

발간등록번호

11-1543000-001088-01

## 최 종 보 고 서

보안과제 (    ), 일반과제 (  )

과제번호 114043-01

흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제 상품화

(Commercialization of healthcare drink for low-cholesterol from  
black ginseng)

(주) 대 덕 바 이 오

농 립 수 산 식 품 부

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “고부가가치식품개발사업에 관한 연구” 과제(세부과제 “흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제 상품화에 관한 연구”)의 보고서로 제출합니다.

2015년 12월 일

주관연구기관명 : (주) 대덕바이오

주관연구책임자 : 김 현 경

연 구 원 : 이 만 휘

연 구 원 : 최 강 주

연 구 원 : 이 미 라

연 구 원 : 김 해 정

연 구 원 : 한 지 수

연 구 원 : 민 경 현

연 구 원 : 정 다 혜

# 요 약 문

## I. 제 목

흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제 상품화

## II. 연구성과 목표대비 실적

본 연구개발 최종목표는 “**흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제 상품화**”로 고려인삼을 가공처리 하여 **특정성분·특정기능이 강화된 흑삼의 제조공정 개선, 가공기술 표준화 확립, 흑삼의 콜레스테롤 저하 효과를 과학적이고 체계적으로 검증하고, 콜레스테롤 저하 효과를 가지면서, 산업적 경쟁력 측면에서도 충분히 가능하다고 판단되는 생물자원(흑삼)을 활용한 고부가가치 기능성 헬스케어 드링크제를 상품화** 하고자 하였다. 본 연구 결과물에 대해 논문게재 및 특허출원 등도 실시하여 지식재산권도 확보 하였으며, 또한 건강식품관련 전시회 참가 및 다수의 포스터 발표로 홍보유치 기술확산 및 보급화도 실시 하였으며, 본 연구기술의 자체 실용화·사업화로 제품화도 추진하였다. 즉 궁극적으로 연구개발 계획대비 본 연구성과 목표대비 실적을 차질없이 성공적으로 달성 하였다.

- \* **흑삼의 표준 지표물질 분석법 확립 및 표준화 제조공정 확립화** : 흑삼의 지표성분 및 특정 진세노사이드 성분의 함량을 극대화 할 수 있는 제조공정 확립 및 대량생산 공정화 시스템을 구축함.
- \* **흑삼의 신맛, 텁텁한 맛 등 개선을 위한 제품제조 기술 확립화** : 종래의 흑삼 제조방식은 주로 구증구포 제조 방법을 이용하여 원료인삼을 9번 증숙하고 말리는 과정을 거쳐 제조되어 왔으며, 이로 인해 제조 시간이 장시간 소요될 뿐 아니라 반복되는 증숙 과정중에 가용성 엑스성분이 용출되어 흑삼 제조수율이 저조하고 신맛, 텁텁한 맛 및 쓴맛이 강하여 향미에 문제점이 있어 이에 대한 개선책이 우선적으로 요구되었다. 이와 같은 문제점을 개선 달성함.
- \* **흑삼의 콜레스테롤 저하 효능 평가를 통하여 기능성 제품 개발 및 산업화·기술상용화 달성** : 본 기술개발로 제조된 저온흑삼의 원료 소재를 이용하여 새로운 브랜드 네임 **Weache**로 다양한 제품군 제작·사업화 추진(Weache 신구증구포흑삼, Weache 흑삼(분말),

Weache 흑삼농축액, Weache 흑삼(절삼), Weache 흑삼(원삼), 충남대 발효흑홍삼겔 등) 제품군 제작·판매화

\* 콜레스테롤으로 인한 성인병 질환예방의 과학적인 메카니즘을 규명함으로써 가능성을 증가 시킨 고부가가치 헬스케어 제품을 창출함 : 본 기술개발로 제조된 저온제조 흑삼의 원료 소재를 이용하여 새로운 브랜드 네임 Weache로 다양한 제품군 제작·사업화 추진 (Weache신구증구포흑삼, Weache흑삼(분말), Weache흑삼농축액, Weache흑삼(절삼), Weache흑삼(원삼), 충남대 발효흑홍삼겔 등) 기술 아이템을 활용한 다양한 제품군 제작·판매화 창출

\* 본 연구 결과물에 대해 논문게재 및 특허출원 등도 실시하여 지식재산권 확보 달성 :

논문 및 특허	
논문 (JGR 게재)	Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in rats
논문 (JGR 게재)	Anti-obesity effects of black ginseng extract in high fat diet-fed mice
특허	콜레스테롤 개선 활성이 우수한 흑삼 추출물을 함유하는 조성물 (출원번호 10-2015-0052188)
특허	과일주스를 이용한 홍삼 또는 흑삼의 제조방법 (등록번호 제 10-1552093 호)

✓ 논문(JGR투고) : Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in rats

✓ 특허출원 : 콜레스테롤 개선 활성이 우수한 흑삼 추출물을 함유하는 조성물  
(출원번호 10-2015-0052188)

\* 본 연구 결과물에 대해 전시회 및 다수의 포스터 발표로 홍보유치 기술확산 및 보급화도 실시함.

- ✓ The effect of black ginseng extract on the hypercholesterolemia in mice and in rats(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ The protective effect of black ginseng extracts on neuro-inflammation in BV2 microglia (2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ Neuroprotective effects of black ginseng against Aluminum(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ The properties of Maillard type-browning reaction and caramelization with the formations of amino sugars and maltol on the red ginseng preparative processing(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ The maillard type-browning reaction and the non-enzymatic conversion of ginsenosides on



the preparative processes of red and black ginseng at the different temperature(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)

- ✓ Studies on characteristic compounds and lipid metabolic activity in black ginseng(2015 Spring Ginseng Conference)
- ✓ Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in SD rats(2015 Spring Ginseng Conference) 등 다수의 포스터 발표로 기술확산·홍보화 유치·기술 보급화 성과를 거둠

**\* 본 연구기술 개발 결과물에 대한 전시회 및 박람회 참가 사진**

번호	전시회 or 박람회 명	일시	참가 내용
1	중국 청두 구정쇼핑 페스티벌	02.06.~02.16	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 한국 전시관 제품 전시</li> <li>▪ 중국 전역 200여개 식품 shop에 제품홍보 및 판매계획</li> </ul>
2	터키 이스탄불 박람회	03.09.~03.17	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 전시회 참가 후 다양한 교류를 통해 협상 진행 중</li> <li>▪ 터키 식품업체와 협상 중</li> <li>▪ Trial order 진행 후 수출관련 협약 체결</li> </ul>
3	중국 심천 가정용품/선물용품 전시회	04.24~04.29	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 한국 전시관 제품 전시</li> </ul>
4	중국 쿤밍 전시회	06.11~06.17	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 한국 전시관 제품 전시</li> <li>▪ Trial order 진행 후 수출관련 협약 체결</li> </ul>
5	우즈베키스탄, 카자흐스탄 시장 개척단	09.14~09.19	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 다양한 바이어와의 비즈니스 매칭 상담회 진행</li> </ul>

**전시회 및 박람회 참가 이미지**



## 기술 성과 제품 사진

◆ 흑삼제조(종래의 구증구포 방법에 의한 흑삼제조)



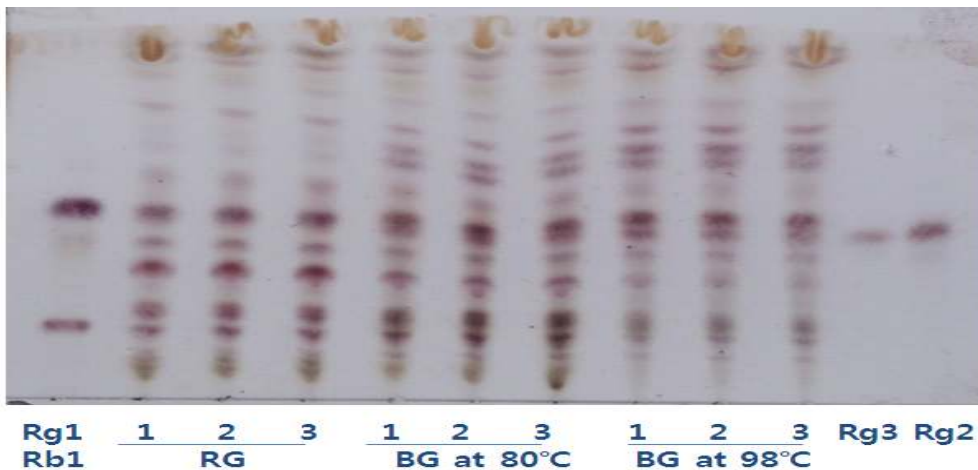
◆ 증삼온도에 따른 흑삼의 제조 사진



**60°C 증숙    70°C 증숙    80°C 증숙    90°C 증숙    98°C 증숙**

- 흑삼의 제조공정시 증삼 온도에 따른 흑삼의 제조 모습 : 흑삼의 제조시 55~70°C 습열에서 45분~300분간 예열 한 후 증삼하는 것을 특징으로 하는 고콜레스테롤혈증 예방 및 치료용 약학 조성물

◆ 홍삼, 저온제조 흑삼, 현행 흑삼의 사포닌 TLC 패턴



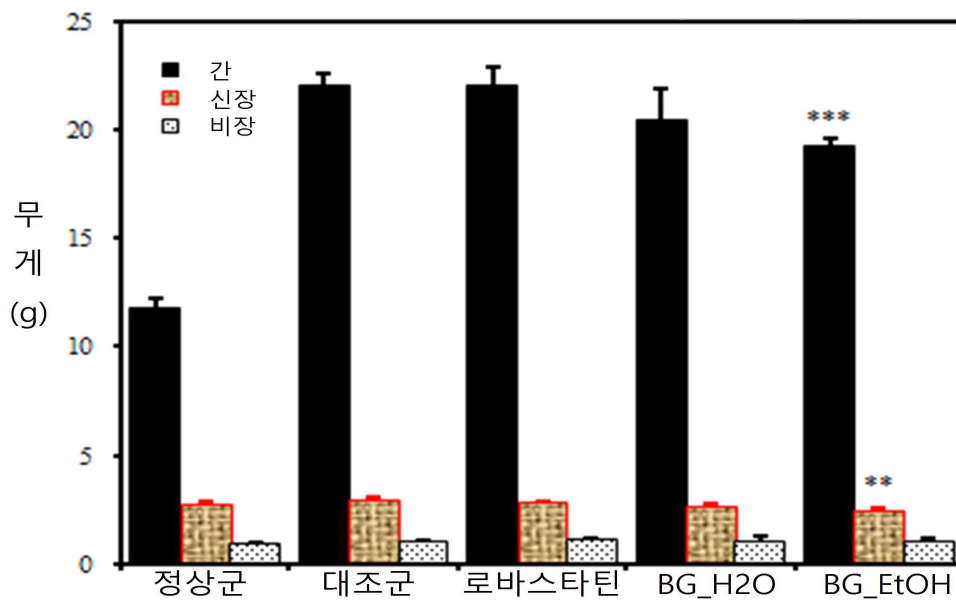
### 기술 성과 제품 사진

◆ 흑삼제조(증삼시 랩핑 및 밴딩에 의한 동체 균열 억제 효과를 보여주는 사진)



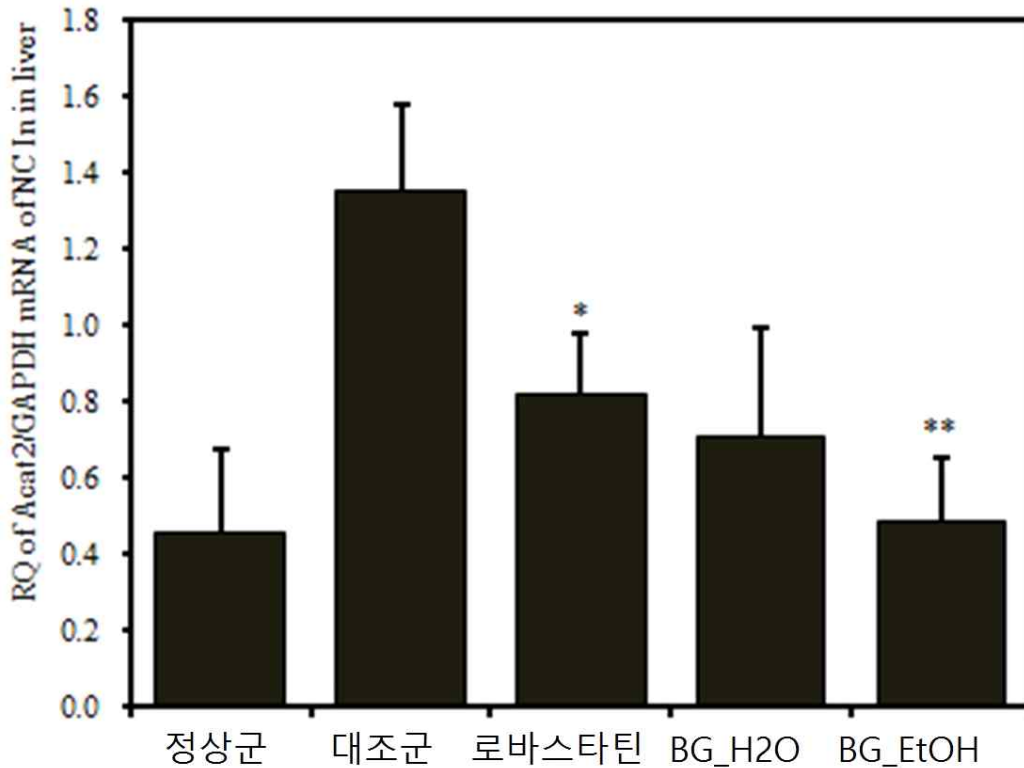
• 흑삼의 제조 시 동체의 균열을 억제하기 위하여 수삼의 동체를 내열성 재질로 감아서 밴딩한 상태에서 1차 증삼하는 것을 특징으로 하는 고콜레스테롤혈증 예방 및 치료용 약학 조성물

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



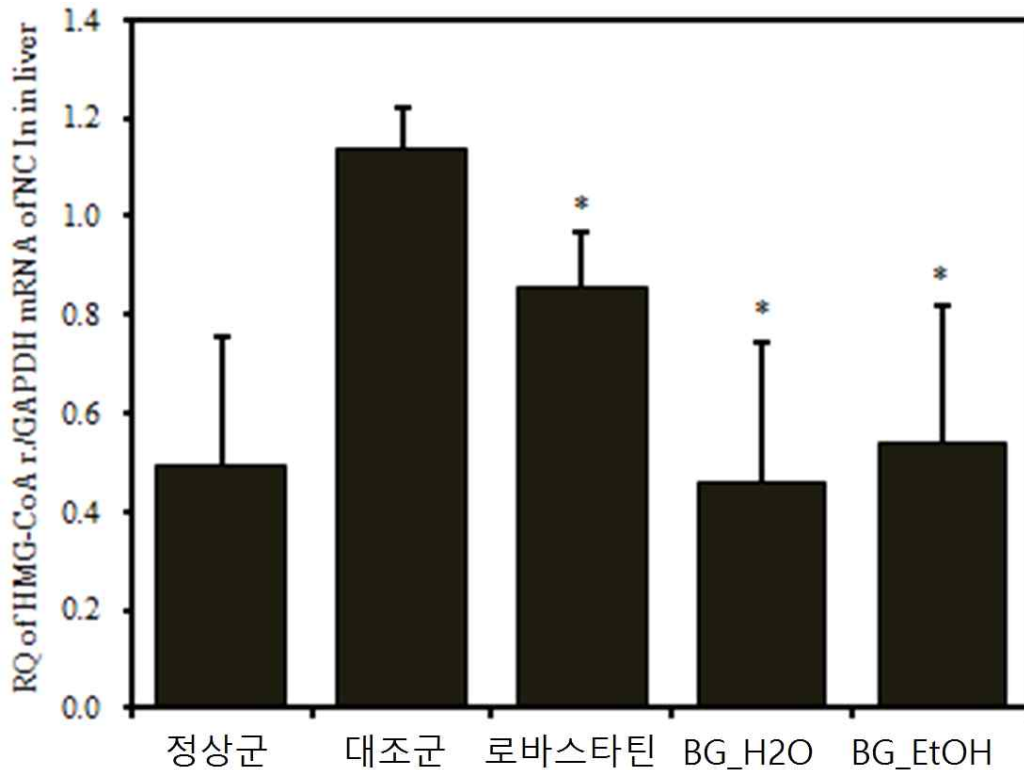
• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군별 장기무게의 차이를 보여주는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군에서 간조직에서 발견되는 ACAT2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과

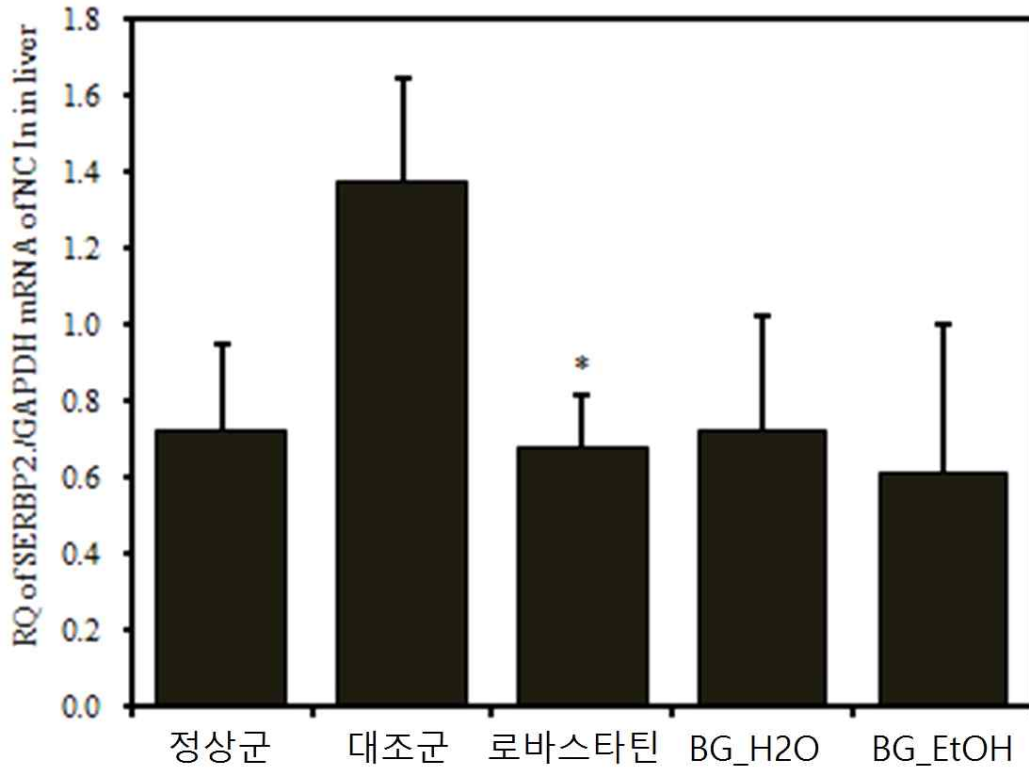


• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군의 HMG-CoAR mRNA 유전자 발현을 나



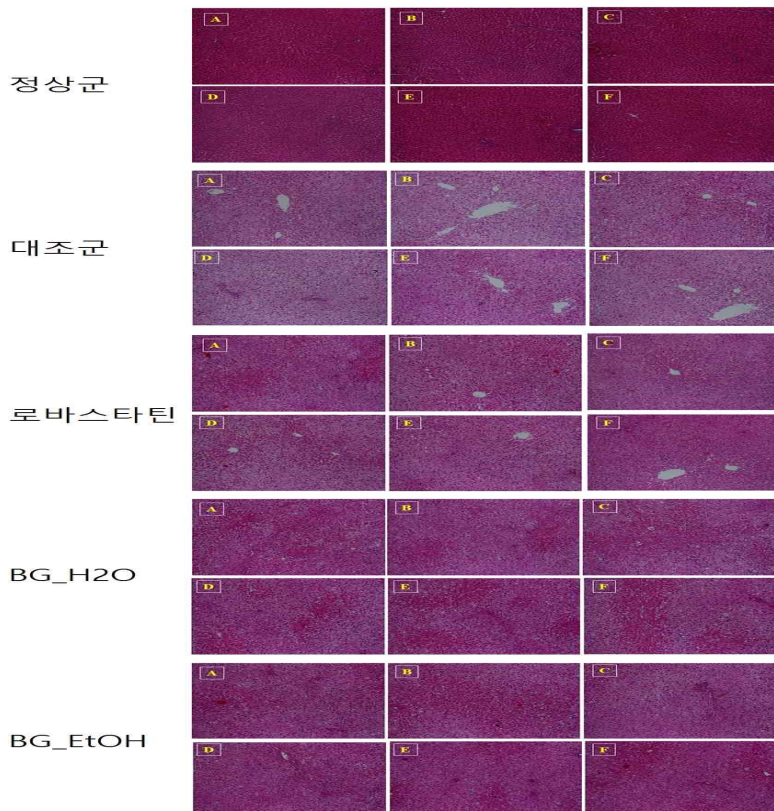
타내는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



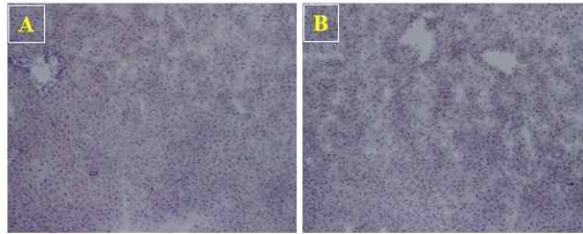
• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군의 간조직에서의 SREBP2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과

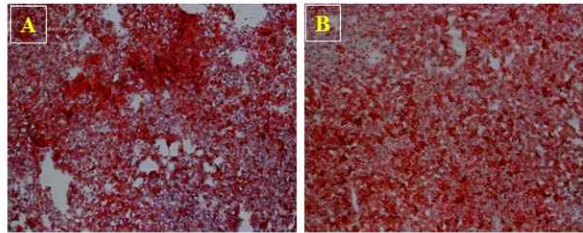


- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 H&E 염색한 이미지
- ◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과

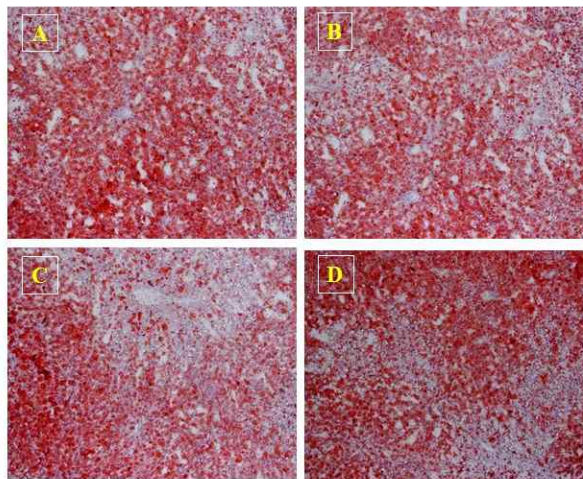
정상군



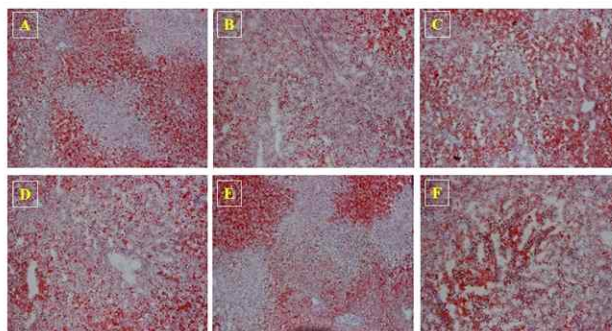
대조군



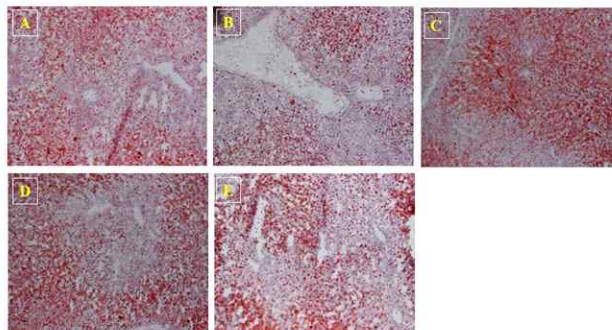
로바스타틴



BG\_H2O



BG\_EtOH

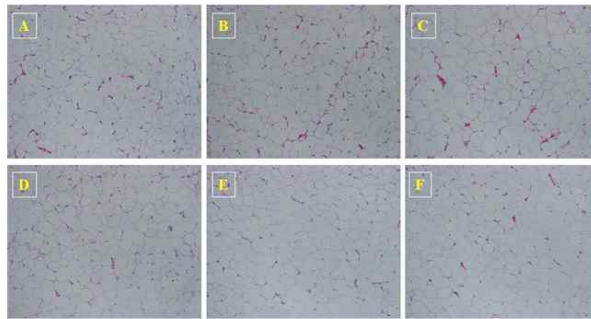


- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 오일-레드 염색한 이미지

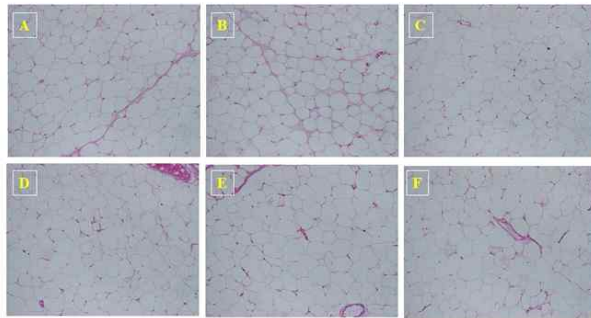


◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과

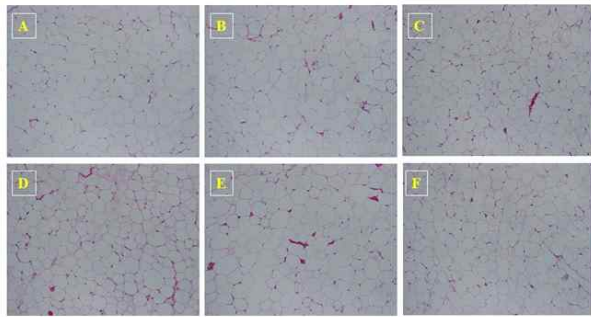
정상군



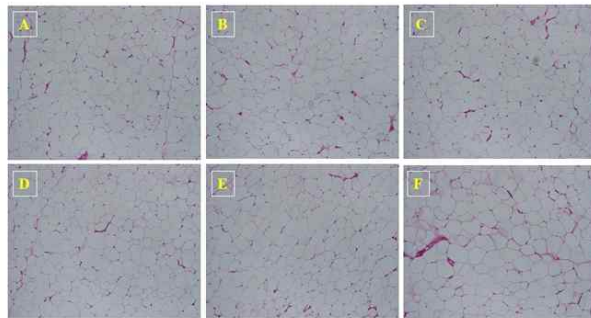
대조군



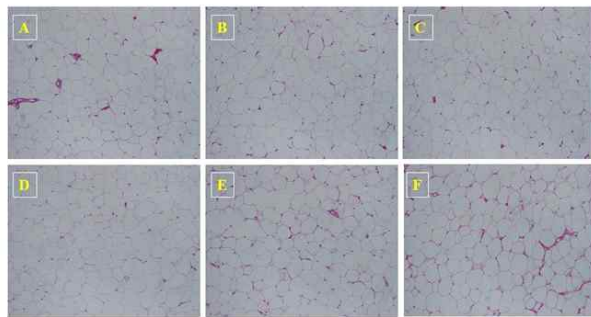
로바스타틴



BG\_H2O



BG\_EtOH

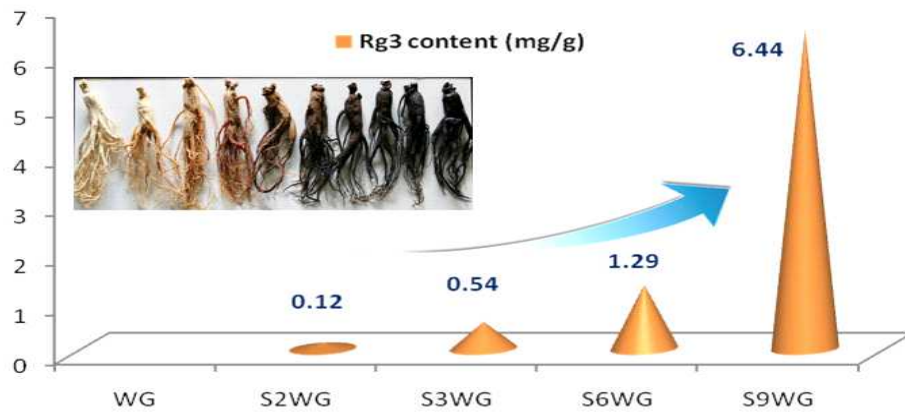


- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 복부지방 조직을 오일레드 염색한 이미지

## 기술 성과 제품 사진

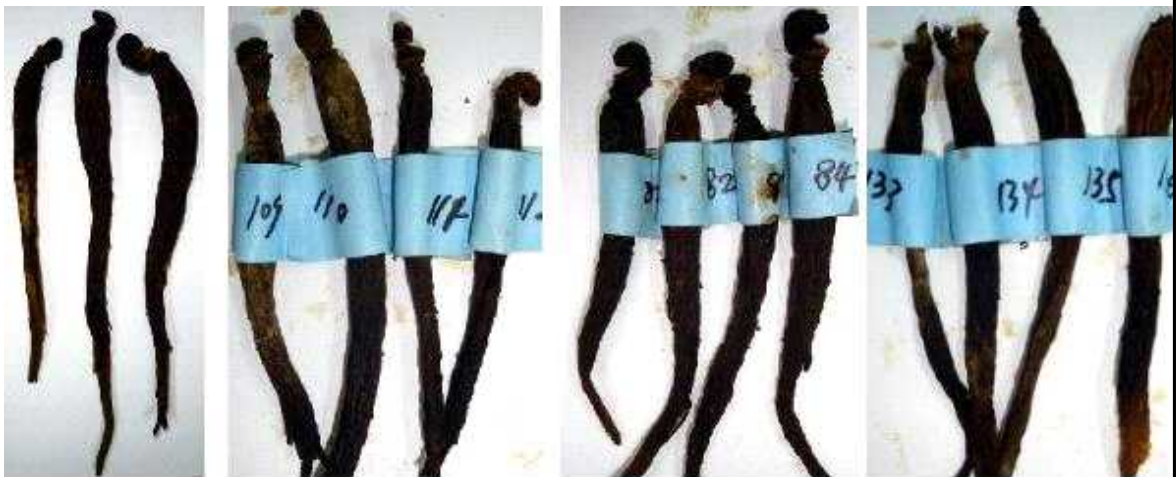
### ◆ 증숙 횟수에 따른 특정 진세노사이드 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량의 변화

증숙 횟수를 반복할수록 새롭게 형성되는 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 다음과 같이 나타내었다. 2회 증숙시 ginsenoside Rg<sub>3</sub>는 0.12 mg/g을 나타내었고, 증숙 횟수가 반복될수록 그 함량이 증가되어, 최종 흑삼을 제조하였을 때의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 6.44 mg/g으로 홍삼보다 50배 이상 증가하였다.



Change of ginsenoside Rg<sub>3</sub> contents in a traditional way for preparing BG

### ◆ 새로운 흑삼제조기술 탐색(과일산 침지 방법을 이용한 흑삼의 제조)



A. 대조군

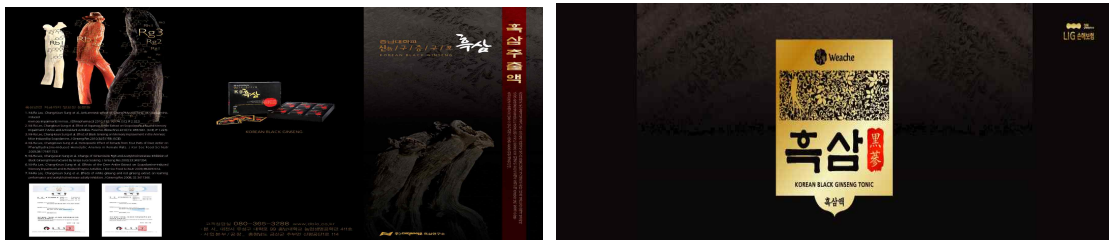
B. Apple juice

C. Grape juice

D. Pineapple juice

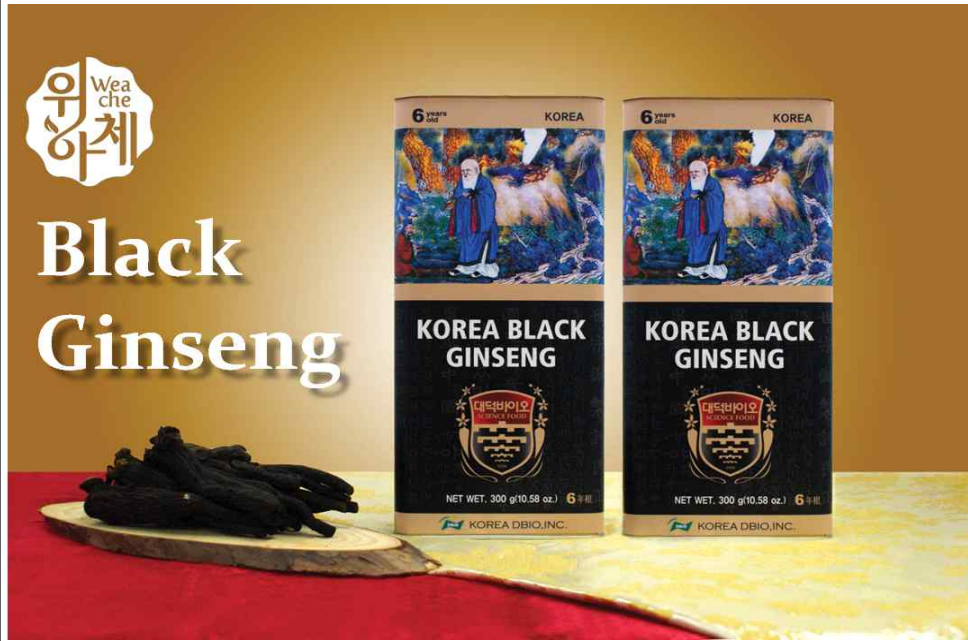
Black ginseng produced by soaking into several fruit juices

### ◆ 저온제조 흑삼을 이용한 콜레스테롤저하 헬스케어 드링크제 제품개발





신규 제품 도면(시안) 첨부



제품생산  
제품정보

- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 300 g
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

신규 제품 도면(시안) 첨부



제품생산  
제품정보

- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 g
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

기술 성과 제품 사진

신규 제품 도면(시안) 첨부




**제품생산  
제품정보**

- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 mL
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

신규 제품 도면(시안) 첨부

**저온 신구증구포 공법으로 제조한 흑삼**

**고콜레스테롤, 동맥경화, 심장질환 예방**



**제품생산  
제품정보**

(주)대덕바이오는 기존 흑삼의 제조공법 방법을 개선한 신기술을 연구개발하여 저온 신구증구포로 제조 된 흑삼을 원료로 연구를 거듭한 결과, 국내에서는 최초로 흑삼수인 '흑삼에 빠지다' 제품을 개발하였습니다. (출시예정)

- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 mL
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

### Ⅲ. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구의 최종 목적은 “**흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제 상품화**”로 고려인삼을 가공처리 하여 **특정성분·특정효능이 강화된 흑삼의 제조공정 개선, 가공기술 표준화 확립, 흑삼의 콜레스테롤 저하 효과**를 과학적이고 체계적으로 검증하고, 콜레스테롤 저하 효과를 가지면서, 산업적 경쟁력 측면에서도 충분히 가능하다고 판단되는 생물자원(흑삼)을 활용한 고부가가치 **기능성 헬스케어 드링크제 제품**을 개발하고 상품화 하는 데 있다. 궁극적으로 **흑삼의 특정성분-특정효능 발현으로 콜레스테롤 저하 및 예방 효과**를 가지는 헬스케어 드링크제를 상품화하여 국민보건 향상과 고려인삼의 세계적 브랜드 이미지 구축 및 고부가가치사업 창출로 국·내외 경쟁력을 확고히 하고자 한다.

