

발간등록번호

11-1543000-001255-01

# 인삼의 기능성 성분의 조절 및 표준화 기술 개발

(Development of standardization and regulation technique for functional ingredients of Korean ginseng)

한국식품연구원

농림축산식품자료실



0006071

농림축산식품부

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “인삼의 기능성 성분의 조절 및 표준화 기술개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2016년 3월 10일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

주관연구책임자 : 김 성 수

세부연구책임자 : 박 호 영

연 구 원 : 이 영 철 김 경 탁 홍 희 도  
김 영 찬 최 상 윤 조 장 원  
이 영 경 이 란 숙 정 지 윤

협동연구기관명 : (재)금산국제인삼약초연구소

협동연구책임자 : 표미경

협동연구기관명 : (주)한방바이오

협동연구책임자 : 권 우 생

협동연구기관명 : 경희대학교

협동연구책임자 : 양 덕 춘

협동연구기관명 : (주)샘표식품

협동연구책임자 : 이 대 희, 연구원 : 김 대 응

협동연구기관명 : (주)웅진식품

협동연구책임자 : 김 미 정, 연구원 : 김 효 빈

협동연구기관명 : (주)일화

협동연구책임자 : 성 중 환

위탁연구기관명 : 경북대학교

위탁연구책임자 : 강 호 율

위탁연구기관명 : (주)휴벳

위탁연구책임자 : 오 흥 근

위탁연구기관명 : Texas A&M Univ.

위탁연구책임자 : 이 석 호

# 요 약 문

## I. 제 목

인삼의 기능성 성분의 조절 및 표준화 기술개발

## II. 연구성과 목표 대비 실적

성과목표	사업화지표								연구기반지표								
	지식 재산권		기술이전	사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구용 등)
	출원	등록		제품화	기술창업	매출창출	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책 활용	홍보 전 시	
			SCI						비 SCI								
최종목표	10	4	3						10	7		5		1	10		
연구기간 내 달성실적	21	6	7	2					14	5	4	7	9		14		
달성율(%)	200	150	230						140	70		140			140		

## III. 연구개발의 목적 및 필요성

### ○ 연구개발 목표

- 미주지역 인삼수출 상품화를 위한 기호도가 개선된 현지 적합형 향피로 에너지/스포츠 음료, Influenza 관련 면역 증강 소재 개발 및 상품화
- 상품화를 위한 목표 기술로써 사포닌 고함유 원료 생산기술, 효능 타겟형 유효성분 조절기술, 현지 소비자 부합형 기호도 개선기술, 시장진입을 위한 제형 및 제품화 기술을 개발

### ○ 연구의 필요성

- 인삼의 수출 현황을 분석한 결과 원형 홍삼의 수출 비중이 지나치게 높은 반면, 고부가가치의 제품 수출은 전체 수출량의 29%를 차지하고 있는데 이는 우리나라 인삼 수출 대상국이 전통적인 원형삼 소비가 높은 동북아시아 국가인 중국, 홍콩, 대만, 일본에 집중되어 있어 시장 다변화 필요성 있음
- 미국과 유럽 등 세계 기능성 식품시장을 주도하고 있는 선진국에 대한 인삼의 수출은 원료삼의 1) 안전성 문제, 2)쓴맛, 흠냄새 등 현지 소비자의 기호도를 충족시키지 못하는 문제, 3)수출대상국별 기능성 식품 관련 제도에 대한 정보 부재, 4)현지 적합형 다양한 제형의 제품 부재 등으로 현실적으로 어려운 실정임
- 미국인들이 가장 선호하는 기능성 식품의 섭취형태는 음료형태인 것을 알 수 있으며, 건강음료 시장에서 판매되는 음료 형태별로 보면 전체 건강 음료시장의 1위는 Lesser-Evil

Food(low-sodium, low-calorie, trans fatty acids free, caffeine free 등)로 전체 시장의 46%를 차지하고 있으며, 기능성 음료가 41%를 차지하고 있으며, 천연음료와 유기농음료는 각각 8%와 5%를 차지하고 있음

- 또한 전체 기능성 음료 시장에서도 Soda, Water, Sport/Energy 음료가 전체시장의 63%를 차지하는 것으로 나타나 미국인들이 가장 선호하는 기능성 식품의 섭취 형태는 음료형태이며, 선호하는 기능성은 Sport/Energy와 관련된 제품인 것을 알 수 있음

- 세계가 일일 생활권이 되고, 인구가 고령화됨에 따라 인플루엔자는 쉽게 세계로 확산될 가능성 있으며, 국가간 교역 및 경제 등에 손실을 초래할 수 있어 이를 조절할 필요 있으며, 인플루엔자 바이러스는 종류가 다양하며 고병원성 등 새로운 변종으로 계속 진화하고 있어 인류도 이를 극복할 수 있는 면역체계를 갖추는 것이 필요함

- 따라서 고부가치의 인삼제품류의 수출 확대를 위해서는 수출대상국별 소비자 기호도, 제품 유형, 타겟 기능성의 선정 및 과학적 검증 등 종합적이고 체계적인 마케팅 전략이 필요함

- 인삼 신품종 연구 현황을 보면 1960년도부터 인삼육종을 시작하여 이제 어느 정도 가능성을 보여 주고 있으며, FTA에 대비하여 인삼농가의 경쟁력 확보와 안정적인 원료삼의 공급을 통하여 인삼산업 전체의 지속적인 발전을 도모할 필요가 있음

- 현재 육성된 품종은 모두 재래종에서 순계분리법에 의해 육성되었고 1년간 육묘된 묘삼을 본포에 이식할 경우 2년생에서도 개화가 되나 결실되는 종자는 2~5개 정도이며, 3년생부터 본격적으로 개화를 하여 열매가 맺히기 때문에 교배 육종에 의해 신품종이 개발되기까지 최소한 30년 이상이 소요되고, 또한, 유전적으로 고정되고 형질이 우량한 유전자원이 충분하지 못하여 교배를 통한 유전변이의 창출이 어려움 등 많은 제약이 있으므로, 이를 극복할 수 있는 고기능성 신품종 육종기술과 분자 수준의 바이오마커를 활용한 품종구별 기술 개발이 필요함

#### IV. 연구개발 내용 및 범위

○ 사포닌 고함유 고기능성 안전 인삼 생산 기술

-K-1과 G-1의 특성조사 및 산지적응시험

-기 개발된 품종유망 계통 3종에 대한 특성검정

-30종의 예비 인삼 계통으로부터 기능성 물질 및 진세노사이드 고함유 계통 선별

-조기 신품종개발을 위한 DNA 분자마커의 개발 및 PCR을 이용한 계통의 구별

-각 예비 계통의 사포닌 및 기타 기능성 성분의 HPLC 및 MS 분석

○ 효능 타겟형 유효성분 조절 기술 개발

-PD/PT 비율 조절을 위한 최적 용매 조건 설정

-유기산 처리 용매에 의한 추출조건 확립

- 전극 분해 장치를 이용한 유효 성분의 선택적 추출 기술 개발
- 한외여과를 활용한 기능성 성분 분획
- 국내, 국제 임상시험을 통한 효능 검증

○ 미주 시장을 대상으로 현지 소비자 부합형 기호도 개선 기술

- 미주시장 내 고려인삼 인식도, 기호성 요인 조사
- 미주시장 부합형 기호성 개선 인삼 가공기술 개발
- 선택적 인삼추출·조합 모델 가공기술의 표준화 및 현장 적용 검증
- 미주시장 부합형 인삼 음료 기술 개발
- 인삼음료 시제품의 현지 기호성 평가 및 품질개선 연구

○ 미주 시장을 대상으로 현지 부합형 제형/제품화 기술 개발

- 캐리어 표준화 및 최적화
- 기능성 성분 선별 및 제형의 formula 개발
- Scale-up을 통한 표준화 구축
- 최종 Prototype 시제품 생산
- 장/단기 안정성 시험 설계 및 시험
- 대량생산 표준 시스템 기술 개발
- 시장 진입을 위한 브랜드 개발 및 마케팅 전략 수립

## V. 연구개발결과

○ 사포닌 고함유 고기능성 안전 인삼 생산 기술

- 인삼의 품종유망계통의 수집 및 특성검정
  - 기존 03계통군 5계통, 07계통군 31계통, 08계통군 62계통(북미삼 10계통), 09계통군 46계통(북미삼 14계통), 10계통군 72계통(북미삼 21계통), 11계통군 85계통(북미삼 20계통), 12계통군 71계통(북미삼 18계통) 합계 372계통
  - 본 과제에서 발생된 13계통군 99계통(북미삼 49계통), 14계통군 92계통(북미삼 41계통), 15계통 50계통(북미삼 15계통) 합계 241계통으로 총 613계통을 관리하며 특성검정을 완료

- 특정 Ginsenoside 고함유 신품종 2종 및 예비 품종 계통 3종 육성

Ginsenoside 함량이 매우 높은 진사와 진삼을 육성하여 품종출원 중에 있으며 2년차 시험을 종료하였으며, 앞에 제시한 613계통 중에 진세노사이드 함량이 높은 계통은 07계통군의 0722계통 외 2계통, 08계통군의 0811계통 외 6계통, 09계통군의 0902계통 외 3계통, 10계통군의 1005계통 외 4계통에서 매우 높은 진세노사이드 함량을 보여 예비 우수품종 총 19계통이 육성되고 있음

- 조기 신품종개발을 위한 DNA 분자마커의 개발 및 신품종 구별마커의 개발

진사와 진삼의 분자마커는 개발완료 하였으며, 예비 품종에 대한 마커는 지속적으로 연구되고 있음

○ 효능 타겟형 유효성분 조절 기술 개발

- 인삼 성분 조절에 따른 항피로 효과 검정 (국내 운동선수 대상 임상실험)
- 항피로 소재(M4) 활용 시제품 생산 및 미국 현지인 대상 임상실험
- 인삼의 면역증진 기능성 성분 분획(GS-3K8) 표준 제조공정 확립
- GS-3K8 소재 항인플루엔자활성 평가 면역 증진 생리활성 평가
  - 기능성 분획 in vitro/in vivo 항인플루엔자 활성 평가
  - 기능성 성분 강화 소재의 임상시험

○ 미주 시장을 대상으로 현지 소비자 부합형 기호도 개선 기술

- 미주시장 부합형 선택적 인삼농축액 모델 개발 및 시생산

기호성 개선 효과가 있는 홍삼의 추출단계별(1차~6차) 관능강도를 평가한 후 선택적으로 조합하는 재구성 인삼농축액 모델 희석액의 관능평가와 전자혀를 이용한 맛 평가를 통해 미주시장 부합형 선택적 인삼 추출·농축액 모델을 설정

- 미주시장 부합형 음료 개발

- 홍삼농축액의 가용성 고형분 및 조사포닌 함량을 식품공전상의 홍삼음료 제조/가공 기준(홍삼사포닌 70 mg/g 기준 0.15% 이상)에 해당하는 조사포닌 농도가 되게 조정
- Natural flavor, reduced-sugar ginseng beverage(KGB- I), Natural flavor, berry juice, reduced-sugar ginseng beverage(KGB- II) 및 Zero calorie, no sugar ginseng beverage(KGB-III) 컨셉의 후보군 선정

○ 미주 시장을 대상으로 현지 부합형 제형/제품화 기술 개발

- 원료시험 방법의 표준화

Diol계 중 Rb1, Rb2, Rc, Rd를 지표물질 후보로 선정 후 특이성(Specificity), 직진성(Linearity), 정확성(Accuracy), 정밀성(Precision)에 대한 validation을 실시

- 원료의 기준규격 설정

- 지표성분의 기준규격은 Rb1 12.0 mg/g, Rb2 8.0 mg/g, Rc 12.0 mg/g으로 설정
- 잔류농약, 미생물, 중금속의 기준규격 시험 완료

- Formula 개발

임상시험용 Formula 및 placebo Formula 설정

- 임상 시험용 시제품 개발 및 안정성 시험

- 시제품의 안정성 시험은 식품의약품 안전청의 가이드라인에 의거하여 실시하였으며, 품질지표 중 성장, 대장균군, 봉해시험에 대해 상대습도 90%에서 각 25℃, 35℃, 45℃ 조건에서 5개월의 저장기간 동안 품질기준을 측정된 결과 모두 적합하였음
- 품질지표 중 Rb1, Rb2, Rc에 대해 상대습도 90%에서 각 25℃, 35℃, 45℃ 조건으로 5개

월간의 저장기간 동안 표시량의 80% 이상인 품질기준을 충족함

- 저장기간 동안 주요 기능성분인 Rb1, Rb2, Rc에 대해 Arrhenius식 모델을 이용하여 각각의 유통기한을 예측한 결과 최종 유통기한을 24개월로 설정하였고, 이 기간 동안 본 제품을 유통할 경우 충분히 제품 안정성을 확보할 수 있을 것으로 판단됨

- 시제품 및 제품의 생산 공정 프로세스 개발

- 원료칭량, 캡슐 충전 및 성형, 젤 필름(캡슐제) 조제, 내용물 조제, 충전, 건조, 선별, 포장으로 공정을 세분화
- 세부 공정도와 생산과정을 참조하여 제조기술표준을 완성
- 기술표준을 적용하여 한외여과 추출물을 주원료로 생산한 “Ginseng Immune Up” 제품과 인삼가수분해 농축액을 주원료로 생산한 “Ginst Immune Up” 제품을 최종 완제품으로 개발함

## VI. 연구성과 및 성과활용 계획

연구목표	연구성과
① 항피로 에너지/스포츠 소재 개발	-인삼 성분 조절에 따른 항피로 효과 검정 (국내 운동선수 대상 임상실험) -항피로 소재(M4) 활용 시제품 생산 및 미국 현지인 대상 임상실험
② 인플루엔자 억제 활성에 기초한 면역증진용 인삼제품 개발	-한외여과를 활용한 항인플루엔자 활성 성분 분리 및 임상실험을 통한 활성 검정 -진세노사이드 Re가 강화된 인삼 소재 개발
③ 미주시장 부합형 기호성 개선 인삼 가공기술 개발	-선택적 인삼추출 모델의 표준화 공정 설정 -미국 수출용 인삼 음료 2종 개발
④ 면역증진 기능성 인삼제품의 제형 및 제품 개발	-원료 표준화 및 기준 규격 설정 -면역 활성이 증진된 인삼 제품 “Ginseng Immune Up” 및 “Ginst Immune Up” 개발
⑤ 사포닌 고함유 고기능성 안전 인삼 생산 기술	-개발된 K-1과 G-1의 특성 및 산지적응시험 -신품종 “진삼” “진사” 2개 품종 출원

- 향산화/피로회복 제품개발 기술을 활용하여 건강기능식품 및 건강지향식품 개발하여 상품화할 계획이며, 기술을 응용하여 또 다른 분야의 제품개발에 적용할 수 있음

- 한외여과를 활용한 인삼의 유효성분 분리기술을 확대하여 타겟 효능에 적합한 소재 개발이 가능하며, 참여기업인 (주)일화의 면역증진 제품 개발에 관련 기술을 이전하여 상품화할 수 있을 것으로 판단됨

- 선택적 추출 기술을 이용한 인삼의 기호성이 증진된 소재 개발 기술은 이미 업체에 기술이전이 완료 되었으며, 미국 시장 진출을 위한 상용화가 이루어질 것으로 판단됨

- 인삼 종주국으로서 인삼 품종의 구별, 외국삼과의 차별화를 위한 기술로 활용 가능하며, 향후 신품종 개발 시 연구기간 단축 및 순도 검정 기술로 활용될 수 있음



## SUMMARY

### I. Title

Development of standardization and regulation technique for functional ingredients of Korean ginseng

### II. Performance against research goals

Outcome goals	Commercialization index								
	IPRs		Technology transfer	Commercialization					technology certification
	Application	Registration		Production	Technology business	Sales creation	Job creation	Investment	
Final goal	10	4	3						
Accomplished performance within research periods	21	6	7	2					
Accomplishment rate (%)	200	150	230						

Outcome goals	Research-based index							
	Academic outcomes			Education guidance	Human resources training	Policy utilization promotion		Other (Utilization of other research)
	Paper		Academic presentation			policy utilization	Promotion exhibition	
	SCI	Non-SCI						
Final goal	10	7		5		1	10	
Accomplished performance within research periods	14	5	4	7	9		14	
Accomplishment rate (%)	140	70		140			140	

### III. The purpose and necessity for research development

#### ○ R&D Objectives

- To develop locally suitable ginseng-based anti-fatigue energy/sports beverages with improved acceptability using influenza-related immune-improving materials, for export to and commercialization in the Americas.

- To develop novel technologies for the production of high-saponin ingredients, the control of efficacy-targeted active ingredients, and the improvement of ginseng's acceptability for local consumers, and a technology for formula and product manufacturing, for market entry as target technologies for commercialization.

○ Necessity of R&D

- An analysis of the current status of ginseng exports showed that the export of the red ginseng was extremely high, while the export of high value-added products accounted for 29% of all exports. This is because the ginseng exports have largely been concentrated in targeted northeast Asian countries such as China, Hong Kong, Taiwan, and Japan, where the consumption of the red ginseng has traditionally been rather high. Thus, it is necessary to diversify the markets.
  
- The export of ginseng to advanced countries such as the USA and Europe, which are currently leading the world's functional food markets, has run up against practical difficulties due to issues surrounding 1) the safety of raw ginseng, 2) local consumers' dissatisfaction with ginseng's acceptability, such as its bitter taste and earthy smell, 3) a lack of information on the regulations on functional foods of the target countries, 4) and a lack of locally acceptable products with various formulas.
  
- The type of functional foods most preferred by Americans is beverages. The number one product sold in the health beverage market is Lesser-Evil Food (a low-sodium, low-calorie drink free of trans fatty acids and caffeine), which accounts for 46% of the market, followed by functional beverages at 41%, and natural beverages and organic beverages at 8% and 5%, respectively.
  
- In addition, beverages such as soda, water, and sports/energy beverages account for 63% of the whole functional beverage market. Thus, it is suggested that the type of functional foods most preferred by American consumers is beverages, while the most preferred functionality is sports/energy related products.
  
- As the world becomes a "one-day life zone" and the population ages, influenza and other viruses can be easily spread around the world. As such, it is necessary to control the spread of infectious diseases in order to prevent losses in international trade and economy. Furthermore, it is necessary for mankind to prepare the immune system to overcome continuously evolving new varieties of influenza viruses, including highly pathogenic ones.
  
- Therefore, comprehensive and systematic marketing strategies - including improved acceptability for consumers in the target countries, product type, and target functionality selection and scientific verification - are needed to increase the export of high value-added ginseng products.
  
- Studies on new varieties of ginseng have shown some possibilities since the beginning of ginseng breeding in the 1960s. Now, it is necessary to promote the continuous

development of the whole ginseng industry by boosting the competitive power of ginseng farms and securing a stable supply of raw ginseng in preparation for enforcement of the FTA.

- All of the current varieties have been bred from native varieties of ginseng using the pure line separation method. It usually takes at least 30 years to develop a new variety by cross-breeding because, when ginseng seedlings grown for one year are transplanted to a permanent field, they flower in the second year but bear just 2-5 fruits; in fact, they only really flower and fully bear fruit from the third year. Also, there are several limitations because genetic resources with genetic fixation and excellent characteristics are insufficient, and the creation of genetic variation through crossbreeding is difficult. Thus, to overcome such problems, it is necessary to develop a breeding technology for new varieties with high functionality and a variety-differentiating technology using molecular bio-markers.

#### **IV. Contents and scope of research development**

- Saponin rich, high-functional, safe ginseng production technology
  - Characteristics and provenance adaptability testing of K-1 and G-1
  - Verification of characteristics for three promising, previously developed varieties.
  - Selection of ginseng varieties containing functional substances and high ginsenoside content from among 30 candidate varieties.
  - Development of a DNA molecular marker and differentiation of varieties using PCR for the early development of new varieties.
  - Analysis of HPLC and MS for saponin and other functional substances in each candidate variety.
- Development of efficacy-targeted active ingredient control technology
  - Establishment of the optimal solvent condition for controlling the PD/PT ratio.
  - Establishment of extraction conditions using organic acid treated solvents.
  - Development of a selective extraction technique for active ingredients using electrodes.
  - Fractionation of functional substances using ultrafiltration.
  - Efficacy verification by domestic and international clinical trials.
- Development of technology for improving ginseng's acceptability for consumers in the American market
  - Survey on recognition and acceptability factors of Goryeo ginseng in the American market.
  - Development of ginseng processing techniques for improving ginseng's acceptability to suit the taste of the American market.

- Standardization and local application of selective ginseng extraction and combination model processing technology.
  - Development of a ginseng beverage technology for American markets.
  - Research on evaluation of acceptability in the American market and improvement of quality prototype ginseng beverages.
- Development of formula/commercialization technology for the American market
- Carrier standardization and optimization.
  - Selection of functional ingredients and development of a formula type.
  - Establishment of standardization by scaling up.
  - Production of final prototype products.
  - Long-term/short-term stabilization test design & test performance.
  - Development of mass-production standard system technology.
  - Brand development for market entry and the formulation of marketing strategies.

## **V. Results of research and development**

- High-saponin, high-functionality, safe ginseng production technology
- Collection and verification of characteristics of promising varieties of ginseng
    - Existing 03 line 5 varieties, 07 line 31 varieties, 08 line 62 varieties (American ginseng 10 varieties), 09 line 46 varieties (American ginseng 14 varieties), 10 line 72 varieties (American ginseng 21 varieties), 11 line 85 varieties (American ginseng 20 varieties), 12 line 71 varieties (American ginseng 18 varieties): 372 varieties in total.
    - Varieties developed by this project: 13 line 99 varieties (American ginseng 49 varieties), 14 line 92 varieties (American ginseng 41 varieties), 15 line 50 varieties (American ginseng 15 varieties): 241 varieties in total. The 613 varieties (final total) were controlled and subjected to a verification of their characteristics.
  - Two new varieties with a high content of specific ginsenosides and three candidate varieties were bred.
- Ginsam and Ginsa with high ginsenoside contents were bred and applied for new varieties, and the second-year test was completed. Among the 613 varieties described above, a total of 19 excellent candidate varieties with a high ginsenoside content have been bred: 07 line 0722 variety and 2 others; 08 line 0811 variety and 6 others; 09 line 0902 variety and 3 others; 10 line 1005 variety and 4 others.
- Development of DNA molecular marker and new variety differentiating marker for early development of new varieties

The development of molecular markers for Ginsa and Ginsam were completed; markers for candidate varieties have been continuously studied.

- Development of efficacy-targeted active ingredient control technology
  - Verification of anti-fatigue effects by controlling ginseng ingredients (clinical trials with domestic athletes).
  
  - Production of prototypes using anti-fatigue material (M4) and clinical trials for local consumers in the USA.
  
  - Establishment of a standard manufacturing process for immune-improving functionality substance fraction (GS-3K8) of ginseng.
  
  - Evaluation of GS-3K8 materials for anti-influenza activity and immune-improving activity.
    - Evaluation of functionality fraction in vitro/in vivo anti-influenza activity.
    - Clinical trials with materials with improved functionality.
  
- Development of acceptability-improving technology for local consumers in the American market
  - Development and prototype production of a selective ginseng concentrate model suitable for American markets.

A selective ginseng extract and concentrate for the American market was obtained through sensory evaluation using a diluted solution of selectively re-combined ginseng concentrate model after evaluating the sensory intensity of red ginseng extract at each extraction stage (1st~6th) for a acceptability improving effect, and evaluating the taste using an electronic tongue.

  - Development of beverages targeted for the American market
    - The soluble solid content and crude saponin content of red ginseng concentrate were controlled to satisfy the criteria of the Korean Food Standard Codex for the production and processing of a red ginseng beverage (red ginseng saponin 70 mg/g, 0.15% and above).
    - Selection of candidate groups for the new concept of ginseng-based beverage with a natural flavor, reduced-sugar content (KGB-I); a ginseng-based beverage with a natural flavor, berry juice, and reduced sugar content (KGB-II), and a sugar-free ginseng beverage with zero calories (KGB-III).
  
- Development of formula/commercialization technology targeting the American market

- Standardization of test methods for ingredients

Validation tests were conducted on specificity, linearity, accuracy, and precision after selecting Rb1, Rb2, Rc, and Rd (from among diol-type substances) as candidates for the index materials

- Establishment of standard criteria for ingredients

- The standard criteria for index materials were established as Rb1 12.0 mg/g, Rb2 8.0 mg/g, and Rc 12.0 mg/g.
- The testing of the standard criteria for residual pesticides, microbes, and heavy metals was completed.

- Formula development

Establishment of a formula and a placebo formula for clinical trials

- Prototype development and stabilization test for clinical trials

- The stabilization test for the prototype products was performed according to the guidelines of the MFDA( Ministry of Food and Drug Safety); the quality standard was measured for properties, coliform group, and disintegration test (among the various possible quality indexes), at 90% relative humidity and at temperature conditions of 25°C, 35°C, and 45°C for a storage period of 5 months, the results of which were suitable.
- The quality criteria over 80% of the labelled quantity was satisfied for Rb1, Rb2, and Rc at relative humidity of 90% and at temperature conditions of 25°C, 35°C, and 45°C for a storage period of 5 months.
- During the storage period, the shelf-life of the major active ingredients, Rb1, Rb2, and Rc, was expected using the Arrhenius model and finally established as 24 months, during which the stability of the products can be sufficiently guaranteed.

- Development of production processes for prototypes and products

- The process was subdivided into ingredients weighting, capsule filling and shaping, gel film (capsules) making, content making, filling, drying, sorting, and packing.
- The manufacturing technical standard was completed by referring to the detailed process flow chart and production procedures.
- Two final products were developed by applying the relevant technical standards: "Ginseng Immune Up," which is manufactured with an ultrafiltration extract as the main ingredient, and "Ginst Immune Up," which is manufactured with ginseng hydrolysis concentrate as the main ingredient.

## VI. Research products and future plan

Research goal	Research outcome
① Development of anti-fatigue energy/sports materials	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verification of ginseng's anti-fatigue effects by controlling the ingredients (and clinical trials with domestic athletes).</li> <li>- Production of a prototype using an anti-fatigue material (M4), including clinical trials with local consumers in the USA.</li> </ul>
② Development of immune-improving ginseng products based on influenza-inhibitory activity	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Isolation of anti-influenza active substances by ultrafiltration and verification of activity through clinical trials.</li> <li>- Development of ginseng materials containing fortified ginsenoside Re.</li> </ul>
③ Development of ginseng processing techniques with improved acceptability targeting the American market	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Establishment of a standardization process for a selective ginseng extraction model.</li> <li>- Development of two types of ginseng beverages.</li> </ul>
④ Development of formula and products using immune-improving functional ginseng	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Establishment of standardization and standard criteria for ingredients.</li> <li>- Development of ginseng products with improved immune activity, <i>Ginseng Immune Up</i> and <i>Ginst Immune Up</i>.</li> </ul>
⑤ Production technology of high-saponin, high-functional, and safe ginseng	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Characteristics of developed K-1 and G-1, and provenance adaptability test was carried out</li> <li>- Application for patents for two new varieties, "Ginsam" and "Ginsa."</li> </ul>

- Commercialization is planned by developing health functional foods and health-oriented foods using a novel technique for producing anti-oxidation/anti-fatigue products, which can also be applied to the development of products in other areas.

- It should be possible to develop materials suitable for the targeted efficacies by extending the technology for isolating ginseng's active ingredients using ultrafiltration. Its commercialization is expected through the technology transfer of techniques related to the development of immunity-improving products by the participating company, Ilhwa.

- The technology for developing materials with improved acceptability of ginseng using a selective extraction technique has already been completed for technology transfer to the related companies, and its commercialization and launch in the American market is expected.

- In the country from which ginseng originated, it can be used as a technology for distinguishing ginseng varieties and differentiation from foreign ginseng. It could also be used to reduce the research period for the development of new varieties, and as a technique for verifying ginseng's purity in the future.



# CONTENTS

- I. Overview and performance goals of the research & development projects
- II. Technical development status in domestic and international
- III. Contents and results of research & development
- IV. Goal achievement and contribution to the relevant field
- V. research & development results and performance utilization plan
- VI. Collection of international scientific and technological information from the research & development
- VII. Performance on laboratory safety management
- VIII. References

## 목 차

- 제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표
- 제 2 장 국내외 기술개발 현황
- 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과
- 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도
- 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획
- 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보
- 제 7 장 연구실 안전관리 이행실적
- 제 8 장 참고문헌

# 제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

## 제 1절. 연구개발과제의 개요

### 1. 향피로/에너지 스포츠 음료 소재 개발 분야

- Data Monitor에서 발표한 자료를 보면 2009년 건강기능식품 시장은 808억달러로 최근 5년간 해마다 5-6% 대의 성장세를 보이고 있으며, 미국이 전체 건강기능식품 시장의 46%를 차지하고 있는 가운데 일본이 24%, 중국 9%, 독일, 이태리, 한국이 각각 4%, 영국 3%, 대만, 프랑스, 캐나다 각각 2%를 차지하고 있는 것으로 나타남

표 1. 건강기능식품 시장규모 (단위 : 억 달러)

시장규모	2005년	2006년	2007년	2008년	2009년	CAGR
세계시장	643	682	723	764	808	5.9%
성장률	-	6.0%	6.0%	5.7%	5.7%	

출처 : Study highlights changing attitudes to health & wellness, DataMonitor,

- 특히 주목할 것은 기능성식품에 대한 관심요인을 조사하였을 때 국가별로 차이를 보이고 있으나, 미국, 영국, 프랑스, 독일의 경우 에너지 충전에 관한 소비자의 관심도가 높은 것으로 나타나고 있음
- 본 연구에서 타겟으로 하는 미국시장의 경우 전체 식품시장에서 음료형태의 제품이 차지하는 비율은 육류(24%) 다음으로 높은 21%의 시장 점유율을 보이고 있으며, 전체 건강식품 시장에서도 기능성 음료는 220억달러로 58% 이상의 점유율을 보이고 있으며, 2017년까지의 시장 전망에서도 연 4%의 꾸준한 성장세를 유지할 것으로 판단됨

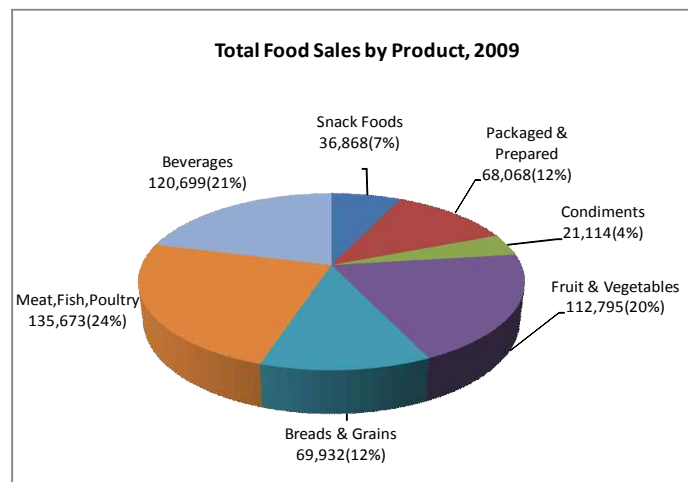


그림 1. 미국의 식품시장 중 음료시장의 비중

(Source: Nutrition Business Journal estimates. (smil, consumer sales), 2010)

표 2. 미국 기능성 식품시장에서 기능성 음료의 성장 전망

Functional Beverages vs. Total Functional Food Sales, 2010-2017e								
Category	2010	2011	2012e	2013e	2014e	2015e	2016e	2017e
Functional Beverages	22,621	23,861	25,137	26,473	27,843	29,143	30,373	31,619
Growth	4.6%	5.5%	5.3%	5.3%	5.2%	4.7%	4.2%	4.1%
Functional Foods	38,925	40,907	42,985	45,139	47,290	49,340	51,289	53,232
Growth	4.2%	5.1%	5.1%	5.0%	4.8%	4.3%	4.0%	3.8%
<b>Functional Beverages as % of Total Functional Foods</b>	<b>58.1%</b>	<b>58.3%</b>	<b>58.5%</b>	<b>58.6%</b>	<b>58.9%</b>	<b>59.1%</b>	<b>59.2%</b>	<b>59.4%</b>

Source: Nutrition Business Journal estimates. (Smil., consumer sales), 2010

- 미국인들이 가장 선호하는 기능성 식품의 섭취형태는 음료형태인 것을 알 수 있으며, 건강음료 시장에서 판매되는 음료 형태별로 보면 전체 건강 음료시장의 **1위는 Lesser-Evil Food(low-sodium, low-calorie, trans fatty acids free, caffeine free 등)로 전체 시장의 46%를 차지**하고 있으며, **기능성 음료가 41%를 차지**하고 있으며, 천연음료와 유기농음료는 각각 8%와 5%를 차지하고 있음

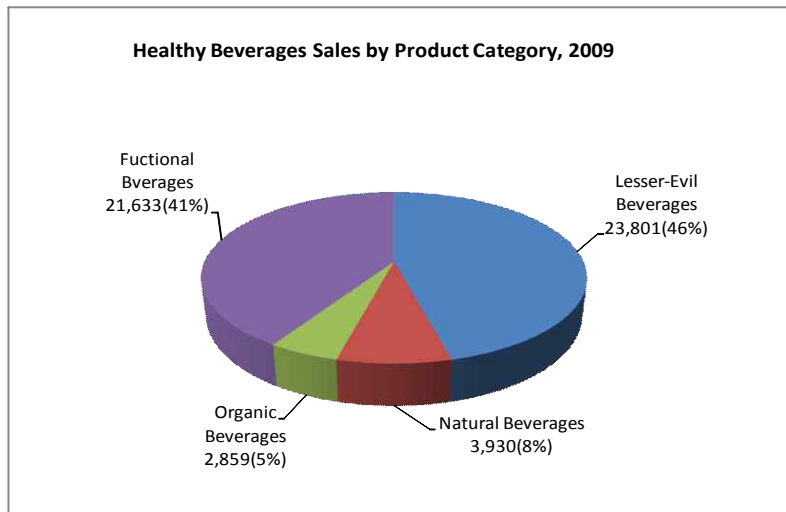


그림 2. 미국 건강음료 시장 중 기능성 음료시장의 비중

(Source: Nutrition Business Journal estimates. (smil., consumer sales), 2010)

- 또한 전체 기능성 음료 시장에서도 **Soda, Water, Sport/Energy 음료가 전체시장의 63%를 차지**하는 것으로 나타나 **미국인들이 가장 선호하는 기능성 식품의 섭취 형태는 음료형태이며, 선호하는 기능성은 Sport/Energy와 관련된 제품인 것**을 알 수 있음

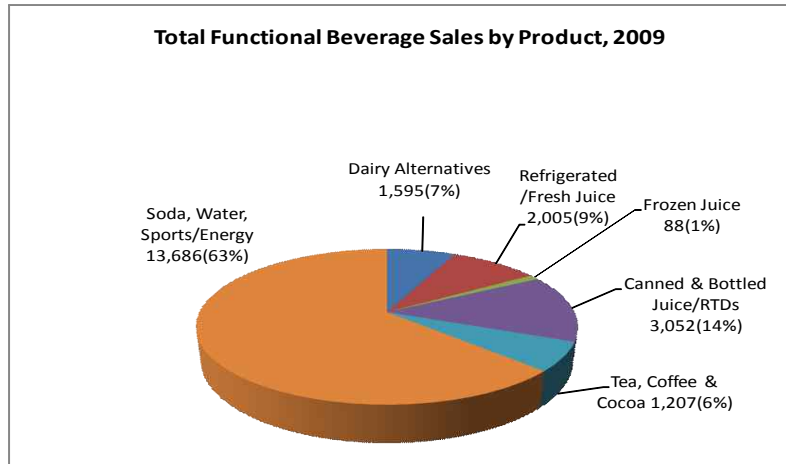


그림 3. 미국 기능성 음료의 유형별 판매 형태

(Source: Nutrition Business Journal estimates. (smil, consumer sales), 2010)

## 2. Influenza 관련 면역 제품 분야

- 세계가 일일 생활권이 되고, 인구가 고령화됨에 따라 인플루엔자는 쉽게 세계로 확산될 가능성 있으며, 국가간 교역 및 경제 등에 손실을 초래할 수 있어 이를 조절할 필요 있으며, 인플루엔자 바이러스는 종류가 다양하며 고병원성 등 새로운 변종으로 계속 진화하고 있어 인류도 이를 극복할 수 있는 면역체계를 갖추는 것이 필요함
- 2009년 발생한 신종플루는 아메리카 대륙을 중심으로 감염율이 높았으며, 전세계적으로 **미국이 447명의 사망**하여 가장 많은 인명피해를 입은 것으로 나타남

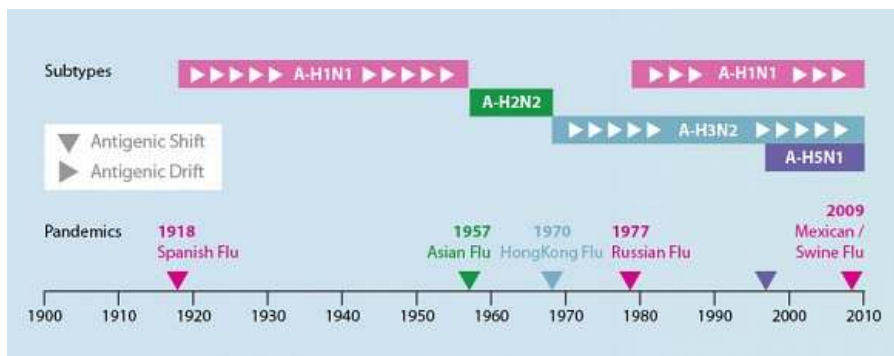


그림. 20세기에서 21세기에 세계적으로 유행하는 인플루엔자 바이러스의 변이

(Source: Courtesy of Abbott Biologicals, Weesp, the Netherlands)



그림 4. 2009년 New Influenza A(H1N1)에 의한 감염 및 사망자 수

(Source: WHO, 2010)

- 현재 미 FDA의 승인을 받고 있는 항인플루엔자 바이러스 치료제는 계절독감을 예방하고 치료할 수 있으나 약물내성 바이러스 및 변종바이러스의 출현이 증가하고 있어 인체의 면역조절에 의한 극복이 요구되고 있음.

#### 다. 신품종 육종 분야

- 인삼은 한국을 대표하는 특산물로 한국문화상징 Best 10, 세계일류상품 55개, 한국일등상품 10개 중 하나임. 세계시장에서도 그 우수성을 인정받고 있는 농산물임에도 FTA체결로 중국이나 미국 캐나다 등에 의해 상당한 도전을 받고 있는 실정임
- 국제적으로는 세계 여러 나라들과 FTA체결로 인해 재배할 만한 마땅한 작물의 선택의 폭이 좁고 실령 재배된 작물도 경제수지를 맞추기가 어려운 현실임. 특히 우리의 주곡물인 벼에 대한 대체작물로 인삼을 각 지자체마다 강력 추천함과 동시에 지원사업이 활발히 진행되고 있어 과잉생산문제와 더불어 원료삼의 품질저하가 문제가 되고 있는 형편임. 나아가 우리와 같은 종을 재배하고 있는 중국과의 FTA 체결로 국내 인삼시장의 지각변동이 있을 것으로 판단됨
- 현재까지 개발된 인삼품종은 1998년에 KT&G 전신인 한국인삼연초연구원에서 최초로 천풍과 연풍을 품종판매 신고를 함으로 최초의 품종으로 등록되었으며, 2000년에 보호작물로 선정됨에 따라 천풍과 연풍, 고품, 선풍 및 금풍 5품종을 출원하였음. 2003년에 선운과 선원 2품종을 2004년에 청선 1품종을 출원하여 2011년 현재 13품종이 개발되었음
- 인삼 신품종의 육성은 FTA에 대비하여 한국의 농가가 살아 갈수 있는 길이며 우리나라는 1960년도에부터 인삼육종을 시작하여 이제 어느 정도 가능성을 보여 주고 있으나 외국에서는 거의 인삼육종 분야는 초보적 수준이거나 관심이 없는 형편임. 이는 인삼육종기

간이 너무 오래 걸리기 때문임. 그러나 우리나라는 그동안 많은 예비계통을 육성하였기에 이에 대한 연구가 지속된다면 새로운 품종이 단기간에 많이 나올 수 있을 것으로 판단됨

- 이에 한걸음 더 나아가 당뇨, 항암 및 노화방지관련 진세노사이드 고 함유 등의 기능성 중심의 새로운 품종을 개발 육성할 필요가 있다고 봄.

## 제 2절. 연구성과 목표 대비 실적

### 가. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 항피로 에너지/스포츠 소재 개발	- 인삼 성분 조절에 따른 항피로 효과 검정 (국내 운동선수 대상 임상실험) - 항피로 소재(M4) 활용 시제품 생산 및 미국 현지인 대상 임상실험
② 인플루엔자 억제 활성에 기초한 면역 증진용 인삼제품 개발	- 한외여과를 활용한 항인플루엔자 활성 성분 분리 및 임상실험을 통한 활성 검정 - 진세노사이드 Re가 강화된 인삼 소재 개발
③ 미주시장 부합형 기호성 개선 인삼 가공 기술 개발	- 선택적 인삼추출 모델의 표준화 공정 설정 - 미국 수출용 인삼 음료 2종 개발
④ 면역증진 기능성 인삼제품의 제형 및 제품 개발	- 원료 표준화 및 기준 규격 설정 - 면역 활성이 증진된 인삼 제품 “Ginseng Immune Up” 및 “Ginst Immune Up” 개발
⑤ 사포닌 고함유 고기능성 안전 인삼 생산 기술	- 개발된 K-1과 G-1의 특성조사 및 산지적용시험 - 신품종 “진생” “진사” 2개 품종 출원

### 나. 연구목표 대비 성과

성과목표	사업화지표								연구기반지표								
	지식 재산권		기술이전	사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용		기타 (타 연구용 등)
	출원	등록		제품화	기술창업	매출창출	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정확	홍보	
										SCI	비 SCI						
최종목표	10	4	3						10	7		5		1	10		
연구기간 내 달성실적	21	6	7	2					14	5	4	7	9		14		
달성율(%)	200	150	230						140	70		140			140		

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 인삼의 주요 생리활성 물질은 사포닌, 폴리아세틸렌, 산성다당체, 페놀계화합물, lignin 등이 알려져 있지만 인삼 중 3-6% 함유되어 있는 인삼사포닌(ginsenoside)에 대한 연구가 집중적으로 이루어져 왔음
- Ginsenoside는 panaxdiol group(Ra, Rb, Rc, Rd 계열 및 Rg<sub>3</sub>, Rh<sub>2</sub> 등), panaxtriol group(Re, Rf, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rh<sub>1</sub> 등), oleanane group으로 나누어지며, ginsenoside의 구조에 따라 약리작용이 다른 것으로 보고되고 있으며, 대표적으로 panaxdiol group은 중추신경 억제 및 진정효과, panaxtriol group은 중추신경 흥분효과를 가지는 것으로 알려져 있음. 고려인삼의 경우 PD/PT 비율은 약 2:1의 비율임
- 본 연구과제에서는 ginsenoside의 2가지 group에 의한 작용기전이 다른 것을 이용하여 Energy boosting 스포츠 음료와 면역 증강 소재 개발을 위하여 산업적으로 적용 가능한 공정기술 개발이 필요한 추출·분리 기술을 확보하고자 함
- ginsenoside의 구조에 따른 추출 특성을 시험하기 위하여 추출용매의 극성을 조절하는 기술을 기반으로 에탄올 농도를 조절한 추출용매의 조성, 유기산을 이용한 pH 조절 용매, 적극분해장치를 이용한 pH 조절 기술을 개발하고자 함
- 본 연구진은 에탄올 농도를 조절한 추출조건 실험에서 PT/PD 비율을 조절할 수 있는 것으로 예비실험을 통하여 확인하였으며, 기존의 전통적인 방법에 의한 추출물을 한외여과를 이용하여 PT와 PD 그룹을 분리함
- 국외 에너지 음료시장 규모는 2011년 기준 170억불로 매년 5% 이상의 성장을 보이고 있으며, 국내에서는 200-300억원 정도의 시장을 형성하고 있는 것으로 파악되고 있음.
- 에너지 음료시장의 선두 주자는 오스트리아 음료회사 레드불 GMBH가 제조·판매하는 ‘레드불’로 전세계적으로 300억캔이 판매되었으며, 레드불 코리아를 통해 국내에도 본격적으로 진출하였고, 코카콜라도 ‘번 인텐스’라는 제품을 국내에 출시하였음.
- 국내기업에서도 롯데칠성의 ‘핫식스’, 해태음료의 ‘에네르기’, 동아오츠카의 ‘엑스 코카스’, 광동제약의 ‘파워샷’ 등이 식품회사 뿐만아니라 제약회사에서도 에너지/스포츠 관련 신제품들을 출시하여 2·30대의 젊은 소비자층을 중심으로 시장을 확대하고 있으며, 롯데의 경우 2012년 ‘핫식스’의 매출 목표를 100억으로 전년 대비 40%의 증가를 기대하고 있음.



- 미국에서 감기 등 독감에 걸렸을 때 가장 선호하는 건강기능 식품은 첫째 *vitamin C*, 둘째 *echinacea*, 셋째 *ginseng*, 넷째 Chicken soup, 다섯째 Zinc 인 것으로 나타남

**Table 1. Complementary and alternative medicine therapies for the common cold**

INTERVENTION	EVIDENCE FOR PREVENTION (LEVEL*)	EVIDENCE FOR TREATMENT (LEVEL*)
Echinacea purpurea	No evidence found in 2 RCTs (level IIa)8,9	Evidence found in 5 of 6 RCTs (level IIa)10-15
Zinc lozenges	No trials evaluate prevention	Evidence found in 5 of 9 RCTs (level IIa)16-24
Vitamin C	Evidence found in meta-analysis of 30 RCTs; more benefit in children and in adults under stress (level I)25	No evidence found in meta-analysis of 11 RCTs (level I)25
Ginseng	Inconsistent; evidence found in 2 of 4 RCTs (level IIb)26-29	No trials evaluate treatment
Garlic (allicin)	Evidence found in 1 RCT (level IIb)30	No trials evaluate treatment
Probiotics	No evidence found in 4 of 6 RCTs (level IIa)31-36	No trials evaluate treatment

RCT – randomized controlled trial.

\*Levels of evidence indicated are taken from the Oxford Centre for Evidence-Based Medicine.<sup>37</sup>

Source: Canadian Family Physician, Le Médecin de famille canadien, Vol 57: January, 2011



그림 1. 미국에서 감기에 걸렸을 때 선호하는 식품:

*vitamin C, echinacea, ginseng, Chicken soup, Zinc (Dan Goodman/AP)*

- 화기삼의 다당체와 올리고당 분획의 꾸준한 섭취는 임상연구에서 일반적인 감기횟수를 감소시키고, 증상완화효과를 보이는 것으로 보고되었고, (Gerald N, Predy et al., 2005; Janet E. Mc elhaney et al., 2006) 화기삼의 다당체를 추출하여 이를 지표성분으로 80% 다당체 함유 기능성 소재인

CVT-E002, CVT-E003가 원료 소재 업체인 Cbp(Chem Bio Point)에 의해 개발됨

- 캐나다의 Afexa사는 Cbp의 소재를 활용하여 제품명 CVT-E002™(COLD-fx®)를 2003년 미국시장에 출시하여 2010년 5,000만 달러 이상의 매출을 형성하고 있음

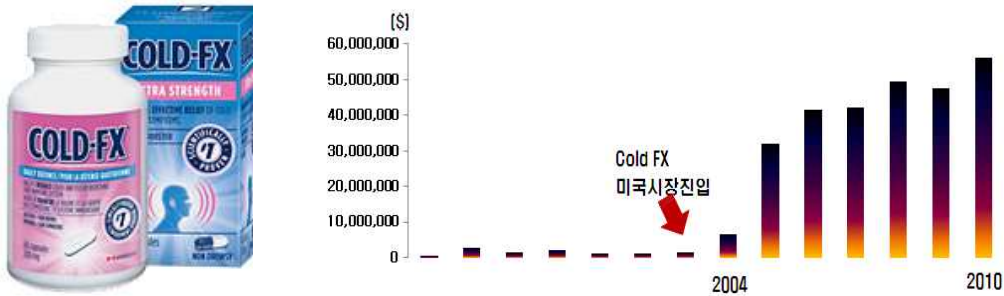
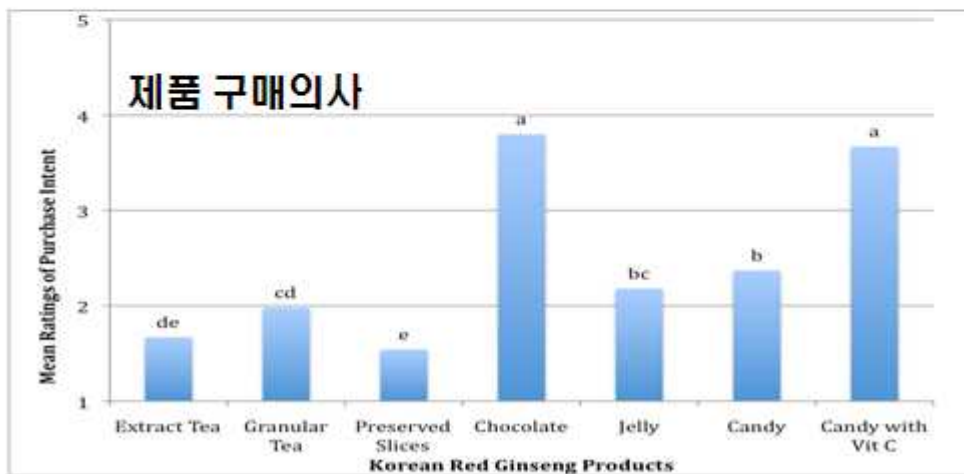
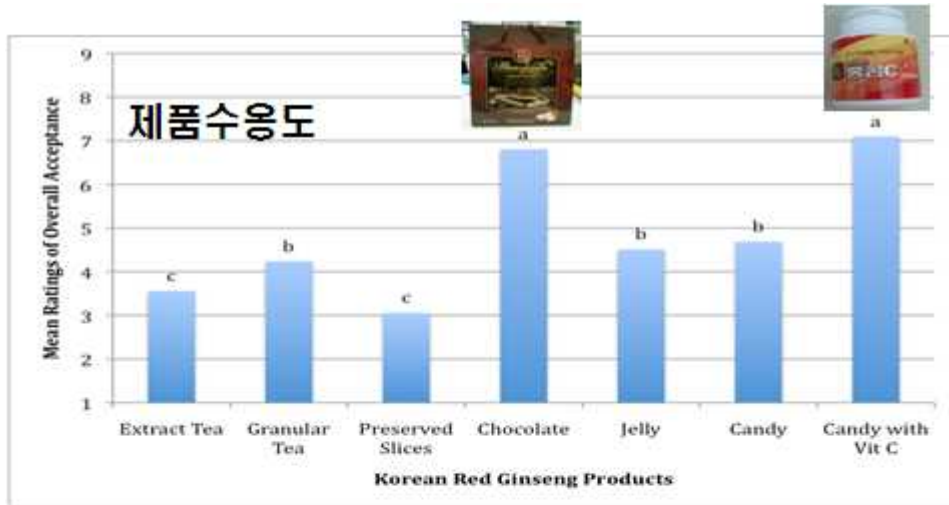


그림 2. Afexa사의 Cold-Fx와 미국시장 규모

- 본 연구진은 인삼추출물을 활용하여 한외여과를 실시하여 한외여과 내액 GS-3K8의 MDCK 세포 레벨 및 동물실험을 통하여 항인플루엔자 활성을 확인하여 특허를 출원하였음.
- 한외여과 내액 GS-3K8은 고분자 다당체와 PPD 계열 사포닌 성분이 농축된 분획으로 항인플루엔자 억제활성에 기초한 면역 증진 작용이 있을 것으로 사료되어 이에 대한 동물 및 임상 실험을 통하여 기능성을 밝히고 이를 타겟으로 하는 제품을 개발하고자 함
- 인삼의 해외 시장 진출 특히 미국을 비롯한 북미, 유럽 등의 선진국에 대한 시장 진출시 문제점은 인삼의 쓴맛, 흙냄새 등이 해외 소비자들의 제품 선택시 부정적인 요인으로 작용함
- 본 연구진이 미국 일리노이 대학교 연구팀과 공동으로 국내 인삼 제품류에 대한 소비자 기호도 조사에서 제품 수용도와 구매의사 항목에서 가장 높은 점수를 받은 제품은 인삼 초콜릿과 비타민 혼합 타블렛 제품이었음.
- 가장 낮은 점수를 받은 제품은 인삼절편제품과 액기스 제품으로 단순한 가공형태의 제품은 인삼의 쓴맛이나 흙냄새가 제거되거나 masking되지 않아 미국 소비자들이 거부감을 가지는 것으로 조사 되었다.



## 인삼제품에 대한 미국 소비자 기호도 조사(2007-2008)

(출처: 한국식품연구원 주요사업 보고서, 2008)

- 인삼의 기호성을 개선하기 위하여 팽화, 발효, 스팀처리 등의 단순 가공전처리 방법을 이용하거나, 쓴맛을 제거하기 위해 aldehyde allylphenol과 vanillin 등의 첨가물을 배합하는 단편적인 가공방법이 현재까지 주를 이루고 있음
- 본 연구과제에서는 원료 인삼의 전처리기술과 선택적 추출모델을 개발하여 인삼의 쓴맛과 흠냄새를 간단하고 효율적인 가공공정을 통하여 제어할 수 있는 기술을 개발하고자 함
- 우리나라는 1960년도에부터 인삼육종을 시작하여 이제 어느 정도 가능성을 보여 주고 있으며, FTA에 대비하여 인삼농가의 경쟁력 확보와 안정적인 원료삼의 공급을 통하여 인삼산업 전체의 지속적인 발전을 도모할 필요가 있음

- 현재 육성된 품종은 모두 재래종에서 순계분리법에 의해 육성되었고 1년간 육묘된 묘삼을 본포에 이식할 경우 2년생에서도 개화가 되나 결실되는 종자는 2~5개 정도이며, 3년생부터 본격적으로 개화를 하여 열매가 맺히기 때문에 교배 육종에 의해 신품종이 개발되기까지 최소한 30년 이상이 소요되고, 또한, 유전적으로 고정되고 형질이 우량한 유전 자원이 충분하지 못하여 교배를 통한 유전변이의 창출이 어려움
- 신품종 육성을 위한 고려인삼의 체계적인 연구가 시작된 시기는 1962년 중앙전매기술연구소가 설립되고 산하에 고려인삼시험장이 설치된 이후이며, 1963년에는 황숙종과 자경종간의 특성비교 연구가 수행되었고 1966년부터 자원을 수집 및 특성 검정이 시작되었으며, 순계선발을 통해 육성된 ‘천풍’과 ‘연풍’ 등이 1968년 수집되어 1997년에 품종으로 등록되었음
- 1980년대는 고려인삼연구소가 한국인삼연초연구소로 확대 개편되면서 인삼의 육종에 관한 연구의 영역도 확대되었으며, 수집된 개체들로부터 선발 육성된 계통중 KG101-KG109의 9개 계통을 지역적응시험에 공시하였고, 황숙종 및 청경종의 이용 가능성 분석, 진세노사이드 함량 비교, 홍삼품질을 분석함
- 본 연구진은 2007년도 농림식품부 지정 고려인삼사업단에 지정되면서 각 품종에 대한 새로운 DNA 분자 마커를 개발하고, 분자마커와 형태구분이 가능한 K-1 인삼신품종을 2012년에 등록완료 하였으며, 2011년에 새로운 G-1을 출원하여 현재 심사단계에 있음

# 제 3 장 연구 개발 수행 내용 및 결과

## 제 1절 항피로/에너지 스포츠 음료 개발

### 1. 추출 조건 확립

#### 가. 실험방법

##### (1) 실험재료

본 실험에 사용한 홍삼 시료는 협동기관이 경희대 한방바이오로부터 제공받은 K-1 5년근 홍삼을 대상으로 하였다. 홍삼 시료는 동체, 주근, 지근으로 각각 분리하여 사이클로밀을 이용하여 분쇄하면서 100mesh screen을 통과한 분말을 분석용으로 사용하였다.

##### (2) 조사포닌 정량

홍삼 분말 5 g에 수포화부탄올 50 ml을 넣고 80℃의 수욕에서 1시간 환류 냉각 후 실온에서 방냉하여 250ml separate funnel에 수포화부탄올 층만 여과하여 옮긴다. 이 과정을 2번 반복하여 모아진 150ml의 수포화부탄올에 50ml 증류수를 넣고 shake에 넣고 흔든다. separate funnel에 물 층과 부탄올 층이 완전히 분리될 때까지 24시간 정치한다. 물 층을 제거하고 부탄올 층을 항량된 flask에 옮겨 완전히 농축한 후 잔여물에 50ml ether 를 넣고 수욕에서 30분간 환류 냉각한다. parafilm으로 덮고 구멍을 뚫고 실온에서 24시간 방치한다. 잔여물은 105℃ dry oven에 넣고 20분간 건조한 후 30분간 방냉하여 조사포닌을 정량한다.

$$\text{인삼성분(mg/g)} = (A-B)/S$$

A: 수포화부탄올을 농축 건조한 후의 flask 무게 (mg)

B: 항량으로 한 빈 flask의 무게 (mg)

S: 검체의 채취량 (g)

##### (3) 추출수율

홍삼 세근 분말 5g에 추출 용매를 각각 100 ml 씩 넣고 80℃에서 3시간 환류 냉각 하였다. 상온에서 식힌 다음 여과한 후 완전히 농축하였다. 105℃ dry oven에 20분간 건조한 다음 테시케이터에 방냉하고 무게를 측정하여 수율을 계산하였다.(1차 수율) 남은 잔사에 추출용매를 각각 100 ml 씩 넣고 똑같이 조작하여 농축, 건조하여 무게를 측정 하였다. (2차 수율)

##### (4) HPLC 분석

추출 수율을 측정한 후 flask에 있는 조사포닌은 바이알에 넣고 deepfreezer에 보관 하였다. 시료는 0.01g 채취하여 10ml의 water:Acetonitril(8:2) 혼합용매에 녹여 농도를

mg/ml로 맞추었다.

## 나. 실험결과

### (1) 홍삼의 조사포닌 함량

부위별 홍삼의 조사포닌을 정량한 결과는 표 1과 같다. 홍삼의 동체는 42.34mg/g, 주근 50.14mg/g, 세근은 98.65mg/g으로 가장 많은 함량을 나타내었고, 동체에 비해 약 2배 가량의 조과포닌 함량을 보였다.

표 1. 부위별 홍삼의 조사포닌 함량

sample	mg/g
홍삼 동체	42.34±1.76
홍삼 주근	50.14±1.89
홍삼 세근	98.65±2.39

### (2) 홍삼의 추출 수율

#### (가) 추출 용매의 농도에 따른 홍삼의 추출 수율

20%, 40%, 80% 에탄올을 이용하여 홍삼을 추출한 수율은 표 2와 같다. 20, 40, 80% 1차 추출 수율은 각각 41.31, 35.84, 32.38% 으로 40% 에탄올에서 가장 높은 값을 나타냈고, 2차 추출 수율은 각각 14.33, 6.93, 8.91% 으로 20% 에탄올에서 가장 높은 수율을 보였다. total 수율은 40% 에탄올에서 42.76% 으로 가장 높은 값을 나타냈으며 80%는 41.31%, 20%는 40.61%으로 나타났다.

표 2. 추출용매(에탄올)의 농도에 따른 홍삼의 추출 수율(%)

	80%	40%	20%
1차 수율	32.38±1.85	35.84±3.99	41.31±5.88
2차수율	8.91±4.03	6.93±3.88	14.33±13.68
Total	41.31±5.88	42.76±7.87	40.61±25.01

#### (나) 추출 온도에 따른 홍삼의 추출 수율

추출온도에 따른 홍삼의 추출 수율의 결과는 표 3과 같다. 1차추출 수율은 100°C에서 49.15%, 80°C에서 34.10%으로 100°C에서 더 높은 값을 나타냈고 2차 추출도 100°C에서 10.11%, 80°C에서는 9.20%으로 100°C에서 더 높은 값을 나타냈다. Total 추출수율에서도 100°C에서 더 높은 수율을 보였다.

표 3. 추출 온도에 따른 홍삼의 추출 수율(%)

	100°C	80°C
1차수율	49.15±1.96	34.10±7.06
2차수율	10.11±1.33	9.20±1.96
total	59.26±3.29	43.30±9.02

(다) pH에 따른 홍삼의 추출 수율

추출 용매의 pH 2,4,6 따른 홍삼의 추출 수율은 표 4와 같다. 1차 수율은 pH 4에서 44.40%으로 가장 높은 수치를 나타냈고 pH 6에서 41.40% 으로 가장 낮은 값을 나타냈다. 2차 수율은 pH 2에서 14.20%으로 가장 높은 값을 나타냈고, pH 4는 11.60%으로 가장 낮은 값을 나타냈다. Total 추출 수율을 보면 3개 처리구에서 큰 차이를 보이지는 않았지만 pH 2에서 56.80%으로 가장 높은 값을 나타냈고 pH 4는 54.60%, pH 6은 54.60%으로 나타났다. 알카리의 경우 1차 수율은 pH 8, 10, 12에서 각각 39.60%, 46.00%, 45.00%으로 pH 8에서 가장 높게 나타났고 2차 수율은 pH 12에서 17.80%으로 가장 높게 나타났다. Total 추출수율은 pH 10에서 59.00%으로 가장 높은 값을 나타냈다.

표 4. pH에 따른 홍삼의 추출 수율(%)

	pH 2	pH 4	pH 6	pH 8	pH 10	pH 12
1차수율	42.60±1.20	44.40±1.80	41.40±6.80	39.60±4.60	46.00±4.60	45.00±11.80
2차수율	14.20±0.40	11.60±0.40	13.20±1.00	14.00±0.20	13.00±1.20	17.80±5.40
Total	56.80±1.60	56.00±2.20	54.60±7.80	53.60±4.80	59.00±5.80	56.80±17.20

(라) 유기산 농도에 따른 홍삼의 추출 수율

Vit C와 citric acid 0.5, 1, 2% 추출용매에 따른 추출수율의 결과는 표 5와 같다. Vit C 추출용매에서는 2%에서 1차 추출 수율 47.60%으로 추출 수율이 가장 높은 값을 나타냈고 2차 추출 수율도 2%에서 16.38%으로 가장 높은 값을 나타내어 Vit C 농도가 높은 수록 수율이 높게 나타나는 것을 알 수 있다. Citric acid는 추출용매에서도 마찬가지로 2%에서 1차 추출 수율, 2차 추출 수율이 각각 54.20%, 22.20% 으로 가장 높은 값을 나타냈으며 농도가 높을수록 수율이 높다는 것을 나타냈다.

(바) 추출 용매 pH에 따른 홍삼의 추출 수율

본 실험에 사용한 전기분해수는 pH 영역대에 따라 대표적으로 분류되는 전기분해수인 강산성 전기분해수(strong acidic electrolyzed water; SAEW), 미산성 전기분해수(weakly acidic electrolyzed water; WAEW) 및 약알칼리성 전기분해수(low alkaline electrolyzed water; LAEW) 3종이었다. 미산성 전기분해수는 (주)한국코스믹라운드와 공동으로 제작한 티타늄판에 백금도금한 도금 두께를 0.3 µm 이상으로 하고 양극으로

표 5. 추출 용액에 따른 홍삼의 추출 수율(%)

		1차수율	2차수율	Total
Vit C	0.5%	44.40±4.20	15.20±1.80	59.60±2.01
Vit C	1.0%	44.30±7.80	15.40±0.20	59.70±0.40
Vit C	2.0%	47.60±16.20	16.38±3.20	63.98±1.40
Citric acid	0.5%	51.00±11.40	18.00±0.60	69.00±1.90
Citric acid	1.0%	50.20±10.40	18.40±1.60	68.60±2.13
Citric acid	2.0%	54.20±13.60	22.20±0.40	76.40±1.88

는 Ti판에 산화이리듐( $\text{IrO}_2$ )과 산화주석( $\text{SnO}_2$ )의 2:1 혼합액을 코팅 소결한 무격막 전해조에서 희석한 염산을 원료로 하여 240 L/hr의 생성능을 가진 미산성 전기분해수 생성장치로 생성하여 실험에 사용하였다. 본 생성장치의 원료 염산대비 차아염소산 생성효율은 85% 수준의 것이었다. 강산성 전기분해수와 약알칼리성 전기분해수는 한국 식품연구원에서 실험용으로 자체 제작한 1단 및 2단 전기분해를 동시에 적용할 수 있도록 제작된 생성장치로 생성하였다. 전극 재질은 이리듐 도금 등 3종 판형(70×140×1 mm)로 제작한 것이었으며 전해액은 20% NaCl으로 연속적으로 유수하는 방식으로 조절레버를 이용하여 0-10 mL/min로 조절 가능하도록 한 것이었다. 실험에 사용한 3종의 전기분해수의 pH, 산화환원전위 및 유효염소는 다음의 표 6과 같았다.

추출 pH에 따른 홍삼의 추출수율에 관한 결과는 표 7과 같다. 1차 추출 수율은 pH 2.3, 5.7, 11에서 각각 47.60%, 47.60%, 49.20%으로 pH 11에서 가장 높은 값을 나타냈고 2차 추출 수율도 마찬가지로 pH 11에서 17.00% 으로 가장 높은 값을 나타냈다. Total 추출 수율은 pH 11에서 66.20%으로 가장 높은 값을 나타냈다.

표 6. 전기분해수의 pH, 산화환원력, 유효염소 농도

Electrolyzed water	pH <sup>1)</sup>	ORP (mV) <sup>1)</sup>	Available chlorine (ppm) <sup>1)</sup>
SAEW <sup>2)</sup>	2.60	1,131	93.2
WAEW <sup>3)</sup>	6.32	568	29.6
LAEW <sup>4)</sup>	11.23	650	63.8

<sup>1)</sup>Data represent means of three measurements.

<sup>2)</sup>Low alkaline electrolyzed water

<sup>3)</sup>Low acidic electrolyzed water

<sup>4)</sup>Aqueous chlorine dioxide



표 7. 전기분해수 추출에 따른 홍삼의 추출 수율(%)

	1차 추출	2차 추출	Total
pH 2.60	47.60±0.40	15.20±0.20	62.80±0.60
pH 6.32	47.60±1.40	11.40±0.40	59.00±1.80
pH 11.23	49.20±0.8	17.00±0.20	66.20±1.00

(3) 추출 조건별 진세노사이드 함량 분석

(가) 홍삼 부위별 ginsenoside 함량

홍삼 부위별 ginsenoside 함량의 결과는 표 8-10과 같다. PD 계열 진세노사이드 (Rb1, Rc, Rb2, Rb3, Rd, Rg3, Rh2)는 홍삼 세근에서 0.99mg/g으로 가장 높은 수치를 나타냈고, 주근에서 0.49mg/g으로 가장 낮은 수치를 나타냈다. PT 계열 진세노사이드 (Rg1, Re, Rg2+Rh1, Rf)는 홍삼 주근이 4.62mg/g 으로 가장 높은 수치를 나타냈다. 그 다음으로 세근(0.43mg/g), 동체(0.38mg/g)이었다. 홍삼 부위별 PT/PD 비율은 동체가 0.67, 주근이 0.93, 세근이 0.43으로 주근에서 본실험에서 타겟으로 하는 PT 비율이 높은 추출물을 기대할 수 있다.

표 8. 부위별 홍삼의 ginsenoside 함량(mg/g)

		동체	주근	세근
PD	Rb1	0.90	0.74	1.34
	Rc	0.69	0.68	1.47
	Rb2	0.54	0.61	1.63
	Rb3	0.40	0.63	1.60
	Rd	2.00	0.29	3.43
	Rg3 (S,R)	1.13	2.00	0.50
PT	Rg1	1.20	1.62	0.50
	Re	0.83	0.63	1.49
	Rg2+Rh1	0.68	0.65	1.55
	Rf	1.07	1.30	0.77

표 9. 홍삼의 부위별 ginsenoside 비율

	동체/주근	동체/지근	주근/세근
Rb1	1.21	0.67	0.55
Rc	1.04	0.46	0.46
Rb2	0.88	0.33	0.37
Rb3	0.63	0.25	0.39
Rd	6.89	0.58	0.08
Rg3 (S,R)	0.56	2.26	3.24
Rg1	0.74	2.40	0.44
Re	1.23	0.55	0.41
Rg2+Rh1	1.04	0.43	1.68
Rf	0.82	1.38	1.07

표 10. 홍삼 부위별 PD 및 PT 함량비(mg/g)

	동체	주근	세근
PD	0.56	0.49	0.99
PT	0.38	0.42	0.43
Total	0.93	1.33	0.95
PT/PD	0.67	0.86	0.43

(나) 추출 용매 농도에 따른 ginsenoside 함량

에탄올 농도에 따른 홍삼의 ginsenoside 함량의 결과는 그림 1과 같다. PD 계열 진세노사이드(Rb1, Rc, Rb2, Rb3, Rd, Rg3, Rh2)는 20, 40, 80% 에탄올 추출군에서 각각 0.345, 0.336, 0.281mg/g으로 20% 에탄올에서 가장 높은 값을 나타냈다. 표 11과 같이 PT 계열 진세노사이드(Rg1, Re, Rg2+Rh1)는 각각 0.098, 0.139, 0.136 mg/g 으로 40% 에탄올에서 가장 높게 나타났다. PPT/PPD 비율에서는 80%에탄올에서 0.483 으로 가장 높은 비율을 나타냈다. Total ginsenoside 함량은 40% 에탄올에서 0.475mg/g 으로 가장 높은 값을 나타냈다.

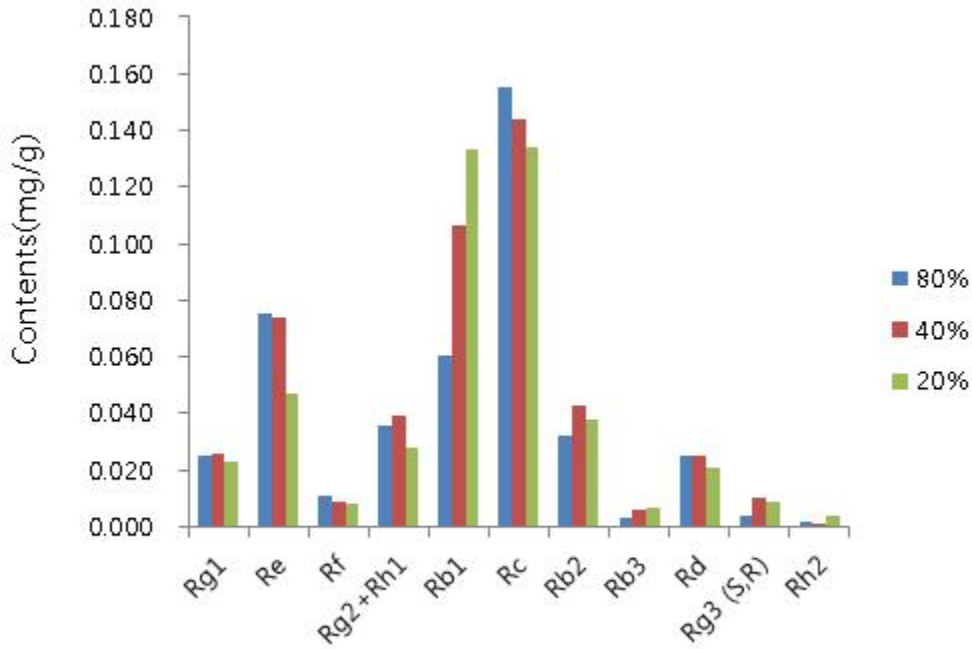


그림 1. 추출 용매(에탄올)의 농도에 따른 ginsenoside 함량(mg/g)

표 11. 추출 용매(에탄올)의 농도에 따른 ginsenoside 함량비

	80%	40%	20%
PD	0.281	0.336	0.345
PT	0.136	0.139	0.098
Total	0.417	0.475	0.443
PT/PD	0.483	0.414	0.284

(다) 추출 온도에 따른 ginsenoside 함량

추출 온도에 따른 ginsenoside 함량의 결과는 그림 2와 같다. PD 계열 진세노사이드는 100℃, 80℃에서 각각 0.237, 0.280mg/g 으로 80℃에서 더 높은 값을 나타냈다. PT 계열 진세노사이드도 도 마찬가지로 100℃,80℃에서 각각 0.081, 0.101mg/g 으로 80℃에서 더 높은 값을 나타냈으며 80℃에서 추출한 홍삼의 total ginsenoside는 0.381mg/g으로 나타났다.

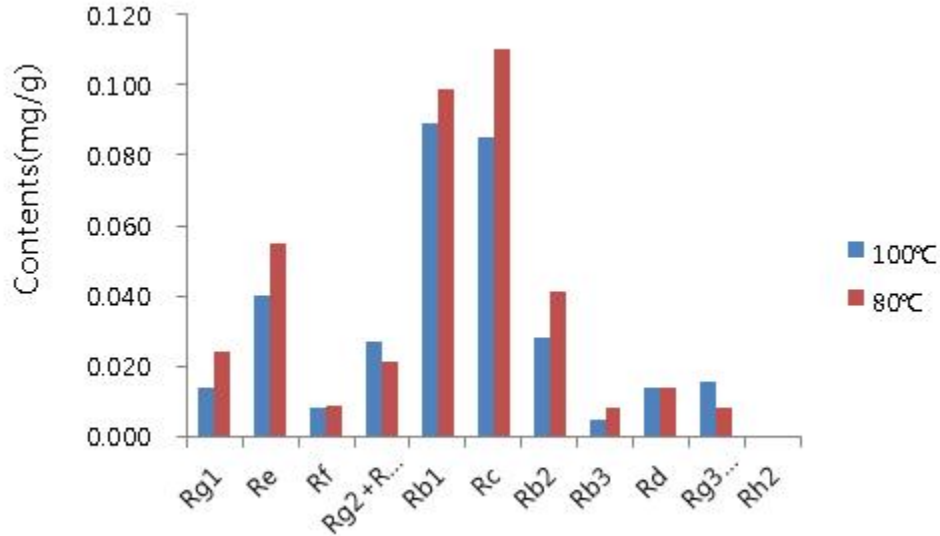


그림 2. 추출 온도에 따른 ginsenoside 함량(mg/g)

표 12. 추출 온도에 따른 ginsenoside 함량(mg/g)

	100°C	80°C
PPD	0.237	0.280
PPT	0.081	0.101
Total	0.318	0.381
PT/PD	0.342	0.359

(라) 추출 용매 pH에 따른 ginsenoside 함량

추출 용매의 pH에 따른 홍삼의 ginsenoside 함량의 결과는 표 13, 14와 같다. PD 계열 진세노사이드는 pH 2, 4, 6에서 각각 0.218, 0.212, 0.208mg/g으로 pH 4에서 가장 높게 나타났고, PT 계열 진세노사이드는 pH 6에서 0.083mg/g 으로 가장 높은 값을 나타냈다. PT/PD 비율은 pH 2, 4, 6에서 각각 0.339, 0.349, 0.398로 pH 6이 가장 높은 비율을 나타냈다. Total ginsenoside 함량은 pH에 따라 큰 차이는 없지만 pH 2에서 0.292mg/g 으로 가장 높은 값을 나타냈다. 산성용매에 비하여 염기성 용매에 추출한 홍삼의 ginsenoside 함량은 낮은 값을 나타냈다. pH 12에서 PD, PP 계열 진세노사이드는 0.034mg/g, 0.02mg/g 으로 가장 높게 나타냈다. Total ginsenoside도 pH 12에서 0.054로 가장 높은 값을 나타냈고 pH 8, 10은 각각 0.042, 0.048mg/g로 낮은 값을 나타냈다. 알카리의 경우 PT/PD의 비율에서는 pH 8에서 0.615로 가장 높은 비율을 나타냈고 pH 10에서 0.500mg/g 으로 가장 낮은 비율을 나타냈다.

표 13. 추출 용매의 pH에 따른 홍삼의 진세노사이드 함량 (mg/g)

		pH 2	pH4	pH 6	pH8	pH 10	pH12
PD	Rb1	0.063	0.074	0.060	0.012	0.014	0.014
	Rc	0.081	0.084	0.084	0.012	0.012	0.014
	Rb2	0.015	0.025	0.028	0	0.004	0.004
	Rb3	0.008	0.006	0.005	0	0	0
	Rd	0.013	0.011	0.016	0	0	0
	Rg3 (S,R)	0.035	0.010	0.015	0.002	0.002	0.002
	Rh2	0.003	0.002	0.000	0	0	0
PT	Rg1	0.010	0.009	0.015	0.004	0.004	0.006
	Re	0.039	0.041	0.043	0.01	0.01	0.012
	Rg2+Rh1	0.025	0.024	0.025	0.002	0.002	0.002
	Rf	0.007	0.006	0.007	0	0.002	0.002

표 14. 추출 용매의 pH에 따른 홍삼의 진세노사이드 함량비(mg/g)

	pH 2	pH4	pH 6	pH 8	pH 10	pH 12
PD	0.218	0.212	0.208	0.026	0.032	0.034
PT	0.074	0.074	0.083	0.016	0.016	0.02
Total	0.292	0.286	0.290	0.042	0.048	0.054
PT/PD	0.339	0.349	0.398	0.615	0.500	0.588

(4) 활성 시험용 extract 제조

인간의 중추신경 흥분 작용을 가진 triol계 사포닌의 함량이 높은 추출물(PTRG)을 얻기 위하여 1차적으로 추출 조건을 선정하여 활성 시험용 시료를 조제하였다. 이때 조건은 위의 결과들을 종합하여 주근을 원료로 하여 80% 에탄올의 pH를 8로 조정하여 80℃에서 2회 반복 추출하여 조제한 후 ginsenoside profile을 분석하였다. 본 조건에서는 Rg1dl 2.9mg/g으로 가장 높은 함량을 보였으며, PD 계열 진세노사이드의 함은 5.01mg/g이었으며, PT 계열의 진세노사이드 함량은 6.31mg/g으로 PT/PD 비율은 1.26으로 나타났다. 앞선 시험에서 주근의 PT/PD 비율인 0.86보다 45% 정도 PT 계열 진세노사이드가 높은 추출물에 대하여 활성 시험용 시료로 사용하였다.

표 15. PTRG의 진세노사이드 함량비

	Rb1	Rc	Rb2	Rb3	Rd	Rg3	Rg1	Re	Rg2+Rh1	Rf	PT/PD
mg/g	0.89	0.75	0.73	0.56	0.18	1.9	2.9	1.5	0.97	0.98	1.26

## 2. 세포 실험을 이용한 에너지 대사 시험

### 가. 재료 및 방법

#### (1) 재료

Dubecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS), and Horse serum 은 Gibco (Grand Island, NY, USA)로부터 구매하였고,  $\beta$ -actin, AMPK, phospho-Thr172 AMPK, ACC, phospho-ser79 ACC는 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA)에서 구매하였으며, LPL은 Abcam (Cambridge, MA, USA)에서 구매하였다.

#### (2) C2C12 myoblast의 분화 및 $\beta$ -oxidation 평가

$\beta$ -oxidation 평가를 위해 사용된 마우스 유래 C2C12 skeletal muscle cell은 American Type Culture Collection (ATCC, CRL-1772)로부터 분양 받아 사용하였다. C2C12 myoblast는 1% penicillin 및 10% FBS를 함유하는 DMEM에서 배양하였고, 80~90% confluency에 도달한 후, 10% horse serum (HS) DMEM으로 배지를 교환하여 myotubes로 분화를 유도하였다. 분화 유도 후, 2일마다 지속적으로 배지를 교환해 주었고, 분화가 완전히 이루어진 Day 6에 2% fatty acid free BSA를 함유하는 10% HS DMEM에 0.5 mM의 palmitate를 12시간 동안 처리하여 과량의 지방을 축적시켰다. 12시간 후, PTRG 및 RG을 각각 50  $\mu$ M씩 24시간 동안 처리하였고 western blotting을 이용하여  $\beta$ -oxidation을 평가하였다.

#### (3) 세포 독성 평가

세포 독성평가는 XTT (2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide inner salt) assay를 이용하여 측정하였다. C2C12 세포들은 96-well plate에 seeding 한 후 Day 6까지 분화를 유도하였고, 그 후 12 시간 동안 0.5 mM의 palmitate를 처리하여 지방축적을 유도 시켰다. 12시간 후, PTRG 및 DRG을 각각 50 $\mu$ M을 첨가하여 24시간 동안 배양시키고 XTT 및 PMS reagent를 혼합한 working solution을 첨가하여 4시간 동안 배양 후 microplate reader를 이용하여 450 nm 흡광도 값에서 690 nm의 흡광도 값을 뺀 결과 값을 계산하였다.

#### (4) Western blotting

24시간 동안 PTRG 및 RG이 처리된 C2C12 myotubes는 lysis buffer (50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 150 mM NaCl, 1% TritonX-100, 0.1% SDS,

0.25% sodium deoxycholate, 1mM PMSF, 1 mM benzamidine, 5 µg/mL aprotinin, 5 µg/mL leupeptin, 5 µg/mL pepstatin, 1 mM sodium orthovanadate, 1X phosphatase inhibitor cocktail II, 1X phosphatase inhibitor cocktail III, 1 mM sodium fluoride, 1 mM sodium pyrophosphate, β-mercaptoethanol 및 1 mM β-glycerophosphate)를 이용하여 용해시켰다. Lysates로부터 단백질들은 SDS-PAGE에 의해 분리 되었고 poly(vinylidene difluoride) membranes에 transfer시켰다. Membranes은 3% BSA를 함유하는 TBST buffer로 30분 동안 blocking하였으며 1차 antibody 및 2차 antibody를 가지고 incubation시켰다. 그 후 ECL를 처리하였고 band detection 및 intensity 정량은 GS-700 imaging densitometer (Bio-Rad)를 이용하여 평가하였다.

#### (5) 통계분석

실험결과의 통계분석은 SAS package (release 9.2)를 이용하여 one-way ANOVA 분석 수행하였고 평균값의 통계적 유의성은  $p < 0.05$  수준에서 검정하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

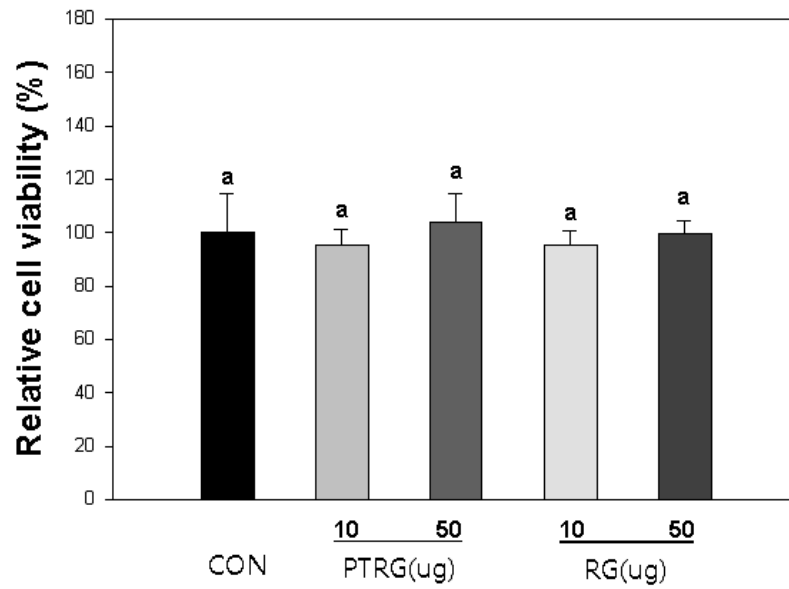
운동 중에는 에너지 요구량이 증가됨으로써 ATP양에 비해 AMP의 양이 증가하므로 ATP생성을 위해 AMP-activated protein kinase (AMPK)의 phosphorylation이 증가하게 된다. AMPK는 α-subunit의 threonine-172위치가 phosphorylation됨에 따라 활성화 되며 에너지 항상성을 유지하기 위해 미토콘드리아 내 에너지 생성을 자극한다. 이에 AMPK는 triglycerol 합성을 감소시키고 fatty acid β-oxidation을 증가시켜 에너지 항상성에 기여하는 것으로 알려져 있다. 따라서 운동 시 다양한 lipolytic protein (LPL, ATGL 및 HSL)에 의해 체내 free fatty acid가 과량 생성되므로 AMPK의 phosphorylation의 증진에 따른 β-oxidation의 증가는 상당한 에너지 생성에 기여한다.

#### (1) 세포 독성 평가

세포 독성 평가 결과는 figure. 3과 같다. CON군과 비교했을 시 PTRG(PT rich red ginseng extract) 및 RG(red ginseng extract)은 각각 50 µM의 농도까지 독성을 나타내지 않았으며, β-oxidation 평가를 위해 C2C12 myotubes에 PTRG 및 RG를 50 µM의 농도로 처리하여 실험을 진행하였다.

#### (2) AMP-activated protein kinase (AMPK) 및 Acetyl-CoA carboxylase (ACC) phosphorylation 발현량 평가

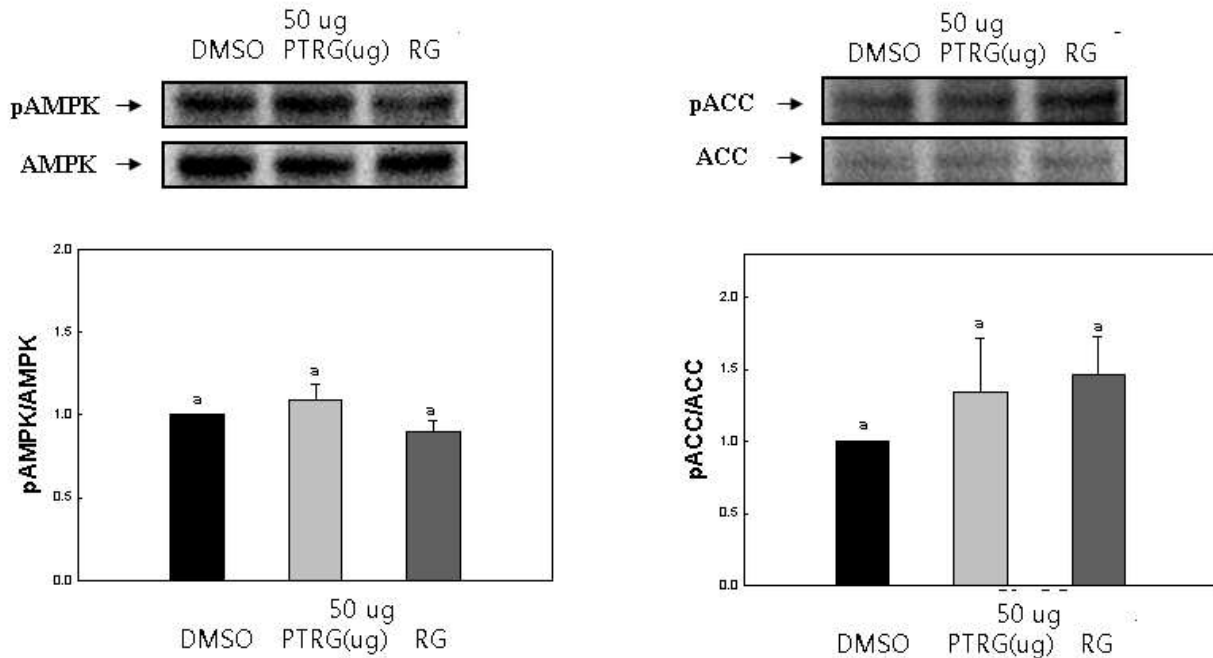
β-oxidation평가를 위해 주요 조절 인자인 AMPK 및 ACC의 phosphorylation을 western blotting을 이용하여 평가하였다 (Figure 4). 24 시간 동안 시료 처리 후 AMPK의 phosphorylation 발현량은 대조군 (DMSO)과 비교 시 PTRG 및 RG는 어떠한 차이를 나타내지 않았고, AMPK의 down stream target protein인 ACC의 phosphorylation 또한 증가되지 않았다. β-oxidation은 AMPK signaling pathway를 통한 CPT-1의 발현량 증가로 free fatty acid가 에너지원으로 사용되어지는 것이지만, PTRG 및 RG는 AMPK 및 ACC의 phosphorylation을 증가시키지 않아 β-oxidation 증진에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.



**Figure 3. Effect of Rb1 and Rg1 on cell viability.** C2C12 myotubes were preincubated in palmitate (0.5 mM) for 12 h, and then exposed to PTRG and RG for 24 h. Cell viability was measured by XTT assay. The data are presented as the mean  $\pm$  S.D. of four independent experiments.

PTRG: PT type ginsenoside rich ref ginseng extract

RG: Red ginseng extract



**Figure 4. Effect of PTRG and RG on the phosphorylation of AMPK (A) and ACC (B).** C2C12 myotubes were preincubated in palmitate (0.5 mM) for 12 h, and then exposed to PTRG and RG for 24h. The protein levels were examined by Western blotting.

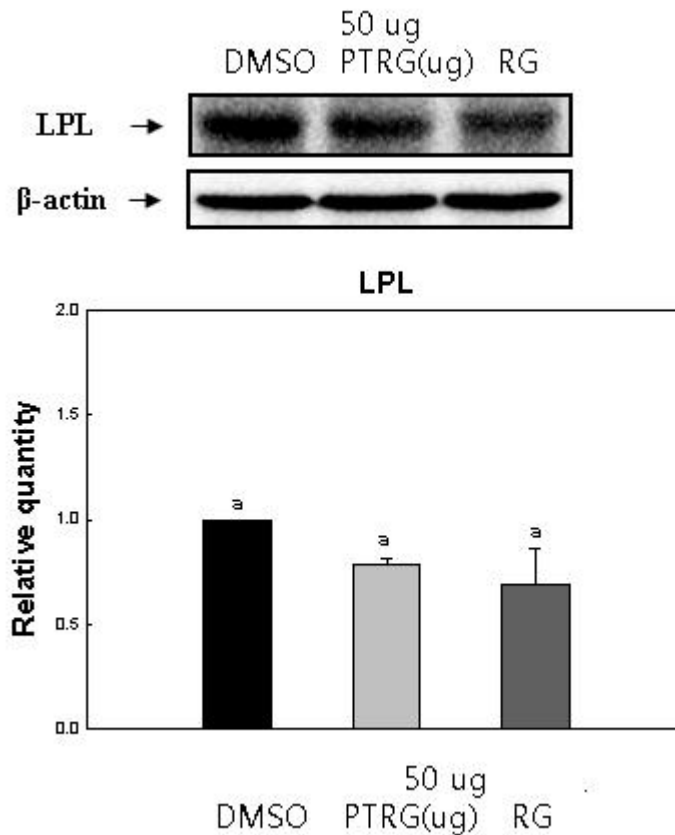
PTRG: PT type ginsenoside rich ref ginseng extract

RG: Red ginseng extract



(3) Lipoprotein lipase (LPL) protein 발현량 평가

$\beta$ -oxidation에 사용되어지는 free fatty acid는 다양한 lipolytic protein에 의해 생성된다. LPL은 AMPK phosphorylation의 증가에 따라 LPL의 발현량 또한 증가하는 것으로 알려져 있다. 따라서 LPL protein 발현량에 대한 PTRG 및 RG의 효능 평가를 Figure 3에 나타내었다. Figure 3에서 볼 수 있듯이, PTRG 및 RG는 통계적으로 대조군에 비교 시 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이는 LPL의 protein expression이 AMPK phosphorylation에 영향을 받지만 PTRG 및 RG가 AMPK phosphorylation에 영향을 미치지 않아 LPL의 발현량 또한 증가되지 않은 것으로 사료된다.



**Figure 5. Effect of PTRG and RG on the protein expression level of LPL.** C2C12 myotubes were preincubated in palmitate (0.5 mM) for 12 h, and then exposed to PTRG and RG for 24h. The protein levels were examined by Western blotting.

PTRG: PT type ginsenoside rich ref ginseng extract

RG: Red ginseng extract

### 3. 인삼 구성 성분의 차이가 운동 유발성 근통증과 항피로에 미치는 효과

#### 가. 연구대상

(1) 건강한 남자 대학생 8명을 대상으로 하였음(12명의 피험자로 시작하였으나 5일간 실험 중 4명의 실험참가자 중도포기로 8명이 참여하였음).

(2) 실험처치는 무작위로 실시하였으며(시료는 A, B 공급받음), 각 처치간의 간격을 7일로 하였음.

(가) A treatment

(나) B treatment

나. 실험 프로토콜 (Experimental Protocol)

(1) 피험자 통제 및 관리

(가) 모든 피험자는 실험기간 식이 관리 및 통제(실험 1일전 동일 식사제공)

(나) 일상생활 통제(실험종료까지 최근의 신체활동 수준을 유지 하도록 지도)

(2) 실험시료 섭취

(가) 시료공급: 한국식품연구원

(나) 피험자 무작위 선정하여 시료섭취

(다) 시료섭취기간 및 섭취방법: 5일, 1일 2회 섭취(A, B treatment)

(3) 운동 프로토콜

(가) 지구성 운동: 트레드밀 운동

(나) 6km/h, 16%, 30min

(2bouts: 12min 2set, 3min rest)

(다) 운동 2회 실시: 섭취전(D1), 섭취3일(D3)

(라) 섭취 전(D1), 섭취 후 3일(D3): 동일한 시간에 운동



(4) 혈액채취

(가) 실험전 저녁식사 후 10~12시간 동안 금식 후 상완 정맥에서 10 ml를 채취

(나) 안정시 혈액:

① 실험 당일: 섭취전 (D1)

② 실험 4일째: 섭취 3일 후 (D3)

③ 실험 6일째: 섭취 5일후 (D5)

(다) 운동 중 혈액채취(D1, D3): 운동 직후(E0), 운동 후 15분(E15), 30분(E30)

(라) 섭취 전, 섭취 3일 후(D1, D3): 혈당내성검사 실시 (0, 30, 60 min)

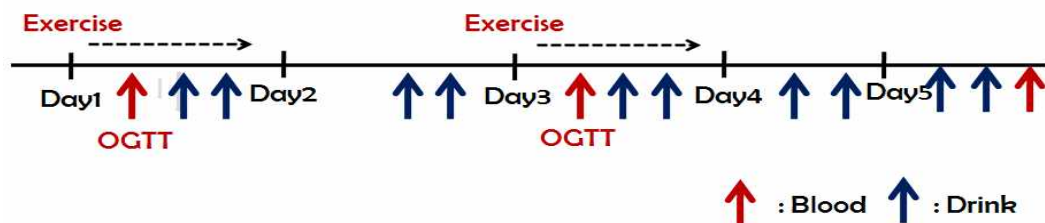


그림 6. 실험 프로토콜

다. 측정항목 및 방법

(1) 혈당과 젖산

혈당과 젖산은 자동 혈당·젖산분석기 (YSI 2300, Springfield, USA)를 이용하여 측정하였다.

(2) Superoxide Dismutase(SOD)와 Lipid Peroxidation(MDA)

SOD 와 MDA는 ELISA Kit (BioVision, USA)를 이용하여 효소분석법으로 분석하였다.

(3) 인슐린

인슐린은 Coat-A-Count Insulin Kit (Diagnostic Products Corporation, USA)를 이용하여 방사선면역측정법 (Radioimmunoassay)으로 분석하였고,  $\gamma$ -counter (1470 Wizard, Wallac, automatic count Finland)에서 1분 동안 측정하였다.

(4) Interleukin-6(IL-6)와 Tumor Necrosis Factor alpha(TNF- $\alpha$ )

IL-6와 TNF- $\alpha$ 는 Human IL-6 ELISA Test Kit (Bioo Scientific Corporation, USA)를 이용하여 효소면역측정법 (Enzyme immunoassay)으로 분석하였고, ELISA 450 nm에서 발색반응을 측정하였다.

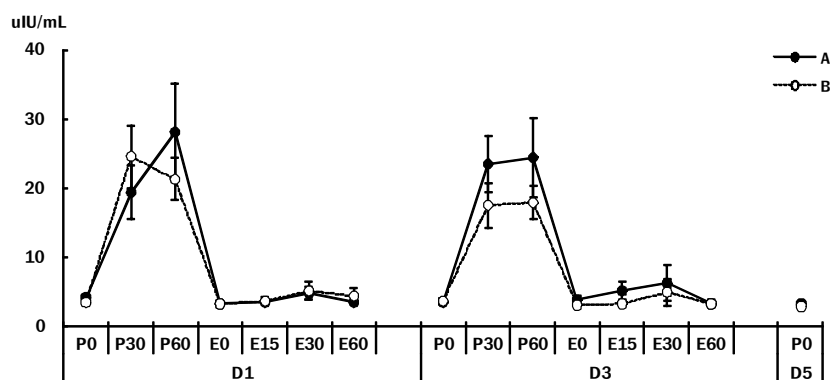
(5) 경구당부하검사 (OGTT; Oral Glucose Tolereince Test)

검사 전 12시간의 금식 후 상완정맥을 통하여 10 ml를 채취한 다음 50 g glucose (당뇨병 진단시약)를 섭취시켰다. 섭취 후 1시간 (섭취 전, 섭취 후 30분, 60분)에 걸쳐 매시간 마다 상완정맥에서 10 ml의 혈액을 채취하여 헤파린 처리한 후 원심분리하여 분석 전까지 혈장만을 -70 °C에서 냉동 보관하였다.

라. 연구 결과

(1) 젖산(Lactate)

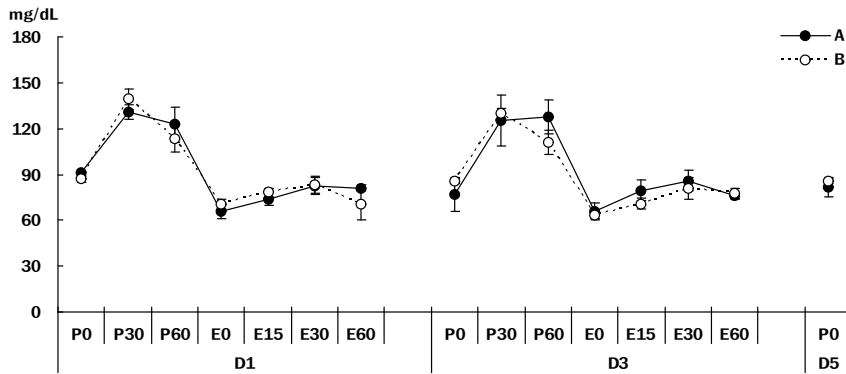
5일간 섭취기간 동안 혈중 젖산 농도에서는 A, B 처치가 차이는 없었다.



(2) 혈당(Plasma glucose)

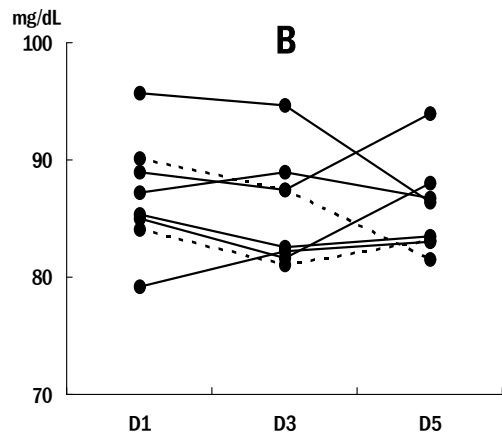
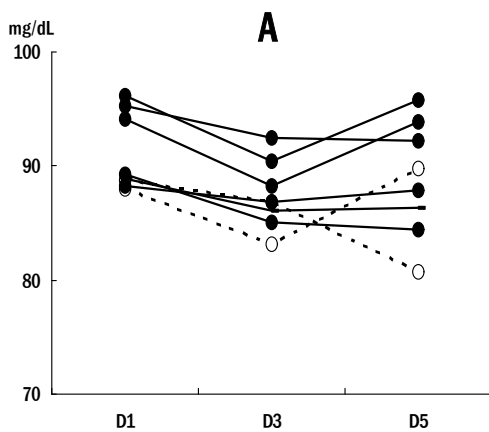
(가) 섭취 5일간 혈당 변화

5일간 섭취기간 동안 혈당에서는 A, B 처치가 차이는 없었으며 혈당내성검사에서도 처치간 차이가 나타나지 않았다.



(나) 처치 간 비교(12명 중 4명 중도포기)

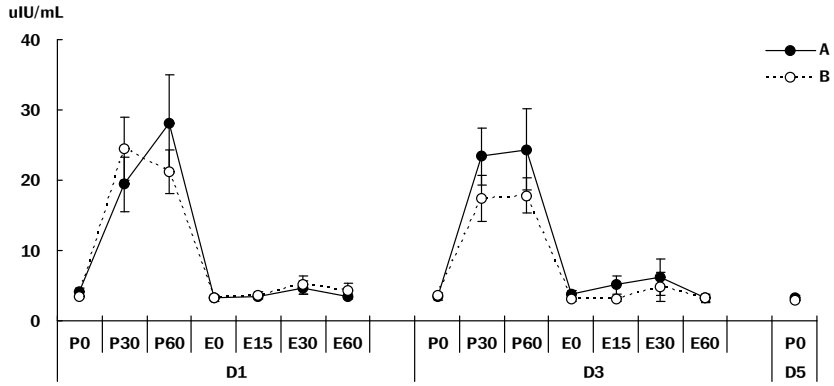
8명의 피험자의 A, B 섭취 후 혈당을 비교한 결과 섭취 3일후 A에서 감소하는 경향은 보였으나 차이가 나타나지 않았다.



(3) 인슐린(Insulin)

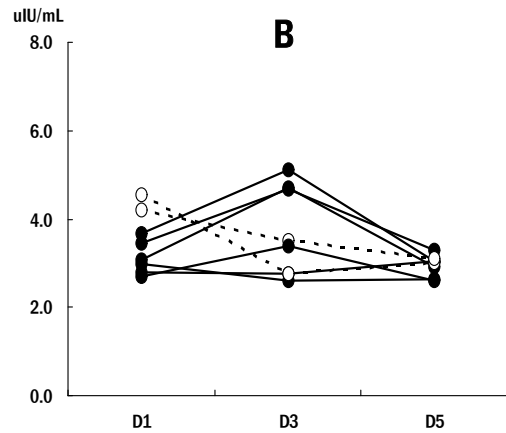
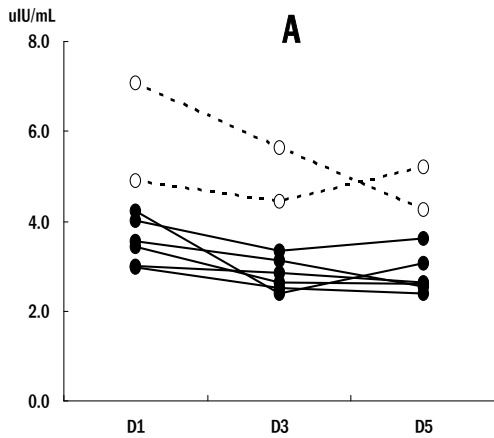
(가) 섭취 5일간 혈당 변화

5일간 섭취기간 동안 혈중 인슐린에서는 A, B 처치가 차이는 없었으며 혈당내성 검사에서도 처치간 차이가 나타나지 않았다.



(나) 처치 간 비교(12명 중 4명 중도포기)

8명의 피험자의 A, B 섭취 후 혈중 인슐린의 변화를 비교한 결과 섭취 후 차이가 없는 것으로 나타났으나 피험자 중 6명에서는 A 섭취가 섭취 후 3, 5일에서 감소하는 것으로 나타났다.

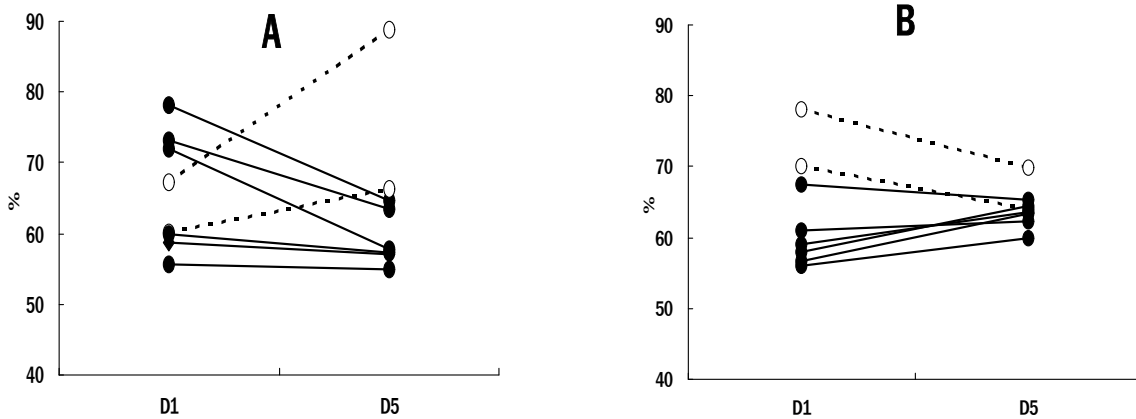


	A			B		
	D1	D3	D5	D1	D3	D5
A	3.4	2.6	2.6	3.1	4.7	2.9
B	7.1	5.6	4.3	3.7	5.1	3.0
C	4.2	2.4	3.1	3.4	4.7	3.3
D	3.0	2.5	2.4	2.8	2.8	3.1
E	3.6	3.1	2.5	3.0	2.6	2.6
F	4.9	4.4	5.2	4.5	2.7	3.0
G	4.0	3.3	3.6	4.2	3.5	3.1
H	3.0	2.9	2.6	2.7	3.4	2.6
av(n=8)	4.1	3.4	3.3	3.4	3.7	3.0
av(n=6)	3.4	2.8	2.8	3.2	3.6	2.9

(3) Superoxide Dismutase(SOD) activity inhibition rate

(가) 처치 간 비교(12명 중 4명 중도포기)

8명의 피험자의 A, B 섭취 후 혈중 SOD의 변화를 비교한 결과 섭취 후 차이가 없는 것으로 나타났으나 피험자 중 6명에서는 A 섭취가 섭취 후 5일에서 감소하는 것으로 나타났다.

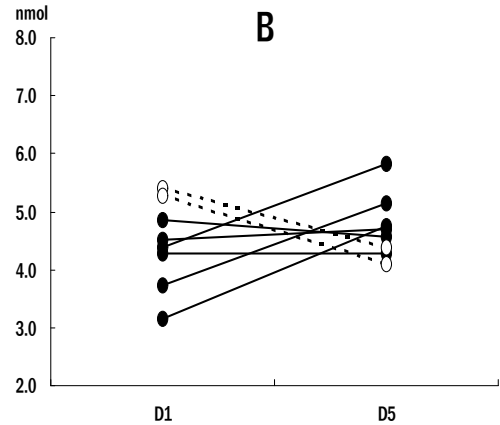
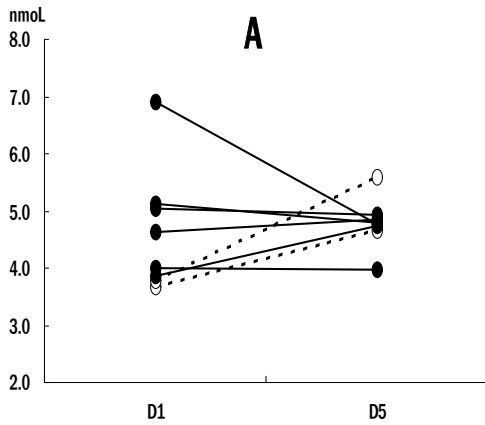


<b>A</b>			<b>B</b>		
	<b>D1</b>	<b>D5</b>		<b>D1</b>	<b>D5</b>
<b>A</b>	67.2	88.9	<b>A</b>	70.0	63.9
<b>B</b>	73.1	63.5	<b>B</b>	78.2	69.9
<b>C</b>	78.1	64.6	<b>C</b>	67.6	65.2
<b>D</b>	60.1	66.2	<b>D</b>	61.0	62.3
<b>E</b>	60.0	57.4	<b>E</b>	56.0	60.0
<b>F</b>	55.6	54.8	<b>F</b>	56.6	63.3
<b>G</b>	72.1	57.7	<b>G</b>	57.9	64.5
<b>H</b>	58.8	57.2	<b>H</b>	59.1	63.6
<b>AV(n=8)</b>	65.6	65.6	<b>AV(n=8)</b>	63.3	63.3
<b>AV(n=6)</b>	65.4	60.9	<b>AV(n=6)</b>	62.5	64.0

(4) Lipid Peroxidation(MDA)

(가) 처치 간 비교(12명 중 4명 중도포기)

8명의 피험자의 A, B 섭취 후 혈중 SOD의 변화를 비교한 결과 섭취 후 차이가 없는 것으로 나타났으나 피험자 중 6명에서는 A 섭취가 섭취 후 5일에서 감소하는 경향이 나타났다.

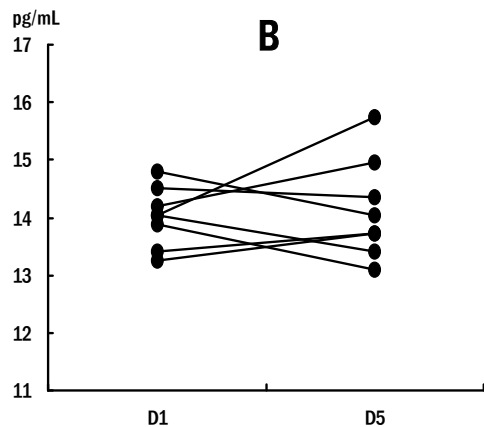
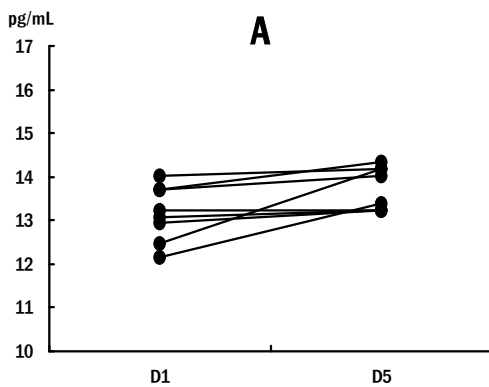


A			B		
	D1	D5		D1	D5
A	5.04	4.94	A	4.38	5.84
B	5.13	4.80	B	4.85	4.57
C	4.01	3.96	C	3.73	5.13
D	6.91	4.76	D	4.29	4.29
E	4.63	4.85	E	3.16	4.76
F	3.68	4.66	F	4.52	4.70
G	3.77	5.60	G	5.41	4.38
H	3.87	4.75	H	5.27	4.10
<b>AV(n=8)</b>	<b>4.6</b>	<b>4.8</b>	<b>AV(n=8)</b>	<b>4.5</b>	<b>4.7</b>
<b>AV(n=6)</b>	<b>4.9</b>	<b>4.7</b>	<b>AV(n=6)</b>	<b>4.2</b>	<b>4.9</b>

(5) 염증성 사이토카인

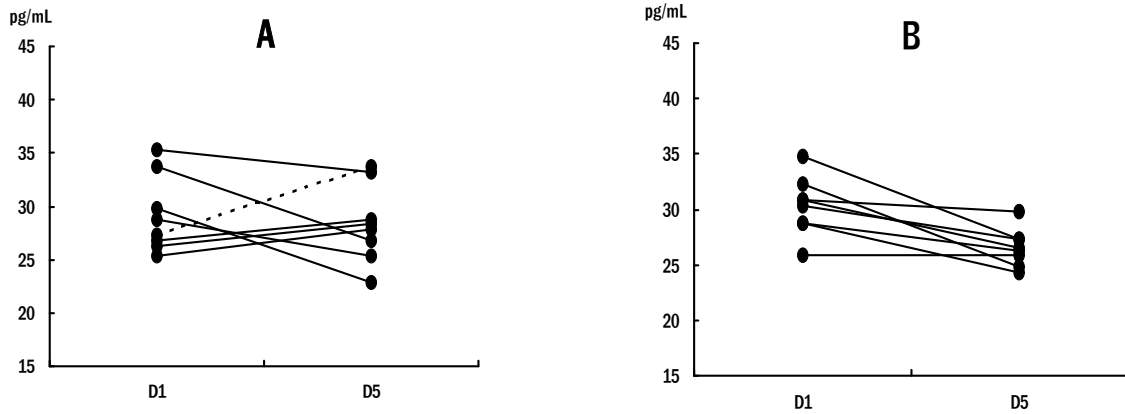
(가) Interleukin-6(IL-6)

8명의 피험자의 A, B 섭취 후 혈중 IL-6의 변화를 비교한 결과 섭취전과 섭취 후 5일에서 처치간 차이가 나타나지 않았다.



(나) Tumor Necrosis Factor alpha(TNF- $\alpha$ )

8명의 피험자의 A, B 섭취 후 혈중 TNF- $\alpha$ 의 변화를 비교한 결과 섭취 전과 섭취 후 5일에서 처치간 차이가 나타나지 않았다.



마. 1차년도 연구결과 요약 및 2차년도 연구 보완사항

(1) 섭취기간 및 섭취량 보완

(가) 1차년도: 농도차이에서는 A treatment가 효과적인 것인 경향은 나타남(인슐린 SOD, MDA).

(나) 2차년도: A treatment 의 효과 검증(섭취기간 및 섭취량 보완)

(2) Placebo와 시료간 효과검증

(가) 1차년도: Placebo를 통한 농도차이의 효과를 검증하지 못했음.

(나) 2차년도: A treatment와 Placebo를 통한 인삼(A) 효과 검증

(3) 운동프로토콜 보완

(가) 1차년도: IL-6 , TNF- $\alpha$ 에서는 처치간 차이가 없었음.

(나) 2차년도: 운동프로토콜 보완(고강도 운동실시: 운동강도, 운동량 증가)

(4) 피험자수 증가

(가) 1차년도: 항피로(SOD, MDA)에서는 A treatment가 B treatment와 비교하여 효과적으로 나타났으나, 개개인의 차이가 나타났음(8명중 6명에서 효과검증: 12명 실시하였으나, 4명 중도 포기).

(나) 2차년도: N수 증가 및 섭취량 보완.

: 2차년도에서는 1차년도 운동프로토콜을 보완(운동기간 3일로 증가, 운동강도와 시간을 증가)

: 혈당내성검사를 섭취 후 3일에서 섭취 후 8일로 보완(섭취기간을 8일로 증가)



#### 4. 스포츠 음료의 인삼 농도 차이가 운동 유발성 근통증과 항피로에 미치는 효능검사

가. 연구대상: 건강한 남자 대학생 15명을 대상으로 하였음(15명 참가 2명 중도포기).

##### 나. 실험처치 (Experimental Treatment)

실험처치는 무작위로 실시하였으며(시료는 A, B 공급받음), 각 처치간의 간격을 7일로 하였음.

- (1) A treatment (진한농도)
- (2) B treatment (연한농도)

##### 다. 실험 프로토콜 (Experimental Protocol)

(1) 본 실험 시작 전 모든 피험자들은 FITCO (FITCO Co., USA)의 호흡가스 분석기와 트레드밀 (Rechor, England)을 이용하여 3분 간격으로 부하를 증가시켜 최대산소섭취량을 측정한다. 그리고 각 피험자들의 최대산소섭취량 60~70%에 해당하는 운동 강도를 산출한다.

(2) 운동 프로토콜은 트레드밀에서 최대산소섭취량( $VO_{2max}$ ) 60~70%, 경사도 10~12%로 90분(30분×3세트)을 한다.

(3) 음료섭취기간: 8일

(4) 혈액채취

(가) 실험전 저녁식사 후 10~12시간 동안 금식 후 상완 정맥에서 10 ml를 채취

(나) 안정시 혈액:

- ① 실험 당일: 섭취전 (D1)
- ② 실험 4일째: 섭취 3일 후 (D4), 고강도 운동
- ③ 실험 6일째: 섭취 5일 후 (D6)
- ④ 실험 8일째: 섭취 7일 후 (D8)
- ⑤ 실험 9일째: 섭취 8일 후 (D9)

(다) 섭취 전, 섭취 9일 후(D1, D9): 혈당내성검사 실시 (0, 30, 60, 90 min)

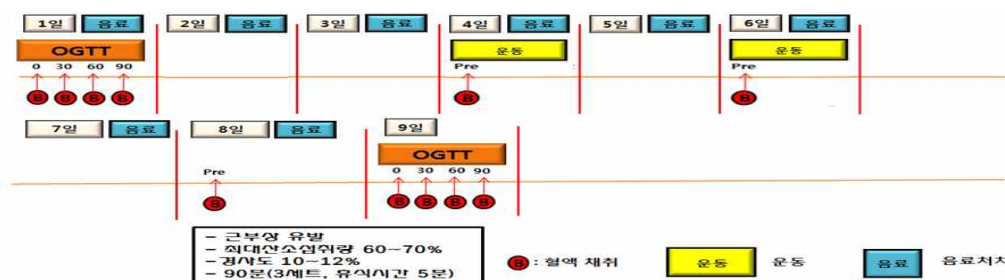


그림 7. 실험 설계

##### 라. 측정 항목 및 방법

(1) 혈당과 젖산

혈당과 젖산은 자동 혈당·젖산분석기 (YSI 2300, Springfield, USA)를 이용하여 측정하였다.

(2) Superoxide Dismutase(SOD)와 Lipid Peroxidation(MDA)

SOD 와 MDA는 ELISA Kit (BioVision, USA)를 이용하여 효소분석법으로 분석하였다.

(3) 인슐린

인슐린은 Coat-A-Count Insulin Kit (Diagnostic Products Corporation, USA)를 이용하여 방사선면역측정법 (Radioimmunoassay)으로 분석하였고,  $\gamma$ -counter (1470 Wizard, Wallac, automatic count Finland)에서 1분 동안 측정하였다.

(4) Interleukin-6(IL-6)와 Tumor Necrosis Factor alpha(TNF- $\alpha$ )

IL-6와 TNF- $\alpha$ 는 Human IL-6 ELISA Test Kit (Bioo Scientific Corporation, USA)를 이용하여 효소면역측정법 (Enzyme immunoassay)으로 분석하였고, ELISA 450 nm에서 발색반응을 측정하였다.

(5) 경구당부하검사 (OGTT; Oral Glucose Tolereince Test)

검사 전 12시간의 금식 후 상완정맥을 통하여 10 ml를 채취한 다음 50 g glucose (당뇨병 진단시약)를 섭취시켰다. 섭취 후 90분 (섭취 전, 섭취 후 30분, 60분, 90분)에 걸쳐 매시간 마다 상완정맥에서 10 ml의 혈액을 채취하여 헤파린 처리한 후 원심분리하여 분석 전까지 혈장만을 -70 °C에서 냉동 보관하였다.

마. 연구결과

(1) 혈당과 인슐린

(가) 혈당

공복시 혈당의 변화에서는 8일간 A와 B 처치 음료를 섭취 시킨 결과 두 처치 모두 섭취 전(D1)과 섭취 후 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

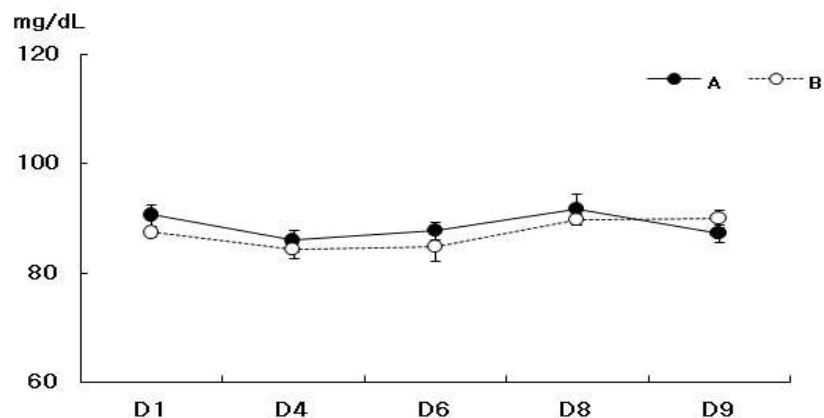


그림 8. 8일 섭취 기간 동안 공복시 혈당의 변화

(나) 인슐린

공복시 혈중 인슐린의 농도는 8일간 A와 B 처치 음료를 섭취 시킨 결과 두 처치 모두 섭취 전(D1)과 섭취 후 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

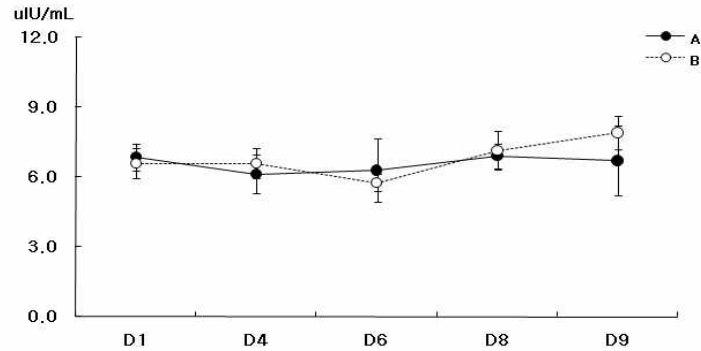


그림 9. 8일 섭취 기간 동안 공복시 혈중 인슐린의 변화

(2) 경구당부하검사

(가) 혈당

경구당부하검사시 혈당에서는 섭취 전 (D1)과 섭취 9일 (D9)을 비교한 결과 두 처치 모두 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다(그림10).

(나) 인슐린

경구당부하검사시 혈중 인슐린에서는 섭취 전 (D1)과 섭취 9일 (D9)을 비교한 결과 두 처치 모두 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다(그림 11).

(3) 젖산

혈중 젖산의 농도는 8일간 A와 B 처치 음료를 섭취 시킨 결과 두 처치 모두 섭취 전(D1)과 섭취 후 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다(그림12).

(4) 항산화 효과

(가) lipid Peroxidation(MDA)

8일간 A와 B 처치 음료를 섭취한 후 혈중 MDA의 변화를 비교한 결과 D1, D4, D6, D8에서는 처치 간 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으나, D9에서는 A 음료가 B음료에 비해 유의하게 낮게 나타났다(p<0.05)(그림13).

(나) Superoxide Dismutase(SOD) activity inhibition rate

8일간 A와 B 처치 음료를 섭취한 후 혈중 SOD의 변화를 비교한 결과 처치 간 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으나, A와 B 처치 음료에서는 D4에 비해 D6, D8, D9에서 유의하게 증가한 것으로 나타났다(p<0.05).

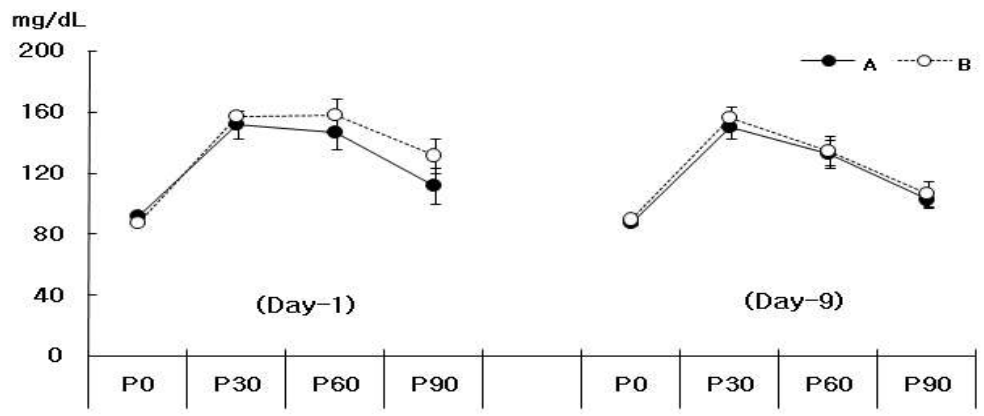
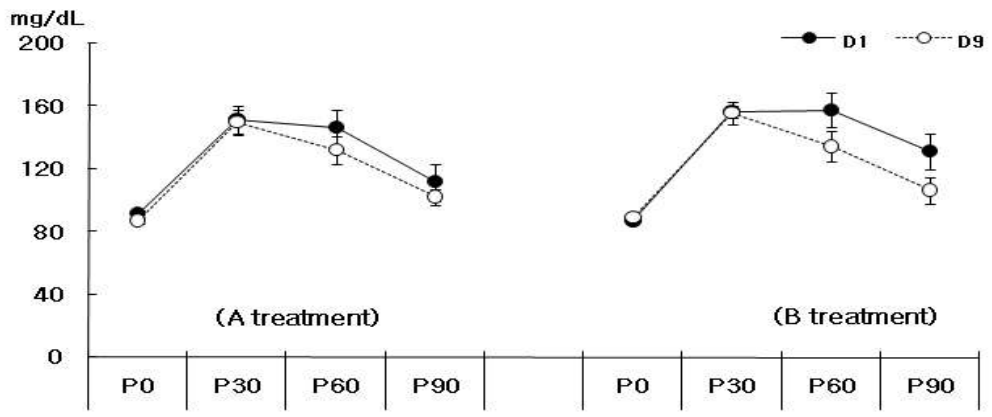


그림 10. 섭취 전·후 경구당부하 검사시 혈당의 변화

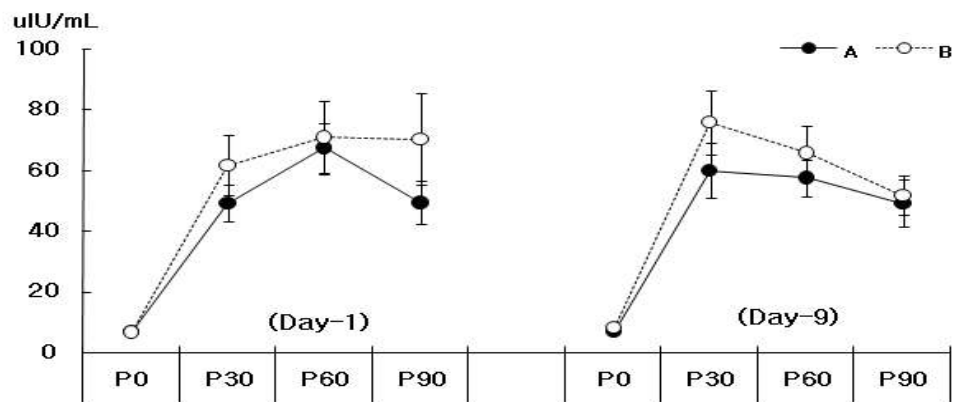
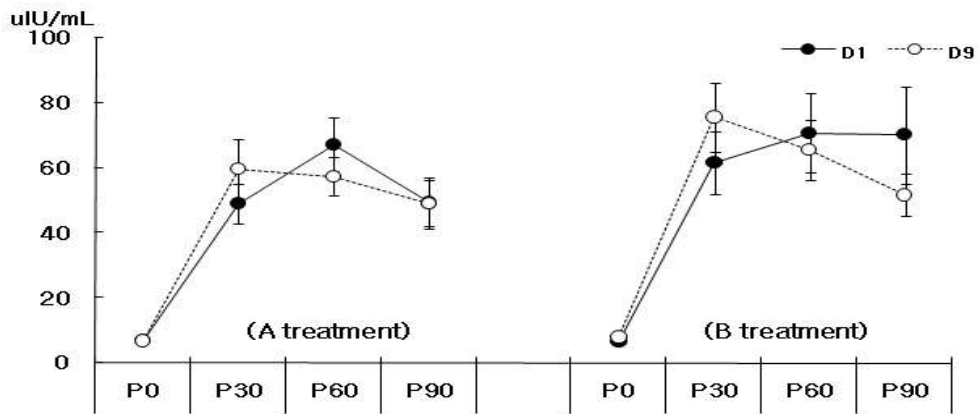


그림 11. 섭취 전·후 경구당부하 검사시 혈중 인슐린의 변화

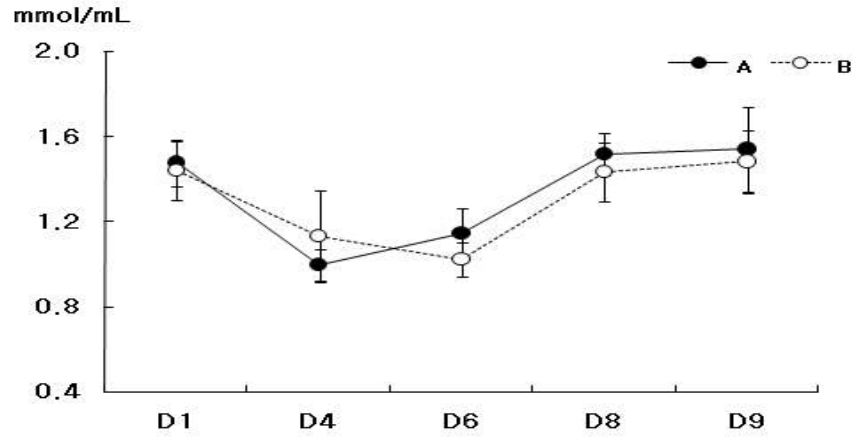


그림 12. 8일 섭취 기간 동안 공복시 혈중 젖산의 변화

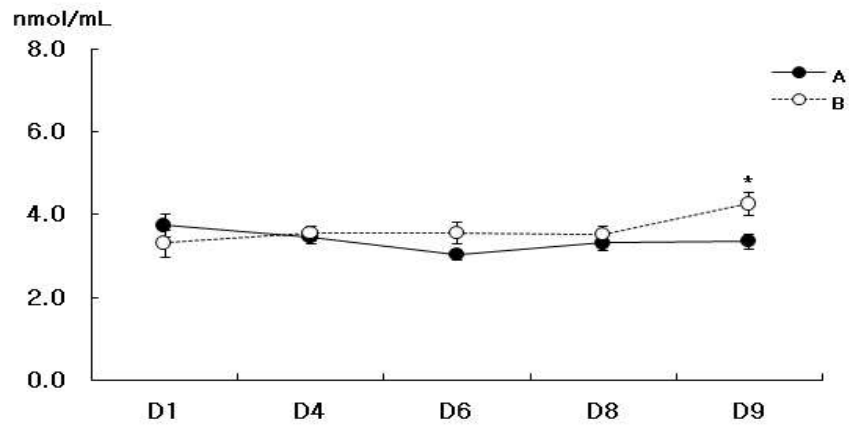


그림 13. 8일 섭취 기간 동안 공복시 혈중 MDA의 변화

\*: B처치와 유의한 차이가 남.

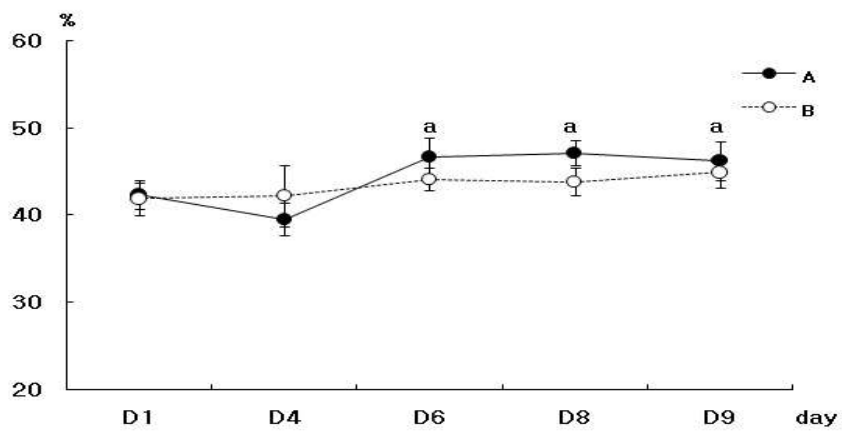


그림14. 8일 섭취 기간 동안 공복시 혈중 SOD의 변화

(5) 염증성 사이토카인

(가) Interleukin-6(IL-6)

혈중 IL-6의 농도는 8일간 A와 B 처치 음료를 섭취 시킨 결과 두 처치 모두 섭취 전(D1)과 섭취 후 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

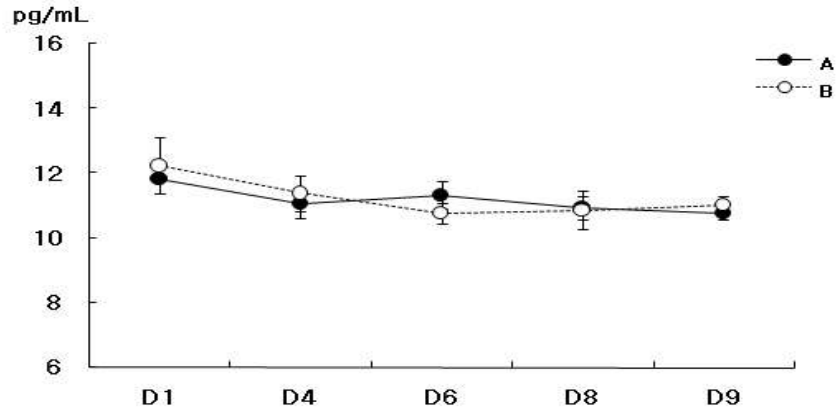


그림 15. 8일 섭취 기간 동안 공복시 혈중 IL-6의 변화

(나) Tumor Necrosis Factor alpha(TNF- $\alpha$ )

8일간 A와 B 처치 음료를 섭취한 후 혈중 MDA의 변화를 비교한 결과 D1, D4, D8에서는 처치 간 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으나, D6과 D9에서는 A 음료가 B음료에 비해 유의하게 낮게 나타났다(p<0.05).

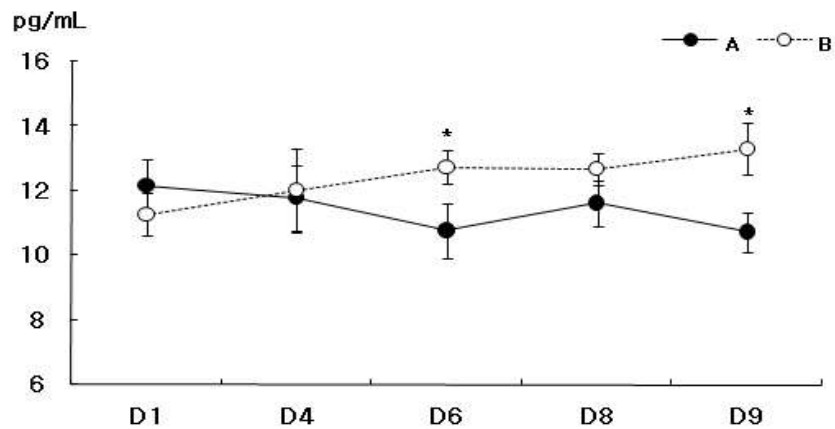


그림 16. 8일 섭취기간 동안 공복시 혈중 TNF- $\alpha$ 의 변화

\*: B처치와 유의한 차이가 남.

## 5. 임상실험용 시제품(SM4) 제조

가. PPT/PPD 조절 향산화/피로회복 기능성 소재의 관능 최적화 수립

(1) 향기성분 정성/정량 실험방법

(가) Solid phase microextraction (SPME)

- ① SPME fiber는 50/30  $\mu\text{m}$  divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane을 사용.
- ② 샘플 1 g(MCP-OF의 경우 4 mL)과 2차 증류수 6 mL을 20 mL headspace vial에 넣고 Teflon cap으로 밀봉.
- ③ 60°C에서 30분간 방치하여 평형상태에 도달시킨 후, SPME fiber를 1.5 cm 노출시켜 30분 동안 시료의 휘발성 성분을 fiber에 흡착.
- ④ Fiber를 GC의 injection port (200°C)에 1분간 탈착 후 추출은 duplicate로 실시함.

(나) Solvent assisted flavor evaporation (SAFE)(그림 1)

- ① 샘플 12 g(MCP-OF의 경우 60 mL)을 2차 증류수 60 mL에 녹인 후, SAFE additional funnel에 넣고 40°C,  $8.0 \times 10^{-6}$  torr에서 1시간 동안 증류하여 추출함.
- ② SAFE에 의해 추출된 추출액은 재증류한 dichloromethane 15 mL을 이용하여 용매 추출함.
- ③ 추출액은 -20°C에서 24시간 냉동시켜 수분을 제거한 후, 용매층을 anhydrous sodium sulfate를 통과시켜 여분의 수분을 제거하고 수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 100  $\mu\text{L}$ 까지 농축하여 분석시료로 사용함.

(다) Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

- ① 샘플의 휘발성 성분은 Agilent 6890N GC/Agilent 5973 mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 동정함.
- ② Column은 DB-5ms (60 m length  $\times$  0.25 mm i.d.  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$  film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-wax (60 m length  $\times$  0.25 mm i.d.  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$  film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였음.
- ③ Oven 온도는 40°C에서 5분간 유지한 후 200°C까지 5°C/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였음.
- ④ Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C로 유지하고 carrier gas로는 helium을 사용하였으며 유속은 1.0 mL/min으로 하였음.
- ⑤ Ionization voltage는 70eV 그리고 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33~350으로 하여 duplicate로 분석 실시함.

(라) Gas chromatography-olfactometry (GC-O)(그림 2)



- ① GC-O는 YL 6100 GC (Young Lin Instrument Co., Ltd., Anyang, Korea)를 사용.
- ② Detector는 FID (Flame ionization detector)를 사용하였고, column으로부터 분지시켜 nose cone을 이용하여 sniffing을 실시하였음.
- ③ Column은 DB-5ms (30 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-wax (30 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였음.
- ④ Oven 온도는 40℃에서 5분간 유지한 후 200℃까지 10℃/min 속도로 승온시켜 10분간 유지하였음.
- ⑤ Injector 온도는 200℃, detector 온도는 250℃로 유지하고 carrier gas로는 helium을 사용하였으며 유속은 1.4 mL/min으로 하였음.

(마) Sample dilution analysis (SDA)

- ① 샘플 향기 성분의 상대적인 강도를 측정하기 위하여 SPME-CG-O법인 sample dilution analysis (SDA)를 실시하였음.
- ② 시료의 휘발성 성분을 추출하기 위하여 SPME를 사용하였으며, SPME fiber는 50/30µm divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane을 사용함.
- ③ 샘플 1 g을 2차 증류수 6 mL에 녹인 후 시료 3 mL에 2차 증류수를 3 mL 가하여 연속적으로 2배씩 희석함.
- ④ 시료 3 mL과 2차 증류수 3 mL을 가하여 연속적으로 2배씩 희석 한 후, 20 mL SPME vial에 넣고 teflon cap으로 밀봉함.
- ⑤ 60℃에서 30분간 방치하여 평형상태에 도달시킨 후, SPME fiber를 1.5 cm 노출시켜 30분동안 시료의 휘발성 성분을 fiber에 흡착시킴.
- ⑥ Fiber를 GC의 injection port (200℃)에 1분간 탈착시키고 sniffing port에서 감지되는 향기성분 및 향 활성화합물의 retention time을 기록함.
- ⑦ 위의 과정을 냄새가 나지 않을 때까지 행하고 sample dilution (SD) factor를 구하여 향기성분의 상대적 강도를 측정함.

(바) Aroma extract dilution analysis (AEDA)

- ① 샘플의 향기성분을 SAFE로 추출한 경우, 향기성분의 상대적인 강도를 측정하기 위하여 aroma extract dilution analysis (AEDA)를 실시함.
- ② SAFE 추출액 20 µL에 dichloromethane 20 µL를 가하여 연속적으로 2배 희석하고 GC에 1 µL를 injection하여 sniffing port에서 감지되는 향기 성분의 retention time을 기록함.
- ③ 위의 과정을 냄새가 나지 않을 때까지 행하고 flavor dilution (FD) factor를 구하여 각 향기성분의 상대적 강도를 측정하였음.



그림 17. SAFE 이취성분 추출 장치



그림 18. GC-O 분석 장비

(2) 향기성분 정성/정량 실험 결과

① SAFE / GC-MS&GC-O

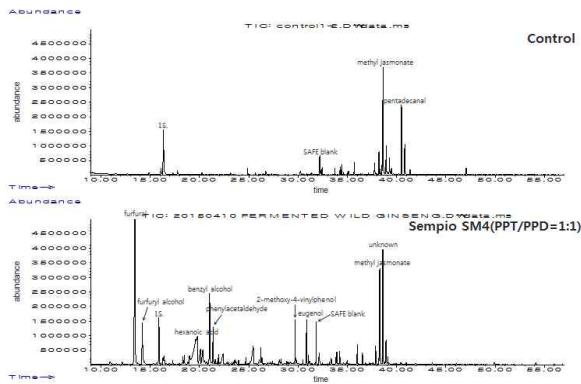


그림 19. SAFE/GC-MS 향기성분 데이터-1

No	RT		Compound name	Concentration (ppm) <sup>a</sup>	
	DB-Sms	DB-wax		Control	Sempio SM4 (PPT/PPD=1:1)
1	801	1110	hexanal	0.01±0.00	ND <sup>b</sup>
2	834	1467	furfural	ND	13.69±0.06
3	856	1669	furfuryl alcohol	ND	0.46±0.01
4	862	1158	cyclohexene oxide	0.02±0.00	0.02±0.00
5	871	1159	3-hexanol	0.01±0.00	0.01±0.00
6	892	1466	2-cyctohexen-1-ol	0.21±0.02	0.19±0.02
7	909	1453	methional	ND	0.08±0.00
8	910	1641	γ-butyrolactone	ND	0.08±0.01
9	928	1412	2-cyclohexen-1-one	0.09±0.01	0.08±0.00
10	955	1582	5-methylfurfural	ND	0.06±0.00
11	959	1528	benzaldehyde	ND	0.07±0.00
12	973	2004	phenol	ND	0.11±0.00
13	992	1894	hexanoic acid	ND	1.59±0.02
14	1004	1273	octanal	0.07±0.00	0.05±0.00
15	1009	1954	3-hexenoic acid	ND	0.27±0.00
16	1012	2030	1H-pyrrrole-2-carboxaldehyde	ND	0.28±0.02
17	1029	1877	benzyl alcohol	ND	0.66±0.01
18	1049	1646	phenylacetaldehyde	TR	0.27±0.00
19	1052	1717	γ-heptalactone	ND	0.64±0.00
20	1060	1820	1-phenylethanol	ND	0.06±0.00
21	1071	1965	heptanoic acid	ND	0.23±0.01
22	1088	1443	2-methoxy-3-isopropylpyrazine	0.03±0.00	ND
23	1089	1280	α-terpinolene	0.02±0.00	ND
24	1101	1552	linalool	0.01±0.00	ND
25	1103	1196	nonanal	0.01±0.00	ND
26	1110	1962	2-ethyl hexanoic acid	ND	0.03±0.00
27	1113	1912	phenylethyl alcohol	ND	0.03±0.00
28	1142	ND	7,7-dichlorobicyclo[4.1.0]heptane	0.09±0.01	ND
29	1145	1796	γ-heptalactone	ND	0.06±0.00
30	1161	1534	2-nonenal	0.01±0.00	0.01±0.00

그림 20. SAFE/GC-MS 향기성분 데이터-2

No	RT <sup>a</sup>		Compound name	Concentration (ppm) <sup>b</sup>	
	DB-Sms	DB-wax		Control	Sempio SM4 (PPT/PPD=1:1)
31	1161	1509	2-methoxy-3-sec-butylpyrazine	0.03±0.00	ND
32	1165	2050	octanoic acid	ND	0.42±0.01
33	1192	1845	p-cymen-8-ol	0.01±0.00	ND
34	1196	1707	naphthalene	0.01±0.00	0.11±0.00
35	1201	ND	3-aminothiophene-2-carbohydrazide	0.09±0.01	0.06±0.00
36	1224	1521	3-sec-butyl-2-methoxy-5-methylpyrazine	TR	ND
37	1237	2174	nonanoic acid	ND	0.03±0.00
38	1297	1797	2,4-decadienal	0.01±0.00	ND
39	1305	2156	2-methoxy-4-vinylphenol	ND	0.28±0.03
40	1322	1969	2-methylquinoline	0.14±0.01	0.10±0.00
41	1350	2141	eugenol	ND	0.38±0.02
42	1367	2018	γ-nonolactone	0.05±0.00	0.07±0.00
43	1400	1490	tetradecane	0.05±0.01	ND
44	1403	1609	β-paonolone	0.10±0.01	ND
45	1405	>2200	vanillin	ND	0.10±0.00
46	1454	1662	trans-β-farnesene	0.09±0.01	ND
47	1474	1749	β-selinene	0.13±0.02	ND
48	1480	1747	α-neoalovene	0.13±0.01	ND
49	1487	1737	β-chamigrene	0.04±0.00	ND
50	1502	1721	β-neoalovene	0.03±0.00	ND
51	1529	1764	δ-cadinene	0.22±0.02	ND
52	1577	>2200	γ-undecalactone	0.02±0.00	0.06±0.00
53	1611	1921	tetradecanal	0.06±0.02	ND
54	1649	>2200	methyl jasmonate	2.56±0.22	0.76±0.04
55	1649	>2200	methyl dihydrojasmonate	0.10±0.02	TR <sup>d</sup>
56	1657	>2200	unknown	0.77±0.02	0.89±0.01
57	1667	ND	(E)-5-methylcyclopent-5-en-1-one	0.02±0.00	ND
58	1670	>2200	unknown	0.39±0.05	ND
59	1673	ND	unknown	0.46±0.03	ND
60	1674	>2200	methyl epijasmolate	0.10±0.01	0.09±0.00

그림 21. SAFE/GC-MS 향기성분 데이터-3

No	RT <sup>a</sup>		Compound name	Aroma description	FD <sup>b</sup>	
	DB-Sms	DB-wax			Control	Sempio SM4 (PPT/PPD=1:1)
3	856	1669	furfuryl alcohol	nutty, pungent	-	3
7	909	1453	methional	creamy	-	12
A	910	ND <sup>c</sup>	unknown		3	-
B	926	ND	unknown		0	-
13	992	1894	hexanoic acid	sweaty, rancid	-	3
15	1009	1954	3-hexenoic acid	sweaty	-	5
18	1049	1646	phenylacetaldehyde	green, pungent	8	11
22	1088	1443	2-methoxy-3-isopropylpyrazine	ginseng-like	12	-
C	1095	ND	unknown	medicinal	-	4
D	1155	ND	unknown	fatty	2	-
30	1161	1534	2-nonenal	fatty	1	-
31	1161	1509	2-methoxy-3-sec-butylpyrazine	bell pepper-like	5	-
E	1158	ND	unknown	green	-	2
F	1223	ND	unknown	barbecue-like	-	3
36	1224	1521	3-sec-butyl-2-methoxy-5-methylpyrazine	bell pepper-like	8	-
G	1245	ND	unknown	sweet, herb	-	2

<sup>a</sup>Retention indices were determined on DB-Sms and DB-wax using C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> as external reference.

<sup>b</sup>Flavor dilution (FD) factor (=log<sub>10</sub> FD).

<sup>c</sup>Not detected.

그림 22. SAFE/GC-O 향기성분 데이터

② 고찰

㉠ 향기성분 총 34종 동정 확인

㉡ 원료(Control) 대비 Sempio SM4(PPT:PPD=1:1)의 휘발성 향기성분의 profile과 다름

- ㉔ Lactone류가 증가 또는 생성됨
- ㉕  $\gamma$ -butyrolactone (no. 8),  $\gamma$ -hexalactone (no. 19) 등 Lactone류는 sweet, creamy, coconut-like한 향 특성을 가짐
- ㉖ 대부분의 terpene류가 감소 또는 검출되지 않음 : trans- $\beta$ -farnesene (no. 46),  $\beta$ -selinene

③ LLCE / GC-MS&GC-O

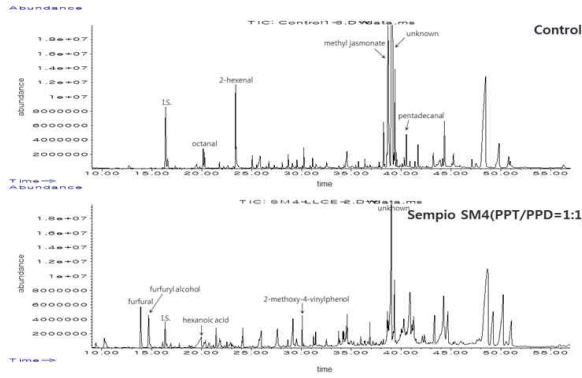


그림 23. LLCE/GC-MS 향기성분 데이터-1

No	R <sup>1</sup>		Compound name	Concentration (ppm) <sup>b</sup>	
	DB-5ms	DB-wax		Control	Sempio SM4 (PPT/PPD=1:1)
1	<800	1205	acetoin	ND <sup>c</sup>	ND
2	<800	1205	isoamyl alcohol	ND	0.24±0.02
3	801	1110	hexanal	0.07±0.01	0.03±0.00
4	858	1460	furfural	ND	1.18±0.17
5	856	1669	furfuryl alcohol	ND	0.97±0.12
6	862	1158	cyclohexene oxide	0.03±0.00	0.04±0.00
7	871	1359	1-hexanol	0.01±0.00	0.02±0.00
8	892	1466	2-cyclohexen-1-ol	0.13±0.01	0.12±0.01
9	900	1188	heptanal	0.20±0.03	ND
10	909	1453	methional	ND	TR <sup>d</sup>
11	919	1641	$\gamma$ -butyrolactone	ND	0.13±0.01
12	928	1412	2-cyclohexen-1-one	0.03±0.00	0.04±0.00
13	955	1582	5-methylfurfural	ND	0.05±0.00
14	959	1528	benzaldehyde	0.02±0.00	0.02±0.00
15	970	1450	1-heptanol	TR	0.05±0.00
16	991	1231	2-pentylfuran	0.03±0.00	ND
17	992	1894	hexanoic acid	0.10±0.01	1.33±0.12
18	1004	1293	octanal	0.08±0.01	0.28±0.03
19	1009	1954	3-hexenoic acid	ND	0.34±0.03
20	1012	2030	1H-pyrrole-2-carboxaldehyde	ND	0.20±0.02
21	1019	1409	5-ethyl-2-methylpyridine	ND	0.06±0.00
22	1029	1877	benzyl alcohol	TR	0.40±0.03
23	1049	1646	phenylacetaldehyde	TR	0.19±0.02
24	1053	ND	4,5-dimethyl-1,3-dioxol-2-one	ND	0.16±0.01
25	1052	1717	$\gamma$ -hexalactone	ND	0.04±0.00
26	1060	1820	1-phenylethanol	ND	0.04±0.00
27	1070	1554	1-octanol	ND	0.05±0.01
28	1071	1965	heptanoic acid	0.03±0.00	0.23±0.02
29	1084	2001	1-(2-furyl)-2-hydroxyethanone	ND	0.04±0.00
30	1088	1443	2-methoxy-3-isopropylpyrazine	0.02±0.00	ND

그림 24. LLCE/GC-MS 향기성분 데이터-2

No	R <sup>1</sup>		Compound name	Concentration (ppm) <sup>b</sup>	
	DB-5ms	DB-wax		Control	Sempio SM4 (PPT/PPD=1:1)
31	1089	1965	maltol	ND	0.13±0.01
32	1090	1386	2-nonanone	0.02±0.00	ND
33	1095	1459	$\beta$ -nonenal	1.21±0.08	0.02±0.00
34	1113	1912	phenylethyl alcohol	ND	0.36±0.02
35	1142	ND	7,7-dichlorobicyclo[4.1.0]heptane	0.07±0.01	ND
36	1145	1796	$\gamma$ -heptalactone	ND	0.02±0.00
37	1161	1534	$\beta$ -nonenal	0.01±0.00	0.01±0.00
38	1161	1509	2-methoxy-3-sec-butylpyrazine	0.03±0.00	ND
39	1165	2050	octanoic acid	0.26±0.00	0.86±0.08
40	1182	1845	p-cymene-8-ol	0.01±0.00	ND
41	1196	1707	naphthalene	TR	0.02±0.00
42	1201	ND	3-aminothiophene-2-carboxaldehyde	0.06±0.01	0.02±0.00
43	1224	1521	3-sec-butyl-2-methoxy-5-methylpyrazine	ND	ND
44	1233	>2200	5-hydroxymethylfurfural	ND	0.76±0.03
45	1256	>2200	benzenoacetic acid	ND	0.05±0.00
46	1257	2174	nonanoic acid	0.01±0.00	0.13±0.01
47	1259	1916	$\gamma$ -octalactone	ND	0.01±0.00
48	1267	ND	methyl-2-o-nonanoate	0.12±0.02	ND
49	1279	ND	6-(5-methylfuran-2-yl)-hexan-2-one	0.02±0.00	ND
50	1281	>2200	4-methyl-5-thiazolethanol	0.06±0.01	0.93±0.11
51	1297	1797	2,4-decadienal	0.06±0.01	ND
52	1305	2156	2-methoxy-4-vinylphenol	0.02±0.00	0.43±0.04
53	1322	1969	2-methylquinoline	0.15±0.01	0.04±0.00
54	1346	2068	5-pentyl-(2H)-furanone	0.02±0.00	ND
55	1350	2141	eugenol	ND	0.12±0.00
56	1353	ND	3,3,4,4-tetramethyl-2-pentanone	0.06±0.01	ND
57	1362	>2200	decanoic acid	ND	0.05±0.00
58	1367	2018	$\gamma$ -nonalactone	0.03±0.00	0.21±0.02
59	1400	1400	tetradecane	0.01±0.00	ND
60	1403	1689	$\beta$ -panasinene	0.02±0.00	ND

그림 25. LLCE/GC-MS 향기성분 데이터-1

No	R <sup>1</sup>		Compound name	Concentration (ppm) <sup>b</sup>	
	DB-5ms	DB-wax		Control	Sempio SM4 (PPT/PPD=1:1)
61	1405	>2200	vanillin	0.07±0.00	0.18±0.02
62	1454	1663	trans- $\beta$ -farnesene	0.02±0.00	ND
63	1458	>2200	vanillyl alcohol	ND	0.12±0.01
64	1471	ND	1-methyl-3-phenylcyclopentene	0.01±0.00	0.28±0.02
65	1474	1749	$\beta$ -selinene	0.04±0.00	ND
66	1474	2151	$\gamma$ -decalactone	ND	0.39±0.04
67	1480	1747	$\alpha$ -mexolone	0.07±0.01	ND
68	1482	ND	9-o-nonanoic acid	0.21±0.02	ND
69	1486	ND	3-ethyl-7-hydroxyphthalide	TR	0.50±0.04
70	1529	1748	$\epsilon$ -cadinene	0.03±0.01	ND
71	1542	>2200	9-hydroxy nonanoic acid	ND	0.16±0.02
72	1563	ND	diethanoic acid	ND	0.06±0.00
73	1572	ND	vanillic acid	ND	0.14±0.01
74	1577	>2200	$\gamma$ -undecalactone	0.02±0.00	0.32±0.03
75	1598	>2200	2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	ND	0.03±0.00
76	1649	>2200	methyl jasmonate	2.95±0.18	0.65±0.06
77	1649	>2200	unknown	1.59±0.12	ND
78	1654	>2200	unknown	8.63±0.92	5.73±0.32
79	1673	ND	unknown	1.09±0.02	1.32±0.16
80	1674	>2200	methyl epijasmonate	0.13±0.01	0.13±0.01
81	1716	ND	(3-oxo-2-pent-1-enyl)acetic acid	ND	0.99±0.04
82	1720	ND	unknown	ND	2.78±0.31
83	1795	ND	unknown	0.28±0.03	0.82±0.07
84	1818	ND	unknown	1.53±0.02	1.52±0.12
85	1835	ND	unknown	ND	1.42±0.19
86	1912	ND	unknown	5.41±0.17	9.66±0.95
87	1933	ND	unknown	ND	43.2±0.43
88	1938	ND	unknown	0.69±0.01	1.35±0.15
89	1952	>2200	hexadecanoic acid	0.58±0.09	1.75±0.15
90	1954	ND	cytostine	0.03±0.01	ND

<sup>a</sup>Retention indices were determined on DB-5ms and DB-wax using C<sub>12</sub>-C<sub>22</sub> as external reference.  
<sup>b</sup>Mean  $\pm$  standard deviation.  
<sup>c</sup>Not detected.  
<sup>d</sup>Trace.

그림 26. LLCE/GC-MS 향기성분 데이터-2

No	R <sup>1</sup>		Compound name	Aroma description	FD <sup>b</sup>	
	DB-5ms	DB-wax			Control	Sempio SM4 (PPT/PPD=1:1)
2	<800	1205	isoamyl alcohol	nuty	-	0
A	865	ND	unknown	nuty, pungent	4	4
10	909	1453	methional	creamy	-	3
B	926	ND	unknown	nuty	-	1
17	992	1894	hexanoic acid	sweaty, rancid	-	3
19	1009	1954	3-hexenoic acid	sweaty	-	5
23	1049	1646	phenylacetaldehyde	green, pungent	7	11
30	1088	1443	2-methoxy-3-isopropylpyrazine	ginseng-like	10	-
31	1089	1965	maltol	sweet	-	1
33	1095	ND	$\beta$ -nonenal	cucumber-like	7	-
34	1113	1912	phenylethyl alcohol	sweet	-	1
C	1148	ND	unknown	oily	-	0
37	1161	1534	2-nonanal	fatty	1	-
43	1224	1521	3-sec-butyl-2-methoxy-5-methylpyrazine	bell pepper	5	-

<sup>a</sup>Retention indices were determined on DB-5ms and DB-wax using C<sub>12</sub>-C<sub>22</sub> as external reference.  
<sup>b</sup>Flavor dilution (FD) factor (=log<sub>2</sub> FD).  
<sup>c</sup>Not detected.

그림 27. LLCE/GC-O 향기성분 데이터

나. 최종 Prototype의 가공적성/안전성/안정성 실험 및 규격 표준화 및 최적화 수립

(1) 임상용 최종 Prototype의 표준화 및 제조

(가) 제조공정 표준화

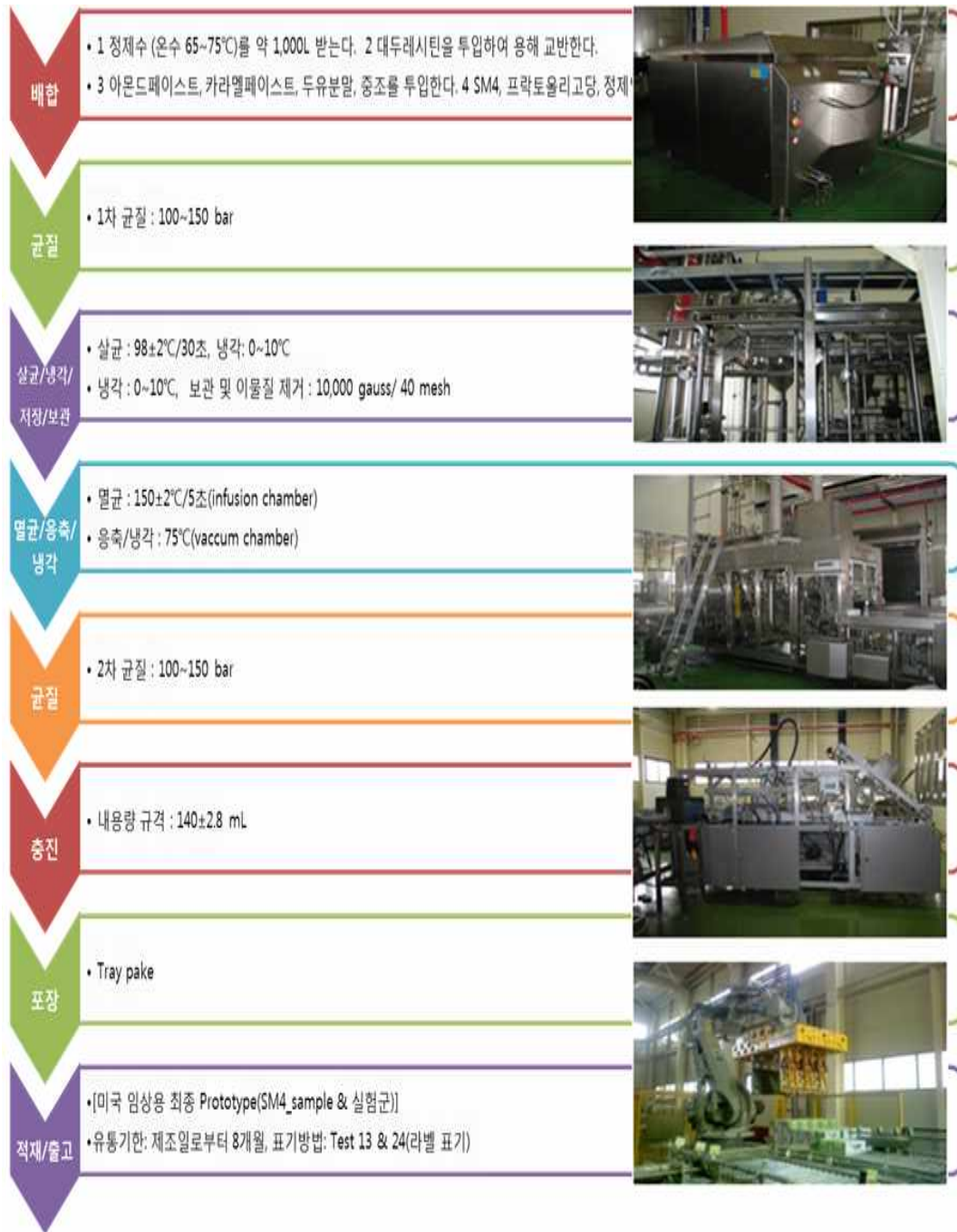


그림 28. 최종 임상용 Prototype SM4 제조공정도

(나) 최적 레시피

① 실험군 최적 레시피(제조년월일 및 Test 24로 표기)

인삼과제 3차년도 임상시험용 시제품 - M4 피로회복 스포츠 음료 최종 시제품 레시피 (실험군)										
원료명	공급처	고형분	원료가격	%비율	%고형분	단위가격	Kcal	합계(g) (1 pack 당)	합계(kg) (3톤 생산시)	총 사용 금액
1. 아몬드 파이스트(미국산)	대산농산	0.95	14,500	1.5	1.425	21.75	9.75	2.1	45	₩652,500
2. 카라멜파이스트(jq506)	유니크	0.95	5,900	1	0.95	5.9	6.5	1.4	30	₩177,000
3. 프락토올리고당	네오크레마	0.75	2,200	2	1.5	4.4	5.25	2.8	60	₩132,000
4. 두유분말	BkBio	0.95	14,000	1.5	1.425	21	6.975	2.1	45	₩630,000
5. SM4(OT.150320)	생표식품	0.05	30,000	5	0.25	695	0	7	150	₩4,500,000
6. 소금(정제염)	생표식품	0.95	200	0.05	0.0475	0.01	0	0.07	1.5	₩300
7. 아몬드 1(1408084) 향	상정향료	0.05	16,000	0.23	0.0115	3.68	0	0.32	6.9	₩110,400
8. 효소처리스테비아(Stevilit 80G)	마크로케어	0.95	50,000	0.0167	0.015865	0.835	0	0.02	0.501	₩25,050
9. 대두 레시틴	한미 FT	0.5	8,500	0.1	0.05	0.85	0	0.14	3	₩25,500
10. 중조(산도조절제)	한미 FT	0.95	6,500	0.067	0.06365	0.4355	0	0.094	2.01	₩13,065
11. 물		0	0	88.5363	0	0	0	123.95	2656.089	₩0
Sum				100	5.74	753.86	28.48	140	3000	₩6,265,815
규격	1. 고형분 : 당도계로써 5.5±0.5(brix) 2. pH : 6.8±0.3 3. 색상 및 관능 : 옅은 갈색의 현탁액상 4. packing size : 140(ml) 5. 타입: 테트라 pack (140ml)									
주의사항	1. 중조의 경우, 생산시 함량을 조절 필요 2. 대두레시틴의 경우, 뜨거운 물로 미리 녹인 후, 첨가									

그림 29. 최종 Prototype SM4 실험군 레시피

② 플라시보군 최적 레시피(제조년월일 및 Test 13로 표기)

인삼과제 3차년도 임상시험용 시제품 - M4 피로회복 스포츠 음료 최종 시제품 레시피 (플라시보군)										
원료명	공급처	고형분	원료가격	%비율	%고형분	단위가격	Kcal	합계(g) (1 pack 당)	합계(kg) (3톤 생산시)	총 사용 금액
1. 아몬드 파이스트	대산농산	0.95	14,500	1	0.95	14.5	6.5	1.4	30	₩435,000
2. 카라멜파이스트	유니크	0.95	5,900	1.3	1.235	7.67	8.45	1.82	39	₩230,100
3. 프락토올리고당	네오크레마	0.75	2,200	2	1.5	4.4	13	2.8	60	₩132,000
4. 두유분말	BkBio	0.95	14,000	1.5	1.425	21	6.975	2.1	45	₩630,000
5. 소금(정제염)	생표식품	0.95	200	0.05	0.0475	0.01	0	0.07	1.5	₩300
6. 아몬드 1(1408084) 향	상정향료	0.05	16,000	0.23	0.0115	3.68	0	0.32	6.9	₩110,400
7. 효소처리스테비아(Stevilit 80G)	마크로케어	0.95	50,000	0.012	0.0114	0.6	0	0.02	0.36	₩18,000
8. 카라멜색소	두비산업	0.95	35,000	0.01	0.0095	0.35	0	0.01	0.3	₩10,500
9. 잔탄검	생표식품	0.95	23,000	0.015	0.01425	0.345	0	0.02	0.45	₩10,350
10. 대두 레시틴	한미 FT	0.5	8,500	0.1	0.05	0.85	0	0.14	3	₩25,500
11. 중조(산도조절제)	한미 FT	0.95	6,500	0.035	0.03325	0.2275	0	0.049	1.05	₩6,825
12. 물		0	0	93.748	0	0	0	131.25	2812.44	₩0
Sum				100	5.29	53.63	34.93	140	3000	₩1,608,975
규격	1. 고형분 : 당도계로써 5.5±0.5(brix) 2. pH : 6.8±0.3 3. 색상 및 관능 : 옅은 갈색의 현탁액상 4. packing size : 140(ml) 5. 타입: 테트라 pack (140ml)									
주의사항	1. 중조의 경우, 생산시 함량을 조절 필요 2. 잔탄검과 대두레시틴은 각각 뜨거운 물에 용해 후, 배합									

그림 30. 최종 Prototype SM4 플라시보군 레시피

(다) 최종 Prototype 제품 사진



<전면>

<옆면>

<윗면>

그림 31. 임상시험용 최종 Prototype SM4 제품 사진

(라) 최종 Prototype 자가 기준 제품규격서

제품 검사 성적서				작성 김대은	검토 이성열	승인 4/29
제품명	샘프 시생산 실험군	제조업체	한미메디케어㈜			
제조일	2015.04.28 - 2015.04.29	검사일자	2015.04.29			
유통기한	2015.12.28	용량(mL)	140			
검사 성적 결과						
구분	단위	검사기준	검사결과	비 고		
성상	-	고유의 색택과 향미를 가지고 이며, 이취가 없어야 한다.	적합			
이물질	-	불검출	불검출			
세균수	cfu/ml	음성이여야 한다	음성			
대장균군	cfu/ml	음성이여야 한다	음성			
내용량(mL)	mL	140±2.8	138.6			
고형분(% , 180℃)	%	5.4±0.2	5.54			
pH	-	7.5± 0.3	7.7			
판정결과	적 합					
위의 분석결과는 당사 품질개발팀에서 시험한 결과임.						
판정일자 : 2015년 05월 01일      검사(판정)자 : 김 은 혜						

HM-PP-07-04

한미메디케어㈜

제품 검사 성적서				작성 김대은	검토 이성열	승인 4/29
제품명	샘프 시생산 풀라시보군	제조업체	한미메디케어㈜			
제조일	2015.04.28 - 2015.04.29	검사일자	2015.04.29			
유통기한	2015.12.28	용량(mL)	140			
검사 성적 결과						
구분	단위	검사기준	검사결과	비 고		
성상	-	고유의 색택과 향미를 가지고 이며, 이취가 없어야 한다.	적합			
이물질	-	불검출	불검출			
세균수	cfu/ml	음성이여야 한다	음성			
대장균군	cfu/ml	음성이여야 한다	음성			
내용량(mL)	mL	140±2.8	139.9			
고형분(% , 180℃)	%	4.8±0.2	4.92			
pH	-	7.5± 0.3	7.7			
판정결과	적 합					
위의 분석결과는 당사 품질개발팀에서 시험한 결과임.						
판정일자 : 2015년 05월 01일      검사(판정)자 : 김 은 혜						

HM-PP-07-04

한미메디케어㈜

그림 32. 임상시험용 최종 Prototype SM4 제품규격서

(마) 유통기한 설정시험(가혹조건 시 6개월 시험)

① 실험 방법

㉠ 미생물(일반세균, 대장균군, 효모·곰팡이)

상온(25℃), 가혹조건(40℃)에서 미국 임상용 시제품(SM4\_sample, placebo)을 6개월간 0주, 1주, 2주, 3주, 4주, 2개월, 3개월, 6개월 간격으로 Petri film plate(3M™Petrifilm™plate,3M)을 이용하여 미생물을 측정함. 미국 임상용 시제품(SM4\_sample, placebo)을 멸균수로 10배 희석하여 Petri film plate에 1mL씩 분주 하고, 일반세균과 대장균군은 37℃에서 48시간, 효모·곰팡이는 25℃(상온)에서 72시간 배양 후 균수를 측정함.

㉡ pH 변화

상온(25℃), 가혹조건(40℃)에서 미국 임상용 시제품(SM4\_sample, placebo)을 6개월간 보관하며, 0주, 1주, 2주, 3주, 4주, 2개월, 3개월, 6개월 간격으로 pH meter(Orion star A series meter, Thermo Fisher Scientific, Inc.)를 이용하여 pH를 측정함.

㉢ 관능(맛, 향, 이물감) 검사

상온(25℃), 가혹조건(40℃)에서 미국 임상용 시제품(SM4\_sample, placebo)을 6개월간 보관하며, 0주, 1주, 2주, 3주, 4주, 2개월, 3개월, 6개월 간격으로, 네 명의 실험자가 미국 임상용 시제품(SM4\_sample, placebo)을 섭취함으로써 샘플의 이상 유무를 확인함.

㉣ 유효성분(PPD type, PPT type(지표성분)) 함량변화

미국 임상용 시제품(SM4\_sample)을 6개월 간 상온(25℃)에서 보관하며, 미국 임상용 시제품(SM4\_sample)의 기능성 지표물질인 PPT type 진세노사이드 및 PPD type 진세노사이드의 함량변화를 HPLC(Agilent 1200 series)를 이용하여 분석함. 미국 임상용 시제품(SM4\_sample) 280 mL을 100% MeOH 400mL로 2회 추출하고, 농축 후 DW 200mL에 용해하여 수포화-BuOH 200mL로 2회 추출함. 전처리된 시료는 아래와 같은 조건으로 HPLC 분석을 진행 함.

• HPLC Agilent 1200 series

• Flow rate 1ml/min

• Detector UV/Vis 203nm

• Injection volume 10ul

• Column Thermo scientific synchronis C18  
(4.6\*250mm, 5um, USA)

• Gradient

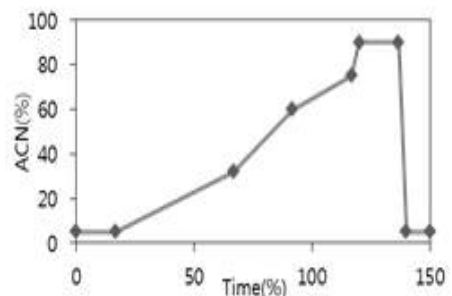


그림 33. HPLC 분석조건

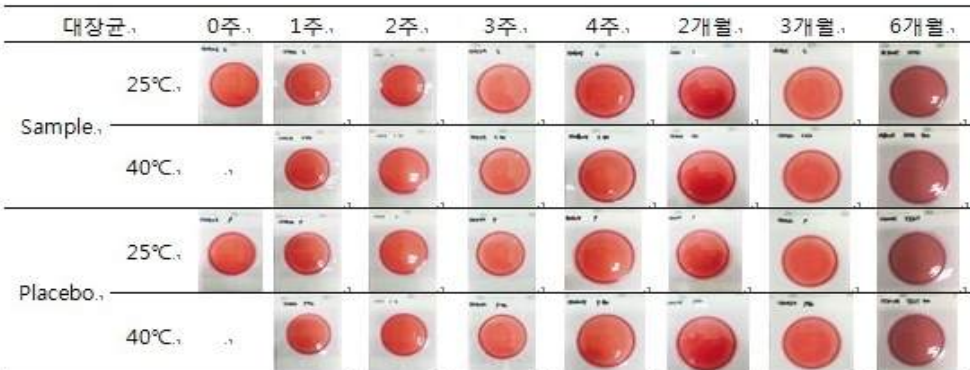
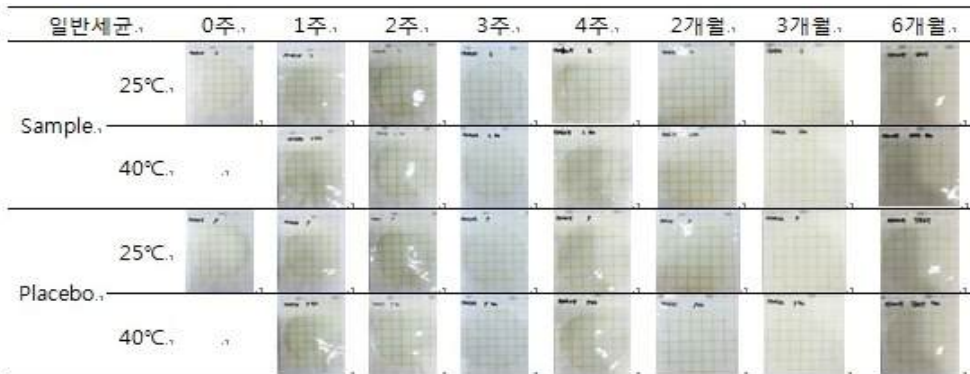
(바) 유통기한 설정시험(가혹조건 시 6개월 시험)

① 실험 결과

㉠ 미생물

Sample	대장균		일반세균		효모 및 곰팡이	
	25°C	40°C	25°C	40°C	25°C	40°C
0주	-	-	-	-	-	-
1주	-	-	-	-	-	-
2주	-	-	-	-	-	-
3주	-	-	-	-	-	-
4주	-	-	-	-	-	-
2개월	-	-	-	-	-	-
3개월	-	-	-	-	-	-
6개월	-	-	-	-	-	-

Placebo	대장균		일반세균		효모 및 곰팡이	
	25°C	40°C	25°C	40°C	25°C	40°C
0주	-	-	-	-	-	-
1주	-	-	-	-	-	-
2주	-	-	-	-	-	-
3주	-	-	-	-	-	-
4주	-	-	-	-	-	-
2개월	-	-	-	-	-	-
3개월	-	-	-	-	-	-
6개월	-	-	-	-	-	-



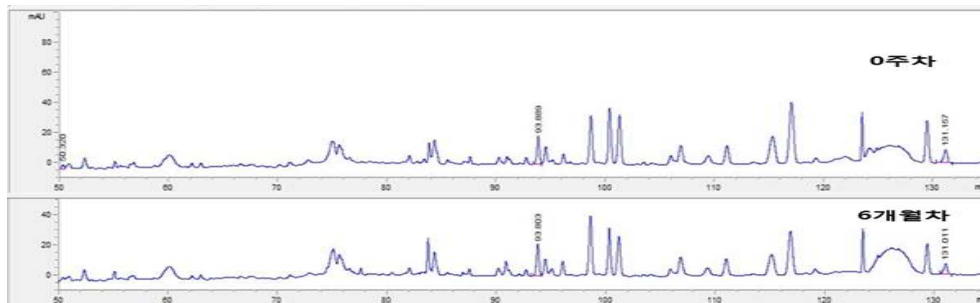


㉔ pH 변화

		0주	1주	2주	4주	2개월	3개월	6개월
Sample	25°C	7.48	7.37	7.34	7.30	7.19	7.25	7.23
	40°C		7.32	7.14	7.05	6.93	6.87	6.72
Placebo	25°C	7.64	7.50	7.47	7.39	7.31	7.31	7.32
	40°C		7.32	7.22	7.13	7.02	6.99	6.88

㉕ 기능성 지표물질(진세노사이드) 함량 변화

	PPT type	PPD type
예상 함량	0.147 mg/pack	0.146 mg/pack
0주차 함량	0.137 mg/pack	0.143 mg/pack
6개월차 함량	0.142 mg/pack	0.139 mg/pack



㉖ 총론

- 미국 임상용 시제품(SM4\_sample/placebo)의 안정성테스트를 위해 미생물(일반세균, 대장균군, 효모·곰팡이), pH 변화, 관능검사를 가혹조건하에서 6개월간 실시한 결과 이상 없었음을 확인하였음.
- 상온(25°C), 가혹조건(40°C)에서 보관하며 0주, 1주, 2주, 3주, 4주, 2개월, 3개월, 6개월 간격 으로 안정성 테스트 실시한 결과, 6개월 동안 미국 임상용 시제품(SM4\_sample/placebo)에 대한 안정성 문제 없음.
- 최종 상온(25°C), 가혹조건(40°C)에서 6개월 동안 품질 및 안정성에 이상이 없으므로 최소 12개월 이상 유통이 가능하나, 가급적 냉장 보관을 권장함.

(사) 품목제조보고서 및 유통기한설정사유서



식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명	생년월일		
	임종훈	1977년 10월 18일		
영양소	주소	전화번호		
	경기도 평택시 산단로 106(오곡동)	현대전회		
제품정보	식품의 유형	혼합음료	영양신고번호	19980308080
	제품명	SM 4 (에스엠 4)		
	유통기한	제조일로부터 6개월		
	품질유지기한			
	원재료 또는 성분명, 첨가물	맛장애 기재		
	용도 용법	맛장애 기재		
	보존방법 및 포장재질	실온보관 종이팩+폴리에틸렌(내면)		
	포장방법 및 포장단위	자동포장, 140ml, 150ml, 190ml, 200ml		
	성상	고유의 색택과 향미를 가진 액체로서 이취, 이취가 없는 용유.		
	고유향·자랑의 식품 증명 여부	[ ]예 [ ]아니오 [O]해당 없음		

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.  
 2015년 10월 27일  
 보고인 임종훈

경기도 평택시 송탄출장소장 귀하

품목보고일	19980308090227
처리부서	승민출장소 환경위생과
처리자명	오경희
처리일자	2015년 10월 27일



본 증명서는 원본ետ으로 발급되었으며 식품안전정보포털(http://www.foodsafetykorea.go.kr) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

[별지 제3호서식]

유통기한 설정 사유서

제품명	SM 4	
식품의 유형	혼합음료	
보존 및 유통 방법	실온( ) / 상온( ) / 냉동( ) / 기타( )	
유통 기 한	제조일로부터 6개월	
실험수행기관종류	자사( ) / 의뢰( ) / 생략( 0 )	
실험 수행 기관명	-	
유통기한 설정 근거		
1. 제품의 원료 및 보존 특성		
정제수에 원료를 투입, 용해, 혼합하여 살균처리한 후 포장재질이 종이+폴리에틸렌(내면)으로 된 용기에 무균설비에서 충전, 밀봉 포장되어 외부의 공기 및 습기가 침투하지 못하므로 미생물의 생육이 억제됨.		
2. 유사제품 비교		
구분	신규 제품	기존 유통제품
제품명	SM 4	웅진 아황햇살
제조사	한미메디케어㈜	한미메디케어㈜
식품의유형	혼합음료	혼합음료
성상	액체식품	액체식품
포장재질	종이팩+폴리에틸렌수지(내면)	종이팩+폴리에틸렌수지(내면)
포장방법	자동 밀봉포장	자동 밀봉포장
보존 및 유통온도	실온	실온
보존료 사용여부	미사용	미사용
유통·유통처리 여부	미처리	미처리
살균 또는 멸균방법	137℃±2℃, 35초 열균처리	137℃±2℃, 35초 열균처리
유통기한	제조일로부터 6개월	제조일로부터 6개월

- 한미약품 계열사 중 한미메디케어(주)에서 시제품 제조 진행 후 품목제조보고 완료.
- 한미메디케어(주)는 건강기능식품 전문제조업 및 HACCP 인증 업체로 두유 및 음료 전문 가공 업체임.

6. SM4 시제품의 향피로 임상실험(미국 현지인 대상)

가. 연구방법

(1) 연구대상

본 연구 대상자는 건강한 성인 남성 12명으로 심혈관질환, 대사기능 및 폐 기능 이상과 같은 건강 문제를 갖지 않은 자, 최근 3개월 이내에 약초를 복용하지 않은 자로 하였다. 연구 전 모든 연구대상자들은 연구목적과 절차를 설명받았으며, 자발적 참여를 동의한 자들에게 동의서를 받았다. 또한, 운동능력을 평가하는데 어려움이 있는 부상경험

이 있는 자, 혈관 및 심장기능과 관련된 가족력이 있는 자, 내과적 질환으로 인해 약물을 복용하고 있는 자는 연구대상에서 제외하였으며, 기초문진과 운동사전 위험도 검사(Physical Activity Readiness Questionnaire, PAR-Q)를 실시하였다.

### (2) 연구절차

본 연구는 이중맹검법(Double-blind)과 교차(Crossover)연구로 설계되었다 <그림 34>. 모든 대상자는 사전 실험을 통해 신체조성 및 최대산소 섭취량을 측정하였고, 운동능력 검사에 대한 예행연습을 실시하였다. 본 실험에서는 SM4와 위약음료(Placebo)를 무작위로 번갈아 섭취하였으며, 각각의 섭취 사이에는 최소 16일의 wash-out 기간을 두었다. 실험은 사전실험, 테스트 A와 테스트 B로 진행되었으며, 각 테스트마다 운동수행능력, 인지기능, 그리고 혈액검사를 실시하였다.

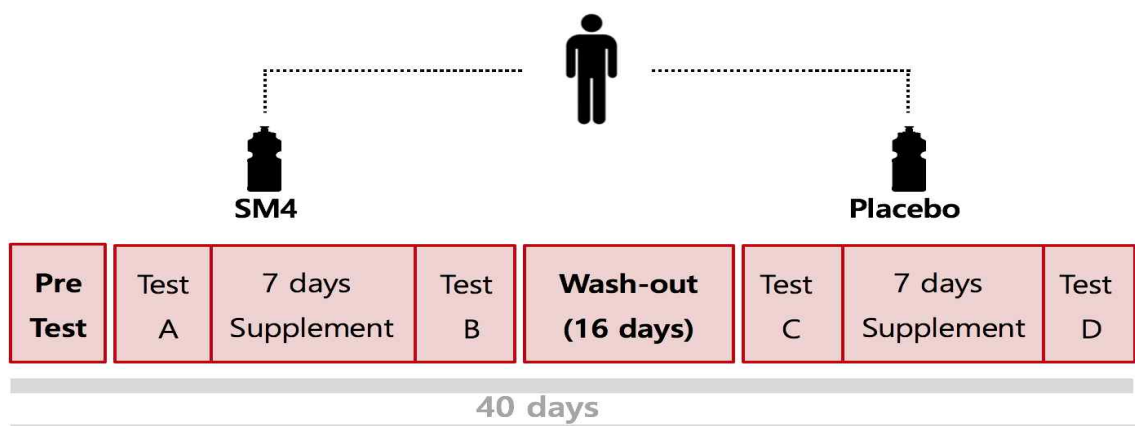


그림 34. 연구절차

### (3) 운동프로토콜

모든 대상자는 사이클 에르고미터(Monark 984E, Sweden)에서 30분 사이클링과 10마일 타임트라이얼(time trial)을 실시하였다. 30분 사이클링은 사전실험에서 얻은 개인별 최대산소 섭취량의 70~75%의 부하로 30분 동안 사이클링을 수행하였으며, 10 마일 타임트라이얼은 최대산소 섭취량의 70%에 해당하는 부하에서 최대한 빠른 속도로 완주하도록 하였으며, 총 시간을 기록하였다.

