

발간등록번호

11-1543000-001279-01

친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 제조 장치 개발을
통한 고부가가치 건강기능식품 생산

(High-value functional food production through the
development of environmentally friendly non-alcoholic,
water-soluble propolis manufacturing equipment)

유니크바이오텍주식회사

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 제조 장치 개발을 통한 고부가가치 건강기능식품 생산” 과제의 보고서로 제출합니다.

2016년 1월 31일

주관연구기관명 : 유니크바이오텍(주)

주관연구책임자 : 허 용 갑

세부연구책임자 : 허 용 갑

연 구 원 : 권 순 선

요 약 문

I. 제 목

친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 제조 장치 개발을 통한 고부가가치 건강기능식품 생산

II. 연구성과 목표 대비 실적

연구목표	연구성과실적	결과물
친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법 확립	‘친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법 확립’ 완성	특허등록, 인허가(제조)
친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 Pilot 제조장치 제작	‘친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 Pilot 제조장치 제작’ 완성	제조장치 설계, 제작, 도입, 설치
친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산	건강기능식품공정 적합성 평가	공인시험성적, 인허가(품목제조)
	항산화, 항균효과 비교 평가	평가보고서
	제품 가격경쟁력 확보	출시가격 비교

III. 연구개발의 목적 및 필요성

천연 소재 중 항균기능과 항산화 기능을 동시에 가지고 있는 프로폴리스를 가장 효과적으로 인체에 섭취하는 방법은 구강에서부터 직접 접촉하면서 섭취하는 것이다.

프로폴리스는 점성이 강한 레진과 왁스 등에 생리활성 성분이 혼재된 상태로 물에는 용출이 어렵기에 대부분의 액상형 제품들이 에탄올을 이용하여 추출하여 일정한 여과를 거쳐 병입 후 판매하고 있다. 이러한 대부분의 제품들은 알콜이 잔류한다는 문제를 안고 있고 프로폴리스 추출물의 색상이 탁하여 불량하며, 프로폴리스의 향기와 맛이 만족스럽지 못하고 자극적인 맛이 나고 유화제를 다량으로 사용함으로써 유화제 특유의 역겨운

맛과 향취가 나는 문제점이 있다.

일부 수용성으로 개발된 제품들도 유화제를 다량 사용하여 소화 장애를 일으키거나 흡수율이 현저히 떨어지는 문제를 안고 있다.

이에 당사에서는 상기와 같은 문제점을 해소하면서 제조 공정상 잔류물이 남지 않아서 수율이 현저히 개선되며, 에탄올이 잔류하지 않아서 맛과 향이 부드러워지고, 또한 물에 잘 희석하여 섭취 시에 용해가 잘되며 색상이 밝고 투명하도록 한 특허기술「친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법(특허 제 10-1405511호)」을 완성하였다.

본 과제에서는 이러한 독창적인 기술인 ‘친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법’ (특허제10-1403511)을 이용하여 프로폴리스 액상 건강기능식품 제조 장치를 개발하고 이를 이용하여 건강기능식품 제품을 생산함으로써 국내외 소비자의 기호에 적합한 제품으로 국내 시장은 물론 해외 시장에서의 고부가가치를 실현하고자 한다.

IV. 연구개발 내용 및 범위

1. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 대량 제조방법 개발

① 특허 등록 기술을 적합한 대량생산 공정으로 확립(Scale-up)

2. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 제조장치 개발

① 프로폴리스 특성(물성)에 맞는 제조장치 설계

- 적합한 Mixer (Disper&Paddle Type)형태 설계

- 추출조건에 적합한 RPM, 온도, 압력 등 설정

- 적합한 진공 농축장치 설계(에탄올회수, 재사용)

② 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 Pilot 제조장치 제작

- 추출 및 교반기(Auto Vacuum Agi-Disper Mixer)제작

- 진공 농축기(Condenser)제작

- 추출, 교반, 농축 일체형 제작

3. 개발된 제조 장치를 이용한 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 시제품 제조

① 제조 공정 안정화 - 시운전 및 평가

② 수율과 유효성분 함량을 높이는 공정 개발 및 평가

4. 기존의 에탄올 추출 프로폴리스와 비교 평가

① 유효성분의 추출율과 함량 비교 평가

- 총 플라보노이드 함량 분석 및 평가

- 건강기능식품 공전 시험항목 분석 및 평가
 - ② 프로폴리스의 항산화 효과
 - 플라보노이드(Flavonoids)함량 평가
 - ③ 프로폴리스의 항균효과
 - 녹농균, 대장균에 대한 항균효과 평가
5. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산
- ① 건강기능식품 공전 기준에 의거 공인시험 기관 평가
 - ② 건강기능식품 공전 기준에 적합한 프로폴리스 건강기능식품 생산

V. 연구개발결과

1. 「친환경 무알콜 수용성 프로폴리스의 제조방법」 기술 확보

연구목표	연구개발결과
「친환경 무알콜 수용성 프로폴리스의 제조방법」 확립	시제품 제조하여 식품의약품안전처 지정 공인시험성적기관 실험결과 건강기능식품 품목 기준규격 적합평가 (결과:한국건강기능식품협회 기능성식품연구원 시험성적서)

2. 「친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 Pilot 제조장치」 제작

연구목표	연구개발결과
「친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 Pilot 제조장치」 제작	- 적합한 기계장치 설계 - 최적의 Mixer, RPM, 온도, 압력, 농축장치, 여과장치 도출 - 시운전 및 시생산 평가

3. 「친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산」 실현

연구목표	연구개발결과
「친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산」 실현	- 건강기능식품 공전기준규격 적합성 평가 - 수율 10% 이상 향상 - 총 플라보노이드 2.0% 이상 - 항산화지표 10% 이상 향상 - 항균효과 10% 이상 향상 - 가격 30~50% 저렴한 제품 출시

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

확보된 기술인 “특허 제10-1403511호” (친환경 무알콜 수용성 프로폴리스의 제조방법)를 원천기술로 활용하여 프로폴리스 건강기능식품 2종(팅크제, 스포이드제)과 바이오산업용 소재 등을 개발하고자 한다.

1. 상품화 방안

- 섭취 기호성이 좋은 티크제와 스포이드형 건강기능식품 출시
- 무알콜, 수용성으로 해외 수출 품목 개발(특히, 이슬람 문화권 우선 공략 가능)
- 식품첨가물로 활용 (우유, 과자, 음료 등)
- 향취가 부드럽고, 색상이 안정되어 화장품 소재로 활용
- 향균력이 필요한 생활용품의 소재로 활용(치약, 비누, 샴푸, 티슈, 손세정제 등)
- 가축용 약품, 사료첨가제, 양어용 약품, 사료 첨가제 등에 활용

2. 사업화 방안

- 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 추출물은 기존의 에탄올추출(알콜함유 추출물) 프로폴리스에 비해 왁스와 레진이 완전히 제거되고 향취가 부드러워 소재로서의 적용분야 다양
- 기존 수용성 표방 제품보다(30ml, 8만원) 30%~50% 저렴한 가격으로 가격 경쟁력 확보
- 기 확보된 건강기능식품 전문판매업체 3곳을 판매 중심으로 시장 확장

목 차

- 제 1 장 연구개발의 필요성 - 8
- 제 2 장 연구개발 목표 및 내용 - 11
 - 1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용 - 11
 - 1) 최종목표 - 11
 - 2) 주요내용 - 11
 - 2. 연차별 연구개발의 목표 및 내용 - 13
 - 3. 평가의 착안점 및 기준 - 14
 - 4. 연구개발의 추진전략 방법 및 추진체계 - 15
 - 1) 연구개발의 추진 전략 방법 - 15
 - 2) 연구개발의 추진체계 - 16
- 제 3 장 연구개발결과의 활용방안 및 기대성과 - 17
 - 1. 활용방안 - 17
 - 2. 기대성과 - 17
 - 3. 기존 기술과 차별성 및 경쟁력 - 17
 - 4. 국내외 기술수준 현황 - 18
 - 5. 사업화전략 - 18
 - 6. 연구개발 결과의 성과 및 활용목표 - 19
- 제 4 장 연구개발 수행 내용 및 결과 - 20
 - 1. 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 제조방법 확립 및 평가 - 20
 - 1) 제조방법 - 20
 - 2) 제조공정 - 20
 - 2. 시제품 평가 - 21
 - 1) 공인시험기관 시험 성적 - 21
 - 2) 국내외 비교 제품의 플라보노이드 함량 분석 - 22
 - 3) 수용화정도 비교 평가 - 23

4) 기호성 평가	- 25
3. 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스의 PILOT 제조 장치 제작	- 28
1) 설계도 제작	- 28
2) 기계장치 제작	- 32
3) 시운전 평가	- 34
4. 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산	- 36
1) 건강기능식품 공전 기준규격 평가	- 36
가. 수율비교평가	-36
나. 총 플라보노이드 함량 평가	- 37
다. 건강기능식품 공전 규격 기준 평가	- 37
2) 기능성 평가	- 39
가. 항산화평가	- 39
나. 항균효과 평가	- 44
3) 가격 경쟁력 평가	- 47
제 5 장 연구결과 성과 활용계획	- 49
1. 연구 성과 활용 목표	- 49
2. 연구 성과	- 49
1) 지적재산권출원	- 49
2) 논문발표	- 51
3) 학술발표	- 57
4) 기술거래	- 58
5) 사업화	- 58
6) 기술인증	- 59
7) 홍보, 전시	- 60
8) 수상실적	- 65
3. 향후 연구 성과 활용 계획	- 66
1) 상품화 방안	- 66
2) 사업화 방안	- 66
3) 후속 연구 진행	- 66

제 1 장 연구개발의 필요성

2000년 이후 우리의 삶에 불어 닥친 웰빙 문화 확산에 힘입어 자연친화적인 소재들이 인기를 끌면서 내성이 없으며 항균작용과 항산화작용을 동시에 갖는 천연항생물질인 프로폴리스가 각광을 받고 있다.

프로폴리스(Propolis)는 꿀벌이 식물로부터 수지(resin)를 수집하여 자신이 분비한 타액과 왁스를 혼합하여 만든 물질로서 식물성 수지, 왁스, 정유, 화분, 플라보노이드 및 기타 유기물과 미네랄 등으로 구성되어 있다. 프로폴리스의 주요한 작용은 항균·항염증 작용, 진통·마취작용, 면역작용, 항산화작용, 항바이러스작용, 항암작용 등 생체 면역기능 활성화 작용과 같은 다양한 생리활성 기능가지고 있으며, 이는 함유된 식물 유래의 페놀성 화합물인 플라보노이드에 기인한다고 보고되고 있다.

2012년 식품의약품안전처가 발표한 건강기능식품 통계자료에 따르면 프로폴리스의 시장 규모는 119억 정도로 이중 절반 이상이 수입완제품인데 이렇게 된 이유는 국내에서 소비자의 취향에 맞게 가공하는 기술이 아직 부족하다는데서 기인한다고 분석된다.

최근의 식품 또는 건강기능식품의 트렌드는 까다로운 소비자의 취향에 누가 더 부합하느냐의 무한경쟁 시대에 들어선지 이미 오래이다. 프로폴리스는 식품의약품안전처가 고시한 ‘고시형 건강기능식품’으로서 그 기능성내용으로는 ‘구강내 항균작용’과 ‘항산화작용’을 고시하고 있다. 또한 단서조항에서, ‘구강내 항균작용’은 ‘구강에 직접 접촉 할 수 있는 형태’로 제한하고 있다. 이는 프로폴리스를 섭취하는 형태는 구강에 직접 접촉 할 수 있는 액체상태가 결국 가장 효과적인 제품형태임을 반증하는 것이다.

한편, 2014년 8월 한국과학기술정보연구원에서 발표한 ‘프로폴리스관련 시장분석 보고서’에 따르면 프로폴리스의 세계시장규모는 2013년 기준 4억6천만달러로 연평균 11.1%의 성장을 보이고 있어 2018년에는 8억달러 규모로 성장 할 것으로 예측하고 있으며 국내는 2008년 이후로 연평균 32.28% 성장하고 있어 2020년에는 1400억원의 규모가 될 것으로 예측하고 있다.

국내 및 해외에서 유통되고 액상 프로폴리스 제품은 90% 이상이 에탄올로 추출하여 병에 담은 제품들로 물에 희석하여 섭취할 때 희뿌옇게 현탁이 되며 상층부에 왁스 층이 형성되고 향취가 강해서 일반 소비자들이 섭취하기를 꺼려 온 게 사실 이다. 이를 극복

하고자하는 많은 노력들이 있어왔으나 아직 액상 프로폴리스 섭취 시 소비자들이 가장 불편해하는 쓴맛을 순화하는 기술에는 도달하지 못하고 있다. 또한 이를 극복하고자 다양한 첨가제를 사용하는 일부 기술도 있으나 이는 프로폴리스를 섭취하기 위해 불필요하게 식품 첨가물을 함께 섭취해야하는 문제를 안고 있어 논란의 여지가 많다. 이러한 기술로 개발된 제품들은 흡수율을 떨어뜨리고 일부는 소화 장애를 일으키기도 한다.

또한 물로 추출한 것은 프로폴리스의 유효성분인 플라보노이드 함량이 대략 0.2% 정도로 낮아서 프로폴리스 본래의 기능인 항균작용 및 항산화작용이 거의 발휘되지 않고 있다.

국내외에서 특허 등록된 프로폴리스추출 관련 기술을 살펴보면, 방금석 등은 국내공개특허 공개번호 제10-1997-0039866호에서 리파아제, 솔비톨, 주정을 이용하여 액화시킨 프로폴리스 추출물의 제조방법을 개시하고 있으며, 유한양행은 국내공개특허 공개번호 10-1992-0014532호에서 수용성화하기 어려운 프로폴리스의 추출물을 싸이클로덱스트린을 첨가하여 수용성을 높인 프로폴리스 추출물의 제조방법을 개시하고 있으며, 국내특허 제90-7005호에는 에탄올을 사용하여 프로폴리스 추출물을 제조하고 이를 봉밀향으로 사용하는 방법이 제시되어 있고, 고려인삼연구소에서는 국내공개특허 10-1998-0022075에서 폴리솔베이트, 레시틴을 첨가하여 용해도를 높인 프로폴리스 추출물의 제조방법을 개시하고 있다. 또한 일본특허공개공보 제 2001-275587호에는 저온에서 원적외선을 이용하여 프로폴리스 원액을 추출 및 제조하는 방법을 개시하고 있다.

상기와 같은 기술들은 알콜이 잔류한다는 문제를 안고 있고 프로폴리스 추출물의 색상이 탁하여 불량하며, 프로폴리스의 향기와 맛이 만족스럽지 못하고 자극적인 맛이 나고 유화제를 다량으로 사용함으로써 유화제 특유의 역겨운 맛과 향취가 나는 문제점이 있다.

이에 상기와 같은 문제점을 해소하면서 제조 공정상 잔류물이 남지 않아서 수율이 현저히 개선되며, 에탄올이 잔류하지 않아서 맛과 향이 부드러워지고, 또한 물에 잘 희석하여 섭취 시에 용해가 잘되며 색상이 밝고 투명한 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법을 완성하게 되었다. 또한 생리활성성분인 총 플라보노이드 함량이 증가하고 항균 및 항산화 효과가 있음을 확인하고 기술을 완성하여 특허를 출원하여 등록받았으므로 관련 유사기술은 없다고 할 수 있으며 독창적인 기술이라 할 수 있다.

본 과제에서는 이러한 독창적인 기술인 ‘친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법’ (특허제10-1403511)을 이용하여 프로폴리스 액상 건강기능식품 제조 장치를 개발하고 이를 이용하여 제품을 생산함으로써 국내외 소비자의 기호에 적합한 제품으로 국내 시장은 물론 해외 시장에서의 고부가가치를 실현하고자 한다.

