

<표지>

(옆면)

(앞면)

317071-3

발효생강을 이용한 체지방 조절 등 기능성 제품개발

(건고딕 14p)

2021

(건고딕13p)

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

(건고딕 17p)

보안 과제(), 일반 과제(○) / 공개(○), 비공개()발간등록번호(11-1543000-003572-01)

농생명산업기술개발사업 2021년도 최종보고서

(건고딕 13p)

11-1543000-003572-01

발효생강을 이용한 체지방 조절 등 기능성 제품개발

2021.06.18.

(건고딕15p)

(별색바탕 : C50, M20, Y59, K0)

주관연구기관 / 경희대학교
협동연구기관 / (주)제넨셀
광동제약(주)
(주)에스디생명공학

(건고딕 15.5p)

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

(전문기관)

(건고딕 20p)

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “발효생강을 이용한 체지방 조절 등 기능성 제품개발” (개발기간 : 2017.11.15. ~ 2021.01.14)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021.06.18.

1세부주관연구기관명:	경희대학교 산학협력단	(대표자)
1협동연구기관명:	(주)제넨셀	(대표자)
2협동연구기관명:	광동제약(주)	(대표자)
3협동연구기관명:	(주)에스디생명공학	(대표자)



1세부주관연구책임자 : 강동호
1협동연구책임자 : 전혜린
2협동연구책임자 : 구영태
3협동연구책임자 : 박설웅

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	317071-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.11.15.- 2021.01.14	단 계 구 분	1/1
연구 사업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농생명산업기술개발사업			
연구 과제 명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	발효생강을 이용한 체지방 조절 등 기능성 제품개발			
연구 책임자	강동호	해당단계 참여연구원 수	총: 44명 내부: 44명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부:1,800,000천원 민간:601,000천원 계:2,401,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 44명 내부: 44명 외부: 명	총 연구개발비	정부:1,800,000천원 민간:601,000천원 계:2,401,000천원
연구기관명 및 소속 부서 명	경희대학교 산학협력단			참여기업명 (주)제넨셀 광동제약(주) (주)에스디생명공학	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위 탁 연 구	연구기관명:경희대학교			연구책임자:강세찬	
	연구기관명:성균관대학교			연구책임자:김형식	
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및 사유					

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다) | 보고서 면수

--	--

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내산 생강의 기능성 물질 대량생산 기술 개발 및 실용화 기반 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 홍국균, 황국균, 붉은누룩곰팡이균을 활용한 생강의 기능성 물질 대량생산 기술 개발 - 생강 발효물의 기능성 물질 함량 증가 검증 및 생물전환물질 규명 - 생강 발효물의 질환별 유효성분 규명 및 지표성분 설정 (동일규격 산출) - 생강 발효원료의 대량생산체계 확립 및 3 batch 대량생산, 원료 표준화 - 표준화된 원료의 GLP 안전성 평가 (설치류/비설치류 단회, 설치류 13주 반복 투여독성, 유전독성 등) - 기능성 식품 제형 개발 및 안정성 (유통기한 설정) 확보 (제형 3건 이상) - 체중조절, 위건강 기능성 원료 인허가 (개별인정) ○ 생강 발효원료의 생리활성 효능검증 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 발효원료의 체지방 감소, 혈당조절, 관절건강, 위건강 전임상 효능 평가 - 혈당조절 및 관절건강 전임상 효능 규명을 통한 사업기간 내 사업화 전략 제시 - 체중조절 및 위건강 전임상 효능 규명에 따른 인체적용시험 및 개별인정 - 각 질환별 작용기전 규명에 따른 작용점 분석 (성과 및 마케팅 자료로 활용) ○ 생강 발효원료의 제품화 및 산업화 <ul style="list-style-type: none"> - 사업기간 내 <ol style="list-style-type: none"> 1) 기능성 음료 리뉴얼 제품 또는 신제품 1건 (사업기간 내 5~10억원 매출) 2) 혈당조절 및 관절건강 건강기능식품 및 기능성음료 신제품 출시 (제품 3건, 사업기간 내 20~30억원 매출) 3) 사업종료 1차년도에 체중조절 및 위건강 개별인정형 건강기능식품 제품화 및 사업화 진행 (종료 3년 이내 누적매출액 150억원 이상 창출) - 생강계약재배, 지자체연계 등 지역산업 육성 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 핵심성과 <ul style="list-style-type: none"> - 체중조절, 혈당조절, 관절 및 위건강 관련 식품소재 개발 (동일규격 소재 1건) - 개별인정형 건강기능식품소재 인허가 2건 (체중조절, 위건강-기업투자 유치연계) - 리뉴얼 기능성 음료 및 신제품 2건 및 고시형 건강기능식품 제품화 2건 - SCI급 논문 6건 이상 및 KCI급 논문 3건 이상 게재/특허출원 4건 이상 ○ 전략성과 <ul style="list-style-type: none"> - 연구과제 기간내 및 종료 3년 이내 누적매출 50억원 이상 매출 기대 - 사업종류 후 개별인정형 제품 판매에 따른 3년 누적매출 150억원 달성 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내산 생강의 다양한 활용과 기능성 물질의 대량생산기술, 신규물질 확보는 생강 산업의 활성화와 생물산업 기반 구축에 기대효과 창출 가능 <ul style="list-style-type: none"> - 6차산업 기반의 지역경제 활성화에 기여 ○ 국내산 생강의 다양한 제품개발을 통해 고부가가치 소득 작물 1차 산업 발전에 기여할 뿐 아니라 2차 산업 연계 중소기업의 기술 혁신 및 성장에 기여 ○ 소재의 국산화를 통한 외화 절약 등의 효과 및 해외 수출 증대를 유발하고, 지역 특화 생물 산업 발전에도 기여함 ○ 약용작물 유래 기능성 생물소재의 개발기술은 건강기능식품의 개발뿐 아니라, 천연물 신약 개발 등 응용되는 기초적인 자료로 활용되어 국가 생물산업 경쟁력 확보에 크게 기여할 것으로 기대됨 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>생강</p>	<p>발효생강</p>	<p>체중조절</p>	<p>위건강</p>	<p>개별인정</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Ginger</p>	<p>Fermented ginger</p>	<p>Obesity</p>	<p>Stomach health</p>	<p>Health Funcioal Food</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	8
2. 연구수행 내용 및 결과	19
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	209
4. 연구결과의 활용 계획 등	214
붙임. 참고 문헌	214
별첨 1 연구개발 계획서 초록	222
별첨 2 주관기관의 자체평가 의견서	227
별첨 3 연구성과 활용 계획서	233

<본문작성 양식>

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

구분	내용
최종목표	<ul style="list-style-type: none"> ○ 생강의 기능성 물질 대량생산 기술 개발에 따른 생리활성 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 황국균, 홍국균, 붉은누룩곰팡이를 이용한 생강의 생물전환 물질 규명 및 6-shogaol 등의 기능성 물질 대량생산 기술 개발 (신규 기능성 생물전환 물질 1건 이상 확보) - 생강 발효물의 대사질환 (비만, 당뇨), 위건강 (위염/위궤양), 관절건강 (골관절염) 전임상 효능 검증 및 작용기전 규명 각 1건 - 생리활성 유효성분 규명 및 지표성분 설정 1건 이상 → 동일규격의 원료 생산 - 생강 발효물 대량생산에 따른 원료 표준화 확립 1건 - 생강 발효물의 전임상 안전성 검증을 위한 GLP 기관 시험성적서 자료 확보 - 생강 발효원료의 체중조절 및 위건강 인체적용시험 각 1건 (총 2건 진행) - 생강 발효원료의 표준화 및 기능성 자료 확보에 따른 체중조절 및 위건강 기능성 원료 신청 총 2건 (기능성 자료, 안전성 자료, 작용기전 확보 자료, 원료 표준화 자료, 인체적용시험 자료 통합 제출) → 본 사업을 통하여 특허 등록 3건 이상 (출원 4건 이상), SCI급 6편 및 KCI급 2편 이상 게재 예정 ○ 규격화된 생강 발효원료를 활용한 고부가가치 기능성 전략 상품 개발 및 산업화 <ul style="list-style-type: none"> - 혈당강하 및 관절건강 고시형 건강기능식품 제품화 및 사업화 총 2건 <ul style="list-style-type: none"> ※ 초기 5000 set 생산 및 판매 (매출 1억원 예상) 총 2건 제품화 (사업기간 내 추진) - 기존 기능성 음료 리뉴얼 제품 생산 및 사업화 1품목 이상 (사업기간 내 5~10억원 매출 추진) - 체중조절 기능성 원료 인허가에 따른 개별인정형 건강기능식품 사업화 추진 (사업종료 후 3년이내 누적 매출액 100억원 이상 창출 목표) <ul style="list-style-type: none"> ※ 3차년도에 체중조절 및 위건강 기능성 원료 각 1건 (총 2건) 및 개별인정형 건강기능식품 제품화 2건 사업화
세부목표	<p>1) 주요 기능 및 규격</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 생강의 기능성 물질 대량생산 기술 확보 <ul style="list-style-type: none"> - 황국균, 홍국균, 붉은누룩곰팡이에 대한 생강 발효물 제조 및 기능성 물질의 효율적 생산 기술 개발

- 발효조건: 배지량 100 mL, 발효균주 배양액 5% (OD=0.7), 생강추출물 1%
- 6-shogaol 4배 이상 증가 목표, 그 외 생물전환물질 1종 이상 확보 (지식재산권확보에 활용) : 현재 4~10배 증가되나, 최종생산공정에서 4배 이상은 가능할것으로 판단
- 생강 발효원료로부터 체중조절 및 위건강 기능성 원료 인허가
 - 생강 발효원료의 체지방 감소 및 위염 개선 기능성 검증 총 2건
 - 표준화: 생강 발효원료의 지표성분 설정 및 분석법 확립 후 공인인증기관 (한국기능식품연구원 등)에서 검증 1건
 - 안전성: GLP 기관 (KCL, 켐온 등)에서 설치류/비설치류 단회, 설치류 13주 반복, 유전독성 (복귀돌연변이, 염색체이상, 소핵 시험) 시험을 통한 안전성 검증 (발효물의 섭취량 근거 미흡으로 인한 식약처 권고사항) 1건
 - 예상 기능성 및 섭취량: 지방세포로의 분화 및 지방생성 억제를 통한 체지방 감소, 위점막 손상 (위염/위궤양 등) 억제를 통한 위건강 개선에 도움 (예상: 생강 발효원료 100~300 mg/day) → 각각의 기능성 별 기능성 원료 인허가 총 2건 (동일규격)
 - 3차년도에 기능성 원료 인허가 2건 달성 목표
- 생강 발효원료 함유 기능성 음료 제품화 1품목 이상
 - 광동생강쌍화 → 생강 발효물 함유 쌍화골드로 리뉴얼 또는 신제품 출시
 - 광동위생천 → 발효 생강 함유 제품으로 리뉴얼 또는 발효생강을 주원료로 한 신제품 출시 (3협동 위탁기관 연구자료 활용을 통한 위건강 마케팅 전략 보완)
 - 2차년도에 추진하여 3차년도 사업화, 사업기간 내 5~10억원 매출 달성 목표
- 생강 발효원료 함유 혈당조절 및 관절건강 고시형 건강기능식품 제품화 2건
 - 혈당조절: 주원료 바나바잎추출물 50~100 mg 함유
 - 관절건강: 주원료 MSM 1.5g 함유
 - 생강 발효원료 100 mg 첨가 (기능성 평가 후 마케팅 자료로 활용)
 - 3차년도에 제품화 후 판매할 계획이며, 종료 1차년도에 활성화하여 사업종료 후
 - 3년 이내 누적 매출액 20억원 달성 목표
- 생강 발효원료 함유 체중조절 및 위건강 개별인정형 건강기능식품 사업화 2건
 - 생강 발효원료 100~300 mg/day 단독 제품 (부형제 및 보조영양소 포함)
 - 타블렛 (고형제), 캡슐, 음료 등의 제형개발의 따른 2건 이상의 제품형태 도출
 - 체지방 감소 기능성 원료 및 개별인정형 건강기능식품 판매: (주)제넨셀 원료 판매 → 광동제약(주)에서 제품 생산 및 유통라인을 통한 국내 판매 → 자체 해외 유통라인을 위한 해외수출 (종료 2차년도 추진)
 - 위건강 기능성 원료 및 개별인정형 건강기능식품 판매: (주)제넨셀 원료 판매 → (주)에스디생명공학에서 제품 생산 및 유통라인을 통한 국내 판매 →

Watsons 및 ONI global을 통한 동남아시아 수출 (종료 2차년도 추진)

- 예상 매출액: 사업종료 후 3년 이내 각 제품 누적 매출액 100억원 달성 목표

2) 주요 성능치

○ 체지방 감소 기능성

- 식약처 기능성 평가 가이드라인을 기반으로 한 본 연구의 체지방 감소 기능성 바이오마커 확립

구분	바이오마커		연구유형			
			<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	인체적용	
체지방 축적	지방축적	Lipoprotein lipase		○		
	지방합성	G6P dehydrogenase				
		Citrate synthase				
		ATP citrate lyase				
		Malic enzyme	○	○		
		Aconitase				
		ACC				
		FAS				
	Malonyl CoA	○	○			
	TCA cycle metabolite	○	○			
Lipogenesis rate	○	○				
지방세포	지방세포 분화	○	○			
	지방세포 크기/수	○	○			
	지방소멸능	○	○			
에너지 대사 조절	분비 호르몬	Leptin	○	○	○	
		Adiponectin	○	○	○	
		AMPK		○		
	전사인자	PPARs	○	○		
		SREBP	○	○		
		C/EBPs	○	○		
	자가사멸	지방세포 사멸능	○			
체지방 수준	체중 (증가량)			○	○	
	BMI				○	
	허리둘레				○	
	허리-엉덩이 둘레 비율 (WHR)				○	
	체지방량 및 체지방 분포				○	

- 생강 발효원료의 체지방 축적 및 에너지 대사 조절의 과학적 입증을 통한 기능성 검증

○ 위건강 기능성

- 식약처 기능성 평가 가이드라인을 기반으로 한 본 연구의 위건강 기능성 바이오마커 확립

구분	바이오마커		연구유형		
			<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	인체적용
위건강	위점막	혈장 히스타민 농도		○	

보호	히스타민2 수용체	○	○	
	콜레시스토키닌2 수용체	○	○	
	무스카린 아세틸콜린 수용체 M3	○	○	
	cAMP 농도	○		
	H+/K+ ATPase 발현	○	○	
	유신	○	○	○
	프로스타글란딘 E2		○	
	위손상 억제율		○	
	궤양정도		○	
	염증지수		○	
	위산분비 억제능	○	○	

- 생강 발효원료의 위점막 손상에 대한 보호효과의 과학적 입증을 통한 기능성 검증

○ 관절건강

- 식약처 기능성 평가 가이드라인을 기반으로 한 본 연구의 관절건강 기능성 바이오마커 확립

구분	바이오마커	연구유형		
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	인체적용
항염증	NO 생성, iNOS 발현	○	○	○
	COX 1, 2 활성	○	○	○
	PGE2 생성 수준 및 활성	○	○	○
	염증성 cytokine 생성 수준	○	○	○
	Leukotriene B4 활성	○	○	○
	NFkB, ERK, JNK, p38 MAP kinases 활성	○	○	○
	Polymorphonuclear Leukocyte의 chemotaxis 정도	○	○	○
	PPARγ 발현	○	○	○
	경부임파절 세포수	○	○	○
	콜라겐 특이적 항체 수준	○	○	○
	면역 관련 조직 무게		○	
	CRP 농도		○	○
	Erythrocyte sedimentation rate		○	○
	관절조직 및 구조변화	Hyaluronic acid 합성 수준	○	
MMP-2, 9 활성		○		
연골 proteoglycan 합성			○	
GAG 합성/분해		○	○	
COMP			○	○
Serum pentosidine 수준			○	○
콜라겐 분해		○		
Elastase 분비		○		
Joint space width			○	
조직병리 변화		○	○	

- 생강 발효원료의 항염증 및 관절 마커 개선 효능의 과학적 입증을 통한 기능성 검증

○ 혈당조절

- 식약처 기능성 평가 가이드라인을 기반으로 한 본 연구의 혈당조절 기능성 바이오마커 확립

구분	바이오마커	연구유형		
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	인체적용
포도당	공복혈당		○	○
	식후혈당		○	○
	내당능		○	○
	OGTT		○	○
	IVGTT		○	○
	IPGTT		○	
당화혈 색소	Plasma hemoglobin A1c		○	○
Glucose transporter	Glut-2		○	
	Glut-4		○	
α-glucosidase	α-glucosidase 활성 억제	○	○	○

- 생강 발효원료의 당흡수 및 당이용성, 인슐린 작용 등의 과학적 입증을 통한 기능성 검증

3) 핵심기술

○ 생강의 기능성 물질 대량생산 기술

- 생강에 대한 기존 문헌을 조사한 결과 생강 추출물 및 gingerol의 경우 이미 대다수 질환에 대한 연구가 진행되어 있고, 본 지정과제의 RFP에서 제시한 질환인 당뇨, 비만, 관절, 염증 (위염 포함)에 대해서도 많은 연구들이 되어 있어 논문 게재 및 지식재산권 확보가 어렵다고 판단됨
- 본 연구개발을 위한 생강의 발효물질은 핵심 기능성분인 6-shogaol의 효율적인 대량생산 기술을 포함하며, 기존 유산균 발효 공정이 아닌 황국균, 홍국균, 붉은누룩곰팡이에 대한 발효공정을 확립함으로써 최적의 기능성분 및 생물전환물질 생산을 위한 연구를 진행할 예정임
- 특히, 본 연구개발에 사용될 붉은누룩곰팡이의 경우 제주 전통발효주에서 분리한 신종 누룩곰팡이로써 기존 균주와의 sequence가 상이하므로, 기존 홍국균 대비 붉은 색소를 다량 함유하고 있어 본 연구개발에 적용 시 핵심 기능성분의 변화, 생물전환물질의 규명, 효능 변화 등의 내용으로 논문 및 지식재산권의 확보가 가능함

○ 생강 발효원료의 기능성 원료 개발 기술

- 본 연구개발을 위한 최종 도출될 원료인 생강 발효원료를 대상으로 국내외 지식재산권 및 논문게재 현황을 조사한 결과, 발효물의 경우 염증억제에 대한 연구이외에는 없는 것으로 조사되었으며, 특히, 본 사업에서 추진하는 기능성 원료 개발을 위한 핵심기술은 체지방 감소 및 위건강이므로 이에 대한 지식재산권 확보는 가능할 것으로 사료됨

- 사업기간 내 표준화된 발효원료와 각 기능성분 및 생물전환물질을 대상으로 체지방 감소, 혈당강하, 관절건강, 위건강 기능성을 검증할 계획이며, 핵심질 환인 체지방 감소와 위건강 인체적용시험을 통해 인체 내 효능을 입증할 계획임
- 또한 사업기간 내 (3차년도 인허가) 체지방 감소 및 위건강 기능성 원료로 등재하여 상품화 한 후 국내외로 판매할 계획임

○ 도출될 특허 실적

- 생강의 홍국균, 황국균, 붉은누룩곰팡이에 대한 발효를 진행하여, 각 균별 생물전환물질 규명과 기능성분 증가양상을 조사할 계획이며, 이에 대한 비만, 당뇨, 골관절염, 위염 및 위궤양에 대한 생리활성을 규명하여 2차년도와 3차년도에 걸쳐 4건 이상 국내 특허로 출원할 계획이며, 3차년도 이내에 3건 이상 등록할 수 있도록 추진할 계획임
- 특허 범위를 발효조건 및 생물전환물질에 관한 내용과 해당 기능성의 내용을 확보하여 전략적으로 출원할 계획임

○ 도출될 논문 실적

- 본 과제를 통하여 SCI급 6편 이상, KCI 급 3편 이상을 게재할 예정임 (아래 표에 논문 게재를 위한 계획을 설정하였으나, 이에 한정적이지는 않음)

구분	Journal	Impact factor	내용
SCI 급	ACS Chemical Biology	5.090	붉은누룩곰팡이를 이용한 생강발효 및 생물전환물질의 항비만 효능, 작용기전 규명
	Biochemical Pharmacology	5.091	생강 발효물의 생물전환물질 규명 및 위건강 효능, 작용기전 규명
	Plos One	3.234	생강 발효물 및 기능성분의 골관절염 개선 효능 및 작용기전 규명
	Journal of Ethnopharmacology	3.055	생강 발효물 및 기능성분의 혈당강하 개선 효능 및 작용기전 규명
	Biomedicine & Pharmacotherapy (2편)	2.326	생강 발효물의 신규물질 규명에 따른 효능 평가 (2건)
KCI	한국약용작물학회지	-	발효균주별 기능성 물질 변화 분석 (중국산 비교 포함)
	한국자원식물학회지	-	생강발효물의 발효조건 확립 (2건)

- 이외에도 생강 발효원료의 전임상 안전성 및 인체적용시험 등의 연구를 통한 논문 게재를 추진할 계획임 (추가 게재 가능)

4) 적용범위

- 생강에 함유된 기능성분의 대량생산 기술 확보에 따른 국내산 생강의 가치 증명 및 제품 개발에 따른 생강산업 활성화
- 국내산 생강의 표준화 확립을 통한 생강 수입의존도 축소 및 국내 1차산업 활성화에 적용 가능

- 체지방 감소, 혈당강하, 관절건강, 위건강 건강기능식품 섭취를 통한 안전한 국민건강 확보 및 고기능성 국내 원료 우수성에 대한 홍보 가능
- 천연자원의 장점인 다기능성 및 안전성 기반의 제품 생산에 따른 타제품 가이드라인 제시 (관능미 및 기능성 증대 등)
- 본 연구개발을 위한 생강 발효원료의 활용성 및 가치 증대
 - 기존 생강 제품의 경우 관능미, 기능성 부분에서 많이 미흡하며, 원물 판매에 비해 기능성 제품들은 판매 실적이 매우 부족함
 - 본 연구개발을 통해 도출될 생강 발효물질의 경우 관능미와 기능성 부분을 보완할 수 있는 원료로 개발될 것이며, 이에 따른 생강의 기능성 제품들은 기존 제품과는 다른 고기능성의 안전한 고부가가치 식품으로 판매될 가능성이 매우 높음

5) 신산업육성 전략

- 생강 출하동향에 맞춘 안정적인 가격 형성
 - 현재 생강의 경우 김장철에 사용이 연간 약 50%로 절반 정도의 비중도를 보이고 있으며, 그 외에 소비패턴은 비슷함

▣ 월별 반입량

월 별	1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월	12월	계
반입량	526	476	573	552	434	420	401	407	555	1,440	1,997	858	8,621

※ 출처 : 서울시농수산물공사('15년)

- 그에 비해 생강의 2016년 월평균 도매가격은 햇생강의 출하시기 (10월말) 및 김장철 시기에 가장 낮은 도매가를 형성하고 있고, 그 외의 시기에는 2배가량 높은 도매가를 형성하고 있으나, 평년 도매가격과 비교하였을 때 가장 도매가가 높았던 7~9월 도매가와 다른 패턴을 나타냄 (생산지의 증가요인)

▣ 월별 도매가격 추이(전국)



※ 출처 : 농산물유통정보(KAMIS)

- 이에 본 사업에서는 생강의 안정적 수급 및 국내 생산 소비 증가를 위해 출하량이 적은 1월~9월을 기준으로 원재료 수급을 진행할 계획이며, 특히 구입량이 적어 낮은 가격대를 형성하고 있는 1월~4월의 생강을 중점적으로 구입하여 안정적인 생강의 생산 및 판매 패턴을 형성할 수 있도록 추진할 계획임 (지속적인 생강의 변화량 검토 요구)
- 지자체 또는 농업법인과 MOU를 통한 안정적 생강 수급
 - 본 사업의 지역별 생강의 기능성분과 유효성 검증을 통해 해당 지역의 생강을 수급하여 제품개발에 활용할 계획이나, 1차적으로 서산 지역의 생강을

	<p>이용한 제품개발을 계획하고 있음</p> <p>→ 서산의 경우 국내 최대면적의 생강 생산지이나, 최근 그 품질의 저하로 판매량이 줄어들고 있어 생강의 재배지역 유지를 위해 서산 생강의 활용도를 높일 필요가 있음</p> <p>→ 특히, 서산의 경우 농림부 주관의 2008년도 지역 농업클러스터사업에 선정됨에 따라 생강 클러스터사업단을 구축하고, 한식연과 MOU를 체결하는 등의 사업을 진행하고 있으며, 본 사업의 생강사업 육성과의 시너지 효과를 기대할 수 있음</p> <p>- 본 사업의 안정적인 생강 수급 및 생산 소비 증가를 위해 다양한 기능성 제품군을 개발하여 생강의 수급을 높일 계획이며, 특히, 서산 지역의 생강 클러스터사업단 또는 서산농특산 영농조합법인과 MOU 체결을 통해 6차산업의 활성화를 완성하고자 함</p> <p>→ 서산농특산 영농조합법인의 경우 매년 300톤의 생강을 매입하고 있으며, 2차가공 및 대량 판매를 전문적으로 하고 있어 본 사업과 매칭 효율이 높음</p>
--	--

1-2. 연구개발의 필요성

가. 연구개발 대상 및 기술·제품의 개요

□ 본 연구개발 기술은 생강으로부터 기능성 물질 대량 생산기술 개발에 따른 생강 기반의 기능성 식품 개발 및 산업화로, 생강산업 활성화 및 지식재산권 확보를 위해 신규 균주의 발효를 통하여 생물전환 물질을 규명하고 이에 대한 효율적인 대량 생산기술을 확보하여 기능성 음료 및 건강기능식품의 형태로 사업화 하고자 함

→ 1) 생강의 기능성 물질 증가원료 및 생물전환 물질 생산을 위한 발효균주 3종 확보 및 적용

- 홍국균, 황국균, 신규 분리 붉은누룩곰팡이 (황국균 발효 기원료)

2) 생강의 활용 증대를 위한 발효공정 확립 및 원료 (생강 발효물) 표준화 1건

3) 최종 발효원료의 기존 기술대비 우위성 입증

- 6-Gingerol 등의 기능성 물질 및 6-shogaol 등의 생물전환 물질 비교 분석 (건강 포함)

4) 생강 발효원료의 대사질환(비만/당뇨), 관절건강(골관절염), 위건강(위염) 관련 효능 검증

※ RFP에 제시된 검증대상 효능

5) 생강 발효원료의 전임상 안전성 평가를 통한 원료 안전성 입증

- GLP 기관 연계 설치류/비설치류 단회, 설치류 13주 반복, 유전독성

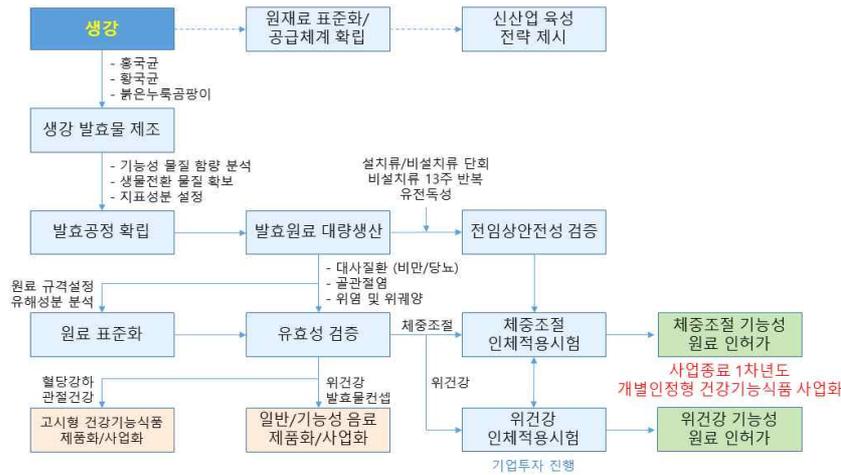
6) 생강 발효원료 함유 일반음료 (기존 제품 리뉴얼) 및 고시형 건강기능식품 제품화 3건 이상

- 위건강 및 컨셉: 기능성 음료 리뉴얼, 관절건강 및 혈당강하: 고시형 제품

7) 체중조절 및 위건강 각각의 인체적용시험을 통한 기능성 검증 및 기능성 원료 인허가 (2건)

- 사업비 내에서 체중조절 인체적용시험 진행 및 인허가, 위건강은 기업투자 진행

- 8) 체중조절 및 위건강 개별인정형 건강기능식품 제품화 (사업종료 후 1차년도 사업화)
 - 동일규격으로 각각의 기능성 원료 인허가 후 기능성 별 제품생산 및 판매 (총 2건)
- 9) 생강의 공급체계 구축을 통한 표준화된 원재료의 안정적 수급 및 신산업 육성 추진



<본 연구개발 과정의 흐름도>

□ 최종 사업화 시기 및 형태

○ 사업화 추진 시기

- 일반/기능성 음료: 2차년도에 추진하여 3차년도에 활성화 (2협동기관에서 사업화 매출 달성)
- 고시형 건강기능식품: 3차년도에 추진하여 사업종료 1차년도에 활성화 (1협동기관에서 추진)
- 개별인정형 건강기능식품: 사업종료 1차년도에 추진하여 종료 2차년도에 활성화 (체중조절: 2협동기관에서 추진, 위건강: 3협동기관에서 추진)

○ 사업화 추진 형태

- 일반/기능성 음료: 광동제약(주)에서 판매되고 있는 기존 제품 리뉴얼
 - 광동생강쌍화 → 생강 발효물 함유 쌍화골드로 리뉴얼 또는 신제품 출시
 - 광동위생천 → 발효 생강 함유 제품으로 리뉴얼 또는 발효생강을 주원료로 한 신제품 출시(3협동 위탁기관 연구자료 활용을 통한 위건강 마케팅 전략 확보)
- 혈당강하 및 관절건강 고시형 건강기능식품 사업화 (제품 1달분: 3~5만원/세트)
 - 주관기관 및 1협동 위탁기관 연구자료를 활용한 업그레이드형 고시형 제품 사업화
- 체중조절 및 위건강 개별인정형 건강기능식품 사업화
 - 체중조절 개별인정형 건강기능식품: 3차년도 기능성 원료 인허가 후 추진
 - 위건강 개별인정형 건강기능식품: 3차년도 기능성 원료 인허가 후 추진 (기업투자 진행)

1-3. 연구개발 범위

□ 컨소시엄 구성 및 역할

① 주관/1세부기관: 경희대학교 강동호

- 생강 발효물의 대사질환 (체중조절/혈당강하) 효능 평가 및 작용기전 규명
- 생강 발효물의 전임상 안전성 검증 (식약처 권고사항: 추출발효물 형태의 섭취 근거 미흡)

(GLP기관 용역 : 유전독성, 설치류/비설치류 단회, 설치류 13주 반복투여 독성)

- 체중조절 인체적용시험 프로토콜 개발 및 인체적용시험 관리 (경희의료원 및 강동병원 연계)
- 생강 발효물의 체중조절 기능성 원료 인허가를 위한 기업 지원
- 지자체 및 재배농가 연계 신산업의 육성 추진

③ 제2세부기관: 경희대학교 백남인

- 생강 추출물 및 발효물의 성분 분리 및 질환별 유효성분 규명
- 생강 발효물의 생물전환물질 분리 및 규명
- 생강 발효물의 기능성 물질 함량 비교분석

④ 제1협동기관: (주)제넨셀

- 생강 발효균주 선정 및 발효물 제조
- 생강 발효물의 규격설정에 따른 최적 발효공정 개발
- 생강 발효물의 대량생산체계 확립 및 3 batch 생산
- Lab scale 비교를 통한 원료 동등성 자료 확보 및 안정성 확립
- 원료 표준화 (지표성분 함량, 위해물질 분석 등 공인기관 인증)
- 생강 발효물 함유 혈당강하 및 관절건강 고시형 건강기능식품 제품화
- 생강 발효물 원료 규격 등의 기능성 원료 신청을 위한 자료수집 및 보완

⑤ 제1협동기관 위탁: 경희대학교 강세찬

- 생강 발효물의 관절건강 (골관절염 개선) 효능 평가 및 작용기전 규명
- 관절건강 제품 생산을 위한 기능성 자료 제공

⑥ 제2협동기관: 광동제약(주)

- 기존 일반 및 기능성 음료 중 본 사업에 적용할 수 있는 제품 선별 및 생산공정 확립
- 기존 일반 및 기능성 음료의 생강발효물 함유 리뉴얼 제품 생산 및 판매
- 기능성 음료 신제품 출시
- 체중조절 건강기능식품 개발을 위한 생산공정 확립
- 체중조절 인체적용시험용 시제품 생산 및 기능성 음료 시제품 생산
- 생강 발효물의 체중조절 기능성 원료 인허가 및 제품 개발

⑦ 제3협동기관: (주)에스디생명공학

- 생강 표준추출물 제조 및 생강 발효물과의 성분 비교분석
- 생강 발효물 함유 제품 제조공정 확립 (위건강 제품 개발용)
- 위건강 인체적용시험용 제품 및 위건강 관련 건강기능식품 시제품 생산
- 위건강 인체적용시험 프로토콜 작성 및 시험 관리
- 위건강 기능성 원료 인허가 및 제품개발

⑧ 제3협동기관 위탁: 성균관대학교 이선미

- 생강 발효물의 위건강 (위염 및 위궤양 개선) 효능 평가 및 작용기전 규명
- 위건강 제품 생산을 위한 기능성 자료 제공



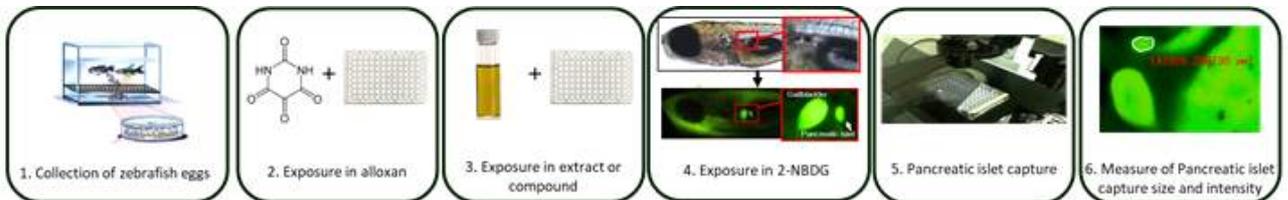
<참여기관의 체계도 및 역할>

2. 연구수행 내용 및 결과

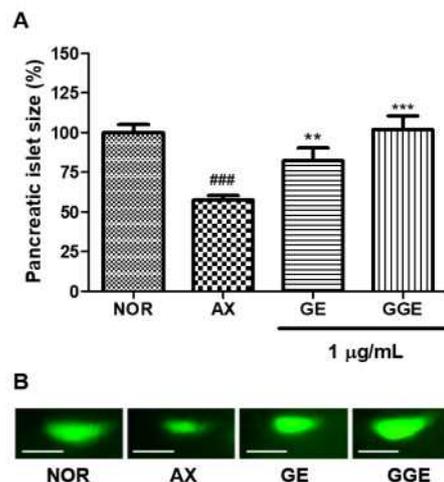
가. 연구개발 내용 및 결과 (1세부 : 경희대학교)

(1) 알록산으로 유발한 당뇨 제브라피시 모델에서 증숙 생강 추출물에 의한 pancreatic islet 회복능 확인

- 실험동물에 당뇨를 유발시키기 위해서 주로 알록산과 스트렙토조토신이 이용이 되고 있음. 알록산은 주로 선택적으로 췌장의 베타세포에 빠르게 축적되어, 베타세포의 glucokinase를 억제하여 인슐린 분비를 감소시킴
- 제1형 당뇨모델은 제브라피쉬의 치어를 사용하여 알록산을 통해 당뇨를 유발하고 형광물질인 2-NBDG를 이용하여 pancreatic islet을 평가했으며, 제브라피쉬 치어는 투명하기 때문에 살아있는 상태에서 pancreatic islet의 관찰이 가능하다는 장점이 있음
- 알록산에 의한 pancreatic islet의 농도 의존적 감소를 확인하였으며, 특히 600 μ M 알록산에서 유의적인 감소를 확인



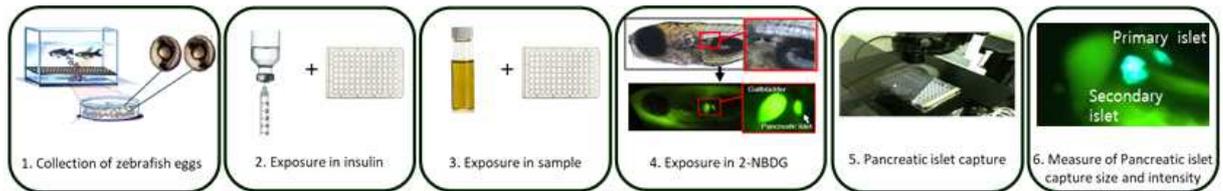
- 5 dpf (day post-fertilization)의 제브라피쉬를 600 μ M 알록산을 3시간동안 노출시켜 당뇨를 유발
- 알록산으로 유발된 당뇨 제브라피시에 증숙생강을 6시간동안 투여함
- 40 μ M 2-NBDG를 이용하여 pancreatic islet을 염색하고 형광현미경을 이용하여 크기를 관찰



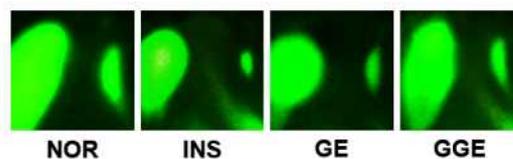
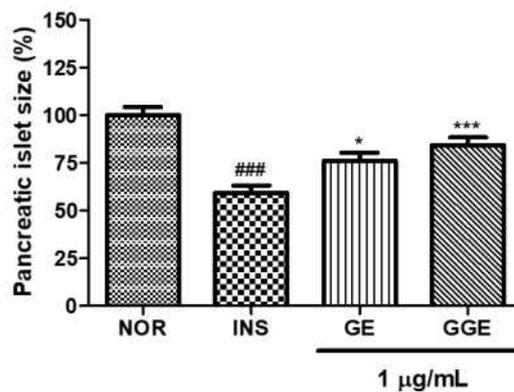
- 생강추출물 (GE)에 비해 증숙생강 추출물 (GGE)이 알록산에 의해 손상된 pancreatic islet의 회복효능이 우수한 것으로 확인됨

(2) 인슐린저항성으로 유발한 당뇨 제브라피시 모델에서 증숙생강 추출물에 의한 pancreatic islet 회복능 확인

- 인슐린저항성 제브라피시 모델을 수립하기 위해 치어를 높은 농도의 인슐린에 과다하게 노출시켜 인위적으로 인슐린 저항성을 유발함. 제브라피시 pancreatic islet의 크기 분석을 통한 손상도를 확인하고, 형광도를 측정하여 당흡수능력을 평가함
- 인슐린 10 μ M에서 48시간 노출시켰을 때, 유의적으로 pancreatic islet의 크기가 감소되고 당흡수능력이 저하되는 것을 확인함



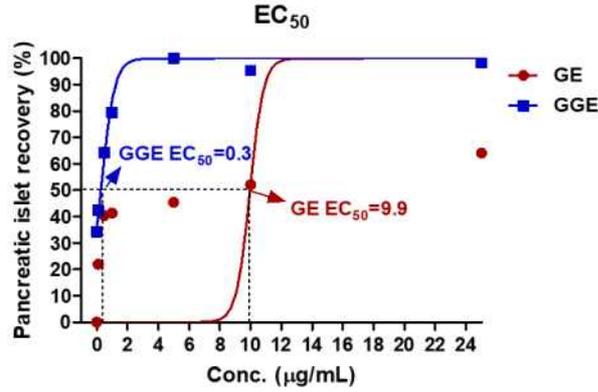
- 3 dpf (day post-fertilization)의 제브라피시를 10 μ M 알록산을 48시간동안 노출시켜 당노를 유발
- 인슐린저항성으로 유발된 당뇨 제브라피시에 GGE를 24시간동안 투여함
- 40 μ M 2-NBDG를 이용하여 pancreatic islet을 염색하고 형광현미경을 이용하여 크기를 관찰



- 생강추출물 (GE)에 비해 증숙생강 추출물 (GGE)이 손상된 pancreatic islet의 회복효능이 우수한 것으로 확인됨

(3) 생강추출물과 증숙생강 추출물의 EC50 비교 결과, 증숙생강의 효과가 우수함을 확인

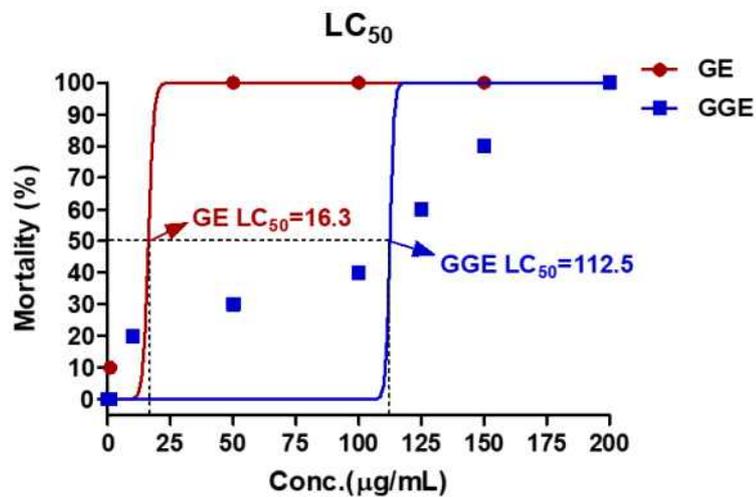
- 생강추출물과 증숙생강 추출물들과 농도별 (0.01, 0.1, 0.5, 1, 5, 7.5, 10, 25, 50 μ M)로 노출시켜 EC50 값을 도출함



- 생강추출물의 EC₅₀는 9.9 µg/mL, 증숙 생강은 0.3 µg/mL로 나타나 증숙생강 추출물의 항당뇨 효능이 현저히 높음을 확인함

(4) 생강추출물과 증숙생강 추출물의 LC₅₀ 비교 결과, 증숙생강의 독성이 낮을 것을 확인

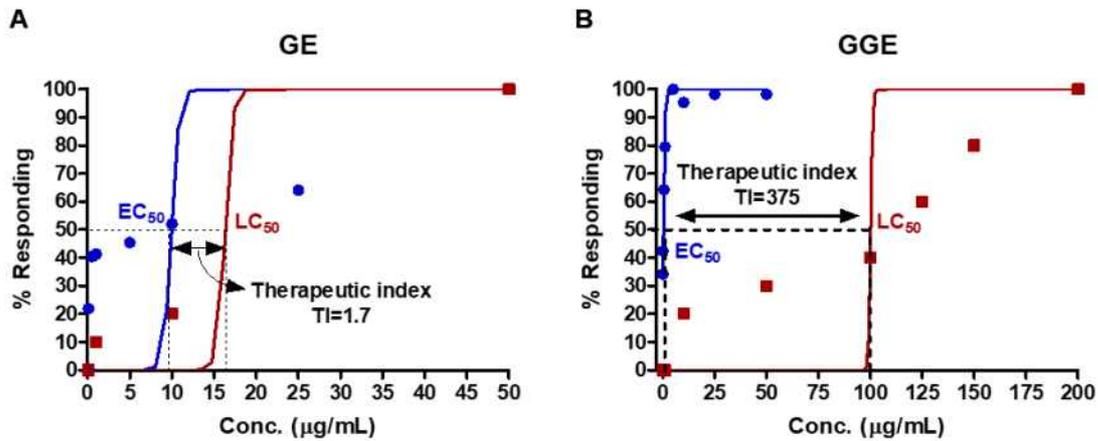
- 제브라피시 embryo를 24 웰에 위치시킨 후 생강추출물과 증숙 생강 추출물을 농도별 (0.1, 1, 10, 50, 100, 125, 150 µM)로 노출시켜 72시간 후에 생존율을 비교함



- 생강추출물의 LC₅₀는 16.3 µg/mL, 증숙 생강 추출물은 112.5 µg/mL로 나타나 증숙 생강추출물의 독성이 현저히 낮음을 확인함

(5) 생강 추출물과 증숙 생강 추출물의 therapeutic index 비교 결과 증숙 생강 추출물이 생강 추출물보다 매우 안전하고 효과적인 소재임을 확인

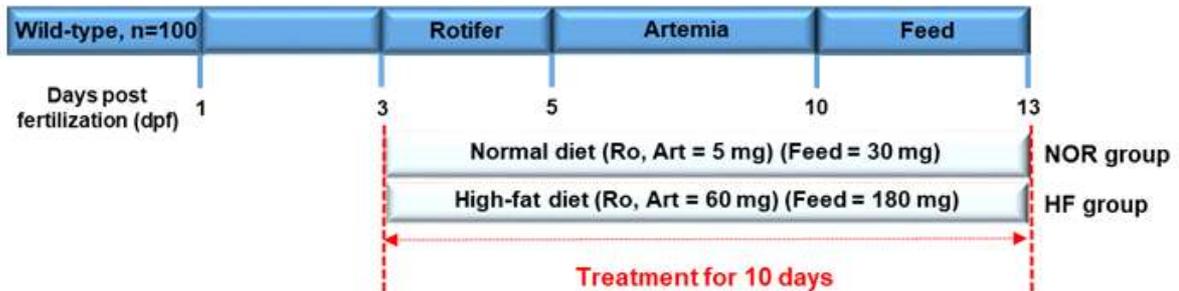
- EC₅₀값과 LC₅₀값을 이용하여 Therapeutic index (TI)값을 도출함. TI=LC₅₀/EC₅₀



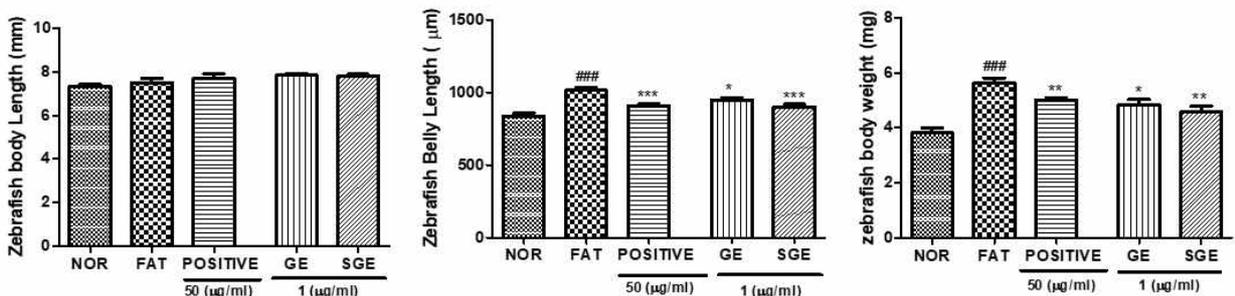
- 생강 추출물의 TI값이 1.7인 반면, 증숙 생강 추출물의 TI값이 375로 나타남

(6) 비만 제브라피시 모델에서 증숙 생강 추출물에 의한 무게 및 BMI 감소 확인

- 수정 3일 후(3 day post fertilization, dpf)의 제브라피시 유생(zebrafish larvae)을 페트리 디쉬에 옮겨
- 정상군의 경우 100마리의 제브라피시는 dpf 3~5 기간동안 로티퍼 5 mg, dpf 6~10 기간동안 아르테미아 5 mg, dpf 11~13 동안 건조사료 30 mg을 섭취
- 식이유발군의 경우 100마리의 제브라피시는 dpf 3~5 기간동안 로티퍼 60 mg, dpf 6~10 기간동안 아르테미아 60 mg, dpf 11~13 동안 건조사료 18 mg을 섭취

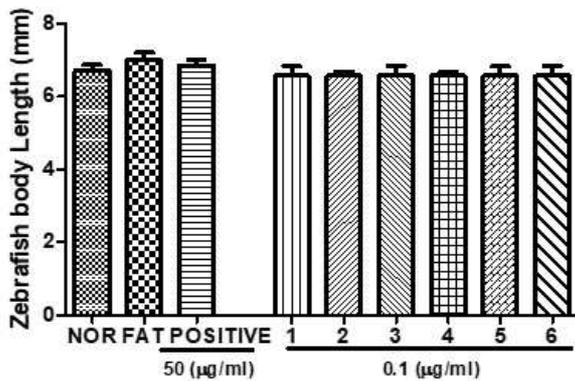


- dpf14~15 기간동안 1 µg/mL 생강추출물 및 증숙 생강 추출물에 노출시키고 약물에 노출되지 않은 그룹의 경우 0.03% 해수염 용액에 노출시킴

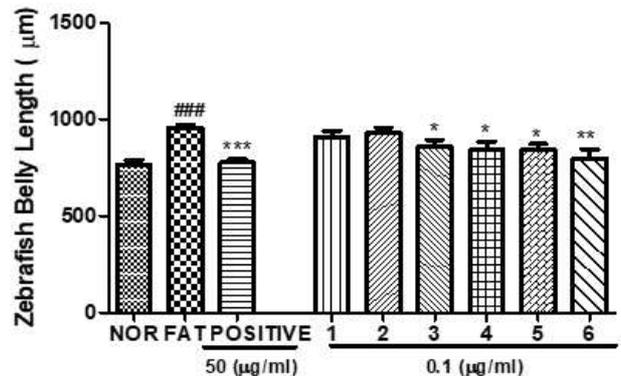
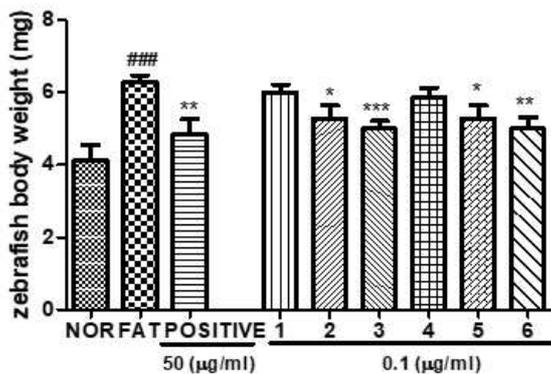


- 양성대조군으로는 체지방감소 개별인정형 기능성원료로 인정된 시서스 추출물을 투여함. 양성대조군의 경우 식이유발군에 비해 몸무게와 배둘레가 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었음. 또한 생강 추출물과 증숙 생강 추출물을 투여한 제브라피시의 몸무게와 배둘레가 감소하는 것으로 나타남. 특히, 증숙 생강의 효능이 가장 우수함이 나타남

(7) 비만 제브라피시 모델에서 생강 성분 (6-shogaol, 6-paradol, Dehydro-6-gingerdione, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol) 들에 의한 무게 및 BMI 감소 확인



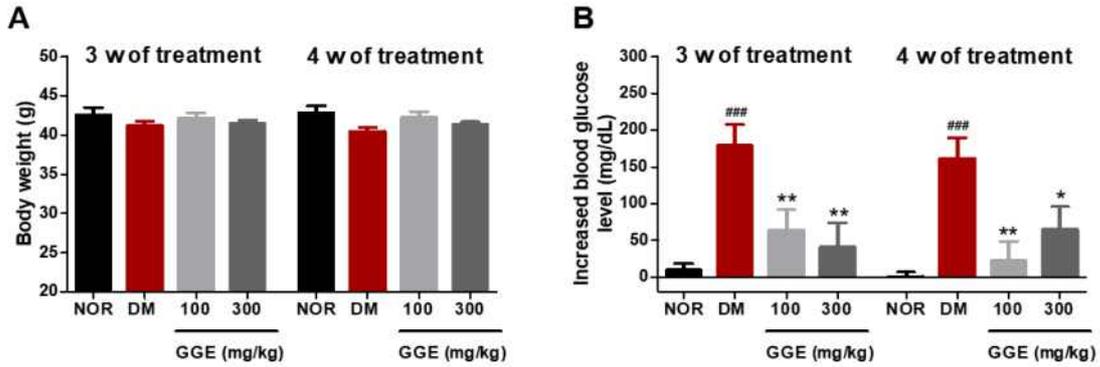
NO	Compounds
1	6-shogaol
2	6-paradol
3	1-dehydro-6-gingerdione
4	6-gingerol
5	8-gingerol
6	10-gingerol



- 양성 대조군으로는 시서스 추출물을 사용하였으며 양성 대조군의 경우 식이유발군에 비해 몸무게, 배둘레가 유의적으로 감소하는 것으로 나타남. 또한 생강 성분인 6-paradol, Dehydro-6-gingerdione, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol를 투여한 그룹에서도 제브라피시의 몸무게와 배둘레가 감소하는 것으로 나타남

(8) 당뇨 마우스 모델에서 증숙 생강 추출물에 의한 혈당 강하 효능 확인

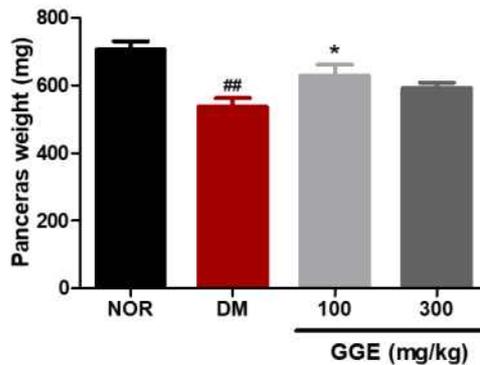
- 마우스에게 streptozotocin (STZ) (Sigma, St. Lois, MO)를 50 mg / kg 체중으로 복강 내 주사함
- 12 시간 동안 마우스를 절식 한 후 2 일 동안 주사를 반복함
- 실험쥐는 네 그룹으로 나누고 (n = 15 / group) 비 당뇨병 ICR 생쥐 (NOR)와 STZ 유도 생쥐 (DM)를 0.5mL 증류수로 1 일 1 회 경구 투여함
- STZ 유발 마우스를 GGE 100 mg/kg (GGE 100, 증숙생강) 및 GGE 300 mg/kg (SGE 300, 증숙생강)으로 1 일 1 회 경구 투여함.



- 체중에 유의 한 차이는 없었으며, 혈당 수치는 약물 투여 후, 3주에 증숙 생강 추출물 100 및 300 처리 그룹에서 유의하게 감소함
- 이 결과는 증숙 생강 추출물이 당뇨 마우스 모델에서 고혈당을 개선함을 보여줌

(9) 당뇨에 의해 손상된 췌장 조직이 증숙 생강 추출물에 의해 회복

- 위와 같은 방법으로 증숙 생강 추출물 처리는 4 주 동안 매일 1 회 수행되었으며, 4주후에 부검하여 췌장의 무게를 비교함



- 췌장의 무게를 비교한 결과 당뇨 마우스 그룹의 비해 증숙 생강 추출물을 투여한 마우스의 췌장이 크기가 유의적으로 큰 것을 확인함

(10) 항당뇨 활성의 기전 측정

- GE, GG03, 1-dehydro-6-gingerdione 의 PTP1B, DPP-IV, α -glucosidase 저해 활성을 확인함
- GE, GG03, 1-dehydro-6-gingerdione 모두 효소에 의한 저해 활성을 보이지 않았음

Sample	IC ₅₀ (μg/mL)
Diprotin A	17.5
GE	ND
GG03	ND
GD	ND

The half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀).

PTP1B

Sample	IC ₅₀ (μg/mL)
Diprotin A	17.5
GE	ND
GG03	ND
GD	ND

The half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀).

DPP-IV

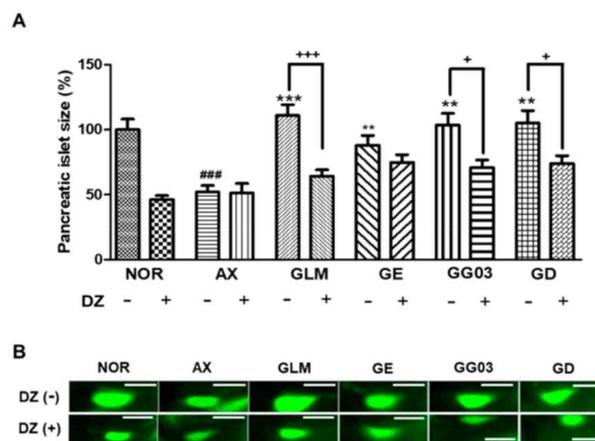
Sample	IC ₅₀ (μg/mL)
Acarbose	1302.8
GE	ND
GG03	ND
GD	ND

The half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀).

α-glucosidase

(11) 알록산으로 유발한 당뇨 제브라피시 모델에서 Diazoxide(DZ)를 이용한 K_{ATP} channel 확인

- K_{ATP} channel 경로가 인슐린 분비 촉진의 주요 경로로 알려져 있어, 당뇨 제브라피시 모델에서 K_{ATP} channel을 차단하는 Diazoxide(DZ)를 투여하여 K_{ATP} channel에 대한 관여를 확인하였음.



(12) 비만 유도 마우스의 식이섭취량, 체중, 음수섭취량 측정

Group	Food consumption (g/day)	Body weight gain (g/day)	FER*	Water consumption (ml/week)
C57 mice (each n=6)				
Normal control	140.74 ± 11.46	6.67 ± 1.72	4.72 ± 1.22	76.25 ± 4.73
HFD control	130.09 ± 7.84	20 ± 1.39 [#]	15.37 ± 1.07 [#]	124.58 ± 25.48 [#]
GE (mg/kg/day)				
200	105.41 ± 9.59	18.26 ± 0.96	17.32 ± 0.91	80 ± 2.88 [*]
GGE (mg/kg/day)				
50	104.17 ± 10.10	14.41 ± 1.61	13.83 ± 1.54	77.5 ± 4.28
100	116.05 ± 9.55	14.20 ± 1.08	12.24 ± 0.93	84.16 ± 4.78 [*]
200	109.83 ± 9.27	14.27 ± 1.87	12.99 ± 1.70	80 ± 4.00 [*]

- 비만 유도 마우스의 체중변화, 식이섭취량, 음수섭취량을 확인해 본 결과 비만 대조군에

서 증가했던 체중 증가량과 음수섭취량이 증숙 생강 추출물을 투여한 군에서 유의적으로 감소하는 것을 확인

(13) 비만 유도 마우스의 장기무게, 혈액지표 측정결과

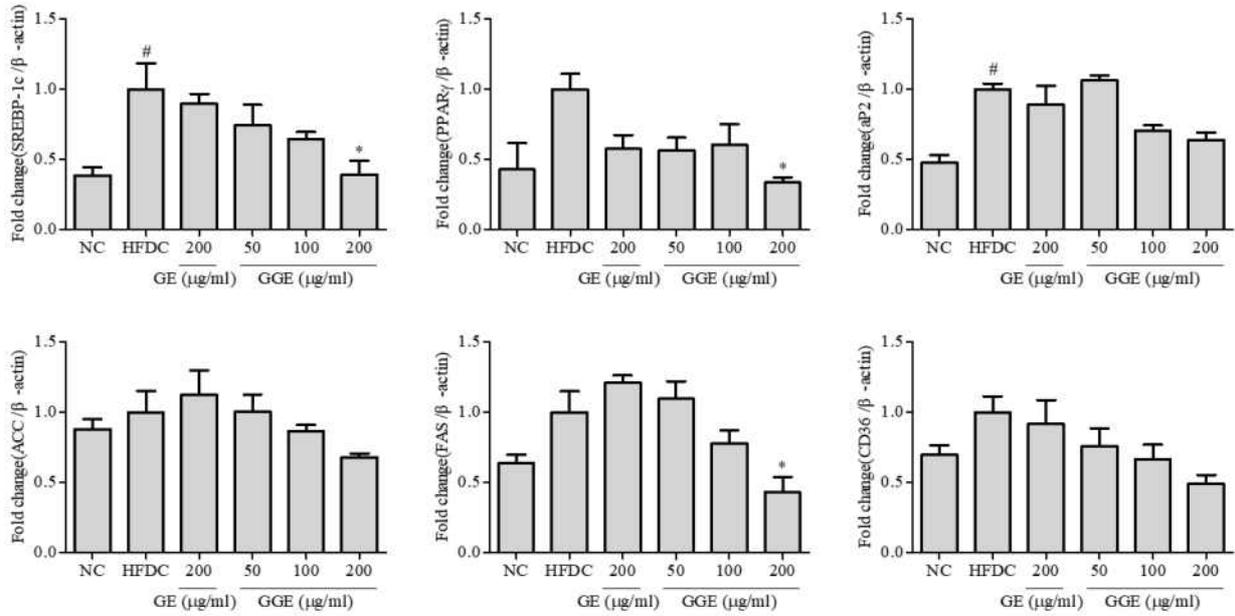
Group	Relative tissue weight (Tissue weight (g) / Body weight (g))		
	Liver	Kidney	Spleen
C57 mice (each n=6)			
Normal control	3.7±0.1	1.3±0.1	0.3±0.1
HFD control	5.3±0.2	0.8±0.03	0.2±0.01
GE (mg/kg/day)			
200	2.7±0.2	0.6±0.04	0.2±0.02
GGE (mg/kg/day)			
50	2.8±0.2	0.8±0.03	0.2±0.01
100	2.7±0.2	0.7±0.02	0.2±0.01
200	3.2±0.5	0.9±0.02	0.2±0.03

- 비만 유도 마우스의 장기무게 확인 결과 큰 변화는 없는 것을 확인

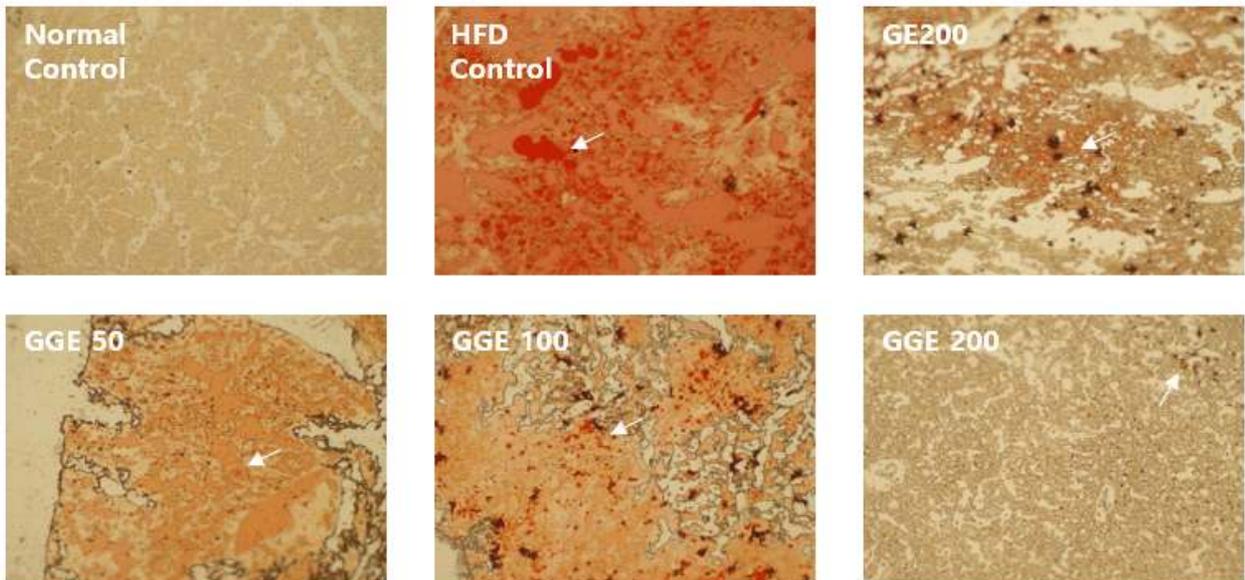
Group	Glucose (mg/dL)	Triglycerides (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	GOP (U/L)	GPT (U/L)	NEFA (mEq/L)
C57 mice (each n=6)								
Normal control	37.0±15.1	36.8±10.6	53.5±12.7	43.5±5.2	8.0±0.8	120.5±43.8	51.5±23.2	1.7±0.2
HFD control	57.0±20.3	47.0±2.2	136.5±10.5 [#]	65.5±4.9	18.5±1.3 [#]	235.3±47.1 [#]	225.8±46.1 [#]	2.5±0.1 [#]
GE (mg/kg/day)								
200	69.8±23.9	53.8±5.1	106.5±5.3 [*]	58.3±1.0	13.0±2.2 [*]	163.3±49.6	109.8±11.3 [*]	2.4±0.1
GGE (mg/kg/day)								
50	80.0±15.2	55.3±4.0	103.0±7.4 [*]	6.3±4.1	11.8±1.0 [*]	133.0±9.9 [*]	91.3±13.0 [*]	2.3±0.1
100	74.3±9.6	55.8±4.9	105.8±6.5 [*]	63.3±6.7	13.5±3.7 [*]	152.8±39.3 [*]	135.8±69.4 [*]	2.2±0.1
200	85.5±17.3	47.8±6.3	115.5±21.8 [*]	60.3±6.6	14.3±1.7 [*]	155.0±15.2 [*]	153.5±27.4 [*]	2.0±0.1 ^{**}

- 비만 유도 마우스의 혈액지표 확인 결과 비만 유도군에서 증가했던 Total Cholesterol, LDL, GOP, GPT, NEFA가 증숙 생강을 투여한 군에서 유의적으로 감소한 것을 확인

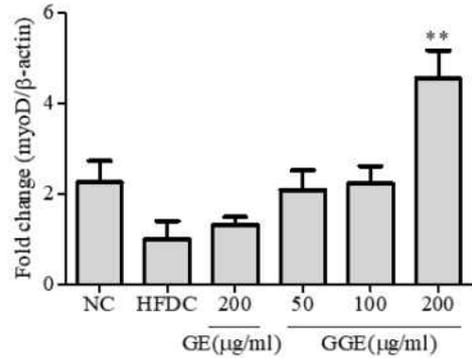
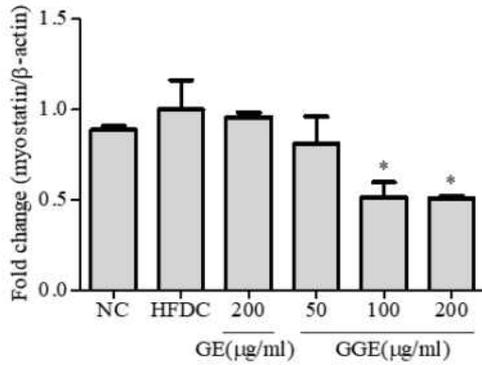
(14) 비만유도 마우스의 비만관련 유전자, 근육생성 유전자의 발현 확인



- qPCR을 통해 비만유도 마우스의 간에서 비만 관련 유전자들의 발현을 확인한 결과 증식생강을 투여한 군에서 모두 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인



- 비만유도 간을 Oil Red 로 염색한 결과, 비만 유도군에서 붉은색으로 염색된 지방조직이 증식생강을 투여한 군에서 줄어든 것을 확인



- qPCR을 통해 비만유도 마우스의 근육에서 근육생성과 관련된 유전자인 myoD와 근육 소실과 관련된 유전자인 myostatin의 발현을 확인해 본 결과, 증숙 생강을 투여한 군에서 myostatin은 농도 의존적으로 감소하고 myoD는 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인

(15) 증숙 생강의 전임상 안전성평가

(가). 포유류 배양세포를 이용한 증숙생강추출분말의 염색체이상시험

① 연구내용

- 증숙생강추출분말의 유전독성을 평가하기 위하여 Chinese hamster 유래의 난소유아세포 (CHO-k1 cell)를 이용하여 대사활성효소계 (S9)를 적용한 대사활성화법(+S9 mix) 및 적용하지 않은 직접법 (-S9 mix)에서 염색체이상시험을 실시함
- 시험물질은 멸균증류수에 용해하여 최고농도의 시험물질을 조제한 다음 이를 다시 멸균 증류수에 단계별 희석하는 방법으로 낮은 농도의 시험물질을 조제함

② 연구결과

- 증숙생강추출분말의 염색체이상 유발성 유무를 확인하기 위하여 Chinese hamster 유래의 난소유아세포 (CHO-k1 cell)를 이용하여 직접법 (-S9 mix)과 대사활성화법 (+S9 mix)하에서 염색체이상시험을 실시함
- 예비시험을 통해 본시험의 처리농도를 결정한 다음, 본시험에서 시험물질에 의한 염색체의 구조적 이상을 알아보기 위해 시험물질을 처리하여 이상중기상 (aberrant metaphase, gap-)을 계수한 결과, 직접법의 24 시간 연속처리군 (61.73, 185.19, 555.56 μg/ml) 및 6 시간 처리 18 시간 회복군 (185.19, 555.56, 1666.67 μg/ml)의 모든 처리군에 있어서 이상중기상 (aberrant metaphase, gap-)의 빈도를 음성대조군과 비교하였을 때 통계학적으로 유의한 증가를 관찰할 수 없었음

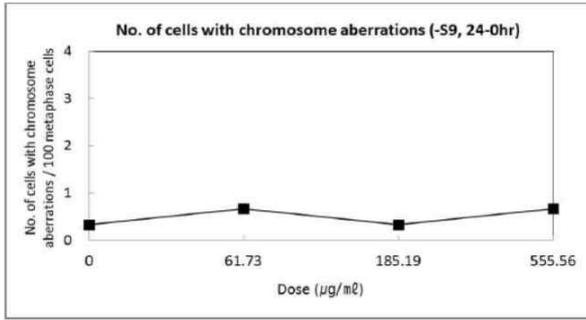


Figure 1. The number of cells with chromosome aberrations in the absence of S9 mix (24 hrs treatment).

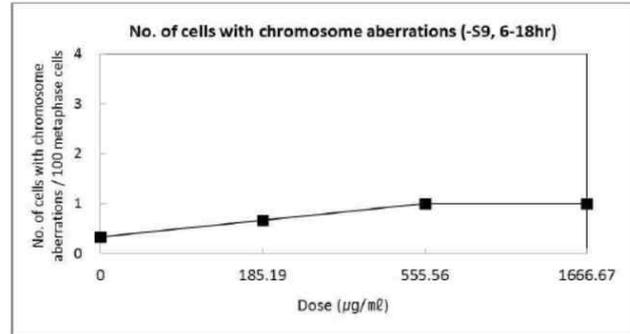


Figure 2. The number of cells with chromosome aberrations in the absence of S9 mix (6 hrs treatment).

- 또한, 대사활성화법의 6 시간 처리 18 시간 회복군의 모든 처리군 (185.19, 555.56, 1666.67 µg/ml)에서 이상중기상 (aberrant metaphase, gap-)의 빈도를 음성대조군과 비교하였을 때 통계학적으로 유의한 증가를 관찰할 수 없었음

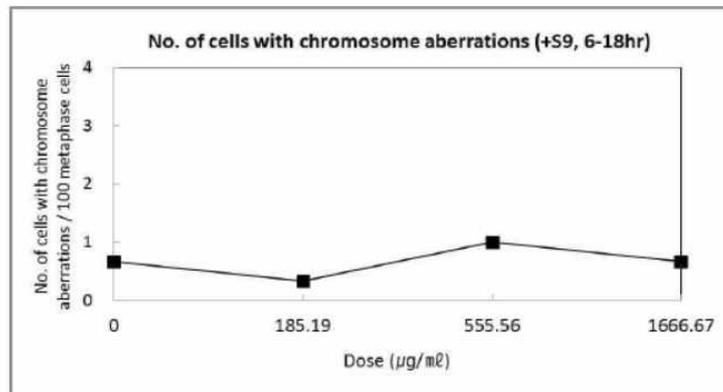


Figure 3. The number of cells with chromosome aberrations in the presence of S9 mix (6 hrs treatment).

- 음성대조군, 시험물질 처리군, 양성대조군에서는 시험결과의 승인기준에 적합한 시험결과를 산출하였으므로 본 시험은 적절히 실시되었다고 할 수 있음
- 이상의 결과를 종합해 볼 때 시험물질인 증숙생강추출분말은 본 시험의 조건하에서 CHO-k1 세포에 염색체이상을 유발하지 않는 것으로 사료됨

(나). ICR 마우스 골수세포를 이용한 증숙생강추출분말의 소핵시험

① 연구내용

- 시험물질 증숙생강추출분말에 대한 발암성 유발 유·무 판단의 기초 자료를 얻기 위하여 유전독성시험 중 ICR 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 실시함.
- 생후 8 주령의 수컷 마우스에 시험물질 증숙생강추출분말을 2000 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 500 mg/kg bw/day의 용량으로 경구 투여하였고, 투여 후 18 ~ 24 시간에 골수세포를 채취하여 소핵유발빈도와 세포독성을 평가함.
- 본 시험에서 개체 당 약 4000 개의 다염성적혈구 (PCE)를 대상으로 소핵이 관찰되는 다염성적혈구 (MNPCE)의 수를 계수한 결과 모든 시험물질 투여군 (2000 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 500 mg/kg bw/day)에서 부형제 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한

차이를 보이지 않았음.

- 한편, 양성대조군의 소핵유발빈도는 부형제 대조군과 비교 시 현저한 증가가 관찰되었다 ($p < 0.01$). 세포독성의 지표인 500 개의 적혈구 중 다염성적혈구 (PCE/(PCE+NCE))의 비율은 모든 시험물질 투여군에서 부형제 대조군과 비교 시 뚜렷한 골수세포의 증식억제는 나타나지 않았음.

② 연구결과

- 시험물질 증숙생강추출분말의 유전독성을 평가하기 위하여 마우스 (ICR mouse) 골수세포를 이용한 소핵시험을 실시하였음. 7 일 동안 순화시킨 생후 8 주령의 마우스에 농도별로 시험물질을 경구 투여하였음. 시험물질은 멸균증류수에 용해하여 조제하였으며 예비시험과 본시험의 단계별처리농도 :

예비시험 : 500 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 2000 mg/kg bw/day

본시험 : 500 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 2000 mg/kg bw/day

- 예비시험에서 군당 3 마리의 수컷과 암컷을 사용하였다. 예비시험 결과, 암컷과 수컷의 모든 시험물질 투여군 (500 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 2000 mg/kg bw/day)에서 특이증상이 관찰되지 않았음. 예비시험의 결과를 기초로 2000 mg/kg bw/day를 최고 투여농도로 하여 본시험을 실시하였으며, 본시험에서는 암 수 사이에 독성에 대한 감수성 차이가 없다고 판단하여 수컷을 사용하였음.
- 본시험 결과, 모든 시험물질 투여군 (500 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 2000 mg/kg bw/day)에서 사망동물 및 특이한 일반증상이 관찰되지 않았으며, 전체 적혈구 중 다염성적혈구의 수는 부형제 대조군과 비교하여 뚜렷한 골수세포의 증식억제는 나타나지 않았음. 개체 당 4000개의 다염성 적혈구에서 관찰한 소핵유발빈도는 모든 시험물질투여군 (500 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 2000 mg/kg bw/day)에서 부형제 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 결과를 보이지 않았음.

Table 1. Test results (main study)

Groups		Dose (mg/kg bw/day)	Animal No.	MNPCE/4000 PCEs (Mean±SD, %)	PCE/(PCE+NCE) (Mean±SD)
Vehicle control	Vehicle	0	1	0.18	0.52
			2	0.18	0.48
			3	0.15	0.50
			4	0.10	0.52
			5	0.30	(0.18 ± 0.07)
Test substance	증속생강추출분말	500	6	0.08	0.50
			7	0.15	0.51
			8	0.08	0.51
			9	0.08	0.52
			10	0.23	(0.12 ± 0.07)
		1000	11	0.33	0.51
			12	0.28	0.48
			13	0.15	0.50
			14	0.20	0.48
			15	0.30	(0.25 ± 0.07)
		2000	16	0.30	0.51
			17	0.18	0.55
			18	0.13	0.51
			19	0.25	0.53
			20	0.13	(0.20 ± 0.08)
Positive control	MMC	2	21	12.43	0.44
			22	10.30	0.45
			23	12.45	0.39
			24	10.60	0.51
			25	9.93	(11.14 ± 1.21)**

- 한편, 양성대조군의 소핵유발빈도는 부형제 대조군과 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 관찰되었음 (p<0.01).
- 시험물질 투여 후 모든 투여군에서 부형제 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 체중변화는 관찰되지 않았음.
- 부형제 대조군과 양성대조군의 소핵유발빈도와 전체 적혈구 중 다염성 적혈구의 비율은 historical control data (Annex 3)의 범위 안에 있었음. 그러므로 이 시험은 적절히 수행되었음.

Annex 3. Historical control data

Historical control values of micronucleated polychromatic erythrocytes(MNPCE)

Groups	Dose (mg/kg)	MNPCE/TOTAL PCE % Mean±S.D.	Range (MNPCE/TOTAL PCE %)	
			MIN	MAX
Negative control	0	0.20 ± 0.06	0.08	0.32
Positive control	2	10.52 ± 1.21	8.10	12.94

Historical control values of polychromatic erythrocytes(PCE) to total erythrocytes

Groups	Dose (mg/kg)	PCE/NCE+PCE Mean±S.D.	Range(PCE/NCE+PCE)	
			MIN	MAX
Negative control	0	0.48 ± 0.06	0.36	0.60
Positive control	2	0.42 ± 0.07	0.28	0.56

- 이상의 결과를 종합하여 볼 때 시험물질 증속생강추출분말은 본 시험의 조건하에서

마우스의 골수세포에 대한 소핵을 유발하지 않는 것으로 사료됨.