최근 식생활 문화의 서구화와 외식의 증가에 따라 국민들의 영양 불균형이 초래되고 있으며, 특히 어린이들의 편식이 건강을 위협하고 포화지방산의 과도한 섭취로 인해 LDL 콜레스테롤을 증가시켜 고지혈증, 동맥경화나, 관상심장병 등 여러 가지 질병이 발생하고 있어 콜레스테롤 조절과 관련된 소재 개발이 필요한 실정이다. 또한 인구 고령화와 과식, 음주, 흡연, 운동부족, 비만으로 인한 심혈관계 질환인 고 콜레스테롤증, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화와 같은 만성질환이 늘어나고 있으며, 우리나라의 경우도 심혈관질환이 사망원인의 30% 이상을 차지하고 있고, 특히 노인의 사망원인 중 암에 이어 두 번째를 차지하고 있음으로 고령화 사회로 진행하면서 급격히 증가할 것으로 예측되고 있다.

심혈관계 질환은 LDL 콜레스테롤이 산화되어 그 산화산물이 동맥 내 피하 조직이 축적되고 여러 염증 반응의 증가 등으로 초래되는 만성질환으로써 혈중콜레스테롤 함량과 밀접한 관계가 있으며, 이와 관련된 조절기능 물질로 니코틴산, 클로피브레이트, 네오마이신, 트리파라놀, D-티록신, 에스트로겐, 로바스타틴 등이 개발되어 사용되어 왔는데, 니코틴산의 경우 피부혈관확장, 발진, 위 장관 이상, 요산혈증, 고혈당증, 간기능 이상과 같은 부작용을 유발하고, 클로피브레이트는 대표적으로 사용되고 있는 콜레스테롤 저하제이지만 그 효과가 낮으며, 네오마이신은 메스꺼움, 설사와 같은 부작용이 있고, 트리파라놀은 백내장 등이 부작용을 유발한다고 알려져 있으며, 에스트로겐 투여는 유방암 유발 등의 사례가 보고되는 등 많은 문제점으로 인해 사용이 제한적이며, 관련된 고시형 건강 기능성식품 원료로 EPA, 감마리놀렌산, 레시틴, 키톤산, 스테롤, 홍국이 등재되어 있으나 기능성 측면에서 효과적이지 못한 실정이다. 따라서, 이러한 문제점을 해결하고 치료효과 뿐만 아니라 예방적 차원에서도 지속적인 복용이 가능한 안전성과 효능을 겸비한 건강기능성 제품 개발 및 상용화가 필수적이다.

예로부터 불로장생·익기경신의 명약으로 일컬어지고 있는 인삼(Panax ginseng C.A. Meyer)은 각종 질병의 예방과 치료에 탁월한 효과를 나타낼 뿐만 아니라 전혀 병이 없는 사

람들에게도 힘과 활력을 주는 강장제로서 광범위한 약효를 나타낸다. 또한 장기간 사용하여도 전혀 부작용이 없다고 알려져 있어 한약중에서도 최고의 약재로 꼽힌다.

인삼의 소비는 Well-being, LOHAS와 같은 현재 트렌드에 맞춰 인삼의 효능이 계속적으로 확인됨에 따라 시장규모는 점점 더 성장할 것으로 예상된다. 따라서 효능을 기초로 한 안전성 있는 헬스제품 개발에 대한 소비자들의 요구가 증가되고 있다. 최근 인삼가공법이 발전하여 백삼이나 홍삼 중 일부 ginsenoside를 구조 전환하는 가공기술이 개발되어 특정 ginsenoside를 강화시킨 헬스제품 개발에 관심이 주목되고 있다.

본 연구는 종래의 흑삼제조 방법이 장시간이 소요되고 반복되는 증숙건조 방법으로 신맛과 텁텁한 맛 등이 문제가 되고 있는 제조공정 방법을 개선하여 ginsenoside 특정성분을 고농도로 함유하는 기능성 소재를 개발하고, 진세노사이드 특정성분 함량을 극대화한 흑삼의 신규 기능성인 콜레스테롤 저하 효능기전을 과학적으로 규명하고자 한다. 또한 이를 이용한 헬스제품을 개발하여 국민 보건향상과 고려인삼의 세계적 브랜드 이미지 구축 및 고부가가치사업 창출로 국·내외 인삼 산업의 경쟁력을 확고히 하고자 한다.

#### IV. 연구개발 내용 및 범위

본 연구과제인 **“흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제 상품화”** 연구는 고려인삼을 가공처리 하여 특정성분·특정효능을 강화 극대화 시킬 수 있는 흑삼의 제조공정 개선, 가공기술 표준화 확립, 흑삼의 콜레스테롤 저하 효과를 과학적이고 체계적으로 검증하고, 콜레스테롤 저하 효과를 가지면서, 산업적 경쟁력 측면에서도 충분히 가능하다고 판단되는 생물자원(흑삼)을 활용한 고부가가치 기능성 헬스케어 드링크제 제품을 개발하고 상품화하기 위하여 다음과 같이 연구개발 내용을 구성하였다.

- (1) 흑삼의 제조기술 개발 및 표준화 공정 확립
- (2) HPLC를 이용한 Ginsenosides의 분석조건 설정 및 확립
- (3) 흑삼 제조과정에 따른 잔류농약 및 벤조피렌 검사 안전성 검증
- (4) 흑삼의 기호도 저감 요인인 쓴맛, 신맛, 텁텁한맛 등의 기호도 개선 연구
- (5) 기능성과 편의성 및 기호성을 증가시킨 차별화된 헬스케어 드링크제 개발
- (6) 헬스케어 제품의 콜레스테롤 예방 저하 효능 평가
- (7) 적정용기 선정 및 브랜드 개발, 대량생산 공정개발 등
- (8) 콜레스테롤 저하를 위한 헬스케어 제품 개발 및 시제품의 저장안정성 평가
- (9) 헬스케어 드링크제 상품화에 대한 구체적인 마케팅방안 및 산업화 유통구조 구축

## V. 연구개발결과

본 연구 과제를 성공적으로 수행하여 다음과 같은 주요 연구기술 및 제품을 개발하였다.

### ① 흑삼의 표준화 제조공정 확립

기존의 흑삼 제조방법은 구증구포 방식으로 제조시간이 오래 걸리고, 잘못 증숙하게 되면 인삼이 탄화되어 발암물질인 벤조피렌 성분이 생성되는 문제점들이 발견되었다. 본 연구는 인삼 성분의 물리·화학적 전환원리를 과학적으로 적용하여 제조시간을 단축시키고, 유효 특정사포닌 성분 함량을 극대화한 흑삼을 다량 제조할 수 있는 방법을 개발하여 특허등록을 완료하였다. 종래의 흑삼 제조방식은 주로 구증구포 제조 방법을 이용하여 원료인삼을 9번 증숙하고 말리는 과정을 거쳐 제조되어 왔으며, 제조규모 시설에 따라 약 18일 이상이 소요될 뿐 아니라 반복되는 증숙 과정에서 가용성 엑스성분이 용출되어 흑삼 제조수율이 약 25.4%로 저조하고 신맛, 텁텁한맛 및 쓴맛이 강하여 향미에 문제점이 있어 이에 대한 개선책이 우선적으로 요구되었다. 이와 같은 문제점 개선을 위하여 60 ~ 98°C 범위의 증숙 과정을 반복하여 흑삼을 제조한 결과, 80°C 제조구의 품질 및 제조수율이 가장 양호하였으며, 종래 흑삼구증구포 제조 : 최소 11일 이상 ➡ 80°C 저온흑삼 제조 6일 소요, 증숙조건 : 습열, 증숙온도 : 80°C, 증숙횟수: 3회, 건조온도 : 65°C, 종래 흑삼 제조수율 : 25.4% ➡ 저온 개선 흑삼제조 수율 : 27.6%, 종래 흑삼 건조엑스함량 : 26.1% ➡ 저온개선 흑삼제조 수율 : 31.0%로 흑삼제조시간 단축 및 수율 증대 효과를 얻었다.

### ② 흑삼의 표준 Ginsenoside 최적분석 조건 확립

HPLC를 이용한 흑삼의 유효 표준 Ginsenoside 지표물질 설정 및 지표물질 성분 분석법을 확립하여 표준화된 검사방법으로 제조 흑삼의 품질을 향상 시킬 수 있었다. 식약처의 인삼사포닌 Rg<sub>1</sub> + Rb<sub>1</sub> + Rg<sub>3</sub> 품질규격 및 흑삼의 특이 사포닌 Rg<sub>3</sub> + Rg<sub>2</sub> 함량도 양호하였다.

- 종래 흑삼제조 (Rg<sub>1</sub>+Rb<sub>1</sub>) : 0.53 mg/g ➡ 저온개선 흑삼제조 2.46 mg/g
- 저온 제조 기준치 설정 : (Rg<sub>3</sub>+Rg<sub>2</sub>): 0.6 mg/g ➡ (실제분석치: 0.93mg/g)
- 말톨(maltol) 함량기준치 : 0.25% 이상

### ③ 흑삼의 콜레스테롤 저하 기능에 대한 *in vitro* 효능 평가

- 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 NO and MTT assay :

RAW264.7과 BV2 cell에서 LPS에 의해 유도된 NO 생성을 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스가 억제할 수 있는지 알아보기 위해 NO assay를 진행하였다.

RAW264.7과 BV2 cell 모두에서 농도 의존적으로 (125, 250, 500 and 1000µg/ml) NO

의 생성을 억제하였다. 또한 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 NO 생성 억제능은 RAW264.7보다 BV2 cell에서 조금 더 강한 것을 확인하였다. MTT assay결과 RAW264.7과 BV2 모두 1000 $\mu$ g/ml의 농도까지 독성을 보이지 않았기 때문에 NO 생성의 억제는 독성과는 무관한 것으로 확인되었다.

■ **홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 RT-PCR**

BV2 cell에서 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 iNOS, COX2와 proinflammatory cytokine의 발현 억제 양상을 확인하기 위하여 BV2 cell에 샘플처리 후 LPS를 이용하여 염증반응을 유발 시킨 뒤 PCR을 실시함. 총 5가지 인자 (iNOS, COX-2, IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ )의 발현정도를 확인하였다. 그 결과 홍삼엑스는 NO assay의 데이터와 비슷하게 최고농도인 1000 $\mu$ g/ml에서 50%이상의 발현 억제능을 보였고, IL-1 $\beta$  또한 농도의존적으로 많은 양의 cytokine 생성을 홍삼엑스가 억제함. COX-2는 20%정도의 억제를 보였고 나머지 IL-6와 TNF- $\alpha$ 의 발현은 전혀 억제하지 못함. 현행흑삼엑스는 iNOS, TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 에서 농도의존적으로 발현이 억제되었고, COX-2는 농도의존적인 양상을 보이진 않았지만 최고농도인 1000 $\mu$ g/ml에서 50%정도의 억제능을 보인 반면 IL-6에서는 아무런 효과를 보이지 않음. 저온흑삼엑스는 NO assay에서 3가지 샘플 중 가장 적은 NO 생성 억제능을 보인것과 유사하게 iNOS의 발현을 눈에 띄게 감소시키지는 못함. 하지만 다른 두 샘플과는 다르게 COX-2의 발현을 농도 의존적으로 많은 양 감소시켰으며 IL-1 $\beta$  또한 농도 의존적으로 감소하는 그래프를 나타냄. IL-6와 TNF $\alpha$ 는 저온흑삼엑스의 처리에 어떠한 효과를 보이지 않았다.

■ **홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 Prostaglandin E2 assay**

Prostaglandin E2 assay를 통해 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 PGE2 분비 억제능을 확인함. 3가지 추출물 중 저온흑삼엑스가 농도의존적으로 가장 많은 양의 PGE2 분비를 억제함. 현행흑삼은 500 $\mu$ g/ml까지 많은 양의 PGE2의 분비를 억제하였지만 최고농도인 1000 $\mu$ g/ml에서는 다시 PGE2의 분비를 증가시킴. 반면 홍삼엑스는 RT-PCR의 COX-2 결과와 유사하게 PGE2 분비에 있어 강한 효과를 보이지 않았다.

■ **홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 NF- $\kappa$ B luciferase assay**

LPS만 단독으로 처리한 세포에서는 NF- $\kappa$ B activity가 증가하였지만 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스를 처리함에 따라 농도의존적으로 NF- $\kappa$ B의 activity가 감소하는 것을 확인하였다.

■ **홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 western blotting**

홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 MAPKs phosphorylation 억제정도를 알아보기 위해 time course로써 15분, 30분, 60분에 단백질을 추출하여 실험을 진행함. 세가지 샘플이 각기 다른 시간에 phosphorylation을 억제하는 것으로 확인되었다. 홍삼엑스에서 p-ERK는 15분, p-JNK는 30분 그리고 p-p38은 15분에 약하게 phosphorylation이

억제됨. 저온흑삼엑스의 경우 p-ERK는 15분, 30분에서 강하게 phosphorylation을 억제 하였지만 p-JNK와 p-p38는 효과가 없었음. 현행흑삼엑스는 p-ERK 30분에 phosphorylation이 억제되었고, p-JNK와 p-p38는 15분에서 약한 억제능을 보였다.

#### ④ 흑삼의 콜레스테롤 저하 기능에 대한 *in vivo* 효능 평가

##### ■ 백삼엑스, 홍삼엑스, 저온흑삼엑스와 현행흑삼엑스의 지질성분변화

총 콜레스테롤 (total cholesterol, T-CHOL)은 high cholesterol diet 식이군 (HCD)에서 Normal diet 식이군(ND)보다 상승하였으나 각각의 샘플에서는 효과가 없었다. 중성지방 (Triglyceride, TG)은 HCD군에서 오히려 ND군보다 수치가 감소하였고, 모든 샘플에서 효과가 없었다. 고밀도지단백 (High-density lipoprotein, HDL)은 샘플을 투여한 군에서 HCD군 보다 조금 수치가 상승하는 것을 확인하였다. 저밀도지단백 (Low-density lipoprotein, LDL)은 HCD군에서 ND군보다 2배이상 수치가 증가하였으며, 백삼과 저온 흑삼을 투여한 마우스에서 수치가 일정량 감소하는 것을 확인하였다.

##### ■ 백삼엑스, 홍삼엑스, 저온흑삼엑스와 현행흑삼엑스의 GOT, GPT변화

ND보다 HCD에서 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT or AST)와 glutamic-pyruvic transaminase (GPT, ALT)의 수치가 증가한 것을 확인하였다, GOT 수치는 저온흑삼과 현행흑삼이, GPT수치는 백삼엑스와 저온흑삼엑스가 약한 효과를 가지고 있는 것으로 확인되었다.

#### ⑤ 흑삼의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 효능 평가

본 연구는 흑삼의 새로운 제조 공정 방법을 통하여 제조된 흑삼의 저온제조 흑삼의 에탄올 추출물(BG\_EoTH) 과 저온제조 물추출물(BG\_H2O)이 고콜레스테롤 사료(D12336)로 유도된 고콜레스테롤혈증 생쥐 모델에서 콜레스테롤개선 효능을 입증하고자 하였다.

- 체중변화는 실험종료 13주 최종기준으로 대조군에 비하여 양성대조군 Lovastatin, 그리고 실험군에서는 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여 BG\_EoTH (200 mg/kg)에서는 11.6g과 BG\_H2O (200 mg/kg)에서는 11.0g 감소된 추이를 보여서 체중변화와는 큰 차이를 나타내지 않았다.
- 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)의 식이효율이 23.62%임을 나타내고 있으며, 이에 비하여 식이효율은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여 양성 대조군인 Lovastatin 투여군, BG\_EoTH (200 mg/kg), 그리고 BG\_H2O (200 mg/kg)등 실험그룹에서 감소된 추이를 보였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다.
- 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 혈청내 총콜레스테롤(total cholesterol)의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈청내 총콜레스테롤(total cholesterol) 수준은 정상대조군의 혈청내 총콜레스테롤(total cholesterol)에 비하여 약 5.4%이상 증가를 나타내었다.



실험군에서는 BG\_H2O (200 mg/kg) ( $p < 0.05$ )과 BG\_EoTH (200 mg/kg) ( $p < 0.05$ ) 등이 대조군에 비하여 33.9%와 30.4% 이상 통계학적 유의성 있게 감소를 나타냈다.

- 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol)의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol) 수준은 정상대조군의 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol)에 비하여 약 13.3% 이상 증가를 나타내었다. 실험군에서는 BG\_H2O (200 mg/kg) ( $p < 0.05$ )과 EoTH (200 mg/kg) ( $p < 0.05$ ) 등이 고콜레스테롤혈증 대조군에 비하여 35.2%와 33.8% 이상 통계학적 유의성 있게 감소를 나타냈다 (Fig. 5, Table 3). 그러나 양성대조군인 Lovastatin 투여군은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol) 수준이 감소는 하였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다.
- 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 간무게 (liver weight)은 정상대조군의 간무게 (liver weight)에 비하여 46.7% 이상 증가를 하였다. 그리고 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 양성대조군인 Lovastatin 투여군은 차이가 없었고, BG\_H2O (200 mg/kg)과 BG\_EoTH (200 mg/kg)은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 감소하였으나 통계학적으로 유의성 있게 감소한 투여군은 BG\_EoTH (200 mg/kg) ( $p < 0.001$ )으로 나타났다.
- 간조직에서 발현되는 ACAT2, HMG-CoAR, SREBP2 mRNA 유전자 발현은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 Lovastatin와 BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여군은 통계학적 유의성 있게 감소를 나타내었다.
- 조직검사에서도 양성대조군 Lovastatin 200 mg/kg (D12336-Lovastatin\_20) 투여군, BG\_EoTH 과 BG\_EoTH 투여군이 지방세포 크기 증가, 지방 축적 (oil red O 염색)을 억제하였고, 간조직에서는 양성대조군 Lovastatin 200 mg/kg (D12336-Lovastatin\_20) 투여군, BG\_EoTH과 BG\_EoTH 투여군이 대조군에 비하여 지방구 및 지방 침착을 억제하는 결과를 나타내었다.

☞ 결론적으로 고콜레스테롤 사료(D12336) (D12336) 급여 고콜레스테롤혈증모델에서 콜레스테롤개선 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물을 6주간 투여로 지방조직 중량 감소, 혈중 총콜레스테롤 수준 감소, 혈중 저밀도콜레스테롤수준 감소, ACAT2, HMG-CoAR, SREBP2 mRNA 유전자 발현량 감소등으로 콜레스테롤개선 효과를 나타내고, 간과 지방세포에서 생체 에너지 대사 조절하는 ACAT2, HMG-CoAR, SREBP2 mRNA 유전자 발현이 억제되어 간에서 콜레스테롤의 합성을 억제하는 기전으로 콜레스테롤개선 효과를 나타내는 것으로 사료된다.



#### ⑥ 저온제조 흑삼을 이용한 콜레스테롤 저하 헬스케어 제품 개발

저온제조 흑삼을 이용한 콜레스테롤 저하 헬스케어 제품으로 파우치, 절편, 엑기스, 드링크 제품 등 다양한 제형별로 제품의 다각화를 실현하여 상품화하였다.

#### ⑦ 저온제조 흑삼을 이용한 콜레스테롤 저하 헬스케어 제품을 위한 상표출원

본 연구 결과를 바탕으로 저온제조 흑삼을 이용한 콜레스테롤 저하 개선효과를 부각시킨 제품 생산을 위한 상표를 출원하였다(위아체 흑삼 Weache Black Ginseng).

### VI. 연구성과 및 성과활용 계획

- 본 연구에서 개발한 흑삼제조 공정은 제조시간을 단축시키고, 흑삼의 제조수율 제고 및 품질 개선에 활용함으로써 전반적인 흑삼제품의 품질개선 향상이 가능하였다. 안전한 흑삼 제조 공정개발 방법으로 다량의 흑삼을 제조할 수 있는 방법으로, 인삼시장이 홍삼류 제품에 제한을 받고 있어 산업 확장에는 다소 어려움이 있지만, 소규모 인삼 농가의 수익성 확보를 위해 지자체나 관련 기관을 통한 기술소재를 통해 인삼시장에서 경쟁력 있는 새로운 블루오션을 창출할 수 있는 사업으로 사료된다.
- 흑삼의 지표 유효 사포닌인 ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub>, Rg<sub>3</sub> 등의 분석을 위한 표준화된 검사방법을 확립함으로써 제조 흑삼의 품질을 향상시킬 수 있고, 소비자들에게 신뢰를 줄 수 있는 제품을 생산할 수 있다.
- 본 연구에서 규명한 흑삼의 신규 기능성인 콜레스테롤저하 예방 효과에 대한 과학적 자료를 바탕으로, 흑삼을 단순한 건강보양식으로 제한하지 않고, **연령층과 특정효능을 타겟**으로 삼는 건강기능식품 개발의 주류를 따라 특정 진세노사이드 성분을 강화한 제품과 특정 효능-콜레스테롤 저하 효과를 위한 헬스케어 제품 개발을 시도하였다.
- 오랜 전통 문화를 지닌 우리나라가 전통약물을 이용함으로써 한약제제를 이용한 고콜레스테롤혈증치료제 개발이 가능하였다.
- 콜레스테롤개선 효능 물질의 활용기술 개발을 통해 국제적 경쟁력을 확보로 국제 경쟁력을 통해 선진국들과 대등하게 경쟁할 수 있다.
- 본 연구결과를 바탕으로 하여, 아직까지 규명되지 않은 흑삼의 기능성을 다양한 연구를 통하여 규명함으로써, 새로운 시장진입을 위한 과학적 근거자료로 활용 가능 할 것으로 사

료된다.

## 1. 기술적 성과

- 인삼 산업법의 시행에 따라 허용된 흑삼의 제조가공 유통뿐만 아니라, 효능에 대한 과학적 규명을 통하여 인삼시장에서 흑삼산업의 경쟁력을 확보할 수 있었다.
- 인삼시장의 경쟁 대상국인 중국, 캐나다에 없는 흑삼가공 기술을 통하여, 대한민국의 국제적인 브랜드 창출과 제조기술의 선점을 통하여 국부 창출의 기회를 모색할 수 있었다.
- 기능성 유효성분의 소재 개발을 통한 헬스제품 개발로 고부가가치를 극대화 시킬 수 있었다.
- 흑삼을 이용한 콜레스테롤 조절 작용에 대한 체계적인 연구가 가능할 수 있도록 연구기반의 토대를 제공하였다.
- 흑삼제조공정 개선 및 흑삼의 표준지표물질 분석법 확립, 흑삼의 신맛, 텁텁한 맛 등 개선을 위한 제품제조 품질기술 확립화 등의 기술적 성과를 달성 하였다.
- 연구성과와 관련된 특허, 실용신안, 논문 발표 등 실적을 달성하여 기술확산 및 보급화를 실현 하였다.

## 2. 경제적 성과

- 농산물인 흑삼의 지역 특성화 사업을 통한 농가의 소득증대에 기여함 : 흑삼의 원료인 인삼 재배의 본고장인 금산이므로, 흑삼을 이용한 본 기술개발 사업의 성공과 지속적인 연구 개발로 인한 그 이용성이 확대될 경우 충남지역의 고부가가치를 갖는 특화 작물로의 성장이 가능 할 것으로 판단된다.
- 충청남도 유망 중소기업 및 INNOBIZ기술 혁신형 중소기업으로, 충청남도에 제1, 2공장 연구소를 보유하고 있기에, 지역개발 육성 사업에 기여하는바가 매우 클 것으로 예상된다.
- 신규 기능성을 입증한 고부가가치를 지닌 헬스케어 흑삼제품 개발로 관련 산업을 활성화 시킬 수 있을 것으로 사료된다.
- 흑삼을 이용하여 콜레스테롤저하 헬스케어 드링크제 제품을 보급함 으로서 세계 및 한국인의 사망원인의 1위인 심혈관계 질환의 사망자수를 저하시키는 직접적인 효과를 창출 하였다. <콜레스테롤 수치를 10% 낮추면 심혈관계 질환의 발병률이 30%이상 감소시킬 수 있음>.
- 심혈관계 발병률을 저하시킴으로서 의료비용 및 생산성 감소로 인한 경제적 손실을 줄여 주는 효과를 주었다.
- 개발기업의 이익창출 및 수출증대에 기여함 : 안정성이 확보된 흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 제품으로 산업화 시 국내에서의 이익창출은 물론이고 해외로까지 수출이 가능하다

고 판단된다.

- 콜레스테롤 저하관련 헬스케어 제품 및 원료의 수입대체효과 가져움 : 우리나라의 대부분의 건강기능성식품의 수출은 미비한 반면에 대부분의 원료 및 제품으로 수입하는 실정으로, 국내의 콜레스테롤관련 제품과 소재의 대부분은 수입하는 것으로 본 기술개발의 성공으로 인한 산업화시 원료와 제품의 수입대체 효과를 기대함과 동시에 제품 및 원료 수출에 기여할 것으로 기대된다.

## SUMMARY

This study was conducted to develop a new method for enhancing ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub>, Rg<sub>3</sub>, which is abundant in black ginseng (BG) and to evaluate low-cholesterol effect of processed BG using high cholesterol animals model.

BG was prepared according to the traditional manufacturing method: “九蒸九曝”. Ginsenoside Rg<sub>3</sub> was not detected in white ginseng and its content in WG, 6.44 mg/g, was about 53.7, 11.9, 5.0 times higher than that in 2-, 3-, 6-time repeatedly steamed ginsengs, respectively.

However, the current method for preparing BG has several disadvantages such as long-term consuming production, limit to mass production, etc, which lead to the high price and poor acceptance. In order to make BG more popular and more accessible, several variables including steaming temperature, time, steaming number, etc. that affect the quality of BG were investigated. As a result, a process was developed for preparing a novel BG (6.56 mg/g). Moreover, the PAHs contamination was not detected by GC-MS in the finished BG products.

The traditional method of manufacturing black ginseng uses “九蒸九曝”. It has many disadvantages for not only taking a long time, but also producing carcinogen as a result of making carbonated ginseng by faulty streaming process. However, in this study, we have developed a new method of manufacturing black ginseng that has reduced manufacturing time on the basis of physical and chemical convertible method and increased the production of specific ginsenoside. The traditional method of manufacturing black ginseng uses “九蒸九曝”. that involves ginseng undergoing nine times of streaming and drying. This process takes up almost 18 days and the yield of black ginseng is almost 25.4%. The low yield is due to the production of soluble unknown byproducts that has elucidated during the process. In addition to this, the final product of black ginseng has a strong taste of sourness, bitterness and soupiness. The improvements for the following limitations of the traditional manufacturing method have been demanded in the past. For the improvement of these limitations, we have repeated the streaming of ginseng, within the range of 60 ~ 98°C, and discovered that 80°C is the optimum temperature for the best output of black ginseng. The developed manufacturing method of black ginseng: takes at least 11 days at 80°C low black ginseng manufacturing method 6 days required, streaming condition: streaming temperature: 80°C, repeats of streaming : 3 times, drying temperature: 65°C, traditional black ginseng yield: 25.4% → new manufacturing method 27.6%, traditional black ginseng dried unknown byproducts: 26.1% → new manufacturing method: 31.0%. As demonstrated by the following, we have not only reduced

manufacturing time but also have increased the final quality and yield of the black ginseng as a result of this study.

Hypercholesterolemia is a serious problem that is being faced by many countries and is nowadays a major cause of biggest concern for health professionals, since it constitutes for one of the prime risk factors for the development and growth of cardiovascular diseases, like atherosclerosis and its complications, acute infarction of the myocardium or hypertension, accumulation of low density lipoproteins, stroke and cerebral infarctions. Moreover, there is a substantial correlation between these diseases and lipid abnormalities, especially high level of plasma cholesterol, and blood pressure. The continuous ingestion of high amounts of fat seems to be directly related to hypercholesterolemia in human population. Diet related chronic diseases like type 2 diabetes, cardiovascular diseases, several types of cancer and increased morbidity and mortality can be attributed to obesity and overweight. Generally it is a fact that obesity occurs due to an imbalance between energy intake and energy output. An imbalance in this ratio results in accumulation of fat inside adipose tissues and elevated Low density lipoproteins inside blood and other fat accumulation organs. There are many drugs in market available for fat accumulation related anomalies but they pose serious side effects like renal failure and gastrointestinal abnormalities. So, nowadays more attention is being paid on the natural products for alleviation of these chronic diseases as natural products are efficacious in treatment of chronic with minimum or no side effects.

Ginseng and ginsenosides have been researched since long time for its therapeutic effects on body vitality, immune system, various types of cancer, inflammatory anomalies, and nervous system disorders, reproductive system functioning and cardiovascular diseases. In addition, there are many studies that reveal the ginseng's beneficial effects on hypercholesterolemia and reduction of total cholesterol levels. Studies in past have shown ginseng's potent suppressing effects on in vitro pancreatic lipase activity and reduced obesity and plasma lipid profile in presence of high fat diet fed to rodents. Ginseng prime activity is actually due to the ginsenosides present in it. Uptill now there are a number of ginsenosides being discovered and explored for their marvelous therapeutic activities. Basically in a broader scenario, ginseng is divided in three types, the Red ginseng, White ginseng and Black ginseng. Here our interest is in Black ginseng. Black ginseng is prepared from raw ginseng by steaming it for nine times at a high temperature for around 3 hr till the pint it becomes black. At this point the black ginseng possesses better qualities than red ginseng like anti-inflammatory, anti-metastatic and anti-oxidant. This pharmacologically active agent has been studied for many aspects before but its effects in hypercholesterolemia have not been studied in detail as yet. Here in our research, we report for the first time the amelioration of

hypercholesterolemia in high cholesterol fed rats. Our results showed that black ginseng water and ethanol extract, effectively lowered the total serum levels of cholesterol. It also increased the food efficiency ratio and the differential WBC count was also elevated by black ginseng extract. The key gene markers for fat metabolism like ACAT2, HMG CoA r and SERBP 2 were also reduced by black ginseng extract at mRNA levels. Moreover the histopathological images also show reduction in fat accumulation in liver and adipose tissues. So in a nutshell black ginseng appears to be a promising anti-hypercholesterolemic agent.

Cholesterol is a lipid that is being produced by liver and is important for various bodily functions. Besides the bad image for cholesterol, it is important component for various enzymes, sex hormones, bile juices and outer membranes of cells. Within the safe limit cholesterol, is mandatory for proper homeostasis of living body. However any excess of cholesterol that is not being used by the body is deleterious for it because with the passage of time it accumulates as bad cholesterol or so called “Low Density Lipoproteins” (LDL).

Due to the increasing trend of unhealthy foods which mainly includes fast foods, inadequate daily routines including lack of exercise and un healthy work environment and other competitive stresses, the risk for accumulation of excessive cholesterol inside body and cardiovascular diseases is a serious concern for health professional all over the world in this 21<sup>st</sup> century. Chemical drugs are a solution to these CVD anomalies however the irreversible damaging effects gifted by these drugs are inevitable.

Natural products like herbs, leaves and roots of some plants are being tested worldwide for their efficacy in serious pathological conditions like various types of cancers and cardiovascular diseases. Ginseng has long been used for treatment of heart failure and to protect tissue damage under cellular and environmental stress with manifestation of any side effects. So in nutshell, there is numerous research on the cardioprotective effects of ginseng on cardiovascular system but the effect of black ginseng on hypercholesterolemia remains limited.

In our study herein we found that black ginseng water and ethanol extract both decreased the total cholesterol and LDL- cholesterol levels of serum. However the HDL-cholesterol and triglyceride levels of serum remain unaffected. It indicates that black ginseng extract can efficaciously diminished the levels of above mentioned “Bad Cholesterol” inside rat model of hypercholesterolemia.

In conclusion, the administration of black ginseng extract in SD rats with high cholesterol diet lowered the LDL cholesterol levels, caused an elevation in the serum triglyceride levels and increased the food efficiency. Moreover, with respect to the liver metabolic marker genes, the

mRNA expression of ACAT2, HMG-CoAr and SERBP2 were inhibited by black ginseng ethanol and water extract. The histological changes brought by high cholesterol diet in liver and adipose tissues were reverted by black ginseng extracts as can be seen from H&E and Oil Red O staining. With this first report on hypercholesterolemic effect of black ginseng water and ethanol extract in rats, we can conclude that these extracts can be studied in future as functional food for various cardiovascular related anomalies. Therefore, these results suggest that black ginseng extract are promising candidates applicable to the development of cholesterol-lowering nutraceutical food and drugs.