### (4) SM4 및 위약음료의 섭취

본 연구에서는 SM4와 위약음료(Placebo)를 동일한 팩의 형태로 포장하였으며 (140ml), 대상자들에게 오전과 오후 하루 두 팩씩 섭취하도록 하였으며, 각각의 성분은 <그림 35>와 같다. SM4 1팩에는 3g의 산삼이 함유되어 있으며, 1g 당 8.4mg/g의 진세노사이드(Ginsenosides)가 포함되어 있다. 따라서 섭취된 진세노사이드의 양은 1일 50.4mg이었다.

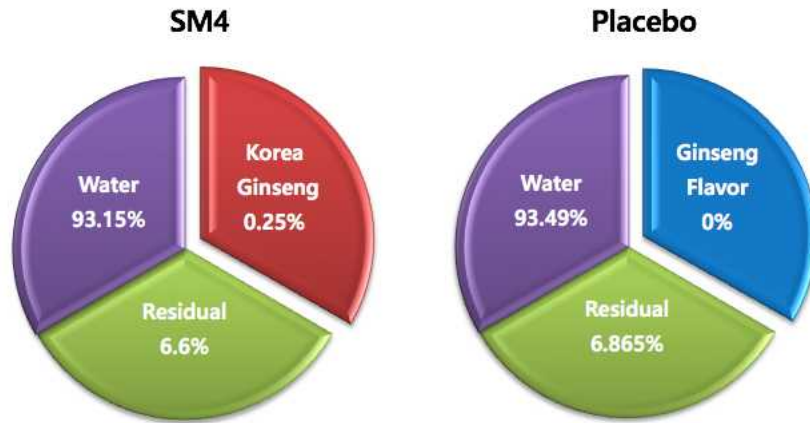


그림 35. SM4 와 Placebo 구성성분

(5) 측정방법

(가) 운동능력: 근과위는 파워사이클(power cycle, USA)을 이용하여 최대파워 (peak power)와 평균파워(mean power)를 측정하였고, 근력은 근력 검사 장비인 Lafayette(USA)를 이용하여 하지의 등척성 굴곡 및 신전근력을 측정하였다. 또한 근전도는 iwork(Dover, USA)를 이용하여 측정하였으며, 근지구력은 10마일 타임트라이얼 테스트(10-mile time trial test)를 통해 평가하였다.

(나) 인지기능: 인지기능검사는 전문 소프트웨어인 PEBL (The Psychology Experiment Building Language)을 이용하여, 뇌의 피로도를 측정하는 psychomotor vigilance task(PVT)와 선택적 주의력을 평가하는 delayed-match-to-sample task(DMS)를 실시하였다.

(다) 혈액분석: 본 연구에서는 근피로 및 회복, 항산화능력 및 면역기능과 관련된 혈액지표들을 분석하였으며, 구체적인 혈액변인과 분석방법은 아래 <표 16>에 제시된 바와 같다.

표 16. 혈액변인 분석방법

Variables	Methods	Instruments	Kit
IL-6	ELISA	ELx800 Absorbance Reader, BioTek, USA	Human IL-6 kit, Millipore, USA
TAC			Antioxidant Assay kit, Cayman, USA
Myoglobin			Myoglobin test kit, BioCheck, USA
Glucose	Photometric	UV-1800 Spectrophotometer, Shimadzu, USA	Glucose Liquid Reagents, Fisher,

(6) 자료 처리

본 연구에서 실험결과와 자료처리는 SPSS v22 통계 프로그램을 이용하였다. SM4의 섭취가 사이클운동 시 운동능력, 인지기능, 항산화 및 면역 기능 관련지표에 미치는 효과를 검증하기 위하여 집단별로(SM4 vs. 위약음료) 반복측정 분산분석을 이용하였다. 모든 통계의 유의수준은 0.05로 설정하였다.

나. 연구결과

본 연구는 산삼추출물(SM4) 섭취에 따른 운동수행능력, 인지기능, 그리고 피로회복에 대한 효과를 분석하고자 실시하였다. 본 연구결과는 일회성 섭취(1회)와 규칙적인 섭취(7일)에 대한 효과로 나누어 제시하고자 한다.

(1) 일회성 산삼추출물(SM4) 섭취에 따른 운동수행능력, 인지기능 및 피로회복의 변화

(가) 운동수행능력 (무산소능력)

일회성 SM4 섭취에 따른 무산소능력의 변화는 아래 <그림 36, 37>에 제시된 바와 같다. 최대파워의 경우 사이클 운동 중 Placebo그룹에서는 유의하게 감소하였지만 ( $p < .05$ ), SM4 그룹에서는 차이가 나타나지 않았다. 평균파워에서도 Placebo 그룹에서는 유의하게 감소하였지만( $p < .05$ ), SM4그룹에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 등속성 근력의 경우 그룹 또는 시점 간 유의한 차이가 나타나지 않았다.

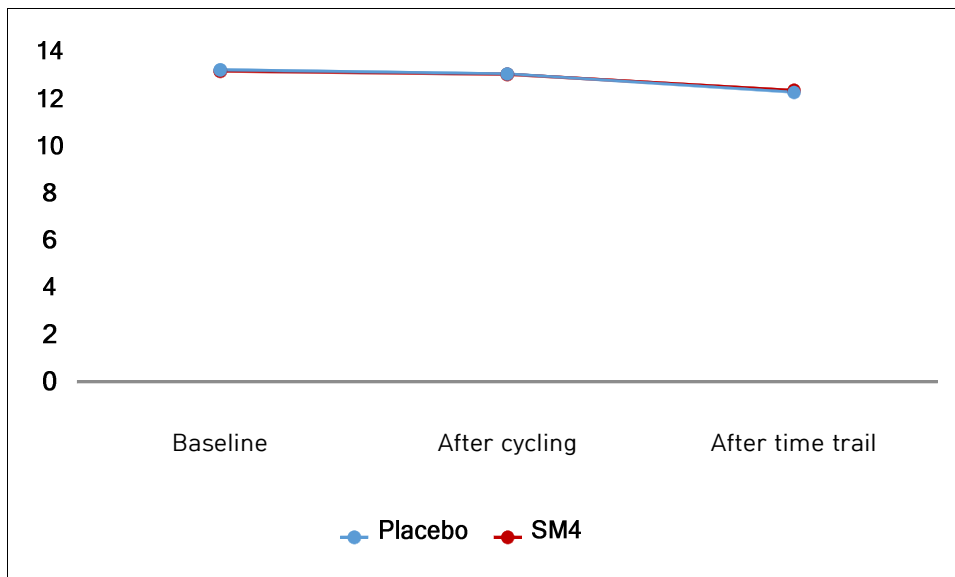


그림 36. 일회성 SM4 섭취에 따른 최대파워의 변화

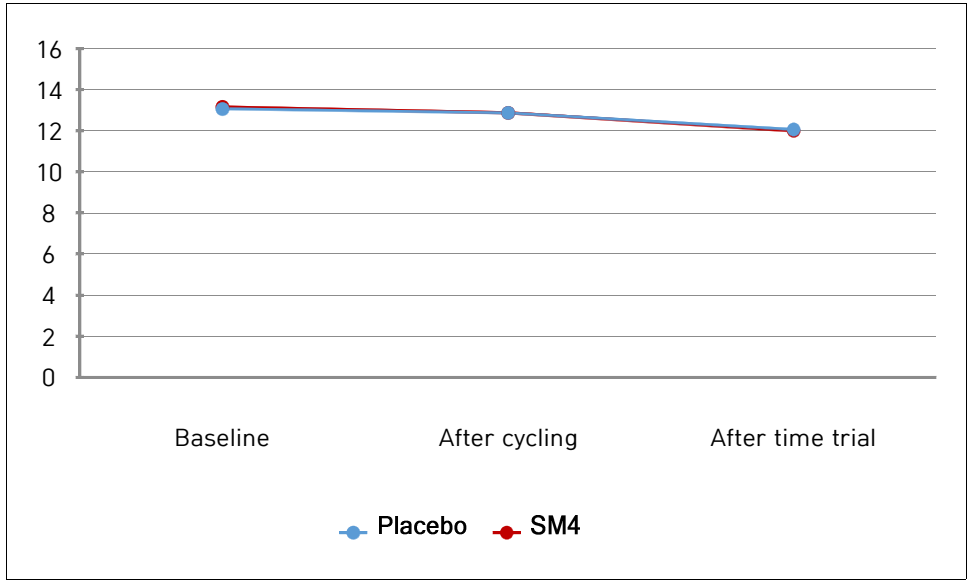


그림 37. 일회성 SM4 섭취에 따른 평균과위의 변화

(나) 인지기능

일회성 SM4 섭취에 따른 인지기능의 변화는 아래 <그림 38>에 제시된 바와 같다. Psychomotor vigilance task (PVT) 실험 결과 사이클 운동 중 SM4 그룹에서는 반응시간이 유의하게 단축되었지만( $p < .05$ ), Placebo 그룹에서는 차이가 나타나지 않았다( $p < .05$ ).

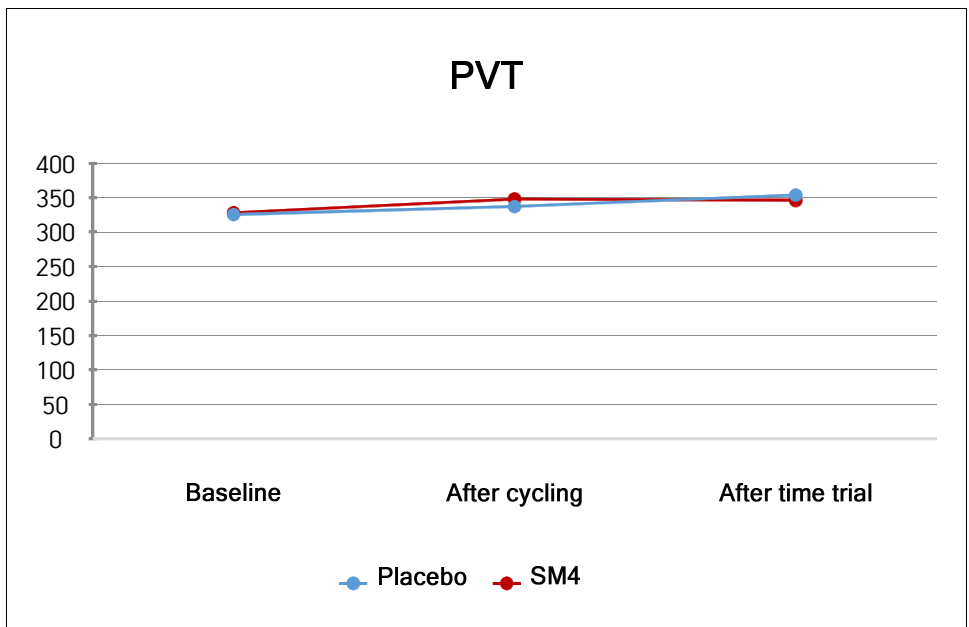


그림 38. 일회성 SM4 섭취에 따른 인지능력의 변화

(다) 항산화능력

일회성 SM4 섭취에 따른 항산화 능력의 변화는 아래 <그림 39>에 제시된 바와 같다. Total antioxidant capacity (TAC) 분석 결과 사이클 운동 중 SM4 그룹은 유의

하게 증가하였지만( $p < .05$ ), Placebo 그룹에서는 차이가 나타나지 않았다.

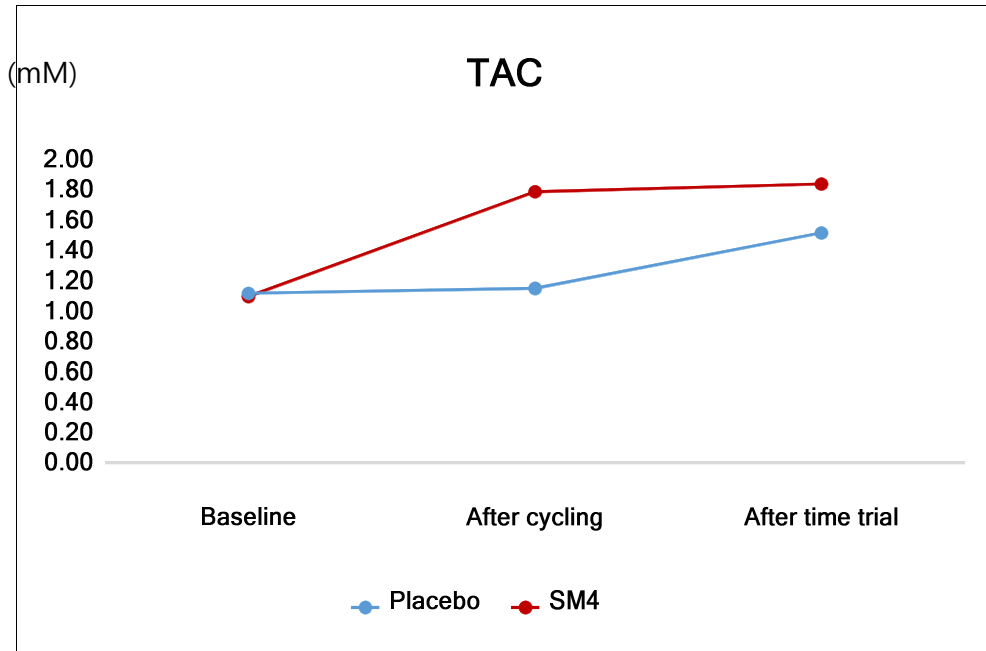


그림 39. 일회성 SM4 섭취에 따른 TAC의 변화

(2) 7일간 SM4 섭취에 따른 운동수행능력, 인지기능 및 피로회복의 변화

7일간 SM4 섭취에 따른 Myoglobin의 변화는 아래 <그림 40>에 제시된 바와 같다. 사이클 운동 후 회복 중(2시간 후, 24시간, 48시간, 그리고 72시간) SM4 그룹은 혈중 Myoglobin 농도가 유의하게 감소하였지만( $p < .05$ ), Placebo 그룹은 차이가 나타나지 않았다.

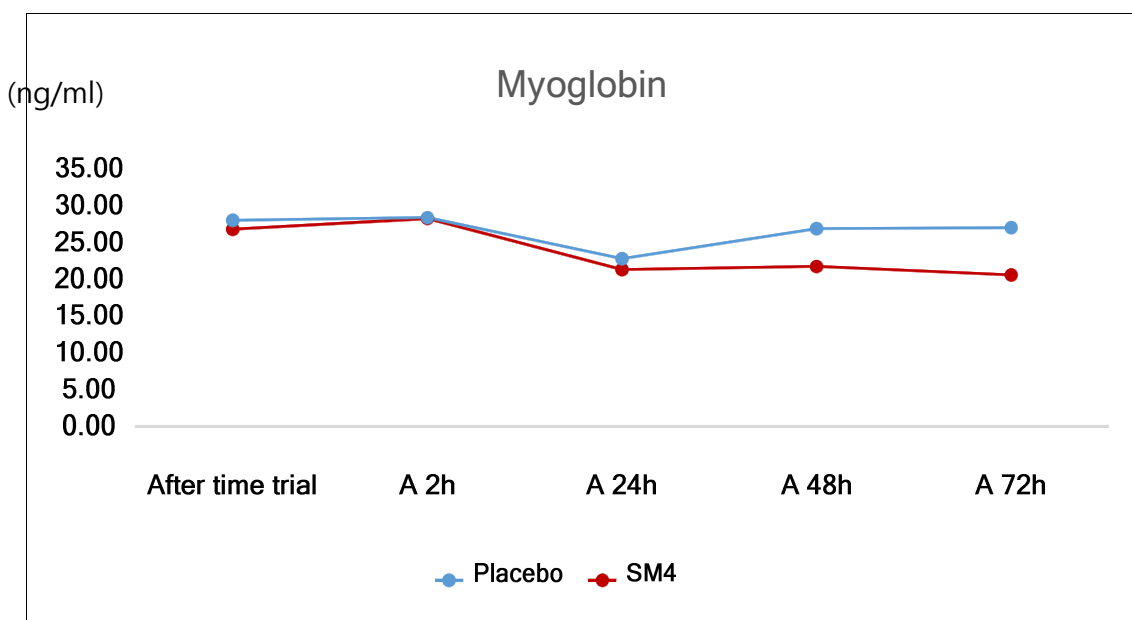


그림 40. 일회성 SM4 섭취에 따른 Myoglobin의 변화

### (3) 결론

본 연구는 SM4 섭취에 따른 운동수행능력, 인지기능, 그리고 피로회복에 미치는 영향을 분석하고자 실시되었다. 결과를 종합하면 SM4는 사이클 운동 시 무산소 능력, 인지기능과 항산화 능력을 유지시켜주고 피로를 지연 시켜준다. 또한 규칙적인 섭취는 회복 시 피로를 지연시켜주고, 근 손상을 낮춰준다.

## 제 2절 인삼으로부터 항인플루엔자 면역 소재 개발

### 1. 면역증진 인삼제품 개발

#### 가. 연구 개발의 내용

- (1) 인삼의 면역 증진 기능성 성분 분획 표준 제조 공정 개발
  - 인삼 추출물의 한외여과 활용 기능성 성분 분획 제조 및 선발
- (2) 항 인플루엔자 활성 평가 면역 증진 생리활성 평가
  - 기능성 분획의 세포실험을 통한 항 인플루엔자 활성 평가 (위탁: (주)휴벳/오홍근)

#### 나. 연구 개발의 결과

##### (1) 한외여과 활용 기능성 성분 분획 제조

###### (가) 원료 선정을 위한 실험

###### ① 홍삼 및 홍미삼 배합 비율에 따른 추출 수율

인플루엔자 억제 활성에 기초한 면역증진용 인삼소재 표준화를 위하여 가장 중요한 것은 원료삼의 표준화가 가장 중요할 것으로 사료되었다. 홍삼(R) 및 홍미삼(S) 배합비 선정을 위하여 홍삼근:홍미삼의 배합비율을 6가지(R10S0, R8S2, R6S4, R4S6, R2S8, R0S10)로 나누어 각 시료 10 g에 물(1차 120 ml, 2차 ~ 3차 100 ml) 넣고 90°C, 6시간 추출하여 감압건조하여 추출수율 및 ginsenoside 분석을 하였다. 추출수율은 주근만 사용하였을 경우 29.9%로 가장 낮았고, 주근에 홍미삼의 비율을 높일수록 수율은 점차 증가하다가 홍미삼만 사용하였을 경우 54.0%로 주근만 사용했을 때보다 미삼만 사용했을 경우 추출수율이 약 2배가량 높은 것을 확인할 수 있었다 (표 1, 그림 1). 이것은 주근의 경우 피부가 두껍고, 물에 용출되지 않는 섬유질, 펙틴 및 전분이 미삼보다 많기 때문인 것으로 사료되었다.



표 1. 홍삼 및 홍미삼 배합 비율에 따른 추출 수율

구분	원삼(%)	홍미삼(%)	수율
1	100	0	29.9
2	80	20	37.8
3	60	40	39.0
4	40	60	44.3
5	20	80	50.0
6	0	100	54.0

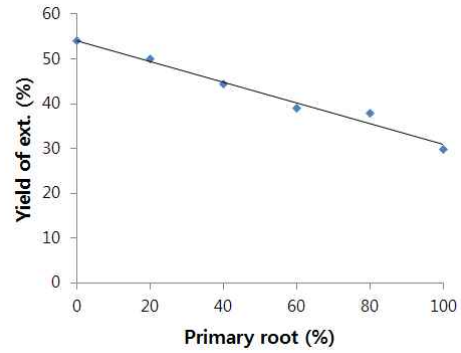


그림 1. 홍삼 및 홍미삼 배합 비율에 따른 추출 수율

② 홍삼 및 홍미삼 배합 비율에 따른 ginsenoside 함량 변화

홍삼근:홍미삼의 배합비율에 6가지(R10S0, R8S2, R6S4, R4S6, R2S8, R0S10) 시료의 ginsenoside 함량 분석을 하였다. Ginsenoside는 PPT type 진세노사이드로서 ginsenoside Rg1, Re, Rf와 PPD type 진세노사이드로서 Rb1, Rc, Rb2, Rb3, Rd, Rg3(s), Rg3(r), Rk1, Rg5를 분석하여 총 12종의 ginsenoside 함량을 측정하여 이들의 합을 총사포닌의 함량으로 결정하였다. 홍삼 주근에서는 총사포닌의 함량이 16.29 mg/g으로 낮았으나 미삼의 비율이 높아질수록 점차적으로 증가하여 R4S6 (주근 4: 미삼 6)에서 78.5 mg/g으로 약 5배가량 증가폭이 컸으나 이후로 증가폭이 크게 둔화되어 미삼 100%인 경우 91.31 mg/g으로 주근 100% 추출물보다 약 6배가량 증가하였다. Ginsenoside Rb1/Rg1의 비와 PPD/PPT계열 사포닌 비는 홍삼 주근에서 각각 1.9와 3.1이었다가 미삼의 배율이 높아질수록 그비가 점차로 증가하다가 R4S6에서 각각 8.0과 5.3으로 극대화되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 원료삼의 PPD 계열 사포닌 성분 및 다당체 함량, 추출 수율에 따른 경제성 등을 고려하여 원료삼의 비율을 R4S6(원삼:홍미삼=4:6)으로 결정하였다.

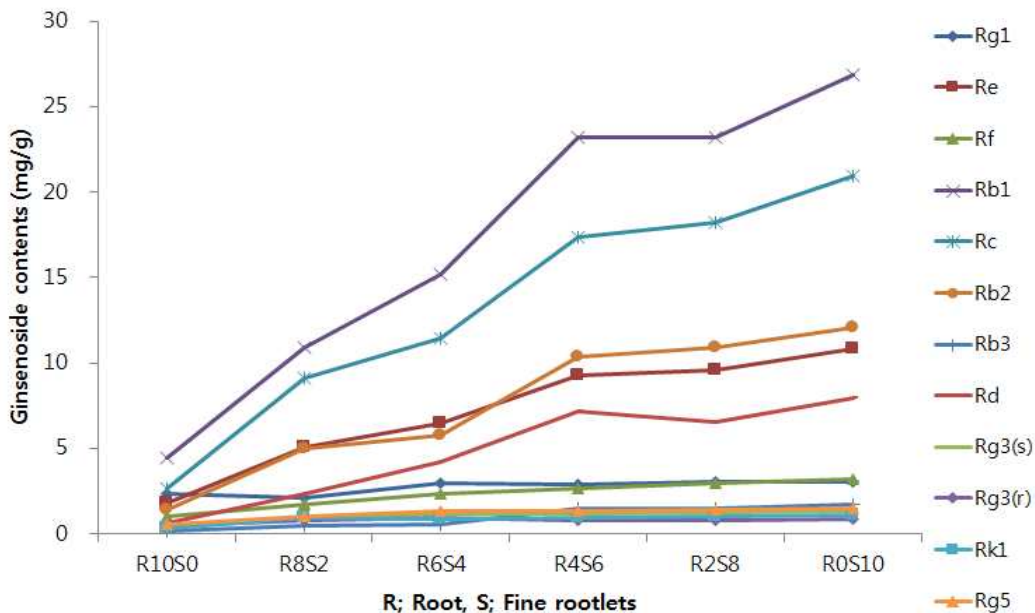


그림 2. 홍삼 및 홍미삼 배합 비율에 따른 ginsenoside 함량 변화

표 2. 홍삼 및 홍미삼 배합 비율에 따른 ginsenoside 함량

(mg/g)	R10S0	R8S2	R6S4	R4S6	R2S8	R0S10
Rg1	2.37	2.11	2.97	2.91	3.00	3.04
Re	1.82	5.07	6.48	9.25	9.55	10.79
Rf	1.04	1.70	2.33	2.66	2.93	3.19
PPT type Subtotal	5.23	8.88	11.78	14.82	15.48	17.02
Rb1	4.42	10.88	15.18	23.23	23.16	26.86
Rc	2.66	9.12	11.46	17.35	18.20	20.97
Rb2	1.40	4.94	5.76	10.36	10.87	12.09
Rb3	0.15	0.47	0.51	1.45	1.49	1.74
Rd	0.65	2.35	4.23	7.14	6.55	7.93
Rg3(s)	0.47	0.91	1.14	1.16	1.26	1.29
Rg3(r)	0.47	0.75	0.92	0.77	0.75	0.85
Rk1	0.28	0.91	0.83	0.91	0.99	1.08
Rg5	0.56	1.01	1.29	1.31	1.42	1.48
PPD type Subtotal	11.06	31.34	41.32	63.68	64.69	74.29
Total	16.29	40.22	53.1	78.5	80.17	91.31
Rb1/Rg1	1.9	5.2	5.1	8.0	7.7	8.8
PPD/PPT	3.1	4.5	4.5	5.3	5.2	5.4

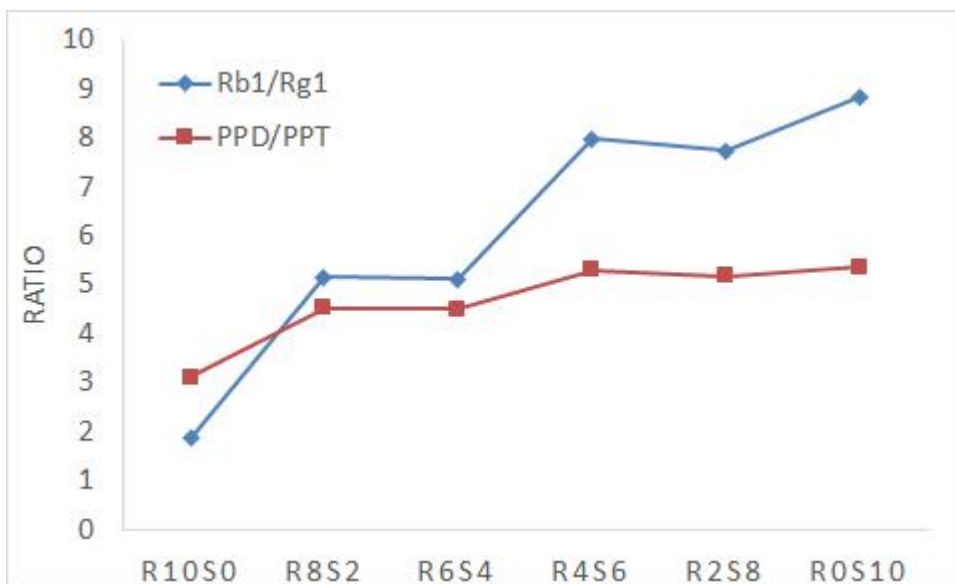


그림 3. 홍삼 및 홍미삼 배합 비율에 따른 Rb1/Rg1 및 PPD/PPT계열 사포닌 비

(2) 한외여과 활용 기능성 성분 분획 제조

(가) 한외여과막 3 kDa와 5 kDa의 여과율에 따른 수율

R4S6 (원삼:홍미삼=4:6) 총 500g을 물 5 L를 넣고 80°C, 6시간 3반복 추출 및 여과 후 10 L를 3 kDa 및 5 kDa 한외여과막을 활용하여 0%, 20%, 40%, 60%, 80%로 한외여과후 한외여과내액을 각각 동결건조하여 수율 및 ginsenoside 함량을 측정하였다. 한외여과 농축액 (내액)의 수율은 3 kDa 및 5 kDa 한외여과막에서 여과율에 따른 수율차이를 나타내지 않았다 (표 3, 그림 4). 3 kDa 포어사이즈를 가진 한외여과막에 의한 수율로 볼 때 20% 한외여과했을 경우 수율은 89.2%을 약 90%정도 됐고, 50% 한외여과했을 경우 70.9%의 수율을 나타냈으며, 80%까지 농축했을 경우의 수율은 54.9%로 나타났다.

표 3. 한외여과막 3 kDa와 5 kDa의 여과율에 따른 수율

내액:외액	내액 수율(%)	
	3 kDa	5 kDa
9:1	95.1	95.0
8:2	89.2	89.3
7:3	83.2	82.8
6:4	77.2	76.9
5:5	70.9	70.8
4:6	65.7	64.6
3:7	59.8	59.9
2:8	54.9	54.1

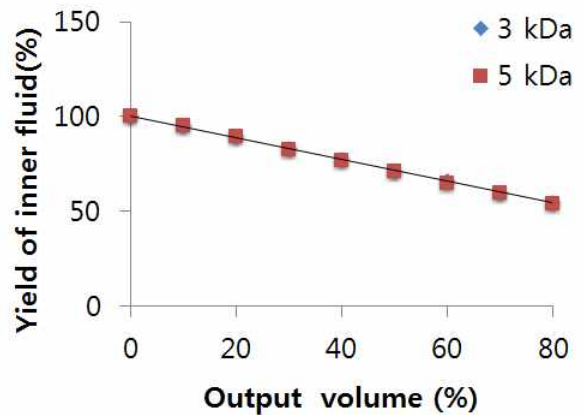


그림 4. 한외여과막 3 kDa와 5 kDa의 여과율에 따른 수율

(나) 한외여과막 3 kDa와 5 kDa의 여과율에 따른 ginsenoside 함량

R4S6 (원삼:홍미삼=4:6)을 물추출 후 3 kDa 및 5 kDa 한외여과막을 활용하여 0%, 20%, 40%, 60%, 80%로 한외여과후 한외여과내액을 각각 동결건조하여 ginsenoside 함량을 측정하였다. Ginsenoside는 PPT type 진세노사이드로서 ginsenoside Rg1, Re, Rf와 PPD type 진세노사이드로서 Rb1, Rc, Rb2, Rb3, Rd, Rg3(s), Rg3(r), Rk1, Rg5를 분석하여 총 12종의 ginsenoside 함량을 측정하여 이들의 합을 총사포닌의 함량으로 결정하였다. 5 kDa의 한외여과막 여과율에 따른 ginsenoside 함량은 3 kDa의 한외여과막에 의한 것보다 여과율이 높을수록 총사포닌의 함량이 높은 경향을 가지고 있었다 (표 4~5, 그림 5~7). 그러나 Ginsenoside Rb1/Rg1의 비와 PPD/PPT계열 사포닌 비는 3 kDa에 의한 한외여과막에서 여과가 진행될수록 월등히 높아져 80%여과하여 얻은 농축액 (Rb1/Rg1의 비; 47.1, 23.5)와 PPD/PPT계열 사포닌 비에서는 5 kDa에 의한 한외여과막 (Rb1/Rg1의 비; 25.1, 11.9)

에서보다 약 2배가량 높게 나타났다 (표 5~6, 그림 5~7). 이러한 결과는 fiber 타입인 3 kDa 여과막이 membrane 타입인 5 kDa 한외여과막보다 면적이 넓어 빠른 속도로 여과가 가능하나 면적이 넓은 만큼 사포닌 흡착이 크기 때문인 것으로 판단된다. 본 연구진은 3 kDa 한외여과막에 의해 선택적으로 PPD계열 사포닌을 회수할수 있어 이를 특허출원 해 놓았고, PPD 계열 사포닌 함량이 높은 것보다 PPD계열 사포닌의 선택성이 본 연구에 더 중요하다고 판단되어 3 kDa 한외여과막에 의한 시료를 항인플엔자 실험을 위한 시료로 선정하였다.

표 4. 한외여과막 (5 kDa) 여과율에 따른 ginsenoside 함량

(mg/g)	Con	9in	8in	7in	6in	5in	4in	3in	2in
Rg1	4.0	3.8	3.6	3.5	3.2	2.6	2.1	1.7	1.5
Re	8.5	8.4	7.9	7.9	7.0	5.8	4.6	3.8	3.5
Rf	2.8	3.4	2.7	3.0	2.8	2.6	2.5	2.5	3.2
PPD type Subtotal	15.3	15.6	14.2	14.4	13.0	11.0	9.2	8.0	8.2
Rb1	20.8	22.2	22.7	24.5	25.4	25.8	27.3	28.2	37.2
Rc	12.2	13.1	13.4	14.6	15.1	15.6	16.6	17.3	22.9
Rb2	9.1	9.7	10.2	10.8	11.5	11.6	12.3	12.8	17.0
Rb3	1.2	1.3	1.4	1.5	1.5	1.6	1.7	1.7	2.4
Rd	4.8	5.1	5.3	5.8	6.1	6.3	6.7	7.0	9.4
Rg3(s)	1.6	1.8	1.8	2.0	2.0	2.1	2.3	2.5	3.2
Rg3(r)	0.8	0.9	0.9	1.0	0.9	0.6	0.7	0.8	1.0
Rk1	1.2	1.3	0.9	1.0	1.6	1.6	1.6	1.8	1.6
Rg5	1.7	1.9	2.0	2.2	2.3	2.1	2.2	2.5	3.0
PPD type Subtotal	53.4	57.3	58.6	63.4	66.4	67.3	71.4	74.6	97.7
Total	68.7	72.9	72.8	77.8	79.4	78.3	80.6	82.6	105.9
Rb1/Rg1	5.2	5.8	6.4	6.9	8.0	9.7	13.1	16.4	25.3
PD/PT	3.5	3.7	4.1	4.4	5.1	6.1	7.7	9.3	11.9

표 5. 한외여과막 (3kDa) 여과율에 따른 ginsenoside 함량

(mg/g)	Con	9in	8in	7in	6in	5in	4in	3in	2in
Rg1	3.6	3.1	2.6	2.7	2.1	1.9	1.5	1.2	0.5
Re	8.4	7.3	6.1	6.1	4.8	4.4	3.5	2.9	1.4
Rf	2.8	2.2	1.9	1.8	1.6	1.6	1.6	1.5	1.1
PPD type Subtotal	14.8	12.6	10.6	10.6	8.5	7.9	6.6	5.6	3.0
Rb1	20.8	21.3	19.7	21.5	21.0	22.6	25.6	26.2	25.3
Rc	12.7	13.6	13.2	13.2	12.8	14.8	16.8	16.9	16.8
Rb2	9.3	9.9	9.3	9.6	9.6	10.5	12.0	12.4	12.5
Rb3	1.2	1.3	1.2	1.3	1.3	1.4	1.6	1.7	1.7
Rd	5.3	5.7	5.4	5.9	6.0	6.5	7.5	7.8	8.1
Rg3(s)	1.5	1.7	1.7	1.9	1.2	2.2	2.6	2.7	3.0
Rg3(r)	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	0.6	0.5	0.4	0.5
Rk1	1.4	1.5	1.5	1.7	1.1	1.8	2.0	2.0	2.4
Rg5	1.8	2.0	2.0	2.3	1.3	2.3	2.4	2.5	2.9
PPD type Subtotal	54.8	57.8	54.8	58.2	54.9	62.7	71.0	72.6	73.2
Total	69.6	70.4	65.4	68.8	63.4	70.6	77.6	78.2	76.2
Rb1/Rg1	5.7	6.9	7.6	8.1	9.8	11.7	17.0	22.6	47.1
PD/PT	3.7	4.6	5.2	5.5	6.4	7.9	10.8	13.2	23.5

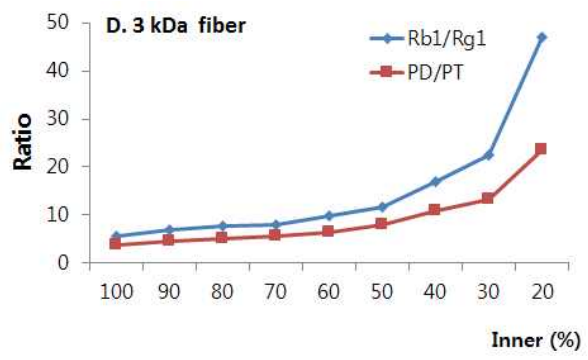
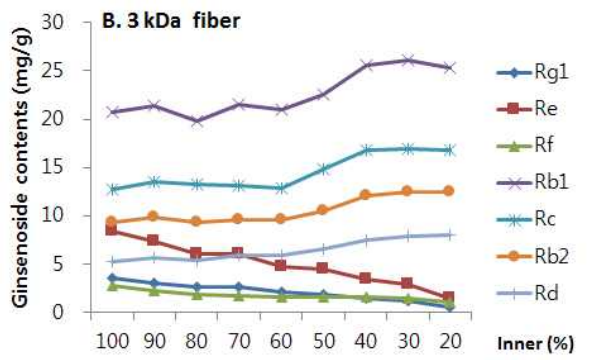
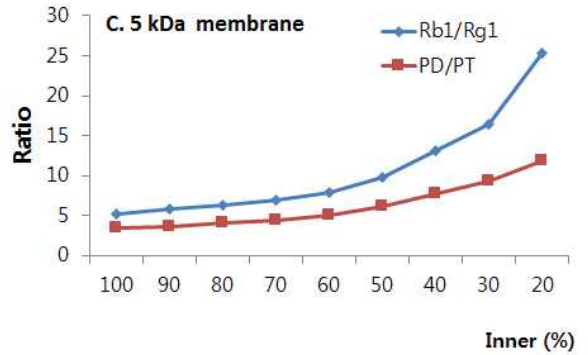
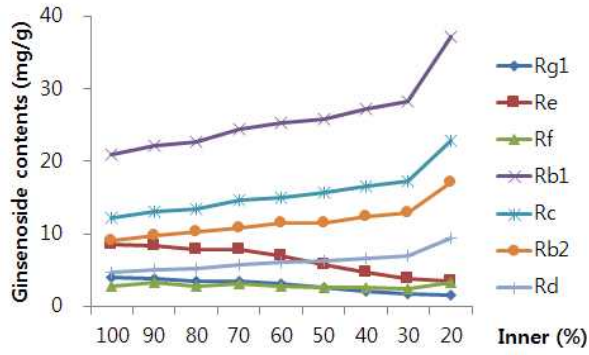


그림 5. 한외여과막 여과율에 따른 ginsenoside 함량 및 Rb1/Rg1 변화

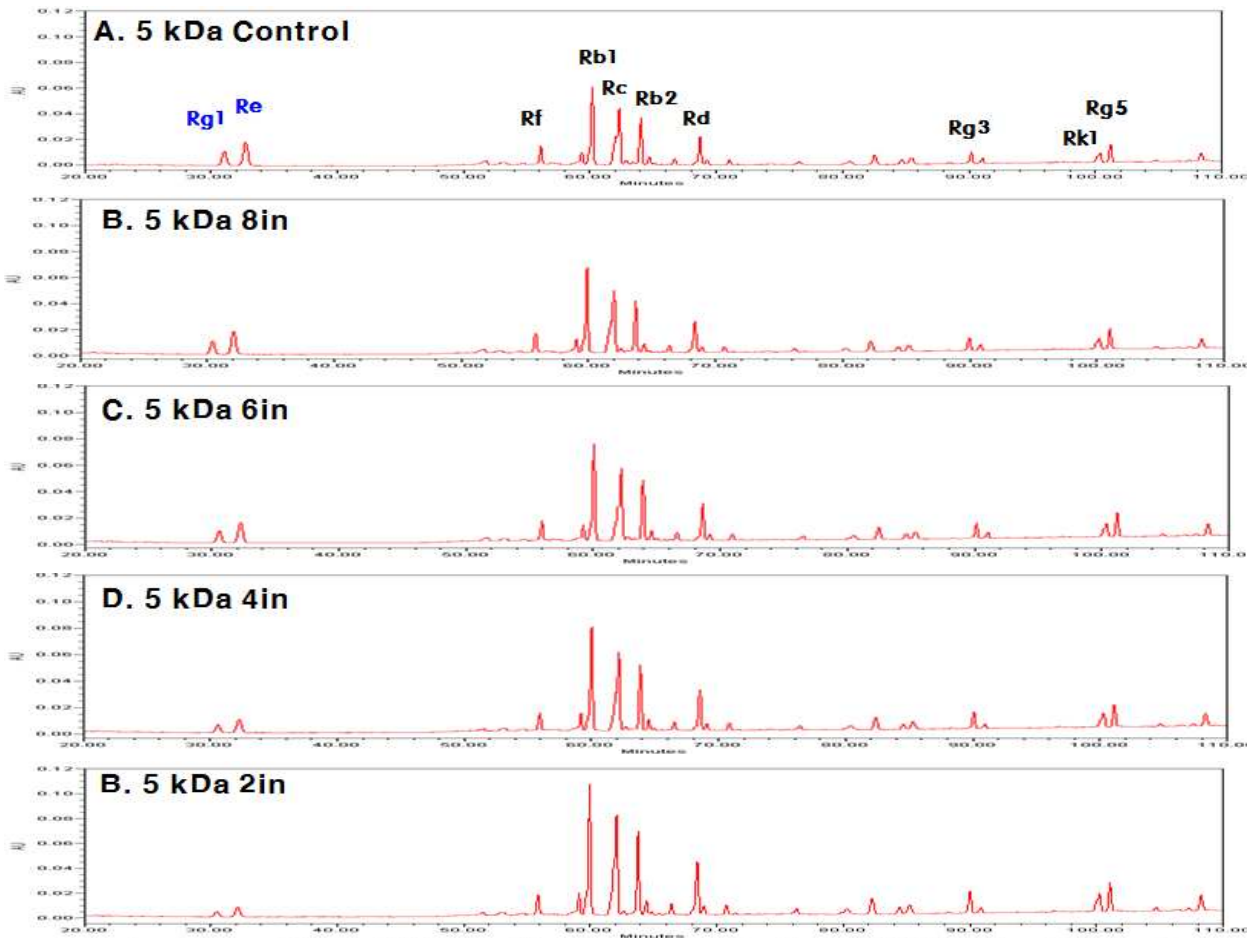


그림 6. 한외여과막 (5kDa) 여과율에 따른 HPLC 크로마토그램

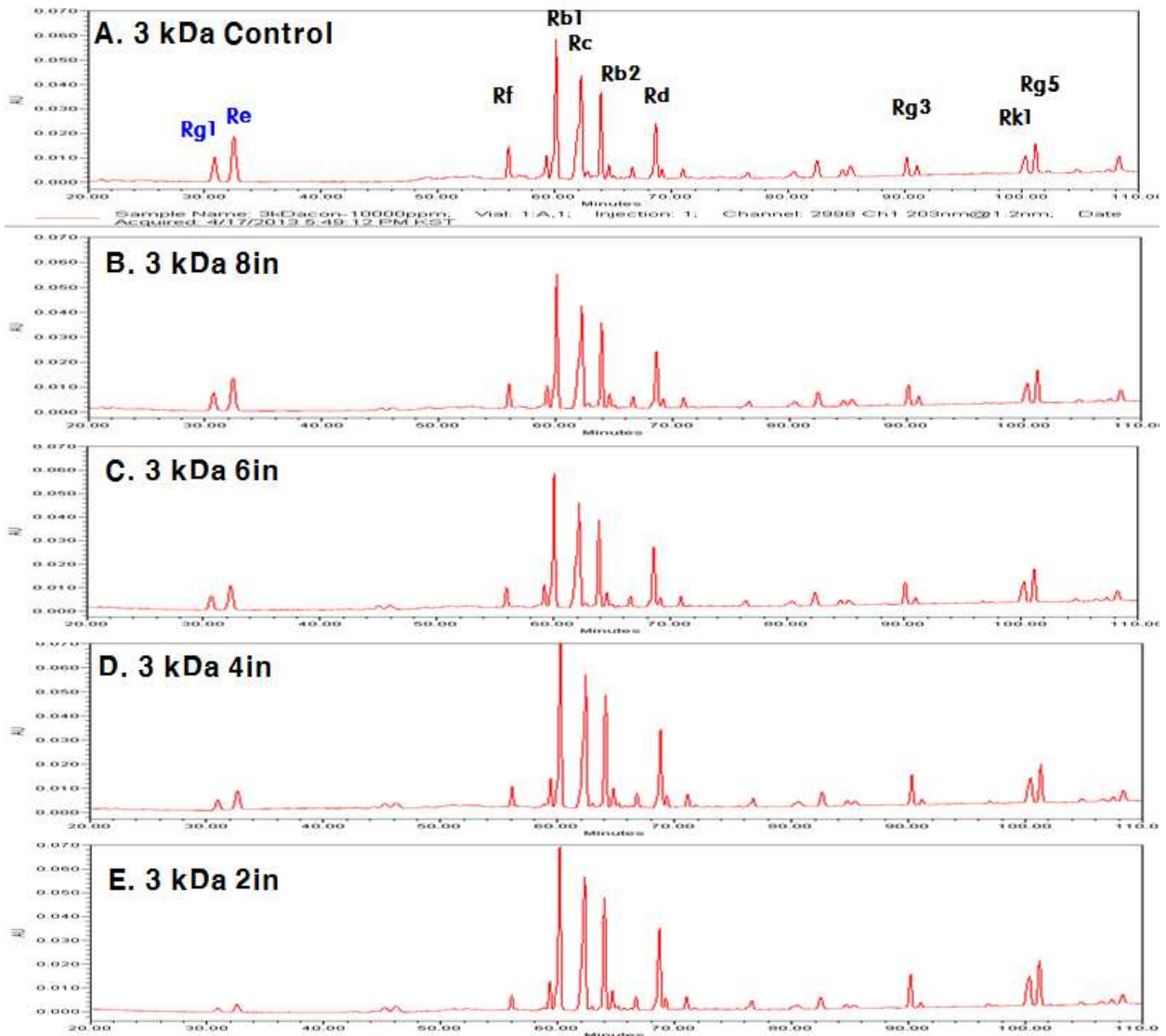


그림 7. 한외여과막 (5kDa) 여과율에 따른 HPLC 크로마토그램

(3) 항 인플루엔자 활성 평가(in vitro)를 위한 시료제조

항인플루엔자 활성 평가(in vitro)를 위한 시료제조를 위하여 3 kDa 포어사이즈를 가진 한외여과막을 활용하여 0% (GS-C46), 20% (GS-3K8), 40% (GS-3K6), 60% (GS-3K4), 80% (GS-3K2) 한외여과하여 얻은 내액을 농축한 시료 총 5종을 제조하였고, 기타 효소처리 및 발효등을 활용하여 시료 7종 (GS-LE2, GS-M1, GS-M7, GS-E3D, GS-EMD, GS-F3K1, IW-CK)를 제조하였다.

표 6. 항 인플루엔자 활성 평가(in vitro)를 위한 시료제조

순	시료명	제 조 법	용량 (mg)
1	GS-C46	(홍삼200g+홍미삼 300g) 총 500 g을 증류수 5 L에 80℃, 6시간씩 3회 추출 후 여과액 농축	200
2	GS-3K2	GS-C46을 3kDa 여과막에 80%여과하여 20%내액을 농축한 분획	100
3	GS-3K4	GS-C46을 3kDa 여과막에 60%여과하여 40%내액을 농축한 분획	100
4	GS-3K6	GS-C46을 3kDa 여과막에 40%여과하여 60%내액을 농축한 분획	100
5	GS-3K8	GS-C46을 3kDa 여과막에 20%여과하여 80%내액을 농축한 분획	100
6	GS-LE2	인삼 잎 추출물을 70%에탄올로 추출후 Hexane으로 3차례 분획후, 수층을 다시 수포화부탄올로 회수하여 얻은 잎조사포닌	500
7	GS-M1	건조된 홍삼박 각각 1 g에 증류수 10 mL을 가하고 50℃ shaking incubator에서 24시간 동안 추출하여 얻은 농축액	200
8	GS-M7	건조된 홍삼박에 맥아 추출물을 넣고 50℃ shaking incubator에서 24시간 동안 반응하여 가수분해한 홍삼박 추출물	200
9	GS-E3D	12Brix로 희석한 홍삼농축액에 펙틴아제 (Novozym 33095) 10%(w/w)를 넣고 3일 동안 반응한 효소처리 Rd강화 홍삼추출물	200
10	GS-EMD	12Brix로 희석한 홍삼농축액에 펙틴아제를 첨가하고, 50℃에서 3일간 반응 한 후 <i>L. plantarum</i> 을 접종하여 37℃에서 2일간 배양한 Rd 강화 발효홍삼	200
11	GS-F3K1	인삼열매 70% 에탄올 추출물을 1 kDa 한외여과막으로 80%여과하여 얻은 20%여과내액 농축분획	200
12	IW-CK	홍삼추출물에 펙틴아제를 넣고 효소처리하여 CK 강화한 효소처리홍삼추출물	1000

(4) 기능성 성분(원료)의 규격 기준의 설정을 위한 시료제조

(가) 1차시료 제조 (성분 분석용)

(홍삼200g+홍미삼 300g) 총 500 g을 증류수 5 L에 80℃, 6시간씩 3회 추출 후 농축한 농축액(GS-C46), 추출액을 3 kDa 한외여과막을 이용하여 20% 한외여과후 80% 내액 농축액 (GS-3K8), 40% 한외여과후 60% 내액 농축액(GS-3K6), 60% 한외여과후 40% 내액 농축액 (GS-3K4), 80% 한외여과후 20% 내액 농축액 (GS-3K2)을 각 1g씩 기능성 성분(원료)의 규격 기준의 설정을 위한 시료로 제조하여 참여기업((주)일화)에 송부(2013.5.7)하였다.

(나) 2차 시료 제조 (벨리데이션용)

(홍삼200g+홍미삼 300g) 총 1000 g을 증류수 10 L에 80℃, 6시간씩 3회 추출여과후 20% 한외여과후 80% 내액을 농축 (GS-3K8)하여 각 200 g을 제조하였다. 이것을 3번 반복하여 3개의 룯트로 각각 200 g을 만들어 참여기업((주)일화)에 송부(2013.9.7)



하였다.

(5) 한외여과 기능성 분획의 면역활성 평가

(가) Raw 264.7세포에서 MTT assay에 의한 세포 생존율 측정

한외여과시료의 Raw 264.7세포에서 MTT assay에 의한 세포 생존율을 측정한 결과 모든 시료에서 대조군보다 면역세포 증식을 촉진시키는 것으로 나타났으며, 세포독성은 200 ug/ml의 농도에서 전혀 나타나지 않을 확인할 수 있었다.

표 7. 한외여과 시료의 Raw 264.7세포에서 MTT assay에 의한 세포 생존율 (%)

Sample ( $\mu\text{g/mL}$ )	GS-C46 (Mean $\pm$ SE)	GS-3K8 (Mean $\pm$ SE)	GS-3K6 (Mean $\pm$ SE)	GS-3K4 (Mean $\pm$ SE)	GS-3K2 (Mean $\pm$ SE)
NC	100.0 $\pm$ 1.5	100.0 $\pm$ 1.5	100.0 $\pm$ 0.7	100.0 $\pm$ 0.7	100.0 $\pm$ 0.7
25	146.2 $\pm$ 4.1	150.0 $\pm$ 2.1	144.3 $\pm$ 2.1	160.3 $\pm$ 3.4	141.7 $\pm$ 3.8
50	144.9 $\pm$ 0.1	150.3 $\pm$ 1.4	139.8 $\pm$ 3.8	152.2 $\pm$ 2.3	138.1 $\pm$ 1.6
100	144.1 $\pm$ 2.0	148.8 $\pm$ 4.9	130.8 $\pm$ 0.8	151.7 $\pm$ 2.5	131.9 $\pm$ 1.9
200	141.9 $\pm$ 2.4	132.4 $\pm$ 4.3	124.5 $\pm$ 5.6	136.6 $\pm$ 5.1	126.7 $\pm$ 1.0

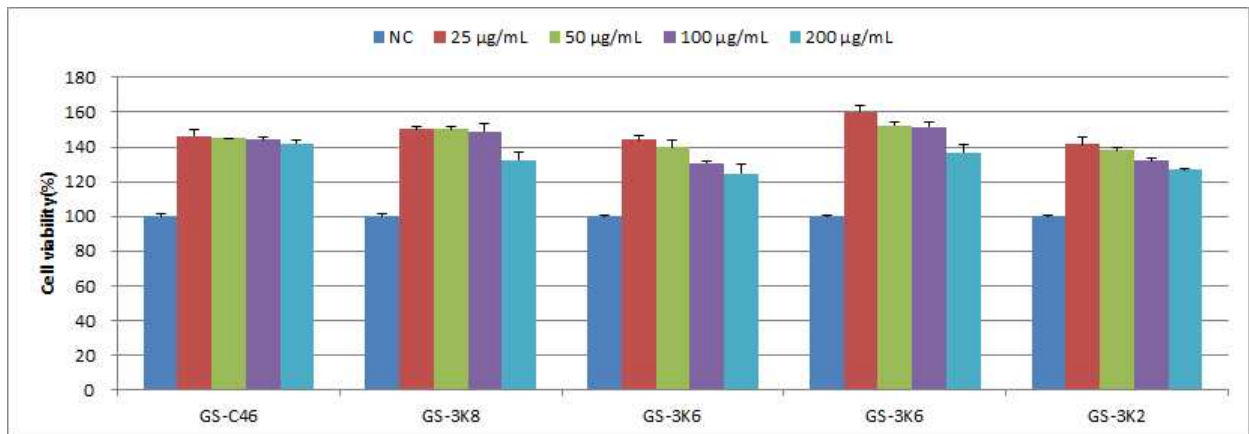


그림 8. 한외여과 기능성 분획의 Raw 264.7세포 생존율

(나) Nitric Oxide 생성량 측정

NO는 혈관확장, 신경전달, 혈소판응집억제, 염증반응의 매개 등 매우 다양한 기능을 갖고 있으며, 또한 체내로 침입한 미생물 및 암세포에 대한 직접적인 살상기능을 갖고 있는 것으로도 알려져 있다(6, 8). NO에 의해 IL-2, IL-3 등의 cytokine 분비는 억제되며, TNF- $\alpha$ , IL-1 등의 생성은 촉진되는데, 이러한 작용에 의해 T 임파구 및 NK 세포 등의 기능이 조절된다는 등 NO가 생체내에서 면역조절물질로서 작용한다는 것이 밝혀짐으로써 한층 그 중요성이 부각되었다. 인삼의 한외여과 전후의 모든 시료가 유사한 정도로 대식세포내에서 NO를 생성하였으며, 25, 50, 100, 200 ug/ml의 농도에서 농도 의존적으로 NO를 생성하는 것을 확인할 수 있었다.

표 8. 한외여과 시료의 NO 생성능

(unit: uM)

Sample (µg/mL)	GS-C46 (Mean±SE)	GS-3K8 (Mean±SE)	GS-3K6 (Mean±SE)	GS-3K4 (Mean±SE)	GS-3K2 (Mean±SE)
NC	19.8 ± 4.6	19.8 ± 4.6	19.8 ± 4.6	19.8 ± 4.6	19.8 ± 4.6
LPS	56.6 ± 2.1	56.6 ± 2.1	56.6 ± 2.1	56.6 ± 2.1	56.6 ± 2.1
25	26.8 ± 1.1	26.5 ± 0.3	24.4 ± 2.0	24.0 ± 0.9	25.7 ± 0.8
50	28.4 ± 1.8	28.1 ± 2.3	28.0 ± 2.5	25.5 ± 1.4	30.5 ± 0.5
100	28.7 ± 2.5	29.2 ± 1.5	28.6 ± 3.0	27.1 ± 0.9	30.7 ± 0.3
200	30.1 ± 2.2	29.3 ± 1.2	29.3 ± 2.7	28.3 ± 2.8	31.9 ± 0.5

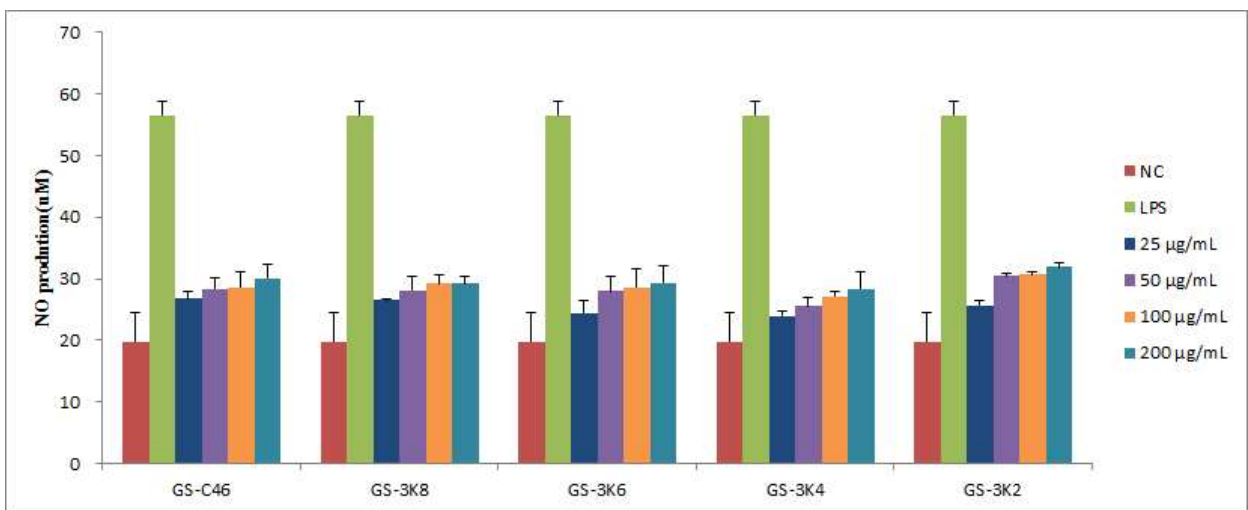


그림 9. 한외여과 기능성 분획의 NO 생성능

(다) IL-6, TNF-α, IFN-γ 등 cytokine 측정

대식세포는 활성화되면 염증성 cytokine인 IL-6, TNF-α 등을 분비한다. 이들은 모두 매우 다양한 기능들을 갖고 있으나, 특히 IL-6는 B 임파구의 항체생성 세포인 plasma cell 분화를 유도하는 활성이 있으며, TNF-α는 암세포의 살상 및 암 전이의 억제작용이 있다는 것이 밝혀졌다. 따라서 이들 물질의 생성을 촉진하는 물질은 면역 반응을 조절하는 작용과 함께 항암 기능까지도 가질 수 있을 것으로 추정할 수 있다. IL-6과 TNF-α는 무처리군에서는 미량 존재했으나 200 ug/ml 홍삼처리군에서는 아주 많은 양이 생성되는 것을 확인 할 수 있었고, 한외여과율을 높일수록 IL-6과 TNF-α 생성량은 점점 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 200 ug/ml의 고농도에서 시행한 것으로 저농도에서 더 강한 활성을 나타낼 수 있으므로 추가적인 실험이 요구되었다.

사람의 림프구에서 생산되는 항바이러스 활성이 있는 IFN-γ는 세포증식 억제효과, 항종양 효과, 몸에 침투한 이물질의 작용을 억제하는 macrophage를 활성화하고, NK

세포의 활성화증강, 면역응답 조정작용 등을 하는 것으로 알려져 있다. IFN- $\gamma$ 는 한외여과 전보다 한외여과를 했을 경우 세포내의 IFN- $\gamma$  수치를 더 잘 유지하는 것으로 나타났다으며, 특히 한외여과율 20% 시료인 GS-3K8에서 가장 잘 유지하는 것을 확인할 수 있었다. 이 실험 또한 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 고농도에서 시행한 것으로 저농도에서 더 강한 활성을 나타낼 수 있으므로 추가적인 실험이 요구되었다.

표 9. 한외여과 시료의 면역세포내에서 cytokine 활성화능

Cytokines	NC	GS-C46	GS-3K8	GS-3K6	GS-3K4	GS-3K2
IL-6 (pg/ml)	18 $\pm$ 10	548 $\pm$ 199	539 $\pm$ 206	518 $\pm$ 150	340 $\pm$ 116	2129 $\pm$ 206
TNF- $\alpha$ (ng/ml)	0.3 $\pm$ 0.1	178.3 $\pm$ 60	128.8 $\pm$ 47	116.3 $\pm$ 41	90.4 $\pm$ 51	30.1 $\pm$ 25
IFN- $\gamma$ (pg/ml)	64.2 $\pm$ 5.2	31.7 $\pm$ 5.2	59.9 $\pm$ 7.5	56.1 $\pm$ 9.2	55.0 $\pm$ 10.2	41.8 $\pm$ 8.7

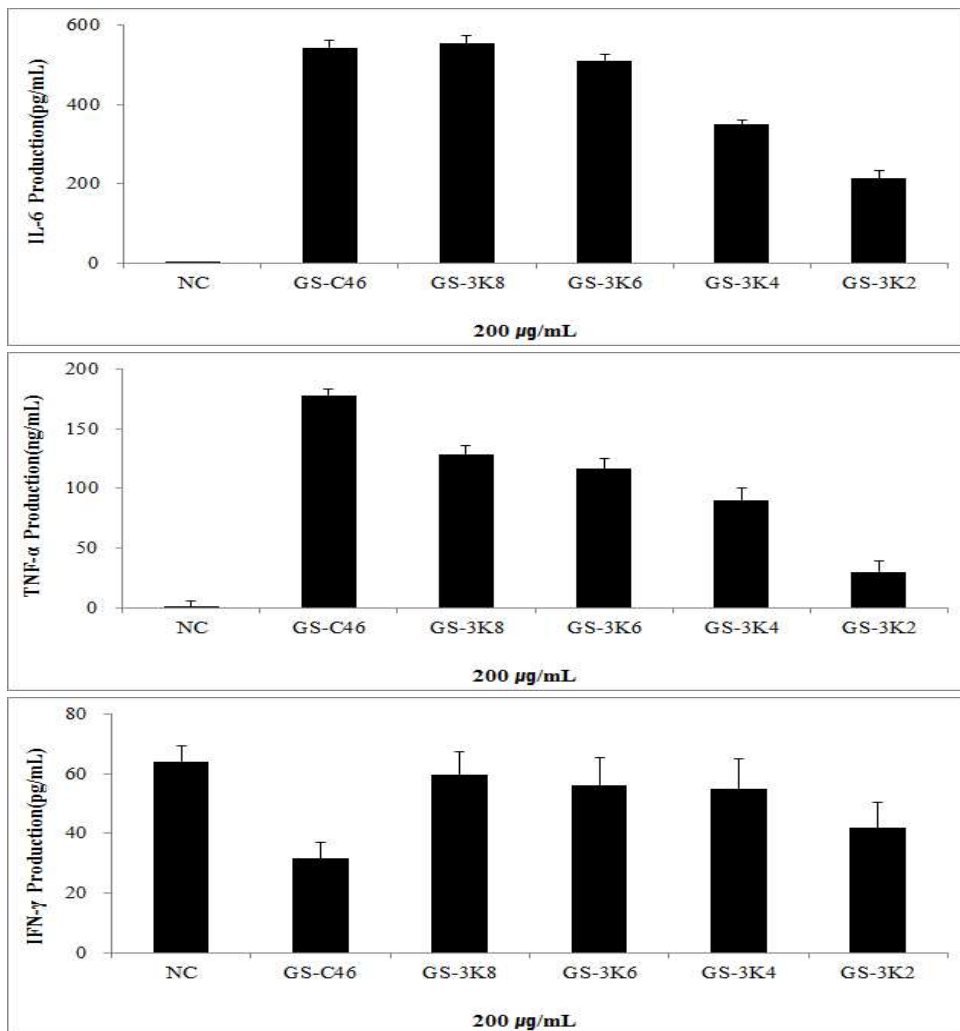


그림 10. 한외여과 시료의 면역세포내에서 cytokine 활성화능

(라) 인플루엔자 억제 활성에 기초한 면역증진용 인삼소재 선발

한외여과 시료 중 MDCK 세포 활용 바이러스증식 억제능 및 plaque assay 실험 결과 가장 효과가 있는 분획은 GS-3K8 (홍삼:홍미삼 (4:6) 물추출물을 20%여과한 80% 내액)로 나타나 인플루엔자 억제 활성에 기초한 면역증진용 인삼소재는 GS-3K8 을 선정하였다.

(6) 항 인플루엔자 활성 평가(in vitro) : 위탁 연구결과서 첨부

## 시 험 결 과 보 고 서

금산인삼 추출물을 이용한 **Influenza A(H1N1)**  
감염 억제 평가

시험번호 HV-E-24-1304-14



## 보고서의 작성

시험제목 : 금산인삼 추출물을 이용한 Influenza A(H1N1) 감염 억제 평가  
시험번호 : HV-E-24-1304-14

본 시험은 승인된 시험계획서에 따라서 수행되었고, 이 보고서의 기술된 시험과정은 시험책임자의 책임하에 수행되었으며, 보고서는 시험수행을 통해 얻어진 시험기초 자료를 토대로 작성되었다.

(주) 휴 벳

시험책임자                      오 홍 근    (인)  
2013년 10월 13일

시험담당자                      문 대 인    (인)  
2013년 10월 13일

원광대학교 생명과학자원대 부교수

기술고문                      김 옥 진  
2013년 10월 13일

## 시험실시의 개요

### 1. 시험목적

(재) 금산국제인삼약초연구소에서 제공 의뢰물질 12종에 대하여 influenza virus A(H1N1)에 세포독성 및 항인플루엔자 바이러스 활성을 통하여 스크리닝 및 효과를 확인함에 그 목적이 있다.

### 2. 시험의뢰자

명 칭 (재) 금산국제인삼약초연구소  
담 당 표미경 / 책임연구원  
주 소 충남 금산군 금산읍 인삼광장로 25 번지

### 3. 시험기관

명 칭 (주) 휴 벳  
주 소 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 창업보육센터 203호

### 4. 협력기관

명 칭 원광대학교 생명과학자원대 김옥진 부교수  
주 소 전북 익산시 신용동 원광대학교 생명자원과학대학

### 5. 시험시설

명 칭 원광대학교 동물자원연구센터  
주 소 전북 익산시 신용동 344-2

### 6. 시험책임자

성 명 오 흥 근  
소 속 (주) 휴 벳

### 7. 시험진행일정

세포배양	2013년 04월 15일 ~ 2013년 04월 26일
바이러스 분양 및 증식	2013년 04월 16일 ~ 2013년 05월 10일
세포독성	2013년 05월 13일 ~ 2013년 05월 24일
바이러스 증식 분석	2013년 05월 27일 ~ 2013년 05월 31일
바이러스 증식 억제능 분석	2013년 06월 03일 ~ 2013년 06월 21일
혈구응집 바이러스 역가 측정	2013년 07월 01일 ~ 2013년 07월 19일
Plaque reduction assay	2013년 07월 22일 ~ 2013년 10월 11일
Neuraminidase(NA) 활성 저해 분석	2013년 09월 09일 ~ 2013년 10월 11일
결과 분석	2013년 09월 23일 ~ 2013년 10월 11일
최종보고서 제출일	2013년 10월 13일

8. 참여부분별 책임자

시험계획서 및 최종보고서 작성	수의학박사 : 오홍근	
실험진행	이학박사 : 문대인	
	이학석사 : 신은혜	
시험기초자료 정리 및 통계처리	이학박사 : 문대인	이학석사 : 신은혜

2. 금산인삼 추출물을 이용한 인플루엔자 A감염 억제 평가

가. 시험재료 및 방법

(1) 시험물질

(가) 시험물질명

시험코드명	외관 / 색상	입수량 (mg)	부형제 (%)
1. GS-C46	흰색 / 분말	200	-
2. GS-3K2	흰색 / 분말	100	-
3. GS-3K4	흰색 / 분말	100	-
4. GS-3K6	흰색 / 분말	100	-
5. GS-3K8	흰색 / 분말	100	-
6. GS-LE2	황갈색 / 분말	500	-
7. GS-M1	갈색 / 분말	200	-
8. GS-EMD	고동색 / 고체	200	-
9. GS-E3D	갈색 / 분말	200	-
10. GS-M7	갈색 / 분말	200	-
11. GS-F3K1	붉은색 / 분말	200	-
12. IW-CK	갈색 / 액체	1000	-

(나) 취급시 주의사항 : 별도 표기 없으며 냉장보관

(다) 제공자

명 칭 (재) 금산국제인삼약초연구소

주 소 충남 금산군 금산읍 인삼광장로 25 번지

(라) 잔여시험물질의 처리 : 의뢰기관과 협의 후 폐기

(2) 시험물질의 조제

시험물질은 각 실험에 따라 배지 및 PBS에 용해하여 농도에 따라 희석하여



사용하였다.

(3) 시험물질의 안전성 및 균질성

의뢰기관과의 협의 하에 제공된 시료에 대한 안전성 및 균질성 등에 대한 검사는 따로 실시하지 않았다.

(4) *in-vitro* 시험 방법

(가) Influenza A virus

본 연구에서는 influenza virus A(H1N1)형을 병원성바이러스은행으로부터 분양 받아 사용하였다.

(나) 감수성 세포와 배지

항바이러스 활성을 *in vitro* 에서 검색하기 위해 influenza virus A(H1N1)에 대한 감수성 숙주세포인 Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) 세포주를 한국세포주은행에서 분양 받아 계대 배양하여 사용하였다. MDCK 세포는 influenza virus 에 의해 감염되어 세포 병변을 일으키는 특징을 가지는 세포주로 배양용 배지는 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM, Gibco)에 10 % fetal bovine serum (FBS, Gibco)을 첨가하여 사용하였고, 배양조건은 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> 로 유지된 배양기에서 배양하였다. 세포의 생존은 trypan blue dye exclusion 방법으로 확인하였고 2~3 일에 한번씩 계대하여 사용하였다.

(다) 바이러스 증식 및 보관

단층 배양된 MDCK 세포에 1 ug/mL TPCK-trypsin 이 첨가된 Minimal essential media (MEM, Welgene)를 이용하여 인플루엔자 바이러스 분리주를 접종 한 후 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C 조건에서 배양하여 세포병변효과(cytopathic effect, CPE)를 관찰하였으며, 70~80 % 정도의 세포병변이 관찰되면 이를 수확하여 원심 분리(4 °C, 2,000 rpm, 10 min)하여 상층액과 세포 침전물을 분리하였으며, 이 상층액을 -80 °C에 보관하면서 사용하였다.

(라) 세포독성

금산인삼 추출물에 대한 세포독성은 WST-1 assay 로 시험하였으며, 기존에 상품화되어 있는 WST-1 cell viability assay kit (Daeil Lab service, Seoul, Korea)를 사용하였다. 96 well plate 에 well 당 세포를 2 X 10<sup>4</sup> cells/well 접종하여 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C에서 24 시간 배양하여 세포단층을 얻은 후, 금산인삼 추출물을 1, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 2000 ug/mL 의 농도로 접종하여 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C 배양기에서 48 시간 배양하였다. 세포 배양액 100 uL 에 WST-1 용액을 10 uL 씩 첨가하여 30 분 동안 배양한 다음 96 well plater reader(Molecular devices, CA, USA)로 450 nm 에서 증식 정도를 측정하였다. Cell viability 는 다음 공식으로 계산되었다.

$$\text{Cell viability (\%)} = (\text{AT} - \text{AB}) / (\text{AC} - \text{AB}) \times 100$$

(AB ; absorbance of blank

AC; absorbance of control

AT; absorbance of tested extract solution)

(마) 바이러스 증식 분석

배양세포주에 배양한 인플루엔자 바이러스에 대한 세포 독성을 확인하기 위하여 MDCK 세포를 96 well plate 에  $2 \times 10^4$  cells/well 접종하고 24 시간 동안 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator 에서 배양하였다. 배양된 MDCK 세포에 인플루엔자 바이러스 5, 10, 15, 20, 25 ul 로 접종하여 48 시간 동안 배양하였다. 세포 증식 측정은 Cell Proliferation Reagent WST-1 를 사용하였으며, 세포 배양액 100 uL 에 WST-1 용액을 10 uL 씩 첨가하여 30 분 동안 배양하여 흡광도를 측정하였다. Cell viability 는 다음 공식으로 계산되었다.

$$\text{Cell viability (\%)} = (\text{AT} - \text{AB}) / (\text{AC} - \text{AB}) \times 100$$

(AB ; absorbance of blank

AC; absorbance of control

AT; absorbance of tested extract solution)

(바) 바이러스 증식 억제능 분석

인플루엔자바이러스에 대한 금산인삼 추출물의 바이러스 증식 억제능은 MDCK 세포를 세포독성시험 때와 같은 조건으로 배양한 후, 기존의 배양액을 제거하고 각 well 을 PBS 로 washing 하고 금산인삼 추출물을 10, 100 ug/mL 가 되도록 1 시간 전처리 한 후, 각각 20 uL 의 인플루엔자 바이러스를 접종하여 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C 배양기에서 48 시간 배양하였다. 세포 증식 측정은 Cell Proliferation Reagent WST-1 를 사용하였으며, 세포 배양액 100 uL 에 WST-1 용액을 10 uL 씩 첨가하여 30 분 동안 배양하여 흡광도를 측정하였다. Cell viability 는 다음 공식으로 계산되었다.

$$\text{Cell viability (\%)} = (\text{AT} - \text{AB}) / (\text{AC} - \text{AB}) \times 100$$

(AB ; absorbance of blank

AC; absorbance of control

AT; absorbance of tested extract solution)

(사) 혈구응집법(Haemagglutination)

인플루엔자바이러스에는 envelope glycoprotein 인 hemagglutinin(HA)이 있으며, HA 는 적혈구 N-acetylneuraminic acid 를 함유한 glycoprotein 과 결합하여 적혈구응집을 일으킨다. 혈구응집시험을 위한 적혈구(RBC) 용액 준비는 사람 O 형 혈액을 채취하여 혈액응고를 방지하기 위하여 4 배의 Alserver's 용액과 혼합한 후 1000g 에서 15 분간 원심분리한다. 상층액을 버리고 RBC 를 완충용액(phosphate

buffered saline, PBS)으로 2-3 회 세척한 다음 Alserver's 용액과 혼합한 다음 냉장보관하여 5 일간 보관하면서 적혈구응집시험(haemagglutination assay) 및 적혈구응집 억제시험(haemagglutination inhibition test, HIT)에 이용하였다.

(아) 혈구응집 바이러스의 역가 측정

Microtiter round bottom 96 well plate 의 첫 번째 well 은 비워두고 두 번째 well 에 buffer 100ul 씩 분주한다. 첫 번째 well 에 바이러스를 200 ul 를 넣고 1:1 계단 희석한다. (마지막 well 은 Negative control) 적정한 농도의 RBC 부유액을 100 uL 씩 각 well 에 분주한 다음 잘 섞어준다. 실온에서 1 시간 반응시킨 후, 바이러스를 넣지 않은 well 에 적혈구를 기준으로 결과를 판독한다. 응집이 일어나지 않은 well 의 적혈구는 가라앉아서 뚜렷한 작은 점(button)의 형태로 나타나며, 응집이 일어난 well 의 적혈구는 lattice 를 형성하여 가라앉지 않으므로 전체적으로 붉은 색의 용액을 보인다. 응집이 일어난 가장 높은 희석배수를 HA titer 로 정한다. 이 방법은 바이러스 입자의 양을 간접적으로 알 수 있는 신속한 분석법이지만 민감도가 높지 않아서 소량의 바이러스입자를 측정하기에는 부적절하다.

(자) 시료의 항인플루엔자 바이러스 활성

금산인삼 추출물의 항인플루엔자 바이러스 활성을 측정하기 위하여 적혈구응집 억제시험(haemagglutination inhibition test, HIT)을 시행하였다. 금산인삼 추출물을 1, 10, 50, 100, 500, 1000, 2000 ug/mL 로 제조하여 각 well 에 50 uL 씩 분주하였다. 적혈구응집억제시험에서 측정된 바이러스 용액을 응집이 일어난 가장 높은 희석배수로 희석하여 각 well 에 50 uL 씩 넣어 잘 섞어준 후 상온에서 30 분 동안 반응시켰다. 그 후로 1 %로 희석된 RBC 용액을 각 well 에 100 uL 씩 분주하고 가볍게 섞어준 후 60 분 동안 상온에서 반응시켰다. 반응 시킨 후 양성대조군과 음성대조군을 비교하여 금산인삼 추출물의 바이러스와 RBC 가 흡착하는 과정을 저지하는 효과를 검색하였다.

(차) Plaque reduction assay

항바이러스 활성은 plaque reduction assay 로 측정하였다. 6-Well culture plates 에 숙주세포인 MDCK 의 세포단층( $5 \times 10^5$  cells/well)이 형성된 후 바이러스 배양액을 10 배씩 희석하여 희석액 1 mL 씩 접종하였다. 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C incubator 에서 60 분 간 바이러스를 세포에 흡착시킨 뒤 agar overlay medium (0.3 % BSA, 1 % P/S, 1 ug/mL TPCK-trypsin, 0.3 % agarose 함유된 MEM)을 세포 단층에 2 mL/well 로 가한 후 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> 에서 48 시간 배양 후 4 % formalin-PBS 로 세포를 고정시킨 후 agar overlay medium 을 떼어내고 crystal violet 으로 염색하여 plaque 의 수를 세었다. 금산인삼 추출물의 항바이러스 작용 양식을 조사하기 위한 전배양 시험의 경우 6-well plate 에 먼저 MDCK 를 분주하고 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C 에서 24 시간 배양하여 세포단층을 얻은 후 배지를 제거한 후 잔여 배지를 PBS 로 세척하여 완전히 제거한 다음, 바이러스 증식억제능 분석을 통해 스크리닝 된 추출물 1, 3, 5, 7 은 10, 100, 500, 1000 ug/mL 농도로 접종하고, 추출물

2, 4는 10, 50, 100 ug/mL 농도로 접종하여 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C에서 1 시간 전배양 한 후, 시료를 함유한 배지를 제거한 후 100 PFU/well의 influenza virus A 용액을 접종하고 60 분간 세포에 흡착시킨 후 상기와 같이 배양하고 viral plaque의 수를 비교하였다.

(카) Neuraminidase 활성 저해 시험

Influenza virus A(H1N1) 등과 같이, 바이러스의 침입과 증식에 바이러스 표면의 haemagglutinin(HA)과 neuraminidase(NA) 단백질 system을 이용하는 바이러스들에 대한 항바이러스 활성 여부를 neuraminidase(NA) inhibition assay로 조사하였다. NA 효소 활성 저해 실험에는 *in vitro* 항 influenza virus 활성이 확인된 금산인삼 추출물 1, 2, 3, 4, 5 및 7에 대해 실시하였다. MES Buffer (32.5 mM 2-Morpholinoethanesulfonic acid, 4 mM calcium chloride, pH 6.5) 용액을 이용하여 농도별로 효소 저해 활성을 조사하였다. 각 추출물 용액 10 uL에 동일 부피의 influenza A virus 용액을 접종하고 37 °C에서 30 분 반응시킨 후, 100 uM의 기질 (4-MUNANA ; 2'[4-methylumbellifery]-A-D-N-acetylneuraminic acid, Sigma, St Louis, MO, USA) 30 uL를 첨가하여 37 °C에서 1 시간 반응시킨 후 0.1 M glycine, 25 % ethanol, NaOH buffer (pH 10.7) 150 uL 첨가하여 반응을 종료시키고 fluorescence microplatereader(Molecular Devices)를 사용하여 Ex. 355 nm/Em. 460 nm에서 fluorescence를 측정하여 효소활성 저해여부를 확인하였다. NA에 대한 표준물질로는 4-methylumbelliferone sodium salt (Sigma-Aldrich)를 사용하였다.

(타) 통계처리

모든 실험결과는 통계 프로그램(SPSS ver.12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균 ± 표준오차(Mean ± S.E.)로 계산하였다. 각 군 간의 통계적 유의성 검정에 따른 통계분석은 ANOVA(one-way analysis of variance test)를 실시한 후 유의성이 있는 경우, p value가 0.05 미만일 때 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

나. 시험결과

(1) 바이러스 증식

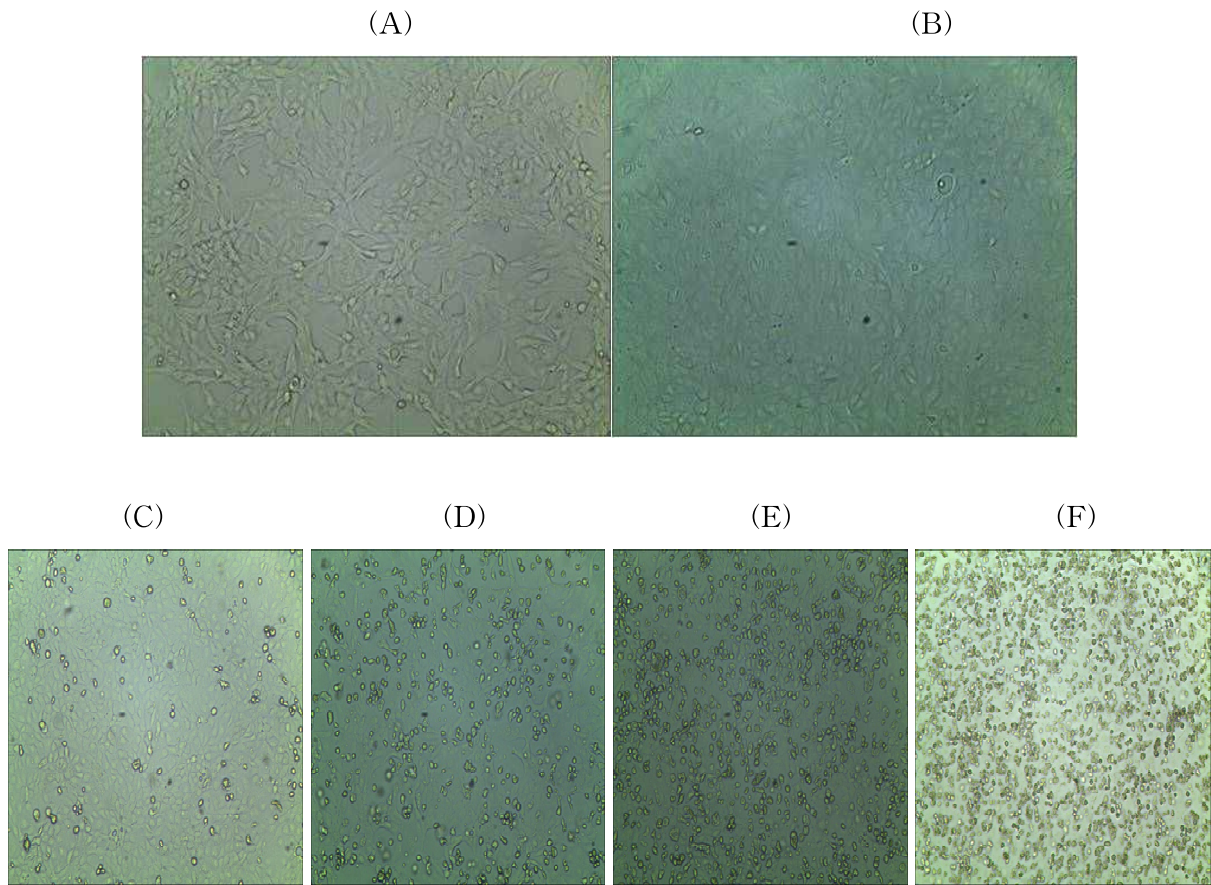


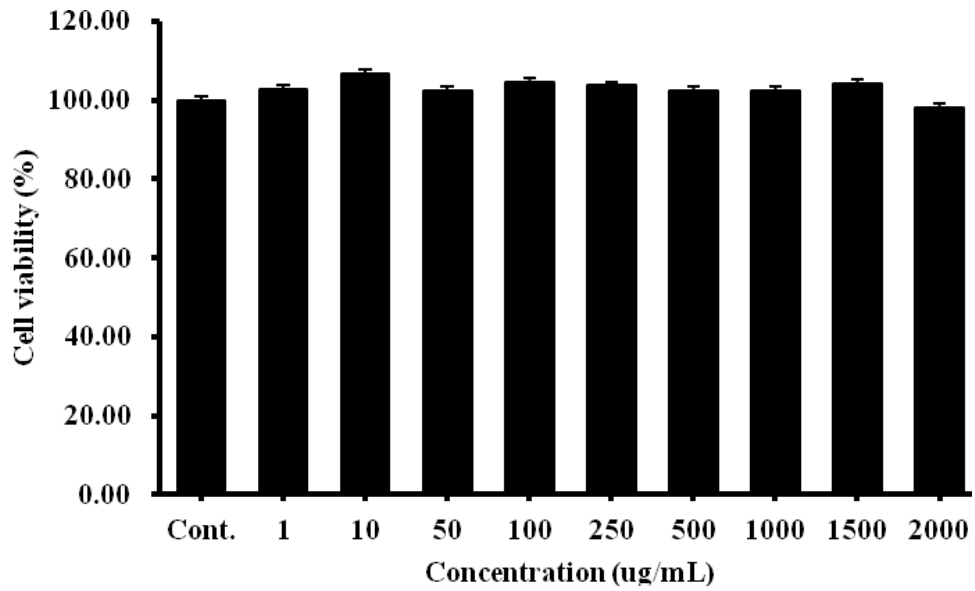
그림 1. Micrographs of MDCK cells infected with influenza virus type A(H1N1) (X 200).

(A) Normal MDCK cells; (B) 2 hrs post-infection; (C) 1 day post-infection; (D) 3 day post-infection; (E) 5 day post-infection; (F) 7 day post-infection

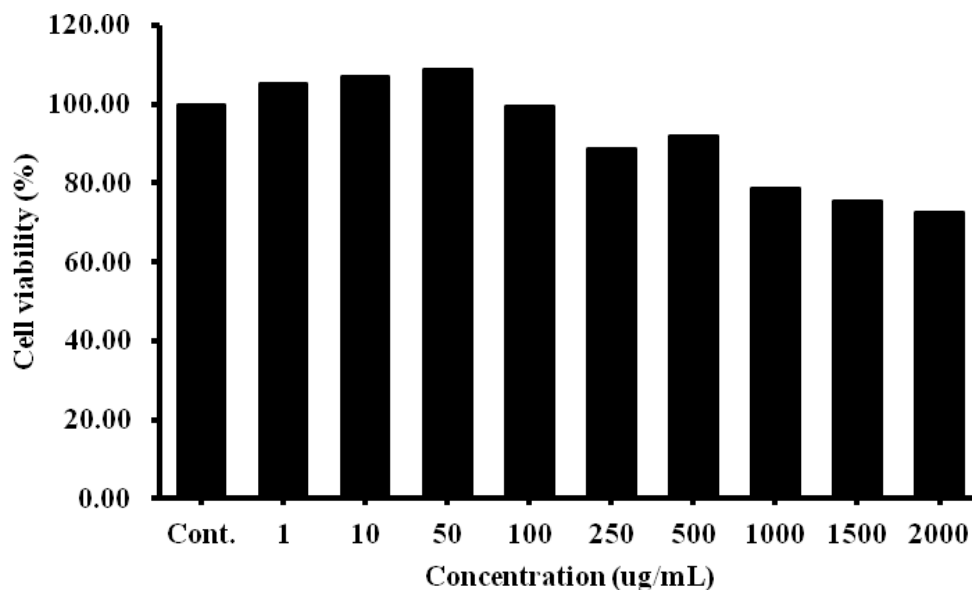
병원성바이러스은행으로부터 분양받은 influenza virus A(H1N1)형을 MDCK 세포에 감염시켜 7일간 배양하면서 현미경으로 증식과정을 관찰하였다. 감염시킨 후, 24시간 후 MDCK 세포에 바이러스가 감염되어 점차 부분적으로 플라스크로부터 분리되어 원형상태로 세포배양액 위에 떠다니기 시작했으며, 7일 후 MDCK 세포는 플라스크로부터 대부분 분리된 것을 관찰할 수 있었다(그림 1).

(2) 금산인삼 추출물에 대한 세포독성

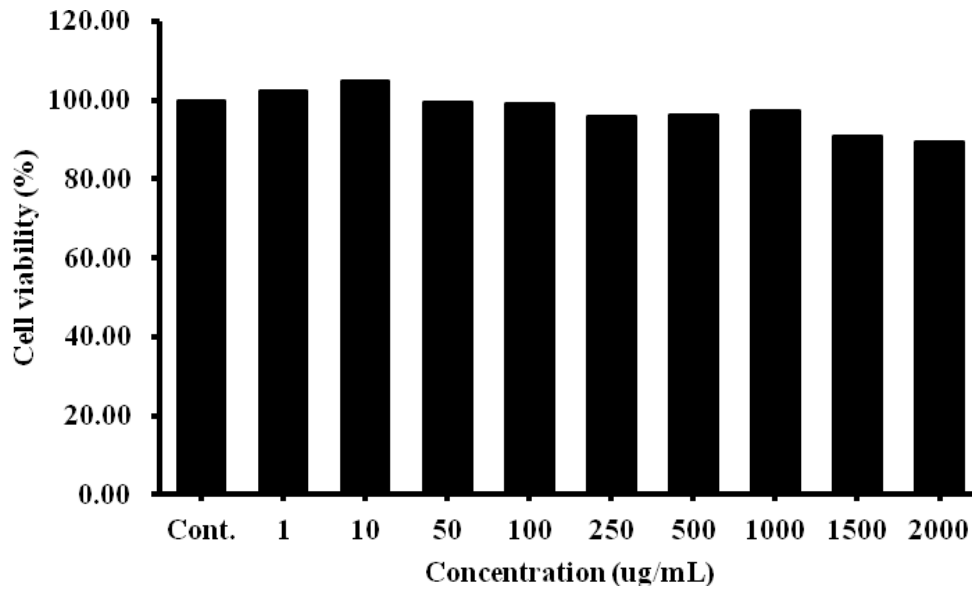
(가) GS-C46



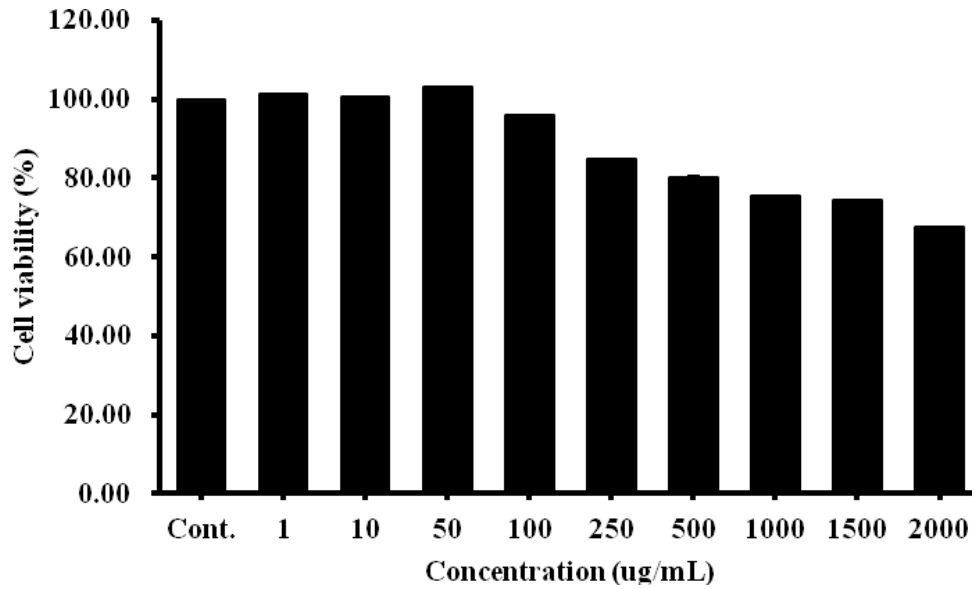
(나) GS-3K2



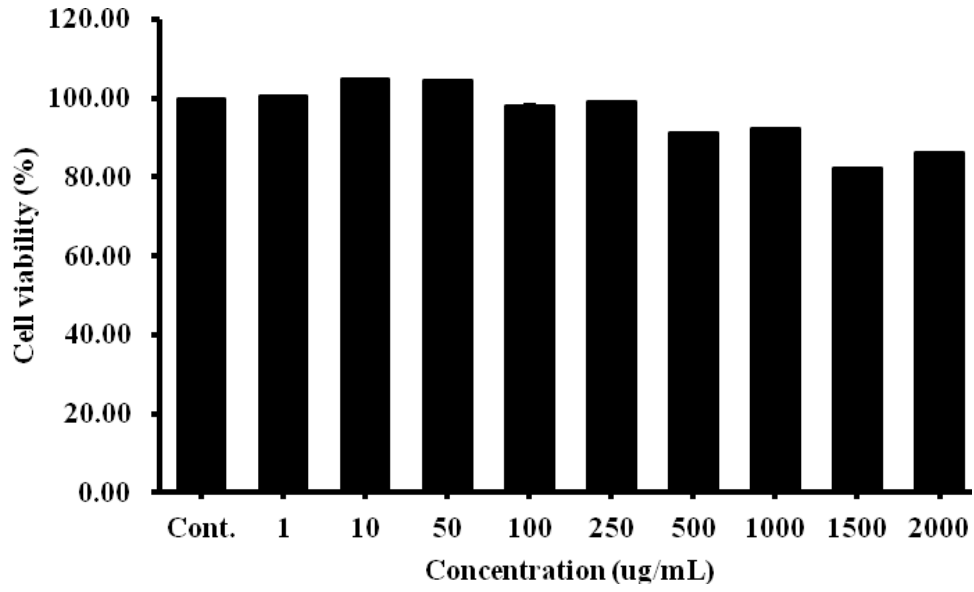
(다) GS-3K4



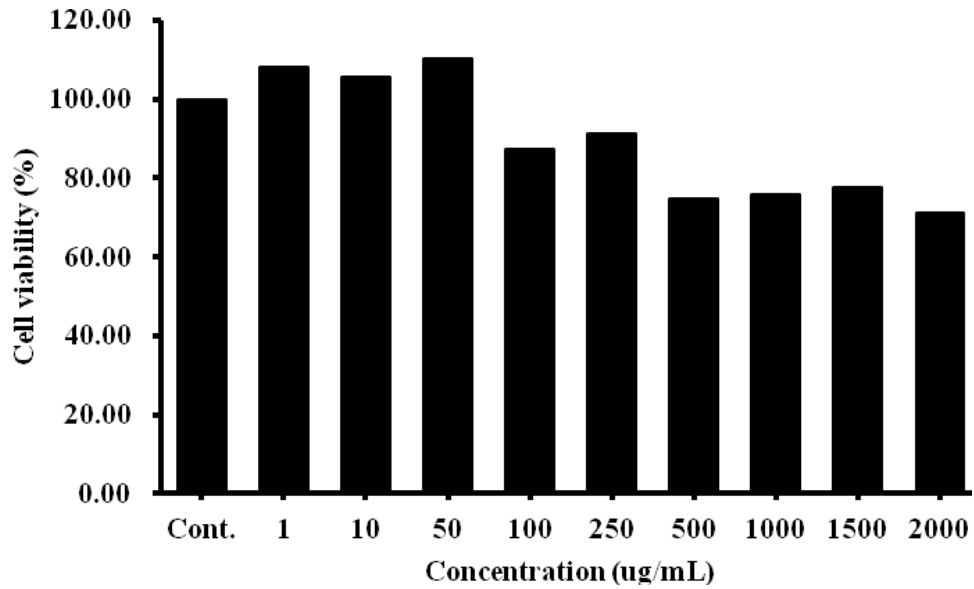
(라) GS-3K6



(마) GS-3K8

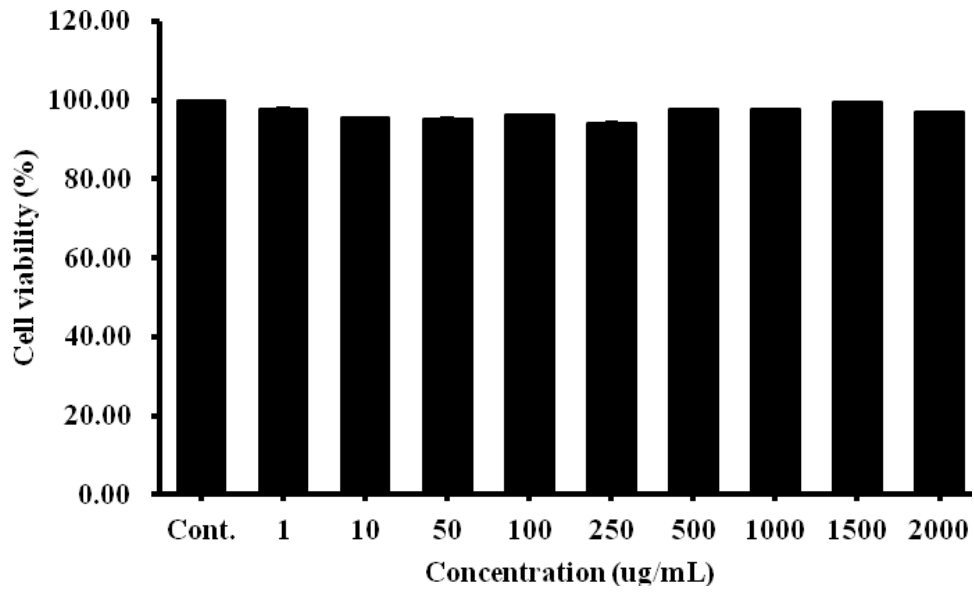


(마) GS-LE2

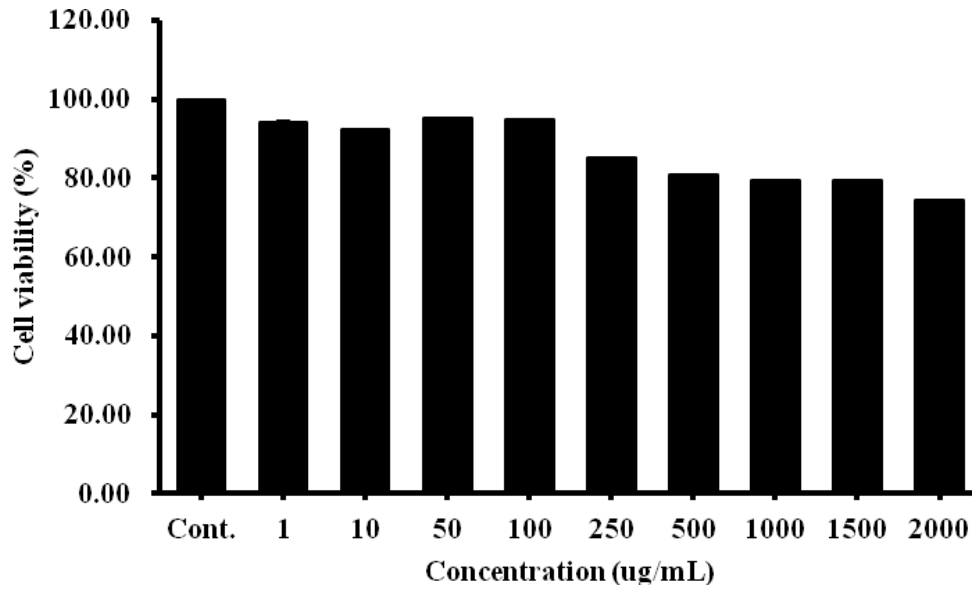




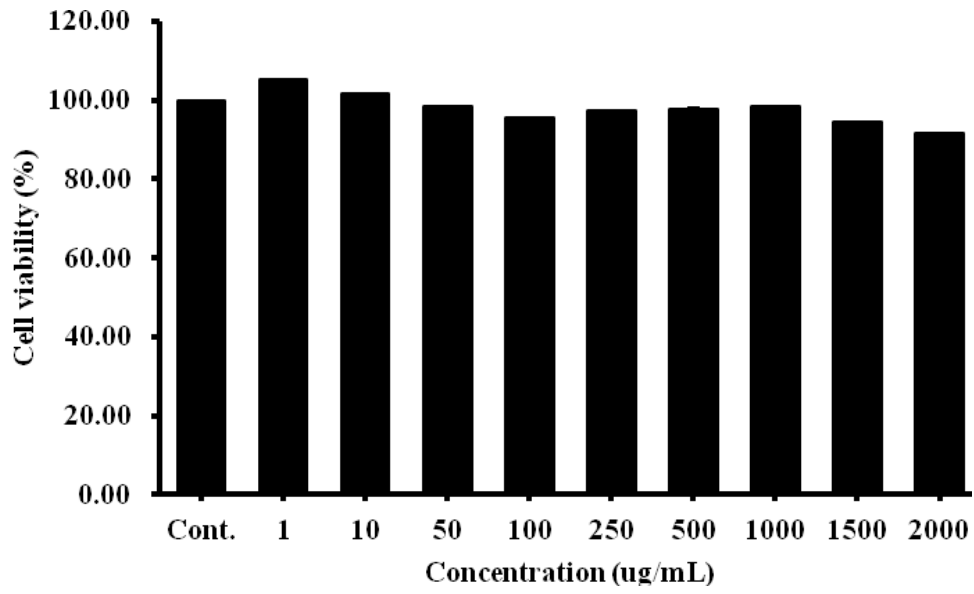
(사) GS-M1



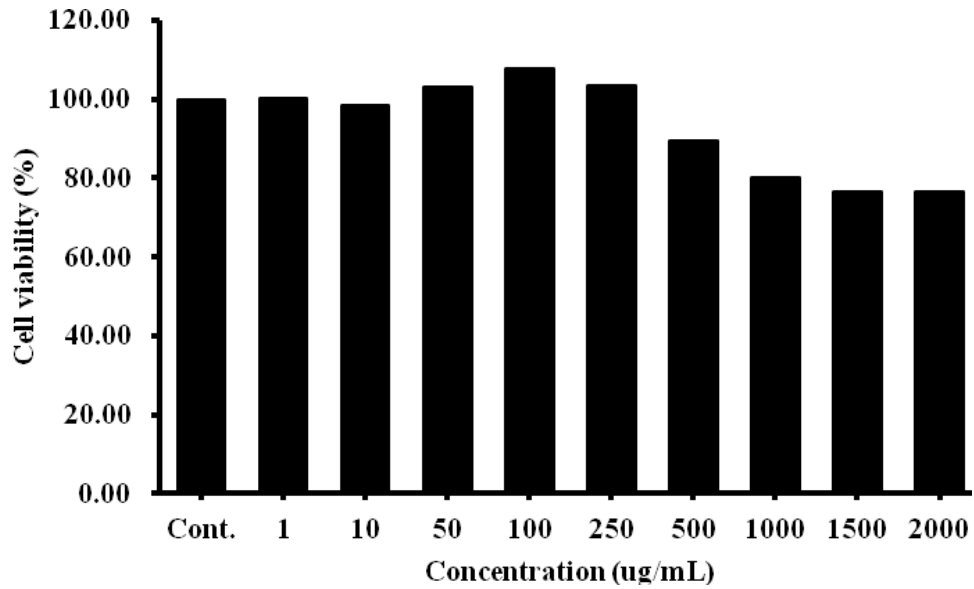
(ㅇ) GS-EMD



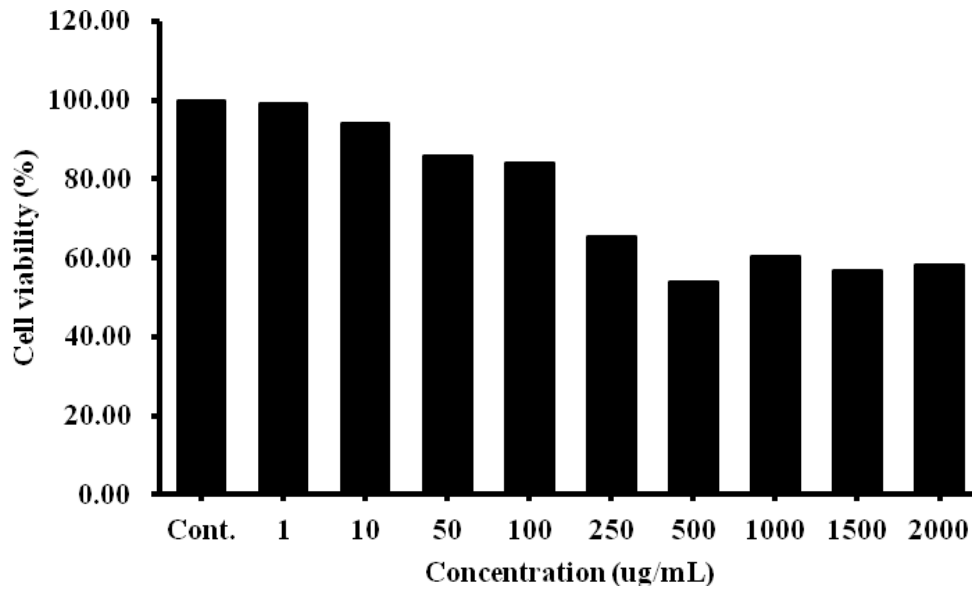
(차) GS-E3D



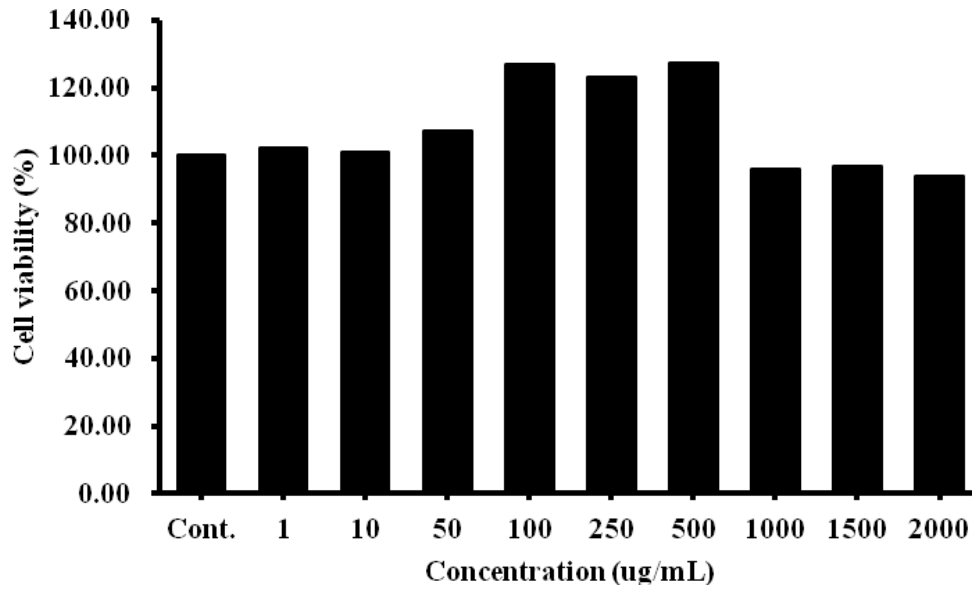
(차) GS-M7



(㉑) GS-F3K1

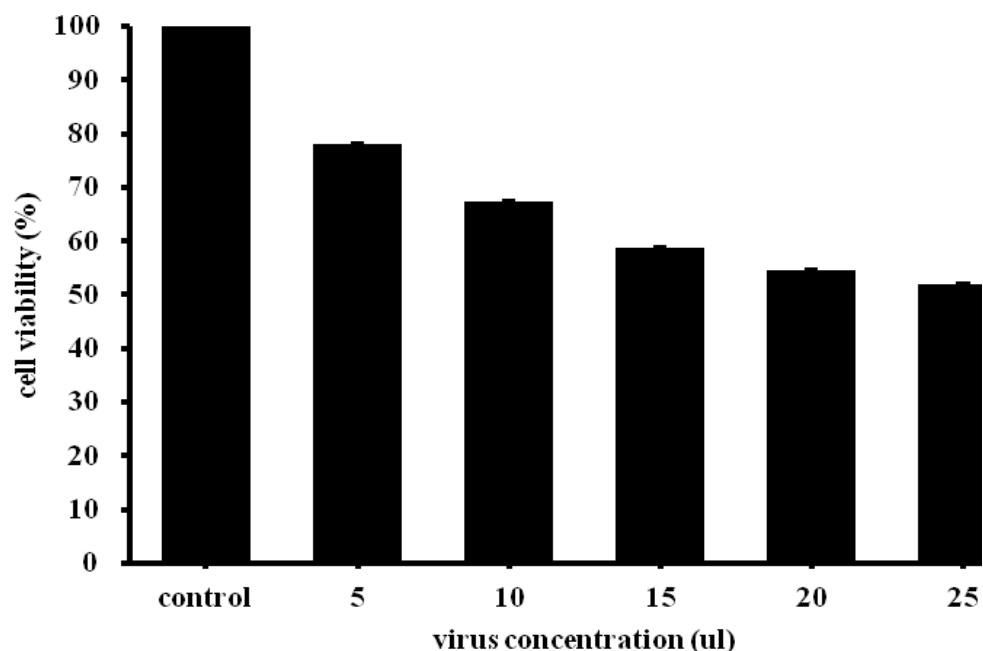


(㉒) IW-CK



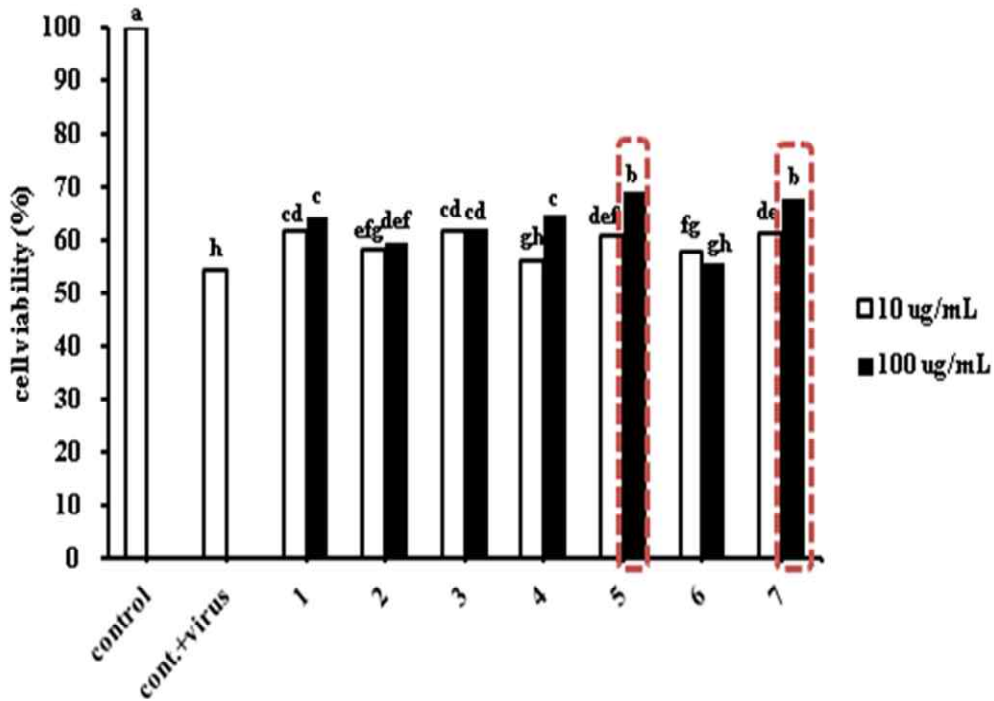
총 12종의 금산인삼 추출물에 대한 세포독성평가는 1, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 2000 ug/mL의 농도에서 추출물을 가하지 않은 well의 세포와 비교하여 분석하였다. 12종 금산인삼 추출물은 바이러스 배양세포로 사용되는 MDCK 세포에 대해 서로 다른 세포독성을 나타내었다(그림 2). 추출물 1, 3, 7, 9, 12는 최고 시험농도인 2000 ug/mL의 농도까지 세포독성을 나타내지 않았으며, 추출물 5는 1000 ug/mL에서 92.32 %, 추출물 2는 500 ug/mL에서  $91.98 \pm 0.01$  %, 추출물 10은 250 ug/mL에서  $103.53 \pm 0.01$  %, 추출물 4, 8은 100 ug/mL에서 각각  $95.86 \pm 0.01$  %,  $94.72 \pm 0.01$  %, 추출물 6, 11은 각각 50, 10 ug/mL의 농도에서 110.12 %, 94.30 % 순으로 세포독성을 나타내지 않았다.

### (3) 바이러스 증식 분석



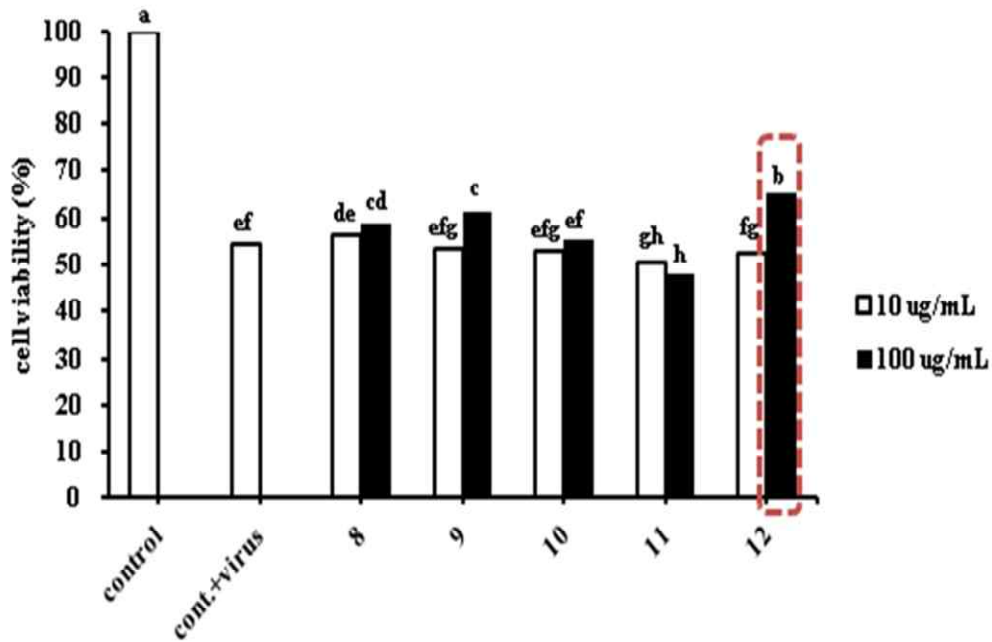
MDCK 배양세포주에 인플루엔자 바이러스에 대한 세포 사멸을 확인한 결과 바이러스 농도 의존적으로 MDCK 세포에 대한 세포 사멸이 나타났다. 바이러스를 5, 10, 15, 20, 25 uL의 농도로 처리하여 48 시간 동안 감염 후 세포 활성을 측정하였다. 5, 10, 15, 20, 25 uL는 각각  $78.10 \pm 0.25$  %,  $67.27 \pm 0.22$  %,  $58.82 \pm 0.2$  %,  $54.60 \pm 0.19$  %,  $51.98 \pm 0.18$  %로 세포 사멸이 확인되었으며, 50 % cytotoxic concentration (CC<sub>50</sub>)의 농도는 20 uL로 확인되었다.

(4) 금산인삼 추출물의 Influenza virus A(H1N1)에 대한 항바이러스 효과



	10 ug/mL	100 ug/mL
Control	100	
Cont. + virus	54.35	
1	61.56	64.40
2	58.12	59.44
3	61.67	62.00
4	56.07	64.59
5	60.81	69.31
6	57.71	55.63
7	61.08	67.83

금산인삼 추출물의 바이러스증식 억제효과는 추출물 1-7에서 각각 10과 100 ug/mL의 농도로 측정된 결과 모든 실험군에서 바이러스 증식 억제에 유의적인 차이에 의해 나타났으며, 5번과 7번 추출물 100 ug/mL의 농도에서 69.31%, 67.83%의 높은 억제능이 확인되어 인플루엔자 바이러스 증식 억제능이 다른 추출물보다 우수함을 나타내었다. 금산인삼 추출물 6번의 바이러스 증식 억제능이 10 ug/mL의 농도보다 100 ug/mL의 농도에서 더 낮은 결과는 추출물 자체의 세포 독성으로 인한 세포의 사멸에 의해 나타난 결과로 사료된다.

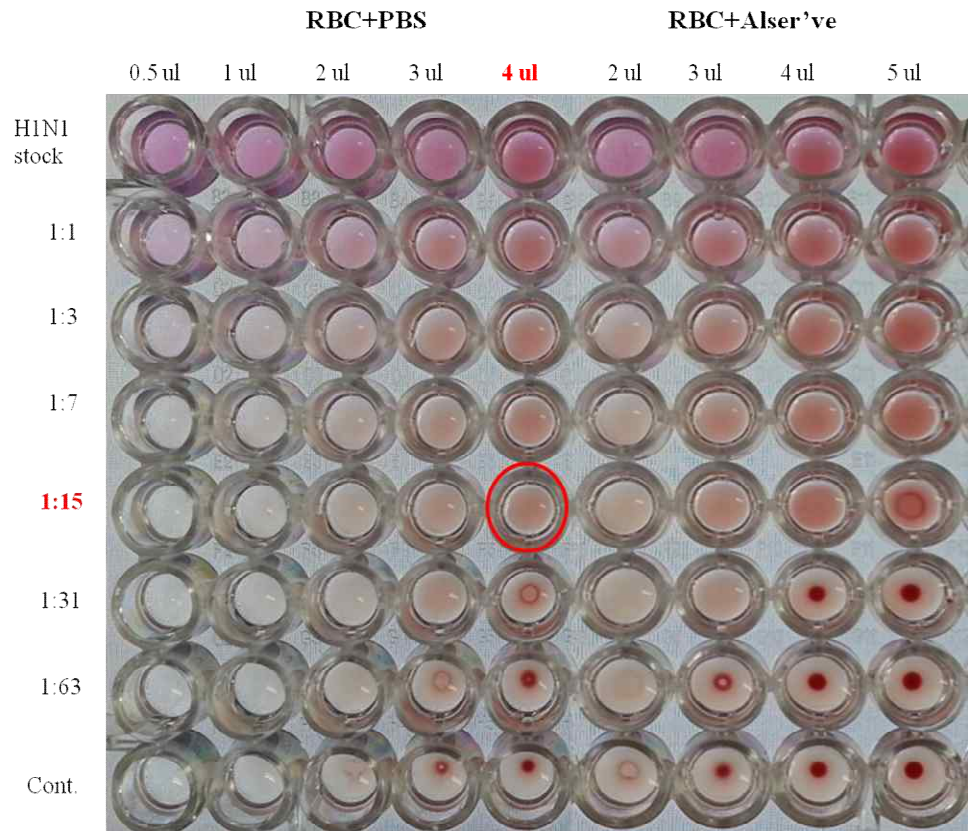
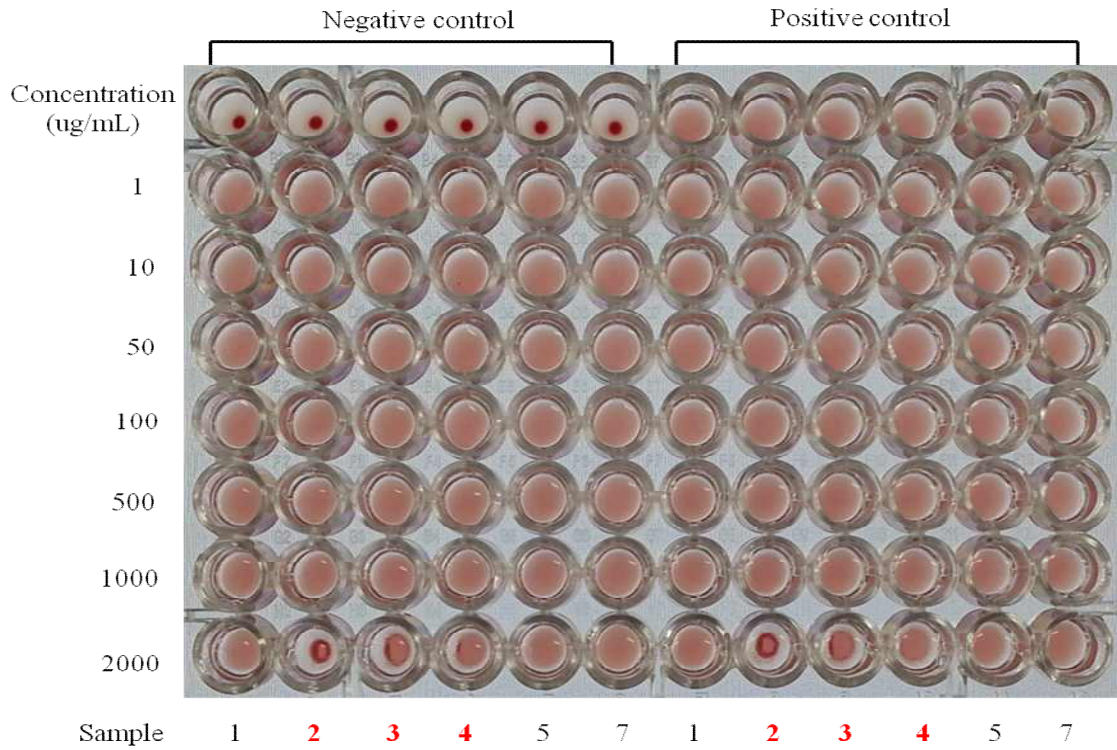


	10 ug/mL	100 ug/mL
Control	100	
Cont. + virus	54.35	
8	56.32	58.90
9	53.53	61.44
10	53.20	55.55
11	50.50	47.84
12	52.51	65.17

바이러스증식 억제능은 금산인삼 추출물 8-12 각각 10 과 100 ug/mL 의 농도로 측정된 결과 8 번과 9 번 추출물 100 ug/mL 의 농도에서 58.90 %, 61.44 %의 억제능이 확인되었다. 추출물 12 번은 10 ug/mL 농도에서는 억제능이 보이지 않았으나 100 ug/mL 의 농도에서 65.17 %로 높은 억제능이 확인되어 다른 추출물보다 인플루엔자 바이러스 증식 억제능이 우수함을 나타내었다. 금산인삼 추출물 10, 11 번의 바이러스 증식 억제능이 바이러스 control 에 비해 낮은 억제능 측정은 추출물 자체의 세포 독성으로 인한 세포의 사멸에 의해 나타난 결과로 사료된다.

#### (5) 혈구응집 바이러스 역가 측정

적혈구 대조군이 완전히 가라앉은 후에 적혈구가 부유액으로 있으면 혈구 응집이 일어난 것이다. 사람의 O형 적혈구는 혈구응집 반응이 없는 경우 well 바닥에 가라앉은 혈구들에 의해 “halo” 또는 원형을 보인다.



적혈구응집반응은 사람 O형 적혈구 원액을 RBC 또는 Alserver's 용액을 비교하고 RBC와 바이러스의 농도를 측정하여 실험에 사용할 적정 농도의 RBC와 바이러스 희석조건확립을 하였다. 사람 O형 적혈구는 Alserver's 용액에 보관하고, 실험에 사용할 시에는 원심분리를 하여 순수 RBC를 PBS에 1%로 희석하여 적혈구응집억제시험에

사용하는 것이 적합하다고 판정된다. 또한 바이러스는 1:15로 희석하여 사용하는 것이 적합하다고 판정된다.

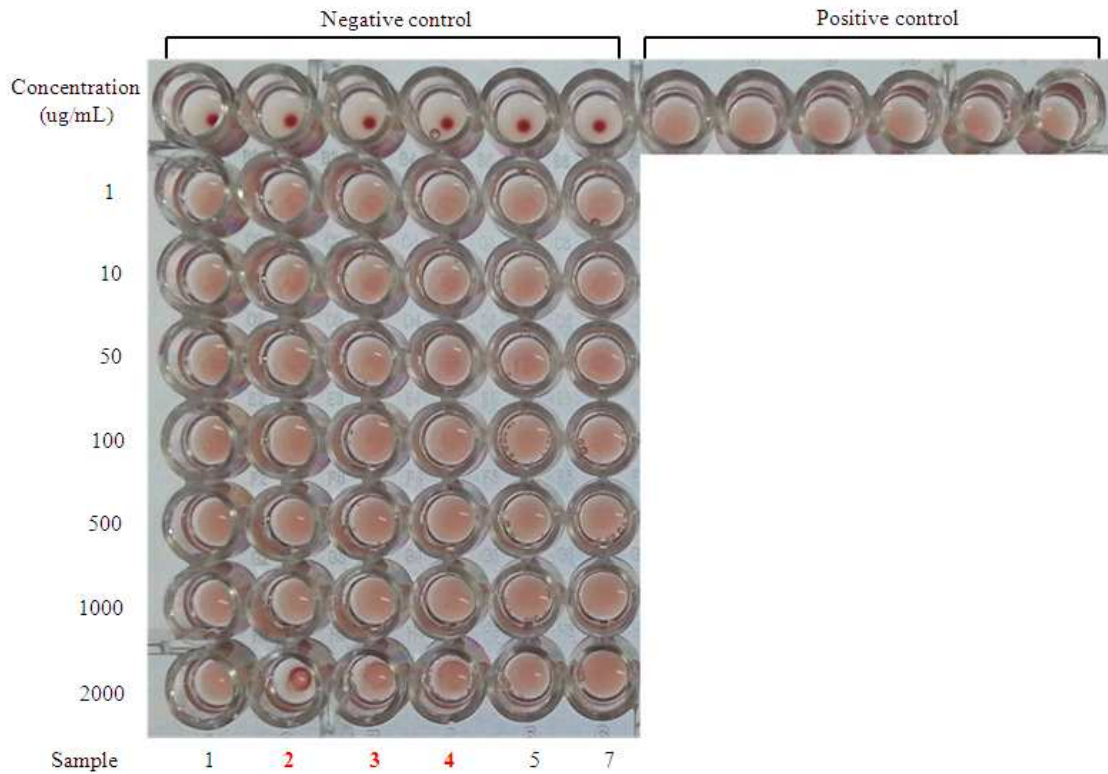


표 10. 금산인삼 추출물의 항바이러스 효과 측정

Cont.	2000 ug/mL	1000 ug/mL	500 ug/mL	100 ug/mL	50 ug/mL	10 ug/mL	1 ug/mL
1	-	-	-	-	-	-	-
2	+/-	-	-	-	-	-	-
3	+/-	-	-	-	-	-	-
4	+/-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-

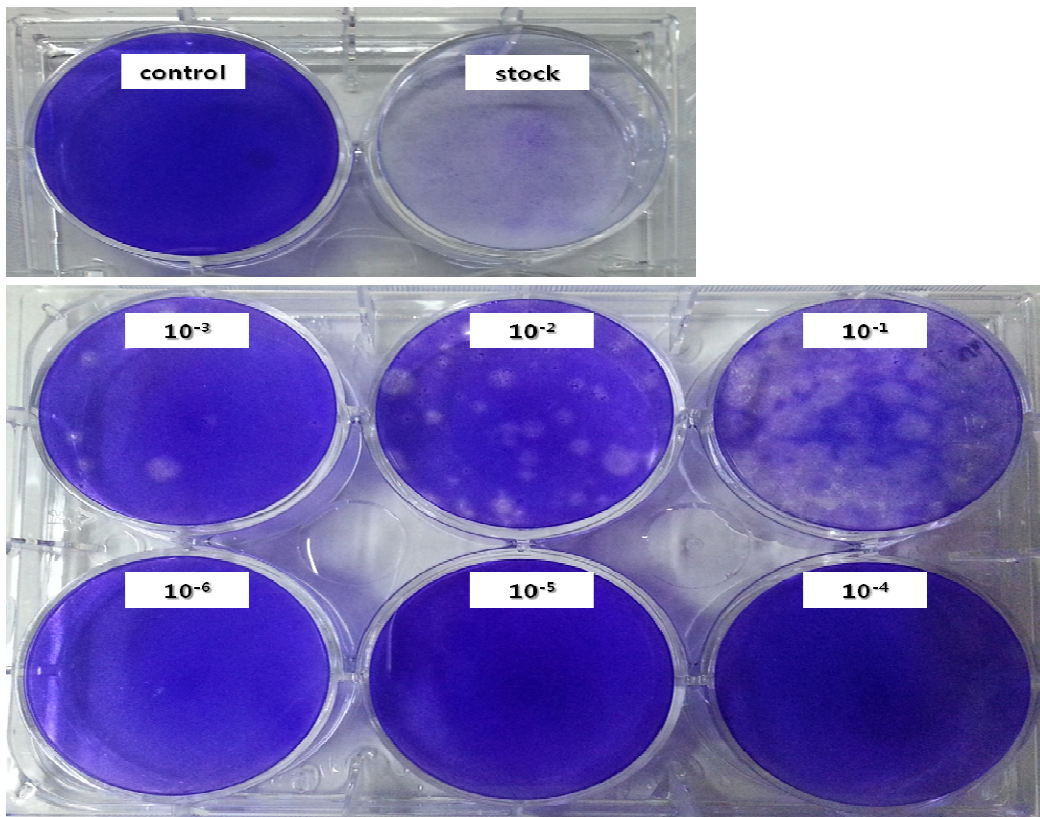
Note. 1:GS-C46, 2:GS-3K2, 3:GS-3K4, 4:GS-3K6, 5:GS-3K8, 7:GS-E3D

- 적혈구 대조군이 완전히 가라앉은 후에 적혈구가 부유액으로 있으면 혈구 응집이 일어난 것이다. 이런 경우는 “+”로 기록한다. 적혈구의 일부만 응집이 일어나고 일부만 가라 앉으면 “+/-”로 표시한다.
- 사람의 O형 적혈구는 혈구응집 반응이 없는 경우 well 바닥에 가라앉은 혈구들에 의해 “halo” 또는 원형을 보인다.



- 금산인삼 추출물 6 개 샘플에 대한 항바이러스 활성을 측정하기 위해 Influenza virus 를 1:15 로 희석하여 적혈구응집억제시험을 시행한 결과 GS-3K2, GS-3K4 와 GS-3K6 은 가장 높은 농도 2 mg/mL 의 농도에서 적혈구응집억제 활성을 나타냈다. GS-C46, GS-3K8 과 GS-E3D 는 최고농도인 2 mg/mL 의 농도까지 적혈구응집억제반응을 보이지 않았으므로 적혈구응집억제반응에 효과가 없는 것으로 판정된다.

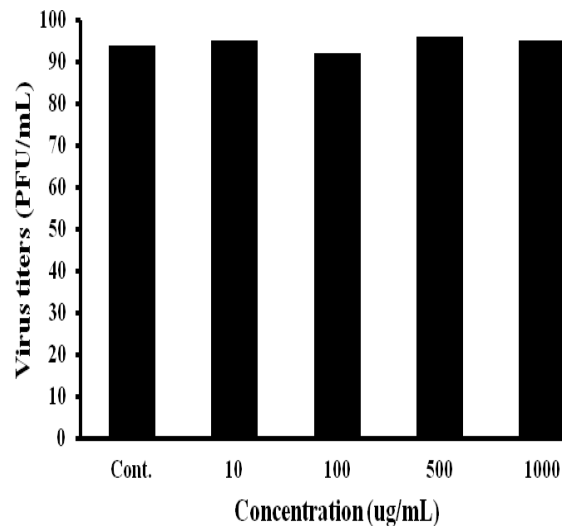
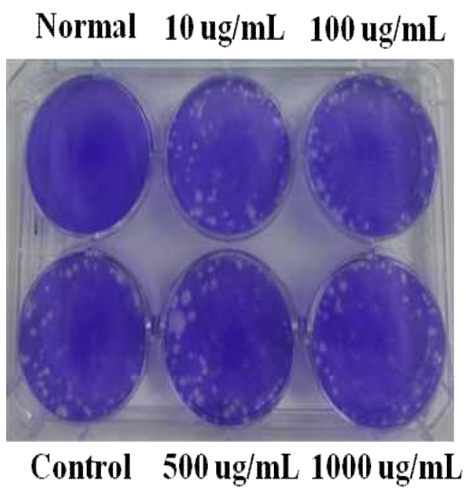
(6) Plaque assay에 의한 바이러스 역가 측정



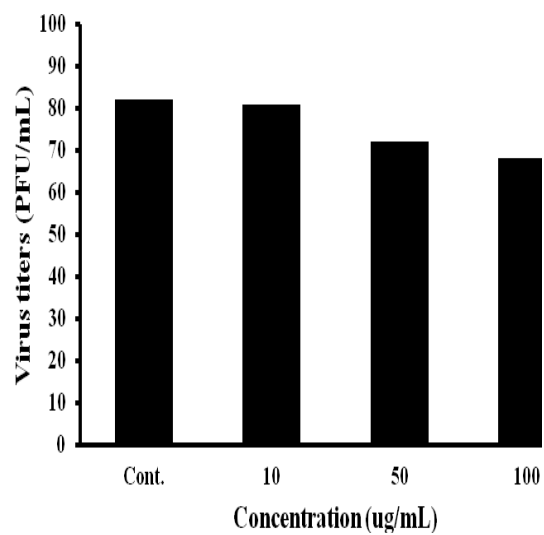
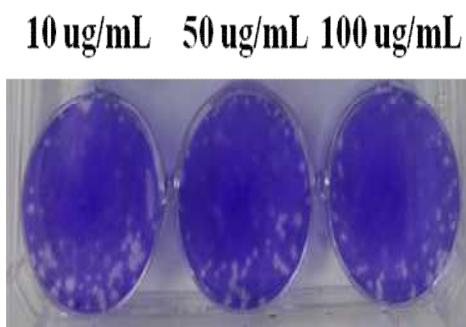
Plaque 란 바이러스감염에 의하여 세포 변성을 일으킨 단층세포부위로서, plaque 주위의 감염되지 않은 정상 세포는 crystal violet 로 염색되므로 감염 부위와 구별되어 동그란 형태의 플라그 형성은 바이러스 감염을 나타낸다. 한 개의 감염성이 있는 바이러스 입자는 하나의 플라그를 형성한다는 이론 하에 plaque counting 은 각종 바이러스 정량에 응용되었으며, Dulbecco 는 1975 년 노벨 생리학상을 받음으로서 plaque assay 의 중요성이 입증되기도 하였다. 그러나 plaque assay 는 CPE 를 나타내는 바이러스 정량에만 사용될 수 있는데, influenza virus A(H1N1)형은 배양세포주 MDCK 세포에 CPE 를 형성함으로 이러한 방법을 선택하여 바이러스 역가를 측정하였다. PFU 를 통해 측정된 플라그는 다음과 같은 식을 이용하여 PFU 를 계산한 결과  $44 \times 10^2$  PFU/mL 의 바이러스 역가가 측정되었다.

PFU/mL (of original stock) = number of plaques / dilution factor x (ml of inoculums/plate)

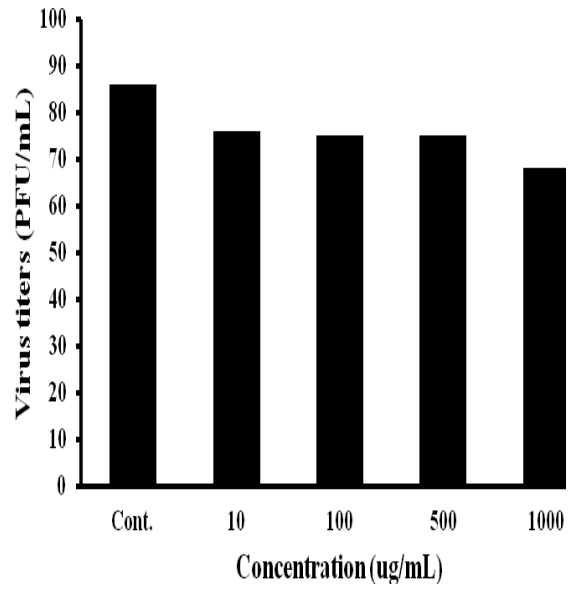
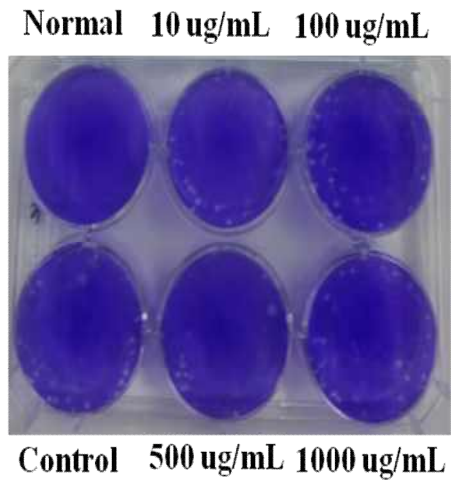
(가) GS-C46



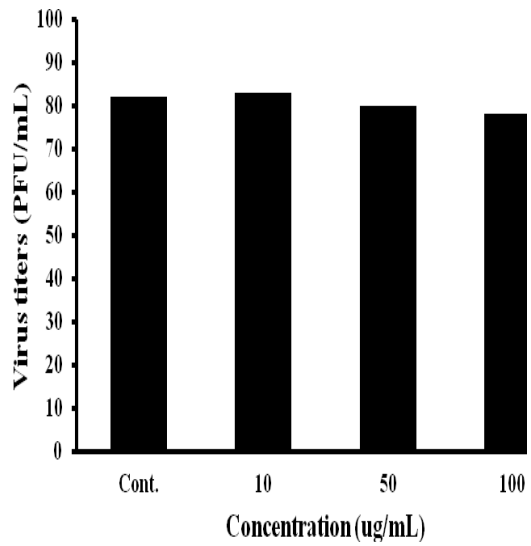
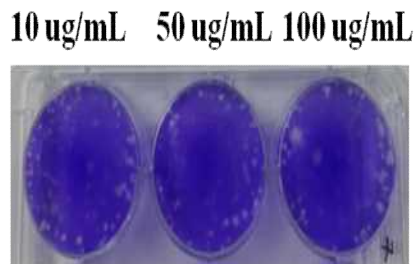
(나) GS-3K2



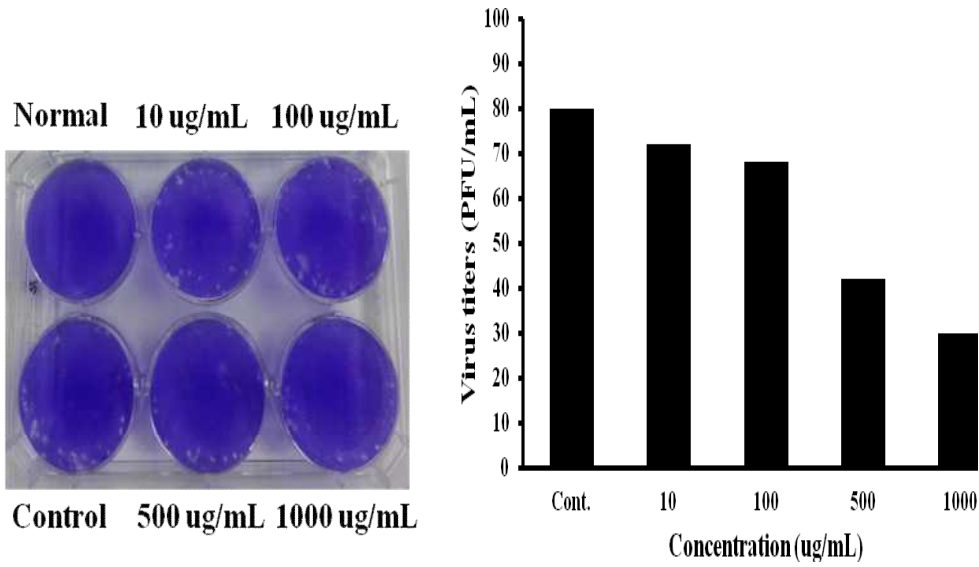
(다) GS-3K4



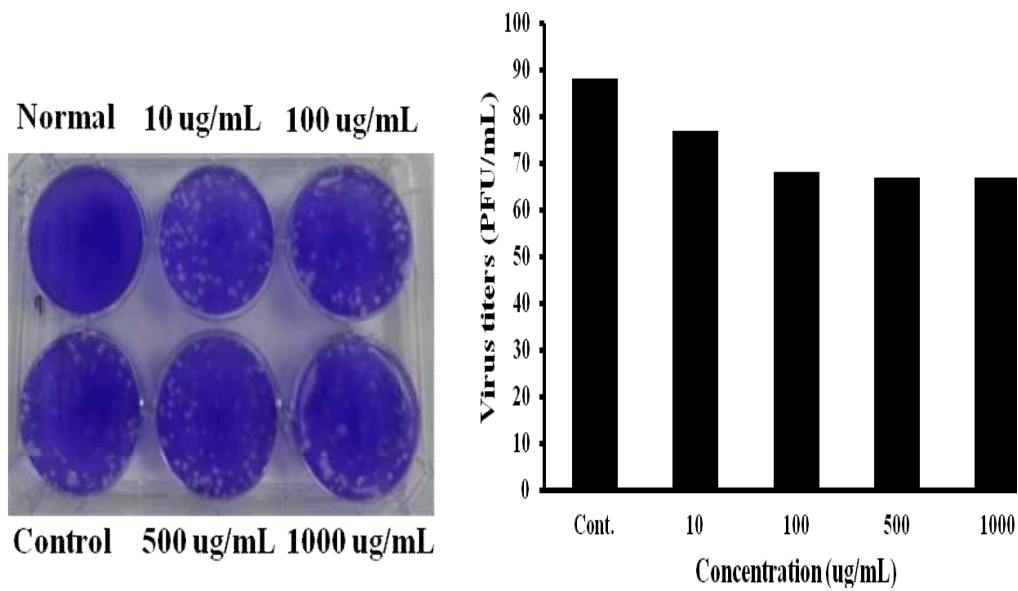
(라) GS-3K6



(마) GS-3K8



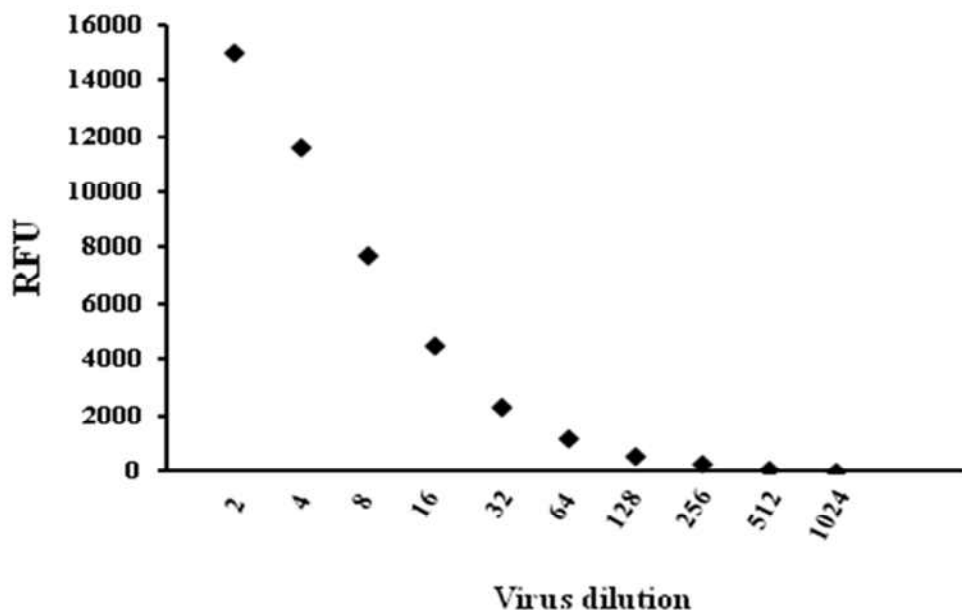
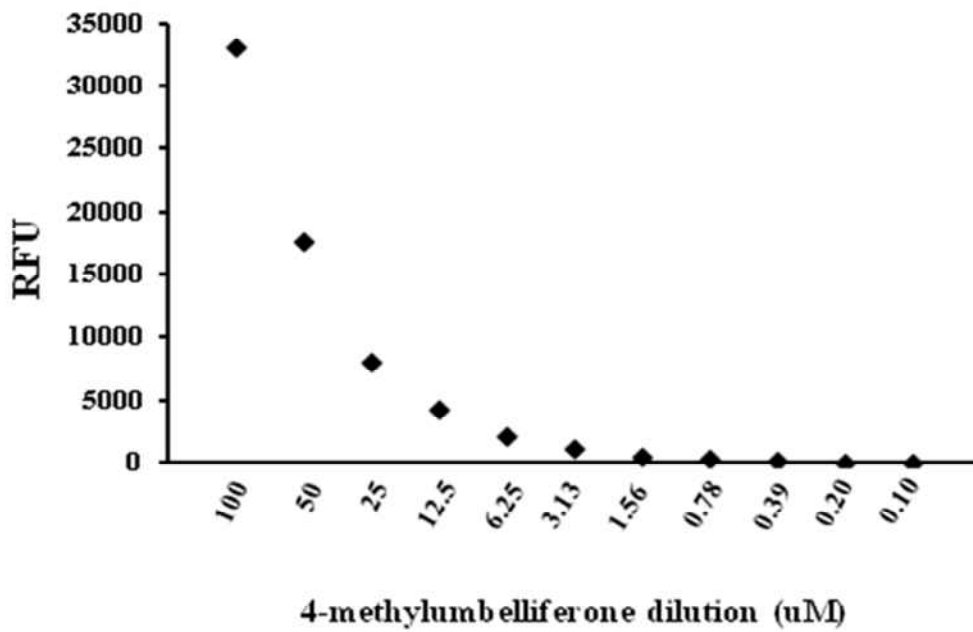
(바) GS-M1



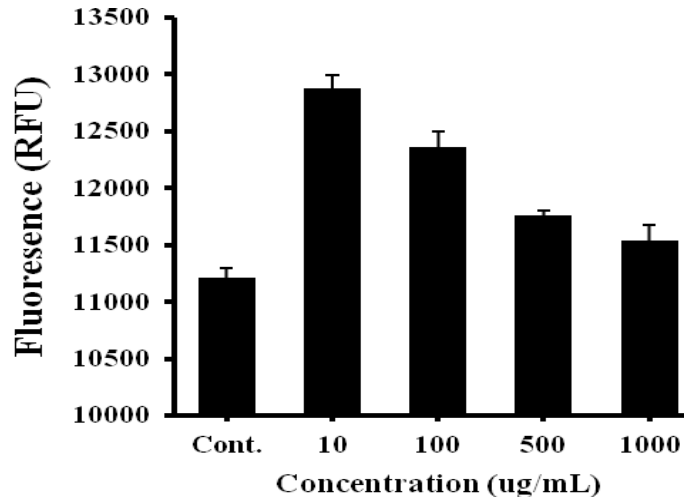
농도별 금산인삼 추출물을 처리하여 1시간 전처리 후, 바이러스를 infection 시킨 후 plaque assay를 시행하였다. Plaque란 바이러스감염에 의하여 세포 변성을 일으킨 단층세포부위로서, plaque 주위의 감염되지 않은 정상 세포는 crystal violet로 염색되므로 감염 부위와 구별되어 동그란 형태의 플라그 형성은 바이러스 감염을 나타낸다. 처리해준 금산인삼 추출물의 농도가 증가함에 따라 대조군에 비해 형성되는 plaque 수의 감소 여부를 확인하였다. 각각 독성 시험 결과에 따라 독성을 보이지 않는 최대의 농도를 최고 농도로 하여 1, 3, 5, 7 시료는 10, 100, 500, 1000 ug/ml 의 농도로 처리하여 plaque assay를 실시하였으며 2, 4 시료는 10, 50, 100 ug/ml의 농도로 plaque assay를 실시하였다. 그 결과 1번 시료(GS-C46)은 plaque 수의 변화가

없었으며, 2번 시료(GS-3K2)는 100 ug/ml의 농도에서 17% 정도 감소하는 양상을 보였다. 또한 3번 시료에서는 1000 ug/ml의 농도에서 21% 정도의 감소율을 보였으며, 4번 시료에서도 4.9%의 감소율을 보이며 큰 변화가 없었다. 7번 시료에서도 1000 ug/ml의 농도에서 24% 정도의 바이러스 plaque 억제율을 보였다. 5번 시료에서는 각각의 농도에서 10%, 15%, 47.5%, 62.5%의 억제율을 보여 가장 항바이러스 효과가 높은 시료임을 알 수 있었다. 그러나, 이러한 억제율은 반복 실험을 통해 정확한 억제율을 확인 할 필요가 있다고 생각된다.

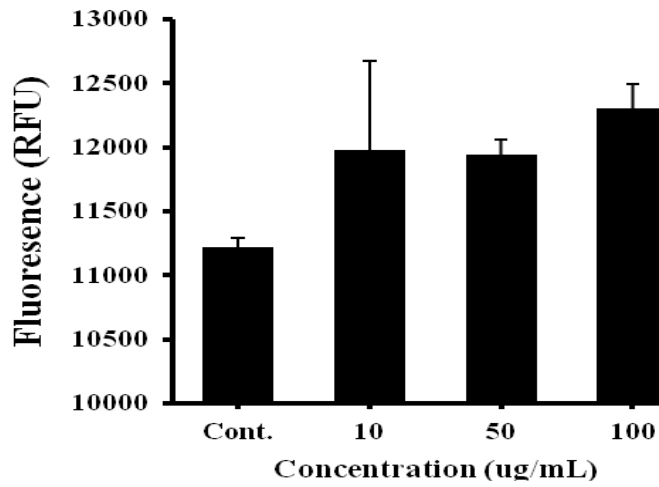
(7) Neuraminidase 활성 저해능



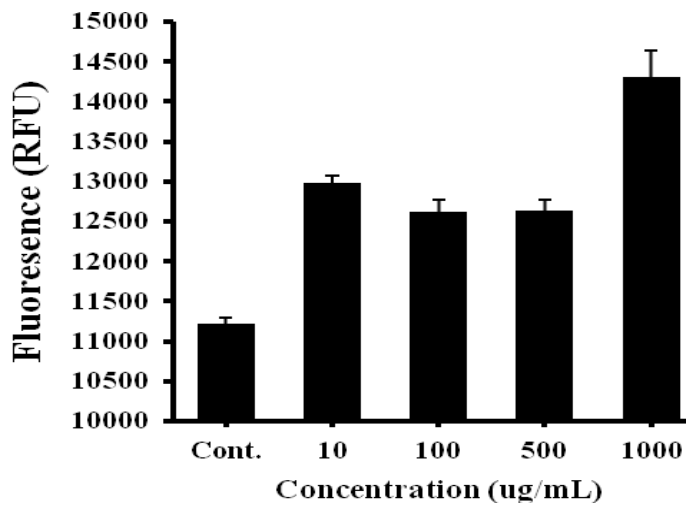
(가) GS-C46



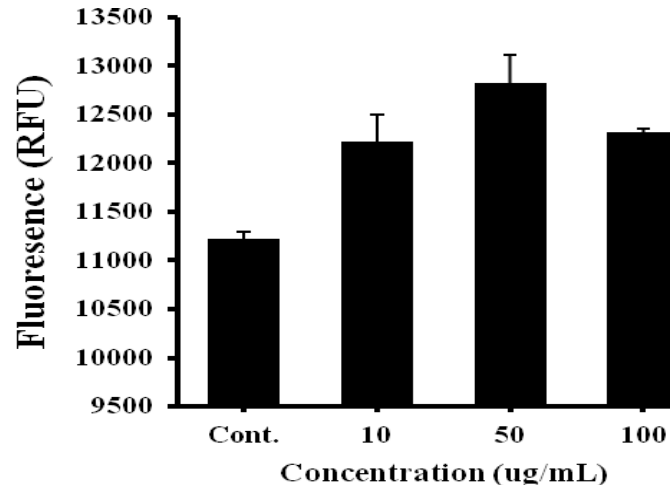
(나) GS-3K2



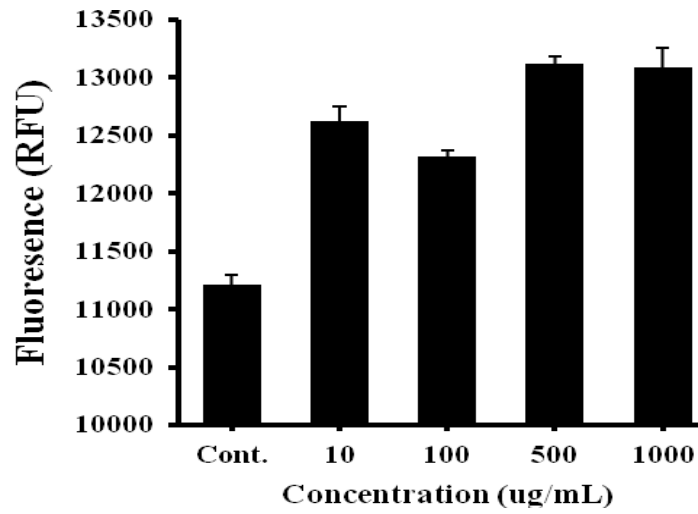
(다) GS-3K4



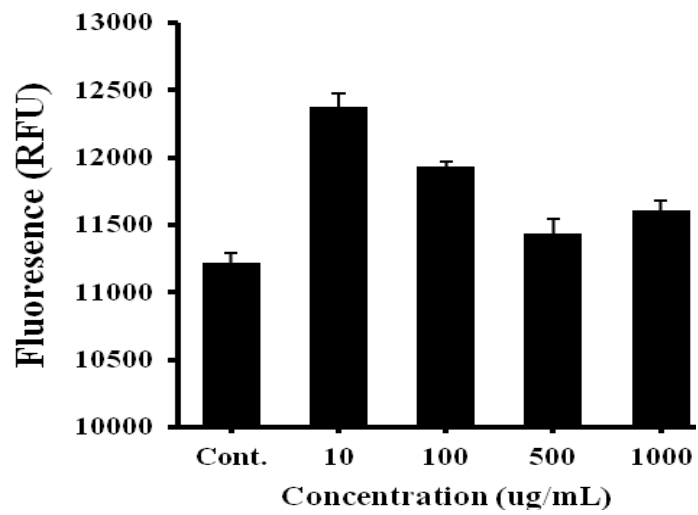
(라) GS-3K6



(마) GS-3K8



(바) GS-M1



Neuraminidase(NA) 효소 활성 저해 시험에 형광 물질 standard curve는 100 uM 부터 2 배씩 희석하여 측정한 값은 다음과 같았으며, IC<sub>50</sub>은 50 uM에서 나타났다. 일정량의 바이러스 stock의 neuraminidase 활성을 측정한 결과 1:2로 희석한 바이러스의 형광값이 IC<sub>50</sub> 으로 측정되었다. 이러한 값을 기준으로 금산인삼 추출물의 NA 활성저해능을 측정하였다. 그러나, 여러가지 실험 조건을 변경하여 실험 하였음에도 불구하고 금산인삼 추출물을 농도별로 처리해 준 실험군과 Cont.군을 비교하여 볼 때 neuraminidase의 활성에 변화가 없는 결과를 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 반복 실험을 통하여 금산인삼 추출물이 H1N1 virus neuraminidase를 억제하는 효과가 정말 없는지에 대하여 검증이 필요할 것이라 사료된다.

#### 다. 결 론

본 연구에서는 (재) 금산국제인삼약초연구소에서 의뢰한 12종의 금산인삼 추출물에 대하여 인플루엔자 A (H1N1)에 대하여 세포독성 및 항인플루엔자 바이러스 활성을 측정하여 항바이러스 활성을 지닌 물질을 스크리닝 및 효과를 확인함에 그 목적이 있다.

인플루엔자는 매년 겨울철에 유행하며 전염성이 높은 호흡기 질환이다(1). 원인 병원체인 인플루엔자 바이러스는 Orthomyxoviridae에 속하며 nucleoprotein(NP)과 matrix(M) 단백질간의 항원성 차이에 의해 A, B 및 C형으로 구분된다. 인플루엔자 바이러스의 막 표면에는 두 개의 당단백질인 hemagglutinin(HA)과 neuraminidase(na)가 있고, 내부 단백질로서 polymerase 활성을 갖는 PB2, PB1 및 PA, 유전 물질을 보호하는 NP, 구조 단백질인 M, 비구조 단백질인 non-structural (NS)1과 NS2가 있다(2). HA와 NA는 바이러스가 숙주에 감염될 때 중요한 역할을 하는데, HA는 바이러스가 숙주 세포의 수용체와 부착해서 세포내로 유입할 때 관여하며, NA는 바이러스가 세포내에서 복제된 후 방출될 때 수용체를 파괴하는 효소로 작용하고 있다(3).

금산인삼 추출물에 대한 세포독성은 1, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 2000 ug/mL의 농도에서 측정한 결과 추출물 1, 3, 7, 9, 12는 최고 시험농도인 2000 ug/mL의 농도까지 세포독성이 나타나지 않았으며, 추출물 5, 2, 10은 각각 1000, 500, 250 ug/mL까지 세포독성이 나타나지 않았으며, 추출물 4, 8은 100 ug/mL, 6, 11은 각각 50과 10 ug/mL의 농도에서 세포독성이 나타나지 않았다. 이와 같은 결과는 다음 시험 진행에 농도설정에 기초자료로 사용하였다.

금산인삼 추출물의 바이러스에 대한 세포 억제능을 10, 100 ug/mL의 농도로 측정한 결과 추출물 1-5, 8 및 9는 바이러스 증식 억제능을 유의적인 차이에 의해 나타냈으며, 추출물 6, 10, 11의 경우 추출물 자체의 세포 독성으로 인한 세포 사멸에 의해 바이러스 증식 억제를 나타내지 않는 것으로 사료된다. 또한 추출물 9, 12번의 경우 10 ug/mL 이상의 농도에서 바이러스 증식 억제가 관찰되었다. 이와 같은 결과에 따라 금산인삼 추출물 1, 5, 7, 12번으로 항바이러스 활성을 지닌 물질을 스크리닝 하였다.

적혈구응집억제시험을 통한 금산인삼 추출물에 대한 항바이러스 활성을 측정한 결과 2, 3, 4는 가장 높은 2 mg/mL의 농도에서 적혈구응집억제활성을 나타냈으나, 1, 5, 7은 적혈구응집억제반응을 보이지 않아 적혈구응집억제반응에 효과가 없는 것으로 판정된다. 플라그 형성 실험을 통하여 44 X 10<sup>2</sup> PFU/mL로 바이러스 역가가 측정되었다.

Plaque assay를 통해 금산 인삼 추출물의 plaque 형성 억제 실험을 한 결과 독성시험



결과를 토대로 설정한 농도 중 가장 높은 농도에서의 plaque 형성 억제 효과는 5번 시료에서는 각각의 농도에서 10%, 15%, 47.5%, 62.5%의 억제율을 보여 가장 항바이러스 효과가 높은 시료임을 알 수 있었다.

Neuraminidase inhibition assay를 통하여 금산인삼의 항바이러스 효과에 대하여 기전을 확인해 보고자 하였으나 neuraminidase inhibition assay 결과 억제 효과를 보이지 않았다.

위 결과를 종합적으로 볼 때, 적혈구응집억제 시험에서 가장 높은 효과를 보인 2번 시료(GS-3k2)와 plaque assay에서 가장 높은 plaque 형성 억제 효과를 보여준 5번 시료(Gs-3K8)이 가장 효과적인 바이러스 억제 효과를 나타내었다고 볼 수 있다. 그러나, 정확한 기전 및 유효 성분을 확인하기 위해서는 추가적으로 금산인삼 추출물 성분 중 예상되는 유효물질 표준품을 이용한 실험과 *in vitro* 실험을 토대로 *in vivo* 실험을 하기 위해서는 2, 5번 시료에 대하여 추가적인 실험을 통하여 억제 기전과 효과에 대하여 검토한 후 최종적으로 동물 실험을 진행할 시료를 선택해야 할 것이라고 생각된다. 이는 본 과제에서 계획되었던 실험은 예정대로 수행하였으나, 추가적인 확인 실험 및 기전 확인 실험 방법 변경 등을 통하여 정확한 실험 결과를 확인 할 예정이다.

#### 라. 실험변경 사항

당초 계획	변경 내용	변경 사유
<p>Real-time reverse transcription PCR analysis : MDCK 세포에서 바이러스 감염 시 인삼추출물의 항바이러스 효과를 viral RNA를 prep 하여 cDNA를 합성하고 viral neuraminidase RNA에 대한 primer를 제작하고 이를 사용하여 qRT-PCR을 수행하여 viral neuraminidase RNA의 양을 측정하여 간접적으로 neuraminidase의 양을 측정함으로써 바이러스의 증식억제를 측정하는 실험.</p>	<p>Neuraminidase Inhibition Assay : influenza A virus 용액을 접종하고 37 °C에서 30분 반응시킨 후, 100 uM의 기질 (4-MUNANA ; 2'[4-methylumbellifery]-A-D -N-acetylneuraminic acid, Sigma, St Louis, MO, USA) 30 uL를 첨가하여 37 °C에서 1시간 반응시킨 후 0.1 M glycine, 25 % ethanol, NaOH buffer (pH 10.7) 150 uL 첨가하여 반응을 종료시키고 fluorescence microplatereader(Molecular Devices)를 사용하여 fluorescence를 측정하여 효소 활성 저해여부를 확인하는 실험. 단백질 수준에서 정확한 억제 여부를 확인할 수 있는 실험.</p>	<p>Viral RNA prep 시 너무 많은 세포와 감염된 인플루엔자 바이러스가 필요하며 이 결과가 neuraminidase의 수준을 RNA 수준에서 측정 가능하며 단백질 수준의 직접적인 억제효과를 측정하기에는 형광을 이용한 neuraminidase inhibition assay를 이용하는 것이 좋겠다는 내부 검토를 통해 실험 방법을 수정함 : 문서번호 (주)휴벳2013-09-15-4</p>

### 3. 인삼 추출물을 이용한 인플루엔자 A감염 억제 시험

#### 가. 시험재료 및 방법

##### (1) 동물 시험을 통한 인플루엔자 감염 억제 효능평가

##### (가) 시험물질

구분	시험코드명	외관 / 색상	입수량(g)
동물 시험	GS-3K8	황색 / 분말	2 g
동물 시험	GS-C46	갈색 / 분말	2 g

##### (나) 시험물질의 안전성 및 균질성

의뢰기관과의 협의 하에 제공된 시료에 대한 안전성 및 균질성 등에 대한 검사는 따로 실시하지 않았다.

##### (다) 사용동물 및 환경조건

###### ① 사용 동물

㉠ 종 및 계통 : Female Balb/c mice (5주령)

㉡ 구입처 및 생산자

명 칭 : (주) 샘타코

주 소 : 경기도 오산시 서량로 105 (서량동)

㉢ 시험계 선정 이유

Balb/c mice는 기존에 보고되어 있는 많은 문헌에서 바이러스와 같은 감염 효능 평가에 널리 사용되고 있다.

㉣ 구입시 주령(성별) 및 체중 범위

Female Balb/c mice (4주령), 12~14 g

㉤ 시험물질 투여시 주령(성별) 및 체중 범위

Female Balb/c mice (5주령), 14~16 g

㉥ 검역·순화방법 및 기간

동물 입수시 일반 건강상태에 대한 수의학적 검역을 실시하였으며, 시험을 실시하는데 적합하도록 1주일간의 순화기간을 거쳤다.

㉦ 군 분리 및 개체 식별

회복기간을 거친 후 정상군과 실험군 체중을 측정하여 난피법에 따라 군간 체중을 고르게 분리하고, ear punch를 이용하여 개체식별 표시를 하였다.

###### ② 환경 조건

㉠ 실험실명 : 원광대학교 101호 사육실

㉡ 사육상자(종류 및 크기) 및 사육동물 수

폴리설폰 사육상자 [쓰리샤인(주)]에 2-3마리씩 사육

- ㉔ 온도 :  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$
- ㉕ 습도 :  $50 \pm 5\%$
- ㉖ 환기 : 10회/시간. 전배기방식
- ㉗ 조명시간 및 명암주기 : 12시간 점·소등 (조명 : 오전 7시~오후 7시)
- ㉘ 조도 : 150~300 lux

③ 사료 및 음수의 공급

일반식이 사료는 실험동물 공급업체(샘타코(주), 경기도 오산시 서량동 77-1)에서 음수는 필터링 되어진 음용수를 매일 갈아주며 자유롭게 섭취하도록 하였다.

(라) 시험군의 구성

① 시험군

시험군	동물 수(마리)	투여물질
정상군 (Normal)	10	증류수
대조군 (Control)	10	증류수
GS-3K8 저농도 투여군 (GS-3K8 0.2 mg)	10	GS-3K8 0.2 mg/kg
GS-3K8 중농도 투여군 (GS-3K8 1 mg)	10	GS-3K8 1 mg/kg
GS-3K8 고농도 투여군 (GS-3K8 5 mg)	10	GS-3K8 5 mg/kg
GS-C46 고농도 투여군 (GS-C46 5 mg)	10	GS-C46 5 mg/kg
양성 대조군 (Positive control)	10	Tamiflu 15.43 mg/kg

② 용량설정의 근거 : 의뢰자 결정 및 관련 문헌 참조

(마) 재료 및 방법

① 시료 제작

시료는 수령 당일 각각의 tube에 따로 분주하여 냉장보관함으로써 오염 및 시료 변질을 최소화하였으며, 투여시 필요한 양만큼만 꺼내어 사용하였다. 시험물질은 농도별 제작을 위해 중량을 측정하여 증류수에 녹여 조제하였으며,

시료는 냉장보관하여 실험에 사용하였다.

## ② 바이러스 감염

본 연구의 H1N1 바이러스는 병원성 바이러스 은행에서 분양받아 사용하였다. 바이러스는 PFU 활성을 높이기 위해 10~12일 배양된 유정란을 이용하여 접종 후 회수하였으며 같은 방법으로 2~3회 계대하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 시료를 투여한지 3주차에 정상군을 제외한 모든 실험군에 influenza A virus (H1N1,  $2 \times 10^6$  PFU/50 $\mu$ l/mice)를 비강투여로 접종하여 감기를 유도하였다.

## ③ 시료 투여

5주령의 female Balb/c mice에서 7개군(정상군, 대조군, GS-3K8 0.2 mg/kg/d 실험군, GS-3K8 1 mg/kg/d 실험군, GS-3K8 5 mg/kg/d 실험군, GS-C46 5 mg/kg/d 실험군, Tamiflu 실험군)으로 구분하여 실험군에 농도별 시료를 2주간 투여하고 주간 체중과 섭취식이 및 식수량을 측정하였다. 이 후 3주차에 바이러스를 접종하고 다시 2주간 시료를 강제경구투여하면서 매일 체중과 식이섭취 및 식수량을 측정하였다. 양성대조군의 경우 바이러스 감염 후 5일간만 시료를 경구투여하고 이 후에는 추가 시료 투여없이 시험기간동안 관찰하였다.

## ④ 실험동물 희생

실험 종료 1일 전 각 실험동물을 절식시킨 후 멸균한 해부용 가위와 핀셋을 이용하여 마취된 흰쥐의 복부를 절개하였다. 이 후 복대 정맥에서 혈액을 채취한 뒤 마취된 상태에서 방혈 및 경추탈골을 하였다. 동물 부검시 복대정맥에서 채혈하여 분리한 혈액은 TNF- $\alpha$ , IL-6, IgA, IgG 분석에 사용하였고 적출한 폐장은 조직학적 분석에 사용하였다.

## ⑤ 면역 사이토카인 함량 분석

채취한 혈액은 15 ml tube에 담아 충분히 mixing 후 3000 rpm, 10분간 원심분리하였다. 분리된 상층액 1 ml을 microtube 옮긴 후 저온보관(-80 $^{\circ}$ C)하였다. 이 후 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), IL-6 (Interleukin-6), IgA (Immunoglobulin A), IgG (Immunoglobulin G) 분석에 사용하였으며 녹십자 의료재단(GC Labs, 한국)에 분석을 의뢰하였다.

## ⑥ NO (Nitric oxide) 함량 분석

96-well plate에 각 well당 혈청 50  $\mu$ l를 처리하고 Griess reagent (2.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 1% sulfanilamide, 0.1% naphthylethylenediamine)을 동량 처리하여 10분간 발색하였다. 이 후 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선의 작성을 위해 sodium nitrite를 표준품으로 사용하였다.

## ⑦ 조직학적 분석

적출한 폐장은 10% formalin 액에서 고정시킨 검체를 절취하여(trimming) 다시

10% formalin 액으로 후 고정시켰다. 이 후 각 조직을 파라핀에 포매 후 5~7  $\mu\text{m}$ 의 두께로 절편하여 세절한 다음 hematoxylin-eosin으로 염색하여 광학현미경 하에서 관찰하였다.

(바) 동물실험윤리규정의 준수

본 실험은 원광대학교의 동물실험윤리규정을 준수하여 수행하였다(WKU14-43).

(2) 시험관 시험을 통한 인플루엔자 감염 억제 효능 평가

(가) 시험물질

구분	시험코드명	외관 / 색상	입수량(g)
시험관 시험	GS-Rg <sub>1</sub>	흰색 / 분말	10 mg
시험관 시험	GS-Rb <sub>1</sub>	흰색 / 분말	10 mg
시험관 시험	GS-C46	흰색 / 분말	100 mg

(나) 시험물질의 안전성 및 균질성

의뢰기관과의 협의 하에 제공된 시료에 대한 안전성 및 균질성 등에 대한 검사는 따로 실시하지 않았다.

(다) 재료 및 방법

① Influenza A virus (H1N1)

본 연구에서는 influenza virus A(H1N1)형을 병원성바이러스은행으로부터 분양 받아 사용하였다.

② 감수성 세포와 배지

항바이러스 활성을 in vitro에서 검색하기 위해 influenza virus A (H1N1)에 대한 감수성 숙주세포인 Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) 세포주를 한국세포주 은행에서 분양 받아 계대 배양하여 사용하였다. MDCK 세포는 influenza virus에 의해 감염되어 세포 병변을 일으키는 특징을 가지는 세포주로 배양용 배지는 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM, Gibco)에 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco)을 첨가하여 사용하였고, 배양조건은 37°C, 5% CO<sub>2</sub>로 유지된 배양기에서 배양하였다. 세포의 생존은 trypan blue dye exclusion방법으로 확인하였고 2~3 일에 한번씩 계대하여 사용하였다.

③ 바이러스 증식 및 보관

단층 배양된 MDCK 세포에 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  TPCK-trypsin이 첨가된 Minimal

essential media (MEM, Welgene)를 이용하여 인플루엔자 바이러스 분리주를 접종한 후 5 % CO<sub>2</sub>, 37°C 조건에서 배양하여 세포병변효과(cytopathic effect, CPE)를 관찰하였다. 이 후 70~80% 정도의 세포병변이 관찰되면 이를 수확하여 원심 분리(4°C, 2,000 rpm, 10 min)하여 상층액과 세포 침전물을 분리하였으며, 이 상층액을 -80°C에 보관하면서 사용하였다.

#### ④ 세포 독성

인삼 추출물에 대한 세포독성은 WST-1 assay로 시험하였으며, 기존에 상품화되어 있는 WST-1 cell viability assay kit (Daeil Lab service, Seoul, Korea)를 사용하였다. 96 well plate에 well당 세포를 2 X 10<sup>4</sup> cells/well 접종하여 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 24시간 배양하여 세포단층을 얻은 후, 인삼 추출물을 농도별로 접종하여 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 배양기에서 48시간 배양하였다. 세포 배양액 100 µl에 WST-1 용액을 10 µl씩 첨가하여 30분 동안 배양한 다음 96 well plater reader(Molecular devices, CA, USA)로 450 nm에서 증식 정도를 측정하였다. Cell viability는 다음 공식으로 계산되었다.

$$\text{Cell viability (\%)} = (\text{AT} - \text{AB}) / (\text{AC} - \text{AB}) \times 100$$

(AB ; absorbance of blank

AC; absorbance of control

AT; absorbance of tested extract solution)

#### ⑤ 바이러스 증식 억제능 분석

인플루엔자 바이러스에 대한 인삼 추출물의 바이러스 증식 억제능은 MDCK 세포를 세포독성시험 때와 같은 조건으로 배양한 후, 기존의 배양액을 제거하고 각 well을 PBS로 washing하고 인삼 추출물을 농도별로 1시간 전처리 한 후, 각각 20 µl의 인플루엔자 바이러스를 접종하여 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 배양기에서 48시간 배양하였다. 세포 증식 측정은 Cell Proliferation Reagent WST-1를 사용하였으며, 세포 배양액 100 µl에 WST-1 용액을 10 µl씩 첨가하여 30분 동안 배양하여 흡광도를 측정하였다.

#### ⑥ 혈구응집법(Haemagglutination)

혈구응집시험을 위한 적혈구(RBC) 용액은 사람 O형 혈액을 채취하여 혈액응고를 방지하기 위하여 4배의 Alserver's 용액과 혼합한 후 1000g에서 15분간 원심분리하였다. 상층액을 버리고 RBC를 완충용액(phosphate buffered saline, PBS)으로 2-3회 세척한 다음 Alserver's 용액과 혼합한 다음 냉장보관하여 5일간 보관하면서 적혈구응집시험(haemagglutination assay) 및 적혈구응집 억제시험

(haemagglutination inhibition test, HIT)에 이용하였다.

⑦ 혈구응집 바이러스의 역가 측정

Microtiter round bottom 96 well plate의 첫 번째 well은 비워두고 두 번째 well에 buffer 100  $\mu$ l씩 분주하였다. 첫 번째 well에 바이러스를 200  $\mu$ l를 넣고 1:1 계단 희석하였다. Negative control은 적절한 농도의 RBC 부유액을 100  $\mu$ l씩 각 well에 분주한 다음 잘 섞어주었으며, 실온에서 1시간 반응시킨 후, 바이러스를 넣지 않은 well에 적혈구를 기준으로 결과를 판독하였다.

⑧ 시료의 항인플루엔자 바이러스 활성 측정

인삼 추출물의 항인플루엔자 바이러스 활성을 측정하기 위하여 적혈구응집 억제시험(haemagglutination inhibition test, HIT)을 시행하였다. 인삼 추출물을 농도별로 제조하여 각 well에 50  $\mu$ l씩 분주하였다. 적혈구응집역가시험에서 측정된 바이러스 용액을 응집이 일어난 가장 높은 희석배수로 희석하여 각 well에 50  $\mu$ l씩 넣어 잘 섞어준 후 상온에서 30분 동안 반응시켰다. 그 후로 1 %로 희석된 RBC용액을 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주하고 가볍게 섞어준 후 60분 동안 상온에서 반응시켰다. 반응 시킨 후 양성대조군과 음성대조군을 비교하여 인삼 추출물의 바이러스와 RBC가 흡착하는 과정을 저지하는 효과를 검색하였다.

⑨ Plaque reduction assay

항바이러스 활성은 plaque reduction assay로 측정하였다. 6-Well culture plates에 숙주세포인 MDCK의 세포단층( $5 \times 10^5$  cells/well)이 형성된 후 바이러스 배양액을 10배씩 희석하여 희석액 1 mL씩 접종하였다. 5% CO<sub>2</sub>, 37°C incubator에서 60분간 바이러스를 세포에 흡착시킨 뒤 agar overlay medium (0.3% BSA, 1% P/S, 1  $\mu$ g/ml TPCK-trypsin, 0.3% agarose 함유된 MEM)을 세포 단층에 2 mL/well로 가한 후 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>에서 48시간 배양 후 4 % formalin-PBS로 세포를 고정시킨 후 agar overlay medium을 떼어내고 crystal violet으로 염색하여 plaque의 수를 세었다. 인삼 추출물의 항바이러스 작용 양식을 조사하기 위한 전배양 시험의 경우 6-well plate에 먼저 MDCK를 분주하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 24시간 배양하여 세포단층을 얻은 후 배지를 제거한 후 잔여 배지를 PBS로 세척하여 완전히 제거한 다음, 시료를 농도별로 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 1시간 전배양 하였다. 시료를 함유한 배지를 제거한 후 100 PFU/well의 influenza virus A 용액을 접종하고 60 분간 세포에 흡착시킨 후 상기와 같이 배양하여 viral plaque의 수를 비교하였다. PFU를 통해 측정된 플라그는 다음과 같은 식을 이용하여 PFU를 계산하였다.

PFU/mL (of original stock)

= number of plaques / dilution factor x (ml of inoculums/plate)

⑩ Neuraminidase 활성 저해 시험

Influenza virus A (H1N1) 등과 같이, 바이러스의 침입과 증식에 바이러스 표면의 haemagglutinin (HA)과 neuraminidase (NA) 단백질 system을 이용하는 바이러스들에 대한 항바이러스 활성 여부를 neuraminidase (NA) inhibition assay로 조사하였다. 먼저, MES Buffer (66.6 mM 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid, 8 mM calcium chloride, pH 6.5) 용액을 이용하여 농도별로 효소 저해 활성을 조사하였다. 각 추출물 용액 25  $\mu$ l에 동일 부피의 dilution 한 influenza A virus 용액을 접종하고 37  $^{\circ}$ C에서 30분 반응시킨 후, 50  $\mu$ l의 기질을 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시킨 후 0.2 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 를 100  $\mu$ l 첨가하여 반응을 종료시키고 fluorescence microplatereader(Molecular Devices)를 사용하여 Ex. 355 nm/Em. 460 nm에서 fluorescence를 측정하여 효소활성 저해여부를 확인하였다. NA에 대한 표준물질로는 4-methylumbelliferone sodium salt (Sigma-Aldrich)를 사용하였다.

(3) 통계 처리

각 군 간의 통계적 유의성 검정에 따른 통계분석은 ANOVA(one-way analysis of variance test)를 실시한 후 유의성이 있는 경우,  $p < 0.05$ 일 때 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

나. 시험결과

(1) 동물시험

(가) 체중, 식이량, 식수량의 변화

각 실험군의 체중과 식이섭취량 및 음수량은 정상군(Normal)에 비해 대조군(Control)과 실험군에서 낮은 경향을 보였다. 인플루엔자 감염 후 각 실험군별 체중 변화는 인삼 추출물을 고농도로 투여한 GS-3K8 5 mg/kg 실험군이 시간이 지남에 따라 정상군과 유사한 수준으로 회복되는 경향을 나타내었으나 식이섭취량 및 음수량은 군간 유의적인 차이가 확인되지 않았다(그림 11, 12).



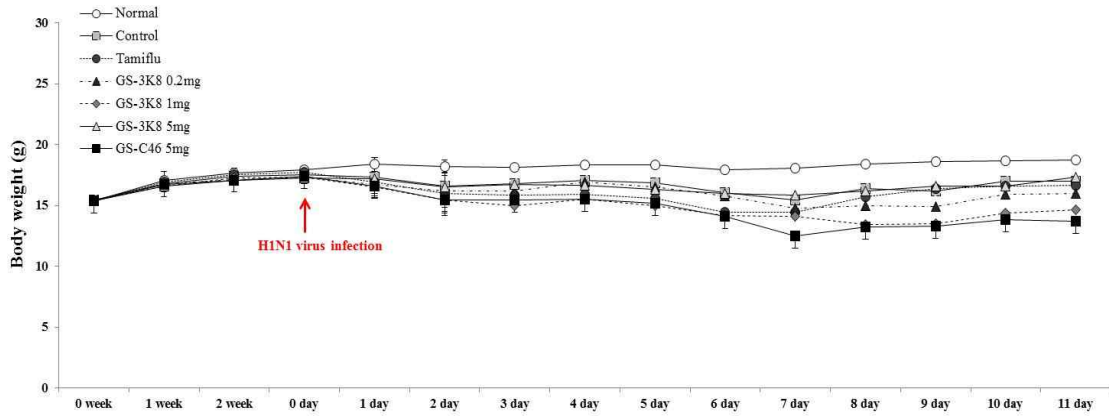


그림 11. 인삼 추출물이 인플루엔자 감염에 따른 실험군의 체중 변화에 미치는 영향

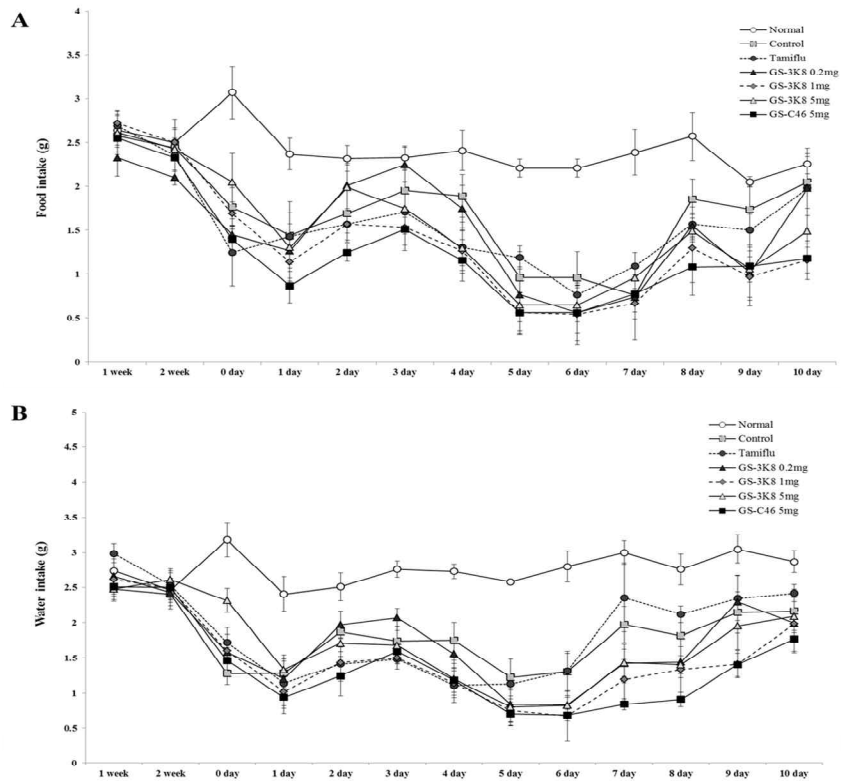


그림 12. 인삼 추출물이 인플루엔자 감염에 따른 실험군의 주간 식이 섭취량 및 음수량에 미치는 영향 (A : 식이 섭취량, B : 음수량)

(나) 감염 장기(폐 조직) 중량

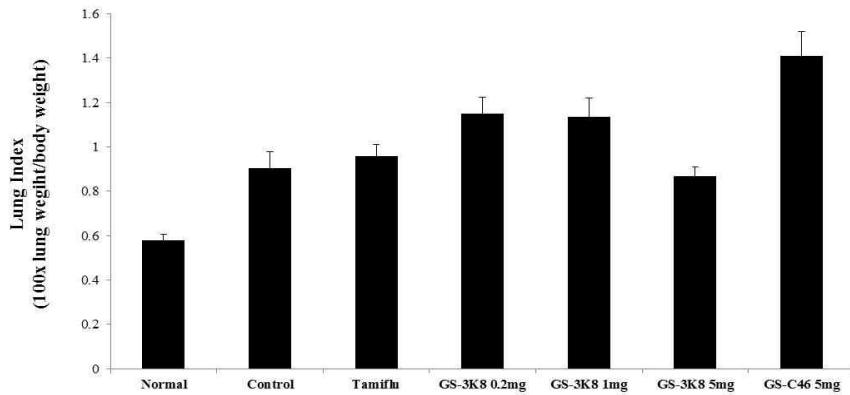


그림 13. 인삼 추출물이 인플루엔자 감염에 따른 실험군의 주간 식이 섭취량 및 음수량에 미치는 영향

체중에 대한 폐 조직의 중량(Lung index)을 측정하여 비교한 결과 정상군에 비해 대조군에서 다소 증가하는 경향을 보였으나 각 실험군간 유의적인 차이는 확인되지 않았다(그림 13).