(다). 증숙생강추출분말의 미생물복귀돌연변이시험

① 연구내용

- 시험물질 (명칭 : 증숙생강추출분말)의 박테리아에 대한 돌연변이 유발성 여부를 확인하기 위해 히스티딘 요구성 균주인 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1535, TA1537과 트립토판 요구성 균주인 *Escherichia coli* WP2uvrA를 사용하여 직접법과 대사활성법으로 복귀돌연변이시험을 실시하였음.
- 시험은 Preincubation 방법을 이용함. 시험물질은 멸균증류수에 용해하여 최고농도의 시험물질을 조제한 다음 이를 다시 멸균증류수에 단계별 희석하는 방법으로 낮은 농도의 시험물질을 조제하였음. 본시험에서의 적용농도를 결정하기 위하여 0, 62, 185, 556, 1667, 5000 µg/plate 농도로 하여 농도결정시험을 실시함.

② 연구결과

- 본시험에서의 적용농도의 결정을 위하여 5000 µg/plate를 최고농도로 하여 공비 3의 5단계 농도군으로 농도결정시험을 실시함. 그 결과, 직접법의 TA98 및 TA1535 균주는 5000 µg/plate에서 균의 생육저해가 관찰되어 생육저해를 나타내는 최저농도인 1667 µg/plate를 최고농도로 설정하였음.
- 직접법 및 대사활성법의 모든 균주에서 음성대조군과 비교하여 양성으로 판단할만한 복귀집락 수의 증가는 관찰되지 않았음 (Appendix 1).
- 농도결정시험을 바탕으로 다음과 같은 농도단계로 본시험을 실시함.

S9 mix (-)의 TA98, TA1535, WP2uvr 균주 :

0, 62, 185, 556, 1667, 5000 µg/plate

S9 mix (-)의 TA100, TA1537 균주 :

0, 62, 185, 556, 1667 µg/plate

S9 mix (+)의 모든 균주 :

0, 62, 185, 556, 1667, 5000 µg/plate

- 본시험에서 각 농도 별로 시험물질을 처리한 결과, 직접법의 TA98 및 TA1535 균주는 5000 µg/plate에서 균의 생육저해가 관찰되었으며, TA100 및 TA1537 균주는 1667 µg/plate에서 균의 생육저해가 관찰되었음. 그러나 직접법의 WP2uvrA 균주와 대사활성법의 모든 균주에서는 생육저해가 관찰되지 않음. 직접법 및 대사활성법의 모든 균주에서 음성대조군과 비교하여 양성으로 판단할만한 복귀집락 수의 증가는 관찰되지 않음.

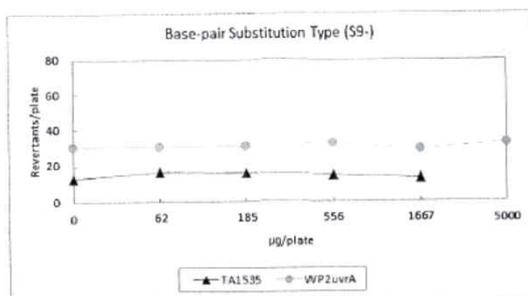


Figure 1. 직접법에서 염기치환형 균주의 용량반응곡선 (TA1535, WP2uvrA)

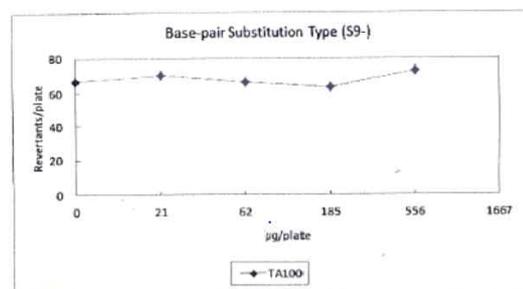


Figure 2. 직접법에서 염기치환형 균주의 용량반응곡선 (TA100)

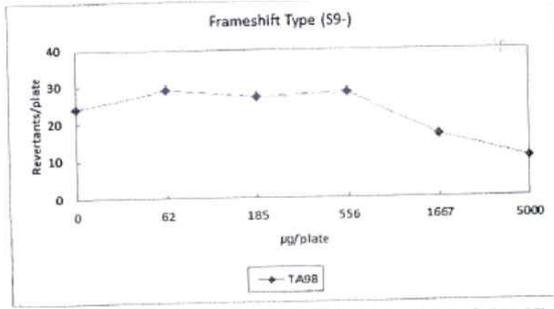


Figure 3. 직접법에서 frameshift형 균주의 용량반응곡선 (TA98)

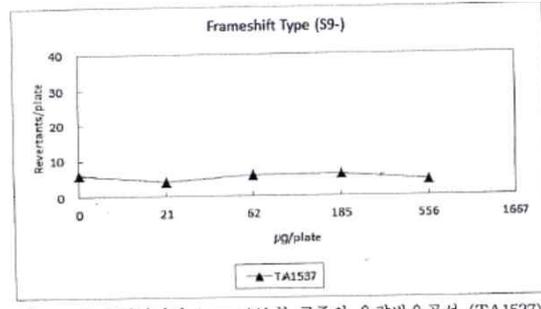


Figure 4. 직접법에서 frameshift형 균주의 용량반응곡선 (TA1537)

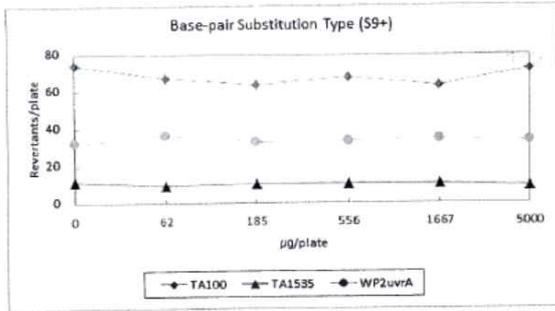


Figure 5. 대사활성법에서 염기치환형 균주의 용량반응곡선

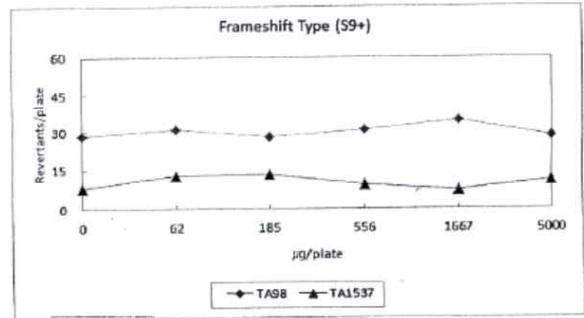


Figure 6. 대사활성법에서 frameshift형 균주의 용량반응곡선

- 시험물질 및 S9 mix의 무균 확인시험 결과 미생물에 의한 오염은 관찰되지 않았음. 한편, 양성대조군 및 음성대조군에서는 각각의 균주에서 양성 및 음성으로 판단하는 수치범위에서 복귀집락수가 유발되었으므로 본 시험은 적절히 실시되었음.
- 이상의 결과를 통해, 증숙생강추출분말은 본 시험조건 하에서 복귀돌연변이를 유발하지 않는 것으로 판단됨.

(라). SD 랫드를 이용한 증숙생강추출분말의 단회 경구투여 독성시험

① 연구내용

- 본 시험은 시험물질 증숙생강 추출분말을 sprague-Dawley(SD) 계통 암, 수 랫드에 단회 경구투여 하였을 때 나타나는 독성증상과 개략적인 치사량을 조사하기 위하여 실시함.
- 시험물질은 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg 용량으로 실험군을 설정하여 부형제 대조군과 비교하였으며, 실험기간 동안 사망동물의 발생유무, 일반증상, 체중변화 및 실험종료 시 생존동물의 부검소견을 관찰함.

② 연구결과

- 본 시험은 시험물질 증숙생강추출분말을 Sprague-Dawley(SD) 계통 암·수 랫드에 단회 경구투여 하였을 때 나타나는 독성증상과 개략적인 치사량을 조사하기 위하여 실시함.
- 시험물질은 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg 용량으로 실험군을 설정하여 부형제 대조군과 비교하였으며, 실험기간 동안 사망동물의 발생유무, 일반증상, 체중변화 및 실험종료시 생존동물의 부검소견을 관찰함.
- 실험기간 동안 수컷 1,000 mg/kg 시험군 3/5 레, 수컷 2,000 mg/kg 시험군 전례, 암컷의

경우, 1,000 mg/kg 시험군 2/5 레, 2,000 mg/kg 시험군 3/5 레에서 투여직후 산발적으로 유연이 관찰됨.

- 이는 시험물질 투여 직후에만 일시적인 발생 양상을 나타내고 회복 기간 중에는 관찰되지 않아 일시적인 타액분비 촉진에 의한 것으로 사료되며 독성학적 의미는 없는 것으로 판단된다. 유연증상을 제외하고, 암·수 모든 시험군에서 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않았음.
- 체중측정결과, 모든 동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었으며, 시험군간 통계학적으로 유의학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았음.

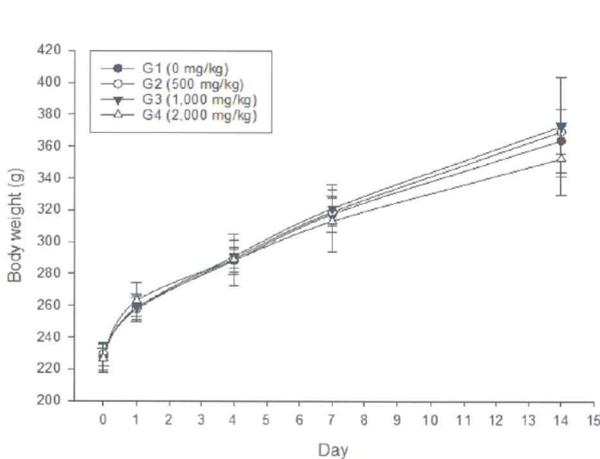


Figure 1. Body weight changes of male rats

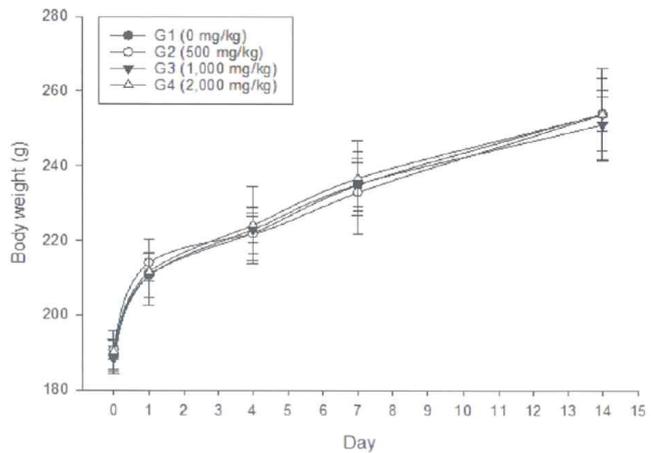


Figure 2. Body weight changes of female rats

- 실험종료 시 모든 생존동물의 부검결과, 특이한 육안소견은 관찰되지 않았음.

Sex: Male

Group(mg/kg)

Organs	Signs	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross finding detected	5/5	5/5	5/5	5/5

Sex: Female

Group(mg/kg)

Organs	Signs	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross finding detected	5/5	5/5	5/5	5/5

Number of animals with the signs / Number of animals examined

- 이상의 결과로 보아, 설치류인 Sprague-Dawley 랫드를 이용하여 시험물질을 단회 경구투여하였을 때, 사망동물은 관찰되지 않았고, 시험물질 투여와 관련된 특이한 변화는 관찰되지 않았음.

Summary of mortalities and clinical signs

Sex: Male

		Group(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Mortalities	No. of dead animals %	0/5	0/5	0/5	0/5
		0	0	0	0
Clinical signs	No of abnormalities detected Salivation	5/5	5/5	2/5	0/5
		0/5	0/5	3/5	5/5

Sex: Female

		Group(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Mortalities	No. of dead animals %	0/5	0/5	0/5	0/5
		0	0	0	0
Clinical signs	No of abnormalities detected Salivation	5/5	5/5	3/5	2/5
		0/5	0/5	2/5	3/5

Number of animals with the signs / Number of animals examined

- 따라서 본 시험조건에서 증숙생강추출분말의 개략의 치사량은 2,000 mg/kg 이상으로 판단됨.

(마) SD 랫드를 이용한 증숙생강추출분말의 2주 반복 경구투여 독성시험

① 연구내용

- 본 시험은 Sprague-Dawley(SD) 계통 암·수 랫드에 시험물질인 증숙생강추출분말을 2주 반복 경구투여 하였을 때 나타나는 독성을 조사하고, 13주 반복 경구투여 독성시험의 용량을 설정하기 위하여 실시함.
- 시험물질은 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg/day 용량으로 실험군을 설정하여 부형제 대조군과 비교함.
- 실험기간 동안 사망률, 일반증상, 체중변화, 사료 섭취량, 음수 섭취량, 요검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 및 부검소견을 관찰함.

② 연구결과

- 본 시험은 SD 계통 암·수 랫드에 시험물질인 증숙생강추출분말을 2주 반복 경구투여 하였을 때 나타나는 독성을 조사하고, 13주 반복 경구투여 독성시험의 용량을 설정하기 위하여 실시함.
- 시험물질은 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg/day 용량으로 실험군을 설정하여 부형제 대조군과 비교함.
- 실험기간 동안 사망률, 일반증상, 체중변화, 사료섭취량, 음수섭취량, 요검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 및 부검소견을 관찰함.

Summary of Body weight(g)				
Sex : Male				
Week	Group(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	202.87 ± 7.06 (5)	201.94 ± 4.99 (5)	204.18 ± 6.63 (5)	206.52 ± 9.75 (5)
1	271.95 ± 11.67 (5)	271.24 ± 5.46 (5)	276.18 ± 10.49 (5)	272.48 ± 16.86 (5)
2	326.18 ± 16.06 (5)	318.76 ± 5.59 (5)	336.21 ± 12.42 (5)	322.55 ± 22.53 (5)

Summary of Body weight(g)				
Sex : Female				
Week	Group(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	167.16 ± 4.22 (5)	167.98 ± 4.31 (5)	168.36 ± 5.38 (5)	167.09 ± 3.99 (5)
1	197.32 ± 4.50 (5)	200.47 ± 6.72 (5)	203.69 ± 7.61 (5)	199.57 ± 5.82 (5)
2	224.52 ± 8.03 (5)	222.95 ± 6.02 (5)	232.53 ± 11.28 (5)	221.43 ± 10.71 (5)

- 실험기간 동안 암·수 1,000 및 2,000 mg/kg/day 시험군의 시험동물에서 투여 직후 산발적으로 유연이 관찰됨.
- 수컷의 경우, 2,000 mg/kg/day 시험군 전례에서 투여 직후 유연증상을 보였고, 1,000 mg/kg/day 시험군 전례에서 투여 5-8 일에 유연을 보이다 그 개체수가 점차 감소함. 암컷의 경우, 2,000 mg/kg/day 시험군 전례에서 투여 직후 유연을 보이다 14 일부터 감소하였고, 1,000 mg/kg/day 시험군의 경우 투여 5-8 일에 모든 개체에서 유연을 보이다 이후 감소함.
- 이는 시험물질 투여 직후에만 일시적인 발생양상을 나타내고 회복기간 중에는 관찰되지 않아 일시적인 타액분비 촉진에 의한 것으로 사료되며 독성학적 의미는 없는 것으로 판단됨.
- 유연증상을 제외하고, 암·수 모든 시험군에서 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않았음.
- 체중측정결과, 암·수 모든 시험군에서 시험물질과 관련된 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았음.
- 사료섭취량 측정결과 암·수 모든 시험군에서 시험물질과 관련된 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았음.

Summary of daily mean food consumption (g)				
Sex : Male				
Week	Group(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	25.76 ± 1.57 (5)	24.02 ± 0.52 (5)	27.86 ± 3.30 (5)	27.75 ± 2.64 (5)
1	29.48 ± 3.44 (5)	30.35 ± 1.32 (5)	31.42 ± 1.19 (5)	29.07 ± 0.77 (5)
2	28.30 ± 5.02 (5)	28.49 ± 1.45 (5)	31.98 ± 1.96 (5)	27.11 ± 1.29 (5)

Summary of daily mean food consumption (g)

Sex : Female

Week	Group(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	25.76 ± 1.57 (5)	24.02 ± 0.52 (5)	27.86 ± 3.30 (5)	27.75 ± 2.64(5)
1	29.48 ± 3.44 (5)	30.35 ± 1.32 (5)	31.42 ± 1.19 (5)	29.07 ± 0.77 (5)
2	28.3 ± 5.02 (5)	28.49 ± 1.45 (5)	31.98 ± 1.96 (5)	27.11 ± 1.29 (5)

- 음수섭취량 측정결과, 암·수 모든 시험군에서 시험물질과 관련된 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았음.

Summary of daily mean water consumption (g)

Sex : Male

Week	Group(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	35.51 ± 8.89 (5)	30.60 ± 3.11 (5)	36.45 ± 9.57 (5)	43.49 ± 18.81 (5)
1	41.24 ± 8.43 (5)	37.49 ± 18.19 (5)	39.60 ± 7.30 (5)	48.46 ± 12.05 (5)
2	38.93 ± 11.69 (5)	32.34 ± 0.11 (5)	42.30 ± 11.09 (5)	45.39 ± 15.63 (5)

Summary of daily mean water consumption (g)

Sex : Female

Week	Group(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	29.90 ± 6.62 (5)	31.07 ± 5.55 (5)	32.61 ± 3.14 (5)	27.08 ± 0.06 (5)
1	26.39 ± 4.76 (5)	32.14 ± 5.18 (5)	38.16 ± 17.13 (5)	30.99 ± 0.56 (5)
2	29.95 ± 13.18 (5)	28.22 ± 1.13 (5)	34.39 ± 6.30 (5)	31.38 ± 13.06 (5)

- 요검사 결과, 암·수 모든 시험군에서 시험물질과 관련된 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았음.

Summary of urinalysis					
					Sex : Male
Test Item		Group(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Glucose	Negative	5/5	5/5	5/5	5/5
Bilirubin	Negative	5/5	5/5	5/5	5/5
Ketone body	Negative	4/5	5/5	2/5	4/5
	Trace	1/5	0/5	3/5	1/5
Specific gravity	1.010	4/5	5/5	3/5	4/5
	1.015	1/5	0/5	2/5	1/5
Occult blood	Negative	5/5	4/5	5/5	5/5
	1+	0/5	1/5	0/5	0/5
pH	8.5	5/5	4/5	5/5	5/5
	9	0/5	1/5	0/5	0/5
Protein	Negative	5/5	5/5	3/5	5/5
	Trace	0/5	0/5	1/5	0/5
	1+	0/5	0/5	1/5	0/5
Urobilinogen	0.2	5/5	5/5	5/5	5/5
Nitrite	Negative	5/5	5/5	5/5	0/5
Leukocyte	Negative	5/5	5/5	4/5	5/5
	Trace	0/5	0/5	1/5	0/5
Color	Straw	5/5	5/5	5/5	5/5

Summary of urinalysis					
					Sex : Female
Test Item		Group(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Glucose	Negative	5/5	5/5	5/5	5/5
Bilirubin	Negative	5/5	5/5	5/5	5/5
Ketone body	Negative	5/5	5/5	3/5	5/5
	Trace	0/5	0/5	2/5	0/5
Specific gravity	1.005	0/5	0/5	1/5	0/5
	1.010	3/5	5/5	2/5	4/5
	1.015	2/5	0/5	2/5	1/5
Occult blood	Negative	5/5	5/5	5/5	5/5
	7.5	0/5	0/5	1/5	0/5
pH	8	1/5	0/5	1/5	0/5
	8.5	4/5	4/5	2/5	5/5
	9	0/5	1/5	1/5	0/5
Protein	Negative	5/5	5/5	4/5	5/5
	Trace	0/5	0/5	1/5	0/5
Urobilinogen	0.2	5/5	5/5	5/5	5/5
Nitrite	Negative	5/5	5/5	5/5	5/5
Leukocyte	Negative	5/5	5/5	5/5	5/5
Color	Straw	5/5	5/5	5/5	5/5

Number of animals with the sign/number of animals examined

- 혈액학적 검사결과, 암·수 모든 시험군에서 시험물질과 관련된 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았음.

- 혈액생화학적 검사결과, 암컷 2,000 mg/kg/day 투여군의 GGT 수치가 대조군에 비해 증가하였지만 다른 검사항목에서 연관지을만한 변화가 동반되지 않은 단독변화이며, 암·수 상관성도 관찰되지 않아 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단됨. 그 외 암·수 모든 시험군에서 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았음.

Table 7-1. Serum biochemical values of male rats

SUMMARY OF SERUM BIOCHEMICAL TESTS				
STUDY : NT18-00140			SEX : MALE	
TEST ITEM	GROUP ¹ (mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
AST ¹ (IU/L)	132 ± 29 (5)	149 ± 14 (5)	146 ± 17 (5)	129 ± 21 (5)
ALT ² (IU/L)	34 ± 3 (5)	37 ± 4 (5)	36 ± 2 (5)	39 ± 5 (5)
GGT ³ (IU/L)	0.20 ± 0.45 (5)	0.00 ± 0.00 (5)	0.00 ± 0.00 (5)	0.20 ± 0.45 (5)
ALP ⁴ (IU/L)	712 ± 122 (5)	647 ± 120 (5)	552 ± 49 (5)	699 ± 119 (5)
BIL ⁵ (mg/dℓ)	0.04 ± 0.02 (5)	0.02 ± 0.02 (5)	0.02 ± 0.01 (5)	0.03 ± 0.01 (5)
BUN ⁶ (mg/dℓ)	13.5 ± 2.4 (5)	13.9 ± 2.2 (5)	13.0 ± 2.3 (5)	13.3 ± 1.8 (5)
CRE ⁷ (mg/dℓ)	0.42 ± 0.02 (5)	0.39 ± 0.04 (5)	0.37 ± 0.03 (5)	0.38 ± 0.03 (5)
UA ⁸ (mg/dℓ)	1.4 ± 0.5 (5)	1.6 ± 0.3 (5)	1.6 ± 0.3 (5)	1.5 ± 0.6 (5)
GLU ⁹ (mg/dℓ)	107 ± 27 (5)	112 ± 16 (5)	102 ± 4 (5)	112 ± 16 (5)
CHO ¹⁰ (mg/dℓ)	76 ± 10 (5)	62 ± 6 (5)	82 ± 20 (5)	69 ± 6 (5)
TG ¹¹ (mg/dℓ)	54 ± 29 (5)	69 ± 25 (5)	76 ± 16 (5)	59 ± 21 (5)
PRO ¹² (g/dℓ)	5.8 ± 0.1 (5)	5.7 ± 0.1 (5)	5.7 ± 0.3 (5)	5.7 ± 0.1 (5)
ALB ¹³ (g/dℓ)	2.5 ± 0.1 (5)	2.5 ± 0.1 (5)	2.6 ± 0.1 (5)	2.5 ± 0.1 (5)
A/G ratio ¹⁴	0.79 ± 0.05 (5)	0.79 ± 0.09 (5)	0.83 ± 0.05 (5)	0.77 ± 0.04 (5)
LDH ¹⁵ (IU/L)	1410 ± 626 (5)	1797 ± 352 (5)	1660 ± 340 (5)	1187 ± 373 (5)
CPK ¹⁶ (U/L)	941 ± 324 (5)	1166 ± 257 (5)	1070 ± 230 (5)	821 ± 184 (5)
Ca ¹⁷ (mg/dℓ)	8.9 ± 0.2 (5)	9.0 ± 0.2 (5)	9.0 ± 0.2 (5)	9.0 ± 0.1 (5)
IP ¹⁸ (mg/dℓ)	8.8 ± 0.3 (5)	8.5 ± 0.3 (5)	8.3 ± 0.5 (5)	8.2 ± 0.3 (5)
Mg ¹⁹ (mg/dℓ)	2.0 ± 0.2 (5)	2.0 ± 0.1 (5)	2.0 ± 0.1 (5)	2.0 ± 0.1 (5)
Na ²⁰ (mmol/L)	146 ± 2 (5)	146 ± 1 (5)	146 ± 1 (5)	146 ± 0 (5)
K ²¹ (mmol/L)	4.7 ± 0.3 (5)	4.9 ± 0.1 (5)	4.8 ± 0.1 (5)	4.8 ± 0.2 (5)
Cl ²² (mmol/L)	103 ± 1 (5)	103 ± 2 (5)	102 ± 2 (5)	102 ± 1 (5)

Table 7-2. Serum biochemical values of female rats

SUMMARY OF SERUM BIOCHEMICAL TESTS				
STUDY : NT18-00140			SEX : FEMALE	
TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
AST ¹ (IU/L)	114 ± 22 (5)	94 ± 19 (5)	105 ± 20 (5)	96 ± 20 (5)
ALT ² (IU/L)	30 ± 6 (5)	28 ± 4 (5)	30 ± 6 (5)	27 ± 3 (5)
GGT ³ (IU/L)	0.20 ± 0.45 (5)	0.00 ± 0.00 (5)	0.20 ± 0.45 (5)	0.80* ± 0.45 (5)
ALP ⁴ (IU/L)	422 ± 138 (5)	343 ± 90 (5)	426 ± 95 (5)	366 ± 30 (5)
BIL ⁵ (mg/dl)	0.02 ± 0.02 (5)	0.02 ± 0.01 (5)	0.02 ± 0.02 (5)	0.04 ± 0.01 (5)
BUN ⁶ (mg/dl)	16.4 ± 3.6 (5)	13.6 ± 2.1 (5)	12.6 ± 2.3 (5)	13.7 ± 3.7 (5)
CRE ⁷ (mg/dl)	0.49 ± 0.14 (5)	0.41 ± 0.04 (5)	0.38 ± 0.03 (5)	0.40 ± 0.07 (5)
UA ⁸ (mg/dl)	1.3 ± 0.4 (5)	1.1 ± 0.3 (5)	1.1 ± 0.1 (5)	1.0 ± 0.2 (5)
GLU ⁹ (mg/dl)	121 ± 9 (5)	123 ± 3 (5)	118 ± 18 (5)	118 ± 11 (5)
CHO ¹⁰ (mg/dl)	77 ± 11 (5)	73 ± 15 (5)	68 ± 11 (5)	72 ± 9 (5)
TG ¹¹ (mg/dl)	14 ± 7 (5)	22 ± 5 (5)	20 ± 6 (5)	19 ± 7 (5)
PRO ¹² (g/dl)	6.0 ± 0.2 (5)	6.1 ± 0.4 (5)	6.0 ± 0.3 (5)	6.0 ± 0.1 (5)
ALB ¹³ (g/dl)	2.8 ± 0.2 (5)	2.9 ± 0.3 (5)	2.8 ± 0.1 (5)	2.7 ± 0.1 (5)
A/G ratio ¹⁴	0.87 ± 0.06 (5)	0.90 ± 0.05 (5)	0.88 ± 0.06 (5)	0.85 ± 0.06 (5)
LDH ¹⁵ (IU/L)	748 ± 421 (5)	606 ± 421 (5)	679 ± 306 (5)	508 ± 343 (5)
CPK ¹⁶ (U/L)	575 ± 187 (5)	478 ± 302 (5)	479 ± 207 (5)	425 ± 181 (5)
Ca ¹⁷ (mg/dl)	9.0 ± 0.3 (5)	9.1 ± 0.2 (5)	9.1 ± 0.2 (5)	9.1 ± 0.2 (5)
P ¹⁸ (mg/dl)	7.5 ± 0.6 (5)	7.2 ± 0.3 (5)	7.7 ± 0.8 (5)	7.1 ± 0.3 (5)
Mg ¹⁹ (mg/dl)	2.0 ± 0.1 (5)	1.9 ± 0.2 (5)	2.0 ± 0.1 (5)	1.9 ± 0.2 (5)
Na ²⁰ (mmol/L)	145 ± 1 (5)	144 ± 1 (5)	145 ± 0 (5)	144 ± 1 (5)
K ²¹ (mmol/L)	4.4 ± 0.2 (5)	4.2 ± 0.2 (5)	4.4 ± 0.2 (5)	4.3 ± 0.2 (5)
Cl ²² (mmol/L)	103 ± 2 (5)	103 ± 1 (5)	103 ± 1 (5)	103 ± 1 (5)

- 암·수 모든 시험동물에 대한 부검결과, 시험물질 투여와 관련된 육안적인 이상소견은 관찰되지 않았음.

Table 8. Gross findings of rats

SUMMARY OF GROSS FINDINGS					
STUDY : NT18-00140			SEX : MALE		
ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross findings detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

SEX : FEMALE					
ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross findings detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

- 절대 및 상대장기중량 측정결과, 암·수 모든 시험군에서 시험물질과 관련된 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았음.

Table 9-1. Absolute organ weight of male rats

SUMMARY OF ABSOLUTE ORGAN WEIGHTS(g)				
STUDY : NT18-00140				SEX : MALE
ORGANS	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Body weight	303.36 ± 13.11 (5)	296.21 ± 5.45 (5)	314.84 ± 12.56 (5)	300.40 ± 19.25 (5)
Testis(Lt.)	1.4453 ± 0.0710 (5)	1.4147 ± 0.1979 (5)	1.3825 ± 0.1285 (5)	1.4781 ± 0.0462 (5)
Testis(Rt.)	1.4605 ± 0.0561 (5)	1.4359 ± 0.1924 (5)	1.3800 ± 0.1125 (5)	1.5071 ± 0.0786 (5)
Prostate	0.3573 ± 0.0799 (5)	0.3448 ± 0.1016 (5)	0.4143 ± 0.0552 (5)	0.3563 ± 0.0644 (5)
Spleen	0.6669 ± 0.1302 (5)	0.7888 ± 0.0332 (5)	0.8766 ± 0.1267 (5)	0.6813 ± 0.0828 (5)
Liver	9.2621 ± 1.2073 (5)	9.3209 ± 0.4374 (5)	10.1196 ± 0.7025 (5)	9.7505 ± 0.9355 (5)
Adrenal gland(Lt.)	0.0278 ± 0.0035 (5)	0.0248 ± 0.0048 (5)	0.0258 ± 0.0027 (5)	0.0256 ± 0.0044 (5)
Adrenal gland(Rt.)	0.0251 ± 0.0045 (5)	0.0223 ± 0.0044 (5)	0.0243 ± 0.0019 (5)	0.0249 ± 0.0045 (5)
Kidney(Lt.)	1.2425 ± 0.1376 (5)	1.2251 ± 0.0726 (5)	1.3449 ± 0.0524 (5)	1.2854 ± 0.0828 (5)
Kidney(Rt.)	1.2691 ± 0.1354 (5)	1.2287 ± 0.0451 (5)	1.3833 ± 0.0692 (5)	1.3057 ± 0.0907 (5)
Heart	1.1723 ± 0.0992 (5)	1.2634 ± 0.0960 (5)	1.2940 ± 0.1132 (5)	1.2800 ± 0.1049 (5)
Lung	1.3292 ± 0.1104 (5)	1.2889 ± 0.0909 (5)	1.4009 ± 0.0729 (5)	1.3022 ± 0.1394 (5)
Brain	2.0057 ± 0.0441 (5)	1.9935 ± 0.0603 (5)	2.0794 ± 0.0566 (5)	1.9935 ± 0.1193 (5)
Pituitary gland	0.0115 ± 0.0016 (5)	0.0117 ± 0.0018 (5)	0.0121 ± 0.0014 (5)	0.0139 ± 0.0013 (5)
Thymus	0.6202 ± 0.1023 (5)	0.6646 ± 0.1078 (5)	0.6788 ± 0.1046 (5)	0.6250 ± 0.0589 (5)

Table 9-2. Absolute organ weight of female rats
SUMMARY OF ABSOLUTE ORGAN WEIGHTS(g)

ORGANS	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Body weight	208.30 ± 5.86 (5)	208.18 ± 4.61 (5)	216.09 ± 9.35 (5)	207.50 ± 7.78 (5)
Ovary(Lt.)	0.0483 ± 0.0105 (5)	0.0420 ± 0.0129 (5)	0.0429 ± 0.0053 (5)	0.0464 ± 0.0112 (5)
Ovary(Rt.)	0.0496 ± 0.0065 (5)	0.0444 ± 0.0102 (5)	0.0437 ± 0.0068 (5)	0.0506 ± 0.0095 (5)
Uterus	0.6267 ± 0.2570 (5)	0.3036 ± 0.1218 (5)	0.4785 ± 0.1242 (5)	0.5346 ± 0.1108 (5)
Spleen	0.5014 ± 0.0914 (5)	0.5082 ± 0.0479 (5)	0.5542 ± 0.0888 (5)	0.5772 ± 0.1125 (5)
Liver	6.5718 ± 0.7215 (5)	6.3757 ± 0.3106 (5)	6.8452 ± 0.6254 (5)	6.6325 ± 0.5709 (5)
Adrenal gland(Rt.)	0.0331 ± 0.0033 (5)	0.0322 ± 0.0058 (5)	0.0323 ± 0.0044 (5)	0.0320 ± 0.0036 (5)
Adrenal gland(Lt.)	0.0335 ± 0.0041 (5)	0.0290 ± 0.0070 (5)	0.0303 ± 0.0090 (5)	0.0309 ± 0.0025 (5)
Kidney(Lt.)	0.9385 ± 0.0968 (5)	0.8573 ± 0.0678 (5)	0.9384 ± 0.1038 (5)	0.8901 ± 0.0808 (5)
Kidney(Rt.)	0.9692 ± 0.0787 (5)	0.8975 ± 0.0592 (5)	0.9909 ± 0.0886 (5)	0.9219 ± 0.0881 (5)
Heart	0.8861 ± 0.0373 (5)	0.9468 ± 0.0532 (5)	0.9644 ± 0.1039 (5)	0.9100 ± 0.1100 (5)
Lung	1.1488 ± 0.0407 (5)	1.0894 ± 0.0360 (5)	1.1418 ± 0.0642 (5)	1.1626 ± 0.0861 (5)
Brain	1.9150 ± 0.0757 (5)	1.8692 ± 0.0912 (5)	1.9291 ± 0.1076 (5)	1.9343 ± 0.0904 (5)
Pituitary gland	0.0157 ± 0.0026 (5)	0.0138 ± 0.0031 (5)	0.0152 ± 0.0021 (5)	0.0149 ± 0.0041 (5)
Thymus	0.5801 ± 0.0535 (5)	0.5277 ± 0.0754 (5)	0.5524 ± 0.1213 (5)	0.6000 ± 0.1376 (5)

- 이상의 결과로 보아, 본 시험 조건에서 Sprague-Dawley 계통의 암·수 랫드에 시험물질인 증숙생강추출분말을 2 주 반복 경구투여한 결과, 시험물질에 의한 특이한 이상변화는 관찰되지 않았음. 따라서, 추후 진행될 13주 반복시험에서는 고용량을 2,000 mg/kg/day로 설정하여도 무난할 것으로 판단됨.

(바) SD 랫드를 이용한 증숙생강추출분말의 13주 반복 경구투여 독성시험

① 연구내용

- 본 시험은 SD계통 암·수 랫드에 시험물질인 증숙생강추출분말을 13 주간 반복 경구투여 하였을 때 나타나는 독성을 조사하여 무독성량 및 표적 장기를 알아보기 위하여 실시함.
- 시험물질은 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg/day 용량으로 시험군을 설정하여 부형제 대조군과 비교함. 실험기간 동안 사망률, 일반증상, 체중변화, 사료섭취량, 안검사, 요검사, 혈액학적 검사, 혈액응고시간 검사, 혈액생화학적 검사, 부검소견, 장기중량 및 조직 병리학적 소견을 관찰함.

② 연구결과

- 본 시험은 Sprague-Dawley(SD) 계통 암·수 랫드에 시험물질인 증숙생강추출분말을 13 주간 반복 경구투여 하였을 때 나타나는 독성을 조사하여 무독성량 및 표적 장기를 알아보기 위하여 실시함.
- 시험물질은 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg/day 용량으로 시험군을 설정하여 부형제 대조군과 비교하였음. 실험기간 동안 사망률, 일반증상,

체중변화, 사료섭취량, 안검사, 요검사, 혈액학적 검사, 혈액응고시간 검사, 혈액생화학적 검사, 부검소견, 장기중량 및 조직병리학적 소견을 관찰함.

- 실험기간 동안 암·수 500, 1,000 및 2,000 mg/kg/day 시험군의 시험동물에서 투여 직후 산발적으로 유연이 관찰됨
- 수컷의 경우, 500 mg/kg/day 시험군은 총 0~5 수, 1,000 mg/kg/day 시험군은 2~10 수, 2,000 mg/kg/day 시험군은 5~10 수 매일 유연을 보였고, 암컷의 경우, 500 mg/kg/day 시험군은 0~5 수, 1,000 mg/kg/day 시험군은 4~10 수, 2,000 mg/kg/day 시험군은 3~10 수가 매일 산발적으로 유연을 보임.
- 투여용량이 증가할수록 유연의 빈도는 증가하였고, 저농도 투여군인 500 mg/kg/day 시험군은 시험 중반부터 유연이 거의 관찰되지 않았다. 이는 시험물질 투여 직후에만 일시적인 발생양상을 나타내고 회복기간 중에는 관찰되지 않아 일시적인 타액분비 촉진에 의한 것으로 사료되며 독성학적 의미는 없는 것으로 판단됨. 유연증상을 제외하고, 암·수 모든 시험군에서 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않았음.
- 체중측정 결과, 암·수 모든 시험군에서 시험물질과 관련된 변화는 관찰되지 않았음.

Table 2-1. Body weights of male rats

SUMMARY OF BODY WEIGHT(g)				
STUDY : GT18-0026				SEX : MALE
WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	210.98 ± 5.69 (10)	211.64 ± 6.27 (10)	212.81 ± 7.07 (10)	211.35 ± 6.16 (10)
1	284.91 ± 10.38 (10)	281.76 ± 11.18 (10)	287.13 ± 9.57 (10)	288.74 ± 11.22 (10)
2	317.77 ± 15.56 (10)	312.38 ± 13.84 (10)	320.72 ± 13.83 (10)	325.14 ± 15.08 (10)
3	393.27 ± 21.26 (10)	390.82 ± 19.32 (10)	397.66 ± 19.54 (10)	404.71 ± 26.10 (10)
4	436.52 ± 25.64 (10)	417.63 ± 21.27 (10)	440.85 ± 24.61 (10)	450.92 ± 33.97 (10)
5	472.61 ± 27.82 (10)	449.64 ± 29.73 (10)	475.10 ± 26.91 (10)	484.12 ± 37.83 (10)
6	501.22 ± 27.67 (10)	475.54 ± 33.00 (10)	503.18 ± 33.39 (10)	513.94 ± 43.16 (10)
7	528.70 ± 27.86 (10)	503.13 ± 37.70 (10)	533.34 ± 33.98 (10)	542.52 ± 47.07 (10)
8	546.98 ± 28.66 (10)	522.40 ± 40.92 (10)	551.47 ± 34.06 (10)	564.56 ± 48.46 (10)
9	567.66 ± 30.15 (10)	544.44 ± 43.52 (10)	573.94 ± 37.44 (10)	586.01 ± 51.51 (10)
10	586.66 ± 30.64 (10)	566.50 ± 45.10 (10)	589.78 ± 40.09 (10)	607.11 ± 57.81 (10)
11	601.40 ± 32.16 (10)	583.13 ± 47.95 (10)	603.69 ± 45.37 (10)	627.43 ± 60.07 (10)
12	614.86 ± 35.00 (10)	595.02 ± 50.00 (10)	615.12 ± 50.55 (10)	639.23 ± 62.35 (10)
13	621.35 ± 34.75 (10)	600.33 ± 51.41 (10)	620.42 ± 53.82 (10)	646.77 ± 63.57 (10)
Gain*	410.36 ± 30.02 (10)	388.69 ± 48.34 (10)	407.62 ± 50.97 (10)	435.42 ± 60.85 (10)

Mean±S.D (Number of animals)

Table 2-2. Body weights of female rats

SUMMARY OF BODY WEIGHT(g)				
STUDY : GT18-00205				SEX : FEMALE
WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	177.95 ± 8.33 (10)	177.87 ± 4.45 (10)	179.13 ± 4.74 (10)	176.99 ± 9.52 (10)
1	209.08 ± 11.41 (10)	212.36 ± 8.33 (10)	211.33 ± 7.19 (10)	210.64 ± 11.49 (10)
2	234.52 ± 16.63 (10)	236.90 ± 12.59 (10)	237.51 ± 11.24 (10)	230.59 ± 11.52 (10)
3	249.68 ± 17.07 (10)	255.03 ± 17.69 (10)	256.89 ± 13.04 (10)	249.15 ± 13.62 (10)
4	268.53 ± 20.18 (10)	271.68 ± 17.80 (10)	269.14 ± 13.36 (10)	263.64 ± 18.65 (10)
5	284.43 ± 19.46 (10)	286.72 ± 19.89 (10)	286.98 ± 17.40 (10)	279.77 ± 18.25 (10)
6	296.21 ± 17.33 (10)	300.34 ± 21.01 (10)	297.69 ± 22.18 (10)	290.41 ± 18.79 (10)
7	305.22 ± 21.57 (10)	309.93 ± 24.65 (10)	309.18 ± 29.18 (10)	297.32 ± 17.89 (10)
8	318.39 ± 22.11 (10)	317.74 ± 24.83 (10)	320.29 ± 29.98 (10)	307.63 ± 20.24 (10)
9	326.63 ± 23.49 (10)	325.02 ± 26.73 (10)	329.99 ± 33.33 (10)	314.55 ± 19.37 (10)
10	336.64 ± 24.95 (10)	331.92 ± 27.78 (10)	337.63 ± 38.37 (10)	321.33 ± 16.27 (10)
11	342.65 ± 29.46 (10)	339.13 ± 30.92 (10)	344.74 ± 40.67 (10)	332.23 ± 16.75 (10)
12	350.16 ± 31.61 (10)	344.66 ± 29.11 (10)	351.83 ± 40.55 (10)	337.60 ± 17.24 (10)
13	354.46 ± 34.25 (10)	348.20 ± 33.12 (10)	355.04 ± 46.19 (10)	338.39 ± 18.17 (10)
Gain*	176.51 ± 30.88 (10)	170.33 ± 31.05 (10)	175.91 ± 44.64 (10)	161.40 ± 17.62 (10)

Mean±S.D (Number of animals)

- 사료섭취량 측정결과, 암·수 모든 시험군에서 시험물질과 관련된 변화는 관찰되지 않았음.

Table 3-1. Food consumption of male rats

SUMMARY OF DAILY MEAN FOOD CONSUMPTION(g)				
STUDY : GT18-00205				SEX : MALE
WEEK	GROUP(ng/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	23.42 ± 1.30 (5)	22.37 ± 1.07 (5)	23.70 ± 2.60 (5)	23.51 ± 1.69 (5)
1	27.33 ± 1.89 (5)	24.98 ± 4.16 (5)	25.91 ± 1.36 (5)	27.04 ± 2.26 (5)
2	17.77 ± 2.22 (5)	19.31 ± 1.23 (5)	18.49 ± 1.65 (5)	19.37 ± 0.53 (5)
3	30.11 ± 3.53 (5)	28.72 ± 3.63 (5)	29.53 ± 2.08 (5)	31.94 ± 1.70 (5)
4	30.63 ± 3.08 (5)	27.40 ± 2.41 (5)	31.08 ± 3.29 (5)	30.09 ± 3.00 (5)
5	31.40 ± 1.70 (5)	28.46 ± 2.24 (5)	30.59 ± 0.54 (5)	30.12 ± 2.03 (5)
6	31.68 ± 1.53 (5)	28.86 ± 2.67 (5)	30.78 ± 1.90 (5)	32.62 ± 2.29 (5)
7	25.88 ± 1.41 (5)	26.22 ± 2.17 (5)	25.38 ± 2.19 (5)	26.77 ± 0.48 (5)
8	29.58 ± 2.14 (5)	27.97 ± 2.03 (5)	30.92 ± 2.89 (5)	31.65 ± 2.42 (5)
9	29.31 ± 3.14 (5)	27.28 ± 1.63 (5)	28.01 ± 2.13 (5)	30.24 ± 1.71 (5)
10	29.41 ± 0.79 (5)	28.15 ± 1.86 (5)	27.97 ± 3.00 (5)	29.47 ± 2.02 (5)
11	28.58 ± 2.09 (5)	27.88 ± 2.70 (5)	28.53 ± 2.46 (5)	29.58 ± 1.81 (5)
12	28.41 ± 1.91 (5)	28.14 ± 2.70 (5)	28.51 ± 1.66 (5)	28.66 ± 3.26 (5)
13	26.67 ± 2.00 (5)	24.91 ± 2.63 (5)	27.67 ± 2.52 (5)	27.44 ± 3.45 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

Table 3-2. Food consumption of female rats

SUMMARY OF DAILY MEAN FOOD CONSUMPTION(g)				
STUDY : GT18-00205				SEX : FEMALE
WEEK	GROUP(ng/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	18.26 ± 1.32 (5)	20.02 ± 0.45 (5)	19.35 ± 1.73 (5)	17.41 ± 2.60 (5)
1	19.19 ± 2.77 (5)	19.25 ± 2.41 (5)	18.84 ± 1.82 (5)	18.75 ± 2.06 (5)
2	19.75 ± 2.60 (5)	19.91 ± 1.55 (5)	19.91 ± 2.73 (5)	18.50 ± 2.21 (5)
3	18.97 ± 3.19 (5)	20.09 ± 3.57 (5)	20.52 ± 2.33 (5)	20.28 ± 1.38 (5)
4	21.06 ± 3.30 (5)	20.61 ± 3.32 (5)	21.34 ± 1.78 (5)	20.26 ± 2.63 (5)
5	22.60 ± 1.60 (5)	20.76 ± 2.84 (5)	21.12 ± 3.23 (5)	20.58 ± 1.95 (5)
6	19.92 ± 2.13 (5)	20.26 ± 2.88 (5)	19.64 ± 2.21 (5)	19.11 ± 2.98 (5)
7	19.39 ± 3.69 (5)	19.17 ± 2.87 (5)	20.14 ± 3.14 (5)	17.63 ± 0.48 (5)
8	20.35 ± 2.88 (5)	18.70 ± 2.02 (5)	20.54 ± 2.34 (5)	18.69 ± 2.60 (5)
9	20.20 ± 2.22 (5)	19.13 ± 2.43 (5)	19.93 ± 2.47 (5)	17.50 ± 2.05 (5)
10	20.43 ± 2.65 (5)	19.00 ± 1.55 (5)	21.00 ± 2.00 (5)	18.28 ± 2.83 (5)
11	18.66 ± 3.47 (5)	18.67 ± 1.30 (5)	19.86 ± 2.24 (5)	21.13 ± 1.61 (5)
12	18.99 ± 2.63 (5)	18.58 ± 0.95 (5)	19.51 ± 2.98 (5)	18.62 ± 1.42 (5)
13	17.67 ± 1.22 (5)	17.20 ± 1.36 (5)	18.42 ± 1.14 (5)	15.56 ± 2.43 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

- 안검사 결과, 안검사를 실시한 모든 시험동물에서 이상소견은 관찰되지 않았음.

Table 4. Ophthalmological examination of rats

SUMMARY OF OPHTHALMOLOGICAL EXAMINATION									
STUDY : GT18-00205						SEX : MALE			
ORGANS	SIGNS	GROUP(ng/kg/day)							
		G1(0)		G2(500)		G3(1,000)		G4(2,000)	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Right eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100
Left eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100

SEX : FEMALE									
ORGANS	SIGNS	GROUP(ng/kg/day)							
		G1(0)		G2(500)		G3(1,000)		G4(2,000)	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Right eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100
Left eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100

Number of animals with the sign / Number of animals examined

- 요검사, 요침사 및 요량 측정결과, 암·수 모든 시험군의 모든 검사항목에서 시험물질과 관련된 유의한 차이는 관찰되지 않았음.

Table 5-1. Urinalysis of male rats

SUMMARY OF URINALYSIS					
STUDY : GT18-00205				SEX : MALE	
TEST ITEM		GROUP(ng/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Glucose	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Bilirubin	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Ketone body	Negative	2 / 5	1 / 5	2 / 5	0 / 5
	Trace	2 / 5	1 / 5	2 / 5	3 / 5
	1+	1 / 5	3 / 5	1 / 5	2 / 5
Specific gravity	1.005	0 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5
	1.010	3 / 5	3 / 5	3 / 5	0 / 5
	1.015	1 / 5	1 / 5	2 / 5	3 / 5
	1.020	1 / 5	0 / 5	0 / 5	2 / 5
Occult blood	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
	8.0	2 / 5	0 / 5	0 / 5	3 / 5
pH	8.5	2 / 5	4 / 5	4 / 5	2 / 5
	9.0	1 / 5	1 / 5	1 / 5	0 / 5
Protein	Negative	5 / 5	2 / 5	5 / 5	3 / 5
	Trace	0 / 5	3 / 5	0 / 5	2 / 5
Urobilinogen	0.2	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Nitrite	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Leukocyte	Negative	5 / 5	4 / 5	5 / 5	4 / 5
	Trace	0 / 5	1 / 5	0 / 5	1 / 5
Color	Straw	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

Table 5-2. Urinalysis of female rats

SUMMARY OF URINALYSIS					
STUDY : GT18-00205		SEX : FEMALE			
TEST ITEM		GROUP (mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Glucose	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Bilirubin	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Ketone body	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Specific gravity	1.010	4 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
	1.015	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
Occult blood	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
pH	8.5	5 / 5	4 / 5	4 / 5	3 / 5
	9	0 / 5	1 / 5	1 / 5	2 / 5
Protein	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Urobilinogen	0.2	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Nitrate	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Leukocyte	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Color	Straw	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

- 혈액학적 검사결과, 수컷 500, 및 1,000 mg/kg/day 투여군의 RBC 수치, 암컷 1,000 mg/kg/day 투여군의 RDW 수치가 부형제 대조군과 비교해 감소하였고, 수컷 1,000 및 2,000 mg/kg/day 투여군의 MCV, MCH 수치, 암컷 1,000 및 2,000 mg/kg/day 투여군의 MPV 수치가 부형제 대조군과 비교해 증가하였으나, 용량상관성을 보이지 않거나, 그 정도가 차이가 경미하여 모두 생물학적 변동범위에 속해 독성학적으로는 없었음.
- 혈액응고시간 검사결과, 수컷 1,000, 2,000 mg/kg/day 및 암컷 1,000 mg/kg/day 투여군의 APTT 수치가 부형제 대조군과 비교해 증가하였으나, 그 정도 차이가 경미 하여 생물학적 변동범위에 속할 뿐 아니라, 다른 시험 항목에서 연관성을 보이는 결과가 없었고, 용량-반응 상관성도 관찰되지 않아 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단됨.
- 혈액생화학적 검사결과, 수컷 500 mg/kg/day 투여군의 Mg 수치가 부형제 대조군 과 비교해 증가하였으나, 그 정도가 매우 경미하여 생물학적 변동범위에 속할 뿐 아니라, 용량-반응 상관성도 관찰되지 않아 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단됨.

Table 10-1. Serum biochemical values of male rats

SUMMARY OF SERUM BIOCHEMICAL TESTS				
STUDY : GT18-00205		SEX : MALE		
TEST ITEM	GROUP (ng/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
AST ¹ (IU/L)	96 ± 20 (10)	100 ± 21 (10)	94 ± 17 (10)	91 ± 14 (10)
ALT ² (IU/L)	45 ± 8 (10)	43 ± 5 (10)	40 ± 8 (10)	41 ± 8 (10)
ALP ³ (IU/L)	379 ± 138 (10)	316 ± 87 (10)	290 ± 50 (10)	283 ± 76 (10)
BIL ⁴ (ng/dl)	0.04 ± 0.03 (10)	0.05 ± 0.01 (10)	0.03 ± 0.02 (10)	0.04 ± 0.02 (10)
BUN ⁵ (ng/dl)	18.7 ± 1.9 (10)	19.5 ± 3.5 (10)	19.9 ± 3.5 (10)	18.3 ± 2.0 (10)
CRE ⁶ (ng/dl)	0.46 ± 0.03 (10)	0.49 ± 0.03 (10)	0.49 ± 0.03 (10)	0.47 ± 0.03 (10)
UA ⁷ (ng/dl)	0.8 ± 0.2 (10)	0.8 ± 0.2 (10)	1.0 ± 0.2 (10)	0.8 ± 0.2 (10)
GLU ⁸ (ng/dl)	182 ± 19 (10)	166 ± 27 (10)	160 ± 13 (10)	174 ± 22 (10)
CHO ⁹ (ng/dl)	90 ± 19 (10)	89 ± 17 (10)	83 ± 22 (10)	98 ± 16 (10)
TG ¹⁰ (ng/dl)	82 ± 26 (10)	58 ± 19 (10)	75 ± 63 (10)	85 ± 46 (10)
PRO ¹¹ (g/dl)	6.7 ± 0.3 (10)	6.4 ± 0.2 (10)	6.5 ± 0.3 (10)	6.6 ± 0.3 (10)
ALB ¹² (g/dl)	2.6 ± 0.1 (10)	2.6 ± 0.1 (10)	2.6 ± 0.1 (10)	2.6 ± 0.1 (10)
A/G ratio ¹³	0.63 ± 0.03 (10)	0.66 ± 0.05 (10)	0.66 ± 0.04 (10)	0.65 ± 0.03 (10)
LDH ¹⁴ (IU/L)	1031 ± 541 (10)	967 ± 570 (10)	943 ± 511 (10)	930 ± 385 (10)
CPK ¹⁵ (U/L)	527 ± 250 (10)	476 ± 250 (10)	464 ± 253 (10)	481 ± 177 (10)
Ca ¹⁶ (ng/dl)	9.7 ± 0.3 (10)	9.5 ± 0.3 (10)	9.7 ± 0.2 (10)	9.6 ± 0.2 (10)
IP ¹⁷ (ng/dl)	6.4 ± 0.5 (10)	6.5 ± 0.5 (10)	6.4 ± 0.4 (10)	6.5 ± 0.4 (10)
Mg ¹⁸ (ng/dl)	2.0 ± 0.1 (10)	2.1* ± 0.1 (10)	2.0 ± 0.1 (10)	2.0 ± 0.1 (10)
Na ¹⁹ (mmol/L)	143 ± 3 (10)	144 ± 1 (10)	144 ± 3 (10)	144 ± 2 (10)
K ²⁰ (mmol/L)	4.9 ± 0.3 (10)	4.8 ± 0.2 (10)	4.7 ± 0.2 (10)	5.0 ± 0.3 (10)
CP ²¹ (mmol/L)	103 ± 4 (10)	102 ± 2 (10)	103 ± 2 (10)	103 ± 3 (10)

Table 10-2. Serum biochemical values of female rats

SUMMARY OF SERUM BIOCHEMICAL TESTS												
STUDY : GT18-00205						SEX : FEMALE						
TEST ITEM	GROUP (mg/kg/day)											
	G1(0)			G2(500)			G3(1,000)			G4(2,000)		
AST ¹ (IU/L)	87	±	21 (10)	83	±	20 (10)	86	±	23 (10)	81	±	15 (10)
ALT ² (IU/L)	38	±	16 (10)	35	±	9 (10)	36	±	9 (10)	31	±	4 (10)
ALP ³ (IU/L)	148	±	38 (10)	149	±	49 (10)	148	±	62 (10)	133	±	49 (10)
BIL ⁴ (ng/dl)	0.08	±	0.03 (10)	0.07	±	0.03 (10)	0.06	±	0.02 (10)	0.07	±	0.02 (10)
BUN ⁵ (ng/dl)	17.9	±	2.1 (10)	20.9	±	6.0 (10)	17.7	±	2.9 (10)	16.5	±	2.2 (10)
CRE ⁶ (ng/dl)	0.54	±	0.04 (10)	0.55	±	0.07 (10)	0.56	±	0.06 (10)	0.54	±	0.06 (10)
UA ⁷ (ng/dl)	0.7	±	0.2 (10)	0.8	±	0.3 (10)	0.8	±	0.3 (10)	0.8	±	0.2 (10)
GLU ⁸ (ng/dl)	156	±	21 (10)	152	±	20 (10)	149	±	14 (10)	144	±	17 (10)
CHO ⁹ (ng/dl)	122	±	30 (10)	98	±	20 (10)	110	±	18 (10)	117	±	17 (10)
TG ¹⁰ (ng/dl)	94	±	50 (10)	83	±	59 (10)	75	±	69 (10)	57	±	30 (10)
PRO ¹¹ (g/dl)	7.4	±	0.4 (10)	7.4	±	0.5 (10)	7.5	±	0.4 (10)	7.7	±	0.4 (10)
ALB ¹² (g/dl)	3.3	±	0.2 (10)	3.2	±	0.3 (10)	3.3	±	0.2 (10)	3.3	±	0.3 (10)
A/G ratio ¹³	0.78	±	0.04 (10)	0.76	±	0.05 (10)	0.78	±	0.04 (10)	0.77	±	0.07 (10)
LDH ¹⁴ (IU/L)	817	±	476 (10)	790	±	437 (10)	853	±	468 (10)	830	±	456 (10)
CPK ¹⁵ (U/L)	423	±	239 (10)	425	±	273 (10)	423	±	217 (10)	417	±	207 (10)
Ca ¹⁶ (ng/dl)	10.1	±	0.2 (10)	9.8	±	0.4 (10)	9.0	±	3.0 (10)	9.9	±	0.4 (10)
IP ¹⁷ (ng/dl)	5.4	±	0.8 (10)	5.3	±	0.6 (10)	5.3	±	0.5 (10)	5.0	±	0.5 (10)
Mg ¹⁸ (ng/dl)	2.1	±	0.1 (10)	2.1	±	0.1 (10)	2.1	±	0.1 (10)	2.1	±	0.1 (10)
Na ¹⁹ (mmol/L)	139	±	2 (10)	138	±	3 (10)	138	±	2 (10)	138	±	3 (10)
K ²⁰ (mmol/L)	4.1	±	0.3 (10)	4.1	±	0.2 (10)	4.1	±	0.2 (10)	4.1	±	0.2 (10)
Cl ²¹ (mmol/L)	103	±	2 (10)	103	±	2 (10)	104	±	2 (10)	104	±	3 (10)

- 장기중량측정 결과, 암·수 모든 시험군에서 시험물질과 관련된 변화는 관찰되지 않았음.
- 계획부검 결과, 수컷 1,000 mg/kg/day 투여군 1 레의 우측 부고환에서 황색점 소견이 관찰되었고, 이에 대한 조직병리학적 검사 결과에서 편측성의 정자육아종으로 확인되었다. 하지만 중용량군에서 관찰된 단발성 소견으로서 시험물질에 의한영향은 아닌 것으로 사료됨.

Table 11. Gross findings of rats

SUMMARY OF GROSS FINDINGS					
STUDY : GT18-00205			SEX : MALE		
ORGANS	SIGNS	GROUP (mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Epididymis	Spot, yellow colored, right	0 / 10	0 / 10	1 / 10	0 / 10
Other organs	No gross findings detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10

			SEX : FEMALE		
ORGANS	SIGNS	GROUP (mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross findings detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10

Number of animals with the sign / Number of animals examined

- 암·수 부형제대조군 및 2,000 mg/kg/day 투여군의 장기·조직에 대한 조직병리학적 검사 결과, 간에서 국소성 괴사 및 담관과다형성, 신장에서 안쪽줄무늬수질에 무기 질화, 췌장에 국소성의 섬유화를 동반한 섬세포 염증 및 다병소성의 갈색색소, 갑상선에 아가미끝낭, 폐에 국소성으로 세기관지폐포에 염증세포침윤, 뇌하수체 중간부 또는 원위부에 낭, 전립선 간질에 염증세포침윤 등이 관찰됨. 하지만 모두 단발성이었거나, 부형제 대조군과 시험군간 발생을 차이가 크지 않은 자연발생학적 소견으로서 독성학적 의미는 없었음.
- 이상의 결과로 보아, 본 시험 조건에서 시험물질인 증숙생강추출분말을 설치류인 Sprague-Dawley 랫드를 이용하여 13 주간 반복 경구투여한 결과, 시험물질에 의한 전신적인 독성학적 변화는 관찰되지 않았음. 따라서 본 시험물질의 무독성량 (NOAEL, No observed adverse effect level)은 2,000 mg/kg/day로 판단되며, 표적장기(target organ)는 관찰되지 않았음.

(사) Beagle dog을 이용한 증숙생강추출분말의 단회용량증가 경구투여 독성시험

① 연구내용

- 본 시험은 증숙생강추출분말을 비설치류인 Beagle dog에 단회용량증가 투여법을 이용하여 단회 경구투여하였을 때 나타나는 독성을 조사하기 위해서 수행. 시험물질을 125 및 250 mg/kg으로 투여하는 시험물질 투여군을 설정하여 군당 암수 각 1 마리에 단회 경구투여(1 차)한 후, 4일간의 회복기간을 둔 후, 500 및 1,000 mg/kg 으로 재투여 (2 차) 하였음.
- 시험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았음.
- 일반증상 관찰 결과, 2차 투여시, 암수 500 및 1,000 mg/kg 투여군 모든 동물에서 투여 후 약 1시간째에 구토가 관찰됨.
- 체중변화 관찰결과, 시험물질 투여와 관련된 체중변화의 이상은 관찰되지 않았음.
- 부검소견 관찰결과, 이상소견은 관찰되지 않았음.

② 연구결과

- 본 시험은 증숙생강추출분말을 비설치류인 Beagle dog에 단회용량증가 투여법을 이용하여 단회 경구투여하였을 때 나타나는 독성을 조사하기 위하여 수행함.
- 시험물질을 125 및 250 mg/kg 으로 투여하는 시험물질 투여군을 설정하여 군당 암수 각 1 마리에 단회 경구투여 (1 차)한 후, 4일간의 회복기간을 둔 후, 500 및 1,000 mg/kg 으로 재투여 (2차) 함.
- 일반증상 관찰 결과, 2차 투여시 암수 500 및 1,000 mg/kg 투여군에서 관찰된 구토는 시험물질 투여에 의한 변화로 판단하였으나, 체중변화 및 부검소견에서 시험물질의 투여와 관련된 어떠한 변화도 관찰되지 않았음.

Appendix 1-1. Mortality and clinical signs of dogs(1st administration)

MORTALITY AND CLINICAL SIGNS			
STUDY : GT18-00206		SEX : MALE	
Groups(mg/kg)	Animal ID	Signs	Observed on
G1 (125)	1	Normal	Day 0(0-6 hrs), 1-4
G2 (250)	2	Normal	Day 0(0-6 hrs), 1-4
SEX : FEMALE			
G1 (125)	3	Normal	Day 0(0-6 hrs), 1-4
G2 (250)	4	Normal	Day 0(0-6 hrs), 1-4

Appendix 1-2. Mortality and clinical signs of dogs(2nd administration)

MORTALITY AND CLINICAL SIGNS			
STUDY : GT18-00206		SEX : MALE	
Groups(mg/kg)	Animal ID	Signs	Observed on
G1 (500)	1	Normal Vomiting Terminal sacrifice	Day 0(0, 2-6 hrs), 1-14 Day 0(1 hr) Day 14
G2 (1,000)	2	Normal Vomiting Terminal sacrifice	Day 0(0, 2-6 hrs), 1-14 Day 0(1 hr) Day 14
SEX : FEMALE			
G1 (500)	3	Normal Vomiting Terminal sacrifice	Day 0(0, 2-6 hrs), 1-14 Day 0(1 hr) Day 14
G2 (1,000)	4	Normal Vomiting Terminal sacrifice	Day 0(0, 2-6 hrs), 1-14 Day 0(1 hr) Day 14

- 일반적으로 개는 구토증추가 발달하여 독성작용이 없이 경미한 위장관의 자극에 의하여 유발되기도 하고, 본 시험에서 구토는 투여 후 1시간 이내에 관찰되어 시험물질 풍미 또는 과량의 시험물질 적용에 따른 물리적인 작용에 의한 변화로 추정되므로, 독성학적으

로 유해한 변화는 아닌 것으로 판단됨.

- 시험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았고, 시험물질 투여와 관련된 체중변화 및 부검소견에서 아무런 이상이 관찰되지 않았음.

Appendix 3. Necropsy findings of dogs

NECROPSY FINDINGS				
STUDY : GT18-00206			SEX : MALE	
Groups (mg/kg)	Animal ID	Fate	Location	Necropsy findings
G1(500)	1	Terminal sacrifice		No gross findings
G2(1,000)	2	Terminal sacrifice		No gross findings
SEX : FEMALE				
G1(500)	3	Terminal sacrifice		No gross findings
G2(1,000)	4	Terminal sacrifice		No gross findings

- 이상의 결과로 보아, 본 시험조건 하에서 증수생강추출분말을 Beagle dog에 단회 경구투여하였을 때, 사망동물은 관찰되지 않았으며, 일반증상으로 구토가 관찰되었고, 그 외 시험물질 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았음. 따라서, 본 시험에서는 구토가 관찰되지 않는 용량을 기준으로 한 개략의 치사량은 250 mg/kg을 상회하는 것으로 판단됨.

(16) 체지방 조절 인체적용시험

(가) 이론적·실험적 접근방법

- ① 과제중 대상자에 대한 증수생강추출분말 (GGE03)의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약대조 인체적용시험
- ② 본 인체적용시험은 리서치멘토 (CRO)를 통해 인도 시험기관에서 진행함

인체적용시험 연구계약서

코리엔트로 신약개발원 (이하, (갑)이라 한다.)과 주식회사 리서치멘토 (이하, (을)이라 한다.)는 "증수생강추출분말의 체지방 감소 기능성 및 안전성을 평가하기 위한 단회 경구 투여, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험"에 대한 계약 내용을 규정하기 위한 것으로, "을"은 "갑"으로부터 용역을 받아 인체적용시험 사이트개발, 사이트 계약업무 대행, 인도 인체적용시험 사이트관리등을 수행한다.

제 1조 (목적 및 범위)
본 계약의 목적은 "증수생강추출분말의 체지방 감소 기능성 및 안전성을 평가하기 위한 단회 경구 투여, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험"에 대한 계약 내용을 규정하기 위한 것으로, "을"은 "갑"으로부터 용역을 받아 인체적용시험 사이트개발, 사이트 계약업무 대행, 인도 인체적용시험 사이트관리등을 수행한다.

제 2조 (연구기간)
본 계약의 기간은 2020년 03월 02일부터 2020년 10월 31일까지로 한다.
단, (갑)과 (을) 양당 간의 합의에 의하여 조정할 수 있으며, 수정사항은 당 계약서에 기입 후, 날인하여 이행하며, 이와 관련 별도의 계약서는 작성하지 않는다.

제 3조 (연구비 지급 및 범위)
① 본 계약에 의하여 (갑)이 (을)에게 인체적용시험 사이트 관리에 대해 지급하는 비용은 명세서에 기재되어 있는 포함 항목 및 일련번호에 따른 정 (₩19,500,000, VAT 포함)으로, (갑)은 다음과 같이 (을)에게 지급한다.
1) 연구용역비(100%) : 금 일천구백오십만원 정 (₩19,500,000, VAT 포함) * 계약체결 후 1개월 이내
② (을)은 상기 제1항에서 수주한 연구비를 다른 용도의 자금과 혼동하여 이를 지급받고 관리하지 않는다.
③ 본 계약 제2조의 단서에 따라 연구기간이 연장되어 추가로 연구용역비가 투입될 경우, 양 당사자는 제1항의 연구비와 별도로 추가비용 및 지급시기 등을 협의할 수 있다.

제 4 조 (회계처리)
(을)은 "갑"으로부터 지급한 연구비를 별도의 계정으로 구분하여 투명하게 관리한다.

제 5 조 (연구 및 연구보고서 제출)
① (을)은 "을"이 보유하고 있는 전문지식을 충분히 활용하여 선명한 관리자의 주의 의무를 바탕으로 충실하게 연구를 수행해야 하며, (을)의 판단 외에 연구 수행의 제한 사항에 대하여 논의가 필요할 경우, "갑" 또는 "갑"이 지정한 자와 협의하여 진행해야 한다.
② (을)은 인체적용시험 종료일로부터 1개월 이내에 본 연구결과에 관한 연구보고서를 "갑"에게 제출하여야 한다.

제 출 문

본 보고서를 "증수생강추출분말의 체지방 감소 기능성 및 안전성을 평가하기 위한 단회경구, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험"의 연구계획서 개별 과제의 승격보고서로 제출합니다.

2020.04.29.

연구기관명: 리서치멘토 (대표이사) 과 장 열 인

KHIAOP

(나) 연구내용

① 요약

인체적용시험용 식품	증숙생강추출분말 (GGE03)
지표성분명	1-dehydro-6-gingerdione
연구제목	과체중 대상자에 대한 증숙생강추출분말(GGE03)의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조 인체 적용시험
시험책임자	Dr. Santosh Saklecha
인체적용시험 실시 기관	인도 Santosh hospital
연구목적	1차 목적: 과체중인 대상자의 체중감소와 지방감소에 있어 대조식품과 비교하여 GGE03 정제의 유효성을 평가한다. 2차 목적: 과체중인 대상자의 체중감소와 지방감소에 있어 대조식품과 비교하여 GGE03 정제의 안전성을 평가한다.
대상자수	계획한 대상자 수: 80 분석한 대상자 수: 80
선정에 대한 진단 및 주요 기준	BMI가 25.00 kg/m ² - 29.99 kg/m ² 인 18-60세의 성인남녀
시험식품 용법 및 용량	GGE03 240 mg을 1일 2정, 경구 섭취
기간	12주 중재
평가기준	1차 유효성 평가: 기저점 대비 섭취 종료시점에서 유효성 지표의 임상적으로 유의한 개선: 1. Body fat rate by dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) 2. Body fat amount by DEXA 2차 유효성 평가: 기저점 대비 섭취 종료 후의 2차 유효성 평가지표의 군내, 군간 비교: 1. Weight 2. Body Mass Index (BMI) 3. Lean mass by DEXA (Dual-energy X-ray absorptiometry) 4. Total cholesterol 5. High Density Lipoprotein (HDL)-Cholesterol 6. Low Density Lipoprotein (LDL)-Cholesterol 7. Triglyceride 8. Visceral fat area 9. Subcutaneous fat area

	<p>10. Total fat area</p> <p>안전성 평가:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 혈액 생화학적 검사: total bilirubin, alkaline phosphatase (ALP), total protein, albumin, aspartate aminotransferase(AST), alanine transaminase (ALT), gamma-glutamyl transferase (GGT), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, glucose, and uric acid 2. 혈액학적 검사: hemoglobin, hematocrit, red blood cell (RBC), white blood cell (WBC), and platelets 3. 소변검사: color, appearance, sugar, protein, pH, specific gravity, ketone bodies, urobilinogen, bile salts, and bile pigments, microscopic examination (pus cells, epithelial cells, RBCs, crystals, casts, and bacteria) <p>추가측정(Additional Measures): 평가변수 근거자료용</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Diet 2. Physical activity
<p>통계분석방법</p>	<p>모든 자료는 각 군에 해당되는 자료를 방문별로 요약되었다. 모든 기저점 수치, 인구학적 통계 및 유효성 평가지표 자료는 FAS(Full analysis set)로 요약하였다. 안전성 평가지표는 안전성 분석군으로 요약하였다. 자료는 각 군의 방문 시점 별 평균, 표준편차, 중앙값, 범위(최소값, 최대값)로 요약하였으며, 기저점으로부터 변화량을 계산하여 요약하였다. 통계분석은 CRAN R 4.0.2를 이용하여 분석하였다.</p>

② 기관윤리위원회 승인

Centers name/IDs	Santosh Hospital/01
Investigators	Dr. Santosh Saklecha
Ethics committees	Santosh Hospital Institutional Ethics Committee
Chairman' s	Mr. Ratheesh A
Date of approval of the final protocol	24 Feb 2020

③ 연구일정

	Screening Visit	Visit 1 (Day 1±5 days)	Visit 2 (Day 28±5 days)	Visit 3 (Day 56±5 days)	Visit 4 (Day 84±5 days)	Follow-up (Day 105±5 days)
Vitals (BP, body temperature, and pulse)	X	X	X	X	X	X
Physical examination (Height, weight, and BMI)	X	X	X	X	X	X
Lab assessment (Blood chemistry, hematology, and urine analysis)		X			X	
DEXA scan		X			X	
Diet and physical activity questionnaire		X			X	
Assessment of AE/SAE			X	X	X	X
AE=adverse event; BMI= body mass index; BP=blood pressure; DEXA= dual-energy X-ray absorptiometry.						

