

발간등록번호

11-1543000-001359-01

초고압 효소 융합기술을 이용한
홍삼 부산물의 기능성 다당체 사업화 기획

(R&D Project for Development of Functional Polysaccharides
using Enzyme-linked High Pressure Process(ELHPP)
Convergence Technology from Red Ginseng Byproducts)

(주)뉴트렉스테크놀러지

농림축산식품부

제 출 문

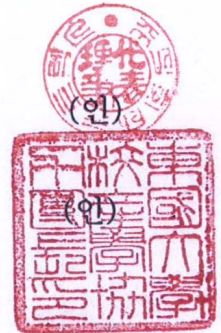
농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “기술사업화지원사업” (개발기간 : 2015. 12. 23 ~ 2016. 5. 22)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016 . 6 . 30 .

주관연구기관명 : (주)뉴트렉스테크놀로지 김성한

협동연구기관명 : 동국대학교 산학협력단 이용규



주관연구책임자 : 김성한

협동연구책임자 : 신한승

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라
보고서 열람에 동의 합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	815016-1	해당단계 연구기간	2015.12.23. ~ 2016. 5. 22	단계구분	기획연구
연구사업명	중사업명	기술사업화지원사업			
	세부사업명	기술사업화지원사업			
연구과제명	대과제명				
	세부과제명	초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 기능성 다당체 사업화 기획			
연구책임자	김성한	해당단계 참여 연구원 수	총: 11명 내부: 11명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 20,000천원 민간: 천원 계: 20,000천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 11명 내부: 11명 외부: 명	총연구개발비	정부: 20,000천원 민간: 천원 계: 20,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)뉴트렉스테크놀로지 동국대학교 산학협력단			참여기업명	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	
요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)				보고서 면수	

〈 국문 요약문 〉

		코드번호	D-01		
연구의 목적 및 내용	<p>1. 초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 기능성 다당체 소재개발 가. 원료확보 및 기능성 다당체 추출기법 사전정립 나. 기능성분 분석법 사전정립 다. 초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 산성다당체 추출조건 확립</p> <p>2. 초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 기능성 다당체 효능연구 가. 홍삼 부산물 부산물 중 지표물질인 산성다당체의 항산화 평가 나. 면역증강 효능평가</p> <p>3. 장단기 R&D 사업화 계획수립 가. 제품화 우선순위 및 장단기 원료확보방안 설정 나. 제품화 핵심 소재 대량생산시스템 확보방안 설정 다. 국내외 사업화 및 R&D 방향 설정</p>				
연구개발성과	<p>1. 초고압 효소융합 홍삼부산물의 기능성 다당체 소재 개발 가. 5종류의 효소를 사용함 (Amylase, Cellulase, Pectinase, Hemicellulase, Xylanase) 나. 초고압처리한 홍삼부산물에 5 종류의 효소를 처리하여 기능성 다당체 함량을 조사한 결과 cellulase를 처리한 경우 기능성 다당체의 수율이 136 % 증가함</p> <p>2. 홍삼부산물의 아토피 피부염 개선/예방 효능평가 가. 아토피 피부염 유발 후 관능평가에서 피부병변 개선이 관찰됨 나. 혈액 내 IL-4, Th2 Cytokine의 함량이 증가함 다. 혈액 내 히스타민의 함량은 감소함</p> <p>3. 초고압효소융합 홍삼부산물 중 지표물질인 산성다당체의 항산화 평가 가. DPPH, ABTS radical 소거능 및 총 페놀 및 산화능이 증가함 나. 피부세포주를 이용한 실험에서 항산화관련 유전자의 발현이 관찰됨 다. 대식세포주를 이용한 실험에서 면역관련 유전자의 발현이 증가함</p> <p>4. 장단기 R&D 사업화 계획수립 가. 제품화 우선순위 및 장단기 원료확보방안 설정 나. 제품화 핵심 소재 대량생산시스템 확보방안 설정 다. 국내외 사업화(마케팅) 방향 설정 라. 제품화 R&D 방향 설정</p>				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<p>1. 1단계 : R&D 기획 지원사업 추진체계 가. 제1세부 : 초고압효소융합 홍삼부산물 추출기법 공정화 및 소재 개발 검토 나. 제1협동 : 초고압 효소 융합기술 처리 면역증강/항산화 효능평가 다. 컨설팅기관 : 시장분석 및 비즈니스 모델 작성, 특허권 분석</p> <p>2. 2단계 : 장기 R&D 사업화 추진체계 가. 제1세부와 제1협동간 효능최적화 및 가공조건 최적화 나. 초고압효소융합 홍삼부산물의 기능성다당체 제품 개발 및 출시</p>				
중심어 (5개 이내)	홍삼 부산물	초고압 효소 융합기술	산성 다당체	건강기능식품	

〈 SUMMARY 〉

		코드번호	D-02
Purpose& Contents	<ol style="list-style-type: none"> 1. Development of Material of Ginseng Byproducts using ELHPP technology <ol style="list-style-type: none"> A. Pre-established extraction Methods of Functional Polysaccharides and Secure raw material. B. Analytical Methods of Functional Material C. Establishment of extraction method of ELHPP 2. Fuctional analysis of ELHPP <ol style="list-style-type: none"> A. Antioxidant test of ELHPP B. Immune test of ELHPP 3. Establish short- and long-term R & D Commercialization Plan <ol style="list-style-type: none"> A. Commercialization priorities and set short- and long-term measures to secure raw materials B. Ensuring core material commercialized mass production system settings C. Domestic and international commercialization of R & D Direction 		
Results	<ol style="list-style-type: none"> 1. Development of Material of Ginseng Byproducts using ELHPP technology <ol style="list-style-type: none"> A. 5 kinds of Enzyme (Amylase, Cellulase, Pectinase, Hemicellulase, Xylanase) B. Increase 136 percent yield of ELHPP Ginseng Byproducts 2. Atopy skin test of Ginseng Byproducts <ol style="list-style-type: none"> A. Observation of improvementof skin sensoty test B. Increase of IL-4, Th2 cytokines in blood C. Decrease of Histamine in blood 3. Antioxidant test of ELHPP Ginseng Byproducts <ol style="list-style-type: none"> A. Increase of Radical Scavenging effect by DPPH, ABTs and total phenol contents. B. Increase of Antioxidant related genes in Keratinocyte cell lines B. Increase of Immune related genes in Macrophage cell lines 4. Establish short- and long-term R & D Commercialization Plan <ol style="list-style-type: none"> A. Commercialization priorities and set short- and long-term measures to secure raw materials B. Ensuring core material commercialized mass production system settings C. Domestic and international commercialization (marketing) Direction D. Set the Commercialization R & D Direction 		
Expected Contribution	<ol style="list-style-type: none"> 1. 1st step : R & D projects planning support system <ol style="list-style-type: none"> A. The first details : ELHPP ginseng byproducts extraction techniques and materials developed Fairness Review B. The first partner : Antioxidant/Immune test of ELHPP Ginseng Byproducts C. Consultancy : Market analysis and business model creation, patent analysis 2. 2nd step : Long-term R & D Commercialization Promotion System <ol style="list-style-type: none"> A. The first details and optimized the first partner between efficacy and optimize processing conditions B. Product development and introduction of ELHPP Ginseng Byproducts 		
Keywords	Red ginseng byproducts	Enzyme-linked high pressure process (ELHPP) convergence technology	Acidic polysaccharides Health functional food

< CONTENTS >

1. Summary of Research and Development Subject	1
2. Domestic and Foreign Technology Development	20
3. Contents and Results of Research and Development	28
4. Accomplishment of objectives and contribution to correlated fields	51
5. Achivement of Research Development and Design of Achivement Application	55
6. International scientific and technical information collected in the research process	58
7. Security levels of Research and Development Results	61
8. Research facility registered with the National Science and Technology Information System Equipment Status	61
9. Safeguards Implementation Performances of Research labs during Research and Development project	62
10. Typical study results of Research and Development projects	66
11. etc	66
12. References	66

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	1
2. 국내외 기술개발 현황	20
3. 연구수행 내용 및 결과	28
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	51
5. 연구결과의 활용계획 등	55
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	58
7. 연구개발성과의 보안등급	61
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	61
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	62
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	66
11. 기타사항	66
12. 참고문헌	66

1. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

가. 연구개발 목적

* 사업화 기획

1. 기술명(지적소유권 확보) 기준 전문컨설팅을 통한 개발 타당성 및 R&D 사업화 방향 설정
2. 컨설팅 결과 기초 장단기 R&D 사업화 계획 수립
3. 홍삼 부산물을 이용한 기능성 다당체 개발(면역 및 피부미용 소재 개발) 방향 및 유효성 사전평가 (시제품 제조 및 예비시험평가, in vitro)

* 사업화 목표 : 후속, 장기 R&D 사업화 추진(예상소요 연구기간 3년)

- 사업화명: 초고압 효소 융합기술을 활용한 기능성 다당체 유래 면역증진/피부미용 개선 및 예방형 건강기능식품 개발

1. 초고압효소융합 홍삼부산물 유래 면역증진/피부미용 개선 및 예방 건강식품 개발
2. 초고압효소융합 홍삼부산물의 면역증진/피부미용 개선 생리활성 및 기전연구
3. 초고압효소융합 홍삼부산물의 품질 안정성 및 안전성 평가 연구
4. 초고압효소융합 홍삼부산물의 상품화

* 사업화 내용

1. 컨설팅 결과를 기초로 장단기 R&D 사업화 계획수립

- 가. 제품화 우선순위 및 장단기 원료확보방안 설정
- 나. 제품화 핵심 소재 대량생산시스템 확보방안 설정
- 다. 국내외 사업화(마케팅) 방향 설정
- 라. 제품화 R&D 방향 설정
- 마. 최종 장단기 R&D 방향 확정(본 과제 외 별도추진 사업화)

2. 기술명(지적소유권) 기준 전문 컨설팅을 통한 사업화 방향 설정

- 가. 권리성 분석 : 특허의 권리범위 및 기술의 권리성을 파악
- 나. 기술성 분석 : 평가대상기술의 선행기술, 경쟁기술의 분석을 통한 기술의 우위성 및 차별성분석
- 다. 시장성 분석 : 전체 시장규모 및 성장률, 전·후방시장의 규모를 분석
- 라. 사업성 분석 : 본 특허기술 상용화시 도입 기업의 예상매출액 및 기술가치 산정
- 마. 권리성 분석 : 특허의 권리범위 및 기술의 권리성을 파악

3. 홍삼 부산물을 이용한 기능성식품 개발(면역증진/피부미용 개선 및 예방 건강기능식품 개발)용 시제품 제조

- 가. 원료확보 및 초고압 효소 융합 기술을 이용한 유용물질 추출기법 사전정립

(경제성 평가)

나. 유효성분 분리 및 기능성분 분석법 사전정립

다. 제품화 전제, 기능성분(지표) 확정 및 분석법 사전정립

4. 시제품(면역증진/피부미용 개선 및 예방 건강기능식품)을 이용한 목표효과 대비 유효성사전평가 (예비시험)

가. 면역증진 효능 평가(in vitro)

나. 피부미용 개선 및 예방효능평가(in vitro, in vivo)

5. 후속, 장기R&D 사업화 추진(예상소요연구기간 : 3년)

- 사업화명 : 초고압 효소 융합기술을 활용한 기능성 다당체 유래 면역증진/피부미용 개선 및 예방형 건강기능식품 개발

나. 연구개발의 필요성

(1). 시장현황

(가) 건강기능성식품 시장 현황

○ 자연친화적 웰빙트렌드에 따른 소비자의 니즈 증가 및 고령화의 가속화 등의 이유로 건강기능성식품에 대한 수요는 지속적으로 증가하고 있으며, 이에 따라 건강기능성식품 및 식품소재 산업은 성장 잠재력이 풍부한 시장으로 인식되고 있음.

○ 2010년 지역별 건강기능식품 매출액 현황은 미국이 281억달러(33.2%)로 가장 시장규모가 크고 다음으로 서유럽(153억달러, 18.1%), 일본 105억달러, 12.4%), 중국(95억달러, 11.2%) 순으로 나타났음.

○ 미국은 칼슘, 무기질, 프로바이오틱스 등이 주류를 이루고 있으며, 질병 예방에 대한 관심 증가로 향후 지속적으로 성장할 것으로 전망됨.

○ 일본은 고령화 사회 확대 및 경제환경의 악화로 건강식품에 대한 소비자의 기대치 상승에 의해 시장이 계속적으로 성장할 것임.

○ 중국은 전 세계 기능식품 원료의 절반이상이 생산되는 곳이며 관련 사업의 규모가 크고 가장 역동적인 시장임.

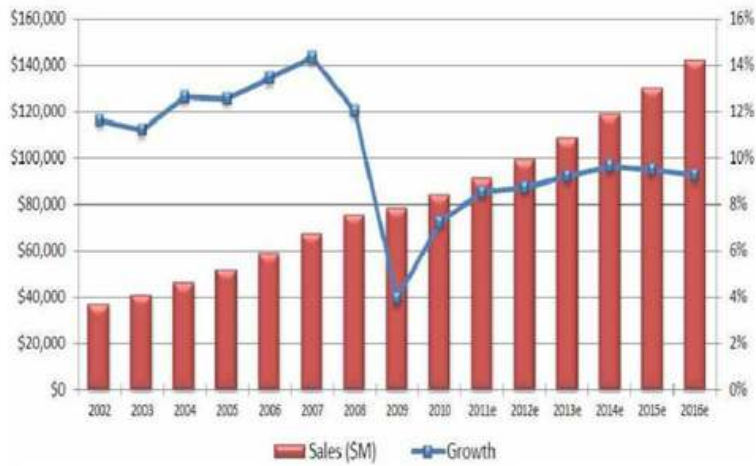
○ 건강기능성 식품소재의 세계시장은 2017년까지 13.00%의 성장률을 보이며 지속적으로 성장할 것으로 전망됨.

주요국가별 시장 동향



Source : NBJ's Global Supplement & Nutrition Industry Report, Nutrition Business Journal, 2012; 식약청, 2011년 건강기능식품 생산실적 분석결과 발표 보도자료, 2012.

<기능성식품 세계시장규모>



출처: Global Supplement & Nutrition Industry Report (2012)

(단위: 백만달러)

<건강기능성 식품소재 세계시장규모 전망>

연도	2012	2013	2014	2015	2016	2017	성장률(%) (2012-2017)
시장 규모	6,948	7,851	8,872	10,025	11,329	12,801	13.00%

13조4천억 15조2천억

○ 국내 건강기능식품 시장은 수입관제품 증가로 인한 수입의존도가 높았음. 그러나 최근 자체 연구개발을 통해 신제품 개발 등 집중 투자가 이루어지고 있음.

○ 국내 건강기능식품 시장은 선진국보다는 뒤지긴 하였으나, 평균수명 연장 및 생활수준의 향상 등에 따른 삶의 질에 대한 의식 향상으로 인한 웰빙 트렌드 형성, 생활습관의 서구화에 따른 질병증가로 인해 건강기능성식품에 대한 관심과 수요가 증가하고 있어 관련 산업은 지속적으로 발전할 것으로 전망됨.

○ 건강기능성 식품소재의 국내시장은 2017년까지 19.43%의 성장률을 보이며 지속적으로 성

장할 것으로 전망됨.

〈건강기능성 식품소재 국내 시장규모〉

(단위: 억 원)

연도	2012	2013	2014	2015	2016	2017	성장률(%) (2012-2017)
시장 규모	16,340	19,515	23,307	27,836	33,244	39,704	19.43%

(나) 이너뷰티 시장

한국, 일본, 중국의 이너뷰티 시장규모를 살펴보면, 일본이 2조3천억, 중국이 3조6천억, 한국이 5천억 규모로 아시아 3국 시장은 총 6조 4천억 규모에 해당함.

① 일본 이너뷰티 시장

○ 일본의 종합 기획 센터 오사카에 따르면, 2012년 일본 이너뷰티(미용식품)시장은 전년 대비 3.1% 증가한 2천42억5천만엔으로 피부미용, 노화방지, 미백, 차가운 체질 개선 등 4가지 분야로 나뉘어 고른 성장을 보이고 있음.

② 중국 이너뷰티 시장

○ 중상정보망(中商情报网)이 발표한 ‘중국 이너뷰티 산업조사 및 발전전망 분석보고’에 따르면 이너 뷰티 시장의 규모는 200억 위안에 달하며, 매년 평균 20억씩 성장 중임.

○ 중국에서 미세먼지, 황사 등으로 호흡기 및 피부 질환 환자가 증가하면서 이너뷰티에 관한 중국인들의 관심도 높아지고 있음.

○ 중국의 화장품시장에서 이너뷰티용품이 차지하는 비율은 3%미만이지만, 중국 여성들에게 이너뷰티는 피부에 좋은 건강보조식품이라는 개념이 크고 ‘먹는 화장품’이라는 개념은 생소한 편임.

③ 국내의 이너뷰티 시장

○ 국내 화장품 업계에 따르면 2009년 50억 규모에 해당하던 이너뷰티 시장은 2014년도 약 4천억 규모로 추산되며, 2015년도에는 5천억을 넘길 것으로 추정됨.

○ 국내 이너뷰티 시장은 전체 건강기능식품시장의 약 20%를 차지하고 있으며, 매년 15%의 꾸준한 성장세를 보이고 있음.

○ 국내 이너뷰티 시장의 고객군 및 니즈 분석을 살펴보면, 이너뷰티 제품의 구매 연령층은 20-30대가 많으며, 남성보다는 여성층의 비율이 큼. 소비자층의 이너뷰티 구매빈도는 3개월에 1회가 대부분이었으며, 연평균 이너뷰티 구입 비용으로는 20-30만원 미만이 60% 이상

을 차지함.

		평균 ±	표준 편차
뷰티 관심 도	뷰티, 안티에이징관심도	3.35±	1.08
	외모 관심도	4.12±	.78
	외모관리의 중요성인식	4.43±	.69
	항노화를 위한 화장품 사용	3.28±	.86
	피부관리를 위한 병원, 피부관리실 방문경험	2.95±	1.27
	미용성형수술의 관심도	3.32±	1.23
	피부스케일링 혹은 박피기술 받은 경험	3.05±	.81
	향후 미용성형수술 의향여부	3.83±	1.04
	자외선과 피부노화의 관련성여부	4.44±	.70
	뷰티관심도 전체	3.48±	.37

[국내 뷰티시장의 이너뷰티 현황 및 선호도 조사, 조유경(2012)]

○ 소비자층의 뷰티관심도의 항목 중 자외선과 피부노화의 관련성이 높은 것으로 나타난 것으로 보아 이너뷰티 제품 중 항산화 기능성에 대한 소비자 니즈가 뚜렷한 것으로 보임.

○ 국내 시장의 경우, 항산화, 피부개선, 체중조절 분야에 제품이 출시되고 있음.

㉞ 이너뷰티, 피부미용관련 기능성원료 현황

종류	기능
항산화 인자	노화방지제는 산화방지제라고도 하며 노화현상의 주요인자인 산소에 의해서 자동 산화되는 연쇄반응을 정지시키는 작용을 한다.
미량원소	생물이 성장하는 데는 반드시 필수 불가결한 원소가 있다. 철, 망간, 아연, 구리, 염소 등이 미량원소로 알려져 있고 이러한 미량원소의 작용은 주로 식품체 내의 효소의 구성성분으로 작용한다.
콜라겐	교원질이라고도 하며 섬유상 고체로 존재하고 복잡한 가로무늬 구조로 되어 있다. 피부는 표피와 진피로 나눌 수 있는데 진피의 대부분을 콜라겐이 차지하고 있다.
유산균	인간이 이용할 수 있는 가장 유익한 미생물의 한 종류로서 발효 과정 중에 포도당 또는 유당과 같은 탄수화물을 분해하여 유기산을 생성하는 세균이다. 사람이나 동물의 장내에서 해로운 물질의 생성을 막고, 부패를 방지하는 등 유익한 장내 세균을 유산균이라 한다.
비타민	생명현상을 유지하기 위한 대사 작용에 필요한 물질로 신체 내에서 합성이 되지 않아 다른 공급원으로 공급받아야만 양호한 건강상태 유지와 정상적인 성장을 도모한다. 비타민은 수용성과 지용성으로 나뉘며 수용성비타민은 비타민B1, 비타민B2, 비타민B6, 비타민B12, 니아신, 비타민C, 비오틴, 엽산 및 판토텐산이 속한다. 지용성비타민은 비타민 A, D, E, F, K 등이 속한다.

코엔자임 Q10	활성산소의 생성을 억제하는 항산화능력이 우수하며 면역세포나 백혈구의 작용을 높이는 작용을 한다. 나이가 들면 CoQ10수치가 떨어지는데 항산화제로 노화피부치료제에 이용한다.
글루타민	단백질을 구성하는 아미노산의 일종으로, 생체 내에서 암모니아의 저장 역할을 한다.
히알루론산	아미노산과 우론산으로 이루어지는 복잡한 다당류의 하나로, 세균의 침입이나 독물의 침투를 막는 역할을 한다. 수분함유능력이 뛰어나고 피부조직에 대한 친화력과 지속성으로 인해 수분을 공급하는 재료로 화장품에 많이 쓰인다.

[출처: 식품의약품안전처, 화장품성분사전]

㉔ 고시형 기능성원료 품목

품목	기능성 내용
1. 엽록소함유 식물	피부건강, 항산화에 도움
2. 클로렐라	피부건강, 항산화에 도움
3. 스피루리나	피부건강, 항산화에 도움
4. 녹차 추출물	항산화에 도움
5. 프로폴리스추출물	항산화 작용
6. 코엔자임Q10	항산화
7. N-아세틸글루코사민	피부보습에 도움
8. 스쿠알렌	항산화에 도움
9. 알로에겔	피부건강

[출처: 식품의약품안전처, 건강기능식품공전]

○ 국내 이너뷰티, 피부미용관련 기능성원료 및 고시형 품목에서 항산화 기능이 많은 부분을 차지하고 있음. 홍삼 부산물로부터 추출한 산성다당체의 항산화, 미백 등의 효능연구가 이루어진다면, 고부가가치의 피부개선 기능성원료를 개발하여 이너뷰티 시장에서의 경쟁력을 갖출 수 있을 것으로 사료 됨.

(다) 국내 홍삼, 인삼 시장 현황

○ 국내 홍삼시장은 2014년 1.3조원 규모로 건강기능성 식품 중에서 약 40% 비율을 차지하여 가장 높은 점유율을 보이고 있으나, 다양한 홍삼 기능성 식품을 개발하고 있는 외국과 달리 홍삼추출액이 가장 높은 비중을 차지하고 있음.

○ 지난 2011년 이후 국내 홍삼제품 시장은 정체되고 있는 추세이며, 이는 건강기능식품 시장에서 다양한 기능성 소재에 대한 개발이 증가된 반면, 홍삼제품 업체 간의 경쟁이 치열해

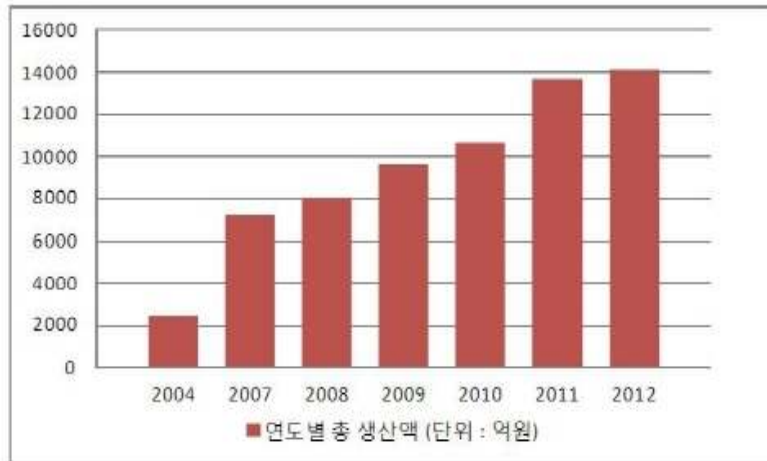
지면서 비슷한 컨셉의 제품들과 홍삼 브랜드의 난립으로 인한 시장의 성장성 저해로 보여짐.

○ 국내 인삼산업은 1980년대 중반부터 꾸준한 성장세를 이어오다가 2009년을 정점으로 점차 위축되고 있음. 재배면적은 2009년 1만9702ha에서 지난해 1만4652ha로 줄었고, 생산량도 이 기간 2만7460t에서 2만978t으로 감소했음.

○ 1인당 소비량은 2009년 0.48kg에서 지난해 0.35kg으로 떨어졌으며, 1인당 소비량 감소는 비타민·유산균등 건강기능식품이 다양해지면서 인삼 소비가 위축된 것이 주요인으로 분석됨.

○ 인삼, 홍삼은 대표적인 수출 효자상품으로 성장 가능성이 높은 고부가가치 상품으로도 각광 받았으나, 최근에는 산업규모가 위축되면서 생산·유통 등 전 부문에 대한 대대적인 혁신을 통해 경쟁력을 높여야 한다는 주장이 거세지고 있음.

< 연도별 국내 건강기능식품 생산실적 >



[출처: 식품의약품안전처]



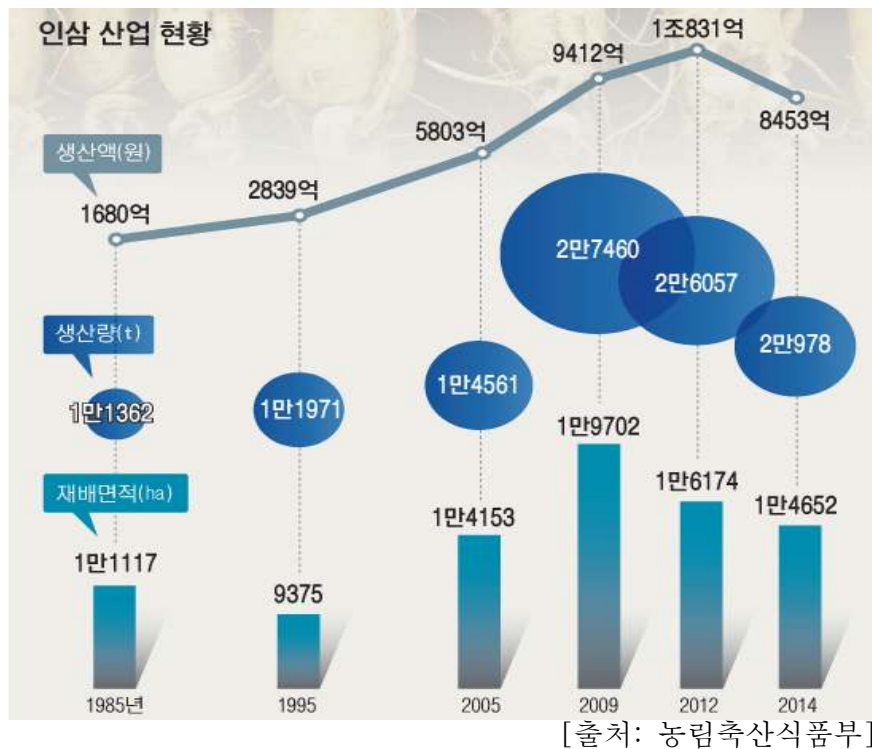
< 연도별 국내 홍삼제품 생산실적 >

[출처: 식품의약품안전처]

○ 인삼 생산부문의 가장 큰 문제는 재배 적지 확보이며, 인삼은 연작 시 뿌리썩음 병이 발생해 기존 재배지를 6-10년간 휴작해야 하는데, 대체 재배지를 찾기가 쉽지 않음. 따라서 대부분 인삼뿌리만을 활용하는 시중 홍삼제품을 대체할 수 있는 다양한 원료소재 개발화가 시급함.