(다) 면역 관련 사이토카인 함량

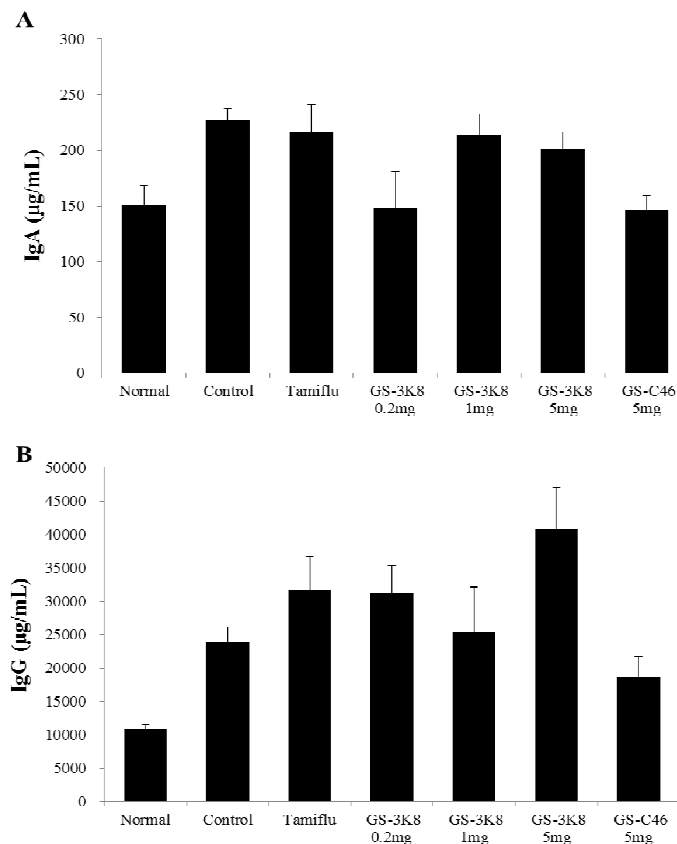


그림 14. 인삼 추출물이 인플루엔자 감염에 따른 혈액 내 IgA와 IgG의 함량에 미치는 영향  
A : Immunoglobulin A (IgA), B : Immunoglobulin G (IgG)

바이러스 감염에 따른 혈액 내 사이토카인의 함량을 비교한 결과 정상군에 비해 대조군에서 IgA와 IgG의 함량이 증가하는 경향을 보였으나 각 실험군간 유의적인 차이는 확인되지 않았다(그림 14).

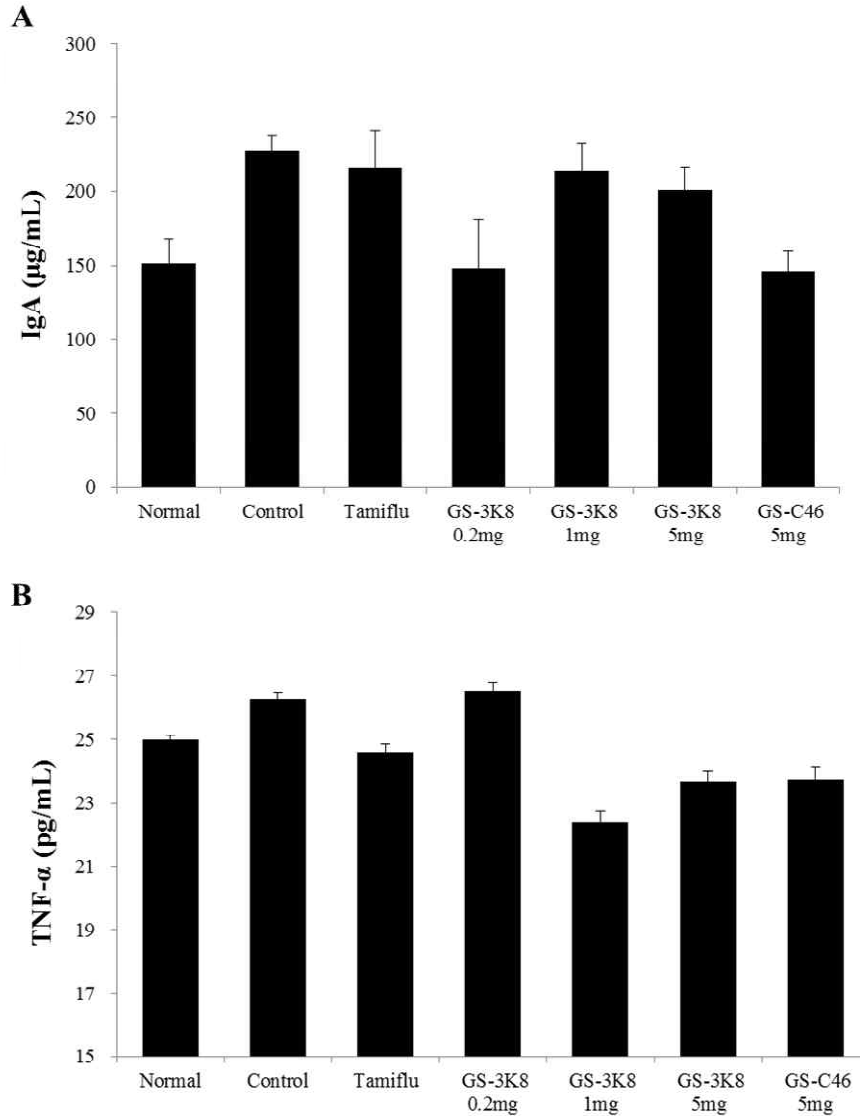


그림 15. 인삼 추출물이 인플루엔자 감염에 따른 혈액 내 IL-6와 TNF- α 의 함량에 미치는 영향

A : Interleukin 6 (IL-6), B : Tumour necrosis factor-alpha (TNF- α)

또한 IL-6와 TNF- α 함량을 비교한 결과 정상군에 비해 대조군에서 IgA와 IgG의 함량이 미미하게 증가하는 경향을 보였으나 각 실험군간 유의적인 차이는 확인되지 않았다. 이 중 TNF- α 의 경우 대조군에 비해 인삼 추출물을 투여한 GS-3K8 1 mg 실험군과 GS-3K8 5 mg 실험군에서 감소하는 경향을 보였다(그림 15).

(라) NO (nitric oxide) 함량

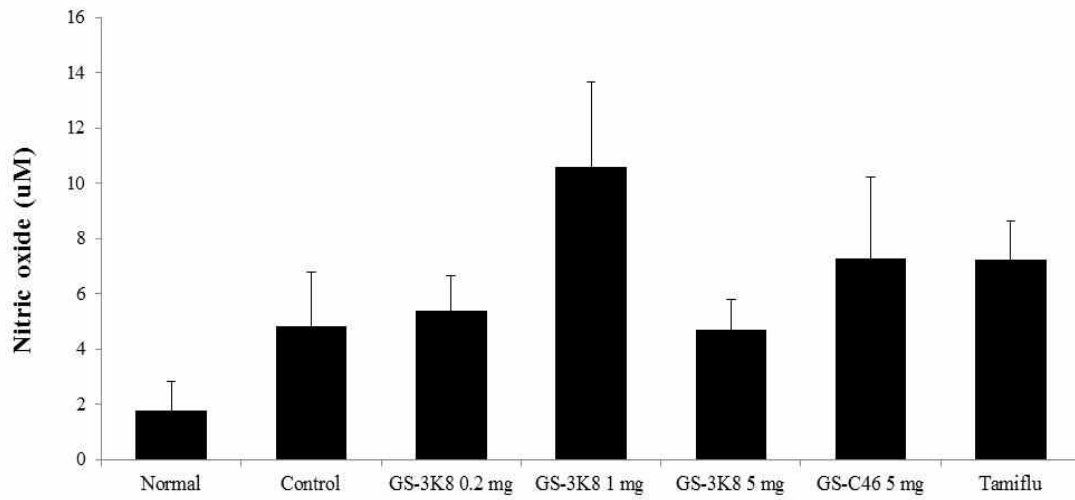


그림 16. 인삼 추출물이 인플루엔자 감염에 따른 혈액 내 NO 함량에 미치는 영향

바이러스 감염에 따른 혈액 내 NO의 함량을 비교한 결과 정상군에 비해 대조군에서 다소 증가하는 경향을 보였으나 각 실험군간 유의적인 차이는 확인되지 않았다(그림 16).

(마) 조직학적 분석

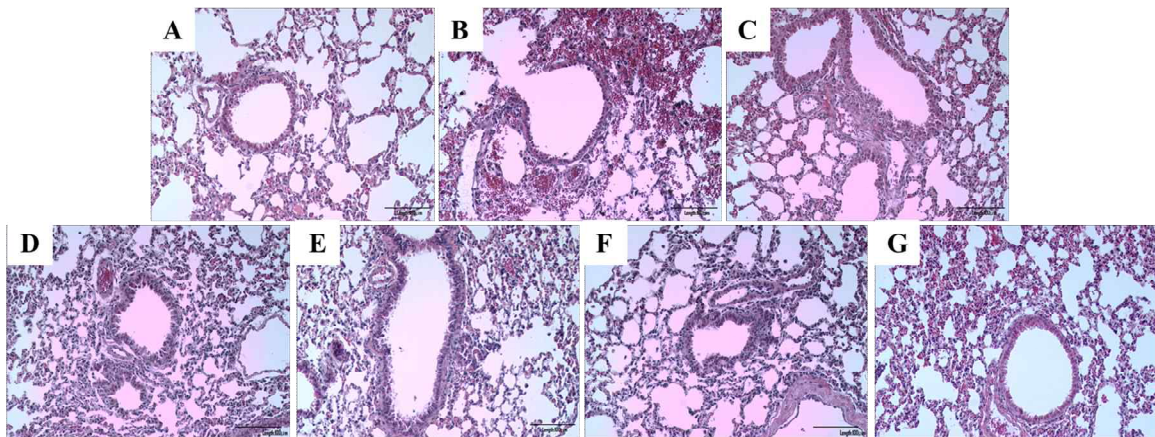


그림 17. 인삼 추출물이 인플루엔자 감염에 따른 폐조직에 미치는 영향

A : Normal, B : Control, C : Positive control(Tamiflu group)

D : GS-3K8 0.2 mg/kg, E : GS-3K8 1 mg/kg, F : GS-3K8 5 mg/kg, G : GS-C46 5 mg/kg,(10X, scale bar = 100 μm).

정상군의 폐조직에서는 폐포관의 크기가 균일하고 일정하게 보이며 세기관지의 상피세포층 구분이 선명하게 관찰되었다. 반면 인플루엔자 바이러스를 감염한 대조군의 폐조직에서는 폐포관이 불규칙하게 확장되고 세기관지와 세기관지 내 상피세포층의 손상 및 기관지와 폐포 주변으로의 염증세포 침윤에 따른 세기관지 면적이 좁아져 기관지 벽이 두꺼워지는 병리학적 조직 손상이 관찰되었다. 그러나 이러한 조직 손상은 GS-3K8 시료를 투여한 실험군에서 현저히 감소되어 폐포관의 비대화와 염증세포 침윤은 확인되었지만 대조군에 비해 조직학적 형태의 변화가 비교적 적게 관찰되었다. 특히 GS-3K8을 고농도로 투여한 실험군의 폐조직은 정상군의 폐 조직과 유사하게 염증세포 침윤과 세기관지 변형이 억제되는 것으로 확인되었으며, 대조 약물인 GS-C46 실험군의 경우 대조군과 유사한 조직 손상을 보여 GS-3K8 실험군보다는 효과가 다소 낮은 것으로 조사되었다(그림 17).

## (2) 시험관 시험

### (가) 인삼 추출물에 대한 세포 독성

#### ① GS-Rb<sub>1</sub>

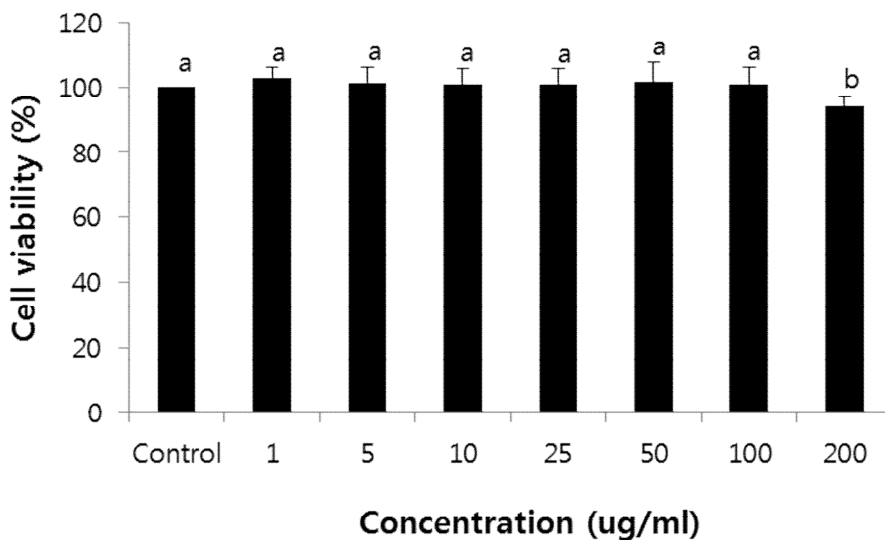


그림 18. 인삼 추출물 GS-Rb<sub>1</sub>이 세포 생존율에 미치는 영향

② GS-Rg<sub>1</sub>

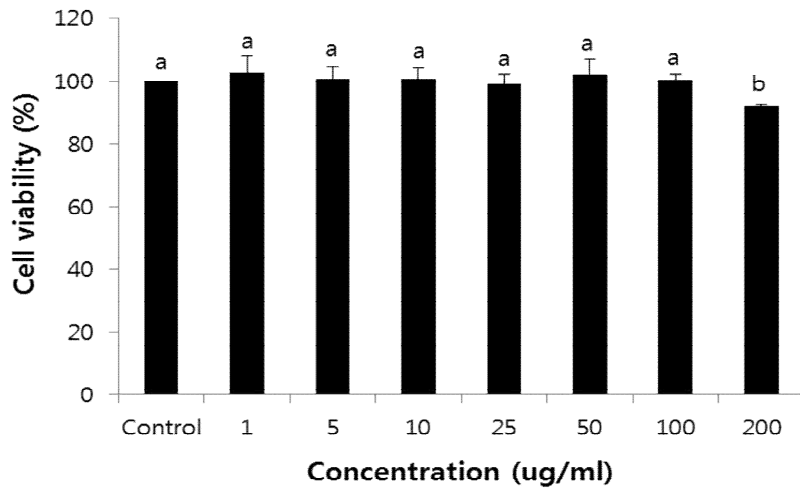


그림 19. 인삼 추출물 GS-Rg<sub>1</sub>이 세포 생존율에 미치는 영향

③ GS-C46

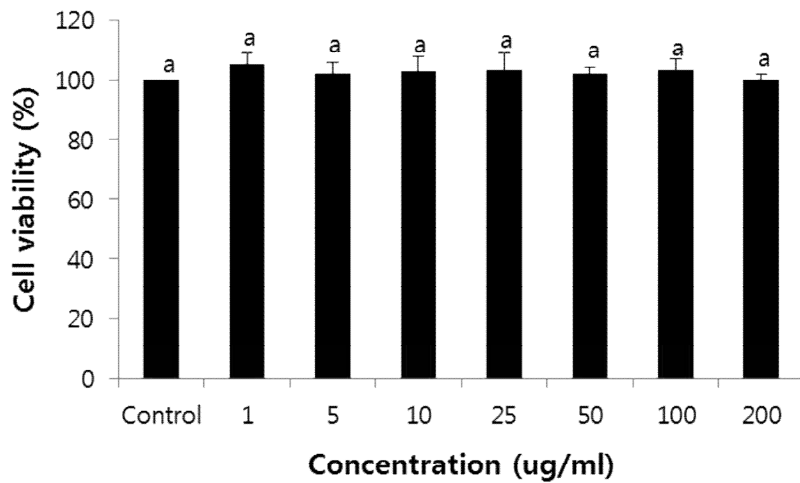


그림 20. 인삼 추출물 GS-C46이 세포 생존율에 미치는 영향

총 3종의 인삼 추출물에 대한 세포독성평가는 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 추출물을 가하지 않은 well의 세포와 비교하여 분석하였다. 3종 인삼 추출물은 바이러스 배양세포로 사용되는 MDCK 세포에 대해 서로 다른 세포독성을 나타내었다(그림 18~20). 추출물 GS-Rb<sub>1</sub>, GS-Rg<sub>1</sub>은 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도까지 세포독성이 나타나지 않았으며, 추출물 GS-C46은 최고시험농도인 200  $\mu\text{g/ml}$ 까지 세포독성이 나타나지 않았다. 따라서 본 연구에서는 시료 자체의 세포독성이 확인되지 않은 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 차후 실험을 진행하기로 결정하였다.

(나) 바이러스 증식에 따른 세포독성

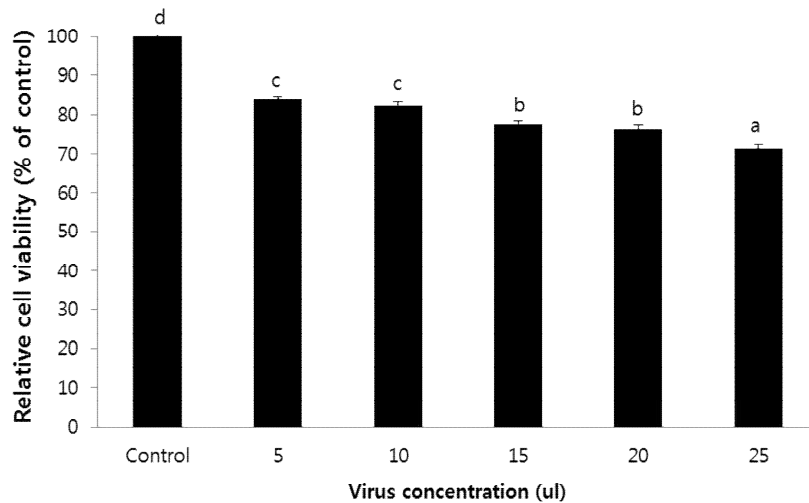


그림 21. 인플루엔자 바이러스 H1N1이 세포 생존율에 미치는 영향

MDCK배양세포주에 인플루엔자 바이러스에 대한 세포 사멸을 확인한 결과 바이러스 농도 의존적으로 MDCK 세포에 대한 세포 사멸이 나타났다. 바이러스를 5, 10, 15, 20, 25  $\mu$ l의 농도로 처리하여 48 시간 동안 감염 후 세포 활성을 측정하였다. 5, 10, 15, 20, 25  $\mu$ l는 각각  $83.87 \pm 0.63 \%$ ,  $82.26 \pm 0.77 \%$ ,  $77.52 \pm 0.23 \%$ ,  $76.46 \pm 0.76 \%$ ,  $71.32 \pm 0.92 \%$ 로 세포 사멸이 확인되었다(그림 11). (각 시료의 항바이러스 효능을 검증하기 위하여 50 % cytotoxic concentration ( $CC_{50}$ )의 농도를 재설정할 필요가 있으며, 이에 따른 결과 도출을 통해 재실험이 진행된 후 효능 분석을 수행해야 할 것으로 생각된다.)

(다) 인삼 추출물의 Influenza virus A (H1N1)에 대한 세포생존율 분석

① GS-Rb<sub>1</sub>

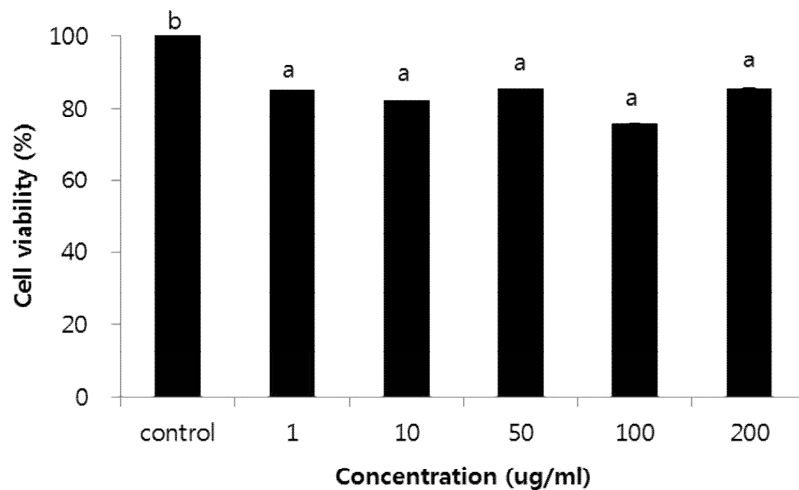


그림 22. 인삼 추출물의 Influenza virus A (H1N1)에 대한 항바이러스 효과

② GS-Rg<sub>1</sub>

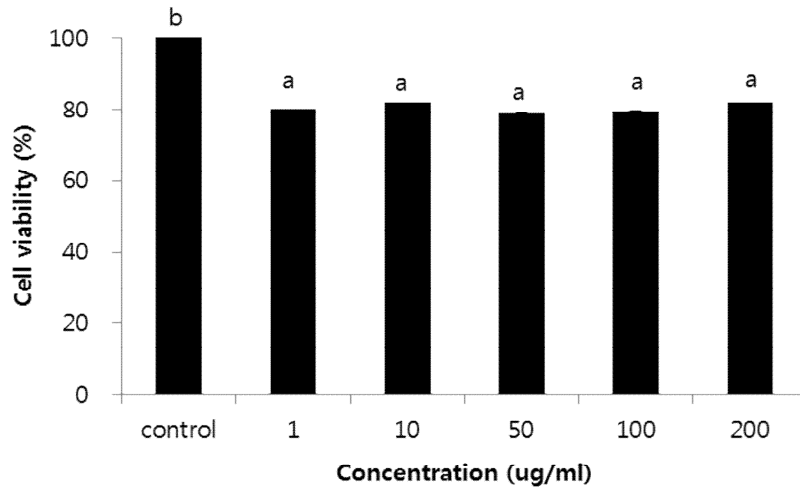


그림 23. 인삼 추출물의 Influenza virus A (H1N1)에 대한 항바이러스 효과

③ GS-C46

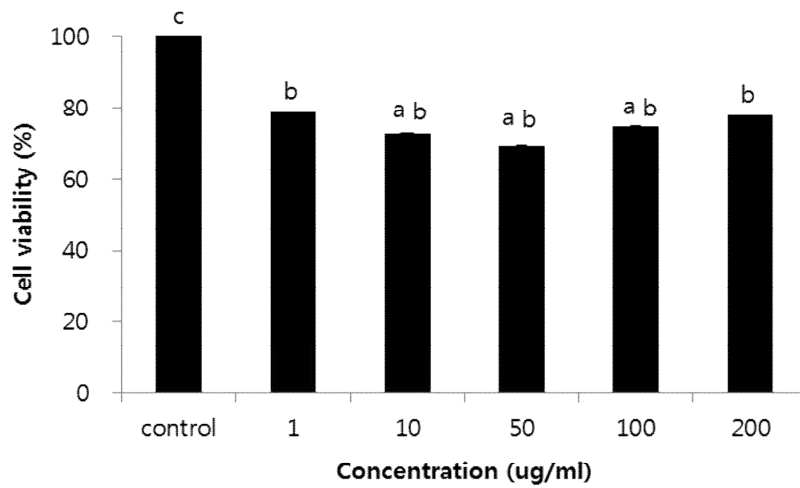


그림 24. 인삼 추출물의 Influenza virus A (H1N1)에 대한 항바이러스 효과



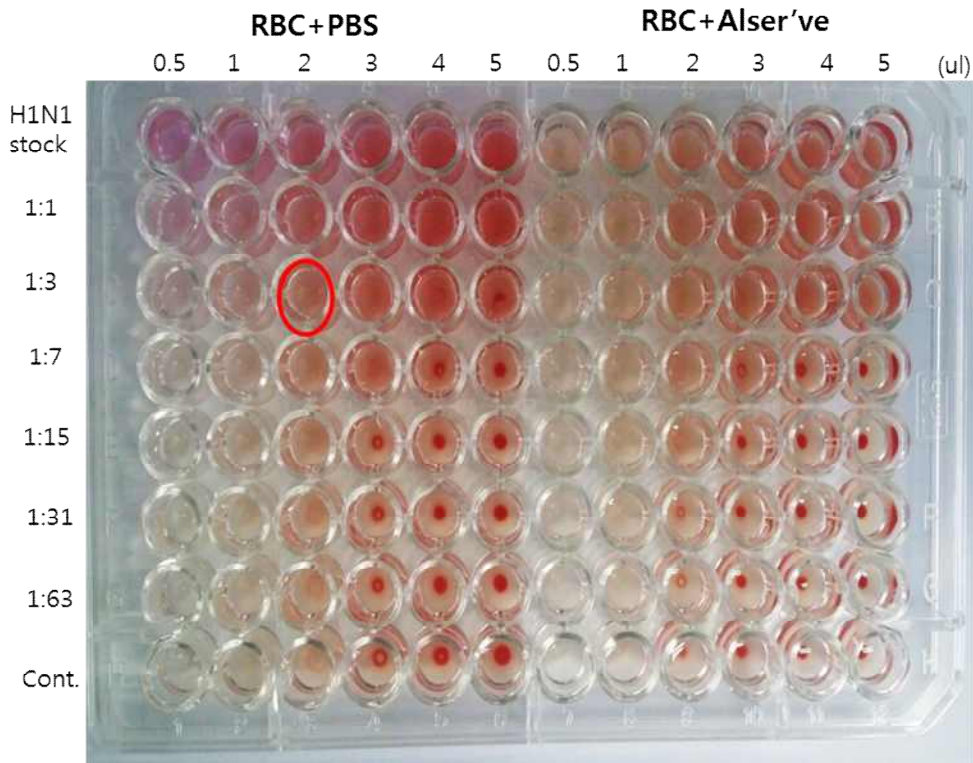


그림 25. 인플루엔자 바이러스 A (H1N1)와 RBC의 희석조건확립

적혈구 대조군이 완전히 가라앉은 후에 적혈구가 부유액으로 있으면 혈구 응집이 일어난 것이다. 사람의 O형 적혈구는 혈구응집 반응이 없는 경우 well 바닥에 가라앉은 혈구들에 의해 “halo” 또는 원형을 보인다. 적혈구응집반응은 사람 O형 적혈구 원액을 RBC 또는 Alserver’s 용액을 비교하고 RBC와 바이러스의 농도를 측정하여 실험에 사용할 적정 농도의 RBC와 바이러스 희석조건확립을 하였다. 이에 따른 분석 결과 실험에 사용할 시에는 순수 RBC를 PBS에 1 %로 희석하고, 바이러스는 1:3으로 희석하여 적혈구응집억제시험에 가장 적합한 것으로 확인되었다(그림 25).

표 11. 인삼 추출물의 항바이러스 효과 측정

	Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )					
	1	5	10	50	100	200
GS-Rb <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-
GS-Rg <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-
GS-C46	-	-	-	-	-	-

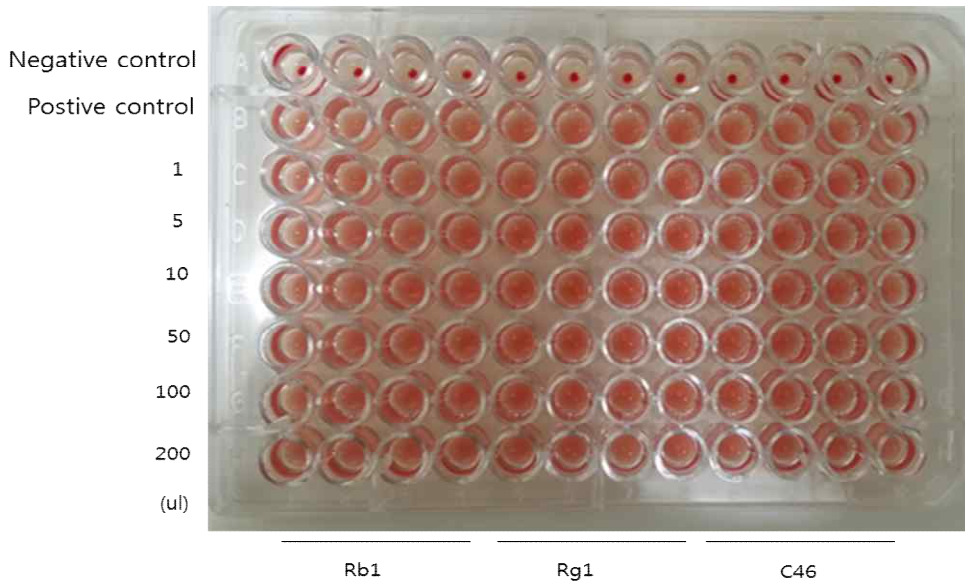


그림 26. 인삼 추출물의 적혈구 응집억제 효과

적혈구 대조군이 완전히 가라앉은 후에 적혈구가 부유액으로 있으면 혈구 응집이 일어난 것이다. 이런 경우는 “+”로 기록한다. 적혈구의 일부만 응집이 일어나고 일부만 가라 앉으면 “+/-”로 표시한다. 사람의 O형 적혈구는 혈구응집 반응이 없는 경우 well 바닥에 가라앉은 혈구들에 의해 “halo” 또는 원형을 보인다. 각 인삼 추출물에 대한 항바이러스 활성을 측정하기 위해 Influenza virus를 1:3로 희석하여 적혈구응집억제시험을 시행한 결과 GS-Rb<sub>1</sub>, GS-Rg<sub>1</sub>와 GS-C46은 최고농도인 200 µg/ml의 농도까지 혈구응집억제반응을 보이지 않았으므로 적혈구응집억제반응에 효과가 없는 것으로 확인되었다(표 11, 그림 26).

(라) Plaque assay에 의한 바이러스 역가 측정

① Influenza virus A (H1N1)

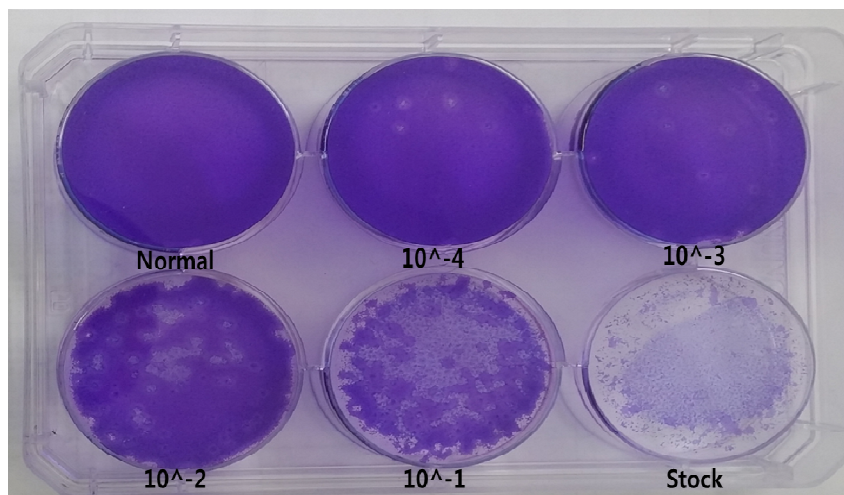


그림 27. 인플루엔자 바이러스에 대한 plaque assay

Plaque란 바이러스감염에 의하여 세포 변성을 일으킨 단층세포부위로서, plaque 주위의 감염되지 않은 정상 세포는 crystal violet로 염색되므로 감염 부위와 구별되어 동그란 형태의 플라그 형성은 바이러스 감염을 나타낸다. 한 개의 감염성이 있는 바이러스 입자는 하나의 플라그를 형성한다는 이론 하에 plaque counting은 각종 바이러스 정량에 응용되었으며, Dulbecco는 1975년 노벨 생리학상을 받음으로서 plaque assay의 중요성이 입증되기도 하였다. 그러나 plaque assay는 CPE를 나타내는 바이러스 정량에만 사용될 수 있는데, influenza virus A (H1N1)형은 배양세포주 MDCK 세포에 CPE를 형성함으로 이러한 방법을 선택하여 바이러스 역가를 측정하였다. 본 실험을 통해 PFU를 계산한 결과  $4.2 \times 10^4$ PFU/mL의 바이러스 역가가 측정되었다(그림 27).

② GS-Rb<sub>1</sub>

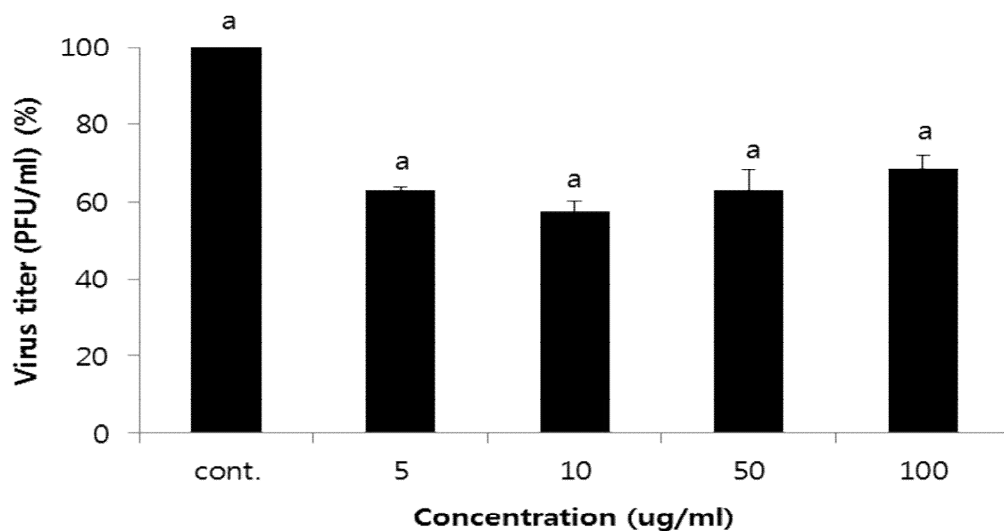
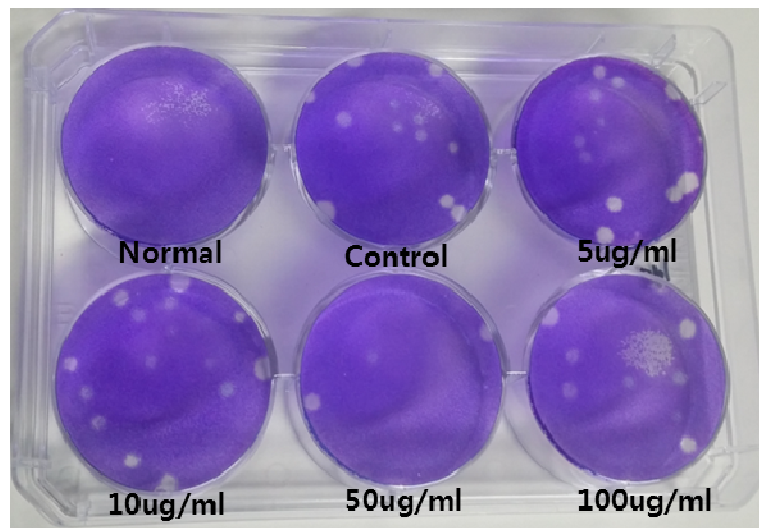


그림 28. 인삼 추출물 GS-Rb<sub>1</sub>에 대한 인플루엔자 바이러스 plaque assay

③ GS-Rg<sub>1</sub>

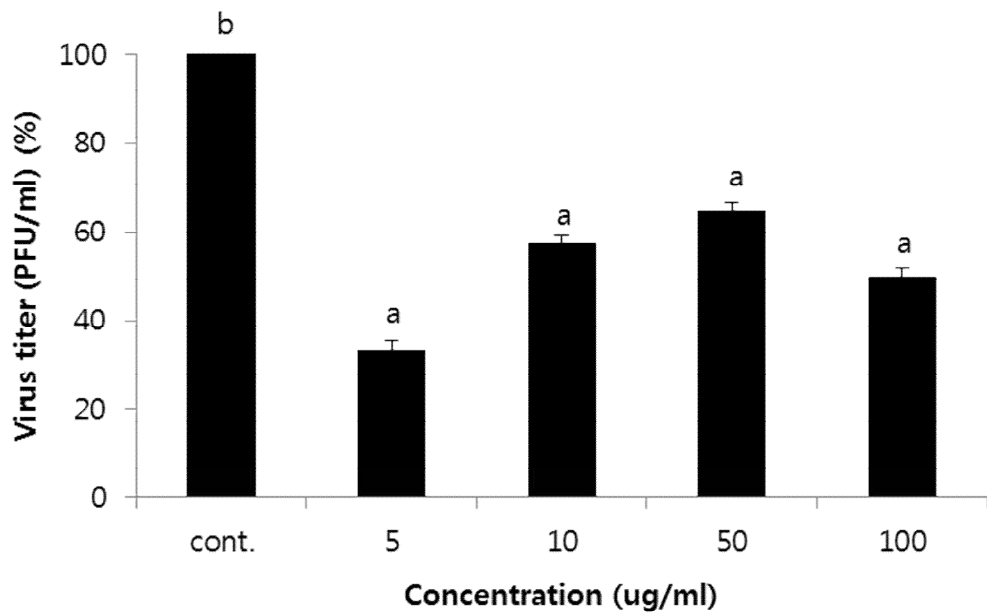
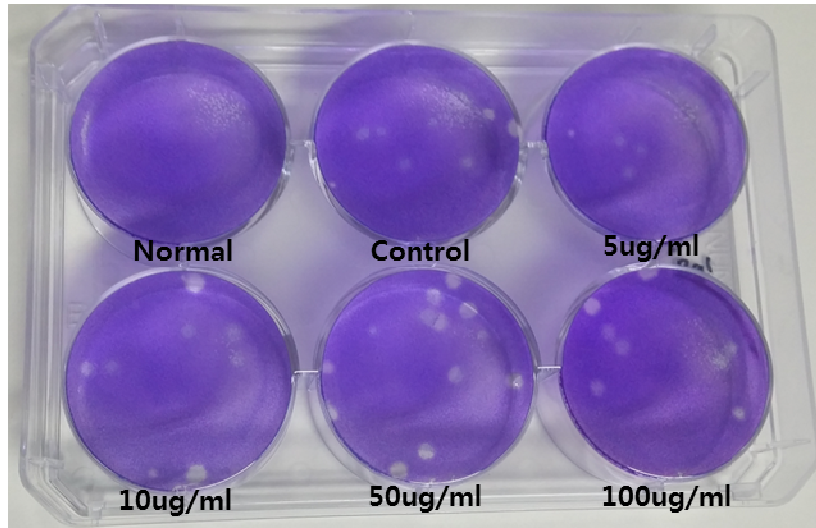


그림 29. 인삼 추출물 GS-Rg<sub>1</sub>에 대한 인플루엔자 바이러스 plaque assay

④ GS-C46

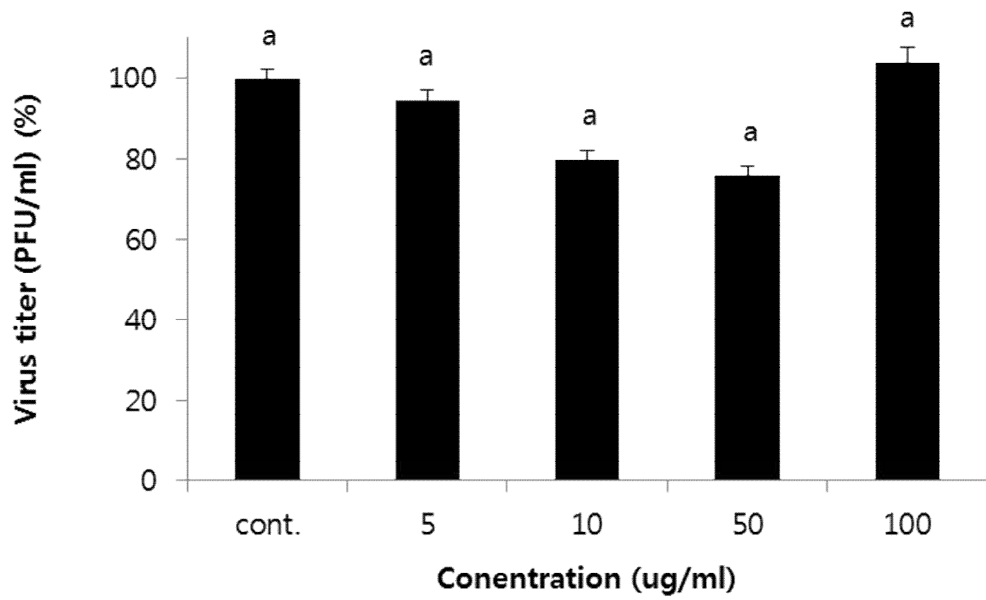
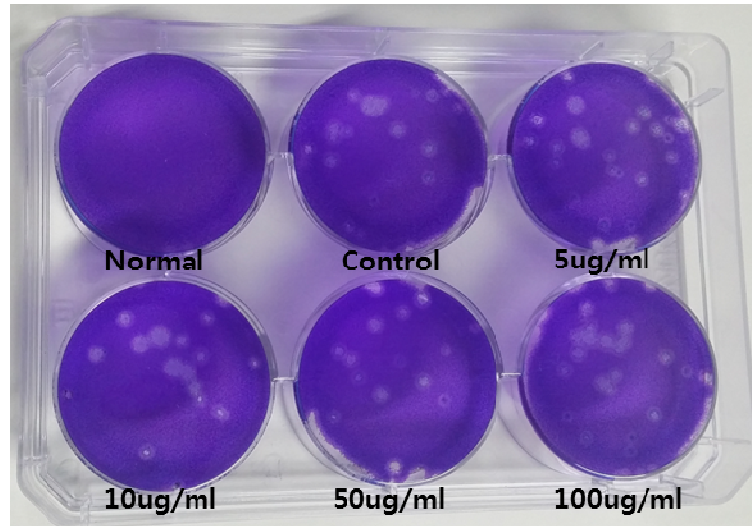


그림 30. 인삼 추출물 GS-C46 에 대한 인플루엔자 바이러스 plaque assay

농도별 인삼 추출물을 처리하여 1시간 전처리 후, 바이러스를 infection 시킨 후 plaque assay를 시행하였다. Plaque란 바이러스감염에 의하여 세포 변성을 일으킨 단층세포부위로서, plaque 주위의 감염되지 않은 정상 세포는 crystal violet로 염색되므로 감염 부위와 구별되어 동그란 형태의 플라그 형성은 바이러스 감염을 나타낸다. 이에 따라 인삼 추출물이 대조군에 비해 형성되는 plaque 수의 감소 여부를 확인하였다. 각각 독성 시험 결과에 따라 독성을 보이지 않는 최대의 농도를 최고 농도로 하여 1, 5, 10, 100, 200  $\mu\text{g/ml}$  의 농도로 처리하여 plaque assay를 실시하였다. 그 결과 GS-Rb<sub>1</sub>은 plaque 수의 변화가 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 약 31% 감소함을 보였다(그림 19). GS-Rg<sub>1</sub>는 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 약 50% 감소하는 양상을 보였지만 농도별로 유의적인 차이가 나지 않았으며, GS-C46에서도 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 Control과 비교해 더 높은 것으로 보아 항바이러스 효능을 보이지 않았다(그림 30).

(마) Neuraminidase 활성 저해능

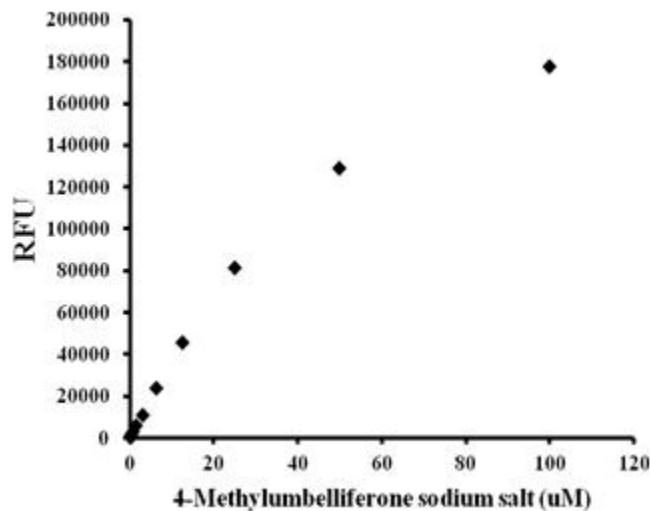


그림 31. Neuraminidase(NA) 활성 저해 시험에 대한 지표 물질(4MU-SS)의 표준검량선(RFU)

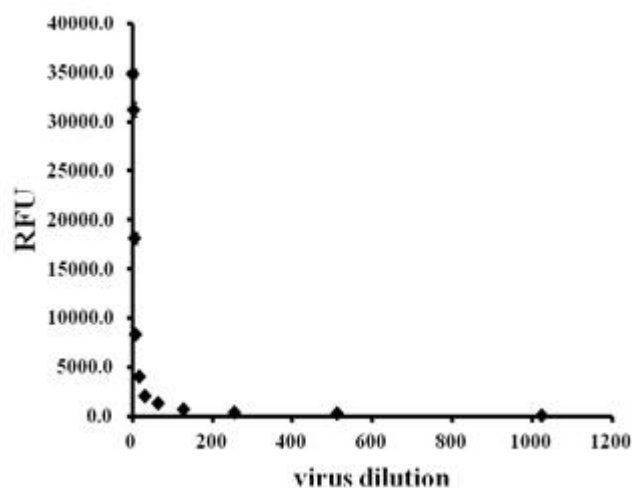


그림 32. Neuraminidase (NA) 활성 저해 시험에 대한 바이러스의 표준검량선(RFU)

Neuraminidase (NA) 효소 활성 저해 시험에 형광 물질 standard curve는 100  $\mu$  M 부터 2배씩 희석하여 측정하였으며, 일정량의 바이러스 stock의 dilution에 따른 neuraminidase 활성을 분석한 결과 1:3로 희석한 바이러스 형광값이 standard 10  $\mu$ M 의 형광값과 비슷한 것으로 확인되었다(그림 31, 32).

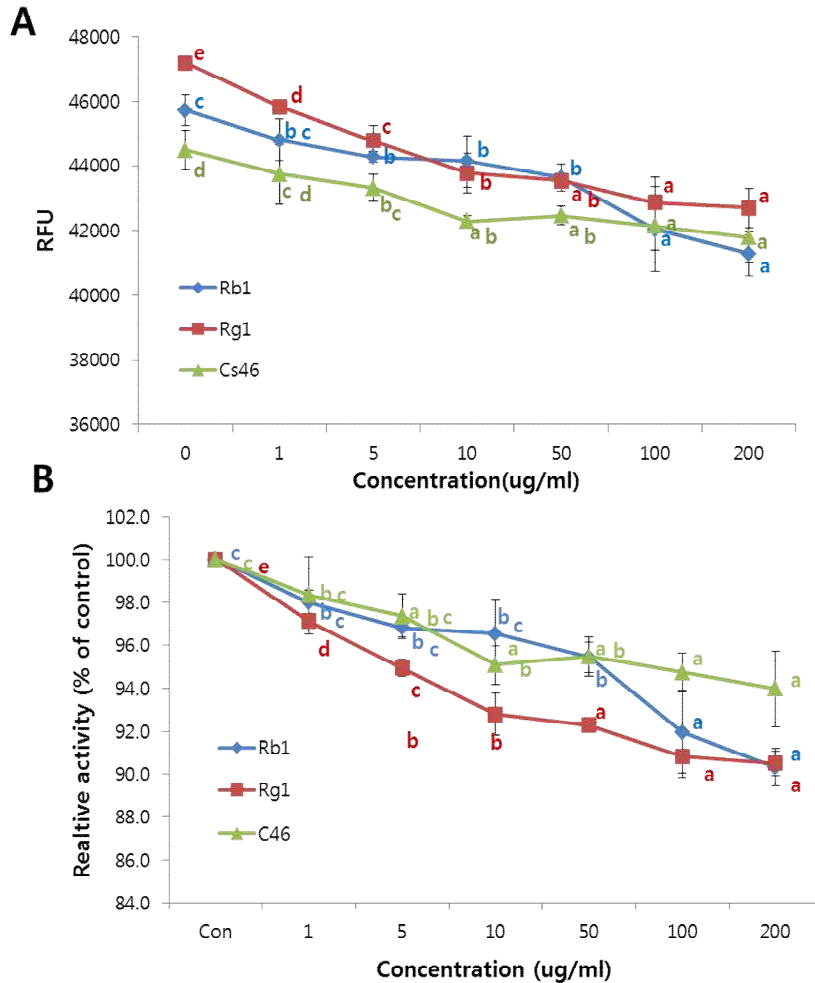


그림 33. 각 인삼 추출물의 Neuraminidase (NA) 활성 비교.

A : Neuraminidase 의 억제 활성 (RFU), B : Neuraminidase 의 억제 활성 (%)

인플루엔자 바이러스에 대한 neuraminidase 분석 결과를 토대로 각 인삼 추출물에 대하여 신생 influenza virus particle의 방출에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 neuraminidase의 억제 활성을 측정하였다. 인삼 추출물은 농도 의존적으로 NA를 억제하는 것이 확인되었다. 시료 중 GS-Rb<sub>1</sub>과 GS-Rg<sub>1</sub>은 200  $\mu$ g/ml의 농도에서 각각 9.7%, 9.5%로 NA의 활성을 저해하였으나 GS-C46은 6.1%로 다소 낮은 수준을 보이는 것으로 확인되었다(그림 33).

(바) 인체시험을 통한 항인플루엔자 활성 검증



Protocol No: CTCF2\_2014\_GIN

Version 1.1

## 인 체 적 용 시 험 계 획 서

한외어과홍삼추출물(GS-3K8)과 인삼가수분해농축액(GINst15)의  
인플루엔자 감염 예방 및 증상 개선 효과에 대한 유효성 및 안전성을 평가하기 위  
한 12 주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약-대조 인체적용시험

제품명	한외어과홍삼추출물(GS-3K8), 인삼가수분해농축액(GINst15), 위약
시험계획서번호	CTCF2_2014_GIN (Version 1.1)
시험단계	탐색적 인체적용시험
시험계획서작성일	2014. 09. 24
시험기관	전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터
시험책임자	전북대학교병원 감염내과 임상교수 황 정 환 M.D.

본 인체적용시험계획서에 포함되어 있는 모든 정보는 시험책임자 및 시험담당자, 심사위원회, 보건당국을 위해 제공된 것으로서, 인체적용시험용제품을 제공받은 사람에게 시험참가에 대한 서면동의를 받기 위한 경우를 제외하고는 (재)금산국제인삼약초연구소의 사전서면동의 없이 제 3자에게 공개될 수 없습니다.

기 일 문 서

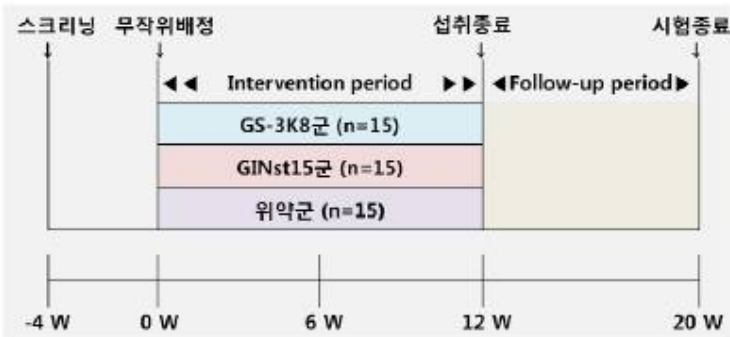


❖ 인체적용시험계획서 개요

제 목	한외여과홍삼추출물(GS-3K8)과 인삼가수분해농축액(GINst15)의 인플루엔자 감염 예방 및 증상 개선 효과에 대한 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약-대조 인체적용시험
목 적	<p>건강한 성인이 12주간 한외여과홍삼추출물(GS-3K8) 또는 인삼가수분해농축액(GINst15) 또는 위약을 섭취할 때 나타나는 다음 평가항목의 변화를 관찰함으로써 인플루엔자 감염 예방 및 증상 개선 효과에 대한 유효성 및 안전성을 비교·평가하고자 한다.</p> <p>1) 1차 목적</p> <p>인플루엔자 감염 임상적 진단과 바이러스 감염 확진검사에 의한 인플루엔자 감염 발생률로 평가되는 GS-3K8과 GINst15의 인플루엔자 감염 예방 효과에 대한 유효성을 위약 섭취와 비교·평가한다.</p> <p>2) 2차 목적</p> <p>인플루엔자 증상 절수 및 감염 후 회복기간, 백혈구 탐식능 증가에 의한 면역력 증진으로 평가되는 GS-3K8과 GINst15의 인플루엔자 감염 증상 개선 및 면역력 증진 효과에 대한 유효성 및 안전성을 위약 섭취와 비교·평가한다.</p>
시 행 책 입 자	전북대학교병원 감염내과 임상교수 황 정 환 M.D.
공 통	전북대학교 의학전문대학원 약리학교실 교수 채 수 완 M.D., Ph.D.

시행책임자	전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터 임상교수 최 은 경 M.D.
시 험 당 당 자	전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터 소병욱, 정수진, 오미라, 박수현, 정은수, 박은옥, 오상아, 김순영, 김예리, 윤주량, 박혜림, 박미현, 서현영, 이소영, 김현숙, 노순옥, 최재순, 최영미, 박선이, 김두경, 정혜연, 최민준
연구대상자 선 정 기 준	1) 만 39 세 이상 65 세 이하의 성인 남 · 여 2) 본 연구에 대한 자세한 설명을 듣고 완전히 이해한 후, 자의로 참여를 결정하고 주의사항을 준수하기로 서면 동의한 자
연구대상자 제 외 기 준	1) 시험용제품 첫 섭취일 전 6 개월 이내에 인플루엔자 백신 예방접종을 받은 자 2) 스크리닝 당시 상기도 감염 증상이 있는 자 3) 임상적으로 유의한 급 · 만성 질환이 있는 자(뇌신경계 질환, 내분비계 질환, 심혈관계 질환, 신장 및 비뇨기계 질환, 호흡기계 질환, 알러지, 면역계 질환, 혈액 · 종양 질환 등. 단, 시험책임자 판단에 따라 연구대상자의 상태를 고려하여 본 연구에 참여할 수 있다.) 4) 알코올 중독, 약물 남용 또는 의존이 있는 자 5) 시험용제품 흡수에 영향을 줄 수 있는 위장관계 질환(예: 크론병)이나 위장관계 수술(단, 단순흡수물기질제술이나 탈장수술은 제외) 과거력이 있는 자 6) 시험용제품 첫 섭취일 전 4 주 이내에 면역 및 상기도 감염에

	<p>영향을 미칠 수 있는 의약품을 섭취하거나, 2 주 이내에 면역 및 상기도 감염에 영향을 미칠 수 있는 건강기능식품을 섭취한 자</p> <p>7) 약물 및 인체적용시험용제품에 대한 과민반응 혹은 임상적으로 유의한 과민반응의 병력이 있는 자</p> <p>8) 스크리닝 검사 전 2개월 이내에 타 인체적용시험에 참여한 자</p> <p>9) 진단검사의학검사에서 다음에 해당하는 결과를 보이는 자</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ AST, ALT &gt; 참고범위 상한치의 2 배</li> <li>☞ Serum creatinine &gt; 2.0 mg/dl</li> <li>☞ Creatine kinase (CK) &gt; 참고범위 상한치의 2 배</li> </ul> <p>10) 진단검사의학 검사 결과를 비롯한 기타 사유로 인하여 시험책임자가 연구 참여에 부적합하다고 판단한 자</p> <p>11) 임신 혹은 수유 중인 여성</p> <p>12) 임신 가능성이 있는 가임 여성 중 적절한 피임법의 시행을 수용하지 않은 경우(단, 불임수술을 받은 여성은 제외)</p>
시행기간	IRB 승인일로부터 12개월
실시기관	전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터
대상자수	총 45명 (GS-3K8 군 15명, GINst15 군 15명, 위약군 15명)
선택기간	12주
선택방법	연구대상자는 제공되는 인체적용시험용제품을 하루 3회 아침, 점심,

	<p>저녁 식전 물과 함께 섭취한다.</p> <p>1) GS-3K8: 1일 6캡슐, 1회 2캡슐, 498 mg/캡슐</p> <p>2) GINst15: 1일 6캡슐, 1회 2캡슐, 501 mg/캡슐</p> <p>3) 위약: 1일 6캡슐, 1회 2캡슐, 500 mg/캡슐</p>
<p>시험디자인</p>	<p>12 주, 무작위배정, 이중눈가림, 평행군, 위약 대조 인체적용시험</p>  <p>자원자에 한하여 인체적용시험 예정일(1 일)로부터 4 주 이내(-28 일--1 일)에 문진, 신체검진, 진단검사의학검사 등 스크리닝 검사를 시행하여 본 인체적용시험에 연구대상자로서 적합하다고 판단되는 자를 선정한다. 선정된 연구대상자는 1 일(0 주) 전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터에 방문하여 GS-3K8 또는 GINst15 또는 위약 섭취군에 무작위배정되고 정해진 검사를 실시한다. 연구대상자는 무작위배정된 군에 따라 12 주간 인체적용시험용제품을 1 일 3 회 섭취하며, 6 주마다(43 일, 85 일) 센터에 방문하여 인플루엔자 의사증상 조사 및 정해진 검사를 실시하며, 연구자는 제품 섭취기간(0~12 주)과 추적관찰기간(12~18 주) 동안 매주 1 회 전화 인터뷰를 통해 인플루엔자 의사증상에 대하여 설문조사를 실시한다. 정해진 전화</p>
<p>시험방법</p>	

	<p>인터뷰 일정보다 앞서 인플루엔자 의사 증상이 발생하면 연구대상자가 연구담당자에게 자발적으로 발생사실을 전화를 통해 보고하도록 교육하며, 보고 이후 증상이 소실될 때까지 매일 증상 설문조사를 실시한다.</p> <p>바이러스 감염 확진 검사는 인플루엔자 의사 증상을 보이는 자를 대상으로 실시한다.</p>
<p>평 가 방 법</p>	<p>1) 안전성 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 자·타각 증상 등 이상반응 모니터링</li> <li>• 신체검진</li> <li>• 진단검사의학 검사</li> <li>• 심전도 및 활력징후</li> </ul> <p>2) 유효성 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 차 유효성평가           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 인플루엔자 바이러스 감염 확진검사에 의한 인플루엔자 감염 환자 발생률</li> <li>- 인플루엔자 감염 임상적 진단에 의한 인플루엔자 의사 환자 발생률</li> </ul> </li> <li>• *인플루엔자 의사환자: 발열(37.8 ℃)과 더불어 인후통 또는 기침 증상을 보이는 자</li> <li>• 2 차 유효성평가</li> </ul>

- 인플루엔자 감염 확진 환자 및 의사 환자의 증상 점수 변화
- 인플루엔자 감염 확진 환자 및 의사 환자의 회복기간
- 백혈구 타식능 변화
- 사이토카인(IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ )의 변화

### 3) 평가변수 및 통계분석 방법

- 인구학적 자료는 기술통계학적 분석을 시행한다.

GS-3K8 군, GINst15 군, 위약군 간 동질성 검정은 각 항목에 따라 chi-square test 또는 Fisher's exact test 와 one-way ANOVA 또는 Kruskal-Wallis test 를 이용하여 실시한다.

- GS-3K8 군, GINst15 군, 위약군 간 유효성 평가항목 기저치 값의 동질성 검정은 one-way ANOVA 또는 Kruskal-Wallis test 를 이용하여 실시한다.

- 12 주간 인체적용시험용 제품을 섭취한 후 인플루엔자 감염 환자 발생률과 증상을 '섭취기간 중' 및 '섭취 중단 후 6 주' 간 평가한다. 이 때 최초 관찰일로부터 증상 발생 또는 관찰 종료일까지의 기간(day)을 '관찰기간'으로 하고, 인플루엔자 감염 및 관련 증상을 'event'로 정의하여 Kaplan-Meier method 를 이용하여 누적 발생률을 추정한다. 추정된 발생률은 Cox 의 proportional hazard model 또는 Poisson regression model 을 이용한 다변량 분석을 실시하여 시험군 간 비교한다.

- 안전성 평가를 위해 이상반응의 발생 양상을 Chi-square test

또는 Fisher's exact test 를 이용하여 결정한다.

진단검사의학검사, 활력징후 등은 시험군 내 변화를 paired  $t$ -test 또는 repeated measured ANOVA 또는 linear mixed-effects model 을 이용하여 결정한다. 시험군 간의 차이는 각 항목의 변화량을 계산하여 one-way ANOVA 를 이용하거나 Kruskal-Wallis test 를 이용하여 결정한다.

- 동질성 검정의 유의수준은 10% 이하, 유효성 및 안전성 평가항목의 유의수준은 5% 이하로 설정한다.

❖ 일경요약

일정 항목	스크리닝	섭취기간			추적조사
	-4 주 이내 제-28일~-1일	1 차 방문 0 주(제 1 일)	2 차 방문 6 주(제 43 일)	3 차 방문 12 주(제85 일)	
서면동의서	●				
인구학적 정보 · 병력 조사	●				
약물투여력 조사	●	●	●	●	
흡연력 · 음주력 조사	●			●	
선경/제외기준 확인	●	●			
무작위배정		●			
신체검진, 신체계측 <sup>1)</sup>	●			●	
의학적 상태 변화 조사		●	●	●	
활력징후 <sup>2)</sup>	●	●	●	●	
진단영상의학 검사 <sup>3)</sup> , 심전도, HCG	●			●	
인플루엔자 증상 설문지 <sup>4)</sup>	●	●	●	●	●
바이러스 확진검사 <sup>5)</sup>		●	●	●	●
면역관련 지표 검사 <sup>6)</sup>		●		●	
인체적용시험용제품 제공		●	●		
식이기록지 배부	●		●		
식이섭취조사 <sup>7)</sup>		●		●	
반납제품 회수, 순응도 평가			●	●	
이상반응 조사			●	●	●

\* 선경/제외기준을 만족시키지 못하는 연구대상자에 대해서는 이후 계획된 검사를 실시하지 않을 수 있다.  
 \* Visit window: 스크리닝 방문을 제외하고 각 방문은 전 5 일, 후 5 일을 허용한다.  
 \* 추적조사는 연구자가 전화통화를 통해 확인한다.  
<sup>1)</sup>신장, 체중  
<sup>2)</sup>수축기 · 이완기 혈압, 맥박수, 체온  
<sup>3)</sup>혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 뇨검사  
<sup>4)</sup>스크리닝 시, 1 차, 2 차 및 3 차 방문일, 1 일(0 주)~113 일(18 주) 동안 매주 1 회 실시  
<sup>5)</sup>인플루엔자 의사 증상을 통해 임상적 진단을 받은 자를 대상으로 실시  
<sup>6)</sup>면역구항식능, 싸이토카인(IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ )  
<sup>7)</sup>24 시간 회상법에 따라 방문 전 1 일의 식이섭취량 조사



## 목 차

❖ 인체적용시험계획서 개요.....	2
❖ 일정요약.....	9
1. 인체적용시험의 명칭 및 단계.....	6
2. 인체적용시험의 실시기관 명 및 주소.....	6
3. 인체적용시험의 책임자, 공동연구자 및 시험담당자의 성명 및 직명.....	6
4. 인체적용시험용제품을 관리하는 영양사의 성명 및 직명.....	6
5. 인체적용시험의 의뢰자명 및 주소.....	7
6. 인체적용시험의 목적 및 배경.....	7
6.1. 인체적용시험의 목적.....	7
6.2. 인체적용시험의 배경.....	7
7. 인체적용시험에 사용되는 원료제품 및 그 분량, 제형.....	10
7.1. 원료제품 및 그 분량.....	10
7.2. 저장방법.....	12
7.3. 인체적용시험에 사용하는 제품의 포장.....	12
7.4. 인체적용시험에 사용하는 제품의 라벨링.....	12
7.5. 인체적용시험에 사용하는 제품의 관리.....	12
8. 연구대상자의 선정기준, 제외기준, 목표한 연구대상자의 수 및 그 근거.....	13
8.1. 선정기준.....	13
8.2. 제외기준.....	13
8.3. 목표한 연구대상자 수 및 설정근거.....	14
9. 인체적용시험 기간.....	15
10. 인체적용시험의 방법.....	15
10.1. 시험디자인.....	15
10.2. 시험일정.....	15
10.3. 섭취량, 섭취방법 및 섭취기간.....	16
10.4. 용량 설정 근거.....	17

10.5.	스크리닝 번호와 연구대상자번호 부여방법 .....	18
10.6.	약물요법 .....	19
10.7.	주의사항 .....	19
10.8.	병용가능 약물.....	19
10.9.	병용금지 약물.....	19
11.	관찰·임상검사항목과 관찰·임상검사방법 .....	20
11.1.	관찰·임상검사항목 .....	20
11.2.	관찰·임상검사방법 .....	22
11.3.	채혈량 .....	27
11.4.	샘플과 자료의 보관 및 폐기 .....	27
12.	예측 부작용 및 사용상의 주의사항.....	27
13.	중지, 탈락기준 .....	28
13.1.	인체적용시험용제품 섭취의 일시적 중지.....	28
13.2.	인체적용시험용제품 섭취의 중지.....	28
13.3.	탈락기준 .....	29
13.4.	인체적용시험의 중지.....	29
13.5.	시험 완료.....	30
13.6.	연구대상자의 대체.....	30
14.	효과 평가기준, 평가방법 및 해석방법(통계분석방법) .....	30
14.1.	인구학적 정보.....	31
14.2.	유효성평가.....	31
14.3.	안전성평가.....	32
14.4.	통계분석방법.....	32
15.	부작용을 포함한 안전성의 평가기준, 평가방법 및 보고방법.....	33
15.1.	이상반응 및 중대한 이상반응의 정의.....	33
15.2.	이상반응의 기록.....	34
15.3.	이상반응의 중증도 및 임상약과의 인과관계 평가 .....	35

15.4.	중대한 이상반응의 보고.....	37
15.5.	이상반응의 추적 관찰.....	37
16.	연구대상자 동의서 양식.....	37
17.	연구대상자 보상에 대한 규약.....	37
18.	인체적용시험 후 연구대상자의 진료 및 치료기준.....	37
19.	연구대상자의 안전보호에 관한 대책.....	38
20.	그 밖에 인체적용시험을 안전하게 과학적으로 실시하기 위하여 필요한 사항.....	38
20.1.	실시기관.....	39
20.2.	계획서의 변경.....	39
20.3.	점검 및 실태조사.....	39
20.4.	자료의 보관 및 열람.....	39
20.5.	자료의 기록 및 관리.....	40
20.6.	연구대상자의 신분 기밀 보장.....	41
20.7.	비밀 유지 및 시험결과의 공표.....	41
21.	참고문헌.....	42

❖ 약어 및 용어정의

AE	Adverse Event
ALP	Alkaline Phosphatase
ALT	L-Alanine Aminotransferase
AST	L-Aspartate Aminotransferase
BUN	Blood Urea Nitrogen
CBC	Complete Blood Count
CK	Creatine Kinase
ECG	Electrocardiogram
GCP	Good Clinical Practice
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematocrit
ICD	Informed Consent Document
ICH	International Conference on Harmonization
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
IL-2	Interleukin-2
IRB	Institutional Review Board
PLT	Platelet
PPD	20(S)-protopanaxadiol
RBC	Red Blood Cell
RM-ANCOVA	Repeated Measures Analysis of Covariance
RM-ANOVA	Repeated Measures Analysis of Variance
SAE	Serious Adverse Event

TNF- $\alpha$	Tumor necrosis factor alpha
WBC	White Blood Cell

## 1. 인체적용시험의 명칭 및 단계

한외여과총상추출물(GS-3K8)과 인삼가수분해능축액(GINst15)의 인플루엔자 감염 예방 및 증상 개선 효과에 대한 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12 주 무작위배정, 이중눈가림, 위약-대조 인체적용시험

## 2. 인체적용시험의 실시기관 명 및 주소

전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터

전라북도 전주시 덕진구 건지로 20

## 3. 인체적용시험의 책임자, 공동연구자 및 시험담당자의 성명 및 직명

### 1) 시험책임자

전북대학교병원 감염내과 임상교수 황 정 환 M.D.

### 2) 공동시험책임자

전북대학교 의학전문대학원 약리학교실 교수 채 수 완 M.D., Ph.D.

전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터 임상교수 최 은 경 M.D.

### 3) 시험담당자

전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터

소병욱, 정수진, 오미라, 박수현, 정은수, 박은욱, 오상아, 김순영, 김예리, 윤주량, 박혜림, 박미현, 서현영, 이소영, 김현숙, 노순욱, 최재순, 최영미, 박선이, 김두겸, 정혜연, 최민준

## 4. 인체적용시험용제품을 관리하는 영양사의 성명 및 직명

전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터

오미라, 박수현, 정은수, 박은욱, 오상아 영양사

## 5. 인체적용시험의 의뢰자명 및 주소

(재)금산국제인삼약초연구소 천연물소재연구소실장 표미경

충청남도 금산군 금산읍 신대리 678-7

## 6. 인체적용시험의 목적 및 배경

### 6.1. 인체적용시험의 목적

건강한 성인이 12 주간 한외여과홍삼추출물(GS-3K8) 또는 인삼가수분해농축액(GINst15) 또는 위약을 섭취할 때 나타나는 다음 평가항목의 변화를 관찰함으로써 인플루엔자 감염 예방 및 증상 개선 효과에 대한 유효성 및 안전성을 비교·평가하고자 한다.

#### 1) 1차 목적

인플루엔자 감염 임상적 진단과 바이러스 감염 확진검사에 의한 인플루엔자 감염 발생률로 평가되는 GS-3K8 과 GINst15 의 인플루엔자 개선에 대한 유효성을 위약 섭취와 비교·평가한다.

#### 2) 2차 목적

인플루엔자 증상 점수 및 감염 후 회복기간, 백혈구 탐식능 증가 등에 의한 면역력 증진으로 평가되는 GS-3K8 과 GINst15 의 인플루엔자 감염 증상 개선 및 면역력 증진 효과에 대한 유효성 및 안전성을 위약 섭취와 비교·평가한다.

### 6.2. 인체적용시험의 배경

인삼은 지난 2천여 년 동안 동양에서 사용되어 온 가장 중요한 한약재 중 하나로 각종 질병 예방과 치료에 탁월한 효과를 나타낼 뿐만 아니라 병이 없는 정상인들에게도 힘과 활력을 주는 강장제로서 효과를 나타내며 장기간 사용하여도 부작용이 없는 상약으로 널리 알려져 왔으며<sup>1)</sup>, 미국을 비롯하여 유럽, 중동, 아프리카에 이르기까지 고려인삼의 효능이 인정되어 여러 나라에 수출되어 한때는 국가기관

산업으로서의 위치를 점하였었다. 그러나 최근에는 값싼 중국산과 미국, 캐나다 인삼과의 생산경쟁에서 밀려 점차로 인삼종주국으로서 그 이름이 퇴색되어가고 있다.

천연물로서 인삼 효능의 재현성을 확보하기 위해서는 품질의 표준화가 매우 중요하다. 최근 서구나 미국시장에서 유통되는 인삼제품의 품질검사 결과, 인삼의 지표성분인 ginsenosides가 거의 없거나 함량차이가 극히 심하고, 유기합성 잔류물질과 중금속의 오염 등이 보고되고 있어 제품의 품질보증을 위한 보다 엄격한 품질관리의 필요성이 증가하고 있다<sup>1)</sup>. 영국과 미국 등 11개국에서 시판되는 50개 인삼제품 조사에서 사포닌 함량 분포는 1.9~9.0 %이었고, 6개 제품에서는 검출되지 않았다. 스웨덴 시장에서 판매되는 인삼제품 조사(117개 제품)에서도 ginsenosides 함량분포는 캡슐 혹은 정제 당 2.1~13.3 mg이었고, 최근 미국에서 판매되는 25개 제품 성분조사에서 제품 간 ginsenosides 함량차이가 15~30배에 이르렀다고 보고되었다. 비록 인삼이 ginsenosides 함량과 조성변이가 매우 심하지만 인삼제품의 약효/효능의 재현성을 확보하기 위해서는 품질의 표준화는 물론 안전성 확보를 위한 유해물질에 대한 엄격한 관리가 필요하다. 지금까지 서구에서 추진된 인삼에 대한 인체적용시험은 거의 대부분 품질 표준화가 이루어진 인삼추출물(ginsenoside 4% 이상)을 대상으로 하였고(G115제품) 이들 제품의 매출도 비약적으로 증가하였다<sup>2)</sup>. 특히 인삼재배가 전혀 이루어지지 않는 스위스에서는 파마톤 제약사의 인삼캡슐제품인 "GINSANA"로 매년 30억 달러의 매출을 올려 세계인삼시장의 15위를 차지하고 있기도 한다. 그러나 인삼종주국이라 불리는 우리나라의 수출실적은 1억 달러에 불과하여 스위스의 30분의 1에 그치고 있다. 이는 국내 인삼제품이 제조업체마다 유사한 제품으로 개발되어 적극적인 시장 확대에 제한요소로 작용한 결과로 볼 수 있을 것이다. 게다가 세계의 우수 인삼제품 생산·제조 및 유통업자들은 이제 고려인삼(Korean ginseng)을 하나의 독립된 품목으로 취급하기보다는 단지 성분과 효능이 거의 비슷한 아시아 인삼(Asian ginseng)의 일종으로 통합하여 취급하려는 의도를 강하게 드러내고 있다. 더구나 우리나라에서 생산된 인삼제품은 비싼 원료비, 인건비 부담 등으로 인해서 경쟁국의 비슷한 품질수준의 중·저가품 제품과는 가격 면에서 경쟁적 우위를 차지할 수 없게 되었다. 따라서 우리는 성분과 효능 그리고 식·의약적 안전성 측면



에서 경쟁제품에 비해 확연히 차별화 된 고부가가치의 신제품을 개발해 내지 못하면 세계시장에서 더 이상 살아남을 수 없게 될 것이다.

인삼 및 홍삼은 식품의약품안전처에서 발행하는 건강기능식품공전에 면역증진 기능성으로 등재되어 있으며<sup>3)</sup>, 기존 동물실험에서 면역증진뿐만 아니라<sup>4-7)</sup> 인삼추출물의 투여가 인플루엔자 바이러스 성장을 억제시키는 효능을 나타낸 바 있다. 그 예로 인플루엔자 감염 예방 효과를 평가한 동물실험에서 홍삼추출물과 인삼 polysaccharide, 인삼 사포닌 투여군에 인플루엔자 바이러스 처리 후 생존률을 비교하였을 때 대조군에 비해 2배 이상 높은 것을 확인할 수 있었다<sup>8-10)</sup>. 또 다른 동물실험에서 인플루엔자 감염 후 생존률이 백신 단독투여군에서 38%인 것에 비하여 인삼추출물 병용투여군이 56%, 인삼 polysaccharide 병용투여군이 63%로 높았다<sup>11)</sup>.

이에 금산국제인삼약초연구소와 ㈜일화에서 인삼의 유효성분 활성을 높일 수 있는 한외여과 공법을 활용한 “한외여과 홍삼추출물(GS-3K8)”과 효소 가수분해 공법을 활용한 “인삼가수분해농축액”을 개발하였고 위와 같은 여러 선행 연구 결과를 통해 본 시험제품이 인플루엔자 감염 예방 효과가 있을 것으로 기대되어 인체 적용시험을 계획하였다.

① 한외여과홍삼추출물(GS-3K8)

본 제품은 한외여과 공법을 활용하여 인삼에 본래 함유된 면역증진 효과가 탁월한 것으로 알려진 다당체의 함량과 PPD 계열의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd 등의 함량을 증가시킨 인공산물이 전혀 함유되지 않은 물질이다. 세포실험 결과, 인플루엔자 관련 사이토카인 활성효과 및 인플루엔자 바이러스 증식억제 작용이 기존의 홍삼추출액보다 증강되는 것을 확인하여 “한외여과를 활용한 항인플루엔자 바이러스 조성물 및 그 제조방법”으로 특허출원을 하였다 [특허출원 번호: 10-2013-0159425].

② 인삼가수분해농축액(GINst15)

인삼유래의 Rb1, Rd, Re, Rg1등과 같은 사포닌(ginsenosides)은 체내에 직접 흡수되지 않는다. 인삼사포닌은 체내에서 장내세균총 등에 의해서 분해되어 IH-901 또는 Rg3와 같은 형태로 장에서 흡수되어 혈액에서 검출되는 것으로 보고되어 있다. 체내에서 분해되지 않고 남아있는 진세노사이드 Rb1, Rd,

Rg1 등은 혈액에서 검출되지 않고, 6시간 이내에 소변으로 배설된다. 또한, 인삼을 복용했을 때 개인 별로 효과 면에서 차이를 나타내는 것은 장내세균의 차이로 인한 사포닌 분해 능력의 개인차에 의한 것이다. 즉, Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1 등의 사포닌을 사람이 흡수하려면 반드시 이를 분해시켜야 하지만 사람마다 장내세균총의 차이로 인해 개인별 흡수율 차이가 존재한다는 것이다. Rb1과 Rg1의 경구 투여 후 혈액 속으로 흡수된 양을 측정하면 약 4.35 % (Rb1)와 18.40 % (Rg1)에 불과한데, 이같은 낮은 흡수율과 혈액 내에서의 빠른 손실로 볼 때 이 인삼사포닌이 체내 흡수되기 위해서는 사포닌의 구조적 변형이 요구될 것으로 생각된다.

사포닌의 구조적변형을 하기 위한 일반적인 방법으로는 미생물을 이용한 발효과정과 효소를 이용한 당 가수분해 과정을 들 수 있다. 그러나 미생물을 이용한 발효방법은 안전성 측면이나 효율성 측면에서 효소를 이용한 방법에 비해 떨어지는 것으로 파악된다.

따라서 본 제품을 개발함으로써 인삼의 품질을 표준화하여 개인에 따른 효능 차이를 최소화하고자 하였다. 또한 기존의 유산균주를 이용한 발효공정을 벗어나 pectinase 효소로 발효공정을 대체 및 단순화시킴으로써 품질표준화를 극대화 하고자 하였다.

## 7. 인체적용시험에 사용되는 원료제품 및 그 분량, 제형

### 7.1. 원료제품 및 그 분량

#### 1) 한외여과홍삼추출물(GS-3K8)

: 1 일 6 캡슐, 498 mg/캡슐(한외여과홍삼추출물로써약 162 mg/캡슐)

	성분명	함량(mg)
주성분	한외여과홍삼추출물	162
부형제	Soybean oil	238
	Palm oil	40

	Rice bran wax	50
	ER 290	8
	<b>합계</b>	<b>498</b>

2) 인삼가수분해농축액(GINst15)

: 1 일 6 캡슐, 501 mg/캡슐(인삼가수분해농축액으로써 약 160 mg/캡슐)

	성분명	함량 (mg)
<b>주성분</b>	인삼가수분해농축액	160
<b>부형제</b>	Soybean oil	243
	Palm oil	40
	Rice bran wax	50
	ER 290	8
	<b>합계</b>	<b>501</b>

3) 위약

: 1 일 6 캡슐, 500 mg/캡슐

	성분명	함량 (mg)
<b>부형제</b>	Maltodextrin	160
	Soybean oil	240.5
	Palm oil	30
	Lecithin	11.5
	Rice bran wax	48

	Cacao color	7
	Annatto extract	3
	합계	500

## 7.2. 저장방법

실온보관

## 7.3. 인체적용시험에 사용하는 제품의 포장

인체적용시험용제품은 제조 후 시험책임자 또는 관리영양사에게 공급한다. 시험기간 선회할 제품은 5 일분의 여유분을 합하여 47 일분을 각각 포장하여 1 차 및 2 차 방문 시 연구대상자에게 제공한다. 제품 포장에는 제품의 정보를 라벨링한다.

## 7.4. 인체적용시험에 사용하는 제품의 라벨링

인체적용시험용제품의 라벨에는 다음의 정보가 포함되어야 한다.

- "인체적용시험용"이라는 표시
- 제품의 코드명 또는 주성분명의 일반명
- 연구대상자 코드
- 제조일자
- 제조번호 및 재검사일자
- 저장방법
- 제품제조업자의 상호 (위탁제조인 경우에는 제조원 포함)
- "인체적용시험 외의 목적으로 사용할 수 없음"이라는 표시

## 7.5. 인체적용시험에 사용하는 제품의 관리

인체적용시험책임자 또는 관리영양사는 시험기관에서 수령한 모든 인체적용시험용제품을 인체적용시험 기간 중 보관하고 수량을 관리할 책임이 있다. 연구대상자에 대한 인체적용시험용제품의 배분 및 회수는 시험제품 수량 관리

양식에 기록되어야 한다.

인체적용시험용제품의 관리는 인체적용시험계획서와 포장 라벨에 따라 엄격하게 행해져야 하며, 적합한 환경조건에서 접근이 제한된 장소나 시건 장치가 부착된 캐비닛 혹은 냉장고에 보관되어야 한다. 사용되지 않은 인체적용시험용제품과 연구대상자에게서 회수된 모든 인체적용시험용제품들은 시험제품 회수 양식에 기록되어야 한다.

인체적용시험용제품은 인체적용시험책임자/담당자 또는 관리영양사의 감독하에 배분되어야 한다. 인체적용시험용제품은 연구에 참여하는 연구대상자들에게만 공급된다.

## 8. 연구대상자의 선정기준, 제외기준, 목표한 연구대상자의 수 및 그 근거

본 인체적용시험의 연구대상자는, 모든 선정기준 항목에 합당하면서 제외기준 중 어떠한 항목에도 해당되지 않는 자를 대상으로 하여 선정한다. 단, 진단검사의학적검사에서 사소한 일과성 이상을 보일 때 또는 시험자가 이러한 변화가 본 인체적용시험에 미치는 영향이 작고 연구대상자에게도 위해가 되지 않는다고 판단하는 경우, 적격 연구대상자로 선정할 수 있으며 그 내용을 증례기록서의 해당란에 상세히 입력한다.

### 8.1. 선정기준

- 1) 만 39 세 이상 65 세 이하의 성인 남 · 여
- 2) 본 연구에 대한 자세한 설명을 듣고 완전히 이해한 후, 자의로 참여를 결정하고 주의사항을 준수하기로 서면 동의한 자

### 8.2. 제외기준

- 1) 시험용제품 첫 섭취일 전 6개월 이내에 인플루엔자 백신 예방접종을 받은 자
- 2) 스크리닝 당시 상기도 감염 증상이 있는 자
- 3) 임상적으로 유의한 급 · 만성 질환이 있는 자(뇌신경계 질환, 내분비계 질환,

심혈관계 질환, 신장 및 비뇨기계 질환, 호흡기계 질환, 알러지, 면역계 질환, 혈액 · 증양 질환 등. 단, 시험책임자 판단에 따라 연구대상자의 상태를 고려하여 본 연구에 참여할 수 있다.)

- 4) 알코올 중독, 약물 남용 또는 의존이 있는 자
- 5) 시험용제품 흡수에 영향을 줄 수 있는 위장관계 질환(예: 크론병)이나 위장관계 수술(단, 단순충수돌기절제술이나 탈장수술은 제외) 과거력이 있는 자
- 6) 시험용제품 첫 섭취일 전 4 주 이내에 면역 및 상기도 감염에 영향을 미칠 수 있는 의약품을 섭취하거나, 2 주 이내에 면역 및 상기도 감염에 영향을 미칠 수 있는 건강기능식품을 섭취한 자
- 7) 약물 및 인체적용시험용제품에 대한 과민반응 혹은 일상적으로 유의한 과민반응의 병력이 있는 자
- 8) 스크리닝 검사 전 2개월 이내에 타 인체적용시험에 참여한 자
- 9) 진단검사의학검사에서 다음에 해당하는 결과를 보이는 자
  - ☞ AST, ALT > 참고범위 상한치의 2 배
  - ☞ Serum creatinine > 2.0 mg/dl
  - ☞ Creatine kinase (CK) > 참고범위 상한치의 2 배
- 10) 진단검사의학 검사 결과를 비롯한 기타 사유로 인하여 시험책임자가 연구 참여에 부적합하다고 판단한 자
- 11) 임신 혹은 수유 중인 여성
- 12) 임신 가능성이 있는 가임 여성 중 적절한 피임법의 시행을 수용하지 않은 경우(단, 불임수술을 받은 여성은 제외)

### 8.3. 목표한 연구대상자 수 및 설정근거

- 1) 목표 연구대상자 수 - 45 명

각 섭취군 별로 15명씩 총 연구대상자 수는 15명으로 한다.

## 2) 설정근거

본 연구는 탐색적인체적용시험의 성격을 가지므로 전형적인 통계적 가설 검정을 위한 시험과는 성격이 다르다. 본 연구의 목적은 12주간 GS-3K8 또는 GINst15 섭취 시 건강한 성인에서 인플루엔자 감염 예방 및 증상 개선 효과가 위약 섭취와 비교하여 우위에 있음을 증명하고자 함이나, 어떤 수식에 의한 근거보다는 그 목적을 충족시키는 한도 내에서 경험적으로 요구되는 최소한의 연구대상자 수로 진행하는 것이 바람직하다. 따라서 본 인체적용시험의 연구대상자 수를 각 섭취군 당 15명씩 총 45명으로 설정하였다.

## 9. 인체적용시험 기간

인체시험심사위원회 승인일로부터 12개월

## 10. 인체적용시험의 방법

### 10.1. 시험디자인

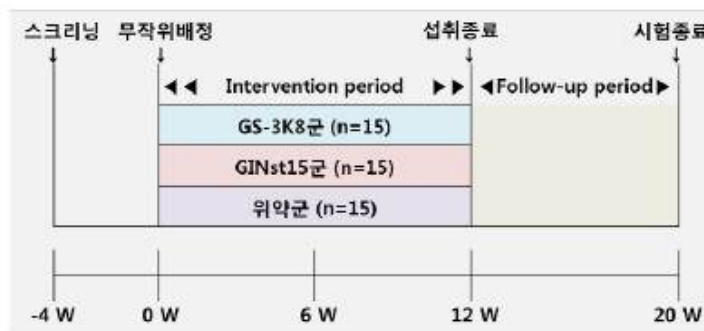
본 인체적용시험은 12 주, 무작위배정, 이중눈가림, 평행군, 위약-대조 연구로 디자인 하였다. 섭취군은 총 3 군으로써 GS-3K8 군, GINst15 군, 위약군으로 이루어지며, 각 군에 15 명씩 무작위배정한다.

### 10.2. 시험일정

자원자에 한하여 인체적용시험 예정일(1 일)로부터 4 주 이내(-28 일--1 일)에 문진, 신체검진, 진단검사의학검사 등 스크리닝 검사를 시행하여 본 인체적용시험에 연구대상자로서 적합하다고 판단되는 자를 선정한다. 선정된 연구대상자는 1 일(0 주) 전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터에 방문하여 GS-3K8 또는 GINst15 또는 위약 섭취군에 무작위배정되고 정해진 검사를 실시한다. 연구대상자는 무작위배정된 군에 따라 12 주간 인체적용시험용제품을 1 일 3 회 섭취하며, 6 주마다(43 일, 85 일) 센터에 방문하여 인플루엔자 의사증상 조사 및 정해진 검사를 실시하며, 연구자는 제품 섭취기간(0-12 주)과

추적관찰기간(12~18 주) 동안 매주 1 회 전화 인터뷰를 통해 인플루엔자 의사증상에 대하여 설문조사를 실시한다. 정해진 전화 인터뷰 일정보다 앞서 인플루엔자 의사 증상이 발생하면 연구대상자가 연구담당자에게 자발적으로 발생사실을 전화를 통해 보고하도록 교육하며, 보고 이후 증상이 소실될 때까지 매일 증상 설문조사를 실시한다.

바이러스 감염 확진 검사는 인플루엔자 의사 증상을 보이는 자를 대상으로 실시한다.



### 10.3.섭취량, 섭취방법 및 섭취기간

#### 1) 섭취량 및 섭취방법

연구대상자는 제공되는 인체적용시험용제품을 매일 3 회(1 회 2 캡슐) 아침, 점심, 저녁 식전에 섭취한다.

- GS-3K8: 1 일 6 캡슐, 498 mg/캡슐(한외여과홍삼추출물로써 162 mg/일)
- GINst15: 1 일 6 캡슐, 501 mg/캡슐(인삼가수분해농축로써 160 mg/캡슐)
- 위약: 1 일 6 캡슐, 500 mg/캡슐

#### 2) 섭취기간

- 인체적용시험용제품을 처치기간(1 ~ 85 일)동안 매일 섭취한다.

섭취군	연구대상자 수	섭취방법
-----	---------	------



GS-3K8	15 명	1 일 6 캡슐 섭취
GINst15	15 명	1 일 6 캡슐 섭취
위약	15 명	1 일 6 캡슐 섭취

#### 10.4.용량 설정 근거

##### 1) GS-3K8

GS-3K8 은 홍삼추출물을 한외여과를 통하여 항인플루엔자 효과려 알려진 다당체의 함량과 PPD 계열 사포닌 함량을 높인 홍삼추출물이다. 인플루엔자 억제 마우스 전임상실험에서 홍삼추출물 10 mg/kg 을 생쥐(BALB/cmice, 6-8 weeks old)에 H1N1 influenza A virus 로 처리 후 15 일 간 경구 투여 후 관찰한 결과 대조군 20% 생존율에 비해 홍삼추출물 투여군 생존율이 80% 로 유지함을 확인하였고, 체중감소율도 25% 이상 경감시키는 효과가 보였다<sup>9)</sup>. 본 실험을 근거로 하여 인체적용시험의 투여용량을 외삽공식에 따른 인체에서의 투여 용량은 다음 공식에 의거 48.6 mg 과 같다.

$$\begin{aligned} & \text{비임상시험 최소유효농도} \times \text{외삽공식 standard} \times \text{성인 평균체중} \\ & = 10 \text{ mg/kg mice/day} \times 0.081 \times 60 \text{ kg/human/day} \\ & = 48.6 \text{ mg/60 kg human/day} \end{aligned}$$

그러나, GS-3K8 은 의약품이 아니라 식품으로서 인상의 하루 복용량 1 ~3 g 을 적용하고, 한외여과를 통하여 정제한 것을 감안하여 하루 복용량을 972 mg/day 로 결정하여 인체적용시험투여용량으로 결정하였다.

##### 2) GINst15

인삼은 의약품이 아니라 식품이다. 따라서 의약품처럼 용법과 용량을 정하지 않는다. 체내 섭취량(흡수량)은 사람마다, 몸 상태에 따라 다르므로 일률적으로 정하기도 어렵다. 다만 아무리 좋은 약이라도 지나치게 많이 먹으면 역효과가 날수 있고, 일정량을 넘으면 영양분이 체내에 흡수되지 않아 낭비이다. '대한약전'에는 정확한 복용량 기준이 명기되어 있지 않지만 생약규격집 해설에 따르면 하루 인삼 1.5~10 g, 많을 경우 30 g까지 복용한다고 되어있다.

‘동의보감’ ‘방약합편’ ‘의문보감’ ‘제중신론’ 등 조선시대 한방의서에 수록된 인삼 함유 처방 가운데 인삼의 평균 배합량 분포는 1첩 기준 9-10일분으로 3-4g이므로 하루에 두 첩을 복용할 경우 인삼 복용량은 6-8g이 된다. 또한 ‘동의보감’에서는 원기가 약해 기력이 없는 경우 인삼 달인 물을 하루에 5-6술 가락씩 복용한다고 되어 있는데, 한 술가락을 4g으로 하면 하루 양은 20-24g에 해당한다.

따라서 생약규격진 및 기성한약서, 여러 인체적용시험 결과 인플루엔자 예방 가능성을 나타낼 수 있는 GINst15 인삼추출물의 일일 적정섭취량은 500-4000 mg(일반 인삼으로서 1.0 g-8.0 g)으로 고려하였다. 또한 개별인정형 인삼가수분해 농축액(혈당 개선에 도움을 줄 수 있음)의 섭취량을 근거로 동일 용량에서 가능성이 나타날 것으로 예상하여 일일 960 mg 섭취량을 설정하였다. 실제로 인삼가수분해농축액 1 g은 인삼 2 g에 해당되는 용량이다.

#### 10.5. 스크리닝 번호와 연구대상자번호 부여방법

##### 1) 스크리닝번호 부여방법

인체적용시험에 참여하고자 서면 동의한 자원자에게 스크리닝 번호를 부여한다. 스크리닝 번호는 S001 로 시작하는 전체 네 자리, 숫자 세 자리로 구성되며, 동의서를 받은 순서대로 부여한다.

##### 2) 연구대상자 번호 부여방법

스크리닝 검사를 최종적으로 통과한 순서대로 무작위 배정하여 연구대상자 번호를 부여한다. 연구대상자번호는 GIN01 로 시작하는 전체 네 자리, 숫자 두 자리로 일정한 규칙을 갖는다. 연구대상자번호 숫자부분의 의미는 다음과 같다. ‘01’의 첫 번째 숫자와 두 번째 숫자는 참여한 연구대상자의 순서를 나타내며 01-99 까지 나타낼 수 있다. 각 연구대상자에게 부여된 연구대상자 번호는 인체적용시험이 끝날 때까지 연구대상자를 인식하는 연구대상자식별코드 (subject identification code) 로 사용된다.

#### 10.6. 약물요법

이상반응의 처치 등 필요한 경우에는 시험자의 판단에 따라 약물을 투여할 수 있다. 투여한 약물이 본 인체적용시험의 평가항목에 영향을 줄 수 있다고 예상되는 경우 이 연구대상자는 탈락하게 된다(12. 중지, 탈락기준 참조). 시험기간 중 시험자의 판단 없이 임의로 약물을 복용한 경우 해당 연구대상자는 탈락하게 된다. 투여한 모든 약물과 투여사유는 반드시 증례기록서에 입력하고 시험자가 서명한다.

#### 10.7. 주의사항

- 시험기간 중 타 인체적용시험에 참여하지 않는다.
- 시험기간 중 인지기능에 영향을 미칠 수 있는 약물 및 기능성식품은 섭취하지 않는다.

#### 10.8. 병용가능 약물

- 연구대상자가 본 인체적용시험에 참가하기 4 주 이전부터 복용하고 있던 약물 중 본 인체적용시험의 결과해석에 영향을 미치지 않을 것으로 판단되는 병용약물(제품)은 임상주의 판단 하에 허용한다.
- 연구대상자가 인플루엔자 또는 상기도 감염 증상이 있을 경우, 치료를 목적으로 사용되는 약제는 담당 의사와 상의를 통하여 병용 투여하기로 한다.
- 기타 질환 또는 이상반응의 치료를 목적으로 일과성으로 사용되는 약제는 담당 의사와 상의를 통하여 병용 투여하기로 한다.
- 연구책임자의 판단 없이 임의로 투약한 약물 또는 건강기능식품, 식품 등이 시험의 유효성 평가에 영향을 줄 수 있다고 예상되는 경우 이 연구대상자는 탈락하게 된다. 투여한 모든 제품 및 투여사유는 반드시 증례기록서에 입력하고 연구책임자가 서명한다.

#### 10.9. 병용금지 약물

다음의 약물은 시험기간 동안 병용투여를 금지한다.

- 인플루엔자 예방접종
- 면역억제제, 면역증진제, 한약 등
- 면역 관련 건강기능식품 및 식품(예: 홍삼, 인삼, 클로렐라 등)

연구책임자가 인정하지 않는 제제나 제품, 연구대상자의 다른 의학적 증상 치료를 담당하는 의사의 판단에 따라 인체적용시험 기간 중 연구대상자의 치료를 위해 병용금지 약물의 사용이 필요한 경우에 해당 연구대상자는 즉시 인체적용시험이 중단되어야 하며, 증례기록서의 해당 페이지에 관련 내용을 자세히 입력하여야 한다.

## 11. 관찰·임상검사항목과 관찰·임상검사방법

### 11.1. 관찰·임상검사항목

#### 1) 스크리닝 검사(-4 주, -28 ~ -1 일)

대상 연구대상자의 적합성 스크리닝 검사는 개별 연구대상자에 대하여 인체적용시험 수행일(0 일)로부터 4 주 이내에 시행하며, 다음 검사에 의해 임상적으로 유의한 이상이 있는 대상자는 제외한다.

- ① 서면동의서 취득
- ② 스크리닝 번호 부여
- ③ 인구학적 정보·병력 조사
- ④ 약물 투여력 조사
- ⑤ 흡연력, 음주력, 카페인 섭취력 조사
- ⑥ 신체검진
- ⑦ 활력징후 측정, 신체계측, 진단검사의학 검사, 심전도 검사, 임신반응 검사  
: 진단검사의학 검사와 심전도 검사는 스크리닝 전 최근 한달 이내의 검사 결과로 대체할 수 있다.
- ⑧ 유효성 평가

- 인플루엔자 의사증상 설문조사

⑨ 식이기록지 배부

2) 1 차방문 (0 주, 제 1 일)

- ① 연구대상자 선정/제외 기준 최종 평가 및 무작위 배정

- ② 의학적 상태 변화 조사

- ③ 약물 투여력 조사

- ④ 활력징후 측정

- ⑤ 유효성 평가

- 인플루엔자 의사증상 설문조사

- 백혈구 탐식능 변화 측정

- 싸이토카인(IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ ) 측정

- ⑥ 식이섭취 조사

- ⑦ 인체적용시험용제품 제공

3) 2 차방문 (6 주, 제 43 일)

- ① 반납제품 확인 및 순응도 조사

- ② 이상반응 조사

- ③ 약물 투여력 조사

- ④ 활력징후 측정

- ⑤ 유효성 평가

- 인플루엔자 의사증상 설문조사

- ⑥ 인체적용시험용제품 제공

- ⑦ 식이기록지 배부

4) 3 차방문 (12 주, 제 85 일)

- ① 반납제품 확인 및 순응도 조사
- ② 이상반응 조사
- ③ 흡연력, 음주력, 카페인 섭취력 조사
- ④ 신체검진
- ⑤ 활력징후 측정, 신체계측, 진단검사의학 검사, 심전도 검사, 임신반응 검사
- ⑥ 유효성 평가
  - 인플루엔자 의사증상 설문조사
  - 백혈구 탐식능 변화 측정
  - 싸이토카인(IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ ) 측정
- ⑦ 식이섭취 조사
- ⑧ 시험종료

5) 추적조사(12 주~18 주, 제 85 일~제 113 일)

- 인플루엔자 의사증상 설문조사(전화)

\* 인플루엔자 의사증상 설문조사는 방문일 외에도 매주 1 회 전화 인터뷰를 통해 실시한다. 또한 의사 증상을 보이는 자의 경우, 증상이 소실될 때까지 매일 전화 설문 조사를 실시한다.

\* 인플루엔자 바이러스 감염 확진 검사는 인플루엔자 의사 증상을 보이는 보이는 자를 대상으로 실시한다.

## 11.2. 관찰·임상검사방법

1) 연구대상자 동의서(Informed Consent Document) 취득

연구자는 인체적용시험 전반에 걸쳐 연구대상자가 가질 수 있는 질문에 대해 답변하고 연구대상자의 인체적용시험 참여 지속 의사에 중요할 수 있는 새로운

정보가 인수되는 대로 적절한 시한 내에 이를 공유하는 것을 포함하여 연구대상자가 인체적용시험 참여로 인한 위험 및 이익을 이해하도록 확인하는 책임이 있다. ICD 가 새로운 정보에 따라 갱신되는 경우 연구자는 ICD 를 사용하여 연구대상자의 인체적용시험 참여 지속 의사를 다시 한번 확인할 것이다. ICD 는 연구대상자가 인체적용시험에 참여하기 이전에 쉬운 용어를 사용하여 인체적용시험 참여에 따르는 위험 및 이익을 연구대상자에게 설명하기 위해 사용될 것이며, 연구대상자가 인체적용시험 참여에 따르는 위험 및 이익에 대해 만족할만큼 이해하고 인체적용시험에 참여하고자 하는지 문서화하기 위해 사용될 것이다.

연구자는 각 연구대상자가 제출한 연구대상자 동의서를 확인할 책임이 있다. 여기에는 모든 인체적용시험계획서 상의 절차수행 및 시험제품의 처방 이전에 적절한 서명 및 날짜가 기재되어야 하는 절이 포함된다.

#### 2) 인구학적 정보, 흡연력, 음주력 조사

연구대상자의 신분증을 통하여 성명, 성별, 연령 등 인구학적 정보를 확인한다. 연령은 만 나이로 기록한다. 만약 연구대상자의 실제 상황과 신분증의 기록이 다를 경우(예, 출산신고를 잘못하여 연령에 차이를 보이는 경우) 연구대상자의 실제 정보를 기록하고 그 내용을 근거문서에 기록한다. 연구대상자에게 흡연, 음주, 카페인 섭취 여부를 확인한다.

#### 3) 병력 및 약물투여력 조사

연구대상자가 동의서에 서명한 시점에서 3 년 이내에 가지고 있는 과거 병력을 기록한다. 인체적용시험기간 동안 질환이 처음으로 발생하거나 병발질환이 시험기간 동안 악화된 경우에는 이상반응으로 간주하고 기록한다.

모든 병용약물의 일반명, 용량, 용법, 투여기간 등을 상세히 기록한다.

#### 4) 신체검진

신체검진은 문진, 시진, 청진, 타진, 촉진 등을 수행한다. 연구대상자가 오한을

느끼지 않도록 수행장소가 적절한 온도를 유지하도록 한다. 연구대상자와의 면담을 통해 병용약물 등을 확인한다.

5) 활력징후

활력징후는 좌위 혈압, 맥박수 항목을 측정한다. 혈압은 연구대상자의 팔이 심장의 높이에 위치하도록 하여 측정하며, 단위는 mmHg 이고 정수로 표기한다. 급격한 체위변동 없이 5 분 이상 좌위 자세를 유지한 상태에서 혈압, 맥박수를 측정한다.

활력징후 측정시기가 채혈시기와 일치할 경우, 가급적 활력징후를 먼저 측정한 후 채혈을 하도록 한다. 불가피하게 활력징후를 채혈 후 실시할 경우, 가급적 5 분 이상의 간격을 두고 활력징후를 측정하도록 한다.

6) 신체계측

스크리닝, 3 차방문 시 동일한 신장계와 체중계를 이용하여 신장과 체중을 측정한다. 신장의 단위는 cm 로 소수점 첫째 자리에서 반올림하여 정수로 표기하며 3 차방문 시의 신장은 스크리닝 측정치로 대신한다. 체중은 단위를 kg 으로 하며, 소수점 첫째 자리까지 표기한다.

7) 심전도

연구대상자가 양와위로 5 분 이상 안정을 취한 후 수행한다.

심전계의 감도 1 (10 mm/Mv), 기록지 이동속도 25 mm/sec, 필터 off 등의 표준측정조건으로 기록한다.

8) 진단검사의학 검사

원칙적으로 12 시간 공복을 유지한 상태에서 실시한다. 그러나 시험자의 판단에 따라 식후 시행할 수도 있다. 상완정맥 등 정맥에서 채혈하여 진단검사의학에서 다음 항목을 측정한다.



- 일반혈액검사: WBC, RBC, Hb, Hct, Platelets
- 혈액화학검사: ALP, GGT, AST, ALT, total bilirubin, total protein, albumin, BUN, creatinine, total cholesterol, triglyceride, glucose, CK
- 뇨 검사: Specific gravity, pH, nitrite, protein, ketone, glucose, bilirubin, urobilinogen, microscopy(RBC, WBC)

#### 9) 유효성 평가항목

##### (1) 인플루엔자 바이러스 감염 확진 검사

연구대상자는 인플루엔자 의사증상이 나타날 경우, 즉시 연구자에게 전화를 통해 보고하고 72 시간 이내에 센터에 방문하여 시험책임자(공동연구책임자)로부터 진단을 받는다. 인플루엔자 의사환자로 진단한 연구대상자에서 인후도말을 실시하여 얻은 샘플을 위탁기관에 의뢰하여 확진 검사를 실시한다.

##### (2) 인플루엔자 감염 의사증상에 의한 임상적 진단

CDC 진단기준에 의하여 인플루엔자 의사환자는 발열(37.8 ℃)과 더불어 인후통 또는 기침 증상을 보이는 자로 정의한다<sup>12)</sup>.

##### (3) 인플루엔자 의사증상 설문조사

스크리닝을 포함한 매 방문일과 매주 1 회 전화 인터뷰를 통해 인플루엔자 의사 유무, 증상, 지속기간 등의 문항으로 구성된 설문조사를 실시한다. 다만 연구대상자 등록 정해진 전화 인터뷰 일정보다 앞서 인플루엔자 의사 증상이 발생하면 연구대상자가 연구담당자에게 자발적으로 발생사실을 전화를 통해 보고하도록 교육하며, 보고 이후 증상이 소실될 때까지 매일 증상 설문조사를 실시한다.

설문조사 문항은 인후통, 콧물, 코막힘, 재채기, 쉼 목소리, 근육통, 이통, 발열, 두통, 기침 10 문항으로 4 점 척도로 이루어져 있다.

<별첨 1> 인플루엔자 증상 설문지

##### (4) 백혈구 탐식능

전혈 2 ml 이상을 채혈하여 분석한다.

(5) 싸이토카인

전혈 4 ml 이상을 채혈 후 1 시간 이내에 3000 rpm (or 1000 x g)에서 15 분 원심분리한다. 분리된 혈청 2 ml 를 separator 에 옮겨 냉동 (-70℃) 보관 후 IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$  항목에 대하여 위탁 기관에 분석 의뢰한다.

10) 이상반응모니터링 (Adverse events)

이상반응을 알아내기 위해 연구대상자의 자발적인 보고뿐 만 아니라, 연구대상자에게 “기분이 어떠십니까?” 등 원하는 대답을 유도하지 않는 방식의 질문을 하도록 한다. 이상반응의 출현시기, 지속시간, 중증도, 결과 및 인과관계에 대하여 상세히 기록한다.

11) 병용약물 (Concomitant medication)

모든 병용약물의 일반명, 용량, 용법, 투여기간 등을 상세히 기록한다.

12) 순응도 (Compliance)

연구대상자가 43, 85 일에 반납한 제품의 수량을 계수하여 각 방문 별 순응도를 계산한다. 예를 들어 0-6 주간 순응도는 다음과 같이 산출한다.

$$\text{순응도 (\%)} = \frac{B-C}{A} \times 100$$

\* A=연구대상자가 섭취해야 하는 양, B=총 처방량, C=연구대상자가 반납한 개수

순응도가 100%를 초과할 경우, 100%로 간주한다.

각 방문 별로 순응도를 계산하여 순응도 평균치가 70% 이상이어야 하며, 이를 만족하지 못할 경우 분석에서 제외할 수 있다.

13) 식이섭취 조사

연구대상자는 1 차, 3 차 방문 시 24 시간 회상법에 따라 방문 전 날 섭취한

음식물을 가능한 모두 기록한다. 시험자는 식이기록지를 회수하여 식이섭취 분석을 시행한다.

<별첨 2> 식이섭취기록지

### 11.3. 채혈량

(단위: mL)

항목	1 회 채혈량	Screening	0 주	6 주	12 주
진단검사의학검사	5	5	-	-	5
백혈구 증식능	2	-	2	-	2
싸이토카인	4	-	4	-	4
방문 별 채혈량	-	5	-	-	9

### 11.4. 샘플과 자료의 보관 및 폐기

#### 1) 샘플 보관 및 폐기

본 인체적용시험에서 수집된 연구대상자의 샘플은 각 분석 기관에서 분석 종료 후 폐기하며 별도의 보관 기간을 두지 않는다.

#### 2) 자료 보관 및 폐기

본 인체적용시험에서 수집된 자료는 시험 종료일로부터 3 년 동안 보관 후 폐기한다.

## 12. 예측 부작용 및 사용상의 주의사항

인삼은 식품의약품안전처 고시형 건강기능식품으로 널리 사용되고 있으므로 인체적용시험용제품 섭취는 안전할 것이라 판단한다. 다만 사람에 따라 두통, 불면, 가슴 두근거림, 혈압상승의 부작용이 나타날 수 있으며 딸이 나지 않고 배변이 불편하고 열이 많은 사람이나, 열증 등으로 인한 고열이 있을 때에는 일반적으로 인삼을 기피하도록 하고 수축기 혈압 180 mmHg 이상의 고혈압이 있는 경우

인상의 섭취를 금하는 것을 권장하고 있다.

또한 인체적용시험용제품을 구성하고 있는 재료에 대해 알러지(allergy)가 있는 경우 피부증상(피부 가려움, 두드러기, 습진, 피부 발적 등), 위장증상(구역, 구토, 복통과 설사), 호흡기증상(재채기, 콧물, 호흡곤란 등) 등을 보일 수 있다. 심한 경우 아나필락시스 쇼크가 발생할 수도 있다.

만약 인체적용시험 진행 중 안전성 등에 관한 새로운 정보가 수집되면 적시에 연구대상자 또는 대리인에게 정보를 제공할 것이며, 인체적용시험 시작 전 (스크리닝 방문)에 본 제품 또는 유사 제품에 위와 같은 부작용 및 알러지가 있는 자원은 인체적용시험 참여가 금지된다. 또한 인체적용시험 진행 중 알러지가 발병할 경우 해당 연구대상자는 즉시 중단하고 인체적용시험에서 탈락된다.

### 13. 중지, 탈락기준

#### 13.1. 인체적용시험용제품 섭취의 일시적 중지

시험자는 제품과 관련이 있을 것으로 의심되는 이상반응으로 인하여 인체적용시험용제품의 일시적인 섭취 중지를 고려할 수 있다. 시험자가 이상반응 발생이 인체적용시험용제품으로 인하여 발생할 가능성이 적다고 의학적으로 판단하고 인체적용시험의 선정/제외 기준에 아직 부합되는 경우, 면밀하고 적절한 모니터링 하에 인체적용시험용제품의 섭취가 재개된다. 모든 일시적 복용 중지에 관한 내용은 증례기록서에 날짜, 기간, 중지사유 등을 입력한다.

#### 13.2. 인체적용시험용제품 섭취의 중지

연구대상자는 본인의 결정 또는 시험자의 결정에 따라 언제든지 인체적용시험용제품 섭취를 중지할 수 있다. 복용 중지에 관한 내용은 증례기록서에 날짜 등을 입력하고, 가급적 중지사유를 입력하도록 한다.

연구대상자의 인체적용시험용제품 섭취를 중지하는 조건은 다음과 같다.

- ① 연구대상자가 인체적용시험용제품 섭취를 원치 않는 경우
- ② 인체적용시험용제품의 지속적인 섭취가 연구대상자의 복지에 해가 될 것으로 시험자가 판단한 경우
- ③ 연구대상자가 인체적용시험용제품 섭취 중단이 요구되는 질환이 병발한 경우

(예, 진단검사의학검사 이상 등)

- ④ 의뢰자의 별도의 요청이 있을 경우

### 13.3. 탈락기준

‘등록’은 시험에 참여한 (즉, 연구대상자 동의서에 서명한) 연구대상자가 선정/제외기준에 적합하여 무작위배정 (연구대상자 번호 부여)을 받은 것을 말한다. 등록된 연구대상자가 시험을 완료하지 않은 것을 ‘탈락’이라고 한다. 연구대상자의 탈락은 시험기간 중 어느 시점에서나 판정할 수 있으며, 다음의 한 경우에 해당하는 연구대상자를 탈락으로 처리하고 탈락된 시점에서 탈락한 날짜와 탈락사유를 증례기록서에 입력한다. 탈락사유를 입력하기 어려운 경우(예, 연구대상자가 원치 않는 경우, 연락두절 등), 탈락사유를 입력하지 않을 수 있다.

- ① 연구대상자가 인체적용시험용제품의 평가항목에 영향을 줄 것으로 예상되는 건강기능식품 및 음식을 장기간 임의로 섭취한 경우
- ② 연구대상자가 인체적용시험용제품의 평가항목에 영향을 줄 것으로 예상되는 약물을 장기간 복용한 경우
- ③ 연구대상자의 인체적용시험용제품 복용을 중지한 경우
- ④ 연구대상자가 시험참여 동의를 철회하는 경우
- ⑤ 연구대상자가 인체적용시험용제품에 알려지가 있는 경우
- ⑥ 중대한 이상반응이 발생한 경우
- ⑦ 연구대상자가 예정된 방문일정을 따르지 않고 연락 두절된 경우
- ⑧ 기타 다른 사유로 인하여 시험자가 시험을 중지하여야 한다고 판단한 경우

### 13.4. 인체적용시험의 중지

인체적용시험을 일부 혹은 전부를 중지하는 조건은 다음과 같다.

- ① 시험책임자는 인체적용시험 과정에서 관찰된 결과에 비추어 인체적용시험을 지속하는 것이 현명하지 않다고 판단될 경우, 의뢰자와 협의하여 시험의 일부 혹은 전부를 중지시킬 수 있다.

- ② 시험책임자는 인체적용시험 중 연구대상자에게 인체적용시험을 계속할 수 없는 중대한 사유가 발생하고 긴급을 요한다고 판단되는 경우, 의뢰자와의 협의 없이도 인체적용시험의 일부 또는 전부를 중지시킬 수 있다.
- ③ 의뢰자는 안전성 혹은 관리상의 이유로 인체적용시험의 일부 혹은 전부를 중지시킬 수 있다.

인체적용시험이 조기 종료 또는 일시 중지된 경우 시험자는 연구대상자에게 이 사실을 즉시 알리고 적절한 조치와 추적 관찰이 이루어 질 수 있도록 하여야 한다. 또한 중지된 시점까지의 진행된 연구대상자에 대한 증례기록서, 연구대상자 일지, 인체적용시험 진행현황 및 결과를 정리하여 의뢰자에게 전달하며, 모든 시험관련 자료(완성, 미완성 혹은 미 기재된 증례기록서 등)를 의뢰자에게 반납하여야 한다.

인체적용시험이 중지된 경우 이를 심사위원회(IRB)에 보고하고, 심사위원회의 결정에 따라 전체 인체적용시험 일정을 중단할 수 있다.

### 13.5. 시험 완료

본 인체적용시험의 완료는 계획서에 명시된 선정/제외기준에 적합한 연구대상자가 전 시험과정과 모든 방문을 완료한 경우를 말한다.

### 13.6. 연구대상자의 대체

연구대상자 선정 후 시험 진행 과정 중 탈락자를 재등록 하지 않음.

## 14. 효과 평가기준, 평가방법 및 해석방법(통계분석방법)

연구결과의 내적 타당성(internal validity)과 외적 타당성(external validity)을 확보하기 위하여 일반적으로 적용되는 연구방법론(research methods)과 통계방법론(statistical methods)의 원칙을 준용한다. 탈락 등으로 인한 결과의 비뮴림(bias)을 통제하기 위하여 계획서 위반여부에 따라 safety, intention-to-treatment (ITT) 와 Per-Protocol (PP) 분석기법을 적용한다. 이때 계획서 위반은 특정 결론에 영향을 미칠 가능성이 있는 경우를 의미하며, 사소한 위반(minor violation)은 이에 해당하지

않는다. 예를 들어 안전성 평가를 위한 변수인 진단검사의학검사가 실시되지 않은 증례의 경우 유효성평가에 포함하게 된다.

#### 14.1. 인구학적 정보

##### 1) 평가 대상

인체적용시험에 참여하여 최소한 1 회 이상 인체적용시험용제품을 섭취한 연구대상자 (safety)를 대상으로 인구학적 정보를 분석한다.

##### 2) 평가 항목

연령, 신장, 체중 등의 인구학적 정보

#### 14.2. 유효성평가

##### 1) 평가 대상

(1) 인체적용시험용제품 섭취 후, 최소한 1 회 이상 주 평가변수에 대한 측정이 이루어진 연구대상자(intention-to-treatment)를 유효성 평가 대상으로 선정하며, 필요할 경우 본 인체적용시험에 참여하여 일정을 모두 완료한 연구대상자(per-protocol)를 대상으로 추가 분석할 수 있다.

(2) 연구책임자의 판단에 따라 비정상적으로 높은 수치에 대해서는 분석대상에서 제외시키는 것을 원칙으로 한다.

##### 2) 평가 항목

###### ① 1차 유효성 평가 항목

- 인플루엔자 바이러스 감염 확진검사에 의한 인플루엔자 감염 환자 발생률
- 인플루엔자 감염 임상적 진단에 의한 인플루엔자 의사 환자 발생률

\*인플루엔자 의사환자: 발열(37.8 ℃)과 더불어 인후통 또는 기침 증상을 보이는 자

② 2 차 유효성 평가 항목

- 인플루엔자 감염 확진 환자 및 의사 환자의 증상 점수 변화
- 인플루엔자 감염 확진 환자 및 의사 환자의 회복기간
- 맥할구 탐식능 변화
- 싸이토카인(IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ )의 변화

### 14.3. 안전성평가

1) 평가 대상

인체적용시험용제품 섭취 후, 최소한 1 회 이상 주 평가변수에 대한 측정이 이루어진 연구대상자(intention-to-treatment)를 안전성 평가 대상으로 선정한다.

2) 평가 항목

- ③ 자 - 타각 증상 등 이상반응
- ④ 신체검진
- ⑤ 진단검사의학 검사
- ⑥ 심전도 및 활력징후

### 14.4. 통계분석방법

시험의 성격상 반드시 통계적 가설검정이 요구되는 것은 아니지만, 평가 결과에 대해 시험자의 판단으로 필요한 경우 SAS, SPSS® 또는 S-plus 등 통계소프트웨어를 사용하여 다음과 같은 방법으로 통계분석을 시행한다.

- 인구학적 자료는 기술통계학적 분석을 시행한다.  
GS-3K8 군, GINst15 군, 위약군 간 동질성 결정은 각 항목에 따라 Chi-square test 또는 Fisher's exact test 와 one-way ANOVA 또는 Kruskal-Wallis test 를 이용하여 실시한다.



- GS-3K8 군, GINst15 군, 위약군 간 유효성 평가항목 기저치 값의 동질성 검정은 one-way ANOVA 또는 Kruskal-Wallis test 를 이용하여 실시한다.
- 12 주간 인체적용시험용 제품을 섭취한 후 인플루엔자 감염 환자 발생률과 증상을 '섭취기간 중' 및 '섭취 중단 후 8 주' 간 평가한다. 이 때 최초 관찰일로부터 증상 발생 또는 관찰 종료일까지의 기간(day)을 '관찰기간'으로 하고, 인플루엔자 감염 및 관련 증상을 'event'로 정의하여 Kaplan-Meier method 를 이용하여 누적 발생률을 추정한다. 추정된 발생률은 Cox 의 proportional hazard model 또는 Poisson regression model 을 이용한 다변량 분석을 실시하여 시험군 간 비교한다.
- 안전성 평가를 위해 이상반응의 발생 양상을 Chi-square test 또는 Fisher's exact test 를 이용하여 검정한다.  
진단검사의학검사, 활력징후 등은 시험군 내 변화를 paired t-test 또는 repeated measured ANOVA 또는 linear mixed-effects model 을 이용하여 검정한다. 시험군 간의 차이는 각 항목의 변화량을 계산하여 one-way ANOVA 를 이용하거나 Kruskal-Wallis test 를 이용하여 검정한다.
- 동질성 검정의 유의수준은 10% 이하, 유효성 및 안전성 평가항목의 유의수준은 5% 이하로 설정한다.

## 15. 부작용을 포함한 안전성의 평가기준, 평가방법 및 보고방법

### 15.1. 이상반응 및 중대한 이상반응의 정의

#### (1) 이상반응(Adverse Event, AE)

인체적용시험용제품을 섭취한 연구대상자에서 발생한, 바람직하지 않고 의도되지 않은 증후(sign, 예: 실험실적 검사치의 이상), 증상(symptom), 질병을 말하며, 해당 인체적용시험용제품과 반드시 인과관계를 가져야 하는 것은 아니다.

#### (2) 중대한 이상반응(Serious AE)

인체적용시험에 사용되는 일의의 제품에서 발생한 이상반응 중에서 다음 각목의 어느 하나에 해당하는 경우를 말한다.

- ① 사망을 초래하거나 생명을 위협하는 경우
- ② 입원 또는 입원 기간의 연장이 필요한 경우
- ③ 지속적 또는 의미 있는 불구나 기능 저하를 초래하는 경우
- ④ 선천적 기형 또는 이상을 초래하는 경우
- ⑤ 기타 의학적으로 중요한 상황

"중대함(serious)"과 "심함(severe)"은 동의어가 아니다. "심함(severe)"이라 함은 특정한 반응의 강도를 설명하기 위하여 사용되는 것이며 (예: 경증, 중증 등, 또는 중증의 심근경색증), 이 반응 자체는 의학적 중요도가 비교적 경미할 수 있다 (예: 심한 두통). "중대함(serious)"은 심함과는 다른 뜻으로, 이상반응의 결과 또는 취해진 조치가 보통 환자의 생명이나 기능을 위협하는 사건과 관련이 있다.

## 15.2. 이상반응의 기록

시험자는 인체적용시험 중 발생한 모든 이상반응을 기록하여야 한다. 이상반응은 시험자가 관찰하거나, 연구대상자가 보고한 증상 및 증후에 대한 용어를 기록한다.

시험 시작 전에 연구대상자에게 나타났던 증상 및 증후는 연구대상자의 증례기록서의 "질병/수술 기왕력 (Medical/Surgical History)" 기록 양식에 입력한다. 동의서 취득 후 발생한 모든 이상반응은 시험제품과의 관련성과 관계없이 증례기록서의 이상반응 기록지에 입력한다.

인체적용시험 도중 나타나는 중대한 이상반응은 시험제품과의 관련성에 관계없이 의뢰자에게 보고하여야 한다.

이상반응은 시험자가 평가한다. 증례기록서에는 이상반응의 증상 및 증후, 발현 날짜 및 시간(가능한 경우), 중증도(Severity), 경과(Course: 즉 지속적 또는 간헐적), 결과(Outcome), 경중(Seriousness), 인과관계(Relationship), 취해진 조치 등을 입력하여야 한다.

이전에 증례기록서에 입력된 적이 있고, 결과 (Outcome)항목에 '이상반응 지속' 이라고 표시된 이상반응은 필요한 경우 이후 방문에서 검토되어야 한다. 이상반응이 해결된 경우에는 증례기록서의 입력이 완성되어야 한다. 만약

시험기간 중에 이상반응의 빈도 및 중증도(Severity)가 증가한다면, 새롭게 이상반응 기록지에 입력을 시작한다.

### 15.3. 이상반응의 중증도 및 임상약과의 인과관계 평가

#### 1) 이상반응의 중증도 평가

- (1) 경증(Mild): 연구대상자의 정상적인 일상생활(또는 기능)을 방해하지 않고, 최소한의 불편을 야기하며, 연구대상자가 쉽게 견딜 수 있는 경우
- (2) 중등증(Moderate): 연구대상자의 정상적인 일상생활(또는 기능)을 유의하게 방해하는 불편을 야기하는 경우. 연구대상자가 시험을 계속 할 수는 있으나 치료가 필요할 수도 있는 정도
- (3) 중증(Severe): 연구대상자의 정상적인 일상생활(또는 기능)을 불가능하게 하는 경우. 시험의 지속적인 참여가 불가능한 정도. 치료나 인원이 필요할 수 있는 정도

#### 2) 이상반응의 인과 관계 평가

##### (1) 확실함(Certain)

- ① 제품의 섭취와 이상반응 발현의 전후 관계가 타당한 경우
- ② 이상반응이 다른 의약품이나 화학물질 또는 수반하는 질환으로 설명되지 않는 경우
- ③ 섭취 중단 시 임상적으로 타당한 반응을 보이는 경우
- ④ 재섭취 시(가능한 경우에만 실시) 약물학적 또는 현상학적으로 결정적인 경우

##### (2) 상당히 확실함(Probable/Likely)

- ① 제품의 섭취와 이상반응 발현의 시간적 관계가 합당한 경우
- ② 이상반응이 다른 의약품이나 화학물질 또는 수반하는 질환에 의한 것으로 보이지 않는 경우
- ③ 섭취 중단 시 임상적으로 합당한 반응을 보이는 경우

- ④ 재섭취 정보는 없는 경우
  - (3) 가능함(Possible)
    - ① 제품의 섭취와 이상반응 발현의 시간적 관계가 합당한 경우
    - ② 이상반응이 다른 의약품이나 화학물질 또는 수반하는 질환에 의한 것으로도 설명되는 경우
    - ③ 섭취 중단에 관한 정보가 부족하거나 불명확한 경우
  - (4) 가능성 적음(Unlikely)
    - ① 제품의 섭취와 이상반응 발현에 인과관계가 있을 것 같지 않은 일시적 사례인 경우
    - ② 이상반응이 다른 의약품이나 화학물질 또는 잠재된 질환에 의한 것으로도 타당한 설명이 가능한 경우
  - (5) 없음(None)
    - ① 제품을 섭취하지 않은 상태에서 이상반응이 발생한 경우
    - ② 제품 섭취 전 발생한 이상반응이 섭취 후 악화되지 않은 경우
  - (6) 평가 곤란(Conditional / Unclassified)
    - ① 적절한 평가를 위해 더 많은 자료가 필요하거나 추가 자료를 검토 중인 경우
  - (7) 평가 불가(Unassessible / Unclassifiable)
    - ① 정보가 불충분하거나 상충되어 판단할 수 없고 이를 보완하거나 확인할 수 없는 경우
- 3) 이상반응과 관련해서 취해진 조치
- (1) 0 = 취해진 조치 없음(No action taken)
  - (2) 1 = 제품의 일시적 섭취 중단(Study foods temporarily interrupted)
  - (3) 2 = 제품의 섭취 중단(Study foods permanently discontinued)
  - (4) 3 = 치료약물 병용 투여(Concomitant medication taken)

(5) 4 = 비약물치료(Non-drug therapy given)

(6) 5 = 입원/입원 기간의 연장(Hospitalization / Prolonged hospitalization)

#### 15.4. 중대한 이상반응의 보고

시험책임자는 즉시 보고하지 않아도 된다고 명기한 것을 제외한 모든 중대한 이상반응을 즉시 의뢰자에게 알려야 하고, 72 시간 이내에 문서로 상세한 내용이 포함된 추가 보고를 하여야 한다. 또한 심사위원회에서 정한 기간 이내에 심사위원회에게 상세한 내용이 포함된 문서로 보고한다.

#### 15.5. 이상반응의 추적 관찰

시험자는 이상반응이 나타난 연구대상자에 대해 증상이 소실되거나, 비정상적 진단검사의학검사수치가 참고치 범위 내로 회복, 혹은 관찰된 변화에 대해 의학적으로 충분한 설명이 될 때까지 추적 관찰하여야 한다. 또한 이상반응의 진행 경과에 대하여 의뢰자에게 보고하여야 한다.

#### 16. 연구대상자 동의서 양식

<별첨 3> 연구대상자 동의서 및 동의설명서

<별첨 4> 연구대상자 모집 공고

#### 17. 연구대상자 보상에 대한 규약

<별첨 5> 연구대상자 보상에 대한 규약

#### 18. 인체적용시험 후 연구대상자의 진료 및 치료기준

본 인체적용시험은 85 일 동안의 일정을 마친 후 별도의 방문 일정 없이 시험을 종료한다. 인체적용시험 종료 일주일 이내에 연구대상자에게 인체적용시험 참여로 인한 이상반응 발생시 시험자는 필요한 검사 및 치료를 받을 수 있도록 하며, 증상이 소실될 때까지 추적조사 하도록 한다.

## 19. 연구대상자의 안전보호에 관한 대책

이상반응 발생시, 연구대상자의 안전 보호 측면에서 행해진 조치내용 (인체적용시험 중단, 조기 종료 등 포함), 이상반응 검사 방법 등을 기술한다. 인체적용시험 중 중대한 이상반응 발생시 시험책임자, 시험담당자, 심사위원회, 의뢰자의 임무는 다음과 같다.

- 시험책임자의 임무

즉시 보고하지 않아도 된다고 명기한 것을 제외한 모든 중대한 이상반응을 즉시 의뢰자에게 알려야 하고, 72 시간 이내에 문서로 상세한 내용이 포함된 추가 보고를 하여야 한다. 이 경우 즉시 및 상세 보고에는 연구대상자의 신원을 보호하기 위하여 연구대상자의 성명, 주민등록번호 및 주소를 기재하는 대신 연구대상자식별코드를 사용하여야 한다.

- 시험담당자의 임무

시험담당자는 계획서에 명시된 예측 부작용 및 사용상의 주의사항 등에 대하여 사전에 숙지하고 인체적용시험 실시 중 중대한 이상반응 등이 발생한 경우에는 즉시 시험책임자 및 의뢰자에게 보고해야 한다.

- 심사위원회의 임무

심사위원회는 중대한 이상반응이 나타난 경우에는 인체적용시험의 일부 또는 전부에 대하여 중지 명령 등 필요한 조치를 인체적용시험책임자에게 할 수 있다.

- 의뢰자의 임무

의뢰자는 인체적용시험에 사용되는 제품의 안전성에 대한 평가를 지속적으로 실시하여야 한다.

## 20. 그 밖에 인체적용시험을 안전하게 과학적으로 실시하기 위하여 필요한 사항

본 인체적용시험은 헬싱키 선언에 입각하여 연구대상자의 권리와 복지를 염두에 두고 준비된 것으로, 시험책임자 또는 시험담당자는 본 시험의 목적 및 모든 가능성에 대해 자원자에게 설명하고, 자원자가 자발적으로 인체적용시험참여동의서에 서명 또는 날인한 경우 연구대상자로 선정할 수 있다.

모든 시험자 및 참여 연구진은 계획서를 숙지하여야 한다. 시험책임자는 중대한 이상반응 등의 출현에 대한 대처와 필요한 보고, 시험참여 연구진에 대한 충분한 교육 등 사전 조치를 취한다.

인체적용시험의 진행 및 관련 기록의 보관 등은 ICH-GCP 에 준하여 수행한다.

### 20.1. 실시기관

인체적용시험의 실시에 필요한 설비와 전문인력을 갖추고, 해당 인체적용시험을 적절하게 실시할 수 있도록 준비에 완전을 기하여야 한다.

### 20.2. 계획서의 변경

시험계획서의 변경/수정 사항은 심사위원회 등의 승인을 받은 후 적용하도록 한다.

### 20.3. 점검 및 실태조사

본 인체적용시험이 계획서, 표준작업지침서를 준수하여 수행되었는지를 확인하고, 점검을 통해 확인된 미준수, 오류 등의 문제나 미비사항이 있을 시 적절한 조치를 통해 보완한다.

시험 종료 후 적절한 시기에 점검에 대하여 시험책임자 및 담당자는 의뢰자의 요구사항에 응하여 인체적용시험결과와 신뢰성에 대해 평가를 받는다. 또한 식품의약품안전처의 요구가 있을 시 이에 응하여 실태조사를 받아 신뢰성에 대해 평가를 받는다.

### 20.4. 자료의 보관 및 열람

시험기관의 실시기관의 장, 위원회의 위원장, 시험책임자는 계약서, 심사위원회의 심사에 관한 기록 및 자료, 계획서, 연구대상자 동의서 및 인체적용시험 실시와 관련된 각종 자료를 3 년간 보존하여야 한다. 다만, 의뢰자가 3 년 이상의 보존을 요청하고 시험기관의 장이 이에 합의한 경우 시험기관의 장은 그 보존기관을

연장하여야 하며, 더 이상 자료의 보존이 필요 없다고 의뢰자가 판단한 경우 의뢰자는 반드시 이 사실을 문서로 시험기관의 장에게 알려야 한다.

시험책임자는 기본문서 및 인체적용시험 관련 문서를 보존하여야 하며, 이들 문서가 사고 등에 의해 조기에 파손 또는 분실되지 않도록 하여야 한다. 시험책임자는 식품의약품안전처 또는 의뢰자의 요청 시 연구대상자의 비밀보장조건 하에서 관련 서류를 제공하거나 열람할 수 있도록 하여야 한다.

## 20.5. 자료의 기록 및 관리

본 인체적용시험의 자료관리는 최신의 전북대학교병원 기능성식품일상시험지원센터 표준작업지침서에 따라 시행한다. 본 계획서와 표준작업지침에 명시되지 않은 사항에 대하여는 ICH-GCP 에 따라 시행한다.

### 1) 증례기록서 작성 및 근거문서 확인(Source document verification)

증례기록서는 자료처리의 편의성을 위하여 데이터베이스 시스템(MEBICA®)을 사용하며, 입력해야 할 자료가 발생할 때 즉시 입력한다. 만약 증례 종료 시까지 기록되지 않은 경우 적절한 누락사유를 입력하여야 한다.

인체적용시험 수행을 통해 얻게 되는 모든 자료의 수정사항은 먼저의 기록이 보이도록 한 줄로 그어 표시한 후 수정자료, 수정자, 수정사유, 수정일을 기록한다. 먼저의 기록이 보이지 않도록 하는 수정액 등을 사용하여서는 안 된다. 전자문서의 경우 원본자료, 수정자, 수정사유, 수정일 등이 자료로 보관되어야 한다.

### 2) 자료 입력(Data entry) 및 검증(Data validation)

연구자가 설정한 항목에 따라 연구대상자 정보를 컴퓨터에 전자증례기록서에 입력해 DB 를 구성하고, 입력 및 모니터링 과정을 통해 검증한다.

### 3) 보고용 데이터베이스(Reporting database)



자료의 검증이 끝나고 발견된 오류(error)를 모두 정정하여 데이터베이스가 cleaning 되었다고 판단되면, 시험책임자의 최종 확인 후 데이터베이스 잠금(locking)을 실시한다. 잠금 암호는 시험책임자와 자료보관담당자만 알 수 있게 한다. 그리고 해당 자료를 전자메일이나 이동식 저장매체에 파일 형태로 시험자 측에 전달한다. 시험자는 이러한 자료를 근거로 해석을 실시한다.

#### 4) 증례기록서 (또는 전자증례기록서)의 보관(Archiving)

전산 입력된 후에도 관련 정부기관, 심사위원회 등의 요구에 의해 확인될 수 있도록 근거문서(source document)와 증례기록서 및 전자증례기록서 데이터베이스 자료를 보관한다. 인체적용시험이 종료되면 기능성식품일상시험지원센터 전산시스템 전체 백업(backup) 과정과는 별도로 해당 인체적용시험만의 자료를 CD, DVD 등 저장매체에 파일로 보관한다.

## 20.6. 연구대상자의 신분 기밀 보장

모든 연구대상자명에 대하여는 비밀을 유지해야 한다. 서명을 받은 연구대상자 동의서는 전북대학교병원 기능성식품일상시험지원센터 또는 시험책임자가 보관한다. 시험자는 연구대상자 번호 및 연구대상자 명이 기록된 리스트를 작성하여 차후 기록을 찾는 데 도움이 되도록 한다.

## 20.7. 비밀 유지 및 시험결과의 공표

인체적용시험으로부터 얻은 모든 정보는 의뢰자의 독점적인 지적 재산이므로 시험자나 그 외 관련된 모든 사람은 기밀성을 엄격히 지켜야 한다. 시험책임자는 의뢰자가 요청할 경우 중간보고서를 제출한다. 시험담당자는 본 시험에 관련된 정보나 자료를 의뢰자에게 제출한 뒤 이를 발표할 수 있다.

## 21. 참고문헌

- 1) 고려인삼의 이해. 사단법인 고려인삼학회. 2008
- 2) Scaglione, F., Pannacci, M., Petrini, O. The standardized G115® Panax ginseng C.A. Meyer Extract. *Evid Based Integrative Med* 2005;2(4):195-206
- 3) 건강기능식품공전. 식품의약품안전처. 2013
- 4) Kang, S.W., Min, H.Y. Ginseng, the 'Immunity Boost': The Effects of Panaxginseng on Immune System. *J Ginseng Res.* 2012;36(4):354-68
- 5) Kenarova, B., Neychev, H., Hadjiivanova, C., Petkov, V.D. Immunomodulating activity of ginsenoside Rg1 from Panax ginseng. *Jpn J Pharmacol* 1990;54:447-454.
- 6) Lee, J.H., Han, Y. Ginsenoside Rg1 helps mice resist to disseminated candidiasis by Th1 type differentiation of CD4+ T cell. *Int Immunopharmacol* 2006;6:1424-1430.
- 7) Nakata, H., Kikuchi, Y., Tode, T., Hirata, J., Kita, T., Ishii, K., Kudoh, K., Nagata, I., Shinomiya, N. Inhibitory effects of ginsenoside Rh2 on tumor growth in nude mice bearing human ovarian cancer cells. *Jpn J Cancer Res* 1998;89:733-740.
- 8) Yoo, D.G., Kim, M.C., Park, M.K., Song, J.M., Quan, F.S., Park, K.M., Cho, Y.K., Kang, S.M. Protective Effect of Korean Red Ginseng Extract on the Infections by H1N1 and H3N2 Influenza Viruses in Mice. *J Med Food* 2012;15(10):855-862
- 9) Yoo, D.G., Kim, M.C., Park, M.K., Park, K.M., Quan, F.S., Song, J.M., Wee, J.J., Wang, B.Z., Cho, Y.K., Compans, R.W., Kang, S.M. Protective effect of ginseng polysaccharides on influenza viral infection. *PLoS One* 2012;7(3):1-8
- 10) Yin, S.Y., Kim, H.J., Kim, H.J. A comparative study of the effects of whole red ginseng extract and polysaccharide and saponin fractions on influenza A (H1N1) virus infection. *Biol Pharm Bull* 2013;36(6):1002-1007
- 11) Xu, M.L., Kim, H.J., Choi, Y.R., Kim, H.J. Intake of Korean red ginseng extract and saponin enhances the protection conferred by vaccination with inactivated influenza A virus. *JGR* 2012;36:396-402
- 12) Centers for Disease Control and Prevention (CDC), <http://www.cdc.gov/flu/about/disease/symptoms.htm>

## **II. 인체적용시험 결과**

### **1. 연구대상자**

2. GS-3K8 의 인체적용시험 결과 및 결론
3. GINst15 의 인체적용시험 결과 및 결론

## 1.1. 연구대상자의 인체적용시험 참여 실태

본 인체적용시험 등록 목표 연구대상자 수는 45 명으로, 총 49 명의 자원자가 서면동의서를 자발적으로 작성한 후 스크리닝 검사를 받았고, 연구대상자 적합성 평가를 통해 45 명이 연구대상자로 선정되었다. 선정된 연구대상자는 무작위배정, 이중눈가림 방법을 통해 인체적용시험에 참여(GS-3K8 군 15명, GINst15 군 15명, 위약군 15명)하였다. 인체적용시험 수행 도중 1명(GS-3K8 군 1명)이 동의철회에 의해 중도탈락(표 1-1)하여 총 44명(GS-3K8 군 14명, GINst15 군 15명, 위약군 15명)이 인체적용시험계획서에 명시된 모든 절차를 수행 완료하였다. 유효성 평가를 위한 주분석 대상이 FAS군임에 따라 평가 변수 측정 없이 중도탈락한 GS-3K8 군 1명이 유효성 평가 대상에서 제외되었다(그림 1-1).

표 1-1. 중도탈락 현황 및 사유

그룹	사유	N(명)
GS-3K8 군	동의철회	1

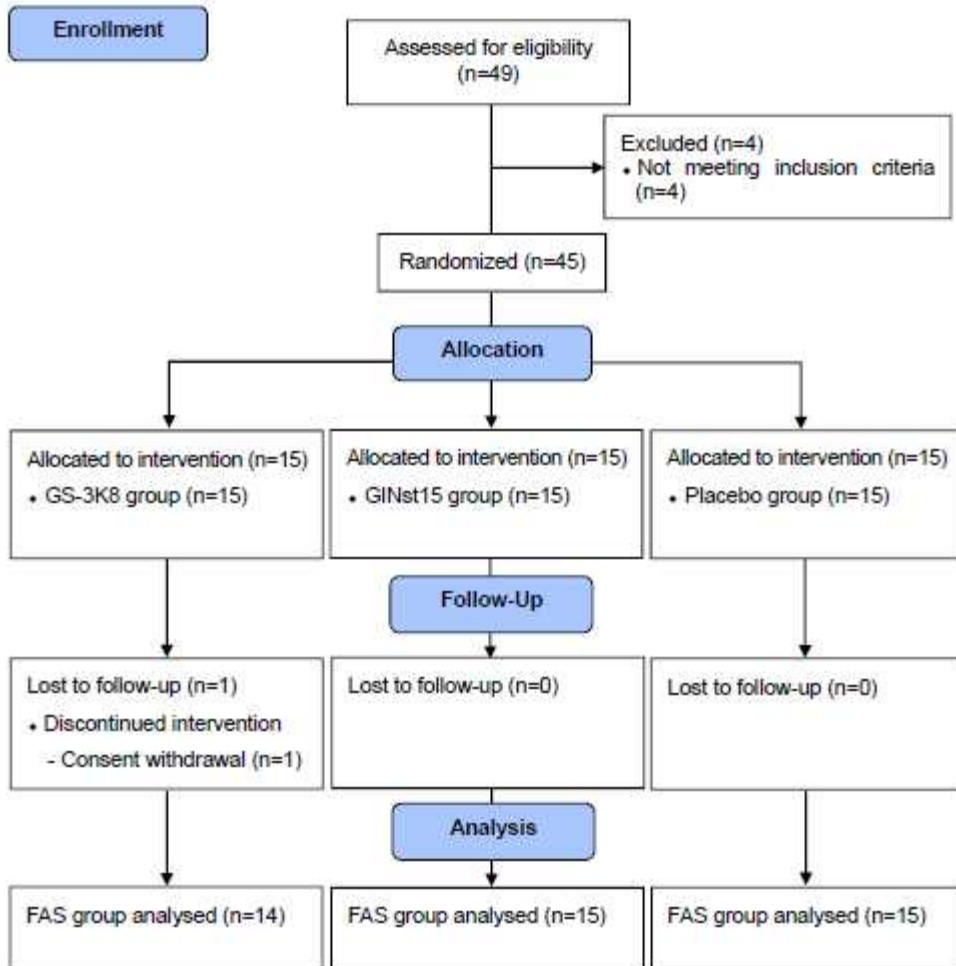


그림 1-1. 연구대상자 참여실태

## **II. 인체적용시험 결과**

1. 연구대상자
- 2. GS-3K8 의 인체적용시험 결과 및 결론**
3. GINst15 의 인체적용시험 결과 및 결론

## 2.1. 연구대상자 인구학적 정보

인구학적 정보 분석에 포함되는 연구대상자는 30명(safety군)으로 GS-3K8 군(15명), 위약군(15명)으로 나뉘었다. 연구대상자의 자세한 인구학적 정보를 표 2에 요약하였다. 본 연구 스크리닝 당시 연구대상자 30명 중 남성이 1명, 여성이 29명(GS-3K8군 남성 1명/여성 14명, 위약군 남성 0명/여성 15명), 평균 연령은 53.73 ± 3.55세(GS-3K8군 54.47 ± 3.40세, 위약군 53.00 ± 3.66세)로 두 섹션군 간 성별 분포 및 평균 연령에 유의한 차이가 없었다.

평균 신장은 158.60 ± 5.95 cm (GS-3K8군 159.07 ± 6.86 cm, 위약군 158.13 ± 5.08 cm), 평균 체중은 59.86 ± 6.59 kg (GS-3K8군 60.89 ± 6.93 kg, 위약군 58.82 ± 6.28 kg), 체질량지수는 23.83 ± 2.52 kg/m<sup>2</sup> (GS-3K8군 24.09 ± 2.30 kg/m<sup>2</sup>, 위약군 23.58 ± 2.78 kg/m<sup>2</sup>)으로 두 섹션군 간 유의한 차이가 없었다.

연구대상자 30명 중 음주자는 12명, 비음주자는 18명(GS-3K8군 음주자 5명/비음주자 10명, 위약군 음주자 7명/비음주자 8명)으로 섹션군 간 유의한 차이가 없었고, 흡연자 1명, 비흡연자 29명(GS-3K8군 비흡연자 15명, 위약군 흡연자 1명/비흡연자 14명)으로 섹션군 간 유의한 차이가 없었다.

이상의 결과를 종합할 때 인구학적 정보에서 두 섹션군 간 의미 있는 차이가 없었으므로 연구대상자의 무작위배정이 잘 이루어졌다고 판단하였다(표 2-1).

표 2-1. 연구대상자의 인구학적 정보

	GS-3K8군 (n=15)	위약군 (n=15)	Total (n=30)	P-value <sup>1)</sup>
성별 (남/여)	1/14	0/15	1/29	>.999 <sup>2)</sup>
나이 (세)	54.47 ± 3.40	53.00 ± 3.66	53.73 ± 3.55	0.265
신장 (cm)	159.07 ± 6.86	158.13 ± 5.08	158.60 ± 5.95	0.675
체중 (kg)	60.89 ± 6.93	58.82 ± 6.28	59.86 ± 6.59	0.398
체질량지수 (kg/m <sup>2</sup> )	24.09 ± 2.30	23.58 ± 2.78	23.83 ± 2.52	0.591
음주여부 (예/아니오)	5/10	7/8	12/18	0.456 <sup>3)</sup>
음주량 (unit)	2.24 ± 1.91	11.43 ± 17.54	7.60 ± 13.84	0.473
흡연여부 (예/아니오)	0/15	1/14	1/29	>.999
흡연량 (개피)	-	1.00	1.00	0.334 <sup>2)</sup>

Values are presented as mean ± SD or number

<sup>1)</sup>Analyzed by independent *t*-test, <sup>2)</sup>Analyzed by Fisher's exact test

## 2.2. 순응도 평가

인체적용시험용제품의 섭취 상황에 대하여 매 방문마다 연구대상자가 지참하고 온 인체적용시험용제품의 잔여량을 반납 받고 순응도를 확인하였다.

연구기간 중 순응도 미달인 연구대상자는 GS-3K8군의 1명이었다. 유효성 평가를 위한 주분석 대상이 FAS군임에 따라 중도탈락한 GS-3K8군의 1명이 순응도 분석을 포함한 유효성 평가 대상에서 제외되고(그림 1-1), 순응도 미달인 GS-3K8 군의 1명의 순응도는 순응도 분석에 포함되었다

FAS군 연구대상자 일인 당 섭취해야 할 제품의 수는  $500.55 \pm 7.80$  캡슐, 실제로 섭취한 제품 수는  $453.62 \pm 46.22$  캡슐이며, GS-3K8군과 위약군 간 유의한 차이가 없었다( $p=0.082$ ,  $p=0.694$ ). 제품 순응도는 GS-3K8군  $91.64 \pm 9.80\%$ , 위약군  $89.70 \pm 8.99\%$ 으로 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다( $p=0.394$ )(표 2-2).

표 2-2. 순응도

	GS-3K8 군 (n=14)	위약군 (n=15)	Total (n=29)	P-value <sup>1)</sup>
섭취해야 할 제품 수	498.14±6.49	502.80±8.44	500.55±7.80	0.082
섭취한 제품 수	456.21±46.36	451.20±47.59	453.62±46.22	0.694
순응도 (%)	91.64±9.80	89.70±8.99	90.64±9.27	0.394

Values are presented as mean±SD

<sup>1)</sup>Analyzed by Mann-Whitney U test



### 2.3. 유효성 평가

유효성 평가는 인체적용시험용제품 선택 후, 최소한 1회 이상 주 평가변수에 대한 측정이 이루어진 연구대상자(FAS 분석군) 29명을 대상으로 분석하였다.

#### 2.3.1. 1차 유효성 평가항목

인플루엔자 및 상기도감염 발생 여부 및 누적 발생률 평가를 위해 매 방문일에, 그리고 매주 1회 전화 인터뷰를 통해 상기도 감염 증상 유무에 대한 조사가 포함된 설문조사를 실시하였다. 인플루엔자 의사 증상은 두 선택군 모두에서 발생하지 않았다.

##### 1) 상기도감염 발생 여부

분석 결과, 시험기간 동안 GS-3K8군의 연구대상자 14명 중 9명(64%)에서, 위약군의 연구대상자 15명 중 12명(80%)에서 상기도감염 증상이 발생하여 GS-3K8군의 상기도감염 증상 발생률이 위약군보다 더 낮았다. 10가지 항목의 상기도 감염 증상 중 인후통, 콧물, 코막힘, 쉼소리, 근육통, 발열, 두통, 기침 발생률이 GS-3K8군에서 위약군에 비해 더 낮았다.

특히 인후통과 코막힘 증상이 두 선택군 중 위약군에서만 발생하고, 두 선택군 간 증상 발생률에 통계적으로 유의한 차이가 있었다( $p=0.042$ ,  $p=0.017$ ) (표 2-3, 그림 2-1).

표 2-3. 상기도 감염 증상 발생 여부

증상 (유/무)	GS-3K8군 (n=14)	위약군 (n=15)	p-value <sup>1)</sup>
상기도감염	9/5 (64/36)	12/3 (80/20)	0.427
인후통	0/14 (0/100)	5/10 (33/67)	0.042*
콧물	7/7 (50/50)	8/7 (53/47)	0.858
코막힘	0/14 (0/100)	6/9 (40/60)	0.017*
재채기	6/8 (43/57)	3/12 (20/80)	0.245
선명소리	2/12 (14/86)	5/10 (33/67)	0.390
근육통	1/13 (7/93)	2/13 (13/87)	>.999
이동	0/14 (0/100)	0/15 (0/100)	-
발열	0/14 (0/100)	1/14 (7/93)	>.999
두통	1/13 (7/93)	4/11 (27/73)	0.330
기침	3/11 (21/79)	7/8 (47/53)	0.245

Values are presented as number and percentage

<sup>1)</sup>Analyzed by Fisher's exact test, \* $p < .05$

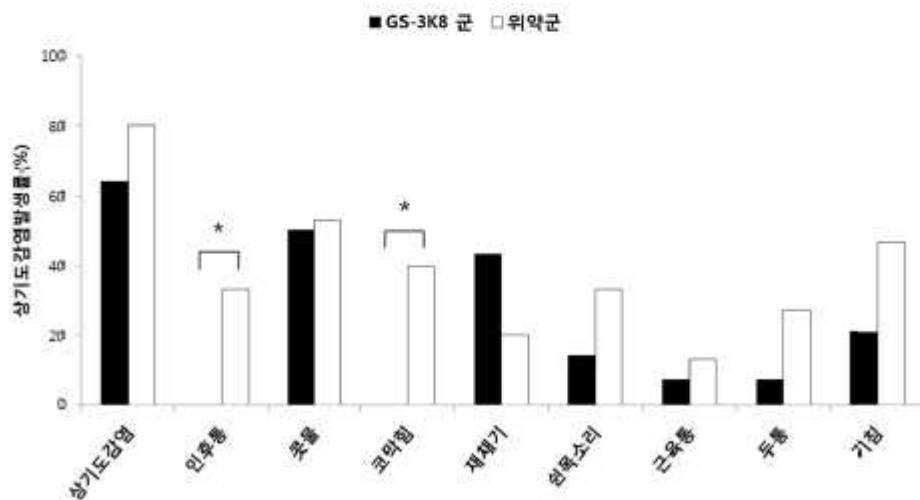


그림 2-1. 상기도감염 증상 발생률

## 2) 상기도감염 누적 발생률

분석 결과, GS-3K8군의 상기도감염 증상 누적 발생률이 위약군보다 낮았으며(그림 2-1), GS-3K8군 위험도(Hazard ratio)가 위약군의 59%로 낮았다(표 2-4).

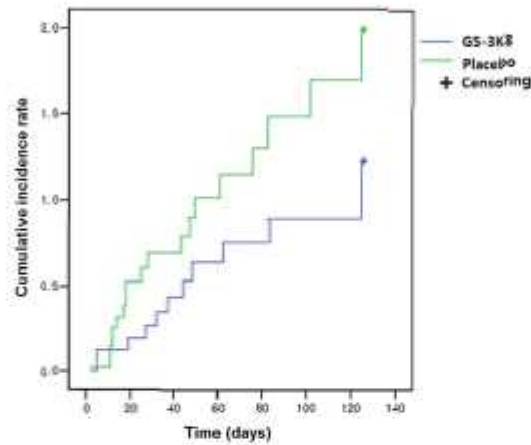


그림 2-1. 상기도감염 증상 누적 발생률(Kaplan-Meier curves)

표 2-4. 상기도감염 증상 발생률에 대한 Cox proportional hazard regression model 분석 결과

	Hazard ratio (95% CI) <sup>1)</sup>	P-value <sup>1)</sup>
위약군 (n=15)	1 [Reference]	-
GS-3K8군 (n=14)	0.59 [0.28-1.22]	0.154

<sup>1)</sup>Analyzed by Cox proportional hazards regression model

## 2.3.2. 2차 유효성 평가 항목

## 1) 상기도감염 증상 점수 및 지속기간

상기도감염 발생자의 증상 점수 및 지속기간 평가를 위해 매 방문일에, 그리고 매주 1회 전화 인터뷰를 통해 상기도감염 증상의 정도, 증상의 지속기간 등이 포함된 설문조사를 실시하였다(표 2-5).

분석 결과, 상기도감염 증상이 나타난 연구대상자들의 증상 점수가 GS-3K8군은  $2.48 \pm 1.47$ 점, 위약군은  $2.34 \pm 1.35$ 점이었고, 상기도감염 증상 지속기간이 GS-3K8군에서  $3.89 \pm 1.47$ 일, 위약군에서  $12.25 \pm 12.69$ 일로 GS-3K8군에서 위약군보다 더 짧은 경향이었다( $p=0.058$ ).

여러 증상 중 콧물 증상의 지속기간이 GS-3K8군에서 위약군에 비해 더 짧아 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었다( $p=0.019$ ). 재채기와 섉목소리 증상의 지속기간도 GS-3K8군에서 위약군에 비해 더 짧은 경향이었다( $p=0.085$ ,  $p=0.076$ ). GS-3K8군의 근육통 지속기간, 두통 및 기침의 증상 점수와 지속기간도 위약군에 비해 낮거나 짧았다.

표 2-5. 상기도 감염 증상 점수 및 지속기간

증상		GS-3K8군 (n=14)	위약군 (n=15)	p-value <sup>1)</sup>
상기도감 염	N (yes/no)	9/5	12/3	0.427
	증상점수(점)	$2.48 \pm 1.47$	$2.34 \pm 1.35$	0.860
	지속기간(일)	$3.89 \pm 4.65$	$12.25 \pm 12.69$	0.058
인후통	N (yes/no)	0/14	5/10	0.042*
	증상점수(점)	-	$1.17 \pm 0.38$	-
	지속기간(일)	-	$3.80 \pm 2.49$	-
콧물	N (yes/no)	7/7	8/7	0.858
	증상점수(점)	$1.50 \pm 0.76$	$1.25 \pm 0.48$	0.535
	지속기간(일)	$2.57 \pm 1.13$	$6.50 \pm 3.25$	0.019*
코막힘	N (yes/no)	0/14	6/9	0.017*
	증상점수(점)	-	$1.33 \pm 0.82$	-
	지속기간(일)	-	$4.00 \pm 2.76$	-

재채기	N (yes/no)	6/8	3/12	0.245
	증상점수(점)	1.42±0.80	1.00±0.00	0.377
	지속기간(일)	2.33±1.03	7.67±7.23	0.085
원목소리	N (yes/no)	2/12	5/10	0.390
	증상점수(점)	1.00±0.00	1.17±0.38	0.752
	지속기간(일)	1.00±0.00	10.00±9.25	0.076
근육통	N (yes/no)	1/13	2/13	>.999
	증상점수(점)	3	2.50±0.71	>.999
	지속기간(일)	1	2.00±0.00	0.480
이동	N (yes/no)	0/14	0/15	-
	증상점수(점)	-	-	-
	지속기간(일)	-	-	-
발열	N (yes/no)	0/14	1/14	>.999
	증상점수(점)	-	1	-
	지속기간(일)	-	1	-
두통	N (yes/no)	1/13	4/11	0.330
	증상점수(점)	1	1.25±0.50	>.999
	지속기간(일)	1	6.00±6.06	0.289
기침	N (yes/no)	3/11	7/8	0.245
	증상점수(점)	1.07±0.12	1.21±0.36	>.999
	지속기간(일)	7.00±6.93	10.43±12.63	>.999

Values are presented as mean±SD or number

<sup>1)</sup>Analyzed by Mann-Whitney U test, <sup>2)</sup>Analyzed by Fisher's exact test

\* $p < .05$

## 2) 백혈구 탐식능 및 사이토카인 변화

시험용제품 섭취 전과 섭취 12주 후에 백혈구 탐식능 및 사이토카인(IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ )의 변화를 측정하였다(표 2-6).

분석 결과, 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 2-6. 제품 섭취 전 · 섭취 12주 후 백혈구 탐식능 및 사이토카인 변화

측정항목	GS-3K8군 (n=14)			위약군 (n=15)			<i>p</i> -value <sup>1)</sup>
	0 w	12 w	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	0 w	12 w	<i>p</i> -value <sup>1)</sup>	
백혈구탐식능 (%)	32.15 ±5.74	30.94 ±3.73	0.392	30.99 ±6.97	30.04 ±7.49	0.658	0.918
IFN- $\gamma$ (ng/ml)	3.46 ±1.31	3.92 ±1.92	0.054	3.59 ±1.56	3.68 ±1.68	0.168	0.109
IL-2 (ng/ml)	5.15 ±2.62	5.17 ±2.47	0.949	5.51 ±2.99	4.31 ±2.19	0.200	0.214
IL-4 (ng/ml)	2.11 ±1.06	2.39 ±1.31	0.122	1.95 ±1.08	2.42 ±1.43	0.001**	0.388
IL-6 (ng/ml)	0.32 ±0.27	0.35 ±0.34	0.839	0.41 ±0.39	0.43 ±0.36	0.899	0.967
TNF- $\alpha$ (mg/ml)	0.70 ±0.64	0.94 ±0.85	0.029	0.69 ±0.74	0.96 ±0.98	0.003**	0.823

<sup>1)</sup>Analyzed by linear mixed model

\*\**p*<.01

## 2.4. 안전성 평가

안전성 평가는 인체적용시험용제품 섭취 후, 최소한 1회 이상 인체적용시험용제품을 섭취한 연구대상자(Safety군) 30명을 대상으로 분석하였다.

### 2.4.1. 자·타각 증상 등 이상반응

이상반응 발생률에 대한 결과를 표 2-7에 요약하였다. 인체적용시험용제품을 섭취한 30명의 연구대상자 중 시험기간 동안 3명의 연구대상자에서 총 3건의 경도 또는 중등도의 이상반응이 발생하였다. 발생한 이상반응은 대상포진 1건, 질염 1건, 알러지성 비염 1건이었다.

분석 결과, 두 섭취군 간 이상반응의 발생에 차이가 없었으며, 이상반응과 인체적용시험용제품의 섭취 사이에 인과관계가 없다고 판단하였다.

표 2-7. 이상반응 발생 여부

	GS-3K8군 (n=15)	위약군 (n=15)	Total (n=30)	P-value <sup>1)</sup>
이상반응	1/14 (7/93)	2/13 (13/87)	3/27 (10/90)	>.999

Values are presented as number and percentage

<sup>1)</sup>Analyzed by Fisher's exact test

## 2.4.2. 진단검사의학 검사

시험제품 섭취 전과 섭취 8주 후 측정된 진단검사의학검사 결과를 표 2-8에 요약하였다.

분석 결과, 두 섭취군 간 통계적, 임상적으로 의미 있는 변화가 없었다.

표 2-8. 시험제품 섭취 전 · 섭취 12주 후 진단검사의학검사 결과

	GS-3K8군 (n=15)			위약군 (n=15)			P-value <sup>1)</sup>
	0 w	12 w	P-value <sup>1)</sup>	0 w	12 w	P-value <sup>1)</sup>	
WBC (x 10 <sup>3</sup> /μl)	5.72 ±1.30	5.27 ±0.98	0.135	4.70 ±0.87	4.60 ±1.46	0.788	0.456
RBC (x 100 <sup>3</sup> /μl)	4.57 ±0.39	4.54 ±0.42	0.296	4.39 ±0.24	4.43 ±0.22	0.463	0.216
Hb (g/dl)	13.87 ±1.16	13.68 ±1.14	0.106	13.53 ±0.86	13.62 ±0.70	0.568	0.135
Hct (%)	40.89 ±3.06	40.65 ±3.42	0.397	40.31 ±2.28	40.61 ±2.06	0.588	0.367
PLT (x 10 <sup>3</sup> /μl)	269.27 ±58.97	268.14 ±55.38	0.855	248.47 ±37.9	249.73 ±54.23	0.881	0.816
ALP (IU/l)	80.73 ±16.54	87.57 ±21.67	0.168	62.8 ±14.96	65.87 ±18.15	0.116	0.475
GGT (IU/l)	24.80 ±26.43	23.07 ±19.03	0.595	15.93 ±4.06	14.67 ±3.02	0.115	0.809
AST (IU/l)	23.67 ±4.05	27.64 ±8.74	0.074	25.27 ±5.22	24.93 ±4.30	0.740	0.068
ALT (IU/l)	19.00 ±5.36	23.43 ±8.40	0.034*	22.27 ±11.62	21.60 ±6.96	0.766	0.096
Total bilirubin (mg/dl)	0.81 ±0.23	0.79 ±0.17	0.824	0.88 ±0.25	0.80 ±0.26	0.241	0.346
Total protein (g/dl)	7.63 ±0.33	7.53 ±0.38	0.168	7.29 ±0.34	7.33 ±0.46	0.645	0.222
Albumin (g/dl)	4.44 ±0.14	4.38 ±0.17	0.100	4.31 ±0.18	4.39 ±0.22	0.217	0.058



<b>BUN (mg/dl)</b>	14.67 ±4.37	14.86 ±4.04	0.922	12.13 ±3.20	13.40 ±4.07	0.160	0.460
<b>Creatinine (mg/dl)</b>	0.64 ±0.14	0.58 ±0.13	0.055	0.56 ±0.09	0.54 ±0.05	0.170	0.400
<b>TC (mg/dl)</b>	188.73 ±34.17	193.07 ±28.24	0.081	187.40 ±24.16	183.20 ±21.99	0.576	0.221
<b>TG (mg/dl)</b>	126.33 ±58.08	109.29 ±36.59	0.388	100.80 ±36.28	99.07 ±35.78	0.839	0.473
<b>Glucose (mg/dl)</b>	86.33 ±5.38	84.07 ±6.89	0.097	86.33 ±10.15	85.53 ±6.14	0.610	0.534
<b>Creatine kinase (IU/l)</b>	97.87 ±31.59	99.29 ±40.79	0.758	88.87 ±30.20	87.20 ±29.96	0.785	0.678
<b>Urine specific gravity</b>	1.02 ±0.01	1.02 ±0.01	0.137	1.02 ±0.01	1.02 ±0.00	0.290	0.672
<b>Urine pH</b>	6.03 ±0.92	5.86 ±0.84	0.596	6.37 ±0.92	6.13 ±0.93	0.250	0.909

<sup>††</sup>Analyzed by linear mixed model

\* $p < .05$

## 2.4.3. 활력징후

매 방문(0주, 6주, 12주)에 측정된 활력징후를 표 2-9에 요약하였다.

분석 결과, 이완기 혈압이 GS-3K8군 내에서 유의하게 증가하고, 두 선택군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었으나( $p=0.008$ ), 임상적 의미가 없는 변화라고 판단하였다.

표 2-9. 시험제품 선택 전 · 선택 12주 후 활력징후 변화

	GS-3K8군 (n=15)			위약군 (n=15)			$p$ -value <sup>1)</sup>
	0 w	12 w	$p$ -value <sup>1)</sup>	0 w	12 w	$p$ -value <sup>1)</sup>	
수축기혈압 (mmHg)	124.00 ±7.64	127.07 ±6.63	0.157	116.20 ±13.96	115.20 ±13.51	0.776	0.329
이완기혈압 (mmHg)	79.27 ±8.54	83.71 ±7.33	0.030*	77.73 ±12.42	74.47 ±10.15	0.126	0.008**
맥박수 (BPM)	77.67 ±10.89	72.71 ±6.52	0.147	75.47 ±8.43	71.20 ±6.90	0.083	0.851
체온 (℃)	36.42 ±0.17	36.42 ±0.15	0.999	36.34 ±0.17	36.33 ±0.20	0.806	0.874

<sup>1)</sup>Analyzed by linear mixed model

\*\* $p < .01$

## 2.5. 결론

본 연구는 한외여과총상추출물(GS-3K8) 섭취에 의한 인플루엔자 및 상기도감염 예방 효능 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약 대조 인체적용시험이다.

본 인체적용시험의 등록 목표 연구대상자 수는 GS-3K8군 15명, 위약군 15명이며, 시험자는 시험에 참여한 모든 연구대상자를 대상으로 시험계획서에 정해진 바에 따라 인플루엔자 및 상기도감염 발생 여부 조사, 감열 증상점수 및 회복기간 조사, 면역 관련 지표 검사 등의 유효성 평가와 이상반응 조사, 진단검사의학 검사, 심전도 및 활력징후 검사 등의 안전성 평가를 수행하였다.

GS-3K8의 위약 대비 유효성 평가를 위한 주 분석군은 인체적용시험용제품 섭취 후, 최소한 1회 이상 주 평가변수에 대한 측정이 이루어진 연구대상자군(FAS: Full analysis set)으로써 GS-3K8군 중 1명이 동의철회로 중도탈락함에 따라, 인체적용시험 계획서에 명시된 모든 절차를 수행 완료한 총 29명(GS-3K8군 14명, 위약군 15명)을 대상으로 분석을 시행하였다. 안전성 평가를 위한 주 분석군은 인체적용시험에 참여하여 최소 1회 이상 시험용제품을 섭취한 연구대상자군(safety 군)이었다.

1차 유효성 평가 항목 분석 결과, 인플루엔자 의사 증상이 두 섭취군 모두에서 발생하지 않았으며, 시험 기간 GS-3K8군의 연구대상자 14명 중 9명(64%)에서, 위약군의 연구대상자 15명 중 12명(80%)에서 상기도감염 증상이 발생하여 GS-3K8군의 상기도감염 증상 발생률이 위약군보다 더 낮았다. 상기도감염 증상 10가지 세부항목 중 인후통과 코막힘 증상은 위약군에서만 발생하고 두 섭취군 간 증상 발생률에 통계적으로 유의한 차이가 있었으며( $p=0.042$ ,  $p=0.017$ ), GS-3K8군 콧물, 섉목소리, 근육통, 발열, 두통 및 기침 발생률 또한 위약군에 비해 더 낮았다. 연구대상자들의 상기도감염 누적 발생률을 분석한 결과, GS-3K8군의 상기도감염 증상 누적 발생률이 위약군보다 낮았으며, 위험도(Hazard ratio)가 위약군의 59%로 낮았다.

2차 유효성 평가 항목 분석 결과, GS-3K8군의 상기도감염 증상 지속기간이  $3.89 \pm 1.47$ 일로 위약군의  $12.25 \pm 12.69$ 일 보다 짧은 경향이었다( $p=0.058$ ). 상기도감염 증상 10가지 세부항목 중 GS-3K8군의 콧물 증상 지속기간이 위약군에 비해 통계적으로 유의하게 짧았다( $p=0.019$ ). 재채기와 섉목소리 증상의 지속기간도 GS-

3K8군에서 위약군에 비해 더 짧은 경향이었다( $p=0.085$ ,  $p=0.076$ ). GS-3K8군의 근육통 지속기간, 두통 및 기침의 증상 점수와 지속기간도 위약군에 비해 낮거나 짧았다. 그 외 면역 관련 지표는 두 선택군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 안전성 평가를 위해 연구대상자 30명(safety군)을 대상으로 이상반응, 진단검사의 학검사(혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사), 활력징후 등의 측정치를 분석하였다. 이상반응 분석 결과 총 30명의 연구대상자 중 3명의 연구대상자에서 3건의 경도 또는 중등도 이상반응이 발생하였다. 분석 결과, 두 선택군 간 이상반응의 발생에 차이가 없었으며, 이상반응과 시험용제품 섭취 사이에 인과관계가 없다고 판단하였다. 활력징후 측정 결과, 이완기혈압이 GS-3K8군에서 상승하고, 위약군에서 감소하여 두 선택군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었으나( $p=0.008$ ), 임상적 의미가 없는 변화라고 판단하였다. 진단검사의학검사 항목에서도 두 선택군 간 통계적으로 임상적으로 의미 있는 차이가 없었다.

요약하면, 본 탐색적 인체적용시험을 통해 건강한 성인에서 GS-3K8 섭취 후 상기도감염 발생률과 증상 지속기간이 위약군에 비해 낮은 경향임을 관찰하였고, 일부 증상 항목의 발생률과 지속기간은 위약군에 비해 통계적으로 유의하게 낮음을 확인할 수 있었다. 시험이 진행되는 도중 임상적으로 의미 있는 이상반응이나 신체 변화가 관찰되지 않아 GS-3K8 섭취가 인체에 안전하다고 판단하였다. 본 시험은 GS-3K8 섭취에 의한 인플루엔자 및 상기도감염 개선 효과를 탐색하기 위한 목적으로 설계됨에 따라 전형적인 통계적 가설 검정을 위한 시험에서와 같이 시험군과 위약군을 비교하는 것에 한계가 있음에도 불구하고 일부 상기도감염 증상의 개선에 대한 통계적 유의성을 확인할 수 있었고, 확증적 인체적용시험 수행을 위한 토대를 마련할 수 있었다.

## II. 인체적용시험 결과

1. 연구대상자
2. GS-3K8 의 인체적용시험 결과 및 결론
3. **GINst15 의 인체적용시험 결과 및 결론**

## 3.1. 연구대상자 인구학적 정보

인구학적 정보 분석에 포함되는 연구대상자는 30명(safety군)으로 GINst15군(15명), 위약군(15명)으로 나뉘었다. 연구대상자의 자세한 인구학적 정보를 표 3-1에 요약하였다. 본 연구 스크리닝 당시 연구대상자 30명 중 남성이 2명, 여성이 28명 (GINst15군 남성 2명/여성 13명, 위약군 남성 0명/여성 15명), 평균 연령은 54.00 ± 3.42세 (GINst15군 55.00 ± 2.95세, 위약군 53.00 ± 3.66세)로 두 섹션 간 성별 분포 및 평균 연령에 유의한 차이가 없었다.

평균 신장은 158.70 ± 7.13 cm (GINst15군 159.27 ± 8.88 cm, 위약군 158.13 ± 5.08 cm), 평균 체중은 61.54 ± 8.84 kg (GINst15군 64.26 ± 10.32 kg, 위약군 58.82 ± 6.28 kg), 체질량지수는 24.41 ± 2.84 kg/m<sup>2</sup> (GINst15군 25.24 ± 2.73 kg/m<sup>2</sup>, 위약군 23.58 ± 2.78 kg/m<sup>2</sup>)으로 두 섹션 간 유의한 차이가 없었다.

연구대상자 30명 중 음주자는 14명, 비음주자는 16명 (GINst15군 음주자 7명/비음주자 8명, 위약군 음주자 7명/비음주자 8명)으로 섹션 간 유의한 차이가 없었고, 흡연자 1명, 비흡연자 29명 (GINst15군 비흡연자 15명, 위약군 흡연자 1명/비흡연자 14명)으로 섹션 간 유의한 차이가 없었다.

이상의 결과를 종합할 때 섹션 간 의미 있는 차이가 없어서 연구대상자의 무작위배정이 잘 이루어졌다고 판단하였다(표 3-1).

표 3-1. 연구대상자의 인구학적 정보

	GINst15군 (n=15)	위약군 (n=15)	Total (n=30)	P-value <sup>1)</sup>
성별 (남/여)	2/13	0/15	2/28	0.111
나이 (세)	55.00 ± 2.95	53.00 ± 3.66	54.00 ± 3.42	0.483 <sup>2)</sup>
신장 (cm)	159.27 ± 8.88	158.13 ± 5.08	158.70 ± 7.13	0.672
체중 (kg)	64.26 ± 10.32	58.82 ± 6.28	61.54 ± 8.84	0.092
체질량지수 (kg/m <sup>2</sup> )	25.24 ± 2.73	23.58 ± 2.78	24.41 ± 2.84	0.1102
음주여부 (예/아니오)	7/8	7/8	14/16	>.999 <sup>3)</sup>
음주량 (unit)	12.8 ± 11.84	11.43 ± 17.54	12.11 ± 14.40	>.999
흡연여부 (예/아니오)	0/15	1/14	1/29	>.999
흡연량 (개피)	-	1.00	1.00	0.334 <sup>2)</sup>

Values are presented as mean ± SD or number

<sup>1)</sup>Analyzed by independent t-test, <sup>2)</sup>Analyzed by Fisher's exact test

### 3.2. 순응도 평가

인체적용시험용제품의 선택 상황에 대하여 매 방문마다 연구대상자가 지참하고 온 인체적용시험용제품의 잔여량을 반납 받고 순응도를 확인하였다.

FAS군 연구대상자 일인 당 선택해야 할 제품의 수는  $501.00 \pm 8.35$  캡슐, 실제로 선택한 제품 수는  $463.47 \pm 41.40$  캡슐이며 GINst15군과 위약군 간 유의한 차이가 없었다( $p=0.225$ ,  $p=0.119$ ). 제품 순응도는 GINst15군  $95.28 \pm 5.75\%$ , 위약군  $89.70 \pm 8.99\%$ 으로 두 선택군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었으며( $p=0.053$ ), 연구기간 중 순응도 미달인 연구대상자는 없었다(표 3-2).

표 3-2. 순응도

	GINst15군 (n=15)	위약군 (n=15)	Total (n=30)	P-value <sup>1)</sup>
선택해야 할 제품 수	499.20±8.13	502.80±8.44	501.00±8.35	0.225
선택한 제품 수	475.73±31.04	451.2±47.59	463.47±41.40	0.119
순응도 (%)	95.28±5.75	89.70±8.99	92.49±7.94	0.053

Values are presented as mean±SD.

<sup>1)</sup>Analyzed by Mann-Whitney U test

### 3.3. 유효성 평가

유효성 평가는 인체적용시험용제품 선택 후, 최소한 1회 이상 주 평가변수에 대한 측정이 이루어진 연구대상자(FAS 분석군) 30명을 대상으로 분석하였다.

#### 3.3.1. 1차 유효성 평가항목

상기도감염 발생 여부 및 누적 발생률 평가를 위해 매 방문일에, 그리고 매주 1회 전화 인터뷰를 통해 상기도 감염 증상 유무에 대한 조사가 포함된 설문 조사를 실시하였다. 인플루엔자 의사 증상은 두 선택군 모두에서 발생하지 않았다.

##### 1) 상기도감염 발생 여부

분석 결과, 시험기간 동안 GINst15군의 연구대상자 15명 중 4명(27%)에서, 위약군의 연구대상자 15명 중 12명(80%)에서 상기도감염 증상이 발생하여 GINst15군의 상기도감염 증상 발생률이 위약군에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다( $p=0.003$ ). 10가지 항목의 상기도 감염 증상 중 코막힘 증상이 두 선택군 중 위약군에서만 발생하여 두 선택군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었으며( $p=0.017$ ), 콧물 증상이 GINst15군 3명, 위약군 8명에서 발생하여 통계적 차이가 있는 경향이었다( $p=0.058$ ) 인후통, 콧물, 코막힘, 재채기, 씹음 소리, 근육통, 두통, 기침 발생률 또한 통계적 유의성은 없으나 GINst15군에서 위약군에 비해 더 낮았다. (표 3-3, 그림 3-1).



표 3-3. 상기도 감염 증상 발생 여부

증상 (유/무)	GINst15군 (n=15)	위약군 (n=15)	p-value <sup>1)</sup>
상기도감염	4/11 (27/73)	12/3 (80/20)	0.003**
인후통	1/14 (7/93)	5/10 (33/67)	0.169
콧물	3/12 (20/80)	8/7 (53/47)	0.058
코막힘	0/15 (0/100)	6/9 (40/60)	0.017*
재채기	0/15 (0/100)	3/12 (20/80)	0.224
선속소리	1/14 (7/93)	5/10 (33/67)	0.169
근육통	0/15 (0/100)	2/13 (13/87)	0.483
이동	0/15 (0/100)	0/15 (0/100)	-
발열	1/14 (7/93)	1/14 (7/93)	>.999
두통	1/14 (7/93)	4/11 (27/73)	0.330
기침	3/12 (20/80)	7/8 (47/53)	0.121

Values are presented as number and percentage

<sup>1)</sup>Analyzed by Fisher's exact test

\* $p < .05$ , \*\* $p < .01$

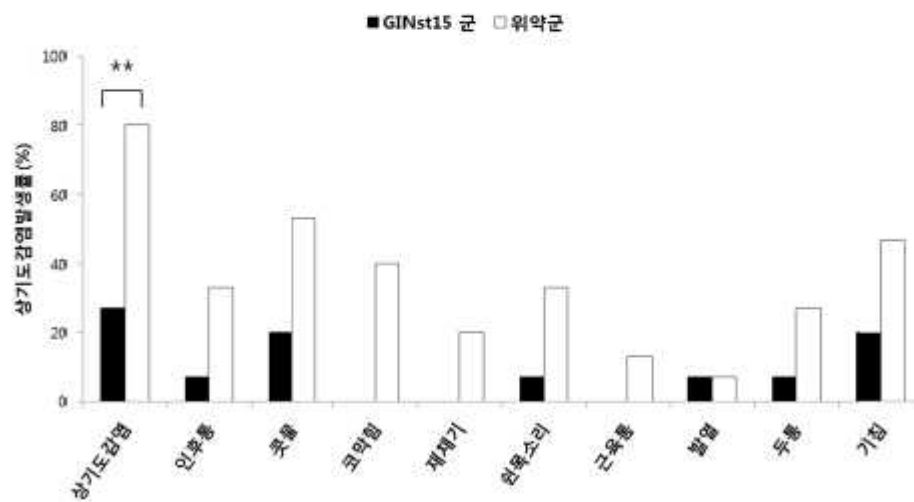


그림 3-1. 상기도감염 증상 발생률

## 2) 상기도감염 누적 발생률

결과 결과, GINst15군의 상기도감염 증상 누적 발생률이 위약군보다 낮았으며(그림 3-1), GINst15군의 위험도(Hazard ratio)가 위약군의 25%로 통계적으로 유의하게 낮았다( $p=0.004$ )(표 3-4).

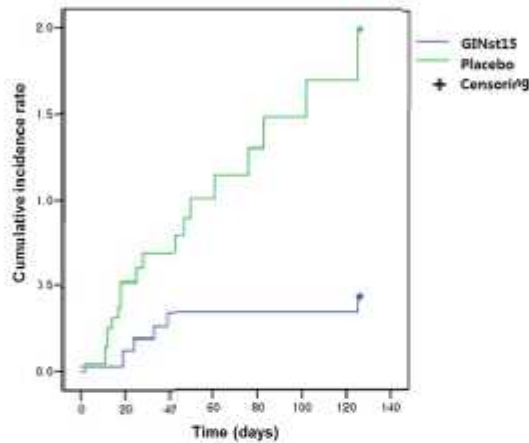


그림 3-1. 상기도감염 증상 누적 발생률(Kaplan-Meier curves)

표 3-4. 상기도감염 증상 발생률에 대한 Cox proportional hazard regression model 분석 결과

	Hazard ratio (95% CI) <sup>1)</sup>	P-value <sup>1)</sup>
위약군 (n=15)	1 [Reference]	-
GINst15 군 (n=15)	0.25 [0.01-0.64]	0.004**

<sup>1)</sup>Analyzed by Cox proportional hazards regression model

## 3.3.2. 2차 유효성 평가 항목

## 1) 상기도감염 증상 점수 및 지속기간

상기도감염 발생자의 증상 점수 및 회복기간 평가를 위해 매 방문일에, 그리고 매주 1회 전화 인터뷰를 통해 상기도감염 증상의 정도, 증상의 지속기간 등이 포함된 설문조사를 실시하였다(표 3-5).

분석 결과, 상기도감염 증상이 나타난 연구대상자들의 증상 지속기간은 GINst15군이  $9.25 \pm 7.63$ 일, 위약군이  $12.25 \pm 12.69$ 일이었고, 10가지 증상 중 GINst15군의 인후통, 콧물, 선명소리, 두통의 증상점수 또는 증상지속기간이 위약군보다 낮았다.

표 3-5. 상기도 감염 증상 점수 및 지속기간

		GINst15군	위약군	p-value <sup>1)</sup>
상기도감염	N (yes/no)	4/11	12/3	0.003**
	증상점수(점)	$2.37 \pm 1.22$	$2.34 \pm 1.35$	0.903
	지속기간(일)	$9.25 \pm 7.63$	$12.25 \pm 12.69$	0.855
인후통	N (yes/no)	1/14	5/10	0.169
	증상점수(점)	1	$1.17 \pm 0.38$	>.999
	지속기간(일)	2	$3.80 \pm 2.49$	0.729
콧물	N (yes/no)	3/12	8/7	0.058
	증상점수(점)	$1.20 \pm 0.35$	$1.25 \pm 0.48$	>.999
	지속기간(일)	$5.00 \pm 3.00$	$6.50 \pm 3.25$	0.679
코막힘	N (yes/no)	0/15	6/9	0.017*
	증상점수(점)	-	$1.33 \pm 0.82$	-
	지속기간(일)	-	$4.00 \pm 2.76$	-
재채기	N (yes/no)	0/15	3/12	0.224
	증상점수(점)	-	$1.00 \pm 0.00$	-
	지속기간(일)	-	$7.67 \pm 7.23$	-
선명소리	N (yes/no)	1/14	5/10	0.169
	증상점수(점)	1.40	$1.17 \pm 0.38$	0.488

	지속기간(일)	5.00	10.00±9.25	0.553
	N (yes/no)	0/15	2/13	0.483
근육통	증상점수(점)	-	2.50±0.71	-
	지속기간(일)	-	2.00±0.00	-
	N (yes/no)	0/15	0/15	-
이통	증상점수(점)	-	-	-
	지속기간(일)	-	-	-
	N (yes/no)	1/14	1/14	>.999
발열	증상점수(점)	1	1	-
	지속기간(일)	1	1	-
	N (yes/no)	1/14	4/11	0.330
두통	증상점수(점)	1	1.25±0.50	>.999
	지속기간(일)	1	6.00±6.06	0.289
	N (yes/no)	3/12	7/8	0.121
기침	증상점수(점)	1.42±0.38	1.21±0.36	0.521
	지속기간(일)	9.33±9.45	10.43±12.63	>.999

Values are presented as mean±SD or number

<sup>1)</sup>Analyzed by Mann-Whitney U test, <sup>2)</sup>Analyzed by Fisher's exact test

\* $p < .05$ , \*\* $p < .01$

## 2) 백혈구 탐식능 및 싸이토카인 변화

시험용제품 섭취 전과 섭취 12주 후에 백혈구 탐식능 및 싸이토카인(IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ )의 변화를 측정하였다(표 3-6).