④ 인체적용시험 승인문서 (CTRI) 대표페이지

Clinical Trial Details (PDF Generation Date :- Wed, 08 Apr 2020 01:49:43 GMT)

CTRI Number	CTRI/2020/03/024216 [Registered on: 24/03/2020] - Trial Registered Prospectively	
Last Modified On	19/03/2020	
Post Graduate Thesis	No	
Type of Trial	Interventional	
Type of Study	Ayurveda	
Study Design	Randomized, Parallel Group, Placebo Controlled Trial	
Public Title of Study	A clinical study to evaluate the efficacy and safety of Investigational Product on overweight subjects.	
Scientific Title of Study	A 12-week, randomized, double-blinded, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of GGE03 on overweight subjects.	
Secondary IDs if Any	Secondary ID	Identifier
	NIL	NIL
Details of Principal Investigator or overall Trial Coordinator (multi-center study)	Details of Principal Investigator	
	Name	Dr Santosh Saklecha
	Designation	General Medicine Consultant
	Affiliation	Santosh Hospital
	Address	[Redacted]
	Phone	[Redacted]
	Fax	[Redacted]
	Email	[Redacted]
	Details Contact Person (Scientific Query)	Details Contact Person (Scientific Query)
Name		Dr Anam Khan
Designation		Medical Writer
Affiliation		Syncorp Clinicare Technologies Pvt Ltd
Address		[Redacted]
Phone		[Redacted]
Email		[Redacted]
Details Contact Person (Public Query)	Details Contact Person (Public Query)	
	Name	Subham Dutta
	Designation	Director
	Affiliation	Syncorp Clinicare Technologies Pvt. Ltd.
	Address	[Redacted]

⑤ 분석방법

㉓ 배경 및 인구학적 특성

- 인구학적 자료는 연령, 성별, 혼인여부를 제시하였으며, 기저점에서 수집된 몸무게, 키, BMI와 같은 신체계측 자료도 인구학적 자료로 제시하였음

㉔ 유효성 평가지표

- 유효성 평가지표는 DEXA를 통한 체지방률과 체지방량을 측정하여 분석하였고, 13개의 지표들이 측정되었음 (weight, waist circumference, hip circumference, waist to hip ratio, BMI, lean mass by DEXA, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride, visceral fat area, subcutaneous fat area, and total fat area)
- 체지방률과 체지방량의 변화는 12주 동안 기저점과 섭취종료시점의 변화를 비교하였으며, Paired t-test는 기저점과 섭취종료시점을 비교하였음
- 군간 비교는 Independent t-test를 하였으며, 두 군내 비교는 시험군과 대조군 각각 섭취종료시점에서 기저점을 뺀 값으로 비교하였음
- 기저점에서 그룹간 유의한 차이가 나타나면, 기저점을 공변량으로 하여 ANCOVA를 수행하였으며, 비모수적 ANCOVA 방법은 정규분포하지 않거나 종속 변수가 이변량 또는 순서 척도인 경우 비모수 ANCOVA를 사용하였음

㉔ 안전성 평가지표:

- 안전성 분석은 안전성 분석군으로 수행하였으며, 결측치는 대체하지 않았음
- 활력징후와 실험실적 지표는 값을 요약하였으며, 기저점과 섭취 종료시점에서 측정된 혈액검사를 평가하기 위해서 paired t-test를 하였음
- 추가적으로, 두 군간 비교(시험군과 대조군)는 Independent t-test를 하였으며, 적어도 한번의 이상반응(AE)이 발생한 대상자의 수는 빈도 및 백분율을 표로 작성하였음
- 이상반응의 수를 표로 작성하였으며, 각 이상반응이 발생한 대상자의 수(%)와 이상반응의 빈도 또한 제시하였음

㉕ 추가 지표:

- 군 간 생활습관 차이를 파악하기 위해 independent t-test 또는 chi-square test를 하여 대상자의 신체활동과 식이조사(diet)를 비교하였음

(다) 연구결과

① 시험대상자 및 탈락율

- ㉔ 선정/제외 기준에 적합한 총 82명의 대상자가 동의서를 작성 후 본 연구에 등록하였으며, 두 명의 대상자가 동의를 철회하여 본 연구를 완료하지 않았고, 총 80명의 대상자는 GGE03군(40명)과 대조군(40명)으로 무작위 배정되었음

㉕ 연구대상자의 인구학적 특성

	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	
Age (years)			0.359 ¹
Mean (SD)	44.6 (10.3)	42.5 (10.3)	
Median	46.0	41.5	
Range	19.0 - 60.0	20.0 - 59.0	
Gender			0.044 ²
Female	26 (65.0%)	17 (42.5%)	
Male	14 (35.0%)	23 (57.5%)	
Marital Status			0.166 ²
Married	39 (97.5%)	36 (90.0%)	
Unmarried	1 (2.5%)	4 (10.0%)	
1. Linear Model ANOVA			

2. Pearson' s Chi-squared test
ANOVA=analysis of variance; FAS=full analysis set; SD=standard deviation

② 시험대상자의 기초 활성 변화량

㉞ 수축기 혈압 (SBP)

- 수축기 혈압에 대한 군간 유의한 변화는 관찰되지 않음

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				< 0.001
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	124.5 (3.3)	120.2 (0.5)	-4.3 (3.2)	
	Median	125.0	120.0	-4.5	
	Min	120.0	120.0	-9.0	
	max	129.0	122.0	0.0	
Placebo	value				< 0.001
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	124.8 (3.0)	120.2 (0.4)	-4.6 (2.9)	
	Median	126.0	120.0	-6.0	
	Min	120.0	120.0	-9.0	
	max	129.0	121.0	0.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.690		
N	40	40			
Mean (SD)	-4.3 (3.2)	-4.6 (2.9)			
Median	-4.5	-6.0			
Min	-9.0	-9.0			
max	0.0	0.0			

㉟ 이완기 혈압 (DBP)

- 이완기 혈압 또한 군간 유의한 변화는 관찰되지 않음

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				< 0.001
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	83.9 (3.3)	80.2 (0.5)	-3.7 (3.2)	
	Median	84.0	80.0	-3.5	
	Min	80.0	80.0	-9.0	
	max	89.0	82.0	1.0	
Placebo	value				< 0.001
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	84.3 (3.1)	80.1 (0.3)	-4.2 (3.1)	
	Median	84.0	80.0	-4.0	
	Min	80.0	80.0	-9.0	
	max	89.0	81.0	0.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.460		
N	40	40			
Mean (SD)	-3.7 (3.2)	-4.2 (3.1)			
Median	-3.5	-4.0			
Min	-9.0	-9.0			

㊱ 체온

- 체온 또한 군간 유의한 변화는 관찰되지 않음

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.800
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	36.8 (0.3)	36.8 (0.3)	-0.0 (0.5)	
	Median	37.0	37.0	0.0	
	Min	36.2	36.1	-0.9	
Placebo	max	37.1	37.1	0.8	
	value				0.458
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	36.7 (0.3)	36.8 (0.3)	0.1 (0.4)	
	Median	37.0	37.0	0.0	
Min	36.1	36.1	-0.9		
max	37.0	37.0	0.9		
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.493		
N	40	40			
Mean (SD)	-0.0 (0.5)	0.1 (0.4)			
Median	0.0	0.0			
Min	-0.9	-0.9			
max	0.8	0.9			

㉔ 맥박

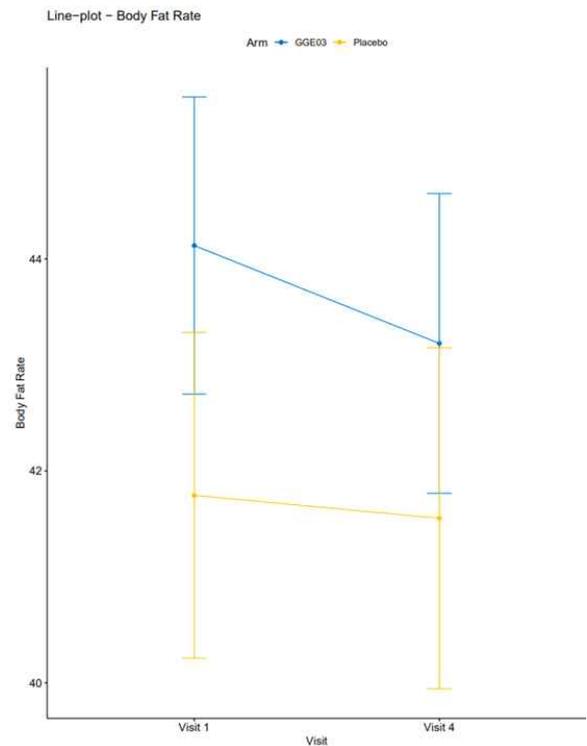
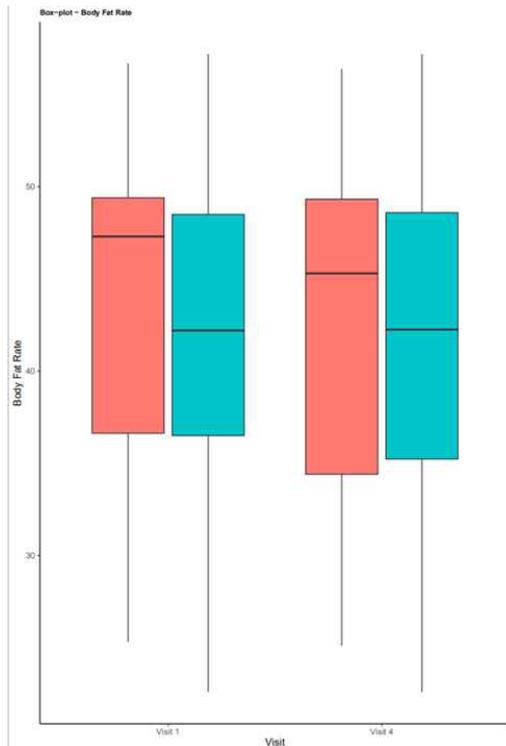
- 맥박 또한 구간 유의한 변화는 관찰되지 않음

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.747
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	74.4 (1.5)	74.5 (2.7)	-0.1 (2.9)	
	Median	74.0	75.0	0.0	
	Min	72.0	71.0	-4.0	
Placebo	max	79.0	86.0	12.0	
	value				0.084
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	74.7 (1.5)	74.2 (1.8)	-0.6 (2.0)	
	Median	75.0	74.5	-1.0	
Min	72.0	71.0	-4.0		
max	79.0	78.0	5.0		
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.212		
N	40	40			
Mean (SD)	0.1 (2.9)	-0.6 (2.0)			
Median	0.0	-1.0			
Min	-4.0	-4.0			
max	12.0	5.0			

③ 1차 유효성 평가 결과 분석

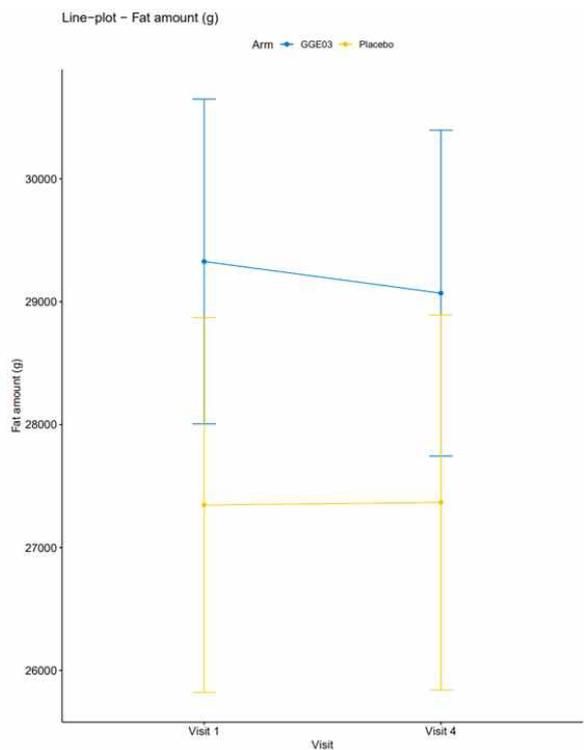
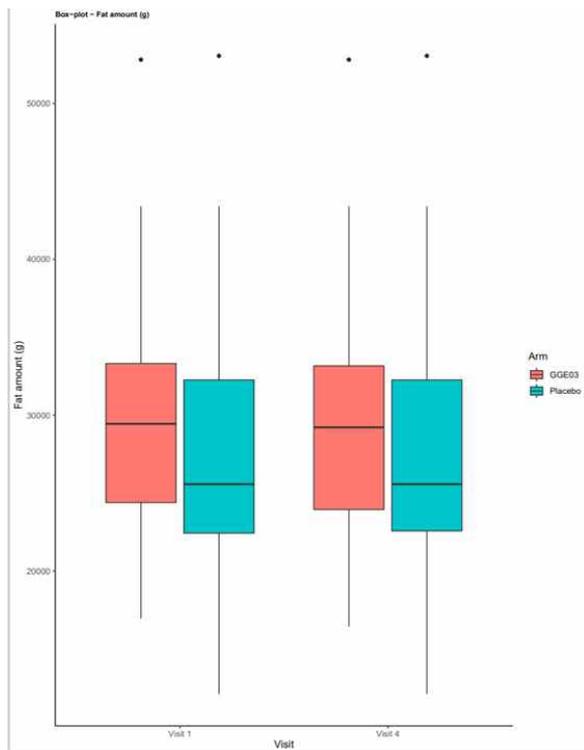
㉕ Body fat rate by DEXA

- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 DEXA-body fat rate를 분석한 결과 GGE03 섭취군은 -0.9, 위약군은 -0.2의 차이를 나타냈으며, 약 0.7 정도의 효력을 나타냈으나 통계적으로 유의하지는 않았음 (P>0.05)



㉞ Body fat amount by DEXA

- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 DEXA-body fat amount를 분석한 결과 GGE03 섭취군은 -257.9, 위약군은 20.8의 차이를 나타냈으며, 통계적으로 유의하게 약 278.7 정도의 체지방 감소 효능을 나타냈음 (P<0.05)

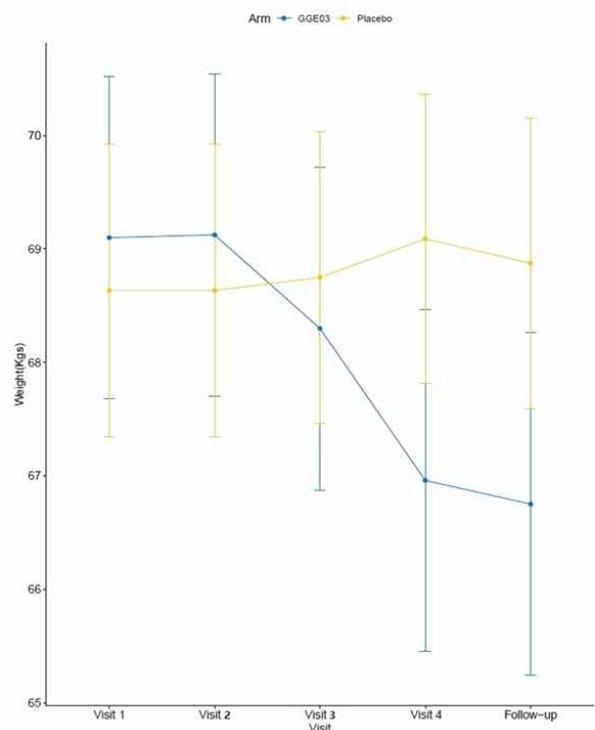
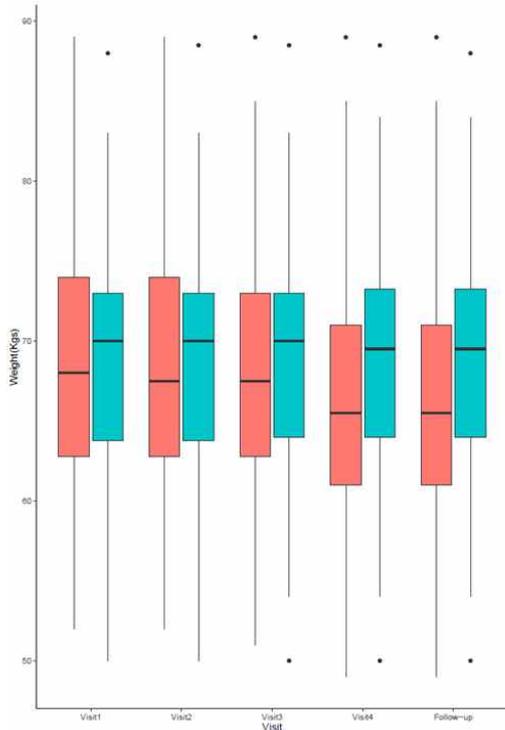


④ 2차 유효성 평가 결과 분석

㉞ 체중 변화

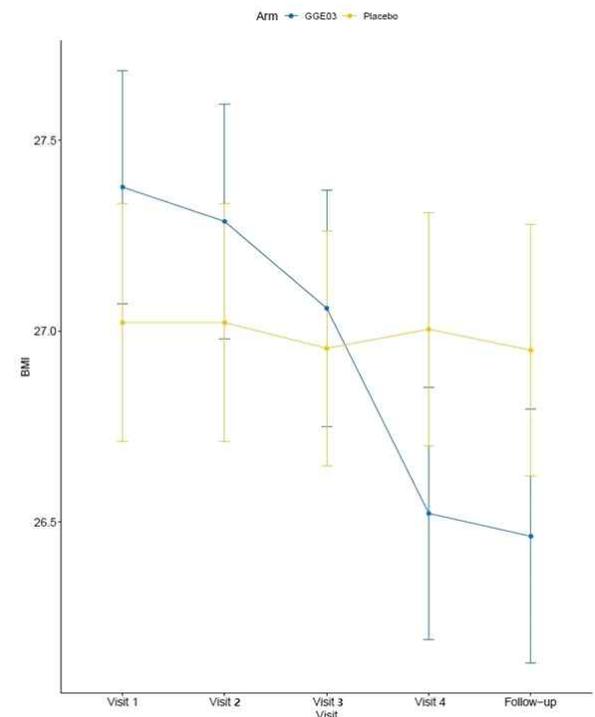
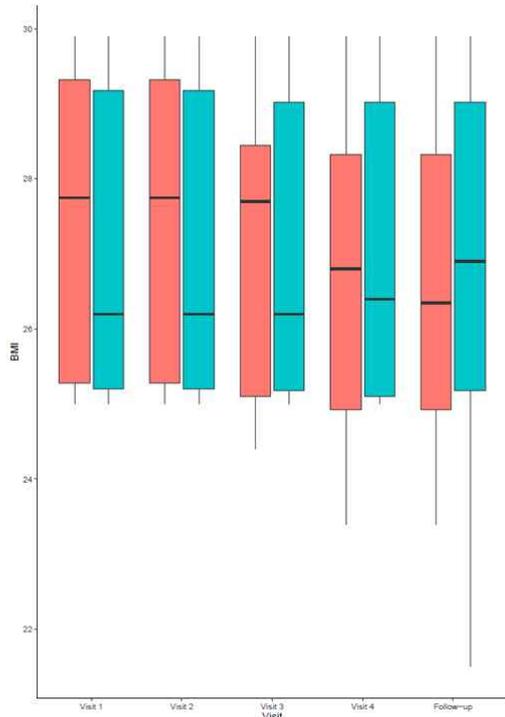
- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 체중을 분석한 결과 GGE03 섭취군은 -2.2, 위약군은

0.5의 차이를 나타냈으며, 약 2.7 kg 정도의 체중 감소 효과를 통계적으로 유의하게 나타냄 ($P < 0.05$)



㉞ Body Mass Index (BMI)

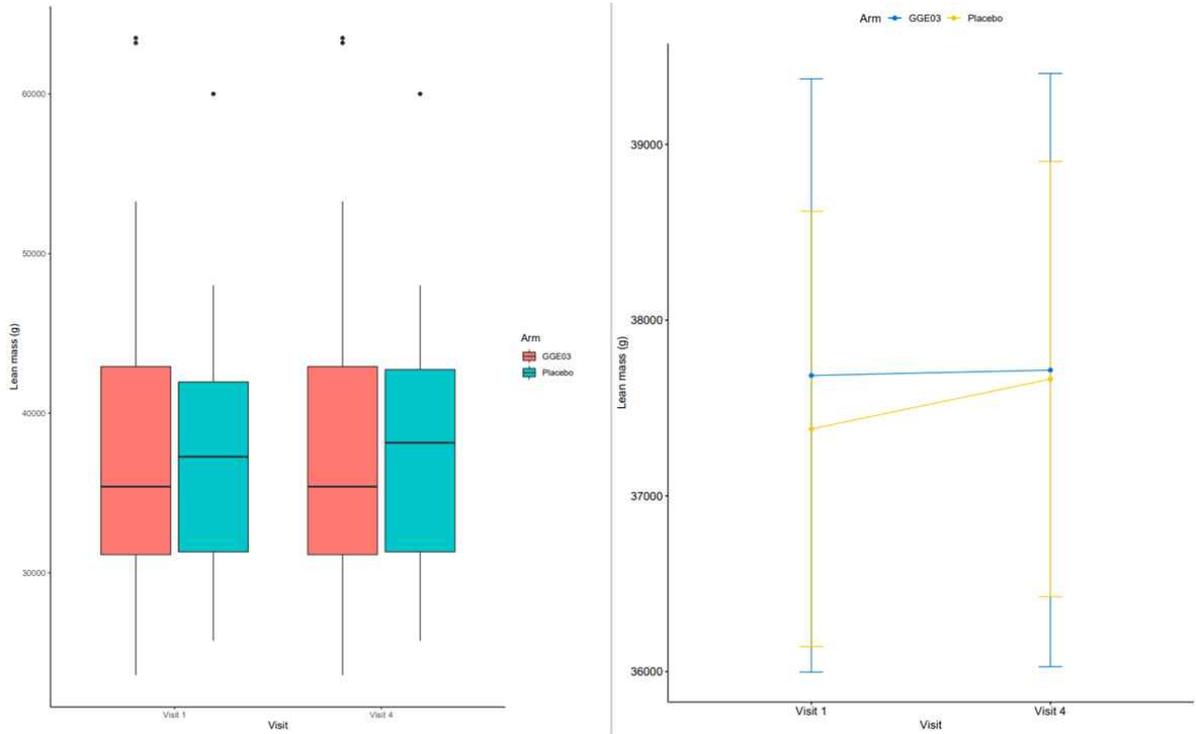
- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 BMI를 분석한 결과 GGE03 섭취군은 -0.8의 차이를, 위약군은 변화가 없었으며, 약 0.8 정도의 BMI 감소 효과를 통계적으로 유의하게 나타냄 ($P < 0.05$)



㉞ Lean Mass by DEXA

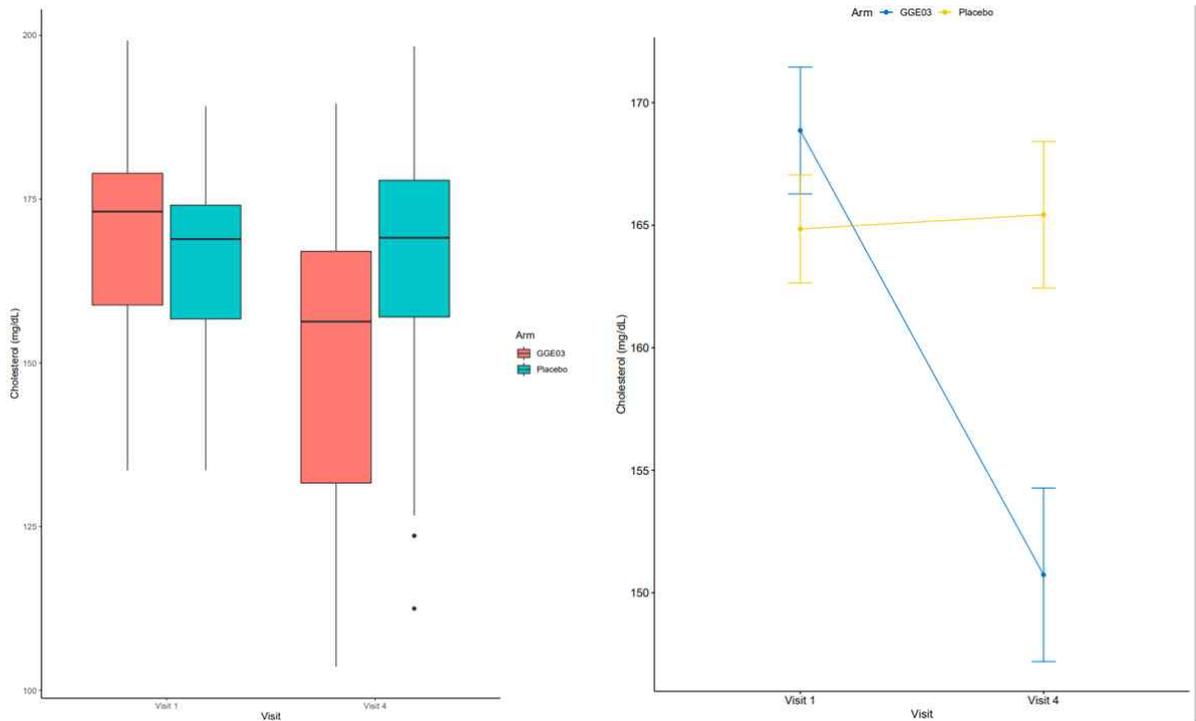
- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 lean mass를 분석한 결과 GGE03 섭취군은 34, 위약

군은 36으로, 군 간에거의 차이가 나지 않았으며, 통계적으로도 유의하지 않았음 (P>0.05)



㉠ Total Cholesterol

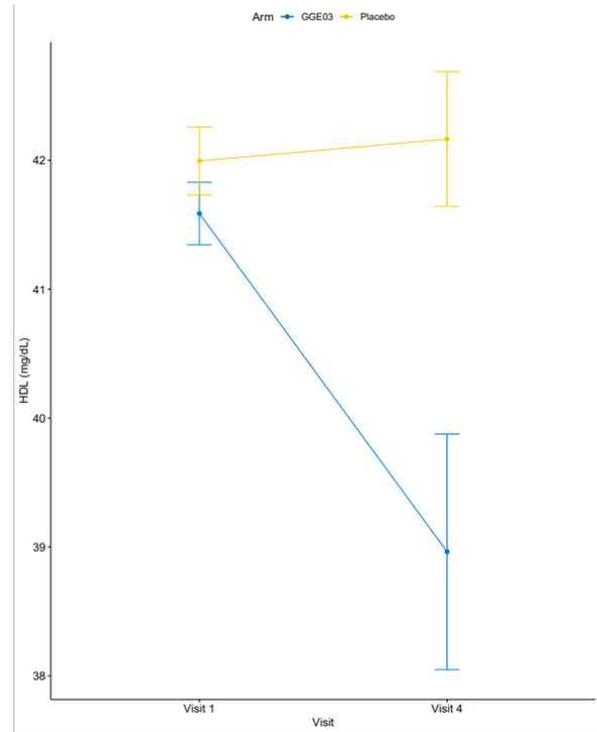
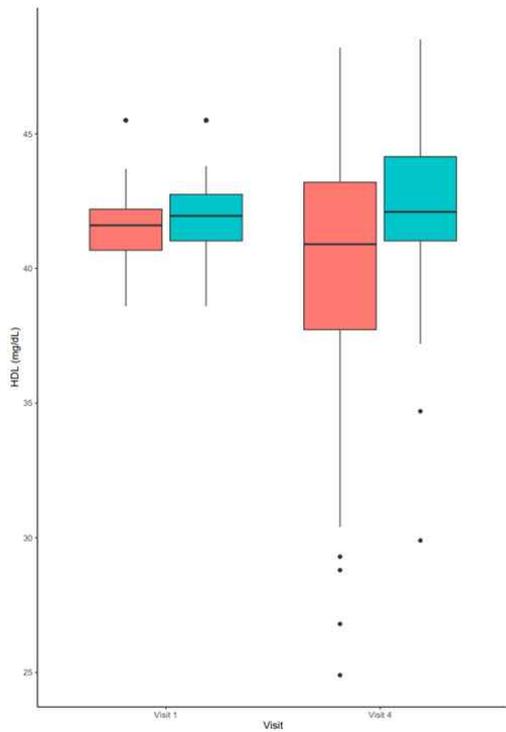
- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 total cholesterol을 분석한 결과 GGE03 섭취군은 - 18.1 mg/dL, 위약군은 0.6 mg/dL의 차이를 나타냈으며, 약 18.7 mg/dL 정도의 total cholesterol 감소 효과를 통계적으로 유의하게 나타냄 (P<0.05)



㉡ HDL-Cholesterol

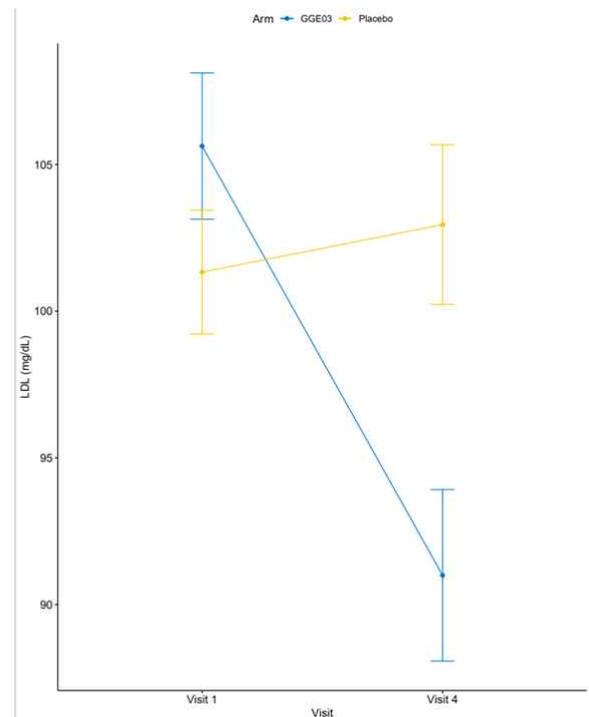
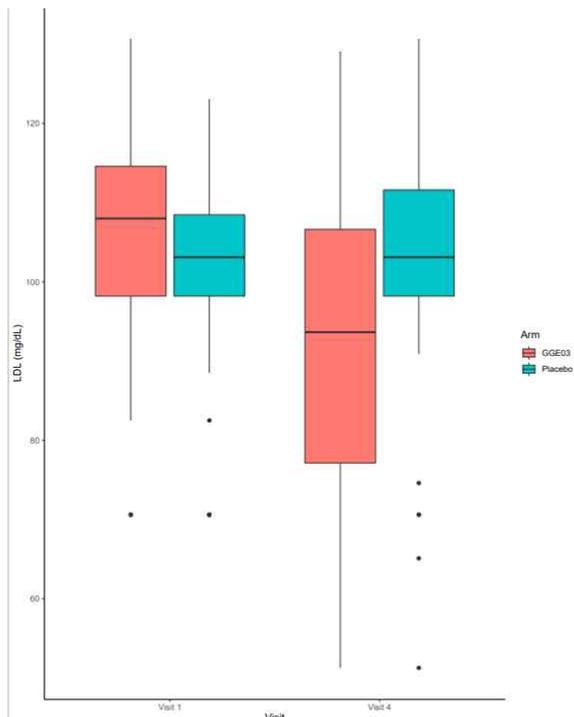
- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 HDL-cholesterol을 분석한 결과 GGE03 섭취군은 -

2.6 mg/dL, 위약군은 0.2 mg/dL의 차이를 나타냈으며, 약 2.8 mg/dL 정도의 HDL-cholesterol이 통계적으로 유의하게 감소하였음 ($P < 0.05$)



㉠ LDL-Cholesterol

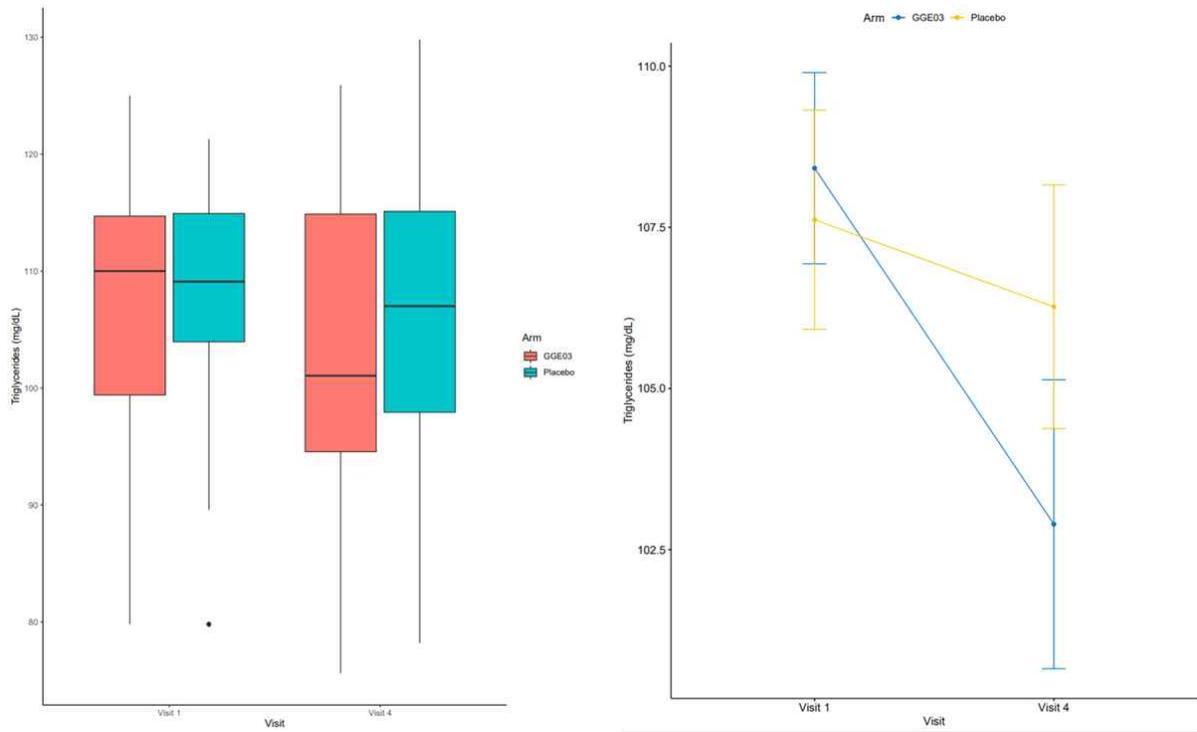
- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 LDL-cholesterol을 분석한 결과 GGE03 섭취군은 -14.6 mg/dL, 위약군은 1.6 mg/dL의 차이를 나타냈으며, 약 16.2 mg/dL 정도의 LDL-cholesterol이 통계적으로 유의하게 감소하였음 ($P < 0.05$)



㉡ Triglyceride

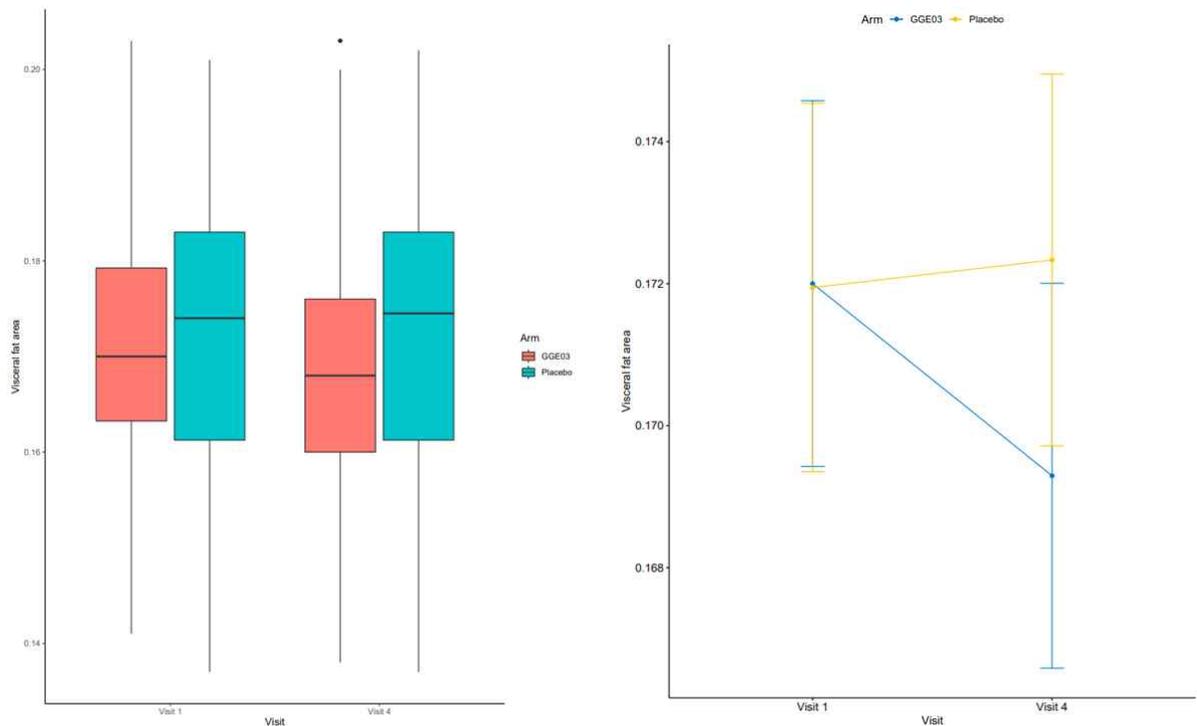
- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 triglyceride를 분석한 결과 GGE03 섭취군은 -5.5

mg/dL, 위약군은 1.3 mg/dL의 차이를 나타냈으며, 약 4.2 mg/dL 정도의 triglyceride가 감소하였으나 통계적으로 유의하지는 않았음 ($P>0.05$)



㉠ Visceral Fat Area

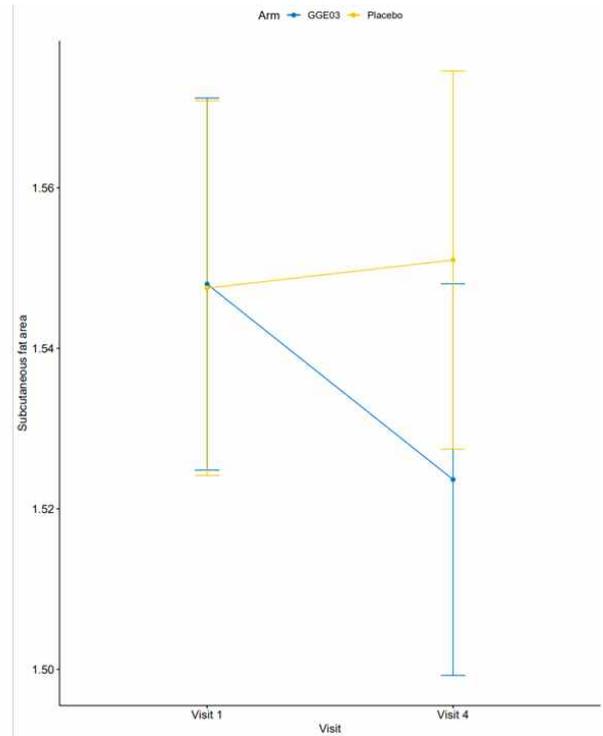
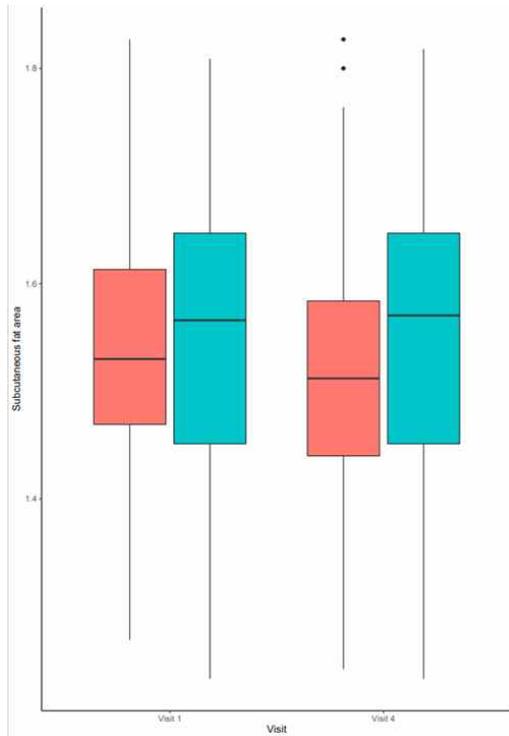
- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 Visceral Fat Area를 분석한 결과 GGE03 섭취군과 위약군 모두 차이가 나지 않았으나 (소수점 1자리 분석의 경우), 소수점 2자리의 분석에 경우 감소 효능을 나타냈으며, 이 결과는 군간 유의하였음 ($P<0.05$)



㉡ Subcutaneous Fat Area

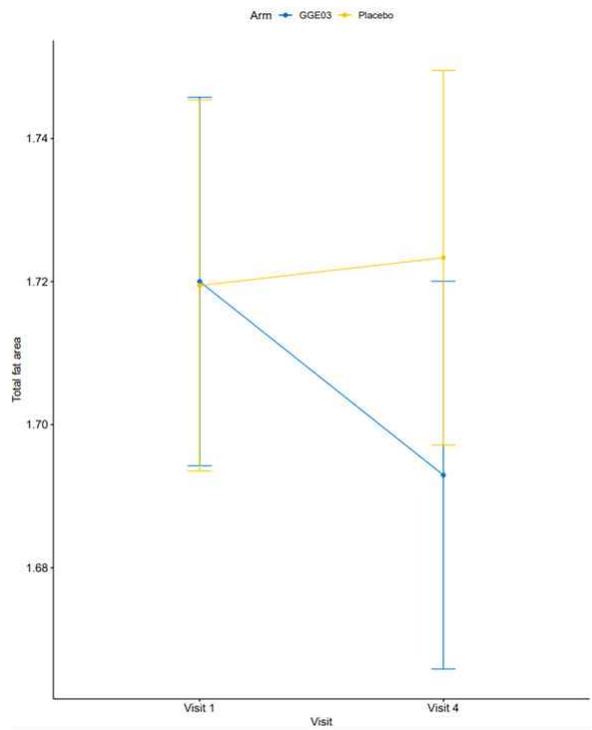
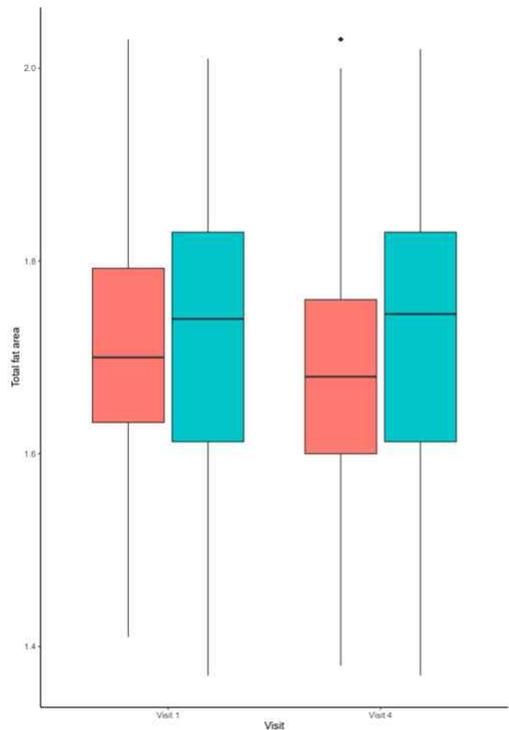
- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 Subcutaneous Fat Area를 분석한 결과 GGE03 섭취

군과 위약군 모두 차이가 나지 않았으나 (소수점 1자리 분석의 경우), 소수점 2자리의 분석에 경우 감소 효능을 나타냈으며, 이 결과는 군간 유의하였음 (P<0.05)



㉞ Total Fat Area

- 기저점 대비 섭취 종료 시점의 Total Fat Area를 분석한 결과 GGE03 섭취군과 위약군 모두 차이가 나지 않았으나 (소수점 1자리 분석의 경우), 소수점 2자리의 분석에 경우 감소 효능을 나타냈으며, 이 결과는 군간 유의하였음 (P<0.05)



⑤ 안전성 평가 결과

㉟ 이상반응

- 일부 대상자에게서 메스꺼움, 발열, 통증이 발생하였으나, 시험기간 내 회복하였고, 군간 유의하지 않아 본 시험약에 의한 이상반응이 아닌 것으로 확인되었음

	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value
Visit 2			0.157
Nausea	1 (2.5%)	1 (2.5%)	
Visit 3			0.248
Cold	0 (0.0%)	1 (2.5%)	
Fever	2 (5.0%)	1 (2.5%)	
Visit 4			0.317
Body Pain	1 (2.5%)	0	
Visit Follow-up			
FALSE	0	0	
TRUE	0	0	

㉞ 혈액 생화학적 검사

- 기저점 대비 섭취 종료시점의 분석결과를 군간 비교한 결과 중대한 변화는 관찰되지 않았음
- Albumin (g/dL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.945
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	3.9 (0.3)	3.9 (0.4)	-0.0 (0.4)	
	Median	4.0	3.9	0.0	
	Min	3.2	3.2	-0.9	
	max	4.4	4.5	0.8	
Placebo	value				0.636
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	3.9 (0.4)	3.9 (0.4)	-0.0 (0.4)	
	Median	4.0	4.0	0.0	
	Min	3.2	3.2	-1.0	
	max	4.5	4.5	0.8	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.754		
	N	40	40		
	Mean (SD)	-0.0 (0.4)	-0.0 (0.4)		
	Median	0.0	0.0		
	Min	-0.9	-1.0		
	max	0.8	0.8		

- ALP (IU/L)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.347
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	78.6 (18.8)	81.0 (19.7)	2.4 (16.0)	
	Median	74.5	79.2	0.0	
	Min	54.6	54.6	-40.7	
	max	105.5	121.2	42.2	
Placebo	value				0.016
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	80.9 (16.8)	72.8 (20.2)	-8.1 (20.2)	
	Median	87.5	60.6	-0.1	

	Min	54.6	39.8	-61.4	
	max	101.2	106.2	31.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.012		
N	40	40			
Mean (SD)	2.4 (16.0)	-8.1 (20.2)			
Median	0.0	-0.1			
Min	-40.7	-61.4			
max	42.2	31.0			

- ALT (IU/L)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.921
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	22.1 (4.8)	22.2 (5.4)	0.1 (5.7)	
	Median	21.0	21.4	0.0	
	Min	13.2	10.2	-14.5	
	max	32.5	36.9	10.7	
Placebo	value				0.128
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	21.7 (5.0)	23.2 (5.9)	1.5 (5.9)	
	Median	21.0	23.4	0.6	
	Min	10.2	10.2	-14.8	
	max	32.5	32.6	15.3	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.294		
N	40	40			
Mean (SD)	0.1 (5.7)	1.5 (5.9)			
Median	0.0	0.6			
Min	-14.5	-14.8			
max	10.7	15.3			

- AST (IU/L)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.277
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	21.2 (4.9)	22.1 (5.9)	0.8 (4.8)	
	Median	21.3	21.1	0.0	
	Min	13.6	12.3	-10.0	
	max	35.2	35.2	14.1	
Placebo	value				0.578
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	21.6 (5.0)	22.1 (5.4)	0.6 (6.3)	
	Median	21.2	22.3	0.0	
	Min	13.6	12.8	-9.5	
	max	32.4	32.1	16.2	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.817		
N	40	40			
Mean (SD)	0.8 (4.8)	0.6 (6.3)			
Median	0.0	0.0			
Min	-10.0	-9.5			
max	14.1	16.2			

- Bilirubin (mg/dL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.511
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	0.7 (0.1)	0.7 (0.1)	-0.0 (0.1)	
	Median	0.8	0.7	0.0	
	Min	0.4	0.5	-0.3	
Placebo	value				0.259
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	0.7 (0.1)	0.7 (0.2)	-0.0 (0.2)	
	Median	0.7	0.7	0.0	
	Min	0.4	0.4	-0.5	
	max	1.0	1.0	0.5	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.635		
N	40	40			
Mean (SD)	-0.0 (0.1)	-0.0 (0.2)			
Median	0.0	0.0			
Min	-0.3	-0.5			
max	0.5	0.4			

- BUN (mg/dL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.842
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	12.5 (1.8)	12.6 (2.7)	0.1 (2.9)	
	Median	12.5	12.1	0.0	
	Min	8.4	9.4	-5.2	
Placebo	value				0.761
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	12.4 (2.5)	12.3 (2.0)	-0.1 (2.5)	
	Median	12.1	12.4	0.0	
	Min	8.4	8.4	-8.0	
	max	19.5	17.9	3.4	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.725		
N	40	40			
Mean (SD)	0.1 (2.9)	-0.1 (2.5)			
Median	0.0	0.0			
Min	-5.2	-8.0			
max	10.0	3.4			

- Creatinine (mg/dL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.014
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	1.0 (0.1)	0.9 (0.1)	-0.1 (0.1)	
	Median	1.0	0.9	0.0	
	Min	0.8	0.5	-0.5	
Placebo	value				0.068
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	1.0 (0.1)	1.1 (0.1)	0.1 (0.1)	
	Median	1.0	1.1	0.1	
	Min	0.8	0.8	0.0	

	N	40	40	40	
	Mean (SD)	1.0 (0.1)	0.9 (0.1)	-0.0 (0.2)	
	Median	1.0	0.9	0.0	
	Min	0.7	0.7	-0.4	
	max	1.2	1.2	0.4	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.800		
N	40	40			
Mean (SD)	-0.1 (0.1)	-0.0 (0.2)			
Median	0.0	0.0			
Min	-0.5	-0.4			
max	0.1	0.4			

- GGT (IU/L)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.967
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	21.9 (7.8)	21.9 (6.4)	-0.1 (10.0)	
	Median	19.2	20.0	0.0	
	Min	12.6	12.3	-32.9	
	max	47.5	35.6	20.0	
Placebo	value				0.396
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	21.6 (6.8)	22.7 (7.3)	1.1 (8.0)	
	Median	18.6	21.4	0.0	
	Min	12.3	12.3	-20.0	
	max	35.6	37.8	20.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.573		
N	40	40			
Mean (SD)	-0.1 (10.0)	1.1 (8.0)			
Median	0.0	0.0			
Min	-32.9	-20.0			
max	20.0	20.0			

- Glucose (mg/dL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.225
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	120.7 (14.2)	125.4 (20.4)	4.7 (24.1)	
	Median	121.2	123.0	0.0	
	Min	75.2	79.7	-54.5	
	max	147.3	173.7	98.5	
Placebo	value				0.436
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	116.3 (13.0)	119.0 (18.7)	2.7 (21.4)	
	Median	120.0	120.3	0.0	
	Min	89.6	79.7	-41.3	
	max	135.8	159.5	49.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.690		
N	40	40			
Mean (SD)	4.7 (24.1)	2.7 (21.4)			
Median	0.0	0.0			

Min	-54.5	-41.3	
max	98.5	49.0	

- Protein (g/dL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.894
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	7.3 (0.2)	7.3 (0.2)	-0.0 (0.3)	
	Median	7.2	7.2	0.0	
	Min	7.1	7.0	-1.0	
	max	8.1	8.1	0.9	
Placebo	value				0.053
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	7.3 (0.3)	7.4 (0.3)	0.1 (0.3)	
	Median	7.2	7.2	0.0	
	Min	7.1	7.0	-1.0	
	max	8.1	8.1	1.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.103		
N	40	40			
Mean (SD)	-0.0 (0.3)	0.1 (0.3)			
Median	0.0	0.0			
Min	-1.0	-1.0			
max	0.9	1.0			

- Uric acid (mg/dL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.955
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	4.4 (1.0)	4.4 (0.8)	-0.0 (1.2)	
	Median	4.2	4.2	0.0	
	Min	2.7	2.7	-5.0	
	max	9.4	6.2	3.0	
Placebo	value				0.302
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	4.3 (0.8)	4.5 (0.8)	0.2 (1.1)	
	Median	4.2	4.2	0.0	
	Min	2.7	2.9	-2.0	
	max	6.0	6.0	2.5	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.451		
N	40	40			
Mean (SD)	-0.0 (1.2)	0.2 (1.1)			
Median	0.0	0.0			
Min	-5.0	-2.0			
max	3.0	2.5			

㉔ 혈액학적 검사

- 기저점 대비 섭취 종료시점의 분석결과를 구간 비교한 결과 중대한 변화는 관찰되지 않았음
- Basophils

Arm		Visit 1	Visit 4	Difference	p value
-----	--	---------	---------	------------	---------

		(N=80)	(N=80)	(N=80)	
GGE03	value				NaN
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	
	Median	0.0	0.0	0.0	
	Min	0.0	0.0	0.0	
	Maximum	0.0	0.0	0.0	
Placebo	value				NaN
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	
	Median	0.0	0.0	0.0	
	Min	0.0	0.0	0.0	
	Maximum	0.0	0.0	0.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			NaN		
	N	40	40		
	Mean (SD)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)		
	Median	0.0	0.0		
	Min	0.0	0.0		
	Maximum	0.0	0.0		

- Eosinophils

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.137
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	3.4 (1.4)	3.8 (1.2)	0.4 (1.6)	
	Median	3.6	3.7	0.0	
	Min	1.4	1.1	-3.2	
	Maximum	5.7	5.9	4.5	
Placebo	value				0.877
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	3.7 (1.4)	3.7 (1.5)	0.0 (1.6)	
	Median	3.7	4.0	0.0	
	Min	1.4	1.1	-3.8	
	Maximum	5.9	5.9	4.3	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.341		
	N	40	40		
	Mean (SD)	0.4 (1.6)	0.0 (1.6)		
	Median	0.0	0.0		
	Min	-3.2	-3.8		
	Maximum	4.5	4.3		

- Hb (g/dL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.201
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	13.5 (0.9)	13.8 (1.0)	0.2 (1.2)	
	Median	13.6	13.9	0.0	
	Min	11.2	10.5	-3.2	
	Maximum	15.2	15.6	2.9	
Placebo	value				0.193
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	13.3 (1.1)	13.6 (1.0)	0.3 (1.4)	
	Median	13.5	13.6	0.0	

	Min	10.5	10.5	-3.4	
	Maximum	15.6	15.6	3.1	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.851		
N	40	40			
Mean (SD)	0.2 (1.2)	0.3 (1.4)			
Median	0.0	0.0			
Min	-3.2	-3.4			
Maximum	2.9	3.1			

- Hematocrit (%)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.901
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	39.6 (2.8)	39.5 (3.3)	-0.1 (3.5)	
	Median	39.8	39.1	0.0	
	Min	33.6	33.6	-10.9	
	Maximum	44.6	46.8	10.0	
Placebo	value				0.720
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	40.0 (4.7)	39.7 (3.8)	-0.3 (5.5)	
	Median	39.8	39.8	0.0	
	Min	33.6	32.6	-22.9	
	Maximum	64.4	49.8	10.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.814		
N	40	40			
Mean (SD)	-0.1 (3.5)	-0.3 (5.5)			
Median	0.0	0.0			
Min	-10.9	-22.9			
Maximum	10.0	10.0			

- Lymphocytes

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.410
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	27.2 (5.9)	26.4 (6.3)	-0.8 (5.8)	
	Median	28.4	24.9	0.0	
	Min	17.2	17.2	-12.2	
	Maximum	38.7	43.5	13.0	
Placebo	value				0.689
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	26.8 (6.6)	27.3 (7.2)	0.5 (8.0)	
	Median	27.1	26.2	0.0	
	Min	17.2	17.2	-24.6	
	Maximum	43.5	43.5	24.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.417		
N	40	40			
Mean (SD)	-0.8 (5.8)	0.5 (8.0)			
Median	0.0	0.0			
Min	-12.2	-24.6			
Maximum	13.0	24.0			

- Monocytes

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.500
	N	39	40	39	
	Mean (SD)	5.0 (1.9)	5.2 (2.0)	0.3 (2.5)	
	Median	5.9	5.2	0.0	
	Min	2.0	2.6	-4.2	
Placebo	value				0.777
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	5.0 (1.7)	5.1 (1.7)	0.1 (2.0)	
	Median	5.3	6.0	0.0	
	Min	2.1	2.1	-5.0	
	Maximum	8.6	7.6	5.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.729		
N	39	40			
Mean (SD)	0.3 (2.5)	0.1 (2.0)			
Median	0.0	0.0			
Min	-4.2	-5.0			
Maximum	7.1	5.0			

- Neutrophils

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.386
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	64.5 (6.6)	65.3 (7.3)	0.8 (5.8)	
	Median	65.1	65.1	0.0	
	Min	49.8	47.3	-10.1	
Placebo	value				0.697
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	64.4 (7.0)	63.8 (8.4)	-0.6 (9.8)	
	Median	65.1	65.0	0.0	
	Min	47.3	47.3	-27.4	
	Maximum	76.2	77.2	28.3	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.435		
N	40	40			
Mean (SD)	0.8 (5.8)	-0.6 (9.8)			
Median	0.0	0.0			
Min	-10.1	-27.4			
Maximum	13.6	28.3			

- Platelets (Lakhs/cu mm)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.484
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	303.7 (71.7)	296.3 (65.6)	-7.4 (66.7)	
	Median	310.0	279.0	0.0	
	Min	178.0	187.0	-166.0	
Placebo	value				0.682
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	303.7 (71.7)	296.3 (65.6)	-7.4 (66.7)	
	Median	310.0	279.0	0.0	
	Min	178.0	187.0	-166.0	
	Maximum	412.0	421.0	117.0	

	N	40	40	40	
	Mean (SD)	309.0 (71.8)	314.1 (69.7)	5.1 (78.5)	
	Median	310.0	317.5	0.0	
	Min	198.0	198.0	-188.0	
	Maximum	418.0	421.0	187.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.442		
	N	40	40		
	Mean (SD)	-7.4 (66.7)	5.1 (78.5)		
	Median	0.0	0.0		
	Min	-166.0	-188.0		
	Maximum	117.0	187.0		

- RBC count (Cells/mcL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.123
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	4.2 (0.4)	4.4 (0.6)	0.2 (0.7)	
	Median	4.2	4.3	0.0	
	Min	3.3	3.2	-1.0	
	Maximum	5.3	5.4	1.2	
Placebo	value				0.634
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	4.3 (0.6)	4.4 (0.5)	0.1 (0.8)	
	Median	4.1	4.2	0.0	
	Min	3.4	3.4	-1.3	
	Maximum	5.2	5.9	2.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.513		
	N	40	40		
	Mean (SD)	0.2 (0.7)	0.1 (0.8)		
	Median	0.0	0.0		
	Min	-1.0	-1.3		
	Maximum	1.2	2.0		

- WBC count (Cells/mcL)

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.951
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	6959.0 (1326.9)	6977.0 (1500.8)	18.0 (1848.2)	
	Median	6950.0	6920.0	0.0	
	Min	4540.0	4120.0	-3060.0	
	Maximum	9180.0	9670.0	4410.0	
Placebo	value				0.202
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	6681.8 (1605.6)	7009.0 (1510.7)	327.2 (1593.8)	
	Median	6870.0	7000.0	0.0	
	Min	4120.0	4120.0	-2830.0	
	Maximum	9180.0	9210.0	4200.0	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.425		

N	40	40	
Mean (SD)	18.0 (1848.2)	327.2 (1593.8)	
Median	0.0	0.0	
Min	-3060.0	-2830.0	
Maximum	4410.0	4200.0	

㉠ 소변 검사

- 기저점 대비 섭취 종료시점의 분석결과를 구간 비교한 결과 중대한 변화는 관찰되지 않았음

- Urinalysis-Appearance

	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value
Visit 1			0.796
Clear	18 (45.0%)	20 (50.0%)	
Slight Turbid	7 (17.5%)	9 (22.5%)	
Straw	1 (2.5%)	1 (2.5%)	
Turbid	14 (35.0%)	10 (25.0%)	
Visit 4			0.906
Clear	20 (50.0%)	21 (52.5%)	
Slight Turbid	11 (27.5%)	9 (22.5%)	
Straw	1 (2.5%)	2 (5.0%)	
Turbid	8 (20.0%)	8 (20.0%)	

- Urinalysis-Color

	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value
Visit 1			0.186
Pale Yellow	12 (30.0%)	18 (45.0%)	
Slight Turbid	1 (2.5%)	0 (0.0%)	
Slight Yellow	16 (40.0%)	10 (25.0%)	
Straw	9 (22.5%)	6 (15.0%)	
Yellow	2 (5.0%)	6 (15.0%)	
Visit 4			0.727
Pale Yellow	13 (32.5%)	17 (42.5%)	
Slight Turbid	1 (2.5%)	0 (0.0%)	
Slight Yellow	16 (40.0%)	13 (32.5%)	
Straw	5 (12.5%)	4 (10.0%)	
Yellow	5 (12.5%)	6 (15.0%)	

- Urinalysis-Protein

	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value
Visit 1			1.000
Absent	40 (100.0%)	40 (100.0%)	
Visit 4			0.314
Absent	39 (97.5%)	40 (100.0%)	
Traces	1 (2.5%)	0 (0.0%)	

- Urinalysis-pH

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.169
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	5.8 (0.6)	5.6 (0.5)	-0.1 (0.6)	
	Median	6.0	5.5	0.0	
	Min	5.0	5.0	-1.5	
	max	6.5	6.5	1.5	
Placebo	value				0.066
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	5.8 (0.5)	5.6 (0.5)	-0.2 (0.6)	
	Median	6.0	5.5	0.0	
	Min	5.0	5.0	-1.5	
	max	6.5	6.5	1.5	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.721		
N	40	40			
Mean (SD)	-0.1 (0.6)	-0.2 (0.6)			
Median	0.0	0.0			
Min	-1.5	-1.5			
max	1.5	1.5			

- Urinalysis-Specific Gravity

Arm		Visit 1 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Difference (N=80)	p value
GGE03	value				0.973
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	1.0 (0.0)	1.0 (0.0)	0.0 (0.0)	
	Median	1.0	1.0	0.0	
	Min	1.0	1.0	-0.0	
	max	1.0	1.0	0.0	
Placebo	value				0.461
	N	40	40	40	
	Mean (SD)	1.0 (0.0)	1.0 (0.0)	0.0 (0.0)	
	Median	1.0	1.0	0.0	
	Min	1.0	1.0	-0.0	
	max	1.0	1.1	0.1	
	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value		
Difference			0.488		
N	40	40			
Mean (SD)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)			
Median	0.0	0.0			
Min	-0.0	-0.0			
max	0.0	0.1			

- Microscopic Examination-Epithelial Cells (/hpf)

	GGE03 (N=40)	Placebo (N=40)	p value
Visit 1			0.491
1-2	3 (7.5%)	6 (15.0%)	
1-3	2 (5.0%)	2 (5.0%)	
10-15	0 (0.0%)	1 (2.5%)	
2-3	4 (10.0%)	8 (20.0%)	
2-4	10 (25.0%)	9 (22.5%)	
3-5	3 (7.5%)	3 (7.5%)	
4-2	1 (2.5%)	1 (2.5%)	

4-5	6 (15.0%)	1 (2.5%)	
4-6	11 (27.5%)	8 (20.0%)	
7-9	0 (0.0%)	1 (2.5%)	
Visit 4			0.805
0-1	1 (2.5%)	0 (0.0%)	
1-2	11 (27.5%)	9 (22.5%)	
1-3	2 (5.0%)	1 (2.5%)	
2-3	5 (12.5%)	9 (22.5%)	
2-4	5 (12.5%)	6 (15.0%)	
3-5	7 (17.5%)	4 (10.0%)	
4-2	1 (2.5%)	2 (5.0%)	
4-5	2 (5.0%)	1 (2.5%)	
4-6	6 (15.0%)	7 (17.5%)	
6-8	0 (0.0%)	1 (2.5%)	

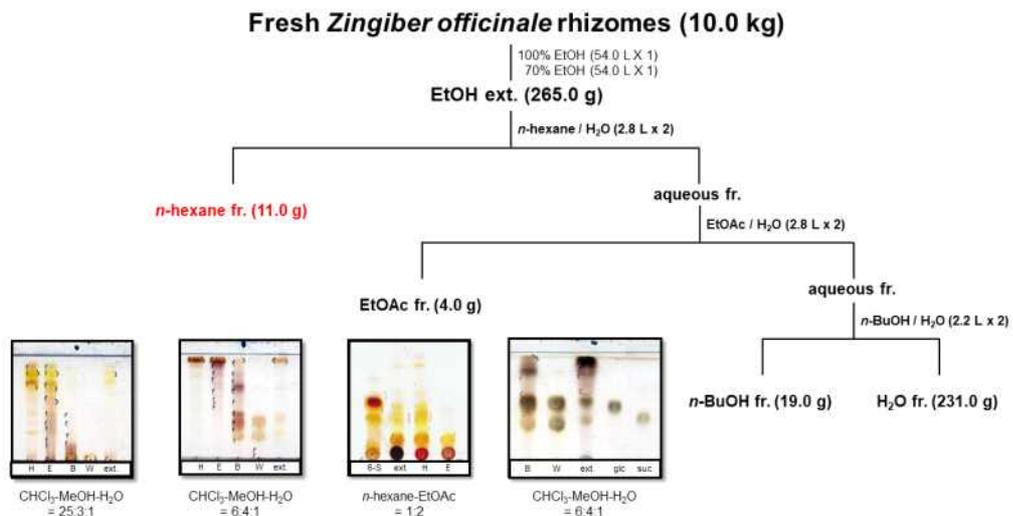
- 소변검사 결과 Bile pigments, bile salts, ketone bodies, sugar, urobilinogen, bacteria, casts, crystals, RBCs는 모든 대상자에서 검출되지 않음

나. 연구개발 내용 및 결과 (2세부 : 경희대학교)

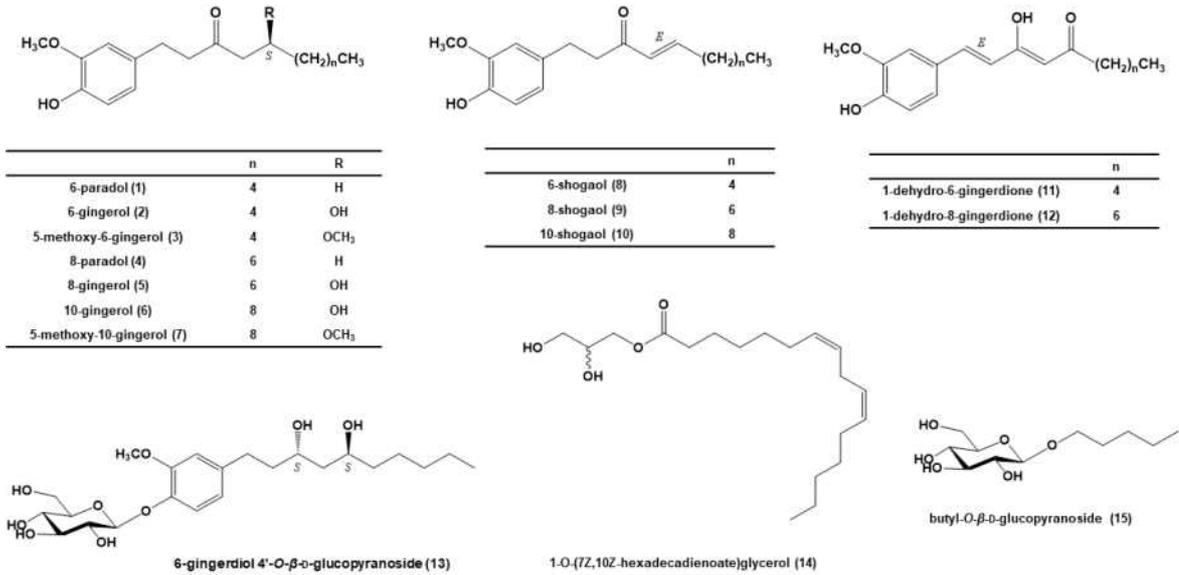
(1) 생강 유래 기능성 물질 분리, 함량분석 및 제공

(가) Open column chromatography를 이용한 생강 및 증숙생강 추출물의 성분 분리 정제 및 제공

- 생강 및 증숙생강에 대해 SiO₂, ODS, Sephadex LH-20, Diaion HP-20 컬럼 크로마토 그래피를 수행하여 활성대사물 포함 새로이 생성되는 물질을 분리
 - 생강을 추출하여 극성에 따라 계통분획을 진행



- 생강 유래 물질에 대해 다양한 spectroscopic analysis 를 통한 새로운 성분의 화학구조 결정 (IR, NMR, MS)
 - 현재 13종의 diarylheptanoid 화합물을 포함 15종의 화합물 분리 및 구조동정 완료



NO.	분취명	양	순도	화합물명	비고
1	ZOH-6-6-2	4.2 mg	95%	6-paradol	
2	ZOH-9-1	1.2 g	99%	6-gingerol	
	ZOHR-7	3.26 g	90%		
	ZOHR-4-3	74.9 mg	95%		
	ZOHR-4-5-4	59.6 mg	99%		
3	ZOH-6-5-10	19.8 mg	85%	5-methoxy-6-gingerol	
4	ZOHR-2-8-6-4	17.2 mg	85%	8-paradol	
	ZOHR-2-8-6-4	3.2 mg	70%		
5	ZOH-9-4	109.2 mg	99%	8-gingerol	
	ZOHR-4-9	139.0 mg	99%		
	ZOHR-4-5-8	127.6 mg	99%		
6	ZOH-9-7	54.3 mg	99%	10-gingerol	
	ZOHR-2-8-10	84.8 mg	99%		
7	ZOHR-2-8-7-6	69.5 mg	65%	5-methoxy-10-gingerol	5-methoxy-10-gingerol_dehydro-6-gingerdione=2_1
8	ZOH-6-5-6	24.3 mg	90%	6-shogaol	
	ZOH-6-5-7	15.4 mg	85%		
	ZO-3-1	2.7 mg	95%		
	ZO-4-1	3.3 mg	99%		
9	ZOHR-2-8-6-2	91.9 mg	85%	8-shogaol	
	ZO-4-2	4.6 mg	90%		
10	ZOHR-2-8-7-2	10.7 mg	85%	10-shogaol	
	ZO-2-1	4.5 mg	80%		
11	ZOH-6-6-5	14.7 mg	95%	dehydro-6-gingerdione	
12	ZOHR-2-8-7-4-5	77.9 mg	95%	dehydro-8-gingerdione	
13	ZOHR-14-8-12-3	4.5 mg	70%	6-gingerdiol 4'-O-glucopyranoside	
14	ZOH-12-5-6	12.5 mg	95%	1-O-(7Z,10Z-hexadecadienoate)glycerol	
15	ZOBF-5-5-4	11.2 mg	90%	butyl-O-beta-D-glucopyranoside	

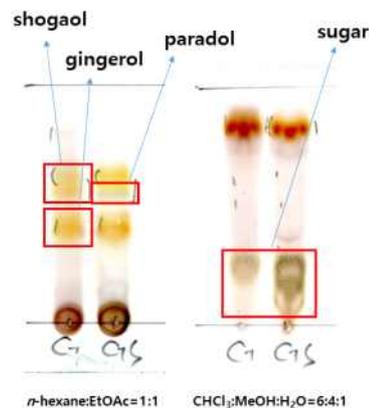
- 미동정 화합물 14종에 대해 현재 구조동정 진행중

NO.	분획명	양	순도	계열
미동정-1	ZOHR-13	118.5 mg	75%	diarylheptanoid
미동정-2	ZOHR-14-12-1	5.7 mg	60%	
미동정-3	ZOHR-14-12-5	20.0 mg	90%	
미동정-4	ZOHR-2-6-7	12.5 mg	85%	
미동정-5	ZOHR-2-8-6-6	81.6 mg	85%	
미동정-6	ZOB-6-8	157.5 mg	90%	sesquiterpene
미동정-7	ZOBF-5-5-7-2	4.9 mg	85%	
미동정-8	ZOH-13-8	158.0 mg	85%	
미동정-9	ZOH-6-7-7	3.4 mg	85%	diterpene
미동정-10	ZOH-6-10-7-8	99.2 mg	75%	triterpene
미동정-11	ZOH-3-10	25.4 mg	70%	fatty acid fatty acid
미동정-12	ZOH-3-6	110.3 mg	99%	
미동정-13	ZOH-12-5-3	10.7 mg	90%	glycosyl glyceride
미동정-14	ZOH-12-5-8	12.5 mg	50%	

(2) 생강 유래 기능성 물질 분리, 함량분석 및 제공

(가) 생강 및 증숙생강의 성분 변화 프로파일 작성

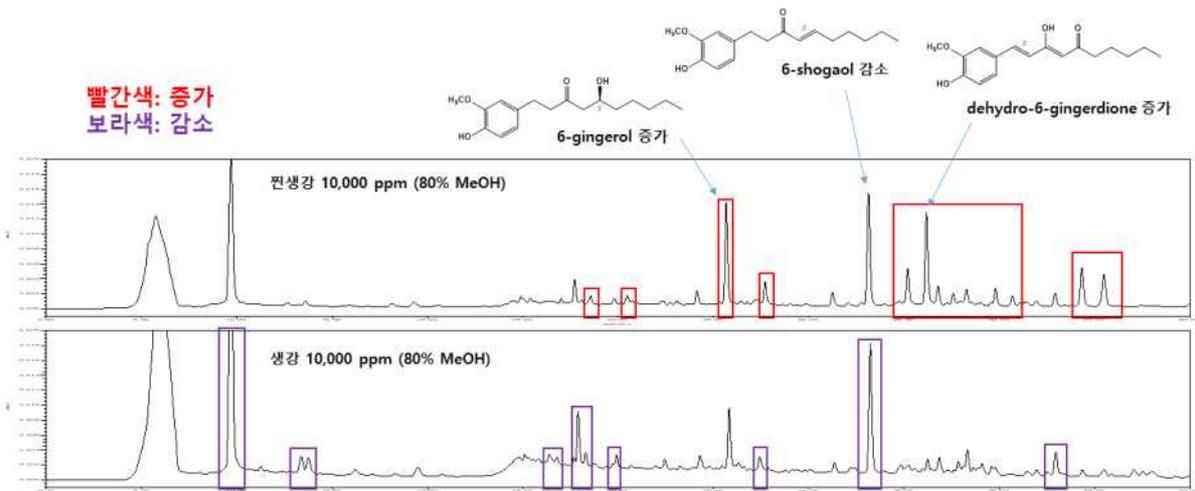
- TLC를 활용하여 생강 증숙과정에서 증가하는 화합물 확인



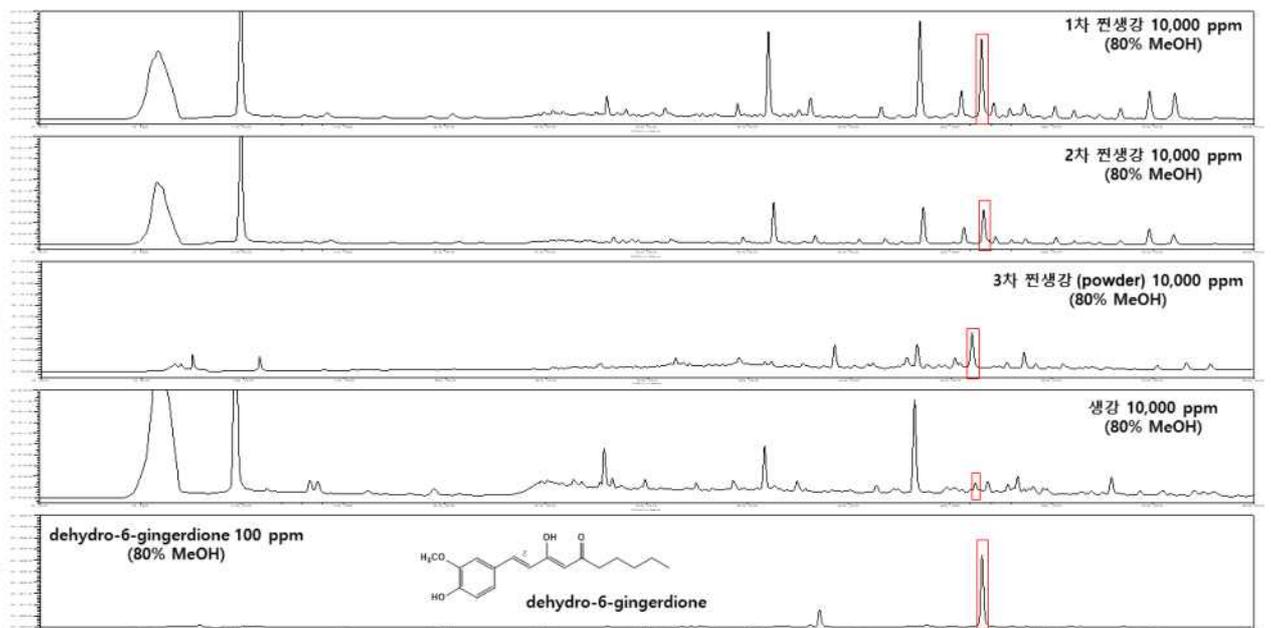
SiO₂ TLC

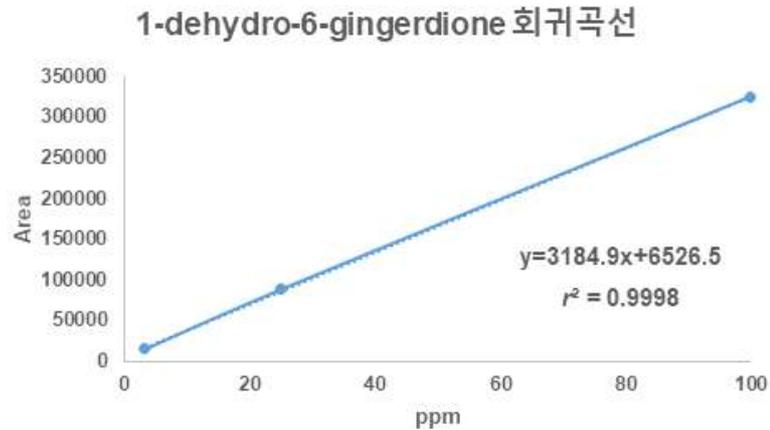
- 생강을 증숙시키는 과정에서 당이 증가하는 것을 확인
- 증숙과정을 통해 paradol, shogaol, 혹은 gingerdione이 증가하는 것을 확인
- HPLC를 통하여 생강 증숙과정에서 증가, 감소하는 화합물 확인
 - 사용기기
 - * Waters 600S / Waters 2487 UV detector (Waters, Milford, MA, USA)
 - * Column: ShimpackGist (Shimadzu, 3 μm, 250 × 4.6 mm)
 - 분석조건
 - * 찢생강, 생강 추출물을 80% MeOH로 녹여 10,000 ppm으로 제조
 - * 0.22 μm membrane filter (WoongkiScience Co., Ltd., Seoul, Korea)로 정제
 - * Wavelength: 254 nm
 - * Flow rate: 0.4 mL/min
 - * The mobile phase (0.1% FA in H₂O, solvent A; acetonitrile, solvent B) was eluted with the following elution gradient of B: 30% (0.01 min) →

30% (5 min) → 55% (10 min) → 55% (13 min) → 80% (20 min) → 80% (23 min) → 100% (30 min) → 100% (60 min)



- 생강 증숙과정에서 6-gingerol, dehydro-6-gingerdione은 증가, 6-shogaol은 감소하는 양상을 보임
- 특히 1-dehydro-6-gingerdione이 많이 증가
- HPLC를 통하여 생강 증숙과정에서 증가하는 화합물인 1-dehydro-6-gingerdione 화합물 함량 확인 및 분리





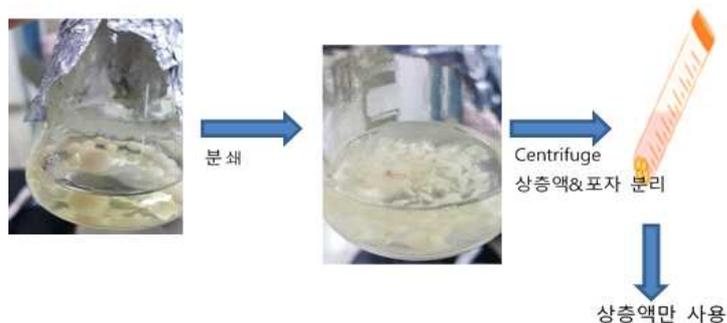
- * 생강 추출물 중 dehydro-6-gingerdione 함량: 0.04%
- * 1차 증숙생강추출물 중 dehydro-6-gingerdione 함량: 0.42%
- * 2차 증숙생강추출물 중 dehydro-6-gingerdione 함량: 0.19%
- * 3차 증숙생강추출물 (powder)중 dehydro-6-gingerdione 함량: 0.19%
- 3차 증숙생강은 기존 증숙생강샘플들과 다른 양상을 보임
- 생강 추출물 대비 1차 증숙생강은950%, 2차 및 3차 증숙생강은 375% 증가하는 것을 확인

다. 연구개발 내용 및 결과 (1협동 : 제넨셀)

(1) 생강 추출물의 발효조건 및 발효물 생산을 위한 공정 확립

(가) 생강 추출물의 발효조건 검토에 따른 1차 공정 확립

- ① 이론적 · 실험적 접근방법
 - ㉠ 황국균, 홍국균, 붉은누룩곰팡이의 최적 발효조건 검토에 따른 생강 추출물의 발효균주 선정
 - ㉡ 발효균주 선정에 따른 pilot scale 수준의 1차 공정 확립
- ② 연구내용
 - ㉢ 연구방법
 - 균주배양: PDB 배지에 균 접종 후 30℃, 250 rpm, 48시간 배양
 - 발효균주 준비: 배양된 균주 분쇄 후 균주와 포자 분리, 상층액 접종



- 발효: PDB 배지에 생강추출물 1% 첨가 (10 g/L) 후 준비된 발효균주 0.5% 첨가
- 발효조건: 균주 배양 조건과 동일 (37°C, 250 rpm, 48시간)