○ 인삼, 홍삼의 다양한 원료소재 개발이 이루어진다면, 비슷한 제품들이 출시되고 있는 홍삼제품 시장 속에서 차별화된 특성을 갖는 제품개발로 침체된 시장의 성장을 기대해볼 수 있음.

○ 차별화된 홍삼제품 전략을 위해서는 기존의 사포닌 유효성분만을 활용했던 제품뿐 만 아니라, 홍삼에 함유되어 있는 활성성분을 적극적으로 이용하여 기준규격형제품은 물론이고, 기능성분을 활용할 수 있는 다양한 제품으로 개발하여 홍삼의 이용 가능성을 극대화 시킬 수 있는 방안이 필요함.



(2) 홍삼 부산물을 활용한 고부가가치의 식품 소재 개발

○ 대부분의 홍삼제품은 홍삼을 물 또는 알코올로 가열 추출하여 추출물을 제조하고 있으며, 홍삼 추출물 제조과정에서 다량의 홍삼 부산물(홍삼추출물의 잔사물)은 홍삼에 대해 약 65%가 얻어짐.

○ 농촌진흥청 보고에 의하면 홍삼 부산물은 연간 약 8천여톤(2012년 기준)이 생산되며, 일부 홍삼 부산물이 동물사료와 퇴비로 이용될 뿐 대부분은 폐기되고 있는 실정임.

○ 홍삼 부산물에는 폴리아세틸렌 계통의 지용성 화합물과 산성 다당체 등 여러 가지 유효 성분이 함유되어 있고, 상당한 양의 다당체가 용출되지 않고 함유되어 있다고 알려짐. 백삼과 홍삼, 홍삼 부산물의 일반성분을 비교한 연구에 의하면, 홍삼 부산물이 백삼과 홍삼과 비교하여 가장 높은 조섬유를 함유하고 있는 것으로 보고되었으며, 이는 홍삼 부산물이 다당체 추출 원료로의 타당성을 갖는다고 판단 할 수 있음.

Proximate compositions of white ginseng, red ginseng and red ginseng marc

(%, w/w)

Component	White ginseng (WG)	Red ginseng (RG)	Red ginseng marc ¹⁾ (RGM)
Carbohydrate	75.0	72.4	72.1
Crude fiber	2.1	0.4	15.3
Crude protein	14.6	13.6	18.1
Crude lipid	2.7	2.3	1.8
Crude ash	4.6	4.2	6.5
Moisture	5.8	8.3	5.8

¹⁾Red ginseng marc is a byproduct of alcohol extraction process of red ginseng.

[참고논문: 홍삼 부산물을 이용한 다당체 추출조건 최적화(2009)]

○ 특히 알코올 추출 홍삼 부산물에는 산성다당체의 함량이 높으며 이 산성다당체는 항암 및 면역활성이 높은 것으로 보고된 바 있으나, 온도 및 pH 등의 다당체 추출조건에 대한 기초적인 연구만 있을 뿐, 기술적인 수준이 부족함.

○ 홍삼 부산물을 식품으로 활용하는 일부 연구는 홍삼 부산물을 첨가한 식빵과 스펀지 케이크가 보고되어 있으며, 홍삼 부산물 추출물을 배지에 첨가하면 효모와 담자균의 생육이 향상되었다는 결과가 알려져 있음. 최근에는 홍삼 부산물을 산란계 사료와 버섯재배용 배지로 활용 가능성이 알려져 있으나, 대부분의 홍삼 부산물 활용은 매우 미미함.

○ 자원의 재활용 측면에서 그 속에 함유되어 있는 산성다당체를 추출하기 위해, 본 연구진으로부터 사전 연구된 초고압기술을 응용하여 홍삼 부산물의 다당체를 효율적으로 추출함으로써 기능성을 갖춘 우수한 식품 소재개발을 기대해 볼 수 있음.

○ 부수적으로 홍삼 농축액 추출 공정에서 대부분 활용되지 못하고 폐기되는 홍삼 부산물에 초고압기술이 더해져서 고부가가치 제품으로의 활용을 통해 관련 산업에서는 폐기비용을 절감하고, 제품의 제조원가를 줄일 수 있는 경제적 효과와 더불어 친환경적인 공정개발이 가능할 것으로 전망됨.

(3) 초고압기술을 이용한 홍삼 부산물의 산성다당체 연구

○ 1960년대 말부터 각 사포닌 성분에 대한 화학 구조식이 본격적으로 밝혀지기 시작했음. 1980년대 초에는 인삼의 가공 방법에 따라 분류되는 홍삼과 백삼에 대한 사포닌 성분의 개별적인 특성을 규명하기 위한 연구가 집중적으로 실시되어 홍삼과 백삼에 특유의 사포닌 성분들이 밝혀졌음.

○ 본격적인 인삼 사포닌의 화학적 순수분리 연구가 실시된 1960년대 초부터 지금까지 약 30 여종 이상의 사포닌 성분에 대한 화학구조가 밝혀졌으며, 사포닌 이외 다당체, 폴리아세틸렌계, 페놀계 화합물, 펩티드, 알칼로이드, 비타민 등의 비사포닌 성분들도 인삼의 구성 성분으로 확인됨.

○ 인삼의 화학적 성분을 살펴보면 크게 사포닌 계열과 비사포닌 계열로 구분되는 복합성분으로 이루어졌으며, 사포닌 계열의 함량은 3-6%, 비사포닌 계열인 N-containing substances는 12-15%, Fat-soluble component는 1-2%, Carbohydrates는 50-60% 정도를 차지함.



< 인삼의 성분 분석 및 함량 >

Group	Contents	Ingredient
saponin	Saponin (3-6%)	<ul style="list-style-type: none"> • Protopanaxatriol (PPT) ginsenosides • Protopanaxadiol (PPD) ginsenosides • Oleananeginsenosides
Non-saponin	N-containing substances (12-15%)	<ul style="list-style-type: none"> • Peptides, Nucleic acids • Protein, Amino acids • Alkaloid
	Fat-soluble component (1-2%)	<ul style="list-style-type: none"> • Essential oils • Fat, Fatty acids • Organic acids • Phytosterol • Polyacetylenes • Phenolics • Terpenes
	Carbohydrates (50-60%)	<ul style="list-style-type: none"> • Oligosaccharides • Polysaccharides • Sugar, Fiber, pPet

Other	Ash(4-6%)	• Minerals
	Vitamin(0.05%)	• Vitamins(Water-soluble)

○ 지금까지 알려진 인삼의 효능 및 효과는 면역기능, 항산화 활성 및 노화억제 효능, 피로 개선 등으로 연구되어있음. 이러한 효능들은 주로 ginsenoside나 total saponin에 의한 수준에서 수행된 결과이며, 비사포닌계 분획 및 물질수준에서의 연구결과는 사포닌 효능연구에 비해 매우 미흡한 실정임.

○ 비사포닌계 성분 중에서 인삼에 가장 많은 비율을 차지하는 다당체를 분리한 후 분석한 결과 중성당은 28.3%, glucuronic acid 및 galacturonic acid 같은 산성당의 함량은 56.9%로 산성다당체 함량이 높은 것으로 알려짐.

○ Pectin질의 함량은 6년근의 경우 4.46-6.11% 정도가 함유되어 있고, pectin을 구성하고 있는 구성 성분으로는 galacturonic acid가 96-98% 정도를 차지하고 있으며, 그 외 glucose, galactose, arabinose, rhamnose 및 xylose 등으로 구성되어 있음.

○ 인삼에 함유되어 있는 성분 중에서 가장 많은 비율을 차지하고 있는 물질은 당류이며, 채굴 시기나 연근별 그리고 분석조건에 따라 차이가 나겠지만 6년근 인삼에 약 51%가 함유되어 있음.

○ 인삼의 다당체 성분은 방사선 유발 골수장애방어, 조혈과정, 함암면역증강작용, 항종양활성, 혈당강하활성, 항궤양 작용 등의 약리활성이 보고되어 있음. 기존 연구에 의하면 간암, 난소암 또는 임파선 종양환자의 늑막액이 toxohormone-L이라는 인자는 지방분해를 촉진하는 작용과 식욕감퇴와 같은 증상을 야기해 암상태를 더욱 악화시키는 물질로 알려져있음. 이와같은 증상을 완화시키는 물질을 홍삼성분으로부터 찾은 결과 ginsenoside-Rb2와 산성다당체였으며, ginsenoside-Rb2 보다 산성다당체의 활성이 훨씬 우수한 것으로 보고되었음.

○ 국가과학기술정보센터 NDSL에 따르면, 홍삼유래 산성다당체의 경우, 항암, 면역력 증진, 아토피성 피부염 치료 및 개선, 고지혈증 개선 등 면역과 피부개선에 효과가 있는 것으로 보고되고 있음.

○ 한국인삼공사 연구팀에 의하면 홍삼의 경우 사포닌보다 산성다당체의 함량이 2배정도 더 높는데, 산성다당체를 쥐에게 복용시킨 뒤 고지혈증 유발 약물을 쥐의 혈관에 직접 투입한 내인성 모델과 입으로 중성지방을 섭취시킨 외인성 모델을 만들어 혈액 내의 중성 지방이 얼마나 포함되었는지 조사함. 연구 결과 중성지방을 주로 분해하는 효소 리포프로틴 리파아제라는 효소를 활성화시킴으로써 중성지방 TG의 함량을 17.6% 억제하는 효과를 발견하였음.

○ 면역력이란 외부로부터 침입한 세균이나 바이러스로부터 인체를 방어하는 시스템으로, 흥선은 후천적인 면역기능을 담당하는 주요 면역세포인 T림프구의 성숙과 관련된 매우 중요한 장기임. 그러나 노화할수록 크기와 기능이 퇴화하면서 후천적인 면역력을 약화되는데, 이를 보완하기 위해 선천적인 면역기능의 증대에 관여하는 것이 대식세포 (Macrophage)임.

○ 대식세포 (Macrophage)는 내재면역뿐만 아니라 적응면역 등 다양한 숙주 반응에 관여하여 숙주방어와 항상성 유지에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 면역 반응 시에는 interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) 및 tumor necrosis factor- α (TNF- α)와 같은 사이토카인 (cytokine)을 생산하여 감염 초기에 생체 방어에 중요한 역할을 하는 세포로 알려져 있음. 대식세포가 물질에 대응할 때 분비되는 산화질소(nitric oxide)는 면역증강 효과가 있는것으로 보고되어 있음.

○ 노화로 인해 후천적으로 면역기능이 감소할 경우 홍삼의 산성다당체 성분이 대식세포의 모양을 변화시키지 않으면서 암세포와 각종 바이러스, 세균을 사멸시키는 산화질소 생성을 강하게 유도하여 면역력을 개선시키는 효과가 확인됨.

○ 사포닌과 더불어 산성다당체는 홍삼의 면역증진 체계에 미치는 영향이 큰 것으로 본 연구진의 사전연구에서 확인되었으며, 특히 재래식홍삼의 산성다당체와 비교하여 초고압홍삼의 산성다당체에서 면역증강 효능에 유의적인 차이를 나타내어 이에 대한 후속연구가 필요하다고 보여짐.

○ 또한 기존에 연구가 많이 진행된 산성다당체의 면역증강 효과뿐 아니라, 피부미용(미백, 항노화)효과에 대한 연구를 진행할 예정임. 미백효과는 제브라피쉬(Zebrafish) 모델을 이용한 in vivo 실험을 수행함.

○ 따라서, 본 연구에서는 홍삼제품 제조 및 가공 중 얻어지는 부산물의 산업적 활용성을 제고하고자 초고압 효소 융합기술(ELHPP)을 이용하여 높은 기능성을 갖는 산성다당체를 산업적 효용가치가 높은 소재로 개발하여 in vitro, in vivo 효능평가 연구를 통하여 면역증진/피부미용개선 및 예방 목적의 건강기능식품 사업화를 추진함.

다. 연구개발 범위

(1) 제1세부(기술컨설팅 기관 자문): 기술명(지적소유권) 기준 전문 컨설팅을 통한 주관 기관 사업화 방향 제안

(가) 권리성분석 : 특허의 권리범위 및 기술의 권리성을 파악
- 청구항 분석, 침해여부 분석, 무효가능성 타진 등

(나) 기술성 분석 : 본 평가대상기술의 선행기술, 경쟁기술의 분석을 통한 기술의 우위성 및

차별성을 분석

- 기술개요, 기술개발상태, 기술의 응용범위, 국내외 기술동향, 기술경쟁력 분석, 기술의 경제적 수명 분석

(다) 시장성 분석 : 전체 시장규모 및 성장률, 전·후방시장의 규모를 분석

- 해외 주요 국가별 적용범위, 잠재성, 시장 진입장벽, 시장동향 및 전망 분석, 세부시장 분석, 주요시장 참여자 분석, 유통구조 분석 등

(라) 사업성 분석 : 본 특허기술 상용화시 도입 기업의 예상매출액 및 기술가치산정

- 매출액 추정, 할인율 산정, 기술기여도 산정, 기술수명 산정
- 기술의 사업가치, 기술가치 산정

사업화 목표	주요내용
기술성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기술의 수준 ○ 제조공정 ○ 기술의 활용성 ○ 기술의 파급성 ○ 제품생산 가능성: 제조 가능성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 국내기술에 의한 생산 가능성 - 제품의 양산 가능성 - 자동화 가능성 - 국내 소재 및 부품 활용 가능성 ○ 기술경쟁력 ○ 기술의 경제적 수명
권리성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기술의 권리형태 ○ 대체/유사기술의 존재성 ○ 기술권리의 예상수명
시장성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수요 및 시장규모 <ul style="list-style-type: none"> - 현재와 미래시장의 크기 - 대체 시장규모 - 실현가능한 시장점유율 - key market driver - 구매자와 의사결정권자 - 유통채널 - 경쟁제품의 가격 ○ 시장증가율 ○ 국내시장에서의 매출액
사업성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 경쟁력 <ul style="list-style-type: none"> - 주요 경쟁업체 현황 및 시장점유율 - 추정매출액 증가율 - 판로, 판매방법 및 계획

	<ul style="list-style-type: none"> - 판매가와 제조원가 비교 및 국내 경쟁업체 판매가 비교 ○ 사업추진 능력 <ul style="list-style-type: none"> - 제품인지도, 사업계획 수립 및 추진능력 - 사업자의 자금조달 및 확보능력 - 사업장(공장, 사무실), 기술인력 보유 및 생산시설 확보정도 등 ○ 재무구조 <ul style="list-style-type: none"> - 자기자본비율 - 당좌비율 - 총자본 순이익률 - 매출액 경상이익률
기술가치산정	<ul style="list-style-type: none"> ○ 매출액 추정 ○ 당기순이익 추정 ○ 할인율 산정 ○ 기술기여도 산정 ○ 사업가치 산출 ○ 기술가치 산출

2) 제1세부(뉴트렉스테크놀로지)

: 초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 기능성 다당체 개발

(가) 컨설팅 결과(위탁)를 기초로 장단기 R&D 사업화 계획수립

- (1) 제품화 우선순위 및 장단기 원료확보방안 설정
- (2) 제품화 핵심 소재 대량생산시스템 확보방안 설정
- (3) 국내외 사업화(마케팅) 방향 설정
- (4) 제품화 R&D 방향 설정
- (5) 최종 장단기 R&D 방향 확정(본 과제 외 별도추진 사업화)

(나) 초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 기능성 다당체 소재개발

- (1) 원료확보 및 기능성 다당체 추출기법 사전정립
- (2) 기능성분 분석법 사전정립
- (3) 수행방법
 - 초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 산성다당체 추출조건 확립

○ 홍삼의 다당체를 제조하기 위한 방법에는 홍삼을 열수추출하여 원심분리 후, 얻은 상등액에 에탄올을 가하여 침전시킨 다당체를 투석하고, 얻은 침전물을 원심분리 후 건조시켜 다당체를 얻는 방법, 열수추출할 때 α -amylase, cellulase 효소를 처리하여 다당체를 얻는 방법, 홍삼을 열수추출 후 에탄올을 가하여 침전시킨 침전물에 대하여 DEAE-Toyopeal, Sephacryl S-200 및 S-500 크로마토그래피에 의해 panaxan I, J, K, L의 4종 성분을 분리하는 방법 등이 있음.

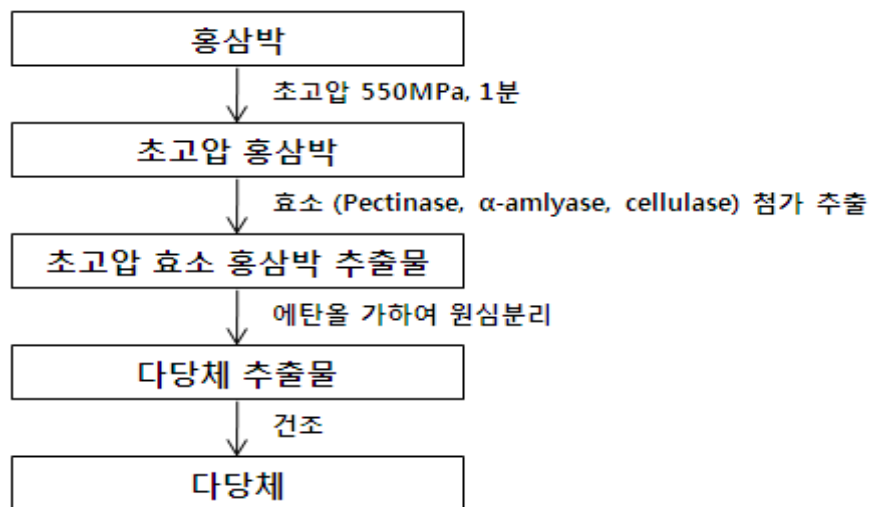
사업화 범위 및 목표	주요내용
1. 기술명(지적소유권 확보) 기준 전문컨설팅을 통한 개발 타당성 및 R&D 사업화 방향 설정	<ol style="list-style-type: none"> 1. 기업분석 2. 제품분석 3. 기술분석 4. 로드맵 전개(시장, 제품, 기술 등) 5. 경영자원확보계획 6. 사업계획서 작성 7. 기술사업화지원사업 과제정의서(RFP)
2. 컨설팅 결과 기초 장단기 R&D 사업화 계획 수립	<ol style="list-style-type: none"> 1. 제품화 우선순위 및 장단기 원료확보방안 설정 2. 제품화 핵심 소재 대량생산시스템 확보방안 설정 3. 국내외 사업화(마케팅) 방향 설정 4. 제품화 R&D 방향 설정 5. 최종 장단기 R&D 방향 확정(본 과제의 별도추진사업화)
3. 홍삼 부산물을 이용한 기능성 다당체 개발(면역 및 피부미용 소재 개발) 방향 및 유효성 사전평가(시제품 제조 및 예비시험평가, in vitro)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 원료확보 및 초고압 효소 융합 기술을 이용한 유용물질 추출기법 사전정립(경제성 평가) 2. 유효성분 분리 및 기능성분 분석법 사전정립 3. 제품화 전제, 기능성분(지표) 확정 및 분석법 사전정립
4. 시제품(면역증진/피부미용 개선 및 예방건강기능식품)을 이용한 목표효과 대비 유효성 사전평가	<ol style="list-style-type: none"> 1. 면역증진 효능 평가(in vitro) 2. 피부미용 개선 및 예방효능평가(in vitro, in vivo)
5. 본 과제 연계 R&D 사업화 연구 최종 목표(사업화명 : 초고압 효소 융합기술을 활용한 기능성 다당체 유래 면역증진/피부미용 개선 및 예방형 건강기능식품 개발)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 국내 홍삼 부산물 중 활성성분 Database 및 기능성분 Profile 확보 2. 초고압효소융합 홍삼부산물의 활성성분 분리 및 기능성 성분 분리정제 3. 초고압효소융합 홍삼부산물의 기능성분 및 활성성분 대량생산시스템 정립 4. 초고압효소융합 홍삼부산물 기능성분의 생리활성 및 기전 규명 연구(in vitro 및 in vivo) 5. 면역증강 및 개선효과 규명 6. 피부미용 개선효과 규명 7. 아토피 예방 효능 규명 8. 기능성 식품으로의 안정성 및 안전성 검증 9. 사업화

○ 본 연구에서는 홍삼제품 제조 부산물인 홍삼 부산물을 이용하여 다당체를 제조하기 위하여 초고압과 효소처리의 융합기술을 적용하여 제조방법을 검토함으로써 홍삼 다당체의 추출 조건을 최적화 함.

○ 홍삼 부산물은 주관기관인 뉴트렉스테크놀러지의 홍삼추출물 제조과정에서 생성되는 부산물을 이용함 .초고압 효소 융합기술의 추출기법을 기존 추출기술과 비교하기 위하여 일반 홍삼 부산물군, 초고압처리 홍삼 부산물군, 초고압효소처리 홍삼 부산물군으로 나누어 진행 함.

○ 홍삼추출물에서 사용되어 부산물로 폐기되는 홍삼 부산물은 진공포장하여 초고압처리 (550MPa, 1분)함. 초고압 처리한 홍삼 부산물을 효소(Pectinase, α -amylase, cellulase)처리하여 추출한 후, 원심분리하여 다당체를 침전시키고, 침전된 다당체를 건조하여 분석용 시료로 사용함.

○ 홍삼 부산물로부터 추출한 다당체 시료 중 산성다당체의 표준정량화를 위해 산성다당체의 구조가 분자구조상 pectin과 유사한 점을 이용하여 pectin정량에 사용되는 carbazole sulfuric acid 방법으로 분석함. 시료와 ethanol에 용해한 0.1% carbazole용액을 혼합한 후 sulfuric acid를 첨가하여 잘 섞은 후 85℃에서 15분 동안 반응시키고 525 nm에서 흡광도를 측정하여 추출한 산성다당체의 표준정량화에 적용할 계획임.



(다) 초고압 기술을 이용한 홍삼 추출물의 아토피 피부염 개선/예방 효능 평가

○ 아토피 피부염은 유아기 혹은 소아기에 시작되며 건조한 피부로부터 가려움증을 유발시키고 급게 되면 습진성 피부병변이 생겨 더 심한 가려움증을 유발시키는 만성적, 재발성 피부질환으로 세계적으로 유병률이 점차 증가하는 추세임.

○ 현재, 아토피 피부염을 치료하는 데 사용되는 약물로는 스테로이드계 약물로서, 이는 부작용 발생 및 내성 증가 등으로 인하여 근본적인 치료를 목적으로 사용하기는 어려워, 안전하고 부작용이 적은 아토피 피부염을 개선시킬 수 있는 기능성 소재 개발이 선행되어야

함.

○ 이에 본 연구에서는 일반 홍삼 추출물, 초고압 홍삼 추출물에 대하여 아토피 개선 및 예방 효능 평가를 수행하고자 함. 실험은 in vitro 및 in vivo 평가로 진행하며, 초고압 기술에 따른 피부미용 개선 효과의 사전연구 자료로 사용될 예정임.

○ 시험방법은 식품의약품안전청 아토피 피부염 효력시험 가이드라인(1-019-2010-0000)을 참고함.

○ In vitro 평가에서 TARC ELISA assay를 이용하여 아토피 개선에 효능 있는 소재를 검색하고 이들의 상승효과를 평가하고자 함.

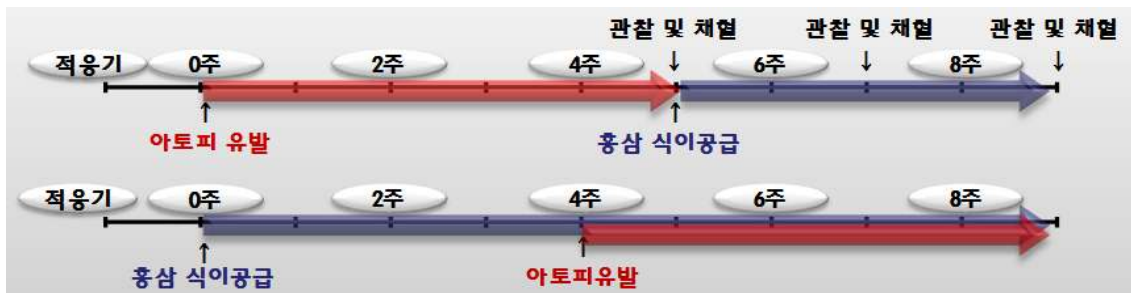
○ In vivo 평가에서는 임상적, 혈액(생화학) 또는 혈청학적, 조직병리학적 평가법을 활용하여 아토피 피부염 예방 및 효능을 확인 하고자 함.

- 동물모델 : NC/Nga mice
- 실험군

	아토피 비유발군	아토피 유발군		
	음성대조군	양성대조군	일반홍삼추출물	초고압홍삼추출물
효능평가군	일반식이 공급	아토피 유발 후 일반식이 공급	아토피 유발 후 일반홍삼추출물 공급	아토피 유발 후 초고압홍삼추출물 공급
예방평가군		일반식이 공급 후 아토피 유발	일반홍삼추출물 공급 후 아토피 유발	초고압홍삼추출물 공급 후 아토피 유발

	아토피 비유발군	아토피 유발군		
	음성대조군	양성대조군	일반홍삼추출물	초고압홍삼 추출물
효능평가군	일반식이 공급	아토피 유발 후 일반식이 공급	아토피 유발 후 일반홍삼추출물 공급	아토피 유발 후 초고압홍삼추출물 공급
예방평가군		일반식이 공급 후 아토피 유발	일반홍삼추출물 공급 후 아토피 유발	초고압홍삼추출물 공급 후 아토피 유발

- 실험진행 계획



- 경피수분증발량 측정(TEWL, Transepidermal water loss assay)

효능시험군은 시험물질 사료 섭취 후 (0, 2, 4주)에 예방시험군은 DNCB 피부도포 2, 4, 6주에 등과 귀 뒤쪽 부위가 제모된 상태에서 경피수분증발량(g/m²h)을 vapometer(Delfin)를 이용하여 측정함. 측정장소는 실내 온도 22~24℃, 습도 50~60%가 유지되는 조건이어야 하며, 측정결과는 1분 동안의 TEWL 수치 중 초기값을 제외한 TEWL 평균 중 편차가 가장 작은 값의 평균을 기록할 계획임.

