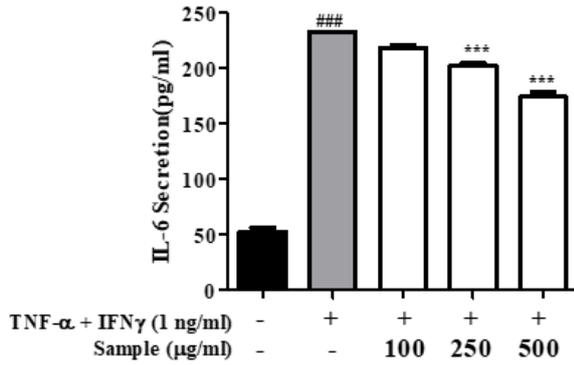
4) 미세먼지로 유도된 각질형성세포주(HaCaT)에서의 복합 신소재의 효능 검증



< HaCaT에서 시료처리에 따른 복합소재의 IL-6, -8 분비량 측정>

- 미세먼지 추출물로 유도된 각질형성세포주에서 염증성 사이토카인인 IL-6, -8의 분비량을 ELISA assay를 통해 측정된 결과, 시료 처리시 IL-6, -8 분비량이 유의미하게 감소함을 알 수 있음. 따라서 본 연구진은 염증성 및 보습 개선 인자에 관하여 기전연구를 진행하고자 하였음.

5) TNF-α/IFN-γ로 유도된 각질형성세포주(HaCaT)에서의 복합 신소재의 효능 검증



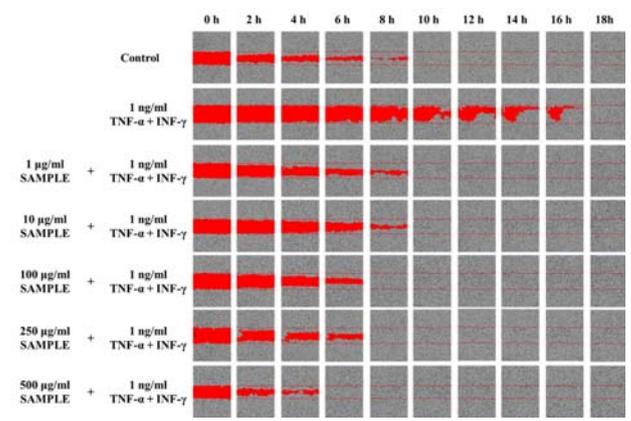
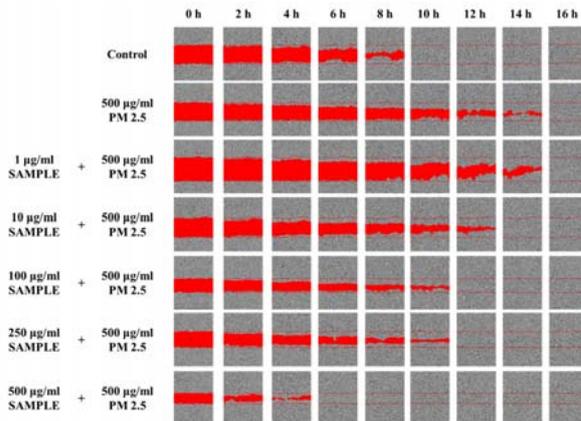
###  $P < 0.001$  : Compared with Control group  
<sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  or <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$  : Compared with PM2.5 group

< HaCaT에서 시료처리에 따른 복합소재의 IL-6, -1β 분비량 측정 >

- TNF-α/IFN-γ 로 유도된 각질형성세포주에서 염증성 사이토카인인 IL-6와 IL-1β의 분비량을 ELISA assay를 통해 측정한 결과, 시료 처리시 IL-6 혹은 IL-1β의 분비량이 유의미하게 감소함을 알 수 있음.
- 미세먼지 추출물로 유도된 세포모델의 결과와 유사한 경향을 나타내어 본 소재가 항염증 효능이 있음을 확인할 수 있었음.

#### 6) Scratch를 입힌 HaCaT 세포에 시료 처리 후 각질세포 재생효능 검증

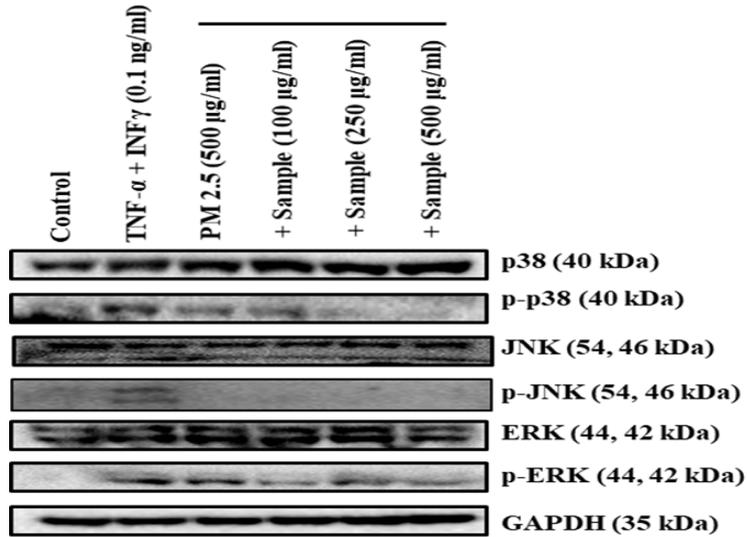
(A) 미세먼지 추출물로 유도한 HaCaT 세포모델에서의 재생효능 (B) TNF-α/IFN-γ로 유도한 HaCaT 세포모델에서의 재생효능



< Scratch를 입힌 HaCaT 세포주에 시료 처리 후 각질세포 재생에 미치는 영향 >

- Scratch를 입힌 HaCaT 세포주에 시료 처리 후 세포재생효능을 실시간 추적관찰장비인 인큐사이트를 이용하여 평가함. 그 결과, 복합 신소재는 농도 의존적으로 cell migration 억제 현상이 나타남.

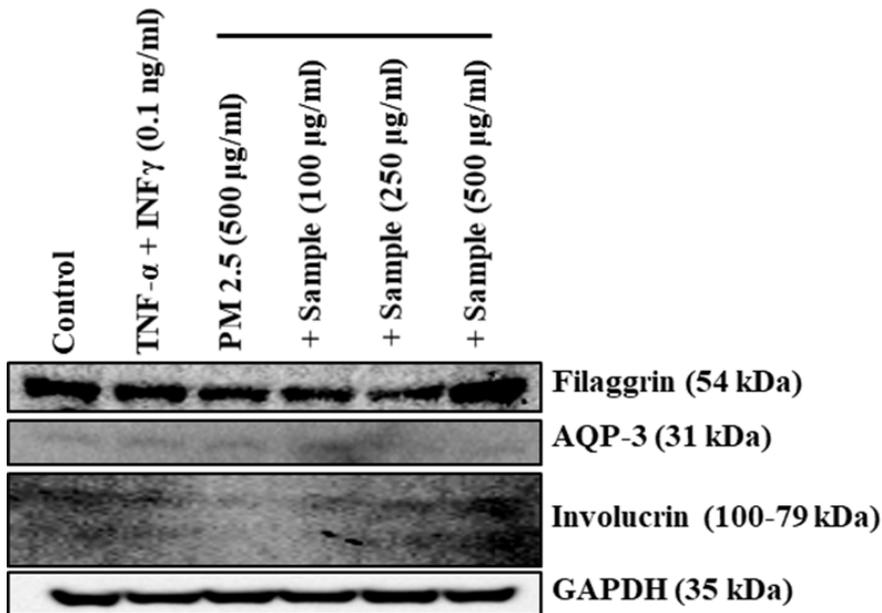
#### 7) 복합 신소재 처리에 따른 염증성 인자 발현 측정



<HaCaT에서 시료처리에 따른 염증관련 신호단백질 발현량 검증>

- 상위과 보이는 바와 같이 미세먼지 추출물로 유도된 그룹에서 TNF- $\alpha$ +INF- $\gamma$ 로 유도한 그룹과 유사하게 염증성 인자 발현량을 증대시키는 것을 확인할 수 있었음. 이는 1차년도에서 Western blot analysis를 통해 TNF- $\alpha$ +INF- $\gamma$ 로 유도된 HaCaT 세포에서 단일소재(블루베리, 흑미) 및 복합소재 처리에 따른 염증성 인자 발현량을 측정된 결과와 일치함을 확인할 수 있었음.
- 특히, 복합 신소재의 처리는 HaCaT 세포주에서 인산화된 (p)-p38, -ERK의 발현양이 줄어드는 것을 확인할 수 있었으나, (p)-JNK의 경우에는 발현되지 않는 것으로 나타났음.

8) 복합 신소재 처리에 따른 보습 인자 발현 측정



<HaCaT에서 시료처리에 따른 보습인자 발현량 검증>

- 상위과 보이는 바와 같이 미세먼지 추출물은 TNF- $\alpha$ +INF- $\gamma$ 와 유사하게 각질세포주에서 보습을 거제하는 것으로 확인되었음.

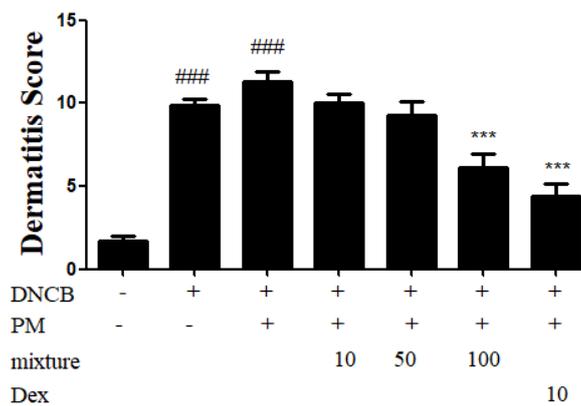
- 반면, 본 연구진들이 개발한 복합 신소재는 각질층의 형성에 중요한 역할을 하는 단백질 중에서 fillagrin, involucrin의 발현량을 증가시키는 것으로 확인되었음. 이러한 인자들은 최종적으로 보습인자를 이루며, 수분을 흡수하는 성질이 뛰어나기에 복합 신소재는 보습 개선에 도움을 줄 것으로 사료됨.