제 2 장 연구개발 목표 및 내용

1. 연구개발의 최종 목표 및 주요 내용

1) 최종목표

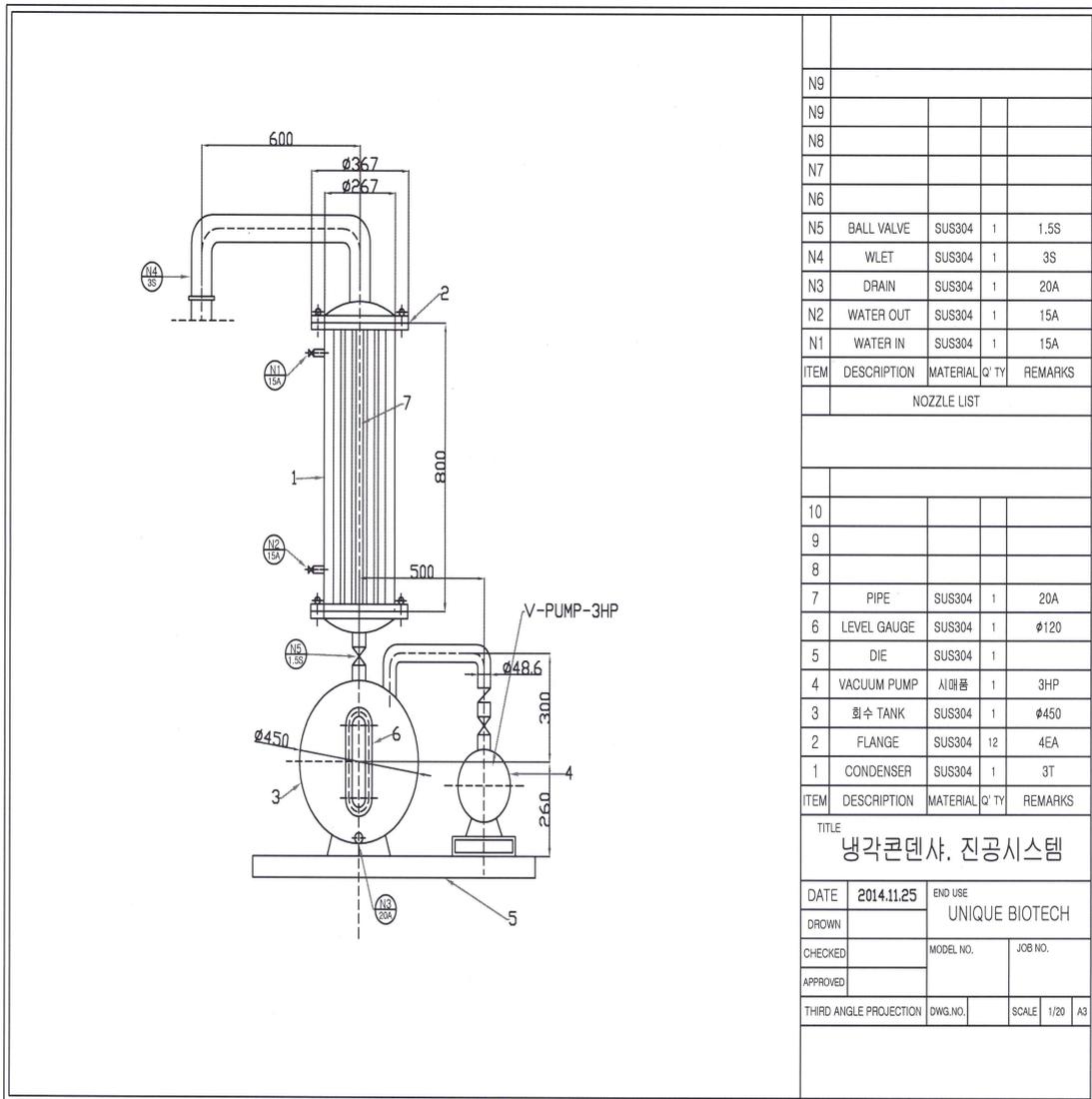
친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스를 대량으로 생산할 수 있는 제조 장치의 설계 및 제작과 이를 이용한 건강기능식품 생산

2) 주요내용

- (1) 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 대량 제조방법 개발
 - ① 특허 등록 기술을 적합한 대량생산 공정으로 확립(Scale-up)
- (2) 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 제조장치 개발
 - ① 프로폴리스 특성(물성)에 맞는 제조장치 설계
 - 적합한 Mixer (Disper&Paddle Type)형태 설계
 - 추출조건에 적합한 RPM, 온도, 압력 등 설정
 - 적합한 진공 농축장치 설계(에탄올회수, 재사용)
〈그림1〉 “진공 농축시스템 설계도” 참조.
 - 적합한 여과장치 설계
 - ② 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 Pilot 제조장치 제작
 - 추출 및 교반기(Auto Vacuum Agi-Disper Mixer)제작
 - 진공 농축기(Condenser)제작
 - 추출, 교반, 농축 일체형 제작
- (3) 개발된 제조 장치를 이용한 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 시제품 제조
 - ① 제조 공정 안정화 - 시운전 및 평가
 - ② 수율과 유효성분 함량을 높이는 공정 개발 및 평가
- (4) 기존의 에탄올 추출 프로폴리스와 비교 평가
 - ① 유효성분의 추출율과 함량 비교 평가
 - 총 플라보노이드 함량 분석 및 평가
 - 건강기능식품 공전 시험항목 분석 및 평가
 - ② 프로폴리스의 항산화 효과

- 플라보노이드 함량, DPPH 억제 효과 평가
- ③ 프로폴리스의 항균효과
 - 대장균에 대한 항균효과 평가
- (5) 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산
 - ① 건강기능식품 공전 기준에 의거 공인시험 기관 평가
 - ② 건강기능식품 공전 기준에 적합한 프로폴리스 건강기능식품 생산

<그림1> “진공 농축시스템 설계도”



2. 연차별 연구개발의 목표 및 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도	2014년 - 2015년	목표1. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 대량 제조방법 개발	- 대량생산(scale-up) 적합 공정 확립
		목표2. 프로폴리스 특성(물성)에 맞는 제조장치 설계	- 최적의 Mixer type 설계 - 최적의 RPM, 온도, 압력 등 설정 - 최적의 농축장치 설계(에탄올회수) - 최적의 여과장치 설계
		목표3. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 Pilot 제조장치 제작	- 추출 및 교반기 제작 - 진공농축기(Condenser)제작 - 추출, 교반, 농축 일체형으로 제작 (One-stop제조장치)
		목표4. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 시제품 제조	① 유효성분의 추출율과 함량 비교 평가 - 수율 평가 - 총 플라보노이드 함량 분석 - 건강기능식품 공전 시험항목 분석 ② 프로폴리스의 항산화 효과 - DPPH 억제 효과 평가 ③ 프로폴리스의 항균효과 - 병원성 균종(대장균)에 대한 항균 효과 평가
		목표5. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산	- 건강기능식품 공전 기준에 의거 공인시험 기관 평가

3. 평가의 착안점 및 기준

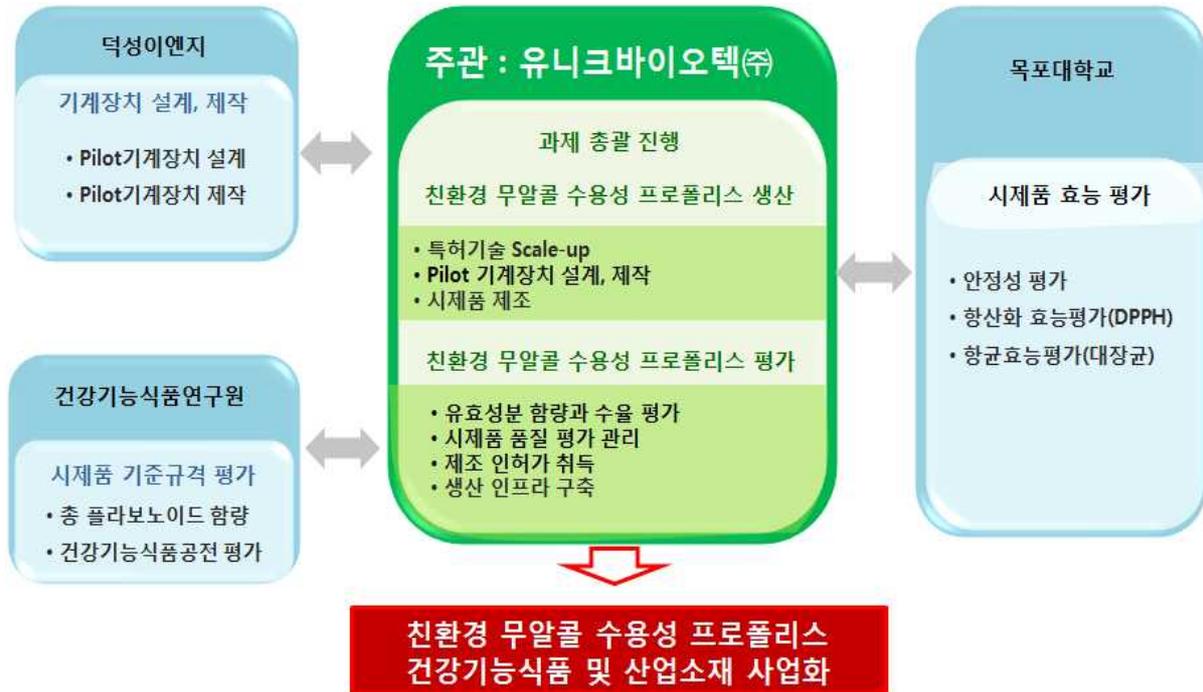
평가항목	비교기준	최종개발목표	가중치	평가(측정)방법
1. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법	-국내외5종	- 무알콜	10%	- 공인기관 시험성적
	-국내외5종	- 수용화		- 기존제품과 비교 평가 (물 용해도 및 색상 관능평가)
2. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 Pilot 제조장치 제작	-확정 제시된 기계장치 설계도	- Mixer 장치	50%	- 설계비교평가 및 시운전 평가후 시험성적
		- RPM, 온도, 압력		
		- 농축장치		
		- 여과장치		
3. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산	건강기능식품 공전기준규격	- 수율10%이상향상	40%	- 기존 수계분산제제와 비교 평가
		- 총 플라보노이드 2.0% 이상		- 공인시험기관 시험의뢰 공인시험성적서
	수계분산제품	- 건강기능식품 공전 기준규격 평가		- 제3의 연구기관 시험의뢰 평가
		-항산화지표10% 이상 향상		- 자체비교
	수계분산제품	- 항균효과 10% 이상 향상		
		수계분산제품		가격 30~50% 저렴한 제품 출시

4. 연구개발의 추진전략 · 방법 및 추진체계

1) 연구개발의 추진전략 · 방법

세부개발내용(1차년도)	수행기관	역할 및 추진방법
<p>1. 수용성 프로폴리스 제조 장치 개발</p> <p>① 프로폴리스 특성(강도 및 점도)에 맞는 제조 장치 설계</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mixer(Disper&Impeller) - RPM설정 - 농축장치 - 여과장치 	주관기관 협력기관	<ul style="list-style-type: none"> - 최적의 Mixer 형태 설계 및 실험 (Disper깊이, Impeller사이즈) - 교반, 추출조건 최적 RPM 도출 - 수율높이고 유효성분 손실을 방지위해 One-stop 시스템으로 설계 - 에탄올 회수 100% 설계 - 필터, 압력 조건 설계
<p>② 수용성 프로폴리스 Pilot제조장치 제작</p> <ul style="list-style-type: none"> - Auto Vacuum Agi-Disper Mixer - Condenser - 여과장치 	협력기관	<ul style="list-style-type: none"> - 설계에 부합하는 기계장치 제작
<p>2. 개발된 제조 장치를 이용한 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 시제품 제조</p> <p>① 효과적인 대량생산 공정 확립</p> <p>② 수율과 유효성분 함량을 높이는 공정 개발</p>	주관기관	<ul style="list-style-type: none"> - Scale-up 시연 및 평가 반복 - 최적의 대량생산공정 확립 - 수율평가, 유효성분 평가 반복으로 최적의 생산공정 확립
<p>3. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 건강기능식품 평가</p> <p>① 유효성분의 추출율과 함량 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> - 플라보노이드 함량 평가 - 건강기능식품 공전 규격기준 평가 <p>② 프로폴리스의 항산화 효과 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> - 지질과산화 정도 억제 효과 <p>③ 프로폴리스의 항균효과 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> - 병원균(대장균) 억제 효과 	주관기관	<ul style="list-style-type: none"> - 공인시험기관 의뢰 평가 (건강기능식품연구원) - 공인시험기관 의뢰 평가 - 제3 기관 시험의뢰하여 평가 - 제3 기관 시험의뢰하여 평가
<p>4. 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산</p>	주관기관	<ul style="list-style-type: none"> - 식품의약품안전처 인허가 - 품목신고

2) 연구개발의 추진체계



제 3 장 연구개발결과의 활용방안 및 기대성과

1. 활용방안

- 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 추출물은 기존의 에탄올추출(알콜함유 추출물) 프로폴리스에 비해 왁스와 레진이 완전히 제거되고 향취가 부드러워 소재로서 적용
- 섭취 기호성이 좋은 액상형 건강기능식품 출시
- 무알콜, 수용성으로 해외 판로 개척 가능(특히, 이슬람 문화권 우선 공략 가능)
- 식품첨가물로 활용 (우유, 과자, 음료 등)
- 향취가 부드럽고, 색상이 안정되어 화장품 소재로 활용
- 향균력이 필요한 생활용품의 소재로 활용(치약, 비누, 샴푸, 티슈, 손세정제 등)
- 가축용 약품, 사료첨가제, 양어용 약품, 사료 첨가제 등에 활용

2. 기대성과

- 이미 자체적으로 개발하여 특허 등록한 기술을 활용하는 과제로 실용화가 빠르게 진행
- 프로폴리스 분야에서 다양한 경험이 축적되어 시행착오 가능성 없음
- 기존의 에탄올추출에 의한 제품과 일부 수용화 제품보다 수율, 플라보노이드 함량이 높아 경제적 우위성을 가짐
- 기존 수용성 제품보다 가격경쟁력 있는 친환경 무알콜, 수용성 제품으로 산업 활성화
- 최초의 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 추출, 가공 기술의 모델정립
- 향후 기술수출 및 Plant수출 가능
- 프로폴리스의 수요증대 및 생산성 향상으로 양봉농가소득 증대
- 수입대체효과 및 외화절감효과에 기여
- 수용성 프로폴리스로 인한 고부가가치 창출

3. 기존 기술과 차별성 및 경쟁력

- 에탄올 잔류 제품에 비해서 친환경 무알콜 수용성 제품은 섭취 시 향취, 색상, 맛 등의 기호성이 우수하며 에탄올잔류 제품은 부유물(왁스 또는 레진)이 생성되어 혐오감을 주거나 컵을 세척 할 때 알

콜로 세척해야 만하는 불편함 등이 있다. 반면, 친환경 무알콜 수용성 제품은 물로 가볍게 헹거주기만 하면 된다.

- 또한 에탄올추출프로폴리스는 다른 소재와 혼합 할 경우 왁스나 레진이 생성되고 향취가 강하고 일정 시간 경과 시 산화로 인한 색상변화를 일으켜 소재로서 활용하기에는 한계를 가지고 있다. 반면, 친환경 무알콜 수용성 제품은 이러한 문제를 해결하였기 때문에 다양한 바이오 산업소재로서 활용도가 높다.
- 따라서 과제종료 후 즉시 실용화가 가능하며 동남아 국가 등에 국제 특허출원하여 해외 진출도 충분히 가능하다.

4. 국내외 기술수준 현황

- 지구상에 존재하는 프로폴리스(액상형) 건강(기능)식품은 90% 이상이 에탄올로 추출한 후 에탄올이 70%정도 잔류하는 제품들이다.
- 나머지 10%는 일본, 호주, 뉴질랜드 등에서 생산되는 소위 수용성 표방제품들이다. 일본에서 생산되는 제품 중 ‘수용성’ 이라고 표기된 제품을 분석해보면 무알콜이 아니고 알콜함량을 약20%까지 떨어뜨린 제품이다. 이를 일본인들은 수용성 제품이라 한다.
- 또한 뉴질랜드나 호주는 알콜대체 물질인 유화제 Propylen glycol(PG) 지방산에스테르를 사용하여 제조된 제품들로 우리나라에서는 식품에서의 PG 사용량이 최대 5.0% 이하로 제한되어있다. 그러나 뉴질랜드에서 수입되는 프로폴리스 제품들에는 PG 지방산ester가 70% 이상인 제품들이 대부분이다.

5. 사업화 전략

- 기호성(맛, 향), 기술(무알콜, 수용성), 경제(가격경쟁력), 완성도(디자인) 등 4대 경쟁력 우위요소를 집중 홍보
- 사업 당해연도에 건강기능식품 액상형 프로폴리스 제품 출시하여 사업화
- 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 추출물은 기존의 에탄올추출(알콜함유 추출물) 프로폴리스에 비해 왁스와 레진이 완전히 제거되고 향취가 부드러워 소재로서의 다양한 분야에 적용이 가능함으로 소재별 원료 개발
- 사업종료 2년차부터 화장품, 식품, 가축용 사료 첨가제 등 제품 3종 이상 사업화
- 시제품 평가 후, 양상 체제 구축
- 국내는 기 확보된 건강기능식품 전문판매업체 3곳과 온라인 2곳을 판매 중심으로 시

장 확장

- 해외는 베트남, 말레이시아, 인도네시아, 태국, 필리핀 등을 중심으로 집중공략하고 특히, 이슬람 문화권인 말레이시아와 인도네시아를 우선적으로 집중 공략.