# CONTENTS

Chapter 1. Introduction .....	31
1. Necessity .....	31
2. Objectives .....	31
Chapter 2. International·Domestic trends .....	69
1. The current status of domestic research .....	69
2. The current status of overseas research .....	73
Chapter 3. Research contents and Results .....	85
1. Research Methods .....	85
2. Results and discussion .....	97
Chapter 4. Achievement degree of objective and contribution .....	190
Chapter 5. Application .....	205
Chapter 6. Collected scientific and technical informations from overseas .....	207
Chapter 7. References .....	211



# 목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표 .....	31
제 1절 연구개발의 필요성 .....	31
1. 기술적 측면 .....	31
2. 경제·산업적 측면 .....	44
가. 사회적 변화에 따른 콜레스테롤 제품의 필요성 .....	45
나. 한국의 조사자료에 따른 콜레스테롤 조절관련 소재개발의 필요성 .....	45
다. 미국의 조사자료에 따른 콜레스테롤 조절관련 소재개발의 필요성 .....	46
라. 콜레스테롤조절관련 건강기능식품 시장의 산업현황 및 특징 .....	47
3. 사회·문화적 측면 .....	49
가. 사회적 변화에 따른 콜레스테롤 제품의 필요성 .....	49
나. 한국의 조사자료에 따른 콜레스테롤 조절관련 소재개발의 필요성 .....	50
다. 미국의 조사자료에 따른 콜레스테롤 조절관련 소재개발의 필요성 .....	51
라. 콜레스테롤조절관련 건강기능식품 시장의 산업현황 및 특징 .....	51
마. 콜레스테롤조절 효과를 갖는 개별 인정형 소재개발 필요성 .....	52
바. 콜레스테롤조절관련 기술전망 및 발전필요성 .....	52
제 2절 연구개발의 목적 .....	54
1. 연구의 목적 및 범위 .....	54
가. 연구의 목적 .....	54
나. 연구의 범위 .....	54
제 3절 연구성과 목표 대비 실적 .....	55
1. 연구의 목적 및 범위 .....	55
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	69
제 1절 국내외 연구개발 현황 .....	69
1. 국내의 연구개발 현황 .....	69
2. 국외의 연구개발 현황 .....	73
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	85
제 1 절 연구수행방법 .....	85
1. 구증구포 흑삼 제조와 HPLC 분석조건 확립 .....	85
가. 구증구포 흑삼의 제조 .....	85
나. 인삼 사포닌 분석 .....	85
2. 새로운 흑삼제조 기술 탐색 .....	85

가. 과일 Juice 침지방법을 이용한 흑삼의 제조 .....	85
나. 추출 조건에 따른 사포닌 함량 비교 .....	85
다. 증숙온도 및 증숙시간에 따른 흑삼의 사포닌 함량 변화 .....	85
라. 흑삼의 제조공정 개선 .....	86
3. 흑삼의 독성 안전성 평가 .....	87
가. 실험 동물 및 처치 .....	87
나. Hematological, biochemical analyses .....	88
다. 뇨 검사 .....	88
라. 간, 신장의 조직검사 .....	88
4. 흑삼 추출물의 in vitro 방법에 의한 콜레스테롤 저하 효능평가 .....	88
가. Cell culture .....	88
나. Nitric oxide production assay and cell viability assay .....	88
다. RNA extraction and RT-PCR .....	89
라. Western blotting .....	89
마. Prostaglandin E2 assay .....	89
바. Luciferase assay .....	90
5. 흑삼 추출물의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 효능평가 .....	90
가. 고콜레스테롤혈증 흰쥐모델 동물 실험설계 .....	90
나. 시험물질 조제 및 투여 .....	90
다. SD 흰쥐를 이용한 고콜레스테롤혈증 유발 동물모델 .....	90
라. 고콜레스테롤혈증 흰쥐모델의 지방조직 중량측정 .....	94
마. 고콜레스테롤혈증 흰쥐모델의 혈장중 지질생화학적 분석 .....	94
바. 병리조직학적 분석 .....	94
사. 통계처리 .....	95
6. 흑삼 추출물 및 흑삼엑스 연구용시료 제조 .....	95
가. 저온 흑삼추출물 제조 .....	95
나. 저온 흑삼엑스 제조 .....	95
7. 흑삼 원재료를 이용한 헬스푸드 제조 .....	96
제 2 절 연구 수행 결과 .....	97
1. 인삼의 콜레스테롤 저하 관련자료 수집 및 분석 .....	97

가. 주요 사포닌의 화학구조 .....	97
나. 주요 인삼사포닌의 약리학적 기능과 기전 .....	99
다. Ginseng polyaccharides의 약리학적 기능 .....	102
라. 사포닌의 전환 원리 .....	102
마. Ginsenoside biotransformation에 사용되는 미생물과 대사물 .....	104
2. 구증구포 방법에 의한 흑삼 제조 및 HPLC 사포닌 분석조건 확립 .....	105
가. 흑삼제조 .....	105
나. 유효지표 성분 Ginsenoside 분석을 위한 HPLC 분석 조건 확립 .....	105
(1) TLC 분석을 통한 사포닌 패턴 비교 .....	105
① 인삼 추출물 제조 .....	105
② TLC 분석 .....	106
③ TLC 전개용매 .....	106
(2) 유효 지표성분 Ginsenoside의 최적 분석 조건 확립 .....	107
다. 증숙 횟수에 따른 사포닌 함량 변화 .....	111
라. 증숙횟수에 따른 ginsenoside Rg <sub>3</sub> 의 함량의 변화 .....	114
3. 새로운 흑삼제조 기술 탐색 .....	114
가. 과일 Juice 침지방법을 이용한 흑삼의 제조 .....	114
(1) 흑삼제조 .....	114
(2) 과일 Juice 침지에 따른 흑삼의 사포닌 함량 변화 .....	116
(3) 과일 Juice 침지에 따른 흑삼의 ginsenoside Rg <sub>3</sub> 의 함량 비교 .....	117
나. 과일 Juice 침지를 이용한 흑삼 제조의 최적 조건 탐색 .....	117
(1) 최적온도 조건 탐색 .....	117
(2) 증숙온도 120℃에서의 최적의 증숙시간 탐색 .....	120
(3) 증숙 횟수에 따른 흑삼제조 (120℃, 60 min) .....	123
다. 제조 흑삼의 잔류농약 안전성 평가 .....	125
라. 흑삼의 제조 공정개선으로 품질향상 평가 .....	125
(1) 흑삼의 제조공정개선 .....	125
(2) 흑삼 제조 조건별 흑삼수율, 흑삼품질 및 유효성분 함량 변화 .....	128
4. 흑삼 추출물의 in vitro & in vivo 방법에 의한 콜레스테롤 저하 효능평가 ...	134
가. 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온 흑삼엑스의 NO 및 MTT assay .....	134
나. 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온 흑삼엑스의 RT-PCR .....	135
다. 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온 흑삼엑스의 NF-Luciferase assay .....	136

라. 홍삼엑스, 현행홍삼엑스와 저온 홍삼엑스의 Western blotting .....	137
5. 홍삼 추출물의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 효능평가 .....	140
가. 고콜레스테롤혈증 흰쥐모델 동물 실험설계 .....	140
나. 홍삼 추출물의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 장기무게분석 .....	150
다. 홍삼 추출물의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 혈액생화학적분석 ...	151
라. 홍삼 추출물의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 백혈구변화 측정 .....	152
마. 홍삼 추출물의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 유전자발현 분석 .....	153
바. 홍삼 추출물의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 간조직학적 분석 .....	156
6. 저온제조 홍삼을 활용한 콜레스테롤저하 헬스푸드 개발 .....	165
가. 저온제조 홍삼의 원료소재를 활용한 헬스푸드 개발 .....	165
나. 시제품의 사포닌 분석 .....	175
다. 홍삼 추출물의 Preformulation .....	175
라. 홍삼 추출물의 저장기간중 파우치제품의 제품안정성 측정 .....	176
마. 저온제조 홍삼제품의 가온가속 조건에서의 장기안정성 측정 .....	177
바. 홍삼추출물의 시제품에 대한 관능평가 및 기호도 조사 .....	177
사. 홍삼 추출물의 시제품에 대한 이화학적 특성 조사 .....	179
아. 홍삼 추출물의 제조공정 개선으로 품질향상 .....	180
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	190
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 .....	205
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	207
제 7 장 참고문헌 .....	211
<첨부. 특허, 논문 및 시장분석 보고서>	

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1절 연구개발의 필요성

### 1. 기술적 측면

- 우리나라의 인삼은 **고려인삼(Panax ginseng)**으로 불리우는 다년생 초본류로서 뿌리가 주로 한방에서 이용되어 온 약용식물이다. 인삼의 성분과 화학적 및 약리학적 특성에 관한 연구는 1960년대부터 시작되어, ginsenoside, phenol compound, polyacethylene, polysaccharide 등과 같은 다양한 성분이 함유되어 있는 것으로 밝혀 졌으며, 이들 화합물의 생리활성에 관한 과학적 연구결과도 다수 보고되었다.

### 고려인삼의 우수성

Korean ginseng, *Panax ginseng* C. A. Meyer

- ◆ traditionally used as multi-potent herbal medicine for almost all ailments in East Asia, including Korea, Japan and China.
- ◆ contains many active ingredients among them; saponin components (ginsenosides) are believed to be responsible for most of the pharmacological & immunological activities of ginseng.

- ◆ Anti-cancer activity
- ◆ Anti-diabetic activity
- ◆ Immunomodulatory activity
- ◆ Anti-allergic activity...etc



Heo jun

- 인삼에는 사포닌 성분으로 대표되는 생체의 기능조절에 유효한 성분이 다량으로 함유되어 있으며, 이들 사포닌(ginsenoside) 성분은 면역기능, 항암작용, 항산화 활성, 신경장애개선 혹은 당뇨와 고혈압과 같은 성인병의 예방과 증상개선 혹은 치료 등에 유용한 작용을 하는 것으로 알려져 있음. 이러한 이유로 국내에서는 오래 전부터 인삼이 다량으로 재배

되어, 체질증강과 면역력 보강을 위하여 전통적인 민간요법에 많이 사용되어 왔으며, 최근에는 국내와 일본 및 중국 등지에서 인삼에서 추출한 사포닌 성분(ginsenoside)을 의약품화 하거나 의약품원료로 응용하기 위한 소재로서 널리 사용하고 있다.

- **고려인삼**은 단순한 제품이 아니라 우리나라를 대표하는 건강식품이며 개방화 시대의 농가의 주요 소득 작물이다. 또한, 동양의학에서 원기회복, 면역력증진 등 효능이 있는 상약으로 간주하며 현대의학에서도 당뇨병, 고혈압 등 성인병 및 대사증후군 치료에 사용되는 치료제 및 건강기능성 식품의 원료로 활용되고 있다.
- 한편 최근 국내에서는 기존의 방법과는 다른 새로운 **인삼 가공법에 의해 인삼의 효능을 높이기 위한 일환으로**, 수삼을 정선하여 껍질이 존재하는 상태로 **중숙(찜)**과 **건조과정**을 **9회 반복**하여 만드는 **구증구포(九蒸九暴)** 가공법이 도입되었음. 이 과정을 통해 만들어진 구증구포삼은 검은색을 띠게 되어 흔히 **흑삼(黑衫)**이라 불리우며, 인체에 유용한 생리활성 물질이 다량으로 함유되어 있는 것으로 알려져 있음. 인삼의 사포닌은 열처리 과정을 거치게 되면, 홍삼의 경우와 같이 원래의 백삼에는 없었던 새로운 타입의 사포닌이 생성되거나, 어떤 성분은 함량이 증가하는 변화를 일으키게 됨. 흑삼의 경우 **9회의 열처리를 통해 생리활성을 조절하는 기능성 성분이 증가**되며, 이로 인해 다양한 생리학적 활성이 상승되는 것으로 추정되고 있으나, 이러한 흑삼의 생리활성에 대한 과학적인 근거는 아직 미비한 실정이다.

## 인삼의 가공 공정법에 따른 인삼의 분류

### Differences of processing ginseng



**White ginseng**

- 65 °C oven dried for long time storing
- No Rg<sub>3</sub>



**Red ginseng**

- hot-steamed & then dried under the proper temperature 98 °C
- Reddish brown color
- low content of Rg<sub>3</sub>



**Black ginseng**

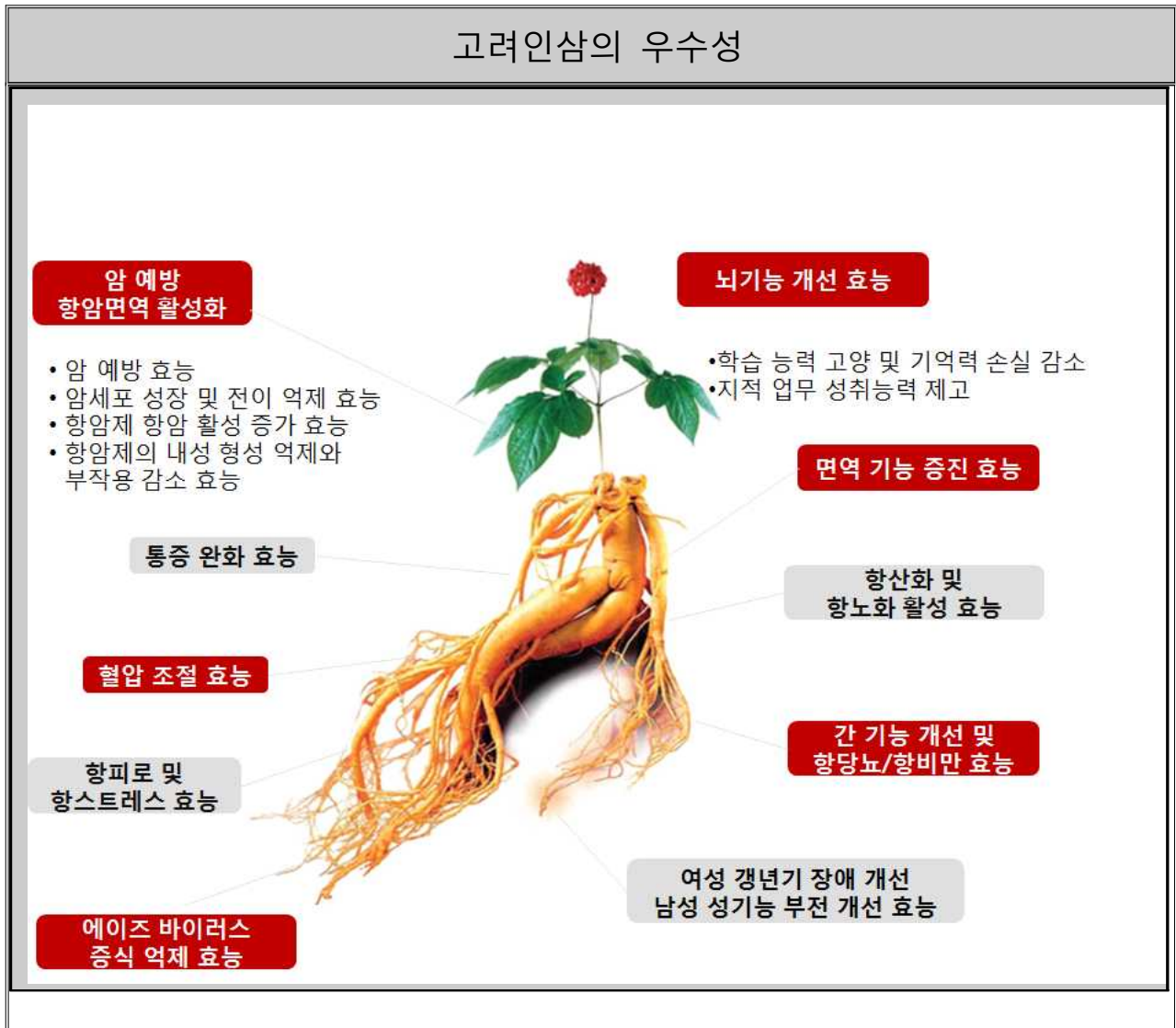
- 9 cycles of steaming & drying
- black color
- **High content of Rg<sub>3</sub>**

All ginseng powder used sieve(No.18)





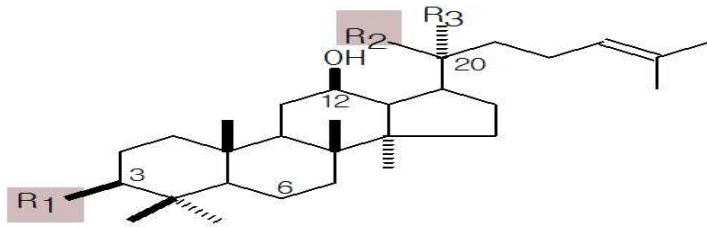
- **고려인삼(Panax ginseng C.A. Meyer)**은 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 식물로써 어원을 보면 ‘Pan’은 모든 것, ‘Axos’는 의학이라는 뜻으로 만병통치라는 의미를 뜻함. 이러한 고려인삼은 수천년 동안 고귀한 생약재로 사용되어 왔으며, 역사적으로 문화적으로 그리고 산업적으로 매우 중요한 우리민족의 유산이자 자원임. 특히 고려인삼은 타국의 인삼보다 탁월한 효능을 나타낸다고 알려져 있어 각국의 소비자들에게 많은 사랑을 받아왔다.
- **고려인삼**은 예로부터 동양권을 중심으로 질병의 예방과 치료에 오랜기간 동안 이용되어 오면서 장기간 복용하여도 인체에 전혀 해가 없고 습관성이 없는 상약(上藥)으로 밝혀졌다. 특히 1960년 이후부터 현대과학의 발전과 더불어 인삼에 대한 수많은 연구들이 수행되었으며, 인삼사포닌 성분은 인삼의 특이 성분인 동시에 화기삼(미국, 캐나다), 전칠삼(중국) 및 죽절삼(일본) 등 외국 인삼에 비하여 사포닌의 종류가 다양하고 PPD계 및 PPT계 사포닌 함유비율도 상이하여 유효성분 면에서도 동질시 될 수 없다는 과학적인 연구결과들이 많은 연구 논문을 통하여 밝혀졌다.





Ginsenosides(PPD 계 ; Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rg<sub>3</sub> 등)

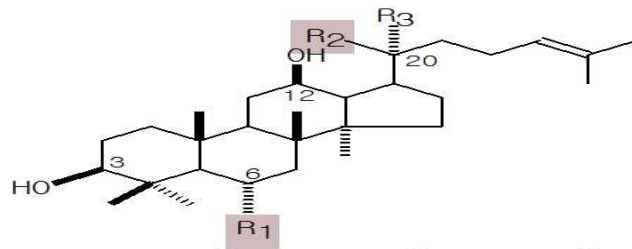
Protopanaxadiol saponins ( PPD)



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Ginsenoside-Rb <sub>1</sub>	O-glc(2→1)glc	O-glc(6→1)glc	CH <sub>3</sub>
Ginsenoside-Rb <sub>2</sub>	O-glc(2→1)glc	O-glc(6→1)arap	CH <sub>3</sub>
Ginsenoside-Rc	O-glc(2→1)glc	O-glc(6→1)araf	CH <sub>3</sub>
Ginsenoside-Rd	O-glc(2→1)glc	O-glc	CH <sub>3</sub>
20(S)-Ginsenoside-Rg <sub>3</sub>	O-glc(2→1)glc	OH	CH <sub>3</sub>
20(R)-Ginsenoside-Rg <sub>3</sub>	O-glc(2→1)glc	CH <sub>3</sub>	OH
Ginsenoside-Rh <sub>2</sub>	O-glc	OH	CH <sub>3</sub>
20(R)-Ginsenoside-Rh <sub>2</sub>	O-glc	CH <sub>3</sub>	OH
Compound K	OH	O-glc	CH <sub>3</sub>

Ginsenosides(PPD 계 ; Re, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rh<sub>1</sub> 등)

Protopanaxatriol saponins (PPT)



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Ginsenoside-Re	O-glc(2→1)rha	O-glc	CH <sub>3</sub>
Ginsenoside-Rg <sub>1</sub>	O-glc	O-glc	CH <sub>3</sub>
20(S)-Ginsenoside-Rg <sub>2</sub>	O-glc(2→1)rha	OH	CH <sub>3</sub>
20(R)-Ginsenoside-Rg <sub>2</sub>	O-glc(2→1)rha	CH <sub>3</sub>	OH
20(S)-Ginsenoside-Rh <sub>1</sub>	O-glc	OH	CH <sub>3</sub>
20(R)-Ginsenoside-Rh <sub>1</sub>	O-glc	CH <sub>3</sub>	OH

- 이외에 인삼 지상부에는 ginsenoside- F1, F2, F3, F4, F5, -Rh3, -20(R)-Rh2 등이 함유

□ 고려인삼(*Panax ginseng*)은 다년생 초본류로서 뿌리가 다양한 생리활성 작용을 갖고 있기 때문에 우리나라, 중국 및 일본 등에서 오래전부터 약용으로 사용하고 있다. 인삼에는 약 20여종의 ginsenosides가 함유되어 있고, 이들 사포닌 성분은 면역강화작용, 항암작용, 항산화작용, 항당뇨 및 항고혈압작용 및 신경장애개선 등의 생리활성효과를 나타내고 있다. 최근에는 인삼의 생리활성을 증가시키기 위한 새로운 가공법이 등장하였다. 수삼을 정선하여 외피가 존재하는 상태로 증숙하고 건조하는 과정을 9회 반복하여 만드는 구증구포(九蒸九暴) 가공법이 도입되었고, 구증구포 삼은 수삼과는 달리 흑색을 띠게 되므로 이를 흑삼(黑蔘)이라고 부른다. 흑삼은 원래의 백삼에는 존재하지 않았던 새로운

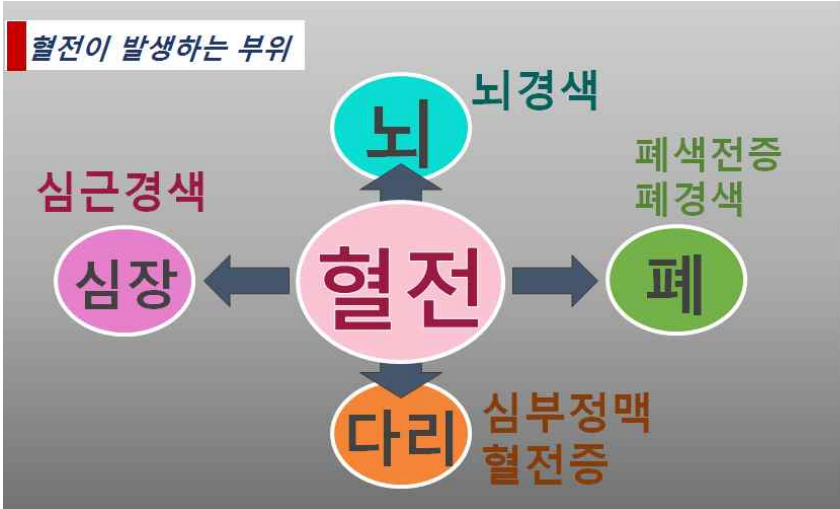
ginsenosides인 Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub> 등이 생성되거나, 특정 성분의 함량이 증가하는 것으로 알려져 있다. 새로운 공정에 의해 생산되는 흑삼은 기존의 백삼(수삼) 또는 홍삼과는 다른 생리활성이 있을 것으로 추정되어 흑삼의 생리활성을 해명하기 위해 많은 연구가 진행되고 있다. 이런 노력들의 결과로 **흑삼의 면역기능 활성화, 항당뇨 활성, 항산화 활성 및 항암 활성 등의 효능이 밝혀졌으나, 흑삼을 이용한 새로운 식품의 개발에 관한 연구는 미비한 상태이다.**

## 흑삼 (Black Ginseng)

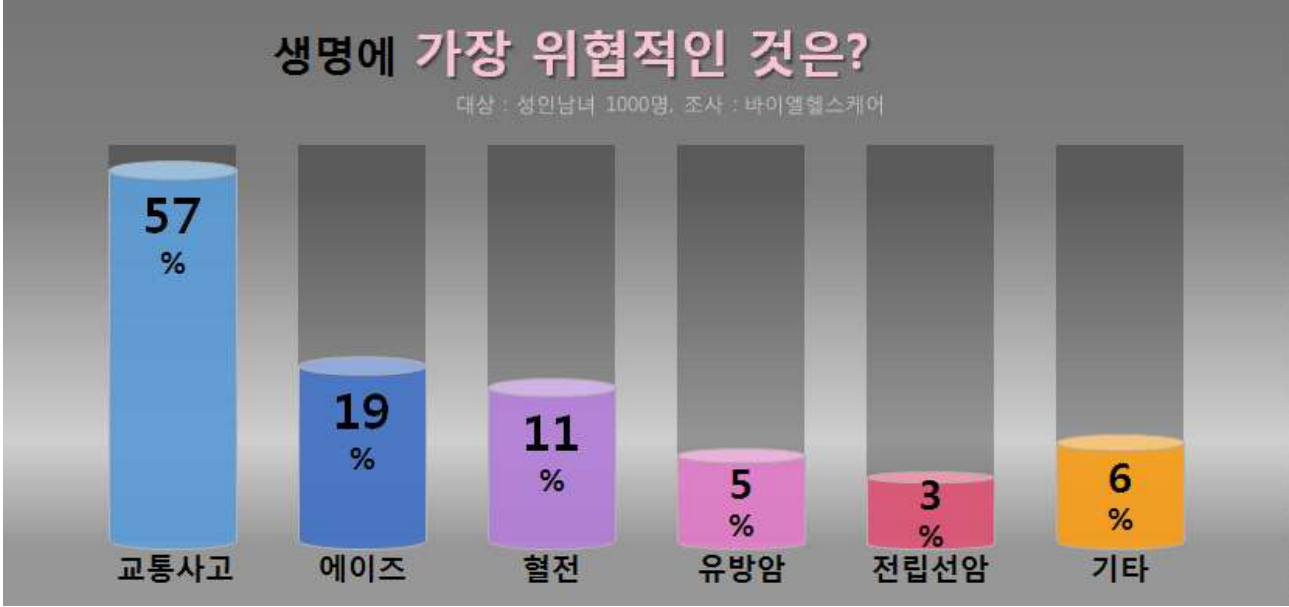


**흑삼(黑衫):** 수삼을 증기로 찌서 건조시키는 증숙 및 건조 단계를 거쳐 얻는 것을 홍삼이라 한다. 흑삼은 홍삼의 특유한 형태로 한번의 증숙과 건조과정을 거쳐 제조되는 일반 홍삼과 달리 통상 적으로 아홉번 찌고 말리는 구증구포 방법으로 제조된다. “흑삼은 수삼을 증기나 그 밖의 방법으로 찌서 익혀 말린 것으로서 **담흑갈색** 또는 **흑다갈색을 띠는 것**으로, 제조기준에 의하면 증숙과 건조 과정이 3회 이상 반복된 것을 지칭” 한다고 정의한다. 흑삼은 한약재 수치법중의 하나인 **구증구포(九蒸九暴)**의 원리를 이용해 수삼을 9번찌고 말리는 과정을 반복하여 제조된 것으로 색깔은 흑색을 띤다. 흑삼은 수삼의 새로운 가공인삼으로 화학성분은 ginsenoside Re, Rf, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> 함량이 백삼 홍삼보다 증가하며 열처리 에 의해 ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rh<sub>1</sub>, Rh<sub>2</sub> 등은 홍삼보다 높은 함량을 나타낸다. 또한 기존의 백삼이나 홍삼에 비해 월등히 항암효과 및 비만억제 효과가 우수하다는 사실이 밝혀진바 있다.

- 최근 식생활 문화의 서구화와 외식의 증가에 따라 국민들의 영양 불균형이 초래되고 있으며, 특히 어린이들의 편식이 건강을 위협하고 포화지방산의 과도한 섭취로 인해 LDL 콜레스테롤을 증가시켜 고지혈증, 동맥경화나, 관상심장병 등 여러 가지 질병이 발생하고 있어 콜레스테롤 조절과 관련된 소재 개발이 필요하다고 판단된다.

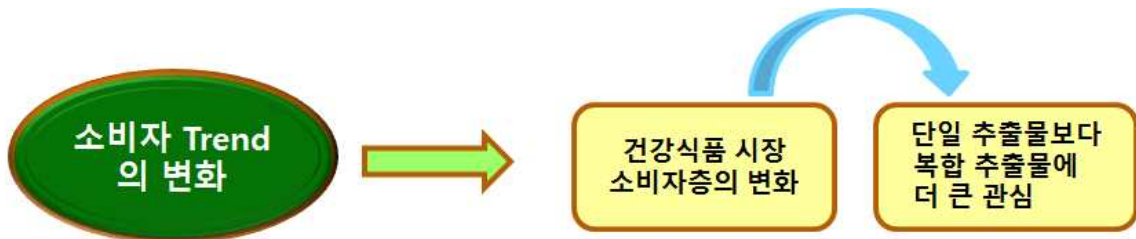


□ 또한 인구 노령화와 과식, 음주, 흡연, 운동부족, 비만으로 인한 심혈관계 질환인 고 콜레스테롤증, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화와 같은 만성질환이 늘어나고 있으며, 우리나라의 경우도 심혈관질환이 사망원인의 30% 이상을 차지하고 있고, 특히 노인의 사망원인 중 암에 이어 두 번째를 차지하고 있음으로 고령화 사회로 진행하면서 급격히 증가할 것으로 예측 된다.



□ 최근 전 세계적으로 일반인들이 건강에 대한 관심이 높아지고 있어, 의약품, 건강기능성 식품 및 식품에 이르기까지 인체에 부작용이 적고 안전한 천연물 소재를 원료로 하는 제품 수요가 크게 증가하고 있다.

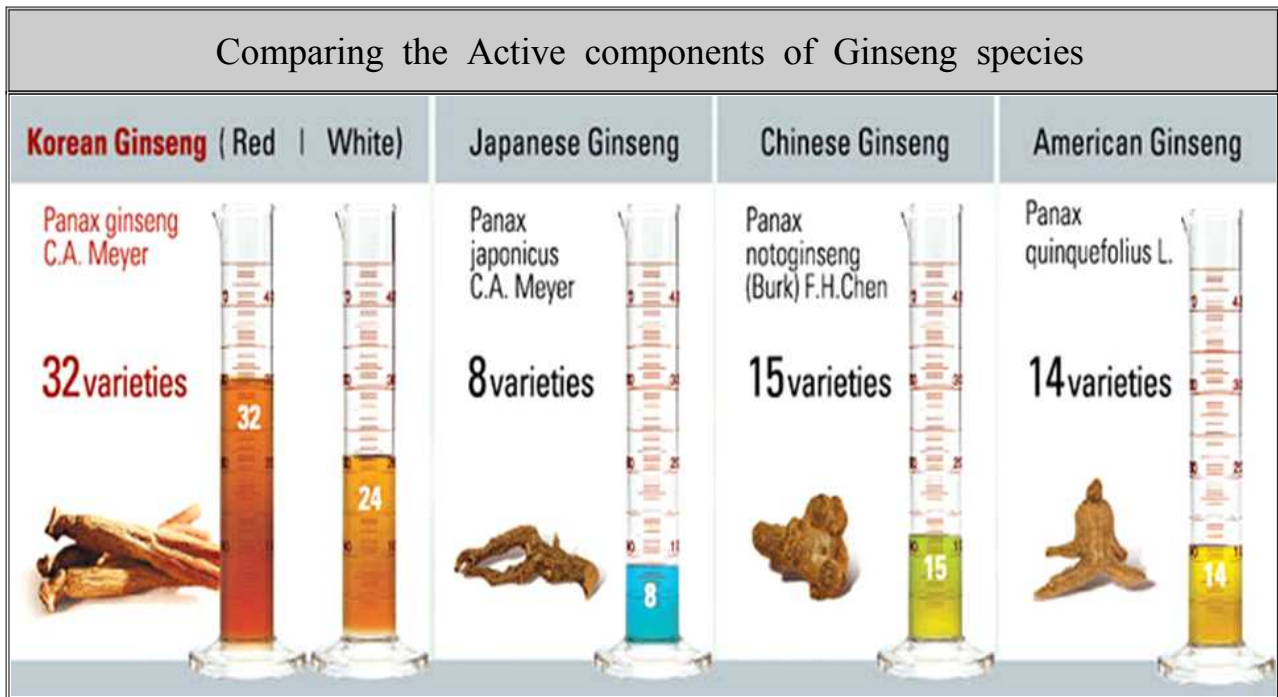
□ 소비자의 신제품에 대한 관심 증가 ; 소비자의 식품 선택에 있어서 “ 식품선택의 기호도 및 위생적으로 안전성, 그리고 천연의 원료 사용 유무” 등이 가장 중요한 요인으로 대두되고 있다.



- 인삼의 소비는 Well-being, LOHAS와 같은 현재 트렌드에 맞춰 인삼의 효능이 계속적으로 확인됨에 따라 시장규모는 점점 더 성장할 것으로 예상된다. 따라서, 효능을 기초로 한 안전성 있는 건강기능성식품 개발에 대한 소비자들의 요구가 증가되고 있다. 최근 인삼 가공법이 발전하여 백삼이나 홍삼 중 일부 ginsenoside를 구조 전환하는 가공기술이 개발되어 특정 ginsenoside를 강화시킨 제품개발에 관심이 주목되고 있다.
- 우리나라의 인삼은 고려인삼(*Panax ginseng*)으로 불리우는 다년생 초본류로서 뿌리가 주로 한방에서 이용되어 온 약용식물이다. 인삼의 성분과 화학적 및 약리학적 특성에 관한 연구는 1960년대부터 시작되어, ginsenoside, phenol compound, polyacethylene, polysaccharide 등과 같은 다양한 성분이 함유되어 있는 것으로 밝혀졌으며, 이들 화합물의 생리활성에 관한 과학적 연구결과도 다수 보고되었다.
- 인삼(人蔘)에는 사포닌 성분으로 대표되는 생체의 기능조절에 유효한 성분이 다량으로 함유되어 있으며, 이들 사포닌(ginsenoside) 성분은 면역기능, 항암작용, 항산화 활성, 신경장애개선 혹은 당뇨와 고혈압과 같은 성인병의 예방과 증상개선 혹은 치료 등에 유용한 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 이유로 국내에서는 오래 전부터 인삼이 대량으



로 재배되어, 체질증강과 면역력 보강을 위하여 전통적인 민간요법에 많이 사용되어 왔으며, 최근에는 국내와 일본 및 중국 등지에서 인삼에서 추출한 사포닌 성분(ginsenoside)을 의약품화 하거나 의약품료로 응용하기 위한 소재로서 널리 사용하고 있다.



□ 한편 최근 국내에서는 기존의 방법과는 다른 새로운 인삼 가공법에 의해 인삼의 효능을 높이기 위한 일환으로, 수삼을 정선하여 껍질이 존재하는 상태로 증숙(찜)과 건조과정을 9회 반복하여 만드는 구증구포(九蒸九暴) 가공법이 도입되었음. 이 과정을 통해 만들어진 구증구포삼은 검은색을 띠게 되어 흔히 흑삼이라 불리우며, 인체에 유용한 생리활성 물질이 다량으로 함유되어 있는 것으로 알려져 있음. 인삼의 사포닌은 열처리 과정을 거치게 되면, 홍삼의 경우와 같이 원래의 백삼에는 없었던 새로운 타입의 사포닌이 생성되거나, 어떤 성분은 함량이 증가하는 변화를 일으키게 된다. 흑삼의 경우 9회의 열처리를 통해 생리활성을 조절하는 기능성 성분이 증가되며, 이로 인해 다양한 생리학적 활성이 상승되는 것으로 추정되고 있으나, 이러한 흑삼의 생리활성에 대한 과학적인 근거는 아직 미비한 실정이다.

□ **흑삼(黑衫):** 수삼을 증기로 찌서 건조시키는 증숙 및 건조 단계를 거쳐 얻는 것을 홍삼이라 한다. 흑삼은 홍삼의 특유한 형태로 한번의 증숙과 건조과정을 거쳐 제조되는 일반 홍삼과 달리 통상 적으로 아홉번 찌고 말리는 구증구포 방법으로 제조된다. “흑삼은 수삼을 증기나 그 밖의 방법으로 찌서 익혀 말린 것으로서 담흑갈색 또는 흑다갈색을 띠는 것으로, 제조기준에 의하면 증숙과 건조 과정이 3회 이상 반복된 것을 지칭” 한다고 정의한다. 흑삼은 한약재 수치법중의 하나인 구증구포(九蒸九脯)의 원리를 이용해 수삼을 9번

찌고 말리는 과정을 반복하여 제조된 것으로 색깔은 흑색을 띤다. 흑삼은 수삼의 새로운 가공인삼으로 화학성분은 ginsenoside Re, Rf, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> 함량이 백삼 홍삼보다 증가하며 열처리에 의해 ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rh<sub>1</sub>, Rh<sub>2</sub> 등은 홍삼보다 높은 함량을 나타낸다. 또한 기존의 백삼이나 홍삼에 비해 월등히 항암효과 및 비만억제 효과가 우수하다는 사실이 밝혀진바 있다.

### 흑삼의 구증구포(九蒸九暴)과정

## Color variation of ginseng in black ginseng processing ?



( 대덕바이오의 기업부설연구소 인삼연구실 분석자료에 근거함 )

- Well-Being 시대를 맞이하여 현대인들의 천연물을 선호하는 추세와 고려인삼의 다양한 효능이 실험실적 결과뿐만 아니라 임상학적으로 점차적으로 입증되어 고려인삼은 세계적인 자연건강식품으로 각광을 받게 되었고 한방 뿐만 아니라 현대의학에서도 의약품이나 건강기능식품으로 그 수요가 점점 증가되고 있다. 현재 세계인삼 시장의 규모는 대략 40억 달러에 육박하고 있으며, 점점 늘어가고 있는 추세이다. 우리나라 고려인삼의 해외 수출 역사도 1,500여년의 긴 역사를 가지고 있어 삼국시대부터 수출해 온 세계적으로 유명한 상품으로 인삼의 종주국으로서 자부심을 가져 왔으며 꾸준한 성장과 발전을 거듭하고 있다. 우리나라에서 인삼은 고부가가치 농산물이자 전통의약품의 원료로서 농가의 중요한 소득원인 동시에 건강증진과 외화획득의 수단이기도 했다. 그뿐만 아니라 부와 효도의 상징이자 세계에 자랑할 만한 우리 전통문화의 한 부분이기도 하다. 요컨대 오랫동안 한국인의 자긍심의 원천으로서 역할을 해 오고 있다.

□ 그러나, 최근 들어 중국삼 뿐만 아니라, 미국과 캐나다삼(화기삼)의 성장세가 두드러지면서 고려인삼의 수출을 위협하고 있다. 특히 미국에서는 위스콘신주를 중심으로 막대한 자본을 바탕으로 다량으로 화기삼을 생산할 뿐만 아니라, 화기삼의 성분 및 여러 가지 생리활성에 대한 체계적인 연구를 바탕으로 세계시장에서 화기삼의 영역을 넓혀가고 있는 실정이다. 즉 1990년대에 접어들면서 미국과 캐나다 등이 국제인삼시장에 뛰어들어 지난 수백년 동안 고려인삼의 독무대와 같던 홍콩과 동남아 시장의 대부분을 장악하기 시작한 것이다. 더욱이 최근에는 중국이 아예 호시탐탐 국내 시장을 넘보는 지경에 까지 이르렀다. 실제로 우리나라의 인삼수출액은 1980년의 67.5백만 달러, 1985년에는 73.0백만 달러로 늘어나, 1990년에는 사상 최고인 164.7백만 달러를 기록한 후 중국의 인삼생산 증가와 미국 및 캐나다의 공격적인 마케팅으로 인해 2002년에는 55.0백만 달러까지 떨어졌다. 더욱이, 국내인삼 시장 개방에 따라 최소시장접근(MMA)이 허용된 인삼류는 20%의 저율 관세로 수입이 가능하며, 95년 34톤(국내 생산량의 0.3%)에서 2004년 56.8톤(국내 생산량의 0.5%)까지 시장을 개방 하였으며 국내 시장을 더욱 더 개방해야 하기 때문에 중국 및 화기삼과 같은 중저가 인삼 수입이 급증할 것으로 예상되므로 인삼을 경작하는 농민들에게 커다란 경제적 손실을 초래할 것으로 판단된다. 뿐만 아니라 현대인들이 천연물을 선호하는 추세와 고려인삼의 다양한 효능이 실험실적 결과뿐만 아니라 임상학적으로 점차적으로 입증되어 고려인삼은 세계적인 자연-건강식품으로 각광을 받게 되었고 한방뿐만 아니라 현대의학에서도 의약품이나 건강기능식품으로 그 수요가 점점 증가되고 있다.

