

(뒷면)

(앞면)

2cm ↓

발간등록번호
11-1543000-000768-01

<- 4.5cm ->

5cm



기능성 인삼소재 및 편의성 증대
인삼음료 개발

(18 포인트 고딕계열)

Development of health-functional
ginseng ingredient and ginseng drink
with improved convenience

(17 포인트 명조계열)

기능성
인삼소재
및
편의성
증대
인삼음료
개발

씨제이제일제당(주)

(17 포인트 명조계열)



9cm



농림축산식품부



4cm



주의
(편집순서 8)

(15 포인트 고딕계열)

↑
6cm
↓

농림축산식품부

↑
3cm
↓

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “기능성 인삼소재 및 편의성 증대 인삼음료 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2015 년 1 월 30 일

주관연구기관명 : 씨제이제일제당(주)

주관연구책임자 : 서 용 기

세부연구책임자 : 서 용 기

협동연구기관명 : 한국산업기술대학

협동연구책임자 : 신 흥 섭

협동연구기관명 : 차의과학대학

협동연구책임자 : 이 부 용

요 약 문

I. 제 목

기능성 인삼소재 및 편의성 증대 인삼음료 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

본 연구과제의 최종 목적은 국내 인삼을 활용하여 고부가가치 기능성 인삼 신소재 및 천연 컨셉의 인삼음료 제품 개발임. 소비자 unmet needs를 철저히 분석하여 소비자 관점의 인삼 소재 및 제품을 개발하고자 함. 또한 4년근 인삼을 활용한 인삼 소재 및 천연컨셉 인삼음료 제품 개발을 통하여 4년근 인삼 농가의 소득 증대에 기여하고자 함.

2. 연구개발의 필요성

국내 인삼시장은 특이적으로 6년근에 편중되어 있어 4년근 인삼의 활용 및 판로가 한정되어 있는 상황이며, 이로 인해 4년근 재배 농가들이 어려움에 처해있음. 이에 따라 4년근을 활용한 기능성 인삼소재 및 인삼제품 개발을 통한 부가가치 증대가 필요한 상황임. Ginsana의 G115라는 소재 브랜드화 성공사례처럼 한국의 인삼도 표준화 및 기능성연구를 통해 차별화된 기능성 소재로 개발과 함께 소재 브랜드화가 필요로 함. 또한 최근 천연원료를 선호하는 소비자 트렌드를 볼 때 천연컨셉의 인삼음료 개발이 요구되고 있음.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 인삼 소재/신제품의 대량 생산 시스템 구축과 브랜드/마케팅 전략수립을 통한 상품화 및 Global 소재화 추진

- 소비자 조사를 통한 기능성 인삼소재 개발전략 및 인삼신제품 컨셉 설정
- 인삼신소재 및 인삼원물음료 대량 생산 시스템 구축, Global 소재화 및 제품화

2. 특정 기능성분 강화 및 표준화를 통한 인삼추출물의 고부가가치 기능성식품 소재화

- 특정 기능성분 강화 인삼추출물 제조 및 표준화 연구
- 표준화된 인삼추출물의 알콜성 및 비알콜성 간기능 개선 기능성 연구

3. 건강 및 천연 추구 소비 트렌드에 맞춘 신개념 음료타입 인삼제품 개발

- 인삼원료 적정 전처리 공정 확립 및 천연 소재 원료 발굴
- 소비자 기호도에 기반한 천연컨셉 인삼원물음료 최적 배합비 개발

IV. 연구개발결과

- 소비자 조사를 통한 간기능 인삼 신소재 및 천연컨셉 인삼원물음료 컨셉 도출
- 특정 기능성분 강화 인삼신소재 및 인삼원물음료 개발
- 인삼 신소재의 알콜성 및 비알콜성 지방간 개선 기능성 규명(*in vitro*, *in vivo*)
- 인삼 신소재 및 인삼원물음료 대량생산시스템 구축 및 양산 검증
- 인삼 신소재 제형 적용성 및 유통기한, 경제성 확보 진행
- 천연안정제, 천연향 개발 및 인삼원물음료 유통기한 설정 test 진행
- 인삼 기능성 소재 브랜드 및 마케팅 전략 수립

V. 연구성과 및 성과활용 계획

본 과제에서는 4년근 인삼을 원료로 기능성 소재 및 천연컨셉 인삼원물음료 개발을 진행하여 4년근 인삼의 부가가치를 증대할 수 있는 기술개발을 이루어내어 4년근 인삼 재배 농가들의 소득증대에 기여할 것으로 예상됨.

기능성 인삼 신소재의 경우 향후 인체시험 등의 추가 연구를 진행하여 개별인정 신청을 통해 국내는 물론 글로벌 소재화를 진행계획이며, 인삼원물음료의 경우 유화안정성 개선에 대한 추가연구를 진행하여 천연컨셉의 인삼원물음료로 추후 상품화 계획임.

본 연구과제로 도출된 결과로 특허 3건 출원하였으며, 논문 3편을 투고하였거나 투고할 예정입니다.

SUMMARY

I. The title

Development of health-functional ginseng ingredient and ginseng drink with improved convenience

II. Objectives and necessity of research

1. Research objectives

Final purpose of the research is development of a high value-added new functional ingredient and a natural drink using Korean ginseng. After Analyzing unmet needs of consumer, we would develop the ginseng ingredient and the drink from consumer perspective. In addition, we try to contribute the income of farmers who mainly grow a 4-year-old ginseng, as developing the new ginseng ingredient and the drink using 4-year-old ginseng.

2. Necessity of research

The application and outlet of a 4-year-old ginseng is limited because ginseng market in Korea has been concentrated on a 6-year-old ginseng, so farmers who grow mainly a 4-year-old ginseng are being in trouble. Accordingly the development of new functional ginseng ingredient and product for improvement of a 4-year-old ginseng value is needed. As we can see the success story of Ginsana by branding of the standardized ginseng ingredient called G115, Korean ginseng also need development of differentiated functional ingredient. In addition, according the latest consumer trends that prefer a natural ingredient in food, development of the natural ginseng drink is needed.

III. Scope of the research project

1. Mass production system construction of the ginseng ingredient and the product /
Commercialization and globalization by developing a marketing and brand strategy
 - Setting of the functional ginseng ingredient strategy and the ginseng product

concept through consumer surveys

- Mass production system construction of the new ginseng ingredient and the drink
- Commercialization and globalization of the new ginseng ingredient and the drink

2. Development of the high value-added functional ginseng ingredient through fortifying and standardizing a specific compound

- Development of the standardized ginseng ingredient which fortified a specific compound
- Efficacy study of the standardized ginseng ingredient about alcoholic and non-alcoholic fatty liver

3. Development of the new concept ginseng drink which is focused on consumer trends preferring a natural ingredient

- Setting of ginseng preprocessing and excavation of natural materials
- The optimized formula development of ginseng drink based on consumer taste

IV. Research projects results

- Setting of functional ginseng ingredient strategy and ginseng drink concept through consumer surveys
- Development of the new ginseng powder drink and the ginseng ingredient which is fortified with a specific compound
- Efficacy identification of the new ginseng ingredient about alcoholic and non-alcoholic fatty liver
- Mass production system construction of the ginseng ingredient and the drink
- Application test, shelf life test and economy feasibility verification of the new ginseng ingredient
- Development of a natural stabilizer and flavor
- Perform of shelf life test about ginseng powder drink
- Setting of marketing and brand strategy for the ginseng functional ingredient

V. Research project achievements and plans for application

In this research, we developed new functional ginseng ingredient and natural concept

ginseng powder drink using 4-year-old ginseng as main material, so we expect that this result would contribute the income of farmers who mainly grow 4-year-old ginseng.

In case of new functional ginseng ingredient, we have a plan to globalize by doing a addition study like as a clinical test. In case of ginseng powder drink, we are going to commercialize after doing a addition study about improvement of stability.

We applied for three patents and will submit three papers through the result of this research.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	9
Chapter 2. The status of domestic and foreign technical development	12
Chapter 3. Contents and results of study	13
Chapter 4. Purpose achievement and contribution degree on field of the study	173
Chapter 5. Achievement of the study and application plan of the results	177
Chapter 6. Collected foreign scientific technology information for studying	181
Chapter 7. Current status of research installation	182
Chapter 8. Reference	183

목 차

제1장 연구개발과제의 개요	9
제2장 국내외 기술개발 현황	12
제3장 연구개발 수행내용 및 결과	13
제4장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도	173
제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	177
제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	181
제7장 연구시설 장비 현황	182
제8장 참고문헌	183

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

- 인삼추출물 중의 사포닌을 단순히 그대로 이용하는 것이 아니라 사포닌의 비율을 조절하여 맞춤형으로 소재를 제조하는 기술을 바탕으로 인삼의 특정 Ginsenoside 성분 강화 소재 개발 및 기능성 연구를 통해 기존 인삼제품들과 차별화된 B2C 상품화는 물론 소재 브랜드화를 통한 B2B Global 기능성 인삼소재로 개발하여 세계시장에서 고려인삼이 재도약할 수 있는 기틀을 마련하고자 한다.
- 또한 6년근 홍삼 및 농축액에 편중된 국내 인홍삼 시장에서 4년근 백삼 및 분말을 소재로 하여 소비자 복용편의성을 증대하면서도 기존 합성첨가물들을 대체한 천연 인삼제품 개발을 통하여 4년근 인삼 농가의 소득 증대에 기여하고자 한다.
- 본 연구는 제조자 마인드의 단순가공형태 인삼/홍삼제품 개발이 아닌 천연 및 건강지향의 소비자 트렌드 및 기존 인홍삼 제품에서의 소비자 unmet needs를 철저히 분석하여 이를 해소해줄 수 있는 마케팅/소비자 중심의 인삼 소재 및 제품을 개발하고자 한다.

제 2 절 연구개발의 필요성

- 국내 인삼시장규모는 2004년 4,000억원대에서 2010년 1조원대로 2015년에는 1.5조원대로 성장을 예상하고 있다. 이와 같은 국내인삼시장의 급속한 성장은 국내시장의 인삼 소비 붐으로 인한 내수 시장 비중 확대를 들 수 있다. 주요 몇몇 업체들이 해외 수출보다는 상대적으로 마케팅 활동이 용이한 국내시장으로 집중하였고, 그 결과 2004년 대비 2010년까지 약 6년 동안에 내수시장의 비중이 약 2.5배 증가하였다. 그러나 인삼제품의 경우 인삼전체를 이용하는 형태가 아니라 주로 농축액을 소비하는 시장이 주류를 이루고 있으며 인삼보다는 홍삼농축액을 주로 소비하는 기형적인 형태로 시장이 왜곡되어 있는 실정이다.
- 또한 국내 소득수준의 향상에 따라 2007년 현재 1인당 연간 인삼 소비량은 0.46kg으로 1995년 0.23kg대비 2배 가까이 증가하였다(2012 인삼통계자료집). 이와 같이 내수가 기반을 다지면서 급속히 증가하고 있는 시점에서 더 큰 시장 성장을 위해 해외수출을 증가시키려면, 생활 속에서 편리하게 늘 가까이 접하고 활용할 수 있도록 기능성은 기본이고, 편의성

과 기호성이 부여된 인삼제품을 개발하는 것이 필요하다.

- 국내 인삼시장은 특이적으로 홍삼 및 6년근 편중된 시장이 형성되어 있으며 원료삼의 모양과 조직에 기준한 등급화 및 가격 책정이 이루어져 소비자들에게 불합리한 측면이 있는 관계로 향후에는 과학적인 인삼 제품 개발의 등급화와 성분중심의 시장 재편성이 필요한 상황이다.
- 지방간은 간에 중성지방이 과도하게 축적(간 중량의 5% 이상)되는 증상이라고 할 수 있으며 별다른 질환으로 발전하지 않고 건강에 큰 영향을 주지 않는 상태로 오래 유지될 수 있으나 간혹 간염증 및 간경화 등의 질병으로 발전할 수 있어서 지속적인 주의와 관리가 필요하다. 지방간은 과도한 지방 섭취(비알콜성)에 의해 발생되기도 하지만 지속적인 음주(알콜성)에 의해서도 유발되는 것으로 알려져 있다. 알콜은 1g당 7.1kcal의 에너지를 가지고 있으나 만성적으로 과량 섭취할 경우 신체 대사에 영향을 미치며 특히 간의 지방대사에 관여하여 간조직 내 지방축적을 유도하는 것으로 알려져 있다. 건강검진 등을 통하여 최근 지방간에 대한 관심과 우려가 높아진 현실에서 이를 효과적으로 관리할 수 있는 기능성 소재 개발이 요구되고 있다.
- 전세계 년 200억불 규모의 인삼시장에서 연간 30억불 매출을 기록하고 있는 Pharmaton사의 Ginsana가 Ginsenoside 함량을 표준화한 인삼소재를 오랜 기간 기능성 연구 및 논문/학회 발표를 통하여 G115라는 소재 브랜드화에 성공한 것처럼, 한국의 고려인삼도 소재개발 및 기능성연구를 통해 차별화된 기능성 소재로 개발 및 브랜드화/마케팅이 절실히 필요로 한다.
- 최근의 소비자들이 추구하는 인삼제품의 소비 트렌드는 인삼제품의 섭취를 통하여 좋은 건강기능성은 물론이고, 일반식품의 형태이면서 기호성 및 편리성이 좋아 생활 속에서 늘 가까이 접하면서 섭취할 수 있는 제품들을 원하고 있다. 또한 이런 소비 추구 트렌드에 천연 원료에 뚜렷한 선호도를 나타내고 있다. 비타민시장내 천연비타민 돌풍을 볼 때 소비자들이 제품의 첨가물 여부와 천연소재에 대한 니즈가 높은 것을 알 수 있다. 따라서 이러한 건강과 편리성, 기호성, 천연추구 트렌드를 충족시킬 제품개발이 크게 요구되고 있다.

제 3 절 연구개발 범위

1. 제1세부과제 : 인삼 소재/신제품의 대량 생산 시스템 구축과 브랜드/마케팅 전략수립을 통한 상품화 및 Global 소재화 추진
 - 가. 소비자 조사를 통한 기능성 인삼소재 개발전략 및 인삼신제품 컨셉 설정
 - 나. 인삼신소재 및 인삼원물음료 대량 생산 시스템 구축, Global 소재화 및 제품화

2. 제 1 협동과제 : 특정 기능성분 강화 및 표준화를 통한 인삼추출물의 고부가가치 기능성식품 소재화
 - 가. 특정 기능성분 강화 인삼추출물 제조 및 표준화 연구
 - 나. 표준화된 인삼추출물의 알콜성 및 비알콜성 간기능 개선 기능성 연구

- 3.제2협동과제 : 건강 및 천연 추구 소비 트렌드에 맞춘 신개념 음료타입 인삼제품 개발
 - 가. 인삼원료 적정 전처리 공정 확립 및 천연 소재 원료 발굴
 - 나. 소비자 기호도에 기반한 천연컨셉 인삼원물음료 최적배합비 개발

제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 인삼의 특정 사포닌성분을 강화, 제조하는 방법과 관련된 기존의 국내외 기술현황을 살펴보면 인삼 사포닌의 구조적 전환을 유도하는 방법에 따라서 인삼추출물에 미생물 및 효소를 처리하는 생물학적 방법, 산 및 염기성 가수분해 반응을 통한 화학적 방법, 열 및 압력을 조합한 물리적 방법 등으로 구분되어 대표적으로 Ginsenoside Rg3, Compound K 등이 강화된 조성물들이 개발되었고 현재에도 활발히 연구되고 있다. 그런데 이러한 기존 기술들은 일반식품에 사용할 수 없는 용매를 사용하거나 표준화 연구, 제형 적용 연구, 저장 안정성 등에 대한 검증이 부족하여 실제 상품화에 어려움을 겪는 경우가 많다. 또한 Ginsenoside Rb1 및 Rg1이 강화된 소재에 대한 연구는 찾아보기 힘든 상황이다.

- 본 연구과제에서는 사포닌의 구조전환 기술과 크로마토그래피를 활용한 사포닌성분의 분획 기술의 융합을 통하여 Ginsenoside Rb1, Rg1, Rg3, Rh1, Compound K 성분이 강화된 다양한 인삼소재를 개발 및 표준화 하였으며, 이렇게 개발된 조성물에 대한 간 기능성 효과를 연구하여 간 기능성 소재로써 활용 가능한 신규로 차별화된 기능성 인삼소재 확보의 의의가 있다.

- 국내외 인홍삼 제품은 홍삼으로 추출한 농축액을 단순 활용하거나 다른 생약추출물들과 혼합하여 복합물로 사용하는 제품에 치중되어 있으며, 연구개발도 이러한 제품류에 편중되어 있는 상황이다. 홍삼농축액을 활용한 제품들의 경우 고유의 고미 등의 좋지 않은 맛품질로 인하여 어린이나 여성층의 경우 기피하는 경우가 있으며, 특히 글로벌 시장 진출에 어려움을 겪고 있는 상황이다. 고미를 masking할 수 있는 향이나 소재들을 일부 활용하여 맛품질을 높이고 있으나 다양한 맛을 원하는 소비자들의 기호도를 충족시키기에는 기술 적용에 한계가 있는 상황이다.

- 본 연구과제에서는 홍삼 농축액이 아닌 인삼 전체를 활용하여 남녀노소 누구나 맛있게 섭취할 수 있도록 편의성 및 기호성을 높인 제품을 개발하고자 하였으며, 특히 기존 인홍삼 제품에 함유되어 있는 합성첨가물들을 천연소재 첨가물이나 식품원료로 대체할 수 있는 기술 개발에 집중하여 천연 및 건강 지향 소비자 트렌드에 부합하는 인삼 상품화에 필요한 제반 기술을 확보하였다는데 큰 의의가 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 인삼 소재/신제품의 대량 생산 시스템 구축과 브랜드/마케팅 전략수립을 통한 상품화 및 Global 소재화 추진 : 세부 1과제

1. 인삼 기능성 신소재 개발

가. 기능성 신소재 개발 전략 수립

(1) 소비자 조사

(가) 조사배경

기능성 인삼 신소재의 시장 가능성 탐색 및 방향성 정립을 위해 소비자 조사를 실시하였다. 본 조사는 건강 Segmentation별 소비자 건강관련 태도/행동 및 Unmet Needs를 심층적으로 분석/세분화하여, Target 별 인삼소재 사업 기회를 검토하고자 하였다.

인삼소재의 사업성 및 우선순위를 파악하기 위해 주요 증상별 소비자 니즈에 대한 심층 이해를 바탕으로 한 컨셉 발굴, 정교화, 검증이 주요 내용이다. 건강식품의 경우 예방에서 질환까지 증상 강도에 따른 다양한 Needs 발현과 의약과의 연관성 등이 존재하여 소비자는 물론이며 전문가 대상 조사를 포함한 통합 접근을 진행하였다.



그림 1-1. 인삼 소재 전략 수립을 위한 소비자 조사 개요

본 소비자 조사를 통해 인삼 소재 사업 가능성 확인 및 기회영역 파악을 통한 신제품 컨셉 도출 및 가능성을 진단하고, 건강 전반에 대한 소비자 인식 및 행동 파악을 통한 unmet

needs 발굴 및 이를 기반으로 한 향후 기회영역 발견 및 전략을 도출하고자 하였다.

(나) 소비자 조사 세부 설계

먼저 소비자 가정 방문(Home Visit)를 진행하고, 전문가 심층 인터뷰(In Depth Interview)를 진행한 후에 대규모 정량조사를 진행하였다. 가정 방문 조사는 질환별 12명을 진행하였고, 전문가 인터뷰는 개원의, 한의사, 판매원, 약사 등을 진행하였고, 정량조사는 랜덤 600명과 질환별 중증도를 고려한 230명으로 총 830명을 대상으로 조사하였다.

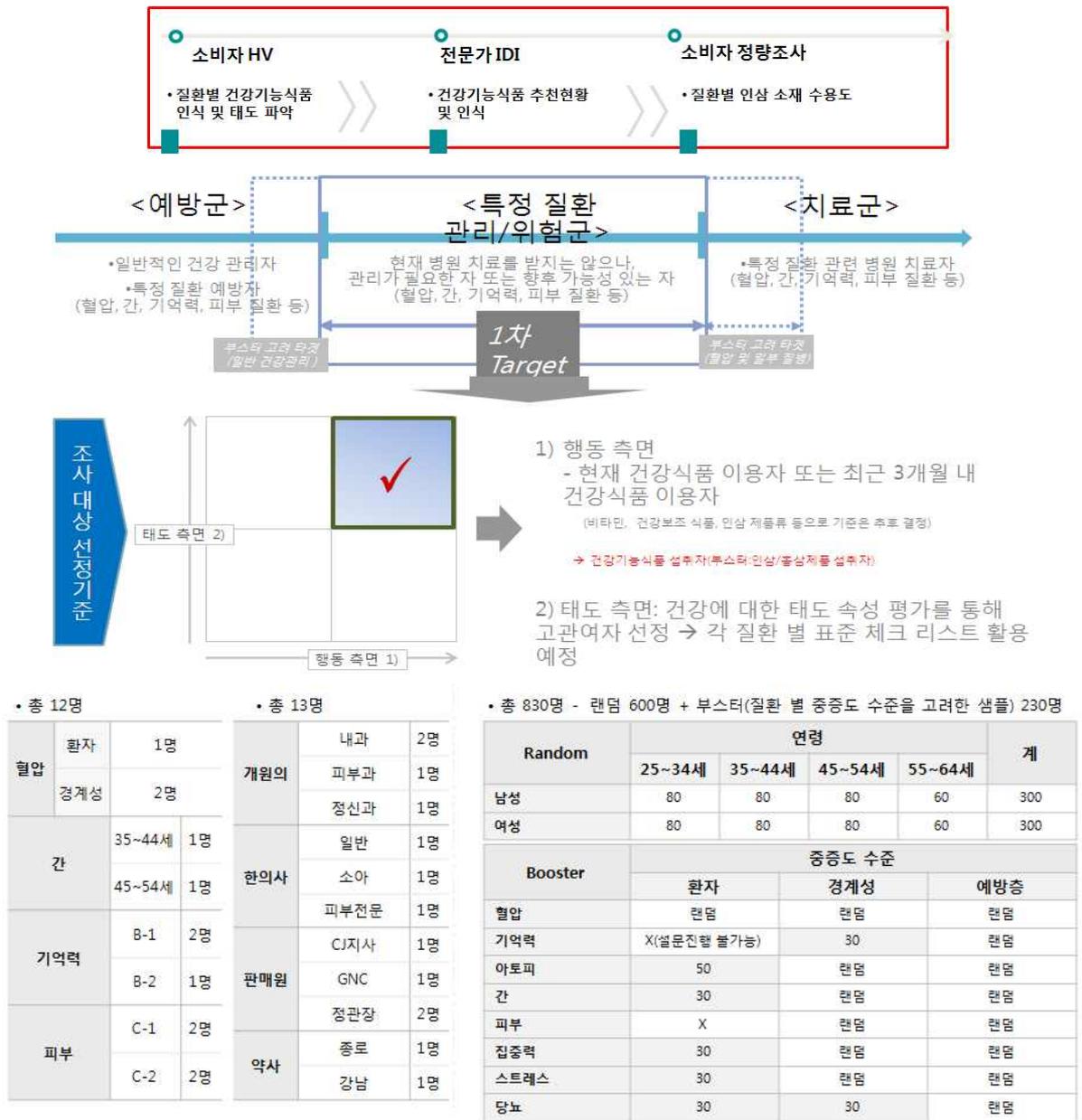


그림 1-2. 인삼소재 전략 수립을 위한 소비자조사 세부내용

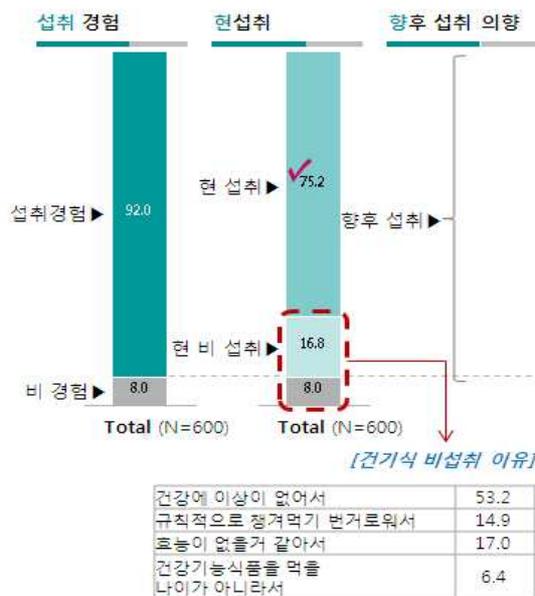
(다) 소비자 조사 결과

① 건강기능식품 섭취현황

소비자 조사 대상자 중 건강기능식품 섭취 경험이 있는 소비자가 92%이며 현재 비섭취율은 17%, 현 섭취율은 75%이며, 향후 섭취 희망은 92% 수준을 보였다. 건강기능식품을 현재 섭취하지 않는 이들의 비섭취 이유로는 건강에 이상이 없거나 규칙적으로 먹기 불편한 점과 효능에 대한 불신 등으로 나타났다.

구입주체의 경우 직접 구입이 70%대로 가장 높게 나타났으며 가족이 대신 구입하는 것이 30%, 선물로 구입이 10%로 나타났다. 남성은 직접 구입과 가족이 대신 구입이 비슷한 수준이었으나, 여성은 대부분 직접 구입하는 것으로 나타났으며 선물로 구입도 여성층이 높은 것으로 나타났다.

건강기능식품 주 구입 장소로 남성은 건강기능식품 전문점과 약국의 비중이 높았으나, 여성은 건강기능식품 전문점과 함께 방판/다단계나 대형할인점의 구매빈도가 높은 것으로 나타났다. 전체적으로는 건강기능식품 전문점, 약국, 방판/다단계, 할인매장 순으로 이용하는 것으로 조사되었다.



구입주체 [Base : Random, MA, Unit : %]

	Total (N=600)	성별	
		남성 (N=300)	여성 (N=300)
직접 구입	70.3	47.9	91.4
가족이 대신 구입	31.3	53.9	9.9
선물	10.2	6.4	13.8

주구입 장소 [Base : Random, 주 섭취 건강식 섭취자, Unit : %]

	Total (N=473)	성별	
		남성 (N=229)	여성 (N=244)
건강식 전문점	25.2	28.6	22.4
약국	18.3	19.5	17.3
방판/다단계	15.7	10.0	20.5
대형 할인매장	13.8	11.5	15.6
선물	5.1	4.8	5.3
잘 모름	9.4	12.8	6.6

그림 1-3. 건강기능식품 섭취 경험 및 구입주체, 구입장소

② 건강기능식품 연상

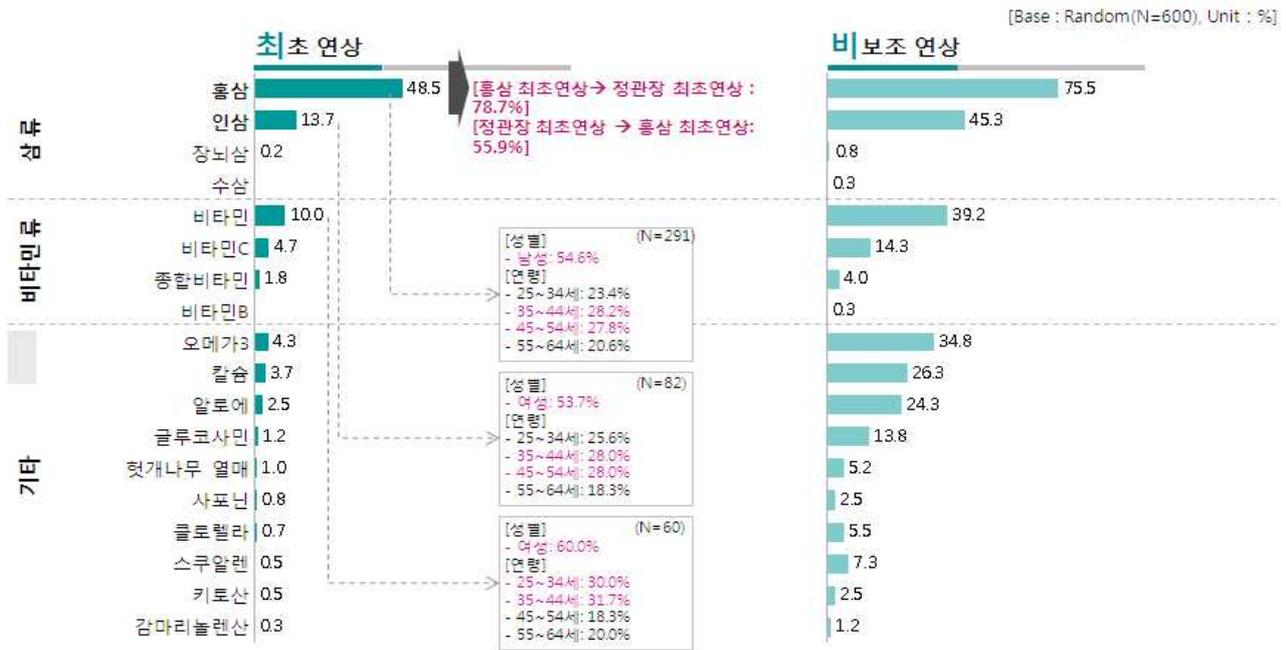


그림 1-4. 건강기능식품 최초 및 비보조 연상

건강기능식품에 대한 소비자들의 연상을 조사한 결과, 최초 연상으로 홍삼, 인삼, 비타민, 오메가3 순으로 연상되고 있었으며, 특히 홍삼의 최초 연상이 48.5%로 국내 소비자들에게 홍삼이 건강기능식품의 대표적인 소재로 인식되어 있음을 알 수 있으며, 이는 시장규모에서도 비례적으로 나타나는 것을 알 수 있다. 또한 홍삼 최초 연상자는 건강기능식품 브랜드 최초 연상에서 정관장 최초 연상이 79%로 매우 높은 연결강도를 보여 인홍삼에 있어 국내 절대적인 브랜드로 정관장이 인식되어져 있음을 알 수 있었다.

성별에 따른 차이를 보자면, 홍삼은 남성에게, 인삼은 여성에게 다소 높은 최초 연상을 보여 주었지만 미세한 차이로 큰 의미는 없는 것으로 보여지며, 특이적으로 비타민의 경우 여성들에게 높은 최초 연상을 보여주었다.

비보조 연상 조사에 있어서는 홍삼이 75.5%를 차지할 정도로 국내 소비자들에게 홍삼은 건강기능식품에서 절대적이라는 것을 알 수 있었으며, 최초 연상과 동일하게 인삼, 비타민, 오메가 3 등이 열거되었다.

③ 건강기능식품 섭취 현황

건강기능식품 중 현재 섭취율을 조사한 결과, 홍삼이 53.7%로 가장 높은 섭취율을 보여주었으며, 종합비타민, 비타민 C, 오메가 3, 인삼, 칼슘, 알로에, 글루코사민, 유산균 등의 순으로 섭취율을 보여주었다. 섭취기간은 대부분 2~3개월로 유사하였으며, 홍삼의 1회 지출금액은 16.5만원으로 다른 건강기능식품대비 높은 것으로 나타났다.



그림 1-5. 건강기능식품 제품별 섭취 현황

정기 및 비정기 섭취율을 조사한 결과, 홍삼, 종합비타민, 오메가 3 등이 정기적으로 섭취하는 건강기능식품으로 나타났으며, 인삼은 비정기적으로 주로 섭취하고 있으며, 비타민 C는 정기와 비정기적 섭취가 동일한 수준으로 나타났다.



그림 1-6. 건강기능식품 제품별 정기 및 비정기 섭취율

④ 주요 건강기능식품 섭취 이유

현 섭취 & 현 비섭취 이유

[Base: Random, 주 섭취 건강기능식품, Unit : %, 1+2+3순위]

	홍삼 제품 (N=298)	인삼 제품 (N=58)	멀티비타민 (N=184)	비타민C (N=125)	오메가3 (N=111)	
섭취 후, 효능 만족도(Top2%)	91.9	84.5	80.4	69.6	76.6	
복용 이유	기본적인 영양	79.9	53.4	79.3	70.4	56.8
	관리 질환 예방/개선	41.6	43.1	33.2	29.6	37.8
	필요로 하는 성분/기능의 제품	52.0	58.6	57.1	66.4	62.2
	해당 제품/브랜드 신뢰	35.2	29.3	20.1	27.2	16.2
	유명 원산지/좋은 원료/소재	23.5	31.0	8.2	13.6	18.0
	가족/주변 추천	47.0	46.6	29.9	36.0	41.4
	의사/한의사 권유	4.4	6.9	4.9	4.0	7.2
	약사 권유	0.7	3.4	8.7	13.6	5.4
	취식/섭취 편리	9.1	15.5	26.1	20.0	19.8
	가격 적당	1.3	10.3	15.8	8.8	18.9
	구입 편리	2.0		6.5	4.8	7.2

인/홍삼 섭취 & 현 비섭취 이유

[Base: Random, 이전 섭취 & 현 비섭취 건강기능식품, Unit : %]

	홍삼 제품 (N=114)	인삼 제품 (N=107)	
비복용 이유	효과/효능이 좋지 않아서/느끼지 못해서	27.2	16.8
	가격 대비 가치를 못 느껴서	30.7	22.4
	더 효능/효과가 좋은 제품 출시	2.6	13.1
	주변 친구/친척이 다른 제품을 추천해 주어서	1.8	12.1
	먹기가 불편해서	9.6	11.2
	내 체질/몸에 잘 맞지 않아서, 부작용이 있어서	1.8	11.2
	가족이 다른 제품을 추천	5.3	3.7

그림 1-7. 건강기능식품 주요 제품별 섭취 및 비섭취 이유

주요 건강기능식품의 섭취 후 효능 만족도를 조사한 결과, Top 2의 비율이 91.9%에 이를 정도로 홍삼제품의 효능 만족도가 높은 것을 알 수 있었으며, 인삼 84.5%, 멀티비타민 80.4%, 오메가 3 76.6%, 비타민 C 69.6% 수준으로 나타났다. 이를 볼 때 대부분의 주요 건강기능식품의 효능 만족도는 높다는 것을 알 수 있으며, 효능 만족도가 높은 제품들이 재구매율이 높아지고 매출 규모도 높아지는 것으로 유추할 수 있다.

복용 이유를 조사한 결과 인홍삼 제품의 경우 기본 영양, 관리질환의 예방 및 개선, 필요로 하는 기능/성분 목적으로 섭취가 이루어지고 있었는데, 다른 건강기능식품 대비 관리 질환의 예방 및 개선 목적으로 섭취하는 비율이 높은 것을 볼 수 있었으며, 이는 인홍삼 제품에 있어 소비자들이 특정 질환에 대한 기능성을 기대한다는 것을 알 수 있다.

인홍삼 제품 비섭취 이유는 기대 대비 효능 만족도가 낮고 가격이 높은 점으로 나타나, 효능에 대한 만족도를 특히 특정 질환에 대한 효능 만족도를 높여주는 경우 시장 확대가 가능할 것으로 판단되어 진다.

⑤ 건강식품에 대한 기대효과

건강기능식품 기대 효과

[Base : Random, (N=600), Unit : %]

	Total (N=600)	성별		연령			
		남성 (N=300)	여성 (N=300)	25~34세 (N=160)	35~44세 (N=160)	45~54세 (N=160)	55~64세 (N=120)
일반적인 체력 저하 / 피로 (보양)	54.2	52.3	56.0	45.0	50.0	65.0	57.5
면역력 증진	47.8	48.0	47.7	40.0	46.3	55.6	50.0
항산화	24.8	22.7	27.0	16.9	25.6	30.0	27.5
체질개선	18.7	19.3	18.0	12.5	18.1	21.9	23.3
피부 노화	14.3	10.7	18.0	10.0	11.9	16.9	20.0
눈 피로	13.2	11.3	15.0	8.8	13.1	16.3	15.0
골다공증	12.8	7.7	18.0	8.1	10.0	16.9	17.5
갱년기	12.7	8.0	17.3	2.5	5.0	22.5	23.3
콜레스테롤	10.0	7.0	13.0	3.8	8.8	11.3	18.3
혈압	9.3	13.3	5.3	1.9	6.9	10.0	21.7
장 건강	8.2	6.7	9.7	7.5	9.4	6.9	9.2
스트레스	8.0	7.7	8.3	7.5	5.6	10.0	9.2
피부 개선	7.7	5.0	10.3	8.1	8.8	6.9	6.7
간 건강	5.8	7.7	4.0	5.0	5.6	7.5	5.0
혈당/당뇨	5.8	6.7	5.0	1.9	5.6	5.6	11.7
기억력	5.8	4.0	7.7	1.3	3.8	9.4	10.0
집중력(성인)	3.7	3.3	4.0	1.3	3.8	3.8	6.7
집중력(자녀)	1.3	0.3	2.3	1.3	1.9	1.3	0.8
아토피 (성인)	0.8	0.3	1.3	1.3	0.6	0.6	0.8
아토피 (자녀)	0.7	0.0	1.3	0.0	1.9	0.0	0.8

그림 1-8. 건강기능식품에 대한 성별, 연령별 세부 기대효과

건강식품에 대한 세부 기대효과를 조사한 결과, 피로회복(보양)과 면역력 증진에 대한 기대가 가장 높은 것으로 나타났으며 이는 주로 인홍삼 섭취자가 많은데 기인한 것으로 보이며 주로 중장년층에 기대효과가 높았다. 이외에 항산화, 체질개선, 피부노화 방지, 눈피로, 골다공증, 갱년기, 콜레스테롤, 혈압, 장건강 등의 순으로 기대효과가 나타났다.

간건강의 경우 5.8%로 다른 기대효과 보다는 낮은 것으로 나타났는데, 일반적으로 간에 대한 소비자들의 건강 우려는 높은 것에 대비하여 이를 개선할 수 있는 건강기능식품이 부족하여 이에 대한 기대효과가 낮은 것으로 해석될 수 있다. 연령별로는 중년(45~54세) 중심으로 간건강에 대한 기대효과가 높았다.

⑥ 질환별 건강기능식품 추천 현황 : 약사/판매원

약사

	전반 건강	혈압	간	아토피	기억력	집중력(ADHD)	피부 노화
추천 건강기능식품	<ul style="list-style-type: none"> • 홍삼 • 멀티 비타민 	<ul style="list-style-type: none"> • 은행잎 엑기스, 항산화제 (비타민 C, E 등), • 비타민 B 복합제 • 혈압은 10% 미만 커버 가능 • → 직접적으로 혈압 관련 없음 	<ul style="list-style-type: none"> • 밀크씨슬, 엉겅퀴, 실리마린, 주석산폴린, 메티오닌, 오르시데옥시콜린산(우루사) • 70%이상 커버 가능 	<ul style="list-style-type: none"> • 없음 	<ul style="list-style-type: none"> • 은행잎, 오메가3, 아미노산 • 3~40%정도 커버가능 	<ul style="list-style-type: none"> • 비타민 B 복합제, 항산화제, 레시틴 • 70%이상 커버 가능 	<ul style="list-style-type: none"> • 항산화제, 비타민 C, 콜라겐, 트라넥사민(지혈제) • 40%정도 커버 가능
추천 개수	2 가지	-	6가지	-	3가지	3가지	4가지

판매원

	전반 건강	혈압	간	아토피	기억력	집중력(ADHD)	피부 노화
추천 건강기능식품	<ul style="list-style-type: none"> • 홍삼 • 멀티 비타민 • 코엔자임 큐텐 • 로알젤리 	<ul style="list-style-type: none"> • 직접적으로 혈압을 연결시킬 건강기능식품 없음 • - 콜레스테롤 및 혈액 순환과 연결지어 오메가 3 추천이 많음 	<ul style="list-style-type: none"> • 헛개나무 • 밀크씨슬 • 비타민 B/C • "간쪽으로는 건기식이 많지 않아서 비타민 B/C가 부족해서 그럴수 있다고 하면서 추천해요" 	<ul style="list-style-type: none"> • 클로렐라 • 달맞이꽃 증자유 	<ul style="list-style-type: none"> • 오메가 3 • 레시틴 	<ul style="list-style-type: none"> • 비타민 B • 레시틴 • "레시틴은 대두에서 추출한 거고 뇌를 구성하는 성분으로 설명" 	<ul style="list-style-type: none"> • 코엔자임 큐텐 • 비타민 C • 이너비
추천 개수	4 가지	-	4가지	2가지	2가지	2가지	3가지

그림 1-9. 약사 및 건강기능식품 판매원의 질환별 건강식품 추천현황

질환별 약사 및 판매원들의 건강식품 추천현황을 조사한 결과, 전반 건강의 경우 홍삼과 멀티 비타민을 주로 추천하였으며, 혈압은 주로 전문 의약품을 활용하는 관계로 건강기능식품 추천이 낮은 것으로 나타났으며, 아토피는 클로렐라, 기억력은 은행잎, 오메가 3, 레시틴 등이 추천되었으며, 집중력은 비타민 B 복합제와 레시틴, 피부노화는 비타민 C, 코엔자임 Q10 등이 추천되었다.

간 건강의 경우 의약품 등 약사가 추천할 제품들은 많은 반면, 일반 판매원들이 추천할 건강기능식품은 부족하며 간건강과의 직접적인 연관성이 크지 않은 비타민류를 대체제로 권유 판매하는 것으로 나타나 관련 제품의 개발이 필요한 것으로 보여진다.

근래에 헛개나무, 밀크씨슬 등 간건강에 도움을 줄 수 있는 건강기능성 소재들이 개발되어 상품화 되었으며 건강기능식품은 물론 숙취해소 드링크제의 소재로도 활발하게 활용이 되고 있어 관련 건강기능 소재의 미래 시장환경은 밝다고 할 수 있다.

⑦ 질환 중증도별 건강기능식품 진입 기회 탐색

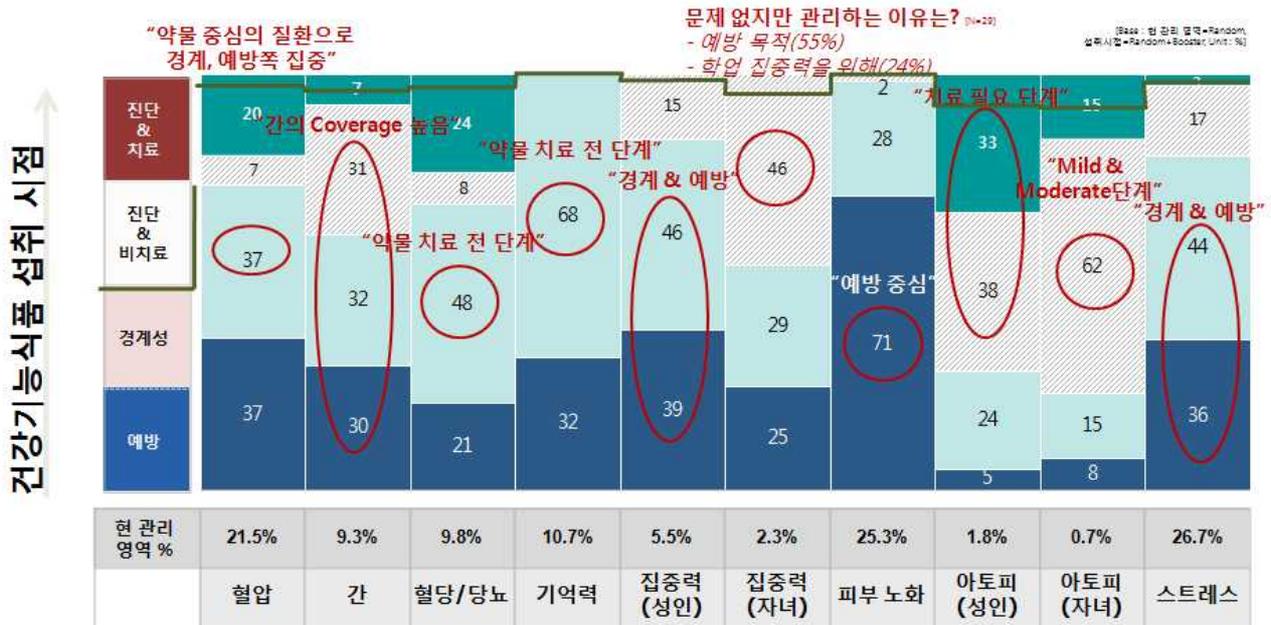


그림 1-10. 질환 중증도별 건강기능식품 진입기회 조사

질환 중증도를 예방, 경계성, 진단&비치료, 진단&치료 단계로 나누어 건강기능식품 섭취 시점을 조사하였다.

예방단계에서 많이 섭취하는 질환으로 피부노화가 압도적으로 높게 나왔으며, 성인 집중력, 스트레스, 혈압 등의 질환이 상대적으로 높게 나타났다. 경계성 단계에서는 성인 기억력이 가장 높게 나타났으며 혈당, 집중력, 혈압, 스트레스도 높게 나타났다. 진단&비치료 단계에서는 아동 아토피가 가장 높게 나타났으며 자녀 집중력, 성인 아토피 등이 높게 나타났다. 진단 &치료 단계에서는 전반적으로 건강기능식품 섭취율이 낮아졌으며, 성인 아토피, 혈당, 혈압이 높게 나타났다.

간건강은 치료 단계를 제외하고는 전체 Coverage가 넓어 예방, 경계성, 진단&비치료 영역의 소비자들에게 진입 기회가 있는 것으로 판단된다. 특히 최근 건강검진 등을 통하여 경계성 단계에서 간건강의 위험성을 인지하는 경우가 많아 간건강 기능성 소재의 시장기회는 클 것으로 판단되어 진다.

⑧ 인삼 소재의 질환 증증도 별 수용도

[Base: Random+Booster, Unit:%]

		내과 질환												
		혈압				간				혈당/당뇨				
		전체	진단	경계성	예방	전체	진단	경계성	예방	전체	진단	경계성	예방	
		(N=154)	(N=57)	(N=40)	(N=57)	(N=101)	(N=40)	(N=28*)	(N=33)	(N=126)	(N=48)	(N=56)	(N=22*)	
질환 Care 현황	섭취율	46.1	36.8	62.5	43.9	66.3	77.5	71.4	48.5	71.4	70.8	73.2	68.2	
	향후 의향	70.8	89.5	52.5	64.9	78.2	92.5	67.9	69.7	78.6	95.8	75.0	50.0	
특정 질환 care 용	인삼 분획(Top2%)	77.9	73.7	75.0	84.2	82.2	85.0	78.6	81.8	83.3	89.6	83.9	68.2	
	인삼분획 Top2 응답자 중, 기대 효과 정도*	기능 기대% (기능 Only + 기능+보양)	59.0	56.2	40.0	75.5	53.5	55.0	42.9	60.5	65.1	77.1	62.5	45.5
		기능 Only	8.4	1.8	7.5	15.8	4.9	2.5	-	12.1	11.9	14.6	10.7	9.1
		기능+보양	50.6	54.4	32.5	59.7	48.6	52.5	42.9	48.4	53.1	62.5	51.8	36.4

그림 1-11. 인삼 기능성 소재의 질환 증증도별 수용도 조사

인삼 기능성 소재의 내과 질환(간, 혈압, 혈당) 증증도별 수용도를 조사한 결과, 해당 질환의 care를 위한 건강기능식품 섭취율이 혈당과 간이 다소 높았으며, 상대적으로 혈압은 낮은 것으로 나타났다. 향후 의향에 있어서도 혈당과 간이 78%대로 높아 관련 건강기능식품의 시장 기회가 높음을 알 수 있었다. 혈압에 있어서도 현재 섭취율은 떨어졌지만 향후 섭취율이 높아 관련 효능이 증대된 건강기능식품이 개발될 경우 시장기회가 있는 것으로 판단된다.

특정 질환의 Care를 위한 인삼 기능성 소재의 컨셉상 수용도를 조사한 결과, Top 2가 혈당 83.3%, 간 82.2%, 혈압 77.9%로 모두 높은 수용도를 보여주었다. 혈압은 예방 단계에서의 수용도가 높은 반면 간과 혈당은 진단단계에서 높은 수용도를 볼 수 있어 관련 타겟에 맞추어 건강기능식품 개발이 필요할 것으로 생각되어 진다.

세가지 내과 질환 모두 인삼 기능성 소재를 해당 기능에 한정된 목적으로 섭취하기 보다는 기능과 함께 보양적인 목적으로 섭취를 원하는 것을 알 수 있었다.

⑨ 인삼 기능성 소재 제형 및 유통채널 선호도

[Base: Random, Unit: %/Mean]

	인삼 분획 Total	인삼 분획 섭취 목적						홍삼 분획 Total	홍삼 분획 섭취 목적					
		일반 건강	면역력 증진	일반 건강+ 면역력	특정 질환	일반 건강+ 특정 질환	일반 건강+ 면역력+ 특정 질환		일반 건강	면역력 증진	일반 건강+ 면역력	특정 질환	일반 건강+ 특정 질환	일반 건강+ 면역력+ 특정 질환
		(N=600)	(N=90)	(N=64)	(N=85)	(N=101)	(N=217)		(N=248)	(N=600)	(N=10*)	(N=31)	(N=101)	(N=41)
알약	31.6	23.3	28.1	24.7	53.5	32.3	33.9	27.3	14.3	26.7	5.9	51.2	28.7	30.8
분말형태	13.3	12.2	17.2	7.1	8.9	16.1	12.5	6.0	-	13.3	1.0	2.4	8.8	6.5
즙/농축액 등 액상 형태	55.0	64.4	54.7	68.2	37.6	51.6	53.6	66.7	85.7	60.0	93.1	46.3	62.6	62.7
적정 가격 (Mean /만원)*	7.7	5.3	7.7	6.5	7.6	8.5	8.3	11.4	7.7	9.2	10.4	10.7	11.6	12.0
건강기능식품 전문점 및 대 리점	39.2	14.7	54.3	31.3	37.7	48.2	40.1	39.2	14.3	40.0	22.8	22.0	48.5	43.0
대형 할인매장	32.0	50.0	28.3	37.5	28.6	24.1	32.2	32.0	42.9	40.0	49.5	46.3	19.9	29.7
약국	9.3	13.2	10.9	12.5	14.3	7.2	6.2	9.3	14.3	-	13.9	17.1	8.2	7.6
백화점	6.3	2.9	2.2	1.6	9.1	7.2	8.5	6.3	-	-	3.0	7.3	6.4	8.0

*복원 이하 단위 결사

그림 1-12. 인삼 기능성 소재의 제형 및 유통별 선호도 조사

인삼 기능성 소재에 적합한 제형에 대해 조사한 결과, 전반적으로 캡슐/타블렛과 같은 정제나 분말보다는 액상제형인 즙이나 농축액 형태를 선호하는 것으로 나타났으나 특정 질환 기능만을 목적으로 섭취 시에는 정제를 선호하였다.

인삼 기능성 소재의 적정 가격대는 인삼분획 7.7만원, 홍삼분획 11.4만원으로 인삼과 홍삼에 대한 소비자들의 인식상 가치에 큰 차이가 있는 것을 알 수 있었는데, 이러한 인식상의 차이는 인삼대비 홍삼의 우수성에 대해서만 오랜기간 홍보되어온 결과로 홍삼산업만 비균형적으로 발전하는 이유가 되었으며 이는 인삼산업의 균형적인 발전에는 저해되는 현상으로 보인다. 특히 최근까지도 건강기능식품법상 인삼 대비 홍삼의 기능성만 추가되는 등 홍삼편중의 연구는 시정되지 않고 있어 인삼에 대한 기능성 연구를 통해 인삼가치 증대도 필요할 것으로 사료된다.

일반 건강이나 면역력 보다는 특정질환에 높은 가격 수용도를 보였으며, 특히 일반적인 인홍삼의 효능인 일반건강 및 면역력에 특정 질환에 대한 기능이 추가될 경우 가장 높은 가격 수용도를 보여주었다. 인삼 기능성 소재의 적합한 유통채널로는 건강기능식품 전문점과 대형할인매장으로 나타났다.

(2) 해외 인삼제품 선진사 Ginsana 벤치마킹

Global 제약회사인 베링거인겔하임 자회사인 Pharmaton사에서 개발한 Ginsana는 인삼의 유효성분인 Ginsenoside 함량을 표준화한 인삼추출물 G115를 주원료로 하는 제품으로 G115에 대한 다양한 기능성 연구 및 논문/학회 발표를 통해 소재 브랜드화에 성공한 제품이다. Ginsana는 전세계 200억불/년 규모의 인삼시장에서 연간 30억불 정도의 매출을 기록하며 독보적인 글로벌 히트 인삼제품으로 자리매김하였다. (출처 : 최신고려인삼연구 2007, 고려인삼학회)



그림 1-13. Ginsana 제품

(가) Ginsana전략

Pharmaton에서 개발한 인삼의 유효성분인 Ginsenoside 8종의 함량을 표준화한 인삼추출물 G115를 주원료로 하는 제품의 브랜드 명 G115에 대한 다양한 기능성 연구 및 논문발표 등의 홍보활동으로 소재 브랜드화 성공한 제품이다.

국내에서는 G115를 주원료로 비타민, 무기질이 함유된 파마톤(일반의약품/캡슐), 파마톤W(일반의약품/타블렛) 제품 판매 중이다.

표 1-1. Ginsana 제품 현황

제품명	주원료	기능성	비고
Ginsana	G115	에너지/체력강화	의약품/캡슐
Ginsana tonic	G115	에너지/체력강화	의약품/액상
Ginsana energy	G115+멀티비타민	종합영양	Supplement/연질캡슐
Gincosan	G115+Gingko	인지능력 개선	의약품

(나) G115란?

고려인삼(*Panaxginseng C.A.Mayer*) 에서 추출한, 8종 (Ginsenoside Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rg2)의 각각의 Ginsenoside 함량을 표준화한 인삼추출물이며, 초기에는 Pharmaton-Korea에서 매입한 인삼을 국내에서 1차 가공하여 추출물을 만들고 이를 스위스 본사에서 재가공하여 제품의 Ginsenoside 함량 및 규격을 맞춘 G115를 생산하였으나, 현재는 중국산 고려인삼(*Panaxginseng C.A.Mayer*)을 사용하여 생산 중에 있다.

(다) 제조 방법상의 특징

원료의 규격 검사는 원료 삼의 Ginsenoside Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rg2 함량 확인하여 관리하고 있으며, 저온 추출 공정을 통한 Ginsenoside 변환을 최소화하였다.(국내 홍삼 농축액 제조 시에는 색상 증진을 위해 고온에서 가열하는 공정 존재) 함량 조절 및 규격화는 HPLC 분석을 이용하여 Ginsenoside 함량을 조절 및 규격화하고 있다.

(라) G115를 이용한 기능성 연구 논문

표 1-2. G115를 활용한 기능성 연구 논문

분류	내용	편수
인지능력 (기억)	<i>Effects of standardized ginseng extract on learning memory and physical capability., Am. J. Chin. Med. 1987;15(1-2):19-29</i> <i>Single doses of Panax ginseng(G115) reduce blood glucose levels and improve cognitive performance during sustained mental activity., J. Psychopharmacol., 2005. Jul;19(4):357-65.</i>	10
운동능력	<i>Effects of a standardized Panax ginseng extract on the skeletal muscle of the rat: a comparative study in animals at rest and under exercise., Ferrando A., Planta Med. 1999 Apr;65(3):239-44.</i>	3
면역력 증진	<i>Efficacy and safety of the standardised Ginseng extract G115 for potentiating vaccination against the influenza syndrome and protection against the common cold., Scaglione F., Drugs Exp Clin Res. 1996;22(2):65-72.</i>	1
혈당	<i>The glycaemic effects of single doses of Panax Ginseng in young healthy volunteers. Reay JL., Br.J.Nutr., 2006 Oct;96(4):639-42.</i>	1
스트레스	<i>Panax ginseng C.A. Mayer G115 modulates pro-inflammatory cytokine production in mice throughout the increase of macrophage toll-like receptor 4 expression during physical stress., Pannacci M., Brain Behav Immun., 2006. Nov;20(6):546-51.</i>	1
삶의 질 (파마톤)	<i>Double-blind study of a multivitamin complex supplemented with ginseng extract., Caso Marasco A., Drugs. Exp. Clin. Res., 1996;22(6):323-9.</i>	1

나. 인삼 기능성 소재 대량생산시스템 구축

(1) 산업화를 위한 생산라인 검토

인삼 기능성 소재의 산업화를 위해 GMP 인증을 받았으며 인삼 소재 생산에 필요한 설비를 갖춘 업체들을 중심으로 생산라인 검토를 진행하였다.

GMP 허가 업체이며, 신규 기능성 인삼소재에 필요한 분획 제조 설비를 갖춘 곳은 (주)비트로시스, (주)아미코젠, (주)MSC 등이 조사되었다. 이들 중 기술력, 생산력, 품질 관리 역량, 가공비 경쟁력 등을 고려하여 가장 적합한 업체를 선택하여 양산 Test를 진행하였다.

(2) 인삼 소재 Lab 재현성 검증

(가) 공정정립

협동2과제에서 세팅한 인삼 분획(Diol/Triol, Rh1, Rg3, Compound K 강화 분획) 제조공정을 토대로 Lab에서 재현성을 검증해 보았다.

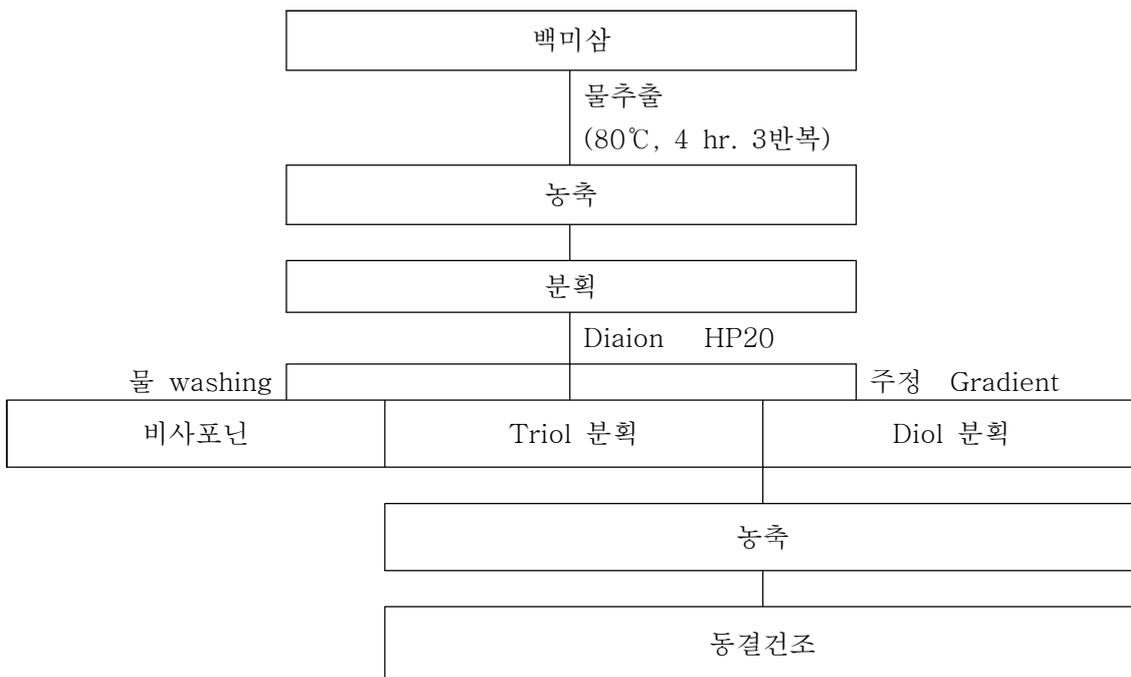


그림 1-14. Rb1 강화분획 및 Rg1 강화분획 제조공정도

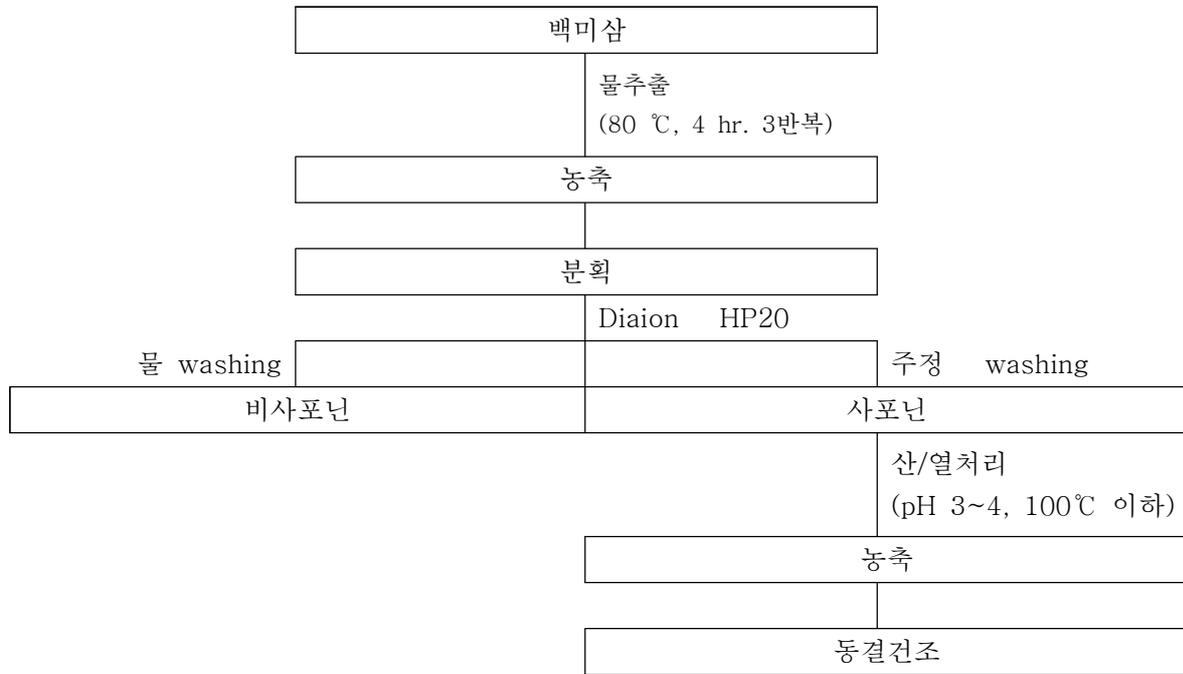


그림 1-15. Rg3 강화분획 및 Rh1 강화분획 제조공정도

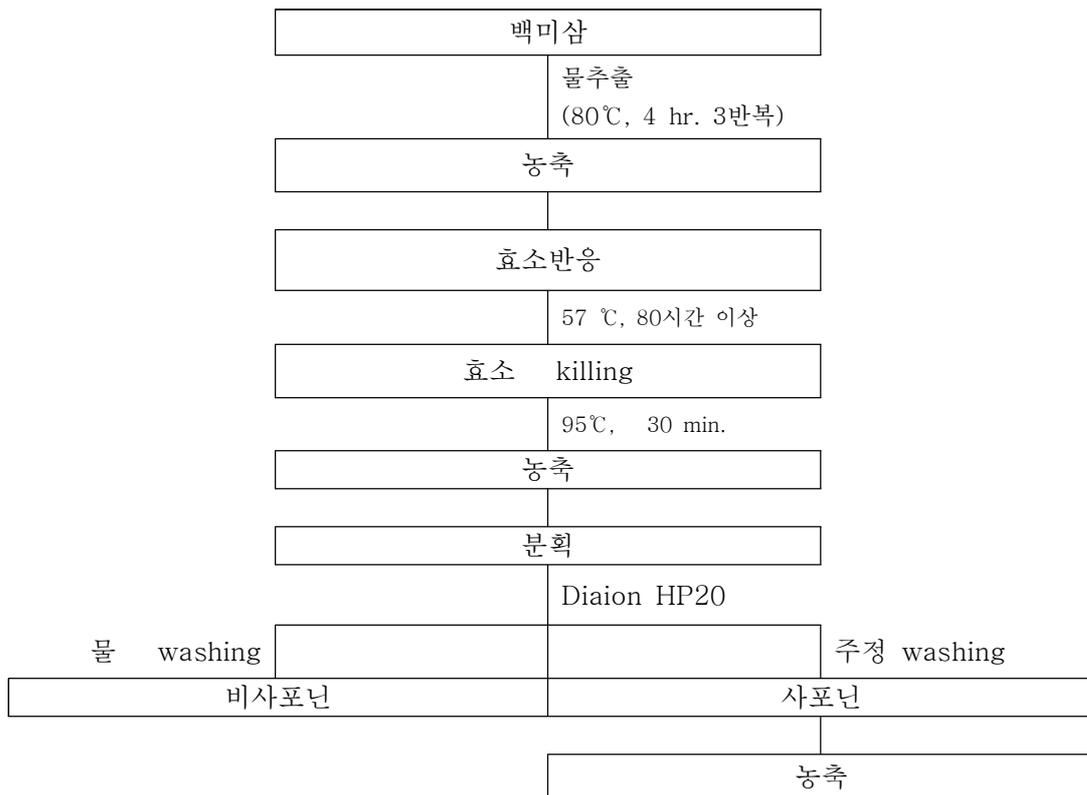


그림 1-16. Compound K 강화분획 제조공정도

(나) 분석조건 정립

인삼사포닌 분석은 HPLC (HPLC System, Agilent 1260)를 이용하였으며, 시료는 20 µL를 시료자동주입기로 주입하였다. 컬럼은 venusil XBP-C₁₈ 컬럼 (4.6 mm x 250 mm, 5 µm particle size)을 사용하였다. UV-detector 검출파장은 203 nm, 유속은 1.6 mL/min으로 분석하였으며, 이동상은 물과 아세트니트릴을 사용하였고 분석시간에 따른 이동상 조건은 아래와 같다.

