120048
-2

사이코바이오틱스에 의한 수경재배 인삼의 발효시스템 확립 및 인지능력 개선 기능성 소재의 산업화

농림식품기술기획평가원

농 림 축 산 식 품 부

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

유용농생명자원산업화 기술개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호
11-1543000-003986-01

사이코바이오틱스에 의한 수경재배 인삼의 발효시스템 확립 및 인지능력 개선 기능성 소재의 산업화

2022. 04. 01

주관연구개발기관/건국대학교
협동연구개발기관/㈜락토메이슨
협동연구개발기관/경남대학교

농 림 축 산 식 품 부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 "사이코바이오틱스에 의한 수경재배 인삼의 발효시스템 확립 및 인지능력 개선 기능성 소재의 산업화"(개발기간 : 2020. 04. 29 ~ 2021. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 04. 01

주관연구기관명 : 건국대학교 산학협력단 송창선 (인)
협동연구기관명 : ㈜락토메이슨 손민 (인)
협동연구기관명 : 경남대학교 산학협력단 강재관 (인)

주관연구책임자 : 백 현 동 (건국대학교)
협동연구책임자 : 신 소 림 ((주)락토메이슨)
협동연구책임자 : 박 은 주 (경남대학교)

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

< 요 약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

<table>
<tr><td colspan="2">사업명</td><td colspan="2">유용농생명자원산업화
기술개발사업</td><td>총괄연구개발 식별번호
(해당 시 작성)</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">내역사업명
(해당 시 작성)</td><td colspan="2"></td><td>연구개발과제번호</td><td>120048-2</td></tr>
<tr><td rowspan="2">기술분류</td><td>국가과학기술
표준분류</td><td>LB1703</td><td>70%</td><td>LB1801</td><td>30%</td></tr>
<tr><td>농림식품
과학기술분류</td><td>PA0102</td><td>70%</td><td>PA0201</td><td>30%</td></tr>
<tr><td colspan="2">총괄연구개발명
(해당 시 작성)</td><td colspan="4"></td></tr>
<tr><td colspan="2">연구개발과제명</td><td colspan="4">사이코바이오틱스에 의한 수경재배 인삼의 발효시스템 확립 및 인지능력 개선 기능성 소재의 산업화</td></tr>
<tr><td colspan="2">전체 연구개발기간</td><td colspan="4">2020. 04. 29 - 2021. 12. 31(1년 9개월)</td></tr>
<tr><td colspan="2">총 연구개발비</td><td colspan="4">총 707,000천원
(정부지원연구개발비: 528,000천원, 기관부담연구개발비 : 179,000 천원)</td></tr>
<tr><td colspan="2">연구개발단계</td><td colspan="2">기초[ ] 응용[ ] 개발[√]
기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[ ]</td><td>기술성숙도
(해당 시 기재)</td><td>착수시점 기준( )
종료시점 목표( )</td></tr>
<tr><td colspan="2">연구개발과제 유형
(해당 시 작성)</td><td colspan="4"></td></tr>
<tr><td colspan="2">연구개발과제 특성
(해당 시 작성)</td><td colspan="4"></td></tr>
<tr><td rowspan="2">연구개발
목표 및 내용</td><td>최종 목표</td><td colspan="4">○ 본 연구의 최종목표는 기능성 김치 유산균을 이용하여 인지능력 개선을 위한 기능성 식품 소재를 개발하고자 하는 데 있음.
○ 수경재배 인삼과 인지능력 개선 효과가 확보된 프로바이오틱 김치 유산균을 활용하여 발효물을 유효성분으로 하는 치매 등의 신경성 질환 예방 및 치료에 효과가 있는 것으로서 효능 평가를 통한 과학적 근거를 확보하고자 함. 더 나아가 개발된 소재를 적용한 기호성과 기능성이 더욱 다양화된 기능성 식품을 개발하고 이를 산업화하고자 함.
○ 최종적으로 협동기관인 ㈜락토메이슨을 통해 기능성 수경재배 인삼 발효물의 대량생산 시스템을 구축하고 이를 적용한 제품 2종을 개발하여 산업화하고자 함.</td></tr>
<tr><td>전체 내용</td><td colspan="4">○ 본 연구는 발효 수경재배 인삼의 소재 개발 및 기능성을 검증하고 인지능력 개선 기능성을 가진 유산균 발효 수경재배 인삼의 발효공정을 최적화하여 산업화하고자 함.
○ 김치에서 분리한 기능성 유산균인 Lactococcus lactis KC24가 높은 항산화능을 가졌으며, 신경세포(SK-N-SH) 보호 효과가 나타남. 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 인지행동학적 지표, 신경전달 관련 지표, β-amyloid 억제능, 뇌 조직의 DNA 손상도 분석을 통해 L. lactis KC24의 생균과 사균 모두 인지능력 개선 효과가 있는 것</td></tr>
</table>

			을 확인함. ○ 2년근 수경재배 인삼과 6년근 수삼의 기능성을 비교하였을 때, 2년근 수경재배 인삼이 높은 항산화 활성을 나타내었으며 신경세포(SK-N-SH) 보호 효과를 검증하여 2년근 수경재배 인삼이 인지기능 개선 기능성 소재로 적합함을 확인하고 이를 동물실험을 통해 기능성을 검증함. ○ 인지기능 개선 기능성을 가진 *L. lactis* KC24와 2년근 수경재배 인삼을 이용한 발효조건을 확립한 후에 발효물에 대한 ginsenoside 조성의 변화를 확인함. 발효물을 이용한 실험결과, 신경세포(SH-SY5Y, SK-N-SH)에서 신경세포 보호 효과가 나타남. 또한, 발효를 통해 *L. lactis* KC24에 대한 독성 또는 항균력이 감소하였음을 확인함. ○ 최종적으로 2년근 수경재배 인삼 발효물, *L. lactis* KC24 및 부형제를 배합하여 시제품을 제조함. 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 인지행동학적 지표, 신경전달 관련 지표, β-amyloid 억제능, 뇌 조직의 DNA 손상도 분석을 통해 시제품의 인지능력 개선 효과를 확인함. 제품에서의 유효성을 검증하였으며, 제품의 지표성분 분석 및 품질 점검을 진행함. ○ 본 연구를 통해 제조한 시제품은 인지능력 개선 효과를 가진 제품으로서, 개발제품의 사업화를 위해 다양한 유통라인 개척, 판매전략을 모색하였고 마케팅 강화를 위한 다각도의 분석을 바탕으로 사업화를 진행할 예정임.
	1단계 (해당 시 작성)	목표	
		내용	
	n단계 (해당 시 작성)	목표	
		내용	

연구개발성과	○ 정성적 연구개발성과 *L. lactis* KC24 균주의 신경세포 보호 효과, 인지능력 개선 효과를 확인하였고 본 균주를 이용한 수경재배 인삼 발효물의 신경세포 보호 효과를 확인함. 동시에 *L. lactis* KC24 균주의 최적 배양조건과 발효조건을 확립함. 이를 바탕으로 인지기능 개선 효과가 나타나는 *L. lactis* KC24 생균과 수경재배 인삼 발효물을 배합한 시제품을 제조하였고, 이의 기능성을 검증하여 개발제품을 사업화함. ○ 정량적 연구개발 성과 • SCIE급 논문 1건 • 학술발표 7건 • 특허출원 3건 - 락토코커스 락티스 KC24 균주를 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 조성물

	– 유산균 발효 수경재배 인삼 추출물의 신경질환 예방 또는 치료용 조성물 – 프로바이오틱스의 안정성을 향상시킨 인삼 발효 포스트바이오틱스 함유 조성물 • 제품화 2건 • 인력양성 6명 • 고용창출 2명
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	현재 수경재배 인삼이 다양한 기능성을 함유하고 있음에도 건강기능식품으로서 다양하게 이용되지 못한 실정임. 본 연구개발의 성과를 통해 수삼과 마찬가지로 수경재배 인삼과 이의 발효물이 천연 기능성 소재로 다양한 산업 분야에서 활용될 것으로 기대됨. 또한, 국내에서는 사이코바이오틱스 상품의 개념은 확산되고 있으나 실제 상품의 종류가 많지 않은 도입기로 인지 개선 관련 건강기능식품 시장의 확대가 기대됨. 더 나아가 인지능력 개선 효과를 가진 *L. lactis* KC24와 수경재배 인삼 발효물의 항염 효과, 항암 효과, 면역 증진 효과와 같은 다양한 기능성 연구를 통해 활용도가 높아질 수 있을 것으로 사료됨.
연구개발성과의 비공개여부 및 사유	

연구개발성과의 등록・기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구시설・장비	기술요약정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명정보	생물자원		정보	실물
	1	3										

연구시설・장비 종합정보시스템 등록 현황	구입기관	연구시설・장비명	규격(모델명)	수량	구입연월일	구입가격(천원)	구입처(전화)	비고(설치장소)	ZEUS 등록번호

국문핵심어 (5개 이내)	수경재배 인삼	프로바이오틱스	항산화 효과	신경보호 효과	알츠하이머
영문핵심어 (5개 이내)	Hydroponic ginseng	Probiotics	Antioxidant activity	Neuroprotective effect	Alzheimer's disease

최종보고서

보안등급
일반[√], 보안[ ]

중앙행정기관명	농림축산식품부	사업명	사업명	유용농생명자원산업화 기술개발사업	
전문기관명 (해당 시 작성)	농림식품기술기획평가원		내역사업명 (해당 시 작성)		
공고번호		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
		연구개발과제번호		120048-2	

기술분류	국가과학기술 표준분류	LB1703	70%	LB1801	30%		
	농림식품과학기술 분류	PA0102	70%	PA0201	30%		

총괄연구개발명 (해당 시 작성)	국문	
	영문	
연구개발과제명	국문	사이코바이오틱스에 의한 수경재배 인삼의 발효시스템 확립 및 인지능력 개선 기능성 소재의 산업화
	영문	Industrialization of bio-functional materials produced by psycobiotics and hydroponic ginseng for improved cognition activity

주관연구개발기관	기관명	건국대학교 산학협력단	사업자등록번호	206-82-07325
	주소	(우 05029)서울시 광진구 능동로 120 건국대학교	법인등록번호	240171-0007625

연구책임자	성명			직위	
	연락처	직장전화	02-2049-6011	휴대전화	010-4586-6189
		전자우편		국가연구자번호	

연구개발기간	전체		2020. 04. 29 - 2021. 12. 31(1년 9개월)
	1단계	1년차	2020. 04. 29 - 2020. 12. 31(9개월)
		2년차	2021. 01. 01 - 2021. 12. 31(1년)

연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금				합계			연구개발비 외 지원금
					지방자치단체		기타( )					
		현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	현금	현물	합계	
총계		528,000	7,700	171,300					535,700	171,300		
1단계	1년차	226,000	7,700	69,300					233,700	69,300		
	2년차	302,000	-	102,000					302,000	102.000		

공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)	기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고	
						역할	기관유형
공동연구개발기관	㈜락토메이슨	신소림	책임연구원			공동	중소기업
	경남대학교 산학협력단	박은주	교수			공동	대학

연구개발담당자 실무담당자	성명		박지영	직위	연구원
	연락처	직장전화		휴대전화	
		전자우편		국가연구자번호	

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

2022 년 2 월 11 일

연구책임자: 백 현 동 (인)

주관연구개발기관의 장: 건국대학교 산학협력단 송창선 (직인)

공동연구개발기관의 장: ㈜ 락토메이슨 손민 (직인)

공동연구개발기관의 장: 경남대학교 산학협력단 강재관 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요 ····· 5

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용 ····· 40

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도 ····· 109

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성) ····· 117

5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도 ····· 118

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획 ····· 119

별첨 자료 (참고 문헌 등) ····· 121

1. 연구개발과제의 개요

가. 연구개발 목적

1) 연구개발의 개요

가) 연구개발의 대상 및 기술, 제품의 개요

(1) **연구개발의 개요:** 본 과제는 현대 복잡한 사회의 스트레스 및 식생활 변화 등에 따라 유발되는 산화적 스트레스(oxidative stress)에 의한 신경 및 뇌질환의 예방 또는 치료를 위한 제품을 개발하는 것으로 사이코바이오틱 유산균으로 선별된 균주를 통하여 수경재배 인삼을 발효시켜 생리 기능성이 더욱 우수한 기능성 식품 소재를 개발하고자 함(그림 1).

그림 1. 연구개발 추진 모식도

○ 뇌(신경) 질환

- 주요 증상으로는 노년층의 치매로 알려져 있으며 국내에서는 12분마다 1명씩 치매 환자가 발생하여 보건복지부 중앙치매센터에 따르면, 전국 65세 이상 추정 치매환자수는 2019년 약 79만 명이고, 2030년 136만명, 2040년 220만 명, 2050년에는 300만 명을 넘을 것으로 예상됨(그림 2, 3).

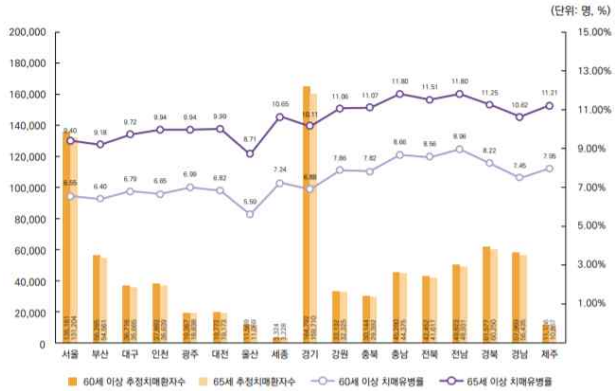


그림 2. 국내 치매 지역별 인구 현황
출처: 중앙치매센터 대한민국 치매 현황 2020

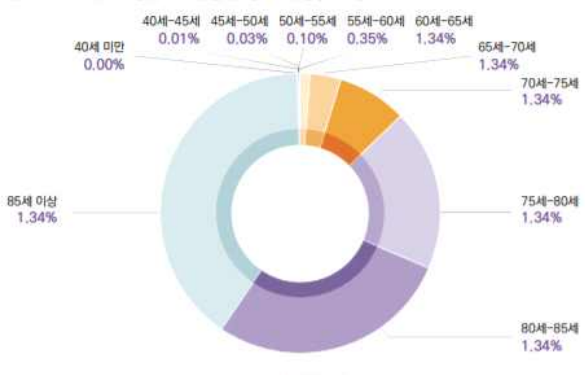


그림 3. 연령별 치매 환자에 대한 분포도
출처: 중앙치매센터 대한민국 치매 현황 2020

○ **수경재배 인삼**

- 인삼은 예로부터 뿌리를 약재로 사용한 대표적인 한국의 한약재임. 그러나 환경적인 제약으로 인해 기후에 따라 수확량의 차이 등이 있을 뿐만 아니라 재배 기간이 매우 길며, 재배 시 곤충 및 질병 방지를 위한 여러 가지 농약의 사용으로 잔류농약 등이 문제 시 되고 있음. 이에 대하여 수경재배 방식은 안정된 품질과 수확량 및 잔류농약의 문제점을 해소할 수 있어 최근 주목받고 있음.

그림 4. 수경재배 인삼.

- 즉, 수경재배 인삼은 흙을 사용하지 않고 물과 수용성 영양분으로 만든 배양액 속에서 인삼을 키우는 방법으로 2년근 크기의 수삼(8~10 g)을 4개월 만에 수확할 수 있고 친환경 생산이 가능함(그림 4).

- 그러나, 수경재배 인삼의 잎과 뿌리는 식품 가공 시 원료로 사용할 수 있지만 줄기는 사용할 수 없도록 한 식품 규정으로 인해 그동안 수경재배 인삼의 생산과 소비, 식품개발이 부진했었음. 그러나 최근 농촌진흥청은 수경재배 인삼의 줄기를 식품의약품안전처로부터 사용 가능하다는 인가를 받음. 인삼의 새로운 수요 창출이 절실한 시점에 이번 제도 개선을 통해 그동안 잘 알려지지 않았던 수경재배 인삼의 잎, 줄기 등 지상부를 이용한 다양한 식품이나 요리로의 활발한 활용이 예상됨.

- 수경재배 인삼의 뿌리는 조사포닌 함량이 14.3~15.8 ㎎/g으로 영양적 가치가 뛰어나며, 더욱이 잎과 줄기는 비타민C가 풍부하고 뿌리보다 사포닌 함량이 8~9배나 많은 140~180 ㎎/g을 함유하고 있음.

- 인삼의 ginsenoside의 하나인 Rb1 등은 치매 예방의 효과가 있음이 입증되었고 발효 홍삼에 대하여서도 치매 예방 효과가 있음이 알려져 있음. 더 나아가 인삼의 여러 가지 미생물에 의한 생물전환(bioconversion)으로 생성되는 Rd 및 compound K 등의 물질들은 뇌신경 손상에 더욱 도움이 되는 것으로 알려져 있음(그림 5).

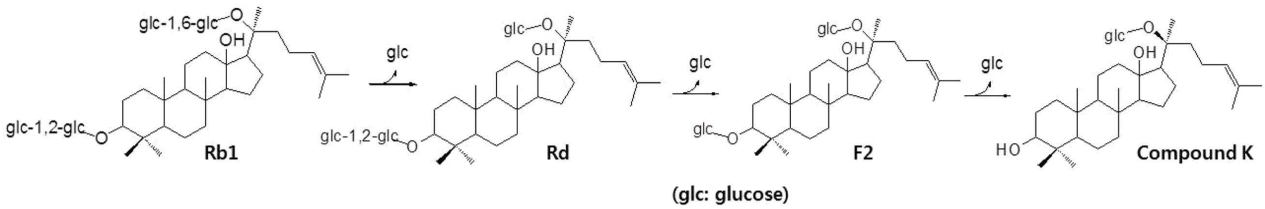


그림 5. 미생물에 의한 인삼 ginsenoside의 생물전환 경로

Jo et al., 2014

- Gintonin은 인삼에 존재하는 단백질인 ginseng latex-like protein 151(GLP151) 및 ribonuclease-like storage protein과 lysophosphatic acid(LPA)가 결합된 glycolipoprotein임(그림 6). GLP인 경우 His147 과 His148 위치에 결합되어 있음. LPA는 다른 receptors에 전달되어 동물 세포 내에서 $[Ca^{2+}]i$ transient 효과를 이끌며 anti-Alzheimer's disease의 치료 및 아토피 피부염에 효과가 있는 것으로 알려져 있음. 이외에도 항암, 퇴행성 뇌 신경 예방, 혈전성 질환 예방, 우울증 예방, 안과 질환 예방, 신경세포 신생 촉진, 지구력 증진 등의 효과 있음이 알려져 있음(Hwang et al., 2012).

(가) (나).

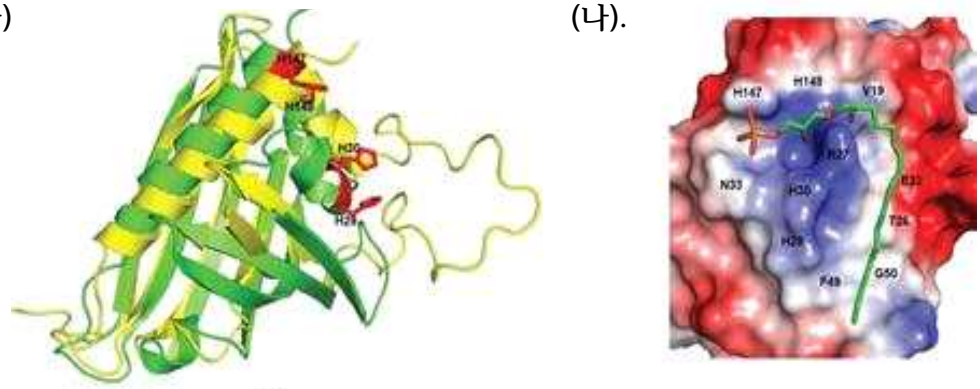


그림 6. Ginseng major latex-like protein 151(GLP151)의 분자 구조

(가). 붉은 부분: lysophosphatidic acid, (나). GLP 내의 아미노산과의 결합 부위

Choi et al., 2015

○ **건강기능식품의 트렌드**

- 「건강기능식품에 관한 법률」에 따르면 `건강기능식품'이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조(가공 포함)한 식품을 말함. 같은 법에서 `기능성'을 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것이라고 정의하고 있음. 이렇게 건강기능식품의 제조에 사용되는 기능성을 가진 물질을 “기능성 원료”라고 함.

- 소비자가 건강기능식품을 구매하거나 이용할 때 보다 쉽게 인정 여부, 안전성 등을 확인할 수 있도록 건강기능식품 표시, 우수 건강기능식품 제조기준(GMP) 인증, 표시·광고 사전 심의 필요 등을 표시하도록 하고 있음(그림 7).

건강기능식품 우수건강기능식품제조기준 표시광고 심의필

그림 7. 국내 건강기능식품 표시 종류

- 식품업계와 마찬가지로 `안심하고 먹을 수 있는 재료'에 대한 수요가 급증함. 우수한 원재료뿐만 아니라 식품의약품안전처의 검사명령제, 퀄리씨(Quali-C), 할랄(Halal), 코셔(Kosher) 등 안전성 관련 인증이 강화되고 있음.

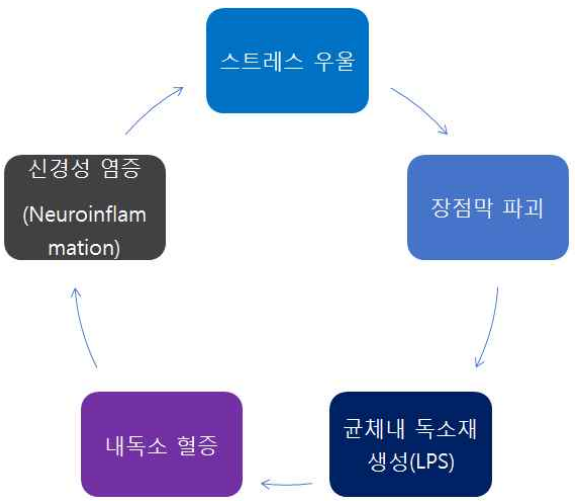
- 표적 시장이 매우 세분화되어 2030세대를 위한 이너뷰티, 슬리밍 뷰티 제품과 5060세대를 위한 웰에이징 제품이 확대되고 있으며, 메르스, 수족구, 독감, 코로나에 이르기까지 최근 전국적으로 감염성 질병이 빈번해짐에 따라 면역력 증진에 관한 관심도 높아짐.

- 수입브랜드 제품을 직접 구매하는 경향이 지속됨. 수입 브랜드를 직접 구매하는 가장 큰 장점은 가격인 것으로 조사됨.

○ **사이코바이오틱스**

- 프로바이오틱스는 인체 내에 유익한 균으로서 인간의 건강을 유지 또는 증진시키는 균들을 말하며 정균 효과뿐만 아니라 비만이나 당뇨병, 콜레스테롤 저하 등 질병 치료에 이용되기도 하며 주로 유산균이 여기에 속함.

- 특히, 치매 등 산화적 stress에 의해 손상된 뇌세포 또는 신경세포에 대하여 치유의 효과가 있거나 우울증 등 뇌 질환에 영향을 주는 유해균(그림 8)을 저해하거나 세로토닌, 도파민, GABA 등 신경전달물질 생산을 촉진함으로써 치유 효과가 있는 프로바이오틱스를 사이코바이오틱(psychobiotics)라고 칭함(그림 9).



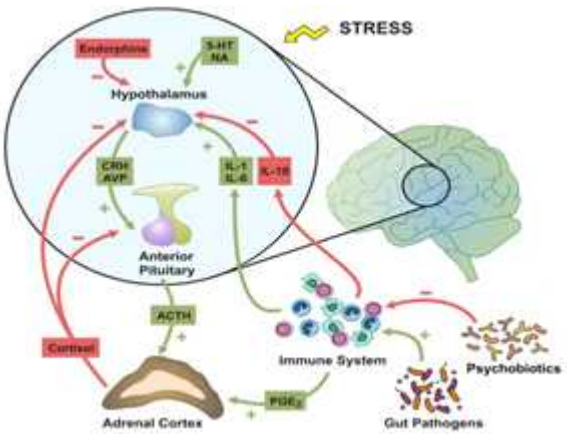


그림 8. 유해균에 의한 우울증 유발 메커니즘 그림 9. 사이코바이오틱스의 작용 기작

Dinan et al., 2013

- 프로바이오틱스는 발효 미생물로서 기능적·의학적 연구가 진행되고 있으며, 미생물에 의해 발효된 식품에서 새롭게 생성된 물질들에 대한 의학적인 기능 또한 많은 연구로 밝혀진 바가 많음. 또한, 기존의 전통 발효식품으로부터 유용 미생물의 분리와 같은 연구는 많이 이루어져 왔으나, 실험방법의 다양성, 단순 기초 생리활성 연구에 치우쳐 효율적 상용화를 위한 통합적 연구가 필요한 실정임.

- 기능성 식품 분야에서 시험관 수준의 평가 단계로 이루어져 있으나, 본 연구에서는 *in vitro*와 *in vivo* 실험이 함께 수행됨에 따라 기존의 연구와 차별화되어 있으며, 이에 따르는 다양한 연구 자료를 데이터베이스화할 수 있으며, 본 과제에서 개발된 유용 종균은 기능성 소재로서 산업화 및 제품화를 할 수 있음.

- 최근 국내 식품산업의 다각화, 생물공학의 발달, 정부의 다양한 식품 정책에 따른 생리 기능성을 갖는 발효식품의 관심이 높아짐에 따라 발효산업의 모체가 될 수 있는 발효 미생물에 대한 중요성이 대두됨. 또한, 발효 미생물은 전 세계적으로 기능성 경쟁에 있어서 무한한 가능성을 가지므로, 생물자원의 확보 및 그 이용을 위한 식품산업 활용 균주의 상용화를 위한 기반 기술이 절실한 시기임.

- 특히 치매 등 정신 질환 환자를 위한 기능성 식품은 매우 적으며 기능성 식품으로서 제품 선택의 폭이 좁은 편임.

- 따라서, 본 연구를 통해 인지능력 개선 기능성 식품의 조건을 만족시키면서 수경재배 인삼 및 프로바이오틱스를 활용하는 산화적 신경(뇌) 손상 질환인 치매 예방을 위한 인지능력 개선 기능성 식품 소재를 개발하고자 함. 이를 통해 국내·외 시장에 더욱 다양화된 신경·정신적 질환에 대한 기능성 식품으로서의 시장을 구축할 수 있을 것으로 사료됨.

(2) 선행 연구

○ **뇌 신경세포 보호 효과 검증**

- SH-SY5Y(뇌신경세포)를 1×10^6 cells/mL로 접종 후, 배양하여 CM을 처리하여 MTT assay를 통해 신경세포 보호 효과를 검증한 결과, 유산균인 *Lactobacillus rhamnosus* GG 보다 *Lactococcus lactis* KC24 균주와 *Lactobacillus plantarum* 200661 균주가 우세함을 확인할 수 있었음(그림 10).

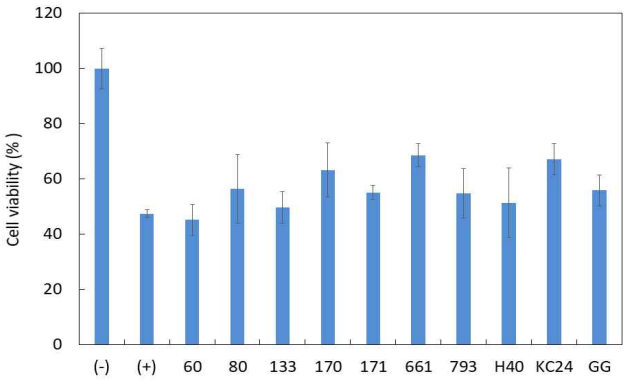


그림 10. SH-SY5Y cell에 대한 다양한 유산균의 conditioned medium에서의 세포보호 효과
특허 출원번호: 제10-2020-0022143호

○ **산화적 스트레스로 인한 뇌신경세포 손상에 대한 세포 보호효과 검증**

- HT-29 cells(대장 세포)에 가열 처리한 유산균을 접종한 후에 24시간 동안 배양하여 conditioned medium(CM)을 제조함. SH-SY5Y(뇌 신경세포)를 1×10^5 cells/mL로 접종하고 배양한 후, $NaAsO_2$와 H_2O_2를 이용하여 산화적 스트레스를 유발하였음. MTT assay를 통해 뇌신경 세포보호 효과를 검증한 결과, $NaAsO_2$를 처리한 처리군에서는 *L. lactis* KC24 균주와 *Leuconostoc mesenteroides* H40 균주가 *L. rhamnosus* GG 균주보다 우세함을 나타내었음. H_2O_2를 처리한 처리군 에서는 *L. lactis* KC24 균주와 *L. plantarum* 200661 균주가 *L. rhamnosus* GG 균주보다 우세함을 확인할 수 있었음(그림 11).

(가) (나)

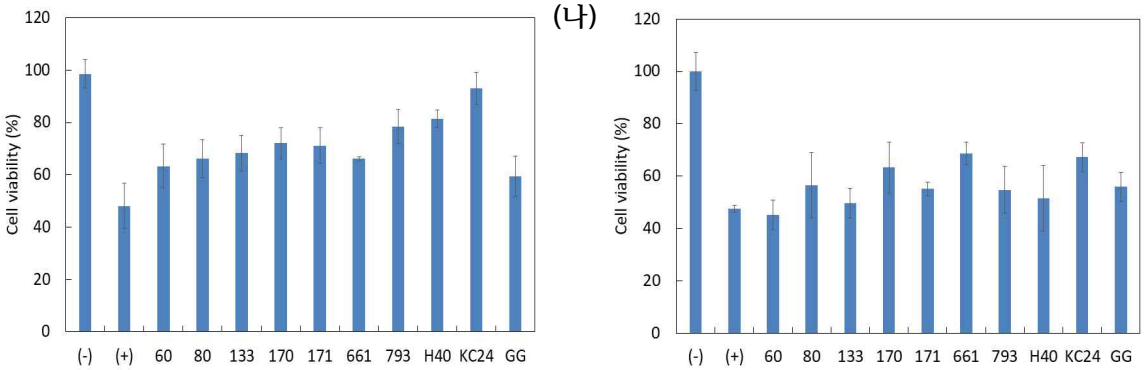


그림 11. SH-SY5Y cell에 대한 다양한 유산균의 conditioned medium에서의 세포보호 효과
(가) $NaAsO_2$를 처리한 SH-SY5Y의 세포생존율, (나) H_2O_2를 처리한 SH-SY5Y의 세포생존율
특허 출원번호: 제10-2020-0022143호

○ **신경세포에 대한 유전자 발현**

- BDNF는 뇌 유래 신경영양 인자로 자폐증, 우울증, 알츠하이머 등과 관련된 것으로 보고되어 있음. SH-SY5Y 세포에 산화적 스트레스를 유발하고 CM 처리 시 BDNF 발현 정도를 확인하였음(그림 12). 대조군과 비교하였을 때, 실험한 유산균 중 *L. rhamnosus* GG가 가장 높게 나타났고, *L. lactis* KC24 균주와 *L. mesenteroides* H40 균주가 우세함을 나타내었음. 세포사멸 관련 인자인 Bax(Bcl-2 associated protein X) 및 Bcl-2(B-cell lymphoma)의 비율을 확인한 결과, *L. lactis* KC24 또는 *L. mesenteroides* H40 균주에서 세포 자기사멸의 감소가 확인되었음.

(가) (나)

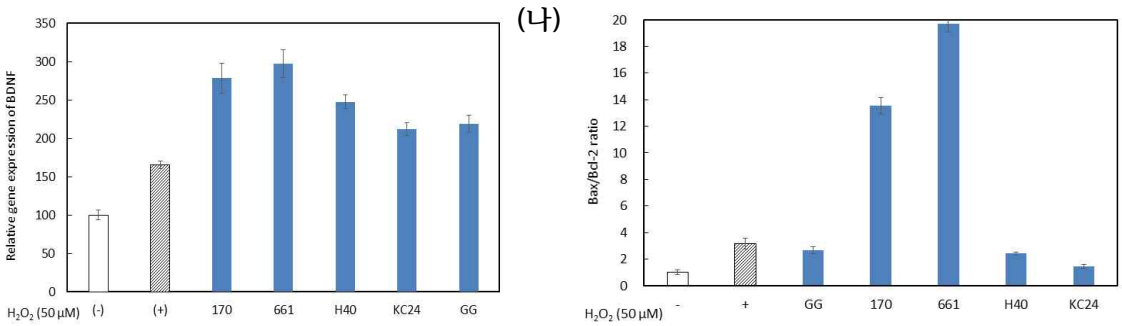


그림 12. SH-SY5Y에서의 BDNF 발현량과 Bax/Bcl-2 비율
(가) BDNF gene의 발현, (나) Bax/Bcl-2 비율
특허출원번호: 제10-2020-0022143호

→ 따라서 본 연구에서는 *L. lactis* KC24 또는 *L. mesenteroides* H40 균주를 이용하여 뇌세포 보호 효능을 확인하였음. 이를 통해 산화적 스트레스로 유발되는 뇌 신경세포를 보호하는 예방용 소재의 개발과 이를 이용한 수경재배 인삼 발효물에 적용하여 인지능력 개선제품을 개발하고자 함.

○ **발효홍삼의 항산화력 증진효과**

- *Lactobacillus plantarum* SY12를 사용하여 발효시킨 홍삼의 ginsenoside의 함량이 증진됨(표 1).

표 1. *L. plantarum* KCCM 11613P(SY12)에 의해 발효된 홍삼의 항산화 증진 효과(Jung et al., 2019)

Sample	Concentration (mg/mL)	DPPH radical scavenging activity (%)	Inhibition of β-carotene and linoleic acid oxidation (%)	Inhibition of lipid peroxidation (%)
Red ginseng extract	0.25	4.33 ± 0.12^{a}	30.38 ± 0.47^{ab}	46.30 ± 1.16^{a}
	0.5	8.01 ± 0.69^{b}	33.42 ± 0.93^{ab}	59.54 ± 0.70^{b}
	1	14.31 ± 0.44^{c}	35.43 ± 0.35^{c}	71.19 ± 2.49^{c}
	2	23.40 ± 0.48^{d}	43.19 ± 0.62^{d}	82.69 ± 2.06^{d}
	4	35.54 ± 1.20^{e}	47.27 ± 0.06^{e}	87.61 ± 0.65^{e}
Fermented red ginseng extract	0.25	3.94 ± 0.34^{a}	44.05 ± 0.81^{ab}	53.08 ± 1.54^{a}
	0.5	7.17 ± 0.67^{b}	47.92 ± 1.19^{ab}	71.83 ± 0.62^{b}
	1	12.81 ± 0.61^{c}	55.98 ± 0.36^{c}	79.17 ± 0.42^{c}
	2	17.78 ± 0.16^{d}	57.71 ± 0.10^{d}	87.77 ± 1.53^{d}
	4	22.94 ± 0.71^{e}	61.95 ± 0.34^{e}	93.99 ± 0.27^{e}
Ascorbic acid	0.1	96.30 ± 0.18		
BHT	0.1		80.91 ± 2.43	76.90 ± 0.70

○ **홍삼의 발효과정에서 ginsenoside의 함량 변화**

- *Lactobacillus plantarum* KCCM 11613P을 이용한 홍삼의 발효과정에서 인지질 개선에 유효한 Rd의 증가를 확인하였음(그림 13).

(가) (나) (다)

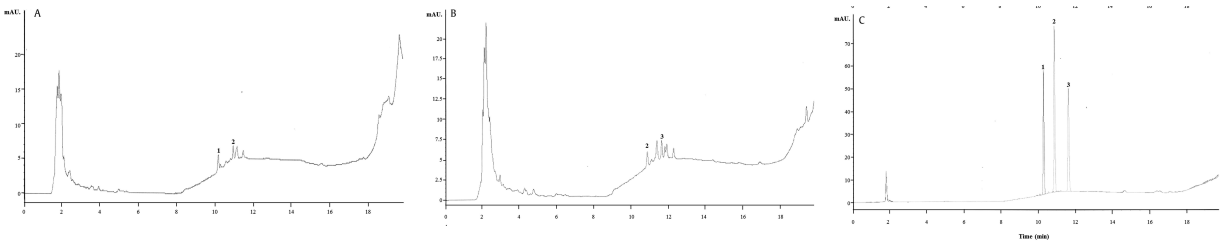


그림 13. 발효 후의 홍삼에서의 ginsenoside의 변화
(가) Rb2, (나) Rb3, (다) Rd
Jung et al., 2019

○ **수경재배 인삼의 유효성분 분석**

- 유효성분인 ginsenoside의 함량은 부위 별로 다소 차이는 있으나 수삼보다 수경재배 인삼의 ginsenoside 함량이 높은 것으로 나타남(표 2).

표 2. 수경재배 인삼과 수삼의 유효성분 비교 분석(Hwang et al., 2019)

Ginsenoside contents		Shoots		Roots			
		1YHPG	2YHPG	1YHPG	2YHPG	4YSCG	6YSCG
Panaxadiol (PPD) (μg/g)	Rb_1	222.77±1.50 f	548.08±6.24 d	750.03±3.15 c	482.24±0.50 e	1094.69±1.79 a	772.59±1.83 b
	Rb_2	551.62±4.09 d	1043.66±0.20 a	565.39±0.75 c	441.84±0.29 e	729.98±5.90 b	436.80±1.25 f
	Rb_3	42.85±4.76 e	48.85±1.90 a	27.25±0.17 c	25.22±0.34 d	31.55±0.60 b	24.13±0.36 d
	Rc	297.64±4.82 f	754.85±5.78 c	1002.49±3.56 b	746.46±1.13 d	1053.68±1.82 a	710.77±1.70 e
	Rd	173.06±0.55 d	408.20±2.06 a	169.78±2.04 d	85.30±1.15 e	285.24±1.5 7 b	244.55±0.50 c
Panaxatriol (PPT) (μg/g)	Re	1243.35±3.64 b	2385.80±3.18 a	534.00±0.47 d	507.15±0.72 e	568.32±1.47 c	392.56±0.48 f
	Rf	ND	ND	164.51±0.54 b	89.35±0.76 d	217.51±2.07 a	155.30±2.04 c
	F_1	860.03±3.47 b	1638.73±4.89 a	156.13±1.09 c	105.69±0.74 e	116.46±1.02 d	51.59±0.88 f
Total (μg/g)		3391.33	6871.02	3369.58	2483.26	4097.44	2788.27

○ ㈜락토메이슨의 보유 기술

- ㈜락토메이슨은 2021년 12월 기준 국내 등록특허 22건, 해외 등록특허 2건을 보유하고 있으며(국내 특허 3건, 미국 특허 6건, 중국 특허 5건, PCT 특허 8건 출원 중), 인체와 발효식품으로부터 균주를 자체 분리하여 200여 개의 균주를 보유하고 있음(표 3).

표 3. ㈜락토메이슨이 보유하고 있는 국내·외 특허

구분	특허명	등록번호
국내	갈파래 추출물을 포함하는 항균 조성물	제10-0852744호
국내	해양 미생물을 이용한, 해양 양식 오수의 정화방법 및 다가 불포화 지방산의 생산 방법	제10-0994359호
국내	비피도박테리움속균 증식능이 있는 락토바실러스 카제이 CJNU0588, 이를 포함하는 식품 및 이를 이용한 비피도박테리움속균 증식방법	제10-1040686호
국내	돌연변이 억제 활성을 지닌 락토바실러스 속 JNU2116	제10-1217029호
국내	알코올 내성 유산균 페디오코커스 애시디락티시 및 그 응용	제10-1349692호
국내	유산균 배지 조성물 및 이를 이용한 유산균 분말의 제조 방법	제10-1604633호
국내	막 필터를 이용한 고농도 사균의 제조방법 및 이의 제조방법으로 제조된 사균	제10-1794635호
국내	막 필터를 이용한 유산균 크기의 조절방법	제10-1943622호
국내	막 필터를 이용한 유산균 사균의 농축방법	제10-1943862호

국내	락토바실러스 람노수스 LM1019균주 및 이를 포함하는 비만 또는 당뇨병 예방 및 치료용 조성물	제10-1864347호
국내	신규한 락토바실러스 플란타룸 LM1004의 사균체를 유효성분으로 포함하는 면역 증강용 조성물	제10-1919938호
국내	락토바실러스 파라카제이 LM1010 균주 및 이를 포함하는 비만 또는 당뇨병 예방 및 치료용 조성물	제10-1873239호
국내	막필터를 이용한 유산균 성장용 배지의 제조방법 및 이의 제조방법으로 제조된 유산균 성장용 배지	제10-1990388호
국내	신규한 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016균주 및 이를 포함하는 심혈관질환 예방 또는 치료용 조성물	제10-1980527호
국내	신규한 비피도박테리움 애니멀리스 락티스 LM1017을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 피부 탄력용 화장료 조성물	제10-2074384호
국내	신규한 락토바실러스 람노서스 LM1011을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물	제10-2074383호
국내	한국인 영유아 유래 신규한 비피도박테리움 애니멀리스 락티스 LM1017을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염의 예방 및 치료용 조성물	제10-2136346호
국내	안전성 및 장부착능이 우수한 모유 유래 락토바실러스 루테리 LM1071 균주 및 상기 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 조성물	제10-2136522호
국내	김치 유래 신규한 락토바실러스 파라카제이 LM1014 균주 및 상기 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 월경전증후군 완화용 조성물	제10-2268122호
국내	발효반죽 유래 신규한 락토바실러스 퍼멘텀 LM1020 균주 및 상기 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 월경전증후군 완화용 조성물	제10-2268124호
국내	한국인 영유아 유래 신규한 비피도박테리움 롱검 LM1024균주 및 상기 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 월경전증후군 완화용 조성물	제10-2268125호
국내	모유 유래 신규한 락토바실러스 루테리 LM1071균주 및 상기 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 월경전증후군 완화용 조성물	제10-2268128호
국내	락토바실러스 아시도필루스 사균체를 유효성분으로 포함하는, 항노화용 화장료 조성물	제10-2270939호
일본	락토바실러스 · 람노사스 LM1019 균주 및 이것을 포함하는 비만 또는 당뇨병이 예방 및 치료용무가 조성물(Lactobacillus rhamnosus LM1019 strain, and composition for preventing and treating obesity or diabetes including same)	JP6864784
일본	신규한 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016균주 및 이를 포함하는 심혈관질환 예방 또는 치료용 조성물(Novel lactobacillus fermentum lm1016 strain,and composition for preventing or treating cardiovascular diseases)	JP6956896

- ㈜락토메이슨은 인지능력 개선효능의 프로바이오틱스 제품을 개발 중이며, 인지능력의 주요 기능성 성분으로 알려진 포스파티딜세린을 비롯한 인지질 및 관련 metabolites 분석기술도 보유하고 있음(그림 14).

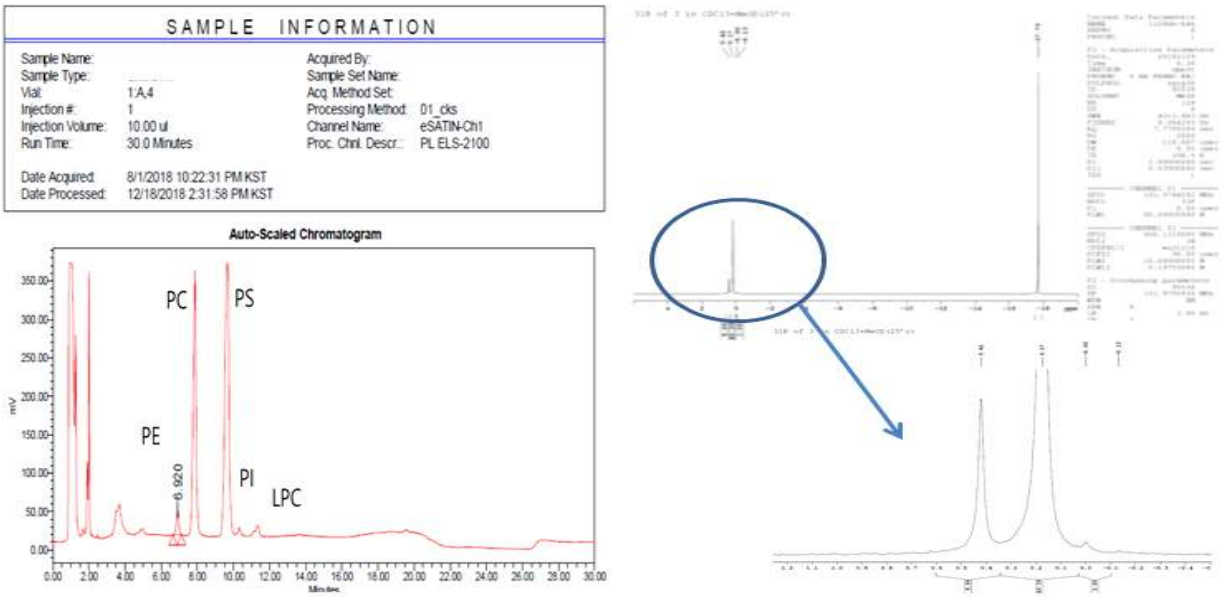


그림 14. 우유 유래 인지질의 HPLC 분석결과와 ^{31}P NMR 결과

- ㈜락토메이슨의 유산균 제조, 생산기술 역량을 정리하면 다음과 같음.

① 유산균 최적화 발효 기술

- 균주마다 상이한 성장·생장 조건에 따라 최적화된 배지를 사용하여 발효
- 온도, pH, 치환 가스 등 유산균 발효에 최적화된 조건을 적용

② 유산균 안정화 동결건조 기술

- 균주마다 생리학적 특성을 분석하여 최적화된 동결건조 cycle을 적용하여 안정화된 제품을 생산

③ 엄격한 품질 보증 시스템

- 외부 공인 기관을 통해 자사 생균수 분석을 주기적으로 검증
- 16S rRNA sequencing을 통해 유산균 변이를 주기적으로 추적
- 대장균 검출 시 전량 폐기
- 식약처 기준에 부합하는 중금속 분석 확립

④ 다양한 origin에서 유산균 자원 확보

- 김치, 발효식품, 모유 등 유산균이 상재된 식품에서 분리하여 동정
- 16S rRNA sequencing을 통해 동정하여 banking화를 통해 자산을 보호

⑤ 양산 최적화 유산균 보존 기술

- 미생물은 보존 방법, 처리, 보존 온도 등으로 사멸에 취약
- 이는 최종 제품규격에 영향을 주어 품질 보증에 문제가 발생
- 따라서 미생물을 안정하게 보존할 수 있는 기술로 안정적인 생산과 품질이 확실한 프로바이오틱스 원료 공급이 가능

⑥ 유산균 발효액 유효성분 분리 기술

- 동물세포에서 엑소좀 기반 치료제나 건강식품 개발 트렌드가 프로바이오틱스 분야에도 적용되고 있는 실정
- 나노 사이즈 수준의 vesicle이 배양액에서 발견되고 보고되고 있는 실정
- 이에, 막 필터를 활용하여 유효성분 중 하나인 나노 베지클(nano vesicle)을 분리하고 정제할 수 있는 기술력을 확보
- 현재, 나노 베지클 기반 건강기능식품, 치료제 개발을 공동 연구를 통해 진행하고 있으며 염증성 장 질환을 타깃으로 임상시험 계획

⑦ 고농도 유산균 사균체 생산 기술

- 유산균은 발효과정에서 젖산, 아세트산, 유기산 등에 의한 성장 저해
- 이에 막 필터를 이용하여 실시간으로 대사산물을 제거하면서 고농도로 유산균을 생산할 수 있는 공정을 개발
- 특히 유통, 저장 및 다양한 제품에 응용이 가능한 사균체 생산을 위해 적극 활용

⑧ 면역 조절 관련 유산균 분류 연구

- 인체 내 면역 시스템을 모사한 실험 기법으로(포항공대 임신혁 교수팀) 유산균의 면역 패턴에 관해 연구
- 인체 내 면역을 증강시켜 주거나 과도한 면역을 억제하는 균주들을 구분·선별하여 향후 면역 반응에 따라 맞춤형 유산균을 제공할 수 있는 솔루션을 제안 가능

(3) 연구개발 대상의 국내·외 현황

(가) 국내 기술 수준 및 시장 현황

○ **기술 동향**

▷ **인지 개선에 관한 기술**

- 기억력 개선제의 성분은 제품마다 매우 다양함. 가장 많이 쓰이는 것 중 하나가 뇌의 절반을 차지하는 신경 세포막 구성성분인 `포스파티딜세린(phosphatidylserine)'임. 이것이 부족하면 뇌세포의 성장과 유지에 나쁜 영향을 미침. 포스파티딜세린의 결핍은 기억력 감퇴를 유발해 건망증의 원인이 되기도 함. 노화가 진행되면 신경 세포막이 굳어져 신경전달물질의 이동이 원활하지 못하게 되는데 포스파티딜세린을 지속해서 섭취할 경우 세포막 유동성을 복구시킬 수 있음(Crook et al., 1991).