분석 결과, 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 3-6. 시험용제품 섭취 전 · 섭취 12주 후 백혈구 탐식능 및 싸이토카인 변화

	GINst15군 (n=15)			위약군 (n=15)			$p$ -value <sup>1)</sup>
	0 w	12 w	$p$ -value <sup>1)</sup>	0 w	12 w	$p$ -value <sup>1)</sup>	
백혈구탐식능 (%)	29.23 ±4.36	29.45 ±6.35	0.908	30.99 ±6.97	30.04 ±7.49	0.658	0.681
IFN- $\gamma$ (ng/ml)	3.16 ±1.11	3.31 ±1.46	0.151	3.59 ±1.56	3.68 ±1.68	0.168	0.619
IL-2 (ng/ml)	4.71 ±2.59	4.97 ±2.39	0.543	5.51 ±2.99	4.31 ±2.19	0.200	0.150
IL-4 (ng/ml)	1.74 ±0.96	2.08 ±1.07	0.004**	1.95 ±1.08	2.42 ±1.43	0.001**	0.389
IL-6 (ng/ml)	0.51 ±0.42	0.38 ±0.36	0.423	0.41 ±0.39	0.43 ±0.36	0.899	0.497
TNF- $\alpha$ (mg/ml)	0.50 ±0.59	0.73 ±0.79	0.001**	0.69 ±0.74	0.96 ±0.98	0.003	0.687

<sup>1)</sup>Analyzed by linear mixed model

\*\* $p < .01$

### 3.4. 안전성 평가

안전성 평가는 인체적용시험용제품 섭취 후, 최소한 1회 이상 인체적용시험용제품을 섭취한 연구대상자(Safety군) 30명을 대상으로 분석하였다.

#### 3.4.1. 자·타각 증상 등 이상반응

이상반응 발생률에 대한 결과를 표 3-7에 요약하였다. 인체적용시험용제품을 섭취한 30명의 연구대상자 중 시험기간 동안 4명의 연구대상자에서 총 4건의 경도 또는 중등도의 이상반응이 발생하였다. 발생한 이상반응은 왼쪽 요골 건 초염 1건, 대상포진 1건, 질염 1건, 방광염 1건이었다.

분석 결과, 두 섭취군 간 이상반응의 발생에 차이가 없었으며, 이상반응과 인체적용시험용제품의 섭취 사이에 인과관계가 없다고 판단하였다.

표 3-7. 이상반응 발생 여부

	GINst15군 (n=15)	위약군 (n=15)	Total (n=30)	P-value <sup>1)</sup>
이상반응 (유/무)	2/13 (13/87)	2/13 (13/87)	4/26 (13/87)	>.999

Values are presented as number and percentage

<sup>1)</sup> Analyzed by Fisher's exact test.

## 3.4.2. 진단검사의학 검사

시험제품 섭취 전과 섭취 8주 후 측정된 진단검사의학검사 결과를 표 3-8에 요약하였다.

분석 결과, 두 섭취군 간 통계적 임상적으로 의미 있는 변화가 없었다.

표 3-8. 시험제품 섭취 전 · 섭취 12주 후 진단검사의학검사 결과

	GINst15군 (n=15)			위약군 (n=15)			P-value <sup>1)</sup>
	0 w	12 w	P-value <sup>1)</sup>	0 w	12 w	P-value <sup>1)</sup>	
WBC (x 10 <sup>3</sup> /μl)	5.36 ±1.09	4.71 ±0.99	0.014*	4.70 ±0.87	4.60 ±1.46	0.788	0.236
RBC (x 10 <sup>3</sup> /μl)	4.49 ±0.32	4.60 ±0.30	0.026*	4.39 ±0.24	4.43 ±0.22	0.463	0.301
Hb (g/dl)	13.67 ±1.07	13.93 ±0.98	0.090	13.53 ±0.86	13.62 ±0.70	0.568	0.431
Hct (%)	40.61 ±2.88	41.47 ±2.42	0.045*	40.31 ±2.28	40.61 ±2.06	0.588	0.396
PLT (x 10 <sup>3</sup> /μl)	255.80 ±49.36	256.73 ±38.96	0.892	248.47 ±37.9	249.73 ±54.23	0.881	0.975
ALP (IU/l)	68.00 ±19.49	68.47 ±17.60	0.832	62.8 ±14.96	65.87 ±18.15	0.116	0.365
GGT (IU/l)	17.93 ±6.73	16.33 ±6.11	0.123	15.93 ±4.06	14.67 ±3.02	0.115	0.789
AST (IU/l)	26.73 ±6.98	24.20 ±4.04	0.128	25.27 ±5.22	24.93 ±4.30	0.740	0.244
ALT (IU/l)	23.40 ±11.26	20.67 ±6.99	0.237	22.27 ±11.62	21.60 ±6.96	0.766	0.513
Total bilirubin (mg/dl)	0.82 ±0.20	0.82 ±0.33	0.962	0.88 ±0.25	0.80 ±0.26	0.241	0.375
Total protein (g/dl)	7.21 ±0.32	7.38 ±0.36	0.062	7.29 ±0.34	7.33 ±0.46	0.645	0.359
Albumin (g/dl)	4.35 ±0.20	4.43 ±0.21	0.145	4.31 ±0.18	4.39 ±0.22	0.217	>.999
BUN (mg/dl)	13.00 ±2.39	13.73 ±2.52	0.376	12.13 ±3.20	13.40 ±4.07	0.160	0.652

<b>Creatinine (mg/dl)</b>	0.61 ±0.20	0.59 ±0.18	0.369	0.56 ±0.09	0.54 ±0.05	0.170	0.697
<b>TC (mg/dl)</b>	203.93 ±33.84	199.8 ±27.02	0.588	187.40 ±24.16	183.20 ±21.99	0.576	0.995
<b>TG (mg/dl)</b>	118.93 ±47.62	123.13 ±41.95	0.687	100.80 ±36.28	99.07 ±35.78	0.839	0.656
<b>Glucose (mg/dl)</b>	88.67 ±8.68	84.33 ±6.78	0.029*	86.33 ±10.15	85.53 ±6.14	0.610	0.144
<b>Creatine kinase (IU/l)</b>	107.47 ±28.47	87.80 ±22.94	0.016*	88.87 ±30.20	87.20 ±29.96	0.785	0.065
<b>Specific gravity</b>	1.02 ±0.01	1.02 ±0.00	0.190	1.02 ±0.01	1.02 ±0.00	0.290	0.871
<b>pH</b>	6.47 ±1.04	6.43 ±0.65	0.879	6.37 ±0.92	6.13 ±0.93	0.250	0.496

<sup>1)</sup>Analyzed by linear mixed model

\* $p < .05$



## 3.4.3. 활력징후

매 방문(0주, 6주, 12주)에 측정된 활력징후를 표 3-9에 요약하였다.

분석 결과, 이완기혈압에서 두 선택군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었으나 ( $p=0.033$ ), 임상적 의미가 없는 변화라고 판단하였다.

표 3-9. 시험제품 선택 전 · 선택 12주 후 활력징후 변화

	GINst15군 (n=15)			위약군 (n=15)			$p$ -value <sup>1)</sup>
	0 w	12 w	$p$ -value <sup>1)</sup>	0 w	12 w	$p$ -value <sup>1)</sup>	
SBP (mmHg)	124.87 ±7.57	126.87 ±8.03	0.377	116.20 ±13.96	115.20 ±13.51	0.776	0.469
DBP (mmHg)	76.80 ±8.35	79.33 ±7.96	0.142	77.73 ±12.42	74.47 ±10.15	0.126	0.033*
Pulse (BPM)	74.00 ±10.95	69.27 ±8.53	0.086	75.47 ±8.43	71.20 ±6.90	0.083	0.893
Temperature (°C)	36.33 ±0.16	36.34 ±0.15	0.820	36.34 ±0.17	36.33 ±0.20	0.806	0.737

<sup>1)</sup>Analyzed by linear mixed model

\* $p < .05$

### 3.5. 결론

본 연구는 인삼가수분해농축액(GINst15) 섭취에 의한 인플루엔자 및 상기도감염 예방 효능 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약 대조 인체적용시험이다.

본 인체적용시험의 등록 목표 연구대상자 수는 GINst15군 15명, 위약군 15명이고, 시험자는 시험에 참여한 모든 연구대상자를 대상으로 시험계획서에 정해진 바에 따라 인플루엔자 및 상기도감염 발생 여부 조사, 감염 증상점수 및 회복기간 조사, 면역 관련 지표 변화 등의 유효성 평가와 이상반응 조사, 진단검사의학 검사, 심전도 및 활력징후 등의 안전성 평가를 수행하였다.

GINst15의 위약 대비 유효성 평가를 위한 주 분석군은 인체적용시험용제품 섭취 후, 최소한 1회 이상 주 평가변수에 대한 측정이 이루어진 연구대상자군(FAS: Full analysis set)으로써 인체적용시험 계획서에 명시된 모든 절차를 수행 완료한 총 30명(GINst15 군 15명, 위약군 15명)을 대상으로 분석을 시행하였다. 안전성 평가를 위한 주 분석군은 인체적용시험에 참여하여 최소 1회 이상 시험용제품을 섭취한 연구대상자군(safety군)이었다.

1차 유효성 평가 항목 분석 결과, 인플루엔자 의사 증상이 두 섭취군 모두에서 발생하지 않았으며, 시험 기간 GINst15군의 연구대상자 15명 중 4명(27%)에서, 위약군의 연구대상자 15명 중 12명(80%)에서 상기도감염 증상이 발생하여 GINst15군의 상기도감염 증상 발생률이 위약군에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다( $p=0.003$ ). 상기도감염 증상 10가지 세부 항목 중 GINst15군의 코막힘 증상 발생률이 위약군에 비해 통계적으로 유의하게 낮았으며( $p=0.017$ ), 콧물 증상이 GINst15군 3명, 위약군 8명에서 발생하여 통계적 차이가 있는 경향이었다( $p=0.058$ ). 인후통, 콧물, 코막힘, 재채기, 섉목소리, 근육통, 두통, 기침 발생률 또한 통계적 유의성은 없으나 GINst15군에서 위약군에 비해 더 낮았다.

연구대상자들의 상기도감염 누적 발생률을 분석한 결과, GINst15군의 상기도감염 누적발생률이 위약군보다 낮았으며, GINst15군의 위험도(Hazard ratio)가 위약군의 25%로 통계적으로 유의하게 낮았다( $p=0.004$ ).

2차 유효성 평가 항목에서는 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었으나, 상기도감염 증상이 나타난 연구대상자들의 증상 지속기간이 GINst15군에서  $9.25 \pm 7.63$ 일, 위약군의  $12.25 \pm 12.69$ 일보다 짧았고, 10가지 상기도감염 증상 중 인후통, 콧물, 섉목소리, 두통의 증상점수 또는 증상지속기간도 GINst15군에서 위약군

보다 낮았다.

안전성 평가를 위해 연구대상자 30명(safety군)을 대상으로 이상반응, 진단검사의학적 검사(혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사), 활력징후 등의 측정치를 분석하였다. 이상반응 분석 결과 총 30명의 연구대상자 중 4명의 연구대상자에서 4건의 경도 또는 중등도 이상반응이 발생하였다. 분석 결과, 두 선택군 간 이상반응의 발생에 차이가 없었으며, 이상반응과 시험용제품 선택 사이에 인과관계가 없다고 판단하였다. 활력징후 측정 결과, 이완기혈압이 GINst15 군에서 상승하고, 위약군에서 감소하여 두 선택군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었으나( $p=0.033$ ), 임상적 의미가 없는 변화라고 판단하였다. 진단검사의학적 검사 항목에서는 두 선택군 간 통계적·임상적으로 의미 있는 차이가 없었다.

요약하면, 본 탐색적 인체적용시험을 통해 건강한 성인에서 GINst15 선택 후 상기도감염 증상 발생률 및 부작용발생률이 위약군에 비해 유의하게 낮음을 확인할 수 있었으며, 시험이 진행되는 도중 임상적으로 의미 있는 이상반응이나 신체 변화가 관찰되지 않아 GINst15선택이 인체에 안전하다고 판단하였다. 본 시험은 GINst15 선택에 의한 인플루엔자 및 상기도감염 개선 효과를 탐색하기 위한 목적으로 설계됨에 따라 전형적인 통계적 가설 검정을 위한 시험에서와 같이 시험군과 위약군을 비교하는 것에 한계가 있음에도 불구하고 일부 상기도감염 증상의 개선에 대한 통계적 유의성을 확인할 수 있었고, 추후 확증적 인체적용시험 수행을 위한 토대를 마련할 수 있었다.

### Ⅲ. 참고문헌

- 1) Saulnier L, Sado PE, Branlard G, Charmet G, Guillon F. (2007) Wheat arabinoxylans: Exploiting variation in amount and composition to develop enhanced varieties. *J Cereal Sci* 46:261–281.
- 2) 농촌진흥청 국립농업과학원. 전통 향토음식 용어사전, 교문사, 2010
- 3) 이한창. (1991) 발효식품. 신광출판사. 189–194.
- 4) Jang JH, Kim CY, Lim SH, Yang CH, Song KS, Han HS, Lee HK, Lee JW. (2010) Neuroprotective effects of *Triticum aestivum* L. against beta-amyloid-induced cell death and memory impairment. *Phytotherapy Research* 24:76–84.
- 5) Han HS, Jang JH, Jang JH, Choi JS, Kim YJ, Lee C, Lim SH, Lee HK, Lee JW. (2010) Water extract of *Triticum aestivum* L. and its components demonstrate protective effect in a model of vascular dementia. *J Med Food* 13:572–578.
- 6) Han HS, Choi JS, Kim YJ, Lim SH, Lee HK, Jang JH, Moon YS, Lee JW. (2008) Protective effect of *Triticum aestivum* L. extract and its components, starch, in rat focal cerebral ischemia. *Current Topics in Nutraceutical Research* 6:47–54.
- 7) Guidance for industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. July 2005
- 8) Macrae FA, Kiliias D, Abbott M, Sharpe K, Young GP. (1997) Effect of cereal fibre source and processing on rectal epithelial cell proliferation. *Gut* 41:239–244
- 9) Alberts DS, Martinez ME, Roe DJ, Guillen-Rodriguez JM, Marshall JR, Van Leeuwen JB, Reid ME, Ritenbaugh C, Vargas PA, Bhattacharyya AB, Earnest DL, Sampliner RE. (2000) Lack of effect of a high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. *The New England Journal of Medicine* 342:1156–1162
- 10) Jacobs ET, Giuliano AR, Roe DJ, Guillen-Rodriguez JM, Hess LM, Alberts Ds, Martinez ME. (2002b) Intake of supplemental and total fiber and risk of colorectal adenoma recurrence in the wheat bran fiber trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 11:906–914.
- 11) Pomare EW, Heaton KW, Low-Beer TS, Espiner HJ. (1976) The effect of wheat bran upon bile salt metabolism and upon the lipid composition of bile in gallstone patients. *Digestive Disease* 21:521–526.
- 12) Park JH, Park YN, Ko HJ. (1991) Modification of the mini-mental state

examination for use in the elderly in a non-western society: Part II. Cutoff points and their diagnostic validities. *Int J Geriatr Psychiatry* 6:875-882.

## 제 3절 미주 시장 부합형 인삼음료 상품화 기술 개발

### 1. 기호성 개선 인삼 추출모델 개발을 위한 가공처리 최적화

#### 가. 인삼 분말 제조

##### (1) 인삼원료

본 실험에 사용한 인삼은 금산군에서 2013년에 수확한 4년근 원료수삼을 건조시킨 백삼과 홍삼제조방법에 준하여 증삼가온시켜 제조한 홍삼을 구입하였으며 부위에 따른 시료 개체간의 차이를 줄이기 위하여 크기와 굵기가 비슷한 주근만을 선별하여 사용하였다. 인삼 추출을 위한 주정은 주정판매월드로부터 95% 순도의 주정을 구입하여 사용하였다.

##### (2) 가공 처리 방법

백삼과 홍삼을 각각 원형, 2.5 cm 절단, 1 mm 입자 파쇄삼의 3가지 형태로 크기를 달리하여 총 6종의 시료를 준비하였다. 로스팅(roasting) 가공공정을 위하여 산업용 순환식 hot blade roaster(HMAX 영농조합법인)를 이용하였으며 팽화(puffing) 가공공정을 위하여 팽화기(그린바이오)를 이용하여 크기별 인삼을 각각 가공처리하였다. 즉, hot blade roaster 처리 시료(2.5 cm 절단, 1 mm 파쇄삼)는 230~245°C, 바람세기 40~75 m/s로 조정되는 roaster에 인삼을 일정량씩 자동 투입시켜 용기내에서 순환시키며 30~50 초간 가열처리하여 로스팅 시료를 제조하였다(이하 로스팅군). 팽화처리는 회당 처리이 용량 10 kg 팽화기에 시료(원형, 2.5 cm 절단삼)를 각각 2 kg씩 넣고 120~130°C, 압력 2~3 kgf/cm<sup>2</sup>로 조정하여 10~15분 가열한 후 팽화기의 문을 개방, 팽화를 유도하여 팽화된 시료를 제조하였다(이하 팽화군).

##### (3) 추출단계별 농축액분말 제조

가공처리(roasting, puffing) 방법을 달리한 백삼과 홍삼 중 2.5 cm 절단삼을 시료로 사용하여 인삼 추출액을 제조하였다. 전처리 인삼의 수분함량을 측정하여 건물량 기준으로 300 g의 시료를 칭량하여 추출용 용기에 넣고 여기에 시료 중량대비 8 배량(v/w)에 해당하는 2,500 mL의 추출용 용매를 각각 첨가하여 환류냉각기를 부착한 다음 일정 온도로 조절되는 항온기에서 12시간씩 1차에서 6차까지 추출단계별 추출액을 제조하였다. 이때 가공처리하지 않은 2.5 cm 절단 원료삼을 대조군으로 사용하였다.

추출 절차는 산업적으로 주로 이용되는 인삼 농축액 추출공정을 따랐으며 이를 자세히 기술하면 그림 1과 같이 인삼 시료에 70% 주정 2,500 mL을 추출용매로 첨가하여 65°C에서 12시간 가열추출한 다음 냉각한 것을 whatman No.1 여과지로 여과하고 여과액을 2,500 mL로 정용하여 1차 추출액을 제조하였다. 1차 추출한 인삼 잔사에 다시

60% 주정을 첨가하여 75°C에서 12시간 열수추출 후 여과, 정용하여 2차 추출액, 다시 인삼 잔사에 50% 주정을 추출용매로 80°C에서 12시간 열수추출 후 여과, 정용하여 3차 추출액을 제조하였다. 이들 인삼 잔사에 다시 40% 주정을 추출용매로 85°C에서 12시간 열수추출 후 여과, 정용하여 4차 추출액, 잔사에 20% 주정을 추출용매로 90°C에서 12시간 추출한 5차 추출액 및 마지막으로 5차 추출한 인삼 잔사에 물을 추출용매로 첨가하여 95°C에서 12시간 열수추출 후 여과, 정용하여 6차 추출액을 각각 제조하였다.

가공 전처리 방법을 달리한 백삼, 홍삼으로부터 제조한 추출액 시료 36종은 45~50°C에서 회전식 진공증발기(rotary vacuum evaporator)를 이용하여 적정 농도로 농축시킨 다음 -70°C이하 에서 급속동결 후 동결건조기를 이용하여 인삼농축액분말을 제조하였다.

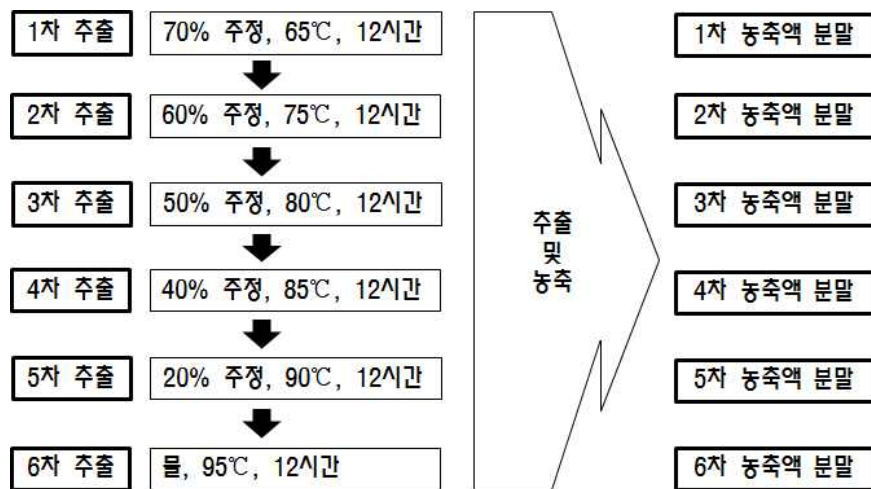


그림 1. 추출단계별 인삼농축액분말 제조 공정

#### (4) 가공처리 최적화 인삼 선정을 위한 재구성 인삼농축액분말 제조

기호성 개선 인삼 음료 제조를 위한 원료 인삼을 선정하고자 앞서 각기 다른 추출 조건을 사용하여 1~6차까지 추출단계별로 제조한 인삼농축액분말을 이용하여 재구성 인삼농축액분말을 제조하였다(표 1). 농축액분말의 재구성 혼합비는 추출단계별 인삼 추출액의 가용성 고형분 측정 결과를 토대로 계산하였다.



표 1. 재구성 인삼농축액분말 제조를 위한 추출단계별 인삼농축액분말의 혼합비

인삼	인삼농축액분말(%)							
	1차	2차	3차	4차	5차	6차	합계	
백삼	대조군	37.8	27.2	13.6	8.4	6.3	6.7	100
	로스팅군	34.1	28.3	13.9	8.8	6.7	8.2	100
	팽화군	37.9	25.8	12.6	7.5	7.7	8.5	100
홍삼	대조군	21.8	31.0	21.2	9.3	8.6	8.1	100
	로스팅군	28.7	32.0	14.7	8.5	8.9	7.2	100
	팽화군	32.1	28.8	13.2	9.0	9.0	7.9	100

나. 가공처리 인삼, 추출단계별 및 재구성 농축액분말의 품질특성 분석

(1) 가용성 고형분 추출 수율

추출조건을 달리하여 얻어진 가공처리 방법별 백삼, 홍삼 추출액의 가용성 고형분 수율은 여과시킨 1~6차 추출액을 2500 mL로 정용 후 이중 5 mL씩을 취하여 미리 항량을 구한 수기에 넣어 105°C건조법(식품공전)을 이용하여 고형분을 계산하였다.

(2) 조사포닌 함량

(가) 인삼 원료 조사포닌

시료의 조사포닌 함량은 CODEX STAN 295R-2009에 따라 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 2.5 cm 분쇄삼을 100 메쉬 입자로 분쇄 후 5 g 씩을 취하여 수포화 부탄올(*n*-BuOH) 50 mL을 넣어 80°C에서 1시간 가량 환류 추출을 하고 여과하여 잔사를 3회 반복 추출하여 모아진 여액을 여과하여(Whatman No.2) 분액깔때기에 붓고 증류수 50 mL을 넣어 10~15분간 충분히 교반시킨 후에 수포화 부탄올 층과 물 층이 완전히 분리될 때까지 방치시켰다. 수포화 부탄올 층을 분리하여 미리 항량을 구한 수기에 넣어 45~50°C의 회전 진공 증발기를 사용하여 감압농축하였다. 농축물에 ethyl ether 50 mL을 넣어 46°C에서 30분간 환류추출 후 ethyl ether를 완전히 제거하고 dry oven에서 2시간 건조 항량을 구한 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 산출하였다.

(나) 농축액분말의 조사포닌

동결건조된 인삼농축액분말 1 g을 증류수 60 mL에 녹여 분액깔때기에 붓고 동량의 ethyl ether를 더한 다음 10~15분간 충분히 교분 후에 물 층과 ethyl ether 층이 완전히 분리될 때까지 방치시켰다. 분리된 ethyl ether 층은 제거하고 남아 있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 60 mL을 더하여 다시 15분간 충분한 교반 후에 물 층과 수포화 부탄올 층이 완전히 분리될 때까지 방치시켰다. 분리된 수포화 부탄올 층을 따로 모아 놓고 물 층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3회 반복하였다. 분리된 수포화

부탄올 층에 증류수 50 mL을 넣고 충분한 교반 후 다시 분리될 때까지 방치시킨 후 물 층만 제거하고 수포화 부탄올 층을 미리 항량을 구한 수기에 넣어 회전 진공 증발기를 사용하여 감압농축 후 dry oven에서 2시간 건조 항량을 구한 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 산출하였다.

(다) 산성 다당체

산성 다당체 함량은 카바졸-황산법에 따라 추출단계별 인삼농축액분말을 증류수에 용해하고 0.5 mL을 취해 test tube에 넣고 여기에 carbazole 0.25 mL와 진한황산 3 mL을 넣은 후 85°C에서 5분간 반응시키고 실온에서 15분간 냉각시켜 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로 D-galacturonic acid를 증류수로 2, 4, 6, 8, 10 µg/mL 농도가 되도록 조제하여 정량곡선( $y=9.902x-0.006$ ,  $R^2=0.998$ )을 작성하였으며 이를 이용하여 산성다당체 함량을 환산하였다.

(라) Ginsenoside 함량

Ginsenoside 함량은 조사포닌 측정과 동일하게 전처리된 시료를 methanol에 용해한 후 membrane filter(0.45 µm)로 여과하고 여과액을 HPLC(Waters e2695, USA)를 사용하여 기술표준원의 방법에 따라 분석하였다. 이때 컬럼은 YMC-Triart C<sub>18</sub> column (250×4.6 mm, 12nm)을, 검출기는 UV detector(203 nm)를 사용하였다. 이동상으로는 HPLC용 water와 acetonitrile을 이용하였으며 그 비율은 표 2와 같고 이동상의 유속은 분당 1.6 mL이었다. 시료 주입량은 20 µL, 컬럼온도는 35°C에서 실시하였다.

표 2. Ginsenoside 분석을 위한 HPLC system 이동상 조건

이동상	Running time(min)								
	0	10	40	55	70	72	82	84	90
Acetonitrile(%)	20	20	32	50	65	90	90	20	20
Water(%)	80	80	68	50	35	10	10	80	80

다. 재구성 농축액분말 희석액 제조 및 희석액 특성 분석 및 관능평가

(1) 음료 제조

재구성 인삼농축액을 이용한 희석액은 식품공전상의 인삼·홍삼음료 제조/가공 기준(인삼사포닌 80 mg/g, 홍삼사포닌 70 mg/g 기준 0.15% 이상)에 맞게 조사포닌 함량을 조정하고 정제수로 희석하여 제조하였다.

## (2) 색도, 흡광도 측정

음료의 색도는 Color & color difference meter를 이용하여 L, a, b 값을 측정하였다. L값(백색)은 0(검정색)에서 100(흰색)까지, a값은 -80(녹색)에서 100(적색)까지, b값은 -70(청색)에서 70(황색)의 범위에서 측정하였으며, 이때 사용한 백판의 L, a, b값은 L=92.68, a=0.81, b=0.86이었다. 또한, 수용성 갈변물질의 갈색도를 측정하기 위하여 spectrophotometer를 이용하여 285nm, 400nm, 460nm 및 490nm에서 측정하여 흡광도(O.D)로 표시하였다.

## (3) 관능평가

### (가) 묘사분석(Descriptive analysis)에 의한 관능강도 및 기호도 조사

검사원(judge)은 한국식품연구원에서 근무하는 25~30세의 남성 3명, 여성 12명으로 총 15명이 참여하였다. 본 실험에서는 음료를 세 자리 난수표가 코드된 종이컵에 4°C의 온도로 제공되었으며, 각 검사원에게 채점표를 나누어준 후 9점 척도에 의해 각 측정 항목의 강도를 측정하도록 하였다. 제시된 음료는 랜덤화되어 순서상의 오차를 최소화하였다. 기호도는 후냄새, 쓴맛, mouthfeel, 종합적기호도에 대해 9점 기호척도로 평가하였으며 설문지의 예시는 그림 2와 같다.



(나) 전자혀를 이용한 맛 평가

재구성 인삼농축액을 이용하여 제조한 음료의 보다 객관적인 맛의 차이를 확인하기 위해 미각센서시스템(taste sensor system)을 이용한 전자혀(electronic tongue)를 이용하여 맛 분석 장치로 검사하였다(그림 3). 전자혀는 TS-5000Z(Insent, Japan)을 이용하였으며 센서는 Foodstuff sensor 5종을 장착하고 2 step washing sample measurement 모드에서 시료용액 40 mL가 담긴 용기에 전극들이 잠겨있다가 평형에 도달하게 되면 측정을 마치고 세척액으로 세척한 뒤 표준용액(3M potassium chloride+0.3mM tartaric acid+tannic acid+monosodium glutamate+iso-α-acid))에서 안정화 단계를 거쳐 시료를 분석하였다. 모든 실험은 상온에서 4회 반복 측정하였다. 측정결과는 분석 소프트웨어를 이용하여 Basic process 모드에서 산출하였다. 표시 단위는 분석 소프트웨어에서 산출되는 미각정보 단위로 하였으며 센서의 전극으로 인해 측정된 결과는 다시 맛의 수치로 변화시켜 결과로 나타내었다.

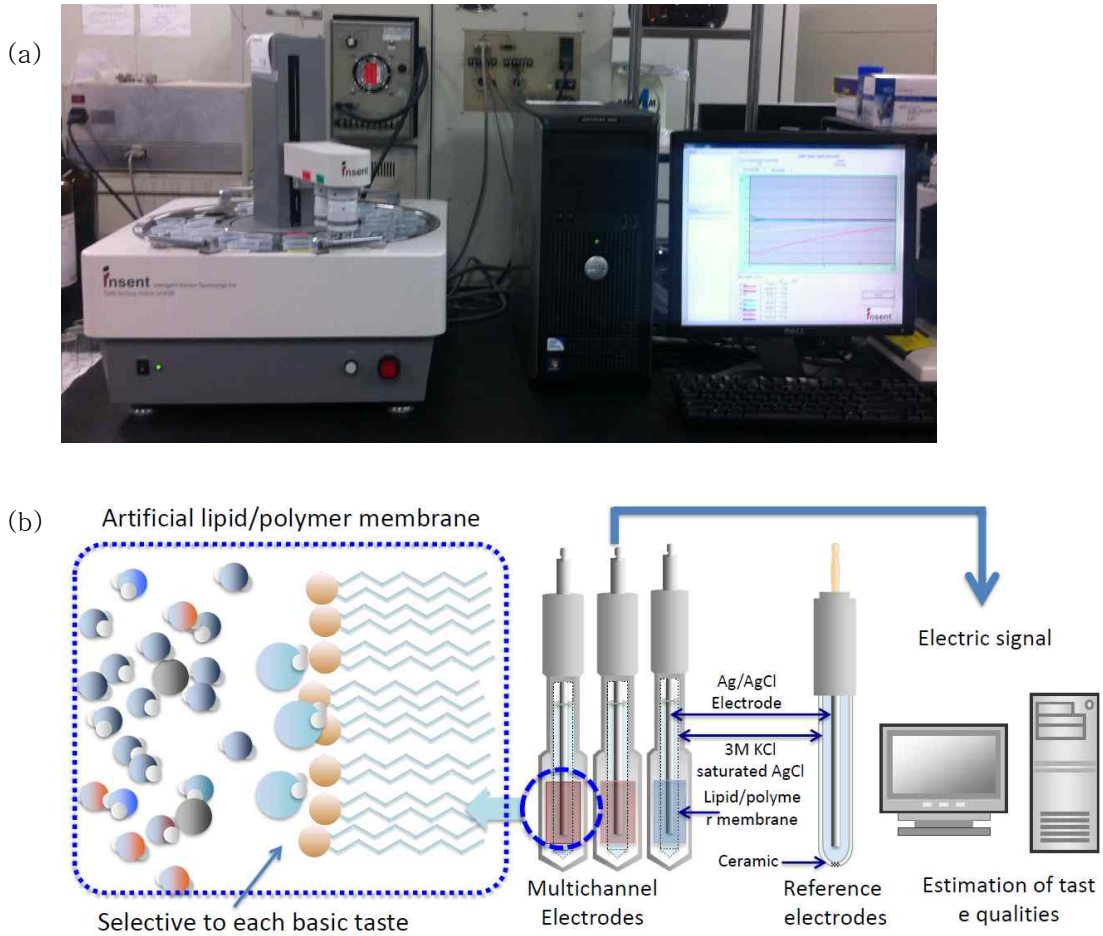


그림 3. 전자혀(Taste sensing system).

(a) TS-5000Z(Insent Inc.)의 사진, (b) TS-5000Z의 작동 모식도

(다) 통계처리

통계분석은 SAS 통계프로그램을 이용하여 ANOVA 방법과 Duncan's multiple range test로  $p < 0.05$ 에서 시료간의 유의차를 검증하였다.

## 2. 미주시장 부합형 선택적 인삼추출·농축액 모델 확립 및 규격설정

### 가. 팽화홍삼 추출단계별 농축액분말 희석액 제조

추출단계별 팽화홍삼 농축액 분말을 0.1% 농도로 정제수에 현탁, 용해시킨 다음 여과하였다.

### 나. 팽화홍삼 추출단계별 농축액분말 희석액 관능평가

팽화홍삼의 추출단계별 농축액분말을 0.1% 희석액으로 제조하여 묘사분석에 의한 관능강도를 조사하였다.

### 다. 미주시장 부합형 인삼농축액 모델 설정

선택적 재구성 인삼농축액분말 모델 시료는 추출단계별로 얻은 팽화 홍삼농축분말을 표 3과 같은 배합으로 선택적으로 혼합하여 농축액 모델을 제조하였다. 이때 인삼 농축액 제조시 전체 수율을 고려하여 1차, 2차 추출 단계에서 얻은 농축분말은 모든 모델에 기본적으로 함유되게 하고, 모델 1에 3차 추출단계에서 얻은 농축분말을 더 혼합한 모델 1, 4차 농축액을 더 혼합한 모델 2, 5차 농축액을 더 첨가한 모델 3, 6차 농축액을 더 조합한 모델 4로 각각 구분하였다(표 17). 농축분말의 혼합 비율은 앞서 언급한 것과 같이 팽화홍삼의 추출단계별 가용성 고형분 수율의 합을 100으로 하여 각 단계별 수율을 백분율로 계산, 혼합하였다.

표 3. 선택적 재구성 인삼농축액 모델 제조를 위한 추출단계별 팽화홍삼 농축액분말의 혼합비

모델 음료 <sup>**</sup>	팽화홍삼 농축액분말(%)						합계
	1차	2차	3차	4차	5차	6차	
모델 1	43.3	38.9	17.8	-	-	-	100
모델 2	45.9	41.2	-	12.9	-	-	100
모델 3	45.9	41.2	-	-	12.9	-	100
모델 4	46.6	41.9	-	-	-	11.5	100

<sup>\*\*</sup>모델 1: 1차+2차+3차, 모델 2: 1차+2차+4차, 모델 3: 1차+2차+5차, 모델 4: 1차+2차+6차  
1차: 65°C/70% 주정 추출, 2차: 75°C/60% 주정 추출, 3차: 80°C/50% 주정 추출, 4차: 85°C/40% 주정 추출, 5차: 90°C/20% 주정 추출, 6차: 95°C/물 추출

라. 선택적 재구성 인삼농축액 모델 희석액 제조

선택적 재구성 농축액 모델을 이용한 희석액은 식품공전상의 인삼·홍삼음료 제조/가공 기준(인삼사포닌 80 mg/g, 홍삼사포닌 70 mg/g 기준 0.15% 이상)에 맞게 조사포닌 함량을 조정하고 정제수로 희석하여 제조하였다.

마. 선택적 인삼농축액분말 모델 희석액의 특성 분석

(1) 색도, 흡광도 측정

앞서 언급한 희석액의 색도, 흡광도 측정 방법에 따라 실시하였다.

(2) 투광도 측정

각 희석액 1 mL을 크리스탈 큐벳에 담아 UV-Spectrophotometer를 이용하여 590 nm에서 투광도(%T)를 측정하였다.

(3) UV-spectrum 변화

홍삼 팽화구의 추출 분말 1차부터 6차까지를 희석액으로 제조하여 Spectrophotometer를 이용하여 200 nm에서 500 nm까지의 전 파장 측정을 통하여 흡광도(O.D)를 측정 하였다. 이중 선택적으로 갈변 진행도와 중간생성물 확인을 위해 285 nm에서, 그리고 400(자색계), 460(청록색계), 490(갈색계) nm의 흡광도를 선택적으로 추출하여 비교하였다.

바. 선택적 재구성 인삼농축액 모델 희석액 관능평가

(1) 묘사분석(Descriptive analysis)에 의한 관능강도 및 기호도 조사

선택적 재구성 인삼농축액 모델 희석액을 이용하여 상기 '1.가.6)다)(1) 묘사분석(Descriptive analysis)에 의한 관능강도 및 기호도 조사의 방법'과 동일하게 시행하였다.

(2) 전자혀를 이용한 맛 평가

선택적 재구성 인삼농축액 모델 희석액을 이용하여 상기 '1.가.6)다)(2) 전자혀를 이용한 맛 평가'과 동일하게 시행하였다.

(3) 상업적 홍삼농축액과 선택적 재구성 농축액 모델의 관능평가

시판되고 있는 홍삼농축액 3종을 구입, 각각의 조사포닌 함량을 측정한 다음 홍삼음료 제조 기준에 맞게 조사포닌 농도를 조정, 정제수로 희석한 것을 본 연구에서 설정한 선택적 재구성 팽화홍삼농축액 모델과 기호도를 비교, 평가하였다.

#### (4) 통계처리

통계분석은 SAS 통계프로그램을 이용하여 ANOVA 방법과 Duncan's multiple range test로  $p < 0.05$ 에서 시료간의 유의차를 검증하였다.

사. 미주시장 부합형 선택적 인삼추출·농축액 모델 검증 및 규격 설정

##### (1) 모델 검증

선택적 재구성 인삼농축액 모델 회석액 중 기호도가 가장 우수한 1, 2 및 6차 추출 단계에서 각각 얻어진 농축액분말을 혼합하는 음료용 농축액 모델 검증 실험은 팽화홍삼을 원료로 추출단계별 농축액분말 제조공정 중 1, 2차 추출단계에서 사용한 것과 동일 조건 (1차 : 70% 주정, 65°C, 12시간, 2차 : 60% 주정, 75°C, 12시간 추출)으로 추출액을 제조하고 잔사에 6차 추출단계에서 사용한 조건 (6차 : 정제수, 95°C, 12시간 추출)에 따라 추출액을 제조한다. 1, 2, 6차 추출액을 하나로 혼합 후 농축액으로 제조하고 조사포닌의 함량을 측정, 인삼음료 제조 기준에 맞게 농축액을 회석하여 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델 4 회석액과 관능적 특성을 비교, 분석한다.

##### (2) 선택적 인삼 추출·농축액 모델 규격 설정

선택적 인삼 추출·농축액 모델의 규격 설정을 위한 최적 추출조건 설정은 RSM을 적용하여 1, 2, 6차 추출액 제조시의 추출온도, 추출시간에 따른 가용성고형분과 조사포닌 함량을 분석하여 팽화홍삼의 적정 추출조건을 확립하고 선택적 인삼농축액의 규격을 설정한다.

### 3. 선택적 인삼 추출 모델의 표준화 공정 설정 및 적용 검증

가. 선택적 재구성 인삼농축액 분말 모델 제조 및 미국 현지 소비자 대상 기호도 개선 검증

#### (1) 선택적 재구성 인삼농축액 분말 모델 제조

팽화처리된 홍삼에 중량대비 8배(v/w)의 70% 주정을 추출용매로 첨가하여 65°C에서 12시간 환류추출한 다음 냉각한 것을 whatman No.1 여과지로 여과, 정용하여 1차 추출액을 제조하였다. 추출액 시료는 45~50°C에서 회전식 진공증발기를 이용하여 적정 농도로 농축시킨 다음 -70°C이하 에서 급속동결 후 동결건조시켜 인삼농축액분말(1차 농축액분말)을 제조하였다. 1차 추출한 인삼 잔사에 다시 60% 주정을 첨가하여 75°C에서 12시간 열수추출 후 여과, 정용하여 2차 추출액을 얻은 후, 다시 인삼 잔사에 50% 주정을 추출용매로 80°C에서 12시간 열수추출 후 여과, 정용하여 3차 추출액을 제조하였다. 이들 인삼 잔사에 다시 40% 주정을 추출용매로 85°C에서 12시간 열수추출 후 여과, 정용하여 4차 추출액, 잔사에 20% 주정을 추출용매로 90°C에서 12시간 추출한 5차



추출액 및 마지막으로 5차 추출한 인삼 잔사에 물을 추출용매로 첨가하여 95°C에서 12시간 열수추출 후 여과, 정용하여 6차 추출액을 각각 제조하였다. 추출액 시료는 1차 농축액분말 시료와 같은 방법에 따라 농축, 동결건조과정을 거쳐 인삼농축액분말(2, 3, 4, 5, 6차 농축액 분말)을 제조하였다.

미국 소비자 대상 기호도 평가를 위한 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델은 위의 6단계별 농축액분말 중 1단계, 2단계, 6단계에서 각각 얻어진 인삼농축액분말을 46.9 : 42.0 : 11.1%(v/v)의 비율로 고르게 혼합하여 제조하였다(그림 4).

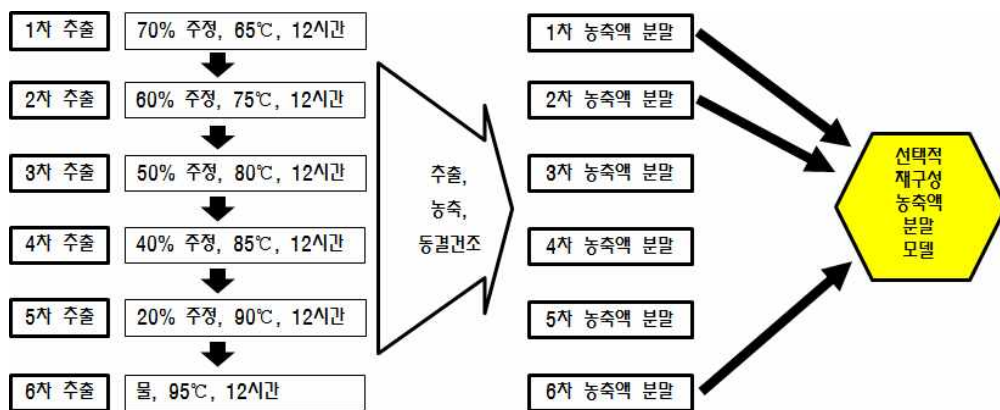


그림 4. 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델 제조 공정도

(2) 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델의 미국 현지 소비자 대상 기호도 평가

(가) 미국 현지 패널 모집

참가자는 일리노이주립대 학생 및 교직원에게 e-mail을 발송하여 모집하였는데, 18세 이상의 인삼에 대해 알려지 또는 과민반응이 없는 비아시아계 100인을 선정하였다. 패널의 구성은 18세 이상 25세 미만이 93%를 차지하였고 여성 비율은 78%였다.

(나) 기호도 평가 과정

선택적 재구성 인삼농축액분말 모델과 국내 대형마트에서 판매중인 홍삼농축액을 대상으로 실시하였다. 개발 모델 시료와 시판 홍삼농축액을 식품공전상의 홍삼음료 제조 기준(홍삼사포닌 70 mg/g 0.15% 이상)에 맞도록 정제수에 희석하여 기호도 평가에 이용하였다. 2종의 음료는 각각 3자리 난수로 기입된 용기에 15 mL 용량을 담아 제공하였으며 평가자에게 제공되기 전까지 냉장보관하였다. 9점 척도법을 이용하여 전반적 기호도(overall acceptance)와 향(aroma), 맛(taste), 후미(aftertaste)에 대해 평가를 진행하였다. 음료를 섭취하기 전에는 온수로 입을 행구어 다른 요인이 기호 평가에 간섭하지 못하도록 방지하였다.

(다) 통계분석

통계분석은 SAS 통계프로그램을 이용하였으며 각 실험군의 결과는 평균치와 표준오차로 나타내었다. 각 실험군간의 결과 비교는 ANOVA test를 사용하여 유의차 검정을 하고 유의적인 차이가 있는 항목에 대해서 Duncan's multiple range test에 의해  $p < 0.05$ 에서 시료간의 유의차를 검증하였다.

나. 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델 기준에 따른 기호성 개선 인삼농축액 제조

(1) 기호성 개선 인삼농축액 제조

추출단계별로 제조된 인삼농축액분말을 선택적으로 조합하는 재구성 농축액분말 모델의 제조공정 단순화와 연속추출이 용이한 공정 검토를 위해 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델의 제조공정을 기준으로 하여 인삼 추출·농축액을 제조하였다.

평화인삼 증량대비 8배의 70% 주정을 추출용매로 첨가하여 65°C에서 12시간 추출, 냉각 후 여과하여 1차 추출액을 제조하였다. 1차 추출한 인삼 잔사에 60% 주정을 첨가하여 75°C에서 12시간 추출, 여과하여 2차 추출액을 제조하고 바로 잔사에 정제수를 첨가하여 95°C에서 12시간 추출, 여과하여 3차 추출액을 제조하였다. 또한 인삼 잔사에 다시 정제수를 첨가하여 95°C에서 12시간 추출, 여과하여 4차 추출액을 제조하는 4단계 공정으로 추출액을 제조하였다.

농축액 1은 전체 4단계 추출액 중 1차, 2차, 3차 추출액을 각각 동일량씩 혼합하였고, 농축액 2는 1차, 2차, 3차, 4차 추출액을 동일비율로 혼합하여 회전식 진공증발기를 이용하여 45~50°C 온도에서 농축시켜 각각 인삼농축액을 제조하였다.

(2) 선택적 인삼 농축액의 품질특성 분석

(가) 가용성 고형분 함량 측정

추출조건 변화에 따라 얻어진 농축액의 가용성 고형분 함량은 식품공전의 105°C 건조법을 적용하였는데, 여과시킨 각각의 추출액을 일정량(50 mL)으로 정용 후 5 mL을 취하여 미리 항량을 구한 수기에 담아 105°C 오븐에 건조하여 수분을 모두 제거하고 증가한 무게를 계산하였다.

(나) 조사포닌 함량 측정

조사포닌 함량은 CODEX STAN 295R-2009의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 농축액 1 g을 증류수 60 mL에 녹여 분액깔때기에 붓고 동량의 ethyl ether를 더한 다음 10~15분간 충분히 교반 후에 물 층과 ethyl ether 층이 완전히 분리될 때까지 방치시켰다. 분리된 ethyl ether 층은 제거하고 남아 있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 60 mL을 더하여 다시 15분간 충분한 교반 후에 물 층과 수포화 부탄올 층이 완전히 분리될 때까지 방치시켰다. 분리된 수포화 부탄올 층을 따로 모아 놓고 물 층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3회 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올 층에 증

류수 50 mL을 넣고 충분한 교반 후 다시 분리될 때까지 방치시킨 후 물 층만 제거하고 수포화 부탄올 층을 미리 항량을 구한 수기에 넣어 회전 진공 증발기를 사용하여 감압농축 후 dry oven에서 2시간 건조 항량을 구한 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 산출하였다.

### (3) 선택적 인삼 농축액의 관능평가

#### (가) 시료 제조

농축액 1과 농축액 2의 분석된 조사포닌 함량을 토대로 홍삼음료 기준(홍삼사포닌 70 mg/g 기준 0.15% 이상)에 맞도록 정제수에 희석하여 관능평가에 이용하였다.

#### (나) 묘사분석(Descriptive analysis)에 의한 관능강도 및 기호도 평가

검사원은 한국식품연구원에서 근무하는 25~35세 연령의 지원자 중 인삼의 쓴맛, 흠냄새, 뚝은맛 강도를 달리한 예비 시료에 대한 검증 평가 후 총 20명을 선발하였다. 음료는 세 자리 난수표가 코드된 종이컵에 4°C의 온도로 제공되었으며, 각 검사원에게 채점표를 나누어준 후 9점 척도에 의해 각 측정 항목의 강도와 기호도를 평가하게 하였다. 음료는 랜덤으로 제공하여 시료 개발 순서에 따른 예측평가의 오차를 최소화하였다.

#### (다) 통계분석

‘1. 가. 1) 나) (3) 통계분석’의 방법에 따라 ANOVA 검증 후 유의차 확인은 신뢰수준 95%에서 Duncan’s multiple range test를 이용하였다.

## 4. 미주시장 부합 선택적 인삼 추출·농축액 표준화 공정 설정 및 검증

### 가. 제조공정 표준화를 위한 추출단계별 최적화 조건 설정

선택적 인삼 추출액의 추출단계별 최적 추출조건 설정을 통한 제조공정 표준화를 위해 팽화홍삼을 환류냉각기가 부착된 추출용기에 증량대비 8배량(v/w)에 해당하는 추출용매에 완전히 잠기도록 투입 후 각각의 추출조건에 맞도록 설정하여 단계별 추출액을 제조하였다.

1단계 추출액 제조조건 설정을 위해 팽화홍삼 증량대비 8배의 70%와 80% 주정을 추출용매로 65, 75, 85°C 온도에서 6, 8, 10, 12시간의 추출조건으로 추출액을 제조하였다. 각각의 추출액은 여과 후 회전식농축기를 이용하여 추출용매가 완전히 제거될 때까지 농축한 다음 정제수를 이용하여 일정량으로 정용하여 1단계 시료를 제조하였다.

2단계 추출액은 1단계 추출과정에서 최적화 조건으로 설정된 추출용매, 온도, 시간으로 팽화홍삼을 처리하고 얻은 인삼잔사에 다시 60%와 70% 주정을 추출용매로 첨가하여

추출온도(65, 75°C), 추출시간(8, 10시간)별 추출액을 제조한 다음 1단계 추출액과 동일 방법으로 용매를 제거하고 정용하였다.

마지막으로, 3단계 추출액 제조조건 설정은 1차, 2차 추출단계에서 설정된 최적 조건으로 처리하고 남은 인삼잔사에 정제수를 첨가하여 추출온도(85, 95°C), 추출시간(8, 10, 12시간)별로 각각 2회씩 반복 추출하여 얻은 동일 조건별 추출액을 하나로 혼합 후 여과하고 농축, 일정량으로 정용하여 3차 추출액을 제조하였다.

#### 나. 인삼농축액의 표준화를 위한 선택적 인삼농축액 모델 제조

먼저 최적 추출조건에 따라 1차, 2차 인삼 추출·농축액을 제조하였다. 2차 추출이 완료된 원료 잔사에 정제수를 첨가하여 85°C 8시간(3차-①), 10시간(3차-②), 12시간(3차-③) 및 95°C 8시간(3차-④), 10시간(3차-⑤), 12시간(3차-⑥) 조건에서 각각 2회 반복 추출한 것을 조건별로 하나로 혼합, 농축시켜 3차 인삼 추출·농축액 6종을 제조하였다.

인삼농축액 표준화 시료는 앞서 제조한 1차, 2차 농축액에 조건별 3차 농축액을 동일 비율로 혼합하여 선택적 인삼농축액(1차+2차+3차-①~1차+2차+3차-⑥)을 제조하였다. 즉, 1차, 2차 추출·농축액을 기본 베이스로 하고 여기에 각기 다른 추출조건에서 2회 반복 추출하여 얻은 3차 추출·농축액을 각각 혼합하여 제조하였다.

#### 다. 표준화 공정에 따른 선택적 인삼 농축액 시제품 제조

팽화홍삼 중량대비 8배(v/w)의 추출용매를 첨가하여 1차에서 3차까지 선정된 각 단계별 최적 추출조건에 따라 추출하였다(그림 5). 우선, 팽화홍삼 시료에 추출용매인 70% 주정을 가하여 65°C에서 8시간 가열 추출한 다음 냉각한 것을 whatman No.1 여과지로 여과하고 여과액 얻었다. 1차 추출한 팽화홍삼에 70% 주정을 가하여 65°C에서 8시간 가온추출 후 여과액을 얻고, 다시 잔사에 정제수를 첨가하여 85°C에서 10시간 2회 반복 가온 추출 후 여과하여 3단계 농축액을 얻었다. 최종적으로 1, 2, 3단계 농축액을 모아 고르게 섞어 감압농축하여 선택적 인삼 농축액을 제조하였다.

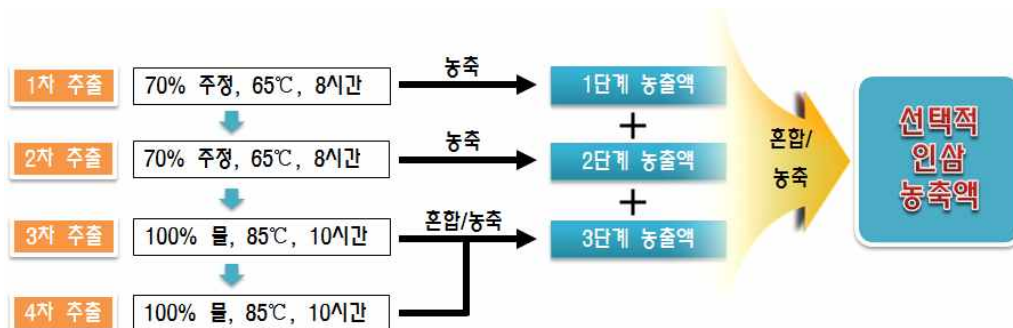


그림 5. 선택적 인삼 농축액 제조과정

## 라. 선택적 인삼 농축액의 품질특성 분석

### (1) 가용성 고형분 함량 측정

선택적 인삼 농축액의 가용성 고형분 함량 측정은 식품공전의 105°C 건조법을 적용하였다. 추출액을 농축하여 50 mL으로 정용 후 이중 5 mL을 취하여 미리 항량을 구한 수기에 담아 105°C dry oven에 건조하여 수분을 모두 제거한 후 증가한 무게를 계산하였다.

### (2) 조사포닌 함량 측정

선택적 인삼농축액 1 g을 증류수 60 mL에 녹여 분액깔때기에 붓고 동량의 ethyl ether를 더한 다음 10~15분간 충분히 교반 후에 물 층과 ethyl ether 층이 완전히 분리될 때까지 방치시켰다. 분리된 ethyl ether 층은 제거하고 남아 있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 60 mL을 더하여 다시 15분간 충분한 교반 후에 물 층과 수포화 부탄올 층이 완전히 분리될 때까지 방치시켰다. 분리된 수포화 부탄올 층을 따로 모아 놓고 물 층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3회 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올 층에 증류수 50 mL을 넣고 충분한 교반 후 다시 분리될 때까지 방치시킨 후 물 층만 제거하고 수포화 부탄올 층을 미리 항량을 구한 수기에 넣어 회전 진공 증발기를 사용하여 감압농축 후 dry oven에서 2시간 건조 항량을 구한 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 산출하였다.

## 마. 관능평가

### (1) 묘사분석에 의한 관능강도 및 기호도 조사

선택적 인삼 농축액 관능평가를 위하여 홍삼음료 제조 기준에 맞도록 정제수에 희석하여 음료를 제조하여 선정된 20인(남성 1명, 여성 19명)에게 제공하여 시생산한 선택적 인삼농축액의 관능을 평가하였다. 각각의 관능평가에 이용한 음료는 세 자리 난수표가 부여된 종이컵에 4°C의 온도를 유지하여 제공하여 시음 후 제시된 9점 척도 평가지에 각 측정 항목의 평가점수를 작성하도록 하였다. 음료는 랜덤으로 제공하여 시료 개발 순서에 따른 예측평가의 오차를 최소화하였다.

### (2) 통계분석

'1. 가. 1) 나) (3) 통계분석'의 방법에 따라 ANOVA 검증 후 유의차 확인은 신뢰수준 95%에서 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

## 5. 미주시장 내 고려인삼 인식도 조사 및 음료 시장 분석

가. 미주지역 내 고려인삼 제품의 인식도, 품질개선 사항 조사

### (1) 고려인삼 제품의 인식도

고려인삼 가공 제품에 대한 미국 현지의 인식도 및 개선사항 등을 평가하기 위하여 미국 University of Illinois Urbana-Champaign의 Food Science and Human Nutrition 학과 이수연 교수와 공동으로 비동양계 패널 100명(여성 65명, 남성 35명)을 모집 후 인삼이 건강에 어떠한 도움을 줄 수 있는가에 대한 인식도 조사 및 인삼제품 섭취 빈도와 구매시 고려사항에 대한 설문을 진행하였다.

### (2) 인삼 제품류의 품질 개선 사항

본 과제의 협동과제 참여 업체인 웅진식품에서 국내 판매 중인 인삼음료에 대한 미국인의 품질개선 사항을 확인하기 위하여 패널 100명(여성 65명, 남성 35명)을 대상으로 관능평가를 실시하였다. 음료 50 mL을 2 oz 플라스틱 컵에 담아 제공하였으며 카페테리아 타입의 공간에서 개인당 10분의 시간을 들여 검사가 이루어 졌다.

### (3) 인삼 제품류 선호 제형

8종의 인삼 함유 제품(홍삼농축액, 분말차, 절편, 초콜릿, 젤리, 캔디, 비타민C 첨가 캔디, 음료)에 대한 미국 소비자의 구매 선호도를 조사하였다.

나. 미국에서 유통되는 인삼함유 음료 분석 및 소프트드링크 시장 분석

### (1) 인삼함유 음료 분석

미국에서 유통 중인 인삼이 함유된 음료 제품은 시카고 다운타운(루프지역)에 위치한 편의점(CV 등), 잡품점(grocery) 및 현지 대형마트(Organic mart 등)를 방문하여 15종의 시료를 수집 및 분석하였다. 인삼 함유 음료를 카테고리 분류하면 energy drink, RTD(ready-to-drink) tea, juice 세 가지 제품군으로 형성되어 있었고 에너지음료의 경우 MONSER사의 음료 3종, ROCKSTAR사의 음료 1종, LITTLE BIGSHOT ENERGY사의 음료 1종, DrinkLittle Miracles사의 음료 2종 그리고 STARBUCKS사의 음료 2종을 사용하였으며, RTD 차의 경우 AriZona사의 음료 2종, SOBE사의 음료 2종을 사용하였고, 그 외에 AriZona사의 에이드 음료 2종이 사용되었다.

### (2) 소프트드링크 시장 분석

Euromonitor(2012년) 자료에 의하면 현재 미국에서의 소프트드링크 시장 내 제품군으로 스포츠드링크, RTD 차(ready-to-drink tea), 기능성 생수, 야채·과일 주스, 탄산음

료 등의 수요에 대하여 살펴보았다.

## 6. 미주시장 부합형 음료 조건 설정

가. 기호도 개선 홍삼농축액의 시생산 공정 및 특성 분석

### (1) 기호도 개선 홍삼농축액의 시생산 공정

선택적 재구성 홍삼농축액의 최적 조건에 따라 단계별{1단계(70% 주정, 65°C, 8시간), 2단계(70% 주정, 65°C, 8시간), 3단계(물, 85°C, 10시간)}로 제조한 인삼추출액으로 농축액 시제품을 제조하여 미주시장 부합 선택적 인삼 추출·농축액 모델 표준화 공정을 설정한 후 시제품으로 음료 제조 시 사용하였다.



그림 6. 홍삼농축액의 시생산 공정

### (2) 홍삼농축액의 특성 분석

#### (가) 가용성 고형분 함량 측정

선택적 인삼 농축액의 가용성 고형분 함량 측정은 식품공전의 105°C 건조법을 적용하였다. 추출액을 농축하여 50 mL으로 정용 후 이중 5 mL을 취하여 미리 항량을 구한 수기에 담아 105°C dry oven에 건조하여 수분을 모두 제거한 후 증가한 무게를 계산하였다.

#### (나) 조사포닌 함량 측정

조사포닌 함량은 CODEX STAN 295R~2009의 방법에 따라 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 홍삼농축액 1 g을 증류수 60 mL에 녹여 분액깔때기에 붓고 동량의 diethyl ether를 가한 다음 10~15분간 충분히 교반 후 물 층과 에테르 층이 완전히 분리될 때까지 방치시켰다. 분리된 에테르 층은 제거하고 남아 있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 60 mL을 더하여 다시 15분간 충분한 교반 후 물 층과 수포화 부탄올 층이 완전히 분리될 때까지 방치시켰다. 분리된 수포화 부탄올 층을 따로 모아 놓고 물

층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3회 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올 층에 증류수 50 mL을 넣고 충분한 교반 후 다시 분리될 때까지 방치시킨 다음 물 층만 제거하였다. 이렇게 사포닌 성분을 수포화 부탄올로 이행시킨 후, rotary vacuum evaporator(BUCHI rotavapor R-205 and BUCHI water bath B-480, Flawil, Switzerland)를 사용하여 미리 항량을 구한 수기에 넣고 감압 농축 하였다. 그 후 dry oven에 2시간 건조 항량 시킨 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 측정하였다

## 나. 미주시장 부합형 음료의 제조

### (1) 재료

본 연구에서 개발한 쓴맛, 흠냄새 등의 기호도 개선이 확인된 선택적 홍삼농축액을 이용하였다. 표 4에 표기한 바와 같이 30종의 천연향료와 15종의 과실농축액을 적용하였고, 음료 기호도 개선을 위해 백설탕(CJ 제일제당), 스테비올배당체(리바우디오사이드 97% 이상, 대평), 에리스리톨(ES Food), 수크랄로스(ES Food), 아세설팜K(ES Food), 구연산(Jungbunzlauer Austria AG), 탄산수소나트륨(대흥 FNC), 아스코르빈산나트륨(대흥 FNC)을 이용하였다.

### (2) 음료 제조

본 연구에서 개발한 선택적 홍삼농축액을 식품공전상의 홍삼음료 제조/가공 기준(홍삼사포닌 70 mg/g 기준 0.15% 이상)에 해당하는 조사포닌 농도가 되게 계량하여 소량의 정제수를 이용하여 충분히 교반, 용해시켰다. 또한 다양한 종류의 음료용 원부재료를 순서대로 계량하여 소량의 정제수에 용해시킨 다음 홍삼농축액을 용해시킨 용액에 혼합하고 모든 원부재료가 고루 섞이도록 마그네틱 바를 이용하여 충분히 교반 후 나머지 정제수를 첨가하여 음료를 제조하였다.

개발 음료는 Korea Ginseng Beverage(KGB) 음료라 총칭을 정하였으며, “natural flavor, reduced-sugar ginseng beverage” 컨셉의 KGB-I, “natural flavor, berry juice, reduced-sugar ginseng beverage” 컨셉의 KGB-II 및 “zero calorie, no sugar ginseng beverage” 컨셉의 KGB-III 으로 구분하여 진행하였다.

### (3) 설탕 대체 원료 선정 및 시제품과 비교한 기호도 평가

홍삼음료 제조 기준(홍삼사포닌 70 mg/g 기준 0.15 %이상)으로 선택적 홍삼농축액을 기본 베이스로 하고 설탕 대체 원료 선정을 위해 설탕과 함께 설탕의 70~80 % 청량한 감미를 가지고 있는 에리스리톨과 설탕보다 더 진한 단맛을 내는 스테비올 배당체를 사용하여 단맛의 기호도를 평가하여 최적 배합비를 선정한 뒤, 이와 비슷한 유형의 시제품과의 기호도 평가를 실시하였다.



표 4. 음료 개발에 이용한 천연 향료와 과실농축액 목록.

구분	제품명	종류	구분	제품명	종류
천연 향료	천연 사과향	4	과실 농축액	라임농축액	1
	천연 레몬향	2		오렌지농축액	1
	천연 버가못향	1		포도농축액	1
	천연 청포도향	1		오렌지농축액	1
	천연 포도향	4		레몬농축액	1
	천연 딸기향	3		블루베리 농축액	2
	천연 배향	2		아사이베리 농축액	2
	천연 살구향	1		라즈베리 농축액	2
	천연 자두향	1		딸기 농축액	2
	천연 체리향	1		크랜베리 농축액	2
	천연 복숭아향	1			
	천연 인삼향	1			
	천연 오렌지향	1			
	천연 라임향	1			
	천연 생강향	1			
	천연 블루베리향	2			
	천연 라즈베리향	2			
	천연 블랙베리향	1			
합 계		30	합 계		15

다. 개발 인삼음료 미국 현지 소비자 대상 기호도 평가

(1) 미국 현지 패널 모집

참가자는 일리노이주립대 학생 및 교직원에게 e-mail을 발송하여 모집하였는데, 18세 이상의 인삼에 대해 알리지 또는 과민반응이 없는 75인을 선정하였다. 패널의 구성은 18세 이상 35세 미만이 93%를 차지하였다.

(2) 음료 시료

개발 음료 3종(KGB- I, II, III)과 국내 5대 음료 제조 회사에서 시판하는 홍삼음료 중 내부선별 과정을 거쳐 선정된 1종의 홍삼음료를 사용하였다.

(3) 기호도 평가

미국 현지 소비자 대상 기호도 평가는 일리노이주립대 이수연교수팀과 함께 개발 음료간 평가, 개발 음료와 시판 음료간 비교 및 음료 개발 정보가 소비자 기호도에 미치는 영향을 분석하기 위하여 3단계에 걸쳐 2일 동안 실시하였다.

음료는 첫째 날에 2번, 둘째 날에 1번 총 3회 평가자에게 제공되었다. 첫째 날에는 1단계로 개발 음료 3종에 대한 종합적기호도를 평가하게 한 다음 각 음료의 향, 맛, 후

미에 대해 평가하였고, 5분간 휴식 후 2단계 평가로 개발 음료 3종과 시판 홍삼음료 1종을 제공하여 동일방법으로 기호도를 평가하였다. 둘째 날에는 개발 음료 3종과 시판 홍삼음료 1종에 대한 제품 개발 컨셉에 대한 정보를 제공하고 첫째 날과 동일방법으로 기호도를 평가하였다.

평가에 이용된 음료는 각각 3자리 난수로 기입된 뚜껑이 있는 플라스틱 용기에 12 mL씩 제공되었으며 평가자에게 제공되기 전까지 냉장보관하였다. 9점 척도법을 이용하여 전반적 기호도(overall acceptance)와 향(aroma), 맛(taste), 후미(aftertaste)에 대해 평가를 진행하였으며, 음료를 섭취하기 전에는 온수로 입을 헹구어 다른 요인이 기호 평가에 간섭하지 못하도록 방지하였다.

추가적으로, 평가 마지막에는 각 음료가 가지는 장점과 단점을 자유형식으로 기록하도록 한 후 Wordle 프로그램(www.wordle.net)을 이용하여 word cloud로 표현하였다.

#### (4) 통계분석

‘1. 가. 1) 나) (3) 통계분석’의 방법에 따라 ANOVA 검증 후 유의차 확인은 신뢰수준 95%에서 Duncan’s multiple range test를 이용하였다.

### 7. 미주시장 부합형 음료의 저장조건에 따른 특성 및 미생물 분석

음료를 살균 과정을 적용함에 따라 미생물과 효소의 불활성화를 유도함으로써 저장기간을 연장시키며, 저장성 실험을 위하여 저장온도 및 저장기간을 표 5와 같이 설정하였다.

표 5. 개발 음료의 살균 및 저장 조건

살균방법	온도(°C)	시간		저장온도(°C)	저장기간(일)
		장시간(분)	단시간(초)		
저온살균	65	30	-	4, 25	0,7,15,30,60,90,120
고온살균	90	-	30, 60		

살균조건에 따른 홍삼농축액을 기본베이스로 하여 제조한 음료의 강도 및 기호도 평가를 주축으로 하여 배합비를 선정 후 저온 및 고온살균 조건을 설정하여 특성 분석 및 기호도 평가를 실시하였다.

#### 가. 저장조건에 따른 특성 및 미생물 분석

##### (1) pH 및 산도 측정

음료의 pH는 시료 10 mL를 취하여 pH meter(Orion™ Star A211, USA)로 측정하였고, 산도는 시료 5 mL를 취하여 증류수로 50 mL 정용한 뒤, 그 중 20 mL를 취하여 0.1 N-NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고, citric acid로 환산하여 총산 함량(%)으로

나타내었다.

$$\text{개발음료 중 구연산의 양 (\%)} = ( V \times f \times 0.0064 \times D \times / S ) \times 100$$

V: 0.1 N-NaOH 용액의 적정량(ml)

D: 희석배수

f: 0.1 N-NaOH 용액의 역가

S: 시료의 채취량(ml)

0.0064: 0.1 N-NaOH 용액 1ml에 해당하는 구연산의 양

## (2) 당도 측정

음료의 당도측정은 시료를 각각 1 mL를 취하여 디지털당도계(RX-5000, Atago Co., Japan)로 측정하여 °brix로 표시하였고, 모든 분석은 3회 반복 측정한 수치의 평균값으로 나타내었다.

## (3) 투광도 및 흡광도 측정

음료의 수용성 갈변물질의 갈색도를 측정하기 위하여 spectrophotometer를 이용하여 420 nm에서 흡광도(O.D.)를, 590 nm에서 투광도(%T)를 측정하였다.

## (4) 수분 함량 측정

음료의 수분 함량은 수분측정기(Moisture analyzer, MB45, OHAUS)를 이용하여 측정하였다.

## (5) 색도 측정

음료의 색도는 Color & color difference meter를 이용하여 L, a, b 값을 측정하였다. L값(백색)은 0(검정색)에서 100(흰색)까지, a값은 -80(녹색)에서 100(적색)까지, b값은 -70(청색)에서 70(황색)의 범위에서 측정하였으며, 사용한 백판은 L=97.79, a=-0.38, b=1.94 이었다.

## 나. 저장 조건에 따른 미생물 분석

총균수는 건조필름법(3M 필름법)에 따라 음료 1 mL을 10배 희석한 것을 1 mL 취하여 멸균생리식염수로 단계 희석하였다. 각 단계 희석액은 3M petrifilm에 1 mL 분주하여 기포가 생기지 않게 누름판으로 누른 후 항온기(35±2°C)에서 24~48시간 배양하여 형성된 Colony(Colony For부g Unit, CFU/mL/g) 수는 붉은 집락수를 count하여 30~300 정도 되도록 계측하였다.

다. 미주시장 부합형 개발 음료에 대한 미국 현지 소비자 대상 기호도 평가

(1) 미국 현지 패널 모집

참가자는 일리노이주립대 학생 및 교직원에 이메일과 전단지로 고용하였고, 이메일은 테스트 일주일 전 모든 구성원들에게 배포하였다. 모든 패널리스트는 18세 이상으로 음식 알레르기를 가지지 않는 자에 한해 진행하였다. 총 100명의 패널리스트 중 68명이 여성, 32명이 남성으로, 36살 아래가 88%로 대부분을 차지하였고, 백인이나 아시아인이 대부분을 차지하였다(그림 7, 8). 또한, 패널리스트 선별 조사지를 작성하게 하였다(그림 9).

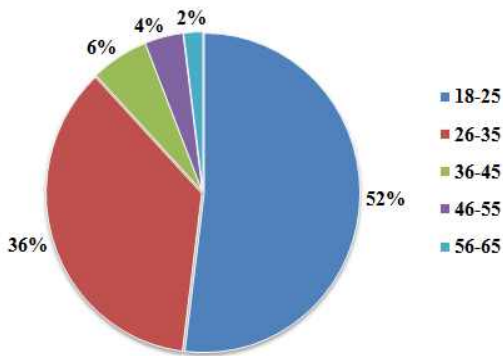


그림 7. Age distribution of panelists

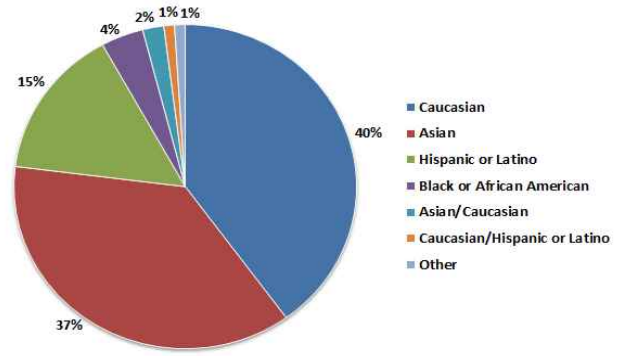


그림 8. Ethnicity distribution of panelist

Ginseng Consumer Test Interest

Q1 Are you 18 years of age or older?  
 Yes (1)  
 No (2)

Q2 Do you have any known food allergies?  
 Yes (1)  
 No (2)

Q3 Please provide your first and last name.

Q4 Please provide your email address.

Q5 Please provide your phone number (with area code).

Q6 Please mark all of the time frames that you are available on Thursday, June 25, 2015. All sessions will be held in the Bevier Commons.

9:00 - 9:30am (1)  
 9:30 - 10:00am (2)  
 10:00 - 10:30am (3)  
 10:30 - 11:00am (4)  
 11:00 - 11:30am (5)  
 11:30am - 12:00pm (6)  
 12:00 - 12:30pm (7)  
 12:30 - 1:00pm (8)  
 1:00 - 1:30pm (9)  
 1:30 - 2:00pm (10)  
 2:00 - 2:30pm (11)  
 2:30 - 3:00pm (12)  
 3:00 - 3:30pm (13)  
 3:30 - 4:00pm (14)  
 4:00 - 4:30pm (15)  
 4:30 - 5:00pm (16)

Q7 Thank you for your interest, however you do not qualify for the test at this point. Please contact Virginia Luchini or Lauren Killian at ginseng.study@gmail.com if you have any questions.

Q8 Thank you for your information. You will be contacted shortly by the research team.

그림 9. Panelist screening survey

### (2) 음료 시료

개발 음료(KGB- I, II)와 현지 시판음료(Arizona Zero Calorie Green Tea with Ginseng, Vitamin water Triple X)를 사용하였으며, 샘플은 3자리의 임의의 코드를 지정하고 테스트 전까지 냉장 보관하였다.

### (3) 기호도 평가

미국 현지 소비자 대상 기호도 평가는 일리노이주립대 이수연 교수팀과 함께 개발 음료 간 평가, 개발 음료와 시판 음료 간 비교 및 음료 개발 정보가 소비자 기호도에 미치는 영향을 분석하였다. 9점 척도법을 이용하여 종합적 기호도(overall acceptance)와 향(aroma), 맛(taste), 후미(aftertaste)에 대해 평가를 진행하여 투표용지에 작성하게 하였다(그림 10). 첫 번째로 2종의 개발 음료를 비교하였고, 두 번째로 2종의 개발 음료와 2종의 상업 음료와 비교하였다. 음료는 각각 3자리 난수로 기입된 뚜껑이 있는 플라스틱 용기에 12 mL씩 제공되었으며, 평가자에게 제공되기 전까지 냉장보관하였다. 음료를 섭취하기 전에는 온수로 입을 헹구어 다른 요인이 기호 평가에 간섭하지 못하도록 방지하였다. 헹구는 방법으로 식빵과 함께 상온의 물을 섭취하도록 하였다. 샘플 프레젠테이션 순서는 무작위로 진행하였으며, 샘플은 9점척도로 1(매우 안 좋음), 5(보통), 9(매우 좋음) 점 등으로 진행하였다. 추가적으로, 평가 마지막에는 각 음료가 가지는 장점과 단점을 자유형식으로 기록하도록 한 후 Wordle 프로그램([www.wordle.net](http://www.wordle.net))을 이용하여 word cloud로 표현하였다.



그림 10. Test set up during sample set and example of panelist completing test.

#### (4) 통계분석

‘1. 가. 1) 나) (3) 통계분석’의 방법에 따라 ANOVA 검증 후 유의차 확인은 신뢰수준 95%에서 Duncan’s multiple range test를 이용하였다.

#### 라. 개발 음료의 영양성분 분석 및 표시서식도안

2종의 개발 음료의 영양성분 및 영양표시에 관한 검사는 식품영양성분 공인분석기관인 한국식품과학연구원에 의뢰하여 결과를 얻었고, 이 자료를 토대로 영양성분 표시서식도안을 작성하고 시제품에 부착하였다.

### 8. 기호성 개선 인삼 추출모델 개발을 위한 가공처리 최적화 결과

#### 가. 가공처리 인삼과 추출단계별 농축액분말의 특성 분석

##### (1) 가공처리 인삼의 외형적 성상

가공 처리된 인삼의 외형상 변화는 그림 11에 나타내었다. 대조군에 비해 로스팅, 팽화처리 인삼의 경우 가장 큰 차이는 갈변과 부피팽창으로 특히, 팽화군의 경우 압력과 열에 의한 팽화처리에 따른 부피팽창과 갈변의 정도가 가장 심하였다. 이러한 현상은 인삼 내의 당과 아미노산의 갈변반응에 의해 증가하고 가열온도와 가열시간이 증가할수록 갈색도는 증가하며 팽화압력 7 kgf/cm<sup>2</sup> 이하의 팽화처리 시 시료 부피팽창 정도는 미미하나 10 kgf/cm<sup>2</sup> 이상에서 팽화 시킬 경우 부피팽창 정도는 증가하지만 탄화의 정도가 극도로 심하여 시료로 사용하기 부적합한 것으로 보고되어 있다. 따라서 인삼의 풍미 개선을 위해 로스팅, 팽화처리와 같은 가공처리공정을 적용할 경우 이러한 문제점을 해소하는 산업적으로 적용 가능한 공정 적용은 대단히 중요한 사항으로 판단된다.

##### (2) 가공처리 인삼의 가용성고형분 추출 수율

표 6은 가공처리방법을 달리한 백삼과 홍삼을 추출용매와 추출온도를 각기 달리한 추출단계별 추출액의 가용성 고형분 수율을 측정된 결과이다. 백삼의 경우 가공방법에 관계없이 1차 추출 단계에서 가용성 고형분의 추출 수율이 가장 높았고 팽화처리 시료가 14.32%로 대조군, 로스팅 시료보다 약간 높았는데 이는 팽화에 의해 백삼 조직의 다공질화로 인한 추출용매의 침투용이성이 증가하기 때문으로 판단된다. 2차 추출 단계에서는 10% 부근의 수율을 보였으나 3차 단계부터는 4% 정도, 4~6차 추출 단계에서는 2% 부근의 낮은 수율을 보여 추출 단계가 증가할수록 원료에서 용출되는 가용성 고형분이 감소하였다. 전체 6차 추출 단계 중 1, 2, 3차 단계까지 추출되는 가용성 고형분의 합이 전체 함량의 76.3~78.6%를 차지하였으며 총 가용성 고형분 함량은 퍼핑군, 로스팅군, 대조구군 순으로 높았다.

백  
삼



홍  
삼



그림 11. 가공처리 방법을 달리한 인삼의 외형적 정상

홍삼의 경우 1차 추출단계에서 팽화군과 로스팅군이 15.87%, 14.17%로 대조군의 10.64%보다 수율이 높았다. 특히, 홍삼 시료는 2차, 3차 추출단계에서 가용성 고형분의 추출율이 14.21~15.80%, 6.52~10.34%로 백삼과 비교하여 높았고 4, 5, 6차 단계에서는 백삼보다 높았으나 가공처리 방법에 따른 차이는 없었다. 전체 가용성 고형분 함량을 보면 홍삼의 경우 48.79~49.44%로 백삼에 비해 10% 이상 높은 추출 수율을 보였으며 홍삼 대조군의 경우 다른 처리군에 비해 2, 3차 추출단계에서의 수율이 높았다. 그러나 홍삼의 경우 1, 2차 추출단계까지의 가용성 고형분 함이 전체 함량 대비 52.8~60.9%로 백삼에 비해 낮았고 특히, 홍삼 대조군의 경우 1차 추출단계에서 가용성 고형분 추출 수율이 10.64%로 다른 시료에 비해 낮았는데 이는 인삼 조직내 전분질이 홍삼을 만드는 증삼, 가온건조과정에서 호화되어 조직을 치밀하고 견고하게 변화시킴에 따라 70% 주정, 65°C 추출온도를 사용하여 1차 추출단계에서 다른 시료에 비해 추출용매의 침투용이성이 낮고 조직 팽윤이 덜 일어남에 따라 추출 수율이 낮았으나 1차 추출 단계 이후부터는 조직 팽윤이 어느 정도 일어남에 따라 다른 시료와 차이를 보이지 않은 것으로 생각된다.

표 6. 가공을 달리한 인삼의 추출단계별 가용성 고형분 추출 수율(%).

인삼	추출 수율(%)							
	1차	2차	3차	4차	5차	6차	합계	
백삼	대조군	12.69±0.34	9.12±0.41	4.57±0.10	2.82±0.12	2.12±0.08	2.24±0.07	33.56
	로스팅군	12.25±1.60	10.16±0.22	4.97±0.12	3.16±0.08	2.40±0.02	2.93±0.19	35.87
	팽화군	14.32±0.07	9.76±0.19	4.76±0.02	2.84±0.20	2.93±0.13	3.21±0.08	37.82
홍삼	대조군	10.64±0.40	15.11±0.70	10.34±0.02	4.55±0.04	4.21±0.10	3.94±0.08	48.79
	로스팅군	14.17±0.34	15.80±0.28	7.27±0.08	4.21±0.11	4.43±0.07	3.56±0.08	49.44
	팽화군	15.87±0.31	14.21±0.37	6.52±0.04	4.43±0.02	4.47±0.12	3.9±0.04	49.40

1차: 65°C/70% 주정 추출, 2차: 75°C/60% 주정 추출, 3차: 80°C/50% 주정 추출, 4차: 85°C/40% 주정 추출, 5차: 90°C/20% 주정 추출, 6차: 95°C/물 추출

### (3) 조사포닌 함량

#### (가) 가공처리 인삼의 조사포닌 함량

가공처리 방법별 인삼 시료와 이들 인삼을 대상으로 추출용매와 추출온도를 각기 달리하여 추출단계별로 제조한 인삼농축분말의 조사포닌 함량을 측정한 결과는 표 7 과 같다. 인삼의 조사포닌 함량은 백삼 시료가 56.44~64.38 mg/g으로 홍삼보다 높았고 가공처리 방법별 시료는 로스팅, 팽화군이 대조군에 비해 그 함량이 높았는데 이는 인삼 조직이 로스팅, 팽화처리과정을 거치면서 부피팽창에 따른 용매의 침투가 용이해 지고 배당체 형태의 사포닌에 결합되어 있는 일부 당류가 팽화에 의해 분해되어 분자량이 작은 형태가 되어 조사포닌의 추출을 증가시킨 결과로 생각된다.

표 7. 가공을 달리한 인삼의 조사포닌 함량.

인삼	조사포닌 함량 (mg/g dried ginseng)	
백삼	대조군	56.44
	로스팅군	62.12
	퍼핑군	64.38
홍삼	대조군	53.15
	로스팅군	60.59
	퍼핑군	61.22

#### (나) 추출단계별 인삼농축액분말의 조사포닌 함량

추출단계별 인삼농축액분말의 조사포닌 함량은 추출용매의 주정 농도가 높을수록 추출액내 조사포닌의 추출 이행량은 증가하는 경향을 나타내었다(그림 12). 즉, 홍삼 팽화처리군을 예로 들면 70% 주정을 사용한 1차 추출단계에서 물을 추출용매로 사용하는 6차 추출단계까지 추출 회수가 증가할수록 추출액내 조사포닌의 이행량은 220.47,



105.37, 88.92, 54.01, 15.03, 8.95 mg/g으로 감소하였다. 추출단계별 인삼농축분말의 조사포닌 함량을 비교해 보면 전반적으로 백삼 시료가 홍삼에 비해 높고 각각 가공처리 방법별 시료의 1차에서 6차까지 추출단계별 조사포닌의 총량도 431.16~527.18 mg/g으로 홍삼의 그것보다 높았다. 그러나 홍삼 팽화처리군의 경우 2, 3차 추출단계에서 이행되는 조사포닌의 함량이 105.37, 88.92 mg/g으로 다른 시료에 비해 높았고 특히, 팽화처리군의 경우 백삼, 홍삼 모두 1차 추출단계에서 이행되는 조사포닌의 함량이 266.38 220.47 mg/g으로 대조군에 비해 1.2-1.4배 증가하였다. 또한 1차에서 6차까지의 전체 추출단계 중 1, 2, 3차 단계까지 추출되는 조사포닌 함량의 합은 총 함량 대비 대략 80~84% 정도였고, 홍삼 팽화처리군이 가장 높았다.

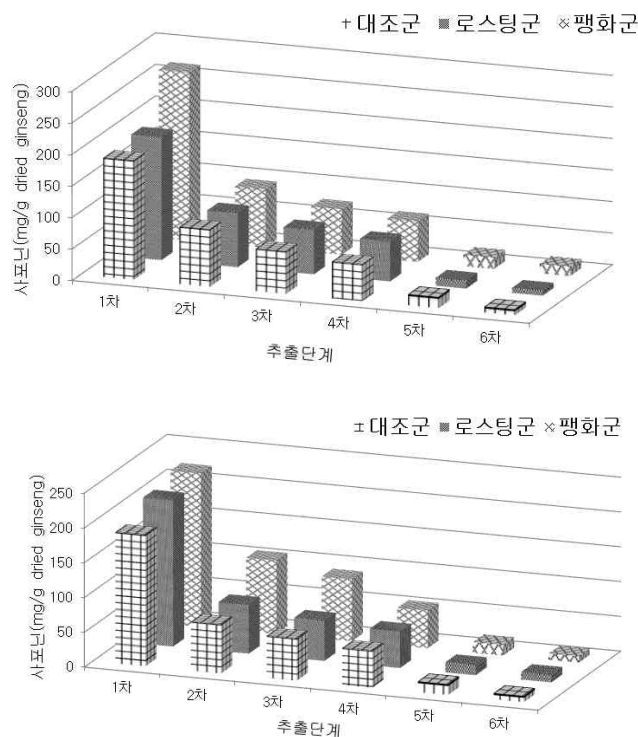


그림 12. 추출단계별 인삼농축액분말의 조사포닌 함량. 위(백삼), 아래(홍삼)

#### (4) 산성다당체 함량

추출단계별 인삼농축액분말의 산성다당체 함량을 측정한 결과는 표 8과 같다. 추출 단계가 진행됨에 따라 인삼농축액 내 산성다당체 함량은 백삼, 홍삼 모두 증가하였다. 그러나 백삼의 경우 1, 2, 3차 추출단계까지는 로스팅, 팽화군이 대조군보다 산성다당체의 함량이 약간 높았고 홍삼의 경우 1~4차 추출단계까지는 가공 전처리에 따른 차이가 없었으나 5, 6차 단계에서 팽화군이 높았다.

추출단계별 인삼농축액분말의 산성다당체 함량 측정 결과 추출단계가 1차에서 6차로 진행될수록 산성다당체의 함량이 증가하였는데 이는 단계별 인삼 추출액 제조시 추출시간은 12시간으로 동일하나 단계별로 사용한 온도 차이 즉, 1차 추출단계는 65°C인

반면 추출단계가 진행됨에 따라 온도도 상승하여 6차 추출단계에서는 추출온도 95°C를 적용함으로써 조직 내 산성다당체가 보다 많이 추출액으로 이행됨에 따라 나타난 결과로 판단되며 인삼의 산성다당체는 추출온도가 높을수록 많이 추출되는 온도의존성이 큰 것으로 보고되어 있다.

인삼간 산성다당체를 비교하면 수삼이 백삼보다 많고 홍삼은 수삼보다 월등히 높은데 이는 인삼 다당체가 홍삼 제조과정 중의 한 과정인 증삼에 의해 가용화되기 쉬운 상태로 되어 더 많이 추출되기 때문이라 한다. 팽화전후 산성다당체 함량은 고온고압의 팽화가공으로 인해 세포벽 같은 조직이 파열되어 용출이 용이해져 함량이 증가하는 것으로 보고되어 있으나 본 실험 결과 백삼 대조군을 제외하고는 총 함량간 차이는 거의 없는 것으로 나타났다.

표 8. 추출단계별 인삼농축액분말의 산성다당체 함량.

인삼	농축액분말(mg/g)					
	1차	2차	3차	4차	5차	6차
대조군	129	137	149	186	223	248
백삼						
로스팅군	139	155	165	186	219	249
팽화군	142	154	163	193	219	250
홍삼						
대조군	135	154	164	196	214	251
로스팅군	137	150	174	200	218	250
팽화군	139	158	172	202	257	271

1차: 65°C/70% 주정 추출, 2차: 75°C/60% 주정 추출, 3차: 80°C/50% 주정 추출, 4차: 85°C/40% 주정 추출, 5차: 90°C/20% 주정 추출, 6차: 95°C/물 추출

#### (5) Ginsenoside 함량

##### (가) 가공처리 인삼의 ginsenoside 함량

본 연구에서 분석한 인삼 사포닌은 ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rf, Rc, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rd, Rg<sub>3</sub>, Rg<sub>2</sub>+Rh<sub>1</sub>이었으며 이들은 그림 14와 같이 HPLC를 통하여 표준품과 직접 비교, 확인하고 함량을 계산하였다(표 9). 백삼의 major ginsenoside 성분으로는 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub>, Rc의 순으로 함량이 높았고 로스팅, 팽화 처리에 의해 이들 성분들의 함량은 감소하였다. 특히, 팽화처리군의 경우 total ginsenoside 함량이 6.87 mg/g으로 대조군의 절반 수준으로 감소하였으나 홍삼 특유성분인 Rg<sub>3</sub>가 발견되었고 PD계 성분 중 minor ginsenoside 성분인 Rb<sub>3</sub>, Rd 함량이 대조군에 비해 증가하였다.

홍삼 대조군의 경우 Rc, Rb<sub>1</sub>, Re, Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>의 순으로 함량이 높았고 백삼에 비해 각 ginsenoside의 함량이 높아 total ginsenoside 추출율이 2배 정도 높게 나타났다. 가공처리 방법별 홍삼을 비교하면 로스팅군은 대조군과 큰 차이를 보이지 않는 반면 팽화처리군은 이들 성분들의 함량이 크게 감소하였다. 그러나 minor ginsenoside 성분 중

Rb<sub>3</sub>, Rd은 백삼과는 달리 팽화처리군에서만 감소하는 경향을 나타내었으나 Rg<sub>3</sub> 함량은 0.27 mg/g으로 대조군, 로스팅군보다 1.4배 증가하였다. 인삼사포닌인 ginsenoside 성분은 높은 열에 불안정한 물질로 인삼을 가열처리하게 되면 비교적 극성이 낮은 저분자량의 ginsenoside가 생성되며 Rg<sub>3</sub>는 C3에 glucosyl잔기 2개가 결합되어있는 형태의 PD계열의 사포닌이며, 기존 인삼에 함유되어있던 PD계열의 사포닌인 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd의 C20에 연결된 당들이 열에 의해 분해되어 떨어져 나감으로써 생성되는 것으로 알려져 있다.

앞서 조사포닌 측정 결과에서는 팽화처리로 인삼 조사포닌의 추출율이 증가하였지만 HPLC를 통한 ginsenoside 함량 분석 결과에 따르면 total ginsenoside 함량이 감소하는 것으로 나타났다. 이는 본 실험에서 사용한 11개 ginsenoside 표준품 대부분이 배당체 형태로 존재하는 ginsenoside이기 때문에 로스팅, 팽화처리와 같은 열처리로 인해 생성되는 극성이 낮은 저분자량의 ginsenoside는 측정되지 않아 total ginsenoside가 감소한 것으로 판단된다.

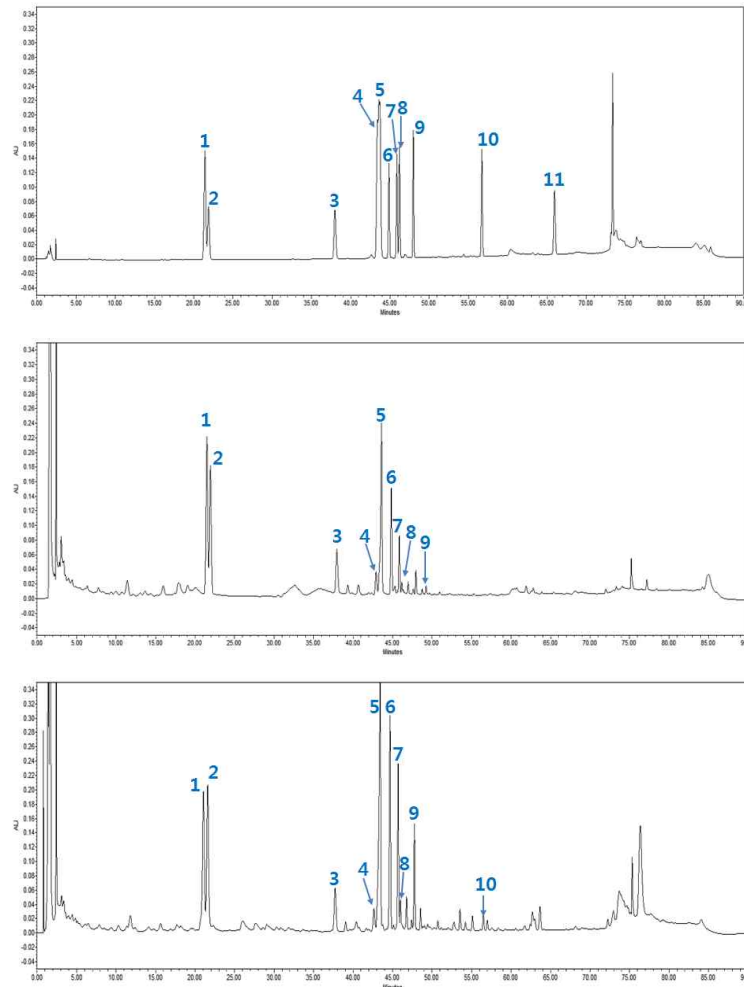


그림 14. 표준품 11종 및 백삼, 홍삼의 HPLC를 이용한 ginsenoside 크로마토그램.  
 1-Rg<sub>1</sub>, 2-Re, 3-Rf, 4-Rg<sub>2</sub>+Rh, 5-Rb<sub>1</sub>, 6-Rc, 7-Rb<sub>2</sub>, 8-Rb<sub>3</sub>, 9-Rd, 10-Rg<sub>3</sub>, 11-Rh.  
 상(표준품), 중(백삼), 하(홍삼)

표 9. 가공처리 방법을 달리한 인삼의 ginsenoside 함량.

인삼	Ginsenoside(mg/g)											
	Rg <sub>1</sub>	Re	Rf	Rg <sub>2</sub> +Rh <sub>1</sub>	Rb <sub>1</sub>	Rc	Rb <sub>2</sub>	Rb <sub>3</sub>	Rd	Rg <sub>3</sub>	Total	
백삼	대조군	2.62 (23.7)	2.42 (21.9)	0.69 (6.2)	0.28 (2.5)	2.04 (18.5)	1.76 (15.9)	0.81 (7.3)	0.15 (1.4)	0.28 (2.5)	n.d. <sup>1</sup>	11.05 (100)
	로스팅군	1.73 (18.4)	2.43 (25.9)	0.51 (5.4)	0.27 (2.9)	1.51 (16.1)	1.27 (13.5)	0.81 (8.6)	0.21 (2.2)	0.65 (6.9)	n.d. <sup>1</sup>	9.39 (100)
	퍼핑군	1.13 (16.4)	1.48 (21.5)	0.47 (6.8)	0.17 (2.5)	1.11 (16.2)	0.89 (13.0)	0.69 (10.0)	0.23 (3.3)	0.60 (8.7)	0.10 (1.5)	6.87 (100)
홍삼	대조군	3.13 (14.5)	3.50 (16.2)	0.86 (4.0)	0.58 (2.7)	3.82 (17.7)	4.41 (20.5)	2.90 (13.5)	0.66 (3.1)	1.50 (7.0)	0.19 (0.9)	21.55 (100)
	로스팅군	2.36 (12.0)	3.28 (16.7)	0.70 (3.6)	0.50 (2.5)	3.33 (17.0)	4.25 (21.7)	2.80 (14.3)	0.64 (3.3)	1.57 (8.0)	0.19 (1.0)	19.62 (100)
	퍼핑군	2.20 (20.7)	1.79 (16.8)	0.60 (5.6)	0.26 (2.4)	2.30 (21.6)	1.39 (13.1)	0.94 (8.8)	0.35 (3.3)	0.54 (5.1)	0.27 (2.5)	10.64 (100)

<sup>1</sup>not detected

가공처리 방법을 달리한 백삼, 홍삼의 protopanaxadiol(PD) 계열과 protopanaxatriol(PT) 계열의 함량 및 구성비율(PD/PT)을 살펴보면(표 10) 백삼의 경우 대조군과 로스팅군은 PT계가 54.4%, 52.6%로 구성비가 높은 반면 팽화군은 PD계가 52.7%로 높았다. 대조군 백삼의 경우 panaxadiol의 panaxatriol에 대한 비는 0.84인 반면 로스팅, 팽화처리에 의해 0.90, 1.11로 상승하였다. 홍삼은 처리군에 관계없이 PD계가 62.6%, 65.1%, 54.4%로 PT계보다 구성비가 높았고 diol의 triol에 대한 비는 팽화군이 1.19로 대조군 1.67, 로스팅군 1.87보다 낮아 팽화처리로 인해 다른 것에 비해 diol group을 적게 함유하고 있는 것으로 나타났다. 또한 Rg<sub>1</sub>/Rb<sub>1</sub>, Re/Rb<sub>1</sub> 비는 백삼 시료가 각각 1.02~1.28, 1.19~1.61로 홍삼 시료보다 높았고 Rd/Rb<sub>1</sub> 비는 백삼의 경우 팽화군, 홍삼은 대조군이 높게 나타났다.

(나) 추출단계별 인삼농축액분말의 ginsenoside 함량

추출용매와 추출온도를 달리하여 추출단계별로 제조한 백삼농축액분말의 ginsenoside 함량을 측정한 결과는 표 11 과 같다. 추출단계가 1 차에서 6 차로 진행됨에 따라 대부분의 major ginsenoside 성분(Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub>, Rc)들의 함량이 감소하는 경향을 보였고, 로스팅, 팽화처리한 백삼이 대조군에 비해 각각의 추출단계에서 용출되는 ginsenoside 성분의 함량이 낮은 것으로 나타났다. 또한 개개 ginsenoside 성분별 1-6 차 추출단계까지의 총량과 각 추출단계별 ginsenoside 성분의 총량도 가공처리 시료가 감소하였다. 그러나 minor ginsenoside 성분 중 Rb<sub>3</sub> 와 Rd 는 백삼을 로스팅, 팽화처리함에 따라 1 차 추출단계에서 용출되는 양이 0.71, 1.90 mg/g, 1.21, 3.29 mg/g 으로 대조군의 0.10, 1.22 mg/g 에 비해 높았고 백삼 팽화군에서 발견되는 Rg<sub>3</sub> 의 경우 1~4 차 추출단계까지는 발견되었으나 5, 6 차 추출단계에서는 검출되지 않았다.

이들 가공처리 방법별 백삼의 각 추출단계별 ginsenoside 합을 1~6 차까지 전체 추출단계의 총량 대비 비율을 살펴보면 1, 2 차 추출단계까지의 합은 팽화군이 73.8%, 로스팅군이 71.1%로 대조군의 65.2%에 비해 높고 1, 2, 3 차 추출단계까지의 합은 팽화군만이 88.1%로 높아 백삼을 팽화처리하면 ginsenoside 용출이 초기 추출 단계에서 빠르게 일어남을 알 수 있었다. 또한 1 차 추출단계에서 개개 ginsenoside 성분들의 함량을 총량에 대한 구성비율로 비교해 보면 모든 ginsenoside 성분들이 팽화처리로 인해 1 차 추출단계(70% 주정, 추출온도 65°C)에서 용출되는 비율이 높았고, Rb<sub>1</sub>, Rc, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rd 와 같은 PD 계열의 ginsenoside 성분의 용출 속도가 빠른 것으로 나타났다. 추출단계별로 제조한 홍삼농축액분말의 ginsenoside 함량 변화를 측정된 결과는 표 12 와 같다. 홍삼농축분말의 경우 추출단계에 관계없이 Rg<sub>1</sub>>Rb<sub>1</sub>>Re>Rc 성분 순으로 함량이 높았고 대조군이 로스팅, 팽화처리 시료보다 각 추출단계에서 개개 ginsenoside 의 함량과 총량이 높았다. 그러나 Rg<sub>3</sub> 성분의 경우 1 차 추출단계에서 팽화군이 1.49 mg/g 으로 다른 시료보다 그 함량이 높고 총량도 2.31 mg/g 으로 높았으나 Rg<sub>2</sub>+Rh<sub>1</sub> 성분은 팽화처리 시료에서는 3 차 추출단계 이후부터는 발견되지 않았다. 추출단계별 ginsenoside 성분들의 합을 전체 추출단계에서 얻은 ginsenoside 의 총량에 대한 비율로 비교해보면 대조군 홍삼농축액 분말은 1 차 추출단계에서 69%, 로스팅군은 72.7%, 팽화군은 74.7%로 시료간 차이가 있었고 특히, 팽화처리군의 경우 1 차, 2 차 추출단계만으로 시료 조직내 ginsenoside 의 90%가 추출액으로 용출됨을 알 수 있었다.

한편 추출단계별 인삼농축분말의 ginsenoside 성분 중 중추신경계에 작용하여 진정효과를 나타내는 Rb<sub>1</sub> 을 살펴보면 1 차 추출단계에서는 홍삼 시료가 10.17 mg/g 으로 백삼에 비해 높은 함유 분포를 나타내었으나 그 다음 2 차~6 차 추출단계까지는 차이가 거의 없었다. 항 피로작용을 나타내는 Rg<sub>1</sub> 또한 1 차 추출단계에서 홍삼 시료가 8.73~11.38 mg/g 으로 높은 함유 분포를 보였고 로스팅 및 팽화군 홍삼은 2 차, 3 차, 4 차 추출단계에서도 백삼에 비해 높은 함량을 나타내었다. 항 당뇨활성을 나타내는 Rb<sub>2</sub> 는 일정한 경향을 나타내지 않았다.

표 10. 가공처리 방법을 달리한 인삼의 PD<sup>1</sup>, PT<sup>2</sup> 구성비.

인삼	합량(mg/g)구성비(%)		구성비(%)				
	PD	PT	PD/PT	Rg1/Rb1	Re/Rb1	Rd/Rb1	
백삼	대조군	6.01 (54.4%)	5.04 (45.6%)	0.84	1.28	1.19	0.14
	로스팅군	4.94 (52.6%)	4.45 (47.4%)	0.90	1.15	1.61	0.43
	팽화군	3.25 (47.3%)	3.62 (52.7%)	1.11	1.02	1.33	0.54
홍삼	대조군	8.07 (37.4%)	13.48 (62.6%)	1.67	0.82	0.92	0.39
	로스팅군	6.84 (34.9%)	12.78 (65.1%)	1.87	0.71	0.98	0.47
	팽화군	4.85 (45.6%)	5.79 (54.4%)	1.19	0.96	0.78	0.23

<sup>1</sup>protopanaxadiol 계열 ginsenoside, <sup>2</sup>protopanaxatriol 계열 ginsenoside

표 11. 추출단계별 백삼농축액분말의 ginsenoside 함량.

백삼 추출단계별 농축액분말	Ginsenoside(mg/g)											
	Rg <sub>1</sub>	Re	Rf	Rg <sub>2</sub> +Rh <sub>1</sub>	Rb <sub>1</sub>	Rc	Rb <sub>2</sub>	Rb <sub>3</sub>	Rd	Rg <sub>3</sub>	Total	
대조군	1차	9.31 (41.0)	9.34 (38.2)	2.59 (42.2)	1.36 (40.5)	7.82 (31.8)	7.10 (43.0)	4.28 (41.0)	0.10 (7.5)	1.22 (30.3)	n.d. <sup>1</sup>	43.12 (38.0)
	2차	6.91 (30.5)	5.31 (21.7)	1.79 (29.2)	0.83 (24.7)	6.71 (27.3)	4.55 (27.6)	2.95 (28.2)	0.58 (43.6)	1.28 (31.8)	n.d. <sup>1</sup>	30.91 (27.2)
	3차	4.65 (20.5)	3.58 (14.6)	1.15 (18.7)	0.63 (18.8)	4.91 (19.9)	3.00 (18.2)	1.98 (18.9)	0.40 (30.1)	1.08 (26.9)	n.d. <sup>1</sup>	21.38 (18.8)
	4차	1.33 (5.9)	2.75 (11.2)	0.30 (4.9)	0.38 (11.3)	3.48 (14.1)	0.91 (5.5)	0.61 (5.8)	0.11 (8.3)	0.25 (6.2)	n.d. <sup>1</sup>	10.12 (8.9)
	5차	0.10 (0.4)	2.06 (8.4)	0.23 (3.7)	0.10 (3.0)	1.19 (4.8)	0.68 (4.1)	0.45 (4.3)	0.09 (6.8)	0.19 (4.7)	n.d. <sup>1</sup>	5.09 (4.5)
	6차	0.39 (1.7)	1.42 (5.8)	0.08 (1.3)	0.06 (1.8)	0.51 (2.1)	0.27 (1.6)	0.18 (1.7)	0.05 (3.8)	n.d.	n.d. <sup>1</sup>	2.96 (2.6)
	합계	22.69 (100)	24.46 (100)	6.14 (100)	3.36 (100)	24.62 (100)	16.51 (100)	10.45 (100)	1.33 (100)	4.02 (100)	-	113.58 (100)
로스팅군	1차	7.16 (43.0)	8.84 (40.7)	2.05 (45.2)	0.75 (40.8)	6.19 (37.0)	4.85 (41.6)	2.93 (40.4)	0.71 (43.0)	1.90 (40.5)	n.d. <sup>1</sup>	35.38 (40.8)
	2차	5.23 (31.4)	5.36 (24.7)	1.40 (30.8)	0.64 (34.8)	5.29 (31.6)	3.74 (32.1)	2.43 (33.5)	0.58 (35.2)	1.56 (33.3)	n.d. <sup>1</sup>	26.23 (30.3)
	3차	2.28 (13.7)	2.53 (11.7)	0.60 (13.2)	0.19 (10.3)	2.52 (15.1)	1.50 (12.9)	0.97 (13.4)	0.23 (13.9)	0.61 (13.0)	n.d. <sup>1</sup>	11.43 (13.2)
	4차	1.41 (8.5)	2.27 (10.5)	0.35 (7.7)	0.17 (9.2)	1.78 (10.6)	1.04 (8.9)	0.61 (8.4)	0.09 (5.5)	0.46 (9.8)	n.d. <sup>1</sup>	8.18 (9.4)
	5차	0.42 (2.5)	1.62 (7.5)	0.10 (2.2)	0.05 (2.7)	0.68 (4.1)	0.37 (3.2)	0.22 (3.0)	0.03 (1.8)	0.12 (2.6)	n.d. <sup>1</sup>	3.61 (4.2)
	6차	0.15 (0.9)	1.09 (5.0)	0.04 (0.9)	0.04 (2.2)	0.27 (1.6)	0.15 (1.3)	0.09 (1.2)	0.01 (0.6)	0.04 (0.9)	n.d. <sup>1</sup>	1.88 (2.2)
	합계	16.65 (100)	21.71 (100)	4.54 (100)	1.84 (100)	16.73 (100)	11.65 (100)	7.25 (100)	1.65 (100)	4.69 (100)	-	86.71 (100)
반외포	1차	5.12 (45.2)	7.22 (45.9)	2.21 (51.5)	0.92 (57.1)	5.43 (46.6)	4.82 (56.7)	3.61 (57.3)	1.21 (55.5)	3.29 (58.1)	0.59 (57.8)	33.83 (50.3)
	2차	3.02 (26.7)	3.81 (24.2)	1.06 (24.7)	0.39 (24.2)	2.68 (23.0)	1.88 (22.1)	1.43 (22.7)	0.52 (23.9)	1.24 (21.9)	0.13 (12.7)	16.03 (23.8)
	3차	1.98 (17.5)	1.90 (12.1)	0.60 (14.0)	0.20 (12.4)	2.03 (17.4)	1.10 (12.9)	0.77 (12.2)	0.24 (11.0)	0.59 (10.4)	0.20 (19.6)	9.41 (14.0)
	4차	0.88 (7.8)	1.59 (10.1)	0.32 (7.5)	0.10 (6.2)	1.08 (9.3)	0.52 (6.1)	0.37 (5.9)	0.14 (6.4)	0.39 (6.9)	0.10 (9.8)	5.39 (8.0)
	5차	0.24 (2.1)	0.83 (5.3)	0.07 (1.6)	n.d.	0.32 (2.7)	0.13 (1.5)	0.10 (1.6)	0.04 (1.8)	0.11 (1.9)	n.d. <sup>1</sup>	1.84 (2.7)
	6차	0.08 (0.7)	0.38 (2.4)	0.03 (0.7)	n.d.	0.12 (1.0)	0.05 (0.6)	0.02 (0.3)	0.03 (1.4)	0.04 (0.7)	n.d. <sup>1</sup>	0.75 (1.1)
	합계	11.32 (100)	15.73 (100)	4.29 (100)	1.61 (100)	11.66 (100)	8.50 (100)	6.30 (100)	2.18 (100)	5.66 (100)	1.02 (100)	67.25 (100)

<sup>1</sup>not detected

표 12. 추출단계별 홍삼농축액분말의 ginsenoside 함량.

홍삼 추출단계별 농축액분말	Ginsenoside(mg/g)											
	Rg <sub>1</sub>	Re	Rf	Rg <sub>2</sub> +R h <sub>1</sub>	Rb <sub>1</sub>	Rc	Rb <sub>2</sub>	Rb <sub>3</sub>	Rd	Rg <sub>3</sub>	Total	
대 조 균	1차	11.38 (42.2)	8.08 (43.1)	2.36 (43.1)	1.28 (47.9)	10.17 (39.9)	7.97 (49.1)	4.47 (48.0)	1.04 (47.9)	1.56 (46.7)	0.55 (43.0)	48.86 (43.5)
	2차	7.09 (26.2)	4.53 (24.1)	1.47 (26.8)	0.71 (26.6)	6.54 (25.6)	4.13 (25.5)	2.37 (25.4)	0.54 (24.9)	1.02 (30.5)	0.33 (25.8)	28.73 (25.6)
	3차	4.42 (16.4)	2.85 (15.2)	0.86 (15.7)	0.34 (12.7)	4.21 (16.5)	2.07 (12.8)	1.24 (13.3)	0.29 (13.4)	0.64 (19.2)	0.20 (15.6)	17.12 (15.2)
	4차	3.10 (11.5)	2.11 (11.2)	0.60 (10.9)	0.25 (9.4)	3.51 (13.8)	1.62 (10.0)	1.01 (10.8)	0.27 (12.4)	0.54 (16.2)	0.17 (13.3)	13.18 (11.7)
	5차	0.75 (2.8)	0.81 (4.3)	0.13 (2.4)	0.07 (2.6)	0.79 (3.1)	0.31 (1.9)	0.17 (1.8)	0.02 (0.9)	0.06 (1.8)	0.02 (1.6)	3.13 (2.8)
	6차	0.29 (1.1)	0.38 (2.0)	0.06 (1.1)	0.02 (0.7)	0.29 (1.1)	0.12 (0.7)	0.06 (0.6)	0.01 (0.5)	0.02 (0.6)	0.01 (0.8)	1.26 (1.1)
	합계	27.03 (100)	18.76 (100)	5.48 (100)	2.67 (100)	25.51 (100)	16.22 (100)	9.32 (100)	2.17 (100)	3.84 (100)	1.28 (100)	112.28 (100)
로 스 팅 균	1차	9.90 (42.4)	7.74 (45.4)	2.33 (47.6)	1.14 (50.9)	9.27 (44.7)	7.38 (53.8)	4.56 (53.6)	1.32 (59.7)	2.10 (50.5)	0.69 (58.0)	46.43 (47.3)
	2차	6.41 (27.4)	4.01 (23.5)	1.33 (27.1)	0.60 (26.8)	5.36 (25.8)	3.44 (25.1)	2.12 (24.9)	0.52 (23.5)	0.95 (22.8)	0.21 (17.6)	24.95 (25.4)
	3차	4.02 (17.2)	2.62 (15.4)	0.75 (15.3)	0.29 (12.9)	3.19 (15.4)	1.57 (11.4)	1.02 (12.0)	0.24 (10.9)	0.55 (13.2)	0.12 (10.1)	14.37 (14.6)
	4차	2.33 (10.1)	1.72 (10.1)	0.42 (8.6)	0.18 (8.0)	2.25 (10.8)	1.07 (7.8)	0.65 (7.6)	0.10 (4.5)	0.49 (11.8)	0.11 (9.2)	9.32 (9.5)
	5차	0.48 (2.1)	0.49 (2.9)	0.07 (1.4)	0.03 (1.3)	0.38 (1.8)	0.16 (1.2)	0.09 (1.1)	0.02 (0.9)	0.03 (0.7)	0.02 (1.7)	1.77 (1.8)
	6차	0.23 (1.0)	0.46 (2.7)	n.d. <sup>1</sup>	n.d. <sup>1</sup>	0.30 (1.4)	0.10 (0.7)	0.07 (0.8)	0.01 (0.5)	0.04 (1.0)	0.04 (3.4)	1.25 (1.3)
	합계	23.37 (100)	17.04 (100)	4.90 (100)	2.24 (100)	20.75 (100)	13.72 (100)	8.51 (100)	2.21 (100)	4.16 (100)	1.19 (100)	98.09 (100)
퍼 핑 균	1차	8.73 (48.7)	5.33 (48.9)	2.34 (57.8)	0.99 (67.3)	8.88 (56.7)	6.01 (64.1)	3.44 (64.5)	1.32 (71.7)	1.95 (56.5)	1.49 (64.5)	40.48 (56.6)
	2차	3.62 (20.2)	1.92 (17.6)	0.76 (18.8)	0.27 (18.4)	3.00 (19.1)	1.55 (16.5)	0.78 (14.6)	0.13 (7.1)	0.55 (15.9)	0.38 (16.5)	12.96 (18.1)
	3차	3.10 (17.3)	2.26 (20.7)	0.66 (16.3)	0.21 (14.3)	2.22 (14.2)	1.10 (11.7)	0.74 (13.9)	0.23 (12.5)	0.68 (19.7)	0.22 (9.5)	11.42 (16.0)
	4차	1.32 (7.4)	0.90 (8.2)	0.23 (5.7)	n.d. <sup>1</sup>	1.21 (7.7)	0.57 (6.1)	0.30 (5.6)	0.05 (2.7)	0.23 (6.7)	0.16 (6.9)	4.97 (7.0)
	5차	0.19 (1.1)	0.29 (2.7)	0.03 (0.7)	n.d. <sup>1</sup>	0.20 (1.3)	0.08 (0.9)	0.04 (0.8)	0.10 (5.4)	0.01 (0.3)	0.01 (0.4)	0.95 (1.3)
	6차	0.09 (0.5)	0.21 (1.9)	0.03 (0.7)	n.d. <sup>1</sup>	0.16 (1.0)	0.07 (0.7)	0.03 (0.6)	0.01 (0.5)	0.03 (0.9)	0.05 (2.2)	0.68 (1.0)
	합계	17.05 (100)	10.91 (100)	4.05 (100)	1.47 (100)	15.67 (100)	9.38 (100)	5.33 (100)	1.84 (100)	3.45 (100)	2.31 (100)	71.46 (100)

<sup>1</sup>not detected

추출단계별 인삼농축액분말의 PD/PT 비율을 살펴보면 백삼의 경우 1차 추출단계에서는 팽화군이 1.22로 다른 것에 비해 PD 계열 함유가 높은 반면 2차 추출단계에서는 0.95로 가장 낮았다(표 13). 3, 4, 5차 추출단계에서는 로스팅, 팽화군은 비슷한 반면 대조군은 이들에 비해 PD/PT 비율이 높은 것으로 나타났다. Rg<sub>1</sub>/Rb<sub>1</sub> 비는 대조군, 로스팅군은 추출단계가 진행됨에 따라 점진적으로 감소한 반면 팽화군은 2차 추출단계에서 증가 후 다시 감소하는 경향을 보였다. Re/Rb<sub>1</sub> 비는 5, 6차 추출단계에서 가공처리 방법에 관계없이 모두 1차 추출단계보다 증가하는 것으로 나타났다.

홍삼 시료의 경우 PD/PT 비율은 1차 추출단계에서는 로스팅, 팽화군이 대조군에 비해 약간 높았으나 그 외의 추출단계에서는 일정한 경향을 보이지 않았다. Rg<sub>1</sub>/Rb<sub>1</sub> 비는 대조군은 추출단계가 진행됨에 따라 감소한 반면 로스팅, 팽화군은 2, 3차 추출단계에서 도리어 1차 단계보다 Rg<sub>1</sub> 비가 증가하였다. Re/Rb<sub>1</sub> 비는 백삼과 마찬가지로 5, 6차 추출단계에서 가공처리 방법에 관계없이 모두 1차 추출단계보다 상승하였다.

표 13. 추출단계별 인삼농축액분말의 PD<sup>1</sup>/PT<sup>2</sup>, Rg<sub>1</sub>/Rb<sub>1</sub>, Rd/Rb<sub>1</sub>, Rd/Rb<sub>1</sub>의 구성비.

인삼	추출 단계	대조군				로스팅군				팽화군			
		PD/PT	Rg <sub>1</sub> /Rb <sub>1</sub>	Re/Rb <sub>1</sub>	Rd/Rb <sub>1</sub>	PD/PT	Rg <sub>1</sub> /Rb <sub>1</sub>	Re/Rb <sub>1</sub>	Rd/Rb <sub>1</sub>	PD/PT	Rg <sub>1</sub> /Rb <sub>1</sub>	Re/Rb <sub>1</sub>	Rd/Rb <sub>1</sub>
백삼	1차	0.91	1.19	1.19	0.16	0.88	1.16	1.43	0.31	1.22	0.94	1.33	0.61
	2차	1.08	1.03	0.79	0.19	1.08	0.99	1.01	0.29	0.95	1.13	1.42	0.46
	3차	1.14	0.95	0.73	0.22	1.04	0.90	1.00	0.24	1.05	0.98	0.94	0.29
	4차	1.13	0.38	0.79	0.07	0.95	0.79	1.28	0.26	0.90	0.81	1.47	0.36
	5차	1.04	0.08	1.73	0.16	0.65	0.62	2.38	0.18	0.61	0.75	2.59	0.34
	6차	0.52	0.76	2.78	n.d. <sup>1</sup>	0.42	0.56	4.04	0.15	0.53	0.67	3.17	0.33
홍삼	1차	1.12	1.12	0.79	0.15	1.20	1.07	0.83	0.23	1.33	0.98	0.60	0.22
	2차	1.08	1.08	0.69	0.16	1.02	1.20	0.75	0.18	0.97	1.21	0.64	0.18
	3차	1.02	1.05	0.68	0.15	0.87	1.26	0.82	0.17	0.83	1.40	1.02	0.31
	4차	1.17	0.88	0.60	0.15	1.00	1.04	0.76	0.22	1.03	1.09	0.74	0.19
	5차	0.78	0.95	1.03	0.08	0.65	1.26	1.29	0.08	0.86	0.95	1.45	0.05
	6차	0.68	1.00	1.31	0.07	0.81	0.77	1.53	0.13	1.06	0.56	1.31	0.19

<sup>1</sup>protopanaxadiol 계열 ginsenoside, <sup>2</sup>protopanaxatriol 계열 ginsenoside, <sup>3</sup>not detected

#### 나. 기호성 개선 가공처리 최적화 원료 선정

##### (1) 재구성 인삼농축액분말의 특성 분석

재구성 인삼농축액분말의 제조는 추출단계별 인삼 추출액의 가용성 고형분 수율 측정 결과(표 6)를 토대로 추출단계별로 제조한 농축액분말을 혼합하였다. 즉, 백삼 대조군을 예로 들면 1차 추출단계시 추출액의 가용성 고형분 함량이 12.69%, 2차 9.12%, 3차 4.57%, 4차 2.82%, 5차 2.12%, 6차 2.24%로 이들 수율의 합(33.56%)을 100으로 두고 각 단계별 수율을 백분율로 계산하면 1차 추출액 시료는 전체 가용성 고형분 추출 수율의



37.8%, 2차는 27.2%, 3차는 13.6%, 4차는 8.4%, 5차는 6.3%, 6차는 6.7%를 차지하게 된다. 따라서 대조군 백삼 재구성 농축액분말 100 g을 제조할 경우 1차 추출단계에서 제조된 농축액분말 37.8 g, 2차 27.2 g, 3차 13.6 g, 4차 8.4 g, 5차 6.3 g, 6차 6.7 g을 각각 칭량하여 혼합, 사용하면 된다.

표 14, 표 15는 재구성 인삼농축액분말의 조사포닌과 ginsenoside 함량을 측정한 결과이다. 조사포닌 함량은 백삼 시료가 100.65~118.00 mg/g으로 홍삼의 85.12~105.14 mg/g에 비해 높았고 팽화백삼 시료가 가장 높은 함량을 나타내어 원료 인삼의 조사포닌 측정 결과와 비슷한 경향을 나타내었다. Ginsenoside 성분의 함량은 백삼 재구성 농축액의 경우 대조군은 Rg<sub>1</sub>, 로스팅, 팽화군은 Re의 함량이 가장 높았고 Re, Rc의 순으로 높았으며 재구성 홍삼농축액은 시료에 관계없이 Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub>, Re, Rc 순으로 함량이 높았다. 또한 이들 재구성 인삼농축액의 주요 ginsenoside 성분은 앞서 추출단계별 백삼, 홍삼 추출, 농축액의 주요 ginsenoside 조성과의 거의 유사한 경향을 보였다. Total ginsenoside 함량에 있어서는 백삼 대조군이 34.83 mg/g으로 시료 중 가장 높았고 로스팅, 팽화처리 홍삼으로 제조한 재구성 농축액이 백삼보다 약간 높았다.

한편 재구성 농축액분말의 산성다당체 함량은 홍삼군(152~192 mg/g)이 백삼군(137~164 mg/g)보다 높고 가공 전처리 인삼을 비교하면 팽화군>로스팅군>대조군의 순으로 그 함량이 높게 나타났다. 산성다당체는 추출온도가 55°C 이상이 되면 다당체 입자의 결정성 구조가 비가역적으로 붕괴하는 호화가 일어나며 가온 상태에서 추출된 다당체는 이들을 침전시키기 위해 첨가된 에탄올에 의한 탈수현상으로 노화가 일어나고 노화된 다당체는 불용성으로 변하며 미세결정 상태가 된다고 알려져 있다. 또한 추출 산성다당체를 동결건조 후 재수화시킨 용액의 수용성 산성다당체 수율은 홍삼이 백삼보다 높고 추출시 사용한 온도에 따라 용해도에 차이를 보여 온도가 높을수록 감소하는 것으로 보고되어 있다. 따라서 재구성 인삼농축액분말의 산성다당체 함량 차이는 향후 이들을 이용하여 제조한 음료의 용해도, 청징도 뿐만 아니라 관능적 특성에도 영향을 미칠 것으로 예측된다.

표 14. 재구성 인삼농축액분말의 조사포닌과 산성다당체 함량.

재구성 농축액분말		조사포닌(mg/g)	산성다당체(mg/g)
백삼	대조군	104.29	137
	로스팅군	100.65	156
	팽화군	118.00	164
홍삼	대조군	85.12	152
	로스팅군	93.61	173
	팽화군	105.14	192

표 15. 재구성 인삼농축액분말의 ginsenoside 함량.

재구성 농축액분말	Ginsenoside(mg/g)											
	Rg <sub>1</sub>	Re	Rf	Rg <sub>2</sub> +Rh <sub>1</sub>	Rb <sub>1</sub>	Rc	Rb <sub>2</sub>	Rb <sub>3</sub>	Rd	Rg <sub>3</sub>	Total	
백삼	대조군	7.38 (21.2)	6.95 (20.0)	2.09 (6.0)	0.81 (2.3)	7.07 (20.3)	5.32 (15.3)	3.31 (9.5)	0.76 (2.2)	1.14 (3.3)	n.d. <sup>1</sup>	34.83 (100)
	로스팅군	5.05 (21.1)	6.28 (26.2)	1.27 (5.3)	0.48 (2.0)	4.36 (18.2)	3.10 (12.9)	1.87 (7.8)	0.48 (2.0)	1.09 (4.5)	n.d. <sup>1</sup>	23.98 (100)
	팽화군	2.89 (16.5)	4.31 (24.7)	1.07 (6.1)	0.44 (2.5)	2.78 (15.9)	2.27 (13.0)	1.64 (9.4)	0.56 (3.2)	1.40 (8.0)	0.11 (0.6)	17.47 (100)
홍삼	대조군	6.40 (24.6)	4.44 (17.1)	1.31 (5.0)	0.59 (2.3)	5.79 (22.3)	3.75 (14.4)	2.15 (8.3)	0.50 (1.9)	0.83 (3.2)	0.23 (0.9)	25.99 (100)
	로스팅군	6.08 (23.1)	4.42 (16.8)	1.34 (5.1)	0.71 (2.7)	5.59 (21.2)	3.94 (14.9)	2.41 (9.1)	0.62 (2.4)	1.03 (3.9)	0.22 (0.8)	26.36 (100)
	퍼핑군	5.17 (25.0)	2.91 (14.1)	1.21 (5.9)	0.49 (2.4)	4.74 (22.9)	2.87 (13.9)	1.60 (7.7)	0.36 (1.7)	0.80 (3.9)	0.51 (2.5)	20.66 (100)

<sup>1</sup>not detected

재구성 인삼농축액분말의 PD/PT계열 비를 살펴보면 백삼 대조군과 팽화군은 1.02, 1.01로 거의 1:1의 비를 보인 반면 로스팅군은 0.83으로 PT계가 약간 높은 것으로 나타났다(표 16). 홍삼은 3가지 시료 모두 PD계가 약간 많았고 팽화군이 1.11이었다. 재구성 인삼농축액의 PD/PT계열 비 또한 앞서 추출 단계별 백삼, 홍삼 농축액의 PD/PT 비와 비슷한 경향을 보였다.

Rg<sub>1</sub>/Rb<sub>1</sub> 비는 백삼 로스팅군이 1.16으로 약간 높았으나 백삼군, 홍삼군 시료간에는 큰 차이가 없었다. Re/Rb<sub>1</sub> 비는 재구성 백삼농축액 시료가 홍삼 시료에 비해 높고 로스팅, 팽화군이 대조군보다 높았으나 홍삼은 팽화군이 0.61로 가장 낮았다. Rd/Rb<sub>1</sub> 비는 백삼 대조군이 0.16로 가장 낮았고 팽화군이 0.50으로 가장 높았으며 홍삼 시료는 비슷하였다.

표 16. 재구성 인삼농축액분말의 PD/PT, Rg<sub>1</sub>/Rb<sub>1</sub>, Re/Rb<sub>1</sub>, Rd/Rb<sub>1</sub>의 구성비.

재구성 농축액분말	PD <sup>1</sup> /PT <sup>2</sup>	Rg <sub>1</sub> /Rb <sub>1</sub>	Re/Rb <sub>1</sub>	Rd/Rb <sub>1</sub>
대조군	1.02	1.04	0.98	0.16
백삼	로스팅군	0.83	1.16	1.44
	팽화군	1.01	1.04	1.55
홍삼	대조군	1.04	1.11	0.77
	로스팅군	1.10	1.09	0.79
	팽화군	1.11	1.09	0.61

## (2) 재구성 인삼농축액 희석액의 특성 분석

추출단계별 인삼농축액분말을 이용하여 제조한 재구성 인삼농축액분말을 인삼 음료 기준에 맞게 조사포닌 함량을 조정하여 정제수로 희석, 용해한 희석액의 color intensity

를 측정 한 결과는 표 17과 같다.

갈변의 전구물질(conjugated carbonyl compound)과 중간생성물(hydroxy methyl furfural) 및 furfural을 285 nm에서, 그리고 자색계, 청록색계, 갈색계의 색소는 각각 400, 460, 490 nm에서 측정하여 흡광도로 표시하였다. 로스팅, 팽화처리한 백삼과 홍삼으로 제조한 재구성 농축액 시료는 자색계, 청록색계, 갈색계, 그리고 전구물질의 흡광도가 대조군에 비해 모두 증가하는 것으로 나타나 인삼을 로스팅, 팽화처리함에 따라 갈변 반응에 의한 갈색색소의 생성이 많아짐을 알 수 있었다. 특히, 팽화처리 인삼이 높은 값을 보였고 490 nm 갈색계 흡광도에 있어서 백삼과 홍삼을 비교하면 홍삼 팽화군은 대조군에 비해 5.7배나 증가되는 것으로 나타나 홍삼의 팽화처리는 갈변반응을 더욱 촉진 시킴을 알 수 있었다.

표 17. 재구성 인삼농축액 음료의 color intensity.

재구성 농축액 음료	흡광도(nm)				400nm/460nm	
	285nm	400nm	460nm	490nm		
대조군	0.610	0.116	0.076	0.066	1.53	
백삼	로스팅군	0.893	0.164	0.097	0.079	1.69
	팽화군	1.137	0.608	0.300	0.210	2.03
대조군	0.727	0.058	0.039	0.023	1.49	
홍삼	로스팅군	1.285	0.134	0.072	0.049	1.86
	팽화군	1.817	0.430	0.211	0.135	2.04

재구성 인삼농축액을 이용하여 제조한 인삼 희석액의 색도를 측정 한 결과 표 18과 같다. 로스팅, 팽화처리 인삼으로 제조한 재구성 농축액 희석 음료는 대조군에 비해 L값과 a값은 감소하는 반면 b값은 증가하는 것으로 나타났고 특히, 팽화 시료의 경우 다른 것에 비해 b값이 급격히 증가하는 것으로 나타나 재구성 팽화홍삼농축액을 이용하여 제조한 음료는 색상이 어둡고 황색계가 주가 됨을 알 수 있었다.

표 18. 재구성 인삼농축액 음료의 색도.

재구성 농축액 음료	L값	a값	b값	a값/b값	
대조군	52.94	-1.61	-3.79	0.42	
백삼	로스팅군	51.33	-1.98	0.19	-10.42
	팽화군	38.57	-2.15	20.79	-0.10
대조군	53.38	-1.11	-3.20	0.35	
홍삼	로스팅군	43.18	-2.16	-0.64	3.38
	팽화군	27.46	-2.54	11.50	-0.22

(3) 재구성 인삼농축액 희석액의 관능평가

(가) 묘사분석(Descriptive analysis)에 의한 관능강도 및 기호도 조사

그림 15는 재구성 인삼농축액을 이용하여 제조한 희석액의 관능적 특성을 9단계 기호척도법으로 쓴맛, 흠냄새, 그리고 전체적기호도로 구분 평가하여 시료간의 유의성을 분산분석법과 Duncan의 다중검정법에 의해 분석한 결과이다.

재구성 홍삼농축액 시료로 제조한 희석액의 경우 쓴맛 강도는 팽화군이 6.43으로 가장 높고 로스팅군이 4.93으로 가장 낮아 팽화군과 다른 시료간에는 유의적 차이를 보였다. 흠냄새 강도는 백삼 대조군이 5.50으로 가장 높고 팽화군이 4.07로 가장 낮았으며 대조군으로 로스팅, 팽화군과 유의적 차이를 나타내었다. 희석액의 전체적인 기호도 평가에 있어서는 팽화군>로스팅군>대조군의 순으로 희석액의 기호도가 좋은 것으로 나타났으나 시료간 유의적 차이는 없었다. 재구성 홍삼농축액 희석액의 경우 쓴맛 강도는 팽화군이 가장 낮은 것으로 나타났으나 음료간 유의적 차이는 없었고, 흠냄새 강도는 시료간 차이가 거의 없었다. 희석액의 전반적 기호도 평가에서는 재구성 팽화홍삼농축액으로 만든 희석액이 6.14로 가장 우수하였고 대조군, 로스팅군의 희석액과 유의적 차이를 나타내었다.

가공처리 방법을 달리한 백삼 및 홍삼 시료로부터 추출단계별 각각의 농축분말을 제조하고 이들을 조합하여 만든 재구성 인삼농축분말을 식품공전상 인삼음료 기준에 맞게 희석시킨 희석액의 관능평가 결과를 종합하면 미주지역 소비자들의 지적사항인 (인삼 소비시 문제점인) 쓴맛과 흠냄새 개선을 위해 적합한 원료 가공 시료로 쓴맛 강도가 약하고 종합적기호도가 가장 좋은 팽화홍삼을 사용함이 연구 목표 달성을 위해 가장 유리한 것으로 판단되었다.

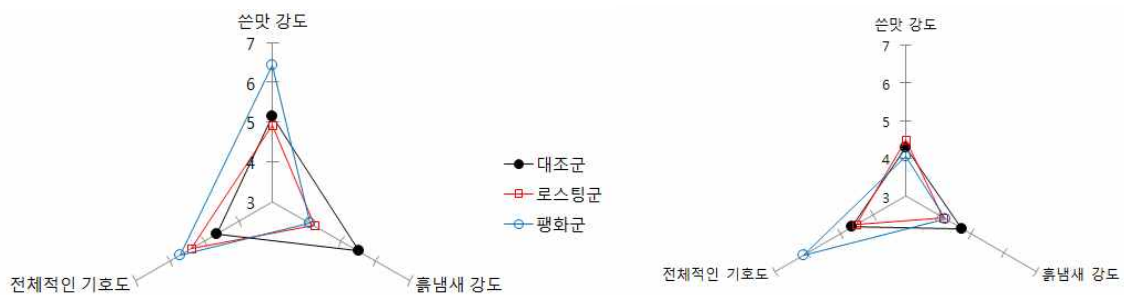


그림 15. 재구성 인삼농축액 음료의 관능강도와 기호도 평가. (좌) 백삼, (우)홍삼

(나) 전자혀를 이용한 재구성 인삼농축액 희석액의 맛 평가

재구성 인삼농축액 희석액의 보다 객관적인 맛의 차이를 확인하기 위해 전자혀를 이용한 맛 분석 장치로 희석액의 미각패턴을 비교한 결과는 다음 표 19와 같다. 백삼과

홍삼간의 차이를 확인하기 위하여 각 대조군 회석액을 비교하면 신맛, 감칠맛은 비슷하나 쓴맛, 떫은맛, 떫은맛 후미는 백삼이 10.43, 5.25, 0.28로 홍삼의 9.57, 1.40, 0.01보다 높았다. 로스팅, 팽화처리한 인삼으로 제조한 회석액을 대조군과 비교하면 신맛, 쓴맛, 감칠맛은 감소하는 반면 쓴맛 후미, 떫은맛 후미는 증가하였지만, 떫은맛은 백삼은 감소하였으나 홍삼은 약간 증가하였다. 팽화인삼으로 제조한 회석액의 미각패턴을 비교해 보면 팽화홍삼 회석액의 쓴맛, 떫은맛, 떫은맛 후미가 9.11, 1.75, 0.09로 백삼 시료의 9.96, 3.75, 0.31에 비해 더 낮고 신맛은 높은 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합하면 관능 평가시 회석액의 종합적기호도는 어느 한 가지 맛보다는 여러 가지 맛 성분에 의해 영향을 받으며 팽화와 같은 가공처리에 의한 인삼의 신맛, 쓴맛, 떫은맛의 변화는 이들을 이용한 회석액의 기호도에 직접적인 영향을 미치는 것으로 판단된다.

해외 소비자의 경우 커피, 초코렛에서 느끼는 강한 쓴맛은 친숙한 반면 인삼에서 발현되는 쓴맛에 대해서는 강한 거부감을 보여 인삼제품에 대한 기호성을 저하시키는 주요인이 되고 있는 점은 이미 잘 알려진 사실이기 때문에 원료 인삼의 미각패턴을 일부 변화시킬 수 있는 팽화처리와 같은 전처리공정은 인삼가공제품의 기호성을 떨어뜨리는 요인인 쓴맛을 보다 소비자들이 친숙한 형태의 맛으로 변화시킬 수 있어 궁극적으로 인삼제품의 기호성 개선에도 효과적인 것으로 기대된다.

표 19. 전자혀를 이용한 재구성 인삼농축액 음료의 맛 평가.

재구성 농축액 음료	신맛	쓴맛	떫은맛	쓴맛 후미	떫은맛 후미	감칠맛	짠맛
대조군	-25.48 ±0.12 <sup>a</sup>	10.43 ±0.01 <sup>b</sup>	5.25 ±0.12 <sup>c</sup>	0.00 ±0.01 <sup>b</sup>	0.28 ±0.02 <sup>a</sup>	7.96 ±0.05 <sup>c</sup>	-16.26 ±0.10 <sup>b</sup>
백삼 로스팅군	-24.76 ±0.09 <sup>b</sup>	10.01 ±0.02 <sup>a</sup>	4.64 ±0.10 <sup>b</sup>	-0.02 ±0.01 <sup>a</sup>	0.29 ±0.02 <sup>ab</sup>	7.80 ±0.06 <sup>b</sup>	-16.18 ±0.16 <sup>b</sup>
팽화군	-21.94 ±0.21 <sup>c</sup>	9.96 ±0.06 <sup>a</sup>	3.75 ±0.14 <sup>a</sup>	0.20 ±0.01 <sup>c</sup>	0.31 ±0.02 <sup>b</sup>	7.00 ±0.09 <sup>a</sup>	-18.20 ±0.21 <sup>a</sup>
대조군	-25.86 ±0.05 <sup>a</sup>	9.57 ±0.04 <sup>c</sup>	1.40 ±0.09 <sup>a</sup>	-0.05 ±0.01 <sup>a</sup>	0.01 ±0.01 <sup>a</sup>	7.91 ±0.03 <sup>c</sup>	-19.71 ±0.18 <sup>b</sup>
홍삼 로스팅군	-23.95 ±0.06 <sup>b</sup>	9.26 ±0.10 <sup>b</sup>	1.67 ±0.12 <sup>b</sup>	0.05 ±0.01 <sup>b</sup>	0.05 ±0.02 <sup>b</sup>	7.48 ±0.02 <sup>b</sup>	-19.72 ±0.16 <sup>b</sup>
팽화군	-20.53 ±0.00 <sup>c</sup>	9.11 ±0.06 <sup>a</sup>	1.75 ±0.05 <sup>b</sup>	0.20 ±0.01 <sup>c</sup>	0.09 ±0.01 <sup>c</sup>	6.67 ±0.05 <sup>a</sup>	-20.85 ±0.16 <sup>a</sup>

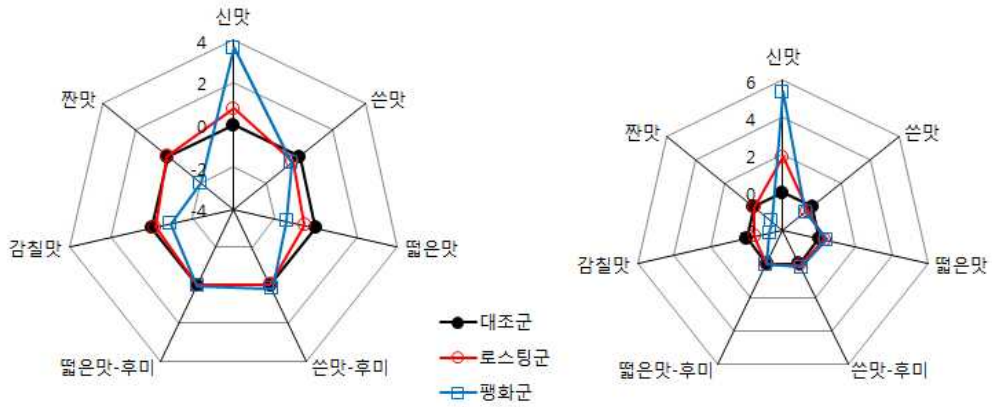


그림 16. 재구성 인삼농축액 음료의 맛 패턴. (좌) 백삼, (우) 홍삼

## 2. 미주시장 부합형 선택적 인삼추출·농축액 모델 확립 결과

가. 팽화홍삼 추출단계별 농축액분말 희석액의 특성 분석 및 관능평가

(1) 팽화홍삼 추출단계별 농축액분말 희석액의 특성 분석

재구성 인삼농축액으로 제조한 음료 base의 관능평가 결과 쓴맛과 흠냄새 항목에서 기호도 개선 효과를 나타낸 팽화홍삼을 대상으로 선택적 재구성 모델 개발에 앞서 추출 단계별 팽화홍삼 농축액분말의 몇 가지 품질특성을 분석하였다. 팽화홍삼의 추출단계별 농축액분말을 음료농도와 유사한 0.1% 희석액으로 제조하여 color intensity(표 20), 색도(표 21), 투광도(그림 17)를 측정하였다.

추출단계별 팽화홍삼 농축액분말 희석액의 285 nm, 400 nm, 460 nm, 490 nm에서의 흡광도 값은 추출단계가 1차에서 6차로 진행됨에 따라 모두 낮아지는 것으로 나타나 농축액분말 내 갈색색소의 함유량이 적어짐을 알 수 있었다. 이는 추출용매로 사용되는 주정의 농도와 추출온도가 높을수록 원료 조직의 갈색계 관련 물질들의 추출이 쉽게 이루어짐을 나타내는 결과로 갈색계 색소를 나타내는 490 nm에서의 흡광도의 경우 3차 추출단계 시료부터는 1차에 비하여 55% 이하로 떨어지는 것으로도 알 수 있었다.

표 20. 팽화홍삼의 추출단계별 농축액분말 희석액(0.1%)의 color intensity.

농축액분말	흡광도(O.D)				
	285nm	400nm	460nm	490nm	400/460
1차	1.840	0.548	0.380	0.344	1.44
2차	1.813	0.535	0.284	0.247	1.88
3차	1.808	0.518	0.283	0.194	1.83
4차	1.760	0.507	0.265	0.181	1.91
5차	1.281	0.478	0.243	0.152	1.97
6차	1.206	0.428	0.238	0.150	1.80

팽화홍삼 농축액분말로 만든 희석액의 색도 변화를 측정된 결과는 표 21과 같다. 명도를 나타내는 L값과 청색에서 황색까지의 색도를 나타내는 b값은 추출단계가 진행됨에 따라 감소한 반면 녹색에서 적색까지의 색도를 나타내는 a값은 증가하여 추출 단계가 진행됨에 따라 추출되는 적색색소는 증가, 황색계는 감소함을 알 수 있었다.

표 21. 팽화홍삼의 추출단계별 농축액분말 희석액(0.1%)의 색도.

농축액분말	L값	a값	b값	a값/b값
1차	71.84	-0.95	37.28	-0.03
2차	69.27	-0.32	34.10	-0.01
3차	66.80	-0.24	33.62	-0.01
4차	61.90	-0.17	26.63	-0.01
5차	59.80	-0.12	16.48	-0.01
6차	58.99	-0.10	7.14	-0.01

팽화홍삼 농축액분말 희석액의 투광도 변화를 측정된 결과(그림 17) 1차~4차 추출 단계까지는 투광도 값이 서서히 감소한 반면 5, 6차 추출단계의 시료는 급격히 감소하였다. 이는 40% 이상의 주정농도에서는 인삼조직 내 전분질, 펙틴질, 단백질 등의 고분자 화합물의 용해성이 약화되어 용출이 어렵다는 연구결과로 미루어 볼 때 20% 주정, 물을 추출용매로 사용하는 5차, 6차 추출단계에서는 이들 고분자화합물이 다량 추출됨에 따라 발생하는 현상으로 생각되며 이들 물질은 인삼 음료의 침전물 생성에 직접적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

그림 18은 추출단계별 팽화홍삼 농축액분말을 0.1% 농도로 희석 후 200~500 nm에서 흡광도를 조사한 결과이다. 홍삼 수용성 갈변물질은 260 nm 부근에서 흡수극대를 가지고 있으며 추출단계가 1차에서 6차로 진행됨에 따라 특징적인 흡광도 패턴의 변화는 없었으며 자외선 영역대인 300~350 nm 파장대에서 눈에 띄게 수치가 낮아졌다.







			
투광도(%T)	91.0	89.1	84.6
농축액분말	1차	2차	3차
			
투광도(%T)	83.0	65.0	53.9
농축액분말	4차	5차	6차

그림 17. 팽화홍삼의 추출단계별 농축액분말 희석액(0.1%)의 색상 및 투광도.

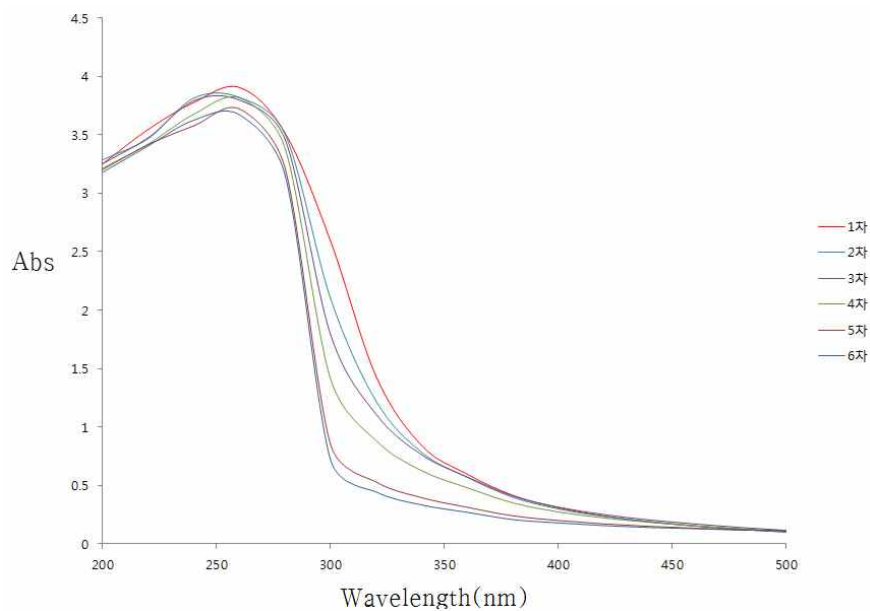


그림 18. 팽화홍삼의 추출단계별 농축액분말 희석액(0.1%)의 UV-spectrum 변화.

## (2) 팽화홍삼 추출단계별 농축액분말 희석액 관능평가

팽화홍삼의 추출단계별 농축액분말을 0.1% 희석액으로 제조하여 묘사분석에 의한 관능강도를 조사한 결과는 표 22와 같다. 쓴맛과 쓴맛 후미에 대한 관능강도는 시료간



유의적인 차이를 보였고( $p < 0.05$ ), 쓴맛의 경우 1차 추출단계에서 얻은 농축액분말 회석액이 6.64로 가장 강도가 높은 것으로 평가되었고 2~4차 시료까지는 강도 수치는 낮아 지나 시료간 유의차는 없었고 5, 6차 시료는 2.27, 2.09로 다른 추출단계의 시료에 비해 낮은 강도 값을 보였다. 쓴맛 후미도 1차 시료가 6.00으로 가장 높았고 추출단계가 진행될수록 감소하여 6차 시료가 2.00으로 가장 낮게 평가되었다.

뽕은맛과 뽕은맛 후미의 경우 4차 추출단계에 얻어진 농축액분말 회석액이 6.33, 6.67로 강도가 가장 높았고 그 다음으로 3차, 5차 시료 순으로 높았으며 6차 추출단계 시료가 3.00으로 가장 낮았다. 추출단계 3, 4, 5차 시료와 추출단계 1, 2, 6차 시료 간 뚜렷한 유의적 차이를 나타내었다.

추출단계별 농축액분말 회석액의 관능적 특징을 살펴보면 1, 2차 시료는 씹쌀한 맛이 강하나 후미는 깔끔한 반면 3, 4, 5차 시료는 뽕은맛이 특징적으로 나타나며 6차 시료는 밋밋한 느낌이나 뽕은맛이 아주 약한 특징을 가지고 있다. 따라서 이러한 추출단계별 농축액분말 회석액의 여러 가지 관능항목의 강도 차이는 향후 이들 농축액분말을 이용하여 제조하게 될 선택적 재구성 인삼농축액 모델 회석액의 기호도 차이에 직접적인 영향을 미치는 중요한 요인이 될 것으로 판단된다.

팽화홍삼 시료로부터 제조한 추출단계별 농축액분말 회석액의 쓴맛, 쓴맛 후미, 뽕은맛 등 시료간의 관능강도 차이를 1차 추출단계 시료를 대조구로 하여 비교하면 쓴맛과 쓴맛 후미가 추출단계별 시료 간 강도에서 가장 큰 차이를 보여 5, 6차 추출단계 시료는 1차에 시료에 비해 4.0 이상의 강도 차이를 나타내었다.

표 22. 팽화홍삼의 추출단계별 농축액분말 회석액의 관능강도.

농축액분말	쓴맛	쓴맛 후미	신맛	뽕은맛	뽕은맛 후미
1차	6.64±2.06 <sup>a</sup>	6.00±1.95 <sup>a</sup>	3.64±1.63 <sup>a</sup>	4.00±1.73 <sup>a</sup>	3.67±1.15 <sup>a</sup>
2차	5.18±1.60 <sup>b</sup>	5.09±1.51 <sup>ab</sup>	3.36±1.75 <sup>ab</sup>	3.33±0.58 <sup>a</sup>	3.33±0.58 <sup>a</sup>
3차	5.00±1.53 <sup>b</sup>	5.14±1.35 <sup>bc</sup>	2.82±1.72 <sup>ab</sup>	5.33±1.15 <sup>a</sup>	5.00±1.73 <sup>a</sup>
4차	4.09±1.14 <sup>b</sup>	3.45±1.44 <sup>cd</sup>	2.73±1.19 <sup>ab</sup>	6.33±1.15 <sup>a</sup>	6.67±0.58 <sup>a</sup>
5차	2.27±0.79 <sup>c</sup>	2.45±0.69 <sup>de</sup>	2.18±1.25 <sup>b</sup>	5.00±2.65 <sup>a</sup>	4.67±2.52 <sup>a</sup>
6차	2.09±0.83 <sup>c</sup>	2.00±0.77 <sup>e</sup>	2.00±1.10 <sup>b</sup>	3.00±1.00 <sup>a</sup>	4.67±2.52 <sup>a</sup>

#### 나. 미주시장 부합형 인삼농축액 모델 설정

##### (1) 선택적 재구성 인삼농축액 모델 회석액의 특성 분석

선택적 재구성 팽화홍삼농축액 모델로 제조한 회석액의 285 nm, 400 nm, 460 nm, 490 nm에서의 흡광도를 측정 한 결과(표 23) 1, 2차 추출단계의 농축액분말을 기본 베이스로 하여 3차 추출단계에서 얻어진 농축액분말을 더 혼합한 모델 1 회석액이 다른 모델 회석액에 비해 약간 높은 값을 보였다. 그러나 4, 5, 6차 추출단계에서 얻어진 농축액

분말을 각각 혼합한 모델 2, 3, 4 희석액은 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 모든 모델 희석액이 흡광도 변화에 주로 영향을 미치는 1, 2차 농축액분말을 기본 베이스로 포함됨에 따라 나타나는 현상으로 생각된다. 모델 희석액의 색도와 투광도(%T) 측정 결과 (표 24)에 있어서도 모델간 차이는 거의 없는 것으로 확인되었다.

표 23. 선택적 재구성 팽화홍삼농축액 모델 희석액의 color intensity.

모델 희석액*	흡광도(O.D)				
	285nm	400nm	460nm	490nm	400/460
모델 1	1.67	0.66	0.37	0.27	1.78
모델 2	1.56	0.55	0.25	0.16	2.20
모델 3	1.56	0.53	0.25	0.16	2.12
모델 4	1.56	0.52	0.24	0.15	2.17

\*모델 1: 1차+2차+3차, 모델 2: 1차+2차+4차, 모델 3: 1차+2차+5차, 모델 4: 1차+2차+6차  
 1차: 65°C/70% 주정 추출, 2차: 75°C/60% 주정 추출, 3차: 80°C/50% 주정 추출, 4차: 85°C/40% 주정 추출, 5차: 90°C/20% 주정 추출, 6차: 95°C/물 추출

표 24. 선택적 재구성 팽화홍삼농축액 모델 희석액의 색도와 투광도.

모델 음료	L값	a값	b값	a값/b값	투광도(%T)
모델 1	19.94	-2.69	10.26	-0.26	90.3
모델 2	19.37	-2.43	10.40	-0.23	90.1
모델 3	18.36	-2.38	10.12	-0.24	90.1
모델 4	17.83	-2.19	9.71	-0.23	90.0

## (2) 선택적 재구성 농축액 모델 희석액의 관능평가

### (가) 묘사분석(Descriptive analysis)에 의한 관능강도 및 기호도 조사

미주시장에 부합하는 기호성 개선 인삼 음료 base가 되는 선택적 재구성 농축액 모델 제조는 1차, 2차 추출단계에서 얻은 농축분말은 모든 모델에 기본적으로 함유되게 하여 모델 1은 3차 추출단계에서 얻은 농축분말을 더 혼합, 모델 2는 4차 농축액을 더 혼합, 모델 3은 5차 농축액을 더 첨가, 모델 4는 6차 농축액을 더 조합한 처리구로 각각 구분한 다음 정제수로 용해하여 만든 희석액의 관능평가를 실시하였다(표 25).

쓴맛 기호도는 모델 희석액간 유의적인 차이를 나타내어 1차, 2차, 그리고 6차 농축액을 조합한 모델 4 음료가 6.40으로 가장 기호도가 좋았고 mouthfeel과 종합적기호도 또한 시료간 유의적 차이는 없었으나 모델 4 희석액이 다른 희석액에 비해 6.27, 6.33으로 높은 점수를 나타내었다. 1, 2, 3차 농축액으로 조합된 모델 1 희석액은 쓴맛, mouthfeel, 종합적기호도 항목에서 가장 점수가 낮았고 추출단계 4, 5, 6차에서 얻어지는 농축액을 사용할수록 희석액의 기호도 점수가 높아지는 것을 확인할 수 있었다.

일반적으로 인삼 농축액 제조시 40% 이상의 에탄올 농도에서는 정유성분, 사포닌, 유기산 등은 잘 용해되나 단백질, 전분, 펙틴질 등의 고분자 물질은 거의 용출되지 않으며 홍삼엑기스의 고미(bitterness)성질은 물추출구가 에탄올구에 비해 현저하게 낮고, 에탄올 농도(30, 50, 70, 90%)에 따른 유의적 차이는 보이지 않는 것으로 보고되어 있다.

따라서 1차 추출·농축액 제조 단계에서는 70% 주정이 추출용매로 사용되고 추출 단계가 거듭될수록 60%, 50%, 40%, 20%로 주정 농도가 낮아져 6차 추출단계에서는 정제수를 사용한 본 실험의 인삼 추출·농축액 제조공정을 고려하면 1차, 2차 농축액에 선택적으로 고분자 물질은 다량 함유하며 쓴맛, 떫은맛의 관능강도가 가장 약한 추출 단계 6차 농축액을 혼합한 모델 농축액은 다른 시료에 비해 고미특성이 완화됨에 따라 궁극적으로 이들을 이용하여 제조한 희석액의 전반적기호도도 상승하는 것으로 생각된다.

표 25. 선택적 재구성 팽화홍삼농축액 모델 희석액의 기호도 평가.

모델 희석액	쓴맛		Mouthfeel		종합적 기호도 <sup>†</sup>
	기호도 <sup>†</sup>	강도 <sup>‡</sup>	기호도 <sup>†</sup>	강도 <sup>‡</sup>	
모델 1	5.00±1.36 <sup>b</sup>	4.39±2.12 <sup>a</sup>	5.33±1.23 <sup>a</sup>	4.89±1.71 <sup>a</sup>	5.47±1.46 <sup>a</sup>
모델 2	5.67±1.80 <sup>ab</sup>	4.44±1.79 <sup>a</sup>	5.53±1.92 <sup>a</sup>	4.89±1.91 <sup>a</sup>	5.73±1.79 <sup>a</sup>
모델 3	5.73±1.39 <sup>ab</sup>	3.89±1.75 <sup>a</sup>	6.13±1.25 <sup>a</sup>	4.22±1.86 <sup>a</sup>	6.13±1.55 <sup>a</sup>
모델 4	6.40±1.84 <sup>a</sup>	4.00±1.81 <sup>a</sup>	6.27±1.94 <sup>a</sup>	4.72±1.87 <sup>a</sup>	6.33±1.84 <sup>a</sup>

<sup>†</sup> 1점: 매우 나쁨 → 9점 : 매우 좋음

<sup>‡</sup> 1점: 매우 약함 → 9점 : 매우 강함

(나) 전자혀를 이용한 선택적 재구성 농축액 모델의 맛 평가

1, 2차 농축액분말을 기본 베이스로 하여 3~6차 추출단계에서 얻은 농축액 분말을 각각 첨가한 모델 희석액의 미각패턴을 분석한 결과(표 26) 추출단계별 농축액의 첨가에 따른 뚜렷한 경향은 보이지 않았으나 신맛, 쓴맛, 떫은맛, 쓴맛후미는 희석액간 유의적인 차이를 나타내었다. 쓴맛, 쓴맛 후미는 6차 추출단계에서 얻어진 농축액을 첨가한 모델 4가 가장 높고 떫은맛은 3차 첨가구인 모델 1이 높았다.

모델 희석액의 미각패턴 결과를 기호도 평가와 비교하면 종합적기호도가 가장 우수한 모델 4 음료는 다른 희석액에 비해 떫은맛(1.56), 떫은맛 후미(0.13)가 낮고 감칠맛 후미(0.84)는 높았으며 기호도 평가에서 가장 낮은 점수를 받은 3차 추출단계 농축액을 첨가한 모델 1은 쓴맛은 모델 4와 비슷하나 떫은맛, 떫은맛 후미는 높아 인삼 희석액에서 느끼는 떫은맛은 기호도 평가에 영향을 미침은 것으로 나타났다. 또한 모델 2는 쓴맛과 쓴맛후미는 모델 4보다 낮으나 떫은맛, 신맛이 높아 관능평가에서 인삼 희

석액의 기호도는 어느 한 가지 맛에 의해 결정되기보다는 쓴맛, 신맛, 떫은맛의 적절한 조화에 의해 좌우됨을 알 수 있었다.

표 26. 선택적 재구성 팽화홍삼농축액 모델 희석액의 맛 평가.

모델 희석액	신맛	쓴맛	떫은맛	쓴맛 후미	떫은맛 후미	감칠맛	짠맛
모델 1	-21.14 ±0.05 <sup>a</sup>	10.08 ±0.12 <sup>b</sup>	2.15 ±0.03 <sup>c</sup>	0.59 ±0.00 <sup>b</sup>	0.18 ±0.01 <sup>b</sup>	6.99 ±0.04 <sup>b</sup>	-19.32 ±0.09 <sup>c</sup>
모델 2	-19.34 ±0.14 <sup>b</sup>	8.85 ±0.10 <sup>a</sup>	1.83 ±0.08 <sup>b</sup>	0.23 ±0.02 <sup>a</sup>	0.14 ±0.01 <sup>a</sup>	6.57 ±0.05 <sup>a</sup>	-20.13 ±0.16 <sup>ab</sup>
모델 3	-18.96 ±0.07 <sup>c</sup>	9.97 ±0.20 <sup>b</sup>	1.95 ±0.08 <sup>b</sup>	0.62 ±0.01 <sup>c</sup>	0.15 ±0.02 <sup>a</sup>	6.52 ±0.03 <sup>a</sup>	-20.25 ±0.07 <sup>a</sup>
모델 4	-21.16 ±0.18 <sup>a</sup>	10.97 ±0.19 <sup>c</sup>	1.56 ±0.08 <sup>a</sup>	0.86 ±0.03 <sup>d</sup>	0.13 ±0.01 <sup>a</sup>	6.96 ±0.09 <sup>b</sup>	-19.98 ±0.16 <sup>b</sup>

선택적 재구성 인삼농축액모델 희석액에 대한 기호성 평가에서 1, 2차 농축액분말에 6차 추출단계에서 얻어지는 농축액분말을 더 혼합한 모델 4 희석액가 쓴맛, 종합적 기호도가 가장 우수한 것으로 평가되었다.

본 실험에서는 모델 음료의 다양화를 기본 베이스 농축액분말의 차이에 따른 모델 희석액의 기호성을 비교하였다. 즉, 1, 2차 농축액분말 기본 베이스에 6차 농축액분말을 첨가하는 모델 4와 1, 2, 3차 농축액분말 기본 베이스에 6차 농축액분말을 첨가하는 모델 5를 제조하여 희석액의 관능평가를 실시하였다(표 28).

표 27. 선택적 재구성 농축액 모델 제조를 위한 추출단계별 팽화홍삼 농축액분말의 조합 구성비.

모델 희석액*	농축액분말(%)					
	1차	2차	3차	4차	5차	6차
모델 4	46.6	41.9	-	-	-	11.5
모델 5	39.1	35.1	16.1	-	-	9.7

\*모델 4: 1차+2차+6차, 모델 5: 1차+2차+3차+6차

1차: 65°C/70% 주정 추출, 2차: 75°C/60% 주정 추출, 3차: 80°C/50% 주정 추출, 6차: 95°C/물 추출

희석액의 쓴맛과 흠냄새에 대한 관능 강도를 묘사분석으로 평가한 결과 2개 모델 음료간 유의흠냄새 등 기호성 개선을 위한 효과적인 음료용 모델이 될 것으로 판단된다.

표 28. 선택적 재구성 농축액 모델 음료의 기호도 평가.

모델 희석액	쓴맛	Mouthfeel	종합적기호도
모델 4	6.40±1.30 <sup>a</sup>	6.73±1.16 <sup>a</sup>	6.67±1.50 <sup>a</sup>
모델 5	5.40±1.92 <sup>a</sup>	5.80±1.86 <sup>a</sup>	5.93±1.79 <sup>a</sup>

(다) 상업적 홍삼농축액과 선택적 재구성 농축액 모델의 기호성 평가

시판되고 있는 홍삼농축액 3종을 구입, 각각의 조사포닌 함량을 측정하여 다음 홍삼 음료 제조 기준에 맞게 조사포닌 농도를 조정, 정제수로 희석한 것을 본 연구에서 설정한 선택적 재구성 팽화홍삼농축액 모델 4와 기호도를 비교, 평가한 결과는 그림 19와 같다. 쓴맛과 쓴맛 후미 강도는 선택적 재구성 농축액분말 모델로 제조한 음료가 상업적 홍삼농축액을 이용하여 만든 음료에 비해 유의적으로 낮았고 인삼 향미 강도 또한 시료간 유의적 차이를 보여 선택적 재구성 모델 음료가 가장 약하였다. 희석액의 기호도 평가결과에서도 유의적 차이를 보이며 본 연구에서 설정한 선택적 재구성 농축액분말 모델 음료가 가장 좋은 것으로 나타났다. 따라서 홍삼을 팽화처리하고 추출 용매를 달리하여 제조한 추출단계별 농축액분말을 선택적으로 조합한 모델 4는 쓴맛 등 음료 기호성 개선에 효과가 있음을 확인할 수 있었다.



그림 19. 선택적 재구성 농축액 모델과 상업적 홍삼농축액으로 제조한 음료의 관능강도와 기호도 평가.

(3) 미주시장 부합형 선택적 인삼추출·농축액 모델 검증 및 규격 설정 (방법내용과 동일)

선택적 재구성 인삼농축액 모델 중 기호도가 가장 우수한 1, 2 및 6차 추출단계에서 각각 얻어진 농축액분말을 혼합하는 음료용 농축액 모델 검증 실험은 팽화홍삼을 원료로 추출단계별 농축액분말 제조과정 중 1, 2차 추출단계에서 사용한 것과 동일조건 (1차

- 70% 주정, 65°C, 12시간, 2차 - 60% 주정, 75°C, 12시간 추출)으로 추출액을 제조하고 잔사에 6차 추출단계에서 사용한 조건 (6차 - 정제수, 95°C, 12시간 추출)에 따라 추출액을 제조한다. 1, 2, 6차 추출액을 하나로 혼합 후 농축액으로 제조하고 조사포닌의 함량을 측정, 인삼음료 제조 기준에 맞게 농축액을 희석하여 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델 4 음료와 관능적 특성을 나머지 기간에 비교, 분석한다.

선택적 인삼 추출·농축액 모델의 규격 설정을 위한 최적 추출조건 설정은 RSM을 적용하여 1, 2, 6차 추출액 제조시의 추출온도, 추출시간에 따른 가용성고형분과 조사포닌 함량을 분석하여 팽화홍삼의 적정 추출조건을 확립하고 선택적 인삼농축액의 규격을 설정한다.

### 3. 표준화 공정 설정 및 적용 검증 결과

#### 가. 선택적 인삼 추출 모델

##### (1) 선택적 재구성 인삼농축액 분말 모델 제조 및 미국 현지 소비자 대상 기호도 개선 검증

인삼가공품의 해외시장 진입에 있어 애로점인 기호성을 저하시키는 요인(쓴맛, 흠냄새)을 해결할 수 있는 가공기술 개발을 통한 미주시장 부합형 인삼음료 제조를 위해 홍삼을 팽화처리하고 추출용매, 추출조건을 달리하는 6단계 공정으로 추출단계별 인삼농축액분말을 제조하였다. 추출단계별 농축액분말을 선택적으로 조합한 재구성 인삼농축액분말 모델을 시판 홍삼농축액과 기호도 비교, 평가를 통하여 쓴맛, 흠냄새 개선 효과가 뚜렷한 인삼농축액분말 가공기술을 1차년에 확립하였다.

미국 현지 소비자를 대상으로 선택적 재구성 인삼농축액분말의 기호성 개선 효과를 검증하고자 본 연구에서 개발한 선택적 재구성 인삼농축액분말과 시판 홍삼농축액을 홍삼음료 제조 기준에 맞게 정제수로 희석시켜 100인의 비아시아계 미국인을 대상으로 향, 맛, 후미, 종합적기호도에 대한 평가를 실시하였다(그림 20).

본 연구에서 개발한 선택적 재구성 인삼농축액분말의 경우 향, 맛, 후미, 종합적기호도 모든 항목에서 기존 홍삼농축액에 비해 기호도가 개선된 결과를 나타내어 국내 소비자를 대상으로 실시한 1차년 관능평가 결과와 일치하였다. 따라서 홍삼을 팽화처리하여 6단계 추출공정 중 70% 에탄올을 추출용매로 하여 65°C에서 12시간 추출한 1단계 추출액, 잔사에 60% 에탄올을 첨가하여 75°C에서 12시간 추출한 2단계 추출액 그리고 정제수를 가하여 95°C에서 12시간 추출한 마지막 6단계 추출액을 농축, 동결건조시킨 각각의 농축액분말을 46.9 : 42.0 : 11.1%의 비율로 혼합하는 선택적 재구성 인삼농축액분말 가공방법은 인삼제품의 미주시장 수출시 문제점으로 지적되는 쓴맛, 흠냄새 등 기호성 개선에 효과적인 가공용 원료 base가 될 것으로 판단된다.

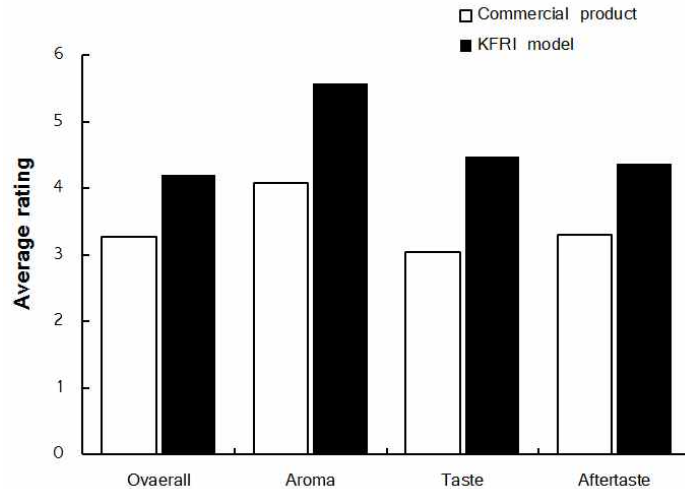


그림 20. 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델과 시판 홍삼농축액에 대한 미국 소비자 기호도 평가.

(2) 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델 기준에 따른 기호성 개선 인삼농축액 제조 및 관능평가

선택적 재구성 인삼농축액분말 모델은 앞서 미국 현지 소비자를 대상으로 한 기호도 평가에서 인삼 가공품의 수출시 문제점으로 지적되는 쓴맛, 흠냄새에 대한 개선 효과가 확인되었다. 그러나 선택적 재구성 인삼농축액분말의 경우 원료의 추출, 분말화 그리고 분말의 재조합에 이르는 전 공정이 다소 복잡하고 에너지 비용도 높을 뿐 아니라 3, 4, 5차 단계에서 얻어지는 추출액은 사용되지 않는 문제점이 있다.

본 연구에서는 기호성 개선 선택적 재구성 농축액분말의 제조공정을 보다 단순화시키고 산업화 적용시 연속작업을 용이하게 하기 위해 추출단계별 농축액분말 제조공정에서 사용된 용매, 추출조건을 적용하여 기호성 개선 인삼농축액을 제조하였다. 즉, 1차(70% 주정, 65°C, 12시간), 2차(60% 주정, 75°C, 12시간) 추출 후 바로 인삼 잔사에 정제수를 첨가하여 3차(정제수, 95°C, 12시간), 4차(정제수, 95°C, 12시간) 추출액을 각각 제조하였다. 정제수로 추출한 인삼 추출물이 최종 인삼농축액의 기호에 미치는 영향을 비교하고자 농축액-1은 1+2+3차 추출액을 동일 비율로 혼합하였고 농축액-2는 1+2+3+4차 추출액을 동일하게 혼합한 후 농축하였다.

표 29는 농축액-1, -2를 앞서 기호도 개선 효과가 검증된 선택적 재구성 농축액분말 모델과 함께 홍삼음료 제조 기준으로 회석시켜 관능강도와 기호도를 비교, 평가한 결과이다. 쓴맛과 쓴맛후미 그리고 인삼향미에 대한 관능 강도를 평가한 결과 쓴맛 강도는 3종 시료간 유의적 차이는 없었으나 농축액분말 모델이 가장 낮고 그 다음 농축액-2, 농축액-1의 순이었다. 쓴맛후미, 인삼향미 강도에 있어서도 선택적 재구성 농축액분말이 가장 낮았고 농축액과는 유의적 차이를 나타내었고 농축액 중 정제수로 인삼을 추출하는 공정을 2회 반복한 농축액-2가 농축액 1보다 약간 낮게 나타났다.

기호도 평가 결과 3종 시료간에 유의적 차이는 관찰할 수 없었으나 쓴맛, mouthfeel, 종합적기호도에서 선택적 재구성 농축액분말 모델이 가장 좋았고, 농축액 중에는 농축액-2가 재구성 농축액분말 모델에 근접하는 기호도를 보였다. 따라서 70, 60% 주정으로 1, 2단계 추출한 인삼잔사에 정제수를 가하여 2회 반복 추출한 3단계 추출액을 1, 2단계에서 얻어진 추출액과 하나로 혼합하여 농축액을 제조하는 농축액-2 제조공정이 쓴맛 강도가 약하여 기호도 향상에 효과가 있는 것으로 나타났다.

표 29. 선택적 인삼농축액과 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델의 관능평가 결과.

시료	강도			기호도		
	쓴맛	쓴맛 후미	인삼향미	쓴맛	Mouthfeel	종합적기호도
농축액분말	4.55±1.69 <sup>a</sup>	4.00±1.55 <sup>b</sup>	4.27±1.42 <sup>b</sup>	6.09±1.04 <sup>a</sup>	6.18±1.08 <sup>a</sup>	6.27±0.79 <sup>a</sup>
농축액-1	6.18±2.04 <sup>a</sup>	5.73±2.00 <sup>a</sup>	5.45±1.13 <sup>a</sup>	5.36±1.43 <sup>a</sup>	5.36±1.69 <sup>a</sup>	5.45±1.69 <sup>a</sup>
농축액-2	5.64±1.75 <sup>a</sup>	5.36±1.75 <sup>ab</sup>	5.27±0.90 <sup>ab</sup>	5.64±1.29 <sup>a</sup>	6.09±1.22 <sup>a</sup>	6.09±1.22 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

#### 나. 선택적 인삼 추출·농축액 모델

- (1) 제조공정 표준화를 위한 추출단계별 최적화 조건 설정 및 특성 분석 및 관능평가  
(가) 1단계 추출액 제조조건 설정

앞서 쓴맛, 흠냄새와 같은 기호성 개선 효과가 확인된 선택적 재구성 인삼농축액 분말과 농축액-2 제조시 사용된 1단계 추출액 제조조건(70% 주정, 추출온도 65°C, 추출시간 12시간)을 기준으로 인삼 1차 추출액의 최적 추출조건을 설정하고자 주정농도(70, 80%), 추출온도(65, 75, 85°C), 추출시간(6, 8, 10, 12시간)에 따른 추출액을 제조하여 품질 특성을 분석하였다.

##### ① 가용성고형분 및 조사포닌 함량

조건별 추출액을 여과 후 농축하여 용매를 완전히 제거한 다음 일정하게 조정하여 품질특성을 조사한 결과는 표 30과 같다. 70% 주정을 이용한 것이 80% 주정 처리구에 비해 가용성고형분과 조사포닌 수율이 높았고 추출온도가 높고 추출시간이 길수록 증대하였다. 추출온도, 시간별 특성을 살펴보면 65°C 처리구가 가용성고형분 함량은 75, 85°C 처리구보다 약간 낮으나 조사포닌 용출율은 비슷하였다. 추출액 중 조사포닌 함유 비율(B/A)의 경우 추출온도가 낮고, 추출시간이 짧을수록 높은 것으로 나타났다. 따라서 팽화홍삼 추출·농축액 제조에 있어서 1단계 추출은 가용성 고형분과 조사포닌 수율을 고려할 때 70% 주정을 추출용매로 이용하는 것이 효율적인 것으로 판단되었다.



표 30. 추출조건에 따른 1단계 팽화홍삼 추출액의 가용성 고형분 및 조사포닌 함량(%).

추출조건	70% 주정			80% 주정			
	가용성 고형분(A)	조사포닌 (B)	B/A(%)	가용성 고형분(A)	조사포닌 (B)	B/A(%)	
65°C	6시간	17.26	2.43	14.1	9.88	1.61	16.3
	8시간	18.08	2.62	14.5	10.98	1.90	17.3
	10시간	19.15	2.66	13.9	14.40	1.93	13.4
	12시간	23.07	2.89	12.5	16.55	2.01	12.1
75°C	6시간	18.29	2.63	14.4	13.16	2.11	16.0
	8시간	20.34	2.65	13.0	16.25	2.11	13.0
	10시간	21.11	2.69	12.7	17.68	2.46	13.9
	12시간	23.95	3.08	12.9	20.31	2.77	13.6
85°C	6시간	19.49	2.32	11.9	14.08	1.97	14.0
	8시간	20.22	2.54	12.6	15.82	2.30	14.5
	10시간	21.97	2.91	13.2	17.45	2.33	13.4
	12시간	24.34	3.05	12.5	20.22	2.60	12.9

② 관능평가

먼저 70% 주정을 이용하여 65, 75, 85°C에서 각각 10시간 추출, 농축한 시료를 ‘식품공전’ 상 홍삼음료 기준에 맞도록 정제수에 용해하여 쓴맛, 흠냄새에 대한 강도와 종합적기호도를 평가하였다(표 31). 흠냄새 강도는 세 시료 모두 비슷한 반면 쓴맛 강도는 85°C 10시간 추출하여 만든 시료가 5.73±1.68로 가장 높고 65°C 시료가 4.64±1.2로 가장 낮았으나 시료간 유의적 차이는 없었다. 종합적기호도에 있어서도 세 시료간의 유의적 차이는 없었으나 65°C 10시간 추출 시료가 5.73±1.10로 가장 높은 점수를 획득하였다.

본 결과에는 나타내지 않았으나 이들의 관능적 특성을 살펴보면 65°C 10시간 시료는 인삼 특유의 맛이 지배적인 반면 추출온도가 75, 85°C로 높아질수록 원료의 팽화처리에 의해 발현되는 향미가 강해지면서 쓴맛 강도가 상승하였다. 그러나 인삼 맛과 팽화 향미가 적절하게 조합될 경우 시료의 쓴맛 강도는 도리어 약하게 느껴지면서 전체적인 맛은 조화로워지는 것으로 나타났다.

표 31. 추출온도를 달리하여 70% 주정으로 추출한 1단계 팽화홍삼 추출액의 관능평가.

추출조건	강도		종합적 기호도
	쓴맛	흠냄새	
65°C 10시간	4.64±1.29	4.18±1.78	5.73±1.10
75°C 10시간	4.73±1.27	4.45±1.75	5.27±1.49
85°C 10시간	5.73±1.68	4.27±1.56	4.73±1.49

앞서 추출온도(65, 75, 85°C)를 달리하여 10시간 추출한 시료의 관능평가에서 쓴맛 강도가 가장 강하고 기호도 평점이 낮은 85°C 시료를 제외한 65, 75°C에서 제조한 시간별 시료를 홍삼음료 기준에 맞도록 정제수에 용해하여 관능평가를 실시하였다(표 32).

쓴맛 강도의 경우 동일온도에서도 추출시간이 길어질수록 높아졌고 65°C에서 처리한 시료가 75°C에 비해 강도가 약간 약하였으나 시료간 유의적 차이는 관찰할 수 없었다. 쓴맛후미 강도는 시료간 유의적인 차이를 보여 추출온도가 높을수록, 추출시간이 길어질수록 높아졌으나 65°C에서는 8시간 추출한 시료가 가장 낮고 75°C 시료에서는 6시간 처리구가 가장 낮았다. 흠냄새 강도는 시료간에 유의적인 차이를 보이지 않았고 65°C 8시간 추출 시료가 가장 낮았다. 기호도 평가 결과 쓴맛, mouthfeel, 종합적기호도 항목에 있어서 시료간 유의적 차이는 없었으나 65°C에서 추출한 시료가 75°C 시료보다 기호도 점수가 전반적으로 높았고, 65°C 8, 10시간 시료의 기호도가 높은 것으로 나타났다.

또한 65°C 추출액의 관능적 특성을 살펴보면 6시간 추출한 시료는 인삼 고유의 단순 쓴맛이 지배적이고 팽화 향미는 약한 반면 8시간 시료는 팽화 향미가 좀 더 강해져 쓴맛 강도가 약해지면서 전반적인 맛이 부드러워지는 것으로 나타났다. 그러나 10시간 시료는 팽화 향미가 약간 더 강해지면서 후미에 팽화로 인해 느껴지는 쓴맛이 발현되었고 12시간 시료는 10시간 시간보다 팽화 향미가 더 강해지고 신맛이 느껴지면서 후미에 떼은맛이 감지되었다. 65°C 추출액은 흠냄새는 없고 적당한 팽화 향미로 인해 추출액의 맛이 전반적으로 조화를 이루는 것으로 나타났다.

75°C 시료의 경우 65°C 추출액보다 잡다한 향과 맛이 감지되었으며, 전체적인 맛이 조화롭지 못하고 후미에 떼은맛이 감지되면서 마시고 난 후 목구멍이 칼칼해지는 느낌이 들었다. 6시간 추출액은 약한 쓴맛과 함께 풀 맛이 감지되었고, 8시간 추출액의 경우 6시간 추출액과 비슷한 향미에 팽화취가 더 강해졌다. 10시간 추출액의 경우 풀 맛과 신맛이 강했고 12시간 추출액의 경우 신맛과 다소 강한 팽화취가 감지되었다. 이들 결과를 종합해 보면 추출액의 쓴맛 강도와 기호도 측면에서 65°C 추출 조건이 75°C 추출 조건에 비해 기호성이 좋은 인삼 추출·농축액 제조를 위해 바람직한 것을 확인할 수 있었다.

따라서 조사포닌과 가용성고형분의 수율 및 추출액의 기호도 특성을 고려하여 70% 주정, 65°C, 8시간 추출조건을 1단계 추출조건으로 설정하였다.

표 32. 추출온도와 시간을 달리하여 70% 주정으로 추출한 1단계 팽화홍삼 추출액의 관능평가.

추출조건	강도			기호도			
	쓴맛	쓴맛 후미	흠냄새	쓴맛	Mouthfeel	종합적	
65°C	6시간	4.82±1.60 <sup>a</sup>	5.18±1.89 <sup>ab</sup>	4.64±1.69 <sup>a</sup>	5.00±1.26 <sup>a</sup>	5.09±1.30 <sup>a</sup>	5.09±1.22 <sup>a</sup>
	8시간	4.64±1.43 <sup>a</sup>	4.09±1.04 <sup>b</sup>	3.82±1.54 <sup>a</sup>	5.36±1.12 <sup>a</sup>	6.00±1.10 <sup>a</sup>	5.73±0.79 <sup>a</sup>
	10시간	5.18±1.40 <sup>a</sup>	4.73±1.49 <sup>ab</sup>	4.09±1.70 <sup>a</sup>	5.45±1.51 <sup>a</sup>	5.45±1.63 <sup>a</sup>	5.64±1.57 <sup>a</sup>
	12시간	5.64±2.06 <sup>a</sup>	5.91±1.58 <sup>a</sup>	4.55±1.97 <sup>a</sup>	4.55±1.63 <sup>a</sup>	4.64±1.86 <sup>a</sup>	4.91±1.81 <sup>a</sup>
75°C	6시간	4.73±1.68 <sup>a</sup>	4.82±1.54 <sup>b</sup>	4.82±1.08 <sup>a</sup>	4.18±1.40 <sup>a</sup>	3.91±1.70 <sup>a</sup>	4.00±1.41 <sup>a</sup>
	8시간	5.45±0.82 <sup>a</sup>	6.09±0.94 <sup>a</sup>	5.18±1.47 <sup>a</sup>	4.18±1.54 <sup>a</sup>	4.27±1.74 <sup>a</sup>	3.91±1.81 <sup>a</sup>
	10시간	5.64±1.80 <sup>a</sup>	5.73±1.62 <sup>ab</sup>	4.27±1.68 <sup>a</sup>	5.18±1.72 <sup>a</sup>	4.73±1.74 <sup>a</sup>	4.55±2.07 <sup>a</sup>
	12시간	5.91±1.14 <sup>a</sup>	6.82±1.33 <sup>a</sup>	5.09±1.38 <sup>a</sup>	3.73±1.62 <sup>a</sup>	3.73±1.49 <sup>a</sup>	4.00±1.67 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

(나) 2단계 추출액 제조조건 설정

1단계 추출액 제조 최적 조건 실험에서 설정된 70% 주정을 추출용매로 팽화홍삼을 65°C에서 8시간 1차 추출을 완료한 후 그 다음 공정인 2단계 추출액 제조, 최적 조건을 설정하기 위하여 추출 용매(70, 80% 주정), 시간(8, 10시간), 온도(65, 75°C)를 달리하여 실험을 진행하였다(그림 21).