표 1-3. 인삼농축액, Triol, Diol, Rg3 강화분획 분석을 위한 HPLC 이동상 조건

TIME	ACN %	FLOW RATE
00:00	20	1.6 ml/min.
10:00	20	
20:00	24	
23:00	27	
45:00	40	
50:00	100	
57:00	100	
57:01	20	
62:00	20	

표 1-4. Compound K 강화분획 분석을 위한 HPLC 이동상 조건

TIME	ACN %	FLOW RATE
00:00	33	1.6 ml/min.
05:00	33	
30:00	70	

(다) 각 분획물 분석 결과

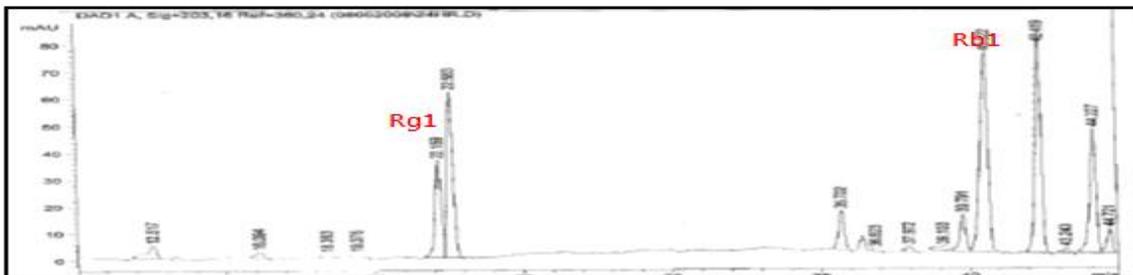


그림 1-17. 인삼농축액 HPLC 분석결과

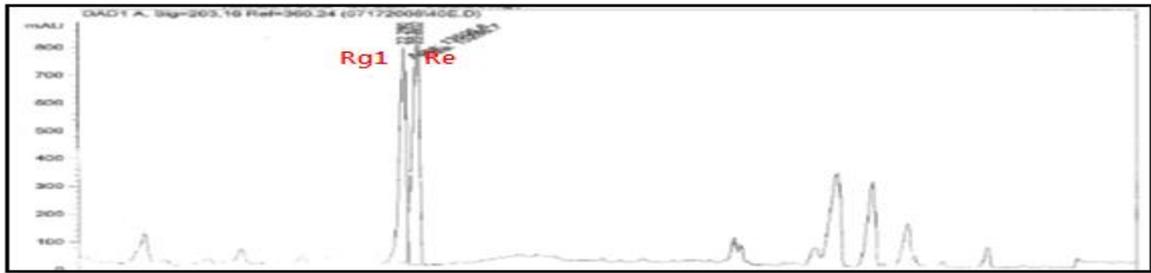


그림 1-18. Triol(Rg1) 강화분획 HPLC 분석결과

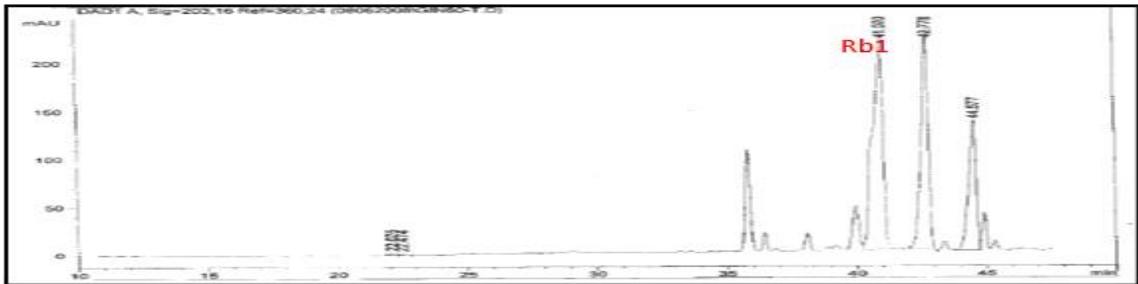


그림 1-19. Diol(Rb1) 강화분획 HPLC 분석결과

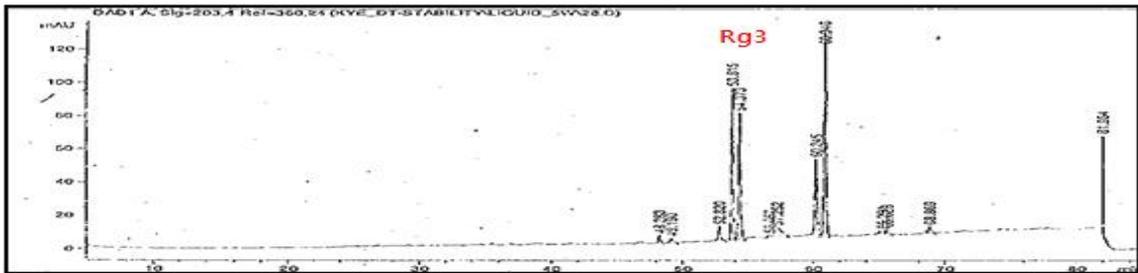


그림 1-20. Rg3 강화분획 HPLC 분석결과

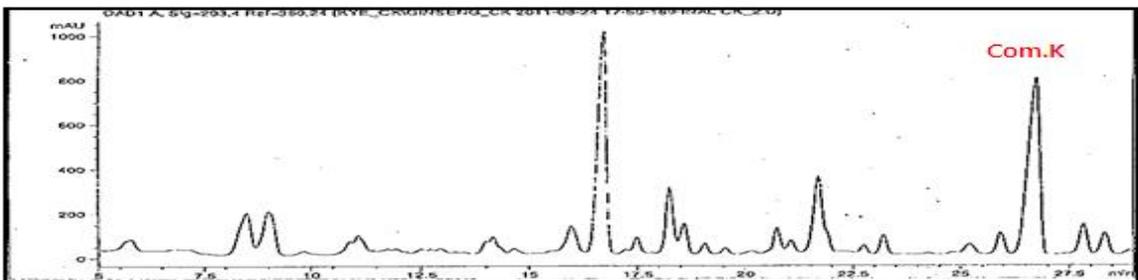


그림 1-21. Compound K 강화분획 HPLC 분석결과

(3) 인삼 특이성분 강화분획 Scale up 재현성 검증

간기능 개선 후보소재인 Diol(Rb1)강화분획과 Compound K 강화분획의 경우, 생산 scale에서의 재현성 검증을 위해 GMP 허가 업체 중 2곳을 골라 test를 진행하였다.

먼저, Compound K 강화분획의 경우는 (주)비트로시스에서 생산을 진행하였으며, 지표성분인 Compound K 이외에도 내부지표 관리를 위해 효소전환 과정에서 생성되는 Ginsenoside F2의 분석을 진행하였다. 그 결과는 표와 같으며, 이후 반복실험을 통해 반복 재현성을 확인하였다.

표 1-5. Compound K 강화분획의 수율 및 지표성분 함량

Compound K 강화분획	지표성분 함량	내부지표 함량	수율
	80mg/g	70 mg/g	12.8 %

그리고, Diol(Rb1) 강화분획의 경우는 물과 주정을 이용한 성분의 분리가 이루어져야 하는 공정이므로, (주)MSC에서 생산을 진행하였다. 물을 이용하여 비사포닌 성분을 최대한 용출 시킨 후, 주정의 Gradient를 이용하여 Triol계 사포닌과 Diol계 사포닌의 분리능을 실험하여 Lab과 유사한 결과를 득할 수 있었다.

이후 반복실험을 통해 반복 재현성을 확보하였으나, 공정 중에 발생하는 사포닌의 Loss를 최소화하기 위한 연구가 필요하며, 주정의 사용량이 많을수록 원가가 높아지므로 개선 연구가 필요한 것으로 판단되었다.

표 1-6. Rb1 강화분획의 수율 및 지표성분 함량

Rb1 강화 분획	지표성분 함량	추가 내부지표	수율
	220 mg/g	Ginsenoside Rb2, Rc, Rd	6.0 %

동물실험 및 지표성분의 안정성을 고려하여 원료는 동결건조하여 분말화 하였다. Lab scale에서의 연구결과가 생산 scale에서도 최대한 재현될 수 있도록 Lab 연구 조건과 가장 유사한 장비를 보유한 업체를 선정하여 scale up 연구를 진행하였고, 그 결과 Lab scale 결과물을 생산 scale에서도 재현할 수 있었다.

다. 인삼 소재 제형화 검토 및 안정성 Test

(1) 인삼 소재 제형화 검토

(가) 액상 제형화

Rb1 강화분획과 Compound K 강화분획의 음료 등의 액상제형 원료로 적용시 인삼 고유의 고미가 강하게 발현이 되었으나 용해성 등에서는 큰 문제가 발견되지 않았다. 특히 저장기간 중 발생하는 침전물 등은 적절한 안정제 등을 활용하여 충분히 사전 제어가 가능하다. 고미의 경우 인삼 고유의 맛으로 소비자들이 인식하는 관계로 큰 문제가 되지 않으나 고미를 싫어하는 소비자와 글로벌 진출을 위해서는 고미를 효과적으로 masking할 수 있는 배합비의 개발이 필요로 한다.

(나) 기타 제형화

Rb1 강화 분획과 Compound K 강화분획의 경우 동결건조 처리를 한 상황으로 외부에 노출 시 쉽게 흡습 및 고결이 발생하는 문제가 있었다. 이에 원료 자체를 B2B 또는 B2C로 판매를 하기 위해서는 외부의 습기를 차단 할 수 있는 포장재를 필히 사용하여 한다. 흡습성이 강한 원료 특성상 타블렛이나 경질캡슐보다는 연질캡슐 또는 분말과립화 스틱포 형태가 좋을 것으로 판단된다. 원료자체가 동결건조분말 형태인 관계로 홍삼정과 같은 농축액 형태의 제형이 필요할 경우 동결건조 과정 전단계의 분획물을 제품화 할 수 있을 것이다.

(2) 인삼 기능성 신소재 저장 안정성 시험

(가) 원료 저장 안정성 시험

양산 scale로 제조된 Rb1 강화 분획의 원료 상에서의 저장 안정성 시험을 가속시험법으로 진행였다. 저장온도 4℃, 25℃, 35℃, 45℃에서 각각 보관하였으며, 총 12주간 보관하면서 2주 간격으로 샘플링하여 인삼유효성분의 변화를 관찰하였다.

인삼 Rb1 강화 분획 Ginsenoside Rb1 함량 : 263 mg/g

인삼 Rb1 강화분획의 가속 test 결과 표 1-7과 같았으며 모든 온도구간에서 유의미한 함량 변화가 관찰되지 않아 원료소재 판매를 위해 필요한 최소 유통기한 2년 이상을 확보하는 것으로 예측된다.

표 1-7. 인삼 Rb1 강화 분획의 분말 원료상 가속 test 결과

	4℃	25℃	35℃	45℃
0일	263	263	263	263
14일	253	259	263	283
28일	278	265	271	264
42일	259	284	273	271
56일	263	269	267	265
70일	267	267	280	269
84일	269	267	266	260

(나) 액상에서의 저장 안정성 시험

인삼 Rb1을 분말이나 타블렛 등의 수분함량이 높지 않은 제형에 적용시 원료분말의 유통기한과 유사한 유통기한이 예상되나(유효성분 함량 측면) 음료 등의 액상제형에 적용시 높은 수분함량 하에 활발한 분자운동에 의한 빠른 화학반응이 예상되어 이에 대한 저장 안정성 시험을 통한 유통기한을 산출함으로써 인삼 기능성 신소재의 액상제형 적용시 가이드 라인을 제공하고자 하였다.

액상제품들의 가장 큰 차이가 pH에 있으며 이에 따른 화학반응 속도도 차이가 예상되어 대표적인 액상제품의 pH 분류인 pH 3.0, 4.5, 6.0 조건의 액상에 인삼 Rb1 강화분획을 완전히 용해하고 저장온도 4℃, 25℃, 35℃, 45℃에서 각각 보관하면서 매주 샘플링하여 인삼 유효성분의 변화를 관찰하였다.

인삼 Rb1 강화분획 적용 액상 시제 Ginsenside Rb1함량 : 280 mg/100ml

① pH 6.0 액상조건에서의 저장안정성 test

표 1-8. pH 6.0 액상조건에서의 Rb1 강화분획 저장안정성 test 결과

	4 ℃	25 ℃	35 ℃	45 ℃
0일	280	280	280	280
7일	276	277	272	278
14일	281	282	279	276
21일	279	278	279	279
28일	280	280	280	279
35일	277	280	280	280
42일	280	280	280	280

인삼 Rb1 강화분획의 pH 6.0 액상조건에서의 가속 test 결과 모든 온도구간에서 유의미한 함량 변화가 관찰되지 않아 원료분말과 동일하게 최소 유통기한 2년 이상을 확보하는 것으로 예측된다.

② pH 4.5 액상조건에서의 저장안정성 test

표 1-9. pH 4.5 액상조건에서의 Rb1 강화분획 저장안정성 test 결과

	4 °C	25 °C	35 °C	45 °C
0일	280	280	280	280
7일	273	274	272	254
14일	278	276	269	245
21일	274	276	264	230
28일	280	279	261	209
35일	271	269	247	174
42일	281	277	246	174

인삼 Rb1 강화분획의 pH 4.5 액상 조건에서의 가속 test 결과 저장기간이 경과되고 저장온도가 높을수록 Rb1 유효성분이 감소되는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 중성 조건과 달리 약산성 조건에서 Ginsenoside Rb1이 가수분해되어 Rd, Rg3로 전환된 것으로 예상할 수 있다.

식품의 품질변화에 대한 화학방정식은 시간과 속도상수로서 표현되는 다음 식을 기초로 한다.(Labuza, 1982) 저장성 시험에서 얻은 결과는 저장기간(t)에 따른 변화로서 이 결과를 Kinetic Plot으로 변형시키면 품질손상의 반응속도상수(K)를 얻게 된다. 이 때, 물질의 품질저하속도가 반응물의 농도에 관계없이 일정한 반응을 나타내는 경우 0차 반응을 따르게 되며, 반응물의 농도에 따라 지수적으로 감소하는 반응을 나타내는 경우 1차 반응을 따르게 된다. 인삼 Rb1 강화분획의 가속시험 결과를 회귀 분석한 결과 0차 반응에 따라 해석하는 것이 적절할 것으로 판단되었다.

$$C = C_0 + kt$$

C; 품질지표의 t시간 경과 후 측정값

C₀; 품질지표의 t시간 경과후의 측정값

k; 반응속도 상수

t; 저장시간(week)

표 1-10. 저장온도별 품질지표의 반응속도 상수

				slope(k)			intercept(A0)	R ²
0차	25	y	=	-0.0816	x	+	277.571	0.1159
	35	y	=	-0.8163	x	+	279.857	0.9569
	45	y	=	-2.6224	x	+	278.786	0.969

물질의 품질변화에 대한 온도의존성을 설명하기 위해 시간과 속도상수로서 표현되는 많은 화학반응식이 제안되었으나, 현재까지는 아레니우스 반응식(Arrhenius equation)이 가장 널리 사용되고 있다.(Labuza, 1982) 활성화에너지란 물질이 반응을 일으키는데 필요한 최소한의 에너지로서, 아레니우스 반응식으로부터 구한 K의 자연 로그값인 LnK를 Y축으로 1/T를 X축으로 하여 선형회귀분석한 후 얻은 직선의 기울기로부터 활성화에너지(Ea)를 구하였다.

$$K = Ae^{-E_a/RT}$$

Ae; 아레니우스 상수

Ea; 활성화 에너지(cal/mol)

R; 기체 상수(1.987 cal/mol)

T; 절대온도(°K)

K; 반응 속도 상수

$$\ln K = \ln Ae - \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} \right)$$

$$E_a = -Slope \times R$$

표 1-11. Ginsenoside Rb1의 0차 반응식에 의한 활성화 에너지(Ea) 산출

	온도(°C)	온도(T)	1/T(x축)	K	LnK(Y축)
0차	25	298	0.00336	0.08163	-2.5055
	35	308	0.00325	0.81633	-0.2029
	45	318	0.00314	2.62245	0.96411

0차회귀식		slope		intercept	R ²
y	=	-16492	1/T	53.0025	0.97204
Ea=	-32754				

저장 실험한 온도구간이 우리나라 1년 유통온도를 모두 반영하지 않는 바, Ginsenoside Rb1의 연간변화량을 산출하기 위해서는 실험하지 않은 온도 구간에 대한 반응속도 상수의 산출이 필요로 한다.

표 1-12. 활성화 에너지로부터 실험하지 않은 온도구간의 반응속도상수 산출

	온도(°C)	온도(T)	1/T(x축)	LnK(Y축)	K
0차	10	283	0.00353	-5.274	0.00512
	15	288	0.00347	-4.2623	0.01409
	20	293	0.00341	-3.2851	0.03744
	25	298	0.00336	-2.3406	0.09627
	30	303	0.0033	-1.4274	0.23994

실험하지 않은 구간의 유통온도 설정은 우리나라 월별 평균온도를 고려하여 적용하였다. 국내 유통온도에서 지표성분의 연간 변화량을 산출하기 위하여 2007년도 기상청 자료를 참조하여 유통기한 산출의 근거로 사용하였다.

표 1-13. Ginsenoside Rb1의 연간변화량 산출

	저장온도(°C)	온도별 유통기간, A(일)	반응속도상수 B	연간변화량 A*B(mg/100ml)
0차	10	152	0.00512	0.77869
	15	30	0.01409	0.42271
	20	61	0.03744	2.28374
	25	61	0.09627	5.87224
	30	61	0.23994	14.6361
	누계	365		23.993

표 1-14. Ginsenoside Rb1 기준으로 pH 4.5 액상조건에서의 유통기한

	최초함량(A)	규격하한선(B)	A-B	연간변화량	유통기한(일)	유통기한(주)	유통기한(월)
0차	280	224	56	23.9934	851.9	121.7	28.4

아레니우스 방정식에 따라 산출한 반응속도상수(K)와 우리나라 연간 온도별 예상 유통일수를 이용하여 파괴율 20%를 규격하한선으로 정해서 산출한 결과, Ginsenoside Rb1을 기준으로

한 pH 4.5 액상제형에서 인삼 신소재의 유통기한은 28.4개월로 2년이상의 유통기한을 확보하는 것으로 나타났다.

③ pH 3.0 액상조건에서의 저장안정성 test

표 1-15. pH 3.0 액상조건에서의 Rb1 강화분획 저장안정성 test 결과

	4 °C	25 °C	35 °C	45 °C
0일	280	280	280	280
7일	180	180	59	25
14일	179	150	17	10
21일	195	117	7	6
28일	189	86	5	-
35일	183	82	3	-
42일	186	71	-	-

인삼 Rb1 강화분획의 pH 3.0 액상 조건에서의 가속 test 결과 저장기간이 경과되고 저장온도가 높을수록 Rb1 유효성분이 급격하게 감소되는 것을 관찰할 수 있었다. 품질변화가 없다고 보는 4°C에서도 Rb1 성분의 파괴가 나타나는 등 상온상의 유통기한으로는 상품화할 수 없는 1개월 미만의 유통기한이 산출되었다.

액상에서의 저장안정성 시험 결과, pH 4.5 이상의 중성조건에서는 유통기한 2년 이상이 확보되어 상품화가 가능할 것으로 보여지나 pH 3.0대의 강산성 액상제형에는 Ginsenoside Rb1 성분의 급격한 가수분해로 인하여 상품화가 어려울 것으로 판단되어 진다.

라. 인삼 소재 경제성 분석

(1) 양산 제조시 원가 산출

(가) Rb1 강화분획 원가 산출

인삼 Rb1 강화분획을 대량 양산시스템을 갖춘 설비에서 3회 이상의 양산 반복 test를 통해 적정 원가를 산출하였다.

표 1-16. 인삼 Rb1 강화 분획의 양산 제조시 원가 산출표

공정	원가요소	단위	금액	비고
원료	백미삼	200kg	25,200,000원	126,000원/kg
추출/농축	추출/농축 가공비		1,700,000원	
분획	주정 (회수율 고려 실제소요량)	10,000L	4,800,000원	주정 1,520원/L
		3,000L		
	분획 가공비	7일	3,800,000원	
동결건조	동결건조 가공비		1,000,000원	
	간접비		4,500,000원	
Rb1 강화 분획	계	12kg	41,000,000원	3,416,667원/kg

인삼 200kg 원료 처리 기준으로 하여 전체 원료비 및 임가공비를 산출하였으며, 인삼 원료는 12년 가을 수확 가공처리한 백미삼 기준단가인 126,000원/kg을 적용하였다. 4시간 3회 반복 추출 및 농축 임가공비와 분획 임가공비를 산출하였으며, 분획시 사용되는 주정은 주정회수율을 고려하여 소실되는 양을 산출하여 원가에 산입하였다. 동결건조비와 가공업체의 간접비를 포함한 최종 인삼 Rb1 강화 분획의 원가는 3,416,667원/kg으로 산출되었다.

이번 연구결과로 산출된 인삼 Rb1 강화분획의 제조원가는 일반 인홍삼 농축액대비 15배 이상 높은 가격을 보여주고 있어 향후 상품화시 경제성 확보가 가장 큰 문제가 될 것으로 예상된다. 향후, 공정 중에 발생하는 유효성분의 Loss를 최소화하기 위한 연구와 주정의 사용량이 많을수록 원가가 높아지므로 주정 사용량을 최소화할 수 있는 공정 개선 연구가 필요할 것으로 판단된다. 또한 1차년도에 협동1과제에서 수행한 비알콜성 지방간 개선 동물시험 결과, 3가지 농도군에서 모두 의미 있는 개선 효과를 보여준 바, 추가연구를 통하여 더 낮은 농도에서의 효능효과를 확인할 필요성이 있다고 판단되었다.

(나) Compound K 강화분획 원가 산출

Compound K 강화분획을 대량 양산시스템을 갖춘 설비에서 3회 이상의 양산 반복 test를 통해 적정 원가를 산출하였다.

표 1-17. Compound K 강화 분획의 양산 제조시 원가 산출표

공정	원가요소	단위	금액	비고
원료	백미삼	200kg	25,200,000원	126,000원/kg
추출/농축 /효소처리	추출/농축/효소처리 가공비		6,600,000원	
분획	주정 (회수율 고려 실제소요량)	5,000L 250L	380,000원	주정 1,520원/L
	분획 가공비	2일	1,000,000원	
동결건조	동결건조 가공비		1,000,000원	
	간접비		3,418,000원	
Compound K 강화 분획	계	25.6kg	37,598,000원	1,468,672원/kg

인삼 200kg 원료 처리 기준으로 하여 전체 원료비 및 임가공비를 산출하였으며, 인삼 원료는 12년 가을 수확 가공 처리한 백미삼 기준단가인 126,000원/kg을 적용하였다. 4시간 3회 반복 추출, 농축 및 효소처리 임가공비와 분획 임가공비를 산출하였으며, 분획시 사용되는 주정은 주정회수율을 고려하여 소실되는 양을 산출하여 원가에 산입하였다. 동결건조비와 가공업체의 간접비를 포함한 Compound K 강화 분획의 원가는 1,468,672원/kg으로 산출되었다.

이번 연구결과로 산출된 Compound K 강화 분획의 제조원가는 Rb1 강화분획 대비 낮은 가격이나 일반 인삼농축액대비 상당히 높은 가격을 보여주고 있어 향후 상품화시 경제성 확보가 문제가 될 것으로 예상된다.

향후, 분획에 따른 공정비가 많이 소요되는 관계로 분획 공정 개선 연구가 필요할 것으로 판단된다. 또한 Rb1 강화분획과 동일하게 1차년도에 협동1과제에서 수행한 비알콜성 지방간 개선 동물시험 결과, 낮은 농도군에서도 지표상 개선 효과를 보여준 바, 추가연구를 통하여 분획 공정 개선 후에 효능효과를 확인하여 소재의 가격 경쟁력을 확보해할 필요성이 제기되었다.

(2) 인삼 소재 원가경쟁력 확보

(가) Rb1 강화분획 원가 경쟁력 확보

Rb1 강화분획의 예상원가가 높게 산출된 관계를 소재의 원가경쟁력 확보를 위한 원가절감을 할 수 있는 공정 개선을 진행하였다. 분획물 제조과정에서 시료 로딩량을 기존 20kg에서 80kg로 늘려 단시간에 많은 분획처리가 이루어지게 개선하였으며, 분리방법상으로 1회 용출에서 순환 용출로 개선하여 분리정제 효율을 높이고자 하였다. 이에 따라 소요되는 주정량이 감소되었으며, 분획시간이 절감되며 순환 용출에 의한 분리 정제 효율 증대로 수율이 기존 6%에서 7%로 증대되었다. 수율이 증대되었음에도 기존 지표성분의 profile에는 큰 변화가 없어 분획과정에서의 Loss를 최소화할 통해 원가절감이 가능하다는 것을 알 수 있었다.

표 1-18. 인삼 Rb1 강화 분획의 공정개선 후 원가 산출표

공정	원가요소	단위	금액	비고
원료	백미삼	200kg	25,200,000원	126,000원/kg
추출/농축	추출/농축 가공비		1,700,000원	
분획	주정 (회수율 고려 실제소요량)	4,400L		주정 1,520원/L
		450L	720,000원	
	분획 가공비	3일	1,900,000원	
동결건조	동결건조 가공비		1,000,000원	
			3,052,000원	
Rb1 강화 분획	계	14kg	33,572,000원	2,398,000원/kg

개선공정으로 3회 이상의 반복 양산 test를 진행한 결과, 분획시 사용되는 주정을 기존 3,000L 사용에서 450L 사용으로 주정 사용량을 절감하였으며, 순환 용출 방식의 적용으로 부획처리 일수를 기존 7일에서 3일로 줄여 분획 임가공비의 절감을 가져왔으며, 이들 절감액에 따른 간접비의 절감효과가 있었다. 또한 분획과정에서의 loss를 최소화하여 수율도 기존 6%에서 7%로 증대되었다. 개선 공정을 적용한 양산 test를 토대로 산출한 Rb1 강화 분획의 최종 예상 가격은 2,398,000원/kg으로 기존 3,416,667원/kg 대비 29.8%의 절감 효과를 가져왔다.

개선공정 적용한 Rb1 강화 분획의 원가가 일부 절감되었으나 kg당 240만원에 달하는 고가격으로 추후 공정 개선 등을 통해 추가 원가 절감 및 저농도에서의 효능 확보가 필요한 상황으로 판단된다.

(나) Compound K 강화분획 원가 경쟁력 확보

Rb1 강화 분획과 동일하게 Compound K 강화분획도 원가절감을 위해 분획 공정 개선을 진행하였으나 그 효과가 Rb1 강화분획 대비 미비하였다. Compound K 강화분획과 Rb1 강화분획이 고가격의 원가가 산출되어 국내는 물론 글로벌 소재로 확대하기 위해서는 획기적인 원가절감이 필요한 상황이라는 결론을 내리고 수율과 가공비를 획기적으로 줄일 수 있도록 분획화 공정을 제거하는 것을 검토하였다. 또한 효소처리 비용도 절대적으로 높은 점을 감안하여 효소사용량 등의 조정을 통하여 처리비용을 절감하였다. 분획화 공정을 제거함으로써 지표성분의 함량은 줄어들지만 소재 원가가 획기적으로 절감이 되는바 가격경쟁력을 갖춘 소재 개발을 위하여 분획공정을 제거하고 효소처리 공정을 조정한 Compound K 강화물을 제조하였고 이에 대한 원가를 산출하였다.

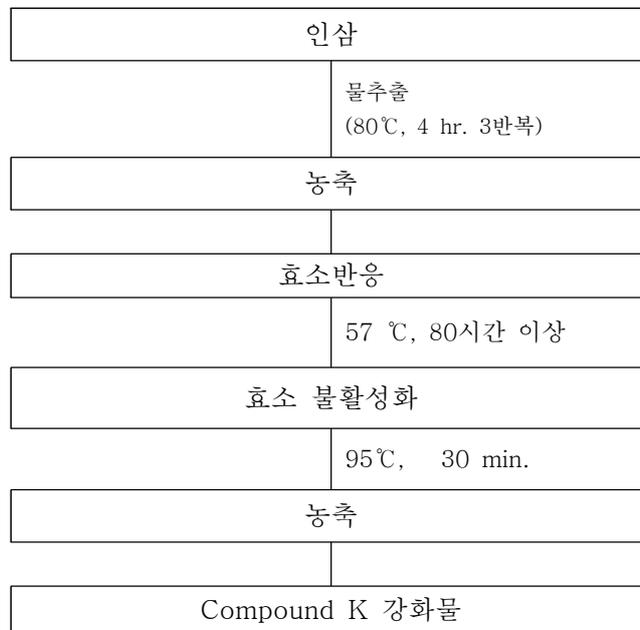


그림 1-22. 원가절감한 Compound K 강화물 제조공정도

표 1-19. Compound K 강화물 수율 및 지표성분 함량

Compound K 강화물	지표성분 함량	수율
	4.6 mg/g	80 %

표 1-20. Compound K 강화물의 원가 산출

공정	원가요소	단위	금액	비고
원료	백미삼	200kg	25,200,000원	126,000원/kg
추출/농축 /효소처리	추출/농축/효소처리 가공비		3,500,000원	
	간접비		2,870,000원	
Compound K 강화물	계	160kg	31,570,000원	197,312원/kg

Compound K 강화분획의 분획화 공정을 제거하고 효소처리 비용을 절감한 결과 kg당 147만 원대의 원가가 kg당 197,312원으로 절감되어 기존 인홍삼 농축액이나 다른 기능성 소재들 대비하여 가격경쟁력을 확보할 수 있을 것으로 판단되었다.

이에 Compound K 분획물의 기능성 소재화 가능성과 함께 원가경쟁력을 확보한 Compound K 강화물의 기능성 소재로써 활용 가능성도 함께 협동과제의 기능성 연구를 통해 검토를 진행하였다.

마. 인삼 소재 브랜드화 및 Global 전략

(1) 인삼 소재 브랜드화

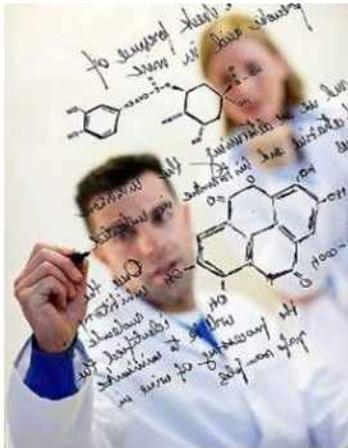
Pharmaton사의 Ginsana 제품의 경우 대표적인 소재 브랜드화를 통해 시장에서 성공을 거둔 사례이다. 이 회사는 인삼의 추출물을 만들면서 당시 국내 인홍삼들과는 차별화되게 인삼 추출물의 지표성분으로 Ginsenoside 8종을 표준화하였다. Ginsana가 처음 출시될 당시만 해도 국내는 조사포닌으로 인홍삼 규격관리는 하고 있는 상황이라 표준화 및 약리적 동등성 확보차원에서 한단계 앞서간 제품을 생산하였다고 볼수 있다.

Pharmaton사는 표준화된 인삼추출물을 생산하는 것 뿐만 아니라 이 인삼추출물에 브랜드를 만들어 소재 브랜드화를 추진하였다. 표준화된 인삼추출물에 G115라는 브랜드를 부여한 이후 다양한 기능성 연구를 진행하고 이를 G115라는 소재브랜드로 홍보를 진행하여 소비자들의 인식속에 G115의 우수성을 알려왔다. 최종적으로 G115라는 소재를 활용한 다양한 Ginsana 제품을 개발하여 시장에서 성공을 거두었다.

이에 G115의 성공사례를 벤치마킹하여 본 연구과제에서 개발된 인삼소재에 대한 브랜드 Naming을 통해 소재 브랜드화를 진행하였다. 브랜드 Naming과정에서 KoRoot, Ginseol, Nutra-K 등 다양한 브랜드 후보들이 제시되었고 논의와 브랜드 선호도 조사를 통하여 최종적으로 Ginseol K로 선정하였다.



진서올 케이 Ginseol K



- ✓ Ginseol K를 인/홍삼 분획의 **Family Brand**로 사용
- ✓ 개별 구분을 위해 <Hyphen> 사용 후 **Ginsenoside**를 의미하는 <R> 제거한 나머지 사용
- ✓ K는 **Korea** (대한민국)을 의미

그림 1-23. 신규 기능성 인삼소재의 브랜드 네이밍

신규 인삼소재에 대한 category 의미를 부여하면서 한국의 전통적인 이미지와 연결고리를 확보함과 동시에 인삼에 대한 자체 연상 이미지도 포함할 수 있게 Ginseol K로 브랜드를 만들었다. Family Brand로 Ginseol K를 사용하고, Sub Brand로 Ginsenoside의 구분자를 사용하게 하였다.

신규 인삼소재 자체는 Ginseol K로 명명되며, 각 개별 인삼소재들의 대표 Ginsenoside를 인식할 수 있는 알파벳을 소문자로 병기하여 각 개별 브랜드화 하였다. 예로 Rb1 강화 분획의 경우 Ginseol K는 앞에 넣고 Rb1을 대표할 수 있는 뒤쪽 알파벳인 b1을 넣었으며 family brand와 sub brand는 하이픈으로 연결하여 최종 Ginseol K-b1으로 명명하였다. 이러한 방식으로 compound K 강화 분획은 Ginseol K-k, Rg1 강화분획은 Ginseol K-g1, Rg3 강화분획은 Ginseol K-g3로 명명하였다. 이외에도 많은 Ginsenoside 강화 분획이 개발될 경우 이러한 브랜드화 원칙에 따라 개별 브랜드화 할 수가 있다.

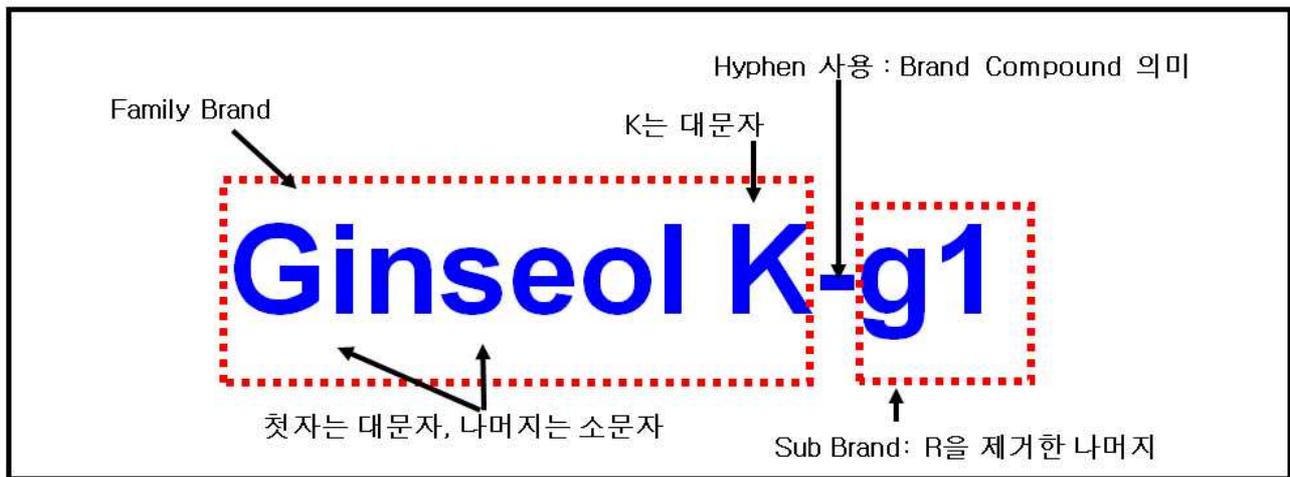


그림 1-24. 신규 기능성 인삼소재의 브랜드인 Ginseol K의 개별 브랜드

(2) 인삼 소재 마케팅 전략

본 연구결과로 개발된 신규 인삼소재를 Ginseol K라는 소재 브랜드화를 하였으며, 이를 효과적으로 소비자들에게 알릴 수 있는 마케팅 전략을 수립하였다. 먼저 Ginseol K라는 소재가 기존 인홍삼을 뛰어넘는 프리미엄 소재로 포지셔닝하고자 하였으며, 이를 효과적으로 알릴 수 있는 컨셉보드를 제작하였다.

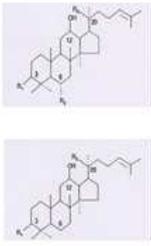
인삼의 특정 Ginsenoside 성분을 강화할 수 있는 기술에 대한 설명을 그림과 함께 제공하여 Ginseol K의 특징을 소비자들이 쉽게 이해할 수 있도록 하였다. 또한 인삼에 있어 새로운 기능성인 간건강에 도움을 줄 수 있는 소재라는 점을 강조하여 기존 인홍삼과는 차별적인 기능성을 지닌 소재인 것을 강조하였다.

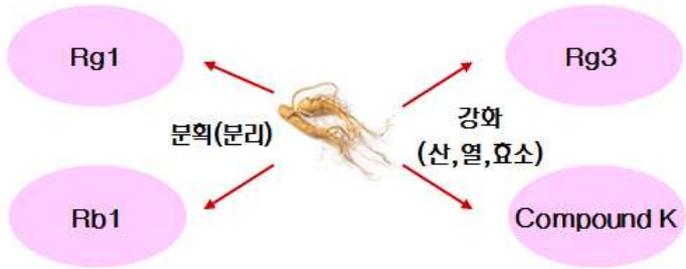
간건강신규인삼소재 **Ginseol K**

기존의 인/홍삼제품은 전통적 방식에 의해서 모든 성분을 섭취해야 하였지만, **GINseol K**는 분획 기술을 통해 인삼의 특정 성분만을 분리/강화 하여 간건강에 최적화된 제품입니다.

동물시험 및 인체시험을 통해 알콜성 지방간은 물론 비알콜 지방간 개선에 도움을 주는 것으로 밝혀진 제품입니다.

1일 1회 캡슐 제품 및 1일 2회 파우치 형태로 기호에 따라 구입/섭취하시면 됩니다.





분획(분리) 강화 (산, 열, 요소)

CJ 분획 기술이란?
 인/홍삼의 효능을 나타내는 지표 물질인 Ginsenoside는 약 30여가지로 알려져 있는데, CJ에서는 인삼의 특정 Ginsenoside 성분 분리/분획/강화/분획을 통하여 효능, target 별 기능성 연구를 통하여 단일 기능성 소재 및 복합 소재화가 가능토록 개발한 CJ의 차별화된 기술임.

그림 1-25. 인삼 기능성 소재 Ginseol K의 컨셉 보드

본 연구과제를 통해 도출된 간 기능성 효과를 강조하여 소비자 인식상 간건강이 Ginseol K로 연결될 수 있도록 간건강에 가장 효과가 있는 특정 Ginsenoside 성분을 강화된 고농축된 제품이라는 것을 메인 커뮤니케이션 메시지로 가져가고자 하였다. 현재 헛개가 간건강의 대표

적인 소재로 알려져 있는 상황에서 몸에 좋은 인삼을 소재로 하여 간건강에 좋은 특정 성분을 강화하였다는 인식을 소비자에게 전달코저 한다.

타겟은 간건강이 우려되는 중년 남성층을 주타겟으로 하여 키 메세지(key Message)로 ‘알콜성 지방간은 기본! 이제 비알콜성 지방간까지 개선’이라는 내용을 집중적으로 홍보코저 한다.

본 연구결과를 논문 등의 발표를 통하여 홍보를 하고, 이를 인터넷 블로그, 소셜네트워크 등을 활용하여 소비자 저변에서 ‘간건강은 Ginseol K’는 바이럴이 생길 수 있도록 홍보전략을 세웠다. 이러한 소비자 커뮤니케이션을 위해서는 소재의 기능성 소구가 가능해야 함으로 본 과제 이후 인체시험 등 추가연구 등을 통해 개별인정을 추진이 필요한 사항이다.

(3) 인삼 소재 Global화 추진

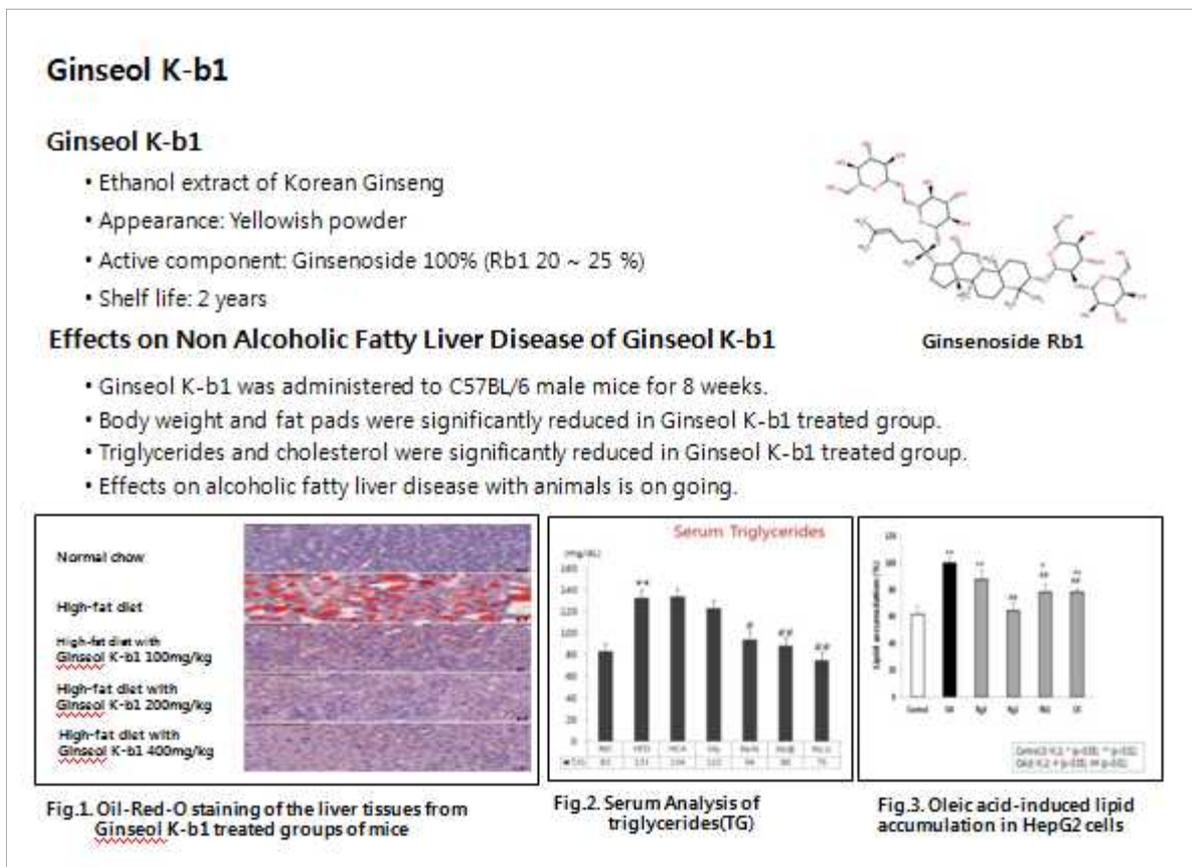


그림 1-26. Global 소재회사 대상 Ginseol K의 소개 자료

기능성 부문에 있어 인체시험 등이 없는 부족한 연구내용이긴 하지만 현재까지의 연구결과를

토대로 Ginseol K를 홍보하고 사전 글로벌 소재화 가능성 등을 탐색하기 위하여 주관기관의 네트워크를 활용하여 다수의 글로벌 소재 회사 등에 Ginseol K를 소개하고 판매 가능성 등을 타진 중에 있다.(현재 관련 회사 검토 중으로 회사명은 보안상 명기하지 않았음.)

글로벌 소재회사들과의 Ginseol K의 해외진출 가능성을 사전 협의해 본 결과, 성공적인 소재 글로벌화를 위해서는 본 연구에서 수행된 표준화 및 *in vitro*, *in vivo* 단계의 기능성 연구 이외에 인체시험 등 추가 심화 연구가 필요로 하며, 가격경쟁력 부분도 중요한 요소로 작용하였다.

향후 인체시험 등의 추가 기능성 연구자료와 가격경쟁력을 확보한 이후에 해외 소재박람회 (Supply Side West, Vitafood, Hi-Europe, Hi-Japan, Supply Side East 등)에서 소개 및 글로벌 소재 업체 등을 적극 활용하여 소재 사업화를 진행코자 한다.

2. 인삼 신제품 개발

가. 인삼 신제품 컨셉 설정

(1) 인삼 user 소비자 조사를 통한 unmet needs 파악

(가) 소비자 조사 설계

본 조사의 목적은 인삼 제품에 대한 전반적인 인식, 이용행태 및 소비자 Unmet Needs를 조사하여 인삼 신제품의 컨셉을 설정하고자 하였으며, 세부 조사계획은 그림 1-27과 같다.

	Category	랜덤			Category	랜덤	
		N	%			N	%
연령	20-25세	(18)	3.6	직업	자영업	(152)	30.4
	30-39세	(143)	28.6		화이트 칼라	(129)	25.8
	40-49세	(179)	35.8		블루 칼라	(74)	14.8
	50-59세	(160)	32.0		주부	(144)	28.8
					무직/기타	(1)	0.2
성별	남성	(240)	48.0	가족수	1명	(1)	0.2
	여성	(260)	52.0		2-3명	(156)	31.2
남성	20-25세	(6)	1.2		4-5명	(335)	67.0
	30-39세	(65)	13.0		6명 이상	(8)	1.6
	40-49세	(88)	17.6	첫자녀 나이	유치원생 이하	(82)	16.4
	50-59세	(81)	16.2		초등생 자녀	(63)	12.6
여성	20-25세	(12)	2.4		중학생 자녀	(61)	12.2
	30-39세	(78)	15.6		고등학생 자녀	(60)	12.0
	40-49세	(91)	18.2		대학생 이상 자녀	(197)	39.4
	50-59세	(79)	15.8	학력	고졸 (이하)	(243)	48.6
소득	High (500만원 이상)	(138)	27.6		대제/대졸 이상	(257)	51.4
	Middle (400만원 이상~500만원 미만)	(166)	33.2				
	Low (150만원 이상~400만원 미만)	(196)	39.2				

조사 방법 • 일대일 개별 면접 (Face to Face)

조사 지역 • 서울 지역 (4대 권역 : 강북동, 강북서, 강남동, 강남서)

조사 대상 • 25~59세 서울 거주 기혼 남녀

표본 크기 및 구성 • 총 500명

	25~29세	30~39세	40~49세	50~59세	합계
랜덤	18	143	179	160	500

표본 추출 • 연령별 비례 할당 표본 추출

조사 기간 • 2012. 6. 4~6.29 (4주)

그림 1-27. 인삼 신제품 컨셉 설정을 위한 소비자 조사 세부 계획

(나) 소비자 조사결과

① 인홍삼 제품에 대한 만족도



그림 1-28. 인홍삼 제품에 대한 만족도 조사 결과

인홍삼 제품의 만족도를 조사한 결과, 홍삼제품이 3.86으로 3.61인 인삼제품보다 높은 것으로 나타났다. 연령대에 따른 만족도의 차이는 크지 않았지만 대체적으로 연령대가 높아질수록 만족도가 높아지는 경향을 보여주었다. 성별로는 남성대비 여성이 상대적으로 높은 만족도를 보여 주었으며, 소득별로는 인삼과 홍삼 모두 저소득층에서 상대적인 만족도가 높은 것으로 나타났다.

인홍삼 제품의 만족도에 있어 차이가 발생하는 것은 홍삼의 경우 다양한 제품군이 존재하는 반면, 인삼의 경우 제품이 일부 드링크제로 한정되어 있는 바, 제형 및 함유된 함량에서 오는 차이가 큰 것으로 파악된다. 예로 농축액이나 과우치 형태의 홍삼제품을 섭취하였을 때 대비하여 인삼 드링크제를 섭취한 경우 제형 및 함량에 따른 제품 만족도가 상대적으로 떨어지는 것으로 예상할 수 있다.

고연령대 대비하여 저연령대의 만족도가 상대적으로 떨어지는 지는 것을 볼 때 저연령대가 원하는 기능성에 맞추어 효능 만족도를 좀 더 높여 줄 때 관련 시장기회가 있을 것으로 판단되어진다.

② 인홍삼 제품에 대한 불만족

인삼/홍삼 제품에 대한 불만점														(Unit:%)	
	Total	성별		연령				소득			제품화 인삼 만족도		제품화 홍삼 만족도		
		남성	여성	20-25세	30-39세	40-49세	50-59세	High	Middle	Low	만족	불만족	만족	불만족	
Base for %	(500)	(240)	(260)	(18*)	(143)	(179)	(160)	(138)	(166)	(196)	(300)	(200)	(373)	(127)	
■ 가격 NET	26.0	24.2	27.7	27.8	24.5	26.3	26.9	24.6	21.1	31.1	26.3	25.5	27.3	22.0	
가격이 비싸다	25.6	23.8	27.3	27.8	24.5	25.1	26.9	24.6	20.5	30.6	25.7	25.5	26.8	22.0	
가격대가 다양하지 않다	0.4	0.4	0.4	-	-	1.1	-	-	0.6	0.5	0.7	-	0.5	-	
■ 성분/함량 NET	23.2	23.8	22.7	11.1	21.0	24.6	25.0	27.5	28.9	15.3	16.3	33.5	19.3	34.6	
인삼·홍삼의 함량이 낮다	12.6	13.8	11.5	11.1	7.7	12.3	17.5	13.8	16.9	8.2	8.7	18.5	11.3	16.5	
합성 첨가물이 들어 있다	6.6	6.3	6.9	-	9.8	5.6	5.6	7.2	9.0	4.1	5.0	9.0	5.1	11.0	
원재료에 대한 믿음이 안 생긴다	3.0	2.5	3.5	-	1.4	5.0	2.5	5.8	1.8	2.0	1.3	5.5	1.6	7.1	
■ 효과 NET	4.6	4.2	5.0	-	7.7	2.2	5.0	5.1	3.6	5.1	2.0	8.5	2.9	9.4	
효능이 떨어진다	2.0	2.1	1.9	-	2.8	1.1	2.5	2.9	1.8	1.5	0.7	4.0	1.1	4.7	
■ 없다	37.2	39.2	35.4	38.9	35.7	40.2	35.0	34.8	34.9	40.8	49.3	19.0	42.6	21.3	

그림 1-29. 인홍삼 제품에 있어 소비자들의 불만족 요소(Unmet Needs) 조사 결과

인/홍삼제품의 불만족 요소를 조사한 결과, 제품의 비싼 가격이 가장 큰 불만족 요인으로 나타났다. 낮은 성분의 함량이 그 뒤를 이었다. 불만족 요인에 있어 연령대별 큰 차이는 없었으나, 소득대별로 볼 때 고소득층은 상대적으로 성분에 대한 불만이 높았으며 저소득층은 상대적으로 가격에 대한 불만요소가 높았다. 인홍삼 관련 소비자조사 진행시 가격에 대한 불만족은 항상 나타나는 것이며, 특히 저소득계층의 불만요소가 높은 점을 볼 때 인홍삼 제품의 시장 확대를 위해서는 합리적인 가격의 제품 개발이 필요로 할 것으로 보인다. 특히 국내 시장에서 유통비용 제거 및 브랜드 거품을 뺀 ‘반값 홍삼’ 등이 시장에 반향을 일으키는 점을 볼 때 소비자들의 합리적인 소비 욕구가 인홍삼 제품에서도 존재하는 것을 확인 할 수 있다.

성분함량에 대한 불만족 중에 6.6%에 해당하는 이들이 합성첨가물에 대한 불만족을 나타내어 인홍삼제품의 합성첨가물 첨가를 인식하고 있는 소비자들이 존재한다는 것을 알 수 있었으며, 특히 저연령대로 갈수록 합성첨가물에 대한 우려가 10%대까지 높아지는 것을 볼 수 있었다. 최근 합성첨가물에 대한 사회 관심도의 증가세를 볼 때 이러한 우려는 향후 지속적으로 높아질 것으로 판단되어져 인홍삼과 같은 건강제품에 있어 합성첨가물은 꼭 천연소재로의 대체가 필요한 것으로 생각된다.

③ 인홍삼 제품 구입 시 고려사항

인삼/홍삼 제품 구입시 고려 사항 (Unit:%)														
	Total	성별		연령				소득			제품화 인삼 만족도		제품화 홍삼 만족도	
		남성	여성	20-25세	30-39세	40-49세	50-59세	High	Middle	Low	만족	불만족	만족	불만족
Base for %	(500)	(240)	(260)	(18*)	(143)	(179)	(160)	(138)	(166)	(196)	(300)	(200)	(373)	(127)
브랜드 및 제조사	74.8	71.3	78.1	61.1	75.5	73.2	77.5	74.6	77.1	73.0	76.0	73.0	76.4	70.1
함량	52.8	56.7	49.2	50.0	55.2	52.0	51.9	60.9	50.6	49.0	50.7	56.0	54.2	48.8
가격	51.4	51.7	51.2	44.4	58.0	42.5	56.3	53.6	48.2	52.6	47.7	57.0	51.2	52.0
제품 구성(단품/복합세트 구성 등)	48.8	47.1	50.4	55.6	49.0	48.6	48.1	50.0	48.8	48.0	47.3	51.0	46.1	56.7
원산지	29.0	29.6	28.5	16.7	28.0	29.6	30.6	29.7	31.9	26.0	29.0	29.0	28.2	31.5
제형(파우치, 타블렛, 절편 등)	20.8	25.0	16.9	22.2	24.5	18.4	20.0	26.1	17.5	19.9	20.3	21.5	20.6	21.3
지인/주변 추천	14.4	12.9	15.8	11.1	21.7	14.0	8.8	15.9	15.1	12.8	13.0	16.5	13.7	16.5
가격 대비 고급스러워 보이는 디자인	13.6	13.8	13.5	11.1	12.6	15.6	12.5	8.7	19.3	12.2	16.3	9.5	15.3	8.7
프로모션 (할인, 1+1행사, 사은품 등)	9.8	9.6	10.0	5.6	9.1	10.6	10.0	6.5	10.2	11.7	12.0	6.5	10.5	7.9
합성첨가물 첨가 여부	9.6	5.8	13.1	-	16.1	7.3	7.5	12.3	8.4	8.7	9.3	10.0	8.6	12.6
광고	6.8	6.3	7.3	5.6	9.1	6.1	5.6	1.4	8.4	9.2	7.3	6.0	7.5	4.7

그림 1-30. 인홍삼 제품 구입시 고려사항 조사결과

인홍삼 제품 구입시 고려사항에 대한 조사 결과, 최우선 고려사항으로 브랜드 및 제조사로 나타났으며, 이는 국내 인홍삼 시장에 있어 정관장이라는 브랜드에 대한 절대적인 신뢰도가 높은 점에 기인한다고 볼 수 있다. 특히 오랜기간 홍삼전매법에 의해 정관장은 정부에서 관리하는 홍삼제품이라는 인식이 쌓인 결과로 정관장에 대한 우리나라 소비자들의 신뢰도가 아주 높으며 이러한 결과로 제품 선택에 있어 브랜드 특히 정관장이라는 브랜드가 중요한 고려요소로 작용을 한다고 볼 수 있다. 이러한 현상은 소비자 신뢰도가 높은 인홍삼의 대표 브랜드가 존재한다는 점에서는 좋으나 건전한 경쟁구도속의 산업 발전을 위해서는 여타 다른 인홍삼 브랜드의 성장이 필요할 것으로 생각된다.

브랜드 다음으로 구입시 높은 고려사항으로는 함량, 가격, 제품구성이 나타났으며, 이는 인홍삼 제품들이 다양한 함량과 가격대 및 복합세트 구성이 되어 있어 이들 소비자들의 선호도에 맞는 제품들이 시장에 준비되어 있다라고 판단되어 진다. 특히적으로 고소득층은 상대적으로 함량을 중시하는 경향을 보여주고 있었다. 이외에 원산지와 디자인 요소도 구매 고려요인으로 나타나 인홍삼 제품 개발에 있어 디자인의 중요성도 고려를 해야할 것으로 판단된다.

합성첨가물 존재 여부는 9.6%의 소비자들이 제품 구입시 고려사항으로 선택을 하였는데, 연령대가 낮아질수록, 소득이 높을수록, 기존 인홍삼 제품에 불만족한 소비자일수록 합성첨가물이 제품 선택의 큰 고려요소가 되는 것으로 나타났다. 또한 특히적으로 여성층이 상대적으로 높게 나왔는데 여성층이 직접 구매비율이 높은 점에서 의미가 있다.

④ 인홍삼 제품의 합성첨가물 포함에 대한 인식 및 반응

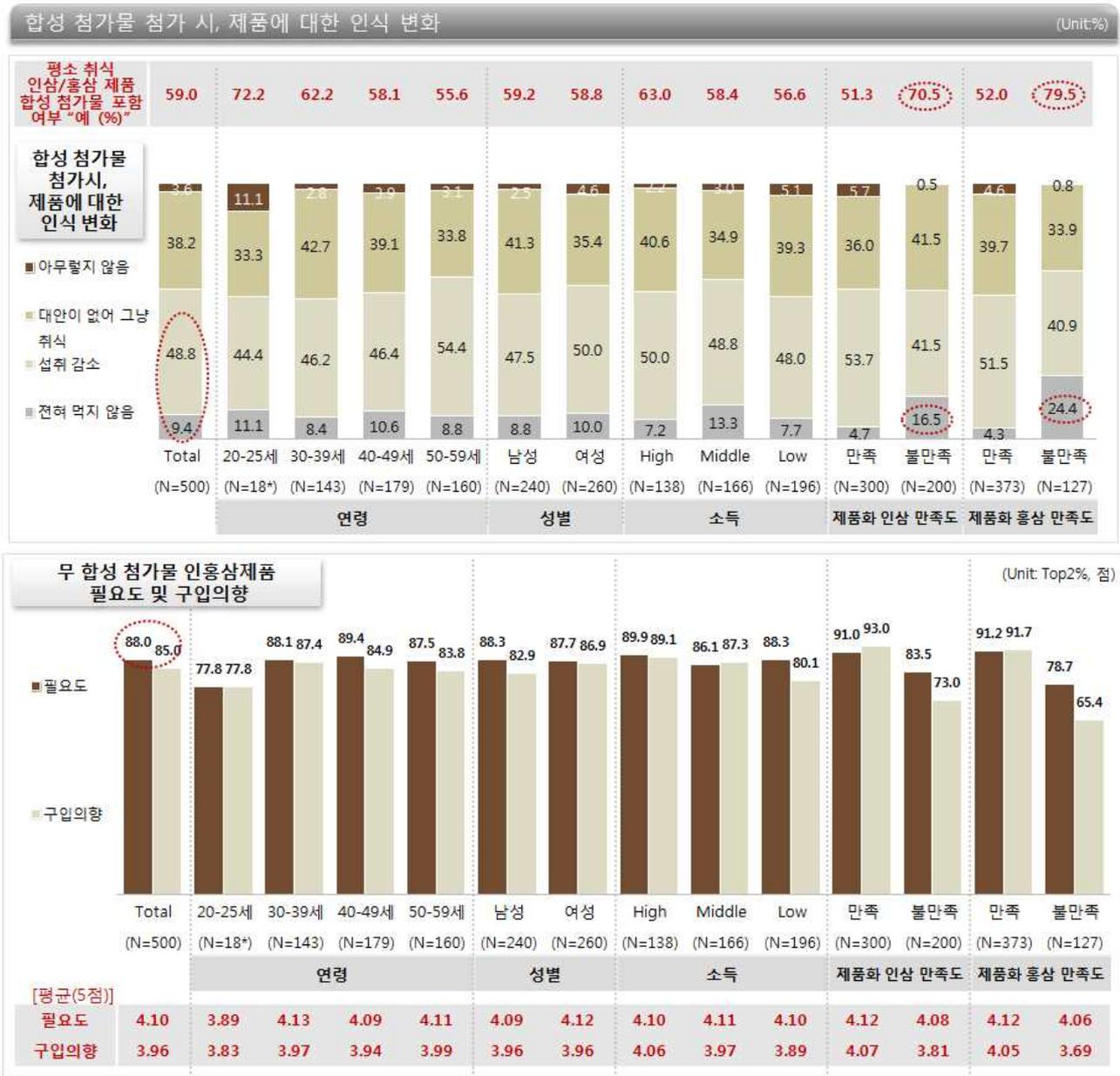


그림 1-31. 합성첨가물 포함에 따른 인식 변화 및 무합성첨가물 제품 필요도 조사

인홍삼 제품의 합성첨가물 포함에 대한 인식 조사 결과, 전체 소비자의 59%가 평소 취식하는 인홍삼 제품에 합성첨가물이 포함되어 있다고 응답했으며, 인홍삼 제품 불만족자들의 경우 70~80% 가량이 합성첨가물이 포함되어 있다고 응답하였다. 일반적으로 인홍삼 제품을 천연 식품으로 인지하고 있는 것으로 나타난 기존 소비자 결과와는 상반된 의미있는 결과가 도출되었다. 연령대가 낮은 층일수록, 고소득층일수록 합성첨가물이 포함되었다고 인식하는 비율이 높았다.

합성첨가물이 함유된 인홍삼 제품의 경우 향후 섭취를 줄이거나 전혀 먹지 않겠다는 비율이 58.2%로 상당히 높은 것으로 나타났으며, 합성첨가물이 첨가되지 않은 인홍삼 제품에 대한 필요도와 구입의향은 5점 만점에 각각 4.1과 3.96으로 나타나 아주 높은 것을 볼 수 있다.