6. 연구개발결과의 성과 및 활용목표

성과목표	지식재산권		논문		학술발표	기술거래	교육지도	사업화	기술인증	인력양성	정책활용	홍보전시	기타
	출원	등록	SCI	비SCI									
최종목표	1	1		2	2	1		2	1			1	
1차년도	1			1	1	1		1	1			1	
2차년도													
3차년도													
4차년도													
5차년도													
소 계	1			1	1	1		1	1			1	
종료 1차년도													
종료 2차년도		1		1	1			1				1	
종료 3차년도													
종료 4차년도													
종료 5차년도													
소 계		1		1	1			1				1	
합 계	1	1		2	2	1		2	1			1	

* 단계별 연구 성과 목표는 향후 중간/최종/추적평가 등의 정량적 평가지표로 활용됨.

** 연구 성과는 연구개발계획에 맞춰 도출하고 예시와 같이 작성.

제 4 장 연구개발 수행 내용 및 결과

1. 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 제조방법 확립 및 평가

1) 제조방법

천연 소재 중 항균기능과 항산화 기능을 동시에 가지고 있는 프로폴리스를 가장 효과적으로 인체에 섭취하는 방법은 구강에서부터 직접 접촉하면서 섭취하는 것이다.

프로폴리스는 점성이 강한 레진과 왁스 등에 생리활성 성분이 혼재된 상태로 물에는 용출이 어렵기에 대부분의 액상형 제품들이 에탄올을 이용하여 추출하여 일정한 여과를 거쳐 병입 후 판매하고 있다. 이러한 대부분의 제품들은 알콜이 잔류한다는 문제를 안고 있고 프로폴리스 추출물의 색상이 탁하여 불량하며, 프로폴리스의 향기와 맛이 만족스럽지 못하고 자극적인 맛이 나고 유화제를 다량으로 사용함으로써 유화제 특유의 역겨운 맛과 향취가 나는 문제점이 있어왔다.

일부 수용성으로 개발된 제품들도 유화제를 다량 사용하여 소화 장애를 일으키거나 흡수율이 현저히 떨어지는 문제를 안고 있다.

이에 당사에서는 상기와 같은 문제점을 해소하면서 제조 공정상 잔류물이 남지 않아서 수율이 현저히 개선되며, 에탄올이 잔류하지 않아서 맛과 향이 부드러워지고, 또한 물에 잘 희석하여 섭취 시에 용해가 잘되며 색상이 밝고 투명하도록 한 특허기술「친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법(특허 제 10-1405511호)」을 개발하였다.

본 과제에서는 이러한 독창적인 기술인 ‘친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법’ (특허제10-1403511)을 이용하여 양산체제로 가기 전단계로 프로폴리스 액상 건강기능식품 시험생산(Pilot)제조 장치를 개발하고 이를 이용하여 건강기능식품 시제품을 생산하는 공정을 확립하고자 하였다.

2) 제조공정

친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조공정은 채취한 프로폴리스의 이물질 및 왁스를 제거하는 단계, 에탄올 추출하는 단계, 농축 및 수용화 단계 등으로 이루어지며 최종적으로 에탄올이 잔류하지 않는 수용화된 프로폴리스를 제조하는 공정이다. 본 공정은 기존 프로폴리스추출방식의 문제점을 해결하고, 종래의 기술을 보완하여 프로폴리스에서

이물질과 왁스 등 부유물질들을 완전히 제거하고 추출 및 농축을 한 후, 친환경소재 L-아르기닌을 이용하여 수용화 하는 단계를 거치는 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스의 제조방법을 확립하는 것으로 아래와 같이 구성된다.

- ① 원료의 구입 및 선별 : 원료는 건강기능식품의 제조기준 및 규격에 적합한 원료를 선별
- ② 칭량 : 각 원료를 칭량
- ③ 추출 : ㉠ 프로폴리스와 정제수를 투입하고 교반한 후, 정치하며 왁스 제거
 ㉡ ㉠에 에탄올을 투입하여 추출한 후 농축
- ④ 혼 합 : ㉠ 정제수를 넣고 교반·용해한 후 주정을 회수
 ㉢ 진공을 가하며 수용화하고 안정화
- ⑤ 여과
- ⑥ 자가 품질 검사 실시
- ⑦ 충전 : 검사 결과 적합한 경우 식품용기로 적합한 용기에 내용물을 정량 충전
- ⑧ 자가품질검사 : 포장 완료된 제품을 제품의 기준 및 규격에 따라 자가품질검사[성상, 총플라보노이드, 파라(ρ)-쿠마르산, 계피산, 납, 디에틸렌글리콜, 테트라싸이클린, 클로로테트라싸이클린, 대장균군]실시
- ⑨ 보관 및 출하 : 자가품질검사결과 적합품에 한하여 보관 및 출하

2. 시제품 평가

1) 공인기관 시험성적

식약처 공인 건강기능식품시험기관인 한국건강기능식품연구원에 총 9건의 시료를 건강기능식품으로서 시험을 의뢰하여 다음의 결과를 얻었다. 그 내용은 <표1>과 같다.

건강기능식품공전에 규정된 프로폴리스가 건강기능식품으로서 적합여부를 검사하는 항목과 기준은 세균수(100이하/ml), 계피산(확인), 납(5.0이하,mg/kg), 대장균군(음성), 디에틸렌글리콜(불검출,mg/kg), 성상(고유의 색택과 향미를 가지며 이미,이취가 없어야 한다), 클로르테트라싸이클린(불검출,mg/kg), 테트라싸이클린(불검출,mg/kg), 파라(ρ)-쿠마르산(확인), 총 플라보노이드(표시량80-120%, mg/g)등 10개 항목이다.

1번은 예비 확인시험의뢰 건이며 2번은 영양성분으로 그 결과는 <표2>와 같다. 3번은

검사결과가 부적합으로 처리되었으나, 규격상의 문제가 있는 것이 아니라 플라보노이드 함량의 일일 섭취량이 표시량 보다 높게 측정이 된 결과이기 때문에 시제품으로서는 별 다른 문제가 없다고 볼 수 있다. 나머지 7번을 제외한 4~9번 의뢰 건은 건강기능식품 규격기준에 적합하여 품목제조신고를 완료하였으며 7번은 품질관리를 이유로 의뢰한 것으로 건강기능식품공전 프로폴리스추출물 규격기준에 적합판정을 받았다.

<표1> 시험성적의뢰현황 및 결과

번호	의뢰일	시료명	Total Flavonoids	결과
1	2/9	친환경 무알콜 수용성 프로폴리스	17.54mg/g	확인
2	4/20	유니크수용성프로폴리스	영양성분분석	-
3	4/20	유니크수용성프로폴리스	16.2mg/1350g	부적합
4	5/19	유니크수용성프로폴리스추출물	16.8mg/900g	적합
5	5/19	유니크프로폴리스추출물	20mg/g	적합
6	6/24	유니크수용성프로폴리스추출물120	15mg/g	적합
7	6/26	유니크수용성프로폴리스추출물400	42mg/g	적합
8	7/10	유니크수용성프로폴리스	5.6mg/0.3g	적합
9	8/26	유니크수용성프로폴리스 스프레이	16mg/8g	적합

<표2> 영양성분분석표

항 목	열량	탄수화물	조단백질	조지방	나트륨
분석치	182.03kcal/100g	15.26%	13.26%	7.55%	1.92mg/100g

2) 국내외 비교 제품의 플라보노이드 함량 분석

시제품에 대한 물 용해도 및 색상 관능평가를 하기 위하여 해외에서 수입되어 백화점에서 판매되고 있는 10종의 액상 텀크형 프로폴리스를 구입하여 플라보노이드 함량을 분석한 결과 <표3>과 같은 결과를 얻었다.

〈표3〉 프로폴리스 제품의 1차 평가

제품명	제조사(제조국)	플라보노이드 (mg/g)		수용화 정도*
		표시량	측정량	
프로폴리스 리퀴드	JINS PHARMA PTY(호주)	20.0	18.2	B
프로폴리스 팅처	COMVITA(뉴질랜드)	18.4	16.6	B
프로폴리스 리퀴드	Bee Health Limited(영국)	17.0	15.7	C
프로폴리스 리퀴드	Triton Phamaceutical(캐나다)	12.0	10.8	B
마더네스트 프로폴리스	RBK NUTRACEUTICALS(호주)	21.25	17.4	C
프로폴리스 리퀴드	D&H International Pty	21.0	17.2	C
프로폴리스 리퀴드	Nature's Laboratory(영국)	25.0	22.2	B
프로폴리스 리퀴드	Rainbow&Nature(호주)	21.25	18.2	C
프로폴리스 리퀴드	H&H Life Australia Pty(호주)	20.0	17.4	C
수용성 프로폴리스	코스맥스바이오(한국)	10.0	8.9	C

* 수용화정도; A-완전용해, 색도맑음, B- 부유물 부유물일부생성, 색도탁함, C-불완전용해, 부유물생성, 색도탁함.

3) 수용화정도 비교 평가

75ml 생수에 각 시료를 1일 섭취량 기준으로 희석하여 수용화 정도를 비교한 결과는 〈그림1〉과 같다.

이 중 제품 중 수용화정도가 B급으로 분류되는 4개사의 제품을 선별하여 본 연구에서 개발한 시제품 ‘유니크 수용성 프로폴리스’ 와 다시 물에 희석한 다음 10일 후 색상 변화를 비교 관찰하였다. 선별된 시료는 다음과 같다.

- (A) Bee Vital Propolis Liquid(영국, Nature's Laboratory ltd)
- (B) Propolis Liquid(호주, JNS Pharma P쇼 Ltd)
- (C) 유니크 수용성 프로폴리스(본 발명 기술로 제조된 제품)
- (D) Comvita Proppolis Tincture(뉴질랜드, Comvita New Zealand Ltd)
- (E) Tong Life Propolis Liquid(캐나다, Triton Pharmaceutical Ltd)

다시 75ml 생수에 각 시료를 1일 섭취량 기준으로 희석하여 관찰 후 촬영한 결과〈그림2〉와 같으며 10일 후에 관찰하고 촬영한 결과는 〈그림3〉과 같다.

희석시 1일차에 C를 제외한 A, B, D, E 제품들은 뿌옇게 현탁이 되며 색상이 탁한 반면에 C는 색상이 맑고 밝으며 프로폴리스 고유의 색상을 나타내었다.

<그림1> 물에 희석한 후 수용화 정도 평가



<그림2> 색상비교(1일차)



(A) (B) (C) (D) (E)

<그림3> 색상비교(10일차)



(A) (B) (C) (D) (E)

- (A) Bee Vital Propolis Liquid(영국, Nature's Laboratory Ltd)
- (B) Propolis Liquid(호주, JNS Pharma Pty Ltd)
- (C) 유니크 수용성 프로폴리스(본 발명 기술로 제조된 제품)
- (D) Comvita Propolis Tincture(뉴질랜드, Comvita New Zealand Ltd)
- (E) Tong Life Propolis Liquid(캐나다, Triton Pharmaceutical Ltd)

희석 후 10일후에 관찰 한 결과 C를 제외한 A,B,D,E 제품들은 레진과 왁스 등이 생성되어 침전, 부유물 생성 등이 있는 반면, C는 그 어떠한 부유물이나 침전이 생기지 않아 맑

고 깨끗하였다.

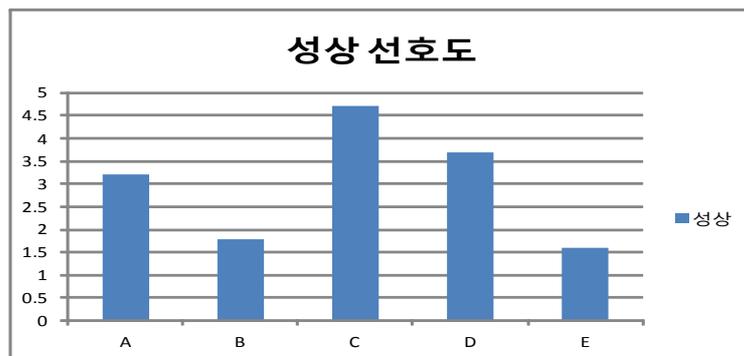
본 연구에 의한 시제품인 C는 물에 희석시 색상이 프로폴리스 고유의 황갈색으로 안정되어 맑고 밝아 투명하며 10일 후에도 그 어떠한 부유물이나 침전이 발생되지 않아 기존 제품들 A,B,D,E에 비해 기호성이 우수함을 확인 할 수 있었다.

4) 기호성 평가

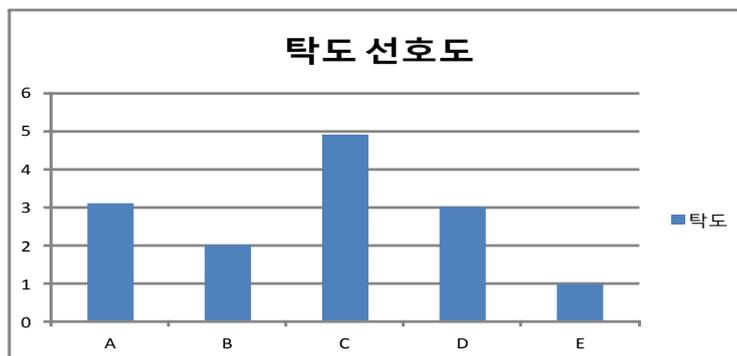
국내외 프로폴리스 제품의 선호도 조사를 통하여 제품 품질의 객관적 평가 자료를 얻고자 하였으며, 20-60대까지 각 연령대별로 10명(남여 각 5명)씩 총 50명의 불특정 일반인을 대상으로 조사하였다. 조사는 제품 선호도, 탁도, 맛, 향취, 구매의사 등 5개 항목을 대상으로 하였다.

점수는 각 항목에 대하여 평가 한 후 매우만족5, 만족4, 보통3, 불만족2, 매우 불만족1 등으로 점수를 부여하여 평균 점수를 계산하였다.

투명한 유리 컵에 150ml 음용수와 각 프로폴리스 제품 1ml씩 떨어뜨려 희석한 다음 성상에 대한 선호도 조사를 실시한 결과, C>D>A>B>E순으로 선호도가 나타났다.



<그림4> 성상 선호도

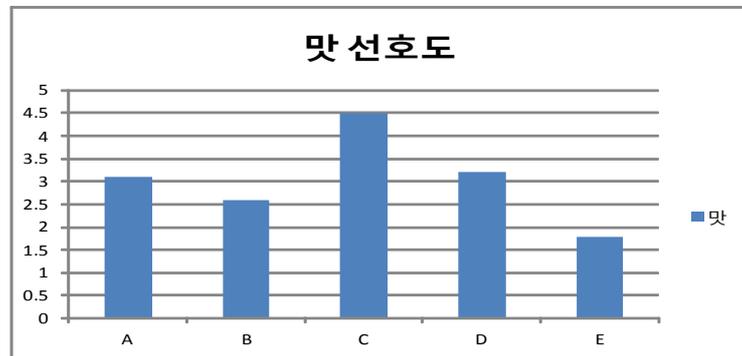


<그림5> 탁도 선호도

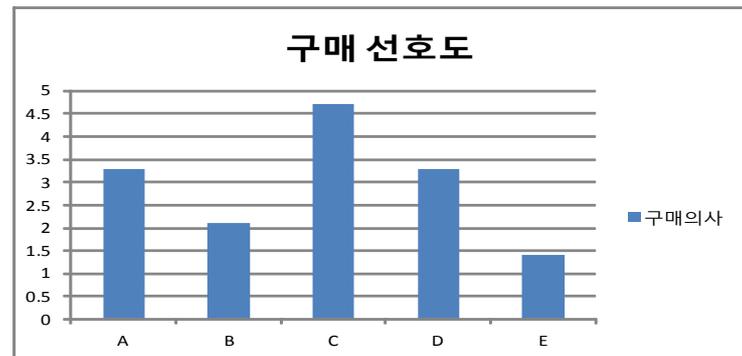
탁도, 향취, 맛에 대한 조사도 성상에 대한 조사 결과와 유사한 경향을 나타내어 C>D>A>B>E순으로 선호도가 나타났다.



<그림6> 향취 선호도



<그림7> 맛 선호도



<그림8> 구매 선호도

최종적으로 구매의사에 대한 선호도 조사를 한 결과 <그림8>과 같이 C가 가장 높은 구매 의사를 보였으며 추후 선호도 조사 대상을 확대하여 제품 간 비교를 통해 본 제품의 마케팅 자료를 확보할 필요가 있을 것으로 생각된다.

결론적으로 본 연구를 통하여 개발한 시제품인 C가 색상, 탁도, 향취, 맛 그리고 구매의사에서 가장 우수한 선호도를 나타내었다.