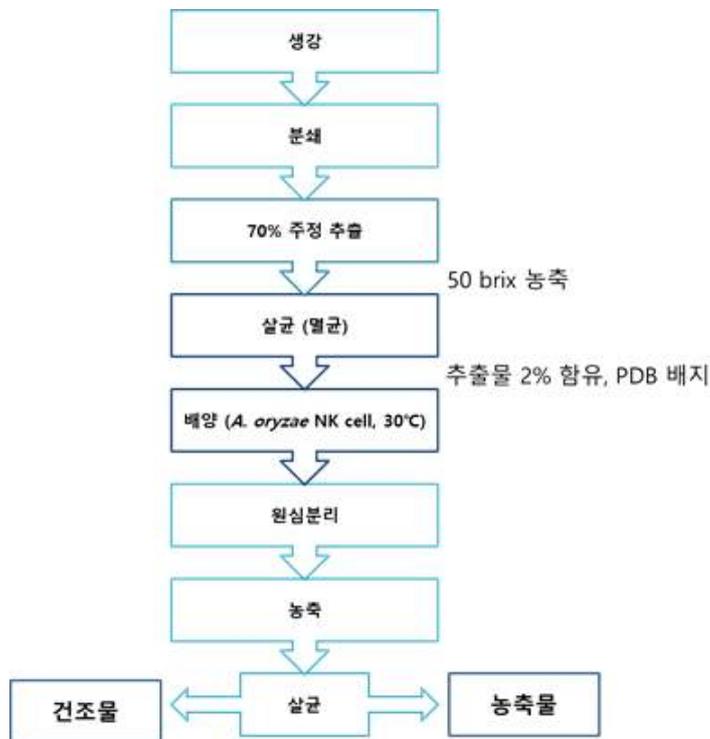
③ 연구결과

* 발효균주 선정

- 균체생성량 비교 분석 결과, 황국균 약 10%, 홍국균 약 7%, 붉은누룩곰팡이 약 6%의 생성량을 나타내어 최종 발효균주로 *Aspergillus oryzae* NK (황국균)를 선택함 (선행 연구를 통한 효능분석 결과 연계)

* 시생산을 위한 공정 확립

- Pilot scale 생강추출발효물 생산을 위한 예비 공정 확립
- 기존 연구 자료 및 선행연구 자료를 참고하여, 생강 70% 주정추출물이 2% 포함되는 공정 개발



(2) 생강추출발효물 (FGE)의 생산 및 공정 확립

(가) 1차 생강추출발효물 (FGE01) 생산 및 공정 확립

① 이론적·실험적 접근방법

- ㉠ 국내 서산 지역 생강을 활용한 생강추출물 제조
- ㉡ *Aspergillus oryzae* NK (황국균)을 발효균주로 한 1차 pilot scale 생강추출발효물 생산 및 발효 공정 확립

② 연구내용

㉠ 연구방법

- 국내 서산 생생강 100 kg 구입 후 세척



- 세척된 생강을 5 mm 두께로 절단 후 1개의 tray당 50 kg씩 넣어 45°C에서 40시간 건조

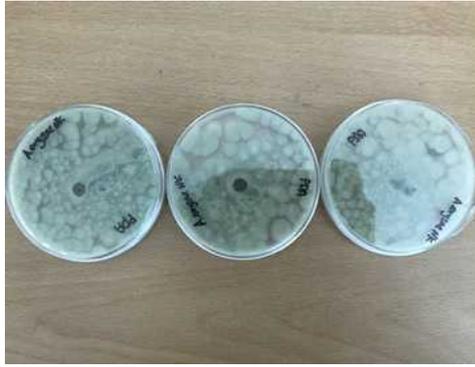


- 70% 발효주정을 건조생강 중량의 15배수로 투입하여 70°C에서 5시간 추출 후 여과하였으며, 65~68°C, 400~500torr조건에서 60 brix로 농축

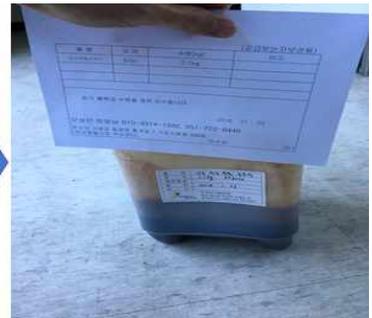


- 멸균 PDB배지, 30°C, 250rpm 조건하에 종균 48시간 배양 후 균사체와 여액 (포자)의

분리를 위해 중균 여과



- 생강 70% 주정추출물의 황국균 발효
 배양조건 : 멸균 PDB배지, 30°C 48시간, 250rpm / Air 0.5~1 v/min , 0.6kgf/cm²
 Seed 1L, 생강추출물농축액(57brix) 0.6%(2.1kg), 배양액: 200L
- 원심분리 후 살균 (95°C) 및 농축 (65~68°C, 400~500torr 조건에서 60 brix 농축)



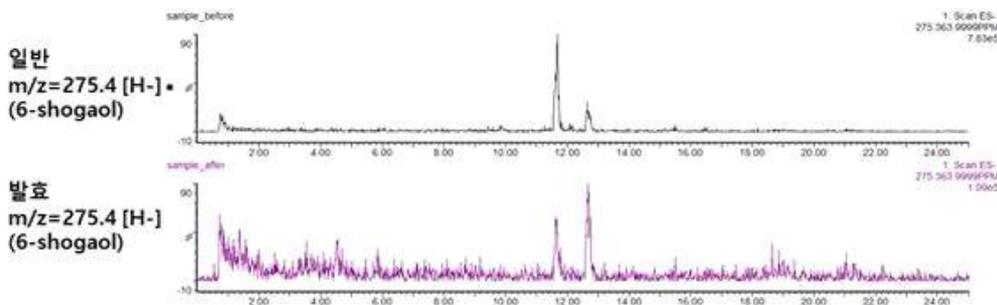
③ 연구결과

㉑ 1차 발효 공정 및 생산 수율 확보

- 원재료 준비: 생생강 100 kg 세척 → 절편 → 건조 (수율 12.1%)
- 추출물 제조 (70% 주정): 추출 → 여과 → 농축 (57 brix, 수율 18.3%)
- 발효물 제조: *Aspergillus oryzae* NK (황국균) 배양 (PDB 배지) → 접종 및 분배양 → 원심분리 → 살균 → 농축 (60 brix, 수율 58.3%) → 포장 (농축액 5.2 kg, 동결건조 분말 925 g)

㉒ 1차 공정도 확립

순번	공정명	공정명	사용량	수율(%)	관리사항
1		원료	100kg		원료선별 국내산
2		↓ 세척	95kg	95%	
3		↓ 절편	95kg		두께 5mm
4		↓ 건조	11.5kg	12.1%	45°C, 40시간
5		↓ 추출	11.5kg		1) 70%주정, 원료중량의 15배 2) 70°C, 5시간
6	*종균 Aspergillus Oryzae NK	↓ 여과			1마이크론
7	*배양 30°C, 250rpm , 48시간	↓ 농축	2.1kg	10.40%	brix 57
8	seed	→ 본배양	200L		37°C, 250rpm, 48시간
9	*멸균 121°C, 15분	↓ 원심분리	182.5L	91.25%	10,000rpm
10	*PDB배지 24g/ℓ	↓ 살균			95°C 30분
11		↓ 농축	6.7kg	-	brix 60
12		↓ 포장 (농축액/분말)	5.2kg/925g		FD 폴리에틸렌 (LDPE)



(나) 2차 생강추출발효물 (FGE02) 생산 및 공정 확립

① 이론적·실험적 접근방법

- ㉠ 생강 구입 후 건조 시 수율이 12%인 점을 감안하여 건조생강을 구입하였으며, 이는 원료 생산 단가를 조절하기 위한 접근방법임

④ Pilot scale 생산 공정 확립에 따른 GMP 기관에서의 pilot scale 원료 생산 및 공정 확립

② 연구내용

㉠ 연구방법

- 70% 주정으로 건조생강 1차 및 2차 추출 후 여과 및 농축 (5 brix)
- *Aspergillus oryzae* NK (황국균)를 식용가능 한 밀기울 배지로 변경하여 배양 후 생강 추출물 발효
발효 후 열처리하는 방법과 주정추출을 하는 방법으로 발효물 획득

③ 연구결과

㉠ 2차 발효 공정 및 생산 수율 확보

- 추출물 제조: 1차 추출 → 2차 추출 → 여과/농축 (5 brix, 수율 13.5%)
- 발효물 제조
발효 후 열처리 → 여과 → 농축 (수율 11.8%)
발효 후 주정추출 → 여과 → 농축 (수율 13.6%)



④ 배지 변경에 따른 문제점 확인

- 기존 PDB 배지에서 식용가능 한 밀기울 배지로 변경
- 밀기울 배지 사용 시 문제점
열처리 후 생산된 원료에서 매우 높은 흡습문제 발생 (왼쪽 사진)
발효물의 주정추출 시 엷 형태로 건조 (농축물의 경우 표준화 어려움, 오른쪽 사진)



(다) 3차 생강추출발효물 (FGE03) 생산 및 공정 확립

① 이론적·실험적 접근방법

- ㉠ 2차 생산된 원료는 사용 불가능한 원료로 판단되었으며, 이에 1차 공정을 바탕으로 GMP 기관에서 pilot scale 원료 생산 및 공정 확립
- ㉡ 발효물 최종 원료 문제에 대한 원인 규명을 위해 정밀 연구 진행

② 연구내용

㉠ 연구방법

- 국내 서산 건조생강 구입 후 70% 주정으로 추출물 제조
- 1차 제조공정을 기반으로 PDB 배지를 통한 발효물 제조 (균주 접종 2%)

단계	공정구분	조건	단계별 총량
배양	단일콜로니 배양	PDA배지, 37 °C, 48 시간	
	액체배양(실험실)	PDB배지, 37 °C, 48 시간, 200 rpm	150 ml
본배양	본배양(발효실)	배지 : PDB 600 g / 생강농축액 262.5 g / 여과수 25 L	25 L
		배양 조건 : 37 °C, 48 시간, 250 rpm	
원심분리	균체제거	10,000 rpm	14.5 L
건조 및 분쇄	동결건조	동결건조 3일, 분쇄	300 g

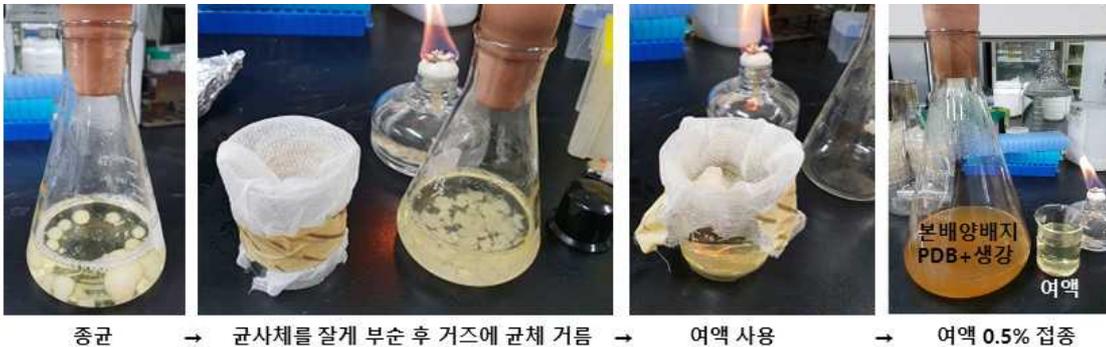
③ 연구결과

㉠ 3차 발효물 생산에 따른 수율 및 문제점

- 생강추출 발효물은 약 30%의 수율을 나타냈으나, 동결건조 시 2차 제조와 유사하게 흡습이 심화되는 현상이 발생함



- 또한, 균주 접종에 대한 표준화 규격의 변동성이 심하여 발효물의 표준화가 우려됨 (발효되는 효율이 낮은 것으로 확인)



중균 → 균사체를 잘게 부순 후 거즈에 균체 거름 → 여액 사용 → 여액 0.5% 접종



→ 배양조건 : 37°C, 250rpm, 48hr
배양종료 : 균체가 일부 보이거나 사이즈가 작으며 배양액 대비 수가 적음.



현미경 사진 : 균체 사진. 여액은 현미경에 균사체 및 포자가 보이지 않음(여액은 균체가 매우 적음).



(라) 4차 생강추출발효물 (FGE04) 생산 및 공정 확립

① 이론적·실험적 접근방법

- ㉑ 발효공정의 표준화 확립 및 원료의 흡습 문제 해결을 위해 발효조건을 재검토하여 공정 재확립
- ㉒ 발효조건 및 원료 건조방법 등의 공정 변경

② 연구내용

㉑ 연구방법

- 국내 서산 건조생강 구입 후 70% 주정으로 추출물 제조
- 발효조건 변경

배양조건을 30°C로 변경

균주접종: 증배양 배양액을 거즈에 거르지 않고 균체 모두 접종 (발효 효율을 더 높

이기 위한 방법)

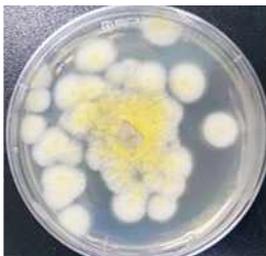
- 건조방법: 분무건조로 변경

단계	공정구분	조건	처리량 (kg)	brix	고형분함량(%)	수득량(kg)
배양	단일콜로니 배양	PDA배지, 37 °C, 48 시간				
	액체배양(실험실)	PDB배지, 30 °C, 48 시간, 250 rpm	0.4			
본배양	본배양(실험실)	배지 : PDB 192 g / 생강농축액 84 g / 여과수 8 L 배양 조건 : 30 °C, 48 시간, 170 rpm	8.4	3.5	2.65	
원심분리	균체제거	8,000 rpm	8.4	3		7.126
농축	농축	20 brix 까지	7.126	18		1.17
건조	분무건조 1.	조건1) 농축액 그대로 분무건조 조건2) 농축액 600 ml : 자사보유 덱스트린 108 g	0.7			0.05
	분무건조 2.	조건3) 농축액 400 ml : 제공받은 덱스트린 72 g	0.47			0.078

③ 연구결과

㉑ 4차 발효물 생산에 따른 문제점 및 확정사항

- 본 배양 종료 후 생강의 항균작용에 의한 균주상태 이상 (부서지는 경향을 나타냄)이 나타났으며, 이로 인해 발효 상태의 확인이 어려움
- 원심분리 후 남은 균체를 제거하기 위해 필터링 작업을 1번 더 수행
- 생강추출물과 발효물의 경우 인습이 심하게 진행되어 분말원료 제조 시 덱스트린 등의 부형제가 첨가되어야 하며, 50% 덱스트린이 함유된 원료에서 인습이 되지 않음을 확인함
- 따라서, 최종 생강추출발효물 생산은 50% 덱스트린 함유 분무건조물로 확정함



A. Oryzae NK - 고체 배양사진



A. Oryzae NK - 배양 1일차



A. Oryzae NK - 종 배양 종료 후(2일배양)



본 배양 종료 후



분무건조

(마) 5차 생강추출발효물 (FGE05) 생산 및 최종 공정 확립

① 이론적 · 실험적 접근방법

- ㉑ 기존 상용화되어 있는 PDB (Potato dextrose broth) 배지의 경우 균주 배양 및 단가 등

에서 미흡한 경향을 보여, 직접 배지를 제조하여 발효에 적용

④ 최적 발효공정 확립을 위한 연구

② 연구내용

㉑ 연구방법

* Lab scale에서의 배양배지 변경 연구

- 구성성분: 감자전분 및 dextrose (농도 조절)

* 발효조건 변경

- 배양배지: 감자전분 (Potato starch)에서 옥수수전분 (corn starch) 배지로 최종 결정

- 균주접종: 종배양 배양액을 거즈에 거르지 않고 균체 모두 접종

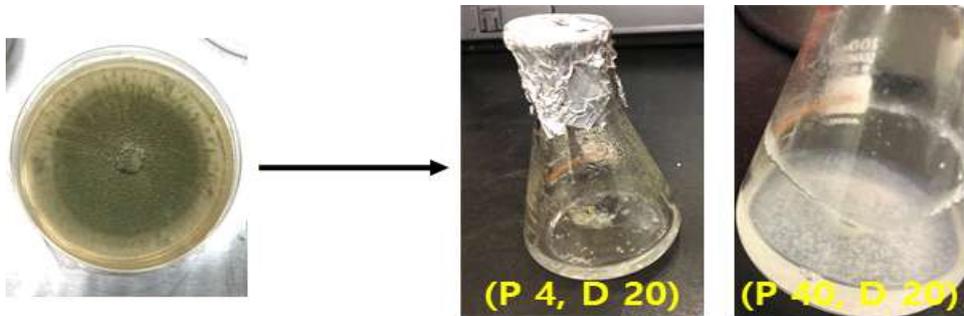
- 본 배양 (발효) 방법 변경: 균주 접종 24시간 후 생강 70% 주정추출물 투여 → 48시간 추가 발효 (생강추출물에 의한 균주 성장 억제 방지 효과)

단계	공정구분	조건	brix	처리량 (kg) → 수득량(kg)
배양	고체배양(실험실)	PDA배지, 30 °C, 48 시간		
	액체배양(실험실)	배지 : Potato starch 4%, sucrose 2% 배양조건 : 30 °C, 72 시간, 250 rpm		0.3
본배양	본배양(발효실)	배지: corn starch 4%, sucrose 2% 1일 배양 후 생강농축액 500 g 투여 후 2일 더 배양 진행 배양 조건: 30 °C, 48 시간, 170 rpm		30
원심분리	균체제거	관형원심분리기 사용	6.7	30 → 20
살균	열처리	95°C 30분		
농축	농축	20 brix 까지	20	20 → 6.7
건조	분무건조	농축액에 제공받은 덱스트린 1.34 kg 첨가 후 분무		8.1 → 2.25

③ 연구결과

㉑ Lab scale에서 배양배지 연구

- 기존 PDB 배지의 문제점을 극복하기 위해 감자전분과 dextrose의 비율에 따른 배양 정도를 확인한 결과, 감자전분의 농도가 높을수록 배지가 젤리화 되는 현상이 발생하였으며, 최종 감자전분 40 g/L, dextrose 20 g/L의 비율이 최적의 배양배지 조건임을 확인함



④ GMP 기관 연계 pilot scale 생산 적용 및 일부 공정 변경

- 감자전분의 젤리화 현상으로 인해 옥수수 전분 (corn starch)으로 변경하여 균주배양을 진행한 결과, 균체 생성량이 증가함을 확인



Seed 배양사진

본배양 1일차 사진

본배양 3일차 사진

- 또한, 기존 공정에 비해 발효율이 증가하였으며, 원료의 향미가 개선됨을 확인하여 최종 공정을 확립함



A.oryzae NK - 본배양 과정

본배양 1일차

본배양 3일차



원심분리 과정



농축 과정



농축 후 사진



분무건조 과정



분무건조물

- 최종 생강추출발효 원료의 공정도

순번	공정도	사용량	조건	수율
1	종배양	300 g	- 배양액 : corn starch 4%, sucrose 2% - 멸균조건 : 121℃ 에서 15분 - 배양조건 : 30 ℃, 72 시 간, 250 rpm	
2	본배양	30 kg	- 배지: corn starch 4%, sucrose 2% - 멸균조건 : 121℃ 에서 20분 - 배양조건: 30 ℃, 48 시간, 170 rpm - 24시간 배양 후 생강농축 액 2% 첨가한 다음 48시간 배양	100
3	살균	30 kg	95℃ 30분	
4	원심분리	20 kg	균체제거 15,000 rpm	67%
5	감압농축	6.7 kg	20 brix	22%
6	혼합 및 살균	6.7 kg	농축액과 덱스트린을 약 1:1 로 혼합(고형분 기준)	
7	분무건조	8.1 kg	- 설정온도 : Inlet 170℃, Outlet 95℃ - 아토마이저 속도 : 18,000 rpm	27%
8	생강추출발효분말	2.25 kg		7%

(사) 개발 원료로써의 생강추출발효물 (FGE)의 문제점 및 대체 방안 연구

① 이론적·실험적 접근방법

- 생강추출발효물의 대량생산 공정개발은 완료하였으나, 발효균주(*A. oryzae*, 곰팡이)의 특성으로 인해 추출발효물을 장기적으로 제조할 수 있는 GMP 시설 업체 부재 (교차오염 문제)

* 유산균으로 발효 시 장기적인 대량생산이 가능하나, 기존에 보고되어 있는 많은 특허와 논문으로 인해 특화된 산업화가 불가능함

- 생강추출발효물의 경우 낮은 수율로 인해 발효 공정 추가 시 원료단가가 150만원/kg 수준으로 산업화 가능성이 매우 낮다고 판단하였음
- 추후 진균 발효물을 생산할 수 있는 GMP 시설 확보 시 원료개발 진행

② 연구내용

㉠ 기능성분 증대 기술 변경

- 상기의 문제를 해결하기 위해 생강 원료의 법제 방법 자체를 변경하기로 하였음

③ 연구결과

㉠ 증숙 생강을 활용한 원료 개발

- 연구개발 과정 중 예측 불가능한 문제를 극복하기 위하여 본 연구기관은 back up 원

료를 동시 연구하였으며, 유용한 기능성분이 큰 폭으로 증대되는 증숙 생강 원료를 확보하였음

- Pilot scale의 GMP 원료추출 (원료 500 kg) 후 기능성 평가를 진행하였으며, 생강 추출발효물 대비 비교우위에 있음을 확인하였고, 생산 단가 또한 발효물 대비 1/2 수준으로 대량생산 시 산업화가 충분히 가능할 것으로 사료되었음
- 또한, 증숙생강추출물을 이용하여 gingerol, shogaol 등의 생강 특정성분의 증감 관련 연구를 진행하였으며, 법제를 거치지 않은 생강 추출물에 비하여 상기 성분이 유의적으로 증가함을 확인하였음
- 특히, 생강 증숙 시 1-dehydro-6-gingerdione의 함량이 큰 폭으로 증가함을 확인하여, 본 연구개발을 통한 기능성분 증대 생강 원료로 개발 시 특화 원료로써 충분히 경쟁력이 있을 것으로 판단하였음
- 따라서, 본 연구개발 과제에서의 개발 원료를 생강추출발효물에서 증숙생강추출물로 최종 변경하였음

(3) 증숙생강추출물 (GGE)의 생산 및 공정 확립

(가) 증숙생강추출물 (GGE01) 생산 및 공정 확립

① 이론적·실험적 접근방법

- ㉠ 생강 산업의 활성화를 위해 생강 특정 성분의 증감을 나타내는 증숙 방법을 활용하여 생강 활성화 원료개발 연구를 추가로 진행
 - 증숙은 일반적으로 인삼을 홍삼으로 만드는 과정에 포함되며, 인체에 유익한 성분 생성, 흡수율 개선, 장기간 보존 등의 장점을 가지고 있음
 - 발효 대비 생산 공정의 단순화를 통해 단가 산정에 유리하여 산업화 가능성이 높음
- ㉡ 따라서, 본 연구에서는 생강추출발효 원료 이외에 추가로 증숙생강을 활용한 원료 개발을 진행하고자 하였음

② 연구내용

㉠ 원재료 확보 및 가공

- 국내 서산 생생강 100 kg 구입 후 세척 (95 kg 확보)
- 97°C, 증기압 3 kgf/cm², 2시간 증숙
- 저온 (45°C) 건조 (40시간)에 따른 증숙생강 확보





㉔ Pilot scale의 증숙생강추출물 제조

- 증숙생강을 15배수의 70% 주정으로 5시간 추출
- 농축액 (brix 50)과 동결건조 분말로 제조

③ 연구결과

㉔ 증숙생강추출물 (GGE01) pilot scale 원료 생산

- 국내 서산 생생강 95 kg을 증숙 후 건조하여 증숙생강 11.5 kg을 획득 (수율 12.1%)
- 증숙생강 원재료 대비 농축 원료는 약 11.3% 수율을 나타냄

㉔ 제조공정도 확립

순번	공정명	사용량	수율(%)	관리사항
1	원료 ↓	100kg		원료선별 국내산
2	세척 ↓	95kg	95%	
3	증숙 ↓	95kg		증기압 3kgf/cm ² 97°C 2시간
4	건조 ↓	11.5kg	증숙생강건조 원물 100%	45°C, 40시간
5	추출 ↓	11.5kg		1) 70%주정, 원료중량의 15배 2) 70°C, 5시간
6	여과 ↓			1마이크론
7	농축 ↓	1.3kg	11.3%	brix 50
		<i>*(0.3kg)</i>	<i>(FD)</i>	
8	살균 ↓			80°C 30분
9	포장 (농축액/분말)	1.0/		폴리에틸렌 (LDPE)

(나) 최적 소재 선정 연구

① 이론적·실험적 접근방법

㉠ 생생강을 구입하여 증숙 및 건조하여 추출물을 제조하는 경우 건조생강을 증숙 및 건조하여 추출물을 제조하는 것보다 약 3배 이상 원재료 단가가 상승하는 것을 고려하여 생생강과 건조생강의 수율 및 지표성분 함량 변화를 측정함

② 연구내용

㉠ 생생강 및 건조생강 증숙

- 97°C, 증기압 2~2.5 kgf/cm², 2시간 증숙

- 50~55°C 건조 (30시간)

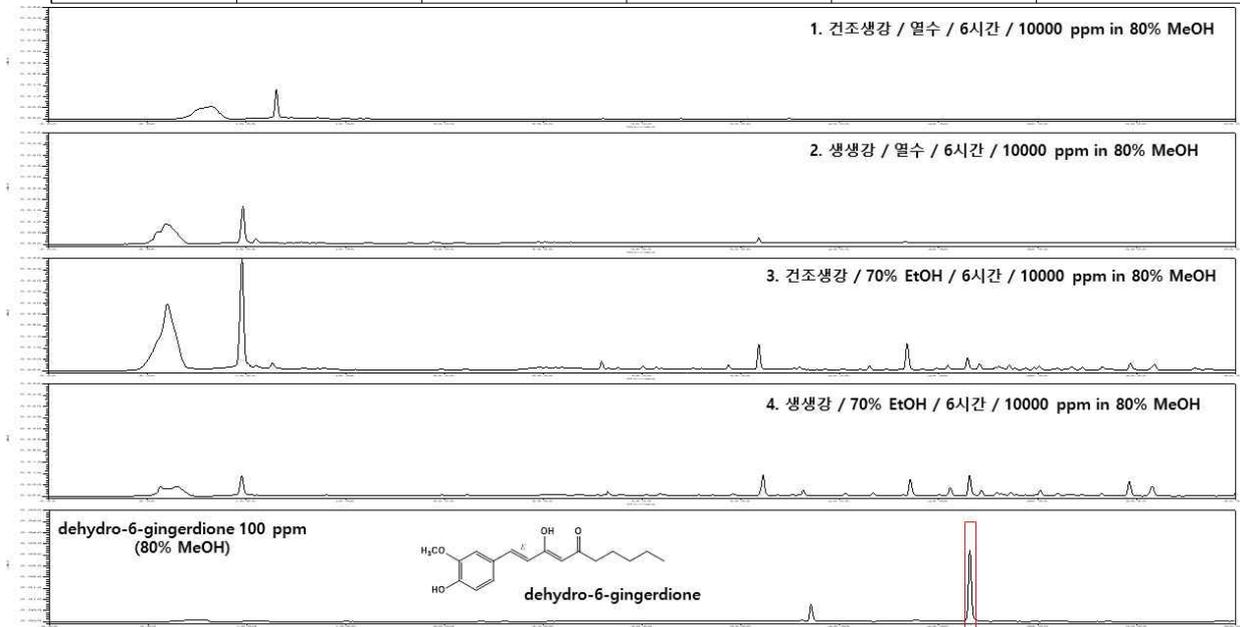
㉡ 열수 추출물 및 70% EtOH 추출물 제조

- 각 30 g의 증숙생강을 10배수의 추출용매로 6시간 추출
- 각 추출수율 및 지표성분 (1-dehydro-6-gingerdione)의 함량 분석

③ 연구결과

- ㉠ 건조생강과 생생강을 열수 및 70% EtOH로 추출하여 수율 및 지표성분 함량을 분석한 결과 열수추출 시 지표성분 함량이 낮은 것으로 확인되었으며, 건조생강의 경우 생생강에 비해 수율은 더 높았으나, 지표성분 함량이 1/2 수준인 것으로 확인되었음

		시료무게(g)	획득양(g)	추출수율(%)	지표성분 함량
건조생강	열수	30.0586	9	30	< 0.03%
	70% EtOH	30.1751	5	16.6	0.13%
생생강	열수	30.3107	2	6.7	< 0.03%
	70% EtOH	30.0496	2	6.7	0.27%



- ㉡ 따라서, 본 연구에서는 생생강의 증숙과 70% EtOH 추출법을 활용하여 원료 대량생산을 진행함

(다) 1차 증숙생강추출분말 (GGE03)의 원료 제조

① 이론적·실험적 접근방법

- GMP 기관과의 협의를 통한 증숙생강추출물의 생산 공정 확립 및 원료 대량생산
- 기능성 원료 개발을 위한 건조방법 변경 (분말로 명칭 변경)

② 연구내용

㉠ 생생강의 증숙 공정 확립

국내산 생생강 500 kg 구입 후 세척

97°C, 증기압 2~2.5 kgf/cm², 2시간 증숙

50~55°C 건조 (30시간)에 따른 증숙생강 45 kg 확보



㉔ Pilot scale의 증속생강추출분말 제조

- 증속생강을 15배수의 70% 주정으로 5시간 추출
- 농축액 (brix 50) 5 kg을 분무건조 분말 (덱스트린 50%)로 제조

③ 연구결과

㉔ 1차 증속생강추출분말 (GGE03) pilot scale 원료 생산

- 생생강 500 kg을 증속하여 45 kg의 증속생강을 확보하였으며, 이를 70% 주정으로 추출하여 52 brix의 증속생강 농축액 5.8 kg 생산 (수율 12.8%)
- 농축액 제조지시기록서 (대표페이지)

제조지시기록서				결	제 조	제조관리	GMP 총괄	
				재	담당자	책임자	책임자	
제조지시자	제조관리책임자	제 조 지 시 일	2019/04.04					
제 품 명	생강추출농축액	제 조 일 자	2019. 4. 5					
제 조 번 호	19040501	유 통 기 한	제조일로부터 2년					
제 조 단 위	45 kg	위 탁 자						
제품유형/성상	기타 농산가공품 고유의 향미가 있으며 황갈색의 점조성 액체로서, 이미.이취가 없어야 함.							
작 업 일 정								
차수	추출	농축	반제품검사	살균	충진	포장	완제품검사	비고
1차	4/4	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	
공 정 별 표 준 생 산 량								
공 정	원료투입 총량(kg)	반제품(kg)		완제품(kg)		수 율(%)		
		표준생산량	실생산량	표준생산량	실생산량			
총생산량	45 kg				5.8kg		12.8%	
특기사항								
고온수열 6.7%								

- 증숙생강 농축액 중 일부를 시험검사를 위해 제외하고 총 5 kg의 농축액을 총 용량의 50%가 되게 (농축액 brix 대비) 텍스트린을 첨가하였으며, 이를 분무건조하여 총 4.5 kg의 증숙생강추출분말을 수득함
- 증숙생강추출분말 제조지시기록서 (대표페이지)

	생산완료 보고서	Page 1 / 5
---	-----------------	------------

제 품 명	제조번호	제조단위	제조일자	유통기한
증숙생강추출분말	GEP19001	kg	20 19년 04월 15일	제조일로부터 24개월

식품의 유형	성상
식품(기타 가공품)	고유의 색택과 향미를 가진 분말로 이미, 이취가 없다.

[생산 점검]	
제조기간	20 19년 04월 15일 ~ 20 19년 04월 15일
최종 생산량 / 포장단위	4.5 kg (4.5 kg x 1 EA), (kg x EA)

[수율 점검]	
수율관리기준 : % 이상	■ 제조수율(%) = (실생산량 / 이론생산량) x 100 ■ 제조수율 = (/) x 100 = %

비고	작업자는 제조수율이 수율관리기준에서 벗어날 때 해당팀장에게 보고하고, 팀장은 일탈처리 규정에 따라 그 원인을 조사하고 시정한다. (기록보존) [제조관리기준서 HB-315 수율관리 규정]
----	---

조치사항	
------	---

<특이사항>	
--------	---

본 제품은 (주)바이오토피아 규정에 의하여 엄격히 관리로 생산된 제품임을 확인한다.

[검토 및 승인]			
구분	성명	서명	날짜
작성	제조공정담당자		2019.04.15
검토	제조공정책임자		2019.04.15
검토	제조관리책임자		2019.04.15
승인	GMP총괄책임자		2019. 4. 17

㉔ 생산원료 (증숙생강추출분말, GGE02)의 원료 성적서



Certificate of Analysis

제 품 명 : 증숙생강추출분말
 제조번호 : GEP19001
 제조일자 : 2019년 04월 15일
 사용기간 : 2021년 04월 14일
 수 량 : 4.5 kg

시험항목	시험 기준	시험결과	비고
성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말로 이미, 이취가 없다.	고유의 색택과 향미를 가진 분말로 이미, 이취가 없다	
이물	불검출	불검출	
수분	8% 이하	2.99 %	
대장균군	n=5,c=1,m=0,M=10	0,0,0,0	
일반세균	3.0 X 10 ³ 이하	적합	

Biotopia Co.Ltd.


 Chul-Young Choi
 Quality Assurance Manager
 ㈜바이오토피아

HB-505-05

(라) 2차 증숙생강추출분말 (GGE03)의 원료 대량생산

- ① 이론적·실험적 접근방법
- ㉔ 1차 생산 증숙생강추출분말과 동일한 제조방법으로 GMP 기관에서의 3 batch 증숙생강추출분말 원료 생산
- ㉔ 1차 제조소와 다른 GMP 제조소에서의 생산 원료 비교

② 연구내용

㉠ 생생강 증숙

- 국내산 생생강 1톤 구입 후 세척
- 97℃, 증기압 2~2.5 kgf/cm², 2시간 증숙
- 50~55℃ 에서 건조 (30시간) 후 96.3 kg의 증숙생강 확보

㉡ 3 batch 증숙생강추출분말 제조

- 증숙생강을 각각 15배수의 70% 주정으로 5시간 추출
- 각 농축액을 분무건조 분말 (텍스트린 50%)로 제조

③ 연구결과

㉠ 2차 증숙생강추출분말 (GGE03) 3 batch 원료 생산

- 생생강 1톤을 증숙하여 96.3 kg의 증숙생강을 확보하였으며, 이를 70% 주정으로 추출한 후 각각 2.46 kg, 2.68 kg, 2.4 kg의 증숙생강추출분말 생산
- 20190628-P1 / P2 / P3 제조지시기록서 (대표페이지) 및 성적서

㈜대호양행		제조지시기록서 (증숙생강추출분말)				문서번호	DHP-201-207
		보존 3년		Page 16			
제 품 명	증숙생강추출분말						
Lot No.	20190628-P1	유통기한	2021.06.27까지	제조단위	kg		
제조지시일	2019.06.20	제조시작일	2019.06.20	제조완료일	2019.06.06.28		
성상 및 유형	갈색의 분말						
No	Lot No (적용인)	시험번호	원 료 명	배합비율 (%)	기준량 (kg)	사용량 (kg)	정량자 확인자
1			생강추출물 (고형분100%로서)	50		2.46 (1.23)	[인]
2	20190628-P1		텍스트린	50		1.23	[인]
합계				100			
정량시 확인사항	저울 영점 확인		확인				
	정량실 온도 확인		온도 : 22℃ 습도 : 43%				
특기사항							

공정명	추출/농축	배 합	건조(SD)/원포장	기 타
제조일자	2019.06.20 ~ 06.28	2019.06.28	2019.06.28	
공정투입량	96.3	2.46	2.46	
실제생산량	1.23	2.46	2.9	
수 율(%)	1.28%	100%	26.57%	

비 고	결 재		
	제조관리책임자	품질관리책임자	총괄책임자
	[인]	[인]	[인]

㈜대호양행		제조지시기록서 (증숙생강추출분말)				문서번호	DHP-201-207
		보존 3년		Page 16			
제 품 명	증숙생강추출분말						
Lot No.	20190628-P2	유통기한	2021.06.27까지	제조단위	kg		
제조지시일	2019.06.20	제조시작일	2019.06.21	제조완료일	2019.06.06.28		
성상 및 유형	갈색의 분말						
No	Lot No (적용인)	시험번호	원 료 명	배합비율 (%)	기준량 (kg)	사용량 (kg)	정량자 확인자
1			생강추출물 (고형분100%로서)	50		2.68 (1.34)	[인]
2	20190628-P2		텍스트린 (1X5)	50		1.34	[인]
합계				100			
정량시 확인사항	저울 영점 확인		확인				
	정량실 온도 확인		온도 : 22℃ 습도 : 42%				
특기사항							

공정명	추출/농축	배 합	건조(SD)/원포장	기 타
제조일자	2019.06.21 ~ 06.28	2019.06.28	2019.06.28	
공정투입량	96.3	2.68	2.68	
실제생산량	1.34	2.68	2.9	
수 율(%)	1.39%	100%	33.58%	

비 고	결 재		
	제조관리책임자	품질관리책임자	총괄책임자
	[인]	[인]	[인]

(주)대호양행		제 조 지 시 기 록 서 (증 속 생 강 추 출 분 말)		문서번호	DHP-201-207			
				보존	3년			
				Page	16			
제 품 명		증속생강추출분말						
Lot No.	20190628-P3	유통기한	2021.06.27까지	제조단위	kg			
제조지시일	2019.06.20	제조시작일	2019.06.24	제조완료일	2019.06.06.28			
성상 및 유형	갈색의 분말			제조지시자				
No	Lot No (제안일)	시험번호	원 료 명	배합비율 (%)	기준량 (kg)	사용량 (kg)	칭량자	확인자
1			생강추출물 (고형분100%로서)	50		1.98 (1.2)		
2			텍스트린 (D25.1)	50		1.2		
합계				100				
칭량시 확인사항		저울 영점 확인		확인				
		칭량실 온도 확인		온도 : 22℃ 습도 : 32%				
특기사항								
공정명	추출/농축	배 합	건조(SD)/완포장	기 타				
제조일자	2019.06.24 ~ 2019.06.28	2019.06.28	2019.06.28					
공정투입량	96.4	2.4	2.4					
실제생산량	1.2	2.4	0.9					
수 율 (%)	1.24%	100%	37.5%					
비 고		결 제						
		제조관리책임자	품질관리책임자	총괄책임자				

제조지시기록서(제기공품-건조분말)
DHP-202-207/Rev7

Page 1of 5

제 품 시 험 성 적 서

결	담당자	연구
계		소장

제품명 : 증속생강추출분말(임가공)

시 험 항목	규 격 기준	시 험 결 과	비 고
성 상	고유의 색택과 향미를 가지 고, 이미, 이취가 없다	적합	
이 품	적합	적합	
수분(%)	8.0이하	적합	
일반세균(cfu/g)	3,000이하	적합	
대장균군(CFU)	n=5, c=1, m=0, M=10	0.0,0.0,0	
제조연월일	2019년 06월 28일		
Lot No.	20190628-P1		
판 정	적 합		

상기와 같이 제품시험성적서를 제출합니다.
2019년 07월 01일



(마) 3차 증속생강추출분말 (GGE03)의 원료 대량생산

① 이론적·실험적 접근방법

- ㉠ 인체적용시험약 및 건강기능식품 생산을 위한 증속생강추출분말 대량 생산
- ㉡ 최종 공정 점검 및 원료 안정성 확보

② 연구내용

㉠ 생생강 증속

- 국내산 생생강 2톤 구입 후 세척
- 97℃, 증기압 2~2.5 kgf/cm², 2시간 증속
- 50~55℃에서 건조 (30시간) 후 265 kg의 증속생강 확보

㉡ 증속생강추출분말 제조

- 증속생강을 각각 15배수의 70% 주정으로 5시간 추출
- 각 농축액을 분무건조 분말 (텍스트린 50%)로 제조

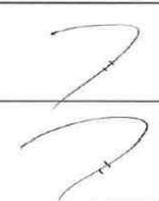
③ 연구결과

㉠ 3차 증속생강추출분말 (GGE03) 원료 생산

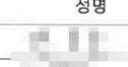
- 생생강 2톤을 증속하여 265 kg의 증속생강을 확보하였으며, 이를 70% 주정으로 추출한 후 65 kg의 증속생강추출분말 생산 (생생강 대비 수율 3.2%, 증속생강 대비 수율 24.5%)
- 3차 증속생강추출 농축액 제조지시기록서 (대표페이지)

제조지시기록서				결	제 조 담당자	제조관리 책임자	GMP 총괄 책임자	
제조지시자	제조관리책임자 민병훈	제 조 지 시 일	2020.01.13					
제 품 명	중속생강추출농축액	제 조 일 자	2020. 1. 15					
제 조 번호	2001/501	유 통 기 한						
제 조 단위	265 kg	위 탁 자	정말매독도					
제품유형/성상	고유의 향미가 있으며 황갈색의 점조성 액체로서, 이미,이취가 없어야 함.							
작업일정								
차수	추출	어과	농축	반제품검사	살균	충진	포장	완제품검사
1차	1/13	1/14	1/14	1/14	1/15	1/15	1/15	
공정별표준생산량								
공정	원료투입 총량(kg)	반제품(kg)		완제품(kg)		수율(%)		
		표준생산량	실생산량	표준생산량	실생산량			
총생산량	265 kg					136kg	51.3%	

- GEP20001의 제조지시기록서 (대표페이지)

Huons Natural		생산완료 보고서			Page 1 / 5
제 품 명	제조번호	제조단위	제조일자	유통기한	
중속생강추출분말	GEP20001	kg	2020년 1월 20일	제조일로부터 24개월	
식품의 유형	성상				
식품(기타 가공품)	고유의 색택과 향미를 가진 분말로 이미, 이취가 없다.				
[생산 점검]					
제조기간	2020년 1월 20일 ~ 2020년 1월 20일				
최종 생산량 / 포장단위	65 kg (20 kg x 3 EA), (5 kg x 1 EA)				
[수율 점검]					
수율관리기준 : % 이상	■ 제조수율(%) = (실생산량 / 이론생산량) x 100 ■ 제조수율 = (/) x 100 = %				
비고	작업자는 제조수율이 수율관리기준에서 벗어날 때 해당팀장에게 보고하고, 팀장은 일탈처리 규정에 따라 그 원인을 조사하고 시정한다. (기록보존) [제조관리기준서 HB-315 수율관리 규정]				
조치사항					
<특이사항>					

본 제품은 (주)휴온스내츨 규정에 의하여 엄격히 관리로 생산된 제품임을 확인한다.

[검토 및 승인]			
구분	성명	서명	날짜
작성	제조공정담당자		2020. 1. 20
검토	제조공정책임자		2020. 1. 20
검토	제조관리책임자		2020. 1. 20
승인	품질관리책임자		2020. 01. 22.

- GEP20001의 성적서 (대표페이지)



Certificate of Analysis

제 품 명 : 증숙생강추출분말
제조번호 : GEP20001
제조일자 : 2020 년 01 월 20 일
사용기간 : 2022 년 01 월 19 일
수 량 : 65 kg

시험항목	시험 기준	시험결과	비고
성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말로 이미, 이취가 없다.	고유의 색택과 향미를 가진 분말로 이미, 이취가 없다	
이물	불검출	불검출	
수분	8% 이하	3.51 %	
대장균군	n=5,c=1,m=0,M=10	0,0,0,0,0	
일반세균	3.0 X 10 ³ 이하	적합	

HUONS NATURAL CO.,LTD.

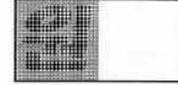


HB-505-05

㈜휴온스내츄럴

④ 3차 증숙생강추출분말 (GGE03) 원료의 식품첨가물 품목 신고

- 고시형 컨셉 제품을 제조하기 위해 3차 증숙생강추출분말의 식품첨가물 품목 신고



식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명)	생년월일(법인번호)		
	주소	전화번호	휴대전화	
영업소	명칭(상호)			
	소재지			
제품정보	식품의 유형	기타가공품	영업등록번호	20170380065
	제품명	중속생강추출분말		
	유통기한	제조일로부터 24개월		
	품질유지기한	제조일로부터 24개월		
	원재료 또는 성분명 및 배합 비율	뒷장에 기재		
	용도 용법	뒷장에 기재		
	보관방법 및 포장재질	뒷장에 기재		
	포장방법 및 포장단위	밀봉포장, 자사포장단위에 따른다.		
	성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말로 이미, 이취가 없다.		
	고열량·저영양 식품 해당 여부	<input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="radio"/> 해당 없음	할랄인증 여부	<input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오
기타				

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2019년 04월 19일

보고인

강원도 춘천시장 귀하

품목보고번호	20170380065-24		
처리부서	보건소 식품의약과	처리자성명	처리일자
			2019년 04월 22일

(4) 중속생강추출분말 (GGE03)의 지표성분 분석법 밸리데이션

(가) 시험법 검토

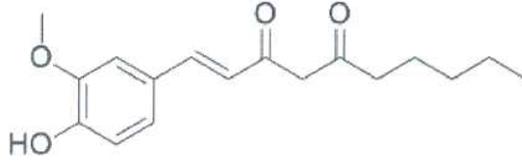
① 이론적·실험적 접근방법

- ㉓ 중속생강의 특이성분이자 본 연구개발 원료에서 지표성분으로 설정한 1-Dehydro-6-Gingerdione의 분석 시험법을 설정하고자 1차 설정한 분석법의 적절성을 판단하고자 하였으며, 분석법 변경을 통해 최적의 분석법을 확립하고자 하였음
- ㉔ 본 시험법의 검토는 HPLC를 이용하여 중속생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione의 함량을 정량하는 것을 목적으로 하며, 공인인증기관인 한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원에서 시험법 검토를 진행함

② 연구내용

㉠ 분석물질 정보

- 시료: 증숙생강추출분말 (GGE03)
- 기능/지표성분: 1-Dehydro-6-Gingerdione



CAS Number : 76060-35-0

Molecular formula : C₁₇H₂₂O₄

Molecular weight : 290.4 g/mol

㉡ 표준용액 및 시험용액 제조

- 1-Dehydro-6-Gingerdione 5 mg을 정밀히 칭량하여 50 mL 플라스크에 취하고, 80% MeOH을 가하여 초음파 추출 후 정용하여 표준원액을 80% MeOH로 적절히 희석함
- 증숙생강추출분말 500 mg을 정밀히 칭량하여 50 mL 플라스크에 취하고, 80% MeOH을 가하여 초음파 추출 후 정용함
- Syringe filter (0.45 μm, PTFE)를 사용하여 여과한 것을 최종 시험용액으로 사용함

㉢ 1차 기기분석 조건

Instrument	Agilent HPLC system		
Detector	DAD		
Wavelength	254 nm		
Column	Cadenza CD-C18 column (250 mm × 4.6 mm, 3 μm)		
	A : 0.1 % Formic acid in DW B : Acetonitrile		
Mobile phase	min	A (%)	B (%)
	0	70	30
	5	70	30
	10	45	55
	13	45	55
	20	20	80
	23	20	80
	30	0	100
	60	0	100
	62	70	30
70	70	30	
Flow rate	0.4 mL/min		
Injection volume	10 μL		
Oven temperature	25 °C		

㉣ 계산식

$$\begin{array}{l}
 \text{1-Dehydro} \\
 \text{-6-Gingerdione} \\
 \text{(mg/g)}
 \end{array}
 = \frac{\text{검량선농도}(\mu\text{g/mL}) \times \text{시험용액전량}(\text{mL}) \times \text{표준품 순도} \times \text{희석배수}}{\text{시료채취량}(\text{mg})}$$

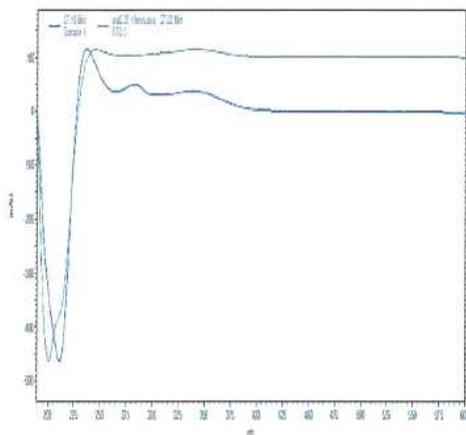
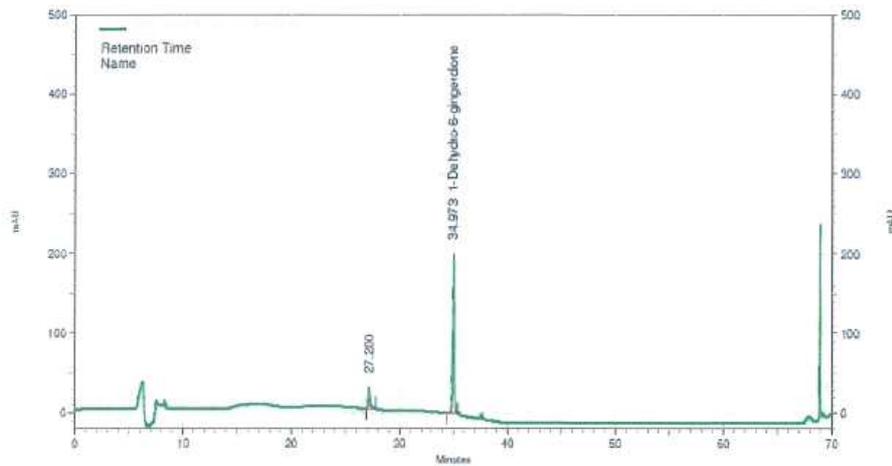
③ 연구결과

㉠ 1차 실험에 따른 1-Dehydro-6-Gingerdione peak 확인

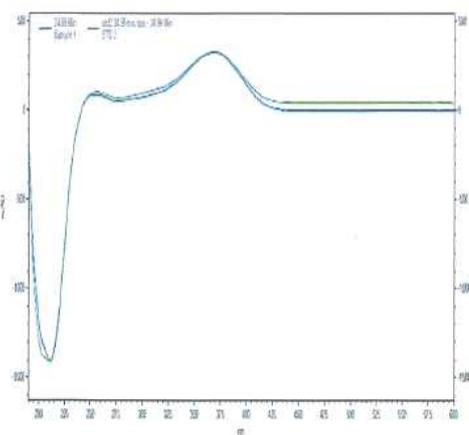
- 표준물질의 경우 27.20분, 34.973분대에서 2개의 peak가 검출되었으며, 표준용액과 시

시험용액 간의 UV spectrum을 비교한 결과, 27.20분대의 peak는 낮은 감도 뿐만 아니라 시험용액과 일치하지 않았음

- 34.973분대 peak는 높은 감도와 370 nm 부근에서 최대흡수 파장을 나타내는 특이성을 확인할 수 있었으며, 시험용액의 동일한 시간대 peak와 같은 spectrum 양상임을 확인함



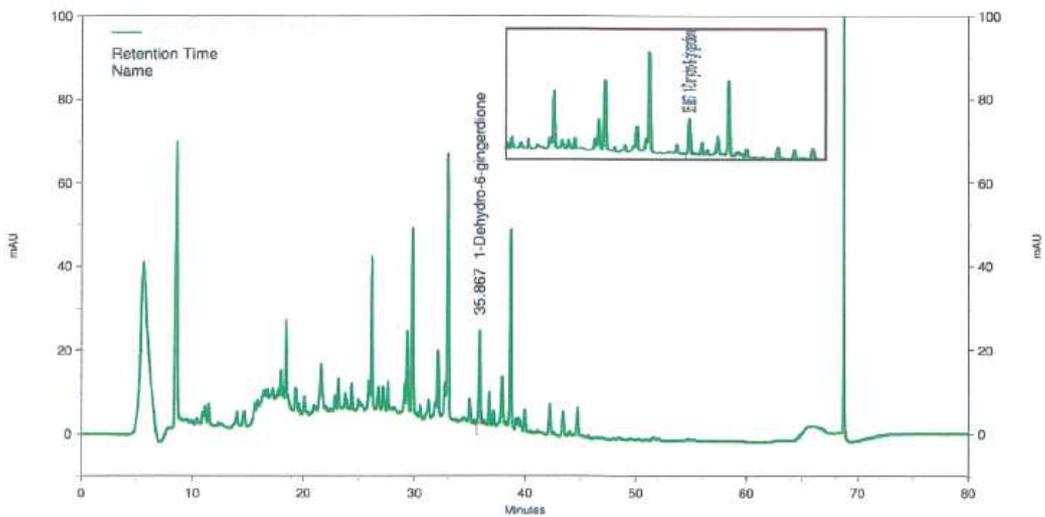
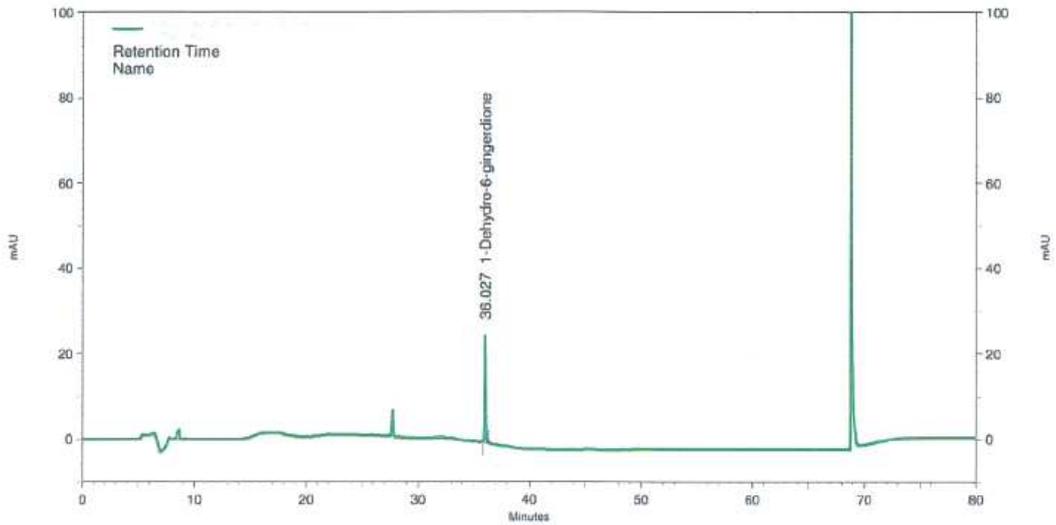
A : RT 27.19 min peak의 Spectrum



B : RT 34.97 min peak의 Spectrum

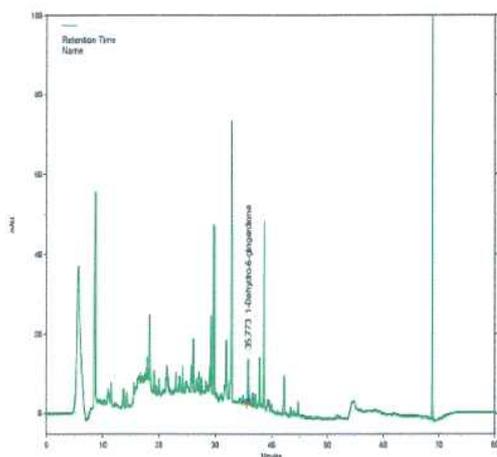
㉠ 1차 실험에 따른 1-Dehydro-6-Gingerdione 분석 가능 여부 확인

- 증숙생강추출분말에서 표준물질과 동일한 RT인 1-Dehydro-6-Gingerdione peak가 검출되었고, spectrum을 통해 단일물질임을 확인함
- 그러나, 시험용액의 chromatogram의 경우, baseline background peak로 인해 정확한 정량이 어려웠으며, baseline 상승에 대한 부분은 개선이 필요하다 판단하였음

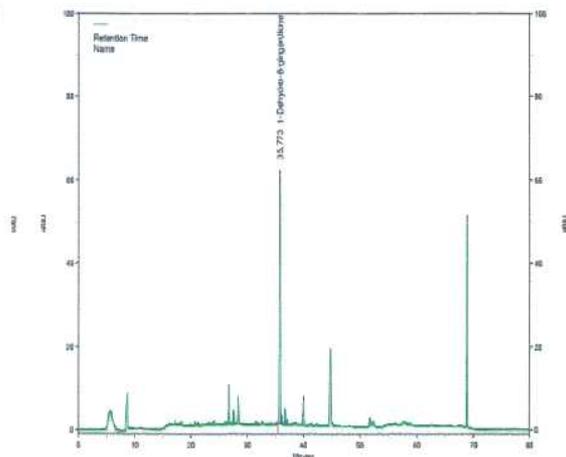


㉔ 분석과장 변경에 따른 1-Dehydro-6-Gingerdione 분석법 검토

- 시험용액의 peak 분리도를 개선하고자 UV spectrum을 통해 확인된 최대흡수 파장인 370 nm로 분석조건을 변경하여 2차 실험을 진행하였으며, 그 결과, 254 nm 분석과장에서 문제가 되었던 baseline background peak 및 baseline 상승 부분이 개선됨을 확인함



A : 254 nm Chromatogram



B : 370 nm Chromatogram

㉔ 전처리 방법 변경에 따른 1-Dehydro-6-Gingerdione의 함량 검토

- 전처리 과정 중 80% MeOH를 이용한 추출에서 시료가 분산되지 않고 멍치는 현상이 나타났으며, 이러한 현상으로 인해 재현성에 문제가 있을 수 있다고 판단하여 전처리 방법을 추가로 검토함
- 80% MeOH를 이용해 추출하는 기존의 전처리 방법과 증류수를 가해 충분히 분산시킨 후 MeOH로 정용하는 방법을 비교하여 지표성분의 함량을 분석함

전처리 방법	Rep	최종부피 (mL)	검출농도 (µg/mL)	시료 채취량 (mg)	결과값 (mg/g)	평균함량 (mg/g)	SD	RSD%
80% MeOH 추출	1	50	9.9649	504.70	0.9675	0.9018	0.11	11.80
	2	50	8.2381	518.20	0.7790			
	3	50	9.9313	507.50	0.9589			
증류수 분산 후 MeOH 추출	1	50	9.9777	511.00	0.9568	0.9478	0.01	1.42
	2	50	10.1752	522.50	0.9542			
	3	50	9.9759	524.30	0.9323			

㉕ 변경된 최종 분석법을 활용한 1-Dehydro-6-Gingerdione의 직선성 및 반복성 검토

- 제조된 표준용액을 적절한 농도로 희석하여 3.3375~106.8000 ppm의 범위에서 직선성이 나타남을 확인함 ($R^2=1.000$)

STD level	1-Dehydro-6-Gingerdione 농도 (µg/mL)	Area	검량선
1	3.3375	38,684,915	
2	6.6750	75,396,115	
3	13.3500	150,003,966	
4	26.7000	303,572,383	
5	53.4000	601,328,763	
6	106.8000	1,200,080,141	

- 표준용액과 동일한 시간대의 1-Dehydro-6-Gingerdione peak 함량은 평균 0.9478 mg/g, 표준편차 (SD) 0.01, 상대표준편차 (%RSD) 1.42로 편차없는 결과를 나타냄

	Rep	최종부피 (mL)	검출농도 (ug/mL)	시료 채취량 (mg)	결과값 (mg/g)	평균함량 (mg/g)	SD	RSD%
최종	1	50	9.9777	511.00	0.9568	0.9478	0.01	1.42
	2	50	10.1752	522.50	0.9542			
	3	50	9.9759	524.30	0.9323			

(나) 시험법 검증

① 이론적·실험적 접근방법

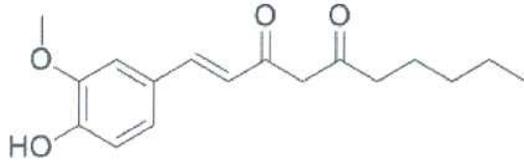
- ㉑ 증숙생강의 특이성분이자 본 연구개발 원료에서 지표성분으로 설정한 1-Dehydro-6-Gingerdione의 최종 분석법 확립에 따라 이에 대한 검증을 실시함
- ㉒ 증숙생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione을 정해진 방법으로 처리하여 분리, 정량하는 분석법의 유효성을 검증하는데 그 목적이 있으며, 분석법의 검증을 위해 특이성, 직선성, 정확도, 정밀도의 항목을 검토함

㉔ 본 시험법 검증은 공인인증기관인 한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원에서 실시함

② 연구내용

㉑ 분석물질 정보

- 시료: 증숙생강추출분말 (GGE03)
- 기능/지표성분: 1-Dehydro-6-Gingerdione



CAS Number : 76060-35-0

Molecular formula : C₁₇H₂₂O₄

Molecular weight : 290.4 g/mol

㉒ 표준용액 및 시험용액 제조

- 1-Dehydro-6-Gingerdione 5 mg을 정밀히 칭량하여 50 mL 플라스크에 취하고, 80% MeOH을 가하여 초음파 추출 후 정용하여 표준원액을 80% MeOH로 적절히 희석함
 - 증숙생강추출분말 500 mg을 정밀히 칭량하여 50 mL 플라스크에 취하고, 10 mL의 증류수를 가해 충분히 분산시킨 후 MeOH을 가하여 초음파 추출 후 정용함
- Syringe filter (0.45 μm, PTFE)를 사용하여 여과한 것을 최종 시험용액으로 사용함

㉓ 기기분석 조건

Instrument	Agilent HPLC system		
Detector	DAD		
Wavelength	370 nm		
Column	Cadenza CD-C18 column (250 mm × 4.6 mm, 3 μm)		
	A: 0.1 % Formic acid in DW B: Acetonitrile		
Mobile phase	min	A (%)	B (%)
	0	70	30
	5	70	30
	10	45	55
	13	45	55
	20	20	80
	23	20	80
	30	0	100
	60	0	100
	62	70	30
	80	70	30
Flow rate	0.4 mL/min		
Injection volume	10 μL		
Oven temperature	25 °C		

㉔ 계산식

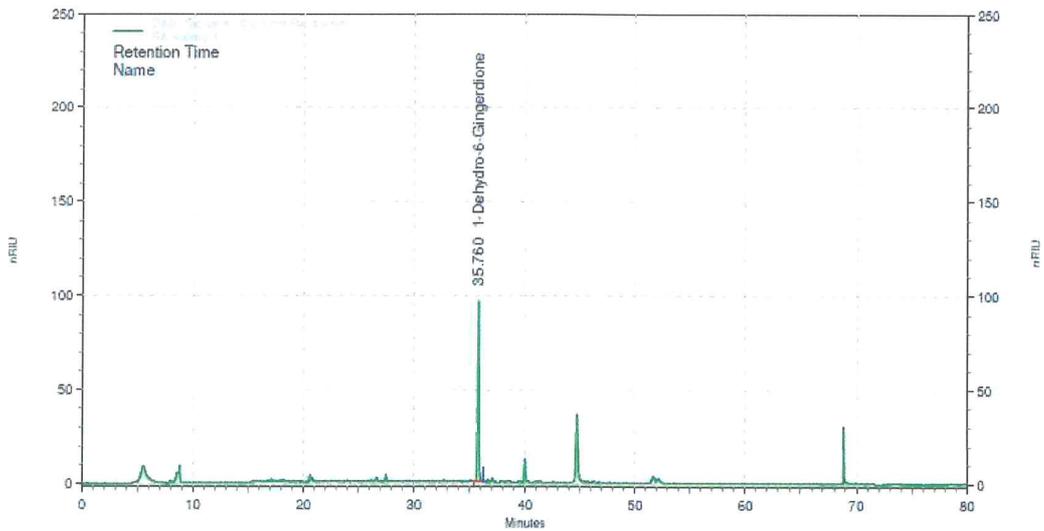
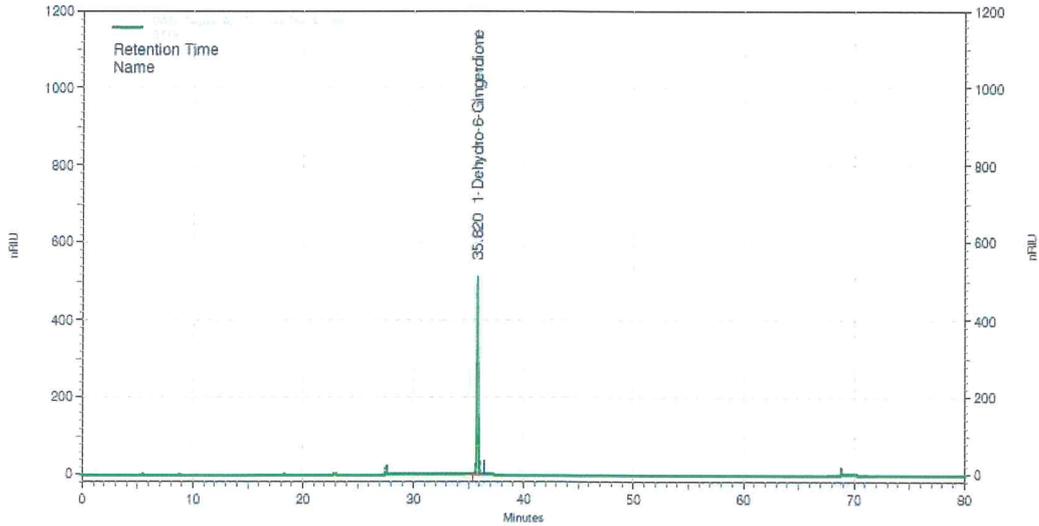
$$\begin{aligned}
 & \text{1-Dehydro-6-gingerdione (mg/g)} \\
 & = \frac{\text{검량선농도}(\mu\text{g/mL}) \times \text{시험용액전량}(\text{mL}) \times \text{표준품 순도} \times \text{희석배수}}{\text{시료채취량}(\text{mg})}
 \end{aligned}$$

③ 연구결과

㉔ 특이성 (Specificity)

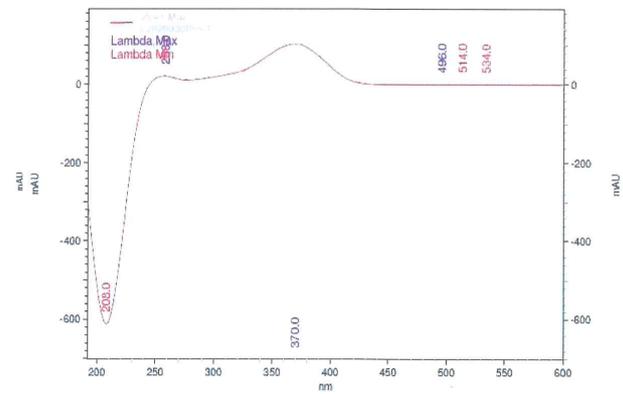
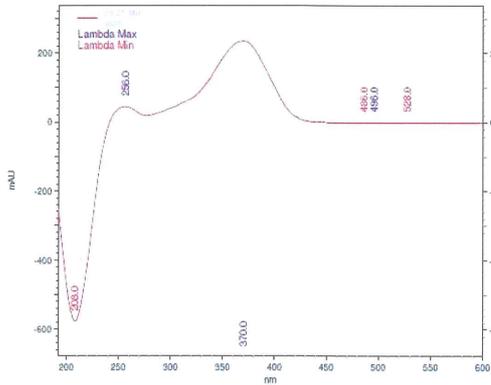
* 증숙생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione의 chromatogram

- 1-Dehydro-6-Gingerdione의 표준물질과 시료를 같은 분석법으로 분석한 결과, 표준용액의 경우 1-Dehydro-6-Gingerdione 35.820, 시험용액 또한 1-Dehydro-6-Gingerdione이 35.760분에 검출되었으며, 해당 분석법은 분리도에 문제가 없음을 확인함



* 증숙생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione의 spectrum 확인

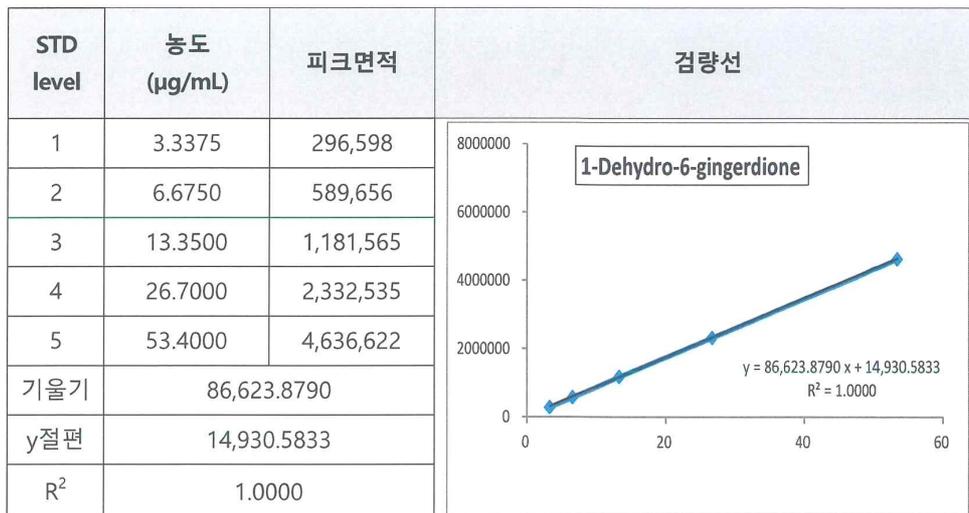
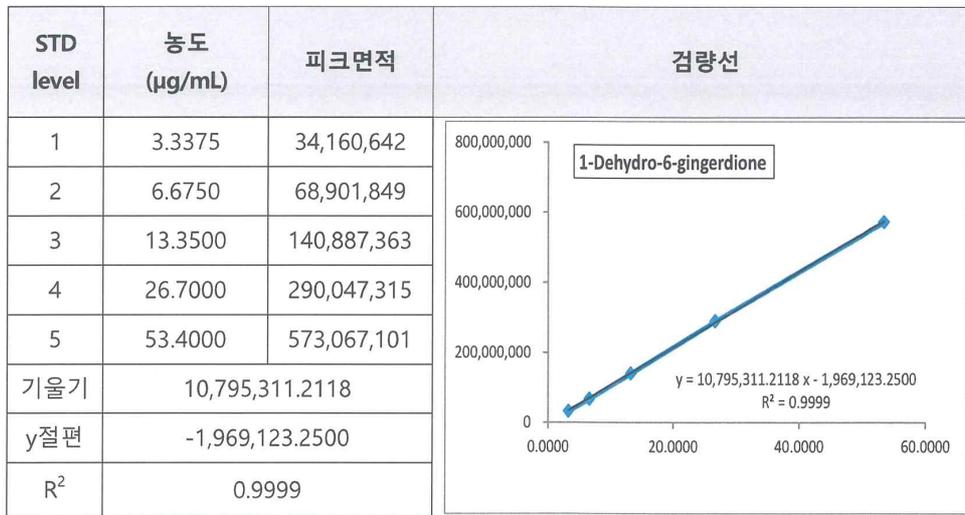
- 시험용액의 1-Dehydro-6-Gingerdione peak가 표준용액과 동일한지 확인하기 위해 해당 peak의 spectrum을 확인한 결과, 정확하게 일치하는 것으로 확인됨

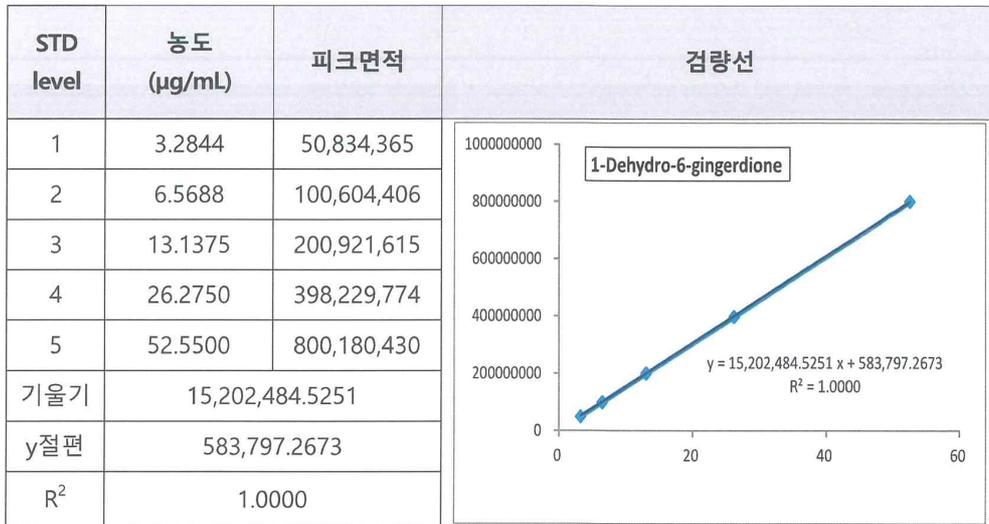


㉠ 직선성 (Linearity)

* 1-Dehydro-6-Gingerdione의 직선성 (3회 실험)

- 1-Dehydro-6-Gingerdione은 약 3.2844~53.4000 $\mu\text{g/mL}$ 범위에서 직선성이 나타남을 확인하였으며, 직선의 상관계수는 해당농도 범위에서 $R^2=0.9999$ 이상으로 나타남





㉔ 정확도 (Accuracy) 및 회수율 (Recovery)

- * 정확성은 1-Dehydro-6-Gingerdione이 없는 시료에 1-Dehydro-6-Gingerdione 표준용액을 가하여 회수율을 측정하였으며, 시험용액 중 검출농도가 약 4.0240, 8.4080, 12.6120 µg/mL이 되도록 표준용액을 가한 후 동일한 전처리와 기기분석으로 측정함
- 그 결과, 4.2040~12.6120 µg/mL 범위에서 회수율이 97.54~99.48%, 상대 표준편차 (%RSD)는 0.31~0.62%로 나타남

표준물질 ($\mu\text{g/mL}$)	원료+ 표준물질 ($\mu\text{g/mL}$)	시료 채취량 (mg)	시험용액 검출농도 ($\mu\text{g/mL}$)	시료 100mg 당 시험용액의 농도					
				농도 ($\mu\text{g/mL}$)	평균농도 ($\mu\text{g/mL}$)				
0	-	507.90	0.0000	0.0000	0.0000				
		508.00	0.0000	0.0000					
		497.30	0.0000	0.0000					
Spike 농도 ($\mu\text{g/mL}$)	시료 채취량 (mg)	시료 채취량 대비 계산농도 ($\mu\text{g/mL}$) [A]	시험용액 검출농도 ($\mu\text{g/mL}$) [B]	추가된 표준물질 검출농도 ($\mu\text{g/mL}$) [B-A]	이론농도 ($\mu\text{g/mL}$) [C]	회수율 (%) {[B-A]/[C] *100}	회수율 평균 (%)	SD	%RSD
4.2040	515.20	0.0000	4.1203	4.12	4.2040	98.01	97.54	0.60	0.62
	518.60	0.0000	4.1087	4.11		97.73			
	505.60	0.0000	4.0722	4.07		96.86			
8.4080	509.30	0.0000	8.2772	8.28	8.4080	98.44	98.94	0.49	0.50
	506.70	0.0000	8.3188	8.32		98.94			
	511.40	0.0000	8.3602	8.36		99.43			
12.6120	512.50	0.0000	12.5046	12.50	12.6120	99.15	99.48	0.31	0.31
	504.50	0.0000	12.5523	12.55		99.53			
	513.90	0.0000	12.5826	12.58		99.77			

㉔ 정밀도 (Precision)

* 재현성

- 증숙생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione 함량의 재현성을 확인하기 위하여 분석장비, 분석자 및 분석일자를 달리하여 진행하였으며, 결과는 증숙생강추출분말의 채취량을 약 500 mg으로 5회 반복시험하여 다른 일자에 2명의 시험자가 2종의 기기로 확인함
- 실험간의 분석결과, 1-Dehydro-6-Gingerdione의 함량은 평균 0.99 mg/g으로 분석되었으며, 이때 표준편차 (SD)는 0.03, 상대표준편차 (%RSD)는 3.03으로 나타남

시험자 및 분석일자	사용기기	함량 (mg/g)	평균함량 (mg/g)	SD	%RSD
1차 (2020-03-13, 분석자 A)	Agilent 1260	1.01	0.99	0.03	3.03
		1.02			
		1.03			
		1.02			
		1.03			
2차 (2020-03-18, 분석자 B)	Shimadzu	0.96			
		0.96			
		0.97			
		0.97			
		0.95			
3차 (2020-03-17, 분석자 A)	Simadzu	0.97			
		0.98			
		0.97			
		0.97			
		0.99			

* 반복성

- 증숙생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione 함량의 반복성을 확인하기 위하여 검체량을 달리하여 분석을 진행하였으며, 시료량을 각각 250, 500, 750 mg으로 다르게 취해 각각 5회 반복으로 측정치를 비교함
- 분석결과, 1-Dehydro-6-Gingerdione의 전체 함량은 평균 1.02 mg/g, 표준편차 (SD)는 0, 상대표준편차(%RSD) 또한 0으로 나타남

Rep	함량(mg/g)		
	시료 250 mg	시료 500 mg	시료 750 mg
1	1.02	1.01	1.02
2	1.03	1.02	1.01
3	1.00	1.03	1.02
4	1.02	1.02	1.03
5	1.01	1.03	1.01
평균함량	1.02	1.02	1.02
SD	0.01	0.01	0.01
%RSD	0.98	0.98	0.98
전체 평균함량	1.02		
전체 SD	0.00		
전체 %RSD	0.00		

㉓ 증숙생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione 시험법 검증 요약

항목	평가방법	설정값
특이성 (Specificity)	HPLC 분석시 피크 머무름 시간(Retention time)과 스펙트럼으로 검토	<ul style="list-style-type: none"> ○ 검출시간: 1-Dehydro-6-gingerdione 약 35.86 분대에 피크 검출 ○ λ_{max}: 256, 370nm
직선성 (Linearity)	표준물질에 대한 5개 농도로 3회 분석 직선성 확인	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1-Dehydro-6-gingerdione 3.2844 ~ 53.4000 $\mu\text{g/mL}$ $R^2=0.9999$ 이상
정확도 (Accuracy)	3개 농도로 표준물질을 첨가하여 회수율 검토	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1-Dehydro-6-gingerdione 4.2040~12.6120 $\mu\text{g/mL}$ 범위에서 회수율 : 97.54 ~ 99.48 % 상대표준편차(%RSD): 0.31 ~ 0.62
정밀도 (Precision)	3일간 2명의 시험자가 2종의 기기로 반복재현성, 일간, 기기간, 시험자간 정밀도 평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1-Dehydro-6-gingerdione : 함량 평균 0.99 mg/g, 표준편차 0.03, 상대표준편차(%RSD) 3.03
	시료량을 달리하여 정밀도 평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1-Dehydro-6-gingerdione : 함량 평균 1.02 mg/g, 표준편차 0.00, 상대표준편차(%RSD) 0.00

(5) 증숙생강추출분말 (GGE03)의 기준규격 설정

(가) 기능/지표성분 규격 설정

① 이론적·실험적 접근방법

- ㉠ 증숙생강추출분말의 기준규격을 설정하기 위하여 3 lot 원료를 각각 3반복으로 지표성분 함량 분석
- ㉡ 증숙생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione의 함량 분석은 공인인증기관인 한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원에서 검증

② 연구내용

㉠ 시험재료

- 증숙생강추출분말 (GGE03): Batch No. 20190628-P1 / GEP19001 / GEP20001
- 기능/지표성분: 1-Dehydro-6-Gingerdione

㉔ 시험법

- 시험법 검증 방법과 동일함

㉕ 기준규격 설정 방법

- 각 lot 간의 평균값, 표준편차, 최소값, 최대값을 구하여 기준규격 설정

③ 연구결과

㉑ 증숙생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione 함량 분석

- 3 lot을 각각 3반복으로 1-Dehydro-6-Gingerdione을 분석한 결과, 평균 1.18 mg/g의 함량을 나타냈으며, 최소값은 0.97 mg/g, 최대값은 1.41 mg/g으로 확인되었음

		Lot 1	Lot 2	Lot 3	평균
1-Dehydro-6-gingerdione 함량 (mg/g)	1	1.15	1.40	0.98	1.18 ± 0.19
	2	1.18	1.41	0.97	
	3	1.18	1.40	0.97	
	평균	1.17	1.40	0.97	

㉒ 증숙생강추출분말 중 1-Dehydro-6-Gingerdione의 규격 설정

- 상기 결과를 바탕으로 지표성분의 일반적인 규격 범위인 80~120%로 설정하고자 하였으며, 0.944~1.416 mg/g으로 최종 규격을 설정함

	1-Dehydro-6-gingerdione 함량 범위 (mg/g)
전체평균 ± 표준편차	1.18 ± 0.19
평균의 80 ~ 120 %	0.944 ~ 1.416
각 Lot 별 최소값 ~ 최대값	0.97~ 1.41

(나) 유해물질의 규격 설정

① 이론적 · 실험적 접근방법

㉑ 증숙생강추출분말의 유해물질 규격은 원재료 또는 제조과정 중 유해물질의 오염 또는 잔류 가능성을 막고 안전성을 확보할 수 있도록 설정

㉒ 증숙생강추출분말의 유해물질 분석은 공인인증기관인 한국건강기능식품협회 부설 한국 기능식품연구원에서 검증

② 연구내용

㉑ 시험재료

- 증숙생강추출분말 (GGE03): Batch No. 20190628-P1 / GEP19001 / GEP20001

㉒ 시험항목

- 유해물질 규격설정 항목 중 중금속 4종과 미생물의 기준 규격 설정

원료	항목	규격	비고
모든 원료	중금속	납	< 10.8 μ g/일
		총비소	< 150 μ g/일
		카드뮴	< 3.0 μ g/일
		총수은	< 2.1 μ g/일
	미생물	대장균군	음성
		세균수	\leq 100/g (액상제품에 한함)

③ 연구결과

㉑ 중금속

- 분석결과, 최대치는 납 0.0288 mg/kg, 총비소 0.048 mg/kg, 카드뮴 0.007 mg/kg였으며, 총수은은 불검출 됨

시 험 항 목	Lot 1	Lot 2	Lot 3
납(mg/kg)	0.0288	0.0195	0.0150
중금속 총비소(mg/kg)	0.0480	0.0318	0.0382
카드뮴(mg/kg)	0.0070	0.0051	0.0063
총수은(mg/kg)	불검출	불검출	불검출

- 원료에서 발생할 수 있는 오차, 원료의 1일 최대섭취량, 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정에서 제안하고 있는 중금속 기준을 고려하여, 안전성에 문제가 없도록 모든 항목을 1 mg/kg 이하로 설정

시 험 항 목	규격	상한값(이하)*
납(mg/kg)	< 10.8 μ g/일	10.8 μ g/g
중금속 총비소(mg/kg)	< 150 μ g/일	150 μ g/g
카드뮴(mg/kg)	< 3.0 μ g/일	3.0 μ g/g
총수은(mg/kg)	< 2.1 μ g/일	2.1 μ g/g

* 증속생강추출분말의 최대섭취량을 1g/일로 계산. 단, 섭취량 변경 시 검토 필요.