소비자조사 결과 인홍삼 제품의 합성첨가물 사용에 대한 소비자 인식상의 우려와 무합성첨가물 인홍삼 제품에 대한 필요도가 높은 것으로 나타난 반면, 현재 국내의 인홍삼 제품에는 각종 합성첨가물이 사용되고 있는 실정이다. 농축액이나 원형삼, 추출액 등 단순가공 형태의 제품들의 경우 합성첨가물이 사용되지 않지만, 소비자 복용 편의성을 증대한 액상제품이나 정제 등의 다양한 제형 상품에 있어서 제품의 품질을 확보하기 위해서는 어쩔 수 없이 합성첨가물을 사용해야하는 현실이다. 특히 소비자들에게 많은 사랑을 받고 있는 인홍삼 음료 제품들의 경우, 향과 안정제 등에 있어 합성첨가물들이 많이 사용되고 있어 향후 이들 제품의 영속성 및 산업발전을 위해서는 천연소재의 향 및 안정제의 개발을 통한 천연컨셉의 인홍삼 음료제품 개발이 필요하며 이들 제품의 시장기회가 높은 것으로 판단된다.

(2) 국내 인삼 시장 현황 조사

인/홍삼 사업은 원물, 1차 가공, 2차 가공 단계별 제품 구조를 가지고 있으며, 1차 가공 및 2차 가공 제품은 유사한 비중이나, 1차 가공제품(뿌리삼등)의 수출이 증가하고 있는 추세이다.



그림 1-32. 인홍삼 가공단계별 비율

1차 가공용 물량 중 85%가 홍삼용으로 사용되며 전체 시장의 48.6%를 구성하고 있으며, 2차 가공품은 파우치 32.6%, 드링크 5.1%로 음료제형이 37.7%로 인홍삼의 주요 제형으로 구성되어 있다.

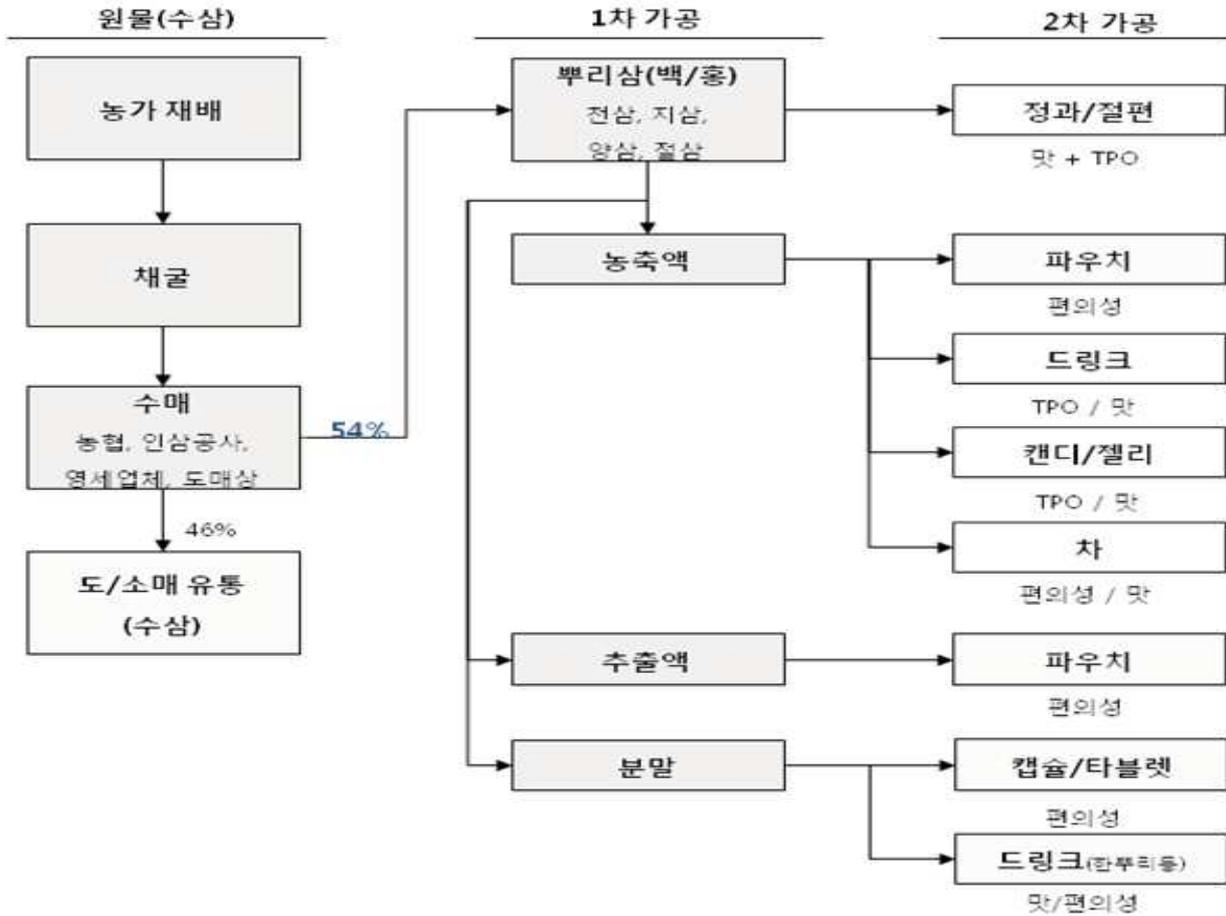


그림 1-33. 가공단계별 인홍삼 제품 분류

인/홍삼 사업은 원물, 1차, 2차 가공제품 중심으로 브랜드를 기반으로 소비자에게 가치를 제공하는 업이며, 2010년 기준 1.2 조 규모로 년 평균 18.4% 성장하고 있으며, 최근 성장세는 다소 둔화되는 추세이다. 인구 고령화 및 면역력 관련 기능성에 관심이 증가되고 있으며, 이는 인/홍삼 시장 수요의 증가를 촉진하는 요인이 되고 있다.

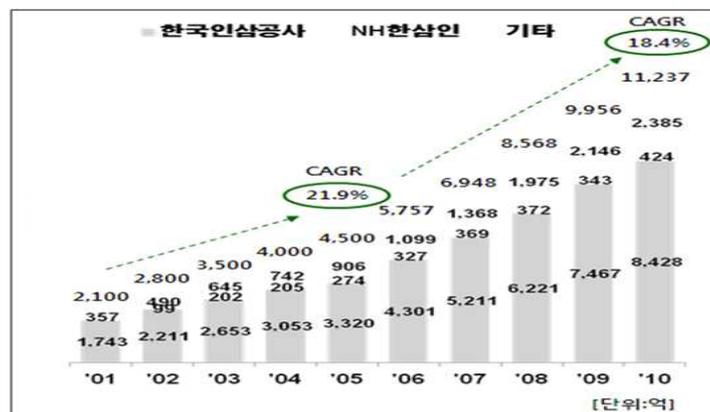


그림 1-34. 인홍삼 제품 매출변화 추이

정관장의 시장 점유율이 전체 70%로 넘어서고 있는 독과점 형태를 보이고 있으며, 지속적으로 농협, 대기업, 인홍삼 전문기업 등 후발주자의 시장 진입 및 공격적인 마케팅이 가속화되고 있으나 큰 성과는 올리지 못하고 있는 상황이다.

(3) 인삼 신제품 컨셉 도출

최근 소비자들이 추구하는 건강식품의 소비 트렌드는 건강식품의 섭취를 통하여 좋은 건강 기능성은 물론이고, 일반식품의 형태이면서 기호성 및 편리성이 좋아 생활 속에서 늘 가까이 접하면서 섭취할 수 있는 제품들을 원하고 있다. 또한 이런 소비 추구 트렌드에 천연원료에 뚜렷한 선호도를 나타내고 있다. 최근 모 식품회사에서 개발하여 출시한 비타민제품의 경우 천연유래 비타민을 마케팅 차별화 요소로 하여 시장에서 성공한 사례에서 보듯이 천연 추구 트렌드는 식품의 대세라고 볼 수가 있다. 따라서 이러한 건강과 편리성, 기호성, 천연추구 트렌드를 충족시킬 제품개발이 크게 요구되고 있다.

이번 소비자 조사 결과, 기존 인홍삼 제품의 가격에 대한 불만과 함께 인홍삼의 낮은 함량에 대한 불만이 가장 많은 것으로 나타나 인홍삼이 제대로 함유된 제품 즉 인홍삼 원물의 느낌이 제대로 살아 있는 제품이 필요하다는 것을 알 수 있었다. 또한 아직까지 높은 수준은 아니지만 합성첨가물에 대한 불만도 상당부분 존재하는 것으로 나타났으며, 특히 젊은 층이 더 합성첨가물에 민감한 것을 보아 향후 미래에는 인홍삼 제품에서도 합성첨가물을 대체한 천연 컨셉의 제품들이 소비자 니즈에 부합할 것으로 판단된다.

이러한 마켓 트렌드 및 소비자 조사 결과를 바탕으로 인삼의 함량이 제대로 들어 있으면서 합성첨가물을 배제한 천연컨셉의 제품으로 복용 시의 편의성을 최대한 높혀 남녀노소 누구나 좋아할 맛품질의 합성첨가물 무첨가 인삼원물음료라는 신규 인삼제품 컨셉을 도출하게 되었다.

인삼의 원물감을 느낄 수 있도록 기존 농축액이나 추출액이나 아닌 인삼 분말 등 원물을 그대로 함유한 제품으로 설계하였으며, 일반적으로 많이 사용되는 안정제, 유화제 등의 각종 합성첨가물 들을 천연원료 또는 천연첨가물을 사용하여 천연컨셉을 지니며, 인삼 고유의 쓴맛을 제어하여 어린이나 여성층 등 모든 연령층이 선호할 수 있는 제품으로 컨셉을 확정하였다.

나. 인삼 신제품 살균 공정 확립

(1) 타겟 미생물 선정

식품에서 살균 타겟 미생물 선정을 위해서는 문헌조사 및 전문가 자문, 기존제품 사례 등을 통하여 살균 타겟 미생물 선정에 위한 기초자료를 확보해야 한다. 원료종류, 원료상태, 포장형태, 충전환경 등을 고려하여야 하며, 특히 음료의 경우 최종제품의 pH에 따라 Target 미생물 선정이 달라진다.

표 1-20. 음료 pH조건별 타겟 미생물

음료 pH 조건	pH 4.5 이상(중성음료)	pH 4.5이하(산성음료)
타겟 미생물	내열성 세균 포자	진균류(곰팡이, 효모)

일반적인 내열성은 내열성 세균포자가 곰팡이, 효모대비 높아 pH 4.5 이상 중성음료에서는 내열성 세균포자를 타겟 미생물로 설정을 하며, pH 4.5 이하에서는 포자가 영양세포로 전환이 불가능하므로 진균류(곰팡이, 효모)를 타겟 미생물로 설정하게 된다.

기 선정된 제품의 컨셉 상 누구나 좋아할 맛 속성을 구현해야 하기 때문에 중성조건의 부드러운 맛으로 맛 방향을 선정하였으며 이에 따라 타겟 미생물군은 내열성 세균 포자로 설정하였다.

인삼에 기인되는 미생물에 대한 문헌조사 및 기존제품 사례 등을 볼 때 내열성이 가장 높은 내열성 세균은 *Bacillus subtilis* 포자로 나타났다. 실제 실험을 통해 이를 검정하고자 살균 타겟 미생물 선정 실험을 진행하였으며, 원료와 공정 스텝별 미생물을 조사하였다. 주원료 및 부원료의 미생물 검사를 진행하였으며, 일반세균, 진균류, 내열성 세균 실험을 진행하여 먼저 내열성균이 많은 원료와 총균수가 높은 원료를 주관리 원료로 선정을 하였으며 미생물 동정을 진행하였다.

원료 미생물 검사 결과 인삼원료에서 4~6 log 수준의 미생물이 검출되었고, 나머지 부원료는 2 log 이하로 미생물 수준이 낮으며, 내열성 세균 검사에서도 인삼원료에서만 내열성 미생물이 검출되었다. 전체 원료를 제2협동기관에서 설정한 배합비에 따라 제품 조제액을 제조하여 HTST(95℃ 30초) 열처리 후 검출균 동정을 진행하였으며, 동정결과 *Bacillus subtilis* 로 동정되어 최종 타겟 미생물로 선정하였다. 선정된 타겟 미생물의 내열성 지표 및 열사멸 조건은 표 1-22와 같다.

표 1-22. Bacillus subtilis 내열성 지표 및 열사멸 조건

미생물	내열성 지표	열 사멸 조건
<i>Bacillus subtilis</i>	영양세포 D60=1.93, Z=6.7 포자 D121.1=0.5, Z=12	영양세포 : 53℃에서 4~12분 가열 포자 : 121.1℃에서 7분 가열

(2) 살균효과 예측에 의한 최적 살균조건 설정

살균조건 설정을 위해 유통조건, 포장형태를 설정해야 하는데, 유통조건은 인삼제품 특성상 신선유통이 주경로가 될 수 없고 대부분 상온매대에서 판매되고 있는 점을 고려하여 상온유통으로 설정하였으며, 포장형태는 병, 캔, pet, 파우치 등을 검토한 결과 고급스러움과 소비자의 편의성 등을 고려하여 병으로 설정하였으나 이는 추후 변경될 수 있다.

일반적으로 음료제품의 살균에는 HTST(고온단시간살균), UHT(초고온단시간살균), 레토르트, 후살균 등이 있으며 신규 살균법으로 초고압 살균, ohmic heating, Microwave heating 등이 있다. 중성음료는 대부분 레토르트 조건으로 살균방식을 설정하나, 레토르트의 경우 맛 품질 열화가 심해 맛선호도 높은 제품 생산에 어려움이 있는바 UHT 살균방식으로 미생물을 제어하는 것으로 설계하였다. 또한 병음료의 경우 무균충진 설비가 없는바 일반 클린룸 수준에서 충전시 환경상의 미생물 오염을 제어하고자 후살균조건을 함께 설정하였다. 선정된 타켓 미생물인 *B.subtilis* 포자의 내열성 지표를 바탕으로 이론적인 살균효과 예측을 통하여 최적 살균조건을 설정코저 하였다.

표 1-23. UHT 살균 및 후살균 조건에 따른 *Bacillus subtilis* 살균율

시간(분)	제품 중심온도 (℃)	예측 L value (lethality 치사율)	예측 F0 value	예측한 <i>Bacillus subtilis</i> 포자 살균율(cfu/g)
0	68.0	0.000	0.000	1.000E+00
0.07	130.0	5.517	0.368	1.838E-01
0.57	128.0	3.758	2.247	3.207E-05
0.63	93.0	0.005	2.247	3.202E-05
2.13	91.0	0.003	2.252	3.135E-05
14.13	93.0	0.005	2.307	2.437E-05
21.13	75.0	0.000	2.308	2.426E-05
31.13	60.0	0.000	2.308	2.425E-05

UHT 살균조건은 일반적인 중성음료 살균조건인 130℃ 30초로 설정하였으며, 후살균 조건은 93℃ 15분으로 설정하여 타켓 미생물인 *Bacillus subtilis* 포자의 예측 살균율을 산출하였

으며, 그 결과 2.4×10^{-5} 감소의 살균율을 보여주어 안전계수 2log를 고려할 때 초기균수 10^3 미만일 경우 대부분 사멸되는 것으로 예측되었다.

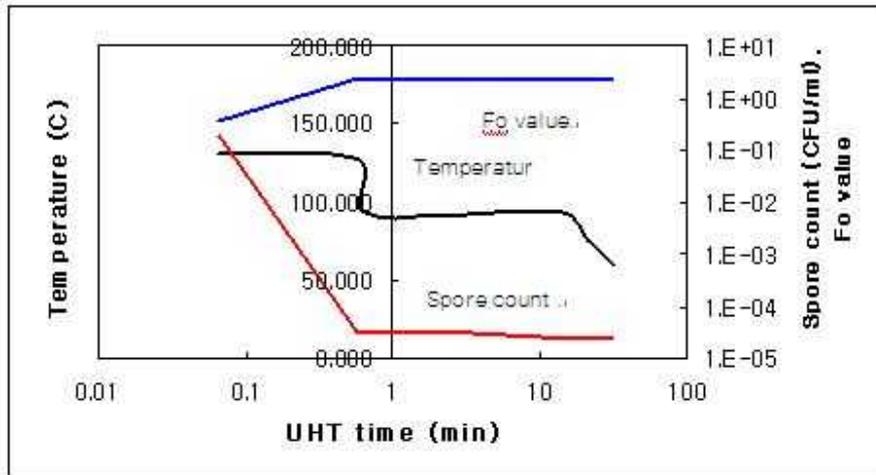


그림 1-35. *Bacillus subtilis* 포자 살균효과 예측도

(3) Pilot 검증

살균효과 예측 결과에 따라 인삼원료의 *Bacillus subtilis*를 포함한 내열성 세균의 초기균수를 10^3 미만으로 품질관리 규격을 설정하였다. 음료에 사용되는 UHT 살균기는 Plate 방식과 Tubular 방식이 있는데, 열교환 효율 및 속도가 빠른 Plate 방식 열교환기를 선정하여 Pilot 조건에서 살균효과를 검증하였다.



그림 1-36. Plate UHT기의 열교환 모식도

Pilot 조건에서의 살균효과 검증을 위하여 Powerpoint International 사에서 제작한 UHT pilot 설비를 이용하였으며, 배합액의 고압균질이 가능한 가압균질기와 UHT 열교환기 라인 및

클린룸 충전까지 가능한 설비이다. 제2협동기관에서 제시한 배합비를 토대로 배합을 진행하여 Pilot 설비상에서 가압균질(400bar) 및 UHT 살균(130℃ 30초) 진행 후 클린룸 조건에서 고온 충전(93℃ 이상)하였으며, 수욕조상에서 93℃ 15분 후살균을 실시하였다.

다수에 걸친 pilot 조건 살균효과 검증에서 타겟 미생물인 *Bacillus subtilis* 포자를 비롯한 모든 미생물들이 사멸되는 것으로 확인되었다.

표 1-24. Pilot 조건 미생물 살균효과 검증 결과

항목	배합액	UHT살균후	후살균후
일반세균	4.2X10 ² cfu/ml	음성	음성
진균류(효모/곰팡이)	음성	음성	음성

다. 천연 안정제&유화제 개발

(1) Liquid Dispersion

서로 혼합할 수 없는 두 개의 상인 분산상(Dispersed Phase)과 연속상(Continuous Phase)이 혼합되어 있는 상태 중 연속상이 액상인 경우를 Liquid Dispersion이라고 하며, 이 경우 유화제 또는 분산제 없이 안정성을 확보하기 어렵다.

본 과제를 통하여 개발하고자 하는 인삼원물음료 제품도 물인 연속상에 불용성인 인삼분말과 유지성분인 식물성 크림, 탈지분유 등이 함유되어 Liquid Dispersion에 해당이 된다.

표 1-25. Liquid Dispersion 특성

Dispersion Phase	Emulsion	Suspension	Foam
Dispersed Phase	Liquid	Solid	Gas
Continuous Phase	Liquid	Liquid	Liquid

Liquid Dispersion 주요 특성은 다음과 같다.

- ① 분산상인 입자(Particles)와 연속상인 분산매질(Fluid Medium) 이외에도 기타 여러 성분들로 구성된 복합적인 계를 형성하고 있음.
- ② 외부 온도 조건의 변화 및 희석(Dilution)에 따라 민감하게 분산 상태가 변화
- ③ 열역학적으로 매우 불안정.
- ④ 각 Dispersion에 따라 점도(Viscosity), 불투명도(Opacity), 색깔(Colors) 등도 모두 다름.

Liquid Dispersion의 이러한 특성 때문에 제품화시 유통기한 중 다양한 상변화가 예상되며, 실제 상품화된 제품 중에서도 이러한 문제로 인하여 품질 열화가 발생되고 소비자 클레임으로 이어지며 때로는 제품 회수 조치로까지 이어지는 경우가 종종 발생되고 있다.

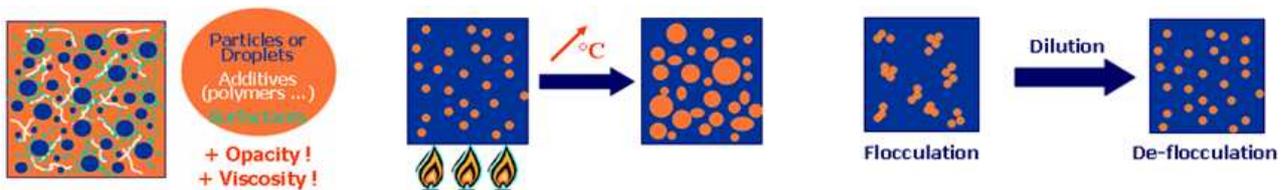


그림 1-37. Liquid Dispersion 특성

Liquid Dispersion이 시간 경과에 따라 발생하는 현상은 크게 4가지로 나뉘어지며 구성성분에 따라 복합적으로 시간경과에 따라 단계적으로 발생하는 경향을 보인다.

- ① Creaming : 분산상의 밀도가 연속상의 밀도보다 낮은 경우 발생
분산상의 입자들이 위쪽으로 이동하는 현상
- ② Sedimentation : 분산상의 밀도가 연속상의 밀도보다 높은 경우 발생
분산상의 입자들이 아래로 이동하는 현상
- ③ Flocculation : 분산상의 여러 입자가 서로 약하게 붙어있는 응집(Aggregation)현상
가역적 반응이며, 일부 경우 장기간 진행시 Coalescence로 진행
- ④ Coalescence : 입자계면의 융합(Fusion of the interfaces)으로 발생
여러 입자가 뭉쳐져 하나의 큰 입자를 형성하는 비가역적 반응

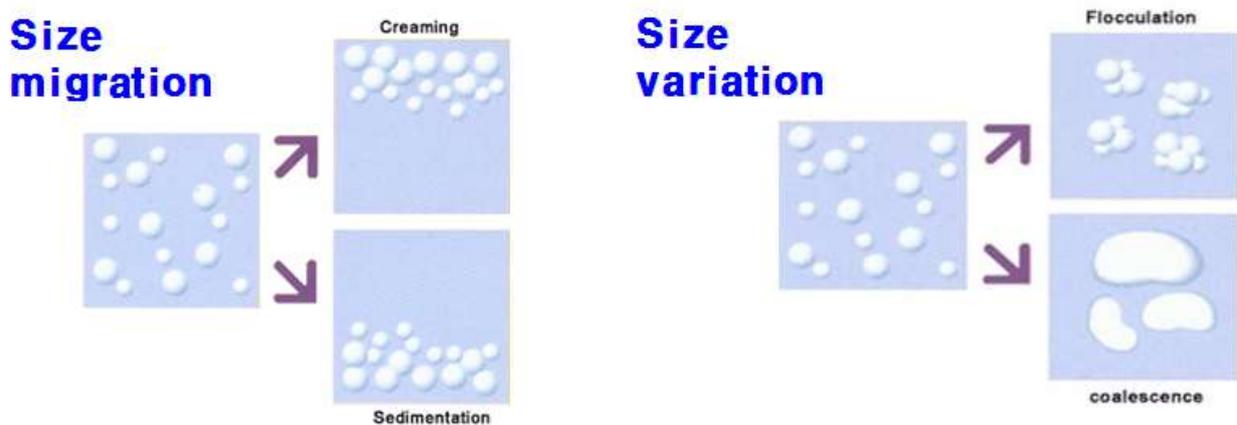


그림 1-38. Liquid Dispersion 발생 현상

(2) 천연 안정제 개발

일반적으로 식품에 점도를 부여할 목적으로 사용되는 것을 증점제라고 하며 증점제를 첨가하여 점도, Body감, 감칠맛 등을 부여하며 식감을 개선하고, 기름이나 불용성의 고형물을 균일하게 분산시켜 안정화시킬 수 있다.

증점제의 점성에는 주로 Pseudo Plastic 점성, Dilatant 점성, Newton점성의 3종류가 있는데 식품의 물성에 큰 영향을 미친다.

Pseudo Plastic점성이란, 정지 중에는 어느 정도 Network구조를 이루어 약간의 구조를 형성하고 있다가 전단력(Shear)를 가하면 Network구조가 깨져서 점도가 떨어진다. 하지만, 전

단력을 제거하면 다시 Network구조를 형성하여 점도가 증가하는 점성이다. 이러한 점성을 나타내는 다당류로는 Xanthan Gum용액이 가장 유명하다. 또한 전단력을 풀면 최종적으로는 원래의 점도까지 복원되지만, 그러기 위해서는 시간이 필요한 점성을 Thixotropy성이라고 한다. 이 Pseudo Plastic성을 유효하게 이용하면 드레싱 등에 점도를 부여하고, 고형분의 분산 안정화가 가능하다. Pseudo Plastic점성을 가지는 용액 중에서도 특히 불용성고형물의 분산 안정에는 항복응력(Yield Stress)을 가지는 용액이 적절하다고 보는데, 이 용액은 항복치보다 큰 응력을 받지 않으면 유동하지 않는 성질을 가지고 있다.(약한 겔이라는 표현을 이용하기도 함) 따라서, 불용성고형물에서 기원하는 응력보다 항복치가 높으면, 고형물은 용액 중에 균일하게 분산안정화 될 수 있다.

Pseudo Plastic점성의 반대의 성질을 가지는 것이 Dilatant점성이다. 이것은 Shear의 증가에 따라서 점도가 상승하는 점성으로 전분을 물에 분산시키는 경우와 같은 혼탁액이 유명한데, 식품계에서는 보기 힘든 점성이다.

Newton점성은 Shear를 변화시켜도, 점도변화가 없는 점성으로 γ -Carageenan, LBG등의 용액이 대표적이다. Newton점성은 식품의 감칠맛 부여, Body감 부여에 이용되는 것이 많은데 불용성 고형물의 분산안정화 등에는 맞지 않는 점성이다.

일반적으로 식품의 조직을 안정하게 유지하기 위해 사용하는 것을 안정제라고 하는데, 안정제의 역할이나 기능은 매우 광범위하다. 안정제의 기능으로는, 산성유음료나 밀크프림 등의 단백질안정(응집방지), 드레싱이나 코코아음료, 과즙음료의 불용성고형물의 분산안정, 유화 Type 드레싱이나 아이스크림 등의 유화안정, 스폰지 케익이나 아이스크림 등의 기포안정, 젤리 등의 이수방지, 햄이나 소세지등의 결합성향상이나 이수방지, 냉동식품 등의 동결해동내성 부여, 아이스크림 등의 빙결정의 안정 등 다양하다. 안정제로서 이용되는 다당류는 안정제로서의 기능만이 아니라, 증점, 겔화, 식감개량등도 총합하여 부여하는 경우가 많다.

다당류에는 과실에 함유된 Pectin, 해조류에 함유된 Carageenan, 종자에 함유된 Locust Bean Gum, 수액(樹液)에서 얻는 Arabia Gum, 미생물로부터 얻는 Gellan Gum이나 Xanthan Gum 등 많은 종류가 있으며, 물에 용해되면 점도가 높은 용액이 되거나, 젤리상이 되는 성질을 가지고 있다. 이러한 수용성 고분자물질을 일반적으로 증점다당류(증점안정제)라 한다.

이들 증점다당류는 식품의 점도를 증가시키거나, 겔을 형성하거나, 유화안정성을 좋게 하는 등 식품의 조직을 형성하거나, 식감을 개량하는 여러 가지 기능을 가지고 있기 때문에, 식품의 품질을 향상시키기 위해 폭 넓게 이용되고 있다.

식품의 맛을 결정짓는 인자로 단맛, 신맛, 짠맛, 쓴맛, 감칠맛 등을 들 수 있는데, 이들은 혀에서 느끼는 미각을 좌우하는 소위 저분자물질에 의한 효과이다. 이 외의 인자로서 “식감”이라고 불리는 “씹는 느낌”, “목에서 넘어가는 느낌”, “맛”. “눅눅함”, “미끌거림” 등이 있는데, 이 식감의 개량제로서 증점, 겔화, 안정, 유화, 보수(保水) 등의 목적으로 사용되고 있는 것이 증점안정제이다.

증점안정제의 기능이나 특성을 특징짓는데 중요한 인자로서 분자량, 분자형태, 구성당, 관능기의 유무 등을 들 수 있다. 이들의 차이에 의해 물에 대한 용해성, 겔화특성, 점증성, 염류와의 반응성, 단백질과의 반응성, 다당류간의 상호작용, 단당류와의 반응성 등에서 많은 차이를 보이기 때문에 특정 식품에 적합한 다당류를 선택하기 위해서는 사전에 상세정보의 총괄적 파악이 중요하다.

본 연구에서 개발하고자 하는 인삼음료는 불용성 인삼분말과 식물성크림, 탈지분유 등에 함유된 유지성분과 유단백질 성분이 함께 물(연속상)속에 분산상으로 존재하는 상화이며 이를 안정화시키기 위한 기술로 현재까지는 합성첨가물소재가 함유된 복합안정제가 주로 사용되어 왔으나, 본 연구과제에서는 합성첨가물을 기피하는 천연추구 소비자 니즈를 만족시킬 수 있는 제품을 개발하기 위해 Pseudo Plastic 점성의 특성을 지닌 천연소재의 점증다당류를 기본으로한 100% 천연소재 안정제를 개발하였다.

(3) 천연 안정제 Homogen CJ-N

천연소재 100% 복합안정제로 개발한 Homogen CJ-N은 천연소재 다당류인 Compound A를 아주 미세한 미립자로 만든 후, 또 다른 천연소재 다당류 Compound B와 같은 Hydrocolloid를 이용하여 특수한 방법으로 코팅한 후에 건조시켜 분말화 한 것이다.

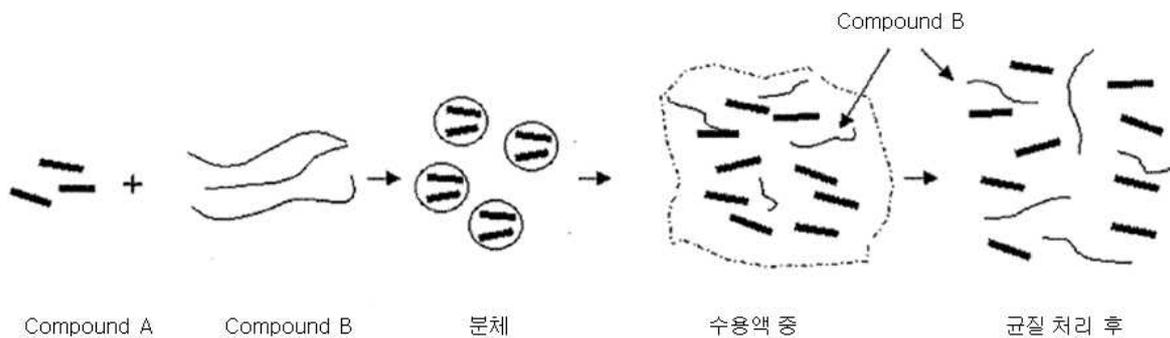


그림 1-39. Homogen CJ-N 제조 공정

Homogen CJ-N을 물에 투입한 경우, 코팅되어 있는 하이드로콜로이드가 용해되기 시작하며, 균질처리 후 Compound A가 다시 물로 분산되어 그물망 구조를 형성한다. 이 그물망 구조에 의해 불용성 고형물이나 유화유지의 현탁 유화 안정효과를 기대할 수 있다.

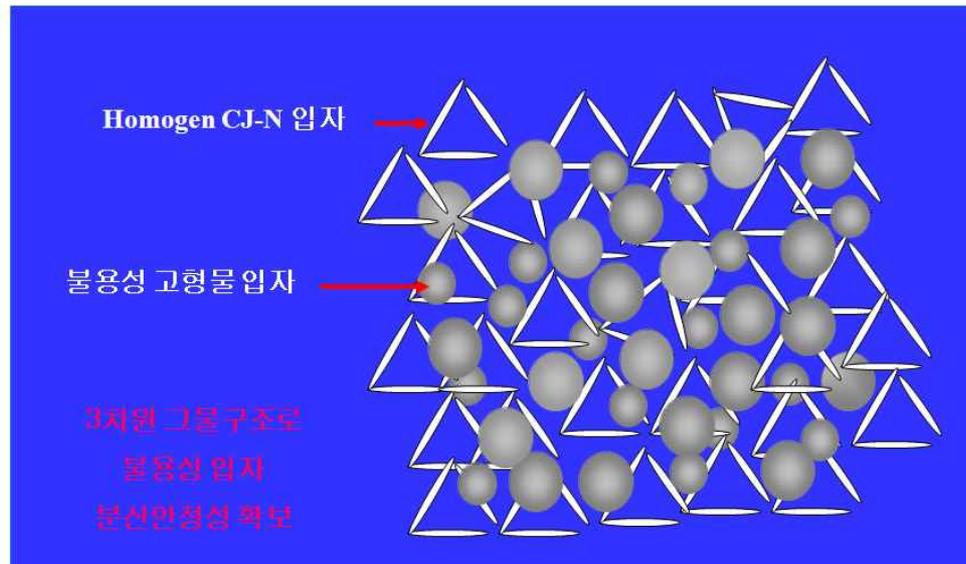


그림 1-40. Homogen CJ-N의 액상 분산안정성 확보 모식도

Homogen CJ-N은 물에 투입시 완전히 용해되지 않고 분산되어 3차원 그물구조를 형성하는 관계로 투명한 음료에 적용은 어려울 것으로 판단되며 우유를 사용하는 유음료나 본과제의 인삼음료처럼 불용성 고형분을 함유하는 음료에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

특히 맛품질에 있어서도 다른 점증제들에 비해 나쁘지 않은 식감과 맛을 나타내었으며, 일반적으로 음료 공정에 사용되어 지는 열처리 조건에서도 안정성을 확보하는 것으로 나타났다.

(4) 천연 유화제 개발

본 과제의 인삼음료가 불용성 고형분인 인삼분말이외에 유지 성분을 함유하고 있어, 이를 안정화하기 위해서는 안정제만으로는 한계가 있어 천연 유화제 적용을 검토하였다.

현재 식품에서 주로 사용되는 유화제는 글리세린지방산 에스테르, 설탕지방산에스테르, 소르비탄지방산에스테르, 프로필렌글리콜지방산에스테르 등이 주로 사용되며 대부분 합성첨가물로 이루어져 있다. 특히 설탕지방산에스테르의 경우 O/W 유화력이 우수하며, 관능적 특성이 좋아 커피 등 다양한 유음료에 활용이 되고 있다.

천연첨가물계 유화제로 엔주사포닌, 킬라자추출물, 레시틴, 식물성스테롤, 대두사포닌, 동물성 스테롤, 유카추출물, 토마토당지질 등이 있으며, 이들을 포함하여 인삼원물음료에 가장 적합한 천연소재 유화제를 개발하였다.

본 연구에서 개발한 천연유화제 Homogen CJ-NE는 O/W 상에서 효과적으로 유지성분을 유화 안정화 시키는 효과를 지니는 것으로 나타났다.

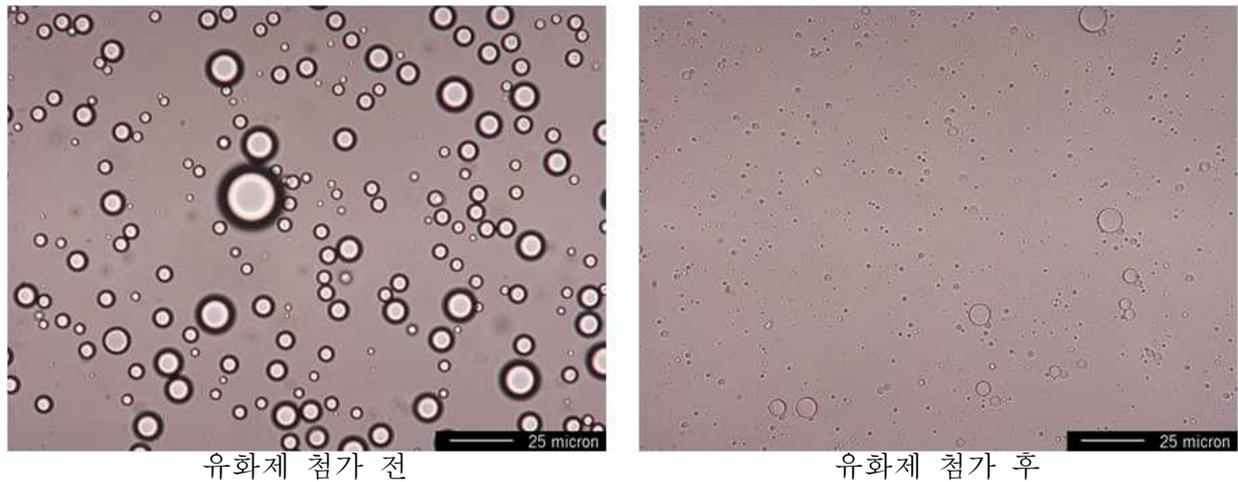


그림 1-41. O/W상의 유화제 첨가 효과

하지만 일반적으로 천연유화제의 경우 합성유화제 대비 유화력이 떨어지며 다량을 사용해야 하며 관능적 특성도 좋지 못하여 이로 인한 적용의 한계가 있는 것으로 판단된다. 특히 합성 유화제의 경우 다양한 HLB(Hydrophile Lipophile Balance)값의 유화제를 만들 수 있어 이를 복합적으로 활용하여 유화안정성 증대를 도모할 수 있는 반면 천연유화제의 경우 HLB값이 한정적인 관계로 적용에 어려움이 있어 향후 이에 대한 개발이 필요할 것으로 판단된다.

(5) 천연 안정제 및 유화제 적용

천연소재로 개발한 안정제인 Homogen CJ-N과 천연소재 유화제인 Homogen CJ-NE를 인삼원물음료에 적용하여 다른 천연 안정제와의 유화안정성을 비교하였다. 천연 안정제 A와 천연 유화제 B를 사용한 경우 조제 후 24시간 이내 침전이 발생하는 반면 Homogen CJ-N과 Homogen CJ-NE를 적용한 시제는 24시간이 지나도 불용성 고형분들이 침전되지 않고 안정적으로 분산되는 것으로 관찰되었다.

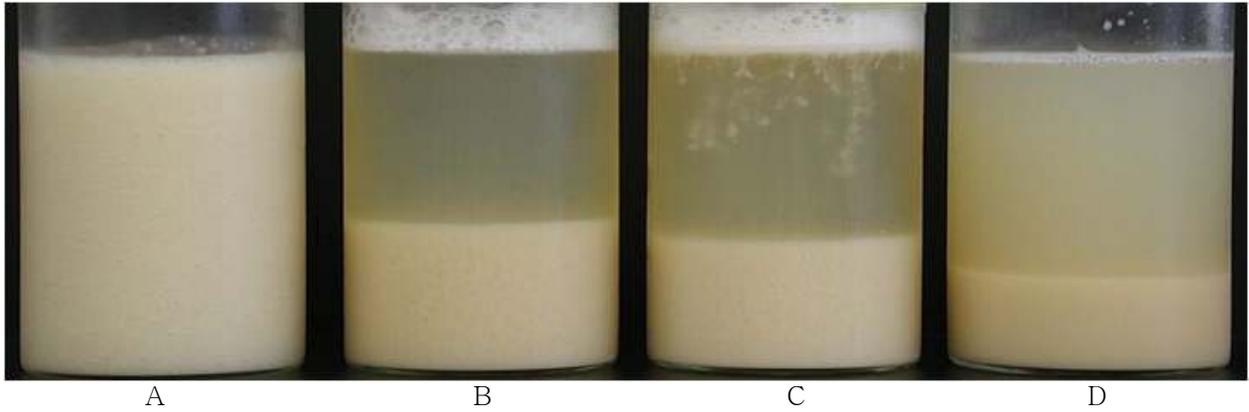


그림 1-42. 인삼분말을 함유한 음료내에서의 분산 안정성

- A : Homogen CJ-N + Homogen CJ-NE
- B : 천연 안정제 A + 천연 유화제 A
- C : 천연 안정제 B + 천연 유화제 A
- D : 천연 유화제 A

천연소재 안정제와 유화제를 적용한 조성물의 안정성을 최신 분석기법인 Multiple light scattering system을 이용한 Turbiscan을 활용하여 측정하였다. Turbiscan은 880nm의 light source를 사용하여 샘플의 Transmittance intensity와 Back scattering intensity를 각각 Transmission Detector와 Backscattering Detector에서 측정하여 샘플 내에서 일어나는 현상을 측정하는 기기으로써, 입자의 size migration (creaming, sedimentation), size variation (flocculation, coalescence)을 관찰함으로써 유화 또는 분산상의 용액 안정성(stability)을 측정할 수 있다.

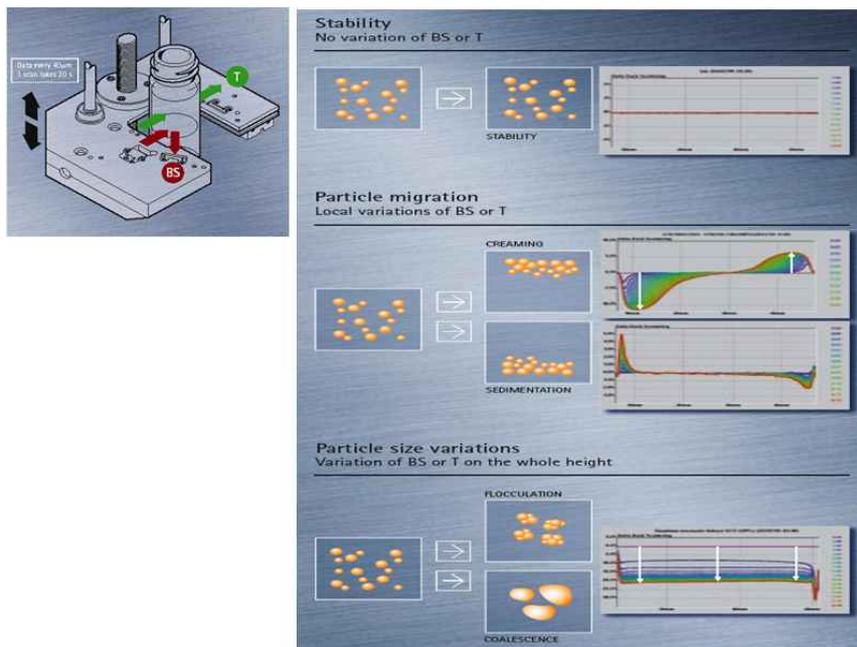


그림 1-43. 상변화에 따른 Turbiscan 측정 결과

인삼원물음료 시제의 Turbiscan 분석결과, 일반적인 다른 천연소재 안정제의 경우 침전과 상분리, 크림층 등이 발생되었으나, Homogen CJ-N과 Homogen CJ-NE를 적용한 시제의 경우 제조 후 24시간동안 안정적인 유화분산성을 보이는 것으로 나타났다.

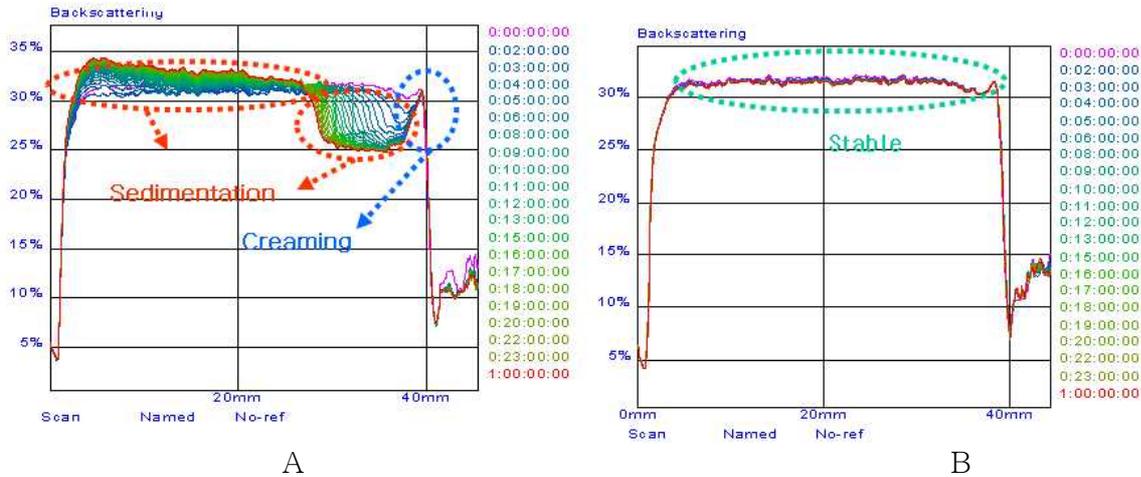


그림 1-44. 인삼원물음료의 Turbiscan 측정결과(24hr)

A : 일반 천연소재 안정제 첨가 시제

B : Homogen CJ-N + Homogen CJ-NE

본 실험결과를 바탕으로 Homogen CJ-N과 Homogen CJ-NE가 인삼원물음료의 천연 안정제로 적용 가능성이 있다는 판단 하에 협동2기관에 개발제품의 안정제 원료로 제공하였다.

또한, 주원료와 부원료가 동일한 인삼원물음료 배합비에서 합성안정제와 합성유화제를 적용한 것과 천연 안정제인 Homogen CJ-N과 천연유화제인 Homogen CJ-NE를 적용한 음료를 각기 제조하여 가속조건에서 저장 안정성을 확인하였다. 가속 저장조건은 4℃, 20℃, 30℃, 40℃, 60℃이며, 각각 10일 후와 30일 후 성상의 변화를 육안으로 관찰하면서 유화안정성을 측정하였다.

가속 test 결과, 저장 10일 후 합성 유화안정제 적용 샘플과 천연 유화안정제 적용한 샘플 모두 특별한 성상의 변화를 관찰 할 수 없었다. 저장 20일 이후에도 큰 변화는 관찰 할 수 없었으며, 저장 30일 경과 후 천연유화안정제 적용 샘플의 상단에 미세한 크림층이 발생하는 것을 관찰할 수 있었으나 이는 경미한 변화로 유화안정성에 큰 문제가 없다고 판단하여 이를 현장 생산라인에 적용하여 가속 test를 통한 저장 안정성을 확인하고자 하였다.



10일
경과



30일
경과



합성안정제 + 합성유화제

Homogen CJ-N + Homogen CJ-NE

*** 좌로부터 4℃, 20℃, 30℃, 40℃, 60℃ 온도조건에서 저장**

그림 1-45. 합성유화안정제 대비 천연유화안정제 적용 시제의 가속 test 결과

라. 인삼원물음료의 양산라인에 맞춘 공정 최적화 설계

(1) 제품 기본 설계

음료의 제조방법에는 저온 충전법, 무균 저온 충전법, 고온 충전법, 레토르트 살균법으로 크게 나뉘어진다. 저온 충전법은 주로 냉장유통 음료에 사용되며, 고온 충전법은 pH 4.0 미만의 과실음료 등의 고산성 음료나, pH 4.0~4.6의 토마토 주스, 야채 주스 등의 산성음료에 적용한다. 그 외 pH 4.6 이상의 저산성 음료에서는 고온 충전법 또는 무균 저온 충전법, 레토르트 살균법 등이 활용된다.

본 연구의 인삼원물음료의 경우 pH 4.6이상의 저산성 음료로서 레토르트 살균법 또는 무균 저온충전법이 가장 적합한 상황이나, 레토르트 살균법의 경우 맛품질 저하가 발생하며 무균저온충전법의 경우 해당 설비를 갖춘 업체가 소수이며 일반 미과즙음료나 차음료 등에 인삼의 향이 전이되는 현상이 발생되어 인삼음료 생산이 어려운 상황으로 결국 고온 충전법으로 기본 공정설계를 진행하였다.

고온충전법은 미리 살균한 내용물을 세정한 병에 고온충전하고, 세척한 캡으로 밀봉하고, 내용물의 열에 의해 병과 캡을 살균하고, 그 후 열수 샤워에서 후살균하는 방법이다. 각각의 공정에서 확실한 살균 및 무균성을 확보했다고 말할 수 없으나 전 공정을 거친 후에는 상업적인 무균성이 된다.

(2) 원재료와 배합비

원재료에는 여러 종류의 성분이 사용되나 좋은 품질과 변패의 원인이 될 수 있는 미생물의 오염이 적은 원재료의 사용이 중요하다. 인삼원물음료에는 인삼분말이 사용되며 이는 내열성 세균인 *Bacillus* 포자 등이 다량 검출되는 바, 인삼원물의 적절한 살균처리 등을 통한 미생물 제어가 필요하며 원료 미생물 규격 설정을 통한 미생물 관리 기준을 설정하였다. 1차년도 연구결과에 따라 인삼원료의 *Bacillus subtilis*를 포함한 내열성 세균의 초기균수를 10^3 미만으로 품질관리 규격을 설정하였다.

적용하는 당류에 있어서도 설탕 등에는 내열성성이 높은 균에 다량 오염되어 있는 경우도 있어 사용에 주의를 기해야 하며 이들 위해성이 있는 원료들은 사전 미생물 검사를 통한 관리가 중요하다. 각 원재료의 품질, 미생물 오염 등은 제품의 안전성, 안정성, 변질, 변패 등에 큰 영향을 미치므로, 검사 성적서 등으로 관리하고 적절한 입고 검사 기준을 설정하였다.

(3) 배합공정

배합액은 당도, 산도, pH 등의 이화학 규격과 관능을 확인 및 조정하여 완성한다. 배합액은 장시간 방치할 경우 변질, 변패 되므로, 방치 시간, 온도 등의 관리가 중요하다. 인삼원물음료의 경우 천연 안정제 및 유화제가 적용되므로 이들을 먼저 충분히 용해한 후 인삼 원물과 식물성 크림 또는 탈지분유 등의 유화안정화가 필요한 성분들을 먼저 투입하여 충분한 시간 교반을 통하여 유화분산제와 고형성분 및 유지 성분들이 충분히 혼합될 수 있도록 한다. 이외에 당류 등의 기타 원료와 정제수를 첨가하여 최종 배합액 규격을 확인 후 배합을 완료하는 것으로 설계하였다.

(4) 가압균질 공정

유화 또는 분산이 필요한 유음료, 두유 또는 오렌지 주스 등에 유화안정성을 높이기 위해 사용되는 것이 균질 공정이다. 인삼원물음료의 경우도 인삼원물 및 유지 성분이 충분히 유화분산될 수 있도록 가압균질 공정이 필요하며, 협동1기관에서 1차년도에 실험한 500bar 수준의 현장 라인 설비상 구현이 어려워 300~400bar 수준으로 가압균질 공정을 설정하였다.

(5) 살균 공정

pH 4.0 미만의 과실음료 등에서는 일반적으로 plate식 열교환기에 의해 100℃이하의 순간 살균을 하지만, 내열성이 강한 곰팡이나 호산성 아포균이 잔존할 수 있는 위험성이 있고, 그런 제품에서는 *Byssochlamys fulva* 등의 내열성 곰팡이에 의한 변패도 관찰된다. 그러므로 그런 곰팡이나 세균에 오염되지 않은 원재료를 사용할 필요가 있다.

pH 4.0 ~ 4.6의 토마토 주스, 야채 주스 등의 제품에서는 *Bacillus coagulans*, *Clostridium butyricum* 등의 내열성 유아포세균이 생육 가능하므로, 그 균들의 살균을 위해서는 100℃ 이상의 고온살균이 행해진다. pH 4.6 이상의 다류 음료 등에서는, 내열성이 강한 유아포세균 중에서 생육 가능한 것이 있을 수 있으므로, 130℃ 이상의 UHT 살균을 하는 것이 일반적이다.

인삼원물음료는 pH 4.6이상의 중성음료로 1차년도 연구결과 타겟 미생물로 설정된 *Bacillus subtilis* 포자를 효과적으로 제어할 수 있도록 라인 설계를 하였다. 1차년도 연구결과에 따라 UHT 살균조건은 일반적인 중성음료 살균조건인 130℃ 30초로 설정하였으며, 후살균 조건은 85℃이상의 온도에서 5분 이상으로 설정하여 타겟 미생물인 *Bacillus subtilis* 포자의 예측 살균율을 산출하였으며, 그 결과 2.4×10^{-5} 감소의 살균율을 보여주어 안전계수 2log를 고려할

때 초기균수 10^3 미만일 경우 대부분 사멸되는 것으로 예측되었다.

음료에 사용되는 UHT 살균기는 Plate 방식과 Tubular 방식이 있는데, 열교환 효율 및 속도가 빠른 Plate 방식 열교환기를 선정하였으며, 이에 대한 Pilot 라인에서 살균력 검증은 1차년도 시행하였으며 2차년도에는 양산라인에서의 살균력을 검증하고자 하였다.

(6) 충전공정

고온 충전 음료에는 병 또는 내열성 PET가 사용된다. 병과 Pet는 제조공정에서 고온 처리되므로 성형 직후의 병과 PET는 무균 상태이다. 그러나 팔레트 적재에 사용되는 separate sheet는 회수, 청소, UV 살균하여 재사용하나 무균상태로 만들 순 없다. separate sheet가 미생물에 오염되어 있으면 병과 PET는 오염되게 되어 이에 대한 세척 및 균 제어를 필요로 한다. 경우에 따라 병과 PET에 nozzle을 이용하여 차아염소산나트륨 등을 함유한 세정용수를 PETbottle 입구 부분 및 내부 등에 분사하여 세정, 제균을 할 수 있으나 염소가 잔존할 수 있어 제품에 이취발생 및 인체 유해성 등이 우려되므로 최근에는 거의 사용하지 않고 있으며 인삼원물음료에도 적용을 하지 않고 일반 순수로 세척을 실시하는 것으로 설계하였다.

가열 살균된 배합액은 파이프라인, 밸런스 탱크 등을 통과해서 충전기에서 병에 충전될 수 있도록 설계하였으며 충전의 온도는 병의 내열도에 따라 결정하였다. 오염방지의 점에서 보면 높은 온도가 바람직하나, 병이 제대로 예열이 되지 않거나 너무 고온에서 충전시 병이 깨지는 현상이 발생할 수 있으므로 85~95℃에서 병 내열도에 따라 조절하는 것으로 설계하였다.

가열 살균한 배합액은 미리 세정한 병에 고온 충전하고 캡으로 밀봉하나, 캡이나 병이 완전 무균이 아닌 상태이므로, 충전한 내용물의 열로 병과 캡의 내면을 살균하는 전도 살균을 시행하고 충전공정 전체를 클린룸에서 진행하는 것으로 설계하였다.

(7) 후살균/냉각 공정

전도 살균 후 일반적으로 75℃ 정도에서 후살균을 행하지만, 미생물 오염 가능성이 높은 중성음료 특성상 80℃이상으로 후살균 온도를 설정하였다. 샤워 후살균 후 단계적으로 온도를 낮춘 샤워조에서 냉각한다. 거기에 사용되는 냉각수는 염소처리 등의 대책을 세우지 않은 경우에는 세균이나 곰팡이가 증식하여 현저히 오염될 수 있는 위험성이 있다. 충전에서 후살균까지는 병 내부가 가압 상태이나, 냉각 공정에서는 감압 상태가 된다. 이 시점에서는 밀봉 부분은 연화된 상태에서 캡의 형태, 재질, 나사선 상태 등에서 문제가 생기고 내부가 감압 상태이

므로 미량의 냉각수가 흡입될 가능성이 있다고 생각된다.

특히 냉각수의 순환사용의 경우에는 균수가 현저히 증대되므로 염소처리 등에 의해 균수가 낮은 수준으로 유지하는 것이 중요하다. 내열성이 없는 곰팡이나 세균 등에 의한 변패의 경우 일반적으로 누설에 의한 이차적 오염이라고 생각할 수 있다.

(8) 검사&포장

냉각 후 제품은 라벨, 박스 등의 자동포장기를 거쳐 창고로 이송될 수 있도록 설계하였으며, 최종 제품은 시간단위별 샘플링을 하여 미생물 및 이화학 검사를 진행하여 안전성 및 안정성을 확보한 제품에 한하여 출고될 수 있도록 설계하였다.

마. 대용량 양산 Test 및 검증

(1) 생산라인 확보 및 양산 test

인삼원물음료의 살균효과 검증을 위해 대량 양산 설비로 인삼음료 및 중성음료를 전문적으로 생산하고 있는 현장 생산라인을 활용하였다.

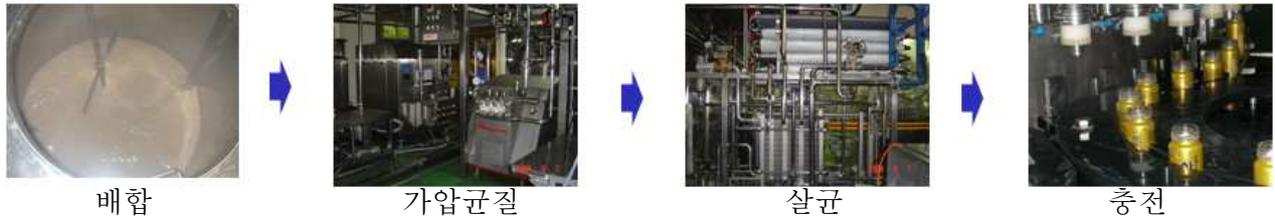


그림 1-46. 인삼원물음료 대량양산시스템

현장 생산라인의 살균기는 삼용엔지니어링사에서 제작한 UHT 설비를 이용하였으며, 배합액의 고압균질이 가능한 가압균질기와 클린룸 충전, 후살균 및 냉각까지 가능한 대량 양산 시스템이다.

제2협동기관에서 제시한 배합비를 제품 원가 및 현장라인에 맞게 일부 조정하여 배합을 진행하였으며, 최종 배합액량은 1,000L로 가압균질(350bar) 및 UHT 살균(130℃ 30초) 진행 후 클린룸 조건에서 고온 충전(85℃ 이상)하였으며, 후살균기에서 85℃ 5분 이상 후살균을 실시하였다. 생산라인 양산 test 결과, 살균기의 스케일 발생으로 인한 살균 온도 헤팅현상이 자주 발생하였다. 특히 장시간 생산시에는 이러한 현상이 자주 발생되었으며, 이로 인해 살균기 자동제어 장치에 의해 충전기로 액이 이송되지 않고 리턴되는 현상이 발생되었다. 이러한 현상이 지속되는 상황에서는 연속 생산이 불가능하였고, 미생물 안전성도 확보할 수 없었다.



그림 1-47. 스케일 발생한 UHT 살균기 Plate

살균기내 스케일 발생 및 막힘현상은 주로 가열존에서 발생되었으며, 스팀과 배합액이 만나

는 구간에서 가장 심하게 발생되었다. 이러한 현상의 원인은 원료 중 함유된 점착성의 고분자 물질들이 고온의 열처리 과정에서 살균 플레이트판에 응집하고 이러한 응집물들이 살균과정에서 지속 누적되면서 스케일이 발생되며 이로 인해 열전달이 제대로 이루어지지 못하여 살균온도가 떨어지는 현상이 발생하는 것으로 파악되었다. 원료 중 호화미분과 인삼분말이 이러한 현상의 원인물질로 예상되며, 특히 호화미분이 열조건에 따른 물성변화가 심한 점으로 미루어 호화미분이 가장 큰 원인 물질로 판단되어진다. 특히 호화미분의 경우 고점성을 유발하여 고속배합 및 배합수 처리에도 문제가 있어 이에 대한 개선이 필요할 것으로 판단된다.

살균기 스케일 개선을 위하여 고점성의 액을 효과적으로 통과시킬 수 있는 살균기를 탐색하게 되었고, 기존 플레이트 살균기대비 튜블라 살균기가 이러한 현상을 개선 시킬수 있을 것으로 판단하였다. 튜블라 살균기를 보유한 음료라인이 국내에 많이 없으며, 특히 인삼원물음료 생산에 필요한 제반설비 들을 함께 갖춘 생산업체의 확보는 더더욱 어려운 상황이었다. 관련 적합한 생산업체를 찾던 중 신규 음료라인 투자를 계획하는 업체와 협의를 통하여 튜블라 살균기를 신규 투자 및 설치하게 되었다.



그림 1-48. 튜블라 UHT 살균기

튜블라 살균기를 갖춘 신규 생산라인에서 양산 test를 진행하였으며, 스케일에 의한 온도현상 현상은 개선되었으나, 플레이트 대비 긴 살균존에 의한 맛품질 변화가 발생되었다. 최초 설계된 살균기의 예열존과 가열살균존, 냉각존, 리턴존을 최대한 줄이면서도 미생물 안정성 및 살균온도가 유지될 수 있도록 라인 test를 지속 진행하여 배합액 열처리 시간을 최소화 하였으며 이로 인해 맛품질 변화도 최소화 할 수 있었다.

(2) 안전성 검증

(가) 생산공정 중 미생물 살균효과 검증

3번 이상의 현장 생산 조건 살균효과 검증에서 타겟 미생물인 *Bacillus subtilis* 포자를 비롯한 모든 미생물들이 효과적으로 사멸되는 것으로 확인되었다. 일반세균, 진균류 이외에도 대장균군 등 식중균류도 전혀 검출되지 않아 미생물 안전성을 확보한 것으로 판단하였다.

표 1-26. 대용량 양산 시스템 조건 미생물 살균효과 검증 결과

항목	배합액	UHT 살균 후	후살균 후
일반세균	1차 : 6.5 X 10 ² cfu/ml	1차 : 0 cfu/ml	1차 : 0 cfu/ml
	2차 : 3.2 X 10 ³ cfu/ml	2차 : 0 cfu/ml	2차 : 0 cfu/ml
	3차 : 4.5 X 10 ³ cfu/ml	3차 : 0 cfu/ml	3차 : 0 cfu/ml
진균류(효모/곰팡이)	1차 : 0 cfu/ml	1차 : 0 cfu/ml	1차 : 0 cfu/ml
	2차 : 0 cfu/ml	2차 : 0 cfu/ml	2차 : 0 cfu/ml
	3차 : 0 cfu/ml	3차 : 0 cfu/ml	3차 : 0 cfu/ml

(나) 화학 안전성 test

현장조건에서 생산된 인삼원물음료 및 원료의 화학 안정성 test를 진행한 결과, 잔류농약, 중금속 등 위해물질 들이 불검출 또는 규격이내 극미량 검출로써 화학 안정성도 확보되었다.

(다) 현장조건 유화안정성 확인

천연안정제인 Homogen CJ-N과 천연유화제인 Homogen CJ-NE를 적용하여 현장 생산라인에서 생산한 결과, Lab 조건 및 Pilot 조건에서 실험한 결과와는 상이하게 생산 직후부터 성상의 변화가 관찰되었다.

충진 후 후살균을 마치고 냉각존을 통과한 제품의 유화 및 분산안정성이 깨지면서 고형물과 유지성분들 끼리 뭉쳐지는 현상이 관찰되었다. 유화 및 분산안정성이 확보가 안된 조성물이 열처리나 냉각과정의 급격한 온도변화 과정 중 자주 발생하는 현상으로 현장 생산조건에 적합한 유화안정성이 확보가 되지 못하였다는 것을 의미한다. 하루정도 경과된 이후에는 상층부에 물층이 발생되면서 상분리까지 이루어지는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 성상변화를 가진 제품은 상품으로의 가치를 상실하는 것으로 유화안정성의 개선이 필요하였다.



후살균 직후 제품



생산 하루 경과 후 제품

그림 1-49. 천연 유화안정제 적용 제품의 현장 생산 후 정상변화

Lab 조건에서는 제조 직후 및 30일 간의 가속 test 결과에서도 큰 정상변화를 보이지 않았던 조성이 현장 생산라인에서 생산 직후 바로 정상변화가 일어난 것은 Lab 조건 대비 가혹한 열처리 조건에서 받은 열에너지에 의해 구성 물질간 활발한 분자운동에 의한 유화력과 분산력을 상실한 때문인 것으로 예상된다. 동일한 배합비에 합성 유화안정제를 적용하여 현장 생산한 결과 큰 정상변화가 없는 것을 볼 때 천연 유화안정제가 상대적으로 낮은 유화력 및 분산안정성을 지니고 있다라고 판단할 수 있다. 유화안정성이 깨져서 발생하는 정상변화가 안정제와 유화제의 복합적인 작용이기는 하나, 이번 생산에서 발생된 정상변화는 유화력이 부족할 때 특히 자주 발생하는 것으로 유화력을 높이는 것이 필요하다고 판단하였다. 이에 유화력을 높이기 위해 Homogen CJ-NE를 다양한 함량비로 기존대비 증량하여 현장조건에서 생산을 진행하였고, 그 결과 기존대비 30% 증량하였을 때 생산직후 큰 정상변화가 없는 것을 관찰하였다.