- 긁는 횟수 측정

측정 2주전에 마우스 후지 양쪽에 magnetic bar(1 mm in diameter, 3mm long)를 마취 (Ketamine+Rompun : 80+10mg/kg) 후 삽입함. 효능시험군은 시험물질 사료 섭취 후 (0, 2, 4주)에 예방시험군은 DNCB 피부도포 2, 4, 6주에 자동 측정 계수장치인, MicroAct(Neuroscience, Tokyo, Japan)를 이용하여 scratch count를 측정할 계획임.

(3) 제1협동(동국대학교)

: 초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 기능성 다당체 효능연구

○ 홍삼의 산성다당체 함량은 4.7~7.4% 수준으로 수삼의 약 3배 수준이며 부위별로는 지근이나 표피보다 뇌두와 동체에서 높다고 보고되었는데, 이는 산성다당체가 홍삼을 제조하는 과정에서 다량으로 생성되는 것으로 추정됨.

(가) 홍삼 부산물 부산물 중 지표물질인 산성다당체의 항산화 평가

○ 홍삼 부산물에 초고압처리한 후 효소처리한 시료를 이용하여 항산화실험을 실시한다. 항산화실험으로는 ABTs 법, DPPH assay, 총산화능, FRAP assay를 진행한다.

○ 세포배양: HaCaT cells은 DMEM 배지에 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin, 이 들어간 배양조건에서 키우며 계대배양은 4-5일에 한 번씩 함.

○ 이외에도 유전자 분석법(RT-PCR법)을 이용하여 Catalase, Superoxide dismutase와 같은 효소적 항산화시스템 관련 유전자를 분석함.

(나) 면역증강 효능평가

○ 항염증효과 측정법 : Macrophage cell line 인 Raw 264.7 cell을 아용하여 항염증효과를 측정함. 각 세포를 6 well plate에 2×10^5 /well로 분주하고 12시간 배양 한 후에 세포들을 모아 PCR을 수행함. 염증관련 primer 로서 IL-1 α , IL-1 β , IFN- γ , TNF- α 을 사용하여 항염증효과를 분석함.

○ 세포 활성화 측정 (MTT assay) : MTT (tetrazolium 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma) assay는 Sladowski의 방법을 따라 수행함. MTT assay는 우선 6 well plate에 염증세포를 12시간 배양한 후 LPS로 산화적 stress를 유도함. 24시간 후에 전자기장에 노출시켜 3, 6, 10일 동안 배양함. 그리고 MTT 용액 (2mg/ml)을 넣고, incubator에서 4시간 배양한 후 dimethylsulfoxide (DMSO; Sigma)로 용해시켜 540nm의 파장에서 microplate reader (Molecular devices, USA)로 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 계산함. 세포 생존율 (Cell viability, %)은 다음과 같이 정의를 함. 정상군의 값을 control로 하고 이때의 O.D. 값을 세포의 생존도가 100%라고 정의하고, 나머지 군의 측정된 O.D. 값을 상대치로 환산을 하면 다음과 같음. $Cell\ viability = (실험군\ 값 / 정상군\ 값) * 100$

○ 세포의 생존 및 사멸 그리고 면역에 관련하는 단백질인 NF-kB, MAP kinase 와 같은 단백질을 western 분석법을 이용하여 분석함.

(4) 주관 및 협동기관(R&D기획지원사업 후속): 장기 R&D 사업화 추진

(가) 초고압효소융합 홍삼부산물을 이용한 면역증진/피부미용 개선 및 예방 건강기능식품 개발- 예상소요연구기간 및 소요연구비 : 3년, 9억

- ① 초고압효소융합 홍삼부산물 기능성 분류 대량생산시스템 정립
- ② 초고압효소융합 홍삼부산물 기능성 분류의 장단기 제품 적용성 평가
- ③ 초고압효소융합 홍삼부산물 기능성 분류의 면역증진/피부미용 개선관련 생리활성 및 기전평가
 - ㉠. 면역증진 개선관련 유효성 평가(in vitro 및 in vivo)
 - ㉡. 피부미용 개선관련 유효성 평가(in vitro 및 in vivo)
 - ㉢. 알레르기성(아토피)피부염 개선관련 유효성 평가(in vitro 및 in vivo)
- ④ 초고압효소융합 홍삼부산물의 면역증진/피부미용 개선 및 예방 생리활성 증대물질 개발 및 기전연구
- ⑤ 초고압효소융합 홍삼부산물의 안전성 평가연구
- ⑥ 건강기능식품 개발(제품화)

(나) 장기 R&D 사업화 추진방법

① 초고압효소융합 홍삼부산물 유래 다당체의 면역증진 건강기능식품 개발(1~3년차)
홍삼부산물의 고부가 가치형 추출물 및 핵심 지표/기능성 성분의 규명과 이의 면역증진 기전평가를 확보함과 동시에 농식품 소재를 활용한 고부가가치 건강기능성식품 개발

② 초고압효소융합 홍삼부산물 유래 다당체의 피부미용 개선 건강기능식품 개발(1~3년차)
피부미용 개선 효능이 우수한 홍삼부산물의 다당체 소재의 활성 성분을 이용하여 세포 모델 및 동물 모델을 이용하여 피부미용 개선을 위한 건강기능식품 이너뷰티 제품 개발

③ 초고압효소융합 홍삼부산물 유래 다당체의 기능성 사료 제품 개발(1~3년차)

면역 및 피부개선 효능을 가진 다당체 소재를 활용하여 가축 및 반려동물의 기능성 사료제품으로 프리미엄 상품 개발

(다) 초고압효소융합 홍삼부산물의 품질 안정성 및 안전성 평가 연구

(종합연구내용) : 홍삼부산물 추출물 및 산성다당체의 면역증진/피부미용 개선을 최대화 할 수 있도록 품질 안정성 및 안전성 평가 연구

- ① 초고압효소융합 홍삼부산물의 유통기간 내의 유효물질 안정성(경시변화) 평가
: 유효물질 안정성 향상을 위한 가공공정 개선 및 천연첨가물 평가
- ② 초고압효소융합 홍삼부산물을 이용한 시제품의 유통기간 내 화학적, 미생물학적, 관능적 기준규격 항목 평가
- ③ 초고압효소융합 홍삼부산물의 안전성 평가 연구: 세포 모델 및 동물 실험을 이용한 간 독성 평가

(라) 활용방안(상품화)

- ① 홍삼 부산물로부터의 기능성 원료(기능성 다당체)로서 건강기능식품 개발
예) 면역증진 관련 건강기능식품
- ② 기능성 원료(기능성 다당체)를 이용한 피부미용 개선제 개발
예) 피부미용개선(이너뷰티) 건강기능식품
- ③ 가축 및 반려동물 사료 제품을 이용한 비식품분야로의 제품 확대
예) 가축 및 반려동물의 기능성 사료(면역증진)

2. 국내외 기술개발 현황

코드번호	D-04
------	------

가. 국내 기술개발 현황

○ 1990년대 초반에 초고압 기술을 이용한 마늘, 녹즙, 김치, 과일 및 야채주스, 전통주, 홍삼제품 등에 대한 연구가 시작되었고, 1996년 이후 생산 규모 설비를 이용한 제품이 생산되기 시작하여 시판된 이래 그 시장은 1996년 70억 원, 2005년 1,100억 원, 그리고 2006년 1,300억 원으로 성장하고 있음.

○ 1994년 (주)풀무원과 제일제당에서 초고압 장치를 구입함으로써 초고압 식품가공의 연구가 시작되었고, 1995년 한국과학재단 중점과제연구회인 비열식품가공연구회를 중심으로

연구가 진행되었음.

○ 동원 F&B 즉석밥 ‘썬쿱’과 ‘초고압 홍삼정’은 3,000기압의 초고압 식품공법을 적용하여 출시되었음.

○ 아모레 퍼시픽은 초고압 ‘예진생 홍삼진액청’ 제품을 출시하였음.

○ 강원대학교와 생명의 나무에서는 초고압을 처리하기 전에 저에너지 초음파를 병행하여 유용 생리활성 물질에 대하여 높은 수율을 얻는 기술을 확보함.

○ (주)CJ에서는 초고압 처리기술을 이용하여 마늘의 알리시나아제를 불활성화시켜 매운 향을 제거하는 기술과 마늘의 영양성분의 손실 없이 단시간에 조미 마늘을 제조하는 공정을 확립함.

○ (주)오뚜기는 레토르트 야채죽에 300MPa 로 10여분간 초고압 처리를 하고, 115~120℃에서 20~40분간 살균처리하여 미생물의 활성을 억제하고, 야채류의 우수한 식감, 색상등의 외관을 좋게하여 상품성을 높임.

○ 한국식품연구원, 동원F&B, 뉴트렉스테크놀러지 등에서는 수삼 및 인삼을 초고압 처리하여 품질의 변화없이 저장성을 확보하여 유통기한을 늘리며, 진세노사이드 등의 유효성분의 추출 수율을 높이는 제조공정 기술을 확보함.

○ 많은 식품소재의 가공은 효소반응을 통하여 이루어지고 있고, 그 활용범위는 크게 확대되고 있음. 특히 효소의 식품가공은 시럽제조, 맥주 등 알코올발효, 낙농, 제빵, 과일 야채 주스, 곡물가공, 식품보존, 식품유지가공, 동물사료 기능성식품 제조 등에서 사용되고 있음.

○ 올가니카가 2014년 선보인 ‘저스트주스 클렌즈’는 국내 처음으로 비가열 초고압멸균 방식을 도입하여 건강을 위해 챙겨먹어야 할 주요한 먹거리로 각광받기 시작하며 일명 해독주스로 불리며 국내 외 미국에서도 소비자들의 관심을 받고 있음.

○ 국내 쿠쿠전자는 3인용 2기압 초고압 IH 압력밥솥을 출시함. 세계 최초 2기압 초고압을 적용하여 기존 고 압력보다 더 찰지고 구수한 밥맛의 기호성을 높임.

○ 국내 주류 즉, 탁주, 주정, 고량주용 효소를 제외하고는 거의 자유롭게 수입이 되어 오고

있으며 수입은 주로 덴마크 Novo Nordisk사, 일본 Daiwa사와 Amano사, 미국 Genencor International사 등으로부터 수입함. 국내 주류 공업 중에서 탁주, 고량주는 주로 분곡 곡자 형태의 효소제를 사용하여 왔고 지금도 분곡, 곡자와 국내 생산제품 glucoamylase를 병용하여 사용하고 있음. 현재는 액화 공정에서 α -amylase를 사용하고 있음.

○ 전분당 제조공업에서는 물엿, 포도당, 과당 등의 생산을 목적으로 효소들이 사용되어 왔음. 이런 전분액화 공정에 사용되는 α -amylase에는 70~80℃에 적합한 효소와 95~100℃에 적합한 효소가 있는데 각각 생산공정에 맞게 사용되고 있음. 당화에는 *Aspergillus niger*의 glucoamylase가 사용되고 있고 과당제조에는 immobilized glucose isomerase가 사용되고 있음.

○ 제빵, 제과공업에서 사용되는 amylase와 protease, 어류, 육류 가공에 사용되는 protease는 국내에서 생산된 효소들이 대부분이고 섬유 공업의 α -amylase와 cellulase, 피혁공업의 protease는 국내에서 생산되는 효소제와 외국에서 수입되는 효소제가 사용되고 있음.

○ 효소관련 특허 분석에 있어서는 특허의 기술적 측면에서 국내에서는 효소 공정화기술과 유전자 재조합기술에 관한 특허출원이 많은데 비하여 유럽은 신호소탐색기술과 기타기술에 관한 특허 출원이 많은 것으로 분석되었음.

○ 특허의 산업적 측면에서는 국내에서는 화학공업의 효소담체제조산업과 의료 및 분석공업 분야의 치료용 효소산업에 대한 산업적 응용가능성이 높게 나타난 반면에 유럽의 경우는 의료 및 분석공업분야의 치료용 효소산업과 진단효소산업 등에 보다 비중이 높게 나타났음.

나. 국외 기술개발 현황

○ 초고압 기술의 적용사례 및 처리효과

적용사례	처리효과
최소가공제품	풍미 및 조직감 보존, 살균
해산물, 신선한 야채류	비가열처리를 통한 살균
냉동식품	균일한 해동(세포손상방지)
육가공제품	육류의 숙성, 저장성, 조직특성, 맛 향상
즉석밥	소화율증가, 관능적 특성 향상, 유효성분의 증가(GABA)
기능성식품	유효성분의 추출 증대

○ 초창기 초고압 기술의 발전은 군사용 무기 개발로 이루어졌음. 대포 탄환이 더 멀리 날아가도록 더 높은 압력을 사용할 수 있는 대포를 디자인하면서 초고압 기술이 발전되었음.

○ 19세기 말에 처음으로 Hite (1899)에 의해 초고압이 미생물에 미치는 영향에 관한 실험이

시도되었고, 뒤이어 초고압이 식품의 물리적 특성에 어떠한 영향을 미치는 지에 대하여 보고 되었음.

○ Hite (1899)가 고압처리 시 우유의 물리적 특성이 변화된다고 보고하였지만, 높은 압력이 식품 고분자에 미치는 효과에 대한 세부적인 연구는 훨씬 후에 이루어졌음.

○ 압력이 식품의 물리적 또는 기능적 특성에 미치는 영향에 대한 연구들이 최근에 와서 수행되고 있지만, 초고압 관련 대부분의 연구들은 미생물의 불활성화에 초점을 두고 있음.

○ 1914년 Brightman은 최초로 압력처리에 의한 달걀의 알부민 응고를 연구함. 낮은 온도에서 고압처리는 gel을 형성하고 열에 의해 형성된 gel과는 다른 특성을 보임. 초고압을 통해 얻어진 surimi gel 은 전통적인 방법인 열에 의해 얻어진 gel 보다 투명도가 높은 것으로 나타났고, 광택에서도 윤기가 더 난다고 보고됨.

○ 초고압은 식품의 조리, 가공, 보존에 있어서 열처리와 비교되는데 기존의 열처리가 단백질 변성, 전분 호화, 효소 불활성화, 살균, 기생충 사멸 등에 이용되는 반면 초고압은 열처리의 장점을 대체로 유지하면서 비효소적 갈변, 비타민 파괴, 천연 향미의 손실과 같은 열처리에 의한 화학적 변화를 최소화한다는 점에서 차이가 있음.

○ 1996년 Bruna *et al.*, 연구에 의하면 사과농축액이나 사과주스에서 발견된 Patulin은 *Aspergillus*, *Penicillium*, *Bysochlamys*에서 생성되는 독소 물질도 가열처리에 의해서는 유의적인 수준으로 감소되지 않았으나 사과주스에 압력을 300, 500, 800 MPa로 60분씩 처리했을 때에는 42, 53, 62%씩 독소가 줄어들었고 온도를 50℃로 올렸을 때에는 더욱 높은 살균 효과를 보임.

○ 1990년대 일본에서 잼, 주스 등 첫 상용화 제품이 출시됨. 과채주스, 잼, 젤리 외에 가공 밥에 대한 초고압 기술 적용 역시 이루어졌으나 이는 미생물제어를 통한 저장성의 연장보다 압력에 의한 물성 변화를 주된 목적으로 함. 초고압 가공 잼의 경우 과실, 설탕, 펙틴 등의 혼합물을 상온에서 증진 밀봉한 후 고압처리 공정만으로 제조됨. 고압처리로 과실, 설탕, 펙틴의 혼합물의 젤리화가 촉진되고 과육에 당액이 침투되며, 살균이 동시에 이루어짐. 또한 전 공정이 비열처리로 진행되므로 열변성, 열분해 등이 발생되지 않고, 과일 본래의 신선한 향기 및 색이 유지됨.

○ 단백질 및 다당류의 압력처리는 가열처리와는 다른 독특한 물성을 나타냄으로써 압력 처리에 의해서 지금까지 없던 새로운 식품 소재가 만들어 질 수 있음. 전분을 가압 처리하면 본래의 입체 구조가 붕괴되고 amylase의 소화성이 증가하는 등 가열에 의한 전분의 호화현상과 유사한 변화가 나타남.

○ 효소는 1964년 IBU(International Union of Biochemistry)에 의해 추천된 효소 분류 당시

대략 600여종이 알려져 있었으나 현재 약 3000여종이 되며 이중 산업적으로 응용되고 있는 주요 효소는 150여종이며, 산업용 효소는 60여종이 활용되고 있음.

○ 효소의 산업적 이용은 1894년 소화제인 Takadia-stase가 *Asperigillus oryzae*의 배양에 의해 생산된 이래, α -amylase등이 미생물로부터 생산되고 있으며, 동물체로부터는 pancreatin, trypsin, chymotrypsin, catalase등이 있으며 사람의 노에서는 urokinase가, 식물체에서는 amylase, protease등이 공업적으로 생산되고 있음.

○ 2000년의 산업용 효소전체시장은 약 15억 달러로 추산되며, 세제용 효소가 약 33%, 섬유용 효소가 14%, 전분당 관련 효소가 14%, 의약용 효소가 33%, 연구용 효소가 3%, 진단용 효소가 3%의 비율로 시장을 구성하고 있음.

○ 산업용 효소의 경우, 2009년 기준으로 약 3 billion USD의 시장을 형성하고 있으며, 지난 10년간 연평균 성장률(CAGR)은 약 8%에 이룸. 산업용 효소가 사용되어 되는 산업의 규모는 효소 시장의 약 100배에서 1000배에 이르는 것으로 파악되고 있기 때문에, 특히 21C 가장 유망한 산업으로 꼽히는 바이오 화학산업에서의 효소는 “부품소재”로서 그 요성이 더욱 크게 인식되고 있으며, 이에 따라 새로운 효소 전문 회사의 설립과 글로벌 바이오-화학 소재 기업 간의 제휴가 더욱 활발해지는 추세임.

○ 세계 효소 시장의 약 70% 가까이를 Novozymes사(덴마크)와 Genencor사(미국) 두 회사가 차지하고 있음. Genencor사는 2005년 Gist Brocades사와 Solvay Enzyme사를 인수하면서 두 개의 기업이 세계 효소 시장을 이끌어가는 형태가 되었음.

○ 특히 Novozymes사는 유럽의 핵심 연구소, 학교와 공동으로 많은 효소들을 개발해왔는데, 상당부분은 식품 소재 가공용으로 처음 개발 됨.

다. 본 연구 결과가 국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치

○ 다당류 고분자 물질과 함께 면역력 증진과 같은 기능을 제공하는 참당귀에 효소 처리하여 다당류 추출을 극대화 한 연구가 보고됨. 참당귀의 셀룰로오스, 펙틴 및 당 단백질 등으로 구성된 성분들을 가수 분해시켜 다당류를 추출하여, 새로운 산업적 기능소재 개발 가능성이 있을 것으로 기대함.

○ 초고압 추출 및 효소 처리 추출의 장점을 이용하여 콩나물의 항산화 활성을 측정한 연구가 보고 됨. 이 연구에서는 콩나물의 효소 처리 및 초고압 처리 후 물 추출하는 것은 콩나물의 항산화 성분의 추출을 증대시키고 항산화능 및 세포의 산화적 스트레스를 방어하는 효과를 높이는 것으로 확인하였음. 이로 부터 초고압 및 효소처리가 식물 내에 함유된 천연 물질을 재평가 할 수 있으며, 단시간에 불순물이 적은 고 순도의 성분 추출이 가능할 것으로 사

료 됨.

○ 또한 특허의 예로 (주)동원F&B에서는 “효소 및 초고압을 이용한 홍삼제조 방법”기술을 이용하여 홍삼내의 유효성분 함량을 증가 시킬 수 있는 효소 및 초고압을 이용한 홍삼제조 방법이 개시됨. 홍삼 제조방법에 의하면 기존의 수삼보다 조사포닌의 함량을 증가시킬 수 있을 뿐만 아니라 특허 진세노사이드의 함량을 증가시킬 수 있다고 보고됨.

○ 기존 연구에서는 초고압과 효소 처리를 병행한 기술을 이용하여 천연물의 추출수율 및 효능검증에 대한 보고는 미미함. 기능적인 측면에서 추출수율 향상과 특정 유용성분의 함량을 극대화 하기위하여 초고압기술과 효소처리를 병용하여 홍삼 부산물의 산성다당체를 추출한 후 효능 검증 및 소재개발 하고자 함.

라. 본 과제 기술의 핵심내용 및 혁신성

	현시점	과제 수행 후
기술의 첨단성	<ul style="list-style-type: none"> - 특허로 등록된 초고압기술을 이용한 홍삼은 시장성이 증가하나 홍삼 부산물의 활용은 미미함. - 다당체가 함유된 홍삼 부산물 활용에 대한 기초연구 부족 및 활용도 낮음. - 세포벽 구조를 이완시키기 위해 세포벽 성분을 가수분해 시킬 수 있는 효소적 방법 이용. 	<ul style="list-style-type: none"> - 초고압의 추출기술과 효소 처리 기술을 융합하여 최적의 추출수율 향상과 특정 유용성분 함량 증대 기대. - 표준화된 초고압효소처리한 홍삼 부산물의 산성다당체 효능검증을 통한 소재개발 및 사업화 추진.
기술의 우수성	<ul style="list-style-type: none"> - 선행 연구 결과 재래식 홍삼에 비하여 초고압 홍삼의 관능적 요인 향상 및 유효성분이 높게 나타남. - 인삼 및 홍삼 제품에 대한 시장 확대에 한계가 있음. - 효소처리 방법은 화학적 처리방법에 비해 분해 생성물이나 부산물 등의 생성이 적음. 	<ul style="list-style-type: none"> - 홍삼 부산물 원료 소재개발, 산성다당체 추출 및 효능검증을 통한 식품의 부원료 사용, 화장품 원료 및 제품화 확대 - 피부미용 효능 검증을 통해 젊은층, 여성소비자의 소비층 확대. - 선행 연구를 바탕으로 초고압효소처리 홍삼 부산물의 추출효율증대.
기술의 차별성	<ul style="list-style-type: none"> - 일부 천연물(인삼(홍삼),버섯류, 알로에베라, 해조류 등)의 구성 성분 중 다당체는 항암, 항염증, 혈당강화작용, 항바이러스 효과등의 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려짐. 그 중 인삼(홍삼)에 관한 다당체 연구가 많이 보고되며 특히 산성 다당체의 효능이 우수한 것으로 보고됨. - 홍삼에서 추출된 산성다당체는 알코올 대사 효소계 및 지질대사계를 활성화하여 알코올성 고지혈증을 개선하며, 항암 및 면역활성이 높은 것으로 보고됨. 	<ul style="list-style-type: none"> - 홍삼 부산물에서 추출한 기능성 물질(산성다당체)을 홍삼제품에 활용함으로써 기능성 향상, 원가절감 및 소재 활용도 증대. - 기존 가열 살균 기술의 한계를 넘어 추출효율 증대는 초고압가공기술의 패러다임 전환이며, 효소처리기술을 융합하여 시너지 효과 및 고품질 구현을 위한 식품 기술로 확대됨.

- 기존 초고압 기술은 비가열 기술로서 초고압 처리 식품의 향미, 색, 영양 등 화학적 반응에 최소한의 영향을 주면서 효과적으로 미생물을 제어하는 냉장 유통 제품에 적용 되었음.

- 홍삼 추출과정 중 발생하는 홍삼 부산물은 일부 사료 및 퇴비로 이용되며 나머지는 폐기되고 있는 실정임.

- 홍삼 부산물 재사용은 환경적인 측면과 농가소득 증진에 기여 할 것으로 기대 됨.

○ 초고압 기술은 비가열 가공기술로서 산업적 적용이 빠르게 이루어지며 현재까지 신선함과 보존성을 강조하는 제품으로 시장을 확대하고 있으며 특허로 등록된 원천기술 “초고압을 이용한 신규한 인삼가공 방법” 연구는 초고압 기술을 홍삼가공에 적용시킨 것으로 인삼가공에 있어 세계 최초의 방법이라 할 수 있음.

○ 초고압 홍삼은 일반홍삼에 비하여 홍삼의 불량요소 발생을 현저히 억제시키며, 내공 및 균열 발생이 적고 색이나 향이 우수하여 제품 품질을 향상시킴. 또한 사포닌을 비롯하여 인삼의 아미노산 등 유효성분의 추출효율이 향상됨으로써 특허로 등록된 초고압기술을 이용한 홍삼원료를 판매하고 있음. 홍삼시장이 증대되면서 원료 판매량이 증가함에 따라 부산물로 발생되는 홍삼 부산물 양도 증가될 것으로 예상. 홍삼 부산물의 다당체 추출을 극대화할 수 있는 초고압효소처리를 이용하여 공정과정을 최적화하여 원가절감 및 차별화된 소재개발로 인한 시장성 향상으로 매출 상승 및 농가 소득 증대를 기대함 .

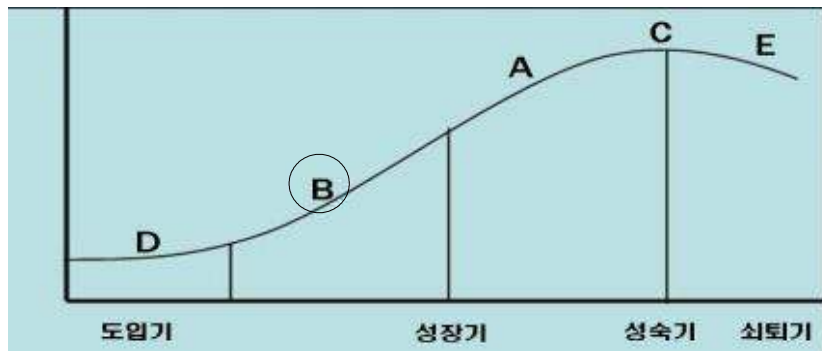


그림 1. 홍삼 부산물활용 기술의 수명주기 및 예상위치

○ 홍삼 부산물에는 다량의 다당체가 용출되지 않고 함유되어 있다고 하며 알코올 추출 잔사에는 산성 다당체의 함량이 높고 이는 항암 및 면역 활성이 높은 것으로 보고된 바 있음. 특히, 초고압 홍삼은 재래식홍삼보다 높은 기능성을 가지고 있다는 기존연구 결과를 토대로 홍삼 추출과정 중 발생하는 홍삼 부산물을 이용하여 산성다당체의 효능 연구 및 소재 개발 계획임.

○ 홍삼 부산물 활용에 관한 연구는 진행되고 있으나 사업화 범위가 미비하여 도입과 성장의 중간단계에 속함. 본 사업에서는 초고압효소 융합기술을 적용한 홍삼 부산물로부터 산성

다당체를 추출하고 효능을 검증하여 홍삼 부산물 원료로 활용하기 위한 기초자료를 확보할 수 있음. 홍삼 부산물을 재활용함으로써 원가절감 및 판매마케팅의 활용도도 증대 될 것으로 판단됨. 부산물 재사용은 환경적인 측면도 고려되며 농가 소득 증진 및 식품 외 여러 방향의 사업화에 기여할 것으로 사료됨.