㉒ 대장균군

- 대장균군은 실험결과 모든 원료에서 음성으로 확인되었으며, 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정에 따라 대장균군의 규격을 음성으로 설정

시 험 항 목		Lot 1	Lot 2	Lot 3
미생물	대장균군	음성	음성	음성

㉔ 증숙생강추출분말의 기준규격 최종 설정

시험항목		제안규격
성상		이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 연한 황갈색의 분말
1-Dehydro-6-gingerdione 함량		1.18 mg/g의 80 ~ 120 %
중금속	납	1.0 mg/kg 이하
	카드뮴	1.0 mg/kg 이하
	총비소	1.0 mg/kg 이하
	총수은	1.0 mg/kg 이하
미생물	대장균군	음성

(다) 잔류농약 분석

① 이론적·실험적 접근방법

- ㉔ 잔류농약은 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정에 의거하여 규격으로 설정하지는 않지만, 시험결과를 제출하여야 하는 항목으로 58종의 잔류농약을 검사해야 함
- ㉔ 증숙생강추출분말의 잔류농약 분석은 공인인증기관인 한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원에서 검증

② 연구내용

㉔ 시험재료

- 증숙생강추출분말 (GGE03): Batch No. GEP20001

㉔ 시험항목 및 방법

시 험 항 목	시 험 방 법
Atrazine, BHC, Bifenthrin, Captan, Chlorfenapyr, Chlorothalonil, Chlorpyrifos, Cyhalothrin, Cypermethrin, Cyprodinil, DDT, Diazinon, Dichlorvos, Dicofol, Dimethoate, Endosulfan, Endosulfan-Sulfate, Ethion, Fenitrothion, Fenpropathrin, Fenvalerate, Fludioxonil, Imazalil, Iprodione, Isoprothiolane, Methidathion, Malathion, Paclbutrazol, Parathion-methyl, Permethrin, Phenthoate, Phosmet, Pirimiphos-Methyl, Prochloraz, Procymidone, Profenofos, Quintozene, Triadimefon, Triazophos, Triflumizole, Fipronil, Tebuconazole, 2,6-Diisopropyl-naphthalene	식품공전 제 8. 일반시험법 7. 식품 중 잔류농약 분석법 7.1 식품일반 7.1.2.2 다중농약 다성분 시험법
Acetamiprid, Azoxystrobin, Boscalid, Carbaryl, Carbofuran, Fenhexamid, Methomyl, Methoxyfenozide, Pyraclostrobin, Pyrimethanil, Thiamethoxam, Flubendiamide, Thiodicarb, Chlorantraniliprole, Lufenuron, Chlorobenzuron	식품공전 제 8. 일반시험법 7. 식품 중 잔류농약 분석법 7.1 식품일반 7.1.2.2 다중농약 다성분 시험법 - 제2법

③ 연구결과

- ㉑ 잔류농약 분석결과, 58종 중 1종 (isoprothiolane이 0.0481 mg/g) 만이 검출되었으나, 이는 미량으로 안전성에 문제는 없음

연번	시 험 항 목	분석결과
1	다이아지논(Diazinon)	불검출
2	디디티(DDT)	불검출
3	디코폴(Dicofol)	불검출
4	디클로르보스(Dichlorvos)	불검출
5	말라티온(Malathion)	불검출
6	메토밀(Methomyl)	불검출
7	메톡시페노자이드(Methoxyfenozide)	불검출
8	메티다티온(Methidathion)	불검출
9	보스칼리드(Boscalid)	불검출
10	비에치시(BHC)	불검출
11	비펜트린(Bifenthrin)	불검출
12	사이퍼메트린(Cypermethrin)	불검출
13	사이프로디닐(Cyprodinil)	불검출
14	사이할로트린(Cyhalothrin)	불검출
15	아세타미프리드(Acetamiprid)	불검출
16	아зок시스트로빈(Azoxystrobin)	불검출
17	아트라진(Atrazine)	불검출
18	에티온(Ethion)	불검출
19	엔도설펜(Endosulfan)	불검출
20	이마잘릴(Imazalil)	불검출
21	아이소프로티올레인(Isoprothiolane)	0.0481 mg/kg
22	이프로디온(Iprodione)	불검출
23	카바릴(Carbaryl)	불검출
24	카보퓨란(Carbofuran)	불검출
25	캡탄(Captan)	불검출
26	퀸토젠(Quintozene)	불검출
27	클로로탈로닐(Chlorothalonil)	불검출
28	클로르피리포스(Chlorpyrifos)	불검출
29	클로르페나피르(Chlorfenapyr)	불검출
30	트리아디메폰(Triadimefon)	불검출
31	트리아조포스(Triazophos)	불검출

연번	시 험 항 목	분석결과
32	트리플루미졸(Triflumizole)	불검출
33	트리플루무론(Triflumuron)	불검출
34	티아메톡삼(Thiamethoxam)	불검출
35	파라티온메틸(Parathion-Methyl)	불검출
36	파클로부트라졸(Paclobutrazol)	불검출
37	퍼메트린(Permethrin)	불검출
38	페니트로티온(Fenitrothion : MEP)	불검출
39	펜발러레이트(Fenvalerate)	불검출
40	펜토에이트(Phenthoate)	불검출
41	펜프로파트린(Fenpropathrin)	불검출
42	펜헥사미드(Fenhexamid)	불검출
43	포스멧(Phosmet, PMP)	불검출
44	프로사이미돈(Procymidone)	불검출
45	프로클로라즈(Prochloraz)	불검출
46	프로페노포스(Profenofos)	불검출
47	플루벤디아마이드(Flubendiamide)	불검출
48	피라클로스트로빈(Pyraclostrobin)	불검출
49	피리메타닐(Pyrimethanil)	불검출
50	피리미포스메틸(Pirimiphos-methyl)	불검출
51	플루디옥소닐(Fludioxonil)	불검출
52	디메토에이트(Dimethoate)	불검출
53	클로란트라닐리프롤(Chlorantraniliprole)	불검출
54	클로로벤주론(Chlorobenzuron)	불검출
55	피프로닐(Fipronil)	불검출
56	루페뉴론(Lufenuron)	불검출
57	테부코나졸(Tebuconazole)	불검출
58	이육-디아이피엔(2,6-Diisopropyl-naphthalene)	불검출

(라) 영양성분 분석

① 이론적·실험적 접근방법

㉠ 증숙생강추출분말의 영양성분은 공인인증기관인 한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원에서 검증

② 연구내용

㉠ 시험재료

- 증숙생강추출분말 (GGE03): Batch No. GEP20001

㉡ 시험항목

- 열량, 탄수화물, 조단백질, 조지방, 수분, 회분, 나트륨

③ 연구결과

㉠ 증숙생강추출분말의 영양성분은 다음과 같음

시험항목	시험방법	결과
열량 (Kcal/100g)	식품공전 제 8. 일반시험법 2. 식품성분시험법 2.1.6 열량의 계산	367.88
탄수화물 (%)	식품공전 제 8. 일반시험법 2. 식품성분시험법 2.1.4 탄수화물	69.88
조단백질 (%)	식품공전 제 8. 일반시험법 1. 일반성분시험법 3) 질소화합물 (1) 총질소 및 조단백질	9.04
조지방 (%)	식품공전 제 8. 일반시험법 2. 식품성분시험법 2.1.5 지질 2.1.5.1 조지방 5.1.5.1.2 산 분해법	5.80
수분 (%)	식품공전 제 8. 일반시험법 2. 식품성분시험법 2.1.1 수분 2.1.1.1 건조감량법 가. 상압가열건조법 시험법	5.29
회분 (%)	식품공전 제 8. 일반시험법 2. 식품성분시험법 2.1.2 회분	9.99
나트륨 (mg/100g)	식품공전 제 8. 일반시험법 2. 식품성분시험법 2.2 미량영양성분시험법 2.2.1 무기질	163.20

(마) 증숙생강추출분말의 총 아플라톡신 분석

① 이론적·실험적 접근방법

㉠ 2019년 5월에 신설된 제출자료 항목인 총 아플라톡신의 함량 검증 (한국기능식품연구원에 공인 인증)

② 연구내용

㉠ 시험재료

- 증숙생강추출분말 (GGE03): Batch No. GEP20001

㉠ 시험항목

- 원료 생산 후 발생가능성이 있는 총 아플라톡신 검출 및 불검출 여부 분석

③ 연구결과

㉠ 증숙생강추출분말 3 lot에 대한 총아플라톡신 함량을 한국기능식품연구원에 의뢰하여 분석한 결과 모두 불검출임을 확인함

- 총아플라톡신 함량 분석 (대표 1 lot)

제 D2020040253 호 문서확인 769U-YY4R-R4XB		시험·검사성적서							
제품명	증숙생강추출분말	제조일자 (유통기한)							
의뢰인	업체명	주식회사 제넨셀	성명						
	주소	경기도 용인시 기흥구 흥덕중앙로 120, 301호 (영덕동, UTOWER)							
제조번호	GEP20001	접수년월일	2020-04-02						
검사의뢰목적	참고용	접수번호	D2020040253						
<p>귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.</p> <p>시험·검사 완료일 : 2020-04-08 시험·검사 책임자 : 이정구 검사관련 총 책임자 : 김천희</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th>시험·검사항목</th> <th>시험·검사 결과</th> <th>시험·검사원</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>총아플라톡신(μg/kg)</td> <td>불검출, 불검출, 불검출</td> <td>연주혜</td> </tr> </tbody> </table> <p>※ 위 판정은 의뢰된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다. ※ 지면이 부족한 경우 시험·검사 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다. ※ 본성적서는 광고용 성적서입니다. 시험·검사결과를 시험·검사무적 이외의 광고 및 홍보 등에 이용할 수 없으며, 자가품질검사 또는 정부기관 외 제출 용도로 활용할 수 없습니다.</p> <p style="text-align: center;">2020년 04월 08일</p> <p style="text-align: center;">한국기능식품연구원</p>				시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원	총아플라톡신(μg/kg)	불검출, 불검출, 불검출	연주혜
시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원							
총아플라톡신(μg/kg)	불검출, 불검출, 불검출	연주혜							
									
(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 http://www.khsi.re.kr 전화번호 (031)628-0400-1									

(바) 증숙생강추출분말의 안정성 평가

① 이론적·실험적 접근방법

㉠ 기능성 원료 신청 시 원료에 대한 안정성 평가는 제출 자료에 포함되어 있지는 않으나, 예비 유효기간 평가를 위해 자체적으로 비공식적인 안정성 평가를 진행함

② 연구내용

㉠ 시험재료

- 증숙생강추출분말 (GGE03): Batch No. GEP20001

㉔ 시험항목

* 장기보존 시험

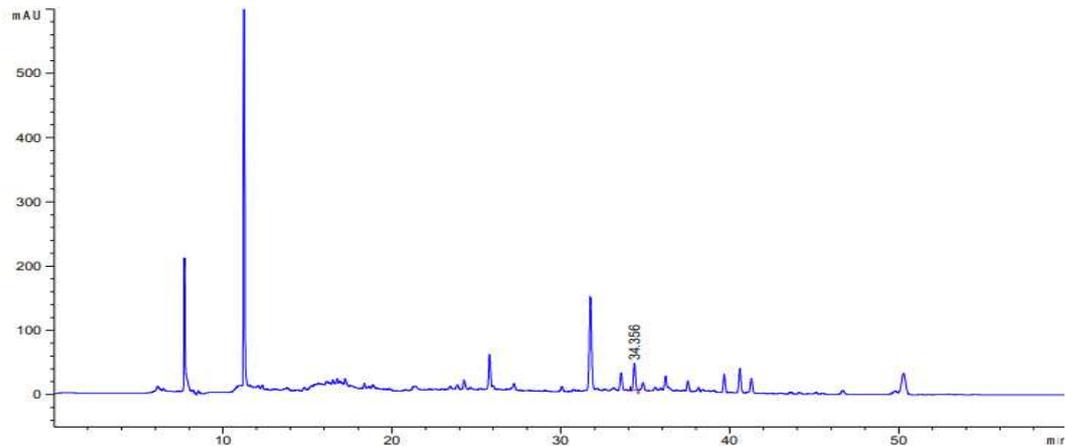
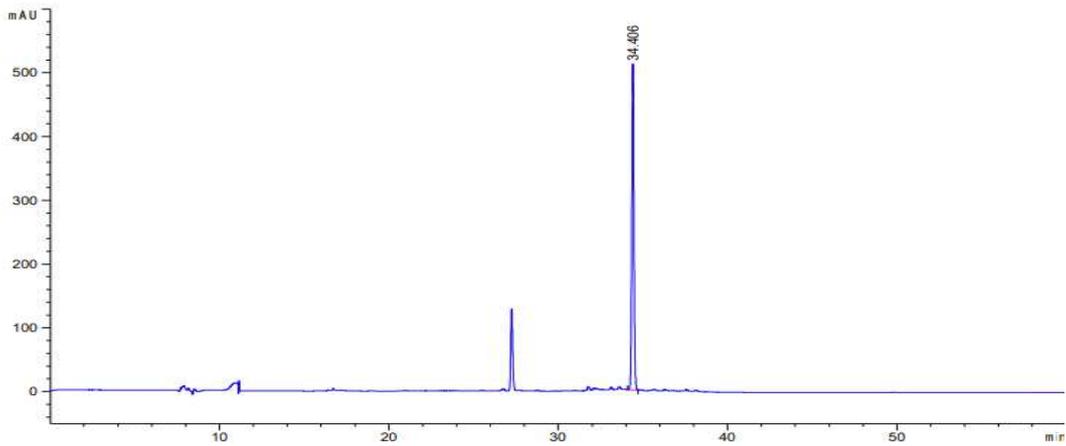
- 보관조건: 25±2℃
- 시험일정: 개시, 3, 6, 9, 12 개월 (현재 9개월까지 진행)
- 시험항목: 지표성분 1-Dehydro-6-Gingerdione 함량 분석
- 분석방법: 지표성분 분석법 검증 방법과 동일

③ 연구결과

㉕ 장기보존시험 결과

- 증숙생강추출분말의 1-Dehydro-6-Gingerdione 함량을 9개월까지 측정한 결과, 기준에 적합한 것으로 확인되었음

시험항목	날짜 기준	제조사	3개월	6개월	9개월
		2020.01	2020.05	2020.07	2020.10
함량	1.18±0.19	0.98 mg/g	0.92 mg/g	0.93 mg/g	0.93 mg/g



(6) 증숙생강추출분말 (GGE03)의 체지방 조절 인체적용시험

(가) 인체적용시험약 제조

① 이론적·실험적 접근방법

㉕ 증숙생강추출분말의 섭취량을 기존 문헌 및 제품, 본 연구의 전임상 유효성 평가를 통

해 설정하고, 섭취량에 적합한 제형 및 용법을 결정하고자 하였음

- ④ GMP 생산기관에서 인체적용시험용 시험약을 제조하여 체지방 조절과 위 건강 인체적용시험에 적용하고자 하였음

② 연구내용

㉠ 섭취량 결정

- 생강 및 1-Dehydro-6-Gingerdione의 독성 또는 안전성에 관한 자료를 검색한 결과 총 29건이 검색되었으며, 중대한 독성 및 부작용은 보고된 바 없음

검색데이터베이스	검색어	검색결과	안전성 관련 정보 여부
Pubmed	(<i>Zingiber officinale</i> rhizomes or 1-dehydro-6-gingerdione) and (safety or adverse or toxic)	570	29

1. 생강분말을 이용한 임상 review 논문으로, 비만이 있는 여성 80명을 대상으로 이중블라인드 실험을 진행하였으며, 12주 동안 생강분말 2g을 섭취함
 - 부작용 및 독성학적변화는 관찰되지 않음
 - 체중량지수 및 허리 사이즈에서의 유의미한 감소는 없었으나, 식욕이 현저히 감소하였음
 - 비알코올성 지방간 환자 44명을 대상으로 12주 동안 생강분말 2g을 섭취한 결과 인체 측정간의 차이는 없었으나, 생강그룹에서의 엉덩이둘레 사이즈에서 차이를 보여줌
2. 마우스에서 essential oils (GEO)을 주 5회 복강투여하여 관절염의 항염증 효과 확인
 - 28mg/kg/d 만성관절염에 대한 효과를 보여주었음
3. HFD로 비만을 유도시킨 Rat에 30일 동안 진저롤 25, 50, 75mg/kg을 섭취시켜 항비만 효과 측정
 - 부작용 및 독성학적 변화는 관찰되지 않음
 - Glucose level, bodyweight, leptin, insulin, amylase, lipase plasma and tissue lipids의 감소를 보여주었으며, 75mg/kg에서 가장 좋은 효과를 나타냄
4. C57BL/6J mice에 생강추출물을 18주간 섭취시켜 생체 내 비만방지효과 확인
 - 부작용 및 독성학적변화는 관찰되지 않음
 - 근섬유를 향상시키고, PPAR경로의 지속적인 활성화를 일으켜 운동내구력을 향상시킴
5. HFD로 비만을 유도시킨 Rat에 6주 동안 95% 에탄올 생강추출물을 100, 200, 400 mg/kg 섭취시켜 대사증후군 개선 효과 확인
 - 부작용 및 독성학적변화는 관찰되지 않음
 - 95% 에탄올 생강추출물을 경구투여 시 glucose, insulin, total cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, free fatty acids and phospholipids의 감소를 확인함
6. HFD로 비만을 유도시킨 Rat에 30일 동안 진저롤 75 mg/kg을 섭취시켜 inflammatory factors를 확인함
 - 체중, 포도당, 인슐린, HMG-CoA, FAS, PPAR, SREBP1, TNF-a and IL-6가 감소하는 것을 확인하였으며, CPT-1, LCAT, LPL 증가현상을 확인할 수 있었음
7. HFD로 비만을 유도시킨 Rat에 10주 동안 94% 에탄올 생강추출물을 200 mg/kg로 경구투여하여 인슐린 저항성에 미치는 예방효과 및 작용기전을 확인
 - 혈당 및 혈청인슐린이 감소 하였으며, Insulin sensitivity 및 AMPK 증가를 확인함
8. HFD로 비만을 유도시킨 골든햄스터에 8주 동안 진저롤 (25, 50, 100 mg/kg/day)을

경구투여하여 대사증후군 작용기전을 확인하였음

- 부작용 및 독성학적 변화는 관찰되지 않았음
- 체중량, 간체중지수, 혈장, HOMA-IR, 인슐린 농도의 감소를 확인하였으며, NF- κ B 매개

염증반응을 하향 조정시키고 간 지질학적 유전자 발현을 감소시켰음

9. 비알코올성 지방간염을 유도시킨 mice에서 4주간 진저롤(25, 50, 100mg/kg/day)을 경구투여하여 염증 및 지질대사의 작용기전과 비알코올성 지방간염의 개선 및 보호 효과를 확인함

- 간무게, TC, TG, ALT, AST의 감소를 확인하였으며, 지질대사와 염증관련 주요 마커의

조절을 확인하였음

10. 지방간을 유도시킨 Rat에서 5주간 94% 에탄올 생강추출물을 50 mg/kg 농도로 경구투여하여 염증성 사이토카인의 억제 효과를 확인함

- 체중, 부고환 백색지방조직의 비율, 지방세포의 크기가 감소하는 것을 확인하였으며, 대식

세포 마커(CD68, F4/80)의 감소를 확인함

- TNF-a, IL-6, MCP-1의 억제를 확인함

11. 알록산으로 유도시킨 당뇨 Rat에서 6주 동안 생강추출물 500 mg/kg을 섭취시켜 포도당수치가 감소하는 것을 확인함

12. STZ로 유도시킨 당뇨 Rat에서 20일 동안 90% 에탄올 생강추출물 200mg/kg을 경구투여하여 이상지질혈증에 미치는 영향을 확인함

- TC, TG, thiobarbituric acid-reactive substances(TBARS)의 감소를 확인하였으며, HDL

수치가 증가하는 것을 확인함

13. STZ로 유도시킨 당뇨 Rat에 7주 동안 생강추출물 500 mg/kg을 경구투여하여 포도당, TC, TG 수치가 감소하는 것을 확인함

14. STZ로 유도시킨 당뇨 Rat에 30일 동안 수용성 생강추출물 (100, 300, 500 mg/kg)을 경구투여하여 탄수화물 대사 효과를 확인함

- 포도당수치 및 신장의 무게 글리코젠함량 수치의 감소를 확인하였으며, 당질효소의 활성

증가를 확인함

15. STZ로 유도시킨 당뇨 Rat에 28일 동안 80% 아세톤 생강추출물 (125, 250, 500 mg/kg)을 경구투여하여 탄수화물 대사효소에 대한 효과를 확인함

- 간기능 효소의 활동이 감소하는 것을 확인하였으며, 글리코젠수치 및 항산화 효소의 활동

의 증가를 확인함

16. STZ로 유도시킨 당뇨 Rat에 3주 동안 생강추출물 60 mg/kg을 경구투여하여 산화스트레스와 Metabolic Profile의 효과를 확인함

- 부작용 및 독성학적 변화는 관찰되지 않았음

- SOD, CAT, MDA 활동 및 농도가 감소하였으며, GSH, GSSG 비율이 증가하는 것을 확인

17. 비만당뇨 모델 mice에 4주 동안 진저롤을 경구투여하여 대사질환 개선 효과 확인

- 혈당수치 및 TG, TC, TBARS, TNF-a 레벨이 감소하였으며, 당불내성이 증가함을 확인함

18. HFD로 비만을 유도시킨 Rat에 6주 동안 94% 에탄올 생강추출물 400 mg/kg을 경구투여하여 저밀도지방단백질수용체에 미치는 영향을 확인함

- 콜레스테롤수치 및 LDL수용체, HMG-CoA reductase의 감소효과를 확인함

19. 고콜레스테롤 mice에 12주 동안 생강추출물 500 mg/kg 경구투여하여 레티노이트 결합단백질(RBP)의 감소를 확인함
20. 지방간을 유도시킨 Rat에 5주 동안 에탄올 생강추출물 50 mg/kg을 경구투여하여 지질대 효과를 확인함
- TG, TC, 간무게, NEFA, 포도당수치, 체중의 비율이 감소함을 확인하였으며, CHREBP
- 탄수화물반응요소결합단백질의 감소 효과를 확인함
21. 과체중의 남성을 대상으로 생강가루 2 g을 복용시켜 에너지 지출, 식욕감 및 포만감에 대한 대사요인을 확인함
- 과체중의 남성 10명을 대상으로 무작위교차를 진행하였으며, 생강가루 2g을 온수로 용해
- 하여 VAS로 매시간 확인하였고, 혈액샘플은 식사 전 후 포인트별로 채혈을 진행하였음
- 생강추출물은 과체중의 남성의 대상으로 에너지효율이 높고, 포만감이 높으며, 체중관리에
- 에 잠재적인 효능이 있음을 확인함
22. 과체중의 여성 80명을 대상으로 생강가루 2 g을 12주 동안 복용시켜 인체의 변화 및 유전자형 작용효과를 확인함
- 위약과 시험약의 배정은 무작위배정 이중맹검으로 진행되었으며, 위약과 대조하였을 때
- 체중, 체질량지수, 허리와 엉덩이둘레, 식욕점수가 낮아진 것을 확인하였음
- 생강섭취 시 중재 유전자형 상호작용효과가 비만관리에 잠재력이 있는 사실을 확인함
- (Protein 1 -3826A>G and β 3-adrenergic, Trp64Arg)
23. 과체중 여성 80명을 대상으로 생강분말 2 g을 12주 동안 복용시켜 체질량지수(BMI)와 체성분을 4주간 평가하였으며, 인슐린 저항성에 대한 항상성을 평가함
- 정량 인슐린 민감도 검사 (QUICKI) 지수가 증가하였으며, 체질량 지수 (BMI), 혈청 인슐
- 린이 감소하는 것을 확인함
24. 복막 투석 환자 36명을 대상으로 생강분말 1 g을 10주 동안 복용시켜 포도당 및 염증에 미치는 영향을 확인함
- 위약과 시험약의 배정은 무작위배정 이중맹검으로 진행되었으며, 혈청 공복 포도당을
- 감소시켰음
25. 제 2형 당뇨병환자 70명을 대상으로 생강분말 1.6 g을 12주 동안 복용시켜 혈당상태, 지질프로파일 및 염증성 마커를 확인함
- 위약과 시험약의 배정은 무작위배정 이중맹검으로 진행되었으며, 생강은 제 2형 당뇨병
- 환자에서 인슐린 감수성과 일부 지질 프로파일을 개선하고 CRP와 PGE2를 감소시켰음
- 생강은 당뇨병 합병증 예방하기 위한 효과적인 치료법으로 간주 할 수 있음
26. 제 2형 당뇨병환자 50명을 대상으로 생강분말 2 g을 12주 동안 복용시켜 공복혈당 및 지질프로파일에 미치는 영향을 확인함
- 위약과 시험약의 배정은 무작위배정 이중맹검으로 진행되었으며, Apolipoprotein A-I이
- 증가하였으며, 혈당 및 헤모글로빈A1c 혈청수치가 낮아졌음
27. 제 2형 당뇨병환자 88명을 대상으로 생강분말 1 g을 8주 동안 복용시켜 인슐린 저항성 및 혈당지수에 대한 효과를 확인함

- 위약과 시험약의 배정은 무작위배정 이중맹검으로 진행되었으며, QUICKI 지수가 증가하였고, 빠른 혈당 감소와 HbA1c의 감소를 확인함
28. 비알코올성 지방간 환자 44명을 대상으로 생강분말 2 g을 12주 동안 복용시켜 인슐린 저항성과 관련 효과를 확인함
- 위약과 시험약의 배정은 무작위배정 이중맹검으로 진행되었으며, 알라닌아미노트란스페라아제, 글루타밀전달효소, 염증성 사이토카인, 인슐린 저항성의 지수를 감소시켰음
29. 고혈압환자 및 2형 당뇨병환자 204명을 대상으로 생강분말 3 g을 8주 동안 복용시켜 혈압 및 관련 마커를 분석함
- 그룹은 무작위배정으로 진행하였으며, 수축기 혈압이 낮아짐을 확인하였으며, Intercellular adhesion molecule-1의 농도를 확인하였음

- 해외 판매 제품의 생강추출물 일일섭취량은 약 110 mg~2,200 mg/day로 파악됨

유통국	제품사진	제품명	제조사	일일섭취량	표시내용	섭취시 주의사항	섭취용도	기타
미국		Gentian & Ginger capsules	wise woman herbals	생강추출물 860mg	생강추출물캡슐 430mg (1일2캡슐)	임산부, 알레르기 및 특이 체질 또는 특정 질환 보유자 및 특정약품 섭취 시 개인에 따라 과민반응이 나타날 수 있음	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		Garlic & Ginger	Jarrow Formulas	생강추출물 400mg 함유	생강추출물캡슐 200mg (1일2캡슐)	질병이있는 경우 의사와 상의후 섭취하며 아이들의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		Ginger root	Natures way	생강추출물 1100mg	생강추출물캡슐 550mg (1일2캡슐)	병원치료, 임신, 수유중이신 경우에는 섭취 전 담당의사와 상담권장	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		Ginger root Extract	Nutricost	생강추출물 550mg	생강추출물캡슐 550mg (1일1캡슐)	특이체질 혹은 알레르기 체질의 경우 성분 확인후 섭취	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		new zealand green lipped mussel plus ginger	California gold nutrition	생강추출물 400mg 함유	생강추출물캡슐 200mg (1일2캡슐)	질병이있는 경우 의사와 상의 후 섭취하며 아이들의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		Ginger	GNC	생강추출물	생강추	서늘하고	건강보	개발원료

		root Extract		550mg	출물 캡슐 550mg (1일1캡슐)	건조한곳에 보관하며, 어린아이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	조식품	와 유사
미국		Ginger root	Solaray	생강추출물 1080mg	생강추출물 캡슐 540mg (1일2캡슐)	서늘하고 건조한곳에 보관하며, 어린아이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		Ginger root	best naturals	생강추출물 1100mg	생강추출물 캡슐 550mg (1일2캡슐)	병원치료, 임신, 수유중이신 경우에는 섭취 전 담당의사와 상담권장	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		turmeric	nuvana	생강추출물 500mg 함유	생강추출물 캡슐 250mg (1일2캡슐)	서늘하고 건조한 곳에 보관하며, 어린아이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보조식품	개발원료와 유사
태국		kaempferia parviflora	Tuanthong Premium	생강추출물 2g	생강추출물 캡슐 500mg (1일4캡슐)	서늘하고 건조한 곳에 보관하며, 어린아이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		super bio curcumin	lifeextension	생강추출물 400mg 함유	생강추출물 캡슐 400mg (1일1캡슐)	서늘하고 건조한 곳에 보관하며, 어린아이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보조식품	개발원료와 유사
영국		turmeric	nutravita	생강추출물 160mg 함유	생강추출물 캡슐 80mg (1일2캡슐)	서늘하고 건조한 곳에 보관하며, 어린아이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		Ginger root Extract	now foods	생강추출물 750mg 함유	생강추출물 캡슐 250mg (1일3캡슐)	병원치료, 임신, 수유중이신 경우에는 섭취 전 담당의사와 상담권장	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		Turmeric &	vimerson health	생강추출물 200mg	생강추출물 캡	서늘하고 건조한 곳에 보관하며,	건강보조식품	개발원료와 유사

		ginger		함유	술 100mg (1일2캡 술)	어린이의 손이 닿지 않는 곳에 보관		
미국		Travel calm ginger	Blackmo res	생강추출물 800mg	생강추 출물캡 술 400mg (1일2캡 술)	서늘하고 건조한 곳에 보관	건강보 조식품	개발원료 와 유사
미국		extra strengt h ginger	feel good	생강추출물 2g	생강추 출물캡 술 1000mg (1일2캡 술)	서늘하고 건조한 곳에 보관	건강보 조식품	개발원료 와 유사
미국		turmeri c	Bio schwartz	생강추출물 200mg 함유	생강추 출물캡 술 100mg (1일2캡 술)	서늘하고 건조한 곳에 보관하며, 어린이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보 조식품	개발원료 와 유사
미국		Ginger root Extract	solger	생강추출물 150mg 함유	생강추 출물캡 술 150mg (1일1캡 술)	서늘하고 건조한 곳에 보관하며, 어린이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보 조식품	개발원료 와 유사
미국		Ginger root	Puritans Pride	생강추출물 550mg	생강추 출물캡 술 550mg (1일1캡 술)	서늘하고 건조한 곳에 보관하며, 어린이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보 조식품	개발원료 와 유사
미국		superp ure ginger	pure synergy	생강추출물 425mg	생강추 출물캡 술 425mg (1일1캡 술)	서늘하고 건조한 곳에 보관하며, 어린이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보 조식품	개발원료 와 유사
미국		ginger	oregon	생강추출물 500mg	생강추 출물캡 술 500mg (1일1캡 술)	병원치료, 임신, 수유중이신 경우에는 섭취 전 담당의사와 상담권장	건강보 조식품	개발원료 와 유사
미국		ginger	natures a nswer	생강추출물 110mg	생강추 출물캡	어린이의 손이 닿지 않는 곳에	건강보 조식품	개발원료 와 유사

					술 110mg (1일1티스푼)	보관		
미국		turmab oost	wild nutra	생강추출물 675mg 함유	생강추출물 캡슐 225mg (1일3캡슐)	병원치료, 임신, 수유중이신 경우에는 섭취 전 담당의사와 상담권장	건강보조식품	개발원료와 유사
미국		Beaver Brook	ginger root	생강추출물 2,200mg 함유	생강추출물 캡슐 1,100mg (1일2캡슐)	어린이의 손이 닿지 않는 곳에 보관	건강보조식품	개발원료와 유사

- 또한, 본 연구의 체지방 감소 및 위 건강 개선 동물시험에서 유효 농도는 100 mg/kg 로 판단되며, 이는 사람에게 적용 시 480 mg/day으로, 본 연구의 인체적용시험 일일 섭취량을 480 mg으로 설정함

㉠ 제형, 용법 및 용량 결정

- 증숙생강추출분말 480 mg을 용이하게 섭취할 수 있도록 타블렛 형태의 제형을 계획 하였으며, 정제 외부에 코팅을 하여 추출분말의 고유의 향과 색이 구별되지 않도록 함
- 섭취는 2정/일을 목표로 하였으며, 증숙생강추출분말이 240 mg 함유하도록 제조 (총 중량 800 mg/정)

㉡ 주약 및 위약 제조

- 체지방 조절과 위 건강 2건의 인체적용시험을 위해 병당 1개월 섭취가 가능하도록 66정/병으로 제조

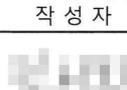
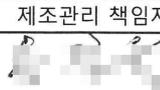
③ 연구결과

㉢ 증숙생강추출분말 함유 인체적용시험약 생산

- 생강의 특유한 향미로 인해 본약과 위약의 감별이 쉬워지고, 섭취 시 거부감이 생길 수 있어 코팅정으로 제조함
- 체지방 조절과 위 건강 인체적용시험 대상자는 각각 시험군 40명, 위약군 40명으로 총 시험군 80명, 위약군 80명 이상의 대상자가 섭취할 수 있는 양으로 제조하였으며, 병당 1달 기준의 시험약을 포장 (66정/병, 1일 2회 섭취 기준)



- 증속생강추출분말 본약의 제조지시 기록서 (대표 페이지)

제품개요 및 규격							
제 품 명	증속생강추출분말(본약)					비 고	
	(주)제넨셀						
성 상	연한 연두색의 제피정제						
제품 코드	—	식품 분류	인체적용시험 샘플				
제조 번호	—	제품 유형	인체적용시험 샘플				
지시 일자		제형 구분	코팅정제				
제조 단위	20,460 정	평균중량범위	15.3 mg	751 mg	~	782 mg	
포장 단위	66 정	개별중량범위	736 mg ~ 843 mg				
포장 수량	310 갑	편차 범위	± 2.00% 이내 개별 ± 4%/10%				
권장소비자가	—	공정관리 규격					
나정 중량(정당)	766.56 mg	두께		경도	붕해도		
제피정 중량(정당)	800.0 mg	5.80mm		18.0	나정	코팅정	
혼합 성상	흰색 ~ 갈색의 분말		모양	18mm 타원	28.0 Kg/Cm ²	45 분	60 분
나정 성상	갈색의 정제						
편차 규격	18mm 타원형						
인체적용시험 샘플			인체적용시험 샘플			코팅정제	
		제조지시 및 기록서					
제 품 명	증속생강추출분말(본약)					코 드 명	—
	(주)제넨셀					단 위 량	800 mg
성 상	연한 연두색의 제피정제						
제 조 번 호	—	제 조 시 작 일 자	2020년 3월 16일				
제 조 단 위	20,460 정	제 조 완 료 일 자	2020년 3월 26일				
	16,368 g						
포 장 단 위	66 정						
이론생산량(A)	310 개						
생 산 량(B)	2706 개						
비 고							
결 재	작 성 자			제 조 관 리 책 임 자			

- 증속생강추출분말 위약의 제조지시 기록서 (대표 페이지)

제품개요 및 규격						
제 품 명	증속생강추출분말(위약) (주)제넨셀			비 고		
성 상	연한 연두색의 제피정제					
제품 코드	—	식품 분류	인체적용시험 샘플			
제조 번호	—	제품 유형	인체적용시험 샘플			
지시 일자		제형 구분	코팅정제			
제조 단위	20,460 정	평균중량범위	15.3 mg	751 mg ~	782 mg	
포장 단위	66 정	개별중량범위	736 mg ~ 843 mg			
포장 수량	310 갑	편차 범위	± 2.00% 이내 개별 ± 4%/10%			
권장소비자가	—	공정관리 규격				
나정 중량(정당)	766.56 mg	두께		경도	붕해도	
제피정 중량(정당)	800.0 mg	5.80mm		18.0	나정 코팅정	
혼합 성상	흰색 ~ 갈색의 분말		모양	18mm 타원	28.0 Kg/Cm ²	45 분 60 분
나정 성상	갈색의 정제					
편치 규격	18mm 타원형					
인체적용시험 샘플		인체적용시험 샘플			코팅정제	
 Kolmar BNH		제조지시 및 기록서				
제 품 명	증속생강추출분말(위약) (주)제넨셀			코 드 명	—	
				단 위 량	800 mg	
성 상	연한 연두색의 제피정제					
제 조 번 호	—	제 조 시 작 일 자	2020 년 3 월 16 일			
제 조 단 위	20,460 정	제 조 완 료 일 자	2020 년 3 월 26 일			
	16,368 g					
포 장 단 위	66 정					
이론생산량(A)	310 개					
생 산 량(B)	308 개					
비 고						
결 재	작성 자		제조관리 책임자			
						

(7) 증속생강추출분말 (GGE03) 함유 고시형 건강기능식품 개발 및 사업화

(가) 체지방 감소 및 관절 건강 고시형 건강기능식품 개발

① 이론적·실험적 접근방법

- ㉓ 본 개발 소재인 증속 생강은 생강을 증속한 소재로 섭취 경험이 없으며, 이에 전략적 고시형 제품을 생산하여 증속생강추출분말의 기능성 및 선호도를 파악하고자 하였음
- ㉔ 증속생강추출분말은 기능성이 인정되지 않은 원료이므로 부원료로 사용하여 신청원료의 섭취근거를 확보하고자 하였으며, 기능성은 소비자 니즈가 높은 체지방 감소 제품과 관절 건강 제품을 제작함
- ㉕ 본 개발 원료의 기능성 원료 인정 후 개발 원료를 사용하여 본 제품 생산

② 연구내용

㉖ 체지방 감소 건강기능식품 생산

- 주원료를 가르시니아카모보지아 추출물로 하고 부원료로 자사에서 생산한 증속생강추출분말과 병풀주정추출분말을 첨가하여 제품 제조

1. 원 재 료	배합비(%)	함량(mg)	수량(kg)
가르시니아카모보지 추출물(HCA60%)	75.00	450.0	108.0
나이아신(니코틴산아미드)	3.00	18.0	4.3
판토텐산칼슘	0.50	3.0	0.7
비타민B1	0.20	1.2	0.3
비타민B2	0.20	1.2	0.3
증속생강 추출분말 (제공)	4.20	25.2	6.0
병풀주정 추출분말 (제공)	4.20	25.2	6.0
결정셀룰로오스(6.7에서10.7%변경)	10.70	64.2	15.4
치커리 뿌리추출분말(5에서1%변경)	1.00	6.0	1.4
스테아린산마그네슘	1.00	6.0	1.4
		-	-
계	100	600	144.00

- 1정의 중량은 600 mg으로 1일 2회, 1회 2정 섭취 (총 2,000 set (1달분) 제조)

㉗ 관절건강 건강기능식품 생산

- 주원료를 MSM으로 하고 부원료로 자사에서 생산한 증속생강추출분말을 첨가하여 제품 제조

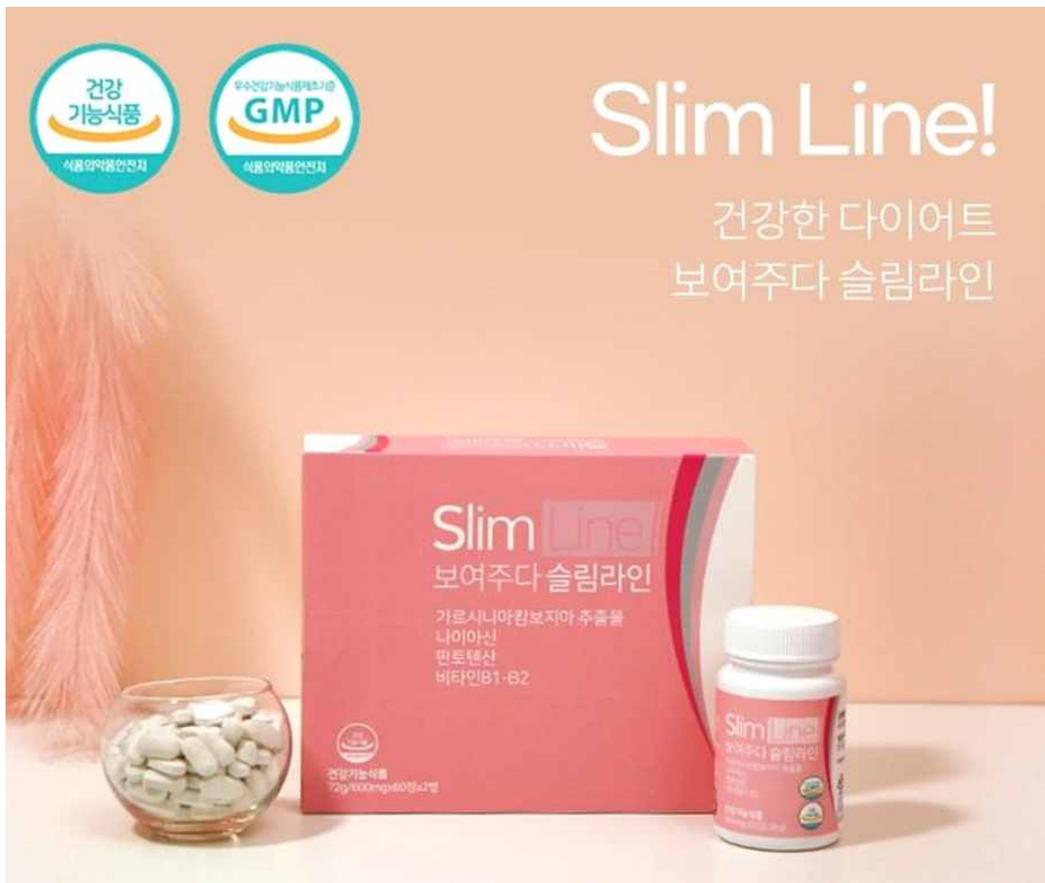
1. 원 재료	배합비(%)	함량(mg)	수량(kg)
MSM (기능성)	78.00	390.0	93.600
비타민B6 (기능성)	0.20	1.0	0.240
비타민B1 (기능성)	0.20	1.0	0.240
비타민B2 (기능성)	0.20	1.0	0.240
비타민D3 (기능성)	0.03	0.2	0.036
증숙생강추출분말 (제공)	5.00	25.0	6.000
N-아세틸글루코사민	4.00	20.0	4.800
결정셀룰로오스	11.37	56.9	13.644
스테아린산 마그네슘	1.00	5.0	1.200
계	100	500.0000	120.00

- 1정의 중량은 500 mg으로 1일 2회, 1회 2정 섭취 (총 2,000 set (1달분) 제조)

③ 연구결과

㉔ 체지방 감소 건강기능식품 생산

- 제품명: 보여주다 슬림라인 (제조원: 원일바이오, 판매원: (주)제넨셀)



- 전략적 유통 판매를 위해 건강기능식품 전문 유통기업인 (주)메디카코리아와 판매계약 체결

- 제품 사업화를 위한 광고심의 완료

표시·광고 심의결과 통보서

회사명	주식회사 메디카코리아	대표자	김현식
제품명	보여주다슬림라인	심의번호	201211883
표시·광고매체	인터넷	심의필여부	
심의결과	이행		
시정사항	<p>[참고사항]</p> <p>0 인터넷 전자상거래 등 통신판매의 수단으로 판매하는 경우 '전자상거래 등에서의 상품 등의 정보제공에 관한 고시'에 의거하여 건강기능식품에 관한 법률에 따른 표시사항 및 소비자 상담 전화번호를 함께 광고할 것</p> <p>0 제품명은 품목제조신고증(수입신고증)에 기재된 명칭으로 광고할 것</p> <p>0 무첨가의 표시는 건강기능식품 표시기준 제6조 12항 사목에 적합한 경우 사용가능</p>		
시정사유	<p>0 식품 등의 표시·광고에 관한 법률 제8조(부당한 표시 또는 광고행위의 금지) 등</p> <ul style="list-style-type: none"> - 거짓·과장된 표시 또는 광고 - 소비자를 기만하는 표시 또는 광고 		
<p>※ 근거법령 : 식품 등의 표시·광고에 관한 법률 제8조(부당한 표시 또는 광고행위의 금지)</p> <p>※ 유의사항</p> <p>1) 심의결과가 '수정적합'인 경우 심의필 날인없이 임의로 광고할 수 없음. 시정사항을 수정통보지 않은 광고물을 광고하는 경우, 허위·과대광고로 처벌받을 수 있음.</p> <p>2) 본 결과통보서는 제출된 자료에 근거하여 심의하였으므로 임의로 해석하여 표시·광고할 수 없음</p> <p>3) 부적합시 삭제 또는 수정되어야 할 대표적인 문안만을 지적</p> <p>4) [표시광고의공정화에관한법률]에 의거, 환불/교환 가능여부 및 환불/교환 기준을 명시</p> <p>5) 심의필 마크 사용시 광고심의 홈페이지(http://ad.khso.or.kr) 알림마당 공지사항 10번 참조</p>			

2020. 12. 29

인문대오발
 2021. 01. 13
 (주)한국건강기능식품협회
 19 / 19



(사)한국건강기능식품협회
표시·광고심의위원회



④ 관절건강 건강기능식품 생산

- 제품명: 마디마다 관절채움 (제조원: 원일바이오, 판매원: (주)제넨셀)



- 전략적 유통 판매를 위해 건강기능식품 전문 유통기업인 (주)메디카코리아와 판매계약 체결

- 제품 사업화를 위한 광고심의 완료

표시·광고 심의결과 통보서

회사명	주식회사 메디카코리아	대표자	김현식
제품명	마디마다관절채움	심의번호	201211920
표시·광고매체	인터넷	심의필여부	
심의결과	이행		
시정사항	<p>[참고사항]</p> <p>0 인터넷 전자상거래 등 통신판매의 수단으로 판매하는 경우 '전자상거래 등에서의 상품 등의 정보제공에 관한 고시'에 의거하여 건강기능식품에 관한 법률에 따른 표시사항 및 소비자 상담 전화번호를 함께 광고할 것</p> <p>0 제품명은 품목제조신고증(수입신고증)에 기재된 명칭으로 광고할 것</p> <p>0 무첨가의 표시는 건강기능식품 표시기준 제6조 11항 사목에 적합한 경우 사용가능</p>		
시정사유	<p>0 식품 등의 표시·광고에 관한 법률 제8조(부당한 표시 또는 광고행위의 금지) 등</p> <p>- 거짓·과장된 표시 또는 광고</p> <p>- 소비자를 기만하는 표시 또는 광고</p>		
<p>※ 근거법령 : 식품 등의 표시·광고에 관한 법률 제8조(부당한 표시 또는 광고행위의 금지)</p> <p>※ 유의사항</p> <p>1) 심의결과가 '수정적합'인 경우 심의필 날인없이 임의로 광고할 수 없음. 시정사항을 수정통보지 않은 광고물을 광고하는 경우, 허위·과대광고로 처벌받을 수 있음.</p> <p>2) 본 결과통보서는 제출된 자료에 근거하여 심의하였으므로 임의로 해석하여 표시·광고할 수 없음</p> <p>3) 부적합시 삭제 또는 수정되어야 할 대표적인 문안만을 지적</p> <p>4) [표시·광고의 공정화에 관한 법률]에 의거, 환불/교환 가능여부 및 환불/교환 기준을 명시</p> <p>5) 심의필 마크 사용시 광고심의 홈페이지(http://ad.khsa.or.kr) 알림마당 공지사항 10번 참조</p>			

2020. 12. 29

원본 내보림
2021. 01. 13
대한민국 건강기능식품협회
20 / 20

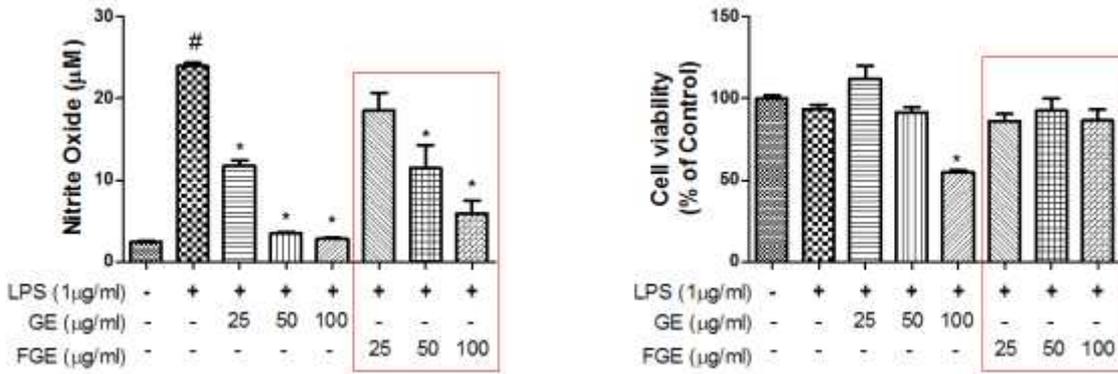


(사)한국건강기능식품협회
표시·광고심의위원회

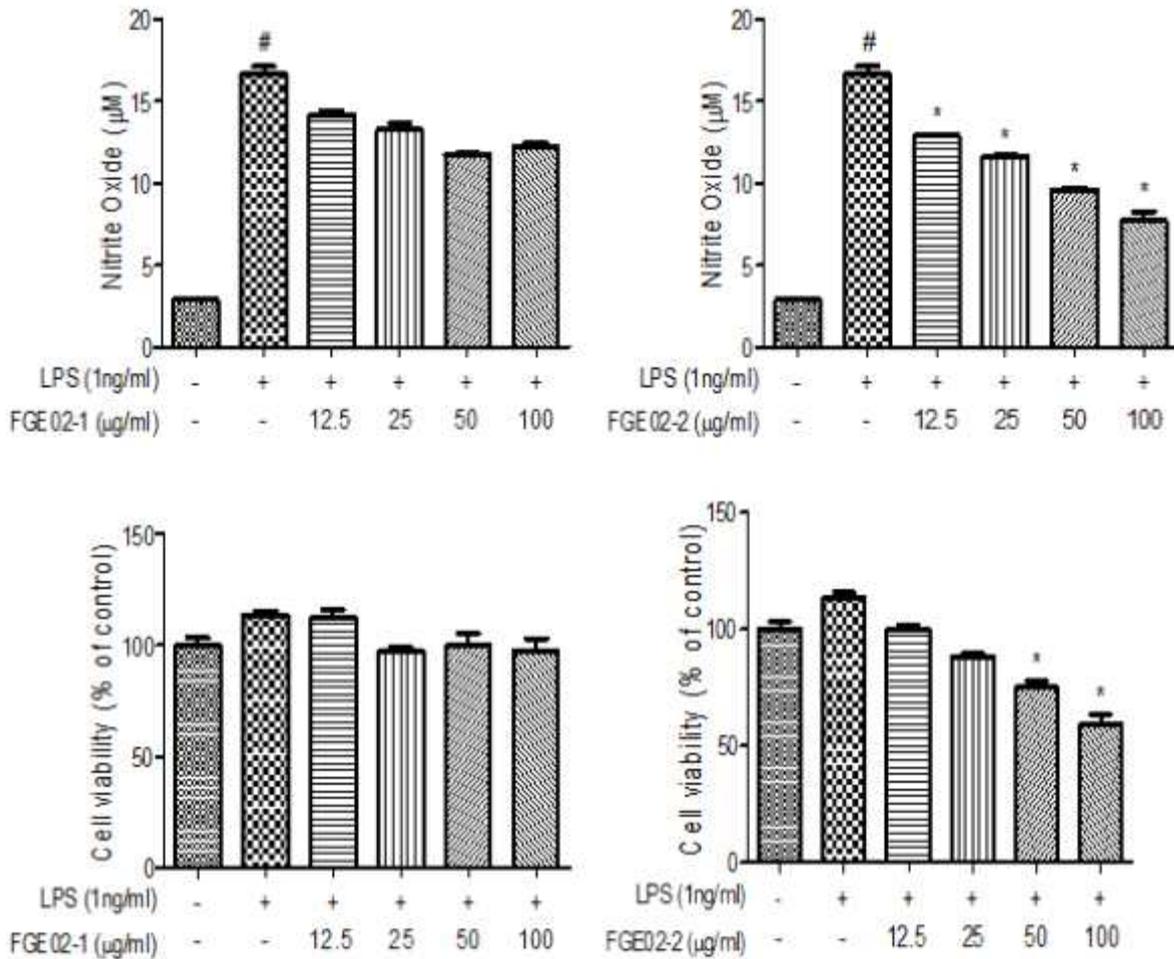


라. 연구개발 내용 및 결과 (1협동위탁 : 경희대학교)

(1) 생강추출물 및 발효물의 NO assay

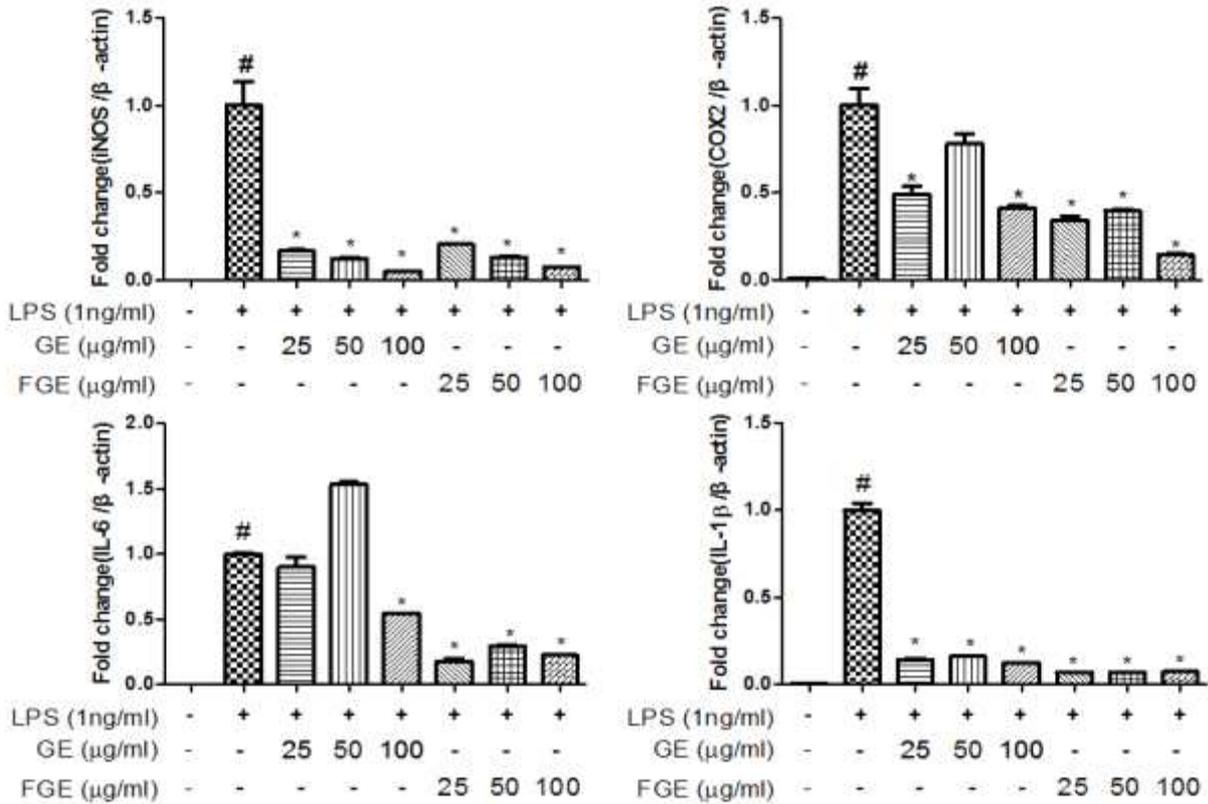


- 생강 추출물 및 발효물에서 NO 억제 되었으며, 발효물에서 유효농도범위에서 안전성이 확보됨

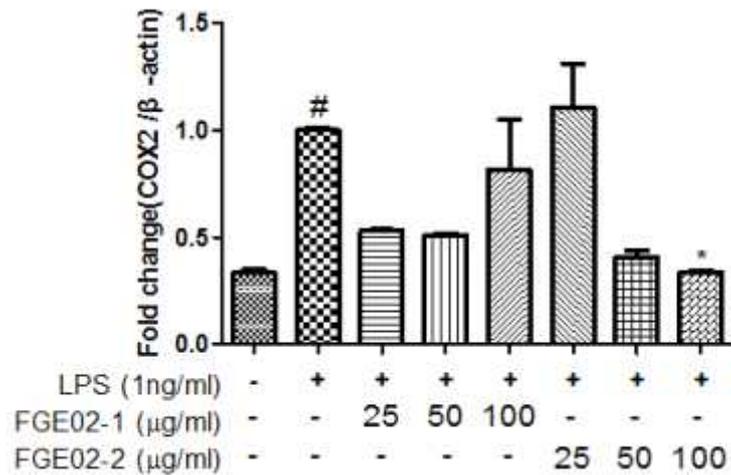


- 2차 제조공정에 따른 생강추출물 및 발효물의 NO 활성 및 세포독성 평가를 진행하였으며 1차 공정에 따른 시료의 활성이 우수한 것을 확인하였음

(2) 염증 관련 마커 분석

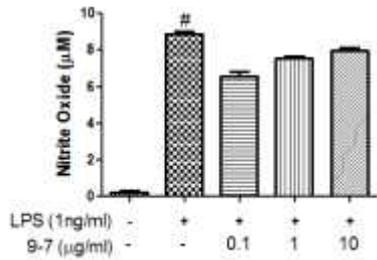
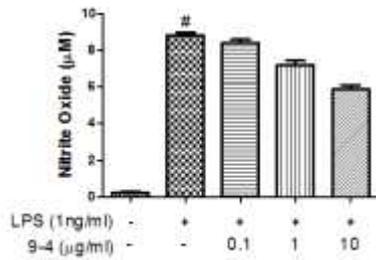
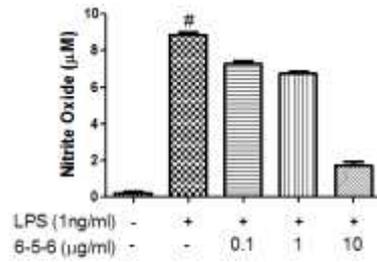
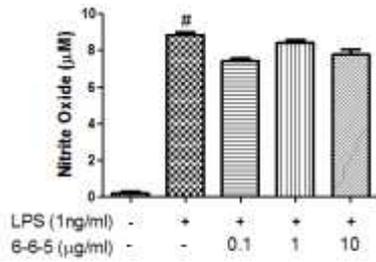


- 생강추출물과 발효물 처리 시, 염증관련 마커 발현 분석결과, 생강발효물에 의해 iNOS, COX-2, IL-6, IL-1β의 발현이 감소하는 것을 확인하였음

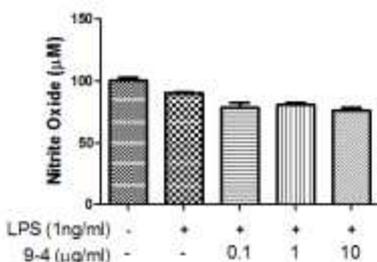
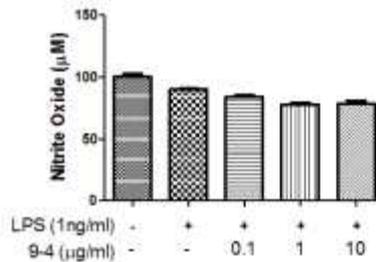
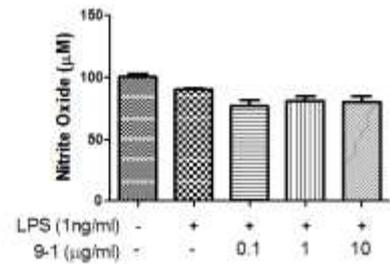
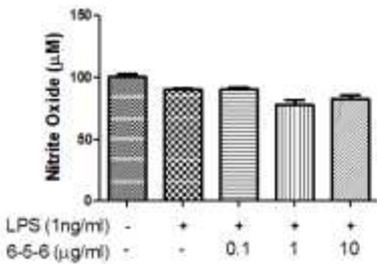
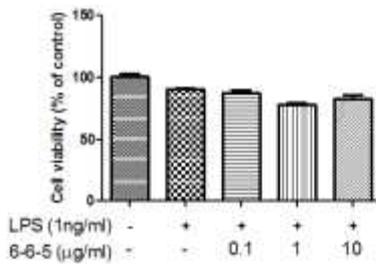


- 2차 제조시료를 이용하여 COX-2의 발현을 측정하였으며, 생강 발효물에서 COX-2의 발현 억제 확인되었음.

(3) 생강 유래 성분 5종의 NO 활성 측정

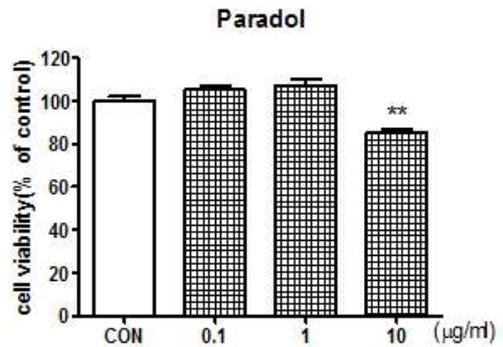
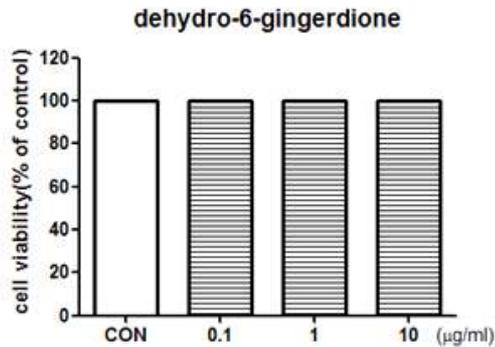
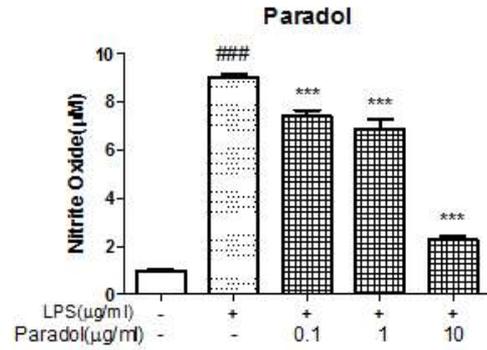
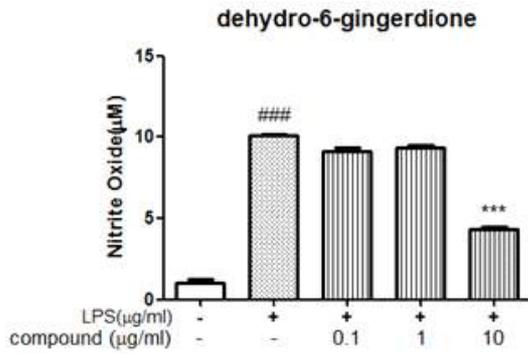


NO.	Compound name
6-6-5	dehydro-6-gingerdione
6-5-6	<i>trans</i> -6-shogaol
9-1	6-gingerol
9-4	8-gingerol
9-7	10-gingerol

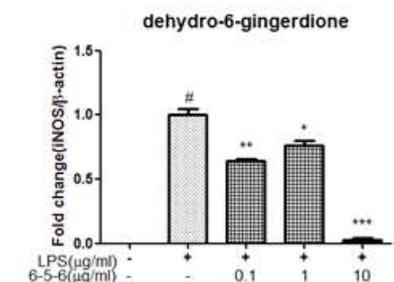
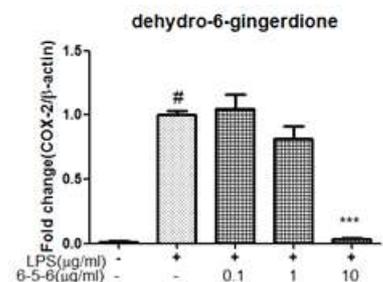
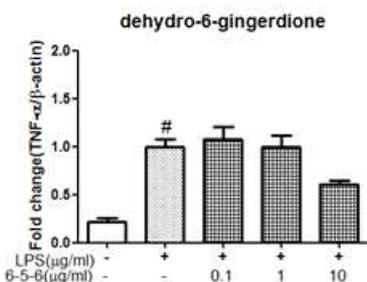
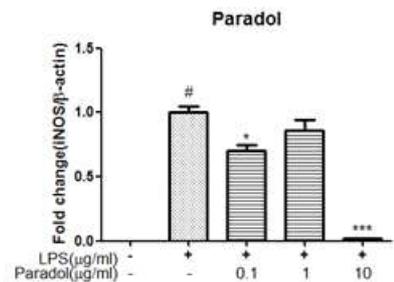
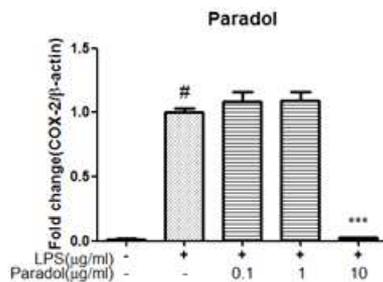
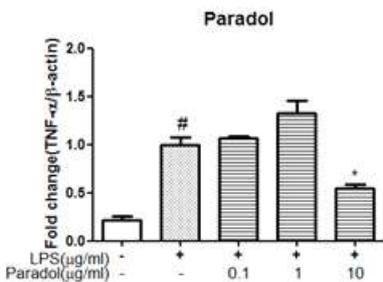


NO.	Compound name
6-6-5	dehydro-6-gingerdione
6-5-6	<i>trans</i> -6-shogaol
9-1	6-gingerol
9-4	8-gingerol
9-7	10-gingerol

- 생강으로부터 분리된 성분인 dehydro-6-gingerdione, trans-6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol의 NO 활성측정을 진행한 결과 trans-6-shogaol 처리 시 NO 활성이 가장 억제되는 것을 확인하였으며, MTT assay를 통해 세포독성으로 인한 NO활성 억제가 아닌 것을 확인하였음

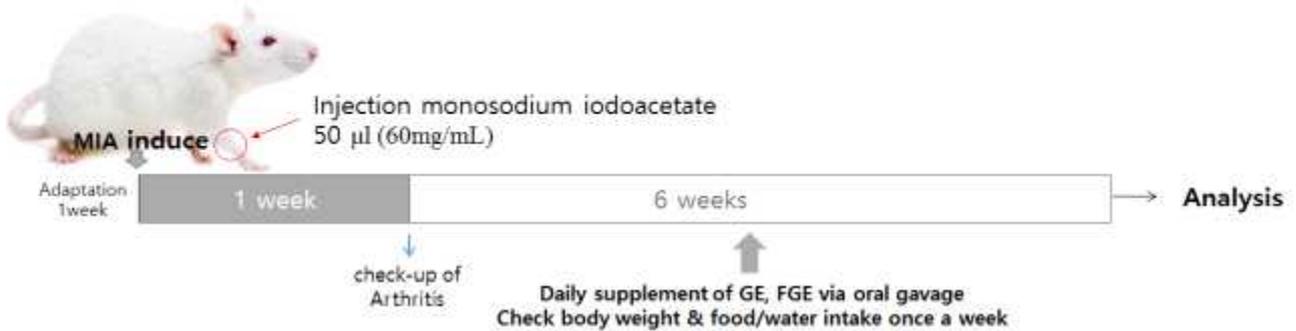


- 증숙생강 추출물로부터 분리된 성분인 dehydro-6-gingerdione과 paradol의 NO 활성능을 측정된 결과, dehydro-6-gingerdione과 paradol 처리시 NO 활성이 억제되는 것을 확인하였으며, MTT assay를 통해 세포독성이 없으며, 세포독성으로 인한 NO 활성 억제가 아닌 것을 확인하였음.