- 포스파티딜세린은 신경전달 촉진, 기억력·학습능력 향상, 치매 예방, 주의력 결핍 개선, 항우울증 등의 효과가 있는 물질로 알려져 있음. 미국 식품의약국(FDA)에서도 인지력 개선과 조기 치매 환자의 기억력을 높여 치매 진행을 늦추는 데 도움이 된다고 효능을 인정함.

- 뇌 기능 개선과 두뇌 영양제로 잘 알려진 `아세틸엘카르니틴(acetyl-L-carnitine)'도 많이 활용됨. 아세틸엘카르니틴은 아미노산의 일종인 `엘카르니틴'이 세포의 미토콘드리아 내부에서 효소 작용에 의해 아세틸($-COCH_3$)화되면서 전환됨. 엘카르니틴과는 달리 혈뇌장벽이라고 하는 `BBB(blood brain barrier)'를 통과할 수 있고, 뇌에서 강력한 항산화제로 작용해 뇌세포의 손상을 방지하는 데 도움이 되는 역할을 함(Liu et al., 2002).

- 기억력 개선제에 또 다른 유효성분으로는 우리딘, 시티딘, 글루타민 등이 있음. 우리딘·시티딘은 세포 속에 있는 핵의 구성성분이며 글루타민은 기억력을 담당하는 신경전달물질의 원료임. 우리딘과 시티딘은 신경섬유의 성장과 분리를 촉진해 더 많은 시냅스(신경·근육세포 연결지점)를 생성하고, 뇌 활동에 필요한 물질을 공급함. 글루타민은 학습과 기억에 관련된 신경전달물질을 생성하는 기능을 함(Geiger et al., 1956).

- 국내에서도 2019년도부터 10년간 치매의 근원적 치료를 위한 연구 개발 계획 및 지원이 활발히 이루어지고 있으며, 2020년 바이오 분야 원천기술 개발 현황에서도 치매와 뇌질환에 대한 기술개발이 전년도 대비 약 10.1% 증가하였음 개발(그림 15, 16).

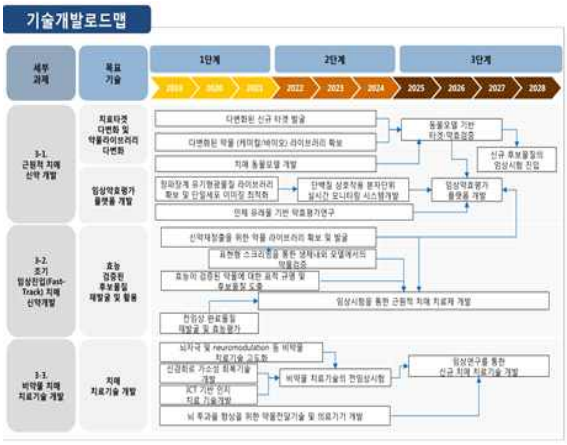


그림 15. 맞춤형 치매 치료 기술을 위한 연구 개발 계획

그림 16. 국내 바이오 분야 원천기술 개발 추진 현황

출처: 과학기술정보통신부, 2020

▷ **프로바이오틱스**

- 현재 식품산업용 균주 중 기능성을 인정받아 고시형 건강기능식품으로 이용 가능한 균주는 19종임. 고시형 균주의 경우 주로 장 건강과 관련한 균주들로 다양한 기능성이 연구되고 발표되었으나, 건강기능식품으로 인정받고 있는 기능성은 `면역과민반응에 의한 피부 상태 개선, 코 상태 개선에 도움, 갱년기 여성 건강에 도움, 질내 유익균 증식 및 유해균 억제에 도움, 체지방 감소에 도움 등이 있음(표 4).

표 4. 식품의약품안전처 프로바이오틱 균주와 관련된 개별 기능성 원료

기능성 원료	기능성 내용	일일 섭취량
과채유래유산균 (*L. plantarum* CJLP133)	면역과민반응에 의한 피부상태 개선에 도움을 줄 수 있음	과채유래유산균(*L. plantarum* CJLP133)로서 1.0×10^{10} CFU ~ 1.0×10^{12} CFU
Lactobacillus gasseri BNR17	체지방 감소에 도움을 줄 수 있음	*Lactobacillus gasseri* BNR17로서 1×10^{10}CFU
UREX 프로바이오틱스	유산균 증식을 통한 여성 질 건강에 도움을 줄 수 있음	*L. rhamnosus* GR-1 및 *L. reuteri* RC-14로서 10^{9}CFU

L. sakei Probio65	면역과민반응에 의한 피부상태 개선에 도움을 줄 수 있음	*L. sakei* Probio65로서 1.0×10^{10}CFU ~ 1.0×10^{12}CFU
프로바이오틱스 HY7714	피부 보습에 도움을 줄 수 있음 자외선에 의한 피부손상으로부터 피부건강 유지에 도움을 줄 수 있음	1×10^{10} CFU
L. plantarum IM76과 *B. longum* IM55 복합물(NVP1703)	면역과민반응에 의한 코 상태 개선에 도움을 줄 수 있음	*L. plantarum* IM76과 *B. longum* IM55 복합물(NVP1703)로서 1.0×10^{10} CFU
리스펙타(Respecta®) 프로바이오틱스	질내 유익균 증식 및 유해균 억제에 도움을 줄 수 있음	리스펙타(Respecta®)로서 124.35 mg(유산균으로서 5×10^{9} CFU 이상)
프로바이오틱스 (드시모네)	유익한 유산균 증식, 유해균 억제, 배변활동 원활, 장면역을 조절하여 장건강에 도움을 줄 수 있음	10^{8} ~ 3×10^{12}
Lactobacillus 복합물 HY7601+KY1032	체지방 감소에 도움을 줄 수 있음	*Lactobacillus* 복합물 HY7601 + KY1032로서 1×10^{10} CFU
Lactobacillus acidophilus YT1	갱년기 여성 건강에 도움을 줄 수 있음	*Lactobacillus acidophilus* YT1 1×10^{8} CFU

- 최근 `유익한 유산균 증식, 유해균 억제 또는 배변활동 원활'이라는 고전적인 프로바이오틱스의 health benefit의 개념이 점차 다양한 질환군으로 확대되고 있어 이에 따른 질환별 적절한 기능의 유산균 발효 제품이 필요하다고 사료되며, 최근 인지능력 개선에 대한 제품의 수요가 증가하고 있음.

- 장내 미생물은 병원성 세균의 침입 억제, 장 표피세포의 손상 방지, 지방 축적 조절, 비타민 K 생산, 철분 흡수, 면역 증강 및 담즙산 대사 등 인체의 전반적인 대사 과정 및 생리작용에 직접적인 영향을 주고받고 있으며(Turnbaugh et al., 2007), 대사증후군, 장염, 대장암, 아토피, 알레르기 등 인체의 다양한 범위의 질병과 밀접한 관련이 있는 것으로 밝혀지고 있음.

- 이러한 장내 미생물의 형성은 식품의 섭취와 밀접한 관련이 있으며(Walker et al., 2011) 특히, 미생물 공급원이 되는 발효식품과의 상관관계가 높은 것으로 사료됨. 따라서 식품산업용으로 이용하는 균주는 장내 미생물의 형성, 정착에 미치는 영향이 큰 환경적 요인으로 판단되므로, 식품산업용 미생물의 기능성 평가는 식품산업용 균주의 용도 적합성을 설정하는데 필요한 과정일 것이라고 사료됨.

- 국내의 경우, 식품의약품안전평가원 발간한 건강기능식품 기능성 평가 가이드(식품의약품안전평가원, 2019), 기능성 평가 라이브러리(http://www.nifds.go.kr)를 통해 기능성 평가를 위한 질환별 바이오 마커 설정이 이미 완료되어 있으며, 이를 바탕으로 가능성을 평가하고자 함.

- 각종 발효 미생물에 대한 기능적·의학적 연구가 진행되고 있으며, 미생물에 의해 발효된 식품에서 새롭게 생성된 물질들에 대한 의학적인 기능 또한 많은 연구를 통해 밝혀진 바가 많음. 또한, 기존의 전통 발효식품으로부터 유용 미생물의 분리와 같은 연구는 많이 이뤄져 왔으나, 실험방법의 다양성, 단순 기초 생리활성 연구에 치우쳐 효율적 상용화를 위한 통합적 연구가 필요한 실정임.

- 기능성 식품 분야에서 시험관 수준의 평가 단계로 이루어져 있으나, 본 연구에서는 *in vitro*와 *in vivo* 실험이 함께 수행됨에 따라 기존의 연구와 차별화되어 있으며, 이에 따르는 다양한 연구 자료를 데이터베이스화할 수 있으며, 본 과제에서 개발된 유용 종균은 기능성 소재로서 산업화 및 제품화를 할 수 있음.

- 우리나라의 경우, 기업체에서는 수입 자원에 의존하고 있으며 최근, 자체 개발하여 사용하는 사례들이 늘고 있음. ㈜프로바이오닉은 김치유래 식물성 유산균 Probio65가 함유된 2in1 유산균 제품 락토피 SP를 출시하였으며, ㈜CJ제일제당에서는 김치에서 분리한 피부 유산균 *Lactobacillus plantarum* CJLP-133을 제품화하여 아토피 치료용 프로바이오틱스를 판매 중임. ㈜바이오리듬에서도 김치 유산균 *Lactobacillus plantarum*과 *Lactobacillus casei, Lactococcus lactis* 혼합 균주를 이용한 제품이 시판되고 있음. ㈜대상의 경우 장류 개발을 위해 전통장류에서 균을 스크리닝하여 장류 균주 100종류를 확보하여 1997년부터 제품에 적용하고 있음.

▷ **수경재배 인삼**

- 농촌진흥청 국립원예특작과학원은 충남 서천군 마서면 농장에서 `인삼 수경재배 기술이전 농가 현장 평가회 및 출하식'을 갖고 수경재배를 통해 묘삼 정식 4개월 만에 생산된 인삼을 선보임. 수경재배 인삼에 관한 기술은 대한민국 정부(농촌진흥청)가 발명 특허(제10-0959254호)를 가지고 있음(그림 17).

그림 17. 일반 인삼의 노지 재배 기간과 수경재배 인삼의 재배 기간

- 보통 4~6년 걸리는 관행적인 인삼재배에 비해 가히 획기적이라 할 수 있는 이 재배법은 세계에서 처음 성공했음. 4개월간 자란 수경재배 인삼은 2년 근 수삼 정도의 크기지만 주요 성분인 사포닌 함량이 2년 근 수삼보다 뿌리는 80%가량 많은 14.3~15.8 ㎎, 잎은 8~9배나 높을 정도로 빠른 성장과 풍부한 영양이 특징이라고 원예특작과학원은 밝힘.

- 수경재배 인삼이 고급 요리재료로써 농산물 소비의 새로운 장을 열 것으로 기대되고 있지만, 재배 및 소비를 확대하기 위해선 해결해야 할 과제가 많음. 우선 재배시설 설치에 들어가는 비용이 커서 660 ㎡(200평) 규모의 3단 재배사를 갖추는 데 3억 원이 소요됨. 또한, 시설비뿐만 아니라 물 빠짐이 좋은 우량 상토를 사용하는 탓에 상토 구입비가 일반 상토보다 2배 더 소요됨.

- `에스앤엠'에서는 재배시설을 3단으로 설치하여 소규모의 농지를 활용한 `새싹인삼 식물공장'을 건축하여 흙을 사용하지 않고 물과 수용성 영양분으로 만든 배양액을 뿌리에 분사시켜 영양분을 공급하고, 식물 생장 LED를 비춰 식물을 재배하는 방식으로 재배함. 이는 뿌리의 상태와 성장 모습을 직접 보고 관리할 수 있으며 흙을 사용하지 않기 때문에 오염되지 않은 깨끗한 특용작물을 생산해낼 수 있는 장점이 있음.

- 이 외에 주요 농가는 `산골짜기농장', `해싹삼', `누리원', `캐이팜팩토리', `수산복해' 등이 있으며 출고가격은 재배 기간 및 농가에 따라 매우 다양하나 일반적으로 뿌리 당 400~600원 정도 함.

○ **시장 현황**

▷ **인지능력 개선 제품**

- 흔히 `머리 좋아지는 약'이라 불리는 기억력 개선제가 인기임. 수험생과 노인층을 중심으로 수요가 크게 늘면서 주요 제약사에서 한두 가지 정도는 갖고 있을 정도임. 기존 일반의약품을 비롯하여 제약사가 건강기능식품으로 허가받아 판매하는 것까지 포함하면 그 종류는 약 50~60여 종에 달함.

- 가격이 한 달 기준 5~10만 원 정도로 싸지 않음에도 불구하고, 시험 기간이나 수능 시즌이 되면 판매량이 급격히 늘어남. 2~3종류의 기억력 개선제를 한꺼번에 구매하는 학부모도 있을 정도이며 이에 따라 제약사도 `활발한 두뇌 활동이 필요한 수험생에게 필수적인 영양소를 공급하는 제품'과 같은 방식으로 홍보에 치중하고 있음.

- 세계보건기구(WHO)에 따르면, 전 세계 치매 인구는 약 5000만 명이며 2050년에는 1억 5200만 명으로 3배 넘게 증가할 것으로 추정됨. 또한, 60세 이상 인구 중 5～8%가 치매를 앓고 있으며 세계 사망 원인 5위가 치매로 나타남.

- 우리나라는 2018년 기준으로 65세 이상 노인 인구 중 추정 치매 환자는 74만 8945명(평균 치매 유병률 10.0%)으로 2024년 100만 명, 2039년 200만 명, 2050년에는 300만 명을 넘어설 것으로 예상하고 있음.

▷ **수경재배 인삼**

- 농가인 삼천지 `새싹삼'은 793 ㎡(240평) 규모의 하우스에서 화분을 7단까지 쌓아 올린 수경재배 인삼을 연중 재배해 1년에 3억 원에 달하는 매출을 올림.

- 삼계탕 제품을 최근에 출시한 한 식품회사의 경우 삼계용 수삼을 연간 15톤 이상 소비하고, 녹즙을 판매하는 한 업체는 연간 1,000억 원 이상의 매출을 올리고 있는 점을 볼 때 인삼 잎은 프리미엄급 샐러드나 쌈채소, 녹즙 상품으로 전망이 밝음.

- 이 수경재배 인삼은 잎·줄기·뿌리를 함께 쌈채소나 샐러드용으로 이용하는 웰빙 채소 개념으로, 농진청과 업무협약(MOU)을 맺은 이마트에서 판매됨. 출하가격은 농가마다 다양하며 한 뿌리에 1,500원 정도임.

▷ **프로바이오틱스**

- 세계 건강기능식품 시장은 꾸준히 증가하고 있으며, 2024년에는 2,500억 달러에 해당됨(Market Research Report, 2016). 제품별 시장으로 봤을 때, 프리바이오틱스와 프로바이오틱스 시장은 30 백만 달러 이상으로 예상됨(그림 18, 19).

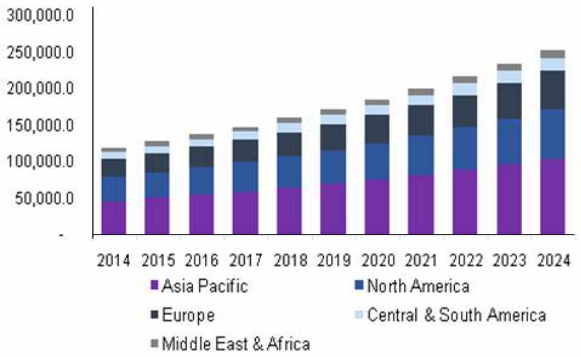


그림 18. 세계 건강기능식품 시장
(2014년~2022년, USD million)
출처: Market Research Report, 2016

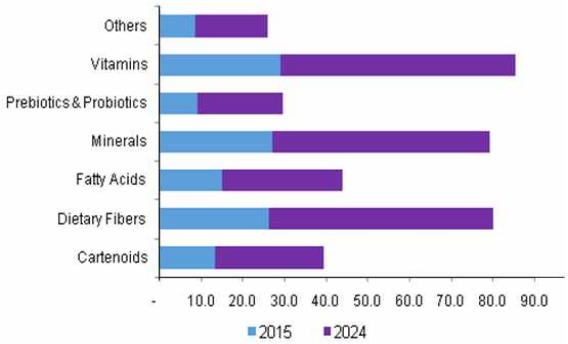
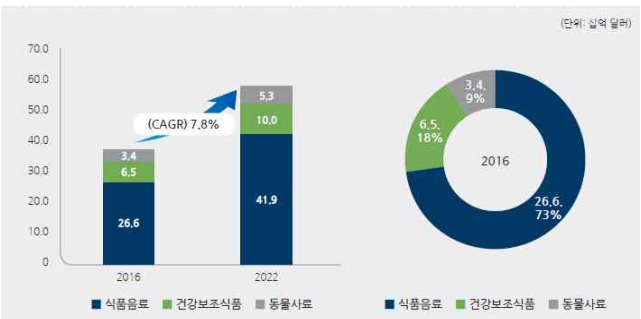


그림 19. 세계 건강기능식품 제품별 시장
(2014년~2022년, USD million)
출처: Market Research Report, 2016

- 프로바이오틱스의 전체 시장은 2016년 366억 달러로 연평균 7.8%의 성장률을 보이며, 2022년에는 572억 달러에 이를 것으로 전망됨(그림 20). 2016년 기준 식품 음료 부문은 266억 달러로 약 73%를 차지하며, 뒤이어 건강보조식품 부문이 65억 달러로 약 18%를 차지하고 있음(한국바이오경제연구센터, 2019).



부문	2016		2022		CAGR
식품음료	26.6	72.9%	41.9	73.3%	7.8%
건강보조식품	6.5	17.7%	10	17.5%	7.5%
동물사료	3.4	9.4%	5.3	9.3%	7.6%
합계	36.6	100.0%	57.2	100.0%	7.8%

그림 20. 프로바이오틱스 글로벌 시장규모 현황 및 전망
출처: BCC Research

- 프로바이오틱스 시장은 마이크로바이옴과의 연계로 다양한 분야에서 프로바이오틱스 시장이 확장되어 짐. *Akkermansia mucinipila*의 경우, 비만, 당뇨병 군집 대상에 관한 연구가 수행되고 있음.

- 프로바이오틱스의 기능성 또한 동물실험을 대상으로 하여 비만, 인슐린 저항성, 제2형 당뇨병, 비알콜성 지방간, 과민성 대장염, 위장관 내 *Helicobacter pylori* 증식, 장내 환경 개선, 아토피성 알레르기, 유아 및 아동의 호흡기 감염증, 유당 불내증, 발암 위험 또는 암을 대상으로 한 치료가 보고되고 있음(장성재, 프로바이오틱스 분야의 현주소, BRIC View, 2018).

- 프로바이오틱스는 안정성 부분에서 한계가 있으며 이를 극복하기 위해 안정성을 증가시키는 캡슐화, 코팅제제 등으로 연구되고 있는 한편 열처리, UV 조사, 펄스 전기장, 효소 처리의 가공을 통한 포스트바이오틱스(postbiotics)에 대한 연구가 수행되고 있음.

- 포스트바이오틱스는 프로바이오틱스의 생리활성이 아닌 미생물의 외벽을 이루고 있는 세포벽 성분 또는 대사산물로 사용되고 있음.

○ 경쟁 기관 현황

▷ 기능성 식품

- 2018년 건강기능식품 총매출액은 2조 5.221억 원으로 전년 대비 12.72% 증가하였고, 국내시장 규모는 3조689억 원으로 전년 대비 13.5% 증가함(그림 21). 건강기능식품의 최근 5년간 연평균 성장률은 11.5%로 국내총생산(GDP), 제조업 GDP의 연평균 성장률 4.6%, 4.4%보다 높은 수준을 보여, 타 산업에 비하여 급격하게 증가하고 있음. 고령화 사회 진전과 국민소득 향상으로 삶의 질과 건강에 관한 관심이 크게 증가함에 따라 건강기능식품 시장은 계속하여 성장할 것으로 전망됨(식품의약품안전처, 한국은행 경제통계시스템, 2019).

그림 21. 2014~2018년도 국내 건강기능식품 산업 현황

- 건강기능식품 제조업체는 표 5와 같이 500개소로 0.8% 증가하였음. GMP 업체는 281개소로, 전년에 비해 34개소가 증가함. 품목별로는 홍삼 제조업체가 243개소로 가장 많음.

표 5. 2014~2018년도 건강기능식품 시장규모

구분	업체 수	생산액 (억 원)	총매출액 (억 원)	내수용 판매액 (억 원)	수출용 판매액 (억 원)
2014년	460	11,208	16,310	15,640	670
2015년	487	11,332	18,230	17,326	1,551
2016년	487	14,715	21,260	20,175	1,981
2017년	496	14,819	22,374	21,297	2,446
2018년	500	17,288	25,221	23,962	3,559
‘18년 전년대비 성장률(%)	0.8	16.7	2.0	12.5	36.2
‘14~18 연평균 성장률(%)	2.1	12.1	12.6	11.3	34.2

- 2018년 상위 5개 품목의 매출액 비중은 전체의 81.8%, 상위 10개 품목의 매출액 비중은 90.1%로 매출액 편중이 심함(표 6). 홍삼제품 점유율은 39.1%(6,765억 원)로 부동의 1위를 차지하였고, 전년(5,261억 원) 대비 28.6% 증가하였음. 이는 한국 만의 독특한 특징으로 홍삼은 독립 가구 및 시니어 가구에서 소비가 증가하는 것으로 조사됨(건강기능식품 시장현황 및 소비자조사실태조사, 한국건강기능식품협회, 2018).

- 기능성 원료 가운데 가장 높은 성장세를 보인 품목은 프로바이오틱스로, 2018년 1,898억 원으로 전년(1,495억 원) 대비 27% 증가하여 소비자 선호도가 매우 높아짐. 프로바이오틱스는 독립 가구 및 10대 자녀 가구에서 소비가 증가하는 것으로 조사됨.

표 6. 2014~2018년도 국내 건강기능식품 매출액 상위 5개 품목

순위	구분	2014		2015		2016		2017		2018	
		매출액 (억 원)	점유율	매출액 (억 원)	점유율	매출액 (억 원)	점유율	매출액 (억 원)	점유율	매출액 (억 원)	점유율
	계	16,310	100	18,230	100	21,260	100	22,374	100	25,221	100
1	홍삼	6,330	38.8	6,943	38.1	9,900	46.6	10,358	46.3	11,096	44.0
2	개별인정형	3,176	19.5	3,195	17.5	2,357	11.1	2,450	11.0	3,226	12.85
3	프로바이오틱스	1,388	8.5	1,579	8.7	1,903	9.0	2,174	9.7	2,994	11.9
4	비타민 및 무기질	1,415	8.7	2,079	11.4	1,843	8.7	2,259	10.1	2,484	9.8
5	밀크씨슬 추출물	676	2.4	705	3.9	1,091	5.1	1,042	4.7	823	3.3
	누계(5품목)	12,985	79.6	14,501	79.5	17,094	80.4	18,283	81.7	20.623	81.8

- 매출액 1위는 ㈜한국인삼공사로서 원주공장이 2018년 매출액 5,259억(총 매출액 25,221억의 20.9%)임. 매출액 상위 5개 건강기능식품업체는 표 7과 같음.

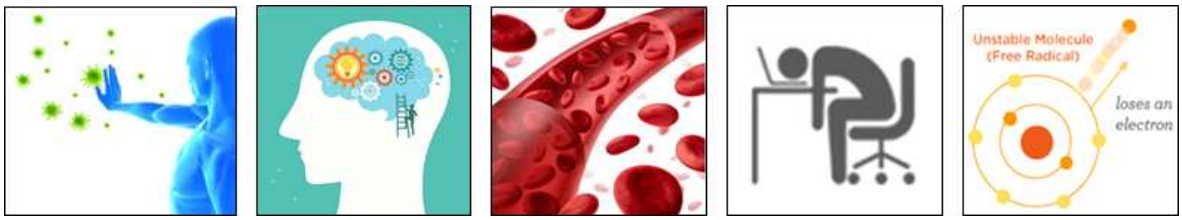
표 7. 경쟁 기관 매출 현황.

순위	업체명	대표 브랜드/제품	매출(억 원)	
			2017	2018
1	KGC인삼공사 한국인삼공사 (원주공장)		3,229.3	5,295.5
2	KGC인삼공사 한국인삼공사 (부여공장)		4,946.7	3,243.9
3	종근당건강㈜		611.6	1.242.4
4	콜마비엔에이치 ㈜푸다팜사업부문		718.4	980.4
5	㈜한국 야쿠르트		928.7	954.1

- 2018년 건강기능식품의 수입액은 6억1,097만 달러로 작년에 비해 20.2% 증가하였으며, 수입 중량은 1만3,491톤으로 전년 대비 22.2% 증가함. 수입제품 순위는 비타민 및 무기질, EPA 및 DHA 함유 유지, 프로바이오틱스 등의 순으로 나타나 국내 생산실적 상위 제품과 유사함.

- 국내 수입국 1위는 미국(60%)이며, 캐나다, 인도, 중국, 독일 순으로 상위 5개 국가가 전체의 79.5%를 점유함. 업체별로는 한국 암웨이, 유니시티코리아(주), 유사나 헬스사이언스코리아(주), 주영엔에스(주), ㈜코스트코 코리아 등이 있음.

- 2018년 건강기능식품의 기능성 내용별 분포는 면역기능 제품이 1조2,588억 원으로 가장 높은 비중(14.9%)을 차지하였으며, 기억력개선, 혈행 개선, 피로 개선, 항산화 제품도 14% 이상의 비중을 보임(그림 22). 상위권으로 나타난 기능성은 대부분 홍삼이나 비타민 및 무기질 품목에서 많이 언급되는 기능임.



면역기능 기억력개선 혈행개선 피로개선 항산화

그림 22. 기능성 내용별 매출 상위 5품목

- 표 8과 같이 종근당의 `생생한 인지력1899'는 포스파티딜세린을 사용한 대표적인 제품임. 콩에서 추출한 포스파티딜세린을 주성분으로, 항산화 성분인 토코페롤(비타민 E)과 뇌혈류 건강에 도움을 주는 오메가3 등을 함유함. 포스파티딜세린 1일 섭취량 300 ㎎을 식품으로 환산할 경우 콩 28 ㎏을 섭취해야 하는데, 이를 쉽고 간편하게 보충할 수 있음. 종근당 관계자는 "40세 이상 성인을 대상으로 임상을 진행한 결과 매일 200~300 ㎎을 8~12주간 섭취했을 때 노화로 감퇴된 인지력의 개선이 확인됐다"고 강조함.

표 8. 국내 시판되는 인지개선용 식품 또는 의약품(https://www.mk.co.kr/news/business/view/2016/02/158193/)

기억력 개선제 주성분

주성분	제품명	제약사	기타
포스파티딜세린	생생한인지력 1899	종근당	건기식
아세틸엘카르니틴	나세틸	동아제약	전문의약품
	롱큐원	한국파비스제약	건기식
우리딘·시티딘·글루타민	브레인업	한미약품	건기식
	아이큐플러스	부광약품	일반의약품
피브로인	파워토닉	광동제약	건기식
코엔자임Q10	브레인플래쉬	대웅제약	건기식
HX106	공신보감	바이로메드	건기식

- 한미약품의 `브레인업'과 부광약품 `아이큐플러스'에는 우리딘·시티딘 성분들이 담겨 있으며, 동아제약 및 한국파비스제약은 아세틸엘카르니틴을 주성분으로 하는 `나세텔'과 `롱큐원'을 각각 출시 판매 중임. 주된 제품의 형태는 캡슐 형태와 액상 형태의 제품으로 이루어져 있으며, 주된 성분은 포스파티딜세린, 아세틸엘카르니틴, 참당귀 추출 분말이 함유되어 있음(표 9).

표 9. 국내 뇌 건강기능식품

생생한인지력1899	롱큐원	파워토닉	인지Q
인지력 개선 및 피부 건강에 도움이 되는 포스파티딜세린이 함유된 연질 캡슐	기억력 개선, 면역력 증진, 피로 개선에 도움이 되는 아세틸엘카르니틴 함유	피브로인 함유로 기억력 개선에 도움이 되는 액상 형태의 제품	참당귀 추출 분말 성분인 데커신의 뇌세포 보호 효과를 통한 치매 예방 및 치료

▷ **프로바이오틱스**

- 유산균 관련 식품, 의약품 업계는 2022년에는 이 시장의 규모가 3800억 원에 이르면서 프로바이오틱스가 비타민(약 2260억 원·2017년)을 제치고 홍삼(약 1조 원) 다음으로 가장 많이 찾는 건강기능식품이 될 것이란 전망임. ㈜CJ제일제당 등 식품 업체뿐 아니라 제약사들도 이 시장에 뛰어들면서 100여 업체가 2000여 제품을 쏟아내고 있으며, 2016년 `락토핏'을 출시한 종근당 계열사인 ㈜종근당건강이 전체 시장의 30% 정도를 점유하고 있음. 락토핏은 2019년 900억 원, 2019년 1분기에만 440억 원어치가 팔렸고 프로바이오틱스 전문 판매업체 ㈜쎌바이오텍은 2019년 600억 원의 매출을 냈음. 식품의약품안전처에 따르면 국내 프로바이오틱스 시장은 2012년 519억 원에서 2017년 2173억 원으로 4배 이상으로 급성장하였음.

- 우리나라의 경우, 기업체에서 다수 수입 자원에 의존하고 있으며 최근, 자체 개발하여 사용하는 사례들이 증가하고 있음.

- ㈜락토메이슨은 김치 유래 유산균 *L. plantarum*을 비롯한 식품용 유산균 19종을 생산하고 있으며 진주에 본사와 생산 공장, 기업부설 연구소가 있으며 2020년 서울에 유산균 연구 분야를 좀 더 체계적으로 접근하기 위하여 마이크로바이옴 연구소를 설립하여 균체 생산 관련 제조공정 및 품질개선 연구뿐 아니라 유산균의 면역조절작용을 보다 심도 있게 연구하여 체지방개선 효능 유산균 등 다양한 효능 유산균 제품을 개발하고 있음.

- ㈜프로바이오틱스는 김치 유래 식물성 유산균 Probio65가 함유된 2in1 유산균 제품 락토피 SP를 출시하였으며, ㈜CJ제일제당에서는 김치에서 분리한 피부 유산균 *L.plantarum* CJLP-133를 제품화하여 아토피 치료용 프로바이오틱스를 판매하고 있음.

- ㈜바이오리듬에서도 김치 유산균 *L. plantarum*과 *L. casei, L. lactis* 혼합 균주를 이용한 제품이 시판되고 있음. ㈜대상의 경우 장류 개발을 위해 전통장류에서 균을 분리하여 장류 균주 100여 종류를 확보하여 1997년부터 제품에 적용하고 있음.

- 프로바이오틱스의 국산화는 ㈜쎌바이오텍, ㈜비피도, ㈜프로바이오닉 등에 의해 주도적으로 이루어지고 있으며, 이 분야에서도 수입이 차지하는 비중이 더 큼. 최근 구강 냄새 제거 및 장 건강으로 각광받고 있는 VSL#3의 경우, 미국 직배송으로 한 달 치 가격이 138,000원으로 고가에 해당하며 이러한 제품을 국산 제품으로 대체한다면 고부가 가치 산업으로 발전할 가능성은 충분히 클 것으로 판단됨.

- 현재 사용되고 있는 포스트바이오틱스는 Lacteol Fort(Aptalis Pharma 사, 프랑스): *Lactobacillus acidophilus* LB 열처리 물을 동결건조한 제품(장 건강 개선), 50여 개국에 시판되고 있음. Lacdent por(하우스 식품그룹, 일본): *Lactobacillus plantarum* L-137(HK L-137)을 열처리 유산균으로 구강 건강에 도움을 주는 제품, LAC-Shidle™ (*Lactobacillus paracasei* MCC 1849의 열처리 소재)를 개발하여 자사의 기술을 접목한 초콜릿, 타블렛형 캔디를 출시되고 있음(그림 23).

- 국내에서는 ㈜종근당건강에서도 *Lactobacillus plantarum*의 배양액을 센터 코어기술을 이용하여 구미젤리로 출시하고 있음.

그림 23. 포스트바이오틱스의 제품

Lee, 2018

○ **지식재산권 현황**

- 인지 개선과 관련된 치료용 및 기능성 식품개발을 위한 조성물 및 제조방법과 관련된 국내 특허 현황은 표 10과 같음.

표 10. 인지능력 개선 관련 특허 목록(http://www.kipris.or.kr)

특허명	등록 번호
신규한 HDAC6 억제제를 이용한 치매 또는 인지장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물	제10-2078528호
청국장 또는 그의 추출물을 함유하는 치매의 예방 및 치료용 조성물	제10-1485178호
구멍쇠미역(*Agarumclathratum*) 추출물을 포함하는 치매 예방 또는 치료 및 인지능 개선용 약학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물	제10-1095034호
작약, 건강 혼합추출물을 포함하는 치매 및 인지기능장애 예방 또는 치료용 약제학적 조성물	제10-1492688호
톱니모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 항치매용 조성물	제10-1806068호
피토스핑고신-1-포스페이트 또는 그 유도체의 치매 예방 또는 치료용 용도	제10-1842438호
2-(3-[2-(1-시클로헥센-1-일)에틸]-6,7-디메톡시-4-옥소-3,4-디히드로-2-퀴나졸리닐술파닐)-N-(4-에틸페닐)부탄아미드를 유효성분으로 포함하는 치매 치료 및 예방용 조성물	제10-2051758호
오배자 추출물을 유효성분으로 포함하는 인지력 개선 및 치매 예방 또는 치료용 조성물	제10-1414988호
노화 및 치매의 예방 및/또는 치료 활성을 갖는 유산균	제10-1476236호
석곡 추출물을 유효성분으로 포함하는 알츠하이머성 치매 예방 또는 치료용 약제학적 조성물	제10-2021453호
고수 추출물을 유효성분으로 하는 치매 예방 또는 치료용 약학적 조성물	제10-1807953호
알코올성 치매 개선용 홍삼 추출물 제조방법	제10-1991434호
노인성 치매의 예방과 치료에 사용되는 의약 조성물 및 그 제조 방법	제10-1990758호
난노클로롭시스 오세아니카 추출물을 유효성분으로 포함하는 치매의 예방 또는 치료용 조성물	제10-1910717호
대황 추출물을 포함하는 알츠하이머성 치매 질환 예방 및 치료용 조성물	제10-1722367호
육미지황탕을 포함하는 치매 치료용 조성물	제10-1840451호

○ **표준화 현황**

▷ **건강기능식품 원료**

- 고시형 원료: 「건강기능식품 공전」에 등재되어 있는 기능성 원료로 사용할 수 있는 원료. 공전에서 정하는 제조기준, 규격, 최종제품의 요건에 적합할 경우 별도의 인정절차가 필요하지 않음. 영양소(비타민 및 무기질, 식이섬유 등) 등 약 83여 종의 원료가 등재되어 있음.

- 개별인정 원료: 「건강기능식품공전」에 등재되어 있지 않은 원료로, 개별적으로 식품의약품안전처의 심사를 거쳐 인정받은 영업자만이 사용할 수 있는 원료임. 이 경우 영업자가 원료의 안전성, 기능성, 기준 및 규격 등의 자료를 제출하여 관련 규정에 따른 평가를 통해 기능성 원료로 인정을 받아야 제조·판매할 수 있음. 140여 종의 개별인정 원료가 등록됨.

- 현재 인지능력 개선에 도움을 주는 건강기능식품 기능성 원료는 표 11과 같음.

표 11. 인지능력 개선 기능성 식품 기능성 원료

고시형 기능성 원료	개별인정형 기능성 원료
• 포스파티딜세린	• 참당귀뿌리추출물 • 참당귀추출분말(Nutragen)

▷ **기능성의 종류**

- '건강기능식품'의 기능성은 의약품과 같이 질병의 직접적인 치료나 예방을 하는 것이 아니라 인체의 정상적인 기능을 유지하거나 생리기능 활성화를 통하여 건강을 유지하고 개선하는 것을 말함. 기능성의 종류는 다음 표 12와 같음.

표 12. 기능성의 종류

항목	기능성의 종류
1	질병발생 위험감소 기능
2	생리활성 기능
3	영양소기능

- 영양소기능은 인체의 성장·증진 및 정상적인 기능에 대한 영양소의 생리학적 작용이고, 생리활성기능은 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능 향상 또는 건강유지·개선 기능을 말함. 또한, 질병 발생 위험감소 기능은 식품의 섭취가 질병의 발생 또는 건강상태의 위험을 감소하는 기능임.

▷ 건강기능식품 관리체계(그림 24)

그림 24. 건강기능식품 관리체계

▷ 건강기능식품 표시·광고 내용 기준

- 건강기능식품의 표시기준은 「식품의약품안전처 고시 제2020-003호(현 개정공고중)」에 따라 제품명, 유통기한, 제조일, 원료 등을 표시하며, 「건강기능식품에 관한 법률」 제4조, 5조에 따라 건강기능식품 표시(도안), 제품명, 업소명 및 소재지, 유통기한 및 보관방법, 내용량, 영양과 기능정보, 섭취량과 방법, 원료명과 함량 등을 표시해야 함.

- 건강기능식품 표시·광고 자율심의기준 운영규정은 「식품 등 표시·광고에 관한 법률」 제10조 제8항에 따라 자율심의기구로부터 건강기능식품의 표시·광고 심의를 받아야 함. 심의신청은 표시를 포함한 패키지, 신문, 잡지, 인쇄물, 인터넷 등 매체별로 구분하여 각 기준에 따라 신청해야 함(표 13).

표 13. 건강기능식품의 표시·광고 심의신청 기준

매체 구분	제출 형식	글자 크기	첨부 자료
패키지 (표시 포함)	표시·광고내용이 포함된 패키지 전개도 형태		• 패키지 원본 • 심의 시 필요한 근거자료
신문/잡지 인쇄물/기타 (QR코드, 전광판, 스크린도어 등) 인터넷 홈쇼핑 유선방송/동영상 라디오	광고내용이 포함된 최종 광고물 형태 광고의 직·간접적 표현에 대한 방송내용(기능성내용, 자막, 도표, 그림 등)이 포함된 최종 광고물 형태	글자 10포인트 이상 (A4기준)	심의 시 필요한 근거자료

(나) 국외 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술 동향

▷ 인지능력 개선 기능성 식품

- ADHD 치료제: 미국의 하버드대나 예일대와 같은 아이비리그 학생을 중심으로 `스마트 드러그(smart drug)'가 유행하고 있음. 시험이나 중요한 업무를 앞두고 먹으면 놀라울 정도로 집중력이 좋아진다는 소문이 퍼지면서 `기적의 약'이라는 부르며 학생뿐 아니라 변호사, 의사, 항공기 조종사 등 고도의 집중력을 필요로 하는 직업군을 중심으로 습관적으로 복용하는 사람들이 점점 늘고 있는 것으로 알려짐.

- 스마트 드러그는 주의력 치료제인 아데랄과 리탈린 등을 가리킴. 이는 원래 ADHD(주의력결핍과잉행동장애)를 앓고 있는 환자의 치료를 위해 사용됨. 이를 복용하면 뇌의 중추신경이 흥분돼 집중력과 기억력 등 두뇌 활동 능력이 일시적으로 높아지지만, 인위적으로 신진대사를 조절하기 때문에 상당히 위험함. 아데랄과 리탈린 모두 각성제와 같은 불면증, 식욕 부진, 졸음, 우울증 등의 부작용이 보고됨.

▷ 프로바이오틱스

- 국내시장과 마찬가지로 국외시장 또한 건강과 관련된 제품들의 생산 및 판매량은 매년 꾸준히 증가하는 추세임.

- 프로바이오틱스 자체의 제품 생산뿐만 아니라 식품 및 의약품 조성물, 사료용 조성물로써 사용 및 제조되고 있음.

  ✓ Gelatinous mixture of probiotics and prebiotics with synergic symbiotic action for treating chronic renal disease(제14774234호, 미국)
  ✓ Infant formula with probiotics and milk fat globule membrane components(제09226521호, 미국)
  ✓ Probiotics-containing soybean oligosaccharide product and preparation there of(제08877269호, 미국)
  ✓ Preparation that contains oligosaccharides and probiotics(제1481682호, 유럽)
  ✓ Dietary supplements containing probiotics(제12225649호, 미국)

- 현재, 다양한 형태의 상품으로 판매되고 있으며, 다양한 고객층을 표적으로 한 제품들이 생산되고 있음(그림 25).

그림 25. 국외 판매 중인 프로바이오틱 제품
출처: http://www.learnaboutprobiotics.org

○ 시장 현황

▷ 기능성 식품

- 전 세계 건강기능 식품시장 규모는 2018년 1억 6,452억 달러로 추정. 예측 기간 연평균 성장률 7.9%를 기록할 것으로 예상함(그림 26).

- 2017년 세계 보충제 매출은 미국의 성장둔화로 인해 2014년과 2015년에 이어 완만한 성장을 보였으나 시장 점유율에서 미국은 가장 큰 부분을 지속적으로 유지하고 있음(그림 26).

- 2017년 보충제 시장에서 vitamins, minerals가 세계시장의 약 39.3%를 나타내며 시장 점유율 1위를 차지하고 있음. 이 외에도 sports nutrition, meal replacement, homeopathic supplement, specialty supplement가 34.9%를 나타내고 있으며 herbs, botanicals가 25.8%를 차지함.

(가) (나)

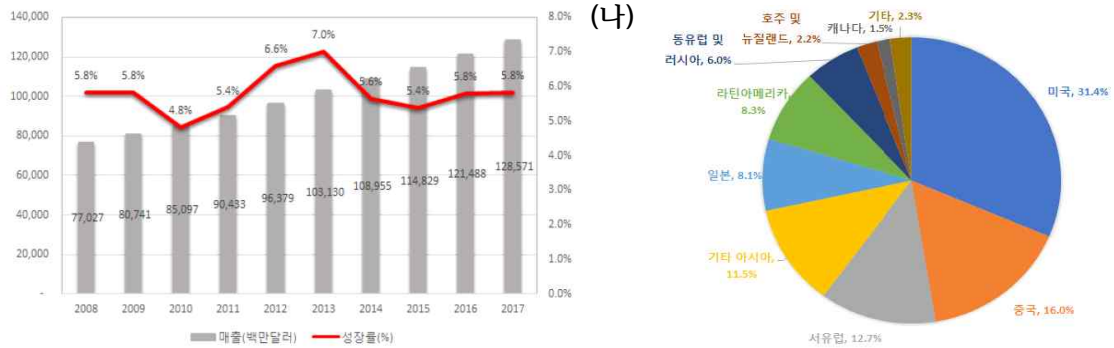


그림 26. 세계 보충제 시장 현황

출처 : New Hope Network, Global Supplement Business Report 2018

(가) 2008-2017년 세계 보충제 시장 매출액 및 성장률,

(나) 2017년 국가별 보충제 시장 점유율

○ 경쟁 기관 현황

- 편리함과 간편성은 건강기능식품에서도 중요한 주제로, 이에 맞는 접근법을 제공하는 기업이 주목을 받고 있으며, 천연제품과 자연적인 재료를 사용한 제품에 대한 요구가 높아짐. 또한, 하나의 제품이 모든 사람에게 동일한 효과가 있는 것이 아니라는 것을 소비자가 인식하면서, 좀 더 개인의 특성에 맞춘 제품에 대한 수요가 증가하고 있음.

- 보충제 시장에서의 M&A가 매우 빈번하게 일어나고 있음. 피앤지(Procter & Gamble), 네슬레(Nestlé), 클로락스(Clorox), 존슨 앤 존슨(Johnson&Johnson) 등의 인수·합병에 120억 달러가 지출된 것으로 추정됨.

- 중국의 중산층은 급속도로 확대되고 있으며 2020년에는 미국의 전체 인구보다 큰 규모가 될 것으로 예상함. 중국 소비자의 현지 제품에 대한 불신과 수입브랜드에 대한 수요로 중국기업의 아웃바운드 합병 및 인수(M&A)가 추진되고 있음.

- 밀레니얼 세대는 전 세계적으로 베이비붐 세대보다 높은 비중을 차지하고 있으며 보충제 분야를 포함하여 그들이 중요하다고 생각하는 것에 기꺼이 소비하므로 브랜드 선호도와 쇼핑 패턴에 있어서 영향력이 커지고 있음.

- ㈜아마존은 비타민 제품 분야에서 가장 강력한 유통기업이며 미국에서 일반보충제의 판매 2위, 스포츠 영양제 3위를 차지하고 있으며 쥬 뉴트리션(Zhou Nutrition) 및 하이퍼바이오틱스(HyperBiotics)와 같은 브랜드는 아마존을 통한 성공적인 독자 판매 전략으로 전체적인 보충제 분야에서 높은 소비자 평가와 판매를 보임.

- 블록체인은 네트워크로 연결된 컴퓨터가 지속적으로 공유원장을 업데이트하는 전자기록 보관시스템이며 블록체인의 투명성과 잠재력으로 보충제 시장의 복잡한 공급망에 있어서 효율성과 투명성을 구현하기 위한 기술로 평가됨.

▷ **프로바이오틱스**

- 미국의 프로바이오틱스 시장은 그림 27과 같음.

- 해외 제품 중 몇 가지 제품은 국내 수입이 이루어지기도 함(그림 28).