마. 기술수준 및 경쟁력

○ 홍삼은 5가지 생리활성에 대해 개별인증(면역력 증진·피로개선·혈소관 응집억제를 통한 혈액흐름기억력 개선·항산화에 도움)되며 홍삼농축액 외 다양한 형태로 제품화 되고 있으나 Polyacetylenes 계통의 지용성 화합물과 다당체, 무기성분 등 여러 유효성분이 함유된 홍삼 부산물은 대부분 폐기되며 활용이 미미함.

○ 다당체(Polysaccharide)는 수용액상에서 추출되고 총 추출물중의 60-70% 차지함. 단당류, 이당류, 삼당류, 그리고 다당류, 파낙산 A-U같은 다당체는 혈당수치 저하, 면역기능 촉진, 위궤양 억제효과를 보임. 각국삼의 산성 다당체 함량을 비교한 결과 아래와 같음.

표 1. 각국삼의 산성다당체 함량 비교^{a)}(단위: O.D. at 525nm)

고려인삼 ^{b)}	전칠삼 ^{c)}	미국삼 ^{d)}	고려홍삼 ^{b)}
0.30	0.21	0.20	0.71

a) 80℃, 1시간동안 추출, b) P. ginseng, c) P. notoginseng, d) P.quinquefolius

*한국인삼제품협회 자료 참고

○ 최근 면역과 관련된 고려홍삼의 연구가 각광을 받고 있으며 사포닌보다는 다당류의 면역조절 작용에 더 많은 관심을 기울이고 있음. 사포닌 및 다당류는 T 림프구의 세포증식을 촉진하며, 특히 다당류 분획은 Tc 림프구들의 암세포 파괴력을 3-4배 증가시킨다고 보고하였음.

○ 특히 인삼조직배양 추출물에서 분리한 polysaccharide는 B, T 세포의 증식을 유도하였으며 또한 면역억제제(cyclophosphamide)로 면역이 억제된 생쥐에서 인삼사포닌이 면역억제 회복 효과가 있는 것으로 보고되었음.

○ 고려홍삼의 비사포닌 성분이 세포의 노화에 관여하는 활성산소의 유해작용을 억제한다고 하였으며, 또한 인삼 중에 페놀성 화합물과 말톨이 노화억제에 중요한 역할을 할 수 있다고 하였음.

○ 성균관대 유전공학과 조재열,경북대 수의학과 이만휘 교수팀은 ‘홍삼 유래 산성다당체에 의한 대식세포의 분자적 활성기전’이라는 연구를 통해 세포 내 면역증강 유도 신호전달 과정을 알아냄. 노화로 인해 후천적으로 면역기능이 감소할 경우 홍삼의 산성다당체 성분이 어떤 기전을 통해 면역력을 개선하는지 구체적으로 밝힌 첫 연구결과로 홍삼의 면역력 개선효과에 대한 과학적 근거를 마련했다는 의의가 있음.

○ Toxohormone-L이 유도된 지방 분해 억제활성을 홍삼에 분리, 정제한 PG₄fraction과 pectin 관련물질들과 비교 조사한 결과 pectic acid가 가장 강하였고 그 다음이 PG₄fraction, apple pectin, cirtus pectin 이며 산성다당체의 구성 unit인 galacturonic acid와 glucouronic acid는 PG₄ fraction의 약 1/4정도의 활성을 나타냄.

○ toxohormone-L이 유도된 지방 분해억제활성이 백삼 추출물보다 홍삼 추출물이 더 강하다고 보고되며 toxohormone-L 이 유도하는 체지방분해에 미치는 백삼 및 홍삼 산성다당체 성분의 영향과 혈압 상승과 밀접한 관계가 있는 angiotensin converting enzyme 활성에 미치는 영향 등이 보고됨.

○ 홍삼 산성다당체의 또 다른 생리활성에 대한 연구로는 알코올 중독 동물의 간장 알코올 해독계에 미치는 영향, 알코올성 고지혈에 미치는 영향, 아세트아미노펜 처리 흰쥐의 대사기능에 미치는 영향 등이 있음.

○ 초고압 기술은 보다 건강하고 신선한 식품에 대한 소비자의 요구로 인해 높은 투자 비용에도 불구하고 비가열 가공기술로서 산업적 적용이 빠르게 이루어 짐. 현재까지 신선함과 보존성을 강조하는 제품으로 시장을 확대하고 있으나 기능적인 측면에서 보다 차별화된 제품으로 응용 범위가 넓어질 것으로 예상. 본 연구에 사용된 원천기술 “초고압을 이용한 신규한 인삼가공 방법” (등록 10-0445184-0000)은 특허등록 되어 있어 차별성 있음.

3. 연구수행 내용 및 결과

	코드번호	D-05
<p>○ 제1세부(뉴트렉스테크놀리지) : 초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 기능성 다당체 개발</p> <p>가. 연구 범위 및 연구 수행 방법</p> <p>(1). 홍삼부산물의 기능성 다당체 소재 개발</p> <p>(가) 실험재료 본 연구에 사용된 홍삼부산물은 홍삼을 물 또는 알코올 등의 용매로 추출하고 남은 잔사를 의미하며, 주관기관인 (주)뉴트렉스테크놀리지에서 홍삼추출물 제조과정에서 생성되는 부산물을 이용하였다. 시료는 홍삼부산물 다당체(RGBP), 초고압 홍삼부산물 다당체(HPP-RGBP), 초고압효소융합 홍삼부산물 다당체(ELHPP-RGBP), 총 3가지 군으로 제조하여 준비하였다.</p> <p>(나) 홍삼부산물 다당체 추출물 시료 제조</p>		

HPP-RGBP 및 ELHPP-RGBP군은 홍삼추출물을 제조하고 남은 홍삼부산물물을 550MPa의 압력에서 1분간 초고압처리한 후, 24시간 건조하여 시료로 사용하였다.

(다) 홍삼부산물물의 다당체 추출 공정

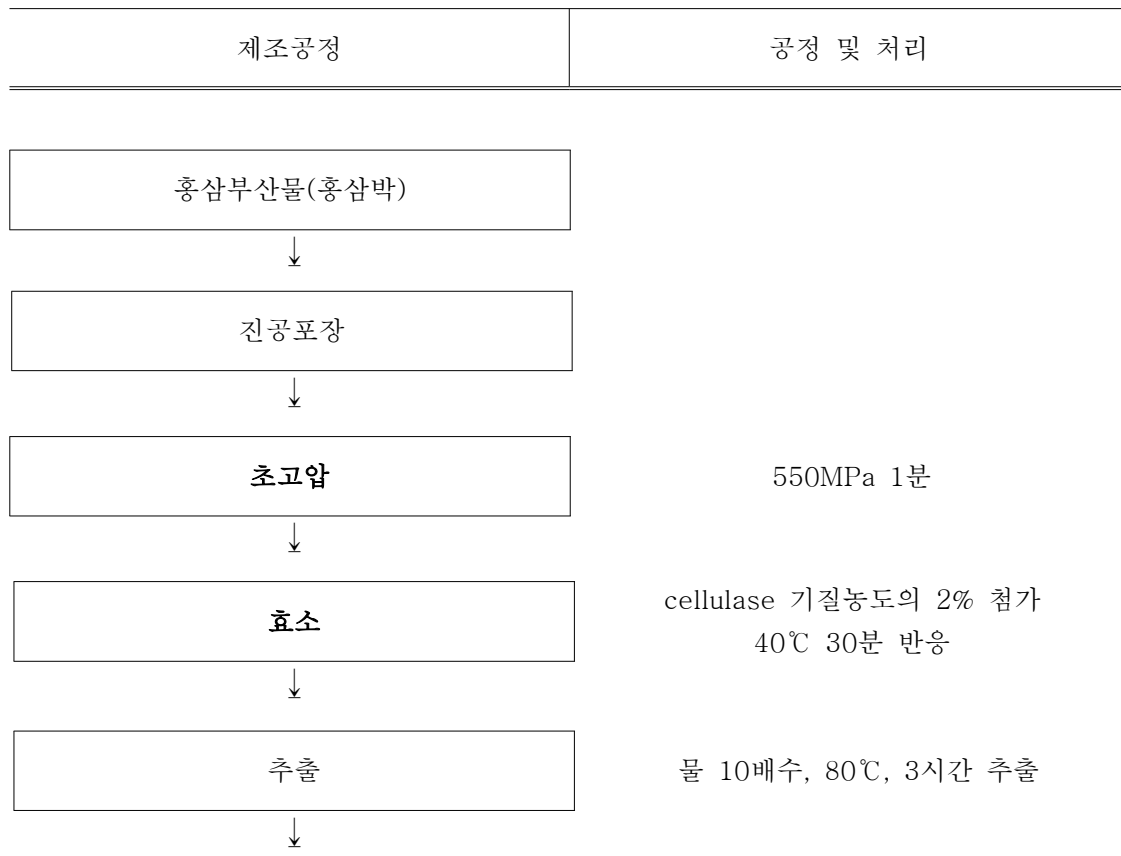
건조한 홍삼부산물물 20g에 20ml 증류수를 첨가하여 80℃에서 3시간 동안 열수추출하였다. 추출물을 여과한 후 얻은 추출액에 에탄올을 첨가하여 24시간 침지시키고, 원심분리하였다. 원심분리하여 얻은 침전물을 회수한 후 건조시켜 산성다당체 분석 및 효능평가용 시료로 사용하였다.

(라) 홍삼부산물물의 효소처리

홍삼부산물물에 2% 농도(건조한 홍삼부산물물 기준)의 α-amylase, cellulase, pectinase, hemicellulase, xylanase 효소를 각각 첨가하여 효소별 최적 반응조건 따라 반응시켰다.

< 각 효소별 최적 반응조건 >

- α-amylase : 40℃에서 30분 반응
- cellulase : 40℃에서 30분 반응
- pectinase : 40℃에서 30분 반응
- hemicellulase : 50℃에서 2시간
- xylanase : 50℃에서 2시간



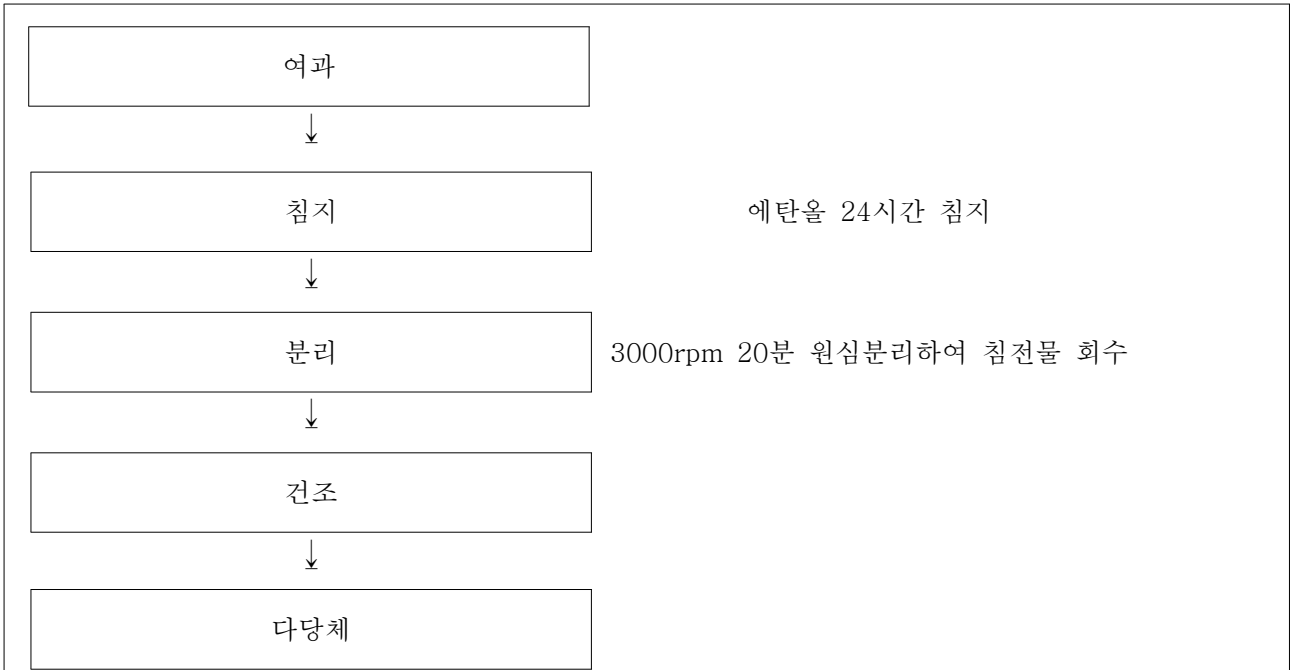


그림 2. 초고압효소용합 홍삼부산물의 다당체 추출공정도

(마) 홍삼부산물의 산성다당체 함량 분석

홍삼부산물로부터 추출한 다당체 시료 중 산성다당체 함량은 carbazole-sulfuric acid 방법으로 측정하였다. 건조한 다당체 시료 0.03g에 증류수 10ml을 넣고 1/10으로 희석하여 시료로 사용하였다. 시료 0.2ml에 ethanol에 용해한 0.1% carbazole용액 0.08ml을 혼합한 후 sulfuric acid 1.2ml을 첨가하여 vortex한 후 85℃로 예열된 water bath에서 15분 동안 반응시켰다. 반응시킨 시료액 1ml을 취하여 spectrophotometer를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로 galacturonic acid를 사용하여 표준곡선을 작성하고 이 값으로부터 홍삼부산물에 함유된 산성다당체 함량을 환산하였다.

(2). 홍삼추출물의 아토피 피부염 개선/예방 효능평가

(가) 실험동물 및 실험물질

실험동물은 6주령 Nc/Nga 마우스를 중앙실험동물(주)로부터 구입하여 표준적인 사육조건으로서 온도(23±3℃), 상대습도(55±15%) 및 명암주기(12시간)가 조절되는 환경에서 사육하였다. 시험동물 수는 각 대조군과 시험군별 10마리씩 60마리와 무처리군 5마리로 총 65마리를 사용하였고, 시험은 입수 후 7일간 순화기간을 두었으며, 7주령 때에 제모를 하고 상처가 아물도록 24시간 방치하였다. 1% DNCB(200μl)용액을 도포하고 3일 후에 2차 도포하였다. 1차 도포 후 7일째부터는 0.4% DNCB(150μl)를 주 3회, 5주간 도포하여 피부염을 유발하였다. (DNCB용액(acetone : olive oil = 4 : 1)) 실험물질은 (주)두열바이오텍(등록번호:214-88-58905)에 의뢰하여 사료(AIN76A혼합형)로 제작하였다. 홍삼추출분말과 초고압홍삼추출분말 200mg/kg/day을 사료와 혼합하여 제조하였다.

예방 및 효능 시험을 위해 예방시험군은 순화 후 체중을 순위화하여 군을 분리하였으며, 효능시험군은 아토피 피부염을 유발 후 SCORAD법(Scoring of Atopic Dermatitis)을 변형하

여 다음의 5가지를 각각 평가한 점수의 총합을 기준으로 순위화하여 군 분리하였다(Table 1). 평가항목은 홍반(erythema), 가려움과 건조피부(Pruritus & dry skin), 부종과 혈종 (Edema & excoriation), 짓무름(Erosion), 태선화(Lichenification)로 나누었으며, 이 각각의 항목은 없음(0), 약함(1), 중증(2), 심함(3)으로 채점하였다.

표 2. 항아토피피부염 효능 평가 대조군 및 시험군 분리

Group		Treatment
효 능 평 가 군	음성대조군	일반식이 공급
	양성대조군	아토피 유발 후 일반 식이공급(4주)
	일반홍삼군	아토피 유발 후 홍삼추출분말 식이공급(4주)
	초고압홍삼군	아토피 유발 후 초고압홍삼추출분말 식이공급(4주)
예 방 평 가 군	음성대조군	일반식이 공급
	양성대조군	일반식이 공급(4주) 후 아토피 유발/일반 식이공급(6주)
	일반홍삼군	홍삼추출분말 식이공급(4주) 후 아토피 유발/홍삼추출분말 식이공급(6주)
	초고압홍삼군	초고압홍삼추출분말 식이공급(4주) 후 아토피 유발/초고압홍삼추출분말 식이공급(6주)

(나) 아토피피부염 측정항목

① 일반 증상 관찰

모든 동물에 대하여 매일 1회 일반증상관찰을 실시하였으며, 일반증상관찰은 시험이 종료 되는 시점까지 계속 실시하였다.

② 체중 및 사료량 측정

모든 동물에 대하여 시험물질 사료섭취 후 1주 간격으로 일정한 시간(PM 04:00)에 체중과 사료량을 측정하였다.

③ 육안 관능평가를 위한 디지털 카메라 촬영

효능시험군은 시험물질 사료 섭취 후 0, 2, 4주에 예방시험군은 DNCB 피부 도포 2, 4, 6주에 canon (IXUS 86015)을 이용하여 촬영하였다.

④ 경피수분증발량 측정(TEWL, Transepidermal water loss assay)

효능시험군은 시험물질 사료 섭취 후(0, 2, 4주)에 예방시험군은 DNCB 피부 도포 2, 4, 6주에 등과 귀 뒤쪽 부위가 제모된 상태에서 경피수분증발량(g/m²h)을 vapometer (Delfin)를 이용하여 측정하였다. 측정장소는 실내 온도 22~24℃, 습도 50~60%가 유지되는 조건이어야 하며, 측정결과는 1분 동안의 TEWL 수치 중 초기값을 제외한 TEWL 평균 중 편차가 가장 작은 값의 평균을 기록하였다.

⑤ 긁는 횟수 측정

측정 2주전에 마우스 후지 양쪽에 magnetic bar (1 mm in diameter, 3mm long)를 마취 (Ketamine+Rompun : 80+10mg/kg) 후 삽입하였다. 효능시험군은 시험물질 사료 섭취 후(0, 2, 4주)에 예방시험군은 DNCB 피부도포 2, 4, 6주에 자동 측정 계수 장치인, MicroAct (Neuroscience, Tokyo, Japan)를 이용하여 scratch count를 측정하였다.

⑥ 혈장 내 IgE 농도 분석

효능시험군은 시험물질 사료 섭취 후(0, 2, 4주)에 예방시험군은 DNCB 피부 도포 2, 4, 6주에 마우스의 안와에서 blood를 채취하였다. 이후 centrifugation(3000rpf, 4℃, 10min)하여 측정 시 까지 -80C에 보관하였다. 시험 종료 후 Plasma IgE level을 ELISA kit (Bethyl Lab, Mouse IgE ELISA quantitation set)를 사용하여 분석하였다.

⑦ 혈장 IL-4 Th2 cytokine 측정

효능시험군은 시험물질 사료 섭취 후(0, 2, 4주)에 예방시험군은 DNCB 피부 도포 2, 4, 6주에 마우스의 안와에서 blood를 채취하여 centrifugation(3000rpm, 4℃, 10min)후 plasma를 분리하여 IL-4 level을 ELISA kit (Enzo life sciences, IL-4 (mouse), EIA kit)을 사용하여 측정하였다.

⑧ 혈액 내 히스타민 측정

히스타민의 방출은 알러지 반응의 중요한 원인 중 하나이다. 효능시험군은 시험물질 사료 섭취 후(0, 2, 4주)에 예방시험군은 DNCB 피부도포 2, 4, 6주에 blood를 채취하여, centrifugation (3000rpm, 4℃, 10min)후 total plasma histamine level을 ELISA kit을 사용하여 측정하였다. Histamine의 양은 제공되는 kit (ALPCO diagnostics, Histamine ELISA)의 standard sample을 사용하여 정량하였다.

⑨ 조직 병리학적 검사

시험 종료 시에 귀 하단부의 피부를 적출하여 포르말린으로 고정하였다. 단계별로 alcohol과 xylene으로 탈수하여 파라핀으로 포매한 후, 마이크로톰을 이용하여 5 μ m이하의 절편을 만들어 다시 alcohol과 xylene으로 파라핀을 제거하였다. hematoxylin&eosin으로 염색하여 표피의 두께를 NIS-Elements(Nikon, Japan)로 측정하여 분석은 Image-pro를 활용하였다. 표피의 상태, 염증성 세포의 피부조직 침윤 여부를 조사하였으며, Toluidine Blue로 염색하여 mast cell을 분석하고 히스타민의 탈과립 정도를 관찰하였다.

나. 연구 결과 및 고찰

(1). 홍삼부산물의 기능성 다당체 소재 개발

(가) 홍삼부산물의 효소처리에 의한 산성다당체 함량 조사

각 효소처리에 따른 홍삼부산물의 산성다당체 함량을 조사한 결과는 표 3과 같다. 홍삼부산물에 초고압처리 후 효소를 처리하였을 때(ELHPP-RGBP군) 효소처리 전(HPP-RGBP군)에 비하여 α -amylase 처리 시 2%, hemicellulase 처리 시 25%, xylanase 처리 시 20%로 산성다당체 함량이 감소하였으며, cellulase와 pectinase 처리 시 각각 31%, 7%로 증가한 것으로 나타났다. 초고압처리 후 효소처리하였을 때(ELHPP-RGBP군) 무처리군(RGBP)와 비교하여 hemicellulase와 xylanase 처리 시 산성다당체 함량이 9%, 3%로 감소하였고, α -amylase 처리 시 19%, cellulase 처리 시 59%, pectinase 처리 시 30%로 산성다당체 함량이 증가한 것을 볼 수 있다. 따라서 홍삼부산물로부터 산성다당체를 얻을 수 있는 최적의 효소는 cellulase를 처리하는 것으로 확인되었으며, 이것은 cellulase 처리에 의해 홍삼부산물에 존재하고 있는 조직성분이 분해되어 산성다당체가 추출이 더 용이한 상태로 되어 추출효율이 증가되는 것으로 사료된다.

표 3. 홍삼부산물의 효소처리에 의한 산성다당체 함량 비교

원료명	산성다당체 (mg/g)	초고압 홍삼부산물 대비 기준함량(%)	홍삼부산물 대비 기준함량(%)
홍삼부산물	13.63	-	-
초고압 홍삼부산물	16.57	-	122
초고압효소융합 홍삼부산물 (α -amylase)	16.19	98	119
초고압효소융합 홍삼부산물 (cellulase)	21.64	131	159
초고압효소융합 홍삼부산물 (pectinase)	17.69	107	130
초고압효소융합 홍삼부산물 (hemicellulase)	12.37	75	91
초고압효소융합 홍삼부산물 (xylanase)	13.20	80	97

* 산성다당체 함량(건조한 홍삼부산물 1g 기준)

(나) 홍삼부산물의 공정에 따른 다당체 수율 조사

각 시료 공정에 따라 홍삼부산물로부터 추출된 다당체의 수율을 비교하기 위해 다당체 추출량을 조사하였다. 홍삼부산물의 다당체 수율은 추출을 위해 처음 투입된 홍삼부산물 중량 대비 각 공정별로 회수된 다당체 추출물의 중량 백분율로 계산하였다(표 4). HPP-RGBP 및 ELHPP-RGBP군의 다당체 수율은 RBBP군과 비교하여 각각 20%, 36% 정도 증가하였다. 이

는 초고압공정이 다당체 수율을 높이는 데 효과적임을 확인할 수 있다. 또한, 홍삼부산물의 효소처리에 따른 다당체 수율을 비교한 결과 ELHPP-RGBP군은 HPP-RGBP군 보다 높은 다당체 수율을 나타내어 효소처리가 다당체 추출에 효과적이며, 초고압효소융합기술이 홍삼부산물 다당체 수율을 극대화하기 위한 가장 효과적인 방법이라고 판단된다.

표 4. 홍삼부산물의 공정에 따른 다당체 수율 비교

원료명	다당체 수율(%)	홍삼부산물 대비 기준함량(%)
홍삼부산물	5.08	-
초고압 홍삼부산물	6.06	119
초고압효소융합 홍삼부산물 (cellulase)	6.91	136

* 다당체 수율(%) = 홍삼부산물로부터 추출한 다당체(g)/홍삼부산물(g)*100

(다) 초고압효소융합 기술을 이용한 홍삼부산물의 산성다당체 함량

공정처리에 따른 산성다당체 함량을 조사한 결과는 표 4 과 그림 3과 같다. 산성다당체 함량은 ELHPP-RGBP군, HPP-RGBP군, RGBP군 순으로 높게 나타났으며, HPP-RGBP군은 RGBP군 보다 산성다당체 함량이 36% 증가하였고, ELHPP-RGBP군 또한 RGBP군 보다 산성다당체 함량이 58% 증가한 것으로 나타났다. 또한 ELHPP-RGBP군은 HPP-RGBP군 보다 산성다당체 함량 16% 증가한 것으로 관찰되었다. 이는 초고압 처리 시 홍삼부산물의 다당체 수율이 증가함으로써 산성다당체 함량이 증가되고, 초고압효소융합 처리시 초고압 및 효소처리가 홍삼부산물의 산성다당체의 추출을 극대화하여 더 효과적으로 작용되었음을 알 수 있다. 따라서 본 연구에서는 cellulase를 이용한 초고압효소융합 기술을 홍삼부산물의 산성다당체 추출기법으로 공정화하여 RGBP군, HPP-RGBP군, ELHPP-RGBP군을 비교하는 효능평가 실험을 진행하였다.

표 5. 홍삼부산물의 공정에 따른 산성다당체 함량 비교

원료명	산성다당체 (mg/g)	초고압 홍삼부산물 대비 기준함량(%)	홍삼부산물 대비 기준함량(%)
홍삼부산물	12.10		
초고압 홍삼부산물	16.49		136
초고압효소융합 홍삼부산물 (cellulase)	19.11	116	158

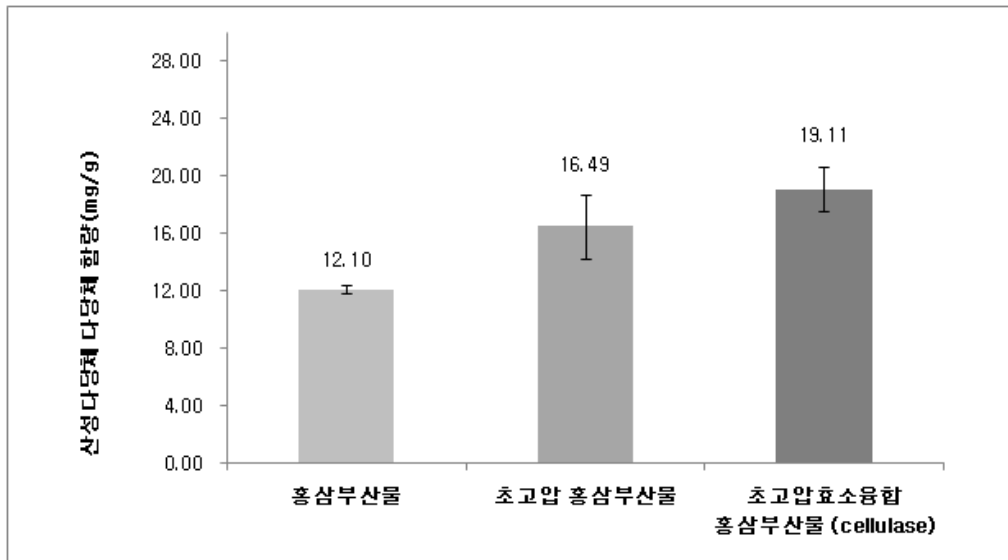


그림 3. 홍삼부산물의 공정에 따른 산성다당체 함량 비교

(2). 홍삼추출물의 아토피 피부염 개선/예방 효능평가

(가) 임상증상의 평가

① 일반 증상 관찰

일반/초고압 홍삼추출분말시료가 혼

합된 사료를 투여한 마우스에 있어서 아토피 피부염 비유발군과 비교하여 특별한 증상과 사망동물은 관찰되지 않았다.