- 증숙생강추출물로부터 분리된 성분 dehydro-6-gingerdione과 paradol을 이용하여 염증관련 유전자인 TNF-α, COX-2, iNOS의 mRNA level을 측정하였으며, 그 결과 2종의 성분에 의하여 TNF-α, COX-2, iNOS 모두 억제되는 것을 확인하였음

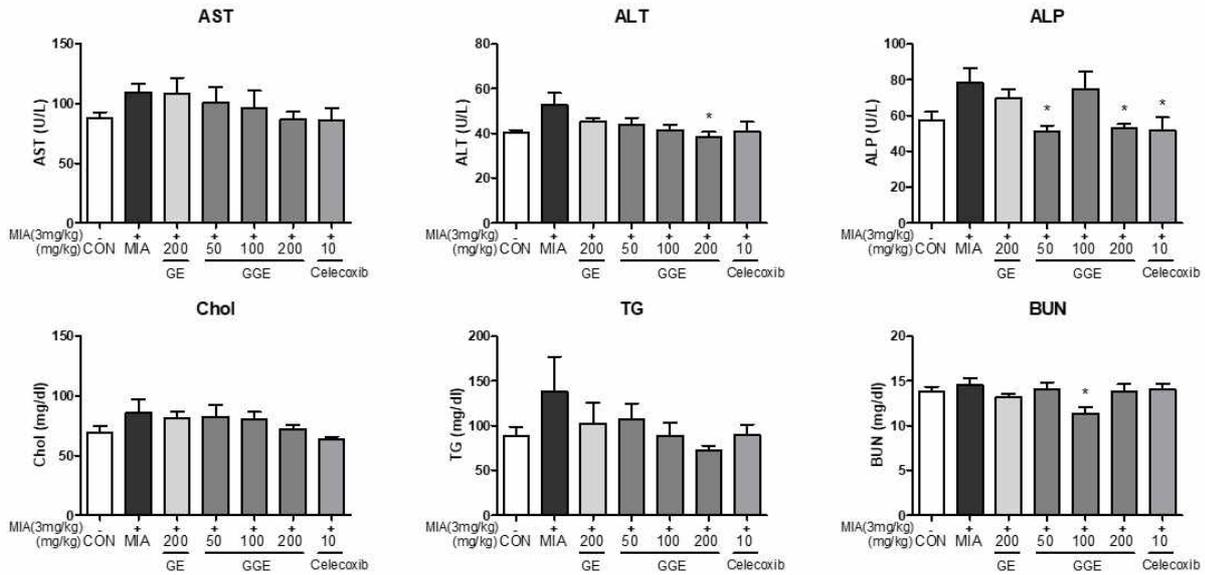
(4) 전임상 유효성 평가 동물모델 구축



- Monosodium iodoacetate 유도 동물 모델을 위와 같이 생강추출물과 생강발효물을 이용하여 진행하는 것으로 디자인 하였으나, 추후 생강발효물이 고온고압법제생강으로 변경됨에 따라 실제 실험은 생강추출물과 고온고압법제생강추출물을 이용하여 진행하였으며, 양성대조군으로는 염증과 통증감소 효능이 있어 관절염 치료에 널리 사용되는 celecoxib를 이용하여 진행하고자 하였음
- 체중, 식이량, 음수량, 식이효율을 주 1~2회 측정 예정이며, 혈청으로부터 염증성 cytokine의 발현 측정, 관절염 유도 동물모델의 연골을 분리하여 염증/관절염 관련 마커인 collagen type I, II, MMPs, TIMPs 등의 유전자 발현 변화, 동물모델의 조직 병리학적 검사를 통하여 생강 추출물과 고온고압법제생강추출물의 투여가 미치는 영향을 확인하고자 함

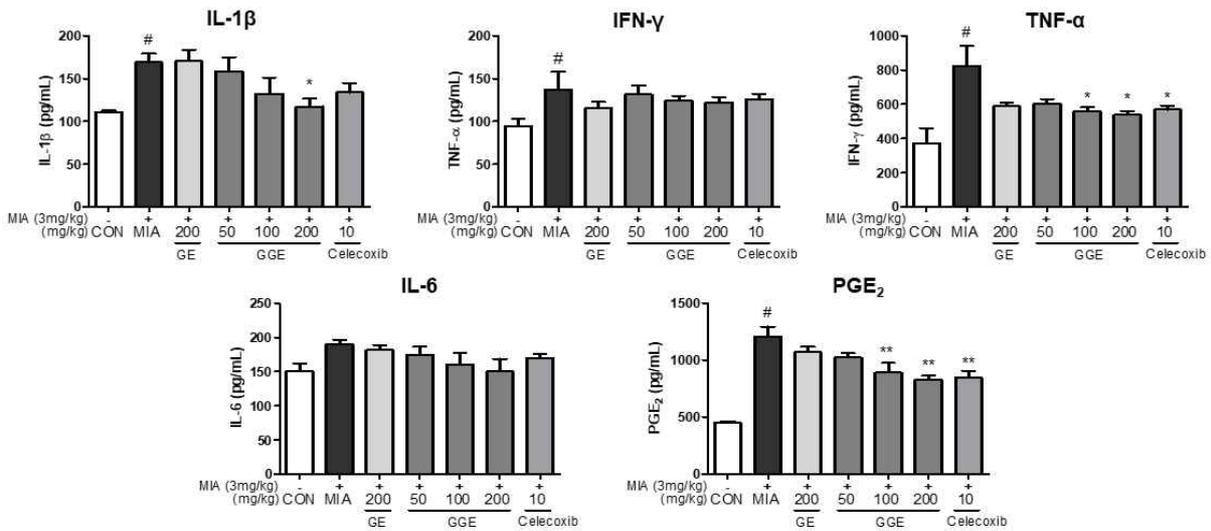
	NC	MIA (3mg/kg)					(mg/kg)
		CON	GE 200	GGE 50	GGE 100	GGE 200	Celecoxib 10
Initial body weight (g)	305.4 \pm 6.52	282.4 \pm 12.22	301.0 \pm 3.54	288.0 \pm 3.39	299.2 \pm 9.31	292.0 \pm 5.39	294.6 \pm 9.79
Final body weight (g)	520.2 \pm 10.63	477.6 \pm 16.61	504.2 \pm 13.83	454.0 \pm 10.26*	475.2 \pm 20.64	471.8 \pm 9.10	490.8 \pm 20.21
Weight gain (g)	214.8 \pm 4.60	195.2 \pm 8.94	297.0 \pm 14.29	166.0 \pm 7.65*	176.0 \pm 12.16	179.8 \pm 10.75	196.2 \pm 13.77
Liver (g/b.w.(%))	2.72 \pm 0.06	2.86 \pm 0.12	2.76 \pm 0.08	2.70 \pm 0.14	2.53 \pm 0.18	2.78 \pm 0.09	2.93 \pm 0.08
Kidney (g/b.w.(%))	0.62 \pm 0.02	0.58 \pm 0.02	0.57 \pm 0.02	0.58 \pm 0.02	0.57 \pm 0.03	0.66 \pm 0.03	0.67 \pm 0.05
Spleen (g/b.w.(%))	0.20 \pm 0.00	0.22 \pm 0.02	0.20 \pm 0.01	0.22 \pm 0.01	0.21 \pm 0.01	0.20 \pm 0.01	0.20 \pm 0.02

- 체중 및 장기무게 관찰 결과, 생강 추출물 투여에 의하여 체중 증가량이 매우 큰 것을 확인하였으나, 고온고압법제생강추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 체중 변화가 크지 않은 것을 확인하였음
- 생강추출물과 고온고압법제생강추출물, celecoxib 투여에 의해 체중 대비 장기무게에도 큰 영향을 미치지 않은 것을 확인하였으므로 투여 시료에 대한 독성은 나타나지 않은 것으로 보여짐



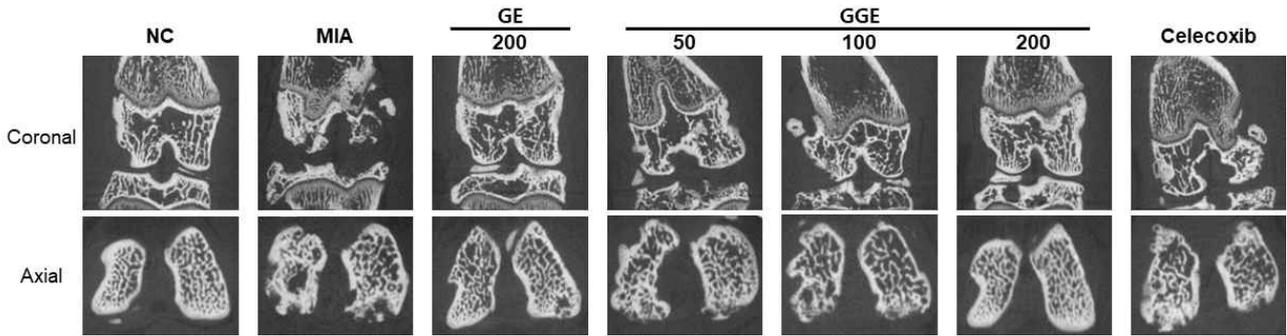
AST, Aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; Chol, Cholesterol; TG, Triglyceride; BUN, blood urea nitrogen
The results are expressed as mean \pm S.E.M (n=6). * $p < 0.05$ compared with MIA control.

- 분리된 혈청에서 일반 독성 바이오마커인 AST, ALT, ALP, Cholesterol, TG, BUN의 수치를 측정하였으며, MIA 유도에 의해 증가된 AST, ALT, TG의 수치가 고온고압법제생강 투여에 의하여 정상대조군의 수치와 유사하게 회복되는 것을 확인하였으며, 고온고압법제생강과 양성대조군인 celecoxib의 효능이 유사하게 나타나는 것을 확인하였음.

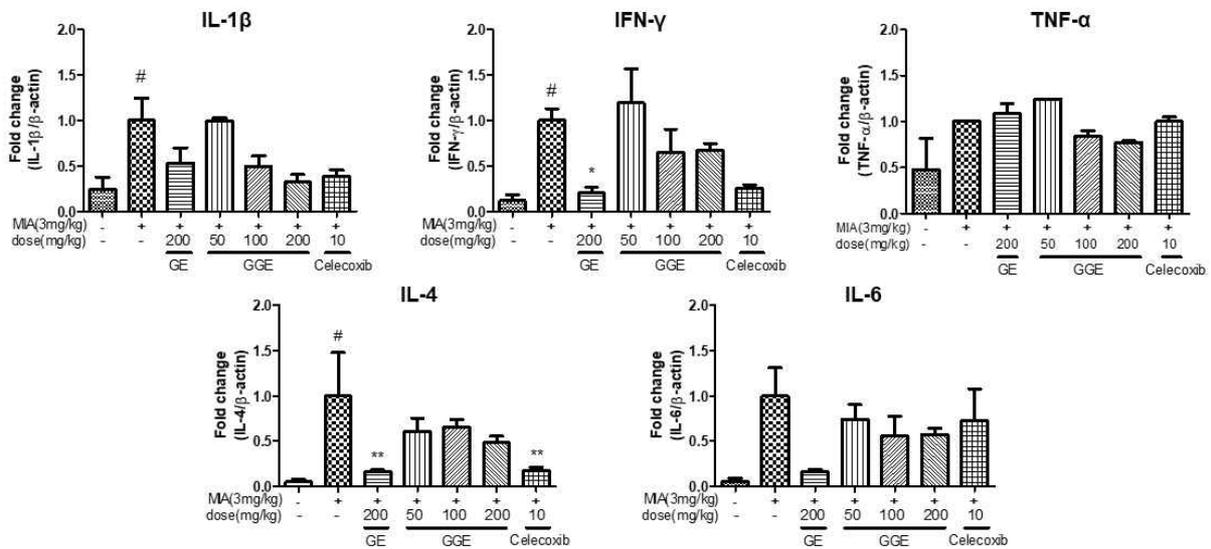


The results are expressed as mean \pm S.E.M (n=6). * $p < 0.05$ compared with the control; ** $p < 0.01$ compared with the LPS.

- 또한, 혈청에서 염증성 사이토카인의 발현을 확인한 결과, MIA 유도에 의하여 증가된 염증성 사이토카인의 발현이 고온고압법제생강에 의해서 IL-1beta, TNF-alpha, PGE2의 발현이 농도 의존적으로 억제되는 것을 확인하였으며, IFN-gamma와 IL-6이 발현 또한 감소시키는 것을 확인하였음

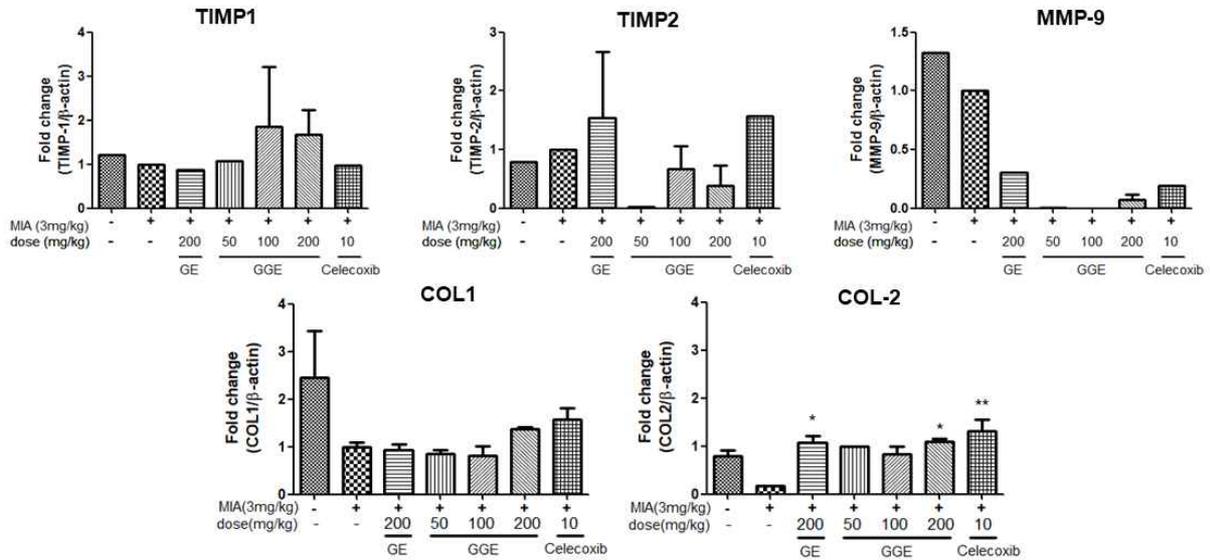


- 실험동물의 대퇴골을 Micro-CT 측정한 결과, MIA 유도에 의하여 손상된 관절이 생강추출물과 고온고압법제생강 추출물 투여에 의해 회복되는 것을 확인하였으며, 양성대조군인 celecoxib보다 고온고압법제생강 추출물 200 mg/kg를 투여하였을 때 손상된 관절의 회복이 우수한 것을 확인하였음
- 또한, 3D micro-CT 결과를 정량화 하였을 때, 골밀도, 뼈의 표면, 표면 밀도, 뼈의 부피가 효과적으로 회복되는 것을 확인하였음



The results are expressed as mean \pm S.E.M. (n=6). #*p* < 0.05, compared with control. **p* < 0.05, ***p* < 0.01 compared with MIA induced rats.

- 실험동물의 연골조직을 분리하여 염증 관련 유전자 발현을 측정하였으며, MIA에 의해 증가된 염증 관련 바이오마커들의 유전자 발현이 생강추출물과 고온고압법제생강추출물 투여에 의하여 감소되는 것을 확인하였으며, 일부 바이오마커에서는 양성대조군인 celecoxib 투여군보다 우수하게 억제하는 것을 확인할 수 있었음



The results are expressed as mean ± S.E.M.(n=6). #*p* < 0.05, compared with control. **p* < 0.05, ***p* < 0.01 compared with MIA induced rats.

- 또한, 연골조직에서 골관절염 관련 바이오마커인 TIMP-1, TIMP-2, MMP-9, COL1, COL2의 유전자 발현을 측정하였으며, 생강추출물과 고온고압법제생강추출물이 골관절염 바이오마커의 조절 가능성을 확인하였으며, 콜라겐(type 1, type 2) 유전자 발현의 경우 생강추출물과, 고온고압법제생강 추출물에 의하여 양성대조군과 유사하게 유전자 발현이 증가되는 것을 확인하였음
- 따라서, 생강추출물과 고온고압법제생강추출물은 기존의 골관절염 치료제로 이용되고있는 celecoxib와 유사한 효능을 지니는 것을 확인하였으므로, 신규한 관절건강/골관절염 소재로서의 개발 가능성을 확인하였음

마. 연구개발 내용 및 결과 (2협동 : 광동제약(주))

(1) 연구수행 결과 (제2협동 : 광동제약(주))

항목	제품명	1차년도	2차년도	3차년도	원료명
일반식품	발효탄산음료 (개발일정)		시제품 개발		◦ 발효생강추출물(FGE01)
	발효쌍화 (개발일정)			시제품 개발	◦ 발효생강추출물(FGE01) → 증숙생강추출물(KD)
	홍삼골드프리미엄 (개발일정)			제품출시	◦ 증숙생강추출물(KD) ⇒ 20년 9월 출시
	알지3-프라임 (개발일정)			시제품 개발	◦ 증숙생강추출물(KD) ⇒ 21년 5월 출시 예정
	증숙생강스틱포 (개발일정)			시제품 개발	증숙생강추출분말(GGE) ⇒ 개별인정형 원료

(2) 1차년도 연구개발 내용 (제2협동 : 광동제약(주))

(가) 생강 발효물 적용 기능성 음료 생산 검토

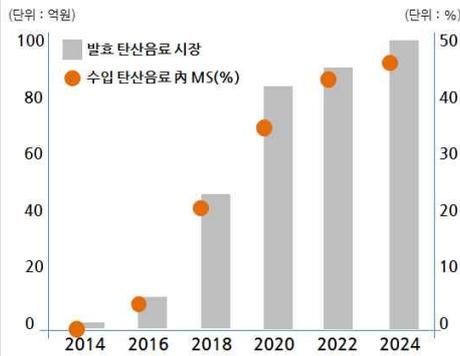
① 발효음료 시장 조사 및 제품화 컨셉보드 수립

- 탄산음료의 시장이 7,700억/年 수준으로 매우 큰시장을 형성하고 있으나 설탕을 포함한 첨가물로 인해 건강을 해치는 음료로 각인되어 있음.
- 이를 해결하기 위해 無첨가 탄산수, 과즙 탄산수 등의 제품이 출시되고 있으나 맛이 약하고 건강기능성에 대해서는 해결되지 못하고 있음.
- 만일, 탄산음료의 당분을 줄이고 합성향 대신 원료로 부터 새로운 천연의 풍미를 발현시키고, 건강기능성을 부여한다면 탄산음료의 신규 매출 발생이 가능하다고 판단됨.
- 無알콜 맥주처럼 발효된 탄산제품은 발효 중 생성되는 독특한 풍미로 인해 설탕과 첨가물에 대한 의존도를 낮출 수가 있어 발효기술이 탄산음료의 이미지를 건강하게 바꿀 수 있음.
- 현재 발효탄산음료는 글로벌 시장에서 크게 성장중이며 국내는 발효 탄산 제품군이 형성되는 초기 단계로 보임.
- 2020년은 국내 탄산음료 중 발효 탄산음료 시장 성장 원년이 될 것으로 전망됨.
- 발효 탄산음료용 다양한 Key base인 효모 발효액(brew) 기반으로 제품 개발 검토

발효 탄산음료 시장 동향

(발효유 제외)

국내 발효 탄산음료 시장 현황 및 전망



1 시장 동향

- 국내 발효 탄산음료 시장은 50억 규모로 작으며, 탄산음료 카테고리 형성 중임
- 효모 기반의 발효 음료는 맥주, 스파클링 와인 등 "알콜" 음료가 다수이며 발효 탄산 음료는 국내 개발 업체 없음 (~18. 5월)
- 수입 탄산 내 MS 20% 초반이나, 해외 제품의 인기로 인해 2020년 30% ↑ 상승할 것으로 예측됨.

2 경쟁사 동향

- (호주) 분다버그 회사는 생약보다는 과일퓨레 및 과일 착즙액 효모 발효 제품 extension ↑ : "병" 타입 유지하면서 color 마케팅 강화.
- (국내) 동원F&B는 유산균 기반의 고품산화 발효 드링크 개발 완료하여 제품 출시 준비 중
- (국내) 곰부차 드링크 제품들 수입이 증가하고 있으며, 국내 자체 개발을 통한 신규 제품들이 출시되고 있음

자료: 식품산업통계정보(www.atfis.or.kr) 품목별 소매점 매출액 / 날은 소매점 매출액 데이터

② 발효생강 함유 리뉴얼 제품 국내 시장성 검토(쌍화차)

- 국내 쌍화탕류 제품시장은 광동제약, 동화약품, 일양약품 등이 주로 견인하고 있으며, 매출 성장폭이 정체되어 있는 상태임
- 시중에는 쌍화탕 카피상품이 넘쳐나고 있으며, 성분은 비슷하면서 함량에 차이가 나는 정도임.

(단위 : 백만원)

		2009년	2010년	2011년	2012년	2013년
쌍화탕류	매출액	13,560	14,144	15,031	15,883	15,356
	매출비중	4.9%	4.9%	4.8%	4.8%	3.3%

광동제약 쌍화탕류 매출액

- 쌍화탕과 쌍화차의 기능적 차이에 대한 소비자 인지수준이 상승되었으나, 의약품이 아닌 식품으로서 쌍화차의 안전성과 기능성에 대한 니즈가 증가하는 추세임
- 발효컨셉을 통한 쌍화차류의 약물학적 가치와 면역기능 및 영양학적 소구 강화로 마케팅적 포인트를 강화할 수 있음
- 국내 출시된 발효쌍화차의 경우, 면역력/피로회복 컨셉 제품으로 출시되었으나 기존 쌍화차와 발효쌍화차의 기능/마케팅적 차별화를 실패한 사례라고 판단됨.
- 생강의 주요성분(Gingerol, Shogaol)이 강화된 발효생강추출물을 사용하여 현재 발효식품 트렌드에 부합할 수 있는 기능성 식품으로서 리뉴얼 제품 개발을 목표로 함.

제품명	사진	제조처	판매처	원재료명	컨셉
메디팜 발효쌍화 75 mL (파우치)		조아제약(주)	메디팜 온라인몰	발효쌍화농축액, 베타인, L-아르기 닌, 구연산, 잔탄검, 아세살팜칼륨, 수 크랄로스, 시트로 스	- 피로회복 - 면역력 증강
광동 발효쌍화 100 mL (병)		광동제약(주)	단종	발효쌍화농축액, 기타과당, 기타설 탕, 구연산, 당밀, 구연산삼나트륨, 잔탄검, 재제소금, 솔잎엑기스분말, 펙틴	- 피로회복 - 면역력 증강

국내출시 발효쌍화 제품

(나) 발효생강추출물(FGE01)의 물리화학적 특성 변화 확인

① 물리화학적 특성 평가

㉓ 재료 및 방법

* 재료 및 이화학적 특성

본 실험에 쓰인 발효생강추출물(FGE01) 원료는 제넨셀로부터 공급받음. FGE01 수용액은 색차계(model CM-3500d, Minolta, Japan) 를 이용하여 lightness(명도), 색차(ΔE^*ab)를 측정함. 당도는 굴절당도계(RX-2000 α , Atago Co., Japan)로 측정하여 ° Brix 농도로 나타냄.

비중은 밀도계(DMA 4500, Anton Paar, Austria), pH는 (SevenCompact, Mettler Tole-do, Switzerland)를 이용하여 각각 측정함. FGE01의 지표성분 분석은 에스디생명공학로 공급 받은 동일한 HPLC 분석법을 이용하여 분석함.

* 열안정성 테스트

5%(w/v) 농도로 희석한 시료를 70, 80, 90°C 에서 30분간 열처리한 후 즉시 냉각함. 냉각한 시료는 냉장보관한 뒤, 당도, pH, 비중, 색차, 관능을 각각 분석하였음.

㉔ 실험 결과

* 원물 및 수용화 테스트

과제용 발효생강추출물(FGE01)의 원물 상태의 규격을 측정하였음. 아래 표와 같이 발효생강 추출물(FGE01) 원물과 5%의 수용액으로 희석하여 규격을 측정하였다. 수용액으로 희석할 경우 불용성 물질에 의해 현탁액으로 변하는 현상을 확인할 수 있음.

샘플	사진	당도	pH	비중
FGE01		60.6	5.04	1.301
FGE01 5% 수용액		3.04	5.42	1.010

[발효생강추출물(FGE01) 원물 수용화 테스트]

* 열안정성 테스트

열안정성 테스트를 하기 위해 5% FGE01 수용액을 4가지 조건으로 나누어 실험한 결과는 표4.와 같음. 추가적인 열을 가하지 않은 Untreated 군에서부터 70, 80, 90℃까지 온도를 올려 30분간 열을 가한 그룹간 당도와 비중, 그리고 pH에 큰 차이가 없었음. 가열에 의한 색차이가 관측되지 않았으며, 관능평가 상 Untreated 군과 유의적인 차이가 없었음.

샘플	당도	pH	비중	색차(b*)	관능
Untreated	3.04	5.42	1.010	56.88	적합
pH3	3.03	5.43	1.010	57.02	적합
pH5	3.04	5.41	1.011	58.91	적합
pH7	3.04	5.38	1.010	59.44	적합

발효생강추출물(FGE01) 수용액의 열안정성 테스트

② 자체 지표물질 분석 시스템 구축

- FGE01의 지표성분 분석은 에스디생명공학로 공급받은 동일한 HPLC 분석법을 이용하여 분석함.
- 생강(원물), 발효생강추출농축액(FGE01), 발효생강분말(FGE02), 생강쌍화, 분다버그 진저비어, 순작도라지 침출차, 계피생강 총 7가지 샘플을 활용하여 Shogaol과 Gingerol 분석을 진행함.
- 발효생강추출물(FGE01, FGE02)을 제외하고, 지표성분 함량이 거의 없거나 분석되지 않음
- 최종 원료화 및 지표성분 함량이 산출된다면, 지표성분 함량 안정성 테스트 진행 예정임.

시료	Compounds (mg/g of extract)				
	6-gingerol	8-gingerol	6-shogaol	10-gingerol	10-shogaol
생강 (Fresh)	0.27±0.00	0.08±0.00	N.D	0.22±0.01	N.D
발효생강 분말	5.08±0.17	0.46±0.02	1.36±0.05	0.99±0.04	0.34±0.01
발효생강추출 농축액	7.76±1.11	0.72±0.13	0.90±0.14	1.51±0.25	0.36±0.06
생강쌍화음료	0.01±0.00	0.01±0.00	0.004±0.00	0.003±0.00	0.001±0.00
분다버그 탄산음료	0.004±0.00	< LOD	< LOQ	N.D	N.D
순작도라지생강 (침출차)	0.01±0.00	< LOQ	< LOQ	N.D	N.D
계피생강 (침출차)	0.02±0.00	N.D	N.D	N.D	N.D

생강 샘플 모니터링 결과 값

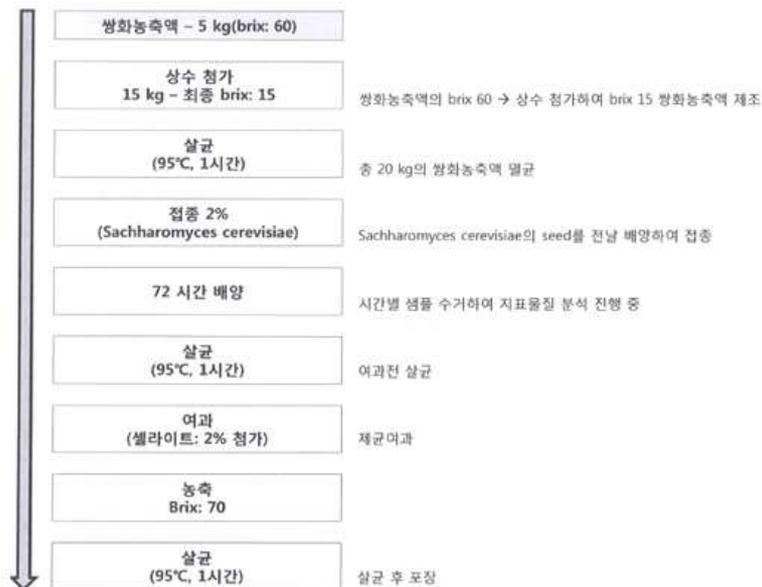
검사항목	단위	표기치	분석값	표기치대비%
열량	Kcal/100ml	-	335.98	-
탄수화물	g/100ml	-	71.52	-
당류	g/100ml	-	60.04	-
조단백질	g/100ml	-	7.93	-
조지방	g/100ml	-	2.02	-
포화지방	g/100ml	-	0.76	-
트랜스지방	g/100ml	-	0.00	-
클레스테롤	mg/100ml	-	0.00	-
나트륨	mg/100ml	-	630.38	-

- 발효생강추출물(FGE01)의 경우, 9대 영양소에 한 영양성분 분석 완료함.

[발효생강추출물(FGE01) 영양성분 분석 결과]

③ 발효쌍화농축액 원료 개발 및 제품규격 설정

- 발효생강추출물 컨셉을 강화할 수 있도록 신규 생강쌍화농축액 개발 진행함.
- 생강쌍화농축액의 경우 SK바이오랜드를 통하여 발효공정을 통한 발효쌍화농축액 개발 진행중임
- 균주의 성장이 빠른 *Sachharomyces cerevisiae*를 사용하여, 37도, 0.5v/v/m, 150rpm으로 배양 진행함
- 배양 시간의 경우 24시간, 48시간, 72시간 시간별 샘플에서 지표물질 선정 및 최종 발효 시간 확립 예정임
- 現 발효공정에 따른 총 유기산 함량 차이를 분석중임(Succinic acid, Citric acid, Lactic acid, Malic acid).



발효생강쌍화 농축액 제조공정도

④ 프로토타입 제품 설계

㉑ 발효탄산음료

발효탄산음료의 경우 생약베이스의 탄산음료를 목표로 제조함. 발효생강추출물(FGE01)의 경우, 규격화가 완료되지 않았다는 점을 감안하여 관능적으로 유의적인 거부감을 유발하지 않는다고 판단되는 함량을 첨가함. 발효생강 컨셉을 강화하기 위하여 발효생강쌍화농축액, 생강엠텐스를 첨가하였음. 또한 산미제, 생강향을 추가 첨가하여 맛을 보완하였음. 배합온도는 $24 \pm 2^\circ \text{C}$ 이고, 충분히 교반하여 균질화한 후 냉각하여($0 \sim 4^\circ \text{C}$) 탄산가스를 주입함($2.4 \pm 0.2 \text{ vol}$).

[발효생강탄산음료 배합비율표]

원재료명	배합비율(%)
발효생강추출물(FGE01)	0.1
발효생강쌍화농축액	0.2
생강엠텐스	0.08
설탕	10.5
구연산	0.01
베타시클로덱스트린	0.005
생강향	0.08
탄산가스(CO ₂)	0.7
정제수	88.33

[시제품 사진]



④ 발효생강쌍화

발효생강쌍화의 경우 쌍화 음료의 기능성 강화를 목적으로 함. 발효생강추출물(FGE01)은 규격화가 완료되지 않았다는 점을 감안하여 관능적으로 유의적인 거부감을 유발하지 않는다고 판단되는 함량을 첨가함. 발효생강 컨셉을 강화하기 위하여 발효생강쌍화농축액을 첨가하였음. 또한 면역력 강화라는 기능성을 강화하기 위하여 아연(Zn)과 마그네슘(Mg)를 추가하였음. 배합온도는 상온이고, 충분히 교반하여 균질화한 후 후살균을 진행하였음.

[발효생강쌍화 배합비율표]

원재료명	배합비율(%)
발효생강추출물(FGE01)	0.1
발효생강쌍화농축액	2.6
기타과당	13
구연산	0.14
구연산삼나트륨	0.08
재제소금	0.035
펙틴	0.02
잔탄검	0.03
글루콘산아연	0.042
염화마그네슘	0.08
황산마그네슘	0.1850
정제수	83.67

[시제품 사진]



(3) 2차년도 연구개발 내용 (2협동: 광동제약(주))

(가) 기능성 음료 마케팅 전략 수립

① 사업화 기획전략 및 개발계획 설정

- 차년도 사업화 실적달성을 목표로 발효쌍화음료/발효탄산음료 2품목으로 이원화하여 시제품 개발을 진행함
- 2020년 광동제약 사업계획 반영을 위하여, 올해 하반기 시제품 시생산 및 사업부 제안을 통한 제품출시를 목표로 함

1. 발효탄산음료 개발일정표

Task	1Q			2Q			3Q			4Q			비고
	1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월	12월	
발효탄산음료 컨셉 검토													
생약 발효 원료 개발 (개발&검정 발효)													· 배합비/발효공정 확립
과일 발효 원료 개발 (과일 발효)													· 배합비/발효공정 확립
발효 농축액 용적허가													· 임상예포럼
제품 설계 1차 (안정성 테스트)													
내부관능평가(1차)													· 식품연구개발본부 대상
제품 설계(2차) (생약&과일 Type)													
내부관능평가(2차)													· 식품연구개발본부 대상
안정성 테스트													
용기 디자인 개발													
원, 부자재 준비													
공정상계													
시생산													· 상필
관능평가													· KD소율리에 대상
유동 사업부 신제품 제안													

2. 발효쌍화 개발일정표

Task	1Q			2Q			3Q			4Q			비고
	1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월	12월	
발효쌍화음료 컨셉 검토													
발효쌍화 농축액 원료 개발													· 배합비/발효공정 확립
발효 쌍화 원료 개발													· 배합비/발효공정 확립
제품 설계 1차													
내부관능평가 1차													· 식품연구개발본부 대상
제품 설계 2차													
내부관능평가 2차													· 식품연구개발본부 대상
안정성 테스트													
용기 디자인 개발													
원, 부자재 준비													
공정상계													
시생산													· 중량타르라
관능평가													· KD소율리에 대상
약국사업부 신제품 제안													

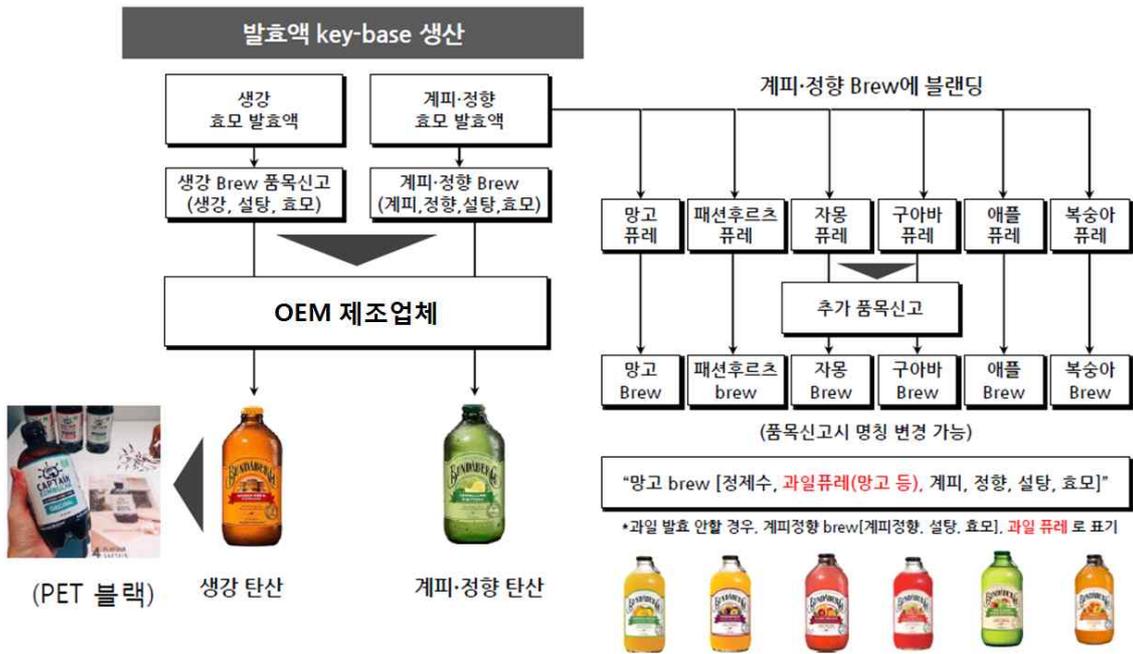
- 생강원료 개발일정에 따라 사업화 전략에 변동이 발생할 수 있기에 先시제품 개발 후 기능성 원료 적용 검토 진행 예정임
- 제품개발 정교화 작업을 통한 시제품 품질강화로 사업화 가능성을 높이는 것을 메인 타겟으로 설정함

② 시제품 개발 전략방향 설정 - 발효탄산음료

- 비즈니스 케이스 분석을 통한 인사이트 도출로 개발 프로젝트의 정의와 목표 수립 함
- 데이터 기반 제품기획에 따라 신제품 개발 전략 설정 및 방향성 도출함

비즈니스 케이스(Business Case) - 인사이트 도출				문제/기회 기술서(Opportunity Statement) - 가설수립																
<ul style="list-style-type: none"> Why: 탄산음료 시장이 1조2천억/년 수준으로 매우 큰 시장을 형성하고 있으나 카페인 및 고당류 함유로 인해 건강을 해치는 음료로 인식되어 있음 Benefits: 발효액을 이용하여 새로운 풍미를 발현시켜 당류를 최소화 하고, 무카페인 건강 탄산음료를 출시한다면 발효탄산음료의 신규 카테고리 창출과 매출 발생이 가능하다고 판단됨 				<table border="1"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>내용</th> <th>구분</th> <th>내용</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>문제</td> <td>탄산음료의 카페인과 고당류 함량으로 인해 건강위해성 문제가 대두되고 있음</td> <td>기회</td> <td>당류를 저감하고 무카페인 인 건강 발효 탄산음료 개발하여야 함</td> </tr> <tr> <td>가설</td> <td>생약과 과일이 발효된 발효액을 사용하여 설탕과 원가품에 대한 의존도를 낮출 수가 있고, 발효기술을 통한 탄산음료의 이미지를 건강하게 바꾸어 신규 매출을 창출 할 수 있음</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>				구분	내용	구분	내용	문제	탄산음료의 카페인과 고당류 함량으로 인해 건강위해성 문제가 대두되고 있음	기회	당류를 저감하고 무카페인 인 건강 발효 탄산음료 개발하여야 함	가설	생약과 과일이 발효된 발효액을 사용하여 설탕과 원가품에 대한 의존도를 낮출 수가 있고, 발효기술을 통한 탄산음료의 이미지를 건강하게 바꾸어 신규 매출을 창출 할 수 있음			
구분	내용	구분	내용																	
문제	탄산음료의 카페인과 고당류 함량으로 인해 건강위해성 문제가 대두되고 있음	기회	당류를 저감하고 무카페인 인 건강 발효 탄산음료 개발하여야 함																	
가설	생약과 과일이 발효된 발효액을 사용하여 설탕과 원가품에 대한 의존도를 낮출 수가 있고, 발효기술을 통한 탄산음료의 이미지를 건강하게 바꾸어 신규 매출을 창출 할 수 있음																			
목표기술서(Goal Statement)				프로젝트 범위(Task Scope) 기술서 - 산출물																
구분	세부항목	목표	비고	<ul style="list-style-type: none"> Input: 발효원료(생약, 과일) 및 효모 배양원료(유기농성당, 백설탕, 포도당 등) 선별 발효 대사산물 선정에 따른 효모 종류 스크린, 생약 비율 최적화 Process: 효모 발효 공정 최적화: 온도, 발효기간(1~3일), 당함량, 효모활기(%) 최적화 탄산음료화 공정개발: 일교율 제거공정, 본 생산 공정 개발(탄산압 2.6, or 3.5'vol) Output: 발효원료 평가: 생약비율(%) 스크리닝 및 관능 평가, 과일발효액 스크리닝 및 관능평가 시제품 제조: 발효 탄산음료 제조 후 패널티 분석, 관능평가 진행 → 관능평가 개선 																
정량적	효모 발효기술을 적용한 건강향 탄산음료 제품개발	2건	생약(계피, 정향) Type 과일&생약(계피, 정향) 플랜팅 Type																	
정성적	효모 발효기술 확보 건강지향적 탄산음료 개발역량 모연팀 확보																			
출력도출을 위한 프로젝트 운영(QCD)				팀 구성(Team Selection) / R&R																
<ul style="list-style-type: none"> Quality: 효모발효 → 발효공정, 기호도 > 3.8점 발효기술 확보: 효모 발효 및 부산물인 알코올 제거 기술 연구자료 활용 Cost: 발효기술개발연구 및 소모품비/인건비 700만원 Delivery: 2019년 6월 발효공정 최적화 → 11월 시생산 원료 후 마케팅 NPD 협의 진행 				<table border="1"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>팀 구성</th> <th>R&R</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PL</td> <td>본부장</td> <td>- 프로젝트 방향 조정, 단계별 승인</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">PP</td> <td>이상훈 부장</td> <td>- 제품 개발도달 수립</td> </tr> <tr> <td>김홍순 계장</td> <td>- 제품설계/제조공정 설계/시작조사</td> </tr> <tr> <td>최윤정 계장</td> <td>- 관능 평가</td> </tr> </tbody> </table>				구분	팀 구성	R&R	PL	본부장	- 프로젝트 방향 조정, 단계별 승인	PP	이상훈 부장	- 제품 개발도달 수립	김홍순 계장	- 제품설계/제조공정 설계/시작조사	최윤정 계장	- 관능 평가
구분	팀 구성	R&R																		
PL	본부장	- 프로젝트 방향 조정, 단계별 승인																		
PP	이상훈 부장	- 제품 개발도달 수립																		
	김홍순 계장	- 제품설계/제조공정 설계/시작조사																		
	최윤정 계장	- 관능 평가																		

- 발효탄산음료 개발방향을 2 타입으로 세분화하여, 소비자 기호 및 시장 차별화에 유동적으로 대응할 수 있는 방향으로 최종 설계를 확립할 예정임



- 식품첨가물로 재현이 어려운 독특한 효모만이 가지는 발효 풍미를 발현한 건강 탄산음료로써 광동제약 브랜드 지향성과 부합할 수 있는 제품개발을 목표로 함

컨셉 Image

발효 생약 & 과일 탄산음료!

발효탄산음료는 유기농설탕과 생약(계피, 정향, 생강)/과일을 3일간 발효시켜 만들어집니다.
 허브 아로마와 독특한 향신료의 풍미를 느낄 수 있습니다.
 Slow drink / 無 알콜 / 효모발효 특유의 아로마(Ester) 향

컨셉	Point 1. 유기농설탕 사용하여 자연의 맛을 살린 발효탄산 Point 2. 3일 의 발효와 숙성을 거쳐 탄생 Point 3. 다양한 요리와 칵테일에 응용 가능				
제형 및 제품특징	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center; border: 1px solid #ccc; padding: 5px;">생약 타입 (Original)</td> <td style="text-align: center; border: 1px solid #ccc; padding: 5px;">라임 타입</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">  생강 </td> <td style="text-align: center;">  라임 + 생약 </td> </tr> </table>	생약 타입 (Original)	라임 타입	 생강	 라임 + 생약
생약 타입 (Original)	라임 타입				
 생강	 라임 + 생약				
응용방법	<ol style="list-style-type: none"> 1. 콜라/사이다를 대체할 건강에 좋은 발효 탄산 음료 응용. 2. 발효 후 알콜제거 기술을 사용한 무알콜 발효탄산으로 임신부/어린이들도 즐길 수 있음. 3. 다양한 요리에 어울림. 4. 보드카/소주/맥주 등과 혼합하여 다양한 칵테일로도 응용 가능. 				

③ 시제품 개발 전략방향 설정 - 발효쌍화음료

- 국내 쌍화음료 시장 규모를 분석할 시 300억원 이상의 규모를 형성하고 있을 것으로 판단됨

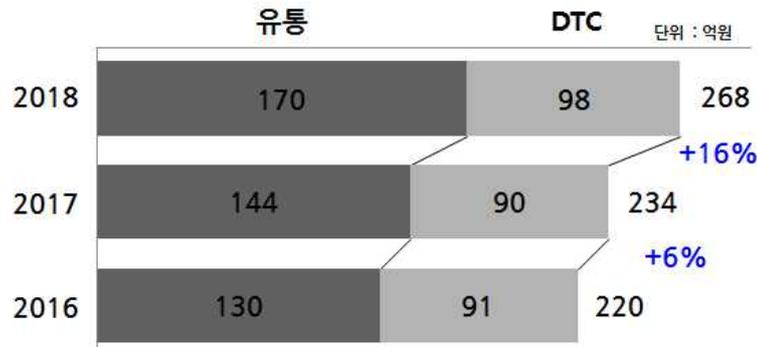


Fig. 광동제약 3개년(16~18년) 식품쌍화류 매출액
 기준: KD EIS 품목별 실적(출고기준)

- 현재 국내 쌍화음료 제품은 쌍화 엑기스 처방에 기능성 소재(대추, 생강, 홍삼, 녹용, 도라지 등)를 첨가한 제품을 이루고 있음
- 쌍화의 기능성 및 효능에 대한 객관적인 데이터를 보유한 제품이 전무한 상태이며, 향미와 소재를 통한 마케팅 포인트 강화제품이 대부분임
- 광동제약에서는 과학적인 데이터를 기반으로 발효 기반 소재 및 기능성(면역강화, 피로개선 등) 차별화 제품개발을 목표로 함

제품명	사진	업체명	용량	원재료및 제품의 특징	슬로건 및 마케팅 포인트
광동 대추쌍화		광동 제약	150ml /병	<ul style="list-style-type: none"> • 생강쌍화농축액(대추, 당귀, 숙지황, 갈근, 황기, 천궁, 감초, 작약, 건강, 계피) • 생강농축액, 기타설탕, 농축사과과즙, 말트덱스트린, 생강엑센스 굴피추출농축액, 합성향료 등 	<ul style="list-style-type: none"> • 대추농축액 0.3% • 생강쌍화농축액 1.7% 함유
가을 생강쌍화		동화약품	100ml /병	<ul style="list-style-type: none"> • 동화쌍화농축액(작약, 숙지황, 황기, 천궁, 당귀, 계피, 감초, 대추, 건강) • 농축사과과즙, 구연산, 복합황금추출물, L-주석산, 재제소금 	<ul style="list-style-type: none"> • 생강성분 80% 강화 • 동화쌍화농축액 2.64% 함유
보령 생강쌍화		보령수앤수	100ml /병	<ul style="list-style-type: none"> • 쌍화농축액(작약, 천궁, 당귀, 황기, 생강, 대추, 숙지황, 감초, 계피) • 홍삼농축액, 생강농축액, 벌꿀, 계피농축액, 당귀농축액, 천궁농축액 등 	<ul style="list-style-type: none"> • 홍삼함유 • 쌍화농축액 0.72% 함유
대웅 쌍화골드		보고신약	120ml /병	<ul style="list-style-type: none"> • 쌍화농축액(작약, 천궁, 당귀, 숙지황, 계피, 감초, 생강, 대추) • 대추농축액, 생강농축액, 효소처리스테비아, 합성향료 등 	<ul style="list-style-type: none"> • 쌍화농축액 0.6% 함유

- FGE(발효생강) 기반으로 제품설계를 진행한 상태이며, 신규원료(증숙생강)에 대해 기 설정된 제품 컨셉에 변동 없이 원료 적용 예정임

- Customer Value / Benefit**
- 단당류 함량 증가 → 쌍화(한방취) 관능 개선
 - 발효성화농축액 유기산 함량 증가 (젖산, 사과산) → 면역, 항피로 개선
 - 발효를 통한 생리활성물질 흡수율 개선
 - 기능성 생강원료 함유 (중숙생강추출물)



- 차년도 제품개발 사업화를 위해 광동제약 NPD(New Product Development) 실무위원회에 현재까지 설계된 발효쌍화음료 시제품 관능 및 컨셉 평가를 수행함

3월 신규 아이디어 평가결과



(Hurdle point = 3.2점)

4월 신규 아이디어										
제품명	발효쌍화									
n=12	만족도	시장성/구입의향								
Total (5점)	3.5	3.1	3.5	3.1	3.5	3.1	3.5	3.1	3.5	3.1
평가의견 (개선점, 장/단점, 기타)	비공개	비공개								
	내부 전략자료	내부 전략자료								

- 평가결과 제품 컨셉에 대한 만족도는 높게 나왔지만 기능성 및 관능에서 전문가평가 허들 포인트를 통과하지 못함 (3.1점/3.2점)
- 컨셉 만족도에 대한 주요 평가는 자사 강점을 극대화한 프리미엄(고가) 제품이라는 점이 결과에 주요한 요인을 나타내고 있음
- 시장성 평가는 발효쌍화 제품의 효능에 대한 불확실성 및 관능 차별화 부족에 기인한 결과로 판단됨

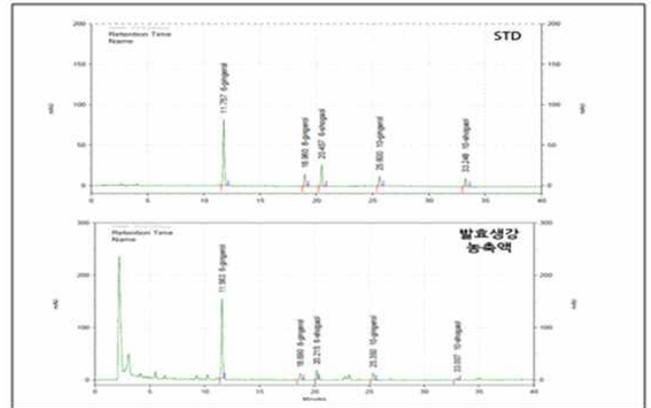
- 발효자체만의 효능이 소비자의 구매욕구를 증대시키기에 한계점이 있으며, 기능성 소재 (증숙생강)의 객관적인 데이터를 바탕으로 효능 기대치를 충족시킬 예정임
- 평가결과를 바탕으로 제품 컨셉 및 설계를 보완작업 진행 중에 있으며, 규격화된 생강 원료를 활용한 제품 아이디어 평가를 다시 제안할 계획임

(나) 개별인정형 제품 제형연구를 위한 기능성 생강원료 적합성 및 적용 가능성 검토

① 발효생강(FGE) 지표물질 동시분석 검증수행

- 제3협동 에스디생명공학에서 제공받은 분석법을 기준으로, 개별인정형 원료 사용 건강기능식품 개발 시 광동 제약 내 동시분석 검증할 수 있는 자체 분석 시스템 구축 완료함
- 설정된 지표물질(6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, 6-shogaol, 10-shogaol) 시험법의 신뢰성을 확보하고자 직선성, 정확성, 정밀성을 고려하여 유효성 검증을 실시함

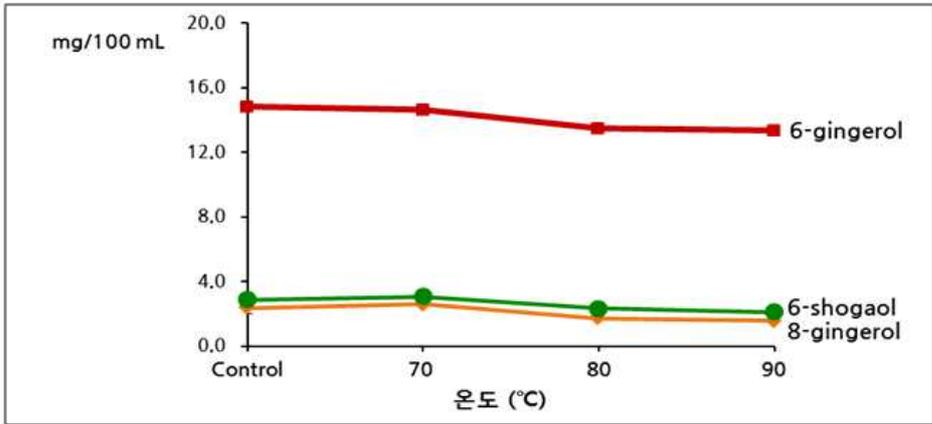
제목	발효생강 지표물질 (진저롤, 쇼가올) 동시분석법 검증결과 보고서					
부서	안전센터	일일	김선영			
목적	발효생강의 지표물질 gingerol 및 shogaol 유도체 5종 동시분석법에 대한 표준시험법의 신뢰성 확보					
검증 방법	식품 중 시험법 마관 표준절차에 관한 가이드라인 중 약학적 시험법 검증 2단계, 실험실 내 검증 (산품의약품안전평가원 식품위생과, 2016.04.06 발발)					
결과	1. 민감도와 선형성					
	검출한계	허용 한계	결과			
	직선성 범위		1.99 - 150 µg/mL			
	상관관계 (r)	r ≥ 0.99	0.99			
	검출한계 (LOD)	LOD = 3.3σ/S	0.16 - 0.58			
	정확한계 (LOQ)	LOQ = 10σ/S	0.49 - 1.77			
	2. 정밀도 및 정확도 평가					
	검출한계	허용 한계	결과			
	정밀성 (RSD, %)	RSD ≤ 15%	0.44 - 9.19			
	정확성 (Recovery, %)	75% ≤ recovery ≤ 125%	86.59 - 102.14			
	3. 모니터링					
		Compounds (mg/g of extract)				
	시료	6-gingerol	8-gingerol	10-gingerol	6-shogaol	10-shogaol
	생강 (Fresh)	0.27±0.00	0.08±0.00	0.22±0.01	N.D ^{*)}	N.D
	발효생강 분말	5.08±0.17	0.46±0.02	0.99±0.04	1.36±0.05	0.34±0.01
발효생강주출 농축액	7.76±1.11	0.72±0.13	1.51±0.25	0.90±0.14	0.36±0.06	
*) N.D: 불검출						
참고사항	생강 및 발효생강의 대표적인 생리활성 지표성분인 gingerol 및 shogaol 유도체 5종에 대한 표준시험법의 신뢰성을 확보하고자 직선성, 정확성, 정밀성을 고려하여 유효성 검증을 실시하였다. 그 결과, 식약처 시험법 검증 가이드라인에 적합하므로 본 시험법은 HPLC를 이용하여 gingerol 및 shogaol 유도체 5종을 분석하기에 적합하다.					



Gingerol, Shogaol 유도체 5종 표준품 및 샘플의 HPLC 크로마토그램

발효생강 지표물질 동시분석법 검증 보고서

- 그 결과, 식약처 시험법 검증 가이드라인에 적합하였으므로 HPLC를 이용하여 gingerol 및 shogaol 유도체 5종을 분석하는데 본 시험법이 적합함을 최종 확인함
- 설정된 시험법을 근거로 발효생강음료 내 지표물질(gingerol, shogaol)의 온도에 따른 안정성을 분석함



발효생강음료의 살균온도에 따른 gingerol, shogaol 함량 변화

- 발효생강추출물이 5% 함유된 음료를 제조하여 살균 온도(70 - 90°C)에 따른 지표물질 유도체 5종의 함량변화를 위 첨부그림을 나타냄
- 발효생강추출농축액(FGE01)의 gingerol 및 shogaol 함량 순서와 거의 일치하게 6-gingerol > 6-shogaol > 8-gingerol 순서로 시제품에서 지표물질이 분석됨
- 온도 안정성 분석결과 발효생강의 주요한 생리활성 지표물질 유도체는 통계적으로 유의적인 차이가 없었으며, 이러한 결과는 살균온도에 비교적 안정한 것으로 나타남(살균전후/ 6-gingerol : p-value = 0.000839, 8-gingerol : p-value = 0.019, 6-shogaol : p-value = 0.033)

② 증숙생강추출농축액 규격 분석 및 적합성 검토

- 19년 6월 제넨셀(1협동기관)에 제공받은 증숙생강추출농축액 규격 분석 및 원료화 가능성 검토 진행함
- 증숙생강추출농축액의 규격 분석 및 안전성 분석결과는 아래 도표와 같음

원료명	기준규격	기준규격	측정값	비고
증숙생강추출농축액 <small>식용유형 : 기타 농수산식품</small>	당도(Brix)	50	50	규격 이탈가능성 유
	ph	-	5	기준규격 없음
	물불용성 침전물(%)	-	분석중	기준규격 없음  증숙생강추출농축액 1% (정제수)
	영양성분	-	분석완료	기준규격 없음
	고형분	50% 이상	58.92%	Halogen Moisture Analyzer
	중금속	-	납(mg/kg) : 0.026 카드뮴(mg/kg) : 0.015 비소(mg/kg) : 0.31	기준규격 없음
	잔류농약	-	분석중	기준규격 없음
	타르색소	불검출	분석중	
	미생물	대장균군 (n=5,c=1,m=0,M=10)	대장균군 : 0.0,0.0,0 일반세균 : 0.0,0.0,0	

- 증숙생강추출농축액 1%를 정제수에 수용화 하였을 경우, 침전물이 다량 발생하는 현상을 확인하여 현재 물불용성침전물 함량 분석 의뢰중임
- 실제 생산에 원료 적용시 물불용성침전물 함량이 높으면 생산 적용이 불가하기에 이에 대한 공정 개선 요청한 상태임(제넨셀)

- 제공된 라벨표시기준 원료 규격을 검토하였기에 성적서 발급 후 추가 검토 진행 계획 임
- 증숙생강추출농축액 영양성분 분석을 위해 외부기관 분석의뢰를 통하여 결과 확인함
- 차후, 제공되는 원료에 대하여 원료 영양성분 변동 값을 관찰검토 진행 예정임

시험·검사성적서

시험번호: BFL20190706-0024 | 결과번호: W-1906-0002
 검사일: 2019-07-06 | 결과발급일: 2019-06-26
 품명: 증숙생강추출농축액
 Sample: | 검사목적: | 참고용(영양성분):
 제조(주입)일: | 유통(제조일자)기한:
 고객사: | 담당자: | 문의처: |
 소재지: (17784) 경기도 양주시 경기도로 1081 (정당동)

시험·검사 항목 및 결과

시험항목	기준	결과	단위	항목비고
수분	-	47.03	%	-
지방	-	22.62	%	-
단백	-	129.90	mg/100g	-
탄수화물	-	13.23	g/100g	-
당류	-	4.80	g/100g	-
포화지방	-	16.46	g/100g	-
포지방	-	1.70	g/100g	-
포화지방	-	0.01	g/100g	-
포화지방	-	0.00	g/100g	-

비고: * 상기사항은 의뢰한 시험항목에 한정
 1. 상기 내용은 의뢰인이 제출한 시험에 관한 결과이며, 시험소 영혼은 의뢰인이 제시한 범위
 2. 이 시험성적서는 의뢰인이 복사사본을 금지하며, 별도 인증의 사용을 금지함

2019년 07월 06일
 (주)바이오푸드랩

시험·검사성적서

시험번호: BFL20190706-0024 | 결과번호: W-1906-0002
 검사일: 2019-07-06 | 결과발급일: 2019-06-26
 품명: 증숙생강추출농축액
 Sample: | 검사목적: | 참고용(영양성분):
 제조(주입)일: | 유통(제조일자)기한:
 고객사: | 담당자: | 문의처: |
 소재지: (17784) 경기도 양주시 경기도로 1081 (정당동)

시험·검사 항목 및 결과

시험항목	기준	결과	단위	항목비고
중금속(납)	-	0.00	mg/100g	-
나트륨	-	996.67	mg/100g	-

비고: * 상기사항은 의뢰한 시험항목에 한정
 1. 상기 내용은 의뢰인이 제출한 시험에 관한 결과이며, 시험소 영혼은 의뢰인이 제시한 범위
 2. 이 시험성적서는 의뢰인이 복사사본을 금지하며, 별도 인증의 사용을 금지함

2019년 07월 06일
 (주)바이오푸드랩

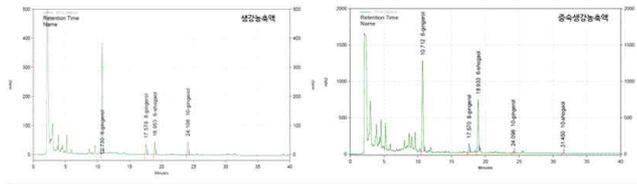
증숙생강추출농축액 영양성분 분석 결과(외부기관)

- 광동제약에서 보유하고 있는 ICP-MS(Agilent Technologies 7800)를 활용하여 중금속 분석시 아래와 같이 결과값을 확인함
- 별도 법적규격은 없으나 제품 안전성을 위하여 원료에 대해 주기적 분석 계획임
- 잔류농약 및 타르색소의 경우 분석 진행중이며 결과에 따른 원료 안전성 여부 판단할 예정임

Element	Mass	ISTD	Tune Mode	Conc.	Units	RSD(%)	CPS	Ratio	Det.	Time(sec)	Rep
As	75		He	0.631	ppb	2.3	2659.24		Pulse	0.3000	3
Cd	111		He	0.031	ppb	4.5	263.35		Pulse	0.3000	3
Pb	208		He	0.052	ppb	7.1	5769.29		Pulse	0.3000	3

증숙생강추출농축액 중금속 분석 결과

- 생강원물 별도 재고분이 없기에 광동제약에서 사용하는 생강추출농축액(20 Brix)과 증숙생강추출농축액(50Brix)의 지표물질 함량 비교분석 수행함(고형분함량 환산)



	mg/100 g of sample (wet base)				
	6-gingerol	8-gingerol	10-gingerol	6-shogaol	10-shogaol
생강농축액	110.21±0.64	11.36±0.07	18.54±0.15	14.81±0.10	N.D
중숙생강농축액	319.37±14.35	12.39±9.85	7.25±0.35	141.22±7.20	1.74±0.08
	mg/100 g of dry base				
	6-gingerol	8-gingerol	10-gingerol	6-shogaol	10-shogaol
생강농축액	576.69±3.33	59.44±0.38	97.00±0.80	77.49±0.54	N.D
중숙생강농축액	631.30±28.37	24.48±19.46	14.33±0.70	279.15±14.23	3.44±0.15

- 분석결과 생강추출농축액의 경우 8-gingerol 및 10-gingerol 함량이 더 높게 나타났으며, 중숙생강추출농축액의 경우 6-gingerol, 6-shogaol 그리고 10-shogaol 함량이 높게 나타남
- 현재 중숙생강추출농축액 신규 지표물질 후보군인 dehydro-6-gingerdione 및 6-paradol 분석을 위한 시료 수급 진행 중이며 이에 대한 검토 예정임

(다) 생강 발효원료 함유 기능성 음료 리뉴얼 제품 또는 신제품의 시제품 개발

① 시제품 컨셉원료 개발연구 - 발효쌍화음료

- 쌍화 엑기스(대추, 당귀, 숙지황, 갈근, 황기, 천궁, 감초, 작약, 건강, 계피)의 최적 발효조건 설정을 위하여 시간에 따른 총 유기산 함량(8종) 변화 분석실험을 수행함
- 분석결과 발효시간에 따라 젖산과 사과산의 함량이 증가하는 것을 확인하였으며, 기타 유기산은 분석되지 않음
- 72시간 발효 시 기존 대비 농축액 풍미 증가 및 유기산 함량이 높아지는 것을 근거로 최적 발효조건으로 설정함
- 규격화를 위한 지표물질로는 함량 안정성이 높은 당귀 내 Decursin으로 결정함

시료명	분석결과 (mg/g)			비고
	옥살산	젖산	사과산	
발효상화농축액(0)	2.56	33.82	19.98	-
발효상화농축액(48)	0.31	33.12	18.46	-
발효상화농축액(72)	0.35	42.77	23.04	-

Fig. 발효시간별 유기산 함량 분석결과



② 시제품 컨셉원료 개발연구 - 발효탄산음료

- 원자재 수급 및 표준화 작업을 통한 발효 조건 정립 진행함(총 유기산 함량 분석)
- 실험공정은 6-sigma 설계를 기반으로 설정하였으며, 이의 실험 결과값에 따라 개발방향을 설정하였음

Design | (본) 실험설계 정보

변수 수준	ID	Vital Few X's	수준		비고
			Low Level	High Level	
P1	P2	발효 온도(°C)	10	30	-
		발효 시간(hr)	1day	7day	
X1	X2	비터스 brew	0.025%	1.0%	Saccharomyces cerevisiae Fermain 7013
		과일 brew	0.025%	0.5%	
		원물 종류	생약차방	과일차방	계측 100rpm

설정근거	실험인자	관련 Y	설정 근거	수준		
				Low	High	기본차방
P1	발효 온도(°C)	• 풍미 기호도 • 알코올	발효온도 : 발효속도 증가하나 풍미 감소가 될 수 있고, 색이 변할 수 있어 최적화 필요	10	30	30°C
P2	발효 시간(hr)	• 유기산(%) • 항산화활성	발효 시간에 따라 좋은 풍미의 유기산과 니쁜 풍미의 유기산의 생성 비율이 달라져 최적화 필요	1day	7day	3day
X1	효모 첨가량(%)	• 당함량(%) • 항산화활성	효모 첨가량에 따라 발효시간이 달라지고 관중은 당함량에 따라 풍미가 달라짐	0.025%	0.5-1.0%	0.05%
X2	원물 종류	• 풍미 기호도 • 항산화활성	원물 종류에 따라 발효 후 풍미가 모두 다르기 때문에 원물에 적합한 발효조건 선정이 중요함	생약농축액 (생약+생형)	과일농축액 유래	생약

Design | 실험설계 Set

RSM 설계

20Set 반응표면 분석 설계: Sugar 함량 고정 후 생약, 과일 효모발효 조건 최적화 이원화 진행 - 총40회

생약 최적화 RSM 설계		실험 결과 요약 (20Set)									
Vital Few X's	수준	반응 변수		당도 (g/L)		pH		산도 (g/L)		유기산 함량 (mg/g)	
		Low Level	High Level	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
발효 온도(°C)	10 30	10	30	10	30	10	30	10	30	10	30
발효 시간(day)	1day 7day	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7
효모 농도(%)	0.025% 1.0%	0.025	1.0	0.025	1.0	0.025	1.0	0.025	1.0	0.025	1.0
교반속도	100rpm	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
설정 농도(%)	5.0%	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

과일 유래 최적화 RSM 설계

Vital Few X's	수준	반응 변수		당도 (g/L)		pH		산도 (g/L)		유기산 함량 (mg/g)	
		Low Level	High Level	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
발효 온도(°C)	10 30	10	30	10	30	10	30	10	30	10	30
발효 시간(day)	1day 7day	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7
효모 농도(%)	0.025% 0.05%	0.025	0.05	0.025	0.05	0.025	0.05	0.025	0.05	0.025	0.05
교반속도	100rpm	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
설정 농도(%)	5.0%	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

- 발효농축액 개발프로세스에 따라 제조공정설계를 하였으며, 유기산 함량 분석을 통한 원료 규격 확립함



Fig. 발효농축액 개발프로세스

Fig. 발효농축액 제조공정도(1차)



항목	분석결과				단위
	생약발효액 발효 전	생약발효액 발효 후	라임발효액 발효 전	라임발효액 발효 후	
옥살산	0.27	0.39	0.24	0.31	mg/g
개미산	0.77	1.11	불검출	불검출	mg/g
젖산	불검출	불검출	불검출	불검출	mg/g
구연산	8.48	10.30	34.95	37.14	mg/g
호박산	불검출	불검출	불검출	불검출	mg/g
사과산	8.32	9.54	3.14	3.24	mg/g
초산	불검출	불검출	불검출	불검출	mg/g
주석산	불검출	불검출	불검출	불검출	mg/g

유기산 함량 분석결과

- 시제품은 발효계피정향 탄산음료 그리고 발효라임 탄산음료 총 2Type으로 개발 진행 함 (발효탄산 Brew원료 품목허가完 - 2품목)

발원번호: YH00-2019-0007-0007-0007

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

발원번호	YH00-2019-0007-0007-0007	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일
발원번호	YH00-2019-0007-0007-0007	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일
발원번호	YH00-2019-0007-0007-0007	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일

경기도 화성시 호곡로 572-5

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

제품명	생강 효모발효액	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일
제품명	생강 효모발효액	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일
제품명	생강 효모발효액	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일

경기도 화성시 호곡로 572-5

발원번호: YH00-2019-0007-0007-0007

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

발원번호	YH00-2019-0007-0007-0007	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일
발원번호	YH00-2019-0007-0007-0007	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일
발원번호	YH00-2019-0007-0007-0007	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일

경기도 화성시 호곡로 572-5

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

제품명	라임 효모발효액	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일
제품명	라임 효모발효액	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일
제품명	라임 효모발효액	제조업체명(법인명)	1991년 03월 03일

경기도 화성시 호곡로 572-5

계피정향Brew 품목허가서

라임Brew 품목허가서

③ 발효탄산음료 시제품 관능 평가 수행

- 광동제약 KDS system(Kwang-dong sensory)을 통한 시제품 관능평가를 수행함

- 기능성 원료(생강)는 시제품 개발 일정에 맞추어 발효생강농축액(FGE01)으로 진행함
- 제품평가는 총 2차례에 걸쳐 진행함(발효생강농축액 0.01%함유, 가원가 산정 불가에 따른 최소합량 사용)

◆ 1차 평가 : 발효탄산 생약 flavor 2종(6/20)

◇ 조사방법 : Gang survey ◇ 조사대상 : 광동제약 식품R&D본부 연구원

◆ 2차 평가 : 발효탄산 라임 flavor 2종(6/24)

◇ 조사방법 : Gang survey ◇ 조사대상 : 광동제약 식품R&D본부 연구원

- 품질평가 평가항목은 종합기호, 기호특성, 강도특성, 컨셉만족도 순으로 진행함
- 발효탄산의 생약 flavor 제품의 소비자 기호/강도를 평가한 결과, 패널들의 반응이 뚜렷한 경향성을 띄지 못함에 따라 재평가 진행해야 할 것으로 확인됨
- 발효탄산의 라임 flavor 제품의 소비자 기호/강도를 평가한 결과, 라임향미에 대한 보완이 추후 이루어진다면 종합 기호도 상승에 긍정적인 영향을 줄 것으로 판단됨
- 차후 경쟁 제품과 소비자 기호도 평가를 통하여 제품에 대한 소비자들의 정확한 반응 및 제품의 관능 완성도를 체크할 수 있을 것으로 분석됨
- 차후 최종 관능 평가의 경우 신규 생강 원료를 활용하여 진행 예정임



광동제약 KDS system 평가 수행 이미지

1.1 평가 항목

1.1.1 종합기호

○	○
183	476

1.1.2 기호특성

매우 많이 있음	많이 있음	보통	약간 있음	중지도 심지도 강함	약간 없음	중음	많이 중음	매우 많이 있음
○	○	○	○	○	○	○	○	○

1.1.3 강도특성

매우 많이 약함	많이 약함	약함	약간 약함	보통	약간 강함	강함	많이 강함	매우 많이 강함
○	○	○	○	○	○	○	○	○

1.1.4 컨셉만족도

매우 마음에 들지 않는다	보통이다	매우 마음에 드는 편이다	매우 마음에 든다	매우 마음에 든다	매우 마음에 든다			
○	○	○	○	○	○	○	○	○

1.1.5 컨셉과 맛 어울림

○	○
183	476

1.1.6 컨셉과 맛 어울림 평가항목 기호 2가지 항목 고려하길 위하여 컨셉만족도와 어울림 항목을 선택해 주시요.

센서리 평가 질문지(생약Flavor)

2. 평가 결과

2.1 선호 평가

골을 첨가하지 않은 제품을 골 첨가한 제품보다 선호하는 것으로 나타남.

선호 평가 선택 비율



골첨가 30%

골첨가X 70%

2.2 기호평가

종합기호 평가에서 골 첨가 X 제품이 골 첨가 O제품 보다 유의적 차이가 없는 수준에서 우위를 나타냄.
 세부 기호 항목 모두에서 골 첨가 X 제품이 골 첨가 O제품 보다 유의적 차이가 없는 수준에서 우위를 나타냄.

선호 순위	종합기호				기호			
	골첨가X	골첨가O	라임향미	골 향미	신맛	단맛	발효 취	맛의 밸런스
골 첨가 X	1	6.5 a	6.2 a	5.4 a	6.5 a	6.3 a	5.8 a	5.8 a
골 첨가 O	2	4.8 b	5.6 a	3.8 b	6.1 a	6.1 a	5.5 a	4.3 b

P-value 0.06 0.01 0.23 0.01 0.37 0.69 0.60 0.02

유의적 차이	No	Yes	No	Yes	No	No	No	Yes
--------	----	-----	----	-----	----	----	----	-----

센서리 평가 결과표(라임Flavor)

(4) 3차년도 연구개발 내용 (제2협동 : 광동제약(주))

(가) 생강 원료의 체지방 감소 인체적용시험

인체적용시험 연구계획서

...물론(연구) (이하, (갑)이라 한다)과 ...주식회사 의사회(이하, (을)이라 한다)는 "증속생강추출분말의 체지방 감소 기능성 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험"에 관한 연구에 대하여 다음과 같이 계약을 체결한다.

제 1조 (목적 및 범위)
본 계약의 목적은 "증속생강추출분말의 체지방 감소 기능성 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험"에 대한 계약 내용을 규정하기 위한 것으로, "을"은 "갑"으로부터 용역을 받아 Pre-Clinical Data Review, 안전성 및 효능성 검토, 신약 체지방 감소 인체적용 시험 사례 검토, 인체적용시험 프로토콜 개발 업무를 수행한다.

제 2조 (연구기간)
본 계약의 기간은 2020년 02월 04일부터 2020년 06월 03일까지로 한다.
단, (갑)과 (을) 양방 간의 협의에 의하여 조정할 수 있으며, 주당시험은 당 계약서에 기입 후, 날인하여 이행하며, 이와 관련 별도의 계약서는 작성하지 않는다.

제 3조 (연구비 지급 및 관리)
①-은 계약에 의하여 "갑"이 "을"에게 인체적용시험 관리를 위해 지급하는 비용은 갑 오만원만 원 (₩50,000,000, VAT 별도)으로써, "갑"은 다음과 같이 "을"에게 지급한다.
1) 계약금(50%) : 갑 이천오백만원 정 (₩25,000,000, VAT 별도) → 계약체결 후 1개월 이내
2) 잔 금(50%) : 갑 이천오백만원 정 (₩25,000,000, VAT 별도) → 연구보고서 제출 후 1개월 이내
② "을"은 상기 제1항에서 수주한 연구비를 다른 용도의 자금과 혼동하여 지출 지출하고 관리하여 된다.
③ 본 계약 제2조의 단서에 따라 연구기간이 연장되어 추가로 연구경비가 투입될 경우, 양 당사자는 제1항의 연구비와 별도로 추가비용 및 지급지키 등을 협의할 수 있다.

제 4 조 (특제처리)
"을"은 "갑"으로부터 지급된 연구비를 별도의 계정으로 구분하여 투명하게 관리한다.

제 5 조 (연구 및 연구보고서 제출)
① "을"은 보유하고 있는 전문지식을 충분히 활용하여 진정된 관리자의 주위 지식을 바탕으로 중립적 객관적 연구를 수행해야 하며, "을"의 과다한 자료 연구 수행의 제한 사항에 대해서 논의가 필요할 경우

제 출 문

본 보고서를 "증속생강추출분말의 체지방 감소 기능성 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험"의 연구계획서 개발 과정의 용역보고서로 제출합니다.

2020.04.29.

연구기관명: ㈜리서치멘토 (대표이사) 과 장 열

- 체지방 감소 인체적용시험 사전 계획수립 및 시험 Protocol 개발 완료함(w/리서치멘토)
[증속생강추출분말(SSG) 인체적용시험 연구계획서]

(나) 생강 원료 함유 기능성 음료 리뉴얼 제품 또는 신제품 사업화

① 증속생강추출물(KD, 과·채가공품) 원료 개발

- 경희대학교에서 기술이전(10-2020-0069076, 6-진저를 함량이 증가된 증속 생강 추출물 및 이의 제조방법) 받은 증속생강추출물 제조방법을 활용하여 Scale-up 생산공정 수립 및 원료 시생산 진행함

- 원료생산의 경우 협력업체(OEM, 진성에프엠)를 통하여 국내산 생강의 임가공 의뢰 진행 및 소재화 완료함

원산지증명서

제 품 명 : 증속생강추출물
식품의 유형 : 과·채가공품
품목보고번호 : 199903641581636

당사가 생산하여 귀사에 공급하는 증속생강추출물(은)은 **국내산 생강(을)**을 원료로 사용하여 생산하는 국내 제조 제품임을 증명합니다.