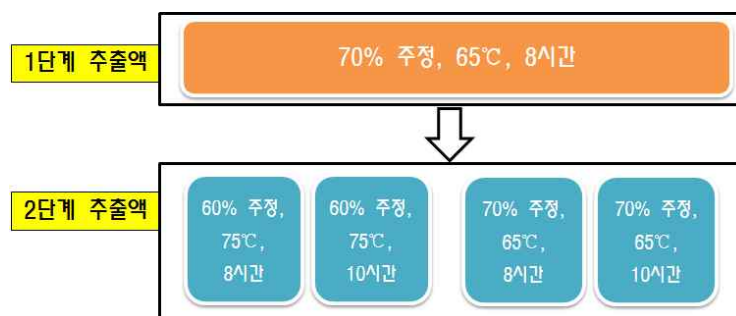


그림 21. 2단계 추출 조건 설정을 위한 실험 계획

① 가용성 고형분 및 조사포닌 함량

2단계 추출액의 가용성 고형분의 양과 조사포닌 함량을 측정하였다(표 33). 그 결과 추출온도가 75°C일 경우 65°C에 비해 같은 시간에서 수율과 조사포닌이 추출되어지는 양이 약간 높은 것으로 나타났고 용매 농도가 60%로 낮더라도 온도가 75°C로 높아짐에 따라 증가하는 것으로 확인되었다. 그러나 추출시간이 증가함에 따라 가용성 고형분의 양과 조사포닌의 양은 오히려 감소하였다. 추출액 중 조사포닌 함유 비율(B/A)의 경우 주정농도 60%, 추출온도 75°C 8시간 추출 시료가 가장

높은 것으로 확인되었다.

표 33. 추출조건에 따른 2단계 팽화홍삼 추출액의 가용성 고형분 및 조사포닌 함량(%).

추출 조건	8시간			10시간		
	가용성 고형분(A)	조사포닌(B)	B/A(%)	가용성 고형분(A)	조사포닌(B)	B/A(%)
60% 주정 75°C	8.07	0.64	7.9	7.16	0.59	8.2
70% 주정 65°C	7.86	0.57	7.3	7.29	0.55	7.5

## ② 관능평가

각 조건별 2단계 추출액을 홍삼음료 제조 기준으로 정제수에 희석하여 관능평가를 실시하였다(표 34). 이때 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델 제조공정 중 2단계 추출액 제조시 적용한 조건(60% 주정, 75°C 12시간)으로 추출액을 제조하여 대조구로 사용하였다.

쓴맛, 쓴맛후미, 흠냄새 강도 점수에서 60% 주정, 75°C, 8시간 추출 시료가 각각 6.25±2.18, 6.33±1.30, 5.83±1.85으로 가장 강도가 강한 것으로 나타났다. 그러나 기호도 측면에서는 70% 주정, 65°C, 8시간 추출액이 쓴맛 기호도 6.00±0.95, mouthfeel 기호도 6.17±1.03, 종합적 기호도 5.92±0.90의 점수로 시료간 유의적 차이를 보이며 가장 기호도가 좋았고 그 다음으로는 60% 주정, 75°C, 10시간 시료의 순으로 높은 기호도를 나타내었다.

2단계 추출액의 관능적 특징을 살펴보면 추출용매의 주정 농도가 높을수록 팽화향미가 더 강하게 발현되었고 1단계 추출물과 달리 후미에 단맛이 감지되는 것을 확인할 수 있었다. 8시간 추출액으로 제조한 음료의 경우 음용 즉시 팽화향미가 느껴지고 그 뒤에 인삼의 씹쌀한 맛이 나오기 시작하였고 10시간 추출액 음료의 경우 8시간 추출물에 비해 팽화향미 강도가 약해지면서 인삼 쓴맛과 씹쌀한 맛이 상대적으로 약간 도 강하게 감지되는 것을 확인하였다.

이상의 실험결과를 종합하면 가용성고형분과 조사포닌 수율은 약간 낮으나 관능강도와 기호도가 가장 좋은 70% 주정, 65°C, 8시간 추출조건을 2단계 인삼 추출액 제조조건으로 확정하였다.

표 34. 추출조건을 달리한 2단계 팽화홍삼 추출액의 관능평가.

추출 조건	강도			기호도			
	쓴맛	쓴맛 후미	흠냄새	쓴맛	Mouthfeel	종합적	
60% 주정 75°C	8시간	6.25±2.18 <sup>a</sup>	6.33±1.30 <sup>a</sup>	5.83±1.85 <sup>a</sup>	4.33±1.30 <sup>b</sup>	4.50±1.38 <sup>b</sup>	4.33±1.37 <sup>b</sup>
	10시간	4.92±0.79 <sup>a</sup>	4.50±1.00 <sup>b</sup>	4.50±0.80 <sup>b</sup>	5.00±1.65 <sup>ab</sup>	5.17±1.34 <sup>ab</sup>	5.17±1.27 <sup>ab</sup>
	12시간 (대조구)	5.08±1.44 <sup>a</sup>	5.25±1.60 <sup>ab</sup>	5.17±1.19 <sup>ab</sup>	4.50±1.17 <sup>b</sup>	4.25±1.54 <sup>b</sup>	4.08±1.51 <sup>b</sup>
70% 주정 65°C	8시간	4.92±1.44 <sup>a</sup>	5.00±1.65 <sup>b</sup>	5.42±1.16 <sup>ab</sup>	6.00±0.95 <sup>a</sup>	6.17±1.03 <sup>a</sup>	5.92±0.90 <sup>a</sup>
	10시간	5.00±1.28 <sup>a</sup>	4.83±1.95 <sup>b</sup>	4.25±1.48 <sup>b</sup>	5.00±1.13 <sup>ab</sup>	4.83±1.34 <sup>b</sup>	5.17±1.47 <sup>ab</sup>

<sup>a, b</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

(다) 3단계 추출액 제조조건 설정

최적 조건으로 설정된 1단계와 2단계 추출조건으로 처리한 인삼 잔사를 시료로 3 단계 추출액 제조를 위한 최적 조건을 선정하는 실험을 진행하였다(그림 22). 선택적 재구성 인삼농축액분말 모델의 6차 추출 조건(95°C, 정제수, 12시간 추출)을 기준으로 하여 가열온도(85 95°C), 추출시간(8, 10, 12시간)을 달리하여 실험을 실시하였다. 이때 3단계 추출액은 동일 추출조건별로 2회 반복 처리한 추출액을 각각 하나로 혼합하여 사용하였다.

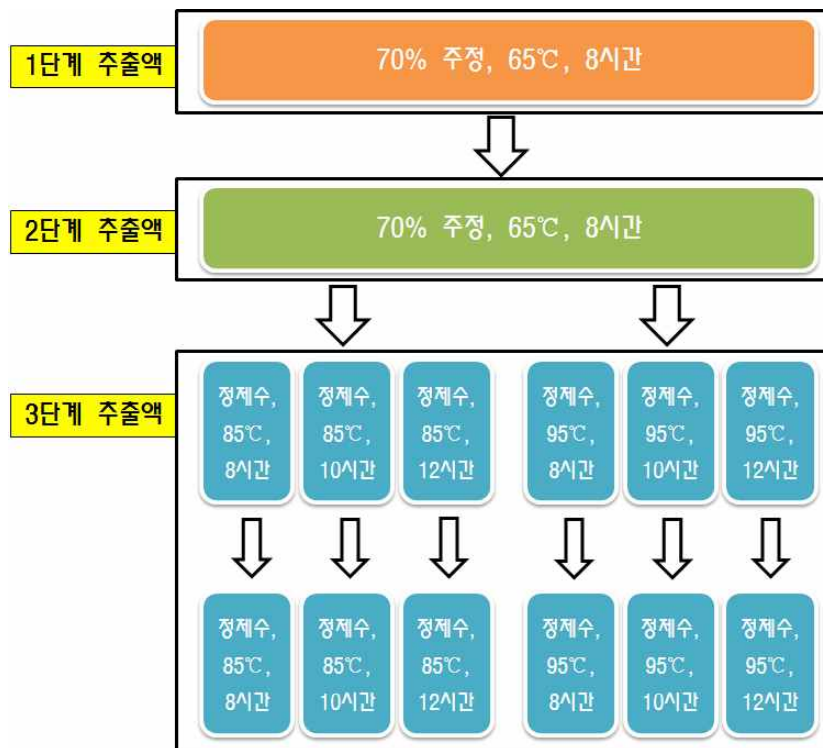


그림 22. 3단계 추출 조건 설정을 위한 실험 계획.

① 가용성 고형분 및 조사포닌 함량

추출액의 가용성 고형분과 조사포닌 함량을 측정한 결과 추출시간이 동일할 경우 95°C에서 추출한 것이 85°C보다 가용성 고형분과 조사포닌 함량이 높았으며, 동일 추출온도 조건에서는 추출시간이 길어질수록 조사포닌 함량이 증가하는 것을 확인하였다(표 35). 추출시간이 8시간에서 10시간으로 2시간 증가할 경우 가용성 고형분과 조사포닌 추출량이 급격히 증가하였으며 10시간과 12시간을 비교한 경우에는 증가폭이 크지 않았다. 앞의 1, 2단계 추출액과 비교해보면 가용성 고형분의 경우 3단계 추출액은 2단계 추출액보다는 함량이 높았으나 조사포닌의 경우 1, 2단계 추출물에 비해 용출되어 나오는 양이 현저히 줄어드는 것을 알 수 있었다.

표 35. 추출조건에 따른 3단계 팽화홍삼 추출액의 가용성 고형분과 조사포닌 함량(%).

추출 조건	85°C			95°C		
	가용성 고형분(A)	조사포닌(B)	B/A(%)	가용성 고형분(A)	조사포닌(B)	B/A(%)
정제수 8시간	11.5	0.10	0.8	13.0	0.11	0.8
10시간	16.4	0.26	1.6	17.5	0.30	1.7
12시간	16.5	0.28	1.7	18.7	0.32	1.7

② 관능평가

3단계 추출액을 홍삼음료 제조 기준으로 조사포닌 농도를 정제수로 희석하여 관능적 특성을 비교하였다(표 36). 85°C에서 8시간 추출한 추출액의 경우 다른 시료에 비해 조사포닌 함량이 낮아 첨가되는 추출액 양이 많은 관계로 음료의 색상이 진한 갈색을 띠었고 맛은 단순하며 후미에 약한 떼은맛이 감지되었다. 10시간 추출액은 8시간 시료보다 떼은맛이 빨리 느껴졌고 신맛이 약간 발현되었으며 향은 오히려 약해졌다. 12시간 추출한 추출액의 경우 10시간 추출액보다 신맛 강도가 약간 더 강하면서 떼은맛 잔존시간은 짧아졌다. 95°C, 8시간 추출한 추출액의 경우 85°C 추출조건의 추출물보다 음용시 인삼맛이 강하게 감지되었고 추출시간이 길어질수록 떼은맛의 강도가 강해짐에 따라 혀에서 느껴지는 시기가 빨라지는 것을 확인하였다.

이들 추출액의 인삼 향 강도는 85°C에서 8시간 시료가 가장 강하고 그 다음으로 95°C 10, 12시간 시료 순으로 강하였으며 85°C 10, 12시간 시료가 약하였다. 인삼 맛 강도는 95°C 추출시료가 85°C 시료에 비해 강하였다. 전반적으로 3단계 추출액의 특징은 추출 시간이 증가함에 따라 신맛과 떼은맛의 조화가 좋아짐이 확인되었고 그로 인해 쓴맛의 강도가 약해지는 효과가 나타났다.

표 36. 추출조건을 달리한 3단계 팽화홍삼 추출액의 관능평가.

추출 조건	강도			기호도			
	쓴맛	쓴맛 후미	흠냄새	쓴맛	Mouthfeel	종합적	
정제수 85°C	8시간	5.85±2.28 <sup>a</sup>	6.23±1.22 <sup>a</sup>	6.13±1.65 <sup>a</sup>	5.33±1.13 <sup>a</sup>	5.50±1.38 <sup>a</sup>	5.03±1.54 <sup>b</sup>
	10시간	5.42±0.89 <sup>a</sup>	4.40±1.10 <sup>b</sup>	5.20±0.90 <sup>a</sup>	6.00±1.62 <sup>a</sup>	6.17±1.34 <sup>a</sup>	5.57±1.26 <sup>ab</sup>
	12시간	5.28±1.34 <sup>a</sup>	4.85±1.50 <sup>ab</sup>	5.07±1.09 <sup>a</sup>	5.50±1.29 <sup>a</sup>	5.25±1.54 <sup>a</sup>	5.78±1.58 <sup>ab</sup>
정제수 95°C	8시간	6.15±2.08 <sup>a</sup>	6.23±1.20 <sup>a</sup>	5.13±1.63 <sup>a</sup>	5.33±1.21 <sup>a</sup>	5.50±1.38 <sup>a</sup>	5.33±1.49 <sup>ab</sup>
	10시간	5.62±0.89 <sup>a</sup>	4.70±1.10 <sup>b</sup>	5.60±0.95 <sup>a</sup>	6.00±1.37 <sup>a</sup>	6.17±1.34 <sup>a</sup>	6.17±1.11 <sup>a</sup>
	12시간	5.42±1.24 <sup>a</sup>	5.45±1.40 <sup>ab</sup>	5.37±1.02 <sup>a</sup>	5.50±1.17 <sup>a</sup>	5.25±1.54 <sup>a</sup>	5.08±1.42 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>, <sup>b</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

(2) 인삼농축액의 표준화를 위한 선택적 인삼농축액 모델 특성 분석 및 관능평가

(가) 가용성 고형분 및 조사포닌 함량

앞서 미국 소비자를 대상으로 하는 기호도 평가에서 인삼 가공품의 수출시 문제점으로 지적되는 쓴맛, 흠냄새 개선 효과가 확인된 선택적 재구성 인삼농축액분말을 공정이 단순하고 연속작업이 가능한 인삼농축액 형태로 제조하였다. 이때 최종 인삼농축액의 기호도는 1, 2단계에서 얻어진 추출액에 3단계에서 추출액의 조합 방법에 따라 관능적 특성에 차이를 보였다. 즉, 1, 2단계에서 얻어진 추출액에 정제수로 2회 반복 추출한 3단계(3차) 추출액을 혼합한 농축액-2가 쓴맛 강도, 기호도 측면에서 좋은 것으로 나타났다.

따라서 본 실험에서는 3단계 최적 추출조건과 인삼농축액의 품질 표준화를 위해 앞서 선정된 1, 2단계 최적조건에 따라 인삼추출액을 제조하고 그 잔사에 온도, 시간 (85°C-8, 10, 12시간/95°C-8, 10, 12시간)을 달리한 3단계 추출액을 제조하여 중량비로 동일 양씩 혼합 후 농축하여 선택적 인삼농축액을 제조하였다.

선택적 인삼농축액의 가용성고형분과 조사포닌 함량을 측정된 결과 3단계 추출액 제조 조건에서 추출시간이 길고, 추출온도가 높은 추출액을 혼합할수록 증가하였다(표 37). 즉, 3단계 추출액 제조시 95°C에서 8시간 추출조건과 10시간 추출 시 가용성 고형분의 경우 40.38%와 45.68%로 차이가 있었고 조사포닌 함량의 경우에도 3.48 mg/g과 3.82 mg/g으로 차이를 보였다. 그러나 10시간과 12시간 추출의 경우 44.33%와 45.68% 그리고 조사포닌의 경우 3.76 mg/g과 3.82 mg/g으로 그 차이가 현저히 줄어들어 이들 샘플간의 차이가 크지 않은 것으로 나타났고 이러한 현상은 85°C 추출조건인 경우에도 비슷하게 확인되었다.

표 37. 추출조건이 다른 3차 추출액을 혼합하여 제조한 선택적 인삼농축액의 가용성 고형분과 조사포닌 함량(%).

인삼농축액*	가용성고형분(A)	조사포닌(B)	B/A(%)
선택적 인삼농축액-①	39.67	3.48	8.8
선택적 인삼농축액-②	42.84	3.71	8.7
선택적 인삼농축액-③	44.95	3.80	8.5
선택적 인삼농축액-④	40.38	3.48	8.6
선택적 인삼농축액-⑤	44.33	3.76	8.5
선택적 인삼농축액-⑥	45.68	3.82	8.4

\* 선택적 인삼농축액-① : 1차, 2차 추출액에 85°C에서 8시간 정제수로 2회 반복 추출한 3차 추출액을 혼합한 시료

선택적 인삼농축액-② : 1차, 2차 추출액에 85°C에서 10시간 정제수로 2회 반복 추출한 3차 추출액을 혼합한 시료

선택적 인삼농축액-③ : 1차, 2차 추출액에 85°C에서 12시간 정제수로 2회 반복 추출한 3차 추출액을 혼합한 시료

선택적 인삼농축액-④ : 1차, 2차 추출액에 95°C에서 8시간 정제수로 2회 반복 추출한 3차 추출액을 혼합한 시료

선택적 인삼농축액-⑤ : 1차, 2차 추출액에 95°C에서 10시간 정제수로 2회 반복 추출한 3차 추출액을 혼합한 시료

선택적 인삼농축액-⑥ : 1차, 2차 추출액에 95°C에서 12시간 정제수로 2회 반복 추출한 3차 추출액을 혼합한 시료

#### (나) 관능평가

1, 2단계 최적조건으로 추출한 인삼추출액에 온도, 시간(85°C-8, 10, 12시간/95°C-8, 10, 12시간)을 달리하여 추출한 각각의 3단계 추출액을 혼합시킨 선택적 인삼농축액을 홍삼음료 제조 기준에 맞게 정제수에 희석하여 관능평가를 실시하였다(표 38).

쓴맛강도의 경우 85°C에서 추출된 3단계 추출물을 혼합한 선택적 인삼농축액(①~③)이 95°C 조건에서 추출된 시료를 혼합한 선택적 인삼농축액(④~⑥)에 비해 그 강도가 약한 것으로 관찰되었고, 쓴맛후미와 인삼 향미 강도 또한 95°C에서 추출한 3단계 추출물을 혼합한 것이 높은 강도를 나타내었다. 쓴맛과 종합적기호도의 경우 시료간 유의적 차이를 보이지 않았으나, 3단계 추출물 제조시 적용된 추출온도가 높고 추출시간이 길수록 기호도 점수가 약간씩 낮아졌다.

한편 선택적 인삼농축액의 관능적 특성을 살펴보면 3단계 추출액 제조시 적용된 추출조건에 따라 쓴맛, 쓴맛후미, 인삼향미의 강도에서 차이를 확인할 수 있었고 추출온도



가 높고 추출시간이 긴 추출조건의 추출액을 혼합할수록 희석액의 맛 강도는 강해지면서 무거운 느낌과 함께 후미 뚝은맛이 더 길게 지속되는 것으로 나타났다.

85°C 8시간 추출액을 혼합한 선택적 인삼농축액-①의 경우 짭컌름한 맛에 후미에 쓴맛이 약간 발견되나 전반적으로 부드러우며 약한 신맛, 인삼 맛, 짭컌한 맛 순으로 느껴지며 팽화 향미는 약하였다. 10시간 추출액을 혼합한 선택적 인삼농축액-②의 경우 ①보다 신맛이 약간 더 나고 맛 강도가 진하며 후미가 약간 짧고 빨리 느껴지는데, 이는 추출시간 증가함에 따라 팽화 성분이 용출되어 탄맛과 쓴맛이 증가한 것으로 예측된다. 12시간 추출액을 혼합한 선택적 인삼농축액-③의 경우 ②와 비슷하나 농도가 더 진하게 느껴지고 후미가 약간 텁텁하였다.

95°C 8시간 추출액을 혼합시킨 선택적 인삼농축액-④는 ①과 유사하나 ①보다는 맛 강도가 약간 진하고 신맛, 뚝은맛이 더 느껴지나 ②, ③보다는 강도가 약하며 뚝은맛의 약간 감지되었으나 후미는 깔끔하였다. 이에 비하여 10, 12시간 추출액을 혼합시킨 선택적 인삼농축액-⑤, ⑥은 다른 시료에 비해 마시고 나면 뚝은맛이 가장 빨리 발견되며 4, 5보다 지속시간이 길고 후미가 텁텁해졌다.

이상의 결과를 종합하면 쓴맛, 흠냄새와 같은 기호성 저하 문제를 해결할 수 있는 선택적 인삼농축액은 1, 2차 추출을 마친 인삼 잔사를 정제수와 함께 85°C에서 8시간씩 2회 반복 추출한 추출액을 혼합하는 선택적 인삼농축액-①이 관능강도와 기호도 측면에서 가장 우수하였으나 이들 추출·농축액의 경우 가용성 고형분 수율과 조사포닌 함량이 낮은 문제점이 있어 본 실험에서는 선택적 인삼농축액-①과 가장 유사한 기호도 점수를 보이면서 가용성고형분 수율과 조사포닌 함량도 높은 85°C 10시간 추출액을 혼합하는 선택적 인삼농축액-②(1차 70% 주정, 65°C, 8시간 추출 + 2차 70% 주정, 65°C, 8시간 추출 + 3차 정제수, 85°C, 10시간 추출, 2회 반복)를 미주 시장용 음료 제조를 위한 선택적 인삼농축액 베이스로 선정하였다.

표 38. 추출조건이 다른 3차 추출액을 혼합하여 제조한 선택적 인삼농축액의 관능평가 결과.

인삼농축액	강도			기호도		
	쓴맛	쓴맛 후미	인삼향미	쓴맛	Mouthfeel	종합적기호도
선택적 농축액-①	3.33±0.71 <sup>a</sup>	3.67±0.87 <sup>a</sup>	3.78±1.39 <sup>a</sup>	6.56±1.01 <sup>a</sup>	6.56±1.01 <sup>a</sup>	6.56±1.01 <sup>a</sup>
선택적 농축액-②	3.78±1.09 <sup>ab</sup>	4.11±0.93 <sup>ab</sup>	4.22±1.09 <sup>ab</sup>	6.44±1.24 <sup>a</sup>	6.00±1.12 <sup>ab</sup>	6.33±1.50 <sup>a</sup>
선택적 농축액-③	4.56±1.33 <sup>ab</sup>	4.78±1.20 <sup>ab</sup>	5.11±1.05 <sup>ab</sup>	6.11±0.93 <sup>a</sup>	5.67±1.73 <sup>ab</sup>	5.78±1.48 <sup>a</sup>
선택적 농축액-④	3.89±1.54 <sup>ab</sup>	4.33±1.66 <sup>ab</sup>	4.56±0.73 <sup>ab</sup>	5.44±1.01 <sup>a</sup>	5.11±0.93 <sup>b</sup>	5.44±1.33 <sup>a</sup>
선택적 농축액-⑤	4.56±1.67 <sup>ab</sup>	4.56±1.51 <sup>ab</sup>	5.11±1.05 <sup>b</sup>	5.44±1.33 <sup>a</sup>	5.33±1.32 <sup>ab</sup>	5.44±1.24 <sup>a</sup>
선택적 농축액-⑥	5.11±1.17 <sup>b</sup>	5.11±1.62 <sup>b</sup>	5.22±1.56 <sup>b</sup>	5.56±1.52 <sup>a</sup>	5.11±1.62 <sup>b</sup>	5.33±1.87 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

선정된 선택적 인삼농축액의 기호도 개선 효과를 검증하기 위하여 시판 홍삼농축액을 비교대상으로 쓴맛, 신맛, 짠맛, 인삼향미에 관한 기호도 강도 검사를 그림 23과 같이 실시하였다. 선택적 인삼농축액과 시판 농축액은 홍삼음료 기준에 맞도록 정제수에 희석하여 검사원에게 제공하였다. 인삼의 부정적인 기호 요소로 꼽히는 쓴맛과 짠맛 강도의 경우 선택적으로 추출한 인삼농축액의 제조합과정을 거침으로써 감소하는 결과를 나타내었다. 마찬가지로 인삼향미의 경우에도 유의적으로 감소하였는데, 선택적 인삼농축액의 인삼향미는 은은하고 강하지 않은 강도를 확인할 수 있었다. 신맛 강도 점수는 시판농축액과 선택적 인삼농축액이 각각  $3.11 \pm 1.69$ 과  $3.89 \pm 2.15$ 로써 다른 항목과는 달리 선택적 인삼농축액이 높은 점수를 나타내었다. 이는 선택적 인삼농축액의 경우 인삼이 지니는 쓴맛과 짠맛이 감소함에 따라 신맛이 부각되어지는 것으로 판단된다.

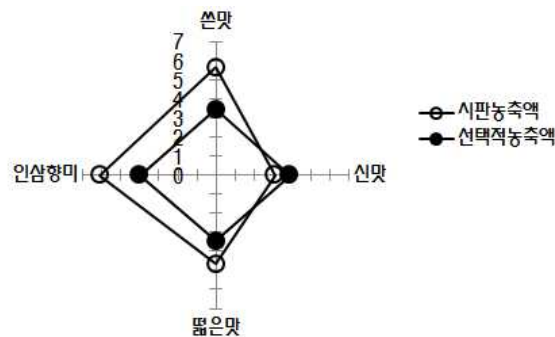


그림 23. 선택적 인삼농축액과 시판 홍삼농축액의 쓴맛, 떫은맛, 신맛 및 인삼향미 강도의 관능적 비교.

### (3) 표준화 공정에 따른 선택적 인삼농축액 시제품 기호성 검증

앞서 표준화 공정으로 선정된 추출조건에 따라 선택적 인삼농축액 시제품을 대량으로 제조하여 농축액의 쓴맛, 흠냄새 등과 관련된 기호성 변화를 비교하였다(표 39). 가용성 고형분에 대한 조사포닌 비율(B/A)의 경우 선택적 인삼농축액(Lab scale)과 선택적 인삼농축액(Scale up)이 각각 8.7과 9.0으로 차이가 없었다. 농축액 희석액의 관능 평가 결과에서도 시료사이에 유의적 차이가 거의 확인되지 않아 기호성 개선 효과가 있는 인삼농축액 제조를 위해 공정을 단순화시킨 선택적 인삼농축액 시제품의 경우 쓴맛, 흠냄새 관련 기호성 개선 효과가 있음이 검증되었다. 추가적으로 선택적 인삼농축액에 함유되어있는 ginsenoside 함량 분석은 지속적으로 모니터링을 통하여 조사포닌의 기준과 더불어 관리하고 있다.

표 39. 선택적 인삼농축액 시제품의 품질특성 및 관능평가.

분석 항목		선택적 인삼농축액 (Lab scale)	선택적 인삼농축액 (Scale up)
품질특성 (%)	가용성 고형분(A)	42.84	42.95
	조사포닌(B)	3.71	3.85
	B/A(%)	8.7	9.0
관능평가	맛	5.82±1.23 <sup>a</sup>	5.93±0.97 <sup>a</sup>
	향	5.90±0.99 <sup>a</sup>	5.92±1.11 <sup>a</sup>
	후미	5.87±1.32 <sup>a</sup>	5.96±1.28 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	5.64±1.36 <sup>a</sup>	5.64±1.41 <sup>a</sup>

#### 4. 미주지역 내 고려인삼 제품의 인식도, 품질개선 사항 조사 및 인삼함유 음료 시장 분석 결과

가. 미주지역 내 고려인삼 제품의 인식도, 품질개선 사항 조사

##### (1) 고려인삼 제품의 인식도

고려인삼 가공 제품에 대한 미국 현지의 인식도 및 개선사항 등을 평가하기 위하여 미국 University of Illinois Urbana-Champaign의 Food Science and Human Nutrition 학과 이수연 교수와 공동으로 비동양계 패널 100명을 대상으로 인삼이 건강에 어떠한 도움을 줄 수 있는가에 대한 인식도 조사 결과 면역력 증진(50%), 항피로(31%), 집중력 향상(27%)을 기대하는 것으로 조사되었다. 반면, 28%의 패널은 인삼의 효능에 대해 전혀 모른다고 답변하였다(그림 24).

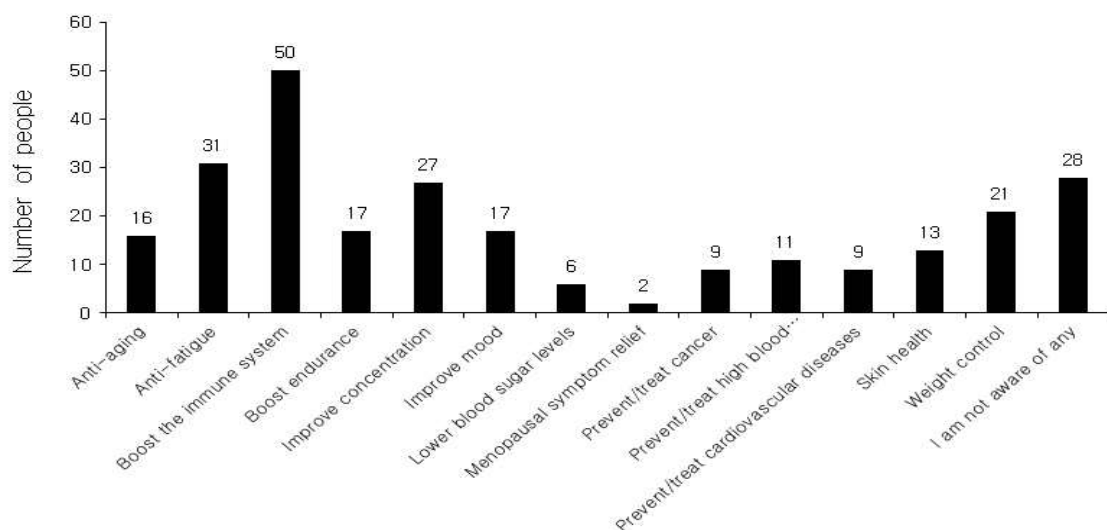


그림 24. 인삼이 건강에 도움을 줄 것으로 기대되는 효능.

인삼제품 섭취 빈도와 구매시 고려사항에 대한 설문 결과를 실시한 결과 13% 정도가 한 달에 수회 이상 인삼제품을 접한다고 답변하였고, 34%는 일 년에 수회정도 접한다고 답변한 반면 답변자의 20% 가량은 전혀 인삼 관련 제품을 먹지 않는다고 답변하였다(표 40). 또한 인삼을 구매할 때 고려하는 주요 척도로는 맛(77%), 건강에 도움(65%), 가격(63%)이라고 답변하였다.

표 40. 인삼제품 섭취 빈도와 구매시 고려사항에 대한 설문 결과.

질문	답변 (%)	질문	답변 (%)
섭취 빈도는?		구매시 고려사항은?(복수답변)	
매일	1	섭취 용이성	37
수회/주	2	건강상 이점	65
수회/달	10	브랜드	15
1회/달	9	가격	62
수회/년	34	맛	77
1회/년	24	원산지 및 품종	13
섭취하지 않음	21	제품 속 다른 유용성분	34

현지 일반 소비자는 한국산 인삼에 대한 인지도가 낮고, 미국산, 한국산에 대한 구체적인 차이, 효능에 대해 의식하지 않고 구매하며 로컬 스토어에서 접할 수 있는 인삼 함유 제품 종류는 제한적이며 에너지드링크, 차류가 가장 흔하게 접할 수 있고 이전에 먹어본 경험이 있는 주 제품이라 대답하였다.

## (2) 인삼 제품류의 품질 개선 사항

그림 25는 홍삼음료에 대한 외국인의 품질 개선점을 나타내었다. 개선점에 대한 답변으로 향(54명)이 가장 많았으며 37명은 과실향을 지적하여 향과 관련한 개선요구가 많았다. 또한, 뒷맛(45명)과 맛(37명)에 대해서도 많은 답변을 하였는데, 인삼의 기호적 단점인 쓴맛이나 떼은맛은 일반적으로 섭취 후 혀에서 몇 분간 지속되기 때문에 뒷맛이 맛보다 많은 답변이 나온 것으로 생각되어진다.

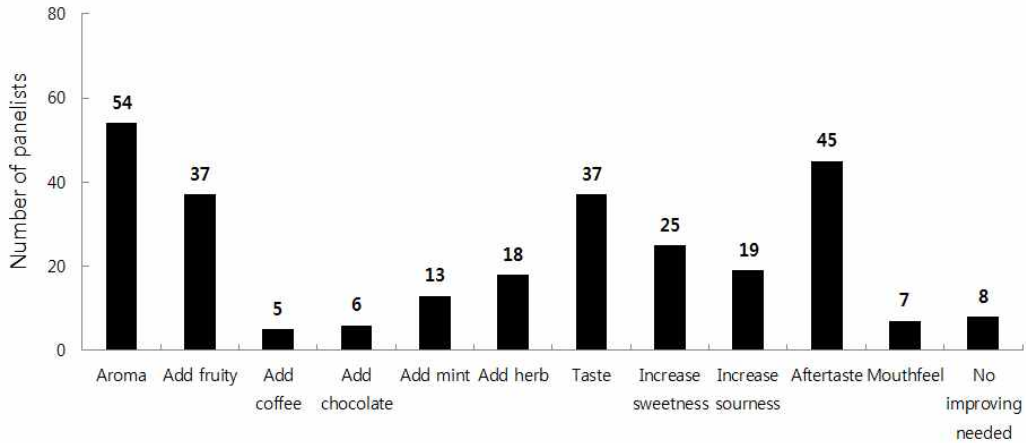


그림 25. 홍삼음료의 품질개선과 관련한 설문.

한편 홍삼농축액 1 g을 200 mL의 물에 희석시킨 용액에 대한 Focus group discussion 평가 결과에서 맛에서 bitterness, woody, earthy가 지적되었고 향에서는 molasses, musty, earthy, herbal flavor를 지적함에 따라 이들 문제점에 대해 제거 및 마스킹이 필요하였다. 실제 미국의 다양한 제품에는 인삼 농축액이 함유되어 있으나 향료 및 기타 첨가물의 복합적 작용으로 인삼향미를 전혀 느낄 수 없는 에너지 음료나 건강음료와 같은 쉽게 마실 수 있는 제품으로 소비되고 있는 실정이다.

### (3) 인삼 제품류 선호 제형

8종의 인삼 함유 제품(홍삼농축액, 분말차, 절편, 초콜릿, 젤리, 캔디, 비타민C 첨가 캔디, 음료)에 대한 미국 소비자의 구매 선호도를 조사한 결과는 그림 26과 같이 미국인들은 과일 향 첨가 초콜릿과 캔디(비타민C 함유), 음료가 수용 가능성이 높은 것으로 나타나 미국 소비자들은 평소 자기가 접한 경험이 있는 제품 형태를 선호하며 구매 가능성이 높은 것으로 나타났다. 반면 절편, 홍삼농축액, 홍삼과립차는 미국 소비자에게는 맛이나 조직감 등이 전반적으로 익숙하지 않아 수용 가능성이 낮은 것으로 평가되었다. 이를 앞서 홍삼의 개선점으로 도출된 쓴맛, 흠냄새와 연결지어보면 초콜릿과 캔디류의 다양한 첨가물 유래 강한 단맛과 향이 홍삼에 함유된 쓴맛, 흠냄새를 마스킹하기 때문으로 여겨진다.

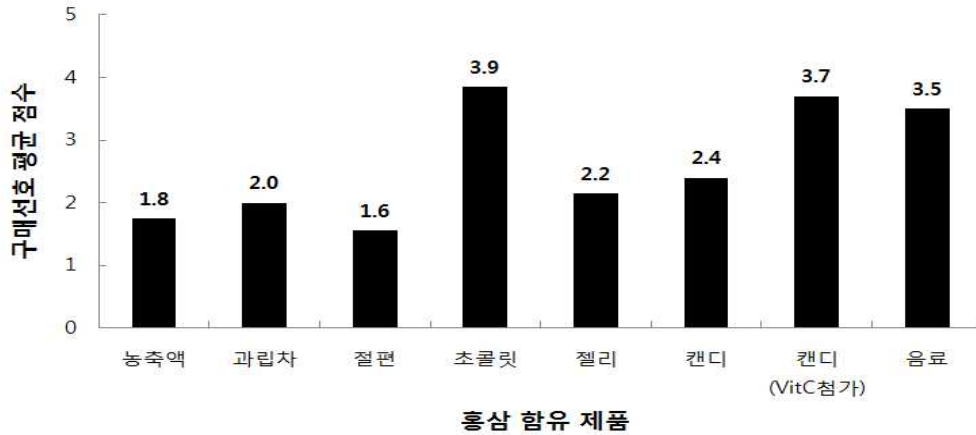


그림 26. 홍삼 가공제품의 유형에 따른 구매 선호도.

나. 미국에서 유통되는 인삼함유 음료 분석 및 소프트드링크 시장 분석





#### (1) 인삼함유 음료 분석

미국에서 유통 중인 인삼이 함유된 15종의 음료의 당도, 산도, pH 등 품질특성 분석 결과 음료 pH는 2.8~3.6 정도의 수치를 나타내었고 산도의 경우 탄산이 들어간 음료의 경우 탄산이 들어가지 않은 음료보다 상대적으로 낮게 측정이 되었다(표 41). AriZona사의 녹차류의 경우 산도가 가장 낮게 측정이 되었고 당도의 경우 대표적인 에너지 음료인 MONSTER사의 음료와 ROCKSTAR사의 음료가 13.7°brix, 13.4°brix 그리고 14.3°brix로 당도가 가장 높게 측정이 되었다.











전체적인 음료의 맛을 평가해 보면 인삼농축액이 들어갔다고는 하나 인삼 특유의 향이나 맛은 전혀 느껴지지 않고 천연 과일이나 녹차 등의 맛이 강하였다. 음료 전체적으로 단맛이 강하게 느껴졌으며, 과일 특유의 신맛과 향이 지배적이었다. 전체적인 맛은 신맛이 강할수록 후미에 텁텁함이 더해졌고, 단맛이 강하게 나는 AriZona의 녹차음료는 오히려 끝에 가서 더욱 갈증을 느끼게 해주었다.

표 41. 미국에서 유통되는 인삼 함유 음료.

제품명		색상	품질특성		Ingredients	비고
<b>MONSTER ENERGY</b> (473mL) <b>MONSTER ENERGY</b> (CAN)			당도(°Bx)	13.7	Carbonated water, Sucrose, Glucose, Citric acid, Natural flavors, Taurine, Sodium citrate, Color added, Panax ginseng root extract, L-Carnitine L-Tartrate, Caffeine, Sorbic acid, Benzoic acid, Niacinamide, Sodium chloride, D-Glucuronolactone, Inositol, Guarana seed extract, Pyridoxine, Hydrochloride, Sucralose, Riboflavin, Maltodextrin, Cyanocobalamin.	
			산도(%)	0.75		
			당/산 비	18.27		
			pH	3.6		
<b>MONSTER Rehab</b> (458mL) <b>MONSTER ENERGY</b> (CAN)			당도(°Bx)	5.1	Brewed tea (Filtered water, black & green tea extract), Glucose, Taurine, Apple juice concentrate, Lemon juice concentrate, Citric acid, Sodium citrate, Panax ginseng extract, Magnesium lactate, Calcium Lactate pentahydrate, Caffeine, Natural flavor, Monopotassium phosphate, Acesulfame potassium, Sucralose, Gum arabic, B vitamins, Concentrated coconut water, Salt, Purple sweet potato extract(color), Ester gum, Inositol, D-Glucuronolactone, Guarana seed extract, L-Carnitine L-Tartrate, Pyridoxine, Hydrochloride, Goji berry extract, Acai extract, Cyanocobalamin	Tea + Pink Lemonade + Energy  Non Carbonated
			산도(%)	0.45		
			당/산 비	11.33		
			pH	3.5		
<b>MONSTER mad dog</b> (473mL) <b>MONSTER ENERGY</b> (CAN)			당도(°Bx)	13.4	Carbonated water, Sucrose, Glucose, Citric acid, Natural flavors, Taurine, Sodium citrate, Panax ginseng root extract, Potassium sorbate, Caffeine, Sodium benzoate, FD&C red=40, Niacinamide, L-Carnitine L-Tartrate, Sodium chloride, Sucralose, Inositol, D-Glucuronolactone, Guarana seed extract, Green tea extract, Yerba mate extract, Pyridoxine Hydrochloride, Riboflavin, Maltodextrin, FD&C blue #1, Cyanocobalamin.	Punch + Energy
			산도(%)	0.81		
			당/산 비	16.54		
			pH	3.4		
<b>ROCKSTAR ENERGY DRINK</b> (473mL) <b>ROCKSTAR ENERGY</b> (CAN)			당도(°Bx)	14.3	Carbonated water, Sucrose, Glucose, Citric acid, Natural flavors, Taurine, Sodium citrate, Natural and Artificial flavors, Sodium citrate, Caffeine, Caramel color, Benzoic acid, Sorbic acid, Inositol, L-carnitine, Guarana seed extract, Panax ginseng root extract, Niacinamide, Milk thistle extract, Pantothenic acid, Riboflavin, Pyridoxine hydrochloride, Cyanocobalamin.	
			산도(%)	0.74		
			당/산 비	19.32		
			pH	2.8		

제품명		색상	품질특성		Ingredients	비고
<b>LITTLE BIGSHOT ENERGY</b> (330mL) LITTLE BIGSHOT ENERGY (CAN)			당도(°Bx)	9.7	Lightly carbonated filtered natural spring water, Concentrated fruit juice from pomegranate, Blackcurrant, Raspberry and Cranberry (14%), Fructose, Hibiscus flower extract (6%), Panax ginseng extract (0.12%), B vitamins, Deep ocean water minerals (1%-Magnesium, Calcium, Sodium, Potassium).	100% Real fruit  No caffeine No taurine
			산도(%)	0.56		
			당/산 비	17.32		
			pH	3.1		
<b>Little Miracles</b> Green tea (330mL) DrinkLittle Miracles (PET)			당도(°Bx)	7.6	Still water, Agave Syrup, 5.2% Fruit juices from concentrate (Apple 2.6%, Lemon 1.6%, Pomegranate 0.5%, Acai 0.5%), 0.12% Concentrated Green tea extract, 0.001% Plant extract (6 year old Panax ginseng), Citric acid, Natural flavourings, Antioxidant (Ascorbic acid), Organically produced.	
			산도(%)	0.19		
			당/산 비	40.00		
			pH	3.0		
<b>Little Miracles</b> white tea (330mL) DrinkLittle Miracles (PET)			당도(°Bx)	7.5	Still water, Agave Syrup, 5.5% Fruit juices from concentrate (Apple 2.5%, Lemon 1.5%, Cherry 0.5%, Raspberry 0.5%, Acai 0.5%), 0.12% White tea extract, 0.001% Plant extract (6 year old Panax ginseng), Concentrates from: Carrot, Blackcurrant and apple, Citric acid, Natural flavourings, Antioxidant (Ascorbic acid), Organically produced.	
			산도(%)	0.17		
			당/산 비	44.12		
			pH	3.1		
<b>GOLDEN BEAR LEMONADE</b> (680mL) AriZona (CAN)			당도(°Bx)	8.2	Filtered water, High fructose corn syrup, Lemon juice from concentrate, Pear juice from concentrate, Natural flavor, Honey, Citric acid, Beta-carotene for color, Vitamin C, Sucrose, Ginseng extract, Acesulfame potassium	No preservatives No artificial flavor No artificial color
			산도(%)	0.37		
			당/산 비	22.16		
			pH	2.8		
<b>GOLDEN BEAR PINK LEMONADE</b> (591mL) AriZona (PET)			당도(°Bx)	8.2	Filtered water, High fructose corn syrup, Lemon juice from concentrate, Pear juice from concentrate, Honey, Citric acid, Cherry juice from concentrate, Fruit and vegetable juice for color, Vitamin C, Natural flavor, Sucralose, Acesulfame potassium, Ginseng root extract.	No preservatives No artificial flavor No artificial color
			산도(%)	0.37		
			당/산 비	22.16		
			pH	3.0		
<b>Diet Green Tea</b> with GINSENG (591mL) AriZona (GLASS BOTTLE)			당도(°Bx)	2.2	Premium brewed green tea using filtered water, Honey, Citric acid, Vitamin C, Natural flavors, Sucralose, Acesulfame potassium, Ginseng extract	低糖綠茶 No calorie
			산도(%)	0.05		
			당/산 비	44.00		
			pH	3.6		



제품명		색상	품질특성		Ingredients	비고
<b>Green Tea</b> with GINSENG and HONEY (591mL) AriZona (GLASS BOTTLE)			당도(°Bx)	7.5	Premium brewed green tea using filtered water, High fructose corn syrup, Honey, Citric acid, Vitamin C, Natural flavors, Acesulfame potassium, Sucralose, Ginseng extract	綠茶 100% ALL NATURA L
			산도(%)	0.06		
			당/산 비	125.0 0		
			pH	3.5		
<b>lifewater</b> kiwi cherimoya (591mL) SOBE (PET)			당도(°Bx)	4.6	Filtered water, Erythritol, Citric acid, Natural flavor, Vitamin C, Xanthan gum, Calcium lactate, REB A(Purified stevia extract), Potassium citrate, Gum arabic, vitamin E acetate, Garcinia cambogia rind extract, L-carnitine, Chromium picolinate, Beta- carotene(color), B vitamins, Panax ginseng root extract	0 calories No artificial sweeteners
			산도(%)	0.19		
			당/산 비	24.21		
			pH	3.4		
<b>lifewater</b> fuji apple pear (591mL) SOBE (PET)			당도(°Bx)	4.6	Filtered water, Erythritol, Citric acid, Natural flavor, Vitamin C, Xanthan gum, Calcium lactate, REB A(Purified stevia extract), Potassium citrate, Gum arabic, vitamin E acetate, Garcinia cambogia rind extract, L-carnitine, Chromium picolinate, Beta- carotene(color), B vitamins, Panax ginseng root extract	0 calories No artificial sweeteners
			산도(%)	0.10		
			당/산 비	46.00		
			pH	3.5		
<b>Refreshers</b> Strawberry Lemonade (355mL) STARBUCKS (CAN)			당도(°Bx)	5.8	Carbonated water, Fruit juices from concentrate(White grape, Apple, Lemon, Strawberry), Erythritol, Natural flavors, Green coffee bean extract, Vegetable juice(color), Rebaudioside-A, B vitamins, Vitamin C, Panax ginseng root powder extract	+ Real fruit juice + B vitamins + Ginseng
			산도(%)	0.39		
			당/산 비	14.87		
			pH	3.4		
<b>Refreshers</b> Raspberry Pomegranate (355mL) STARBUCKS (CAN)			당도(°Bx)	6.1	Carbonated water, Fruit juices from concentrate(White grape, Apple, Pomegranate, Red Raspberry), Erythritol, Natural flavors, Green coffee bean extract, Vegetable juice(color), Rebaudioside-A, B vitamins, Vitamin C, Panax ginseng root powder extract	+ Real fruit juice + B vitamins + Ginseng
			산도(%)	0.46		
			당/산 비	13.26		
			pH	3.4		

## (2) 소프트드링크 시장 분석

Euromonitor(2012년) 자료에 의하면 현재 미국에서의 소프트드링크 시장 내 제품군으로 스포츠드링크, RTD 차(ready-to-drink tea), 기능성 생수, 야채·과일 주스, 탄산음료 등이 있는데 이 중 에너지음료의 경우 2004~2005년 성장률 70%를 마지막으로 점차 그 성장률이 감소하는 추세를 보이고 있고 기능성 생수 제품의 경우 2006년~2011년 5년간 연평균 성장률 16.3%를 기록해 가장 높은 성장률을 보였으며 그 뒤로 에너지음료, RTD 차류 등의 성장률이 높은 것으로 나타났다. 반면 야채·과일 주스, 탄산음료 제품군의 경우 성장률이 감소하는 결과가 나왔는데 웰빙과 관련한 소비자들의 관심이 증가하면서 당도가 높은 주스류를 피하는 결과로 보여지며 탄산음료의 경우 미국 내에서 탄산음료의 위험성을 계속해서 경과한 결과로 보여지며 수요 감소는 계속될 것으로 보인다.

현재의 소프트드링크 시장 내 제조업체들은 소프트드링크는 건강에 좋지 않다는 고정관념을 없애기 위해 다양한 방법으로 돌파구를 찾으려고 하는 추세이다. 대표적인 방법으로는 차(tea)향을 첨가하여 건강음료 구매자들에게 어필을 하려는 노력을 하고 있으며 슈퍼과일(superfruit)이라고 불리는 노니(noni), 아사이(acai), 고지베리(goji berry) 등 건강에 좋다고 알려진 과실류를 첨가한 제품을 출시하는 경향이 뚜렷하다.

## 5. 미주시장 부합형 음료 조건 설정 결과

### 가. 기호도 개선 홍삼농축액의 시생산 공정 및 특성 분석

#### (1) 홍삼농축액의 시생산 공정 결과

그림 27은 홍삼농축액의 제조공정도이다. 인삼 산업법에 준하여 품질검사 및 잔류농약 검사를 마친 국산 홍삼을 원료로 사용하여 칭량하였다. 이의 홍삼비율은 홍삼근 70%, 홍삼미 30% 비율이었다. 추출기에 원료와 70% 주정을 넣어 추출 온도 65°C, 80시간으로 1차 추출하였으며, 1차 추출과 동일하게 2차 추출을 한 후, 추출기에 원료와 정제수를 넣어 추출 온도 85°C, 10시간으로 3차 추출하였으며, 3차 추출과 동일하게 4차 추출을 진행하였다.

이로써 만들어진 추출액을 농축기로 배관을 따라 이송하여 40~60°C의 온도로 설정하고 음압을 600~700 mmHg로 유지하며 농축하였다. 농축액을 교반기로 배관을 따라 이송하여 90±5°C로 설정하여 온도 도달 후 1시간 이상 살균과정을 거쳤다. 농축액을 일정한 용기에 충전하여 저온창고에 보관하며 공인기관 시험의뢰 및 자가 실험의 전 항목 적합 판정을 받은 후 출고하였다.

## 제조공정도

제 품 명 : 홍삼농축액

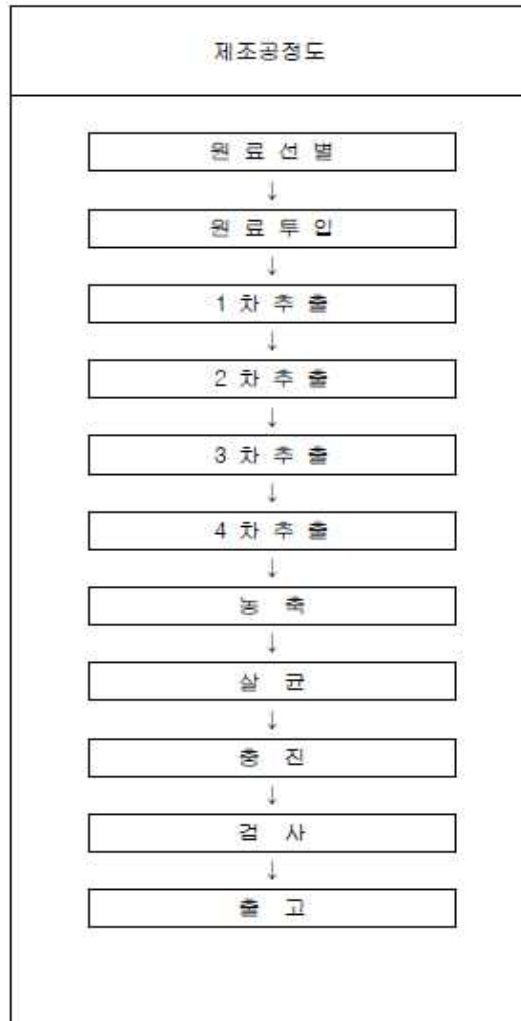


그림 27. 홍삼농축액 제조공정.

### (2) 시생산 홍삼농축액의 특성 분석

#### (가) 가용성 고형분 및 조사포닌 함량

시생산 홍삼농축액과 함께 K사, N사, G사 등 출시한 시제품의 가용성 고형분 및 조사포닌 함량을 구하여 계산하였다. 다른 3사 홍삼농축액과 달리 시생산 홍삼농축액의 가용성 고형분 함량과 조사포닌 함량이 약 20% 이상 높은 함량을 나타내었다. 가용성 고형분에 대한 조사포닌 비율(B/A)의 경우 시생산 홍삼농축액이 37.5%로 가장 높았으며, G사의 경우 5.1%로 가장 낮게 나타났다. 시중에 판매되는 시제품에 비하여 시생산한 홍삼농축액의 조사포닌 함량이 많다는 결과를 도출하였다(표 42).

표 42. 시생산 홍삼농축액 및 시제품의 특성.

분석 항목		홍삼농축액	K사	N사	G사
품질특성 (%)	가용성 고형분(A)	41.6	63.3	65.2	62.3
	조사포닌(B)	15.58	5.49	4.53	3.16
	B/A (%)	37.5	8.7	6.9	5.1

#### 나. 타입별 음료의 제조

고려인삼 고유 향미는 느껴지나 인삼제품의 미주시장 수출시 문제점으로 지적되는 기호성을 떨어뜨리는 쓴맛, 흠냄새는 발현되지 않도록 선택적 인삼농축액을 기본 베이스로 하여 천연향료와 과실농축액을 적용하고 설탕 사용 양을 대폭 감소시키면서도 기호도가 좋은 음료 개발을 목표로 “natural flavor, reduced-sugar ginseng beverage” 컨셉(Korea Ginseng Beverage; KGB-I), “natural flavor, berry juice, reduced-sugar ginseng beverage” 컨셉(KGB-II) 및 “zero calorie, no sugar ginseng beverage” 컨셉(KGB-III)의 세 가지로 음료를 구분하여 제조하였다.

#### (1) Natural flavor, reduced-sugar ginseng beverage (KGB-I)

##### (가) 천연 과실향 선정

여러 보고서에 보고된 바와 같이 인삼 가공품의 미주시장 진입에 있어 최대 걸림돌로 알려진 쓴맛, 흠냄새 등을 저감시킨 선택적 홍삼농축액을 베이스로 미국인들이 쉽게 접근할 수 있는 대중 소비형 음료 제조를 위한 원부재료의 적정 배합비를 설정하였다.

쓴맛의 경우 완전히 배제하는 것을 목적으로 할 수 있지만, 인삼 고유의 특징으로도 활용될 수 있는 인삼향미의 경우에는 완전히 제거 또는 마스킹 할 경우 이미 미주 지역에서 시판되고 있는 많은 종류의 청량음료들과 차별성이 없어질 뿐 아니라 고려인삼이란 원료의 특징이 사라지므로 음료를 마실 경우 최소한의 인삼 향미는 발현되거나 기호적으로 거부감을 보이는 쓴맛, 흠냄새는 거의 느끼지 못하는 수준의 음료 컨셉을 설정하였다.

단맛과 인삼향미가 강한 기존 인삼음료와 차별화되는 향미를 부여하고자 천연 과실향 34종을 단독 또는 몇 가지 향을 혼합시킨 형태로 정제수에 첨가하여 기호적 특성을 평가하였다. 동일 종류의 과실향간에도 각기 다른 기호적 특성을 보였으며 전반적으로 천연향을 첨가할 경우 향은 그런대로 좋으나 맛의 측면에서 후미가 무겁고 텁텁한 느낌이 발현되어 기호도 떨어지는 향이 많았다.

홍삼음료 제조 기준(홍삼사포닌 70 mg/g 기준 0.15% 이상)으로 선택적 홍삼농축액을 계량하여 정제수에 용해시켜 대조구를 제조한 후 여기에 천연 향의 기호도에 대한 예비실험을 통해 1차 선정한 청포도향, 레몬향, 라즈베리향, 포도향, 사과향, 버가못

향을 첨가하여 음료의 관능검사를 실시하였다(표 43). 향의 경우 청포도, 라즈베리 향이  $6.25 \pm 1.98$ ,  $6.00 \pm 1.07$ 로 대조구보다 기호도 점수가 높게 평가되어 유의적 차이를 보였고 그 다음으로 포도향이 높았다. 그러나 맛, 후미, 종합적기호도 측면에서는 향을 첨가하지 않은 대조구가 가장 높은 선호도를 보였고 향 첨가구 중에서는 라즈베리, 포도향 첨가구가 대조구와 유의적 차이를 보이지 않는 것으로 나타나 음료 제조용 천연향으로 이들 두 가지를 선정하였다.

표 43. 천연 과일 향 첨가 음료의 기호도 평가.

음료	향	맛	후미	종합적기호도
대조구	$5.50 \pm 0.76^{ab}$	$6.00 \pm 1.07^a$	$6.13 \pm 1.13^a$	$6.13 \pm 1.13^a$
천연 라즈베리향(0.1%)	$6.00 \pm 1.07^a$	$5.75 \pm 1.49^a$	$5.75 \pm 1.75^a$	$5.50 \pm 1.93^a$
천연 버가못향(0.1%)	$4.13 \pm 1.55^b$	$3.75 \pm 0.89^b$	$3.63 \pm 0.92^c$	$3.75 \pm 1.28^b$
천연 사과향(0.1%)	$4.75 \pm 0.89^{ab}$	$4.88 \pm 1.13^{ab}$	$5.25 \pm 1.28^{ab}$	$5.00 \pm 1.07^{ab}$
천연 포도향(0.07%)	$5.13 \pm 0.99^{ab}$	$5.75 \pm 1.28^a$	$5.88 \pm 0.83^a$	$5.63 \pm 0.74^a$
천연 레몬향(0.03%)	$4.75 \pm 1.98^{ab}$	$3.50 \pm 1.60^b$	$3.88 \pm 1.64^{bc}$	$3.75 \pm 1.67^b$
천연 청포도향(0.03%)	$6.25 \pm 1.98^a$	$4.75 \pm 1.98^{ab}$	$5.00 \pm 2.07^{abc}$	$4.50 \pm 2.45^{ab}$

<sup>a, b</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

앞선 단일 천연향 관능평가 결과에서 기호도가 가장 높았던 라즈베리향과 포도향을 조합하여 홍삼음료의 맛을 개선하는 실험을 진행하였다(표 44). 라즈베리, 포도향을 동일농도를 조합시킨 KGB-I-1 음료의 경우 포도향이 강하여 라즈베리향의 특성이 부각되지 않았으며, KGB-I-3 음료의 경우 반대로 포도향이 약하여 라즈베리향과 조화롭지 못하였다. 라즈베리 0.1%, 포도향 0.07%를 혼합시킨 KGB-I-2 음료의 경우 두 가지 향이 적당하게 조화되어 음료의 전반적인 향을 보완해주는 것으로 나타났다.

표 44. 천연 라즈베리와 포도 향 첨가 KGB-I 음료 배합비(%).

원부재료	KGB-I-1	KGB-I-2	KGB-I-3
선택적 홍삼농축액(A)		0.25	
라즈베리향	0.1	0.1	0.1
포도향	0.1	0.07	0.05
정제수	99.55	99.58	99.60

(나) 천연 인삼향이 기호도에 미치는 영향

예비 실험에서 선택적 홍삼농축액(A)을 홍삼음료 기준으로 희석시킨 용액에 천연 인삼향을 적용한 결과 팽화로 인해 발현되는 잡다한 향이 인삼향 하나로 통일되는 효과가 있었고 뒷맛도 보다 단순화되는 것을 확인하였다(표 45). 천연 인삼향 농도를 달리할 경우 관능적 특성을 조사한 결과 천연 인삼향을 0.005% 첨가할 경우 후미에 인삼향미가 약하게 느껴졌고 0.007%를 첨가하였을 때는 음용하는 즉시 인삼이란 것을 감지할 수 있었다. 0.01%를 첨가하였을 때는 후미에 나오는 인삼향미가 약간 강하게 느껴졌으나 인삼향을 첨가하지 않은 대조구와 비교했을 때 인삼향 하나로 후미가 깔끔하게 마무리되었다. 또한 인삼향 0.01%와 백설탕을 첨가하여 당도를 8.1°brix로 조정할 경우 동일농도의 인삼향만 첨가된 것에 비해 인삼향미가 강하게 느껴졌다.

표 45. 천연 인삼향 첨가비율을 달리한 KGB-I 음료 배합비(%).

원부재료	KGB-I-4	KGB-I-5	KGB-I-6	KGB-I-7	KGB-I-8	KGB-I-9
선택적 홍삼농축액(A)	0.25					
인삼향	-	0.005	0.007	0.01	0.01	0.007
백설탕	-	-	-	-	9.00	9.00
정제수	99.750	99.745	99.743	99.740	90.740	90.743

표 46은 앞서 선정한 라즈베리향과 포도향을 0.1%, 0.07%로 고정하고 천연 인삼향의 농도와 음료 당도를 0.2, 2, 4°brix로 달리한 음료 배합비를 나타낸 결과이다. 이들 음료의 관능적 특성을 살펴보면 전반적으로 인삼향 0.01% 첨가 음료는 인삼향미가 뚜렷하게 나타나지 않은 반면 0.02% 첨가 음료는 은은한 인삼향과 함께 음용시 인삼맛이 인식되었다. 또한 음료의 당도가 동일할 경우 인삼향 첨가농도가 높은 음료일수록 맛이 더 진한 느낌을 주는 것으로 나타났다.

표 46. 천연 인삼향 농도와 당도를 달리한 KGB-I 음료 배합비(%).

원부재료	KGB-I-10	KGB-I-11	KGB-I-12	KGB-I-13	KGB-I-14	KGB-I-15
선택적 홍삼농축액(A)	0.25					
라즈베리향	0.1					
포도향	0.07					
인삼향	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02
백설탕	-	1.6	3.8	-	1.6	3.8
정제수	99.57	97.97	95.77	99.56	97.96	95.76
음료 당도(°brix)	0.2	2	4	0.2	2	4

(다) 산미료 첨가와 당도 변화가 기호도에 미치는 영향

표 47은 음료의 맛 증진을 위해 인삼향을 0.02%, 구연산을 0.05% 첨가하고 음료 당도를 달리한 배합비이다. 이들 음료의 관능특성을 살펴보면 당도가 4°brix인 음료(KGB-I-17)가 3°brix 음료보다 신맛이 약간 더 강하게 느껴지면서 기호적으로 좋았고 앞의 구연산을 첨가하지 않은 음료와 비교해서 구연산 첨가로 인해 인삼 향미가 약해지는 것으로 나타났다.

표 47. 당도를 달리한 KGB-I 음료 배합비(%).

원부재료	KGB-I-16	KGB-I-17	KGB-I-18
선택적 홍삼농축액(A)		0.25	
인삼향		0.02	
라즈베리향		0.1	
포도향		0.07	
구연산		0.05	
백설탕	2.6	3.8	4.7
정제수	96.91	95.71	94.81
음료 당도(°brix)	3	4	5

음료 제조에 있어 구연산 첨가로 인해 인삼향미가 약해지는 점을 감안하여 인삼향 농도를 0.03%로 상승시키고 다시 구연산 첨가량과 당도를 달리한 홍삼음료 배합비는 표 48과 같고, 이들 음료의 향, 맛, 후미, 종합적기호도에 대한 관능평가 결과는 표 19와 같다.

인삼향은 0.03%로 고정하고 구연산과 당도를 0~0.12%, 4~7.6°brix로 변화를 주어 제조한 음료의 관능평가를 실시한 결과 향 기호도의 경우 당도 5°brix, 구연산 0.05%가 혼합된 KGB-I-20 음료가 6.53±1.13으로 가장 높은 기호도를 나타냈으며, 맛과 후미 기호도의 경우 KGB-I-21 음료가 6.53±1.13와 6.33±1.35으로 가장 높은 기호도를 나타냈다. 종합적 기호도의 경우에는 맛과 후미에도 높은 기호도를 나타낸 KGB-I-21 음료가 6.67±1.18으로 가장 높은 것으로 나타났다.

음료의 특징으로 KGB-I-19의 경우 다른 음료에 비하여 상대적으로 맛이 밋밋하고 KGB-I-22은 신맛이 느껴지는 반면 당도가 5, 7.6°brix 음료는 단맛과 신맛에 있어 어느 정도 조화를 이루면서 인삼 향미도 괜찮게 느껴져 음료의 종합적기호도도 상승하는 것으로 나타났다.

표 48. 당도, 산도를 달리한 KGB- I 음료 배합비(%) 및 기호도 평가.

원부재료		KGB- I -19	KGB- I -20	KGB- I -21	KGB- I -22
선택적	홍삼농축액(A)		0.25		
	인삼향		0.03		
	라즈베리향		0.1		
	포도향		0.07		
백설탕		3.8	4.7	7.3	7.3
구연산		-	0.05	0.06	0.12
정제수		95.75	94.80	92.19	92.13
음료	당도(°brix)	4	5	7.6	7.6
	맛	5.13±1.41 <sup>b</sup>	6.40±1.45 <sup>a</sup>	6.53±1.13 <sup>b</sup>	5.47±1.64 <sup>ab</sup>
	향	6.27±1.10 <sup>a</sup>	6.53±1.13 <sup>a</sup>	6.20±0.77 <sup>a</sup>	5.93±0.96 <sup>a</sup>
	후미	5.27±1.23 <sup>a</sup>	6.27±1.49 <sup>a</sup>	6.33±1.35 <sup>a</sup>	5.47±1.88 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	5.13±1.19 <sup>b</sup>	6.20±1.37 <sup>ab</sup>	6.67±1.18 <sup>a</sup>	5.73±1.83 <sup>ab</sup>

<sup>a, b</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

(라) 구연산과 당도 및 인삼향의 비율 조절

앞서 당/산비를 달리한 음료의 관능평가에서 기호도 점수가 높은 KGB- I -20, KGB- I -21 음료 배합비를 기준으로 음료의 원부재료 중 인삼향, 구연산, 백설탕의 농도를 재조정하여 음료 배합비는 표 49와 같다. 이들 음료의 관능적 특성을 살펴보면 구연산 농도를 0.07%로 상승시킨 KGB- I -24는 구연산 0.05% 음료보다 단맛이 약해졌고, 인삼향 농도를 0.05%로 상승시킨 KGB- I -27 음료는 인삼향이 0.03% 가미된 KGB- I -25 음료보다 인삼향미가 확실하게 느껴졌다. 인삼향 0.05%에 구연산을 0.1% 첨가한 KGB- I -29는 인삼향 농도는 동일하나 구연산이 0.06% 첨가된 KGB- I -27 음료보다 인삼향미가 약간 더 나면서 후미가 좀 더 부드러워졌다. 구연산을 0.12% 첨가한 KGB- I -26의 경우 후미에 구연산 특유의 뚝은맛이 약간 더 느껴졌다.

인삼향 농도와 음료 당/산비를 달리한 음료의 관능평가에서 기호도가 가장 좋은 것으로 나타난 천연 인삼향 0.05%, 구연산 0.06%, 당도 7.6°brix 음료(KGB- I -27)의 당도를 6.0~7.6°brix로 재조정하여 관능평가를 실시하였다(표 50). 당도 6.0, 6.8°brix 음료는 맛, 후미, 종합적기호도 측면에서 음료간 뚜렷한 유의적 차이는 보이지 않으나 당도 6.0°brix 음료(KGB- I -30)가 종합적기호도 항목에서 가장 높은 평가를 받았고 당도 7.6°brix 음료는 평가 점수가 낮았다. 이들 음료의 관능적 특성을 보면 음료의 당도가 상승함에 따라 후미에서 느껴지는 뚝은맛이 완화되는 효과는 있었으나 당도 7.6°brix 음료는 달다는 느낌이 들었다.



표 49. 천연 인삼향 농도와 당도, 산도를 달리한 KGB-I 음료 배합비(%).

원부재료		KGB-I -23	KGB-I -24	KGB-I -25	KGB-I -26	KGB-I -27	KGB-I -28	KGB-I -29
선택적 홍삼농축액(A) 라즈베리향 포도향					0.25			
					0.1			
					0.07			
인삼향		0.03	0.03	0.03	0.05	0.05	0.03	0.05
백설탕		4.8	4.8	7.3	5.7	7.3	7.3	7.3
구연산		0.05	0.07	0.06	0.07	0.06	0.12	0.1
정제수		94.70	94.68	92.19	93.76	92.17	92.13	92.13
음료	°brix	5	5	7.6	6	7.6	7.6	7.6
	pH	3.2	-	3.2	-	-	2.9	-
	맛	5.9±1.7 <sup>a</sup>	5.4±1.0 <sup>a</sup>	6.2±1.3 <sup>a</sup>	5.7±1.2 <sup>a</sup>	6.4±1.5 <sup>a</sup>	5.4±2.1 <sup>a</sup>	5.5±1.7 <sup>a</sup>
	향	5.1±1.1 <sup>b</sup>	5.8±1.6 <sup>ab</sup>	5.3±0.8 <sup>ab</sup>	5.9±1.1 <sup>ab</sup>	6.5±1.5 <sup>a</sup>	5.7±1.4 <sup>ab</sup>	6.4±1.6 <sup>a</sup>
	후미	5.2±1.3 <sup>a</sup>	6.2±1.4 <sup>a</sup>	6.3±1.3 <sup>a</sup>	5.9±2.0 <sup>a</sup>	6.8±1.4 <sup>a</sup>	6.1±1.1 <sup>a</sup>	5.9±0.8 <sup>a</sup>
종합적 기호도		4.5±0.8 <sup>b</sup>	4.8±0.8 <sup>b</sup>	5.4±0.8 <sup>b</sup>	5.8±0.9 <sup>ab</sup>	6.4±1.2 <sup>a</sup>	5.6±1.1 <sup>ab</sup>	5.4±1.3 <sup>ab</sup>

<sup>a, b</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

표 50. 당도를 달리한 KGB-I 음료 배합비 및 기호도 평가.

원부재료		KGB-I -30	KGB-I -31	KGB-I -32
선택적 홍삼농축액(A)			0.25	
인삼향			0.05	
라즈베리향			0.1	
포도향			0.07	
백설탕		5.8	6.5	7.3
구연산		0.06	0.06	0.06
정제수		93.67	92.97	92.17
음료	당도(°brix)	6.0	6.8	7.6
	향	6.72±1.13 <sup>ab</sup>	6.06±1.00 <sup>a</sup>	5.78±1.06 <sup>b</sup>
	맛	6.00±1.28 <sup>a</sup>	6.06±1.51 <sup>a</sup>	5.44±1.42 <sup>a</sup>
	후미	6.11±1.23 <sup>a</sup>	6.00±1.41 <sup>a</sup>	5.83±1.04 <sup>a</sup>
	종합적기호도	6.39±1.04 <sup>a</sup>	5.89±1.32 <sup>a</sup>	5.78±1.31 <sup>a</sup>

천연 인삼향 0.05%, 당도 6.0°brix 음료(KGB- I -30)의 신맛이 강하여 산도를 재조정하고자 구연산 첨가량을 낮춰 0.04~0.06%로 변화시켜 제조한 음료의 관능평가를 실시하였다. 예측대로 구연산 비율을 낮추었을 때 신맛이 개선되었는데 KGB- I -33 음료는 신맛이 약하여 단맛과 조화롭지 못하였다. 구연산 0.05% 첨가한 KGB- I -34 음료의 경우 단맛과 신맛이 조화롭고 향, 맛, 후미, 종합적 기호도 모두 가장 우수한 기호도를 보였다(표 51).

표 51. 산도를 달리한 KGB- I 음료 배합비 및 기호도 평가.

원부재료		KGB- I -33	KGB- I -34	KGB- I -35
선택적 홍삼농축액(A)	인삼향		0.25	
	라즈베리향		0.05	
	포도향		0.1	
	백설탕		0.07	
			5.8	
	구연산	0.04	0.05	0.06
	정제수	93.69	93.68	93.67
음료	당도(°brix)	6.0	6.0	6.0
	향	5.71±1.26 <sup>a</sup>	6.01±1.33 <sup>a</sup>	5.84±1.16 <sup>a</sup>
	맛	5.21±1.41 <sup>b</sup>	6.17±1.22 <sup>a</sup>	5.72±1.06 <sup>ab</sup>
	후미	6.02±1.16 <sup>a</sup>	5.95±1.05 <sup>a</sup>	5.87±1.03 <sup>a</sup>
	종합적기호도	5.24±1.20 <sup>b</sup>	6.41±1.26 <sup>a</sup>	5.74±0.85 <sup>ab</sup>

선택적 홍삼농축액에 천연 인삼향, 라즈베리, 포도향을 이용하여 KGB- I 음료 (natural flavor, reduced-sugar ginseng beverage)를 제조할 경우 구연산 0.05%, 당도 6.0°brix가 가장 우수한 기호도를 나타내었다.

한편, KGB- I 음료의 경우 단맛과 인삼향미가 강한 기존 홍삼음료와는 확실히 차별화는 되나 꿀 냄새와 같은 이취와 맛이 음료에서 발현되는 되는 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서는 앞서 천연 인삼향, 라즈베리향, 포도향을 첨가하는 KGB- I 음료의 최종 원부재료 배합비에는 변화를 주지 않으면서 음료에서 발현되는 꿀 관련 향취를 제거하고자 향료 전문회사와 함께 복합과실향 제조 실험을 실시하였다.

천연 과실류 향료를 혼합하는 실험을 통하여 라즈베리, 포도향 2종을 혼합 첨가한 음료와 큰 차이가 없으면서 꿀 관련 향미가 개선된 복합 과실향(A)을 제조하였으며, 천연 복합과실향의 적정 첨가농도 설정 실험을 통해 KGB- I 음료 최종 원부재료 배합비로 음료를 제조하여 비교하였다(표 52.) 복합과실향의 경우 기존 라즈베리, 포도향 첨가 음료에 비해 꿀 관련 향취가 없어졌고 후미가 훨씬 깔끔해진 것으로 나타났다.

이상의 음료 원부재료 배합비 설정 실험을 통하여 KGB- I -37 배합비를 미주지역 소비자 기호도 평가를 위한 음료 배합비로 선정하였다. KGB- I 음료의 적정 배합비는 선택적 홍삼농축액(43°brix) 0.25%, 천연 인삼향 0.05%, 천연 과실복합향(A) 0.15%, 백설탕 5.8%, 구연산 0.05%, 정제수 93.70%로 결정하였다.

표 52. 천연 복합과실향을 적용한 KGB- I 음료 배합비(%).

원부재료	KGB- I -36	KGB- I -37
선택적 홍삼농축액(A)	0.25	0.25
인삼향	0.05	0.05
라즈베리향	0.10	-
포도향	0.07	-
천연 복합과실향(A)	-	0.15
백설탕	5.80	5.80
구연산	0.05	0.05
정제수	93.68	93.70
음료 당도(°brix)	6.1	6.1

(마) 설탕 대체 원료 선정을 위한 기호도 평가

표 53은 선택적 홍삼농축액(A) 0.09%, 인삼향 0.04%, 과실 복합향(A) 0.15%, 구연산 0.05%로 고정한 후 백설탕 5.8 %, 에리스리톨 6~7%와 스테비올 배당체 0.005~0.008% 조건으로 변화시킨 음료의 배합비다. 설탕 대체 원료 선정을 위한 KGB- I 음료의 기호도 평가를 진행한 결과, 백설탕을 5.8% 첨가한 KGB- I -42 음료가 향, 단맛, 신맛 기호도가 높았으며, 그 뒤로 에리스리톨 7%, 스테비아 0.005% 첨가한 KGB- I -38의 종합적 기호도가 6.67±2.1로 가장 좋은 점수를 기록하였으며, 향과 후미 기호도 또한 높았다. KGB- I -40 음료는 후미에 쓴맛이 감지되며, 단맛이 나타나지 않아 음료 제조용으로 적합하지 않았다. KGB- I -41 음료는 맛이 부드럽긴 하지만 인위적인 단맛이 길게 나오면서 입안에 오래 남았다. 결과적으로 에리스리톨 7.0%와 스테비올 배당체 0.005% 첨가군이 다른 군들에 비하여 음료에 조화를 이루며 목 넘김이 편했으므로 KGB- I 음료의 설탕을 대체할 감미료 배합비로 최종 선정하였다.

표 53. KGB-I 음료의 설탕 대체 원료 선정을 위한 음료 배합비(%) 및 기호도 평가.

		KGB-I -38	KGB-I -39	KGB-I -40	KGB-I -41	KGB-I -42
원료 (%)	선택적					
	홍삼농축액(B)			0.09		
	인삼향			0.04		
	천연			0.15		
	복합과실향(A)			0.05		
	구연산			0.05		
원료 (%)	백설탕	-	-	-	-	5.8
	에리스리톨	7.0	7.0	6.0	6.0	-
	스테비올	0.005	0.006	0.007	0.008	-
	배당체					
	정제수	92.67	92.66	93.66	93.66	93.87
기호도 평가 항목	향	7.56±1.65 <sup>a</sup>	6.83±1.54 <sup>ab</sup>	6.11±2.25 <sup>b</sup>	6.56±2.09 <sup>ab</sup>	7.22±1.63 <sup>ab</sup>
	단맛	6.39±2.38 <sup>a</sup>	5.17±2.07 <sup>ab</sup>	4.72±2.49 <sup>b</sup>	5.44±2.12 <sup>ab</sup>	6.61±2.28 <sup>a</sup>
	신맛	6.67±2.33 <sup>ab</sup>	5.39±2.15 <sup>b</sup>	5.33±2.43 <sup>b</sup>	6.06±1.63 <sup>ab</sup>	7.22±1.93 <sup>a</sup>
	후미	6.44±2.45 <sup>a</sup>	5.22±2.10 <sup>ab</sup>	4.50±2.36 <sup>b</sup>	5.67±2.20 <sup>ab</sup>	6.11±2.68 <sup>ab</sup>
	종합적 기호도	6.67±2.14 <sup>a</sup>	5.22±2.18 <sup>ab</sup>	4.67±2.40 <sup>b</sup>	5.61±2.00 <sup>ab</sup>	6.61±2.52 <sup>a</sup>

(2) Natural flavor, berry juice, reduced-sugar ginseng beverage (KGB-II)

음료의 맛을 보다 다양화하고 색상을 차별화시켜 천연의 건강지향적 제품 이미지를 더욱 부각시키기 위해 최근 미주시장에서 건강주스로 각광받고 있는 천연 베리류 농축액을 적용하여 KGB-II 음료 배합비 실험을 실시하였다.

음료 제조에 적합한 베리 농축액을 선발하고자 먼저 베리류 농축액을 2% 농도로 희석하여 개개 농축액의 향, 맛, 색상 등에 대한 관능적 특징을 살펴보았다(표 54). 아사이베리의 경우 향은 은은하나 다른 농축액에 비해 향미가 약하고 특징이 없었고 블루베리는 단맛 위주에 후미 뚝은맛이 감지되었다. 라즈베리와 크랜베리는 신맛 위주였으나 크랜베리의 경우 후미가 뚝었다. 딸기는 단맛과 신맛이 고루 감지되었으나 뒷맛이 텅텅하고 향미가 약하였다.

이들 농축액 중 블루베리는 색과 단맛 그리고 라즈베리는 신맛 측면에서 KGB-II 음료의 차별화를 위한 부재료로 적용 가능한 것으로 판단되었다. 또한 라즈베리와 블루베리 농축액을 단독으로 희석한 것에 비해 두 가지 농축액을 혼합할 경우 맛이 훨씬 조화로워지는 것으로 나타났다.

표 54. 베리류 농축액 희석액의 향과 맛 특성.

농축액(2% 함량)	관능 특징	
	향	맛
아사이베리	• 특징이 없음	• 초기에 쓴맛과 떼은맛이 수반되나 후미에 깔끔한 신맛
블루베리	• 은은한 단향	• 신맛과 함께 후미가 텅텅하여 깔끔하지 못함
라즈베리	• 상큼한 향과 함께 시큼한 향	• 강한 신맛
딸기	• 은은한 단향	• 미약한 단맛 후에 신맛, 후미가 텅텅함
크랜베리	• 특징이 없음	• 강한 신맛 후에 떼은맛

KGB-I 음료 배합비 설정 실험을 토대로 당도를 6.0, 7.6°brix로 조정한 음료 배합비(대조구 1, 2)에 라즈베리와 블루베리 농축액을 2%:0.5%, 0.5:0.1%의 비율로 혼합, 첨가하여 음료를 제조하였다(표 55).

블루베리 농축액 2%, 라즈베리 농축액 0.5%를 첨가한 KGB-II-1 음료의 경우 인삼 향미가 사라지고 과실 음료 맛으로 변하면서 신맛이 강하고 후미가 부드러운 대조구 1의 특징과는 달리 후미가 묵직하게 변하였다.

블루베리 농축액 0.5%, 라즈베리 농축액 0.1%를 첨가한 KGB-II-2 음료는 인삼 향미가 느껴지면서 KGB-II-1 음료보다 훨씬 부드러우면서 인삼음료 특징을 보이나 초기 단맛이 다소 강하고 후미에 떼은맛이 약하게 감지되었다.

블루베리 농축액 0.5%, 라즈베리 농축액 0.1%를 혼합 첨가하고 음료 당도를 6.3°brix로 조정한 KGB-II-3 음료는 대조구 2에 비해 초기 신맛이 약간 더 강하게 느껴지나 음료의 향미가 풍부해지면서 베리 농축액 첨가로 인한 바디감을 느낄 수 있었다.

표 55. 베리농축액 첨가 농도를 달리한 KGB-II 음료 배합비(%).

원부재료	대조구 1	대조구 2	KGB-II-1	KGB-II-2	KGB-II-3
선택적 홍삼농축액(A)			0.25		
인삼향			0.05		
라즈베리향			0.1		
포도향			0.07		
구연산			0.06		
백설탕	7.3	5.8	7.3	7.3	5.8
블루베리 농축액	-	-	2.0	0.5	0.5
라즈베리 농축액	-	-	0.5	0.1	0.1
정제수	92.17	93.67	89.67	91.57	93.07
음료 당도(°brix)	7.6	6.0	8.8	8.1	6.3

(가) 산도 변화가 기호도에 미치는 영향

KGB-II 음료의 경우에 있어서도 천연 라즈베리향, 포도향을 첨가한 결과 원하지 않는 이취가 약하게 발생되어 이들 향취를 제거하고자 향료 전문회사와 함께 복합 과실향 제조 실험을 실시하였다. 천연 블루베리, 라즈베리 농축액을 혼합 첨가할 경우 기호도가 좋은 KGB-II-3 음료와 큰 차이가 없으면서 향미가 개선된 복합 과실향(B)을 제조하여 적정 첨가농도 설정 실험을 실시하여 가장 좋은 기호도 점수를 보인 0.15% 첨가구를 선정하였다.

표 56은 복합 과실향(B) 0.15%, 블루베리 농축액 0.46%, 라즈베리 농축액 0.09%로 첨가농도를 고정된 것에 구연산 농도를 0.04, 0.06, 0.08%로 변화시킨 음료의 배합비이다. 이때 음료에 첨가된 농축액을 과즙으로 환산하면 과즙의 single brix 기준을 7°brix로 설정할 경우 각각 4.6%, 0.9%의 과즙이 음료에 첨가되게 된다.

구연산 농도를 달리한 음료의 관능평가 결과 단맛, 맛 기호도에서 시료간 유의적인 차이를 보였고 구연산을 0.06% 첨가한 KGB-II-5 음료가 단맛, 신맛, 맛, 후미 기호도에서 가장 높은 평가를 받았으며 종합적 기호도에서도 6.69±1.25으로 가장 좋은 점수를 기록하였다. 0.04% 구연산 첨가 음료는 신맛이 약간 약해 전반적인 맛이 밋밋해지면서 인삼향미가 다소 강한 느낌을 주었다. 0.08% 첨가 음료는 후미에 약한 떼은 맛이 발생되었고 신맛 강도가 상승함에 따라 인삼 향미는 약해지는 것으로 나타났다.

표 56. 구연산의 농도를 달리한 KGB-II 음료 배합비(%) 및 기호도 평가.

원부재료		KGB-II-4	KGB-II-5	KGB-II-6
선택적	홍삼농축액(A)		0.25	
	인삼향		0.05	
	블루베리 농축액		0.46	
	라즈베리 농축액		0.09	
	천연 복합과실향(B)		0.15	
	백설탕		5.8	
구연산		0.04	0.06	0.08
정제수		93.16	93.14	93.12
음료	당도(°brix)	6.5	6.5	6.5
	맛	5.63±1.36 <sup>b</sup>	6.69±1.25 <sup>a</sup>	6.56±1.46 <sup>ab</sup>
	단맛	5.13±1.45 <sup>b</sup>	6.44±1.21 <sup>a</sup>	5.94±1.12 <sup>ab</sup>
	신맛	5.88±1.75 <sup>a</sup>	6.63±1.50 <sup>a</sup>	6.44±1.36 <sup>a</sup>
	후미	5.44±1.31 <sup>a</sup>	6.31±1.40 <sup>a</sup>	6.13±1.54 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	5.88±1.26 <sup>a</sup>	6.69±1.25 <sup>a</sup>	6.44±1.36 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

천연 베리류 농축액에 첨가되는 KGB-II 음료의 배합비는 선택적 홍삼농축액(A) 0.25%, 천연 인삼향 0.05%, 복합 과실향(B) 0.15%, 백설탕 5.8%, 구연산 0.06%, 블루베리 농축액 0.46%, 라즈베리 농축액 0.09%, 정제수 93.14%로 결정하였다.

(나) 설탕 대체 원료 선정에 위한 기호도 평가

표 57은 선택적 홍삼농축액(A) 0.09%, 인삼향 0.04%, 복합 과실향(B) 0.15%, 구연산 0.04%, 블루베리 농축액 0.46%, 라즈베리 농축액 0.09%를 고정한 후 백설탕 5.8%, 에리스리톨 8~9%와 스테비올 배당체 0.002~0.003% 조건으로 변화시킨 KGB-II 음료의 배합비다. 에리스리톨 9%, 스테비올 배당체 0.002% 첨가한 KGB-II-8 음료는 전체적으로 모든 기호도 측면에서 가장 좋은 점수를 기록하였고, 백설탕을 첨가한 KGB-II-11 음료는 에리스리톨과 스테비올 배당체를 첨가한 나머지 음료들에 비하여 종합적 기호도와 후미는 낮은 점수를 받았으나 향과 신맛의 점수는 높게 나타났다. 에리스리톨 9.0%, 스테비올 배당체 0.002% 첨가군을 예비조건으로 잡았으나, 혼입되는 스테비올 배당체 양을 약간 늘리는 방향으로 실험을 진행하였다.

표 57. KGB-II 음료의 설탕 대체 원료 선정에 위한 음료 배합비(%) 및 기호도 평가.

		KGB-II-7	KGB-II-8	KGB-II-9	KGB-II-10	KGB-II-11
원료 (%)	선택적			0.09		
	홍삼농축액(B)			0.04		
	인삼향			0.15		
	천연 복합 과실향(B)			0.46		
	블루베리 농축액			0.09		
	라즈베리 농축액					0.04
	정제수					5.8
	백설탕	8	9	8	9	-
	에리스리톨	0.002	0.002	0.003	0.003	-
	스테비올 배당체	91.68	90.68	91.68	90.68	93.88
기호도 평가 항목	향	6.78±1.52 <sup>a</sup>	6.72±1.27 <sup>a</sup>	6.50±1.15 <sup>a</sup>	6.78±1.00 <sup>a</sup>	6.94±1.26 <sup>a</sup>
	단맛	6.00±1.50 <sup>a</sup>	6.33±1.41 <sup>a</sup>	6.17±1.34 <sup>a</sup>	6.61±1.09 <sup>a</sup>	6.11±2.00 <sup>a</sup>
	신맛	5.89±1.57 <sup>a</sup>	6.06±1.39 <sup>a</sup>	5.17±1.58 <sup>a</sup>	5.72±1.18 <sup>a</sup>	6.06±1.51 <sup>a</sup>
	후미	5.50±1.04 <sup>a</sup>	6.22±1.66 <sup>a</sup>	5.83±1.42 <sup>a</sup>	6.17±1.25 <sup>a</sup>	5.78±2.16 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	6.11±1.37 <sup>a</sup>	6.67±1.46 <sup>a</sup>	6.00±1.03 <sup>a</sup>	6.39±1.24 <sup>a</sup>	6.00±2.09 <sup>a</sup>

표 58은 선택적 홍삼농축액(A) 0.09%, 인삼향 0.04%, 복합 과실향(B) 0.15%, 구연산 0.04%를 고정한 것에 백설탕 5.8%, 에리스리톨 6~8%와 스테비올 배당체 0.004~0.006%로 변화시킨 음료의 배합비이다. 스테비올 배당체가 혼입되는 양을 늘리는 방향으로 실험을 진행하였다. 그 결과, 백설탕 5.8 % 첨가군이 향, 단맛, 신맛의 기호도가 높았으나, 에리스리톨과 스테비올 배당체 첨가한 음료 중 KGB-II-14 음료가 종합적 기호도 측면에서 가장 좋은 점수를 기록하였다. 또한 향, 단맛, 신맛, 후미 기호도가 대체적으로 다른 군들에 비해 높았으며, 과실향이 많이 나고, 당산비 균형이 맞고, 텁텁하지 않았다. KGB-II-12, KGB-II-13은 후미에 쓴맛이 인공적인 맛이 감지되고 맛이 깔끔하지 않아 기호도 점수가 낮게 나타났다. 에리스리톨 8.0%, 스테비올 배당체 0.006% 첨가군이 다른 군들에 비하여 단맛이 깔끔하고, 홍삼음료에 조화를 이루며 묵넘김이 편했으므로 KGB-II 음료의 설탕을 대체할 감미료 배합비로 최종 선정하였다.

표 58. KGB-II 음료의 설탕 대체 원료 선정을 위한 음료 배합비(%) 및 기호도 평가.



		KGB-II-12	KGB-II-13	KGB-II-14	KGB-II-15
원료 (%)	선택적				
	홍삼농축액(B)		0.09		
	인삼향		0.04		
	천연 복합 과실향(B)		0.15		
	블루베리 농축액		0.46		
	라즈베리 농축액		0.09		
	구연산		0.04		
원료 (%)	백설탕	-	-	-	5.8
	에리스리톨	6.0	8.0	8.0	-
	스테비올 배당체	0.006	0.004	0.006	-
	정제수	93.12	91.13	91.12	93.33
기호도 평가 항목	향	6.82±2.01 <sup>a</sup>	6.88±1.73 <sup>a</sup>	7.00±1.77 <sup>a</sup>	7.53±1.18 <sup>a</sup>
	단맛	5.24±2.39 <sup>a</sup>	5.29±2.37 <sup>a</sup>	6.25±1.95 <sup>a</sup>	6.35±2.21 <sup>a</sup>
	신맛	4.88±2.20 <sup>c</sup>	5.71±1.93 <sup>bc</sup>	6.65±1.50 <sup>ab</sup>	7.35±1.06 <sup>a</sup>
	후미	5.18±2.16 <sup>a</sup>	5.41±1.87 <sup>a</sup>	6.76±1.82 <sup>a</sup>	6.06±2.38 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	5.00±2.35 <sup>a</sup>	5.00±2.12 <sup>a</sup>	6.41±1.91 <sup>a</sup>	6.06±2.19 <sup>a</sup>

(다) 설탕 대체 원료 배합비를 선정한 개발음료와 상업화된 음료의 기호도 평가

설탕 대체 원료 배합비를 선정한 2종의 개발 음료와 미국에서 유통 중인 인삼이 함유된 음료제품과 소프트드링크 중 비슷한 성격을 지닌 Green Tea with GINSENG and HONEY(Arizona)와 Vitamin water Triple X(GLACEU)를 선정하였다. 설탕 대체 원료 배합비를 선정한 2종의 개발 음료와 2종의 상업화된 음료의 향, 맛, 종합적 기호도 평가를 실시하였다(표 57-58).





표 57. 2종의 개발음료와 시제품과의 기호도 평가.

		KGB- I	Arizona Green Tea With Ginseng	KGB- II	Vitamin water Triple X
원 료 (%)	선택적				
	홍삼농축액(B)	0.09		0.09	
	인삼향	0.04		0.04	
	천연 복합과실향 (A,B)	0.15		0.15	
	블루베리 농축액	-		0.46	
	라즈베리 농축액	-		0.09	
	구연산	0.05		0.04	
	백설탕	-		-	
	에리스리톨	7.0	-	8.0	-
	스테비올 배당체	0.005	-	0.006	-
정제수	92.12	-	91.12	-	
기 호 도 평 가 항 목	색	6.67±0.89 <sup>ab</sup>	6.17±1.70 <sup>b</sup>	7.58±0.90 <sup>a</sup>	5.75±1.06 <sup>b</sup>
	향	6.58±1.38 <sup>a</sup>	5.33±1.72 <sup>b</sup>	7.50±0.80 <sup>a</sup>	5.08±1.51 <sup>b</sup>
	단맛	6.08±1.44 <sup>a</sup>	5.75±1.48 <sup>a</sup>	6.50±1.51 <sup>a</sup>	5.42±1.44 <sup>a</sup>
	신맛	6.75±1.36 <sup>a</sup>	5.83±1.19 <sup>b</sup>	6.42±1.38 <sup>ab</sup>	5.42±1.16 <sup>b</sup>
	후미	6.58±1.31 <sup>ab</sup>	5.42±1.68 <sup>bc</sup>	6.83±1.19 <sup>a</sup>	5.08±1.56 <sup>c</sup>
	종합적 기호도	6.50±1.57 <sup>a</sup>	5.25±1.42 <sup>b</sup>	6.92±0.90 <sup>a</sup>	4.75±1.42 <sup>b</sup>

에리스리톨, 스테비올 배당체 등 2종의 설탕 대체 원료 감미료의 최적 배합비를 선정한 바, 이를 배합비에 맞게 홍삼음료 제조 후 살균공정을 거쳤다. 그와 더불어 2종의 개발 음료와 2종의 상업화된 음료(Green Tea with GINSENG and HONEY, Vitamin water Triple X)의 기호도 평가를 실시하였다.

그 결과, KGB- I 음료의 색, 향, 단맛, 신맛, 후미, 종합적 기호도 등 모든 측면에서 좋은 점수를 기록하였으며, Arizona green tea의 경우 홍삼농축액이 혼입되어 있다고는 하나 인삼 특유의 향이나 맛은 전혀 느껴지지 않은 반면 녹차향, 인위적인 맛이 강하게 느껴졌으며, 단맛이 강하여 마신 후에 갈증을 느꼈다. KGB- II 음료와 Vitamin water와 기호도를 평가한 결과, KGB- II 음료의 색, 향, 종합적 기호도 측면에서 가장 좋은 점수를 기록하였으며, 뒷맛이 깔끔하였다. Vitamin water의 경우 미국 뿐만 아니라 전세계적으로 사랑받는 음료로 베리류 등 과실류를 첨가하였으나 인공적인 향과 단맛이 강하게 느껴졌다. 제조한 홍삼음료가 Vitamin water에 비해 기호도가 떨어지지 않는다는 것을 확인하였다.

표 58. 2종의 개발음료와 시제품과의 기호도 평가.

		KGB- I	한삼인 홍썬인	KGB- II	Vitamin water Triple X
원료 (%)	선택적				
	홍삼농축액(B)	0.09		0.09	
	인삼향	0.04		0.04	
	천연 복합과실향 (A,B)	0.15		0.15	
	블루베리 농축액	-		0.46	
	라즈베리 농축액	-		0.09	
	구연산	0.05		0.04	
	백설탕	-	-	-	-
	에리스리톨	7.0	-	8.0	-
	스테비올 배당체	0.005	-	0.006	-
정제수	92.12	-	91.12	-	
기호도 평가 항목	색	7.14±0.86 <sup>a</sup>	5.71±1.54 <sup>b</sup>	7.93±0.62 <sup>a</sup>	6.29±0.99 <sup>b</sup>
	향	7.29±1.54 <sup>a</sup>	5.43±1.55 <sup>b</sup>	7.64±0.84 <sup>a</sup>	5.07±1.49 <sup>b</sup>
	단맛	7.07±1.49 <sup>a</sup>	5.29±1.44 <sup>b</sup>	7.36±1.15 <sup>a</sup>	5.64±0.93 <sup>b</sup>
	후미	6.71±1.64 <sup>ab</sup>	5.86±1.46 <sup>bc</sup>	7.21±0.80 <sup>a</sup>	5.21±1.53 <sup>c</sup>
	종합적 기호도	6.50±1.40 <sup>ab</sup>	5.57±1.45 <sup>bc</sup>	6.93±1.53 <sup>a</sup>	5.29±1.38 <sup>c</sup>

앞서 진행되었던 2종의 상업음료 중 Arizona green tea를 한삼인 홍썬인으로 대체하고, Vitamin water와 함께 2종의 개발 음료와 기호도 평가를 실시한 결과, KGB- I 음료는 모든 측면에서 기호도 점수가 높았으며, 단맛이 있는데도 입안에 텁텁하게 남지 않고 뒷맛이 가장 깔끔하였으며, 신맛이 나지만 부드럽고 과실향이 좋았다. 한삼인 홍썬인은 단맛이 거의 없으나 보리차 음료와 같이 고소하여 목넘김이 좋았고, 향에 비해 맛이 약하였으나 쓴맛이 강하게 느껴졌다. KGB- II 음료와 Vitamin water와의 기호도 평가에서 모든 측면에서 KGB- II 음료의 기호도가 높게 나타났으며, 새콤달콤하고 후미에 신맛이 남아 식욕을 자극하였다. Vitamin water의 경우 인공향이 많이 나고 뽀은맛이 나 텁텁함을 느꼈다.

### (3) Zero calorie, no sugar ginseng beverage (KGB-III)

#### (가) 저칼로리 감미료

설탕을 사용하지 않고 ‘홍삼 달인 물’ 개념의 편하게 마실 수 있는 zero calorie 음료 제조를 위한 배합비 설정 실험을 실시하였다(표 59). 음료에 약간의 단맛은 부여되 열량을 낮추기 위하여 설탕 대체제로써 zero calorie적 특성을 갖는 아세설프 K와

수크랄로스를 이용하여 음료를 제조하였다(표 59). 음료 바디감 부여와 후미 개선을 목적으로 텍스트린을 첨가한 경우 오히려 관능적 기호도를 떨어뜨리는 것으로 확인되었고 구연산 첨가 역시 기호도 상승에 효과가 없었다.

표 59. 저칼로리 감미료 이용 KGB-Ⅲ 음료 배합비(%).

원부재료	KGB-Ⅲ-1	KGB-Ⅲ-2	KGB-Ⅲ-3	KGB-Ⅲ-4
선택적 홍삼농축액(A)	0.25			
인삼향	0.06	0.04	0.03	0.05
아세실팜 K	0.005	0.0065	0.006	0.005
수크랄로스	0.001	0.0013	0.001	0.001
구연산	0.005	0.005	-	-
텍스트린(DE 12)	0.15	0.1	0.15	-
정제수	99.529	99.5972	99.563	99.694

(나) 산도 조절제 및 산화방지제 적용

앞선 결과에서 KGB-Ⅲ 음료의 기호도를 떨어뜨리는 구연산 등의 식품첨가제는 제외하고 산도 조절 및 산화방지제로 이용되는 탄산수소나트륨과 아스코르빈산나트륨의 비율을 조절하여 제조한 음료의 특성을 살펴보았다(표 60).

천연 인삼향만 첨가한 KGB-Ⅲ-5 음료는 홍삼농축액에서 비롯되는 특유의 신맛이 감지되었고, 여기에 저열량 감미료를 첨가한 KGB-Ⅲ-6 음료는 상대적으로 단맛이 강하고 후미가 텅텅하였다. 산도 조절제와 산화방지제를 더 첨가한 KGB-Ⅲ-7 음료의 경우 탄산수소나트륨 첨가에 의해 무게감이 있고 mouthfeel이 미끌거림이 감지되었다. 탄산수소나트륨의 함량을 반으로 감소시킨 KGB-Ⅲ-8 음료의 경우 미끌거림이 확연하게 감소하였고 인삼향 첨가 비율을 상승시킴에 따라 기호가 개선되었다.

표 60. 탄산수소나트륨과 아스코르빈산나트륨을 첨가한 KGB-Ⅲ 음료 배합비(%).

원부재료	KGB-Ⅲ-5	KGB-Ⅲ-6	KGB-Ⅲ-7	KGB-Ⅲ-8
선택적 홍삼농축액(A)	0.25			
인삼향	0.015	0.015	0.015	0.02
아세실팜 K	-	0.003	0.003	0.002
수크랄로스	-	0.0005	0.0005	0.0003
탄산수소나트륨	-	-	0.1	0.05
아스코르빈산나트륨	-	-	0.01	0.01
정제수	99.735	99.7315	99.6215	99.6677

표 60의 배합비 실험 결과를 토대로 표 61과 같이 음료를 제조하여 평가한 결과

아세살팜 K와 수크랄로스를 넣지 않은 음료가 이들을 첨가한 음료보다 기호가 높았는데, 이는 아세살팜 K와 수크랄로스의 단맛이 오히려 음료 기호도를 떨어뜨린다는 것을 확인할 수 있었다. 탄산수소나트륨과 아스코르빈산나트륨의 첨가는 홍삼 농축액과 인삼향만 첨가한 음료의 단점이었던 신맛과 mouthfeel을 보완해 주는 것을 확인할 수 있었다.

표 61. 탄산수소나트륨과 아스코르빈산나트륨을 첨가한 KGB-Ⅲ 음료 배합비(%).

원부재료	KGB-Ⅲ-9	KGB-Ⅲ-10	KGB-Ⅲ-11	KGB-Ⅲ-12
선택적 홍삼농축액(A)	0.25			
인삼향	0.02	0.02	0.02	0.02
아세살팜 K	-	-	0.001	0.001
수크랄로스	-	-	0.00015	0.00015
탄산수소나트륨	-	0.025	-	0.025
아스코르빈산나트륨	-	0.01	-	0.01
정제수	99.73	99.695	99.72885	99.69385

(다) 인삼향 및 산도조절제, 산화방지제 조절에 따른 기호도 변화

선택적 홍삼농축액을 기본 베이스로 하고 천연 인삼향, 탄산수소나트륨, 아스코르빈산나트륨의 비율을 조절하여 음료를 제조한 후 기호도를 평가하였다(표 62). 그 결과, KGB-Ⅲ-13 음료의 경우 Ⅲ-16보다 인삼향미는 약하나 쓴맛이 강하고 반면, KGB-Ⅲ-14 음료는 인삼 향미가 Ⅲ-13보다 세게 느껴지고 쓴맛 강도가 강하였다. KGB-Ⅲ-15는 인삼향미가 강하고 KGB-Ⅲ-16는 인삼향미가 확실히 느껴지나 4개 음료 중 인삼 향미가 강하지 않고 부드러웠다. 이들 결과로부터 탄산수소나트륨 첨가량이 음료의 인삼향 강도에 영향을 미치는 것을 확인하였다.

표 62. 인삼향 및 산도조절제, 산화방지제 비율을 조절한 KGB-Ⅲ 음료 배합비(%).

원부재료	KGB-Ⅲ-13	KGB-Ⅲ-14	KGB-Ⅲ-15	KGB-Ⅲ-16
선택적 홍삼농축액(A)	0.25			
인삼향	0.008	0.004	0.008	0.006
탄산수소나트륨	0.02	0.005	0.01	0.01
아스코르빈산나트륨	0.01	0.005	0.01	0.01
정제수	99.712	99.736	99.722	99.724
음료 pH	7.3	6.2	6.7	6.7

앞서 KGB-Ⅲ 음료의 배합비 선정 실험 결과 기호적 특성이 좋은 천연 인삼향 0.006% 첨가 배합비 Ⅲ-16 음료의 경우 처음 마실 때는 인삼 향미가 약하게 느껴지나 이를 반복 음용하게 되면 인삼 향미가 초기와 비교하여 강하다는 느낌을 주었다.

KGB-Ⅲ 음료의 인삼향 농도를 재설정하고자 인삼향 농도를 0.001~0.006%로 조정된 음료의 관능평가를 실시하였다. 그 결과 0.002% 첨가시 마시면 약한 인삼맛이 나고 0.004% 첨가시 인삼 향미가 확실하게 느껴지며 후미가 약간 텁텁해졌다. 따라서 홍삼 달인 물 개념의 KGB-Ⅲ 음료에 첨가되는 인삼 향의 농도는 0.002%가 적당한 것으로 판단되었다.

앞서 KGB-Ⅲ 음료의 배합비 선정 실험에서 도출된 배합비 중 몇 가지를 선정, 음료를 제조하여 관능평가를 실시하였다(표 63). 3가지 음료간에 유의적 차이는 없었으나 선택적 홍삼농축액에 탄산수소나트륨, 아스코르빈산나트륨을 첨가한 KGB-Ⅲ-18 음료가 맛과 향, 종합적기호도에서 나머지 두 음료에 비해 높은 기호도를 나타내었다.

이들 음료의 관능적 특성을 살펴보면 홍삼농축액에 인삼향만을 넣은 KGB-Ⅲ-19 음료는 음용 즉시 인삼 향이 나고 맛도 느껴지며 음료 중 인삼향이 가장 세고, 인삼향을 빼고 탄산수소나트륨, 아스코르빈산나트륨만을 넣은 KGB-Ⅲ-18음료는 인삼 향취는 없고 후미에 약간 씹살한 맛만 느껴졌다. KGB-Ⅲ-17 음료는 인삼 향미는 약하게 느껴지나 후미에 약간 텁텁한 느낌이 발현되었다. 이들 결과를 종합하여 ‘홍삼 달인 물’ 개념의 편하게 마실 수 있는 zero calorie, no sugar 컨셉 음료의 적정 배합비로 선택적 홍삼농축액(A) 0.25%, 탄산수소나트륨 0.01%, 아스코르빈산나트륨 0.01%, 정제수 99.73%를 KGB-Ⅲ 음료 배합비를 설정하였다.

표 63. 인삼향과 탄산수소나트륨, 아스코르빈산나트륨 함량을 조절한 KGB-Ⅲ 음료 배합비(%) 및 기호도 평가.

원부재료		KGB-Ⅲ-17	KGB-Ⅲ-18	KGB-Ⅲ-19
선택적 홍삼농축액(A)			0.25	
인삼향		0.002	-	0.008
탄산수소나트륨		0.01	0.01	-
아스코르빈산나트륨		0.01	0.01	-
정제수		99.728	99.73	99.742
음료	맛	6.07±1.21 <sup>a</sup>	6.43±1.34 <sup>a</sup>	5.79±1.76 <sup>a</sup>
	향	5.71±0.83 <sup>a</sup>	6.36±1.39 <sup>a</sup>	5.71±1.59 <sup>a</sup>
	후미	5.86±1.35 <sup>a</sup>	6.07±1.27 <sup>a</sup>	5.93±1.64 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	5.71±1.20 <sup>a</sup>	6.14±1.41 <sup>a</sup>	5.71±1.73 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>통계처리에 의하여  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 차이를 확인.

한편 본 결과에는 나타내지 않았으나 zero calorie, no sugar ginseng beverage(KGB-Ⅲ 음료)에 천연 향료와 citrus계 농축액 및 레몬에센스 등을 적용하는 실험을 실시하였으나 음료의 맛을 크게 증진시키지는 못하고 후미를 떨어뜨리는 단점을 확인하였다.

#### 다. 개발 인삼음료 미국 현지 소비자 대상 기호도 평가

##### (1) 미국 현지 소비자 대상 기호도 평가

미국 현지 소비자를 대상으로 하는 개발 인삼음료의 기호도 평가는 이틀 동안 실시하였다. 첫째 날에는 1단계 평가로 개발 음료 3종에 대한 종합적기호도를 평가하게 한 다음 각 음료의 향, 맛, 후미에 대해 평가하였고, 2단계 평가로 개발 음료 3종과 시판 홍삼음료 1종을 제공하여 동일방법으로 기호도를 평가하였다. 둘째 날에는 개발 음료와 시판 홍삼음료에 대해 각각 제품 정보(KGB-I-Natural flavor, reduced-sugar ginseng beverage, KGB-II-Natural flavor, berry juice, reduced-sugar ginseng beverage, KGB-III-Zero calorie, no sugar ginseng beverage, Commercial beverage-Artificial flavor, sweetened ginseng beverage)를 함께 제공, 동일방법으로 기호도를 평가하였다(그림 28).

2단계 기호도 평가 결과에서 KGB-II 음료가 전반적 기호도와 향, 맛에서 가장 높은 평가 점수를 받았으나 KGB-I 및 시판 홍삼음료와 유의적 차이는 없었다. KGB-III 음료는 다른 음료와 유의적 차이를 보이며 기호도 점수가 가장 낮게 평가되었다.

한편 음료 용기에 표기될 수 있는 제품 기본 컨셉 및 특정 첨가 재료에 대한 정보를 평가자에게 제공한 2단계 기호도 평가 결과에서도 KGB-II 음료가 전반적 기호도와 향, 맛에서 가장 높은 평가 점수를 받았으며 특히, 제품 정보를 제공하지 않은 2단계 평가 때보다 향, 맛 항목의 평가 점수가 증가하면서 시판 홍삼 음료와 유의적 차이를 나타내었다. 이들 결과를 종합하면 미국 소비자의 경우 천연소재 이름 또는 zero calorie, no sugar 등과 같은 건강지향과 관련된 정보를 제품에 제공하더라도 어느 정도 그들의 입맛에 맞는 제품에 한하여 기호도 평가에 긍정적 영향을 미침을 확인할 수 있었다.

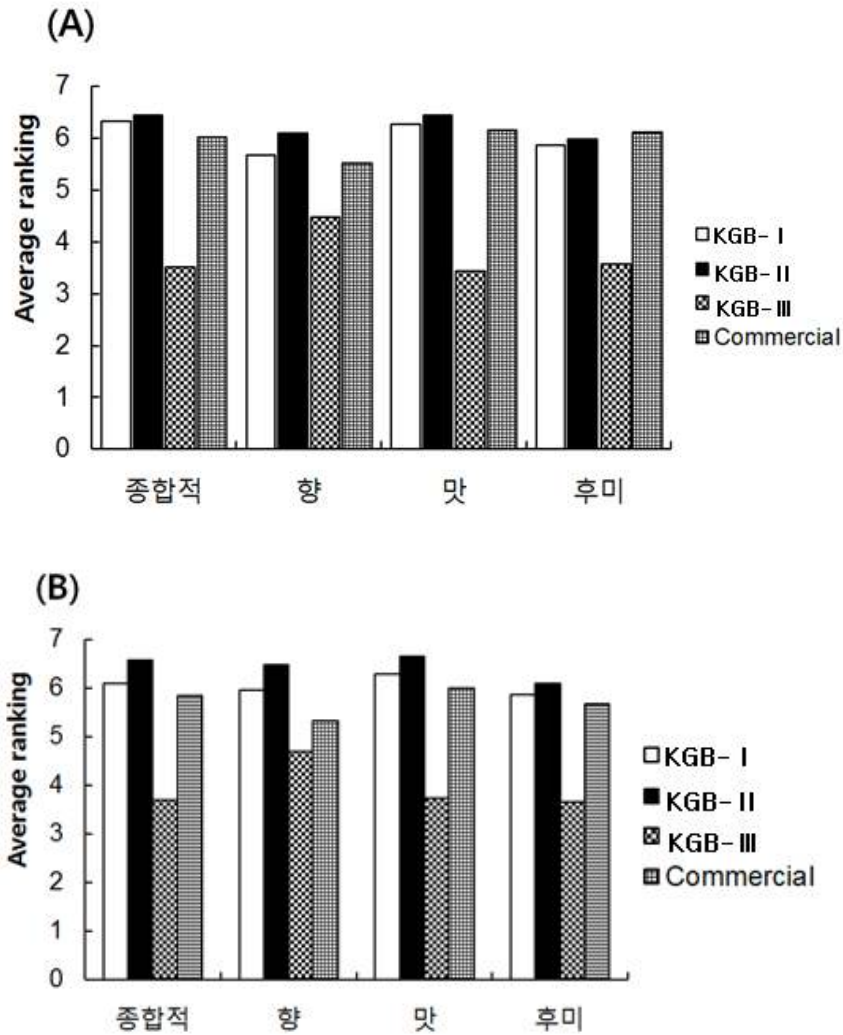


그림 28. 미국 현지 소비자 대상 개발 음료의 기호도 평가.

- (A) 제품 정보를 제공하지 않은 경우 개발 음료와 시판 홍삼음료의 기호도 평가.  
 (B) 제품 정보를 제공할 경우 개발 음료와 시판 홍삼음료의 기호도 평가.

(2) 국내 패널 대상 기호도 평가

선택적 홍삼농축액 및 음료 적정 배합비 설정 실험에 참가한 국내 관능요원들을 대상으로 개발 음료와 시판 홍삼음료를 동일한 방법으로 기호도 평가를 실시하였다(그림 29). 4종의 음료를 비교한 2단계 기호도 평가 결과 종합적기호도는 유의적 수준 내에서 KGB-I > KGB-II 순으로 순위가 결정되었고, KGB-III 음료는 유의적으로 가장 낮은 점수를 나타내었다. 관능 항목별로 살펴보면 음료의 향과 맛은 복합과실향 B가 첨가된 KGB-II 음료가 높은 기호도를 나타낸 반면 후미는 비슷한 점수를 나타내었다.

각 음료의 제품 컨셉을 제시한 3단계 평가 결과, 종합적기호도는 KGB-I = II > KGB-III > 시판 음료 순으로 시료간의 유의적 차이를 보였고 향 항목에 있어서 복합과실향 A를 첨가한 KGB-I 음료가 정보 제공 전에 비해 점수가 상승하였다. 이상의 결

과를 종합할 때 국내 패널의 경우 베리류 농축액의 첨가가 기호도에 큰 영향을 미치지 않았다.

한편, 2단계 평가에서 가장 낮은 기호도 점수를 보인 KGB-III 음료의 경우 zero calorie, no sugar 컨셉의 제품 정보를 제공할 경우 맛, 후미, 종합적기호도 평가 점수가 정보 제공 전에 비해 크게 상승하는 것으로 나타나 국내 25~35세 패널의 경우 미국인들보다 건강 관련 이미지 정보에 훨씬 민감하게 반응하여 음료의 기호도 평가에 큰 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

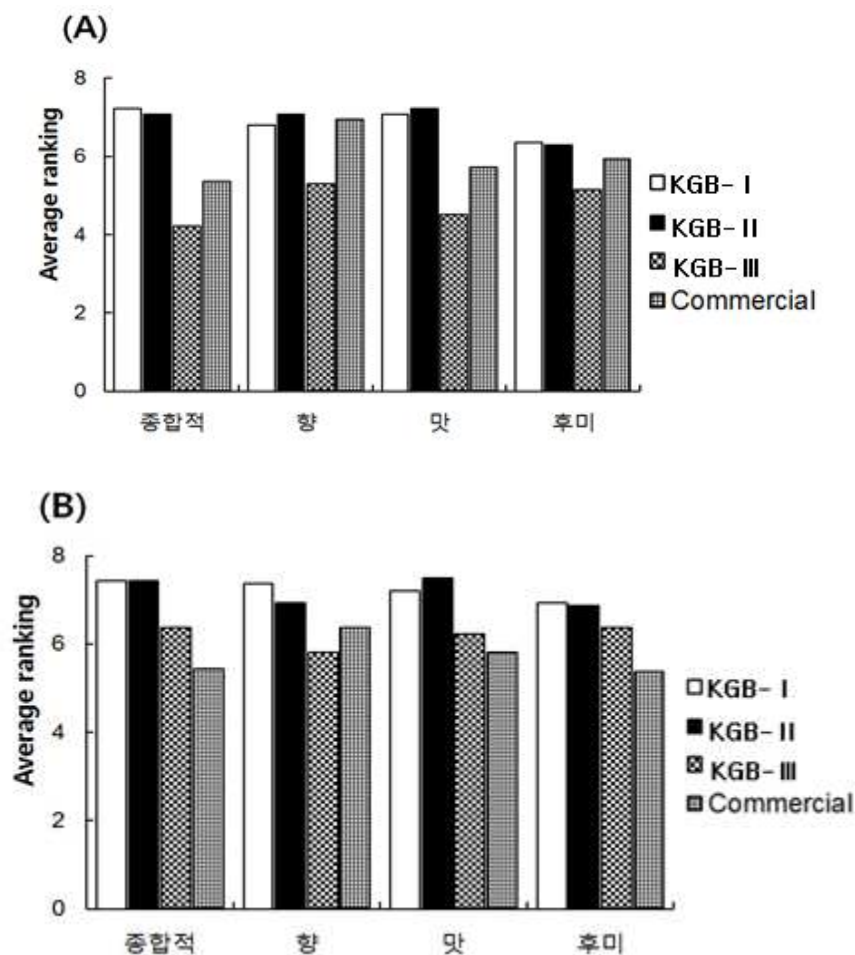


그림 29. 국내 패널 대상 개발 음료의 기호도 평가.

(A) 제품 정보를 제공하지 않은 경우 개발 음료와 시판 홍삼음료의 기호도 평가.

(B) 제품 컨셉을 제공할 경우 개발 음료와 시판 홍삼음료의 기호도 평가.

제품 컨셉을 제공한 2단계 기호도 평가 종료 시 각 제품에 대해 좋고, 싫은 점을 단어로 기술하게 하여 그 결과를 word cloud로 표현하였다(표 64). 제품별로 언급된 단어에 약간의 차이는 있으나 중복 언급되는 단어가 많고 동일 단어에 대해서도 제품 간 크기, 진하기에 차이가 있었다.



미국 소비자로부터 가장 좋은 기호도 평가 점수를 받은 KGB-II 음료(natural flavor, berry juice, reduced-sugar ginseng beverage)를 음용하고 나서 소비자가 좋다고 가장 많이 언급한 단어는 flavor였고, 그 다음으로 taste, sweet, berry, color 같은 단어가 많이 언급되었다. Aftertaste 단어는 모든 평가 음료에서 공통적으로 싫다고 가장 많이 언급된 단어였고 flavor가 그 다음으로 많이 언급되어 개인의 기호성이 서로 다르게 반영되었다.

표 64. 미국 현지 소비자 기호도 평가에서 도출된 음료의 LIKE, DISLIKE 단어 요소.

구분	LIKE	DISLIKE
KGB-I 음료		
KGB-II 음료		
KGB-III 음료		
시판 홍삼음료		

향후 이들 결과와 앞서 미국 소비자 대상 음료 기호도 평가에서 얻어진 raw data로부터 개별 관능요소의 상대적 중요도 평가와 세부 집단별 제품정보 제공 효과를 분석하여 음료 품질개선 사항을 도출하도록 하였다.

라. 살균조건에 따른 음료의 품질특성 및 기호도에 미치는 영향

(1) 선택적 홍삼농축액의 살균유무가 음료의 관능강도 및 기호도에 미치는 영향

홍삼음료 제조 기준(홍삼사포닌 70 mg/g 기준 0.15 %이상)으로 비살균, 90°C, 1시간으로 살균한 선택적 홍삼농축액을 기본 베이스로 하여 제조한 음료의 맛의 강도 및 기호도 평가를 진행하였다(표 65)

표 65. 살균, 비살균 홍삼농축액으로 만든 2종의 개발음료의 강도 및 기호도 평가.

		KGB- I		KGB- II	
		비살균	살균	비살균	살균
원료 (%)	선택적 홍삼농축액(B)	0.09		0.09	
	인삼향	0.04		0.04	
	천연 복합과실향 (A,B)	0.15		0.15	
	블루베리 농축액	-		0.46	
	라즈베리 농축액	-		0.09	
	구연산	0.05		0.04	
	백설탕	5.8		5.8	
	정제수	93.87		93.33	
기호도 평가 항목	향	6.33±1.85 <sup>a</sup>	6.78±1.22 <sup>a</sup>	6.74±1.25 <sup>a</sup>	7.30±1.34 <sup>a</sup>
	단맛	6.50±1.20 <sup>a</sup>	6.39±1.24 <sup>a</sup>	6.53±1.79 <sup>a</sup>	6.55±0.76 <sup>a</sup>
	신맛	5.39±2.52 <sup>a</sup>	5.17±2.43 <sup>a</sup>	5.58±1.84 <sup>a</sup>	4.80±2.28 <sup>a</sup>
	쓴맛	4.06±1.95 <sup>a</sup>	3.72±2.19 <sup>a</sup>	3.47±2.26 <sup>a</sup>	3.30±2.20 <sup>a</sup>
	후미	6.00±1.41 <sup>a</sup>	6.33±1.50 <sup>a</sup>	6.74±1.63 <sup>a</sup>	6.65±1.23 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	6.61±1.24 <sup>a</sup>	6.67±1.24 <sup>a</sup>	6.84±1.18 <sup>a</sup>	6.90±1.29 <sup>a</sup>

2종의 개발 홍삼음료에 첨가되는 선택적 홍삼농축액(B)을 90°C, 1시간으로 살균한 군과 살균하지 않은(비살균) 홍삼농축액으로 배합비에 맞게 KGB- I, KGB- II 음료를 제조하여 기호도 평가를 실시한 결과, KGB- I 음료의 경우 맛의 강도 측면에서 단맛, 신맛, 쓴맛의 강도는 비살균 군에서 대체적으로 점수가 높게 나타났다. 그러나, 살균 군에서 맛의 강도가 약해졌으나 기호도 측면에서 향, 후미, 종합적 기호도 등 높게 나타났으며, 맛의 강도 중 특히 쓴맛의 강도가 감소하였다. 결과적으로 홍삼농축액을 살균하게 되면 전반적으로 인삼향이 안정화되고, 쓴맛의 강도가 저하되었을 것으로 판단된다.

KGB- II 음료의 경우 기호도 측면에서 살균 홍삼농축액으로 제조한 음료의 경우 향 및 종합적 기호도는 비살균 군에 비해 증가하는 경향을 보였고, 맛의 강도 측면에서는 단맛 강도는 비슷하였으나, 신맛과 쓴맛 강도는 살균 후 저하되었다. 90°C 1시간으로 살균한 홍삼농축액으로 만든 2종의 홍삼음료를 비교하였을 때, KGB- I 음료에 비해 KGB- II 음료의 전체적인 기호도, 향, 후미 기호도는 증가했으며, 쓴맛의 강도는 줄어들었다. 결과적으로 2종의 개발 홍삼음료에 첨가되는 홍삼농축액이 살균과정을 거치면 향과 후미 기호도의 안정화와 쓴맛 강도의 저하를 유도시킴으로써 종합적 기호도가 높게 평가되었으므로 90°C, 1시간으로 살균한 홍삼농축액을 기본 베이스로 하여 2종의 개발 홍삼음료를 제조하였다.

(2) 저온 및 고온살균 한 음료의 특성 분석 및 기호도 평가

홍삼음료 제조 기준(홍삼사포닌 70 mg/g 기준 0.15 %이상)으로 살균한 홍삼농축액을 기본 베이스로 하고, 여러 가지 부첨가물을 혼합하여 만든 KGB- I, II 음료를 살균하지 않은 대조군(CON)과 65°C 10분, 65°C 30분, 90°C 30초, 90°C 60초 등 저온 및 고온살균 조건에 따라 제조하여 맛의 강도 및 기호도 평가를 실시하였다(표 66-69).

표 66. 살균 조건에 따른 KGB- I 음료의 특성 분석.

		pH	적정산도 (%)	°Brix	투광도 (%T)	수분함량 (%)	색도			
							L	a	b	
KGB- I	CON	3.26	0.058	5.4	82.9	6.197	94.30	-0.27	0.32	
	65°C	10분	3.25	0.068	5.4	74.5	5.903	94.40	-0.29	0.24
		30분	3.22	0.064	5.3	73.0	5.897	94.90	-0.28	0.28
	90°C	30초	3.21	0.052	5.3	71.9	5.404	95.36	-0.49	0.70
		60초	3.23	0.055	5.3	72.0	5.698	95.77	-0.47	0.61

표 67. 살균 조건에 따른 KGB- I 음료의 기호도 평가.

		CON	65°C		90°C	
			10분	30분	30초	60초
원료 (%)	선택적 홍삼농축액(B)			0.09		
	인삼향			0.04		
	천연 복합과실향(A)			0.15		
	구연산			0.05		
	백설탕			5.8		
	정제수			93.87		
기호도 평가 항목	향	6.53±1.07 <sup>a</sup>	5.89±1.63 <sup>a</sup>	6.65±0.49 <sup>a</sup>	6.71±0.92 <sup>a</sup>	6.24±1.44 <sup>a</sup>
	단맛	6.06±1.43 <sup>a</sup>	5.88±1.62 <sup>a</sup>	6.41±1.42 <sup>a</sup>	6.47±1.12 <sup>a</sup>	5.97±1.48 <sup>a</sup>
	신맛	5.06±2.14 <sup>a</sup>	5.06±2.44 <sup>a</sup>	4.92±2.34 <sup>a</sup>	4.00±2.03 <sup>a</sup>	4.17±2.23 <sup>a</sup>
	쓴맛	3.71±2.20 <sup>a</sup>	3.71±1.72 <sup>a</sup>	2.94±1.43 <sup>a</sup>	3.29±1.76 <sup>a</sup>	3.46±2.15 <sup>a</sup>
	후미	5.53±1.74 <sup>a</sup>	5.35±2.03 <sup>a</sup>	5.71±1.79 <sup>a</sup>	6.65±1.06 <sup>a</sup>	6.15±1.50 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	5.88±1.45 <sup>ab</sup>	5.00±1.87 <sup>b</sup>	6.18±1.42 <sup>ab</sup>	6.47±1.23 <sup>a</sup>	6.24±1.79 <sup>ab</sup>

KGB-I 음료를 살균하지 않은 대조군(CON)과 저온 및 고온살균 조건에 따라 살균하여 특성 분석한 결과, pH는 3.21~3.26 수준으로 고온살균 조건에서 약간 감소하였으며, 적정산도(%)도 큰 차이를 보이지 않았으나 pH와 마찬가지로 고온살균 조건이 0.055%로 대조군의 0.058%와 비슷한 수준을 나타내었다. 당도(°brix)는 5.3°brix대로 비슷한 수준이었으며, 투광도(% T)는 살균하지 않은 대조군이 82.9 %T로 저온 및 고온살균한 조건의 70~80 %T 범위로 약간 감소하였으며, 이는 살균하면 색이 조금 연해지기 때문인 것으로 사료되며, 특히 90°C 30초군의 투광도가 71.9%로 가장 낮았다. 가용성 고형분 함량(%)은 대조군에 비하여 0.2~0.8% 감소하였으며 그중 90°C 30초로 살균한 군이 5.4%로 가장 적게 나타났다. 색도는 저온 살균 조건은 대조군과 비슷한 수준이며 황색도 값이 0.04~0.08 정도 감소하였으며, 고온 살균 조건은 대조군에 비하여 적색도 값이 0.2정도 감소하였다.

기호도 평가를 실시한 결과, 종합적 기호도는 90°C 30초로 살균한 군이 가장 좋은 점수를 기록했고, 그 뒤를 90°C 60초, 65°C 30분, 대조군, 65°C 10분군 순서대로 나타났다. 향, 단맛, 신맛 기호도는 65°C 10분군이 가장 낮은 점수를 받았으며, 고온 살균한 조건에서 신맛 기호도 점수가 낮게 나타났다. 그러나 후미 기호도는 고온 살균한 군이 좋은 점수를 받았다. 전체적으로 저온 살균 조건 중 65°C 10분군의 기호도 점수가 낮게 나타났으며, 살균처리 하지 않은 대조군에 비하여 고온 살균 조건의 기호도 점수가 높게 나타났다. 이 결과로 65°C 10분군을 제외한 나머지 군 조건으로 추후 저장성 실험을 진행하였다.

표 68. 살균 조건에 따른 KGB-II 음료의 특성 분석.

	pH	적정산도 (%)	°brix	투광도 (%T)	수분함량 (%)	색도			
						L값	a값	b값	
CON	3.12	0.090	6.6	54.9	6.310	72.93	24.14	10.63	
KGB-II 65°C	10분	3.12	0.089	6.7	51.9	5.201	71.45	26.98	13.02
	30분	3.10	0.084	6.7	52.2	5.499	71.55	26.68	13.04
90°C	30초	3.10	0.096	6.7	53.5	5.111	70.87	27.28	13.13
	60초	3.10	0.096	6.7	54.8	6.209	71.20	27.00	12.48

표 69. 살균 조건에 따른 KGB-II 음료의 기호도 평가.

		CON	65°C		90°C	
			10분	30분	30초	60초
원료 (%)	선택적 홍삼농축액(B)			0.09		
	인삼향			0.04		
	천연 복합과실향(B)			0.15		
	블루베리농축액			0.46		
	라즈베리농축액			0.09		
	구연산			0.04		
	백설탕			5.8		
	정제수			93.88		
기호도 평가 항목	향	6.33±1.64 <sup>a</sup>	6.28±1.64 <sup>a</sup>	6.45±1.49 <sup>a</sup>	6.78±1.35 <sup>a</sup>	6.56±1.15 <sup>a</sup>
	단맛	6.00±1.57 <sup>a</sup>	6.00±1.64 <sup>a</sup>	6.03±1.21 <sup>a</sup>	6.67±1.68 <sup>a</sup>	6.56±1.62 <sup>a</sup>
	후미	6.17±1.58 <sup>a</sup>	6.11±1.37 <sup>a</sup>	5.76±1.46 <sup>a</sup>	6.44±1.34 <sup>a</sup>	6.28±1.49 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	5.94±1.51 <sup>a</sup>	6.06±1.59 <sup>a</sup>	6.08±1.11 <sup>a</sup>	6.50±1.29 <sup>a</sup>	6.67±1.57 <sup>a</sup>

KGB-II 음료를 살균 하지 않은 대조군(CON)과 저온 및 고온살균 조건에 따라 살균하여 특성 분석한 결과, KGB-I 음료에 비하여 pH는 낮게 나타났으며, 살균하지 않은 대조군에 비해 pH가 0.02 정도 근소한 차이로 감소하였다. 적정산도(%)는 KGB-I 음료에 비해 높은 값을 나타내었으며, 살균하지 않은 대조군이 0.090%인데 비해 저온살균한 군은 0.084~0.089%로 근소한 차이로 감소하였으나, 고온살균한 군은 0.096%로 약간 증가하였다. 당도(°brix)도 KGB-I에 비해 약 1.3 정도 높게 나타났으나 살균조건에 따른 차이를 나타내지 않았다. 투광도(% T)는 KGB-II 음료가 KGB-I 음료에 비해 낮았으며, 전반적으로 50 %T 범위였다. KGB-II 음료의 색이 자주빛을 띄며 전체적으로 어둡기 때문에 KGB-I에 비하여 낮게 관찰되었다.

가용성 고형분 함량(%)은 대조군에 비하여 저온 및 고온 살균한 조건에서 0.8~1.2% 감소하여 KGB-I 음료에 비하여 변화가 컸지만 큰 차이를 나타내지 않았다. 색도는 대조군에 비해 살균한 조건이 명도인 L값은 약간 감소하였지만, 적색도인 a값과 황색도인 b값이 전체적으로 증가하는 경향을 보였으며, 저온살균보다 고온살균한 군의 적색도 값이 2~3 증가하였다.

기호도 평가를 실시한 결과, 종합적 기호도는 90°C 60초군이 가장 좋은 점수를 기록하였으며, 대조군 및 저온 살균조건에 비해 고온 살균조건인 점수가 높게 나타났다. 향, 단맛, 후미 기호도의 경우 고온 살균 조건 중 90°C 30초군의 점수가 높게 나타났다. 저

은 살균 조건 중 65°C 30분군의 경우 오랜 시간 살균하다보니 단맛과 후미가 감소하는 경향을 나타내었다.

이에 따라 안정적인 결과를 보인 저온 장시간대인 65°C 30분, 고온 단시간대인 90°C 30초, 60초 살균 조건을 최종적으로 선정하여 살균하여 4°C 냉장, 25°C 상온에 보관하여 저장기간별 pH, 산도, 당도, 투광도, 가용성 고형분 함량, 색도 등 이화학적 특성 변화를 평가하였다.

## 6. 미주부합형 음료의 저장조건에 따른 특성 및 미생물 분석 결과

가. 저장 조건에 따른 특성 분석

(1) 저장 조건이 pH에 미치는 영향

(가) 냉장보관 (4°C)

2종의 개발 음료를 저온 및 고온살균조건에 따라 살균한 뒤, 냉장 및 상온보관하면서 저장기간에 따라 이화학적 특성을 평가하였다(표 70, 그림 30). 냉장보관 한 KGB- I, II 음료 모두 저장기간이 길어짐에 따라 pH가 다소 감소하였지만 유의적인 차이가 관찰되지 않았으며, 살균조건에 따른 차이는 확인되지 않았다.

표 70. 냉장보관 한 음료의 pH 변화.

일 time		KGB- I							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	3.03±0.000	2.99±0.007	2.98±0.007	2.97±0.007	2.92±0.007	2.94±0.007	2.86±0.007	2.84±0.007
90°C	30초	3.03±0.007	2.98±0.007	2.97±0.007	2.97±0.007	2.93±0.007	2.93±0.007	2.87±0.007	2.85±0.007
	60초	3.02±0.007	2.97±0.007	2.96±0.007	2.98±0.007	2.92±0.007	2.94±0.000	2.85±0.000	2.84±0.007
일 time		KGB- II							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	3.00±0.007	2.97±0.007	2.93±0.007	2.94±0.007	2.92±0.007	2.90±0.007	2.83±0.000	2.82±0.007
90°C	30초	3.01±0.007	3.00±0.007	2.94±0.007	2.95±0.007	2.88±0.007	2.92±0.007	2.82±0.007	2.80±0.000
	60초	3.01±0.007	3.00±0.007	2.94±0.007	2.95±0.007	2.89±0.007	2.90±0.000	2.82±0.000	2.81±0.007

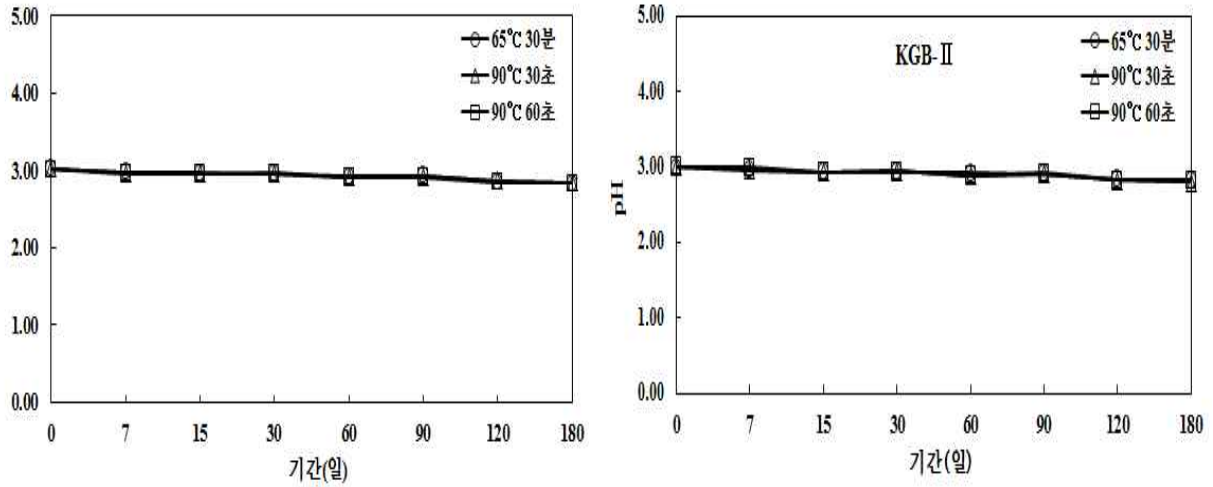


그림 30. 냉장보관 한 음료의 pH 변화.

(나) 상온보관 (25°C)

상온보관 한 KGB-I, II 음료의 경우도 냉장보관 결과와 마찬가지로 저장기간이 길어짐에 따라 pH가 점차 낮아졌으나 큰 차이를 보이지 않았다(표 71, 그림 31). KGB-I 음료에 비해 KGB-II 음료의 pH의 감소 차이가 약간 크게 나타났으며, 특히 90일째 이후부터 약 0.1의 변화가 확인되었으나, 2종의 음료 모두 살균조건에 따른 차이를 보이지 않았다. 음료는 저장기간 180일까지 pH 3.1 이하를 유지하는 것으로 확인되었다.

표 71. 상온보관 한 음료의 pH 변화.

일 time		KGB-I							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	3.03±0.000	3.04±0.007	2.95±0.007	2.94±0.007	2.91±0.007	2.90±0.000	2.83±0.007	2.81±0.007
90°C	30초	3.03±0.007	3.03±0.007	2.94±0.007	2.94±0.007	2.90±0.007	2.93±0.007	2.83±0.007	2.82±0.007
	60초	3.02±0.007	3.03±0.007	2.94±0.007	2.93±0.007	2.90±0.007	2.93±0.007	2.82±0.007	2.83±0.007
일 time		KGB-II							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	3.00±0.007	3.02±0.007	2.91±0.007	2.92±0.007	2.87±0.007	2.89±0.000	2.79±0.007	2.77±0.007
90°C	30초	3.01±0.007	3.00±0.007	2.91±0.007	2.91±0.007	2.87±0.007	2.91±0.007	2.80±0.000	2.79±0.000
	60초	3.01±0.007	3.00±0.007	2.91±0.007	2.90±0.007	2.87±0.007	2.89±0.007	2.80±0.007	2.81±0.007

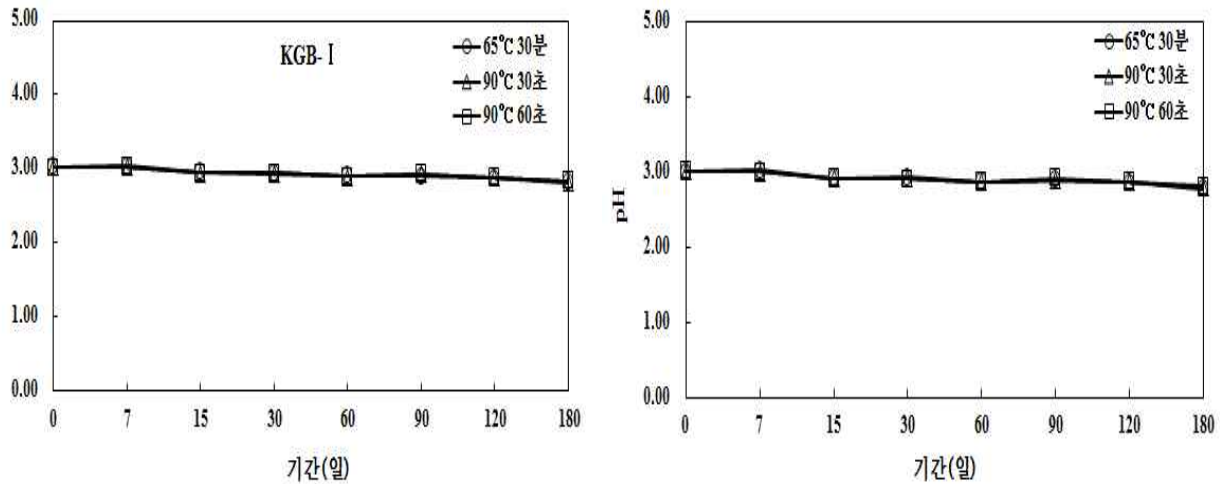


그림 31. 상온보관 한 음료의 pH 변화.

(2) 저장 조건이 산도에 미치는 영향

(가) 냉장보관 (4°C)

살균 조건 및 저장기간에 따라 KGB-I 음료의 산도는 65°C 처리군에서 0.046~0.080%, 90°C 처리군에서 0.050~0.074%의 분포를 나타내었으며, KGB-II 음료의 산도는 65°C 처리군에서 0.086~0.106%, 90°C 처리군에서 0.090~0.103%으로 확인되었다 (표 72, 그림 32). KGB-I 음료의 경우 65, 90°C 처리군 모두 산도가 낮아지는 경향을 확인하였으나 120일 기준으로 0일 대비 16%, 17%, 8%가 감소되었기 때문에 미생물, 관능검사에 대한 검증이 필요할 것으로 확인되었다. 과실농축액이 함유되어 KGB-I에 비해 상대적으로 산도가 높은 KGB-II 음료는 산도가 떨어지지 않음을 확인하였다.

표 72. 냉장보관 한 음료의 산도 변화.

time \ 일		KGB-I							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	0.080	0.067	0.055	0.046	0.059	0.064	0.067	0.066
	90°C	30초	0.070	0.058	0.050	0.056	0.061	0.058	0.058
	60초	0.067	0.067	0.061	0.061	0.074	0.067	0.061	0.058
time \ 일		KGB-II							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	0.086	0.099	0.086	0.099	0.099	0.106	0.096	0.093
	90°C	30초	0.099	0.093	0.096	0.099	0.106	0.090	0.103
	60초	0.103	0.099	0.106	0.106	0.099	0.096	0.106	0.099



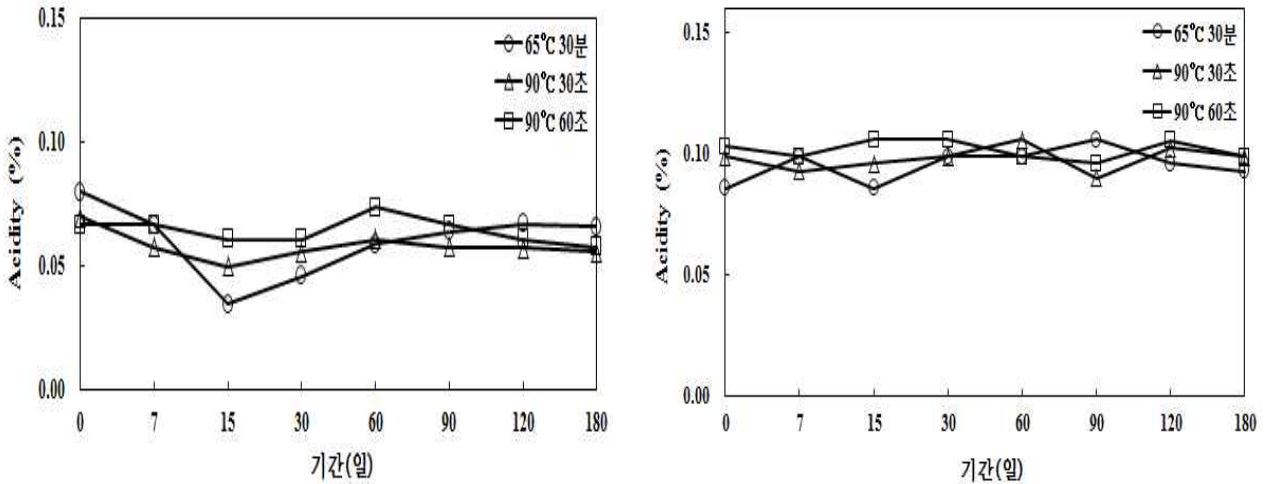


그림 32. 냉장보관 한 음료의 산도 변화.

(나) 상온보관 (25°C)

냉장보관 결과와 마찬가지로 KGB-I 음료에 한해서 산도가 12~20% 감소하는 경향이 확인되었고, 65°C 처리군에서 0.055~0.080%, 90°C 처리군에서 0.058~0.074%의 분포를 나타내었으며, 고온살균 중 90°C 30초군의 산도가 점점 감소되었다. KGB-II 음료의 산도는 65°C 처리군에서 0.086~0.106%, 90°C 처리군에서 0.093~0.106%로 확인되었으며, 저온살균의 경우가 고온살균 조건보다 약간 낮게 관찰되었다. KGB-II에서는 감소가 확인되지 않았다(표 73, 그림 33). 산도의 변화는 살균온도와 시간이 영향을 미치기 보다는 음료 구성성분 중 과실농축액에서 유래하는 산도에 의한 영향이 미치는 것으로 예상된다.

표 73. 상온보관 한 음료의 산도 변화.

일 time		KGB-I								
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일	
65°C	30분	0.080	0.077	0.056	0.086	0.061	0.067	0.064	0.064	
	90°C	30초	0.070	0.064	0.067	0.067	0.074	0.067	0.061	0.061
		60초	0.067	0.061	0.067	0.061	0.077	0.058	0.058	0.070
일 time		KGB-II								
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일	
65°C	30분	0.086	0.096	0.103	0.096	0.106	0.103	0.099	0.093	
	90°C	30초	0.099	0.093	0.099	0.099	0.112	0.106	0.109	0.103
		60초	0.103	0.103	0.109	0.099	0.115	0.099	0.099	0.106

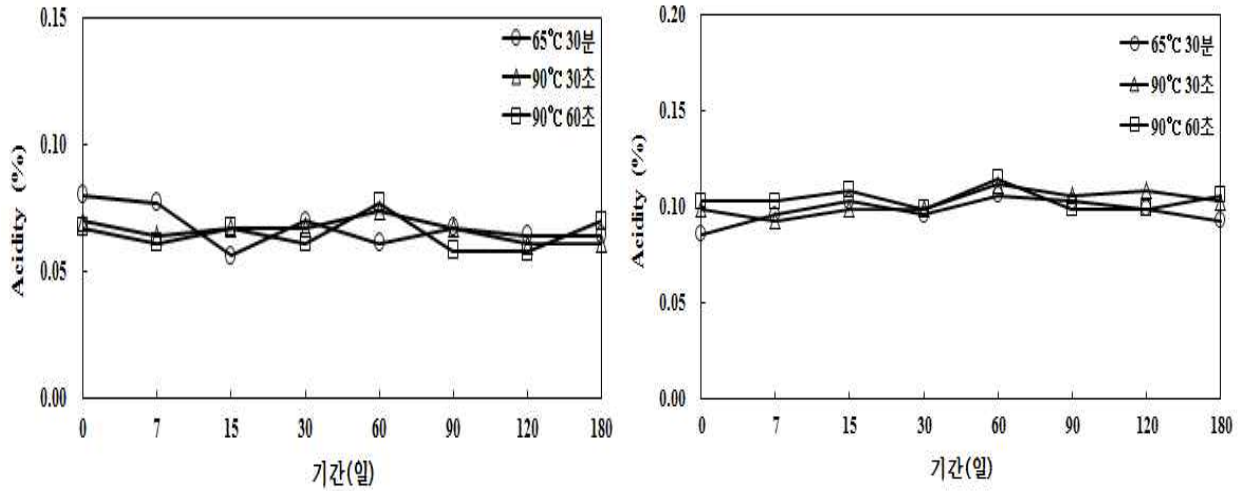


그림 33. 상온보관 한 음료의 산도 변화.

(3) 저장 조건이 당도에 미치는 영향

(가) 냉장보관 (4°C)

2종의 개발 음료의 당도를 측정하여 비교한 결과, KGB-I 음료는 저장기간이 길어짐에 따라 당도가 점차 증가하여 0일에 5.1~5.2°brix, 120일이 경과한 후에 약 20%가 증가하여 6.0~6.1°brix가 확인되었으며, 살균조건에 따른 차이는 나타나지 않았다 (표 74, 그림 34). KGB-II 음료의 경우 KGB-I 음료 보다는 과일농축액 함량의 영향으로 당도가 높았으며, 0일에 6.4°brix, 180일이 경과한 후에 약 15% 증가하였으며, 저장기간 경과에 다른 당도 변화는 관찰되지 않았다.

표 74. 냉장보관 음료의 당도 변화.

일 time		KGB-I								
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일	
65°C	30분	5.2±0.0	5.1±0.0	6.0±0.0	5.7±0.1	5.9±0.0	5.8±0.0	6.1±0.0	6.0±0.0	
	90°C	30초	5.1±0.0	5.1±0.0	5.9±0.0	5.7±0.0	5.9±0.0	5.7±0.1	6.0±0.0	6.1±0.0
		60초	5.2±0.1	5.1±0.0	5.9±0.1	5.7±0.0	5.8±0.0	5.8±0.0	6.1±0.0	6.1±0.0
일 time		KGB-II								
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일	
65°C	30분	6.4±0.1	6.3±0.1	6.8±0.0	6.9±0.0	6.7±0.1	6.8±0.0	6.6±0.0	6.5±0.0	
	90°C	30초	6.4±0.0	6.3±0.1	6.7±0.0	6.8±0.1	6.8±0.0	6.8±0.0	6.6±0.0	6.6±0.0
		60초	6.4±0.0	6.2±0.0	6.7±0.0	6.8±0.1	6.7±0.0	6.8±0.0	6.6±0.0	6.5±0.0

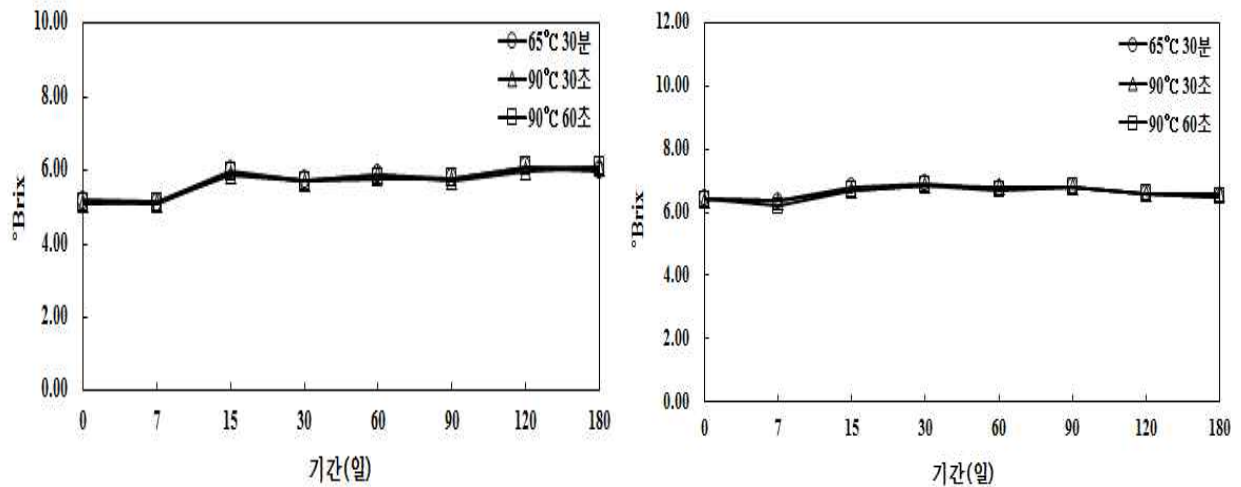


그림 34. 냉장보관한 음료의 당도 변화.

(나) 상온보관 (25°C)

상온보관 한 음료의 당도를 측정한 결과, 냉장보관 결과와 유사한 결과가 확인되었는데, KGB-I 음료의 경우 저장기간이 길어짐에 따라 당도가 점차 증가하여 0일에 5.1~5.2°brix, 120일이 경과한 후에 약 20%가 증가하여 6.0~6.1°brix가 확인되었으며, KGB-II 음료의 경우 제조시에 6.4°brix, 180일이 경과한 후에 6.6~6.7°brix,로 KGB-I 음료에 비해 0.5~0.7°brix 높게 관찰되었다(표 75, 그림 35).

표 75. 상온보관 한 음료의 당도 변화.

일 time		KGB- I								
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일	
65°C	30분	5.2±0.0	5.2±0.0	6.0±0.0	5.7±0.0	5.8±0.0	5.9±0.0	6.1±0.0	6.0±0.0	
	90°C	30초	5.1±0.0	5.2±0.0	5.9±0.0	5.7±0.1	5.8±0.0	5.9±0.1	6.1±0.0	6.0±0.0
		60초	5.1±0.1	5.2±0.0	6.0±0.0	5.8±0.0	5.8±0.0	5.9±0.1	6.1±0.0	6.1±0.0
일 time		KGB- II								
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일	
65°C	30분	6.4±0.1	6.3±0.0	6.7±0.0	6.8±0.0	6.8±0.0	6.8±0.1	6.7±0.0	6.6±0.0	
	90°C	30초	6.4±0.0	6.2±0.0	6.7±0.0	6.9±0.0	6.8±0.0	6.8±0.0	6.7±0.0	6.7±0.0
		60초	6.4±0.0	6.2±0.0	6.7±0.0	6.9±0.1	6.8±0.0	6.9±0.0	6.7±0.0	6.6±0.0

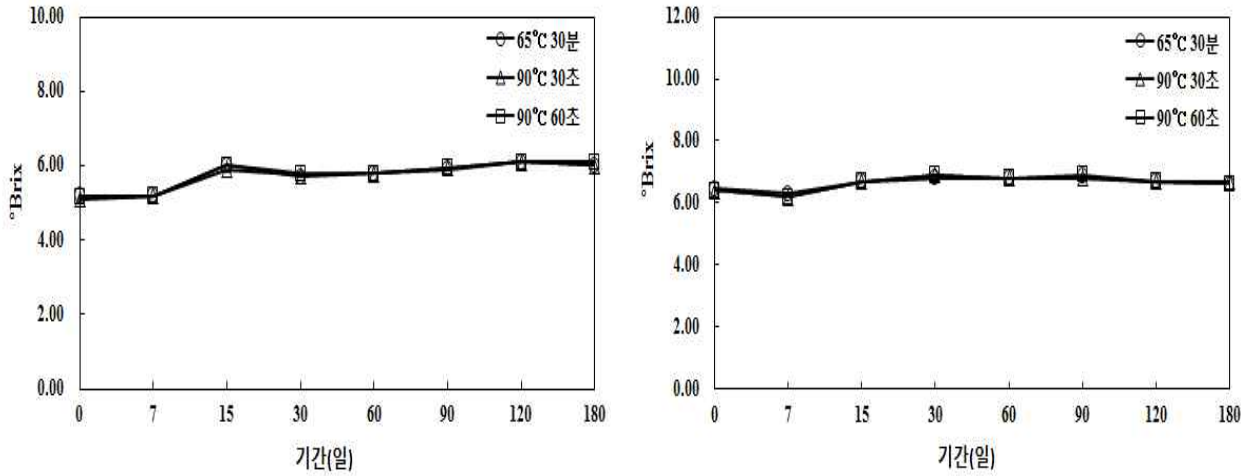


그림 35. 상온보관 한 음료의 당도 변화.

(4) 저장 조건이 투광도에 미치는 영향

(가) 냉장보관 (4°C)

590nm에서 음료의 투광도를 측정한 결과, KGB-I 음료는 65°C 처리군에서 7일이 경과한 이후 투광도가 5~6 %T 감소하였으며, 90°C 처리군도 2~4 %T 감소하였다(표 76, 그림 36). KGB-II 음료는 KGB-I 음료에 비해 투광도가 20~25 %T정도 낮은 수치를 보였으며, 90°C 30초군이 15일이 경과한 이후 67.0 %T로 가장 낮은 값이 관찰되었으나, 살균조건에 따른 차이는 확인되지 않았다.

표 76. 냉장보관 한 음료의 투광도 변화.

일 time		KGB- I							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	90.13±0.50	94.40±0.10	88.87±0.20	89.03±0.40	89.73±0.11	89.73±0.50	91.17±0.05	90.47±0.05
	90°C	92.77±0.15	94.87±0.25	92.17±0.28	90.63±0.15	90.37±0.15	90.17±0.66	90.87±0.05	90.70±0.10
	60초	92.57±0.25	95.83±0.25	91.73±0.15	91.27±0.05	90.43±0.25	90.07±0.35	89.70±0.20	89.30±0.10
일 time		KGB- II							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	67.40±0.00	70.23±0.15	69.90±0.85	70.10±0.10	70.40±0.26	69.40±0.00	71.30±0.10	70.93±0.15
	90°C	68.47±0.46	69.93±0.15	67.03±0.11	70.70±0.10	68.83±0.11	67.83±0.30	67.83±0.20	66.63±0.15
	60초	67.97±0.06	68.80±0.10	68.87±0.05	68.70±0.36	73.00±0.45	67.23±0.23	67.93±0.15	67.73±0.25

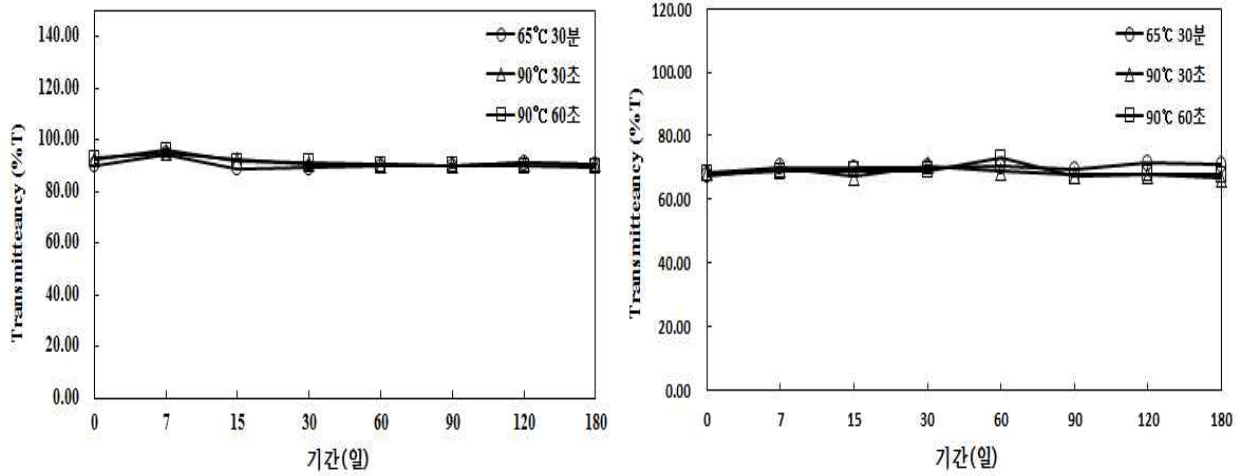


그림 36. 냉장보관 한 음료의 투광도(%T) 변화.

(나) 상온보관 (25°C)

상온보관 하였을 때 음료의 투광도를 측정 한 결과, KGB- I 는 냉장보관 하였을 때와 마찬가지로 7일 이후 약 5 %T 감소하여 변화의 폭이 컸으며, 65°C 처리군이 90°C 처리군에 비하여 투광도가 낮게 관찰되었으며, 120일이 경과한 후 투광도는 점점 낮아짐을 확인하였다. KGB- II 음료는 냉장보관 하였을 때보다 투광도 값이 감소하는 경향을 나타내었으나 살균조건에 따른 차이를 보이지 않았다.

표 77. 상온보관 한 음료의 투광도 변화.

일 / time		KGB- I							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	90.13±0.50	90.97±0.49	85.17±0.35	84.70±0.10	85.17±0.11	86.63±0.32	83.40±0.10	82.40±0.20
90°C	30초	92.77±0.15	93.07±0.20	88.37±0.25	88.77±0.23	86.60±0.20	85.40±0.30	85.00±0.96	83.60±0.10
	60초	92.57±0.25	91.67±0.41	86.73±0.15	89.03±0.25	86.40±0.10	87.17±0.11	86.30±0.17	86.50±0.20
일 / time		KGB- II							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	67.40±0.00	69.70±0.50	67.20±0.26	67.80±0.26	67.97±0.11	66.33±0.37	67.27±0.15	67.00±0.10
90°C	30초	68.47±0.46	70.00±0.34	67.73±0.20	71.40±0.10	69.60±0.52	66.93±0.30	67.17±0.15	66.67±0.20
	60초	67.97±0.06	70.50±0.17	69.10±0.52	70.83±0.05	69.13±0.35	67.77±0.25	66.77±0.11	66.43±0.20

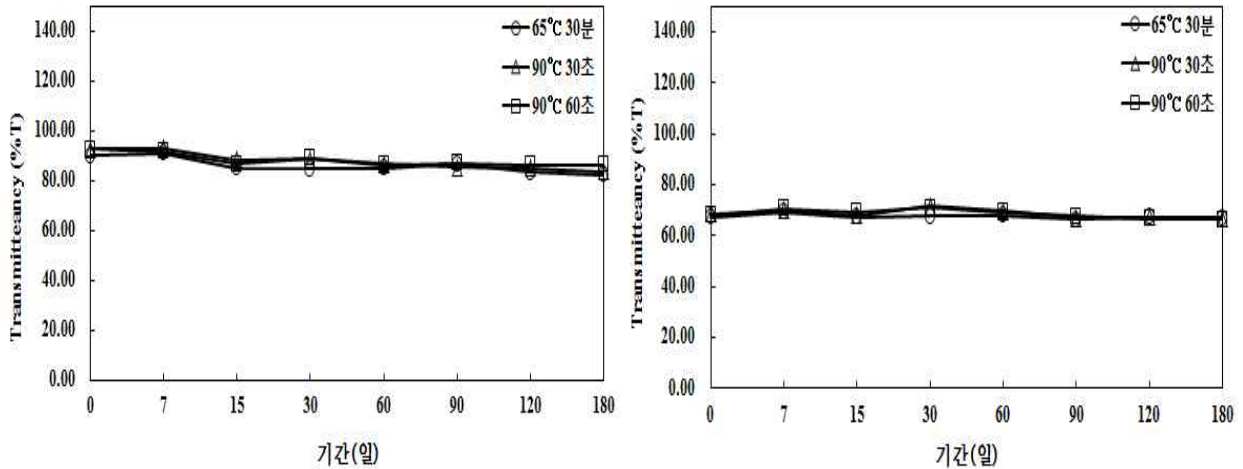


그림 37. 상온보관 한 음료의 투광도(%T) 변화.

(5) 저장 조건이 흡광도에 미치는 영향

(가) 냉장보관 (4°C)

KGB- I, II 음료의 흡광도를 측정된 결과, KGB- I 음료 중 65°C 처리군의 경우 0일(0.141 O.D.) 이후 저장기간이 경과함에 따라 흡광도가 감소하였고 180일이 경과 후에는 흡광도가 0.118 O.D.로 관찰되었다. 하지만, 90°C 처리군의 경우 흡광도의 변화가 크게 관찰되지 않았다(표 78, 그림 38).

KGB- II 음료는 과실농축액 함유의 영향으로 초기 흡광도가 KGB- I 음료에 비해 높은 수치(약 0.3 O.D.)가 확인되었으며, 흡광도의 변화 양상은 KGB- I 음료와 마찬가지로 살균조건에 따른 변화가 없었다.

표 78. 냉장보관 한 음료의 흡광도 변화.

일		KGB- I							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	0.141±0.002	0.101±0.003	0.129±0.001	0.134±0.003	0.114±0.002	0.111±0.002	0.119±0.001	0.118±0.001
90°C	30초	0.120±0.001	0.102±0.002	0.102±0.002	0.129±0.001	0.117±0.002	0.144±0.040	0.121±0.001	0.122±0.001
	60초	0.126±0.002	0.098±0.001	0.110±0.002	0.125±0.002	0.123±0.001	0.114±0.005	0.135±0.001	0.132±0.003
일		KGB- II							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	0.438±0.001	0.403±0.002	0.403±0.004	0.405±0.002	0.394±0.001	0.394±0.002	0.390±0.002	0.382±0.004
90°C	30초	0.436±0.001	0.407±0.001	0.420±0.001	0.398±0.002	0.409±0.001	0.413±0.004	0.425±0.001	0.423±0.002
	60초	0.414±0.002	0.418±0.002	0.410±0.001	0.415±0.002	0.378±0.002	0.421±0.001	0.419±0.001	0.417±0.002

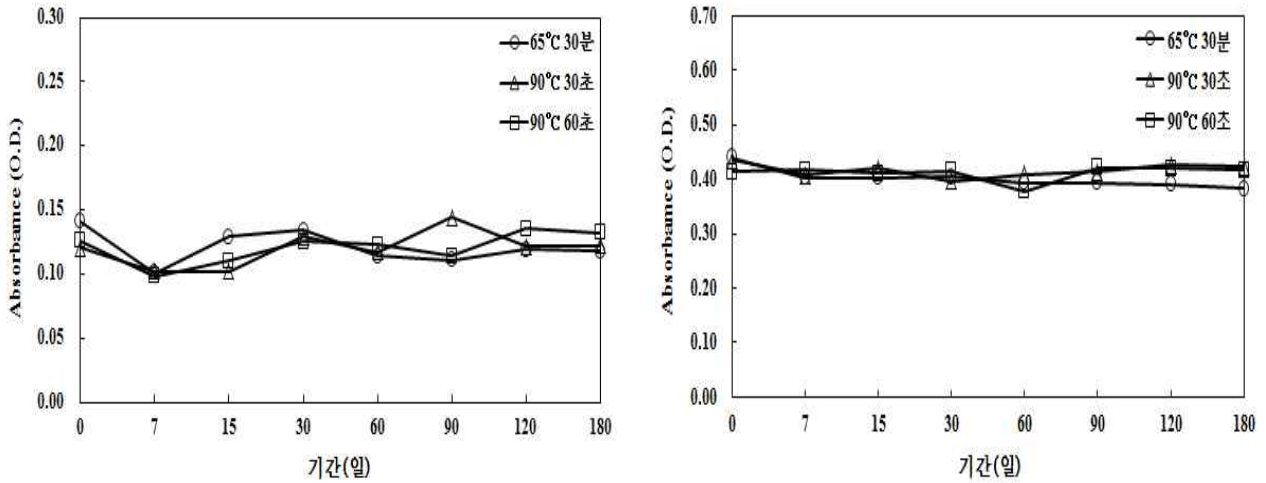


그림 38. 냉장보관 한 음료의 흡광도 변화.

(나) 상온보관 (25°C)

냉장보관 했을 때에 비해 상온보관 했을 때 약 30 O.D.정도 높은 경향을 나타내었고, 수치가 완만한 변화를 나타내었으며, KGB- I 음료는 60일까지 완만한 수치를 보이다가 90일째 흡광도 수치가 하락하다가 120일이 경과한 이후 증가하는 경향이 확인되었다.

반면 KGB- II 음료는 모든 살균조건에서 비슷한 경향을 나타냈으며, 120일 경과한 이후 초기에 비해 0.06~0.09 O.D. 정도 증가하였다. 저장기간에 따른 흡광도는 KGB- I 음료에 비해 KGB- II 음료의 변화차이가 적었으며, 두 음료 모두 살균조건에 따른 변화가 크지 않았다.(표 79, 그림 39).

표 79. 상온보관 한 음료의 흡광도 변화.

일 time		KGB- I							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	0.141±0.002	0.135±0.004	0.156±0.002	0.157±0.001	0.156±0.002	0.139±0.002	0.168±0.002	0.167±0.002
	30초	0.120±0.001	0.121±0.001	0.126±0.002	0.145±0.002	0.143±0.002	0.147±0.003	0.154±0.001	0.153±0.001
90°C	60초	0.126±0.002	0.135±0.003	0.141±0.002	0.148±0.002	0.150±0.001	0.134±0.001	0.154±0.002	0.153±0.002
	일 time		KGB- II						
0일			7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	0.438±0.001	0.430±0.004	0.432±0.003	0.456±0.001	0.469±0.001	0.570±0.004	0.504±0.001	0.502±0.002
	30초	0.436±0.001	0.425±0.001	0.435±0.002	0.444±0.002	0.459±0.004	0.497±0.000	0.525±0.006	0.523±0.001
90°C	60초	0.414±0.002	0.426±0.001	0.424±0.001	0.443±0.002	0.464±0.002	0.488±0.002	0.513±0.001	0.512±0.002

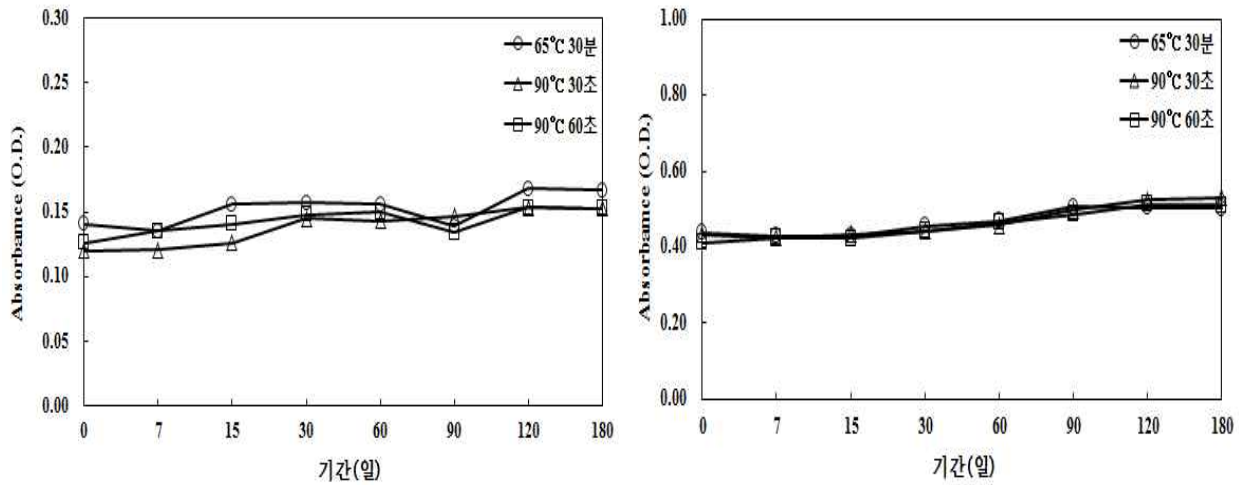


그림 39. 상온보관 한 음료의 흡광도 변화

(6) 저장 조건이 수분 함량에 미치는 영향

(가) 냉장보관 (4°C)

수분 함량은 냉장보관 하였을 때 KGB-I 음료는 65°C 처리군은 30일에 3.85%로 전과 대비 약 0.8% 함량이 감소하였으며 90일 이후부터 수분 함량이 증가하는 경향을 나타내었다(표 80, 그림 40).

KGB-II 음료의 경우 KGB-I 음료의 수분 함량이 약 1~2% 많게 나왔으며, 0일 대비 7일째 함량이 약 0.5% 감소하였다가 30일에 전과 대비 약 0.5~0.8% 함량이 증가하였으나 그 이후에 완만한 수치를 나타냈다. KGB-I 음료에 비해 KGB-II 음료의 수분 함량이 많다는 것을 확인하였다.

표 80. 냉장보관 한 음료의 수분 함량 변화.

일 time		KGB- I							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	4.953±0.215	4.099±0.985	4.648±0.494	3.850±0.212	4.599±0.285	5.198±0.281	5.299±0.281	5.237±0.293
	30초	4.499±0.280	3.851±0.071	4.020±1.156	4.401±0.278	3.772±0.469	4.463±0.095	5.197±0.000	5.189±0.003
90°C	60초	5.000±0.277	4.502±0.139	3.997±0.851	4.401±0.005	4.398±0.564	4.949±0.207	4.741±0.109	4.734±0.098
일 time		KGB- II							
		0 일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	5.535±1.362	4.809±0.134	5.597±0.139	6.348±0.069	5.897±0.139	6.454±0.070	5.964±0.199	5.984±0.170
	30초	7.006±0.437	5.752±0.212	5.846±0.071	6.347±0.209	6.301±0.421	6.414±0.124	5.241±0.931	5.866±0.051
90°C	60초	5.601±0.004	5.554±0.921	5.450±0.068	6.300±0.004	5.453±1.488	6.399±0.146	5.556±0.481	5.575±0.479



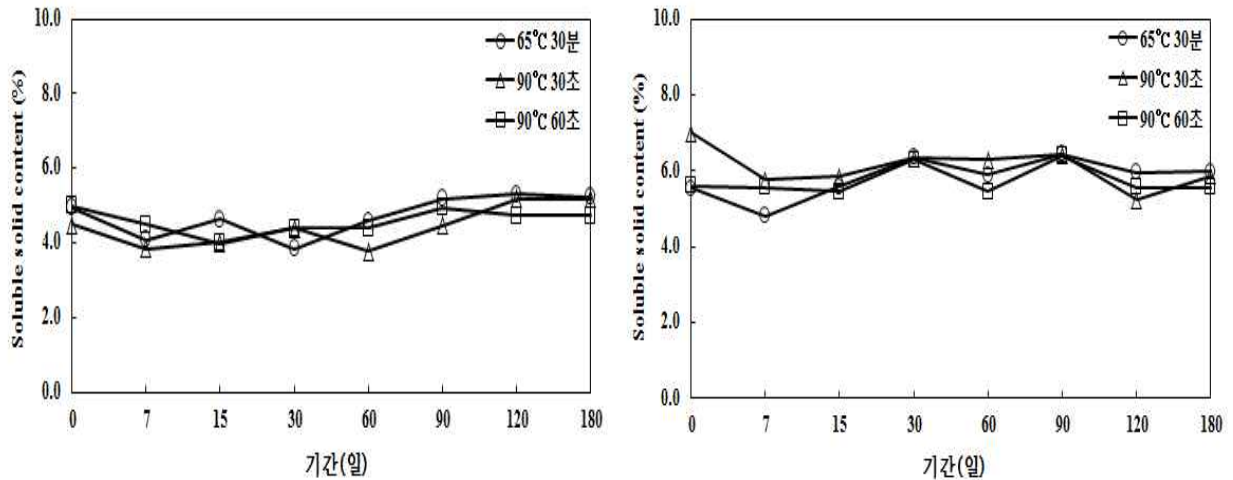


그림 40. 냉장보관 한 음료의 수분 함량 변화.

(나) 상온보관 (25°C)

상온보관 하였을 때와 냉장보관과 큰 차이를 나타내지 않았다(표 81, 그림 41). KGB- I 음료의 경우 30일에 65°C 처리군 전과 대비 약 0.7% 함량이 증가하였고, 90°C 처리군은 전과 대비 약 0.1~0.3% 함량이 감소하였다가 저장기간이 길어짐에 따라 증가하다가 180일이 경과된 이후 약 0.5~0.7% 감소하였다.

KGB- II 음료의 경우 90°C 30초군의 변화의 폭이 가장 크게 나타났으며, 살균조건에 따른 차이가 크게 나타나지 않았으며, 냉장보관 하였을 때와 비교했을 때 상온보관 하였을 때 변화의 폭이 더 큰 것을 확인할 수 있었다.

표 81. 상온보관 한 음료의 수분 함량 변화.

time \ 일		KGB- I							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	4.953±0.215	4.796±0.423	4.254±0.490	4.951±0.068	5.196±0.001	4.900±0.142	4.847±0.351	4.833±0.350
90°C	30초	4.499±0.280	4.648±0.069	3.911±0.583	3.899±0.852	4.953±0.071	5.048±0.068	4.552±0.356	4.538±0.349
	60초	5.000±0.277	4.753±0.213	4.355±0.749	3.948±0.074	4.743±0.219	4.949±0.214	4.299±0.424	4.314±0.462
time \ 일		KGB- II							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
65°C	30분	5.535±1.362	5.598±0.140	5.448±0.492	5.653±0.494	5.999±0.421	6.052±0.075	5.901±0.288	5.889±0.271
90°C	30초	7.006±0.437	6.052±0.353	4.675±0.249	6.497±0.281	4.951±1.343	6.150±0.076	6.039±0.367	6.033±0.366
	60초	5.601±0.004	5.398±0.845	5.003±1.275	5.247±0.919	5.351±1.630	6.501±0.429	6.163±0.086	6.136±0.064

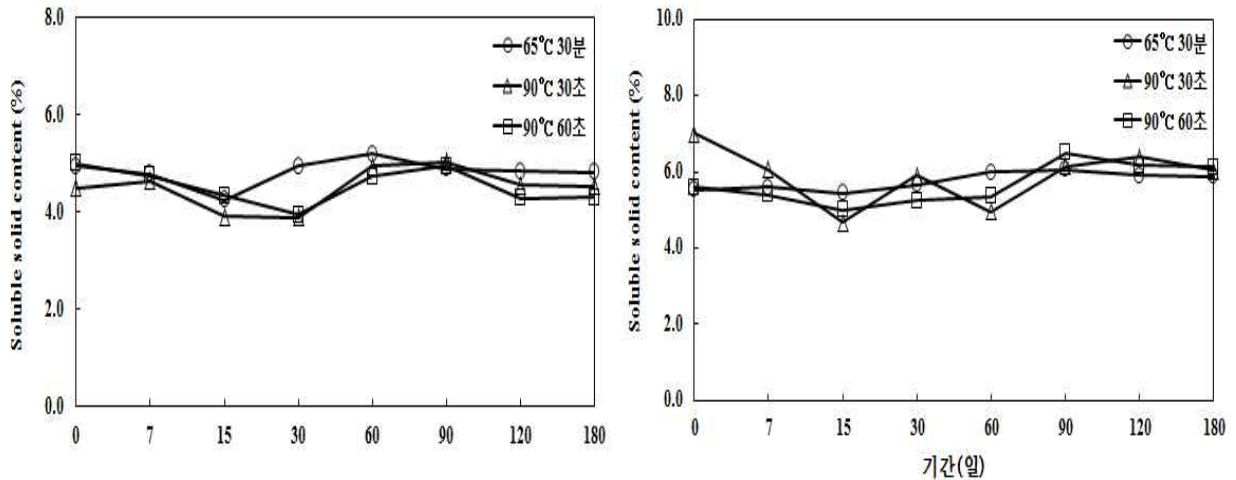


그림 41. 상온보관 한 음료의 수분 함량 변화.

(7) 저장 조건이 색도에 미치는 영향

(가) 냉장보관 (4°C)

KGB-I, II 음료를 냉장보관 하였을 때 색도를 측정하였다(표 82). KGB-I 음료의 경우, 명도인 L값은 15일째 3~4정도 높은 값을 나타내었고, 그 이후에 일정한 값이 유지 되었으며, 살균조건 및 저장기간에 따른 큰 차이가 나타나지 않았다. 적색도를 나타내는 a값은 모든 살균조건에서 15일째 전과 대비 약 0.6~1.2정도 낮은 값을 나타내었으며, 그 이후 비슷한 경향을 나타냈다. 황색도를 나타내는 b값은 15일째 65°C 처리군은 값이 낮아졌으나 90°C 처리군의 수치가 약 1.5 정도 높게 나타났다. 그 이후부터 완만한 수치를 나타냈다.

KGB-II 음료의 경우, L값은 KGB-I 음료에 비해 낮은 값을 나타내었고, 모든 살균조건에서 30일째 전과 대비 0.4정도 낮게 나타났으며, 60일째 약 7~8정도 높게 나타났으며 그 이후부터 완만한 수치를 보였다. 적색도 값인 a값은 15일 이후부터 감소하기 시작하여 90일째 전과 대비 약 1~3정도 낮은 값을 나타내었다. 황색도 값인 b값은 30일째 전과 대비 약 3~4정도 높은 값을 나타내었으나, 그 이후에 감소하는 경향을 나타내다가 120일째 증가하였다. 모든 살균한 군에서 전체적으로 비슷한 경향을 나타내었다.

표 82. 냉장보관 한 음료의 색도 변화.

	살균조건	저장기간(KGB- I)							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
L값	65°C30분	97.54±0.24	97.69±0.24	101.56±0.55	97.95±0.16	98.03±0.06	97.73±0.36	98.97±0.14	98.82±0.24
	90°C30초	98.11±0.29	97.99±0.16	102.91±0.62	98.35±0.44	98.56±0.06	98.10±0.43	99.03±0.23	99.03±0.23
	90°C60초	98.40±0.17	98.62±0.41	103.36±0.24	98.88±0.13	99.05±0.12	98.91±0.31	99.18±0.22	99.18±0.22
a값	65°C30분	-0.65±0.24	-0.36±0.10	-1.58±0.27	-0.53±0.14	-0.50±0.01	-0.53±0.16	-0.61±0.14	-0.65±0.02
	90°C30초	-0.66±0.18	-0.44±0.04	-1.04±0.14	-0.71±0.04	-0.59±0.07	-0.81±0.16	-0.64±0.04	-0.61±0.03
	90°C60초	-0.70±0.13	-0.60±0.04	-0.91±0.06	-0.68±0.03	-0.57±0.04	-0.84±0.12	-0.68±0.03	-0.70±0.03
b값	65°C30분	-2.91±1.14	-1.64±0.43	-2.84±1.16	-2.68±0.74	-2.61±0.15	-2.84±0.61	-2.68±0.50	-2.76±0.27
	90°C30초	-2.53±0.90	-2.21±0.50	-0.54±0.06	-3.23±0.06	-3.07±0.22	-3.84±1.31	-2.77±0.08	-2.79±0.04
	90°C60초	-2.92±0.95	-2.54±0.21	-0.96±0.24	-3.02±0.06	-2.63±0.02	-3.20±0.81	-3.03±0.08	-3.22±0.29
	살균조건	저장기간(KGB- II)							
		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일
L값	65°C30분	73.14±0.08	75.45±0.30	77.04±0.32	73.41±0.76	80.77±0.39	77.97±0.20	75.19±0.72	74.68±0.75
	90°C30초	75.91±1.12	75.69±0.47	76.79±1.30	72.70±1.11	80.95±0.43	77.61±0.12	74.68±0.48	74.51±0.91
	90°C60초	75.88±2.19	76.06±0.88	78.87±0.46	72.98±0.71	80.87±0.13	77.98±0.61	75.02±0.57	74.48±0.24
a값	65°C30분	34.99±0.42	35.69±0.33	34.44±0.16	32.37±0.79	30.37±0.08	27.45±0.29	30.34±1.14	30.49±0.63
	90°C30초	35.50±1.56	35.84±0.28	35.84±1.06	32.90±0.90	29.91±0.72	28.17±0.68	31.49±0.59	31.09±1.04
	90°C60초	33.36±2.53	35.21±0.37	34.76±0.40	33.40±0.41	30.50±0.06	28.30±0.83	31.00±0.90	31.47±0.64
b값	65°C30분	16.61±0.20	15.97±0.10	15.28±0.35	18.34±1.18	15.64±0.39	15.22±0.20	17.55±0.69	18.09±0.84
	90°C30초	14.15±1.77	15.51±0.27	14.68±0.96	17.76±1.41	14.54±0.66	14.89±0.11	17.04±0.49	16.70±0.86
	90°C60초	13.66±2.74	15.28±0.47	14.25±0.37	17.38±0.65	15.09±0.03	14.19±0.71	16.63±0.50	16.89±0.45

(나) 상온보관 (25°C)

상온보관 하였을 때 음료의 색도를 측정하였다(표 83). 7일째 모든 살균조건에서 L값이 약 3~4정도 증가하였으며, 90°C 60초로 살균한 군의 경우 다른 군에 비해 L값이 높게 유지 되었으며 저장기간에 따라 완만한 수치를 나타내었으며, 적색도 값인 a값은 65°C 30분, 90°C 30초로 살균한 군은 비슷한 경향을 보였으나 90일째 전과 대비 0.6정도 낮게 측정되었으며, 120일째 전과 비슷한 수치를 나타내었다. 황색도 값인 b값은 모든 살균조건에서 7일째 전과 대비 2.4~2.6정도 현저하게 값이 증가하다가 15일 이후 감소하는 경향을 나타내었다.

KGB-Ⅱ 음료의 경우 명도인 L값은 냉장보관 했을 때에 비해 값이 높게 나타났으며, 모든 살균조건에서 60일째 약 6~7정도 높은 값을 나타내었으며, 특히 65°C 처리군 값이 높았다. 적색도 값인 a값의 경우 저장기간이 길어짐에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었으며, 0일째 35값에서 120일째 6.7로 약 30정도 감소하였으며, 황색도 값인 b값은 60일 이후부터 증가하였으며, 120일째 전과 대비 4정도 높게 나타났으며 저장기간 중 가장 높은 수치를 나타내었다.

표 83. 상온보관 한 음료의 색도 변화.