**<NC/Nga 마우스에 DNCB/미세먼지로 유발된 아토피 피부염 모델에서 피부염증 개선 효능 평가>**

1) 복합 신소재 처리에 따른 피부병변의 평가



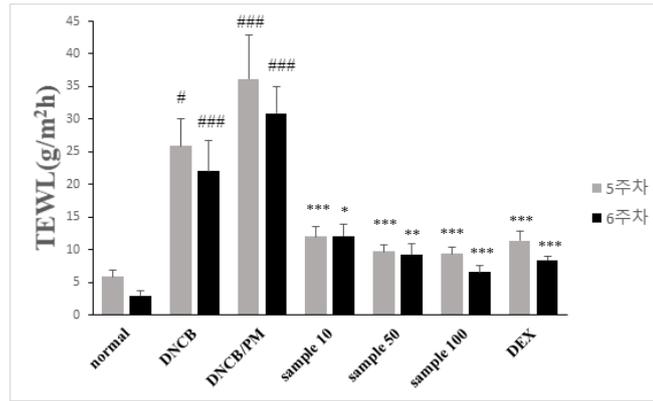
<DNCB/미세먼지로 유발한 아토피 피부염 모델의 시료 처리 후 피부 병변 측정>



<DNCB/미세먼지로 유발한 아토피 피부염 모델의 시료 처리 후 관능평가>

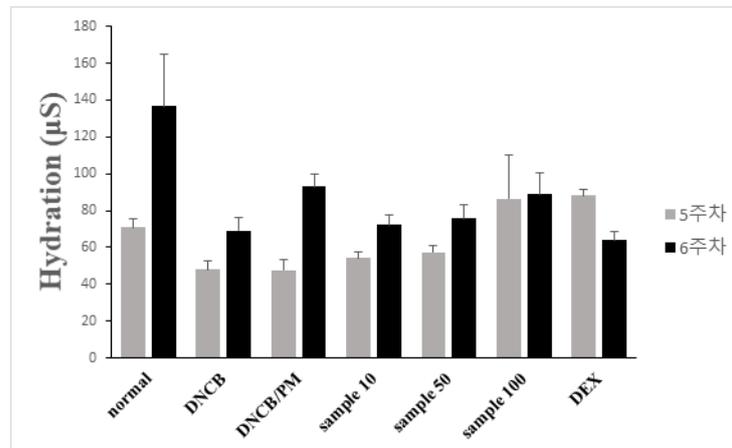
- 아토피 유도 후 시료를 투여에 따른 아토피 피부염의 심각성 정도를 5가지 항목으로 각각 평가한 점수의 총합을 나타낸 결과, 양성대조군인 Dexamethasone 처리군은 아토피 피부염 증상이 개선됨. 복합신소재 100 mg/kg 처리군에서도 아토피 피부염 증상이 대조군에 비해 통계적으로 유의한 수준으로 감소하는 양상을 보임.

2) 피부 물리적, 생리적변화 측정



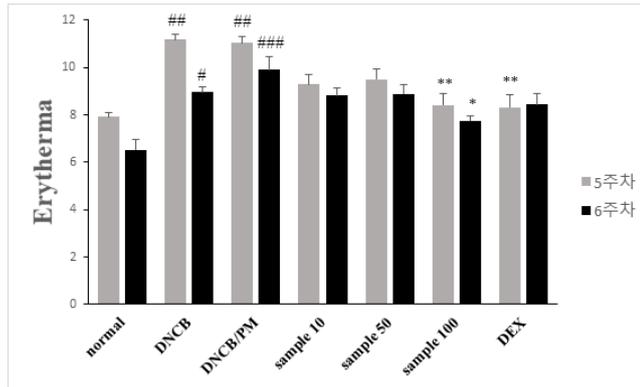
<DNCB/미세먼지로 유발한 아토피 피부염 모델의 시료 처리 후 5,6주차 경피수분손실량 (TEWL) 측정>

- DNCB/미세먼지로 NC/Nga 마우스 모델에 아토피 유사 피부 질환을 유도한 결과, DNCB 단독 유도 군 보다 미세먼지와 DNCB를 혼합하여 도포하였을 시 5주차, 6주차에서의 TEWL이 높게 나타남. 매일 샘플 처리한 후 5주차와 6주차의 경피수분손실량을 측정한 결과, DNCB/미세먼지 처리로 인해 증가된 TEWL 수치가 복합신소재 10, 50, 100 mg/kg 농도에서 모두 유의적으로 감소한 것으로 나타남. 특히, 6주차에서 복합신소재 100 mg/kg 농도는 양성대조군과 비슷한 효과를 나타남을 확인함.



<DNCB/미세먼지로 유발한 아토피 피부염 모델의 시료 처리 후 각질층 수분량 측정>

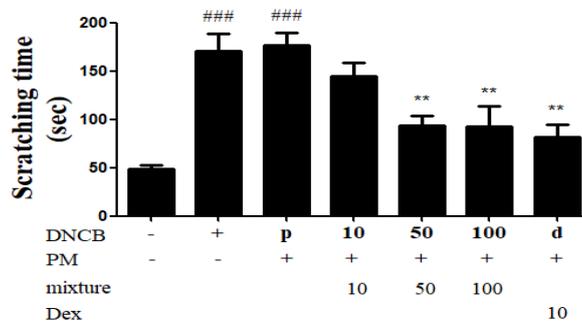
- DNCB/미세먼지로 유발된 아토피 피부염 모델 마우스에 매일 샘플 처리 후 5주차와 6주차의 피부 각질층 수분량을 측정한 결과, DNCB/미세먼지처리로 인해 각질층 수분량이 감소하였지만, 시료를 투여한 군 및 양성대조군에의 수분량이 유의한 차이가 없었음.



<DNCB/미세먼지로 유발한 아토피 피부염 모델의 시료 처리 후 피부 홍반 측정>

- DNCB/미세먼지로 유발된 아토피 피부염 모델 마우스에 매주 3회 샘플 처리하여 5주차 및 6주차에 피부의 홍반을 측정한 결과, DNCB/미세먼지 처리로 인해 증가된 Erythema 수치가 복합신소재 100mg/kg 농도 처리에 의해 감소되었음을 확인함.

3) 가려움에 대한 행동학적 분석



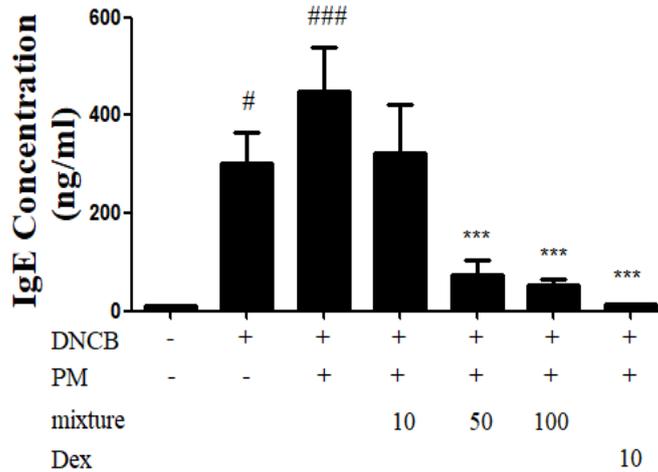
<DNCB/미세먼지로 유발한 아토피 피부염 모델에서 시료처리 후 Scratching behavior test>



<Scratching behavior test>

- 매일 시료를 투여한 후 일정시간(20분) 동안 실험동물이 긁는 시간을 측정한 결과, 복합신소재 두 농도(50, 100 mg/kg)과 양성대조군에서 대조군인 DNCB/미세먼지 유도군보다 유의적으로 긁는 시간이 짧아지는 양상을 보였음.

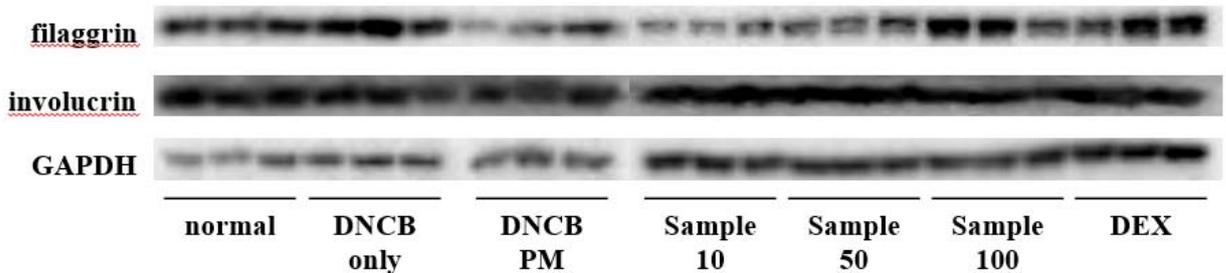
4) 혈청 내 IgE 측정



<시료 처리후 혈장 내의 IgE 함량의 측정>

- NC/Nga 마우스의 혈청 IgE에 미치는 영향을 알아보기 위해 최종 시료 투여 후 마우스에서 심장채혈을 통해 혈액을 얻어 혈청을 분리하였고, 혈청 내 IgE 생성량을 ELISA assay kit를 이용하여 측정된 결과, 우추 대조군에 비해 DNCB와 미세먼지 혼합 유도대조군에서 IgE 생성량이 유의적으로 증가하였으며, 시료를 투여한 군에서 복합신소재 농도 50 mg/kg에서 IgE의 생성량이 유의적으로 감소되었던 것을 확인함.