② 체중 및 사료효율(FER : Feed Efficiency Ratio) 측정

일반/초고압 홍삼추출분말시료를 섭취한 마우스에 있어서 체중 및 사료효율 측정 결과는 그림 4와 표 6과 같다.

음성대조군과 비교하여 예방평가 시험에서(아토피 피부염 유발 2, 4, 6주에 측정 이하 0, 2, 4주차로 표기) 4주차에 일반홍삼군에서 유의적인 체중 증가가 관찰되었다($p < 0.05$). 하지만 그 외 전체 기간 내에서는 아토피 피부염 유발군과 비유발군과의 차이는 나타나지 않았다. 효능평가 시험에서 아토피 피부염 유발군과 비유발군과의 체중은 차이를 나타내지 않았다. 일반적으로 아토피 피부염이 유발되는 마우스의 체중은 감소하며, 정상군은 체중의 증가를 보인다. 예방평가 시험에서 5주차의 정체와 6주차의 감소는 아토피 피부염 유발로 추정할 수 있으며, 8주차 이후부터 체중의 증가는 병변의 개선으로 추정할 수 있다.

예방평가 시험과 효능평가 시험에서 일반홍삼군의 사료섭취량이 많았으나, 유의차는 보이지 않았으며, 사료효율(FER)에서도 군간 유의차는 관찰되지 않았다.

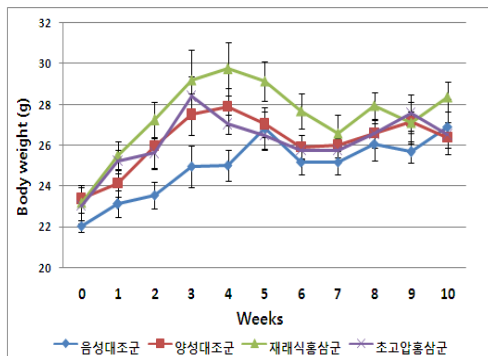
표 6. 홍삼추출물 투여에 따른 사료효율(FER)

A. 예방평가시험

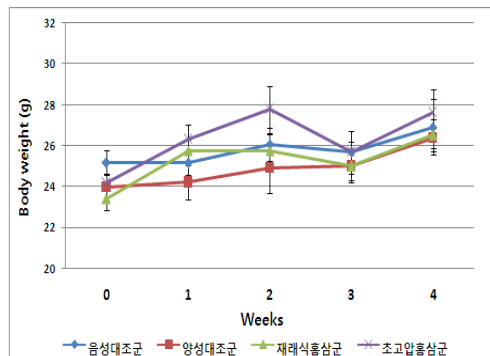
	Intial Weight(g)	Final Weight(g)	Body Weight gain		Feed intake (g/day)	FER
			g for 10 weeks	g/day		
음성 대조군	22.04±0.30	26.92±1.35	4.880±1.450	0.070±0.021	4.690	0.015±0.004
양성 대조군	23.39±0.67	26.39±0.52	3.005±0.782	0.043±0.011	4.674	0.009±0.002
일반 홍삼군	23.19±0.88	28.38±0.75	5.190±1.125	0.074±0.016	4.699	0.016±0.003
초고압 홍삼군	23.05±0.88	26.51±0.62	3.456±1.088	0.049±0.016	4.708	0.010±0.002

B. 효능평가시험

	Intial Weight(g)	Final Weight(g)	Body Weight gain		Feed intake (g/day)	FER
			g for 4weeks	g/day		
음성 대조군	25.17±0.60	26.92±1.35	1.744±1.195	0.062±0.043	4.687	0.013±0.009
양성 대조군	23.97±0.65	26.37±0.50	2.398±0.828	0.086±0.030	4.667	0.018±0.006
일반 홍삼군	23.41±0.56	26.52±0.77	3.109±0.779	0.111±0.028	5.359	0.021±0.005
초고압 홍삼군	24.20±0.43	27.63±1.10	3.428±0.733	0.122±0.026	5.326	0.023±0.005



A. 예방평가시험



B. 효능평가시험

그림 4. 홍삼추출물 투여에 따른 체중변화

③ 경피수분증발량 측정(TEWL, Transepidermal water loss assay)

일정한 온도 및 습도조건(실내온도 22~24℃, 상대습도50~60%)에서 30분전부터 측정 부위의 피부를 노출시켜 실내 조건에 순응시키고, 공기의 흐름을 일정하게 하기 위하여 움직임을 제한하였다. Vapometer (Delfin)로 일정한 피부 부위에서 경피 수분 손실량(TEWL (단위:g/m²h-Trans epidermal Waterloss))을 측정하였으며, 측정결과는 1분 동안의 TEWL 수치 중 초기 값을 제외한 TEWL 평균 중 편차가 가장 작은 값의 평균을 기록하였다.

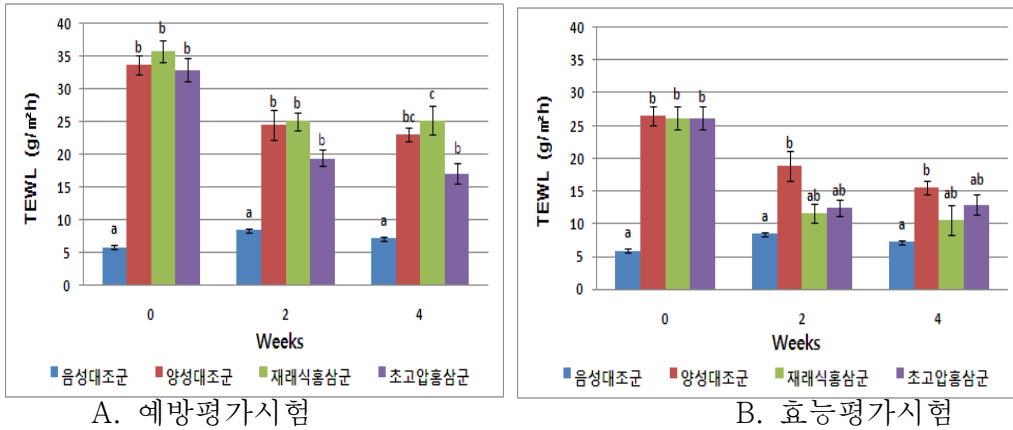
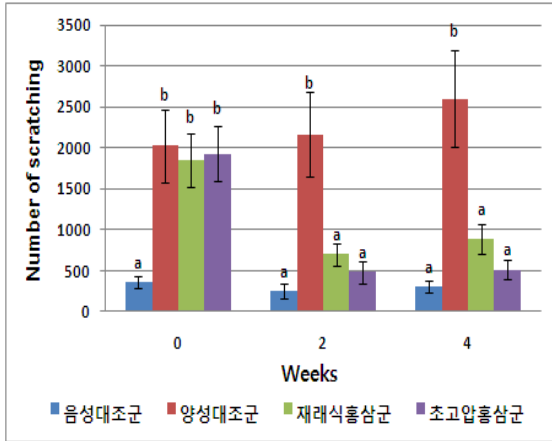


그림 5. 홍삼추출물 투여에 따른 경피수분증발량(TEWL)

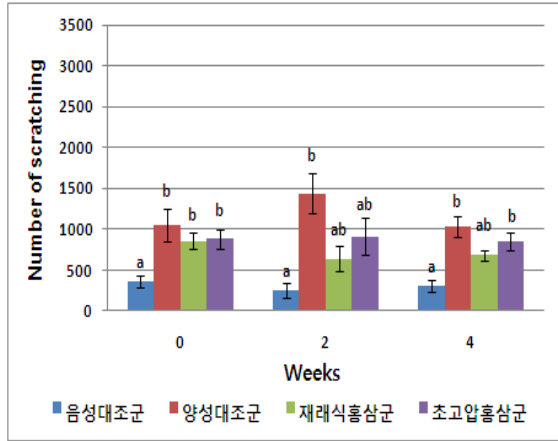
시험 결과는 그림 5과 같으며, 예방평가 시험에서 음성대조군과 비교하여 양성대조군, 실험군은 유의적인 차이를 보였으나, 양성대조군과 실험군의 차이는 나타나지 않았다. 효능평가 시험에서 음성대조군과 비교하여 0주차에서 양성대조군과 실험군은 유의적으로 경피수분손실량이 높았으며, 2, 4주차에서는 음성대조군과 비교하여 양성대조군의 TEWL이 유의적으로 높아 경피수분손실량이 많이 측정되었다.

④ Scratching behavior 시험

긁는 횟수를 측정하기 위해서 마우스 양 뒷다리에 작은 자석(직경 1mm, 길이 3mm)을 측정 4주전에 삽입하였다. 자석이 삽입된 마우스를 코일이 감긴 관찰 용기에 넣고, 일본 Neuroscience사의 MicroAct를 사용하여, 1시간동안 긁는 행동을 자동적으로 감지, 기록하여 횟수를 비교하였다. 긁는 횟수의 측정은 예방평가 시험에서는 아토피 피부염 유발 2, 4 6주차에 측정하였으며, 효능평가 시험에서는 아토피 피부염 유발 후 시험 물질 투여 시작과 종료 시(0, 2, 4주차)에 측정하였다. 시험 결과는 Fig. 5와 같으며, 예방평가 시험에서 0주차에서는 음성대조군과 비교하여 양성대조군과 실험군에서 유의차를 나타내었다. 2, 4주차에 양성대조군과 비교하여 실험군 에서 긁는 횟수의 유의차가 관찰되었으며, 재래식/초고압 홍삼군에서 기간별 감소를 나타내었다. 효능평가 시험에서 기간별 긁는 횟수의 유의적인 감소는 일반홍삼군에 관찰되었지만 음성대조군과 비교하여 유의차가 나타날 뿐 양성대조군과 실험군과의 유의차는 보이지 않았다.



A. 예방평가지험

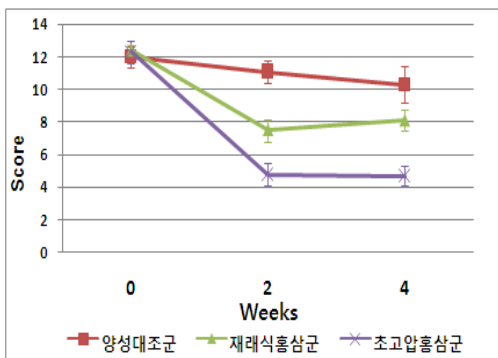


B. 효능평가지험

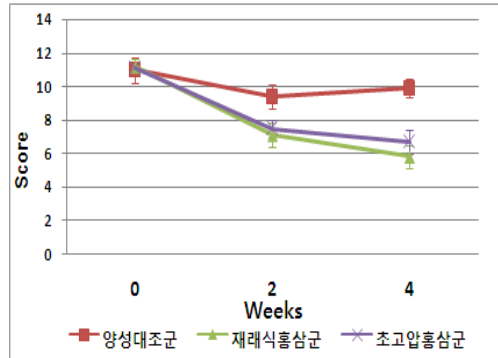
그림 6. 홍삼추출물 투여에 따른 Scratching behavior 시험

⑤ 관능 평가 시험

본 평가에서는 아토피 피부염이 유발된 등 부위의 증상을 주로 관찰하였다. 시험 결과는 그림 7과 같으며, 예방평가 시험의 경우 0주차에 전체등부위에 홍반, 부종뿐만 아니라 가피탈피와 농양성 구진 및 개체에 따라 심한 경우 출혈소견과, 귓바퀴 부위에서 부종 및 출혈 등을 포함한 강한 피부염이 유발되어 사람의 아토피 피부염의 증상과 매우 흡사한 피부병변을 나타내었다. 2주차는 홍반과 약간의 부종을 동반한 중등도의 피부염으로 양성대조군과 비교하여 일반홍삼군, 초고압홍삼군에서 유의적인 피부병변의 개선이 관찰되었다. 4주차는 양성대조군과 비교하여 초고압홍삼군에서 유의적인 피부병변의 개선이 관찰되었다. 효능평가 시험의 경우 4주차에서 양성대조군과 비교하여 실험군에서 유의적인 피부병변의 개선이 관찰되었다. 예방 및 효능평가 시험에서 양성대조군과 비교하여 실험군에서 기간별 육안평가 점수의 감소폭이 크게 나타났다.



A. 예방평가지험



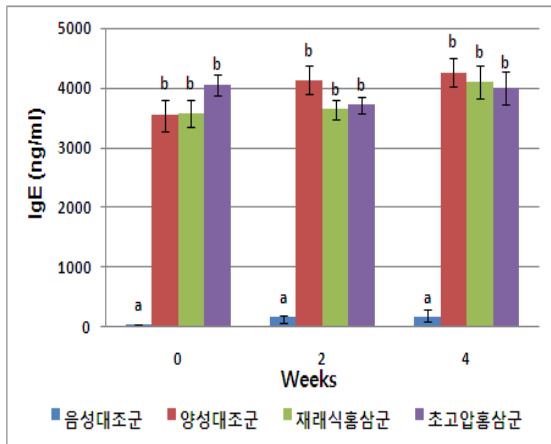
B. 효능평가지험

그림 7. 홍삼추출물 투여에 따른 관능 평가 시험

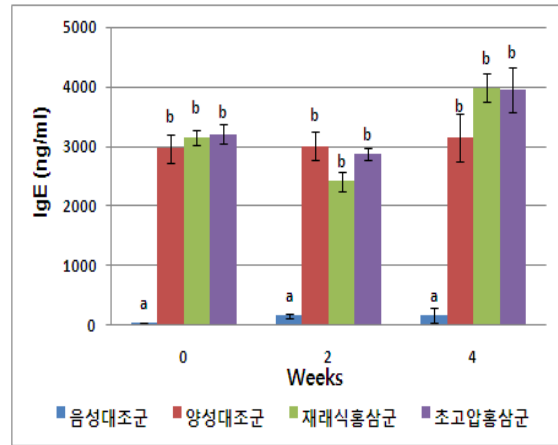
(나) 혈액(생화학) 또는 혈청학적 평가

① 혈장 내 IgE 농도 분석

시험 결과는 그림 8과 같다. 예방 및 효능평가 시험에서 음성대조군과 비교하여 양성대조군, 실험군에서 혈장 내 IgE 농도가 유의적으로 높게 측정되었으며, 양성대조군과 실험군과의 유의차는 나타나지 않았다.



A. 예방평가지험

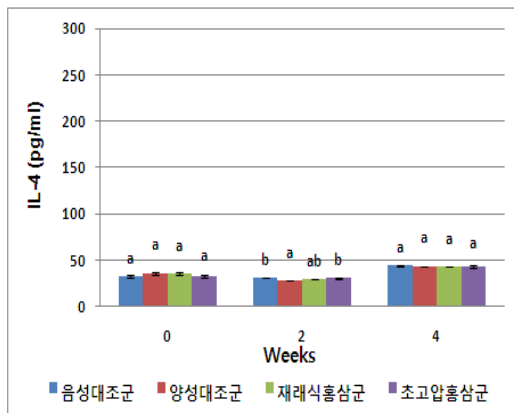


B. 효능평가지험

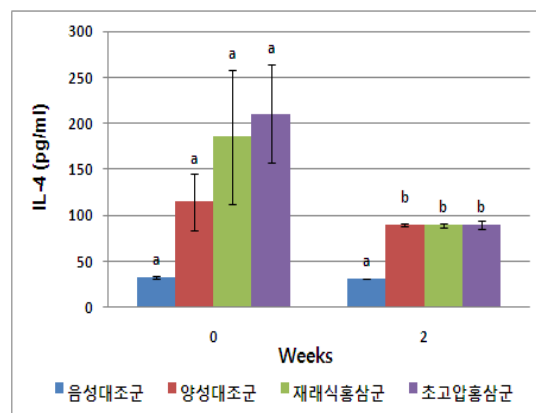
그림 8. 홍삼추출물 투여에 따른 혈장 내 IgE 농도 분석

② 혈장 IL-4 Th2 cytokine 측정

시험 결과는 아래의 그림 9와 같다. 예방평가 시험의 혈장 내 IL-4 측정결과는 음성대조군에 비해 유의차가 나타나지 않았으며, 2주차에 양성대조군에서 IL-4의 농도가 유의적으로 낮게 측정되었다. 효능평가 시험의 IL-4 농도의 측정결과는 4주차에 음성대조군과 비교하여 양성대조군, 실험군 일반홍삼군, 초고압홍삼군에서 유의적으로 높게 측정되었다.



A. 예방평가지험



B. 효능평가지험

그림 9. 홍삼추출물 투여에 따른 혈장 IL-4 Th2 cytokine 측정

③ 혈중 히스타민 측정

시험 결과는 아래의 그림 10.과 같다. 예방평가 시험에서 histamine의 혈액 내 농도는 유의차를 나타내지 않았으며, 효능평가 시험에서 histamine 농도의 측정결과는 0주차에 음성대조군에 비해 양성대조군, 일반홍삼군, 초고압홍삼군에서 유의적으로 낮게 측정되었다.

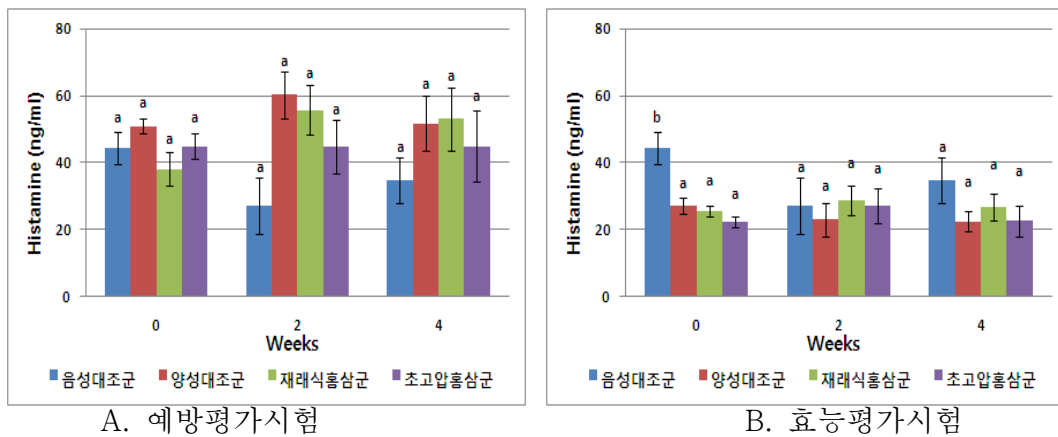
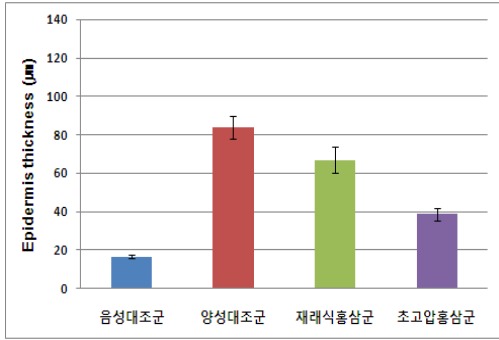


그림 10. 홍삼추출물 투여에 따른 혈중 히스타민 측정

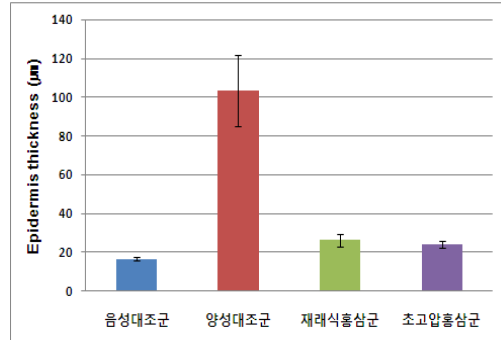
(다) 조직병리학적 평가

① 피부조직에서의 염증세포 침윤에 대한 영향 - H&E Stain

피부조직 염색을 통해 표피의 상태, 염증성 세포의 피부조직 침윤 여부를 평가하였다(그림 11, 12). 예방평가 시험의 경우 표피층의 상태관찰에서 표피층의 두께가 양성대조군에 비교하여 초고압홍삼에서 유의적으로 분석되었으며, 효능평가 시험에서는 양성대조군에 비해 일반홍삼군과 초고압홍삼군에서 유의차를 나타내었다. 양성대조군은 hyperplasia와 hyperkeratosis 현상이 심하여 표피층이 비후해졌으며, 각질층의 형태가 불규칙적으로 나타나 피부장벽의 심각한 손상이 확인되었다. 진피층 내에 염증 관련 세포의 침윤현상도 많았다. 이에 비해 실험군은 hyperplasia와 hyperkeratosis 현상이 적게 관찰되었으며, 피부장벽의 손상이 상대적으로 적었다. 진피층에 염증세포의 침윤 현상도 상대적으로 낮게 관찰되었다.

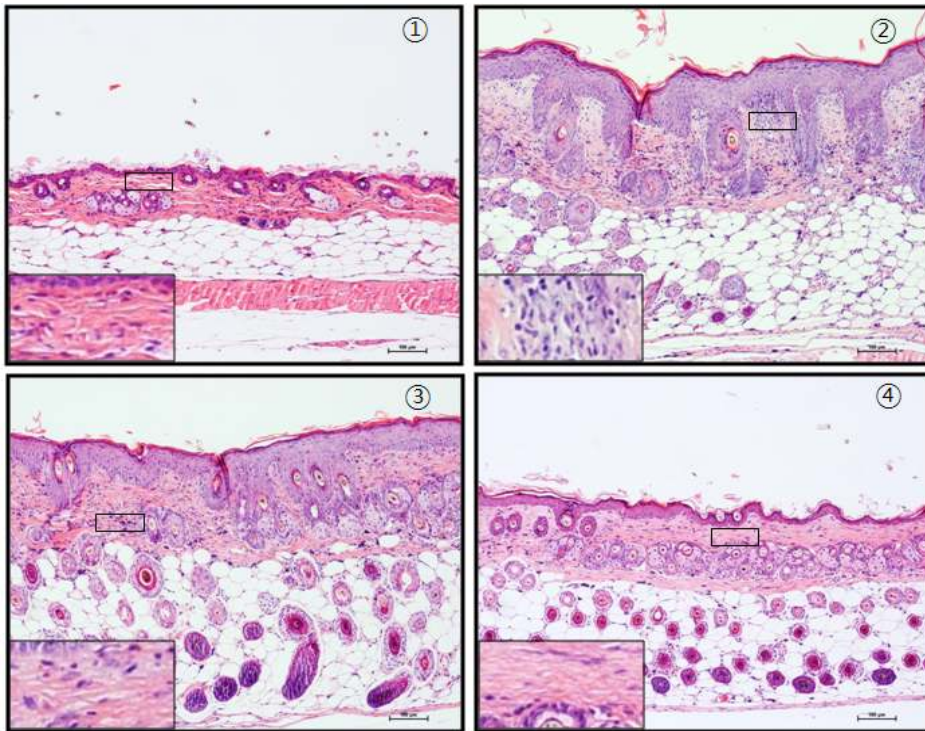


A. 예방평가지험



B. 효능평가지험

그림 11. 홍삼추출물 투여에 따른 표피층의 두께

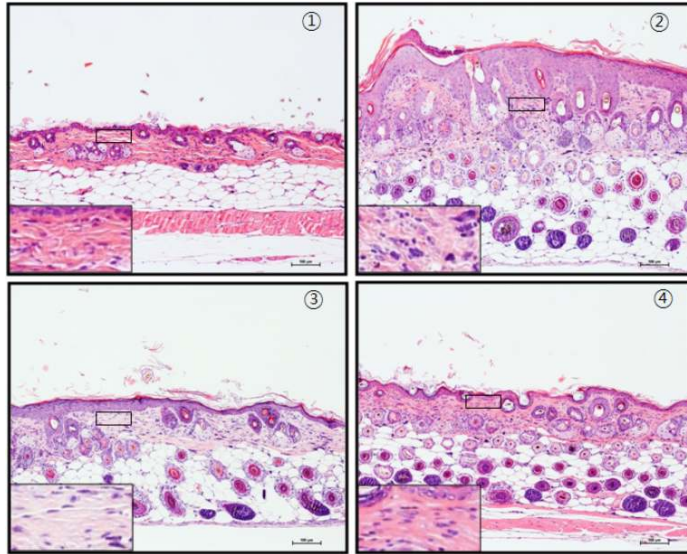


① 음성대조군 ② 양성대조군 ③ 일반홍삼군 ④ 초고압홍삼군 H&E Stain (×100 & ×400)

그림 12. 홍삼추출물 투여에 따른 표피상태 및 염증세포 관찰

② 비만세포의 탈과립 여부 정도 - Toluidine Blue Stain

피부 조직을 Toluidine Blue로 염색하여 히스타민의 탈과립 여부와, 진피층 내에 비만 세포의 수 및 면적과 밀도를 평가하였다. 예방 및 효능평가 시험에서는 음성대조군과 비교하여 양성대조군에서 비만세포와 히스타민의 탈과립이 많이 관찰되었지만, 유의하지는 않았다. 그 결과는 아래의 그림 13에 정리하였다.



① 음성대조군 ② 양성대조군 ③ 일반홍삼군 ④ 초고압홍삼군 H&E Stain (×100 & ×400)

그림 13. 홍삼추출물 투여에 따른 비만세포의 분포 양상과 히스타민의 탈과립 관찰

○ 제1협동(동국대학교)

: 초고압 효소 융합기술을 이용한 홍삼 부산물의 기능성 다당체 효능연구

가. 연구 범위 및 연구 수행 방법

○ 홍삼의 산성다당체 함량은 4.7~7.4% 수준으로 수삼의 약 3배 수준이며 부위별로는 지근이나 표피보다 뇌두와 동체에서 높다고 보고되었는데, 이는 산성다당체가 홍삼을 제조하는 과정에서 다량으로 생성되는 것으로 추정됨. 효소처리를 통해 산성다당체의 함량을 증가시키고 이 시료를 이용하여 홍삼이 갖고 있는 면역 증강효과와 더불어 항산화 효과를 측정함

(1) 초고압효소융합 홍삼부산물 중 지표물질인 산성다당체의 항산화 평가

○ 홍삼 부산물에 초고압처리한 후 효소처리한 시료를 이용하여 항산화실험을 실시한다. 항산화실험으로는 ABTs 법, 전자공여능 (DPPH assay), 총산화능, FRAP assay를 진행한다.