생산 직후 제품

그림 1-50. 천연 유화제 증량한 제품의 현장 생산 후 정상

(3) 맛품질 검증 소비자 조사

협동2기관에서 개발한 무합성첨가물 인삼원물음료의 소비자 관능 test를 통하여 맛품질을 검증코저 하였다. 본 조사는 합성첨가물 인삼향 등이 첨가된 인삼원물음료와 비교를 통하여 천연 인삼향을 비롯한 천연원료로만 제조된 무합성첨가물 인삼원물음료의 상품화 가능성 여부와 관능적 특징점들을 세부 속성별 분석하여 향후 개선할 수 있는 요소들을 찾고자 하였다.

소비자 조사는 사전 질문을 통하여 평소 인삼을 체질상 등의 이유로 섭취하지 않는 이들을 제외하고 나머지 30~50대 일반인 패널들을 선정하여 HUT(Home Use Test) 방식으로 직접 가정에 배달한 이후에 설문지를 회수하는 방식으로 진행하였다. 총 55명의 소비자를 대상으로 시음 샘플 2가지는 라벨이 없는 투명한 병에 제공하였으며 Sequence Monadic 방식으로 진행하였다.

■ 제품 간 속성별 유의차 분석

	천연	합성	유의확률
전반기호도	3.34	3.53	0.476
외관기호	3.27	3.33	0.638
향기호	3.64	3.56	0.220
입촉감기호	3.40	3.56	0.846
인삼향기호	3.53	3.65	0.872
단맛기호	3.34	3.60	0.041
쓴맛기호	3.43	3.49	1.000
겉쪽암기호	3.13	3.44	0.168
묵념감기호	3.61	3.36	0.215
뒷맛기호	3.34	3.42	0.877

■ 전반기호도 점수 분포

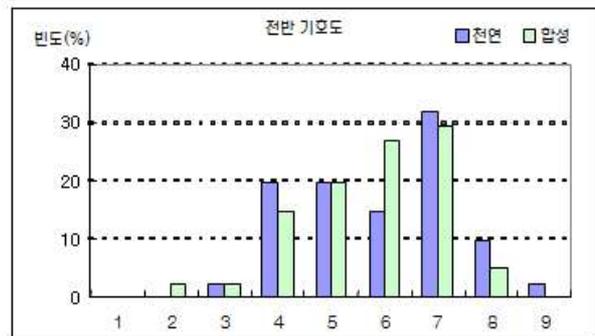


그림 1-51. 인삼원물음료 관능 소비자 조사 결과

무합성첨가물 인삼원물음료의 전반기호도는 3.34로 나왔으며, 합성첨가물 인삼원물음료는 전반맛 3.53으로 상대적으로 낮은 기호도가 나왔다. 무합성첨가물 인삼원물음료의 적절한 인삼 맛과 부드러운 맛 등에서 소비자의 좋은 반응이 있었으나, 상대적으로 맛품질이 다소 떨어지고 있으며 특히 인삼향이 약하고 너무 겉쪽하다는 의견이 다수를 차지하고 있었다. 상품화가 가능한 수준으로 맛품질을 높이기 위해서는 겉쪽함을 개선하고 인삼향을 증대하는 방향으로의 맛개선이 필요한 것으로 판단되었다.

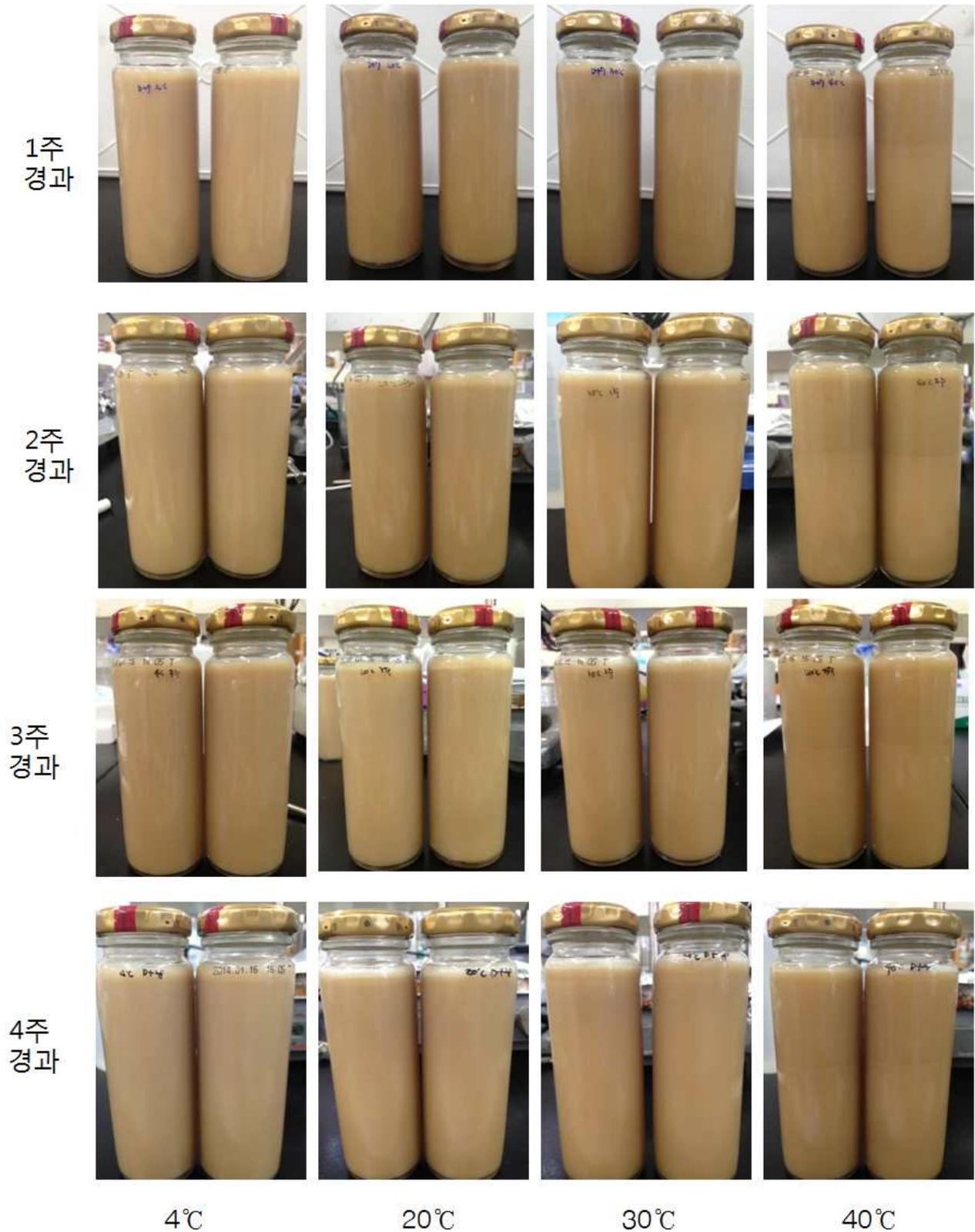
좋은 점	(%)
외관	
농도가 적당함	12.96
맛/향	
인삼의 맛이 적당함	22.22
단 맛이 적당함	12.96
깔끔함	5.56
조직감	
부드럽게 잘 넘어감	42.59
마시기 편함	1.85
기타	
인삼이라서 건강에 좋을 것 같음	3.70

개선 점	(%)
외관	
너무 걸쭉함	22.22
농도가 묽음	5.56
맛/향	
인삼의 향이 약함	11.11
깔끔함이 부족함	9.26
단 맛이 강함	9.26
인삼 맛이 부족함	9.26
쓴 맛이 오래 남음	5.56
단 맛이 부족함	5.56
인삼 맛이 강함	5.56
조직감	
마시기 불편함	1.85
부드러움이 부족함	1.85
기타	
미숫가루, 설탕 같음	9.26
인삼 음료도 아니고 두유도 아님(어정쩡함)	1.85

그림 1-52. 인삼원물음료의 개선점

(4) 유통기한 test

천연 안정제(Homogen CJ-N)와 천연 유화제(Homogen CJ-NE)를 적용한 제품을 현장에서 생산하여 가속조건에서 저장안정성 test를 통해 유통기한을 설정하고자 하였다.



6주
경과



8주
경과



4°C

20°C

30°C

40°C

그림 1-52. 천연 유화제 및 안정제 적용된 양산 생산품의 가속 Test 결과

가속 저장조건은 4°C, 20°C, 30°C, 40°C 이며, 1주일 간격으로 성상의 변화를 육안으로 관찰하면서 유화안정성을 측정하였다.

가속 저장 test 결과, 1주 경과후 40°C 저장 샘플의 상분리 현상이 관찰되었다. 음료 상층과 하층의 색상 진하기가 절반정도로 나뉘어지며 완전히 물층으로 분리된 것은 아니지만 인삼분말이 아래로 상당량 침전되는 것을 관찰할 수 있었다. 2주에서 3주 경과 후까지는 40°C 저장 샘플을 제외하고는 정상 변화를 관찰할 수 없었다. 4주 경과 후에 30°C 샘플도 상층 상분리가 일부 발생되었으며, 상분리는 전체 면적의 10% 가량 진행이 되었다. 40°C 저장 샘플은 초기 50% 정도 상분리 이후에 상분리가 더 확대되지는 않았다. 6주 경과 후에 30°C 저장 샘플의 상분리가 확대되어 전체면적의 30% 가량이 상분리되었으며, 40°C 저장 샘플은 50% 상분리에서 변화가 없었다. 8주 경과 후에는 40°C 저장 샘플은 약 60% 가량 상분리가, 30°C 저장 샘플은 약 40% 가량의 상분리가 진행이 되었으며, 20°C 저장 샘플도 상부 10% 가량의 상분리가 진행되었다.

가속 저장 test 결과를 종합해볼 때 가속조건은 물론 상온으로 볼 수 있는 20°C 조건에서도 약 8주 경과 후에는 상분리가 발생하여 외관상의 품질 안정성이 떨어지는 것으로 판단되

어 진다. 상온조건에서 8주 정도의 유화안정성을 지니는 것으로 나타나 상품화에 필요한 품질력을 확보 못한 상태로 추가적인 유화안정성 증대가 필요한 것으로 판단되어 진다. 천연 유화제 Homogen CJ-NE의 경우 고농도를 사용할 경우 특유의 이취가 발생하여 본 연구에서 사용된 최종 함량 이상을 적용하기에는 제품 맛품질상 적용에 어려움이 있는 것으로 판단되어진다.

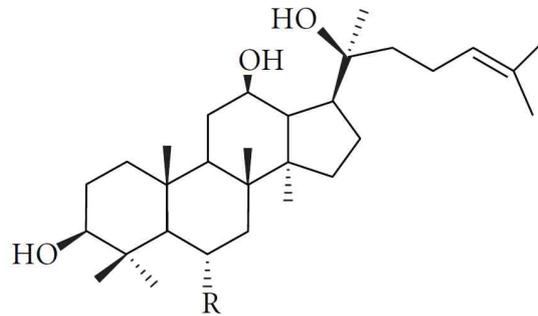
상분리 되는 성상이 완전히 물층으로 분리되는 것이 아닌만큼 폴쉬링크 포장 등으로 내용을 가리고 제품화를 검토할 수 있으나, 최근 폴쉬링크 포장의 경우 유리병 파손시 병이 깨지지 않고 폴쉬링크 포장에 접촉되어 있다가 소비자가 섭취시 유리조각이 떨어져나와 중대한 클레임이 발생할 소지가 있다. 이에 식약청에서는 유리병 음료 제품의 폴쉬링크 사용을 제한하고 있어 폴쉬링크 포장의 적용이 어려워 관련 상품화를 위해서는 유화안정성 증대 연구가 추가적으로 필요한 상황이다.

바. 향후 계획

본 연구과제를 통하여 개발된 천연컨셉의 인삼원물음료가 즉시 상품화에 필요한 품질력을 확보하지는 못하였으나, 합성 안정제 및 유화제에 거의 근접한 수준의 상당한 유화안정성을 확보한 만큼 추가적인 연구를 통하여 향후에는 이를 대체 가능할 것으로 판단된다. 천연 안정제와 천연 유화제의 경우 인삼원물음료 이외에도 유화와 분산을 필요로 하는 다양한 음료 제품군에 적용이 가능하므로 추가 연구를 통한 품질력 확보시 그 파급효과는 클 것으로 예상된다. 이에 주관기관은 본 연구과제가 종료된 이후에 추가적인 연구를 지속적으로 진행하여 상품화가 가능한 수준의 천연안정제와 유화제를 개발할 계획이며, 이후 무합성첨가물 인삼원물음료 상품화를 통하여 인삼 신규 시장 창출 및 적극적인 글로벌 시장 진출을 진행코저 한다.

제 2 절 특정 기능성분 강화 및 표준화를 통한 인삼추출물의 고부가 가치 기능성식품 소재화 : 협동 1과제

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 많은 약리적 효능은 진세노사이드(ginsenoside)로 불리는 약 40종 이상의 다양한 사포닌성분에 의해 나타난다고 알려져 있다. 인삼 사포닌은 구조적으로 R₀성분을 제외하고는 대부분 dammarane-type의 기본구조를 가지고 있으며 C-6위치에 OH 작용기를 포함하는 트리올계(protopanaxatriol group)와 포함하지 않는 다이올계(protopanaxadiol group) 사포닌으로 구분된다(Fig. 2-1).



Protopanaxadiol R = H
Protopanaxatriol R = OH

Figure 2-1. 진세노사이드의 기본 골격구조

인삼 또는 인삼 사포닌성분은 고혈압, 당뇨, 고지혈증, 동맥경화 등 생활습관과 연계되는 대사성 질환의 예방 및 치료에 효과가 좋은 것으로 알려져 있다. 또한 지방간, 간염, 간암 등 다양한 간질환에서도 인삼의 효능이 밝혀지고 있다. 간질환은 특히 현대인에게 문제가 되고 있는 과다한 비만 및 알콜섭취 등이 주요한 원인으로 지목되고 있으며 발병수가 꾸준히 증가하고 있어서 현재 예방 및 치료를 위한 많은 연구가 이루어지고 있다.

본 연구는 인삼의 간질환 관련 예방 및 치료 효과에 주목하여 인삼을 원료로 하여 간기능 개선에 효과가 있는 인삼 추출물을 제조하고 이를 기능성 식품소재로 개발하는 목적으로 수행되었다. 이를 위해 본 과제에서는 연구범위를 크게 두 가지로 나누고 연구기간 동안 연차별로 차별화된 내용으로 연구를 수행하였다.

첫 번째 연구범위는 “특정 기능성분이 강화된 인삼 추출물을 제조하고 표준화하는 연구”와 관련된 내용이다. 따라서 사포닌 추출, 분리, 분획, 구조전환, 분석 등 인삼으로부터 특정 사

포닌이 강화된 추출물을 제조하고 규격화하는 것과 관련된 제조기술 개발이 핵심이 된다. 결과적으로 본 연구를 통해 총 5종의 규격화된 인삼 추출물(Rb1 강화물, Rg1 강화물, Rg3 강화물, Compound K 강화물, Rh1 강화물)에 대한 제조기술과 분석기준이 확립되었다.

두 번째 연구범위는 “표준화된 인삼 추출물에 대한 간기능 개선 또는 보호에 관련된 기능성 연구”이다. 이를 위해 본 연구에서는 5종의 인삼 추출물을 대상으로 간세포 보호 및 지방축적 관련 *in vitro* 세포실험을 수행했고, 그 결과에 따라서 2종의 인삼 추출물(Rb1 강화물, Compound K 강화물)을 선정하여 알콜성 및 비알콜성 지방간 유도 마우스 실험에 사용하고 지방간 개선에 대한 이들의 효과를 검정했다.

1. 특정 기능성분 강화 인삼추출물 제조 및 표준화

가. 재료 및 실험방법

충청남도 금산에서 생산된 백미삼(4년근) 인삼을 원료로 특정 기능성분이 강화된 5종의 인삼추출물을 제조하였다. 이를 위해 다음과 같은 재료와 시약 및 HPLC 분석조건을 이용하여 인삼 분석을 수행하였다.

(1) 재료 및 시약

본 연구에 사용된 인삼은 충청남도 금산에서 생산한 백미삼(4년근)으로, 10~20 mesh 크기로 조분쇄 후 시료로 사용하였다. 사포닌 표준품 12종(Rg1, Re, Rf, Rg2, Rh1, Rb1, Rc, Rb2, Rb3, Rd, Rg3, Rh2)은 구입(Wako chemical, Japan)하여 사용하였다. 인삼 사포닌 분석에 사용한 시약은 HPLC급 이상의 아세토니트릴(J.T. Baker, USA)과 초순수 증류수 제조기(Pure Power I+, Human corporation, Korea)를 이용해 제조한 3차 증류수를 사용하였다. HPLC 분석시료는 0.45 μ m nitrocellulose filter (DISMIC[®]-13CP, Advantec, Japan)로 여과한 후 분석하였다.

(2) HPLC 분석조건

인삼 사포닌 분석은 HPLC(LC-100 HPLC System, Shinjung Hightech, Korea)를 이용하였으며, 시료는 20 μ L를 시료자동주입기(717 plus autosampler, Waters, USA)로 주입하여 분석했다. 사포닌의 분리는 Waters C₁₈ 컬럼(4.6 mm x 150 mm, 5 μ m particle size, Waters, USA), 검출은 UV-detector를 이용하여 203 nm, 이동상 용매는 물과 아세토니트릴을 사용하여 1 mL/min의 유속이었다. 분석시간에 따른 이동상 용매의 조성변화는 Table 2-1과 같다.

Table 2-1. Composition of the mobile phase employed in the gradient HPLC system

Time (min)	Composition of mobile phase (%)	
	Solvent A(Water)	Solvent B(Acetonitrile)
Intial	80	20
10:00	73	23
20:00	63	33
40:00	45	55
50:00	34	76
55:00	0	100
62:00	0	100
65:00	80	20
80:00	80	20

나. 실험결과

(1) 인삼 분석법 확립

본 연구에서 제조한 인삼 사포닌 추출물에 대하여 표준화된 분석법을 확립하기 위해서 HPLC 분석법을 수행하였다. Waters C₁₈ 컬럼(4.6mm x 150mm, 5 μ m particle size)을 고정상으로 사용하고 다양한 이동상 조건을 실험하였는데, 이동상으로 물과 아세트니트릴을 사용하여 Table 1의 조건으로 용리를 수행했을 때 인삼 사포닌 12종 분리가 적절하게 잘 되었다 (Fig. 2-2).

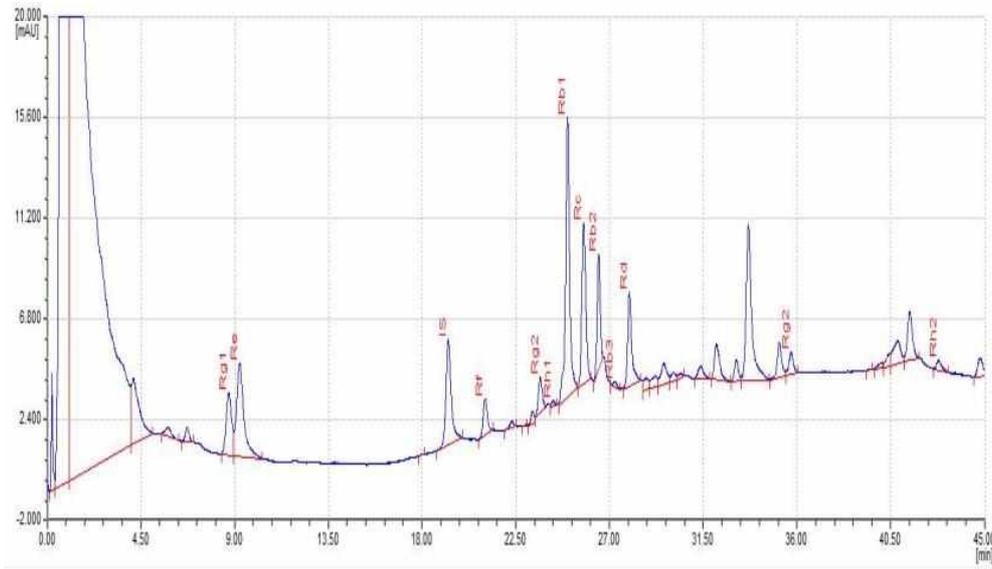


Figure 2-2. Representative HPLC chromatogram of ginseng concentrate.

Column : Waters C₁₈ column (4.6 mm x 150 mm, 5 μ m particle size),
Detector : UV detector, Wavelength : 203 nm

(가) Calibration

인삼 사포닌 표준품 12종을 이용하여 HPLC 분석법에 대한 calibration을 수행하였다. 사포닌 표준품은 순도 99% 이상으로 각각 4 가지 농도로 단계별 희석하여 분석시료로 만들어졌다. 내부표준물질인 digoxin(Sigma, USA)을 60ppm으로 제조하여 시료와 내부표준물질을 5:1비율로 혼합한 후 HPLC에 20 μ L 주입하여 분석하였다. 표준곡선은 각 농도별 면적비(표준품/digoxin)를 이용하여 나타내었고, 최소제곱법을 이용하여 평가하였다. 그 결과 Table 2-2와 같이 대부분 표준곡선이 매우 좋은 선형을 나타내었다($R^2 > 0.996$).

Table 2-2. Linearity of HPLC calibration curve for 12 ginsenosides

Ginsenoside	Standard curve ¹⁾	R ²	Calibration range (mg/mL)
Rg1	y = 0.048x + 0.103	0.997	0.0100 ~ 0.0800
Re	y = 0.051x + 0.030	0.997	0.0125 ~ 0.1000
Rf	y = 0.071x - 0.063	0.999	0.0100 ~ 0.0800
Rg2	y = 0.069x + 0.101	0.997	0.0075 ~ 0.0560
Rb1	y = 0.055x - 0.003	0.997	0.0050 ~ 0.0400
Rc	y = 0.043 - 0.056	0.998	0.0125 ~ 0.1000
Rb2	y = 0.040x - 0.046	0.998	0.0125 ~ 0.1000
Rd	y = 0.051x - 0.018	0.999	0.0125 ~ 0.1000
Rg3	y = 0.055x - 0.090	0.999	0.0125 ~ 0.1000
Rh2	y = 0.089x - 0.114	0.998	0.0125 ~ 0.1000
Rb3	y = 0.038x - 0.023	0.998	0.0100 ~ 0.0800
Rh1	y = 0.108x - 0.317	0.996	0.0125 ~ 0.1000

¹⁾y, peak area ratio (analyte/internal standard); x, amount of analyte (ppm)

(나) Validation

HPLC 분석방법의 정밀도를 확인하기 위해 -intra, -inter day 검정을 실시하였다. 실험은 시중에서 구매한 인삼 농축액으로 실험하였다. 농축액 2 g을 증류수 50 mL에 완전히 녹인 후 10배 희석하여 시료로 사용하였다. -intra day 검정은 동일한 시료를 하루에 3회 반복 분석하였으며, -inter day는 동일한 시료를 3일 동안 반복 분석하였다. 검정은 평균과 표준편차의 관계를 이용하였으며, 그 식은 다음과 같다

$$R.S.D(\%) = (\text{평균}/\text{표준편차}) \times 100$$

그 결과 동일한 실험날짜에 동일한 샘플을 3회 반복 측정된 -Intra day 검정은 최대 R. S. D(%) 값이 2.04, 동일한 샘플을 삼일 동안 반복 측정된 -Inter day 검정은 최대 R. S. D(%) 값이 4.77로 계산되었다(Table 2-3).

Table 2-3. Intra- and Inter-day validation of HPLC method for the quantitation of 12 ginsenosides ($n=3$)

Ginsenoside	Intra-day precision		Inter-day precision	
	Content (mg/g)	R.S.D. (%) ¹⁾	Content (mg/g)	R.S.D. (%)
Rg1	2.67 ± 0.03	1.27	2.75 ± 0.10	3.55
Re	5.67 ± 0.07	1.32	5.56 ± 0.29	5.15
Rf	1.15 ± 0.03	2.28	1.15 ± 0.02	1.70
Rg2	0.54 ± 0.01	1.39	0.57 ± 0.03	4.77
Rh1	0.81 ± 0.00	0.48	0.81 ± 0.02	1.93
Rb1	9.06 ± 0.06	0.71	9.10 ± 0.17	1.86
Rc	6.96 ± 0.07	1.05	7.01 ± 0.09	1.35
Rb2	4.18 ± 0.03	0.60	4.13 ± 0.05	1.21
Rb3	0.45 ± 0.01	2.04	0.45 ± 0.01	2.17
Rd	3.50 ± 0.04	1.01	3.48 ± 0.04	1.08
Rg3	1.16 ± 0.02	1.94	1.13 ± 0.03	2.87
Rh2	0.57 ± 0.00	0.62	0.56 ± 0.01	2.51

¹⁾R.S.D (%) = (S.D./mean) × 100

위의 결과들에 따라서 본 실험에서 확립한 HPLC 분석법은 신뢰성이 매우 높은 사포닌 정량분석법으로 판단되었다.

(2) 특정 사포닌성분 강화 인삼 추출물 제조

본 연구에서는 흡착 컬럼 크로마토그래피 기술과 사포닌 구조전환기술을 적용하여 인삼으로부터 특정 사포닌성분이 강화된 인삼 추출물을 제조하였다.

(가) 흡착 컬럼 크로마토그래피

인삼 사포닌은 triterpenoid 기본구조에 결합되어 있는 hydroxyl(OH) 작용기의 개수에 따라서 다이올계(protopanaxadiol; Rb1, Rd, Rc, Rg3 등)와 트리올계(protopanaxatriol; Rg1, Re, Rg2, Rh1 등) 성분으로 구분된다. 이들은 또한 배당체(glycoside)로서 결합당의 수와 종류 및 위치에 따라서 용해도가 차이가 난다. 본 실험에서는 사포닌의 이런 성질을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 통한 사포닌성분들의 분획을 시도하였다.

흡착제로 사용한 Diaion HP-20((주)삼양사, 한국)는 다공성 합성수지로서 사용 전에 증류수와 에탄올을 이용하여 충분히 씻어서 불순물을 제거하고 활성화하였고, ~500mL 분량의 수지를 유

리 컬럼(3 x 15 cm, bed volume 1L)에 충전하여 실험에 사용했다. 크로마토그래피 시료로는 백미삼을 물추출하여 제조한 농축액(고형분 60%)을 1:10의 부피 비율로 물에 희석하여 사용하였다. 크로마토그래피 용리는 물과 주정을 용매로 이용하여 3단계 주정 gradient 방법으로 수행되었다. 단계별 용리에 사용된 용매의 양은 컬럼에 충전된 흡착수지 부피의 ~5배에 해당하였다.

(나) 비사포닌, 다이올계 사포닌, 트리올계 사포닌 분획물 제조

흡착 컬럼 크로마토그래피 수행의 첫 번째 용리 단계(물 washing)에서 100% 물을 사용하여 당체 등 비사포닌계 수용성 물질(비사포닌 분획)들을 컬럼에서 씻어내고 따로 모았다. 두 번째 단계(주정 50%)에서는 주정 50% 용매를 사용하여 상대적으로 극성이 높은 Rg1, Re 등 트리올계 사포닌을 분리(Triol 분획 - Rg1 강화물)했고, 세 번째 단계(주정 50%)에서는 주정 80% 용매를 사용하여 Rb1, Rd 등 다이올계 사포닌을 분리(Diol 분획 - Rb1 강화물)했다. 단계별로 얻어진 각 분획물은 진공농축기를 사용하여 농축한 후 동결건조를 통해 분말형태로 제조하였다(Fig. 2-3). 분획물은 HPLC 분석을 통해 각각의 조성적 특성을 확인하였다(Fig. 2-4).

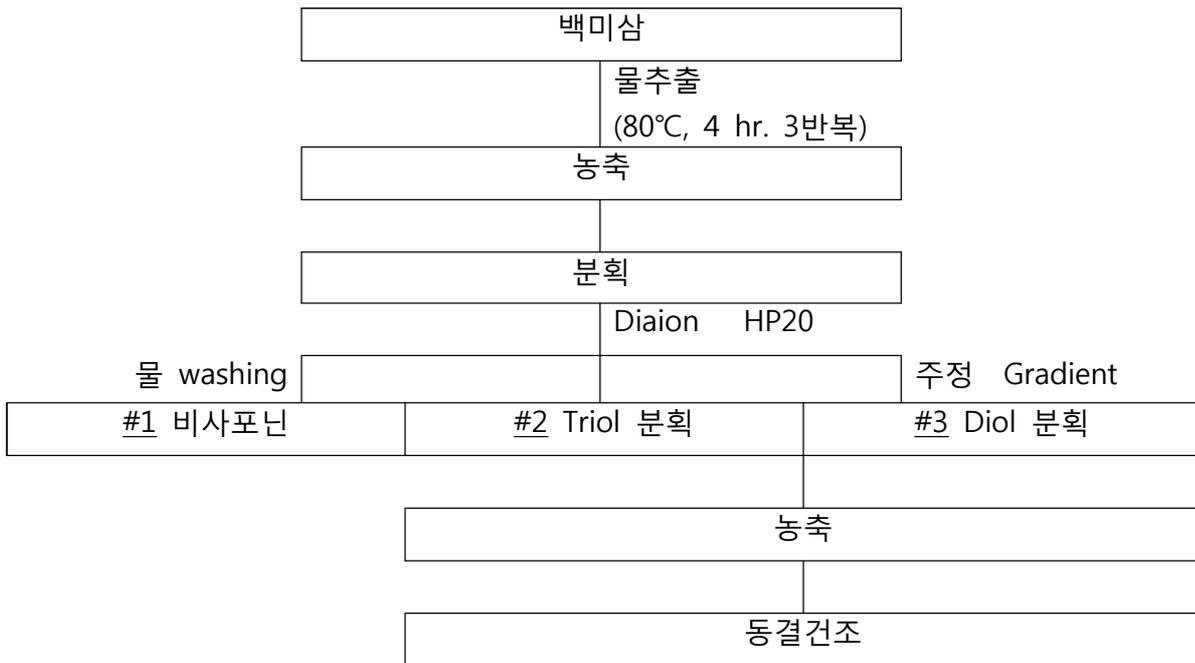
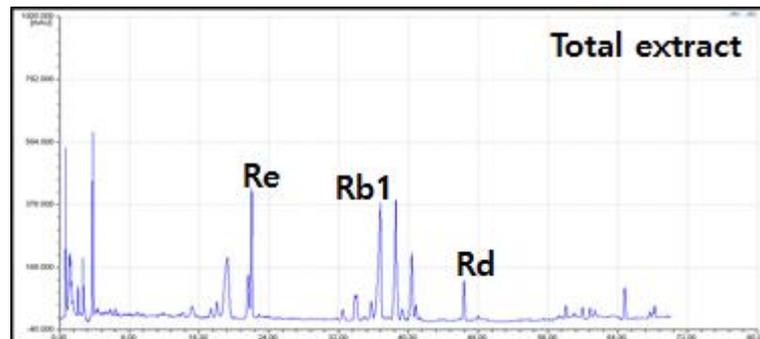
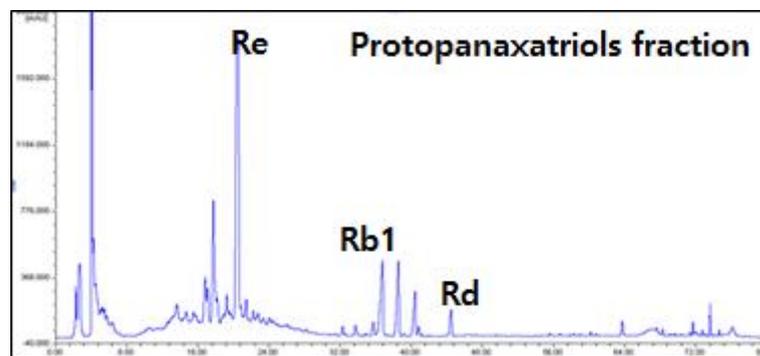


Figure 2-3. 비사포닌, Diol, Triol 강화 인삼 분획물 제조 공정

(A)



(B)



(C)

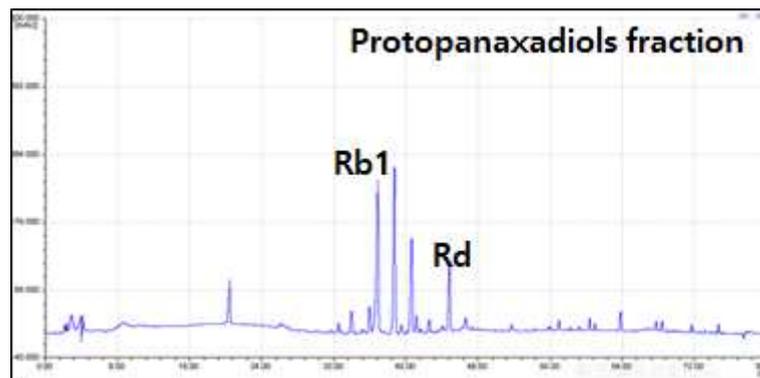


Figure 2-4. 다이올계와 트리올계 사포닌 강화 인삼 분획물의 HPLC 분석

The triol-rich (B) and diol-rich (C) ginsenoside fraction were fractionated from the crude extract of ginseng (A) by using HP-20 adsorption chromatography.

(다) Rg3 사포닌 강화 인삼 추출물 제조

Rg3는 인삼보다는 홍삼에서 함량이 높게 분석되는 홍삼 특이 사포닌으로서 최근 다양한 생리활성이 밝혀지고 있는데, 인삼을 홍삼으로 만드는 과정에서 Rb1 및 Rd 등 다이올계 사포닌이 열에 의한 가수분해 과정을 통해 생성되는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 Rg3 강화 인삼 추출물을 제조하기 위하여 HP-20 흡착크로마토그래피와 산/열처리 공정을 순서대로 혼합하여 사용하였다. 우선 백미삼 추출물을 HP-20 흡착컬럼에 loading 한 후 물 washing 단계를 통해 비사포닌계 성분을 제거하였다. 그리고 컬럼에 흡착되어 있는 사포닌 성분들을 주정을 용매로 사용하여 용출한 후 감압농축을 통해 주정을 제거하고 농축액을 만들었다. 이렇게 준비된 농축액에 유기산을 처리하여 pH를 2~3 사이에서 조정하고 100℃ 이상의 열을 수 시간 이상 처리하여 사포닌 구조전환을 위한 가수분해 반응을 진행시켰다. (실험조건에 따른 자세한 결과분석은 주관기관인 기업의 기밀사항으로 보호하고자 함!) 반응이 끝나면 감압농축과 동결건조를 통하여 용매를 제거하고 분말로 만들었다(Fig. 2-5).

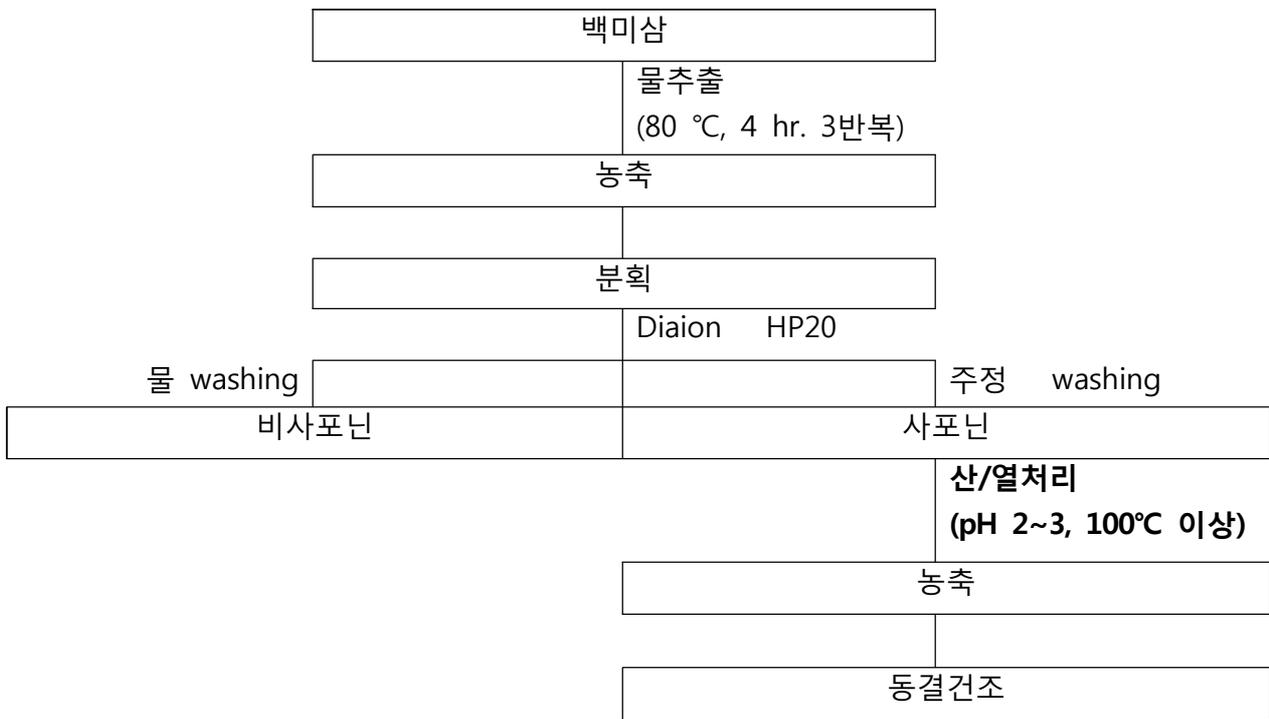


Figure 2-5. Rg3 강화 인삼 추출물 제조 공정

제조된 추출물은 HPLC 방법을 통하여 사포닌 조성과 함량이 분석되었고 Rg3 성분이 전체 추출 분말의 ~8% (중량기준) 정도 함유된 것으로 나타났다(Fig. 2-7).

(라) Rh1 사포닌 강화 인삼 추출물 제조 연구

Rh1 강화 인삼 추출물을 제조하기 위하여 흡착공정에 의해 제조된 사포닌 분획물에 산/열처리를 수행하여 사포닌 구조전환을 유도하였다(Fig. 6). 특히 희소 트리올계 사포닌인 Rh1 함량이 극대화되는 조건을 찾기 위하여 pH(3.0~5.0), 온도(70~120 °C), 시간(30~90 min)을 변수로 사용하여 다양한 조합을 시험하였다.

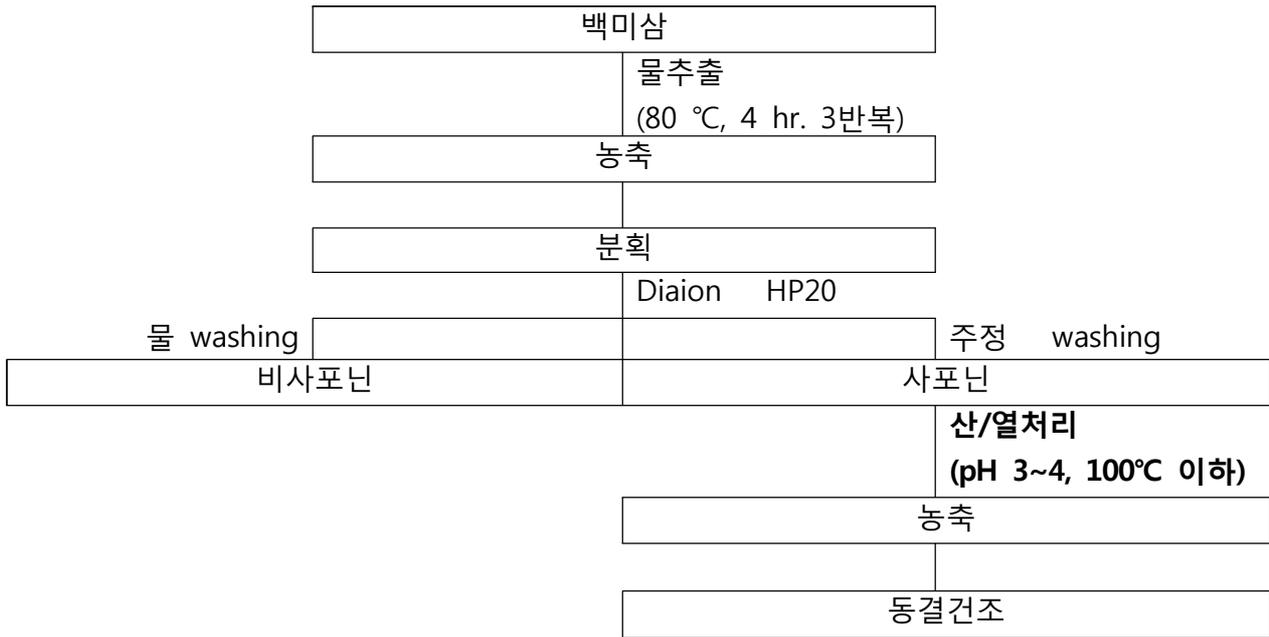


Figure 2-6. Rh1 강화 인삼 추출물 제조 공정

제조된 추출물은 HPLC 분석을 통해 Rh1 함량이 3% 이상 되는 것을 확인되었다(Fig. 2-7).

(마) 인삼 추출물 표준화

본 연구에서 제조한 비사포닌 분획을 제외한 5종의 인삼 추출물은 특정 사포닌을 지표성분으로 사용하여 그 규격을 설정했다(Table 2-2 ~ 2-4 & Fig. 2-7).

Table 2-4. 특정 사포닌성분 강화 인삼 추출물의 종류와 지표성분 함량

인삼 추출물 이름	인삼 추출물 특성	지표성분	지표성분 함량 (w/w %)
Ginseol K-g1	Rg1 강화물	Rg1	12%
Ginseol K-b1	Rb1 강화물	Rb1	22%
Ginseol K-g3	Rg3 강화물	Rg3	8%
Ginseol K-k	CK 강화물	Compound K (CK)	12%
Ginseol K-h1	Rh1 강화물	Rh1	3%

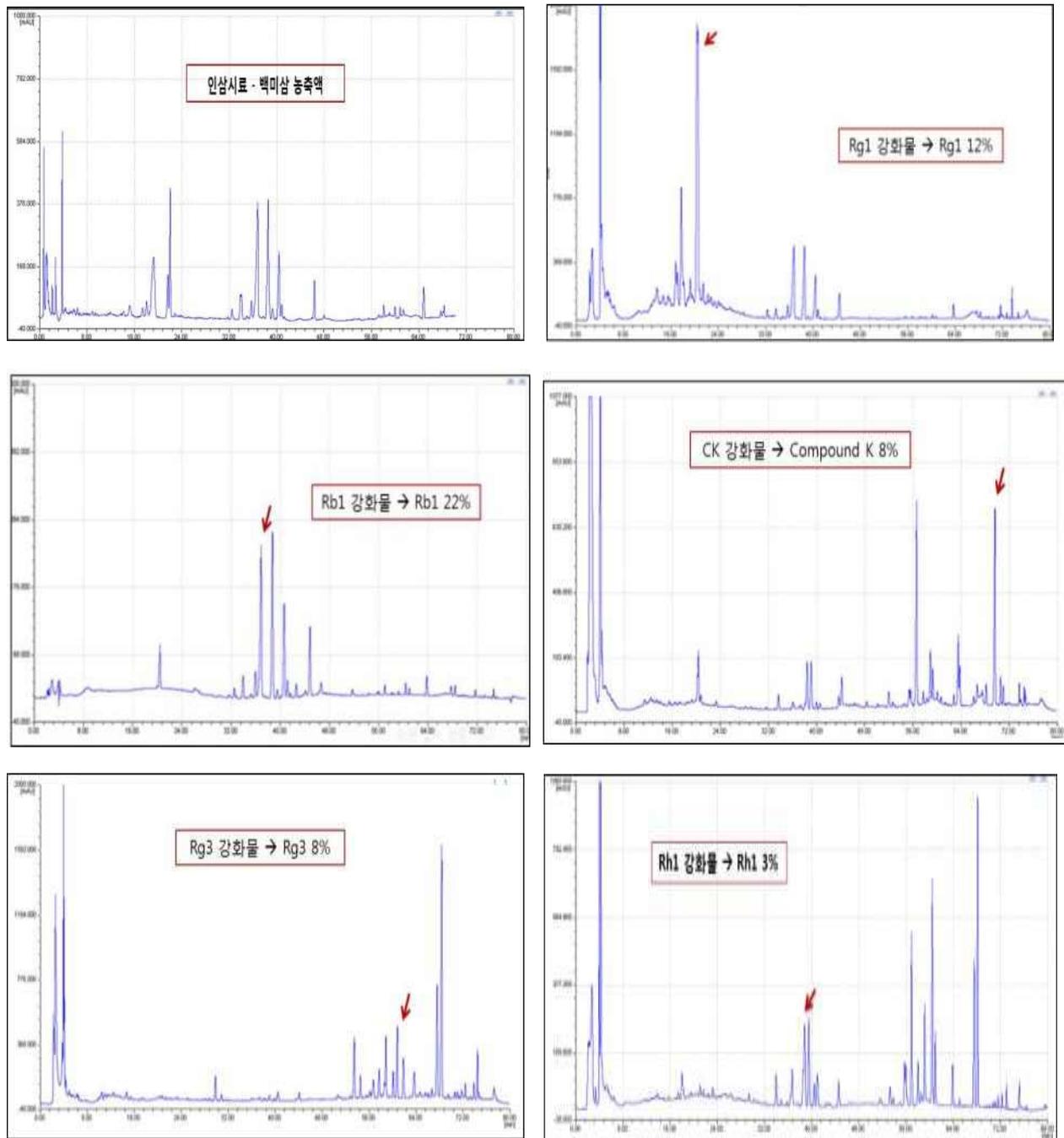


Figure 2-7. 인삼 농축액 시료와 특정 사포닌성분 강화 인삼 추출물의 HPLC 분석

결론적으로, 본 연구에서는 (1) 흡착 크로마토그래피를 통한 특정 사포닌분획을 제조하는 기술과 사포닌 구조전환기술을 함께 적용하여 희소 기능성 사포닌의 함량을 증대하는 표준화된 공정기술을 구축하였고, (2) 이 기술을 이용하여 인삼으로부터 총 5종의 특정 사포닌성분에 규격화된 추출물(Rb1 강화물, Rg1 강화물, Rg3 강화물, Compound K 강화물, Rh1 강화물)을 제조하였다.

2. 인삼 추출물의 간기능 개선에 관련된 기능성 연구

간은 신체에서 해독작용을 담당할 뿐만 아니라 주요 영양소인 탄수화물, 단백질, 지질 등의 합성, 대사, 보관 및 재분배 대사과정을 담당하고 있으며 이를 통해 신체의 대사 항상성을 유지하는 기능을 하고 있다. 그런데 간기능은 바이러스, 염증, 알콜 과음, 약물, 과로 등 다양한 원인에 의해 손상을 입을 수 있다.

간기능을 개선한다는 것은 담즙분비기능, 합성능, 배설능, 대사능 등 간의 여러 기능 중 전부 또는 일부를 개선하는 것을 의미하며, 건강기능식품과 관련된 간기능 개선의 의미는 ‘간기능 지표에 있어서 반 건강인의 상태를 정상인의 상태로 정상화시키거나 정상인의 상태에 가깝게 호전시킴’으로 받아들여질 수 있다. 따라서 건강기능식품에서 간기능 개선 측면을 다룰 때는 건강인, 환자, 반 건강인을 구분해야 하며 적절한 간기능 지표를 사용하여 평가해야 한다.

정상인	<ul style="list-style-type: none"> - 간기능지표가 정상인자 - 일시적인 과음, 과로 등에 의해 일시적인 간기능 지표이상이 발생하지만 휴식을 취하면 곧 정상으로 회복되는 자
환자	<ul style="list-style-type: none"> - 간기능 지표이상이 만성화되어 원인을 제거하여도 비 약물적 요법으로는 호전되지 않는 자 - 급성 간염, 간경화, 담도계 질환(황달, 담석), 간암 등의 질환 증후가 있는 자 - 간염바이러스 보유하고 간기능 지표가 정상범위 이상인자
반 건강인	<ul style="list-style-type: none"> - 음주, 고지방식, 과로 등의 생활습관에 의해 지속적인 간기능 지표이상이 발생하였으나 아직 만성화되지 아니한 자 - 간염바이러스를 보유하고 있으나 간기능 지표가 정상인 자

간기능 평가에 가장 손쉽게 사용할 수 있는 지표는 간 실질세포 손상에는 ALT 및 AST 효소활성, 담도계 손상에는 γ -GT 및 ALP 효소활성, 담즙분비 기능 손상에는 Bilirubin과 Urobilinogen 함량, 합성기능 손상에는 Choline Esterase, Albumin, Total Protein 등이 있다.

간기능 손상 및 간질환의 주요한 원인으로 생각되는 증상으로는 최근 서구화된 식생활 습관 및 음주와 스트레스 등의 영향으로 그 빈도가 급격하게 증가하고 있는 지방간이라고 할 수 있다. 지방간은 음주나 과도한 지방 섭취 및 스트레스 등의 영향으로 간에 중성지방이 과도하게 축적(간 중량의 5% 이상)되는 증상이라고 할 수 있다. 지방간은 별다른 질환으로 발전하지 않고 건강에 큰 영향을 주지 않는 상태로 오래 유지될 수 있으나 간혹 간염증 및 간경화 등의 질병으로 발전할 수 있어서 지속적인 주의와 관리가 필요하다.

본 기능성 연구는 인삼이 간기능 개선 및 보호에 효능이 있다는 기존 연구논문들을 바탕으로 시작되었으며 *in vitro* 세포모델과 *in vivo* 동물모델을 이용하여 ‘인삼 추출물의 지방간 개선에 대한 기능성 데이터를 확보’하는 것을 목표로 수행하였다.

가. 실험방법

(1) 세포배양

실험에 사용된 HepG2 인간 유래 간암 세포주는 한국세포주연구재단에서 구입하였으며, MEM/EBSS (HyClone® Minimum Essential Medium with Earl's Balanced Salts; Thermo Scientific, USA) 배지에 10% FBS (HyClone® Fetal Bovine Serum; Thermo Scientific, USA)와 1%의 Penicillin (100U/mL)/Streptomycin(100µg/mL)을 첨가한 배지에서 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 배양했다.

(2) 세포 활성도 측정 (Cell Viability Assay)

배양세포 HepG2에 대한 세포 활성도 측정은 MTS에 기반을 둔 분석 kit (Cell Titer 96 AQueous One Solution Cell Proliferation Assay)를 이용하여 제조사(Promega, USA)의 방법에 따라 다음과 같이 수행하였다. 우선 각 well 당 100µl 배지(10% FBS/MEM)를 포함하고 있는 96-well plate에 HepG2 세포를 10⁴-10⁵ cells/well의 농도로 접종하여 CO₂ incubator에서 37 °C, 24hr 배양하였다. 이 후 배지를 교환하고 24hr 더 배양하였다. 배양이 끝나면 1xPBS 용액으로 각 well을 2번 washing하였다. MTS 반응을 위해서 각 well 당 20µl MTS 용액을 첨가하고 CO₂ incubator에서 37 °C, 1hr 반응으로 발색을 시킨 후 microplate reader (Biochrom Asys UVM340, Biochrom, UK)를 이용하여 490nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) HepG2 세포내 지질축적 유도

HepG2 세포를 10% FBS가 포함된 MEM/EBSS 배지에서 배양하고, 배양세포의 수가 petri dish 상에서 ~5X10⁶ cells 정도가 되면 배지를 조심스럽게 제거한 후 세포를 1xPBS (Phosphate Buffered Saline) 용액으로 세척했다. 세척된 세포에 0.25% Trypsin-EDTA 용액 (HyClone®, Thermo Scientific, USA) 1mL를 첨가하고 37°C에서 1~3분 반응하여 세포들을 배양접시 표면에서 분리했다. 여기에 1mL의 MEM/EBSS 배지를 추가로 첨가하고 혼합한 후 이를 15mL tube에 옮겨서 1,000rpm의 속도로 3min 동안 원심분리를 했다. 이때 생긴 상층액을 버리고 침전된 세포에 새로운 배지 12mL를 넣어서 혼합한 후 24-well plate에 각 well 당 0.5mL씩 분주하여 24hr 배양했다. 이 후 FBS 농도를 1%로 감소시킨 배지로 교환하여 다

시 24hr 배양했다. 이렇게 배양된 HepG2 세포내 지방축적을 유도하기 위해서 인슐린 (Sigma, USA)이 5 μ g/mL의 농도로 첨가된 배지 또는 oleic acid (OA; Sigma, USA)가 2mM 농도로 첨가된 배지 (10% FBS가 포함된 MEM/EBSS)로 바꾸어서 각 6hr 또는 24hr 배양하였다.

(4) Oil Red O 염색

세포내 축적된 지질의 양을 측정하기 위해서 Oil Red O (Sigma, USA) 염색법을 수행하였다. 먼저 배양 plate에서 배지를 제거하고 4% formalin 용액을 0.5mL/well씩 첨가하여 실온에서 1hr 동안 세포를 고정하였다. formalin 용액을 제거하고 60% isopropanol을 이용하여 washing한 후 세포를 실온에서 완전히 말렸다. 이후 각 well에 Oil Red O working solution 0.2mL을 첨가하고 10min 반응하여 염색했다. 증류수를 이용하여 세척한 후 사진을 촬영하고, 100% isopropanol 0.75mL을 첨가하여 중성지질에 침착된 Oil Red O를 용출시켰다. 용출된 용액은 500nm에서 흡광도를 측정하였다.

(5) *t*-BHP 유도 간세포 독성

96-well plate에서 1.5x10⁴cells/well의 농도로 접종되어 24hr 배양된 HepG2 세포에 *t*-BHP (tert-butyl hydroperoxide; Sigma, USA)를 2mM의 농도로 5hr 처리하여 세포독성을 유도하였으며 살아남은 세포들의 활성은 MTS법에 따라 측정하였다.

(6) 실험동물 및 실험식이

5주령의 C57BL/6 male 마우스를 구입하여(중앙실험동물, 한국) mice의 사회적 교류가 가능하고, 생리학적, 행동학적 표현이 가능한 적절한 크기의 투명한 케이지를 사용하여 한 케이지에 3~5마리를 사육했다. 또한 흡수력과 분진도가 양호한 깔집을 주 3~4회 교체하였으며 12h/12h light cycle을 통해 mice의 정상적 생리활동이 가능할 수 있도록 했다. 식이사료는 냉동보관을 통해 저장하고 2~3일에 한 번씩 신선한 사료를 공급했으며, 체중 측정과 식이 섭취량의 조사는 일주일에 2회 (월요일, 목요일) 오전 10시로 같은 시간에 측정했다. 모든 동물 실험은 숙명여자대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 통하여 동물보호법을 준수하며 수행되었다.

본격적인 실험을 위해서 5주령의 C57BL/6 male 마우스를 대상으로 1주일 적응 후 체중이 비슷한 마우스를 무작위로 선출하여 10군(n=8 for each group)으로 분류하였다. 이 후 식이

는 음성 대조군으로 사용된 1개의 군에 대해서 normal chow diet (ND, energy content 3.1kcal/g, 58% calories from carbohydrates, 18% from fat, and 24% from protein; Teklad Global 18% Protein Rodent Diet 2018S, Harlan Laboratories, Madison, USA)을 제공한 것 이외에 나머지 9개 군에 대해서는 모두 high fat diet (HFD, energy content 5.1kcal/g, 60% of calories from fat; Teklad Custom Research Diet TD.06414, Harlan Laboratories, Madison, USA)을 제공하였다.

HFD 식이는 총 16주 동안 급여되었는데 첫 8주 동안에는 HFD 식이만을 제공하였고 이 후 8주 동안에는 HFD 식이 외에 saline (HFD 대조군) 또는 HCA (HCA 대조군) 또는 silymarin (Silymarin 대조군) 또는 농도별 인삼 추출물 시료(저, 중, 고 농도의 Rb1 강화물 처리군과 Compound K 강화물 처리군)를 경구 투여의 방법으로 제공했다.

(7) 혈액 분석 및 조직 검사

섭취 종료 시점에는 마우스를 희생하고 혈액 및 조직을 채취하였다. 혈액은 모세관 튜브를 이용하여 안와에서 채취하였으며 실온에서 혈액 응고가 일어나면 ice에 옮겨서 2시간 정도 보관 후 원심분리(12,000rpm, 10min)를 통해 혈청을 분리했다. 혈청은 사용 전까지 -80°C 에서 보관하였다. 개복 후 간, 지라, 부고환 지방 (epididymal fat pad), 그리고 신장 지방 (perirenal fat)을 적출하여 각각의 무게를 측정했다.

적출된 간조직의 일부는 H&E(Hematoxylin and Eosin) staining 또는 Oil Red O staining 을 통한 현미경 조직검사를 위하여 따로 떼어내었고 나머지는 액체질소에서 얼린 후 사용 전 까지 -80°C 에서 보관하였다.

혈청에 함유된 total protein은 Biuret reaction 방법, albumin은 colorimetric 방법, bilirubin은 Mally-Evelyn modified 방법, AST (aspartate aminotransferase)와 ALT (alanine aminotransferase)는 UV kinetic 방법, ALP (alkaline phosphatase)는 enzymatic-kinetic 방법, cholesterol은 enzymatic-colorimetric 방법, lipase는 colorimetric 방법, triglyceride와 HDL-c는 enzymatic-colorimetric 방법, LDL-c는 dierct 방법으로 자동 혈액분석기인 BS-400 (Mindray, China)을 사용하여 분석하였다.

동결된 간조직 $\sim 0.1\text{g}$ 을 액체질소 하에 mortar와 pestle을 이용하여 분쇄하고 homogenization buffer에 녹인 후 Triglyceride Colorimetric Assay Kit (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan)를 이용하여 중성지방의 양을 분석하였다.

나. 실험결과

(1) 인삼 추출물의 간세포에 대한 독성 평가

각 well 당 100 μ l 배지(10% FBS/MEM)를 포함하고 있는 96-well plate에 HepG2 세포를 1.5x10⁴cells/well의 농도로 접종하여 CO₂ incubator에서 37 $^{\circ}$ C, 24hr 배양하였다. 이 후 인삼 추출물을 농도별(지표 사포닌의 농도 기준 - 5, 10, 25, 50 μ M)로 포함하고 있는 배지로 교환하고 24hr 더 배양하였다. 배양이 끝나면 1xPBS 용액으로 각 well을 2번 washing하였다. MTS 반응을 수행하기 위해서 각 well 당 20 μ l MTS 용액을 첨가하고 CO₂ incubator에서 37 $^{\circ}$ C, 1hr 반응으로 발색을 시킨 후 microplate reader (Biochrom Asys UVM340, Biochrom, UK)를 이용하여 490nm에서 흡광도를 측정하였다.

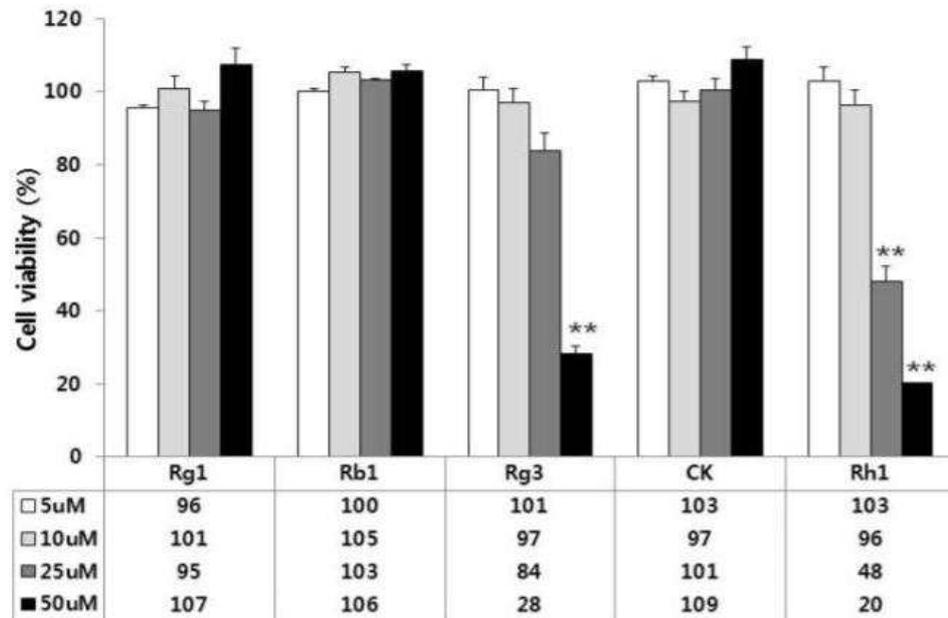


Figure 2-8. 인삼 추출물의 간세포에 대한 세포독성

인삼 추출물을 HepG2 세포에 농도별로 처리한 후 세포 활성도를 측정하였다. 세포 활성도는 인삼 추출물이 첨가되지 않은 대조군에 대한 % 값으로 계산되었고 세 번 반복된 실험결과를 평균하였다 (student t-test; **는 p<0.01). 대조군대비 처리군 데이터의 평균값이 그래프 아래에 숫자로 표시되었다.

실험에 사용된 5종의 인삼 추출물 중에서 Rg1, Rb1, CK 강화물들은 각 지표성분 기준 50 μ M 농도까지도 별다른 독성을 나타내지 않았다. 이에 비해 Rg3 강화물은 50 μ M 농도에서 72% 수준의 세포독성을 나타냈고 Rh1 강화물은 25 μ M과 50 μ M 농도에서 각각 52%와 80% 수준의 세포독성을 보여주었다(Fig. 2-8).

(2) *in vitro* 지방간 세포 연구모델 확립 및 인삼 추출물의 효능

지방간 연구를 위한 세포모델을 확립하고자 HepG2 세포 배양법을 이용하여 간세포내 지질축적을 유도하는 두 가지 실험적 조건을 구축하였다. 첫 번째는 HepG2 세포를 배양한 후 인슐린 처리로 lipogenesis를 활성화시켜서 지질축적을 유도하는 방법이었으며, 두 번째 방법은 배지에 자유 지방산인 oleic acid(OA)를 과량 첨가하여 배양 중인 세포내에 지방산이 유입되어 지질 합성이 촉진되도록 하는 것이었다.

(가) 인슐린 처리 모델 및 인삼 추출물의 지방축적 제어 효과

배양 HepG2 세포내 지질축적을 유도하는 인슐린의 적정농도를 결정하기 위해서 HepG2 세포에 인슐린을 농도별(0.0, 0.5, 1.0, 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 16hr 처리한 후 Oil Red O 염색법을 통하여 지질축적 정도를 분석하였다. 유의적인 지질축적이 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 인슐린 농도에서 관찰되었다(Fig. 2-9). 인슐린 농도를 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가시키면 반응시간을 6hr으로 단축시켜도 HepG2 세포에 지질축적이 효과적으로 유도되는 것이 현미경관찰로도 확인되었다(Fig. 2-10).