5) 피부장벽기능 관련 단백질 발현량 확인



<NC/Nga 마우스의 시료 처리 후 피부조직에서 피부장벽관련 인자 발현량 측정>

- 피부층에서 피부각질세포의 분화와 피부장벽기능에 영향을 미친다고 알려진 단백질인 filaggrin과 involucrin의 발현량을 분석해본 결과 DNCB/PM을 처리하였을 시, 두 단백질의 발현량이 미처리군에 비해 감소하는 경향을 보임. 또한 DNCB/PM으로 유도된 마우스에 시료를 투여하였을 때, 감소되었던 filaggrin 및 involucrin이 다시 증가함을 보여주며, 특히 filaggrin의 경우 농도의존적으로 단백질 발현량이 증가됨을 확인함.

2-4-3. 3차년도 연구결과

<주관기관 - 안국건강>

- 인체적용시험을 위한 제형화



<인체적용시험을 위한 제형화>

- 1일 1회 섭취를 쉽게 하기 위해하여, 1일 섭취량의 분말을 캡슐화 하였음.
- 캡슐에는 500 mg의 흑미블루베리발효분말을 넣었음.

○ GMP 시설을 갖추고 있는 생산시설에서 시제품 생산 및 대량 생산 준비

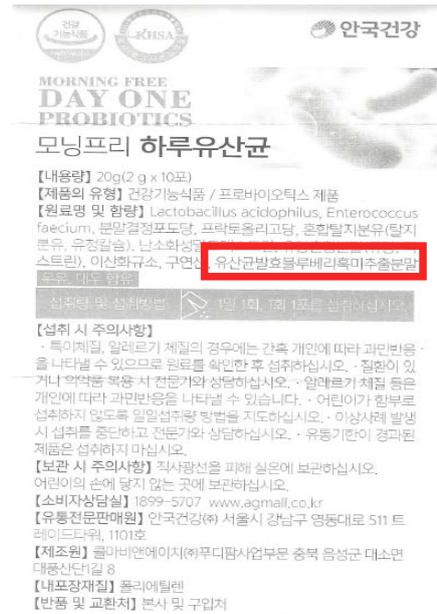
- 시제품의 대장균, 프로바이오틱스 수, 개별중량, 표시사항등 모든 항목에서 적합 판정을 받음.
- GMP생산시설에서 무균의 시제품을 생산

제품 시험지시 및 성적서 (Certificate of Analysis)						Kolmar Kolmar B&H
제품명	모닝프리하루유산균					
제조번호	19001	단위/용량	2 GM	공정명	제품	
제조일	2019-12-20	재취장소	포장실	접수일자	2019-12-26	
지시수량	6,600 EA	재취일자	2019-12-26	지시일자	2019-12-26	
시험번호	G191226207	재취자	이희락	시험지시자	허길민	
포장단위	100P					
시험항목	시험기준	시험결과	판정	시험자	판정일	
중량	용액의 분말로 인해, 미량이 떨어져 함다.	시험기준과 일치함	적합	홍지현	2019-12-26	
프로바이오틱스 수	표시량(1.5x10 <sup>10</sup> CFU/2g)이상이어야 함다.	3.2x10 <sup>10</sup> CFU/2g	적합	왕성우	2019-12-26	
대장균수	음용이어야 함다.	음양	적합	왕성우	2019-12-26	
수분함량	2g의 96%이상이어야 함다.	1.96-2.00g	적합	홍지현	2019-12-26	
내용량	200g(2g*100포)의 98%이상이어야 함다.	199.47g(99.7%)	적합	홍지현	2019-12-26	
표시사항	(1)제품명 : 모닝프리 하루유산균	모닝프리 하루유산균	적합	홍지현	2019-12-26	
표시사항	(2)제조연도 : 제조일자시행 일치하여야 함다.	19001	적합	홍지현	2019-12-26	
표시사항	(3)유통기한 : 제조일로부터 18개월	2021.06.19	적합	홍지현	2019-12-26	
요건/포장상태	적합하여야 함다.	적합함	적합	홍지현	2019-12-26	
비고						
종합판정	시험자	확인자	품질부서책임자	종합판정일		
적합	정지민	이상숙	허길민	2019-12-29		

<흑미블루베리유산균분말 시제품 생산의 성적서>

○ 최종 제품의 생산을 위한 포장 및 디자인 설정 및 시제품 개발

- 안국건강 자체 디자인팀에 의한 상품 디자인 완료
- 안국건강의 프로바이오틱스 제품 모닝프리 하루 유산균 시제품을 개발



<안국건강, 모닝프리 하루유산균, 흑미블루베리유산균분말 첨가>

○ 흑미, 블루베리 유산균분말의 개별인정형 원료 신청

- 반복 검사를 위하여 흑미블루베리유산균분말 Lot. No 2 추가 생산 완료
- 식약처 지정 검증기관에서 개별인정형 원료신청을 위한 단백질검사 (식약처 지정 검사기관, 건국바이오)
- 식약처 지정 검증기관에서 소재의 지표물질 평가 (KOTITI 시험연구원)
- 현재 자료 취합중이며, 식약처 개별인정형 원료 신청 준비 중

**검 사 성 적 서**

발급번호 : 20240727-0961		발급일자 : 2024년 7월 27일			
검사항목	검사항목	검사항목	검사항목	검사항목	검사항목
검사항목	검사항목	검사항목	검사항목	검사항목	검사항목
검사항목	검사항목	검사항목	검사항목	검사항목	검사항목
<b>시험 항목 및 결과</b>					
시험 - 검사 항목	시험 - 검사 기준	시험 - 검사 결과	판정		
열량(kcal / 100g)	-	353.57	-		
나트륨(Na / 100g)	-	207.86	-		
단수분량(g / 100g)	-	78.39	-		
지방(g / 100g)	-	0.97	-		
단백질(g / 100g)	-	7.93	-		
수분(g / 100g)	-	10.27	-		
지방(g / 100g)	-	2.95	-		
<p>판정 : 규격외판물</p> <p>검사처 : 김해연, 안국수, 김세영, 임영진, 김복진</p> <p>책임자 : 김민희</p> <p>비고 : 1. 이 성적서는 영위자가 제시한 시험 및 시험방법에 시험한 결과로써 관제제품에 대한 품질을 보증하지는 않습니다.          2. 이 성적서는 영위자의 사전 서명/인도 없이 출판, 전파, 복제 및 공표행위를 시행할 수 없으며, 무단 배포의 책임을 집니다.</p> <p>* 상기판결문: 영위자의 시험결과에 관한</p>					
<p>건국바이오 (K-BIO, 식의약연구센터)</p> <p>380-701 충북 충주시 충정대로 268 건국대학교 G2CC(합격) 5층(연구부) 412호 TEL: 043-840-3671 FAX: 043-840-3872</p>					



<흑미블루베리유산균분말의 단백질검사>

< 흑미블루베리유산균분말 생산>

**KOTITI 시험연구원** 인류의 안전을 추구하고 미래기술을 선도하는 글로벌 비즈니스 파트너  
Global Business Partner for Human Safety and Future Technology

### 시험 · 검사성적서

발행번호	20200122-001	접수번호	82203104100010-001
검사완료일	2020-01-22	접수연월일	2020-01-20
제품명	유산균발효블루베리유산균분말 (솔빙)		
(종목)제조번호		종목제조번호	
유형 · 재질 · 품목명	참고용검사		
제조(수입)일		유통(유통일자)기한	
의뢰자	성명	이름	업체명
	소재지	서울특별시 강남구 영동대로 511, 11층 1호 (삼성동, 트래이드타워)	
제조원	업체명		제조국
	소재지		
시험 · 검사목적	식품   기타(참고용)		

**시험 · 검사 항목 및 결과**

시험 · 검사항목	시험 · 검사결과	단위	비고
Syringic acid	0.0318	mg/g	
Kuromannin (염산염)	0.0065	mg/g	

시험장서명: 최승기  
시험장서명직: 유운정

※ 위 판정은 의뢰된 시험 · 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.  
※ 지면이 부족한 경우 시험 · 검사 항목 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.  
※ 본 결과는 광고, 홍보, 법률적 용도 등 분석 목적 이외에는 사용 불가합니다.

2020년 01월 22일

(사)KOTITI 시험연구원

경기도 성남시 중원구 둔촌대로 541번길 29 2층 (상대원동)      T:02-3451-7457      F:02-3451-7464

KOTITI Testing & Research Institute  
Page 1 of 1

**KOTITI 시험연구원** 인류의 안전을 추구하고 미래기술을 선도하는 글로벌 비즈니스 파트너  
Global Business Partner for Human Safety and Future Technology

### 시험 · 검사성적서

발행번호	20200122-002	접수번호	82203104100010-002
검사완료일	2020-01-22	접수연월일	2020-01-20
제품명	유산균발효블루베리유산균분말 (해디오전)		
(종목)제조번호		종목제조번호	
유형 · 재질 · 품목명	참고용검사		
제조(수입)일		유통(유통일자)기한	
의뢰자	성명	이름	업체명
	소재지	서울특별시 강남구 영동대로 511, 11층 1호 (삼성동, 트래이드타워)	
제조원	업체명		제조국
	소재지		
시험 · 검사목적	식품   기타(참고용)		

**시험 · 검사 항목 및 결과**

시험 · 검사항목	시험 · 검사결과	단위	비고
Syringic acid	0.0396	mg/g	
Kuromannin (염산염)	0.0012	mg/g	

시험장서명: 최승기  
시험장서명직: 유운정

※ 위 판정은 의뢰된 시험 · 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.  
※ 지면이 부족한 경우 시험 · 검사 항목 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.  
※ 본 결과는 광고, 홍보, 법률적 용도 등 분석 목적 이외에는 사용 불가합니다.

2020년 01월 22일

(사)KOTITI 시험연구원

경기도 성남시 중원구 둔촌대로 541번길 29 2층 (상대원동)      T:02-3451-7457      F:02-3451-7464

KOTITI Testing & Research Institute  
Page 1 of 1

### <흑미블루베리유산균분말의 지표성분 검사 성적서>

- 흑미블루베리유산균분말의 식약처 지정기관에서 지표물질에 대한 검증이 실시가 되었으며, 지표물질 2종의 검출이 확인 되었음.
- 반복적인 검증을 위하여, 동일한 방식으로 추가적인 생산을 하였으며, 현재 식약처 지정기관에서 지표물질에 대한 검증이 진행 중에 있음.