○ Benzie & Strain(1996)의 방법을 응용하여 FRAP assay를 통해 산성다당체의 항산화능을 측정하였다. 이는 ferric ion이 ferrous로의 전환 과정을 통하여 시료의 항산화능을 측정하는 것이다. 실험 직전에 acetate buffer(pH 3.6, 300 mM): 10 mM의 TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine): 20 mM FeCl₃·6H₂O를 10:1:1의 비율로 만들고, 이 혼합물의 1.5 ml를 시험관에 첨가 후 산성다당체 추출물과 혼합하여 4분간 37℃에서 incubation 후 590nm에서 흡광도를 측정한다.

○ ABTS 라디칼 소거능 측정은 Roberta 등(1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. 이 방법은 ABTS의 색 변화를 관찰하는 것이다. ABTS는 potassium persulfate에 의해 전자를 잃어

질은 청녹색을 띄지만, 항산화 물질의 전자공여능으로 색이 열리는 과정을 보고 항산화능을 측정하는 방법이다. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 섞고, 상온에서 16 시간 incubation 후 ABTS 양이온(ABTS+)을 형성시킨다. 그 후, 734 nm에서 흡광도의 값이 1.5 이하가 되도록 희석하여 시험용액으로 제조하였다. 앞서 만든 ABTS+ 용액 1 ml에 시료 10 μ l를 가하여 흡광도 값을 6분 후에 측정하였다. 항산화능은 시료를 녹인 용매인 증류수를 대조군으로 다음의 식으로 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity} = \left(1 - \frac{A_{\text{Test}}}{A_{\text{Control}}} \right) \times 100$$

○ 홍삼부산물 추출물의 총 페놀 함량은 Gutfinger T(1981)의 방법을 응용하여 사용하였다. 시료 1 ml에 10% Folin 시약 과 2% Na₂CO₃ 시약 1 ml씩 첨가하여 1시간 동안 반응을 시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다

○ DPPH는 free radical에 대한 시료의 항산화 활성을 평가하기 위하여 Kim 등(2002)의 방법을 응용하여 측정하였다. 95% 에탄올에 용해시킨 0.4 mM DPPH 용액 0.8 ml에 시료 0.2 ml를 첨가하여 혼합 후 암소에서 4 min 동안 방치하고 microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA USA)를 사용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 다음 식에 의하여 나타내었다.

$$\text{Electron donating ability(\%)} = \left\{ 1 - \left[\frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

○ 세포배양: HaCaT cells은 DMEM 배지에 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin, 이 들어간 배양조건에서 키우며 계대배양은 4-5일에 한 번씩 함.

○ 이외에도 유전자 분석법(RT-PCR법)을 이용하여 Catalase, Superoxide dismutase와 같은 효소적 항산화시스템 관련 유전자를 분석함.

○ RNA 추출, reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) 6-well plates에서 배양하면서 48시간 동안 시료를 처리한 세포에 Trisol REAGENT을 1.0mL씩 가하여 제조사에서 제공한 제품 사용설명서에 따라 RNA를 추출하였다. 본 연구에서 First-stand cDNA를 생산하기 위하여 oligo(dT)15 primer와 random hexamer를 사용하여 Promega사 (Madison, WI, USA)에서 제공한 제품 사용설명서에 따라 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA와 아래표의 primer를 넣고 94°C에서 5분간 방치하여 reverse transcriptase를 불활성화시켰다. 이후의 PCR 조건은 94에서 30초(denaturation), 50°C에서 30초(annealing), 72°C에서 90초(extension)의 반응을 25-35회 반복하는 것을 기본으로 target cDNA 종류에 따라 최적의 조건으로 조절하였다. 증폭된 cDNA는 1.2% agarose gel을 사용한 전기영동으로 분리하여 확인하였다.

표 7, Primer Sequence

Primer (Human)	Sequence	Product(bp)
GAPDH	S: ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC	380
	A: TTC ACC ACC CTG TTG CTG TA	
Catalase	S: ACT GTT GCT GGA GAA TCG GG	417
	A: ACT GTT GCT GGA GAA TCG GG	
SOD1	S: GGT TTG CGT CGT AGT CTC CT	375
	A: ACA TCG GCC ACA CCA TCT TT	
SOD2	S: CTG CTC CCC GCG CTT TCT TA	446
	A: CCG TTA GGG CTG AGG TTT GT	
SOD3	S: GAG CAC TCA GAG CGC AAG AA	387
	A: AGT CTC AGG GCT TAT GGG GT	

Primer (Mouse)	Sequence	Product(bp)
GAPDH	S: ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC	380
	A: TTC ACC ACC CTG TTG CTG TA	
Catalase	S: AAG ATT GCC TTC TCC GGG TG	430
	A: TGT GGA GAA TCG AAC GGC AA	
SOD1	S: CAT GGG TTC CAC GTC CAT CA	360
	A: AGA CTC AGA CCA CAC AGG GA	
SOD2	S: GAA CAA TCT CAA CGC CAC CG	365
	A: TAG TAA GCG TGC TCC CAC AC	
SOD3	S: TGC TGC TCG CTC ACA TAA CA	332
	A: GCT CCA TCC AGA TCT CCA GC	

(2) 면역증강 효능평가

○ 항염증효과 측정법 : Macrophage cell line 인 Raw 264.7 cell을 이용하여 항염증효과를 측정함. 각 세포를 6 well plate에 2×10^5 /well로 분주하고 12시간 배양 한 후에 세포들을 모아 PCR을 수행함. 염증관련 primer 로서 IL-1 α , IL-1 β , IFN- γ , TNF- α 을 사용하여 항염증효과를 분석함.

○ 세포 활성도 측정 (MTT assay) : MTT (tetrazlium 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma) assay는 Sladowski의 방법을 따라 수행함. MTT assay는 우선 6 well plate에 염증세포를 12시간 배양한 후 LPS로 산화적 stress를 유도함. 24시간 후에 전자기장에 노출시켜 3, 6, 10일 동안 배양함. 그리고 MTT 용액 (2mg/ml)을 넣고, incubator에서 4시간 배양한 후 dimethylsulfoxide (DMSO; Sigma)로 용해시켜 540nm의 파장에서 microplate reader (Molecular devices, USA)로 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 계산함. 세포 생존율 (Cell viability, %)은 다음과 같이 정의를 함. 정상군의 값을 control로 하고 이때의 O.D. 값을 세포의 생존도가 100%라고 정의하고, 나머지 군의 측정된 O.D. 값을 상대치로 환산을 하면 다음과 같음. Cell viability = (실험군 값/ 정상군 값) * 100

○ 세포의 생존 및 사멸 그리고 면역에 관련하는 단백질인 NF-kB, MAP kinase 와 같은 단백질을 western 분석법을 이용하여 분석함.

○ 단백질 분석은 Western blotting 방법에 의해 수행하였다. 세포를 60 mm dish에서 배양하여 홍삼 추출물을 처리하였다. 5일 후, 배양액을 PMSF 존재 하에 회수하고 PBS로 세척

한 세포에 protease inhibitor를 첨가한 cell lysis buffer (150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.5% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 5 mM EDTA)를 넣고 잘 섞어 시료로 사용하였다. 단백질을 50 µg을 7%, 14% Trisglycine SDS-PAGE로 분리한 후, immunoblotting에 의해 p-ERK, p-NF-κB, Catalase 등의 단백질 양상을 분석하였다. 3회 반복 실험에 의해 얻어진 단백질 밴드를 Image J 1.37 software(NIH 제공)에 의해 정량하였으며 actin 밴드를 기준으로 보정하였다

나. 연구 결과 및 고찰

(1) 초고압효소용합 홍삼부산물 중 지표물질인 산성다당체의 항산화 평가

(가) 초고압효소용합 홍삼부산물의 항산화효과 탐색

○ 제1세부팀에서 3개의 시료(홍삼부산물, 초고압홍삼부산물, 초고압효소용합홍삼부산물)를 이용하여 알려진 항산화실험으로 DPPH, ABTS scavenging activity, FRAP, 총 페놀함량을 측정하였다. 기존의 홍삼부산물의 경우보다 초고압처리한 홍삼부산물이 항산화효과가 있음을 알 수 있었다. 초고압효소용합 홍삼부산물의 경우는 초고압 홍삼부산물과 비슷한 항산화효과가 있음을 알 수 있었다.

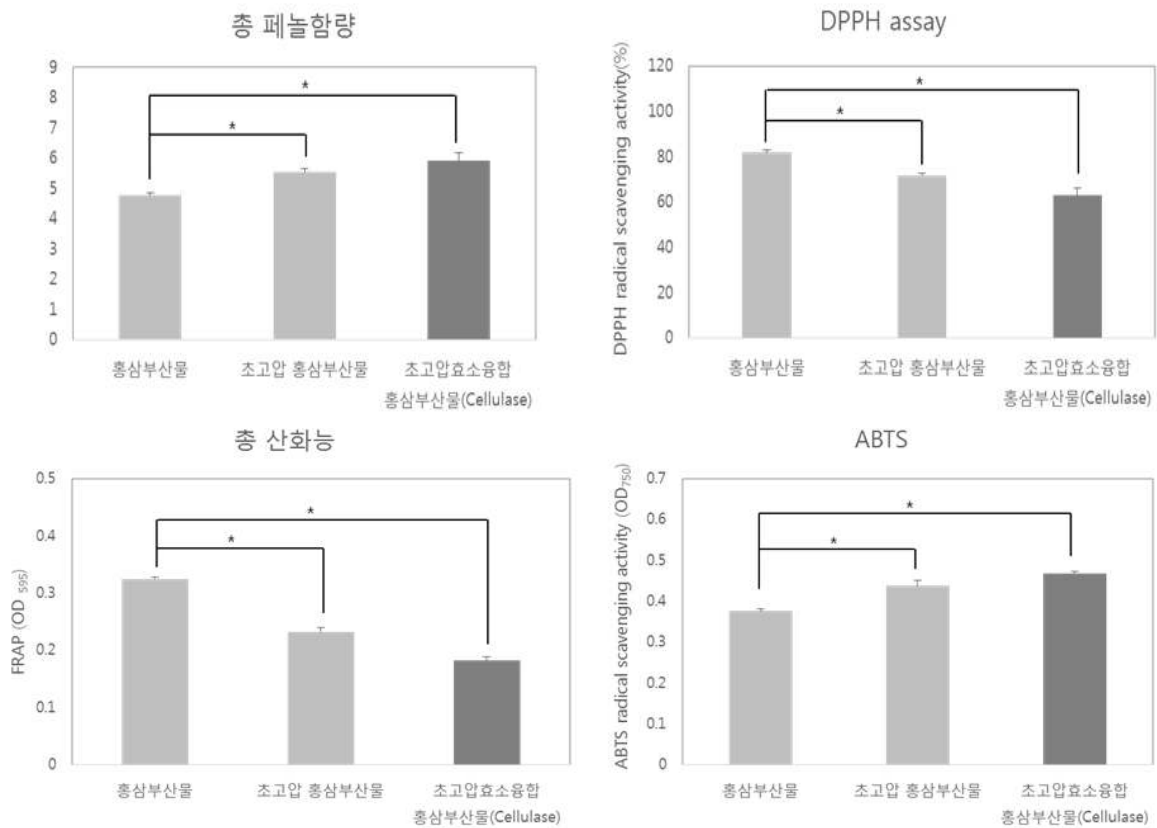


그림 14. 홍삼부산물의 항산화효과 결과

(나) 피부세포주를 이용한 항산화 관련 유전자 및 세포활성 관련 단백질 분석

○ 피부세포주 중에서 인간 각질세포주인 HaCaT cell line을 이용하여 항산화효과 관련 유전자를 분석한다. 홍삼부산물의 세포 처리 농도를 결정하기위해 세포독성(MTT assay)실험을 실시하였다 본 실험결과를 통해 홍삼부산물 0.5mg 사용시 세포 생존률 80% 정도임을 알 수 있었다. 피부세포주를 이용한 실험의 경우 0.5mg 이하로 사용하여 실험을 진행하였다.

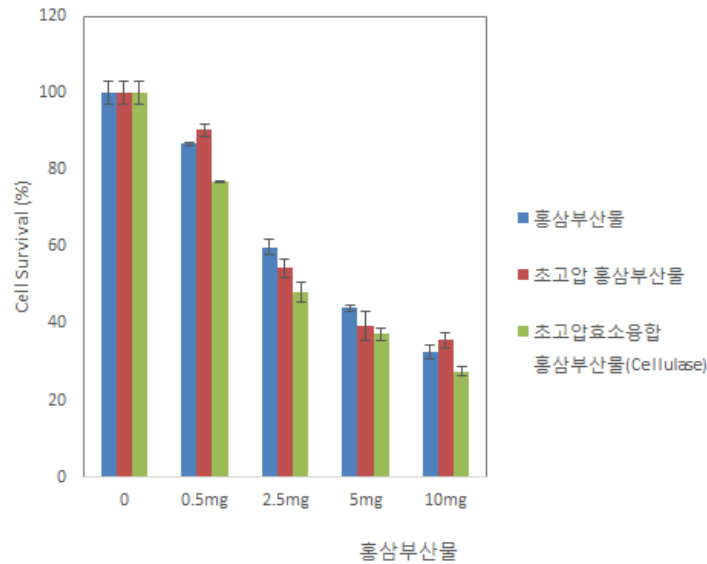


그림 15 피부세포주를 이용한 세포 독성 실험

○ HaCaT cell line을 이용하여 항산화 관련 유전자의 발현을 확인하였다. 항산화관련 유전자로 Catalase와 Super Oxide Dismutase 1,2,3를 이용하였다. 항산화 관련 유전자의 primer를 design 하여 실험을 진행하였고, 세포를 dish에 깔고 24시간 후에 홍삼부산물을 해당농도 처리하였다. 2일 후에 세포를 걷어서 RNA 추출하여 유전자를 분석하였다. 본 실험결과 초고압처리한 시료의 catalase의 발현이 증가한 것을 확인할 수 있었고, SOD의 경우에는 SOD2의 발현이 증가한 것을 확인할 수 있었다.

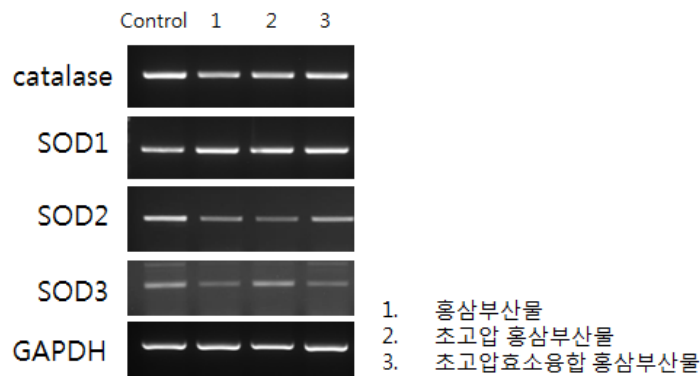


그림 16 홍삼부산물에 의한 항산화관련 유전자의 발현 변화

○ 홍삼부산물에 의한 세포활성을 확인하기 위해 세포 활성화에 관여하는 단백질인 p-ERK와 p-NF-kB의 발현을 시간의존적으로 확인하였다. 본 연구결과에 의하면 홍삼부산물의 경우 모두 다 시간의존적으로 세포활성관련 유전자의 발현을 증가시켰다.

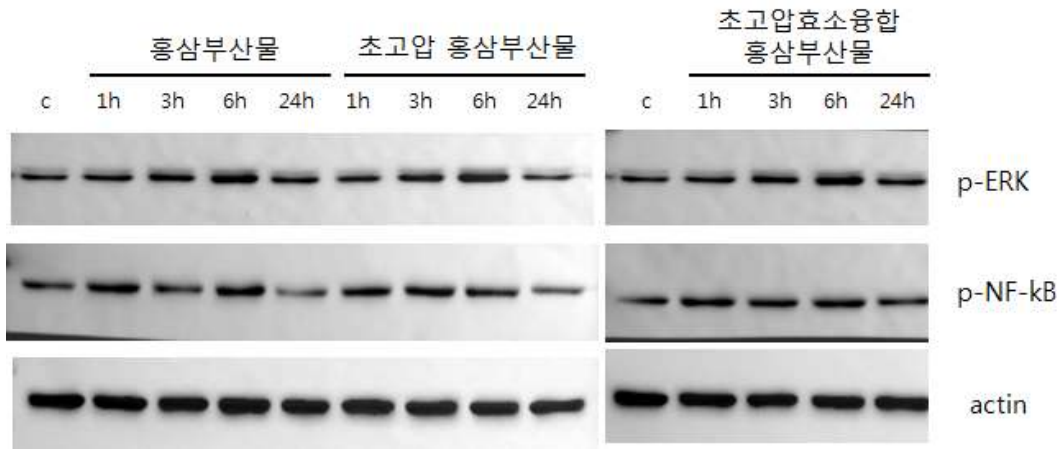


그림 17 홍삼부산물에 의한 세포활성 관련 단백질 발현 확인

(2) 면역증강 효능평가

○ 면역세포 중에서 대식세포주인 Raw 264.7 cell line을 이용하여 면역관련 유전자를 분석한다. 홍삼부산물의 세포 처리 농도를 결정하기 위해 세포독성(MTT assay) 실험을 실시하였다. 본 실험결과를 통해 홍삼부산물 0.5mg 사용시 세포 생존률 50% 정도임을 알 수 있었다. 대식세포주를 이용한 실험의 경우 0.2mg 이하로 사용하여 실험을 진행하였다.

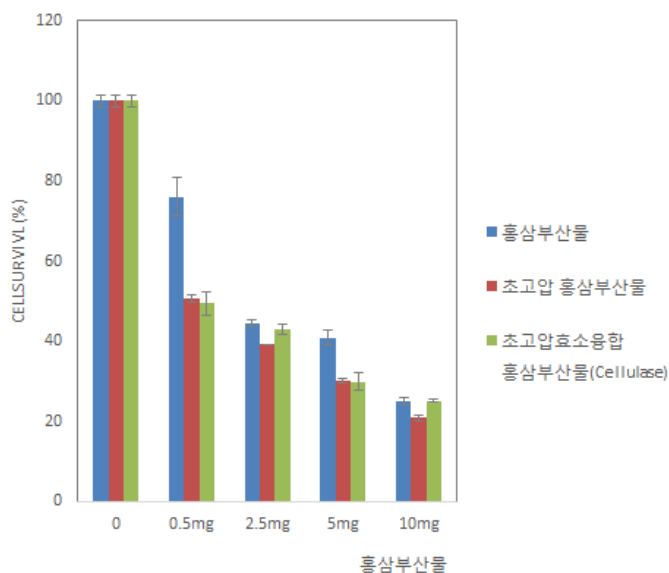


그림 18 대식세포주를 이용한 세포 독성 실험

○ 대식세포주를 이용하여 면역관련 유전자의 발현을 확인하였다. 면역관련 유전자로 IL-1 α , IL-1 β , TNF α , IFN- γ 를 이용하였다. 면역관련 유전자의 primer를 design 하여 실험을 진행

하였고, 세포를 dish에 깔고 24시간 후에 홍삼부산물을 해당농도 처리하였다. 2일 후에 세포를 걷어서 RNA 추출하여 유전자를 분석하였다. 본 실험결과 초고압처리한 시료의 면역관련 유전자의 발현이 증가한 것을 확인할 수 있었다. 하지만, IFN- γ 는 발현되지 않았다.

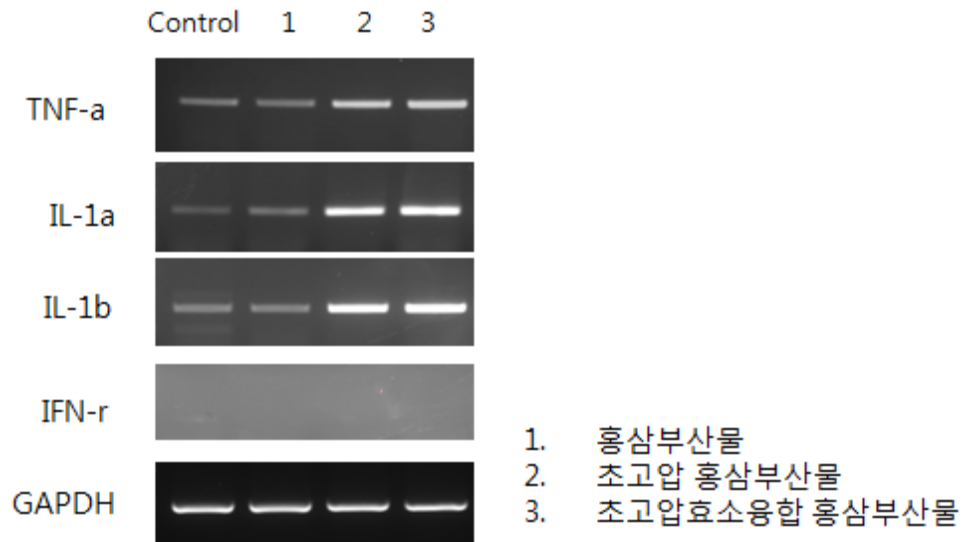


그림 19 홍삼부산물에 의한 면역관련 유전자의 발현 변화

○ 홍삼부산물에 의한 세포활성을 확인하기 위해 세포 활성화에 관여하는 단백질인 p-ERK와 p-NF-kB의 발현을 시간의존적으로 확인하였다. 본 연구결과에 의하면 홍삼부산물의 경우 모두 다 시간의존적으로 세포활성관련 유전자의 발현을 증가시켰다.

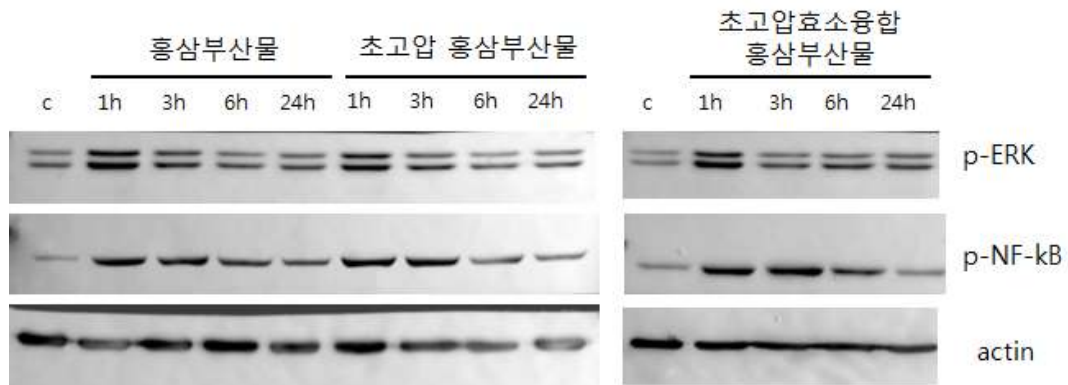


그림 20. 홍삼부산물에 의한 세포활성 관련 단백질 발현 확인

다. 사업화 추진시 기대성과

(1). 매출액(산업화 런칭 후 5년, 10년 기준) 및 경제적 기대효과

: 189,755 백만원(5년 기준)/ 1,269,418 백만원(10년 기준)

- 본 과제(R&D기획지원사업 결과: 사업계획서 적용), 후속 기술사업화 전제 평가

<제품 출시 이후>

(단위: 백만원)

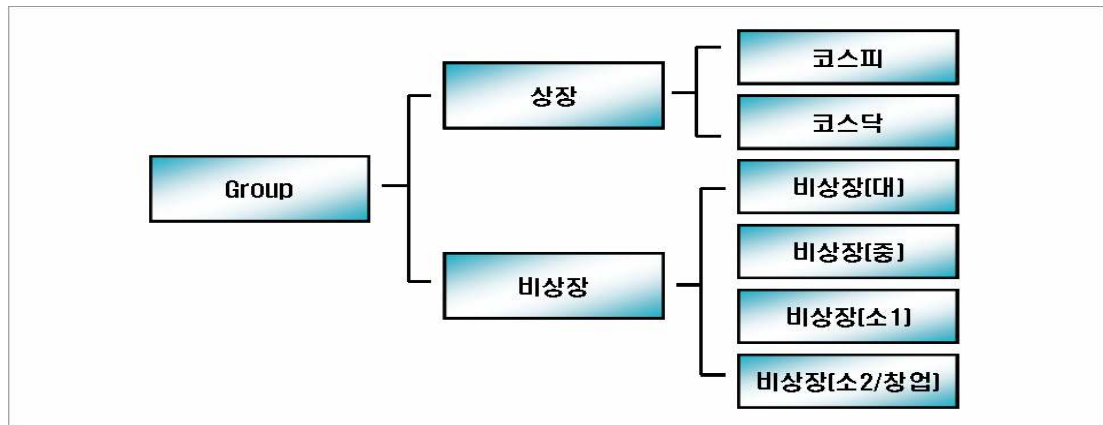
구분		1차년도 (19.01~19.12)	2차년도 (20.01~20.12)	3차년도 (21.01~21.12)	4차년도 (22.01~22.12)	5차년도 (23.01~23.12)	6차년도 (24.01~24.12)	7차년도 (25.01~25.12)	8차년도 (26.01~26.12)	9차년도 (27.01~27.12)	10차년도 (28.01~28.12)
매출액	100%	3,660	8,053	22,145	48,718	107,179	176,846	194,531	213,984	235,382	258,920
매출원가	39.92 %	1,461	3,215	8,840	19,448	42,786	70,597	77,657	85,422	93,964	103,361
매출총이익	60.08 %	2,199	4,838	13,305	29,270	64,393	106,249	116,874	128,562	141,418	155,559
판매관리비	46.32 %	1,695	3,730	10,258	22,566	49,645	81,915	90,107	99,117	109,029	119,932
세전영업이익	13.75 %	503	1,107	3,045	6,699	14,737	24,316	26,748	29,423	32,365	35,602
법인세 (세법적용)		432	810	1,808	1,991	3,300	3,632	3,997	4,401	4,888	5,422
세후영업이익		1,630	2,971	6,511	7,160	11,799	12,976	14,272	15,695	17,218	18,894
감가상각비	%	95	209	576	1,267	2,787	4,598	5,058	5,564	6,120	6,732
제품 출시 이전 감가상각비		0	0	0	0	0	0	0	0	0	500
자본적지출		1,130	2,060	6,514	12,465	27,422	33,955	12,510	13,761	15,137	16,651
운전자본증감		264	582	1,864	3,516	7,736	9,219	2,340	2,574	2,831	3,115
FCF		331	538	-1,291	-7,554	-20,572	-25,600	4,480	4,924	5,370	149,000
현가계수		0.6252	0.5559	0.4943	0.4396	0.3909	0.3475	0.309	0.2748	0.2444	0.2173
PV(FCF)		207	299	-638	-3,321	-8,042	-8,896	1,384	1,353	1,313	32,378

<산출근거>

추정 매출액 : 수익성 분석에서의 매출추정기간은 동 기술의 경제적 내용연수를 고려하여 개발종료 후 사업화 시작 1차 년도인 2018년부터 2028년까지로 가정하였음.