	살균조건	저장기간(KGB-Ⅰ)							
		0 일	7 일	15 일	30 일	60 일	90 일	120일	180일
L값	65°C30분	97.54±0.24	101.28±0.08	97.87±0.09	98.92±0.08	99.21±0.08	99.15±0.34	97.88±0.23	97.77±0.16
	90°C30초	98.11±0.29	101.40±0.16	98.63±0.51	98.90±0.17	99.64±1.03	99.74±0.58	98.69±0.11	97.69±0.46
	90°C60초	98.40±0.17	101.61±0.13	101.64±0.41	98.98±0.28	104.43±0.39	100.24±0.14	99.02±0.14	98.87±0.15
a값	65°C30분	-0.65±0.24	-0.48±0.06	-0.45±0.07	-0.60±0.02	-0.47±0.01	-1.07±0.05	-0.41±0.06	-0.38±0.06
	90°C30초	-0.66±0.18	-0.52±0.06	-0.52±0.05	-0.53±0.03	-0.48±0.10	-1.01±0.05	-0.44±0.03	-0.43±0.02
	90°C60초	-0.70±0.13	-0.45±0.06	-1.36±0.23	-0.55±0.05	-1.03±0.07	-1.07±0.03	-0.58±0.05	-0.56±0.02
b값	65°C30분	-2.91±1.14	-0.36±0.22	-2.53±0.47	-2.53±0.06	-2.16±0.11	-3.53±0.40	-2.10±0.26	-2.05±0.23
	90°C30초	-2.53±0.90	-0.18±0.18	-2.50±0.26	-2.42±0.12	-2.00±0.15	-2.33±0.27	-1.89±0.09	-1.85±0.03
	90°C60초	-2.92±0.95	-0.18±0.22	-3.98±0.83	-2.67±0.15	-0.54±0.18	-2.13±0.18	-2.35±0.14	-2.53±0.06
	살균조건	저장기간(KGB-Ⅱ)							
		0 일	7 일	15 일	30 일	60 일	90 일	120일	180일
L값	65°C30분	73.14±0.08	81.20±0.22	84.54±1.69	83.20±0.32	89.96±0.20	87.34±0.15	86.24±0.33	84.81±0.53
	90°C30초	75.91±1.12	82.19±1.01	83.45±0.26	82.84±0.26	89.52±0.48	87.60±0.21	85.64±0.14	85.38±0.23
	90°C60초	75.88±2.19	83.13±2.29	83.83±0.72	83.18±0.63	89.50±0.28	87.57±0.36	85.91±0.23	85.33±0.96
a값	65°C30분	34.99±0.42	26.03±0.38	18.96±1.70	13.15±0.19	8.02±0.07	6.03±0.12	6.39±0.21	6.23±0.07
	90°C30초	35.50±1.56	25.34±1.30	21.08±0.14	13.76±0.14	8.76±0.33	5.96±0.03	6.73±0.04	6.69±0.04
	90°C60초	33.36±2.53	24.08±3.19	20.82±0.93	13.19±0.43	8.85±0.22	6.28±0.16	6.72±0.13	6.65±0.14
b값	65°C30분	16.61±0.20	16.31±0.21	16.02±1.91	19.45±0.27	19.88±0.10	21.53±0.07	24.57±0.79	24.72±0.92
	90°C30초	14.15±1.77	13.74±1.18	16.68±0.39	19.77±0.08	20.57±0.49	21.03±0.08	24.88±0.18	24.84±0.28
	90°C60초	13.66±2.74	12.93±2.87	15.99±0.70	19.35±0.65	20.25±0.39	20.80±0.34	24.86±0.44	24.77±0.46

나. 저장 조건에 따른 미생물 분석

(1) 총균수의 분석 결과

2종의 개발 홍삼음료를 저장기간에 따라 총균수를 분석하였다(표 28). 두 음료 모두 저장기간이 길어질수록 총균수가 증가하는 경향을 나타내었다. 살균하지 않은 대조군의 균수는 10이하로 나타났으며, 살균한 군 중 65°C 처리군이 90°C 처리군에서, 냉장보관보다 상온보관에서, KGB-Ⅰ보다 KGB-Ⅱ에서 균수가 높게 나타났다.

0일째, 두 음료 모두 상온 보관한 65°C 처리군에서 100이하의 균수가 측정되었으며, 특히 15일째 균수가 가장 많이 측정되었다. 냉장보관 하였을 때보다 상온보관 하였을 때, 살균한 조건보다 살균하지 않은 조건에서 미생물이 잘 자라는 환경이라 이와 같은 결과가 확인되었다.

표 84. 2종의 개발 음료의 저장기간별 총균수 분석.

저장 및 살균조건		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일	
KGB-I	대조군		음성				-			
	냉장 보관	65°C30분	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
		90°C	30초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
			60초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
	상온 보관	65°C30분	<100	음성	음성	음성	음성	<100	음성	음성
		90°C	30초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
			60초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
	KGB-II	대조군		음성	-					
냉장 보관		65°C30분	음성	음성	<100	음성	음성	음성	음성	음성
		90°C	30초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
			60초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
상온 보관		65°C30분	<100	음성	<100	음성	음성	<100	음성	음성
		90°C	30초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
			60초	음성	음성	음성	음성	<100	음성	음성

(2) E.coli/coliform의 분석 결과

2종 개발 홍삼음료를 저장기간에 따라 대장균군을 분석하였다(표 29). 두 음료 모두 저장기간과 살균조건에 따른 대장균군이 발현되지 않았고, 모두 음성을 나타내었다. 음료의 살균조건과 저장온도 및 기간에 따라 대장균군이 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다.

표 85. 2종의 개발 음료의 저장기간별 대장균군 분석.

		저장 및 살균조건		0일	7일	15일	30일	60일	90일	120일	180일	
KGB-I	CON		음성				-					
	냉장 보관	65°C	30분	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	
			30초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성		
		90°C	60초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성		
	상온 보관	65°C	30분	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	
			30초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성		
		90°C	60초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성		
	KGB-II	CON		음성	-							
		냉장 보관	65°C	30분	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
30초				음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성		
90°C			60초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성		
상온 보관		65°C	30분	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	
			30초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성		
		90°C	60초	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성		

### 7. 미주시장 부합형 개발 음료에 대한 미국 현지 소비자 대상 기호도 평가 결과

가. 2종의 개발음료의 비교

첫 번째 set인 2종의 개발 음료를 직접 비교하였다(그림 42). 음료의 종합적 기호도 점수는 평균 5.87로 같았으며, 종합적 기호도, 향기, 맛, 후미 점수 등 통계적으로 분명한 차이는 없었다( $p < 0.05$ ).

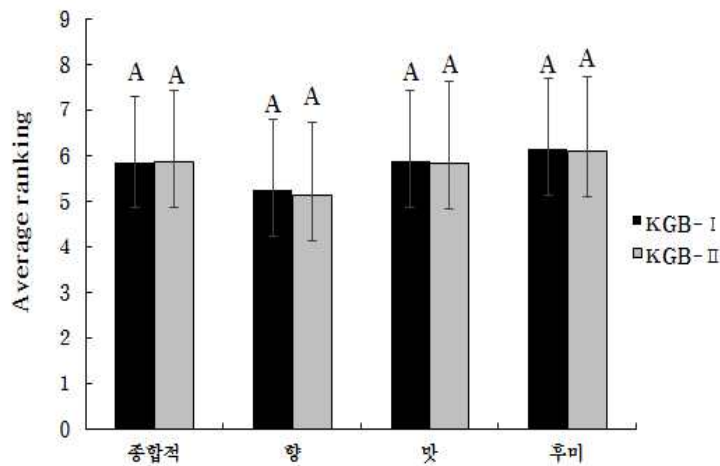


그림 42. 2종의 개발 음료에 대한 향, 맛, 후미, 종합적 기호도 평가.

나. 2종의 개발음료와 2종의 상업음료의 비교

두 번째 set 실험은 2종의 개발 음료와 2종의 상업음료의 종합적 기호도를 비교한 결과이다(그림 43). 비교한 결과, 점수를 주는 범주에서 샘플 간 통계적으로 분명한 차이가 있었다. 종합적 기호도는 Vitamin water가 다른 음료에 비해 높은 점수를 기록하였지만, KGB-I 음료가 가장 낮은 점수를 받았다. Arizona Tea와 KGB-II 음료는 비슷한 경향을 보였다. 이 4종의 음료의 향, 맛, 후미 기호도 평가를 실시한 결과, 모든 면에서 Vitamin water가 높은 점수를 기록하였고, 종합적 기호도 결과와 마찬가지로 KGB-I 음료의 향, 맛 기호도가 가장 낮게 나타났으나 후미 기호도는 4종의 음료 모두 비슷한 경향을 보였다.

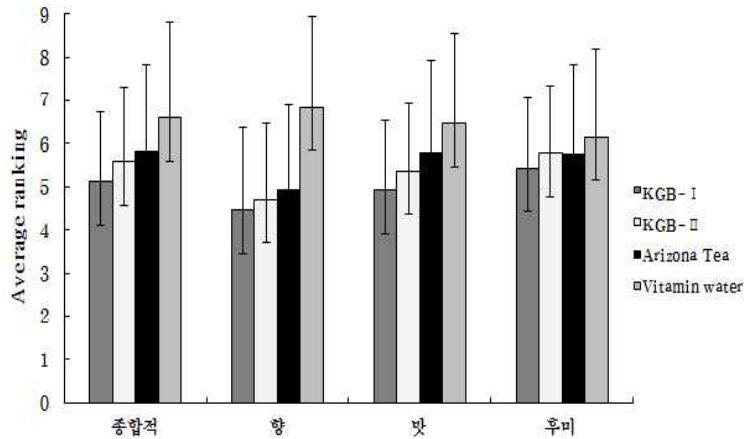


그림 43. 개발 음료와 상업 음료에 대한 향, 맛, 후미, 종합적 기호도 평가.

다. 문맥효과

KGB-I, II 등 2종의 개발 음료만을 비교하였을 때와 2종의 개발 음료와 2종의 상업 음료와 함께 비교하였을 때, 다르게 점수가 매겨졌다(그림 44). 향, 맛, 후미, 종합적 기호도가 개발 음료만을 비교하였을 때보다 개발 음료와 상업 음료를 비교하였을 때 감소하는 경향이 나타났으며, 특히 향과 맛 부분에서 확인한 차이를 나타내었다. 상업 음료와 비교하면 기호도가 떨어지지만 개발 음료 자체를 두고 볼 때 차이가 적다는 것을 확인할 수 있었다.

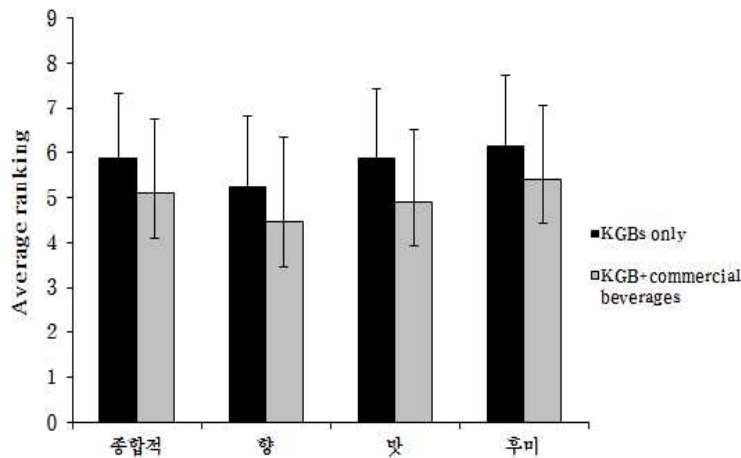


그림 44. 개발음료 및 개발음료와 상업음료 세트를 비교한 기호도 평가.

#### 라. 클러스터분석

그룹 패널리스트가 2종의 개발 홍삼음료와 2종의 상업음료의 종합적 기호도 점수를 평가하였다. 그림 45는 4개의 주요 패널리스트 클러스터를 계통도로 나타내었고, 그림 46은 각 클러스터 별 음료의 종합적 기호도를 나타내었다. 클러스터의 기호도의 다른 패턴을 검사하기 위해 클러스터의 각 음료 종합적 기호도 평균을 환산하였다. Cluster A(n=25)는 Vitamin water에 높은 점수를 주었으며, 그에 반해 Arizona Tea에 가장 낮은 점수를 주었다. KGB-II 음료는 두 번째로 선호하는 음료로 선택되었고, Arizona Tea와 KGB-I 음료는 평균 5점 이하의 점수를 받았다. Cluster B(n=22)는 Cluster A와 비슷하게 Arizona Tea에 가장 낮은 점수를 받았으나, Vitamin water와 KGB-II음료와 비슷하게 KGB-I 음료의 선호도가 높았다. Cluster C(n=31)는 Vitamin water와 Arizona tea를 가장 선호하였고, 그 중 Vitamin water의 점수가 조금 높았다. KGB-I 음료가 Arizona tea에 비해 낮은 점수를 받았고, KGB-II 음료는 모든 점수가 낮았다. Cluster D(n=22)는 Arizona tea를 가장 선호하였으며, KGB-II 음료가 그 뒤를 이었다. Vitamin water와 KGB-I 음료는 평균 5점보다 낮게 점수를 받았다.

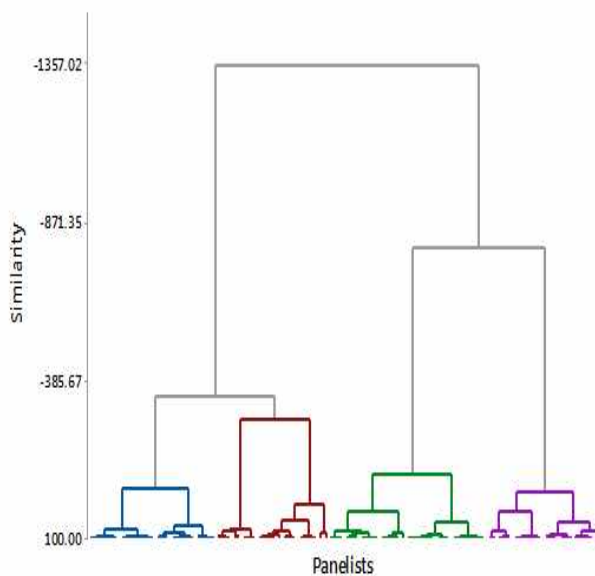


그림 45. Dendrogram of panelists ratings of overall liking of four beverage.

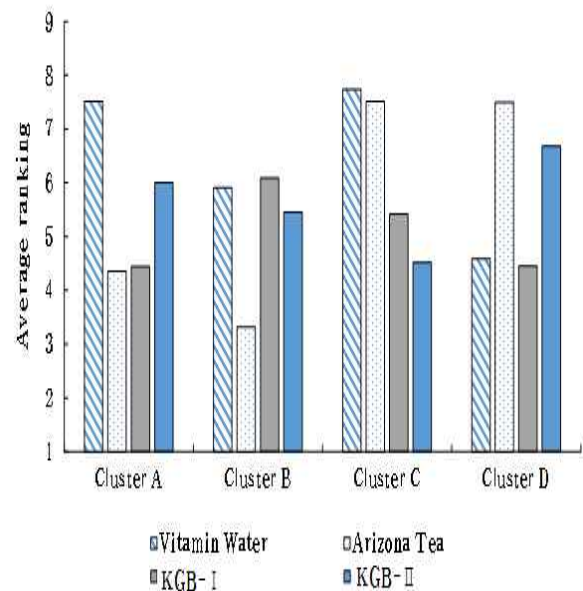


그림 46. 각 클러스터 별 종합적 기호도 점수.

#### 마. 질적 반응

패널리스트에게 각 제품을 선호하는 이유를 개방형 응답을 통해 의견을 시각화 하여 단어 구름을 만들었다(표 86). 큰 단어나 어절은 의견 중 가장 빈번하게 나왔다. KGB-I 음료의 단어 구름은 약한 맛, 달다, 인삼, 흙 등이 가장 빈번하게 나타났으며, Arizona tea의 단어 구름은 달다, 좋은 맛, 차, 나쁜 향기가 난다는 의견이 빈번하게 나타났으며,



KGB-II 음료의 단어 구름은 달다, 좋은 맛, 나쁜 향기, 나쁜 후미 등이 빈번하게 나타났다. Vitamin water의 단어 구름은 달다, 좋은 맛, 과일 맛, 약 같다는 의견이 빈번하게 나타났다.

표 86. Word clouds.

구분	평가항목
KGB- I	
Arizona Tea	
KGB- II	
Vitamin Water	

## 8. 미주시장 부합형 개발 음료의 시생산 결과

### 가. 음료에 함유되는 홍삼농축액 조건

선택적 재구성 홍삼농축액은 최적 조건에 따라 단계별{1단계(70% 주정, 65°C, 8시간), 2단계(70% 주정, 65°C, 8시간), 3단계(물, 85°C, 10시간)}로 제조한 인삼추출액을 농축기로 40~60°C의 온도로 설정하고 음압을 600~700 mmHg로 유지하며 농축하였다.

그 이후 90±5°C로 설정하여 1시간 이상 살균과정을 거쳤다. 농축액을 일정한 용기에 충전하여 저온창고에 보관하며 공인기관 시험의뢰 및 자가 실험의 전 항목 적합 판정을 받은 홍삼농축액을 이용하여 특성 분석하였다.

### 나. 음료의 제조 및 살균조건 최종선정

#### (1) 2종의 개발 음료 제조

개발 음료는 “natural flavor, reduced-sugar ginseng beverage” 컨셉의 Korea Ginseng Beverage(KGB)-I, “natural flavor, berry juice, reduced-sugar ginseng beverage” 컨셉의 Korea Ginseng Beverage(KGB)-II로 구분하여 진행하였다.

KGB-I 음료의 배합비는 100 mL 기준으로 선택적 홍삼농축액 0.09%, 천연 인삼향 0.04%, 천연 복합과실향(A) 0.15%, 백설탕 5.8%, 구연산 0.05%, 정제수 94.67%로 결정하였으며, 설탕 대신 대체감미료를 혼입할 경우 여러 차례 기호도 평가를 진행 후 선정된 스테비올 배당체 0.005%, 에리스리톨 7%를 사용하였으며, KGB-II 음료의 배합비는 선택적 홍삼농축액 0.09%, 천연 인삼향 0.04%, 천연 복합과실향(B) 0.15%, 백설탕 5.8%, 구연산 0.04%, 블루베리 농축액 0.46%, 라즈베리 농축액 0.09%, 천연색소 0.05%, 정제수 93.12%로 결정하였으며, 대체감미료를 혼입할 경우 설탕 대신 스테비올 배당체 0.006%, 에리스리톨 8%를 사용하였다.

2종의 개발 음료의 미생물과 효소의 불활성을 유도함으로써 저장기간을 연장하기 위하여 살균과정을 적용함에 따라 살균조건은 저온살균(65°C 30분), 고온살균(90°C 30초, 90° 60초) 조건을 설정한 뒤 4°C 냉장, 25°C 상온에서 0, 7, 15, 30, 60, 90, 120일 등 일정 기간별로 저장 중 이화학적 특성 평가는 pH, 산도, 당도, 투광도, 흡광도, 수분 함량, 색도 등과 미생물 분석은 총균수와 대장균군을 측정하였다.

표 87. 최적 살균조건으로 살균한 2종의 개발음료의 이화학적 특성 및 미생물 분석.

살균 조건	sample	pH	적정 산도 (%)	°brix	투광도 (%T)	수분 함량 (%)	색도			총균수	대장균군
							L값	a값	b값		
90°C 30초	KGB- I	3.21	0.052	5.3	71.9	5.404	95.36	-0.49	0.70	음성	음성
	KGB- II	3.10	0.096	6.7	53.5	5.111	70.87	27.28	13.13	음성	음성

표 88. 최적 배합비를 선정한 2종의 개발음료의 기호도 평가.

		살균조건(90°C, 30초)	
		KGB- I	KGB- II
원료 (%)	선택적 홍삼농축액		0.09
	인삼향		0.04
	천연 복합과실향(A/B)		0.15
	블루베리 농축액	-	0.46
	라즈베리 농축액	-	0.09
	구연산	0.05	0.04
	백설탕	5.8	5.8
	정제수	93.87	93.33
기호도 평가항목	향	6.71±0.92 <sup>a</sup>	5.89±1.63 <sup>a</sup>
	단맛	6.47±1.12 <sup>a</sup>	5.97±1.48 <sup>a</sup>
	신맛	4.00±2.03 <sup>a</sup>	4.17±2.23 <sup>a</sup>
	쓴맛	3.29±1.76 <sup>a</sup>	3.46±2.15 <sup>a</sup>
	후미	6.65±1.06 <sup>a</sup>	6.15±1.50 <sup>a</sup>
	종합적 기호도	6.47±1.23 <sup>a</sup>	6.24±1.79 <sup>ab</sup>

(2) 2종의 개발 음료의 영양성분 분석

2종의 개발 음료의 영양성분 및 영양표시에 관한 검사를 한국식품과학연구원에 의뢰하여 얻은 시험성적서이다(그림 47~48). 2종의 개발 음료에 대한 열량(kcal), 탄수화물(%), 조단백(%), 조지방(%), 나트륨(mg/100g), 당(g/100g), 포화지방산(g/100g), 트랜스 지방(g/100g)의 함량 분석과 일반세균수 및 대장균군의 분석을 시행한 결과, KGB-II 음료는 KGB-I 음료에 비하여

열량이 약 6 kcal, 탄수화물은 약 1.5 %, 나트륨은 약 0.03 mg, 당은 약 0.3 g 많이 측정되었으며 조단백, 조지방은 비슷한 수치를 보였고, 포화지방산은 0 g, 트랜스지방과 콜레스테롤은 검출되지 않았다. 일반세균수 및 대장균군 또한 검출되지 않았으며, 이는 음료의 저장성 실험 결과와 같은 결과를 도출하였다.

Korea Advanced Food Research Institute		41 Myeongdal-ro, Seochang-gu, Seoul, Korea TEL : 82-2-945-9552 FAX : 82-2-3471-3492 http://kafri.or.kr	
<b>Certificate of Analysis</b>			
Name of Product	KGB-I	Receipt No.	2015-11-021767
Client Name	P&M, YONG HUN	Date of Receipt	2015.10.13
Client Tel	001-790-9047	Date of Issue	2015.11.02
Client Address	62, Anyangpangyo-ro 120Dong-gil, Bundang-gu, Seongnam-si., Gyeonggi-do, Korea	Use of Report	
Client Company	KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE	Lot No.	
Date of Manufacture / Shelf life	2015.10.12 / 2015.11.11	Test method Used	Korea Food Code
Calorie(kcal)	6.6		
Carbohydrate(%)	6.2		
Crude protein(%)	0.3		
Crude fat(%)	0.2		
Sodium(mg/100g)	0.42		
Succharide(g/100g)	0.3		
Saturated fatty acid(g/100g)	0.0		
Trans fat(g/100g)	Not Detected		
Cholesterol(mg/100g)	Not Detected		
Coliform Group	Negative		
Standard plate count	0/cf.		
<ul style="list-style-type: none"> <li>The above merchandise was submitted and identified by the client.</li> <li>The results shown in this test report refer only to sample tested and it does not cover the quality of all products.</li> <li>No one can use this report for the purpose of public information, advertisement, and litigation without KAFRI's consent.</li> <li>This document cannot be reproduced except in full, without prior written approval of the client.</li> </ul>			
Tested by: 		Approved by: 	
Analyst		Director General	
<b>Korea Advanced Food Research Institute</b> Food sanitation inspection agency designated by Korea Food & Drug Administration			

그림 47. KGB-I 음료의 시험성적서.

Korea Advanced Food Research Institute		41 Myeongdal-ro, Seochang-gu, Seoul, Korea TEL : 82-2-945-9552 FAX : 82-2-3471-3492 http://kafri.or.kr	
<b>Certificate of Analysis</b>			
Name of Product	KGB-II	Receipt No.	2015-11-021768
Client Name	P&M, YONG HUN	Date of Receipt	2015.10.13
Client Tel	001-790-9047	Date of Issue	2015.11.02
Client Address	62, Anyangpangyo-ro 120Dong-gil, Bundang-gu, Seongnam-si., Gyeonggi-do, Korea	Use of Report	
Client Company	KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE	Lot No.	
Date of Manufacture / Shelf life	2015.10.12 / 2015.11.11	Test method Used	Korea Food Code
Calorie(kcal)	34.6		
Carbohydrate(%)	7.7		
Crude protein(%)	0.3		
Crude fat(%)	0.2		
Sodium(mg/100g)	0.43		
Succharide(g/100g)	0.5		
Saturated fatty acid(g/100g)	0.0		
Trans fat(g/100g)	Not Detected		
Cholesterol(mg/100g)	Not Detected		
Coliform Group	Negative		
Standard plate count	0/cf.		
<ul style="list-style-type: none"> <li>The above merchandise was submitted and identified by the client.</li> <li>The results shown in this test report refer only to sample tested and it does not cover the quality of all products.</li> <li>No one can use this report for the purpose of public information, advertisement, and litigation without KAFRI's consent.</li> <li>This document cannot be reproduced except in full, without prior written approval of the client.</li> </ul>			
Tested by: 		Approved by: 	
Analyst		Director General	
<b>Korea Advanced Food Research Institute</b> Food sanitation inspection agency designated by Korea Food & Drug Administration			

그림 48. KGB-II 음료의 시험성적서.

다. 2종의 개발 음료의 영양성분 표시서식도안

2종의 개발음료의 국내 시장 판매를 위한 표기사항은 식품위생법 시행규칙 제6조 제1항의 규정에 따라 작성하였으며, 미주 시장 판매를 위한 표기사항은 미국 FDA(Food and Drug Administration)의 2015 1월 개정안을 토대로 작성하였다(그림 49~52).

(1) KGB- I 음료

· 제품명: KGB- I · 식품의 유형: 홍삼음료 · 원재료명 및 함량: 홍삼농축액(6년근, 고형분 40% 이상, 홍삼성분 70 mg/g이상, 국산) 0.2 %, 정제수, 에리스리톨, 스테비올 배당체, 구연산, 천연향(인삼향, 과일향)

**영양성분** 1회 제공량 1병 (180 mL) 총 1회 제공량 (180 mL)  
 1회 제공량당 함량 : 열량 62 kcal, 탄수화물 14 g(5%), 당류 0 g, 단백질 0.9 g(2%), 지방 0 g(0%), 포화지방 0 g(0%), 트랜스지방 0 g, 콜레스테롤 0 mg(0%), 나트륨 0 mg(0%)  
 ( )안의 수치는 1일 영양소 기준치에 대한 비율임

· 제 뚜껑을 열 때 뽕소리가 나지 않으면 드시지 마십시오. · 유통기한: 뚜껑 또는 라벨표시일까지 · 본 제품은 공정거래위원회가 고시한 소비자 분쟁해결 기준에 의거 교환 또는 보상 받을 수 있습니다 · 원료성분에 의해 침전물이 생길 수 있으나 이물질이 아니오니 안심하고 드십시오. · 본 직사광선을 피해 서늘한 곳에 열지 않게 보관하십시오(개봉후에는 반드시 밀봉하여 냉장보관(0-10 °C) 하시고 변질되기 전에 빨리 드시기 바랍니다.) · 온장상태(50-60°C)에서는 내용물이 변질될 수 있으니 2주(14일)이상 보관하지 마시고 내용액이 뜨거울 수 있으니 화상에 주의 하십시오. · 전자레인이나 직접 불에 데우지 마십시오. · 용기 파손시 다칠 위험이 있으니 취급시 주의하시기 바랍니다. · 용기가 파열되거나 뚜껑이 튀어나갈 위험성이 있습니다. · 개봉시 무리한 힘을 주면 병구가 파손되어 상처를 입을 수 있으니 주의하시기 바랍니다. · 제품에 이상이 있거나 의문사항이 있을 시 드시지 마시고 즉시 고객센터로 문의하시기 바랍니다. · 부정·불량식품 신고는 국번없이 1399 · 제조원 및 판매원

그림 49. KGB- I 음료의 국내 유통용 표기사항.

Nutrition Facts	
36 servings per container	
Serving size 6.1 fl. oz. (180mL)	
Amount Per 6.1 fl. oz.	
<b>Calories</b>	<b>52</b>
<b>% DV*</b>	
0%	Total Fat 0g
0%	Saturated Fat 0g
	Trans Fat 0g
N.D.	Cholesterol 0mg
0%	Sodium 0mg
3%	Total Carbs 11g
0%	Dietary Fiber 0g
	Sugars 0g
	Added Sugars 0g
2%	Protein <1g
0%	Vitamin D
0%	Calcium
0%	Iron
0%	Potassium
* Footnote on Daily Values (DV) and calories reference to be inserted here.	
INGREDIENTES: GINSENG CONCENTRATE, ERYTHRITOL, STEVIOLE GLYCOSIDES, CITRIC ACID, NATURAL FLAVORS, WATER	



그림 50. KGB- I 음료의 미국 수출용 표기사항 및 제품 사진.

(2) KGB- II 음료

· 제품명: KGB-II · 식품의 유형: 홍삼음료 · 원재료명 및 함량: 홍삼농축액(6년근, 고형분 40% 이상, 홍삼성분 70 mg/g 이상, 국산) 0.2 %, 블루베리, 라즈베리 농축액, 정제수, 에리스리톨, 스테비올 배당체, 구연산, 천연향(인삼향, 과일향), 천연색소(Hibiscus)

**영양성분** 1회 제공량 1병 (180 mL) 총 1회 제공량 (180 mL)

1회 제공량당 함량 : 열량 62 kcal, 탄수화물 14 g(5%), 당류 0 g, 단백질 0.9 g(2%)  
 지방 0 g(0%), 포화지방 0 g(0%), 트랜스지방 0 g,  
 콜레스테롤 0 mg(0%), 나트륨 0 mg(0%)  
 ( )안의 수치는 1일 영양소 기준치에 대한 비율임

· 제 뚜껑을 열 때 팽소리가 나지 않으면 드시지 마십시오. · 유통기한: 뚜껑 또는 라벨표시일까지 · 본 제품은 공정거래위원회가 고시한 소비자 분쟁해결 기준에 의거 교환 또는 보상 받을 수 있습니다. · 원료성분에 의해 침전물이 생길 수 있으나 이물질이 아니오니 안심하고 드십시오. · 본 직사광선을 피해 서늘한 곳에 얼지 않게 보관하십시오.(개봉후에는 반드시 밀봉하여 냉장보관(0-10 °C) 하시고 변질되기 전에 빨리 드시기 바랍니다.) · 온장상태(50-60°C)에서는 내용물이 변질될 수 있으니 2주(14일)이상 보관하지 마시고 내용액이 뜨거울 수 있으니 화상에 주의 하십시오. · 전자레인지나 직접 불에 데우지 마십시오. · 용기 파손시 다칠 위험이 있으니 취급시 주의하시기 바랍니다. · 용기가 파열되거나 뚜껑이 튀어나갈 위험성이 있습니다. · 개봉시 무리한 힘을 주면 병구가 파손되어 상처를 입을 수 있으니 주의하시기 바랍니다. · 제품에 이상이 있거나 의문사항이 있을 시 드시지 마시고 즉시 고객센터로 문의하시기 바랍니다. · 부정·불량식품 신고는 국번없이 1399 · 제조원 및 판매원

그림 51. KGB-II 음료의 국내 유통용 표기사항.

Nutrition Facts	
36 servings per container	
Serving size 6.1 fl. oz. (180mL)	
Amount Per 6.1 fl. oz.	
<b>Calories 62</b>	
% DV*	
0%	Total Fat 0g
0%	Saturated Fat 0g
	Trans Fat 0g
N.D.	Cholesterol 0mg
0%	Sodium 0mg
5%	Total Carbs 14g
0%	Dietary Fiber 0g
	Sugars 0g
	Added Sugars 0g
2%	Protein <1g
0%	Vitamin D
0%	Calcium
0%	Iron
0%	Potassium
* Footnote on Daily Values (DV) and calories reference to be inserted here.	
INGREDIENTES: GINSENG CONCENTRATE, BLUEBERRY, RASPBERRY CONCENTRATE, ERYTHRITOL, STEVIOL GLYCOSIDES, CITRIC ACID, NATURAL FLAVORS, HIBISCUS COLOR, WATER	



그림 52. KGB-II 음료의 미국 수출용 표기사항 및 제품 사진.

## 제 4절 인삼 소재의 제형화 및 제품화

### 1. 원료시험 방법의 표준화

#### 가. 원료의 기능/지표 성분 결정

원료 사포닌 기본 분석을 통한 지표 성분 후보 선정

##### (1) TLC를 이용한 분석결과



##### (2) 지표성분 후보결정

고농도의 샘플에서는 메탄올이 잘 녹지 않았다. 분석결과 Diol계 사포닌이 주를 이루고 있었으며 특히 Rb1, Rb2, Rc, Rd가 많았으며 Rg1의 함량이 높게 나타났다. 따라서 Diol계 중 Rb1, Rb2, Rc, Rd를 후보로 선정하였다.

mg/g	Con	9in	8in	7in	6in	5in	4in	3in	2in
Rg1	3.6	3.1	2.6	2.7	2.1	1.9	1.5	1.2	0.5
Re	8.4	7.3	6.1	6.1	4.8	4.4	3.5	2.9	1.4
Rf	2.8	2.2	1.9	1.8	1.6	1.6	1.6	1.5	1.1
Rb1	20.8	21.3	19.7	21.5	21.0	22.6	25.6	26.2	25.3
Rc	12.7	13.6	13.2	13.2	12.8	14.8	16.8	16.9	16.8
Rb2	9.3	9.9	9.3	9.6	9.6	10.5	12.0	12.4	12.5
Rb3	1.2	1.3	1.2	1.3	1.3	1.4	1.6	1.7	1.7
Rd	5.3	5.7	5.4	5.9	6.0	6.5	7.5	7.8	8.1
Rg3(S)	1.5	1.7	1.7	1.9	1.2	2.2	2.6	2.7	3.0
Rg3(R)	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	0.6	0.5	0.4	0.5
Rk1	1.4	1.5	1.5	1.7	1.1	1.8	2.0	2.0	2.4
Rg5	1.8	2.0	2.0	2.3	1.3	2.3	2.4	2.5	2.9
PD/PT	3.7	4.6	5.2	5.5	6.4	7.9	10.8	13.2	23.5

나. 분석방법 최적화

(1) 원료의 용해도 test

일정량의 샘플을 물과 메탄올에 녹인 후 용해 상태를 확인한 결과 5mg/ml의 저용량에서는 물에는 모두 녹으나 메탄올에는 뿌연 상태로 존재하였고, 20mg/ml의 고용량에서는 물에는 원료상태는 보이지 않았고, 메탄올에는 원료상태로 존재하여 물 메탄올 모두 뿌연 상태로 존재하였다. 따라서 원료상태가 남아있지 않은 물은 전처리 용매로 선택하였다.

(2) UPLC 분석을 위한 전처리 연구

(가) 샘플의 전처리

- ① 원료를 물 100ml에 녹인 후 물로 희석, filtration(0.2um)하여 분석하였다.
- ② 원료를 물 100ml에 녹인 후 메탄올로 희석filtration(0.2um)하여 분석하였다.
- ③ 원료를 물 100ml에 녹인 후 부탄올 100ml로 3회 추출한 다음 추출 상등액을 물 100ml로 수세하고 상층액을 모아 감압 농한 다음 물에 녹여 희석, filtration(0.2um)하여 분석하였다.

(나) UPLC의 분석조건

UPLC 분석 조건 Calculation program으로 공전의 Rb1, Rg1 분석 조건을 UPLC 조건으로 변경하여 분석 하였다.

항목	조건		
측정기기	ACQUITY UPLC		
칼럼	ACQUITY UPLC BEH 2.1 X 100 mm, 1.7 um (C18)		
Detector / 파장 / flow rate	TUV detector / 203nm / 0.208ml/min		
Column/sampletemperature	30도/25도		
	시간	물	Acetonitrile
	Int	80 %	20 %
	2	80 %	20 %
이동상	14	60 %	40 %
	18	60 %	40 %
	18.04	80 %	20 %
	20	80 %	20 %

(다) UPLC의 분석전처리 실험 결과

아래 표에서 보이는 바와 같이 동일 농도에서 분석을 위한 희석 용매는 물이 가장 적합하게 나타났다. 부탄올 추출한 경우에는 샘플의 양이 많음에도 불구하고 Peak area는 적게 나타났다. 따라서 분석을 위한 용매로는 증류수를 선정하였다.



Peak Area	Rb1	Rb2	Rc	Rd
물희석	1,580,489	609,708	1,092,514	292,645
MeOH희석	1,338,556	512,312	897,813	211,936
BuOH추출	1,121,779	465,863	819,557	212,925

다. UPLC 분석 방법의 최적화

(1) Isocratic 분석법

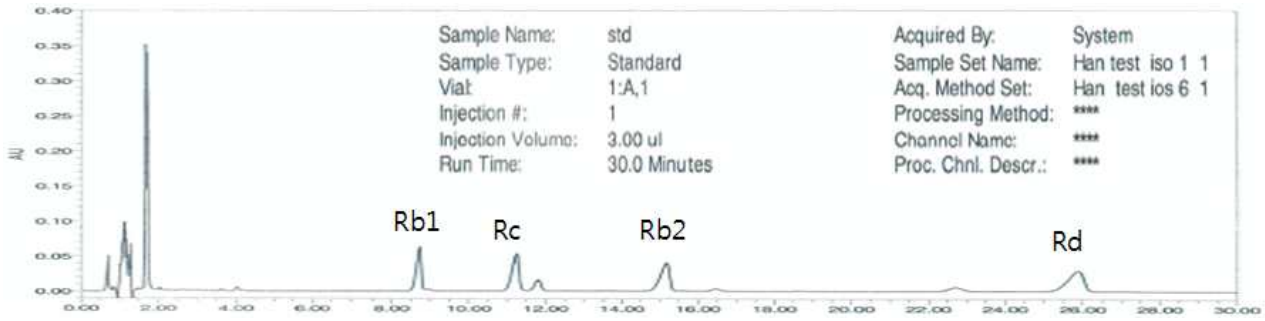
(가) 분석 Sample은 Ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd 표준시약을 사용하였다.

(나) UPLC Isocratic 분석 조건은 아래와 같다.

항목	조건					
측정기기	ACQUITY UPLC					
칼럼	ACQUITY UPLC BEH 2.1 X 100 mm, 1.7 um (C18)					
Detector/파장/유속	TUV detector / 203nm / 0.28ml/min					
Column / sample temperature	30도 / 25도					
주입량	5 ul					
이동상	시간	물	ACN	시간	물	ACN
	1 Int	40 %	60 %	5 Int	65 %	35 %
	2 Int	45 %	55 %	6 Int	70 %	30 %
	3 Int	50 %	50 %	7 Int	75 %	25 %
	4 Int	60 %	40 %	8 Int	80 %	20 %

(다) Isocratic 분석 결과 상기 표 조건 중 5번 H<sub>2</sub>O 65% : ACN 35%에서 Rb1, Rb2, Rc, Rd의 분리가 잘 되었다.(아래 그림의 상) 그러나 초기 5분 이내 Sample 분리에서는 좋은 결과를 보이지 못하였다. 한편 5번 H<sub>2</sub>O 70% : ACN 30%에서도 Rb1, Rb2, Rc, Rd의 분리가 잘 되었다(아래 그림의 하). 하지만 Peak wide length가 넓어 역시 Sample 분리에서는 좋은 결과를 보이지 못하였다. 따라서 UPLC의 Isocratic 분석법은 적합한 분석법이라 할 수 없었다.





(상) Mobil phase H<sub>2</sub>O 65% : ACN 35%, (하) Mobil phase H<sub>2</sub>O 70% : ACN 30%

(2) Gradient 분석법

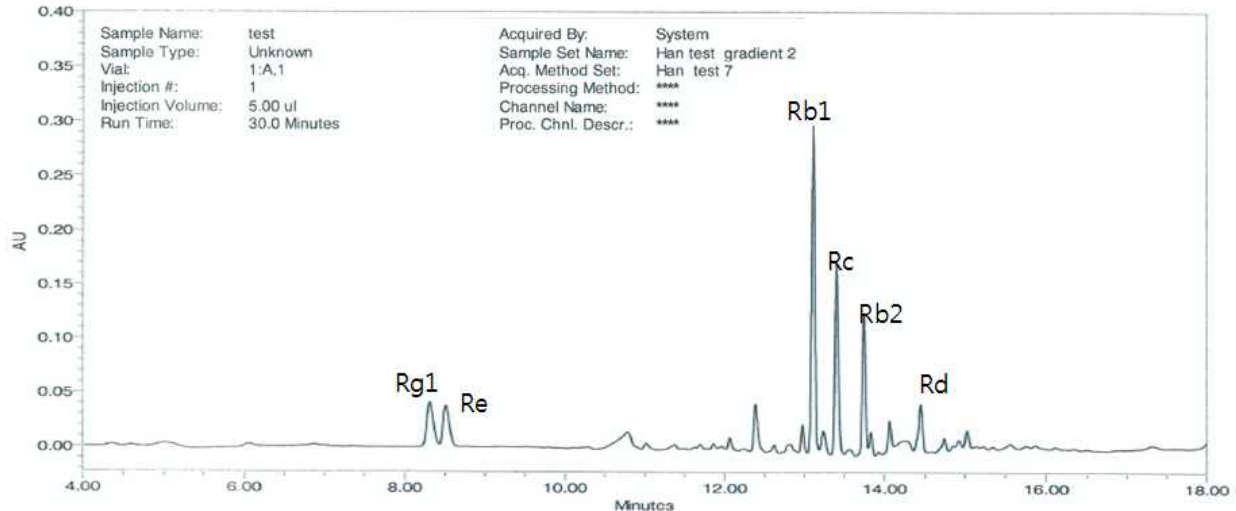
(가) 곱게 같은 샘플 적당량을 물 20 ml에 녹인 다음 필터 하여 시험물질로 하고 Ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd 표준시약을 사용하여 분석하였다.

(나) UPLC Gradient 분석을 위한 기본 분석 조건은 아래와 같다.

항목	조건
측정기기	ACQUITY UPLC
칼럼	ACQUITY UPLC BEH 2.1 X 100 mm, 1.7 um (C18)
Detector/파장	TUV detector / 203nm
Column / sample temperature	30도 / 25도
주입량	5 ul
Flow rate	0.15, 0.208, 0.3, 0.35, 0.45
Initial water concentration	80, 82%
Running time	20min, 60min

(다) UPLC Gradient 분석결과를 종합하면 Han test 분석 결과 Rb1, Rc, Rb2, Rd 는 분리가 잘되었지만 Rg1과 Re는 분리가 이루어 지지 않았다. Rg1과 Re의 분리가 이루어 질 수 있는 조건 변화를 실험(20가지 조건)을 통하여 분석 조건을 검색 한 결과 아래 그림에서 보이는 바와 같이 .Han test 7 분석 결과(sample 분석)를 최적 분석 조건으로 결정하였다.

(라) 따라서 본 연구에 사용되는 원료의 분석방법 최적화 조건은 UPLC를 이용하여 Rg1, Re, Rb1, Rc, Rb2, Rd를 모두 분리할 수 있는 UPLC Gradient 분석을 채택하고 최적화 하였다.



### 라. 시험 방법 validation

시험방법 validation은 의약품뿐만이 아니라 건강식품등의 제조공정 및 완제품의 품질관리를 위하여 실시되는 시험방법의 타당성을 검증하기 위하여 실시되며 우수한 건강식품의 품질을 확보하기 위하여 반드시 필요하다. 특히 본 과제의 목적이 결과물로 산출된 식품의 미주지역 수출을 목표로 하고 있는 만큼 GMP 공장에서 제품을 생산하는 것을 필수로 생각하고 있는 만큼 시험방법이 적절한 validation을 통해서 실시되었는가를 매우 중요하게 생각하고 있고, 그 결과의 신뢰도에 영향을 미치고 있다.

본 과제에서 수행된 시험방법 validation은 이를 목적으로 실시되었으며 식약처의 기준에 의한 Rb1 Rg1등의 시험법이 제시되고 있으나 본 연구에서 표준/지표성분은 Rb1 Rb2, Rc로 설정하고 있는 바 이를 동시 분석하는 validation 연구를 수행하였다.

다시 한 번 강조하지만 validation을 수행하지 않은 결과는 미주에서 인정받지 못한다고 하는 점에서 이는 매우 중요한 시험이라 할 수 있다.

#### (1) 시험방법

##### (가) 시료의 전처리

원료를 곱게 갈아 균질화 시킨 다음 원료의 농도가 10 ~ 20mg/g이 되도록 물에 녹인 후 20min간 sonication 시켜 희석된 샘플을 0.2um의 filter로 필터 하여 vial에 옮긴다.

##### (나) 시험 용액의 조제

전 처리된 용액을 시험물질로 사용한다. 시험물질 원액을 적당히 물로 희석하여 시험용액을 만든다.

##### (다) 시험용액의 조제

Rb1, Rb2, Rc, Rd 표준 시약을 메탄올에 녹인 다음 여과하여 표준원액을 만들고 메탄올로 적당히 희석하여 표준용액을 만든다.

(라) 시험조작

시험용액과 표준용액을 아래의 분석 조건에 따라 UPLC에 주입, 분석하여 시험용액과 표준용액의 peak를 비교 분석한다.

(마) UPLC 분석조건

시험 방법 validation에 사용한 UPLC의 분석조건은 아래와 같다.

항목	조건		
측정기기	ACQUITY UPLC		
칼럼	ACQUITY UPLC BEH 2.1 X 100 mm, 1.7 um (C18)		
Detector / 파장	TUV detector / 203 nm		
Column/ sample temperature	30도 / 25		
주입량 / flow rate	5 ul / 0.35 ml/min		
	시간	물	Acetonitrile
	Int	82 %	18 %
	6	80 %	20 %
	9	75 %	25 %
	14	60 %	40 %
	18	60 %	40 %
	18.04	82 %	18 %
	20	82 %	18 %

(2) Rb1 시험방법 validation

(가) 특이성(Specificity)

① 이론적 배경

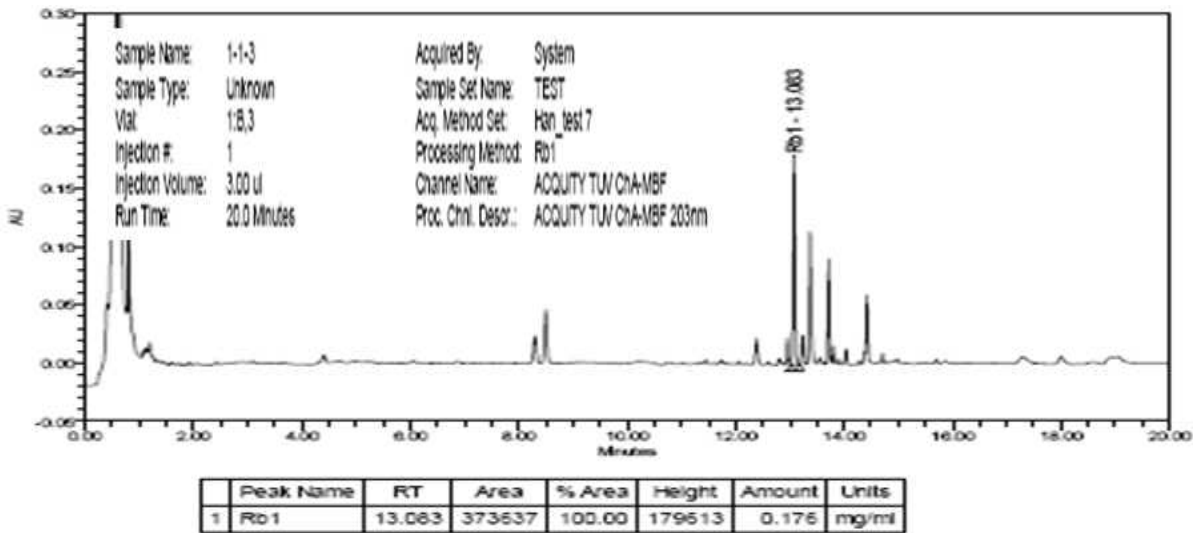
특이성이란 불순물, 분해생성물, 첨가물 등이 혼재되어 있는 상태에서 분석대상물질을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력을 말한다. 사용된 시험방법이 특이성이 있다는 것은 검출된 시그널이 분석대상성분에서만 유래한 것이며 다른 공존성분의 시그널에 의해 방해를 받지 않는다는 것을 의미한다. 특이성은 시험방법의 식별능력을 나타내며 선택성(Selectivity)이라고도 한다.

특이성이란 다음 각 시험방법별로 아래와 같은 것을 의미한다.

- 확인시험(Identification)에서는 분석대상물질을 공존하는 다른 물질의 방해 없이 선택적으로 정확하게 식별할 수 있는 능력
- 순도시험(Impurity test)에서는 시료 중의 불순물 함량을 정확히 나타내는 능력
- 정량시험(Assay)에 있어서는 시료 중 분석대상물질의 함량 또는 역가를 정확히 나타내는 능력

② 시험결과

표준품 Rb1의 RT는 아래 그림에서 보이는 바와 같이 13.075min 이었다. 물을 blank로 사용 시 RT 13분 전후로 어떠한 peak도 검출되지 않았다. 표준품과 희석용액인 물을 혼합하였을 경우 RT 13.074min에서 검출되었다. 표준품과 R b1이 함유된 시료를 섞었을 경우 RT는 13.083min 이었으며 area가 증가됨을 확인하였다. 따라서 사용되는 물과 STD 등은 흡수 파장에 영향을 주지 않았다.



(나) 직진성(Linearity)

① 이론적 배경

직진성이란 시험방법이 일정한 범위 내에 있는 검체 중 분석대상물질의 양(또는 농도)에 대하여 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 능력을 말한다.

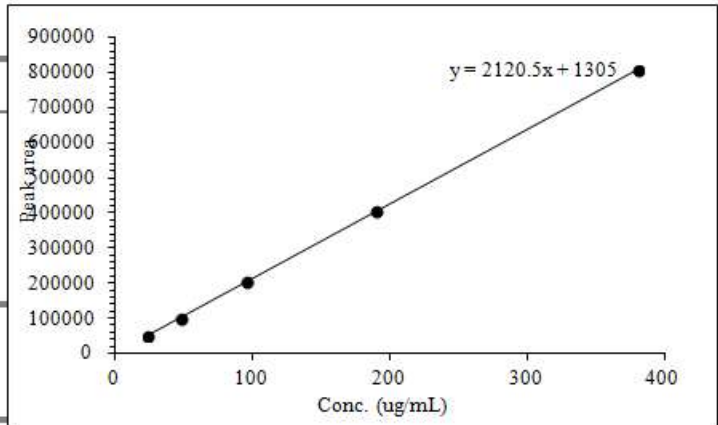
이를 위해서는 표준원액을 농도별로 희석하여 최소한 5개의 농도로 각 농도에 대해 직진성이 있다는 것을 증명한다. 여러 성분이 혼합된 제제에서는 각각 성분의 조성비별로 분리하여 직진성을 증명할 수 있다. 혼합제제의 경우는 범위(Range) 검토시 직진성을 평가 할 수 있다.

분석대상물질을 측정하여 나타난 시그널을 분석대상물질의 농도 또는 함량에 대한 함수로 작성한 플롯에 대한 직진성을 시각적으로 평가한다. 보통 상관분석을 통하여 상관계수를 계산함으로써 1차적으로 시그널과 분석대상물질의 농도 간 관계가 있음을 입증한다.

② 시험결과

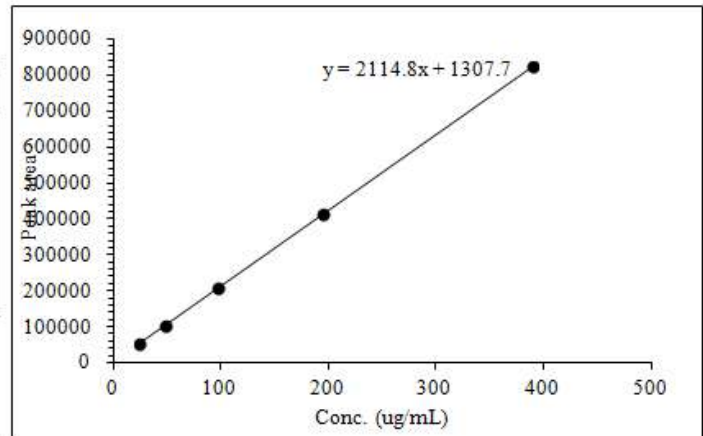
검량선 1차

표준품 채취량(mg)		0.38	
	농도(ug/mL)	보정농도(ug/mL)	분석값
1	380.00	380.00	805770
2	190.00	190.00	406719
3	95.00	95.00	203686
4	47.50	47.50	101739
5	23.75	23.75	49856
Slope		<b>2120.54</b>	
Intercept		<b>1305.00</b>	
Correlation coefficient (r2)		<b>0.99997</b>	



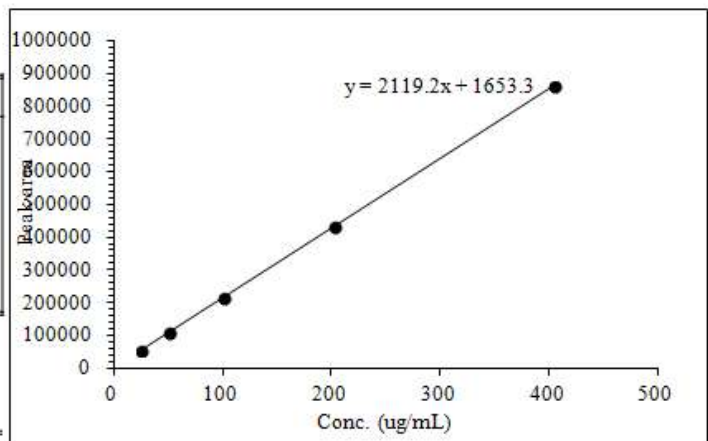
검량선 2차

표준품 채취량(mg)		0.39	
	농도(ug/mL)	보정농도(ug/mL)	분석값
1	389.00	389.00	823634
2	194.50	194.50	413125
3	97.25	97.25	207662
4	48.63	48.63	103274
5	24.31	24.31	52708
Slope		<b>2114.76</b>	
Intercept		<b>1307.71</b>	
Correlation coefficient (r2)		<b>1.00000</b>	



검량선 3차

표준품 채취량(mg)		0.41	
	농도(ug/mL)	보정농도(ug/mL)	분석값
1	405.00	405.00	859429
2	202.50	202.50	431228
3	101.25	101.25	217958
4	50.63	50.63	108085
5	25.31	25.31	54467
Slope		<b>2119.19</b>	
Intercept		<b>1653.33</b>	
Correlation coefficient (r2)		<b>0.99999</b>	



Mean of Slope 2118.16

Mean of Intercept 1422.01

SD of Slope 3.02

SD of Intercept 200.33

$Y = 2118.16 X + 1422.01$ , Y: 피크면적, X: 농도

(다) 정확성(Accuracy)

① 이론적 배경

정확성이란 측정값이 이미 알고 있는 참값이나 표준 값에 근접한 정도로서 실측치가 참값에 얼마나 가까운가를 말한다. 시험방법의 정밀성이란 균질한 검체로부터 여러 번 채취하여 얻은 시료를 정해진 조건에 따라 측정하였을 때 각각의 측정값들 간의 근접성(분산정도)을 나타낸다. 특히 정량을 목적으로 한 시험방법에서 정확성과 정밀성은 가장 중요한 밸리데이션 파라미터이다.

정확성은 최소한 3농도에 대하여 시험방법의 전체 조작을 최소 9회 반복하여 측정된 결과로 평가하도록 하고 있다. 예를 들면, 3농도에 대해 시험방법의 전체 조작을 각 농도 3회씩 반복하여 측정하도록 한다.

정확성은 회수율(%)로 나타내거나 회수율을 평균값으로 보고 참값과 비교하여 나타낸다. 참값과 비교하는 경우에는 평균값과 참값으로 인증된 값과의 차이를 신뢰구간과 함께 기재한다. 순도시험에서 분석대상성분의 검량선을 작성하지 않고 원료 의약품의 검량선(일반적으로 1점 검량선)으로 불순물의 값을 추정하는 경우에는 반응계수(response factor)로 정확성을 평가할 수 있다.

② 시험결과

STD	이론값 (ug/mL)	이론값 보정농도 (ug/mL)	Peak Area	참값 (ug/mL)	회수율 (%)	Difference (%)
1	405.00	405.00	855791.0	403.35	99.6	0.008
			857181.0	404.01	99.8	0.648
			854455.0	402.72	99.4	0.639
			평균값	403.36	99.60	0.432
			표준편차	0.644	0.159	0.367
2	202.50	202.50	431332.0	202.96	100.2	0.560
			429076.0	201.90	99.7	0.505
			430030.0	202.35	99.9	0.000
			평균값	202.40	99.953	0.355
			표준편차	0.535	0.264	0.309
3	101.25	101.25	213966.0	100.34	99.1	0.000
			214625.0	100.65	99.4	0.000
			215147.0	100.90	99.7	0.000
			평균값	100.63	99.391	0.000
			표준편차	0.279	0.276	0.000

	회수율(%)		Difference(%)	
전체 평균값	99.65		0.262	
전체 표준편차	0.322		0.312	
표본의 크기	9		9	
95% 신뢰구간	99.40	99.89	0.0226	0.5020

(라) 정밀성(Precision)

① 이론적 배경

정밀성은 반복성(병행정밀성, repeatability, intra-assay precision), 실험실내 정밀성(intermediate precision) 및 실험실간 정밀성(재현성, reproducibility)의 3가지로 나누어진다. 반복성이란 단시간 사이에 동일 조건 하에서 측정하는 경우의 정밀성을 말한다. 실험실내 정밀성이란 동일 실험실내에서 실험일, 시험자, 기구, 기기 등을 바꿔 측정하는 경우에 측정값 간의 정밀성이다. 실험실간 정밀성이란 하나의 균일한 검체에서 채취한 시료를 서로 다른 실험실 간에서 측정하는 경우의 정밀성이다. 의약품의 품질관리를 위한 시험은 일반적으로 하나의 실험실에서 실시되는 경우가 많으므로, 통상적으로 반복성과 실험실내 정밀성을 검토하면 된다. 그러나 다수의 실험실에서 시험을 실시할 경우에는 반복성과 실험실간 정밀성을 검토하거나 실험실 간의 밸리데이션 파라미터가 동등하다는 것을 확인해야 한다.

② 시험결과

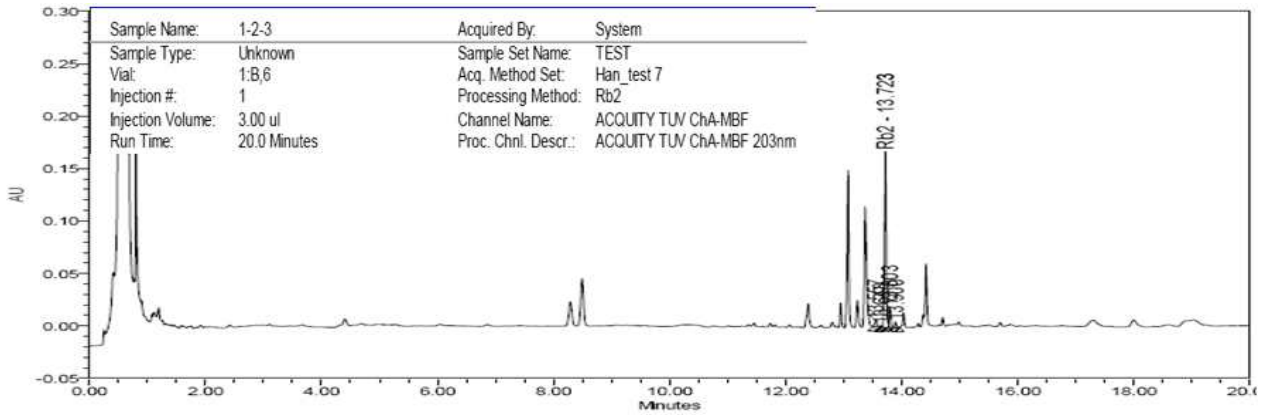
농도	검체 측정회수	측정값	평균	표준편차	상대표준 편차
389	1	823204.0000	824330.5000	2042.476903	0.25
	2	824772.0000			
	3	826360.0000			
	4	820774.0000			
	5	825136.0000			
	6	825737.0000			
판정기준 결과					1% 이하 적합

(3) Rb2 시험방법 validation

(가) 특이성(Specificity)

표준품 Rb2의 RT는 13.734min 이었다. 물을 Blank로 사용 시 RT 13.7분 전후로 어떠한 peak도 검출되지 않았다. 표준품과 희석용액인 물을 혼합하였을 경우 RT 13.719 min에서 검출 되었다. 표준품과 Rb2가 함유된 시료를 섞었을 경우 RT는 13.723 min이었으며 Area가 증가됨을 확인 하였다. 따라서 사용되는 물과 STD 등은 흡수 파장에 영향을 주지 않았다.

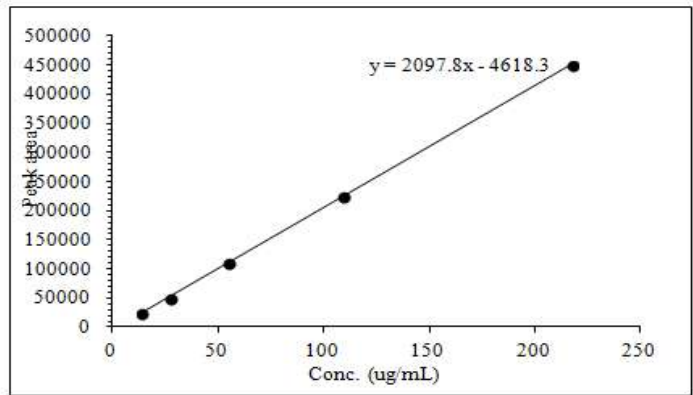




(나) 직진성(Linearity)

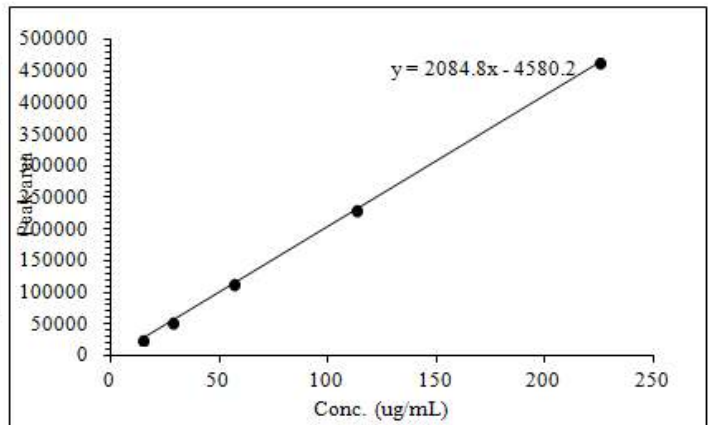
검량선 1차

표준품 채취량(mg)		0.22	
	농도(ug/mL)	보정농도(ug/mL)	분석값
1	217.00	217.00	449662
2	108.50	108.50	224915
3	54.25	54.25	110014
4	27.13	27.13	50671
5	13.56	13.56	23659
Slope			2097.84
Intercept			-4618.25
Correlation coefficient (r2)			0.99993



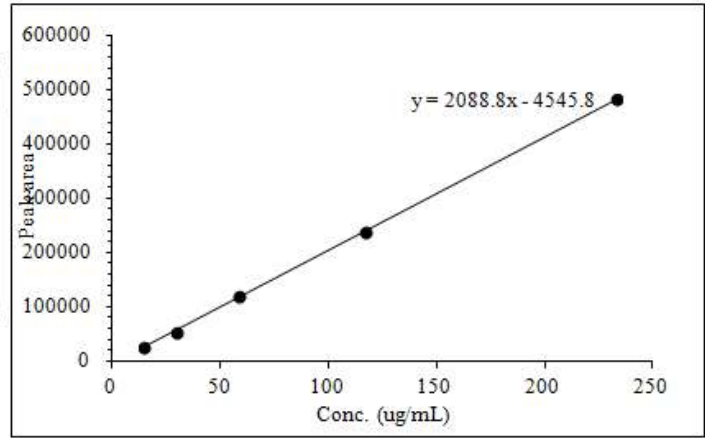
검량선 2차

표준품 채취량(mg)		0.22	
	농도(ug/mL)	보정농도(ug/mL)	분석값
1	224.00	224.00	462275
2	112.00	112.00	229143
3	56.00	56.00	112946
4	28.00	28.00	52080
5	14.00	14.00	25468
Slope			2084.82
Intercept			-4580.17
Correlation coefficient (r2)			0.99997



검량선 3차

표준품 채취량(mg)	233.00		
	농도(ug/mL)	보정농도(ug/mL)	분석값
1	233.00	233.00	482487
2	116.50	116.50	237440
3	58.25	58.25	119004
4	29.13	29.13	54911
5	14.56	14.56	26379
Slope			2088.77
Intercept			-4545.75
Correlation coefficient (r2)			0.99994



Mean of Slope 2090.48

Mean of Intercept -4581.39

SDofSlope 6.68

SD of Intercept 36.27

Y=2090.48X-4581.39, Y: 피크면적, X: 농도

(다) 정확성(Accuracy)

STD	이론값 (ug/mL)	이론값 보정농도 (ug/mL)	Peak Area	참값 (ug/mL)	회수율 (%)	Difference (%)
1	231.00	231.00	474136.0	229.00	99.1	0.203
			474759.0	229.30	99.3	0.095
			474787.0	229.31	99.3	0.108
			평균값	229.20	99.22	0.135
			표준편차	0.176	0.076	0.059
2	115.50	115.50	235203.0	114.70	99.3	0.255
			234028.0	114.14	98.8	0.307
			234779.0	114.50	99.1	0.000
			평균값	114.45	99.089	0.187
			표준편차	0.285	0.246	0.164
3	57.75	57.75	115475.0	57.43	99.4	0.000
			113024.0	56.26	97.4	0.000
			113222.0	56.35	97.6	0.000
			평균값	56.68	98.147	0.000
			표준편차	0.651	1.128	0.000

	회수율(%)		Difference(%)	
전체 평균값	98.82		0.108	
전체 표준편차	0.769		0.121	
표본의 크기	9		9	
95% 신뢰구간	98.23	99.41	0.0146	0.2006

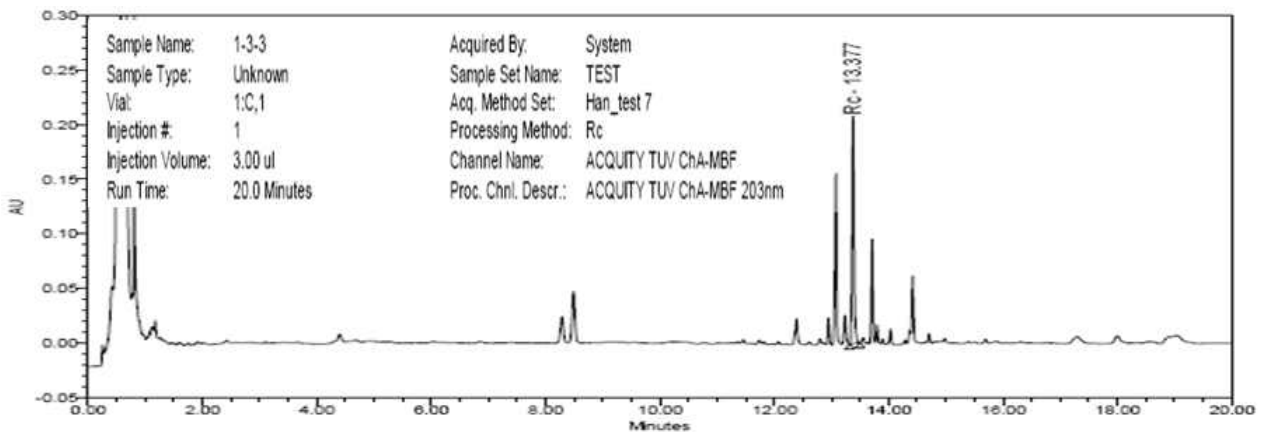
(라) 정밀성(Precision)

농도	검체 측정회수	측정값	평균	표준편차	상대표준 편차
224	1	458282.0000	457685.0000	1504.429194	0.33
	2	458848.0000			
	3	454850.0000			
	4	458642.0000			
	5	458313.0000			
	6	457175.0000			
판정기준 결과					1% 이하 적합

(4) Rc 시험방법 validation

(가) 특이성(Specificity)

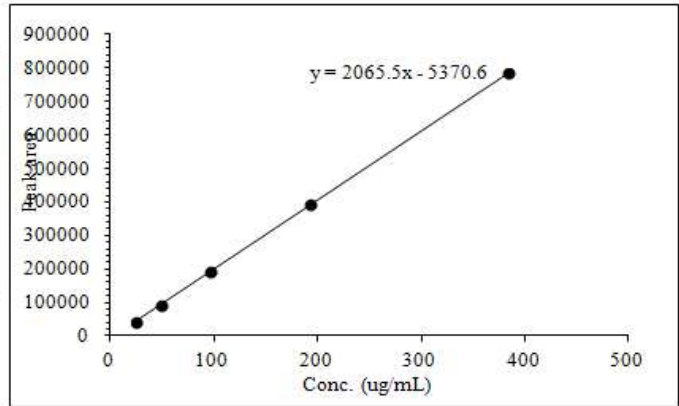
표준품 Rc의 RT는 13.385min 이었다. 물을 Blank로 사용 시 RT 13.3분 전후로 어떠한 peak도 검출되지 않았다. 표준품과 희석용액인 물을 혼합하였을 경우 RT 13.376 min에서 검출 되었다. 표준품과 Rb2가 함유된 시료를 섞었을 경우 RT는 13.376 min이었으며 Area가 증가됨을 확인 하였다. 따라서 사용되는 물과 STD 등은 흡수 파장에 영향을 주지 않았다.



(나) 직진성(Linearity)

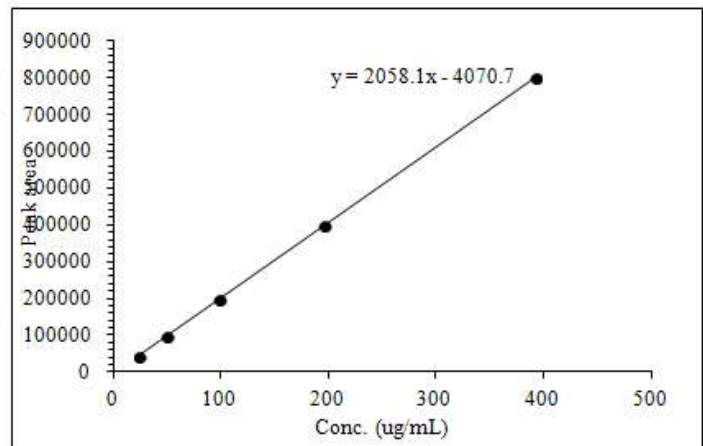
검량선 1차

표준품 채취량(mg)		0.38	
	농도(ug/mL)	보정농도(ug/mL)	분석값
1	383.00	383.00	783576
2	191.50	191.50	394076
3	95.75	95.75	194073
4	47.88	47.88	93633
5	23.94	23.94	40555
Slope			2065.55
Intercept			-5370.58
Correlation coefficient (r2)			0.99990



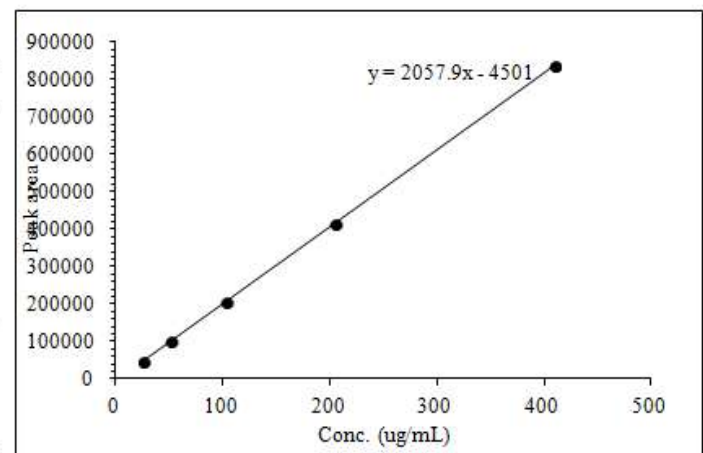
검량선 2차

표준품 채취량(mg)		0.39	
	농도(ug/mL)	보정농도(ug/mL)	분석값
1	392.00	392.00	801775
2	196.00	196.00	400931
3	98.00	98.00	198107
4	49.00	49.00	97634
5	24.50	24.50	44293
Slope			2058.06
Intercept			-4070.71
Correlation coefficient (r2)			0.99998



검량선 3차

표준품 채취량(mg)		0.41	
	농도(ug/mL)	보정농도(ug/mL)	분석값
1	409.00	409.00	837000
2	204.50	204.50	415838
3	102.25	102.25	207427
4	51.13	51.13	102357
5	25.56	25.56	45626
Slope			2057.89
Intercept			-4501.00
Correlation coefficient (r2)			0.99997



Mean of Slope	2060.50
Mean of Intercept	-4647.43
SD of Slope	4.37
SD of Intercept	662.19

$Y=2060.5X-4647.43$ , Y: 피크면적, X: 농도

(다) 정확성(Accuracy)

STD	이론값 (ug/mL)	이론값 보정농도 (ug/mL)	Peak Area	참값 (ug/mL)	회수율 (%)	Difference (%)
1	409.00	409.00	825063.0	402.67	98.5	0.371
			826903.0	403.57	98.7	0.522
			825517.0	402.89	98.5	0.151
			평균값	403.05	98.54	0.348
			표준편차	0.465	0.114	0.187
2	203.50	203.50	413118.0	202.75	99.6	0.285
			411547.0	201.99	99.3	0.478
			412929.0	202.66	99.6	0.000
			평균값	202.46	99.491	0.254
			표준편차	0.416	0.205	0.240
3	101.75	101.75	200268.0	99.45	97.7	0.000
			200710.0	99.66	97.9	0.000
			207597.0	103.01	101.2	0.000
			평균값	100.71	98.974	0.000
			표준편차	1.995	1.960	0.000

	회수율(%)		Difference(%)	
전체 평균값	99.00		0.201	
전체 표준편차	1.069		0.218	
표본의 크기	9		9	
95% 신뢰구간	98.18	99.83	0.0332	0.3681

(라) 정밀성(Precision)

농도	검체 측정 회수	측정값	평균	표준편차	상대표준 편차
392	1	798745.0000	796546.3333	2509.431782	0.32
	2	792163.0000			
	3	798716.0000			
	4	797181.0000			
	5	795203.0000			
	6	797270.0000			
		관정기준 결과	1% 이하 적합		

## 2. 원료의 표준화

가. 원료의 안정성(가속)시험 설계

안정성시험(가속조건)실시계획서					
1. 시료명: GS-3K8					
2. 시료 정보					
가. 제조번호: GS-3K8-20130614					
나. 제조일자: 2013년 6월 14일					
3. 시험조건(가속시험)					
항목	온도(℃)	상대습도(%)	측정기간	측정주기	
조건	40 ± 2	75 ± 5	12주	1주 ~ 2주	
4. 시험항목 및 시험방법					
순	시험항목	시험방법			
1	성상	육안 및 관능으로 관찰			
2	Ginsenoside Rb1(mg/g)	별첨 참고			
3	Ginsenoside Rb2(mg/g)				
4	Ginsenoside Rc(mg/g)				
6. 시험 일정표					
주기	0주	1주	2주	3주	4주
예정일	2013.06.17.	2013.06.24.	2013.07.01.	2013.07.08.	2013.07.15.
주기	6주	8주	10주	12주	X
예정일	2013.07.29.	2013.08.12.	2013.08.26.	2013.09.09.	
(비고)		결	시험자	확인자	승인자
		재			

(별첨)

Ginsenoside Rb1, Rb2 및 Rc 함량 측정 시험방법

1. 시료 전처리

- 가. 시료 0.3 ~ 0.5 mg을 정밀하게 측정하여 10 mL 증류수로 mass up
- 나. 증류수에 녹인 시료를 약 20분 동안 sonication 실시
- 다. Sonication이 끝나면 시료를 0.2  $\mu$ m로 filtration
- 라. 필요 시 물로 희석하여 시험용액으로 사용

2. 표준품 제조

- 가. 표준품의 농도가 0.1 ~ 0.25 mg/mL가 되도록 methanol로 용해
- 나. Methanol에 녹인 표준품을 0.2  $\mu$ m로 filtration
- 라. 필요 시 methanol로 희석하여 시험용액으로 사용

3. 기기분석 조건

항목	기기분석(UPLC) 조건		
측정기기	ACQUITY UPLC(Waters社, 2009년)		
Column	ACQUITY UPLC BEH 2.1 X 100 mm, 1.7 $\mu$ m (C18)		
Detector	TUV detector		
Wave length	203 nm		
Column temp.	30 $^{\circ}$ C		
Sample temp.	25 $^{\circ}$ C		
Injection vol.	5 $\mu$ l		
Flow rate	0.35 mL/min		
Run time	20 min		
mobile phase	Time	Water(%)	Acetonitrile(%)
	Int	82	18
	6	80	20
	7	75	25
	14	60	40
	18	60	40
	18.04	82	18
	20	82	18

4. Ginsenoside Rb1, Rb2 또는 Rc 함량 계산

가. 함량(mg/g) =  $C \times (V \times D) / W \times S / 100$

나. 약어

- C: 시험용액 중의 표준물질 농도(mg/mL)
- V: 시험용액 전량(mL)
- D: 희석배수
- W: 시료채취량(g)
- S: 표준품의 순도(%)

나. 원료의 안정성(가속)시험 결과

안정성시험(가속조건)결과보고서																																																																						
제목	GS-3K8 안정성시험 결과 보고	보고일	2013.09.13.																																																																			
<p>1. 개요: GS-3K8의 안정성시험 계획에 따라 시험을 실시하였기에 다음과 같이 그 결과를 보고함</p> <p>2. 시험목적: 가속조건에서의 GS-3K8의 품질안정성 측정</p> <p>3. 시료 정보</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin: 10px 0;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">시료명</th> <th style="width: 30%;">제조번호</th> <th style="width: 40%;">제조일</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">GS-3K8</td> <td style="text-align: center;">GS-3K8-20130614</td> <td style="text-align: center;">75 ± 5</td> </tr> </tbody> </table> <p>4. 시험조건</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin: 10px 0;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">온도(℃)</th> <th style="width: 15%;">상대습도(%)</th> <th style="width: 15%;">측정기간</th> <th style="width: 15%;">측정주기</th> <th style="width: 40%;">보관용기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">40 ± 2</td> <td style="text-align: center;">75 ± 5</td> <td style="text-align: center;">12주</td> <td style="text-align: center;">1주 ~ 2주</td> <td style="text-align: center;">Glass(밀폐)</td> </tr> </tbody> </table> <p>5. 시험기간: 2013.06.17. ~ 2013.09.09.</p> <p>6. 시험방법: 별첨 참고</p> <p>7. 측정기기: ACQUITY UPLC(Waters, 2009년)</p> <p>8. 시험자: 김종태(주)일화 BioTech연구실)</p> <p>9. 결과: 적합</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin: 10px 0;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">항목</th> <th style="width: 10%;">0주(기준)</th> <th style="width: 5%;">1주</th> <th style="width: 5%;">2주</th> <th style="width: 5%;">3주</th> <th style="width: 5%;">4주</th> <th style="width: 5%;">6주</th> <th style="width: 5%;">8주</th> <th style="width: 5%;">10주</th> <th style="width: 5%;">12주</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>성상</td> <td style="text-align: center;">Yellowish powder</td> <td style="text-align: center;">적합</td> <td style="text-align: center;">적합</td> <td style="text-align: center;">적합</td> <td style="text-align: center;">적합</td> <td style="text-align: center;">적합</td> <td style="text-align: center;">적합</td> <td style="text-align: center;">적합</td> <td style="text-align: center;">적합</td> </tr> <tr> <td>G-Rb1(%)</td> <td style="text-align: center;">100.0(16.9 mg/g)</td> <td style="text-align: center;">100.2</td> <td style="text-align: center;">99.9</td> <td style="text-align: center;">99.9</td> <td style="text-align: center;">100.0</td> <td style="text-align: center;">99.9</td> <td style="text-align: center;">100.1</td> <td style="text-align: center;">99.8</td> <td style="text-align: center;">99.9</td> </tr> <tr> <td>G-Rb2(%)</td> <td style="text-align: center;">100.0(10.4 mg/g)</td> <td style="text-align: center;">100.0</td> <td style="text-align: center;">100.1</td> <td style="text-align: center;">100.1</td> <td style="text-align: center;">99.8</td> <td style="text-align: center;">100.0</td> <td style="text-align: center;">99.9</td> <td style="text-align: center;">100.0</td> <td style="text-align: center;">100.1</td> </tr> <tr> <td>G-Rc(%)</td> <td style="text-align: center;">100.0(16.0 mg/g)</td> <td style="text-align: center;">99.9</td> <td style="text-align: center;">99.9</td> <td style="text-align: center;">100.1</td> <td style="text-align: center;">100.1</td> <td style="text-align: center;">100.0</td> <td style="text-align: center;">99.8</td> <td style="text-align: center;">100.1</td> <td style="text-align: center;">100.0</td> </tr> </tbody> </table> <p>※ G- Rb1, b2 및 Rc는 기준 함량의 80% 이상일 경우 적합</p>					시료명	제조번호	제조일	GS-3K8	GS-3K8-20130614	75 ± 5	온도(℃)	상대습도(%)	측정기간	측정주기	보관용기	40 ± 2	75 ± 5	12주	1주 ~ 2주	Glass(밀폐)	항목	0주(기준)	1주	2주	3주	4주	6주	8주	10주	12주	성상	Yellowish powder	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	G-Rb1(%)	100.0(16.9 mg/g)	100.2	99.9	99.9	100.0	99.9	100.1	99.8	99.9	G-Rb2(%)	100.0(10.4 mg/g)	100.0	100.1	100.1	99.8	100.0	99.9	100.0	100.1	G-Rc(%)	100.0(16.0 mg/g)	99.9	99.9	100.1	100.1	100.0	99.8	100.1	100.0
시료명	제조번호	제조일																																																																				
GS-3K8	GS-3K8-20130614	75 ± 5																																																																				
온도(℃)	상대습도(%)	측정기간	측정주기	보관용기																																																																		
40 ± 2	75 ± 5	12주	1주 ~ 2주	Glass(밀폐)																																																																		
항목	0주(기준)	1주	2주	3주	4주	6주	8주	10주	12주																																																													
성상	Yellowish powder	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합																																																													
G-Rb1(%)	100.0(16.9 mg/g)	100.2	99.9	99.9	100.0	99.9	100.1	99.8	99.9																																																													
G-Rb2(%)	100.0(10.4 mg/g)	100.0	100.1	100.1	99.8	100.0	99.9	100.0	100.1																																																													
G-Rc(%)	100.0(16.0 mg/g)	99.9	99.9	100.1	100.1	100.0	99.8	100.1	100.0																																																													
(비고)	결 재	시험자	확인자	승인자																																																																		



### 3. 원료의 기준규격 설정

#### 가. 지표성분의 기준규격

##### (1) 시험방법

시료 약 0.5 mg을 정밀하게 측정하여 10 mL 증류수로 mass up하고 증류수에 녹인 다음 약 20분 동안 sonication한 다음 0.2 μm로 filtration하였다.

##### (2) 표준품 제조

표준품의 농도가 0.1 ~ 0.25 mg/mL가 되도록 methanol로 용해하고 0.2 μm로 filtration한 다음 시험용액으로 사용하였다

##### (3) 기기분석 조건

항목	기기분석(UPLC) 조건
측정기기	ACQUITY UPLC(Waters社, 2009년)
Column	ACQUITY UPLC BEH 2.1 X 100 mm, 1.7 um
Detector	TUV detector
Wave length	203 nm
Column temp.	30 °C
Sample temp.	25 °C
Injection vol.	5 ul
Flow rate	0.35 mL/min
Run time	20 min

	Time	Water(%)	Acetonitrile(%)
mobile phase	Int	82	18
	6	80	20
	7	75	25
	14	60	40
	18	60	40
	18.04	82	18
	20	82	18

(4) Ginsenoside Rb1, Rb2 또는 Rc 함량 계산은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{함량(mg/g)} = C \times (V \times D) / W \times S / 100$$

- C: 시험용액 중의 표준물질 농도(mg/mL)
- V: 시험용액 전량(mL)

- D: 회석배수
- W: 시료채취량(g)

(5) 시험 결과의 만족도 향상을 위해 공인 기관에 분석을 의뢰하여 그 값을 참고하였다.

(6) 시험결과

구분	Rb1(mg/g)	Rb2(mg/g)	Rc(mg/g)	비고
1차	15.82	9.95	15.59	
2차	16.33	10.31	15.90	
3차	16.21	10.16	15.78	
4차	15.93	10.42	16.22	
5차	16.51	9.89	15.94	
평균	16.16	10.15	15.89	

(7) 기준규격의 설정

시험결과와 공인기관의 분석결과 및 향후 안정성 등을 고려하여 다음과 같이 기준규격을 설정하였다.

구분	Rb1(mg/g)	Rb2(mg/g)	Rc(mg/g)
기준규격	12.0	8.0	12.0

## 검 사 성 적 서

발급번호 : 130410

접수번호 : I-130369

제품명		GS-3K8		제조일자		-	
의뢰인	업소명	쥬일화		성명	이성균		
	소재지	경기도 구리시 수택동 437		제조번호	-		
접수년월일		2013. 09. 10.		검사완료일	2013. 09. 26.		
식품유형(재질)		인삼					
검사목적		참고용					
시험항목 및 결과							
시험항목	기준규격	검사결과	항목판정	시험항목	기준규격	검사결과	항목판정
· 진세노사이드 Rb1(mg/g)	-	16.70	-	· 대장균군	-	음성	-
· 진세노사이드 Rb2(mg/g)	-	10.61	-	· 세균수	-	0/ml	-
· 진세노사이드 RC(mg/g)	-	16.23	-				
[ 잔류농약 28종 ]							
· DOT	-	불검출	-	· Tolyfluanid	-	불검출	-
· BHC	-	불검출	-	· Tolclofos-methyl	-	불검출	-
· Aldrin & Dieldrin	-	불검출	-	· Difenoconazole	-	불검출	-
· Endrin	-	불검출	-	· Pyrimethanil	-	불검출	-
· Quintozene	-	불검출	-	· Iminoctadlne	-	불검출	-
· Carabendazim	-	불검출	-	· Fenhexamid	-	불검출	-
· Metalaxyl	-	불검출	-	· Cyazofamid	-	불검출	-
· Diethofencarb	-	불검출	-	· Cyprodinil	-	불검출	-
· Cypermethrin	-	불검출	-	· Kresoxim-methyl	-	불검출	-
· Azoxystrobin	-	불검출	-	· Fluquinconazole	-	불검출	-
· Tefluthrin	-	불검출	-	· Trifloxystrobin	-	불검출	-
· Fludioxonil	-	불검출	-	· Cyfluthrin	-	불검출	-
· Cadusafos	-	불검출	-	· Thifluzamide	-	불검출	-
· Carbosulfan	-	불검출	-	· Flutolanil	-	불검출	-
판정 :		검사자: 김미숙, 정현욱, 정혜경					
비고 :							
상기 판정은 의뢰된 시험항목에 한함							
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>(사) 한국인삼제품협회 http://www.Koreaginseng.or.kr</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>2013년 9월 26일</p> <p>(110-470) 서울시 종로구 연지동 114-1 Tel. 02)3672-8502~4 Fax. 02)3672-8505</p>  </div> </div>							
동 검사결과는 제출된 검체에 한하며, 검사의뢰 목적 이외에 사용할 수 없음							

### 나. 잔류농약의 기준규격

#### (1) 시험방법

(가) 시료 약 10g을 정밀하게 달아 물 100mL 및 셀라이트545 약 10g을 넣고 균질기에 넣고 이에 Acetonitril 200mL을 넣어 5분간 균질화 한 후 여지가 깔려있는 부호너깔때기로 여과한 다음 잔사를 acetonitril 소량으로 씻고 씻은 여액을 합쳐 acetonitril을 넣어 일정량으로 하고 여액의 양을 기록한다.

(나) 여액 중 시료 약 5g에 해당하는 양을 취하여 1,000mL의 분액깔때기에 넣고 석

유에테르를 100mL을 넣어 심하게 흔들어 섞은 후 이에 포화염화나트륨 용액 10mL 및 물 600mL를 넣어 다시 1분간 심하게 흔들어 섞고 정치하여 층을 분리시키고 석유에테르 층을 다른 분액깔때기에 취한다.

(다) 물 층에 다시 석유에테르 100mL을 넣고 위와 같이 되풀이 하여 석유에테르 층을 무수황산나트륨으로 탈수한 후 40℃ 이하의 수욕 상에서 감압 하에 약 5mL로 농축한다.

(라) 안지름 22mm의 칼럼관에 후로리실 20g, 무수황산나트륨 10g을 각각 헥산에 현탁시켜 충전한 후 그 상단에 소량의 헥산이 남을 정도까지 유출시킨다.

(마) 이 칼럼에 위의 농축액을 넣고 15% 에테르 함유 헥산 150mL로 용출하고 이어서 50% 에테르 함유 헥산 200mL로 하여 용출액을 40℃이하의 수욕 상에서 감압 하에 농축하고 일정량으로 하여 시험용액으로 한다.

(바) 이 시험용액을 GC-MS를 이용하여 분석한다.

(사) 잔류농약의 종류에 따라 상기 시험법 및 식품공전 일반시험법 4.2 인삼 중 잔류농약 분석법에 의하여 분석하며 분석조건 및 칼럼 등은 공전의 조건에 따라 시험한다.

## (2) 분석결과

시험항목	분석결과			시험항목	분석결과		
	1차	2차	3차		1차	2차	3차
DDT	ND	ND	ND	Tolylfluanid	ND	ND	ND
BHC	ND	ND	ND	Tolclofos-methyl	ND	ND	ND
Aldrin & Dieldrin	ND	ND	ND	Difenoconazole	ND	ND	ND
Endrin	ND	ND	ND	Pyrimethanil	ND	ND	ND
Quintozene	ND	ND	ND	Iminoctadine	ND	ND	ND
Carbedazim	ND	ND	ND	Fenhexamid	ND	ND	ND
Metalaxyl	ND	ND	ND	Cyazofamid	ND	ND	ND
Diethofencarb	ND	ND	ND	Cyprodinil	ND	ND	ND
Cypermethrin	ND	ND	ND	Kresoxim-methyl	ND	ND	ND
Azoxystrobin	ND	ND	ND	Fluquinconazol	ND	ND	ND
Tefluthrin	ND	ND	ND	Trifloxystrobin	ND	ND	ND
Fludioxonil	ND	ND	ND	Cyflurhrin	ND	ND	ND
Cadusafos	ND	ND	ND	Thifluzamide	ND	ND	ND
Carbosulfan	ND	ND	ND	Flutolanil	ND	ND	ND

(3) 기준규격의 설정

시험결과 모든 잔류농약 성분이 불검출 되었으므로 인삼류의 잔류농약의 허용치를 기준으로 하되 불검출을 원칙으로 설정하였다.

다. 미생물의 기준규격

(1) 시험방법

(가) 세균수

- ① 시료를 멸균 유리병으로 잘 혼합한 후 10g을 멸균용기에 취해 9배양의 희석액과 혼합하여 시험용액으로 한다.
- ② 시험용액 1mL와 10배 단계 희석액 1mL 씩을 페트리접시에 무균적으로 취하여 약 43~45℃로 유지한 한천배지에 약 15mL을 무균적으로 분주하고 페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의하면서 조용히 회전하여 좌우로 기울이면서 검체와 배지를 잘 혼합하여 응고시킨다.
- ③ 확산집락의 발생을 억제하기 위하여 다시 표준 한천배지 3mL을 가하여 중첩시킨다(20분 이내에 실시)
- ④ 응고시킨 페트리접시는 거꾸로 하여 35~37℃에서 24~48시간 배양한다.
- ⑤ 시료액을 가하지 않은 동일 희석액 1mL를 대조시험액으로 하여 시험조작의 무균여부를 확인한다.

(나) 대장균군

- ① 제조법에 따른 시험용액 10mL를 2배 농도의 유당배지에 시험용액 1mL 및 0.1mL를 유당배지에 각각 3개씩 가한다.
- ② 유당배지를 35~37℃에서 24~48시간 배양한 후 발효관내에 가스발생유무를 확인한다. 이때 가스가 발생하지 않으면 음성으로 판정하고 가스발생시 다음시험을 진행한다.
- ③ 가스 발생한 유당배지발효관으로 부터 BGLB 배지에 접종하여 35~37℃에서 24~48시간 배양한 후 발효관내에 가스발생유무를 확인한다. 이때 가스가 발생하지 않으면 음성으로 판정하고 가스 발생시는 BGLB배지로부터 Endo 또는 EMB 한천배지에서 배양한다.
- ④ 35~37℃에서 24시간 배양 후 전형적인 집락이 발생하면 양성으로 한다.

⑤ Endo 또는 EMB 한천배지에서 전형적인 집락 1개 또는 비전형적인 집락 2개 이상을 각각 유당배지발효관과 보통한천배지에 접종하여 35~37℃에서 48시간 동안 배양한다.

⑥ 이때 가스를 발생한 발효관에 해당되는 한천배지의 집락에 대하여 그람음성, 무아포성 간균이 증명되면 양성이며, 대장균군 양성으로 판정한다.

(2) 시험결과

구분	시험결과			비고
	1차	2차	3차	
세균수	0/ml	0/ml	0/ml	
대장균군	음성	음성	음성	

(3) 기준규격의 설정

시험결과 세균수와 대장균군이 모두 음성으로 나타났으므로 인삼류의 미생물 허용치를 기준으로 하되 음성을 원칙으로 설정하였다.

라. 중금속의 기준규격

(1) 시험방법

(가) 약 5g의 시료를 Microwave digestion system에 넣고 질산으로 처리하여 분해하고 메스플라스크에 옮겨 mass up 한다.

(나) 표준용액과 시료용액을 ICP에 주입하여 시험용액의 농도를 구한다.

(2) 시험결과

구분	시험결과			비고
	1차	2차	3차	
Pb	ND	ND	ND	
Cd	ND	ND	ND	

(3) 기준규격의 설정

시험결과 Pb와 Cd이 미량 검출되었으나 모두 기준치 이하로 식품공전의 기준에 따라 설정하였다.

#### 4. Formula 개발

##### 가. Formulation 개발

- (1) 임상 시험용 제품 및 Placebo의 formulae 구축을 위해 여러 가지 부형제 및 제형에 관하여 검토하였다.
- (2) 본 시험에서 정한 인삼한외여과추출물의 1일 섭취량은 972mg으로 하며 섭취의 편의성 등을 감안하여 최대 1회 2정 1일 3회로 하였다.
- (3) Tablet 제형 검토시 부형제로 검토한 것은 범용적으로 사용되며 면역기능에도 영향을 미치지 않는 쌀가루를 검토하였다. 쌀가루만으로 타정 할 경우 결합력 강화를 위해 일부 부형제도 검토하였다. 하지만 tablet 제형이 불가하다는 판단에 따라 soft capsule 제형에 적합한 부형제등을 검토하였다.
- (4) 실제 soft capsule에 사용되는 많은 부형제들을 스크리닝하며 면역기능에 영향을 미치지 않으며 비교적 capsule 성형이 용이한 대두유를 비롯하여, 팜유, 쌀겨왁스, 지방산에스테르, 레시틴등이 검토대상에 올랐다.
- (5) 이들 부형제들과 인삼 한외여과추출물을 여러 가지 형태로 배합하여 시험한 결과가 가장 성형이 잘되며 안정성이 뛰어난 부형제를 아래와 같은 규격으로 Formulation하기로 결정하였다.

성분	규격(%)
인삼한외여과추출물	32.40
대두유	60.60
황납	4.40
Lecithin 70SB	2.60

##### 나. Placebo formulation 개발

- (1) Placebo의 formulation은 임상시험용 formulation의 기본 규격에서 인삼한외여과추출물을 제외하고 같은 비율로 사용가능한 물질을 검색하였다.
- (2) 여러 시험을 거쳐 정확하게 비율이 일치하지는 않지만 말토덱스트린을 사용하여 제조하였을 때 가장 안정적이고 적합하게 제조됨을 확인하였다.
- (3) 하지만 인삼한외여과 추출물의 색상과 말토덱스트린의 색상의 차이에 의해 soft capsule의 색상의 차이가 나타나 시험용과 placebo와 확연하게 구별이 되는 문제점이 발생하였다.

(4) 이에 색상을 맞추기 위해 일부 색소를 사용하는 것을 검토하여 카카오 색소와 안나토 색소를 이용하여 제형을 제조하였을 때 임상 시험용 capsule과 placebo와 구분이 되지 않고 완전히 같은 모양, 색상이 되는 것을 확인하고 아래와 같이 formulation하기로 결정하였다.

성분	규격(%)
말토덱스트린	32.00
대두유	48.10
정제팜유	6.00
쌀겨왁스	9.60
레시틴	2.30
카카오색소	1.40
안나토색소	0.60

## 5. 임상시험용 시제품개발 및 시험생산

### 가. 제형 개발

- (1) 본 제품의 제형은 개발함에 있어 1일 6정 섭취시 1정에 162mg의 인삼한외여과추출물성분이 함유되도록 제형을 만들어야 한다.
- (2) 처음에는 Tablet제형을 검토하였다.
- (3) 인삼한외여과추출물 성분의 특성상 500mg정도의 Tablet중 32.4%해당하는 162mg을 함유하여 제형을 하는데 어려움이 많았으며 또한 강한 흡습력으로 인하여 안정성에도 문제가 노출되었다.
- (4) 인삼한외여과 추출물을 162mg과 쌀가루 등의 부형제와 배합하면 반죽과 과립생성 과정에서 반죽이 잘 안되거나 과립형성이 잘 안되는 등 문제점을 노출하였다. 또한 이를 타정기에 넣고 타블렛을 제조한다고 해도 흐름성이 나쁘고 연속생산이 불가능하며 기기에 엉겨붙어 연속적인 작업이 불가하였다.
- (5) 계속해서 다른 부형제의 양을 늘려서 검토하였으나 이 경우에는 제형의 크기가 1000mg을 넘어서고 임상적으로 투여하기에는 무리하게 보여 결국 Tablet제형은 불가능한 것으로 결론지었다
- (6) 이에 여러 시험 과정을 거쳐 비교적 안정적으로 생산 가능하고 제형도 안정한



soft capsule을 검토하기로 하였다.

(7) 한외여과 추출물은 동결건조하여 분말화 한 것으로 분말의 입자가 너무 커서 capsule 성형이 이루어지지 않았다.

(8) 이에 믹서에서 갈아 약 50mesh 수준으로 분말을 만들어 시험하였으나 역시 분말 saze 문제로 성형이 되지 않았다.

(9) 이에 다른 soft capsule 제조사 분말 사용의 예를 벤치마킹하여 분말 saze가 최소한 80mesh이하여야 한다는 것을 알고 다시 한외여과 추출물을 80mesh이하로 분말화하여 capsule 성형을 실시하였고 이번에는 원만하게 성형이 이루어짐을 알 수 있었다.

(10) 이 후 몇 차례에 걸쳐 시험하여 formulation에서 검토한대로 아래와 같이 규격을 설정하였다.

표 1. 임상용 샘플 500(972mg/day섭취기준)의 배합 규격표

제품명	크기/모양	성분	규격(%)	함량(mg)	비고
임상샘플	120	인삼한외여과추출물	32.40	162.0	
		대두유	60.60	303.0	
		황납	4.40	22.0	
		Lecithin 70SB	2.60	13.0	
내용량 합계				500.0	

표 2. 임상용 Placebo샘플의 배합 규격표

제품명	크기/모양	성분	규격(%)	함량(mg)	비고
Placebo	120	말토덱스트린	32.00	160.0	
		대두유	48.10	240.5	
		정제팜유	6.00	30.0	
		쌀겨왁스	9.60	48.0	
		레시틴	2.30	11.5	
		카카오색소	1.40	7.0	
안나토색소				0.60	3.0
내용량 합계				500.0	

(11) 이 방법에 의해 조제된 내용물을 (주)RP corp.에 의뢰하여 성형하였다.

나. 시제품의 시험생산 및 함량시험

(1) 시제품은 앞서 개발된 formulation에 의거하여 내용물을 배합하고 (주)RP corp.에 서 시험 생산하였다.

(2) 생산제조공의 제조공정은 다음과 같은 순서에 의해 진행 되었다

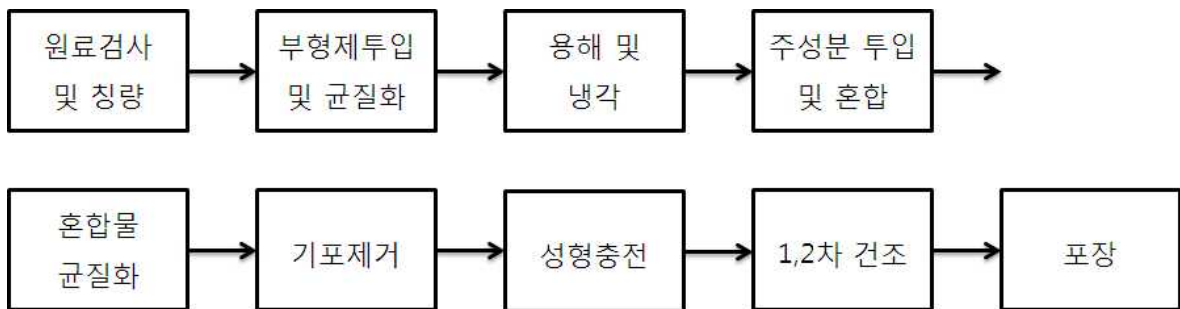


그림 1. 제조공정도

(3) 시제품의 성분 함량시험은 건강식품 공전 및 식품공전의 기준에 따라 시험하였으며 그 결과는 다음과 같다.

3. 원료의 기준규격, 식품공전 및 건강기능식품공전을 참고하여 표시량의 80% 이상을 기준으로 설정하였으며 그 값은 표의 기준란에 표시하였다.

시험은 1 capsule의 무게가 500mg이므로 2capsule중의 함량을 측정하였다.

표 3. 시험제품에 대한 성분 함량 시험 결과

제조번호	Ginsenoside Rb1		Ginsenoside Rb2		Ginsenoside Rc	
	기준	시험결과	기준	시험결과	기준	시험결과
CGS 2014001		3.96mg/g		2.54mg/g		3.94mg/g
CGS 2014002	3.17mg/g 이상	3.92mg/g	2.11mg/g 이상	2.50mg/g	3.17mg/g 이상	3.92mg/g
CGS 2014003		3.89mg/g		2.51mg/g		3.90mg/g

(4) 위의 표 3에서 보이는 바와 같이 시험 생산된 제품은 제조과정 중 문제가 없이 생산되었으며 성분 함량에도 문제가 없음을 확인하였다.

6. 시제품의 장단기 안정성 시험

시제품의 안정성 시험은 식품의약품 안전청의 가이드라인에 의거하여 실시하였으며 그 결과는 다음과 같다.

가. 제품의 특성

구분	신규 제품
제품유형	건강기능식품 중 인삼
성상	이미와 이취가 없는 oval 모양의 적갈색 연질캡슐
사용원료	한외여과추출물
제조공정	칭량 → 혼합 → 분쇄 → 여과 → 탈기 → 성형·충전 → 건조 → 포장 → 검사
포장재질	미정
포장방법	미정
포장단위	500 mg × (10정, 30정, 60정, 90정, 120정, 360정, 720정)
섭취량	1일 3회, 1회 2캡슐
보존 및 유통온도	습기와 직사광선을 피하여 서늘한 장소에 보관(실온 유통)
보존료 사용여부	미사용
유당·유처리	-
살균 또는 멸균방법	-

나. 실험방법

(1) 검체의 채취 및 취급방법

본 실험에 사용된 제품은 (주)알피코프에서 시생산한 최종 제품 3로트(CGS 2014001, CGS 2014002, CGS 2014003)에서 랜덤으로 샘플링 하였으며, 각 시료는 실험조건에 맞게 보관하여 사용하였다.

(2) 실험조건

본 실험은 제품의 유통온도를 감안하여 저장 온도 및 습도를 설정하여 수행하였으며, 실험주기는 저장기간 중 6회가 되도록 1개월 간격으로 시험을 수행하였다.

구분	실험조건	구분	실험조건
저장온도	25 °C, 35 °C, 45 °C	저장기간	5개월
저장습도	90 %RH	실험횟수	6회
유통온도	1 ~ 35 °C(실온유통)	실험반복수	3회

(3) 품질한계 및 설정근거

본 제품의 기준 및 규격에 대한 품질한계는 1차년도 연구결과보고서, 식품공전 및 건강기능식품공전을 참고하여 설정하였다.

순	품질지표	품질한계/설정근거
1	진세노사이드 Rb <sub>1</sub>	표시량(11.88 mg/day)의 80% 이상 1차년도 연구결과보고서 원료의 기준규격
2	진세노사이드 Rb <sub>2</sub>	표시량(7.92 mg/day)의 80% 이상 1차년도 연구결과보고서 원료의 기준규격
3	진세노사이드 Rc	표시량(11.88 mg/day)의 80% 이상 1차년도 연구결과보고서 원료의 기준규격
4	대장균군	음성 건강기능식품공전 인삼제품 기준 준용
5	붕해도	적합(물로 20분 이내 붕해) 건강기능식품공전 붕해시험법 기준 적용

(4) 품질지표 및 실험방법

본 실험의 품질지표 및 실험방법은 건강기능식품공전을 참고하여 아래와 같이 설정하여 수행하였다.

(가) 품질지표 및 실험방법 요약

	품질지표	실험방법
기능 성분	진세노사이드 Rb <sub>1</sub>	
	진세노사이드 Rb <sub>2</sub>	건강기능식품공전 제4. 3-55 진세노사이드
	진세노사이드 Rc	
미생물	대장균군	식품공전 제9. 일반시험법 3.7 대장균군
물리	붕해시험	건강기능식품공전 제4. 2. 일반시험법 2-1 붕해시험법

(나) 품질지표에 대한 실험방법

① 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc

㉞ 시료 전처리

시료 약 0.5 mg을 정밀하게 측정하여 10 mL 증류수로 mass up하고 증류수에 녹인 다음 약 20분 동안 sonication한 다음 0.2 μm로 filtration하였다.

㉟ 표준품 제조

표준품의 농도가 0.1 ~ 0.25 mg/mL가 되도록 methanol로 용해하고 0.2 μm로

filtration한 다음 시험용액으로 사용하였다.

㉔ 기기분석 조건

기기분석의 조건은 아래 표와 같다.

항목	기기분석(UPLC) 조건
측정기기	ACQUITY UPLC(Waters社, 2009년)
Column	ACQUITY UPLC BEH 2.1 X 100 mm, 1.7 um
Detector	TUV detector
Wave length	203 nm
Column temp.	30 °C
Sample temp.	25 °C
Injection vol.	5 ul
Flow rate	0.35 mL/min
Run time	20 min

	Time	Water(%)	Acetonitrile(%)
mobile phase	Int	82	18
	6	80	20
	7	75	25
	14	60	40
	18	60	40
	18.04	82	18
	20	82	18

㉕ Ginsenoside Rb1, Rb2 또는 Rc 함량 계산은 다음식에 의하여 계산하였다.

$$\text{함량(mg/g)} = C \times (V \times D) / W \times S / 100$$

- C: 시험용액 중의 표준물질 농도(mg/mL)
- V: 시험용액 전량(mL)
- D: 희석배수
- W: 시료채취량(g)

② 대장균군

㉖ 제조법에 따른 시험용액 10mL를 2배 농도의 유당배지에 시험용액 1mL 및 0.1mL를 유당배지에 각각 3개씩 가한다.

- ㉔ 유당배지를 35~37℃에서 24~48시간 배양한 후 발효관내에 가스발생유무를 확인한다. 이때 가스가 발생하지 않으면 음성으로 판정하고 가스발생시 다음 시험을 진행한다.
  - ㉕ 가스 발생한 유당배지발효관으로 부터 BGLB 배지에 접종하여 35~37℃에서 24~48시간 배양한 후 발효관내에 가스발생유무를 확인한다. 이때 가스가 발생하지 않으면 음성으로 판정하고 가스발생시는 BGLB배지로부터 Endo 또는 EMB 한천배지에서 배양한다.
  - ㉖ 35~37℃에서 24시간 배양 후 전형적인 집락이 발생하면 양성으로 한다.
  - ㉗ Endo 또는 EMB 한천배지에서 전형적인 집락 1개 또는 비전형적인 집락 2개 이상을 각각 유당배지발효관과 보통한천배지에 접종하여 35~37℃에서 48시간동안 배양한다.
  - ㉘ 이때 가스를 발생한 발효관에 해당되는 한천배지의 집락에 대하여 그람음성, 무아포성 간균이 증명되면 양성이며, 대장균균 양성으로 판정한다.
- ③ 봉해시험
- ㉙ 물을 시험액으로 쓰고 보조판을 넣어 20분간 상하운동을 시킨 다음 관찰할 때 시료의 잔류물이 유리관 내에 없거나 있더라도 피막이든가 또는 연질의 물질 또는 니상의 물질이 약간 있을 때에는 적합한 것으로 한다.
  - ㉚ 시료 6개 중 원형상태로 머무르는 것이 1개 또는 피막이 용해, 구멍 또는 벗겨져 있더라도 내용물의 방출이 되지 않은 것이 1개 남았을 때에는 새로 시료 6개를 가지고 이 시험을 되풀이하여 시료의 잔류물이 유리관 내에 없든가 있더라도 피막이거나 또는 연질의 물질 또는 니상의 물질이 약간 있을 때에는 적합한 것으로 한다.

## 다. 실험결과

### (1) 품질지표 실험결과

#### (가) 일반항목

품질지표 중 성장, 대장균균, 봉해시험에 대해 상대습도 90%에서 각 25℃, 35℃, 45℃ 조건에서 5개월의 저장기간 동안 품질기준을 측정된 결과 모두 적합하였다.

구분	25 °C, 90 %RH			35 °C, 90 %RH			45 °C, 90 %RH		
시험항목	0개월	1개월	2개월	0개월	1개월	2개월	0개월	1개월	2개월
성상	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
붕해도	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합

구분	25 °C, 90 %RH			35 °C, 90 %RH			45 °C, 90 %RH		
시험항목	3개월	4개월	5개월	3개월	4개월	5개월	3개월	4개월	5개월
성상	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합
대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성
붕해도	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합

(나) 기능성분

품질지표 중 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc에 대해 상대습도 90%에서 각 25°C, 35°C, 45°C 조건으로 5개월간의 저장기간 동안 품질기준을 측정하여 아래와 같은 데이터를 얻었으며, 저장 5개월 동안은 표시량의 80% 이상인 품질기준을 모두 만족하였다.

① 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>

구분	25 °C, 90 %RH	35 °C, 90 %RH	45 °C, 90 %RH
Initial		100.00	
1개월	99.05	98.66	97.90
2개월	98.20	97.05	95.99
3개월	97.34	95.79	94.57
4개월	96.40	94.50	92.86
5개월	95.30	93.12	91.47

② 진세노사이드 Rb<sub>2</sub>

구분	25 °C, 90 %RH	35 °C, 90 %RH	45 °C, 90 %RH
Initial		100.00	
1개월	98.65	98.47	97.98
2개월	97.69	96.79	96.00
3개월	96.45	94.92	94.12
4개월	94.90	93.21	92.23
5개월	93.54	91.35	90.57

③ 진세노사이드 Rc

구분	25 °C, 90 %RH	35 °C, 90 %RH	45 °C, 90 %RH
Initial		100.00	
1개월	98.67	98.15	97.67
2개월	97.68	96.89	95.87
3개월	96.38	95.47	93.89
4개월	95.35	93.77	91.88
5개월	94.28	92.43	89.91

(2) 제품의 유통기한 예측(기능성분)

저장기간 동안 주요 기능성분인 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc에 대해 Arrhenius식 모델을 이용하여 각각의 유통기한을 예측하였다.

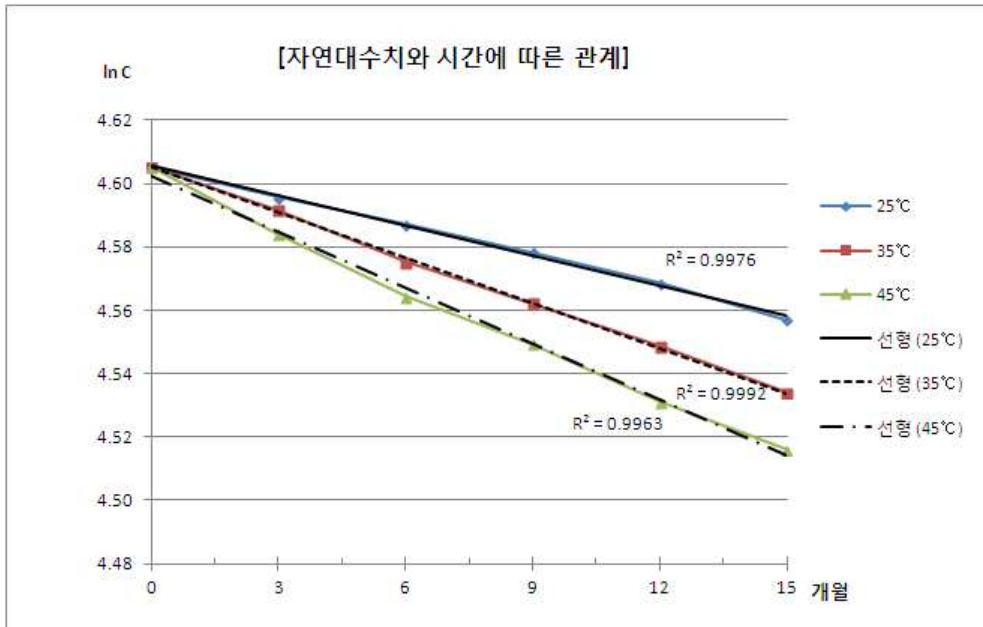
(가) 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>

① Arrhenius식을 이용하여 구한 각 보관온도의 소실속도상수(k)는 아래와 같다.

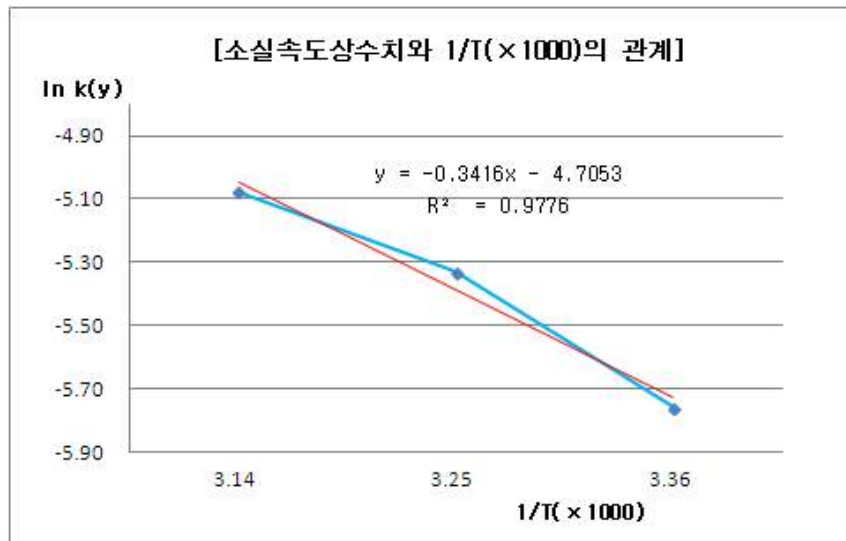
온도	개월	함량	ln C	직선의 방정식	소실속도상수(k)
25 °C	0	100.00	4.6052	$y = -0.003151x + 4.605557$	0.003151
	1	99.05	4.5956		
	2	98.20	4.5870		
	3	97.34	4.5782		
	4	96.40	4.5685		
	5	95.30	4.5570		
35 °C	0	100.00	4.6052	$y = -0.004850x + 4.605382$	0.004850
	1	98.66	4.5917		
	2	97.05	4.5752		
	3	95.79	4.5622		
	4	94.50	4.5486		
	5	93.12	4.5339		
45 °C	0	100.00	4.6052	$y = -0.006240x + 4.603754$	0.006240
	1	97.90	4.5839		
	2	95.99	4.5642		
	3	94.57	4.5493		
	4	92.86	4.5311		
	5	91.47	4.5160		



② 각 보관온도별로 시간 경과에 따른 자연대수치와의 상관관계를 나타내었다.



③ 다시 소실속도상수(k)의 자연대수치(ln k)를 절대온도(T = 273 + 보관 온도)의 역수의 관계로 나타내어 직선의 방정식을 구하였다.



④ 실온(35 °C)에서의 소실속도상수(k35)를 계산하면

$$\ln k_{35} = -3245.29 \times \{1/(273 + 35)\} + 5.155498 \rightarrow \ln k_{35} = -5.381157$$

$$\therefore k_{35} = 0.004602$$

제품 내 잔존함량이 기준 및 규격의 최소 허용함량(표시 하한치)인 80 %가 될 때까지 시간(t)을 아래의 Arrhenius식으로부터 구한다.

[계산식]  $t = 1/k35 \times \ln(C0/C) \rightarrow$  단, C0는 초기함량(%), C는 표시 하한치(%)

$$t_{80} = 1/0.004602 \times \ln(100/80) = 48.5$$

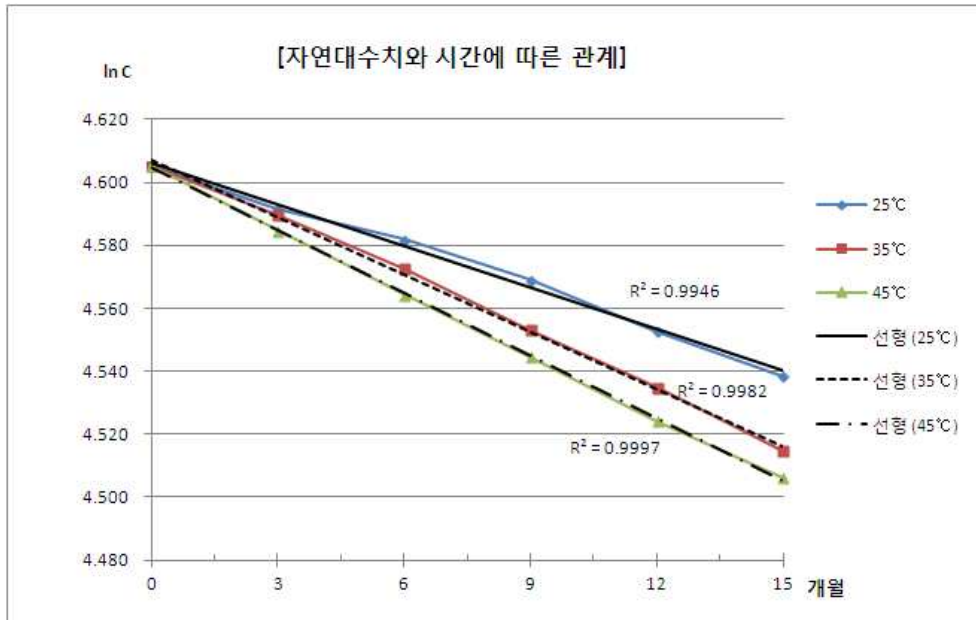
$$\therefore t_{80} = 48.5\text{개월}$$

(나) 진세노사이드 Rb<sub>2</sub>

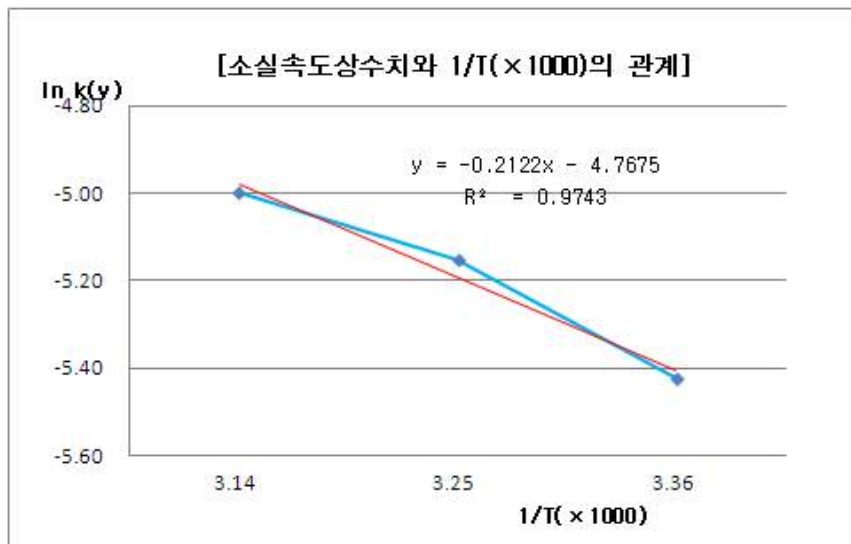
① Arrhenius식을 이용하여 구한 각 보관온도의 소실속도상수(k)는 아래와 같다.

온도	개월	함량	ln C	직선의 방정식	소실속도상수(k)
25 °C	0	100.00	4.6052	$y = -0.004409x + 4.606198$	0.004409
	1	98.65	4.5916		
	2	97.69	4.5818		
	3	96.45	4.5690		
	4	94.90	4.5528		
	5	93.54	4.5384		
35 °C	0	100.00	4.6052	$y = -0.005787x + 4.606167$	0.005787
	1	98.47	4.5898		
	2	96.79	4.5725		
	3	94.92	4.5530		
	4	93.21	4.5349		
	5	91.35	4.5147		
45 °C	0	100.00	4.6052	$y = -0.006740x + 4.605045$	0.006740
	1	97.98	4.5848		
	2	96.00	4.5643		
	3	94.12	4.5446		
	4	92.23	4.5243		
	5	90.57	4.5061		

② 각 보관온도별로 시간 경과에 따른 자연대수치와의 상관관계를 나타내었다.



③ 다시 소실속도상수(k)의 자연대수치(ln k)를 절대온도(T = 273 + 보관 온도)의 역수의 관계로 나타내어 직선의 방정식을 구하였다.



④ 실온(35 °C)에서의 소실속도상수(k<sub>35</sub>)를 계산하면

$$\ln k_{35} = -2016.72 \times \{1/(273 + 35)\} + 1.360439 \rightarrow \ln k_{35} = -5.187342$$

$$\therefore k_{35} = 0.005587$$

제품 내 잔존함량이 기준 및 규격의 최소 허용함량(표시 하한치)인 80 %가 될 때까지 시간(t)을 아래의 Arrhenius식으로부터 구한다.

[계산식]  $t = 1/k_{35} \times \ln(C_0/C) \rightarrow$  단,  $C_0$ 는 초기함량(%),  $C$ 는 표시 하한치(%)

$$t_{80} = 1/0.005587 \times \ln(100/80) = 39.9$$

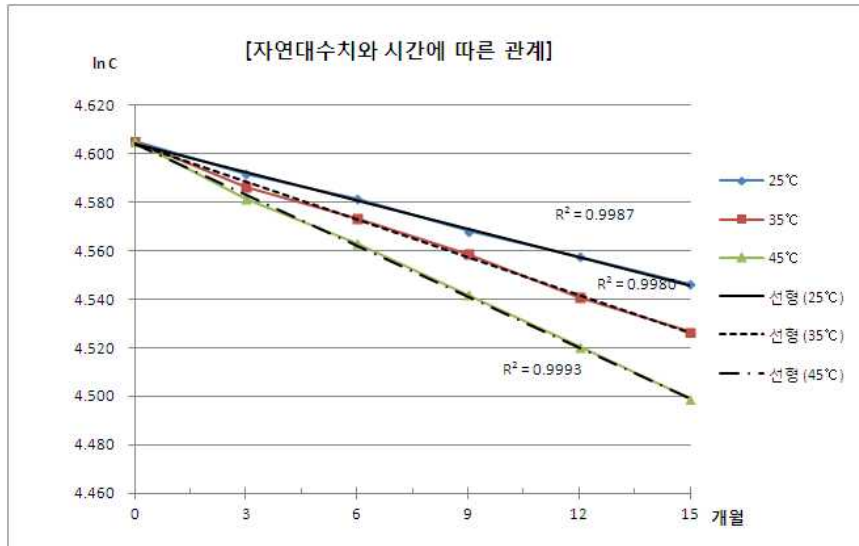
$$\therefore t_{80} = 39.9\text{개월}$$

(다) 진세노사이드 Rc

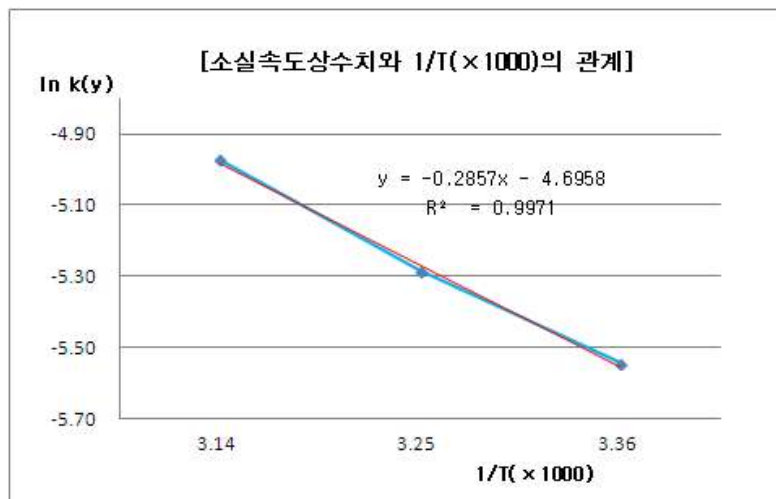
① Arrhenius식을 이용하여 구한 각 보관온도의 소실속도상수(k)는 아래와 같다.

온도	개월	함량	ln C	직선의 방정식	소실속도상수(k)
25 °C	0	100.00	4.6052	$y = -0.003910x + 4.604456$	0.003910
	1	98.67	4.5918		
	2	97.68	4.5817		
	3	96.38	4.5683		
	4	95.35	4.5576		
	5	94.28	4.5463		
35 °C	0	100.00	4.6052	$y = -0.005066x + 4.603813$	0.005066
	1	98.15	4.5865		
	2	96.89	4.5736		
	3	95.47	4.5588		
	4	93.77	4.5408		
	5	92.43	4.5265		
45 °C	0	100.00	4.6052	$y = -0.006925x + 4.604131$	0.006925
	1	97.67	4.5816		
	2	95.87	4.5630		
	3	93.89	4.5421		
	4	91.88	4.5205		
	5	89.91	4.4988		

② 각 보관온도별로 시간 경과에 따른 자연대수치와의 상관관계를 나타내었다.



③ 다시 소실속도상수(k)의 자연대수치(ln k)를 절대온도( $T = 273 +$  보관 온도)의 역수의 관계로 나타내어 직선의 방정식을 구하였다.



④ 실온(35 °C)에서의 소실속도상수(k35)를 계산하면

$$\ln k_{35} = -2704.06 \times \{1/(273 + 35)\} + 3.518291 \rightarrow \ln k_{35} = -5.261126$$

$$\therefore k_{35} = 0.005189$$

제품 내 잔존함량이 기준 및 규격의 최소 허용함량(표시 하한치)인 80 %가 될 때까지 시간(t)을 아래의 Arrhenius식으로부터 구한다.

[계산식]  $t = 1/k35 \times \ln(C0/C) \rightarrow$  단, C0는 초기함량(%), C는 표시 하한치(%)

$$t_{80} = 1/0.005189 \times \ln(100/80) = 43.0$$

$$\therefore t_{80} = 43.0\text{개월}$$

(3) 기능성분 유통기한 예측 결과 요약

(가) 품질지표 중 결정계수가 가장 높은 진세노사이드 Rb2의 반응식을 근거로 35℃에서 유통되는 본 제품의 유통기한은 39.9개월로 산출

(나) 유통과정 중의 안전을 고려하고자 안전계수 0.7를 곱하면 28.0개월로 예측

(다) 기존 유사제품의 유통기한을 감안하여 최종 유통기한을 24개월로 설정

품질지표	진세노사이드 Rb <sub>1</sub>	진세노사이드 Rb <sub>2</sub>	진세노사이드 Rc
예측 유통기한	48.5개월	39.9개월	43.0개월
안전계수(× 0.7)	33.9개월	28.0개월	30.1개월
유통기한	24개월		

라. 결론

(1) 시생산품에 대해 5개월 동안 상대습도 90%에서 각각 25℃, 35℃, 45℃ 조건에서 보관하며, 품질지표인 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, 대장균군, 봉해도에 대해 안정성 시험을 실시하였다.

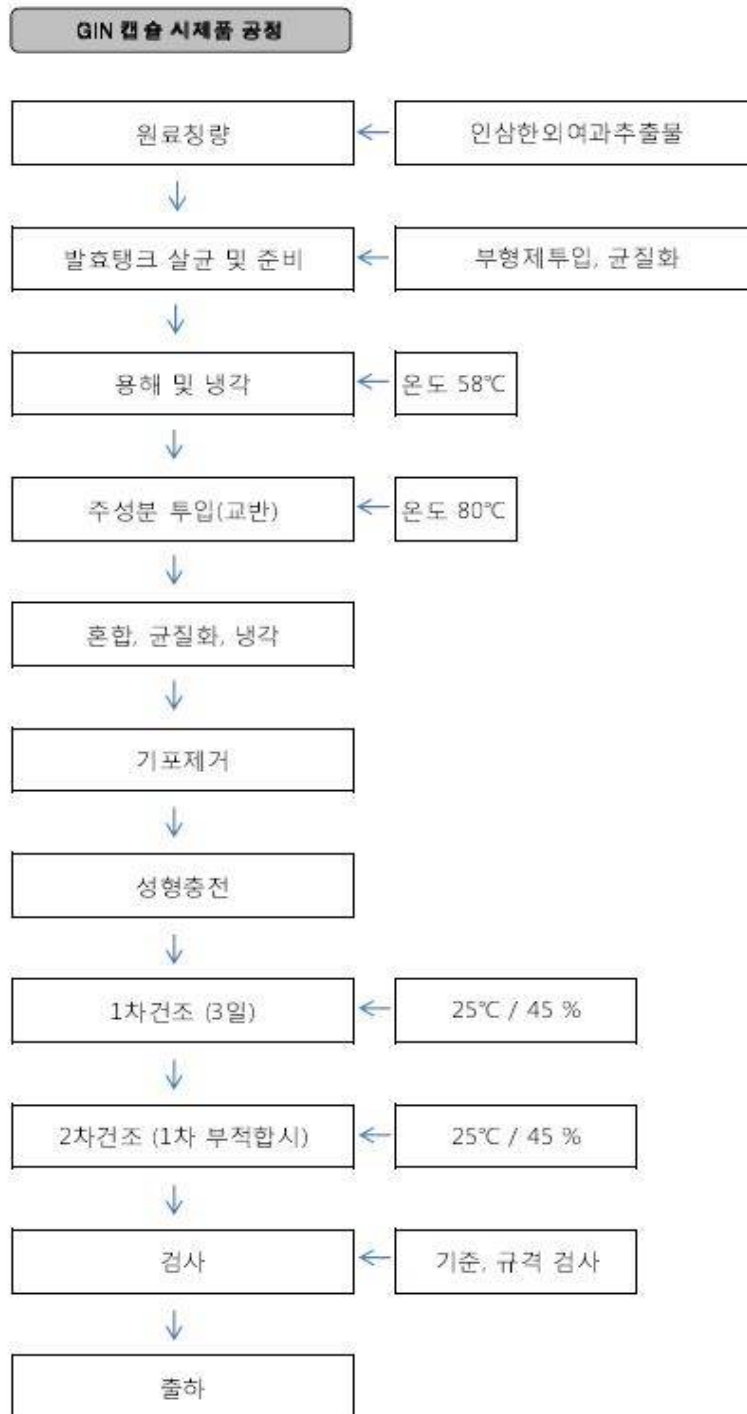
(2) 5개월의 가속시험 저장기간 동안 모든 항목의 품질지표는 설정된 기준에 적합하였다.

(3) 품질지표 중 주요 기능성분인 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc의 5개월간의 가속시험 결과를 바탕으로 제품의 유통기한을 예측한 결과 최종 유통기한을 24개월로 설정하였고, 이 기간 동안 본 제품을 유통할 경우 충분히 제품 안정성을 확보할 수 있을 것으로 판단된다.

7. 시제품 및 제품의 생산공정 프로세스 개발

가. 시제품의 생산공정 프로세스 개발

(1) 제조공정도



(2) 원료 배합 test

(가) 1차 test

	성분명	배합비 (%)	함량 (mg)
1	인삼한외여과추출물	32.4	162
2	대두유	47.1	235.5
3	정제팜유	9	45
4	쌀겨왁스	10	50
5	자당지방산에스테르	1.5	7.5
	합 계	100	500

(나) 2차 test

	성분명	배합비 (%)	함량 (mg)
1	인삼한외여과추출물	32.4	162
2	대두유	42.3	211.5
3	호박씨유-보정분	18.8	94
4	황납	5.2	26
5	자당지방산에스테르	1.3	6.5
	합 계	100	500

(다) 3차 test

	성분명	배합비 (%)	함량 (mg)
1	인삼한외여과추출물	32.4	162
2	대두유	60.6	303
3	황납	4.4	22
4	Lecithin 70SB	2.6	13
	합 계	100	500



(라) 4차 test

	성분명	배합비 (%)	합량 (mg)
1	인삼한외여과추출물	32.4	162
2	대두유	63.5	317.5
3	호박씨유-보정분	1.8	9
4	쌀겨왁스	0.2	1
5	Lecithin 70SB	2.1	10.5
	합 계	100	500

(마) 층 분리 확인 시험



제조 후 7일 방치

시제품 생산 전 최종 층 분리 실험을 실시하였다. 가속 조건 (40℃, 70 %)에서 7일간 방치하여 캡슐 내 제품이 층 분리를 관찰하였다. 이전의 내용물 배합비율 실험에서 개발된 4종류의 캡슐 내용물을 비교·대조하여 관찰하였다. 제품 3의 제품이 최종 제품으로 시험생산 시에 문제가 없을 것으로 판단하였다.

(3) 시생산 실시

시제품의 시험생산을 우선 실시하여 본생산 이전에 문제발생 가능성을 최소화 한다. 이전에 생산되는 제품의 생산 공정을 적용하여 실시하였다.

순	원재료명	배합비율(%)	1배치(3 kg) 소요량/(kg)	비 고
1	인삼한외여과추출물	32.4	0.972	금산국제인삼약초연구소 제공
2	대두유	60.6	1.818	
3	황납	4.4	0.132	업체 제공
4	Lecithin 70SB	2.6	0.078	
계		100	3	수율적용 X

순	원재료명	배합비율(%)	1배치(3 kg) 소요량/(kg)	비 고
1	말토덱스트린	32	0.96	
2	대두유	48.1	1.443	
3	정제팜유	6	0.18	
4	쌀겨왁스	9.6	0.288	업체 제공
5	레시틴	2.3	0.069	
6	카카오색소	1.4	0.042	
7	안나토색소	0.6	0.018	
계		100	3	수율적용 X



플라세보 시제품



인삼한외여과 시제품



시제품 내용물 비교

(4) 시제품 테스트

시제품에 대하여 각각의 품질 지표를 실험한 결과 아래의 표와 같이 모두 적합하게 생산되었음을 알 수 있었다.

순	품질지표	품질한계/설정근거	결과
1	진세노사이드 Rb <sub>1</sub>	표시량(11.88 mg/day)의 80% 이상 1차년도 연구결과보고서 원료의 기준규격	적합 (10.94 mg/day)
2	진세노사이드 Rb <sub>2</sub>	표시량(7.92 mg/day)의 80% 이상 1차년도 연구결과보고서 원료의 기준규격	적합 (7.24 mg/day)
3	진세노사이드 Rc	표시량(11.88 mg/day)의 80% 이상 1차년도 연구결과보고서 원료의 기준규격	적합 (11.28 mg/day)
4	대장균군	음성 건강기능식품공전 인삼제품 기준 준용	적합
5	붕해도	적합(물로 20분 이내 붕해) 건강기능식품공전 붕해시험법 기준 적용	적합

(5) 공정도 세분화

(가) 원료 준비

배합비율에 따라 원료를 확인자(생산관리인, 생산담당) 입회하에 전자저울로 정확하게 칭량하고 공정기록서에 기록한다. 원료는 인삼한외여과추출물, 대두유, 황납, 레시틴, 말토덱스트린, 대두유, 정제팜유, 쌀겨왁스, 레시틴, 카카오색소, 안나토색소 등을 사전에 철저히 준비한다.

(나) 캡슐 충전 및 성형

연질캡슐 충전 및 성형은 위탁업소인 (주)RP 코프에서 위탁, 제조한다. 이때, 캡슐 자동충전기에서 500±15mg로 충전하며 내용량을 수시로 체크하여 규정량을 유지하도록 한다.

(다) 젤 필름(캡슐제) 조제

가온된 용해탱크에 카라기난, 글리세린, 변성전분, 물을 넣고 감압진공상태에서 교반하며 용해하여 젤 필름을 조제한다.

(라) 내용물 조제

대두유, 황납, 레시틴을 넣고 혼합하며 열수를 이용하여 완전히 용해 시킨 후 인삼한외여과추출물을 넣고 균질하게 혼합되도록 Cowlesmixer 로 교반한다. 인삼한외여과추출물을 넣은 후에는 열을 가하지 않는다. 균질화한 후 체로 치고 탈호한 후 wrapping하고 질소를 충전 하여 보관한다.

(마) 충전

용해된 캡슐기제를 사용하여 규격량(500mg)을 충전, 성형한다.

(바) 건조

성형 완료 후 텀블러 드라이어를 통과시키고 캡슐을 페이퍼가 준비된 트레이에 넣어 건조한다. 최소 2일 이상 건조 하되, 습도에 따라 캡슐제가 완전 건조되지 않았을 경우 건조를 계속한다.

(사) 선별

선별기를 이용하여 불량을 선별한다. 선별기 통과 후 육안으로 재선별 과정을 거친다.

(아) 포장

미생물에 오염되지 않도록 주의하여 규격 용기 또는 PTP 포장기를 이용하여 규격대로 포장한다. 포장이 완료되면 PTP 포장된 제품을 Sampling 하여 기밀도 시험을 실시한다. 본 제품의 경우 PTP 포장 작업을 거치지 않으며, PE 병 포장으로 실시한다. 포장단위에 맞는 용량을 충진을 하고 밀봉된 흡습제를 함께 투입한다. 같은 재질의 뚜껑을 이용하여 밀봉 포장한다.

나. 제품의 생산공정 개발

(1) 시제품 생산공정 유의사항

(가) 인삼한외여과추출물이 분말형태로서 보관 후 바로 사용 할 시 과립이 뭉쳐있기 때문에 체에 걸러 사용한다. (80mesh가량)

(나) 젤필름액 조제 시 가온된 용해탱크에 물을 우선 넣은 후, 물의 온도가 50℃ 이상 올라갔을 때 다른 부형제를 투입하여 서서히 용해시킨다.

(다) 젤필름 조제 탱크의 압력이 일정한 수준으로 유지되는지 지속적으로 확인 한다.

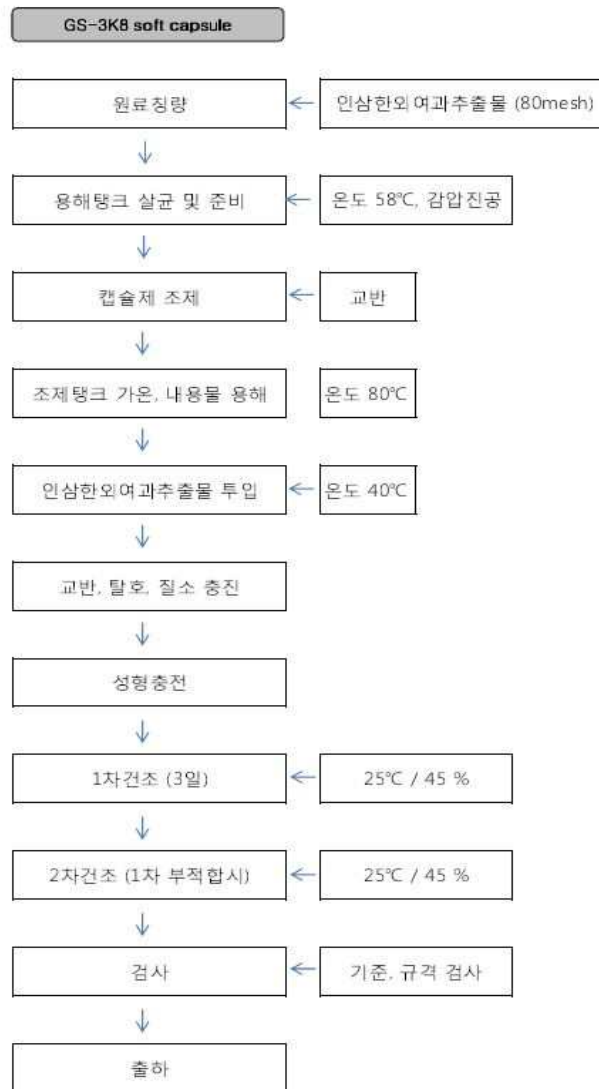
(라) 내용물 조제 시 황납, 레시틴, 대두유를 충분히 혼합시킨 후 온도를 40~45℃로 냉각 시킨다. 냉각 후 인삼한외여과추출물을 투입 후 균질하게 혼합시킨다.

(마) 분말제제의 캡슐은 통상적으로 3일의 건조시간을 거친다.

(바) 육안 선별 시 비산먼지가 선별자로부터 떨어지지 않게 유의한다.

(2) 제품의 생산공정도

위의 시제품 공정테스트를 바탕으로 하여 제품의 생산 공정도를 아래와 같이 완성 하였고 이 공정도를 바탕으로 시제품의 생산을 진행하도록 하였다.



8. 제품의 제조기술표준 완성 및 시제품의 생산

가. 제조 공정도 완성

(1) 제품 세부 공정도 작성

(가) 원료 준비

배합비율에 따라 원료를 생산관리인, 생산담당 입회하에 전자저울로 정확하게 칭량하고 공정기록서에 기록한다. 인삼한외여과추출물은 80mesh 표준망체를 통과시킨

후 통과분만 원료로 사용한다.

(나) 젤 필름(캡슐제) 조제

80℃ 로 가온된 용해탱크에 물을 넣은 후 물의 온도가 50℃ 이상 올라갔을 때 카라기난, 글리세린, 변성전분을 넣고 감압진공 상태에서 교반한다. 충분히 교반하여 전체를 용해시켜 젤 필름을 조제한다. 탱크의 압력이 일정한 수준으로 유지되는지 지속적으로 확인 하고 공정기록서에 기록한다.

(다) 내용물 조제

대두유, 황납, 레시틴을 넣고 혼합하며 열수를 이용하여 완전히 용해시킨다. 완전히 용해 후 조제탱크를 40~45℃로 냉각시킨다. 냉각 후 인삼한외여과추출물을 투입 후 균질하게 혼합되도록 Cowlesmixer 로 교반한다. 인삼한외여과추출물을 넣은 후에는 열을 가하지 않는다. 균질화한 후 체로 치고 탈호한 후 wrapping 하고 질소를 충전 하여 보관한다.

(라) 캡슐 충전 및 성형

연질캡슐 충전 및 성형은 위탁업소인 (주)RP 코프에서 위탁, 제조한다. 캡슐자동 충전기에서 500±15mg 로 충전하여 내용량을 수시로 체크하여 규정량을 유지하도록 한다.

(마) 건조

성형 완료 후 텀블러 드라이어를 통과시키고 캡슐을 페이지가 준비된 트레이에 넣어 건조한다. 25℃, 수분 45% 조건에서 최소 2일 이상 건조 하되, 습도에 따라 캡슐제가 완전 건조되지 않았을 경우 건조를 계속한다. 통상적으로 3일의 건조시간을 거친다.

(바) 선별


선별기를 이용하여 불량률 선별한 후 육안으로 재선별 과정을 거친다.

(사) 포장

미생물에 오염되지 않도록 주의하여 PE 병 포장을 한다. 포장단위에 맞는 용량 (90g, 500mg × 180cap.)을 충전 하고 밀봉된 흡습제를 투입한다. 동일 재질의 뚜껑을 이용하여 밀봉 포장한다.


(2) 제조 기술표준 완성

기술표준을 완성하여 제품 생산 시 기술표준을 바탕으로 제조지시서를 작성 하였다. 작성된 기술표준은 생산관리자, 품질관리인에게 전달되어 보관한다. 완성된 기술표준은 아래와 같다.

	<b>기술표준</b>	표준번호	HS-D-240
		개정번호	1
	<b>GS-3K8 soft capsule</b>	개 정 일	2015. 07. 11.
P A G E		1/5	

[ 목 차 ]

1. 적용범위
2. 성분배합비율
3. 품질보증 및 일반사항
4. 원료 검사 및 보관
5. GS-3K8 soft capsule 제조
6. 완제품 포장
7. 제품 규격 및 시험법

	<b>기술표준</b>	표준번호	HS-D-240
		개정번호	1
	<b>GS-3K8 soft capsule</b>	개 정 일	2015. 07. 11.
P A G E		2/5	

1. 적용범위

GS-3K8 Soft Capsule 제품 160 kg(500 mg×320,000 캡슐)을 생산함에 있어 원료 준비에서부터 완제품 생산까지의 모든 공정에 적용한다.

2. 성분배합비율: 1캡슐 총 720 mg(내용량 500 mg, 캡슐기재 220 mg)

(1) 내용물 배합비율(69.4%)

순	원재료명	배합비율(%)	1배치(100kg) 소모량(kg)	비 고
1	인삼한외어과추출물	32.4	51.84	대한국제란세약초 연구소 제공
2	대두유	60.8	96.96	
3	황남	4.4	7.04	업체 제공
4	Lecithin /GS8	2.6	4.16	
	계	100	160	수확적용 X

(2) 캡슐기재 배합비율(30.6%)


순	원재료명	배합비율(%)	비 고
1	글리세린	41.67	업체 제공
2	카라기난(해조류 유래)	16.66	
3	변성전분(옥수수 유래)	41.67	
	계	100.00	

3. 품질보증 및 일반사항

(1) 기계, 기구 및 배관 등의 세척 및 소독

① 기계, 기구, 배관, 밸브 등의 청상유무를 확인하고 세척 및 소독을 철저히 시행하여 위생 및 청결 상태를 확인해야 한다.

② 배관이나 밸브는 C.I.P. 규정(열수-가성소다-열수 또는 열수)에 따라 C.I.P.를 실시

	<b>기술표준</b>	표준번호	HS-D-240
		개정번호	1
	<b>GS-3K8 soft capsule</b>	개 정 일	2015. 07. 11.
P A G E		3/5	

시한 후 약재의 잔류 여부를 확인한다.

(2) 작업자 위생 및 식품제조·가공업 시설기준 준수

① 작업자는 위생관리규정을 준수하여야 한다.

② 시설은 건강기능식품전문제조업 시설기준에 적합하게 운영되도록 하여야 한다.

(3) 품질보증

① 품질관리책임자는 제품의 생산조건이 품질보증을 달성할 수 있는지 검토하고 관련 부서와 필요한 조정을 하여야 한다.

② 공정의 단계마다 제조공정기록을 작성하여 규정된 기간 동안 보관하여야 한다.

4. 원료 검사 및 보관

(1) 모든 원료를 식품공전, 식품첨가물공전, 건강기능식품공전에 따른 기준 및 규격에 따라 검사하고 적합 여부 및 사용 기간을 확인한다. 다만 식품위생법에서 일부하는 공인된 시험성적서로 갈음할 수 있다.

(2) 원료의 제조에 사용되는 물은 수도물이나 「먹는물관리법」 제5조의 규정에 의한 먹는 물의 수질기준에 적합한 용수를 사용하여야 한다.

(3) 모든 원료는 습기가 낮고 통풍이 잘 되며 햇빛이 차단된 위생적인 장소에 보관해야 하며, 각 원료별 보관방법에 따라 보관하여 품질에 영향을 없도록 관리한다.

5. GS-3K8 soft capsule 제조

(1) 배합비율에 따라 원료를 확인자 일치하여 전자저울로 정확하게 칭량하고 공정기록서에 기록한다.

① 원료 준비: 인삼한외어과추출물, 대두유, 황남, 레시틴(Lecithin /GS8)

• 인삼한외어과추출물: 80 mesh 표준망체를 이용하여 size를 방지한 후 사용

(2) 캡슐 충전 및 성형: 연질캡슐 충전 및 성형은 위탁업소인 (주)PP 코프(경기도 화성시 향남읍 905-4)에서 위탁, 제조한다.

① 캡슐 충전용 충전기에서 500±15mg로 충전하며 내용량을 수시로 체크하여 규정량을 유지하도록 한다.

(3) 젤 필름 조제: 가온된 용해탱크에 카라기난, 글리세린, 변성전분, 물을 넣고 교반된 상태에서 교반하며 용해하여 젤 필름을 조제한다.

(4) 내용물 조제: 대두유, 황남, 레시틴을 넣고 혼합하며 열수를 이용하여 완전히 용해시킨 후 나머지 원료를 넣고 균질하게 혼합되도록 Cowlesmixer로 교반한다. 균질화한 후 체로 치고 탈호한 후 wrapping하고 질소를 충전하여 보관한다.

	<b>기술표준</b>	표준번호	HS-D-240
		개정번호	1
	<b>GS-3K8 soft capsule</b>	개 정 일	2015. 07. 11.
P A G E		4/5	

(5) 충전: 용해된 캡슐기재를 사용하여 규정량을 충전, 성형한다.

(6) 건조: 성형 완료 후 텀블러 드라이어를 통과시키고 캡슐을 배아피가 준비된 트레이에 넣어 건조한다.

(7) 선별: 선별기를 이용하여 불량률 선별한다.

(8) 포장: 미생물에 오염되지 않도록 주의하여 규정 용기 또는 PTP 포장기를 이용하여 규정대로 포장한다. 본 제품의 경우 PTP 포장 작업을 거치지 않으며, PE 병 포장으로 실시한다. 포장단위에 맞는 용량을 충전을 하고 밀봉된 흡습제를 함께 투입한다. 같은 재질의 뚜껑을 이용하여 밀봉 포장한다.

6. 완제품 포장 라벨의 표시 사항 확인 후 제품 규격에 따라 포장한다.

구 분	규 격	비 고
캡슐	내용량: 500 mg, 캡슐기재: 220 mg	Oval Type 알약백
용기	PE 병, 라벨	
포장	지황 케이스 180캡슐[180cap × 1EA]	

	기술표준	표준번호	ILHS-0240
	GS-3K8 soft capsule	개정번호	1
		개 정 일	2015. 07. 11.
		P A G E	5/5

**7. 제품 규격 및 시험법**

(1) **제품검사** 규격에 따라 포장된 제품은 품질관리과에 시험 의뢰하여 합격 여부를 확인하고 기록을 유지한다. 데이터 평균값과 편차가 부적합할 경우 출하를 중지, 적절한 조치를 취하고 이상 없음을 확인 후 출하한다.

순	항 목	규 격	시 험 법
1	형상	제품 고유의 색채와 모양을 가지고 있다. 이차이형이 없어야 한다.	육안 및 관능으로 관찰
2	전체노사이드 (%)	표시량 11.88 mg/3,000 mg (표시량의 80 % 이상)	1차년도 연구결과보고서 원료의 기준규격
3	전체노사이드 (%)	표시량 7.92 mg/3,000 mg (표시량의 80 % 이상)	1차년도 연구결과보고서 원료의 기준규격
4	전체노사이드 (%)	특정	식용공전 제10, 일반시험법 3.7 대장균
5	세균수(cfu/g)	100 이하	식용공전 제10, 일반시험법 3.5.1 일반세균수
6	봉해시험	복문 20분 이내	가공기능식용공전 제 2.1 봉해시험법
7	납(mg/kg)	1.0 이하	식용공전 제10, 일반시험법 7.1 중금속 시험 7.1.2.1 납(Pb)
8	중비소(mg/kg)	1.0 이하	식용공전 제10, 일반시험법 7.1 중금속 시험 7.1.2.3 비소(As)
9	카드뮴(mg/kg)	0.5 이하	식용공전 제10, 일반시험법 7.1 중금속 시험 7.1.2.3 카드뮴(Cd)
10	중수은(mg/kg)	0.5 이하	식용공전 제10, 일반시험법 7.1 중금속 시험 7.1.2.4 수은(Hg)
11	내포량(mg)	500 ± 15 mg	가공기능식용공전 내포량 시험법
12	물리량(mg/kg)	2.5 이하	식용공전 물리량 시험법
13	금속성안료(mg/kg)	10.0 미만(크기 : 2.0 um 미만)	식용공전 금속성안료 시험법

- (2) **보존 및 안정성 검사** 시료를 Lot별로 구별하여 보존하며 안정성 검사를 행한다.
- (3) **출하 전 검사** 소비자 품질보증을 달성하기 위해 제품이 출하되기 전에 외관 검사를 실시한다.
- (4) **제품의 보관 및 유통**  
 이 제품은 직사광선을 피하여 습기가 적은 서늘한 창고에 보관한다.  
 유통 시에 출장 등의 제품 손상이 없도록 포장하고, 반드시 덮개를 하여 우로에 의한 box 불량을 방지하여 운송한다.
- (5) **유통기한** 제조일로부터 2년(수입자의 요구에 따라 변경될 수 있다.)

**나. 시제품의 제조 및 생산**

**(1) 인삼가수분해 농축액의 제조**

(가) 기존의 한외여과 추출물 이외에 인삼가수분해 농축액(GINST)을 임상 시험에 추가하기로 IPET의 허가를 받아 임상시험을 진행하였고 이를 이용한 시제품의 제작을 한외여과 추출물과 함께 실시하였다.

(나) 우선 인삼가수분해 농축액(GINST)의 생산을 위해 아래와 같이 제조 지시서를 공장에 발부하고 이에 따라 인삼가수분해 농축액의 batch 생산을 진행하도록 하였다.

(다) 제조 지시서에 따라 공장에서는 기 실행중인 제조 공정도에 따라 인삼가수분해 농축액 80kg을 제조 하였다.



		<h2 style="margin: 0;">제 조 지 시 서</h2>	
제품명	제품: GS-3K8soft/Gln soft	제품유형	농축액 함유 캡슐
제조번호	Ex (Hyd)-15017	자시일자	2015. 6. 25
재량	농축액/캡슐 (위탁생산)	성상	특약액의 건조성 액상 함유 적갈색 캡슐

제조량		97 EA(kg)		비고
NO	원료명	배합비(%)	허가량(kg)	사용량(kg)
<추출 시 투입>				
1	인삼 농축액	74.47 %	00kg	00
2	효소 농축액	25.53 %	31kg	기
3	캡슐 기재	위탁업체 생산(알파코크)		
합계	합계	100.0%	111kg	111

생선 중 조제사항 및 특이 사항: 정제수/주상 사용량은 제조기록서 별도 표기 \* 제조지시서는 별도임.

품질부서책임자	제 조 지 시 자
Sohn	[Signature]

	Batch Record	Document No.	IH GMP REC 2004-00 -01(1110-00)
		Batch No.	
		Batch Size	111 kg
인삼가수분해농축액 제조기록서 Ginseng Extract Batch Record (GS-3K8soft cap./Gln soft cap.)		Current Page	2 of 5

결	담당자	공정관리	부서장	공장장
재	[Signature]	[Signature]	[Signature]	[Signature]

### 발효, 농축

#### I. 원료량량

준비 작업 및 점검사항

1. 청정실 위생상태를 확인한다.
2. 저울의 기능이상 유무를 확인한다.
3. 원료는 시험 결과가 나온 것을 사용한다.

원료	배합비율(%)	사용량(kg)	시험번호	소분량	소분수	확인자
인삼농축액	74.47 %	80	20150625001	80	1	김정민 김태원
효소농축액	25.53 %	기	20150511003	기	1	
합계	100%					

비고

- ↓ 인삼농축액 사용량 80kg
- ↓ 효소농축액 비중 : 약 1.13
- ↓ 인삼농축액 규격
  - ✓ 인삼성분 함량 : 110.0mg/g 이상
  - ✓ 진세노사이드 Rg1+Rb1 : 15.0 mg/g 이상
  - ✓ 고형분 함량 : 60.0% 이상
  - ✓ 색도(420nm) : 1.3 ~ 1.5
  - ✓ 점도 : 4,500 ~ 5,500(cp)

FORM IH GQC-008(0811-01)

ILHWA Ginseng Quality Control Department

	Batch Record	Document No.	IH GMP REC 2004-00 -01(1110-00)
		Batch No.	
		Batch Size	111 kg
인삼가수분해농축액 제조기록서 Ginseng Extract Batch Record (GS-3K8soft cap./Gln soft cap.)		Current Page	3 of 5

### II. 혼합

준비 작업 및 점검사항

1. 복장상태를 확인한다.
2. 작업장과 기계, 기구의 위생상태를 확인한다.
3. 기계의 작동 상태를 확인한다.

작업일자	담당자	확인자
4. 6. 25	김태원	김정민

1. 발효조에 정제수 약 800L를 넣고 끓인 후 58℃ 정도로 식힌다.
2. 정제수 100L로 인삼농축액 80kg을 잘 용해 시켜 다시 발효탱크에 넣어 사용한다.
3. 탱크 온도는 57-58℃, 용량은 약 1100L이다.
4. 발효탱크 연의 온도를 55±2℃로 맞춘다.
5. 온도가 세팅 되면 효소 농축액 27.42L 첨가 후 56℃정도의 정제수로 1140L까지 균열한다.

### III. 발효

1. 혼합된 원료를 55±2℃에서 24시간 발효시킨다.
2. 1시간 단위로 발효 온도를 체크한다

발효시간(H)	발효온도(℃)	발효시간(H)	발효온도(℃)
0 : 50	57	14 : 55	57
1 : 40	57	15 : 20	57
10 : 20	57	16 : 25	57
11 : 55	57	17 : 52	57
13 : 20	57		

### III. 여과 및 이송

1. 1시간 후에 (총 발효 시간: 24시간) 발효를 종료한다.
2. 발효가 종료되면 발효액을 200mesh 체로 여과시킨 후, 농축탱크로 이송한다.
3. 이때, 발효탱크안의 찌꺼기는 원주정유로 순환시켜 따로 처리한다.

FORM IH GQC-008(0811-01)

ILHWA Ginseng Quality Control Department

	Batch Record	Document No.	IH GMP REC 2004-00 -01(1110-00)
		Batch No.	
		Batch Size	111 kg
인삼가수분해농축액 제조기록서 Ginseng Extract Batch Record (GS-3K8soft cap./Gln soft cap.)		Current Page	4 of 5

### IV. 농축

준비 작업 및 점검사항

1. 복장상태를 확인한다.
2. 작업장과 기계, 기구의 위생상태를 확인한다.
3. 기계의 작동 상태를 확인한다.

작업일자	담당자	확인자
15. 6. 25	김태원	김정민

1. 모든 밸브를 잠그고 진공펌프를 가동시켜 농축기 내의 진공상태를 700mmHg 이하로 유지시킨다.
2. 냉각수 밸브를 연 다음, 분리액 투입 밸브를 열어 농축기 내의 액이 순환할 수 있는 정도로 분리액을 투입한 후 스텝 밸브를 열어 진공 농축을 시작한다.
3. 고형분 함량이 65% 이상(74 Brix 이상)이 되도록 진공농축을 시작한다.

농축기No.	농축량	농축시작시각	농축종료시각	총 농축시간	Brix
1, 140 L	기	17:20	17:30	10분	65.5

4. 농축액의 배출 및 이송작업
  - 1) 저장탱크에 위생적으로 인삼농축액을 넣고 우경을 닫은 후 식 반제품 기록부를 부착하여 표시한다.
5. QC에 샘플 의뢰를 한다.  
 검체 채취량: 200ml x 4 = 800ml  
 검체 채취자: 김태원
6. 검체 채취 후 일괄하여 반제품 보관소에 보관한다.

인계자	인수자	총투입량(A)	생산량(B)	수율(B/A)
김태원	김정민	111	97	87%

FORM IH GQC-008(0811-01)

ILHWA Ginseng Quality Control Department

 인삼가수분해농축액 제조기록서 Ginseng Extract Batch Record (GS-3K8soft cap./Gin soft cap.)	Batch Record	Document No.	IH GMP REC 2004-00 -01(1110-00)
		Batch No.	
		Batch Size	111 kg
		Current Page	5 of 5

**IV. 캡슐충진(위탁업체: 알리코프)**

준비 작업 및 점검사항

1. 복장상태를 확인한다.
2. 작업장과 기계, 기구의 위생상태를 확인한다.
3. 기계의 작동 상태를 확인한다.

작업 일자	담당자	확인자
15. 8. 26	최정탁 (알리코프)	안세진 (알리)

7. 용해탱크에 열매체유 밸브를 열어 가운을 시킨 후 적정온도가 되면 시작한다. (85-95℃)
8. 용해탱크를 감압진공상태로 유지시킨다. (620mmHg 이하)
9. 용매액을 균질하게 혼합 되도록 Cowles mixer 로 교반한다.

용해탱크No.	용해량	용해시작시각	용해종료시각	총 용해시간	Brix
	2,000 L	18:00	11:30	11:30	-

10. 동해액의 배출 및 캡슐충진
  - 1) Comitrol Urschel miii 을 이용하여 밀형 (균질형) 한 후 사교(제모 침), 탈포(기포제거) 한 후 wrapping 하고 질소를 충전하여 보관한다.
  - 2) 용해된 캡슐기체를 사용하여 밀형량 충전, 성형한다.
  - 3) 밀형소: 85-95℃ 유지, 캐스팅온도: 7-20℃, 30% RH이하의 냉풍, 유회온도: 57-69℃
11. 성형 완료 후 탈블러 드라이어를 통과된 캡슐을 패이파가 준비된 건조 트레이에 건조한다. ( 건조온도 19-24℃, 습도 15-25% RH, 2-3 일)
12. 건조 후 포장작업을 진행한다. (밀형 충전공정)
13. 검체 채취 후 제품 보관소에 보관한다.

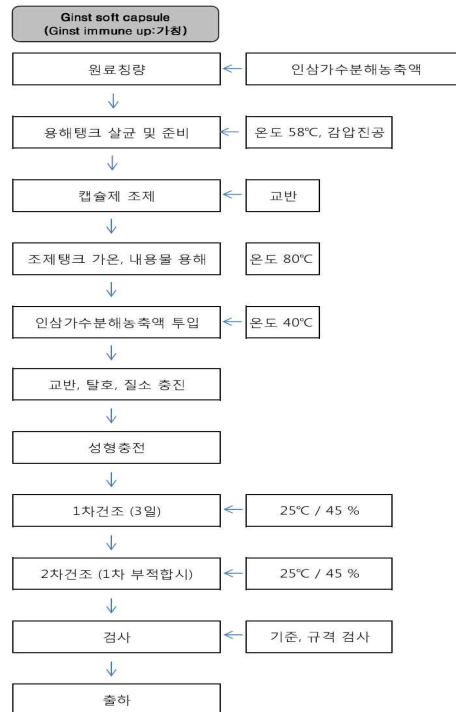
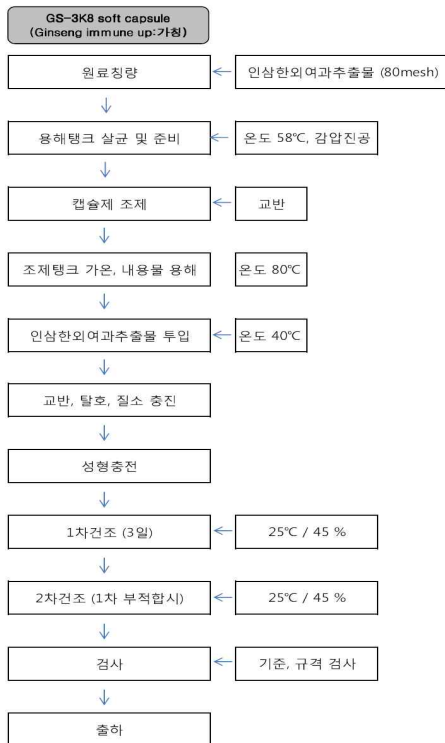
인계자	인수자	총무인량(A)	생산량(B)	수율(B/A)
강영준	안세진	-	-	92%

FORM IH GGC-008(0811-01)

ILHWA Ginseng Quality Control Department

## (2) 시제품의 생산

(가) 한외여과 추출물과 인삼 가수분해 추출물 및 부원료를 위탁생산업체에 제공하고 아래와 같은 제조 공정을 거쳐 제품을 생산하였다.



(3) 생산한 시제품

(가) 한외여과 추출물을 주원료로 생산한 제품은 Ginseng Immune Up으로 제품명을 정하고 완제품으로 완성하였다.



(나) 인삼가수분해 농축액을 주원료로 생산한 제품은 Ginst Immune Up으로 제품명을 정하고 완제품으로 완성하였다.



## 9. 발효기술을 활용한 인삼 제품 개발

가. 발효를 위한 미생물 분리 및 동정

(1) 시료 수집 및 관리

유산균 분리를 위해 시료로 사용된 김치는 약 30여 종류로, 서울을 비롯한 경기, 충북, 충남 등 전국 각지에서 깻두기, 배추김치, 열무김치, 깻잎김치 등 지역별 · 종류별

로 다양하게 수집하였다 (그림 2-A). 수집된 김치 시료의 국물을 원심분리 하여 상등액의 농도를 달리하여 희석한 후 실험에 사용하였고 (그림 2-B), 남은 김치 시료는 더 이상의 발효가 일어나지 않도록  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 의 deep freezer에 보관하였다.

### (2) 김치로부터 유산균의 분리

김치 시료의 국물을 원심분리 하여 얻은 상등액은 멸균수를 이용하여  $10^{-1} \sim 10^{-3}$ 까지 serial dilution하여 유산균 분리에 적합한 MRS agar plate (표 3)에 100  $\mu\text{l}$ 씩 spreading 한 후  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  incubator에서 48시간 배양하였다 (그림 2-C~D).

### (3) $\beta$ -glucosidase 생산 균주 선발

$\beta$ -glucosidase 분비 미생물을 선발하기 위해 esculin agar (그림 3)법을 이용하였다 (Atlas, 1993). Serial dilution한 김치 시료 각각의 MRS plate에 나타난 서로 다른 single colony를 10개씩 선택하여 멸균된 이쭉시개로 딴 후 esculin agar plate (표 4)에 옮겨 색깔의 변화를 관찰하였다 (그림 2-E~F).

$\beta$ -glucosidase분비 균주는 esculin의  $\beta$ -glucose를 절단하여 생성된 esculetin (esculin에서  $\beta$ -glucose가 떨어진 구조, 그림 3)이 ferric ammonium citrate와 반응하여 plate상의 colony 주위에 black complex를 형성한다. Black complex를 형성한 single colony들을 MRS agar plate에서 같은 조건으로 순수배양 될 때 까지 계대 배양하였다. 최종적으로, pure culture 된 균주들을 esculin agar plate에 streaking 함으로써  $\beta$ -glucosidase 분비 능력을 다시 한 번 확인하였다. Pure culture 된  $\beta$ -glucosidase 분비 균주들은 15% glycerol stock solution을 만들어 급속 냉각시켜  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 의 deep freezer에 보관하였다 (그림 2).

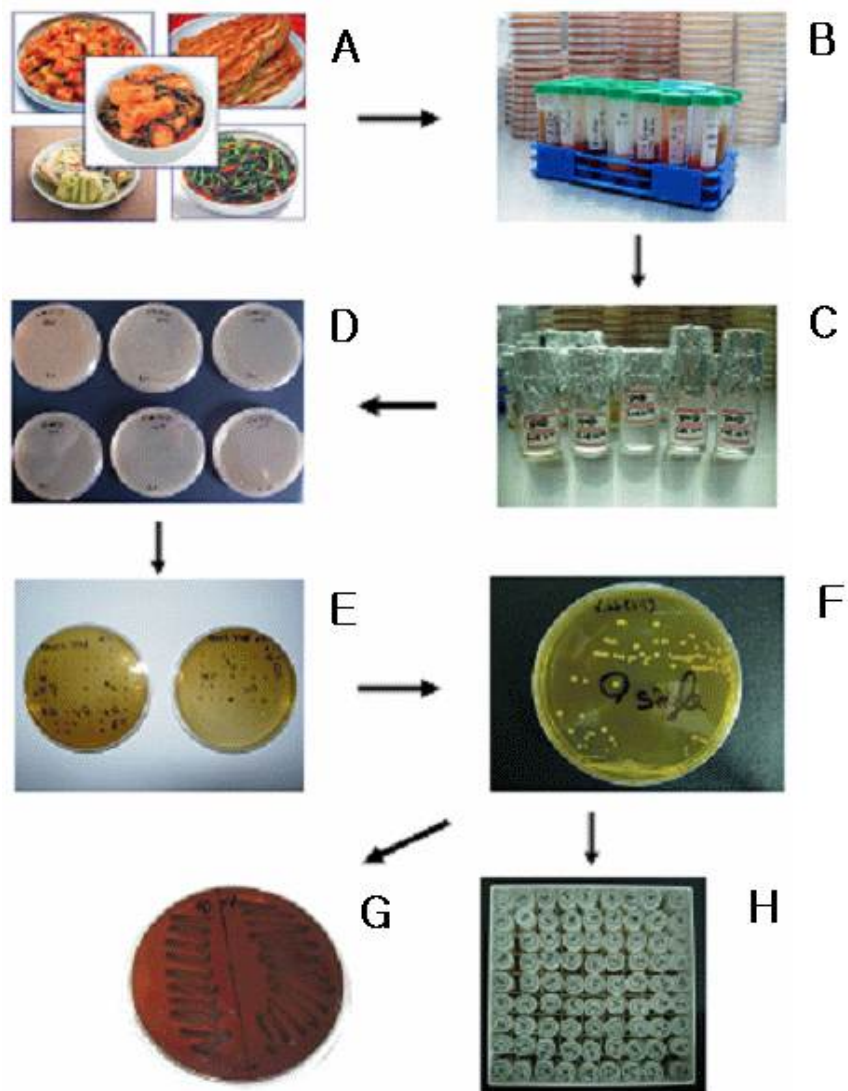


그림 2. 유산균의 분리공정 및 장기보관용 stock 제조 공정도.

표 3. MRS medium의 Composition(Difco)

Composition	Amount(g/L)
Proteose Peptone No. 3	10.0
Beef Extract	10.0
Yeast Extract	5.0
Dextrose	20.0
Polysorbate 80	1.0
Ammonium Citrate	2.0
Sodium Acetate	5.0
Magnesium Sulfate	0.1
Manganese Sulfate	0.05
Di-potassium Phosphate	2.0

표 4. Esculin agar의 Composition

Composition	Amount(g/L)
Pancreatic digest of casein (Casamino acids)	13
NaCl	5
Yeast Extract	5
Heart muscle, solids from infusion	2
Esculin	1
Ferric ammonium citrate	0.5
Agar	15

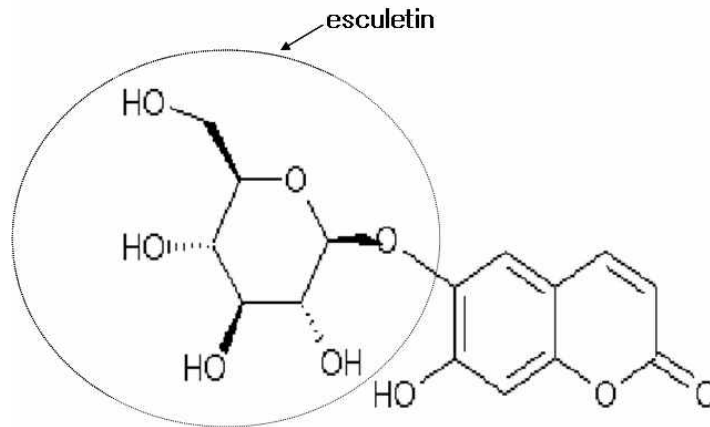


그림 3. Esculin과 esculetin의 구조

(4) 활성균주에 의하여 형성된 물질의 확인

(가) 활성균주와 Rb1과의 반응

MRS agar plate에서 순수 배양된 lactic acid 생산 균주중 간이 테스트를 거쳐 관능이 우수한 17종의 single colony를 MRS 액체배지에 접종하여 37°C, 185 rpm의 shaking incubator에서 24 시간 배양하여 인삼사포닌과의 반응실험에 사용하였다 (그림 4-A). 반응실험에 사용된 인삼사포닌은 인삼의 major 사포닌 중의 하나인 ginsenoside Rb<sub>1</sub>으로, 멸균수를 이용하여 1 mM의 수용액으로 만든 후 0.2 µm membrane filter로 여과 멸균하여 실험에 사용하였다 (그림 4-B). 균 배양액 200 µl와 1 mM의 Rb<sub>1</sub> 수용액 200 µl을 혼합하여 37°C, 185 rpm 조건의 shaking incubator에서 72 시간 동안 현탁 배양하여 인삼사포닌과의 반응을 유도하였다. 반응혼합물은 수포화부탄올을 이용한 부탄올 추출법으로 사포닌을 추출하였다. 반응혼합물에 수포화부탄올 200 µl를 넣어 vortexing한 후, 13000rpm의 조건으로 원심분리 하였다. 사포닌이 녹아있는 부탄올 층을 농축하여 TLC 및 HPLC 분석에 사용하였다 (그림 4-C).

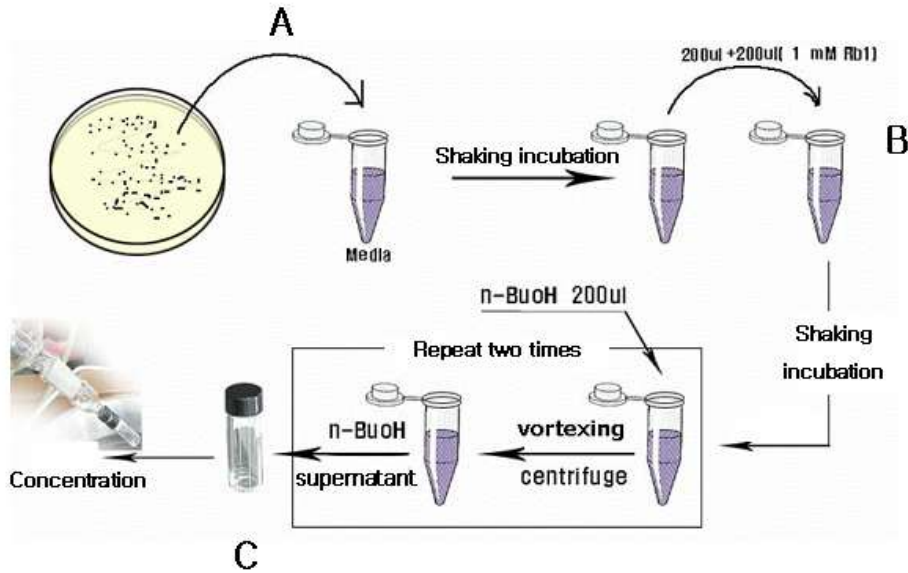


그림 4. 유산균을 이용하여 Rb1과의 반응 실험 모식도

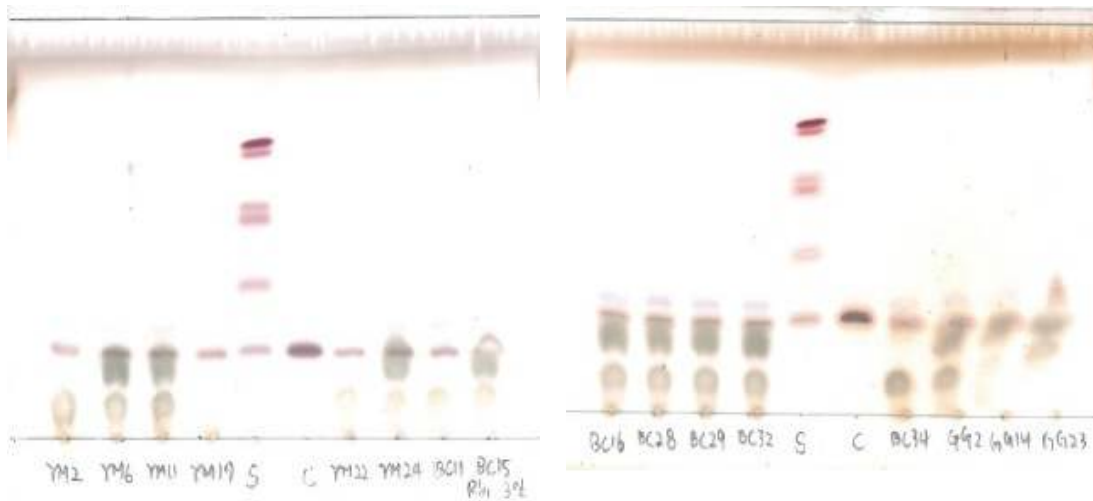


그림 5. 유산균과 진세노사이드 Rb1 반응 TLC

그 결과 깻잎2(GG2), 깻잎23(GG23), 에서 Rb1의 전환이 이루어짐을 알 수 있었다.

(나) 활성균주와 홍삼 농축액과의 반응

MRS agar plate에서 순수 배양된 lactic acid 생산 균주중 간이 테스트를 거쳐 관능이 우수한 17종의 single colony를 MRS 액체배지에 접종하여 37°C, 185 rpm의 shaking incubator에서 24 시간 배양하여 균 배양액 200 ml과 10 brix 홍삼농축액 2000 ml을 혼합하여 37°C, 185 rpm 조건의 shaking incubator에서 72 시간 동안 현탁 배양하여 인삼사포닌과의 반응을 유도하였다. 반응혼합물은 수포화부탄올을 이용한 부탄올 추출법으로 사포닌을 추출하였다. 반응혼합물에 수포화부탄올 200 µl를 넣어 vortexing한 후, 13000rpm의 조건으로 원심분리 하였다. 사포닌이 녹아있는 부탄올 층을 농축하여 TLC로 전환 여부를 확인하였다.

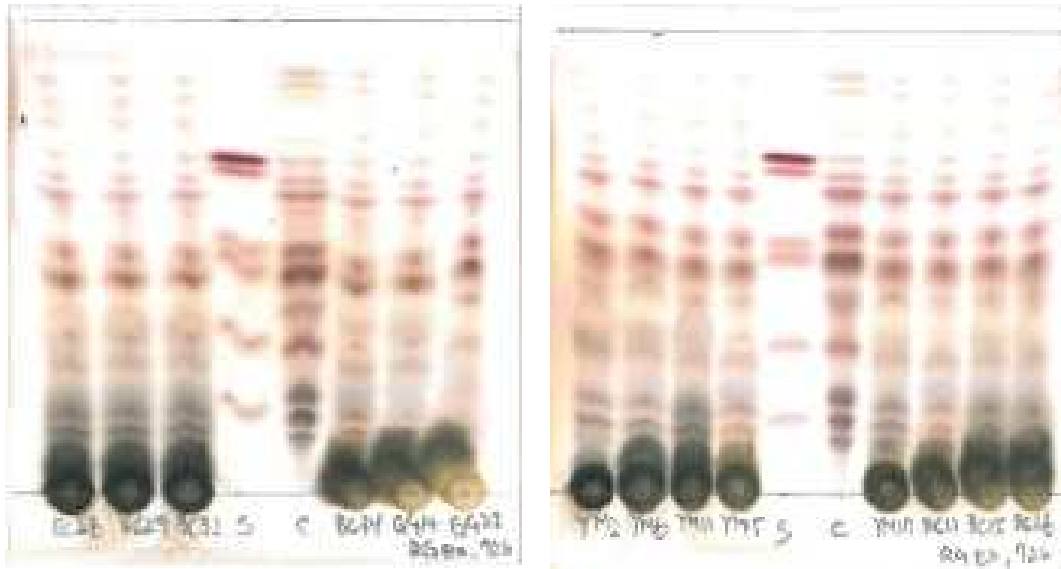


그림 6. 유산균과 홍삼농축액과 반응 TLC

(다) 활성균주+enzyme과 홍삼 농축액과의 반응

홍삼의 메이저 사포닌을 분해하여 기능성 사포닌을 배가 시키기 위한 실험으로 상업 효소를 screening하였다. 이중 관능에 크게 영향을 미치지 않으면서 그 효과가 좋은 enzyme 18종을 선별하여 반응 실험을 진행하였다. 반응실험은 10brix 희석 홍삼 농축액2000ml에 18종의 enzyme 각2%를 첨가하여 24시간부터 72시간까지 그 결과를 확인하였다.