### ○ 흑미블루베리분말 개별인정형 신청

- 현재 흑미블루베리유산균 분말의 식품의약품안전처 지정기관에서 지표물질에 대한 추가생산된 2 Lot No에 대한 지표물질 분석이 진행 중에 있음.
- 식품의약품안전처의 “기능성 원료 인정을 위한 제출자료 작성 가이드”에 맞추어 자료 수집 및 필요 자료 작성중에 있음.
- 향후 물질 분석의 종료가 된 후 본 원료를 보습효과를 “피부건강에 도움을 줄 수 있음”으로 개별인정형 원료를 신청하고자 함.

### 기능성원료 인정 신청을 위한 제출 자료

#### 1. 제출자료의 종류 요약본

신청항목 개요

(필수항목)

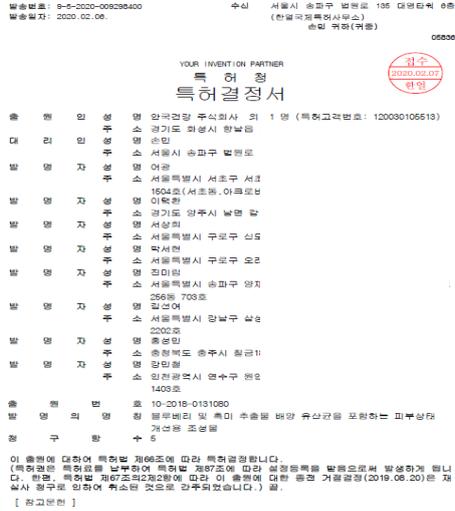
발행번호	20200122-001	접수번호	82203104100010-001
검사완료일	2020-01-22	접수연월일	2020-01-20
제품명	유산균발효블루베리유산균분말 (해디오전)		
(종목)제조번호		종목제조번호	
유형 · 재질 · 품목명	참고용검사		
제조(수입)일		유통(유통일자)기한	
의뢰자	성명	이름	업체명
	소재지	서울특별시 강남구 영동대로 511, 11층 1호 (삼성동, 트래이드타워)	
제조원	업체명		제조국
	소재지		
시험 · 검사목적	식품   기타(참고용)		

시험장서명: 최승기  
시험장서명직: 유운정

※ 위 판정은 의뢰된 시험 · 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.  
※ 지면이 부족한 경우 시험 · 검사 항목 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.  
※ 본 결과는 광고, 홍보, 법률적 용도 등 분석 목적 이외에는 사용 불가합니다.

### <흑미블루베리유산균분말의 기능성원료 제출>

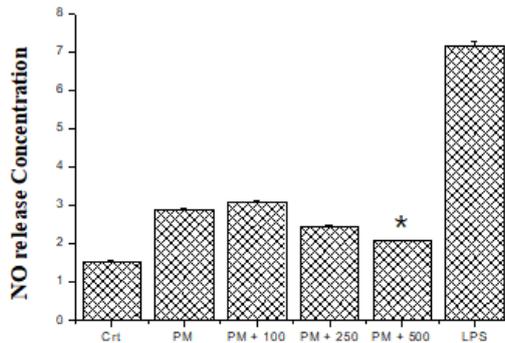
- 흑미블루베리유산균을 포함하는 피부상대 개선용 조성물 특허 등록 결정
  - 본 과제를 통하여 2차년도에 출원 특허
  - 과제종료년 특허 등록이 결정되었음.



<유색미, 블루베리 유산균의 특허등록 결정>

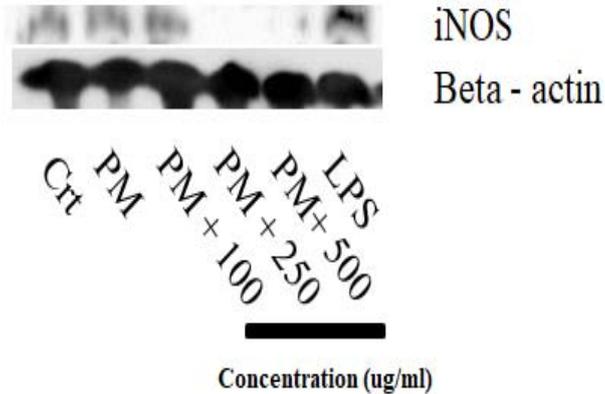
<협동기관 - 건국대학교글로벌캠퍼스>

- 장관상피세포에서 미세먼지 자극 후 흑미, 블루베리 유산균의 효능 평가



<장관상피세포에서 NO 발생 측정>

- 장관면역에서의 미세먼지에 의한 염증개선을 알아보기 위하여, 장관상피세포에서 NO의 발생을 확인하였음.
- 실험의 조건은 장관상피세포 IEC-18에 흑미블루베리유산균분말을 농도 100 ug/ml 250 ug/ml, 500 ug/ml를 전처리 후 미세먼지추출물 (500 ug/ml)을 이용하여 데미지를 준 후 griess reagent를 처리하여 NO의 생성을 측정하였음.
- 장관상피세포에 LPS를 처리하였을 때, NO의 발생이 증가되는 것을 확인 하였음.
- 미세먼지추출물을 처리한 장관상피세포에서 LPS에 의해 증가되는 량보다는 적었지만, NO의 발생이 증가됨이 확인 되었으며, 흑미블루베리유산균분말은 농도 의존적으로 감소시키는 것으로 확인되었음.

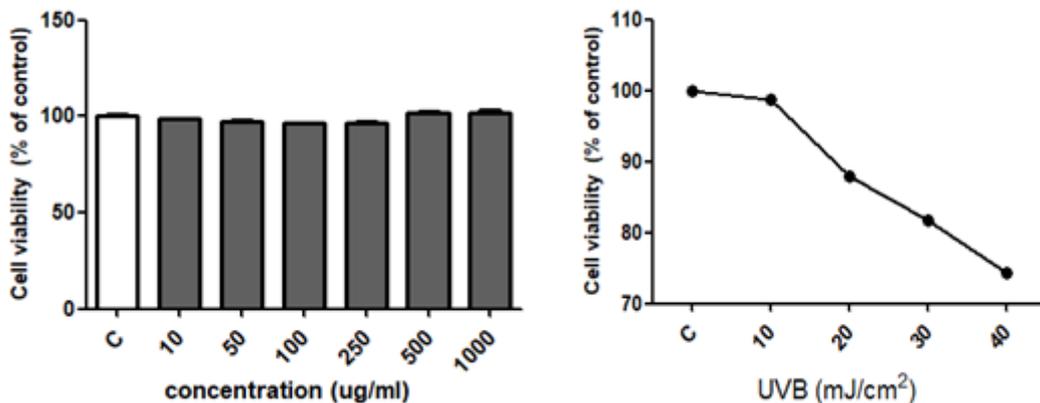


<장관상피세포에서 iNOS 발현 측정>

- NO측정과 동일한 방법으로 장관세포에 미세먼지를 처리하였으며, RIPA buffer를 통해 cell lysis 후 western blot으로 NO 발생과 관련 있는 iNOS 단백질을 측정하였음.
- 미세먼지추출물에 의한 장관상피세포의 항염증 결과는 흑미블루베리유산균은 농도 의존적으로 NO의 발생과 iNOS의 발현을 감소 시킴으로 항염증 효능이 있는 것으로 확인됨.

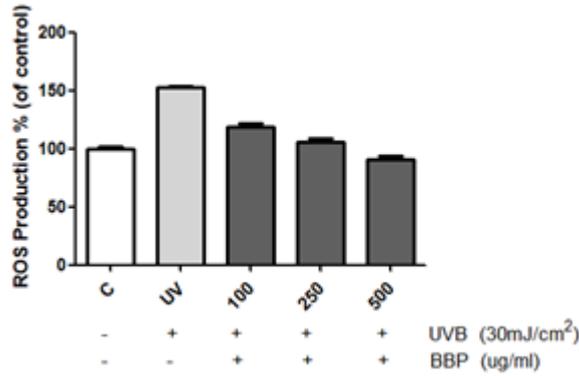
○ 피부건강개선 개별인정형 원료 신청을 위한 효능 시험

- 식약처 가이드라인 피부건강개선의 시험법에 적합한 시험을 실시하였음.
- 세포실험을 위해서 인간유래각질세포인 HaCaT cell를 이용하여 실험을 하였음.
- 세포 독성시험에서는 1000 ug/ml까지 독성이 없는 것으로 확인하였음.
- 피부건강개선 시험을 위해서는 UVB 조사 후 효능을 검증하여야하여 UVB의 세기에 따른 세포독성 실험을 진행하였으며, 20 mJ/Cm<sup>2</sup> 이후부터 세포 독성이 있는 것으로 확인되었음.



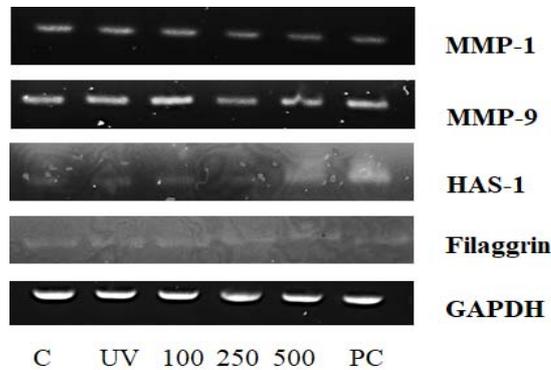
< HaCaT 세포에서 흑미블루베리유산균분말의 cell viability 측정, 세포독성 측정>

- HaCaT 세포에서 흑미블루베리유산균분말의 산화기전의 확인하기위하여 활성산소(ROS)를 측정하였음.
- UVB에 의해서 활성산소가가 증가됨이 확인이 되었으며, 흑미블루베리유산균분말의 농도 의존적으로 감소가 되는 것을 확인하였으며, 500 ug/ml의 농도에서 control과 거의 유사한 결과를 얻게 되었음.