동 평가대상 기술은 신청기술이 적용될 분야인 건강기능성식품시장 중에서 이너뷰티시장으로 설정하였음. 국내 이너뷰티시장은 2009년 50억 원에서 2014년 4천억으로 성장하였으며, 제품 출시 년도인 2019년도에는 7.3천억 규모로 예상됨. 동 기술의 특성상 해외시장 진출이 용이할 것으로 판단되나, 신청 기술 사업화 후 매출 추정액은 국내시장으로 한정하여 추정하였음. 사업화 1차년도인 2019년 국내 시장의 1%를 차지하는 것을 시작으로 초기 3년간은 1%씩 점유율을 높여갈 것으로 예상하였으며, 제품 출시 6년 차부터는 점유율이 10%를 넘어설 것으로 가정하였음.

<할인율 추정기준(기업형태별 또는 규모별 구분)>



<할인율 추정결과>

결과적으로 WACC에 기술사업화위험 프리미엄과 규모위험 프리미엄을 더하여 할인율을 추정함.

→ **할인율** 12.46 % = **가중평균자본비용(WACC)** 7.83 % +
기술사업화 위험 프리미엄 3.51 % + **규모 위험 프리미엄** 1.12 %

(2). 최종 R&D사업화 목표(추진계획, 본 과제 외별도 추진 사업화 항목, 소요기간 : 3년)

- 국내 홍삼 부산물 중 활성성분 Database 및 기능성분 Profile 확보
- 초고압효소융합 홍삼부산물의 활성성분 분리 및 기능성 성분 분리정제
- 초고압효소융합 홍삼부산물의 기능성분 및 활성성분 대량생산시스템 정립
- 초고압효소융합 홍삼부산물 기능성분의 약리 및 기전 규명 연구(in vitro 및 in vivo)
- 면역증강 및 개선효과 규명
- 피부미용 개선효과 규명
- 아토피 예방 효능 규명
- 기능성 식품으로의 안전성 및 안정성 검증
- 사업화

(3). 파급효과

- 연구개발의 효율성 증대
- 산업화와 연계된 연구개발의 방향성 사전확립
- 국제적 연구개발 경쟁력 사전확보
- UPOV, FTA 등 급변하는 국내의 시장 환경에서 경쟁적 우위를 선점
- 고부가가치 산업의 육성 및 국가 경쟁력 증대
- 과학기술과 농업의 부존자원 융·복합화를 통한 창조경제 기반의 신성장 전략으로 새로운 가치를 창출
- 농식품 생물자원에 대한 원천기술 확보
- 개발 제품의 경우 국내외 시장선점 및 수익성 창출이 기대
- 산성다당체의 기능성분을 활용할 수 있는 다양한 소재개발로 홍삼의 이용 가능성을 극대화 시킬수 있고, 홍삼제품의 다양성과 시장 확대 기여
- 현재 홍삼 농축액 추출 공정에서 대부분 활용되지 못하고 폐기되는 홍삼 부산물에 고부가가치 제품으로의 활용을 통해 농가 소득 증진과 관련 산업에서는 폐기비용을 절감하고 제품의 제조원가를 줄일 수 있는 경제적 효과도 기대됨.

라. 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목	성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3년		
	소요예산(백만원)	900		
	예상 매출규모	현재까지	3년후	5년후

	(억원)		-	3.6	22
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	-	0.5	2.5
		국외	-	-	-
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		3년 이후에는 국내 내수 주요 업체에 본격적인 공급 및 마케팅 강 화로 적극적 영업을 실시하여 점유율을 높임으로써 주제품의 매출 액을 증가시킴. 5차년 이후에는 국내시장 점유율 10%까지 상승시 킬 예정임.			

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

		코드번호	D-06
가. 목표달성도			
<p>○ 본 연구를 통해 개발되는 원료 또는 제품은 인삼박 혹은 홍삼 부산물에서 유래하는 산성 다당체로써, 초고압가공기술 및 효소 처리를 통해 얻을 수 있는 식품첨가물임.</p> <p>○ 현재 인삼 또는 홍삼을 추출, 농축 가공 후, 폐기물로 처리되는 인삼박 또는 홍삼 부산물을 재가공을 통해 신규 식품첨가물로 개발함으로써, 새로운 부가가치를 창출하고, 기존 다당체 원료(ex. 텍스트린, 올리고당 등)의 대체 효과가 기대되며, 식품 및 동물사료 등에 적용이 가능할 것으로 판단됨. 본 연구 개발의 원재료인 인삼박 또는 홍삼 부산물은 국내에서 2012년 7,000~8,000여 톤이 발생되므로 저렴하게 확보 가능함.</p> <p>○ 금산에 공장이 위치해 있어 인삼박 또는 홍삼 부산물 원료 구하기에 용이하며 기존 생산 설비를 활용하여 생산이 가능할 것으로 판단되고, 개발 완료 시점에 식품 원료로 허가를 취득하게 되면 즉시 생산이 가능함.</p>			
표 8. 홍삼 부산물의 원료 확보 및 기본 제품화시 경제성 평가(산출근거)			
순서	구분	경제성	비고
1	원료확보(홍삼 부산물)	47톤/년	
	-산출근거 : 3회/월, 자사 홍삼가공 원료 제조(1.3톤/1회)		
2	제품화 개발(기능성 확보)관련 경제성 평가		
2-1	열수추출물(농축액,100%)	9톤	생산수율 20%내외(선행연구결과)
2-2	잔사분리물	10톤	제품화 시 부형제로 사용 예정.
<p>○ 본사도 생산라인을 보유하고 있어 홍삼농축액, 홍삼농축분말 및 생약재농축분말 등을 원료로 연간 40톤 규모 생산하고 있음. 대량 원료화 작업은 가능하나 제품 생산화에 진입할 경우 투자를 확대하여 생산시설을 갖출 계획 있음.</p> <p>○ 국내외 주요시장 동향</p>			

사업화 목표	주요내용
1. 기술명(지적소유권 확보) 기준 전문컨설팅을 통한 개발 타당성 및 R&D 사업화 방향 설정	<ol style="list-style-type: none"> 1. 기업분석 2. 제품분석 3. 기술분석 4. 로드맵 전개(시장, 제품, 기술 등) 5. 경영자원확보계획 6. 사업계획서 작성 7. 기술사업화지원사업 과제정의서(RFP)
2. 컨설팅 결과 기초 장단기 R&D 사업화 계획 수립	<ol style="list-style-type: none"> 1. 제품화 우선순위 및 장단기 원료확보방안 설정 2. 제품화 핵심 소재 대량생산시스템 확보방안 설정 3. 국내외 사업화(마케팅) 방향 설정 4. 제품화 R&D 방향 설정 5. 최종 장단기 R&D 방향 확정(본 과제의 별도추진 사업화)
3. 홍삼 부산물을 이용한 기능성 다당체 개발(면역 및 피부미용 소재 개발) 방향 및 유효성 사전평가(시제품 제조 및 예비시험평가, in vitro)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 원료확보 및 초고압 효소 융합 기술을 이용한 유용물질 추출기법 사전정립(경제성 평가) 2. 유효성분 분리 및 기능성분 분석법 사전정립 3. 제품화 전제, 기능성분(지표) 확정 및 분석법 사전정립
4. 시제품(면역증진/피부미용 개선 및 예방 건강기능식품)을 이용한 목표효과 대비 유효성 사전평가	<ol style="list-style-type: none"> 1. 면역증진 효능 평가(in vitro) 2. 피부미용 개선 및 예방효능평가(in vitro, in vivo)
5. 본 과제 연계 R&D 사업화 연구 최종 목표(사업화명 : 초고압 효소 융합기술을 활용한 기능성 다당체 유래 면역증진/피부미용 개선 및 예방형 건강기능식품 개발)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 국내 홍삼 부산물 중 활성성분 Database 및 기능성분 Profile 확보 2. 초고압효소융합 홍삼부산물의 활성성분 분리 및 기능성 성분 분리정제 3. 초고압효소융합 홍삼부산물의 기능성분 및 활성성분 대량생산시스템 정립 4. 초고압효소융합 홍삼부산물 기능성분의 생리활성 및 기전 규명 연구(in vitro 및 in vivo) 5. 면역증강 및 개선효과 규명 6. 피부미용 개선효과 규명 7. 아토피 예방 효능 규명 8. 기능성 식품으로의 안정성 및 안전성 검증 9. 사업화

현재 홍삼의 가치는 시장에 알려져 있으나 홍삼 부산물의 기능성에 대한 근거자료나 활용도가 낮아 제품으로 판매하기에 애로사항을 겪고 있으나 최근 건강기능식품 개별인정원료로 ‘인삼다당체추출물(기능성내용_면역기능 증진에 도움을 줄 수 있음)’이 등재되어 있고, 최근 인삼 또는 홍삼에 대한 연구가 진세노사이드 및 사포닌 연구를 넘어 새로운 인삼 또는 홍삼 유래 성분에 초점이 맞춰지고 있음.

○ 또한 KGC인삼공사는 홍삼 성분을 함유한 반려동물 건강식인 ‘지니펫’을 출시함. ‘지니

팻’은 반려견의 우수한 기호성과 배변과 관련한 특허 출원 및 공개가 완료된 제품으로 6년
 근 홍삼 부산물(홍삼부산물)과 증삼농축액, 고품질 유기농 원료를 결합해 반려동물의 영양
 보급 및 면역력에 도움을 줄 수 있는 반려동물용 건강식 제품을 판매하고 있음.

○ 위와 같이 본 연구는 홍삼 부산물을 이용하여 다당체 추출 기법을 확립하여 기능성분의
 유용성을 확보하여 식품 및 건강기능식품, 화장품 원료 및 제품화로 인정받게 된다면 국내
 시장은 물론 해외시장에서도 각광 받을 것으로 예상.

나. 관련분야의 기여도

○ 당사의 기존 사업아이템은 홍삼의 가공 원료(식품 및 건강기능식품)를 제조, 판매하는 것
 으로 본 연구과제와의 연관성이 매우 높다고 할 수 있음.

<p>뉴트렉스테크놀로지 VX4 Health</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - 원천 특허기술(초고압을 이용한 신규한 인삼가공 방법이 적용된 홍삼 원료와 진생베리(부원료) 등을 혼합 하여 만든 자사 제품.
<p><자사의 원천기술이 적용된 홍삼 제품 예></p> <p>AMOREPACIFIC</p> 	<p>(주)아모레퍼시픽 제품</p> <ul style="list-style-type: none"> - 홍삼진액청 : 천삼화 홍삼 에너지를 담은 100% 홍삼농축액 제품 - 해피키즈 : 성장기 어린이의 면역력 증진에 도움 을 줄수 있고 뼈의 형성과 유지에 필요한 어린이 건강기능식품 - 진생베리 명작수 : 천삼화 특허 기술이 적용된 홍 삼 원료와 진생베리(부원료)를 모두 담은 고품격 홍 삼 제품

○ 연구에 필요한 홍삼 부산물 원료 획득이 매우 용이하며 기존의 선행 연구 자료 및 기술
 활용도가 높음.

○ 당사의 기존 생산라인을 활용하여 본 연구과제 목표인 산성다당체 생산이 가능할 것으로
 판단(기존 생산라인 활용을 예상_70%)되고, 효소 처리 및 분리 분획을 위한 설비 보완이 필
 요함.

○ 당사의 기존 설비 현황 : 모바일 탱크 (1톤 * 3기)
 분리탱크 (4톤 * 1기)

반응탱크 (5톤 * 1기)
N/C농축기(400L/시간) (2기)
Batch농축기(1.5톤 * 1기, 2톤 * 1기)
연속식원심분리기
칠러

다. 최종제품의 제품경쟁력 수준

○ 인삼(홍삼) 가공공정 후 부산물로 발생되는 홍삼 부산물의 이용가치는 높음. 현재 폐기물관리법으로 규정하고 있어 홍삼 부산물을 폐기물차량을 이용해 수거할 경우 10톤당 100만원의 경비를 부담하고 있는 실정임. 이에 일부 홍삼 가공공장 주변에 있는 농가들은 퇴비나 사료로서 효과가 높은 홍삼 부산물을 얻어 활용함으로써 경제적 손실을 줄이며 홍삼 가공공장과 농가 모두 윈-윈 할 수 있음.

○ 또한 농촌진흥청 보고에 따르면 우리나라 버섯배지의 수입의존도는 약 60%(25만 톤/년) 수준으로 경영 비중 24%를 차지하며 이들 중 면실박(목화씨에서 기름을 짜내고 남은 찌꺼기)은 연간 약 15,000톤 소요되고 수입가격도 2008년 500원에서 2011년 50원/kg으로 지속적으로 오르고 있음. 이에 연구 결과 홍삼 부산물을 병 느타리버섯 재배시 배지로 사용한 결과 홍삼 부산물에 다당체와 사포닌을 구성하는 성분이 다량 남아있어 유용한 버섯배지로 활용할 수 있으며 느타리버섯 배지로 수입되는 면실박의 50%를 홍삼 부산물로 대체할 경우 일일 만병 기준 연간 4천 여 만원의 농가소득을 올릴 수 있으며 44억 원 상당의 외화절감 효과가 있는 것으로 추정함.

○ 본 연구과제의 결과물인 인삼 및 홍삼 부산물 유래의 산성다당체는 신규한 원료임. 일반적인 다당체 원료의 경우, 보유하고 있지 않은 기능성(ex. 면역력 강화, 항산화 등)을 보유하고 있고, 폐기물의 재활용을 통해 부가가치 창출이 가능한 원료임. 주관기관에서 원료 확보를 할 수 있는 홍삼부산물의 양은 47톤/년으로 기존 공정에서의 폐기물처리 비용과 개발제품의 원료수급 비용이 크게 절감되는 것으로 평가되어 경제성이 높은 소재로 판단됨.

○ 국내 요리당 시장은 건강한 단맛을 찾는 소비자가 늘어나면서 올리고당을 비롯한 설탕 대체 감미료 시장이 점점 늘어나고 있음. 링크아즈텍 시장조사기관에 따르면 2012년 설탕시장 규모는 1916억 원에서 2014년 1812억 원 규모로 줄어드는 추세이며 올리고당 시장은 2012년 274억 원에서 2014년 325억 원으로 매년 9%가량 성장하고 있음. 올리고당을 포함해 자일로스 설탕, 화인스위트, 매실청 등 설탕 대체 감미료 시장도 성장세이며 2012년 464억 원에서 2014년 640억 원 규모로 커지고 있음.

○ 홍삼 부산물로부터 유래된 다당체를 이용하여 칼로리와 당 부담을 줄이면서 항산화 및 면역력 강화에 효과 있는 기능성 원료 개발 시 품질 향상 및 소비시장 규모 확대 및 매출 증진 기여함.

- 홍삼 부산물 원료로부터 산성 다당체의 피부미용 효능 검증을 통해 화장품 원료화 했을 때 홍삼과 더불어 제품 품질의 향상 및 기능성 화장품 개발이 가능하며 젊은층 및 여성 소비자의 소비층 확대 예상.
- 세계 의약품 시장 규모는 2012년 9621억 달러에서 2013년 9938억 달러로 3.3% 증가했으며 2013년 국내 의약품 시장규모는 193억 원으로 2011년 이후 증가 추세임. 산성 다당체 효능 검증을 통한 의약품 원료 소재로 개발되면 면역증강제, 항비만, 항노화 등 고부가가치 창출.
- 홍삼 부산물의 효능 검증이 점차 보고되며 제품화 수준까지 진행되고 있어 홍삼의 효능과 홍삼 관련 제품의 신뢰도 면에서 더 각광받으며 인삼(홍삼) 관련 제품 시장이 확대 됨. 이러한 추세는 국내 식품시장의 안전성과 효능에 관한 불신을 감소시킬 것으로 예상됨.
- 또한 본 기술은 홍삼 부산물로부터 추출된 산성다당체를 이용한 기능성 이너뷰티 원료 개발 가능. 이너뷰티 시장에 출시된 제품의 경우 피부건강, 항산화, 체지방감소 영역에 해당하며, 국내 건강기능성식품중에서 약 20%를 차지하고 있음.
- 아모레퍼시픽이 2006년에 런칭한 비비프로그램의 경우 2013년도에 2천억 매출을 달성하였으며, CJ의 경우 이너비 등의 제품으로 200억 매출을 달성함. LG생활건강, 롯데헬스원, 미샤 등이 이너뷰티 신제품을 런칭하고 있고, 특히 울인원제품을 선보이고 있는 실정임.
- 홍삼 부산물 유래 산성다당체 기능성원료의 경우, 피부 개선뿐만 아니라 면역증강이라는 효과를 포함하고 있으며, 국내기능성식품원료 중 가장 높은 점유율을 가진 홍삼에서 유래한 원료임에 따라, 소비자에게 쉽게 접근할 수 있음.
- 본 원료를 이용한 제품을 출시하여 국내 이너뷰티 시장에서 5% 점유시 약 250억의 매출을 추정할 수 있으며, 국내이외에 일본 또는 중국시장을 고려할 때 추정 매출액은 1천 억 원 이상을 상회할 수 있다고 예상됨.

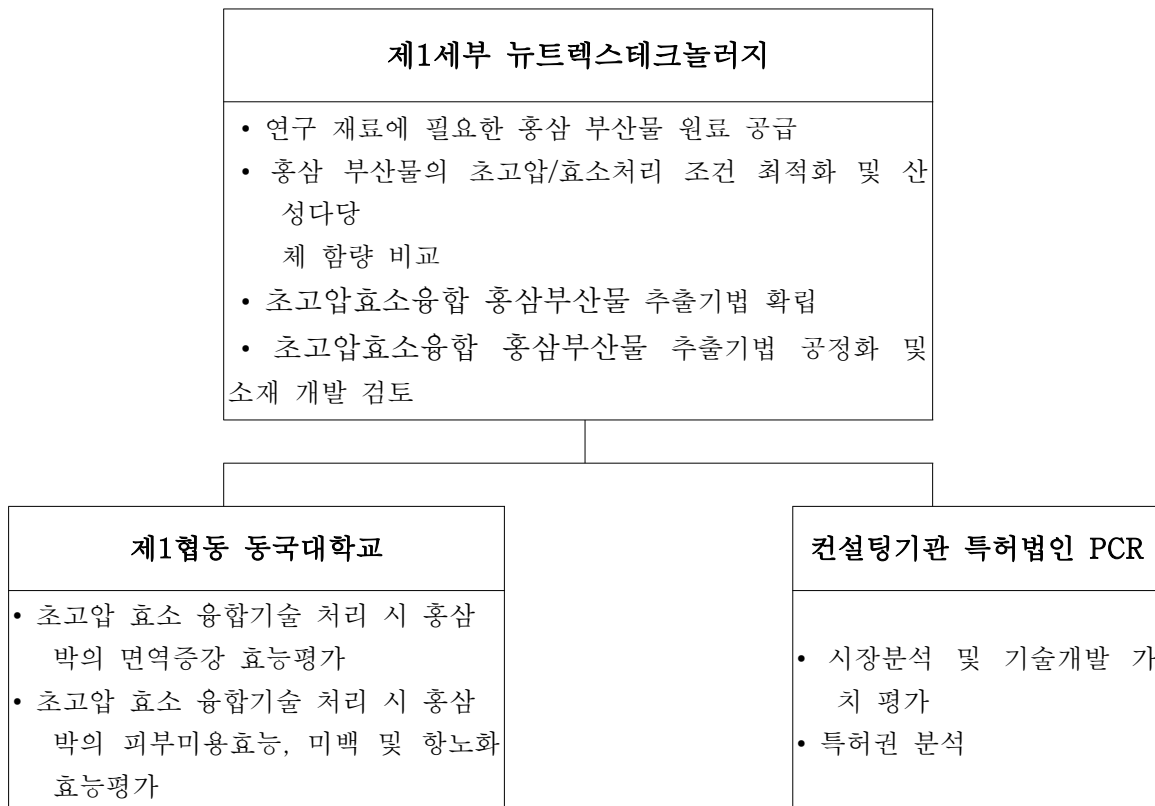
5. 연구결과의 활용계획

	코드번호	D-07
<p>가. 사업화 추진전략</p> <p>○ 폐기물로 버려지는 홍삼 부산물의 산업화를 위해 초고압 홍삼의 추출기술 특허를 가지고 있는 주관기관에서 홍삼 부산물로부터 초고압/효소 융합기술을 적용하여 산성다당체의 추출 기법을 최적화함.</p>		

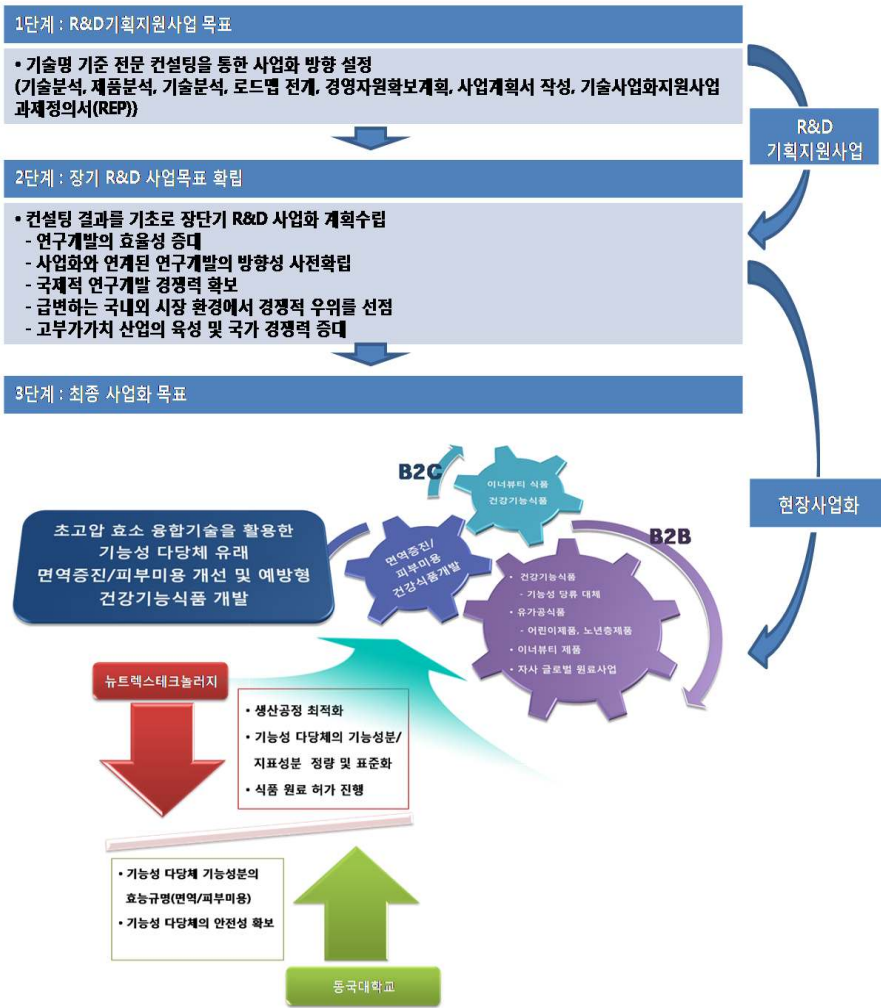
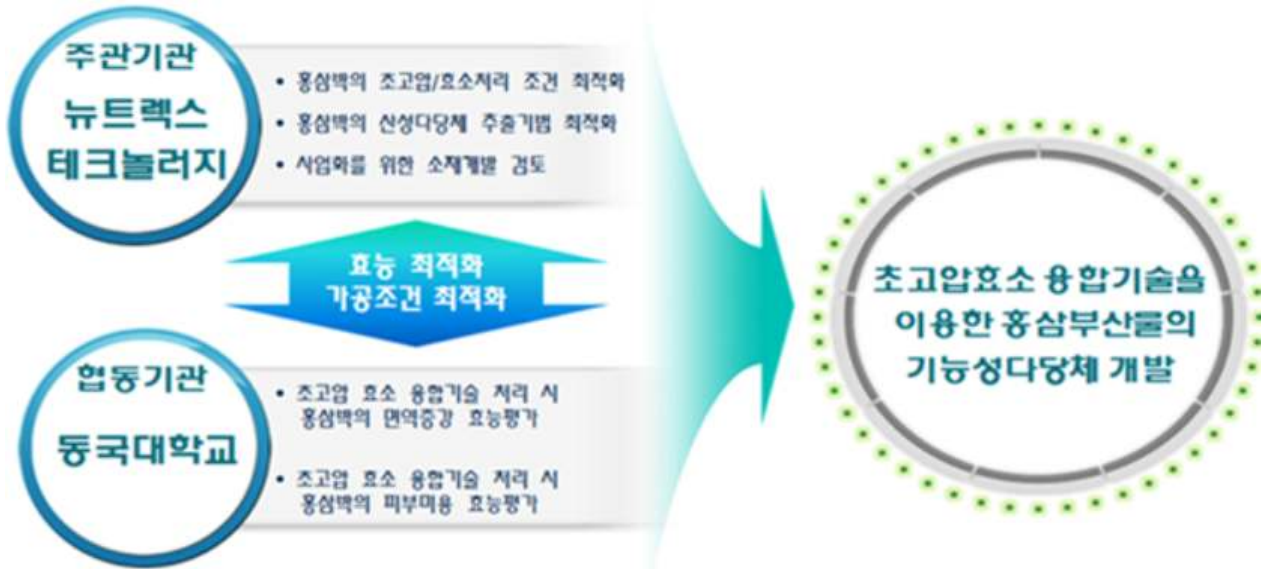
- 효소를 이용한 추출법에 관한 국내외 논문 및 자료 활용 뿐만 아니라 일본 초고압기업체인 Toyo koatsu사의 초고압 및 효소처리 기술을 분석, 조사하여 추출기술을 향상시킴.
- 전문기관의 자문을 통해 일반홍삼군, 초고압 및 효소처리군에 따른 산성다당체 함량을 비교 실험하여 초고압 및 효소 추출기법 공정화와 소재개발 활용에 대한 검토를 진행함.
- 주관기관과 협동기관의 공동연구뿐만 아니라 관련 산업체와 대학 연구진의 협조 및 자문 요청.
- 전문컨설팅을 통하여 사업화 계획서 확립 전 사전 기술개발가치 등을 세부적으로 점검함으로써 사업화 방향에 대한 자체 신뢰를 충분히 확보함.
- 최종목표를 성공적으로 도달하기 위하여, 각 기관의 상호 피드백과 연구결과를 공유 함.