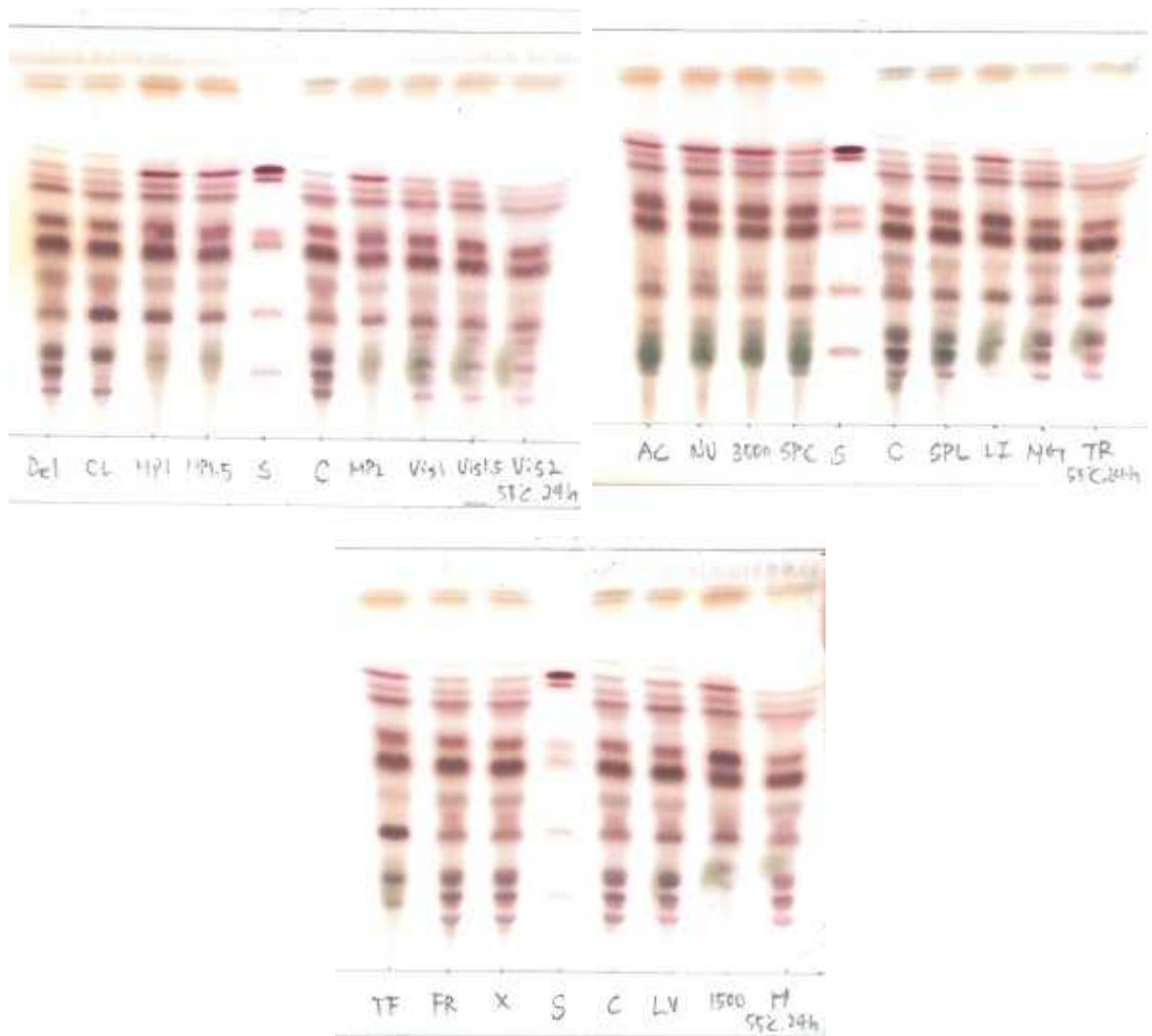


그림 7. Enzyme별 홍삼농축액과의 24h 반응을 통한 TLC 분석

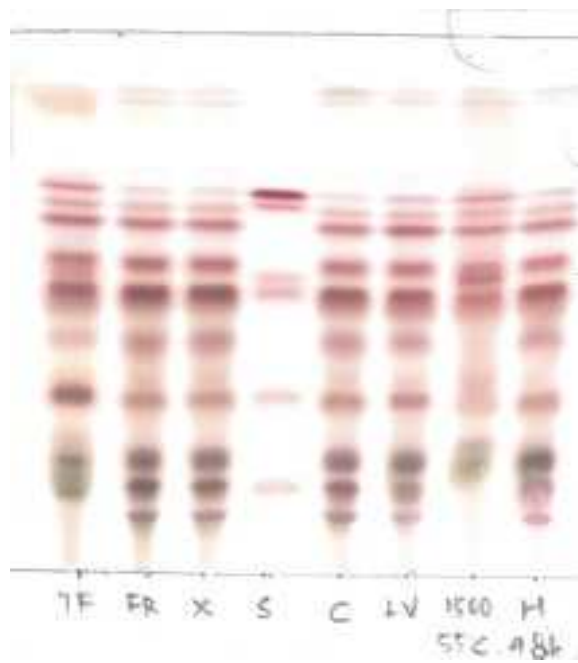
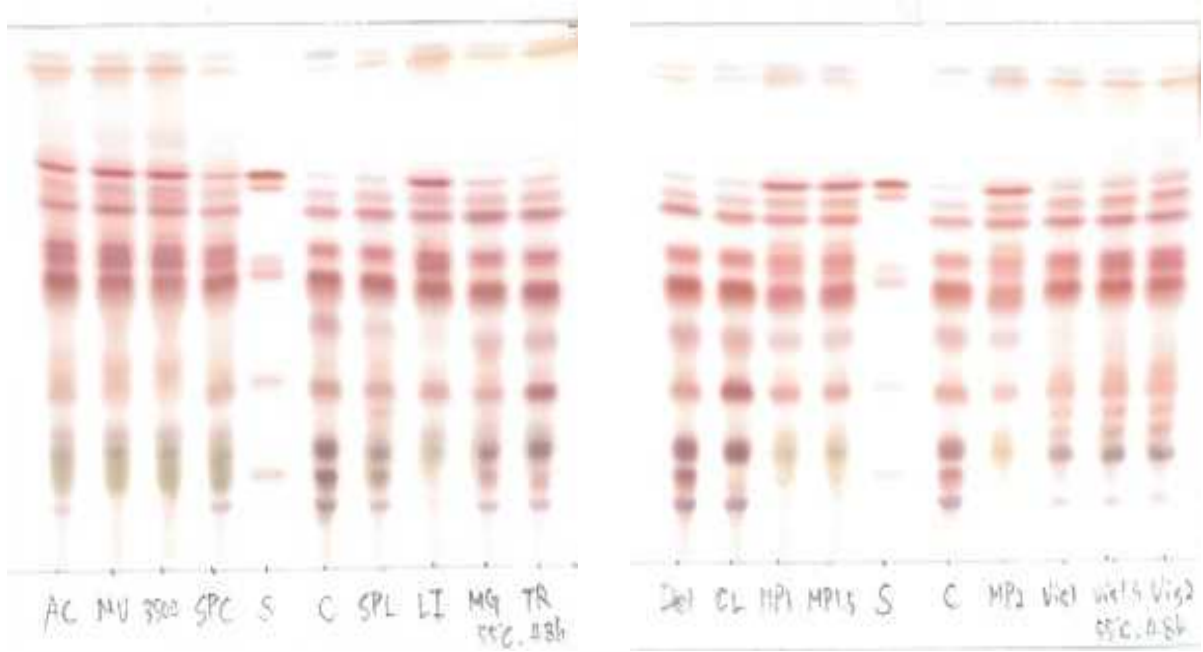


그림 8. Enzyme별 홍삼농축액과의 48h 반응을 통한 TLC 분석

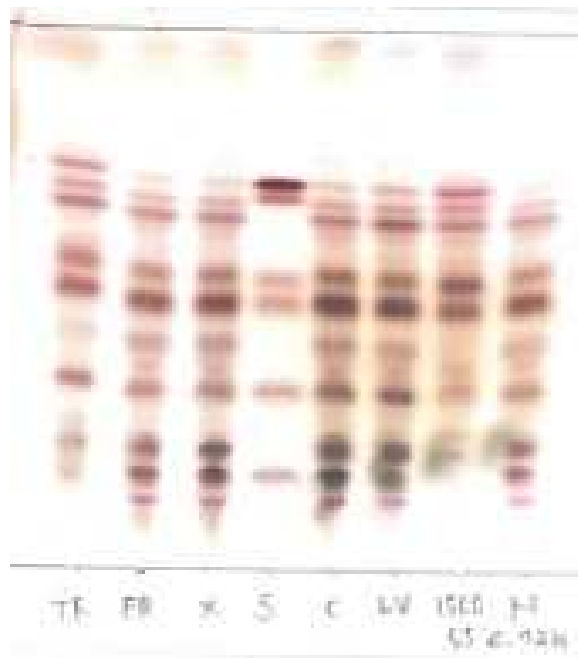
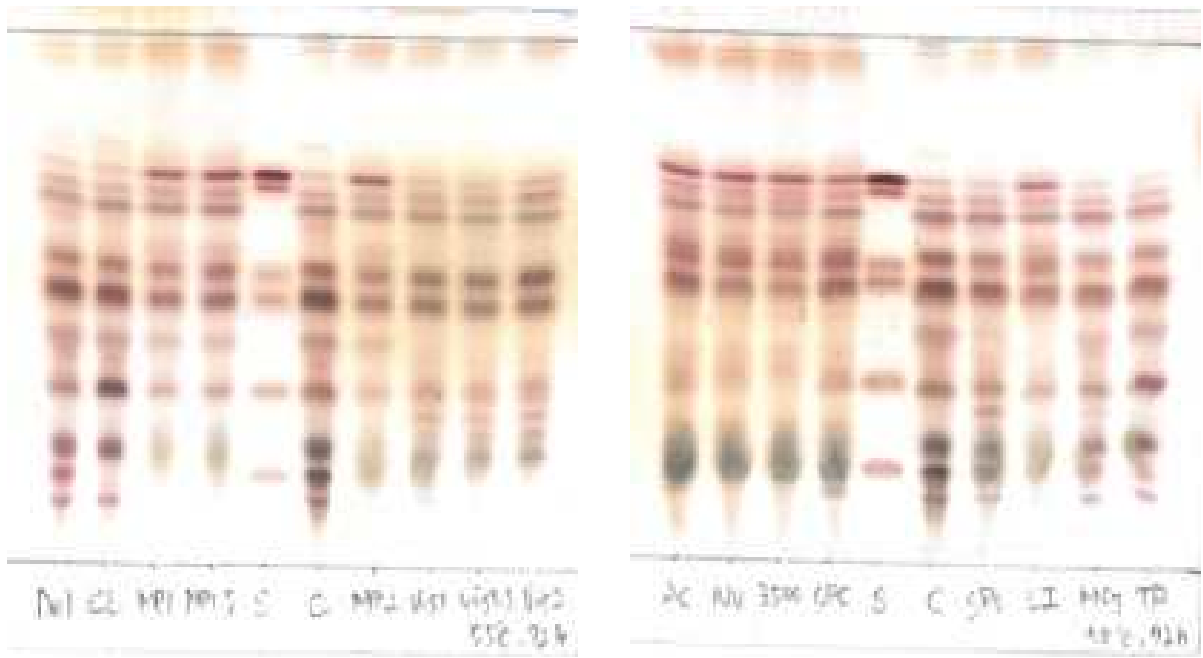


그림 9. Enzyme별 홍삼농축액과의 72h 반응을 통한 TLC 분석

표 5. 홍삼농축액과 반응테스트 실험 enzyme list

TLC label	Enzyme list	TLC label	Enzyme list
AC	Sumizyme AC	CL	Rohament CL
NV	Novarom	MP	MPFE
3500	Cellulyve AN 3500	Vis	Viscozyme L
SPC	Sumizyme SPC	TF	Rapidase TF
SPL	Pectinex Ultra SP-L	FR	Spezyme FRED
LI	Pecllyve LI	X	Spezyme Xtra
MG	Flavourzyme 500MG	LV	Mycolase LV
TR	Transglucosidase L	1500	Cellulyve
DEL	Delvolase	H	Halactase 5200

(라) HPLC 분석

TLC 분석을 통해 minor 사포닌으로의 전환이 확인된 부탄올 추출액은 농축기를 이용하여 농축한 후 MeOH로 녹여 HPLC 분석에 사용하였다. 사포닌 분석은 Integrated NS 3000i HPLC System ([주] 휴텍스, 대한민국)과 역상의 Agilent사 C<sub>18</sub> column (3.0 × 50 mm, ID 5 μm), 파장 203nm의 UV detector를 통해 이루어졌다. 용매로는 acetonitrile (Solvent A)과 distilled water (Solvent B)가 사용되었다.

그 결과 MPFE enzyme이 Rd, F2, Compound K등 마이너 사포닌 생성이 높았으며 관능에도 크게 영향을 미치지 않았다.

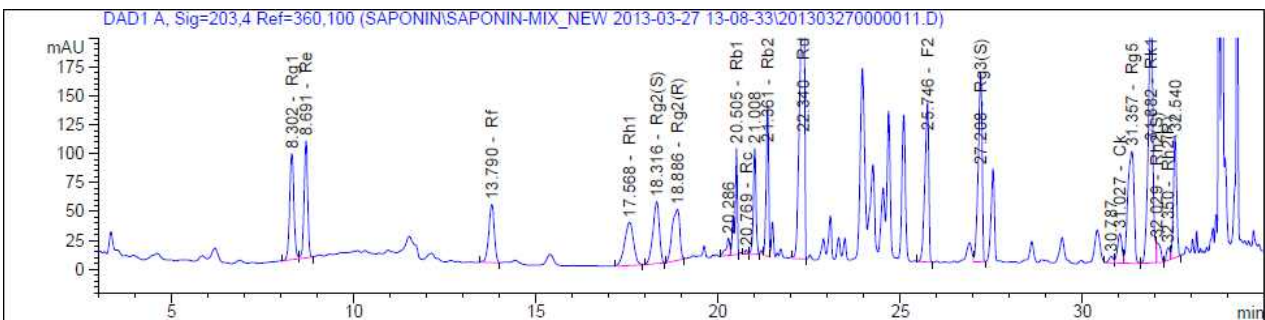


그림 10. MPFE enzyme과 홍삼농축액의 반응 결과 F2, Compound K 생성

나. 추출공정 및 가공기술 개발

- (1) 목적 : - 달임 용수에 따른 성분 분석 및 관능 비교
- 달임 시간에 따른 성분 분석 및 관능 비교
- 절단에 따른 성분 분석 및 관능 비교

(2) 원재료

- (가) 통삼 : - 기타삼(4년근) 300g + 미삼 150g + 이온수(pH 9.0~10.0)  
 - 기타삼(4년근) 300g + 미삼 150g + 증류수(pH 5.5~6.0)

- (나) 절삼 : - 기타삼(4년근) 300g + 미삼 150g + 이온수(pH 9.0~10.0)  
 - 기타삼(4년근) 300g + 미삼 150g + 증류수(pH 5.5~6.0)

- (다) 추출조건 : - 온도 ; 85℃  
 - 시간 : 6H, 12H, 18H, 24H, 30H, 36H, 42H, 48H  
 - 추출기계 : 메디슨 2010A

(3) 품질특성

(가) 당도(BRIX)

- ① 달임 용수별 시간에 따른 고형분 변화는 꾸준히 증가되는 경향을 나타냄  
 ⇒ 용수에 따른 유의적 차이 없음
- ② 달임 초기부터 36시간까지 통삼대비 절삼의 당도가 상향 곡선을 나타냄  
 ⇒ 통삼 대비 절삼의 달임 효율이 약 6~10시간 탁월함

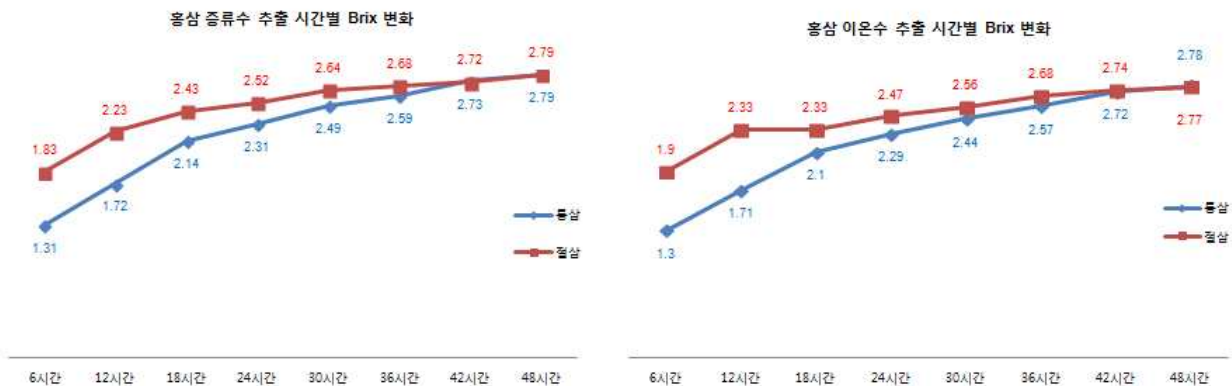


그림 11. 홍삼 용수 및 추출 시간에 따른 Brix 변화

(나) 고형분

- ① 달임 용수별 시간에 따른 고형분 변화는 꾸준히 증가되는 경향을 나타냄  
 ⇒ 용수에 따른 유의적 차이 없음
- ② 동시간 대 통삼과 절삼의 고형분 함량 비교시 절삼이 높은 함량을 나타냄  
 ⇒ 통삼 대비 절삼의 달임 효율이 약 6시간 정도 탁월함



그림 12. 홍삼 용수 및 추출 시간에 따른 고형분 변화

(다) pH

- ① 초기 용수 pH(증류수 5.5 / 이온수 9.8) 대비 시간에 따른 달임액 pH 차이는 미미함  
⇒ 용수에 따른 유의적 차이 없음
- ② 시간 경과에 따라 pH가 낮아지는 경향을 나타내며 특히 42시간 이후 급격하게 낮아짐  
⇒ 달임 시간이 경과됨에 따라 산도 증가, 관능에 영향을 미침



그림 13. 홍삼 용수 및 추출 시간에 따른 pH 변화

(라) 산도(Acidity)

- ① 시간경과에 따라 산도가 증가되나, 30~36시간에서는 소폭 변화됨. 42시간 이후 산도가 다시 급격히 상승하여 관능에 영향을 미침.
- ② 절삼의 경우 달임 초기 산도는 높으나 시간이 경과됨에 따라 변화가 완만하게 진행되며 특히 30시간 이후부터는 소폭으로 변화됨

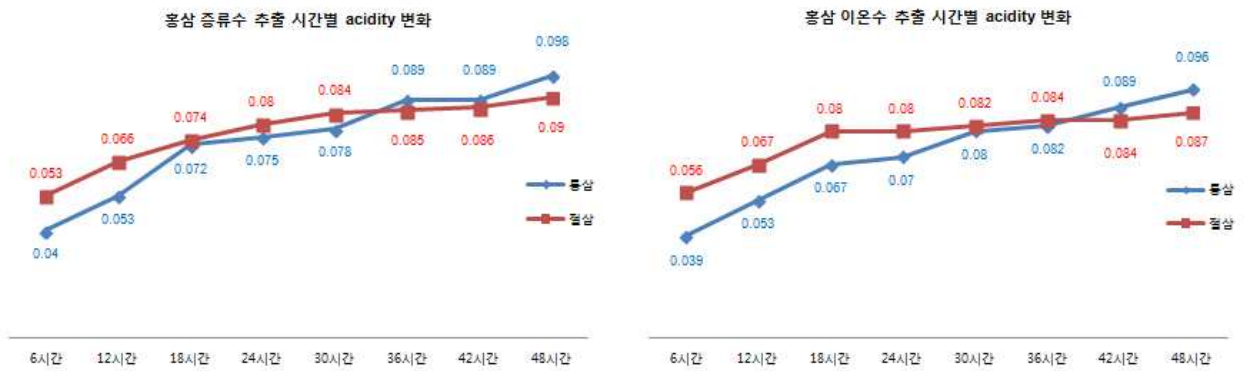


그림 14. 홍삼 용수 및 추출 시간에 따른 산도(Acidity)의 변화

(마) 색도

- ① 시간이 경과됨에 따라 갈변도가 증가됨
- ② 용수(증류수, 이온수)에 따른 색도차는 없음
- ③ 동시간의 경우 절삼이 통삼에 비해 색도가 진함  
 ⇒ 색도는 관능에 직간접적 영향을 미치는 요소로 24시간 이상이 좋을 것으로 판단됨



그림 15. 홍삼 용수 및 추출 시간에 따른 색도의 변화

(바) 관능검사

- ① 이온수의 경우 홍삼 풍미가 다소 약하여 부드럽게 느껴지나 증류수 달임액이 홍삼 고유 풍미가 풍부하여 전체적인 관능이 좋음
- ② 달임 시간이 증가됨에 따라 홍삼 고유 풍미가 약해지는 경향을 나타내며 36시간 이후에서는 신맛이 두드러져 전체적인 관능이 좋지 않음. 특히, 24시간에서 관능이 탁월함
- ③ 절삼의 경우 18~24시간에서 홍삼 고유의 풍미가 가장 좋으며, 30시간 이후에서는 신맛이 두드러져 관능이 좋지 않음

(사) 발효미생물 대량 배양

발효 미생물을 배양하기 위해서는 우선 최적의 배양 배지를 선택하여야 한다. 이때 유산균의 배양은 대표적 유산균 상업용 배지인 MRS배지 등을 이용하는 것이 일반적이나, 이러한 상업용 배지는 그 조성물이나 화학적 가공처리 방법에 있어서 어떠한 재료를 사용하였는지, 어떠한 화학적 처리를 하였는지 알 수가 없어 식용으로 사용하기에는 부적합하다. 일례로, 대한민국 등록특허 제0680318호에는, 트립톤, 소이톤, 펩톤 등을 포함하는 미생물 배양용 영양배지에 대한 내용이 기재 18-1되어 있으나, 상기 트립톤, 소이톤, 펩톤 등을 제조하는 과정이 매우 복잡할 뿐 아니라, 상기 제조 과정에 수산화나트륨 등의 강염기를 처리하는 등 인체에 해가 되는 화학적 처리 과정이 포함되어 있어, 이와 같은 배지에서 배양된 미생물은 바로 식용으로 사용할 수 없는 단점이 있다.

그리하여 본 연구에서는 (주)웅진식품에서 기 보유하고 있는 식용배지 특허의 조성을 이용하여 과제관련 분리 미생물을 이용하여 제품에 바로 적용 가능한 식용 미생물 배지에 대량배양 테스트를 진행하였다.

① 기본 재료의 선정

유산균의 생육에 관여할 수 있는 material인 배추, 무, 양상추, 양배추, 당근, 바나나, 감자, 상추 등 여러 채소들을 개별적으로 유산균의 O·D값을 check하여 어떠한 material이 적합한지 test하였다. 그 결과 무, 당근, 바나나, 양상추 순으로 분리 미생물의 생육에 가장 적합한 것은 무로 나타났다(표6, 그림 16). 이때 무의 함량은 1 ~ 5%로 첨가할 수 있다.



표 6. Contents and amount of natural midium

	1%	5%	10%	20%	30%
Carrot	0.131	0.492	0.354	0.078	0.091
Banana	0.031	0.383	0.417	0.329	0.305
Radish	0.046	0.211	0.551	0.884	0.748
Lettuce	0.018	0.065	0.104	0.13	0.211

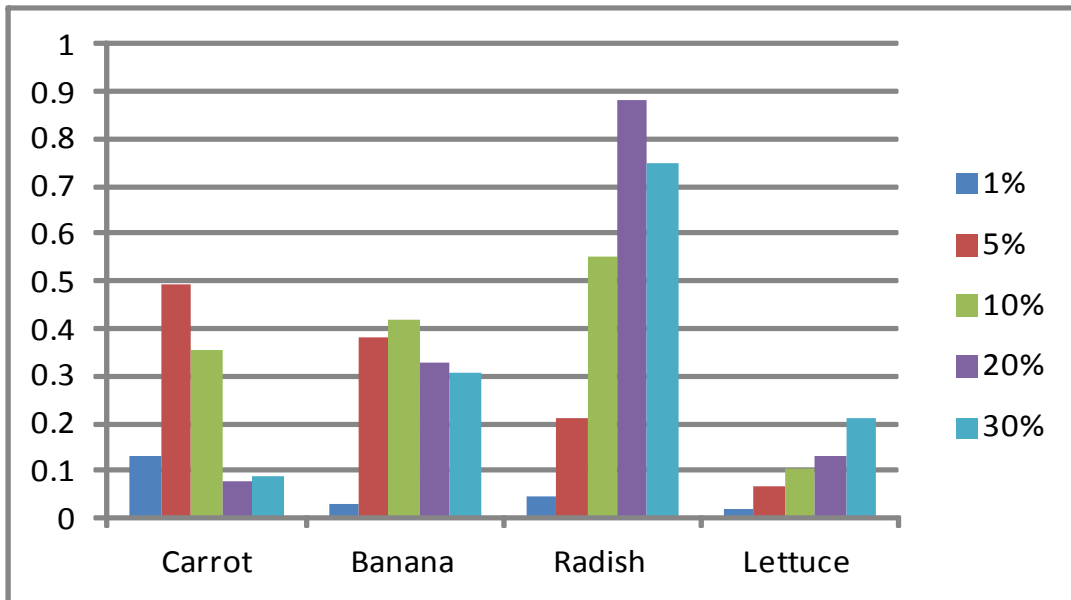


그림 16. Contents and amount of natural midium

② 당원의 선정

유산균은 당원을 이용하여 유산을 생산하는 미생물이므로 여러 가지 이용 가능한 당원을 알기 위하여 sugar, polydextrose, fructose, maltooligo, glucose, dextrin, fructooligo, lactose등을 테스트한 결과 lactose와 glucose가 분리 미생물의 생육에 가장 적합한 것으로 나타내었다(표 7, 그림17). 이때 당원의 함량은 1 ~ 3%로 첨가할 수 있다.

표 7. Contents and amount of natural midium

Carbon source	OD <sub>600</sub>	Carbon source	OD <sub>600</sub>
Control	0.363	glucose	0.71
sugar	0.69	dextrin	0.692
polydex	0.663	fructooligo	0.695
fructose	0.681	lactose	0.745
maltooligo	0.66		

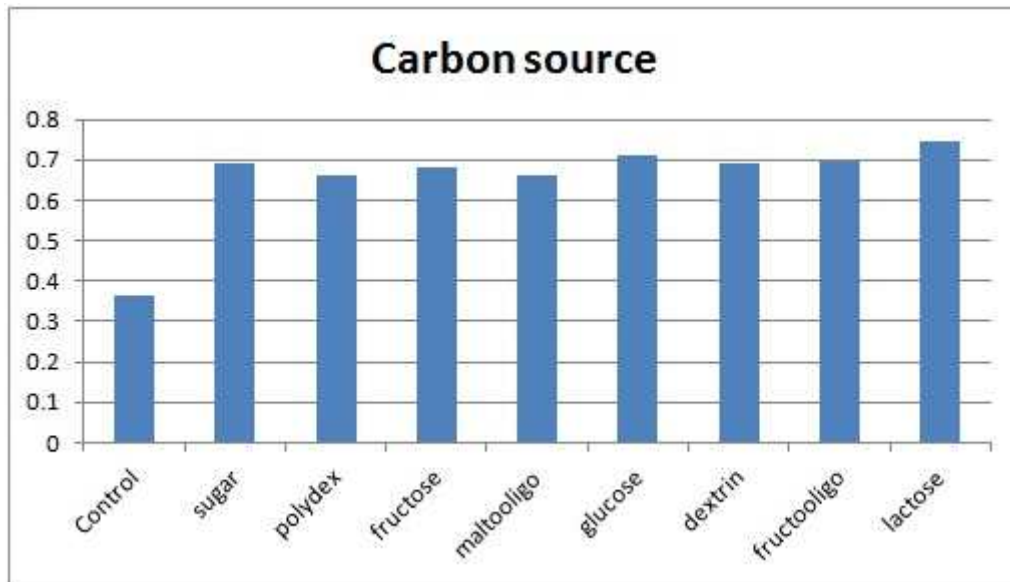


그림 17. Contents and amount of natural midium

③ 염분 및 영양성분의 농도 선정

유산균의 생육에 있어 염의 역할은 상당히 중요하며 유산균의 증식은 염분의 농도에 의해서 좌우 된다.(조은자, 2008. 한국전통식품연구. 성신여자대학교 출판부) 이와 관련하여 분리 미생물의 염분 및 영양성분의 농도에 대하여 어떠한 생육조건을 갖는지 테스트한 결과  $K_2HPO_4$  와 yeast extract 0.1% ~ 5%의 조합이 생육에 가장 적합한 것으로 나타내었다(표 8, 그림 18).

표 8. Contents and amount of natural midium

Salt	OD <sub>600</sub>	Salt	OD <sub>600</sub>	Salt	OD <sub>600</sub>
K 0.1 Y 0.1	0.52	K 0.5 Y 0.1	0.319	K 1 Y 0.1	0.326
K 0.1 Y 0.5	0.821	K 0.5 Y 0.5	0.442	K 1 Y 0.5	0.392
K 0.1 Y 1	0.952	K 0.5 Y 1	0.493	K 1 Y 1	0.491
K 0.1 Y 5	0.984	K 0.5 Y 5	0.581	K 1 Y 5	0.564

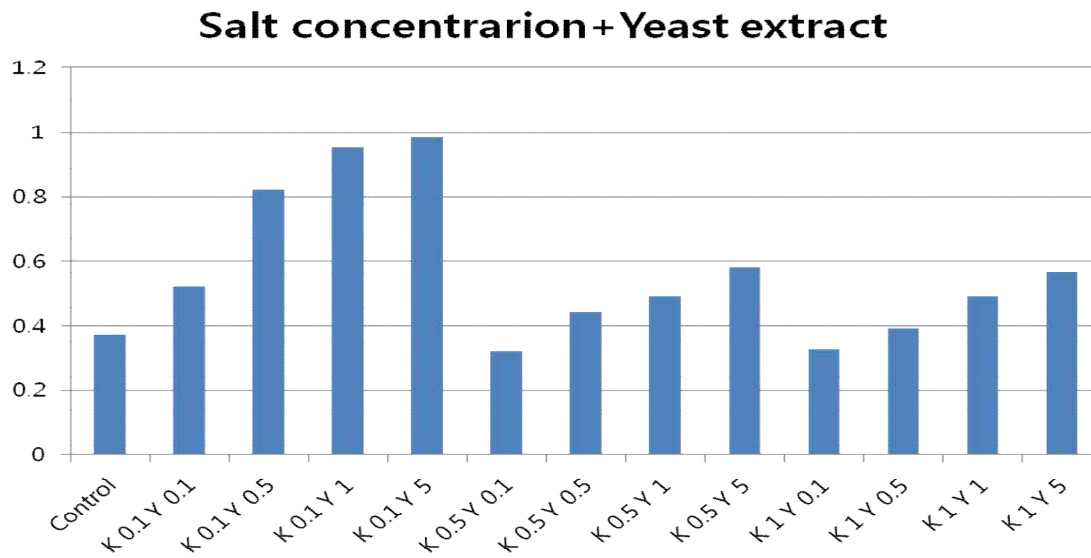


그림 18. Contents and amount of natural midium

④ 식용 기본배지에 첨가물 선정 test

위 결과를 토대로 분리 미생물은 무와 lactose 0.2%, glucose 0.2% 그리고  $K_2HPO_4$  0.1% 와 5%의 yeast extract의 content가 가장 적합한 배합으로 이를 기본으로 영양분 첨가 테스트를 하였다. 위에 배추, 당근, 바나나, 양상추등 기존의 O·D 값 테스트 결과를 토대로 영양분 첨가 테스트를 각각 0.1%, 0.5%, 1%의 비율로 첨가하여 24h 동안 배양 후 O·D값을 check한 결과 당근과 바나나를 각각 1%로 첨가하였을 때 가장 그 효과가 좋은 것으로 나타내었다(표 9, 그림 19).

표 9. Contents and amount of natural midium

Matrial concentration	OD <sub>600</sub>	Matrial concentration	OD <sub>600</sub>
Cabbage 0.1%	0.988	Carrot 0.1%	0.789
Cabbage 0.5%	0.609	Carrot 0.5%	0.852
Cabbage 1%	0.569	Carrot 1%	1.052
Matrial concentration	OD <sub>600</sub>	Matrial concentration	OD <sub>600</sub>
Banana 0.1%	1.053	Lettuce 0.1%	0.835
Banana 0.5%	1.06	Lettuce 0.5%	1.043
Banana 1%	1.088	Lettuce 1%	1.059

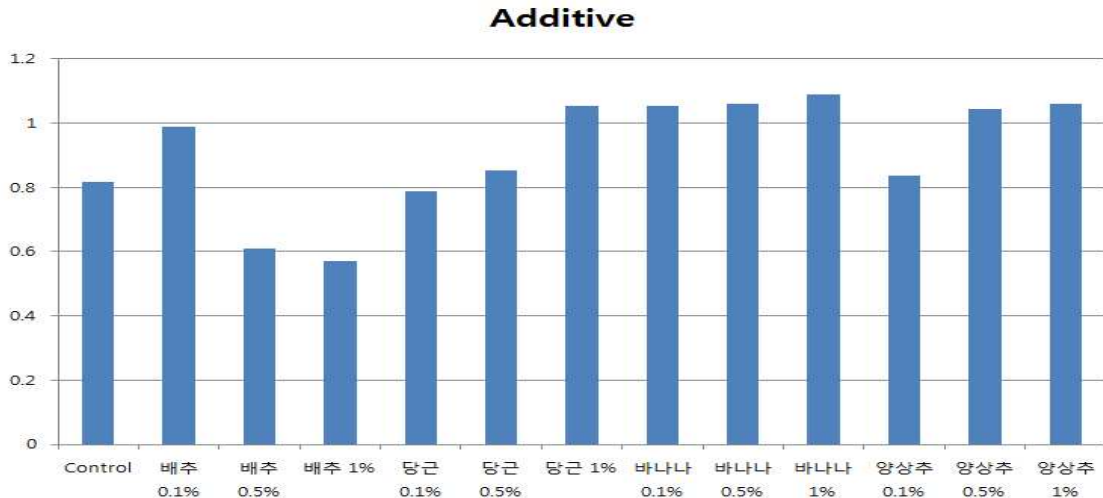


그림 19. Contents and amount of natural medium

⑤ 식용 기본배지에 첨가물 mix 테스트

위 결과를 토대로 분리 미생물은 무와 lactose 0.2%, glucose 0.2% 그리고  $K_2HPO_4$  0.1% 와 5%의 yeast extract의 content가 가장 적합한 배합으로 이에 1.4의 실험에서와 같이 각각의 첨가물을 조합하여 기본 식용배지에 첨가하여 테스트를 진행하였다. 이는 각각의 다른 영양성분을 가진 material들이 mix되었을 때 시너지 효과를 낼 수 있는지에 관한 test로서 그 결과는 다음과 같이 당근과 바나나의 1%씩의 조합으로 첨가하였을 때 그 효과가 증가하였다. 식용가능 미생물 배지를 만들어 미생물 배양 후 약 10brix 홍삼 농축액에 접종한 후 바이오리액터 전용 인큐베이터에서 37°C, 24h ~ 168h 범위에서 발효시켰다. 또한 minor saponin 생성을 배가시키기 위하여 1차년도에서 선발한 enzyme을 접종하여 발효 홍삼을 제작하였다. 이 실험은 바이오 리액터에 배양하여 lab test를 진행하였다(그림 20).



그림 20. Mass culture of lactic acid bacteria using bioreactor

위와 같이 bio reactor를 이용하여 대량배양 lab test를 거쳐 최적 조건을 찾아 실험을 수행하였다. 이 결과를 토대로 현장 적용 가능 테스트를 거치기 위하여 충남 유구에 있는 (주)웅진식품의 대량 발효 탱크(scale : 2톤)에 현장적용 하였다(그림 21).그 결과 lab test 와 거의 유사한 sensory를 나타내었으며, 유산균의 대량 배양, 생육에도 적합한 것으로 확인 되었다.



그림 21. Fermentation tank of Lactic acid bacteria

(아) 발효 및 제조공정을 이용한 시제품 개발

Step 1.에서 언급한 바와 같이 위의 공정을 거쳐 현장 적용 가능한지 테스트를 거친 후 시제품을 개발하기 위하여 자사 연구소에서 보유하고 있는 pilot기기를 이용하여 여러 살균 온도 및 현장 조건 test를 거쳐 간이 시제품을 제작하였다(그림 22). 그 시제품이라 함은 인,홍삼 추출액을 이용한 제품, 농축액을 이용한 발효홍삼 시제품을 포함하며 여러 가지 조건별 테스트를 진행하였다(그림 23).



그림 22. Prototype production using pilot plant

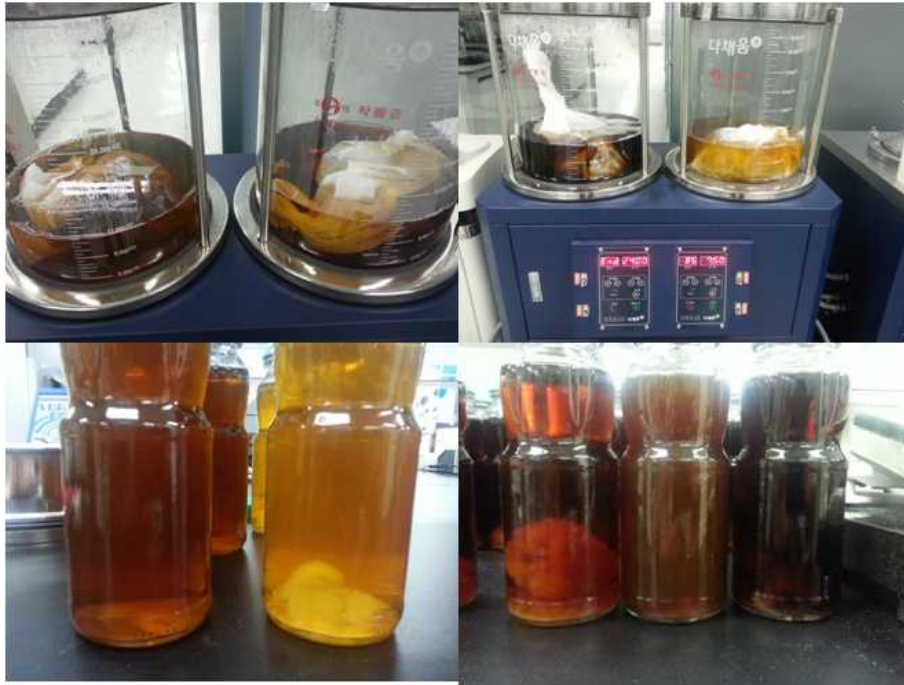


그림 23. Sample preparation of fermented red ginseng using extraction

(자) Sensory test를 통한 제품검증

위와 같이 제작된 간이 시제품을 이용하여 자사 내부 sensory 패널을 이용하여 5점 척도 평가지를 이용하여 제품 관능 테스트를 진행하였다. 이 테스트는 자사 신제품 관능테스트 척도를 기준으로 진행하였으며, 내부 보안 규정상 그 예로 일부분만 발췌하여 예를 들었다.

**음료에 대한 소비자 조사**

이름	ID	성별	연령
		1. 남	1. 20~29세
		2. 여	2. 30~34세
			3. 35~39세
			4. 40~44세
			5. 45~49세

**Part A. 인·홍삼\_ 시제품**

\* 지금부터 과·채음료제품 A, B를 직접 맛을 보신 후 각각의 제품에 대해 아래 A1~A3 응답란에 평가해 주시기 바랍니다.

A1. 지금 드신‘\_\_\_\_\_’의 ‘전반적인 맛’은 얼마나 마음에 드십니까?

매우 좋다..... 5

- 약간 좋다..... 4
- 어느 쪽도 아니다..... 3
- 별로 좋지 않다..... 2
- 전혀 좋지 않다..... 1

A2. 귀하께서는 ‘ \_\_\_\_\_ ’의맛이 좋다고 생각되는 점은 무엇입니까? 구체적으로  
 해 주십시오.

A3. 귀하께서는 ‘ \_\_\_\_\_ ’의맛이 좋지 않다고 생각되는 점은 무엇입니까? 구체적으로  
 응답해 주십시오.

\* A1~A3 응답란

	A1. 전반 맛 만족도	A2. 맛 좋은 점	A3. 맛 좋지 않은 점
제품 A			
제품 B			

발효 후 내부 패널 sensory 테스트 결과를 종합해 보면 인,홍삼의 전반적 쓴맛이 나 바디감은 부드러워짐을 알 수 있었다. 그러나 발효를 진행할수록 미생물, 유산균이 가지고 있는 고유의 특유 이취가 제품의 전체적 관능을 저해시키는 것으로 나타났다. 이는 분리 미생물의 오리지니 무엇인가에 따라서 그 이취는 달라지며 어떠한 미생물을 사용하였는가에 따라서 성상도 약간의 차이를 나타내는 것으로 나타났다. 성상과 이취는 음료등 제품개발에 있어서 제1의 고려사항으로 미국 수출형이나 내수형 제품 개발에 발효만으로 관능을 잡기란 어려운 것으로 판단된다. 본 협동연구 과제에서는 가공기술개발을 통한 쓴맛 저감화 제품 개발이 최종 goal로서 제품 개발 이후에 상품화까지 연계되어야 하기 때문에 주관 기관, 내부 연구원들의 고심 끝에 발효만이 아닌 쓴맛 저감화를 위한 식품첨가물 및 제품 가공을 위하여 공정을 개발하고자 한다. 또한 최종 미국시장을 타겟으로 할때 현재 국,내외 시장 트렌드 파악이 필수이며, 그 트렌드에 맞는 제품 개발이 이루어 져야 한다.

## 제 5절 고기능성 인삼 품종 개발

### 1. 연구내용

가. 기 농식품부의 지원에 의하여 개발된 K-1과 G-1의 특성조사 및 산지적응시험

- (1) 기 개발 신품종(K-1, G-1)의 사포닌 및 기타 기능성 성분분석
- (2) 기 개발 신품종(K-1, G-1)의 재배특성 및 산지적응시험

나. 품종유망 계통 3종에 대한 특성검정

- (1) 품종등록을 위한 재배특성 및 생산력 검정시험
- (2) 농가실증시험 및 증식
- (3) 계통별 DNA marker 탐색 및 개발을 위한 샘플준비
- (4) 사포닌 및 기타 기능성 성분분석을 위한 샘플준비

다. 30종의 예비 인삼 계통으로부터 기능성 물질 및 진세노사이드 고함유 계통 선발

- (1) 3년생 이상의 고정된 계통의 진세노사이드 분석을 위한 샘플준비
- (2) 특정 진세노사이드 고함유 계통 증식
- (3) 특정 진세노사이드 성분과 수량성 및 품질 분석

### 2. 연구 결과

가. K-1과 G-1의 특성 및 산지적응력시험

표 1. K-1과 G-1의 4, 6년생의 출아, 개화 및 임성 특성

품종	지역	연생	출아기	개화기	임실율(%)
K-1	고창	3	4. 25	5. 24	84.5±7.76
		4	4. 25	5. 23	87.4±5.57
	해남	6	4. 25	5. 24	적예
	포천	6	4. 20	5. 15	적예
		6	4. 27	5. 25	적예
G-1	고창	3	4. 25	5. 24	85.7±8.21

\* 해남의 K-1은 2012년 태풍 불라벤의 피해로 70%이상의 결주가 발생

출아기나 개화기는 품종간이나 연생간의 차이는 없었으나 지역간 차이는 있었다. 위도가 낮은 해남에서의 출아는 4월 20일에 시작하였다. 고창은 5일 정도 늦은 25일에 포천은 7일 정도 늦은 27일에 출아가 시작되었다. 임실율은 고창에 식재된 K-1 3년생과 4년생은 각각 84.5%와 87.4%를 보여 4년생에서 높은 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다.



G-1 3년생은 85.7%를 보였으나 품종간 연생간의 통계적 유의성은 나타내지 않았다.

표 2. K-1과 G-1의 개갑특성

품종	채종 년생	개갑율(%)		기계손상율(%)		비고
		A농가	B농가	A농가	B농가	
K-1	3	87.5±3.25	85.5±3.95	6.2	5.5	채종과 개갑율은 2012년 조사치임
	4	87.3±2.78	87.4±4.22	5.7	4.7	
G-1	3	89.2±1.74	-	6.6	-	
	4	88.7±2.53	-	5.8	-	

품종 K-1과 G-1의 개갑율을 조사하였던 바 품종간에는 G-1이 약간 높은 경향을 보였으나 통계적 유의성을 보이지 않았다. 연생간이나 농가간에는 거의 같은 경향을 나타냈다. 특히 이번 조사에서 기계적 손상율이 상당히 높음을 알 수 있었다. 예전과 같이 장육을 제거를 수작업에 의존하지 않고 기계를 이용하여 장육제거를 하기에 종자와 기계벽과의 마찰에 의해 종피가 깨지는데 작업 당시는 육안으로 볼 수 없으나 3개월 개갑처리 후는 부패됨을 알 수 있었다. 이 조사는 2012년 자료이고, 2013년 종자는 현재 개갑처리중이기에 처리 완료가 되는 10월 25일 후 조사할 예정이다.

표 3. K-1의 2차 산지 적응력시험 묘포 발아율 및 생육상

품종	연생	지역	발아율(%)	생육상	비고
K-1	묘	파주	57.0	상	묘포가 관리 부실
		포천	87.5	상	
		안성	85.3	상	

제 2차 산지적응력 및 실증시험을 하였던 바, 8월까지의 생육상은 매우 양호하였다. 파주지역을 제외한 포천과 안성지역에서는 85% 이상의 발아율을 보였으나 파주지역에서는 57%로 낮은 발아율을 보였다. 이에 대한 원인은 개갑장에서 꺼낸 후 파종하기 전까지 상당기간 동안 상온에 방치되어 종자가 건조되었고, 파종된 묘포도 파종 후 바로 비닐을 씌워 수분 상태가 불량하였던 것으로 조사되었다.

표 4. K-1과 G-1 및 품종간 뿌리부위별 ginsenosides 함량(위탁)

부위	품종	Rg1	Re	Rf	Rb1	Rc	Rb2	Rd	F2	Rg3	Rh2	CK	PPT	PPD	Total(mg/g)
동체	G-1	1.35	1.36	0.41	3.31	0.68	0.68	0.21	0.01	0.02	-	-	0.04	0.02	8.09
	K-1	1.85	1.82	0.52	2.92	0.73	0.60	0.19	0.01	0.03	-	-	0.05	0.01	8.73
	천풍	2.50	2.14	0.64	3.33	0.70	0.47	0.56	0.03	0.05	-	-	0.03	0.06	10.51
	연풍	1.24	1.00	0.27	2.38	0.46	0.50	0.10	0.01	0.02	-	-	0.02	0.02	6.02
	선풍	1.21	1.53	0.33	2.20	0.82	0.88	0.14							7.11
	금풍	1.99	1.03	0.37	2.98	0.67	0.50	0.31							7.85
지근	G-1	1.74	6.91	0.80	13.78	4.11	4.90	1.80	0.09	0.13	-	-	0.09	0.07	34.42
	K-1	2.82	6.78	1.15	9.71	3.29	1.94	1.24	0.07	0.18	-	-	0.07	0.08	27.33
	천풍	3.54	9.01	1.35	13.17	4.00	2.29	1.93	0.11	0.22	-	-	0.08	0.11	35.81
	연풍	2.64	7.72	1.22	14.44	6.50	6.68	1.69	0.09	0.25	-	-	0.11	0.13	41.47
	선풍	1.97	5.91	0.92	11.30	5.15	5.41	1.11							31.77
	금풍	3.65	3.40	0.97	8.57	3.12	1.96	1.57							23.24

G-1과 K-1의 진세노사이드 함량을 동체와 지근으로 구분하여 분석한 결과 동체에서는 대비품종 천풍보다는 낮고, 연풍이나 선풍, 금풍보다는 높은 경향을 보였다. 지근에서는 K-1이 약간 낮은 경향을 보였고, G-1은 천풍과 비슷하나 연풍에 비해서는 적은 함량을 보였다.

표 5. K-1과 G-1 및 기타 품종의 산성다당체 함량(위탁)

품종	동체	지근
G-1	0.16±0.104	0.19±0.037
K-1	0.14±0.019	0.24±0.016
금풍	0.19±0.028	0.16±0.070
천풍	0.19±0.071	0.17±0.030
선풍	0.18±0.055	0.23±0.030

K-1과 G-1의 동체와 지근부위의 산성 다당체 함량은 동체는 다른 품종에 비해 낮은 함량을 보였고, 지근에서는 다소 높은 함량을 나타냈다. 추후 다른 포장에서 생산된 재료로 더 비교해볼 필요가 있다고 본다.

표 6. 6년근 K-1의 지역별 수량 및 특성

지역	품종	수량 (kg/칸)	체형			
			사람형	무형	오징어형	난발형
고창	K-1	2.7±0.23	45.3	28.5	15.7	10.5
	천풍(대비)	2.1±0.18	53.6	20.6	17.3	8.5
해남	K-1	1.6±0.11	43.1	25.4	18.7	12.8
	천풍(대비)	1.2±0.17	45.5	18.8	23.7	12.0
포천	K-1	2.5±0.38	47.8	21.5	13.1	17.6
	천풍(대비)	2.3±0.25	51.2	23.3	10.2	15.3

\* 해남의 K-1은 2012년 태풍 블라벤의 피해로 70%이상의 결주가 발생

지역별 K-1의 수량을 조사하였던 바, K-1의 수량은 고창, 포천, 해남에서 각각 2.7kg, 2.5kg, 1.6kg을 보였고 대비 천풍은 각각 2.1kg, 1.2kg, 2.3kg으로 K-1이 천풍보다는 높은 수량을 보였다. 그러나 고창과 포천에서는 해남 보다는 높은 수량을 보였는데 이는 2012년 5년생 시 해남지역의 태풍 블라벤의 70% 정도의 피해를 본 결과로 본다. 지역별로 체형을 분리해 본 결과 K-1이나 천풍 모두 홍삼제조시 천삼이나 지삼이 될 수 있는 기본 소질인 사람형과 무형 비율이 높게 나왔으며 천풍이 모든 지역에서 더 높은 경향을 보였다. 특히 K-1이나 천풍은 전반적으로 수량이 예년만 못하는데 이는 본 시험포지에서 만의 문제가 아니고 올해 전국적인 현상으로 대두되고 있다.

나. 품종 유망계통 특성조사

표 7. 년생별 발아, 출아 및 개화기

년생	발아 및 출아기	개화기	비고(식재지역)
묘	4. 20	-	고창
2	4. 20	-	고창
3	4. 25	5. 24	고창
4	4. 25	5. 24	김제
5	4. 25	5. 24	고창
6	4. 25	5. 24	고창

- 묘삼의 발아기나 2년생 이상의 출아기는 10% 정도 육안 감별이 가능한 시기를 기준

계통 육성과 생산력검정 시험은 고창과 김제에 공시한 계통의 발아, 출아 및 개화기는 지역적 차이는 없었다. 그러나 연생간에는 묘발아와 2년생 출아가 3, 4, 5, 6년생보다는 5일 정도 빨랐다. 전반적으로 예년보다 10정도 늦게 발아 및 출아를 하여 개화기도 늦어졌음을 볼 수 있었다.

연생별 계통의 출아를 조기, 중기, 만기로 구분하였던 바, 3년생의 1004계통과 같은 계통은 출아가 매우 빨랐으며, 1010계통 외 4계통과 4년생의 0902계통 외 12계통과 5년생의 0802계통 외 7계통은 조기 출아를 보였다. 계통에 따라 또는 포장 환경조건에 따라 차이는 있으나 같은 연생의 동일 포장조건에서는 출아가 빠르고 늦고의 차이는 계통의 특성이라고 본다. 특히 모든 연생에서 중기 특성을 갖는 계통이 많았다. 만기 특성을 보인 계통은 북미삼과 교배를 위한 자원으로 활용할 가치가 높다. 북미삼은 고려인삼에 비해 출아가 15일 이상의 차이를 보이거나 최근의 기후 변화로 4월 중순까지 추웠다가 중순 이후 기온 상승으로 고려인삼과 북미삼의 출아시기 차이가 1주일 정도로 짧아지고 있음을 볼 수 있다(표 8).

4년생 09계통의 생육에서 0909, 0913, 0918, 0921, 0923, 0927, 0931와 같은 7계통은 매우 양호한 생육을 보였다. 0903, 0912, 0915, 0916, 0917, 0924, 0926, 0929, 0932와 같은 9계통은 양호한 생육을 보였고, 0907, 0914, 0919, 0925, 0928과 같은 5계통은 생육은 양호하였으나 엽소증에는 다소 약한 경향을 나타냈다. 0902, 0905, 0906와 같은 계통은 부진한 생육을 보였으며, 이 계통을 제외하고는 중간 정도의 생육을 보였다. 비교적 생육이 양호한 계통은 생산력 검정을 실시하고자 한다(표 9).

4년생 북미삼의 생육은 Q0901, Q0911, Q0913, Q0914와 같은 계통은 양호한 생육을 보였고, Q0904, Q0905, Q0906과 같은 계통은 부진한 생육을 보였으며, 이를 제외한 계통은 중간 정도의 생육을 보였다(표 10).

3년생 10년 선발계통은 1001계통 외 23계통은 좋은 생육을 보였고, 1003계통 외 8계통은 중간 정도의 생육을, 1005계통 외 5계통은 부진한 생육을 보였다. 북미삼의 경우는 Q1009계통 외 4계통의 생육은 양호하였으나 Q1001 계통 외 4계통의 생육은 부진하였다. 2007년 선발된 계통에서는 0702계통 외 12계통은 양호한 생육을 보여 2차 생산력 검정을 실시하고자 한다. 1987년 선발되어 산지실증시험에 공시된 계통 중 품종유망 계통인 0304와 0305는 기존 품종인 K-1, 연풍, 금풍과 같은 양호한 생육을 보였다(표 11).

표 8. 년생별 계통별 출아특성

연생			계통	
3	10 계통	고려인삼	조	1004(극조), 1010, 1028, 1030, 1034, 1038
			중	1001, 1002, 1005, 1007, 1008, 1009, 1012, 1013, 1014, 1015, 1015, 1016, 1017, 1019, 1020, 1021, 1023, 1024, 1025, 1026, 1027, 1029, 1032, 1033, 1035, 1039, 1040, 1041, 1042, 1043, 1044, 1046, 1049,
			만	1003, 1006, 1011, 1018, 1022, 1031, 1036, 1037, 1045, 1047, 1048, 1050, 1051
		북미삼	조	
			중	Q1001, Q1009, Q1011, Q1012, Q1013, Q1017, Q1018
			만	Q1002, Q1003, Q1004, Q1005, Q1006, Q1007, Q1008, Q1010, Q1014, Q1015, Q1016, Q1019, Q1020, Q1021
	07 계통	고려인삼	조	0703, 0713, 0715, 0716, 0718, 0719, 0720, 0724, 0727, 0729, 0753, 0755
			중	0701, 0702, 0704, 0706, 0707, 0710, 0721, 0722, 0725, 0728, 0730, 0751, 0752, 0753, 0754,
			만	0714, 0717, 0724, 0726, 0756
	품종유망계통 산지실증시험			0305
				0301, 0304, 금풍, K-1, 연풍
				0302, 0303, 천풍
4	09 계통	계통	조	0902, 0903, 0905, 0907, 0910, 0912, 0913, 0917, 0918, 0923, 0930, 0931, 0932
			중	0901, 0906, 0911, 0914, 0916, 0919, 0920, 0921, 0922, 0926, 0927, 0929
			만	0904, 0908, 0909, 0915, 0924, 0925, 0928,
	북미삼	조	Q0905	
		중	Q0903, Q0904, Q0906, Q0909, Q0913	
		만	Q0901, Q0902, Q0907, Q0908, Q0910, Q0911, Q0912, Q0914	
5	08 계통	계통	조	0802, 0804, 0824, 0836,0 839, 0840, 0844, 0848,
			중	0805, 0807, 0808, 0809, 0810, 0812, 0814, 0815, 0816, 0817, 0820, 0823, 0825, 0826, 0827, 0830, 0831, 0832, 0833, 0834, 0835, 0837, 0842, 0850, 0851, 0852,
			만	0801, 0803, 0806, 0811, 0813, 0818, 0819, 0821, 0822, 0828, 0829, 0838, 0841, 0843, 0845, 0846, 0847, 0849
		북미삼	조	
			중	Q0803, Q0805, Q0806, Q0807, Q0808, Q0810,
			만	Q0801, Q0802, Q0804, Q0809,
	교배종	조		
		중	(북미x천풍)F1, (천풍x북미)F1	
		만		
	품종		조	
			중	뉴천,K-1
			만	

표 9. 4년생 계통의 지상부 생육특성

계통 명	줄기		꽃대 길이	잎자루 길이	잎		큰잎수	작은 잎수	생육정도
	굵기	길이			길이	너비			
0901	6.9	43.0	20.5	8.5	14.0	5.2	4.8	24.3	중
0902	6.6	35.0	15.6	10.0	15.5	6.2	5.2	25.3	하
0903	7.3	40.0	23.0	9.0	16.0	7.5	4.7	23.5	상
0904	7.1	32.0	24.0	10.8	15.0	6.7	4.5	22.6	중
0905	6.2	38.0	16.0	6.8	13.5	4.8	5.3	26.7	하
0906	5.1	34.0	23.0	8.7	15.0	5.7	4.7	24.8	하하
0907	6.6	34.0	25.0	10.7	14.5	7.7	5.0	25.0	상(엽소증)
0908	5.2	30.5	18.0	8.0	13.0	5.0	4.5	24.5	중
0909	8.0	39.0	22.5	10.5	15.0	6.7	5.0	25.0	상상
0910	6.3	40.0	17.0	11.8	13.5	6.5	5.1	24.3	중
0911	5.7	34.5	14.5	7.8	12.5	5.6	5.0	25.0	중
0912	7.3	39.0	20.0	9.5	15.5	7.3	4.5	22.3	상
0913	9.1	45.0	22.0	10.8	16.5	7.0	5.0	24.5	상상
0914	7.0	39.5	21.5	11.3	16.0	6.3	4.7	24.5	상(엽소증)
0915	9.4	42.0	22.5	10.5	14.5	5.5	5.0	25.0	상
0916	8.1	34.5	22.0	9.0	15.0	6.5	4.0	23.0	상
0917	6.2	37.5	37.5	9.8	14.2	6.5	5.5	27.0	상
0918	7.4	44.0	24.0	10.3	15.5	7.0	5.1	25.6	상상
0919	8.0	38.0	20.0	8.7	14.0	5.6	5.6	28.7	상(엽소증)
0920	6.6	40.0	20.0	5.5	15.0	6.0	5.0	24.5	중
0921	7.4	38.0	19.0	6.5	15.5	6.3	5.0	25.0	상상
0922	8.3	46.0	14.0	6.3	14.5	6.2	4.8	24.0	중(엽소증)
0923	8.3	49.5	22.5	11.0	15.3	6.0	5.1	25.5	상상
0924	7.2	45.0	20.0	9.2	17.8	6.7	5.6	27.7	상
0925	8.1	45.0	18.5	9.7	16.2	6.7	4.6	23.4	상(엽소증)
0926	7.6	42.0	20.0	9.2	16.5	6.4	5.7	28.0	상
0927	7.4	44.0	20.5	8.4	16.5	7.2	4.8	24.0	상상
0928	7.0	44.0	20.5	9.4	17.0	6.5	5.5	27.0	상(엽소증)
0929	7.8	42.0	20.0	8.2	13.8	6.1	5.0	26.5	상
0930	7.9	47.0	16.0	10.0	17.2	5.9	4.5	23.6	중(엽소증)
0931	8.6	39.0	20.0	8.7	17.0	6.4	5.5	28.5	상상
0932	6.8	40.0	15.5	8.3	15.8	5.1	5.0	25.0	상

표 10. 북미삼 4년생의 생육특성

계통명	줄기		꽃대 길이	잎자루 길이	잎		큰잎수	작은 잎수	생육정도
	굵기	길이			길이	너비			
Q0901	5.2	32.0	14.0	11.0	12.0	8.0	4.0	20.0	상
Q0902	5.4	35.0	18.0	13.5	15.5	7.7	4.0	20.0	중
Q0903	6.4	28.0	24.0	12.5	16.7	7.6	4.0	19.0	중
Q0904	4.1	28.0	11.0	12.0	11.0	6.0	4.0	20.0	하(엽소증)
Q0905	4.6	27.0	9.0	8.3	10.5	5.8	4.0	20.0	하하
Q0906	4.3	27.0	16.0	12.2	12.3	7.0	4.0	20.0	하
Q0907	5.8	31.0	16.0	11.5	15.5	6.5	4.0	20.0	중
Q0908	6.2	26.0	21.0	16.0	13.5	7.6	4.0	20.0	중(엽소증)
Q0909	5.0	28.0	12.0	12.5	13.0	7.7	4.0	20.0	중
Q0910	5.2	36.0	19.0	13.0	18.5	6.7	4.0	20.0	중(엽소증)
Q0911	6.0	27.0	18.0	10.0	15.0	8.2	4.0	20.0	상
Q0912	4.9	32.0	19.0	13.0	15.0	8.5	4.0	20.0	중
Q0913	5.8	33.5	18.5	12.5	13.0	8.2	4.0	20.0	상
Q0914	5.8	39.0	17.5	9.7	13.3	8.0	4.0	20.0	상

표 11. 3년생 계통의 생육상

구분		생육상	계통
10 계통	고려인삼	상	1001, 1002, 1004, 1006, 1007, 1009, 1010, 1013, 1015, 1018, 1019, 1020, 1021, 1023, 1024, 1029, 1030, 1032, 1033, 1039, 1041, 1042, 1044, 1051
		중	1003, 1008, 1011, 1012, 1014, 1016, 1043, 1049, 1050
		하	1005, 1017, 1045, 1046, 1047, 1048
	북미삼	상	Q1009, Q1010, Q1011, Q1015, Q1016,
		중	Q1003, Q1004, Q1005, Q1012, Q1013, Q1014, Q1017, Q1018, Q1019, Q1020, Q1021
		하	Q1001, Q1002, Q1006, Q1007, Q1008,
07 계통	고려인삼	상	0702, 0706, 0709, 0713, 0718, 0719, 0720, 0726, 0727, 0729, 0751, 0754, 0755
		중	0701, 0703, 0707, 0717, 0722, 0724, 0725, 0728, 0730, 0753, 0756
		하	0704, 0714, 0716, 0721, 0752
품종유망계통 산지실증시험		상	0302, 0304, 0305, K-1, 연풍, 금풍
		중	0301, 0303, 천풍
		하	

표 12. 3년생 계통의 엽소증 특성

구분		생육상	계통
10 계통	고려 인삼	강	1001, 1002, 1004, 1005, 1006, 1007, 1008, 1009, 1010, 1011, 1012, 1013, 1014, 1015, 1017, 1018, 1019, 1020, 1021, 1022, 1023, 1024, 1025, 1026, 1027, 1028, 1029, 1030, 1032, 1033, 1034, 1049, 1050, 1051
		중	1003, 1016, 1031, 1037, 1038, 1039, 1040, 1041, 1042, 1043, 1044, 1045, 1046, 1047, 1048,
		약	1035, 1036
	북미 삼	강	Q1009, Q1010, Q1015, Q1016, Q1017
		중	Q1001, Q1003, Q1004, Q1005, Q1006, Q1007, Q1008, Q1011, Q1013, Q1014, Q1018, Q1019, Q1020
		약	Q1002, Q1012, Q1021
07 계통	고려 인삼	강	0709, 0726, 0729
		중	0702, 0703, 0706, 0713, 0718, 0720, 0722, 0727, 0754, 0755, 0756
		약	0701, 0704, 0707, 0714, 0716, 0717, 0719, 0721, 0724, 0725, 0728, 0730, 0751, 0753, 0754
품종유망계통 산지실증시험		강	K-1, 연풍, 금풍
		중	0301, 0302, 0303, 0304, 0305
		약	천풍



3년생에 공시된 계통의 엽소증에 대한 특성은 2010년 선발계통은 1001외 33계통이 엽소에 다소 강하였고, 1003계통 외 14계통은 중간 정도, 1035과 1036계통은 약한 경향을 보였다. 북미삼의 경우는 Q1009계통 외 4계통이 강하였고, Q1001계통 외 12계통은 중간 정도를 Q1002계통 외 2계통은 약한 경향을 보였다. 2007년 선발계통은 0709계통 외 2계통은 강하였고, 0702계통 외 10계통은 중간 정도 0701계통 외 14계통은 다소 약한 경향을 보였다. 산지실증시험에 공시된 품종 유망 계통의 0301계통 외 4계통은 K-1이나 연풍, 금품에 비해 다소 약한 경향을 보였다. 엽소증은 다소 식재된 밭의 지형이나 환경에 영향을 받을 요소가 많기 때문에 연생이 경과되면서 지속적으로 조사되어야 할 것으로 본다.

표 13. 2년생 계통의 생육상

구분		생육상	계통
11계통	고려인삼	상	1104, 1105, 1106, 1107, 1109, 1110, 1112, 1113, 1114, 1115, 1118, 1119, 1120, 1127, 1135, 1136, 1137, 1138, 1139, 1141, 1142, 1143, 1144, 1147, 1149, 1150, 1157, 1158, 1159, 1160, 1161, 1164,
		중	1101, 1102, 1103, 1108, 1121, 1123, 1128, 1129, 1130, 1131, 1132, 1133, 1145, 1148, 1151, 1152, 1153, 1156, 1162, 1163, 1165,
		하	1111, 1116, 1117, 1122, 1124, 1125, 1126, 1134, 1140, 1146, 1154, 1155,
	북미삼	상	Q1110, Q1117, Q1119
		중	Q1101, Q1102, Q1103, Q1104, Q1106, Q1111, Q1113, Q1114, Q1116, Q1120
		하	Q1105, Q1107, Q1108, Q1109, Q1112, Q1115, Q1118
08계통	고려인삼	상	0804, 0805, 0806, 0809, 0810, 0811, 0812, 0813, 0815, 0816, 0817, 0818, 0819, 0820, 0822, 0823, 0824, 0825, 0826, 0827, 0828, 0829, 0830, 0831, 0832, 0833, 0834, 0835, 0836, 0837, 0839, 0840, 0841, 0842, 0843, 0844, 0845, 0846, 0847, 0848, 0849, 0850, 0851, 0852
		중	0801, 0802, 0803, 0808, 0814, 0821
		하	0807, 0838
	북미삼	상	Q0807, Q0810
		중	Q0802, Q0806, Q0808, Q0809
		하	Q0801, Q0803, Q0804, Q0805
07계통	상	0712, 0719, 0724,	
	중	0702, 0704, 0705, 0714, 0718, 0727	
	하	0716	

2년생 계통의 생육은 2011년 선발계통 중 1104계통 외 31계통의 생육은 양호하였고 1101계통 외 20계통의 생육은 중간정도, 1111계통 외 11계통의 생육은 부진한 경향을 보였고, 북미삼은 Q1110계통 외 2계통의 생육은 양호하였고, Q1105계통 외 9계통의 생육은 중간 정도, Q1105계통 외 6계통의 생육은 부진한 경향을 보였다.

2008년 선발계통은 대부분 양호한 생육을 보였으며, 0807과 0838계통은 다소 부진한 경향을 보였다. 북미삼은 Q0807과 Q0810계통 만이 양호한 생육을 보였다. 2007년 선발계통 중 생산력 검정시험에 공시하지 않은 10계통 중 0712계통 외 2계통은 양호한 생육을 보였고, 0702계통 외 5계통의 생육은 중간 정도의 생육을, 0716계통은 부진한 생육을 보였다.

표 14. 2년생 생산력 검정시험 및 산지실증시험

07계통	상	0701, 0703, 0706, 0707, 0708, 0709, 0710, 0711, 0713, 0715, 0717, 0720, 0721, 0722, 0723, 0726, 0728, 0729, 0731
	중	0725, 0730
	하	
품종유망계통 산지실증시험	상	0301, 0302, 0303, 0304, 0305, K-1, 연풍, 금풍
	중	천풍, 고평, G-1
	하	선풍

2007년 선발되어 생산력검정시험에 공시된 21계통의 생육은 전반적으로 양호한 생육을 보였다. 품종 유망계통인 0301계통 외 4계통 모두 기존 품종인 K-1과 연풍, 금풍과 같은 경향의 양호한 생육을 보였다.

표 15. 1년생 계통의 생육상

구분		생육상	계통
12계통	고려인삼	상	1201, 1203, 1204, 1205, 1208, 1209, 1211, 1212, 1214, 1215, 1216, 1217, 1218, 1222, 1223, 1225, 1226, 1227, 1228, 1231, 1235, 1236, 1238, 1239, 1240, 1246, 1248, 1249, 1250
		중	1206, 1210, 1213, 1220, 1229, 1230, 1233, 1234, 1237, 1242, 1243, 1245, 1247, 1251, 1253,
		하	1202, 1219, 1221, 1224, 1232, 1241, 1252
	북미삼	상	Q1201, Q1209, Q1210, Q1217
		중	Q1202, Q1203, Q1204, Q1206, Q1207, Q1211, Q1213
		하	Q1205, Q1208, Q1214, Q1215, Q1216, Q1218
09계통	고려인삼	상	0901, 0902, 0904, 0905, 0912, 0913, 0914, 0915, 0916, 0917, 0918, 0919, 0920, 0922, 0923
		중	0906, 0907, 0908, 0909, 0910, 0911, 0920(핑), 0926, 0927, 0928, 0929, 0930, 0931, 0932
		하	0903, 0921, 0924, 0924(핑), 0925

08계통	북미삼	상	Q0902, Q0904, Q0905, Q0906, Q0907, Q0908, Q0909, Q0911, Q0912, Q0913, Q0913
		중	Q0901, Q0903, Q0910
		하	Q0906
	고려인삼	상	0811, 0817, 0826, 0839
		중	0805, 0806, 0815, 0816, 0821, 0822, 0823, 0824, 0832, 0833, 0836, 0837, 0842, 0843, 0847, 0850, 0851, 0852
		하	0801, 0802, 0834, 0838, 0841, 0846
북미삼	상	Q0802, Q0804, Q0805, Q0806, Q0807, 0809,	
	중	Q0803	
	하	Q0801	

20012년에 공신된 1년생은 전반적으로 양호한 생육을 보였다. 2012년 선발된 53계통 중 생육이 양호한 계통은 29계통이 양호하였고, 15계통은 중간 정도의 생육을 보였으며, 7계통은 다소 미진한 생육을 보였다. 북미삼 20계통 중 3계통의 생육이 양호하였고, 10계통은 중간 정도, 7계통은 미진한 경향을 보였다. 2009년 선발계통은 0903계통 외 5계통을 제외한 26계통의 생육이 양호하였다. 북미삼은 10계통 중 6계통 정도가 양호한 경향을 보였다. 2008년 선발된 계통 중 생산력 검정시험에 공시하지 않은 계통 중 0811계통 외 3계통의 생육은 양호하였고, 0805계통 외 17계통의 생육은 중간 정도, 0801계통 외 5계통의 생육은 부진하였다.

표 16. 1년생 생산력 검정시험 및 산지실증시험

구분	생육상	계통
08계통	상	0803, 0804, 0810, 0812, 0813, 0814, 0818, 0819, 0825, 0827, 0828, 0829, 0830, 0840, 0844, 0848
	중	0808, 0820, 0835, 0845, 0849
	하	
품종유망계통 산지실증시험	상	0301, 0302, 0303, 0304, 0305, 금풍, 연풍, K-1
	중	선풍, G-1
	하	천풍

2008년 선발되어 생산력 검정시험에 공시된 0803외 21계통 중 0803계통 외 15계통의 생육은 양호하였으며, 0808계통 외 4계통의 생육은 중간 정도의 생육을 보여 전반적으로 양호한 경향을 보였다.

표 17. 품종 유망계통 0304의 특성표(국립종자원의 특성표에 준함)

---

1. 종(種) 및 학명 : 인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)

---

2. 품종명 : 진사(Ginsa)(가칭)

---

3. 식물체의 주요 형태적 특성

- 줄기와 큰잎자루는 진한 자색을 띤.
  - 줄기는 짧은 편임.
  - 작은잎은 약간 오목한 형임.
  - 잎가장자리에 1-2개의 웨이브가 있음.
  - 꽃대는 직립형임.
  - 뿌리의 동체와 지근 발달이 양호함.
  - 사포닌 함량이 높은 편임.
- 

4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성

- 출원품종의 꽃대색은 연한 자색이나 대비품종은 진한 자색을 보임.
  - 출원품종의 잎은 윤기가 없으나 대비품종은 윤기가 있음(4~5월).
  - 출원품종의 잎은 평편하나 대비품종은 처지며 뒤집힌 모양임.
- 

5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함)

- 년차적인 시험재배에서 이형주 발생은 없어 균일성 요건을 충족하였고, 증자 증식을 위한 재배에서도 균일성을 보여 안정성을 갖춘 것으로 판단 됨.
- 

6. 품종구별에 도움이 되는 추가정보

6.1 병과 충에 대한 저항성

- 6년생까지 생존율은 재래혼계종에 비해 높은 것으로 조사 되어 병에 대한 내성은 있는 것으로 판단되나 구체적으로 어느 특정 병에 대한 병검정은 실시하지 않았음.

6.2 생리장애저항성

- 1차 농가실증시험 4년생인 2010년도 8월에 2주정도 매우 높은 고온기와 2차 농가실증시험 3년생인 2013년도 8월 2주 정도의 고온기에도 비교적 양호한 생육을 유지함.

6.3 기타정보

---

표 18. 품종 유망계통 0305의 특성표((국립종자원의 특성표에 준함)

---

1. 종(種) 및 학명 : 인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)

---

2. 품종명 : 사apon(Sapon)(가칭)

---

3. 식물체의 주요 형태적 특성

- 줄기는 연한 자색을 띠며, 짧은 편임
  - 큰잎분지 잎자루는 진한자색을 띰.
  - 작은잎은 약간 오목한 형임.
  - 엽치는 가늘고 정갈한 모양임.
  - 꽃대는 직립형임.
  - 뿌리의 동체와 지근 발달이 양호함.
  - 사포닌함량이 높은 편임
- 

4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성

- 출원품종의 꽃대 색은 연한자색이나 대비품종은 진한 자색임
  - 출원품종의 줄기의 색은 연한 자색이나 대비품종은 진한 자색임.
  - 출원품종의 잎은 윤기가 없으나 대비품종은 윤기가 있음(4~5월).
  - 출원품종의 잎은 평편하나 대비품종은 처지며 뒤집힌 모양임.
- 

5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함)

- 년차적인 시험재배에서 이형주 발생은 없어 균일성 요건을 충족하였고, 종자 증식을 위한 재배에서도 균일성을 보여 안정성을 갖춘 것으로 판단 됨.
- 

6. 품종구별에 도움이 되는 추가정보

6.1 병과 충에 대한 저항성

- 6년생까지 생존율은 재래혼계종에 비해 높은 것으로 조사 되어 병에 대한 내성은 있는 것으로 판단되나 구체적으로 어느 특정 병에 대한 병검정은 실시하지 않았음.

6.2 생리장해저항성

- 1차 농가실증시험 4년생인 2010년도 8월에 2주정도 매우 높은 고온기와 2차 농가실증시험 3년생인 2013년도 8월 2주 정도의 고온기에도 비교적 양호한 생육을 유지함.

6.3 기타정보

---

위 표 17, 18의 0304와 0305계통은 올해 품종등록예정이다.

표 19. 5년생 품종유망 계통의 부위별 ginsenosides 함량(위탁)

계통	Rg1	Re	Rf	Rb1	Rc	Rb2	Rd	F2	Rg3	Rh2	CK	PPT	PPD	Total (mg/g)	
동체	0301	1.30	1.27	0.31	2.13	0.38	0.26	0.19						5.84	
	0302	0.85	0.91	0.13	1.70	0.30	0.21	0.13						4.23	
	0303	0.86	0.82	0.11	1.38	0.24	0.18	0.10	0.01	0.03	-	-	0.01	0.02	3.76
	0304	2.93	3.51	1.05	5.33	1.28	1.22	0.30	0.02	0.13	-	-	0.05	0.09	15.91
	0305	2.96	4.04	0.76	6.82	1.24	1.28	0.48	0.09	0.15	-	-	0.16	0.10	18.08
	천풍	2.50	2.14	0.64	3.33	0.70	0.47	0.56	0.03	0.05	-	-	0.03	0.06	10.51
	연풍	1.24	1.00	0.27	2.38	0.46	0.50	0.10	0.01	0.02	-	-	0.02	0.02	6.02
지근	0301	2.26	6.90	1.00	9.64	2.19	1.21	1.51						24.71	
	0302	2.11	5.61	0.81	9.86	2.81	1.57	1.39						24.16	
	0303	1.49	4.19	0.59	6.44	1.93	1.29	0.72	0.07	0.09	-	-	0.13	0.18	17.12
	0304	2.61	8.57	1.48	15.30	5.34	4.70	1.65	0.10	0.17	-	-	0.11	0.20	40.23
	0305	2.29	11.26	1.40	18.99	6.87	5.99	2.22	0.05	0.21	-	-	0.18	0.21	49.67
	천풍	3.54	9.01	1.35	13.17	4.00	2.29	1.93	0.11	0.22	-	-	0.08	0.11	35.81
	연풍	2.64	7.72	1.22	14.44	6.50	6.68	1.69	0.09	0.25	-	-	0.11	0.13	41.47

0304와 0305계통은 동체에서 진세노사이드 함량이 다른 계통이나 품종에 비해 매우 높은 함량을 보였고 지근에서는 함량이 비교적 높은 연풍보다 많은 함량을 보였다. 고사포닌 품종으로 가능성이 매우 높은 계통이라 할 수 있다.

표 20. 품종 유망계통의 산성다당체 함량(위탁)

계통	동체	지근
0301	0.15±0.081	0.13±0.034
0302	0.13±0.069	0.18±0.056
0303	0.14±0.064	0.17±0.021
0304	0.17±0.008	0.16±0.028
0305	0.14±0.048	0.14±0.043

0304계통이 동체에서 0320계통이 지근에서 높은 함량을 보였다. 앞으로 사포닌과 함께 다른 포장에서 생산되는 재료로 재현성을 확인해 보아야 할 필요가 있다고 본다.

표 21. 5년생 계통의 동체부위 ginsenosides 함량(위탁)

계통	Rg1	Re	Rf	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Total (mg/g)
0701	2.00	1.39	0.36	3.08	0.71	0.67	0.22	8.45
0702	0.97	1.17	0.17	1.39	0.23	0.25	0.14	4.32
0703	1.24	1.12	0.22	2.32	0.57	0.61	0.15	6.22
0704	1.21	0.98	0.25	1.70	0.40	0.43	0.21	5.18
0705	0.85	0.59	0.12	1.04	0.31	0.50	0.10	3.51
0706	1.21	1.07	0.20	1.98	0.58	0.72	0.15	5.91
0707	1.40	1.07	0.24	2.38	0.68	0.72	0.19	6.66
0708	1.81	1.90	0.38	2.78	0.80	0.53	0.23	8.44
0709	2.36	1.10	0.57	2.88	0.74	0.75	0.16	8.55
0710	1.21	1.32	0.27	2.16	0.73	0.72	0.12	6.53
0711	1.31	1.05	0.21	1.81	0.41	0.30	0.14	5.24
0712	1.64	1.36	0.30	2.05	0.48	0.32	0.15	6.30
0713	1.18	1.09	0.25	1.77	0.37	0.22	0.11	4.99
0714	1.00	1.02	0.23	1.90	0.41	0.39	0.16	5.11
0715	2.10	1.35	0.44	3.03	0.65	0.76	0.22	8.55
0716	0.80	0.90	0.14	1.44	0.39	0.51	0.15	4.34
0717	0.95	1.93	0.24	2.52	0.67	0.81	0.17	7.30
0718	2.48	2.83	0.74	3.92	0.80	0.77	0.47	12.01
0719	0.88	1.63	0.16	2.42	0.29	0.31	0.26	5.94
0720	1.32	2.12	0.33	3.11	1.09	1.41	0.30	9.68
0721	1.42	1.11	0.28	2.56	0.55	0.66	0.14	6.72
0722	3.73	2.81	1.11	5.52	1.22	1.27	0.48	16.13
0723	1.20	1.27	0.26	2.19	0.50	0.63	0.14	6.21
0724	2.37	1.64	0.50	4.29	0.89	0.90	0.21	10.80
0725	1.29	1.42	0.27	2.48	0.67	0.72	0.21	7.06
0726	1.97	2.15	0.46	3.52	0.87	0.96	0.30	10.24
0727	2.80	1.03	0.79	2.98	0.95	1.06	0.15	9.76
0728	1.63	1.82	0.34	3.38	0.80	0.89	0.28	9.13
0730	0.88	1.18	0.11	1.80	0.32	0.60	0.18	5.08
0731	2.66	2.27	0.53	3.63	0.83	0.92	0.23	11.07

2007년에 선발한 31계통에 대한 진세노사이드를 분석한 결과 동체부위에서 0722와 같은 계통은 16.13mg/g으로 매우 높은 함량은 보였고, 0718, 0724, 0726, 0731과 같은 계통도 10mg/g이상의 함량을 보여 고사포닌 계통으로 매우 유망한 계통이라 할 수 있다.

표 22. 5년생 계통의 지근부위 ginsenosides 함량(위탁)

계통	Rg1	Re	Rf	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Total (mg/g)
0701	2.97	6.09	1.00	10.07	3.67	2.23	1.68	27.72
0702	2.00	6.20	0.80	8.07	1.86	1.02	0.89	20.84
0703	2.24	6.35	0.92	9.42	3.82	2.45	1.53	26.72
0704	3.55	7.44	1.48	11.30	3.38	2.11	2.02	31.28
0705	1.95	3.71	0.71	7.03	3.69	4.12	1.10	22.30
0706	2.22	5.16	0.79	8.24	4.00	4.08	1.22	25.72
0707	1.99	7.15	0.85	11.82	4.92	3.09	1.98	31.80
0708	2.15	6.53	0.74	9.61	3.64	2.41	1.06	26.14
0709	5.97	6.49	2.15	17.58	7.50	6.91	2.01	48.62
0710	3.04	7.28	1.33	12.57	6.19	5.45	1.35	37.20
0711	3.22	7.59	1.29	10.99	3.99	2.08	2.04	31.20
0712	2.11	4.66	0.74	6.80	2.14	1.33	0.73	18.52
0713	1.82	4.60	0.69	8.24	2.16	1.25	0.88	19.64
0714	1.95	6.13	0.81	9.49	2.82	1.71	1.28	24.18
0715	2.69	5.64	0.98	9.85	3.65	3.35	1.05	27.22
0716	2.19	6.84	1.06	12.56	5.40	5.53	0.89	34.48
0717	1.74	9.99	0.95	14.55	6.37	5.39	1.60	40.60
0718	2.15	5.33	0.84	9.74	2.86	2.57	1.11	24.62
0719	2.44	7.77	1.08	11.42	2.44	1.52	1.82	28.50
0720	2.67	7.43	1.05	11.96	6.41	6.67	1.42	37.60
0721	2.43	6.88	1.11	13.05	4.44	3.98	1.25	33.15
0722	2.97	10.68	1.87	17.23	6.53	5.61	1.96	46.84
0723	1.97	7.99	1.03	12.78	5.30	5.17	1.27	35.51
0724	2.84	8.33	1.11	18.23	6.11	5.62	1.29	43.54
0725	2.32	8.38	1.04	14.22	5.48	4.26	1.81	37.50
0726	2.37	7.59	0.98	12.20	4.67	4.15	1.48	33.44
0727	8.29	6.34	3.58	24.83	10.36	11.41	2.60	67.41
0728	2.29	6.59	0.82	11.51	4.01	3.41	1.73	30.37
0730	1.33	4.54	0.57	7.35	2.49	2.94	1.14	20.37
0731	2.54	6.96	1.14	11.62	4.69	4.33	1.50	32.78



지근에서도 높은 사포닌 함량을 보인 계통은 0727과 같은 계통은 67.41mg/g으로 매우 높았으며, 0704, 0707, 0709, 0710, 07011, 0716, 0717, 0720, 0721, 0722, 0723, 0724, 0725, 0726, 0727, 0731과 같은 계통은 30mg/g 이상의 비교적 높은 함량을 보였다. 특히 0724, 0726, 0731와 같은 계통은 동체와 지근에서 높은 사포닌 함량을 보였다.

표 23. 2013년 신규 고려인삼(*Panax ginseng*) 선발 유전자원 특성

수집지: 경기 연천 연천읍 이증석씨 포장

1301	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 24
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 녹	엽병색 : 연자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 평편하게 펼쳐지고 소엽에 턱엽이 있음		
1302	줄기수 : 1	큰잎수 : 4	작은잎수 : 21
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 연자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 :	
	전체특성 : 소엽병과 엽병이 진한자색으로 긴편이며 세력이 좋음		
1303	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 26
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 연자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽맥골이 깊고 뒤로젖혀지는 형 2측엽이 총생형으로 작고 가위 모양		
1304	줄기수 : 2	큰잎수 : 5	작은잎수 : 27
	엽매송이모양 : 2단 원형	줄기색 : 녹	엽병색 : 분지만 연자
	잎색 : 연녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 좁고 길며 엽맥골이 깊음		
1305	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 23
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 자	엽병색 : 자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 제2측엽이 원형이며 작음		
1306	줄기수 : 2	큰잎수 : 6	작은잎수 : 30
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 연자	엽병색 : 연자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 큰잎 엽병이 짧고 엽이 45도 방향으로 올라와 처진 유선형		
1307	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 연자	엽병색 : 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 열매가 크고 엽은 좁고 길고 제2측엽은 작음		
1308	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 진자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 작고 평편하며 5엽이 분명		
1309	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 23

	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 녹	엽병색 : 연자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 소엽분지부위가 좁게 뒤로 젖혀지고 긴유선형 쪽엽이 몇 개 발생		
1310	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 연자	엽병색 : 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 열매송이가 매우크며 엽맥골이 깊고 세력이 왕성		
1311	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 23
	엽매송이모양 : 원형	줄기색 : 연자	엽병색 : 자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 작은 유선형 뒤로 젖혀짐		
1312	줄기수 : 1	큰잎수 : 6	작은잎수 : 30
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 연자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 세력왕성 잎이 안으로 오므라들고 화경이 짧고 꼬임		
1313	줄기수 : 1	큰잎수 : 4	작은잎수 : 22
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽맥골이 깊고 엽면에 주름이 많음		
1314	줄기수 : 1	큰잎수 : 6	작은잎수 : 30
	엽매송이모양 : 2단 반원	줄기색 : 자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 뒤집어짐		
1315	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 연자	엽병색 : 연자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 소엽이 작고 평편하며 5소엽이 분명		
1316	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 원형	줄기색 : 녹	엽병색 : 연자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽병은 짧고 엽치 거칠고 쪽엽이 있음		
1317	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 원형	줄기색 : 자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 세력 왕성하며 5소엽이 분명하고 광엽형		
1318	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 진자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 죽고 긴유선형 엽이 오므라들고 뒤틀림		
1319	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25

	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 연자	엽병색 : 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 소엽형으로 잎이 안으로 오므라들음		
1320	줄기수 : 1	큰잎수 : 6	작은잎수 : 28
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 녹	엽병색 : 자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
전체특성 : 엽장이 짧고 옆쪽은 길어 광엽형으로 엽맥골이 깊음			
1321	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 원형	줄기색 : 자	엽병색 : 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
전체특성 : 매우 작은 줄기와 엽을 갖추고 5소엽이 분명			
1322	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 진자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
전체특성 : 엽이 매우 좁고 길며 안으로 오므라들고 웨이브가 많음			
1323	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 녹	엽병색 : 연자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
전체특성 : 광엽형으로 꽃송이는 크고 꽃개는 짧으며 5소엽 분명			
1324	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 역삼각	줄기색 : 자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
전체특성 : 엽각이 크고 잎이 거칠고 웨이브가 많음			
1325	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 23
	엽매송이모양 : 역삼각	줄기색 : 자	엽병색 : 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
전체특성 : 2측엽이 가위모양 잎이 각 장엽에 달렸음			
1326	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 자	엽병색 : 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
전체특성 : 열매가 적고 굵으며 1측엽이 둥근형			
1327	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 역삼각	줄기색 : 자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
전체특성 : 중앙소엽과 1측엽이 동일한 크기이며 평평하게 쪽퍼짐			
1328	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 연자	엽병색 : 연자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
전체특성 : 5장엽이 평편하게 퍼지며 5소엽이 분			
1329	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 기부만 자	엽병색 : 분지만 자

	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 후주부위에 있어도 직립 잎은 쭈글거리며 뒤로 뒤집어짐		
1330	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 28
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 연자	엽병색 : 연자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽각도가 크게 벌어지고 3장엽에 쪽잎이 있음		
1331	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 연자	엽병색 : 진자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 안으로 오므라들고 토끼귀처럼 쭈긋함		
1332	줄기수 : 1	큰잎수 : 6	작은잎수 : 30
	엽매송이모양 : 역삼	줄기색 : 녹	엽병색 : 연자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎자루가 짧고 각도가 좁고 2측엽이 1측엽에 비해 매우 작음		
1333	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 역삼	줄기색 : 연자	엽병색 : 자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 꽃대는 꼬이고 잎 전체가 쭈글쭈글함		
1334	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 역삼각	줄기색 : 자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 꽃대가 매우 짧고 엽은 쪽 퍼지고 거치는 굵음		
1335	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 연자	엽병색 : 진자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽각도가 45도로 펼쳐지고 5소엽 분명		
1336	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 역삼각	줄기색 : 진자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 꽃대와 잎자루가 길고 5장엽 5소엽이 분명		
1337	줄기수 : 1	큰잎수 : 6	작은잎수 : 30
	엽매송이모양 : 역삼각	줄기색 : 연자	엽병색 : 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 열매가 굵고 줄기에 비해 잎자루가 짧고 광엽형		
1338	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 자	엽병색 : 진자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 광엽형이며 3장엽에는 가위모양 잎이 있고 엽맥골이 깊음		
1339	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 2단 반원	줄기색 : 자	엽병색 : 진자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	

	전체특성 : 소엽형으로 꽃송이 모양이 특징		
1340	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 역삼각	줄기색 : 연자	엽병색 : 연자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽각도가 크며 광엽형으로 2장엽에 가위모양 잎이 있음		
1341	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 원형	줄기색 : 자	엽병색 : 진자
	잎색 : 진녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 뒤로 뒤짚어지는 형이며 꽃대가 길어 처짐		
1342	줄기수 : 1	큰잎수 : 4	작은잎수 : 20
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 녹	엽병색 : 분지만 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 줄기에 비해 잎자루는 짧고 잎은 작고 3장엽에 가위모양 잎이 있음		
1343	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 녹	엽병색 : 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 열매송이가 크고 잎자루는 짧고 광엽형이며 5소엽 분명		
1344	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 원	줄기색 : 진자	엽병색 : 진자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽각도가 크고 잎자루가 길며 2측엽 발달이 불량함		
1345	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 역삼각	줄기색 : 녹	엽병색 : 연자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 긴유선형으로 안으로 오프라들고 엽거치가 거칠음		
1346	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 진자	엽병색 : 진자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 평편하게 펴지고 5장엽과 5소엽이 분명		
1347	줄기수 : 3	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 반원	줄기색 : 녹	엽병색 : 분지만 자
	잎색 : 연녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 작고 길며 뒤로 저쳐지고 약해 보임		
1348	줄기수 : 2	큰잎수 : 5	작은잎수 : 25
	엽매송이모양 : 역삼각	줄기색 : 녹	엽병색 : 분지만 자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 작으며 장방형이고 5소엽 분명		
1349	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 21
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 연자	엽병색 : 연자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 5장엽이 모두 4소엽으로 2측엽이 한 장이 없음		

1350	줄기수 : 1	큰잎수 : 5	작은잎수 : 23
	엽매송이모양 : 부채	줄기색 : 진자	엽병색 : 진자
	잎색 : 녹	열매색 : 적	
	전체특성 : 잎이 좁고 길며 오므라들며 웨이브가 많고 2측엽에 가위모양잎 있음		

표 24. 2013년 신규 북미삼(*Panax quinquefolius*) 선발 유전자원 특성

수집지: 1~11번 전북 고창 무장 고라리 이은구씨 포장  
 12~31번 9840 W. ST. RD45 Bloomington IN, USA 염정만씨 포장  
 31~43번 전북 김제 백구 배준식씨 포장

Q1301	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 열매는 조숙형으로 고려인삼과 숙기가 비슷함
Q1302	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 잎이 작은 편으로 열매 숙기는 빠름
Q1303	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 단간형으로 꽃대가 매우 짧음
Q1304	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 18
	전체특성 : 세엽형으로 열매색은 등황숙
Q1305	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 잎은 장방형으로 5소엽 분명
Q1306	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 16
	전체특성 : 잎이 얇고 평평하며 2측엽이 고갈 모양 잎 2장
Q1307	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 12
	전체특성 : 잎이 얇고 2단형 꽃대
Q1308	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 잎이 매우 작아 고려인삼과 비슷함
Q1309	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 2측엽에 쪽잎이 붙어 있음
Q1310	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 14
	전체특성 : 중앙 및 1측엽은 광엽형인데 비해 2측엽은 부실한 모양
Q1311	큰잎수 : 4

	작은잎수 : 20
	전체특성 : 잎거치가 굵으며 고려인삼 모양임
Q1312	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 줄기는 단간형이며 잎자루는 김
Q1313	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 엽이 얇으며 고려인삼과 비슷한 모양
Q1314	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 잎이 작고 안으로 오므라드는 형
Q1315	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 전형적인 미국삼 모양인 꽃대가 짧은 특성
Q1316	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 잎거치가 굵고 잎이 장방형
Q1317	큰잎수 : 2
	작은잎수 : 8
	전체특성 : 특이하게 꽃대가 붉은 색이며 잎이 거칠어 보임
Q1318	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 18
	전체특성 : 잎이 작고 잎 발달이 분명
Q1319	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 잎이 작고 뒤틀리는 형
Q1320	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 2줄기이며 소엽형
Q1321	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 소엽병이 길고 꽃대는 매우 짧고 소엽형
Q1322	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 꽃대와 잎자루가 매우 길고 엽거치가 굵음
Q1323	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 꽃대와 잎자루가 길며 2줄기 임
Q1324	큰잎수 : 3

	작은잎수 : 15
	전체특성 : 잎이 작고 둥근 장방형이고 잎거치가 굵음
Q1325	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 잎이 작고 좁고 길며 5소엽 분명
Q1326	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 잎이 고려인삼과 비슷한 모양
Q1327	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 꽃대가 길고 처지지 않고 직립으로 섬
Q1328	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 잎이 얇고 고려인삼 모양
Q1329	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 잎이 길고 진녹색이며 1장엽에 고깔 모양잎 달림
Q1330	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 12
	전체특성 : 줄기가 2단형으로 기형적이며 틀어지고 오글거리는 모양
Q1331	큰잎수 : 3
	작은잎수 : 15
	전체특성 : 웨이브가 많으며 5소엽 분명
Q1332	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 열매와 열매송이가 매우크고 생육이 왕성
Q1333	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 19
	전체특성 : 꽃대길이가 길고 직립이며 열매송이가 큼
Q1334	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 열매송이가 크고 도복형이며 생육이 왕성
Q1335	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 엽이 매우 크고 열매 송이가 2단형
Q1336	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 세력은 왕성하나 엽소증이 있음
Q1337	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 18
	전체특성 : 열매송이도 크고 세력이 왕성하나 염류장해 현상이 있음



Q1338	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 2측엽이 고깔 모양을 갖고 있음
Q1339	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 잎이 장방형으로 광엽이며 열매가 매우 큼
Q1340	큰잎수 : 4
	작은잎수 : 20
	전체특성 : 2줄기로 잎이 작고 많은 다소엽형

다. K-1과 G-1의 지역 및 품종별 특성조사

표 25. K-1과 G-1의 연도별 출아, 개화 및 임성 특성

품종 및 연생		K-1					G-1				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
발아 및 출아기	2013	-	4.25~	4.25~	4.25~	-	-	-	4.25~	-	-
	2014	4.10~	4.14~	4.14~	4.14~	4.14~	4.10~	4.14~	4.14~	4.12~	-
	2015	4.12~	4.7~	4.12~	4.12~	4.14~	4.12~	4.7~	4.12~	4.12~	-
개화기	2013	-	-	5.24~	5.23~	-	-	-	5.24~	5.23~	-
	2014	-	-	5.10~	5.10~	5.7~	-	-	5.10~	5.10~	-
	2015	-	-	5.10~	.10~	-	-	-	5.10~	5.10~	-
임실율 (%)	2013	-	-	84.5	87.4	적예	-	-	85.7	-	-
	2014	-	-	83.0	86.5	적예	-	-	80.4	83.7	-
	2015	-	-	80.0	82.4	80.4	-	-	81.3	84.5	-
식재 지역	2013	고창	고창	고창	김제	-	-	고창	고창	-	-
	2014	김제	고창	고창	고창	김제	김제	고창	고창	고창	김제
	2015	고창	김제	고창	고창	고창	고창	김제	고창	고창	고창

- 발아 및 출아기는 지상부로 식재 개체의 10% 정도가 보일 때를 기준으로 함.

- 개화기는 꽃송이의 맨 가장자리 소화가 핀 때를 기준 함.

- 임실율은 꽃송이 전체에서 불임열매를 제외한 열매비율 임.

같은 지역에서는 K-1과 G-1의 두 품종 모두 연생간의 발아, 출아 및 개화기에서 차이는 없었다. 발아기는 출아와는 다르지만 매년 김제지역이 빠름을 보였는데 2014년은 발아가 출아보다 4일 정도 빨음을 보였다. 전체적으로는 두 품종 모두 2014년과 올해 출아기나

개화기가 2013년보다는 10일 정도의 빠른 경향을 보였다. 그러나 연생간 품종간에는 차이가 없었다. 임성율은 두 품종 무도 80% 이상으로 정상적인 임실이 되었다. 발아나 출아의 빠르기는 기온과 토양수분에 따라 영향을 직접적으로 받는데 토양수분보다는 기온이 더 영향이 큰 것으로 본다. 겨울동안 일복을 견어 놓은 상태임으로 눈과 비로 양호한 토양수분 조건이 유지된다고 보나 기온은 그러한 것과 관계없이 기후변화의 일환으로 점점 조기 고온화 현상이라고 볼 수 있다. 이러한 현상은 개화기도 2013년에 비해 2014년과 올해는 2주 정도 빨라지는 경향을 보였다. 전반적으로 보면 인삼의 생육기간은 빨라지고 길어지는 현상이라 할 수 있다. 그러나 인삼생육에 가장 치명적이라 할 수 있는 여름 고온기도 길어지는 경향이 있으므로 이 고온기에 견디는 환경을 조성하거나 품종을 육성되어야 할 것으로 본다.

표 26. K-1과 G-1의 개갑특성

품종	채종년생	개갑율(%)		기계손상율(%)	
		무처리	GA 50ppm	2012	2013
K-1	3	85.5±5.23	95.5±4.15	6.2	1.5
	4	86.3±4.57	94.4±3.34	5.7	2.3
G-1	3	84.2±3.52	93.4±5.64	6.6	2.5
	4	85.6±4.12	94.8±3.71	5.8	1.6

K-1과 G-1의 두 품종의 개갑을 무처리와 GA50ppm을 처리하였던 바 두 품종 모두 연생에 관계없이 8~10% 정도의 개갑율이 증가하였다. 이러한 증가는 차년도의 발아와 비교하여야 할 것으로 본다. 여기에서는 육안 감별로 하였기에 실제 육안으로는 감별이 안되는 아주 미세한 개갑이 있을 것으로도 보며 이러한 증가는 발아하는데는 지장이 없는 것으로 판단되 때문이다.

표 27. K-1과 G-1의 산지 적응력시험 발아율 및 생육상

품종	연생	지역	발아율(%)	생육상	비고
K-1	묘	김제	85.0	상	직파
		포천	95.5	상	묘포
		고창	83.3	상	직파
G-1	묘	김제	83.5	상	직파
		포천	91.2	상	묘포
		고창	84.5	상	직파

K-1과 G-1의 두 품종은 발아율에서 7~10%정도의 차이를 보였다. 이 차이는 직파포장과 묘포 포장 간의 차이라 본다. 비교적 발아환경이 좋은 묘상과 본밭에 직파한 환경적인 차이라 본다. 표 2에서 보는 바와 같이 개갑율이 높은 종자를 파종하였을 시는 파종상 환경에 다소 떨어진다 해도 발아의 가능성은 있으나 환경이 떨어질 경우는 미개갑 종자는 휴면상태로 될 가능성이 높을 것으로 본다(2000년 한국인삼연초연구원 보고서).

표 28. 5년생 K-1의 생육특성(김제)

품종	줄기			꽃대 길이	큰엽병	엽		장엽수	소엽수
	굵기	길이	소엽병 길이			길이	폭		
	mm		cm						
K-1	8.4	38.3	23.5	14.0	4.8	15.3	6.2	5.2	27.0
금풍 (대조)	8.7	46.0	21.5	12.8	3.5	18.5	7.1	5.3	28.5

김제에 식부된 5년생 K-1의 지상부 생육에서 대조 품종인 금풍 줄기와 굵기는 비슷한 경향을 보였으나 길이에서는 금풍이 8cm정도 길었다. 이것은 품종간의 고유 특성 때문인 것으로 보며 기타 지상부의 특성에서도 같은 경향을 보였다.

표 29. 4년생 K-1과 G-1의 생육특성(고창)

품종	줄기			꽃대 길이	엽병	엽		장엽수	소엽수
	굵기	길이	소엽병 길이			길이	폭		
	mm		cm						
K-1						13.3	5.8	5.2	27.6
G-1	7.8	37.6	24.5	9.8	3.2	14.5	5.5	5.6	26.5
금풍 (대조)	7.7	40.0	20.5	11.8	3.4	16.5	6.2	5.3	27.5

고창에 식부된 K-1과 G-1의 지상부 생육에서 대조품종 금풍과 비교해서 줄기의 굵기는 비슷한 경향을 보였으나 길이에서는 금풍이 K-1보다는 5cm정도, G-1보다는 2cm정도 길었다. 이것은 품종간의 고유 특성 때문인 것으로 보며 기타 지상부의 특성에서도 같은 경향을 보였다.

표 30. 1년생 K-1과 G-1의 생육특성(고창)

품종	줄기		엽병	엽		소엽수
	굵기	길이		길이	폭	
	mm		cm			
K-1	1.3	3.1	3.7	3.7	1.8	3.0
G-1	1.2	3.7	3.5	3.8	2.0	3.0
금풍(대비)	1.3	3.5	3.7	3.9	1.8	3.0

고창에 식부된 1년생 묘삼에서는 지상부 형질 간에 아무런 차이가 없었다. 단지 K-1과 G-1은 자경계에서 나온 품종이기에 줄기나 엽병이 자색을 나타내고 금풍은 황숙계에서 나온 품종이기에 자색을 띄는 안토시아닌이 없다는 차이 밖에는 없었다.

표 31. 5년근 K-1의 수량 및 지하부 특성(김제)

품종	수량 (kg/칸)	생존율 (%)	체형			
			사람형	무형	오징어형	난발형
K-1	2.8±0.34	85.2	10.3	68.5	15.7	5.5
금풍(대비)	2.6±0.25	81.4	13.5	70.6	12.3	3.6

김제에 식부하여 채굴한 5년생의 수량 및 뿌리 모양을 구분하였다. 칸당 수량은 K-1이 대비 품종 금풍에 비해 0.2kg 높았으나 통계적인 유의성은 없었다. 생존율도 K-1이 금풍보다는 높은 경향을 보였다. 체형에서는 이식재배한 포장과는 다른 양상을 보이지만 직과 재배한 포장에서도 체형에서 차이를 보였다. 그러나 품종간에 체형의 차이는 큰 차이를 보이지는 않았다. 홍삼으로 제조하였을 시 배리홍삼으로 가치가 있는 천삼과 지삼으로 가능성이 높은 사람형과 무형의 수삼비율은 K-1과 금풍 모두 비교적 높은 편으로 78.8%와 84.1%를 보여 대비구가 높은 경향을 보였다. 그러나 다음 표에서 보는 무게 분포를 보면 경제성 가치는 반대 현상을 보일 것으로 판단된다.

K-1과 대비품종인 금풍의 근중 분포도를 60g을 기준으로 그 이상의 무게 분포를 보면 K-1은 45%, 금풍은 30%를 나타냈다. 수삼으로의 가치나 이를 홍삼으로 제조한 후의 가치는 상당한 차이가 있을 것으로 판단된다. 앞으로 이식재배와 6년근을 재배한 후 좀더 정확한 평가가 있어야 할 것으로 본다. 단지 이 연구에서는 품종으로의 가치로 수량성과 재배적인 경제성 측면에 연구목적이기에 앞으로 홍삼제조 및 평가에 대한 연구가 수반 되어야 할 것으로 본다.

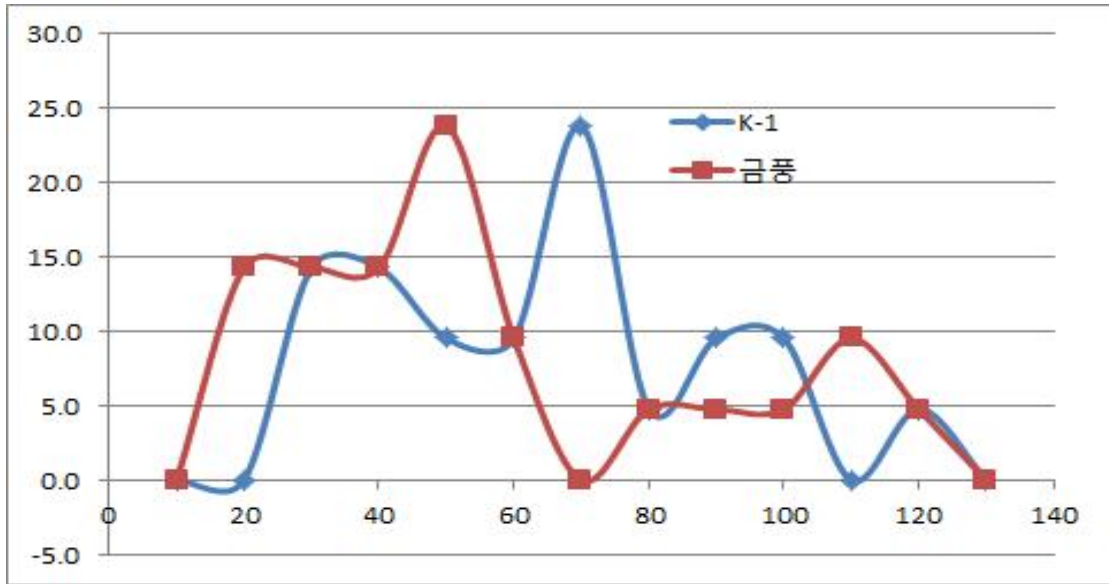


그림 1. K-1과 금풍의 근중 분포도

표 32. K-1, 금풍 및 뉴천의 진세노사이드 함량(mg/g)(위탁)

품종	Rg1	Re	Rf	Rg2	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Total	
K-1	동체	3.19	1.08	1.04	0.31	2.95	4.22	0.99	3.41	17.21
	지근	5.20	5.91	1.90	0.55	9.29	10.97	2.73	1.67	68.21
뉴천	동체	4.38	4.07	1.85	0.41	4.54	3.51	1.10	1.43	21.27
	지근	3.99	23.19	2.94	1.87	17.31	20.66	3.39	2.08	75.43
금풍	동체	1.93	3.29	1.13	0.50	2.87	2.65	0.93	1.41	14.71
	지근	3.47	18.97	2.74	1.68	14.41	16.58	3.07	1.89	62.81

K-1, 금풍 및 뉴천의 진세노사이드를 분석하 결과 부위별 진세노사이드 전체 함량은 동체에서는 뉴천, K-1, 금풍 순으로 g당 각각 21.27 mg, 17.21mg, 14.71mg을 보였고, 지근에서는 뉴천, K-1, 금풍 순으로 각각의 함량은 75.45mg, 68.21mg, 62.81mg을 나타냈다. 이 수치는 품종간의 절대함량이라기 보다는 상대적 함량으로 품종간의 경향으로 본다.

라. 품종 유망계통 및 보유계통의 특성 검정

표 33. 연생, 연도 및 지역별 발아 및 출아, 개화기 특성

연생	발아 및 출아기		개화기		지역	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
1	4. 20~	4.7~	-	-	고창	김제
2	4. 20~	4.10~	-	-	고창	고창
3	4. 25~	4.10~	5. 24~	5.10~	고창	고창
4	4. 25~	4.10~	5. 24~	5.10~	김제	고창
5	4. 25~	4.5~	5. 24~	5.7~	고창	김제
6	4. 25~	4.10~	5. 24~	5.10~	고창	고창

지역적으로 연생간에는 큰 차이는 없으나 2013년 작년보다 올해는 13일에서 15일 정도 빠른 발아 및 출아를 보였고 특히 김제와 같은 경우는 20일 정도 빨랐다. 이에 따라 개화기도 빨랐다. 지역 위도상으로 보면 고창보다는 김제가 위쪽임에도 불구하고 발아, 출아 및 개화가 빠른 것은 내륙보다는 해안인접지역의 온도가 더디게 올라가는 데 원인이 있는 것으로 본다.

고창에 식부된 3년생 계통을 선발연도별로 구분하여 출아기 비교에서 식부된 계통이 10%정도 출아된 시점을 기준하여 5일정도 간격으로 조사하였다. 08계통은 0802외 16계통이 조기 출아를 하였고 0801외 24계통은 중간정도의 출아를 하였고 0803외 9계통은 출아가 늦은 경향을 보였다. 북미삼 09계통은 고려인삼보다는 출아가 전반 적으로 늦었는데 Q0803외 4계통은 중간 정도 Q0801외 4계통은 늦은 출아를 보였다. 07계통은 0703외 9계통은 조기출아를 0701외 13계통은 중간정도의 출아를 0705외 5계통은 늦은 출아를 보였다. 11계통은 대부분 중간 정도의 출아를 보였다. 11계통의 북미삼도 앞의 08계통과 마찬가지로 경향을 보였다. 앞으로 품종으로 유망한 계통인 0301계통외 2계통과 현재 품종으로 출원하여 심사중인 진사(0304)와 진삼(0305)의 출아는 중간정도의 출아기 특성을 나타냈다. 이와 같은 결과는 예전의 결과와 같은 경향으로 나타났다 (표 34).

표 34. 3년생 계통 출아특성

선발년	종	계통	
08계통	고려인삼	조	0802, 0804, 0805, 0810, 0814, 0823, 0824, 0827, 0830, 0831, 0836, 0839, 0840, 0844, 0848, 0851, 0852
		중	0801, 0806, 0807, 0808, 0809, 0811, 0813, 0815, 0816, 0817, 0820, 0822, 0825, 0826, 0828, 0832, 0833, 0834, 0835, 0837, 0842, 0843, 0847, 0849, 0850
		만	0803, 0812, 0818, 0819, 0821, 0829, 0838, 0841, 0845, 0846
	북미삼	조	
		중	Q0803, Q0805, Q0806, Q0808, Q0810,
		만	Q0801, Q0802, Q0804, Q0809, Q0807
07계통	조	0703, 0710, 0711, 0715, 0718, 0719, 0720, 0723, 0727, 0729	
	중	0701, 0702, 0704, 0706, 0707, 0713, 0716, 0721, 0722, 0724, 0725, 0726, 0728, 0730	
	만	0705, 0708, 0709, 0712, 0714, 0717	
11계통	고려인삼	조	1112, 1116, 1117, 1137, 1141, 1145, 1148, 1151, 1154, 1163
		중	1101, 1102, 1103, 1104, 1105, 1107, 1108, 1109, 1110, 1111, 1113, 1114, 1119, 1120, 1121, 1122, 1123, 1125, 1126, 1127, 1128, 1129, 1130, 1131, 1132, 1133, 1134, 1135, 1136, 1139, 1140, 1142, 1142, 1143, 1144, 1146, 1147, 1150, 1153, 1156, 1157, 1159, 1160, 1161, 1164, 1165
		만	1106, 1115, 1118, 1124, 1138, 1149, 1152, 1155, 1158, 1162
	북미삼	조	
		중	Q1107, Q1109, Q1111, Q1114, Q1118, Q1119
		만	Q1101, Q1102, Q1103, Q1104, Q1105, Q1106, Q1108, Q1110, Q1112, Q1113, Q1115, Q1116, Q1117, Q1120
03계통	조		
	중	0301, 0302, 0303, 0304(진사), 0305(진삼), 0306(G-1)	
	만		
품종	조	선풍	
	중	뉴천, K-1, 금풍, 고품, 연풍, 천풍	
	만		

표 35. 4년생 계통 출아특성

선발년	계통		
10계통	고려인삼	조	1004, 1008, 1010, 1012, 1014, 1020, 1023, 1028, 1030, 1034, 1038, 1042, 1046
		중	1001, 1002, 1005, 1006, 1007, 1009, 1013, 1015, 1016, 1017, 1019, 1021, 1022, 1024, 1025, 1026, 1027, 1029, 1032, 1033, 1035, 1039, 1040, 1041, 1043, 1044, 1047, 1048, 1049,
		만	1003, 1011, 1018, 1031, 1036, 1037, 1045, 1050, 1051
	북미삼	조	
		중	Q1001, Q1009, Q1011, Q1012, Q1013, Q1017, Q1018
		만	Q1002, Q1003, Q1004, Q1005, Q1006, Q1007, Q1008, Q1010, Q1014, Q1015, Q1016, Q1019, Q1020, Q1021
07계통	고려인삼	조	0701, 0703, 0704, 0711, 0715, 0718, 0719, 0720, 0723, 0727, 0729, 0730
		중	0702, 0706, 0707, 0710, 0713, 0716, 0721, 0722, 0724, 0726, 0728
		만	0705, 0708, 0709, 0712, 0714, 0717, 0725
교배종		조	
		중	
		만	F1(미국삼 x K-1), F2(미국삼 x 고려인삼)
품종유망계통 및 품종		조	
		중	0301, 0302, 0303, 0304(진사), 0305(진삼), 금풍, K-1, 연풍
		만	천풍

고창에 식부된 4년생 계통을 선발연도별로 구분하여 출아기 비교에서 식부된 계통이 10%정도 출아된 시점을 기준하여 5일정도 간격으로 조사하였다. 10계통은 1004의 12계통이 조기 출아를 하였고 1001의 28계통은 중간정도의 출아를 하였고 1003의 8계통은 출아가 늦은 경향을 보였다. 10계통은 중간정도 출아가 된 계통이 많았다. 북미삼 10계통은 고려인삼보다는 출아가 전반 적으로 늦었는데 Q1001의 6계통은 중간 정도 Q1002의 13계통은 늦은 출아를 보였다. 07계통은 0701의 11계통은 조기출아를 0702의 10계통은 중간정도의 출아를 0705의 6계통은 늦은 출아를 보였다. 특히 07계통은 3년생과 거의 같은 경향을 보였으나 몇 몇 계통은 중간 출아에서 조기 출아되거나 중간 출아에서 만기 출아 되는 변화가 있었는데 이는 심겨진 위치에 따라 약간의 변화는 있는 것으로 본다. 중간교배종인 F1과 F2는 모계인 미국삼의 출아 특성을 따라 가는 것으로 본다. 앞으로 품종으로 유망한 계통



인 0301계통외 2계통과 현재 품종으로 출원하여 심사중인 진사(0304)와 진삼(0305)와 금풍, 연풍, K-1과 같은 품종의 출아는 중간정도를 천풍은 출아가 늦은 특성을 나타냈는데 이는 이 품종의 고유 특성이며 출아 시기가 빨라도 지역이 달라도 다른 품종에 비해 늦음을 확인되었다.

표 36. 5년생 계통 출아특성

선발년	종		계통
09계통	계통	조	0902, 0903, 0905, 0907, 0910, 0913, 0916, 0917, 0918, 0919, 0922, 0923, 0927, 0930, 0931, 0932
		중	0901, 0904, 0906, 0911, 0912, 0914, 0915, 0920, 0921, 0915, 0926, 0929
		만	0908, 0909, 0924, 0925, 0928,
	북미삼	조	
		중	Q0903, Q0904, Q0905, Q0906, Q0909, Q0911, Q0912, Q0913
		만	Q0901, Q0902, Q0907, Q0908, Q0910, Q0914

김제에 식부된 5년생은 출아 시기가 다른 지역이나 작년 2013년보다 15일 이상이나 빨라 출아가 조기나 중기 간에는 큰 차이가 없었다. 많은 계통이 조기에 출아하는 경향을 나타냈다. 특히 북미삼도 중기와 만기로 되어 있지만 고창지역보다는 많이 빨랐다.

김제에 식부된 5년생의 지상부 생육 특성은 매우 왕성한 편이었다. 뿌리 형질과 정에 상관성이 있는 줄기의 형질에서 굵기를 보면 9.0mm 이상인 계통은 0901외 16계통으로 식부 계통의 50% 정도가 줄기 생장이 좋았다. 이와 관련하여 생육정도를 보면 16계통 중 11계통의 생육이 상위권에 분포되어 줄기 굵기와 생육과는 상관관계가 높은 것으로 본다. 0906과 같은 계통은 줄기가 매우 굵으나 생육은 매우 나쁜 것은 생존율이 매우 낮은 경우라 할 수 있다. 잎형질에서는 엽장과 엽폭이 큰 즉 엽이 큰 계통의 생육이 양호한 생육을 보임을 알 수 있다(표 37).

표 37. 5년생 계통의 지상부 생육특성

계통 명	줄기		꽃대 길이	앞자루 길이	잎			큰잎 수	작은 잎수	생육 정도
	굵기	길이			엽병	길이	너비			
0901	9.2	44.6	20.5	10.2	2.8	14.2	6.4	6.1	30.3	중중
0902	7.9	39.3	15.6	9.5	3.0	14.5	6.3	5.1	25.3	하상
0903	10.5	44.2	23.0	11.2	3.6	17.3	8.1	6.0	28.5	상중
0904	6.0	35.5	24.0	12.0	2.5	13.0	5.7	5.3	25.6	중하
0905	8.8	44.3	16.0	9.3	2.1	15.4	6.4	6.0	27.7	하중
0906	11.3	48.1	23.0	14.5	3.3	17.1	7.3	6.2	30.0	하하
0907	9.3	41.1	25.0	13.6	2.7	19.2	8.0	6.0	28.0	상중
0908	8.6	39.2	18.0	11.4	3.8	15.8	7.2	5.0	24.5	중중
0909	8.1	49.0	22.5	10.6	2.8	12.7	5.9	6.0	29.0	상상
0910	9.6	43.1	17.0	13.8	1.7	17.0	6.3	6.1	30.3	중상
0911	8.4	43.4	14.5	8.1	3.4	15.5	6.0	5.0	25.0	중상
0912	5.8	34.7	20.0	11.3	2.8	12.4	5.7	4.5	22.3	상하
0913	7.0	40.3	22.0	9.6	2.4	15.1	5.7	6.0	28.5	상상
0914	9.7	52.1	21.5	11.5	4.3	16.0	5.4	5.1	24.5	상중
0915	8.0	50.3	22.5	11.0	3.7	15.0	6.6	5.0	25.0	상중
0916	6.9	39.5	22.0	14.4	2.6	14.6	6.8	4.7	23.0	상중
0917	7.8	43.2	37.5	11.5	3.4	16.6	7.5	6.0	30.0	상중
0918	10.3	48.5	24.0	11.7	3.5	17.8	8.0	6.0	21.6	상상
0919	10.2	49.0	20.0	10.4	2.7	11.9	5.0	6.0	28.7	상하
0920	9.0	50.4	20.0	11.4	3.0	19.5	8.5	6.0	28.5	중상
0921	8.0	37.0	19.0	11.0	3.0	15.7	8.0	6.0	29.0	상상
0922	6.9	41.5	14.0	9.0	2.8	15.5	6.4	5.0	24.0	중중
0923	9.3	53.0	22.5	10.2	3.5	18.2	7.5	5.3	25.5	상상
0924	9.2	50.0	20.0	12.0	3.8	17.0	5.9	5.2	27.7	상하
0925	9.2	44.0	18.5	11.0	3.4	16.0	6.6	6.0	29.4	상중
0926	11.0	44.5	20.0	11.0	2.7	18.0	8.3	6.0	28.0	상중
0927	10.0	51.5	20.5	11.3	3.0	17.0	7.2	6.0	30.0	상상
0928	8.5	53.5	20.5	9.2	3.0	16.5	6.0	5.5	27.0	상하
0929	10.4	49.5	20.0	10.5	4.2	18.0	7.6	5.2	26.5	상중
0930	8.8	42.0	16.0	12.4	4.0	16.8	6.6	5.1	26.6	중상
0931	9.9	44.0	20.0	12.3	2.4	17.5	7.4	5.6	28.5	상상
0932	8.0	49.0	15.5	9.2	2.8	17.4	4.7	6.0	30.0	상중

표 38. 북미삼 5년생의 생육특성

계통 명	줄기		꽃대 길이	큰잎 자루 길이	잎			큰잎수	작은 잎수	생육 정도
	굵기	길이			엽병	길이	너비			
Q0901	6.9	32.3	14.0	12.5	4.2	12.5	6.8	3.1	17.4	상상
Q0902	6.4	36.0	18.0	16.5	2.0	15.2	6.0	4.4	22.3	중상
Q0903	7.3	34.5	24.0	14.0	4.6	17.0	8.7	4.1	20.5	중중
Q0904	7.0	37.0	11.0	12.0	3.8	16.0	11.0	4.5	21.3	중중
Q0905	6.8	30.7	9.0	10.6	3.5	17.5	9.2	4.6	27.1	중하
Q0906	5.5	32.0	16.0	12.5	4.3	13.3	8.5	4.3	26.5	하상
Q0907	4.9	35.0	16.0	13.2	2.3	13.5	7.5	3.7	18.7	중중
Q0908	6.1	34.0	21.0	14.3	3.4	13.0	9.2	4.0	20.0	중하
Q0909	8.4	30.5	12.0	13.0	4.7	15.7	10.8	4.2	21.8	중상
Q0910	5.6	34.3	19.0	11.1	3.0	18.0	9.1	4.5	27.0	중상
Q0911	9.1	34.0	18.0	11.0	5.0	15.3	8.3	4.0	20.6	상상
Q0912	7.7	36.5	19.0	15.5	4.6	15.6	8.3	4.0	20.0	중상
Q0913	10.2	37.4	18.5	3.8	6.9	13.4	9.9	5.0	24.5	상중
Q0914	7.7	38.0	17.5	8.4	5.0	19.3	9.7	4.0	21.7	상중

북미삼의 경우는 대체로 생육이 떨어지는 경향을 보였다. 전체 14계통 생육 중에서 상위그룹

표 39. 5년생 계통의 지하부 특성

계통명	무게 (g)	체형율(%)			
		무형	사람형	오징어형	난발형
0902	38.2	7.7	15.4	61.5	15.4
0903	52.5	14.3	0.0	57.1	28.6
0905	60.1	42.9	21.4	28.6	7.1
0906	65.9	7.7	23.1	53.8	15.4
0907	44.3	35.5	19.4	25.8	19.4
0909	57.7	15.0	50.0	10.0	25.0
0910	62.6	25.0	0.0	66.7	8.3
0913	61.8	8.3	33.3	41.7	16.7
0914	70.5	24.0	36.0	24.0	16.0
0915	62.5	39.1	34.8	21.7	4.3
0917	59.0	9.1	9.1	72.7	9.1
0918	60.7	37.8	6.7	33.3	22.2
0919	64.0	40.0	20.0	28.0	12.0
0920	55.0	36.0	10.5	20.5	33.0
0921	52.3	59.3	3.7	29.6	7.4
0922	41.7	58.0	0.0	32.0	10.0
0923	62.9	30.0	10.0	46.7	13.3
0924	40.1	36.4	10.6	31.8	21.2
0925	50.9	28.0	20.0	36.0	16.0
0926	68.1	36.4	27.3	36.4	0.0
0927	38.5	55.2	5.2	22.4	17.2
0928	40.2	50.0	20.6	29.4	0.0
0929	52.8	52.2	39.1	8.7	0.0
0930	49.0	38.5	3.8	0.0	57.7
0931	53.6	28.1	14.0	29.8	28.1
0932	39.8	40.0	12.5	35.0	12.5
0901	81.8	-	-	-	-
0904	53.7	-	-	-	-
0908	82.5	-	-	-	-
0911	35.0	-	-	-	-
0912	58.9	-	-	-	-
0916	88.9	-	-	-	-

김제 5년생의 지하부 특성에서 뿌리무게가 20g 이하인 개체를 제외하고 조사개체가 20개체 이하인 0901외 5계통을 제외하고 조사하였다. 뿌리무게가 60g 이상인 계통은 0914외 9계통, 50g~60g 미만은 0917외 7계통, 50g 미만은 0930외 7계통이었다. 이 계통은 3, 4, 5년생 3회에 걸쳐 채종을 하였기에 지하부 생육은 정상보다는 많은 감모가 있을 것으로 본다. 체형은 홍삼제조시 뿌리홍삼 품질과 직결되는 요인으로 무형이나 사람형에서 천삼이나 지삼이 양산될 가능성이 매우 높다고 할 수 있다. 무형과 사람형이 50% 이상인 계통을 보면 0905, 0907, 0909, 0914, 0915, 0919, 0921, 0922, 0926, 0927, 0928, 0929, 0932 13계통이었다. 이와 같은 계통은 앞으로 이식재배에서 평가 할 수 있으면 좋을 것으로 판단된다. 여기에서는 직파재배를 하였기에 이식인삼을 기준한 분류에는 다소 차이는 있어도 전체적인 체형을 판단하는 자료가 될 수 있을 것으로 본다.

표 40. 5년생 북미삼 계통의 지하부 생육특성

계통명	무게	체형율(%)			
		무형	사람형	오징어형	난발형
Q0901	47.1	84.6	15.4	0.0	0.0
Q0902	48.3	82.1	7.1	10.7	0.0
Q0903	56.3	60.9	13.0	0.0	26.1
Q0904	37.8	54.3	11.4	17.1	17.1
Q0905	32.7	61.5	11.5	26.9	0.0
Q0909	50.7	79.4	5.9	5.9	8.8
Q0910	49.7	58.8	5.9	11.8	23.5
Q0911	63.0	57.9	0.0	21.1	21.1
Q0913	56.4	62.5	6.3	21.9	9.4
Q0914	53.7	89.5	0.0	0.0	10.5
Q0906	48.5	-	-	-	-
Q0907	50.0	-	-	-	-
Q0908	39.3	-	-	-	-
Q0912	70.6	-	-	-	-

김제 5년생의 북미삼 지하부 특성에서 고려인삼과 마찬가지로 뿌리무게가 20g 이하인 개체를 제외하고 조사개체가 20개체 이하인 Q0906외 3계통을 제외하고 조사하였다. 뿌리무게가 60g 이상인 계통은 Q0911 한 계통, 50g~60g 미만은 Q0903외 3계통, 50g 미만은 Q0901외 4계통이었다. 이 계통도 고려인삼과 마찬가지로 3, 4, 5년생 3회에 걸쳐 채종을 하였기에 지하부 생육은 정상보다는 많은 감모가 있을 것으로 본다. 체형에서 무형이 높게 나왔는데 고려인삼의 무형은 너두부위에서 지근이 발달되는 부위까지 일정한 굵기의 모양을 유지하나 북미삼의 무형은 또 다른 모양으로 위쪽 너두부위는 넓고 지근부위로 갈수록 가늘어지는 썩기형 모양이기에 수삼품질은 저급이라 할 수 있다.

표 41. 4년생 계통의 지상부 생육특성

계통 명	줄기		꽃대 길이	잎자루 길이	잎		큰잎수	작은 잎수	생육정도
	굵기	길이			길이	너비			
	mm		cm						
1001	6.9	43.0	20.5	8.5	14.0	5.2	4.8	24.3	중중
1002	6.6	35.0	15.6	10.0	15.5	6.2	5.2	25.3	중하
1003	7.3	40.0	23.0	9.0	16.0	7.5	4.7	23.5	중중
1004	7.1	32.0	24.0	10.8	15.0	6.7	4.5	22.6	중상
1005	6.2	38.0	16.0	6.8	13.5	4.8	5.3	26.7	하하
1006	5.1	34.0	23.0	8.7	15.0	5.7	4.7	24.8	중상
1007	6.6	34.0	25.0	10.7	14.5	7.7	5.0	25.0	상중
1008	5.2	30.5	18.0	8.0	13.0	5.0	4.5	24.5	중중
1009	8.0	39.0	22.5	10.5	15.0	6.7	5.0	25.0	중중
1010	6.3	40.0	17.0	11.8	13.5	6.5	5.1	24.3	상상
1011	5.7	34.5	14.5	7.8	12.5	5.6	5.0	25.0	하중
1012	7.3	39.0	20.0	9.5	15.5	7.3	4.5	22.3	상상
1013	9.1	45.0	22.0	10.8	16.5	7.0	5.0	24.5	중상
1014	7.0	39.5	21.5	11.3	16.0	6.3	4.7	24.5	하중
1015	9.4	42.0	22.5	10.5	14.5	5.5	5.0	25.0	상중
1016	8.1	34.5	22.0	9.0	15.0	6.5	4.0	23.0	상하
1017	6.2	37.5	37.5	9.8	14.2	6.5	5.5	27.0	중상
1018	7.4	44.0	24.0	10.3	15.5	7.0	5.1	25.6	하하
1019	8.0	38.0	20.0	8.7	14.0	5.6	5.6	28.7	상상
1020	6.6	40.0	20.0	5.5	15.0	6.0	5.0	24.5	상중
1021	8.4	48.0	19.0	6.5	15.5	6.3	5.0	25.0	상상

1022	7.3	46.0	14.0	6.3	14.5	6.2	4.8	24.0	중중
1023	8.3	49.5	22.5	11.0	15.3	6.0	5.1	25.5	상상
1024	7.2	45.0	20.0	9.2	17.8	6.7	5.6	27.7	중상
1025	6.1	35.0	18.5	9.7	16.2	6.7	4.6	23.4	하상
1026	6.6	32.0	20.0	9.2	16.5	6.4	5.7	28.0	하중
1027	8.4	48.0	20.5	8.4	16.5	7.2	4.8	24.0	상상
1028	7.0	44.0	20.5	9.4	17.0	6.5	5.5	27.0	중상
1029	7.8	47.0	20.0	8.2	13.8	6.1	5.0	26.5	상상
1030	6.9	37.0	16.0	10.0	17.2	5.9	4.5	23.6	중중
1031	8.6	39.0	20.0	8.7	17.0	6.4	5.5	28.5	상중
1032	8.8	47.0	15.5	8.3	15.8	5.1	5.0	25.0	상상
1033	9.1	45.5	22.0	10.8	16.5	7.0	5.0	24.5	상상
1034	7.0	39.5	21.5	11.3	16.0	6.3	4.7	24.5	중상
1035	6.4	38.0	22.5	10.5	14.5	5.5	5.0	25.0	하상
1036	6.1	34.5	22.0	9.0	15.0	6.5	4.0	23.0	하중
1037	6.2	37.5	37.5	9.8	14.2	6.5	5.5	27.0	하상
1038	7.4	44.6	24.0	10.3	15.5	7.0	5.1	25.6	중상
1039	7.0	38.6	20.0	8.7	14.0	5.6	5.6	28.7	중중
1040	6.6	40.0	20.0	5.5	15.0	6.0	5.0	24.5	중중
1041	8.5	47.0	20.0	5.5	165	6.4	5.1	25.1	상상
1042	8.1	46.0	14.0	6.3	14.5	6.2	4.8	24.0	상중
1043	7.2	49.5	22.5	11.0	15.3	6.0	5.1	25.5	중상
1044	8.8	45.0	20.0	9.2	17.8	6.7	5.6	27.7	상상
1045	5.2	35.0	18.5	9.7	16.2	6.7	4.6	23.4	하상
1046	5.5	32.0	20.0	9.2	16.5	6.4	5.7	28.0	하하
1047	5.5	34.0	20.5	8.4	16.5	7.2	4.8	24.0	하중
1048	7.1	34.0	20.5	9.4	17.0	6.5	5.5	27.0	중상
1049	6.9	32.0	20.0	8.2	13.8	6.1	5.0	26.5	중중
1050	7.9	47.0	16.0	10.0	17.2	5.9	4.5	23.6	상중
1051	7.4	37.0	20.0	8.7	17.0	6.4	5.5	28.5	중상

고창에 식부된 4년생 51계통의 지상부 생육특성을 생육정도로 보면 비교적 생육이 좋은 계통은 1010외 17계통, 중간정도는 1001외 20계통으로 총 39계통이 양호한 생육을 보였다. 그 외 1005외 11계통은 비교적 생육이 떨어지는 편이었다.

표 42. 북미삼 4년생의 생육특성

계통명	줄기		꽃대 길이	잎자루 길이	잎		큰잎수	작은 잎수	생육정도
	굵기	길이			길이	너비			
	mm		cm						
Q1001	5.2	32.0	14.0	11.0	12.0	8.0	4.1	21.0	상상
Q1002	4.4	35.0	18.0	13.5	15.5	7.7	4.0	20.0	하하
Q1003	5.4	28.0	24.0	12.5	16.7	7.6	4.3	23.0	중중
Q1004	4.1	28.0	11.0	12.0	11.0	6.0	4.7	22.7	중상
Q1005	4.6	27.0	9.0	8.3	10.5	5.8	4.0	20.0	하하
Q1006	4.3	27.0	16.0	12.2	12.3	7.0	4.0	20.0	하상
Q1007	4.8	31.0	16.0	11.5	15.5	6.5	4.2	21.6	하상
Q1008	5.2	26.0	21.0	16.0	13.5	7.6	4.6	23.5	중중
Q1009	5.0	28.0	12.0	12.5	13.0	7.7	4.0	20.0	중중
Q1010	5.2	36.0	19.0	13.0	18.5	6.7	4.4	22.5	중중
Q1011	6.3	27.0	18.0	10.0	15.0	8.2	4.8	24.1	상중
Q1012	6.9	32.0	19.0	13.0	15.0	8.5	4.5	23.7	상상
Q1013	5.8	33.5	18.5	12.5	13.0	8.2	4.1	21.8	중상
Q1014	4.8	39.0	17.5	9.7	13.3	8.0	4.0	20.0	하중
Q1015	6.5	27.0	17.0	10.0	15.4	7.2	4.1	21.0	상상
Q1016	6.9	32.0	19.4	13.0	15.3	8.3	4.2	21.0	상상
Q1017	5.8	33.5	17.5	12.5	13.2	8.2	4.0	20.0	중상
Q1018	5.8	39.0	17.5	9.7	13.1	8.1	4.1	20.5	중중

고창에 식부된 4년생 북미삼 18계통의 지상부 생육특성을 생육정도로 보면 비교적 생육이 좋은 계통은 Q1001외 4계통, 중간정도는 Q1003외 7계통으로 총 13계통이 양호한 생육을 보였다. 그 외 Q1002외 4계통은 비교적 생육이 떨어지는 편이었다.



표 43. 3년생 계통의 생육상

구분	생육상	계통	
11계통	고려인삼	상	1101, 1104, 1105, 1109, 1112, 1113, 1114, 1115, 1118, 1119, 1120, 1128, 1129, 1131, 1132, 1135, 1136, 1141, 1142, 1143, 1145, 1147, 1157, 1158, 1159, 1160,
		중	1102, 1103, 1106, 1107, 1108, 1110, 1116, 1117, 1121, 1127, 1130, 1133, 1137, 1138, 1144, 1148, 1152, 1153, 1156, 1161
		하	1111, 1122, 1123, 1124, 1125, 1126, 1134, 1139, 1140, 1146, 1149, 1150, 1151, 1154, 1155, 1162, 1163, 1164, 1165
	북미삼	상	Q1107, Q1108, Q1110
		중	Q1101, Q1102, Q1106, Q1109, Q1116, Q1117, Q1118, Q1119, Q1020
		하	Q1103, Q1104, Q1105, Q1111, Q1112, Q1113, Q1114, Q1115
08계통	고려인삼	상	0802, 0804, 0805, 0806, 0809, 0810, 0811, 0812, 0813, 0815, 0816, 0817, 0818, 0819, 0820, 0822, 0823, 0824, 0828, 0829, 0830, 0831, 0832, 0833, 0834, 0835, 0836, 0837, 0838, 0839, 0841, 0842, 0845, 0846, 0847, 0849, 0850, 0851, 0852
		중	0803, 0808, 0814, 0821, 0825, 0827, 0840, 0844,
		하	0801, 0807, 0826, 0843, 0848,
	북미삼	상	Q0805, Q0806, Q0807, Q0809, Q0810
		중	Q0804, Q0808
		하	Q0801, Q0802, Q0803,
07계통	고려인삼	상	0701, 0703, 0706, 0708, 0712, 0713, 0715, 0716, 0717, 0718, 0719, 0720, 0721, 0722, 0725, 0726, 0727, 0728, 0729,
		중	0702, 0704, 0705, 0707, 0711, 0714, 0724, 0730
		하	0709, 0710, 0723
품종유망계통 산지실증시험	상	0301, 0302, 0303, 0304(진사), 0305(진삼), K-1, 연풍, 금풍	
	중	선풍, 천풍, 고품	
	하		

고창에 식부된 고려인삼 3년생 2011년 선발 65계통, 2008년 선발 52계통, 2007년 선발 30계통 품종 및 품종 유망계통 11계통과 북미삼 2011년 선발 20계통, 2008년 선발 10계통 총 188계통의 지상부 생육특성을 생육정도 상 중 하로 조사하였다. 2011년 선발계통 65계통중 1101외 25계통의 생육이 양호하였고 1102외 19계통은 중간 정도의 생육을 1111외 18계통은 부진한 생육을 보였다. 2008년 선발 계통 중 0802외 38계통은 양호한 생육을 보였고 0803외 12계통은 중간이거나 부진한 생육을 나타냈다. 2007년 선발 계통은 0701외 18계통은 양호한 생육을 0702외 10계통은 중간 이하의 생육을 보였다. 품종 유망계통 및 산지실증시험 계통은 심사중인 진사와 진삼의 생육은 기존의 천풍이나 선품 및 고품에 비해 양호한 생육을 보였다. 2011년 선발 북미삼 19계통 Q1007외 2계통 만이 양호하였고 나머지 17계통은 중간 정도나 부진한 생육을 보였다. 2008년 선발 계통 중 Q0805외 4계통은 양호한 생육을 보였고 Q0804외 4계통은 중간이거나 부진한 생육을 나타냈다(표 43).

고창에 식부된 고려인삼 2년생 2012년 선발 50계통, 2009년 선발 32계통, 2008년 선발 52계통 품종 및 품종 유망계통 11계통과 북미삼 2012년 선발 18계통, 2009년 선발 14계통, 2008년 선발 10계통, 교배종 9계통 총 196계통의 지상부 생육특성을 생육정도 상 중 하로 조사하였다. 2012년 선발계통 50계통 중 1203외 26계통의 생육이 양호하였고 1201외 17계통은 중간 정도의 생육을 1202외 12계통은 부진한 생육을 보였다. 2009년 선발 계통 중 0903외 14계통은 양호한 생육을 보였고 0904외 16계통은 중간이거나 부진한 생육을 나타냈다. 2008년 선발 계통은 0803외 37계통은 양호한 생육을 0804외 13계통은 중간 이하의 생육을 보였다. 품종 유망계통 및 산지실증시험 계통은 심사중인 진사와 진삼의 생육은 기존의 천풍이나 선품 및 연풍에 비해 양호한 생육을 보였고, K-1, G-1의 생육과 같이 양호한 생육을 보였다. 2012년 선발 북미삼 18계통 중 Q1207외 6계통이 양호하였고 나머지 13계통은 중간 정도나 부진한 생육을 보였다. 2009년 선발 계통 중 Q0901외 9계통은 양호한 생육을 보였고 Q0906외 3계통은 중간이거나 부진한 생육을 나타냈다. 2008년 선발 계통 중 Q0803외 4계통은 양호한 생육을 보였고 Q0804외 4계통은 중간이하의 생육을 보였다. 교배종은 1년생 때는 비교적 잡종강세 현상을 보였으나 2년생에서는 약한 생육을 보였다(표 44)

표 44. 2년생 계통의 생육상

구분		생육상	계통
12계통	고려인삼	상	1203, 1204, 1208, 1211, 1212, 1213, 1214, 1215, 1216, 1218, 1223, 1225, 1226, 1227, 1228, 1231, 1234, 1235, 1236, 1238, 1239, 1240, 1242, 1245, 1248, 1249, 1250
		중	1201, 1205, 1209, 1217, 1237, 1241, 1246, 1247, 1251, 1253
		하	1202, 1206, 1210, 1219, 1220, 1221, 1224, 1229, 1232, 1233, 1243, 1244, 1252
	북미삼	상	Q1201, Q1202, Q1203, Q1208, Q1209, Q1210, Q1213,
		중	Q1205, Q1206, Q1212, Q1215, Q1216,
		하	Q1204, Q1207, Q1211, Q1214, Q1217, Q1218
09계통	고려인삼	상	0903, 0907, 0918, 0919, 0920, 0921, 0922, 0923, 0924, 0927, 0928, 0929, 0930, 0931, 0932
		중	0904, 0908, 0910, 0911, 0916, 0917, 0926,
		하	0901, 0902, 0905, 0906, 0909, 0912, 0913, 0914, 0915, 0925
	북미삼	상	Q0901, Q0902, Q0904, Q0905, Q0907, Q0909, Q0911, Q0912, Q0913, Q0914
		중	Q0906, Q0908,
		하	Q0903, Q0910
08계통	고려인삼	상	0803, 0805, 0806, 0807, 0809, 0810, 0811, 0812, 0813, 0814, 0815, 0817, 0819, 0821, 0822, 0825, 0826, 0827, 0828, 0829, 0832, 0835, 0836, 0837, 0838, 0839, 0840, 0841, 0842, 0843, 0844, 0845, 0846, 0848, 0849, 0850, 0851, 0852
		중	0804, 0808, 0816, 0818, 0820, 0823, 0824, 0833, 0834, 0848,
		하	0801, 0802, 0830, 0831,
	북미삼	상	Q0803, Q0805, Q0806, Q0808, Q0809
		중	Q0804, Q0810
		하	Q0801, Q0802, Q0807
품종 및 유망계통	상	0301, 0302, 0303, 0304(진사), 0305(진삼), K-1, G-1, 고품	
	중	선풍, 연풍	
	하	천풍	
교배종	상	Q0904 x 0925, 미국삼 x K-1,	
	중	F2(미국삼 x 천풍), F2(천풍 x 미국삼), F3(미국삼 x 천풍),	
	하	F1(미국삼 x K-1), Q0903 x 0929, (천풍 x 미국삼)x천풍, Q0807 x 0849	

표 45. 1년생 계통의 생육상

구분	생육상	계통	
13계통	고려인삼	상	1301, 1302, 1304, 1306, 1307, 1309, 1312, 1313, 1314, 1315, 1316, 1321, 1326, 1328, 1329, 1333, 1337, 1339, 1340, 1341, 1342, 1343, 1344, 1345, 1346, 1349, 1350
		중	1303, 1310, 1311, 1317, 1319, 1322, 1324, 1327, 1330, 1331, 1332, 1336, 1347, 1348
		하	1305, 1308, 1318, 1320, 1323, 1325, 1334, 1335, 1338
	북미삼	상	Q1301, Q1302, Q1303, Q1304, Q1305, Q1307, Q1309, Q1311, Q1314, Q1316, Q1317, Q1319, Q1321, Q1322, Q1323, Q1324, Q1326, Q1328, Q1330, Q1332, Q1334, Q1335, Q1336, Q1337, Q1338, Q1341, Q1342, Q1343, Q1344, Q1345, Q1346, Q1347, Q1350
		중	Q1310, Q1312, Q1313, Q1318, Q1325, Q1327, Q1329, Q1340, Q1348, Q1349
		하	Q1306, Q1308, Q1315, Q1320, Q1331, Q1339
10계통	고려인삼	상	1001, 1002, 1003, 1004, 1006, 1007, 1008, 1009, 1010, 1012, 1015, 1016, 1019, 1020, 1021, 1023, 1027, 1028, 1029, 1031, 1032, 1033, 1041, 1042, 1044, 1050
		중	1013, 1017, 1022, 1024, 1030, 1034, 1038, 1039, 1040, 1043, 1048, 1049, 1051
		하	1005, 1011, 1014, 1018, 1025, 1026, 1035, 1036, 1037, 1045, 1046, 1047
	북미삼	상	Q1001, Q1011, Q1012, Q1015, Q1016
		중	Q1003, Q1004, Q1008, Q1009, Q1010, Q1013, Q1017, Q1018
		하	Q1002, Q1005, Q1006, Q1007, Q1014
09계통	고려인삼	상	0903, 0907, 0918, 0919, 0920, 0921, 0922, 0923, 0924, 0927, 0928, 0929,, 0931, 0932
		중	0904, 0908, 0910, 0911, 0913, 0914, 0916, 0917, 0926, 0930
		하	0901, 0902, 0905, 0906, 0909, 0912, 0915, 0925
	북미삼	상	Q0901, Q0902, Q0907, Q0909, Q0911, Q0912, Q0914
		중	Q0904, Q0905, Q0913
		하	Q0903, Q0906, Q0908, Q0910
08계통	고려인삼	상	0803, 0805, 0807, 0809, 0810, 0812, 0813, 0814, 0815, 0817, 0819, 0821, 0825, 0826, 0827, 0829, 0832, 0837, 0838, 0839, 0840, 0841, 0842, 0846, 0848, 0851, 0852

		중	0804, 0806, 0808, 0811, 0816, 0818, 0822, 0823, 0828, 0833, 0834, 0835, 0836, 0843, 0844, 0845, 0849, 0850
		하	0801, 0802, 0820, 0824, 0830, 0831, 0848
	북미삼	상	Q0803, Q0808, Q0809
		중	Q0804, Q0805, Q0806, Q0810
		하	Q0801, Q0802, Q0807
07 계통	상	0701, 0703, 0706, 0713, 0715, 0716, 0717, 0718, 0719, 0720, 0722, 0725, 0726, 0727, 0728, 0730, 0731,	
	중	0702, 0707, 0709, 0721, 0751, 0753, 0755	
	하	0704, 0714, 0724, 0752, 0754, 0756	
품종 및 유망계통	상	0304(진사), 0301	
	중	연풍, 0305(진삼), 0302, 0303	
	하	천풍	

김제에 식부된 고려인삼 1년생 2013년 선발 50계통, 2010년 선발 51계통, 2009년 선발 32계통, 2008년 선발 52계통, 2007년 선발 30계통, 품종 및 품종 유망계통 7계통과 북미삼 2013년 선발 40계통, 2010년 선발 18계통, 2009년 선발 14계통, 2008년 선발 10계통, 총 304계통의 지상부 생육특성을 생육정도 상 중 하로 조사하였다. 2013년 선발계통 50계통 중 1301외 26계통의 생육이 양호하였고 1303외 13계통은 중간 정도의 생육을 1305외 8계통은 부진한 생육을 보였다. 2010년 선발 계통 중 1001외 25계통은 양호한 생육을 보였고 1013외 24계통은 중간이거나 부진한 생육을 나타냈다. 2009년 선발 계통은 0903외 13계통은 양호한 생육을 0904외 17계통은 중간 이하의 생육을 보였다. 2008년 선발 계통은 0803외 26계통은 양호한 생육을 보였으며 0804외 24계통은 중간이하의 생육을 보였다. 품종 유망계통 및 산지실증시험 계통은 심사중인 진사와 0301은 양호한 생육을 보였고, 진삼과 0302 및 단 3계통은 중간 정도의 생육을 보였다(표 45).

품종 심사중인 G-1, 진사 및 진삼의 생육은 양호하였으며, 각각의 표현형 특성을 잘 나타내고 있다. 형질에서 대비품종과 차이를 보이는 것은 그 계통 및 품종의 유전적인 특성으로 본다. 기타 품종 유망 계통의 생육도 비교적 양호하기에 특히 진세노사이드 성분이나 기타 성분에 대해 앞으로 할 계획이다(표 46).

표 46. 품종심사 및 산지실증시험 4년생 계통의 지상부 생육특성

계통명	줄기		꽃대 길이	앞자루 길이	잎		큰잎수	작은 잎수
	굵기	길이			길이	너비		
	mm		cm					
G-1	7.8	34.0	20.2	8.5	16.4	6.5	4.8	24.3
대조(선풍)	8.6	41.3	31.7	10.0	18.5	8.2	5.2	26.3
진사(0304)	7.5	37.5	23.0	9.0	17.0	6.7	5.3	26.5
진삼(0305)	7.1	35.2	24.0	8.3	17.1	6.5	5.5	26.6
대조(K-1)	7.8	38.0	28.3	11.4	17.5	7.5	5.3	26.7
0303	7.1	34.0	23.0	8.7	16.0	6.7	5.2	26.8
0302	6.8	37.4	22.0	7.3	17.5	7.1	5.0	25.0
0301	7.0	35.5	21.4	8.0	15.0	6.5	5.5	25.5

표 47. 5년생 계통의 동체부위 ginsenosides 함량(mg/g)(위탁)

	Rg1	Re	Rf	Rg2	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Total	PPT	PPD
0801	3.82	5.48	1.02	0.37	3.72	3.87	1.01	0.39	19.67	10.69	8.99
0802	6.05	3.41	1.30	0.07	3.55	2.46	1.73	0.41	18.98	10.83	8.15
0803	4.01	3.90	1.11	0.28	3.27	3.25	1.55	0.38	17.73	9.29	8.44
0804	5.46	4.21	1.15	0.28	3.77	2.74	0.74	0.65	19.00	11.10	7.90
0805	4.81	4.24	1.19	0.28	3.77	2.83	1.42	0.29	18.82	10.51	8.31
0806	2.68	4.62	0.80	0.33	2.28	2.44	0.71	0.28	14.13	8.42	5.71
0807	3.90	3.63	0.90	0.27	3.00	2.51	0.69	0.50	15.38	8.69	6.69
0808	2.42	3.77	0.73	0.28	2.30	2.85	0.89	0.39	13.63	7.20	6.43
0809	4.06	5.81	0.94	0.36	3.36	2.49	0.79	0.33	18.14	11.17	6.97
0810	4.55	6.56	0.99	0.36	3.66	2.93	0.83	0.70	20.59	12.47	8.12
0811	3.91	8.35	0.87	0.89	5.58	3.30	1.22	0.34	24.46	14.02	10.44
0812	4.34	4.12	1.29	0.30	2.97	2.60	0.56	0.48	16.67	10.05	6.62
0813	4.76	4.66	1.18	0.35	3.89	2.98	0.58	0.79	19.17	10.94	8.23
0814	5.17	6.13	1.73	0.38	5.03	3.13	1.29	0.85	23.70	13.40	10.29
0815	4.02	3.42	1.14	0.27	2.88	2.91	0.67	0.72	16.03	8.85	7.17
0816	3.02	4.56	0.83	0.28	2.93	2.01	0.63	0.30	14.56	8.69	5.87
0817	4.82	4.55	1.18	0.31	3.94	2.35	0.86	0.27	18.29	10.86	7.43
0819	4.39	4.40	0.98	0.29	3.50	1.75	1.22	0.30	16.83	10.05	6.78
0820	3.30	3.29	0.80	0.26	2.50	1.65	0.89	0.28	12.96	7.65	5.31

0821	3.12	3.89	0.88	0.28	2.93	2.21	1.12	0.24	14.66	8.17	6.49
0822	2.39	5.69	0.79	0.55	2.58	1.78	2.83	0.17	16.77	9.43	7.35
0824	2.83	4.24	0.88	0.28	2.80	2.19	1.11	0.22	14.54	8.23	6.31
0825	2.81	5.49	0.92	0.34	3.50	2.50	1.04	0.24	16.83	9.55	7.28
0826	4.62	4.82	1.19	0.32	3.39	3.00	0.83	0.27	18.45	10.95	7.50
0827	3.98	5.95	1.08	0.34	4.24	2.51	1.52	0.20	19.82	11.36	8.46
0828	4.76	7.70	1.33	0.87	4.12	2.39	2.08	0.18	23.43	14.66	8.76
0830	4.74	5.92	1.26	0.35	4.99	2.99	1.79	0.26	22.30	12.28	10.02
0831	4.92	6.03	1.52	0.63	3.32	2.18	1.38	0.19	20.17	13.09	7.08
0832	4.02	4.34	1.01	0.54	2.58	2.26	1.54	0.17	16.46	9.90	6.56
0833	2.49	3.52	0.77	0.47	1.62	1.30	1.92	0.15	12.26	7.26	5.00
0834	1.67	4.17	0.79	1.00	1.45	1.20	1.80	0.14	12.23	7.63	4.59
0835	2.41	5.69	0.95	0.54	3.30	2.07	1.51	0.17	16.63	9.59	7.04
0836	3.44	5.74	1.14	0.66	2.57	2.16	1.42	0.17	17.29	10.98	6.32
0839	4.34	5.69	1.17	1.19	2.54	2.34	1.04	0.17	18.48	12.40	6.09
0840	3.12	5.59	1.08	1.21	2.59	1.54	2.47	0.17	17.77	11.00	6.77
0841	3.67	4.39	1.01	0.53	2.26	1.80	1.94	0.17	15.78	9.60	6.18
0842	2.51	3.01	0.84	0.93	1.90	2.06	0.96	0.16	12.37	7.30	5.08
0843	2.53	4.67	0.95	1.02	2.04	2.28	0.88	0.16	14.53	9.17	5.36
0844	3.16	4.70	0.99	0.65	2.60	2.23	1.38	0.19	15.90	9.50	6.40
0845	2.39	2.29	0.82	0.68	1.99	2.32	0.75	0.18	11.42	6.19	5.24
0846	2.84	4.73	0.83	0.85	2.70	2.90	0.51	0.21	15.58	9.25	6.32
0847	4.19	9.30	1.42	0.83	4.02	2.85	1.13	0.19	23.92	15.73	8.19
0848	1.86	5.78	0.80	0.97	2.33	2.56	0.77	0.19	15.27	9.41	5.85
0849	2.37	2.59	0.73	0.59	1.83	2.20	0.93	0.19	11.42	6.27	5.15
0850	1.89	5.23	0.70	0.68	1.66	2.24	0.50	0.16	13.07	8.51	4.57
0851	5.04	7.98	1.40	1.24	4.92	3.64	1.85	0.89	26.96	15.67	11.29
0852	5.48	5.34	1.32	0.75	4.04	3.21	1.42	0.17	21.73	12.89	8.84
K-1	1.93	3.29	1.13	0.50	2.87	2.65	0.93	1.41	14.71	6.86	7.85
금풍	3.19	1.08	1.04	0.31	2.95	4.22	0.99	3.41	17.21	5.63	11.58
뉴천	4.38	4.07	1.85	0.41	4.54	3.51	1.10	1.43	21.27	10.71	10.57

2008년에 선발한 52계통과 3품종에 대해 동체 부위 진세노사이드를 분석한 결과에서 0851과 같은 계통은 26.96mg/g으로 매우 높은 함량은 보였고 그 외 0811의 7계통은 20.0mg/g을 보였고 0827의 25계통은 15.0mg/g을 보여 52계통 중 35계통은 진세노사이드 함량이 기존 품종 금풍이나 K-1과 높거나 비슷한 경향을 보였다. 이와 같이 함량이 높은 계통은 고사포닌 계통으로 매우 유망한 계통이라 할 수 있다.

표 48. 5년생 계통의 지근부위 ginsenosides 함량(mg/g)(위탁)

	Rg1	Re	Rf	Rg2	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Total	PPT	PPD
0801	4.76	29.73	2.85	2.73	14.31	32.92	22.13	2.35	111.77	40.07	71.70
0802	12.20	13.02	4.42	0.23	19.14	16.21	11.12	1.81	78.14	29.86	48.27
0803	4.15	27.52	3.04	2.35	25.90	27.81	10.72	2.13	103.62	37.06	66.56
0804	6.22	20.77	2.65	1.68	18.13	19.87	3.23	1.72	74.27	31.32	42.96
0805	5.41	25.53	2.90	1.93	23.43	21.90	8.38	1.60	91.07	35.76	55.31
0806	3.86	20.66	2.37	1.84	15.03	14.94	1.73	1.21	61.65	28.74	32.91
0807	6.27	22.46	2.52	2.09	20.27	23.70	3.82	1.64	82.77	33.34	49.42
0808	5.00	22.46	2.73	2.33	19.51	21.00	2.43	1.58	77.03	32.51	44.52
0809	4.75	24.89	2.11	2.02	17.20	18.81	3.49	1.48	74.75	33.77	40.99
0810	3.77	24.32	1.81	1.99	15.52	17.45	2.89	1.43	69.18	31.90	37.28
0811	3.67	20.80	1.46	1.30	15.32	14.64	3.91	1.55	62.64	27.22	35.41
0812	5.62	18.07	2.73	1.75	14.73	15.94	2.60	0.87	62.31	28.17	34.15
0813	5.42	17.45	2.29	1.07	16.52	17.32	2.37	1.91	64.36	26.23	38.13
0814	5.78	23.64	2.53	1.30	26.36	19.35	6.22	3.22	88.40	33.26	55.15
0815	6.76	17.08	2.47	1.17	17.56	23.09	3.46	2.50	74.10	27.48	46.62
0816	4.57	19.89	2.60	1.19	17.71	18.70	2.61	2.97	70.24	28.25	41.99
0817	4.98	14.14	2.15	1.05	14.32	14.94	2.33	2.04	55.95	22.32	33.63
0819	6.04	20.57	2.69	1.34	21.78	15.93	7.88	2.23	78.47	30.64	47.82
0820	6.35	15.05	2.55	1.16	16.95	15.76	5.96	2.68	66.46	25.11	41.35
0821	5.13	22.29	2.77	1.67	22.81	21.85	7.47	1.85	85.84	31.85	53.99
0822	2.92	26.66	2.21	1.57	22.32	21.29	10.59	2.04	89.59	33.36	56.24
0824	3.70	15.71	1.99	1.21	15.97	14.62	5.24	1.33	59.76	22.61	37.16
0825	4.63	22.59	2.41	1.66	23.77	22.12	6.12	2.99	86.29	31.28	55.01
0826	6.98	25.62	3.88	1.47	20.12	23.99	3.15	2.52	87.74	37.95	49.78
0827	3.14	23.69	2.03	1.56	20.69	18.15	8.07	2.18	79.51	30.43	49.09
0828	3.41	21.17	1.87	1.38	16.80	13.98	8.01	1.30	67.92	27.83	40.09



0830	5.22	29.98	3.30	1.74	29.01	25.53	11.96	2.93	109.67	40.24	69.42
0831	5.62	17.64	2.87	1.01	11.25	14.82	3.00	2.48	58.70	27.13	31.57
0832	7.58	20.74	1.19	11.56	20.34	21.75	5.28	0.42	88.86	41.07	47.80
0833	5.99	18.17	2.62	1.24	16.15	11.90	3.13	2.65	61.85	28.02	33.83
0834	2.37	15.00	1.25	1.25	9.20	7.92	4.82	1.27	43.08	19.86	23.22
0835	3.15	13.30	1.33	1.08	10.78	12.05	1.99	2.12	45.81	18.86	26.95
0836	3.55	13.16	1.54	1.09	11.31	15.08	2.28	0.77	48.79	19.34	29.44
0839	4.32	12.94	1.69	1.07	9.28	10.91	1.69	0.99	42.88	20.01	22.87
0840	3.59	13.52	1.57	0.78	9.33	8.13	4.54	0.66	42.12	19.47	22.65
0841	3.81	10.48	1.56	0.82	7.34	7.22	1.25	0.53	33.02	16.68	16.34
0842	3.88	10.34	1.39	1.15	8.75	9.43	1.96	1.79	38.68	16.76	21.92
0843	2.14	12.08	1.12	0.87	5.66	7.82	1.65	0.42	31.77	16.21	15.55
0844	3.53	8.68	1.13	0.55	6.44	8.27	3.70	0.65	32.96	13.89	19.06
0845	3.86	5.51	1.18	0.64	6.23	7.59	1.90	0.56	27.47	11.19	16.27
0846	4.43	8.86	1.63	1.14	7.97	10.28	1.75	0.71	36.76	16.06	20.70
0847	3.50	13.02	1.67	1.03	9.90	10.12	3.54	0.60	43.39	19.23	24.16
0848	3.36	10.89	1.54	0.85	6.00	7.16	2.16	0.64	32.61	16.65	15.96
0849	3.70	6.91	1.32	0.55	6.52	8.10	3.37	0.47	30.94	12.47	18.47
0850	3.31	9.82	1.29	1.17	7.63	10.11	2.19	0.73	36.25	15.59	20.66
0851	4.59	20.55	2.70	1.39	17.74	16.53	6.21	1.02	70.74	29.24	41.51
0852	6.19	8.56	2.35	0.67	10.93	9.82	4.27	0.68	43.46	17.77	25.69
K-1	3.47	18.97	2.74	1.68	14.41	16.58	3.07	1.89	62.81	26.86	35.95
뉴천	3.99	23.19	2.94	1.87	17.31	20.66	3.39	2.08	75.43	31.98	43.45
금풍	5.20	5.91	1.90	0.55	9.29	10.97	2.73	1.67	38.21	13.56	24.65

지근에서도 높은 진세노사이드 함량을 보인 계통은 0801로 111.77mg/g으로 매우 높았으며, 0830과 0803계통은 100.0mg/g으로 매우 높은 함량을 보였다. 그 외 0805외 17계통이 70mg/g을 보였고 0810외 11계통이 50.0mg/g 이상의 함량을 보여 52계통 중 43계통의 함량을 나타냈다. 특히동체와 지근의 진세노사이드 함량이 100.0mg/g 이상을 보인 계통은 0801, 0803, 0805외 많은 계통에서 많은 함량을 보여 앞으로 고 진세노사이드 품종으로 유망한 계통이라고 본다.

표 49. 북미삼 계통의 부위별 진세노사이드 함량(mg/g)

부위	계통명	Rg1	Re	Rf	Rg2	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Total
동체	Q0802	-	38.93	-	0.26	33.32	3.94	0.73	1.42	78.61
	Q0803	-	35.68	-	0.28	31.41	3.63	0.71	0.71	72.43
	Q0804	-	35.31	-	0.29	40.37	4.87	0.83	1.37	83.03
	Q0805	-	25.93	-	-	41.62	2.81	0.69	0.74	71.79
	Q0806	7.29	28.76	-	-	23.36	3.68	0.73	0.66	64.49
	Q0807	0.92	35.31	-	-	47.07	3.76	0.82	1.12	89.01
	Q0808	-	49.07	-	-	41.03	4.80	0.90	0.84	96.64
	Q0809	-	36.40	-	-	54.31	5.66	1.33	2.40	100.09
	Q0810	2.86	62.43	-	0.35	52.48	5.17	0.57	1.43	125.30
	지근	Q0802	1.46	43.66	-	0.35	44.58	11.01	1.07	3.65
Q0803		0.60	38.83	-	0.36	40.91	7.59	0.73	1.41	90.43
Q0804		0.40	35.54	-	0.30	47.88	6.76	0.65	1.42	92.95
Q0805		0.56	33.38	-	0.28	51.23	8.27	0.80	0.88	95.40
Q0806		8.66	25.93	-	0.24	35.81	8.85	0.84	1.60	81.93
Q0807		0.97	37.22	-	0.46	57.91	10.81	0.96	2.04	110.36
Q0808		0.48	42.90	-	0.39	45.15	8.42	0.75	1.26	99.35
Q0809		0.67	37.43	-	0.50	54.65	12.02	1.11	2.96	109.35
Q0810		2.64	65.86	-	0.40	61.84	13.93	1.28	2.91	148.85

북미삼의 진세노사이드 함량은 동체와 지근에서 매우 높게 나왔다. 고려인삼보다는 몇 배 많은 계통도 있다. 그러나 Q0806을 제외한 8계통 모두가 Re와 Rb1의 함량이 90%이상이므로 매우 높은 반면 나머지 다른 진세노사이드 함량은 낮아 균형이 없는 함량을 보이고 있다. 이러한 특성을 고려인삼에 도입하는 연구도 수반되어야 할 것으로 본다.

표 50. 품종의 다당체 함량(mg/g)(위탁)

	동체	지근
K-1	0.14±0.019	0.16±0.070
G-1	0.16±0.104	0.17±0.030
천풍	0.19±0.071	0.21±0.036
선풍	0.18±0.055	0.19±0.037
연풍	0.17±0.040	0.19±0.045
뉴천	0.21±0.070	0.24±0.016
금풍	0.19±0.028	0.23±0.030

품종간의 산성다당체 함량은 뉴천을 비롯한 기존의 품종이 K-1과 G-1보다는 높은 경향을 보였다. 지근에서도 동체와 비슷한 경향을 보였다.

표 51. 품종 심사 및 유망계통의 산성다당체 함량(mg/g)(위탁)

	동체	지근
0301	0.15±0.081	0.13±0.034
0302	0.13±0.069	0.18±0.056
0303	0.14±0.064	0.17±0.021
진사(0304)	0.17±0.008	0.16±0.028
진삼(0305)	0.14±0.048	0.14±0.043

품종 유망 계통간에는 동체나 지근에서 함량 차이를 나타내지 않았다.

표 52. 07계통의 산성다당체 함량(mg/g)(위탁)

	동체	지근
0701	0.17±0.048	0.14±0.073
0702	0.13±0.072	0.15±0.033
0703	0.16±0.051	0.20±0.061
0704	0.14±0.074	0.18±0.013
0705	0.14±0.071	0.15±0.059
0706	0.15±0.058	0.13±0.046
0707	0.15±0.062	0.11±0.032
0708	0.09±0.011	0.13±0.025
0709	0.17±0.027	0.15±0.059
0710	0.19±0.003	0.17±0.046
0711	0.21±0.018	0.18±0.036
0712	0.23±0.037	0.20±0.066
0713	0.19±0.030	0.19±0.058
0714	0.19±0.040	0.18±0.084
0715	0.18±0.023	0.15±0.041
0716	0.18±0.067	0.16±0.076
0717	0.17±0.053	0.22±0.031
0718	0.18±0.045	0.13±0.047
0719	0.15±0.006	0.17±0.047
0720	0.16±0.008	0.15±0.041
0721	0.18±0.041	0.17±0.029
0722	0.16±0.077	0.16±0.072
0723	0.19±0.019	0.16±0.059
0724	0.18±0.013	0.17±0.049
0725	0.18±0.045	0.12±0.062
0726	0.16±0.032	0.15±0.072
0727	0.21±0.015	0.16±0.059
0728	0.19±0.060	0.16±0.051
0730	0.19±0.056	0.17±0.041
0731	0.19±0.036	0.14±0.027

7계통 31계통의 동체부위 분석치에서 0712외 2계통이 0.20mg/g 이상의 함량을 보였고, 0728외 12계통이 0.18mg/g 이상의 함량을 그 외 0708을 제외한 14계통의 함량도 0.13mg/g 이상의 함량을 보였다. 지근 부위에서는 0717외 2계통이 0.20mg/g 이상의 함량을 보였고, 0713외 3계통이 0.18mg/g 이상의 함량을 그 외 0707과 0725를 제외한 22계통의 함량도 0.13mg/g 이상의 함량을 보였다. 전반적으로 동체부위의 함량이 지근부위 함량보다 높은 경향으로 나타났다.

## 1년차 심사중인 진사와 진삼의 품종보호 출원서


민원인을 가족같이, 민원을 내일같이	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다. 담당자: 하나리 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr	
430-0116	경기도 안양시 만안구 안양로 184

### 품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2013.12.20	품종보호 출원번호: 출원 2013 - 554 품종명칭 출원번호: 명칭 2013 - 1713
------------------	---

작 물 명: 인삼  
 품종 명칭: 진사  
 출 원 인: 경희바이오홍삼영농조합법인  
 주 소: 경기도 포천시 동교동 412-1경희바이오홍삼영농조합

2013년12월20일

국립종자원 


민원인을 가족같이, 민원을 내일같이	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다. 담당자: 하나리 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr	
430-0116	경기도 안양시 만안구 안양로 184

### 품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2013.12.20	품종보호 출원번호: 출원 2013 - 553 품종명칭 출원번호: 명칭 2013 - 1712
------------------	---

작 물 명: 인삼  
 품종 명칭: 진삼  
 출 원 인: 경희바이오홍삼영농조합법인  
 주 소: 경기도 포천시 동교동 412-1경희바이오홍삼영농조합

2013년12월20일

국립종자원 

## 마. 기개발 분자 마커에 의한 종자의 순도검정

### (1) K-1 종자의 순도검정

#### (가) 대량 분석을 위한 DNA 추출법 및 과정

대량분석하기 위하여 (주) QIAGEN 대량 분쇄기기를 이용하여 100립의 인삼 종자 샘플을 마쇄하였다. 기존의 CTAB method를 인용한 DNA추출법을(genomic DNA 추출) 사용하여 K-1 종자에서 DNA를 추출하였다. 기 개발 분자마커를 이용하여 K-1 분자마커를 이용한 PCR 과정을 통해 100립 종자로 순도를 검정하였다(fig.1).

추출된 genomic DNA는 1.5% agrose gel에서 전기영동하여 상태를 확인한 후, UV/VIS spectrophotometer(Amersham bioscience, USA)를 사용하여 260 nm 와 280 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA 순도검정 및 정량을 실시하였다.



그림 2. The processing of DNA extraction from ginseng seed

(나) K-1 marker

① 분자마커 개발 방법

본 실험에서 사용한 인삼 K-1 마커는 ESTs의 상동성과 SNP분석을 통해 SeqManII의 assemble 분석 방법 통해 K-1만 specific하게 작용하는 분자마커를 개발하였다. 또한 기존 NCBI의 GenBank에 있는 ETs Data와 어떤 상동성이 있는지를 확인하기 위하여 NCBI에서 blastx를 사용하여 ESTs gene를 확인하였다.

```

      1110      1120      1130      1140      1150      1160      1170      1180      1190      1200
Hwangsook TAAATACTAATGAATACATTTATAAAGAAACCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAAGACAGACAAATCACTAAAAACAAATCT
Gumpoong  TAAATACTAATGAATACATTTATAAAGAAACCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAAGACAGACAAATCACTAAAAACAAATCT
Yunpoong  TAAATACTAATGAATACATTTATAAAGAAACCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAAGACAGACAAATCACTAAAAACAAATCT
Newchun   TAAATACTAATGAATACATTTATAAAGAAACCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAAGACAGACAAATCACTAAAAACAAATCT
chunpoong TAAATACTAATGAATACATTTATAAAGAAACCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAAGACAGACAAATCACTAAAAACAAATCT
Sunpoong  TAAATACTAATGAATACATTTATAAAGAAACCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAAGACAGACAAATCACTAAAAACAAATCT
Gopoong   TAAATACTAATGAATACATTTATAAAGAAACCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAAGACAGACAAATCACTAAAAACAAATCT
K-1       TAAATACTAATGAATACATTTATAAAGAAACCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAAGACAGACAAATCACTAAAAACAAATCT
Consensus *****
  
```

그림 3. CYP 450-like gene EST

② 100립 샘플 채취 : 4지역(해남, 고창, 김제, 포천)

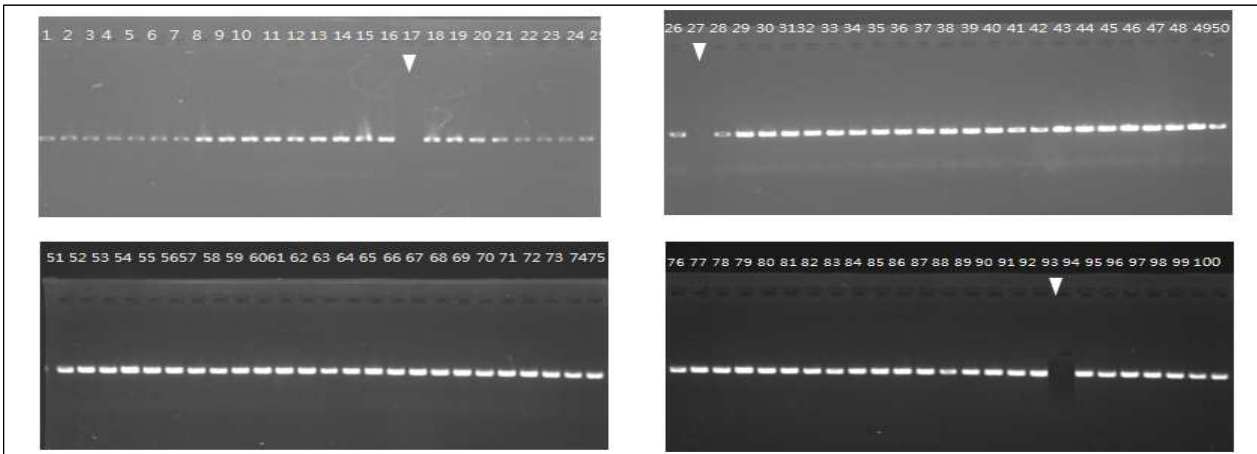


그림 4. 해남(1-25), 고창(26-50), 김제(51-75), 포천(76-100)

③ 결론 : 총 4지역(해남, 고창, 김제, 포천)에서 100립의 인삼 종자를 무작위로 채취하여 K-1 분자마커를 통해 확인 한 결과 총 97% 순도를 확인하였다.

(2) G-1 종자의 순도검정

(가) 대량 분석을 위한 DNA 추출법 및 과정

대량분석하기 위하여 (주) QIAGEN 대량 분쇄기기를 이용하여 100립의 인삼 종자 샘플을 마쇄하였다. 기존의 CTAB method를 인용한 DNA추출법을(genomic DNA 추출) 사용하여 G-1 종자에서 DNA를 추출하였다. 기 개발 분자마커를 이용하여 G-1 분자마커를 이용한 PCR 과정을 통해 100립의 종자 순도를 검정하였다. 추출된 genomic DNA는 1.5% agrose gel에서 전기영동하여 상태를 확인한 후, UV/VIS spectrophotometer(Amersham bioscience, USA)를 사용하여 260 nm와 280 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA 순도검정 및 정량을 실시하였다.

(나) G-1 marker

① 분자마커 개발 방법

본 실험에서 사용한 인삼 G-1 마커는 rDNA의 45S region에 대한 SNP분석을 통해 SeqMan II의 assemble분석 방법 통해 G-1만 specific하게 작용하는 분자마커를 개발하였다. 또한 기존 NCBI의 GenBank에 있는 rDNA region에 대한 Data와 어떤 상동성이 있는지를 확인하기 위하여 NCBI에서 blastx를 사용하여 SNP를 확인하였다.

```

          310          320          330
chunpoong  CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
yunpoong   CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
Gopoong    CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
Gumpoong   CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
Sunpoong   CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
Sunwon     CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
Sunweon    CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
chungsun   CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
chunwon    CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
chunweon   CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
chunpoong  CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
K-1        CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
G-1        CAAACGACTCTCBAACAACGGATATCTCGGCTCTCGC
*****

```

② 100립 샘플 채취 : 4지역(해남, 고창, 김제, 포천)

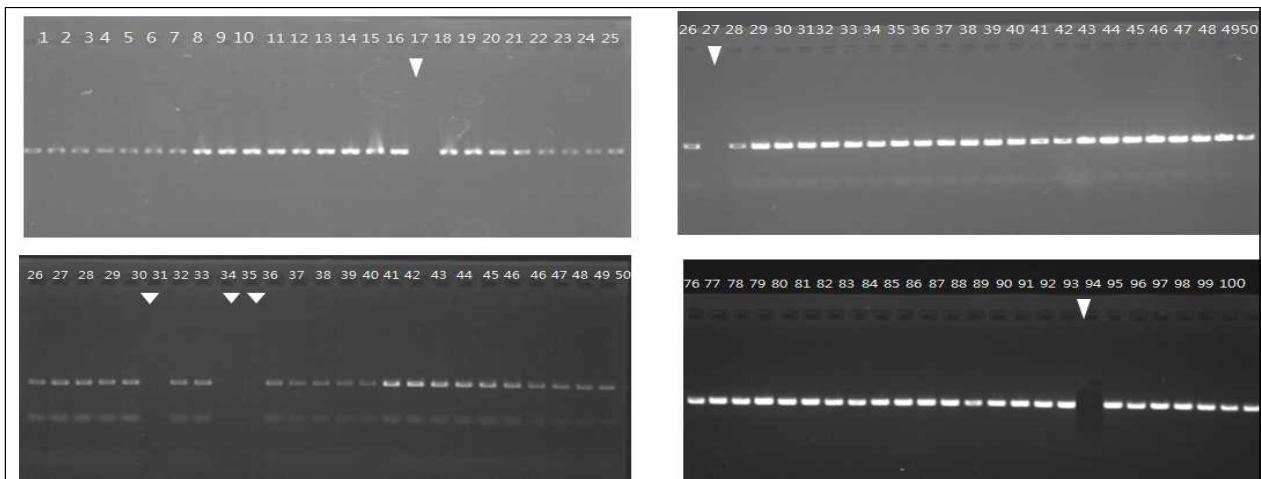


그림 5. rDNA 40S region 및 해남(1-25), 고창(26-50), 김제(51-75), 포천(76-100)

③ 결론 : 총 4지역(해남, 고창, 김제, 포천)에서 100립의 인삼 종자를 무작위로 채취하여 G-1 분자마커를 통해 확인 한 결과 총 94% 순도를 확인하였다.

바. 조기 신품종개발을 위한 유망 계통 3종의 DNA 분자마커의 개발

(1) 시료 genomic DNA 추출 및 정량

DNA 추출은 DNA kit를 사용하는 방법, NaoH-Tris 방법과 Lassner et al., (1989)의 2X CTAB 방법 등을 변형하여 사용하였다. 뿌리(Root)는 NaOH-Tris method 와 2X CTAB 방법을 변경하여 사용하였고, 생체 잎(leaf)은 Gene All Plant SV Kit(Gene All, Korea)의 프로토콜에 따라 genomic DNA 추출하였다.

genomic DNA 추출 방법 : 약 100 mg의 생체(Root) 시료를 막자사발에 넣고 액체질소를 사용하여 미세분말 상태로 마쇄하였다. 분말 시료를 500  $\mu$ l의 lysis buffer에 넣고 10  $\mu$ l proteinase K를 첨가한 후, 37°C 항온기에서 1시간 반응시킨 뒤 400  $\mu$ l의 CTBA 완충용액[(50 mM Tris-HCl[pH 8.0], 0.7 M NaCl, 50 mM EDTA(pH 8.0), 140 mM  $\beta$ -mercaptoethanol)]와 혼합한 다음 65°C 항온기에서 30분 처리하였다. 이 반응물에 페놀 : 클로로포름 : 이소아밀알콜 혼합액(25:24:1) 600  $\mu$ l를 넣어 위아래로 균질하게 잘 섞어 14,000 rpm으로 20°C에서 10분간 원심분리하여 상등액을 600  $\mu$ l를 취하고 여기에 클로로



포름 : 이소아밀알콜 혼합액(24:1) 600  $\mu$ l와 증류수 300  $\mu$ l를 첨가하여 완전히 섞이도록 흔들어 준 다음, 14,000 rpm / 20°C에서 10분동안 원심분리하였다. 상등액 600  $\mu$ l를 새로운 E-tube에 넣고 isopropanol 600  $\mu$ l를 첨가한 다음 수차례 invert한 뒤 10분간 방치하여 14,000 rpm / 20°C에서 10분간 원심분리 한다. 침전된 DNA를 70% 에탄올 500  $\mu$ l로 2~3회 세척하고 상온에서 자연건조 시켰다. 건조된 DNA를 20~30  $\mu$ l 멸균된 3차 증류수에 녹여 4°C에서 1시간동안 방치한 후 10 mg/ml RNase를 첨가하고 37°C항온기에서 1시간동안 반응시킨다. 추출된 DNA를 1% agarose gel에서 전기영동하여 확인한 후 UV spectrophotometer를 사용하여 260 nm와 280 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA 순도검정 및 정량을 실시하였다.

생체 잎(leaf) genomic DNA 추출 방법 : 생체는 흐르는 수돗물로 표면을 깨끗이 씻어주고 paper towel을 이용하여 수분을 제거한 후에 사용한다. 세척 후 막대사발에 넣고 액체질소를 부어 완전히 마쇄한 후에 분말 50 mg정도를 멸균한 1.5 ml Eppendorf tube에 넣는다.

그리고 녹기 전에 추출 buffer를 넣어 genomic DNA를 분리·정제하였다(Gell All Plant SV Kit, Korea). 추출된 genomic DNA는 1.0% agarose gel에서 전기영동하여 상태를 확인 후, UV/VIS spectrophotometer(Amersham bioscience, USA)를 사용하여 206 nm와 208 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA 순도검정 및 정량을 실시하였다. 한약재 시료의 경우 DNA 정제 방법을 통해 시료를 정제한다.

## (2) PCR 증폭

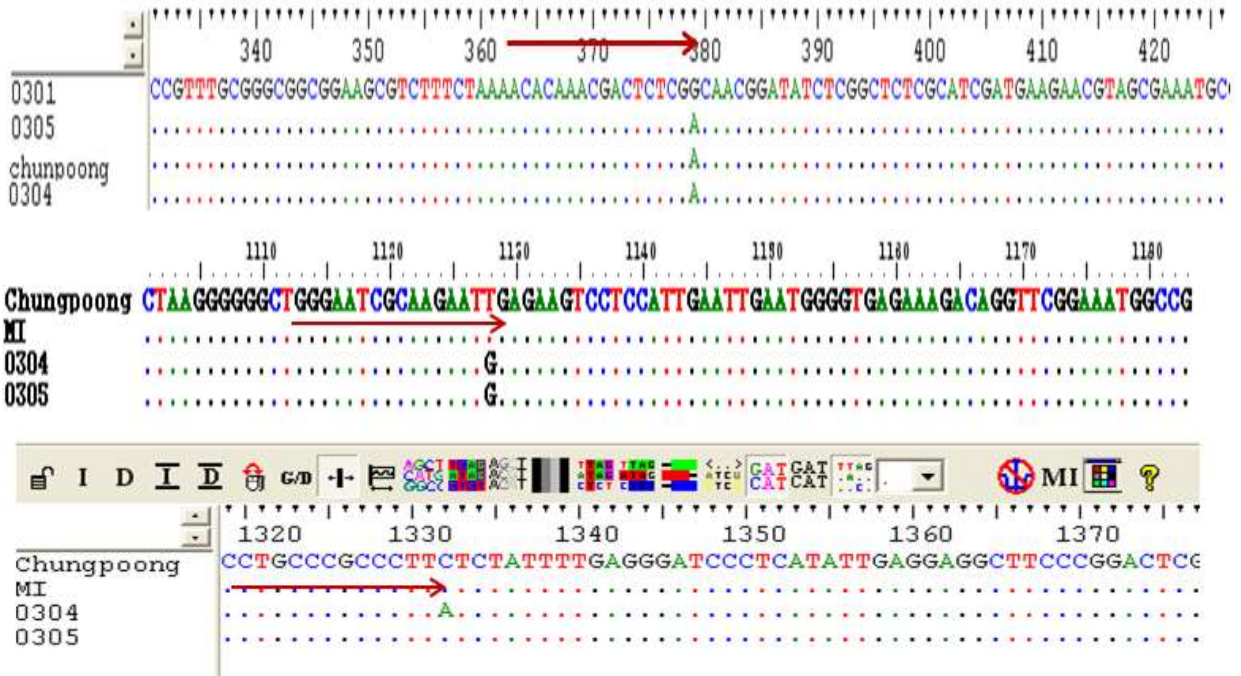
### (가) Cox2 intron 2-3영역의 PCR 증폭

PCR 증폭은 AStec PCR 기기(Astec PCR, Korea)를 사용하였다. 본 실험에서 사용한 Cox2 intron 2-3영역의 oligonucleotide는 전문 업체에 의뢰하여 합성된 것을 사용하였다(Genotec, Inc., Korea). Cox2 intron 2-3염기서열을 결정하기 위해, Cox2 intron 2-3 영역의 universal primer인 cox2/2(forward)와 cox2/3(reverse) 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 수행하였다(Fig. 1).

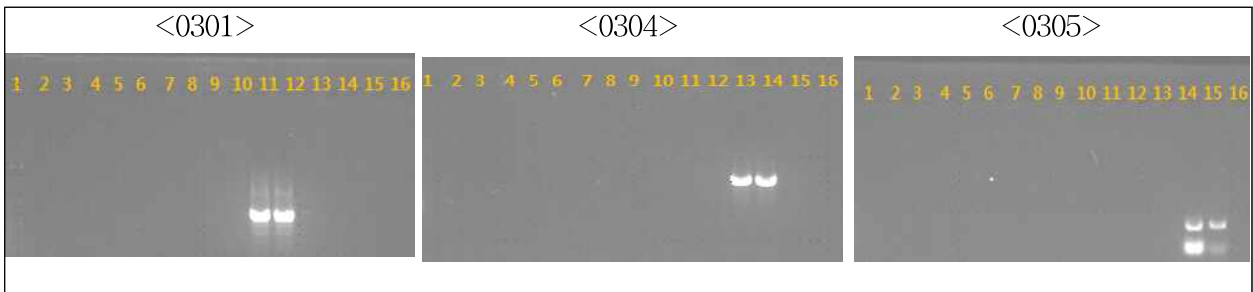
프라이머의 염기서열은 cox2/2 (5'-TAGRAACAGCTTCTACGACG-3')와 cox2/3(5'-GRGTTTACTATGGTCAGTGC-3')이었으며, PCR condition은 pre-denaturation 96°C, 2 min ; denaturation 96°C, 30 sec ; annealing 50°C, 30 sec ; extension 72°C, 90 sec ; 36 cycles 이었다. 증폭된 PCR 산물을 정제하여 염기서열을 결정하였다.