□ 콜레스테롤은 세포 원형질막의 구성성분, 부신과 생식선에서의 스테로이드 호르몬의 원료, 담즙의 원료 및 혈중 지단백의 구성성분으로 필수적이다. 이 중 저밀도 콜레스테롤(LDL)은 지단백질 중 산화감수성이 가장 크고, 산화된 LDL은 세포에 독성을 주어 동맥경화를 전개 및 진행시키는 원인이 된다. 반면 고밀도 콜레스테롤(HDL)은 혈관에 축적된 콜레스테롤을 간으로 운반하는 역할을 하는 일명 '**좋은 콜레스테롤**'로, **높은 HDL 콜레스테롤 수치는 심장마비나 뇌졸중의 위험을 감소시킨다.** 중성지방은 지질의 한 종류로 콜레스테롤과 다르며, 높은 중성지방 수치는 심장마비나 뇌졸중의 위험을 증가시킨다. 이러한 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, 중성지방이 증가하거나 HDL 콜레스테롤이 감소하는 증상의 질환을 고지혈증(hyperlipidemia), 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia), 고중성지방혈증(hypertriglyceridemia) 등으로 지칭한다. 이상지질혈증은 상기 질환들을 포괄하는 개념의 질환명이다. 이상지질혈증의 치료에는 스타틴(statin), 피브레이트(fibrate), 니코틴산(nicotinic acid), 에제티미브(Ezetimibe), 오메가-3 지방산(Omega-3 fatty acid) 등의

약물을 단독 복용 혹은 병용 복용한다. 그러나 상기 약물은 간독성이나 근육병증, 혈당상승, 소화장애와 같은 부작용이 있어, 부작용을 동반하지 않으면서 인체에 반드시 필요한 콜레스테롤은 유지하면서, 고지혈증을 유발할 수 있는 콜레스테롤 또는 중성지방의 농도를 감소시키는 기능을 갖는 물질의 개발이 필요하다.

인삼의 성분 중 사포닌 성분은 혈중 콜레스테롤의 지질대사와 관련된 효소활성을 촉진하고, 콜레스테롤의 전환을 촉진함으로써 동맥경화의 중요한 위험인자인 고지혈증을 개선하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 고려인삼을 성인남녀에게 투여한 임상실험 결과 역시 HDL 콜레스테롤의 증가, 동맥경화지수(atherogenic index)의 개선 및 베타-지단백( $\beta$ -lipoprotein)의 저하 등 동맥경화의 예방에 유효한 효과가 있음을 보고하였다. 이에 더하여 공개특허 제10-2014-0041419호에서는 흑삼이 수삼에 비하여 총콜레스테롤 및 중성지방의 저하와, HDL 콜레스테롤 및 동맥경화지수의 저하에 더 효과적임을 보고된 바 있다.

- 정상인의 1일 콜레스테롤의 섭취량이 약 400~500 mg 일 경우 일반적으로 식이콜레스테롤의 약 60~80%가 흡수된다. 이 수치는 연구자들에 따라 조금씩 다르게 보고 되었는데, 식이 콜레스테롤을 40~2,000 mg 섭취하는 경우 평균 30~40%가 흡수된다고 보고된 바도 있다. 한편 제한된 콜레스테롤의 흡수율에 따라 흡수되지 않은 식이 콜레스테롤은 콜레스테롤형태 내지 대장과 직장의 박테리아 효소반응에 의한 대사산물로 배설된다. 식이 지방의 소화흡수 과정에 필수적인 담즙은 하루 그 분비량이 800~1200 mg이며, 담즙을 구성하는 주요성분은 담즙산이 92%, 담즙산염이 6%, 유리 콜레스테롤이 0.3%이며 그 외 소량의 인지질, 유리지방산 및 빌리루빈을 포함한다. 식이에 의해 섭취되거나 또는 생합성된 지질이 체내 각 조직에서 이용 및 저장되기 위해 지단백질(lipoprotein)이라는 특수한 형태의 구조를 이루어 혈장을 통해 운반된다. 그 이유는 소수성 지질성분들은 수용성 영양소들과 달리 혈장에 용해되어 이동할 수 없기 때문이다. 지단백질 입자는 중심부에 소수성 지질 (triglyceride, cholesteryl ester), 표면에 친수성 지질(phospholipid, free cholesterol) 및 아포지단백 (apolipoprotein)으로 구성된 고분자량의 수용성 복합체이다. 혈장 콜레스테롤의 2/3는 cholesteryl ester형태이며, 혈장 HDL의 lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) 및 간과 소장 of acyl-CoA:cholesteryl acyltransferase (ACAT)에 의해 합성된다. 체내의 주요콜레스테롤 대사산물은 간에서 합성되는 담즙산과 스테로이드 호르몬 등이며, 콜레스테롤 생합성량은 식이 콜레스테롤의 흡수정도 및 담즙산 재흡수 정도에 따라 조절되어 항상성이 유지된다 (Grundy, 1969). 각 지단백질의 특성은 구성된 지질 및 고유의 아포지단백에 따라 달라지는데, 아포지단백은 각 지단백질의 대사를 조절하고 조직의 각 지단백 수용체의 지단백 인식부위로 작용하게 된다. 지단백질은 지질-아포지단백질 복합체를 형성하여 중성지방과 콜레스테롤을 간에서 말단조직으로 운반 또는 말단조직에서 간으로 역수송함으로써 지질 재분배를 가능하게 한다 (Fig. 1). 콜레스



테롤은 LDL의 70% 이상, HDL의 약 30%, VLDL의 약 24% 및 chylomicron의 약 6%를 차지한다.

## 간, 혈장 및 말초조직 간의 콜레스테롤 대사 메카니즘

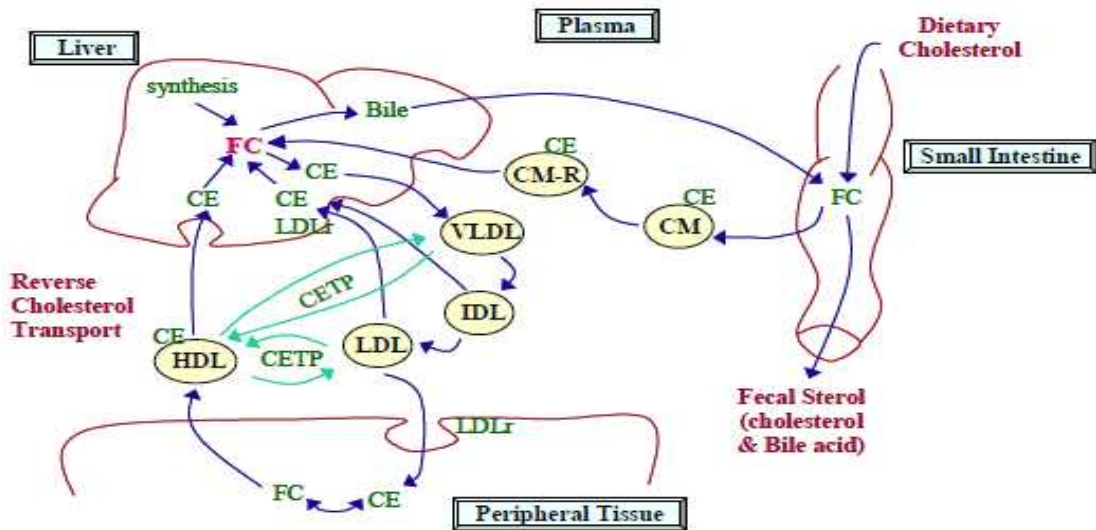


Fig. 1. 간, 혈장 및 말초조직 간의 콜레스테롤 대사(Simplified scheme of cholesterol metabolism between liver and peripheral tissues) FC: free cholesterol; CE: cholesteryl ester; CETP: cholesteryl ester transfer protein; LDLr: LDL-receptor; CM: chylomicron; CM-R: chylomicron remnant.

Chylomicron과 VLDL (very low density lipoprotein)은 각각 외인성과 내인성 중성지방을 말초조직으로 운반하는 역할을 한다. 그리고 혈장 VLDL로부터 전환된 LDL은 혈장 주요 콜레스테롤 운반체로서, LDL receptor를 통해 혈장 콜레스테롤의 많은 부분은 말초조직으로 공급하고 나머지는 간조직 LDL receptor를 통해 제거된다 (Fig. 1). 세포내 콜레스테롤 농도가 높아지면 기존의 HMG-CoA reductase활성이 저해될 뿐만 아니라, 이 효소의 합성속도도 저하된다. 또한 ACAT은 세포내 고농도의 콜레스테롤에 의해 활성화되고, 콜레스테롤은 에스테르화되어 저장된다. 이 경우 LDL receptor합성도 억제되어 혈장으로 부터의 LDL 유입도 억제되므로 콜레스테롤 항상성은 조직내 콜레스테롤 축적을 감소시키는 방향으로 진행된다. 또한 간조직에서는  $7\alpha$ -hydroxylase에 의해 콜레스테롤이 담즙산 (bile acid)으로 전환되며 그중 일부는 재순환되지 않고 분변을 통해 배설된다. LDL은 지단백질 중 산화감수성 (oxidative susceptibility)이 가장 크고, 산화된 LDL (oxidized LDL, oxLDL)은 세포에 독성을 주어 동맥경화를 전개 및 진행시키는 원인이 된다 (Steinberg, 1989). 또한 콜레스테롤 대사에서 그 합성정도가 조절되지 않거나 혈중 콜레스테롤 농도가 지나치게 높으면 혈관벽에 콜레스테롤이 침착되어 “아테롬성 동맥경화 반(atherosclerotic plaque)”이 생긴다. 한편 HDL입자는 말

초조직에서 간으로의 콜레스테롤 역수송, 즉 “reverse cholesterol transport (RCT)”라는 중요한 역할을 담당한다. 혈장 HDL표면의 친수성층에 위치한 유리 콜레스테롤은 LCAT작용을 받아 계속 에스테르화된 후 HDL입자 내부의 소수성층으로 이동된다. 이러한 HDL내의 콜레스테롤 농도구배는 말초조직에서 합성된 콜레스테롤 및 혈관의 잉여 콜레스테롤을 혈장 HDL로 이동시키는 효과를 유도하게 된다. 따라서 혈장 HDL 콜레스테롤 수준이 높을수록 동맥경화 위험성은 감소된다 (Oram, 1986). 한편 HDL내의 cholesteryl ester(CE)는 밀도가 낮은 VLDL, LDL 또는 IDL등으로 이동될 수 있는데, 이 반응은 cholesteryl ester transfer protein (CETP)에 의해 매개되며 HDL로 이동된 CE는 다시 조직으로 이동되어 재분배된다. 이러한 CETP의 콜레스테롤 재분배 기작은 콜레스테롤 섭취가 충분하지 못할 경우 어렵게 생합성된 콜레스테롤을 재사용하기 위한 장치로 사료되나, 과잉의 콜레스테롤을 섭취하는 현대인들에게는 콜레스테롤 역수송효율을 감소시켜 오히려 혈액내 잉여 콜레스테롤을 체외로 배출하는데 있어서 장애인자로 등장하게 되었다. 콜레스테롤 조절작용중 HDL 콜레스테롤의 동맥경화 위험 감소 효과에 대한 의미 HDL 콜레스테롤이 고콜레스테롤혈증 뿐 만아니라 동맥경화위험감소에 주요한역할을 하는 이유는 구체적으로 다음과 같다.

✓ HDL 의 콜레스테롤 역수송효과 (Role of HDL in reverse cholestrol transport) HDL 입자는 동맥혈관 벽으로부터 잉여의 콜레스테롤을 제거하며 혈관의 플라그 형성을 억제한다.

✓ HDL은 혈관에 기 형성된 플라그도 안정화 시키며 플라그 rupture를 억제한다.

HDL 입자의 항산화 효과

✓ HDL 입자 자체에는 paraoxonase와 PAFAH(platelet activating factor acetylhydrolase)가 결합되어 있다. 항산화효소인 paraoxonase는 혈장과 동맥벽 내부의 LDL이 산화 LDL로 변화되는 것을 억제한다. 또한 PAFAH는 혈장과 동맥벽에 존재하는 산화 지단백입자를 분해 시켜 산화된 지단백입자를 제거하는 역할을 하는 것으로 보고 되었다.

✓ HDL 입자는 혈관내 동맥경화를 유도하는 adhesion molecule(vascular cell adhesion molecule-1, monocyte chemotactic protein-1등) 들이 발현되는 것을 감소시킴으로서 혈관의 기능을 원활하게 유지시킨다.

- 또한, 종래의 흑삼제조 공정은 장기간 소요되고 제조수율이 낮고 향미에 문제점이 있어 이에 대한 근본적인 개선책이 요구되고 있음. 흑삼에서 유래되는 쓴맛과 흑삼 특유의 향이 있으므로, 관능 특성을 저하 시키는 요인이 있으므로 흑삼의 품질을 개선하여 소비자의 요구에 맞는 기능성과 편의성 및 기호성을 증가시킨 기능성 헬스제품이 필요하다.

## 2. 경제·산업적 측면

- 인삼의 소비는 Well-being, LOHAS와 같은 현재의 트렌드에 맞춰 인삼의 효능이 계속적으로 확인됨에 따라 시장규모는 점점 더 성장할 것으로 예상된다. 따라서 효능을 기초로

한 안전성 있는 건강 기능성식품 개발이 시급한 실정이다.

- 2004년 시행된 건강기능식품법의 시행으로 대기업에서 인삼제품시장에 신규 진출해 시장 규모가 급격히 증가되고 있다. 인삼업계의 홍삼시장은 2004년 3,112 억원에서 2006년 6,000억원, 2010년도에는 1 조억원대의 거대시장을 형성할 것으로 전망한다.
- 최근 인삼가공법이 발전함에 따라 백삼이나 홍삼 중 일부 ginsenoside의 특정 기능을 가지는 ginsegnoside로 구조를 전환시킬 수 있는 가공법들이 개발되어 특정 ginsenoside 강화제품개발에 관심이 주목되고 있다.
- 효소처리에 의한 인삼의 구조 전환은 고비용 저효율의 방법으로 실효성이 미흡한 실정이며, 열처리 가공에 의한 방법은 고열에 의해 다른 유효 사포닌이 파괴되는 단점이 있다. 이를 극복하기 위하여 산과 열처리 방법 및 저온흑삼제조 기술 방법을 병행하여 ginsengoside의 특정성분을 고농도로 함유하는 기능성 헬스제품을 개발 상용화 하고자 한다.
- 궁극적으로 흑삼의 특정성분·특정효능 발현으로 콜레스테롤 저하 및 예방 효과를 가지는 헬스케어 제품을 상품화하여 국민보건 향상과 고려인삼의 세계적 브랜드 이미지 구축 및 고부가가치사업 창출로 국·내외 경쟁력을 확고히 하고자 한다.

### 가. 사회적 변화에 따른 콜레스테롤 조절관련 소재 개발의 필요성



- (1) 최근 식생활 문화의 서구화와 외식의 증가에 따라 국민들의 영양 불균형이 초래되고 있으며, 특히 어린이들의 편식이 건강을 위협하고 포화지방산의 과도한 섭취로 인해 LDL

콜레스테롤을 증가시켜 고지혈증, 동맥경화나, 관상심장병 등 여러 가지 질병이 발생하고 있어 콜레스테롤 조절과 관련된 소재 개발이 필요하다고 판단된다.

- (2) 또한 인구 고령화와 과식, 음주, 흡연, 운동부족, 비만으로 인한 심혈관계 질환인 고 콜레스테롤증, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화와 같은 만성질환이 늘어나고 있으며, 우리나라의 경우도 심혈관질환이 사망원인의 30% 이상을 차지하고 있고, 특히 노인의 사망원인 중 암에 이어 두 번째를 차지하고 있음으로 고령화 사회로 진행하면서 급격히 증가할 것으로 예측된다.
- (3) 심혈관계 질환은 LDL 콜레스테롤이 산화되어 그 산화산물이 동맥 내 피하 조직이 축적되고 여러 염증 반응이 증가 등으로 초래되는 만성질환으로써 혈중콜레스테롤 함량과 밀접한 관계가 있으며, 이와 관련된 조절기능 물질로 니코틴산, 클로피브레이트, 네오마이신, 트리파라놀, D-티록신, 에스트로젠, 로바스타틴 등이 개발되어 사용되어 왔는데, 니코틴산의 경우 피부혈관확장, 발진, 위 장관 이상, 요산혈증, 고혈당증, 간기능 이상과 같은 부작용을 유발하고, 클로피브레이트는 대표적으로 사용되고 있는 콜레스테롤 저하제이지만 그 효과가 낮으며, 네오마이신은 메스꺼움, 설사와 같은 부작용이 있고, 트리파라놀은 백내장 등이 부작용을 유발한다고 알려져 있으며, 에스트로젠 투여는 유방암 유발 등의 사례가 보고되는 등 많은 문제점으로 인해 사용이 제한적이며, 관련된 고시형 건강 기능성식품 원료로 EPA, 감마리놀렌산, 레시틴, 키톤산, 스테롤, 홍국이 등재되어 있으나 기능성 측면에서 효과적이지 못한 실정이다.
- (4) 이러한 문제점을 해결하고 치료효과 뿐만 아니라 예방적 차원에서도 지속적인 복용이 가능한 안전성과 효능을 겸비한 헬스푸드 개발이 필수적이다.

#### 나. 한국의 조사 자료에 의한 콜레스테롤 조절관련 소재개발의 필요성

- (1) 한국의 정상인을 대상으로 혈중지질 농도를 평가한 연구결과에 의하면 식품섭취의 패턴의 변화와 함께 혈중콜레스테롤 및 중성지방의 농도가 급격히 증가하는 추세에 있다.
- (2) 1970년대 한국 성인의 혈중콜레스테롤의 농도가 154 mg/dl로 보고 되었으나, 1993년도에는 그 수치가 193 mg/dl로 증가하여 20년 만에 20% 증가 하였다.
- (3) 특히 강북삼성병원에서 1993년부터 2003년까지 종합검진을 받은 20세 이상의 한국인 남녀 16 만명을 대상으로 연구한 결과 2000년도의 경우 혈중콜레스테롤 수치가 남녀 각각 198 mg/dl 과 200 mg/dl로 나타나 7년 만에 10%가 증가 하였다.
- (4) 현재 우리나라의 고지혈증 치료지침 제정위원회에서는 혈중콜레스테롤의 농도가 200 mg/dl을 넘게 되면 식이요법 및 운동요법을 권장하고 있어 한국인의 상당수가 식이요법을 포함한 생활 치료를 요하는 상태임을 의미하고 있다.

#### 다. 미국의 조사 자료에 의한 콜레스테롤 조절관련 소재개발의 필요성

- (1) 미국의 Framingham study에서 실시한 대규모 역학조사 결과에 의하면 고 콜레스테롤

혈중은 허혈성 심질환 발생율과 매우 밀접한양의 상관 관계를 나타내는 것으로 알려져 있으며, 이러한 상관성은 나이에 따라 달라지는데 40세 이전에 혈청콜레스테롤 농도가 증가하는 경우 40세 이후에서 보다 허혈성 심질환 발생율과 더욱 밀접한 관련성을 보이고 있다.

(2) 총 40,000여명을 대상으로 4년 동안 추적 조사한 연구결과를 종합해 보면, 혈중 콜레스테롤농도를 10% 감소 시키는 경우 심장질환에 의한 사망률이 20%저하되고, 심근경색 발생율이 17% 저하되는 효과가 있음이 보고되어, 결과적으로 콜레스테롤을 조절하는 것이 고지혈증은 물론이고 관상동맥심질환을 예방하는 가장 효율적인 방법으로 나타났다.

**라. 콜레스테롤 조절관련 건강기능식품 시장의 산업현황 및 특징**

**기능성 식품 개발의 경제 산업적 중요성**

<div style="text-align: center; background-color: #d9e1f2; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <b>건강기능식품</b> </div> <p style="text-align: center;">                     흑삼은 여러가지 생리 활성 기능을 가지므로 인체에 유용한 새로운 건강기능성 식품 소재로 사용 가능                 </p> 	<div style="text-align: center; background-color: #d9e1f2; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <b>원료의약품</b> </div> <p style="text-align: center;">                     흑삼의 유용 생리활성 작용으로 퇴행성 뇌질환 예방을 위한 원료 의약품으로 미래의 유용소재로 제품화 가능                 </p> 	<div style="text-align: center; background-color: #d9e1f2; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <b>화장품</b> </div> <p style="text-align: center;">                     흑삼은 항산화 활성, 미백, 주름개선 등 새로운 시너지 화장품 원료로 사용가능                 </p> 
---	---	--

- 과거에는 기능성이라는 표현이 단지 물리/화학적 기능(physical/chemical function)이라는 의미에 주로 한정되어 있었지만, 오늘날에는 그 의미가 생리/생물학적인 기능(physiological/biological function)을 포괄하여 더 넓은 영역으로 확대 되었다.
- 기능성 식품이라는 표현이 넓은 의미로 사용되는 용어로 Functional Foods가 있지만, 또한 많이 사용되는 용어로 **영양(nutrition)**과 **약(pharmaceutical)**을 포함하는 **Nutraceutical**이라는 표현이 있다.

## 기능성 식품 개발의 경제 산업적 중요성

- 건강기능식품에 관한 법률에서 정의하고 있는 “건강기능식품”은 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 정제·캡슐·분말·과립·환 등의 형태로 제조 가공한 식품을 의미하기 때문에 오늘날 기능성식품이라 하면 오히려 Nutraceutical에 가깝다고 할 수 있겠다.
- 의료기술이 첨단화되고 수명이 연장되면서 오늘날 현대인들은 질병의 치유보다는 예방에 관심을 가지게 되면서, 기능성식품 분야에 대한 관심 및 소비는 계속 늘어나고 있다.
- 특히 의약품으로 치료해야 하는 단계로 질병이 발전되기 전에 질병을 예방하려는 면역 조절 기능이 확대 되어, 기능성식품 분야에 대한 관심 및 소비는 계속 늘어나고 있다.
- 경제 수준의 향상과 의료기술의 발달로 수명이 연장되면서 성인병이 늘고 있어서 과학적인 자료를 근거로 정확한 기능성을 부여한 기능성 식품의 중요성이 대두되면서 기능성 식품산업에 대한 국가의 관심과 제도적인 지원에 따라 2002년 8월 건강기능식품법이 제정 되었고 2004년 1월 전면 실시됨에 따라 건강기능식품 시장이 급속히 확대되면서 제품에 기능성을 부여할 수 있게 되었다.
- 기능성 식품에 대한 세계시장 규모를 보면, 1997년 650억 달러, 2002년 2,023억 달러로 높은 성장을 하였으며, 2007년에는 3,770억 달러에 달한 것으로 보고 되었다.
- 우리나라 건강기능성 식품산업은 짧은 역사에도 불구하고 1990년대 중반 건강보조식품에서 출발하여 꾸준히 성장해 2003년도 시장규모는 건국 이후 최고인 1조 3천억 원이 되었으며, 2006년 기준 건강기능식품 연간 매출액을 2조 3천억 원대로 추산되며, 2010년에는 약 4조 원까지 성장할 것으로 기대하고 있다.
- **의료비 증가에 따른 국가 부담 가중, 고령화 사회 진입, 소비자의 건강관심 고조 등으로 기능성 식품의 수요는 계속적으로 증가 될 것으로 전망되고 있다.**
- 건강기능식품산업은 기술 집약적인 특징을 가지고 있어 화학, 생물학, 약학, 의학 등 여러 분야의 복합적 기술을 필요로 하기 때문에 막대한 비용과 시간의 투입을 필요로 하지만 기술개발사업이 성공할 경우 물질 특허를 통해 독점적 지위 및 고소득의 혜택을 누릴 수 있을 것으로 기대된다.
- 우리나라의 건강기능식품산업은 현재 내수 중심의 국내 산업구조를 가지고 있어 향후 적극적인 연구개발 투자 및 산업지원정책으로 세계 시장으로 진출하여 국제적인 경쟁력을 갖추어 나가야 할 것으로 생각한다.
- 우리나라는 이미 고령화 사회로 접어, 국민들의 건강에 대한 관심과 건강을 유지하기 위한 노력이 증가하였으며, 의약품 및 건강기능성 식품 시장도 향후 지속적으로 성장할 것으로 예상되고 있기 때문에, 생물자원 개발과 이용을 위한 생물 산업의 발전은 국민들의 건강한 삶에 대한 기대에 부응 할 수 있을 뿐 만 아니라 국가경제발전의 핵심 산업으로 자리 매김 될 것이다.



- (1) 콜레스테롤 조절(저하)과 관련된 건강기능식품군의 소재 및 제품에 관련된 것으로, 이 분야의 시장은 동일한 소비자를 두고 건강기능식품회사와 전통적인 한방처방(한의원 등), 그리고 고지혈증은 물론이고 콜레스테롤과 관련된 건강기능식품을 제조 판매하는 제약회사들과 치열한 경쟁을 하고 있어 매우 복잡한 양상을 띠고 있다.
- (2) 무엇 보다도 콜레스테롤 조절(저하 및 억제)관련 건강기능식품 시장의 특징으로 첫째 타 건강기능식품군 보다 다양한 소재 및 제품군이 출시되고 있는 것, 둘째 한 제품이 독점적으로 시장을 장악하지 못한 점, 셋째 대기업은 물론이고 중소기업, 수출입 판매업 등을 하는 많은 기업들이 시장 경쟁력을 하고 있는 점 등의 특징을 가지고 있다.
- (3) 또 한가지의 특징은 콜레스테롤과 관련하여 개별인정을 획득한 소재가 13건(중복소재 포함이나) 이들 소재 중 특징적인 유통체계를 가진 유니베라의 알로에 소재와 (주)이에스바이오텍의 스피루리나를 제외하고는 거의 산업화가 미비한 실정으로 대부분의 콜레스테롤 관련 건강기능식품의 경우, 감마리놀렌산, 오메가-3, 대두단백, 키톤산, 식이섬유 등의 소재를 이용한 제품화가 대부분이다.
- (4) 건강기능식품의 경우에는 일부 개별인정형 소재를 제외하고는 일반적으로 원료에 대한 독점적 지배와 차별화가 용이하지 않아 시장에서는 유사한 제품이 많아 차별화가 용이하지 않으며, 이로 인한 대기업과의 시장 경쟁이 용이하지 않은 실정이다. 이에 따라 소비자 수요 결정 및 판매 마케팅에 중요한 요인으로 작용하는 제품 인지도 및 신뢰성이 가장 중요하게 나타나고 있다.
- (5) 그러나, 본 개발 제품 소재를 이용한 산업화 시, 소재의 효능을 바탕으로 한 인지도 확산과 유통별 판매 전략을 수립하여 콜레스테롤 조절관련 건강기능식품 시장에 진입할 경우, 이익창출이 기대된다.
- (6) 아직까지 본 연구에서 처럼 인삼의 열처리 가공기술로 특정 사포닌성분의 함량을 극대화한 흑삼의 신규 기능성인 콜레스테롤 저하 개선기전을 규명하고 이를 이용한 건강기능성 제품 개발의 사례는 없는 상황이다.
- (7) 흑삼의 콜레스테롤저하 개선에 대한 특정약리효능을 과학적으로 분석하고 이를 소재로 한 콜레스테롤 개선 건강기능식품을 개발한다면 국내 시장뿐 아니라 국제적으로 경쟁력 있는 제품이 될 것으로 사료된다.

### 3. 사회 ■ 문화적 측면

#### 가. 사회적 변화에 따른 콜레스테롤 조절관련 소재 개발의 필요성

- (1) 최근 식생활 문화의 서구화와 외식의 증가에 따라 국민들의 영양 불균형이 초래되고 있으며, 특히 어린이들의 편식이 건강을 위협하고 포화지방산의 과도한 섭취로 인해 LDL 콜레스테롤을 증가시켜 고지혈증, 동맥경화나, 관상심장병 등 여러 가지 질병이 발생하고 있어 콜레스테롤 조절과 관련된 소재 개발이 필요하다고 판단된다.



- (2) 또한 인구 노령화와 과식, 음주, 흡연, 운동부족, 비만으로 인한 심혈관계 질환인 고 콜레스테롤증, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화와 같은 만성질환이 늘어나고 있으며, 우리나라의 경우도 심혈관질환이 사망원인의 30% 이상을 차지하고 있고, 특히 노인의 사망원인 중 암에 이어 두 번째를 차지하고 있음으로 고령화 사회로 진행하면서 급격히 증가할 것으로 예측된다.
- (3) 심혈관계 질환은 LDL 콜레스테롤이 산화되어 그 산화산물이 동맥 내 피하 조직이 축적되고 여러 염증 반응이 증가 등으로 초래되는 만성질환으로써 혈중콜레스테롤 함량과 밀접한 관계가 있으며, 이와 관련된 조절기능 물질로 니코틴산, 클로피브레이트, 네오마이신, 트리파라놀, D-티록신, 에스트로겐, 로바스타틴 등이 개발되어 사용되어 왔는데, 니코틴산의 경우 피부혈관확장, 발진, 위 장관 이상, 요산혈증, 고혈당증, 간기능 이상과 같은 부작용을 유발하고, 클로피브레이트는 대표적으로 사용되고 있는 콜레스테롤 저하제이지만 그 효과가 낮으며, 네오마이신은 메스꺼움, 설사와 같은 부작용이 있고, 트리파라놀은 백내장 등이 부작용을 유발한다고 알려져 있으며, 에스트로겐 투여는 유방암 유발 등의 사례가 보고되는 등 많은 문제점으로 인해 사용이 제한적이며, 관련된 고시형 건강기능성식품 원료로 EPA, 감마리놀렌산, 레시틴, 키톤산, 스테롤, 홍곡이 등재되어 있으나 기능성 측면에서 효과적이지 못한 실정이다.
- (4) 이러한 문제점을 해결하고 치료효과 뿐만 아니라 예방적 차원에서도 지속적인 복용이 가능한 안전성과 효능을 겸비한 건강기능성 식품 개발이 필수적 이다.

**나. 한국의 조사 자료에 의한 콜레스테롤 조절관련 소재개발의 필요성**

- (1) 한국의 정상인을 대상으로 혈중지질 농도를 평가한 연구결과에 의하면 식품섭취의 패턴의 변화와 함께 혈중콜레스테롤 및 중성지방의 농도가 급격히 증가하는 추세에 있다.
- (2) 1970년대 한국 성인의 혈중콜레스테롤의 농도가 154 mg/dl로 보고 되었으나, 1993 년도에는 그 수치가 193 mg/dl로 증가하여 20년 만에 20% 증가 하였다.
- (3) 특히 강북삼성병원에서 1993년부터 2003년까지 종합검진을 받은 20세 이상의 한국인

남녀 16 만명을 대상으로 연구한 결과 2000년도의 경우 혈중콜레스테롤 수치가 남녀 각각 198 mg/dl 과 200 mg/dl로 나타나 7년 만에 10%가 증가 하였다.

- (4) 현재 우리나라의 고지혈증 치료지침 제정위원회에서는 혈중콜레스테롤의 농도가 200 mg/dl을 넘게 되면 식이요법 및 운동요법을 권장하고 있어 한국인의 상당수가 식이요법을 포함한 생활 치료를 요하는 상태임을 의미하고 있다.

#### 다. 미국의 조사 자료에 의한 콜레스테롤 조절관련 소재개발의 필요성

- (1) 미국의 Framingham study에서 실시한 대규모 역학조사 결과에 의하면 고 콜레스테롤 혈증은 허혈성 심질환 발생율과 매우 밀접한양의 상관 관계를 나타내는 것으로 알려져 있으며, 이러한 상관성은 나이에 따라 달라지는데 40세 이전에 혈청콜레스테롤 농도가 증가하는 경우 40세 이후에서 보다 허혈성 심질환 발생율과 더욱 밀접한 관련성을 보이고 있다.
- (2) 총 40,000여명을 대상으로 4년 동안 추적 조사한 연구결과를 종합해 보면, 혈중 콜레스테롤농도를 10% 감소 시키는 경우 심장질환에 의한 사망률이 20%저하되고, 심근경색 발생율이 17% 저하되는 효과가 있음이 보고되어, 결과적으로 콜레스테롤을 조절하는 것이 고지혈증은 물론이고 관상동맥심질환을 예방하는 가장 효율적인 방법으로 나타난다.

#### 라. 콜레스테롤 조절관련 건강기능식품 시장의 산업현황 및 특징

- (1) 콜레스테롤 조절(저하)과 관련된 건강기능식품군의 소재 및 제품에 관련된 것으로, 이 분야의 시장은 동일한 소비자를 두고 건강기능식품회사와 전통적인 한방처방(한의원 등), 그리고 고지혈증은 물론이고 콜레스테롤과 관련된 건강기능식품을 제조 판매하는 제약회사들과 치열한 경쟁을 하고 있어 매우 복잡한 양상을 띠고 있다.
- (2) 무엇보다도 콜레스테롤 조절(저하 및 억제)관련 건강기능식품 시장의 특징으로 첫째 타 건강기능식품군 보다 다양한 소재 및 제품군이 출시되고 있는 것, 둘째 한 제품이 독점적으로 시장을 장악하지 못한 점, 셋째 대기업은 물론이고 중소기업, 수출입 판매업 등을 하는 많은 기업들이 시장 경쟁력을 하고 있는 점 등의 특징을 가지고 있다.
- (3) 또 한가지의 특징은 콜레스테롤과 관련하여 개별인정을 획득한 소재가 13건(중복소재 포함이나) 이들 소재 중 특징적인 유통체계를 가진 유니베라의 알로에 소재와 (주)이에스 바이오텍의 스피루리나를 제외하고는 거의 산업화가 미비한 실정으로 대부분의 콜레스테롤 관련 건강기능식품의 경우, 감마리놀렌산, 오메가-3, 대두단백, 키톤산, 식이섬유 등의 소재를 이용한 제품화가 대부분이다.
- (4) 건강기능식품의 경우에는 일부 개별인정형 소재를 제외하고는 일반적으로 원료에 대한 독점적 지배와 차별화가 용이하지 않아 시장에서는 유사한 제품이 많아 차별화가 용이하지 않으며, 이로 인한 대기업과의 시장 경쟁이 용이하지 않은 실정이다. 이에 따라 소비

자 수요 결정 및 판매 마케팅에 중요한 요인으로 작용하는 제품 인지도 및 신뢰성이 가장 중요하게 나타나고 있다.

- (5) 그러나, 본 개발 제품 소재를 이용한 산업화 시, 소재의 효능을 바탕으로 한 인지도 확산과 유통별 판매 전략을 수립하여 콜레스테롤 조절관련 건강기능식품 시장에 진입할 경우, 이익창출이 기대된다.
- (6) 국민들도 최근 웰빙화 사회를 인식하게 되어 건강에 관심 고조가 커지면서 일상 생활을 통한 예방에 관심이 높아지고 있다.

**마. 흑삼을 이용한 콜레스테롤 조절 효과를 갖는 개별 인정형 소재개발 필요성**

- (1) 차별화된 특화된 흑삼 소재를 통한 관련 시장에서의 경쟁우위 확보 : 기술적인 차별화를 넘어 마케팅을 위한 차별화 전략으로 활용이 가능하여 관련 시장의 진입 및 경쟁에서 용이 할 것으로 판단된다.
- (2) 관련시장의 성장 및 산업적인 효과 : 대기업이 주도하는 개별인정 형 건강기능식품 시장은 급속도로 성장하고 있는 점과, 무엇보다도 우리나라의 콜레스테롤조절과 관련된 고지혈증, 동맥경화 등 심혈관계 질환의 증가에 따른 관련 시장의 성장 속도가 세계 시장의 성장속도 보다 빠르게 성장하고 있다는 점은 본 기술개발이 성공 하였을 경우 관련 시장에서의 산업적인 매출 증대는 물론이고 소비자에 대한 기업의 이미지 제고 측면에 기여 할 것으로 예상된다.