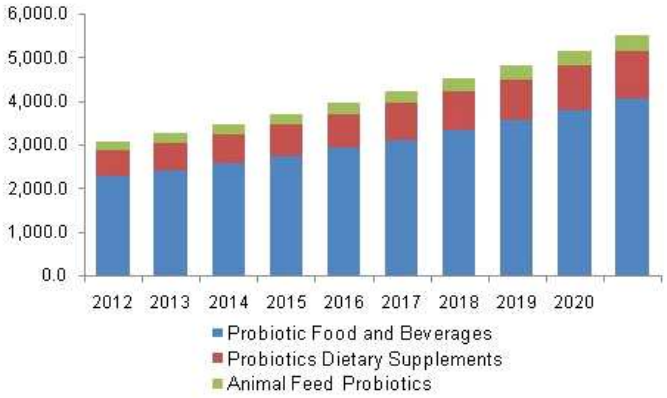


그림 27. 프로바이오틱스 시장규모
출처: 링크아즈텍, 식품의약품안전처, 그랜드 뷰 리서치

그림 28. 직배송 수입되고 있는 프로바이오틱스 제품
출처: http://www.vsl3.com/

▷ **국외의 뇌 건강기능식품 현황**

- 국외의 경우 상대적으로 고령화 사회의 진입이 가장 빠른 일본이 다른 서양 국가들에 비하여 치매 및 알츠하이머 예방을 위한 다양한 뇌 건강기능식품들이 개발되어 출시되어 있음(표 14).

- 기존의 정제 및 캡슐 형태뿐만 아니라 검 형태의 제품도 출시되고 있으며, 주로 식물 유래 추출물과 생선 유래 DHA, EPA 성분이 많이 함유되어 있음.

- 서양 국가의 경우 뇌 건강과 관련된 기능성 제품의 다양성은 상대적으로 적은 편이지만, 치매와 인지능력 개선에 관한 관심은 높은 편임(표 15).

- 주된 성분으로는 은행잎 추출물과 DHA, EPA, 포스파티딜세린 등이 함유되어 있음.

표 14. 일본의 뇌 건강기능식품

요미가에루 치료쿠 (되살아나는 지력)	기억력을 유지에 도움을 주는 종류의 검	기억력 서포트	DHA & EPA
호야 추출물과 포스파티딜세린을 함유하여 인지능력 개선에 도움을 주는 제품	은행잎 추출물을 함유하여 기억력 개선이 도움을 주는 검 형태의 제품	은행잎 추출 유래 성분으로 기억능력 향상에 도움을 주는 제품	생선 유래 DHA와 EPA의 함유로 기억력 개선에 도움을 주는 제품

표 15. 그 외 국가의 뇌 건강 기능성 제품

수버네이드	인텔리전스 인핸서	원데이 깅코 6000	오메가 메모리 with 커큐민
DHA, EPA, UMP, 콜린 등의 영양소가 함유된 치매용 특수 의료용도 식품	포스파티딜세린 함유로 신경전달 물질의 기능을 향상시켜 뇌 기능을 개선에 도움	은행잎 추출물은 첨가하여 집중력 및 기억력 향상에 도움을 주는 제품	포스파티딜세린 및 오메가-3 함유로 뇌 건강에 도움을 줄 수 있는 제품

○ **지식재산권 현황**

- 인지능력 개선과 관련된 국외의 지식재산권 현황은 표 16과 같고, 국내에 비해서는 지식재산권 관련 활동이 상대적으로 현황이 낮은 편임.

표 16. 인지능력 개선 관련 해외 특허 목록(https://www.kipris.or.kr)

특허명	등록 번호	국 가
Alzheimer`s 질병과 치매를 처리하기 위한 조성물과 방법	제10058520호	미국
노루 궁뎅이 버섯과 추출의 방법으로부터의 항치매 물질	제08871492호	미국
매화 추출을 포함하는 치매를 방지하거나 처리하기 위한 조성물	제09814749호	미국
치매와 그 조합법을 처리하기 위한 한약초 추출	제07824714호	미국

동맥경화의 차폐에 연합된 발기부전증, 치매 또는 질병의 형태를 처리하기 위한 moxaverin의 사용	제07645765호	미국
인지증의 예방, 치료 및／또는 인지기능을 개선하는 조성물 및 이것을 이용한 의약, 식품	제06163084호	일본
노인 치매와 그 조합법을 처리하기 위한 한의학 제조	제101269179호	중국
노인 치매와 제조를 처리하기 위한 종래의 중국의 의약품 조성물 방법과 그 적용	제101143181호	중국
노인 치매와 그 제조를 처리하기 위한 의약품 조성물	제101259234호	중국
노인 치매를 방지하고 처리하기 위한 약품 구성물	제101168025호	중국
치매를 방지하고/또는 처리하기 위한 알릴나프탈렌 리그난 유도체를 포함하는 조성물	제02712615호	유럽
치매를 방지하거나 처리하기 위한 투센다닌 또는 멀구슬나무속 아제다라크 추출의 사용	제02444091호	유럽
전구의 치매 환자를 위한 식품 조성물	제02412250호	유럽
몬소니아 종류의 추출을 포함하는 치매를 방지하거나 처리하기 위한 조성물	제02712619호	유럽
치매와 다른 뇌혈관 장해를 처리하기 위한 부프로프리온 물질 대사 산물	제01759701호	유럽

○ **표준화 현황**

- 국가 간 표준화는 다소 차이가 있음(표 17).

표 17. 국가별 건강기능식품 보충제 정의 및 범위

국가	명칭	관리기관	정의 및 범위
미국	Dietary Supplement	FDA	• 비타민, 미네랄, 허브 또는 보타니컬, 아미노산 • 식이섭취량을 증가시키고 보충하기 위해 사용하는 보충제 • 위에서 언급된 성분의 농축물, 구성성분, 추출물 또는 조합물
EU	Food Supplements	각 국가별 관할기관	• 정상적인 식단을 보충하기 위하여 영양적 또는 생리학적 효과가 있는 영양분 또는 기타 물질의 집중된 원료로 단독 또는 조합하여 섭취하는 식품 • 캡슐, 정제, 환약 및 기타 유사한 형태와 액체의 앰플, 드롭 분배형 병 및 측정된 소량 단위로 섭취하도록 고안된 액체, 분말 및 유사한 형태

러시아	Biologically Active Food Supplements	ROSPOTREB NADZOR	• 식품 또는 생물학적 활성물질 및 그 복합체로 식이를 풍부하게 하도록 식품과 함께 또는 직접 섭취하거나 식품에 도입하려는 천연 생물학적 활성물질과 자연성분으로 구성된 물질 • 비타민, 미네랄, 아미노산, 식이섬유 및 대체의약품
캐나다	Natural Health Products	Health Canada	• 건강을 회복 또는 유지하기 위해 사용되는 자연물질 • 식물, 동물, 미생물 및 해양자원으로 제조 가능 • 정제, 캡슐, 용액, 크림과 같은 다양한 형태 • 비타민, 미네랄, 허브요법, 식물을 기반으로 하는 건강제품, 동종요법, 전통의약품, 프로바이오틱스, 효소 • 천연성분을 포함한 특정 개인위생용품
호주	Complementary Medicines	Complementary Medicines	• 허브, 비타민, 미네랄, 영양보충제, 동종요법 및 특정 아로마 테라피 조제와 같은 성분을 함유한 '보완의약품'(Complementary Medicines)을 의미
뉴질랜드	Dietary Supplements	MEDSAFE	• 규정된 복용량 형태로 포장되어 식품에서 일반적으로 파생된 물질의 섭취를 보충 • 아미노산, 식용물질, 허브, 미네랄, 합성영양소, 단일 또는 복합비타민
일본	보건기능식품, 특정보건용식품, 영양기능식품, 기능성표시식품 (Health Foods)	CAA	• 건강을 위한 기능을 가진 성분을 함유하고 있으며 인체에 생리적 영향을 미치는데 공식적으로 승인된 식품 • 특정 건강을 위한 식품(FOSHU)은 혈압이나 혈중 콜레스테롤을 포함한 건강상태를 조절하고자 하는 사람들이 건강 또는 특수 건강상태를 유지 및 증진을 위해 섭취하기 위한 식품 • 특정보건용식품(개별허가형), 영양기능식품 (기준규격형), 기능성표시식품
중국	보건식품 (Heath Foods)	SAMR	• 특정 보건기능이 있고 비타민, 미네랄 등의 보충을 목적으로 하는 식품 • 질병치료를 목적으로 하지 않고 인체에 유해하지 않은 식품

① 미국의 식이보충제(dietary supplements) 제도(FDA)

- 건강 관련 강조표시는 건강강조표시, 구조/기능 강조표시, 영양소함량 강조표시가 있음. 건강강조표시는 FDA의 기준에 부합하여야 하며 FDA에 신고하여야 함.

- 식이보충제를 제조, 포장, 표시 혹은 보관하거나 미국 내에서 보충제를 유통하는 모든 업체는 품질관리를 위한 현행우수제조기준(current good manufacturing practice, cGMP)을 준수해야 하고, 표지에는 사용한 모든 원재료를 표기해야 함.

② 유럽 식품보충제(food supplements) 제도(국가별 담당기관)

- 유럽에서 식품보충제는 식품으로 분류되는데, 전통적인 의미에서 식품보충제는 비타민과 무기질을 포함한 물질로만 제한되었으나, 이외 물질을 포함한 식품보충제 시장이 확대됨에 따라 기존의 식품보충제지침(EC No 2002/46)을 보충하는 규정들이 제정되어 식품보충제를 관리하고 있음.

- 모든 일반식품과 식이보충제는 유럽연합집행위원회(EC)의 건강 및 영양 정보표시 규칙(regulation on health and nutritional claims)에 따라 제출한 과학적 근거자료를 유럽식품안전청(EFSA: European Food Safety Authority)에서 검토하고 EC의 인정을 받아야만 건강강조표시를 할 수 있음.

③ 캐나다 자연건강제품(natural health product) 제도(Health Canada)

- NHP 규정에서는 `자연건강제품'에 사용 가능한 품목과 사용 불가(금지) 품목 리스트를 제시하고 있는데, `신규식품제도(novel foods)'에 따라, 미생물을 포함하여 식품으로 안전하게 사용한 역사가 없거나 이전의 방식과 다르게 제조, 처리, 보관 혹은 포장하여 상당한 변화를 가져온 식품, 유전자재조합식품 등을 신규 식품으로 분류함(“상당한 변화”는 어떤 식품이 자연적인 변이 수준을 넘어서 식품이 변형된 경우).

- 의약품으로 분류됨에 따라, 최종제품은 「의약품법」에서 정한 규격에 따라야 하며, 판매 전 허가신청서(제품, 원료, 효과, 사용 목적, 안전성과 효능을 입증하는 근거) 및 제품규격을 제출하여 허가받아야 함. 캐나다에서 판매되는 모든 자연건강 제품은 제품 라이센스(product license)를, 캐나다에서 제품을 제조, 포장, 표지 혹은 수입하는 모든 장소는 장소 라이센스(site license)를 받아야 함.

④ 호주 보완의약품(complementary medicines) 제도(Complementary Medicines)

- 보완의약품은 위험도에 따라 “등록의약품(registered complementary medicine)”과 “열거의약품(listed medicine complementary)”로 분류되며, 비타민 및 무기질 보충제를 포함한 대부분의 보완의약품은 열거의약품으로 간주됨.

- 건강강조표시는 과학적 근거뿐만 아니라, TGA에서 인정하는 전통적 근거도 사용할 수 있으며, 높은 수준(high level), 중간 수준(medium level), 일반 수준(general level)으로 분류할 수 있음. 다만, 높은 수준(high level)의 강조표시는 등록의약품(registered complementary medicine)에만 가능하며 전통적 근거로 사용하는 경우에는 사용 불가함.

⑤ 일본 보건기능식품(health foods) 제도(CAA)

- 특정보건용식품은 표시되어 있는 효과나 안전성에 대하여 국가가 심사를 실시하여 소비자청 장관이 허가하고 있으며, 세부적으로는 `특정보건용식품', `특정보건용식품(질병위험감소표시)', `규격기준형 특정보건용식품', `조건부 특정보건용식품'으로 구분됨(그림 29).

- 기능성 표시 식품은 사업자의 책임으로 과학적 근거에 따른 기능성을 표시한 식품으로 판매하기 전에 안전성 및 기능성의 근거에 관한 정보 등이 소비자청에 신고된 것임. 단, 특정보건용식품과는 달리 소비자청장관의 개별허가를 받은 것은 아님.

그림 29. 일본 보건 기능식품(health foods) 제도

⑥ 중국 보건식품(health foods) 제도(SAMR)

- 2016년 7월 1일부터 시행된 「보건식품 등록 및 서류신고 관리 방법」에 근거하여 대상에 따라 보건식품은 `등록'과 `서류등록'으로 이원화된 제도를 운영하고 있음.

- 보건식품의 기능성은 27가지로 분류되며, 기능성에 따라 요구하는 자료(동물시험, 인체시험, 흥분제 검사 등)는 상이하며, 제품에 표시하고자 하는 기능성은 “보건식품 기능성 목록”에 반드시 포함된 것이어야 함.

2) 연구개발 범위

가) 연구개발의 최종목표

○ 기능성 김치 유산균을 이용하여 인지능력 개선을 위한 기능성 식품 소재를 개발하고자 하는데 있음. 수경재배 인삼과 인지능력 개선능이 확보된 프로바이오틱 김치 유산균을 활용하여 발효물을 유효성분으로 하는 치매 등의 신경성 질환 예방 및 치료에 효과가 있는 것으로서 효능 평가를 통한 과학적 근거를 확보하고 더 나아가 개발된 소재를 적용한 기호성과 기능성이 더욱 다양화된 기능성 식품을 개발하고 이를 산업화하고자 함. 최종적으로 이를 적용한 제품 2종을 개발하여 산업화하고자 함.

나. 연구개발의 세부목표

○ **기술개발 목표**

- 사이코바이오틱 제공을 위한 대량생산 기술 확보를 목표함.
  : 사이코바이오틱스 균체 수율을 기존 재래식 배양법보다 1.2배 높이고자 함.
- 사이코바이오틱스와 수경재배 인삼을 이용한 인지능력 개선 증진을 위한 기능성 식품 소재 개발하고자 함.
  : 산화적 손상 신경조직에 대한 보호능이 발효된 수경재배 인삼 소재가 비발효 비교군보다 건조 중량당 120% 이상 증가한 기능성 식품 소재를 개발하고자 함.

○ **제품개발 목표**

- 인지능력 개선을 위한 기능성 식품의 제품화
  : 치매 등 질환 환자를 위한 예방용 기능성 식품으로 고부가가치 식품 창출
- 제조공정 및 제품의 표준화 확립
  : 제조공정의 표준화 및 위생적 안전을 위한 제품 생산
- 마케팅 전략 수립 및 상품화
  : 최대한 소비자의 인지도를 높이기 위한 마케팅 및 효율적 유통망 구축
- 차세대를 위한 제품의 다양화 모색
  : 인지능력 개선을 위한 식품 조사 및 국내·외 소비자 니즈분석을 통한 상품화 콘셉트 연구

다) 연차별 개발목표 및 내용

<1차년도> 2020년 4월 - 2020년 12월

연구개발의 세부 목표	연구개발의 내용 및 범위
사이코바이오틱스에 의한 발효 수경재배 인삼 소재 개발 및 기능성 검증 (주관기관: 건국대학교 산학협력단)	▷ 사이코바이오틱스의 생리적 특성 연구 - 항산화력(ferric thiocyanate법, β-carotene bleaching 법, DPPH법 등) ▷ 사이코바이오틱스의 발효 조건 확립 - 발효 온도, 시간, 생육 곡선, 부형재의 첨가

	▷ 수경재배의 가공: extract의 제조 - 원료의 형태: 입자의 크기, 건조 여부 등 - 추출법 설정: 용매, 온도, 시간, 장치(shaking) → 고형분 및 유효성분의 수율에 따라 설정 ▷ 발효 수경재배 인삼의 유효성분 변화 분석 - HPLC를 통한 ginsenoside 분석 등
발효물의 산업화를 위한 제조법 설정 (제1협동기관: ㈜락토메이슨)	▷ 효능 유산균의 배양조건 확립 - 혐기조건 시 가스 요구성 연구(질소, 이산화탄소 등) - 배양 물리적 조건 연구(임펠러 교반 속도 등) - 성장 속도(OD, 생균수) - 생화학적 분석 (genomic 분석, 배양액 내의 대사산물 및 균체 성분분석) ▷ 수경 인삼의 발효공정 최적화 - 배양 중 대사산물 분석, 균체 성분분석 ▷ 시제품 제조를 위한 주원료 및 기타 원료의 표준화 ▷ 품질관리 기준 설정 - 식품공전 및 식품위생법에 의거한 제품규격 검토. - 제품의 성상, 생물학적, 화학적, 물리적 항목의 법적 기준에 따른 관리기준 검토
동물실험을 통한 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 인지능력 개선 활성 검증 (제2협동기관: 경남대학교 산학협력단)	▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 인지행동학적 지표 분석 - Y미로, 물체인식실험 ▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 신경전달물질 및 시냅스가소성 분석 ▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 β-amyloid 억제능 및 뇌 조직의 DNA 손상도 분석 - Acetylcholine 함량, acetylcholinesterase 활성, choline transferase 활성, BDNF 단백질 발현, CREB/p-CREB 단백질 발현, β-amyloid 함량, β-secretase 활성, comet assay 등

<2차년도> 2021년 1월 - 2021년 12월

연구개발의 세부 목표	연구개발의 내용 및 범위
제품에서의 인지능력 개선 유효성 검증 (주관기관: 건국대학교 산학협력단)	▷ 소재에서의 발효 유효성분 분석 - HPLC를 통한 ginsenosides 분석 ▷ 발효 제품의 조직 배양을 산화적으로 손상된 신경조직을 통한 회복력 검증 - 산화적 손상된 SH-SY5Y를 이용한 회복력 측정 ▷ 제품의 안전성 검사 - 최종 제품의 pathogens의 존재 여부 확인

	▷ 제품의 shelf-life 측정 - 가속화 방법을 통한 유통기한 설정 ▷ 제1협동기관에 유산균 소재 제공
인지능력 개선에 대한 개발제품의 산업화 (제1협동기관: ㈜락토메이슨)	▷ 판매 전략 모색 ▷ 원료 수급 모색 ▷ 제품의 위생 검사 및 성분 검사 공기관에 의뢰(nutrition facts)포장 형태 설정 - 한국식품공업협회 또는 한국식품연구원 등 제품 성분분석 의뢰 - 제품의 형태에 따르는 포장 형태 모색 ▷ 유통라인 개척 ▷ 경제성 분석 - 공정 및 원료 수급 등을 토대로 제조 원가 분석 ▷ OEM 생산라인 구축 - 원료의 처리 등 제조 관련 회사 모색
동물모델을 통한 수경재배 인삼 발효물 및 시제품의 인지능력 개선 활성 검증 (제2협동기관: 경남대학교 산학협력단)	▷ 수경재배 인삼 발효물 및 시제품의 뇌세포 보호 효과 분석 ▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 발효 수경재배 인삼 소재 및 시제품의 인지행동학적 지표 분석 - Y미로, 물체인식실험 ▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 발효 수경재배 인삼 소재 및 시제품의 신경전달물질 및 시냅스 가소성 분석 ▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 발효 수경재배 인삼 소재 및 시제품의 β-amyloid 억제능 및 뇌 조직의 DNA 손상도 분석 - Aacetylcholine 함량, acetylcholinesterase 활성, choline transferase 활성, BDNF 단백질 발현, CREB/p-CREB 단백질 발현, β-amyloid 함량, β-secretase 활성, comet assay 등

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

가. 제 1차년도(20. 04. 29 - 20. 12. 31)

1) 사이코바이오틱스에 의한 발효 수경재배 인삼소재 개발 및 기능성 검증

<제1세부기관: 건국대학교 산학협력단>

▷ 사이코바이오틱스의 생리적 특성 연구
▷ 사이코바이오틱스의 발효조건 확립
▷ 수경재배 인삼의 가공 및 extract 제조
▷ 각 인삼 종류 별 extract의 고형분 함량 확인
▷ HPLC를 통한 발효 전후의 ginsenoside 분석

가) 사이코바이오틱스의 생리적 특성 연구

- 인삼은 오래전부터 뿌리를 약재로 사용한 아시아, 특히 한국의 대표적인 한약재임. 더불어 홍삼의 경우, 건강기능식품 관련 업계에서도 부동의 매출 1위로 오랜 기간 자리매김하고 있음. 그러나 재배의 환경적인 제약이 있으며 기후에 따라 수확량의 차이가 큼. 그뿐만 아니라 재배 기간이 매우 길며, 재배 시 곤충 및 질병 방지를 위한 여러 가지 농약의 사용으로 잔류농약 등이 문제 시 되고 있음. 이를 해결하는 방안이 바로 수경재배 인삼임. 수경재배의 방식으로 인삼을 재배할 경우, 안정된 품질과 수확량 및 잔류농약의 문제점을 해소할 수 있어 최근 주목을 받고 있음. 이러한 이유로 수경재배 인삼에 주목하여 원료로 선택하였으며, 대조군으로는 가장 보편적으로 활용되는 6년근 수삼을 선택함.

- 본 연구팀은 앞서 언급한 인삼과 함께, 건강기능식품 시장에서 큰 성장세를 보이며 현재 2위를 차지하고 있는 프로바이오틱스의 '유익한 유산균 증식, 유해균 억제 또는 배변활동 원활'이라는 기능성에 주목함. 프로바이오틱스 또한 성장하고 있는 건강기능식품 소재로써, 전년 대비 53%의 시장 성장률을 보임. 홍삼의 뒤를 이어 건강기능식품 매출액 3위를 차지하고 있으며 우리는 발효를 통해 이번 과제에서 이 두가지 기능성 소재를 연결하고 기능성 향상을 도모함. 현재 인삼의 고시형 기능성은 면역력 증진, 피로 개선 및 2020년 추가된 뼈 건강 개선이 있고, 프로바이오틱스에는 면역 증진 및 항암 효과가 있는 것으로 알려져 두 소재를 결합하는 '발효'연구가 건강 기능성에 시너지 효과를 낼 것으로 기대됨. 건강 기능성 원료로 인정받은 여러 프로바이오틱스 가운데 주관연구기관의 선행 연구를 통해 뇌 신경세포 보호 효과와 산화적 스트레스에서의 세포보호 효과 등이 검증된 *L. lactis* KC24를 해당 균주로 설정하여 실험함.

- 아래 그림 30은 *L. lactis* KC24의 성장곡선으로, 타 균주들과 유사한 추세로 성장하는 것을 확인할 수 있음. 발효 및 타 기능성을 확인하기에 앞서 균주와 수경재배 인삼 추출물에 대한 항산화 실험을 진행함.

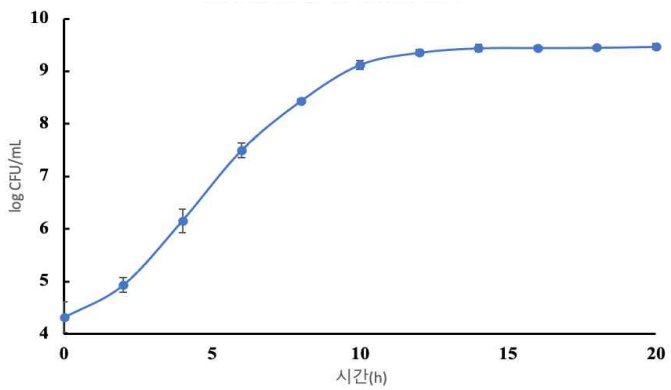


그림 30. *L. lactis* KC24의 성장곡선

나) *Lactococcus lactis* KC24의 항산화력 측정

(1) FRAP assay 법에 의한 항산화 효과 측정

- FRAP assay(ferric reducing antioxidant power)법은 낮은 pH에서 환원제에 의해 ferric tripyridyltrizaine (Fe^{3+}-TPTZ) 복합체가 ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ)으로 환원되는 원리로 한 것으로 시료가 Fe^{3+}을 Fe^{2+}로 환원시킬 때 Fe^{2+}가 나타내는 흡광도를 측정하여 항산화 활성을 평가하는 방법임. 즉, 대부분의 항산화제가 환원력을 가지고 있다는 전제를 두고 한 실험방법으로 FRAP assay법은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성 측정법과는 다른 기작의 항산화 측정법이기도 함.

- 방법으로서 FRAP 시약은 25 mL의 acetate buffer(300 mM, pH 3.6)를 37°C에서 가온한 후, 40 mM HCl에 용해한 10 mM 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ, Sigma Chemical Co.) 5 mL와 20 mM ferric sulfate($FeSO_4$) 2.5 mL를 가하여 제조함. 제조된 0.95 mL FRAP 시약에 원하는 농도로 용해시킨 시료 0.05 mL를 넣은 다음 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 593 nm에서 비색법으로 흡광도를 측정함. 공시료는 시료 대신 acetate buffer 또는 solvent를 넣어 측정함.

- 결과로서 그림 31과 같이 FRAP assay를 통하여 볼 때 발효 시 생성되는 배양액 내의 항산화물보다 균체 자체에 높은 항산화력이 있는 것으로 확인됨. 발효물의 항산화력은 대조군인 ascorbic acid보다 월등히 높은 것으로 나타났음.

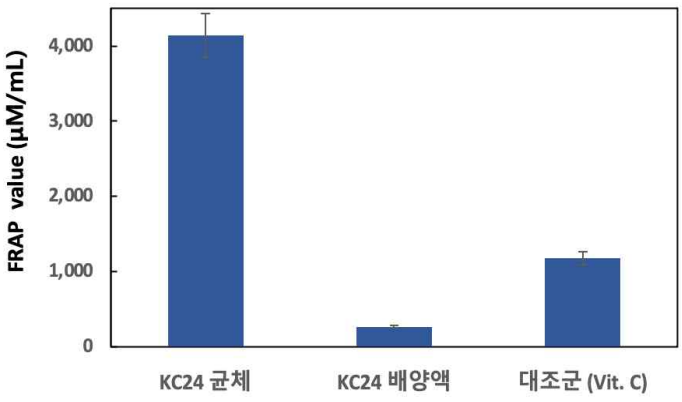


그림 31. FRAP assay에 의한 항산화력 측정

(2) β-Carotene에 대한 항산화 측정

- 불포화 지방산인 lionoleic acid는 산화물에 의하여 지방 산패가 쉽게 일어나며 이산화물은 β-carotene을 산화시킬 수 있음. 따라서 본 방법은 linoleic acid를 산화시킨 후 시료 속의 항산화물에 의한 β-carotene의 산화 감소를 측정하는 방법임. 방법으로는 시료 0.5 mL에 β-carotene 시약 4.5 mL을 넣고 반응을 시키고 반응액 1 mL을 취하여 470 nm에서 흡광도를 측정함. 나머지는 50℃에 보관하며 2시간 간격으로 흡광도를 측정함. 계산은 아래와 같이 잔여 β-carotene양으로 계산하였음.

$$AA(\%) = (t\text{시간 후 OD}/0\text{ 시간 후 OD}) \times 100$$

- 결과로서 β-carotene에 대한 항산화력은 대조군인 butylated hydroxyl anisole (BHA)보다는 다소 적은 편이나 균체 자체의 항산화력이 큰 것으로 나타남. 이는 앞의 FRAP assay와 비슷한 경향이 있는 것으로 사료됨.

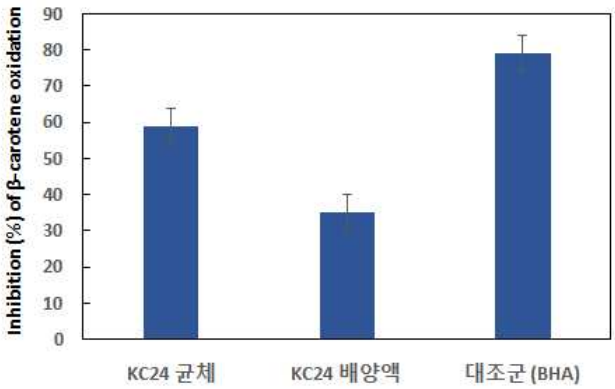


그림 32. β-Carotene에 대한 항산화력 측정

다. 수경재배 인삼의 항산화력 측정

(1) DPPH법에 의한 항산화력 측정

- 항산화 측정법의 하나로서 자유 라디칼의 소거능을 다음과 같이 측정함. 시료 및 대조군 0.2 mL를 100 μM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 1 mL와 혼합한 후 실온에서 15분간 방치하고 517 nm에서 흡광도(optical density, OD)를 측정하였음. 이때 DPPH 자유 라디칼 소거능은 다음과 같이 계산함.

$$\text{DPPH 자유 라디칼 소거능 (\%)} = \left(1-\frac{\text{시료의 OD}}{\text{대조군의 OD}}\right) \times 100$$

- DPPH free radical 소거능에 의한 항산화 효과는 DPPH free radical을 제거하여 DPPH 용액의 색 변화를 관찰하는 방법임. 각각의 균주로 발효시킨 시료의 DPPH free radical에 의한 항산화 효과는 모두 확인되었으며, 대조군보다 그 효과가 증가되는 것을 확인할 수 있었음. 그림 33은 1년근 수경재배 인삼 추출물의 IC_{50} 값을 측정한 것으로, 항산화 활성이 50% 감소하는데 필요한 농도를 나타내어 그 값이 작을수록

항산화력이 큰 것을 뜻함. 결과에 의하면 부위별로 볼 때 2년근 수경재배 인삼 뿌리 추출물이 가장 항산화력이 큰 것으로 나타났고 대중적으로 널리 사용하는 6년근 수삼 추출물보다 그 항산화 효과가 월등한 것으로 나타났음.

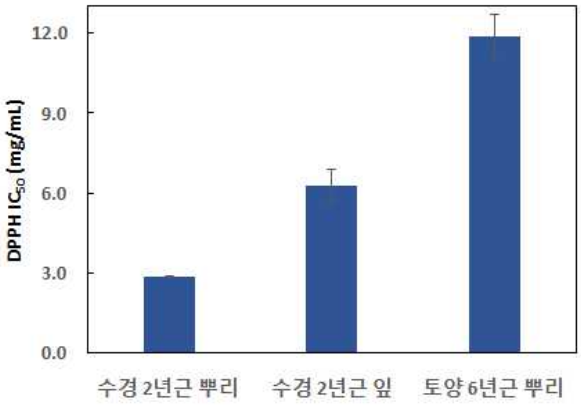


그림 33. DPPH법에 의한 항산화력 측정

(2) β-Carotene에 대한 항산화 측정

- 수경재배 인삼 추출물의 항산화력을 β-carotene에 대한 linoleic acid의 산화력의 저해 효과를 측정함으로써 확인하였음. 실험방법은 위와 동일하며, 이에 관한 결과는 그림 34에 나타내었음. 결과로서 β-carotene에 대한 산화 저해 효과는 수경재배 인삼 뿌리 추출물이 6년근 수삼 추출물보다 높게 나왔고 부위별로 볼 때 뿌리가 잎 추출물보다 월등히 높게 나온 것으로 나타났음.

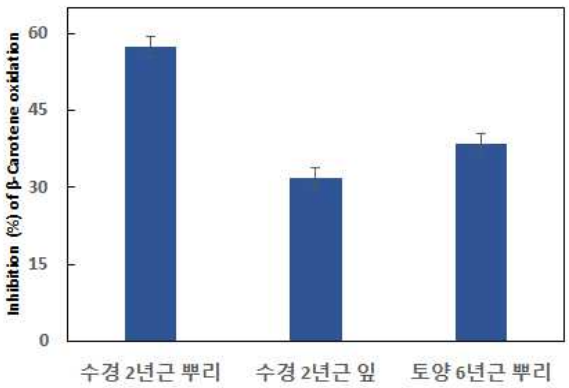


그림 34. β-Carotene에 대한 항산화 측정

라) 사이코바이오틱스의 발효조건 확립

- 본 연구팀은 위에서 살펴본 두 종류의 인삼과 다양한 건강 기능성 및 생리적 기능을 가지고 있는 *L. lactis* KC24 프로바이오틱스를 이용하여 발효를 진행함. 인삼 추추물 농축액을 희석하여 10 mg/mL로 농도를 맞추고, 멸균 전 인삼 추출물의 초기 pH는 6.5±0.05로 맞추어 autoclave를 이용해 121℃, 15분 조건으로 멸균함. 멸균을 마친 각 플라스크는 상온에서 식힌 뒤 냉장 보관하다가 발효 시작 당일에 다시 상온에 꺼내둠. *L. lactis* KC24 균주는 각각 MRS 배지와 ㈜락토메이슨에서 제공한 산업 배지에서

배양한 뒤 인삼 추출물에 1% 접종하였음. 37℃에서 24시간 정치배양 후 배양액 약 50 mL을 수거함. 10,000 rpm, 4℃, 15분 원심분리한 후 상등액을 분리하여 냉장 보관하고, 인삼 추출물 그대로 증류수를 이용해 희석한 뒤 사용함.

- 아래 그림 35는 앞서 설정한 발효조건을 토대로 각 배지에서 자란 균주를 이용해 발효를 진행한 결과임. 24시간 정치배양 중에 3시간 간격으로 MRS agar 배지에 도말하고 pH를 측정하였음. 그 결과, 그림 35에서 나타나듯, 처음에는 멸균 전 조절한 pH 6.5 정도의 약산성을 띠고 있음. 하지만 발효가 진행되면서 성장곡선에 따라 유산균이 증식하면서 각 시료의 pH는 점점 낮아지는 것을 확인할 수 있음. 측정시간별로 증식한 colony의 수를 확인해본 결과, 전반적으로 *L. lactis* KC24 균주의 성장곡선과 유사한 양상을 띠었으나 2년근 수경재배 인삼 추출물에서는 15시간 이후, 6년근 수삼 추출물에서는 18시간 이후에 균이 더이상 자라지 못하는 것을 확인할 수 있었음.

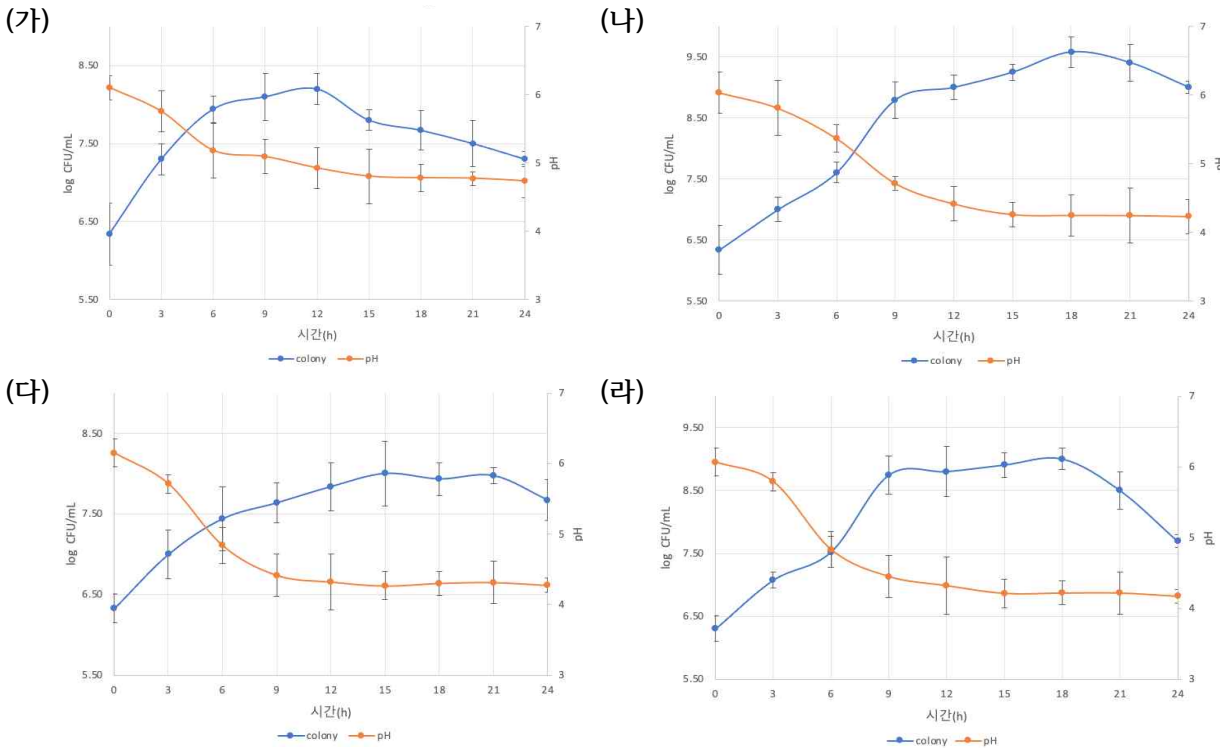


그림 35. 발효과정에서의 유산균의 성장 및 pH 변화

(가) MRS 배지 배양 후 2년근 수경재배 인삼 발효, (나) MRS 배지 배양 후 6년근 수삼 발효
(다) 산업 배지 배양 후 2년근 수경재배 인삼 발효, (라) 산업 배지 배양 후 6년근 수삼 발효

마) 수경재배 인삼의 가공 및 추출 extract 제조

- 그림 36은 광주광역시에 위치한 진생웰라이프협동조합에서 구입한 수경재배 인삼 원료와 해당 원료의 가공 과정임. 기존에는 lab scale로 연구원들이 직접 원료를 세척하고 분리하여 80℃ dry oven에서 6시간 건조함. 건조된 원료는 분말화한 다음 80 mesh 채로 screening하여 시료제조를 완료하였음. 그러나 이 과정에서 소요되는 시간이 길고, 실험 및 연구가 지체된다고 판단되어 pilot scale 규모로의 확장을 결정함. 향후 회사에서 대량으로 공급받기 위한 방법을 채택한 것임. 그에 따라 수경재배 인삼을 구매한 진생웰라이프협동조합을 통해 80℃ 열풍건조로 분말 공정을 요청함.

- 건조 분말의 각 인삼 시료의 추출 조건은 여러 조건이 제시되어 세 참여 기관 사이에서 긴밀하게 논의되었음. 연구 과정에서 가장 많이 활용되는 70% ethanol을 이용한 추출, 최근 산업체에서 선호하는 50% ethanol을 이용한 추출, 마지막으로 연구와 산업체의 절충안으로 60% ethanol을 이용한 추출 또한 고려하였음. 여러 차례 논의를 거친 결과, 본과제의 최종 목표가 산업화 및 제품화인 만큼 산업화 기준에 맞추어 설정하는 것이 가장 좋다고 사료되어 50% ethanol을 이용해 60℃에서 6시간씩 2회 추출하는 것으로 조건을 설정하고 시행함.

그림 36. 수경재배 인삼의 가공 과정

바) 각 인삼의 종류별 extract 고형분 함량 확인

- 앞서 설정한 조건에 따라 산업화 기준에 맞추어 50% ethanol을 이용해 2회 추출한 뒤, 시료마다 일정한 고형분 함량을 기준으로 실험을 진행하기 위해 준비 과정으로써 각 인삼 추출물의 고형분 함량을 측정함. 특히, 세척 및 건조, 추출한 인삼은 경작 기간과 경작된 환경 등 시료의 종류가 완전히 달라 추출효율 및 최종 수율이 서로 다를 가능성이 크므로 고형분 함량을 확인하지 않으면 균일하게 실험을 진행하기가 어려움.

- 그에 따라 시료의 고형분 함량 측정은 필수적인 과정이며, 측정 조건은 105℃, 5시간 열풍건조 방식으로 건조 전후 중량 차이를 통해 측정함. 다음 그림 37과 그림 38은 각각 발효 전과 후의 고형분 함량을 나타냄. 위의 그림 37을 토대로 볼 때, 발효 전 인삼 추출물의 고형분 함량은 2년근 수경재배 인삼 추출물보다 6년근 수삼 추출물에서 1.5배가량 높게 나타났음. 다만, 고형분 함량은 단순히 실험조건을 위한 농도 비교일 뿐, 기능성을 나타내는 지표는 아님.

- 다음 그림 38은 유산균 실험 및 연구에서 가장 많이 활용되고 있는 MRS 배지와 ㈜락토메이슨에서 제공한 산업 배지에서 각각 *L. lactis* KC24 균주를 배양한 뒤, 2년근 수경재배 인삼과 6년근 수삼 농축액의 발효를 진행한 시료의 고형분 함량임. 그림 37과 비교하여 볼 때, 상대적으로 많은 양의 고형분 함량이 감소한 것을 볼 수 있음. 이렇게 실험결과에 차이가 큰 이유는 발효과정 이후 실험결과의 균일성을 위해 원심분리 과정 및 필터링 과정으로 침전 물질을 제거하였기 때문임. 그럼에도 불구하고 6년근 수삼의 고형분 함량이 일관성 있게 2년근 수경재배 인삼보다 높은 결과를 나타냄. 지금까지 진행한 실험은 물론, 앞으로 진행할 연구 또한 그림 37과 그림 38에서 나타낸 고형분 함량을 토대로 각 시료의 농도를 설정하여 진행할 예정임.

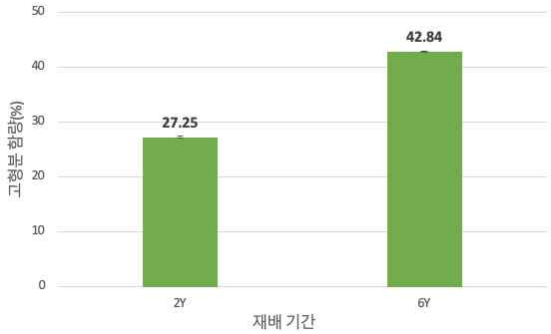
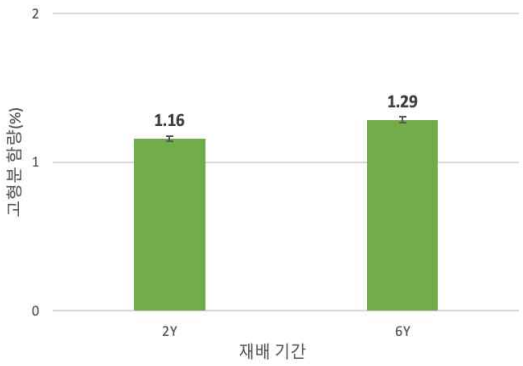


그림 37. 발효 전 인삼 추출물의 고형분 함량 차이

(가)



(나)

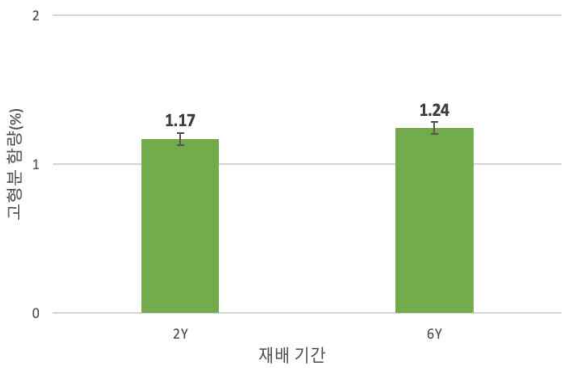


그림 38. 발효 후 인삼 추출물의 고형분 함량 차이

(가) MRS 배지 배양 후 인삼 발효, (나) 산업 배지 배양 후 인삼 발효

라) HPLC를 통한 발효 전후의 ginsenoside 분석

- 앞서 고형분 함량을 측정한 2년근 수경재배 인삼 추출물과 6년근 수삼 추출물의 발효 전 시료, *L. lactis* KC24 균주로 발효를 진행한 발효물의 ginsenoside를 분석하기 위해 표 18의 조건을 확립함. 이를 바탕으로 인삼 추출물과 발효물의 ginsenoside를 분석함.

- 2년근 수경재배 인삼 추출물은 6년근 수삼 추출물보다 다량의 ginsenoside를 함유하고 있으며, 특히 Re, Rd, F2의 함유량이 높은 것을 확인함. 그러나 수경재배 인삼의 12시간 발효 전후를 비교하였을 때, 정성분석으로는 큰 차이가 나타나지 않음(그림 39).

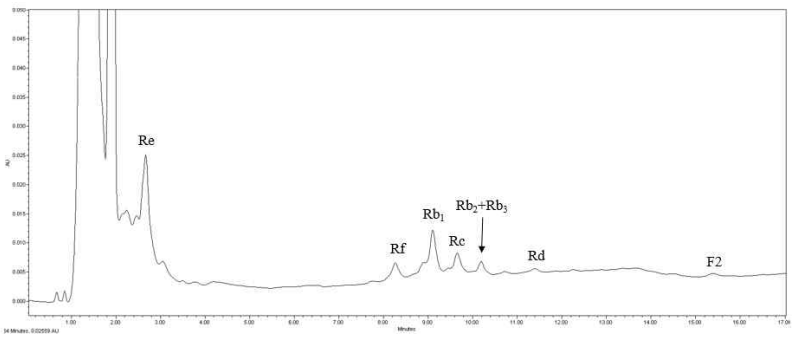
- 정성분석 결과, ginsenoside 변화가 크게 나타나지 않아 추후 분석 시 정량분석을 통해 발효과정 중에서 발생한 ginsenoside의 생물전환을 확인할 필요가 있을 것으로 사료됨.