### (나) 유망 계통 3종의 분자마커 개발

고 사포닌 유망 계통 0301, 0304, 0305 line에 특이적으로 나타낼 수 있는 specific primer를 Cox2 intron 2-3 region에서 염기서열 분석을 통하여 해당 종에만 특이적으로 나타나는 염기서열(SNP)를 탐색하여 specific primer 0304, 0305F, R를 디자인하였다. 각 SNP primer는 말단에서 mismatch 시켜 디자인하였으며, 특이 프라이머 염기서열은 각각 다음과 같이 디자인하였다.



(다) 유망 계통 3종의 분자마커 개발



사. 분자 마커에 의한 순도 검정

(1) 0301,0304,0305 종자의 순도검정

(가) 대량 분석을 위한 DNA 추출법 및 과정

대량분석하기 위하여 (주) QIAGEN 대량 분쇄기기를 이용하여 100립의 인삼 종자 샘플을 마쇄하였다. 기존의 CTAB method를 인용한 DNA추출법을(genomic DNA 추출) 사용하여 0301,0304,0305 종자에서 DNA를 추출하였다. 개발 분자마커를 이용하여 0301,0304,0305 분자마커를 이용한 PCR 과정을 통해 100립의 종자 순도를 검정하였다.

추출된 genomic DNA는 1.5% agrose gel에서 전기영동하여 상태를 확인한 후, UV/VIS spectrophotometer(Amersham bioscience, USA)를 사용하여 260 nm와 280 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA 순도검정 및 정량을 실시하였다.

(나) 0301,0304,0305 marker

① 분자마커 개발 방법

본 실험에서 사용한 인삼 0301,0304,0305 마커는 rDNA의 45S region에 대한 SNP분석을 통해 SeqManII의 assemble 분석 방법 통해 specific하게 작용하는 분자 마커를 개발하였다. 또한 기존 NCBI의 GenBank에 있는 mtDNA region에 대한 Data와 어떤 상동성이 있는지를 확인하기 위하여 NCBI에서 blastx를 사용하여 SNP를 확인하였다.

② 5년생 계통의 사포닌 및 산성다당체 분석

- ㉠ K-1과 G-1을 비롯한 기 육성된 품종의 동체와 지근부위 진세노사이드 분석
- ㉡ 품종 유망계통 0301외 4계통의 동체와 지근부위 진세노사이드 분석
- ㉢ 0801외 51계통의 동체와 지근부위 진세노사이드 분석
- ㉣ 0701외 30계통의 동체와 지근부위 산성다당체 분석

아. 기개발 분자 마커에 의한 종자의 순도검정

(1) K-1 종자의 순도검정

(가) 대량 분석을 위한 DNA 추출법 및 과정

대량분석 방법은 전년도 방법에 준하여 실시하였음.

(나) 진사, 진삼 marker

① 분자마커 개발 방법

본 실험에서 사용한 진사와 진삼 품종 마커는 ESTs의 상동성과 SNP분석을 통해 SeqManII의 assemble 분석 방법 통해 이 두 품종에서 만 specific하게 작용하는 분자마커를 개발하였다. 또한 기존 NCBI의 GenBank에 있는 ETs Data와 어떤 상동성이 있는지를 확인하기 위하여 NCBI에서 blastx를 사용하여 ESTs gene를 확인 하였다.

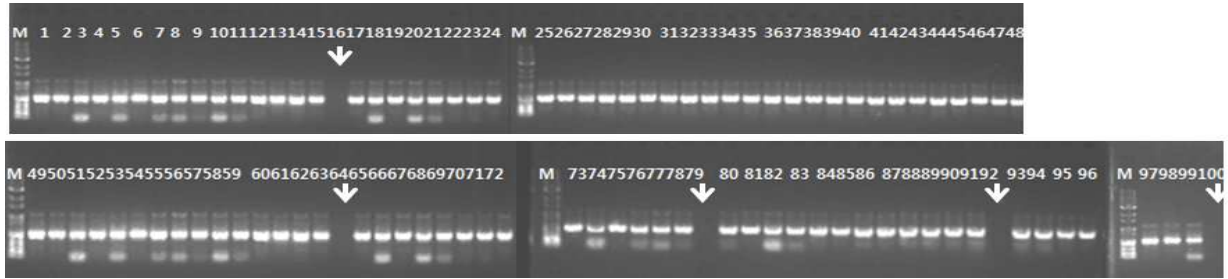
	1110	1120	1130	1140	1150	1160	1170	1180	1190	1200
Hwangsook	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....	TAAAAATAC	TAATGAATACATTTA	TAAAAGARBCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAGACAGACAAATCACTAAAAACRAATCT						
Gumpoong	TAAAAATAC	TAATGAATACATTTA	TAAAAGARBCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAGACAGACAAATCACTAAAAACRAATCT							
Yunpoong	TAAAAATAC	TAATGAATACATTTA	TAAAAGARBCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAGACAGACAAATCACTAAAAACRAATCT							
Newchun	TAAAAATAC	TAATGAATACATTTA	TAAAAGARBCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAGACAGACAAATCACTAAAAACRAATCT							
chunpoong	TAAAAATAC	TAATGAATACATTTA	TAAAAGARBCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAGACAGACAAATCACTAAAAACRAATCT							
Sunpoong	TAAAAATAC	TAATGAATACATTTA	TAAAAGARBCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAGACAGACAAATCACTAAAAACRAATCT							
Gopoong	TAAAAATAC	TAATGAATACATTTA	TAAAAGARBCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAGACAGACAAATCACTAAAAACRAATCT							
K-1	TAAAAATAC	TAATGAATACATTTA	TAAAAGARBCAATACGTTTGTGGGTCTTCTTAGATGCGCAAAAAAATTGAAGACAGACAAATCACTAAAAACRAATCT							
Consensus	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****

그림 6. CYP 450-like gene EST

② 5년생 계통의 사포닌 및 산성다당체 분석

위 분석치는 앞장 협동과제에 포함하여 표에 (위탁)으로 표시하였음.

③ K-1순도검정을 위한 샘플 채취 : 2지역(고창, 김제)



④ 결론 : 총 2지역(고창, 김제)에서 각각 50립의 인삼 종자를 무작위로 채취하여 K-1 분자마커를 통해 확인 한 결과 고창(1-50)에서는 98%를 김제(51-100)에서는 92% 순도를 확인하였다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

연구목표	연구성과	관련분야 기여도	달성도(%)
① 항피로 에너지/스포츠 소재 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 인삼 성분 조절에 따른 항피로 효과 검정 (국내 운동선수 대상 임상실험)</li> <li>- 항피로 소재(M4) 활용 시제품 생산 및 미국 현지인 대상 임상실험</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 국제 임상 실험을 통한 인삼의 항피로 관련 우수성 검정</li> </ul>	100
② 인플루엔자 억제 활성에 기초한 면역증진용 인삼제품 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 한외여과를 활용한 항인플루엔자 활성 성분 분리 및 임상실험을 통한 활성 검정</li> <li>- 진세노사이드 Re가 강화된 인삼 소재 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 한외 여과 기술을 활용한 인삼의 유효성분의 조절 및 이를 통한 성분/효능 맞춤형 제품 개발이 가능</li> </ul>	100
③ 미주시장 부합형 기호성 개선 인삼 가공기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 선택적 인삼추출 모델의 표준화 공정 설정</li> <li>- 미국 수출용 인삼 음료 2종 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 인삼의 쓴맛, 흙냄새 등 관능적으로 부정적인 요인을 해소함으로써 향후 미국, 유럽 등의 시장 확대를 기대할 수 있음</li> </ul>	100
④ 면역증진 기능성 인삼제품의 제형 및 제품 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 원료 표준화 및 기준 규격 설정</li> <li>- 면역 활성이 증진된 인삼 제품 “Ginseng Immune Up” 및 “Ginst Immune Up” 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기존 인삼 제품의 품지 관리 체계를 원료 표준화, 성분 표준화, 시험 방법 표준화, 공정 표준화를 통한 제품 품질관리 체계를 확보함</li> </ul>	100
⑤ 사포닌 고함유 고기능성 안전 인삼 생산 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 개발된 K-1과 G-1의 특성 및 산지적응시험</li> <li>- 신제품 “진삼” “진사” 2개 품종 출원</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 인삼의 특정 성분(진세노사이드)을 강화할 수 있는 육종 기술 및 품종 구별을 위한 분자수준 바이오 마커는 육종 기간의 단축 및 순도 검정에 유용하게 사용될 수 있는 기술임</li> </ul>	100

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### 제 1절 연구목표 대비 연구개발 성과

연구목표	연구성과
① 항피로 에너지/스포츠 소재 개발	- 인삼 성분 조절에 따른 항피로 효과 검정 (국내 운동선수 대상 임상실험) - 항피로 소재(M4) 활용 시제품 생산 및 미국 현지인 대상 임상실험
② 인플루엔자 억제 활성에 기초한 면역증진용 인삼제품 개발	- 한외여과를 활용한 항인플루엔자 활성 성분 분리 및 임상실험을 통한 활성 검정 - 진세노사이드 Re가 강화된 인삼 소재 개발
③ 미주시장 부합형 기호성 개선 인삼 가공기술 개발	- 선택적 인삼추출 모델의 표준화 공정 설정 - 미국 수출용 인삼 음료 2종 개발
④ 면역증진 기능성 인삼제품의 제형 및 제품 개발	- 원료 표준화 및 기준 규격 설정 - 면역 활성이 증진된 인삼 제품 “Ginseng Immune Up” 및 “Ginst Immune Up” 개발
⑤ 사포닌 고함유 고기능성 안전 인삼 생산 기술	- 개발된 K-1과 G-1의 특성 및 산지적응시험 - 신제품 “진삼” “진사” 2개 품종 출원

성과목표	사업화지표								연구기반지표								
	지식 재산권		기술이전	사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구활용 등)
	출원	등록		제품화	기술창업	매출창업	고용창업	투자유치		논문		학술발표			정책 활용	홍보 전시	
										SCI	비 SCI						
최종목표	10	4	3						10	7		5		1	10		
연구기간 내 달성실적	21	6	7	2					14	5	4	7	9		14		
달성율(%)	200	150	230						140	70		140			140		

### 제 2절 연구개발 성과 활용 계획

- 항산화/피로회복 제품개발 기술을 활용하여 건강기능식품 및 건강지향식품 개발하여 상품화 할 계획이며, 기술을 응용하여 또 다른 분야의 제품개발에 적용할 수 있음
- 한외여과를 활용한 인삼의 유효성분 분리기술을 확대하여 타겟 효능에 적합한 소재 개발이 가능하며, 참여기업인 (주)일화의 면역증진 제품 개발에 관련 기술을 이전하여 상품화 할 수 있음

을 것으로 판단됨

- 선택적 추출 기술을 이용한 인삼의 기호성이 증진된 소재 개발 기술은 이미 업체에 기술이전이 완료 되었으며, 미국 시장 진출을 위한 상용화가 이루어질 것으로 판단됨
- 인삼 종주국으로서 인삼 품종의 구별, 외국삼과의 차별화를 위한 기술로 활용 가능하며, 향후 신제품 개발시 연구기간 단축 및 순도 검정 기술로 활용될 수 있음

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 제 1절 미국 FDA의 식품 정책 및 동향

#### 1. 해외시장 진출 목표 및 중요성

미국의 건강기능식품 시장은 최근 몇 년 동안 활발한 성장을 이뤄내고 있다. 경제적인 불안 상황 속에서도 건강기능식품 시장은 쑥 성장하고 있는 추세이며 세계에서 가장 빠르게 성장하는 산업으로 알려져 있다. Packaged Facts의 최근 「미국의 건강기능식품 (Nutritional Supplements in the US)」 리포트에 따르면, 미국 건강기능식품 판매는 2012년에 7% 상승하여 \$11.5 billion에 도달했으며, 2017년까지는 \$15.5 billion에 도달할 것으로 예측된다.

기능식품의 종류는 비타민, 칼슘 알약에서부터 단백질 셰이크, 다이어트 알약과 스포츠 음료, 에너지 음료 등으로 아주 다양하다. 균형 잡힌 식단으로 영양소를 획득하는 것이 어려운 바쁜 현대인들은 이러한 건강기능식품을 사용하여 부족한 영양소를 획득한다. 건강기능식품을 통해 신체가 요구하는 모든 기초 영양소를 획득하는 것이 가능하며 미국에 있는 대부분의 성인이 건강한 삶을 영위하기 위한 방법으로 기능식품을 사용하고, 일반 소비자가 아닌 건강전문가 또한 일상적으로 기능식품을 사용한다. 실제로 미국 성인 2명 중 1명은 종합 비타민, 미네랄, 허브 등의 건강기능식품을 사용하는 것으로 보고되었다.

이러한 건강기능식품 시장의 성장과 상승세의 이유에는 여러 가지 요인이 있을 수 있다. 상대적으로 나이 든 세대들이 노화의 영향을 최소화하기 위하여 기능식품을 사용하는 것이 그 중 한 가지 요인이며, 젊은 세대들 또한 근육을 키우고 체중을 감소하고 잠을 깨기 위해 기능식품을 사용한다는 것이 또 다른 요인이다. 건강에 대한 관심과 의사 방문과 처방전과 같은 전통적인 치료법보다 비용이 저렴한 대안 방법을 찾는 소비자들이 점점 늘어나고 있는 것 또한 그 이유가 될 수 있다. 이처럼 기능식품은 사람들의 생활에 밀접한 관련이 있다.

미국에서는 기능식품에 대해 의약품에 적용되는 것과 같은 강력한 법을 요구하지 않으며 이러한 종류의 식품은 강력한 규정으로 규제되지 않는다. 따라서 제조자들은 기능식품의 안전성이나 효용성을 입증할 필요가 없으며 미국으로 건강기능식품을 수출하는 것이 의약품 수출하는 것에 비해 훨씬 용이하다.

건강기능식품 시장은 세기가 바뀌는 동안 꾸준히 성장해왔으며 앞으로 더 커질 것으로 전망되며 그 미래는 아주 밝다. 그러기에 2명에 1명 꼴로 건강기능식품을 섭취하는 큰 시장을 가진 미국에 제품을 수출하는 것은 상당히 중요한 일이라 여겨진다.



## 제 2절 건강기능식품 FDA 관리제도 및 정책

### 1. 미국의 건강기능식품 관리제도

가. 건강기능식품이란 무엇인가?

- 식사를 보충하고,
- 구성 성분에 한 개나 그 이상의 식이 성분을 함유하고,
- 알약, 캡슐, 액체의 형태로 입으로 섭취되며,
- 제품의 앞면에 'Dietary Supplement'라고 표기되는 제품.

건강기능식품은 특정 식품성분의 섭취를 보강하기 위한 목적을 가지며 추가적인 식이 성분을 포함하고 있는 제품을 말하며 의약품이 아닌 식품으로 분류된다. 건강기능식품은 알약, 캡슐, 파우더, 에너지 바, 액체 등의 다양한 형태로 도입되며 이러한 제품은 미국 전역과 인터넷에서 판매되고 있다. 그리고 그 라벨엔 'Dietary Supplements'라고 표기되어 있다.

나. 건강기능식품의 원료

원료에는 비타민, 미네랄, 아미노산, 허브, 식물 성분이나 식사를 보충할 수 있는 다른 여러 가지 물질이 포함된다.

- 비타민과 미네랄 제품.
- "식물" 혹은 허브 제품 - 이러한 제품은 다양한 형태로 도입되며 식물 재료, 조류 (algae), 육안으로 보이는 균류 (macroscopic fungi), 또는 이러한 물질의 혼합물이 포함.
- 아미노산 제품 - 아미노산은 단백질을 형성하고 신진대사를 원활히 하는 데에 효과가 있다고 알려짐.
- 효소제 - 효소 (enzymes) 는 생화학반응을 촉진시키는 복합단백질의 일종.

다. 건강기능식품의 이점은?

건강기능식품은 필수 영양소의 충분한 식이 섭취를 도와준다. 그러나 이것은 건강한 식단에 필수적인 다양한 종류의 음식 섭취를 대체하지는 못한다. 건강기능식품은 음식 섭취를 대체해서는 안되며, 다양한 음식이 우선적으로 섭취되는 것을 전제로 섭취 보조의 역할을 해야 한다.

라. 건강기능식품 표시관련 제도

1994년 발효된 'the Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA)'에 의해 건강기능식품의 제조 기업은 건강기능식품이 안전하며, 그것을 설명하는 문구나 주장이 잘못되거나 오해의 소지를 불러일으키지 않는다는 것을 충분히 보여주기 위한 증거를 가지고 있어야 한다.

## 2. 미국의 Dietary supplements 관련 정책

### 가. 인증? 승인?

의약품이 시판되기 전 안전성과 효능을 입증해야만 하는 것과는 달리, 건강기능식품은 일반식품에 대한 FDA 인증, 승인이 없는 것과 마찬가지로 FDA의 인증, 승인의 대상이 아니다. (일반식품에 대한 FDA 요구사항은 적합한 레이블링과 공장등록, 제품등록 <열가공식품> 의 과정이다.) 시판되기 전 FDA의 승인은 필요하지 않다. 그러나 건강기능식품이 신물질 (New Dietary Ingredient) 을 포함하고 있는 경우에는 안전을 위해서 FDA에 의해 검토되어야 한다.

제조자들은 건강기능식품을 생산하고 판매하기 전 Bioterrorism Act에 근거하여 FDA에 등록을 해야 한다. 2007년 6월, FDA는 건강기능식품을 제조하고 포장, 보유하고 있는 기업들을 대상으로 한 포괄적인 규정 'Current Good Manufacturing Practices'를 발표했다. 이 규정은 건강기능식품의 독자성, 순도, 그리고 품질 등을 확신하는 관리기준에 초점을 맞추고 있다.

또한 건강기능식품의 제조자와 유통자는 제조 상품과 관련된 모든 심각한 부작용을 기록하고 조사하며 FDA에 알려야만 한다. 부작용 보고에 대한 추가 정보는 아래의 사이트에서 찾아볼 수 있다.

<http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/ReportAdverseEvent/ucm111110.htm>

### 나. GRAS (Generally Recognized As Safe)

#### (1) GRAS란?

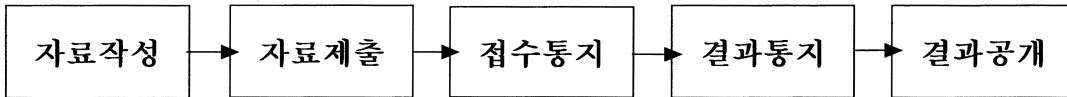
- 안전성 평가 결과 일반적으로 안전하다고 승인된 물질.
- FDA의 승인을 받은 물질은 미국연방규정집(CFR)에 등재.
- 색소 첨가물(Part 73, 74), 식품 첨가물(Part 172, 173), GRAS(Part 182, 184)
- NDIN 신청절차와 동일.
- 관련기관: FDA CFSAN, Office of Food Additive Safety.
- GRAS 물질로 인정받으려면 FDA GRAS Notifications 절차에 따라 신청서(청원서)를 제출해야 함. (관련규정 GRAS Proposal 62 FR 18937)

#### (2) GRAS 신청 시 필요한 자료

- 신청자의 이름 및 주소.
- 신청 물질의 명명법 (Common or Usual Name.)
- 신청 물질의 용도 (적용 제품, 제품에 대한 사용량, 사용목적, 물질의 예상수요 등.)
- GRAS 판단 근거 등에 대한 일반적인 자료.
- 신청 물질에 관한 모든 이·화학적 Data, 제조방법, 규격 등에 관한 이·화학 자료.

- 신청 물질의 사용량, 안전성을 입증할 수 있는 독성 및 임상자료.
- 기타 GRAS 물질임을 입증할 수 있는 자료 등.

(3) GRAS 신청 절차



- (2)의 자료를 준비하여 완성된 신청서를 FDA CFSAN Office of Food Additive Safety기관으로 제출.
- 제출된 신청서에 대하여 접수 후 30일 이내 접수통지 받을 수 있음
- 통상적으로 90일 이내에 결과통지 받을 수 있음
- 결과확인(<http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-gras.html>)

(4) GRAS 국내인정원료

GRN No.	원료명	기원	기능성	업체	등록일자
309	흑효모배양액분말	흑효모	뼈 건강에 도움을 줄 수 있으나 관련 인체적용시험이 미흡함(기타기능 III)	글루칸	2009.12.17
352	D-타가토스	천연당류	식후 혈당조절에 도움을 줄 수 있음(기타기능 II)	CJ제일제당	2010.08.20
393	스테비올 배당체(Rebaudioside A)	스테비아	국내 개별인정 진행 x	대평	2011.07.29
395	스테비올 배당체(Rebaudioside A, stevioside)	스테비아		대평	2011.08.01
400	D-프시코오스	천연당류		CJ제일제당	2011.08.25

다. NDI (New Dietary Ingredient)

(1) NDI란?

1994년 10월 15일 이전에 미국 내에서 건강기능식품으로 판매된 적이 없는 원료를 말함. (Section 413(d) of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (the act), 21 U.S.C. 350b(d))

(2) 신규 식이 원료 (NDI) 를 건강기능식품의 원료로 사용할 때 절차

- 해당 품목이 ‘식이 원료’인지 검토 (아래 항목에 해당되지 않으면 NDI가 아님.)
  - 비타민과 미네랄, 식물 혹은 허브, 아미노산.
  - 식사를 보충하기 위해 사람이 사용할 수 있는 물질 (예, 효소나 장기나 선 <glands> 으로부터 얻어진 조직.)
  - 농축물, 대사산물 (metabolite) , 구성요소 (constituent) 나 추출물 혹은 이에 포함된 성분
- 의약품 여부 확인 (의약품은 NDI가 될 수 없음.)

- 미국에서 1994년 10월 15일 이전에 건강기능식품에 사용된 적이 있는지 검토.

(3) NDI 신청 시 필요한 자료

- 제출자 성명과 주소.
- 신규 식이 원료의 명칭.
- 신규 식이 원료가 들어 있는 건강기능식품 설명.
  - 제품에 함유된 해당 신규 식이 원료의 수준
  - 표지에 서술된 해당 제품의 사용조건 또는 일반적 사용조건.
  - 사용 역사 또는 해당 식이 원료를 제품 표지에서 권고하였거나, 제안한 조건에서 사용 시 안전성 근거자료.
  - 안전성 근거 자료로 논문 또는 해당원료를 이용해 실시한 독성연구 자료가 이용될 수 있음.
- 담당자 사인.

(4) NDI 신청 절차

- 통지문은 원본과 사본 2부 제출 (시판 75일 전에 FDA에 통지.)
- FDA는 접수 후 90일간 모든 정보를 기밀로 취급.
- 접수 후 90일 쯤 모든 자료를 대중에게 공개 (기업 비밀에 해당하는 정보는 제외.)
- 통지하는데 별도로 필요한 비용은 없음.

(5) NDI 국내인정원료

원료명	기원	기능성	업체	제출일자	공개일자
SEANOL-F	감태	혈당조절/콜레스테롤 개선(개별인정 검토중)	LIVECHEM	2008.07.28	2008.10
EstroG-100	백수오, 숙단, 당귀	갱년기 여성의 건강에 도움을 줄 수 있음(기타기능 II)	㈜네추럴엔도텍	2006.07.25	2006.10
Kiwi Berry Extract	다래	면역 과민반응 개선에 도움을 줄 수 있음(기타기능 II)	바이로메드	2005.09.26	2005.12

아래의 사이트에서 NDI에 대한 보다 자세한 정보를 찾아볼 수 있다.

<http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/NewDietaryIngredientsNotificationProcess/ucm109764.htm>

라. 레이블링 (Labeling)

일반식품과 마찬가지로 건강기능식품에 있어서도 레이블링은 의무사항이다. 일반식품의 라벨에는 'Nutrition Facts'가 표기되어야 하는 반면 건강기능식품의 라벨에는 '영양성분 표시(Supplement Facts)'가 정확히 표기되어 있어야 한다. 제품이 '보충제 (supplement)'라는 것을 서술하는 제품의 이름, 제조 기업과 기업의 주소, 배급/유통 기업, 완전한 성분 리스트, 제품의 실중량과 같은 정보가 각각의 건강기능식품의 라벨에 "Supplement Facts"의 형태로 표기되어야 한다.

건강기능식품은 의약품과는 달리 질병을 치료하거나, 진단, 예방, 고치도록 의도되어 있지 않다. 이것은 건강기능식품이 "관절 통증을 경감시킨다" 혹은 "심장병을 치료한다"

등의 주장을 사용해서는 안 된다는 것을 말한다. 이러한 주장은 건강기능식품이 아닌 오직 의약품에만 합법적으로 사용될 수 있으며 이러한 치료나 개선 효과를 표기하는 경우엔 건강기능식품이 의약품으로 오인될 가능성이 존재하므로 각별히 주의하여야 한다. 식품의 라벨에 사용할 수 있는 주장 (claim) 에 대한 추가 정보는 아래의 사이트에서 찾아볼 수 있다.

<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/LabelingNutrition/ucm111447.htm>

또한 제조자 (그리고 유통자) 는 이 성분이 사용시에 왜 안전한지를 FDA에게 증명할 수 있어야 한다.

#### 마. 열가공식품등록 (FCE, SID)

FDA는 LACF 규정 (저산성 밀봉식품 규정) 에 따라 제조과정 중에 열 가공 공정을 포함하고, 제품의 수분활성도가 0.85 이상이며, 진공포장 (질소충전 포장) 을 하며, 상온 유통되는 제품의 등록을 요구한다. FDA 등록대상 열 가공 식품의 종류에는 저산성식품 (Low Acid Food, 21 CFR 108.25, 일반음료, 소스, 통조림, 양갱, 즉석쌀밥, 두유, 쌀음료) 과 산성화된 식품 (Acidified Food, 21 CFR 108.35, 알로에음료, 홍삼음료, 과일 음료) 이 있다.

- FCE (Food Canning Establishment): 열 가공 식품 제조공장 등록 - 시설등록 (FR) 번호 , 핀 넘버, 공장에서 제조되는 제품 정보.
- SID (Submission Identifier): 열 가공 식품 공정등록 (살균공정) - 제품 제조의 전반적인 공정 정보.

#### 바. 시설등록, 사전신고 (FR, PN)

2003년 12월 12일 발효되어 시행된 Bio-terrorism Act에 근거하여 미국 내에서 유통되는 모든 식품제조공장 및 시판업체는 FDA에 의무적으로 등록되어야 하며, 수입식품의 경우에는 등록 뿐만 아니라 미국에 식품이 도착하기 전 식품수입현황이 FDA에 보고되어야 한다.

- FR (Facility Registration): 공장등록 - 공장의 주소지, 연락처, 공장의 소유자, 공장에서 생산되는 제품의 형태.
- PN (Prior Notice): 사전신고

## 제 3절 건강기능식품 시장 동향

### 1. 건강기능식품 시장조사

#### 가. 전반적인 Market Segment

Packaged Facts의 최근 「미국의 건강기능식품 (Nutritional Supplements in the U

S)」 리포트에 따르면 특정한 조건을 가진 기능식품이 시장을 선두하고 있지만 종합 비타민 시장은 감소했다고 밝힌다. 또한 소화 보조제 (digestive supplements), 특히 프로바이오틱스, 그리고 오메가-3는 상승률을 보이고 있다. 관절 보조제는 작년에 비해 14%의 증가를 기록하여 \$140 million의 판매를 기록했으며 눈 보조제는 9% 증가하여 \$114 million의 판매를 성취했다. 그러나 뼈 건강 보조제, 특히 칼슘 보조제는 감소를 보였다. 에너지 보조제도 상당한 손실이 있었는데, 이는 소비자들이 보조제를 섭취하는 대신 에너지 샷 제품에 눈을 돌리고 있기 때문이다. 이러한 제품들은 소비자들이 편리하게 접하고 소비할 수 있으며, 가게에 비치되어 소비자들의 충동 구매를 불러일으키기 때문에 상승폭을 보인 것으로 예측된다.

나. 건강기능식품 성분 별 판매량

표 1. 2006년~2010년의 미국 내 건강기능식품 성분 별 판매량

구분	(단위: 백만 달러, %)					
	2006	2007	2008	2009	2010	CAGR
식이보조제품	8,579.6	9,219.6	9,768.3	10,231.2	10,722.7	5.9
-복합 식이보충용제품	1,093.2	1,238.6	1,325.3	1,371.70	1,408.8	7.2
-허브/전통 식이보충용제품	2,989.0	3,145.2	3,248.2	3,265.60	3,281.0	3.0
복합 허브/전통 식이보충용제품	555.3	611.1	650.1	669.4	677.6	5.9
에키나시아	126.3	123.2	121.7	126.2	129.7	-3.2
달맞이꽃 종자유	33.6	31.6	29.5	29.9	29.5	-4.8
마늘	154.7	140	129	119.8	112.4	-7.3
은행잎 추출물	103	104.6	99.3	97.8	95.6	-2.1
인삼	97	98	90.3	86.3	83.4	-2.2
서양고추나무(세인트존스워트)	57.8	56.6	55.6	54.4	55.8	-1.7
기타 허브/전통 보조제	1,861.3	1,980.1	2,072.8	2,081.9	2,096.9	4.3
-비 허브 식이보충용제품	5,590.6	6,074.4	6,520.1	6,965.6	7,441.7	7.4
칼슘보충제	1,070.9	1,090.2	1,133.8	1,189.8	1,253.7	3.2
코엔자임 Q10	361.7	416.3	443.3	503.2	543.4	10.7
비허브 식이보충용제품 혼합물	538	627.5	675.3	702.3	731.2	8.5
안구건강보조제품	158.2	182.9	204.6	231.4	260.4	14.0
심해어유	241	290.8	342.3	411.5	460.7	19.6
글루코사민	820.2	853.1	871.8	852.6	871.4	1.5
미네랄 보충제	778.8	835.4	891.8	961.5	1,050.6	7.2
오메가 3-6-9	93	123.6	160.7	224.2	280.5	33.2
프로바이오틱스 보충제	292.9	375.8	434.1	501.7	566.9	19.1
단백질 분말	-	-	-	-	-	-
로알젤리	91.2	94.8	101.9	101.4	100	2.8
Sam-E	92.4	93.8	103.7	116.3	127.6	7.2
기타 비허브 식이보충용제품	1,052.50	1,090.4	1,156.90	1,169.6	1,195.4	4.1
기능성 음료	31.1	42.9	70.8	95.6	117.2	51.7
비타민	6,912.3	7,205.8	7,645.8	8,059.8	8,593.0	5.1
-멀티비타민	3,977.6	4,093.0	4,305.8	4,396.2	4,635.8	3.5
-단일비타민	2,934.7	3,112.8	3,340.0	3,663.5	3,957.2	7.2
비타민 A	292.2	322.8	342.9	351.4	369.8	8.8
비타민 B	976.8	1,046.1	1,184.20	1,355.9	1,494.2	10.4
비타민 C	833.8	871.7	919.7	947.2	990.4	4.2
비타민 D	152.8	183.5	248	368.3	451	26.2
비타민 E	361.2	339.9	316.1	299.7	293.1	-6.2
기타 단일비타민	318	348.8	329.2	341.1	358.8	4.1
어린이용 비타민 및 식이보충용제품	361.6	388.3	415.1	448.7	481.1	5.7
총합계	15,884.6	16,856.6	17,900.0	18,835.3	19,914.0	

출처 : Official statistics, Trade associations, Company research, Euromonitor International estimates

다. 건강기능식품 브랜드 별 시장점유율

표 2. 2007년~2010년의 미국 내 건강기능식품 브랜드 별 시장점유율

브랜드	회사명	(단위: RSP %)			
		2007	2008	2009	2010
NatureMade	Pharmavite Corp	2.7	3	3.5	3.9
Nature'sBounty	NBTY Inc	1.6	2	2.3	2.6
GNC	General Nutrition Centers Inc	2	2.1	2.1	2.1
Centrum	PfizerConsumer Healthcare Inc	-	-	2	2.1
Monavie	Monavie LLC	1.4	1.6	1.7	1.9
Nature'sWay	Nature'sWay Inc	1.6	1.7	1.7	1.8
Nutrilite	Amway Corp	1.6	1.6	1.6	1.6
Shaklee	Shaklee Corp	1.5	1.5	1.5	1.5
Walmart	Wal-MartStores Inc	1.3	1.2	1.3	1.4
Nature'sSunshine	Nature'sSunshine Products Inc	1.3	1.3	1.2	1.1
ForeverLiving	ForeverLivingProducts LLC	1	1.1	1.1	1.1
Melaleuca	Melaleuca Inc	1.2	1.2	1.1	1.1
One-A-Day	Bayer Corp	1	0.9	0.9	1
Puritan'sPride	NBTY Inc	1.1	1.1	1	1
Schiff	SchiffNutrition International Inc	1.1	1.1	1	1
NordicNaturals	NordicNaturals Inc	0.6	0.7	0.8	0.9
Walgreens	Walgreen Co	0.8	0.8	0.8	0.9
Costco	CostcoWholesale Corp	0.8	0.8	0.8	0.8
TahitianNoni	TahitianNoni International Inc	1.1	1	0.9	0.8
XanGo	DBC,LLC	1	1	0.9	0.8
OsteoBi-Flex	RexallSundown Inc	0.8	0.8	0.8	0.8
USANA	USANAHealthSciences Inc	1.1	1	0.9	0.8
Lactinex	BectonDickinson&Co	0.4	0.6	0.7	0.8
Caltrate	PfizerConsumer Healthcare Inc	-	-	0.7	0.7
Sunrider	SunriderInternational Inc	0.8	0.7	0.7	0.7
CVS	CVSCaremark Inc	0.6	0.6	0.6	0.6
Unicity	UnicityInternational Inc	0.7	0.7	0.7	0.6
Herbalife	Herbalife Ltd	0.7	0.6	0.6	0.6
FiberChoice	CNS Inc	0.5	0.6	0.5	0.6
Solgar	NBTY Inc	0.6	0.6	0.6	0.6
Centrum	WyethConsumer Healthcare Inc	2.1	2	-	-
Caltrate	WyethConsumer Healthcare Inc	0.7	0.7	-	-
PrivateLabel	PrivateLabel	8.3	8.4	8.9	9.1
Others		58.2	57.3	56.1	54.8
<b>Total</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

출처 : Euromonitor International from official statistics, trade associations, company research, trade source

라. 미국 성인 (성별, 나이) 의 소비자 태도 조사분석

The Journal of the American Medical Association (JAMA) Internal Medicine에서 발행한 기사에 따르면 미국에 있는 성인은 두 명 당 한 명 꼴로 건강기능식품을 사용하고 있으며, 그들이 건강기능식품에 쓰는 연간 지출비용은 대략 \$30 billion에 육박한다.

- (1) 2003년-2006년의 20,000명 이상의 참여자를 포함한 National health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 에서 성인의 54%는 지난 한 달 동안 기능식품을

사용했다고 답했다. 대부분의 사람들은 일상적으로 오직 하나의 기능식품만을 사용한다고 보고하였다. 가장 빈번하게 사용된 기능식품은 33%의 성인에 의해 사용된 종합 비타민 복합 미네랄이었다. 식물성 건강기능식품은 20%의 성인에 의해 사용되었다고 밝혀졌다. 기능식품 사용량은 남성보다 여성이 높았으며 성인의 경우에는 나이가 높을수록 높은 경향을 보였다. 성인 사이에서는 고등 교육을 받은 사람들의 사용률이 높았으며 (61%) 가장 낮은 사용률을 보인 집단은 37%의 고등 교육 이하의 사용자들이었다. 여성은 세 시기 모두 남성보다 높은 기능식품의 사용량을 보인다.

Figure 1. Trends in the percentage of persons using dietary supplements, by gender for adults aged 20 and over: United States, 1988–2006

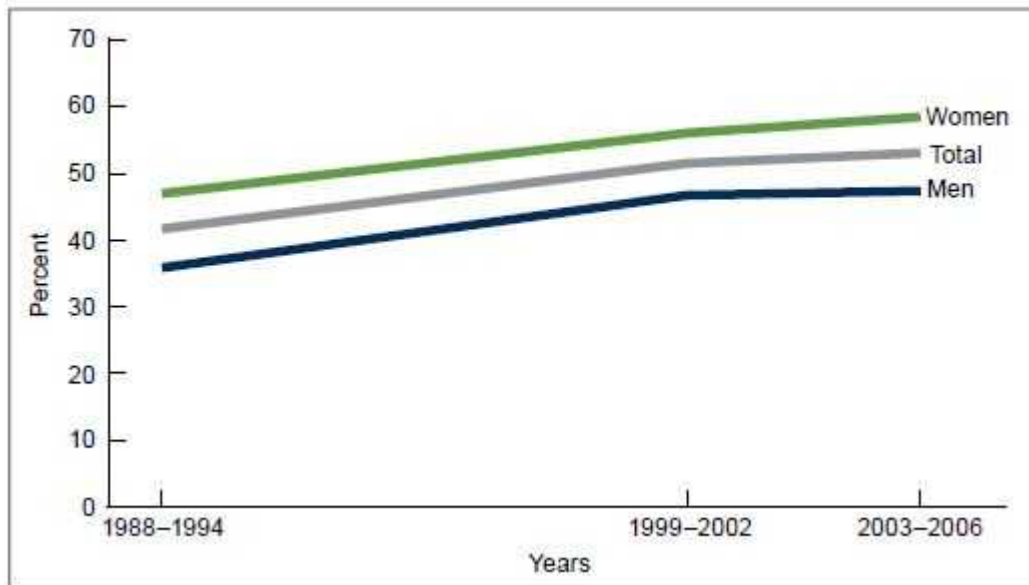


그림 1. 성인 남녀의 기능식품 사용률

(2) 2007년-2010년 사이에 행해진 National Health and Nutrition Examination Survey의 목적은 기능식품을 사용하는 이유를 찾아내는 것이었다. 그 결과는 다음과 같았다.

- 건강기능식품을 사용하는 이유 중 가장 많은 이유는 전체적인 건강을 "향상시키고" (45%) "유지하기 위해서" (33%) 였다.
- 여성들은 칼슘 제품을 "뼈의 건강"을 위해 사용했다. (36%)
- 남성들은 "심장 건강이나 콜레스테롤을 낮추기 위해" 사용하는 경향을 보였다. (18%)
- 60세 이상의 나이 많은 성인은 젊은 층에 비해 심장이나 뼈, 관절, 눈 건강 등 특정 부위를 위한 목적으로 기능식품을 사용하는 경향을 보였다.
- 오직 23%의 제품만이 의료인의 추천에 근거를 두고 사용되었다.
- 종합 비타민-미네랄 제품은 가장 빈번하게 사용되는 기능식품이었으며, 그 다음으로는 칼슘과 오메가 3나 생선 기름 기능식품이 사용되었다.
- 건강기능식품을 사용자들은 기능식품을 사용하지 않는 이들보다



- 아주 좋은 건강 상태를 지니고 있고
- 건강 보험을 가지고 있고
- 알코올을 적당히 섭취하며
- 흡연을 삼가고
- 좀 더 자주 운동을 하는 것으로 나타났다.

위의 결과에서 미루어볼 때, 사용자들의 건강기능식품 사용은 건강과 생활방식에 유익함을 가져다 주기 위한 선택이다. 암이나 비만 같은 질병 상태의 진단은 기능식품 사용을 시작하게 하는 이유가 되는 요소로 나타났다. 기능식품은 최근 암 진단을 받은 사람 뿐만 아니라 75에서 87%의 장기 생존자들 사이에서도 널리 사용된다. 암 생존자들이 건강기능식품을 사용하는 가장 큰 이유는 다음과 같았다.

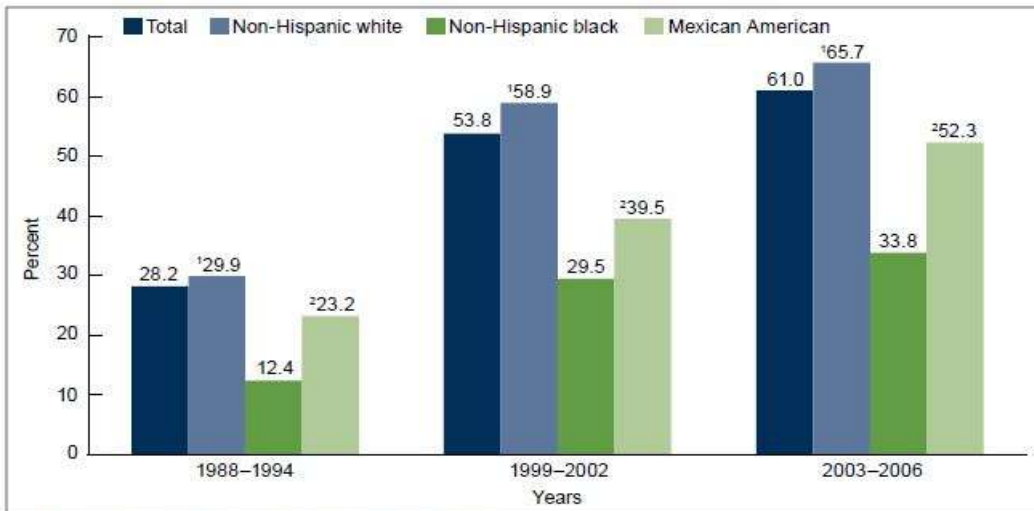
- "스스로를 도울 수 있는 힘을 기르기 위해"
- "면역 체계를 향상시키기 위해"
- "좀 더 많은 에너지를 제공하기 위해"
- "암 예방을 돕기 위해"

(3) 사용 동기에 관한 나이와 성별 차이는 명백했다. 나이 많은 성인은 기능식품을 특정 부위를 위해 사용하는 반면, 젊은 층은 에너지를 고양시키고 면역 기능을 향상시키는 등 단기 효과를 위해 사용하는 것으로 나타났다. 여성은 뼈 건강을 위해 주로 사용하며 남성은 심장 건강을 위해 사용했다. 그러나, 남성들은 주로 건강을 유지하거나 (비타민 D, 식물 보충제, 비타민 B12, 오메가 쓰리, 생선 오일) 정신건강을 위해 사용하는 반면, 여성은 에너지를 고양시키기 위해서나 (비타민 B12, 비타민 6) 장 건강을 위해 (식물성 보충제) 사용하는 것으로 나타났다. 그 누구도 이러한 목적으로 시판된 제품 외에는 천식, 알러지, 진성 당뇨병, 수면을 돕고 휴식을 돕기 위한 목적으로 기능식품을 사용하지는 않았다.

#### 마. 인종에 따른 건강기능식품 사용 조사

100,000명 이상의 건강한 다민족 집단의 인원을 조사한 결과, 56%의 남성과 72%의 여성이 최소 일주일에 한 번 기능식품을 사용한다고 응답했다. 가장 일반적으로 사용되는 기능식품은 종합 비타민이었으며, 비타민 C와 비타민 E가 그 뒤를 이었다. 여성들의 경우에 가장 일반적으로 사용되는 것은 칼슘이었다. 그리고 그 사용량은 나이, 교육수준, 그리고 신체 활동 수준에 따라 증가했다.

Figure 3. Prevalence of supplemental calcium use in women aged 60 and over, by racial and ethnic group: United States, 1988–2006



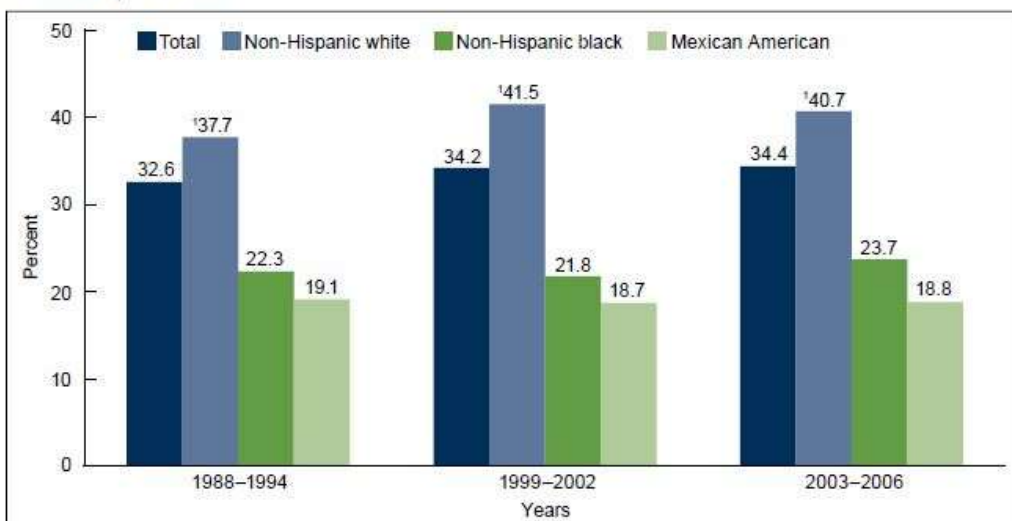
<sup>1</sup>Significantly different from non-Hispanic black and Mexican-American women.  
<sup>2</sup>Significantly different from non-Hispanic black women.  
 NOTE: 1988–1994 rates significantly different from those of the 1999–2002 and 2003–2006 survey periods.  
 SOURCE: CDC/NCHS, National Health and Nutrition Examination Surveys.

그림 2. 60세 이상 여성의 인종에 따른 칼슘 사용률

1988년-2006년에 이르는 기간 동안 모든 인종의 칼슘 사용량은 두드러지게 증가했다. 위의 표는 다양한 인종의 60대 이상의 여성에 대한 칼슘 사용량을 나타낸 표이다. 일반적으로 비 라틴아메리카 계 백인들이 다른 인종에 비해 많은 칼슘 사용량을 보이며 비 라틴아메리카 계 흑인의 사용량은 현저하게 낮다.

(2) 비 라틴아메리카계 백인 여성은 비 라틴아메리카 계 흑인 여성과 멕시코 아메리칸 여성에 비해 하나나 그 이상의 엽산 기능식품을 섭취할 가능성이 많다. 비 라틴아메리카 계 여성의 엽산 섭취율은 다른 인종에 비해 대략 두 배의 수치를 보인다.

Figure 4. Prevalence of folic acid dietary supplement use in women aged 20–39, by survey and by racial and ethnic group: United States, 1988–2006



<sup>1</sup>Statistically different from non-Hispanic black and Mexican-American women aged 20–39.  
 SOURCE: CDC/NCHS, National Health and Nutrition Examination Surveys.

그림 3. 20-39세 여성의 인종에 따른 엽산 사용률

바. 건강전문가의 건강기능식품 이용실태

표 3. 건강전문가의 기능식품 사용률

**PERCENTAGE OF HEALTH PROFESSIONALS WHO REPORT PERSONAL USE OF DIETARY SUPPLEMENTS**

Profession	Regular User	Occasional	Seasonal	Former	Never Used
Physicians n=900 (family care, ob/gyn, other specialties)	51%	19%	2%	14%	14%
Orthopedists n=300	50%	19%	4%	11%	16%
Cardiologists n=300	37%	17%	3%	18%	25%
Dermatologists n=300	59%	13%	3%	8%	17%
Nurses n=277	59%	27%	3%	8%	3%
Nurse practitioners n=300	71%	21%	3%	4%	1%
Pharmacists n=300	62%	22%	2%	8%	6%
Dietitians n=300	74%	20%	2%	3%	1%

건강전문가는 기능식품을 이용하는 일반적 소비자이다. 여성 의사를 대상으로 한 설문  
에 따르면, 그들 중 64%는 가끔 비타민과 미네랄을 사용했으며, 47%는 일주일에 최소 다  
섯 번을 사용했다. 900명의 의사와 300명에 가까운 간호사를 대상으로 한 설문  
에 따르면 59%의 간호사가 기능식품의 일상적인 사용자였다. 비슷하게 900명의 physician specialists  
를 대상으로 한 설문에서는 37%의 심장병 전문의, 50%의 정형외과 의사, 59%의 피부과  
전문의들이 기능식품의 일상적인 사용자였다. 기능식품을 때때로 사용하는 것까지 포함시  
킨다면 기능식품을 사용하는 건강전문가의 수는 자연스럽게 늘어난다.

조사된 영양사 중 81%의 사람들이, 대부분의 사람들의 식단에 존재하는 결점은 비타  
민과 다른 기능식품으로 채워질 수 있다고 말했으며, 10명 중 9명이 기능식품을 이미 사용  
하고 있으며 환자에게도 기능식품의 사용을 권장할 것이라고 말했다. 영양사들 사이에서  
가장 흔하게 사용되는 기능식품은 종합 비타민이었고 오메가-3 생선 기름, 허브, 식물 식  
품이나 섬유질도 사용되었다. 기능식품을 사용하는 가장 큰 이유는 뼈 건강 (58%) 이었으  
며, 전체적인 건강을 위하여 (53%) , 영양적인 공백을 메우기 위하여 (42%) 가 그 뒤를  
따랐다.

사. 식물성 (Botanical) 건강기능식품 인식 조사

허브와 식물성 건강기능식품의 판매는 세계적으로 빠르게 증가하고 있다. The  
Freedonia Group (Ohio) 에 의해 최근 발행된 「세계의 기능식품 원료 (World  
Nutraceutical Ingredients to 2015)」 에 따르면, 허브와 식물 추출물은 사실상 건강기능식

품의 원료 중 가장 빠른 증가를 보이고 있다. 식물성 건강기능식품의 판매는 미국 내에서, 그리고 유럽의 일부 국가와 중국, 브라질 등에서 지속적으로 증가할 것으로 예상된다.

전문조사기관 SPINSscan에 따르면, 가장 잘 팔리는 식물성 건강기능식품 제품의 유형은 염증, 전립선 건강, 면역력, 부신 서포트 (adrenal support), 해독 (detox), 스트레스 완화, 수면, 그리고 성욕을 다루는 제품이었다. 이러한 판매 데이터는 허브 등 식물성 원료에 대한 소비자 수요가 자기 관리의 한 형태로써 강력하게 지속되고 있다는 것을 나타낸다.

Council for Responsible Nutrition의 건강기능식품 사용자 설문조사에 따르면, 미국인의 21%가 식물성 건강기능식품을 섭취하고 있다. 사람들이 식물을 원료로 한 건강기능식품을 택하는 데에는 다양한 이유가 있다. 하지만 대부분의 경우에는 질병 예방을 위한 이유로 선택한다. 심장 건강과 연관된 식물성 기능식품이 세계에서 가장 잘 팔리는 것으로 보이며, 소염제로 작용한다고 알려진 강황이 그 완벽한 예이다. 다음은 식물성 건강기능식품을 섭취하는 사람들의 경향이다.

- 일시적으로 기능식품을 사용하는 사람들이 주로 식물 성분의 건강기능식품을 섭취하는 경향이 있다.
- 여성 사용자들이 남성에 비해 더 많은 양의 식물성 건강기능식품을 사용한다. (여성 55%, 남성 45%)
- 55세 이상의 성인의 26%가 식물성 건강기능식품을 사용하는 한편 18-54의 성인의 19%가 사용한다.
- 61%의 사용자는 기혼자이다.
- 식물성 건강기능식품 사용자는 두 명으로 구성된 작은 가정에 속해있는 경우가 많으며 (37%), 아이가 없는 경향이 있다 (65%).
- 식물성 건강기능식품을 사용하는 사람들은 건강한 습관을 가지는 경향이 있다
  - 86%의 사용자가 균형 잡힌 식단을 섭취하며
  - 65%의 사용자가 정기적으로 운동을 하고
  - 71%의 사용자는 정기적으로 진료를 받으며
  - 62%의 사용자는 숙면을 취하며
  - 83% 사용자는 그들의 의사가 그들이 기능식품을 사용하고 있다는 것을 알고 있다고 말했다.

#### 아. 건강 관련 분야 주요 이슈

과거에 비해 늘어난 건강에 좋지 않은 음식 섭취와, 많은 양의 음식 섭취, 줄어든 신체 활동 때문에 현대인들은 많은 건강 문제에 노출되어 있다. 미네소타 주에 위치한 Mayo Clinic에 따르면 현재 미국에서 가장 주요한 건강 문제는 남녀 성별에 따라서 약간의 차이를 보이고 있다. 그러나 다음의 문제는 현재 미국의 남녀 모두에게서 찾아볼 수 있는 건강 관련 주요 이슈이다.

- Heart Disease: 심장병은 해마다 가장 많은 수의 미국인들이 사망하는 이유이다. American Heart Association에 따르면 심장마비와 뇌졸중을 일으키는 심장병은 모든 형태의 암보다 더 많은 사람을 사망에 이르게 한다.
- Cancer
- Stroke: 뇌졸중은 여성의 경우에는 3번째, 남성의 경우엔 4번째로 가장 많은 사망을 일으키는 원인이다.
- Respiratory Diseases: 기관지염과 기종 같은 호흡기 질환은 COPD (만성 폐색성 폐질환)에 속하는 질병이다.
- Injuries
- Diabetes: 제 2형 당뇨병은 신장 손상, 심장병, 실명을 불러일으킬 수 있다.
- Alzheimer's Disease: 알츠하이머병은 여성에게는 5번째, 남성에게는 10번째로 가장 많은 사망을 일으키는 원인이다.
- Influenza and Pneumonia: 건강한 사람은 인플루엔자를 극복할 수 있지만 몇몇 사람들에게는 폐렴과 같은 치명적인 합병증을 불러일으킨다.
- Kidney Disease: 신장병은 고혈압이나 당뇨로 야기될 수 있다.
- Septicemia: 패혈증은 폐나 요로 감염증과 같은 세균성 감염증의 합병증이다.

## 2. 건강기능식품 시장 트렌드 분석

건강기능식품 업계는 해마다 번영하고 있다. 관절 통증이나 심장 질환 등의 건강에 대한 염려로 인해 기능식품 시장 가속화되고 있는 전망이다. 밑에서 이러한 시장의 상황을 좌우할 수 있는 여러 가지 요인들을 살펴보도록 하겠다.

### 가. 건강 비용 증가의 영향

높아지는 의료 서비스 비용과 건강 보험 비용은 소비자들이 예방 식품 (preventative supplements) 과 대체물로 눈을 돌리게 하고 있다. Ohio의 Dayton에 위치한 Health Foods Unlimited의 회장 Rhonda Miller는 의사의 진찰을 받을 수 없는 사람들이 늘어나고 있으며 그들은 건강을 유지하고 의사 진찰을 되도록 피하기 위해 기능식품을 사용한다고 말했다. 또한 Miller는 그들이 때때로 감기, 독감, 당뇨, 혈압, 관절염과 위산 역류를 돕기 위해 디자인 된 기능식품을 찾는다고 말했다. 이러한 질병을 위한 의약품의 가격은 현저하게 오르고 있기 때문이다.

### 나. 고령화된 베이비 붐 세대

현재의 건강기능식품 시장을 주도하고 있는 소비자들은 베이비 붐 세대이다. 은퇴했지만 건강한 삶을 지속하고 싶어하는 베이비 붐 세대는 그들의 건강 상태에 큰 관심을 두고 있으며 대부분의 이들이 건강에 대한 구체적인 의료 계획을 짜두었다. 이들이 주로 관심을 가지는 것은 관절 건강, 심장 건강, 체중 조절 제품이다. 그들은 이미 기능식품에 대하여 잘 알고 있지만, 기능식품이 어떻게 의약품과 상호 작용 할 수 있는지 등의 날카로운 의문을 가지고 있다고 밝혔다.

#### 다. 다양성 증가

베이비 붐 세대 뿐 아니라 젊은 소비자들도 기능식품에 눈을 돌리고 있다. 그들은 종합 비타민과 생선 오일 등의 제품을 찾으며 또 다른 이들은 활동적인 생활방식과 연관된 다이어트 제품, 에너지 제품 뿐만 아니라 그들의 아이를 위한 자연적인 해결책을 찾기 위해서도 쇼핑한다. 남성 소비자들의 쇼핑량도 늘어나고 있는데, 이는 그들이 헬스 보충제, 회복제 등의 신체 발달을 위한 제품을 찾고 있기 때문이다.

Packaged Facts의 「미국의 건강기능식품 (Nutritional Supplements in the US)」 리포트는,

- 65세 이상의 인구와, 나이 든 베이비 붐 세대, 청소년들이 건강기능식품 시장의 주축을 형성하고 있지만, 건강기능식품 생산 기업들은 기능식품 이용률에 감소폭을 보이고 있는 보다 젊은 소비자들에게 도달할 수 있는 방법을 발견해야 한다고 말한다.
- 또한 라틴아메리카 계 인구가 미국에 점차 늘어나고 있는 추세이기 때문에, 라틴아메리카 시장은 매우 중요하지만 라틴아메리카 계의 건강기능식품 사용률은 다른 인구 집단보다 낮다고 밝힌다.
- 또한 나이 많은 소비자들이 젊음을 유지하고 노화 작용을 막기 위하여 가장 많은 건강기능식품을 사용하지만 새로운 세대의 소비자를 늘리는 것을 목표로 삼아야 하며,
- 25세 이하 인구의 건강기능식품 섭취율이 꽤 낮기에 그 수를 높일 수 있는 방법을 찾아야 한다고 말한다.

## 제 4절 미국 내 인삼에 관한 인식

본 리포트의 제 3 장의 '1. 건강기능식품 시장조사'에 포함된 '7) 식물성 건강기능식품 인식 조사'에서 밝혔듯이, 허브와 식물 추출물은 사실상 건강기능식품의 원료 중 가장 빠른 증가를 보이고 있으며 식물성 건강기능식품의 판매는 미국 내에서, 그리고 유럽의 일부 국가와 중국, 브라질 등에서 지속적으로 증가할 것으로 예상된다. 미국인의 21%가 식물성 건강기능식품을 섭취하고 있으며 이들 중 많은 수가 질병 예방을 위한 이유로 식물성 건강기능식품을 선택한다.

수 세기 동안 아시아와 북미에서 다양한 형태의 인삼이 치료제로써 사용되어 왔다. 오늘날 인삼은 세계에서 가장 유명한 한방약 중 하나이며 식물성 건강기능식품의 원료로 꾸준히 사랑을 받고 있다.

가장 유명한 인삼의 두 가지 종류는 아시안 혹은 코리안 인삼 (*Panax ginseng*) 과 아메리칸 인삼 (*Panax quinquefolius*) 이다. 두 종류의 인삼은 각기 다른 장점을 가지고 있다고 알려져 왔으며 전통적으로 아시안, 코리안 인삼이 아메리칸 인삼보다 더 많은 효능을 지니고 있다고 인식되어 왔다.

코리안 인삼은 면역 증가, 혈당치 정상화, 에너지 생성과 피로 회복, 정신 집중에 도움을 주며 심장병, 남성의 성기능 회복을 다루는데 효율적이라고 알려져 있다. 그러므로 인삼은 면역력이 약한 사람, 제 2형 당뇨병 환자, 운동선수 등을 위한 건강기능식품의 원료로 널리 사용된다. 최근에는 에너지 드링크의 원료로 각광받고 있기도 하다.

미국의 건강기능식품 시장은 현재 전세계에서 가장 크며 대부분의 사람들은 미국 내에서 생산되는 기능식품을 사용한다. 하지만 홍삼과 인삼의 경우 미국 자체적으로 재배가 됨에도 불구하고 한국, 중국, 홍콩 등의 나라에서 일부 수입하고 있다.

널리 판매되는 인삼 건강기능식품 형태의 경우에 미국 내에서는 한국과 달리 인삼 드링크류의 수요가 그리 크지 않은 편이며 알약, 캡슐 등의 형태로 가공되어 판매되는 제품이 인기가 많다.

표 1. 인삼류 미국 국가별 수입 실적

(단위: 백만 달러, kg)

구분	국가	2003		2004		2005	
		금액	물량	금액	물량	금액	물량
인삼근	전체	13,384	513,363	19,861	613,304	18,825	652,403
	중국	7,943	352,065	12,424	391,405	9,043	454,132
	한국	1,811	28,464	2,170	46,860	3,945	60,178
	대만	0.013	1,863	0.167	1,735	2.529	25,980
	홍콩	2,262	79,371	4,038	147,095	2,159	79,976
	캐나다	0.741	24,027	0.854	22,094	1.033	27,185
	네덜란드	0.409	13,018	0.202	3,768	0.095	3,952
야생삼	전체	0.529	48,017	0.823	15,910	4.252	157,022
	중국	0.314	43,900	0.143	12,030	3.414	135,329
	한국	0.061	667	0.606	3,049	0.301	1,991
	홍콩	0.000	-	0.042	32	0.486	19,563
	캐나다	0.000	-	0.025	452	0.050	139
인삼 추출물	전체	5,361	708,044	8,391	528,975	7,452	628,542
	중국	3,324	458,214	3,127	315,153	2,224	431,410
	한국	1,021	213,532	1,056	128,579	2,136	131,571
	이태리	0.063	1,013	2,093	22,085	1,436	14,645
	독일	0.306	7,456	1,591	44,832	0.762	22,326

출처 : 농수산물유통공사, PwC재정리

미국인들은 자국에서 생산되는 수많은 건강기능식품을 사용하므로 사실상 미국 내에서 한국에서 만들어진 건강기능식품에 대한 인지도는 그리 높지 않다. 하지만 코리안 인삼의 효능과 인지도는 꽤 높으며 앞으로 수요가 더욱 증가할 것이라 예상된다.

## 제 5절 면역 관련 건강기능식품

질병은 몸의 면역 기능이 약화될 때 생긴다. 따라서 신체의 면역 체계와 기능을 향상시키는 건 질병의 침입을 방지하고 예방할 수 있는 가장 중요한 방법 중 하나이다. 실제로 Natural Marketing Institute (NMI) 의 2013년 Healthy Aging Database®는, 미국 성인의 두 명 중 한

명은 그들의 면역 체계를 증가시키는 것에 신경 쓰고 있다고 밝혔다.

건강기능식품에는 다양한 기능이 있지만, 오랫동안 면역을 증진시키는 용도로 또한 사용되어왔다. 『Prescription for Nutritional Healing』의 저자이자 영양학 전문가인 Phyllis Balch는 표고버섯, 영지버섯, 마늘, 다시마, 유산균, 코엔자임 Q10, 망간, 글루타티온, 셀레늄, 비타민 A, C와 E 등을 포함한 다양한 기능식품이 건강과 면역 기능을 향상시키는데 도움을 줄 수 있다고 말했다. 그리고 인삼 성분을 포함한 제품 또한 여기에 포함된다.

인삼은 세계에서 가장 잘 알려진 한방 약초 중 하나이며 오래 전부터 건강 질환을 다루기 위해 사용되었다. 실제로 인삼이 면역 체계를 발달시키고 성인의 감기와 독감 발병 빈도와 강도를 낮춘다는 연구는 꾸준히 존재해왔다. 2004년 "Journal of the American Geriatrics Society" 내에 실린 연구에서 연구자들은 인삼을 섭취한 실험자들이 그렇지 않은 그룹의 실험자들보다 호흡기 관련 질병에 훨씬 덜 노출되었다는 사실을 밝혀냈다. 또한 2005년 "Canadian Medical Association Journal"에 실린 실험에서 연구원들은 인삼 제품이 감기의 지속기간과 그 증상을 감소시킨다는 것을 발견했다. 그들은 인삼이 T-helper 세포와 natural killer 세포의 활동을 증가시킨다고 분석했다.

이와 같이 연구에서 밝혀진 사실 때문에 인삼은 현재 많은 면역 강화 목적을 지닌 기능식품의 원료로 사용되고 있다. 다음은 인삼을 포함하고 있는 몇 가지 면역 관련 기능식품에 대한 정보이다.

## 1. NRG Ginseng Blend



그림 1. NRG Ginseng Blend

- 제조사: Whole Health (US)
- 원료: American ginseng root powder, Brazilian ginseng root powder, Korean white ginseng root powder, Siberian ginseng root powder
- 형태: 캡슐
- 설명: 미국, 브라질, 한국, 시베리아 인삼의 혼합물.



## 2. Immunofort



그림 2. Immunofort

- 제조사: Thompson's (New Zealand)
- 원료: Korean ginseng, Siberian ginseng, Shiitake mushroom, Vitamin A, B, C, D, E 등
- 형태: 알약
- 설명: 비타민 A, C, E 같은 항산화비타민과 아연, 셀레늄과 인삼, 표고버섯 등의 혼합. 세포 면역 증가.

## 3. Ginza-Plus



그림 3. Ginza-Plus

- 제조사: Irwin Naturals (US)
- 원료: Ginseng root extract
- 형태: 소프트 젤
- 설명: 지구력 상승, 면역 체계 강화, 에너지 생성 강화.

#### 4. Orange Speedball



그림 4. Orange Speedball

- 제조사: D&E (US)
- 원료: Korean ginseng, Siberian ginseng, Green tea, Cayenne pepper, Guarana 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 운동 능력 향상 제품. 면역 증가 기능 또한 보유.

#### 5. ImmuneDx



그림 5. ImmuneDx

- 제조사: Plantiva (US)
- 원료: Ginseng, Astragalus, Echinacea, Dong Quai 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 백혈구 수 증가. 항체 형성.

## 제 6절 스포츠 음료 시장 분석

미국은 음료 시장이 가장 발달된 나라이다. 식료품 및 잡화점, 대형 슈퍼마켓, 창고형 매장 등에서 수십 종의 음료가 진열대를 채우고 있는 광경을 볼 수 있다. 이러한 음료 중 최근 가장 주목받고 있는 것은 스포츠 음료와 에너지 음료이다. 매해 미국인들은 \$5.4 billion 이상을 스포츠 음료를 구입하는 데에 사용한다. 그만큼 미국엔 다양한 스포츠 음료가 판매되고 있다.

### 1. 스포츠 음료란 무엇인가?

운동하는 사람들은 땀을 흘리면서 체내의 수분과 전해질을 잃는다. 따라서 탈수 현상을 경험할 가능성이 있다. 스포츠 음료는 이러한 탈수 현상을 방지하거나 완화시키는 데에 목적을 두고 있는 음료이다. 스포츠 영양 제품의 세 가지 장점은 에너지 제공과 탈수 방지, 그리고 근육 회복이다. 스포츠 음료는 주로 앞의 두 가지, 에너지 제공과 탈수 방지에 초점을 맞추고 있다. 스포츠 음료의 주성분은 에너지를 제공하기 위한 탄수화물과 탈수를 방지하기 위한 전해질이다. 카페인도 포함된 것도 있고, 그렇지 않은 것도 있다.

스포츠 음료는 크게 3종류로 나눌 수 있는데, '아이소토닉 (Isotonic Fluid)', '하이퍼토닉 (Hypertonic Fluid)', '하이포토닉 (Hypotonic Fluid)' 이 바로 그 종류이다.

- 아이소토닉 (Isotonic): 소금과 설탕이 체내에 포함된 것과 비슷한 농도로 포함되어 있는 제품. 마셨을 때 공복감을 덜 느끼며 땀으로 빠져나간 수분을 보충. 중장거리 달리기, 농구, 축구 등의 팀 스포츠를 하는 사람에게 적합.
- 하이퍼토닉 (Hypertonic): 소금과 설탕이 체내에 포함된 것보다 높은 농도로 포함되어 있는 제품. 다른 두 종류의 스포츠 음료에 비해 탄수화물 성분이 풍부. 역도나 레슬링과 같은 에너지 소모가 큰 운동을 하는 사람들에게 적합.
- 하이포토닉 (Hypotonic): 소금과 설탕이 체내에 포함된 것보다 낮은 농도로 포함되어 있는 제품. 탄수화물 성분이 적음. 힘을 쓸 일이 적고 짧은 시간에 밀도가 높은 운동을 하는 사람에게 적합.

### 2. 스포츠 음료 시장 분석

최근 Leatherhead Food Research의 스포츠 음료 제품의 전세계적인 시장 조사에 따르면, 2006년에서 2010년 사이에 스포츠 음료의 세계 판매량은 20 billion 리터에 도달하면서 38% 상승했다. 또한 스포츠 음료와 에너지 음료에 대한 세계적인 수요는 2011년부터 2017년까지 10% 이상의 연평균성장률 (CAGR) 을 보일 것으로 예상된다. Packaged Facts에 따르면 한 달 동안 8개에서 그 이상의 스포츠 음료를 마시는 소비자들의 수는 감소했지만, 한 달에 한 개나 두 개의 스포츠 음료를 소비한 가벼운 소비자들은 2007년과 2012년 사이에 7.1%나 증가했다. 이는 스포츠 음료가 소비자들의 일상생활에 정착했다는 것을 말한다. 스포츠 음료의 대부분은 RTD (Ready-to-Drink) 이며, 지난 10년간 시장 전체의 96-98%를 차지했다. 2011년 데이터에서는 92%가 무탄산 음료였지만, 아시아 지역에서의 탄산음료 인기 상승 때문에 무탄산 음료의 점유율은 2006년의 96%에서 서서히 하락하고 있다.

PepsiCo, The Coca-Cola Company, 그리고 GlaxoSmithKline (GSK) 등이 가장 유명한 스포츠 음료 제조 회사이며, 가장 널리 알려진 제품으로는 Powerade, Gatorade, 그리고 Lucozade가 있다. 물에 녹여먹는 형태의 전해질 (나트륨, 칼륨) 알약이나 파우더도 판매되고 있다. 최근에는 'liquid water enhancer' 형태의 새로운 음료 형태가 개발되었다. 이것은 물에 전해질과 여러 가지 맛을 첨가해서 마실 수 있는 스포츠 음료의 한 형태이며, 많은 이들의 관심을 끌고 있다.

예전에 비해 세계적인 운동선수들이 늘어나고 스포츠를 커다란 취미 생활의 일부분으로 삼는 사람들이 늘어나면서, 음료 시장은 거대한 시장 가능성을 보이고 앞으로도 상당한 규모로 성장하게 될 것이라 예상된다. 소비자들의 건강에 대한 의식 증가는 스포츠 음료의 인기에도 큰 영향을 미친다. 시장의 성장은 유기농과 자연 원료의 조합 같은 발전 덕분에 야기되기도 한다. 이에 따라 유기농 원료 또는 자연 원료를 포함하고 있는 스포츠 음료가 점점 다양해지고 있는 추세이다.

### 3. 인삼 성분을 포함하고 있는 스포츠 음료

인삼은 많은 에너지 음료의 원료 중 하나로 사용되지만, 스포츠 음료의 원료로 인삼이 사용되는 경우는 많지 않다. 아래의 표는 인삼 성분을 포함하고 있는 스포츠 음료의 정보이다.

가. The Coca-Cola Company의 자회사인 Glacéau에 의해 생산되는 Vitamin Water는 여러 가지 맛과 깔끔한 패키지로 소다수와 물의 대안이 되는 스포츠 드링크로 각광받고 있으며, 현재 한국에서도 인기리에 판매되고 있다. 하지만 500ml 당 23g의 지나친 설탕 함유량 때문에 많은 논란을 만들어내고 있으며 광고에서 '영양소가 많다'고 하는 것과는 달리 몸에 해롭다는 논란 또한 일고 있다.



그림 6. Vitamin Water. 순서대로 Vitamin Water Energy, Vitamin Water Revive, Vitamin Water Focus, Vitamin Water Power C.



그림 7. Pure NRG Fx

표 2. 인삼 성분을 포함하고 있는 스포츠 음료 비교 († 표시는 자세한 정보가 없다는 표시.)

제품이름 (1회분 크기)	제조회사	형태	칼로리	전해질			탄수화물	원료
				나트륨	칼륨	마그네슘		
1. Vitamin Water Energy (8 fl oz, 240ml)	Glacéau	드링크	50	0 mg	†	†	13.0 g (4%)	<b>Siberian ginseng</b> and guarana extracts, Caramel color, Beta carotene 등.
2. Vitamin Water Revive (8 fl oz, 240ml)	Glacéau	드링크	50	0 mg	일일권 장량의 25%	†	13.0 g (4%)	<b>American ginseng extract</b> , Gotu kola extract, Grape juice 등.
3. Vitamin Water Focus (8 fl oz, 240ml)	Glacéau	드링크	50	0 mg	†	†	13.0 g	<b>Siberian ginseng</b> and ginkgo biloba extracts, Gotu kola 등.
4. Vitamin Water Power C (8 fl oz, 240ml)	Glacéau	드링크	50	0 mg	†	†	13.0 g	<b>Siberian ginseng extract</b> , Drangonfruit juice extract, Taurine 등.
5. Pure NRG Fx (2 fl oz, 59ml)	Playboy Energy Drinks	드링크	25	†	†	†	7g (2%)	Taurine, Epimedium, Guarana extract, <b>Panax Ginseng Extract</b> 등.
6. Cytomax Sports Performance Drink Go Grape (25g - 1 scoop)	CytoSport	파우더	90	120mg (5%)	60mg (2%)	14mg (4%)	22g (7%)	Red cabbage powder, Guarana (Paullina Cupana) seed extract, <b>Ginseng</b> 등.
7. Rebound Fx (12g - 2 scoops)	Youngeevity	파우더	36	10mg	100mg (<3%)	†	8.5g (<3%)	Taurine, <b>Ginseng root extract</b> , Green tea extract,

나. 그룹 Playboy Energy Drink의 Pure NRG Fx는 에너지 음료이자 동시에 스포츠 음료이며 익스트림 스포츠를 즐기는 이들에게 인기가 많다. 아스파탐이 포함되지 않았으며 칼로리가 낮은 것이 특징이다.

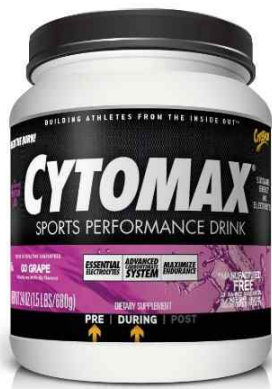


그림 8. Cytomax Sports Performance Drink Go Grape

다. 필수적인 전해질을 모두 포함하고 있는 Cytomax Sports Performance Drink Go Grape는 전해질 뿐만 아니라 많은 탄수화물을 포함하고 있어 운동을 하기 전이나 후에 섭취하면 좋은 제품으로 알려져 있다.



그림 9. Rebound Fx

라. Rebound Fx는 파우더 형태로 물에 희석하여 사용하는 제품이며 심장 혈관 계통의 건강, 면역 체계를 서포트하고 에너지와 체력을 증진시키는데 특징을 보이고 있는 제품이다.

## 제 7절 당뇨병 환자에게 도움이 되는 건강기능식품

인삼에는 면역을 강화시킬 수 있다는 특성뿐만 아니라 당뇨병을 가진 사람의 혈당치를 정상화시킨다는 특성 또한 존재하고 있다. 그리고 이런 특성을 증명하는 연구가 오래 전부터 존재해왔다.

토론토 대학의 연구자들은 2003년 American Diabetes Association의 63번째 Scientific Session에서 30명 이상의 제 2형 당뇨병 환자를 대상으로 한 두 개의 연구 결과를 발표했다. 첫 번째 연구에서 인삼을 섭취한 당뇨병 환자의 혈당치가 현저히 낮아진 것을 발견할 수 있었으며, 두 번째 연구에서는 인삼이 당뇨병을 가진 사람들의 체내에서 인슐린을 처리하는 것을 도왔다는 것을 볼 수 있었다. (제 2형 당뇨병 환자의 가장 큰 문제는 환자의 신체 조직이 인슐린에 충분히 반응하지 못하며 인슐린을 적합하게 처리하지 못한다는 것이다.)

American Diabetes Association의 회장 Fran Kaufman (의학 박사) 은 당뇨병 치료의 중요한 목표는 혈당치를 정상화시키는 것이라고 밝혔다. 그리고 인삼과 같은 천연물은 당뇨병 환자를 치료하는 데에 중요한 역할을 할 수 있으며, 인슐린에 제대로 반응하지 못하는 신체를 정상화시킬 수 있다고 덧붙였다.

다음은 인삼을 포함하고 있는 당뇨병 환자에게 도움이 되는 건강기능식품에 대한 정보이다.

### 1. Glymetrol



그림 10. Glymetrol

- 제조사: Natural Health Network, LLC (US)
- 원료: American ginseng, Cinnamon extract, Zinc, Banaba leaf extract 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 기초 포도당 대사와 인슐린 민감성을 향상시키는 역할을 함.

## 2. Diatrix Diet Supplement



그림 11. Diatrix Diet Supplement

- 제조사: Infiniti Creations (US)
- 원료: Asian ginseng (root), Green tea extract, Omega 3, Vitamin E 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 당뇨병 환자용 체중 조절 식품. 체중을 감량하고 혈당 수치를 낮추는 데 도움을 줌.

## 3. Shroom TECH Sport



그림 12. Shroom TECH Sport

- 제조사: Onnit (US)
- 원료: Siberian ginseng, Rhodiola rosea, Green tea extract, Chromium 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 에너지를 제공하고 신체에 산소를 공급하는 데에 목적을 두고 있는 기능식품. 적당한 혈당치를 지키고 유지하는데 사용되기도 함.



## 제 8절 체중 조절용 건강기능식품

체중을 감량하려는 사람들은 감량의 일환으로 인삼을 포함한 기능식품을 사용해왔으며 인삼을 성분으로 포함하고 있는 다양한 체중 조절 기능식품을 시장에서 어렵지 않게 찾아볼 수 있다. 이는 인삼이 체중 감량에 효율적인 몇 가지 특징을 지니고 있기 때문이다.

건강한 식습관과 규칙적인 운동은 효율적이고 장기적인 체중 조절의 훌륭한 수단이다. 인삼은 이러한 측면에서 체중 감량을 하려는 사람들에게 효과적인 보조제이다. 첫째, 인삼에는 느린 신진대사를 활발히 하고 에너지 수치를 증가시키고 콜레스테롤 수치를 낮추는 특성이 있다. 이러한 작용은 체중 감량자들에게 보다 많은 에너지를 부여하며 활동감을 느낄 수 있게 해주므로 체중 감량에 도움이 준다. 만약 빠른 신진대사가 이루어진다면, 같은 양의 음식이 섭취 되더라도 섭취된 칼로리 중 적은 양만이 지방으로 변화될 것이다..

둘째로, 인삼은 피로를 감소시키고 스테미너를 증진시킬 수 있는 특징을 지니고 있는 강정제이다. 이는 체중 감량을 목적으로 하는 이들이 긴 시간 동안 보다 활동적인 운동을 할 수 있도록 도움을 준다.

인삼을 섭취하는 가장 간편한 방법은 캡슐이나 알약의 형태로 섭취하는 것이다. 하지만 인삼 파우더, 추출액, 차, 식재료로 음식에 첨가하여 섭취할 수도 있다. 다음은 인삼을 포함하고 있는 체중 조절용 기능식품 몇 가지의 정보이다.

### 1. MM60EFL Energy & Fat Loss



그림 13. MM60EFL Energy & Fat Loss

- 제조사: Mass Machine Nutrition (US)
- 원료: Panax ginseng extract (root), Guarana, Kola nut extract, Green tea extract 등.

- 형태: 캡슐
- 설명: 지방 연소. 신진대사 활성화. 갑상선 기능 고양. 소비자들에게 대체로 좋은 평을 얻고 있음.

## 2. Energy

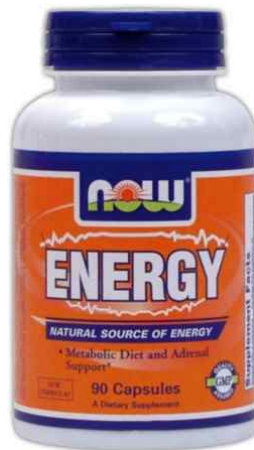


그림 14. Now

- 제조사: Now (US)
- 원료: Panax ginseng (root), Guarana standardized extract, Green tea extract, Eleuthero (root) 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 에너지와 신진대사 고양. 부신 서포트.

## 3. JetFUEL PYRO



그림 15. JetFUEL PYRO

- 제조사: GAT (US)

- 원료: Panax ginseng (root), Coffee bean extract, Guarana extract, Caffeine Anhydrous 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 남성뿐만 아니라 여성 소비자를 겨냥한 광고. 지방 연소. 신진대사 자극. 에너지 고양. 소비자들에게 대체로 좋은 반응을 얻고 있음.

#### 4. Shred-ULTRA



그림 16. Shred-ULTRA

- 제조사: Millennium Sport (US)
- 원료: American ginseng, Siberian eleuthero, Green coffee bean extract, Raspberry ketones 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 신체에 열을 발생시키고 감정작용을 하는 원료를 함유. 부신 작용 서포트.

#### 5. Super Citrimax



그림 17. Super Citrimax

- 제조사: Now (US)
- 원료: Panax ginseng (root), Super citrimax extract, Gelatin, Stearic acid 등.

- 형태: 캡슐
- 설명: hydroxycitric acid (HCA) 가 풍부한 super citrimax라는 식물 추출물 (가르니시아 열매로부터 얻어짐) 을 함유. HCA는 탄수화물이 체내에서 지방으로 합성되는 것을 방지.

## 6. Red Zone



그림 18. Red Zone

- 제조사: Ultimate Nutrition (US)
- 원료: Asian ginseng power (root), Ginger powder (root), Cayenne pepper (fruit) , Kola nut power (seed) 등.
- 형태: 알약
- 설명: 칼로리 연소. 피로 방지 작용을 하여 운동할 때 도움을 줌.

## 제 9절 혈액 개선 건강기능식품

혈액 순환은 신체의 각 부분으로 영양소와 산소를 공급하는데 중요한 역할을 한다. 특정한 부위로 혈액이 운반되지 못한다면 그것은 질병을 유발시키는 주요한 원인이 된다. 인삼은 혈액 건강을 향상시키는 가장 효과적인 한방약 중 한 가지다.

인삼 뿌리에 있는 사포닌은 마늘, 양파, 도라지 등에 포함되어 있는 사포닌과 구분하기 위하여 ‘Ginsenoside’라고 불린다. 진세노사이드는 면역력을 증진시키며 스트레스 증상을 완화시키고 혈액 순환을 개선시키며 심장 주위에 콜레스테롤이 축적되는 것을 방지하기도 한다. 많은 연구가 인삼이 항암 효과를 보이며 간 기능을 향상시키고 노화 작용을 늦춘다는 것을 보여왔다.

아래는 인삼이 포함된 혈액 개선 건강기능식품에 관련된 정보이다.

## 1. Alert!



그림 19. Alert!

- 제조사: Herbal Medi Care (US)
- 원료: Ginseng (root) organic, Grinko biloba (aerial) organic, Ginger (root) organic 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 혈액 순환과 집중을 향상시키는 비타민을 함유. 유기농 원료가 사용됨.

## 2. Heart Formula



그림 20. Heart Formula

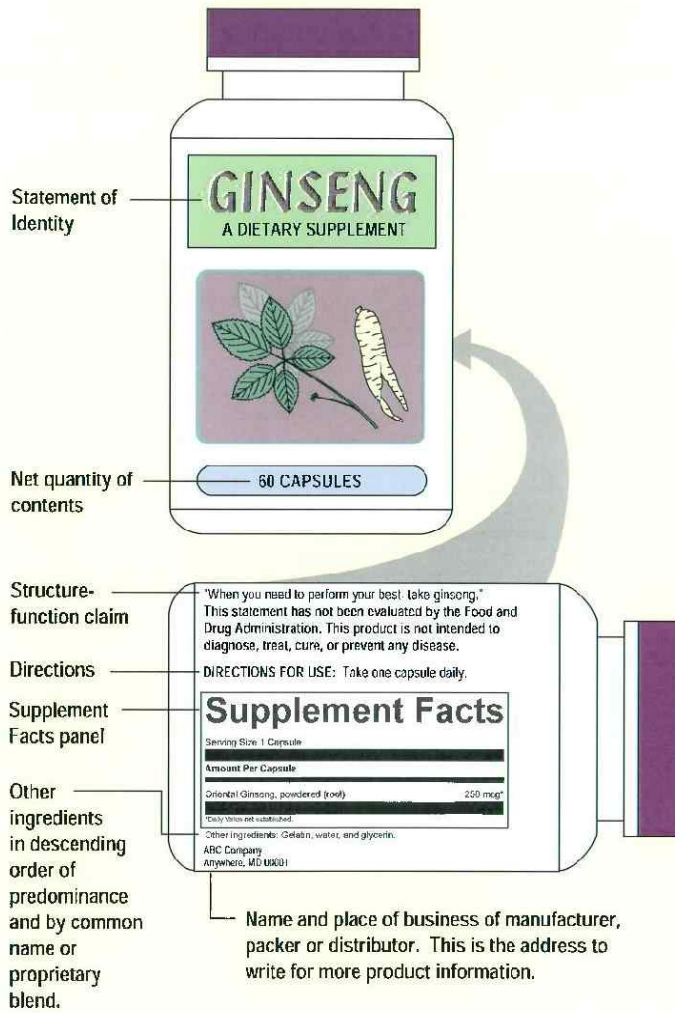
- 제조사: Herbalmax (US)
- 원료: Ginseng, Angelica root, Red sage root, Chinese hawthorn fruit 등.
- 형태: 캡슐
- 설명: 콜레스테롤과 지방질 감소. 혈액 순환 증진. 심근 조직의 재생성 증진

- 부 록 -

- 1) 레이블링
- 2) FCE SID등록 신청서
- 3) FSMA (식품안전현대화법 개요)
- 4) NDIN FDA규정 전문
- 5) NDIN 신청서 예문

# Anatomy of the New Requirements for Dietary Supplement Labels

(Effective March 1999)



부록 (1)





FORM APPROVED OMB NO. 0910-0037  
EXPIRATION DATE: 2/28/2015

See PFA Statement on page 2.

2 0

FCE SID

Y Y Y Y M M D D S S S S

**A. PRODUCT**  
Name, Form or Style, and Packing Medium:  
pH: \_\_\_\_\_ (Before Acidification)  
Governing Regulation:  
 low-acid (21 CFR 108.35(f)(1)(3))  
 acidified (21 CFR 108.25(f)(1)(4))

Type of Submission:  
 new  
 replaces  
 cancels

Process Use:  
 scheduled  
 alternate for  
 emergency for

**B. PROCESSING METHOD**  
NAME OF STERILIZER (NFR. & TYPE)  
HEATING MEDIUM (e.g. Steam, water, immersion or spray, steam-air)

1.  Still  
a.  Horizontal  
b.  Vertical  
Diyler Plates (complete for a. or b.)  
 None  Perforated

c.  Crateless  
Bottom Surface (complete for c.)  
 Solid  Perforated

2.  Agitating  
a.  End over End  
 Axial  
b.  Continuous  
 Batch

3.  Hydrostatic  
 Inner Chain only  
 Outer Chain only  
 Both Inner and Outer Chain  
 Single Chain  
 Multiple Chain

4.  Flame

5.  Other (explain) \_\_\_\_\_

6.  Acidified  
Maximum Equilibrium pH: \_\_\_\_\_  
Method of Acidification: \_\_\_\_\_  
Acidifying Agent: \_\_\_\_\_  
Pasteurization Method: \_\_\_\_\_  
Preservative Used: \_\_\_\_\_  
Concentration: \_\_\_\_\_

CONTAINER TYPE:  
1.  Tinplate/Steel Can  2-piece  Welded  
2.  Aluminum Can  3-piece  Cemented

3.  Glass or Ceramic  
4.  Flexible Pouch (specify material): \_\_\_\_\_

5.  Semirigid (specify material): Lid \_\_\_\_\_ Body \_\_\_\_\_  
Seal Method \_\_\_\_\_

6.  Other (specify): \_\_\_\_\_

PROCESS ESTABLISHMENT SOURCE (Limit entry to 30 characters) \_\_\_\_\_

DATE LAST ESTABLISHED \_\_\_\_\_

PROCESS RECOMMENDATIONS ATTACHED?  
 YES  NO

**C. CRITICAL FACTORS: AS DELINEATED BY PROCESS AUTHORITY TO ASSURE COMMERCIAL STERILITY (Check or Describe)**

None of the following  NO  ( )  
Maximum Water Activity (a<sub>w</sub>)  MW  ( )  
Consistency / Viscosity  CV  ( )

Value \_\_\_\_\_  
Units \_\_\_\_\_  
Method Name \_\_\_\_\_  
Temperature \_\_\_\_\_

Container Position in Retort \_\_\_\_\_  
Nesting of Containers \_\_\_\_\_  
Fill Method (check applicable method) \_\_\_\_\_  
Hand or Volumetric \_\_\_\_\_  
Vibrating or Turbula \_\_\_\_\_  
Other (specify) \_\_\_\_\_

% Solids \_\_\_\_\_  
Solid to Liquid Ratio (wt. to wt.) \_\_\_\_\_  
Drained wt./Net wt. Ratio \_\_\_\_\_

Arrangements of Pieces in Container \_\_\_\_\_  
Formulation Changes \_\_\_\_\_  
Preparation Method \_\_\_\_\_  
Product Quality \_\_\_\_\_  
Milling Tendency \_\_\_\_\_  
Layer Pack \_\_\_\_\_  
Max. Flexible Pouch/Semirigid Container Thickness in Retort \_\_\_\_\_  
Max. Residual Air (Flexible Pouch/Semirigid Container) \_\_\_\_\_  
Particle Size \_\_\_\_\_  
Syrup Strength \_\_\_\_\_  
Starch Added \_\_\_\_\_  
Max. % \_\_\_\_\_  
Type \_\_\_\_\_

Other Endel \_\_\_\_\_  
Min. % Moisture of Dry Ingredients \_\_\_\_\_  
Other (specify) \_\_\_\_\_

AP   
FC   
RM   
PQ   
MT   
LP   
MP   
MR   
PS   
SS   
SA   
OB   
MM   
OT

NOTE: This document is obsolete. For more information, please contact the Office of Regulatory Affairs, Division of Food Safety, U.S. Food and Drug Administration, 2000 M Street, NW, Washington, DC 20540. (301) 438-2244. www.fda.gov/oc/ohrt/obsoletedocs.html



Food

Home > Food > Food Safety > Food Safety Modernization Act (FSMA)



Email this Page



Print this page



Change Font Size

Food Safety	
Food Safety Modernization Act (FSMA)	
About FSMA	
Full Text of the Law	
Implementation and Progress	
Dockets Open for Comment	
Meetings, Hearings, and Workshops	
Press Releases	
Speeches and Statements	
Videos, Webinars, and Interviews	
Frequently Asked Questions	
Translations of Key FSMA Resources	

FDA 식품안전 현대화법(FSMA: Food Safety Modernization Act)의 변경

In English

FDA(미국 식품의약국)은 널리 있는 국제 농산물을 위한 시비시스템 본 번역본을 게시합니다. 직역은 여러모로 개개 부분 번역 오류 가능성을 깨닫는다. 단정(能)은 가능한 한 영어 원문에 충실한 번역본을 입수하려고 했습니다. 직역은 번역본이 영어 원문만큼 정확하거나, 낱말(能)이든 모든 관련하지 않거나 수도 있다는 점을 인정합니다. 본 문서의 실제 원문은 영어 원문입니다.

결정공개예행청대의 최근 조정에 의하면, 식품이 기인한 질병으로 매년 약 4천8백만 명 (미국인 6명 중 1명)의 인구가 병에 걸리고, 12만 8천 명이 입원하고, 3천 명이 사망한다. 이것은 공공 보건으로서의 심각한 무덤이 되는 것이니 대개는 사전 예방이 가능한 것이다.

FDA 식품안전 현대화법 (FSMA)은 오바마 대통령이 1월 4일 서명하여 발표한 법안으로서 FDA로 하여금 식품공급의 안전성을 보장해 줌으로써 공공보건을 더욱 강화하게 보호하도록 하는 것이다. 동 법안은 FDA가 주로 문제가 발생된 후에 내지라는 법안에 의지하기보다는 오히려 식품안전에 관한 본래는 사전에 예방하는 것에 더욱 중점을 두고 있다. 동 법안은 또한, 예방과 위험성을 토대로 한 식품안전기준을 더욱 높은 수준으로 끌어올리고, 목표 달성, 문제 발생 시, 더욱 조급적으로 대처하고 문제가 확산되지 않도록 한다는 것을 목적으로 한 새로운 법 집행 권한을 FDA에 부여하고 있다. 동 법안은 수입식품도 국내 생산 식품과 동일한 기준에 부합되도록 하는 새로운 중요한 수단을 FDA에 부여하고 있으며, FDA가 수 및 지령의 기관과 농민 관계로서 세습하여 중립적인 국가 식품안전체계를 구축하는 의무를 이행하도록 FDA에게 지시하고 있다.

예방이 기초한 새로운 식품안전체계를 구축하는 것은 시간이 소요될 것이며 FDA는 이러한 일이 빠르게 완료될 수 있도록 하는 전략을 만들고 있다. 의회는 별도로 구체적인 시행 일자리를 이미 인정하였다. FDA가 식품안전법 하에 규정을 함께 수립하도록 명령하는 것과 같은 새로운 몇 가지 법 집행은 곧 시행될 것이다. 그 외의 사항들은 FDA가 여러 관련 규정과 지침서를 준비하고 공표하도록 수립하고 있다. 직원 충원 및 중요 임무에 영향을 준다. 무엇보다 FDA가 매년 모든 자급작 시 일이나 조약이 FDA가 동 법을 집행할 수 있는지에 영향을 미치게 될 것이다. FDA는 이러한 법적 요구사항을 공개적인 절차를 통하여 모든 관련 기관의 주부 사정을 반영한 기회를 가지게 시행하고자 한다.

다음은 FDA의 주요 새로운 위험 사항에 관한 중의 일부이다. 동 법에서 명시하는 구체적 시행 일자는 앞으로에 표시하였다.

예방

최초도, FDA는 식품공급 전반에 걸쳐 포괄적이고, 파산에 기초한 예방적 동제를 요구할 법적 권한을 가진다. 이 권한에는 다음 사항을 포함한다:

- 식품 안전에 대한 의무적 예방 권력: 식품안전은 시간으로 작성된 예방 권력 세력을 시행하도록 요구된다. 이에 포함되는 것으로, (1) 식품안전에 영향을 줄 수 있는 유해성 평가, (2) 위험 유해성을 상당하게 최소화, 또는 방지하고자 하는 예방 조치, 또는 권력할 것인지를 명시, (3) 해당 업체가 그러한 권력이 집행되어 시행되는지 여부를 점검할 것인지를 명시, (4) 감독 기록을 원상 복구하여 유지, 및 (5) 해당 업체가 발생하는 문제를 개선하고자 하는 조치를 취할 것인지를 명시하는 것 등이다. (법 발표 후 18개월 내에 최종 수립을 예정)
- 식품 안전의 안전기준 설정 의무: FDA는 적절히 최소의 안전한 생산과 수확을 위하여 기록에 기초한 최초의 기준을 설정하여야 한다. 이러한 기준은 사전세례뿐만 아니라 인위적이거나 미 인위적으로 얻어낼 수 있는 유해성까지도 고려해야 하며, 또한 도량 변화 (비밀의 같은 도량 첨가물), 위생, 포장, 온도 조절, 판매 지에서의 동등 및 등도 다루어야 한다. (법 발표 후 2년 내에 최종 수립을 예정)
- 국제적 식품 오염 방지를 위한 권한: FDA는 특정 위험 지점에서의 식품 공급망 사인된 보호를 위하여 전략에 기초한 중점 감사를 수행하는 것을 포함하여, 국제적인 식품 안전 행위를 방지하기 위한 규정을 공고하여야 한다. (법 발표 후 18개월 안에 최종 수립을 예정)

감사와 준수

FSMA는 예방 권력 기준이 식품안전을 향상시킬 것이라는 것에는 생산업체와 가공업자가 이러한 기준을 준수하는 한에서 가능하다고 인식한다. 따라서 FDA가 감시하고, 의무 조건의 준수가 불명확하게 기록되지 않고, 문제 발생 시, 효과적으로 대처하는 것이 필요하다. FSMA는 FDA에 감사와 준수를 위한 새로운 중요한 수단을 제공하고 있다. 이에 포함되는 사항은 다음과 같다:

- 리수력 감사의 빈도수: FSMA는 위험성에 기초하여, 식품업체가 리수력으로 해야 하는 감사의 빈도수를 설정하고 즉시 감시 권수를 늘리기를 요구하고 있다. 높은 위험성을 지닌 모든 국내 업체는 법 시행 후 5년 이내에 감사를 받고 그 이후에는 3년마다 받아야 한다. 시행 후 1년 이내에, 동 법은 FDA로 하여금 적어도 600개의 외국 업체를 감사하고, 그다음 5년 동안은 매년 그러한 감사의 빈도수를 두 배로 늘리도록 지시하고 있다.
- 기록 조력: FDA는 업체의 식품안전체제와 그러한 체제를 시행한 기록 분석을 포함하여 모든 해당 기록을 포괄한 권한을 지닌다.
- 공인 시험기관에 의한 감사: FSMA는 특정 식품 감사는 공인된 검사기관에서 하도록 요구하며, FDA로 하여금 비공인된 검사 기관이 결과적으로 높은 기준을 충족하도록 시험기관 공인 프로그램을 수립하도록 지시하고 있다. (법 발표 후 2년 내에 공인 프로그램 수립)

대응조치

FSMA는 FDA의 예방 권력에도 불구하고 문제가 일어날 경우, 효과적으로 대처하기 위한 수단을 가지게 하도록 한다고 인식하고 있다. FDA의 새로운 권한으로 아래 사항을 포함한다:

- 식품 강제 수거 명령: FSMA는 이 법 집행이 FDA가 요청한 후에도 인위적 못한 식품을 차명적으로 수거하지 않은 경우, 해당 식품을 수거하도록 강제 명령을 발송할 권한을 FDA에 부여한다.
- 행정적 영구 조치의 확장: FSMA는 FDA에 관계적 위험 조치가 있는 제품을 행정적으로 인위적 위하여 더욱 더러워진 기준을 부여한다. (행정적 기록 조력은 수송된 식품이 이동하지 못하도록 FDA가 휘하) 실시함)

부록 (5)

등록 당시; FDA는 어느 업체의 식품이 원장에 첨가하게 하든 결과를 초래하거나 식품에 이질 수 있는 적당할 가능성  
성이 있다고 판단할 경우, 해당 업체의 등록을 정지할 수 있다. 정지 상태에 있는 업체는 식품 유통 행위가 금지된다.  
(입 말료 후 6개월 내에 시행)

- 제품 추적 기능의 향상: FDA는 국내 식품과 수입 식품 모두를 추적할 수 있는 기능이 향상되는 제품을 구입하도록 한다.  
다. 이에 더불어, FDA는 식품에 의한 질병 발생을 예방, 또는 통제하기 위하여 식품 사용자를 신속하고 효과적으로 파악  
이하는 방법을 탐구하고 평가하기 위한 시범 시업계획을 수립하여야 한다. (입 말료 후 9개월 안에 시범 시업계획을  
시행)
- 고위험성 식품의 추가 기록 보존: FDA는 보건복지부 장관이 고위험성 식품으로 지정한 식품을 제조, 가공, 포장, 또는  
보관하는 업체에 해당 기록의 보존 책임을 부과하는 규정을 공포한다. (입 말료 후 2년 안에 실시)

#### 수입식품

FSMA는 FDA에 수입식품이 미국의 기준에 부합하고 미국 소비자에게 안전한 식품이 되도록 모든 확신을 기리기 위하여  
권리가 없는 권한을 부여한다. FDA의 새로운 권한으로 아래 사항을 포함한다:

- 수입업체 책임: 제조사, 수입업체는 외국의 공급업체가 그들이 생산하는 식품의 안전을 보장하는 적절한 예방 관리 제  
도가 있다는 것을 입증해야 할 명시적 책임을 진다. (입 말료 후 1년 이내에 최종 규정의 지원을 받는다.)
- 제3자 인증: FSMA는 자격을 갖춘 제3자의 기업이 외국 식품업체가 미국의 식품안전기준을 준수하고 있다는 것을 인증  
할 수 있는 프로그램을 설치한다. 잘 인증을 수입식품의 안전을 원천적으로 확보할 수 있도록 사용될 수 있다. (FDA가 인증기관을  
승인하는 체계 수립은 입 말료 후 2년 이내에 완료)
- 고위험성 식품의 인증 제도: FDA는 고위험성 수입식품이 미국에 수입되는 조건으로 신청할 수 있는 제3자의 인증  
제도를, 또는 인증 기준의 준수 여부를 확인할 수 있는 다른 자료를 요청할 권한이 있다.
- 수입업체 자발적 자각 구비 제도: FDA는 수입업체를 위한 자발적인 프로그램은 수입업체가 동 프로그램에 참여한 수입  
업체가 수입 식품 검사와 검열을 신속하게 할 수 있도록 한다. 해당 자각은 무엇보다도 검열 업체에서 생산하는 식품  
은 새로운 수입업체로 대체된다. (입 말료 후 18개월 이내에 실시)
- 만일 국가 권위: FDA는 외국의 생산 업체, 또는 통업체가 검증하는 국가가 FDA 인증을 수여할 경우, 동 외국 업체로  
부터 미국으로 수입되는 식품을 기록할 수 있다.

#### 제조업자와의 관계 증진

FSMA는 국내 및 국외의 다른 정부 기구들과 공식적 협조체제를 수립한다. 이를 위해 동 법은 유익한 공동모건의 위치를  
달성하기 위해서는 모든 식품안전기관이 동일한 방식으로 시도 협조를 필요로 한다는 것을 명시적으로 인정하고 있다. 협  
조 증진의 예는 다음과 같다:

- 주 및 지방 기관의 집행 능력 개발: FDA는 주 및 지방 기관이 식품안전의 보호 기능을 사용하고 동 실행도구 진작을 제  
발하고 설명한다. FSMA는 국가적 목표로서의 식품 안전을 더욱 효율적으로 성취하고자 하는 기능에 부차적 목적을  
수 있도록 FDA에 여러 해에 걸친 보조금을 제공한다.
- 외국 기관의 집행 능력 개발: 동 법은 FDA로 하여금 다른 국가의 정부와 업체가 그들의 기능을 확장할 수 있도록 하는  
포괄적 계획을 개발하도록 지시하고 있다. 동 계획 내용 중의 하나로서, 미국의 식품안전 요구 조건에 대한 교육은 외  
국의 정부와 식품 생산업체에 제공된다.
- 다른 기관의 감지에 의뢰: FDA는 국내 식품업체를 상대로 줄기된 검사 업무를 초회하도록 원장, 주 및 지방의 해당 기  
구에 감사를 의뢰할 수 있는 권한이 명시적으로 부여되었다. FSMA는 또한, 국내 및 국외의 수산 식품업체는 물론, 수  
입 수산 식품 감시에 관여하는 해당 기관을 사용할 수 있도록 FDA가 해당 기관과 상호 긴밀하게 협력하는 것을 허용한  
다.

국기적 농업과 식품 보호 권리를 개발하고 시행하며, 전시 기관 간에 농업적인 제휴를 구축하고, 식품에 기인한 질병 감  
시 체계를 향상하기 위해서는 각 해당 기관과의 제휴관계가 추가적으로 요구된다.

이 새로운 법에 관련된 자세한 내용은, 아래 사이트 자료를 참조:

- 소비자 인식: 식품법 목적은 안전의 향상
- 식품안전 현대화법에 관한 회의와 응답
- 식품안전법: 주요 사실 내용
- 식품안전 현대화법: 예망에 주력
- 새로운 식품안전법론 귀하에게 어떤 의미를 갖게 하는가?

Page Last Updated: 04/20/2011

Note: If you need help accessing information in different file formats, see [Instructions for Downloading Viewers and Players](#).

[Home](#) | [About FDA](#) | [Contact Us](#) | [A to Z Subject Index](#) | [Site Map](#) | [Web Site Policies](#) | [Transparency](#) | [FOIA](#) | [Accessibility](#) | [No FEAR Act](#)

[Combination Products](#) | [Advisory Committees](#) | [Science & Research](#) | [Regulatory Information](#) | [Safety](#) | [Emergency Preparedness](#) | [International Programs](#)  
[News & Events](#) | [Training and Continuing Education](#) | [Inspections/Compliance](#) | [State & Local Officials](#) | [Consumers](#) | [Industry](#) | [Health Professionals](#)



# U.S. Food and Drug Administration



CENTER FOR DEVICES AND RADIOLOGICAL HEALTH

[FDA Home Page](#) | [CDRH Home Page](#) | [Search](#) | [A-Z Index](#)

[Questions?](#)



- 510 (k) | [Registration & Listing](#) | [Adverse Events](#) | [PMA](#) | [Classification](#) | [CLIA](#)
- [CFR Title 21](#) | [Advisory Committees](#) | [Assembler](#) | [Recalls](#) | [Guidance](#) | [Standards](#)

[New Search](#)

[Help](#) | [More About 21CFR](#)

[Code of Federal Regulations]  
 [Title 21, Volume 3]  
 [Revised as of April 1, 2008]  
 [CITE: 21CFR190.6]

TITLE 21--FOOD AND DRUGS  
 CHAPTER I--FOOD AND DRUG ADMINISTRATION  
 DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES  
 SUBCHAPTER B--FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION (CONTINUED)

PART 190 -- DIETARY SUPPLEMENTS

Subpart B--New Dietary Ingredient Notification

Sec. 190.6 Requirement for premarket notification.

(a) At least 75 days before introducing or delivering for introduction into interstate commerce a dietary supplement that contains a new dietary ingredient that has not been present in the food supply as an article used for food in a form in which the food has not been chemically altered, the manufacturer or distributor of that supplement, or of the new dietary ingredient, shall submit to the Office of Nutritional Products, Labeling and Dietary Supplements (HFS-820), Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, 5100 Paint Branch Pkwy., College Park, MD 20740, information including any citation to published articles that is the basis on which the manufacturer or distributor has concluded that a dietary supplement

부록 (7)

containing such dietary ingredient will reasonably be expected to be safe. An original and two copies of this notification shall be submitted.

(b) The notification required by paragraph (a) of this section shall include:

(1) The name and complete address of the manufacturer or distributor of the dietary supplement that contains a new dietary ingredient, or of the new dietary ingredient;

(2) The name of the new dietary ingredient that is the subject of the premarket notification, including the Latin binomial name (including the author) of any herb or other botanical;

(3) A description of the dietary supplement or dietary supplements that contain the new dietary ingredient including:

(i) The level of the new dietary ingredient in the dietary supplement; and

(ii) The conditions of use recommended or suggested in the labeling of the dietary supplement, or if no conditions of use are recommended or suggested in the labeling of the dietary supplement, the ordinary conditions of use of the supplement;

(4) The history of use or other evidence of safety establishing that the dietary ingredient, when used under the conditions recommended or suggested in the labeling of the dietary supplement, will reasonably be expected to be safe, including any citation to published articles or other evidence that is the basis on which the distributor or manufacturer of the dietary supplement that contains the new dietary ingredient has concluded that the new dietary supplement will reasonably be expected to be safe. Any reference to published information offered in support of the notification shall be accompanied by reprints or photostatic copies of such references. If any part of the material submitted is in a foreign language, it shall be accompanied by an accurate and complete English translation; and

(5) The signature of the person designated by the manufacturer or distributor of the dietary supplement that contains a new dietary ingredient.

부록 (B)

(c) FDA will acknowledge its receipt of a notification made under section 413 of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (the act) and will notify the submitter of the date of receipt of such a notification. The date that the agency receives the notification submitted under paragraph (a) of this section is the filing date for the notification. For 75 days after the filing date, the manufacturer or distributor of a dietary supplement that contains a new dietary ingredient shall not introduce, or deliver for introduction, into interstate commerce the dietary supplement that contains the new dietary ingredient.

(d) If the manufacturer or distributor of a dietary supplement that contains a new dietary ingredient, or of the new dietary ingredient, provides additional information in support of the new dietary ingredient notification, the agency will review all submissions pertaining to that notification, including responses made to inquiries from the agency, to determine whether they are substantive and whether they require that the 75-day period be reset. If the agency determines that the new submission is a substantive amendment, FDA will assign a new filing date. FDA will acknowledge receipt of the additional information and, when applicable, notify the manufacturer of the new filing date, which is the date of receipt by FDA of the information that constitutes the substantive amendment.

(e) FDA will not disclose the existence of, or the information contained in, the new dietary ingredient notification for 90 days after the filing date of the notification. After the 90th day, all information in the notification will be placed on public display, except for any information that is trade secret or otherwise confidential commercial information.

(f) Failure of the agency to respond to a notification does not constitute a finding by the agency that the new dietary ingredient or the dietary supplement that contains the new dietary ingredient is safe or is not adulterated under section 402 of the act.

[62 FR 49891, Sept. 23, 1997, as amended at 66 FR 17359, Mar. 30, 2001]

Database Updated April 1, 2008

부록 (9)

FDA > CDRH > CFR Title 21 Database Search

[CDRH Home Page](#) | [CDRH A-Z Index](#) | [Contact CDRH](#) | [Accessibility](#) | [Disclaimer](#)  
[FDA Home Page](#) | [Search FDA Site](#) | [FDA A-Z Index](#) | [Contact FDA](#) | [HHS Home Page](#)

Center for Devices and Radiological Health / CDRH

부록 (10)

<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cFCFR/CFRSearch.cfm?fr=190.6> (4 of 4) 2008-08-30 오전 11:47:41

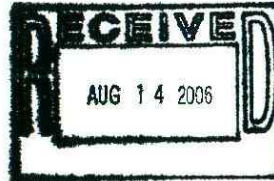


August 4th, 2006

**DSHEA SUBMISSION/ Additional Info ENCLOSED**

**Sender:** Michael G. Jeffers  
JLM Marketing, Inc  
700 North Walnut Street  
Bloomington, IN 47404

**Company:** JLM Marketing, Inc.  
700 North Walnut Street  
Bloomington, IN 47404  
Phn#: (h) 812-336-6385  
(o) 812-330-1526



**To:** Division of Standards and Labeling Regulations  
Office of Nutritional Products, Labeling, and Dietary Supplements, Center  
for Safety and Applied Nutrition  
Food and Drug Administration

**RE:** New Dietary Bulk Ingredient filing for Angelica gigas Nakai (Korean)  
Extract (AGNE) as Bulk Manufacturing Ingredient and to be called  
(Decursinol™)

Dear Sir/ Madame:

Pursuant to 21 CFR & 190.60 please be advised that JLM Marketing, Inc. of Tampa, FL, is hereby providing you with the notification of its intent to market a Bulk, New Dietary Ingredient, called Angelica gigas Nakai (Korean) Extract which is extracted from the root of the plant known as Angelica gigas Nakai. Enclosed with this original document are two additional copies of JLM Marketing, Inc.'s submission and the attachments thereto.

Based on the following, JLM Marketing, Inc. respectfully submits that there are no safety issues relating to its intended marketing of Angelica gigas Nakai (Korean) Extract from the root of the Angelica gigas Nakai plant.

A) Name of the New Dietary Bulk Ingredient which we will call "Decursinol" in the US Market

- 1) Genus Name; Angelica
- 2) Author; Nakai
- 3) Family; Umbelliferae
- 4) Synonyms; Angelica cryptotaeniifolia-Kitag
- 5) Range; East Asia

*2006-64576  
QUMB*

부록 (11)

**B) Description of the Bulk Dietary Ingredient**

- 1) Source- Angelica gigas Nakai (Korean) Extract is derived from the plant called Angelica gigas Nakai. The extract is specifically derived from the root. The extraction process is Confidential and Proprietary and the extraction process is outlined as **Exhibit MP-A**. KFDA has approved the finished extract for the inventor, along with their finished product as defined in **Exhibit MP-B**. Chuncheon Bioindustry Foundation has validated the Manufacturing Sight for the manufacturing sight in **Exhibit MP-C**.
- 2) The key phytochemical components of Decursinol™ is decursinol and decursin. The quantitative analysis of two ingredients is performed in all commercial lots against the respective standards established in Exhibit SAG.
- 3) The Chemical composition is defined with CAS info. in **Exhibit AC**.
- 4) Composition of Matter- as defined by the following specification for Angelica gigas Nakai Extract or what we are calling "Decursinol™", as **Exhibit SAG**.
- 5) Manufacturing Process of Decursinol™ Bulk Ingredient Extract. Decursinol™ is manufactured from the extract of roots from Angelica gigas Nakai plants-grown on South Korea farms, and harvested after a minimum of 2 years of growth. A detailed manufacturing process can be found in Exhibit MP-A. The manufacturer has certification by KFDA for the Certificate of Free Sales, (**Exhibit KFDA-1**), and Certificate of Health in **Exhibit KFDA-2**.

**C) Conditions of Use as an Bulk Dietary Ingredient**

*Dosage Rates from Human Clinical Studies:*

- 1) To achieve 98% effectiveness suggested "ingredient" dosage rates to the recipient would be 250 mgs twice per day.
- 2) Response time to intake is projected at 45-90 minutes per the inventor, Scigenic Co., LTD of South Korea. This projection is based on the testimonials of users as well as the invitro pharmacokinetic study of AGNE (**Exhibit TS**).

*Population Effect*

- 1) Human clinical evaluations were conducted on a double blind study of 80 people with no negative results during consumption (RE: toxicity, etc.)
- 2) Angelica gigas Nakai Extract (Decursinol) as an "ingredient" has been used in commercial form in South Korea for over 2 years with no reports of side effects or toxicity in all genders and ages (per KFDA)

- 3) Historical Data surrounding the historical and cultural use of Angelica gigas Nakai as a holistic remedy in South Korea is posted in **Exhibit HD-EG**.

**D) Comparison of AGNE (Decursinol™) as a Bulk Ingredient to the Commercial Form known as Joinwell which is manufactured and distributed in South Korea.**

- 1) The Bulk Ingredient called Decursinol™ (AGNE) is suggested in dosage rates of 250 mg, twice per day, per human clinical evaluations (**Exhibit HCS**).
- 2) During the human clinical evaluations of AGNE “GWB78” was used as the clinical trial code name during the research phase of the Angelica gigas Nakai Extract. This is the same Angelica Gigas Nakai extract in this submission, but the inventor used the code name of GWB78 in the lab. Inventor information is posted in **Exhibit MSL**.
- 3) The finished COMMERCIAL form (capsules) which includes the plant extract Decursinol™ (AGNE) was developed in South Korea by Scigenic, LTD. Manufacturing and Distribution information is posted in **Exhibit MSL**.
- 4) The Commercial finished formula provided by Scigenic is a two piece capsule and includes 320 mg of Decursinol (AGNE) along with additional excipients such as Glucosamine Sulfate, Vitamins and various flow agents. The Commercial formula for Joinwell is listed in **Exhibit FF**. The Joinwell label in English and Korean is listed in **Exhibit FF-1**.
- 5) This COMMERCIAL form called Joinwell established market share upon approval by KFDA (**Exhibit MP-B**), and after full review of the AGNE by KFDA. Joinwell has been selling and thriving in the South Korea commercial sector for almost three years. Consumption includes all age groups and gender but the distributor in South Korea does not have 24 month Commercial “tracking data” as to which specific ages are consuming the Joinwell.
- 6) The phytochemical content of Jointwell™ and Angelica gigas Nakai Extract (AGNE or Decursinol™) being submitted as a bulk manufacturing ingredient are quantitatively and qualitatively equivalent. The inventor of the ingredient extract, (**Exhibit MSL**), is also the marketer of the finished form, Jointwell™, which is being marketed in South Korea as nutritional supplement.

**E) The Safety of the Bulk Ingredient called Decursinol™, or AGNE (Angelica gigas Nakai Extract)**

Pre-clinical clinical animal toxicology studies have found that AGNE has a good safety profile up to 2 gram/Kg (of body weight) dose level. The toxicology study report is shown in **Exhibit HCS**.

- 1) The Human Clinical evaluations did not show any indications of addictive properties, or gastro problems as identified in Exhibit HCS.
- 2) Negative results were found on Acute Toxicity, Genetic Toxicity, and Subacute Toxicity evaluations as identified in Exhibit HCS.
- 3) Stability Data is defined in **Exhibit SD** showing the long-term stability and effectiveness of AGNE under acceleration and temperature progression evaluations.
- 4) KFDA evaluated Angelica gigas Nakai Extract and found the use and human consumption of AGNE acceptable for South Korea as outlined in Exhibit KF-D.
- 5) The Specification of Decursinol™ is included as Exhibit SAG, and the MSDS Sheet for Decursinol™ is included as **Exhibit MS**.

**F) Literature as Points of Reference are posted in the human clinical evaluations**

**G) Summary**

- 1) Based on the foregoing we believe that FDA should accept this filing on behalf of JLM Marketing, Inc. as providing sufficient evidence that Decursinol™ (AGNE), as a Bulk, New Dietary Ingredient, extracted from the root of the Angelica gigas Nakai plant, when used as suggested in the dosage rates defined in the Human Clinical Evaluations (as Exhibit HCS), can reasonably be expected to be safe for human consumption.
- 2) In support of this we have included all appropriate Exhibits defining the purity, safety, stability data, toxicity results, manufacturing protocols and specifications, animal studies, and human studies, of Decursinol™, or Angelica gigas Nakai Extract.

Page 5

If you have any further requirements for additional data please direct all correspondence to the undersigned.

Signed:.....

Michael G. Jeffers  
JLM Marketing, Inc.  
(812) 330-1526  
mike.jeffers@jlm.com

부록 (15)

## 제 10절 건강기능식품 미국 등록절차 및 인허가제도 조사

### 1. 건강기능식품 관리 제도

#### 가. 건강기능식품의 정의

미국의 경우 건강기능식품에 대해 법적으로 인정하고 있는 용어는 '식이보충제 (dietary supplement)이다. 이것은 Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA, 식이보충제 건강 및 교육법)에 의해 1994년 정의된 용어이다. 건강기능식품은 특정 식품성분의 섭취를 보강하기 위한 목적으로 추가적인 식이 성분을 포함하고 있는 제품이며, 이러한 건강기능식품에는 다음과 같은 여러 가지 원료가 포함된다.

- 비타민
- 무기질
- 허브 등 식물 성분
- 아미노산
- 식사를 보충하기 위해 사용되는 물질
- 농축물, 대사산물, 구성요소, 추출물 혹은 이에 포함된 성분

모든 건강기능식품은 연방법에 의해 "dietary supplement"나 "dietary"라는 단어에 대한 제품의 식이 성분의 설명을 대체할 수 있는 용어로 표시되어야만 한다. (예: "herbal supplement", "calcium supplement")

#### 나. 관리제도

건강기능식품은 식품 카테고리에 들어가므로, FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN)의 관할에 들어간다. 건강기능식품 관리제도와 등록절차는 일반식품과 다를 바 없지만, 건강기능식품에는 'Supplement Facts'라는 특정한 영양정보표시가 요구된다.

1994년 10월에 클린턴 대통령이 the Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA)를 제정했다. 그전에는 건강기능식품은 다른 식품과 마찬가지로의 규제를 받고 있었다. The Federal Food, Drug, and Cosmetic Act를 수정한 이 새로운 법안은 건강기능식품의 안전성과 레이블링에 대한 새로운 규제 틀을 만들어냈다. DSHEA 하에서, 기업은 자신이 생산하거나 유통하는 건강기능식품이 안전하고, 그에 대한 표현이나 표시가 충분한 증거에 의해 입증되었다는 것을 확정하는데 책임을 진다. 이것은 건강기능식품이 판매되기 위해서는 FDA의 승인이나 허가가 따로 필요하지 않다는 것을 의미한다. 또한 기업은 건강기능식품을 시판하기 전이나 후에 자신들의 제품에 관한 안전성과 효용성을 입증할 수 있는 증거를 FDA에 제출할 필요는 없다. 제조자는 Bioterrorism Act에 의해 자신의 기업을 FDA에 등록해야 한다.

반면 NDI의 경우에는 안전성 자료와 기타 다른 정보와 관련된 pre-market 리뷰가 법에 의해 요구된다. 건강기능식품에 사용되는 신원료(New Dietary Ingredient, NDI)는 FDA 승인대상이지만, 건강기능식품 그 자체는 FDA의 승인대상이 아니다.

연방법은 건강기능식품이 판매되기 전 FDA에 그 안전성을 입증할 것을 요구하지 않으며, 건강기능식품의 라벨에 포함된 강조표시가 정확하고 적절하다는 것을 또한 FDA에 증명할 것을 요구하지는 않는다. 일반적으로, 건강기능식품에 대한 FDA의 역할은 제품이 시장에 진입한 후에 시작된다. 건강기능식품이 시중에 판매되기 시작하면, FDA는 특정한 안전 감시 책임을 갖는다. 이것은 건강기능식품 제조 기업의 중대한유해사례(serious adverse events, SAE)의 필수보고(mandatory reporting)와 소비자와 의료 전문가에 의해 제출된 자발적부작용신고(voluntary adverse events)의 감시를 포함한다. FDA는 또한 제품 라벨과 첨부 문서(package insert), 인쇄물, 인터넷 프로모션 등을 검토한다. 라디오와 텔레비전에서 방송되는 건강기능식품의 광고는 미국 연방거래 위원회(Federal Trade Commission)의 관할에 속한다.

식품 업체는 법령에 의해 2년 이내의 기록을 유지하고 보관할 의무가 있다. (부패성 식품: 1년, 기타 식품: 2년) FDA의 요청 시에 업체는 24시간 이내에 기록자료 제출을 해야 한다.

#### 다. 건강기능식품의 라벨

레이블링은 일반식품과 마찬가지로 건강기능식품에도 필수로 포함되어야 하는 의무사항이지만, 건강기능식품에는 일반식품과는 다른 레이블링 조건이 요구된다. 일반식품의 라벨에는 "Nutrition Facts"가 표기되어야 하는 반면, 건강기능식품의 라벨에는 "Supplement Facts"가 정확하게 표기되어야 한다.

##### (1) Supplement Facts

건강기능식품의 라벨에는 다음과 같은 특정한 정보가 표시되어야 한다:

- 제품이 '보충제(supplement)'라는 것을 명시하는 제품 이름.
- 제조자, 포장 업체, 또는 유통업체의 상호와 사업장.
- 전체 성분 리스트.
- 제품의 실중량(net content).

추가로, 각각의 건강기능식품은 "Supplement Facts" 내에 영양 정보 표시 또한 가지고 있어야 한다. 이 라벨은 제품에 포함된 각각의 식이 원료를 포함할 수 있어야 한다.

##### (2) 기타 원료 (Other Ingredient)

모든 성분이 건강기능식품의 라벨에 표시되어야 하지만 "Supplement Facts"에서 언

급되지 않은 성분은 "Supplement Facts" 아래의 "other ingredient"에 언급될 수 있다. "Other ingredients"에는 다음과 같은 성분이 포함될 수 있다:

- 'Supplements facts'에 포함되지 않은 건강기능식품의 소스(source) (예: 비타민 C의 소스로써의 로즈 힙)
- 기타 식품 성분 (예: 물, 설탕)
- 전문 첨가물이나 가공 보조제 (예: 젤라틴, 녹말, 색료, 안정제, 방부제, 향료)

### (3) 제공량 (Serving Sizes)

건강기능식품의 제공량이나 영양분의 양을 제한하는 규정은 따로 존재하지 않는다. 건강기능식품의 제공량은 제조자에 의해 결정될 수 있으며 FDA의 리뷰나 승인을 요구되지 않는다. "Per unit", "per day"와 같은 정보는 기업이 원할 경우 추가로 표시할 수 있다.

### 라. 강조표시

건강기능식품은 의약품과는 달리 질병을 치료하거나, 진단하거나, 예방하거나, 질병을 고치도록 의도되어 있지 않다. 이것은 건강기능식품에 "관절 통증을 경감시킨다" 혹은 "심장병을 치료한다" 등의 강조표시가 사용되어서는 안 된다는 것을 말한다. 건강기능식품을 특정한 질병에 대한 치료제나 의약품으로, 혹은 그러한 질병의 증상을 완화시켜주는 제품으로 판매하는 것은 불법이다. 이러한 주장은 건강기능식품이 아닌 오직 의약품에만 합법적으로 사용될 수 있으며 치료나 개선 효과를 표기하는 경우엔 건강기능식품이 아닌 의약품으로 오인될 가능성이 존재하고 건강기능식품에 적용되는 규정과는 또 다른 규정이 적용될 가능성이 있으므로 각별히 주의하여야 한다.

FDA는 건강기능식품의 라벨에 사용할 수 있는 강조표시(claim)에 대한 규제를 하고 있다. 건강기능식품의 라벨에 사용될 수 있는 강조표시는 법규와 FDA의 규정에 따라 분류되는 다음의 세 종류, 건강 강조표시 (Health Claim), 영양분 함량 강조표시 (Nutrient Content Claim), 구조/기능 강조표시 (Structure/Function Claim) 가 존재한다.

#### (1) 건강 강조표시 (Health Claim)

건강 강조표시는 식품 물질(식품, 식품 성분, 또는 건강기능식품의 성분)과 질병이나 건강과 관련된 상태의 감소된 위험부담 사이의 관계를 설명한다. FDA는 1990년의 Nutrition Labeling and Education Act (NLEA) 와 1997년 Food and Drug Administration Modernization Act를 통해 과학적 증거를 검토하고 평가한 후 식품과 건강기능식품에 대한 건강 강조표시에 대한 관리 권한을 발효하였다.

건강 강조표시는 (1) 성분 (식품, 식품 성분, 식이 원료) 과 (2) 질병 혹은 건강과 관련된 상태의 두 가지 중요한 부분으로 이루어져있다. 둘 중 하나가 부족한 표현은 건강 강조표시의 정의에 맞지 않는다. 예를 들면, 좋은 건강을 유지하는 데에 있어서 식이 패



턴이나 일반 식품(예, 과일과 야채)은 건강 강조표시라기 보다는 식이 지침으로 여겨진다.

건강기능식품의 라벨에 사용될 수 있는 건강 강조표시에 대한 자세한 설명은 다음의 웹사이트에서 찾아볼 수 있다: A Food Labeling Guide - Appendix C: Health Claims

(가) NLEA에 의해 허가된 건강 강조표시 (NLEA Authorized Health Claims). 식품, 식품 성분, 혹은 식이 요소와 질병 가능성 사이의 관계를 설명하는 건강 강조표시. FDA는 이러한 타입의 건강 강조표시를 과학 논문의 폭넓은 검토를 기반으로 두고 인가한다.

- 예시: "adequate calcium throughout life may reduce the risk of osteoporosis".

(나) 권위 있는 표현에 기반을 둔 건강 강조표시 (Health Claims Based on Authoritative Statements). 미국 정부나 National Academy of Sciences의 특정한 과학적인 단체로부터의 "권위 있는 표현"에 기반을 둔 강조표시. FDA는 기업이 이러한 건강 강조표시에 대한 신고를 작성하는 방법에 대한 지침을 발행했다: Notification of a Health Claim or Nutrient Content Claim Based on an Authoritative Statement of a Scientific Body.

(다) 제한적인 건강 강조표시 (Qualified Health Claims). FDA의 Interim Procedures for Qualified Health Claims in the Labeling of Conventional Human Food and Human Dietary Supplements는 식품 레이블링에 사용되는 제한적인 건강 강조표시와 관련된 FDA의 절차를 설명하고 있다. 식품 성분 (식품, 식품 구성요소, 식이 원료) 과 질병이나 건강에 관련된 상태의 감소된 위험 사이의 관계에 대한 새로운 증거가 있을 때, 그러나 이 증거는 특정한 과학적 합의의 거칠 만큼 충분히 확립되지는 않았을 때, 제한적인 건강 강조표시 신청 과정이 FDA가 과학적 증거를 검토하여 식품 레이블링 내에 제한적인 강조표시로 사용되는 것을 승인하는 방법을 제공해준다. 신청된 청원에 대한 검토 기간은 270일이다. FDA는 제한적인 건강 강조표시에 대한 지침과 (Interim Procedures for Qualified Health Claims in the Labeling of Conventional Human Food and Human Dietary Supplements을 참고) 건강 강조표시를 평가하는데 사용하는 과학적 기준에 대한 지침을 발행했다. (Evidence-Based Review System for the Scientific Evaluation of Health Claims). FDA에 제출된 제한적인 건강 강조표시 신청서는 공중의 검토와 논평을 위해 공개된다. 일반에 공개된 신청서는 다음의 사이트에서 찾아볼 수 있다: FDA Dockets Management website. FDA에 의해 승인되는 제한적인 건강 강조표시의 개요는 다음의 사이트에서 찾아볼 수 있으며: Qualified Health Claims Subject to Enforcement Discretion, 추가적인 정보를 위해서는 Qualified Health Claims를 참고할 수 있다.

## (2) 영양분 함량 강조표시 (Nutrient Content Claim)

영양분 함량 강조 표시는 식품 내에 포함된 영양소의 수준을 *free*, *high*, *low* 같은 혹은 제품을 다른 식품과 비교하여 *more*, *reduced*, *lite* 등의 용어를 사용하여 나타내는 표시이다. 이 표시는 열량, 총 지방, 포화지방, 콜레스테롤, 나트륨, 당분과 같은 영양 성분과 관련이 있으며 질병 예방에 관련된 것은 아니다.

대부분의 영양분 함량 강조표시는 확립된 하루 권장량(Daily Value)을 가지고 있는 영양분에만 적용된다: A Food Labeling Guide - VII. Nutrition Labeling. FDA는 통상적으로 섭취하는 하루 권장량이나 영양소량의 비율을 고려하여 영양소 함량 강조표시를 승인해주고 있다. 영양분 함량 강조표시에 대한 요구 사항은 모든 타입의 식품에 사용되는 *high*나 *low*같은 용어를 이해할 수 있게 해주며, 그런 점에서 소비자들에게 의미 있다.

영양분 함량 강조표시에 대한 규정의 개요는 The Food Labeling Guide의 Chapter VI에서 찾아볼 수 있으며, 영양분 함량 강조표시에 대한 예시는 다음의 링크에서 찾아볼 수 있다:

Appendix A: Definitions of Nutrient Content Claims

Appendix B: Additional Requirements for Nutrient Content Claims.

- 영양분 함량 강조표시에 대한 예시: “low fat”, “high in oat bran”, “contains 100 calories”, “only 200 mg of sodium”.

## (3) 구조/기능 강조표시 (Structure/Function Claims and Related Dietary Supplement Claims)

구조/기능 강조표시는 신체의 특정 부위나 생리 기능에 영향을 미칠 수 있는 식이 성분 또는 영양소의 역할을 건강기능식품의 라벨에 설명할 수 있도록 허용한 것을 말한다. 구조/기능 강조표시는 신체의 구조나 기능에 영향일 미치도록 의도된 영양분이나 식이 성분의 역할을 설명하는 데에 사용된다.

건강기능식품의 제조자들은 본인의 제품에 구조/강조 기능표시를 한 경우시판 30일 이내에 FDA에 이러한 표시가 사실이며 오해의 여지가 없다는 것을 FDA에게 통지해야 한다. 만약 건강기능식품에 이러한 표시가 포함되었다면, 이 표시는 FDA가 이러한 표시를 평가하지 않았다는 것을 알리는 “disclaimer” 내에 설명되어야 한다. 또한 “disclaimer”는 건강기능식품이 질병을진단, 치료, 예방하도록 의도되지 않았다는것을설명할수있어야한다 (의약품만 이러한 표시를 할 수 있다).

일반 식품에 대한 구조/기능 강조표시는 영양가에서 비롯된 효과에 초점을 맞추고 있는 반면, 건강기능식품에 대한 구조/기능 강조표시는 영양적인 것뿐만 아니라 비영양적(non-nutritive)인 효과에도 초점을 맞추고 있다.

구조/기능 강조표시에 대한 더 많은 정보는 다음의 링크에서 찾아볼 수 있다:  
Structure/Function Claims Small Entity Compliance Guide.

- 구조/기능 강조표시에 대한 예시: “calcium builds strong bones”, “fiber maintains bowel regularity”, “antioxidants maintain cell integrity”.

마. GMP (Good Manufacturing Practice, 우수제조수칙)

2007년 6월에 FDA는 건강기능식품을 제조하고 포장하거나 보유하고 있는 기업을 대상으로 한 포괄적인 규정인 'Current Good Manufacturing Practices'를 발표했다. 이 규정은 건강기능식품의 독자성, 순도, 품질, 강도, 그리고 구성을 보장하는 관리기준에 초점을 맞추고 있다. 이 규정에는 아래의 표와 같은 내용이 포함되어 있다.

FDA 21 CFR 111 (Current Good Manufacturing Practice in Manufacturing, Packaging, Labeling, or Holding Operations for Dietary Supplements)에 따르면, 건강보조식품을 제조, 포장, 레이블링 및 보관하는 국내외 모든 업체 뿐만 아니라 건강보조식품과 관련된 테스트, 품질관리를 하는 업체, 미국에서 건강보조식품을 유통시키는 업체는 모두 품질관리를 위해서 cGMPS (Current Good Manufacturing Practices)를 준수해야 한다.

표 3. FDA 21 CFR 111 (Current Good Manufacturing Practice in Manufacturing, Packaging, Labeling, or Holding Operations for Dietary Supplements)

Subpart A. 일반 규정

- § 111.1 - Who is subject to this part?
- § 111.3 - What definitions apply to this part?
- § 111.5 - Do other statutory provisions and regulations apply?

Subpart B. 인력

- § 111.8 - What are the requirements under this subpart B for written procedures?
- § 111.10 - What requirements apply for preventing microbial contamination from sick or infected personnel and for hygienic practices?
- § 111.12 - What personnel qualification requirements apply?
- § 111.13 - What supervisor requirements apply?
- § 111.14 - Under this subpart B, what records must you make and keep?

Subpart C. 시설

- § 111.15 - What sanitation requirements apply to your physical plant and grounds?
- § 111.16 - What are the requirements under this subpart C for written procedures?
- § 111.20 - What design and construction requirements apply to your physical plant?
- § 111.23 - Under this subpart C, what records must you make and keep?

Subpart D. 기기 및 기구

§ 111.25 - What are the requirements under this subpart D for written procedures?

§ 111.27 - What requirements apply to the equipment and utensils that you use?

§ 111.30 - What requirements apply to automated, mechanical, or electronic equipment?

§ 111.35 - Under this subpart D, what records must you make and keep?

Subpart E. 생산과 제조 제어 시스템을 설립하기 위한 요건

§ 111.55 - What are the requirements to implement a production and process control system?

§ 111.60 - What are the design requirements for the production and process control system?

§ 111.65 - What are the requirements for quality control operations?

§ 111.70 - What specifications must you establish?

§ 111.73 - What is your responsibility for determining whether established specifications are met?

§ 111.75 - What must you do to determine whether specifications are met?

§ 111.77 - What must you do if established specifications are not met?

§ 111.80 - What representative samples must you collect?

§ 111.83 - What are the requirements for reserve samples?

§ 111.87 - Who conducts a material review and makes a disposition decision?

§ 111.90 - What requirements apply to treatments, in-process adjustments, and reprocessing when there is a deviation or unanticipated occurrence or when a specification established in accordance with 111.70 is not met?

§ 111.95 - Under this subpart E, what records must you make and keep?

Subpart F. 생산과 제조 제어 시스템: Quality Control을 위한 요건

§ 111.103 - What are the requirements under this subpart F for written procedures?

§ 111.105 - What must quality control personnel do?

§ 111.110 - What quality control operations are required for laboratory operations associated with the production and process control system?

§ 111.113 - What quality control operations are required for a material review and disposition decision?

§ 111.117 - What quality control operations are required for equipment, instruments, and controls?

§ 111.120 - What quality control operations are required for components, packaging, and labels before use in the manufacture of a dietary supplement?

§ 111.123 - What quality control operations are required for the master manufacturing record, the batch production record, and manufacturing operations?

§ 111.127 - What quality control operations are required for packaging and labeling operations?

§ 111.130 - What quality control operations are required for returned dietary supplements?

§ 111.135 - What quality control operations are required for product complaints?

§ 111.140 - Under this subpart F, what records must you make and keep?

Subpart G. 생산과 제조 제어 시스템: 부품, 포장, 라벨 및 건강기능식품의 포장, 레이블링을 위해 수령해야 하는 제품의 요건

§ 111.153 - What are the requirements under this subpart G for written procedures?

§ 111.155 - What requirements apply to components of dietary supplements?

§ 111.160 - What requirements apply to packaging and labels received?

§ 111.165 - What requirements apply to a product received for packaging or labeling as a dietary supplement (and for distribution rather than for return to the supplier)?

§ 111.170 - What requirements apply to rejected components, packaging, and labels, and to rejected products that are received for packaging or labeling as a dietary supplement?

§ 111.180 - Under this subpart G, what records must you make and keep?

Subpart H. 생산과 제조 제어 시스템: 생산 기록 대장(Master Manufacturing Record)의 요건

§ 111.205 - What is the requirement to establish a master manufacturing record?

§ 111.210 - What must the master manufacturing record include?

Subpart I. 생산과 제조 제어 시스템: 배치 생산 기록에 대한 요건

§ 111.255 - What is the requirement to establish a batch production record?

§ 111.260 - What must the batch record include?

Subpart J. 생산과 제조 제어 시스템: 실험실 작업에 대한 요건

§ 111.303 - What are the requirements under this subpart J for written procedures?

§ 111.310 - What are the requirements for the laboratory facilities that you use?

§ 111.315 - What are the requirements for laboratory control processes?

§ 111.320 - What requirements apply to laboratory methods for testing and examination?

§ 111.325 - Under this subpart J, what records must you make and keep?

Subpart K. 생산과 제조 제어 시스템: 제조 작업에 대한 요건

§ 111.353 - What are the requirements under this subpart K for written procedures?

§ 111.355 - What are the design requirements for manufacturing operations?

§ 111.360 - What are the requirements for sanitation?

§ 111.365 - What precautions must you take to prevent contamination?

§ 111.370 - What requirements apply to rejected dietary supplements?

§ 111.375 - Under this subpart K, what records must you make and keep?

- Subpart L. 생산과 제조 제어 시스템: 포장과 레이블링 작업에 대한 요건

§ 111.403 - What are the requirements under this subpart L for written procedures?

§ 111.410 - What requirements apply to packaging and labels?

§ 111.415 - What requirements apply to filling, assembling, packaging, labeling, and related operations?

§ 111.420 - What requirements apply to repackaging and relabeling?

§ 111.425 - What requirements apply to a packaged and labeled dietary supplement that is rejected for distribution?

§ 111.430 - Under this subpart L, what records must you make and keep?

Subpart M. 보유 및 유통

§ 111.453 - What are the requirements under this subpart for M written procedures?

§ 111.455 - What requirements apply to holding components, dietary supplements, packaging, and labels?

§ 111.460 - What requirements apply to holding in-process material?

§ 111.465 - What requirements apply to holding reserve samples of dietary supplements?

§ 111.470 - What requirements apply to distributing dietary supplements?

§ 111.475 - Under this subpart M, what records must you make and keep?

- Subpart N. 반품된 건강기능식품

§ 111.503 - What are the requirements under this subpart N for written procedures?

§ 111.510 - What requirements apply when a returned dietary supplement is received?

§ 111.515 - When must a returned dietary supplement be destroyed, or otherwise suitably disposed of?

§ 111.520 - When may a returned dietary supplement be salvaged?

§ 111.525 - What requirements apply to a returned dietary supplement that quality control personnel approve for reprocessing?

§ 111.530 - When must an investigation be conducted of your manufacturing processes and other batches?

§ 111.535 - Under this subpart N, what records must you make and keep?

- Subpart O. 제품 관련 불만

§ 111.553 - What are the requirements under this subpart O for written procedures?

§ 111.560 - What requirements apply to the review and investigation of a product complaint?

§ 111.570 - Under this subpart O, what records must you make and keep?

Subpart P. 기록과 기록 보유

§ 111.605 - What requirements apply to the records that you make and keep?

바. 부작용 보고

미국 내에 판매 되는 건강보조식품의 레이블에 기재된 제조 업체, 포장 업체 또는 유통 업체는 미국에 유통되는 건강보조식품을 사용하면서 발생하는 모든 심각한 부작용을 FDA에 알려야만 하는 의무가 있다.

보다 간편한 건강기능식품의 부작용 신고를 위하여 FDA는 현재 Safety Reporting Portal (SRP)을 운영하고 있다. 아래의 웹사이트를 통해 부작용 신고가 가능하다.

- Safety Reporting Portal

<https://www.safetyreporting.hhs.gov/fpsr/WorkflowLoginIO.aspx?metinstance=4AB19EB17A96EA54464D1B10DC162710D9767D28>

(1) 건강기능식품 제조 기업이나 유통 업자의 보고서 (의무)

건강기능식품 제조 기업은 FD&C 법의 section 761에 따라 Safety Reporting Portal을 통해 부작용을 보고할 수 있다.

제조자로서 새로운 보고서를 제출하기 위해서는, 링크를 통해 SRP 홈페이지를 방문하여 로그인 후, "Start a new report"를 선택한 뒤 "Dietary Supplements Report (mandatory)"를 선택하면 된다.

(2) 소비자와 의료 전문가의 보고서 (자발적)

건강기능식품을 사용하면서 건강과 관련된 부작용을 겪거나 건강기능식품의 품질과 안전성에 대한 결함을 발견했다면, 소비자는 SRP(Safety Reporting Portal)를 통하여 그와 관련된 자발적인 보고서를 제출할 수 있다.

소비자로서 새로운 보고서를 제출하기 위해서는, 링크를 통해 SRP 홈페이지를 방문하여 로그인 후, "Start a new report"를 선택한 뒤 "Dietary Supplements Report (voluntary)"를 선택하면 된다.

사. NDI (New Dietary Ingredient, 신규식이원료)

NDI(New Dietary Ingredient)란 1994년 10월 15일 이전에 미국 내에서 건강기능식품으로 판매된 적이 없는 원료를 말한다. 건강기능식품은 판매 전 신고하거나 평가를 받아야 하는 대상은 아니지만, NDI를 포함하고 있는 건강기능식품을 미국에 판매하기 위해서는 제조자나 유통업체는 The Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA)에 근거하여 FDA에 알려야 한다. 제조자와 유통 업체는 그 원료가 안전하다고 여겨지는 근거를 FDA에게 증명해야만 한다.

(1) 신규 식이 원료 (NDI) 를 건강기능식품의 원료로 사용할 때 절차

(가) 해당 품목이 '식이 원료'인지 우선적으로 검토 (아래 항목에 해당되지 않으면 NDI가 아님.)

- ① 비타민과 미네랄, 식물 혹은 허브, 아미노산.
- ② 식사를 보충하기 위해 사람이 사용할 수 있는 물질 (예, 효소나 장기나 선 <glands> 으로부터 얻어진 조직.)
- ③ 농축물, 대사산물 (metabolite), 구성요소 (constituent) 나 추출물 혹은 이에 포함된 성분

(나) 의약품 여부 확인 (의약품은 NDI가 될 수 없으므로 NDI로 신청하기 전 의약품이 아닌지 확인해야 함.)

(다) 미국에서 1994년 10월 15일 이전에 건강기능식품에 사용된 적이 있는지 검토.

(2) NDI 신청 시 필요 자료

(가) 기업 정보: 기업명, 주소, 전화번호, 대표자명, 담당자 사인.

(나) 식이 원료의 명칭: 허브나 식물성 원료의 경우, 라틴 이명을 포함.

(다) 신규 식이 원료가 들어 있는 건강기능식품 설명

- ① 제품에 함유된 해당 신규 식이 원료의 수준.
- ② 라벨 내에 서술된 해당 제품의 사용조건 또는 일반적 사용 조건.
- ③ 사용 내역 또는 해당 식이 원료를 제품 표지에서 권고하였거나, 제안한 조건에서 사용될 때 안전할 것으로 여겨지는 안전성 근거 자료.
- ④ 안전성 근거 자료로 논문이나 해당 원료를 이용해 실시한 독성 연구(유전독성 연구, 90일 독성연구, 이상 반응을 관찰한 잘 설계된 임상 시험) 자료가 이용될 수 있음.

(3) NDI 신청 절차

(가) 통지문은 원본과 사본 2부 제출 (시판 75일 전에 FDA에 통지.)

(나) FDA는 접수 후 90일간 모든 정보를 기밀로 취급.

(다) 접수 후 90일 쯤 모든 자료를 대중에게 공개 (기업 비밀에 해당하는 정보는 제외.)

(라) 통지하는데 별도로 필요한 비용은 없음.

(4) NDI 국내인정원료

(5) 등록 비용과 예상 완료 기간

(가) 등록 비용: 1,800 만원.



(나) 예상 완료 기간: 6개월 이상 (일반적으로 1~2년 정도 소요).

(6) 등재된 NDI 정보나 추가적인 정보는 다음의 사이트에서 찾아볼 수 있다:

<http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/NewDietaryIngredientsNotificationProcess/ucm109764.htm>

#### 아. GRAS (Generally Recognized As Safe)

GRAS(Generally Recognized As Safe) 물질은 일반적으로 안전하다고 승인된 물질을 말한다. GRAS 신청 절차는 NDI 신청 절차와 동일하며, GRAS 물질과 식품첨가물은 검토 과정만 다를 뿐 안전성에 대한 기준은 동일하다.

##### (1) GRAS 기본 정보

(가) FDA의 승인을 받은 물질은 미국연방규정집(CFR)에 등재.

(나) 색소 첨가물(Part 73, 74), 식품 첨가물(Part 172, 173), GRAS(Part182,184)

(다) 관련기관: FDA CFSAN, Office of Food Additive Safety

##### (2) GRAS 신청 시 필요한 자료

(가) 신청자의 이름 및 주소.

(나) 신청 물질의 명명법 (Common or Usual Name.)

(다) 신청 물질의 용도 (적용 제품, 제품에 대한 사용량, 사용 목적, 물질의 예상수요 등.)

(라) GRAS 판단 근거 등에 대한 일반적인 자료.

(마) 신청 물질에 관한 모든 이·화학적인 Data, 제조방법, 규격 등에 관한 이·화학 자료.

(바) 신청 물질의 사용량, 안전성을 입증할 수 있는 독성 및 임상자료.

(사) 기타 GRAS 물질임을 입증할 수 있는 자료 등

##### (3) GRAS 신청 절차

(가) GRAS 물질로 인정받으려면 FDA GRAS Notifications 절차에 따라 신청서(청원서)를 제출해야 하는 과정이 필요함. (관련규정 GRAS Proposal 62 FR 18937)

(나) (2)의 자료를 준비하여 완성된 신청서를 FDA CFSAN Office of Food Additive Safety기관으로 제출.

(다) FDA는 제출된 신청서에 대하여 접수 후 30일 이내에 통보 내용을 검토.

(라) 통상적으로 180일 이내에 통보내용을 검토하며, 결정에는 다음과 같은 세 종류가 존재: ① GRAS 상태에 이견이 없다, ② GRAS 결정에 대한 충분한 근거가 제공되지 않았다, ③ 통보자의 요청에 따라 평가를 중단한다.

##### (4) GRAS 국내인정원료

표 4. GRAS 국내인정원료

GRN No.	원료명	기원	기능성	업체	등록일자
309	흑표모배당역분말	흑표모	뼈 건강에 도움을 줄 수 있으나 관련 인체적용시험이 미흡함(기타기능 III)	글루칸	2009.12.17
352	D-타가로스	전연당류	식후 혈당조절에 도움을 줄 수 있음(기타기능 II)	CJ제일제당	2010.08.20
393	스테비올 배당체(Rebaudioside A)	스테비아	국내 개별인정 진행 x	대평	2011.07.29
395	스테비올 배당체(Rebaudioside A, stevioside)	스테비아		대평	2011.08.01
400	D-프시코오스	전연당류		CJ제일제당	2011.08.25

(5) GRAS에 대한 추가적인 정보는 다음의 사이트에서 찾아볼 수 있다:  
<http://www.fda.gov/food/IngredientspackagingLabeling/GRAS/>

## 2. 건강기능식품의 미국 제품등록절차 및 인허가제도

### 가. FDA 식품시설등록 (Facility Registration)

2003년 12월 12일 발효되어 시행된 The Bio-terrorism Act에 근거하여 미국 내에서 유통되는 식품을 제조하거나, 처리하고, 가공하고, 포장, 저장하는 모든 시설은 FDA에 의무적으로 등록해야 한다. 식품시설등록(Facility Registration)은 그 등록 절차이다. 식품 제조, 유통, 판매 업체는 매 2년마다 등록을 갱신해야 한다.

#### (1) FDA 식품시설등록 서식

'부록 1 - Facility Registration Form'을 참조.

(2) 등록 시 필요 정보: 업체의 영문 이름 및 영문 주소지와 연락처. 대표자 이름. 생산하는 대표 제품군.

#### (3) 등록 비용과 예상 완료 기간

(가) 등록 비용: 15만원

(나) 예상 완료 기간: 2일

### 나. FDA 식품공장등록 (Food Canning Establishment)

산성화 식품이나 저산성 식품을 생산하는 식품 제조공장의 등록 절차를 말한다. FDA를 통해 식품 제조공장을 등록하게 될 시 FCE 번호가 발급되는데, 이 번호의 발급은 관련 제품에 대한 문제가 발생할 시 그 제품의 추적을 용이하게 하는데 그 목적을 두고 있다.

#### (1) FDA 식품공장등록 서식

'부록 2 - Food Canning Establishment Registration Form'을 참조.

(2) 등록 시 필요 정보: 산성화 식품이나 저산성 식품을 실질적으로 제조하는 식품 가공 공장의 영문 주소지와 연락처. 공장에서 생산하는 제품의 산성/저산성 여부.

(3) 등록 비용과 예상 완료 기간

(가) 등록 비용: 60만원

(나) 예상 완료 기간: 2일

다. FDA 식품공정등록 (Submission Identifier)

적절하게 가공되지 않은 저산성 식품이나 산성화 식품은 심각한 건강 문제를 야기할 수도 있다. 이런 이유로 FDA는 LACF 규정 (Low Acid Canned Food, 저산성 밀봉식품 규정)에 따라서 건강기능식품의 제조 공정 중에 열 가공 공정을 포함하고, 제품의 수분 활성도가 0.85 이상이며, 진공 포장(질소 충전 포장)을 하고, 상온으로 유통되는 제품의 등록을 요구한다. FDA는 이 등록 과정을 통하여 건강기능식품 제조 업체가 규정을 지키고 안전하게 식품을 제조하고 있는가를 확인하고 공중 보건에 위협이 될 수 있는 요소를 사전에 방지하고자 한다.

(1) pH 기준

FDA의 등록 대상이 되는 열 가공 식품의 종류에는 pH에 따라 구분이 가능한 산성화 식품(Acidified Food)와 저산성 식품(Low Acid Food)가 있다.

(가) 산성화 식품 (Acidified Food): 21 CFR 108.35. 최종 제품의 pH가 4.6 이하인 식품. 알로에 음료, 홍삼 음료, 과일 음료 등이 산성화 식품에 해당. 시설 등록과 공정 등록이 의무. 다음은 FDA의 산성화 식품 제조시설에 대한 위생점검 항목.

- 공정수립, 제출 및 계획 (Process establishment, filing & schedules)
- 공정 전달 (Process Delivery)
- 공정 전달 문서화 (Documentation of process delivery)
- 취급 공정 이탈 (Handling process deviations)
- 용기의 무결성 (Container integrity)
- 기타 (Miscellaneous)

① 등록 시 필요 정보: 제품명, 살균온도/시간, 살균방법, 제품 샘플 소량.

② 등록 비용: 60만원.

③ 예상 완료 기간: 1~2개월.

(나) 저산성 식품 (Low Acid Food): 21 CFR 108.25. pH가 4.61 이상인 식품. 수분 활성도 0.85 이상인 경우에 식품 내에 미생물이 생존하고 번식하여 제품의 변질을 유발할 가능성이 있으므로 FDA에서는 해당 식품에 대한 특별하고 상세한 공정 등록을 요구함. 일반 음료, 소스, 통조림, 양갱, 즉석쌀밥, 두유, 쌀 음료 등이 저산성 식품에 해당. 다음은 FDA의 LACF(Low Acid Canned Food) 제조시설에 대한 위생점검 항목.

- 공정수립, 제출 및 계획 (Process establishment, filing & schedules)
- 원재료 (Raw materials)
- 전처리 (Product preparation)
- 용기의 무결성 (Container integrity)
- 충전 (Filling)
- 밀봉 (Closing)
- 열공정 장비 및 절차 (Thermal processing equipment and procedures)
- 열공정 작업실 운영 (Thermal processing room operations)
- 공정 후 취급 (Post-process handling)
- 창고 보관 (Warehousing)
- 기록 (Records)
- 공정 이탈 (Process deviation)
- 소비자 불만 (Consumer complaints)
- 배양 (Incubation)
- 직원 (Personnel)
- 공장 및 설비 위생 (Plant and equipment sanitation)
- 회수 절차 (Recall procedures)

- ① 등록 시 필요 정보: 제품명, 살균공정도, 열 침투 측정자료 (HP Data), 열 분배 측정자료 (TD Data) 살균공정근거자료, 제품샘플 소량.
- ② 등록 비용: 200만원 이상.
- ③ 예상 완료 기간: 최소 3개월 이상.

## (2) 살균공정 기준

(가) Hot Fill Hold (고온 충전): 실온에서 보관되는 산성화 식품을 충전(fill)하는 입증되고 널리 알려진 방법. 가열한 고온 제품을 캔 또는 병에 충전하여 뜨거운 동안에 바로 넣어 밀봉하는 방법을 말함 (예: 내용물을 95~98℃의 상태에서 약 1분간 살균한 뒤 88~92℃에서 충전.) 식품 생산 업체에서 유리, 플라스틱 용기, 메탈 캔, paperboard carton 등을 채우는 데에 널리 사용되는 방법이며 주로 산성화 식품이나 과즙, 넥타, 푸레, 케첩 등 유동성이 있는 것에 사용됨. 용기에 담고 밀봉한 뒤 일정 시간 방치 후 냉각함으로써 탈기와 살균의 목적을 겸할 수 있고 작업성이 뛰어나며, 다른 공정에 비해 상대적으로 덜 철저한 기술 교육과 제품 준비의 단계를 요구한다는 점에서 광범위하게 사용되고 있음. 미생물의 생장과 증식을 방지.

(나) UHT (Ultra High Temperature, 초고온살균): 우유와 저산성 음료에 널리 이용되는 방법. 135~135℃의 높은 온도에서 2초~수초간 살균 처리하는 방법. 멸균법에 가까워 세균을 완전히 사멸시켜 보존성이 높은 제품을 얻는 것을 목적으로

이용되고 있음. 내열성 포자도 완전히 살균이 가능하다는 장점이 있으나 높은 열처리 때문에 영양소의 파괴가 일어나고 탄 냄새가 날 가능성이 있다는 단점이 존재. 우유, 크림, 주스, 콩 제품 등 다양한 식품에 적용될 수 있음.

(다) HTST (High Temperature Short Time, 고온 단시간 살균법): 신선함과 영양소의 보존이 우선시 되는 식품의 살균을 목적으로 개발. 살균시간이 짧으며 열변성을 죽일 수 있으며 다량의 제품을 연속적으로 처리가 가능함.

(라) Retort (레토르트): 높은 온도(110~140℃)로 모든 미생물을 사멸하는 방법. 가공한 식품을 일종의 파우치에 넣어 밀봉한 후 고압 가열 살균솥에 넣어 고온에서 가열 살균하는 방식. 미생물의 증식이 일어나지 않고 공기와 직사광선을 차단한 상태에서 상온 또는 냉장보관으로 장기간 보존을 가능하게 함. 레토르트 살균 처리된 제품은 끓는 물을 붓거나 전자레인지에 데우기만 하는 것으로 간편하게 섭취가 가능.

(마) Hydrostatic (수압 살균): 물을 가열하여 간접 살균하는 방법. 통조림, 병, 파우치 등의 살균에 모두 사용 가능함. 수증기, 물, 노동력, 공간 등을 경제적으로 줄일 수 있는 장점이 있으나 압력변화에 따라 제품 용기의 변형이 일어나기 쉬운 단점이 존재.

(바) Aseptic Packaging (무균 포장): 식품을 무균상태로 포장하는 방법. 무균적으로 가공한 식품을 무균실에서 무균상태에 포장재에 무균적으로 충전하고 밀봉하는 기술로 포장재 성형과 동시에 제품을 충전하는 기법. 산도가 낮아 기존 고온 충전 방식으로는 내용물의 부패 및 변질을 방지할 수 없는 음료 제품(혼합차, 밀크 커피 등)을 안전하게 충전 및 포장하는 방법.

#### 라. 사전통보 (Prior Notice)

The Bio-terrorism Act에 근거하여 미국으로 수입되는 동물 사료와 동물용 식품을 포함하는 모든 식품을 대상으로 사전 신고(Prior Notice)가 실시되고 있다. 제품이 미국에 도착하기 전에 사전 신고서가 작성되어야 하며, 건강기능식품은 사전 통보의 대상이다.

- 항공: 도착 5시간 전까지.
- 선편: 도착 일주일 전까지.

사전 신고는 FDA의 Prior Notice System Interface (<http://www.access.fda.gov/>)를 통해 전자 제출되며, 이 사전 신고 시스템은 연중무휴로 가동된다.

#### 마. 공장심사 (Plant Inspection)

미국 질병통제예방센터(Center for Disease control and prevention)의 자료에 따르면 매년 미국에서는 식품으로 인한 질병으로 인해 4천 8백만 명의 환자가 발생하고, 12만 8천 명이 입원을 하고, 3천명의 사망 환자가 발생하고 있다. 이와 같은 식품과 관련된 질병으로 인한 손실은 식품안전 강화로 예방이 가능한 것이다. 2010년 12월 상원의회의 승인을

거치고, 2011년 1월 4일 오바마 대통령의 승인으로 시행된 식품안전현대화법(Food Safety Modernization Act, FSMA)은 식품 안전을 강화하고 식품 공급의 안전성을 보장하여 공공 보건을 보호하도록 하는 법이다. FDA는 이 법을 통해 식품 관련 문제가 발생한 후에 대처하기보다는 문제점을 사전에 예방하는 데에 주력하고 있다. FSMA 실행에 의해 FDA는 미국 내에 있는 식품 제조 시설뿐만 아니라 미국으로 제품을 수출하는 미국 외에 있는 제조 시설에 대한 위생 점검을 실시하기 시작하였다.

높은 위험성을 지닌 미국 내 업체는 FSMA 시행 후 5년 이내에 검사를 받고, 그 이후에는 3년 마다 1번 검사를 받아야 한다. 그 밖의 미국 식품 시설은 법 발효로부터 7년 이내 검사를 받고 이후에는 5년에 1번 검사를 받는다. 해외 시설의 경우에는 법 발효 1년 이내에 검사를 받고 5년 동안 매년 검사를 받아야 한다. 공장심사 거부 시에는 수입 거부 조치가 내려질 수도 있다.

다음은 FDA 공장심사에 대한 일반적인 절차이다.

- (1) 공장 심사 일정 통보: FDA에 등록된 식품 제조, 유통, 판매 업체에 FDA가 공장 심사 일정 통보.
- ↓
- (2) 일정 조절: 공장 측은 FDA와 연락하여 공장 심사 일정 조절, 통역자 유무, 공장 위치 및 교통편 확인, 숙소 등을 협의. FDA가 공장에 대한 기본 자료를 사전 요청 (FDA 시설등록번호, 미국 내 대리인 현황, 미국 수출 제품 현황, 업체의 고용인 수, 작업 시간, 직원 교육 실시 현황 및 업체 대표자 정보, 공장평면도, 제조 공정도 및 장비와 시설 현황, 원재료 현황, 품질 관리 및 안전관리시스템 운영여부, 저산성 식품 및 산성화 식품 해당 사항 등).
- ↓
- (3) 심사 시행: FDA가 방문하여 평균 2~4일의 심사 시행.
- ↓
- (4) 지적 사항: 심사 후 공장 심사 중 발생했던 지적 사항을 포함하고 있는 FDA Form 483이라는 문서를 공장 측에 전달.
- ↓
- (5) 시정 조치: 공장은 FDA Form 483에 포함된 지적 사항에 대한 시정 조치를 수행하여 그 결과를 시정 조치 보고서로 문서화하여 영업일(business days) 기준 15일 이내에 FDA에 전달.
- ↓
- (6) 지적 사항 전달 - 시정 조치의 반복: 시정 조치에 미흡한 점이 있다면 FDA는 지적 사항 재차 전달.
- ↓
- (7) 최종 결과 통보 및 공장 심사 과정 완료.

바. 식품의 수입절차표

건강기능식품을 포함한 식품의 수입절차는 다음과 같다.

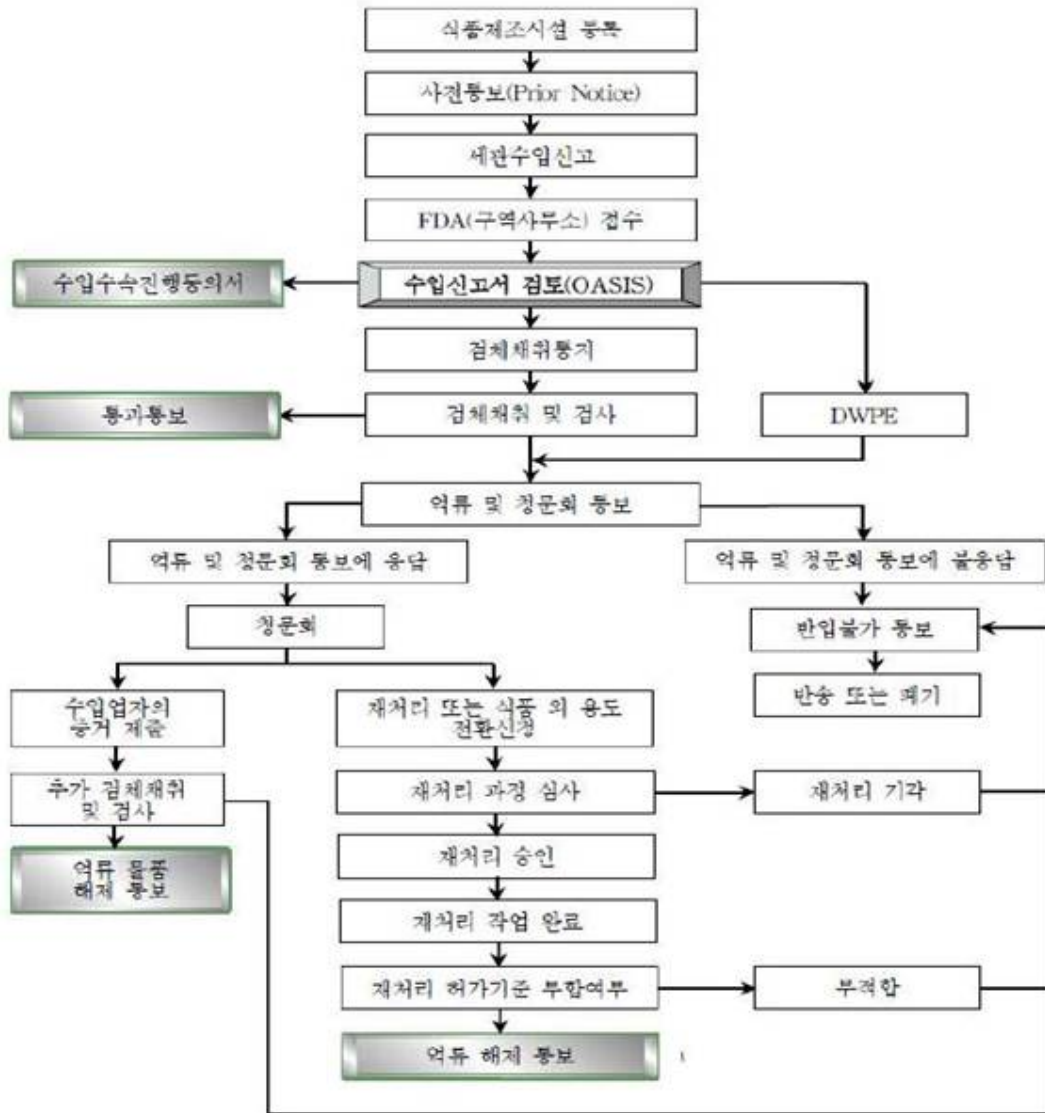


그림 21. 미국의 식품수입절차 (출처: 한국보건산업진흥원)

- 참조 사이트, 참고 문서 -

1. FDA, 대표 사이트  
(<http://www.fda.gov/>)
2. FDA, Dietary Supplements  
(<http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/default.htm>)
3. FDA, 기업 등록 홈페이지  
(<https://www.access.fda.gov/oaa/logonFlow.htm?execution=e1s1>)
4. FDA, 식품안전현대화법 (Food Safety Modernization Act, FSMA)  
(<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FSMA/>)
5. FDA, 서식 모음  
(<http://www.fda.gov/aboutfda/reportsmanualsforms/forms/default.htm>)
6. Council for Responsible Nutrition  
(<http://www.crnusa.org>)
7. Institute For Thermal Processing Specialists  
(<http://iftps.org/>)
8. KHIDI 한국보건산업진흥원 홈페이지  
(<http://www.khidi.or.kr/>)
9. 식품나라  
(<http://foodnara.go.kr/>)
10. 네이버 식품과학기술대사전  
(<http://terms.naver.com/list.nhn?cid=42412&categoryId=42412>)
10. 온빅스 (FDA전문컨설팅)  
(<http://www.onbix.com>)

본 보고서에서 '식이보충제'는 '건강기능식품'으로 지칭됨.

자세한 사항을 위해서는 'Federal Register Final Rule - 62 FR 49826 September 23, 1997'를 참조.

<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?CFRPart=111>



## 제 7 장 연구실 안전관리 이행실적

### 제 1절 안전관리비 확보 및 보험가입

1. 연구기관은 연구실 운영관련 관리비를 예산에 편성할 경우 안전에 필요한 시설의 보완, 인력확충, 안전점검 장비의 구입 등의 안전관리비를 최우선적으로 반영
2. 연구활동 종사자의 상해·사망에 대비하여 연구활동 종사자를 피보험자 및 수익자로 하는 「산업재해보상보험법」에 따른 산재보험에 가입
3. 안전문화의 확산 및 정착을 위하여 사고예방을 위한 표어 및 포스터 게시 등 안전관리 활동을 전개

### 제 2절 안전관리 조직의 구성

1. 효율적이고 체계적인 안전관리 활동을 위하여 안전관리 조직을 구성 운영하며 조직도 구성
2. 안전관리 담당부서를 지정하여 운영하며, 안전관리 담당부서는 경영관리실로 지정
3. 실험실 내에 실험실 안전관리 책임자와 안전관리 담당자를 두며, 실험실 안전관리 책임자는 연구실장으로 하며, 실험실 안전관리담당자는 실험실 안전관리 책임자가 그 부서의 소속직원 중에서 지정
4. 안전관리 조직의 권한과 책임
  - 가. 연구주체의 장 : 연구기관장으로서 안전에 관한 업무를 총괄 관리
  - 나. 안전관리담당부서장 : 안전관리업무와 관련하여 연구소장을 보좌하고 각 연구부서가 수행하고 있는 안전관리업무를 지원·점검, 안전관리규정의 이행·유지 및 지속적 개선 추진, 안전관리 규정과 관련된 문서관리와 안전관리규정의 부적합 사항에 대한 시정 조치 요구 및 결과 확인
  - 다. 실험실 안전관리 책임자 : 연구소의 안전운영방침을 달성하기 위한 안전 목표를 설정하고 실행, 실험실의 안전관리담당자 지정 및 일상점검 등 전반적인 안전업무를 실시하고 그 결과를 안전관리담당부서로 통보, 연구활동 종사자의 안전관리 의식고취 및 의견을 수렴하기 위한 안전회의 실시
  - 라. 안전관리담당자 : 실험실내 미생물, 위험물, 유해물 취급 및 관리대장 작성, 실험실내 사용되는 실험기계장치 취급 및 관리대장 작성, 개인보호장구 목록 및 관리대장 작성, 물질안전보건자료(MSDS)의 작성·비치 및 보관(단, 화학물질 제조업자 또는 수입업자로부터 MSDS를 입수한 경우 MSDS를 작성한 것으로 본3.), 실험실 안전관리에 따

른 시설 개보수 요구, 실험실 안전점검표 작성 및 보관, 실험실 안전관리규정 비치 등  
기타 연구실내 안전관리에 관한 사항

### 제 3절 안전관리 위원회

1. 안전관리 계획, 안전관리규정 및 안전사고 예방대책심의 등을 위한 안전관리위원회를 구성 운영
2. 안전관리위원회의 위원장은 연구소장을 당연직으로 하며 위원은 각 실장으로 구성하며, 간사는 실험실 안전환경관리자
3. 안전관리위원회의 회의는 정기회의와 임시회의로 구분하며, 정기회의는 연1회 실시하는 것을 원칙으로 하며, 임시회의는 위원장이 안전관리상 필요하다고 인정하거나 위원의 요구가 있는 때에 위원장이 소집

### 제 4절 안전점검

1. 실험실 안전관리 책임자는 안전관리담당자 및 연구활동종사자가 매일 실험 활동 시작전에 해당 실험실에 대하여 별지 서식에 따라 일상 점검을 실시
2. 안전관리담당자는 안전점검 결과에 대하여 실험실 안전관리 책임자에게 보고하여야 하며, 긴급하다고 판단될 경우 즉시 안전관리담당부서장에게 지체없이 보고하고 그 지시에 따라 조치
3. 안전관리담당부서는 안전점검 계획에 따라 실험실에 대하여 수시 및 정기 안전점검을 실시하여야 하며, 정기점검은 연 1회 이상 별지 서식이 내용에 대하여 정기적으로 점검을 실시하고 점검결과를 기록 유지하여야 하며 연구소장에게 보고
4. 안전관리담당자는 실험실의 안전사고 예방을 위하여 실험실 안전수칙을 실험실 내부에 부착하고, 연구활동 종사자는 준수사항을 이행

### 제 5절 안전회의

1. 실험실 안전관리 책임자는 연구활동 종사자의 안전관리 의식고취 및 의견을 수렴하기 위한 연구실별 안전회의를 분기1회 이상 개최
2. 실험실 안전관리 책임자는 안전회의를 주관하여 실시하며 간사는 회의진행 사항을 안전회의록에 기록 관리

3. 안전회의에는 연구활동 종사자가 모두 참석하여야 하며 회의내용은 아래와 같음
  - 가. 실험실내 안전관리 계획 수립
  - 나. 사고 예방에 대한 대책 수립
  - 다. 실험실에서 작성하여 운용중인 지침 등의 검토
  - 라. 실험실 현안사항 검토
  - 마. 기타 안전에 관한 주요사항 토의

## 제 6절 안전교육

1. 실험실의 안전관리에 관한 정보를 연구활동종사자에게 제공
2. 연구활동종사자에 대하여 실험실 사용에 따르는 안전성 확보 및 사고예방에 필요한 교육·훈련을 실시
3. 실험실 안전환경관리자는 실험실 안전에 관한 전문교육을 받아야 하며, 전문교육의 교육시간, 내용 및 방법은 시행규칙에 따름

## 제 7절 건강검진

1. 인체에 치명적인 위험물질 및 바이러스 등에 노출될 위험성이 있는 연구활동종사자에 대하여 정기적인 건강검진을 실시
2. 연구주체의 장은 「산업안전보건법 시행령」 제29조에 따른 유해물질 및 같은 법 시행규칙 별표12의2에 따른 유해인자를 취급하는 연구활동종사자에 대하여 일반건강검진과 특수건강검진을 실시

## 제 8절 시약, 가스, 방사성 장비 및 미생물 시료의 안전 관리

1. 시약 용기에는 식별이 용이하도록 표지를 부착하고 표지에는 시약의 명칭, 위해정도, 구입일(제조일자) 등 안전한 사용에 필요한 사항을 기재
2. 실험용 가스 용기에는 식별이 용이하도록 표지를 부착하고 표지에는 가스의 명칭, 위해정도(독극성, 인화성, 반응성 및 부식성), 입고일자 등 안전한 사용에 필요한 사항을 기재
3. 실험실 책임자는 방사능물질 함유 장비 및 방사선 발생장치(이하 “방사성 실험장비”라 한다) 사용에 자격이 있는 자를 별도로 지정하여 지정된 자 이외에는 임의로 사용 금지

4. 미생물을 이용하는 모든 실험은 지정된 장소 수행하고 실험에 사용한 식물병원균 및 인체유해성 균은 멸균시킨 후 폐기하여야 하며, 실험에 사용된 초자기구는 반드시 멸균하여 재활용
5. 안전관리담당자는 특수 병원성 균이나 인체에 해를 주 수 있는 생물시료의 경우 사용장소 또는 실험실 입구에 이에 관한 안내 표지를 반드시 부착

## 제 9절 실험폐기물의 처리

1. 실험폐수(이하 “폐수”라 한다)는 일반 생활하수와 섞이지 않도록 별도의 수거용기에 담아 지정장소의 저장용기에 배출하고 폐시약병은 안전관리담당자의 확인을 받은 후 지정장소의 분리수거함에 배출
2. 안전관리담당자는 실험폐수의 배출 및 분리수거를 관리·감독하여야 하며, 특히 유기용제 등의 혼합으로 폭발위험성이 있는 폐수는 별도로 관리

## 제 10절 비상시 행동요령 및 사고조사

1. 안전관리담당자는 안전사고 발생 시 사고 피해를 최소화하기 위하여 실험실에 비상시 행동요령을 작성하여 출입구 또는 눈에 잘 띄는 곳에 부착
2. 실험실 안전관리 책임자와 안전관리담당자, 인근 소방서, 병원 응급실의 전화번호가 반드시 기록
3. 안전사고가 발생할 경우 실험실 안전관리담당은 실험실 안전사고 보고서를 작성하여 전담부서장에게 즉시 보고하고, 전담부서장은 사망, 신체장애 또는 일천만원 이상의 대물피해 등 중대한 안전사고에 대하여는 지체 없이 소장에게 보고

## 제 8 장 참고문헌

- 1) van Elden LJ, Nijhuis M, Schipper P, Schuurmann R, van Loon AM : Simultaneous detection of influenza viruses A and B using real-time quantitative PCR. *J Clin Microbiol* 39; 196-200, 2001.
- 2) Nakajima K : Influenza virus genome structure and encoded proteins. *Nippon Rinsho* 55; 2542-2546, 1997.
- 3) Wiely DC, Skehel TT : The structure and function of the hemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus. *Ann Rev Biochem* 56 ; 365-394, 1987.
- 4) Jung Oak Kang, M.D. : Quantitation of virus. *Korean J Clin Microbiol* 4 ;1-4, 2001.
- 5) Hui-Ling Yen, Louise M. Herlocher, Erich Hoffmann, Mikhail N. Matrosovich, Arnold S. Monto, Robert G. Webster, and Elena A. Govorkova : Neuraminidase inhibitor-resistant influenza viruses may differ substantially in fitness and transmissibility. *American Society for Microbiology* 49.10; 4075-4084, 2005.
- 6) Won Kyung Jeon, Ho Kyoung Kim and Byoung Seob Ko : Study on the Anti-influenza virus A type activity of *Citrus junos*. *Kor. J. Pharmacogn.* 31(1) ; 82-86, 2000.
- 7) Jin, Y. K., Hyung, J. K., Kim, H. J. : Effect of oral administration of korean red ginseng on influenza A (H1N1) virus infection. *J.Ginseng Res.* Vol. 35; 104-110, 2001.
- 8) 고려인삼의 이해, 사단법인 고려인삼학회, 2008년
- 9) 인삼성분 분석법, 사단법인 고려인삼학회, 2008년
- 10) 고려인삼의 성분 에 대한 고찰, *Korean J. Ginseng Sci*, 1996, 20(4), 389-415
- 11) Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean *Panax ginseng* C A Meyer. *Acta Pharmacol Sin.* 2008 Sep;29(9):1109-18.
- 12) The Standardised G115 *Panax ginseng* C.A. Meyer Extract, *Evid Based Integrative Med* 2005; 2 (4): 195-206
- 13) 식품공전, 식품의약품안전처, 2013
- 14) 건강기능식품공전, 식품의약품안전처, 2013
- 15) 인삼제품에 대한 지역규격(아시아)코텍스 규격 295R-2009
- 16) 2012 인삼통계자료집, 농림축산식품부
- 17) 식품원재료 DB (<http://rndmoa.kfda.go.kr:9010/index.html>)
- 18) 대한약전(大韓藥典), 식품의약품안전처, 2013
- 19) 일본약국방(日本藥局方) 영문판, JP XIV Official Monographs for Part II, p.927-930
- 20) 조선약용식물지, 현대의학 약용식물편 II, 임록재, 한국문화사, 1999, p35~36.
- 21) 동의보감(東醫寶鑑:1596년 조선‘선조29년’ 《저자-허준》) 국역증보 동의보감, 남산당 p.1178~1179

- 22) AHPA's Botanical Safety Handbook: edited by Michael McGuffin, Christopher Hobbs, Roy Upton, Alicia Goldberg; prepared for the Standards Committee of the American Herbal Products Association. American Herbal Products Association. BocaRaton, Fla. :CRC Press, 1997.
- 23) Commission E monograph: <http://www.herbalgram.org>
- 24) WHO monographs on selected medicinal plants: <http://whqlibdoc.who.int/publications/1999/9241545178.pdf> 건강 기능식품의 안전성 평가를 위한 의사결정도 적용
- 25) Expanded Commission E monographs: <http://www.herbalgram.org>
- 26) Natural Medicines Comprehensive Database: <http://www.naturaldatabase.com>
- 27) PDR for Herbal Medicines: <http://www.pdrhealth.com>
- 28) Protective Effect of Korean Red Ginseng Extract on the Infections by H1N1 and H3N2 Influenza Viruses in Mice. *J Med Food* 15 (10) 2012, 855 - 862
- 29) Ginseng, the 'Immunity Boost': The Effects of Panaxginseng on Immune System. *J Ginseng Res.* 2012 Oct;36(4):354-68
- 30) Kenarova, B., Neychev, H., Hadjiivanova, C., Petkov, V.D. Immunomodulating activity of ginsenoside Rg1 from Panax ginseng. *Jpn J Pharmacol.* 1990, 54, 447-454.
- 31) Lee, J.H., Han, Y. Ginsenoside Rg1 helps mice resist to disseminated candidiasis by Th1 type differentiation of CD4+ T cell. *Int Immunopharmacol.* 2006, 6, 1424-1430.
- 32) Nakata, H., Kikuchi, Y., Tode, T., Hirata, J., Kita, T., Ishii, K., Kudoh, K., Nagata, I., Shinomiya, N. Inhibitory effects of ginsenoside Rh2 on tumor growth in nude mice bearing human ovarian cancer cells. *Jpn J Cancer Res.* 1998, 89, 733-740.
- 33) A comparative study of the effects of whole red ginseng extract and polysaccharide and saponin fractions on influenza A (H1N1) virus infection. *Biol Pharm Bull.* 2013;36(6):1002-7.
- 34) Park JW, Han IS, Suh SI, Beak WK, Suh MH, Bea JH, Choe BK (1996) Effects of ginseng saponin on the cytokine gene expression in human immune system. *Korean J Ginseng Sci*, 20, 15-20
- 35) Park HJ, Park KM, Rhee MH, Song YB, Choi KJ, Lee JH, Kim SC Park KH (1996) Effect of ginsenoside Rb1 on rat liver phosphoproteins induced by carbon tetrachloride. *Biol Pharm Bull*, 19, 834-838
- 36) Shin HR, Kim JY, Yun TK, Morgan G, Vainio H (2000) The cancer-preventive potential of panax ginseng: A review of human and experimental evidence. *Cancer Cause Control* 11, 565-576
- 37) Kim WY, Kim JM, Han SB, Lee SK, Kim ND, Park MK (2000) Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity, *J Nat Prod* 63, 1702-1704
- 38) Xie JT, Mehendale SR, Li X, Quigg R, Wang X, Wang CZ, Wu JA, Aung HH, Rue

- PA, Bell GI, Yuan CS (2005) Anti-diabetic effect of ginsenoside Re in ob/ob mice. *Biochim Biophys Acta*, 1740, 319-325
- 39) Kim HY, Chen X, Gill CN (1992) Ginsenosides protect pulmonary vascular endothelium against free radical induced injury. *Biochem Biophys Res Commun*, 189, 670-676
- 40) Kim ST, Jang JH, Kwon JH, Moon JD (2009) Changes in the chemical components of red and white ginseng after puffing. *Korean J Food Preserv*, 16, 355-361
- 41) Ryu KH (2003) Present status of red ginseng products and its manufacturing process. *Food Industry and Nutrition* 8, 38-42
- 42) KFDA (2015) Korea health functional food code. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea pp 9-1-1
- 43) CODEX (2009) Regional standard for ginseng products (Asian). Annex B. Determination of water-saturated 1-butanol extracts STAN 295R-2009. p 1-7
- 44) Do JH, Lee HO, Lee sk, Jang JK, Lee SD, Sung HS (1993) Colorimetric determination of acidic polysaccharide from *Panax ginseng*, its extraction condition and stability. *Korean J Ginseng Sci*, 17, 139-144
- 45) Choi YJ, Hwang KH (2011) Analysis of the extraction condition of soluble acidic polysaccharides from ginseng marc. *Kor J Phamacogn*, 42, 82-88
- 46) Han YN, Kim SY, Lee HJ, Hwang WI, Han BH (1992) Pattern-analysis of panax ginseng polysaccharide. *Korean J Ginseng Sci*, 16, 214-222
- 47) Suresh Kumar D (2015) Herbal bioactives and food fortification: Extraction and formulation. CRC Press, 63-128
- 48) Council for Responsible Nutrition  
(<http://www.crnusa.org>)
- 49) The Journal of the American Medical Association  
(<http://jama.jamanetwork.com/journal.aspx>)
- 50) Mayo Clinic  
(<http://www.mayoclinic.com/>)
- 51) New Hope 360  
(<http://newhope360.com/>)
- 52) NUTRA  
(<http://www.nutraingredients-usa.com/>)
- 53) Nutraceuticals World  
(<http://www.nutraceuticalsworld.com>)
- 54) Office of Dietary Supplements

(<http://ods.od.nih.gov/>)

55) United States Department of Agriculture

(<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>)

56) U.S. Food and Drug Administration

(<http://www.fda.gov>)

57) WebMD

(<http://www.webmd.com/>)

58) 「건강기능식품 주요국가별 시장동향 분석」, 2011.9, 삼일회계법인

59) 「The Benefits of Nutritional Supplements, Fourth Edition」, 2012, Council for Responsible Nutrition

(<http://www.crnusa.org/benefits/files/04CRN-BenefitsBook-whouses.pdf>)

60) 「NCHS Data Brief NCHS Data Brief ■ No. 61 ■ April 2011」, 2011, Center for Disease Control and Prevention National Center for Health Statistics

(<http://www.cdc.gov/nchs/data/databriefs/db61.pdf>)