**<국내 건강기능식품 연구진행 분야>**



**마. 콜레스테롤(심혈관계) 조절관련 기술의 전망 및 발전 방향에 따른 필요성**

- (1) 천연물을 이용한 콜레스테롤 조절관련 소재개발 기획요인 : 천연물 활용 생약제제의 제품촉진 및 건강기능성 식품에 대한 소비증대, 고령화 사회에서의 예방제품의 선호도, 유효성 및 안정성이 평가된 천연물 소재, 제품개발 기간 및 개발 성공률이 높음 및 이미 형성되어 있거나 증대되고 있는 심혈관계 질환 시장의 규모 등이 있다.

- (2) 천연물관련 이용한 콜레스테롤 조절관련 소재 개발 위협요인 : 단순한 천연물 추출물 및 혼합물로서 유효성분 및 작용기전 규명의 부족으로 활용범위 제한을 가지고 있는 점과 건강기능성 식품에 대한 소비자의 불신이 있다.
- (3) 기술의 발전방향 : 콜레스테롤 조절 관련한 기술에 있어서, 위에서 제시한 기회 요인 등으로 인하여 향후 천연물 추출물의 단일 성분에 대한 효능을 입증하는 방향으로 개발 방향이 발전할 것으로 예측하고 있으나, 단순한 천연물 및 혼합물의 경위 위협으로도 작용할 것으로 판단된다.
- (4) 기술전망 및 발전방향 분석에 따른 본 신청기술의 개발 : 본 기술개발에서는 천연물인 흑삼을 이용하여 기능성을 증대시킨 흑삼 소재를 개발하고, 단계적인 효능검토 및 과학적인 작용기전 규명을 통하여 향후 개별인정 소재를 개발하여 산업화 하는 것으로 기술개발의 타당성이 큰 것으로 판단된다.

※ 따라서 본 연구는 고려인삼을 가공처리하여 제조한 흑삼의 제조공정 개선으로 흑삼제품의 품질 향상에 활용하고, 흑삼의 콜레스테롤 저하 효과에 대한 과학적 효능을 규명 하고자 한다. 또한 이의 결과를 활용하여 특정성분-특정효능발현의 콜레스테롤저하 활성 건강식품을 개발하여 국민 보건향상과 고려인삼의 세계적 브랜드 이미지 구축 및 고부가가치사업 창출로 국내외 산업의 경쟁력을 확고히 하고자 한다.

## 제 2절 연구개발의 목적

### 1. 연구의 목적 및 범위

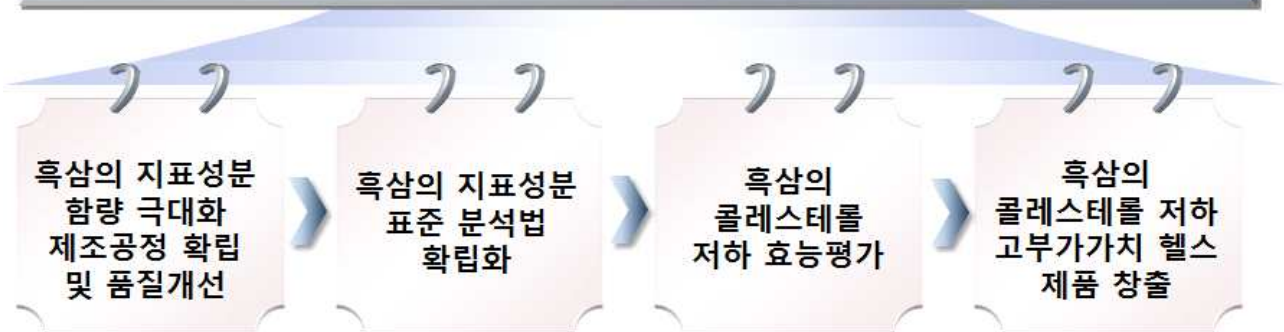
#### 가. 연구의 목적

본 기술개발을 통한 최종 목표는 기존 흑삼의 제조 공정시 문제가 되고 있는 증속시간의 문제와 품질문제 등을 비롯한 흑삼의 제조공정을 표준화하여 신규 기능성인 콜레스테롤 저하 효능을 탐색하고 흑삼의 콜레스테롤 저하 효과에 대한 과학적 효능을 규명하고, 흑삼의 콜레스테롤 저하 효과에 도움이 될 수 있을 것으로 예상되는 **생물자원(흑삼)을 활용한 기능성 고부가가치 건강음료(콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제)**을 개발. **상품화** 하는데 있다. **추후**, 젊은 층을 대상으로 한 청소년제품, 강장제품, 흑삼학습제품 및 흑삼정 엑스 등을 활용한 다양한 흑삼제품 신제품 개발로도 경제성 제고가 가능함. 국민 보건향상과 고부가가치사업 창출로 국가 경쟁력을 확고히 하고자 한다.

#### 나. 연구의 범위

- (1) 흑삼의 제조기술 개발 및 표준화 공정 확립
- (2) HPLC를 이용한 Ginsenosides의 분석조건 확립
- (3) 흑삼 제조과정에 따른 잔류농약 및 벤조피렌 검출 평가
- (4) 흑삼의 기호도 저감 요인인 쓴맛, 신맛, 텁텁한맛 등의 기호도 개선 연구
- (5) 기능성과 편의성 및 기호성을 증가시킨 차별화된 기능성음료(헬스케어 드링크제) 개발
- (6) 기능성 음료제품의 콜레스테롤 예방 저하 효능 평가
- (7) 적정용기 선정 및 브랜드 개발, 대량생산 공정개발 등
- (8) 헬스케어 드링크제 상품화에 대한 구체적인 마케팅방안 및 산업화 유통구조 구축

### 흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제 상품화





## 제 3절 연구성과 목표 대비 실적

### 1. 연구의 목적 및 범위

본 연구개발 최종목표는 “**흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제 상품화**”로 고려인삼을 가공처리 하여 **특정성분·특정효능이 강화된** 흑삼의 제조공정 개선, 가공기술 표준화 확립, 흑삼의 콜레스테롤 저하 효과를 과학적이고 체계적으로 검증하고, 콜레스테롤 저하 효과를 가지면서, 산업적 경쟁력 측면에서도 충분히 가능하다고 판단되는 생물자원(黑蔘 흑삼)을 활용한 고부가가치 기능성 헬스케어 드링크제를 상품화 하고자 하였다. 본 연구 결과물에 대해 논문게재 및 특허출원 등도 실시하여 지식재산권도 확보 하였으며, 또한 건강식품관련 전시회 참가 및 다수의 포스터 발표로 홍보유치 기술확산 및 보급화도 실시 하였으며, 본 연구기술의 자체 실용화·사업화로 제품화도 추진하였다. 즉 궁극적으로 연구개발 계획대비 본 연구성과 목표대비 실적을 차질없이 성공적으로 달성 하였다.

- \* **흑삼의 표준 지표물질 분석법 확립 및 표준화 제조공정 확립화** : 흑삼의 지표성분 및 특정 진세노사이드 성분의 함량을 극대화 할 수 있는 제조공정 확립 및 대량 생산공정화 시스템을 구축함.
- \* **흑삼의 신맛, 텁텁한 맛 등 개선을 위한 제품제조 공정기술 확립화** : 종래의 흑삼 제조방식은 주로 구증구포 제조 방법을 이용하여 원료인삼을 9번 증숙하고 말리는 과정을 거쳐 제조되어 왔으며, 이로 인해 제조 시간이 장시간 소요될 뿐 아니라 반복되는 증숙 과정중에 가용성 엑스성분이 용출되어 흑삼 제조수율이 저조하고 신맛, 텁텁한 맛 및 쓴맛이 강하여 향미에 문제점이 있어 이에 대한 개선책이 우선적으로 요구되었다. 이와 같은 문제점을 개선 달성함.
- \* **흑삼의 콜레스테롤 저하 효능 평가를 통하여 기능성 제품 개발 및 산업화·기술상용화 달성** : 본 기술개발로 제조된 저온흑삼의 원료 소재를 이용하여 새로운 브랜드 네임 Weache로 다양한 제품군 제작·사업화 추진(Weache신구증구포흑삼, Weache흑삼(분말), Weache흑삼농축액, Weache흑삼(절삼), Weache흑삼(원삼), 충남대 발효흑홍삼겔 등) 제품군 제작·판매화
- \* **콜레스테롤으로 인한 성인병 질환예방의 과학적인 메카니즘을 규명함으로써 기능성을 증가 시킨 고부가가치 헬스케어 제품을 창출함** : 본 기술개발로 제조된 저온흑삼의 원료 소재를 이용하여 새로운 브랜드 네임 Weache로 다양한 제품군 제작·사업화 추진(Weache신구증구포흑삼, Weache흑삼(분말), Weache흑삼농축액, Weache흑삼(절삼), Weache흑삼(원삼), 충남대 발효흑홍삼겔 등) 기술 아이템을 활용한 다양한 제품군 제작·판매화 창출
- \* **본 연구 결과물에 대해 논문게재 및 특허출원 등도 실시하여 지식재산권 확보 달성** :

- ✓ 논문(JGR투고) : Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in rats
- ✓ 특허출원 : 콜레스테롤 개선 활성이 우수한 흑삼 추출물을 함유하는 조성물  
(출원번호 10-2015-0052188)

논문 및 특허	
논문 (JGR 게재)	Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in rats
논문 (JGR 투고)	Anti-obesity effects of black ginseng extract in high fat diet-fed mice
특허	콜레스테롤 개선 활성이 우수한 흑삼 추출물을 함유하는 조성물 (출원번호 10-2015-0052188)
특허	과일주스를 이용한 홍삼 또는 흑삼의 제조방법 (등록번호 제 10-1552093 호)

\* 본 연구 결과물에 대해 전시회 및 다수의 포스터 발표로 홍보유치 기술확산 및 보급화도 실시함.

- ✓ The effect of black ginseng extract on the hypercholesterolemia in mice and in rats(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ The protective effect of black ginseng extracts on neuro-inflammation in BV2 microglia (2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ Neuroprotective effects of black ginseng against Aluminum(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ The properties of Maillard type-browning reaction and caramelization with the formations of amino sugars and maltol on the red ginseng preparative processing(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ The maillard type-browning reaction and the non-enzymatic conversion of ginsenosides on the preparative processes of red and black ginseng at the different temperature(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ Studies on characteristic compounds and lipid metabolic activity in black ginseng(2015 Spring Ginseng Conference)
- ✓ Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in SD rats(2015 Spring Ginseng Conference) 등 다수의 포스터 발표로 기술확산·홍보화 유치·기술 보급화 성과를 거둠

번호	구분(논문 게재 or 학회발표)	논문명	저자명	저널명	일시	구분(국 내, 국외)	SCI 등재 여부	발생 차수
1	논문	Black ginseng extract ameliorates hypercholesterolemia in rats	Evelyn Saba, Seong-Soo Roh, Seung-Hyung Kim, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> and Man-Hee Rhee*	JGR(Journal of Ginseng Research)	2015.11.30.	국내	SCI 등재	1차년도
2	논문	Anti-obesity effects of black ginseng extract in high fat diet-fed mice	Mi-ra Lee, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> , Kang-Ju Choi 외	JGR(Journal of Ginseng Research)	2013.04.29.	국내	SCI 등재	1차년도
3	포스터	The effects of black ginseng extracts on learning improving and acetylcholinesterase activity inhibition	<b>Hyun-Kyoung Kim*</b> , Man Hee Rhee, Seong-Soo Rho 외	2015년 고려인삼학회( 2015 Autumn Ginseng Conference)	2015.11.27.	국내 수원 성균관대	-	1차년도
4	포스터	The effects of black ginseng extracts on cholesterol-lowering activity and lipid metabolic activity	<b>Hyun-Kyoung Kim*</b> , Man Hee Rhee, Seong-Soo Rho 외	2015년 고려인삼학회( 2015 Autumn Ginseng Conference)	2015.11.27.	국내 수원 성균관대	-	1차년도
5	포스터	The effects of red ginseng extract and selective ginsenosides on trimethyltin induced hippocampal neurotoxicity	Mi-ra Lee, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> , Chang-Keun Sung 외	015년 춘계 고려인삼학회( 2015 Spring Ginseng Conference)	2015.05.13.	국내 대전 한국인삼공 사	-	1차년도
6	포스터	Studies on characteristic compounds and lipid metabolic activity in black ginseng	<b>Hyun-Kyoung Kim*</b> , Man Hee Rhee 외	015년 춘계 고려인삼학회( 2015 Spring Ginseng Conference)	2015.05.13.	국내 대전 한국인삼공 사	-	1차년도

번호	구분(논문 게재 or 학회발표)	논문명	저자명	저널명	일시	구분(국 내, 국외)	SCI 등재 여부	발생 차수
7	포스터	Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in SD rats	Evelyn Saba, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> and Man-Hee Rhee*	2015년 춘계 고려인삼학회(2015 Spring Ginseng Conference)	2015.05.13.	국내 대전 한국인삼공사	-	1차년도
8	포스터	The effects of Chong Myong-Tang extracts on learning improving and acetylcholinesterase activity inhibition	<b>Hyun-Kyoung Kim*</b> , Man-Hee Rhee* 외	2015년도 대한 화학회	2015.09.23.	국내 대전 한남대	-	1차년도
9	포스터	The effects of black ginseng extracts on cholesterol-lowering activity in SD rats	<b>Hyun-Kyoung Kim*</b> , Man Hee Rhee* 외	2015년도 대한 화학회	2015.09.23.	국내 대전 한남대	-	1차년도
10	포스터	The protective effect of black ginseng extracts on neuroinflammation in BV2 microglia	Da-Hye Jeong, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> , Man Hee Rhee	2014년 고려인삼학회(2014 11 <sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)	2014.10.27.	국내 서울 건국대	-	1차년도
11	포스터	Neuroprotective effects of black ginseng against Aluminum	Vu-Thuy Hong, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> 외	2014년 고려인삼학회(2014 11 <sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)	2014.10.27.	국내 서울 건국대	-	1차년도
12	포스터	The properties of Maillard type-browning reaction and caramelization with the formations of amino sugars and maltol on the red ginseng preparative processing	Dae-Sig Jang, Kang-Ju Choi, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> 외	2014년 고려인삼학회(2014 11 <sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)	2014.10.27.	국내 서울 건국대	-	1차년도

번호	구분(논문 게재 or 학회발표)	논문명	저자명	저널명	일시	구분(국 내, 국외)	SCI 등재 여부	발생 차수
13	포스터	The maillard type- browning reaction and the non-enzymatic conversion of ginsenosides on the preparative processes of red and black ginseng at the different temperature(2014 The 11 <sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)	Kang-Ju Choi, Dae-Sig Jang, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> 외	2014년 고려인삼학회 (2014 11 <sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)	2014.10.27.	국내 서울 건국대	-	1차년도
14	포스터	The effect of black ginseng extract on the hypercholesterolemia in mice and in rats	Young Min Son, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> , Man Hee Rhee 외	2014년 고려인삼학회( 2014 11 <sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)	2014.10.27.	국내 서울 건국대	-	1차년도
15	포스터	The maillard type-browning reaction and the non-enzymatic conversion of ginsenosides by the steaming heat process of red ginseng	Kang-Ju Choi, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> 외	고려인삼학회 (춘계학술대 회)	2013.4.16.	국내	-	1차년도
16	포스터	The Maillard Type-Browning Reaction and caramelization on the quality evaluation of red ginseng with the contents of amino sugars and maltol	Kang-Ju Choi, <b>Hyun-Kyoung Kim*</b> 외	고려인삼학회 (춘계학술대 회)	2013.11.26	국내	-	1차년도

### 기술 성과 제품 사진

◆ 흑삼제조(종래의 구증구포 방법에 의한 흑삼제조)



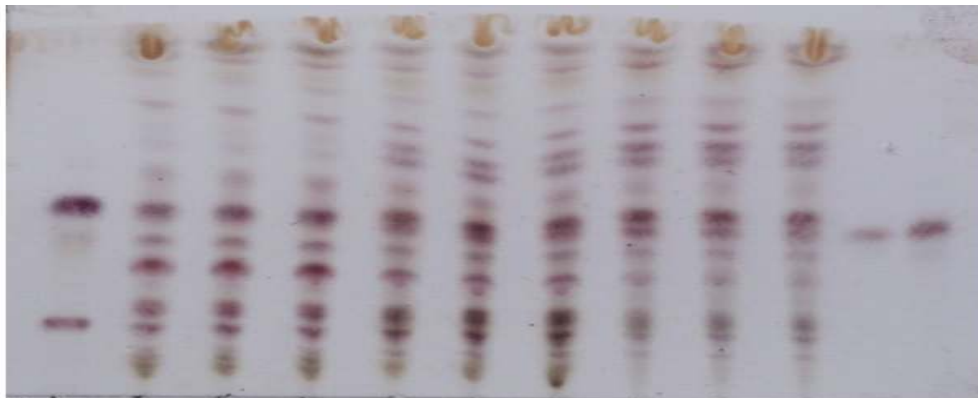
◆ 증삼온도에 따른 흑삼의 제조 사진



**60°C 증숙    70°C 증숙    80°C 증숙    90°C 증숙    98°C 증숙**

• 흑삼의 제조과정시 증삼 온도에 따른 흑삼의 제조 모습 : 흑삼의 제조시 55~70°C 습열에서 45분~300분간 예열 한 후 증삼하는 것을 특징으로 하는 고콜레스테롤혈 증 예방 및 치료용 약학 조성물

◆ 홍삼, 저온제조 흑삼, 현행 흑삼의 사포닌 TLC 패턴



**Rg1    1    2    3    1    2    3    1    2    3    Rg3    Rg2**  
**Rb1                    RG                    BG at 80°C                    BG at 98°C**



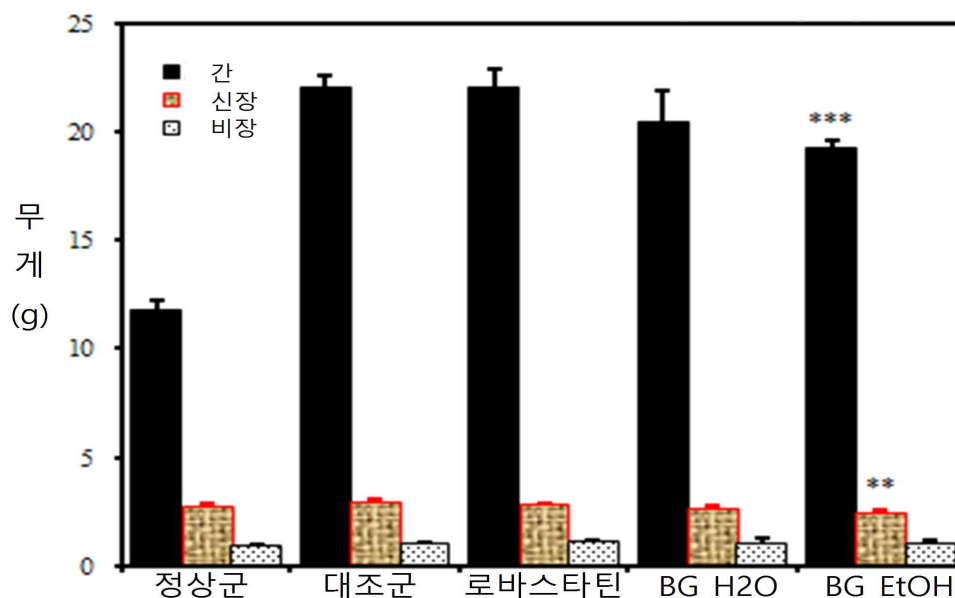
## 기술 성과 제품 사진

◆ 흑삼제조(증삼시 랩핑 및 밴딩에 의한 동체 균열 억제 효과를 보여주는 사진)



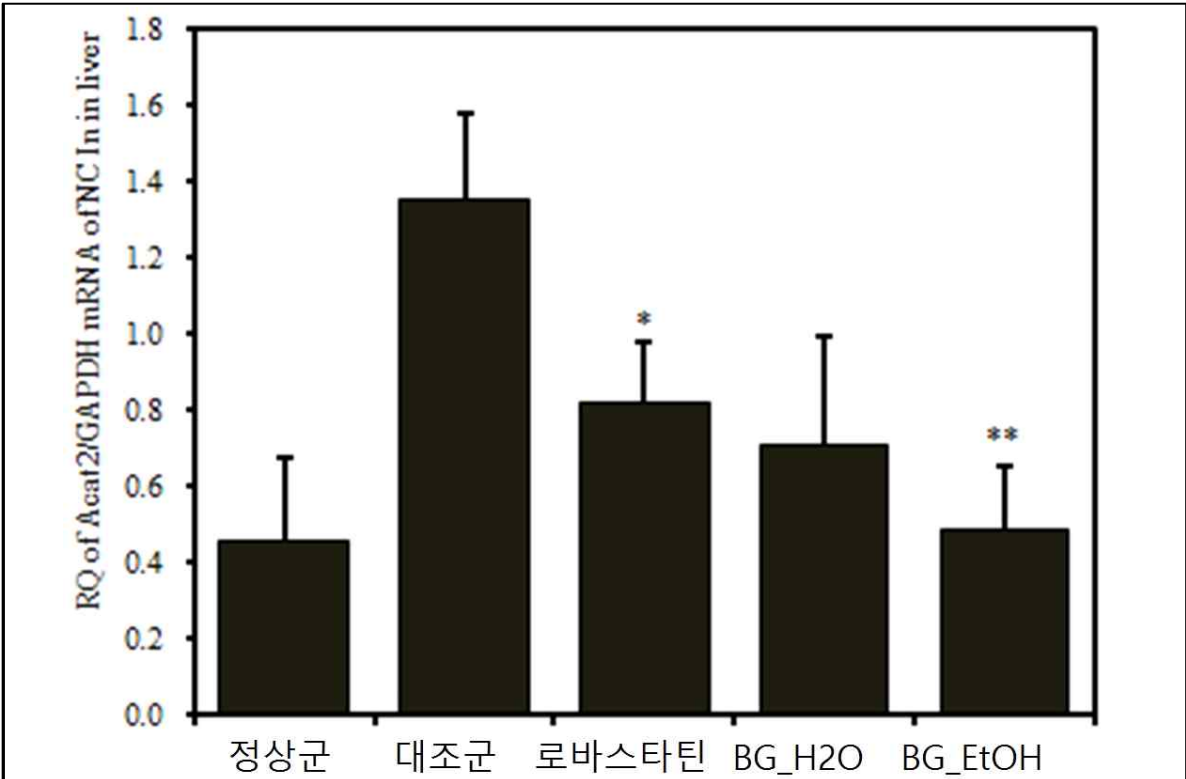
• 흑삼의 제조 시 동체의 균열을 억제하기 위하여 수삼의 동체를 내열성 재질로 감아서 밴딩한 상태에서 1차 증삼하는 것을 특징으로 하는 고콜레스테롤혈증 예방 및 치료용 약학 조성물

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



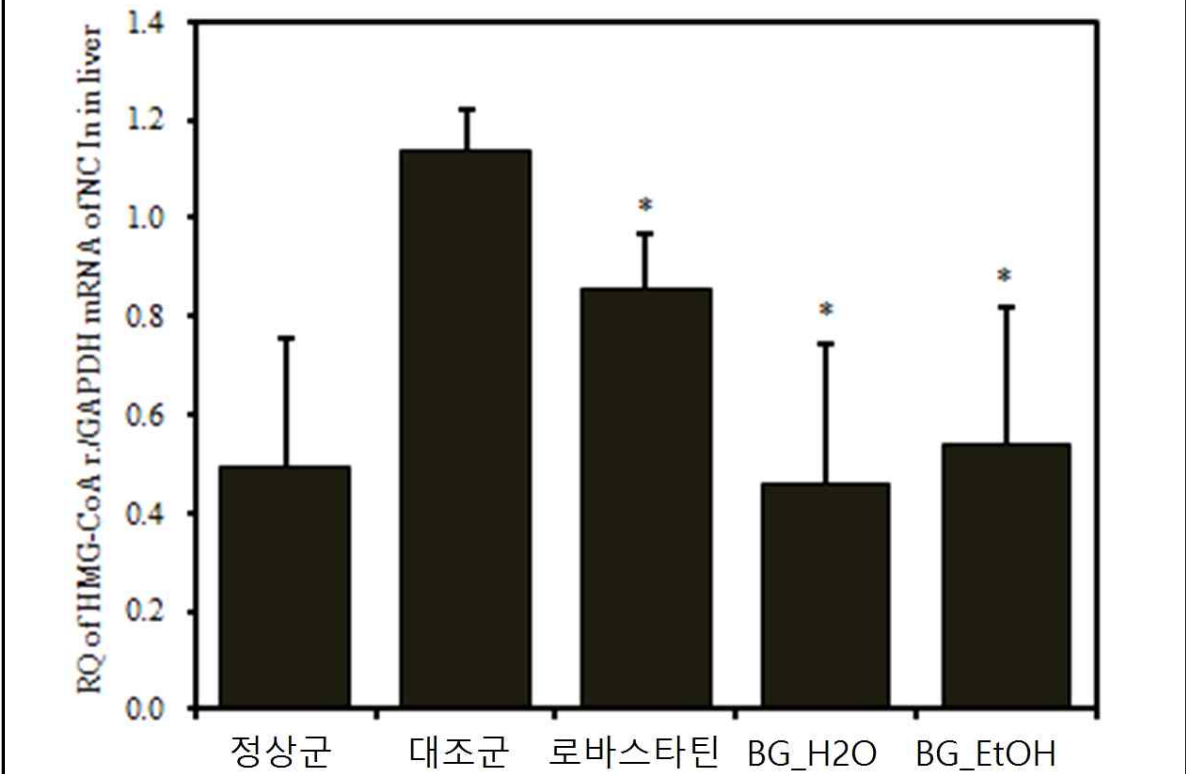
• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군별 장기무게의 차이를 보여주는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



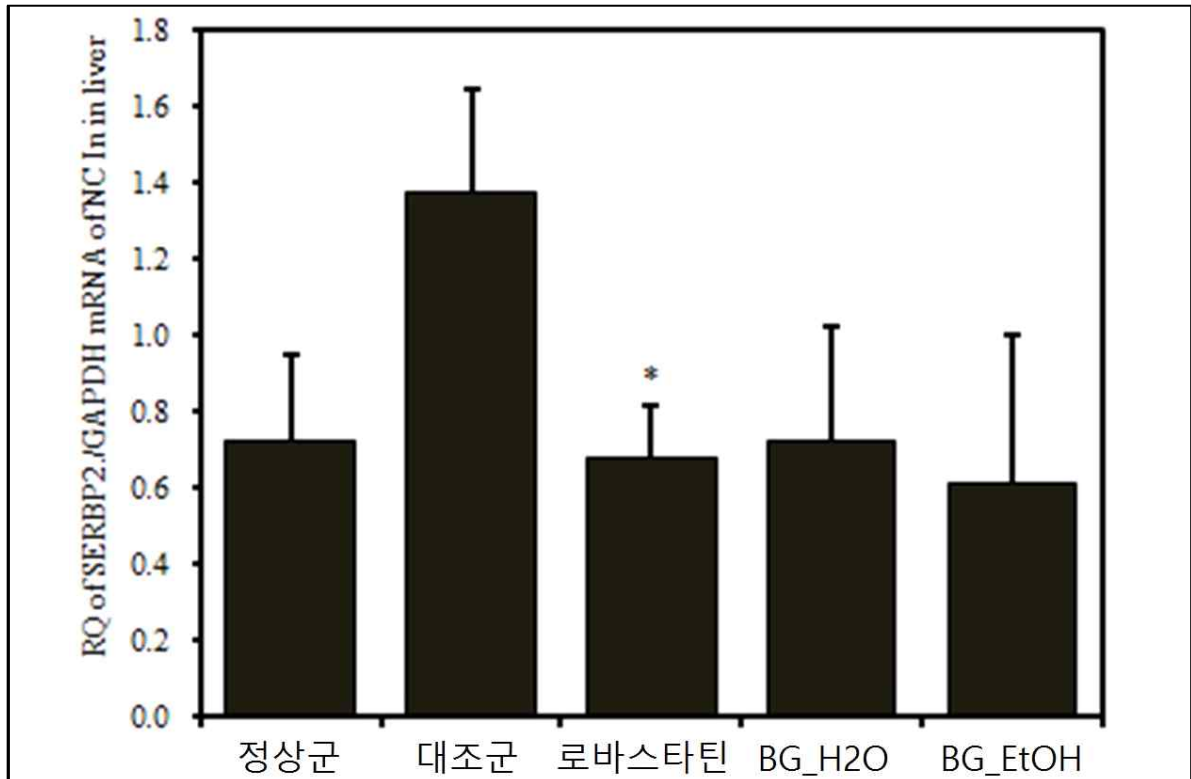
• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군에서 간조직에서 발현되는 ACAT2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



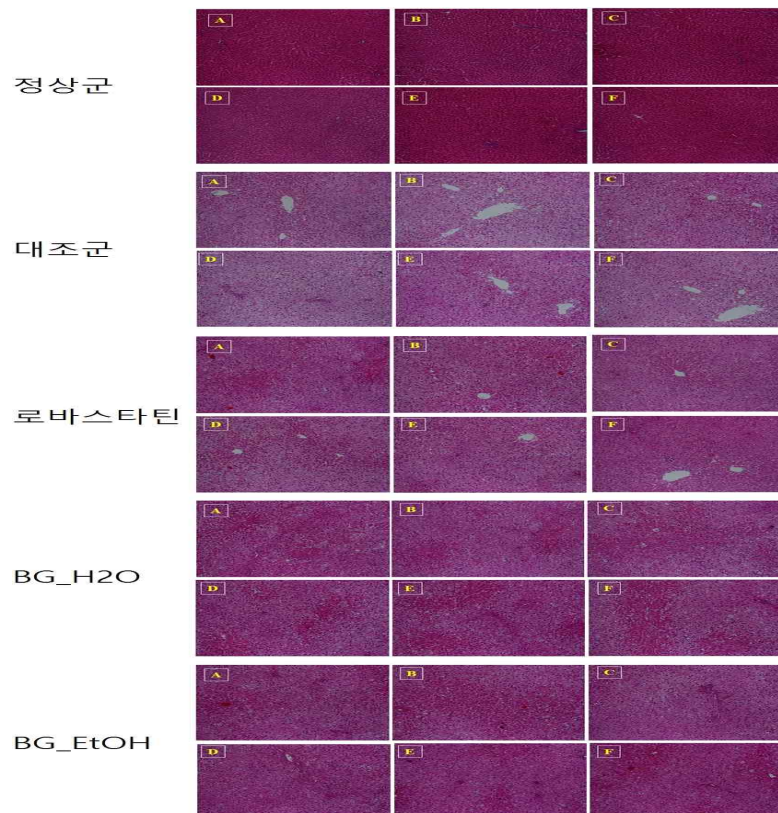
• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군의 HMG-CoAR mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군의 간조직에서의 SREBP2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

◆ 저온제조 후삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과

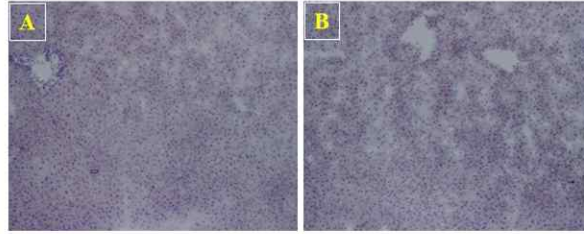


• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 H&E 염색한 이미지

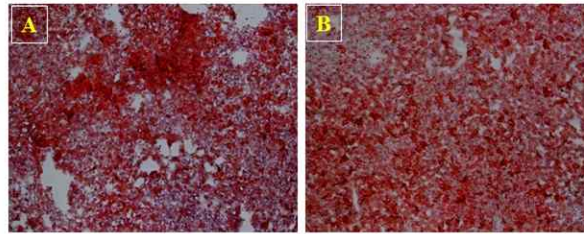
◆ 저온제조 후삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



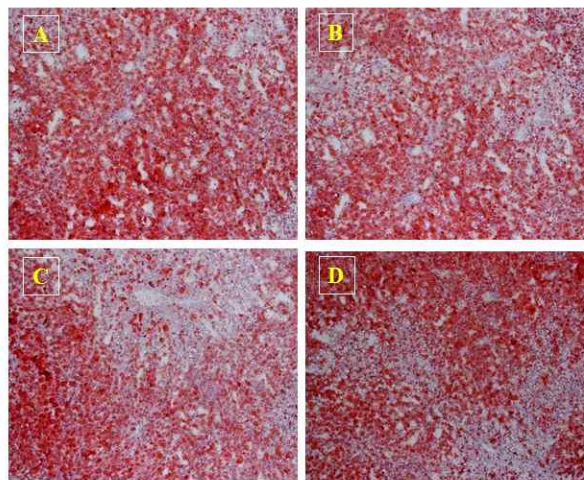
정상군



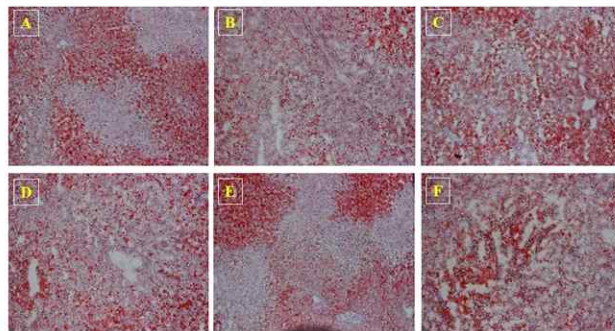
대조군



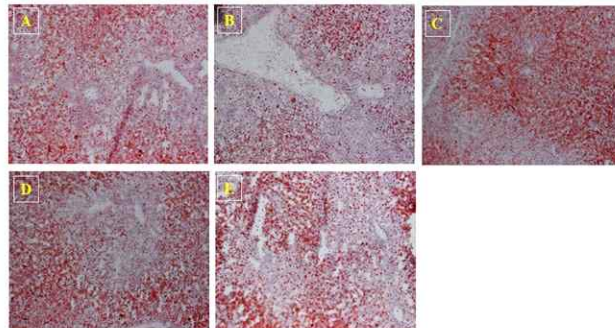
로바스타틴



BG\_H2O

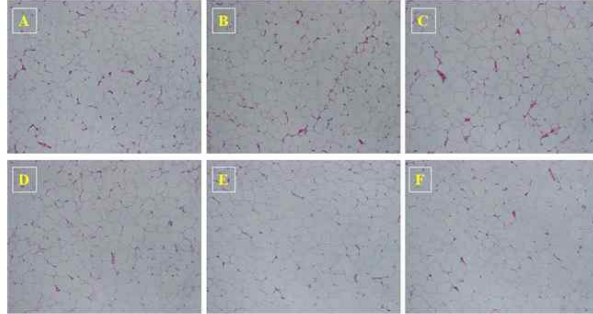


BG\_EtOH

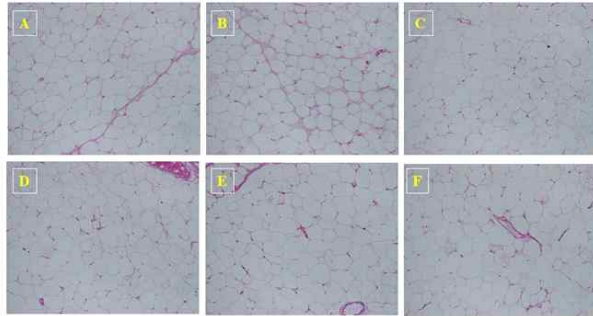


- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 오일-레드 염색한 이미지
- ◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과

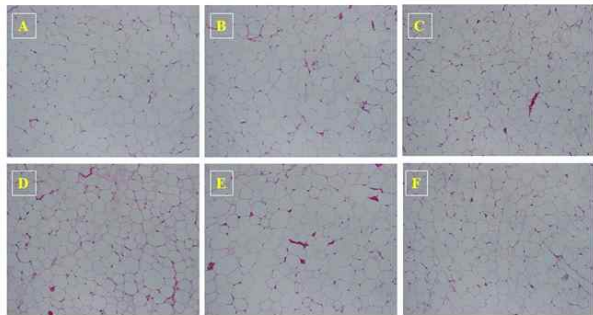
정상군



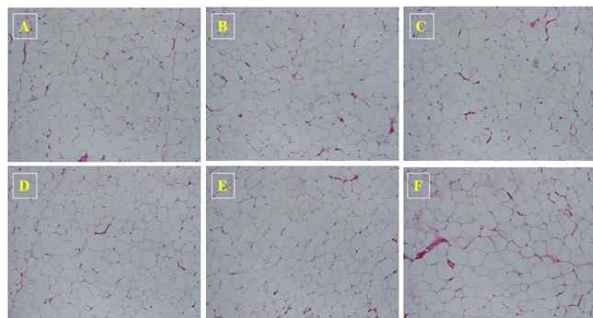
대조군



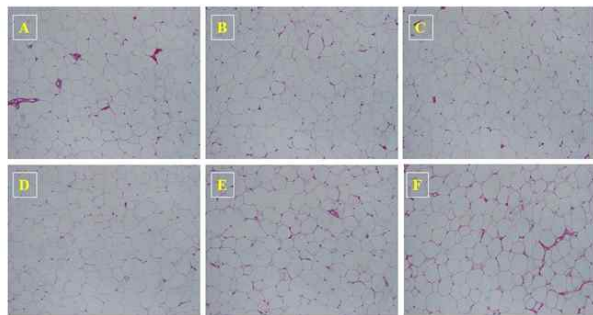
로바스타틴



BG\_H2O



BG\_EtOH



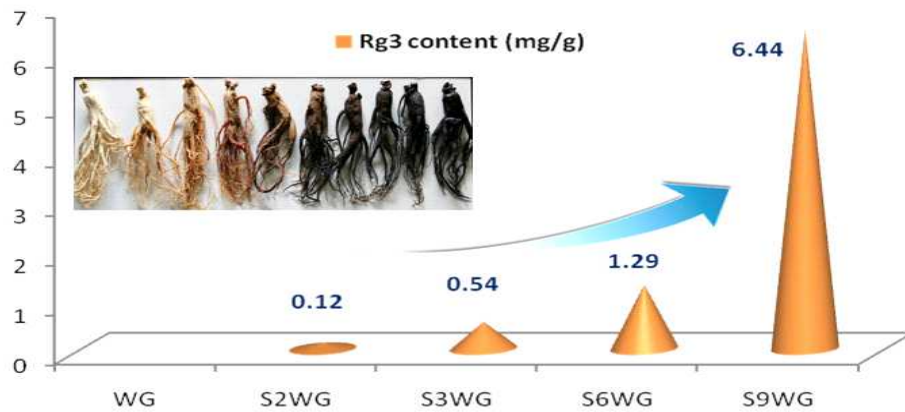
- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 복부지방 조직을 오일레드 염색한 이미지



## 기술 성과 제품 사진

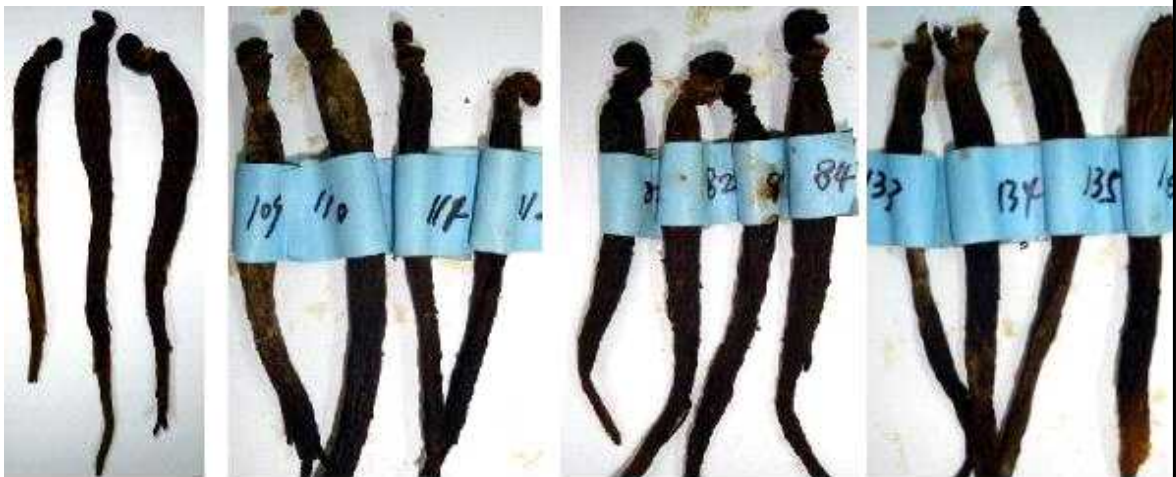
### ◆ 증숙 횟수에 따른 특정 진세노사이드 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량의 변화

증숙 횟수를 반복할수록 새롭게 형성되는 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 다음과 같이 나타내었다. 2회 증숙시 ginsenoside Rg<sub>3</sub>는 0.12 mg/g을 나타내었고, 증숙 횟수가 반복될수록 그 함량이 증가되어, 최종 흑삼을 제조하였을 때의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 6.44 mg/g으로 홍삼보다 50배 이상 증가하였다.