표 18. Ginsenoside HPLC 분석조건

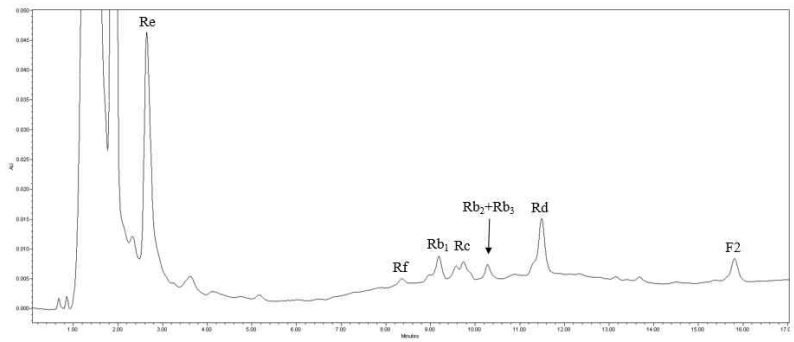
항목	내용
Instrument	Waters 600
Column	Agilent Eclipse XDB-C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)

Mobile phase	A: Deionized water (DW) B: Acetonitrile (ACN)
Gradient method	0~7 min (A 72~60%), 7~15 min (A 60~50%), 15~20 min (A 50~25%), 20~25 min (A 25~72%)
Run time	25 min
Post time	0 min
Flow rate	1 mL/min
Injection volume	10 μL
Temperature	25℃
Detector	Waters 2487 (203 nm)

(가)



(나)



(다)

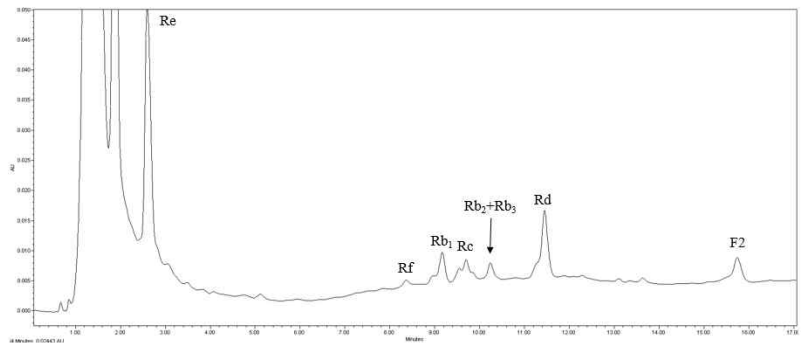


그림 39. 6년근 수삼, 2년근 수경재배 인삼 추출물과 12시간 발효물의 ginsenoside 분석.
((가). 6년근 수삼 추출물, (나). 2년근 수경재배 인삼 추출물,
(다). 2년근 수경재배 인삼 24시간 발효물)

2) 인지능력 개선효능이 있는 유산균 발효 수경 인삼 발효공정 최적화

<제1협동기관: ㈜락토메이슨>

▷ 효능입증 유산균의 배양공정 최적화
▷ 수경재배 인삼의 발효공정 생산용으로 최적화
▷ 품질관리 기준 설정
▷ 발효 안정화 및 공정 표준화 확립

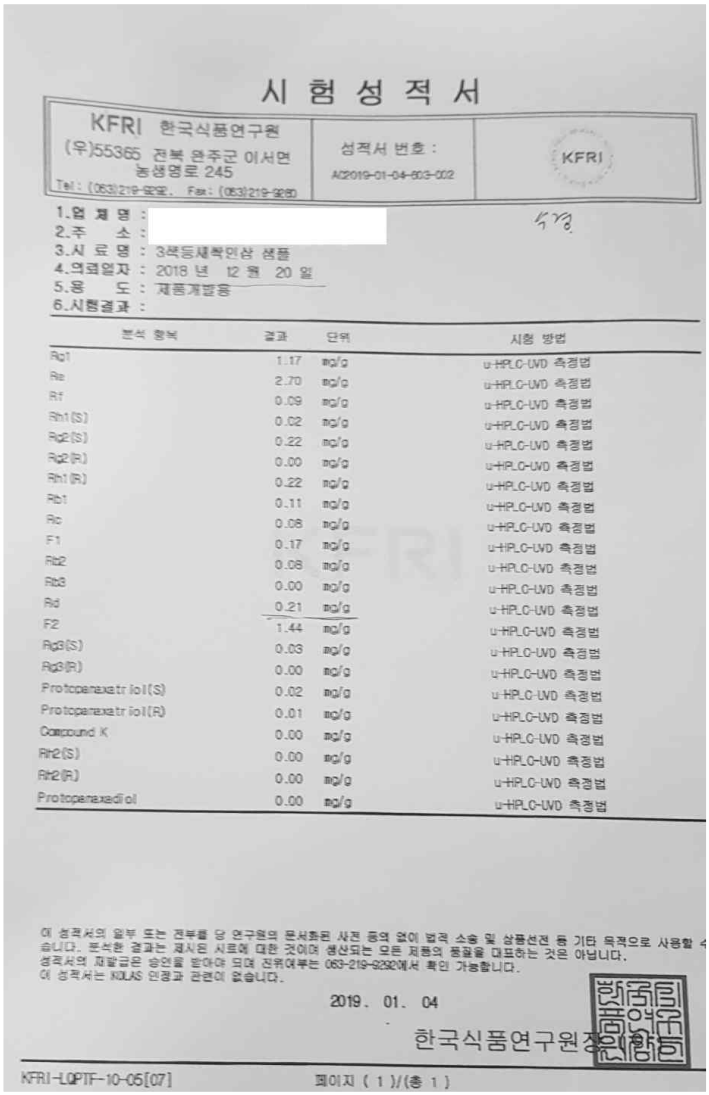
가) 원료 확보

- 수경재배 인삼의 장점은 농약이 없이 인삼의 생육에 맞게 조제된 배양액에서 재배하여 잔류농약과 토양에서의 오염에 대한 염려 없이 안전하게 인삼을 섭취할 수 있는 점과 생육 초기의 영양과 기능 성분이 많은 어린 인삼(보통 2-3년 생육 기간)을 가공하지 않고 전체를 생식 또는 열처리 없이 주스나 간단한 디저트용 제품개발의 용이성 좋은 것이라 할 수 있음.

- 다음 표 19과 그림 40은 수경재배 인삼 원료업체로부터 제공받은 ginsenoside 분석 결과임. 한국식품과학연구원과 한국기능식품연구원, 한국식품연구원 등으로부터 확보한, 수경재배 인삼 분말의 공인시험성적서를 받고자 하였으나, 세 기관 모두 건강기능식품 기준 분석 외에는 참고용으로도 전체 ginsenoside 분석의뢰 업무를 하지 않고 있어 자체 ginsenoside 분석법을 확립하고자 하였음.

표 19. 인삼의 부위별 ginsenoside 함량(인삼제조업체 제공)

종류	Ginsenoside 함량 (mg/kg)		
	Leaf stem	Root	Berry
F1	599.49	ND	455.61
F5	1,379.90	ND	353.41
Rb1	326.96	2,717.94	1,442.62
Rb2	1,401.89	1,226.28	1,542.19
Rb3	106.08	181.64	140.08
Rc	710.77	1,450.77	1.953.88
Rd	4,691.70	170.58	2.758.49
Re	22,371.22	3,553.59	22,327.49
Rf	233.05	945.22	177.94
Ro	1,600.47	5,163.36	126.92
Rg1	3,567.05	2,491.27	1,198.25
Rg2(S)	858.43	255.14	2.59
Rg3(S)	56.51	8.69	0.34



시 험 성 적 서

KFRI 한국식품연구원
(우)55365 전북 완주군 이서면 농생명로 245
Tel : (063)219-9508, Fax : (063)219-9695

성적서 번호 : A(2019-01-04-003-002

1.업 체 명 :
2.주 소 :
3.시 료 명 : 3년등세척인삼 생품
4.의뢰일자 : 2018 년 12 월 20 일
5.용 도 : 제품개발용
6.시험결과 :

분석 항목	결과	단위	시험 방법
Rg1	1.17	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Re	2.70	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rf	0.09	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rh1(S)	0.02	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rg2(S)	0.22	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rg2(R)	0.00	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rh1(R)	0.22	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rb1	0.11	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rc	0.08	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
F1	0.17	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rb2	0.08	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rb3	0.00	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rd	0.21	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
F2	1.44	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rg3(S)	0.03	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rg3(R)	0.00	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Protopanaxatriol(S)	0.02	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Protopanaxatriol(R)	0.01	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Compound K	0.00	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rh2(S)	0.00	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Rh2(R)	0.00	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법
Protopanaxadiol	0.00	mg/g	u-HPLC-UVD 측정법

이 성적서의 일부 또는 전부를 당 연구원의 문서화된 사전 동의 없이 법적 소송 및 상품선전 등 기타 목적으로 사용할 수 없습니다. 분석한 결과는 제시된 시료에 대한 것이며 생산되는 모든 제품의 품질을 대표하는 것은 아닙니다.
성적서의 재발급은 승인을 받아야 되며 진위여부는 063-219-9292에서 확인 가능합니다.
이 성적서는 KOLAS 인정과 관련이 없습니다.

2019. 01. 04

한국식품연구원장

KFRI-LQPTF-10-05[07] 페이지 (1)/(총 1)

그림 40. 수경재배 인삼의 시험성적서(S 업체제공)

출처: https//blog.naver/thesamcom/220681593689

- Ginsenoside는 그 종류에 따라 기능이 조금 다른 것으로 보고되고 있음. 본 연구에서는 동물실험 및 발효물의 성분분석을 통하여 인지능력 개선과 관련 있는 지표 또는 수경재배 인삼 발효물에 대한 지표성분을 선정하여 연구를 진행하고자 함.

- 수경재배 인삼 중 상토에서 키운 수경재배 인삼을 잎과 뿌리를 나누어 건조 분말화하여 (그림 41) 다음 표 20과 같이 추출하였음. 잎과 뿌리를 나누어 분석하는 이유는 수경재배 인삼 분말의 지표성분이 선정되면 차후 시제품 또는 제품 생산 시 두 분말의 혼합비로 품질을 표준화하기 위한 것임(대조군으로는 6년근 수삼 추출물을 이용하고자 함).

표 20. 인삼의 건조 및 추출 조건

		원료 상태	1차년도 실험	2차년도 연구	비고
시료군A	수경재배 인삼 (2년근) 잎	건조분말 (377g)	50% 주정추출, 분말화	2차년도 발효 시 원료로 사용	부위 별로 진세노사이드 함량을 확인 후 섞어서 사용
시료군B	수경재배 인삼 (2년근) 뿌리	건조분말 (612g)	50% 주정추출, 분말화	2차년도 발효 시 원료로 사용	

시료군C	수경재배 인삼 (2년근) 잎+뿌리	건조분말 (277g)	50% 주정추출, 분말화	동물실험에 사용 (1차년도 연구)
대조군D	수삼 (6년근)	건조분말 (175g)	50% 주정추출, 분말화	동물실험에 사용 (1차년도 연구)

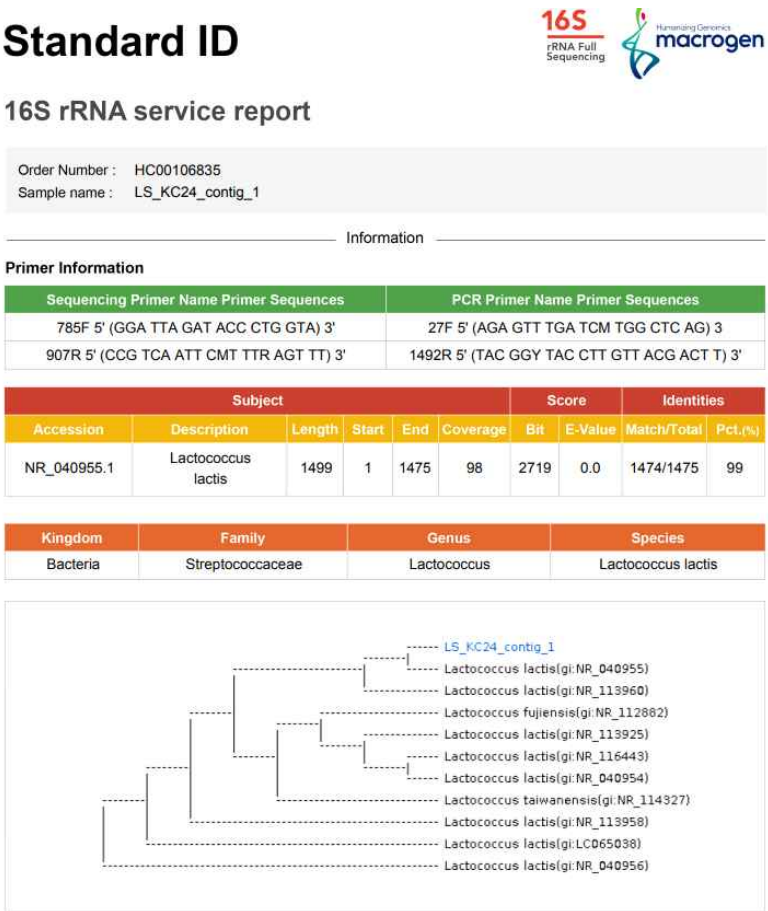
(가) (나) (다)

그림 41. 분석대상 시료

(가) 수경재배 인삼원료, (나) 시료 A 및 B 분말, (다) 시료 C 및 대조군 D 분말

나) 분양 균주 확인

- 본 과제에 적용된 균주의 생산 최적화 실험을 진행하기 전에 분양받은 균주를 동정하여 *L. lactis* KC24임을 확인하였음.



Standard ID

16S rRNA Full Sequencing

macrogen

16S rRNA service report

Order Number : HC00106835
Sample name : LS_KC24_contig_1

Information

Primer Information

Sequencing Primer Name Primer Sequences	PCR Primer Name Primer Sequences
785F 5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F 5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3
907R 5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R 5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
NR_040955.1	Lactococcus lactis	1499	1	1475	98	2719	0.0	1474/1475	99

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Streptococcaceae	Lactococcus	Lactococcus lactis

LS_KC24_contig_1
Lactococcus lactis(gi:NR_040955)
Lactococcus lactis(gi:NR_113960)
Lactococcus fujiensis(gi:NR_112882)
Lactococcus lactis(gi:NR_113925)
Lactococcus lactis(gi:NR_116443)
Lactococcus lactis(gi:NR_040954)
Lactococcus taiwanensis(gi:NR_114327)
Lactococcus lactis(gi:NR_113958)
Lactococcus lactis(gi:LC065038)
Lactococcus lactis(gi:NR_040956)

그림 42. *L. lactis* KC24의 rRNA sequencing

다) 유산균의 특성 분석

- *L. lactis* KC24 균주의 배지 선호와 성장을 확인하기 위하여 서로 다른 배지 조성에서 결과를 비교하여 실험하였음. 유산균의 성장 패턴은 탄소원의 종류에 따라 크게 결정되며, 탄소원 (C), 질소원 (N), 무기염류, 기타 등의 조성에 따라서 패턴이 상이함. 이에, 12가지 standard 배지로 탄소원과 C/N 비율을 결정함.

(1) Seed culture를 위한 배지조성을 선정함.

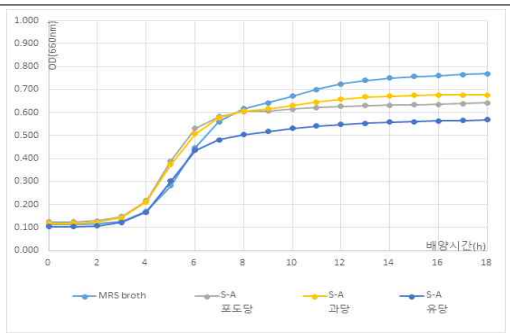
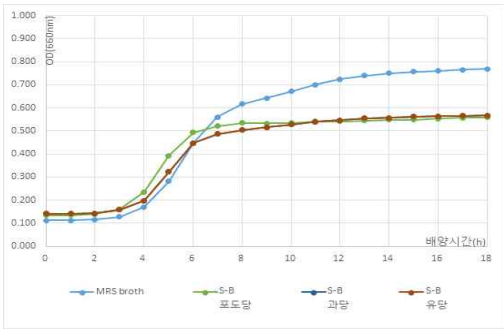
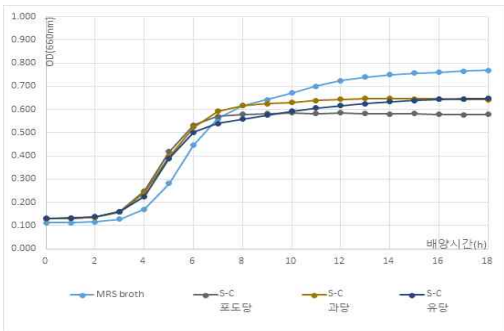
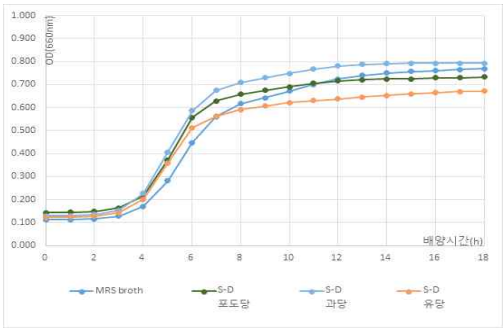
- 당사 *Lactococcus*속에 적합한 배지 조성을 활용하여 탄소원, 질소원, 무기염류 등의 조합으로 flask 실험을 통해 본 균주에 최적 배지를 결정함.

- *L. lactis* KC24의 생육 실험방법은 다음과 같음.
  ① MRS broth 15 mL에 stock vial을 1.0~1.5% 접종량이 되도록 접종
  ② 12종의 배지를 제조
  대조군: MRS broth 배지
  실험군: 배지선정용 standard 12가지 배지
  ③ ①의 배양액을 ②의 배지에 10배 정도 희석
  ④ 24 well plate에 ③의 배양액 분주 (n=1, total vol. 1 mL)
  ⑤ Microplate reader에서 배양, 1 h 간격으로 72 h까지 흡광도 측정 (0~72 h)
  ⑥ 흡광도 파장: 660 nm (마이크로플레이트 리더기)
  ⑦ 온도: 37 ℃
  ⑧ Shaking mode: 샘플링 시 linear shaking, slow (410 cpm, 5 mm), 5 min 가동
  ⑨ 측정수: 2회

표 21. *L. lactis* KC24 균주 배양 최적화를 위한 배지 조성의 종류

탄소원	배지 조성 종류							
	S-A		S-B		S-C		S-D	
포도당	원료명	%	원료명	%	원료명	%	원료명	%
	탄소원 1	2.20	탄소원 1	2.20	탄소원 1	2.20	탄소원 1	2.20
	질소원	3.00	질소원	3.00	질소원	3.00	질소원	4.00
	무기염류	0.27	무기염류	0.27	무기염류	0.42	무기염류	0.27
	기타	0.10	기타	0.10	기타	0.10	기타	0.10
과당	원료명	%	원료명	%	원료명	%	원료명	%
	탄소원 2	2.00	탄소원 2	2.00	탄소원 2	2.00	탄소원 2	2.00
	질소원	3.00	질소원	3.00	질소원	3.00	질소원	4.00
	무기염류	0.27	무기염류	0.27	무기염류	0.42	무기염류	0.27
	기타	0.10	기타	0.10	기타	0.10	기타	0.10
유당	원료명	%	원료명	%	원료명	%	원료명	%
	탄소원 3	1.00	탄소원 3	1.00	탄소원 3	1.00	탄소원 3	1.00
	질소원	3.00	질소원	3.00	질소원	3.00	질소원	4.00
	무기염류	0.27	무기염류	0.27	무기염류	0.42	무기염류	0.27
	기타	0.10	기타	0.10	기타	0.10	기타	0.10

표 22. 배지 조성에 따른 *L. lactis* KC24의 성장곡선(배양 18시간 기준)

배지 종류	성장곡선	결과
MRS broth vs. S-A 배지		MRS broth에 비교하여 S-A 과당, S-A 포도당 배지에서 성장성이 좋음.
MRS broth vs. S-B 배지		최종적으로는 거의 비슷한 OD값을 나타내지만, 초기 배양에서는 S-B 포도당 배지에서 성장성이 좋음을 확인할 수 있음.
MRS broth vs. S-C 배지		MRS broth를 제외한 나머지 S-C 포도당, 과당, 유당 배지가 초기 성장성이 빠름을 확인할 수 있었음.
MRS broth vs. S-D 배지		MRS broth에 비교하여 S-D 과당 배지에서 가장 성장성이 좋음을 확인할 수 있었음.

- *L. lactis* KC24는 stationary phase의 OD 값을 근거로 탄소원으로 과당을 선호함. 또한, 질소원으로는 식물성 펩톤류 보다 동물성 펩톤류를 선호하고 균체의 성장도 탄소원에 구분없이 전체적으로 양호함.

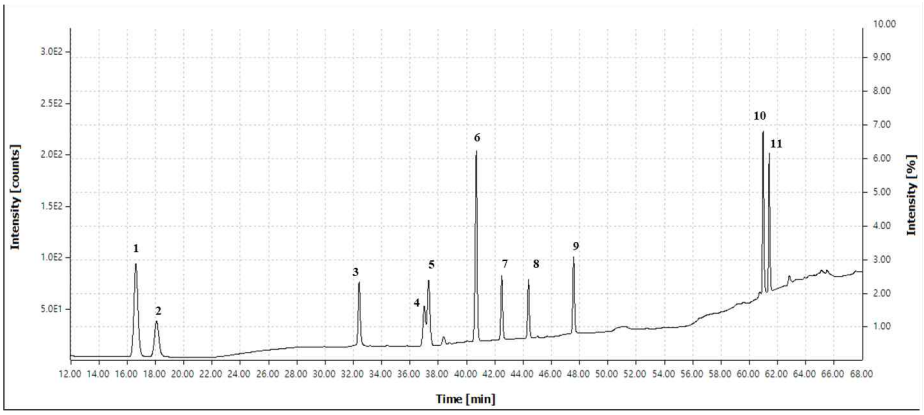
- 따라서, 최종적으로 S-D 배지에 과당을 조합한 배지에서 가장 좋은 성장률을 보였기 때문에 추후 이를 조합하여 5L Jar fermentor 실험으로 양산화 여부를 최종 할 계획임. 추가적으로 미생물 발효 시 온도, pH, 치환 가스 조건이 생육 환경에 상당한 영향력을 미치므로 양산 전 jar fermentor 실험을 통해 상기 조건 등을 검증할 계획임.

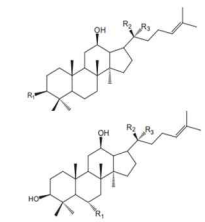
라) 지표성분 분석을 위한 ginsenoside 동시 분석법 확립

- 원료로 사용되는 수경재배 인삼의 지표성분을 확인하고, 추후 *L. lactis* KC24 균주를 활용한 발효 및 공정상의 지표성분 추이를 확인하기 위한 ginsenoside 분석법을 파악하였음.

(1) HPLC-DAD를 활용한 다종 ginsenoside 동시 분석법 개발

- 표준품: 11종 ginsenoside 혼합용액(Ginsenoside Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rg2s, Rg3r, Rg3s, Rh1)



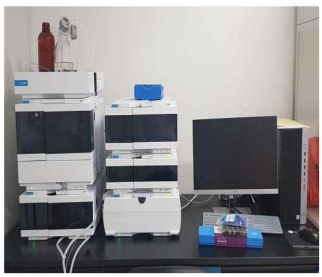


<Chemical Structures of major ginsenosides>

No.	Name	No.	Name
1	Ginsenoside Rg1	7	Ginsenoside Rc
2	Ginsenoside Re	8	Ginsenoside Rb2
3	Ginsenoside Rf	9	Ginsenoside Rd
4	Ginsenoside Rh1	10	Ginsenoside Rg3s
5	Ginsenoside Rg2s	11	Ginsenoside Rg3r
6	Ginsenoside Rb1		

그림 43. 11종 ginsenoside mixture의 reference chromatogram

표 23. Ginsenoside류의 HPLC 및 UV 검출조건

항목	내용
Instrument	 Agilent 1260 Infinity II HPLC system.
Column	Poroshell 120 EC-C18(100 mm × 3.0 mm, 2.7 μm)

Mobile phase	A: DW(deionized water) B: ACN(acetonitrile)
Gradient method	0~19 min(19% B), 19~25 min(19~27% B), 25~35 min (27~29% B), 35~55 min(29~40% B), 55~70 min(40~80% B), 70~72 min(80% B)
Run time	72 min
Post time	5 min
Flow rate	425 μL/min
Injection volume	2 μL
Temperature	30℃
Detector	Agilent G7117C Diode Array Detector(203 nm)

3) 동물실험을 통한 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 인지능력 개선 활성 검증

<제2협동기관: 경남대학교>

▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 인지행동학적 지표 분석

▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 신경전달 물질 및 시냅스 가소성 분석

▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 β-amyloid 억제능 및 뇌 조직의 DNA 손상도 분석

가) 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 뇌세포 보호 효과 분석

(1) 신경세포(SK-N-SH)에서 세포생존율 측정(MTT assay)

- 프로바이오틱스(KC24) 생균(L) 및 사균(HK)과 2년근 수경재배 인삼의 부위 별 추출물(뿌리(R), 잎(L), 뿌리+잎(W)) 및 6년근 수삼 추출물을 각각 신경세포(SK-N-SH)에 처리하여 세포 생존율을 측정함. 시료는 최종농도 5~100 μg/mL로 농도별로 24시간 처리하였으며, 그 후 산화스트레스는 200 μM H_2O_2를 24시간 처리하여 유도하였음.

- 프로바이오틱스 생균 및 사균은 모든 시료에서 농도 의존적인 세포 생존율을 보였으며, 농도별 차이와 생균 및 사균의 차이가 없이 안정하였음. 또한, 2년근 수경재배 인삼의 부위별 추출물과 6년근 수삼 추출물은 모두 농도 의존적인 세포 생존율을 보였으며, 100 μg/mL 최고농도에서 그룹 간의 유의한 차이는 없었음. 이상의 결과를 바탕으로 6년근 수삼 추출물과 2년근 수경재배 인삼 추출물의 효능에 차이가 없음을 확인하였음.

- 또한, 산화적 손상을 일으킨 PC군과 대비하여 프로바이오틱스 생균(L-KC24), 프로바이오틱스사균(HK-KC24), 2년근 수경재배 인삼 뿌리(R-2), 잎(L-2), 뿌리+잎(W-2), 6년근

수삼 추출물(W-6)은 각각 평균 38.1±3.0%, 47.5±1.3%, 48.8±0.7%, 32.8±3.5%, 25.2±8.1%, 29.8±14.7%의 신경세포 손상 개선 효과를 보였음.

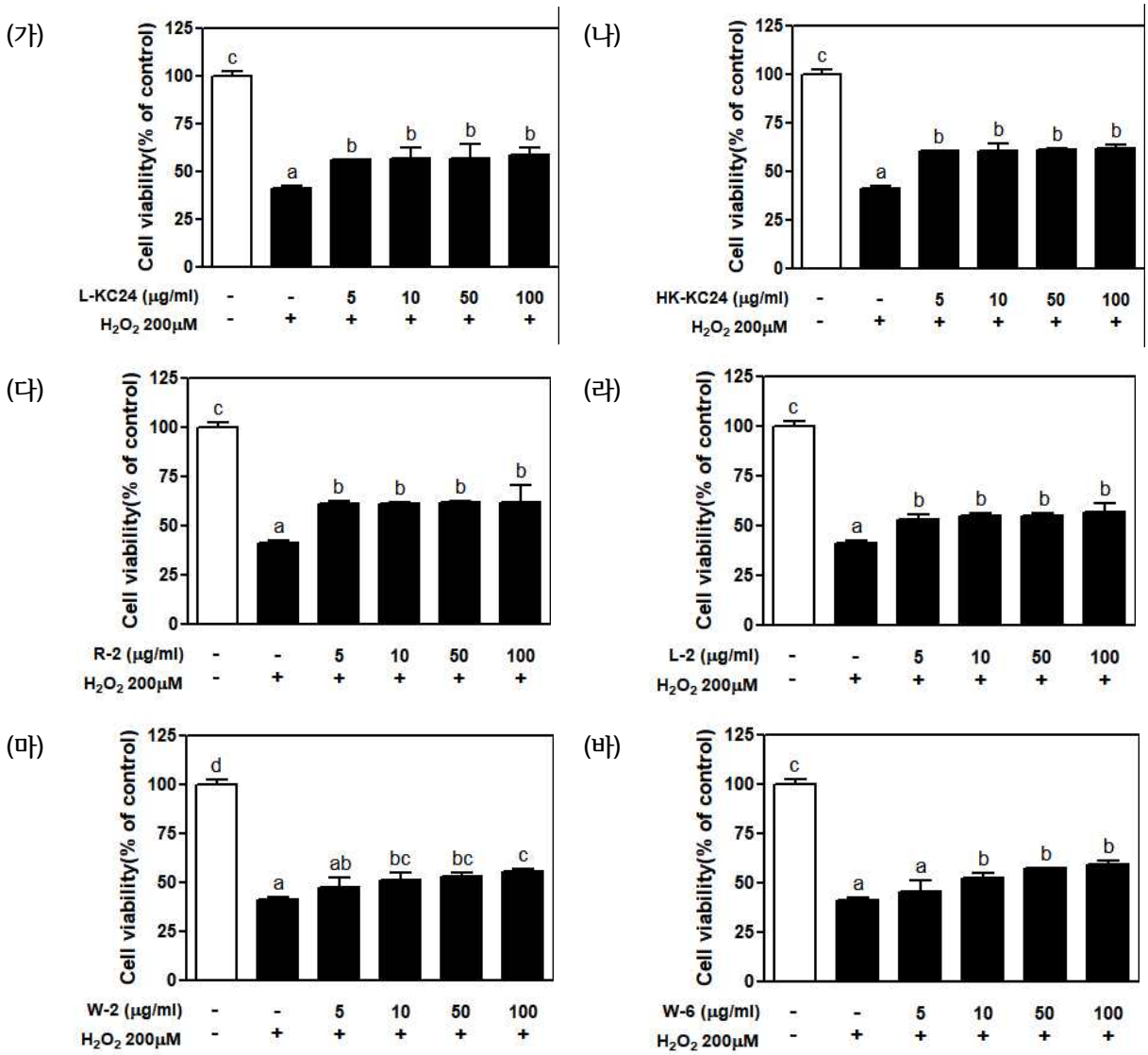


그림 44. 프로바이오틱스와 수경재배 인삼의 신경세포 보호 효과

(가) L-KC24, (나) HK-KC24, (다) 2년근 뿌리(R-2),
(라) 2년근 잎(L-2), (마) 2년근 뿌리+잎(W-2), (바) 6년근(W-6)

(2) 신경세포(SK-N-SH)에서 DNA 손상 보호 효과 측정(Comet asssay)

- 프로바이오틱스(KC24) 생균(L) 및 사균(HK)과 2년근 수경재배 인삼의 부위 별 추출물(뿌리(R), 잎(L), 뿌리+잎(W)) 및 6년근 수삼 추출물을 각각 신경세포(SK-N-SH)에 처리하여 DNA 손상 보호 효과를 측정하였음. 200 μM H_2O_2로 산화스트레스를 유도하였을 때 모든 시료에서 50 μg/mL 농도에서 유의적으로 DNA 손상 보호 효과를 나타내었음.

- 프로바이오틱스는 생균 및 사균 모두 농도의존적인 DNA 손상 보호 효과를 보였으며, 50 μg/mL 농도의 Tail DNA를 비교한 결과 생균(21.5±1.1%)과 사균(21.9±2.2%)의 유의한 차이는 없었음. 또한, Tail DNA 손상을 50% 저해하는 농도인 ED_{50}값을 구하여 비교한

결과 KC24-L, KC24-H 사이의 통계적 유의성은 없었음.

- 2년근 수경재배 인삼의 부위 별 추출물과 6년근 수삼 추출물은 모든 처리구에서 유의적인 DNA 손상 보호 효과를 나타내었으며, 2년근 수경재배 인삼의 부위 별 추출물과 6년근 인삼 추출물 사이에 유의한 차이는 없었음. 2년근 수경재배 인삼 뿌리 추출물(R2)과 6년근 수경재배 인삼 뿌리 추출물(R6)을 비교하였을 때 DNA 손상 보호능에 유의한 차이는 없었음. 또한, 2년근 수경재배 인삼 추출물을 부위 별로 비교하였을 때 뿌리(R), 잎(L), 뿌리+잎(W) 모두 유의한 차이가 나타나지 않았음. 따라서, 생리활성이 우수한 식품산업 측면에서 제품개발을 위한 소재로써 2년근 뿌리+잎(W)이 적합한 것으로 판단됨.

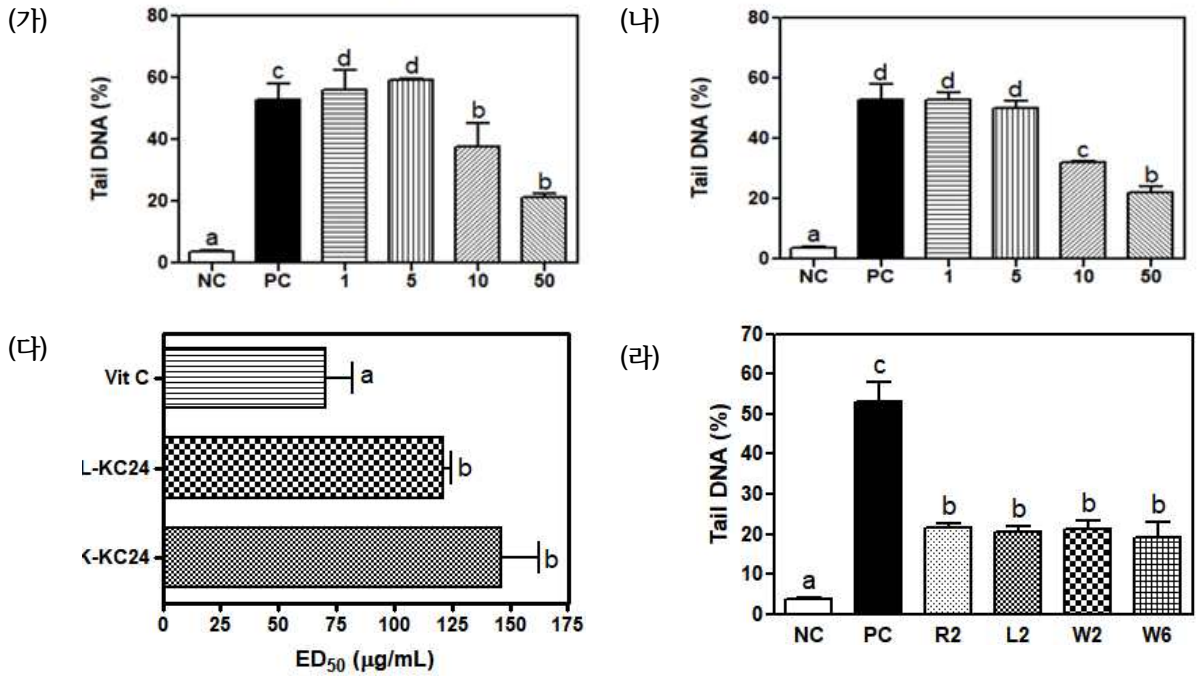


그림 45. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 신경세포(SK-N-SH) DNA 손상 보호 효과
(가) L-KC24, (나) HK-KC24, (다) ED_{50}, (라) 2년근 수경재배 인삼 및 6년근 수삼 추출물

1차 년도 *in vitro* 분석 결과의 시사점
- 인지능력 개선 소재로써 프로바이오틱스 사균(HK-KC24)과 2년근 수경재배 인삼(W-2)이 적합함을 확인함.

나) 동물실험을 통한 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 인지능력 개선 활성 검증

(1) 실험동물 디자인

- 실험동물은 ICR mice 수컷(7주령) 70마리를 동물실험실에서 사육하며, 사육 기간 중 식이와 물은 자유 섭취시키고, 사육실 온도는 23±1℃, 습도 50±5%, 조명시간 07:00~19:00(12시간 주기)로 환경을 유지함. 1주일간 적응시킨 뒤, 군당 평균 체중이 동일하도록 총 7개의 군으로 나눔. 프로바이오틱스 HK-KC24는 저농도 및 고농도군으로 나누고, 2년근 수경재배 인삼 추출물(W-2)의 비교를 위하여 6년근 수삼 추출물 군을 설정하였음.

그룹		피하주사(D7-D14)	경구투여 (D1-D14)
NC	정상 대조군	-	생리식염수
PC	인지능력 결손 유도군	Scopolamine 1 mg/kg	생리식염수
HK-KC24-L	HK-KC24 저농도군		HK-KC24 1×10^9 CFU/d
HK-KC24-H	HK-KC24 고농도군		HK-KC24 2×10^9 CFU/d
W-2	2년근 수경재배 인삼		W-2 150 mg/d
W-6	6년근 수삼		W-6 150 mg/d
DO	양성 대조군		Donepezil 2 mg/kg

- 기억력 손상을 위한 무스카리닉(muscarinic) 수용체의 길항제인 scopolamine은 1.0 mg/kg의 용량으로 saline에 녹여 실험 시작 30분 전에 복강 투여하고, 기억력 손상을 유도하지 않는 정상 대조군은 생리식염수를 복강에 투여함. 시료와 donepezil 처리는 존대를 이용하여 14일간 경구투여하며, 정상 대조군과 인지능력 결손 유도군은 정수된 물을 경구투여함. 경구투여 기간 14일 중 종료 전 7일 동안 물체인식실험, Y-미로의 2가지 행동실험을 연속적으로 실시함.

(2) 인지행동학적 지표 분석

○ **신물질탐색실험(물체인식실험)**

- 첫째 날 물체 두 개 (A1, A2)를 상자에 넣고 3분간 적응시킨 후 5분간 실험동물이 두 물체를 만진 횟수를 기록함. 다음 날 물체 A2 대신 B를 넣고 5분간 동물이 두 물체를 만지는 횟수를 기록하여 recognition index(새로운 물체에 대한 시간)와 object cognitive ability(새로운 물체에 대한 터치 횟수)를 구함.

- PC군은 NC군보다 새로운 물체에 대한 탐색시간(Recognition index)과 새로운 물체에 대한 탐색횟수(object cognitive ability)가 유의하게 감소하였음. HK-KC24-L군, HK-KC24-H군 및 W-2군은 PC군보다 새로운 물체에 대한 탐색시간이 유의하게 각각 323.0%, 223.6%, 318.5% 증가하여 인지능력 개선 효과를 나타내었으며, W-6군은 PC군보다 108.4% 증가하였으나 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았음. 또한, W-2군은 PC군보다 새로운 물체에 대한 탐색횟수가 유의하게 83.8% 증가하여 인지능력 개선효과를 나타내었으며, HK-KC24-L군(PC 대비 57.2% 증가) 및 HK-KC24-H군(PC 대비 44.8% 증가)은 유의한 차이는 없었으나 W-6군(PC 대비 25.1% 증가)보다 다소 높은 효과를 보였음.

(가) (나)

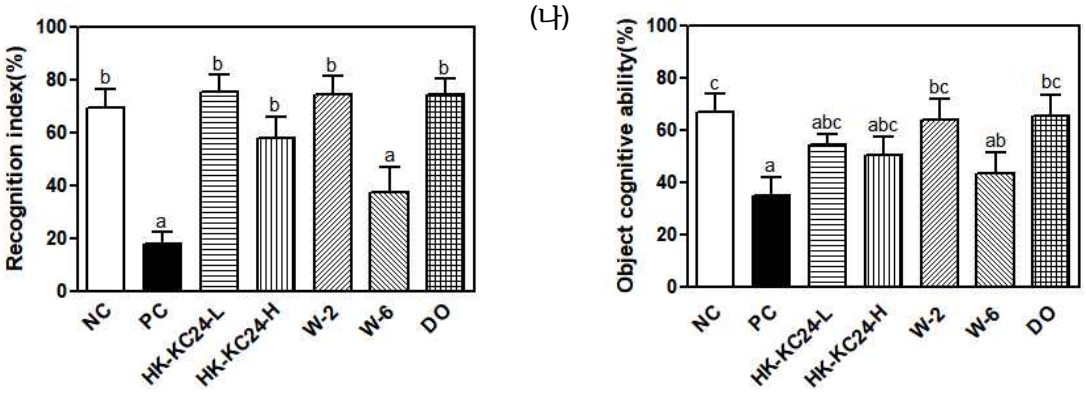


그림 46. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼이 신물질 탐색실험에서 물체인지능력에 미치는 효과
(가) 새로운 물체에 대한 탐색시간, (나) 새로운 물체에 대한 탐색횟수

○ Y-maze

- A,B,C 3개의 arm에 마우스를 놓고 2분간 미로 속 환경에 적응시킨 후 8분간 관찰하여 꼬리까지 완전히 들어간 arm을 기록함. 3개의 서로 다른 arm에 들어간 경우 1점(실제변경, actual alternation)을 부여하고, 변경행동력(alter-nation behavior)은 총 통과횟수(total arm entry)와 실제 변경 점수를 통해 다음 식을 이용하여 나타내었음.

변경행동력 (%) = {실제변경(actual alternation) / 총 통과횟수(total arm entry) - 2} × 100

- PC군은 NC군 보다 변경행동력(alternation behavior)이 유의하게 감소하였음(그림 47). 또한, 모든 섭취군은 PC군보다 행동변경력이 15.3~19.8% 유의하게 증가하여 인지능력 개선 효과를 나타내었으나, 그룹 간에 유의한 차이는 없었음.

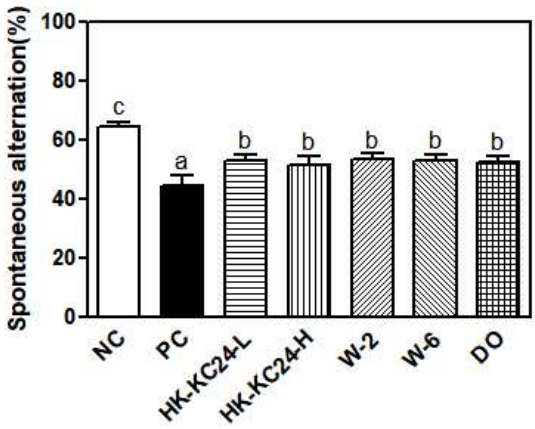


그림 47. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼이 Y-미로실험에서 변경행동력에 미치는 효과

결과 요약

- 인지행동학적 지표 분석결과 프로바이오틱스 사균 투여군에서는 저농도 투여군의 인지기능 개선 효능이 평균 132.9±165.8%(18.4~323.3% 범위)로 고농도 투여군의 인지기능 개선효능인 평균 94.6±112.7%(15.3~223.6% 범위) 보다 다소 효과가 높았으나 통계적으로 유의한 수준은 아니었으며, 인삼 추출물 투여군에서는 2년근 수경재배 인삼 추출물 투여군의 인지기능개선 효능이 평균 140.7±157.3%(19.8~318.5% 범위)로 6년근 수삼 추출물 투여군의 인지기능 개선효능인 평균 50.7±50.1%(18.4~108.4% 범위) 보다 우수한 효능을 나타내는 것으로 판단됨.

(3) 신경전달물질 및 시냅스가소성 분석

○ ACh(acetylcholine) 함량

- PC군은 NC군 보다 ACh 함량이 46.8% 감소하였으나 통계적인 유의성은 없었으며, HK-KC24-L군은 PC군 보다 ACh 함량이 117.1% 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었음.

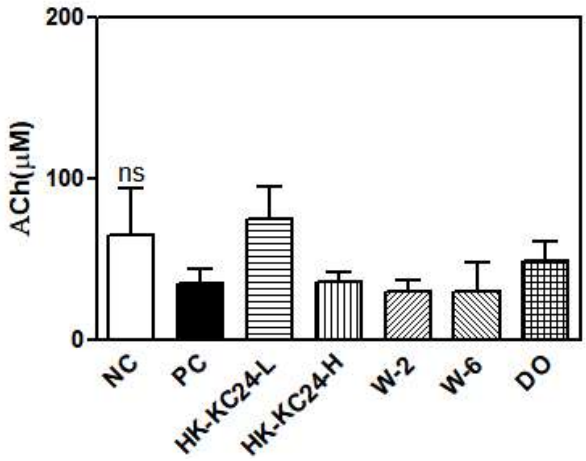


그림 48. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼이 뇌 조직에서 acetylcholine 함량에 미치는 효과

○ AChE(acetylcholinesterase) 활성

- Acetylcholinesterase 활성 실험결과, PC군은 NC군 보다 AChE 활성이 유의하게 증가하였으며, HK-KC24-L군과 HK-KC24-H군은 PC군보다 AChE 활성이 각각 74.4%, 50.2% 유의하게 감소하여 인지능력 개선 효과를 나타내었으며, HK-KC24-L군과 HK-KC24-H군을 비교하였을 때 HK-KC24-L군의 효과가 유의하게 더 높았음.

- 또한, W-2군과 W-6군은 PC군보다 AChE 활성이 각각 24.2%, 24.7% 감소하였으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었음.

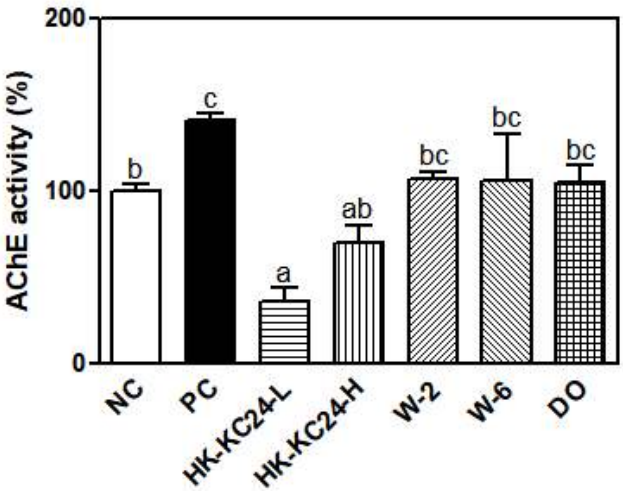


그림 49. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼이 뇌 조직에서
acetylcholinesterase 활성에 미치는 효과

○ ChAT(choline acetyltrancferase) 활성

- PC군이 NC군 보다 ChAT 활성이 유의하게 감소하였으며, W-2군은 PC군보다 ChAT 활성이 유의하게 증가하여 인지능력 개선 효과를 나타내었음. 또한 PC군과 섭취군 간의 비교에서 HK-KC24-L군, HK-KC24-H군, W-2군, W-6 군은 PC군 보다 각각 163.6%, 53.0%, 328.8%, 48.5% ChAT 활성 증가효과를 보였음.

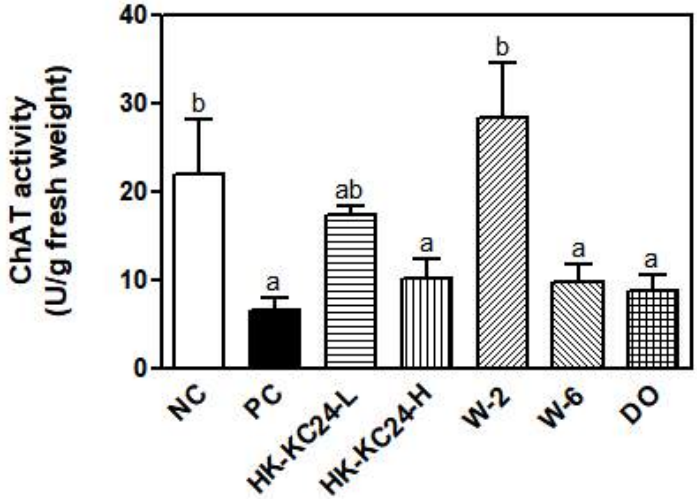


그림 50. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼이 뇌 조직에서 choline acetyltrancferase 활성에 미치는 효과

○ BDNF 및 CREB/p-CREB 단백질 발현

- PC군은 NC군 보다 BDNF 단백질 발현이 유의하게 감소하였으며, HK-KC24-L군은 BDNF 단백질 발현이 PC군 보다 유의하게 240.7% 증가하여 인지능력 개선 효과를 나타내었음. 또한 HK-KC24-H군은 BDNF 단백질 발현이 PC군 보다 57.0% 증가하였으나, 통계적인 유의성은 나타나지 않았음.

- PC군은 NC군 보다 p-CREB 단백질 발현이 유의하게 감소하였고, 모든 섭취군은 PC군보다 p-CREB 단백질 발현이 증가하였으며, 그룹 간에 유의적인 차이는 없었음. 또한 PC군과 섭취군 간의 비교에서 HK-KC24-L군, HK-KC24-H군, W-2군, W-6 군은 PC군 보다 각각 119.1%, 259.3%, 278.6%, 295.5% p-CREB 단백질 발현 증가효과를 보였음.

