



건강기능식품원료 사용을 위한 동결건조 로열젤리의 제조공정 최적화

최홍민, 김효영, 김세건, 한상미*

국립농업과학원 농업생물부 잠사양봉소재과

Optimization of Manufacturing Process and Storage Condition of Freeze-dried Royal Jelly for Health Functional Ingredients

Hong Min Choi, Hyo Young Kim, Se Gun Kim and Sang Mi Han*

Sericultural & Apicultural Materials Division, Department Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science, Wanju 55365, Republic of Korea

Abstract

In order to develop the royal jelly as a health functional food ingredient that helps skin health, we conducted the optimal manufacturing process of the raw royal jelly and the content of 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA), which is a functional (indicator) component. The raw royal jelly collected from beekeepers was frozen at -20°C or less, freeze-dried using a freeze dryer until the moisture content was less than 5.0%, and then powdered. The 10-HDA content of the freeze-dried royal jelly was $6.2 \pm 0.07\%$, the moisture content was $2.1 \pm 0.8\%$, and the crude protein content was $39.3 \pm 3.6\%$, which satisfies all food standards. To set the storage method of freeze-dried royal jelly, 10-HDA content was measured after storing at -20°C , room temperature (25°C), 35°C , and 40°C for 1 year respectively. It was confirmed that there was no significant change in content in less than 6 months. In the coliform detection test according to the freeze-dried royal jelly and storage period, it was confirmed that *E. coli* was not detected in all treatments. According to the results of this study, the freeze-dried royal jelly through the manufacturing process for use as a health functional food ingredient satisfies all the content of 10-HDA, moisture, crude protein, and coliform were safety and stability. Therefore, freeze-dried royal jelly was considered to be suitable as a skin health functional food ingredient.

Keywords

Royal jelly, Functional ingredients, Manufacturing process, Storage condition, 10-HDA

서론

로열젤리(Royal jelly)는 5~15일령의 꿀벌(*Apis mellifera* L.) 일벌이 인두선(hypopharyngeal gland)에서 분비하는 미황색의 점액상 물질로 유충과 여왕벌의 먹이로 사용되는데 여왕벌에는 전 유충 기간과 성장 후에도 급여되고, 일벌과 수벌의 유충은 부화 후 3일간만 급여된다. 로열젤리의 60% 이상은 수분이며 단백질과 탄수화물, 지방, 비타민, 무기물 이외에 생리활성물질로 이루어진 복합물질이다(Krell, 1996). 로열젤리는 고대 로마시대에도

건강에 도움을 주는 물질로 알려져 전 세계적으로 자양강장제와 같은 건강기능식품으로 널리 사용되고 있으며, 항종양, 면역강화, 항염증, 항고혈압, 항노화 및 콜라겐 생성과 피부보습 등의 약리적 효능이 알려져 있다(Moritz and Southwick, 1992; Märghitaş, 2008; Pavel *et al.*, 2011). 특히 아시아 지역에서는 화장품, 건강 보조제 및 음료 등의 시장으로 크게 확대되고 있으며, 국산 로열젤리는 피부 멜라닌세포의 세포 내 티로시나아제(tyrosinase) mRNA 전사를 억제함으로써 티로시나아제 활성과 멜라닌 합성을 감소시키는 것으로 확인하고, 피부 관련 기능성 소재로서

활용가치가 높은 것으로 보고한 바 있다(Han *et al.*, 2011). 최근에는 국산 동결건조 로열젤리와 로열젤리의 주요 성분인 10-HDA의 피부 주름 생성 억제 효능을 인간 각질형성세포(HaCaT) 피부 상처 모델에서 세포 증식 및 이주 효능을 확인하고 피부건강 기능성식품원료로서 가능성을 입증하였다(Kim *et al.*, 2020). 그러나 로열젤리가 국내는 물론 해외에서도 피부재생, 피부미백 및 보습 등 탁월한 효능이 보고되어 있음에도 불구하고, 아직까지 국내에서는 건강기능식품원료로 등록되어 있지 않아 고부가가치 소재로의 활용에 제약 받고 있다(KFDA, 2021).