3. 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 PILOT 제조 장치 제작

1) 설계도 제작

확립된 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스를 제조방법은 크게 2단계로 구성된다. 1단계는 프로폴리스 원재료를 에탄올로 추출하는 단계로 레진과 왁스를 제거하고 생리활성물질을 추출하고 불필요하거나 인체에 해로운 물질을 제거하는 작업 등이 포함된다. 2단계에서는 추출된 프로폴리스에서 에탄올을 완전히 제거, 회수하여 수용화하면서 건강기능식품 공전 규격기준에 적합하게 완성하는 것으로 이루어진다.

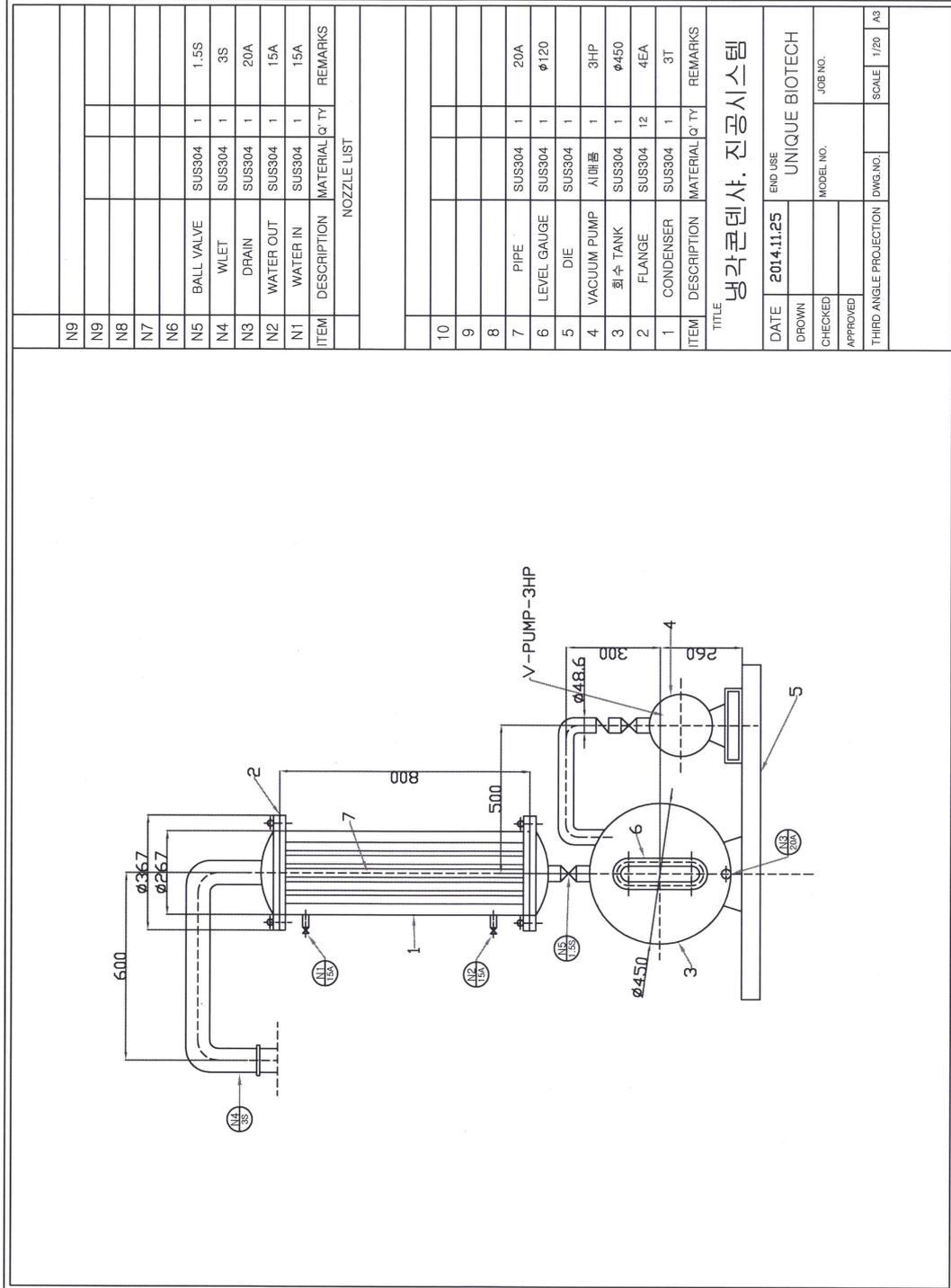
친환경 무알콜 수용성 프로폴리스를 제조하는 기계장치의 설계는 추출공정에서 중요한 요소들인 ①Mixer의 위치와 형태 설계 ②효율적인 추출을 최적의 RPM, 온도, 진공압력 등의 설계 ③에탄올 회수하는 냉각콘덴샤 · 진공농축시스템설계 ④ 불순물을 제거하고 순도를 높이는 여과장치설계 등 이 핵심적인 요소들이라 할 수 있다.

본 연구과제에서는 연구예산이 세 번째 요소인 「에탄올 회수하는 냉각콘덴샤 · 진공농축시스템설계」만 편성이 되어 이에 대한 부분만 한정하여 다루기로 한다.

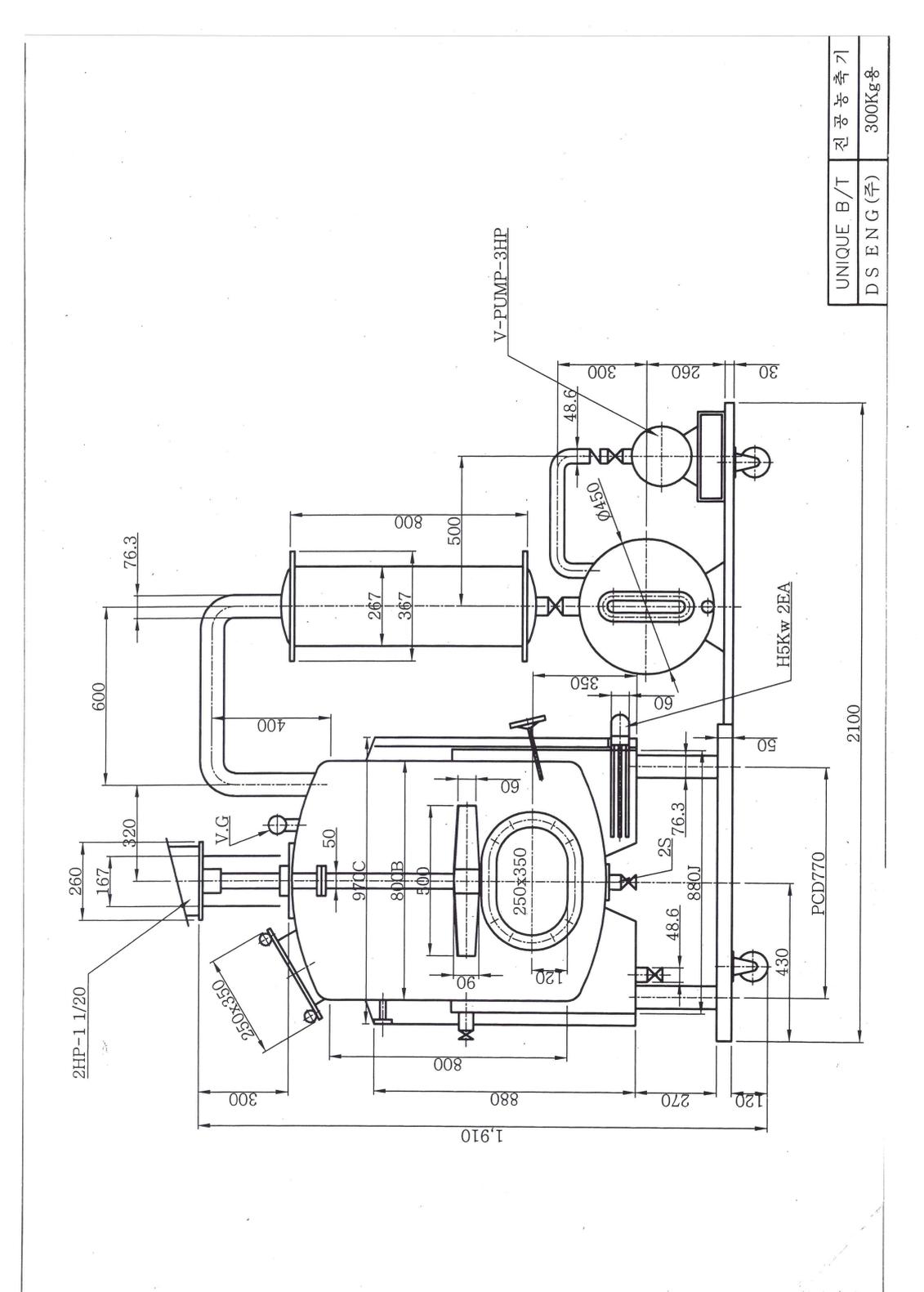
하드웨어부분에서는 Pilot 생산시설의 탱크 규모는 300리터로 하고 실제 작업량은 200리터 규모 수준에서 이루어지게 하였으며 디스펜서의 날개는 점도가 강한 프로폴리스의 물성을 감안하여 회전각도와 날개 수 그리고 바닥에서의 높이와 회전위치 등을 최적화하였다. 히팅은 탱크를 감싸는 자켓타입으로 보일러를 이용하여 온도를 높일 수 있게 고안하였고 탱크 내부의 청소를 원활하게하기 위하여 탱크 중간에 창을 만들었으며 내용물의 이송과 배출을 쉽게 하게 하기 위하여 하부를 곡면으로 처리하고 최하층 꼭지점에서 드레인이 되어 내용물이 잔류하지 않도록 설계하였다.

또한 추출공정 2단계의 에탄올 회수작업에서 활용되는 냉각콘덴샤 · 진공농축시스템은 1단계 공정 후 이송하지 않고 바로 2단계 공정으로 진입할 수 있게 일체형으로 제작하였다. 이는 이송에 따른 활성물질의 손실을 막고자함이며 동시에 작업을 효율적으로 진행하고자 함이다. 냉각콘덴샤 · 진공농축시스템은 탱크에서 1단계 추출이 완료된 프로폴리스추출물의 량과 에탄올량을 감안하여 에탄올을 완전하게 회수할 수 있게 설계하였다. 설계도는 <그림 9>와 같다.

<그림9> 냉각콘덴샤 · 진공농축시스템 설계도



<그림11> 수용성 프로폴리스 제조 장치 설계도



2) 기계장치 제작

가. 제작

<그림12> 수용성 프로폴리스 제조 장치 제작 과정



<12-1.추출·교반기 제작 >



<12-2.디스펜서·임펠러 제작>



<12-3.컨덴샤 · 농축기 제작>



<12-4.콘트롤 패널 제작>



<12-5.컨덴샤·농축시스템>



<12-6.컨덴샤·농축시스템 결합>



<12-7.교반기, 컨덴샤, 농축 시스템 결합>

나. 기계장치 설치

완성된 ‘친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 제조 장치’ 를 아래와 같이 설치하였다.

<그림13> 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 제조 장치



3) 시운전 평가

제작 완성된 냉각콘덴샤 · 진공농축시스템 기계장치를 이용하여 「친환경 무알콜 수용성 프로폴리스」 를 제조하기 위하여 시운전하고 평가하였다. 그 결과는 <그림14>와 같다.

<그림14> 수용성 프로폴리스 제조 장치 시운전 평가 보고서

기계장치 설치 완료 보고서		담당	본부장	대표이사
		결재		
납품 업체 현황	상 호	대표자		김채홍
	주 소	경기도 화성시		
	연락처			
제 품 명	진공농축시스템(보증기간: 1년)			
용 량	500kg(사용료300kg)	발주	2015.04.26	
발주금액	21,080,000만원	납기	2015.05.22	
점 검 사 항				확인
1. 견적서(시방서/발주서)대로 장치가 제작 확인?				
2. 스텐으로 제작 확인?				
3. 입고, 출구 밸브위치 확인?				
4. 배관 연결 여부?				
5. 실험가동(진공테스트) 여부 확인?				
기타보고사항				
상기와 같이 확인하였습니다.				
2015년 5월 22 일				
				납품처: 김채홍 (인) 확인자: 권순선 (인)

4. 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 건강기능식품 생산

1) 건강기능식품 공전 기준규격 평가

가. 수율비교 평가

천연 프로폴리스를 「친환경 무알콜 수용성 프로폴리스의 제조방법」으로 추출함에 있어 기존의 프로폴리스추출방법 들과 수율을 비교하였다.

대부분의 나라들에서 사용되는 프로폴리스추출방법은 프로폴리스 원료와 에틸알콜(주정)의 비율을 1:5~10정도의 비율에서 적절한 온도와 RPM 그리고 추출시간을 조정하여 추출한다. 동일한 규격(플라보노이드 함량 10mg/g)을 가진 프로폴리스 원료를 동일한 에틸알콜(주정)을 준비하여 가장 일반적인 에틸알콜 프로폴리스추출방법(방법1)과 기존에 개발되어 있던 수용화 프로폴리스추출방법(방법2) 그리고 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스추출방법(UWP)으로 프로폴리스를 추출하여 그 결과 산출량을 계산하여 수율을 비교하였다.

<표4> 프로폴리스추출방법에 따른 수율 비교

항 목		투입량 / 생산량(단위:kg)			조건
		방법1 ^{*1)}	방법2 ^{*2)}	UWP ^{*3)}	
1단계	EtOH ^{*4)}	100	500	500	50~80℃, 600 rpm, 12시간 교반,추출
	Propolis ^{*5)}	20	20	20	
	추출물1 ^{*6)}	100	120	150	
2단계	추출물2 ^{*7)}	-	50	75	Flavonoids;10mg/g
최종결과물 ^{*8)}		-	50	75	
수율(%)		-	250	375	150%향상

*1) 일반적인 에탄올 프로폴리스추출방법

*2) 기존의 다른 수용성 프로폴리스추출방법

*3) 당사개발 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스추출방법

*4) Ethyl alcohol

*5) 프로폴리스 원료(Flavonoids10%)

*6) 1단계 에틸알콜(주정)로 추출된 프로폴리스추출물

*7) 2단계 수용화 공정을 거친 프로폴리스추출물

*8) 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 최종 추출물(*7)과 동일

(방법1)은 수용성 공정이 아니고 에틸알콜 추출법이라 최종결과물에 대한 수율계산이 안되기 때문에 1단계 공정까지만 참고용 제시한 것이며 실제로 수율비교는 (방법2)와 (UWP)에서 평가를 하고자 하였다.

비교한 결과 기존의 수용성 프로폴리스추출방법(방법2)은 수율이 250%임에 비해 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스추출방법(UWP)은 375%로 125%가 수율이 높았으며 이는 150%의 수율향상 효과를 나타내어 연구계획 목표인 수율 10%이상 향상은 충분히 충족하는 결과를 얻었다.

나. 총 플라보노이드 함량 평가

총 플라보노이드 함량은 식품의약품안전처에서 고시한 프로폴리스 건강기능식품공전 규격기준의 10개 항목 중 하나로 가장 중요한 지표물질로 인정되고 있는 생리활성 물질이다. 본 연구과제에서는 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 건강기능식품생산을 실현하기 위하여 공정을 조금씩 다르게 한 시제품을 제조하여 식품의약품안전처에서 지정한 건강기능식품 공인시험기관인 사단법인 한국건강기능식품협회 부설 한국건강기능식품연구원에 총 플라보노이드 함량을 분석의뢰 하여 <표5>의 결과를 얻었다.

<표5> 시제품에 대한 총 플라보노이드 함량을 분석의뢰 현황 및 결과

번호	의뢰일	시료명	Total Flavonoids	%
1	2/9	친환경 무알콜 수용성 프로폴리스	17.54mg/g	1.75
2	4/20	유니크수용성프로폴리스	영양성분분석	-
3	4/20	유니크수용성프로폴리스	16.2mg/1350g	1.20
4	5/19	유니크수용성프로폴리스추출물	16.8mg/900g	1.86
5	5/19	유니크프로폴리스추출물	20mg/g	2.00
6	6/24	유니크수용성프로폴리스추출물120	15mg/g	1.50
7	6/26	유니크수용성프로폴리스추출물400	42mg/g	4.20
8	7/10	유니크수용성프로폴리스	5.6mg/0.3g	1.86
9	8/26	유니크수용성프로폴리스 스프레이	16mg/8g	0.20

총 플라보노이드 함량을 분석 의뢰한 결과 의뢰번호 5번과 7번이 총 플라보노이드 함량이 각각 2.0%, 4.2%로 연구과제 목표치인 2.0%를 충족하였다. 이를 토대로 제조방법을 확립하여 건강기능식품 공전 규격기준에 적합한 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스를 생산하고자 한다.