Change of ginsenoside Rg<sub>3</sub> contents in a traditional way for preparing BG

### ◆ 새로운 흑삼제조기술 탐색(과일산 침지 방법을 이용한 흑삼의 제조)



A. 대조군

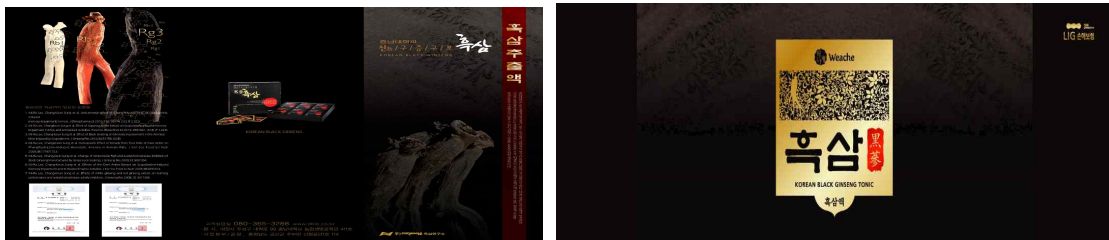
B. Apple juice

C. Grape juice

D. Pineapple juice

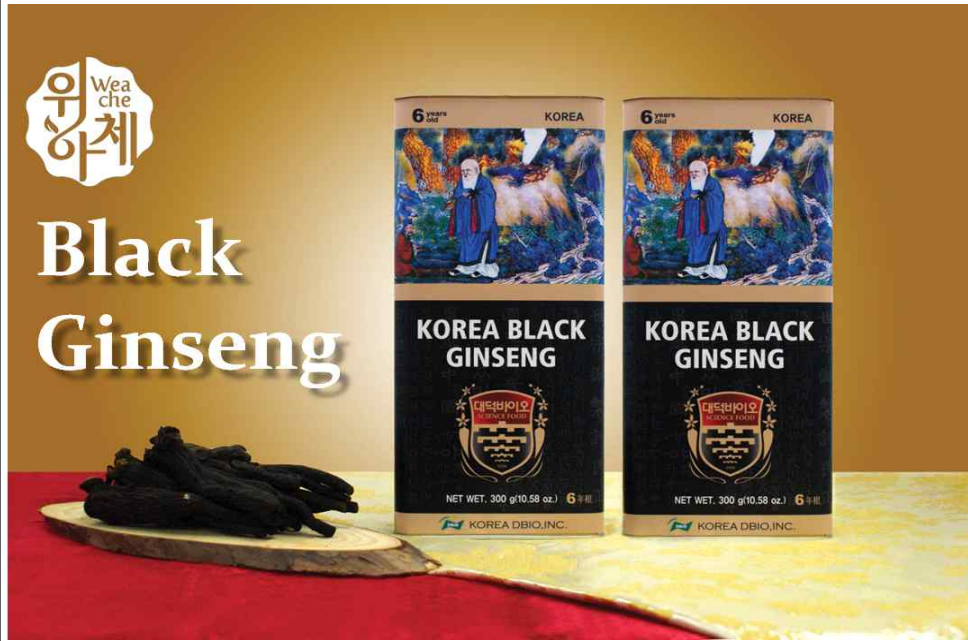
Black ginseng produced by soaking into several fruit juices

### ◆ 저온제조 흑삼을 이용한 콜레스테롤저하 헬스케어 드링크제 제품개발





신규 제품 도면(시안) 첨부



제품생산  
제품정보

- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 300 g
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

신규 제품 도면(시안) 첨부



제품생산  
제품정보

- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 g
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

## 기술 성과 제품 사진

신규 제품 도면(시안) 첨부

제품생산  
제품정보



- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 mL
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

신규 제품 도면(시안) 첨부

제품생산  
제품정보

**저온 신구증구포 공법으로 제조한 흑삼**  
**고콜레스테롤, 동맥경화, 심장질환 예방**



(주)대덕바이오는 기존 흑삼의 제조공법 방법을 개선한 신기술을 연구개발하여 저온 신구증구포로 제조된 흑삼을 원료로 연구를 거듭한 결과, 국내에서는 최초로 흑삼수인 '흑삼에 빠지다' 제품을 개발하였습니다. (출시예정)

- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 mL
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1절 국내외 연구개발 현황

#### 1. 국내외 기술개요 및 연구개발 현황

##### 가. 국내외 기술개요 및 특징

- (1) 다양한 신기능성 물질들을 함유하고 있는 천연식물들은 최근 EU와 미국 등 선진국에서 의약품으로의 응용성 연구가 활발히 진행되고 있다.
- (2) 1978년 WHO 31차 회의에서 개발도상국을 대상으로 하여 민간요법에서 사용되는 유용 식물에 대한 효과적 사용에 관한 권고 결의안을 채택한 이후 국제적인 천연자원 목록 작성과 유용성, 안전성, 표준화에 관한 연구가 지속되고 있다.
- (3) 심혈관계 질환에 대해서는 국내외에서는 기능성식품분야 및 제약산업 분야에서 꾸준히 연구되고 있으며, 특히 콜레스테롤을 저하 시킬 수 있는 식품소재 및 고지혈증 치료제 부분이 활발하게 연구되고 있다.
- (4) 특히, 국내에서는 콜레스테롤 추출-제거, 콜레스테롤 생합성 억제 및 콜레스테롤 흡수억제 관련 기술이 꾸준히 진행되고 있다.

##### 나. 심혈관계 관련 기술발전 추이

- (1) 기능성물질 탐색연구 : 1994년 이전부터 이루어지고 있음.
- (2) 천연물의 라이브러리화 : 1998년부터 이루어지고 있음.
- (3) 조합화학을 이용한 신물질 도출 : 2000년부터 이루어지고 있음.
- (4) 고효율 탐색기술 : 2002년부터 이루어지고 있음.

##### 다. 국내시장현황

- (1) 우리나라의 심혈관계(콜레스테롤)을 포함하는 치료제 시장규모의 성장률은 세계 시장보다 성장률 보다 더 빠른 성장세를 보이고 있음.
- (2) 콜레스테롤 시장은 2000 ~ 2004년 동안 35.1% 이상 빠른 증가율을 보이고 있음.
- (3) 이러한 원인은 성인 인구 및 노인 인구의 증가와 생활습관의 변화와 건강에 대한 관심의 증가
- (4) 수출의 경우도 다국적 기업들의 특허 등에 의한 국내외 시장의 지배로 해외시장의 진출이 불가능 했었으나, 국내 기업이 개발한 건강기능식품이 일부 수출에 기여하고 있음.
- (5) 건강기능식품 시장 : 1500 ~ 2000억원 추정(2004년), 연평균 10%이상 성장
- (6) 고지혈증에 관한 치료제 관련 자료 : 2008년 건강보험 심사원이 국회에 제출한 자료에 의하면 화이자의 ‘리피토’의 경우 상반기 491억원, 중외제약의 ‘리마로’가 156억원, MSD의 ‘바이토린’이 120억원의 매출을 올린 것으로 확인 되었음.
- (7) 국내의 경우 전통 한방약 및 일부 의약품, 차류, 건강보조식품, 천연염료 및 향료 등의 제품이 이미 판매되고 있으나 대부분의 원료를 수입에 의존하고 있는 실정이다.

## 라. 해외시장 현황

- (1) 콜레스테롤 저해제는 연간시장 규모가 2004년을 기준으로 271억 달러이며, 연평균 성장률이 8.2%를 유지 할 것으로 예측(한국기술거래소 자료)
- (2) 2004년 화이자의 리피도의 경우 110억 달러의 매출을 기록했음.
- (3) 심혈관계 치료제 시장은 2006년도에 770억 달러, 2012년에 1149억 달러로 지속적인 증대를 예측.
- (4) **콜레스테롤 저해제의 지속적인 증가 예측** : 세계적인 비만 인구의 증가, 소득증가와 함께 서구의 인스턴트 식품의 영향 등. 특히 미국 인구의 7.6%는 고지혈증의 치료를 받아야 하는 것으로 보고됨.
- (5) 미국의 콜레스테롤 저해시장
  - (가) 2003년도에 위장약 치료제 시장을 제치고 미국전체 시장에서 차지
  - (나) 콜레스테롤 수치를 강화하여 고지혈증 질환의 발병률이 높아진 결과 인구 100명당 7.6명의 발병율을 가지고 있음.
  - (다) 미국시장의 콜레스테롤 관련 치료제 시장의 성장률은 17% 이상.
- (6) 일본의 건강 기능성 식품시장
  - (가) 다이쇼제약이 개발한 콜레스테롤 저하 건강기능성식품인 코레스 케어는 최초의 고지혈증 분야의 건강기능성 식품임(약업신문, www.yakup.com : 2002.07.20.)
  - (나) 시장조사를 통한 제품 개발 : 첫째 20억엔 이상의 매출 기록
- (7) 기타 콜레스테롤 조절관련 건강 기능성식품시장
  - (가) 라이지오그룹(식품)의 Benecol : 식물성스테롤을 기초로 한 콜레스테롤 저하 기능성 식품.
  - (나) 콜레스테롤조절(저하 및 억제)과 관련하여, 직접적으로 경쟁력 있는 국내외 업체는 건강기능식품을 제조 판매하는 거의 대부분의 업체임.
  - (다) 특히 시장 동향에서 기술 하였듯이 감마리놀렌산이나 오메가-3 등의 제품은 (주) 종근당건강, 유한메디카, 상아제약, 대상월라이프 등 대기업은 물론이고 제약업체까지 온라인 및 오프라인에서 경쟁을 하고 있는 실정임.

## 마. 콜레스테롤 관련 주요기술의 응용분야 및 특징

번호	기술명	응용분야	특징 및 내용
1	콜레스테롤 추출-제거기술 및 콜레스테롤 저하물질 이용기술	식품소재, 기능성식품	추출 및 흡착 비특이적
2	콜레스테롤 저하물질 양산기술	기능성식품, 기능성사료첨가제	발효 및 분리정제, 특이적
3	고지혈증 치료제 양산기술	의약품	유기합성, 발효 및 분리정제, 매우특이적
4	대사공학기술을 이용한 콜레스테롤 흡수 및 생합성저해기술	기능성식품, 기능성사료첨가제, 의약품	대사공학, 유전공학, 매우특이적
5	유전자 이식/적중기술을 이용한 저콜레스테롤 기능육 생산기술	전 임상 모델시스템, 기능성 브랜드	유전자이식/적중, 복제기술, 허가/사회적 비판설득 필요

바. 콜레스테롤 조절관련 산업화 기술의 특징 및 장점

번호	콜레스테롤 조절관련 산업화 기술	기술의 특징	기술의 장점	기술의 단점	기타사항
1	홍국생산기술	LDL 합성저해 및 HDL 합성증대를 통한 콜레스테롤 저하효과 입증, 혈압강화, 항균, 항암, 항산화, 혈당강화 및 골밀도효과 등의 효과존재	장기간 사용으로 안정성 및 유효성이 검증되어 있음. 고체배양기술, 배지조성기술, 발효설비기술 등 대량생산 기술이 확립되어 있음, 콜레스테롤 저하효과 이외에 부가적인 기능성을 가지고 있음.	선행특허를 침해할 소지를 가지고 있음. 시장에서 다수의 경쟁자사가 존재하고 있음. 기능성식품 시장의 특성상 마케팅 비용이 많이 발생함.	홍국생산기술은 역사적 배경을 통해 꾸준히 발전하여 현재는 대표적인 콜레스테롤 저하 식품소재중의 하나로 자리를 잡았으며, 쌀, 기능성음료, 기능성식품의 원료로 다양하게 사용되고 있음.
2	식물성스테롤 생산기술	LDL 합성저해 및 총콜레스테롤 저하효과입증, 견과류, 곡류, 콩과류 존재	단순 추출 등으로 쉽게 생산할 수 있음. 값싼 원료를 쉽게 구할수 있음	물에 녹지 않으므로 다양한 제형 및 제품화에 어려움을 가지고 있음. 부가가치가 낮음	식물성 스테롤 기술은 여러 가지 식물원료로부터 다양한 구조의 스테롤 및 스타놀을 추출해내는 기술 및 수용화를 통한 제품화 기술개발 등을 거쳐 현재 식품소재 및 일부 기능성식품 등에 활용되고 있음.
3	식이섬유 생산기술	혈액 및 간 내 콜레스테롤 저하효과 입증, 헤조류, 버섯류, 과일, 청국장 등에 다량 함유	장기간 사용으로 안정성 및 유효성검증, 매우 값이 싸고 구하기 쉬운 원료들을 사용, 생산방법이 확립되어 있으며, 그다지 어렵지 않음	식이섬유의 물리적인 성질 때문에 제품에 적용하는데 제한이 따름, 콜레스테롤 저하 메카니즘이 특이적이지 못함	식이섬유의 생산기술은 다양한 공급원을 통한 다양한 식음료로 개발과정을 거쳐, 현재 식품소재 및 일부 기능성식품등에 활용되고 있음.
4	기타콜레스테롤 저하물질 생산기술	키토산, EPA, 감마리놀렌산, 대두레시틴 등이 기능성 원료로 사용중 임	장기간 사용으로 안정성이 검증되어 있음. 원재료를 쉽게 구할수 있음.	작용메카니즘이 특이적이지 못함. 대상기술에 비하여 상대적으로 생산단가가 높음, 대상기술에 비하여 상대적으로 대량생산이 용이하지 못함.	기타 콜레스테롤 저하 물질 생산기술은 장기간 식품소재로 사용되어 오면서, 발전되어 왔으며, 현재 식품소재, 기능성 식품등에 사용되고 있음.

번호	콜레스테롤 조절관련 산업화 기술	기술의 특징	기술의 장점	기술의 단점	기타사항
5	고지혈증 치료제 생산기술	간 내 콜레스테롤 합성 특이적으로 저해, 다수의 의약품 시판중이며, 시장이 급성장중임	작용 메커니즘이 매우 특이적이어서 효과적임, 대부분 특허를 보유하고 있어, 특히 기간 내에 독점성을 가지고 있음.	오랜기간 복용할 경우 변비, 소화불량 등의 부작용을 동반할 수 있음. 매우 고가이므로 제한적으로 만 활용	고지혈증 치료제 생 산기술은 콜레스테롤 및 순환기 질환에 대 한 인식확대에 따라 폭발적인 시장의 성 장성을 보이고 있으 며, 많은 제약사 및 바이오벤처에서 신제 품 개발에 박차를 가 하고 있음.
6	대사공학기술	콜레스테롤 생합성 및 흡수대사과정을 인위적으로 조절하는 기술, Functional Genomics의 발전과 함께 빠르게 성장하고 있음.	생산성 향상을 통한 원가절감효과를 거둘 수 있음. 여러 가지 미생물의 콜레스테롤 조절유전자를 조합시켜 새로운 부가가치를 지닌 미생물을 만들 수 있음.	개발이 장시간 소요되며 이에 따라 성공가능성에 대한 위험도도 높으며, 개발비도 많이 소요될 수 있음. 유전자변형 미생물에 대한 사회적, 윤리적 비판을 극복해 나가야 함.	대사공학기술은 유전 공학기술의 발달과 genomics/proteomics 등의 관련 학문의 시 스템적인 지원속에 빠른 속도로 발전해 오고 있음.
7	유전자이식/적 중기술	콜레스테롤 생합성을 특이적으로 저해하는 돼지의 개발기술, GMO에 대한 사회적 비판을 선결해야 하는 문제가 있음	저콜레스테롤 돼지 개발성공시에는 매우 높은 경제성이 창출될 수 있음. 이론상 콜레스테롤 조절이외에도 많은 다른 기능성을 부여할 수 있음. 새로운 고지혈증 치료제의 모델로 활용이 가능함.	성공가능성이 높지 않으며, GMO에 대한 사회적 비판을 선결해야 하는 문제가 있음	



## 사. 콜레스테롤 조절관련 산업화 소재의 장단점 및 기술보유(심혈관계)

번호	산업화 소재	기술의 장점	기술의 단점	기타사항
1	단삼,삼철근, 용뇌 함유물	단삼, 삼철근 혼합보다 효능강화, 봉해촉진제를 처리하여 약효발생이 빠르게 일어날 수 있음.	약효가 빠르지만, 효과발현시간이 단축될 가능성이 있음, 제조과정이 복잡함	단삼, 삼철근에 용뇌와 폴리에틸렌글리콜을 함유한 기술은 김춘란이 보유한 기술
2	단삼,삼철근, 용뇌 함유물	단삼, 삼철근보다 효능강화	고지혈증에 대한 임상데이터 부족	단삼, 삼철근에 보르네오를 함유한 기술은 중국의 Tianjin Tasly Pharm사가 보유한 기술로서 2004.2.11.에 등록
3	홍국분말	콜레스테롤 저하 건강기능식품으로 이미 제품화가 이루어짐, 주성분인 모나콜린 K의 작용규명	혈압강화작용에 대한 임상데이터 미흡	홍국분말 100% 성분으로 만들어진 이 기술은 이미 제약회사 등에서 건강기능식품으로 판매중에 있음
4	참깨	지질대사 촉진으로 콜레스테롤 저하, 고혈압진행억제, 고혈압진행억제, 주성분인 세사민에 대한 작용기전규명, 대량생산 등 상품화에 용이	혈압강화작용에 대한 지적재산권 미확보	참깨의 세사민 성분에 의한 심혈관계질환에 대한 효능은 일본 동경대와 오사가대 연구팀의 연구성과이며, 일본 산토리사가 보유한 기술임
5	귀리	고혈압 및 고지혈증환자를 상대로 한 임상데이터 확보, 효능 및 효과에 대한 신뢰성 확보	귀리를 수입에 의존, 귀리의 심혈관계 질환에 대한 이중 및 다중효과에 대한 지적재산권 부재	귀리를 이용한 효과의 임상자료는 2002년도에 보고되었으나, 수입에 의존하고 있음

## 2. 국외의 연구개발 현황

### 가. 국외 특허기술의 동향 분석

#### (1) 해외특허기술 동향 : 미국

(가) 연도별 출원동향 : 1982년도부터 출원하기 시작하여 1990년대 중반까지 본격적인 증가세를 보이고 있으며, 특히 1990년대 후반부터 급격한 증가세를 보이고 있다.

(나) 대부분의 출원이 개인으로 이루어져 있다.

NeoRX사가 총 11건으로 가장 많은 출원을 하였으며, Novogen사가 9건, MARS사가 5건, Braswell사가 4건을 출원 하였다.

(다) 주요 출원회사의 연도별 출원건수의 추이를 살펴보면 대부분의 출원인이 1996년도 이후에 집중되고 있는 특징을 가지고 있으며, 특히 Braswell사와 Clearant사는 모두 2000년도 이후에 출원을 하였다.

#### (2) 기술 분야별 특허 출원동향

(가) 가장 출원이 많은 NeoRX사를 비롯하여 거의 대부분의 상위 출원인의 특허기술이 의약 분야에 치우쳐 있다.

(나) 상위권 출원자에서 식품분야에는 한 건도 출원하지 않았다.

(다) 다수를 출원한 기업외의 기타 부분에서의 출원은 다양하게 이루어졌으나, 역시 의약 분야에 집중적으로 출원을 하고 있다.

(3) 레이더맵을 통한 전체 기술의 발전 동향 분석 : 10년간 (1994~2003) 해당기술의 특허 출원 레이더맵을 통해 발전 동향을 분석 했을 경우, 전 5년과 후 5년간의 출원 패턴이 유사하게 나타났으며, 의약분야에 집중되어 있는 것으로 나타났다.

#### 나. 해외특허기술 동향 : 일본

(1) 연도별 출원동향 ; 1979년도부터 출원하기 시작하여 1990년대 중반 크게 증가세를 보이고 있으나, 전체적으로는 증가와 감소를 반복하면서 꾸준한 출원이 이루어지고 있다.

(2) 출원인별 특허동향

(가) 개인 및 기업에 걸쳐 1건씩 출원한 경우가 많으며, 3건 이상을 출원한 출원인과 나머지를 기타로 분류하여 나타냄.

(나) POLA CHEM 출원이 7건으로 가장 많았으며, YAKULT HONSHA사 NIPPON MEKTRON사, WAKUNAGA PHARMACEUT사 순으로 특허 출원을 하였음.

(다) 상위 출원인은 대개 1992년부터 1999년 사이에 출원이 집중 되어졌음.

(3) 기술 분야별 특허 출원 동향

(가) 대부분 의약분야에 치우쳐 있으며, POLA CHEM사와 YAKULT HONSHA사, NIPPON MEKTRON 사에서 뚜렷함.

(나) 반면 SANKYO사에는 식품 분야에 출원이 이루어졌음.

(4) 레이더맵을 통한 전체기술의 발전 동향분석

(가) 10년(1993~2002)간 천연물을 이용한 심혈관계질환을 예방 또는 치료할 수 있는 조성물 및 제조방법 기술의 특허출원을 통해 전체기술의 발전추이를 1998~2002년도와 1993~1997년도를 나누어 살펴보면

(나) 전반기 5년 동안에는 의약품 분야에 치우쳐 있지만, 후반기 5년 동안에는 의약과 식품 기타분야에 비교적 고른 패턴을 보이고 있음.

#### 다. 해외특허기술 동향 : 유럽 및 PCT

(1) 유럽특허의 연도별 출원동향 : 1980년대 후반, 1990년대 초반, 2000년도 초반에 출원이 이루어 졌으나, 전체적으로 6건으로 저조한 출원수를 보이고 있음.

(2) PCT 연도별 출원동향 : 2000년도에 들어와서 다소 출원수가 증가하여 전체적으로 10건의 특허를 출원하였음.

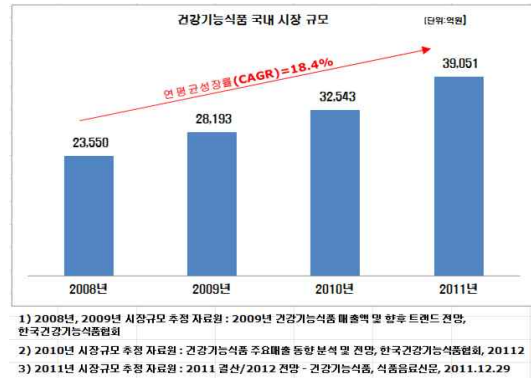
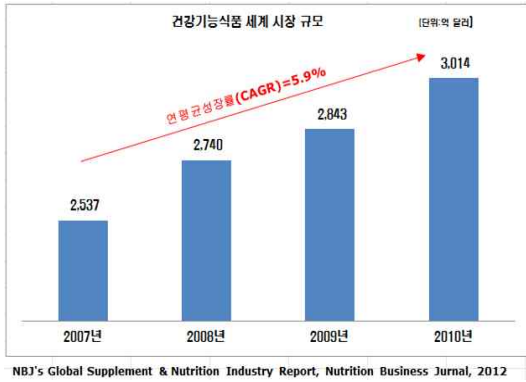
(3) 천연물을 이용한 심혈관계질환을 예방 및 치료할 수 있는 조성물 및 제조방법에 대한 특허수가 매우 낮아 출원인별 분류가 큰 의미가 없는 것으로 판단됨.

(4) 출원인별 특허동향분석 및 특허의 기술분야 : 의약에 큰 비중을 가지고 있음.

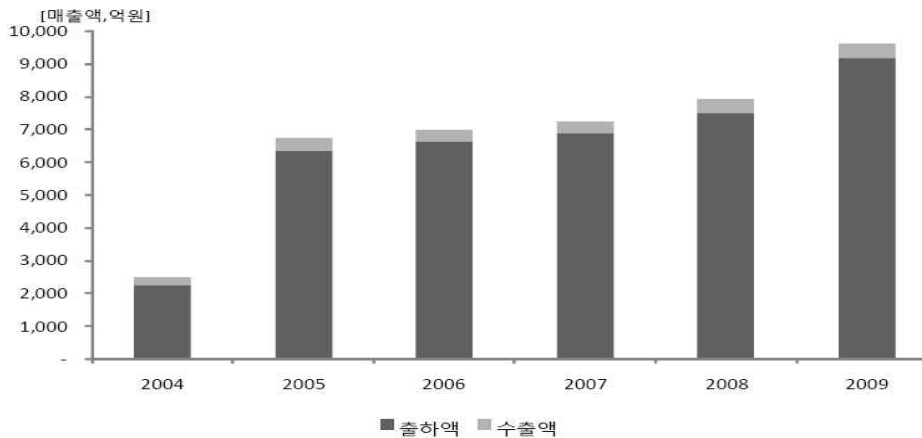
## 라. 국내.외 건강기능 식품의 시장현황

### (1) 건강기능식품의 매출액 추이

- 국내 건강기능식품 시장 규모에 대해서는 정확한 통계치가 제시되어 있지 않지만, 건강기능식품협회에서 매년 상위 20여개 기업을 대상으로 조사하여 추정한 매출액을 바탕으로 시장규모를 추정한 결과 2011년 기준 약 3조9,051억 원으로 추정된다.



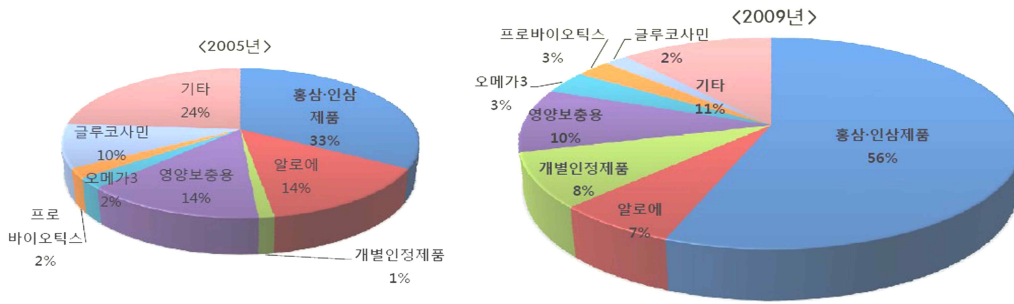
- 건강기능식품에는 농산물을 활용한 제품이 높은 비중을 차지한다. 건강기능식품 중 농산물 활용 제품의 비중은 2005년 52.8%에서 67.4%로 증가하였다. 그 중에서도 홍삼제품이 52.0%, 인삼제품은 3.8%로 전체 건강기능식품 매출액의 55.8%가 인삼가공제품이다.



자료: 식약청, 「식품의약품통계연보」

### (2) 건강기능식품 제품유형별 매출액

- 건강기능식품 판매액이 전체적으로는 증가하고 있으나 품목별로는 대조적인 변화를 보이고 있다.



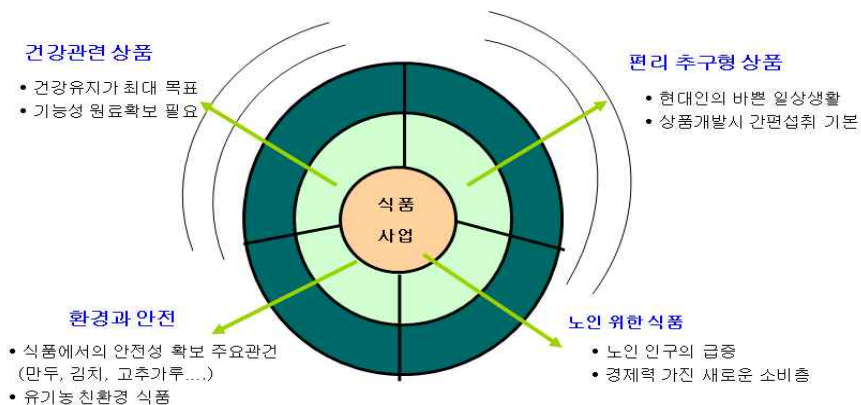
자료: 식약청, 「식품의약품통계연보」

(3) 국내 건강기능식품연구진행 분야 : 자료: 기능식품신문 (05.04)

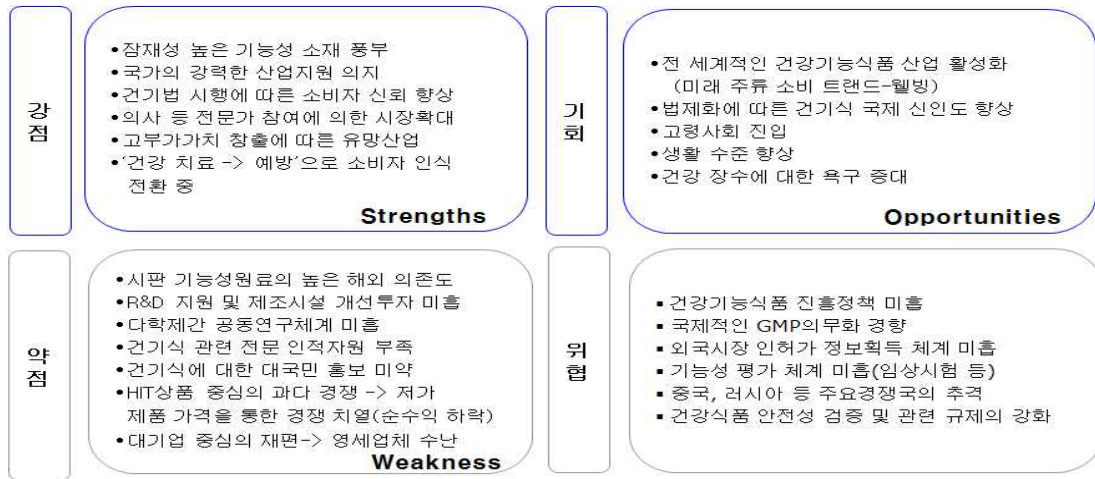
**<국내 건강기능식품 연구진행 분야>**



(4) 국내 식품시장 트렌드의 변화



### (5) 국내 건강식품산업의 SWOT분석

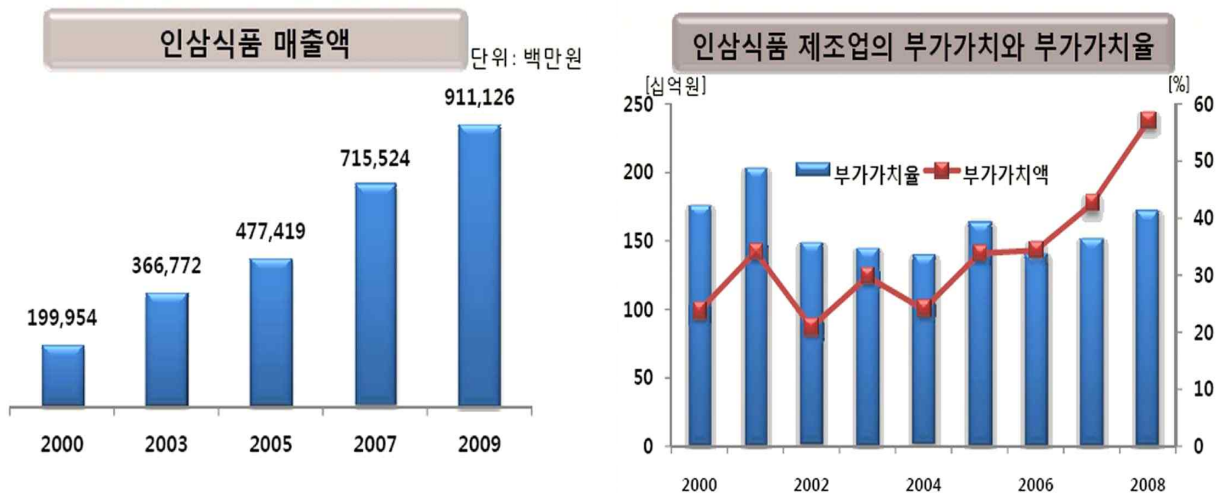


자료: 건강기능식품산업 동향 및 발전전략-한국보건산업진흥원

### 마. 국내 인삼제품의 시장현황

#### (1) 인삼제품의 시장 규모와 부가가치

- 국내 인삼가공식품 시장의 규모는 매우 빠르게 확대되고 있으며, 매출액은 2009년 기준 9,100억 원이며, 2000년대 연평균 20% 내외의 빠른 증가세를 보임.
- 인삼식품 시장의 확대는 소비자의 건강에 대한 관심과 소득 증가, 오랜 역사를 통해 전해진 높은 인지도, 다양한 제품 개발 및 출시, 효능의 과학적 입증, 건강기능식품으로서의 인정 등에 힘 입은 것으로 평가됨.
- 인삼식품 제조업 산업의 부가가치는 2000년 991억 원에서 2005년 1,410억 원, 2008년 2,370억 원으로 연평균 11.5%로 빠른 성장세를 보이고 있음.
- 인삼식품제조업은 국산 원료 비중이 매우 높지만 부가가치율이 제고되는 것은 소비자의 건강에 대한 관심 증대와 신뢰할 수 있는 다양한 제품의 출시로 판단됨.