따라서 본 연구는 국내 양봉농가에서 생산한 로열젤리의 ‘피부건강’ 건강기능식품원료로 개발하고자 농가에서 생산한 생 로열젤리에 대한 제조공정을 확립하였다. 또한 저장 조건에 따른 기능(지표)성분인 10-HDA의 함량 변화 및 대장균군 검출 여부를 확인하여 전처리공정에 따라 제조한 동결건조 로열젤리의 안전성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시 시료

본 연구에 사용한 로열젤리 시료는 2019년과 2020년에 생산한 생 로열젤리를 한국양봉농업협동조합(Anseong, Korea)으로부터 구입하였다. 해당 로열젤리는 수확 직후 냉동보관(-20°C)하였으며 운반 시에도 냉동 상태로 유지하였다. 외국산 로열젤리는 시장에 유통 중인 중국산 동결건조 로열젤리 5개 제품을 구입하여 사용하였다.

2. 로열젤리 동결건조 및 분말화

생 로열젤리는 초저온냉동고에서 급속 냉동시킨 후 동결건조기(SFDSM24L, Samwon Freezing Engineering Co., Korea)를 이용하여 -35°C 이하 온도에서 수분이 제거될 때까지 동결건조하였다. 동결건조한 로열젤리는 막자사발을 이용하여 분말화하였다.

3. 보관온도 및 저장기간 설정

동결건조한 로열젤리의 안정성 및 보관온도를 설정하기 위해 로열젤리 분말을 10g씩 소분하여 각각 -20°C(냉동), 25°C(상온), 35°C, 40°C의 온도를 설정하여 1년간 보관하였다. 저장기간에 따른 성상의 변화 및 지표성분의 변

Table 1. HPLC conditions for 10-HDA analysis in royal jelly

Classification	Condition
Instrument	Agilent HPLC 1260
Column	Capcell Pak-C18 (5 µm, 4.6 × 250 mm)
Column temperature	Room temperature
Wavelength	214 nm
Mobile phase	0.02 M (NH ₄) ₂ HPO ₄ : Methanol (7 : 3)
Flow rate	1.4 mL/min

화를 확인하기 위해 저장기간을 12개월로 설정하여 실험을 진행하였다.

4. 지표성분 10-HDA 분석

동결건조된 로열젤리의 지표성분(10-hydroxy-2-decenoic acid, 10-HDA)의 성분 분석은 식품의약품안전처의 식품공전 ‘10-HDA 일반시험법’에 따라 실시하였다(KFDA, 2020a, 2020b). 표준물질인 10-HDA는 Wako chemical (Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였으며, 동결건조 로열젤리 시료 48 mg을 500 mL 부피플라스크에 넣고 물을 50 mL 넣은 후 50°C에서 진탕 후 메탄올을 350 mL를 넣고 초음파 추출하였다. 추출 후 메탄올을 표선까지 채운 후 0.45 µm syringe filter로 여과하여 분석에 사용하였다. 10-HDA의 HPLC 분석 조건은 Table 1과 같다.

5. 일반성분 함량 분석

동결건조 로열젤리의 일반성분은 식품공전 식품성분 시험법에 따라 측정하였다(KFDA, 2020a). 수분함량은 105°C 상압가열 건조법에 따라 측정하였고 회분 함량은 검체가 백색~회백색의 회분이 생성될 때까지 550~600°C에서 직접회분법을 이용하였다. 조단백질 함량은 시료의 전처리 및 추출과정을 거쳐서 Kjeldahl법에 따라 측정하였고 조지방 함량분석은 석유에테르를 추출용매로 Soxhlet 추출장치를 이용하여 Soxhlet 추출법에 따라 측정하였다. 탄수화물 함량은 검체 100 g 중에 수분, 회분, 조단백질 및 조지방 함량을 뺀 나머지 값으로 나타내었다.

6. 건조필름법에 의한 대장균군 확인

동결건조 로열젤리의 보관 및 저장과정에서 발생할 수 있는 유해미생물인 대장균군의 분석을 위해 건조필름법을 실시하였다. 동결건조된 로열젤리 시료 100 mg을 증

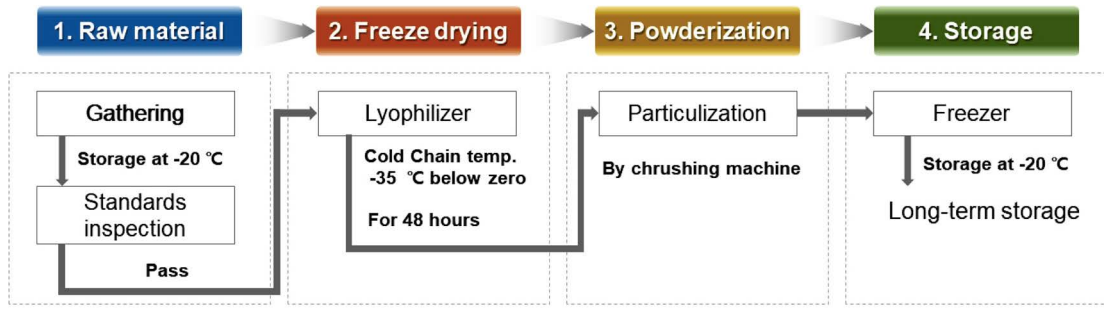


Fig. 1. Manufacturing process for the production of freeze-dried royal jelly.