2020년 09월 03일

생산자(공급자)
주 소 : 경기도 화성시 양감면 초록로 572-5
상 호 : (주) 진성에프엠
대표이사 : 김진수 (인)



발급번호 : 1999-F-09-FHF-KOFF-3A9F

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

신청(법인명) 김진수 주소 경기도 화성시 양감면 초록로 572-5	생년월일(법인번호) 1961년 07월 03일 전화번호 031 3520261 유대전화
양청(상호) {주}진성에프엠 소재지 경기도 화성시 양감면 초록로 572-5	영업등록번호 19990364158
식품의 유형 과·채가공품	요청하는 품목코드 199903641581636
제품명 증속생강추출물	
유통기한 제조일부더 24개월	
품질유지기능 유해성 또는 성분상 "비합법성" "금도·금반" 보관방법 및 주요내용 모양방법 및 모양단위	<div style="text-align: center; font-size: 2em; font-weight: bold;">김 은</div> 당장에 기재 당장에 기재 당장에 기재
성상 고유의 색채와 향미를 가지고 여단, 이취가 없는 막상	
품목의 특성 <input checked="" type="checkbox"/> 고열량·저열량 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니요 <input type="checkbox"/> 해당 없음 <input checked="" type="checkbox"/> 알·육이불 함유대상으로 표시 관여하는 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니요 <input checked="" type="checkbox"/> 알칸·알칸 제품의 해당 여부 <input type="checkbox"/> 비알칸 <input type="checkbox"/> 알칸	
기타	

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2020년 08월 28일
 보고인 김진수

경기도 화성시청 귀하

품목보고번호	19990364158-1636
발급부서	복지국 위생과
처리자성명	박세영
처리일자	2020년 09월 02일

본 증명서는 관헌부으로 발급되었던대 사용안장통보부일(http://www.foodsafetykorea.go.kr) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

[증속생강추출물(KD) 원산지증명서 / 품목제조보고서]

- ② ‘홍삼골드프리미엄’ 제품개발 및 사업화
- 증속생강추출물(KD) 원료 활용 신제품 출시를 위하여, 홍삼음료 스틱포(10g)에 적용하여 제품개발을 진행함
 - 특히 출원된 증속생강추출물(KD)을 사용함으로써 제품의 프리미엄 이미지를 소구 포인트로 강화함
 - 홍삼 고유의 향미에 영향을 최소화 하며, 마케팅적 컨셉 원료로 활용하기 위하여 증속생강추출물 (KD) 함량을 0.2% 확정하여 제품 설계 진행함

 PROTOCOL		음료연구개발팀				
		2020.06.15 (화)				
제품명	홍삼골드프리미엄					
분류규격	건식					
주원료 및 배합비율	원재료명	Type 1-1	Type 1-2	Type 2-1	Type 2-2	비고
	홍삼농축액6년근	0.20000	0.20000	0.20000	0.20000	
	식물혼합농축액D	5.00000	5.00000	2.50000	2.50000	감초, 계피, 구기자, 당귀, 대추, 숙지황, 오미자
	액상과당	15.00000	15.00000	15.00000	15.00000	
	증숙생강추출물	0.20000	0.20000	0.20000	0.20000	과재가공품
	육당올리고당					
	구연산					
	구연산삼나트륨					
	잔탄검					
	몽크푸트즈농축과즙					
허브향						
허브향						

- 최종 확정된 타입(Type 1-1)의 시제품의 안정성 및 제품화 테스트를 위하여 시생산 진행함
- 주요 공정 : 원료칭량 → 배합 → 배합액 검사 → 여과(80mesh 필터) → 살균 → 충전 → 포장 → 적재
- 시생산은 400L로 수행하였으며, 제품 Sepc. 확정 및 생산공정에 대한 미생물 안전성을 검증함

구분	규격	생산 결과	비고	
배합 규격	당도(Brix°)	13.3 ± 0.15	13.25	적합
	산도	0.275 + 0.015 -0.010	0.245	제조공정도 변경 예정

[홍삼골드프리미엄 시생산 결과]

- 열에 의한 시제품 홍삼성분 안정성을 확인하기 위하여, 시생산 진행시 초기/말기 시제품을 선별하여 진세노사이드 성분 분석을 진행하였음

시생산 제품 미생물 안전성 검증

1. 의뢰내용			
합조전번호	음료연구개발팀 2020-1089	식물유형	홍삼음료
계통명(시표명)	홍삼골드프리미엄	접수일자	2020.09.02
의뢰부서	음료연구개발팀	의뢰자	김홍순 님
의뢰목적	홍삼골드프리미엄 시생산 제품에 대한 미생물 안전성 검증		

2. 분석담당자 및 시험법			
분석담당	한은경	분석일자	2020.09.02
시험법	식품의 기준 및 규격 제8.일반시험법 4.미생물시험법 4.5 세균수 4.5.1 일반세균수 나. 건조필름법 식품의 기준 및 규격 제8.일반시험법 4.미생물시험법 4.7 대장군수 4.7.2 경량시험 다. 건조필름법		

3. 분석결과				
구분	기준규격	분석결과(cfu/ml)		
		초(10:30)	중(12:00)	말(14:00)
일반세균	n=5, c=1, m=100, M=1,000	0.0,0.0,0	0.0,0.0,0	0.0,0.0,0
대장군수	n=5, c=1, m=0, M=10	0.0,0.0,0	0.0,0.0,0	0.0,0.0,0

시생산 제품 홍삼성분 검증

1. 의뢰내용			
합조전번호	음료연구개발팀:2020-1093	식물유형	홍삼음료
시표명	홍삼골드프리미엄 시생산	의뢰일자	2020.09.02
의뢰부서	음료연구개발팀	의뢰자	김홍순 님
의뢰목적	홍삼골드프리미엄 시생산 사전 안전성 검증		

2. 분석담당자 및 시험법			
분석담당	박선영	분석일자	2020.09.07 - 08
시험법	식품의 기준 및 규격 제8.일반시험법 6.4.2인삼홍삼음료 나.액체크로마토그래피에 의한 시험 건강기능식품 기준 및 규격 제4. 건강기능식품 시험법 3-55 진세노사이드		

3. 분석결과_홍삼골드프리미엄 시생산				
	기준규격	분석결과		비고
초기	홍삼성분 확인	홍삼성분 확인 (Rb1, Rg3 확인)		-
말기	홍삼성분 확인	홍삼성분 확인 (Rb1, Rg3 확인)		-

- 분석결과, Rb1 및 Rg3 성분이 확인되어 홍삼음료 유형에 적합한 제품임을 확인함

[홍삼골드프리미엄 시생산 결과 : 미생물 / 진세노사이드]

- 시제품의 영양성분분석 및 품목허가를 통하여 최종적으로 제품 개발을 완료함



[홍삼골드프리미엄 영양성분성적서 / 품목제조보고서]

- 개발된 '홍삼골드프리미엄' 제품 출시를 위하여 아래와 같이 디자인시안 작업 및 부자재 생산 진행함



[홍삼골드프리미엄 디자인문안(케이스)]

- 본생산 진행(목표수량 : 60만포) 및 완제품 규격 검토결과 제품 품질 이상 없이 생산 완료함

- 완제품 정상출고를 통한 증속생강추출물(KD) 활용 신제품 사업화 및 매출액 달성에

기여하였음

시험성적서 Certificate of Analysis				공 부 번호 272004362	시험번호 (Certificate No.) 200900422
품 명 (Product) 홍삼골드프리미엄_한미협스케 OL_수확[한가량]		유형 (Type) 분말 (Powder)	제조번호 (Lot No.) 3000L	시험번호 (Code No.) 80074	
제조(출)일(연월일) (Lot Date)	2020-09-18	제조(출)지 (City, Date) (Manufacturing Location/Date)	2020-09-18	제조(출)사 (Company) 한미약품	
검출(출)일(연월일) (Sampling Date)	2020-09-18	검출(출)지 (Sampling City)	K-SEA	검출(출)사 (Sampling Co.)	한미약품
검출(출)장소 (Sampling Place)	홍성공장	검출(출)방법 (Sampling Method)	Random	시험(출)일자 (Exp. Date)	2022-04-01
시험 항목 (Item of Test)	시험 기준 (Standard)	시험 결과 (Result)	시험 방법 (Method)	시험 일자 (Date)	시험 인 (Signature)
1. 중량	중량차를 가진 용량에서 적당으로, 여러 차례 시험이 실시되야 함.	중량차를 가진 용량에서 적당으로, 여러 차례 시험이 실시됨.	계량	2020-09-18	이영민
2. 수분	20% 이하 (비열량 20% 이하)	9.65%	계량	2020-09-18	이영민
3. 산도	비열량에 대한 비율을 정수화하여서는 4.2 이하 (포도산 기준) 1.0 이하, 당화당 비율이 정수화하여서는 45.0 이하	비열량 100.00, 산도 0.02, 당화당 100.00	계량	2020-09-18	이영민
4. 당도	비열량에 14.20 이하	14.20%	계량	2020-09-18	이영민
5.pH	비열량에 4.5 이하	4.40	계량	2020-09-18	이영민
6. 비열량	비열량	1.260	계량	2020-09-18	이영민
7. 산도	비열량에 0.240 ~ 0.280	0.240	계량	2020-09-18	이영민
8. 당화당	170% 이하	9.6%	계량	2020-09-18	이영민
승인 (Checked)	시험 일자 (Date)	시험 방법 (Method)	시험 결과 (Result)	시험 일자 (Date)	시험 인 (Signature)
IFA	2020-09-18	계량	중량, 수분, 산도, 당도, pH, 비열량, 당화당	2020-09-18	이영민

출하승인서			
ERP CODE	90074	제품명	홍삼골드프리미엄_한미협스케 OL_수확[한가량]
제조년월일	2020년 09월 18일	제조번호	3000L
제조기간	2020/09/18 ~ 2020/09/18	포장단위	100 X 30포
포장수량	2,313.00개(EA)	시험번호	200900422
출하수량	2,313.00개(EA)	시험번호	200900422

상기제품은 제조 지시 및 기록서 및 품질관리 기록서에
 관한 제반 문서를 점검한 결과
 광동제약㈜ GMP 규격에서 정한 기준대로
 정상적으로 수행 되었음을 확인합니다.

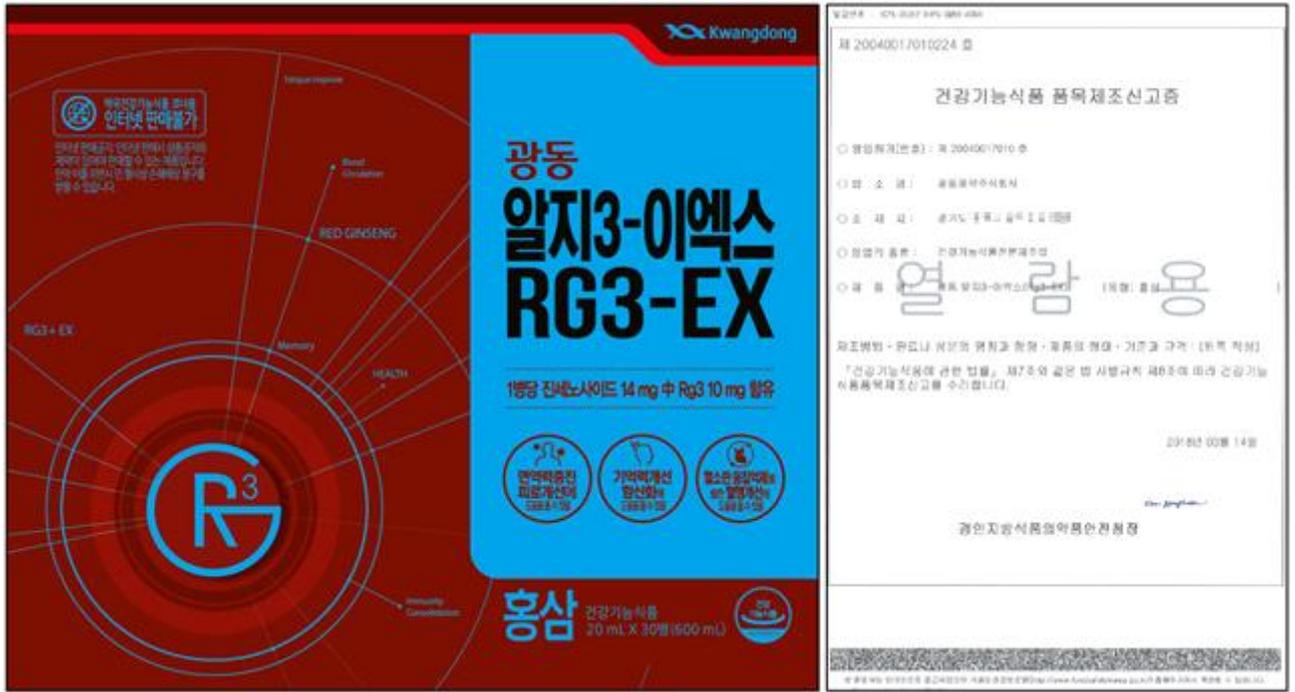
상기제품의 출하를 승인합니다.

승인년월일	2020년 09월 18일
승인(보증)부서 직할자	이영민
출하승인 관리자명	이영민

[홍삼골드프리미엄 시험성적서 / 출하승인서]

③ ‘광동 알지3-프라임’ 시제품 개발

- 광동제약에서 판매중인 “광동 알지3-이엑스(건강기능식품; 홍삼)” 제품에 증숙생강추출물(KD)를 컨셉원료로 활용하여 리뉴얼을 통한 제품 경쟁력 강화를 목표로 함



[광동 알지3-이엑스 디자인문안 / 건강기능식품 품목제조신고증]

- “광동 알지3-이엑스(건강기능식품; 홍삼)”는 18년 5월 출시된 약국채널 전용제품으로, 약 8.3억의 매출액 (19년기준)을 가지고 있는 품목임
- 리뉴얼을 통한 기능성 강화로 본 과제 사업화 매출목표를 달성하고자 함, 리뉴얼 제품의 경우 21년 5월 출시목표임

※ 리뉴얼 목표 : RG3 5mg + 복합 기능성(3순위까지 선정)

소재명	기능성 섭취량	기능성 내용
N-아세틸글루코사민	N-아세틸글루코사민으로 1g	관절 및 연골 건강에 도움을 줄 수 있음 피부보습에 도움을 줄 수 있음 (고)
글루코사민	글루코사민염산염(황산염)으로 1.5g	관절 및 연골 건강에 도움을 줄 수 있음(고)
태아닌	200~250mg	스트레스로 인한 건강관화에 도움을 줄 수 있음(고)
대두이소플라본	대두이소플라본 비배당체로 24~27mg	뼈 건강에 도움을 줄 수 있음 (기표물질 18.75% 함유)(고)
1 오미자추출물	1.582g	근력 개선에 도움을 줄 수 있음(개)
3 유산균발효마늘추출물	1.5g	간 건강에 도움을 줄 수 있음 알콜성 손상으로부터 간을 보호하는데 도움을 줄 수 있음(개)
유산균발효다시마추출물	1.5g	알콜성 손상으로부터 간을 보호하는데 도움을 줄 수 있음 기억력 개선에 도움을 줄 수 있음(개)
히알루론산	240mg	자외선에 의한 피부손상으로부터 피부 건강 유지에 도움을 줄 수 있음(개)
락투로스파우더	650~3000mg	유익균증식, 유해균억제에 도움을 줄 수 있음(개)
2 라피노스	3 ~ 5g	원내 유익균의 증식과 유해균의 억제에 도움을 줄 수 있음 세면활성을 원활히 하는데 도움을 줄 수 있음
부티올리고	부티올리고로 2g, Allo lactose로 90mg 이상	자외선 손상으로부터 피부를 보호하는데 도움을 줄 수 있음(인공물)

※ 안정성테스트 결과에 따라 가뭄가는 달라질 수 있음

- 1순위 : 오미자추출물 → 홍삼 5대 기능성(내부 - 면역력 증진) + 근력 관련 기능성(외부 - 근력 개선)
- 2순위 : 라피노스 → 홍삼 5대 기능성(면역력 증진) + 장내 유익균 증식 관련 기능성(면역력)
→ 면역력 증진 기능성 집중 강조 가능(통 단위 판매)
- 3순위 : 유산균발효마늘추출물 → 홍삼 5대 기능성(피로회복) + 간 건강 관련 기능성(피로회복)
→ 피로회복 기능성 집중 강조를 통한 세트 판매 강화 가능(날별 단위 판매)

- 복합기능성 원료의 경우 홍삼과의 마케팅적 기능성 적합도 검토를 통하여, 총 3개 순

- 위로 기능성을 선별하였으며, 1순위 : 오미자추출물(근력), 2순위 : 라피노스(면역), 3순위 : 유산균발효마늘추출물 (피로회복)으로 우선순위 선정 및 시제품 개발 진행함
- 기존 제품에 사용되었던 생강농축액의 경우, 본 과제로 개발된 증속생강추출물(KD)를 대체하여 사용함

Kwangdong	PROTOCOL				음료연구개발팀
					2020. 4. 2(목)
제품명	알지3 프라임				
분류/규격	견식				
주원료 및 배합비율	원재료명	Type 1(20ml) 배합비율(%)	Type 2(30ml) 배합비율(%)	Type 3(20ml) 배합비율(%)	비고
	홍삼농축액알지쓰리S	2.2000	2.2000	2.2000	진세노사이드 Rg1, Rb1, Rg3의 합 25mg/g 이상 Rg3 함량 20mg/g 이상
	오미자추출물	7.9100			
	유산균발효마늘추출물		7.5000		
	라피노스			15.7000	
	증속생강추출물(KD)	0.1000	0.1000	0.1000	KDR-1703 정부과제 개발원료
	식물혼합농축액10	0	0	0	인삼, 감초, 백출, 백봉령, 당귀, 작약, 속지황, 황기, 천궁, 계피
	대추농축액	0	0	0	
	몽크후르트농축과즙	0	0	0	
	효소처리스테비아	0	0	0	
	구연산삼나트륨	0	0	0	
	구연산	0	0	0	
	캐틴	0	0	0	
	잔탄검	0	0	0	
허브향	0	0	0		

[광동 알지3-프라임 배합설계표]

- 시제품 관능/기능성 소구 검토 시 대외적인 환경분석(COVID-19)에 따라 면역력 기능성이 소비자 니즈에 가장 적합할 것으로 판단하여 라피노스+증속생강추출물(KD) 원료로 최종 확정됨
- “광동 알지3-프라임” 은 20 mL/vial 제형으로, 기존 협력업체(팜텍코리아)를 통하여 시생산 진행 및 지표성분 안정성 검증실험 진행함



▲ 자동 세병기 ▲ 자동 물드병 충전&실링기 ▲ 자동 오버캡 캡핑기

항목		규격	실험결과	비고
배합액 규격	당도(Brix°)	25.20 ± 1	25.20	이상 없음
	pH	4.00 ~ 4.30	4.10	이상 없음
지표성분	진세노사이드	Rg1+Rb1+Rg3 : 7mg/20ml Rg3 : 5mg/20ml	10.09 (7.94)	6개월 예정
	라피노스	3g/20ml이상	3.13	6개월 예정
미생물		이상없음		-

[광동 알지3-프라임 시생산 결과]

- 주요 공정 : 원료 칭량 → 배합 → 여과(50µm) → 충전 → 밀봉 → 살균(90℃ 40분, 살수식) → 포장

1. 의뢰내용

합조건번호	음료연구개발팀:2021-6	식품유형	-
시험명	Rg3-EX리뉴얼(시생산)_4달	의뢰일자	2021.01.05
의뢰부서	음료연구개발팀	의뢰자	김홍출 님
의뢰목적	Rg3-EX리뉴얼 시생산 제품 지표성분 안정성 테스트		

2. 분석담당자 및 시험법

분석담당	박선영	분석일자	2021.01.05 ~ 07
시험법	식품의 기준 및 규격 제 8. 일반시험법 6. 식품별 규격 확인 시험법 6.2 당류 6.2.1 솔리고당 라. 갈락토올리고당(라피노스, 스타치오스) 건강기능식품 기준 및 규격 제4. 건강기능식품 시험법 3-55 진세노사이드		

3. 분석결과

3.1 진세노사이드

시료명	기준규격	분석결과	비고
Rg3-EX_3.3g_4M_30도	Rg1, Rb1, Rg3의 합으로서 7 이상 (Rg3 5 이상)	10.45 (8.34)	mg/20mL
Rg3-EX_3.3g_4M_35도		10.44 (8.37)	mg/20mL
Rg3-EX_3.3g_4M_40도		10.51 (8.50)	mg/20mL
Rg3-EX_3.6g_4M_30도		10.28 (8.20)	mg/20mL
Rg3-EX_3.6g_4M_35도		10.39 (8.35)	mg/20mL
Rg3-EX_3.6g_4M_40도		10.38 (8.29)	mg/20mL

* 비중 1.107

3.2 라피노스

시료명	기준규격	분석결과	비고
Rg3-EX_3.3g_4M_30도	3 이상 (이론치 3.3)	2.91	g/20mL
Rg3-EX_3.3g_4M_35도		2.69	g/20mL
Rg3-EX_3.3g_4M_40도		2.46	g/20mL
Rg3-EX_3.6g_4M_30도	3 이상 (이론치 3.6)	3.23	g/20mL
Rg3-EX_3.6g_4M_35도		2.86	g/20mL
Rg3-EX_3.6g_4M_40도		2.70	g/20mL

* 비중 1.107

문서출력번호 : KW05-SPW-AMOE-WJOK

시험 · 검사성적서

발행번호: R20210109-0002 제008호

입사번호	2021-01-09	검수번호	200128924-001
입사번호	2021-01-09	발수연월일	2020-12-22
제품명	알지3-프리미엄(Rg3 PRM)		
[품목]세스번호	유료제조신고번호		
유형 · 재료 · 용역명	품질지치노스		
제조(수입)일	2020-09-11	품질(품질유지)기간	
과목	시험	적성분	일제당 (음용제(40°))
	소재지	(177840기) 동해시 경서로 1193 (달남동) 전화번호: 02-6448-7423 팩스번호: 0504-006-4319 전자우편: kj.park@wjdop.com	
제조원	업체명		제조국
	소재지		
시험 · 검사목적	식품 품질지치.가공검사		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험 · 검사 항목	검 · 검사 기준	검 · 검사 결과	단위	단위비율	비고
지방	소용의 식재료 원재료 기준에 따라 함량이 적거나 적지 않은 경우	0.0	g/20mL		합격
진세노사이드(Rg1, Rb1, Rg3) 및 라피노스 합계	표시량의 80% 이상	10.45 (8.34)	mg/20mL	125.2%	합격
라피노스(R)	표시량의 80% 이상	2.91 (2.46)	g/20mL	118.3%	합격
나트륨(Na)	1.0 이하	0.0	g/20mL		합격
카복시산(COOH)	0.3 이하	0.0	g/20mL		합격
비소(As)	1.0 이하	0.0	g/20mL		합격
수은(Hg)	0.3 이하	0.0	g/20mL		합격
대장균군	음성	음성	개		합격
세균수(CFU/g)	100 이하	0	개		합격

Page 1 of 2

[광동 알지3-프라임 함량분석 결과(4개월) / 시험성적서]

- 시생산 결과를 토대로 유통기한설정 및 품목허가 진행 완료하였으며, 현재 디자인문안 작업 진행중

발급번호 : MAMB-AMBC-LTX-FYM-KSNV

제 20040015191103 호

건강기능식품 품목제조신고증

○ 영업허가(번호) : 20040015191

○ 법 소 명 : (주)광복코리아

○ 소 재 처 : 강원도 원주시 문막읍 문막로1길 59

○ 영 업 종 류 : 건강기능식품제조업

○ 제 품 명 : 알지3-프라이밍(PGS-FHME) (품목류:홍삼, 과당노스)

제조방법·원료나 성분의 명칭과 함량·제품의 형태·기준과 규격 : (유통 직성)
 「건강기능식품에 관한 법률」 제7조와 같은 법 시행규칙 제8조에 따라 건강
 기능식품 품목제조신고를 수리합니다.

2021년 02월 02일

서울지방식품의약품안전청장

발급번호 : MAMB-AMBC-LTX-FYM-KSNV

기능성원료(기능성을 표시하고자 하는 원료)

No.	원료명 또는 성분명	함량비율(%)	기능(지표)성분함량	원재료 기타 설명
1	과당노스(고시형)	99.5%	(99%)	
2	홍삼추출물(고시형)	2.2%	(2.2%)	홍삼추출물 및 과당노스(고시)

기타원료

No.	원료명 또는 성분명	함량비율(%)	기능(지표)성분함량	원재료 기타 설명
1	정제수	94.5%		
2	과당노스	1%		
3	과당노스(고시형)	1.5%		사실홍삼추출물 인
4	과당노스	1%		과당노스(과당노스 인한 무리)
5	과당노스	1%		과당노스(무리)
6	과당노스(고시형)	1%		과당노스(무리(고시))
7	과당노스	1%		과당노스
8	과당노스	1%		
9	과당노스	1%		
10	과당노스(고시형)	1%		과당노스(과당노스 인한 무리(고시))
11	과당노스	1%		과당노스(과당노스)
12	과당노스(고시형)	1%		과당노스
13	과당노스(고시형)	1%		과당노스
14	과당노스(고시형)	0.1%		과당노스(과당노스)
15	과당노스(고시형)	1%		과당노스 100%
16	과당노스	1%		과당노스(과당노스)
17	과당노스(고시형)	0.1%		

[광동 알지3-프라임 건강기능식품 품목제조신고증]

- ④ ‘증숙생강스틱포(체지방 개선, 개별인정형 제품)’ 시제품 개발
- 협력기업(제넨셀)에 제공받은 증숙생강추출분말(GGE, Lot 1) 활용하여 시제품 개발 진행함
 - 제공받은 증숙생강추출분말(GGE)의 함량분석 및 안정성 테스트를 위하여 동시분석 검증을 통한 분석결과 신뢰성 확보함

1. 의뢰내용

원조건번호	음료연구개발팀:2020-655	식품유형	-
제품명(시료명)	중숙생강추출분말 2 type	제조일자	-
의뢰부서	음료연구개발팀	의뢰자	백동환 님
접수일자	2020. 06. 03		
의뢰목적	KDR-1703 정부과제연계 개별인증형 개발원료 지표성분 검증용 위함		

2. 분석담당자 및 시험법

분석담당	김선영	분석일자	2020.06.08 - 10
시험법	1. 업체 제공 시험방법 2. 안전센터 시험방법 지시서 KDR-SOP-071		

3. 분석결과

시료명	1-Dehydro-6-Gingerdione (mg/g)	
	업체제공 시험방법	안전센터 시험방법
중숙생강 추출분말 (Lot 1)	1.37	1.38
중숙생강 추출분말 (Lot 3)	1.02	1.12

[중숙생강추출분말(GGE) 함량 분석결과]

- 중숙생강추출분말(GGE, Lot1)의 pH 안정성 검증을 위하여 광동제약에서 판매되는 제품에 따른 함량 안정성 검증시험 진행함
- 중숙생강추출분말(GGE, Lot1)의 pH 3 ~ 4에서 6-진저디온 안정성에 영향은 적은 것으로 판단되나, 수용화 상태에서 함량 검증 및 지표성분 안정성에 대하여 정밀한 검토가 필요함

<p>1. 목적 : KDR-1703 정부과제 연계 개별인증형 개발원료 안정성 검증을 위함(pH)</p> <p>2. 샘플 정보</p> <p>가. 중숙생강추출분말 기준규격 : 1-Dehydro-6-gingerdione 1.18 mg/g의 80 ~ 120%</p> <p>나. 진홍삼골드 1번 : 중숙생강추출분말 투입량 480mg/100ml</p> <p>다. 진홍삼골드 2번(50% 증량) : 중숙생강추출분말 투입량 720mg/100ml</p> <p>라. 비타500 : 중숙생강추출분말 투입량 480mg/100ml</p> <p>3. 협조 요청 사항</p> <p>- 1-Dehydro-6-gingerdion 함량 분석</p>	<p>1. 의뢰내용</p> <table border="1"> <tr> <td>원조건번호</td> <td>음료연구개발팀:2020-692</td> <td>식품유형</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>제품명(시료명)</td> <td>중숙생강추출분말 함유 시차용 3 type</td> <td>제조일자</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>의뢰부서</td> <td>음료연구개발팀</td> <td>의뢰자</td> <td>백동환 님</td> </tr> <tr> <td>접수일자</td> <td colspan="3">2020. 06. 11</td> </tr> <tr> <td>의뢰목적</td> <td colspan="3">KDR-1703 정부과제연계 개별인증형 개발원료 지표성분 검증용 위함</td> </tr> </table> <p>2. 분석담당자 및 시험법</p> <table border="1"> <tr> <td>분석담당</td> <td>김선영</td> <td>분석일자</td> <td>2020.06.11 - 17</td> </tr> <tr> <td>시험법</td> <td colspan="3">1. 업체 제공 시험방법 2. 안전센터 시험방법 지시서 KDR-SOP-071</td> </tr> </table> <p>3. 분석결과</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">시료명</th> <th colspan="2">1-Dehydro-6-Gingerdione (mg/100 mL)</th> </tr> <tr> <th>업체제공 시험법</th> <th>안전센터 시험법</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>진홍삼골드 1번</td> <td>0.65</td> <td>0.65</td> </tr> <tr> <td>진홍삼골드 2번 (50% 증량)</td> <td>0.83</td> <td>0.79</td> </tr> <tr> <td>비타 500</td> <td>0.65</td> <td>0.61</td> </tr> </tbody> </table>	원조건번호	음료연구개발팀:2020-692	식품유형	-	제품명(시료명)	중숙생강추출분말 함유 시차용 3 type	제조일자	-	의뢰부서	음료연구개발팀	의뢰자	백동환 님	접수일자	2020. 06. 11			의뢰목적	KDR-1703 정부과제연계 개별인증형 개발원료 지표성분 검증용 위함			분석담당	김선영	분석일자	2020.06.11 - 17	시험법	1. 업체 제공 시험방법 2. 안전센터 시험방법 지시서 KDR-SOP-071			시료명	1-Dehydro-6-Gingerdione (mg/100 mL)		업체제공 시험법	안전센터 시험법	진홍삼골드 1번	0.65	0.65	진홍삼골드 2번 (50% 증량)	0.83	0.79	비타 500	0.65	0.61
원조건번호	음료연구개발팀:2020-692	식품유형	-																																								
제품명(시료명)	중숙생강추출분말 함유 시차용 3 type	제조일자	-																																								
의뢰부서	음료연구개발팀	의뢰자	백동환 님																																								
접수일자	2020. 06. 11																																										
의뢰목적	KDR-1703 정부과제연계 개별인증형 개발원료 지표성분 검증용 위함																																										
분석담당	김선영	분석일자	2020.06.11 - 17																																								
시험법	1. 업체 제공 시험방법 2. 안전센터 시험방법 지시서 KDR-SOP-071																																										
시료명	1-Dehydro-6-Gingerdione (mg/100 mL)																																										
	업체제공 시험법	안전센터 시험법																																									
진홍삼골드 1번	0.65	0.65																																									
진홍삼골드 2번 (50% 증량)	0.83	0.79																																									
비타 500	0.65	0.61																																									

[중숙생강추출분말(GGE) pH 안정성 분석결과]

- 시제품의 경우 섭취 용이성과 함께 생산공정 내 함량 안정성 분석을 위해 스틱포 제형으로 개발 진행함
- 목표 타겟은 이너뷰티 시장에 관심있는 2050 소비자이며, 붓기해소에 도움을 준다고 알려진 호박과 더불어 벌꿀 및 생강 원료 사용을 통한 전통소재에 대한 원료 신뢰성을 기반으로 제품 설계함

증속생강 소재 다이어트 스틱



※ 참고용 이미지입니다

전략 방향	신규 카테고리 개척 (전통 소재의 현대화)
컨셉	내 몸을 가볍게 하는, 하루 한 포
Segmentation	<ul style="list-style-type: none"> 이너뷰티 시장 5,300억원 중 이너뷰티(다이어트/붓기해소) 스틱포 타입 시장 목표 한방유래 소재로 브랜드 신뢰성 강화한 기능성 헬스 뷰티제품 개발
Targeting	<ul style="list-style-type: none"> 다이어트 식품을 주기적으로 구매하며 관심이 많은 2050 여성/남성 소비자
제품명 (가안)	꿀먹은 생강 다이어트 스틱
기능성 (가안)	체지방 감소에 도움을 줄 수 있음, 480mg/day
진행사항 및 계획	<ul style="list-style-type: none"> Proto-타입 제품 개발 및 제조공정 설계 유통기한 설정 시험 진행(지표성분 안정성 검토)
용량/판매가	<ul style="list-style-type: none"> 스티크포 타입: 1,800원/15g (※ 원가에 따라 변동 가능성 有)
유통 채널	온라인, 대리점, H&B, 약국 등

- 스틱포 제형의 경우 광동제약 Pilot 생산설비를 활용한 시제품 생산을 진행하였으며, 다이어트 타겟 제품이기때 저칼로리 컨셉으로 배합비를 설계함

Kwangdong 광동 꿀먹은생강호박 스틱		부서명	음료연구개발팀
		제정일자	2020. 11. 09
		개정일자	2020. 11. 09 1차
유형	건강기능식품	생산처	광동제약(주) 식품공장
유통기한	18개월	용량	15g 스틱포
원료명	배합 비율(%)	투입량(g)	비고
증속생강수출분말	3.200	0.48000	건기식(GGE)
단호박농축액 (고형분 28% 이상)	10.000	1.50000	30°Brix 이상
말도덱스트린	○		
네오리고G	○		미소말도올리고당
말도올리고당	○		
배농죽액	○		
사양분분	○		
구연산(결정)	○		
구연산나트륨(결정)	○		
잔탄검	○		
정제수	○		
합계(%)	100.000		
※ 참고사항 1. 증속생강수출분말 : 480mg/day pH : 4.0, 48.51 Brix			



[증숙생강스틱포 배합설계 및 Pilot 생산]

- 개발된 스틱포의 경우, 영양성분 분석(공인기관) 및 유효성분 안정성 실험을 진행함. 영양성분 분석결과 15g 스틱포 기준 30kcal(당류 : 3.5g)으로 확인되었으며 해당 시생산 제품으로 유통기한설정시험 진행함

[증숙생강스틱포 영양성분 분석결과]

- 개발된 스틱포의 6-진저디온의 함량 분석결과 지표성분의 함량이 거의 분석되지 않음
- 추가로 증숙생강추출분말(GGE)의 함량을 재분석 하였을 때, 초기 분석치 대비 약 50~55% 정도 지표물질 함량이 감소한 것으로 확인됨
- 시험결과에 따라, 현재까지 생산된 증숙생강추출분말(GGE)의 6-진저디온 함량 안정성에 대한 확인이 필요할 것으로 추측됨
- 추후, 신규 생산된 증숙생강추출분말(GGE)을 활용하여 함량안정성 재검증 실험 예정임

항목 시료명	Contorl	기준규격 대비%	1개월	기준규격 대비%
	1-dehydro-6- gingerdione (mg/g)		1-dehydro-6- gingerdione (mg/g)	
증숙생강추출분말 (원료)	0.582	49.32203	0.529	44.83051
증숙생강스틱 (냉장)			0.014	2.471751
증숙생강스틱 (상온)	0.01	1.765537	0.01	1.765537
증숙생강스틱 (가속)			0.004	0.706215

[증숙생강스틱포 함량안정성 시험결과]

바. 연구개발 내용 및 결과 (3협동 : (주)에스디생명공학)

(1) 증속생강추출분말에 대한 최종 정량법 표준화 및 지표물질의 검량선 작성

- 연구수행 목표 : 본 연구로 개발된 원료의 지표물질 함량 분석법을 확정하고 검량선을 작성하여 최종 생산 원료의 함량분석을 위한 지표물질 분석 및 검량선 작성을 진행함.

(가) 최종 정량법

- 표준용액의 조제

- ① 표준품 약 5 mg을 정밀히 칭량하여 50 mL 용량플라스크에 취한다.
- ② 80% MeOH를 가하여 초음파 추출 후 정용한다.
- ③ 표준원액을 80% MeOH로 희석하여 표준용액으로 한다.

- 시험용액의 조제

- ① 시료 약 500 mg을 정밀히 칭량하여 50 mL 정용플라스크에 취한다.
- ② 10 mL의 증류수를 가해 충분히 분산시킨다.
- ③ MeOH를 넣어 초음파 추출 후 정용한다.
- ④ 상기용액을 Syringe filter(0.45 μ m, PTFE)로 여과하여 시험용액으로 한다.

(나) HPLC 조작 조건

- ① System : Dionex Chromelon™ Chromatography Data System with P580 and UVD100 detector
- ② Column : Cadenza CD-C₁₈, Imtakt, 250 x 4.6 mm, 3 μ m
- ③ Column oven Temp. : 30 °C
- ④ Sample Concentration : 10 mg/mL
- ⑤ Injection volume : 10 μ L
- ⑥ UV Wavelength : 370 nm
- ⑦ Flow rate : 0.4 mL/min
- ⑧ Mobile phase : A : 0.1% Formic acid in DW , B : Acetonitrile

Time (min)	0	5	10	13	20	23	30	60	62	80
A (%)	70	70	45	45	20	20	0	0	70	70
B (%)	30	30	55	55	80	80	100	100	30	30

(다) 표준물질 사용 정보

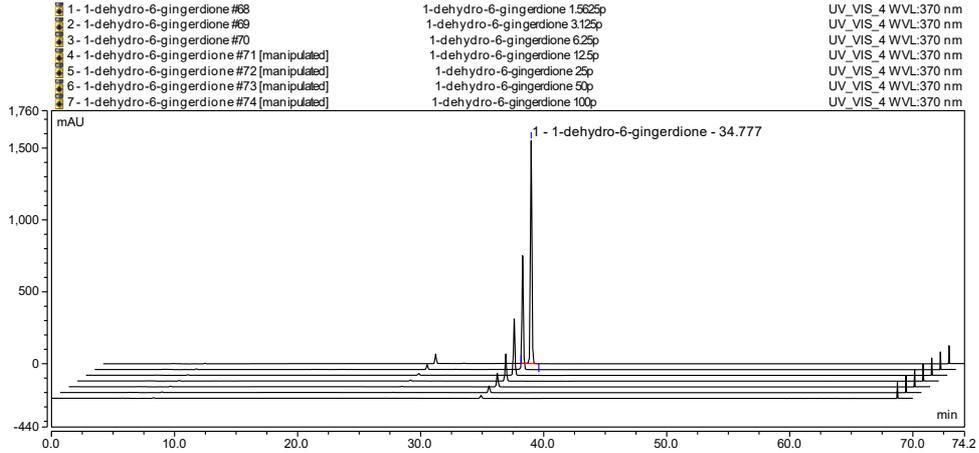
- ① 물질명 : 1-dehydro-6-gingerdione
- ② 제조원 : ChemFace
- ③ 순도 : 98.0%
- ④ 제품번호 : CFN92298
- ⑤ Lot No. : CFS201902
- ⑥ CAS No. : 76060-35-0

(라) 계산식

1-dehydro-6-gingerdione (mg/g)

$$= \frac{\text{검량선농도} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \text{시험용액전량} (\text{mL}) \times \text{표준품 순도} \times \text{희석배수}}{\text{시료채취량} (\text{mg})}$$

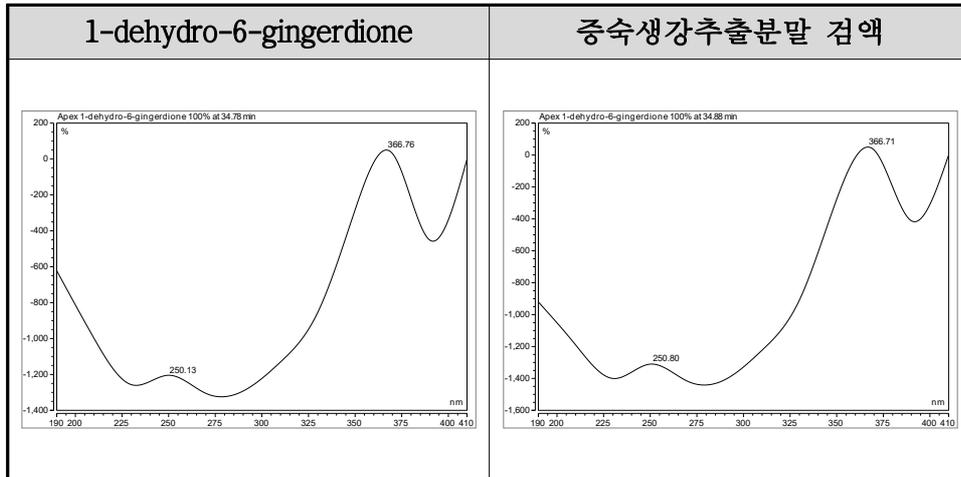
(마) 검량선 분석 크로마토그램



(바) 검량선 분석결과

Std. conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Area ($\text{mAU} \cdot \text{min}$)	Std. curve
1.5625	3.2234	
3.125	6.4062	
6.25	12.9210	
12.5	25.9734	
25	53.5545	
50	106.9317	
100	210.4288	
Slope	2.1108	
Intercept	0.0818	
RSQ	0.9999	

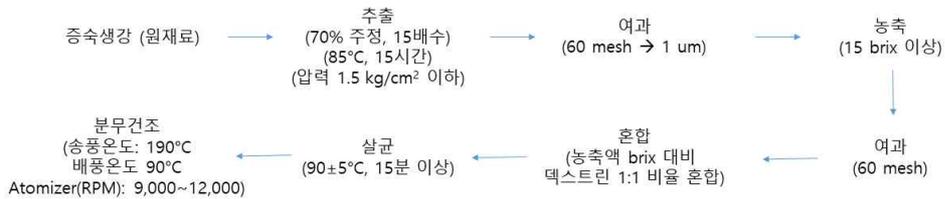
(사) 지표물질과 증숙생강추출분말 검액의 1-dehydro-6-gingerdione 피크 UV 스펙트럼



(2) 증숙생강 추출분말 3배치 제조품 공정별 함량 분석

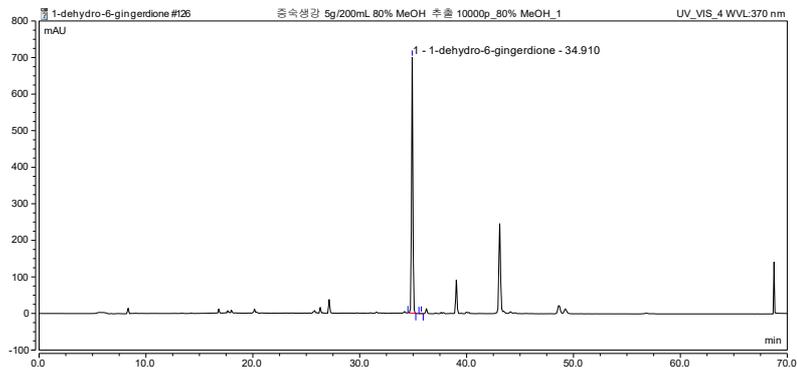
- 연구수행 목표 : 확정된 분석법 및 검량선 분석 결과를 적용하여 최종 생산 원료 3배치의 공정별 함량분석을 진행함.

(가) 제조공정도

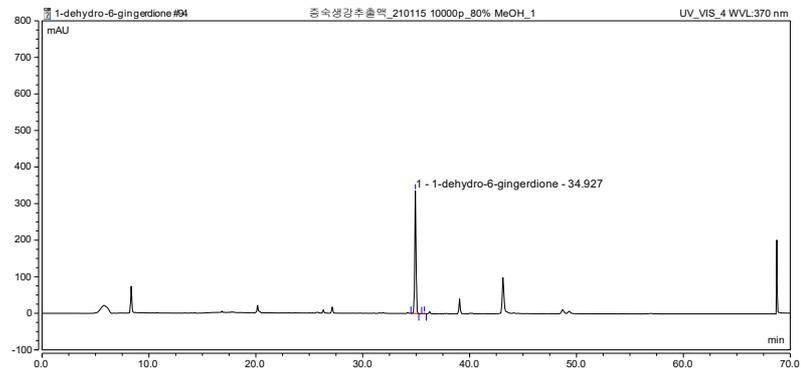


(나) 공정별 함량 분석 크로마토그램

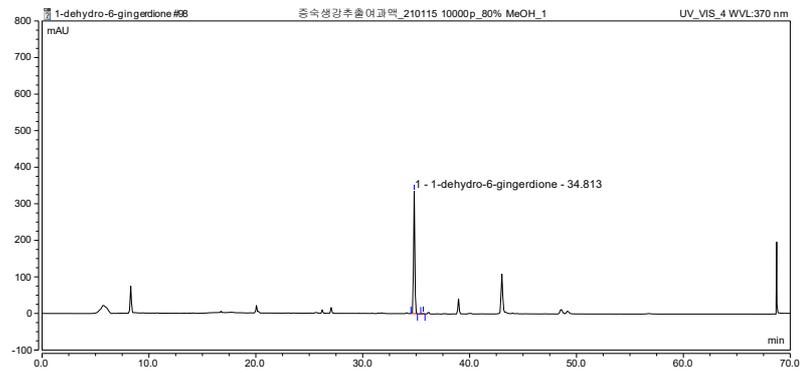
① 증숙생강 원재료



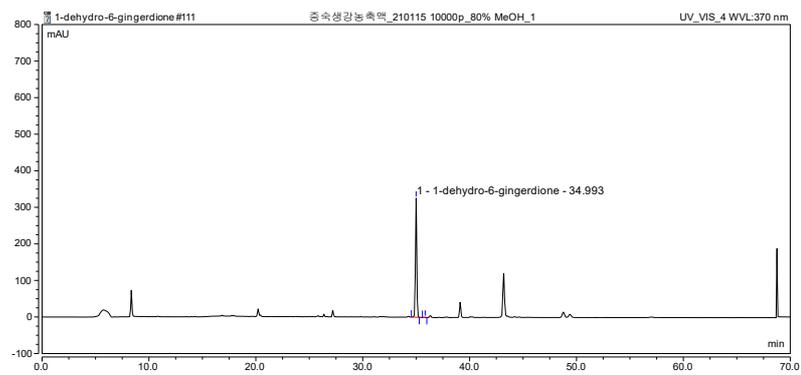
② 증숙생강 추출액



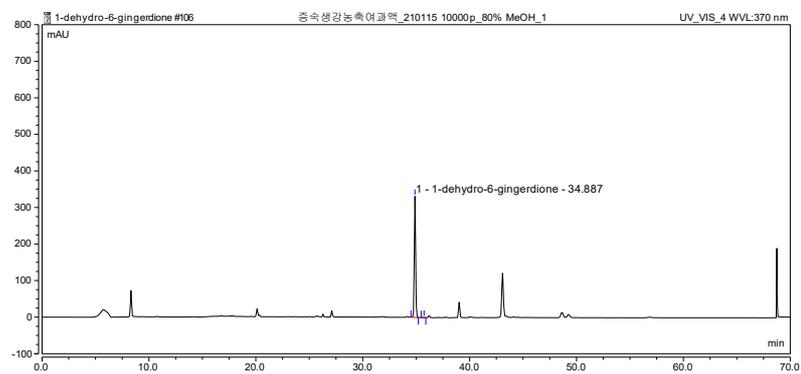
③ 증숙생강 추출 및 여과액



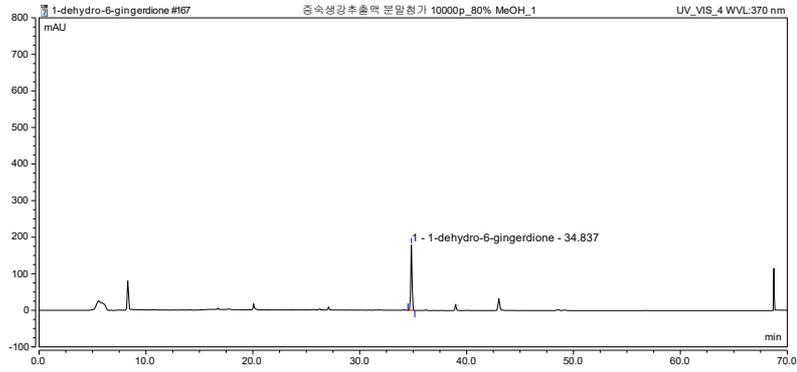
④ 증숙생강 농축액



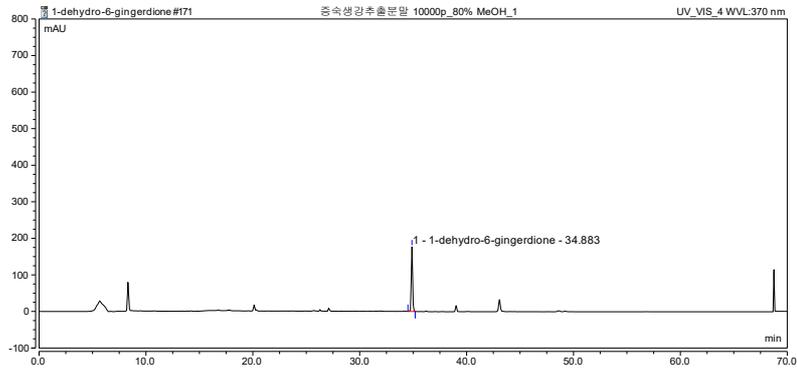
⑤ 증숙생강 농축 및 여과액



⑥ 덱스트린 혼합액



⑦ 증숙생강 추출분말 (분무건조 완성품)



(다) 제조공정 별 시료함량 분석 결과

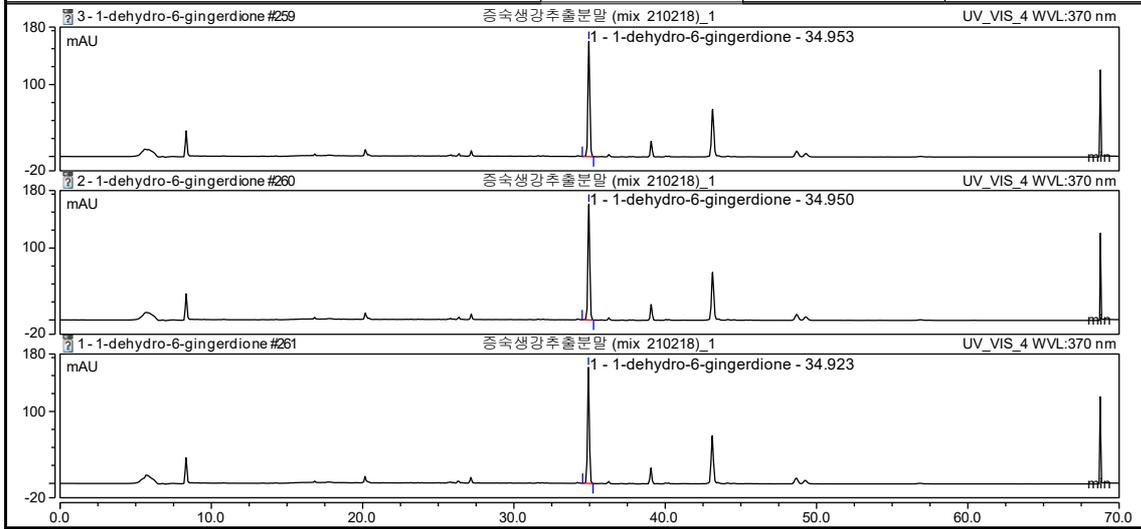
시료명	지표물질 함량 (mg/g)	함량 평균 (mg/g)	기준치 대비 함량 (%)
증숙생강 (원재료)_batch-1	4.6576	4.656	394.6%
증숙생강 (원재료)_batch-2	4.6429		
증숙생강 (원재료)_batch-3	4.6669		
증숙생강추출액_batch-1	2.1509	2.156	182.7%
증숙생강추출액_batch-2	2.158		
증숙생강추출액_batch-3	2.1583		
증숙생강추출여과액_batch-1	2.1201	2.073	175.6%
증숙생강추출여과액_batch-2	2.0735		
증숙생강추출여과액_batch-3	2.0244		
증숙생강농축액_batch-1	2.1182	2.111	178.9%
증숙생강농축액_batch-2	2.0959		
증숙생강농축액_batch-3	2.119		
증숙생강농축여과액_batch-1	2.1363	2.130	180.5%
증숙생강농축여과액_batch-2	2.1292		
증숙생강농축여과액_batch-3	2.1237		
증숙생강추출액 분말첨가_batch-1	1.1474	1.147	97.2%
증숙생강추출액 분말첨가_batch-2	1.1468		

증속생강추출액 분말첨가_batch-3	1.1465		
증속생강추출분말_batch-1	1.1428	1.140	96.6%
증속생강추출분말_batch-2	1.1398		
증속생강추출분말_batch-3	1.1373		

(라) 최종 원료 3배치의 지표물질 함량분석

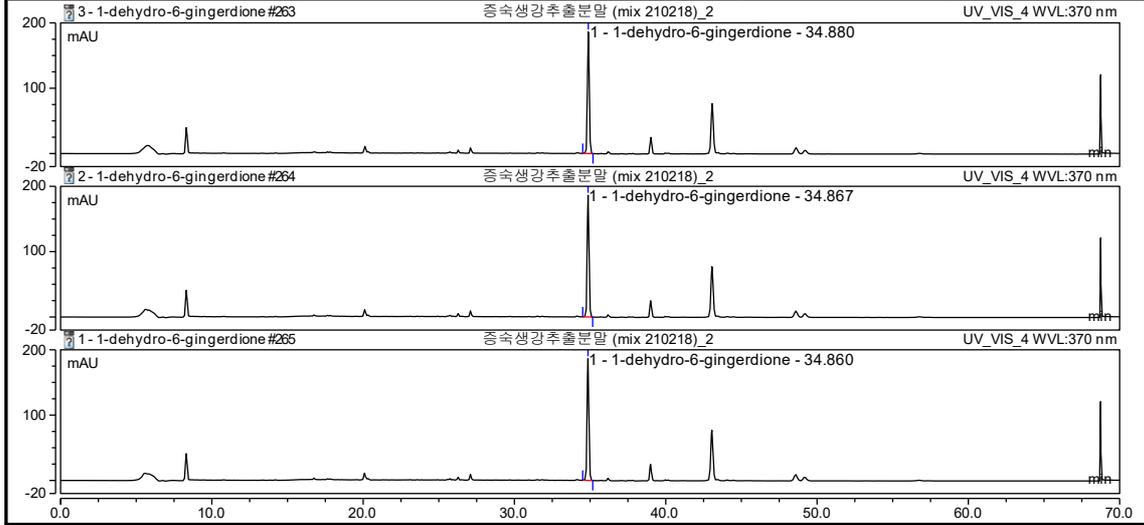
① 증속생강추출분말 Batch-1

시료명	3반복 실험 (mg/g)	함량 평균 (mg/g)	기준치 대비 함량 (%)
증속생강추출분말_batch-1	1.0503	1.050	89.0%
	1.0506		
	1.0498		



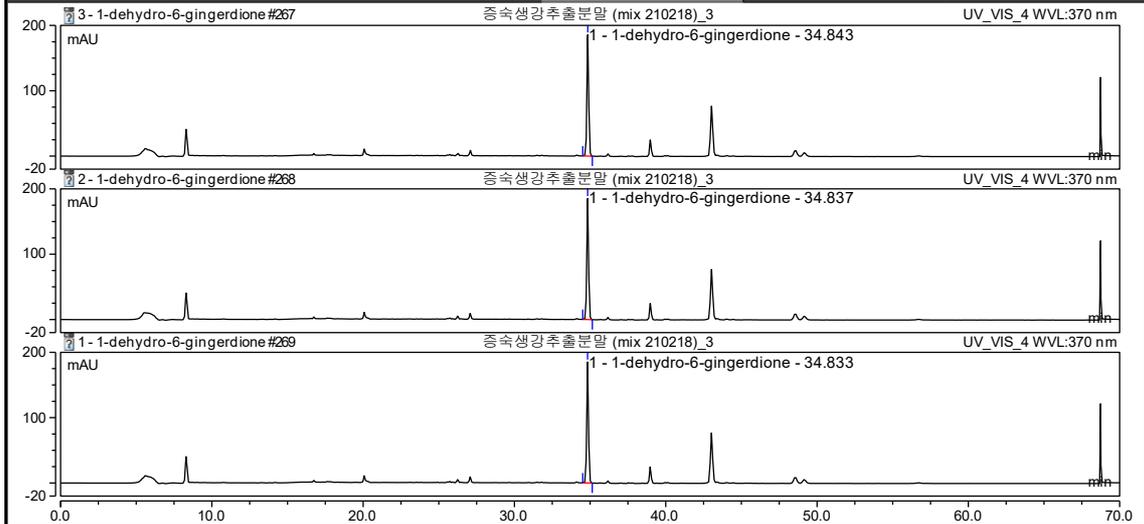
② 증속생강추출분말 Batch-2

시료명	3반복 실험 (mg/g)	합량 평균 (mg/g)	기준치 대비 합량 (%)
증숙생강추출분말_batch-2	1.204	1.203	101.9%
	1.2025		
	1.2014		



③ 증숙생강추출분말 Batch-3

시료명	3반복 실험 (mg/g)	합량 평균 (mg/g)	기준치 대비 합량 (%)
증숙생강추출분말_batch-3	1.195	1.193	101.1%
	1.192		
	1.1918		



(3) 증숙생각추출분말(GGE03) 적용 제품에 대한 인체적용시험 평가 완료

- 연구수행 목표 : 증숙생각추출분말(GGE03) 적용 제품의 인체적용 시험을 통해 위 증상 개선 식품으로서의 유효성을 확보하고자 함.

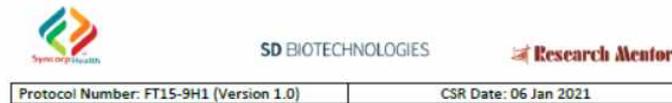
(가) 연구방법

① 증숙생각추출분말(GGE03) 식품의 인체 유효성 시험

- 에스디생명공학 위건강(경증 및 중등증의 기능성 소화불량) 인체적용시험 결과보고서 9. 인체적용시험 계획 참조

② 증숙생각추출분말(GGE03) 식품의 안전성 시험

- 에스디생명공학 위건강(경증 및 중등증의 기능성 소화불량) 인체적용시험 결과보고서 9. 인체적용시험 계획 참조



인체적용시험 결과보고서

경증 및 중등증의 기능성 소화불량에 대한 증숙생각추출분말(GGE03)의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 12 주, 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조, 다기관 인체적용시험

A 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled, multi-center intervention study for the efficacy and safety of GGE03 in mild to moderate functional dyspepsia

Protocol No: FT15-9H1; Clinical Evaluation

GGE03 (Steamed Ginger Extract Powder)

시험책임자: Dr. Santosh Saklecha and Dr. Meghana Murthy

의뢰자 대리인의 책임자: Dean Kwak, CEO (Research Mentor Co. Ltd)

연구개시일: 2020년 06월 10일 (첫 번째 대상의 동의서 서명일)

연구종료일: 2020년 11월 17일 (데이터베이스에 기록된 마지막 대상자의 마지막 관찰일)

(나) 연구 결과

① 증숙생각추출분말(GGE03) 식품의 인체 유효성 시험 결과

- 만 20~60세의 한국 남성 혹은 여성 80명을 대상으로 본 식품을 섭취함으로써 경증에서 중등도의 소화불량인 대상자의 위 증상 개선 효과에 대해 평가하였음.
- 본 인체적용시험은 GGE03의 유효성과 안전성을 평가하기 위하여 12주 기간의 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조, 2개 기관, 평행 설계로 구성됨.
- GSRS와 SF 36 은 기능성 소화불량 환자의 질병 인식 및 치료관련 증상의 완화를 평가하는 데 효과적이므로 역류증상이나 소화불량 있는 환자의 삶의 질을 측정하기 위한 새로운 질병별 설문지로 본 연구에서 참고하여 사용함.

- GGE03의 섭취는 소화불량 대상자의 신경학적 증상(복통, 변비, 역류 증후군)의 위장관 증상의 정도를 감소시키는데 효과적인 것으로 판단됨.
- GGE03의 섭취는 정서적 웰빙, 에너지 저하 또는 피로, 일반 건강, 건강 변화, 통증, 및 신체적 건강으로 인한 역할제한, 신체적 기능으로 인한 역할제한, 사회적 기능으로 인한 역할제한인 상태의 소화불량 대상자의 위장관 증상의 정도를 감소시킴.

p values for GSRS, SF 36, SOD, MDA, and Mucin 1		
Efficacy Parameter	p-value	
	Within Groups	Between Groups
GSRS		
Total Score	<0.001	<0.001
Abdominal pain	<0.001	<0.001
Constipation	<0.05	<0.001
Diarrhea	>0.05	>0.05
Indigestion	<0.001	<0.001
Reflux	< 0.001	<0.001
SF 36		
Total Score	<0.05	>0.05
Emotional Well-being	<0.05	>0.05
Energy or Fatigue	<0.05	>0.05
General Health	<0.001	<0.05
Health Change	<0.05	<0.05
Pain	<0.001	<0.05
Physical Functioning	<0.05	<0.05
Role Limitations due to Emotional Problems	>0.05	>0.05
Role Limitations due to Physical Health	<0.001	<0.001
Social functioning	<0.001	<0.05
SOD		
	>0.05	>0.05
MDA		
	>0.05	>0.05
Mucin 1		
	>0.05	>0.05

<증숙생각추출분말(GGE03) 식품의 인체 유효성 시험 결과>

② 증숙생강추출분말(GGE03) 식품의 안전성 시험 결과

- 연구기간 동안 인체적용시험용식품에 의한 중대한 건강 이상반응은 나타나지 않음.

Table 45: Descriptive Statistics of Adverse event Visit 3 and Visit 4		
	GGE03 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)
Description	Visit 3	
Body Pain	0 (0.0%)	1 (2.3%)
Cold	0 (0.0%)	3 (7.0%)
Constipation	1 (2.4%)	0 (0.0%)
Diarrhea	1 (2.4%)	0 (0.0%)
Fever	2 (4.9%)	2 (4.7%)
Headache	1 (2.4%)	1 (2.3%)
Nausea	1 (2.4%)	2 (4.7%)
No	35 (85.4%)	34 (79.1%)
AE No.		
1	5 (12.2%)	6 (14.0%)
2	1 (2.4%)	3 (7.0%)
No	35 (85.4%)	34 (79.1%)
Severity		
1	3 (7.3%)	7 (16.3%)
2	3 (7.3%)	2 (4.7%)
No	35 (85.4%)	34 (79.1%)
Outcome		
2	0 (0.0%)	2 (4.7%)
3	6 (14.6%)	6 (14.0%)
5	0 (0.0%)	1 (2.3%)
No	35 (85.4%)	34 (79.1%)
Related to Drug		
4	2 (4.9%)	1 (2.3%)
No	39 (95.1%)	42 (97.7%)
Description	Visit 4	
Body pain	0 (0.0%)	1 (2.5%)
Diarrhea	0 (0.0%)	1 (2.5%)
Nausea	1 (2.5%)	1 (2.5%)
No	39 (97.5%)	37 (92.5%)
AE No.		
1	1 (2.5%)	3 (7.5%)
No	39 (97.5%)	37 (92.5%)
Severity		
1	1 (2.5%)	2 (5.0%)
2	0 (0.0%)	1 (2.5%)
No	39 (97.5%)	37 (92.5%)
Outcome		
3	0 (0.0%)	1 (2.5%)
5	1 (2.5%)	2 (5.0%)
No	39 (97.5%)	37 (92.5%)
Related to Drug		
4	1 (2.5%)	3 (7.5%)
No	39 (97.5%)	37 (92.5%)

<증숙생강추출분말(GGE03) 식품의 안전성 시험 결과>

(다) 연구 결과 요약

① 증숙생강추출분말(GGE03) 식품의 인체 유효성 시험

- GGE03의 12주 섭취는 소화 불량 대상자, 특히 신경학적 증상(복통, 변비, 소화 불량 및 역류 증후군)이 있는 대상자의 위장 (GI) 증상의 정도 완화 효과에 도움을 주는 제품으로 판단됨.

② 증숙생강추출분말(GGE03) 식품의 안전성 시험

- 전반적으로 경증 및 중등도의 기능성 소화불량을 가진 성인 대상자의 GGE03 섭취는 안전하다고 판단됨.

(4) 증숙생강추출분말(GGE03) 적용 제품 사업화 및 매출실적

- 연구수행 목표 : 본 연구를 통해 개발된 원료를 사용한 제품을 출시하여 매출을 발생시키고자 함.

(가) 증숙생강추출분말 함유 브이해빗 홀리나이트 제품 출시 (21.05.28.)

문화뉴스
HOME > 라이프 > 생활문화
에스디생명공학 브이해빗, 홍삼추출물 함유 한 포로 먹는 '홀리 나이트' 출시
김정원 기자 | 승인 2020.06.09 13:23



뷰티&헬스 기업 에스디생명공학의 우먼핏 라이프스타일 브랜드 '브이해빗이 신제품' '홀리 나이트'를 출시했다고 밝혔다.

5월에 새롭게 선보인 '홀리 나이트'는 자양강장제로 알려진 마커추출물 및 천연원료인 홍삼 농축액, 생강, 대추농축액 등을 함유하고 있다. 여기에 복분자, 아관문, 사삼지열매, 산수유열매, 가시오가피줄기 등 들어있어 필수아미노산, 비타민, 미네랄 등 영양소 및 에너지 공급을

기대할 수 있다. 또한 역상 타입의 제품으로 만들어져 하루 한 포 간편하게 섭취할 수 있다.

'홀리 나이트'에 풍부하게 함유된 마커는 해발 4000m 인데스 산맥의 척박한 환경을 견뎌내고 자라 패루의 산삼으로 불린다. 필수 아미노산을 비롯해 비타민BCE와 미네랄이 풍부하다.

또한 남녀노소 모두에게 선호도가 높은 홍삼을 원료로 하여 국내산 6년근 홍삼 농축액을 함유하였다.

브이해빗 관계자는 "만성피로에 시달리기 쉬운 중년층이 간편하게 에너지를 얻을 수 있도록 홍삼, 마커, 복분자 등 다양한 부원료를 한 포에 담은 '홀리 나이트'를 출시하게 됐다"며 "보관과 휴대가 간편해 언제 어디서든 편하게 섭취할 수 있는 제품으로 취향에 따라 단독으로 혹은 온수에 섞어 사 형태로도 섭취 가능하다"고 전했다.

홀리나이트는 1일 1포 섭취하면 되며 브이해빗 자사몰에서 구입할 수 있다.

한편 에스디생명공학의 브이해빗은 건강한 아름다움을 추구하는 우먼핏 라이프스타일 브랜드로 원료부터 원제품까지 전문가의 철저한 관리 아래 안심하고 먹을 수 있는 제품을 제공하고 있다.

지착권자 © 문화뉴스 무단 전재 및 재배포 금지

김정원 기자

(나) 사업화 제품 품목제조변경보고서

제품명	제품사진	매출액(원)		해당 과제의 매출액 기여율(%)
브이해빗 홀리나이트		국내	14,631,462	5 %
		국외	0	

(마) 사업화 제품 매출 마감 집계 증명

매출마감집계

사업장 : 전체
 마감기간 : 2020/04/01 ~ 2020/12/31
 환종 : 전체
 품번 : VH-B-GF110

부서 : 전체
 고객 : 전체
 품목담당 : 전체
 관리구분 : 전체

사원 : 전체
 거래구분 : 전체
 마감번호 : 전체
 프로젝트 : 전체

품목군	대분류	중분류	소분류	품번	품명	수량	금액
브이해빗	비화장품류	식품	일반식품	VH-B-GF110	브이해빗 홀리나이트	925.00	14,631,462
						925.00	14,631,462

사. 연구개발 내용 및 결과 (3협동위탁 : 성균관대학교)

(1) HCl·ethanol 유발 위염 모델

(가) 실험방법

- 48시간 절식 시킨 흰쥐에 약물을 경구투여하고 1시간 후에 150 mM HCl액으로 만든 60% EtOH(ethanol)액 1 ml를 경구 투여한 후 절식 절수 하에 1시간 방치 후 과량의 ether로 치사시켜 위를 적출한 후, 2% formalin solution 8 ml을 위내로 주입하고 2% formalin액에 넣어 10분 동안 고정하였음. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 실제 현미경 하에서 위병변 면적 (gastric lesion, mm²)을 측정하였음.

$$\text{위병변 억제율 (\%)} = \frac{\text{대조군의 위병변 면적 (mm}^2\text{)} - \text{약물군의 위병변 면적 (mm}^2\text{)}}{\text{대조군의 위병변 면적 (mm}^2\text{)}}$$

- 이 후의 분석을 위해서 위를 다시 적출한 후 -70° C에서 보관함.

- 위 점액량

적출한 위조직의 무게를 재고 0.1% (w/v) Alcian Blue 용액에 2시간 동안 담그었다. 불필요한 염료를 0.25M sucrose solution 으로 충분히 씻어낸 후, 점액에 흡착된 염료를 0.5M MgCl₂ 10 ml에 2시간 동안 담그어 추출하였음. 추출액 800 μl에 diethyl ether 800 μl를 가한 뒤 3,000 rpm에서 5분간 원심 분리하여 상층액을 취한 뒤 580 nm에서 상층액의 흡

광도를 측정하였음.

- 조직학적 평가

웅성 흰쥐의 위 조직을 paraformaldehyde에 24 시간 고정시킨 후, 1.5% HCl+3.5% formic acid 용액 하에서 7일간 탈석회 과정을 통해 석회질을 제거하고, 석회질을 제거한 후, paraformaldehyde에 고정시킨 후, paraffin 으로 embedding 시켰다. 조직을 박절한 다음 hematoxylin & eosin(H&E) 염색을 실시하고 광학현미경 하에서 관찰하였음. H&E 염색된 모든 조직슬라이드는 시험 기관의 병리책임자가 scoring system에 따라 검경하였으며, 세부기준은 다음과 같음. 평가는 웅성 흰쥐의 샘위 부위에 대하여 실시하였고, 위점막 및 점막하, 근육층의 손상 (gastric mucosa injury), 호중구와 같은 급성 염증세포의 침윤 (leucocytes infiltration), 위 출혈 (gastric hemorrhage) 정도에 대하여 각각 0-4 점으로 점수화 하였음.

Pathological State	Score	Definition
Gastric Mucosa Injury	0	Intact
	1	Desquamation of epithelial lamina
	2	Desquamation of superficial lamina propria or 1/3 reduction of gastric glands
	3	Desquamation of middle lamina propria or 2/3 reduction of gastric glands
	4	Desquamation of lower lamina propria or > 2/3 reduction of gastric glands, even exposure of submucosa
Leucocytes Infiltration	0	Absent
	1	2-10/HPF
	2	11-20/HPF
	3	21-30/HPF
	4	>31/HPF
Gastric Hemorrhage	0	Absent
	1	<10% of total area/LPF
	2	11%-20% of total area/LPF
	3	21%-30% of total area/LPF
	4	>30% of total area/LPF

- 분석 방법

이후 기술된 생화학적 분석은 1.1. 에 의해 시행된 HCl·EtOH 유발 위염 모델에서 실시하였음.

- Myeloperoxidase (MPO) 활성도 측정

위 조직을 MPO colorimetric activity assay kit (Sigma-Aldrich)를 사용하여 측정하였음.

- TNF- α , IL-1 β 의 유전자 발현

6.1.2.에서 적출한 위조직을 이용하여 적당한 크기로 잘고, RNAiso Plus (Takara Bio Inc.,

Shiga, Japan)를 이용하여 total RNA를 추출하였음. 후에 EcoDry™ cDNA Synthesis premix (Takara Bio Inc.)를 이용하여 RNA를 역전사시켜 cDNA를 합성하였다. cDNA는 thermocycler (Lightcycler Nano, Roche Applied Science, Mannheim, Germany) 및 SYBER Green detection system (Roche Applied Science)을 이용한 real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (Real-time qRT-PCR)으로 증폭시켰음. TNF- α 와 IL-1 β 의 유전자 발현량은 GAPDH의 유전자 발현량에 의해 표준화 (normalization) 하였음. 각각의 유전자에 대한 primer는 다음과 같음.

Gene	Forward sequence	Reverse sequence
<i>Tnf-α</i>	GAAAGTCAACTCCATCTGCC	CATAGCACACTACGTTTGCC
<i>Il-1β</i>	GCTACCTATGTCTTGCCCGT	GACCATGCTGTTTCTTAGG
<i>Gapdh</i>	CATCTTCCAGGAGCGAGACC	TCCACCACCCTGTTGCTGTA

- NF- κ B, I κ B- α , TNF- α , IL-1 β 및 SOD2 단백질 발현

위조직을 PRO-PREP protein extraction solution (iNtRON Biotechnology Inc., Seongnam, Korea) 용액에 10배 부피로 균질화하여 단백질을 추출한 후 10,000 g, 4° C에서 15분간 원심분리하여 상층액만을 취하였음. 채취한 상층액은 BCA protein assay kit (Pierce Biotechnology, IL, USA)를 이용하여 정량하였다. 정량 후 남은 상층액을 125 mM Tris-HCl (pH 6.8), 20% (w/v) glycerol, 4% SDS, 10% (w/v) 2-mercaptoethanol 및 0.02% bromophenol blue가 포함되어 있는 2 x reducing buffer와 1:1로 혼합하여 끓는 물에서 7분 동안 가열하여 변성시켰음. 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후 Semi-Dry Trans-Blot Cell (Bio-Rad Laboratories, CA, USA)을 이용하여 polyvinylidene fluoride membrane (Millipore, MA, USA)에 전기 영동 하였음. 전기 영동한 membrane을 TBS/T (Tris-Buffered Saline/Tween-20)로 세척한 후 5% (w/v) skim milk를 넣은 TBS/T로 상온에서 1시간 동안 blocking 하였음. 1차 항체와 4° C에서 12시간 반응시킨 후, horseradish peroxidase-conjugated 2차 항체에 반응시켜 ECL detection system (iNtRON Biotechnology)을 사용하여 발광시켰음. 각각의 밴드는 ImageQuant™ TL (Amersham Biosciences/GE Healthcare, NJ, USA) 밀도 측정법으로 평가함. 모든 평가 결과는 총단백 및 세포질 단백질 경우 β -actin, 핵단백질 경우 lamin B1 발현량을 기준으로 표준화하였음.

- Prostaglandin E2 (PGE2) 농도

위 조직을 Prostaglandin E2 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Cayman, Ann arbor, MI, USA)를 사용하여 농도를 측정하였음.

- Nitric Oxide (NO) 농도

위 조직을 PBS (pH 7.4)로 균질화한 후, 10,000 g에서 1시간 동안 원심분리한 상층액을 Nitrate/Nitrite Colorimetric assay kit (Cayman)를 사용하여 농도를 측정하였음.

- Catalase 활성도

위 조직을 Catalase colorimetric assay kit (Sigma-Aldrich)를 사용하여 측정하였음.

- GSH 총량 측정

위조직을 1% picric acid로 균질화한 후, 균질액을 500 g에서 3분간 원심분리한 뒤 상층액을 취하여 증류수로 50배 희석하였음. 희석한 상층액 200 μ l와 0.3 mM NADPH 700 μ l 및 6 mM 2-nitro-6-thiobenzoic acid 100 μ l를 가한 후 30° C로 유지되는 항온조에 4분간 방치한 후, 80 units GSH reductase/ml 용액 5 μ l를 가하여 412 nm에서 1분 동안 흡광도 증가를 측정하여 총 GSH 함량을 구하였음.

- 지질 과산화량

Ohkawa의 방법 (8)에 준하여 thiobarbituric acid assay를 이용하여 지질과산화의 최종 산물인 malondialdehyde (MDA)를 지표로 정량함. 즉, 위조직을 10배 용량의 1.15% KCl 용액으로 균질화한 후 균질액을 0.2 ml에 8.1% SDS 0.2 ml, 20% acetic acid (pH 3.5) 1.5 ml, 5% butylated hydroxytoluene 0.5 ml 및 0.8% thiobarbituric acid 1.5 ml을 가하여 혼합한 후, 100° C가 유지되는 항온조에서 30분간 반응시켰음. 반응 후, 실온에서 30분 동안 방치한 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리 후 상층액을 취하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였음.

- Superoxide dismutase (SOD)측정

SOD 활성은 Marklund et al.,의 방법 (6)에 따라 활성 산소종을 과산화수소 (H₂O₂)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 나타냄. 15 μ l 의 위조직 균질액을 chloroform 및 ethanol과 반응 시킨 후, 원심분리 하였다. Tris-HCl buffer와 nitroblue tetrazolium 및 pyrogallol 10 μ l 을 첨가하여 실온에서 반응시키고, formic buffer를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 540 nm 에서 흡광도를 측정함.

- 통계학적 분석

본 시험에서 얻어진 자료는 평균 \pm 표준오차로 나타내며 이에 대한 통계학적인 분석은 SPSS (Statistical Package for Social Science; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 소프트웨어를 통해 시행됨. One-way ANOVA를 시행하여 P<0.05의 수준에서 유의성이 인정되는 경우 Bonferroni test로 시험 군 간의 차이를 비교함.

(나) 실험 결과

① GGE03의 항위염 효과 관찰

㉠ GGE03의 HCl·ethanol 유발 위염 모델에서의 유효농도 설정

- 흰쥐의 HCl·ethanol 유발 위염 모델에서 GGE03을 투여하여 위병변 억제 효과를 관찰한 결과임. 약물 처치를 하지 않은 대조군의 위병변 면적은 95.6 \pm 7.9 mm² 이었음. GGE03 100 mg/kg 및 300 mg/kg의 투여군의 위병변 면적을 대조군에 비해 각각 34.7 % 및 28.4 %의 억제율을 나타내어 현저한 위병변 감소를 보임. GGE03 10 mg/kg 및 30 mg/kg투여군은 위병변 면적에 별다른 영향을 끼치지 않음. Cimetidine 투여군은 대조군에 비해 각각 91.0%의 억제율을 나타내어 현저한 위병변 감소를 보임 (Figure 1 및 Table 1). 위의 결과를 통해 본 기전연구에서는 100 mg/kg의 GGE03을 유효농도로 설정하여 실험을 진행하였음.

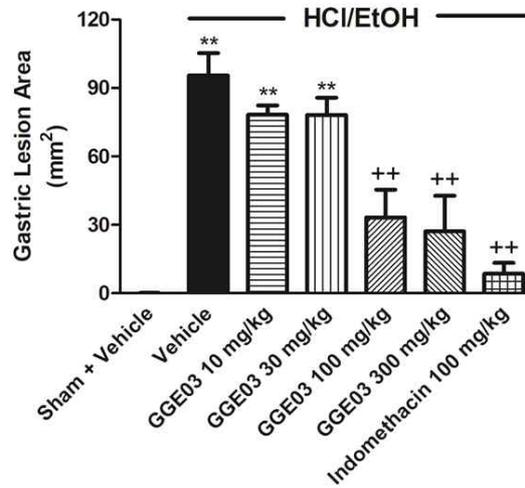


Figure 1. Effect of GGE03 on HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean ± S.E.M. for 4-6 rats per group. **Significantly different (P<0.01) from sham + vehicle group; ++Significantly different (P<0.01) from HCl/EtOH + vehicle group.

Group	Dose (mg/kg)	Lesion index (mm ²)	Inhibition (%)
HCl/EtOH + Vehicle	-	95.6 ± 7.9**	-
GGE03	10	78.2 ± 3.4**	21.8
	30	78.2 ± 6.2**	21.8
	100	33.2 ± 9.9**	66.8
	300	27.1 ± 12.8**	72.9
Cimetidine	100	8.6 ± 4.1**	91

Table 1. Effect of GGE03 on HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean ± S.E.M. for 4-8 rats per group. **Significantly different (P<0.01) from sham + vehicle group; **Significantly different (P<0.01) from HCl/EtOH + vehicle group.

② GGE03의 점막 보호인자에 미치는 효과 관찰

㉠ 조직학적 분석

- 흰쥐의 HCl · ethanol 유발 위염 모델에서 조직학적 변화에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. Sham+ vehicle 군과 Sham + GGE03 100 mg/kg 투여군에서는 위 손상과 관련된 어떠한 변화도 관찰되지 않았음. HCl · ethanol + vehicle 군과 HCl · ethanol + GGE03 100 mg/kg 투여군의 경우, 위 점막의 손상, 출혈 및 점막하층의 부종이 관찰되었음 (Figure 2). 대조군의 병리학적 점수합산은 6.5 ± 0.4 으로 평가되었고, GGE03 100 mg/kg 투여군은 2.3 ± 0.2 으로 현저히 억제하였음 (Figure 3). 모든 개체의 조직 슬라이드상에서 호중구나 대식세포 등의 급성 염증세포는 관찰되지 않았음.

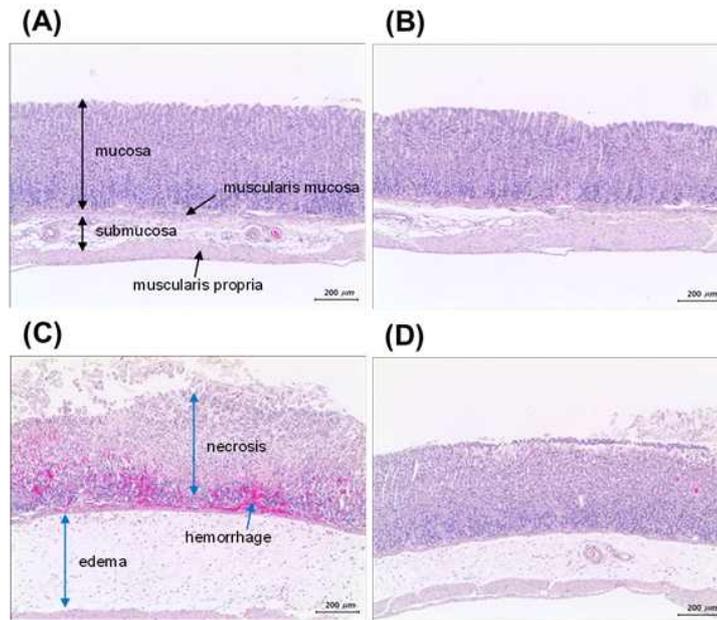


Figure 2: Effects of GGE03 on histological analysis in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. (a) Sham + Vehicle group; (b) Sham + GGE03 100 mg/kg group; (c) HCl/EtOH + Vehicle group and (d) HCl/EtOH + GGE03 100 mg/kg group.