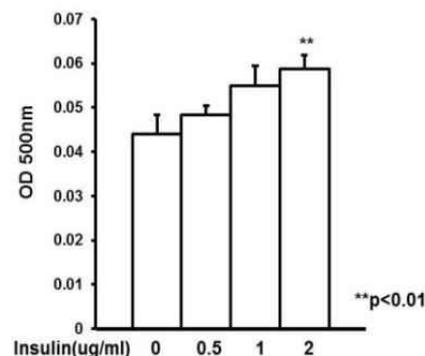


Figure 2-9. 인슐린 처리 농도별 HepG2 세포내 지질축적 세포내 지질의 양은 Oil Red O 염색법으로 분석되었다. (n=3, student's t-test, ** means $p<0.01$)

이렇게 구축된 인슐린 처리 모델을 이용하여 본 연구에서 개발한 특정 사포닌성분 인삼 추출물이 HepG2 세포내 지질축적에 어떤 영향을 미치는가를 조사하였다. 이를 위해 인슐린 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 6hr 동안 지질축적이 유도된 HepG2 세포에 인삼 추출물 시료(Rg1, Rb1, Rg3, CK, Rh1 강화물)를 농도별(지표성분 기준; 0, 12.5, 25 μM)로 처리하고 24hr 반응시켰다. 반응이 끝나면 Oil Red O 염색을 수행하여 세포내 지질축적의 정도를 분석하였다. 실험 결과, Rg1, Rb1, Rg3, CK, Rh1 강화 인삼 추출물들을 12.5 또는 25 μM 농도로 처리한 세포군은

인슐린만 처리한 대조군 (Insulin +, Fig. 11)에 비해서 세포내 축적된 지질의 상대적인 양이 모두 유의적으로 감소됨이 확인되었다. 이는 실험에 사용된 모든 인삼 추출물들이 간세포내 지질축적을 완화시키는 효능이 있음을 의미한다.

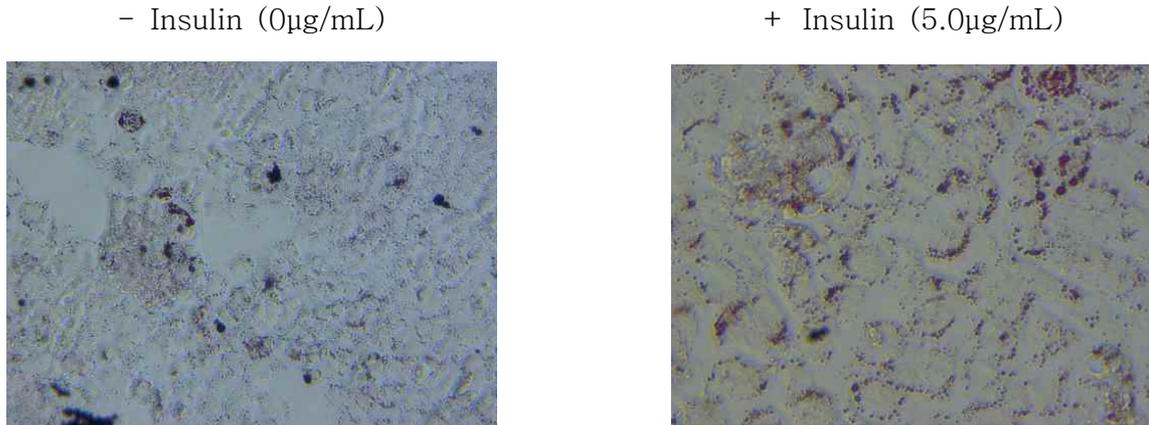


Figure 2-10. 인슐린 처리에 따른 HepG2 세포 내 지질축적

배양세포는 Oil Red O에 의해 염색된 후 위상차 현미경으로 관찰하고 사진을 찍었다. 인슐린 처리에 따라서 세포내 지질축적이 red droplets의 형태로 뚜렷하게 확인되고 있다.

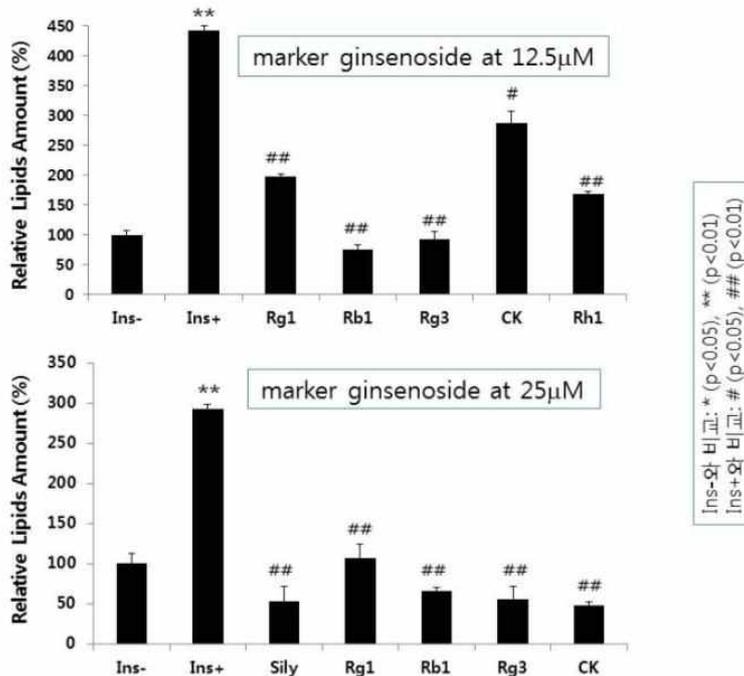


Figure 2-11. HepG2 배양세포내 지질축적에 대한 특정성분 강화 인삼 추출물의 영향

5µg/mL 인슐린으로 6hr 동안 처리된 HepG2 세포에 12.5, 또는 25 µM 농도의 인삼 추출물(Rg1, Rb1, Rg3, CK, Rh1 강화물)을 24hr 처리한 후 Oil Red O 염색법으로 세포내 축적된 상대적인 지질의 양을 분석하였다. (n=3, student's t-test)

Ins-, 인슐린을 처리하지 않은 대조군; Ins+, 인슐린만 처리한 대조군

(나) Oleic acid 처리 모델 및 인삼 추출물의 효능 연구

HepG2 배양세포에 자유 지방산인 oleic acid(OA)를 처리하여 지질축적을 유도하는 세포모델을 구축하였다. Oleic acid를 2mM 농도로 24hr 처리하면 무처리 대조군에 비해서 지질축적이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 2-12).

OA 처리로 유도된 세포내 지질축적은 25 μ M 농도의 Rg1, Rb1, CK 강화물을 24hr 처리하게 되면 다시 유의적으로 감소하였다. 같은 농도의 Rg3 강화물 처리는 지질축적을 다소 감소시키는 경향을 보였지만 유의성은 없었다. 이 실험조건에서는 Rg1 강화물이 HepG2 세포내 지질축적을 완화시키는 효능이 가장 높게 나타났다.

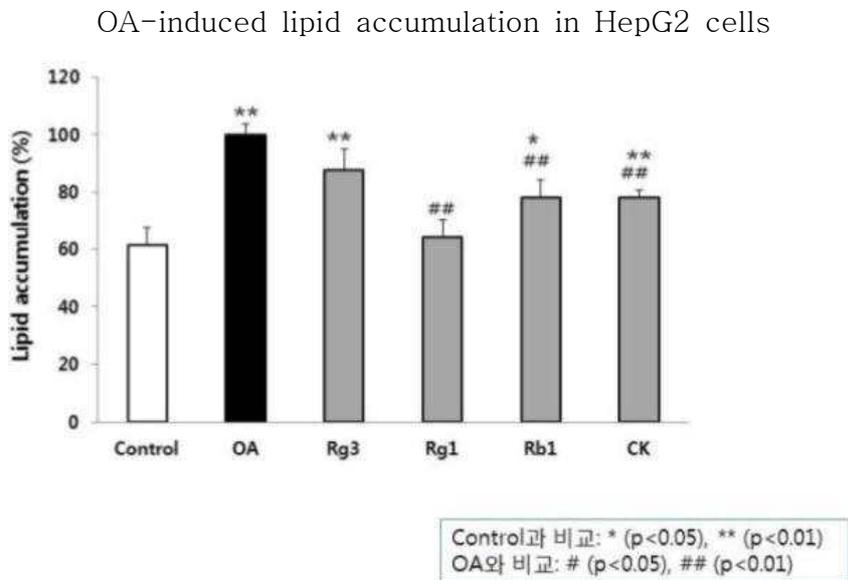


Figure 2-12. Oleic acid 유도 HepG2 세포내 지질축적에 대한 인삼 추출물의 영향

Control은 Oleic acid 처리를 하지 않은 음성 대조군이다.

OA와 인삼 추출물 그룹 (Rg3, Rg1, Rb1, CK)에서는 세포에 2mM oleic acid를 처리한 후 인삼 추출물을 0 또는 25 μ M 농도로 24hr 처리하여 지질축적의 상대적인 정도를 분석하였다. (n=3, student's t-test)

(다) 인삼 추출물의 간세포 보호에 대한 기능성 연구

신체내 간세포는 외부 독성물질들에 의해 쉽게 손상을 입을 수 있다. 본 연구에서 사용한 *t*-BHP(*tert*-butyl hydroperoxide)는 독성 화학물질로 세포내에 유입시 peroxidation 반응을 유발시켜서 결과적으로 세포사멸을 유도하는 물질이다. 본 연구에서는 HepG2 세포에 *t*-BHP(*tert*-butyl hydroperoxide)를 처리하여 적절한 수준의 세포독성을 유도하는 조건을 확립하였으며, 이 실험모델을 이용하여 인삼 추출물의 간세포 보호에 대한 기능성 연구를 진행하

였다.

우선 HepG2 세포독성을 일으키는 *t*-BHP 처리조건을 알기 위해서 HepG2 세포에 *t*-BHP를 농도별(0, 0.5, 1, 2 mM)로 5hr 동안 처리하는 실험을 수행했다. 그 결과 2mM *t*-BHP 처리군에서 세포 활성도가 ~50% 정도 유의적으로 감소하는 것을 보여주었다(Fig. 2-13).

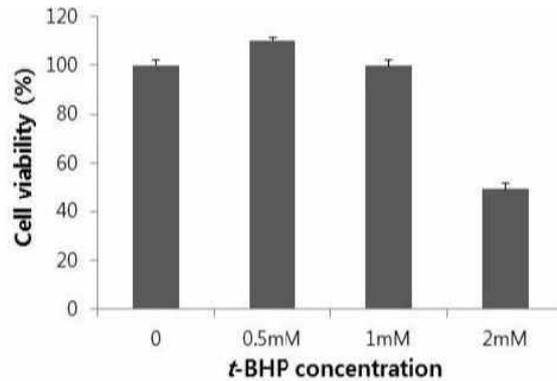


Figure 2-13. *t*-BHP 처리 농도에 따른 HepG2 세포 활성도

HepG2 세포에 *t*-BHP를 농도별(0, 0.5, 1, 2 mM)로 5hr 동안 처리한 후 MTS 방법으로 세포 활성도를 측정하였다. 세포 활성도는 *t*-BHP가 첨가되지 않은 대조군에 대한 % 값으로 계산되었다. (3 반복 실험)

위에서 확립한 실험조건을 기반으로 인삼추출물이 간세포 보호에 효과가 있는지를 알아보는 실험을 수행하였다. 실험은 HepG2 배양세포에 인삼 추출물을 *t*-BHP보다 먼저 처리하거나 또는 동시에 처리하는 두 가지 방법으로 나누어서 수행했다.

우선 HepG2 세포에 인삼 추출물을 종류별(Rg1, Rb1, Rg3, CK 강화물)로 먼저 24hr 처리한 후 2mM *t*-BHP로 처리한 실험에서는 대조군(인삼시료 무처리군)의 상대 세포활성도가 50%인데 비하여 Rb1 또는 CK 강화물 5 μ M 처리군에서는 상대 세포활성도가 각각 74%와 69%로 회복되었다. 하지만 Rg1과 Rg3 강화물 5 μ M 처리군에서는 대조군의 세포활성도와 유의적인 차이가 없었다(Fig. 2-14). 이 결과는 Rb1과 CK 강화물이 간세포에 대한 *t*-BHP 독성을 완화시키는 보호 효능이 있다는 것을 의미한다. 한편 CK 또는 Rb1 강화물을 농도별 (지표 사포닌 기준; 0.1, 0.5, 1, 5, 10 μ M)로 처리하여 실험한 경우 두 시료 모두 5 μ M 농도에서 최대의 *t*-BHP 독성 완화효과를 보여주었다(Fig. 2-15). 이 실험에서는 대조군의 상대 세포활성도가 19.6%인데 비하여 Rb1 강화물 처리군은 45.6%, CK 강화물 처리군은 29.1%로 회복되었다.

그런데 HepG2 배양세포에 인삼 추출물을 *t*-BHP보다 같이 처리하는 방법으로 실험을 수행한 결과를 보면 대조군인 인삼시료 무처리군에 비해서 인삼 추출물(Rg1, Rb1, Rg3, CK) 처

리군의 상대적인 세포 활성도에는 유의적인 차이가 없었다(Fig. 2-16). 이 실험에서 각 인삼 추출물은 25 μ M 농도로 고정하였으며 *t*-BHP는 농도별(0.5, 1, 2 mM)로 처리하여 분석했다.

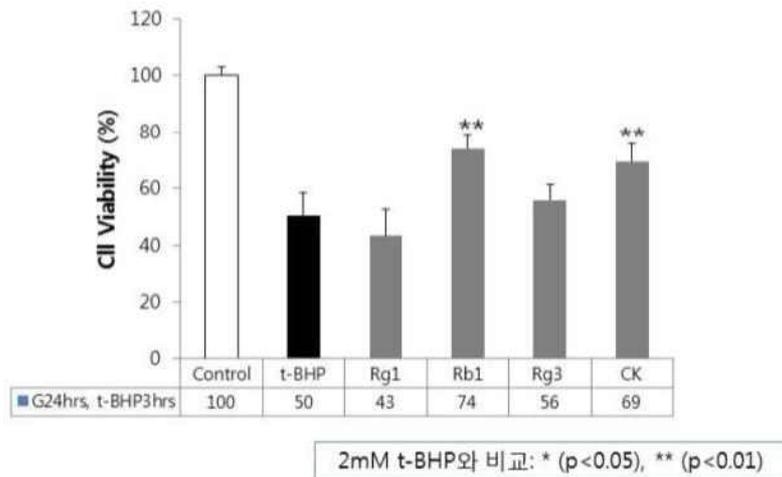


Figure 2-14. *t*-BHP 간세포 독성에 대한 인삼 추출물(Rg1, Rb1, Rg3, CK 강화물)의 보호 효과

Control은 인삼 추출물과 *t*-BHP가 처리되지 않은 실험군, *t*-BHP는 인삼 추출물은 처리하지 않고 *t*-BHP만 2mM 농도로 처리된 실험군, 나머지 그룹(Rb1, Rg1, Rg3, CK)은 지표성분 기준 5 μ M 농도로 24hr 처리한 후 2mM *t*-BHP로 3hr 처리한 실험군.

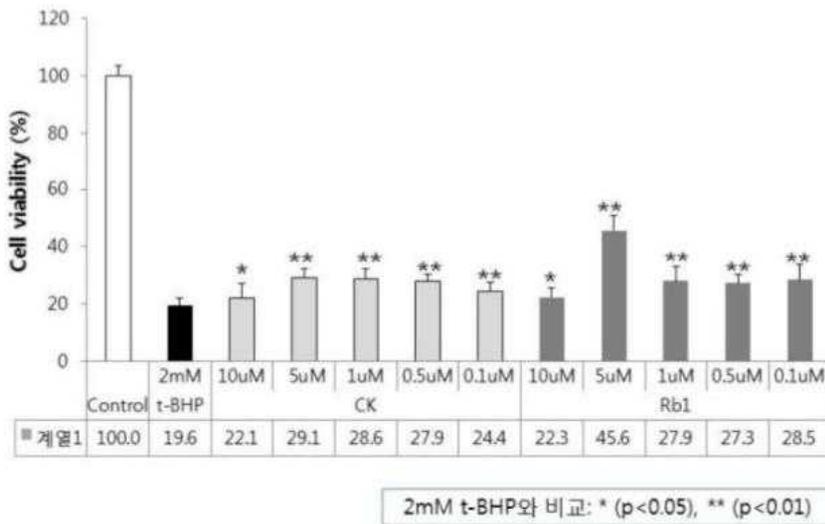


Figure 2-15. *t*-BHP 간세포 독성에 대한 인삼 추출물(CK, Rb1 강화물)의 농도별 보호 효과

Control은 인삼 추출물과 *t*-BHP가 처리되지 않은 실험군, 2mM *t*-BHP는 인삼 추출물은 처리하지 않고 *t*-BHP만 2mM 농도로 처리된 실험군, CK와 Rb1 실험군은 Rb1 강화물(Rb1)과 Compound K 강화물(CK)을 24hr 동안 농도별 (지표 사포닌 기준; 0.1, 0.5, 1, 5, 10 μ M)로 처리한 후 2mM *t*-BHP로 처리한 실험군.

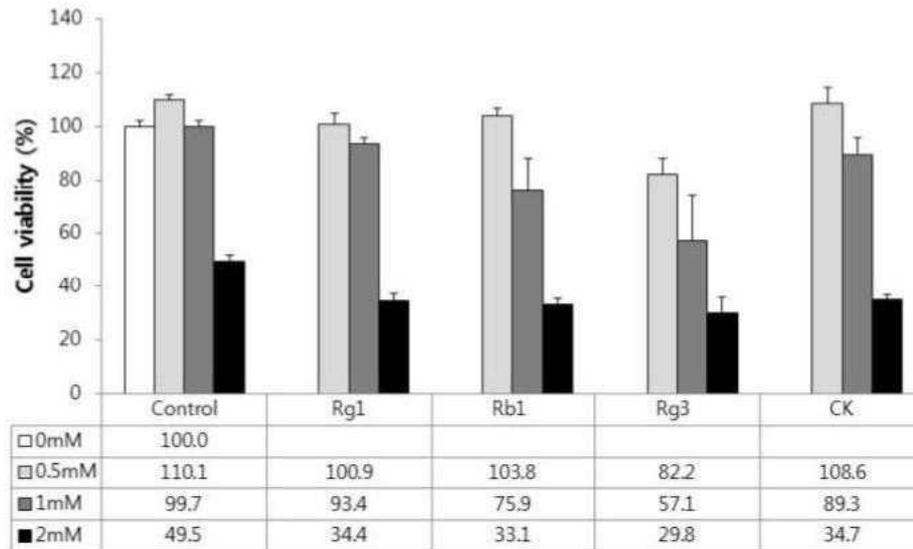


Figure 2-16. 인삼 추출물(Rg1, Rb1, Rg3, CK)을 *t*-BHP와 같이 처리했을 때 유발되는 간세포 독성

Control은 인삼 추출물은 처리하지 않고 *t*-BHP만 농도별(0, 0.5, 1, 2 mM)로 처리한 실험군, 나머지 그룹(Rb1, Rg1, Rg3, CK 강화물)은 인삼 추출물이 25 μ M 농도로 처리된 배지에 *t*-BHP를 농도별(0.5, 1, 2 mM)로 동시에 처리한 실험군이다.

(3) *in vivo* 지방간 동물모델 연구 I (HFD-induced fatty liver model)

지방간 개선에 대한 기능을 연구하기 위한 첫 번째 *in vivo* 실험으로 male C57BL/6 mouse 를 이용하여 High-fat diet induced obesity 모델을 구축하여 진행하였다. 이 모델은 설치류에서 주로 사용되고 있으며 비만 유도 후 실험하고자 하는 물질을 투여하여 그 효과를 보는 것이 일반적으로 이루어지고 있는 현황이다. 동물실험에 있어 암컷은 수컷에 비해 호르몬의 영향을 많이 받는 것으로 알려져 있어서 본 연구에서는 수컷만을 사용하였다.

실험동물들은 10군으로 구분하여 총 16주 동안 정해진 식이를 급여하였는데, 첫 8주 동안에는 ND (Normal Chow Diet) 또는 HFD (High Fat Diet) 식이만을 제공하였고 이 후 8주 동안에는 식이 외에 saline (ND 또는 HFD 대조군) 또는 HCA (HCA 대조군) 또는 silymarin (Silymarin 대조군) 또는 농도별 인삼 추출물 시료(저, 중, 고 농도의 Rb1 강화물 처리군과 CK 강화물 처리군)를 경구투여의 방법으로 제공했다(Table 2-5).

Table 2-5. 동물 실험군에 따른 식이와 시료처리 조건

번호	실험군	
	이름	식이 + 시료처리 조건
1	ND	Normal Chow Diet + saline
2	HFD	High Fat Diet + saline
3	HFD+HCA	High Fat Diet + HCA
4	HFD+Sily	High Fat Diet + Silymarin (200mg/kg)
5	HFD+Gb100	High Fat Diet + Rb1 강화물 (100mg/kg)
6	HFD+Gb200	High Fat Diet + Rb1 강화물 (200mg/kg)
7	HFD+Gb400	High Fat Diet + Rb1 강화물 (400mg/kg)
8	HFD+Ck100	High Fat Diet + CK 강화물 (100mg/kg)
9	HFD+Ck200	High Fat Diet + CK 강화물 (200mg/kg)
10	HFD+Ck400	High Fat Diet + CK 강화물 (400mg/kg)

16주의 사육기간 동안 매주 측정된 동물 몸무게 데이터를 그룹별로 분석하였다. 첫 8주 동안은 아직 본격적인 시료 처리를 하지 않은 기간이었기 때문에 전체 동물을 ND 그룹(n=8)과 HFD 그룹(n=82)으로 양분하여 몸무게 데이터를 분석하였지만 그 이후 나머지 8주의 시료 처리기간에는 10개의 모든 실험군에 대해 그룹별로 분석하였다(Fig. 2-17 & Fig. 2-18).

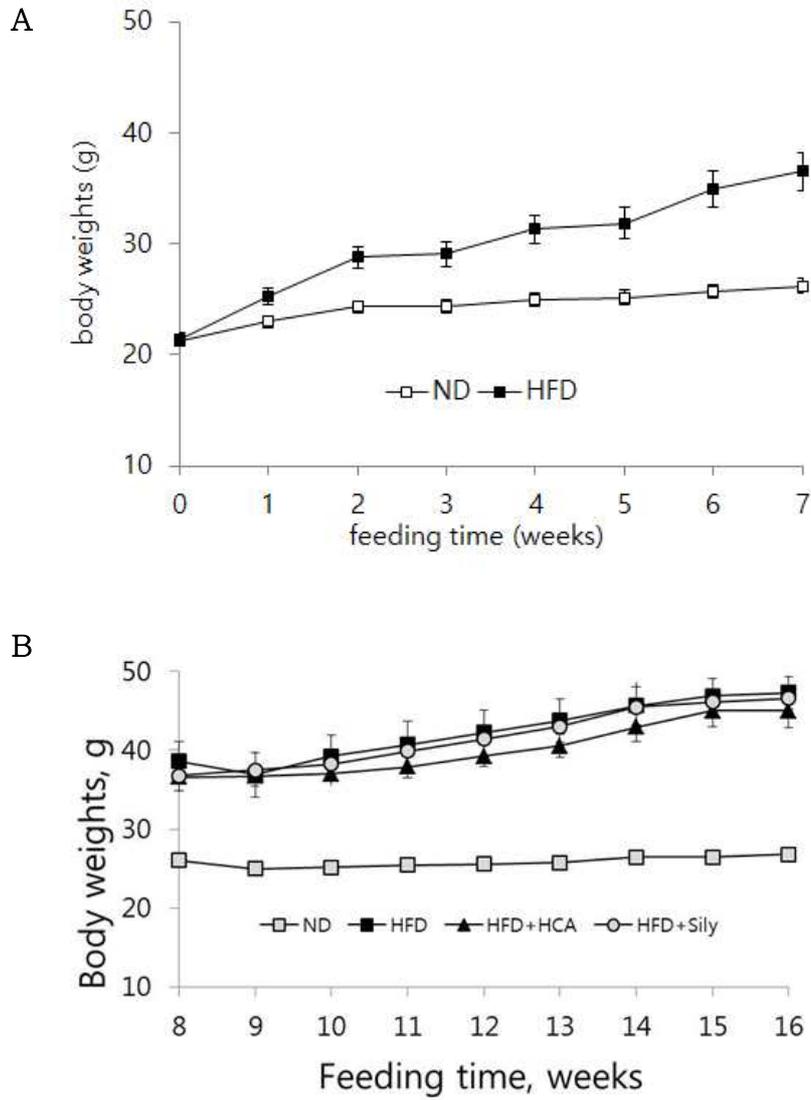


Figure 2-17. 실험기간 중 그룹별 평균 몸무게 변화 그래프

- A. 식이 후 첫 8주간 ND와 HFD 그룹의 평균 몸무게 변화 추이
- B. 시료 처리가 시작된 후 나머지 8주간 ND, HFD, HFD+HCA, HFD+Sily 그룹 동물들의 평균 몸무게 변화 추이

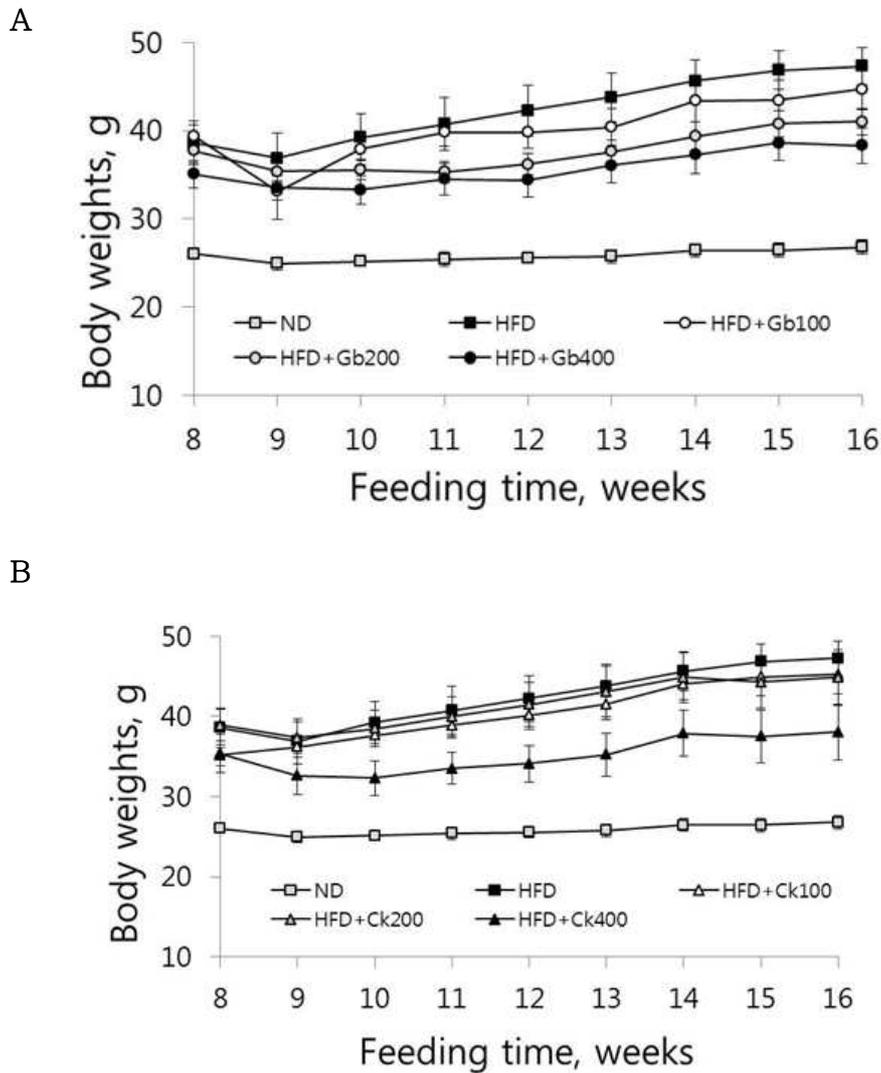


Figure 2-18. 시료 처리 8주 동안 그룹별 평균 몸무게 변화 그래프

- A. ND, HFD, HFD+Gb 그룹 동물들의 평균 몸무게 변화 추이
- B. ND, HFD, HFD+Ck 그룹 동물들의 평균 몸무게 변화 추이

16주 실험이 시작될 때 동물들의 평균 몸무게는 $21.3 \pm 0.7g$ 이었다. 이 후 ND와 HFD 식이로 구분되어 사육되면서 8주차에 측정된 ND 그룹 동물들의 평균 몸무게는 $26.04 \pm 1.24g$ 이 되었고 HFD 그룹은 $36.5 \pm 3.5g$ 이 되었다. 따라서 ND 그룹의 경우 몸무게가 평균 ~5g 정도 늘었고 HFD 그룹은 ~15g 정도 늘게 되었으므로 첫 8주간 HFD 그룹의 몸무게 증가량은 ND 그룹 대비 약 3배 정도라고 할 수 있다. 이런 결과는 HFD 식이의 에너지 효율이 매우 높다는 것을 의미하며 또한 이렇게 HFD 그룹 동물들이 과도한 체중을 가지게 되면 지방간을 형성하게 될 가능성도 높다는 것을 의미한다.

식이와 함께 실험시료 처리가 진행된 나머지 8주간 10개의 전 실험군에 대해 그룹별로 평균 몸무게의 변화 추세를 살펴보았다(Table 2-6). 이 기간 동안 ND 그룹의 평균 몸무게는 거의 증가하지 않고 정체되었으나 HFD control 그룹은 약 ~8.7g 정도의 몸무게 증가가 있었다. HFD 식이와 함께 시료를 처리한 나머지 그룹들의 경우 약 3~10g 내외의 평균 몸무게 증가를 보여 주었다.

특히 Rb1 강화물 저, 중, 고 처리군의 경우 시료 처리 8주 동안 평균 몸무게 증가량이 HFD 그룹과 비교할 때 유의적인 수준으로 확연하게 줄어든 것을 확인할 수 있었다. CK 고농도 실험군도 최종 몸무게와 몸무게 증가량에서 HFD 그룹과 비교할 때 유의적인 수준에서 차이가 있었다(Fig. 2-19).

Table 2-6. 시료 처리 8주 동안 동물의 몸무게 변화와 시료 흡수량

실험군	Body weights (g)		Weight gain (g/8 weeks)	Food intake (g/day/mouse)
	Initial	Final		
ND	26.04 ± 1.24	26.79 ± 1.62	0.74 ± 1.56	3.03 ± 0.24
HFD	38.59 ± 4.94**	47.29 ± 4.18**	8.37 ± 1.66**	2.85 ± 0.23
HFD+ HCA	36.59 ± 3.42	45.02 ± 4.39	7.92 ± 2.16	2.75 ± 0.32
HFD+ Sily	36.80 ± 4.02	46.59 ± 5.78	9.79 ± 3.50	2.62 ± 0.34
HFD+ Gb100	39.44 ± 2.46	44.72 ± 4.77	5.62 ± 2.17#	2.65 ± 0.43
HFD+ Gb200	37.73 ± 2.62	41.00 ± 3.04##	3.28 ± 1.91##	2.42 ± 0.39
HFD+ Gb400	35.09 ± 3.09	38.33 ± 4.04##	3.02 ± 2.86##	2.67 ± 0.38
HFD+ Ck100	35.19 ± 2.62	45.21 ± 4.79	10.03 ± 3.08	2.75 ± 0.16
HFD+ Ck200	38.90 ± 3.87	44.85 ± 6.84	5.95 ± 3.47	2.83 ± 0.36
HFD+ Ck400	35.39 ± 4.76	38.03 ± 6.96##	3.46 ± 4.69#	2.79 ± 0.26

Student's t test was performed for statistical analysis.

ND vs. HFD : *(p<0.05),**(p<0.01)

HFD vs. HFD+samples : #(p<0.05),##(p<0.01)

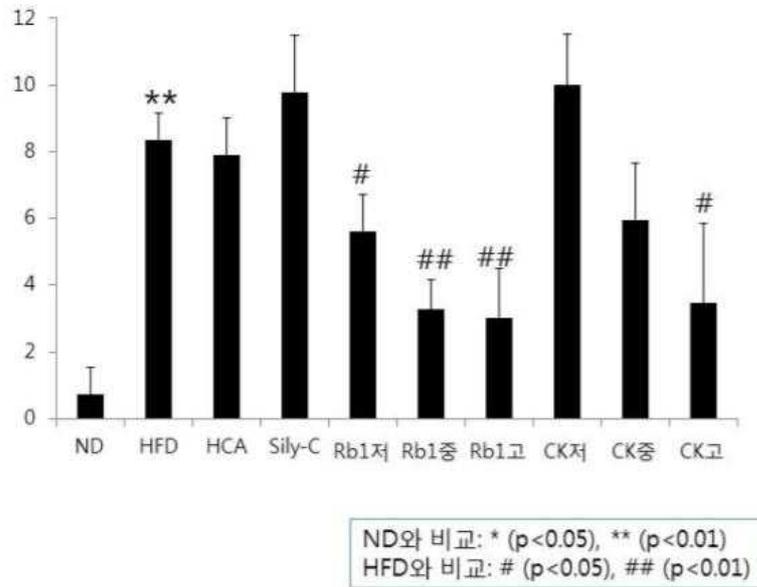


Figure 2-19. 시료 처리 8주 동안 그룹별 실험동물들의 몸무게 증가량 분석

16주 실험기간이 끝난 후에는 동물희생을 통하여 모든 동물로부터 간 (liver), 지라 (spleen), 부고환 지방 (epididymal fat pad), 그리고 신장 지방 (perirenal fat) 등을 적출하였고 그 중량을 측정해서 그룹별 차이에 대한 통계분석을 수행하였다(Table 2-7 & Fig. 2-20).

Table 2-7. 실험 완료 후 측정된 최종 평균 몸무게와 적출 조직의 중량 (g)

실험군	body	liver	perirenal fat	epididymal fat	spleen
ND	26.79 ± 1.62	1.00 ± 0.07	0.11 ± 0.03	0.53 ± 0.14	0.06 ± 0.02
HFD	47.29 ± 4.18**	1.84 ± 0.74**	1.06 ± 0.23**	2.60 ± 0.72**	0.08 ± 0.01
HFD+ HCA	45.02 ± 4.39	1.51 ± 0.36	1.19 ± 0.15	2.59 ± 0.30	0.08 ± 0.01
HFD+ Sily	46.59 ± 5.78	1.56 ± 0.48	1.17 ± 0.15	2.57 ± 0.70	0.08 ± 0.02
HFD+ Gb100	44.72 ± 4.77	1.29 ± 0.29	1.32 ± 0.24	2.50 ± 0.16	0.08 ± 0.02
HFD+ Gb200	41.00 ± 3.04##	1.09 ± 0.20##	1.08 ± 0.12	2.46 ± 0.34	0.08 ± 0.01
HFD+ Gb400	38.33 ± 4.04##	1.05 ± 0.12#	0.86 ± 0.23	2.18 ± 0.57	0.07 ± 0.01
HFD+ Ck100	45.21 ± 4.79	1.48 ± 0.25	1.07 ± 0.13	2.34 ± 0.30	0.09 ± 0.02
HFD+ Ck200	44.85 ± 6.84	1.73 ± 0.59	1.09 ± 0.29	1.84 ± 0.35#	0.09 ± 0.01
HFD+ Ck400	38.03 ± 6.96##	1.20 ± 0.27#	0.86 ± 0.31	1.85 ± 0.61#	0.08 ± 0.02

Rb1 강화물 (-중, -고 농도) 처리군과 CK 강화물 (-고 농도) 처리군의 경우 간중량에 있어서 HFD 그룹 대비 유의적인 수준으로 감소되었는데, 이것은 이 그룹들의 평균 몸무게만이 유의적으로 감소한 결과와 상응하는 것으로 이해될 수 있다. 흥미로운 사실은 CK-중, -고 그룹에서 부고환 지방의 중량이 유의적으로 작다는 것이다.

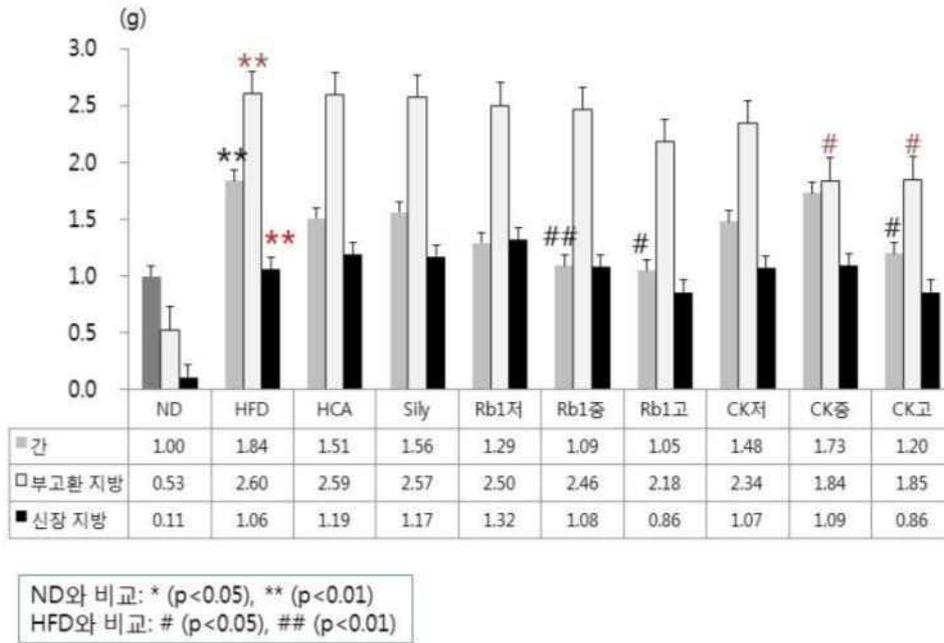


Figure 2-20. 적출 조직 중량의 그룹별 차이 분석

한편 개별 동물의 몸무게에서 간중량이 차지하는 %(liver/body, w/w %) 비율을 그룹별로 평균하여 분석했다(Fig. 2-21). 이 때 HFD control 그룹의 평균값은 ~3.9% 정도로 ND control 그룹의 ~3.8% 값과 유의적인 차이가 없었는데 이는 일반적인 상태에서 몸무게가 증가하게 되면 그 비율에 따라서 간중량도 증가한다는 것을 의미한다. 그런데 매우 흥미롭게도 Rb1 중, 고 농도 처리군의 경우 이 비율이 각각 ~2.7%와 ~2.8%로 유의적으로 줄어드는 것을 확인할 수 있었다.

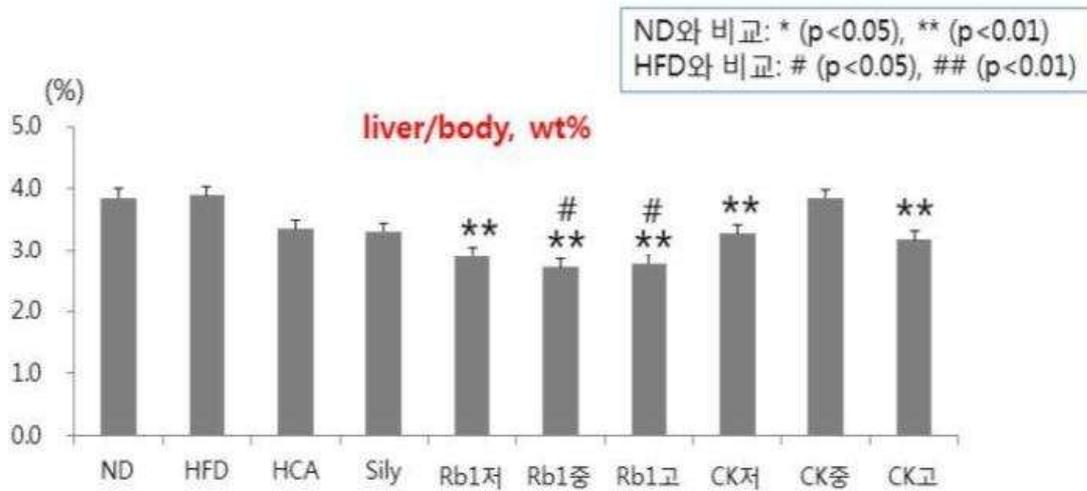


Figure 2-21. 동물 그룹별 최종 몸무게 대비 간중량의 비율

HFD 식이에 의해 지방간이 유도되었는지를 확인하기 위해서 적출된 간의 색을 검사하고 (Fig. 2-22) 또한 그 조직의 일부를 떼어내어 현미경 조직검사(Fig. 2-23 & Fig. 2-24)를 수행하였다.



Figure 2-22. HFD 식이 16주 처리에 의한 지방간 유도

ND 대조군에 비해서 HFD 실험군의 간 색깔은 상대적으로 노란색을 많이 띄고 있었다. 이는 HFD 식이에 의해 간조직에 상당한 지방축적이 일어난 것으로 판단할 수 있다.

HFD control 그룹은 육안으로나 현미경 분석으로나 세포내 지질축적을 확연하게 알 수 있었다. 특히 Oil Red O 염색 후 현미경으로 보면 붉은색으로 염색된 지질방울들이 세포내 곳곳에서 쉽게 발견되었다. 이에 비해 Rb1 강화물 처리군의 경우 지질방울의 크기가 현격하게 줄어들었고 이는 Rb1 추출물의 농도에 비례하였다(Fig. 23). 한편 CK 강화물 처리군의 경우에는 특히 고농도 처리군에서 지질방울의 크기와 빈도가 상당히 줄어들어 있었다(Fig. 24).

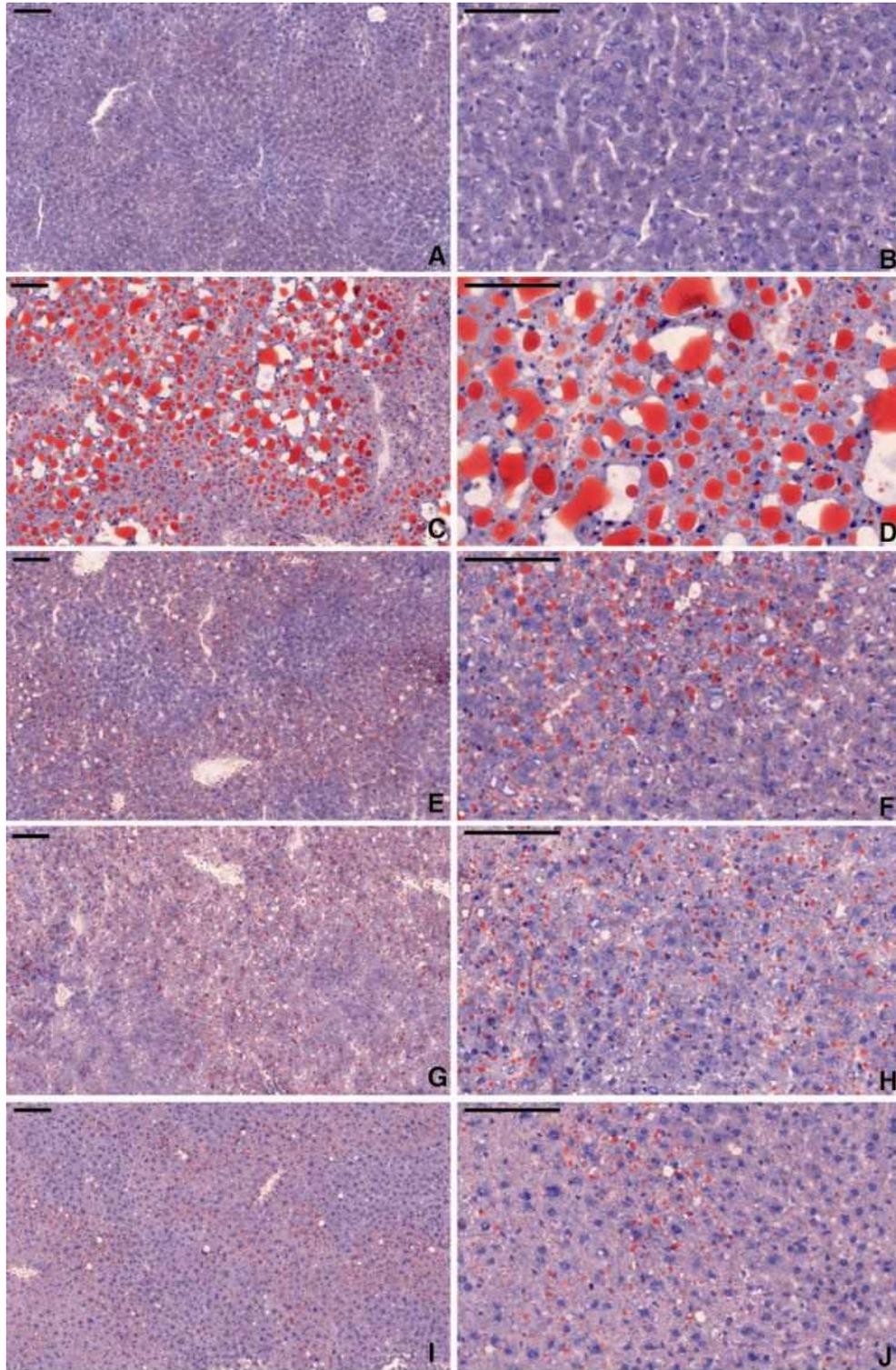


Figure 2-23. Oil Red O staining of the liver tissues from different groups of mice.

Liver tissues from mice fed with normal diet (A and B), high fat diet (C and D), or high fat diet with ginsenoside Rb1 fractions at low (E and F), middle (G and F), and high (I and J) concentrations. The same slide photographed under two different magnifications was shown at the left and right column (the bar = 100 μ m).

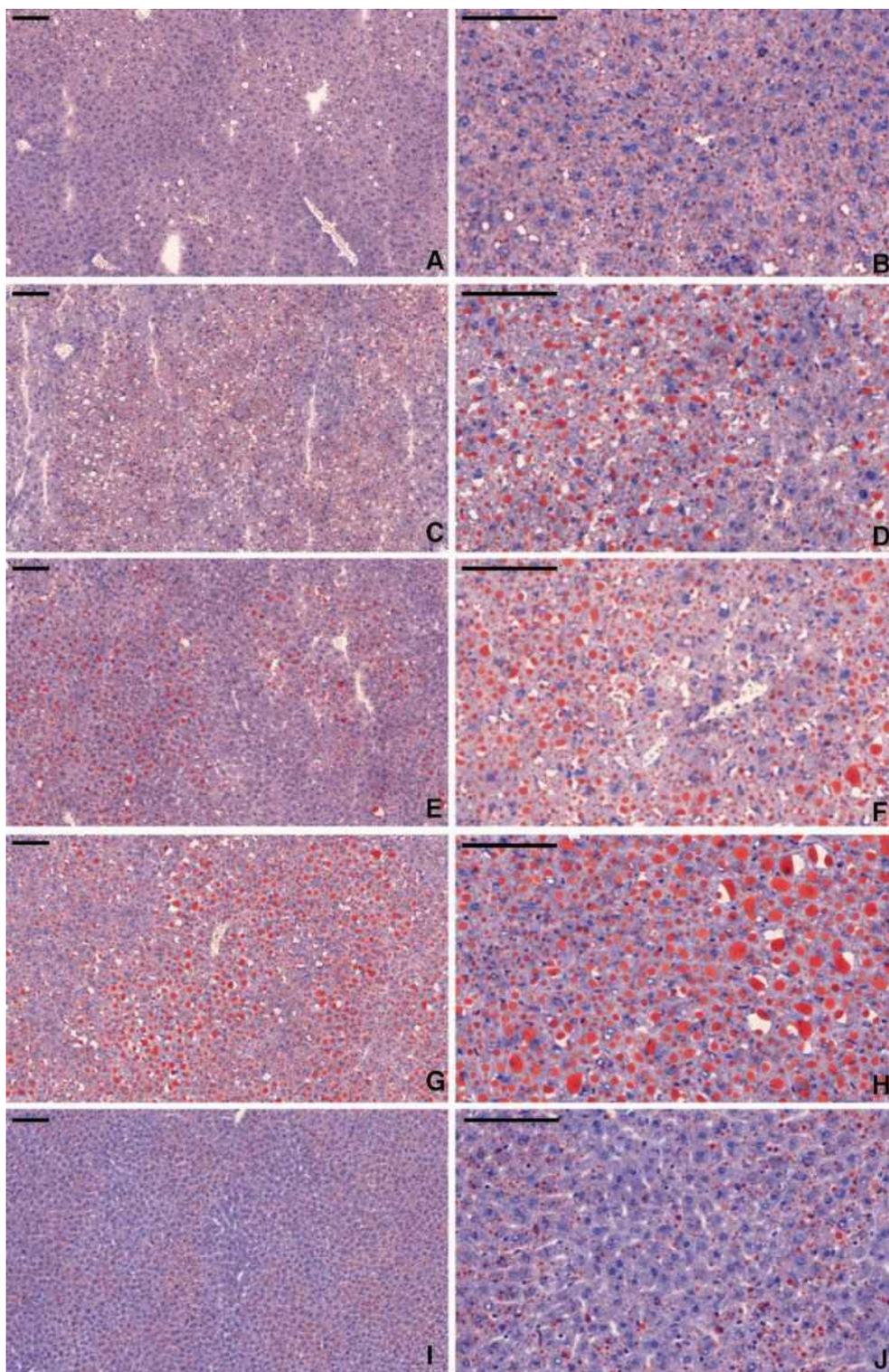


Figure 2-24. Oil Red O staining of the liver tissues from different groups of mice.

Liver tissues from mice fed with high fat diet and sylimarin (A and B), high fat diet and HCA (C and D), or high fat diet with ginsenoside CK fractions at low (E and F), middle (G and F), and high (I and J) concentrations. The same slide photographed under two different magnifications was shown at the left and right column (the bar = 100 μ m).

지방간에 의해 간기능의 일부가 손상되면 혈액내 관련 biomarkers들에 변화가 온다. 본 실험에서는 지방간 진단과 관련되어 사용할 수 있는 몇 가지 혈액 간기능 지표들을 선정하여 그룹별로 그 차이를 분석하였다. 분석된 지표는 총 11가지로 total protein, albumin, bilirubin, AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), ALP (alkaline phosphatase), cholesterol, lipase, triglyceride, HDL-c, LDL-c 등이었다. 이들 중 total protein, albumin, bilirubin 등은 모든 실험군에서 유의적인 변화가 관찰되지 않았기 때문에 본 보고서에서는 별도의 데이터를 제시하지 않았다. 다만 이런 결과는 모든 실험군에서 일반적인 간기능에 급격한 수준의 손상이 발생되지는 않았다는 것을 의미한다고 할 수 있다.

간기능이 손상되면 혈액내 AST, ALT, ALP 등의 효소활성들이 증가되는 것으로 알려져 있다. 특히 ALT는 간에만 존재하고 간세포가 손상되면 혈액으로 유출되기 때문에 간손상을 판단하는 지표로 널리 사용되고 있다. 그런데 본 연구에서 분석한 결과로는 실험 동물군별로 혈액 AST, ALT, ALP 지표에 있어서 뚜렷하게 유의적인 변화를 볼 수 없었다. 다만 CK-저농도 처리군에서는 ALT 효소활성이 유의적으로 감소하였는데 이것은 CK 강화물이 간기능 회복에 일정 수준 효과가 있음을 의미한다.

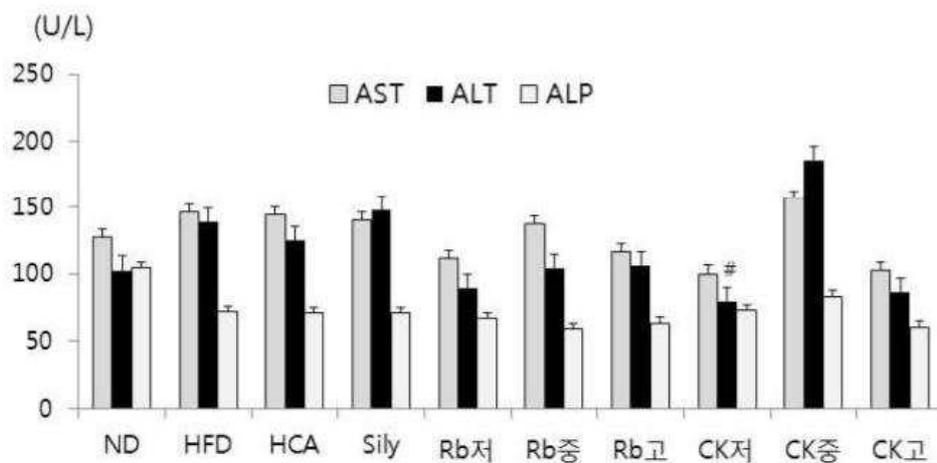


Figure 2-25. 혈청 내 AST, ALT, ALP 활성 분석

실험 그룹별로 AST, ALT, ALP의 혈청 내 활성(U/L)을 분석하였다. 인삼시료 처리군의 데이터는 HFD control 실험군과 비교하여 유의성을 검정하였다.

(n=8, student's t-test, # means p<0.05)

지방간 유도를 위한 고지방 식이는 실험동물의 지질대사에 직접적인 영향을 줄 수 있다. 따라서 본 연구에서는 신체 지질대사와 관련된 지표로 중성지질뿐 아니라 총 콜레스테롤, HDL-c, LDL-c 등을 선정하여 이들의 혈액내 함량을 분석하였다. 총 콜레스테롤의 경우 모든 HFD 식이 처리군들은 ND control 그룹에 비해서 그 함량이 약 1.5~2배 가까이 증가되었으며 이는 HFD가 혈중 콜레스테롤 대사에 큰 영향을 준다는 것을 의미한다. 한편 LDL-c의 경

우 모든 농도의 Rb1 처리군에서 HFD control 그룹과 비교하여 그 함량이 유의적으로 ($p < 0.01$) 감소된 것을 확인했다(Fig. 2-26). 이 결과는 소위 나쁜 콜레스테롤로 알려진 LDL-c의 경우 Rb1 강화물에 의해 혈중 함량을 완화시킬 수 있다는 것을 의미한다. 중성지질의 경우에도 HFD 식이에 의해 혈중 TG의 농도가 크게 상승되는 것을 확인하였다. 그런데 Rb1과 CK 처리군에서는 농도의존적으로 혈중 TG의 평균함량이 감소되었다(Fig. 2-27). 이 결과는 인삼추출물이 혈중 지질대사에 직접적인 영향을 줄 수 있다는 의미로 해석된다.

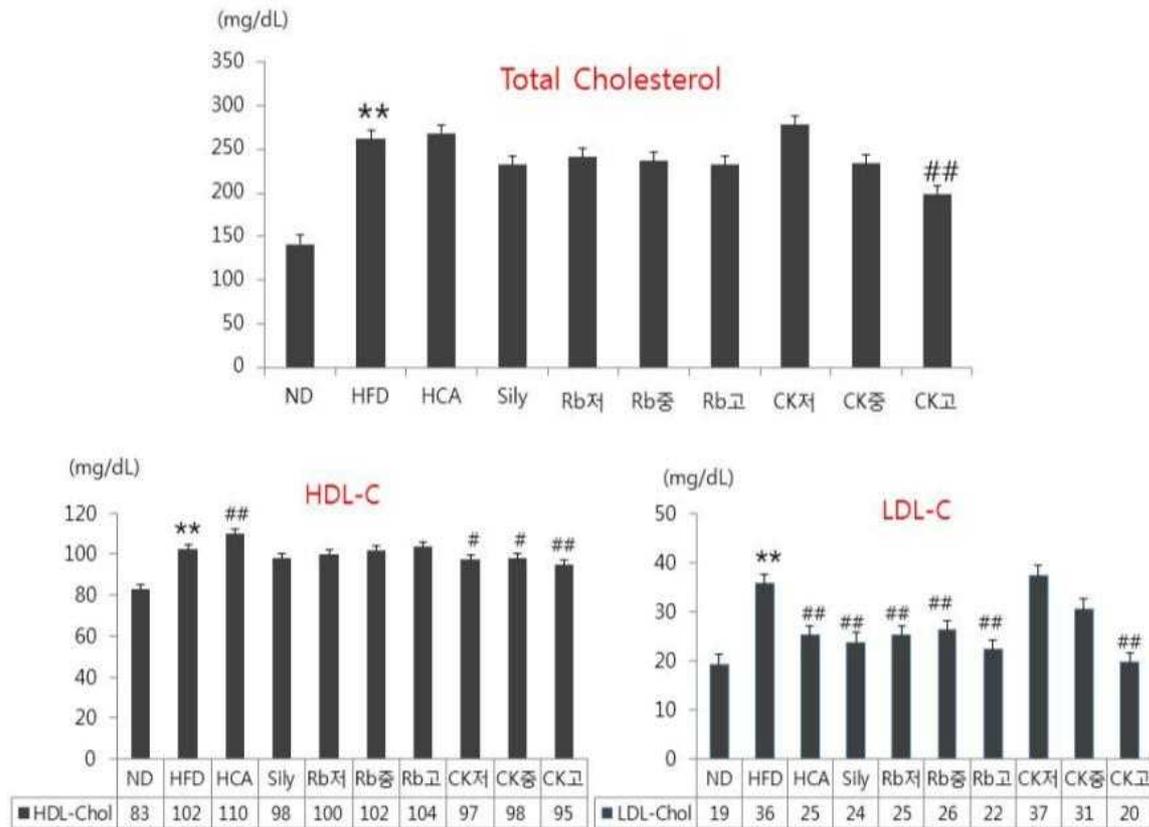


Figure 2-26. 혈청 내 총 콜레스테롤, HDL-c, LDL-c 분석

실험 그룹별로 총 콜레스테롤, HDL-c, LDL-c 등의 혈청 내 함량(mg/dL)을 분석하였다. 인삼시료 처리군의 데이터는 HFD 실험군과 비교하여 유의성을 검정하였다. (student's t-test)

ND 대조군에 비해서 HFD 실험군에서는 혈중 중성지질인 TG(Triglycerides)의 농도가 크게 상승되는 것을 확인하였다. 그런데 Ginsenoside K-b1과 Ginsenoside K-k 처리군에서는 혈중 TG의 함량이 HFD 대조군에 비해서 추출물 농도의존적으로 유의적인 감소경향을 보였다. 또한 간조직 내 중성지질의 함량을 분석한 실험에서도 위 결과와 유사한 경향을 보여주었다(Table 8). 양성대조군인 silymarin 처리군 (HFD+Sily)에서는 HFD 대조군에 비해 혈청 TG 함량에서는 차이가 없었으나 간조직 TG 함량에서 유의적으로 감소하였다. 한편 모든 Ginsenoside 추출물 처리군에서는 HFD 대조군에 비해 혈청 TG와 간조직 TG 함량이 함께 유의적으로 감소하였

다. 이러한 결과는 Ginseng 추출물이 혈액과 간조직에서 TG 대사를 조절하는 기능이 있다는 것을 의미한다.

Table 2-8. 실험군에 따른 혈청과 간조직 내 중성지질 함량

Diet group	Mean Hepatic TG (\pm SD)	Mean Serum TG (\pm SD)
	,mg/g	,mg/dL
ND	28.3 \pm 5.0	83 \pm 13.4
HFD	75.6 \pm 12.8**	133 \pm 30.3**
HFD+HCA	72.8 \pm 19.7	134 \pm 26.9
HFD+Sily	53.1 \pm 6.6 [#]	123 \pm 15.1
HFD+Gb100	43.9 \pm 5.3 ^{##}	94 \pm 5.5 [#]
HFD+Gb200	39.4 \pm 4.4 ^{##}	88 \pm 12.7 ^{##}
HFD+Gb400	30.7 \pm 5.9 ^{##}	75 \pm 18.1 ^{##}
HFD+Gk100	59.4 \pm 6.9 [#]	88 \pm 14.1 ^{##}
HFD+Gk200	46.7 \pm 13.2 [#]	91 \pm 9.7 ^{##}
HFD+Gk400	34.3 \pm 4.6 ^{##}	76 \pm 11.4 ^{##}

ND vs. HFD : * (p<0.05), ** (p<0.01)
HFD vs. treatments : # (p<0.05), ## (p<0.01)

(가) 간조직에서 지질대사와 관련된 단백질들의 유전자 발현 분석

Ginseng K-b1과 Ginseng K-k 추출물이 간조직에서 지질대사를 조절하는 기작을 연구하기 위한 첫 단계로 간조직에서 지질의 생합성 (lipogenesis)과 분해 (lipolysis)에 관여하는 주요 단백질들의 유전자 발현을 real-time RT-PCR방법으로 분석하였다. 간세포에서 *de novo* lipogenesis를 조절하는 단백질로는 SREBP-1c(Sterol Regulatory Element Binding transcription factor 1), FAS(Fatty Acid Synthase), ACC(Acetyl-CoA Carboxylase), LXR α (Liver X Receptor Alpha) 등을 분석하였고, lipolysis를 조절하는 단백질로는 PPAR α (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Alpha)를 분석하였다. 유전자 발현 분석의 internal standard로는 housekeeping 유전자인 36B4(acidic ribosomal phosphoprotein P0)의 PCR이 사용되었다. SREBP-1c는 간세포에서 FAS와 ACC 등 지질 생합성 유전자들의 발현을 조절하는 전사인자인데 간세포 내 lipid sensor로 작동하는 LXR α 의 주요한 표적 유전자이기도 하다. 따라서 어떠한 외부 신호에 의해 LXR α 가 활성화되면 SREBP-1c 발현의 촉진을 통해 FAS 및 ACC 등 지질 생합성 효소 유전자들의 발현이 활성화되게 된다. 한편 PPAR α 는 지방산 산화를 촉진하는 단백질들의 유전자 발현을 촉진하는 것으로 알려져 있으며 lipolysis를 조절하는 주요한 전사인자이다.

real-time RT-PCR 실험결과, 간세포 내 lipogenic genes 발현은 HFD 식이에 의해 유의적으로 활성화되었는데 Ginseol K-b1과 Ginseol K-k 추출물 처리에 의해 다시 그 발현이 억제됨을 알 수 있다(Fig. 2-27). 이러한 결과는 인삼추출물인 Ginseol K-b1과 Ginseol K-k이 LXR α -mediated SREBBP-1c induction 기작을 억제하여 HFD에 의해 활성화되었던 lipogenesis를 제어하는 작용을 하는 것으로 추론할 수 있다.