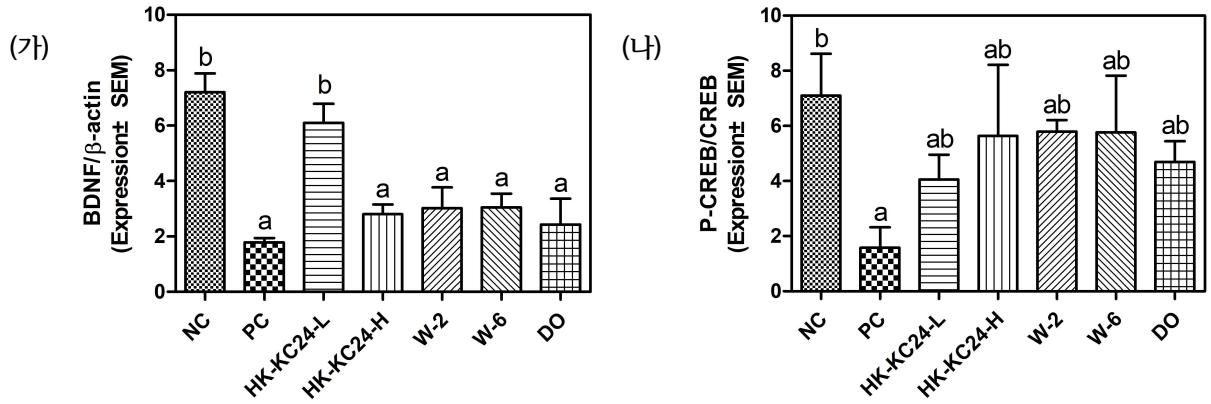


그림 51. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼이 뇌 조직에서 BDNF 및 CREB/p-CREB 단백질 발현에 미치는 효과

(가) BDNF, (나) CREB/p-CREB

(4) β-Amyloid 축적 억제

○ β-Secretase 활성

- PC군은 NC군 보다 β-secretase 활성이 유의하게 증가하였음. 모든 섭취군은 PC군보다 β-secretase 활성이 유의하게 감소하여 인지기능 개선 효과를 보였으며, HK-KC24-H군(PC 대비 32.0% 감소), W-2군(PC 대비 28.7% 감소), HK-KC24-L군(PC 대비 26.9% 감소), W-6군(PC 대비 15.9% 감소) 순으로 높은 효과를 나타내었음.

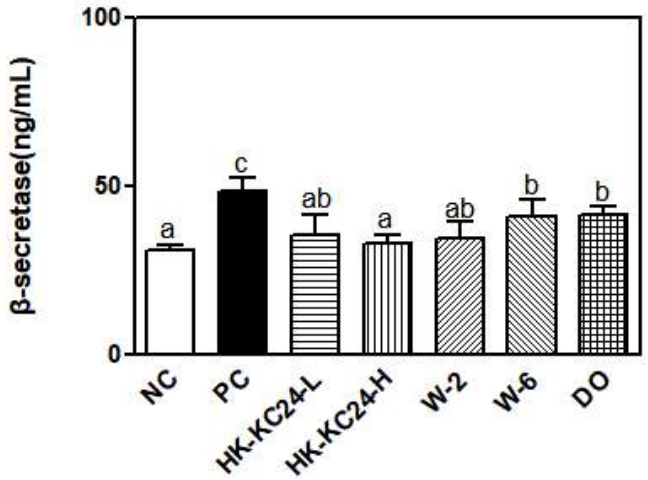


그림 52. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼이 뇌 조직에서 β-secretase 활성에 미치는 효과.

○ β-Amyloid 함량

- β-amyloid 40 함량은 PC군이 NC군보다 유의하게 증가하였으며, 모든 섭취군은 PC군보다 β-amyloid 40 함량이 유의하게 21.1~ 40.6% 감소하여 인지기능 개선 효과를 보였음. 또한, PC군은 NC군보다 β-amyloid 42 함량이 다소 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었으며, 섭취군은 PC군보다 β-amyloid 42 함량이 -0.6~16.1% 감소하였으나 유의

한 차이는 없었음. 섭취군 중에서 W-6군이 PC군보다 β-amyloid 42 함량이 16.1% 감소하는 가장 높은 효과를 보였음.

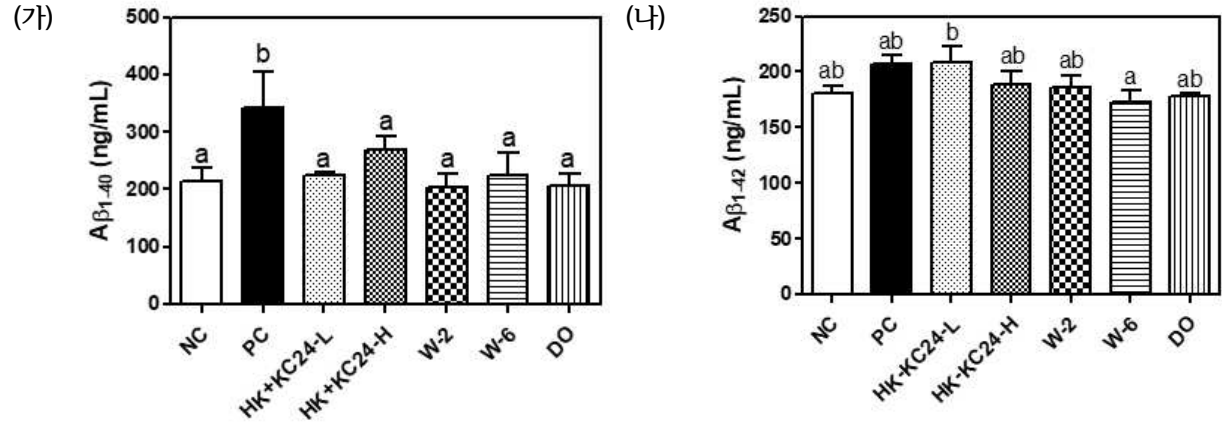


그림 53. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼이 뇌 조직에서 β-amyloid 함량에 미치는 효과
(가) β-amyloid 40, (나) β-amyloid 42

(5) DNA 손상 보호 효과

○ 뇌 조직의 DNA 손상도(comet assay)

- PC군은 NC군 보다 뇌 조직의 Tail DNA가 유의하게 증가하여 scopolamine에 의한 인지기능 손상이 뇌세포의 DNA를 손상시키는 것을 확인하였음. 모든 섭취군은 PC군보다 Tail DNA가 55.5~70.0% 감소하여 DNA 손상 보호 효과를 나타내었으며, HK-KC24-L군(PC 대비 70.0% 감소)의 효과가 가장 우수하였음. 또한, 프로바이오틱스 사균 투여군 간의 비교에서 HK-KC24-L군이 HK-KC24-H군 보다 DNA 손상 보호 효과가 유의하게 높았으며, 인삼 추출물 투여군 간의 비교에서 W-2군이 W-6군보다 DNA 손상 보호 효과가 유의하게 높았음.

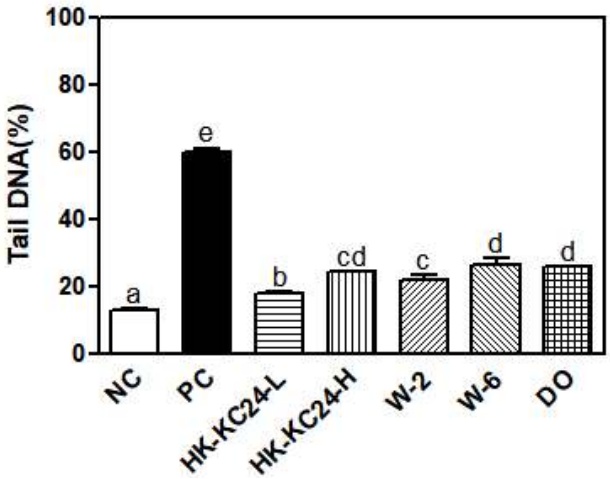


그림 54. 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼이 뇌 조직에서 DNA 손상에 미치는 효과

결과 요약

- 신경전달물질 생성 및 분비 조절, β-amyloid 축적 억제, DNA 손상도 관련 지표를 분석한 결과 프로바이오틱스 사균 투여군에서는 고농도 투여군(평균 65.4%의 인지기능 개선 효능)보다 저농도 투여군(평균 101.4%의 인지기능 개선 효능)이 더 우수한 인지기능 개선 효능을 나타내며, 인삼 추출물 투여군에서는 6년근 수삼 추출물 투여군(평균 98.4%의 인지기능 개선 효능)보다 2년근 수경재배 인삼 추출물 투여군(평균 64.0%의 인지기능 개선 효능)이 더 우수한 효능을 나타내는 것으로 판단됨.

나. 2차년도(21. 01. 01 - 21. 12. 31)

1) 제품에서의 유효성 검증

<제1세부기관: 건국대학교 산학협력단>

▷ 소재에서의 발효 유효성분 분석
▷ 발효 제품의 조직 배양을 산화적으로 손상된 신경조직을 통한 회복력 검증
▷ 제품의 안전성 검사
▷ 제품의 shelf-life 측정
▷ 제1협동기관에 유산균 소재 제공

가) 소재에서의 발효 유효성분 분석

- 천연물에 존재하는 유효성분은 대부분 배당체(glycosides)로 존재하거나 다른 성분과 결합된 상태로 존재하는데, 이러한 형태는 아글리콘 형태보다 효율성이 낮은 것으로 알려짐. 따라서 천연물 이용 시 가열, 산 또는 효소 처리, 발효 등과 같은 공정이 필요로 하며, 다양한 기능성을 나타내는 유효농도에 도달하기 위해서는 다양한 가공공정이 필요함. 특히 발효를 이용하는 경우에 미생물이 생성하는 효소를 이용하여 효율적으로 배당체로부터 유효성분만을 분리 추출할 수 있고, 생물전환을 통해 기능성을 증대시킬 수 있음. 인삼의 주요 유효성분인 ginsenoside는 대표적인 생리활성물질로 알려져 있는데, 배당체로 존재하고 있어 생물전환을 통해 생리 기능성을 증진시킬 수 있을 뿐만 아니라, ginsenoside의 체내 흡수력을 높일 수 있음.

- 발효 및 타 기능성을 확인하기에 앞서 ginsenoside의 생물전환을 확인함. 수경재배 인삼 추출물(2N)을 *L. lactis* KC24를 이용하여 12시간(F12), 24시간(F24) 배양한 발효물을 HPLC 기기를 이용하여 9종의 ginsenoside 분석조건을 확립하고, 아래의 분석조건을 통해 ginsenoside 함량을 측정함.

- 아래 표 24의 분석조건을 바탕으로 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N), 12시간 발효물(F12)과 24시간 발효물(F24)의 ginsenoside 함량을 비교한 결과, 발효에 따라 ginsenoside Rb1, Rd, F2의 함량이 소량 증가하는 것을 확인할 수 있음. Ginsenoside Rf, Rb1, Rd, F2, Rg3는 인삼의 ginsenoside 중에서 신경보호 기능성을 가진 성분으로 알려져 있음.

표 24. Ginsenoside의 HPLC 분석조건

항목	내용
Instrument	Waters 600
Column	Porochell 120 EC-C18 (4.6 mm × 250 mm, 4 μm)
Mobile phase	A: Deionized water (DW) B: Acetonitrile (ACN)
Gradient method	0~3 min (A 80%), 3~5 min (A 80~77%), 5~10 min (A 77~70%), 10~30 min (A 70~60%), 30~40 min (A 60~50%), 40~50 min (A 50~25%), 50~55 min (A 25~80%)
Run time	55 min
Post time	0 min
Flow rate	1 mL/min
Injection volume	10 μL
Temperature	25°C
Detector	Waters 2487 (203 nm)

표 25. HPLC 기기를 이용한 진세노사이드 함량 분석결과

진세노사이드 (mg/g)	2N	F12	F24
Re	21.40 ± 0.60[a]	19.69 ± 0.94[a]	19.90 ± 0.19[a]
Rf	1.02 ± 0.05[a]	1.24 ± 0.11[a]	1.27 ± 0.02[a]
Rb1	3.00 ± 0.13[a]	4.11 ± 0.38[b]	4.09 ± 0.07[b]
Rb2	1.64 ± 0.11[a]	2.20 ± 0.23[a]	2.00 ± 0.03[a]
Rb3	0.10 ± 0.01[a]	0.23 ± 0.01[a]	0.20 ± 0.01[a]

Rd	4.64 ± 0.19[a]	6.70 ± 0.27[b]	6.02 ± 0.10[b]
F2	2.04 ± 0.08[a]	2.83 ± 0.11[b]	2.51 ± 0.03[b]
Rg3	0.11 ± 0.01[a]	0.03 ± 0.00[a]	0.08 ± 0.03[a]
CK	-	-	-

나) 발효 제품의 조직 배양을 산화적으로 손상된 신경조직을 통한 회복력 검증

(1) 인삼 추출물 및 발효물의 항산화능과 페놀, 플라보노이드 함량

- 신경조직을 이용한 신경세포 보호 효과에 대한 실험에 앞서, *in vitro* 상에서 5 mg/ml 농도의 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N)과 이의 12시간(F12), 24시간(F24) 발효물 및 6년근 수삼 추출물(6N)의 항산화능을 측정함.

- DPPH radical scavenging assay, ABTS radical scavenging assay, reducing power assay 및 β-carotene assay를 사용하여 라디칼 소거능을 확인한 결과(표 26), 먼저 DPPH assay에서는 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N)이 27.84%에서 12시간 발효 후에는 29.63, 24시간 발효 후에는 38.04%로 라디칼 소거능이 증가함.

- ABTS assay 실험결과, 5 mg/mL 농도에서는 모두 임계치를 초과해 모두 비슷한 약 88%의 ABTS 라디칼 소거능을 보였지만, 2 mg/mL 농도에서는 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N)이 62.62%, 수경재배 인삼 발효물(F12, F24)는 86.09%, 86.12%로 발효후에 ABTS 라디칼 소거능이 증가한 것을 통해 발효가 ABTS 라디칼 소거능에 영향을 준 것을 확인함.

- 특히 FRAP assay 실험결과, 2년근 수경재배 인삼은 발효 후에 항산화능이 399.11 μM에서 690.05 μM(F12), 629.61 μM(F24)로 크게 증가하였음.

- 마찬가지로 β-carotene bleaching assay에서 앞선 항산화 실험과 같은 경향성을 나타내어 비발효 2년근 수경재배 인삼 추출물은 0.9%에서 12시간 발효 후에는 1.21%, 24시간 발효 후에는 1.42%로 항산화능이 증가하는 경향성을 나타냄.

- 결과적으로 6년근 인삼보다 2년근 수경재배 인삼 추출물이 모두 높은 항산화력을 나타내었고, 2년근 수경재배 인삼 추출물의 발효시간이 증가함에 따라 항산화능이 증가하는 것을 확인함. 이는 발효과정에서 페놀 함량의 증가(표 27)와 ginsenoside의 생물전환(표 25)에 기인하는 것으로 사료됨.

표 26. 인삼 추출물과 발효물의 항산화능

Assay	Antioxidant activity			
	6N	2N	F12	F24
DPPH radical scavenging activity (%)	21.04 ± 0.02[c]	27.84 ± 0.01[b]	29.63 ± 0.02[b]	38.04 ± 0.01[a]
ABTS radical scavenging activity (%)	87.08 ± 0.01[b]	88.22 ± 0.00[a]	88.61 ± 0.00[a]	88.82 ± 0.01[a]

FRAP activity (μM)	272.16 ± 6.79[d]	399.11 ± 4.95[c]	690.05 ± 23.19[a]	629.61 ± 16.78[b]
Reducing power activity (mM)	0.61 ± 0.02[d]	0.90 ± 0.01[c]	1.21 ± 0.07[b]	1.42 ± 0.04[a]
β-Carotene bleaching inhibitory activity (%)	46.33 ± 0.01[c]	47.23 ± 0.01[c]	62.38 ± 0.05[b]	67.93 ± 0.01[a]

표 27. 인삼 추출물과 발효물의 페놀과 플라보노이드 함량

Assay	Total phenolic compound and flavonoid content			
	6N	2N	F12	F24
Total phenol content (mg of GAE/100 g)	13.88 ± 0.36[c]	15.06 ± 1.08[b]	31.17 ± 1.08[a]	29.14 ± 0.36[a]
Total flavonoid content (mg of GE/100 g)	2.28 ± 0.73[d]	12.92 ± 1.01[b]	16.04 ± 1.01[a]	10.06 ± 0.73[c]

(2) 신경세포 사멸 보호 효과 측정

- SH-SY5Y 신경세포 보호 효과를 확인하기 위해 SH-SY5Y 세포주를 이용하여 인삼 추출물이 H_2O_2로 기인한 세포의 사멸에 주는 영향을 확인하였음. MTT(methylthizol-2-yl-2,5-diphenyl, tetrazoliumbromide) assay는 노란색의 MTT 시약이 미토콘드리아의 탈수소 효소 작용에 의해 보라색 MTT 결정(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)을 형성하는 원리를 이용한 것으로, 이를 통해 세포생존율을 확인함. LDH(lactate dehydrogenase) assays는 세포막 손상시 방출되는 lactate dehydrogenase를 측정하여 세포의 손상 정도를 확인하는 방법으로서, 이를 통해 세포독성을 확인함.

- 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N)과 이의 12시간(F12), 24시간(F24) 발효물 및 6년근 수삼 추출물(6N)의 세포독성을 측정하기 위해 신경세포(SH-SY5Y)에 인삼 추출물을 24시간 처리하여 세포생존율을 측정함. 인삼 추출물의 세포생존율 결과를 바탕으로 독성을 나타내지 않는 농도인 인삼 추출물 10 μg/mL, 100 μg/mL을 신경세포(SH-SY5Y)에 처리하였고 4시간 후에 250 μM H_2O_2를 20시간 처리하여 산화적 스트레스를 유도함. 음성 대조군에서는 산화적 스트레를 유도하지 않고, 양성 대조군에서는 H_2O_2로 산화적 스트레스를 유도함.

- 아래 그림 55 (가)에 나타난 것과 같이 인삼 추출액 처리에 따른 SH-SY5Y 세포주의 세포 생존율을 측정한 결과, 모든 10 μg/mL, 100 μg/mL 농도에서 90% 이상의 세포 생존율을 보임. 신경세포(SH-SY5Y)에 독성을 나타내지 않는 농도를 확인하여 다음 실험을 진행하였음.

- 신경세포(SH-SY5Y)에 산화적 스트레스를 유발하였을 때 H_2O_2에 의해 61.35%로 감소한 세포생존율은 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N)과 발효물(F12, F24) 처리에 따라 모두 농도의존적으로 증가함. 특히 발효시간에 따라 세포생존율이 향상되어 24시간 발효물(F24)를 처리한 실험군에서 가장 높은 세포생존율(84.67%)을 나타냄. 그림 55 (다)의 LDH assay 결과 또한 나의 MTT 결과와 같은 경향을 나타내어 24시간 발효물(F24)이 신경세포의 손상을 가장 높은 폭으로 감소시킨 결과를 통해 인삼 추출물과 발효물이 H_2O_2로 유도된 신경세포의 사멸을 억제하는 것을 확인함.

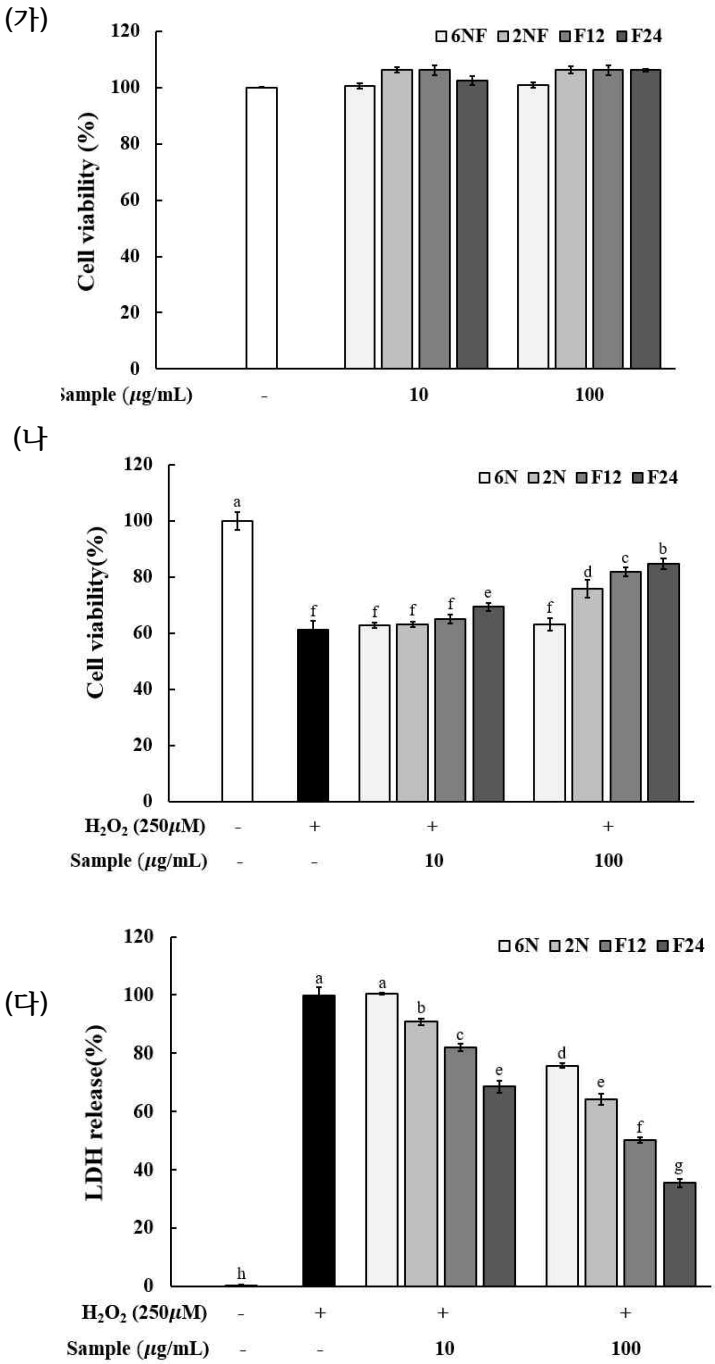


그림 55. 인삼 추출물을 처리한 신경세포의 세포생존율과 LDH 생성량
(가) SH-SY5Y의 세포생존율, (나) SH-SY5Y 신경세포 보호 효과,
(다) SH-SY5Y의 LDH 생성량

(3) 신경세포에 대한 유전자 발현 조사

- 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N)과 이의 12시간(F12), 24시간(F24) 발효물 및 6년근 수삼 추출물(6N)을 처리하였을 때 신경세포에서 생성되는 신경보호 관련 인자인 brain-drived neurotrophic factor(BDNF)와 세포사멸을 제어하는 인자인 Bcl-2 associated protein X(Bax), B-cell lymphoma 2(Bcl-2) 유전자 발현의 증감 여부를 real-time PCR로 측정함. 또한, 대표적인 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT)의 유전자 발현량을 확인함. SH-SY5Y 세포에 100 μg/mL의 인삼 추출물과 발효물을 4시간 동안 처리한 후, 250 μM H_2O_2을 3시간 동안 처리함. 이후 세포를 수거하여 RNA를 추출한 후 cDNA로 전환하였고, real-time PCR를 이용하여 유전자 발현량을 확인하였으며, 결과는 음성대조군에 대한 비로 나타냄.

- 발효물(F12, F24)을 신경세포에 처리했을 때, 신경세포에 대해 세포독성을 유발하지 않으면서, BDNF 발현량을 증가시키고, 산화적 스트레스에 의해 2.82배 증가된 Bax/Bcl-2 발현양 비율을 감소시킨 결과를 확인함. BDNF 발현량은 수경재배 인삼 비발효물(2N), 12시간 발효물(F12), 24시간 발효물(F24)에서 각각 산화적 스트레스를 유도하지 않은 음성 대조군에 비해 1.68배, 1.75배, 2.02배로 증가함.

- H_2O_2로 인해 2.82배 발현된 Bax/Bcl-2는 수경재배 인삼 비발효물(2N), 12시간 발효물(F12), 24시간 발효물(F24)에 의해 각각 1.54배, 1.11배, 0.89배로 감소시켜 발효물(F12, F24) 실험군은 음성 대조군의 Bax/Bcl-2와 비슷한 정도로 Bax/Bcl-2를 감소시킴.

- 마찬가지로 수경재배 인삼 발효물(F12, F24)을 처리한 신경세포에서 H_2O_2로 인해 감소된 SOD(0.76배)와 CAT(0.74배)의 유전자 발현량이 회복되는 결과를 확인하였음. 12시간 발효물을 처리한 실험군에서는 SOD가 1.05배, CAT가 1.06배로 증가하였고, 24시간 발효물을 처리한 실험군에서는 SOD가 1.17배, CAT가 1.10배의 유전자 발현량이 나타나 모두 음성대조군과 비슷한 수준을 나타내는 것을 확인함.

- 그러나, Bax/Bcl-2, SOD, CAT의 유전자 발현량 결과에서 발효시간에 따른 유의차는 나타나지 않음.

표 27. 본 연구에 사용한 관련 유전자 염기 서열

Target gene		Primer Sequence (5'- 3')
Brain derived neurotrophic factor (BDNF)	Forward	CAAACATCCGAGGACAAGGTGG
	Reverse	TCTACGACGTTTGTACAGGTACTC
Bcl-2 associated protein X (Bax)	Forward	GTGGTTGCCCTCTTCTACTTTGC
	Reverse	GTAGAAACACCGACCTCAGGAG
B-cell lymphoma 2 (Bcl-2)	Forward	CGGCTGAAGTCTCCATTAGC
	Reverse	TGTGTGGTCTTGAAGGGACC
Superoxide dismutase	Forward	AGGCCGTGTGCGTGCTGAAG

(SOD)	Reverse	CACCTTTGCCCAAGTCATCTGC
Catalase CAT)	Forward	CCTTTCTGTTGAAGATGCGGCG
	Reverse	GGCGGTGAGTGTCAGGATAG
Glyceraldehyde-3-Phosphate	Forward	GAGTCAACGGATTTGGTCGT
Dehydrogenase (GAPDH)	Reverse	GACTCTTGCCCTTCGAACAG

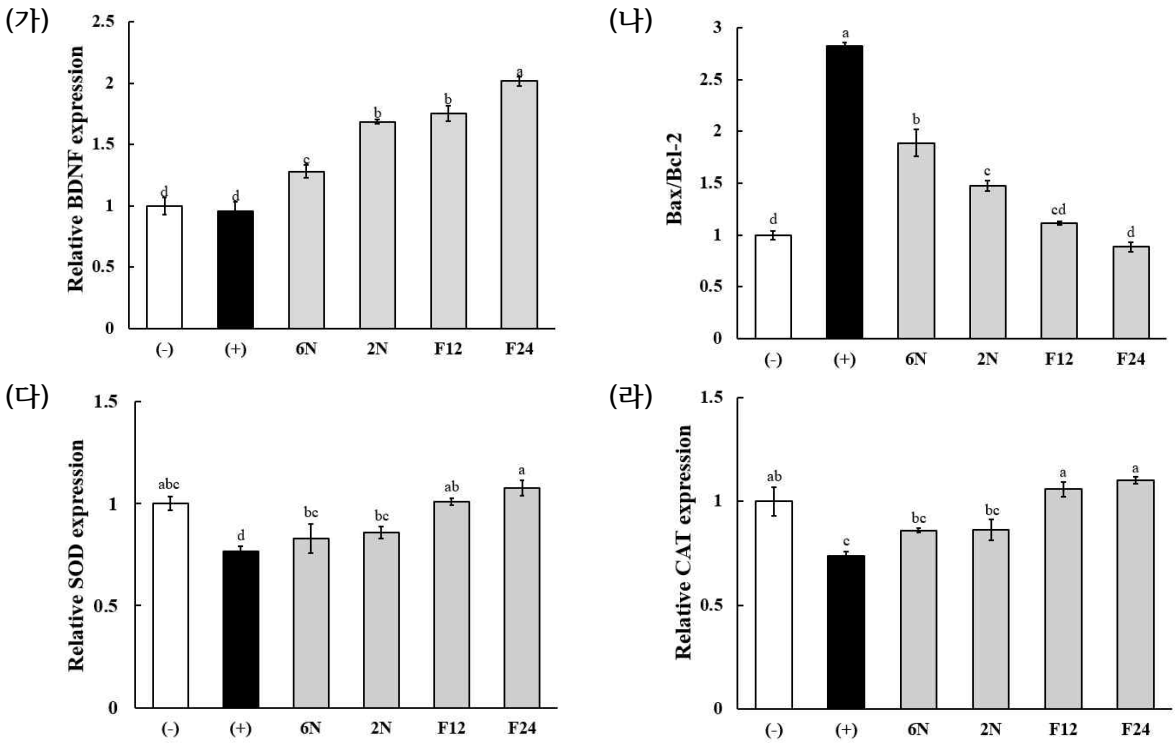


그림 56. 인삼 추출물과 발효물을 처리한 신경세포의 유전자 발현량
(가) BDNF, (나) Bax/Bcl-2, (다) SOD, (라) CAT

(4) 신경세포에서는 brain-drived neurotrophic factor (BDNF) 함량 측정

- 앞서 확인한 BDNF의 유전자 발현량을 바탕으로, 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N)과 이의 12시간(F12), 24시간(F24) 발효물 및 6년근 수삼 추출물(6N)을 처리하였을 때 생성되는 BDNF 함량을 측정함. SH-SY5Y 세포에 100 μg/mL의 인삼 추출물과 발효물을 4시간 동안 처리한 후, 250 μM H_2O_2을 20시간 동안 처리함. 이의 상등액을 수거하여 BDNF 함량을 BDNF ELISA kit를 이용하여 측정함.

- 앞선 그림 56 (가)의 BDNF 유전자 발현 결과에서 나타난 것과 같이 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N)과 이의 발효물(F12, F24) 및 6년근 수삼 추출물(6N)을 처리한 신경세포에서 대조군과 비발효 인삼 추출물(2N)에 비해 높은 BDNF 생성이 확인되었으며, 특히 12시간, 24시간 발효물(F12, F24)에서 BDNF의 생성은 각각 141.60 pg/mL, 198.14 pg/mL로, 앞선 그림 56의 (가)와 같은 경향성이 나타남.

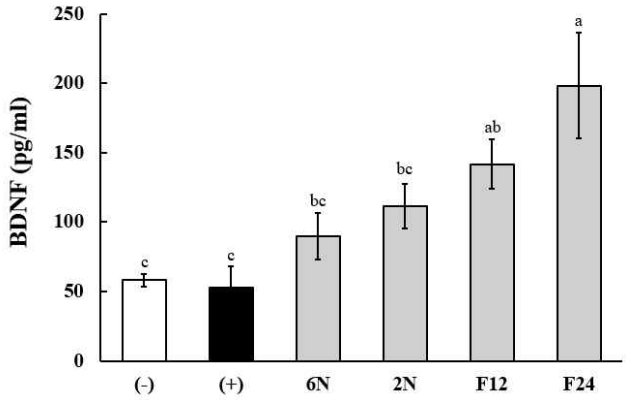


그림 57. 인삼 추출물과 발효물을 처리한 신경세포의 BDNF 생성량

(5) 신경세포에 대한 caspase-3 단백질 함량 측정

- Caspase-3는 세포사멸 마지막 단계에서 발현되는 단백질로 세포사멸에 있어 실질적인 수행자 역할을 한다고 알려져 있음. 따라서 인삼 발효물의 H_2O_2에 대한 신경세포 보호 효과를 측정하기 위해서 caspase-3의 증감을 확인하는 것이 필요함.

- 2년근 수경재배 인삼 추출물(2N)과 이의 12시간(F12), 24시간(F24) 발효물 및 6년근 수삼 추출물(6N)을 처리하였을 때 세포사멸 관련 인자인 caspase-3 단백질 함량을 측정함. SH-SY5Y 세포에 인삼 추출물과 발효물을 4시간 동안 처리한 후, 250 μM H_2O_2을 6시간 동안 처리함. 이후 신경세포의 lysate를 BSA assay를 통해 lysate의 단백질을 정량하였고, colormetric caspase-3 kit를 이용하여 caspase-3 함량을 확인함.

- 수경재배 인삼 12시간 발효물(F12)과 24시간 발효물(F24)이 H_2O_2로 인해 230.09%로 증가한 caspase-3 생성을 크게 억제하여 각각 148.90% 145.77%로 감소하였으나, 발효시간에 따른 차이는 보이지 않음. 이를 바탕으로 발효 수경재배 인삼(F12, F24)은 H_2O_2로 유도된 신경세포(SH-SH5Y)의 사멸을 억제시킴으로써 신경세포 보호 효과를 나타내는 것으로 사료됨.

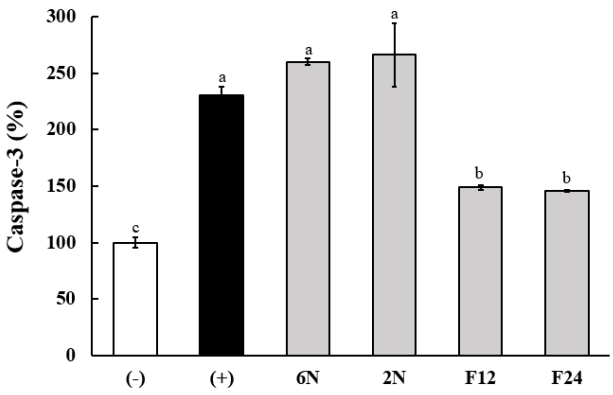


그림 58. 인삼 추출물과 발효물을 처리한 신경세포의 caspase-3 함량

다) 제품의 안전성 검사

(1) 유해 미생물에 대한 안전성 검사

- 다음 표 28의 식품공전상의 미생물적 품질의 근거자료를 바탕으로 품질 한계값을 설정하여 아래와 같은 유해 미생물에 대한 안전성을 측정함. *La. lactis* KC24 생균과 수경재배 인삼 발효물의 배합비에 따른 시제품1과 시제품2를 25℃에서 20주 동안 저장하며 유해 미생물에 대한 안전성 검사를 진행함.

- 유해 미생물에 대한 안전성 검사결과 20주 동안 4주 간격으로 샘플링하여 대장균군 (Coliform group), 황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus),* 살모넬라 (*Salmenella* spp.), 바실러스 세레우스 (*Bacillus cereus*), 리스테리아 모노사이토제네스 (*Listeria monocytogenes*) 5종의 유해 미생물에 대해 시제품 1과 시제품 2 모두 안전성 실험결과 모두 음성의 결과를 확인함.

- 시제품 이용되는 수경재배 인삼 발효물의 유해 미생물에 대한 안전성 검사를 실시한 결과, 시제품과 마찬가지로 표 28의 유해미생물에 대해 모두 음성의 결과를 나타내어 시제품의 원료 및 시제품 자체의 병원성 미생물에 대한 안전성을 확보함.

표 28. 유해미생물의 식품공전상 품질 기준

유해 미생물 종류	식품공전상 품질 한계값
대장균군 (Coliform group)	식품공전의 대장균에 대한 기준은 식품은 음성이라는 규정에 따라 실험 측정함.
황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*)	식품품공전의 황색포도상 구균에 대한 1 g 당 100 이하라는 기준에 따라 Mannitol salt agar with egg yolk를 이용하여 균수 측정함.
살모넬라 (*Salmenella* spp.)	식품공전의 음성이어야 하는 기준에 따라 양성, 음성을 판정함.
바실러스 세레우스 (*Bacillus cereus*)	식품공전의 1 g 당 100 이하라는 기준에 따라 Mannitol EggYork Polymyxin agar를 이용하여 세균 측정함.
리스테리아 모노사이토제네스 (*Listeria monocytogenes*)	식품공전의 리스테리아 모노사이토제네스에 대한 기준은 식품은 음성이라는 규정에 따라 실험 측정함.

라) 제품의 shelf-life 측정

(1) 제품 내 지표 물질(indicator)의 선정

- 위 제품은 *L. lactis* KC24 생균과 수경재배 인삼의 혼합한 생균제제로 제품 내 지표물질을 *L. lactis* KC24로 선정함. 프로바이오틱스의 기능 성분은 '건강기능식품의 기준 및 규격'에 따라 1억 CFU/g (8 log CFU/g) 이상을 함유해야 함(건강기능식품의 기준 및 규격, 식약처 고시 제2019-110호).

(2) 시료의 저장 조건

- 포장재질: 플라스틱 포장재를 사용
- 시료의 형태 및 용량: 분말 형태의 생균과 발효물을 캡슐화한 시제품으로, 배합비가 다른 시제품1과 시제품2(㈜락토메이슨 제공)
- 시료의 저장온도: 25℃, 37℃, 45℃

(3) 시료에 대한 분석

- 식품 및 첨가물 공전의 시험용액의 제조방법과 유산균수 측정 방법에 따라 제품을 희석함. 검체를 일정량을 취한 후 9배 양의 희석액을 가해 균질기 등을 이용하여 균질화한 것을 시험용액으로 함. 유산균수의 측정은 MRS 배지를 사용하여 유산균의 집락을 계수함. 희석된 시험용액을 MRS 배지에 접종하여 도말 후, 37℃에서 48시간 배양하여 생성된 집락수를 측정함.

(5) Shelf-life의 설정

- 식품의 shelf-life 측정은 실제 저장 조건에서 저장실험을 수행하여 설정하는 것이 가장 바람직하나, 이 조건으로 실험을 진행할 경우에는 경제적 및 시간적인 요소로 인한 어려움이 있음. 따라서 고온에서 단기간으로 진행하는 가속시험이 널리 이용됨. 가속시험은 제품의 품질과 밀접한 상관관계가 있는 지표물질을 품질지표로 택하여 일정한 기간동안 저장하면서 측정한 품질지표의 변화량에 대한 속도반응식을 구하여 실제 저장조건에서의 저장 기간을 예측하는 방법임.

- 일반적으로 모든 화학반응의 속도는 온도가 증가함에 따라 증가하고 이들의 관계는 Arrhenius식으로 설명되기 때문에, 앞서 선정한 품질지표인 유산균 수를 Arrhenius식을 이용하여 저장 기간을 예측함. 유산균 수의 특성에 따라 품질 저하 속도가 지수적으로 감소하는 반응을 나타내므로 1차 반응식을 따름.

- 20주 동안 시제품1과 시제품 2를 샘플링하여 시제품의 shelf-life를 분석한 결과 아래 그림 60의 저장온도별 균수를 도출하였고, 회귀방정식에 의하여 품질수명을 예측한 결과 저장일수와 저장온도에 따른 시제품의 품질예측이 가능한 것으로 보고되어 아레니우스 식을 바탕으로 Arrhenius plot을 작성함(그림 61). 그림 61의 식에 따라 shelf-life를 계산한 결과 시제품1과 시제품2의 저장 기간은 25℃에서 각각 21개월, 23개월로 예측됨.

그림 59. 식품의약품안전처에서 제공하는 유통기간 설정실험 가이드라인

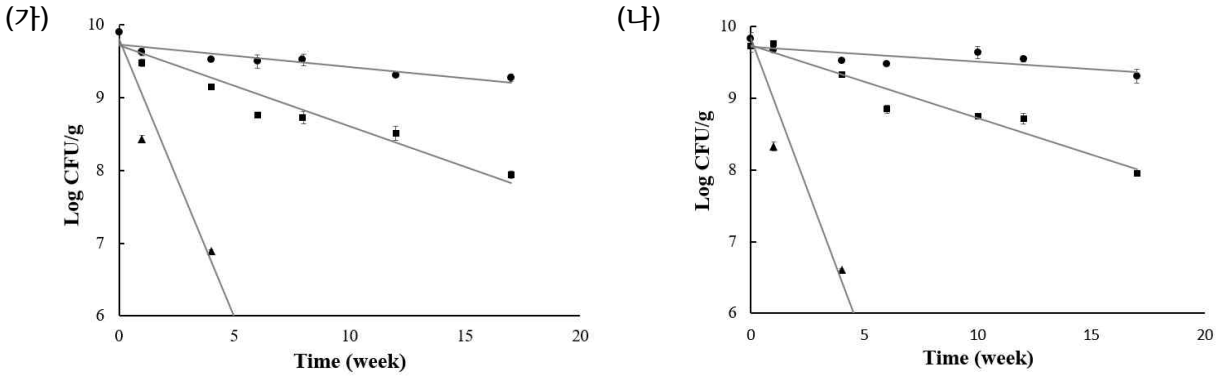


그림 60. 각 저장온도 별 저장기간동안의 *L. lactis* KC24의 균수
(가) 시제품1, (나) 시제품2, ● 25℃ 저장조건, ■ 37℃ 저장조건, ▲ 45℃ 저장조건

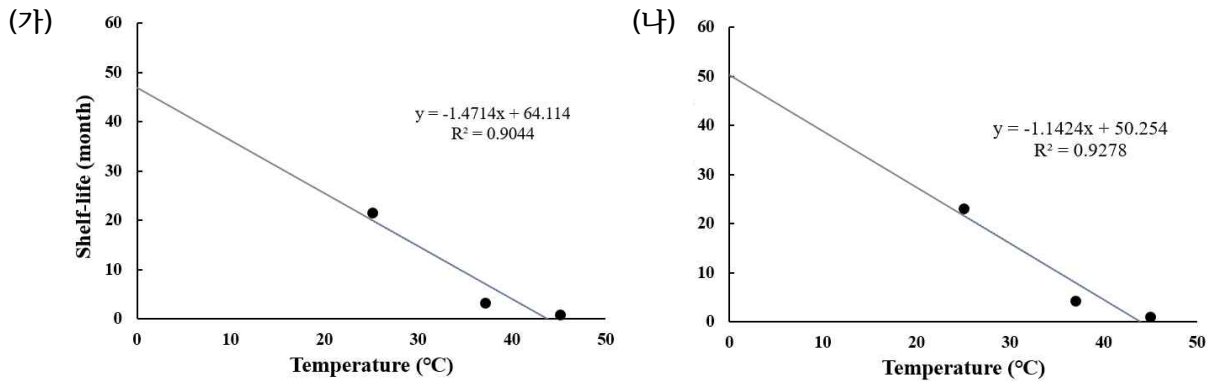


그림 61. *L. lactis* KC24의 shelf-life 설정을 위한 Ahrrenius plot
(가) 시제품1, (나) 시제품2

마) 제1협동기관에 균주 및 소재 제공

- 과제수행 1차년도에 유산균 소재의 plate 및 균체의 동결건조물 소재를 이미 제공하여 제2협동기관에 균주 및 소재 제공을 완료함.

2) 개발제품의 사업화

<제1협동기관: ㈜락토메이슨>

▷ 시제품 제작 및 제공
▷ 판매전략 모색
▷ 원료수급 모색
▷ 제품의 위생 검사 및 성분 검사 공기관에 의뢰(nutrition facts)
▷ 포장 형태
▷ 유통라인 개척
▷ 경제성 분석
▷ OEM 생산라인 구축

가) 시제품 원료의 생산 조건 확립

(1) 수경재배 인삼 + 유산균 배양 조건

- 1차년도 결과 *L. lactis* KC24 균주는 다른 배지에 비해 S-D 과당 배지에서 높은 성장률을 나타내어 최적 배지인 S-D 과당 배지를 이용하여 균주를 배양하였음.

표 29. *L. lactis* KC24 균주 배양 배지 조성

원료명	%
과당	2.00
질소원	4.00
무기염류	0.27
기타	0.10

- *L. lactis* KC24 균주는 최적 배지인 S-D 과당 배지에서 6시간까지 colony 수가 증가하다가 그 이후 감소되어 사멸기에 도달하는 성장곡선을 나타내었음(그림 62). 이를 통해, *L. lactis* KC24 균주는 최적 배지인 S-D 과당 배지에서 6시간 배양이 최적의 생산 조건임을 확인하였음.

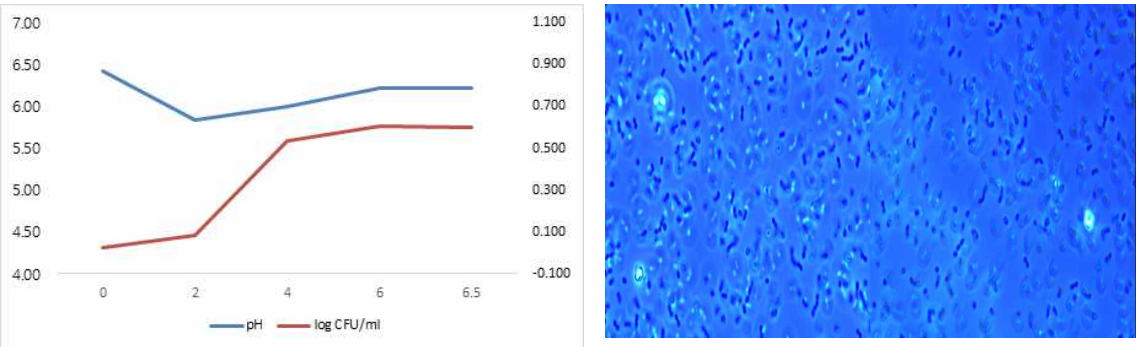


그림 62. *L. lactis* KC24 균주 배양 결과

- 수경재배 인삼 발효물 제작을 위해 수경재배 인삼을 건조하여 분말화하였으며, 균주를 이용한 발효를 위해 인삼의 주요 성분인 ginsenoside 추출에 주로 사용되는 주정을 이용하여 추출을 완료하였음. 수경재배 인삼 추출물은 *L. lactis* KC24 균주를 이용해 발효하였으며, 추출과 발효를 포함한 생산 공정은 그림 63과 같음.

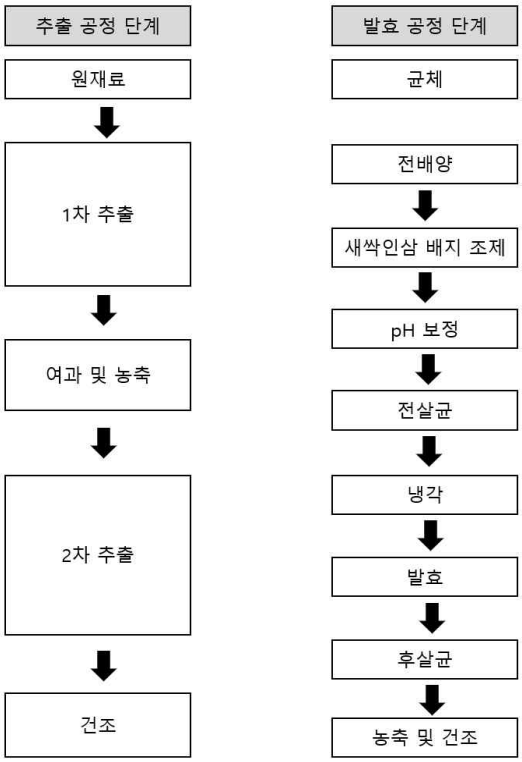


그림 63. 수경재배 인삼 발효물 생산 공정

- 수경재배 인삼 발효물의 최적 발효시간을 확인하기 위해 수경재배 인삼 추출물을 *L. lactis* KC24를 이용하여 12시간, 24시간 배양하였음. 수경재배 인삼 추출물의 12시간 발효 결과, 10시간까지 pH가 급감하였다가 발효 10시간 이후 일정한 pH를 유지하였으며, colony 수가 발효 10시간까지 증가하다가 감소하였음. 또한, 24시간 발효 결과, 발효 12시간까지 pH가 급감하였다가 일정한 값을 유지하였으며, Colony 수가 증가하다가 그 이후 감소되었음. 이를 통해 약 12시간 후 사멸기에 도달한 것으로 보아 발효 12시간이 최적 발효조건임을 확인하였음.