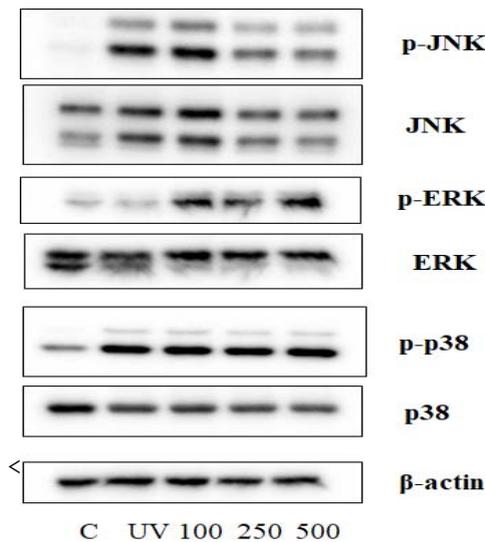


< HaCaT 세포에서 흑미블루베리유산균분말의 ROS 감소 >

- HaCaT 세포에서 흑미블루베리유산균분말의 피부보습 인자에 대하여, PCR을 통한 분석을 하였음.
- 피부보습인자의 Filaggrin, HAS-1의 유전자가 증가되었음.
- MMP-1, -9 은 감소가 되는 것을 확인하였음.



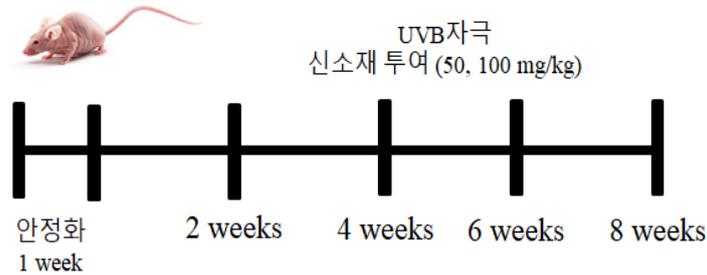
< HaCaT 세포에서 흑미블루베리유산균분말의 피부보습인자 발현 측정 >



HaCaT 세포에서 흑미블루베리유산균분말의 항염증 기전 측정 >

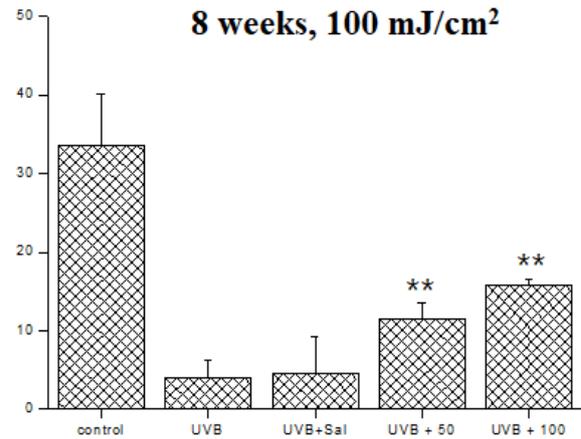
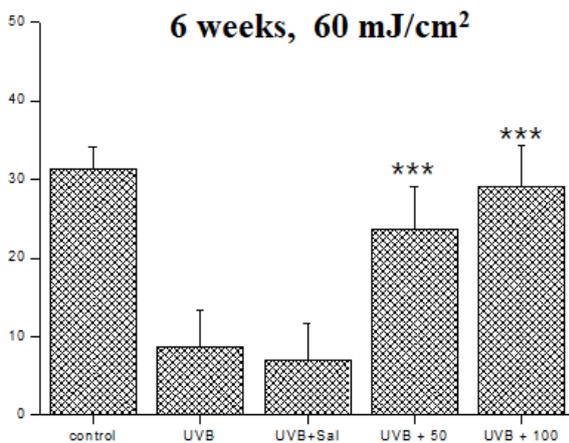
- 피부보습기전을 확인하기 위하여 western blot을 통하여 MAPK pathway를 확인하였으며, 흑미블루베리유산균 분말은 농도 의존적으로 UVB에 의해 증가된 단백질을 감소를 확인 하였음.

○ 피부건강개선의 효능 동물실험



<Hairless mice에서 흑미블루베리유산균분말의 동물실험 계획>

- 피부보습효능을 확인하기 위하여, 무모 마우스 동물을 이용하여, 검증하였으며, 1주의 안정화를 거치고, 총 8주간 매주 2회의 UVB를 조사하였으며, 매주 동물의 피부보습량을 측정하였음
- UVB 조사세기는 6주까지 60 mJ/cm<sup>2</sup>, 7 ~ 8주 2주간은 100 mJ/cm<sup>2</sup>의 세기로 조사하였음
- UVB의 조사에 의해서 피부보습량이 급격하게 감소되는 것을 확인 할 수가 있었으며, UVB에 의해 손상된 보습량은 vehicle인 식염수를 먹은 동물군에서 개선이 없었으나, 흑미블루베리분말을 먹은 동물군에서는 피부보습량이 개선 되는 것을 확인하였음.
- 특히 100 mJ/cm<sup>2</sup>의 세기를 받은 동물에게서 역시 개선이 되는 것을 확인 되었음.



<6주차와 마지막주치의 피부 보습량 측정>

- 8주의 UVB의 조사 후, 동물의 각질화 정도를 눈으로 확인한 결과, 아래의 사진과 같이 염증이 많이 사라지고 각질이 사라져 있음을 확인 할 수가 있었음.
- 동물의 조직을 이용한 피부보습 인자의 검증에서 피부보습에 중요한 인자인 Filaggrin의 발현이 UVB에 의해서 감소가 되었으며, 흑미블루베리유산균분말의 농도 의존적으로 증가되어 있음을 확인인 되었음.



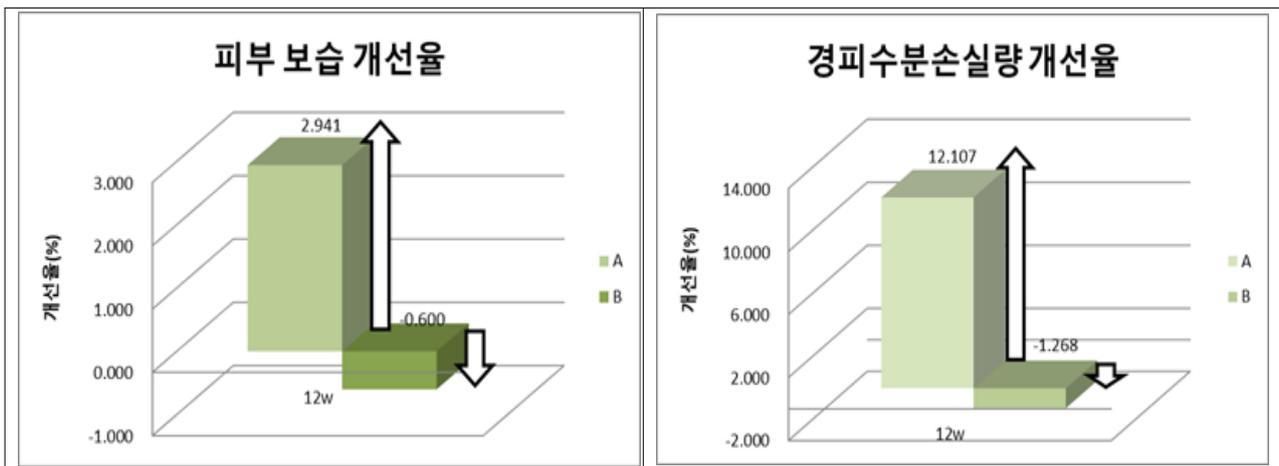
인원	구분	참여 피험자	탈락 및 중도 포기	시험을 종료한 총 피험자 (%)
95명	10대	1	0	1 (1%)
	20대	2	0	2 (2%)
	30대	38	2	36 (40%)
	40대	40	1	39 (43%)
	50대	14	1	13 (14%)

<인체적용시험 구성>

- 인체적용시험에 참가한 사람은 10대 1명, 20대 2명, 30대 38명, 40대 40명, 50대 14명으로 총 100명이 참가하였으며, 4명의 중도탈락으로 인하여 최종은 96명의 실험결과를 사용하였음.
- 피부상태에 대한 자가 설문평가를 실시하였으, A군과 B군으로 나누어 A군은 흑미블루베리유산균분말캡슐을 먹은 군과, B군은 위약군을 먹은 군으로 진행하였음.