나. 사업화 추진체계

(1) 1단계 : R&D 기획 지원사업 추진체계



(2) 2단계 : 장기 R&D 사업화 추진체계



6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

	코드번호	D-08
○ Vuksan et al.(2008) 임의의 대상 연구를 통해 홍삼이 제 2형 당뇨병의 완화에 도움을 주는 것을 확인하였다. 급성 당뇨병을 완화를 위해 한국의 홍삼을 준비하여 투여량 및 투여방법을 설정하여 12주의 안전성 임상 검사를 평가하여 항 당뇨병 효과가 있는 것을 확인하였다. 조절이 가능한 2형 당뇨병의 19명의 참가자를 대상으로 연구를 진행했으며, 무작위, 크로스오버 디자인, 그리고 이중맹검 검사를 통해 각 환자들에게 준비한 한국 홍삼을 투여 하여 연구를 진행 하였다.		
○ Banz et al.(2007) 홍삼의 섭취가 스트레스의 저항력 증가와 피로에 약한 세대의 건강의 향상에 도움을 준다. 미국에서 홍삼은 약초로 가장 많이 팔리는 식물중 하나이다. 동물실험을 통해 홍삼의 뿌리 추출액은 기억력을 향상시키고, 불안증상의 완화, 생명력 강화, 암 발생 위험 감소와 항당뇨 영향을 발현시키는 것으로 나타났다. 홍삼의 항당뇨영향은 1981년부터 현재에 이르기까지 일본등에서 많은 연구가 진행되었다. 많은 연구에서 나타난 결과로 홍삼의 항당뇨에 대한 특성은 더 나아가 잠복기 당뇨연구를 보장한다.		
○ Banz et al.(2007) 홍삼성분 중 하나인 진세노사이드는 홍삼의 항당뇨반응을 책임지는 성분으로 여겨졌다. 진세노사이드는 알파와 감마의 증식체활성 수용기의 역할을 하는 것으로 연구되었다. 증식체활성 수용기는 핵 호르몬 수용기 집단을 구성하는 요소이며 세포의 다양성을 부여하는 역할을 한다. 알파 증식체활성 수용기 리간드는 인슐린의 민감도를 증가시키고 지질대사지표를 향상시키는 것을 나타냈다. 알파 증식체활성 수용기는 간접적으로 근육과 폐 조직의 지질 축적과 독성효과를 감소시키는 지방산의 β -산화 증가로 인해서 인슐린 민감성을 간접적으로 향상시킨다.		
○ Kintscher et al.(2005) 감마 증식체활성 수용기는 지질생성에 큰 기여를 한다. 또한, 지질생성과 인슐린에 민감한 작은 지방세포의 생성에 자극을 주는 중요한 역할을 한다. 하지만, 어떻게 감마 증식체활성 수용기가 직접적으로 지방세포의 성숙에서 인슐린의 민감성을 향상시키는지 명확한 연구가 이루어지지 않았다. 하지만 감마 증식체활성 수용기는 인슐린 신호가 포함된 유전자의 발현을 유도한다.		
○ Banz et al.(2007) 홍삼의 섭취가 인체에 주는 다양한 영향과 인체의 지방에 미치는 영향에 대한 연구가 설치류를 대상으로 한 실험에서 밝혀졌다. 설치류에게 홍삼성분과 다른 연구의 구성성분을 확인하기 위해 몸무게별로 로시글리타존 규정식으로 먹이를 주었다. 홍삼은 대조군의 몸무게의 변화를 증가시켰다. 로시글리타존 습성과 유사하게, 홍삼이 몸무게를 증가시키는 영향은 감마 증식체 활성수용기가 홍삼 추출물의 영향에 작용하는 것과 관련이 있다.		
○ Attele et al.(2002) 홍삼은 혈장지질의 농도를 감소시키는 것으로 나타났다. 홍삼을 쥐에게 투여했을 때 트리글리세라이드의 농도는 대조군의 실험쥐에 비해 낮아지는 것으로 나타났다.		

정 반대로 설치류에게 홍삼먹이를 주었을 때, 일반식에 비해 낮은 농도의 콜레스테롤 농도를 보였다. 이 연구는 감마 증식체 활성수용기가 홍삼에 의해 지질의 신진대사의 형성을 포함하고 있는 것을 나타냈다. 홍삼에 의해 유도된 저지질의 영향은 콜레스테롤을 제한하고 트리글리세라이드를 낮추는 것으로 확인 되었다.

- Wan et al.(2015) american 홍삼을 대상으로 실험을 진행하였는데 공통적으로 하루 2g의 홍삼을 섭취 시켰으며, 오줌과 배설물의 샘플을 채취하여 7일동안의 분석을 실시하였다. 홍삼의 성분중 주요한 성분인 진세노사이드 Rb1와 두드러지게 나타나는 대사산물인 비타민 K 복합체를 분석하였다.
- Wan et al.(2015) American 홍삼의 사포닌과 혈장에서의 신진대사를 분석한 실험에서 5, 10, 그리고 25 대사산물이 발견되었다. 모든 대사산물 이외에, 비타민 K 복합체는 높은 농도로 이들 생물학적 시료에서 발견되었으며, 이것은 진세노사이드 Rb1이 생체내에서 변화되어 위장의 미생물군에 의해 비타민 K 복합체로 합성되는 것으로 나타났다. 또한, 이 연구에서 홍삼의 대사산물은 생물학적 능력을 향상시키는 것으로 나타났다.
- Wan et al.(2015) 다른 종류의 홍삼 성분에 대한 약학적, 화학적 다양성이 많이 연구되었다. 많은 홍삼의 성분에 관련한 연구에서 주제는 대부분 홍삼의 잠재적인 활성구조에 중점을 두고 있다. in vitro를 통한 홍삼연구의 환원주의자 방법론은 주로 모체의 대생물 작용을 나타냈다. 그러나 홍삼성분의 생물학적 이용은 in vivo 영향을 위해 중요하게 고려되어야 할 사항이다.
- Shaoqing et al.(2015) 아시아 인삼의 뿌리는 특히 한국, 중국, 일본에서 수천년동안 중요한 식물성 약초로 사용되었다. 최근의 몇 년동안, American 홍삼은 미국과 캐나다에서 재배되어 지고 있으며, 미국과 캐나다의 인삼도 아시아 지역의 나라들에게 잘 알려지고 있다. 인삼의 기능적 성분은 항스트레스, 건강증진, 면역력강화, 특이질병으로부터 보호등에 효능이 있는 것으로 이전의 연구결과에서 나타났으며 미국의 인삼은 심혈관계질환의 처방이나 식후의 혈당 저해제로 사용 중이다.
- Ting et al.(2015) 홍삼은 사람들의 건강을 위한 전통적인 동양의 약품으로 오래전부터 사용되었다. 또한, 신경보호작용의 영향으로 여러 가지 신경계 질병을 위해 연구되었다. 사포닌과 다당체 같은 홍삼의 중요 활성요소는 다양하게 평가된것에 비해 올리고당같은 두 번째 활성 성분은 많은 연구가 이루어지지 않았다. 수용성의 홍삼 다당체는 최근 홍삼박에서 수용성추출되어 정제되고 있으며, 이런 연구들은 면역계의 영향을 보기 위해 in vitro와 in vivo의 연구가 진행되고 있다.
- Ting et al.(2015) 수용성의 홍삼 다당체는 항신경 염증성 성분을 가지고 있는 것으로 추측되어 알츠하이머 같은 신경계질환에 대한 연구과 활발히 진행중이다. 이런 신경계 질병에 대한 연구를 조사하기 위해 홍삼에서의 수용성 다당체의 잠재적인 보호 성분을 확인 하는 연

구를 진행하였다.

- Xin et al.(2015) 홍삼은 약전으로 포함되어 중국, 일본, 독일, 프랑스, 호주, 그리고 영국등에 오래전부터 넓은 범위로 사용되었다. 홍삼은 한 가지 질병을 고치는 수단을 넘어 인간의 면역력을 향상시키기 위한 것으로 공통적인 약으로 전 세계적인 범위로 이용 가능했다.
- Xin et al.(2015) 홍삼은 화학적 예방법이었으며 주로 다양한 신호를 통해 세포와 분자의 타겟에 대한 활동을 했다. 그렇게 하여 세포주기의 형성에 영향을 주고 혈관성 저해와 외부로부터의 침입에 저해활동을 했다. 특히 홍삼의 항암효과는 세포의 확산을 중재하는 역할을 포함하는 다양한 신호화 경로의 변화를 조절한다.
- Xin et al.(2015) 최근의 연구결과를 기초로 메타분석의 결과는 홍삼의 소비와 암발생의 사이에 연관있는 조직적인 관련이 있는 것으로 나타났다. 여러 연구들의 메타분석은 홍삼의 소비증가가 암발생의 감소와 연관이 있는 것으로 나타났다.
- Chen et al.(2015) Asia 홍삼과 American 홍삼은 의약품질로 전세계적으로 유명하다. 그리고, 식물학적 관계를 공유한다. 두 지역의 홍삼이 포함한 성분들 중에 진세노사이드는 강한 면역 반응과 산화반응저항, 심혈관계 작용등 생물체에 작용하는 중요한 구성요소로 생각되었다. 중요한점은 아시아와 미국의 홍삼은 유사한 진세노사이드를 포함한다.
- Lin et al.(2015) 홍삼의 새로운 유형인 선삼은 특정한 압력에서 가열되었고 주요 진세노사이드의 종류인 Rk1, Rg3, Rg5를 포함하고 있다. 최근연구에서 진세노사이드 Rg3은 진세노사이드의 가장 주요한 성분으로 연구되고 있으며 여러종류의 암의 확산, 전이, 침입에 대한 저해제로서 다양하게 암의 치료에 사용되고 있다. Rg3은 하향조절을 통해 저산소증 유도인자 및 혈관 내피성장요소 같은 다양한 경로를 통해 다양한 암세포에서 세포의 자멸 및 세포주기 정지를 유도할 수 있다.
- Yu et al.(2015) American 홍삼은 미국의 식물약재중 가장 공통적으로 사용하는 것 중 하나이다. 아시아 홍삼과 유사하게 많은 수의 진세노사이드를 포함하고 있다. 이 진세노사이드는 두가지 그룹으로 나누는데 프로토파낙시디올 그룹과 프로토파낙사트리올그룹으로 나뉜다. 이 그룹은 카르보닐 그룹의 발현에서 차이를 두고 나누어진다. 이 두가지 그룹은 약학적인 영향으로 구분된다.
- Liu et al.(2014) Rb1, Rg1, Rd, Re, R1의 주요 진세노사이드는 다양한 당부분을 가지고 있으며, 낮은 활성도로 인해서 인체 흡수에 어려움이 있다. 소화효소에 의해 가수분해된 진세노사이드는 홍삼의 경구 투입 후에 위에서 생리학적 영향에 의해 천천히 흡수된다. F2나 복합비타민 K같은 작은 진세노사이드는 홍삼과 야생인삼에서 낮은 농도로 존재하며 주요 진세노사이드의 당부분의 가수분해에 의하여 생성될 수 있다.

- D.M. See et al.(1997) 많은 HIV감염 환자들이 건강식품 매장에 방문하여 약초상품을 많이 구매하고 있다. 이것은 환자들에게 세포면역력 향상을 위해 이 약초들에 대한 독성학적 영향을 평가하는 중요한 요소이다. 이런연구들은 이전에 이루어지지 않았지만 최근에 in vitro 실험 결과를 통해 면역력에 영향을 주는 약초가 CFS나 AIDS같은 질병에 세포 면역을 향상하는 것을 확인했다.
- D. Zhang et al.(1995) 홍삼의 철분 매개의 지질 과산화를 위한 지방산의 분해 저해기능은 가스크로마토그래피를 이용하여 명백하게 밝혀냈다. 이 결과로 티오바르비탈산 반응물질 생성저해를 위한 홍삼의 능력이 입증되었다. 홍삼추출물은 티오바르티탈산반응물질 생성을 항산화작용을 통해 저해할뿐 아니라 유리기 연쇄 반응과 증식을 저해하는 것으로 밝혀졌다.
- Wang et al.(2008) 진세노사이드는 홍삼에 포함된 주요 생리활성 성분이다. 자연유래추출 진세노사이드는 인삼 제품의 평가하는 기준으로 주로 사용되고 있는 말로닐기를 함유하고 있는 성분이다. 말로닐기를 함유하는 진세노사이드는 열추출동안 중립적인 위치의 진세노사이드를 분해한다.
- Schlag et al.(2006) 아시아의 홍삼은 양기를 높여주고 복돋아주는 것으로 생각되고 있는 반면에 미국의 홍삼은 영양분이 많아 진정효과에 탁월한 것으로 평가되고 있다. 인삼뿌리인 홍삼은 약학적인 영향에서 주로 사포닌 글리코사이드인 진세노사이드의 영향으로 보여진다.27개 이상으로 추정되는 진세노사이드는 인삼의 뿌리에서 두가지 종류로 구분되고 있으며 미국 홍삼에서 주요 진세노사이드의 양은 전체 진세노사이드의 70%이상으로 측정되어 진다.
- Sotaniemy et al.(1995) 홍삼이 인체에 미치는 영향의 연구와 비슷하게 홍삼은 혈액의 glucose 농도에도 여러 가지 영향을 주는 것으로 나타났다. 6주동안의 연구에서 홍삼을 처방한 동물들만 혈액속의 glucose 농도가 대조군에 비해 완전히 감소하는 것으로 나타났다.

7. 연구개발결과의 보안등급

		코드번호	D-09
보안등급분류	일반과제		
결정사유	「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의4에 해당하지 않음		

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

					코드번호		D-10	
구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

코드번호 D-11

○ 연구실 안전조치 이행계획

가. 연구실 안전점검 체계

(1) 실험실 안전 점검 체계

- 안전관리 조직 및 안전관리 위원회



<안전관리조직>

위원	직위	이름	비고
위원장	관리처장	박정훈	당연직
위원	시설팀장	김용석	당연직
	예산팀장	정경훈	당연직
	교무팀장	김형배	당연직
	연구지원실장	조순식	당연직
	바이오시스템대학장	강호덕 교수	당연직
	이과대학학장	박대준 교수	당연직
	공과대학 학장	장연수 교수	당연직
	약학대학약학과 학과장	이창훈 교수	당연직
실무위원	시설팀 팀원	이진복	안전환경관리자()
	시설팀 팀원	이훈	안전환경관리자()
	BMC 관리팀	이대희	안전환경관리자()

<안전관리 위원회>

(2) 실험실 정기 및 정밀안전진단 실시

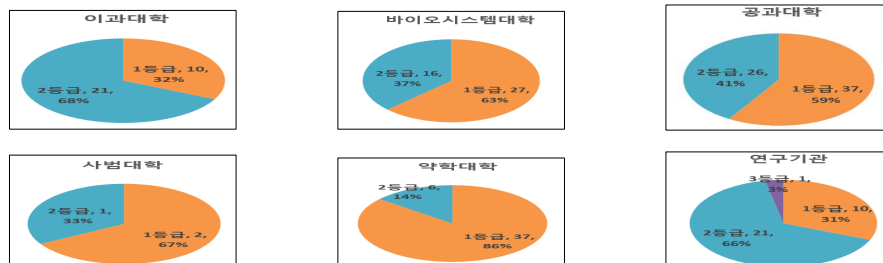
- 시행근거 : 연구실 안전환경조성에 관한 법률 제8, 9조(안전점검 및 정밀안전진단 실시)
- 대상 : 총 212개소
 - 시행일자 : 총 5일, 2015년 11월 11일(수) ~ 17일(화)

(가) 전체 실험실 등급

(단위 : EA)

구분	1등급	2등급	3등급	4등급	5등급	합계
2015년	130	81	1	0	0	212

(나) 대학별 안전등급현황



※ 정밀안전진단 : 연구개발활동에 유해화학물질 관리법 제2조 7호에 따른 유해화학물질 취급하는 연구실, 산업안전보건법 제39조에 따른 유해인자를 취급하는 연구실, 과학기술부령이 정하는 독성가스를 취급하는 연구실

나. 실험실 안전 관리 현황

(1) 실험실 기초 안전장비 배치

- 공통 현황 : 개인보호구 및 보호함, 구급상자, 안전수칙, 연구실 안전환경 조성에 관한 법률, 비상긴급연락망, 안전표지, 소화기 등 구비
- 전기/기계 : 고압 가스용기 고정장치, 회전 보호대, 누전차단기 등
- 화학/생물 : 배기시약장, 방폭캐비닛, 아이샤워기, 화학 및 가스 MSDS 등



(2) 안전관리 시스템 운영

- 주요 구축 : 일상점검 온라인, 화학물질관리, 안전장비배치, MSDS(물질보건자료) 자료 DB화 (방사능실험실, 동물실험실, 폐기물 처리, 교육 콘텐츠 등)
- 주요 구성도



(3) 안전사고 대응 처리 및 비상연락체계



다. 건강검진 현황 : 매년 1회 건강검진 실시

- (1) 2015년 건강검진 실시 현황 : 총 463명 중 300명 검진(65%)
- (2) 검진세부사항

검진사항	날짜	검진인원	검진기관	비고
일반검진	10.27~28	463명	동국대	검진결과 수업 및 연구활동에는 적합하다고 소견이 나왔음.
특수검진	11.09~10	235명	일산병원	

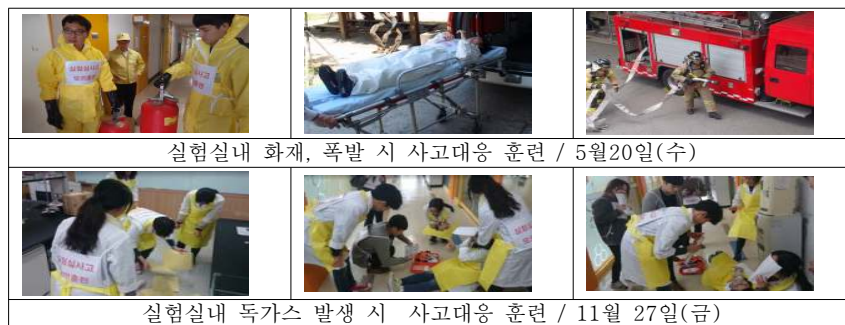
라. 교육 훈련

- (1) 개요 : 개별 연구실험실의 특성에 따른 맞춤형 안전교육 실시
- (2) 교육대상 : 본교 재학 중인 대학원생, 조교(행정, 교육, 연구), 연구프로젝트 연구원, 실험실 사용자
- (3) 교육내용 : 연구실 안전환경 조성에 관한 법률, 보호구 사용법, 분야별(가스, 화학, 기계, 소방, 산업위생 등) 교육, 보험, 응급처치 등
- (4) 2015년도 교육실시 현황

교육현황	교육시간	교육인원	참석인원	강사	비고
신규교육	2시간	1,112명	1103명	이진복(안전환경관리자)	2회
상반기교육	6시간	2,907명	2,673명	온라인 2회	2회
하반기교육	6시간	2,963명	2,003명	온라인 2회	2회
방사능교육	20시간	23명	23명	방사능동위원소협회	수시

마. 사고대응 모의 훈련 및 안전캠페인

- (1) 사고대응모의훈련 : 총 2회(학기별 1회 실시)
- (2) 훈련내용사항



- (3) 사고대응 안전캠페인 실시

- 사고사례사진게시, 보호구 착용법 및 체험, 연구실 방문 리플렛 배포



- CPR(심폐소생술) 및 AED(자동제세동기) 교육



바. 보험 가입 현황

(1) 연구활동종사자 상해보험

(가). 가입대상 : 총 4,209명(학부생:3,458명 / 대학원생:527명 / 연구원:224명)

(나). 보장내용 : 사망 - 1인기준 1억 원 보상 / 후유장애 - 1억 원(1급)을 한도로 후유장애등급별 정액보상/ 상해의료비 - 1천만 원 한도로 1인당 상해등급별 정액 및 손실 보상

(다). 가입기간 : 2015. 11. 21 ~ 2016. 11. 21 (1년 단위 연장 계약)

(라). 주관부서 : 관리처 시설팀(내선 8568)

(2) 교직원 단체보험

(가). 가입대상 : 전임교원 및 직원

(나). 보장내용 : 재해사망 - 5천만 원 / 일반사망 - 2천만 원 보상 / 재해 장해 - 3천만 원 보상/ 입원의료비 1천만 원 / 상해통원의료비 30만 원

(다). 가입기간 : 2015. 9. 1 ~ 2016. 8. 31 (1년 단위 연장 계약)

(라). 주관부서 : 관리처 시설팀(내선 3074)

(3) 대학종합보험

(가). 가입대상 : 학부/대학원생, 시간강사, 교직원

(나). 보장내용 : [상해] 사망 및 후유장애 1천만 원 / 신입생학교행사중상해 2천만 원 / 치료비 2백만 원 / [배상책임담보] 학교시설배상 1인당 2억 원, 사고당 20억 원

(다). 가입기간 : 2016. 3. 31 ~ 2017. 3. 31 (1년 단위 연장 계약)

(라). 주관부서 : 학생처 학생지원팀(내선 3043)

(4) 건축물 화재보험

(가). 가입대상 : 정각원, 박물관 및 교내 건물 전체

(나). 보장내용

- 건물·물품 : 전손의 경우 건물의 현시가와 관계없이 신축단가 지급, 분손의 경우 복구 실소요액 지급

- 사망·장애 : 호프만계수에 의해 산출한 실손해액 무한 지급

- 부상 : 치료실비 전액 지급

(다). 가입기간 : 2015. 1. 1 ~ 2016. 12. 31(1년 단위 연장 계약)

(라). 주관부서 : 관리처 시설팀(내선 8565)

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문 /특허 /기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	특허	홍삼 부산물에서 다당체를 분리하는 방법 (10-2016-0079180)	(주)뉴트 텍스텍 놀리지/동 국대학교 산학협력 단	공동출원	대한민국 (출원)	-	2016.6.24 (특허출원일)	-	-

11. 기타사항

코드번호		D-13
○ 없음		

12. 참고문헌

코드번호		D-14
<p>1. 인삼 산성다당체의 비색정량 방법과 그 추출조건 및 안정성, 도재호, 이형옥, 이성계, 장진규, 이성동, 성현순, 고려인삼학회, 17권 2호. 1993 pp.139-144</p> <p>2. 백삼 알코올 추출박을 이용한 산성 다당체 다량 함유 백삼 농축액 제조, 강태화, 박경준, 강성태, 한국식품영양과학회, 33권 4호. 2004 pp.736-740</p> <p>3. 인삼 다당체 추출 공정 개발을 위한 인삼의 추출 조건 및 원료에 따른 총당 변화, 장순애, 문숙경 한국식품저장유통학회(구 한국농산물저장유통학회), 12권 4호. 2005 pp.367-371</p> <p>4. 홍삼박으로부터 산성다당체의 최적 추출 조건 분석, 장은주, 박태규, 한용남, 황금희, 한국생약학회, 38권 1호. 2007 pp.56-61</p> <p>5. 홍삼박으로부터 산성다당체의 추출조건 조사, 이종원, 도재호, 고려인삼학회, 26권 4호. 2002 pp.202-205</p> <p>6. Vuksan V., Sung M. K., John L. S., Stavro P. M., Jenkins A. L., Bueno M. D., Lee K. S., Leither L. A., Nam K. Y., John T. A., Choi M., Naeem A., Korean red ginseng (Panax ginseng) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: Results of a randomized, double-blind,</p>		

placebo-controlled study of efficacy and safety. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. (2008); 18; 46–56.

7. William J. B., Lqbal M. J., Bollaert M., Chickris N., James B., Higginbotham D. A., Peterson R., Murphy L., Ginseng modifies the diabetic phenotype and genes associated with diabetes in the male ZDF rat. *Phytomedicine* 14; (2007); 681–689.
8. Lee H. H., Frank J. G., Yoon M. C., Ginsenoside Rf, a component of ginseng, regulates lipoprotein metabolism through peroxisome proliferator-activated receptor α . *Biochemical and Biophysical Research Communications* 339; (2006); 196–203.
9. Wan J. Y., Wang C. Z., Liu Z., Zhang Q. H., Mark W. M., Bissonnette M., Chang E. B., Li P., Qi L. W., Chun S. Y., Determination of American ginseng saponins and their metabolites in human plasma, urine and feces samples by liquid chromatography coupled with quadrupole time of flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 1015–1016; (2016); 62–73.
10. Cui S., Wu J., Wang J., Wang X., Discrimination of American ginseng and Asian ginseng using electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry coupled with chemometrics. *J Ginseng Res* xxx; (2016); 1–11.
11. Xu T., Shen X., Yu H., Sun L., Lin W., Zhang C., Water-soluble ginseng oligosaccharides protect against scopolamine-induced cognitive impairment by functioning as an antineuroinflammatory agent. *J Ginseng Res* xxx; (2015); 1–9.
12. Jin X., Che D. B., Zhang Z. H., Yan H. M., Jia Z. Y., Jia X. B., Ginseng Consumption and Risk of Cancer: A meta-analysis. *J Ginseng Res* xxx; (2015); 1–9.
13. Chen Y. J., Zhao Z. Z., Chen H. B., Brand E., Yi T., Qin M. J., Liang Z., Determination of ginsenosides in Asian and American ginsengs by liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight MS: assessing variations based on morphological characteristics. *J Ginseng Res* xxx; (2016); 1–13.
14. Lin Y. J., Jiang D., Li Y., Han X., Yu D., Park J. H., Jin Y. H., Effect of sun ginseng potentiation on epirubicin and paclitaxel-induced apoptosis in human

cervical cancer cells. *J Ginseng Res* 39; (2015); 22–28

15. Pena I. J., Kim H. J., Botanas C. J., Pena J. B., Le T. H., Nguyen M. D., Park J. H., Cheong J. H., The psychopharmacological activities of Vietnamese ginseng in mice: characterization of its psychomotor, sedative–hypnotic, antistress, anxiolytic, and cognitive effects. *J Ginseng Res* xxx; (2016); 1–8
16. Yu C. H., Wen X. D., Zhang Z. Y., Zhang C. F., Wu X. H., He X., Liao Y., Wu N. N., Wang C. Z., Du W., He T. C., Yuan C. S., American ginseng significantly reduced the progression of high–fat–diet–enhanced colon carcinogenesis in Apc^{Min/+} mice. *J Ginseng Res* 39; (2015); 230–237
17. Liu C. Y., Zhou R. X., Sun C. K., Jin Y. H., Yu H. S., Zhang T. Y., Xu L. Q., Jin F. X., Preparation of minor ginsenosides C–Mc, C–Y, F2, and C–K from American ginseng PPD–ginsenoside using special ginsenosidase type–I from *Aspergillus niger* g.848. *J Ginseng Res* 39; (2015); 221–229
18. See D. M., Broumand N., Sahl L., Tilles J. G., In vitro effects of echinacea and ginseng on natural killer and antibody–dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency syndrome patients. *Immunopharmacology* 35; (1997); 229–235
19. Zhang D., Yasuda T., Yu Y. Y., Zheng P. D., Kawabata T. Y., Ginseng extract scavenges hydroxyl radical and protects unsaturated fatty acid from decomposition caused by iron–mediated lipid peroxidation. *Free Radical&Medicine*. Vol. 20, No. 1; (1996); 145–150
20. Wang Y. T., You J. G., YU Y., Qu C. L., Zhang H. R., Ding L., Zhang H. Q., Li X., Analysis of ginsenoside in *Panax ginseng* in high pressure microwave–assisted extraction. *Food Chemistry* 110; (2008); 161–167.
21. Schlag E. M., McIntosh M. S., Ginsenoside content and variation among and within American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) populations. *Phytochemistry* 67; (2006); 1510–1519

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.