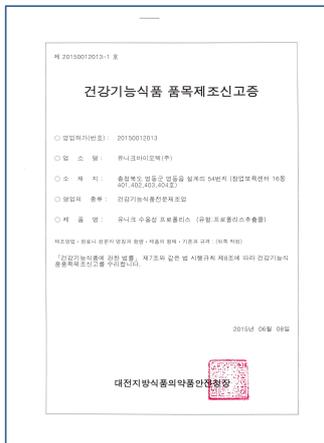
다. 건강기능식품 공전 규격기준 평가

<표5> 시제품에 대한 총 플라보노이드 함량을 분석의뢰 현황 및 결과에서 의뢰 1번 시료

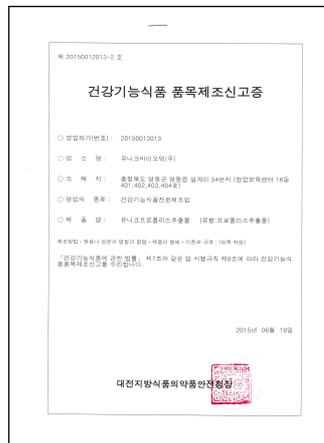
는 본격적인 시제품제조에 들어가기 전에 실험실 조건에서 제조한 시료를 평가해보고자 시험의뢰를 한 건이고 의뢰2번 시료는 영양성분을 확인하기 위하여 시험 분석을 의뢰한 건이다. 시험의뢰3번은 첫 번째로 시제품을 생산한 시료로 결과는 부적합이었으나, 기준 규격 10개 항목을 충족 못한 것이 아니라 총 플라보노이드 함량이 표시량 예상치보다 더 높게 측정되어 설정 범위를 벗어난 것이기 때문에 근원적으로 문제가 있거나 잘 못 제조된 시료는 아니었다.

나머지 의뢰4번부터 9번까지 6건은 건강기능식품 기준규격 적합 판정을 받았다. 이 중 의뢰 8번 시료는 품질관리용이라서 제외하고 나머지 4번, 5번, 6번, 7번 그리고 9번 시험 의뢰 결과를 근거로 식품의약품안전처로부터 건강기능식품 품목제조신고 승인을 아래와 같이 5건 취득하였다.

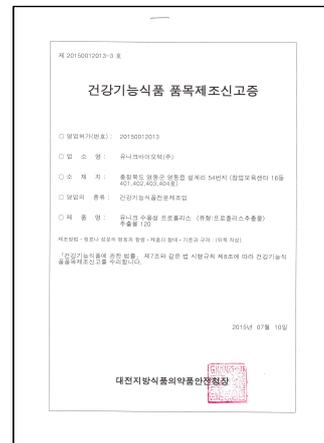
<그림15>시험의뢰 4



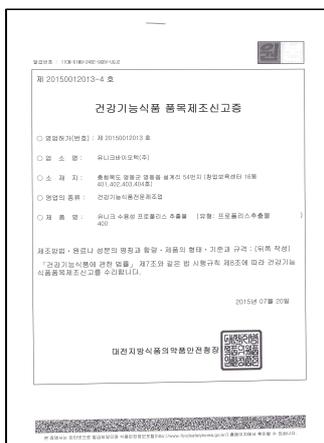
<그림16>시험의뢰 5



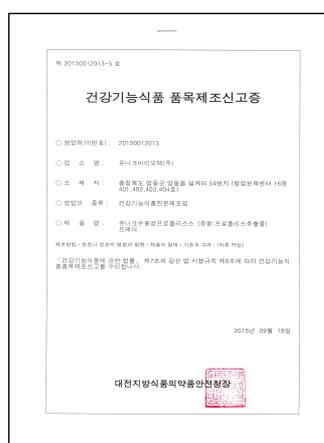
<그림17>시험의뢰 6



<그림18>시험의뢰 7



<그림19>시험의뢰 9



2) 기능성 평가

가. 항산화 평가

(가) 프로폴리스 시료

국내 백화점과 약국에서 판매하고 있는 프로폴리스 제품 10종을 구입하였고 유니크바이오텍(주)에서 제조한 ‘유니크 수용성 프로폴리스’ 1종을 포함한 총 11종의 국내외 프로폴리스 제품을 시료로 사용하였다. 이 중 해외수입품은 9종이며 국내 제조품은 2종이고, 수용성 제품은 2종이다.

(나) 시험관내 항산화 활성 측정

㉑ 총 플라보노이드 함량 측정

시험법은 건강기능식품 공전 시험법에 따르며 에탄올을 이용하여 시료로부터 플라보노이드계 물질을 추출하여 분광광도계를 이용하는 분석법으로, 플라보노이드의 최대 흡수 파장인 415 nm에서 흡광도를 측정함으로써 정량하는 방법이다.

장비와 재료로는 부피플라스크(50 mL, 100 mL), 분액여두, 원심분리기, 시험관, 분광광도계를 준비하고 분광광도계는 분석 전에 충분히 안정화시켜둔다.

표준물질은 퀘르세틴 이수화물(Quercetin dihydrate, 분자식 : $C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$, 분자량 : 338.27, CAS No. : 6151-25-3)을 사용하며 일반시약으로는 에탄올(Ethanol)을 준비한다. 시약 전처리는 질산알루미늄[$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$] 17.6 g을 정확히 달아 증류수로 용해하여 100 mL로 한다. 초산칼륨액(Potassium acetate, CH_3COOK) 9.815 g을 정확히 달아 증류수로 용해하여 100 mL로 한다. 80% 에탄올과 90% 에탄올을 함께 준비한다.

시험용액의 조제는 프로폴리스추출물이 기능성 원료인 최종제품인 경우 시료를 프로폴리스 추출물로 60 ~ 100 mg이 되도록 취한다. 90% 에탄올 20 mL를 가하여 용해시킨다. 원심분리(3,000 rpm, 10분) 행하여 상등액을 취한다. 단, 당을 함유한 시료인 경우 시료를 정평하고 증류수 10 mL에 용해하고 에탄올 10 mL를 가하여 원심분리(3,000 rpm, 10분)를 행한다. 잔류물에 80% 에탄올 8 mL를 가하여 3회 추출한다. 전 추출액을 합하여 80% 에탄

을 사용하여 전량을 50 mL로 한다.

표준용액의 조제는 퀘르세틴 이수화물을 무수물로 혼합하여 50 mg을 정확히 달아 50 mL 부피플라스크에 넣는다. 에탄올을 표선까지 채운다. 에탄올을 가하여 100, 20, 10배로 희석한다.

시험조작은 표준용액 및 시험용액을 각각 0.5 mL씩 대조액과 시험액용으로 두개의 시험관에 취한다. 에탄올 1.5 mL, 10% 질산알루미늄용액 0.1 mL, 1 M 초산칼륨용액 0.1 mL, 증류수 2.8 mL를 가하여 충분히 교반한다. 각 농도별 표준물질 및 시료의 공시험은 10% 질산알루미늄 대신 증류수 0.1 mL를 가한다. 실온에서 40분간 정치 후 액층을 10 mm 셀 (cell)을 사용하여 물을 대조액으로 하여 415 nm에서 흡광도를 측정한다.

결과 분석은 표준물질의 농도별 흡광도와 각 농도별 공시험의 흡광도의 차를 이용하여 표준물질의 검량선을 작성한다. 시료의 흡광도와 시료의 공시험 흡광도의 차를 검량선에 적용시킨다. 계산방식은 다음과 같다.

$$\text{총 플라보노이드 함량(mg/g)} = C \times (a \times b) / S$$

C : 시험용액중의 총 플라보노이드 함량(mg/mL)

S : 시료 채취량(g 또는 mL)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 희석배수

실험상의 오차를 줄이기 위해 모든 실험은 3회 반복하였으며 이를 평균값으로 처리하여 결과를 도출하였다.

④ DPPH 라디칼 소거 활성 측정

DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거 활성법은 안정한 자유 라디칼 화합물인 DPPH를 기질로 하여 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법이다. 즉, 시료가 DPPH 라디칼 분자에 전자를 공여함으로써 DPPH의 라디칼 특성을 소멸시키는 능력(전자공여능, Electron Donating Ability)을 측정하는 방법이다.

각 시료를 100% 메탄올에 녹이고 단계별로 희석하여 최종농도가 6.25, 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ 이 되도록 하였다. 각기 다른 농도의 시료 0.01 ml에 0.15 mM DPPH 용액 0.99 ml 씩을 가하여 잘 혼합하여 30분 후 분광광도계 (UVIKON XS, SECOMAM, France)를 사용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

대조구는 시료대신 메탄올을 가해 흡광도 감소 정도를 조사하였으며, DPPH 라디칼을 50% 소거시키는 시료의 농도를 IC₅₀으로 표시하였다.

$$\text{EDA(Electron donating ability, \%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

A_{control} : 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도

A_{sample} : 시료를 첨가한 반응구의 흡광도

(다) 결과 및 고찰

㉔ 국내외 프로폴리스 제품의 플라보노이드 함량 비교

국내 백화점과 약국에서 구입한 프로폴리스 액상(리퀴드 또는 텅처) 제품 10종과 유니크바이오텍(주)에서 제조한 제품1종 등 총 11종의 프로폴리스 제품들의 플라보노이드함량은 표시량을 기준으로 최소함량의 제품(10mg/g)과 최대함량의 제품(25.1mg/g)은 <표6>에서 보는 바와 같이 2.5배 이상 차이가 나는 정도로 다양한 함량을 나타내었다.

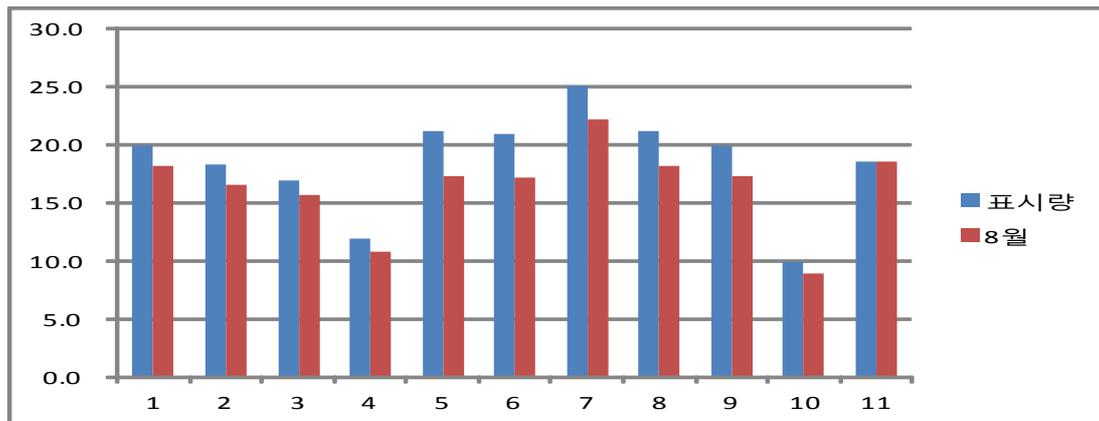
<표6> 각 시료 제품별 플라보노이드 함량

제품명	제조사/제조국	플라보노이드 (mg/g)		유통기한
		표시량	측정값	
1.프로폴리스 리퀴드	JINS PHARMA PTY/호주	20.0	18.2	17.07.01
2.프로폴리스 텅처	COMVITA/뉴질랜드	18.4	16.6	18.10.18
3.프로폴리스 리퀴드	Bee Health Limited/영국	17.0	15.7	19.02.01
4.프로폴리스 리퀴드	Triton Phamaceutical Ltd./캐나다	12.0	10.8	17.03.21
5.마더네스트 프로폴리스	RBK NUTRACEUTICALS PTY/호주	21.25	17.4	17.10.01
6.프로폴리스 리퀴드	D&H International Pty/호주	21.0	17.2	17.12.01
7.프로폴리스 리퀴드	Nature's Laboratory/영국	25.0	22.2	17.11.26
8.프로폴리스 리퀴드	Rainbow&Nature/호주	21.25	18.2	16.03.01
9.프로폴리스 리퀴드	H&H Life Australia Pty/호주	20.0	17.4	16.04.01
10.수용성 프로폴리스	코스맥스바이오/한국	10.0	8.9	16.05.15
11.유니크 수용성 프로폴리스	유니크바이오텍(주)/한국	18.6	18.6	17.06.29

제품에 표시된 플라보노이드 함량을 검증하기 위하여 8월에 1차 측정을 하였으며 실험 오차를 없애기 위하여 모든 시료는 3회 반복실험 후 이를 평균값으로 처리하였다. 표시

량과 1차 측정(8월)값의 차이는 <그림20>에 나타내었다.

<그림20> 플라보노이드 표시량과 1차측정(8월) 값



제품 제조일을 확인할 방법이 없어 유통기한을 표시하였으며 대부분의 제품은 유통기한을 제조일로부터 2년이며 일부는 3년으로 정하므로 이를 참고하여 제조일을 가늠할 수 있다.

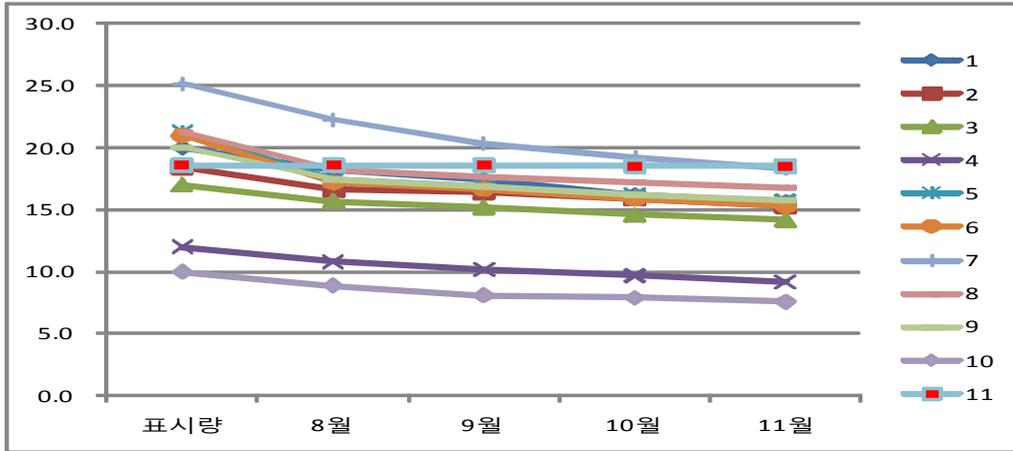
또한 제품의 안정성을 평가하기 위하여 플라보노이드함량을 매월 1회씩 즉, 9월, 10월, 11월에 측정하여 변화를 관찰하였다. 그 결과는 <표7>와 <그림21>에 나타내었다.

<표7> 플라보노이드 함량의 변화

제품명	플라보노이드 (mg/g)					정상범위
	표시량	8월	9월	10월	11월	
1. 프로폴리스 리퀴드	20.0	18.2	17.4	16.2	15.6	16.0-24.0
2. 프로폴리스 텅처	18.4	16.6	16.4	15.9	15.3	14.7-22.1
3. 프로폴리스 리퀴드	17.0	15.7	15.2	14.6	14.2	13.6-20.0
4. 프로폴리스 리퀴드	12.0	10.8	10.2	9.7	9.2	9.6-14.4
5. 마더네스트 프로폴리스	21.25	17.4	16.9	16.2	15.7	17.0-25.6
6. 프로폴리스 리퀴드	21.0	17.2	16.7	15.9	15.3	16.8-25.2
7. 프로폴리스 리퀴드	25.0	22.2	20.3	19.2	18.3	20.1-30.1
8. 프로폴리스 리퀴드	21.25	18.2	17.6	17.2	16.8	17.0-25.6
9. 프로폴리스 리퀴드	20.0	17.4	16.9	16.2	15.8	16.0-24.0
10. 수용성 프로폴리스	10.0	8.9	8.1	7.9	7.6	8.0-12.0
11. 유니크 수용성 프로폴리스	18.6	18.6	18.6	18.5	18.5	14.9-22.3

<표7>에서 보는바와 같이 식약처에서 규정하는 측정값의 정상범위는 표시량의 80~120% 범주 내이어야 한다. 그러나 11월의 마지막 측정값이 범위 내에 있는 시료제품은 2번, 3번, 11번이고 나머지 8종은 모두 정상범위를 아래로 벗어나고 있다.