		A(n=45)	B(n=46)	p-value
피부타입	매우 건조	3 (7%)	3 (7%)	0.839
	건조	22 (49%)	25 (54%)	
	중성	17 (38%)	14 (30%)	
	지성	3 (7%)	4 (9%)	
피부유분	매우 지성	0 (0%)	0 (0%)	0.184
	매우 적음	0 (0%)	4 (9%)	
	적음	15 (33%)	15 (33%)	
	보통	24 (53%)	22 (48%)	
피부두께	얇음	5 (11%)	5 (11%)	0.849
	매우 얇음	1 (2%)	0 (0%)	
	매우 많음	3 (7%)	3 (7%)	
	보통	13 (29%)	13 (28%)	
피부 탄력성	부푼	27 (60%)	26 (57%)	0.744
	두꺼움	1 (2%)	4 (9%)	
	매우 부드러움	1 (2%)	0 (0%)	
	매우 있음	0 (0%)	0 (0%)	
피부 표면상태	조금있음	7 (16%)	6 (13%)	0.564
	보통	24 (53%)	27 (59%)	
	부족함	12 (27%)	13 (28%)	
	매우 부족함	2 (4%)	0 (0%)	
음주유무	매우 부드러움	0 (0%)	0 (0%)	0.864
	부드러움	8 (18%)	5 (11%)	
	보통	34 (76%)	36 (78%)	
	거침	1 (2%)	5 (11%)	
흡연유무	매우 거침	2 (4%)	0 (0%)	0.450
	비흡연자	16 (36%)	10 (23%)	
	월 1-2회	15 (33%)	18 (41%)	
	주 1회	3 (7%)	11 (25%)	
흡연유무	주 2-3회	4 (9%)	4 (9%)	0.450
	주 4-5회	1 (2%)	1 (2%)	
	일절거 않음	6 (13%)	2 (5%)	
	비흡연자	43 (96%)	44 (96%)	
흡연유무	5개피 미만	0 (0%)	1 (2%)	0.450
	10개피 미만	0 (0%)	1 (2%)	
	10개피 이상	1 (2%)	0 (0%)	
	한 갑 이상	1 (2%)	0 (0%)	

<피부상태에 대한 자가 설문평가>



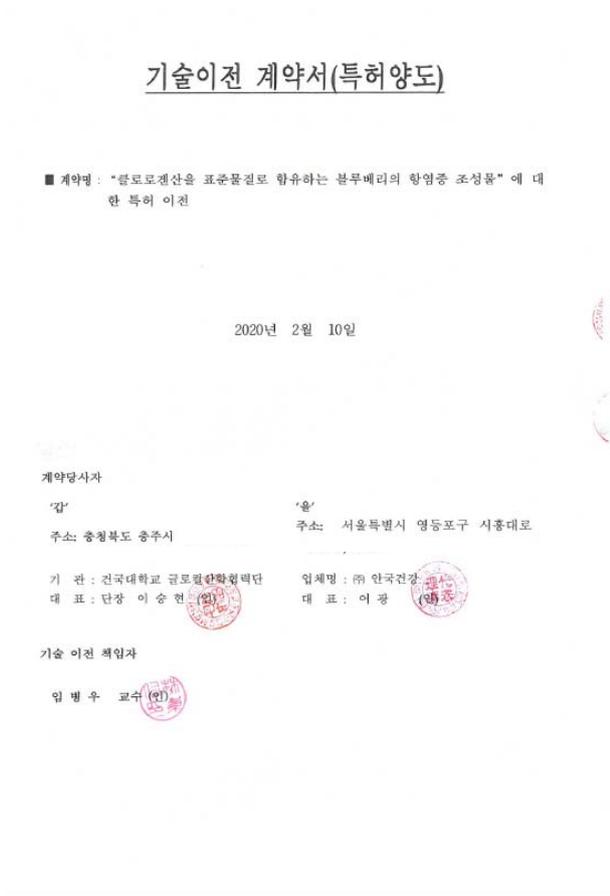
<흑미블루베리유산균 분말의 인체적용시험 결과>

- 총 12주간 흑미블루베리유산균을 섭취 후, 피부의 보습과 경피수분손실량을 측정하였음.
- 피부 보습은 약 4%의 개선률을 보였으며, 경피수분손실량은 13%의 개선이 되는 것을 확인 할 수가 있었음.
- 세포부터 동물, 인체적용시험을 한 결과, 흑미블루베리유산균은 피부건강 개선에 도움을 주는 것으로 인하였으며, 피부건강개선 (피부보습)에 대한 개별인정형 원료 신청의 자료로 추가 할 예정임.

- 흑미블루베리분말 아토피 환자를 대상으로 추가 시험을 계획
  - 흑미블루베리분말의 2차년도 협동기관 건국대학교의 결과에서 미세먼지로 유도된 피부질환의 개선의 효능을 보였음.
  - 본 과제를 통한 흑미블루베리분말을 아토피 환자에게도 인체적용시험을 계획하고자 함.
  - 본 과제에서 진행한 인체적용시험 기관인 세명대학교부속제천한방병원에서 IRB를 승인 받고자함.
  - 향후 아토피 환자 30명을 모집하여 흑미블루베리분말의 항아토피, 피부염 개선의 효능을 확인하고자 함.

○ 흑미블루베리분말관련 기술이전

- 본 과제를 통하여 협동기관은 블루베리의 항염증 효능에 대한 특허를 출원하였음.
- 본 기술을 통하여 협동기관인 건국대학교글로벌산학에서 주관기관인 안국건강으로 기술이전 실시를 하였음.



<기술이전>

기술실시보고서			
(단위 : 원)			
사업명	고부가가치식품기술개발사업	연구과제번호	117073-03-3
연구과제명	유색미, 블루베리 생물활성 신소재 활용 미세먼지로 의한 피부염 개선 개발인정형 건강기능식품 개발	연구기관명	건국대학교글로벌산학협력단
연구책임자	임병우	참여기업명	안국건강
연구협약일	2017.06.14	연구기간	2017-06-15 ~ 2019-12-31
연구개발비	정부출연금 550,000,000 기업부담금 183,340,000 기타 ( )	계	733,340,000
계약(활동)명	클로로겐산을 표준물질로 함유하는 블루베리의 항염증 조성물에 대한 특허 이전	계약(활동)기간	계약체결일 이후
계약(활동)일	2020.02.10.	실시(활동)기간	양도(매매)
지재권 종류	특허	실시권 유형	양도(매매)
지재권이 특허(출원/등록) 된 경우	명 칭	클로로겐산을 표준물질로 함유하는 블루베리의 항염증 조성물	
	번호	10-2020-0003761	일 자
	기관명	안국건강	기관유형
	주소	서울특별시 강남구 서초동 11층 1호	대표자
	실시(활동)기관	사업자번호	전화번호
		부세담당상태	e-mail
기술료산정내역	평가기술료	정량기술료	기타 조건
기술료	상수(남부)계약금	상수(남부)계약금	상수(남부)계약금
	2020.02.20.	2,000,000	상수(남부)시작일
	특허등록 후 2주 이내	18,000,000	생산개시일부피
	계	20,000,000	계약만료일까지 매출액의 (2%)
기타특기사항	국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제22조 제2항에 따라 위와 같이 기술실시계약이 체결되었음을 보고합니다. 불임 1. 기술실시계약서 사본 1부(타기관으로 기술이전시). 2. 지적재산권을 포함하는 기술이전인 경우 해당 증명자료(특허 등록증, 출원증 등) 1부 (타기관으로 기술이전시). 3. 연구개발과제협약서 사본 1부(직접실시시). 2020년 03월 12일 주관연구기관 안국건강(주) 의 대표 [인] 동림식품기술기획평가원장 귀하		

<기술실시보고서>

3. 연구개발 성과

3-1. 국내외 논문 게재

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	Inhibitory Effect of Arachis hypogaea (Peanut) and Its Phenolics against	Nutrients	Sin Hee Park	9(11)	Switzerland	Multidisciplinary Digital Publishi	SCI	2017.1 1.04	

	Methylglyoxal-Derived Advanced Glycation End Product Toxicity					ng Institute (MDPI)			
2	Diets, functional foods, and nutraceuticals as alternative therapies for inflammatory bowel disease: Present status and future trends	World journal of gastroenterology	Mohammad Al Mijan	24(25)	USA	Baishideng publishing group	SCI	2018.07.07	
3	The Effects of Aronia melanocarpa 'Viking' Extracts in Attenuating RANKL-Induced Osteoclastic Differentiation by Inhibiting ROS Generation and c-FOS/NFATc1 Signaling	Molecules	Mithun Ghosh	23(3)	Switzerland	MDPI	SCI	2018.03.08	
4	추출방법에 따른 두충 껍질 추출물의 항산화, 항염증 활성 비교	Korean journal of medicinal crop science	이영민	27(4)	대한민국	한국양육 식물학회지	비SCI	2019.07.05	

3-2. 국내 및 국제학술회의 발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	19th Asia Pacific Diabetes Conference	정민선	2017.07.21	Novotel Melbourne St Kilda	호주
2	2017 Annual Meeting of The Korean Society of Applied Pharmacology (Autophagy: from basic science to drug discovery)	정민선	2017.10.13	서울대 호암컨벤션센터	대한민국
3	The 10th international conference and exhibition on nutraceuticals & functional foods	이택환	2017.10.23	군산새만금컨벤션센터	대한민국
4	The 10th international conference and exhibition on nutraceuticals & functional foods	홍성민	2017.10.23	군산새만금컨벤션센터	대한민국
5	한국약용작물학회	박서현	2018.05.17	임업인종합연	대한민국

	춘계학술발표회			수원	
6	한국응용약물학회	Zahra Khan	2018.10.12	서울대 호암컨벤션 센터	대한민국
7	2019 한국약용작물학회	박서현	2019.05.16	여수 베네치아 호텔	대한민국
8	2019년 대한면역학회	박서현	2019.05.16	건국대학교 새천년관	대한민국

3-3. 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신품종, 프로그램)

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	블루베리 추출물을 함유하는 항염증용 조성물	대한민국	건국대학교글로컬산학협력단	2017.11.21	10-2017-0155747				100
2	블루베리 및 흑미 추출물 배양 유산균을 포함하는 피부상태 개선용 조성물	대한민국	안국건강(주), 가천대학교 산학협력단	2018.10.30	10-2018-0131080	안국건강(주), 가천대학교 산학협력단	2020.02.12	10-2018-0131080	100
3	클로로젠산을 표준물질로 함유하는 블루베리의 항염증 조성물	대한민국	건국대학교글로컬산학협력단	2019.01.10	10-2020-0003761				100

3-4. 전문 연구 인력 양성

No	분류	기준 년도	현 황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	연구원	2018			2		1	1		2				

3-5. 기술거래(이전) 등

No	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황
1	특허 양도	클로로젠산을 표준물질로 함유하는 블루베리의 항염증 조성물의 특허 양도	안국건강	2020.02.10	2000만원	

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

미세먼지 등 환경성 오염인자로 인해 유도되는 피부면역 기능 저하를 개선하는 유색미, 블루베리 생물전환 복합 신소재를 개발하고, 이의 최적 복합소재로 구성된 개별인정형 건강기능식품 개발 및 상품화하고자함.