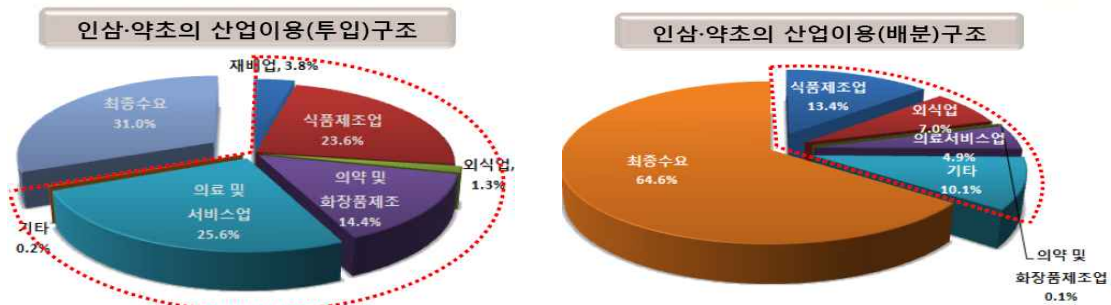
자료: 식약청, 「식품 및 식품첨가물 생산실적」, 통계청(www.kosis.kr). 각 연도. 「광업·제조업 조사」

## (2) 인삼제품의 유형별 동향

- 인삼식품은 농축액, 분말, 성분함유제품으로 구분되며, 성분함유제품이 전체의 70% 이상을 차지함
- 농축액과 성분함유제품은 빠르게 증가하는 반면, 분말 제품은 오히려 감소하는 경향임

## (3) 인삼제품의 산업간 연관구조

- 인삼·약초는 식품가공용과 의료용으로 이용되고 있으며, 69%가 산업의 중간 재료로 이용되고, 31%는 최종소비재로 이용된다.
- 인삼식품 등의 식품제조업, 의약품제조업, 의료서비스업에서 중간재료로 이용되는데, 각 업종의 이용비율은 34.3%, 20.8%, 37.2% 등이다.
- 인삼가공식품의 최종 수요로 64.6%가 이용되며, 타 산업의 중간재로 354.4%가 이용된다. 인삼 식품의 중간재 수요가 식품제조업의 2·3차 가공에 37.7%, 외식업에 19.7%가 이용되어 주로 식품산업에 집중되어 있다.



자료: 한국은행, 「2007 산업연관표」

## (4) 인삼식품제조업과 타 식품제조업간 산업연관계수비교

- 인삼식품제조업은 부가가치율이 높고 농업과의 연관성이 큰 산업이다. 인삼식품제조업은 부가가치유발계수 91.3, 재배업에 대한 영향력계수 1.08, 생산유발계수 2.13 등으로 타 식품 제조업에 비해 높다. 이는 인삼 가공업이 부가가치를 제고하고 후방산업인 농업은 물론, 전방산업인 타 제조업이나 서비스업에 대한 연관성도 높다.

	인삼식품제조업	식품제조업	재배업
부가가치 유발계수	91.3	75.4	33.2
영향력 계수	1.08	1.07	0.64
생산유발계수	2.13	2.09	1.26

자료: 한국은행, 「2007 산업연관표」

## 바. 국외 기술동향 수준

### (1) 연도별 세계 건강식품 시장현황



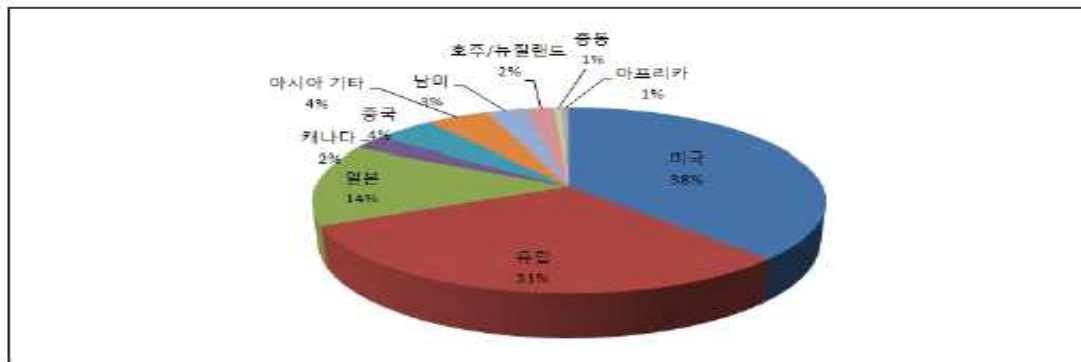
◎ 해외시장

- 세계 기능성식품 시장동향은 통계기관별로 다소 차이가 있으나 NBJ(Nutrition Business Journal, 2010)의 보고에 따르면 2000년 1,435억불 규모였던 세계 기능성식품시장은 높은 성장률로 2008년 2,697억불 시장규모를 차지하였다. 세계 기능성식품 시장은 지속적 성장으로 2014년도에는 3,973억불 시장을 형성 할 것으로 전망된다.



자료: NBJ(Nutrition Business Journal), 2010

**2010년 국가별 기능성식품 시장현황 (전체 2,697억불 규모)**



자료: NBJ(Nutrition Business Journal), 2010

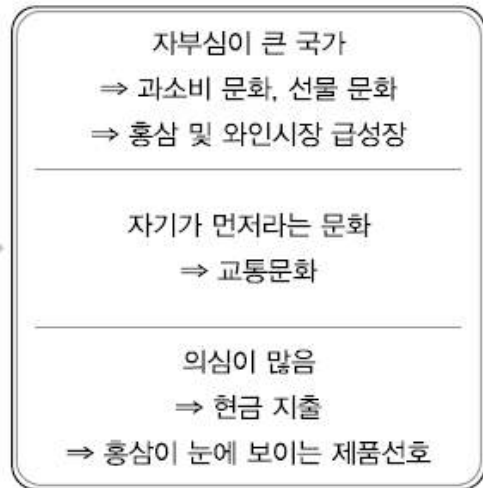
- 최근 미국 소비자들의 식품 소비 경향의 변화와 인구의 고령화가 지속되면서 사회에서 소아비만, 성인병에 대한 경각심이 부각되고 있다. 그에 따라 소비자들은 예방차원으로 비타민/미네랄 및 영양제 등에 관심이 높아지고 있으며 미국 건강기능 식품 시장은 장기적으로 성장 가능성이 높을 것으로 기대

- 베트남 홍삼 시장

- 식생활 및 경제여건의 발달로 식품의 일차적 기능인 영양과 이차적 기능인 맛과 조직감에 대해 식품을 1, 2차적인 단순한 기능을 넘어서 생체조절기능에 대한 관심이 집중 되고 있다.
- 의료비 증가에 따른 국가 부담가중, 노령화 사회 진입, 소비자의 건강관심 고조, 식품산업계의 신제품 개발 방향 등을 고려할 때 건강기능식품의 수요는 지속적으로 증가될 것으로 전망되고 있다.



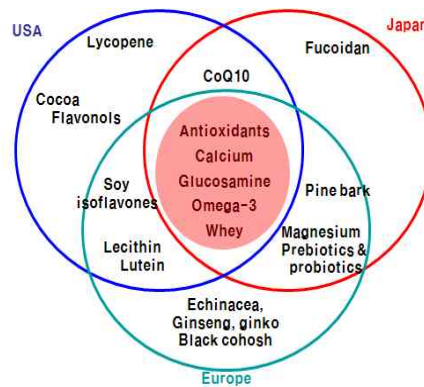
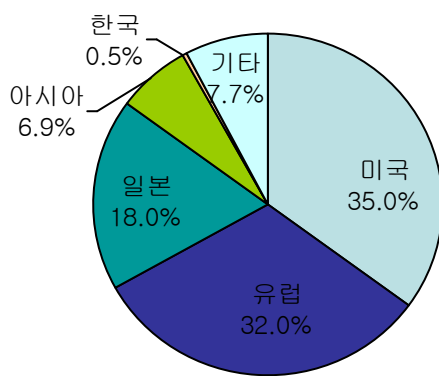
▶ 미국을 이긴 유일한 국가라는 자부심과 오랜 전쟁으로 인해 생존본능이 강해 의심이 강함



년도	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2007
시장규모(억달러)	650	1,090	1,280	1,380	1,501	2,023	3,771

출처: Nutrition Business Journal 2003 Food Technology USA, 2003

### (2) 각국의 건강식품시장의 국가별 비중 및 주요소재



자료: Nutrition Business Journal (2003), Innovation in Functional Food and Drinks Report (2005)

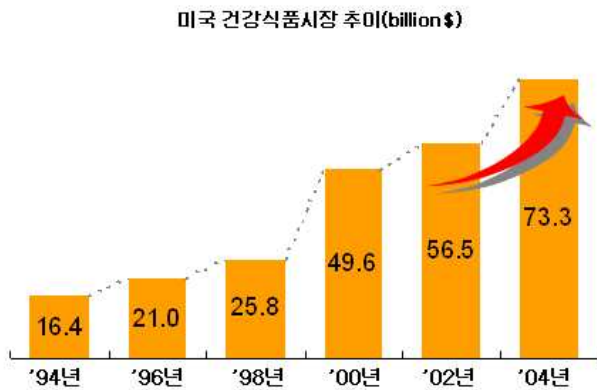
### (3) 세계 각국의 건강 기능 식품 시장의 특징

#### ■ 미국 건강기능식품 시장 현황

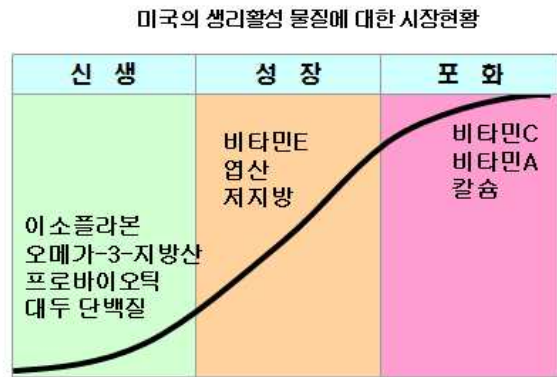
- 미국시장은 세계시장의 46%를 차지하고 있으며, 연평균 18% 이상의 성장이 예상된다.
- 미국은 영양표시 및 교육법(Nutrition Labeling and Education Act, 1991년), 건강보

조식품 및 교육법 (The Dietary Supplement Health and Education Act, 1994년)의 규제를 받는다.

- 정부관심 증가 : Baby Boomer의 Silver 세대 전환으로 관심고조
- 소비자 관심 증가 : Well-being (건강유지/미용), 자연식품 및 체질에 따른 식이요법

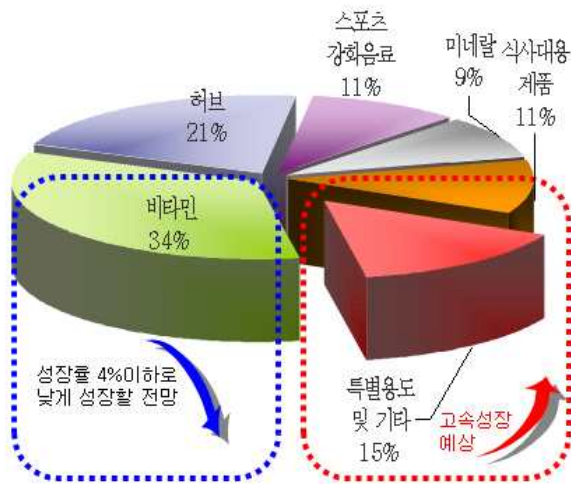


자료: 식품저널 (2004.01), 일간보사 (2005.4.8)



자료: 식물유래 기능성 소재의 탐구와 활용(2005.5)

### ■ 미국 건강기능식품의 주요 제품



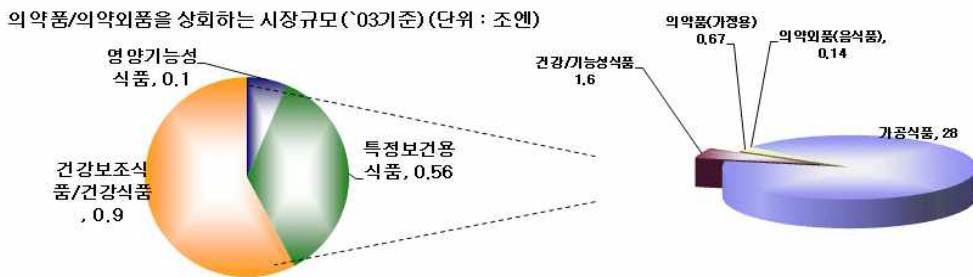
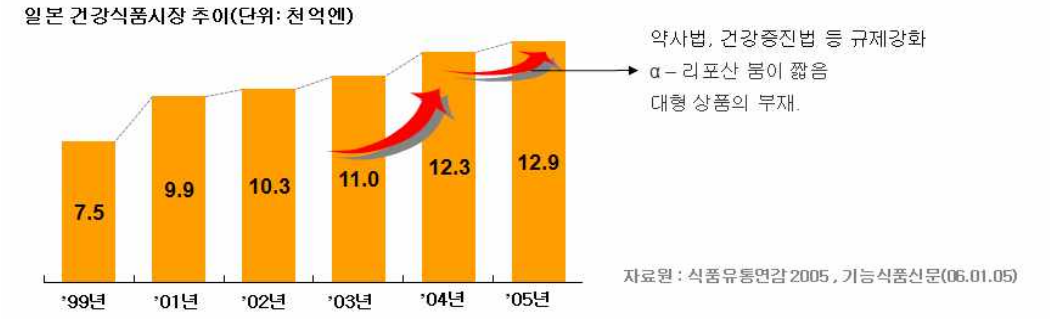
Product	1999'	2000'	2001'	2002'
Vitamin	5,900	5,970	6,020	6,140
Herb & Botanical	4,070	4,120	4,180	4,260
Sport nutrition	1,450	1,590	1,730	1,851
Mineral	1,290	1,350	1,390	1,460
Meal supplement	1,910	2,070	2,310	2,472
Specially/ Other	1,730	1,940	2,130	2,300
<b>Supplement Total</b>	<b>16,350</b>	<b>17,040</b>	<b>17,760</b>	<b>18,482</b>
Natural & Organic food	10,480	11,490	12,560	
Functional food	16,080	17,250	18,500	
Natural Personal care	3,590	3,820	4,120	
<b>Nutrition Industry Total</b>	<b>46,500</b>	<b>49,590</b>	<b>52,930</b>	<b>56,500</b>
<b>Annual Growth</b>	<b>8.3%</b>	<b>6.6%</b>	<b>6.7%</b>	<b>6.7%</b>

자료: 식물유래 기능성소재의 탐구와 활용 (2005. 05) 식품저널 (2004. 11), 식품음료(2004. 1.5)

### ■ 일본 건강기능식품 시장 현황

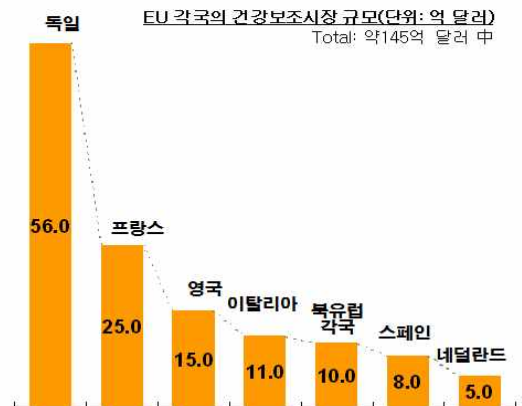
- 일본의 건강식품규모는 2010년 3조 2천엔으로 연평균 성장률 9%이상이 예상된다.

- 1인당 구매액은 153달러로 세계에서 가장 높은 수준이다.
- 총 특허수는 2, 256건을 보유하고 있으며, 미국 1,218건, 유럽 692건에 비해 압도적으로 많다 (2001년 기준).



### ■ 유럽의 건강기능식품의 분류 체계 및 시장 현황

- 2006년도 바이오식품에 대한 지출액은 2003년 대비 10% 가량 상승해 약 35억 유로에 달 했으며, 2006년도 1분기 성장률은 2005년 동기 대비 15%가 증가했다. 하지만, 식품 전체 매출액에서 차지하는 비중은 약 3%로 아직은 미미한 수준이다.
- 바이오 식품에 관심을 보이는 새로운 소비자그룹은 젊은 중산층들로 바이오 식품은 가격이 상대적으로 높음에도 불구하고 그 수요가 크게 늘고 있다.

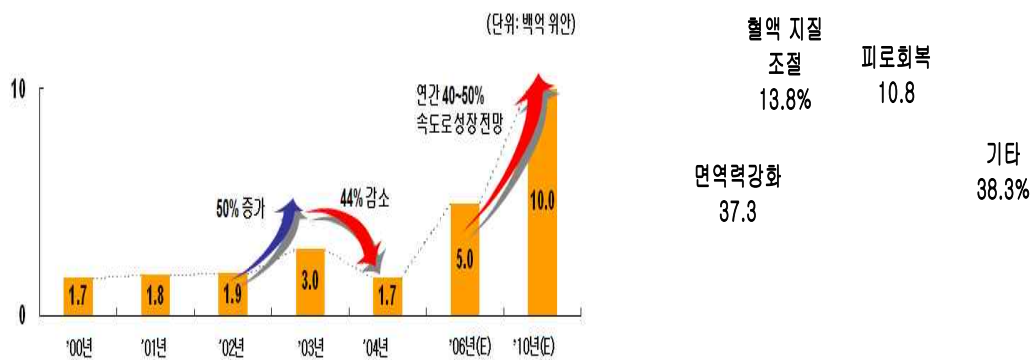


- 특수기능(special functionality)
- 천연적 식품의 건강효과
- '일반식품 성분' 과 '의약품 성분' 의 경계(board)
- Novel Foods
- 특별식품을 위한 식품성분

자료: 식품저널 (2006. 01)

## ■ 중국의 건강기능식품 시장 현황

- 기능성 식품의 생산 현황 : 현재 중국의 보건식품 생산기업은 3,000여 업체이며, 2/3이상은 중소기업이다.
- 천연원료 사용이 광범위 (전통 양생이론을 상품설계)하고, 기술력이 낮다 (신기능 보건식품 개발능력 부족)
- 주요 생산제품 : 면역력 강화, 혈액지질 조절, 피로회복제품의 판매수익은 총 건강보조식품판매수익의 41.4%을 차지한다.



자료: 농수산물유통공사(2006. 01)

## (4) 국외 인삼 식품시장 현황

### (가) 세계 인삼제품 생산 현황

- 프랑스는 해외에서 수입한 인삼 원료 외에도 지난 '91년부터 피카르디(프랑스 북부)지방에서 재배하는 인삼(연간 5톤 정도)을 사용해 크림, 샴푸, 젤리형 등 영양제를 제조하고 있다. 나머지는 제약회사에서 강장제 등 갱년기 현상 방지 보약을 캡슐이나 분말 형태로 제조, 판매하고 있는 것으로 알려졌다.
- 프랑스 225개의 의약품 제조업체들 가운데 Arkopharma(22.3%), Phycience(8.6%), Oenobiol(7.7%) 등 3개 사가 인삼을 원료로 한의약품(주로 영양제 및 강장제) 시장의 약 40%를 차지하고 있고 Plantes et Medecines(4.4%), Les Laboratoires Richelet(4.1%) 및 Boiron(3.9%) 등 3개 사가 인삼시장의 12.4%를 차지하고 있어 상기한 6개사의 동시장 점유율은 52%인 셈이다.
- 독일, 스위스에서는 인삼을 비타민, 미네랄, 다른 생약제들과 복합 제조하여 새로운 제품을 만들어 상품화하였다.
- 스위스의 파마톤 회사는 인삼 추출물 G115을 만들었는데 G115는 일정량의 ginsenoside 15종을 모아 40mg를 표준화하여 만든 것으로 매년 20~30억 달러의 매출을 기록하고 있으며, 인삼 전체 시장의 15%를 차지하고 있다.
- 미국의 Chromadex사는 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd, Re, Rg<sub>1</sub>를 표준물질로 생산하여 판매하고

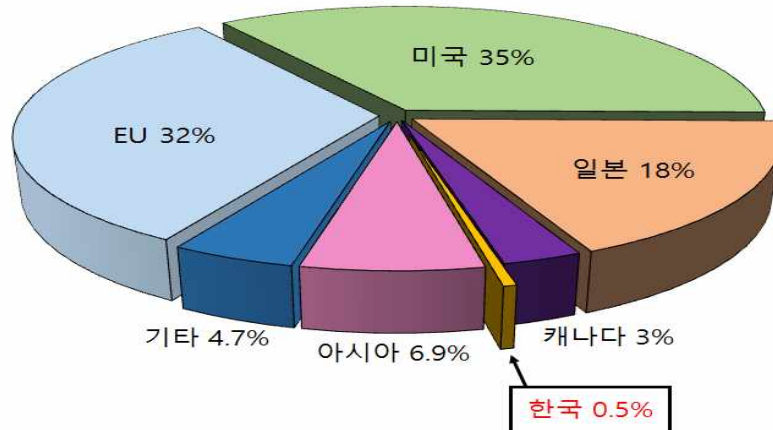


있다.

- 중국의 Hong-Ju Ginseng Co. Ltd. 에서는 순도 95%이상의 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rc, Rd, Re, Rf, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>, Rh, F11의 표준물질을 판매하고 있다.

### (나) 세계 인삼산업의 현황

- 인삼을 상업적으로 재배 생산하는 나라는 한국을 비롯한 중국, 일본, 미국, 캐나다, 유럽 일부지역이다.



- 수삼의 생산량은 중국, 한국, 그리고 북미 순으로 많이 생산한다.
- 전체 생산량은 약 4만톤 정도이며 1980년대 말까지 전 세계 인삼 생산량의 46%를 유지 하던 우리나라는 1990년대 30% 내외로 감소하였고, 중국은 1990년대 세계 인삼 생산량의 50 %로 증가하였다.
- 미국과 캐나다의 화기삼은 세계 인삼의 10% 내외를 차지한다.

## 건강기능식품 개별인정형 원료별 생산실적





## 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

### 제 1 절 연구수행방법

#### 1. 구증구포 흑삼 제조와 HPLC 분석조건 확립

##### 가. 구증구포 흑삼의 제조

4 년근 수삼을 그늘에서 약간 수분을 건조시킨 후 100℃에서 10시간 증숙한 후, 60℃ 오븐에서 8시간 건조 후 80℃에서 6시간 증숙 후 건조하는 과정을 8회 반복하여 흑삼을 제조하였다.

##### 나. 인삼 사포닌 분석

사포닌 함량 측정은 HPLC (SPD 20A, SIMADZU, Japan)를 이용하였다 (1). 컬럼은 ACE 5 C<sub>18</sub> (250×0.4 mm, 5 μm)을 이용하였으며, 검출기는 UV detector (203 nm)를 사용하였다. 이동상은 물 (A)과 acetonitrile (B)의 gradient system을 사용하였다. 용출조건은 B를 기준으로 0-30분 20%, 30-60분 20-45%, 60-78분 45-75%, 78-80분 75-80%, 80-100분 80-100% 이었다. 이동상의 유속은 1 mL/min 이었으며, 시료는 10 μL를 주입하였다. 11종의 ginsenoside standards (Rg<sub>1</sub>, Re, Rf, Rg<sub>2</sub>, Rb<sub>1</sub>, Rc, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rd, 20(S)-Rg<sub>3</sub>, 20(R)-Rg<sub>3</sub>)는 98% 이상의 순도는 갖는 것으로 Hongjiu Biotech Co. Ltd (Jilin, China)에서 구입하였다.

#### 2. 새로운 흑삼제조 기술 탐색

##### 가. 과일Juice 침지방법을 이용한 흑삼의 제조

백삼을 유기산이 많이 함유되어 있는 과일주스-사과, 포도, 파인애플 주스에 24시간 침지시킨 후 60℃에서 24시간 건조시킨 후 98℃에서 3시간씩 증숙-건조 과정을 반복하여 흑삼을 제조하였다.

##### 나. 추출 조건에 따른 사포닌 함량 비교

흑삼 사포닌의 추출효율을 알아보기 위하여 에탄올비율과 추출방법인 Soxhlet 추출과 초음파 추출방법을 비교하였다. 추출용매는 증류수, 70% 에탄올, 100% 에탄올을 사용하였고, soxhlet추출은 75-80℃에서 3, 6시간 추출하였다. 초음파추출은 1.5 시간, 3시간 동안 추출하여 추출효율을 비교하였다.

##### 다. 증숙온도 및 증숙시간에 따른 흑삼의 사포닌 함량 변화

과일 주스 중 가장 사포닌 함량 효율을 높인 과일주스에 24시간 침지시킨 후 증숙 온

도를 80, 100, 120℃, 증속시간을 15분, 30분, 45분으로 나누어 흑삼을 제조하여 지표 사포닌 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량을 비교하였다.

## 라. 흑삼의 제조공정 개선

흑삼 제조공정 개선시험은 종래의 흑삼제조 문제점과 개선책을 검토하여 흑삼제조방법에 대한 제조수율, 품질 및 향미 등 문제점을 먼저 조사하고 개선방안으로 홍삼을 제조 후 온도별 증속조건으로 흑삼을 제조하여 품질을 비교하였다. 원료수삼을 증속하여 홍삼을 제조한 다음 가압솥 (auto clamp)에서 압력을 가하지 않고 온도별로 증속시켜 제조하였으며, 이때 제조 조건 별 증속온도는 60℃, 70℃, 80℃, 90℃ 및 98℃에서 Chart 1과 같은 조건으로 흑삼을 제조하였다. 제조된 홍삼 및 흑삼은 115 메쉬 미세분말로 균일하게 분쇄하여 60℃ 가열 열풍건조기에서 중량변화가 없을 때 까지 균일하게 건조시켜 홍삼 및 흑삼 분석용 시료로 활용하였다.

Chart 1. 증속 온도별 흑삼제조 시험조건

흑삼 제조공정의 증속온도	홍삼 및 흑삼 제조공정의 증속시간 및 건조시간	흑삼 제조 후 색도 및 품질 비교
홍삼 (대조구)	증삼솥 (auto clamp)에 넣고 서서히 온도를 30분 간 올려 98 ± 1℃에서 2시간 증삼 65℃ 건조	홍삼 고유의 홍갈색을 유지하고 홍삼 특이 조직과 구수한 향미를 유지
흑삼 60℃ 제조구	홍삼 제조 후 60 ± 1℃에서 6일간 연속 증속 후 65℃에서 건조	갈색화반응 추가 촉진은 미약하고 진한홍갈색을 유지 감미는 홍삼과 유사
흑삼 70℃ 제조구	홍삼 제조 후 70 ± 1℃에서 3일간 연속 증속 후 65℃에서 건조	흑삼 60℃ 제조구 대비 홍갈색이 다소 촉진되었으나 감미는 홍삼과 유사
흑삼 80℃ 제조구	홍삼 제조 후 80 ± 1℃에서 24, 16 및 16시간 증속과 65℃에서 건조병행	흑색과 홍삼특이 갈색이 조화되어 색택이 양호하고 홍삼과 흑삼의 조화된 감미
흑삼 90℃ 제조구	홍삼 제조 후 90 ± 1℃에서 24, 16 및 16시간 증속과 65℃에서 건조	흑색은 현저하게 촉진되었으나 속이 절단시에 부서지는 현상이 심하고 쓴맛과 신맛이 강함
흑삼 90℃ 제조구	홍삼 제조 후 98 ± 1℃에서 총 8회 증속과 65℃ 건조병행 종래의 방법으로 제조	흑색은 현저하게 촉진되었으나 속이 절단시 부서지는 형상이 매우심하고 쓴맛과 신맛의 강도가 매우 강하였음

### (1) 분석방법

#### (가) 흑삼 제조공정의 중량감소 및 엑스 수율 조사

홍삼 및 증속 온도별로 Chart 1과 같은 방법으로 흑삼을 각각 제조한 다음 원료용 홍삼 대비 최종적으로 제조된 각 처리구 흑삼의 중량감소 비율을 %로 표기하였으며, 이때 증삼 처

리온도별로 제조된 흑삼은 65 °C에서 무게변화가 없을 때 까지 약 48시간씩 각각 건조하여 감소된 중량을 조사하였다. 한편 50% ethyl alcohol에 추출된 엑스 수율은 원료홍삼 및 흑삼의 분쇄된 시료에 50% ethyl alcohol을 1차 30배 (V/W) 및 2차 (V/W)를 가하여 실온에서 100rpm으로 진탕시켜 여과한 다음 감압·농축하여 건조엑스 수율을 각각 조사하였다.

## (2) 흑삼의 색도, pH 및 갈색도 조사

(가) 흑삼 온도별 제조시료를 115메쉬 분말시료로 균일하게 분쇄 후 color difference meter (D-25-2-A, Sensor Hunter Lab., USA)를 이용하여 측정하였으며, 이때 L value (white color), a value (red color) 및 b value (yellow color)을 각각 조사하였다.

(나) 분쇄된 시료 1.0g 에 증류수 50 ml을 가하여 초음파 추출기로 30분간 추출한 다음 pH meter (Orion 2 star pH Benchtop, Thermo Electron Co., USA)로 측정하였다.

(다) 분쇄된 시료 2.0 g에 50% ethyl alcohol 100 ml을 가하여 실온에서 100 rpm으로 24 시간 진탕한 다음 여과하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## (3) 인삼 사포닌성분 분석

분쇄된 시료 1g을 정확하게 취하여 50% methyl alcohol로 추출 농축하여 검액을 제조한 다음 HPLC에 Discovery C18 column(4.6 x 250mm, 5um)과 UV-detector(203 nm)을 연결하고 이동상은 water/acetonitrile(80 : 20 → 0 : 100, V/V)을 이용하여 60분간 분석하였다. 분석과정에서 정량용 표준성분은 Ginsenoside 표준성분은 KGC 표준품을 이용하였다.

## (4) 말톨 함량 분석

분쇄된 시료를 methayl alcohol로 추출 후 감압농축하고 물에 용해시켜 ethyl acetate층을 분배시켜 농축한 다음 검액을 조제하여 HPLC로 분석하였다. HPLC 분석조건은 Discovery C18 column(4.6 x 250 mm, 5 um)을 40 °C로 유지시키고 UV-detector(274 nm)에 0.5% 초산을 첨가시킨 50% acetonitrile/2% acetic acid(100 : 0 → 70 : 30, V/V) 이동상을 이용하여 50분간 분석하였다.

## 3. 흑삼의 독성 안전성 평가

### 가. 실험 동물 및 처치

수컷 Sprague-Dawley rat(8주령)을 대한 바이오링크에서 구입하여 온도 23±2°C, 습도 55±5°C, 12시간 dark/light cycle 조건의 사육실에서 일주일간 적응시켰다. 물과 사료섭취는 제한하지 않고 공급하였다. 흑삼추출물 단회투여 농도는 18시간 금식 후 각각 5, 10, 15 g/kg bw 용량으로 10 mL/kg volume 으로 경구투여 하였다. 대조군은 동량의 생리식염수를 경구투여하였다. 투여 10시간동안 실험동물의 독성작용을 관찰하였

다. 2주간동안 흑삼단회 투여의 독성효과를 관찰하고, 매주 실험동물의 체중을 기록하였다. 실험 마지막날 12시간 이상 금식시킨 후 혈액, 간, 신장, 비장, 심장, 고환, 폐를 적출하여 무게를 측정하고, 간과 신장 조직은 10% formaldehy 용액에 고정하여 HE 염색을 실시하였다. 실험과 관련된 동물 사육은 미국 국립보건원 (NIH, National Institutes of Health)에서 제시한 기준 (No. 85-23, revised 1985)을 준수하였고, 충남대학교동물 실험 윤리위원회의 승인 하에 수행되었다.

#### 나. Hematological, biochemical analyses

일부 혈액은 EDTA가 처리된 채혈관에 담아 혈액분석기 (Sysmex XE 2100, Japan)로 RBC, WBC, 헤마토크리트치, MCV (mean corpuscular volume), MCH (mean corpuscular hemoglobin), 혈소판, 백혈구 조성을 측정하였다. EDTA를 처리하지 않고 채혈한 혈액은 3000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 혈청을 분리하였다. 분리혈청은 GOT, GPT, creatinine, BUN, cholesterol, Glucose, Bilirubin, Protein, Na, K, Cl의 농도를 측정하였다.

#### 다. 뇨 검사

실험종료 2일 전부터 실험동물의 뇨를 수거하여 3000 rpm에서 원심분리하여 이물질을 제거한 후 뇨중 적혈구, 질소, glucose, ketone, bilirubin, blood를 분석하였다.

#### 라. 간, 신장의 조직검사

Formaldehyde용액에 고정한 간과 신장 조직은 탈수과정을 거쳐 파라핀으로 고정시킨 후 5 uM로 절단한 후 slide glass에 고정하여 올려놓은 후 Hematoxyline-Eosin염색을 실시하였다.

### 4. 흑삼 추출물의 *in vitro* 방법에 의한 콜레스테롤 저하 효능평가

#### 가. Cell culture

Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에 10% heat-inactivated fetal bovine serum과 100 µg/ml streptomycin and 100 U/ml penicillin을 넣은 후 routine 배지로 사용함. BV2 microglia cell과 RAW264.7cell은 100mm plate에 10ml의 배지와 함께 5% CO<sub>2</sub>가 있는 37°C 인큐베이터에서 배양한다.

#### 나. Nitric oxide production assay (NO assay) and Cell viability assay (MTT assay)

RAW264.7 cell ( $5 \times 10^4$ )과 BV2 microglia ( $1 \times 10^4$ )을 24well plate에 배양함. 24시간 후 홍삼엑스, 현행흑삼엑스, 저온흑삼엑스를 각각 처리한 후 30분 뒤 LPS를 처리함. 18시간 배양 후 상층액 100µl를 96well plate에 옮겨옴. Griess reagent A와 B를 동량 섞어 준 뒤 100µl씩 상층액과 반응시키고, 5분 뒤 ELISA reader 540nm에서 측정. 남아있는 세포와

세포배양액에 3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reagent (5mg/ml)를 90 $\mu$ l 넣은 후 배양 (최종농도 0.5mg/ml). 4시간 후 violet formazan을 제외한 상층액을 제거한 뒤 DMSO 500 $\mu$ l로 formazan 녹이고 560nm에서 측정한다.