<그림21> 플라보노이드 함량의 변화추이



㉔ 선별된 프로폴리스의 DPPH 라디칼 소거활성 비교

<표8> 국산 프로폴리스와 국외산 프로폴리스의 DPPH 라디칼 소거활성

	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Sample			
		2번	3번	7번	11번
EDA ^{a)} (%)	6.25	29.4 \pm 0.1	27.0 \pm 1.7	44.0 \pm 3.1	45.1 \pm 1.0
	12.5	44.3 \pm 2.3	40.3 \pm 1.2	64.5 \pm 0.5	64.8 \pm 1.5
	25	63.8 \pm 1.4	57.5 \pm 2.0	89.6 \pm 0.1	89.7 \pm 0.1
	50	87.6 \pm 0.6	82.2 \pm 0.2	88.9 \pm 2.0	89.6 \pm 0.0
	100	89.2 \pm 0.1	91.7 \pm 0.1	88.9 \pm 0.2	89.7 \pm 0.2
IC ₅₀ ^{b)} ($\mu\text{g/ml}$)		16.2	19.1	8.1	7.8

^{a)}EDA : 전자공여능(Electron Donating Ability),

^{b)}IC₅₀: 50% EDA를 나타내는 각 시료의 농도

플라보노이드 함량 측정에서 비교적 안정성을 보이는 2번, 3번 시료제품과 표시량이 가장 높은 수치인 7번 시료제품 그리고 11번 시료제품을 선발하여 각 프로폴리스 시료제품의 DPPH 라디칼 소거활성을 검증한 결과 11번 시료제품이 가장 높은 활성을 나타냈으며, 3번 시료제품이 가장 저조한 활성을 <표8>에 나타내었다.

(다) 결론

국내에서 유통되고 있는 프로폴리스 제품 11종을 대상으로 플라보이드 함량측정, 플라보노이드 함량 변화 추이 측정 그리고 선별된 시료 4종을 대상으로 시험관내 항산화활성 시험으로 DPPH 라디칼 소거활성을 비교 측정하였다.

프로폴리스 제품은 다양한 플라보노이드 함량을 나타냈으며 4개월간 추이를 측정한 결과 2번, 3번 그리고 11번 시료제품을 제외하고는 식약처 기준 범위를 하향으로 벗어나는 것으로 나타났다. 선별된 시료제품 4종을 대상으로 DPPH 라디칼 소거활성을 비교 평가한 결과 11번 시료제품이 가장 우수한 것으로 나타났다.

결론적으로 국내외 11종의 프로폴리스 제품을 대상으로 플라보노이드 함량의 안정성과 DPPH 라디칼 소거활성 비교 평가 한 결과 국내에서 제조한 ‘수용성 프로폴리스’ 인 11번 시료제품이 가장 안정적이고 항산화 효능이 우수한 것으로 나타났다.

나. 항균효과 평가

천연 벌꿀을 이용하여 조제된 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스추출물의 항균활성을 확인하기 위하여 프로폴리스추출물1종, 제품1종 그리고 대조군을 대상으로 주요 병원균인 녹농균(수도모나스균, *Pseudomonas aeruginosa*), 대장균(*E.coli*)에 대한 항균 활성 비교실험을 실시하였다.

(가) 시료

대조군(A)은 멸균증류수를 이용하였다. 시료B는 프로폴리스추출물을 제조하는 가장 일반적인 방법인 70% 에탄올과 프로폴리스를 중량비 5:1로 하여 추출한 에탄올추출 프로폴리스추출물이며 시료C는 시중에서 구입한 영국산 비바이탈 프로폴리스리퀴드(영국 Nature's Laboratory Ltd, Lot No.0276)이고 시료D는 본 발명으로 제조한 「천연 벌꿀을 이용하여 조제된 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스」로 총 플라보노이드 함량이 15mg/g이다. 이들 각 시료들을 이용하여 주요 병원균인 녹농균(수도모나스균, *Pseudomonas aeruginosa*), 대장균(*E.coli*)에 대한 항균 활성 실험을 실시하였다.

(나) 방법

시료 중 시료B와 시료C는 식약처에서 정한 건강기능식품 공전 시험법에 따라 농도 희석을 통해 프로폴리스 지표성분인 플라보노이드 함량을 시료D와 동일하게 15mg/g으로 전처리하였고 대조군A는 멸균 증류수를 사용하였으며 일반 항균 시험 배양법에 기초하여 고체배양법과 액체배양법의 2가지 방법으로 실시하였다.

고체배양법은 미생물 배지인 NR agar배지에 균주 배양액을 각각 도말하고 상층부분에 시험 시료를 묻힌 Paper disc를 올려놓고 30℃에서 30시간 배양한 후 paper disc 주위의 생육저지환(inhibition zone) 생성 유무 및 크기를 관찰하여 항균활성을 확인하였다. 모든 시험은 3회 반복하였다.

액체배양법은 멸균된 NR액체배지에 시험균주 배양액 1%(v/v)와 처리시료1%(v/v)를 동시에 접종 후 30℃에서 180rpm으로 교반하면서 30시간 배양한 후, 탁도를 기준으로 육안으로 자란 균을 확인한 후, 멸균 증류수를 이용하여 적정 배율로 희석한 후, 생균수 측정을 위한 NR agar 배지에 도말하여 30℃에서 30시간 배양 한 후 생균수를 세어서 대조군과 비교하였다. 모든 실험은 3회 반복하였다.

사용배지는 NR(Nutrient Rich)medium이고, 배지 조성은 beef extract 3.0g, peptone5.0g, Agar15.0g이었다.

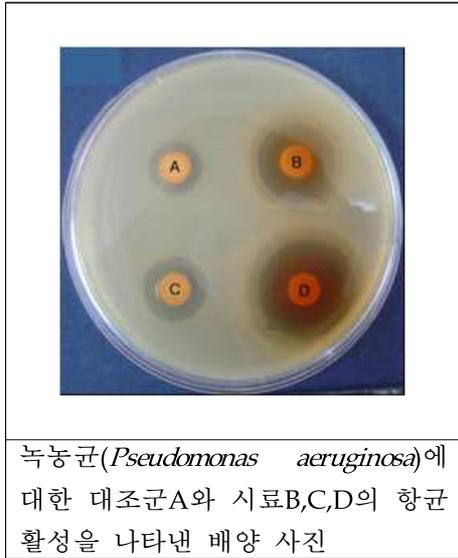
(다) 결과

상기 실험 결과는 <표9>과 같으며, <그림22>은 녹농균(수도모나스균, *Pseudomonas aeruginosa*)을 대상으로 대조군A와 시료B,C,D의 활성을 나타낸 배양 사진이고, <그림23>은 녹농균의 수를 측정한 결과이다.

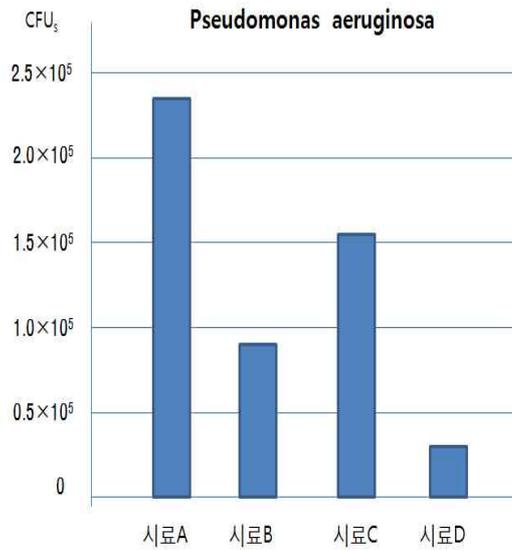
<표9> 실험결과

시료	녹농균(수도모나스균, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	대장균(<i>E.coli</i>)
대조군A	-	-
시료 B	++	++
시료 C	+	+
시료 D	++++	+++

<그림22> 녹농균 항균활성 Paper disc

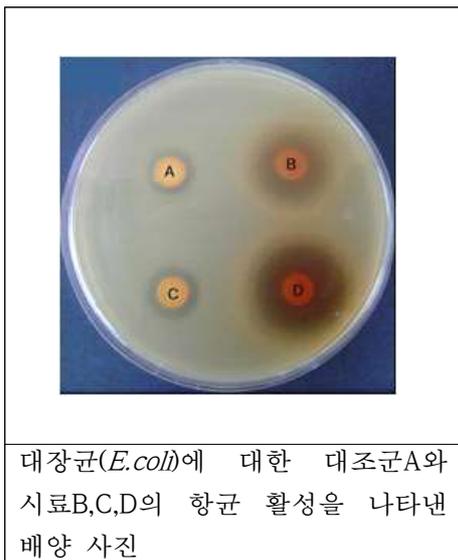


<그림23> 녹농균 생균수 측정

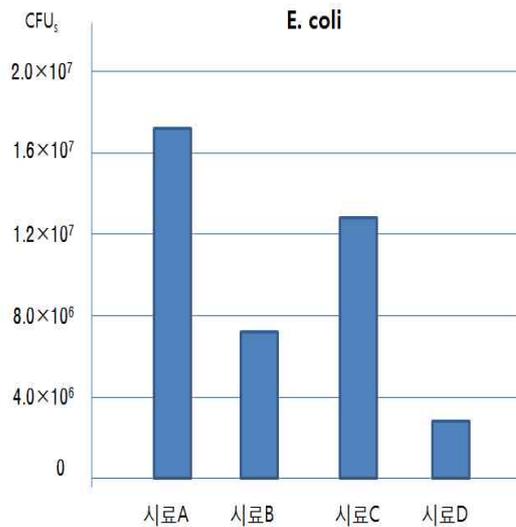


<그림24>는 대장균(*E.coli*)을 대상으로 대조군A와 시료B,C,D의 활성을 나타낸 배양 사진이고, <그림25>는 대장균의 생균 수 측정 결과이다.

<그림24> 대장균 항균활성 Paper disc



<그림25> 대장균 생균 수 측정



본 실험에 의한 시료D의 경우 생육저지환 형성이 뚜렷하며, 생육저지환의 크기도 시료 B,C에 비해 1.5~2배 이상으로 컸으며, 생균수 측정에 있어서도 유사한 결과를 확인할 수 있었다.

시료B의 경우 다소 항균억제 효과는 있으나, 시료1에 비하면 항균활성이 현저히 떨어지는 것을 확인 할 수 있었다.

<그림22> 및 <그림24>에서 보는 바와 같이 멸균수와 시료C는 녹농균 및 대장균 모두에 대해 생육저지환이 약하게 형성되었고, <그림23> 및 <그림25>에서 보는 바와 같이 녹농균수가 현저히 증가하여 항균 활성이 매우 약함을 확인 할 수 있었다.

(라) 결론

액체배양법에 의한 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)와 대장균(*E.coli*) 생균수를 측정하였다. 대조군 A는 멸균수, B는 에틸알콜 프로폴리스추출물, C는 해외 유명 제품이며 D는 친환경 무알콜 수용성 제조방법으로 제조된 프로폴리스추출물이다. 대조군 3종 중에서는 항균력이 가장 우수한 것은 B이다.

녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)의 경우 대조군 중에서 가장 항균력이 우수한 B시료의 경우 생존균수가 0.9×10^5 로 관찰된 반면 친환경 무알콜 수용성 제조방법으로 제조된 시료D의 경우 생존균수가 0.3×10^5 로 측정되어 300배 이상의 억제력을 보였다.

또한 대장균(*E.coli*)의 경우도 대조군 중에서 가장 항균력이 우수한 B시료의 경우 생존균수가 0.7×10^5 로 관찰된 반면 친환경 무알콜 수용성 제조방법으로 제조된 시료D의 경우 생존균수가 0.3×10^5 로 측정되어 230배 이상의 억제력을 보였다.

결론적으로 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)과 대장균(*E.coli*)을 대상으로 기존제품과 항균력을 비교 평가한 결과 연구개발 목표인 10% 이상의 항균력 향상은 충분히 충족하였다고 볼 수 있다.

3) 가격경쟁력 평가

친환경 무알콜 수용성 프로폴리스의 제조방법에 의해 제조된 시제품의 가격 경쟁력은 추출공정에서 수율, 공정기간의 축소 그리고 원재료의 직접 조달 등에 의해 기존 제품들에 비해 현저히 감소되었다.

원가절감 이유는 구체적으로 다음과 같다.

첫째, 원료투입 대비 최종 산물의 비율인 수율이 기존 공정에 비해 150% 높다.

기존의 수용성 프로폴리스추출방법(36쪽, 표4의 방법2)은 수율이 250%임에 비해 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스추출방법(UWP)은 375%로 125%가 수율이 높았으며 이는 150%

의 수율향상 효과를 나타내어 제조원가를 30%이상 낮추는 효과를 나타내었다.

<표10> 원가 경쟁력 요소

항 목	기존공정	친환경 무알콜 수용성 프로폴리스추출방법
수 율	250%	375%
공정기간	10일	5일
원재료 조달	중간 원료상 통한 수급	직접 해외 현지 조달

두 번째, 기존 제품보다 추출공정이 짧아 제조경비가 절감된다.

공정기간은 기존의 수용화 프로폴리스 공정이 10일정도 소요되는 것이 일반적이었으나 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스추출방법(UWP)은 5일 정도로 축소되어 제조원가를 절감하는데 기여하였다.

세 번째, 원재료 구매단가가 낮아 제조비용이 절감된다.

제품의 제조원가를 구성하는 중요한 요소 중의 하나인 품질 좋고 합리적인 가격의 천연 프로폴리스를 안정적으로 공급하는 것이 매우 중요하다. 이러한 점에서 당사는 천연 프로폴리스를 생산하는 주요 국가들에 안정적인 거래선을 확보하고 있어 원가 경쟁력에 또 하나의 우위요소로 작용한다.



<그림26> 수용성 제품비교



<그림27> 수용성 제품 가격 비교

<그림26>은 국내에서 판매되고 있는 수용성 프로폴리스 제품(좌측)과 친환경 무알콜 수용성 프로폴리스 제조방법으로 생산된 제품(우측)의 정면 사진이며 <그림27>은 가격표시가 된 뒷면 사진이다. 가격은 흰색 점선 안에 표시되어있으며 동일한 30ml 용량임에도 불구하고 기존제품은 가격이 80,000원인데 반해 당사 시제품은 50,000원으로 30,000원이 저렴하며 이는 37.5%가 저렴한 것으로 기존 제품에 비해 가격 경쟁력이 있음을 확인할 수 있다.

제 5 장 연구결과 성과활용 계획

1. 연구 성과 활용 목표

성과목표	지식 재산권		논문		학 술 발 표	기 술 거 래	교 육 지 도	사 업 화	기술 인증	인력 양성	정책 활용	홍 보 전 시	기 타
	출 원	등 록	SCI	비 SCI									
최종목표	1	1		2	2	1		2	1			1	
1차년도	1			1	1	1		1	1			1	
소 계	1			1	1	1		1	1			1	
성 과*	1			-	1	-		1	5			2	
종료 1차년도													
종료 2차년도		1		1	1			1				1	
소 계		1		1	1			1				1	
합 계	1	1		2	2	1		2	1			1	

- 성 과* : 1차년도 목표 대비 성과

2. 연구 성과

1) 지적재산권 출원

본 연구를 통하여 개발된 결과물을 활용하여 고 함량의 수용성 프로폴리스를 함유하는 스프레이 형 건강기능식품 제조방법을 확립하고 이를 <그림 >과 같이 특허 출원하였다. 특허출원은 2015년 11월30일자로 이루어졌으며 명칭은 “고 함량의 수용성 프로폴리스 스프레이 제제의 제조방법”이며 출원번호는 특허 제2015-0168685이다.

내용은 프로폴리스의 본래의 기능인 항균작용과 항산화작용을 충분히 나타내는 수용성 프로폴리스의 함유량이 높은 프로폴리스 스프레이 제제의 제조방법에 관한 것이며, 수불용성의 수지성 물질, 왁스 등이 전혀 없어 스프레이제제로 사용하기에 특히 적합하고 또한 스프레이 제제 총 중량을 기준으로 수용성 프로폴리스가 20 ~ 60중량% 고 함량으로

조성되기 때문에 구강에서 직접 분사하는 것에 의해 프로폴리스의 본래의 기능인 항균작용과 항산화작용을 충분히 나타내는 특징을 그 내용으로 한다.

<그림28> 특허출원통지서

출원번호통지서	페이지 1 / 3
<p>관인생략</p> <h2 style="margin: 0;">출원번호통지서</h2>	
출원일자	2015.11.30
특기사항	심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호	10-2015-0168685 (접수번호 1-1-2015-1167470-06)
출원인명칭	유니크바이오택 주식회사(1-2012-051592-2)
대리인성명	민만호(9-2005-001305-0)
발명자성명	허용갑 권순선
발명의명칭	고 함량의 수용성 프로폴리스 스프레이 제제의 제조방법
<h2 style="margin: 0;">특 허 청 장</h2> <p style="margin: 0;"><< 안내 >></p>	
<div style="border: 1px solid black; padding: 10px;"> <ol style="list-style-type: none"> 1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다. 2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다. ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호 3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다. ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식 4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다. 5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다. ※ 제도 안내 : http://www.kipo.go.kr-특허마당-PCT/마드리드 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다. 6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다. ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000 7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다. </div>	
http://www.patent.go.kr/jsp/kiponet/ir/receipt/online/applNoOffcAct.so	2015-11-30

2) 논문발표

아래와 같은 연구 논문을 준비하였으나 아직 발표 기회를 갖지 못하여 발표는 하지 못하였다. 3월24에 개최되는 한국양봉학회 춘계학술발표에서 발표 할 계획이다.