#### 3-2. 목표 달성여부

1차년도		담당기관	달성여부
1	제품화를 위한 후보 기능성 소재의 검토	이택환 (안국건강(주))	달성
2	시장 소비자 타겟 제품 분석	이택환 (안국건강(주))	달성
3	효능 평가를 위한 천연물 소재 추출물 및 원료 제공	이택환 (안국건강(주))	달성
4	연구대상 표준시료 확보	이택환 (안국건강(주))	달성
5	원료의 스크리닝 및 생물전환 조건 확립	임병우 (건국대학교글로벌신학협력단)	달성
6	복합소재의 면역개선능 평가	임병우 (건국대학교글로벌신학협력단)	달성
7	복합소재의 피부염 개선 효능 검증	정민선 (가천대학교신학협력단)	달성
2차년도		담당기관	달성여부
1	복합물질 신소재 시제품 설계 및 제작	이택환 (안국건강(주))	달성
2	원형 제형 개발 및 인체적용 시험용을 위한 제형화 연구	이택환 (안국건강(주))	달성
3	제제 지표성분 분석 및 소비자 소사	이택환 (안국건강(주))	달성
4	복합소재 분석법 확립	이택환 (안국건강(주))	달성
5	최종 제품의 안전성 평가 (단회 투여독성, 반복 투여독성 등)	임병우 (건국대학교글로벌신학협력단)	달성
6	제품의 인체적용시험 준비 (CRO, IRB 승인) 및 시행	임병우 (건국대학교글로벌신학협력단)	달성
7	복합소재의 동물모델 전임상 평가	정민선 (가천대학교신학협력단)	달성
3차년도		담당기관	달성여부
1	최종 제품의 생산을 위해 대량생산 생산과 품질기준, 포장, 디자인 등의 설정 및 시장 진입 전략 수립	이택환 (안국건강(주))	달성
2	표준화된 기능성 원료를 이용한 제품개발	이택환 (안국건강(주))	달성
3	기능성 신소재의 산업화(대량생산) 공정 확립	이택환 (안국건강(주))	달성
4	복합물질 신소재 시제품의 안정성 평가 및 위해물질 분석	이택환 (안국건강(주))	달성
5	대량생산 제조공정별 지표성분 분석	이택환 (안국건강(주))	달성
6	인체적용 시험 및 개별인정형 원료 인증을 위한 식약처 자료 제출	임병우 (건국대학교글로벌신학협력단)	미달성

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

##### ○ 원인

- 개별인정형원료를 신청하기 위해서는 3회 이상의 같은 발효법으로 소재의 생산이 필요함.
- 현재 3회의 생산은 진행이 되었으나, 소재의 검증은 식약처 검증기관에서만 이루어져야됨.
- 검사의 기간은 기관의 시험에 따른 성적서가 나오는 시간이 다름.
- 모든 성적서가 첨부되어야지 개별인정형 원료로서 식약처에 신청이 가능함.

#### 4. 연구결과의 활용 계획 등

##### ○ 기술적 측면

- 곡류소비 증대, 지역 영농조합의 다양한 소재를 활용 및 효율성이 높은 소재 개발에 표준화된 기술을 응용하고자함.
- 기술적 경쟁력 상승을 통한 선진국의 기술이전 기피현상 극복이 가능할 것 임.
- 피부염 개선에만 집중하는 것이 아닌 피부건강 및 대사에 직접적/복합적으로 작용하여 부작용 및 합병증의 발병을 근본적으로 감소함.
- 개별인정형 원료 알려진 프로바이오틱소재는 유산균의 변형된 것이지만, 본 연구결과로 만들어진 소재는 생물전환소재로서, 프로바이오틱스보다 더 효능적인 소재이며, 개별인정형 건강식품을 만들 수 있을 것으로 보여짐.

##### ○ 경제적.산업적 측면

- 유색미, 블루베리 추출물은 피부염 개선 효능을 가지는 기능성식품 개발 가능성이 높은 소재로 부가가치 창출이 가능할 것으로 판단됨.
  - 곡류의 소비촉진을 위한 본 기능성식품 소재 개발은 지역 영농업체에 다양한 소재에도 적용할 수 있는 기술이 확립 가능함.
- 생물전환을 통한 유용물질 생산기반 기술개발은 피부염 개선 기능성식품 시장에 선점이 가능할 것으로 판단됨.
  - 기능성 식품 개발은 농축산물 기능성 소재의 실용 및 산업화에 기여하고 원료의 안전생산기술 개발 성과를 통해 국내 실용화 과정의 단축 및 국산 원료를 활용한 기능식품 제공으로 품질 및 안전성을 제고하고 소비자 신뢰도도 함께 구축할 수 있을 것으로 사료됨.
  - 본 연구가 종료 후에도 복합 신소재를 확용하여 국내 농축산식품과 기능성 식품 소재의 세계화를 통한 국가이미지가 상승될 것으로 예상됨.
- 의약품과 식품의 중간 형태로서 소비창출을 유도할 수 있는 새로운 산업분야의 활성화에 기여할 것으로 판단됨.

##### ○ 사업화 계획

- 고시형 프로바이오틱스 제품에 부원료로 흑미블루베리분말을 첨가하여 생산 판매하고자 함.
- 고시형 프로바이오틱스 제품 “모닝프리 하루유산균” 제품에 흑미블루베리유산균을 첨가 생산 판매예정.
- 개별인정형 원료 신청 후 흑미블루베리추출분말을 이용한 개별인정형 건강기능식품을 생산하고자 함.
- 개별인정형 원료 인정 후 계획

구분		개별인정형 원료 인정 후 1년	개별인정형 원료 인정 후 2년	개별인정형 원료 인정 후 3년
국내 (예상)	시장 점유율(%)	15	20	30
	매출액(천원)	50,000	150,000	500,000

## 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 아니됩니다.

[별첨 1]

## 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 유색미, 블루베리 복합생물전환 신소재를 활용한 환경오염성인자 유도 피부면역 이상 개선 건강기능식품 개발 (영문) Development of a health functional food to improve environmental pollutant-induced dermatitis using bioconversion materials from colored rice and blueberries				
주관연구기관	한국건강주식회사		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 한국건강주식회사	
참 여 기 업	한국건강주식회사		총 연 구 기 간	2017.06.15~ 2019.12.31( 2년 7월)	
총연구개발비 (733,340 천원)	계	733,340	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	34
	정부출연 연구개발비	550,000		내부인원	34
	기업부담금	183,340		외부인원	0
	연구기관부담금	0			
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <p>본 연구과제를 통하여, 환경오염인자로부터 발생할 수 있는 피부염, 피부건강에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품 개별인정형 원료 및 품목허가를 취득함으로써, 1)흑미블루베리유산균분말의 생물전환제조방법을 통한 장건강 뿐만아니라 피부건강, 아토피 등에도 예방 가능성에 대한 국제적인 원천기술을 확보하고, 2)흑미블루베리유산균분말의 과학적으로 입증된 고부가가치의 소재로써 농업경제 활성화로 농가의 지속적인 수입 증대를 이룰 수 있는 기반을 마련하고, 3) 기능성 소재 발굴에 따른 새로운 건강기능식품 개발을 통하여 지속적인 소비와 생산을 유지 할 수 있게 함으로써, 지역산업의 활성화에 기여하고자 함.</p> <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 흑미, 블루베리의 추출 농축액을 과체유래유산균인 락토바실러스 플라터럼으로 발효 한 소재를 개발</li> <li>2. 생물전환된 소재의 탁월한 항염증, 항산화 효능을 검증</li> <li>3. 환경오염인자로 인한 아토피 피부염이 발생한 동물모델에서 아토피 개선을 검증</li> <li>4. UVB를 통한 손상된 동물 피부를 피부보습 개선을 검증</li> <li>5. 인체적용시험을 통한 피부보습에 효능을 검증</li> </ol> <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 곡류소비 증대, 지역 영농조합의 다양한 소재를 활용 및 효율성이 높은 소재 개발에 표준화된 기술을 응용하고자 함</li> <li>2. 피부 개선에만 집중하는 것이 아닌 대사에 직접 복합적으로 작용됨을 검증하고자 함.</li> <li>3. 흑미블루베리유산균분말은 향후 다른 기능성식품 개발의 가능성이 높은 소재로써 부가가치를 창출 가능 할 것임. 그러므로 다른 질환의 예방을 검증하여 그 기능성을 넓히고자 함.</li> <li>4. 의약품고 1 식품의 중간형태로서 소비창출을 유도 할 수 있는 새로운 산업분야의 활성화에 기여하고자 함.</li> </ol>					

## 자체평가의견서

### 1. 과제현황

		과제번호		117073-3	
사업구분	고부가가치식품기술개발사업				
연구분야	식품		과제구분	단위	
사업명	고부가가치식품개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	유색미, 블루베리 복합생물전환 신소재를 활용한 환경오염성인자 유도 피부면역 이상 개선 건강기능식품 개발		과제유형	(개발)	
연구기관	안국건강주식회사		연구책임자	이택환	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2017.06.15 ~ 2017.12.31	80,000	26,670	106,670
	2차연도	2018.01.01 ~ 2018.12.31	300,000	100,000	400,000
	3차연도	2019.01.01 ~2019.12.31	170,000	56,670	226,670
	계		550,000	183,340	733,340
참여기업	안국건강주식회사				
상대국		상대국연구기관			

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2020.02.19

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
안국건강주식회사	연구소장	이택환

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	--

# I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

## 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

국내외 블루베리, 유색미를 유기용매 추출법을 이용하여 대표적인 과채유래유산균을 사용하여 생물전환 신소재를 제조하였으며, 이를 이용한 항산화, 항염증, 아토피피부염, 피부보습 평가를 수행했음. 각 추출물을 HPLC를 통하여 유효성분을 확인하였으며, 1차년도 2차년도를 통하여 항산화, 항염증, 아토피피부염에 대한 세포, 동물 실험을 통하여 검증하였으며, 3차년도에서 피부보습에 관련된 세포, 동물, 인체적용시험에 이르기까지 개별인정형원료로 신청하기 위한 시험을 마쳤으며, 체계적으로 잘 수행하였음.