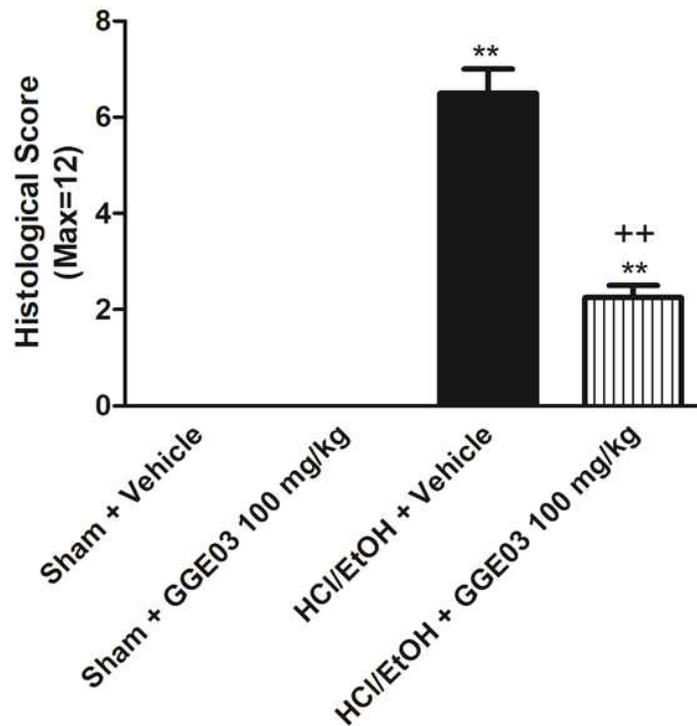


Figure 3: Effect of GGE03 on histological score in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. *Significantly different ($P < 0.01$) from sham + vehicle group; **Significantly different ($P < 0.01$) from HCl/EtOH + vehicle group.

㉔ 위점액량

- 흰쥐의 HCl · ethanol 유발 위염 모델에서 위점액량에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. 대조군의 위점액 분비량은 $9.9 \pm 0.1 \mu\text{g}/\text{mg}$ of tissue 였으나 GGE03 100 mg/kg 투여군의 위점액 분비량은 $6.4 \pm 0.4 \mu\text{g}/\text{mg}$ tissue 로 대조군에 현저히 감소하였음 (Figure 4).

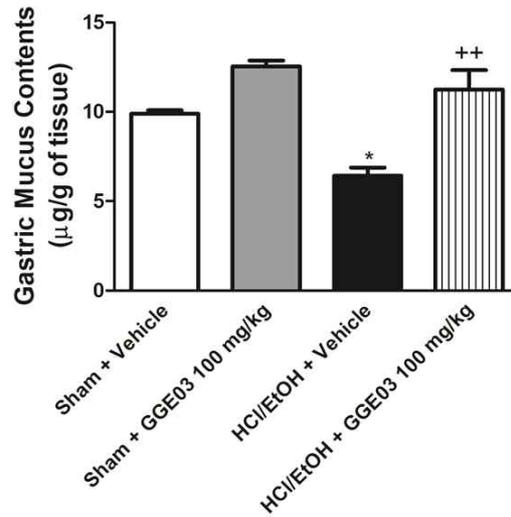


Figure 4. Effect of GGE03 on gastric mucus contents in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. *Significantly different ($P < 0.05$) from sham + vehicle group. **Significantly different ($P < 0.01$) from HCl/EtOH + vehicle group.

㉔ 위점막 내 prostaglandin E2 (PGE2) 농도

- 흰쥐의 HCl·ethanol 유발 위염 모델에서 위점막 내 PGE2 농도에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. 대조군의 위점막 내 PGE2 농도는 29.0 ± 1.0 ng/mg of tissue 으로 정상군의 위점막 내 PGE2 농도 (36.9 ± 1.7 ng/mg of tissue)에 비해 현저히 증가하였음. GGE03 100 mg/kg 투여군의 위점막 내 PGE2 농도는 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소시켰음 (Figure 5).

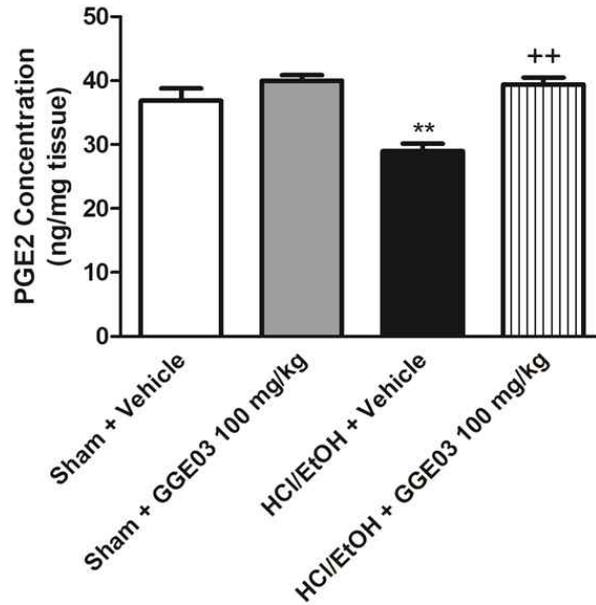


Figure 5. Effect of GGE03 on PGE₂ concentration in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. *Significantly different ($P < 0.01$) from sham + vehicle group; **Significantly different ($P < 0.01$) from HCl/EtOH + vehicle group.

㉔ 위점막 내 total nitrate/nitrite 농도

- 흰쥐의 HCl · ethanol 유발 위염 모델에서 위점막 내 총 NO 농도에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. 대조군의 위점막 내 총 NO 농도는 $6.8 \pm 0.8 \mu\text{M}$ 으로 정상군 ($15.4 \pm 1.4 \mu\text{M}$)에 비해 현저히 감소하였음. GGE03 100 mg/kg 투여군의 이러한 감소된 위점막 내 NO 농도를 현저히 증가시켰음 (Figure 6).

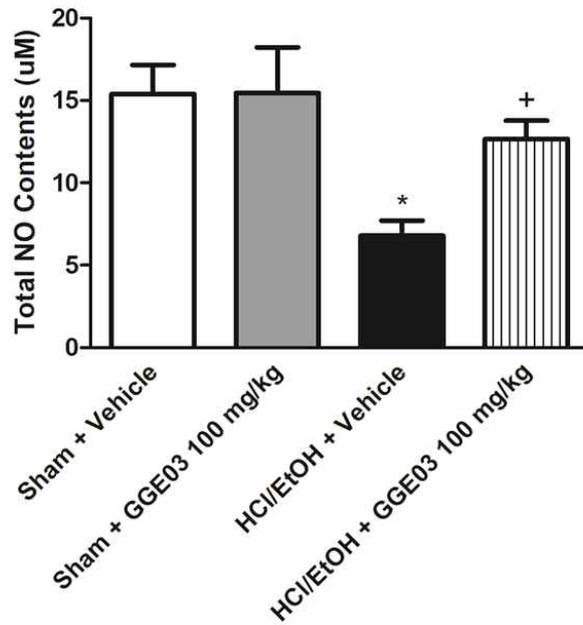


Figure 6. Effect of GGE03 on total nitrate/nitrite amounts in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. *Significantly different ($P < 0.05$) from sham + vehicle group; +Significantly different ($P < 0.05$) from HCl/EtOH + vehicle group

③ GGE03의 위조직 내 항산화 인자에 미치는 효과 관찰

㉔ 위조직 내 SOD 활성도

- 흰쥐의 HCl·ethanol 유발 위염 모델에서 위조직 내 SOD 활성도에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. 대조군의 위조직 내 SOD 활성도는 7.71 ± 0.19 U/ml 으로 정상군 (19.12 ± 0.78 U/ml)에 비해 현저히 감소하였으나 GGE03 100 mg/kg 투여군의 위조직 내 SOD 활성도는 9.60 ± 0.30 U/ml 을 나타내어 대조군에 비해 별다른 차이가 없었음 (Figure 7).

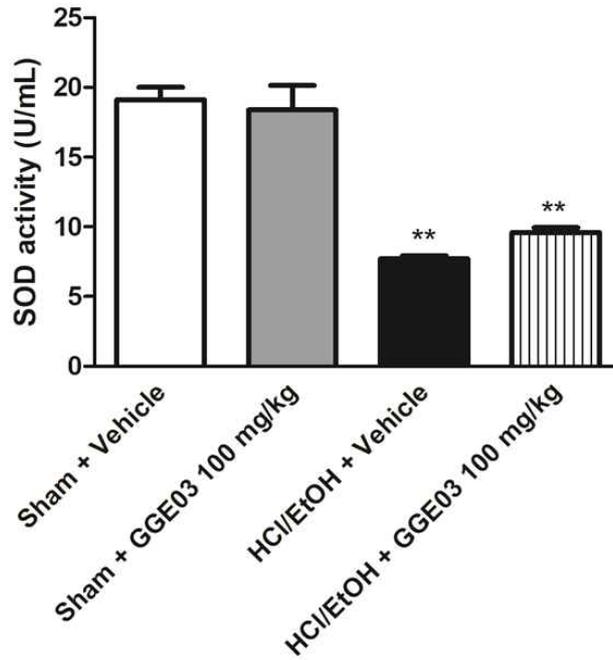


Figure 7. Effect of GGE03 on SOD activity in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. **Significantly different ($P < 0.01$) from sham + vehicle group.

㉔ 위조직 내 Catalase 활성도

- 흰쥐의 HCl · ethanol 유발 위염 모델에서 위조직 내 Catalase 활성도에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. 대조군의 위조직 내 catalase 활성도는 57.47 ± 4.34 umoles/min/mg protein으로 정상군 (92.33 ± 5.56 umoles/min/mg protein)에 비해 현저히 감소하였음. GGE03 100 mg/kg 투여군의 위조직 내 catalase 활성도는 112.97 ± 8.97 umoles/min/mg protein 을 나타내어 대조군에 비해 현저히 증가하였음 (Figure 8).

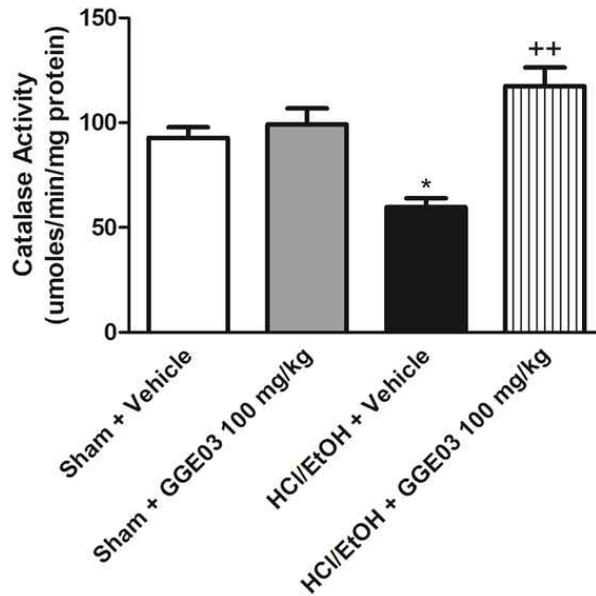


Figure 8. Effect of GGE03 on catalase activity in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. *Significantly different ($P < 0.01$) from sham + vehicle group. **Significantly different ($P < 0.01$) from HCl/EtOH + vehicle group.

㉔ 위조직 내 총 GSH 양

- 흰쥐의 HCl · ethanol 유발 위염 모델에서 위조직 내 GSH양에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. 대조군의 위조직 내 GSH 양은 1.17 ± 0.14 nmol/g of tissue으로 정상군 (4.81 ± 0.06 nmol/g of tissue)에 비해 유의하게 감소하였음. GGE03 100 mg/kg 투여군의 위조직 내 GSH 양은 2.39 ± 0.05 nmol/g of tissue을 나타내어 대조군에 비해 현저히 증가하였음 (Figure 9).

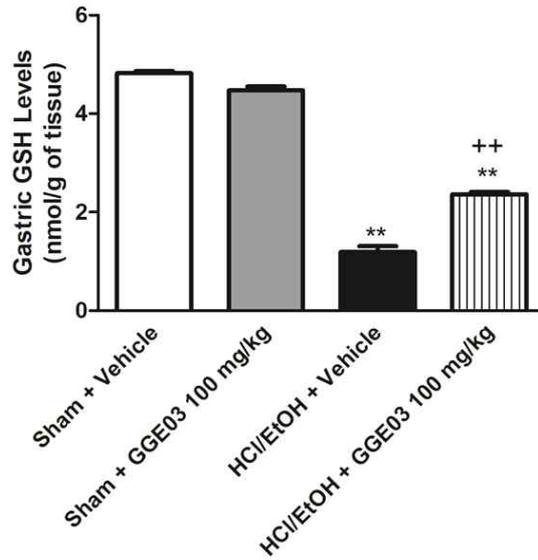


Figure 9. Effect of GGE03 on GSH level in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean ± S.E.M. for 4-6 rats per group. *Significantly different (P<0.01) from sham + vehicle group. **Significantly different (P<0.01) from HCl/EtOH + vehicle group.

㉔ 지질 과산화량

- 흰쥐의 HCl·ethanol 유발 위염 모델에서 위조직 내 지질 과산화량에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. 대조군의 MDA 농도는 1.24 ± 0.14 nmol/g protein 으로 정상군 (0.52 ± 0.01 nmol/g protein)에 비해 현저히 증가하였음. GGE03 100 mg/kg 투여군의 위조직 내 MDA 농도는 0.77 ± 0.10 nmol/g protein 을 나타내어 대조군에 비해 유의하게 지질 과산화를 억제하였음 (Figure 10).

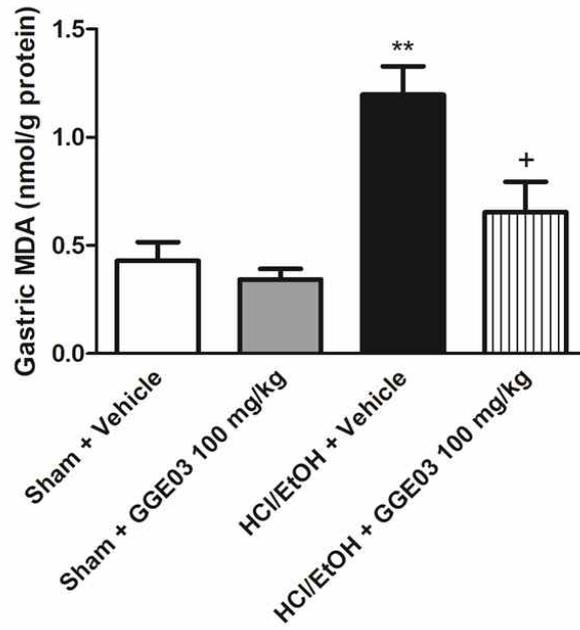


Figure 10. Effect of GGE03 on MDA levels in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. **Significantly different ($P < 0.01$) from sham + vehicle group. +Significantly different ($P < 0.05$) from HCl/EtOH + vehicle group.

④ GGE03의 위조직 내 염증 인자에 미치는 효과 관찰

㉞ Myeloperoxidase 활성화도

- 흰쥐의 HCl·ethanol 유발 위염 모델에서 위조직 내 MPO 활성화도에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. 대조군의 MPO 활성화도는 0.70 ± 0.02 U/mg tissue으로 정상군 (0.31 ± 0.04 U/mg tissue)에 비해 현저히 증가하였음. GGE03 100 mg/kg 투여군의 위조직 내 MPO 활성화도는 0.26 ± 0.01 U/mg tissue을 나타내어 대조군에 비해 유의하게 MPO 활성화도를 억제하였음 (Figure 11).

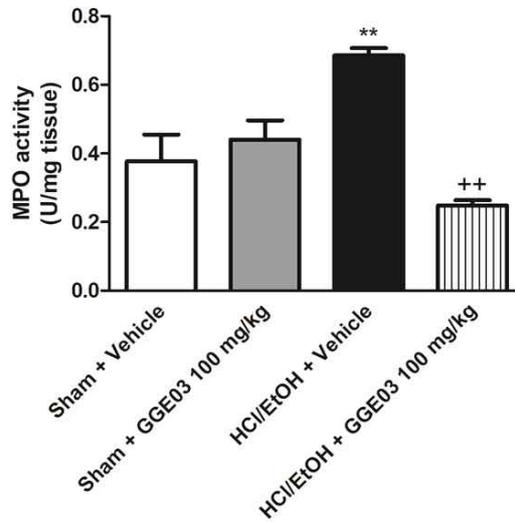


Figure 11. Effect of GGE03 on MPO activity in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. **Significantly different ($P < 0.01$) from sham + vehicle group. ++Significantly different ($P < 0.01$) from HCl/EtOH + vehicle group.

㉔ 위조직 내 염증 조절 인자

- 흰쥐의 HCl·ethanol 유발 위염 모델에서 위조직 내 염증 조절 인자인 NF- κ B에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. NF- κ B 활성화 정도를 측정하기 위하여 핵 내 NF- κ B/p65 subunit의 단백질 발현량을 측정하였고, 세포질 내 NF- κ B의 저해제인 I κ B- α 의 단백질 발현량 또한 측정하였음. 위염 대조군의 핵 내 NF- κ B/p65 subunit의 단백질 발현량은 정상군에 비해 50.91배로 현저히 증가하였으며, GGE03 100 mg/kg 투여군은 이러한 증가를 현저히 억제하였음. 이와는 반대로 위염 대조군의 세포질 내 I κ B- α 의 단백질 발현량은 정상군에 비해 0.36배로 현저히 감소하였으며, GGE03 100 mg/kg 투여군은 이러한 감소를 현저히 억제하였음 (Figure 12).

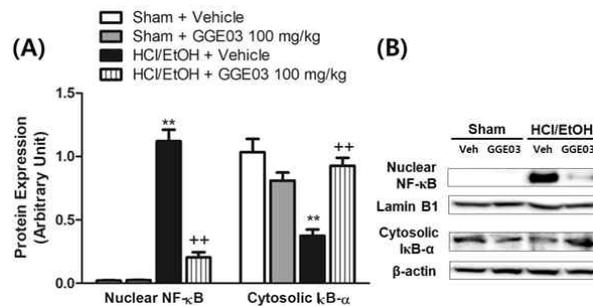


Figure 12. Effect of GGE03 on NF- κ B translocation (a) and representative bands (b) in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. *Significantly different (P<0.01) from sham + vehicle group. **Significantly different (P<0.01) from HCl/EtOH + vehicle group.

㉔ 위조직 내 염증성 사이토카인 발현양

- 흰쥐의 HCl·ethanol 유발 위염 모델에서 위조직 내 염증성 사이토카인의 발현양에 대한 GGE03의 영향을 관찰한 결과는 다음과 같음. 위염 대조군의 TNF- α 및 IL-1 β mRNA 발현량은 정상군에 비해 각각 3.09 및 4.10 배로 현저히 증가하였음. 이와 유사하게 위염 대조군의 TNF- α 및 IL-1 β 단백질 발현량은 정상군에 비해 각각 15.47 및 8.27 배로 현저히 증가하였으며, GGE03 100 mg/kg 투여군은 이러한 증가를 현저히 억제하였음 (Figure 13 과 Figure 14).

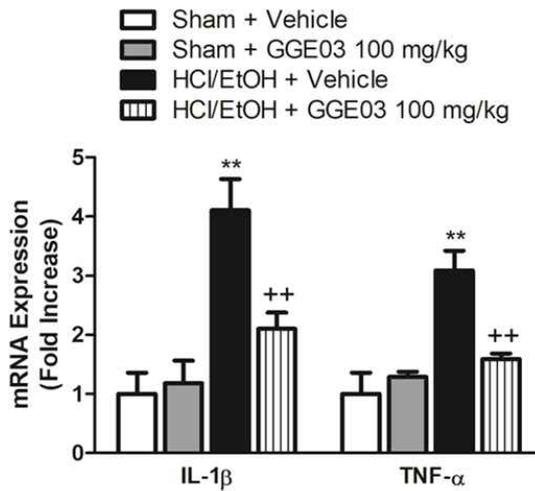


Figure 13. Effect of GGE03 on proinflammatory cytokines mRNA expression in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. **Significantly different ($P < 0.01$) from sham + vehicle group. **Significantly different ($P < 0.01$) from HCl/EtOH + vehicle group.

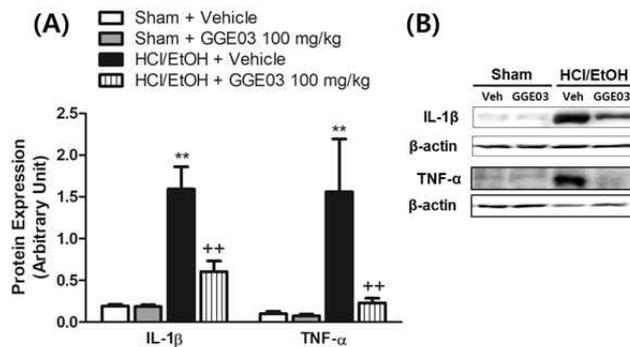


Figure 14. Effect of GGE03 on proinflammatory cytokines protein expression (a) and representative bands (b) in HCl/EtOH-induced gastric ulcer in rats. The values are represented as mean \pm S.E.M. for 4-6 rats per group. **Significantly different ($P < 0.01$) from sham + vehicle group. **Significantly different ($P < 0.01$) from HCl/EtOH + vehicle group.

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

(1) 목표

- 생강의 기능성 물질 대량생산 기술 개발에 따른 생리활성 검증
 - 생강의 생물전환 물질 규명 및 6-shogaol, 1-dehydro-6-gingerdione 등의 기능성 물질 대량생산 기술 개발 (신규 기능성 생물전환 물질 1건 이상 확보)
 - 생강 원료의 대사질환 (비만, 당뇨), 위건강 (위염/위궤양), 관절건강 (골관절염) 전임상 효능 검증 및 작용기전 규명 각 1건

- 생리활성 유효성분 규명 및 지표성분 설정 1건 이상 → 동일규격의 원료 생산
 - 생강 원료 대량생산에 따른 원료 표준화 확립 1건
 - 생강 원료의 전임상 안전성 검증을 위한 GLP 기관 시험성적서 자료 확보
 - 생강 원료의 체중조절 및 위건강 인체적용시험 각 1건 (총 2건 진행)
 - 생강 원료의 표준화 및 기능성 자료 확보에 따른 체중조절 및 위건강 기능성 원료 자료 총 2건 (기능성 자료, 안전성 자료, 작용기전 확보 자료, 원료 표준화 자료, 인체적용시험 자료)
- 본 사업을 통하여 특허 등록 3건 이상 (출원 4건 이상), SCI급 6편 및 KCI급 2편 이상 게재 예정

(2) 목표 달성여부

① 1차년도 연구개발목표의 달성도

연 차	평가의 착안점 및 기준	가중치 (%)	달성도 (%)
1차년도 (2017년)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강의 기능성 물질 대량생산 공정 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 최적 발효균주 확보 (1종 이상) - 기능성 물질 6-shogaol 함량 2배 이상 증가 - 학술발표 1건 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효물 제조에 따른 성분 분리 및 규명 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 추출물 및 발효물의 성분 비교, 함량 분석 - 기능성 물질의 도출 및 분리 - 질환별 유효성분 도출 4건 (동일 성분 포함) 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효물의 규격설정 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 발효물의 최적 지표성분 1종 설정 - 지표성분의 함량 분석 및 원료 규격설정 - 생강 발효물의 표준화에 따른 최적 발효공정 1건 확립 	20	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효물의 대사질환 효능 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 발효물의 비만/당뇨 in vitro 효능 평가 - 추출물과 발효물의 유효성 비교 (비교우위 증명) - 특허 출원 1건 (2차년도 등록 1건), 학술발표 1건 	20	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효물의 관절건강 효능 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 발효물의 관절건강 (항염증 포함) in vitro 효능 평가 - 추출물과 발효물의 유효성 비교 (비교우위 증명) 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효물의 위건강 효능 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 발효물의 위염/위궤양 (위점막보호) in vitro 효능 평가 - 추출물과 발효물의 유효성 비교 (비교우위 증명) 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효물 함유 기능성 음료 생산공정 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 기존 판매 기능성 음료의 리뉴얼 제품 선별 및 라인 적용 	10	100

	- 생강 발효물 함유 기능성 음료 제품 Pilot 시생산 및 관 능평가		
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강의 신산업 육성전략 창출 - 생강의 안정적 수급을 위한 지자체 연계 방안 창출 	10	100

② 2차년도 연구개발목표의 달성도

연 차	평가의 착안점 및 기준	가중치 (%)	달성도 (%)
2차년도 (2018년)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효원료의 성분 규명 - 신규 생물전환물질 1종 이상 규명 - 기능성 물질의 함량 비교분석 - SCI 논문 1편, 학술발표 1건 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효원료의 표준화 및 대량생산체계 확립 - 생강 발효원료 3 batch 대량 생산 - 표준화된 발효원료의 유해성분 함량 분석 및 기준규격 설정 - 공인기관 검증 1건 	15	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효원료의 대사질환 효능 평가 - 생강 발효원료의 비만/당뇨 in vivo 효능 검증 - SCI 논문 1편 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효원료의 관절건강 효능 평가 - 생강 발효원료의 골관절염 in vivo 효능 검증 - 특허출원 1건 (3차년도 등록) - 학술발표 1건 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효원료의 위건강 효능 평가 - 생강 발효원료의 위점막 보호 in vivo 효능 검증 - 특허출원 1건 (3차년도 등록) - SCI 논문 1편 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효원료를 이용한 기능성 음료 제품 시생산 - 생강 발효원료 함유 기능성 음료 1품목 시생산 및 사업화 준비 - 3차년도 이내 매출 2억원 이상 목표 - 기술실시 1건 (위건강 기술) 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효원료를 이용한 건강기능식품 제조공정 확립 - 발효원료 함유 건강기능식품 개발용 제형 개발 1건 - 제형개발에 따른 최종 제조공정 확립 	5	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 체지방 감소 및 위건강 인체적용시험을 위한 시제품 생산 - 체지방 감소 인체적용시험용 시제품 생산 1건 - 위건강 인체적용시험용 시제품 생산 1건 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효원료의 전임상 안전성 검증 - 설치류/비설치류 단회, 설치류 13주 반복, 유전독성 검증 - GLP 기관 안전성 시험 성적서 6부 생산 	15	100

<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강의 신산업 육성전략 제시 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 발효원료의 사업화 전략에 따른 신산업 육성전략 제시 	5	100
--	---	-----

③ 3차년도 연구개발목표의 달성도

연 차	평가의 착안점 및 기준	가중치 (%)	달성도 (%)
3차년도 (2019년)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 대사질환 (비만/당뇨) 작용기전 규명 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 발효원료 및 유효성분 (기능성분)의 체지방 감소 바이오마커 분석 및 작용기전 규명 - 생강 발효원료 및 유효성분 (기능성분)의 혈당조절 바이오마커 분석 및 작용기전 규명 - 특허출원 1건, SCI 논문 1편, 학술발표 1건 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 관절건강 작용기전 규명 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 발효원료 및 유효성분 (기능성분)의 골관절염 바이오마커 분석 및 작용기전 규명 - SCI 논문 1편 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 위건강 작용기전 규명 <ul style="list-style-type: none"> - 생강 발효원료 및 유효성분 (기능성분)의 위건강 바이오마커 분석 및 작용기전 규명 - SCI 논문 1편, 학술발표 1건 	10	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 체지방 감소 적용 인체적용시험 <ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험을 위한 체지방 감소 적용 프로토콜 작성 및 IRB 승인 - 체지방 감소 적용 인체적용시험 완료 1건 (보고서 1건) 	20	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 위건강 적용 인체적용시험 <ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험을 위한 위건강 적용 프로토콜 작성 및 IRB 승인 - 위건강 적용 인체적용시험 완료 1건 (보고서 1건) 	20	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 발효물의 기능성 원료 인허가 <ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 기능성 자료 확보 및 원료 인허가 1건 - 위건강 기능성 자료 확보 및 원료 인허가 1건 (기업 투자 진행) - 기술인증 2건 	20	100
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혈당조절 및 관절건강 고시형 건강기능식품 제품화 <ul style="list-style-type: none"> - 최초 5,000 세트 제작에 따른 사업화 진행 (제품화 2건) - 초기 매출액 1억원 예상, 홍보전시 1건 - 기술실시 2건, 고용창출 2명 	10	100

(3) 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

○ 코로나바이러스 감염증-19 (COVID-19)로 인한 연구지연

- 2020년 COVID-19 사태로 인해 본 과제의 수행기관 및 외부 연구기관 대부분이 재택근무, 단축근무, 격리 등의 사유로 업무수행이 원활하지 못하였으며, 사회적

거리두기로 인해 각 기관과의 업무관련 회의가 원활하지 못해 체계적인 과제 수행을 진행하는데 어려움이 있었음

- 특히, COVID-19로 인해 2020년 3월 4일 기준, 인도와의 모든 국제 교류가 차단되었으며, 비자 취소 및 국적 여행 경로 차단, 국제 물류 운송 지연 등의 문제가 발생하여 인체적용시험 일정에 차질이 발생함

※ 국내의 경우도 모든 임상기관 (병원)의 출입이 금지됨에 따라 대부분의 임상시험이 중단/지연되는 사태가 발생하였음 (인체적용시험 개시는 불가능)

- 또한, CRO는 인체적용시험 개시 및 관리, 임상 모니터링의 업무를 수행해야 하지만, 인도 비자 취소 등의 사유로 입국에 문제가 생긴 상황에서 해당 업무를 수행하기가 어려웠으며, 인체적용시험 개시 당시 인도의 COVID-19 상황은 나쁜편이 아니었으나, 점차 시간이 지남에 따라 인도의 COVID-19의 환자가 증가하면서, 본 연구의 인체적용시험을 위한 대상자 관리에 차질이 발생하였음 (인체적용시험 기간 중에 발생한 COVID-19 환자는 중도 탈락시킴)

○ 연구지연에 의한 후속연구의 필요성

- COVID-19로 인해 인체적용시험이 지연됨에 따라 본 과제 수행을 위해 1번의 연장신청 (2개월 연장)을 했으며, 인체적용시험은 과제 기간내에 종료되었으나, 인체적용시험 데이터 수집 및 보고서 작성 등의 시간이 부족하여 식약처 기능성 원료 신청을 위한 제출 자료 filing이 계속 진행되고 있는 상태임
- 다만, 인체적용시험 최종 보고서를 제외한 모든 기능성 원료 신청을 위한 자료는 수집 완료된 상황이며, 최종 보고서가 마무리 되는 대로 (3월 내) 식약처 기능성 원료 신청을 위한 사전검토에 진입할 예정임

4. 연구결과의 활용 계획 등

제 1 절. 활용방안

1. 연구개발 성과의 활용방안

가. 건강기능식품 제품화/산업화 활용방안 : 약 100억원/년 이상 매출 기대

- (1) 개별인정형 건강기능식품의 제품군 : 100억원/년 매출 예상
- (2) 기능성 원료(원료분말 형태) : 각 50 억원/년 매출 예상 (자체생산 시 제외)
- (3) 생강 원재료 : 약 10억원/년 이상 매출 예상
- (4) 국내 및 해외 기술이전 및 수출 : 동남아 등 해외 수출 (100억원/년 매출 기대)

나. 건강기능식품 기능성 원료의 지속적인 사업화를 위해 생강의 자원 수집, 자원평가 및 생산 체계확립, 증숙 등의 소재 개선을 진행할 예정이며, 이는 국내 생강 자원 활용성 증대를 활용가능함

다. 국내에 자생하고 있는 기능성 약용자원들이 소비자들에게 잘 알려지면 기능성 식품으로 출시되었을 때 소비자들의 선호도를 높일 수 있을 것으로 기대

- (1) 특히 근래 급성장하고 있는 기능성 식·의약품 시장은 다양하고 새로운 천연소재의 개발을 필요로 하고 있다는 점에서 경제 산업적 활용성을 가지며, 생강의 경우 일반식품으로 활용되기는 하나 증숙 등의 법제를 거친 소재의 건강기능식품으로의 개발은 추진된 바 없으므로 신규 고부가가치 건강기능식품으로 충분한 발전을 이룰 수 있음
- (2) 특히, 체지방 감소, 위건강, 관절건강, 혈당 감소의 복합기능성 컨셉은 최초로 개발되어지는 개별인정형 원료로 소비자의 선호도를 높일 수 있을 것으로 사료됨
- (3) 또한, 본 과제를 통해 체지방 감소 및 위건강에 대한 인체적용시험만을 진행하였으나, 추후 관절건강 및 혈당감소의 인체적용시험을 진행하여 추가적인 연구를 진행할 수 있음

라. 해외에서 수입되는 건강기능식품의 상품 및 원료 대체효과 및 재배농가 소득 증대

- (1) 국내 원료의 우수한 기능성을 인정받은 신소재 개발로 개별인정형 원료 개발, 수입대체 및 수출효과
- (2) 특히, 생강의 경우 활용도가 높은 소재임에도 불구하고, 현재 생산 대비 활용도가 감소하여 이에 대한 개발 연구가 꾸준히 진행되어야 함

제 2 절. 추가 연구의 필요성

1. 복합기능성 확보를 위한 증숙생강추출분말의 추가 연구

가. 복합기능성 건강기능식품 사업화를 위한 추가 연구의 필요성

- (1) 현재 본 과제에서 전임상 시험만을 진행한 기능성의 추가 연구
 - 본 과제에서는 증숙생강의 관절건강 및 혈당조절의 기능성을 전임상 시험을 통해 확보하였으나, 책정된 시험비로 인해 인체적용시험을 수행하지 못함
 - 따라서, 한식연 등의 인체적용시험 지원 사업을 통해 인체적용시험을 완료하여 추가적

인 기능성 원료 인정에 진입할 필요가 있음

제 3 절. 기업화 추진방안 및 기술이전 계획

1. 증숙생강추출분말의 기능성 원료 인정을 위한 계획

가. 체지방 조절 및 위 건강에 대한 기능성 원료 인정

- (1) 3월 내 기능성 원료 신청 자료를 filing 하여 먼저 기능성 원료 신청을 위한 사전검토를 진행하고, 식약처 보완에 따른 추가 연구를 진행할 예정임
- (2) 증숙생강추출분말의 인체 내 유효성 및 안전성 등의 중대한 문제가 발생하지 않아 추가 보완사항이 나오더라도 2021년 내 기능성 원료 인정이 가능할 것으로 사료됨

2. 사업화 방안

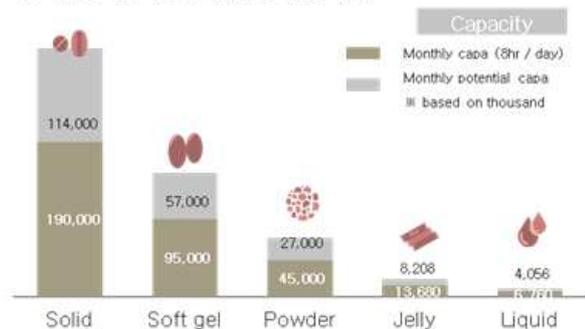
가. 원료 독점공급을 통한 제품 유통 및 판매

- (1) (주)제넨셀은 건강기능식품 유통을 위한 원료독점공급 계약을 추진하고 있으며, 원료생산 기업이며 본 과제의 2협동 기관인 에스디생명공학과 연계하여 원료생산을 계획하고 있음
- (2) 또한, (주)제넨셀은 체지방 감소 제품을, 에스디생명공학은 위건강 제품을 각각 출시하여 직접 판매 또는 위탁 판매를 통해 사업화를 진행할 계획임
- (3) 기능성 원료 인증을 받을 경우 코스맥스바이오에 독점적인 원료 공급을 하며, 이에 코스맥스바이오(주)는 ODM 제품 생산을 위한 영업 및 생산을 진행하여 고객사에 기능성 원료 및 제품 판매를 진행할 예정임

➢ 코스맥스바이오 매출액 ('15 ~ '19)



➢ 코스맥스바이오 제형 별 생산 능력



(가) (주)제넨셀의 이중기능성 제품 (체지방 감소 및 관절건강) 자체 브랜드화를 통한 제품 판매

(나) 이중기능성 제품의 당위성을 통한 개발 제품 우수성 홍보 및 마케팅 전략 수립

나. (주)에스디생명공학의 상용화 방안

- (1) 상용화 형태 : 위건강 개별인정 기능성 음료 등
- (2) 수요처 : 국내 건강기능식품 시장
- (3) 개발 투입인력 및 기간 : 석.박사급 연구원 15명/ 1년

- (4) 상용화 능력 및 방안 : (주)에스디생명공학은 현재 운용중인 음성 제 1공장의 생강 원료 생산 진행과 더불어 2021년 12월 완공 예정되어있는 신규 제 2 공장 건립 및 내부 생산설비를 구축할 계획이며 이를 통해 연구 개발 소재의 사업 확대를 진행할 계획임.
- (5) 상용화 계획 및 일정 : 기술개발 이후 2021년 말 까지 위건강 개별인정 기능성 식품 원료 허가를 목표로 하며 당사의 기확보된 국내 유통망을 활용하여 우선적으로 판매를 개시하고 점차적으로 판매망을 확대해 나갈 계획임.
- (6) 사업화 및 상용화 세부 전략
 - (가) 자사 공장 원료 생산
 - 현재 운용되고 있는 자사 공장(음성 제 1 공장)에서 표준화된 기준 규격에 맞추어 원료 생산 및 B2B 사업 가능

음성 제 1 공장
(2021년 12월 제2공장 완공 예정 시점 기준)

면적
대지 면적 약 2,000 평
2층 건물 총 3,000 평

주요 생산 설비
수산물라인 (TFE 농축기, NCE 농축기, 데칸트, 원심분리기 등)
농산물라인 (가압탱크, 연속식농축기, NVTE 농축기, 필터프레스 등)

주요 생산 품목
과채가공품(말기농축액, 오디농축액, 베리믹스농축액 등), 어유(크릴오일), 효소식품(복합과물발효소분말 등), 동물기공품(검은콩추출농축액 등), 한계나유질(우유추출농축액 등), 기타가공품(발효인산농축액, 고흡저(항질)우유분말, 상차(항질)우유액)

음성 제1공장 인증 현황



- (나) 자사 공장 완제품 생산
 - 현재 공사 진행 중인 제 2 공장이 2021년 12월 완공될 시, 자사 제 1 공장에서 생산된 표준화 원료를 활용하여 제 2 공장에서 다양한 제형의 완제품 생산 및 B2C 사업 가능



(다) 다양한 제형의 제품화

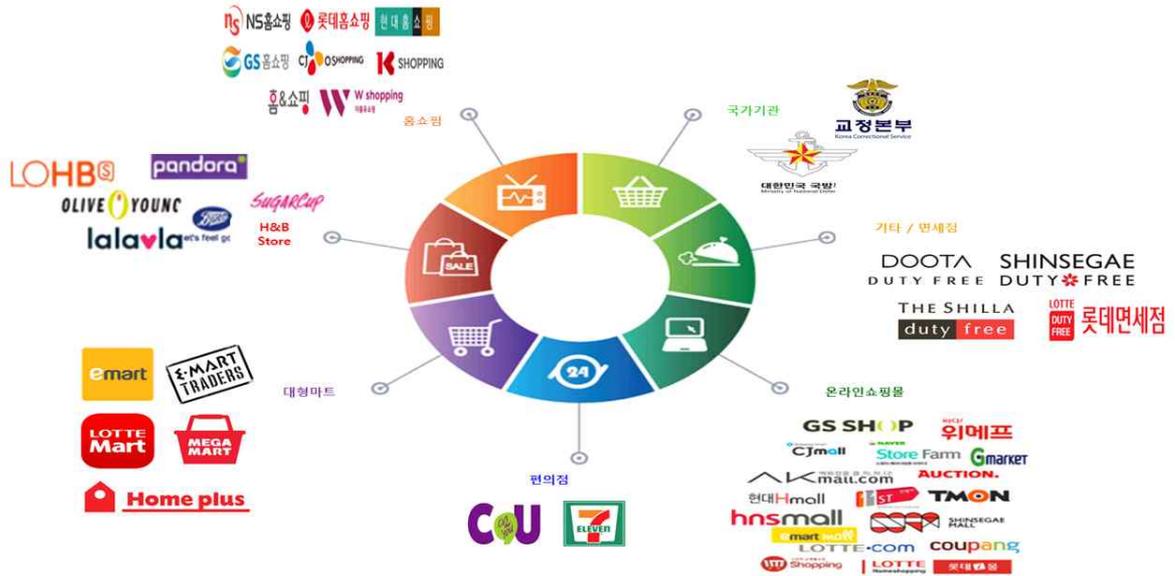
- 자사 제 2 공장 내 생산 가능한 다양한 제형을 활용하여 연령별 맞춤형 제품 개발로 소비 시장 확대



<p>스틱젤리</p> <ul style="list-style-type: none"> • 주요 고객군 : 어린이 • 포도맛, 망고맛 등 어린이들이 좋아할 맛으로 젤리 타입 개발 	<p>정제</p> <ul style="list-style-type: none"> • 주요 고객군 : 20~50대 • 물과 함께 간편섭취 가능한 정제형으로 개발 • 휴대하기 편한 형태로 학생이나 바쁜 직장인에 적합 	<p>분말스틱</p> <ul style="list-style-type: none"> • 주요 고객군 : 20~50대 • 간편하게 녹여 먹는 분말 스틱형 제품 개발 • 휴대 및 보관이 용이 	<p>액상스틱</p> <ul style="list-style-type: none"> • 주요 고객군 : 전연령 • 찌르는 타입으로 정제 타입의 제품을 섭취하기 힘든 분들을 위한 액상개발
--	--	--	--

(라) 시장 진입 전략 확립

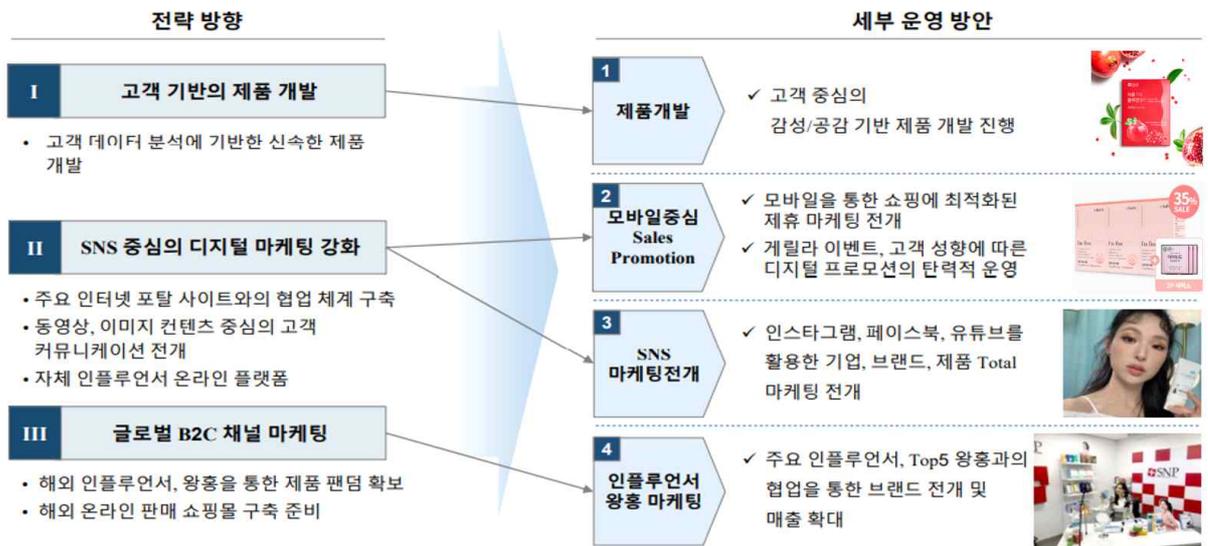
- 증속생강추출분말을 활용한 콜라보 제품을 2021년부터 지속적으로 출시하는 것을 목표로 함
- (주)에스디생명공학의 판매 조직(건강식품사업부문 등) 및 네트워크(에스디플랫폼 등 자회사)를 활용한 비즈니스를 통한 초기 시장진입
- (주)에스디생명공학의 On·Off line 유통 판매 채널을 활용한 시장진입



<에스디생명공학의 국내 유통망 현황>

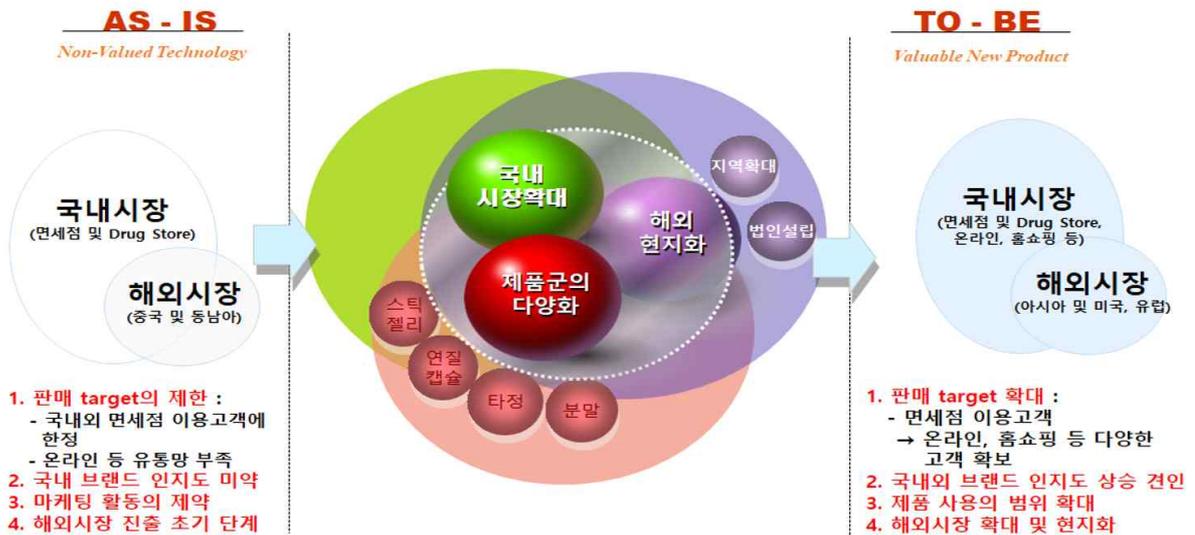
(마) 다양한 마케팅 전략 시도

- 건강기능식품 기술개발 및 사업으로의 본격적인 진입에 따른 적극적인 마케팅 전략으로 수익을 창출하고 성장을 도모함
- 언택트 시대로의 변화에 따른 디지털 마케팅 역량 및 경쟁력 강화를 통해 브랜드 인지도 상승 및 매출 활성화 견인



(바) 사업화 성장에 따른 시장 확대 전략

- 본 기술개발 사업의 성과를 토대로 스틱젤리, 캡슐, 정제, 분말 등 제품군의 다양화를 통해 시장 확대를 유발함.
- 다양한 마케팅 및 유통 채널 확보를 통해 식품사업부문의 미약한 국내 브랜드 인지도 상승을 통한 성장을 이끌어 냄.
- 국내 시장확대 및 해외 현지화 등을 통한 시장 성장 전략 수립.



다. 광동 제약(주)의 상용화 방안

(1) 상용화 형태 : 생강 원료 함유 건강기능식품(리뉴얼 제품)

- 제품명 : 광동 알지3 프라임 (품목제조보고번호 : 20040015191103)

(2) 상용화 계획 및 일정

- 제품출시 : 2021년 5 - 6월 예정

- 국내산 생강원료 활용 리뉴얼 제품 출시를 통하여, 증숙생강추출분말 개별인정 허가 전까지 생강원료 매출 활성화 계획임

(3) S/F (판매처 : 약국)

21년		22년		23년	
수량(Set)	매출	수량(Set)	매출	수량(Set)	매출(원)
5,600	4.2억	10,400	7.8억	10,700	8억

라. 고시형 및 개별인정형 제품의 상용화 비교 분석

(1) 원료 제조

- 증숙생강추출분말 제조원가

항목	가격 (원)	비고
생강원물	15,000,000	200 kg
증숙	4,000,000	-
추출	17,700,000	-
증숙생강추출분말 (총)	36,700,000	65 kg
kg 단가	564,616	1 kg

(2) 고시형 제품 제조

- 보여주다슬림라인

항목	함량 (mg/정)	2,000 set	단가
증숙생강추출분말*	25.2 mg	≒ 6.3 kg (6.048 kg)	3,557,081원
병풀주정추출분말*	25.2 mg	≒ 6.3 kg (6.048 kg)	2,502,751원
종합제조원가	-	-	11,970,000원
총계 (2,000 set 제작)	-	-	18,029,832원
1 set 단가(추출물포함)	-	-	≒ 9,015원

- 마디마다관절채움

항목	함량 (mg/정)	2,000 set	단가
증숙생강추출분말*	25 mg	≒ 6.2 kg (6.0 kg)	3,500,619원
종합제조원가	-	-	11,970,000원
총계 (2,000 set 제작)	-	-	15,470,619원
1 set 단가(추출물포함)	-	-	≒ 7,735원

(3) 개별인정형 제품과의 비교 분석

- 증숙생강추출분말의 생산 단가는 약 56만원/kg으로 일일섭취량 480 mg 시 14 g을 섭취하게 되며, 한달분량으로 약 7,800원의 원료가가 산정됨
- 추후 에스디생명공학에서 단일 추출 시스템을 확립하고, 대량생산 기반의 원료생산을 진행한다면 약 6,000원/달 이하로 원료가를 책정할 수 있음
- 현재 위건강 제품과는 원료가에 있어 비교우위를 점할 수 있으나, 체지방 또는 관절건강의 원료와 비교 시 다소 원료가가 높은 실정임
- 그러나, 현재 개발되고 있는 개별인정형 건강기능식품과 생산가의 차이는 거의 없으며, 추후 기능성에 대한 마케팅으로 보완 및 사업화를 추진할 계획임

3. 해외 기술이전

가. 인도 해외 판매 또는 기술이전

- (1) 생강은 인도에서 식품으로 섭취할 만큼 친숙한 소재이며, 본 연구개발을 통해 인도에서 체지방 조절 및 위건강 2건의 인체적용시험을 진행하였으므로 1차로 인도 식품 시장에

진입할 예정임

- (2) 또한, (주)제넨셀은 중국 등의 유관기관을 통해 해외 사업화를 위한 네트워크를 구축하고 있으며, 해당 소재로 제품화가 될 경우 해외 네트워크를 통해 완제품을 판매할 계획임
- (2) 해당 원료는 국내산으로 해외 수출이 가능해질 경우 국내 6차 산업의 활성화가 기대됨

붙임. 참고문헌

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 발효생강을 이용한 체지방 조절 등 기능성 제품개발										
	(영문) Development of functional products for body fat regulation using bioconverted ginger										
주 관 연구 기관	경희대학교		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 경희대학교							
참 여 기 업	(주)제넨셀, 광동제약(주), (주)에스디생명공학			(성명) 강동호							
총 연구개발비 (2,401,000천원)	계	2,401,000	총 연구 기간	2017.11. ~ 2021.01. (3년 2개월)							
	정부출연 연구개발비	1,800,000	총 참 여 수	총 인원	36						
	기업부담금	601,000		내부인원	36						
	연구기관부담금			외부인원							
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <p>(1) 연구개발 목표</p> <p>① 생강의 기능성 물질 대량생산 기술 개발에 따른 생리활성 검증</p> <p>② 규격화된 생강 원료를 활용한 고부가가치 기능성 전략 상품 개발 및 산업화</p> <p>(2) 연구개발 성과</p> <p>① 지식재산권 : 특허출원 4건, 특허등록 2건</p> <p>② 기술실시 : 2건</p> <p>③ 제품화 4건</p> <p>- 보여주다 슬림라인, 마디마다 관절케어, 홍삼골드프리미엄, RG3-EX의 제품화 성과</p> <p>④ 학술성과 : 논문성과 11건</p> <p>○ 연구내용 및 결과</p> <p>(1) 연구내용 및 결과</p> <p>[1세부 경희대]</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>세부연구목표</th> <th>연구내용</th> <th>연구결과</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>혈당강하 마우스 효능평가</td> <td> <ul style="list-style-type: none"> 당뇨 제브라피시 모델에서 그룹 간 pancreatic islet 크기의 통계학적 유의성 평가 </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> 알록산으로 유발한 당뇨 제브라피시 모델에서 증숙생강 추출물에 의한 pancreatic islet 회복능 확인 인슐린저항성으로 유발한 당뇨 제브라피시 모델에서 증숙생강 추출물에 의한 pancreatic islet 회복능 확인 </td> </tr> </tbody> </table>						세부연구목표	연구내용	연구결과	혈당강하 마우스 효능평가	<ul style="list-style-type: none"> 당뇨 제브라피시 모델에서 그룹 간 pancreatic islet 크기의 통계학적 유의성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> 알록산으로 유발한 당뇨 제브라피시 모델에서 증숙생강 추출물에 의한 pancreatic islet 회복능 확인 인슐린저항성으로 유발한 당뇨 제브라피시 모델에서 증숙생강 추출물에 의한 pancreatic islet 회복능 확인
세부연구목표	연구내용	연구결과									
혈당강하 마우스 효능평가	<ul style="list-style-type: none"> 당뇨 제브라피시 모델에서 그룹 간 pancreatic islet 크기의 통계학적 유의성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> 알록산으로 유발한 당뇨 제브라피시 모델에서 증숙생강 추출물에 의한 pancreatic islet 회복능 확인 인슐린저항성으로 유발한 당뇨 제브라피시 모델에서 증숙생강 추출물에 의한 pancreatic islet 회복능 확인 									

		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강추출물과 증숙생강 추출물의 EC50 비교 결과, 증숙생강의 효과가 우수함을 확인 ▪ 생강추출물과 증숙생강 추출물의 LC50 비교 결과, 증숙생강의 독성이 낮을 것을 확인 ▪ 생강추출물과 증숙생강 추출물의 therapeutic index 비교 결과 증숙생강이 생강추출물보다 매우 안전하고 효과적인 소재임을 확인
체중조절 제브라피시 효능 평가	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 비만 제브라피시 모델에서 그룹 간 length, weight 및 BMI의 통계학적 유의성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 비만 제브라피시 모델에서 증숙생강에 의한 무게 및 BMI 감소 확인 ▪ 비만 제브라피시 모델에서 생강 성분 (6-shogaol, 6-paradol, Dehydro-6-gingerdione, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol) 들에 의한 무게 및 BMI 감소 확인
혈당강하 마우스 효능평가	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 당뇨 마우스 모델에서 전임상 유효성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 당뇨 마우스 모델에서 증숙 생강에 의한 혈당 강하 효능 확인 ▪ 당뇨에 의해 손상된 췌장 조직이 증숙 생강에 의해 회복
체중조절 마우스 효능평가	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 비만유도 마우스의식이섭취량, 체중, 음수섭취량 측정 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 비만 대조군에서 증가했던 체중 증가량과 음수 섭취량이 증숙생강을 투여한 군에서 유의적으로 감소하는 것을 확인
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 비만유도 마우스의 장기무게, 혈액지표 측정 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 장기무게에는 큰 변화가 없었지만 혈액지표 확인결과 비만 유도군에서 증가했던 Total cholesterol, LDL, GOP, GPT, NEFA가 증숙생강을 투여한 군에서 유의적으로 감소한 것을 확인
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 비만유도 마우스의 비만관련 유전자, 근육생성 유전자의 발현 확인 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 비만 유도 마우스의 간에서 비만 관련 유전자들이 발현을 확인한 결과 증숙생강을 투여한 군에서 모두 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인 ▪ 비만유도 마우스의 근육에서 근육 생성과 관련된 유전자인 myoD 와 근육 소실과 관련된 유전자인 myostatin 의 발현을 확인해 본 결과 증숙생강을 투여한 군에서 myostatin 은 농도 의존적으로 감소하고 myoD는 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인
증숙 생강의 전임상 안전성평가	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 식약처 Q&A를 통한 전임상 안정성 평가 항목 설정 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 설치류 단회투여경구독성시험, 설치류 2주반복용량결정시험, 설치류 13주 반복투여경구독성시험, 비설치류 단회경구투여독성시험, 조제균질성 및 안전성시험 진행 중

[2세부 경희대]

세부연구목표	연구내용	연구결과
생강 유래 기능성 물질 분리, 함량분석 및 제공	Open column chromatography를 이용한 생강 및 증숙생강 추출물의 성분 분리 정제 및 제공	생강 및 증숙생강에 대해 SiO ₂ , ODS, Sephadex LH-20, Diaion HP-20 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 활성대사물 포함 새로이 생성되는 물질을 분리

증속생강 전환물질 분리 및 규명	생강 및 증속생강의 성분 변화 프로파일 작성	TLC를 활용하여 생강 증속과정에서 증가하는 화합물 확인
		HPLC를 통하여 생강 증속과정에서 증가, 감소하는 화합물 확인
		HPLC를 통하여 생강 증속과정에서 증가하는 화합물인 1-dehydro-6-gingerdione 화합물 함량 확인 및 분리

[1협동 (주)제넨셀]

세부연구목표	연구내용	연구결과
생강 원료의 대량생산 공정 확립	<ul style="list-style-type: none"> 생강추출발효물 생산 공정 확립 및 GMP 생산 증속생강추출물 생산 공정 확립 및 GMP 생산 	<ul style="list-style-type: none"> Pilot scale 4차 생강추출발효물 (FGE04) 공정 확립 및 생산 <ul style="list-style-type: none"> 본 배양조건 변경 (30℃) 균주 접종 방법 변경 (균체 접종) 인습문제 해결을 위해 분무건조로 변경 생강 항균력에 의한 균주 이상 발견 생강추출발효물 생산공정 수립 및 대량생산 (FGE05) <ul style="list-style-type: none"> 배양배지 변경 (옥수수전분 배지) 본 배양 균주 접종 방법 변경 (접종 24시간 후 추출물 투여 및 48시간 발효) 최종 생강추출발효물 공정도 수립 증속생강을 활용한 생강 활성화 방법 추가 연구 <ul style="list-style-type: none"> 증속생강추출물 (GGE01) 생산에 따른 특정 성분 변화 확인 1차 공정도 확립 (생생강 97℃, 3 kgf/cm² 증기압, 2시간) 공동연구기관 원료 분배에 따른 효능 및 성분 연구 진행 Pilot scale 증속생강추출분말 (GGE02) 생산 및 공정도 확립 <ul style="list-style-type: none"> 기존 농축물에서 분무건조 (50% 텍스티린 함유) 분말로 변경 GMP 기관 연계 생산 지표성분 1-dehydro-6-gingerdione 함량 분석 (1.9 mg/g, 생강추출물 대비 375% 상승 확인) 제조지시기록서 및 성적서 확보 증속생강추출분말 대량생산 (GGE03) 및 최종 공정도 수립 <ul style="list-style-type: none"> GMP 기관 연계 3 batch 대량생산 지표성분 1.9 mg/g 함량 분석 (GGE2와 동일) 제조지시기록서 및 성적서 확보 기존 발효원료 대비 생산 단가 등의 사업화 지표가 높음을 확인 (기존 발효원료 대비 생산단가 1/2수준)
생강 원료의 표준화	<ul style="list-style-type: none"> 증속생강추출분말 3 batch 대량생산에 따른 표준화 공인기관 인증 	<ul style="list-style-type: none"> 한국기능식품연구원을 통한 원료 공인기관 인증 (진행중) <ul style="list-style-type: none"> 지표성분 분석법 밸리데이션 및 표준화 인증 지표성분 함량 분석 유해물질 (잔류농약, 중금속, 미생물) 함량 분석 영양성분 분석

[1협동위탁 경희대학교]

세부연구목표	연구내용	연구결과
생강의 관절건강 전임상 효능 검증	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 생강 원료의 관절 건강 전임상 효능 검증 (섭취량 근거 설정) ▪ 생강 원료의 관절 건강 작용기전 규명을 위한 사전 조사 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ MIA 유도 모델에서 생강 원료의 전임상 효능 검증 진행 중 ▪ 작용기전 규명을 위한 마커 조사

[2협동 광동제약(주)]

세부연구목표	연구내용	연구결과
생산 예정 제품의 마케팅 전략 수립	<ol style="list-style-type: none"> 1. 시제품 마케팅 전략 수립 →국내/외 시장 규모 및 트렌드 분석 등 2. 시제품 사업화 계획검토 →신제품 개발 일정 설계 	<ol style="list-style-type: none"> 3. 광동제약 매출액 기반 쌍화음료 국내시장 규모 추정 및 트렌드 전략 도출 4. 광동제약 NPD 실무위원회 발효쌍화음료 아이디어 제안 및 평가 5. 발효탄산 효모 발효액(Key base) 기반 전략방향 설정 6. 발효쌍화/발효탄산 신제품 개발계획 일정 수립
생강 발효원료 함유 개별 인정형 제품 제형 연구	<ol style="list-style-type: none"> 7. 기능성 원료(발효생강, 증숙생강) 적합성 평가 →지표성분 분석, 영양성분 분석, 위해성 확인 8. 기능성 생강원료 추가개발 검토 	<ol style="list-style-type: none"> 9. 발효생강 지표물질 gingerol 및 shogaol 유도체 5종 동시분석을 위한 표준시험법 검증수행 - 생강원료 및 시제품 지표물질 검증시스템 구축 - 살균조건에 따른 시제품 내 지표성분 안정성 검토 10. 증숙생강추출농축액 규격 분석 및 적합성 검토 - 생리활성물질(진저롤, 쇼가올) 함량 및 영양성분 분석 - 중금속 분석(As, Cd, Pb) - 잔류농약, 물불용성침전물, 타르색소 분석 진행중
생강 발효원료 함유 기능성 음료 리뉴얼 제품 또는 신제품의 시제품 개발	<ol style="list-style-type: none"> 11. 시제품 컨셉원료 개발연구 →발효쌍화/발효탄산 핵심 원료 개발연구 및 공정설계 12. 시제품 제품 설계 및 관능 평가 	<ol style="list-style-type: none"> 13. 쌍화엑기스, 발효생약(과일) 농축액 원료화 연구수행 - 원료 기능성 분석 및 발효조건 확립, 원료 규격화 14. 발효탄산 관능 평가를 통한, 시제품 품질 최적화 - 계피정향Flavor, 라임Flavor(2 Type)

[3협동 ㈜에스디생명공학]

세부연구목표	연구내용	연구결과
생강발효물의 지표성분 확인 및 분석기기를 이용한 정량 및 정성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ● LC 및 MS등을 이용하여 생강 발효원료의 지표물질 정성 및 정량 	<ul style="list-style-type: none"> ● 6-gingerol, 6-shogaol과 같이 이미 알려진 성분들의 정성 및 정량을 통한 발효공정으로 생성되는 활성물질의 변화 확인 ● 진저롤 및 쇼가올 외 기타 성분들의 정성을 위한 LC-MS/MS 분석법 개발 ● HPLC를 이용한 정성물질의 다중 동시 분석법 개발 ● MS/MS를 이용하여 확인된 지표성분들의 함량 변화 확인 예정

[3협동위탁 성균관대학교]

세부연구목표	연구내용	연구결과
위건강 in vivo 평가 및 바이오마커 분석 위건강 타겟점 분석	<ul style="list-style-type: none"> ● 위손상 동물모델에서 생강 발효원료의 전임상 효능 검증 	<ul style="list-style-type: none"> ● 염산/에탄올 유도 급성 위염 모델에서 위병변 면적 측정 <ul style="list-style-type: none"> - FGE01 3, 10, 30 및 100 mg/kg에서는 뛰어난 위염 억제능을 나타내었음 - FGE05 10 mg/kg에서는 별다른 위염 억제능을 나타내지 않았으며, 30, 100 및 300 mg/kg에서는 뛰어난 위염 억제능을 나타내었음 - 전생강 10 및 30 mg/kg에서는 위염억제하는 경향을 나타내었고, 100 및 300 mg/kg 에서는 뛰어난 위염 억제능을 나타내었음 ● Indomethacin 유도 위궤양 모델에서 위병변 면적 측정 <ul style="list-style-type: none"> - FGE01 3mg/kg는 위염 억제하는 경향을 나타내었으며, 10, 30 및 100 mg/kg에서는 뛰어난 위염 억제능을 나타내었음 ● 위액 분비량, 위 점액량, 펩신 활성정도 측정 예정

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- (1) 국내산 생강의 다양한 활용과 기능성 물질의 대량생산기술, 신규물질 확보는 생강 산업의 활성화와 생물산업 기반 구축에 기대효과 창출 가능
 - 6차산업 기반의 지역경제 활성화에 기여
- (2) 국내산 생강의 다양한 제품개발을 통해 고부가가치 소득 작물 1차 산업 발전에 기여할 뿐 아니라 2차 산업 연계 중소기업의 기술 혁신 및 성장에 기여
- (3) 소재의 국산화를 통한 외화 절약 등의 효과 및 해외 수출 증대를 유발하고, 지역 특화 생물 산업 발전에도 기여함
- (4) 약용작물 유래 기능성 생물소재의 개발기술은 건강기능식품의 개발뿐 아니라, 천연물 신약 개발 등 응용되는 기초적인 자료로 활용되어 국가 생물산업 경쟁력 확보에 크게 기여할 것으로 기대됨

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		317071-3	
사업구분	농생명산업기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	농생명산업기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	발효생강을 이용한 체지방 조절 등 기능성 제품개발			과제유형	개발
연구기관	경희대학교 산학협력단			연구책임자	강동호
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2017.11.15.-2018.11.14	600,000	200,000	800,000
	2차연도	2018.11.15.-2019.09.14	500,000	167,000	667,000
	3차연도	2019.09.15.-2021.01.14	700,000	234,000	934,000
	계	38개월	1,800,000	601,000	2,401,000
참여기업	(주)제넨셀, 광동제약(주), (주)에스디생명공학				
상대국	상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2021.02.09

3. 평가자(연구책임자) : 강동호

소속	직위	성명
경희대학교	교수	강동호

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	강동호
----	-----

I. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수)

(1) 연구개발 성과의 우수성

- 기술실시(이전) 으로 사업화 성과 도출 및 제품화 4건으로 목표 초과 달성
- 고용창출 성과 3건으로 목표 초과달성
- 학술성과 논문 11건, 학술발표 8건으로 목표 초과 달성
- 인력양성 10건으로 목표 초과달성
- 안전성평가시험(설치류 단회 투여 경구독성시험, 설치류 2주반복용량결정시험, 설치류 13주 반복투여 경구독성시험, 비설치류 단회결구투여독성시험) 완료
- 체지방, 위건강 인체적용시험 연구 완료

(2) 연구개발 성과의 창의성

혈당조절 건강기능식품의 경우, 주로 고시형 제품의 판매가 두드러지지만 증숙생강을 사용한 연구는 건강기능식품으로써 개발 가능성을 높임

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수)

- 체지방, 관절개선 및 위건강 개선을 위한 치료제는 주로 고시형 제품의 판매가 두드러짐
- 증숙생강을 활용한 본 연구는 체지방, 관절개선, 위건강 개선 등의 치료제 개발에 파급효과가 클 것으로 사료됨

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수)

- 혈당관련 질환 중 제 2형 당뇨병 질환 대상이나 혈당조절 건가으로 판매 가능
- 관절관련 질환 중 퇴행성 관절염 또는 류마티즘 관절염 억제 효과를 나타내는 관절건강으로 판매 가능
- 위 관련 질환 중 위염, 위궤양 환자 대상으로 위 건강 기능성 식품 판매 가능
- BMI 25 이상인 비만인을 대상으로 체지방 감소 효과를 나타내는 체지방 조절 가능한 건강기능 식품으로 판매

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수)

- 당초 연구 목표를 수행하여 연구 개발 수행에 있어 성실했다고 사료됨

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지식소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수)

- 학술대회 발표 : Recovery effects of phenolic compounds and fermented extracts from Forsythia koreana flowers on pancreatic islets damaged by alloxan in zebrafish 외 7건
- SCI 논문 발표 : Steamed Ginger May Enhance Insulin Secretion through KATP Channel Closure in Pancreatic β -Cells Potentially by Increasing 1-Dehydro-6-Gingerdione Content 외 10건
- 특허 등록 : 2건

	등록번호	발명의 명칭
1	10-2118059	발효 생강 제조방법 및 이를 이용한 당뇨병의 예방 및 치료용 조성물
2	10-2079065	데하이드로-6-진저디온을 포함하는 대사성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물

- 특허 출원 : 6건

	출원번호	발명의 명칭
1	10-2018-0110150	발효 생강 제조방법 및 이를 이용한 당뇨병의 예방 및 치료용 조성물
2	10-2019-0084868	고온고압법제생강 추출물을 포함하는 대사질환 예방 및 치료용 조성물
3	10-2019-0094120	데하이드로-6-진저디온을 포함하는 대사성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물
4	40-2019-0043269	제 [42] 류 (상표)
5	10-2020-0069076	6-진저롤 함량이 증가된 증숙 생강 추출물 및 이의 제조방법
6	10-2020-0109860	증숙생강 추출물 또는 이로부터 분리된 1-디하이드로-6-진저다이온을 유효성분으로 함유하는 위염 및 위궤양의 치료 또는 예방용 조성물

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
▪ 증숙생강의 성분 규명	5	100	증숙생강의 성분 규명 완료
▪ 증숙생강의 표준화 및 대량생산 체계 확립	5	100	표준화 및 대량생산 공정 확립 완료
▪ 증숙생강의 대사질환 효능 평가	5	100	비만, 체지방의 효능평가 완료
▪ 증숙생강의 관절건강 효능 평가	5	100	관절건강 효능평가 완료
▪ 증숙생강의 위건강 효능 평가	5	100	위 건강 효능평가 완료
▪ 체지방 감소 및 위건강 인체적용시험을 위한 시제품 생산	10	100	시제품 생산 완료
▪ 생강 발효원료의 전임상 안전성 검증	10	100	KCL을 통한 안전성 평가 완료
▪ 대사질환, 관절건강 및 위건강 작용기전 규명	5	100	COX-2, TNF- α 등 작용점 연구 완료
▪ 체지방 감소 적용 인체적용시험	20	100	체지방감소 적용 인체적용시험 완료
▪ 위건강 적용 인체적용시험	20	100	위건강 인체적용시험 완료
▪ 혈당조절 및 관절건강 고시형 건강기능식품 제품화	10	100	제품화 4건
합계	100		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 생강을 이용하여 체지방 개선, 관절건강, 위 건강기능성 식품 소재 개발을 위해 안전성 검증 및 인체적용시험을 수행하였음.
- 본 연구는 국내산 생강의 다양할 활용을 통해 지역 특화 생물 산업발전에 기여할것으로 사료됨

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

해당없음

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

○ 코로나바이러스 감염증-19 (COVID-19)로 인한 연구지연

- 2020년 COVID-19 사태로 인해 본 과제의 수행기관 및 외부 연구기관 대부분이 재택근무, 단축근무, 격리 등의 사유로 업무수행이 원활하지 못하였으며, 사회적 거리두기로 인해 각 기관과의 업무관련 회의가 원활하지 못해 체계적인 과제 수행을 진행하는데 어려움이 있었음

- 특히, COVID-19로 인해 2020년 3월 4일 기준, 인도와의 모든 국제 교류가 차단되었으며, 비자 취소 및 국적 여행 경로 차단, 국제 물류 운송 지연 등의 문제가 발생하여 인체적용시험 일정에 차질이 발생함

※ 국내의 경우도 모든 임상기관 (병원)의 출입이 금지됨에 따라 대부분의 임상시험이 중단/지연되는 사태가 발생하였음 (인체적용시험 개시는 불가능)

- 또한, CRO는 인체적용시험 개시 및 관리, 임상 모니터링의 업무를 수행해야 하지만, 인도 비자 취소 등의 사유로 입국에 문제가 생긴 상황에서 해당 업무를 수행하기가 어려웠으며, 인체적용시험 개시 당시 인도의 COVID-19 상황은 나쁜편이 아니었으나, 점차 시간이 지남에 따라 인도의 COVID-19의 환자가 증가하면서, 본 연구의 인체적용시험을 위한 대상자 관리에 차질이 발생하였음 (인체적용시험 기간 중에 발생한 COVID-19 환자는 중도 탈락시킴)

○ 연구지연에 의한 후속연구의 필요성

- COVID-19로 인해 인체적용시험이 지연됨에 따라 본 과제 수행을 위해 1번의 연장신청 (2개월 연장)을 했으며, 인체적용시험은 연구 기간내에 종료되었으나, 인체적용시험 데이터 수집 및 보고서 작성 등의 시간이 부족하여 식약처 기능성 원료 신청을 위한 제출 자료 filing이 계속 진행되고 있는 상태임

- 다만, 인체적용시험 최종 보고서를 제외한 모든 기능성 원료 신청을 위한 자료는 수집 완료된 상황이며, 최종 보고서가 마무리 되는 대로 (3월 내) 식약처 기능성 원료 신청을 위한 사전검토에 진입할 예정임

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

해당사항 없음

2. 연구기관 자체의 검토결과

해당사항 없음

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
연구과제명	발효생강을 이용한 체지방 조절 등 기능성 제품개발			
주관연구기관	경희대학교	주관연구책임자	강동호	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	1,800,000,000	601,000,000		2,401,000,000
연구개발기간	2017.11.15.-2021.01.14			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input checked="" type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(건강기능식품개발1)) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
▪ 증숙생강의 성분 규명	증숙생강의 성분 규명 완료
▪ 증숙생강의 표준화 및 대량생산체계 확립	표준화 및 대량생산 공정 확립 완료
▪ 증숙생강의 대사질환 효능 평가	비만, 체지방의 효능평가 완료
▪ 증숙생강의 관절건강 효능 평가	관절건강 효능평가 완료
▪ 증숙생강의 위건강 효능 평가	위 건강 효능평가 완료
▪ 체지방 감소 및 위건강 인체적용시험을 위한 시제품 생산	시제품 생산 완료
▪ 생강 발효원료의 전임상 안전성 검증	KCL을 통한 안전성 평가 완료
▪ 대사질환, 관절건강 및 위건강 작용기전 규명	COX-2, TNF-α 등 작용점 연구 완료
▪ 체지방 감소 적용 인체적용시험	체지방감소 적용 인체적용시험 완료
▪ 위건강 적용 인체적용시험	위건강 인체적용시험 완료
▪ 혈당조절 및 관절건강 고시형 건강기능식품 제품화	제품화 4건

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기 타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출원	특 허 등록	품 종 등록	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		논 문 평 균 IF	학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SC I	비 SC I							
단위	건	건	건	건	백 만 원	백 만 원	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	2	8		8		30	20	-	10	-	3			5	3	3	2	3	3	
최종목표	4	3		4		5	11,700	3,500	2		2	7	3	4	6	6	1	3	2	
연구기간내 달성실적	5	2		3	50	4	13 7		3		2	6	5	2.5	8		10	0	1	0
달성율(%)	10 0	66. 7		10 0		10 0	69		10 0		10 0	10 0	10 0	10 0	10 0	10 0	10 0	10 0	10 0	

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	발효생강 제조방법 미치 이를 이용한 당뇨병의 예방 및 치료용 조성물
②	증숙생강 추출분말을 포함하는 관절건강 및 체지방 감소 건강기능식품 개발
③	6-진저롤 함량이 증가된 증숙생강 추출물 및 이의 제조방법

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개발	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해 결	정책 자료	기타
①의 기술						V				
②의 기술						V				
③의 기술						V				

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	당뇨병 예방 및 치료용 건강기능식품 개발
②의 기술	체지방감소 건강기능식품 개발
③의 기술	증숙생강 추출물을 제조방법을 활용하여 Scale-up 생산공정 수립 후 원료 시생산 예정

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용등)	
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시		
												SCI	비SCI							논문평균IF
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명					
가중치	2	8		8		30	20	-	10	-	3			5	3		3	2	3	3
최종목표	4	3		4		5	11,700	3,500	2		2	7	3	4	6		6	1	3	2
연구기간내 달성실적	5	2		3	50	4	137		3		2	6	5	2.5	8		10	0	1	0
연구종료후 성과창출 계획				1		2	11,500	3,500				1							2	1

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾	발효생강 제조방법 및 이를 이용한 당뇨병의 예방 및 치료용 조성물		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	10,000 천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input checked="" type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	기술지도		

핵심기술명 ¹⁾	증숙생강추출분말을 포함하는 관절건강 및 체지방 감소 건강기능식품 개발		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	40,000 천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(양도)		
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	2021
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	기술지도		

핵심기술명 ¹⁾	6-진저롤 함량이 증가된 증숙생강 추출물 및 이의 제조방법		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	13,440 천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(양도)		
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	2021
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	기술지도		

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.