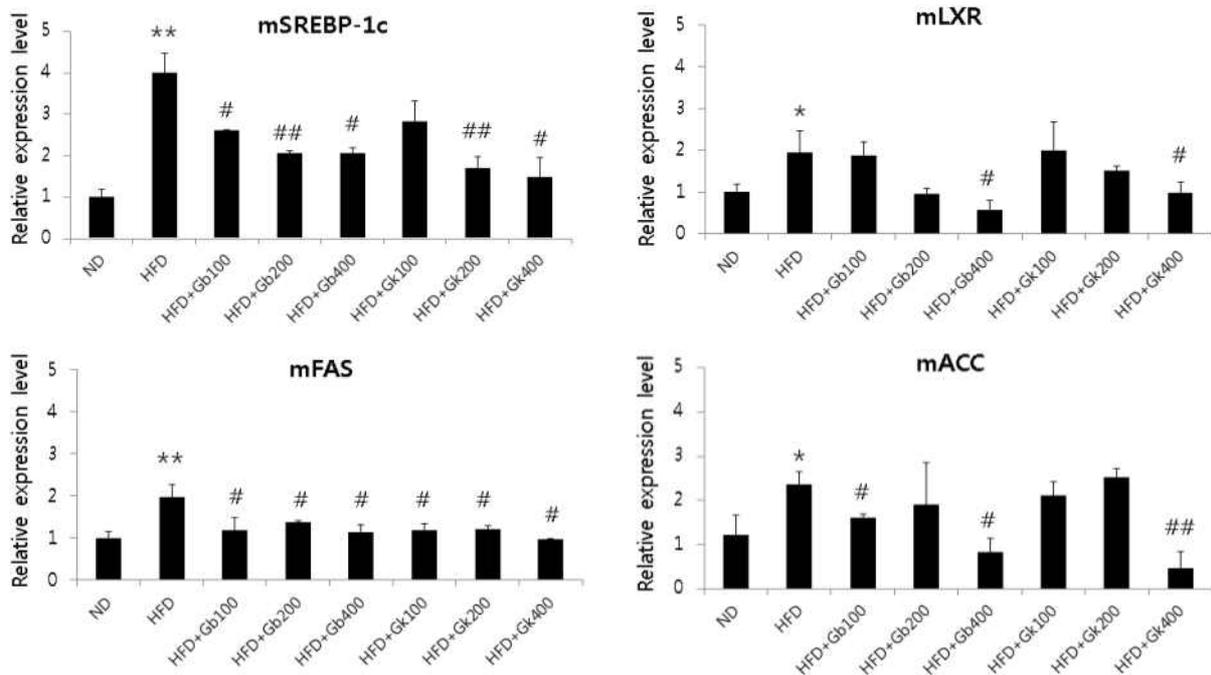


Figure 2-27. Effects of Ginseol K-b1 and Ginseol K-k on lipogenic gene expression in the liver of HFD-fed mice. mRNA levels were measured using quantitative real-time RT-PCR and normalized to 36B4 levels. Values are mean \pm SD (n=3, each group). Student's t test.

ND vs. HFD : * (p<0.05), ** (p<0.01)
HFD vs. treatments : # (p<0.05), ## (p<0.01)

(4) *in vivo* 지방간 동물모델 연구 II (alcohol-induced fatty liver model)

(가) 실험식이와 실험군

7주령의 수컷 C57BL/6J 마우스를 구입하고(중앙실험동물, 한국) 체중이 비슷한 마우스를 무작위로 선출하여 6군(n=10 for each group)으로 나누고 케이지 당 5마리씩 사육을 시작하였다. 이후 첫 1주 동안 고형사료에 적응을 시킨 다음 대조군(1개군)과 에탄올군(5개군)으로 나누어서 Lieber-DeCarli diet (Dyets, Bethlehem, CA, USA)으로 제조된 액상식이(Table 9)를 제공하였다. 이때 대조군에는 Lieber DeCarli Control Diet (Con)을 제공하고 에탄올군에는 Lieber DeCarli Ethanol Diet (ED)을 제공하였는데 ED 식이 중 에탄올 농도를 0.5%에서 5%까지 (0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 %) 2주 동안 천천히 점진적으로 증가시켜서 마우스를 에탄올 식이 (5% 에탄올; 1 Kcal/mL; 에탄올은 총 사료열량 중 약 36% Kcal)에 적응시켰다. 이후 4주 동안 pair-feeding 방법을 사용하여 에탄올군과 대조군의 섭취량을 조절하였고 시료는 존대를 이용하여 매일 경구 투여의 방법으로 제공하였다. 대조군에는 용매인 물을 투여하였고 에탄올 식이군은 ED, ED+Sily, ED+Gb50, ED+Gb100, ED+Gb200 등 총 5개군으로 구분하여 각각 물, silymarin (200 mg/kg/day), Ginseol K-b1 추출물 (50, 100, 200 mg/kg/day)을 경구투여의 방법으로 제공하였다(Table 2-10). 사육기간 동안 깔집은 주 3~4회 교체하였으며 12h/12h light cycle을 통해 mice의 정상적 생리활동이 가능할 수 있도록 했다. 식이사료의 원료는 냉동저장하고 매일 액상사료를 새로 만들어서 신선한 사료를 공급했으며, 체중은 일주일에 1회 이상 그리고 식이 섭취량은 매일 측정했다.

Table 2-9. Compositions of experimental diets

Ingredient:	Lieber-DeCarli Ethanol Diet, g/L	Lieber-DeCarli Control Diet, g/L
Casein (80 Mesh)	41.40	41.40
DL-Methionine	0.30	0.30
L-Cystine	0.50	0.50
Cellulose	10.00	10.00
Maltose Dextrin	25.60	115.2
Corn Oil	8.50	8.50
Olive Oil	28.40	28.40
Safflower Oil	2.70	2.70
Mineral Mix	8.75	8.75
Vitamin Mix	2.50	2.50
Choline Bitartrate	0.53	0.53
Xanthan Gum	3.00	3.00
Ethanol	50.00	-

Table 2-10. Experimental animal groups

Animal Group		Diet + sample treatment
No.	Name	
1	Con	Pair-fed regular diet control
2	ED	ethanol-containing diet control
3	ED+Sily	ethanol-containing diet supplemented with sylimarin (200 mg·kg ⁻¹ ·day ⁻¹)
4	ED+Gb50	ethanol-containing diet supplemented with Ginseol K-b1 (50 mg·kg ⁻¹ ·day ⁻¹)
5	ED+Gb100	ethanol-containing diet supplemented with Ginseol K-b1 (100 mg·kg ⁻¹ ·day ⁻¹)
6	ED+Gb200	ethanol-containing diet supplemented with Ginseol K-b1 (200 mg·kg ⁻¹ ·day ⁻¹)

(나) 조직 및 혈청 분석

섭취 종료 시점에는 마우스를 희생하고 혈액 및 조직을 채취하였다. 혈액은 모세관 튜브를 이용하여 안와에서 채취하였으며 실온에서 혈액 응고가 일어나면 ice에 옮겨서 2시간 정도 보관 후 원심분리(12,000rpm, 10min)를 통해 혈청을 분리했다. 혈청은 사용 전까지 -80°C에서 보관하였다. 개복 후 간을 적출하여 무게를 측정했다. 적출된 간조직의 일부는 H&E(Hematoxylin and Eosin) staining 또는 Oil Red O staining을 통한 현미경 조직검사를 위하여 따로 떼어내었고 나머지는 액체질소에서 얼린 후 사용 전까지 -80°C에서 보관하였다.

혈청에 함유된 total protein은 Biuret reaction 방법, albumin은 colorimetric 방법, bilirubin은 Mally-Evelyn modified 방법, AST (aspartate aminotransferase)와 ALT (alanine aminotransferase)는 UV kinetic 방법, cholesterol은 enzymatic-colorimetric 방법, triglyceride와 HDL-c는 enzymatic-colorimetric 방법, LDL-c는 dierct 방법으로 자동 혈액 분석기인 BS-400 (Mindray, China)을 사용하여 분석하였다.

실험동물의 간에 축적된 중성지질의 함량을 분석하기 위해 Folch 방법에 따라서 간조직에서 지방을 추출했다. 우선 동결된 간조직 ~0.1g을 액체질소 하에 mortar와 pestle을 이용하여 분쇄하고 1mL의 chloroform/methanol (2:1) 용액에 녹여서 균질화한 후 원심분리하여 지질층을 회수하였다. 회수된 지질층에 있는 용매는 speed-vac을 통해 제거되었고 분리된 지질은 buffer에 녹인 후 Triglyceride Assay Kit (아산제약, 한국)를 이용하여 중성지질의 양을 분석하였다.

(다) 체중변화

실험기간 동안 액상식이의 섭취량은 매일 측정하였는데 ethanol diet 실험군 (ED, ED+ Sily, ED+ Gb50, ED+ Gb100, ED+ Gb200) 내에서 각 군의 평균 섭취량은 서로 유의적인 차이가 없었으며 control diet 실험군(Con)의 평균 섭취량은 pair-feeding 방법을 통해 ethanol diet 실험군의 섭취량과 차이가 없게 조절하였다.

쥐의 평균 체중은 실험이 시작될 때 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 처음 2주간 control diet 실험군의 평균 체중은 뚜렷하게 증가하였지만 ethanol diet 실험군의 평균 체중은 거의 증가하지 않아서 두 식이군 간 평균 체중에 유의적인 차이가 발생했다. 2주간의 알콜식이 적응기간이 끝난 후에는 ethanol diet 실험군의 평균 체중이 control diet 실험군에 비해 상대적으로 증가하였고 이에 따라 3주와 4주에 측정한 평균 체중은 두 식이군 간에 다시 유의적인 차이가 없어졌다. 하지만 이후 ethanol diet 실험군의 평균 체중 증가가 다시 정체되면서 5주와 6주 시점에서는 ethanol diet 실험군의 평균 체중이 control diet 실험군에 비해 유의적으로 작게 나타냈다(Table 2-11).

한편 실험기간 동안 ethanol diet 실험군 (ED, ED+ Sily, ED+ Gb50, ED+ Gb100, ED+ Gb200) 내에서는 평균 체중에 유의적인 차이가 없었다. 위 결과는 인삼추출물 사료 섭취에 의해 실험동물의 식이 섭취량과 식이 효율이 특별한 영향을 받지 않았음을 의미한다.

Table 2-11. Body weights of mice in the course of experiment
g (mean±SD, n=7~10)

feeding week	Con	ED	ED+ Sily	ED+ Gb50	ED+ Gb100	ED+ Gb200
0	23.2±1.0	23.9±1.1	23.8±1.1	23.5±1.2	24.0±1.0	23.6±1.4
1	25.1±1.4	24.3±1.3	24.3±1.4	23.9±0.8	24.6±1.1	24.3±1.6
2	26.4±1.6	24.2±0.9**	23.9±1.4	23.9±0.9	24.7±1.3	24.4±1.5
3	26.8±1.7	25.7±0.9	25.3±1.2	25.8±1.0	25.7±0.7	25.4±1.6
4	27.1±1.7	26.1±0.8	26.2±0.8	26.1±1.2	25.9±0.8	25.4±1.8
5	28.0±1.7	26.7±0.8*	25.9±1.6	26.6±1.1	26.2±1.1	25.7±1.5
6	28.2±1.8	26.6±0.8*	25.8±1.6	27.3±1.2	26.5±1.8	26.3±1.1

Student's t test was performed for statistical analysis.

ED was compared with Con while ED+ groups were compared with ED.

Con vs. ED: * (p<0.05), ** (p<0.01). ED vs. ED+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

6주간의 실험기간 동안 증가한 평균 체중을 보면 control diet 실험군(Con)은 4.9 ± 1.4 g 증가하였는데 ethanol diet 실험군은 2.2~3.7g 범위에서 평균 체중이 증가했다(Table 2-12 & Fig. 2-28).

Table 2-12. Body weight gains during 6 weeks of experimental feeding. (mean \pm SD, n=7~10)

Groups	Con	ED	ED+ Sily	ED+ Gb50	ED+ Gb100	ED+ Gb200
mean weight gains, g	4.9 ± 1.4	$2.7 \pm 1.0^{**}$	2.2 ± 1.6	3.7 ± 1.0	2.5 ± 1.2	2.5 ± 1.6

Student's t test was performed for statistical analysis.

ED was compared with Con while ED+ groups were compared with ED.

Con vs. ED: * (p<0.05), ** (p<0.01). ED vs. ED+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

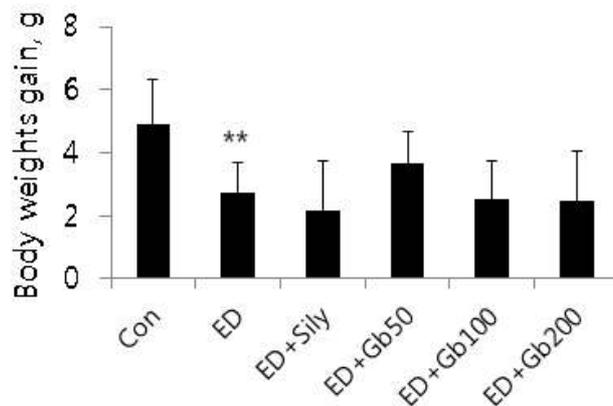


Figure 2-28. Body weight gains during 6 weeks of experimental feeding

결과를 종합하면 두 식이군 간 사료 섭취량에 유의적인 차이가 없었는데도 ethanol diet 실험군의 평균 체중 증가량이 control diet 실험군에 비해 유의적으로 작게 나타났다. 이와 같은 결과는 알콜의 열량이 체중 증가에 사용되지 않고 다른 체내 대사에서 소비되었음을 의미한다.

(라) 간무게와 지방간 분석

동물 희생 시 적출된 간의 무게를 측정해서 비교해 본 결과 ethanol diet 실험군(ED, ED+ Sily, ED+ Gb50, ED+ Gb100, ED+ Gb200)의 평균 간무게는 control diet 실험군(Con)의 평균 간무게(1.01 ± 0.11 g)에 비해 평균 15~23% 범위에서 유의적으로 증가했다(Table 2-13).

이는 만성적인 에탄올 섭취에 의해 간에 지방, 수분, 단백질 등이 축적되어 간 비대현상이 나타난 것으로 볼 수 있다. 체중으로 인한 간무게의 차이를 고려하기 위하여 간무게를 각 실험 동물의 체중으로 나누어서 liver/body % (w/w %)로 환산한 후 다시 군별로 평균값을 계산하였다(Table 2-13 & Fig. 2-7).

Table 2-13. Liver parameters. (mean±SD, n=7~10)

Parameters	Con	ED	ED+ Sily	ED+ Gb50	ED+ Gb100	ED+ Gb200
liver weight, g	1.01±0.11	1.24±0.09**	1.25±0.15	1.31±0.14	1.17±0.19	1.18±0.12
liver/body, w/w %	3.7±0.4	4.7±0.3**	4.8±0.4	4.8±0.4	4.5±0.4	4.4±0.4

Student's t test was performed for statistical analysis.

ED was compared with Con while ED+ groups were compared with ED.

Con vs. ED: * (p<0.05), ** (p<0.01). ED vs. ED+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

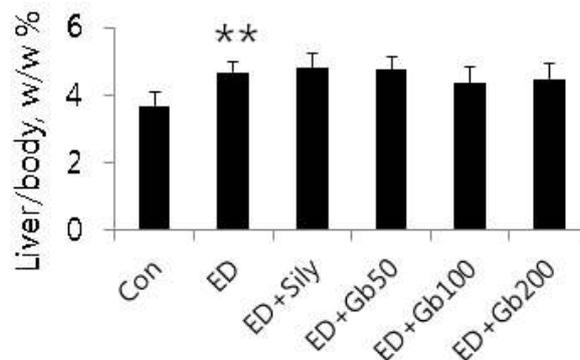


Figure 2-29. Liver to body ratio (w/w %) of different mice groups

ethanol diet 실험군(ED, ED+ Sily, ED+ Gb50, ED+ Gb100, ED+ Gb200)은 control diet 실험군(Con)에 비해 평균 liver/body % 비율 (w/w %)가 약 27% 내외 증가한 것으로 나타났다.

한편 간조직 내 중성지질(Triglycerides, TG)의 함량을 분석한 결과 ethanol diet 대조군(ED)은 control diet 실험군(Con)에 비해 평균 TG 함량이 2배 이상 증가하였으며 ED+ 실험군(ED+ Sily, ED+ Gb50, ED+ Gb100, ED+ Gb200)에서는 다시 감소하는 경향을 보여 주었다 (Table 2-14 & Fig. 2-30).

Table 2-14. Hepatic triglycerides. (mean±SD, n=7~10)

Animal groups	Con	ED	ED+ Sily	ED+ Gb50	ED+ Gb100	ED+ Gb200
TG (mg/g liver)	17.27±7.23	39.30±8.54**	25.06±2.41##	30.11±7.37#	29.40±3.03#	23.98±3.84##

Student's t test was performed for statistical analysis.

ED was compared with Con while ED+ groups were compared with ED.

Con vs. ED: * (p<0.05), ** (p<0.01). ED vs. ED+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

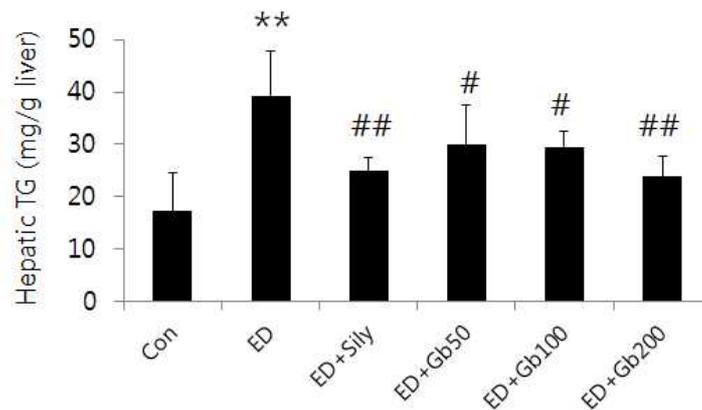


Figure 2-30. Ginsenoside K-b1 ameliorated alcohol-induced triglycerides accumulation in mice.

(마) 혈청 분석

알콜성 지방간에 의해 간기능의 일부가 손상되었는지 진단하기 위하여 혈액 내 관련 biomarkers를 분석하였다. 분석된 지표는 총 9가지로 total protein, albumin, bilirubin, AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), cholesterol, HDL-c, LDL-c, triglycerides 등이었다.

흥미롭게도 간의 합성기능을 나타내는 지표인 total protein과 albumin의 함량이 ethanol diet 대조군(ED)에서 control diet 실험군(Con)에 비해 유의적으로 증가하였는데 ED+ 실험군에서는 다시 감소하였다(Fig. 2-31). 이 결과는 알콜 섭취에 의해 간의 합성기능이 손상되었음을 의미하며 인삼추출물 섭취에 의해 기능이 다시 회복되고 있음을 보여준다.

한편 담즙분비 기능을 나타내는 bilirubin의 혈중 농도에는 유의적 변화가 관찰되지 않았다.

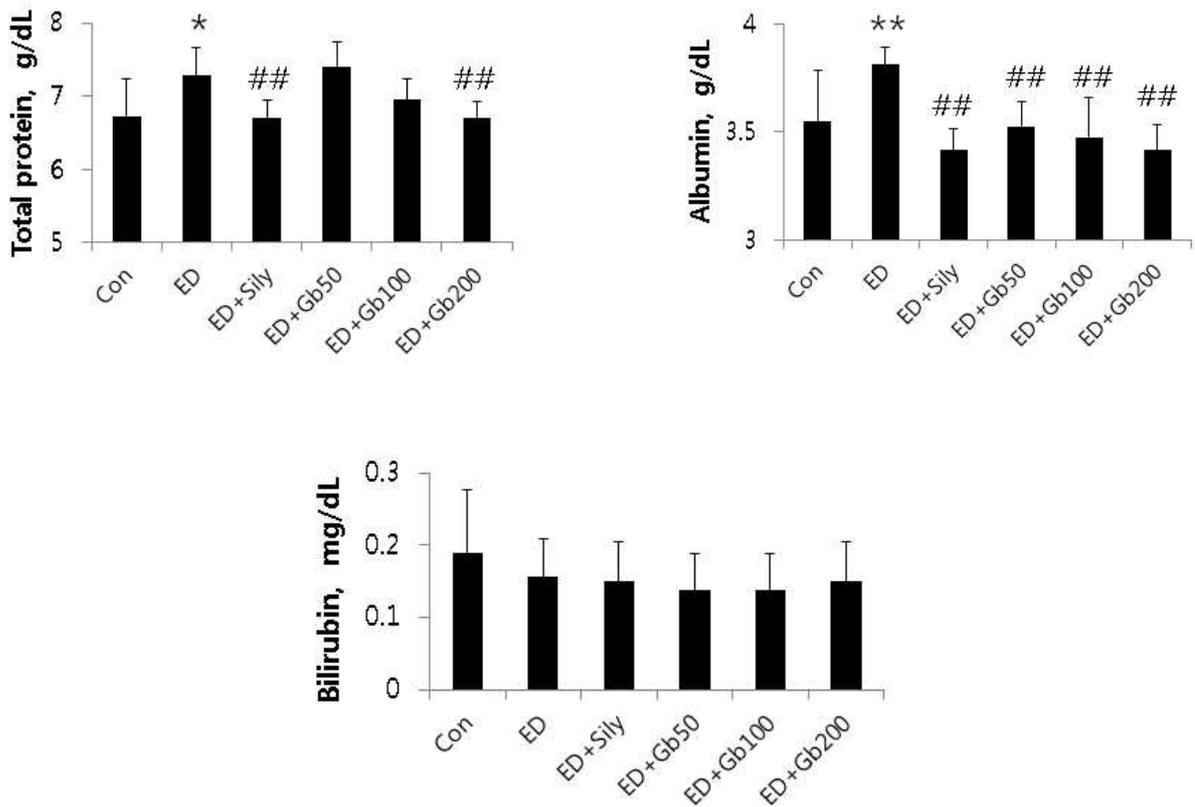


Figure 2-31. Total protein, albumin and bilirubin contents. (mean±SD, n=7~10)

Student's t test was performed for statistical analysis.

ED was compared with Con while ED+ groups were compared with ED.

Con vs. ED: * (p<0.05), ** (p<0.01). ED vs. ED+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

알콜성 지방간이 유도되면 혈중 지질농도에 있어서 변화가 있을 수 있다. 따라서 본 연구에서는 지질대사와 관련된 지표로 중성지질(TG)뿐 아니라 총 콜레스테롤, HDL-c, LDL-c 등을 분석하였다(Fig. 2-32).

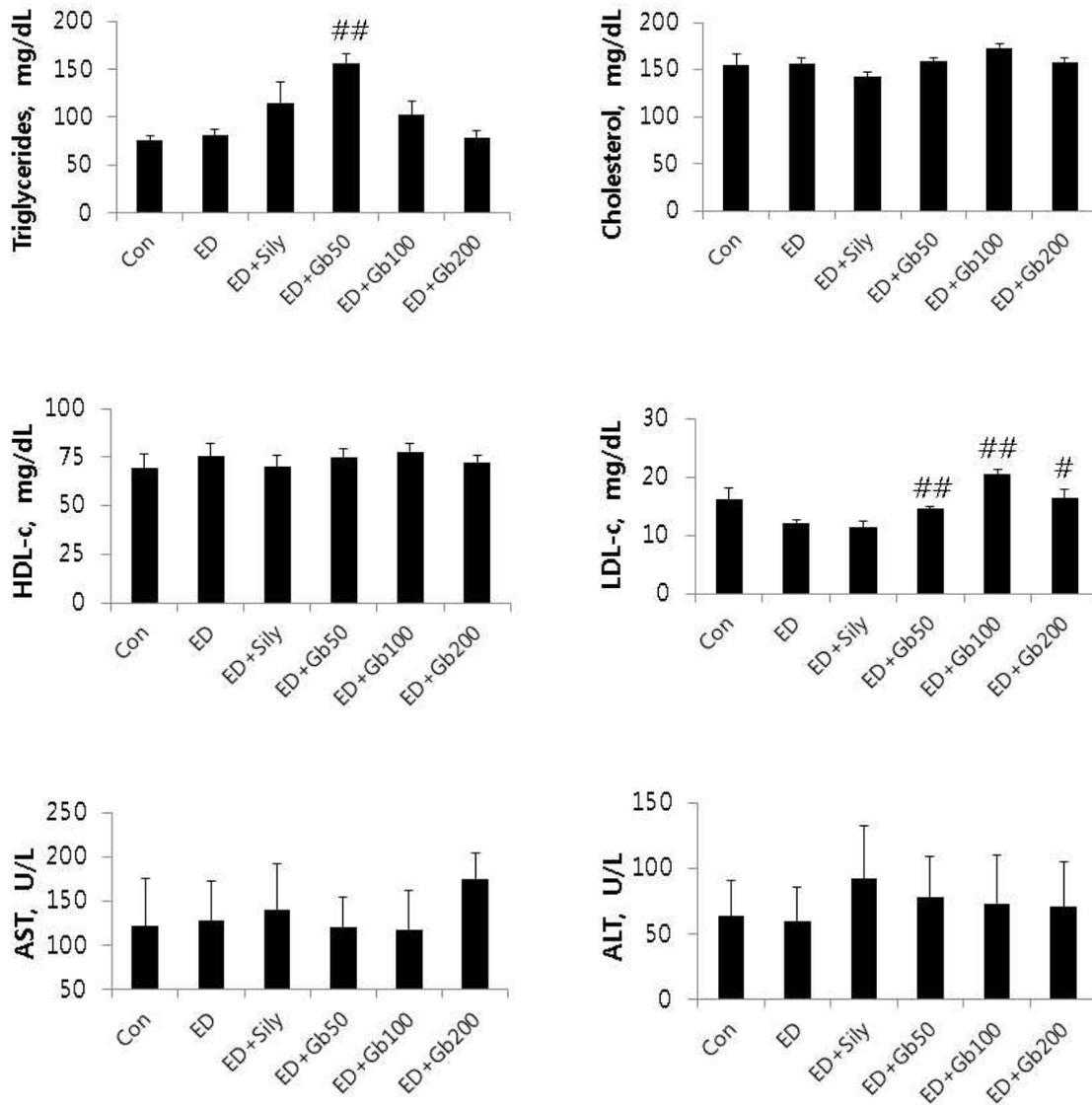


Figure 2-32. Analysis of the triglycerides, cholesterol, HDL-c, LDL-c, AST and ALT contents in mice sera of different experimental groups. (mean±SD, n=7~10)

Student's t test was performed for statistical analysis.

ED was compared with Con while ED+ groups were compared with ED.

Con vs. ED: * (p<0.05), ** (p<0.01). ED vs. ED+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

총 콜레스테롤의 경우 모든 실험군에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았으나 LDL-c의 경우 Ginseng K-b1 처리군은 ED 대조군에 비해 함량이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 혈중 중성지방 TG 함량은 ethanol diet 대조군(ED과 control diet 실험군(Con) 간 유의적 차이가 없었다. 그런데 ED+ Gb 군에서는 Ginseng K-b1 처리농도에 따라서 TG 함량이 확실히 유의적으로 감소하는 경향을 나타냈다. 한편 간기능이 손상되면 활성이 증가되는 것으로 알려진 AST와 ALT의 효소 활성에는 실험군별로 유의적 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 2-32).

(바) 현미경 조직검사

간조직을 H&E staining과 Oil Red O staining 한 후 현미경으로 관찰하면 알콜성 지방간의 징후를 쉽게 볼 수 있었다. 또한 Ginseol K-b1 처리군은 중성지방질의 축적도가 ED 대조군에 비해 처리농도에 의존적으로 줄어드는 것을 확인할 수 있었다.

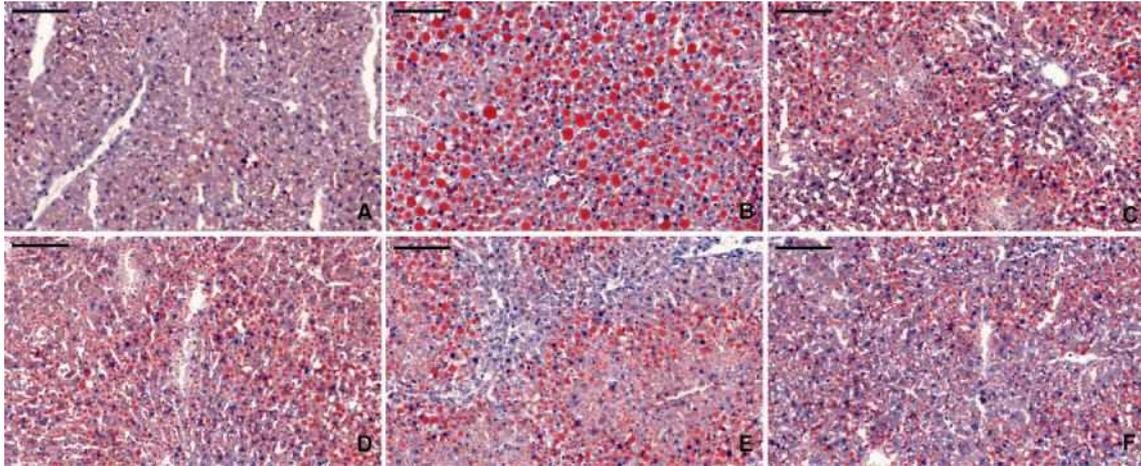


Figure 2-33. Oil red O staining of the liver tissues from different groups of mice. Liver tissues from mice fed with normal diet (A), ethanol diet (B), ethanol diet with sylimarin (C), ethanol diet with Ginseol K-b1 at 50 (D), 100 (E), and 200 (F) mg/kg/day. The bar equals 100 μ m in length.

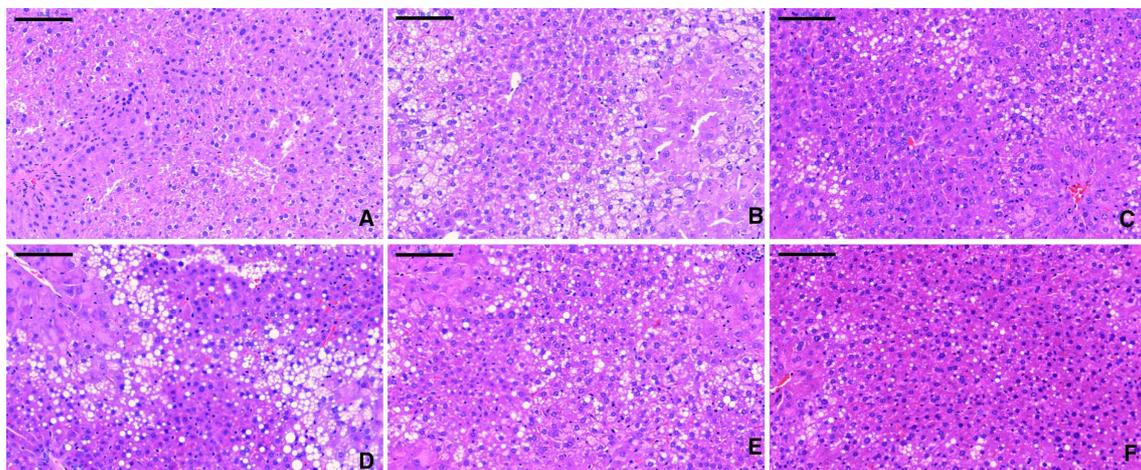


Figure 2-34. H&E staining of the liver tissues from different groups of mice. Liver tissues from mice fed with normal diet (A), ethanol diet (B), ethanol diet with sylimarin (C), ethanol diet with Ginseol K-b1 at 50 (D), 100 (E), and 200 (F) mg/kg/day. The bar equals 100 μ m in length.

(4) *in vivo* 지방간 동물모델 연구 III (HFD-induced fatty liver model)

1차년도 동물실험을 통해 Compound K 강화 인삼추출물(Ginseol K-k)이 고지방식이 마우스 실험에서 지방간 진행을 유의적으로 억제하는 효능이 있음을 알 수 있었다. 하지만 Ginseol K-k는 인삼시료에 효소를 처리하여 Compound K의 함량을 높인 후 다시 HP20 chromatography를 통해 고농축 분획으로 제조했기 때문에 제조단가가 비싼 단점이 있어서 식품소재로서의 경쟁력이 떨어진다는 단점이 있다. 따라서 3차년도에는 Compound K 함량이 다소 낮아도 가격 경쟁력이 있는 새로운 Compound K 강화 농축액을 이용하여 지방간 개선 효능을 시험하기 위해 동물실험을 수행하였다.

이번 실험은 HFD 식이를 이용한 지방간 유도모델을 이용한 점에서 1차년도 실험과 유사하다. 하지만 1차년도 실험에서는 첫 8주간 HFD 식이를 실시한 후 다음 8주 동안 인삼시료를 HFD 식이와 같이 처리하는 방법을 사용한 반면 본 실험에서는 인삼시료를 HFD 식이와 함께 처음부터 11주간 처리하는 방법으로 동물실험을 수행했다.

(가) 실험군 설계와 식이

5주령의 수컷 C57BL/6J 마우스를 구입하고(중앙실험동물, 한국) 체중이 비슷한 마우스를 무작위로 선출하여 6군(n=10 for each group)으로 나누고 케이지 당 5마리씩 사육을 시작하였다. 이후 첫 1주 동안 실험실 환경에 적응을 시킨 다음 일반식이군(ND; 1개군)과 고지방식이군(HFD; 5개군)으로 나누어서 총 11주간 실험을 시작하였다(Table 2-15). 이 기간 동안 Compound K 강화 농축액(Gx)을 HFD 식이와 함께 저, 중, 고 농도(100, 250, 500 mg/kg/day)로 매일 경구투여의 방법으로 제공했다. 2개의 음성 대조군에는 시료 대신에 물을 제공했고 1개의 양성 대조군에는 silymarin (Sigma, 200mg/kg/day)을 제공했다. 사육기간 동안 깔집은 주 3~4회 교체하였으며 12h/12h light cycle을 통해 mice의 정상적 생리활동이 가능할 수 있도록 했다. 모든 동물실험은 숙명여자대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 통하여 동물보호법을 준수하며 수행되었다.

Table 2-15. Experimental animal groups

Animal Group No.	Name	Diet + sample treatment
1	ND	Normal diet control
2	HFD	High-fat diet control
3	HFD+ Sily	High-fat diet + silymarin (200 mg·kg ⁻¹ ·day ⁻¹)
4	HFD+ Gx100	High-fat diet + Ginseng concentrate fortified with Compound K (100 mg·kg ⁻¹ ·day ⁻¹)
5	HFD+ Gx250	High-fat diet + Ginseng concentrate fortified with Compound K (250 mg·kg ⁻¹ ·day ⁻¹)
6	HFD+ Gx500	High-fat diet + Ginseng concentrate fortified with Compound K (500 mg·kg ⁻¹ ·day ⁻¹)

실험기간 11주 동안, 일반식이 1개 군에는 normal chow diet (ND, energy content 3.1kcal/g, 58% calories from carbohydrates, 18% from fat, and 24% from protein; Teklad Global 18% Protein Rodent Diet 2018S, Harlan Laboratories, Madison, USA)을 제공했고, 나머지 고지방식이 5개 군에 대해서는 high fat diet (HFD, energy content 5.1kcal/g, 60% of calories from fat; Teklad Custom Research Diet TD.06414, Harlan Laboratories, Madison, USA)을 제공하였다(Table 2-16 & Table 2-17). 동물의 체중은 일 주일에 1회 그리고 식이 섭취량은 3일에 1회 정도의 간격으로 측정했다.

Table 2-16. Energy contents of experimental diets

에너지 조성	ND	HFD
Crude protein, %	18.6	23.5
Fat, %	6.2	34.3
Carbohydrate, %	44.2	27.3
Energy density, kcal/g	3.1	5.1
Calories from Protein, %	24	18.4
Calories from Fat, %	18	60.3
Calories from Carbohydrate, %	58	21.3

Table 2-17. 고지방식이 HFD의 조성

High-fat diet Formula	
Casein, %	26.5
L-cystine, %	0.4
Maltodextrin, %	16.0
Sucrose, %	9.0
Lard, %	31.0
Soybean oil, %	3.0
Cellulose, %	6.5
Mineral mix, %	4.8
Calcium phosphate, dibasic, %	0.34
Vitamin mix, %	2.1
Choline bitartrate, %	0.3
Blue food color, %	0.01

(나) 체중변화

쥐의 몸무게는 실험기간 동안 매주 1회 측정하였고 실험군별 평균 몸무게의 변화 추이는 Fig. 2-35와 같다. 실험이 시작될 때 쥐의 평균 몸무게는 모든 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나 실험기간 동안 고지방식이 HFD 실험군들은 정상식이 ND 실험군에 비해 가파른 증가를 보여주었다.

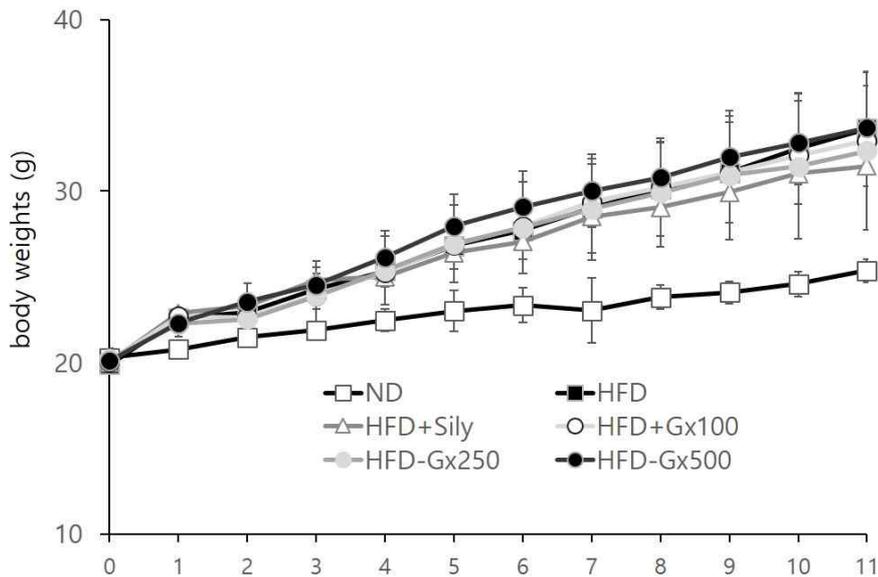


Figure 2-35. 실험기간 동안 마우스 몸무게 변화

최종 평균 몸무게를 보면 고지방식이 대조군(HFD)이 $35.3 \pm 1.9\text{g}$ 으로 정상식이 대조군(ND)의 $24.0 \pm 1.0\text{g}$ 에 비해 ~47% 정도 더 무거웠다. 그런데 HFD+ 시료군들의 경우 HFD군과 비교해서 HFD+ Sily($30.8 \pm 2.6\text{g}$)는 ~12.7%, HFD+ Gx100($32.9 \pm 2.7\text{g}$)은 ~6.8%, HFD+ Gx250($32.5 \pm 5.1\text{g}$)은 ~7.9%, HFD+ Gx500($33.3 \pm 2.7\text{g}$)은 ~5.7% 정도 평균 몸무게가 감소되었다. 하지만 이들 중 HFD+ Sily군의 평균 몸무게 값만 HFD군과 유의하게 달랐고 홍삼 처리군들은 HFD군과 유의적인 차이를 보이지 못했다(Table 2-18). 실험기간 동안 HFD군의 평균 몸무게 증가량은 $14.9 \pm 1.7\text{g}$ 으로 ND군의 $3.9 \pm 1.0\text{g}$ 에 비해 ~3.8배 정도 커졌다. HFD+ Gx 시료군들은 HFD군과 비교해서 유의적인 차이가 없었으나 HFD+ Sily군은 $10.8 \pm 2.7\text{g}$ 으로 평균 몸무게 증가량이 유의적으로 감소하였다(Fig. 2-36).

마우스의 부고환 지방무게(Epididymis fat)도 그룹별로 차이가 있었으며 HFD군의 평균 부고환 지방무게는 $1.78 \pm 0.62\text{g}$ 으로 ND군($0.32 \pm 0.07\text{g}$)에 비해 5배 이상 증가하였다. 특히 HFD에 비해 HFD+ Sily($1.37 \pm 0.33\text{g}$)의 평균 부고환 지방무게는 유의적으로 감소했지만 HFD+ Gx 실험군들과는 유의적인 차이가 없었다.

Table 2-18. Body weights of mice in the course of experiment, g (mean±SD, n=8~10)

Metabolic parameters		Mice Groups					
		ND	HFD	HFD+Sily	HFD+Gx100	HFD+Gx250	HFD+Gx500
Initial	body weight (g)	20.2±0.5	20.0±0.3	20.0±0.5	19.9±0.3	19.9±0.3	20.3±0.6
Final	body weight (g)	24.0±1.0	35.3±1.9**	30.8±2.6#	32.9±2.7	32.5±5.1	33.3±2.7
Weight	gain (g)	3.9±1.0	14.9±1.7**	10.8±2.7#	13.1±2.7	12.7±5.1	13.0±2.4
Epididymis	fat weight (g)	0.32±0.07	1.91±0.23**	1.37±0.33#	1.69±0.33	1.54±0.39	1.76±0.39

Student's t test was performed for statistical analysis.

HFD was compared with ND while HFD+ groups were compared with HFD.

ND vs. HFD: * (p<0.05), ** (p<0.01). HFD vs. HFD+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

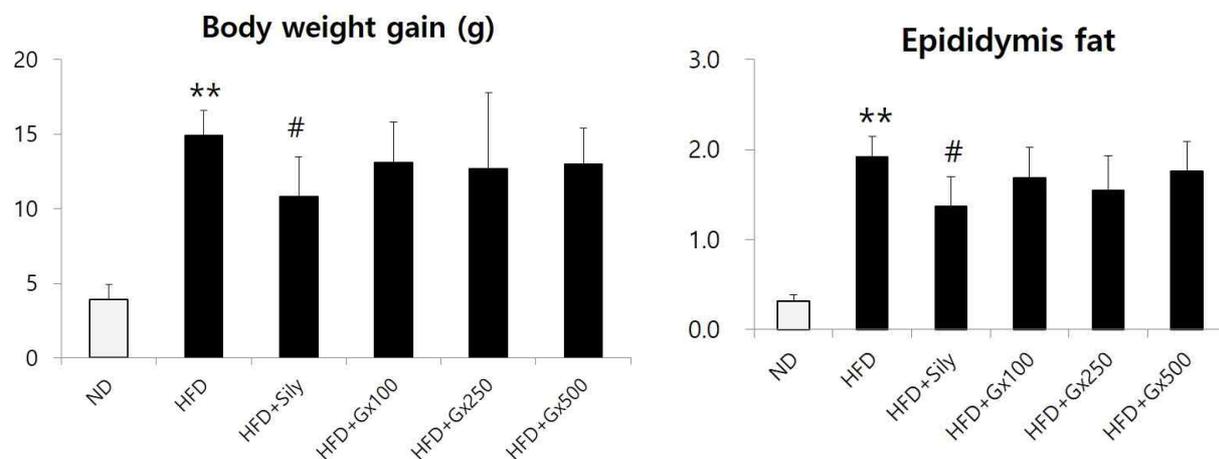


Figure 2-36. Body weight gains during 11 weeks of experimental feeding and epididymus fat weights of mice.

마우스의 식이 섭취량(g/day/mouse)을 측정한 결과, ND군에 비해 HFD군의 평균 식이 섭취량은 적었지만 에너지 섭취량은 유의적으로 높았다(Table 2-19). 하지만 HFD 실험군(HFD, HFD+ Sily, HFD+ Gx100, HFD+ Gx250, HFD+ Gx500) 내에서는 두 가지 값에 그룹 간 유의적인 차이가 없었다. 따라서 고지방 식이군에서 유도된 마우스 비만의 결과는 식이의 양에 의한 효과가 아니라 에너지 효율에 의한 것임을 알 수 있다. 또한 홍삼 시료 처리는 마우스의 식이 섭취량과 에너지 섭취 효율에 영향을 주지 않았으며 결과적으로 몸무게에도 유의한 변화를 주지 않았다는 것을 알 수 있다.

Table 2-19. 식이 및 에너지 섭취량

	ND	HFD	HFD+Sily	HFD+Gx100	HFD+Gx250	HFD+Gx500
Food intake (g/day/mouse)	2.8±0.3	2.3±0.2**	2.2±0.3	2.3±0.3	2.2±0.3	2.1±0.1
Energy intake (kcal/day/mouse)	8.7±0.9	11.7±1.0**	11.2±1.5	11.7±1.5	11.2±1.5	10.7±0.5

Student's t test was performed for statistical analysis.

HFD was compared with ND while HFD+ groups were compared with HFD.

ND vs. HFD: * (p<0.05), ** (p<0.01). HFD vs. HFD+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

(다) 간무게와 지방간 분석

동물 희생 시 적출된 간의 무게를 측정해서 비교해 본 결과, HFD군의 평균 간무게는 0.88±0.05g으로 ND군의 평균 간무게(0.78±0.07g)에 비해 ~13% 정도 유의적으로 증가했다 (Table 2-20). 하지만 HFD 실험군내에서는 그 값에 유의적인 차이가 없었다. 이는 고지방 식이 섭취에 의해 간에 지방이 축적되어 간 비대현상이 나타난 것으로 볼 수 있다.

체중으로 인한 간무게의 차이를 고려하기 위하여 간무게를 각 실험동물의 체중으로 나누어서 liver/body % (w/w %)로 환산한 후 다시 군별로 평균값을 계산하였다 (Table 2-20 & Fig. 2-37).

Table 2-20. Liver parameters. (mean±SD, n=8~10)

Parameters	ND	HFD	HFD+Sily	HFD+Gx100	HFD+Gx250	HFD+Gx500
Liver weight, g	0.78±0.07	0.88±0.05*	0.87±0.08	0.83±0.08	0.81±0.04	0.92±0.05
Liver/Body, wt %	2.9±0.4	2.6±0.1*	2.8±0.2	2.5±0.1	2.6±0.2	2.8±0.2

Student's t test was performed for statistical analysis.

HFD was compared with ND while HFD+ groups were compared with HFD.

ND vs. HFD: * (p<0.05), ** (p<0.01). HFD vs. HFD+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

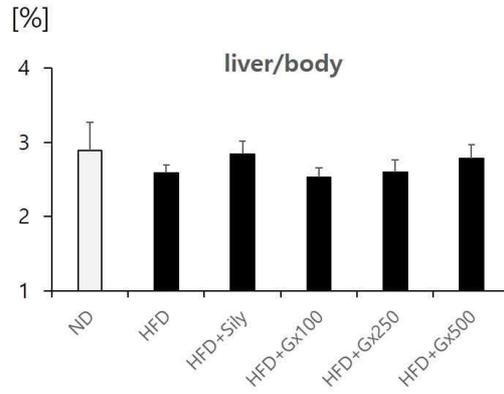


Figure 2-37. Liver to body ratio (w/w %) of different mice groups

한편 간조직 내 중성지질(Triglycerides, TG)의 함량을 분석한 결과 high-fat diet 대조군(HFD)은 normal diet 대조군(ND)에 비해 평균 TG 함량이 2배 이상 증가하였으며 HFD+ 실험군 (HFD, HFD+ Sily, HFD+ Gx100, HFD+ Gx250, HFD+ Gx500)에서는 다시 감소하는 경향을 보여 주었다 (Table 2-21 & Fig. 2-38).

Table 2-21. Hepatic triglycerides. (mean±SD, n=8~10)

Animal groups	ND	HFD	HFD+Sily	HFD+Gx100	HFD+Gx250	HFD+Gx500
TG (mg/g liver)	19.3±4.3	52.4±6.4**	36.4±4.8##	31.1±4.5##	38.7±3.1##	43.4±4.0##

Student's t test was performed for statistical analysis.

ED was compared with Con while ED+ groups were compared with ED.

Con vs. ED: * (p<0.05), ** (p<0.01). ED vs. ED+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

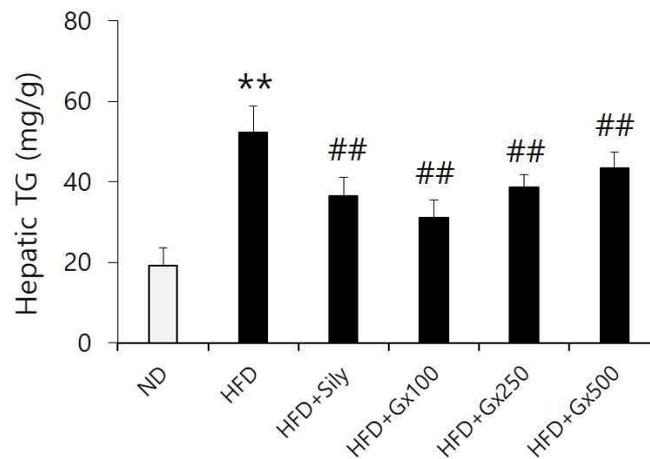


Figure 2-38. Compound K-fortified Ginseng concentrate (Gx) ameliorated HFD-induced triglycerides accumulation in mice.

(라) 혈청 분석

지방간에 의해 간기능의 일부가 손상되었는지 진단하기 위하여 혈액 내 관련 biomarkers 를 분석하였다. 분석된 지표는 총 9가지로 total protein, albumin, bilirubin, AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), cholesterol, HDL-c, LDL-c, TG (triglycerides) 등이었다(Table 2-22 & Fig. 2-39).

간의 합성기능을 나타내는 지표인 total protein과 albumin, 그리고 담즙분비 기능을 나타내는 bilirubin의 함량에는 모든 실험군에서 유의적 변화가 관찰되지 않았다. 혈중 중성지방 TG 함량은 high-fat diet 대조군(HFD)이 normal diet 대조군(ND)에 비해 ~2.1배 이상 유의적으로 높은 수치를 보여주었다. HFD+ Gx 실험군에서는 홍삼시료 처리농도와 관계없이 HFD 군에 비해 TG 함량이 모두 유의적으로 감소했다. 총 콜레스테롤, HDL-c, LDL-c의 함량은 high-fat diet 대조군(HFD)이 normal diet 대조군(ND)에 비해 모두 유의적으로 높은 수치를 보여 주었으나, HFD+ 실험군과 HFD 대조군과의 차이는 없었다. 한편 간기능이 손상되면 활성이 증가되는 것으로 알려진 AST와 ALT의 효소 활성에는 실험군별로 유의적 변화가 관찰되지 않았다.

Table 2-22. Serum parameters of mice groups in high-fat diet (HFD) model

M e t a b o l i c parameters	Animal Groups					
	ND	HFD	HFD+Sily	HFD+Gx100	HFD+Gx250	HFD+Gx500
Total protein (g/dL)	5.6±0.3	5.5±0.4	5.6±0.6	5.7±0.4	5.4±0.5	5.1±0.3
Albumin (g/dL)	3.8±0.3	3.9±0.3	3.7±0.4	4.0±0.4	3.8±0.5	3.7±0.5
Bilirubin (mg/dL)	0.0±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
TG (mg/dL)	66.1±8.8	140.7±26.0**	121.6±6.5 [#]	115.2±13.2 [#]	123.3±12.5 [#]	109.1±16.3 ^{##}
C h o l e s t e r o l (mg/dL)	107.9±6.3	185.3±22.5**	184.0±26.1	187.7±19.8	179.7±28.9	190.4±19.3
HDL-c (mg/dL)	93.1±5.3	161.4±19.6**	160.3±23.2	161.8±18.2	151.4±27.9	160.7±19.8
LDL-c (mg/dL)	8.3±1.7	19.9±2.9**	18.6±3.7	19.8±4.1	20.0±4.5	22.5±3.5
AST (U/L)	123.6±18.3	92.3±21.4	110.2±46.7	119.8±37.7	99.5±24.6	112.0±34.1
ALT (U/L)	30.4±4.1	24.6±4.5	26.6±9.2	35.0±12.1	30.3±16.6	33.5±5.3

Student's t test was performed for statistical analysis.

ED was compared with Con while ED+ groups were compared with ED.

Con vs. ED: * (p<0.05), ** (p<0.01). ED vs. ED+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

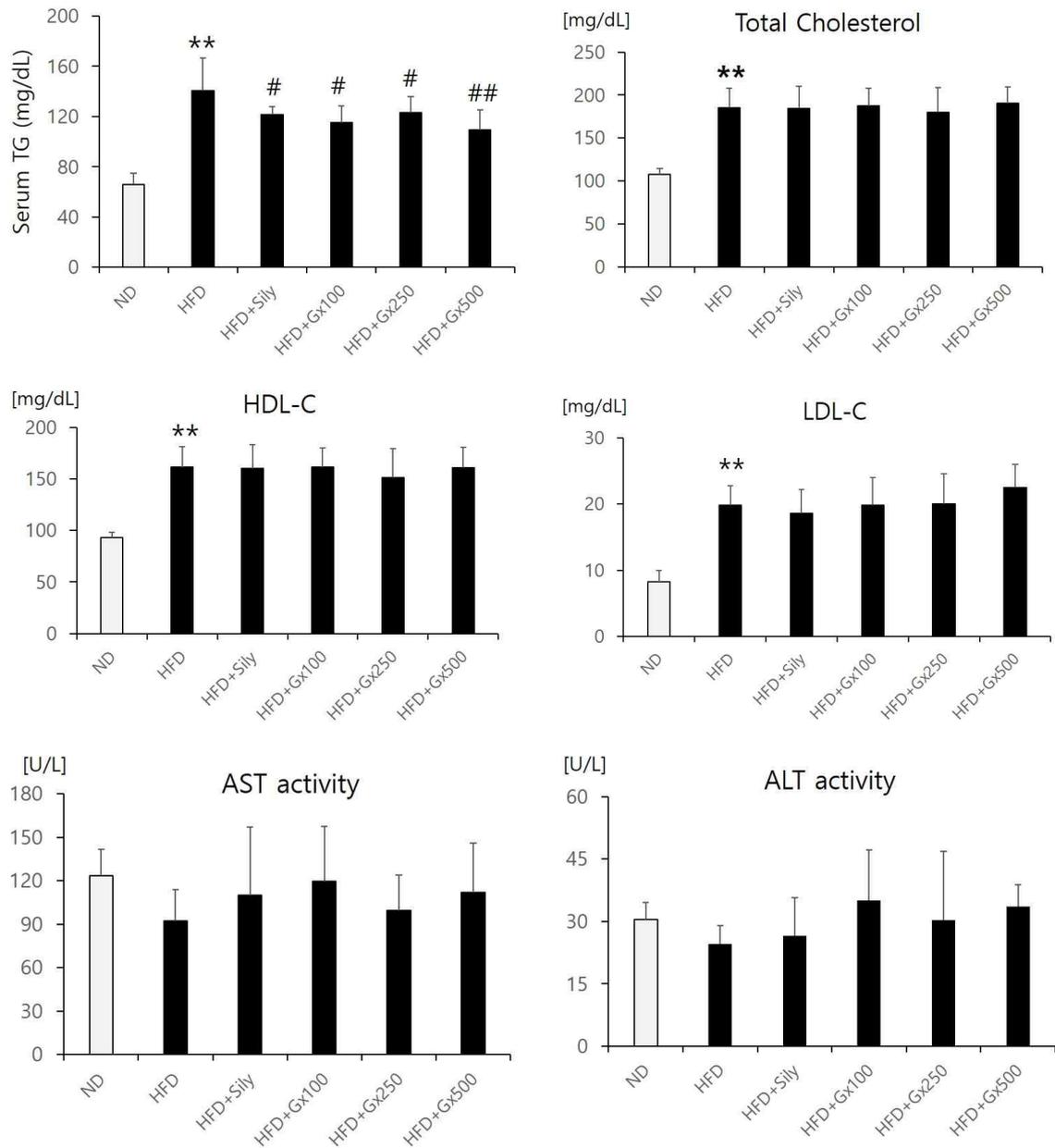


Figure 2-39. Analysis of the triglycerides, cholesterol, HDL-c, LDL-c, AST and ALT contents in mice sera of different experimental groups. (mean±SD, n=8~10)

Student's t test was performed for statistical analysis.

HFD was compared with ND while HFD+ groups were compared with HFD.

ND vs. HFD: * (p<0.05), ** (p<0.01). HFD vs. HFD+ samples: # (p<0.05), ## (p<0.01)

(마) 현미경 조직검사

간조직을 H&E staining과 Oil Red O staining 한 후 현미경으로 관찰하면 알콜성 지방간의 징후를 쉽게 볼 수 있었다. 또한 Gx 처리군은 중성지방의 축적도가 HFD 대조군에 비해 처리농도에 의존적으로 줄어드는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2-40 & Fig. 2-41).

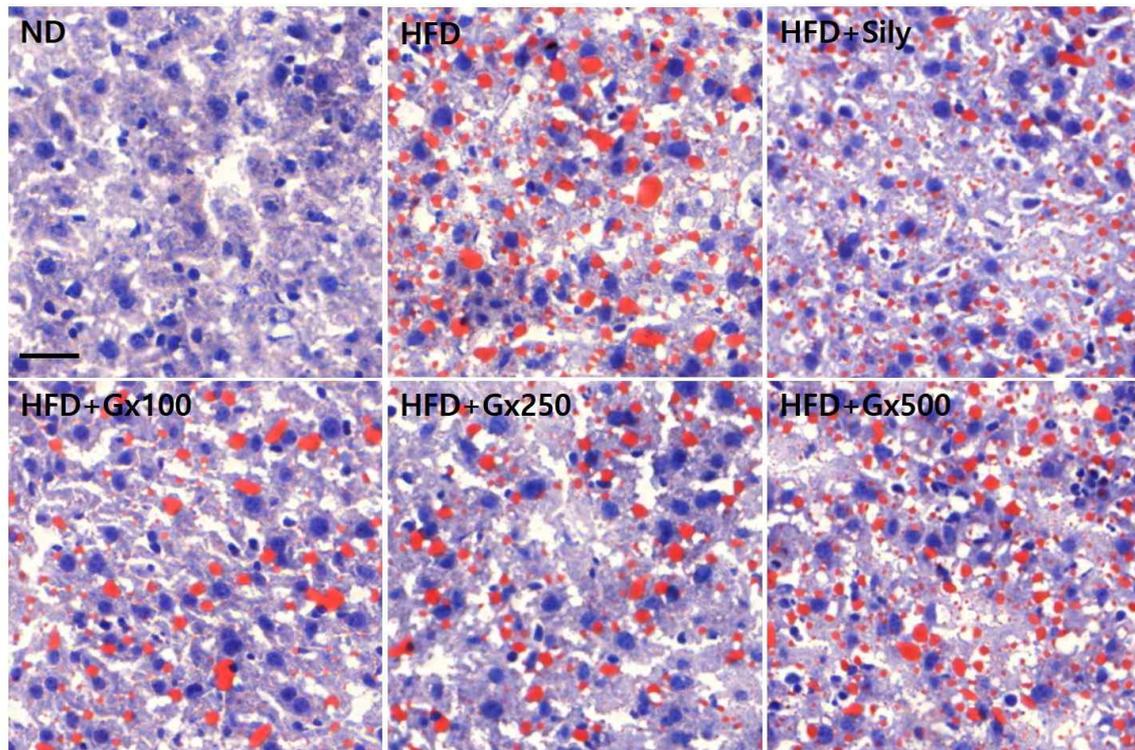


Figure 2-40. Oil red O staining of the liver tissues from different groups of mice.

Liver tissues from mice fed with normal diet (ND), high-fat diet (HFD), high-fat diet with silymarin (HFD+Sily), high-fat diet with Gx at 100 (HFD+ Gx100), 250 (HFD+ Gx250), and 500 (HFD+ Gx500) mg/kg/day. The bar equals 30 μ m in length.

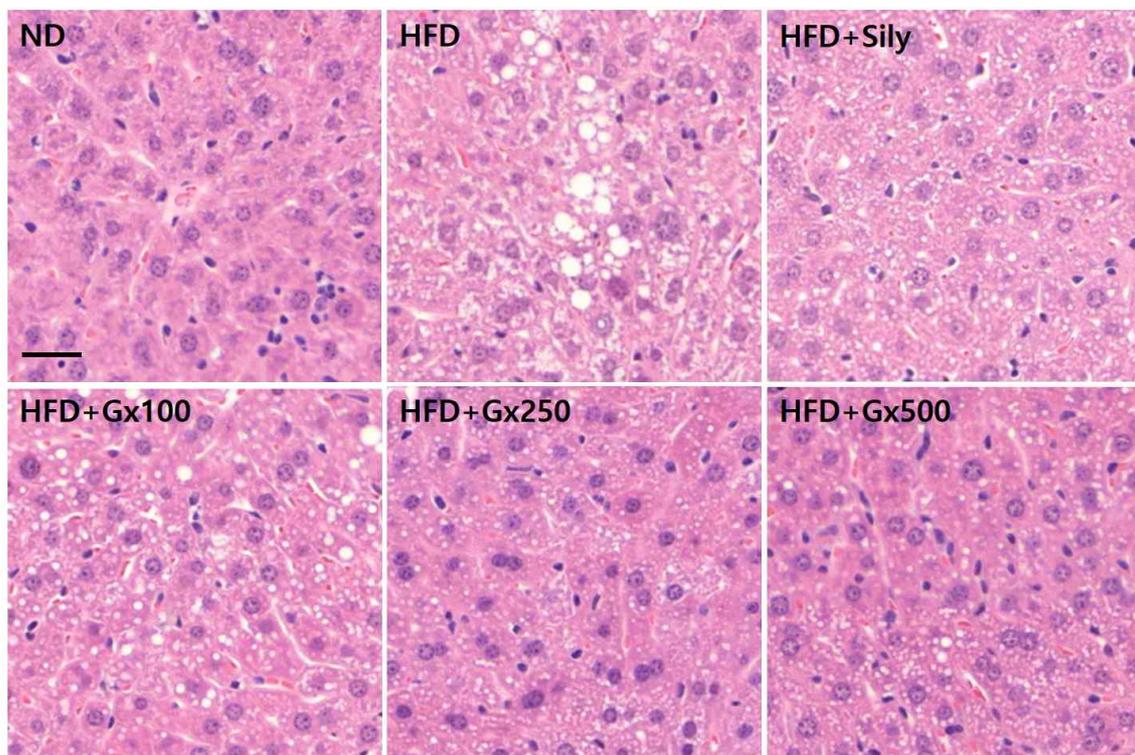


Figure 2-41. H&E staining of the liver tissues from different groups of mice. Liver tissues from mice fed with normal diet (ND), high-fat diet (HFD), high-fat diet with silymarin (HFD+Sily), high-fat diet with Gx at 100 (HFD+ Gx100), 250 (HFD+ Gx250), and 500 (HFD+ Gx500) mg/kg/day. The bar equals 30 μ m in length.

(바) 간조직에서 지질대사와 관련된 단백질들의 유전자 발현 분석

인삼소재가 간조직에서 지질대사를 조절하는 기작을 연구하기 위한 첫 단계로 간조직에서 지질의 생합성 (lipogenesis)과 분해 (lipolysis)에 관여하는 주요 단백질들의 유전자 발현을 real-time RT-PCR방법으로 분석하였다. 간세포에서 *de novo* lipogenesis를 조절하는 단백질로는 SREBP-1c(Sterol Regulatory Element Binding transcription factor 1), FAS(Fatty Acid Synthase), ACC(Acety-CoA Carboxylase), LXRα(Liver X Receptor Alpha) 등을 분석하였고, lipolysis를 조절하는 단백질로는 PPARα(Peroxisome Proliferator Activated Receptor Alpha)를 분석하였다. 유전자 발현 분석의 internal standard로는 housekeeping 유전자인 36B4(acidic ribosomal phosphoprotein P0)의 PCR이 사용되었다. SREBP-1c는 간세포에서 FAS와 ACC 등 지질 생합성 유전자들의 발현을 조절하는 전사인자인데 간세포 내 lipid sensor로 작동하는 LXRα의 주요한 표적 유전자이기도 하다. 따라서 어떠한 외부 신호에 의해 LXRα가 활성화되면 SREBP-1c 발현의 촉진을 통해 FAS 및 ACC 등 지질 생합성 효소 유전자들의 발현이 활성화되게 된다. 한편 PPARα는 지방산 산화를 촉진하는 단백질들의 유전자 발현을 촉진하는 것으로 알려져 있으며 lipolysis를 조절하는 주요한 전사인자이다.

간조직(~0.05g)에서 total RNA를 추출하기 위하여 RNeasy Lipid Tissue Mini Kit (Qiagen, Basel, Switzerland)를 사용하였다. total RNA 5µg과 GoScript™ Reverse Transcriptase (Promega, USA)를 사용하여 1st strand cDNA를 합성했다. Real time RT-PCR을 통한 유전자 발현분석을 수행하기 위하여 사용된 PCR primers의 염기서열은 다음과 같다.