프로폴리스 제품의 항산화 효능 비교 검증

박대훈¹, 정윤희¹, 허용갑², 권순선²

¹동신대학교 한약재산업과, ²유니크바이오텍(주)

I. 서론

프로폴리스(propolis)란 꿀벌들이 각종 식물들로부터 채취한 수지(resin) 물질과 자신의 타액 및 분비물과 혼합하여 만든 독특한 방향성과 점착성을 지닌 수지성 물질이다. 프로폴리스의 생리활성에 대하여 최근 많은 연구가 진행되고 있으며, 아주 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 밝혀지고 있다. 즉, 프로폴리스는 항균작용, 항암작용, 항산화작용, 항바이러스 작용, 항염증 작용, 면역증강작용, 항위염 및 항위궤양작용 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있어 프로폴리스를 활용한 의약품, 건강기능식품의 개발이 활발히 이루어지고 있다.

이러한 프로폴리스의 다양한 생리적 활성이 밝혀지면서 국내외적으로 그 관심이 증가하고 있지만, 현재 수용화된 프로폴리스의 항산화 및 다양한 활성에 대한 연구가 미비하며, 국내 프로폴리스의 특성 또한 밝혀진 바 없다. 따라서 본 연구에서는 수용화된 프로폴리스와 비수용화 프로폴리스 제품들의 항산화 활성을 비교 검증하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 프로폴리스 시료

국내 백화점과 약국에서 판매하고 있는 프로폴리스 제품 10종을 구입하였고 유니크바이오텍(주)에서 제조한 ‘유니크 수용성 프로폴리스’ 1종을 포함한 총 11종의 국내외 프

로폴리스 제품을 시료로 사용하였다. 이 중 해외수입품은 9종이며 국내 제조품은 2종이고, 수용성 제품은 2종이다.

2. 시험관내 항산화 활성 측정

1) 총 플라보노이드 함량 측정

시험법은 건강기능식품 공전 시험법에 따르며 에탄올을 이용하여 시료로부터 플라보노이드계물질을 추출하여 분광광도계를 이용하는 분석법으로, 플라보노이드의 최대 흡수 파장인 415 nm에서 흡광도를 측정함으로써 정량하는 방법이다.

장비와 재료로는 부피플라스크(50 mL, 100 mL), 분액여두, 원심분리기, 시험관, 분광광도계를 준비하고 분광광도계는 분석 전에 충분히 안정화시켜둔다.

표준물질은 퀘르세틴 이수화물(Quercetin dihydrate, 분자식 : $C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$, 분자량 : 338.27, CAS No. : 6151-25-3)을 사용하며 일반시약으로는 에탄올(Ethanol)을 준비한다. 시약 전처리는 질산알루미늄[$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$] 17.6 g을 정확히 달아 증류수로 용해하여 100 mL로 한다. 초산칼륨액(Potassium acetate, CH_3COOK) 9.815 g을 정확히 달아 증류수로 용해하여 100 mL로 한다. 80% 에탄올과 90% 에탄올을 함께 준비한다.

시험용액의 조제는 프로폴리스추출물이 기능성 원료인 최종제품인 경우 시료를 프로폴리스 추출물로 60 ~ 100 mg이 되도록 취한다. 90% 에탄올 20 mL를 가하여 용해시킨다. 원심분리(3,000 rpm, 10분) 행하여 상등액을 취한다. 단, 당을 함유한 시료인 경우 시료를 정평하고 증류수 10 mL에 용해하고 에탄올 10 mL를 가하여 원심분리(3,000 rpm, 10분)를 행한다. 잔류물에 80% 에탄올 8 mL를 가하여 3회 추출한다. 전 추출액을 합하여 80% 에탄올을 사용하여 전량을 50 mL로 한다.

표준용액의 조제는 퀘르세틴 이수화물을 무수물로 혼합하여 50 mg을 정확히 달아 50 mL 부피플라스크에 넣는다. 에탄올을 표선까지 채운다. 에탄올을 가하여 100, 20, 10배로 희석한다.

시험조작은 표준용액 및 시험용액을 각각 0.5 mL씩 대조액과 시험액용으로 두개의 시험관에 취한다. 에탄올 1.5 mL, 10% 질산알루미늄용액 0.1 mL, 1 M 초산칼륨용액 0.1 mL, 증류수 2.8 mL를 가하여 충분히 교반한다. 각 농도별 표준물질 및 시료의 공시험은 10%

질산알루미늄 대신 증류수 0.1 mL를 가한다. 실온에서 40분간 정치 후 액층을 10 mm 셀 (cell)을 사용하여 물을 대조액으로 하여 415 nm에서 흡광도를 측정한다.

결과 분석은 표준물질의 농도별 흡광도와 각 농도별 공시험의 흡광도의 차를 이용하여 표준물질의 검량선을 작성한다. 시료의 흡광도와 시료의 공시험 흡광도의 차를 검량선에 적용시킨다. 계산방식은 다음과 같다.

$$\text{총 플라보노이드 함량(mg/g)} = C \times (a \times b) / S$$

C : 시험용액중의 총 플라보노이드 함량(mg/mL)

S : 시료 채취량(g 또는 mL)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 희석배수

실험상의 오차를 줄이기 위해 모든 실험은 3회 반복하였으며 이를 평균값으로 처리하여 결과를 도출하였다.

2) DPPH 라디칼 소거 활성 측정

DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거 활성법은 안정한 자유 라디칼 화합물인 DPPH를 기질로 하여 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법이다. 즉, 시료가 DPPH 라디칼 분자에 전자를 공여함으로써 DPPH의 라디칼 특성을 소멸시키는 능력(전자공여능, Electron Donating Ability)을 측정하는 방법이다.

각 시료를 100% 메탄올에 녹이고 단계별로 희석하여 최종농도가 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/ml 이 되도록 하였다. 각기 다른 농도의 시료 0.01 ml에 0.15 mM DPPH 용액 0.99 ml 씩을 가하여 잘 혼합하여 30분 후 분광광도계 (UVIKON XS, SECOMAM, France)를 사용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

대조구는 시료대신 메탄올을 가해 흡광도 감소 정도를 조사하였으며, DPPH 라디칼을 50% 소거시키는 시료의 농도를 IC₅₀으로 표시하였다.

$$\text{EDA(Electron donating ability, \%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

A_{control} : 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도

A_{sample} : 시료를 첨가한 반응구의 흡광도

III. 결과 및 고찰

1. 국내외 프로폴리스 제품의 플라보노이드 함량 비교

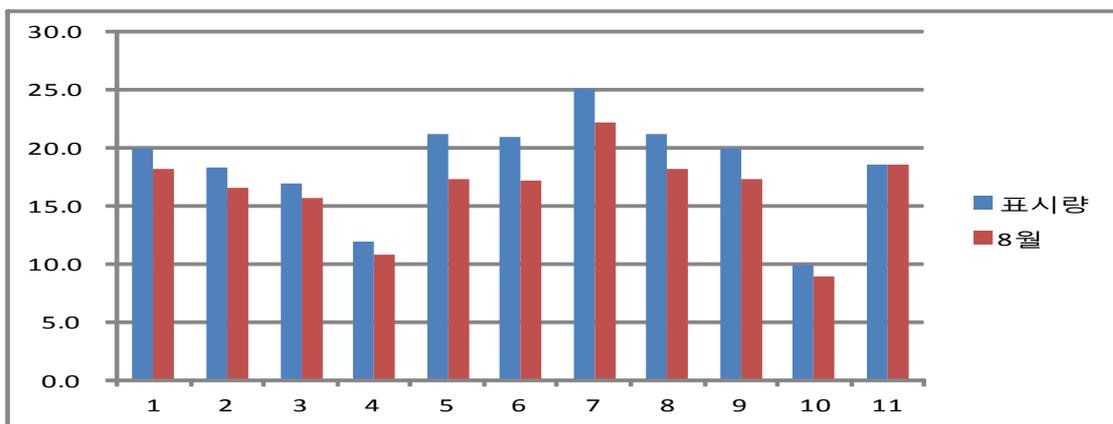
국내 백화점과 약국에서 구입한 프로폴리스 액상(리퀴드 또는 텅처) 제품 10종과 유니크바이오텍(주)에서 제조한 제품1종 등 총 11종의 프로폴리스 제품들의 플라보노이드함량은 표시량을 기준으로 최소함량의 제품(10mg/g)과 최대함량의 제품(25.1mg/g)은 <표 11>에서 보는 바와 같이 2.5배 이상 차이가 나는 정도로 다양한 함량을 나타내었다.

<표11> 각 시료 제품별 플라보노이드 함량

제품명	제조사/제조국	플라보노이드 (mg/g)		유통기한
		표시량	측정값	
1.프로폴리스 리퀴드	JINS PHARMA PTY/호주	20.0	18.2	17.07.01
2.프로폴리스 텅처	COMVITA/뉴질랜드	18.4	16.6	18.10.18
3.프로폴리스 리퀴드	Bee Health Limited/영국	17.0	15.7	19.02.01
4.프로폴리스 리퀴드	Triton Phamaceutical Ltd./캐나다	12.0	10.8	17.03.21
5.마더네스트 프로폴리스	RBK NUTRACEUTICALS PTY/호주	21.25	17.4	17.10.01
6.프로폴리스 리퀴드	D&H International Pty/호주	21.0	17.2	17.12.01
7.프로폴리스 리퀴드	Nature's Laboratory/영국	25.0	22.2	17.11.26
8.프로폴리스 리퀴드	Rainbow&Nature/호주	21.25	18.2	16.03.01
9.프로폴리스 리퀴드	H&H Life Australia Pty/호주	20.0	17.4	16.04.01
10.수용성 프로폴리스	코스맥스바이오/한국	10.0	8.9	16.05.15
11.유니크 수용성 프로폴리스	유니크바이오텍(주)/한국	18.6	18.6	17.06.29

제품에 표시된 플라보노이드 함량을 검증하기 위하여 8월에 1차 측정을 하였으며 실험 오차를 없애기 위하여 모든 시료는 3회 반복실험 후 이를 평균값으로 처리하였다. 표시량과 1차 측정(8월)값의 차이는 <그림29>에 나타내었다.

<그림29> 플라보노이드 표시량과 1차측정(8월) 값



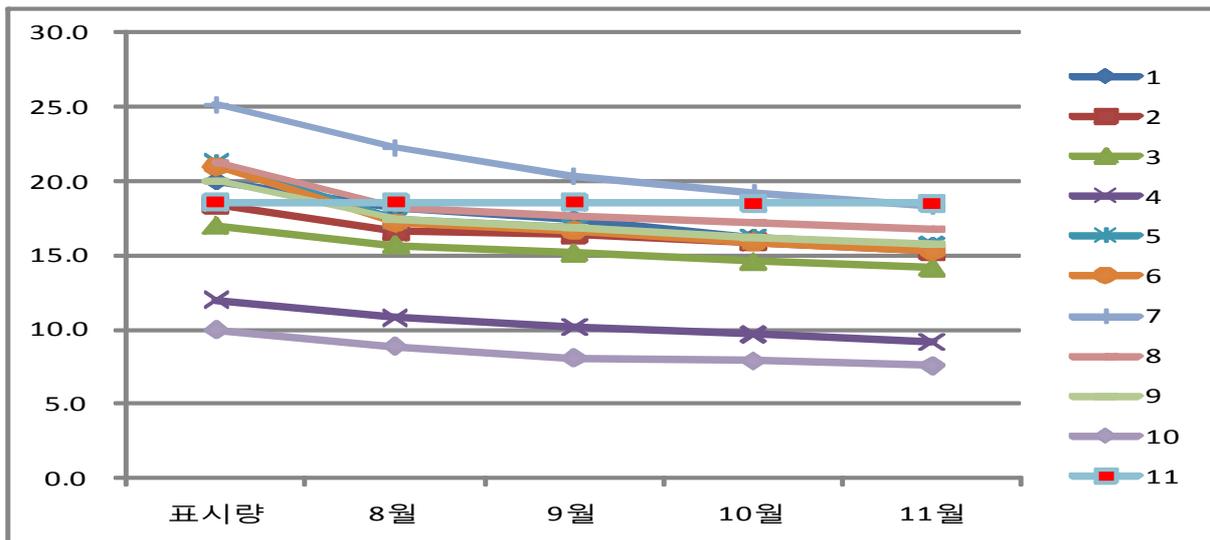
제품 제조일을 확인할 방법이 없어 유통기한을 표시하였으며 대부분의 제품은 유통기한을 제조일로부터 2년이며 일부는 3년으로 정하므로 이를 참고하여 제조일을 가늠할 수 있다.

또한 제품의 안정성을 평가하기 위하여 플라보노이드함량을 매월 1회씩 즉, 9월, 10월, 11월에 측정하여 변화를 관찰하였다. 그 결과는 <표12>와 <그림30>에 나타내었다.

<표12> 플라보노이드 함량의 변화

제품명	플라보노이드 (mg/g)					정상범위
	표시량	8월	9월	10월	11월	
1.프로폴리스 리퀴드	20.0	18.2	17.4	16.2	15.6	16.0-24.0
2.프로폴리스 틴처	18.4	16.6	16.4	15.9	15.3	14.7-22.1
3.프로폴리스 리퀴드	17.0	15.7	15.2	14.6	14.2	13.6-20.0
4.프로폴리스 리퀴드	12.0	10.8	10.2	9.7	9.2	9.6-14.4
5.마더네스트 프로폴리스	21.25	17.4	16.9	16.2	15.7	17.0-25.6
6.프로폴리스 리퀴드	21.0	17.2	16.7	15.9	15.3	16.8-25.2
7.프로폴리스 리퀴드	25.0	22.2	20.3	19.2	18.3	20.1-30.1
8.프로폴리스 리퀴드	21.25	18.2	17.6	17.2	16.8	17.0-25.6
9.프로폴리스 리퀴드	20.0	17.4	16.9	16.2	15.8	16.0-24.0
10.수용성 프로폴리스	10.0	8.9	8.1	7.9	7.6	8.0-12.0
11.유니크 수용성 프로폴리스	18.6	18.6	18.6	18.5	18.5	14.9-22.3

<그림30> 플라보노이드 함량의 변화추이



<표12>에서 보는바와 같이 식약처에서 규정하는 측정값의 정상범위는 표시량의 80~120% 범주 내이어야 한다. 그러나 11월의 마지막 측정값이 범위 내에 있는 시료제품은 2번,3번,11번이고 나머지 8종은 모두 정상범위를 아래로 벗어나고 있다.

2. 선별된 프로폴리스의 DPPH 라디칼 소거활성 비교

플라보노이드 함량 측정에서 비교적 안정성을 보이는 2번, 3번 시료제품과 표시량이 가장 높은 수치인 7번 시료제품 그리고 11번 시료제품을 선발하여 각 프로폴리스 시료제품의 DPPH 라디칼 소거활성을 검증한 결과 11번 시료제품이 가장 높은 활성을 나타냈으며, 3번 시료제품이 가장 저조한 활성을 나타냈다(Table 2).

<표13> 국산 프로폴리스와 국외산 프로폴리스의 DPPH 라디칼 소거활성

Concentration (μ g/ml)	Sample				
	2번	3번	7번	11번	
6.25	29.4 \pm 0.1	27.0 \pm 1.7	44.0 \pm 3.1	45.1 \pm 1.0	
12.5	44.3 \pm 2.3	40.3 \pm 1.2	64.5 \pm 0.5	64.8 \pm 1.5	
EDA ^{a)} (%)	25	63.8 \pm 1.4	57.5 \pm 2.0	89.6 \pm 0.1	89.7 \pm 0.1
	50	87.6 \pm 0.6	82.2 \pm 0.2	88.9 \pm 2.0	89.6 \pm 0.0
	100	89.2 \pm 0.1	91.7 \pm 0.1	88.9 \pm 0.2	89.7 \pm 0.2
IC ₅₀ ^{b)} (μ g/ml)	16.2	19.1	8.1	7.8	

^{a)}EDA : 전자공여능(Electron Donating Ability),

^{b)}IC₅₀: 50% EDA를 나타내는 각 시료의 농도

IV. 결론

국내에서 유통되고있는 프로폴리스 제품 11종을 대상으로 플라보이드 함량측정, 플라보노이드 함량 변화 추이 측정 그리고 선별된 시료 4종을 대상으로 시험관내 항산화활성 시험으로 DPPH 라디칼 소거활성을 비교 측정하였다.