류수 1 mL에 녹인 후 이를 대장균군 건조필름배지(3M™ Petrifilm Coliform count plates, 3M Minnesota, USA)에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 붉은 집락 주위로 기포를 형성한 집락 수 형성을 통해 대장균군 생성 여부를 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 동결건조 로열젤리 제조공정 확립

양봉산물 중 하나인 로열젤리는 생 로열젤리 상태에서 는 점도, 색상 등과 같은 물리적 성상이나 단백질 변성, 아미노산 같은 화학적 성분의 차이가 저장 온도에 따라 영향을 받는 것으로 보고되어 있다(Chen and Chen, 1995). 또한 로열젤리의 다양한 생리활성을 나타내는 주요성분이며 로열젤리 함유 제품의 규격관리 성분인 10-HDA의 함량 또한 저장 온도에 따라 차이를 보이고 있다(한 등, 2012). 따라서 이러한 10-HDA의 함량 변화를 최소화하고 대량 생산 및 산업화에 용이하도록 로열젤리를 동결건조하여 분말화한 후 보관하는 제조공정을 도입하였다(Fig. 1).

이러한 제조공정은 크게 생 로열젤리의 채집 및 규격 검사, 동결건조, 분말화, 저장 보관 과정을 거쳐 장기간 보관 가능하게 된다. 생 로열젤리를 채집하게 되면 채집 즉시 냉동보관(-20°C)을 하고 채집된 로열젤리가 식품의약품안전처에서 지정한 로열젤리 규격에 따라 규격검사를 실시하고 이를 만족하는 로열젤리를 콜드체인 온도가 -35°C 이하가 되는 온도에서 동결건조를 실시하며, 동결건조된 로열젤리는 소규모 시료의 경우 막자사발 등을 통해 물리적으로 분쇄하며, 대규모 공정의 경우에는 분쇄기를 통해 분쇄한다. 식품공전 로열젤리류 기준 및 규격으

Table 2. 10-HDA, moisture, total protein, lipid, ash contents and food ingredient standards of freeze-dried royal jelly

Composition	Contents (%)		
	Domestic value	Imported value	Standard
10-HDA	6.2±0.07	4.5±1.2	4.0 more than
Moisture	2.1±0.8	6.0±2.0	5.0 below
Total protein	39.3±3.6	43.2±2.2	30.0~41.0
Total lipid	7.3±1.7	6.3±0.7	—*
Ash	2.7±0.1	2.2±1.2	—

*No standard

로 10-HDA 함량은 1.6% (건조제품은 4.0% 이상), 수분은 65.5~68.5% (건조제품은 5.0% 이하), 조단백질은 11.0~14.5% (건조제품은 30.0~41.0) 그리고 건조제품에는 해당되지 않으나 생 로열젤리일 경우에는 산도는 32~53 (1N NaOH mL/100 g) 그리고 대장균은 n=0, c=1, m=0, M=10으로 설정하여 관리하고 있다(KFDA, 2020a). 국산 동결건조 로열젤리의 10-HDA 평균 함량은 6.2±0.07%, 조단백질은 39.3±3.6% 그리고 수분은 2.1±0.8%로 본 제조공정을 통해 동결건조한 로열젤리의 규격은 모두 만족하는 것으로 확인되었다(Table 2). 동결건조 로열젤리의 조지방과 회분 함량은 각각 7.3±1.7%, 2.7±0.1%로 측정되었다(Table 2). 수입산 동결건조 로열젤리의 10-HDA 4.5±1.2%로 식품공전 규격에 적합하였으나 조단백질은 43.2±2.2%, 수분 함량은 6.0±2.0%로 기준치를 벗어났다.