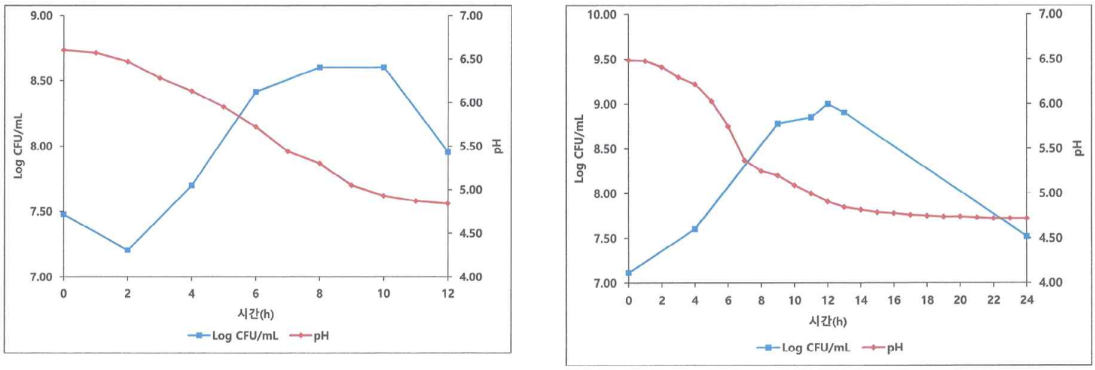


그림 64. 발효시간에 따른 수경재배 인삼 발효물의 pH 및 colony 수

- 인삼의 주요 성분인 ginsenoside는 배당체 화합물로 Rg1, Re, Rd, Rb1 등 여러 종류가 있으며, 종류에 따라 다른 기능을 나타내는 것으로 알려져 있음. 인삼에는 Rb2, Rc 등 비교적 분자량이 큰 ginsenoside가 다량 함유되어 있으며 F2, RG3 등 분자량이 작은 ginsenoside가 미량 함유되어 있음. 인삼 섭취 시 저분자 ginsenoside는 고분자 ginsenoside보다 생체 내 이용률이 높다고 알려져 있음.

- 발효에 따른 수경재배 인삼의 ginsenoside 변화를 확인하기 위해 HPLC를 이용하여 ginsenoside 함량의 변화를 관찰하였음. 발효에 따른 수경재배 인삼 발효물의 ginsenoside 함량은 발효 12시간 이후 고분자 ginsenoside Re가 유의적으로 감소한 것을 확인하였음. 이는 발효를 통해 배당체의 glycoside 결합이 끊어지면서 ginsenoside가 전환되는데 고분자 ginsenoside인 Re와 Rg1이 발효에 의해 저분자 ginsenoside인 F1, Rb1, Rd로 전환된 것으로 사료됨. 종류에 따라 기능이 조금 다른 것으로 보고되고 있는 ginsenoside 중 인지능력 개선에 효과가 있다고 알려진 Rb1과 Rd의 함량이 발효로 증가되는 것을 확인할 수 있었음.

- 시료 variation 최소화를 위한 전략을 개발하고자, 수경재배 인삼의 원물과 발효물의 지표물질을 Ginsenoside Rd로 선정하였음. Ginsenoside Rd는 인삼의 뿌리보다 잎과 줄기에서 많이 생합성되는 PPD 계열의 진세노사이드임. 또한 Ginsenosede Rd는 발효에 의해 함량이 증가하므로 수경재배 인삼 발효물의 품질관리에도 유용함. 본 연구에서 사용된 수경재배 인삼 원물에는 Ginsenoside Rd가 0.21 mg/g 함유되어 있었으며, 이의 80~120% 범위를 적용하여 차후 사용되는 수경재배 인삼의 원물은 Ginsenoside Rd가 0.168 ~ 0.252 mg/g 수준으로 함유된 원물을 선별하여 사용할 예정임.

- 본 연구의 2차년도에는 시제품을 활용하여 동물모델에서 수경재배 인삼 발효물의 인지능력 개선 활성을 검증하였으며, 가공 처리에 의해서도 효과가 감소하지 않았음이 입증되었음. 가공처리에 의해 성능이 저하되지 않도록 발효물의 성능을 예측할 수 있는 지표물질을 선정하고 이를 관리하고자 하며, 발효물의 지표물질은 Ginsenosdie Rd로 하고, 그 함량의 기준을 11 mg/g으로 하고, 품질관리 범위를 ±20%로 하고자 함. 지표물질 설정, 기준 및 시험법 등은 건강기능식품 기능성 원료 개발을 위한 후속연구에서 추가 진행하고자 함.

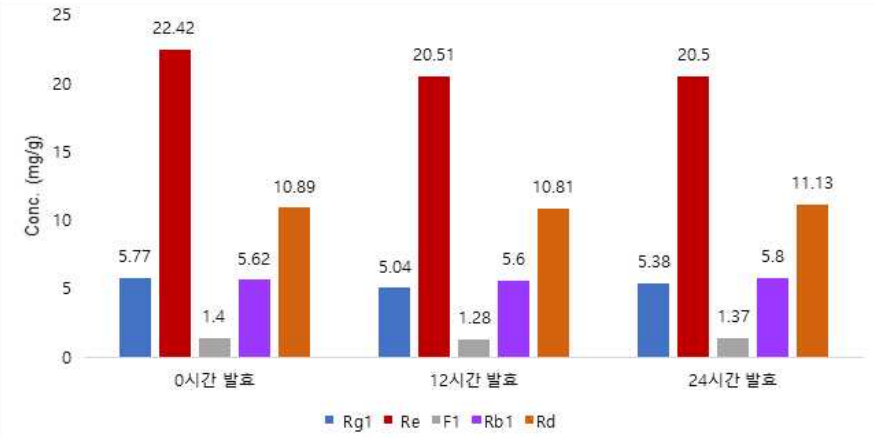


그림 65. 발효시간에 따른 수경재배 인삼의 ginsenoside 함량

(2) 생균수 분석

- 생균수 분석법은 식품 및 건강기능식품공전에 제시한 시험법인 희석배수법으로 검증하였음. 배양액은 10^{7}~10^{10}배수까지 펩톤수를 이용하여 희석한 후 희석액 1 mL씩을 멸균 페트리접시 2매 이상씩에 무균적으로 취하여 약 43~45℃로 유지한 표준한천배지 약 15 mL를 무균적으로 분주하고 시료와 배지를 잘 혼합하여 응고시킴. 35~37℃에서 24~48시간 배양 후 집락수를 계수함.

- *L. lactis* KC24 균주, 수경재배 인삼 발효물 및 시제품(케이씨발효바이오틱스)의 총균수와 생균수 결과는 아래 표 30과 같음. 시제품(케이씨발효바이오틱스)은 *L. lactis* 균주가 100,000,000 CFU/g 이상 함유되어 프로바이오틱스로서 기능성 제품 역할을 할 수 있을 것으로 기대됨.

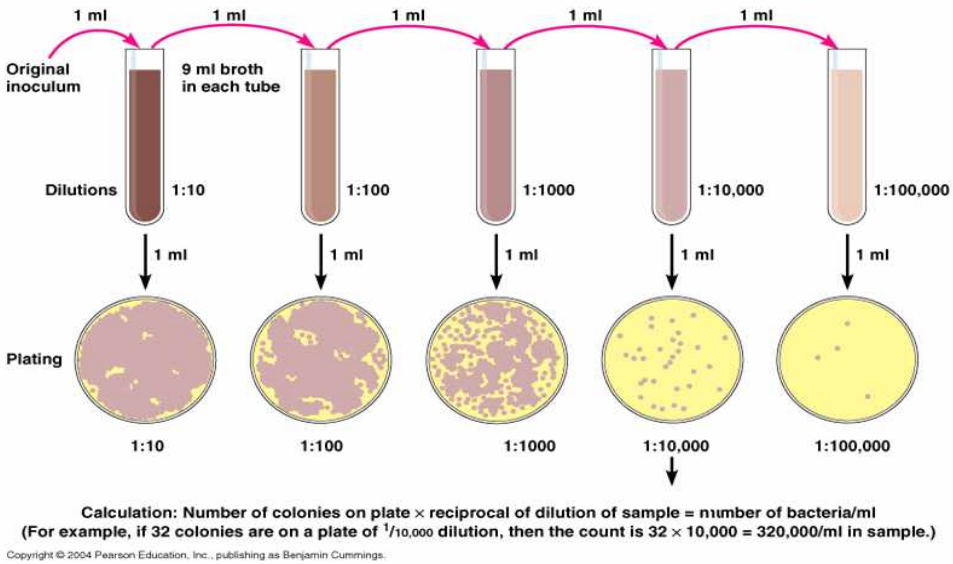


그림 66. Colony counting 및 시료의 희석 방법 예시

표 30. 시제품 원료와 시제품의 총균수 및 생균수 분석

균수	*L. lactis* KC24	수경재배 인삼 발효물	시제품 (케이씨발효바이오틱스)
총균수 (cells/g)	1.3×10^{12}	6.7×10^{8}	1.3×10^{10}
생균수 (CFU/g)	1.3×10^{12}	6.5×10^{8}	1.3×10^{9}

- 동일한 조건하에 *L. lactis* KC24를 이용한 수경재배 인삼 발효물을 함유한 시제품과 발효하지 않은 인삼 추출물 간 상온 생균 생존율을 비교하였음. 또한, *L. lactis* KC24로 사료되는 생균의 생존율은 발효물 첨가 시제품이 추출물 첨가 시제품에 비해 월등히 높았음을 확인하였음. 따라서 발효를 통해 *L. lactis* KC24에 대한 독성 또는 항균력이 감소한 것으로 사료됨.

표 31. 시간 경과에 따른 발효물 및 추출물 첨가 시제품의 생균 생존율(25℃ 보관)

생존율(%)	0일	3일 경과	7일 경과	14일 경과	28일 경과	56일 경과	84일 경과
발효물 첨가 시제품	100.00	100.52	114.21	112.69	75.13	73.09	72.08
추출물 첨가 시제품	100.00	79.30	66.52	70.04	58.59	55.07	38.33

나) 시제품 지표성분 분석 및 품질 점검

(1) 오염원 검사(대장균군)

- 식품공전 상의 오염원(대장균군) 검사 근거자료를 바탕으로 그림 67과 같은 방법으로 검사를 진행하였음.

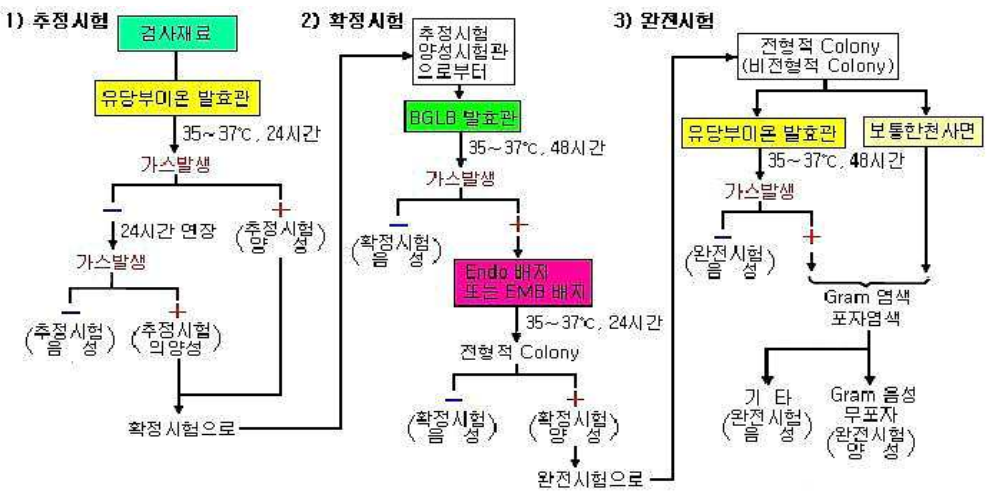


그림 67. 대장균군 시험법 과정

- 대장균군 시험 결과 시제품 원료인 수경재배 인삼 발효 분말과 시제품은 추정시험 검사결과 음성으로 대장균군이 검출되지 않음을 확인함.

(2) 품질 검사

○ 유도 결합 플라즈마 분광 분석법에 의한 중금속 분석

- 중금속 분석법 중 하나인 유도결합 플라즈마는 원자 방출 분광법을 이용하여 시료 중에 함유된 무기원소를 분석하는 방법임. 원자나 이온에 열을 가하면 들뜬 상태가 되는데 원자나 이온이 불안정해 다시 바닥 상태로 돌아가려 하고, 이때 원자나 이온이 되돌아갈 때 각기 다르게 방출되는 에너지를 검출하는 이용하여 중금속을 분석함.

그림 68. 유도 결합 플라즈마 분광 분석

중금속 분석 항목 및 기준

항목	기준
납	1 ppm 이하
카드뮴	0.3 ppm 이하

- 유도 결합 플라즈마 분광을 이용한 시제품의 중금속(카드뮴, 납) 함량은 표 32과 같이 기능성 원료의 중금속 기준인 1.0㎎/㎏ 이하, 카드뮴 0.3㎎/㎏ 이하를 충족시킨 것으로 나타났음.

표 32. 시제품 중금속 분석결과

중금속	시제품 (케이씨발효바이오틱스)	기준치
납 (ppm)	0.006±0.001	1.0
카드뮴 (ppm)	0.000±0.001	0.3

○ HPLC를 이용한 ginsenoside 분석

- Ginsenoside는 그 종류에 따라 기능이 조금 다른 것으로 보고되고 있음. 본 연구에서는 인지능력 개선과 관련 있는 지표 탐색 및 시제품에 대한 지표성분 분석을 위해 HPLC를 이용해 ginsenoside를 분석하고자 하였음. 시제품 및 수경재배 인삼 발효물의 분석을 위해 확립된 HPLC를 이용한 ginsenoside 추출법 및 분석법은 다음과 같음.

① 시료 약 20 mg을 정밀하게 칭량하여 1.5 mL centrifuge tube에 취함.
② 1.5 mL centrifuge tube에 1mL MeOH를 채운 후 약 30분 동안 sonication을 진행함.
③ 원심분리기를 이용해 4℃, 13000 rpm의 조건에서 5분 동안 원심분리함.
④ 상등액을 취하여 0.22 ㎛ PVDF membrane syringe filter로 여과함,
⑤ 상등액을 그림 67과 같은 조건으로 HPLC를 이용해 정량분석을 진행함.

Inst.	Agilent 1260 Infinity II HPLC system.					
Column	InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 4.6 x 150 mm, 4 um					
Mobile Phse	A	H_2O				
	B	MeCN				
Gradient method	Min.	A	B	C	D	비고
	0	81	19	0	0	
	12	81	19	0	0	
	60	64	36	0	0	
	70	10	90	0	0	
	75	10	90	0	0	
	80	81	19	0	0	
	85	81	19	0	0	
Run time	85 min					
Post time	5 min					
Flow rate	1.0 mL·min^{-1}					
Injection vol.	10㎕					
Column Temp.	30℃					
Wavelength	203nm	Detector	Agilent G7117C Diode Array Detector			

그림 69. HPLC를 이용한 ginsenoside 분석조건

- HPLC를 이용해 시제품의 ginsenoside를 분석한 결과, 진세노사이드 Rg1, Re, Rb1, Rc, Rb2, Rd가 검출되었으며, 함량은 그림 68과 같이 나타났음. 수경재배 인삼 발효물이 함유된 시제품은 인지능력 개선에 효능이 있다고 알려진 ginsenoside Rg1, Rd가 함유된 것을 확인하였음.

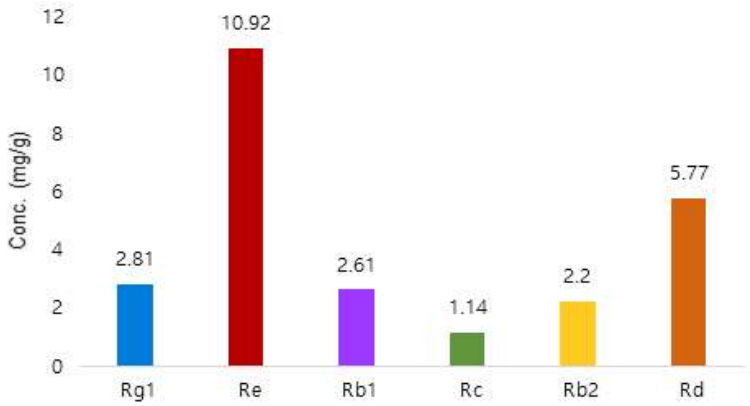


그림 70. HPLC를 이용한 시제품 ginsenoside 함량 분석결과

○ **지방산 분석**

- 균체 지방산은 세포막을 비롯한 세포내 막성 소기관의 전구체로 균체 내에서 다양한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있음. 이에 따라 시제품 주요 원료인 수경재배 인삼 발효에 사용되는 *L. lactis* KC24 균주의 지방산 조성 분석을 통해 지표성분, 균체 특성 확인을 위해 기 구축 중인 GC/MS를 이용하여 그림 71와 같은 조건으로 지방산

분석을 실시하였음.

- *L. lactis* KC24 균주의 지방산 조성 분석결과 다음과 같은 총 7종의 지방산이 정성되었으며 palmitic acid, lactobacillic acid, oleic acid, *cis*-vaccenic acid, *cis*-10-nonadeconic aicd, stearic acid, eicosenoic aicd 순으로 함량이 높았음을 확인하였음(그림 72).

Column	Agilent J&W DB-FastFAME (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm)
Flow Rate	1 mL/min He with constant flow
Injection Vol.	1 µL with spilt (20:1)
Injection Temp.	250 °C in constant flow mode
Oven Temp.	60 °C (1 minutes), 60 °C/min to 165 °C (1 minutes), 5 °C/min to 230 °C (3 minutes)
Total run time	19.75 min + 3 min (post run)

그림 71. GC-MS를 이용한 지방산 분석조건

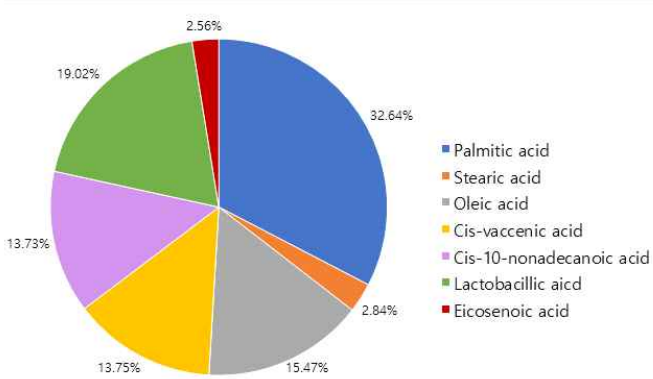


그림 72. *L. lactis* KC24 균주의 지방산 조성 분석결과

다) 시제품 제조 (부형제, 유통기간 등)

- 기능성 원료만 첨가 시 습도, 고결 등으로 인한 제품 안정성 및 품질 저하 문제점이 발생할 우려를 방지하고자 표 33과 같은 부형제를 배합하여 시제품을 제작함. 원료인 *L. lactis* KC24 균주와 수경재배 인삼 발효물, 부형제를 생균수, ginsenoside 함량 및 안정성을 기준으로 배합비를 정하였으며, (재)춘천바이오산업진흥원의 캅셀 충전기를 이용하여 시제품을 제작하였음. 시제품의 캡슐기제는 HPMC를 주원료로 한 100% 식물성 캡슐로 습도 및 온도에 영향이 없으며, 박테리아 증식이 불가능하여 원료의 품질 저하에 영향을 미치지 않는 소재로 선정하였음.

- 수분 저하로 인한 품질 저하 및 유산균의 생존력 향상을 위해 내부 방습제가 삽입된 유산균 전용 용기를 사용하고자 함. 그림 73에 나타난 시제품은 유통기한 설정은 최종 배합비 선정 후, 확정 예정임.

표 33. 부형제 종류 및 사용 용도

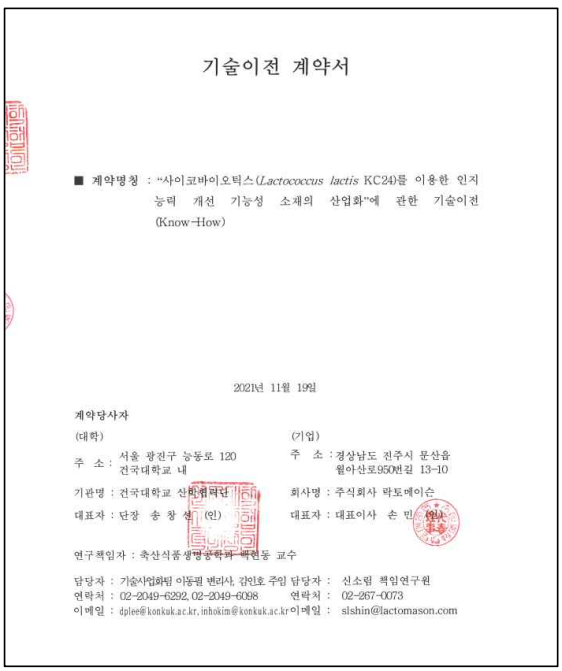
내용물	용도
말토덱스트린	증량제, 충전제 등
결정셀룰로스	고결방지제, 안정제 등
전분가공품	희석제, 흡습억제 등

그림 73. 시제품(케이씨발효바이오틱스) 및 용기 함유 시제품

라) 개발제품의 사업화 (원료수급방안, 판매 전략 등)

(1) 사업화 추진전략

○ **원료 수급 방안 및 경제성 분석**



기술이전 계약서

■ 계약명칭 : "사이코바이오틱스(*Lactococcus lactis* KC24)를 이용한 인지 능력 개선 기능성 소재의 산업화"에 관한 기술이전 (Know-How)

2021년 11월 19일

계약당사자

(대학) 주 소 : 서울 광진구 능동로 120 건국대학교 내
기관명 : 건국대학교 산학협력단
대표자 : 단장 송 창 섭 (인)

(기업) 주 소 : 경상남도 진주시 문산읍 월아산로950번길 13-10
회사명 : 주식회사 락토메이슨
대표자 : 대표이사 손 민 (인)

연구책임자 : 축산식품생명공학과 백현동 교수

담당자 : 기술사업화팀 이동필 변리사, 강인호 주임 담당자 : 신소림 책임연구원
연락처 : 02-2049-6292, 02-2049-6098 연락처 : 02-267-0073
이메일 : dplee@konkuk.ac.kr, inhokim@konkuk.ac.kr 이메일 : slshin@lactomason.com

그림 74. *L. lactis* KC24 균주 기술이전

- 사업화를 위한 정보 활용 및 노하우 공유를 위해 핵심 원료인 *L. lactis* KC24 균주(특허출원 중)를 건국대 산학협력단으로부터 기술이전 받음. 원료인 *L. lactis* KC24 균주는 ㈜락토메이슨이 확보하고 있는 기존 균주 생산 설비와 대량생산 조건를 이용하여 수급할 계획임.

- 기술이전 받은 균주를 산업화하기 위하여 균주 안전성 관련 자료를 확보하고, 품목 제조 신고를 진행함.

- 또한, 기술이전 받은 균주의 사업성을 확보하고 소비자가 원하는 부가가치를 부여하기 위하여 인지능 개선 기능에 대한 건강기능식품 기능성 원료로 개별인정 받아 제품의 과학적 효능을 확고히 입증할 필요가 있음을 확인하였음. 따라서 본 연구개발을 통해 인지능 개선 효과가 입증된 프로바이오틱스 *L. lactis* KC24 균주의 인체적용시험 및 원료 표준화 과정을 수행하고,

이를 활용하여 건강기능식품 기능성 원료로 개별인정 받는 방안을 검토하고자 함.

- 또 다른 원료인 *L. lactis* KC24 수경재배 새싹인삼 발효물은 생산 공장이 확보되었으나, 수경재배 새싹인삼 가격이 고가(200만 원/kg)이어서, 발효물(100만 원/kg)을 개별인정형 원료로 등재 방안을 검토해야 함. ㈜락토메이슨에서는 고가 발효물의 활용방안을 연구하여 생균의 생존율을 향상시키는 특성을 확인, 이를 특허 출원하였음.

관인생략

출원번호통지서

출 원 일 자 2021.12.13
특 기 사 항 심사청구(무) 공개신청(무)
출 원 번 호 10-2021-0177808 (접수번호 1-1-2021-1442302-70)
(DAS접근코드3D0D)
출원인 명칭 주식회사 락토메이슨(1-2008-027350-9)
발명자 성명 신소림 이상혁 김태락 손민
발명의 명칭 프로바이오틱스의 안정성을 향상시킨 인삼 발효 포스트바이오틱스 함유 조성물

특 허 청 장

그림 75. 수경재배 인삼 발효물 안정성 특허 출원

○ **판매전략 모색을 위한 SWOT 분석**

STRENGTHS 강점	WEAKNESSES 취약점
• 친환경 소재에 대한 소비자 관심 증가 • 소비자가 선호하는 유산균과 인삼의 새로운 기능 부여 • 과학적으로 입증된 효과	• 한국에서는 식품의 기능성을 인정받기 위해서는 반드시 인체적용시험을 통한 효능 검증 및 기능성원료 인정이 필요함 • 건강기능식품 이외에는 효능을 언급할 수 없음
OPPORTUNITIES 기회	**THREATS 위협요인**
• 고령인구 증가 → 인지능에 대한 소비자 관심 증가 • 인삼의 유효성분 흡수율에 대한 소비자 관심 증가	• 수경재배 인삼의 높은 원가 • 코로나로 인한 불황으로 소비 심리 위축

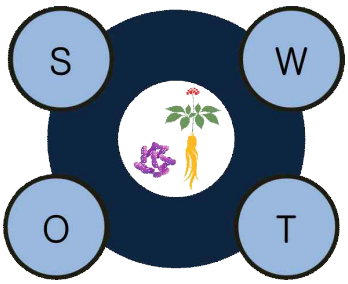


그림 76. SWOT 분석결과

- 상기 SWOT 분석을 통해 개발 원료의 강점으로는 ①수경재배 인삼의 강점인 친환경 재배에 대한 소비자 관심 증가, ②고령 인구 증가로 인한 인지능에 대한 소비자 관심 증가, ③소비자가 선호하는 건강 원료인 유산균과 인삼을 이용하여 과학적 효과 입증 등이 있으며, 특히 발효를 통한 유효성분 흡수율 증가에 대한 소비자 관심이 증가하고 있는 것이 확인되었음.

- 과학적으로 효과를 입증하였고 이에 대한 원천 특허 및 논문을 보유하고 있는 것은 강점이지만, 한국에서 식품의 기능성을 판매에 활용하기 위해서는 반드시 건강기능식품

기능성 원료로 인정받아야 하며, 이를 위해서는 인체적용시험 결과를 확보하는 것이 중요함.

- 특히 수경재배 인삼은 일반 인삼보다 가격이 비싸고, 이를 발효하는 공정을 추가하면서 원료의 판매 단가가 증가할 수밖에 없으므로, 가격은 제품의 판매전략 구축시 큰 위협요인이 됨.

- 따라서 고가의 기능성 원료를 판매하기 위해서는 반드시 인체적용시험 결과가 필요하다는 것이 확인되었으며, 본 과제를 통하여 동물실험에서 효능을 확인하고 세포실험에서 효능의 기전을 확인했으므로, 향후 기능성 원료로 인정받기 위한 연구를 추가하여 건강기능식품 기능성 원료로 인정받을 경우 과학적으로 입증된 효과를 확보한 기능성 식품으로 시장에 안정적으로 정착할 수 있을 것으로 기대됨.

- 이를 바탕으로 판매 초기에는 유산균, 인삼, 인지능 등의 키워드를 활용하여 제품을 판매하고, 추후 인체적용시험 등 기능성 원료로 인정받기 위해 필요한 연구 수행 후 건강기능식품 기능성 원료로 인정받는 것이 매우 중요함.

○ **판매전략 모색을 위한 키워드 분석**

- 연구가 개시된 2020년 04월을 시작으로 2022년 01월 28일까지의 발효 수경재배 인삼과 관련된 키워드를 분석한 결과, 인삼과 새싹인삼에 대한 키워드 검색량은 증가하는 경향을 보였으나, 유산균에 대한 키워드 검색량은 감소하였고, 수경재배 인삼은 소비자의 관심도가 낮음을 확인할 수 있었음. 키워드 분석결과, 수경재배 인삼보다는 새싹인삼이라는 단어가 소비자 친숙도가 높으므로, 새싹인삼이라는 단어를 활용하여 판매전략을 구축하고자 함.

- 발효 인삼과 수경재배 인삼은 기존 인삼에 비해 소비자 관심도가 낮으며, 유산균은 소비자 관심도가 낮아지고 있으나 인삼에 비하여 매우 높은 관심도를 보임. 따라서 “김치에서 분리한 인지능 개선 유산균”을 마케팅 포인트로 선정하고 이를 적극적으로 활용한 제품 판매를 추진할 필요가 있으며, 발효 수경재배 인삼은 인체적용시험 등으로 과학적 근거를 확보하여 고부가가치 상품으로 개발해야만 시장 진입이 가능함을 다시 한번 확인할 수 있었음.

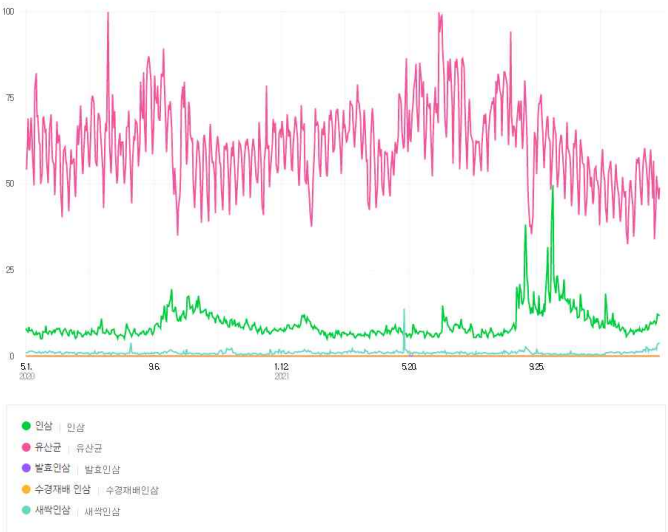


그림 77. 수경재배, 발효 인삼 관련 키워드 분석결과

(출처: 네이버 데이터랩, 검색일: 2022년 1월 28일, 조사 기간: 2020.05.01. ~ 2021.12.31.)

○ **발효물의 산업화 계획**

- *L. lactis* KC24와 *L. lactis* KC24로 발효한 수경재배인삼 발효물은 기존의 인삼, 홍삼 등에 비하여 쓴맛이 적은 특징이 있으므로 다양한 식품에 적용 가능하며, 인삼과 홍삼의 쓴 맛과 고유의 향에 대한 거부감이 있는 해외 소비자를 대상으로 한 수출용 식품 소재로도 충분히 활용 가능한 강점이 있음.

- 발효 인삼은 맛과 향이 순하여 해외에서도 수요가 있으므로, 베트남 등 자사와 거래 중인 동남아 기업 또는 중국, 일본 등 한국의 인삼에 대한 소비자 선호도 및 인지도가 높은 아시아권 국가 증심으로 과학적 효능이 인정된 원료의 강점을 바탕으로 소재 제안을 시도할 예정이며, 박람회 등을 통해 홍보할 예정임.

표 34. 다양한 제형의 해외 인삼 및 발효인삼 가공식품 사례

발효홍삼 추출물 (한국 수출제품)	발효홍삼 캡슐 (한국 수출제품)	발효인삼 캡슐 (미국, Dr. Mercola)	발효 인삼 추출물 (한국 수출제품)	발효 인삼농축액 (한국 수출제품)
발효 인삼 엑릭서(틴쳐) (한국 수출제품)	인삼차, 일본 (한국 수출제품)	인삼차, 일본	인삼차, 일본	인삼차, 일본 (한국 수출제품)

○ **건강기능식품으로의 판매 계획 (B2B, B2C 산업화 전략)**

- 본 연구개발을 통해 인지능 개선 효과가 입증된 프로바이오틱스 *L. lactis* KC24는 건강기능식품 기능성원료인 프로바이오틱스에 해당하므로 건강기능식품으로 판매 가능함. 건강기능식품은 해당 제품의 기능성을 부각시킬 수 있으므로 본 연구개발을 통해 개발된 사이코바이오틱스 및 사이코바이오틱스로 발효한 수경재배 인삼의 가장 효율적인 산업화 전략임.

- 그러나, 건강기능식품의 원료 프로바이오틱스의 기능성 내용은 “유산균 증식 및 유해균 억제, 배변활동 원황, 장 건강에 도움을 줄 수 있음”이므로 본 연구개발을 통해 확인된 인지능 개선에 대한 효과를 마케팅에 공식적으로 사용할 수 없는 한계가 있음.

- 개발 원료를 건강기능식품 기능성원료로 인정받기 위하여 건강기능식품 기능성원료

개별인정신청을 위한 후속연구를 추진 가능성을 검토하고 후속연구를 추진하고자 함.

- 건강기능식품의 기능성 원료로 인정받기 위해서는 기준 및 시험법 개발, 지표성분의 규격 및 시험방법 개발, 시험법 밸리데이션, 원료 표준화(생산 단계 표준화), 인체적용시험, 안전성 평가, 유해물질 규격 및 시험방법 설정 등에 관한 후속연구가 반드시 필요함.

- 따라서 연구 종료 후 국내외 개발 제품을 소개하면서 소비자 및 식품 기업들의 수요를 확인하고, 인체적용시험 설계 및 성공 가능성 등을 면밀히 검토한 후 개발 제품의 고부가가치 부여를 위한 개별인정형 원료 신청 과정을 추진하고자 함.

(2) 유통라인 개척

○ **유통라인 개척을 위한 유통시장 분석**

- 건강기능식품 시장은 매년 성장하고 있으나, 특정 브랜드가 시장의 약 65%를 차지하고 있으며, 브랜드 신뢰도 구축을 위해 기존 업체들이 엄청난 마케팅 비용을 지불하고 있으므로 새로운 브랜드의 진입을 허락하지 않는 시장으로 분류되고 있음.

- 그러나 과학적 근거를 가진 제품, 안전하고 효과적인 제품에 대한 소비자 니즈는 계속 성장하고 있으므로, 본 개발제품과 같이 고부가가치를 지닌 제품의 경우, 나에게 적합한 제품을 능동적으로 검색하고 찾아보는 소비자를 타겟으로 하는 것이 판매에 유리함.

- 국내 인삼 브랜드의 마케팅 현황을 분석한 결과, 대부분 SNS 운영과 바이럴 마케팅 등 온라인 중심의 마케팅이 활발하게 수행되고 있는 것을 확인할 수 있었음.

표 35. 국내 인삼 브랜드의 마케팅 현황

광고 항목	브랜드 명							
	정관장	참다한	한삼인	정원삼	종근당	고려인삼	천지양	참진삼
TV광고	○	○	X	X	○	○	○	X
브랜드 검색	○	○	○	○	△	X	○	X
SNS 운영	○	○	○	○	△	X	○	X
Viral MKT	○	○	○	○	○	○	○	○
언론 PR	○	○	○	○	○	○	○	○
공식 블로그	○	X	○	X	△	○	X	X

X = 과거에는 진행했으나, 2019년 이후에는 광고비용을 줄이거나 진행하는 않는 경우

○ SNS 마케팅 강화를 통한 온라인 유통라인 개척

- 메조미디어의 '업종분석리포트 2021'에 의하면 동영상과 배너를 포함 건강기능식품 업종의 디지털 광고비는 2019년 591억 원에서 2020년 915억 원으로 54%가량 증가하였음. 또한, 정보통신정책 연구원에 따르면 SNS 이용률은 2011년 16.8%에서 2018년 48.2%로 꾸준히 증가해왔음. 따라서 SNS 마케팅을 통해 자사 제품 판매를 촉진하고 홍보를 통해 브랜드 입지를 제고를 계획하였음.

- 다이티의 '검색엔진 평균 유입률'에 의하면 2021년 1분기 네이버의 검색엔진 평균 유입률은 65.20%로 국내 1위 점유율을 차지하였음. 이에 '락토메이슨 블로그'를 개설하여 제품 정보 및 브랜드, 자사 균주 등에 관한 내용을 업로드를 통해 자사 홍보를 진행하였음. 기존 제품뿐만 아니라 시제품 출시 후 시제품 및 원료에 대한 홍보를 통해 매출 증진에 기여하고자 함.

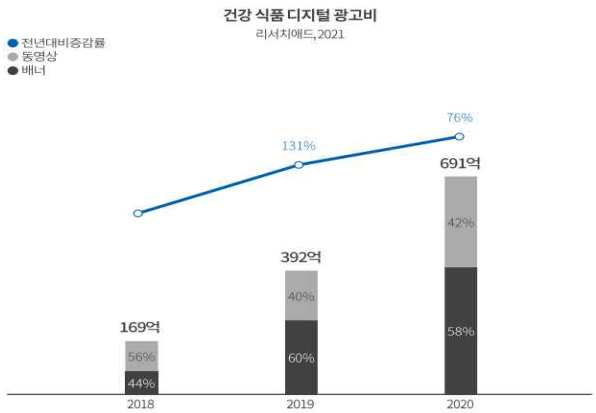


그림 78. 건강기능식품 업종의 디지털 광고비
(출처: 메조미디어의 '업종분석리포트 2021')

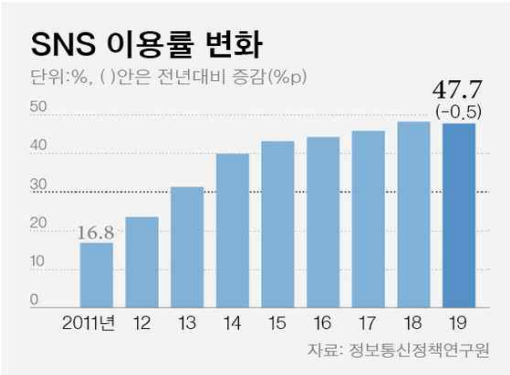


그림 79. SNS 이용률
(출처: 정보통신정책 연구원)

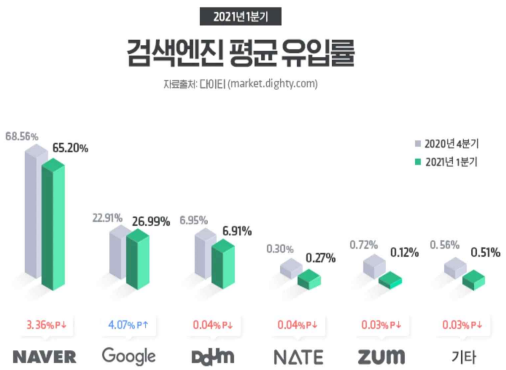


그림 80. 검색엔진 평균 유입률
(출처: 다이티의 '검색엔진 평균 유입률')

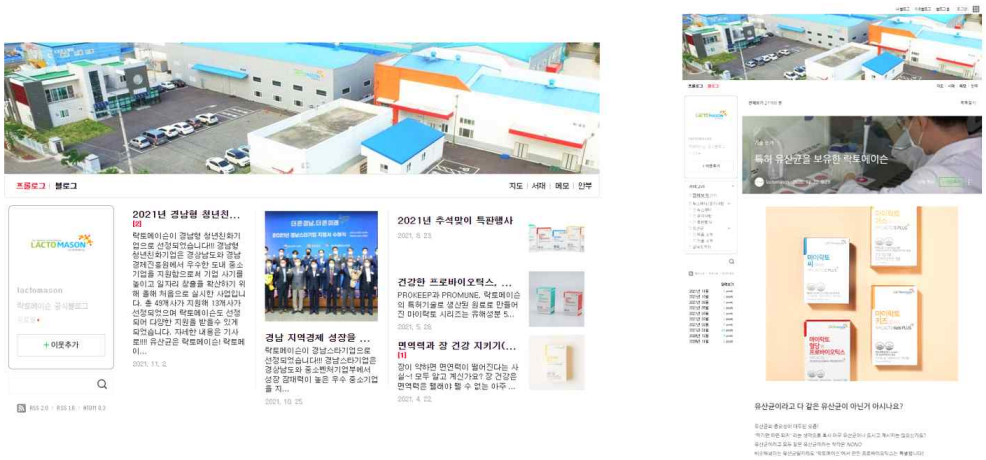


그림 81. 락토메이슨 블로그

- 와이즈앱·와이즈리테일에 의하면 유튜브는 2020년 11월 기준 한국이 가장 오래 사용하는 앱으로 사용시간이 622억 분으로 타 앱에 비해 월등히 높은 것을 확인하였음. 또한, 와이즈앱·와이즈리테일에 의하면 2021년 1월 기준 특정 세대에서 월등하게 사용하는 것이 아닌 10대에서 50대 이상까지 대체로 고른 사용자 분포를 나타내었음.

- 나스미디어에 의하면 조사 대상자 중 92.4%가 네이버에서 정보를 검색한다고 응답한 뒤를 이어 유튜브가 60%로 나타나면서 단순히 동영상 시청을 넘어 검색엔진으로서 유튜브의 영향력이 커졌음. 이에 자사 유튜브 채널인 'LactoMason'을 개설하여 브랜드 인지도 및 이미지 제고를 위한 제품 소개 및 기술력 등에 관한 영상을 업로드하여 홍보를 진행하였음.

그림 82. 한국인이 가장 오래 사용하는 앱
출처: 와이즈앱·와이즈리테일

그림 83. 유튜브 앱 세대별 사용자 분포
출처: 와이즈앱·와이즈리테일

○ **온라인 몰 마케팅 강화**

- 한국건강기능식품협회의 '2018 건강기능식품 시장 현황 및 소비자 실태 조사' 보고서에 의하면 건강기능식품 시장은 2016년 3조 5563억 원에서 2018년 4조 2563억 원으로 20% 가까이 성장하였음. 또한, 2018년도 기준 선물을 제외한 온라인 유통채널로의 건강기능식품 직접 구매 점유율은 35.9%로 이외의 유통채널에 비해 높은 점유율을 나타내었음.

- 본 연구개발을 통해 개발된 인지능 개선 제품의 실 수요자인 40대 이상 중장년층은 최근 종합쇼핑몰 등 온라인 쇼핑을 늘리면서 온라인 소비의 주역으로 떠오르고 있음(서울파이낸스, 2021). 특히 40대 이상 중장년층에서는 2019년 이후 온라인 카드 결제 규모가 약 49% 증가하는 등 빠른 속도로 온라인 구매가 증가하고 있으며, 건강 관련 쇼핑에 대한 규모가 지속적으로 성장하고 있음(하나금융연구소, 2021). 따라서 온라인 마켓은 차후 개발제품 판매를 위한 가장 중요한 채널로 파악되었음.

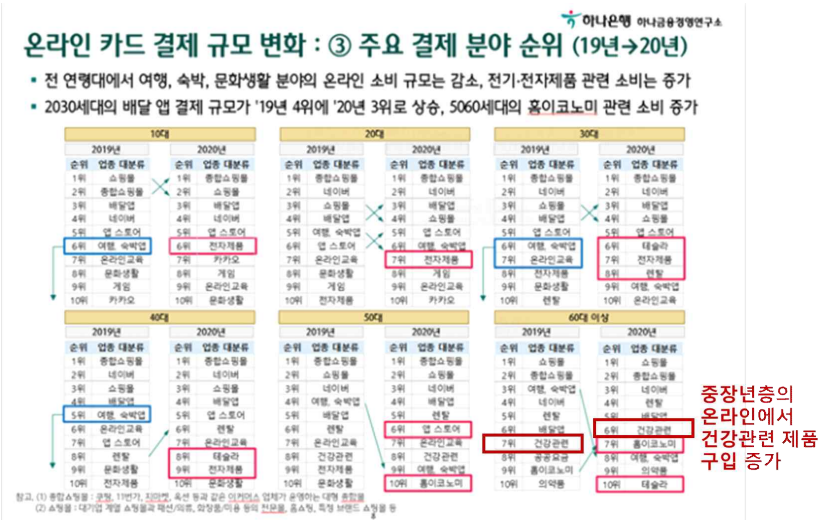


그림 84. 연령별 온라인 카드 결제 규모 변화

출처: 하나금융연구소, 세대별 온라인 소비 행태 변화와 시사점

- 와이즈앱·리테일·굿즈의 '한국인이 온라인에서 가장 많이 구매한 가공식품 카테고리'에 의하면 2021년 8월 국내 17개 주요 온라인 종합쇼핑몰에서 가장 구매금액이 높은 카테고리는 36%로 '건강기능식품'이었음. 이를 바탕으로 유통채널 중 온라인몰에 대한 건강기능식품에 해당하는 자사 제품과 브랜드에 대한 마케팅을 강화하였음.

- 오픈서베이에 의하면 가장 먼저 떠오르는 온라인 식료품 쇼핑몰 중 13.5%로 상위권을 차지한 '마켓컬리'과 업체와 입점 업체 수 및 매출액이 증가해온 e경남몰을 통해 자사 제품을 판매 중이며 이를 통해 온라인몰에 대한 마케팅을 강화하였음.

e경남몰 매출, 입점업체 수 추이

	입점 업체 수	매출액(만 원)
2019년	247개	17억 7300
2020년	315개	20억 7800
2021년 6월 17일 기준	356개 (100개 추가 입점 추진 중)	19억 7000

〈자료: 경남도 투자유치지원단〉

그림 85. e경남몰 매출 및 입점 업체 수
출처: 경남도 투자유치지원단

그림 86. 온라인 식료품 쇼핑몰 설문
출처: 오픈서베이

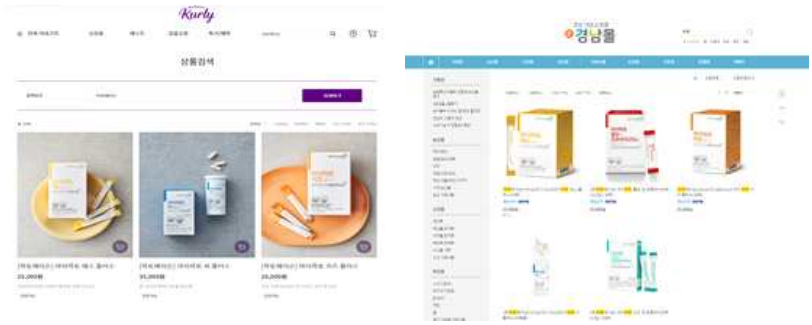


그림 87. 마켓컬리 및 e경남몰 입점 현황

○ **마케팅 강화를 위한 STP(Segmentation, Targeting, Positioning) 분석**

- 건강기능식품 제품의 경쟁 및 기업간의 경쟁이 치열해짐에 따라 운영하는 상품에 대한 호응과 반응이 좋은 특정 고객 집단을 찾아서 관계를 유지하는 것이 제품 판매에 매우 중요한 영향을 차지하고 있음.

- 개발제품의 가치관을 정의하고, 효율적인 비용으로 차별화된 강점을 소비자에게 적극적으로 알리기 위하여 STP 분석 기법(Segmentation 시장 세분화, Targeting 표적시장 선발, Positioning 제품 위치화)을 개발제품에 적용하였음.

▷ **시장 세분화 (Segmentation) 전략**

- 2020년 5월부터 2022년 1월까지의 검색 트랜드를 분석한 결과, 소비자는 인지능보다는 치매 예방에 관한 관심이 더 많았음. 개발 분야에 대해 국내 소비자의 관심도가 높은 치매 예방에 대한 국민 선호도를 분석한 결과, 치매 예방은 20대가 가장 많이 검색하고 있으며, 남성보다는 여성이 검색량이 많고, 이슈성 검색어가 아닌 정기적으로 꾸준히 검색되어있는 키워드이며, 치매 예방으로 검색되는 정보는 정보성과 상업성의 비율이 48:52로 비슷한 수준을 유지하고 있는 것으로 확인되었음. 즉, 치매예방 관련 분야는 본인이 검색하기보다는 자녀가 검색하고 부모에게 선물하거나 추천하는 유형으로 소비되고 있음을 확인하였음.