Primer name (amplicon size)	Primer sequences (Forward and Reverse)
m36B4 (140bp)	Forward 5'-CCTGAAGTGCTCGACATCACA-3'
	Reverse 5'-GCGCTTGTACCCATTGATGA-3'
mSREBP-1c (106bp)	Forward 5'-CCACCGTCACTTCCAGCTAGAC-3'
	Reverse 5'-GTCGGCATGGTCCTGATTG-3'
mFAS (100bp)	Forward 5'-GGCAAGATAGATGAGATCATGCAT-3'
	Reverse 5'-CATCACTCTTCCCATGAGATTGG-3'
mACC (64bp)	Forward 5'-TGGTTCTTGGGTTGTGATCGA-3'
	Reverse 5'-TCGGTCAGCGTACATCTCCAT-3'
mLXRα (140bp)	Forward 5'-TGCCATCAGCATCTTCTCTG-3'
	Reverse 5'-GGCTCACCAGCTTCATTAGC-3'
mPPARα (140bp)	Forward 5'-CGGGAAAGACCAGCAACAAC-3'
	Reverse 5'-TGGCAGCAGTGAAGAATCG-3'

real-time RT-PCR 실험결과, 간세포 내 lipogenic genes 발현은 HFD 식이에 의해 유의적으로 활성화되었는데 Compound K 강화 인삼소재 처리에 의해 다시 그 발현이 억제됨을 알 수 있다(Fig. 2-42). 이러한 결과는 인삼소재가 LXR α -mediated SREBBP-1c induction 기작을 억제하여 HFD에 의해 활성화되었던 lipogenesis를 제어하는 작용을 하는 것으로 추론할 수 있다.

한편 지방산 산화를 조절하는 PPAR α 의 경우에도 간세포내 유전자 발현이 HFD 식이에 의해 증가되는 영향을 받았다. 그리고 인삼소재 Gx 250, 500 mg/kg 처리군에서는 HFD 대조군에 비해서 PPAR α 발현이 유의적으로 감소하는 것을 보여주었다(Fig. 2-43). 이것은 PPAR α 가 지방산 산화를 촉진하는 기능을 하는 것으로 알려진 것으로 비추어 볼 때 예상과 반대되는 결과이다.

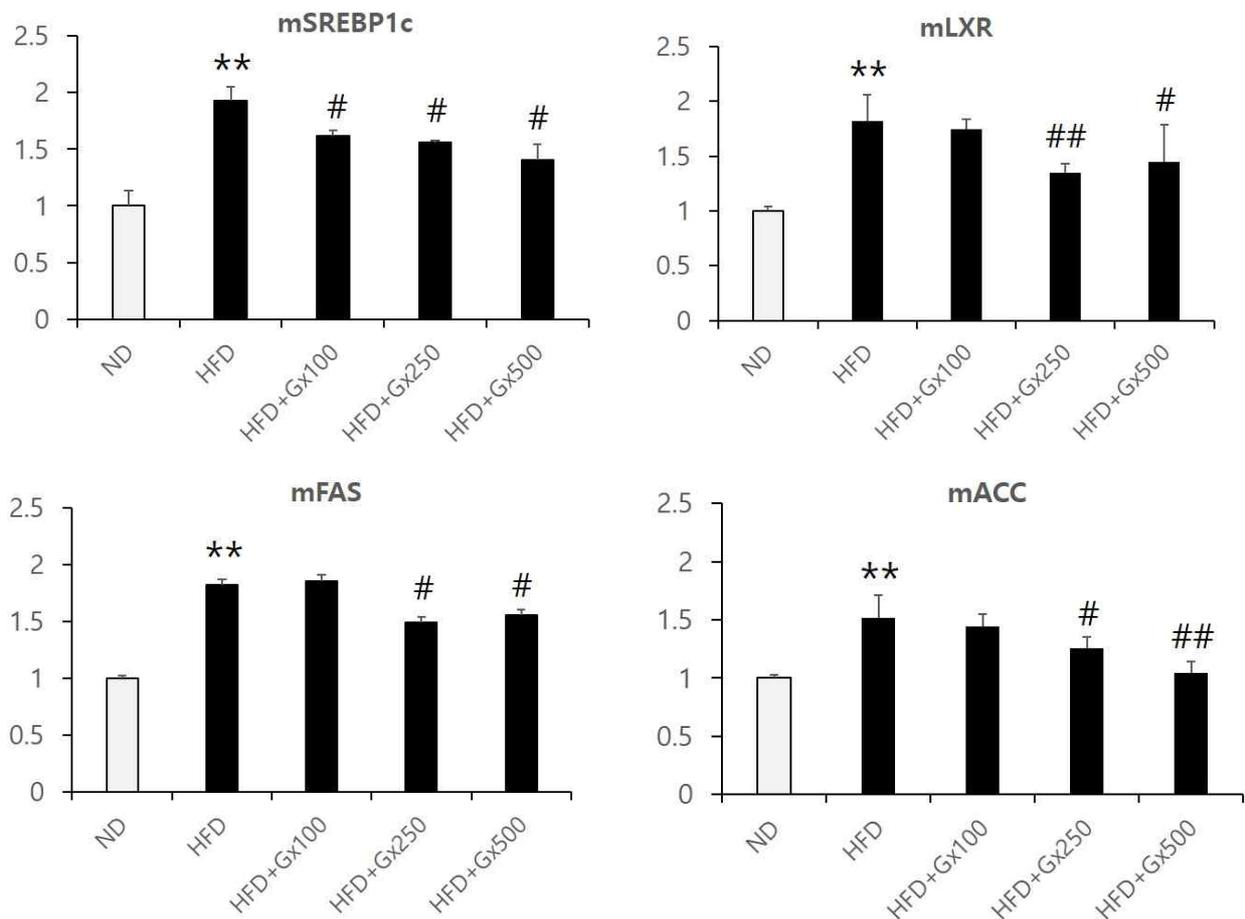


Figure 2-42. Effects of Compound K-fortified Ginseng concentrate (Gx) on lipogenic gene expression in the liver of HFD-fed mice. mRNA levels were measured using quantitative real-time RT-PCR and normalized to 36B4 levels. Values are mean \pm SD (n=3, each group). Student's t test.

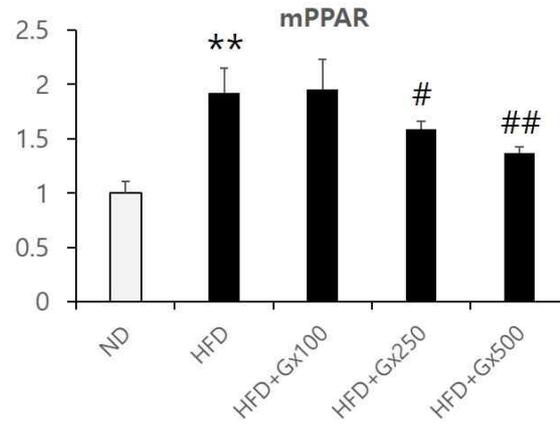


Figure 2-43. Effects of Compound K-fortified Ginseng concentrate (Gx) on PPAR α gene expression in the liver of HFD-fed mice. mRNA levels were measured using quantitative real-time RT-PCR and normalized to 36B4 levels. Values are mean \pm SD (n=3, each group). Student's t test.

제 3 절 건강 및 천연 추구 소비 트렌드에 맞춘 신개념 음료타입 인삼제품 개발 : 협동 2과제

1. 인삼원료의 적정 전처리공정과 최적 분산 안정성 공정 확립

가. 인삼의 원료의 적정 전처리 공정 확립

(1)수삼을 건조시킨 백삼 분쇄 가공적성 및 관능적 특성 조사

본 실험에 사용한 백삼은 표피(껍질)를 제거한 4년생 수삼을 건조시킨 백삼분말을 사용하였다. 많은 연구결과 보고들(김만옥,이정숙,남기열. 원료삼 부위별 사포닌함량에 관한 연구. 고려인삼학회지 8(1),8, 1984)(김만옥,고성룡. 고려 인삼근의 부위별 년근별 사포닌 함량 및 분포. 고려인삼학회지, 11(1),10, 1987)에 의하면 수삼에는 동체부위보다 표피와 세미부위에 사포닌 함량이 더 높은 것으로 알려져 있다. 인삼의 유효성분 중 가장 많이 효능이 알려져 있는 사포닌을 기준으로 할 때 사포닌이 동체보다 3-3.5배 많이 함유되어 있는 표피나 세미를 제거하고 소재로 사용하는 것은 사포닌과 같은 인삼의 주요 유효성분을 활용하는 측면에서는 조금 효율이 떨어지는 것으로 판단될 수 있다. 그러나 개발하고자 하는 제품이 건강기능식품 이라기 보다는 오히려 음료제형의 일반 인삼음료 형태로 소비되는 제품이라는 점을 감안할 때 소비자의 관능적 기호성 선호도가 가장 중요하게 생각된다. 예비시험 및 조사 결과 백삼을 소재로 사용하여 음료화할 때 인삼의 쓴맛을 어떻게 저감화시켜, 순화된 풍미를 나타내며, 조직감 측면에서도 부드러운 입안느낌을 갖게 하는 것이 매우 중요한 요소로 조사되었다.

따라서 본 실험에서는 위와 같은 예비시험과 타당성 조사를 진행하여 사포닌성분이 많이 함유되어 쓴맛을 많이 나타내고, 분말상태로 음료에 혼합시 입안느낌이 부드럽지 못한 표피를 제거한 4년근 백삼을 분말화하여 원료로 사용하였다. 또한 일반적으로 인삼 뿌리 전체에는 사포닌 함량이 높아 쓴맛이 두드러지는 세미부위가 전체무게의 약 20-30%로 차지하고 있다고 보고되어 있다. 음료의 제조시 인삼의 쓴맛에 대하여 제품을 소비할 소비자들이 그다지 선호하지 않는다는 점을 고려하여 쓴맛이 강하게 두드러지지 않도록 전체 분말 중에 세미가 포함되는 비율을 줄여서, 백삼 동체와 세미의 혼합비율을 9:1로 정하여 혼합한 백삼분말을 사용하는 것으로 결정하였다.

(2)백삼분말의 미세 분쇄화 조건

인간의 혀로 인식할 수 있는 입도는 약 20 μ m 정도 까지라고 보고되고 있으나, 선호하는 기호도는 첨가하는 식품의 종류, 상태 및 사람의 기호에 따라 조금 다르다고 알려져 있다. 본시험에서는 백삼분말을 사용하는 인삼음료 기호도를 입안느낌이 부드럽게 제조하기 위해서

는 백삼분말의 입도크기를 적어도 $20\mu\text{m}$ 이하로 분쇄하는 것이 필요하다는 전제조건하에서 적절한 미분쇄 공정을 검토하기로 하였다. 분쇄에 사용한 원료는 수분 함량 약 13%의 표피를 제거한 백삼을 사용하였다.

(가)백삼분말의 조분쇄

미분쇄실험시 1차적으로 백삼을 고속회전식 충격분쇄기(Cross Beater Mill)에 의해 beater 회전속도 2000rpm 조건에서 분쇄처리하여 0.5mm 스크린 통과분을 얻었다. 고속회전식 충격분쇄기로 분쇄한 분말의 입도분포는 표 1과 같다.

표 3-1. Cross Beater Mill 분쇄생성물의 입도분포($D_{p50} \approx 147\mu\text{m}$)

Micrometer	296	249	228	209	148	62	52	40	31	22	11
Cumulative Undersize Percentage	93.7	82.5	74.3	66.1	50.1	42.2	35.9	21.0	10.3	5.3	1.5

위와 같이 고속회전식 충격분쇄기를 통과시켜 얻은 백삼분말의 입자크기는 $D_{p50} \approx 147\mu\text{m}$ 정도로 그대로 음료의 소재로 사용하기에는 매우 커서 입안느낌이 부드럽지 못하였다.

(나)백삼분말의 미분쇄

미분쇄는 진동분쇄기(vibration mill)와 마멸분쇄기(attrition mill)을 사용하여 보다 곱게 분쇄하는 미분쇄시험을 실시하였다. 2가지 분쇄기 모두 분쇄기내에 볼(ball)을 넣어 입자를 분쇄하는 시스템으로서 분쇄 조건은 표 2와 같다.

표 3-2. 미분쇄에 사용한 진동분쇄기와 마멸분쇄기의 분쇄조건

Types of mill	Vibration mill	Attrition mill
Mill dimension	-밀 내용적 2L(184D X 230L)	-포트 내용적 1L
Operating conditions	-볼 충전량 : 60vol% -시료 장입량 : 30vol% -진동수 : 1000vpm -분쇄시간 : 15~240 min	-볼 충전량 : 50vol% -시료 장입량 : 40vol% -회전속도 : 400rpm -분쇄시간 : 15~180min

위와 같은 조건으로 진동분쇄기와 마멸분쇄기로 2차 분쇄를 실시하여 얻은 백삼분말의 입자는 각각 그림 3-1, 3-2와 같다.

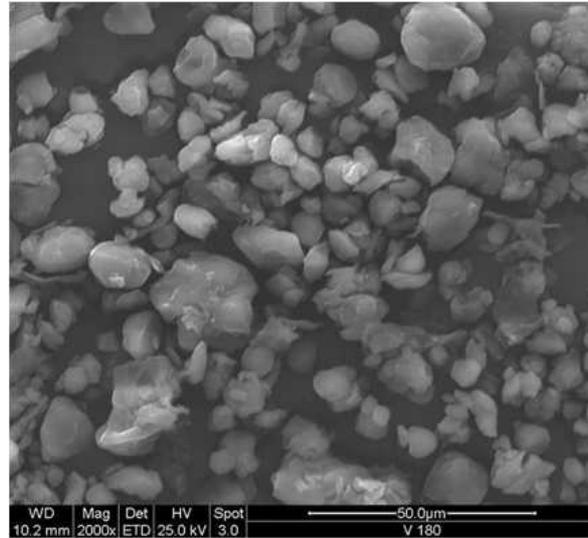


그림 3-1. 진동분쇄기에서 180분 분쇄한 백삼분말 입자

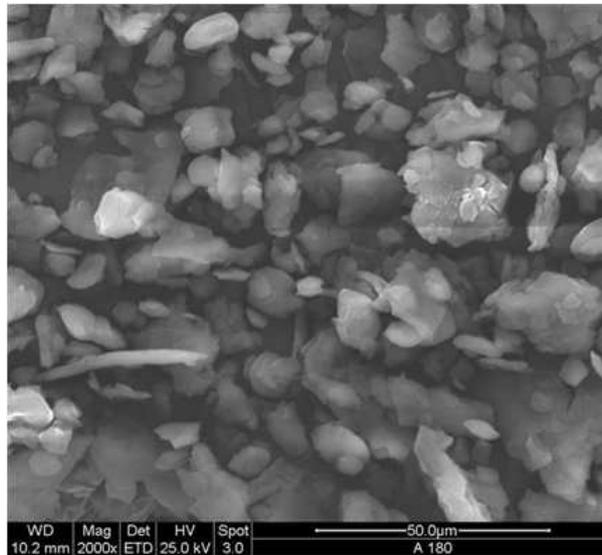


그림 3-2. 마멸분쇄기에서 180분 분쇄한 백삼분말 입자

입도분포를 측정한 결과 두가지 분쇄기에서 분쇄한 백삼분말 모두 $D_{p50} \approx 20\mu\text{m}$ 정도로 50%의 입자들은 $20\mu\text{m}$ 를 넘어서서 음료로 제조하기 위한 현탁액으로 분산시 입안느낌이 부드럽지 못하였다. 따라서 만족할만한 입자크기의 백삼분말을 얻기 위하여 3차 초미세분쇄를 실시하였다.

(다)초미분쇄

3차분쇄는 그림 3-3과 같은 제트밀(jet mill)을 사용하여 초미세분쇄시험을 실시하였다.



그림 3-3. 제트밀

결론적으로 분쇄시 압축공기량: 6kg/cm^2 , 시료공급량: $4\text{-}14\text{kg/hr}$ 정도로 분쇄시험을 진행하여 얻은 백삼분말의 입자크기는 $D_{p50} \approx 9\mu\text{m}$ 정도로 나타났으며, 현탁액으로 분산시 입안느낌도 매우 부드럽게 느껴져 관능적 특성이 매우 우수하고, 입자크기가 적합한 것으로 나타났다.

자세한 Jet mill 시험내용을 살펴보면, Vibration Mill 및 Attrition Mill에서 얻은 2차분쇄물 ($D_{p50} \approx 20\mu\text{m}$)을 원료로 하여 2단계로 Jet Mill 분쇄처리해본 결과는 그림 4와 같다. 그림에서 1 pass는 1차 Jet Mill 처리한 미세분쇄물이고, 2 pass는 1 pass를 2차 Jet Mill 처리한 미세분쇄물이다. 반복 분쇄처리 함으로써 입자경이 약 $11\mu\text{m}$ 에서 $7\mu\text{m}$ 수준으로 감소되는 것으로 나타났다.

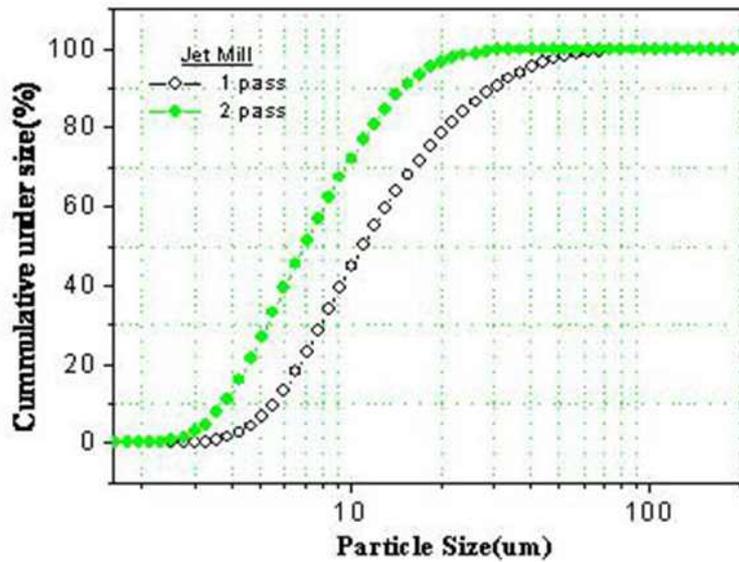


그림 3-4. Jet mill 처리 횟수에 따른 백삼분말의 입도분포

위와 같은 시험결과를 종합하면 인삼은 섬유질이 많이 함유되어 있으므로 분쇄기작면에서 볼 때 압축력이나 마쇄력보다 충격력이나 전단력 또는 그 복합작용력을 가해주는 분쇄장치가 적합한 것으로 판단된다. 결론적으로 백삼의 미세분쇄화 공정을 검토한 결과 제품 수율, 생산 원가 등을 감안해 볼 때 조분쇄, 미분쇄, 초미분쇄의 3단계로 나뉘어서 분쇄를 진행하는 것이 적절한 것으로 판단된다.

나. 배합비에 따른 인삼음료의 이화학적 특성

(1) 재료

위에서와 같이 초미세분쇄한 백삼분말은 동체와 세미를 9:1로 혼합하여 사용하였다. 기타부 재료로는 액상과당, 식물성크림, 생약추출물, 정제수 등을 사용하였다. 호화미분은 압출성형으로 호화시킨 것을 열풍 roaster를 통과시켜 로스팅하고, 분쇄하여 100mesh를 통과한 분말을 사용하였다. 호화옥분도 위의 호화미분과 같은 공정을 거친 분말을 사용하였다.

(2) 천연 유화 및 안정제로서의 호화미분 및 호화옥분 적용 가능성 시험

기존 C사의 인삼음료를 참고하여 기존 인삼음료에 함유되어 있는 식물성크림과 유화제를 천연성분으로 대체하여 천연성분으로 구성되는 새로운 인삼음료의 배합 가능성을 조사해보았다. 표 3-3은 식물성크림을 천연의 안정제와 유화제 역할을 할 수 있는 호화미분과 호화옥분으로 대체하여 첨가비율에 따른 관능적 특성을 조사하기 위한 기본 배합비이다.

표 3-3. 호화미분과 호화옥분 첨가한 인삼음료 배합비

성분	Control	배합비1 (호화미분0.5 part)	배합비2 (호화미분 1.0 part)	배합비3(호화미분 1.5 part)	배합비4 (호화미분 2.0 part)	배합비5 (호화옥분 1.0 part)
백삼분말	일정량	일정량	일정량	일정량	일정량	일정량
액상과당	일정량	일정량	일정량	일정량	일정량	일정량
식물성크림	18.3g	0g	0g	0g	0g	0g
호화미분 (호화옥분)	0g	9.15g	18.3g	27.45g	36.6g	18.3g (호화옥분)
생약추출물	일정량	일정량	일정량	일정량	일정량	일정량
정제수	-	-	-	-	-	-
합계	500g	500g	500g	500g	500g	500g

(가) 배합비 1

배합비 1은 기존의 배합비에서 사용된 식물성크림을 빼고 식물성크림의 0.5배에 해당하는 호화미분을 첨가한 배합비이다. 식물성크림을 넣은 대조구보다 인삼의 쓴맛이 더 강하고, 덜 부드럽다. 색깔도 더 갈색이고, 침전도 급격히 진행되었다.

(나) 배합비 2

배합비 2는 기존의 배합비에서 사용된 식물성크림을 빼고 식물성크림의 1.0배에 해당하는 호화미분을 첨가한 배합비이다. 인삼의 쓴맛은 대조구와 비슷한 정도이나, 아직도 부드러운 맛이 조금 떨어진다. 호화미분 특유의 구수한 맛이 나타나 인삼의 쓴맛이 줄어드는 효과를 나타내는 것으로 판단된다. 성상도 증점제를 넣은 것과 같은 점성을 나타내고 있다. 배합비1 보다 더 진한갈색이다.

(다) 배합비 3

배합비 3은 기존의 배합비에서 사용된 식물성크림을 빼고 식물성크림의 1.5배에 해당하는 호화미분을 첨가한 배합비이다. 인삼의 쓴맛은 대조구보다도 적게 느껴진다. 호화미분 특유의 구수한 맛이 배합비 2보다 강하게 나타나 인삼의 쓴맛이 줄어드는 효과를 나타내는 것으로 판단된다. 하지만 구수한 맛이 좀 강하여 인삼 맛이 적게 나타나는 것이 바람직하게 생각되지는 않는다. 성상은 점성이 강하여 침전이 잘 진행되지 않는다. 배합비 2 보다 더 진한갈색이다.

(라) 배합비 4

배합비 4는 기존의 배합비에서 사용된 식물성크림을 빼고 식물성크림의 2.0배에 해당하는 호화미분을 첨가한 배합비이다. 인삼의 쓴맛은 대조구보다도 매우 적게 느껴진다. 호화미분 특유의 구수한 맛이 배합비 3보다 강하게 나타나 인삼의 쓴맛이 크게 줄어드는 효과를 나타내는 것으로 판단된다. 하지만 호화미분의 구수한 맛이 너무 강하여 인삼음료라는 느낌이 들지 않는다. 성상은 너무 걸쭉한 정도로 점성이 강하다. 배합비 3 보다 더 진한갈색이다.

(마) 배합비 5

배합비 5는 기존의 배합비에서 사용된 식물성크림을 빼고 식물성크림의 1.0배에 해당하는 호화옥분을 첨가한 배합비이다. 같은 양의 호화미분을 사용했을 때보다도 구수한 맛이 너무 두드러져 인삼의 쓴맛은 대조구보다도 상당히 적게 느껴지나, 인삼의 향을 너무 덮어버리는 것으로 판단된다. 호화미분과 호화옥분을 사용한 예비시험의 관능적 특성조사 결과를 종합해보면, 호화미분이 호화옥분보다 인삼의 고유한 향에 더 어울리는 것으로 판단되며, 호화미분의 적정 첨가량은 식물성크림을 전량 대체하는 호화미분 1.0 part 첨가량 보다 적은 (호화미분 첨가량) 범위에서 적절한 배합비를 설정할 수 있을 것으로 판단되어 추가 배합시험을 실시하였다.

한편 위의 배합비에서 사용한 생약추출물은 구기자를 비롯한 여러 가지 식용생약재의 복합물로서 주관기업의 배합비 보안차원에서 자세히 밝힐 수 없음을 이해하여 주시기 바랍니다.

(3) 무지방우유 적용 가능성 시험

표 3-4. 무지방우유를 첨가한 인삼음료 배합비

성분	control	배합비1 (무지방우유 0.5 part)	배합비2 (무지방우유 1.0 part)	배합비3 (무지방우유 2.0 part)
백삼분말	일정량	일정량	일정량	일정량
액상과당	일정량	일정량	일정량	일정량
식물성크림	18.3g	0g	0g	0g
무지방우유	0g	9.15g	18.3g	36.6g
생약추출물	일정량	일정량	일정량	일정량
정제수	-	-	-	-
합계	500g	500g	500g	500g

(가) 배합비 1

배합비 1은 기존의 인삼음료 배합비에서 사용된 식물성크림을 빼고 식물성크림의 0.5배에 해당하는 무지방 우유를 첨가한 배합비이다. 첫맛이 부드럽지 못하고, 인삼의 쓴맛도 그다지 줄어들지 않으며, 인삼의 수삼같은 신선한 향도 깔끔하게 남지 않는다.

(나) 배합비 2

배합비 2는 기존의 인삼음료 배합비에서 사용된 식물성크림을 빼고 식물성크림의 1.0배에 해당하는 무지방 우유를 첨가한 배합비이다. 대조구보다도 첫맛은 부드러운 우유맛이 느껴진다. 쓴맛은 많이 줄어들었으면서도 뒷맛으로 인삼의 신선한 향이 깔끔하게 남는다.

(다) 배합비 3

배합비 3은 기존의 인삼음료 배합비에서 사용된 식물성크림을 빼고 식물성크림의 2.0배에 해당하는 무지방우유를 첨가한 배합비이다. 첫맛은 너무 우유처럼 부드럽다. 인삼의 쓴맛도 매우 적게 느껴지며, 인삼의 신선한 향도 배합비 2보다 약하게 뒷맛으로 남아서 인삼라떼 개념으로 가면 좋을 듯하다.

종합적으로 판단할 때 대다수의 패널들이 무지방 우유를 첨가한 첨가군들은 관능적 특성이 라떼음료와 같은 풍미가 느껴진다고 묘사하였다. 무지방 우유를 1.5-2.0part 첨가하여 인삼라떼 스타일의 음료로 개발하는 것도 가능할 것으로 판단된다.

(4) 호화미분과 무지방우유 첨가에 따른 인삼음료의 이화학적 특성

위의 소재적용을 위한 시험 조사결과를 바탕으로 호화미분과 무지방우유 첨가량에 따른 인삼음료배합비들의 이화학적 특성들을 검토하였다. 인삼음료 배합시 호화미분 첨가량은 기존의 제품에 첨가되는 식물성크림 첨가량을 1.0 part로 기준할 때, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 part로 첨가하였다. 무지방우유 첨가량은 0.5, 1.0, 2.0 part로 첨가하였다. 호화미분 첨가구들의 경우 첨가후 균질화공정후 침전도 상태를 조사하기 위하여 압력을 300, 500, 1000 bar로 균질화 처리를 실시하였다. 균질화한 인삼음료와 균질화전 인삼음료, 무지방 우유 첨가군들에 대하여, 점도, 색도, 침전도 시험, 관능검사를 실시하여 적절한 성분들의 배합비를 제시하고자 하였다.

(가) 점도

기본적인 배합비 범위를 설정하기 위한 위의 호화미분 첨가 배합시험에서 호화미분(을) 첨가하였을때 음료의 여러 가지 관능적 특성이 좋은 것으로 평가되었으나 형성되는 물성의 부족한 부분과 침전물 생성 등이 우려되었다. 따라서 호화미분을 첨가하고 균질화 시키는 압력에 따라 점도를 살펴보았다. 점도 측정에 사용하기 위하여 제조한 인삼음료의 기본적인 성분배합비는 표5와 같으며, 기존의 제품에 첨가되는 식물성크림 첨가량을 1.0 part로 하여 비율별로 호화미분을 첨가하고, 균질기(Homogenizer)를 통과시킬 때 균질화 압력을 300, 500, 1000bar로 조절하여 균질화된 인삼음료를 제조하여 점도를 측정하였다. 한편 균질화 시키지 않은 무지방우유 첨가군들과 기존 C사의 인삼음료에 대해서도 점도를 측정하였다.

측정에 사용한 점도계 및 조건은 다음과 같다. 점도계는 Brookfield Programmable DV-II+ Viscometer, USA 이었으며, 사용한 spindle은 spindle No.1, 100RPM에서 측정하였으며, 50 ml conical tube를 시료용기로 사용하였다. 측정된 점도는 시료자체의 고유점도가 아니라, 일정한 전단속도에서 상대적으로 시료간의 겔보기점도를 측정하여 비교한 것으로서 시료간의 차이는 분명하게 나타낼 수 있었다.

표 3-5. 점도측정을 위해 제조한 인삼음료의 기본 배합비

성분	Control
백삼분말	일정량
액상과당	일정량
식물성크림	18.3g
호화미분	적정량
생약추출물	일정량
정제수	-
합계	500g

표 3-6. 호화미분 및 무지방우유 첨가와 균질화 압력에 따른 인삼음료의 점도 변화

(단위 : cP)

첨가성분	첨가량	균질화전	균질화압력(bar)		
			300	500	1000
식물성 크림	18.3g(1.0 part)	124.8	148.8	180.0	259.1
호화미분	0.4 part	156.0	164.4	269.9	587.9
	0.6 part	205.2	206.4	362.3	664.7
	0.8 part	370.0	278.3	379.1	721.0
	1.0 part	705.0	335.9	478.7	780.8
	무지방우유	0.5 part	123.6		
	1.0 part	122.4			
	2.0 part	147.6			
	1.0 part + 증점제 일정량	200.4			
기존 C사 인삼음료	-	1086			

표 3-6에서 보는바와 같이, 식물성크림 첨가구는 균질화 전보다는 균질화 후에, 그리고 균질화 압력이 증가할수록 점도도 증가하는 경향을 보였다. 균질화 전을 비교해 보면, 식물성크림 대신 호화미분을 첨가한 인삼음료군들이 모두 식물성크림 첨가구보다 높은 점도를 보였다. 물론 호화미분 첨가량이 증가할수록 그에 비례하여 점도도 크게 증가되는 것으로 관찰되었다. 이는 호화미분 첨가량이 증가할수록 호화된 미분의 음료 matrix속에서 수화겔 형성이 증가되기 때문으로 판단된다.

0.6 part 이하로 호화미분을 첨가한 시료군들에서는 균질화 하기전보다 균질화 한 후에 점도가 증가하였으며 이러한 점도의 증가경향은 압력이 높아질수록 뚜렷했다. 이는 균질화 한 후, 그리고 압력이 증가할수록 호화정도가 증가하고 호화된 입자들이 더 고르게 분포하기 때문으로 사료된다. 하지만, 호화미분 0.8part이상에서는 균질화하기 전의 점도가 500 bar이하의 압력에서 균질화된 시료보다 오히려 높게 나타났다. 이는 균질화하기전이라도 일정량 이상의 호화미분이 첨가되면 일반 혼합과정에서 호화미분에 의해 생성되는 수화된 겔 형성이 증가하여 점도가 상당히 증가하는데 비교적 낮은 균질화 압력에서 어느 정도의 균질화는 이루어졌지만, 형성되어 있던 수화된 겔이 깨지면서 점도가 감소한 것으로 판단된다. 500 bar이상의 높은 압력으로 균질화시키면 수화에 의해 형성된 겔은 깨져버렸지만, 고도의 충분한 균질화가 진행되면서 균질화하기전 이상의 점도를 나타내는 것으로 사료된다. 무지방 우유를 호화미분이나 식물성크림 대신 첨가시 양이 증가할수록 점도도 다소 증가하는 경향이 있고 증점제를 첨가하면 점도가 더 증가하지만 호화미분 0.6 part 첨가구 정도의 점도를 나타냈다. 한편, 위의 배합비에 사용된 증점제 역시 복합증점제로서 CMC를 비롯한 여러 가지의 증점제가 혼합된 상태이나, 주관기업의 보안에 따라 자세히 기술하지 못하는 점을 이해하여 주시기 바랍니다.

(나) 색도

색도측정에 사용하기 위하여 제조한 인삼음료의 기본적인 성분배합비는 표 5의 점도 측정시와 같으며, 식물성크림 첨가량을 1.0 part로 하여 비율별로 호화미분을 첨가하고, 균질기(Homogenizer)를 통과시킬 때 균질화 압력을 300, 500, 1000bar로 조절하여 균질화된 인삼음료를 제조하여 색도를 측정하였다. 한편 균질화 시키지 않은 무지방우유 첨가군들과 기존 C사의 인삼음료에 대해서도 색도를 측정하였다. 색도측정은 Color and color difference meter(Model: Hunter Lab Color Quest II, USA) 를 사용하였으며, CIE color system내의 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값으로 나타내었다. 이때 표준백색판의 L, a, b값은 각각 99.91, 0, 0 이었다.

표 3-7. 호화미분 및 무지방우유 첨가와 균질화 압력에 따른 인삼음료의 색도 변화

첨가성분	첨가량	균질화압력 (bar)	L	a	b
식물성 크림	18.3g(1.0 part)	0	0.07	0.45	0.11
		300	0.06	0.38	0.10
		500	0.05	0.33	0.08
		1000	0.08	0.55	0.14
호화미분	0.4 part	0	1.74	6.74	2.98
		300	1.14	4.56	1.82
		500	1.07	4.42	1.72
		1000	2.24	8.22	3.60
	0.6 part	0	1.17	4.94	1.96
		300	0.77	3.33	1.26
		500	0.78	3.32	1.27
		1000	1.35	5.44	2.25
	0.8 part	0	1.15	4.85	1.97
		300	0.71	3.18	1.16
		500	0.75	3.29	1.25
		1000	1.16	4.71	1.91
1.0 part	0	0.84	3.71	1.43	
	300	0.54	2.61	0.93	
	500	0.57	2.61	0.96	
	1000	0.82	3.57	1.41	
무지방우유	0.5 part		4.40	13.95	7.30
	1.0 part		0.90	3.87	1.50
	2.0 part		0.16	0.96	0.28
	1.0 part+ 증점제 일정량		0.34	1.80	0.58
기존 C사 인삼음료			0.11	0.70	0.18

각각 제조된 인삼음료 시료에 대해서 색도를 측정된 결과는 표 3-7과 같다. 식물성크림을 첨가한 인삼음료가 대체적으로 호화미분이나 무지방 우유 첨가구 보다 큰 차이는 아니지만, 약간 낮은 L값을 나타내며 좀 더 밝은 색을 나타냈고, 균질화에 의한 차이는 보이지 않았다. 호화미분을 첨가하였을 때 첨가량이 증가할수록 L값이 약간씩 감소하는 경향을 보여 1.0 part를 첨가하였을 때 가장 낮은 L값을 보였다. 그러나 균질화 압력에 따른 L, a, b값의 변화는 그다지 크지 않았다. 무지방 우유를 식물성크림 대신 첨가하였을 때 0.5 part 에서 가장 높은 L값을 보였으며, 무지방 우유 첨가량이 증가할수록 L값이 크게 줄어들어서 2.0 part 첨가시 식물성크림 첨가할 때의 L값에 근접했다.

식물성크림과 무지방 우유 첨가군들이 호화미분 첨가군들 보다 좀 더 밝은 백색을 나타내었으나, 전체적으로 시료간의 색도차이는 크지 않은 것으로 나타났다. 시료간의 색도차이보다는 배합후 음료의 성상이 얼마나 균질하게 유지되는지가 더욱 중요하다고 판단된다.

(다) 입도

입도측정에 사용하기 위하여 제조한 인삼음료의 기본적인 성분배합비는 표 5의 점도측정시와 같으며, 식물성크림 첨가량을 1.0 part로 하여 비율별로 호화미분을 첨가하고, 균질기(Homogenizer)를 통과시킬 때 균질화 압력을 300, 500, 1000bar로 조절하여 균질화된 인삼음료를 제조하여 입도를 측정하였다. 한편 원료로 사용된 백삼분말, 균질화 시키지 않은 무지방 우유 첨가군들과 기존 C사의 인삼음료에 대해서도 입도를 측정하였다. 입도측정은 Particle size analyzer(Cilas particle size analyzer 1190, France)를 사용하여 입도분포를 측정하였다.

표 3-8에서와 같이 식물성크림 첨가군의 균질화 압력에 따른 입도분포를 측정된 결과 균질화하기 전과 한 후의 입도의 차이가 크지 않은 것으로 관찰되었다. 반면 호화미분을 첨가한 시료에서는 균질화하기 전과 후에 큰 입도차이를 보였다. 균질화하기 전 입도크기가 매우 큰 것으로 나타났지만, 균질화 한 후 입도의 크기는 크게 감소하는 것으로 나타났다. 이는 균질화하기 전에는 호화미분이 현탁액 속에서 수화되어 복합겔을 형성하므로 큰 입자들과 작은 입자들이 혼재된 상태로 현탁액을 구성하고 있지만, 균질화 공정을 거치면서 입자들이 부셔지고 균질화되어 평균적인 입도크기가 작아지는 것으로 판단된다. 그림 3-5에서 보듯이 호화미분 첨가량과 균질화 압력이 증가할수록 입자크기가 균일화되고 평균크기도 작아지는 것을 볼 수 있다.

표 3-8. 호화미분 및 무지방우유 첨가와 균질화 압력에 따른 인삼음료의 입도분포

첨가성분	첨가량	균질화압력 (bar)	Diameter at 50 %	Diameter at 90 %	Mean diameter
식물성 크림	18.3g(1.0 part)	0	10.18	20.17	11.09
		300	7.66	16.15	8.64
		500	7.26	17.52	8.78
		1000	8.27	24.69	11.25
호화미분	0.4 part	0	90.38	257.55	115.21
		300	8.32	21.03	10.73
		500	8.48	24.75	11.61
		1000	15.25	50.04	21.94
	0.6 part	0	102.04	269.65	124.56
		300	8.55	21.0	10.62
		500	8.19	21.76	10.58
		1000	10.23	27.79	13.27
	0.8 part	0	108.79	272.16	129.37
		300	9.21	22.43	11.56
		500	8.46	22.94	11.19
		1000	9.67	24.71	12.28
1.0 part	0	109.58	272.76	130.31	
	300	9.30	23.54	12.17	
	500	8.36	21.73	10.66	
	1000	8.84	22.09	11.01	
무지방우유	0.5 part		12.96	229.24	61.68
	1.0 part		12.51	222.27	57.55
	2.0 part		12.30	171.81	47.68
	1.0 part + 증점제 일정량		16.61	91.70	35.23
기존 C사 인삼음료			9.54	25.54	12.10
백삼분말 현탁액			10.33	19.72	11.09

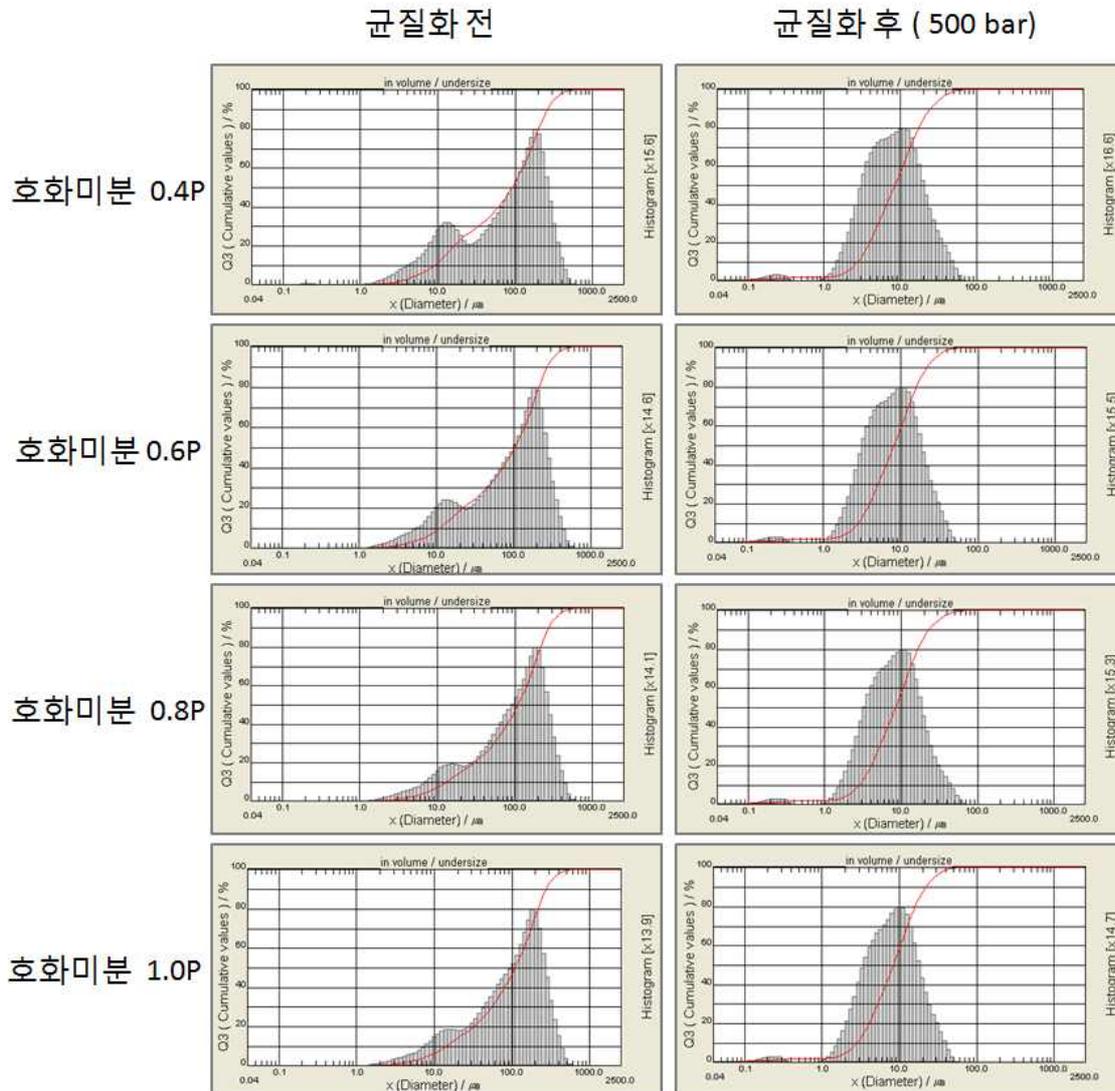


그림 3-5. 호화미분첨가량과 균질화 압력에 따른 입도분포 변화

종합적으로 판단할 때 식물성크림 대신 호화미분을 첨가균에서 균질화압력은 1000bar의 높은 압력보다, 500bar 정도로 균질화 시킬 때 평균입도크기가 전반적으로 작게 나타났으며, 기존 음료의 입자크기와도 유사한 것으로 나타났다.

무지방 우유 첨가균은 대체로 47-61 μ m 정도의 입도크기를 나타내었다. 무지방 우유 첨가량이 증가할수록 전체 평균입도크기가 감소하는 것으로 나타났다. 전체적으로는 아래 그림처럼 대표적으로 무지방 우유 1.0 part 첨가균의 입도분포에서 볼 수 있듯이 전체적으로 입도 분포가 불규칙한 복합물의 형태를 보였다. 그러나 그림 3-7과 같이 증점제를 첨가했을 때는 증점제에 의해서 입자가 서로 결합되어 그림 3-6에서 보다 균일도가 증가하는 복합물의 형태를 나타내었으며 평균입도크기도 35.23 μ m로 상당히 감소하는 것으로 나타났다.

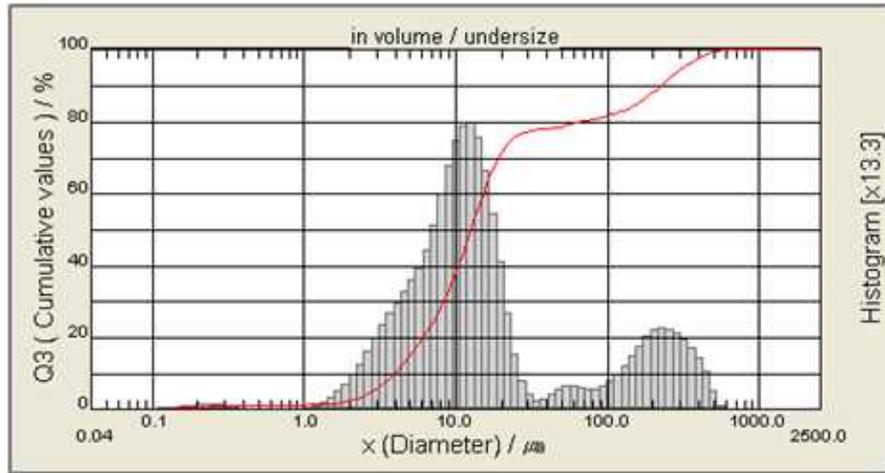


그림 3-6. 무지방우유 1.0 part 첨가군의 입도분포

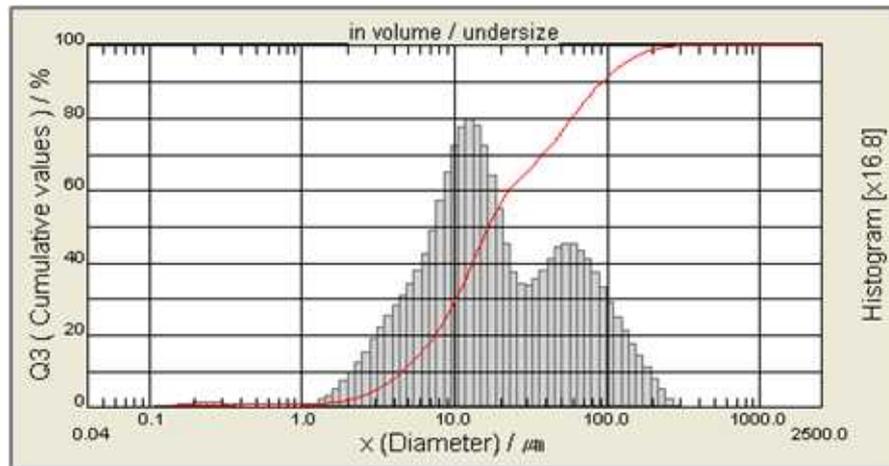


그림 3-7. 무지방우유 1.0 part+ 증점제 첨가군의 입도분포

(라) 침전도 측정

침전도 측정에 사용하기 위하여 제조한 인삼음료의 기본적인 성분 배합비는 점도측정시와 같으며, 식물성크림 첨가량을 1.0 part로 하여 비율별로 호화미분을 첨가하고, 균질기(Homogenizer)를 통과시킬때 균질화 압력을 300, 500, 1000bar로 조절하여 균질화된 인삼음료를 제조하여 침전도 측정하였다. 균질화 시키지 않은 무지방 우유 첨가군들에 대해서도 침전도를 측정할결과는 그림 8과 같다. 측정조건은 50mL짜리 투명 유리병에 시료를 담고 상온에 정치시킨후 시간별로 침전되는 양상을 관찰하였다.

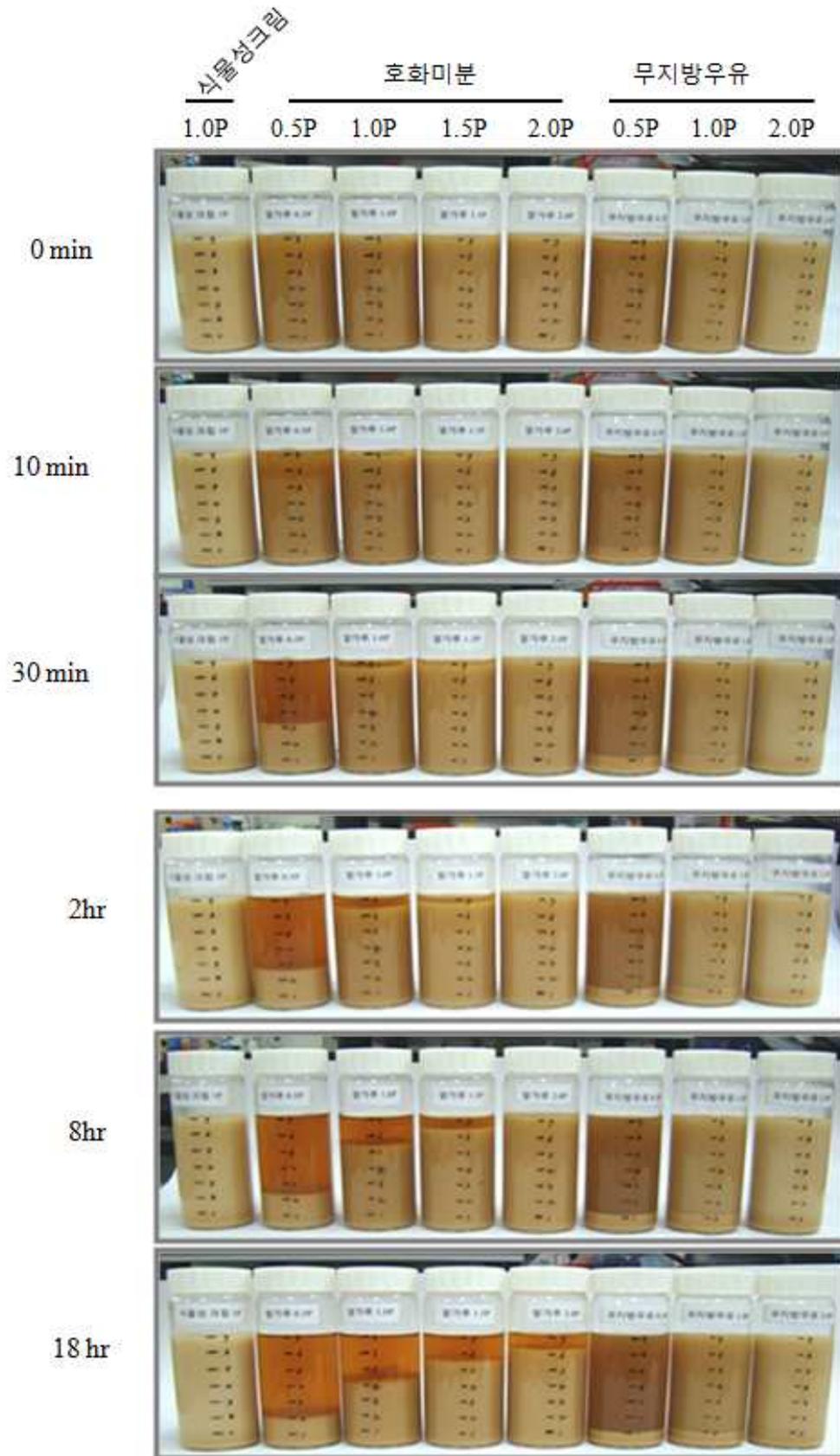


그림 3-8. 호화미분과 무지방우유 첨가에 따른 침전도 변화

식물성 크림 대신 호화미분과 무지방 우유를 첨가한 시료의 첨가량별 침전도를 조사하였다. 식물성 크림을 첨가한 시료군은 6시간째부터 침전이 관찰되는 반면 호화미분과 무지방 우유 첨가군중 0.5 part 첨가군에서는 10분부터 침전이 관찰되었다. 그 후 시간이 지날수록 침전도가 증가하였다. 호화미분과 무지방우유 2.0 part 첨가군에서는 10시간까지 침전이 관찰되지 않다가 다음날 18시간 이후에 약간의 침전이 관찰되었다. 이는 호화미분이 많이 첨가될수록 호화미분의 수화겔 형성에 따른 점도가 증가하고 이에 따라 시료의 분산안정성이 향상되어 침전이 잘 일어나지 않고 안정한 것으로 판단된다.

무지방우유는 전체적인 성상이 탁도가 진하여 침전되는 것이 쉽게 관찰되지 않는 효과와 무지방우유속에 함유되어 있는 친수성 단백질의 가용성과 약간의 지방으로 인한 에멀전(emulsion) 상태를 어느 정도 유지해주기 때문에 침전이 많이 일어나지 않는 것처럼 관찰되는 것으로 판단된다. 호화미분과 무지방우유의 모든 첨가군에서 침전도가 상당히 증가하는 것으로 보아 가공과정 중 균질화가 필요할 것으로 생각되며 식물성크림을 대체할 때 적정량 이상의 호화미분이나 무지방 우유를 첨가하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

식물성크림 첨가군과 호화미분 첨가군의 침전 안정성을 높이기 위한 균질화과정시 균질화 압력에 따른(500 및 1000 bar) 침전도 조사한 결과는 그림 3-9와 같다.

식물성 크림군은 균질화 하기 전 또는 후에 6시간동안 침전되는 정도를 관찰할 수 없었다. 하지만 불투명한 밝은색 때문에 정확한 침전도 관찰이 쉽지 않았다. 사진상으로는 구분하기가 쉽지가 않지만 균질화하기 전과 500 bar에서 균질화 한 후 6시간 이후에는 육안으로 침전되는 것을 확인할 수 있었다. 1000 bar 로 균질화 한 시료는 다음날(18시간이후) 에도 침전되지 않았다.

호화미분 첨가군에서는 균질화 하기 전과 한 후의 침전도가 대체로 뚜렷이 구분이 되었다. 호화미분 첨가군의 침전도는 호화미분 첨가량이 적을수록 침전되는 시간이 빨랐으며, 30분부터 균질화 하기 전 0.8 part 첨가량 이하의 첨가한 군에서 침전이 관찰되기 시작했다 (0.4 part 첨가군은 10분부터 침전 관찰). 호화미분 1.0 part 첨가한 군에서는 균질화 하지 않은 상태에서는 2시간이 지나야 침전이 관찰되었다. 호화미분 첨가군의 균질화 한 후의 침전은 500 bar 압력에서, 0.4 part 첨가군은 4시간째부터 침전이 관찰됐으며, 0.6 part와 0.8 part 첨가군은 6시간째부터, 1.0 part 첨가군은 8시간째부터 침전이 관찰되었다. 1000 bar 압력으로 균질화 한 시료는 모든 시료에서 다음날까지 침전이 관찰되지 않아 현탁액이 매우 안정한 상태를 유지하였다. 한편 호화미분 첨가군들은 침전된 상태에서도 적은 변형력만 가해도, 조금만 흔들어도, 곧 현탁액으로 쉽게 재분산되는 성상을 나타내었다.

즉 호화미분 첨가군의 경우 1000bar 정도의 압력으로 균질화시키면 증점제를 첨가하지 않더라도 상당히 침전안정성이 확보된 인삼음료 현탁액을 제조할 수 있을 것으로 판단된다.

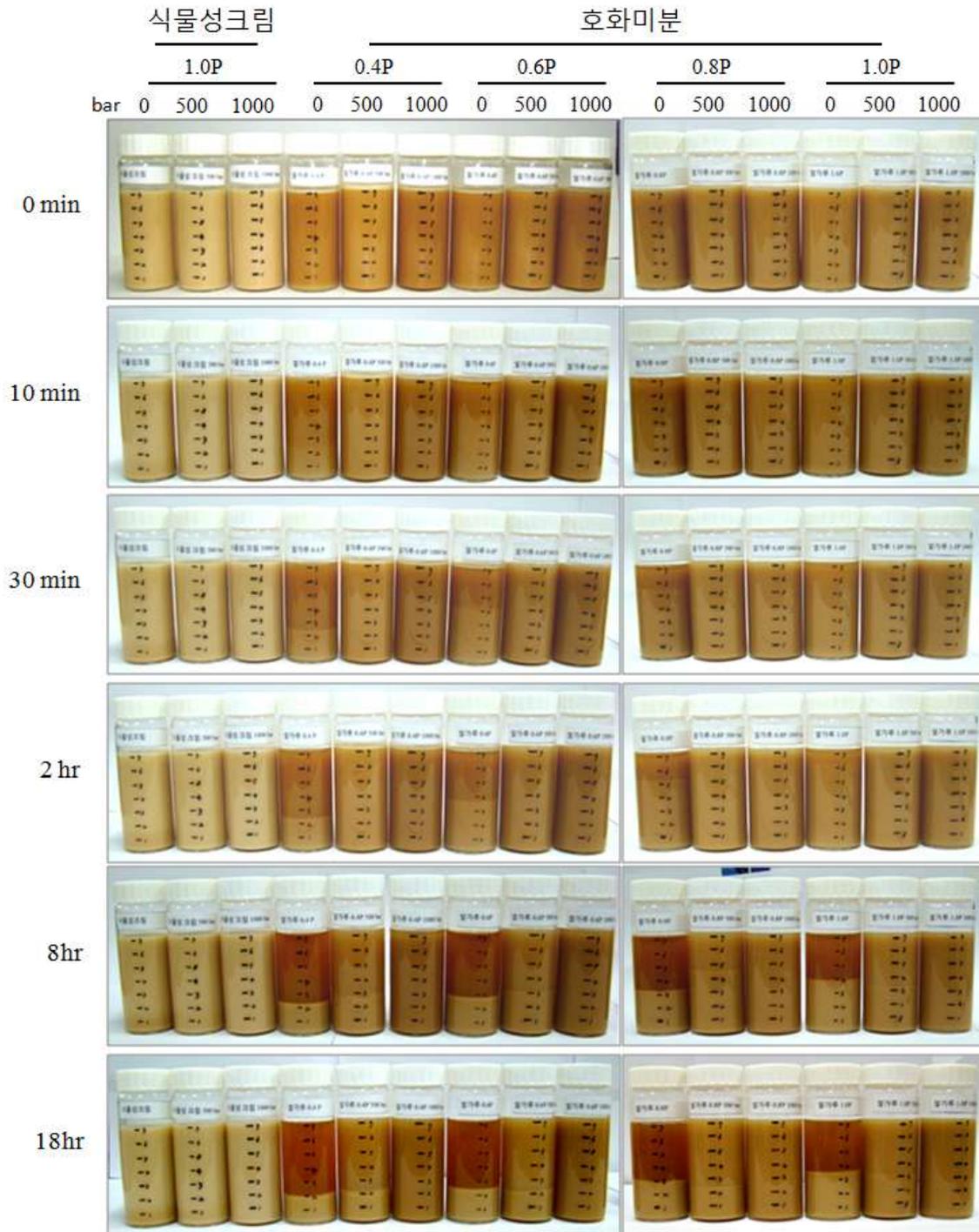


그림 3-9. 호화미분과 무지방 우유 첨가 및 균질화 압력에 따른 침전도 변화

(마) 관능검사

식물성크림 첨가군과 호화미분 첨가군에 대해서 균질화전과 균질화(1000 bar)한 후의 관능적 특성변화를 조사하였다. 관능검사는 인삼의 쓴맛, 인삼의 fresh 향, 부드러운 입안느낌과 맛, 걸쭉한 정도, 종합적인 기호도를 주요 항목으로 했고 기존 C사 제품을 5점으로 기준하여 9점 척도법에 의해서 실시하였다. 무지방 우유 1.0 part+ 증점제 첨가군에 대해서도 관능적 특성을 조사하였다.

표 3-9. 식물성크림과 호화미분 첨가군의 균질화에 따른 관능적 특성 변화

	식물성크림		호화미분							
	1.0 part		0.4 part		0.6 part		0.8 part		1.0 part	
균질화압력 (bar)	0	1000	0	1000	0	1000	0	1000	0	1000
인삼의 쓴맛	2	1	7	5	6	4	5	3	3	2
인삼의 fresh한 향	2	2	6	5	5	4	4	3	3	2
부드러운 입안느낌과 과 맛	7	8	2	4	4	5	5	6	6	7
걸쭉한 정도	2	3	1	2	2	3	3	4	4	5
종합적인 기호도	7	7	3	4	5	5	6	6	4	7

(1점: 매우 약하다(매우 나쁘다), 5점: 보통이다, 9점: 매우 강하다(매우 좋다))

표 3-9에서 보듯이, 호화미분을 0.4 part 첨가한 첨가군에서는 쓴맛이 강하고 부드러워지지 못해서 종합적인 기호도가 많이 떨어지는 것으로 나타났다. 호화미분 첨가량이 증가할수록 쓴맛의 감소와 함께 부드러운 입안 느낌과 걸쭉한 정도가 증가하였고, 이에 따라 종합적인 기호도가 증가하였다. 전체적으로는 균질화하기 전보다 균질화 후의 종합적인 기호도가 증가하였다.

관능검사 결과 1.0 part의 호화미분을 첨가하고 균질화 과정을 거친 처리군이 종합적인 기호도가 가장 좋았으나 식물성크림 첨가군에서 느낄 수 있는 우유취와 같은 풍미부분이 조금 부족하게 느껴졌다. 이와 같이 우유취가 나타내는 풍미가 필요할 때는 무지방 우유를 조금 첨가하여 보완하면 좋을 것으로 판단된다. 한편, 위의 점도, 입도, 색도 측정 등에서 무지방 우유 첨가군들을 측정하면서 관능적 특성을 조사한 결과, 대다수의 패널들이 무지방 우유를 첨가한

첨가군은 라떼음료와 같은 풍미가 느껴진다고 묘사하였다. 무지방 우유를 1.5-2.0part 첨가하여 인삼라떼 스타일의 음료로 개발하는 것도 가능할 것으로 판단된다.

따라서 위의 이화학적 특성들과 관능검사 결과를 종합해보면 식물성크림을 전부 호화미분으로 대체할 때 첨가량은 0.8-1.0 part의 호화미분을 첨가하는 것이 적당하고 500 bar 이상의 균질화 공정을 거치면 증점제를 사용하지 않고도 상당한 분산안정성을 유지하고, 높은 종합적인 기호도를 얻을 수 있다고 판단된다. 우유취와 같은 풍미가 필요할 때는 약간의 무지방우유를 첨가하는 것도 좋을 것으로 판단된다. 또한 점성이 꽤 있는 걸쭉한 물성을 얻고자 할 때는 약간의 증점제를 첨가하는 것도 좋을 것으로 판단된다.

(5) 호화미분, 무지방우유 및 증점제 첨가에 따른 인삼음료의 이화학적 특성

앞에서 시험했던 기존의 배합비들에서 호화미분만 사용할 때 부족한 관능적 특성과 성상의 안정화 정도를 향상시켜 보고자 무지방우유 및 증점제를 추가로 첨가하였을 때 인삼음료의 이화학적 특성들을 살펴보았다.

(가) 관능적 특성

표 3-10. 식물성크림, 호화미분, 무지방우유 및 증점제 첨가에 따른 관능적 특성 변화

	식물성크림 1.0 part + 증점제 1.0part	호화미분 1.0 part	호화미분 1.0 part + 무지방우유 0.2 part	호화미분 0.8 part + 무지방우유 0.4 part	호화미분 1.0 part + 증점제 0.5 part	무지방우유 1.5 part + 증점제 1.0part
인삼의 쓴맛	1	2	1	1	2	1
인삼의 fresh한 향	2	2	3	4	3	4
부드러운 입안느낌과 맛	8	7	8	8	8	8
걸쭉한 정도	3	5	4	4	7	7
종합적인 기호도	7	7	8	8	8	8

(1점: 매우 약하다(매우 나쁘다), 5점: 보통이다, 9점: 매우 강하다(매우 좋다))

식물성 크림대신 동일량 (1.0part)의 호화미분을 첨가한 군은 입안의 입자성이 느껴지며 구수한 맛이 많이 났으며 1.0 part의 호화미분에 0.2 part의 무지방 우유를 첨가한 군은 입안느낌이 부드럽고 구수한 맛이 masking 되면서 인삼향이 부각되는 특징을 보였다.

0.8 part의 호화미분에 0.4 part의 무지방 우유를 첨가한 군은 1.0 part의 호화미분과 0.2 part의 무지방 우유를 첨가한 군보다 약간 더 부드럽고 구수한 맛이 약해지면서 인삼의 쓴맛과 향이 더 증가하는 경향을 보였다. 따라서 기호도에 따라 구수한 맛을 좋아하는 사람은 1.0 part의 호화미분과 0.2 part의 무지방 우유를 첨가한 군을, 인삼향을 더 좋아하는 사람은 0.8 part의 호화미분과 0.4 part의 무지방 우유를 첨가한 군을 더 선호할 것으로 생각된다.