2. 보관온도 및 저장기간에 따른 10-HDA 함량 변화

동결건조한 로열젤리 분말의 보관온도와 저장기간에 따른 10-HDA 성분 변화를 확인하기 위해 동결건조 직후, 1개월 후, 6개월 후, 1년 후의 10-HDA 성분을 비교해본 결

Table 3. Changes in 10-HDA of freeze-dried royal jelly stored under different conditions

	Storage period (Month)	Storage temperature			
		-20°C	25°C	35°C	40°C
	0	6.2±0.07			
10-HDA (%)	1	6.18±0.13	6.12±0.07	6.11±0.21	5.56±0.16
	6	6.14±0.24	5.38±0.59	5.03±0.22	3.31±0.13
	12	6.02±0.57	4.94±0.20	4.74±0.30	2.72±0.28

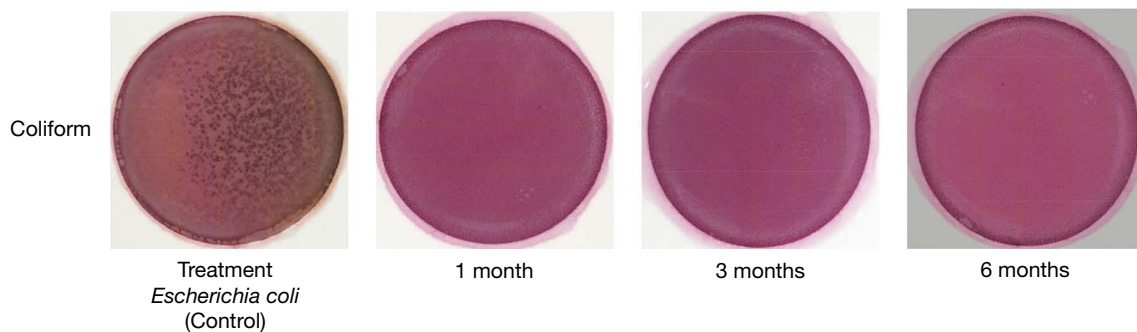


Fig. 2. Detecting coliform in freeze-dried royal jelly by rehydratable film following storage period.

과 Table 3과 같았다. 동결건조 직후 분석한 10-HDA 함량은 $6.2 \pm 0.07\%$ 였으며, -20°C 에서 보관할 경우 1개월 후에는 $6.18 \pm 0.13\%$ 였으며, 6개월 후에는 $6.14 \pm 0.24\%$, 12개월 후에는 $6.02 \pm 0.57\%$ 로 유의할 만한 차이를 보이지 않았으며, 이는 냉동 보관 시 1년 이상 10-HDA의 성분 변화 없이 보관이 가능한 것으로 확인되었다. 그리고 상온에 해당하는 25°C 에서 보관할 경우, 6개월 이후 $5.38 \pm 0.59\%$, 12개월 이후에는 $4.94 \pm 0.20\%$ 로 10-HDA 함량이 유의하게 감소되는 것으로 확인되었다. 35°C 의 경우 다소 고온에 노출된 경우로 이 경우에도 1개월 동안은 $6.11 \pm 0.21\%$ 로 거의 변하지 않았으며, 6개월 이후에는 $5.03 \pm 0.22\%$, 12개월 이후에는 $4.74 \pm 0.30\%$ 로 유의한 감소를 보였다. 40°C 의 경우에는 체온 이상으로 상대적으로 매우 고온에 지속적으로 노출된 경우를 의미하는 것으로 이 경우에는 1개월 이후에는 $5.56 \pm 0.16\%$ 로 감소폭이 크지는 않지만, 6개월($3.31 \pm 0.13\%$)이나 12개월($2.72 \pm 0.28\%$) 등 장기간 노출될 경우 그 감소폭이 상대적으로 크다는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 여러 보고에 의하면 생 로열젤리는 -20°C 이하로 보관했을 경우엔 10-HDA 함량 변화가 거의 없으나 -20°C 이상의 냉장 또는 실온에서는 10-HDA 함량이 크게 감소할 뿐만 아니라 단백질 부패 등으로 저장이 어려운 것으로 알려져 있다(최 등, 1994; 한 등,

2012).

본 연구를 통해 동결건조 로열젤리는 1년 이상 장기 보관할 경우에는 -20°C 이하 냉동 보관을 6개월 미만의 단기 보관은 실온에서도 기능(지표) 성분인 10-HDA 성분 변화는 없는 것으로 확인되었다.