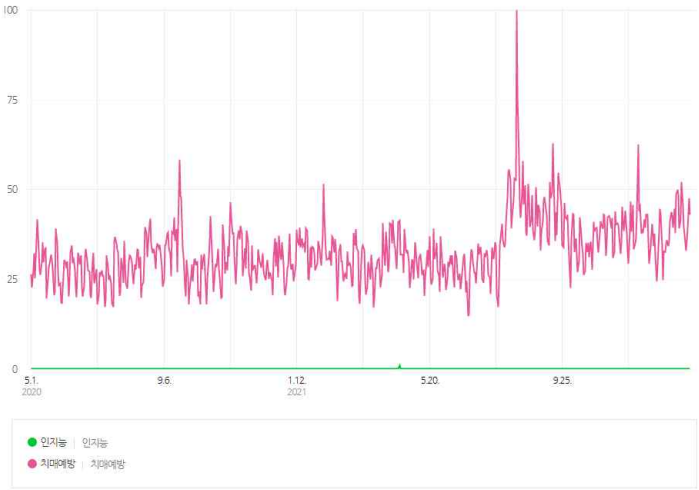


그림 88. 인지능, 치매예방 검색 트렌드 분석결과

출처: 네이버 데이터랩, 검색 기준일: 2022. 01. 28, 검색기간: 20.05.01 ~ 21.12.31

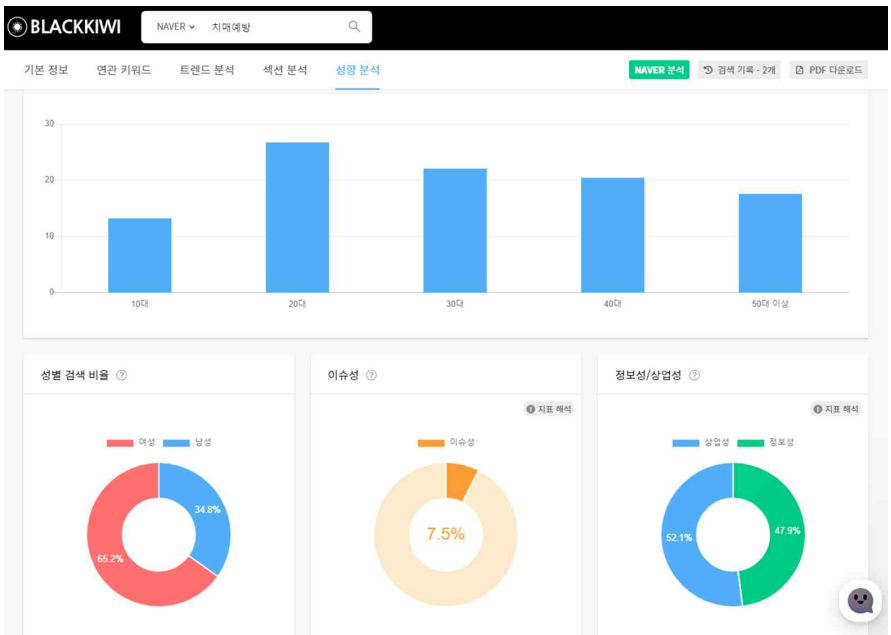


그림 89. 치매예방에 대한 한국 소비자의 검색 트랜드

출처: 블랙키위, 2021년

- 상기 분석결과를 기반으로, ㈜락토메이슨에서 구축한 시장 세분화 전략에 적용한 결과, 연구개발 제품의 시장은 불확실한 질병에 대한 두려움을 극복하고, 소중한 사람의 건강을 유지하고자 확실한 효과를 기대하며 구입하는 소비자를 대상으로 하고 있으며, 정보가 많이 검색되므로 과학적 근거를 기반으로 효과가 검증된 제품만이 시장에서 살아남을 수 있는 것으로 판단되었음. 따라서 본 연구개발에서 개발된 제품과 같이 과학적 효능이 입증된 제품은 시장에 진입하기 용이한 점이 있음. 그러나 건강기능식품 기능성 원료로 인정받아야만 효능을 언급하여 합법적으로 마케팅을 개시할 수 있으면서, 시장에서의 제품에 대한 반응을 확인하면서 건강기능식품 기능성원료로 인정받을 수 있도록 원료 표준화 및 인체적용시험 등을 수행하는 것이 중요함.

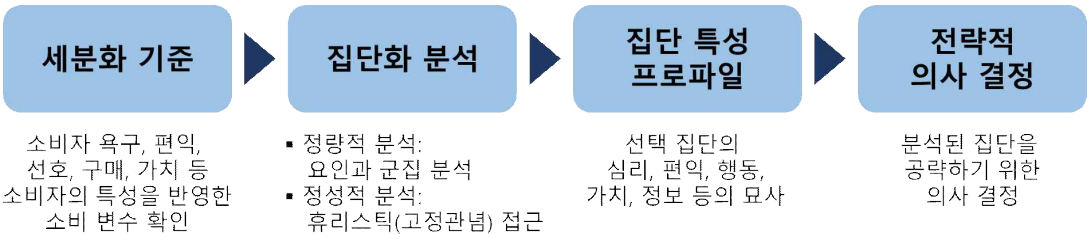


그림 90. ㈜락토메이슨 시장 세분화 전략

▷ **표적 시장 선발 (Targerting) 전략**

- 전체 시장을 세분화한 세분화 전략을 바탕으로 다양한 세부 시장으로 진입할지 특정 한 집단만을 집중적으로 공략할지에 대한 표적 시장을 선발하고자 제품의 동질성, 제품의 수명 주기, 시장의 동질성, 경쟁 제품에 대해 분석하였음.

- 그 결과, 김치 유래 유산균과 친환경 수경재배 인삼을 활용하여 기존의 유산균과 인삼의 기능성을 유지하면서 인지능 개선이라는 새로운 기능성을 부여한 본 개발제품은 제품의 동질성 차원에서 기존의 제품과는 성격이 크게 다른 것으로 분석되었음.

- 본 연구에서 개발된 제품은 기존 제품의 강점은 그대로 유지하면서 새로운 기능성을 과학적으로 검증하여 그 효능을 입증하여 차별화하였으나, 아직 시장에서는 동질성을 갖는 제품이 없으므로 비교 대상이 없고, 소비자에게 해당 제품을 설득력 있게 표현하기 위해서는 제품에 대한 홍보와 소비자 교육을 겸하는 공격적인 마케팅이 필요할 것으로 예상함.

- 또한, 제품을 섭취할 실질적인 체험자는 중장년층이지만, 현재의 국내시장 요건상 고가의 건강기능식품은 아직 선물의 용도로 자녀, 지인 등이 구입하여 전달하는 방식을 취하고 있으므로 제품의 구입과 사용에 대한 동질성을 갖지 않음. 따라서 제품을 받고 만족할 수 있는 사용자를 대상으로 홍보하되, 제품을 사용하지 않더라도 구입할 소비 대상자가 별도로 존재하므로 이들을 대상으로 제품을 홍보해야 하는 이중 표적 시장으로 판단되었음.

- 개발제품의 가장 큰 특징인 사이코바이오틱스는 해외 시장에서는 제품 인지도가 상승되고 있는 초기 성장기에 해당함, 국내에서는 사이코바이오틱스 상품의 개념은 확산되고 있으나 실제 상품의 종류가 많지 않은 도입기에 해당됨. 따라서 시장에서의 제품의 진입 단계는 도입기임에도 불구하고, 표적 시장을 구매층과 소비층으로 구분하여 접근해야 하는 취약점이 있음.

- 그러나 건강기능식품은 식품 또는 기타 소비재에 비하여 제품 수명이 긴 특징이 있으며, 노화와 관련된 제품은 수명 증가 및 액티브 시니어 증가에 따라 더욱 긴 제품 수명 주기를 가질 것으로 예상하므로 초기 시장 진입 및 안정화에 어려움은 있으나

장기적으로 꾸준히 유지될 수 있는 표적 시장을 획득할 수 있을 것으로 기대됨. 따라서 장기적으로 마케팅 대상을 유지 및 관리하기 위하여 고객 획득, 고객 확장 및 유지 전략과 각 단계별 주요 사항을 다음과 같이 도출하였음.

그림 91. 표적시장 선정 및 매출 증가를 위한 표적시장 유치 전략

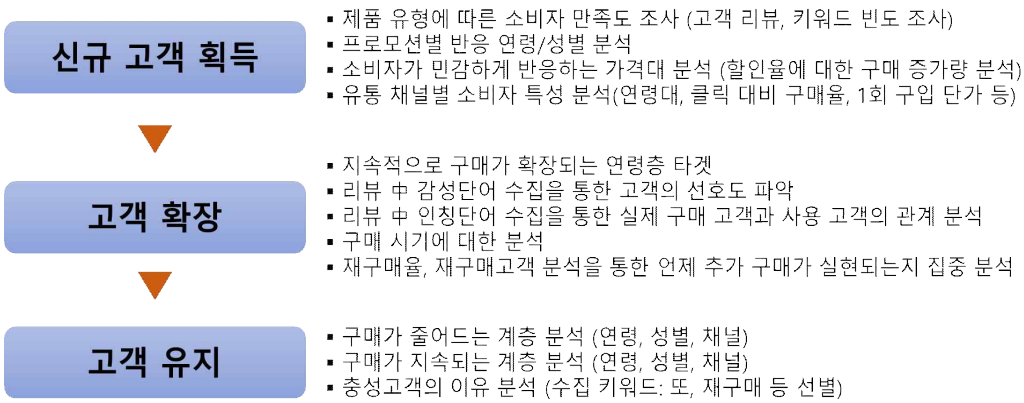


그림 92. 표적시장 유치 전략의 단계별 주요 고려사항

▷ **제품 위치화 (Positioning) 전략**

- 제품 위치화는 제품이 시장에서 차별적이고 특별한 위치를 차지할 수 있도록 하는 계획과 과정으로 선발주자와 후발주자의 전략을 다르게 하여 시장에서 유연하여 제품을 적용할 수 있는데, 본 연구개발에서 개발된 제품은 사이코바이오틱스 분야의 선발주자이므로, 제품이 타겟팅한 대상을 기반으로 약점을 끊임없이 보완하여 지속적으로 시장을 선도하는 방법을 적용할 수 있음.

- 그러나, 제품 활성화 후 언제든지 후발 제품이 출시되어 경쟁요소가 될 수 있으므로, 후발 제품에 의해 기존에 선점한 우월한 포지션을 놓치지 않도록 제품의 특성과 구매자의 상황을 주기적으로 분석하고 약점이 드러나지 않도록 차별화된 포인트를 지속적으로 제공할 필요가 있음. 또한, 선발주자는 독특한 속성을 신규 개발하여 제공하는 것보다 기존에 확보한 공통속성을 강화시켜 나가는 방향이 충성고객 유지에 유리하므로, 시장에 진입하는 단계에서 공통속성을 뚜렷하게 지정할 필요가 있음.

- 본 개발제품은 이미 소비자가 장 건강, 면역 등의 효과를 충분히 인지하고 있는

건강기능식품 원료인 유산균(프로바이오틱스)과 피로회복, 면역증진 등의 효과를 인지하고 있는 한국을 대표하는 건강 소재인 인삼을 사용하고 있으며, 이들을 발효라는 생물공학적 방법으로 재조합하여 유효성분의 흡수율이 높고, 기존 기능성에 인지능 개선이라는 새로움을 부여한 제품이므로, 제품의 공통속성은 “과학적으로 인지능 개선 효과가 입증된 김치 유래 유산균 발효 수경재배 인삼”임.

- 상기 공통속성을 기반으로 제품을 지속적으로 개발하고 소비자가 원하는 과학적 효능입증을 충족시키기 위해서는 인체적용시험을 통한 확실한 효과 검증, 기존 유산균과 동등 이상의 안정성 입증, 기존 인삼과 동등 이상 수준의 진세노사이드 함량을 지속적으로 부여해야 함. 또한, 제품에 고객이 기대하는 바, 고객이 느끼는 품질, 지속적으로 구매하는 고객의 유형을 파악하고 제품과 경쟁 관계에 있는 제품 특성 및 제품을 대체할 수 있는 시장에 대한 분석을 수행하여 대비해야 함.

- 제품 위치화를 견고히 하기 위해 적용해야 할 항목을 다음과 같이 도출하였음.

표 36. 제품 위치화 전략의 적용 항목

분석 항목	포지셔닝 선정 요소
제품 속성	• 제형(분말, 캡슐, 젤리, 음료 등), • 패키지 구성(7일분, 15일분, 30일 분, 대용량, 선물포장 등) • 제품 색상 • 제품의 맛
고객 기대	• 건강 증진 (체감할 수 있는 건강 증진) • 제품의 품질 (맛, 포장 등) • 소비자 응대 수준 (상담) • 접근성 (쇼핑몰 접속 용이, 편리한 결제, 빠른 배송 등) • 가격 또는 할인 프로그램
지각 품질 (고객이 느끼는 품질)	• 가격 대비 품질 • 섭취 기간 대비 효과
고객 유형	• 섭취용, 선물용 • 중년 여성/남성용, 장년 여성/남성용
경쟁 관계	• 인지능 개선 건강기능식품 • 홍삼
대체 관계	• 기타가공품 유산균 • 한약, 생약 및 전통식품 • 일반의약품 및 전문의약품

○ **4PS 마케팅 믹스를 통한 전략 구축**

- 연구개발을 통하여 인지능력 개선 효과가 있는 김치 유래 유산균을 개발하였으며, 이를 활용하여 발효시킨 2년근 수경재배 인삼 발효물의 시제품을 개발하였음. 개발제품을 시장에 성공적으로 출시하기 위하여 STP 전략을 바탕으로 4PS 마케팅 믹스 전략을 구축하여 시장의 현황과 제품을 특성을 분석하였음.

표 37. 2년근 수경재배 인삼 발효물 관련 시장 현황 및 제품 특성

항목	제품 분석	결론
Product (제품)	• 김치유래 유산균 함유 • 친환경 수경재배 인삼 • 흡수율이 높은 발효 인삼 • 인지능 개선 효과 검증 • 국내 생산 유산균 • 안정성이 보장된 유산균	• 효과가 검증된 건강식품으로 피로회복, 면역 및 장 건강과 더불어 인지능 개선 효과가 입증된 유산균 발효 홍삼 주력
Place (장소)	• 쉽게 구입할 수 있는 온라인 • 선물용 제품을 구입하는 2030 세대가 주로 사용하는 쇼핑 플랫폼은 온라인몰 • 직접 섭취하기 위하여 구매하는 주 사용층인 액티브 시니어가 선호하는 판매 채널도 구축할 필요가 있음	• 2030 세대 치매 예방 등에 관심이 많은 액티브 시니어가 선호하는 온라인 쇼핑몰 주력 (마켓컬리, 지역몰, 쿠팡, 지마켓, 11번가 등)
Promotion (판매 촉진)	• 건강하고 총명하게 오래 사는 비법 = 장 건강 + 두뇌건강 • 바이럴 마케팅 (연구개발로 검증된 효과 좋은 제품) • 장 건강과 두뇌 건강, 장 건강과 인지능에 대한 소비자 커뮤니티가 필요함 (블로그, 유튜브 등)	• CS 활동 및 SNS 활동을 통해 제품의 장점 및 차별점을 알리고, 이를 통해 고객이 안심하고 먹을 수 있는 제품으로 인식 • 가격이 아닌 검증된 프리미엄 제품을 선택하여 섭취하는 자부심을 느낄 수 있도록 프로모션 진행
Price (가격)	• 고가의 원재료 • 짧은 유통기한 (유산균 특성)	• 프리미엄 가격을 유지하되, 효과로 입증 • 프리미엄 가격에 대한 소비자 만족도를 실현할 수 있는 패키지 및 서비스 구현

- 분석 자료를 기반으로, 고가의 가격을 소비자에게 설명할 수 있는 마케팅 믹스 핵심 요소를 도출하였으며, 이를 기반으로 시너지를 지닌 마케팅 믹스를 개발하였음.

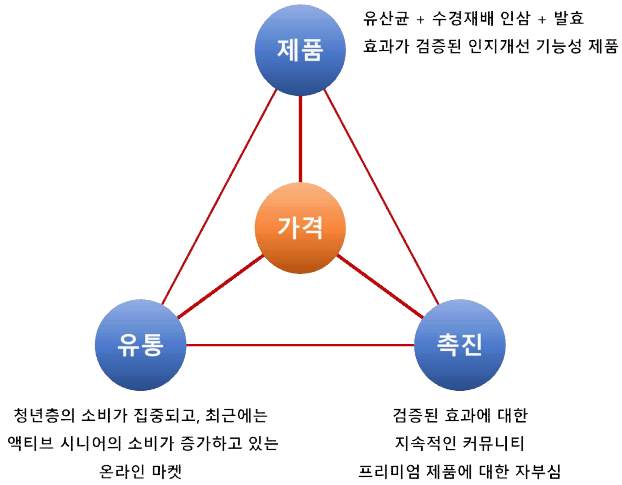


그림 93. 시너지를 지닌 마케팅 믹스 구축

○ 인지능 개선 관련 제품 조사

- 국내에는 고시형 및 개별인정형 기능성 원료를 포함한 인지능 개선 제품과 유산균과 효모로 발효한 발효 홍삼 제품이 있으며, 프로바이오틱스와 발효 홍삼을 혼합한 제품이 있음. 해외에는 사이코바이오틱스로 소개된 제품들이 있음.

- 유사 제품 분석을 수행한 결과, 국내에는 아직 사이코바이오틱스 제품이 시장에 도입되지 않았으나, 해외에서는 사이코바이오틱스 제품이 판매되고 있으므로, 향후 5년 이내에 국내에도 사이코바이오틱스 제품이 도입될 것으로 추정하였음.

- 이에 국내에 사이코바이오틱스 제품 시장이 형성되어 활성화되기 전까지 제품에 대한 효능을 검증하고 신뢰도를 쌓는 과정이 필요함을 확인하였으며, 인지능 개선 제품에 대한 소비자 커뮤니티를 통해 국내 소비자 니즈를 파악하고 이를 반영한 제품을 개발할 필요를 도출하였음.

그림 94. 인지기능 개선 제품 및 발효 홍삼 제품

3) 수경재배 인삼 발효물 및 시제품의 인지능력 개선 기능성 검증

<제2협동기관: 경남대학교 산학협력단>

▷ 수경재배 인삼 발효물 및 시제품의 뇌세포 보호 효과 분석
▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 인지행동학적 지표 분석
▷ 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 신경전달 관련 지표, β-amyloid 억제능 및 뇌 조직의 DNA 손상도 분석

가) 동물모델을 통한 수경재배 인삼 발효물의 인지능력 개선 활성 검증

(1) 신경세포(SK-N-SH)에서 세포생존율 측정(MTT assay)

- 프로바이오틱스 생균(K-KC24)으로 12시간 및 24시간 발효한 2년근 수경재배 인삼(FW-2)의 인지능력 개선효능을 검증하기 위해 세포생존율을 분석함.

- 12시간 및 24시간 2년근 수경재배 인삼 발효물은 모두 농도의존적인 세포 생존율을 보였으며, 농도별 차이 없이 안정한 신경세포 보호 효과를 보였음.

- 또한, 산화적 손상을 일으킨 PC군과 대비하여 2년근 수경재배 인삼 12시간 발효물은 평균 86.6±12.6%(72.8~97.6%), 2년근 수경재배 인삼 24시간 발효물은 평균 93.3±9.5%(86.5~104.1%)의 신경세포 손상 개선 효과를 보였음.

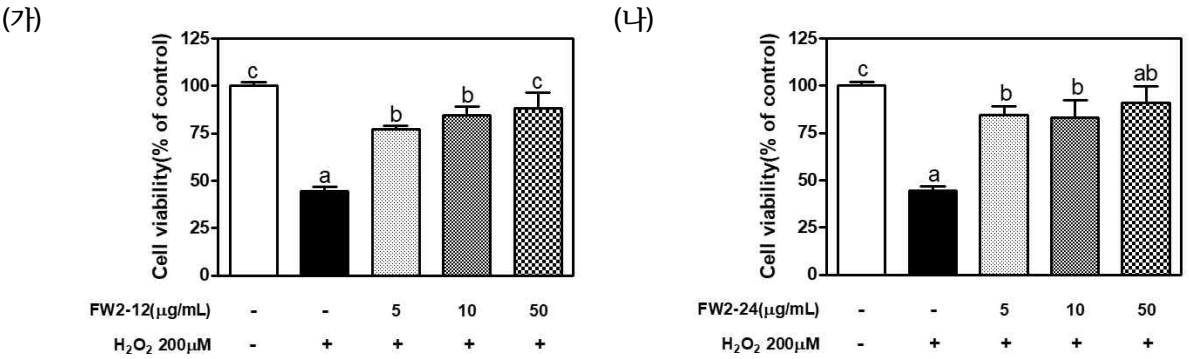


그림 95. 수경재배 인삼 발효물의 신경세포 보호 효과
(가) 12시간 발효물, (나) 24시간 발효물

(2) 실험동물 디자인

그룹		피하주사(D7-D14)	경구투여 (D1-D14)
NC	정상 대조군	-	생리식염수
PC	인지능력 결손 유도군	Scopolamine 1 mg/kg	생리식염수
FW2-12	2년근 수경재배 인삼 12시간 발효물		FW2-12 150 mg/d
FW2-24	2년근 수경재배 인삼 24시간 발효물		FW2-24 150 mg/d
DO	양성 대조군		Donepezil 2 mg/kg

(3) 인지행동학적 지표 분석

○ **신물질탐색실험(물체인식실험)**

- PC군은 NC군보다 새로운 물체에 대한 탐색시간(recognition index)과 새로운 물체에 대한 탐색횟수(object cognitive ability)가 유의하게 감소하여 인지능력 손상을 확인하였음. FW2-12군은 PC군보다 새로운 물체에 대한 탐색시간이 76.7% 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었음. 또한, 새로운 물체에 대한 탐색횟수는 모든 섭취군에서 PC군보다 유의하게 증가(FW2-12군 54.8%, FW2-24군 51.7%)하여 인지능력 개선 효과를 나타내었으며, 그룹 간에 유의한 차이는 없었음.

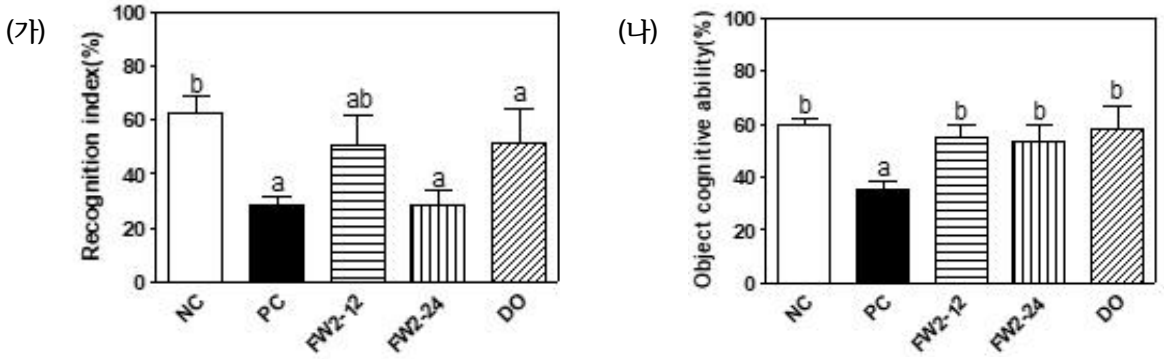


그림 96. 수경재배 인삼 발효물이 신물질탐색실험에서 물체인지능력에 미치는 효과
(가) 새로운 물체에 대한 탐색시간, (나) 새로운 물체에 대한 탐색횟수

○ **Y-maze**

- PC군은 NC군보다 변경행동력(alternation behavior)이 유의하게 감소하였으며, 모든 섭취군은 PC군보다 행동변경력이 유의하게 증가(FW2-12군 51.0%, FW2-24군은 49.6%)하여 인지능력 개선 효과를 나타내었음.

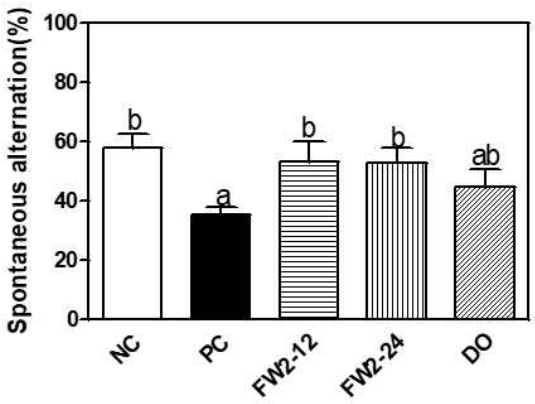


그림 97. 수경재배 인삼 발효물이 Y-미로실험에서 변경행동력에 미치는 효과

결과 요약

- 인지행동학적 지표 분석결과 2년근 수경재배 인삼 12시간 발효물이 24시간 발효물보다 다소 효과가 높았으나 통계적인 유의성은 없었음.
- 수경재배 인삼 발효물을 섭취하지 않은 PC군과 효과를 비교하였을 때 FW2-12의 인지기능 개선 효능은 평균 60.8±13.8%(51.0~76.7% 범위), FW2-24의 인지기능 개선 효능은 평균 33.9±29.1%(49.6~51.7% 범위)을 나타내었음. 또한 FW2-12와 FW2-24의 효능을 산술적으로 환산하였을 때 2년근 수경재배 인삼 발효물의 섭취는 PC군보다 평균 47.3%의 인지기능 개선효과를 기대할 수 있을 것임.

(4) 신경전달물질생성 및 분비 조절

○ ACh(acetylcholine) 함량

- PC군은 NC군보다 ACh 함량이 52.4% 감소하여 인지기능 저하를 나타내었으나 통계적인 유의성은 없었으며, FW2-12군은 PC군보다 ACh 함량이 유의하게 증가하여 인지기능 개선 효과를 나타내었음. 또한 PC군과 섭취군 간의 비교에서 FW2-12군과 FW2-24군은 PC군 보다 각각 139.0%, 108.9% ACh 함량 증가효과를 보였음.

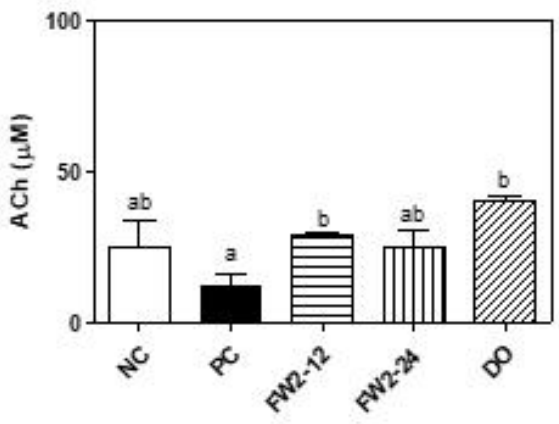


그림 98. 수경재배 인삼 발효물이 뇌 조직에서 acetylcholine 함량에 미치는 효과

○ AChE(acetylcholinesterase) 활성

- PC군은 NC군 보다 AChE 활성이 21.3% 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었음. 그룹간에 통계적으로 유의한 차이는 없었으나 PC군에 비해 FW2-12군은 28.2%, FW2-24군은 13.3% AChE 활성이 다소 감소하였음.

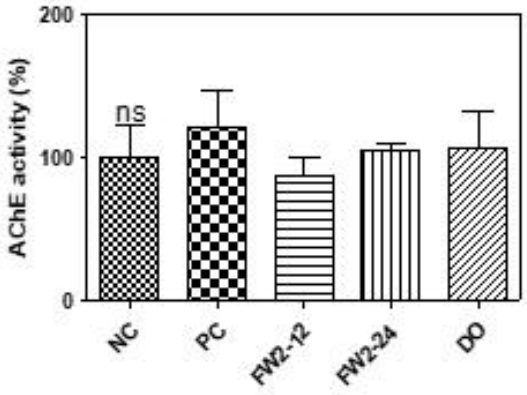


그림 99. 수경재배 인삼 발효물이 뇌 조직에서 acetylcholinesterase 활성에 미치는 효과

○ ChAT(choline acetyltrancferase) 활성

- PC군은 NC군 보다 ChAT 활성이 유의하게 감소하였음. FW2-12군은 PC군 보다 ChAT 활성이 유의하게 증가하여 인지기능 개선 효과를 나타내었음. 또한 PC군과 섭취군 간의 비교에서 FW2-12군과 FW2-24군은 PC군 보다 각각 569.6%, 165.2% ChAT 활성 증가 효과를 보였음.

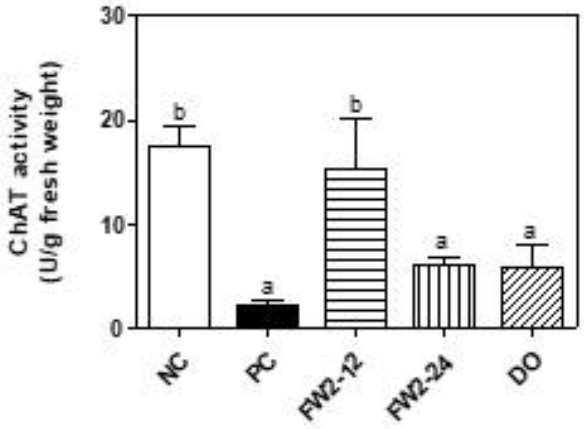


그림 100. 수경재배 인삼 발효물이 뇌 조직에서 choline acetyltrancferase 활성에 미치는 효과

○ BDNF 및 CREB/p-CREB 단백질 발현

- BDNF 단백질 발현은 PC군이 NC군 보다 유의적으로 감소하여 인지능력 감소를 나타내었으나 섭취에 의한 유의적인 변화는 나타나지 않았음. 또한, p-CREB 단백질 발현은 PC군이 NC군 보다 41.1% 감소하였으나 통계적인 유의성은 없었으며, FW2-12군과 FW2-24군은 통계적인 유의성은 없었으나 PC군보다 p-CREB 단백질 발현이 각각 53.4%, 58.5% 증가하는 높은 효과를 보였음.

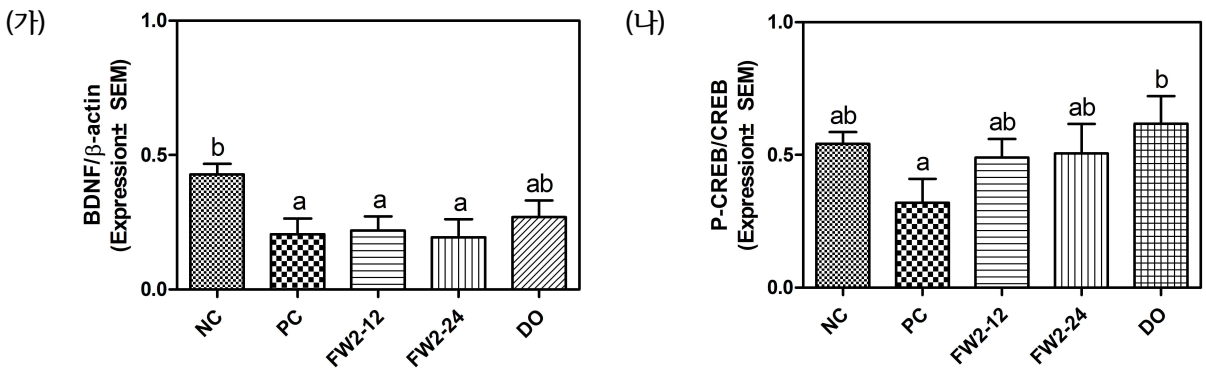


그림 101. 수경재배 인삼 발효물이 뇌조직에서 BDNF 및 CREB/p-CREB 단백질 발현에 미치는 효과

(가) BDNF, (나) CREB/p-CREB

(5) β-Amyloid 축적 억제

○ β-Secretase 활성

- PC군은 NC군보다 β-secretase 활성이 유의하게 증가하였음. FW2-12군과 FW2-24군은 각각 PC군보다 32.8%, 38.7% β-secretase 활성이 유의하게 감소하여 인지능력 개선 효과를 나타내었으며, 그룹 간에 유의한 차이는 없었음.

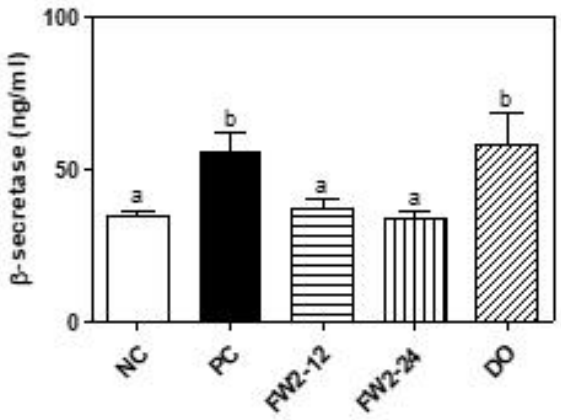


그림 102. 수경재배 인삼 발효물이 뇌 조직에서 β-secretase 활성에 미치는 효과

○ β-Amyloid 함량

- PC군은 NC군보다 β-amyloid 40 및 β-amyloid 42 함량이 유의하게 증가하였으며, FW2-12군과 FW2-24군은 PC군보다 β-amyloid 40 및 β-amyloid 42 함량이 각각 14.5~20.5%, 17.9~23.9 % 감소하여 인지능력 개선효과를 나타내었으나 통계적인 유의성은 없었음. 또한 섭취군 간의 효과를 비교하였을 때 FW2-12군이 FW2-24군보다 다소 높은 효과를 보였음.

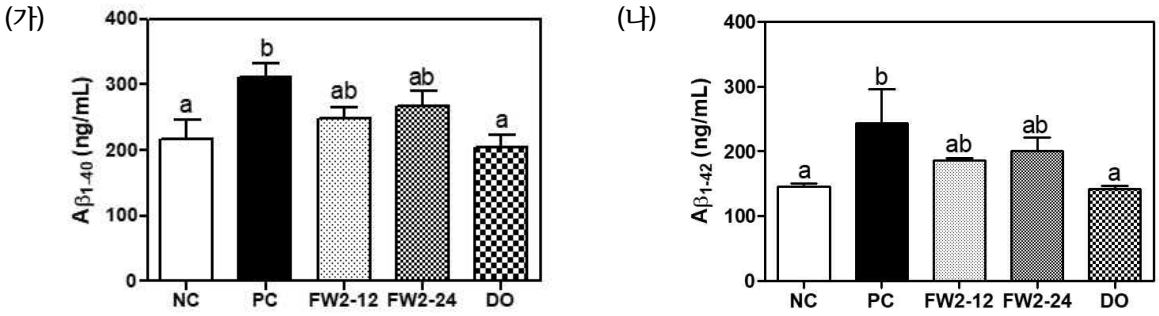


그림 103. 수경재배 인삼 발효물이 뇌 조직에서 β-amyloid 함량에 미치는 효과

(가) β-amyloid 40, (나) β-amyloid 42

(6) DNA 손상 보호 효과

○ **뇌 조직의 DNA 손상도(comet assay)**

- PC군은 NC군보다 뇌 조직의 Tail DNA가 유의하게 증가하여 scopolamine에 의한 인지기능 손상이 뇌세포의 DNA를 손상시키는 것을 확인하였음. FW2-12군과 FW2-24군은 각각 PC군보다 34.0%, 31.4% Tail DNA가 유의하게 감소하여 DNA 손상 보호 효과를 나타내었으며, 그룹 간에 유의한 차이는 없었음.

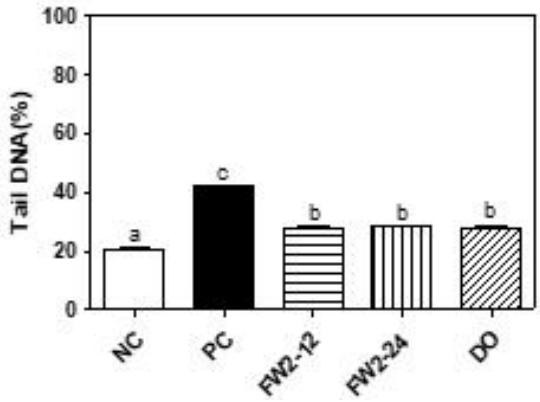


그림 104. 수경재배 인삼 발효물이 뇌 조직에서 DNA 손상에 미치는 효과

결과 요약

- 신경전달물질생성 및 분비 조절, β-amyloid 축적 억제, DNA 손상도 관련 지표를 분석한 결과 2년근 수경재배 인삼 12시간 발효물이 24시간 발효물보다 더 우수한 인지능력 개선 효과를 나타내는 것으로 판단됨.
- 수경재배 인삼 발효물을 섭취하지 않은 PC군과 효과를 비교하였을 때 FW2-12의 인지기능 개선 효능은 평균 123.9±200.8%(20.5~569.6% 범위), FW2-24의 인지기능 개선 효능은 평균 59.6±57.6%(13.3~165.2% 범위)의 개선효과를 보였음. 또한 FW2-12와 FW2-24의 효능을 산술적으로 환산하였을 때 2년근 수경재배 인삼 발효물의 섭취는 PC군보다 평균 91.7%의 인지기능 개선효과를 기대할 수 있을 것임.

나. 동물모델을 통한 시제품의 인지능력 개선 활성 검증

(1) 신경세포(SK-N-SH)에서 세포생존율 측정(MTT assay)

- 시제품(W+HK-KC24)의 인지능력 개선효능을 분석하기 위해 세포생존율을 측정함. 시제품은 농도의존적으로 세포생존율이 증가하였으며, 12시간 및 24시간 발효한 2년근 수경재배 인삼 추출물과 비교하였을 때 통계적으로 유사하게 안정한 신경세포 보호 효과를 보였음.

- 산화적 손상을 일으킨 PC군과 대비하여 시제품은 평균 102.5±6.3%(97.6~109.6%)의 신경세포 손상 개선 효과를 보였음.

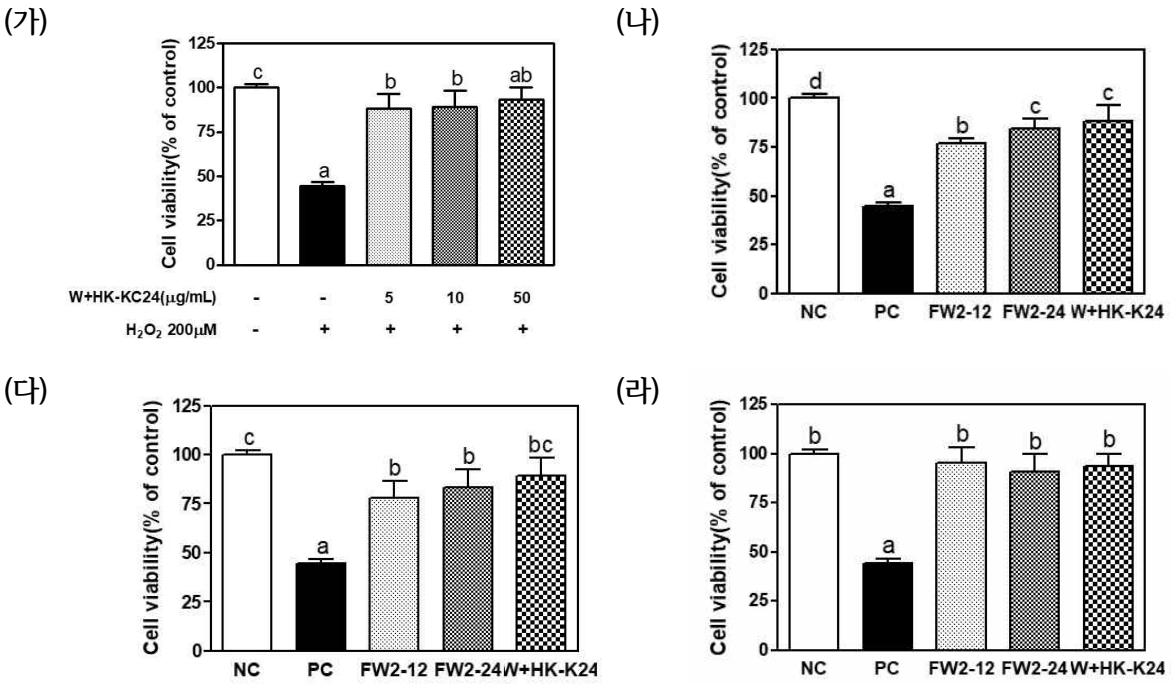


그림 105. 시제품의 신경세포 보호 효과

(가) 시제품, (나)~(다) 시제품 및 2년근 수경재배 인삼 발효물 비교

(나) 5 μg/mL, (다) 10 μg/mL, (라) 50 μg/mL

(2) 실험동물 디자인

그룹		피하주사(D7-D14)	경구투여 (D1-D14)
NC	정상 대조군	-	생리식염수
PC	인지능력 결손 유도군	Scopolamine 1 mg/kg	생리식염수
W+HK-KC24-H	시제품 고농도		시제품 저농도 250 mg/d
W+HK-KC24-L	시제품 저농도		시제품 고농도 150 mg/d
DO	양성 대조군		Donepezil 2 mg/kg

(3) 인지행동학적 지표 분석

○ 신물질탐색실험(물체인식실험)

- PC군은 NC군보다 새로운 물체에 대한 탐색시간(recognition index)과 새로운 물체에 대한 탐색횟수(object cognitive ability)가 유의하게 감소하여 인지능력 손상을 확인하였음. 모든 시제품 섭취군은 PC군보다 새로운 물체에 대한 탐색시간과 새로운 물체에 대한 탐색횟수가 증가하였으며, 시제품 저농도군이 고농도군보다 높은 경향을 나타내었음.

- PC군과 섭취군 간의 비교에서 새로운 물체에 대한 탐색시간과 새로운 물체에 대한 탐색횟수가 시제품 고농도군은 PC군 보다 각각 169.1%, 51.9%, 시제품 저농도군은 PC군 보다 각각 236.9%, 76.4% 증가하였음.

(가) (나)

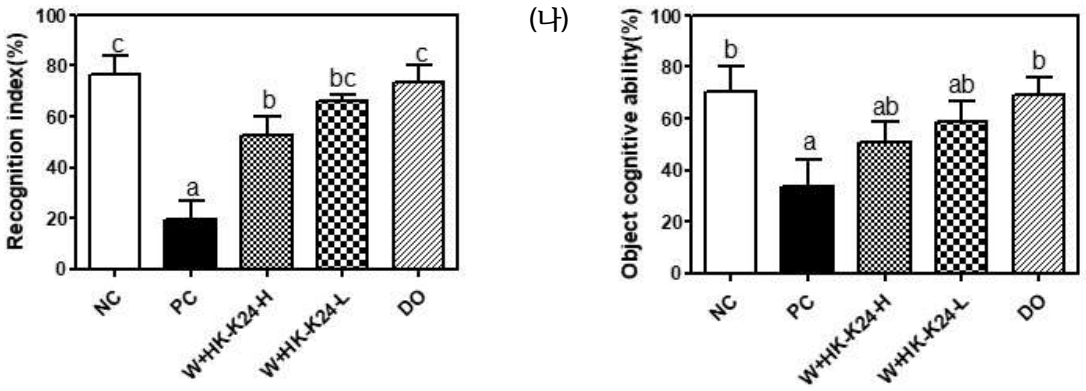


그림 106. 시제품이 신물질탐색실험에서 물체인지능력에 미치는 효과
(가) 새로운 물체에 대한 탐색시간, (나) 새로운 물체에 대한 탐색횟수

○ Y-maze

- PC군은 NC군 보다 변경행동력(alter-nation behavior)이 유의하게 감소하였으며, 시제품 고농도 섭취군은 PC군보다 행동변경력이 유의하게 증가하여 인지기능 개선 효과를 나타내었음. 또한, PC군과 섭취군 간의 비교에서 행동변경력은 시제품 고농도군은 PC군보다 54.8%, 시제품 저농도군은 PC군보다 22.1% 증가하였음.

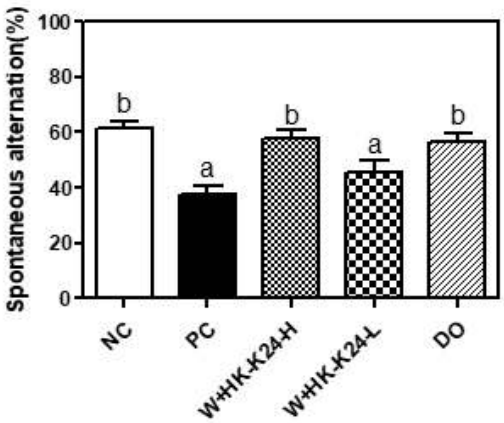


그림 107. 시제품이 Y-미로실험에서 변경행동력에 미치는 효과

결과 요약

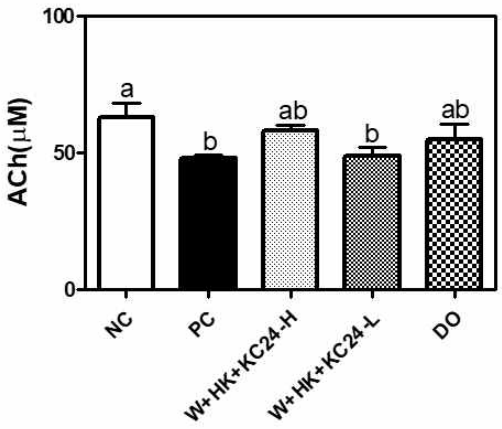
- 인지행동학적 지표 분석결과 시제품 저농도군은 물체인지능력, 시제품 고농도군은 행동변경력에서 통계적으로 유의한 인지능력 개선 효과를 나타내었음.
- 시제품을 섭취하지 않은 PC군과 효과를 비교하였을 때 시제품 고농도군의 인지기능 개선 효능은 평균 91.9±66.9%(54.8~169.1% 범위), 시제품 저농도군의 인지기능 개선 효능은 평균 111.8±111.7%(22.1~236.9% 범위)을 나타내었음. 또한 시제품 고농도군과 저농도군의 효능을 산술적으로 환산하였을 때 시제품의 섭취는 PC군보다 평균 101.9%의 인지기능 개선효과를 기대할 수 있을 것임.

(4) 신경전달물질 및 시냅스가소성 분석

○ ACh(acetylcholine) 함량

- PC군은 NC군 보다 ACh 함량이 유의하게 감소하여 인지기능 저하를 나타내었음. 시제품 고농도군은 PC군 보다 ACh 함량이 21.2% 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었음. 시제품과 2년근 수경재배 인삼 발효물을 비교하였을 때 시제품 고농도군의 ACh 함량이 가장 유의하게 높았음.

(가)



(나)

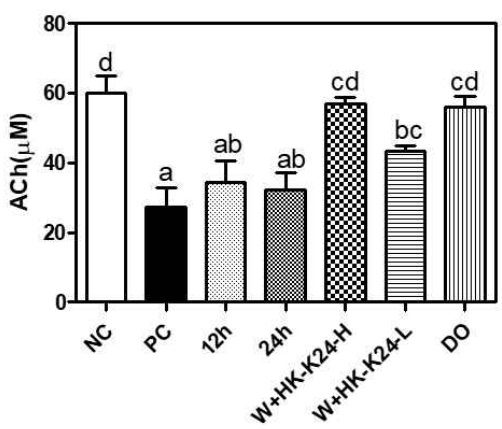


그림 108. 시제품이 뇌 조직에서 acetylcholine 함량에 미치는 효과
(가) 시제품, (나) 시제품 및 2년근 수경재배 인삼 발효물 비교

○ AChE(acetylcholinesterase) 활성

- PC군은 NC군 보다 AChE 활성이 15.3% 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었음. 시제품과 2년근 수경재배 인삼 발효물을 비교하였을 때 통계적 유의성은 없었으나 시제품 저농도군과 2년근 수경재배 인삼 12시간 발효물의 AChE 활성이 낮은 경향을 나타내었음.