프로폴리스 제품은 다양한 플라보노이드 함량을 나타냈으며 4개월간 추이를 측정한 결

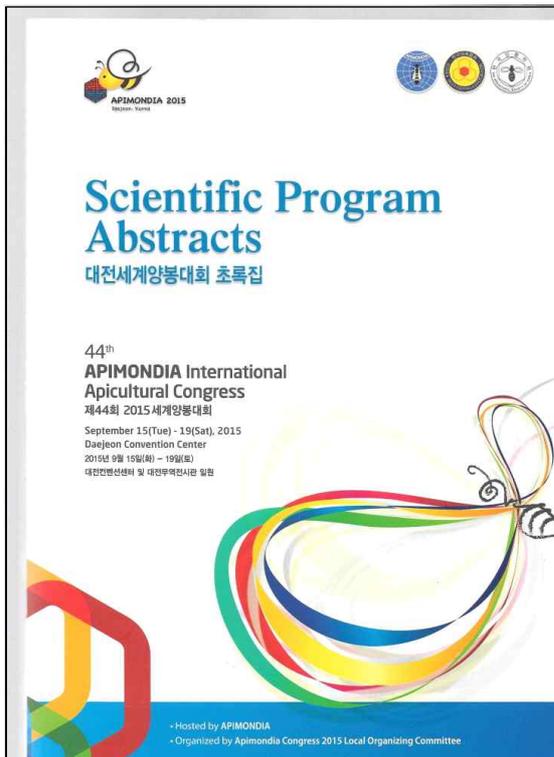
과 2번, 3번 그리고 11번 시료제품을 제외하고는 식약처 기준 범위를 하향으로 벗어나는 것으로 나타났다. 선별된 시료제품 4종을 대상으로 DPPH 라디칼 소거활성을 비교 평가한 결과 11번 시료제품이 가장 우수한 것으로 나타났다.

결론적으로 국내외 11종의 프로폴리스 제품을 대상으로 플라보노이드 함량의 안정성과 DPPH 라디칼 소거활성 비교 평가한 결과 국내에서 제조한 ‘수용성 프로폴리스’ 인 11번 시료제품이 가장 안정적이고 항산화 효능이 우수한 것으로 나타났다.

3) 학술발표

본 연구의 성과 활용목표 중 하나인 바이오산업 소재로서 활용도를 높이기 위하여 양어의 질병 억제력을 검증하고 이 결과를 2015년 9월 15일부터 19일까지 대전에서 개최된 44회 세계양봉대회(APIMONDIA)에서 <그림31>와 같이 학술발표를 하였다.

<그림31> 제44회 세계양봉대회(APIMONDIA)학술지 표지와 발표초록



<그림34> 매출 세금계산서(2)

전자세금계산서										승인번호		20151223-10000000-71739571			
공 문 사 지 장 수 소	출발번호	302-81-24265		회사명	원자개발 한우		업종	3500 제조업		계좌번호	[REDACTED]		은행명	[REDACTED]	
	상호 (법인명)	원자개발(주)		소재지	경남 창원시 마산합포구		업종 (업종명)	3500 (제조업)		계좌 주요	[REDACTED]		은행	[REDACTED]	
	사업장 주소	충청북도 청주시 흥덕구 서성동 11-1		대표자	이영남		사업장 주소	충청북도 청주시 흥덕구 서성동 11-1		업종	3500		은행	[REDACTED]	
	대표 인사	이영남		대표자	이영남		업종	3500		계좌 주요	[REDACTED]		은행	[REDACTED]	
이메일	p@1599@naver.com		이메일	p@1599@naver.com		이메일	p@1599@naver.com		이메일	p@1599@naver.com		이메일	p@1599@naver.com		
작성일자	2015-12-23		금액	22,700,640		수량	2,270,640		단가	10,000		세액	3,838,980		
월	일	출처	금액	수량	단가	금액	세액	비고							
12	23	원자개발(주)원자개발	10,000	1,500	10,000	15,000,000	1,500,000								
12	23	원자개발(주)원자개발	12,700,640	1,270,640	10,000	12,700,640	1,270,640								
합계		금액	22,700,640	수량	2,270,640	단가	10,000	세액	3,838,980						

본 인증받은 국세청 홈택스(www.hometax.go.kr)에서 발급 또는 전송 입력된 전자세금계산서입니다.
 HomeTax, 발급사명 확인은 상기 홈택스(www.hometax.go.kr)에서 <조회/발급>관리세금계산서> 메뉴로 발급사명 조회를 이용하실 수 있습니다.

<그림35> 매출 세금계산서(3)

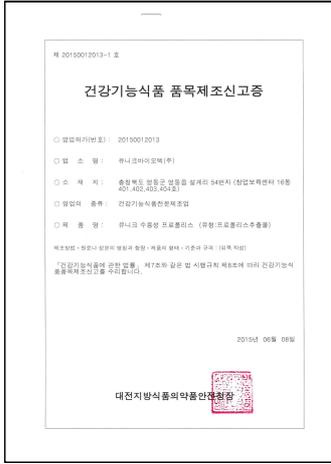
전자세금계산서										승인번호		20151211-10000000-68507343			
공 문 사 지 장 수 소	출발번호	302-81-24265		회사명	원자개발 한우		업종	3500 제조업		계좌번호	[REDACTED]		은행명	[REDACTED]	
	상호 (법인명)	원자개발(주)		소재지	경남 창원시 마산합포구		업종 (업종명)	3500 (제조업)		계좌 주요	[REDACTED]		은행	[REDACTED]	
	사업장 주소	충청북도 청주시 흥덕구 서성동 11-1		대표자	이영남		사업장 주소	충청북도 청주시 흥덕구 서성동 11-1		업종	3500		은행	[REDACTED]	
	대표 인사	이영남		대표자	이영남		업종	3500		계좌 주요	[REDACTED]		은행	[REDACTED]	
이메일	p@1599@naver.com		이메일	p@1599@naver.com		이메일	p@1599@naver.com		이메일	p@1599@naver.com		이메일	p@1599@naver.com		
작성일자	2015-12-11		금액	300,000		수량	300,000		단가	1,000		세액	45,000		
월	일	출처	금액	수량	단가	금액	세액	비고							
12	11	원자개발(주)원자개발	1,000	1	1,000	1,000	100								
12	11	원자개발(주)원자개발	299,000	299,000	1,000	299,000	29,900								
합계		금액	300,000	수량	300,000	단가	1,000	세액	45,000						

본 인증받은 국세청 홈택스(www.hometax.go.kr)에서 발급 또는 전송 입력된 전자세금계산서입니다.
 HomeTax, 발급사명 확인은 상기 홈택스(www.hometax.go.kr)에서 <조회/발급>관리세금계산서> 메뉴로 발급사명 조회를 이용하실 수 있습니다.

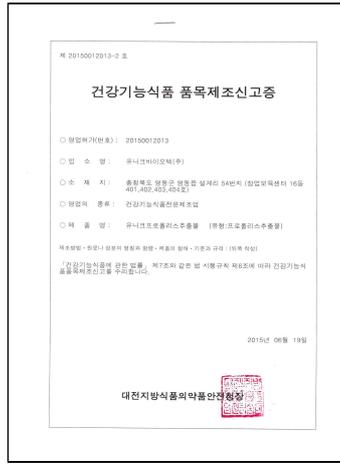
6) 기술인증

식품의약품안전처 인증 건강기능식품 공인시험기관인 한국건강기능식품연구원에 시제품을 평가 의뢰하여 공인시험성적 적합 판정을 받은 시제품에 대하여 식품의약품안전처로부터 품목제조신고를 5건 득하였다. 그 내용은 <그림36>~<그림40>과 같다.

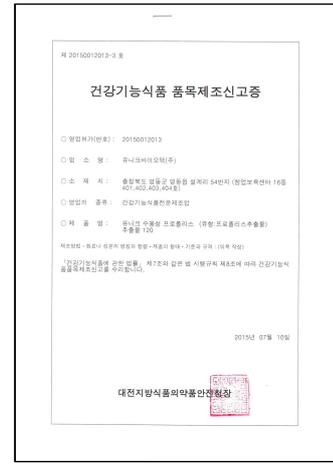
<그림36>20150012013-1호



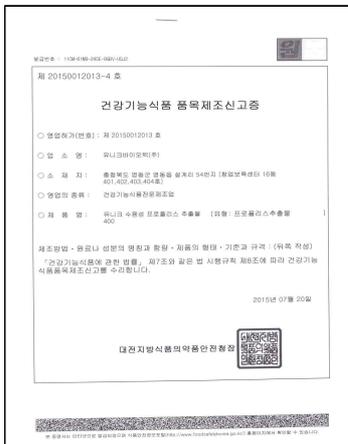
<그림37>20150012013-2호



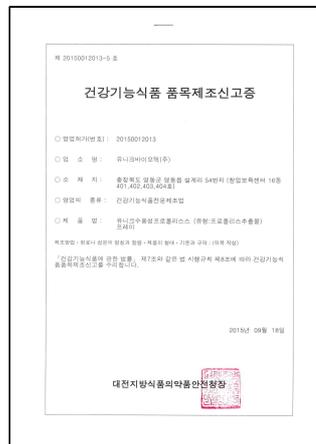
<그림38>20150012013-3호



<그림39>20150012013-4호



<그림40>20150012013-5호



나. 홍보전단지 제작

가) 영문 홍보전단지

영문 홍보 전단지를 제작하여 중국 웨이팡 전시회에 사용하였다.

A Powerful Natural Antibiotic
UNIQUE Water-soluble PROPOLIS
Propolis Functional Food
Republic of Korea patent(10-1403511)
"Environmentally friendly method for manufacturing non-alcoholic water-soluble propolis" manufactured products

Substance made of resin collected by bees from epidermis and leaves of plants, mixed with their saliva to prevent growth of bacteria and corruption in beehive

Leading company specializing in propolis
UNIQUE BIOTECH
www.uniquebiotech.co.kr
T.+82-43-745-6886
E-mail. pacrim386@naver.com

나) 영문 홍보전단지

중문 홍보 전단지를 제작하여 중국 웨이팡 전시회에 사용하였다.

一个强大的天然抗生素
UNIQUE Water-soluble PROPOLIS
蜂胶保健食品
大韩民国专利(10-1403511)
“环保型水溶性和非酒精蜂胶法”来制造产品

蜂胶是蜜蜂从外部病原菌中为了维持生存和繁殖，混合了从植物中提取的各种活性物质和自身的唾液和酶等制成的物质，被称之为蜜蜂守护神。

领先的公司，专门从事蜂胶
UNIQUE BIOTECH
www.uniquebiotech.co.kr
T.+82-43-745-6886
E-mail. pacrim386@naver.com

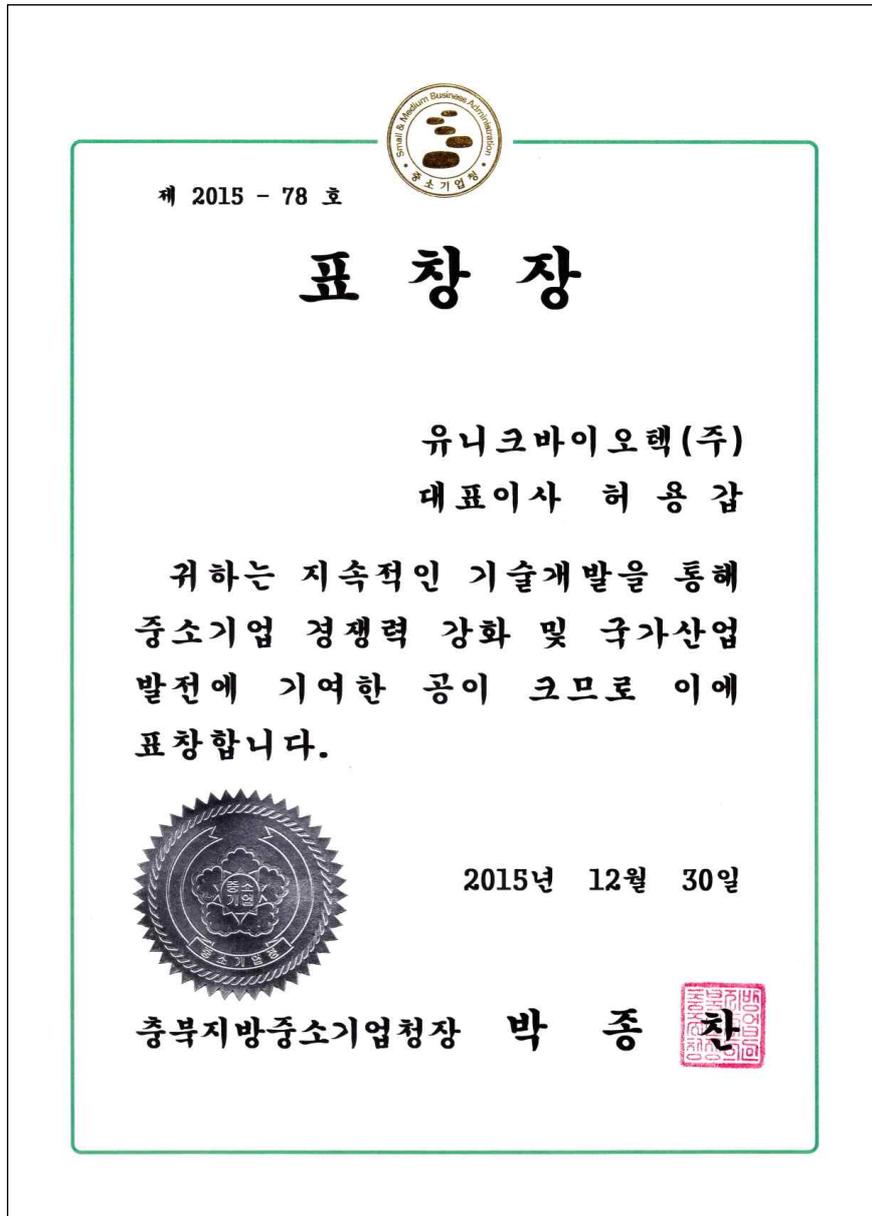
다. 해외 전시회참가

2015년 9월23부터 25일까지 중국 산둥성 웨이팡시에서 개최된 제1회 한중일산업박람회에 참가하여 제품과 기술을 홍보하였다.



8) 수상실적

본 연구과제 수행과 관련하여 지속적인 기술개발을 통해 중소기업 경쟁력 강화 및 국가 산업발전에 기여한 공로를 인정받아 2015년 12월 30일자로 충북지방중소기업청장 표창장을 수상하였다.



3. 향후 연구 성과 활용계획

1) 상품화 방안

- 섭취 기호성이 좋은 텡크제와 스포이드형 건강기능식품 추가 출시
- 무알콜, 수용성으로 해외 수출 품목 개발(특히, 이슬람 문화권 우선 공략 가능)
- 식품첨가물로 활용 (우유, 과자, 음료 등)
- 향취가 부드럽고, 색상이 안정되어 화장품 소재로 활용
- 향균력이 필요한 생활용품의 소재로 활용(치약, 비누, 샴푸, 티슈, 손세정제 등)
- 가축용 약품, 사료첨가제, 양어용 약품, 사료 첨가제 등에 활용

2) 사업화 방안

- 친환경 무알콜, 수용성 프로폴리스 추출물은 기존의 에탄올추출(알콜함유 추출물) 프로폴리스에 비해 왁스와 레진이 완전히 제거되고 향취가 부드러워 소재로서 다양한 바이오산업 소재로 활용
- 기존 수용성 표방 제품보다(30ml, 8만원) 30%~50% 저렴한 가격으로 가격 경쟁력 확보로 시장 개척 및 시장 확대
- 기 확보된 건강기능식품 전문판매업체 3곳을 판매 중심으로 온라인, 홈쇼핑, 해외 시장 등으로 시장 확장.

3) 후속 연구 진행

- 본 연구과제로 개발된 제품의 마케팅 및 판매를 지원하기 위하여 기존의 건강기능식품보다 우월한 요소를 찾아내기 위하여 기능성에 대한 비교 실험을 지속적으로 시행한다.
- 비교실험은 객관성을 담보하기 위하여 정부지원 연구 과제를 수행하면서 제3의 시험기관에서 실험을 의뢰하여 확보하기로 한다.
- 비교 실험 데이터 확보와 더불어 국내외 인증을 받도록 한다.
- 무알콜에 대한 객관적인 평가를 실시하여 데이터를 확보한다.
- 동물실험 수준의 비교 평가를 추가적으로 실시하여 생리활성 기능 및 기초적인 성분 분석을 지속적으로 규명해 나간다.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술 개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.