3. 보관온도 및 저장기간에 따른 대장균군 검출 여부

동결건조된 로열젤리를 보관하거나 가공하고 유통함에 있어서 대장균군과 같은 유해미생물의 발생은 문제가 될 수 있다. 따라서 건조필름법을 통해 대장균군과 같은 생물학적 위해요소의 발생 여부를 확인해 보았으며, 그 결과 온도와 상관없이 6개월간 보관한 동결건조된 로열젤리에서 대장균군이 발견되지 않음을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

따라서 동결건조 로열젤리는 균일한 성분과 보관 중 성분의 안정성 그리고 위해물질에 대한 안전성이 높아 식품 소재로 활용에 적합한 것으로 사료되었다.

적 요

본 연구는 국산 로열젤리의 피부건강에 도움을 주는 건강기능식품 원료로 개발하기 위하여 생 로열젤리의 최적

의 제조공정과 기능(지표)성분인 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA)의 함량에 영향을 주지 않는 보관방법을 확립하고자 하였다. 양봉농가에서 채취한 생 로열젤리는 -20°C 이하에서 냉동하고 이를 동결건조기를 사용하여 수분 함량이 5.0% 이하가 될 때까지 동결건조한 후 분말화 하였다. 동결건조 로열젤리의 10-HDA 함량은 $6.2 \pm 0.07\%$, 수분은 $2.1 \pm 0.8\%$ 그리고 조단백질 함량은 $39.3 \pm 3.6\%$ 로 식품공전 규격을 모두 만족하였다. 동결건조한 로열젤리의 보관방법을 설정하고자 -20°C , 실온(25°C), 35°C 그리고 40°C 에 각각 1년간 보관 후 10-HDA 함량을 측정하고 결과 -20°C 이하에서는 1년 이상, 실온에서는 6개월 미만에서는 유의한 함량 변화는 없는 것으로 확인되었다. 동결건조한 로열젤리와 보관기간에 따른 대장균군 검출 시험에서 모든 처리구에서 대장균군은 검출되지 않는 것으로 확인되었다. 본 연구 결과를 통하여 건강기능식품원료로 사용하기 위한 제조공정을 통해 동결건조한 로열젤리는 10-HDA, 수분 및 조단백질 함량을 모두 만족하였으며 10-HDA 함량과 대장균군 오염 없이 안전하고 안정적으로 보관이 가능하였다. 따라서 피부건강 기능성식품원료로서 동결건조 로열젤리는 적합한 것으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 어젠다연구사업(과제번호: PJ01513502)에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

인용문헌

- 최영수, 김미경, 이경희. 1994. 저장 온도에 따른 생로얄제리의 품질변화. 한국양봉학회지 9(1): 1-4.
- 한상미, 우순옥, 홍인표, 최용수, 김정민, 조윤희. 2012. 저장방법에 따른 로얄제리의 주요성분 및 생리활성 변화. 한국양봉학회지 27(2): 143-148.
- Chen, C. and S. Y. Chen. 1995. Changes in protein components and storage stability of royal jelly under various conditions. Food Chem. 54: 195-200.
- Han, S. M., J. H. Yeo, Y. H. Cho and S. C. Pak. 2011. Royal jelly reduces melanin synthesis through down-regulation of tyrosinase expression. Am. J. Chinese Med. 39: 1253-1260.
- Kim, H. Y., H. M. Hong, S. G. Kim, S. O. Woo, H. J. Moon and S. M. Han. 2020. Skin health improving effects of Korean freeze-dried royal jelly in human keratinocytes. Asian J. Beauty Cosmetol. 18(3): 413-422.
- Krell, R. 1996. Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin No. 124, Roma.
- Mărghitaş, L. A. 2008. Produsele apicole și principalele lor însușiri terapeutice. In: Albinele și produsele lor. L. A. Mărghitaş, second ed., Ceres, Bucharest. 280-378.
- Ministry of Food and Drug Safety (KFDA). 2021. Regulations concerning recognition of functional ingredients and standards - skin health. Osong.
- Ministry of Food and Drug Safety (KFDA). 2020a. Food regulations - Chapter 5. Standards and Specifications for Food. Osong, pp. 571-572.
- Ministry of Food and Drug Safety (KFDA). 2020b. Food regulations - Chapter 8. Osong, pp. 1-57, 315-316.
- Moritz, R. F. A. and E. E. Southwick. 1992. Bees a superorganisms. An evolutionary reality, first ed., Springer-Verlag, Berlin.
- Pavel, C. I., L. Al. Mărghitaş, O. Bobiș, D. S. Dezmirean, A. Șapcaliu, I. Radoi and M. N. Mădaș. 2011. Biological activities of royal jelly - review. J. Anim. Sci. Biotechnol. 44(2): 108-118.