호화미분 1.0 part에 증점제를 첨가한 군은 예상대로 증점제를 첨가하지 않은 호화미분 군보다 부드럽고 걸쭉한 정도가 증가했다.

식물성크림대신 무지방 우유를 1.5 part를 첨가한 군은 인삼의 쓴맛은 감소하면서도 인삼의 fresh한 향이 증가하고 부드러워서 종합적인 기호도가 좋았다. 식물성 크림만을 첨가한 것은 맛이 탁해서 인삼향과 맛이 잘 드러나지 않는 반면 무지방 우유를 첨가한 군은 맛이 깔끔하면서도 마신 후, 뒷맛으로 인삼맛과 향이 살아나는 특징을 나타내었다.

(나) 점도

표 3-11. 호화미분, 무지방우유 및 증점제 첨가에 따른 인삼음료의 점도 변화
(단위 : cP)

	균질화 전	균질화 후 (500 bar)
식물성 크림 1.0 part + 증점제 1.0 part	211	260.3
호화미분 1.0 part	896.2	506.3
호화미분 1.0 part + 무지방우유 0.2 part	866.2	473.9
호화미분 0.8 part + 무지방우유 0.4 part	584	361.1
호화미분 1.0 part + 증점제 0.5 part	945.4	547.1
무지방 우유 1.5 part + 증점제 1.0 part	303.5	377.9

이 실험에서는 실제 대량생산라인에서 생산량을 고려하여 적용 가능한 균질화 압력 500bar로 고정하여 균질화 전과 후의 점도를 측정하였다. 첨가한 호화미분을 첨가한 군은 균질화 전이 더 높은 점도를 나타내었고, 증점제를 첨가한 군은 균질화 후의 점도가 더 높게 나타났다. 식물성크림과 무지방 우유를 첨가한 군은 호화미분을 첨가한 군과 비교할 때 상당히 적은 점도를 나타냈으며 균질화 한 후 점도가 약간 증가하는 경향을 보였다. 앞의 실험에서(표 6) 1000bar로 균질화한 호화미분 실험군은 균질화 전보다 점도가 증가하였지만 500bar 이하에서는 오히려 감소한 결과에서 보듯이, 500bar로 균질화 한 호화미분을 첨가한 군은 점도가 감소하는 경향을 보였다.

(다) 침전도

위의 첨가조건에 따라 균질화 전과 후의 침전도 검사를 실시하였다. 모든 실험군에서 균질화한 후의 침전이 훨씬 느리게 진행되었다. 호화미분이 적을수록 침전되는 속도도 빨랐다. 호화미분을 첨가한 시료들에 대해서 균질화하기 전 시료는 30분부터 침전이 관찰되는 반면 균질화 한 후의 시료는 2시간째부터 침전이 관찰되었다.

한편 호화미분 첨가군에 증점제를 0.5 part 첨가한 군은 관찰이 끝나는 시간까지 뚜렷한 침전이 관찰되지 않았다. 따라서 호화미분을 시료로 사용할 경우 인삼음료의 분산 안정성을 유지하기 위해서는 최소한 기존 음료에서 사용하는 증점제의 0.5 part(50%) 정도는 첨가하는 것이 좋을 것으로 생각된다.

위의 1년차 연구결과로 제시된 음료는 prototype으로서 최종적으로 생산된 음료가 아닙니다. 2년차에 연구계획 및 내용대로 합성첨가물대신 천연 향과 기타 천연 검(gum)물질 등을 첨가할 때 물성, 관능적 특성 등을 더 측정 보완하여 진보된 완제품 음료를 제조하고, 실제 대규모 생산시 공장규모에서의 살균조건을 고려한 열처리후 음료를 대상으로 대규모 소비자 선호도를 조사할 것입니다.

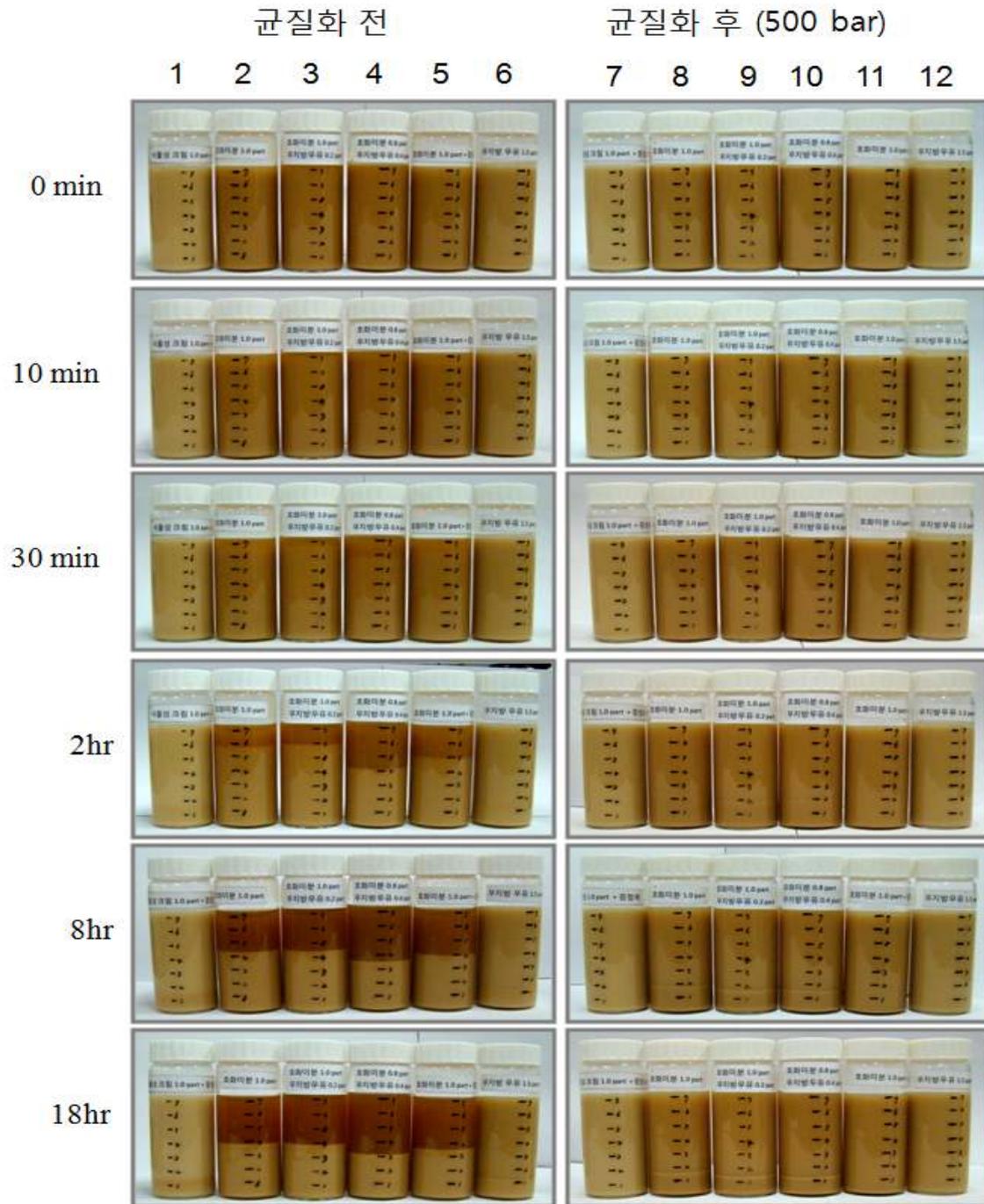


그림 3-10. 호화미분, 무지방우유, 증점제의 첨가 및 균질화에 따른 침전도 변화

- *1,7: 식물성 크립 1.0 part + 증점제 1.0 part
- 2,8: 호화미분 1.0 part
- 3,9: 호화미분 1.0 part + 무지방우유 0.2 part
- 4,10: 호화미분 0.8 part + 무지방우유 0.4 part
- 5,11: 호화미분 1.0 part + 증점제 0.5 part
- 6,12: 무지방우유 1.5 part + 증점제 1.0 part

2. 제품의 제형 안정화와 기호성 향상

가. 제형 안정화 시험

(1) 배합 및 균질화 후 가열처리에 따른 인삼음료의 이화학적 특성 변화

1년차 시험결과에서 인삼분말음료 배합비 시험들은 배합시 상온에서 재료들을 배합하였다. 실제 생산 현장에서는 85C 정도로 가온한 상태에서 재료들을 혼합하고 있는 현실적 조건을 고려하여 본 시험에서는 85C에서 배합하여 균질화(400 bar) 시켰으며, 균질화후 후 살균 공정으로 가열처리를 실시하게 되는데 이러한 후 살균을 목적으로 한 가열처리(100C , 4분간)에 따른 점도, 색도, 침전도 변화를 살펴보았다. 이때 시험한 배합비는 아래 표 3-12와 같다.

표 3-12. 배합 및 균질화후 가열처리에 따른 특성변화 시험용 시료배합비들

배합비
식물성 크림 1.0 part + 증점제 1.0 part
호화미분 1.0 part
호화미분 1.0 part + 증점제 0.5 part
호화미분 0.8 part + 무지방우유 0.4 part + 증점제 0.5 part
무지방 우유 1.5 part + 증점제 1.0 part

(가) 균질화후 가열처리에 따른 점도변화

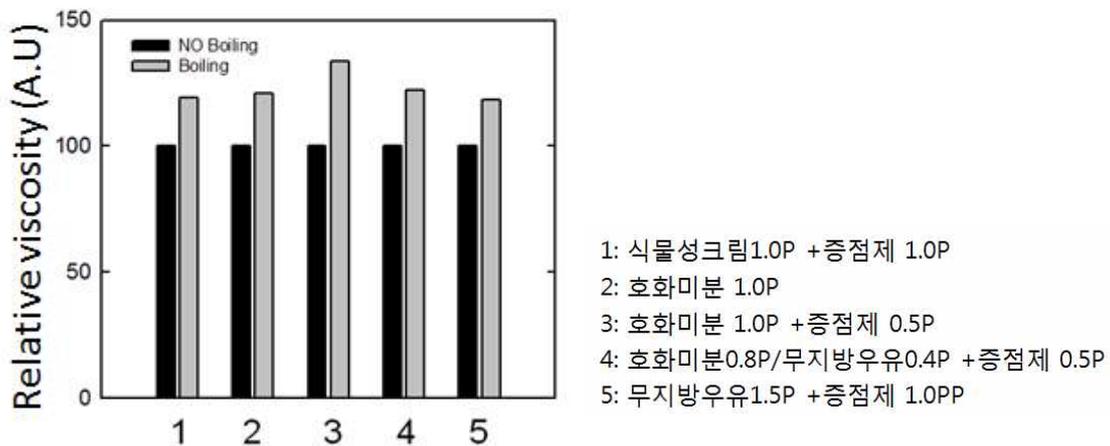


그림 3-11. 각 배합비 인삼음료들의 가열처리 전후의 점도 변화

위의 성분들을 제외한 인삼(근류+ 미삼), 액상과당, 대추/구기자/모과농축액 등은 각 실험군마다 동일하게 처리하였다. 85C에서 배합및 균질화후 가열처리는 100°C에서 4분간 진행되었다. 가열처리후의 점도변화를 관찰한 결과 모든 첨가성분조건에서 가열처리후 점도가 조금 증가하였다. 이는 가열처리와 함께 식물성 크림, 호화미분, 무지방우유 등의 성분들이 물에 대한 호화정도가 조금이나마 증가하였기 때문으로 생각되며, 가열처리시 생기는 약간의 수분증발도 점도에 영향을 미친 것으로 생각된다.

(나)균질화후 가열처리에 따른 색도 변화

표 3-13. 각 배합 인삼음료들의 가열처리 전후의 색도변화

가열처리 (100C, 4min)	첨가성분	첨가량	중점제	L	a	b
처리전	식물성크림	1.0part	1.0part	0.11	0.65	0.18
	호화미분	1.0	-	0.33	1.78	0.56
	호화미분	1.0	0.5	0.27	1.54	0.47
	호화미분/ 무지방우유	0.8/0.4	0.5	0.34	1.75	0.58
	무지방우유	1.5	1.0	0.10	0.67	0.17
처리후	식물성크림	1.0	1.0	0.12	0.74	0.20
	호화미분	1.0	-	0.49	2.38	0.85
	호화미분	1.0	0.5	0.37	1.87	0.64
	호화미분/ 무지방우유	0.8/0.4	0.5	0.49	2.46	0.85
	무지방우유	1.5	1.0	0.09	0.61	0.15

식물성 크림, 호화미분, 그리고 무지방우유 첨가군에 대해서 균질화후 가열처리에 따른 색도변화를 관찰하였다. 가열처리는 100°C에서 4분간 행해졌다. 가열처리후 식물성크림과 무지방우유를 첨가한 군에서는 유의적인 색도의 변화가 관찰되지 않은 반면 호화미분을 첨가한 군에서는 L값이 증가하여 색도의 밝기가 감소하면서 a (redness)값과 b (yellowness)값도 함께 증가하는 경향을 보였다. 이는 가열에 의해 호화미분 속에 있는 탄수화물이 약간 갈변되기 때문으로 생각된다.

(다) 균질화후 가열처리에 따른 침전도 변화

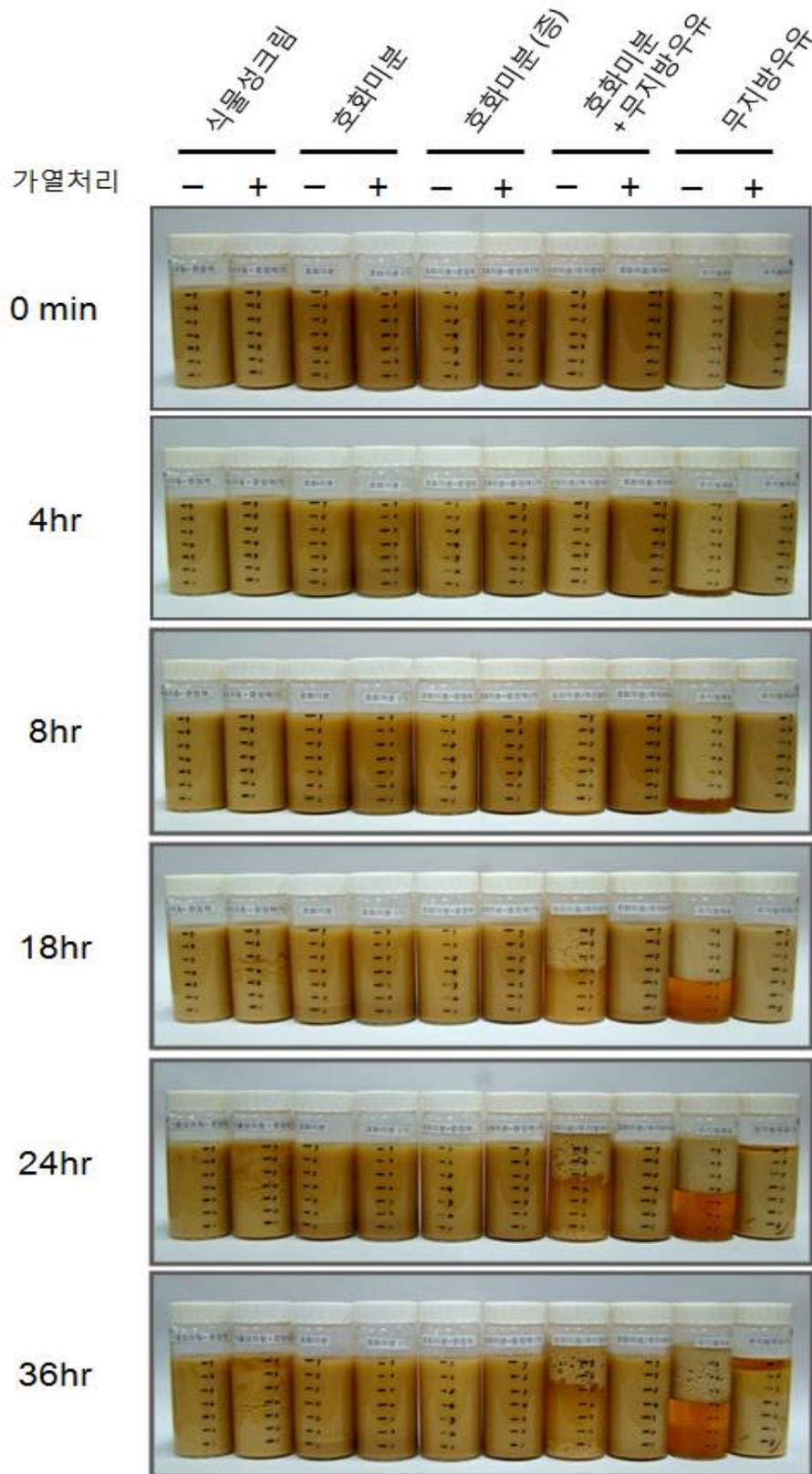


그림 3-12. 각 배합비 인삼음료들의 가열처리 전후의 침전도 변화

가열처리 전과 후의 침전도 변화를 관찰한 결과, 앞의 시험에서 실시한 상온에서 배합했던 음료제품들과는 달리, 85°C에서 배합한 시료들은 전체적으로 침전되는 물질이 매우 적어서 성상이 상당히 안정적인 것으로 관찰되었다. 즉 몇 시간이 지나도 잘 침전되지 않는 좋은 분산성을 보였다 이는 높은 온도에서의 배합으로 인한 시료성분들의 호화되는 정도가 증가하기 때문으로 생각된다. 식물성크림 첨가시 8시간까지 가열처리 전과 후의 침전도가 별다른 차이를 보이지 않았으며 오히려 18시간이 지난후 가열처리 한 시료에서 약간의 성분들간의 응집현상과 침전을 발견할 수 있었다.

호화미분을 첨가한 시료는 상온에서 배합한 시료들보다는 침전도가 많이 향상되었음에도 다른 시료들에 비해 여전히 어느정도 침전이 관찰되었으며 침전되는 정도는 가열처리한 후 향상이 되었는데 이는 가열처리지 미분이 호화가 더 진행되었기 때문으로 생각된다. 호화미분에 증점제를 첨가한 시료는 침전되는 정도가 많이 향상되어 36시간이 지나도 침전이 관찰되지 않았다.

호화미분과 무지방우유를 섞은 시료와 무지방우유를 첨가한 시료들은 4시간째부터 가열처리하기전의 시료에서 응집, 부유되는 현상이 나타났고 이는 무지방우유가 많이 첨가될수록 뚜렷했다. 이런 현상은 균질화후 가열처리한 시료에서는 사라졌다. 무지방우유만 처리한 시료에서는 균질화후 가열처리한 후에라도 24시간 후부터 상층에서 약간의 침전(층분리)이 관찰되었다.

무지방우유와 호화미분을 혼합한 시료와 무지방우유만 첨가한 시료에서 가열처리 하기 전과 후의 침전도에서의 큰 변화는 무지방 우유 및 호화미분에 함유되어있는 단백질과 약간의 지방성분의 변성에 따른 결과로 이해되며 가열처리와 함께 무지방우유와 호화미분 첨가 시료에서의 단백질을 비롯한 혼합성분들이 좀 더 완전히 변성되어 서로에 대해 응집하는 성질이 없어져서 용액중에 잘 분산되는 것으로 생각된다. 특히 호화미분과 무지방 우유를 섞어 배합하여 가열처리한 시료는 36시간이 지나도 별다른 침전이 관찰되지 않았다.

따라서 배합및 균질화 후에 가열처리는 살균처리효과 뿐만 아니라 분산성 향상을 위해서도 필요하며 배합시 호화미분단독 또는 호화미분과 무지방 우유를 섞어서 사용하는 것이 바람직한 것으로 생각된다.

(2) 증점제별 점도, 색도 및 침전도

(가) 점도

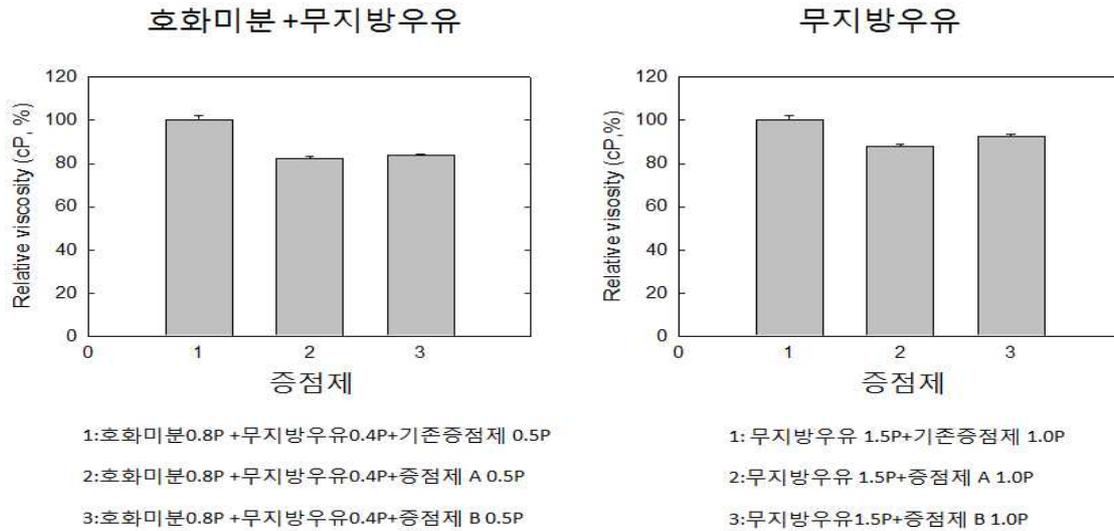


그림 3-13. 각 배합비 인삼음료들의 증점제 종류에 따른 점도 변화

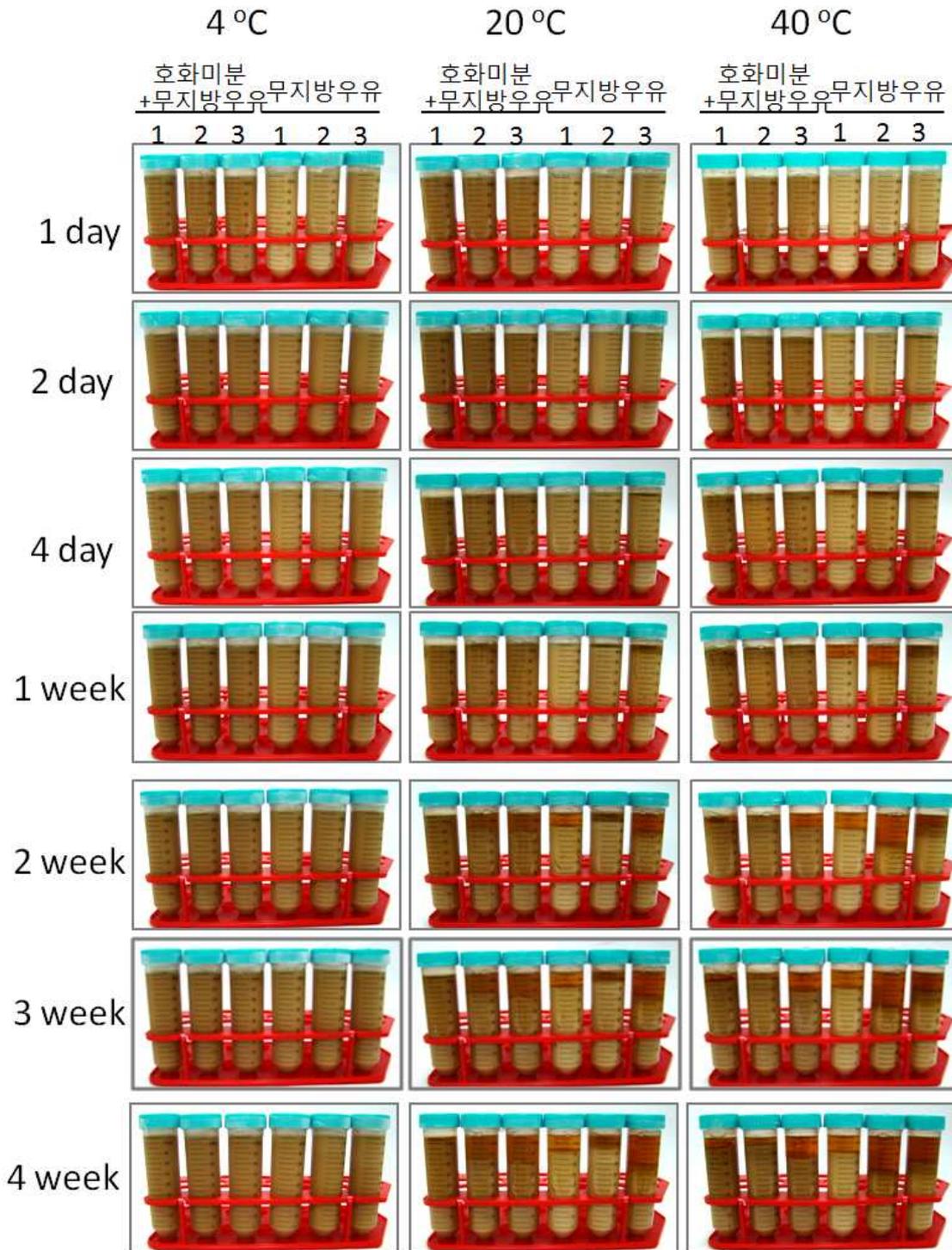
(나) 색도

표 3-14. 각 배합비 인삼음료들의 증점제 종류에 따른 색도 변화

실험군	증점제	증점제첨가량	L	a	b
호화미분 + 무지방우유 (0.8p + 0.4p)	1	0.5part	0.11	0.59	0.15
	2	0.5part (유화제 0.05% 첨가)	0.12	0.68	0.21
	3	0.5part (유화제 0.05% 첨가)	0.10	0.55	0.17
무지방우유 (1.5p)	1	1.0part	0.01	0.08	0.02
	2	1.0part (유화제 0.05% 첨가)	0.01	0.09	0.02
	3	1.0part (유화제 0.05% 첨가)	0.01	0.07	0.07

1: 기존 증점제, 2: 증점제 A, 3: 증점제 B

(다) 침전도



1: 기존 증점제, 2: 증점제 A, 3: 증점제 B

그림 3-14. 각 배합비 인삼음료들의 증점제 종류에 따른 침전도 변화

이번 실험에서는 기존의 식물성 크림을 첨가한 군과 비교하여 관능검사에서 우수한 그룹으로 선정이 된 호화미분 0.8part + 무지방 우유 0.4p을 처리한 군과 무지방 우유 1.5p을 처리한 군을 대상으로 기존 인삼음료에 사용되고 있는 기존 증점제와 새로운 배합비로 제조한 증점제 A, 증점제 B 등, 총 3가지 증점제를 사용하여 제조된 인삼음료에 대해 점도, 색도 그리고 침전도를 측정하여 기존 증점제와 새로운 증점제 A, B들의 차이점을 조사하였다. 상온에서 rpm을 100으로 했을시 점도를 측정한 결과 호화미분과 무지방 우유를 혼합한 군과 무지방우유군 모두에서 기존 증점제를 첨가하였을 때 보다 증점제 A, B를 첨가하였을 때 점도가 상대적으로 감소하는 것으로 관찰되었다.

색도에 있어서는 호화미분과 무지방 우유 혼합군과 무지방 우유군에 있어서 L, a, b값이 호화미분이 첨가된 군에서 대체로 증가하는 경향을 보였으며 이는 호화미분의 탄수화물성분들이 높은 온도에서의 공정시 갈변되기 때문으로 생각된다. 증점제별 실험군들 사이에서는 별 차이점이 관찰되지 않았다.

침전도에 있어서는 시간이 지날수록 증점제에 따라 약간의 침전도의 변화가 관찰되었다. 증점제 A와 B를 첨가하고 40 °C에서 저장시 호화미분+ 무지방 우유 혼합군과 무지방 우유군에서 이틀째 부터 약간의 침전이 관찰되었다. 이러한 침전은 40 °C에서 시간이 지날수록 뚜렷이 관찰되었다. 상온 저장시에는 4일째부터 증점제 B를 첨가한 군에서 관찰되기 시작하여 시간이 갈수록 침전되는 정도가 증가하여 1주일째부터는 기존 증점제, 증점제A, 증점제B를 첨가한 모든 군에서 침전이 관찰되기 시작했다. 4°C에서 저장할 때는 기존 증점제와 다른 증점제들 사이에서 별 차이가 없었고 4주가 지나서도 별다른 침전이 관찰되지 않았다.

이러한 온도에 따른 침전되는 정도의 차이는 온도에 따라 물의 비중의 차이가 나기 때문인 것으로 생각되며, 증점제별로는 전반적으로 기존 증점제가 상온과 40°C에서 침전억제 면에서 좀 더 우수한 것으로 평가되었다. 하지만 무지방우유군에서는 증점제A 가 1주일 후부터 다른 증점제군보다 침전이 억제됨을 관찰할 수 있었다.

나. 기호성 향상 시험

(1) 인삼음료 첨가용 천연 인삼향 시제품 개발

천연 인삼향 시제품 제조

1. 샘플 제조일 : 1월 21일

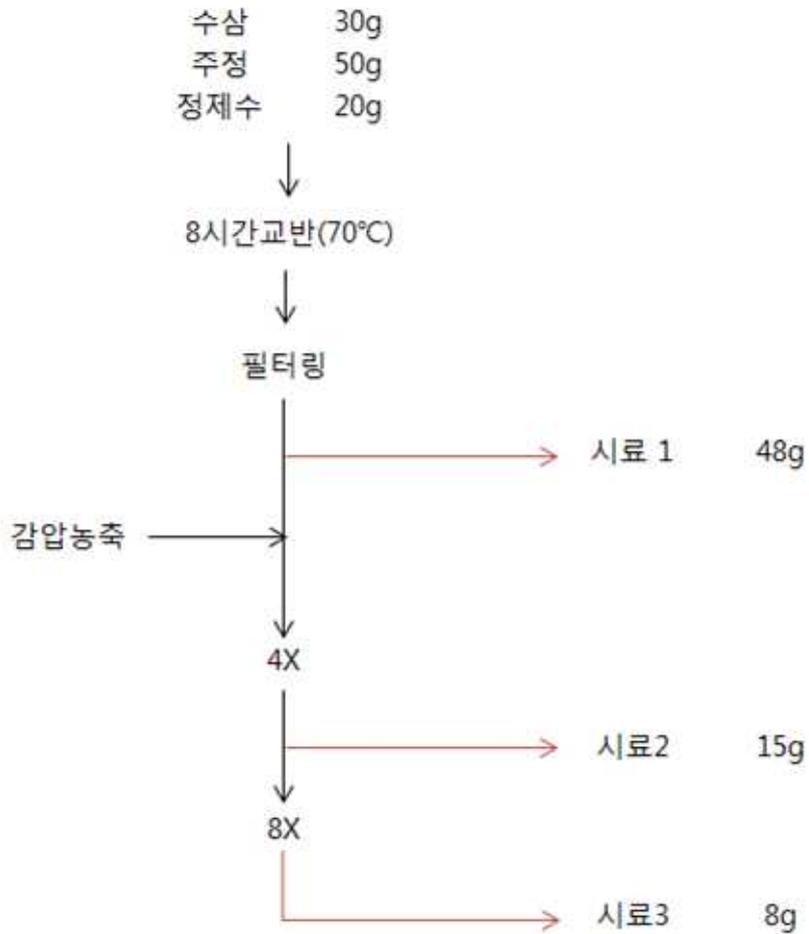


그림 3-15. 수삼의 정제수를 이용한 천연 인삼시향 제조

2. 샘플 제조일 : 2월 18일

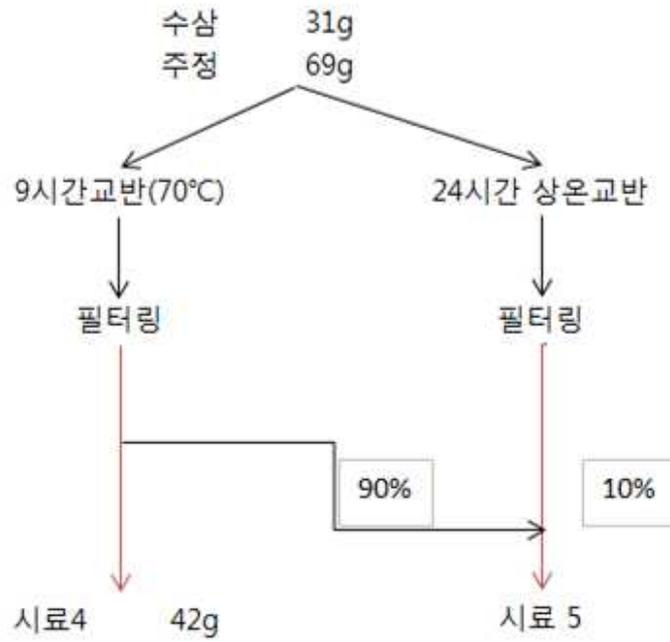


그림 3-16. 수삼의 주정을 이용한 천연 인삼시향 제조

3. 샘플 제조일 : 3월 4일

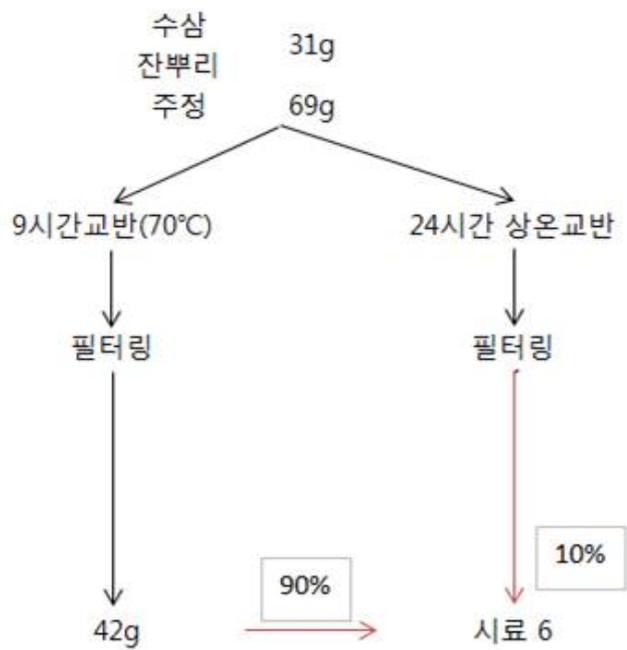


그림 3-17. 수삼 동체 및 뿌리의 주정을 이용한 천연 인삼시향 제조

위의 천연 인삼향을 개발하기 위해서 여러 가지 수삼의 부위와 용매를 사용하여 시료1부터 시료 6까지 6가지의 시향을 제조하였다. 6가지의 시향을 관능검사한 결과, 시료 1번과 시료4번이 가장 우수한 천연 인삼향으로 평가되어, 시료1번과 시료6번을 각각 천연 인삼향1, 천연 인삼향 2로 명명하고, 실제 제품에 배합하여 기존 인삼음료에 사용되고 있는 기존의 향과 관능적 특성을 비교 검토하였다.

(2) 천연 인삼향 첨가에 따른 음료의 관능평가

천연 인삼향 1(천연 인삼향 제조 시료1번), 천연인삼향 2(천연 인삼향 제조 시료4번)을 첨가할 때 기존향은 제품에 0.1% 첨가하지만, 예비시험결과 천연 인삼향은 향과 맛이 좀 약하여 0.5%를 제품에 첨가하여 배합후 아래와 같이 관능검사 실시하였다.

표 3-15. 각 배합비 인삼음료들의 천연 인삼향 첨가에 따른 관능적 특성 변화

향의 종류	식물성 크립 (1.0part)			호화미분+ 무지방우유 (0.8part+0.4part)			무지방우유 (1.5part)		
	기존향 (0.1% 첨가)	천연 인삼향1 (0.5%)	천연 인삼향2 (0.5%)	기존향 (0.1%)	천연 인삼향1 (0.5%)	천연 인삼향2 (0.5%)	기존향 (0.1%)	천연 인삼향1 (0.5%)	천연 인삼향2 (0.5%)
인삼 향	5	3	2	3	2	1	4	3	3
인삼 맛	5	2	1	4	2	1	5	4	3

[1점: 매우 약하다 (매우 나쁘다), 5점: 보통이다, 9점: 매우 강하다 (매우 좋다)]

인삼향과 맛에 대해서 기존향과 수삼에서 추출한 천연 향들의 첨가에 따른 관능검사를 실시하였다. 기존제품에서 사용되는 식물성크립 베이스에 기존 합성향을 첨가한 균을 기준 (5점)으로 하여 호화미분과 무지방우유 배합군에 대해 관능평가를 실시한 결과 모든군에서 천연 인삼향보다 기존향을 첨가한 군들이 인삼향이나 맛에서 강하고 우수한 것으로 나타났다. 특히 호화미분+ 무지방우유 배합군에서는 천연 인삼향을 첨가할 때 인삼 향과 맛이 많이 감소됨을 알 수 있었다. 무지방우유 단독 배합군에서는 인삼향과 맛의 감소폭이 좀 덜하여 천연 인삼향 첨가량을 조절한다면 기존제품에 변화를 주고자 할 때 그 활용 가능성이 있는 것으로 판단된다. 전체적으로는 천연 인삼향을 사용할 때 비용과 향의 강도 및 관능성 면에서 그리 바람직하지 않은 것으로 생각되며, 호화미분보다는 기존의 식물성크립이나 그 대체품으로 무지방우유 배합군이 인삼향과 맛을 살리고 관능성을 높이는데 있어서 더 좋을 것으로 생각된다.

3. 소비자 조사를 통한 인삼 신제품 개발

가. 소비자 대상 조사 시험

2년차까지 차의과학대학팀이 개발한 신규 무합성 첨가물 인삼음료에 대해서 주관기관과 함께 실시한 소비자 대상의 자세한 관능검사 결과는 주관기관의 3년차 보고서에 자세하게 기술되어 있다. 그 결과를 인삼음료 배합비 개선에 피드백 시키기 위해서 요약하면 다음과 같다.

기존 인삼분말음료 제품 대비 합성첨가물을 모두 천연첨가물로 대체한 신규 인삼분말음료에 대해 소비자 조사를 수행한 결과 전반적인 기호도는 5점 만점으로 [신규] 3.34 [기존] 3.53 으로 신규 제품은 기존 대비 조금 떨어지는 수준의 기호도를 나타내는 것으로 나타났다.

신규 무합성 첨가물 인삼분말 음료의 적절한 인삼 맛과 부드러운 맛 등에서 소비자의 좋은 반응이 있었으나, 기존 제품 대비 전반적인 선호도 품질은 다소 떨어진다고 평가되었으며, 특히 인삼향이 약하고 좀 걸쭉하다는 의견이 다수를 차지하고 있었다. 기존제품을 대체하기 위해서는 점성의 걸쭉함을 줄이고, 인삼향을 증대하는 방향으로 전체적인 기호도 개선이 필요할 것으로 판단된다.

나. 소비자 조사를 반영한 인삼음료 품질 개선

먼저 소비자 조사에서 조금 부정적인 지표였던 걸쭉한 점성의 주요성분인 호화미분을 0.7 part로 줄여서 기계적인 점도와 관능적인 점성에 대한 시험을 조사한 결과 호화미분을 0.8part 첨가하였을 때 보다 점도와 관능적인 점성이 줄어들어 관능 검사시에 느끼는 걸쭉한 느낌을 많이 해소할 수 있었다. 따라서 걸쭉한 점성을 나타내는 호화미분은 0.7part로 줄이고, 인삼향의 개선에 중점을 두기 위하여 주요 첨가 성분인 천연 인삼향 1과 2를 0.6%로 증가시킨 배합비로 음료를 제조하여 관능검사를 실시한 결과는 아래 표3-16과 같다.

표 3-16. 호화미분감소와 천연인삼향 증가에 따른 인삼음료의 관능적 특성변화

향의 종류	호화미분+ 무지방우유 (0.7part+ 0.7part)			무지방우유 (1.5part)		
	기존향 (0.1%)	천연인삼향1 (0.6%)	천연인삼향2 (0.6%)	기존향 (0.1%)	천연인삼향1 (0.6%)	천연인삼향2 (0.6%)
인삼 향	3	3	2	4	4	4
인삼 맛	4	3	2	5	5	4

[1점: 매우 약하다 (매우 나쁘다), 5점: 보통이다, 9점: 매우 강하다 (매우 좋다)]

표 3-16에서 보듯이 호화미분 첨가군과 무지방우유 단독 첨가군 모두에서 천연 인삼향 1과 2를 0.6%로 첨가량을 증가시켰을 때 기존의 0.5% 첨가했을 때의 관능적 특성(표2 참조)보다 인삼향과 인삼 맛이 상당히 증가하는 좋은 결과를 나타내었다. 구체적으로 살펴보면 호화미분 첨가군에서는 천연 인삼향 1, 0.6% 첨가군이 3점의 인삼향 기호도를 나타내어 기존향과 동등한 수준의 인삼향 기호도를 나타냈으며, 무지방우유 단독 첨가군에서도 천연 인삼향 1, 0.6% 첨가군이 4점으로 기존향과 동등한 인삼향 기호도 수준을 나타내었다.

표 3-17. 소비자 조사에 사용했던 신규 인삼음료의 배합비

향의 종류	식물성 크림 (1.0part)			호화미분+ 무지방우유 (0.8part+0.4part)			무지방우유 (1.5part)		
	기존향 (0.1% 첨가)	천연 인삼향1 (0.5%)	천연 인삼향2 (0.5%)	기존향 (0.1%)	천연 인삼향1 (0.5%)	천연 인삼향2 (0.5%)	기존향 (0.1%)	천연 인삼향1 (0.5%)	천연 인삼향2 (0.5%)
인삼 향	5	3	2	3	2	1	4	3	3
인삼 맛	5	2	1	4	2	1	5	4	3

전체적으로는 천연 인삼향 첨가량 증가에 따라 인삼향이 기존 제품의 기존향 기호도와 유사하게 증가하는 것으로 나타났으며, 천연 인삼향 2 보다는 1을 첨가했을 때가 더 높은 기호도를 나타내었다. 물론 2년차 결과보고와 마찬가지로 표 3-16에서도 호화미분 첨가군보다는 무지방 우유 단독 첨가군에서 인삼향과 인삼맛의 절대적인 기호도 수준이 높게 나타났다.

결론적으로 기존의 식물성크림과 증점제를 대체시에 점성 면에서는 호화미분을 첨가하더라도 그 첨가량을 위와 같이 0.7part(1, 2년차 연구결과에서 보고한 것 처럼, 식물성크림 100%로 대체. 기존증점제는 0.5part 첨가로 50% 대체시)로 줄여서 걸쭉한 느낌을 줄이는 것이 좋다. 또한 인삼향과 맛에 크게 영향을 미치는 기존의 식물성크림 대체품으로는, 호화미분을 첨가하지 않을 때는, 무지방 우유 단독 첨가군이 인삼향과 맛을 살리고 관능성을 높이는데 있어서 적합할 것으로 생각된다.

한편, 천연 인삼향 1과 2를 0.5% 첨가했을 때 보다 천연 인삼향 첨가량 증가량이 0.6%로 증가함에 따라 원료비가 조금 증가하는 부담이 생길 수 있으나, 이는 기존의 인공향을 천연향으로 완전 대체하면서 일어날 수 밖에 없는 현상으로서 실제 상품화시 마케팅적으로 해결할 수 있다고 판단된다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연구목표의 달성도

구분 (연도)	세부연구목표	평가의 착안점	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2011 ~ 2012)	인삼 신제품 대량생산 시스 템 구축 및 브 랜드/마케팅 전략 수립 및 상품화	인삼 신제품 컨셉 발굴 및 인삼 기 능성 신규소재 개 발 전략 수립 여 부	100	1.인삼 기능성 소재의 시장가능성 검증을 위한 소비자 조사 진행 및 개발 전략 수 립 2.인삼 User Unmet needs 소비자 조사를 통한 인삼 신제품 컨셉 발굴
		인삼신제품 살균 공정 확립 여부 (pilot 조건)	100	1.살균 공정 설계 및 Pilot 검증을 통한 공 정 확립
		인삼 기능성 소재 Scale-up 생산 공 정 재현성 검증 여부	100	1.인삼 신소재 대량생산 시스템 구축 및 양산 Scale 재현성 검증
	특정 기능성분 강화 인삼신소 재 개발 및 표 준화	다이올계, 트리올 계 및 희소 사포 닌 제조법 확립 및 표준화 여부	100	1.다이올계(Rb1), 트리올계(Rg1), Rg3, Rh1 강화 인삼소재 개발 및 표준화
		간기능 개선 효능 시험법 구축 여부	100	1.간기능 보호/개선 기능 연구 모델 구축 2.고지방식이 유도(비알콜성) 지방간 동물 시험 진행
	적정 전처리공 정 및 분산성 공정 확립(Lab test)	인삼 적정 전처리 공정 확립 여부	100	1.최적 인삼 전처리 및 기류 분쇄 공정 조 건 확립적정 전처리 공정 확립
		분산성 확보 여부 (Lab 조건)	90	1.천연안정제 후보 소재 발굴 및 lab 조건 안정성 확인 2.재료별 배합조건에 따른 이화학특성 조사

구분 (연도)	세부연구목표	평가의 착안점	달성도 (%)	연구개발 수행내용
2차 년도 (2012 ~ 2013)	인삼 신제품 대량생산시스 템 구축	천연 안정제/유화 제 개발 및 인삼 신제품 대량생산 시스템 구축 여부	90	1.천연 안정제 및 유화제 개발 - Lab 조건 유화안정성 test 완료 2.인삼원물음료의 양산라인에 맞춘 공정 최적화 설계 3.미생물 살균효과 대용량 양산 검증
	인삼 기능성 신소재 대량 생산 시스템 구축	인삼 기능성 신소 재 제형 적합성 test 및 대량생산 시스템 구축 여부	100	1.인삼 기능성 소재 저장안정성 연구 1)소재 분말 가속 test 진행을 통한 유통기한 분석 2)액상제형 pH별 가속 test 진행 및 유통기한 분석 2.인삼 기능성 소재 반복 양산 생산 진행 및 경제성 분석
	인삼 신소재 간기능 개선 효능 연구	알콜성 지방간에 대한 <i>in vivo</i> 기 능성 시험 여부	100	1.C57BL/6J 마우스를 이용한 알콜성 지방간 동물모델 구축 2.Ginseol K-b1의 알콜성 지방간 효과에 대한 동물실험 수행
		인삼소재 지방간 개선 효능 기전 연구 여부	90	1.Ginseol K-b1, Ginseol K-k의 간조직 내 지질합성 조절 유전자 (SREBP-1c, FAS, ACC, LXRα)와 지질분해 조절 유전자 PPARα)들의 발현을 real-time qPCR로 분석하여 효능 기전 연구 진행
	제품 제형 안 정화 및 기호 성 향상 연구	균질도 및 기호성 향상 여부	100	1.인삼원물음료 적정 균질화 공정 확립 1)가압균질 압력별 입도분포 조사 2)가압균질 압력별 분산안정성 조사 2.천연향 개발 및 배합비 조정에 따른 기 호성 개선

구분 (연도)	세부연구목표	평가의 착안점	달성도 (%)	연구개발 수행내용
3차 년도 (2013 ~ 2014)	인삼신제품/ 인삼신소재 시제품 제조 및 브랜드/마 케팅 전략 수 립	인삼신소재 브랜 드/마케팅 전략 수립 여부	90	1.인삼신소재 브랜드 네이밍(Ginseol K) 및 Global 마케팅 전략 수립 2.인삼신소재 원가절감 진행
		인삼신제품 시제 품 제조 및 검증 여부	80	1.인삼신제품 Scale-up 및 양산생산시 문제점(살균기 헌팅 등) 해결 2.양산제품 유통기한 설정 test
	인삼 신소재 간기능 개선 및 보호 기능 성 연구	비알콜성 지방간 모델 동물실험 진 행 여부	100	1.원가경쟁력 확보한 Ginseol K-k 인삼소재의 알콜성 지방간 효과에 대한 동물실험 수행
		지방간 개선 효능 에 대한 기전 연 구 여부	90	1.원가경쟁력 확보한 Ginseol K-k의 간조직 내 지질합성 조절 유전자 (SREBP-1c, FAS, ACC, LXRα)와 지질분해 조절 유전자 PPARα)들의 발현을 real-time qPCR로 분석하여 효능 기전 연구 진행
소비자 조사 를 통한 최종 배합비 완성	소비자 조사 기반 한 최종 배합비 개발 여부	90	1. 소비자 조사를 기반으로 천연 향미 및 전반맛 개선을 통한 최종 배합비 개발	

제 2 절 관련분야에의 기여도

- 인삼추출물을 단순히 그대로 이용하는 것이 아니라, 분획 및 사포닌 전환 기술로 Ginsenoside Rb1, Rg1, Rg3, Rh1, Compound K 등 특정 사포닌이 강화된 인삼소재를 개발하여 타겟 기능성별 맞춤형 소재로 활용이 가능함에 따라 다양한 기능성 인삼소재 개발의 가능성을 높였음.
- 특정 Ginsenoside 성분이 강화된 인삼 소재의 지방간 및 비알콜성 지방간에 대한 *in vitro* 및 *in vivo* 실험 등의 기능성 연구를 통해 간건강이라는 인삼의 신규 기능성 소재화를 가능하게 하여 국내 농산물 자원인 인삼의 새로운 부가가치 창출에 기여하였음.
- 중추신경 흥분작용과 중추신경 진정작용의 서로 상반된 약리 작용을 지닌 성분을 분리 분획하여 표준화한 조성물(Rg1 강화분획, Rb1 강화분획)을 개발함으로써 향후 체질별 맞춤형 인삼제품 개발이 가능하게 되어, 평소 인홍삼제품을 체질상 비선호하던 소비자들에게도 적합한 인삼제품 제공이 가능하게 되었으며, 인삼의 승열작용으로 일부 해외지역에서 배척받던 고려인삼의 판로를 확대할 수 있는 좋은 소재로써 활용가치가 있음.
- 6년근 홍삼에 편중된 국내 시장환경으로 인하여 사업가 규모로 발전한 6년근 재배자들에 비해 4년근 재배 농민들은 마땅한 판로를 찾지 못하여 빈곤의 악순환이 반복되는 상황에서, 4년근 인삼을 소재로 한 기능성 소재 개발 및 천연 인삼원물음료 개발을 통하여 4년근 인삼 농가의 소득 증대에 기여하게 됨.
- 최근 지속되고 있는 합성첨가물의 우려와 천연을 추구하는 소비자 트렌드에서 자유롭지 못한 현재 인홍삼 음료들에 사용되고 있는 합성첨가물들을 대체할 수 있는 기술개발의 기초 data 및 소재를 확보함으로써 향후 다양한 맛과 제형의 인홍삼제품 개발이 가능할 수 있도록 함.
- 합성첨가물 소재의 안정제 및 유효제를 일정부분 대체할 수 있는 천연소재의 안정제와 유효제를 개발함으로써 인삼뿐만 아니라 다양한 국내 농산물 원물을 활용한 음료제품 등에 활용이 가능하여 관련 산업 발전에 기여함.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과

(단위 : 건수)

구분	특허		논문		기타
	출원	등록	SCI	비SCI	
목표	3		3		
성과	3		(2)	(1)	
달성도	100%		66.6%		

1. 특허

출원된 특허의 경우				
출원연도	특허명	출원인	출원국	출원번호
2013	인삼 유래의 진세노사이드 R b 1의 함량이 증강된 추출 분획물을 유효성분으로 함유하는 비알코올성 지방간증의 예방 및 치료용 약제학적 조성물	서용기, 백세희, 송지혜, 신흥섭, 신화수	대한민국	10-2013-0125282
2014	천연 안정제 및 유화제를 적용한 인삼 또는 홍삼분말 함유 음료 조성물 및 그 제조방법	서용기, 송지혜, 백세희	대한민국	10-2014-0140727
2014	Compound K 성분이 강화된 홍삼농축액을 함유하는 비알코올성 지방간증의 예방 및 치료용 약제학적 조성물 및 건강기능식품	서용기, 백세희, 송지혜, 신흥섭, 신화수	대한민국	10-2014-0156917

2. 논문

인삼 소재의 기능성 연구에 관한 3편의 연구논문을 발표할 계획이며, 현재 1건 투고완료하였으며, 15년 이내에 투고를 완료할 예정임.

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분	SCI구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2015 (투고예정)	Protopanaxadiol-type ginsenosides isolated from Korean ginseng (<i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer) roots ameliorates hepatic steatosis induced by alcohol and high-fat diet in mice	신화수	신흥섭	백형석, 김민제, 박성욱, 백제현, 김영은, 서용기, 박정수, 한소라, 양영	Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry		국내	SCIE
2014 (Submitted)	Lipidomic approach to evaluate the pharmacological effect of ginsenosides enriched with compound K in high-fat diet induced obese mice	손종철	신흥섭, 류광현	신화수, 서용기	Journal of Agricultural and Food Chemistry Manuscript		국제	SCI
2015 (투고예정)	Preventive effect of Compound K-enriched ginseng extract in fatty liver development	신화수	신흥섭	이남규, 이다희, 박희영, 서용기	J. Appl. Biol. Chem.		국제	Scopus

3. 인력양성

인력양성명	인력양성연도	성과발생연도	인력양성내용	학위	전공	성별
박사 인력 양성	2014. 8	2014	박사학위 취득 (박정수)	박사	생명과학	여
석사 인력 양성	2012. 2	2012	석사학위 취득 (권이홍)	석사	생명과학	여
석사 인력 양성	2012. 2	2012	석사학위 취득 (김재원)	석사	생명과학	남
석사 인력 양성	2012. 8	2012	석사학위 취득 (전희진)	석사	생명과학	남
석사 인력 양성	2012. 8	2012	석사학위 취득 (서민정)	석사	생명과학	여
석사 인력 양성	2013. 2	2013	석사학위 취득 (류수정)	석사	생명과학	여
석사 인력 양성	2013. 8	2013	석사학위 취득 (우미선)	석사	생명과학	여
학사 인력 양성	2013. 2	2013	학사학위 취득 (박성욱)	학사	생명화학 공학	남
학사 인력 양성	2013. 2	2013	학사학위 취득 (서희원)	학사	생명화학 공학	여
학사 인력 양성	2013. 8	2013	학사학위 취득 (백제현)	학사	생명화학 공학	남
학사 인력 양성	2014. 2	2014	학사학위 취득 (백형석)	학사	생명화학 공학	남
학사 인력 양성	2014. 2	2014	학사학위 취득 (김민제)	학사	생명화학 공학	남

4. 학술발표

가. 신화수 등, Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) extract enriched with protopanaxadiol types of ginsenosides inhibits development of hepatic steatosis in mice fed with a high-fat diet. 2013. 한국응용생명화학회 국제학술대회

나. 신화수 등, Effects of the protopanaxadiol-enriched ginsenosides extracted from Korean ginseng on alcohol-induced hepatosis in mice, 2013. 한국응용생명화학회 국제학술대회

제 2 절 연구성과 활용

구분	기술실시(이전)	상품화	정책자료	교육지도	언론홍보	기타
목표	2	3				
성과		(3)				

- 본 과제 결과물은 주관기관이 산업체인 관계로 산업화 진행시 농기평 기술이전을 통하여 자체 상품화 진행을 하고자 한다.
- 본 과제에서 개발된 기능성 인삼 소재의 소재상품화를 추진코저 하나, 지방간 개선 작용 기작에 대한 심화 연구 및 인체시험 등 추가 기능성 연구 data가 있어야 추후 개별인정 소재로 신청이 가능하며 글로벌 진출시에도 소재 경쟁력을 지닐 것으로 판단되어 추후 인체시험 등을 통해 소재 경쟁력을 추가 확보한 이후에 소재상품화를 진행코저 함.
- 본 과제에서 개발된 천연컨셉의 인삼원물음료의 경우 양산 생산 후 일정기간 유효안정성을 확보하였으나, 상업화가 가능할 수준의 유통기한을 확보하지는 못한 상황으로 즉시 상품화는 어려운 상황이나, 향후 천연 유효안정제의 개발을 지속 진행하여 천연컨셉의 인삼원물음료를 출시할 계획임.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 인삼 및 특정 ginsenoside 성분이 손상된 간을 보호해 준다는 해외 연구결과들이 지속적으로 보고되고 있어, 간건강에 인삼이 도움이 된다는 사실이 지속적으로 입증되고 있음.
- 일본 방사능 이슈로 인하여 일본산 식품원료에 대한 소비자 불신이 높아 국내는 물론 해외에도 일본산 식품원료 및 첨가물들의 사용이 축소되고 있으며, 이로 인해 일본에서만 생산되는 일부 유화제(자당지방산에스테르 등)의 경우 이를 즉시 대체할 만한 유화제가 없어 관련 산업계에서 대체 유화제에 대한 니즈가 높은 상황으로 글로벌 유화제 전문업체들의 대체 유화제 개발이 활발히 진행되고 있음.
- 또한, 합성첨가물인 자당지방산에스테르의 경우 탁월한 유화력과 관능상의 우수성, 열안정성, 가격경쟁력 등의 많은 장점을 지니고 있어 이를 대체할 만한 천연 유화제의 개발이 이루어질 경우 산업계의 파급효과는 클 것으로 예상되고 있음.

제 7 장 연구시설·장비 현황

해당사항 없음.

제 8 장 참고문헌

1. 최신고려인삼연구, 고려인삼학회, (2007)
2. 2012 인삼통계자료집, 농림축산식품부 원예산업과, (2013)
3. 히다까 도우루, 식품용유화제 제2판, (1996)
4. T. K. Yun, Brief introduction of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Journal of Korean Medical Science* 16, supplement pp. S3-S5. (2001)
5. J. D. Park, D. K. Rhee, and Y. H. Lee, Biological activities and chemistry of saponins from *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Phytochemistry Reviews* 4(3), 159-175 (2005)
6. E. Ernst, *Panax ginseng*: an overview of the clinical evidence. *Journal of Ginseng Research* 34(4), 259-263. (2010)
7. K. T. Choi, Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean *Panax ginseng* CA Meyer. *Acta Pharmacologica Sinica* 29(9), 1109-1118. (2008)
8. L. W. Qi, C. Z. Wang, and C. S. Yuan, Isolation and analysis of ginseng: advances and challenges. *Natural Product Reports* 28(3), 467-495. (2011)
9. M. J. Bak, M. Jun, and W. S. Jeong, Antioxidant and hepatoprotective of the red ginseng essential oil in H_2O_2 -treated HepG2 cells and CCl_4 -treated mice. *International Journal of Molecular Sciences* 13(2), 2314-2330. (2012)
10. Liu R, Zhang JZ, Liu WC, Kimura Y, and Zheng YN, Anti-obesity effects of protopanaxadiol types of ginsenosides isolated from the leaves of American ginseng (*Panax quinquefolius* L) in mice fed with a high-fat diet. *Fitoterapia* 81, 1079-1087. (2010)
11. Yuan H-D, Kim SJ, Quan HY, Huang B, and Chung SH, Ginseng leaf extract prevents high fat diet-induced hyperglycemia and hyperlipidemia through AMPK activation. *J. Ginseng Res.* 34(4), 369-375. (2010)
12. M. A. Abdel-Wahhab, K. Gamil, A. A. El-Kady, A. A. El-Nekeety, and K. M. Naguib, Therapeutic effects of Korean red ginseng extract in Egyptian patients with chronic liver diseases. *Journal of Ginseng Research* 35(1), 69-79. (2011)
13. Yuan H-D, Kim JT, and Chung SH, Pectinase-processed ginseng radix (GINST) ameliorates hyperglycemia and hyperlipidemia in high fat-diet ICR mice. *Biomol. Ther.* 20(2), 220-225. (2012)
14. Yuan H-D, Kim SJ, and Chung SH, Beneficial effects of IH-901 on glucose and lipid metabolisms via activating adenosine monophosphate-activated protein kinase

- and phosphatidylinositol-3 kinase pathways. *Metabolism Clinical and Experimental* **60**, 43-51. (2011)
15. Kim JH, Hahm DH, Yang DC, Kim JH, Lee HJ, and Shim I, Effects of crude saponins of Korean red ginseng on high-fat diet-induced obesity in the rats. *J. Pharmacol. Sci.* **97**, 124-131. (2005)
 16. Kim JH, Kang SA, Han SM, and Shin I, Comparison of the antiobesity effects of the protopanaxadiol- and protopanaxatriol-type saponins of red ginseng. *Phytother. Res.* **23**, 78-85. (2009)
 17. K. H. Park, H. J. Shin, Y. B. Song et al., Possible role of ginsenoside Rb1 on regulation of rat liver triglycerides. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **25(4)**, 457-460. (2002)
 18. S. J. Kim, H. D. Yuan, and S. H. Chung, Ginsenoside Rg1 suppresses hepatic glucose production via AMP-activated protein kinase in HepG2 cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **33(2)**, 325-328. (2010)
 19. Park JH, Sun a new processed ginseng with fortified activity. *J. Food. Ind. Nutr.* **9**, 23-27. (2004)
 20. Quan HY, Yuan HD, Jung MS, Ko SK, Park YG, and Chung SH, Ginsenoside Re lowers blood glucose and lipid levels via activation of AMP-activated protein kinase in HepG2 cells and high-fat diet fed mice. *Int J Mol Med* **29**, 73-80. (2012)
 21. D. Y. Kim, H. D. Yuan, I. K. Chung, and S. H. Chung, Compound K, intestinal metabolite of ginsenoside, attenuates hepatic lipid accumulation via AMPK activation in human hepatoma cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57(4)**, 1532-1537. (2009)
 22. Anstee QM and Goldin RD, Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. *Int J Exp Pathol* **87**, 1-16. (2006)
 23. Lee HU, Bae EA, Han MJ, Kim NJ, Kim DH, Hepatoprotective effect of ginsenoside Rb1 and compound K on tert-butyl hydroperoxide-induced liver injury. *Liver Int.* **25(5)**, 1069-1073. (2005)
 24. Noh KH, Son WS, Kim HJ, Oh DK, Ginsenoside Compound k production from ginseng root extract by a thermostable β -Glycosidase from *Sulfolobus solfataricus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73(2)**, 316-321. (2009)
 25. Jung S, Lee MS, Shin Y, Kim CT, Kim IH, Kim YS, and Kim Y, Anti-obesity and anti-inflammatory effects of high hydrostatic pressure extracts of ginseng in high-fat diet induced obese rats. *J Functional Foods* **10**, 169-177. (2014)
 26. Zao Y, Chen B, and Yao S, Separation of 20(S)-protopanaxadiol type ginsenosides

and 20(S)-protopanaxatriol type ginsenosides with the help of macroporous resin adsorption and microwave desorption. Separation and Purification Technology **52**, 533-538. (2007)

27. 임가영 등, 증숙 및 습식분쇄조건에 따른 인삼의 품질특성, Journal of the Korean society of food science and nutrition, (2010)

28. 김만옥 등, 원료삼 부위별 사포닌함량에 관한 연구, 고려인삼학회지 8(1),8 (1984)

29. 김만옥 등, 고려인삼근의 부위별 년근별 사포닌함량 및 분포, 고려인삼학회지, 11(1),10 (1987)

30. 이부용 등, 해외 인삼 잠재시장에 대한 맞춤형 인삼제품 개발(맛, 향, 편이성 제고에 대한 기술 및 제품개발), 농기평 최종연구보고서 (2010)

31. 이부용 등, 고려인삼의 수출촉진을 위한 우수성 발굴 및 신제품 개발, 한국식품연구원 연구 보고서 (2004)

※ 보고서 겉표지 뒷면 하단에 다음 문구 삽입

주 의

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