## 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

국내외 블루베리, 유색미를 유기용매 추출법을 이용하고, 대표적인 과채유래유산균을 사용하여 생물전환 신소재를 제조하는 유산균의 효능뿐만 아니라, 추가적인 블루베리와 유색미의 효능을 가지고 있음으로 앞으로의 건강기능식품으로써의 새로운 패러다임으로 적용이 될 것이고, 다양한 건강기능식품의 원료로서의 넓은 가능성을 보여주는 것으로 사료됨.

## 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

아토피피부염, 피부보습 같은 피부질환에 대한 고기능성 신소재 개발을 위한 유효활성물질을 탐색하고, 항염증, 항산화의 기능평가는 건강기능식품 개발 및 안정적인 신소재를 개발 할 수 있는 독자기술을 확립 해당분야의 국내외 기술적, 산업적 경쟁력 확보고 될 수 있을 것이라고 사료됨.

## 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

체계적인 실험설계를 바탕으로 추진일정에 맞춰서 수행 할 수 있었으며, 특히 각 협동기관의 확보한 기술을 통한 신소재의 개발 및 효능검증을 통한 검증은 모두 완료되었음. 본래는 계획되어 있지 않았지만, 피부건강으로 보습의 연구도 추가적으로 실시 되었으며, 따라서 신소재의 피부 개선 대한 연구개발은 성실히 이행하였다고 사료됨.

## 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구과제를 통한 연구개발성과는 특허출원 3건, 기술이전 1건, SCI논문 3건, 비SCI논문 1건, 학술발표 8건, 교육지도 3건등으로 이것은 최초의 제시한 정량적인 성과의 목표에 달한 것으로 초과달성 포함 정량적 실적으로는 100%달성하였다고 사료됨.

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
제품화를 위한 후보 기능성 소재의 검토	5	100	유색미의 다양한 종류의 추출물을 통한 효능 검증을 통한 소재의 검토가 되었음.
시장 소비자 타겟 제품 분석	5	100	건강기능식품 시제품의 소비자 기호도 검사를 통한 제품 분석을 하였음.
효능 평가를 위한 천연물 소재 추출물 및 원료 제공	5	100	천연물 소재의 단가와 공급처를 비교하여 원료를 제공하였음.
원료의 스크리닝 및 생물전환 조건 확립	10	100	락토바실러스의 여러 가지 종류, 발효시간 등을 통한 항산화, 항염증에 대한 효능평가를 진행하여 생물전환 조건을 확립하였음.
복합소재의 피부염 개선 효능 검증	5	100	미세먼지로 인하여 발생된 피부염에 대한 개선 효능을 밝혔음.
원형 제형 개발 및 인체적용 시험용을 위한 제형화 연구	5	100	분말, 타블릿, 캡슐화등을 통한 인체적용시험용을 위한 제형화 연구를 하였음.
제제 지표성분 분석	10	100	HPLC를 통한 지표물질을 선정하였으며, 외부기관에 의뢰하여 검증하였음.
최종 제품의 안전성 평가 (단회 투여독성, 반복 투여독성 등)	5	100	한국건설생활환경시험연구원에 의뢰 단회 투여독성, 반복 투여독성, 소핵시험등을 진행하였음.
제품의 인체적용시험 준비 (CRO, IRB 승인) 및 시행	20	100	세명대학교부속제천한방병원에서 인체적용시험 준비를 위한 IRB를 신청하였고, 통과되었음.
복합소재의 동물모델 전임상 평가	5	100	복합소재의 아토피피부염, 피부보습에 대한 전임상 평가를 진행
표준화된 기능성 원료를 이용한 제품개발	5	100	메디오젠, 휴온스를 통한 표준화된 기능성원료를 생산하였으며, 콜마비엔에이치에서 표준화된 기능성 원료를 통한 제품을 개발하였음.
복합물질 신소재 시제품의 안정성 평가 및 위해물질 분석	5	100	한국식품과학연구원을 통한 중금속 검출 시험을 진행하였음.
인체적용 시험 및 개별인정형 원료 인증을 위한 식약처 자료 제출	20	97	인체적용시험은 세명대학교부속제천한방병원에서 실행하였으며, 추가 생산품에 대한 식약처 저장기관 KOTITI시험연구원에서 검증진행중이며, 개별인정형 원료로 신청하기위한 서류를 준비중에 있음. (과제종료후 제출 예정)
합계	100점	99	

### Ⅲ. 종합의견

#### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

국내외 블루베리, 유색미를 유기용매 추출법을 이용하여 최대의 효능을 보이는 비율로 과채유래유산균을 사용하여 생물전환 신소재를 제조하였음. 이 생물전환 신소재는 항산화, 항염증, 아토피피부염, 피부보습에 탁월한 효능을 가지고 있는 것을 세포, 동물, 인체적용시험을 통하여 검증하였음. 향후, 이 소재를 통한 프로바이오틱스, 개별인정형 원료로 인정 받을 수 있을 것이라고 사료됨. 마지막으로 향후의 건강기능식품의 발전에 도움을 줄 것이라고 사료됨.

#### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

블루베리, 유색미를 이용하여 신소재 개발을 하였으며, 1, 2차년도에 세포와 동물 실험을 통하여 미세먼지로 인한 아토피 피부염에 대한 효능을 검증하였으며, 추가적으로 피부수분손실량의 개선이 되는 것을 확인하였으며, 그리하여 3차년도에서는 피부건강을 중점으로 연구를 하였음. 그래서 세포, 동물, 인체적용시험까지 진행하였으며, 피부건강에 도움을 줄 수 있는 생물전환 신소재임을 밝혔음. 이에, 식약처 고시형 건강기능식품을 개발하였음.

#### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

1. 장건강에 좋은 유산균의 생체 내 피부보습 기전에 대한 메카니즘 해명하는데 활용
2. 새로운 식품의 기능성 소재로 개발로 인한 피부질환 관련 건강기능성 식품개발의 기초자료로 활용
3. 미세먼지로 인한 질환의 예방과 개선의 메카니즘 해명에 활용
4. 직접, 간접의 의료비 절감
5. 천연물 관련 농가의 산업 활성화로 지역경제 발전에 활용

#### IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

##### 1. 연구책임자의 의견

해당사항없음.

##### 2. 연구기관 자체의 검토결과

해당사항없음.

[별첨 3]

## 연구성과 활용계획서

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	건강기능식품기술개발			
연구과제명	유색미, 블루베리 복합생물전환 신소재를 활용한 환경오염성인자 유도 피부면역 이상 개선 건강기능식품개발						
주관연구기관	안국건강주식회사			주관연구책임자		이택환	
연구개발비	정부출연 연구개발비		기업부담금		연구기관부담금		총연구개발비
	550,000		183,340				733,340
연구개발기간	2017.06.15. ~2019.12.31.						
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전		<input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도		<input type="checkbox"/> 정책자료		<input type="checkbox"/> 기타(            )
	<input type="checkbox"/> 미활용 (사유:            )						<input type="checkbox"/> )

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 유색미, 블루베리의 생물전환 신소재 개발	흑미, 블루베리의 농축액을 락토바실러스 플라타렘으로 생물전환한 신소재를 개발하였음.
② 생물전환신소재의 미세먼지로 인한 피부염의 개선확인	미세먼지로 유도된 피부염증을 생물전환 신소재로 인하여 항염증 효능을 검증하였음.
③ 생물전환 신소재의 제형연구	성인 남녀의 선호도를 조사하여, 선호도를 반영한 제형으로 제작하였음.

\* 결과에 대한 의견 첨부 가능

### 3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인 증	학술성과				교 육 지 도	인 력 양 성	정책 활용-홍보		기 타 (타 연 구 활 용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표	정 책 활 용			홍 보 전 시		
												SC I	비 SC I						논 문 평 균 IF	
단위	건	건	건	건	백	건	백	백	명	백	건	건	건	건	명	건	건			

				만 원		만 원	만 원		만 원									
가중치	20	10		10		20						5	5	10				
최종목표	1	2		1	20	1			0			3	2	2.5	5	3		1
연구기간내 달성실적	3	0		1	20	1			3			3	1	3.2 4	8	3		
달성율(%)	30 0%	0		10 0%	10 0%	10 0%			초 가 달 성			10 0%	50 %	13 0%	16 0%	10 0%		

#### 4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	블루베리 추출물을 함유하는 항염증용 조성물
②	블루베리 및 흑미 추출물 배양 유산균을 포함하는 피부상태 개선용 조성물
③	클로로겐산을 표준물질로 함유하는 블루베리의 항염증 조성물

#### 5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업제이전 (상품화)	현장에로 해결	정책 자료	기타
①의 기술						v				
②의 기술						v	v			
③의 기술						v	v			

\* 각 해당란에 v 표시

#### 6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	블루베리의 항염증 효능을 이용하여, 면역질환 건강기능식품으로 개발을 할 것이며, 미세먼지 이슈와 염증에 대한 관심이 높아져 건강기능식품으로 산업화로의 발전이 기대됨.
②의 기술	건강기능식품은 홍삼 다음으로 2020년엔 프로바이오틱스가 차지하고 있음. 변 연구결과를 바탕으로 장건강 외 피부건강까지 더해지는 프로바이오틱스의 건강기능식품을 개발하여, 건강기능식품 시장에 맞춰 나갈 것임.
③의 기술	클로로겐산은 다양항 효능을 보이고 있으므로 1번의 기술과 함께 건강기능식품으로 사업화로의 발전을 기대함.

#### 7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표	정책활용			홍보전시		
												SCI	비SCI						논문평균IF	
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명		1			
가중치																				
최종목표						10,000	5,000													
연구기간내 달성실적																				
연구 종료 후 성과창출 계획						10,000	5,000										1			

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 <sup>1)</sup>	클로로젠산을 표준물질로 함유하는 블루베리의 항염증 조성물		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	200천원
이전방식 <sup>2)</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타( )		
이전소요기간		실용화예상시기 <sup>3)</sup>	
기술이전시 선행조건 <sup>4)</sup>	해당사항없음.		

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리  
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)