- PC군과 섭취군 간의 비교에서 AChE 활성은 시제품 고농도군은 PC군 보다 12.7%, 시제품 저농도군은 PC군보다 17.9% 감소하였음.

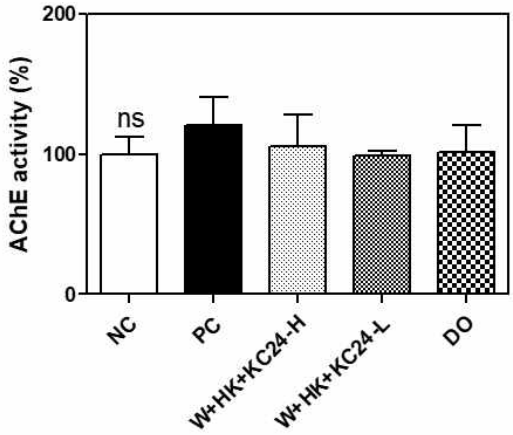
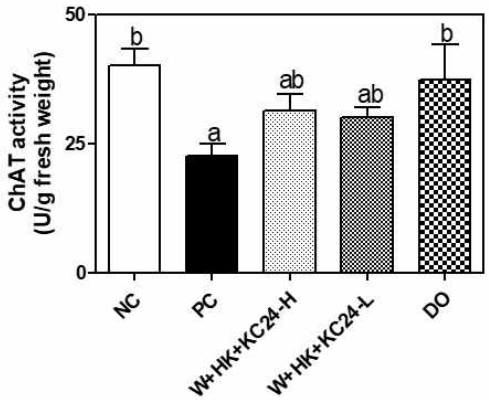


그림 109. 시제품이 뇌 조직에서 acetylcholinesterase 활성에 미치는 효과

○ ChAT(choline acetyltrancferase) 활성

- PC군은 NC군 보다 ChAT 활성이 유의하게 감소하였음. 시제품 고농도군 및 저농도군은 PC군보다 각각 39.4%, 33.8% ChAT 활성이 유의하게 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었음.

(가)



(나)

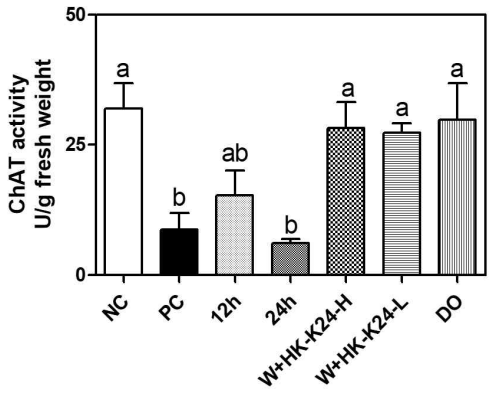


그림 110. 시제품이 뇌 조직에서 choline acetyltrancferase 활성에 미치는 효과
(가) 시제품, (나) 시제품 및 2년근 수경재배 인삼 발효물 비교

○ BDNF 및 CREB/p-CREB 단백질 발현

- BDNF 단백질 발현은 PC군이 NC군 보다 45.5% 감소하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았으며, HK-KC24-L군은 BDNF 단백질 발현이 PC군 보다 72.2% 증가하여 NC 수준으로 회복되어 인지능력 개선 효과를 예측할 수 있었음. 또한, PC군은 NC군 보다 p-CREB 단백질 발현이 유의하게 감소하였으며, HK-KC24-L군은 통계적인 유의성은 없었으나 PC군보다 p-CREB 단백질 발현이 50.9% 증가하는 높은 효과를 보였음.

(가) (나)

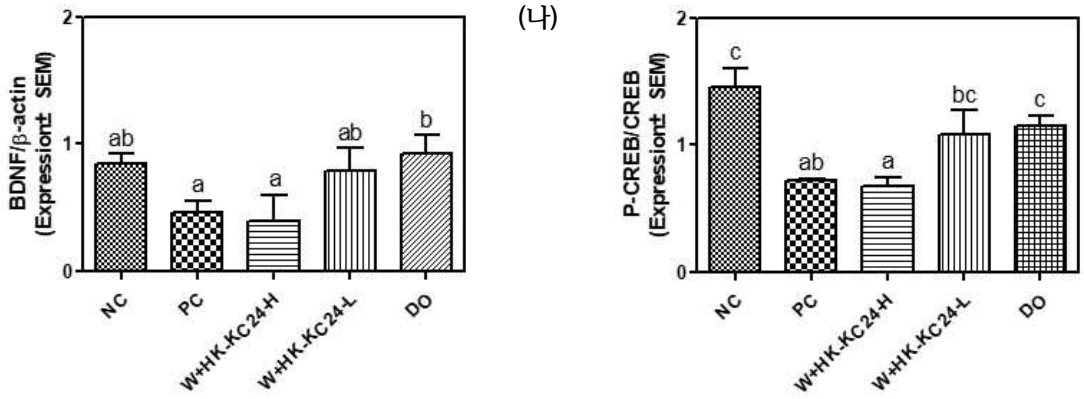


그림 111. 시제품이 뇌 조직에서 BDNF 및 CREB/p-CREB 단백질 발현에 미치는 효과
(가) BDNF, (나) CREB/p-CREB

(5) β-Amyloid 축적 억제

○ β-Secretase 활성

- PC군은 NC군 보다 β-secretase 활성이 유의하게 증가하였음. 시제품 저농도군은 PC군 보다 β-secretase 활성이 21.6% 감소하여 인지능력 개선효과를 나타내었으며, 통계적인 유의성은 없었음.

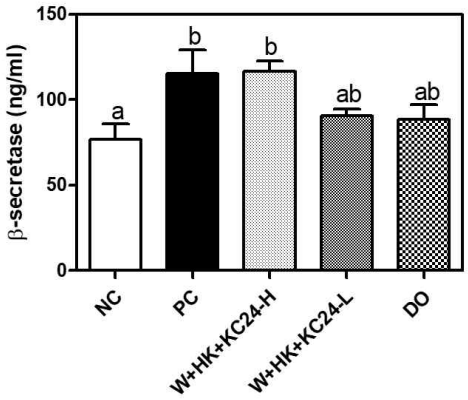


그림 112. 시제품이 뇌 조직에서 β-secretase 활성에 미치는 효과

○ β-Amyloid 함량

- PC군은 NC군보다 β-amyloid 40 및 42 함량이 유의하게 증가하였음. HK-KC24-H군 및 HK-KC24-L군은 통계적인 유의성은 없었으나 PC군보다 β-amyloid 40 함량이 각각 11.5 %, 9.9% β-amyloid 42 함량이 각각 19.2%, 12.7% 감소하여 인지능력 개선 효과를 나타내었음.

(가) (나)

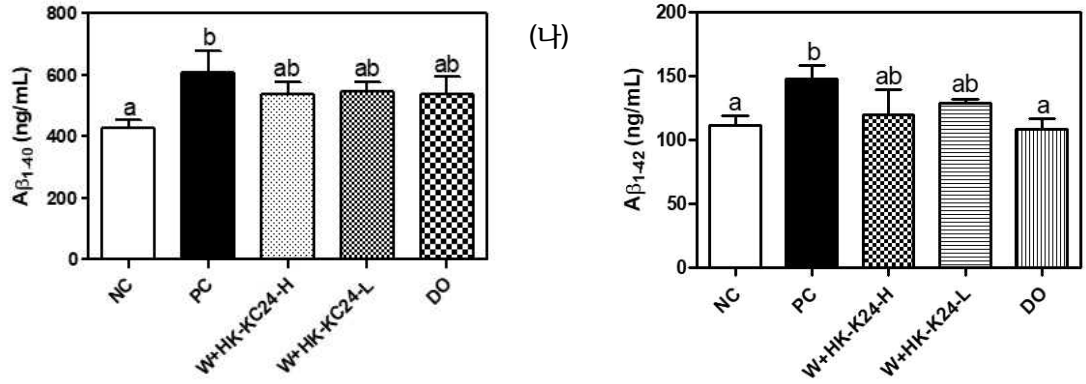


그림 113. 시제품이 뇌 조직에서 β-amyloid 함량에 미치는 효과

(가) β-amyloid 40, (나) β-amyloid 42

(6) DNA 손상 보호 효과

○ 뇌 조직의 DNA 손상도(comet assay)

- PC군은 NC군 보다 뇌조직의 Tail DNA가 유의하게 증가하여 scopolamine에 의한 인지능력 손상이 뇌세포의 DNA를 손상시키는 것을 확인하였음. 시제품 고농도 및 저농도군은 PC군보다 각각 39.9%, 41.7% Tail DNA가 유의하게 감소하여 DNA 손상 보호 효과를 나타내었으며, 시제품 저농도군이 고농도군보다 높은 DNA 손상 보호 효과를 보였음.

(가) (나)

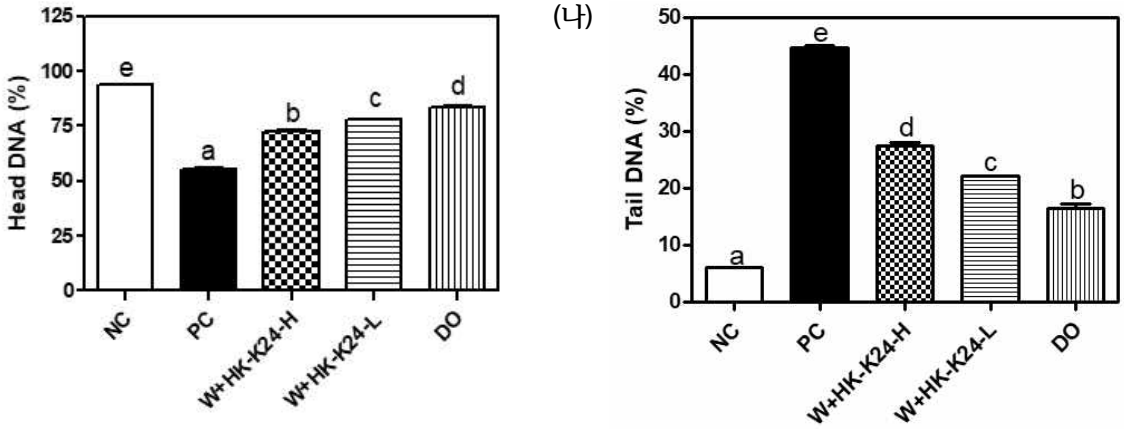


그림 114. 시제품이 뇌 조직에서 DNA 손상에 미치는 효과

(가) Head DNA(%), (나) Tail DNA(%)

결과 요약

- 신경전달물질생성 및 분비 조절, β-amyloid 축적 억제, DNA 손상도 관련 지표를 분석한 결과 시제품 섭취는 통계적으로 유의한 인지능력 개선 효과를 나타내었음.
- 시제품을 섭취하지 않은 PC군과 효과를 비교하였을 때 시제품 고농도군의 인지기능 개선 효능은 평균 13.1±13.6%(0.0~39.4% 범위), 시제품 저농도군의 인지기능 개선 효능은 평균 27.6±23.6%(2.0~72.2% 범위)을 나타내었음. 또한 시제품 고농도군과 저농도군의 효능을 산술적으로 환산하였을 때 시제품의 섭취는 PC군보다 평균 20.4%의 인지기능 개선효과를 기대할 수 있을 것임.

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

본 연구에 이용된 *L. lactis* KC24 균주에 대한 최적 배양조건을 확립하였으며, 균주의 신경세포 보호 효과, 인지능력 개선 효과를 확인하였음.
또한, 본 균주를 이용한 수경재배 인삼 발효물의 기능성을 검토하여 수경재배 인삼이 발효를 통해 신경세포 보호 효과가 증진되었음을 확인함. SH-SY5Y 조직배양을 통해 신경세포 보호 효과를 나타내는 다양한 실험결과에서 발효물이 비발효물에 비해 기능성이 110~130%가량 증가하였음을 확인하였으며, 동물실험에서 시제품을 섭취하지 않은 대조군과 비교하였을 때 약 20.04% 증진된 인지기능 개선효과가 나타남.
더불어 제품의 형태, 부형재, 포장을 고려하여 *L. lactis* KC24 생균과 수경재배 인삼 발효물을 배합한 캡슐형 시제품을 제조하였고, 이의 기능성을 검증하여 개발제품을 사업화함.

(2) 정량적 연구개발성과

기술이전 1건, 제품화 2건, 특허 3건, SCIE급 논문 1건, 학술발표 7건, 인력양성 6건, 고용창출 2건을 통해 본 과제를 수행함.

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명 \ 연도			1차년도	2차년도	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표[1]	논문(SCI(E))	목표(단계별)	-	1	1	-
		실적(누적)	-	1	1	-
	특허	목표(단계별)	1	2	3	20
		실적(누적)	1	2	3	20
	학술발표	목표(단계별)	1	1	2	20
		실적(누적)	3	4	7	20
연구개발과제 특성 반영 지표[2]	기술이전	목표(단계별)	-	1	1	10
		실적(누적)	-	1	1	10
	기술료	목표(단계별)	-	10000	10000	10
		실적(누적)	-	10000	10000	10
	사업화	목표(단계별)	-	1	1	20
		실적(누적)	-	2	2	20
	고용창출	목표(단계별)	1	1	2	10
		실적(누적)	0	2	2	10
	인력양성	목표(단계별)	-	1	1	10
		실적(누적)	-	6	6	10
계		목표(단계별)	3	10008	10011	100
		실적(누적)	4	10014	10018	100

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

[과학적 성과]

☐ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비 SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Antioxidant Activity and Inhibitory Effect on Nitric Oxide Production of Hydroponic Ginseng Fermented with *Lactococcus lactis* KC24	Antioxidants	정예림	10(10)	스위스	MDPI	SCIE	2021. 10. 13.	2076-3921	100%

☐ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2020 한국식품과학회 국제학술대회 및 정기총회	송명욱, 정예림, 김기태, 백현동	2020. 07. 02.	광주	대한민국
2	2020 한국식품과학회 국제학술대회 및 정기총회	송명욱, 정예림, 김기태, 백현동	2020. 07. 02.	광주	대한민국
3	2020 한국식품과학회 국제학술대회 및 정기총회	정예림, 송명욱, 김기태, 백현동	2020. 07. 02.	광주	대한민국
4	2021 American Society for Microbiology (ASM)	정예림, 박지영, 김기태, 백현동	2021. 06. 20.	e-poster	미국
5	2021 American Society for Microbiology (ASM)	박지영, 송명욱, 정예림, 김기태, 백현동	2021. 06. 20.	e-poster	미국
6	2021 KFN International Symposium and Annual Meeting	박은주, 박지예, 이윤정	2021. 10. 27.	부산	대한민국
7	2021 KFN International Symposium and Annual Meeting	박은주, 박지예, 이윤정	2021. 10. 27.	부산	대한민국

☐ 기술 요약 정보

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

☐ 보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

☐ 생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

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

[기술적 성과]

□ 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신품종, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	락토코커스 락티스 KC24 균주를 포함하는 퇴행성 신경질환예방 또는 치료용 조성물	대한민국	건국대학교 산학협력단	2020. 07. 20.	10-2020-0089740					50%	
2	유산균 발효 수경재배 인삼 추출물의 신 질환예방 또는 치료용 조성물	대한민국	건국대학교 산학협력단	2021. 12. 13.	10-2021-0178064					100%	
3	프로바이오틱스의 안정성을 향상시킨 인삼 발효 포스트바이오틱스 함유 조성물	대한민국	㈜락토메이슨	2021. 12. 13.	10-2021-0177808					100%	

ㅇ 지식재산권 활용 유형

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

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

□ 저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

□ 신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

□ 기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

□ 표준화

ㅇ 국내표준

번호	인증구분[1」]	인증여부[2」]	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류[3」]	제안/인증일자

* 1」 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.
* 2」 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.
* 3」 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

ㅇ 국제표준

번호	표준화단계구분[1」]	표준명	표준기구명[2」]	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식[3」]	제안자	표준화 번호	제안일자

* 1」 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
* 2」 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
* 3」 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
1	락토코커스락티스 케이씨KC24	2022. 02. 10. 출시예정	㈜락토메이슨		건강기능식품 원료(장 건강에 도움)			
2	케이씨발효 바이오틱스 (가칭)	2022. 06. 30. 출시예정	㈜락토메이슨		건강기능식품 (장 건강에 도움)			

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	전용실시권	사이코바이오틱스(*Lactococcus lactis* KC24)를 이용한 인지능력 개선 기능성 소재의 산업화	㈜락토메이슨	2021. 11. 19	10,000,000 원	

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

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

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식[1]	사업화 형태[2]	지역[3]	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	기술이전	신제품 개발	국내	락토코커스락티스 케이씨KC24	건강기능식품 원료(장 건강에 도움)	㈜락토메이슨			2022. 02. 10. 출시예정	
2	기술이전	신제품 개발	국내	케이씨발효 바이오틱스(가칭)	건강기능식품(장 건강에 도움)	㈜락토메이슨			2022. 06. 30. 출시예정	

* 1」 기술이전 또는 자기실시
* 2」 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등
* 3」 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
합계					

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과			인지능 개선 효과가 확인된 장 건강 개선 프로바이오틱스		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		3년 이상		
	소요예산(천원)		400,000		
	예상 매출규모(천원)		현재까지	3년 후	5년 후
			0	(예상) 300,000	(예상) 500,000
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
		국내	0	1	2
		국외	0	0.1	0.5
	향후 관련기술, 제품을		인지능 개선 효과에 대한 인체적용시험 등 추가 연구 수행 후 건강기능식품		

	응용한 타 모델, 제품 개발계획	기능성 원료로 개발		
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후
		해당없음	해당없음	해당없음
	수출	0	(예상) 50,000	(예상) 100,000

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2020년	2021년	
1		㈜락토메이슨	0	2	2
합계			0	2	2

□ 고용 효과

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	7
		생산인력	
	개발 후	연구인력	9
		생산인력	

□ 비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

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

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

□ 기술 무역

(단위: 천원)

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

[사회적 성과]

□ 법령 반영

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

□ 정책활용 내용

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

□ 설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

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

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황									
			학위별				성별		지역별			
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	졸업	2021	1	5			1	5	2		4		

□ 산업 기술 인력 양성

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

□ 다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

□ 국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관

[인프라 성과]

□ 연구시설・장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설・장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설・장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기본법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설・장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

2) 목표 달성 수준

추 진 목 표	달 성 내 용	달성도(%)
<제1세부(건국대학교)> 발효 수경재배 인삼의 소재 개발 및 기능성 검증	○ **사이코바이오틱스에 의한 발효 수경재배 인삼 소재 개발** - 사이코바이오틱스의 생리적 특성 - 사이코바이오틱스의 발효 조건 확립 - 수경재배 인삼의 유효성분 분석 - 수경재배의 가공: extract의 제조 - 발효 수경재배 인삼의 유효성분의 변화 분석	100
	○ **제품에서의 유효성 검증** - 소재에서의 발효 유효성분 분석 - 발효 제품의 조직 배양을 산화적으로 손상된 신경조직을 통한 회복력 검증 - 제품의 안전성 검사 - 제품의 shelf-life 측정 - 제1협동기관에 유산균 소재 제공	100
<제1협동(㈜락토메이슨)> 인지능력 개선 효능이 있는 유산균 발효 수경재배 인삼 발효공정 최적화	○ **발효물의 제품화** - Scale-up을 위한 발효조건 확립 - 제품의 형태 설정(식품가공 적용) - 제품 부형재의 선정 - 관능검사 및 유효성에 따르는 formulation - 유효기간 설정	100
	○ **개발제품의 사업화** - 판매 전략 모색 - 원료 수급 모색 - 제품의 위생 검사 및 성분 검사 공기관에 의뢰(nutrition facts) - 포장 형태 - 유통라인 개척 - 경제성 분석 - OEM 생산라인 구축	100
<제2협동(경남대학교)> 동물모델에서 사이코바이오틱스에 의한 수경재배 인삼의 인지능력	○ **사이코바이오틱스 및 수경재배 인삼의 인지기능성 검증** - 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 인지행동학적 지표 분석	100

	- 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 신경전달 관련 지표 및 β-amyloid 억제능, 뇌조직의 DNA 손상도 분석	
개선 검증	○ **수경재배 인삼발효물 및 시제품의 인지기능성 검증** - 수경재배 인삼 발효물 및 시제품의 뇌세포 보호 효과 분석 - 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 인지행동학적 지표 분석 - 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 신경전달 관련 지표, β-amyloid 억제능 및 뇌조직의 DNA 손상도 분석	100

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

○ 시제품 “락토코커스 락티스 케이씨KC24”를 2022년 2월 10일 출시하기로 2021년 11월 19일 기술이전을 시행하였으며, 계약 조건에 따라 2021년 12월 31일까지 계약기술을 이전받았음.

○ 기술이전 후 자사에서 균주를 생산할 수 있는지 검증하고, 제품의 판매를 위하여 식약처에 품목제조보고를 하는 기간이 필요하여 시판이 지연되게 되었음.

2) 자체 보완활동

○ 유산균을 판매하기 위해서는 Lab scale 배양조건을 조절하여 대량생산에 적합한 배양조건을 구축해야 하며, Scale up에 소요되는 시간은 균주 특성에 따라 다름.

○ 균주는 배양조건이 달라질 경우, 생산량, 생존력(안정성) 및 효능 등이 달라질 수 있으므로 기존의 효능과 안정성을 유지하면서 생산량을 증가시킬 수 있는 최적의 배양공정을 개발해야 안정적으로 제품을 생산하여 공급할 수 있음.

○ 현재 ㈜락토메이슨에서는 균주 특성을 고려하여 배양조건을 확립하고 있으며, 배양조건 확립 후 균주 효능 및 안정성 등의 출시를 위한 평가를 거친 후 시판하고자 대량 배양기에서의 배양조건을 검토하고 있음.

○ 또한, 균주 생산 후 안정성을 향상시킬 수 있는 부원료를 검토하여 최종제품의 품목제조보고를 진행하고자 준비하고 있음.

3) 연구개발 과정의 성실성

○ ㈜락토메이슨에서는 본 연구과제를 통하여 인지능력 개선효능이 과학적으로 검증된 락토코커스 락티스 KC24 균주의 대량생산조건을 확립하고자 지속적으로 노력하고 있으며, 생산성과 안정성을 검증한 후 식약처 품목제조보고 후 본격적으로 생산하여 판매하고자 노력하고 있음.

○ 수경재배 인삼은 일반 인삼보다 가격이 비싸고, 이를 발효하는 공정을 추가하면서 원료의 판매 단가가 증가할 수 밖에 없어 가격은 제품의 판매전략 구축시 큰 위협요인으로 작용함.

○ 또한, 수경재배 인삼은 기존 인삼과 달리 건강기능식품 원료로서 고시형 또는 개별인정형 원료로 인정받지 못한 실정이며, 한국에서 식품의 기능성을 판매에 활용하기 위해서는 반드시 건강기능식품 기능성 원료로 인정받아야 함.

○ 이를 위해서는 인체적용시험 및 독성시험, 식품의약품안전처 인정 등 많은 시간과 비용을 필요로 하기 때문에 ㈜락토메이슨에서는 이를 인지하고 수경재배 인삼 발효물의 산업화를 위한 방안을 모색하였음.

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

○ 사이코바이오틱스(psychobiotics)에 대한 연구를 통해 식품 연구분야의 폭을 넓힘. 기존의 전통 발효식품으로부터 분리한 균주를 이용하여 수경재배 인삼의 생리활성을 증진시키는 연구와 산업화를 위한 연구 모두를 통해 사이코바이오틱스의 다양한 소재로서의 활용 가능성을 기대함.

○ 본 연구를 통해 인지능력 개선용 기능성 식품의 조건을 만족시키면서 수경재배 인삼 및 프로바이오틱스를 활용하는 산화적 신경(뇌) 손상 질환인 치매 예방을 위한 인지능력 개선용 기능성 식품 소재를 개발하였고 뿐만 아니라 앞으로 국내·외 시장의 다양화된 신경·정신적 질환에 대한 기능성 식품으로서의 시장을 구축할 수 있을 것으로 기대됨.

○ 한편, 정성·정량적인 연구를 종합적으로 분석하여 수경재배 인삼과 포스트바이오틱스를 활용한 인지능력 개선 식품의 소비자패턴을 분석하고 이에 대한 마케팅 방안을 수립하여 한국 인삼의 브랜드 가치를 높일 수 있는 방안을 마련할 수 있을 것으로 사료됨.

○ 이와 같은 연구 결과를 바탕으로 건강기능식품 산업의 경제·산업적 미래예측에 도움이 되는 정책 마련에 도움이 될 뿐만 아니라 더 나아가 전반적인 국내 경제에 긍정적 영향을 미칠 수 있음.

○ 수경재배 인삼과 사이코바이오틱스를 활용한 인지능력 개선 식품 소비자의 인식과 니즈를 종합적으로 분석·연구하여 앞으로의 수경재배 인삼의 산업화 방향에 대해 모색하고 산업적 활용 및 활성화 방안을 마련함. 따라서 국내산 농산물의 고부가가치를 추구함으로써 농가의 활성화 및 수익 증대를 기대함.

○ 수경재배 인삼의 사이코바이오틱스를 활용한 인지능력 개선 식품 소비자 니즈와 인식 조사 분석부터 소비자 특성별 건강기능식품의 상품 속성 및 마케팅 전략 개발까지 달성하는 프로젝트이므로, 관련 분야의 역량을 함양한 전문연구인력을 양성할 수 있음.

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

○ 산업재산권 확보 및 기술이전

- 미생물 자원 및 국내 천연물 소재를 활용한 맞춤형 식품의 제조 방법 및 그 기능성의 규명 등에 대한 특허를 출원함으로써 산업재산권을 확보함. 제1세부기관(건국대학교 산학협력단)에서 확보한 노하우 및 산업재산권을 제1협동기관(㈜락토메이슨)에게 우선적으로 기술이전을 실시하였고 탄소원, 질소원, 무기염류 등의 배지 적성 시험, pH, 온도 조건 확립을 위한 물리적 조건 실험을 lab-scale 규모로 진행하여 생산성, 안정성 등을 평가함. 최종적으로 생산성이 확보된 조건을 pilot-scale로 시험 생산하여 양산화 가능성을 평가함.

○ 발효물의 산업화

- 본 연구에서는 수경재배 인삼의 기능성을 기존 6년근 수삼과 비교 후 발효를 통해 기능성을 증대시킴. 그러나 고가의 원재료와 발효공정으로 인해 높은 판매 원가가 예상됨. 따라서 발효공정의 단순화와 같이 생산원가를 낮추는 방법에 관한 연구가 필요함. 또한, 본 연구에서 제조한 발효물의 인지능력 개선 효과에서 더 나아가 면역력 증진, 항염 효과와 같이 추가적으로 다양한 기능성에 관한 연구와 이의 산업화에 관한 연구가 더 필요함.

○ 미생물 소재 관련 연구로의 응용

- 본 연구과제에 활용할 미생물 자원을 인지능력 개선 외의 뇌 건강과 관련한 노인성 질환을 타깃으로 한 연구를 수행할 예정이며 본 과제를 통해 얻게 된 노하우를 적용함으로써 새로운 건강기능성 소재를 개발할 수 있음.

○ 기존 제품을 활용한 프리미엄 제품의 개발

- 인지 개선뿐만 아니라 면역 증강 효과가 있는 제품으로 고령자를 위한 프리미엄급 기능성 식품으로 개발할 수 있음. 또한, 영유아 대상으로 제품 확대를 위한 추가 기술개발 추진을 통해 영유아 비즈니스를 목적으로 뇌세포 성장촉진 연구를 추가로 진행하여 분유, 이유식에 혼합하여 식이가 가능한 소재 개발 가능함.

○ 상품화 전략 및 사업화 계획

- 확보된 미생물 자원 및 국내 천연물 소재를 활용하여 차후 뇌질환 환자용 식품개발에 활용할 계획임. ㈜락토메이슨이 보유한 프로바이오틱 생산 및 이에 대한 가공기술과 건국대가 보유한 미생물자원 소재 기능성 소재화 기술을 융합하여 고기능성 식품 소재를 개발하고 지속적인 성장이 가능한 고부가 가치 비즈니스 모델을 확보하겠음. 또한, 확보된 미생물 자원을 이용하여 프로바이오틱스 및 건강기능식품으로 개발하고자 함. 더 나아가 국내 천연물 소재의 유산균 발효를 활용하여 다양한 기능의 제품개발에 활용을 계획함.

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내
국외논문	SCIE	1
	비SCIE	
	계	
국내논문	SCIE	
	비SCIE	
	계	
특허출원	국내	1
	국외	
	계	
특허등록	국내	2
	국외	
	계	
인력양성	학사	
	석사	

	박사		
	계		
사업화	상품출시		1
	기술이전		
	공정개발		
제품개발	시제품개발		
비임상시험 실시			
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	
		2상	
		3상	
	의료기기		
진료지침개발			
신의료기술개발			
성과홍보			
포상 및 수상실적			
정성적 성과 주요 내용			

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 참고문헌
	2) 자체평가의견서
	3) 연구성과 활용계획서
2.	1)
	2)

- 참고문헌-

1. 중앙치매센터 대한민국 치매 현황 2020
2. 링크아즈텍, 식품의약품안전처, 그랜드 뷰 리서치
3. 건강기능식품시장현황 및 소비자조사실태조사, 2018, 한국건강기능식품협회
4. 대한민국 특허출원번호: 제10-2020-0022143호
5. Market Research Report, 2016. 11.
6. http://www.foodnara.go.kr/hfoodi/
7. https://hfplatform. kfri.re.kr/
8. http://www.kipris.or.kr
9. http://www.learnaboutprobiotics.org
10. http://www.vsl3.com/
11. 안성훈 외. 2004. H_2O_2에 의한 유발된 뇌신경 세포 상해에 대한 구진의 보호효과. 대한침구학회 21, 29-41.
12. 장성재. 2018. 프로바이오틱스 분야의 현주소. BRIC View
13. 박지영, 이충열, & 원준연. (2007). HPLC 의 이동상 용매조건에 따른 인삼 Ginsenoside 분석. 한국약용작물학회지, 15(3), 215-219.
14. 메조미디어, '2021 건강기능식품 업종 분석 리포트'
15. 다이티, '2021년 1분기 검색엔진 평균 유입률'
16. 정보통신정책 연구원, 'SNS 이용률 변화'
17. 와이즈앱·와이즈리테일, '한국인이 가장 오래 사용하는 앱'
18. 와이즈앱·와이즈리테일, '유튜브 앱 세대별 사용자 분포'
19. 오픈서베이, '온라인 식료품 구매 트렌드 리포트 2020'
20. 경남도 투자유치지원단, 'e경남몰 매출 및 입점 업체수'
21. 유하영, 정진주, 최은주, & 강성태. (2010). 국내에서 유통 중인 채소류의 중금속 함량에 관한 연구. 한국식품과학회지, 42(4), 502-507.
22. 블랙키위, '치매예방에 대한 한국 소비자 성향 분석'
23. 네이버 데이터랩, '인지능, 치매예방 검색량', 검색 기준일: 2022. 01. 28, 검색기간: 20.05.01 ~ 21.12.31
24. 네이버 데이터랩, '인삼, 유산균, 발효인삼, 수경재배 인삼, 새싹인삼', 검색 기준일: 2022. 01. 검색기간: 20.05.01 ~ 21.12.31
25. 하나금융연구소, '세대별 온라인 소비 행태 변화와 시사점'
26. Choi et al. 2015. Structure of ginseng major latex-like protein 151 and its proposed lysophosphatidic acid-binding mechanism". Acta Crystallographica Section D 71, 1039-1050.
27. Crook et al. 1991. Effects of phosphatidylserine in age-associated memory impairment. Neurology 41.
28. Hwang et al. 2012. Gintonin, a ginseng-derived lysophosphatidic acid receptor ligand, attenuates Alzheimer's disease-related neuropathies: Involvement of non-amyloidogenic processing. Journal of Alzheimer's Disease 31, 207-223.
29. Jo et al. 2014. Bioconversion of ginsenoside Rb1 to the pharmaceutical ginsenoside compound K using *Aspergillus usamii* KCTC 6954. Korean Journal of Microbiology

and Biotechnolology 42, 347-353.
30. Jung et al. 2019. Fermentation of red ginseng extract by the probiotic *Lactobacillus plantarum* KCCM 11613P: Ginsenoside conversion and antioxidant effects. Journal of Ginseng Research 43, 20-26.
31. Kim et al. 2018. *Panax ginseng* as an adjuvant treatment for Alzheimer's disease. Journal of Ginseng Research 42, 401-411.
32. Kim et al. 2013. Effects of fermented ginseng on memory impairment and β-amyloid reduction in Alzheimer's disease experimental models. Journal of Ginseng Research 37, 100-107.
33. Lee. 2018. Food Industry and Nutrition 23, 7-12.
34. Liu et al. 2002. Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation: Partial reversal by feeding acetyl-l-carnitine and/or R-α-lipoic acid. PNAS 99, 2356-2361.
35. Geiger and Yamasak. 1956. Cytidine and uridine requirement of the brain. Journal of Neurochemistry 1, 83-100.
36. Turnbaugh et al. 2007. The human microbiome project. Nature 449, 804-810.
37. Walker et al. 2011. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. ISME Journal 5, 220-230.
38. Wang et al. 2011. Anti-neuroinflammation effect of ginsenoside Rbl in a rat model of Alzheimer disease. Neuroscience Letters 48, 70-72.
39. Hwang et al. 2019. Improved antioxidant, anti-inflammatory, and anti-adipogenic properties of hydroponic ginseng fermented by *Leuconostoc mesenteroides* KCCM 12010P Molecules 24, 3359.
40. Fajardo, A. R., Cerdan, L. E., Medina, A. R., Fernández, F. G. A., Moreno, P. A. G., & Grima, E. M. 2007. Lipid extraction from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. European Journal of Lipid Science and Technology, 109, 120-126.
41. Adel, M., El-Sayed, A. F. M., Yeganeh, S., Dadar, M., & Giri, S. S. 2017. Effect of potential probiotic Lactococcus lactis subsp. lactis on growth performance, intestinal microbiota, digestive enzyme activities, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 9, 150-156.
42. 36. Aller, K., Adamberg, K., Timarova, V., Seiman, A., Feštšenko, D., & Vilu, R. 2014. Nutritional requirements and media development for *Lactococcus lactis* IL1403. Applied Microbiology and Biotechnology, 98, 5871-5881.
43. Nirmaladevi et al. 2014. Neuroprotective effects of bikaverin on H2O2-induced oxidative stress mediated neuronal damage in SH-SY5Y cell line. Cellular and Molecular Neurobiology, 34, 973-985.
44. Ramalingam and Kim. 2014. The role of insulin against hydrogen peroxide-induced oxidative damages in differentiated SH-SY5Y cells. Journal of Receptor and Signal Transduction Research, 34, 212-220.
45. Zhang et al. 2017. Morroniside protects SK-N-SH human neuroblastoma cells against H2O2-induced damage. International Journal of Molecular Medicine, 39, 603-612.

46. Um et al. 2012. Sesaminol glucosides protect β-amyloid induced apoptotic cell death by regulating redox system in SK-N-SH cells. Neurochemical Research, 37, 689-699.
47. Kim et al. 2016. Rg3-enriched ginseng extract ameliorates scopolamine-induced learning deficits in mice. BMC complementary and alternative medicine, 16, 66.
48. Jeong et al. 2014. An investigation into the ameliorating effect of black soybean extract on learning and memory impairment with assessment of neuroprotective effects. BMC Complementary and Alternative Medicine, 14, 482.
49. Yi et al. 2016. *Cassia obtusifolia* seed ameliorates amyloid β-induced synaptic dysfunction through anti-inflammatory and Akt/GSK-3β pathways. Journal of Ethnopharmacology, 178, 50-57.
50. Huang et al. 2015. Dopamine D3 receptor antagonism contributes to blonanserin-induced cortical dopamine and acetylcholine efflux and cognitive improvement. Pharmacology, Biochemistry, and Behavior, 138, 49-57.
51. Sakr et al. 2014. Effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on memory and brain derived neurotrophic factor (BDNF) in a rat model of vascular dementia. Journal of Physiology and Pharmacology 65, 41-53.
52. Talesa. 2001. Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. Mechanisms of Ageing and Development, 122(16), 1961-1969.
53. Vassar et al. 1999. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. Science (New York, N.Y.), 286, 735-741.
54. Park et al. 2016. Antiamnesic effect of broccoli (*Brassica oleracea* var. italica) leaves on amyloid beta (Aβ)1-42-induced learning and memory impairment. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64, 3353-3361.
55. Yu et al. 2015. Protective effects of luteolin against cognitive impairment induced by infusion of Aβ peptide in rats. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, 8, 6740-6747.
56. Nicholls et al. 2016. PP2A methylation controls sensitivity and resistance to β-amyloid-induced cognitive and electrophysiological impairments. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 113, 3347-3352.
57. Saura et al. 2011. The role of CREB signaling in Alzheimer's disease and other cognitive disorders. Reviews in the Neurosciences, 22, 153-169.
58. Han et al. 2013. Chronic caffeine treatment reverses memory impairment and the expression of brain BNDF and TrkB in the PS1/APP double transgenic mouse model of Alzheimer's disease. Molecular Medicine Reports, 8, 737-740.
59. Xu et al. 2007. Restoration of impaired phosphorylation of cyclic AMP response element-binding protein (CREB) by EGb 761 and its constituents in Abeta-expressing neuroblastoma cells. The European Journal of Neuroscience, 26, 2931-2939.

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		120048-2	
사업구분	유용농생명자원산업화 기술개발사업				
연구분야	식품/식품영양/기능성식품			과제구분	단위
사 업 명	유용농생명자원산업화 기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과 제 명	사이코바이오틱스에 의한 수경재배 인삼의 발효시스템 확립 및 인지능력 개선 기능성 소재의 산업화			과제유형	개발
연구개발기관	건국대학교			연구책임자	백현동
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2020. 04. 29. - 2020. 12. 31. (9개월)	226,000	77,000	303,000
	2차년도	2021. 01. 01. - 2021. 12. 31. (12개월)	302,000	102,000	404,000
	3차년도	-	-	-	-
	4차년도	-	-	-	-
	5차년도	-	-	-	-
	계	-	528,000	179,000	707,000
참여기업	㈜락토메이슨				
상 대 국		상대국연구개발기관			

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2022. 02. 11

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
건국대학교	교수	백현동

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.

확 약	

Ⅰ. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수

본 연구는 인지능력 개선 관련 기능성 식품과 관련한 학술적 기초연구 자료로 이용될 수 있으며, 유산균을 활용한 인삼 발효공정의 독보적인 기술을 확립함. 또한, 효율적인 생리활성 평가방법을 확보함.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수

인지능력 개선 식품 활용을 위한 소비자 관점의 연구가 한정적인 상황임. 수경재배 인삼의 포스트바이오틱스를 활용한 인지능력 개선 식품 소비자 관점의 연구는 학술적으로 기여하는 바가 크며 논문 및 학술발표에 활용하여 관련 연구 분야에서 선도적 역할을 기대할 수 있음.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수

수경재배 인삼의 사이코바이오틱스를 활용한 인지능력 개선 식품 소비자의 인식과 니즈를 종합적으로 분석·연구하여 다양한 수경재배 인삼의 다양한 활용 및 활성화 방안을 마련하고, 국내산 수경재배 인삼의 마케팅 전략 수립에 기여할 수 있음. 따라서 농산물의 고부가 가치를 추구함으로써 농가의 활성화 및 수익 증대를 꾀할 수 있음.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수

연구개발 기간 동안 정기 및 상시적으로 각 기관과 연구 미팅을 했으며, 이를 바탕으로 과제 연구를 성실히 진행함. ㈜락토메이슨은 고용 창출을 통해 지역 경제의 활성화에 기여하였고 국내외 다양한 학술대회에 참여하여 관련 분야에 대한 최신동향을 파악하고 이를 바탕으로 연구에 임함.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수

본 연구를 통해 SCIE급 논문 1편, 학술발표 7건, 특허 3건을 통해 저명학술지 논문게재 및 국제적 기술 우위를 선점함.

Ⅱ. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
동물실험을 통한 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 인지능력 개선 활성 검증	20	100	*L. lactis* KC24 균주와 수경재배 인삼의 생리활성을 검증함.
사이코바이오틱스에 의한 발효 수경재배 인삼 소재 개발 및 기능성 검증	20	100	발효조건 확립과 발효물을 분석함.
발효물의 산업화를 위한 제조법 설정	20	100	발효조건을 최적화함.
제품에서의 인지능력 개선 유효성 검증	10	100	제품의 생리활성을 검증함.
동물모델을 통한 수경재배 인삼 발효물 및 시제품의 인지능력 개선 활성 검증	10	100	시제품의 인지능력 개선 효과를 검증함.
인지능력 개선을 위해 개발된 제품의 산업화	20	100	제품을 사업화하여 기술이전과 고용창출을 달성함.
합계	100	100	

Ⅲ. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구과제를 수행하면서 수경재배 인삼 발효물의 인지능력 개선 효과에 대해 다양한 방법으로 실험을 수행하여 그 기능성을 검증함. 수경재배 인삼 발효물과 발효에 이용된 *L. lactis* KC24의 기능성 소재로서의 가능성을 통해 캡슐 형태의 제품을 생산하였으며 이 제품이 경쟁력을 확보할 수 있도록 다양한 유통, 판매전략을 수립함.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

인지능력 개선 식품 활용을 위한 소비자 관점의 연구가 한정적인 상황임. 수경재배 인삼의 포스트바이오틱스를 활용한 인지능력 개선 식품 소비자 관점의 연구는 학술적으로 기여하는 바가 크며 논문 및 학술발표에 활용하여 관련 연구 분야에서 선도적 역할을 기대할 수 있음. 본 연구를 통해 impact factor 6.3의 논문 1건을 달성하였고, 기존 목표인 학술발표 2건을 초과하여 7건의 국내외 학술발표를 통해 연구에 이용된 수경재배 인삼 발효물에 대한 우수성을 알림.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

본 연구를 통해 기존 수삼을 대체하는 수경재배 인삼의 기능성에 관한 연구를 진행함. 향후 인지능력 개선 효과와 더불어 항염 효과, 면역 증진 효과, 항암 효과에 관한 추가 연구가 진행된다면, 산업적인 활용도가 극대화될 수 있음.

Ⅳ. 보안성 검토

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

2. 연구개발기관 자체의 검토결과

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	□자유응모과제 ■지정공모과제		분 야	식품/식품영양/기능성식품
연 구 과 제 명	사이코바이오틱스에 의한 수경재배 인삼의 발효시스템 확립 및 인지능력 개선 기능성 소재의 산업화			
주관연구개발기관	건국대학교 산학협력단		주관연구책임자	백현동
연 구 개 발 비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	528,000,000	179,000,000		707,000,000
연구개발기간	2020. 04. 29. - 2021. 12. 31. (21개월)			
주요활용유형	■산업체이전 □교육 및 지도 □정책자료 □기타( ) □미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 동물실험을 통한 프로바이오틱스 및 수경재배 인삼의 인지능력 개선 활성 검증	신경세포(SK-N-SH)와 노화촉진 마우스 인지능력 결손 모델에서 다양한 인지 기능성 관련 인자를 확인함.
② 사이코바이오틱스에 의한 발효 수경재배 인삼 소재 개발 및 기능성 검증	수경재배 인삼의 발효조건을 확립하고 다양한 실험법을 통해 항산화능을 검증함.
③ 발효물의 산업화를 위한 제조법 설정	수경재배 인삼 발효의 최적 조건을 확립함.
④ 제품에서의 인지능력 개선 유효성 검증	신경세포(SH-SY5Y)에서 발효물의 신경보호 효과와 관련 인자를 확인함.
⑤ 동물모델을 통한 수경재배 인삼 발효물 및 시제품의 인지능력 개선 활성 검증	시제품의 동물실험에서는 인지 기능성 관련 인자를 확인함.
⑥ 인지능력 개선에 대한 개발제품의 산업화	수경재배 인삼을 활용한 제품의 유통, 판매 전략을 수립함.

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과목표		사업화지표												연구기반지표									
		지식재산권				기술실시(이전)		사업화					기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책활용·홍보		기타(타연구활용등)
														논문								
		특허출원	특허등록	품종등록	SMART평균득급	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		SCI	비SCI	논문평균IF	학술발표			정책활용	홍보전시	
단위		건	건	건		건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건		건		명	건	건	
가중치		20	0			10	10	20	0	0	10					0	20		10			
최종목표		3	0			1	10	1	0	0	2			1		1.3	2		1			
당해년도	목표	2				1	10	1			1			1		1.3	1		1			
	실적	2				1	10	1			2			1		6.3	4		2			
달성률(%)		100				100	100	100			100			100		100	100		100			

4. 핵심기술

구분	핵 심 기 술 명
①	락토코커스 락티스 KC24 균주를 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 조성물
②	유산균 발효 수경재배 인삼 추출물의 신경질환 예방 또는 치료용 조성물
③	프로바이오틱스의 안정성을 향상시킨 인삼 발효 포스트바이오틱스 함유 조성물

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계최초	국내최초	외국기술복제	외국기술소화·흡수	외국기술개선·개량	특허출원	산업체이전(상품화)	현장애로해결	정책자료	기타
①의 기술	√	√				√				
②의 기술	√	√				√				
③의 기술	√	√				√				
· ·										

* 각 해당란에 √ 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	유산균을 이용한 퇴행성 신경질환 예방 및 치료용 조성물 제작에 사용
②의 기술	수경재배 인삼 발효물을 이용한 신경질환 예방 및 치료용 조성물 제작에 사용
③의 기술	인삼 발효 포스트바이오틱스 함유 조성물 제조에 이용

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과목표	사업화지표												연구기반지표								
	지식재산권				기술실시(이전)		사업화					기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책활용·홍보		기타(타연구활용등)
													논문								
	특허출원	특허등록	품종등록	SMART평균등급	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		SCI	비SCI	논문평균IF	학술발표			정책활용	홍보전시	
단위	건	건	건		건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건		건		명	건	건	
가중치	20	0			10	10	20	0	0	10					0	20		10			
최종목표	3	0			1	10	1	0	0	2			1		1.3	2		1			
연구기간내 달성실적	3				1	10	2			2			1		6.3	7		6			
연구종료후 성과창출 계획	1	2					1	1,500	220	3			1		1.3	1		0			

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명[1]	사이코바이오틱스(*Lactococcus lactis* KC24)를 이용한 인지능력 개선 기능성 소재의 산업화		
이전형태	□무상 ■유상	기술료 예정액	10,000 천원
이전방식[2]	□소유권이전 ■전용실시권 □통상실시권 □협의결정 □기타( )		
이전소요기간		실용화예상시기[3]	2022년
기술이전시 선행조건[4]			

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) 기술이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 유용농생명자원산업화 기술개발사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 유용농생명자원산업화 기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.