#### 다. RNA extraction and RT-PCR

6well plate에 BV2 microglia를 3X10<sup>5</sup> 넣어 배양. 24시간 뒤 세포가 80%정도 찼을 때 홍삼엑스, 현행흑삼엑스, 저온흑삼엑스를 처리한 뒤 30분 후 LPS 처리. 18시간 뒤 RNA추출 시작. 배양된 BV2 microglia를 cool PBS로 두 번 washing한 뒤 TRIZOL solution 1ml 넣어 세포를 모아 e-tube로 옮겨 아이스에 방치함. 여기에 chloroform 200 $\mu$ l를 처리 한 뒤 강하게 vortexing 20초, 실온방치 10분 후 원심분리 12000rpm/10min/4 $^{\circ}$ C. 맑은 상층액을 조심스럽게 300 $\mu$ l 덜어내 새로운 e-tube에 옮긴 뒤 isopropanol 300 $\mu$ l 넣고 약하게 vortexing 10초, 실온방치 5분 후 원심분리 12000rpm/8min/4 $^{\circ}$ C. RNA pellet을 확인 한 뒤 조심스럽게 isopropanol을 제거하고 70% EtOH을 900 $\mu$ l 넣은 뒤 원심분리 7500rpm/5min/4 $^{\circ}$ C. pellet을 말린 뒤 DEPC-DW 100 $\mu$ l로 pellet 녹이고 정량. 2 $\mu$ g을 계산한 뒤 polydT를 이용하여 cDNA 합성 후 각각의 primer를 이용하여 RT-PCR을 진행한다.

#### 라. western blotting

6 well plate에 BV2 microglia를 3X10<sup>5</sup> 넣어 배양. 24시간 뒤 세포가 80%정도 찼을 때 홍삼엑스, 현행흑삼엑스, 저온흑삼엑스를 처리한 뒤 30분 후 LPS처리. iNOS의 발현을 확인하기 위해 24시간 뒤에 또는, MAPKs의 발현을 확인하기 위해 15min, 30min 60min의 time course로 단백질 추출. pro-measure solution을 이용하여 단백질 정량 후 40 $\mu$ g을 계산하여 SDS-PAGE (10%) gel에 loading, 85V로 running, polyvinylidene fluoride (PVDF)에 transferring함. membrane을 5% skim milk에 blocking한 뒤 washing후 1차 항체 18시간, 2차 항체와 2시간 반응시킴. 암실에서 chemiluminescence (ECL)을 이용하여 현상함.  $\beta$ -actin을 control로 사용한다.

#### 마. Prostaglandin E2 assay

Cayman Prostaglandin E2 assay kit를 이용함. BV2 microglia를 24well에 1X10<sup>4</sup>로 배양. 24시간 뒤 홍삼엑스, 현행흑삼엑스, 저온흑삼엑스를 처리한 뒤 30분 후 LPS 처리. 24시간 배양 뒤 assay 시작. 50ml tube에 EIA buffer 만든 뒤 protocol에 따라 standard curve 준비. 24well plate에서 상층액을 900 $\mu$ l 덜어 e-tube에 넣고 얼음에 방치. ELISA plate에 standard 와 sample을 50ul씩 넣고 tracer를 50 $\mu$ l넣은 뒤 anti-serum 50 $\mu$ l로 반응시킴. 투명한 필름으로 덮은 뒤 4 $^{\circ}$ C에서 18시간 반응 후 washing buffer로 washing 5번. Ellman's reagent를 200 $\mu$ l 넣은 뒤 은박지로 싸서 shaker위에서 60분간 반응 후 ELISA

reader 420nm에서 측정한다.

#### 바. luciferase assay

transfection 하루 전 BV2 microglia를 penicillin/streptomycin이 빠진 DMEM을 사용하여 60mm plate에서 배양. 다음 날 e-tube를 6개 준비하여 3개는 500 $\mu$ l DMEM과 lipofectamin 2000 20 $\mu$ l, 나머지 3개는 500 $\mu$ l DMEM과 NF-kB plasmid 2 $\mu$ g, TK renilla 0.83 $\mu$ g을 넣은 뒤 실온에서 5분간 방치. 5분 후 두개의 e-tube를 섞은 뒤 가볍게 섞어주고 실온에 방치함. 20분 후 60mm plate에 한방울 씩 떨어뜨리고 6시간 배양 뒤 penicillin/streptomycin이 포함된 DMEM으로 바꿔줌. 다음 날 60mm plate의 cell을 24well에 옮긴 후 계속 배양. 24시간 후 세포가 가득 찼을 때 홍삼엑스, 현형흑삼엑스, 저온흑삼엑스를 처리한 뒤 30분 후 LPS 처리 후 배양함. 6시간 후 24well plate의 각 well을 cool PBS로 washing한 뒤 1X Passive lysis buffer 100 $\mu$ l 넣은 뒤 shaker위에 10분 방치. pipet 이용하여 세포 모은 뒤 e-tube에 담고 원심분리 12000rpm/5min/4 $^{\circ}$ C. 상층액 80 $\mu$ l 덜어 새로운 tube에 옮긴 뒤 ice에 방치하고 luminometer이용하여 측정한다 (promega의 protocol이용).

### 5. 흑삼 추출물의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 효능평가

#### 가. 고콜레스테롤혈증 흰쥐 모델동물 실험설계

본 실험을 위하여 사용된 8주령 수컷 SD 흰쥐 실험동물은 대한바이오링크(주)에서 분양받아 1주 이상 적응시킨 후 실험에 사용하며, 실험당일까지 고탄사료(조단백질 22.1%이상, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.4%이상, 삼양사 Co. Korea)와 물을 충분히 공급하고 실온 24 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C를 계속 유지하고 1주일간 실험실 환경에 순화시킨 후 실험에 사용한다.

#### 나. 시험물질 조제 및 투여

실험군인 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물(200 mg/kg/day)은 0.5% CMC에 녹여 매일 오전 10시~11시에 rat zonda를 이용하여 각각 2 ml씩 나누어 경구투여한다. 양성대조군으로 Lovastatin (200 mg/kg/day)을 경구투여한다.

#### 다. SD 흰쥐를 이용한 고콜레스테롤혈증 유발 동물모델

(1) 수컷 SD 흰쥐를 대한바이오링크 (대한민국)로부터 수입하여 사용한다. 분양 받은 실험동물은 2주간 표준식이(AIN-76A diet)와 물을 자유롭게 공급하면서 실험실 환경에 적응시킨 후, 건강상태가 양호한 9 주령의 SD 흰쥐를 동물 사육실의 환경은 항온(24 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C), 항습(50 $\pm$ 5%) 및 12시간 간격의 광주기(light on 07:00 ~ 19:00)로 명암으로 조절되는 SPF 환경에서 유지 실험에 사용한다. 실험동물은 8 마리씩 분리하여 사육하였으며, 식이와 식수는 자유롭게 섭취하도록 한다.



(2) 고콜레스테롤혈증 흰쥐모델 제작, 식이섭취, 그리고 혈액생화학 검사

SD 흰쥐를 2주간 표준식이(AIN-76A diet)로 적응시킨 후 9주령부터 고콜레스테롤식이 (표준식이에 콜레스테롤 1.5%, 비타민D2 1.25 million IU/kg, cholic acid 0.5% 첨가)를 일정기간 투여하고 7시간 절식 후 꼬리 정맥에서 채혈하여 혈중 콜레스테롤 농도가 > 1,200 mg/dl가 되면 고콜레스테롤혈증이 유발되었음을 확인한 후 각 실험군을 8마리씩 분리한다. 식이섭취량 및 체중은 매주 일정한 시간에 측정하여 기록하였으며, 30일간 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물(200 mg/kg/day)과 Lovastatin (200 mg/kg/day)을 경구투여하고 ethyl ether로 마취하여 심장천좌법으로 채혈한 후 30분 이내에 3,000 rpm, 4 °C에서 15분간 원심분리하여 혈청(serum)을 분리하여 -70 °C에 보관한다가 혈액생화학적 검사를 실시한다.

(3) 부검 및 detection 계획

사육이 끝난 실험동물은 희생 전 3시간 동안 절식시킨 후 혈액을 채취하여 동일한 방법으로 처리하였고, 각 실험동물의 장기조직(간, 지방조직)은 혈액 채취 후 즉시 적출하여 칭량 후, RNA 실험용은 RNA 안정액 (RNAsol<sup>B</sup>)에 보관하여 일주일 안에 RNA를 뽑고, 나머지 부분은 액체질소로 급냉시켜 -70 °C 냉동고에 보관한다.

(4) 고콜레스테롤혈증 유발 흰쥐의 체중 및 식이섭취량

SD 흰쥐를 2주간 표준식이(AIN-76A diet)로 적응시킨 후 9주령부터 고콜레스테롤식이 (표준식이에 콜레스테롤 1.5%, 비타민D2 1.25 million IU/kg, cholic acid 0.5% 첨가)를 일정기간 투여하고 7시간 절식 후 꼬리 정맥에서 채혈하여 혈중 콜레스테롤 농도가 > 1,200 mg/dl가 되면 고콜레스테롤혈증이 유발되었음을 확인한 후 30일간 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물(200 mg/kg/day)과 Lovastatin (200 mg/kg/day)을 경구 투여한다. 식이섭취량 및 체중은 매주 일정한 시간에 측정하여 기록함.

(가) 체중 (body weight)

- ① 체중변화 : 매주 수요일 9 시에 측정/기록
- ② 총 체중 증가량 : Final body wt - initial body wt
- ③ 1 일 평균 체중 증가량 = Total body wt gain / days

(나) 식이섭취량 (food intake)

- ① 1 일 평균 식이 섭취량 - Total food intake / days

(다) 식이효율 (food efficiency ratio, FER)

- ① FER = [Total weight gain / Total food intake ] x 100

(라) 고콜레스테롤혈증 유발 흰쥐의 지방조직 중량 측정

BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물(200 mg/kg/day)을 30일간 투여 후 각 실험동물을 피하지방 (subcutaneous adipocytes)과 복부지방량 (visceral adipocytes)으로 구분하여 적출 후 지방조직의 중량을 산출한다.

(마) 고콜레스테롤혈증 유발 흰쥐의 혈청/혈장중 지질생화학적 분석

BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물(200 mg/kg/day을 30일간 투여 후 각 실험동물로부터 분리한 혈장 (plasma)에서 간 기능의 지표인 ALT 및 AST를, 혈장 및 간의 지질함량의 지표인 총콜레스테롤, HDL (High-density lipoprotein), 중성지방(triglyceride), 혈당, 아포지 단백 (apo B-48, apo B-100, apo E), LCAT, 그리고 Lipoprotein Lipase의 함량을 생화학자동 분석기 (Hitachi-720, Hitachi Medical, Japan)를 이용하여 측정한다. LDL-콜레스테롤 및 동맥경화지수(Atherogenic index, AI)를 산출한다. LDL-콜레스테롤 = 총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 + 중성지방/5), 그리고 동맥경화지수 (AI) = (총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤 이다.

(바) 고콜레스테롤혈증 유발 흰쥐의 간조직/혈중 HMG-CoA Reductase, ACAT, CYP7A1 ELISA 분석

BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물(200 mg/kg/day을 30일간 투여 후 각 실험동물로부터 분리한 간조직에서 HMG-CoA Reductase를 Assay Kit (CS1090, Sigma)와, 혈중 ACAT (Acetyl-CoA Acetyltransferase 1 ELISA Kit, ABIN826870), 그리고 CYP7A1 (Cholesterol 7-Alpha-Hydroxylase, ABIN1114126)를 분석함.

(사) 고콜레스테롤혈증 효과에 의한 동물조직 유전자 발현 분석

BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물(200 mg/kg/day을 30일간 투여 후 각 실험동물로부터 적출한 간과 지방조직들의 유전자 발현 양상을 real-time PCR 증폭법을 사용하여 알아본다. 복부지방조직 (visceral adipose tissue) 및 간(liver)등 조직은 RNAsol<sup>B</sup> (Tel-Test) 용액을 사용하여 각 조직으로부터 RNA를 추출한 뒤 One-step SYBR Green PCR kit(AB science)를 사용하여 cDNA 및 real-time PCR 분석을 한다. 간과 지방조직에 RNAsol<sup>B</sup> 500  $\mu$ l를 넣고 homogenizer로 조직을 분쇄하여 여기에 chloroform (CHCl<sub>3</sub>) 50  $\mu$ l를 첨가한 후 15초간 다시 혼합한다. 이를 얼음에 15 분간 방치한 후 13,000 rpm에서 원심 분리한 후 약 200  $\mu$ l의 상층액을 회수하여 2-propanol 200  $\mu$ l와 동량 혼합 후 천천히 흔들고 얼음에서 15 분간 방치한다. 이를 다시 13,000 rpm에서 원심 분리한 후 80% EtOH로 수세하고 3분간 vaccum pump에서 건조하여 RNA를 추출한다. 추출한 RNA는 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 처리한 20  $\mu$ l의 증류수에 녹여 heating block 75 °C에서 불활성화 시킨 후 first strand cDNA 합성에 사용한다. 역전사 (reverse transcription) 반응은 준비된 total RNA 3  $\mu$ g 을 DNase I (10U/ $\mu$ l) 2U/tube를 37°C heating block에서 30분간 반응한 후 75°C에서 10분 동안 변성시키고, 이에 2.5  $\mu$ l 10 mM dNTPs mix, 1  $\mu$ l random sequence hexanucleotides (25 pmole/ 25  $\mu$ l), RNA inhibitor로서 1  $\mu$ l RNase inhibitor (20

U/ $\mu$ l), 1  $\mu$ l 100 mM DTT, 4.5  $\mu$ l 5 $\times$ RT buffer (250 mM Tris-HCl, pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>)를 가한 후, 1  $\mu$ l의 M-MLV RT (200 U/ $\mu$ l)를 다시 가하고 DEPC 처리된 증류수로서 최종 부피가 20  $\mu$ l가 되도록 한다. 이 20  $\mu$ l의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 2,000 rpm에서 5초간 원심침강하여 37°C heating block에서 45분 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한 다음, 95°C에서 5분 동안 방치하여 M-MLV RT를 불활성화 시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 polymerase chain reaction (PCR)에 사용한다. Real time quantitative PCR은 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR system (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 수행한다.

■ Table 1. Rat Probe & Oligonucleotide의 염기배열은 다음과 같다.

Gene		Primer sequence
Rat SREBP2 :	forward	5' -GCAAAGCCTCGTGACATCCT-3'
	reverse	5' -GCCATTGGCTGTCTGAGTCAA-3'
ACAT2	forward	5-CTATACTGCCAGGAGTGGTACGC-3
	reverse	5' -AGCTCCCAAAATGTCGGCT-3'
HMG-CoA reductase	forward	5'-ACATCCGTCTCCAGTCCAAAA-3'
	reverse	5'-CAGGTTTCTTGTCGGTGCAA-3'
GAPDH	forward	5'-CCAAGGTCATCCATGACAAC-3'
	reverse	5'-TGACAAAGTGGTCGTTGAGG-3'

유전자 발현은 TaqMan probe (FAM dye-labeled, ABi, USA)를, internal standard를 Mouse GAPDH probe set; Endogenous Control (VIC / MGB Probe, Probe limited) from Applied Biosystems (4352339E)를 사용였고, primer의 최종 농도가 200 nM이 되게 반응시켰다. Real time quantitative PCR의 조건은: pre-denaturation은 2 min at 50 °C, 10 min 94 °C, 그리고 40 cycles을 0.15 min at 95 °C, 1 min at 45 °C에서 수행한다. 실험군과 대조군은 internal standard로 G3PDH를 사용하여 target group의 Quantitative PCR

$$y = x(1+e)^n$$

x = starting quantity

y = yield

n = number of cycles

e = efficiency

로 계산하여 RQ (relative quantitative)을 측정한다.

#### (아) 병리조직학적분석

BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물(200 mg/kg/day을 30일간 투여 후 주요 장기들에 대한 조직병리학적 관찰을 수행하기 위해 간과 지방조직등을 절취하여 10% neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정 시킨 다음 graded alcohol로 탈수시키고 파라핀으로 포매하여 block을 제작한 다음 microtome으로 4  $\mu$ m 두께의 조직절편을 제작하여

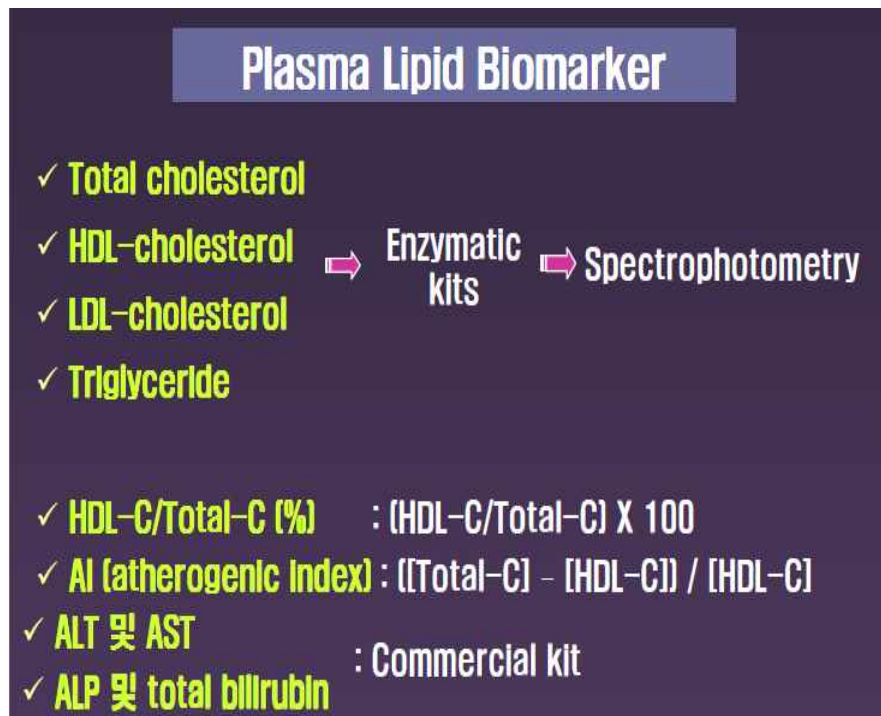
hematoxylin & eosin (H&E) 염색을 시행한 뒤 xylene clearing을 거쳐 permount로 처리한 후 광학현미경위에서 조직 또는 장기별 특이 병변의 유무를 관찰한다.

#### 라. 고콜레스테롤혈증 흰쥐모델의 지방조직 중량 측정

고콜레스테롤혈증 콜레스테롤개선 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물을 6주간 투여 후 각 실험동물을 피하지방 (abdominal subcutaneous fat), 부고환주변 복부지방량(epididymal adipose tissue), 그리고 신장부변 복부지방량(kidney adipose tissue)으로 구분하여 적출 후 지방조직의 중량을 산출하였다.

#### 마. 고콜레스테롤혈증 흰쥐모델의 혈장중 지질생화학적 분석

고콜레스테롤혈증 콜레스테롤개선 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물을 5주간 투여 후 각 실험동물로부터 분리한 혈장(plasma)에서 간 기능의 지표인 ALT 및 AST를, 혈장 및 간의 지질함량의 지표인 총콜레스테롤, HDL (High-density lipoprotein), 중성지방 (triglyceride), 혈당의 함량을 생화학자동 분석기 (Hitachi-720, Hitachi Medical, Japan) 를 이용하여 측정하였다.



#### 바. 병리조직학 분석

콜레스테롤개선 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물을 6주간 투여 후 주요 장기들에 대한 조직병리학적 관찰을 수행하기 위해 간과 지방조직등을 절취하여 10% neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정 시킨 다음 graded alcohol로 탈수시키고 파라핀으로 포매하여 block을 제작한 다음 microtome으로 4 μm 두께의 조직절편을 제작하여 hematoxylin

& eosin (H&E) 염색 및 오일-레드 O 염색을 시행한 뒤 xylene clearing을 거쳐 permount로 처리한 후 광학현미경위에서 조직 또는 장기별 특이 병변의 유무를 관찰하였다.

#### 사. 통계 처리

각 실험군 결과 값은 unpaired student's T-test 통계프로그램을 사용하여 통계 처리하였으며,  $p < 0.05$  이하의 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

### 6. 흑삼추출물 및 흑삼엑스 연구용 시료 제조

#### 가. 저온흑삼추출물 제조

금산인삼시장에서 4년근 수삼을 10월 초순에 구입하여 세척한 다음 세척하였다. 세척된 수삼을 60℃에서 24시간 건조하거나, 항온항습기에서 0, 30, 45, 90, 180 또는 300분간 60℃ 습열로 예열 처리하였다. 이후 전처리된 수삼을 98℃에서 7시간 증삼하고 60℃에서 건조하는 것을 9회 반복하였다. 최종 건조는 60℃에서 24시간 건조하여 흑삼을 제조하였다.

#### 나. 저온흑삼엑스 제조

상기와 같은 방법으로 제조된 흑삼을 원료로 하여 다음과 같은 방법으로 흑삼엑스를 각각 제조하였다.

##### (1) 저온흑삼 물엑스 제조

흑삼시료를 컷터를 이용하여 약 1 ~ 1.5cm로 절단한 다음 1차 증류수 10배량(V/W)을 가하고 환류냉각관을 연결하여 80℃ water bath에서 8시간 추출한 다음 2차 및 3차는 각각 7배량의 1차 증류수를 가하여 각각 8시간씩 추출하였다. 총 추출액을 여과포 및 여지(medium fast: chm F1001, CHMLAB GROUP in EEC)로 여과하고 그 여액을 60℃ water bath에서 감압농축하여 물추출엑스(수분: 34.45%)을 제조하여 효능시험용 시료로 사용하였다.

##### (2) 저온흑삼 알콜엑스 제조

흑삼시료를 컷터를 이용하여 약 1 ~ 1.5cm로 절단한 다음 50% 에탄올 10배량(V/W)을 가하고 환류냉각관을 연결하여 80℃ water bath에서 8시간 추출한 다음 2차 및 3차는 각각 7배량의 50% 에탄올을 가하여 각각 8시간씩 추출하였다. 총 추출액을 여과포 및 여지(medium fast: chm F1001, CHMLAB GROUP in EEC)로 여과하고 그 여액을 60℃ water bath에서 감압농축하여 알콜추출엑스(수분: 35.55%)을 제조하여 효능시험용 시료로 사용하였다.

### (3) 랩핑 및 밴딩에 의한 흑삼의 균열 억제효과 평가

랩핑 및 밴딩이 증삼 과정에서의 균열을 추가로 방지할 수 있는 지 확인 하고자 실험하였다. 세척된 수삼을 식품용 랩과 끈을 사용하여 랩핑 및 밴딩한 후 60℃에서 45분간 습열로 예열처리하고, 98℃에서 7시간 증삼 하였다. 비교를 위하여 세척된 수삼을 함께 98℃에서 7시간 증삼한 후 균열의 정도를 비교 하였다.

## 7. 흑삼 원재료를 이용한 헬스푸드 제조

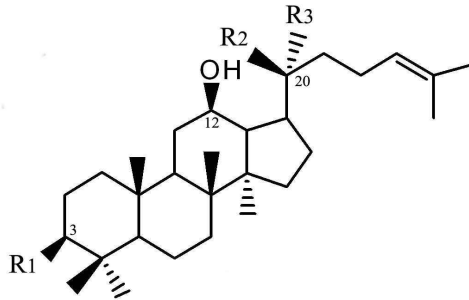
“Weache Black Ginseng” 헬스푸드 제품개발은 흑삼의 물추출물과 50% 에탄올 추출물을 주재료로 하여 흑삼정 엑스의 농도를 0.09%, 0.1%, 0.15%, 0.2% 첨가하여 관능평가를 수행하여 흑삼의 신맛, 쓴맛, 텁텁한맛 을 최소화시킬 수 있는 예비시험을 거친 다음 시제품(“Weache Black Ginseng”)을 제조 하였다.



## 제 2 절 연구 수행 결과

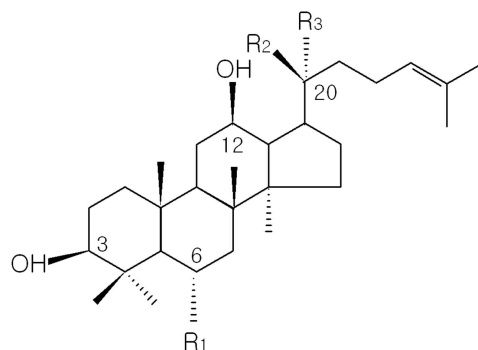
### 1. 인삼의 콜레스테롤 저하 개선 관련자료 수집 및 분석

#### 가. 주요 사포닌의 화학적 구조



Ginsenoside	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Ra <sub>1</sub>	-Oglc(2-1)glc	-Oglc(6-1)arap(4-1)x
Ra <sub>2</sub>	-Oglc(2-1)glc	-Oglc(6-1)araf(4-1)xy
Ra <sub>3</sub>	-Oglc(2-1)glc	-Oglc(6-1)glc(3-1)xy
Rb <sub>1</sub>	-Oglc(2-1)glc	-Oglc(6-1)glc
Rb <sub>2</sub>	-Oglc(2-1)glc	-Oglc(6-1)arap
Rb <sub>3</sub>	-Oglc(2-1)glc	-Oglc(2-1)xyl
Rc	-Oglc(2-1)glc	-Oglc(6-1)araf
Rd	-Oglc(2-1)glc	-Oglc
20(S)-Rg <sub>3</sub>	-Oglc(2-1)glc	-OH
20(R)-Rg <sub>3</sub>	-Oglc(2-1)glc	-CH <sub>3</sub>
Rh <sub>2</sub>	-Oglc(2-1)glc	-OH
Rs <sub>1</sub>	-Oglc(2-1)glc-ac	-Oglc(6-1)arap
Rs <sub>2</sub>	-Oglc(2-1)glc-ac	-Oglc(6-1)araf
F <sub>2</sub>	-Oglc	-Oglc

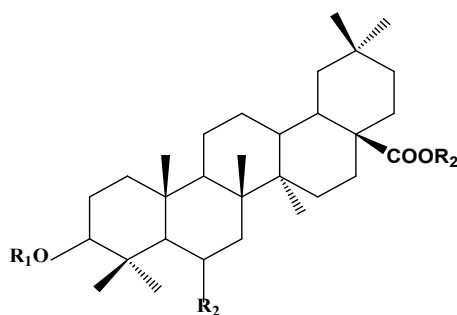
**Figure 1-1.** Chemical structures of protopanaxadiol (PPD) saponin. Glc, β-D-glucopyranosyl; Xyl, β-D-xylopyranosyl; Rha, α-L-rhamnopyranosyl; Arap, α-L-arabinopyranosyl; Araf: α-L-arabinofuranosyl; Ac, acetyl



Ginsenoside	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	MW
Rg <sub>1</sub>	-Oglc	-Oglc	-CH <sub>3</sub>	801.03
Re	-Oglc(2-1)rha	-Oglc	-CH <sub>3</sub>	947.17
Rf	-Oglc(2-1)glc	-OH	-CH <sub>3</sub>	801.03
Rg <sub>2</sub>	-Oglc(2-1)rha	-OH	-CH <sub>3</sub>	785.03
Rh <sub>1</sub>	-Oglc	-OH	-CH <sub>3</sub>	638.89
Notoginsenoside R <sub>1</sub>	-Oglc(2-1)xyl	-Oglc	-CH <sub>3</sub>	933
F <sub>1</sub>	-OH	-Oglc	-CH <sub>3</sub>	638.89

**Figure 1-2. Structures of protopanaxatriol (PPT) class.**

Glc,  $\beta$ -D-glucopyranosyl; Xyl,  $\beta$ -D-xylpyranosyl; Rha,  $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl.



## 나. 주요 인삼 사포닌의 약리학적 기능과 기전

Ginsenosides (Panaxadiol)	Effects	Experimental model	Mechanism
<b>Rb1</b>	CNS effect	PC12 Cells	Promoting neurotransmitter release by increasing the phosphorylation of synapsins through the PKA pathway
		Stressde mice	Lowering neurosteroid levels;
		Cortical neuron	Attenuating beta AP(25-35)-induced tau protein hyperphosphorylation by inhibiting the experssion of GSK-beta;
	Nootropic	Rat brain	Actions on the cholinergic&neurotrophic systems
	Immunomodulataion	Mice	Eliciting a balanced Th1 and Th2 immune response
	Neuroprotective	Hippocampal neurons	Possibly by scavenging free radicals;
	Hepatoprotective	Rat liver	Lower TG levels vis cAMP-production in liver Through its metabolite compound K;
	Estrogenic-like activity	Male rats MCF-7 cells	Increase LH secretion but independent of the direct estrogen receptor association;
	Antipruritic	Scratching behavior mouse	Vascular permeability-inhibitory;
Anti-ulcer	Gastric lesion	Increase in mucus secretion;	
Improving contact dermatitis or psoriasis	Mouse ear dermatitis	Regulation of COX-2 produced by macrophage cells & interferon-gamma and IL-4 induced by Th cells	
<b>Rg3</b>	Antiapoptotic activity	Human endothelia cells	Via Akt-dependent inhibition of the mitochondrial apoptotic signaling pathway
	Antitumor	HUVEC	Angiosuppressive activity, inhibits the proliferation of HUVES, suppresses the capillary tube formation of HUVEC
	Antiinflammamatory	Microglial cells	Inhibits the activation of AP-1 & protein kinaseA pathway; enhances the macroglial phagocytosis of Abeta;
	Neuroprotective	Rats	Against the cerebral ischemia-induced injury, reduces lipid peroxides, scavenges free redicals & improves energy metabolism
	Against neurofoxicity	Rats	Antagonized the effects induced by ACR
	Hepatoprotective	HepG2 Cells	Inhibits the increase of serum AST and ALT, through its metabolite Rh <sub>2</sub>

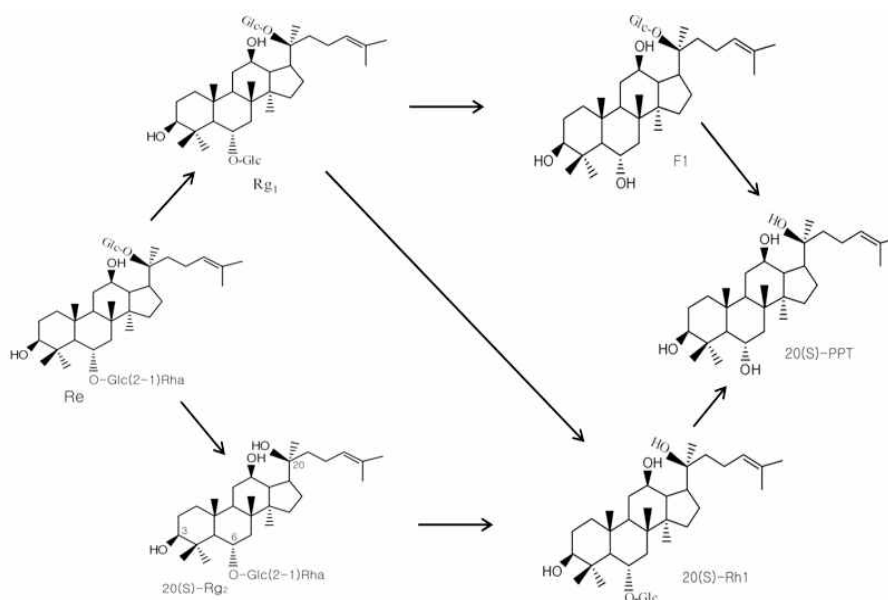
<b>Rg<sub>3</sub></b>	Rregulates ion channel	Rat brain	Stereospecificity; from the outside
	Antinociception	Rat sensory neurons	Na(+) channel inhibition; interactions with the S4 voltage-sensor segment of domain II, Carbohydrate portion of Rg <sub>3</sub> plays an important role; Modulate Ca <sup>2+</sup> channel currents;
	Relaxation of smooth muscle	Canine corpus cavernosum	Increases cyclic nucleotide levels through phosphodiesterases inhibition;
	Reles vessels	Rats aortic rings	Through induction of nitric oxide synthase
<b>Rg<sub>1</sub></b>	Vascular endothelial		Activates the glucocorticoid receptor (GR), stimulates the expression of VEGF through a cells effects phosphatidy-linositol3-kinase(PI3K)/Akt and veta-catenin/T-cell fector-dependent pathway; Serve as an agonist ligand for GR and induce rapid NO production from eNOS via the non-transcriptional PI3K/Akt pathway; Increases the secretion of plasminogen activator and angiotensin-converting enzyme;
<b>Re</b>	Antidiabetic	Mice	Antioxidant and antihyperlipidemic efficacies;
	Fertile effect	Human sperm	Promotes human sperm capacitation through NO/cGMP/PKG pathway;
	.Electro-physiological	Guinea pig	Increases human sperm motility by induction of nitric oxide synthase;
	Embryotoxic	Rat embryos	Inhibition of I(Ca,L) and enhancement of I(Ks);
	Attenuates neurotoxicity	PC12 cells	Activates cardiac potassium channels via a nongenomic pathway of sex hormones;
	Against MPTP-induced apoptosis	Mouse nigra neurons	Up-regulates the expression of Bcl-2 protein, down-regulates the expression of Bax, & iNOS protein, & inhibits the activation of caspase-3;
	angiogenic	HUVECs	-
<b>Rf</b>	Lipoprotein metabolism	Mice	Regulates apo A-I and C-III mRNA, via interactions with peroxisome proliferator-activated receptor alpha
<b>Rg<sub>2</sub></b>	CNS effects		Acts specifically on heteromeric human nAChRs modulating their desnsitization

<b>Rg<sub>1</sub></b>	CNS effect	Rat nigral neurons	Inhibits the mitochondrial apoptotic pathway and increases the survival change of the primary culture nigral neurons against rotenone toxicity
	Nootropic & antidementia	C57-BL mice	Reduces neuron loss by suppressing oxidative stress;
		Rats	inhibits the intracellular level of cAMP;
	Antiapoptosis & antiaging	Hippocampal Progenitor cells	Inducing proliferation and differentiation of neural progenitor cells.
		SD rats	Influence on neuronal, synaptic plasticity, neurogenesis; Promoting neurogenesis, regulates the proliferation of hippocampal progenitor cells
	immuno-modulation	Mice	Inhibits the activity of AchE but increases that of ChAT;
		Wistant rats	Increases membrane fluidity
		Mouse neurons	Enhances Bcl-2 and Bcl-xl expression, reducing Bax & iNOS expression, and inhibiting activation of caspase-3
PC12		Suppresses intraellular oxidative stress;	
	Rat cortical neurons human cells	Inhibits the activit of JNK and CDK3, removes ROS	
	Aged rats	Enhances the proliferation of lymphocytes and the production of IL-2;	
		Aged rats	Enhances the expression of IL-2 receptor alpha chain and inhibits the release of soluble IL-2 receptor; Increaces of cAMP and cGMP contants, resulting in IL-2 gene expression and splenocyte proliferation; Enhances CD4(+) T-cell activity;
<b>Rb<sub>2</sub></b>	Anti-cancer	B16-BL6 melanoma cells	Inhibits lung tumor metastasis & tumor associated angiogenesis;
	Promotion wound healing	Epidermal cells	Enhances epidermal cell proliferation, up-regulates the expressions of proliferation-related factors;
	Enhancing the plasminogen activator activity levels	Bovine aortic endothelial cells	Stimulates the secretion of urokinase-type PA
<b>Rb<sub>3</sub></b>	Inhibiting I (gly)	Hippocampal beurons	Possibly as a non-competitive antagonist
<b>Rc</b>	anticancer	MCF-7 human breast carcinoma cells	Induced c-Fos expression;
	CNS effects	Rat brain	Modulates NMDA receptor subunit mRNA levels
<b>Rd</b>	Antiaging	Mice	Attenuates free-radical-induced damage

## 다. Ginseng polysaccharides의 약리학적 기능

Pharmacological activity	Experimental model	Mechanism
1. Anti-tumor	plumorary macrophage	Induces cytokine production (TNF, INF- $\gamma$ , IL-8, IL- $\beta$ , IL-6, etc) (13-15)
	HL-60 cell	Inhibits the proliferation of tumor cell, and leads to Go/G1 phase block (16)
	Melanoma B16 Model	Enhances the activities of T lymphocytes (17)
	P <sub>815</sub> cells in mice	Enhances the activities of T NK cells, lymphokine activated killer cells
	Abdominal cavity	(LAK cells)
2. Immuno-modulation	Splenocyte	Enhances the activities of T NK cells, lymphokine activated killer cells (18)
	Mice	strengthens the phagotrophy function of mononuclear macrophage system (19)
	Guinea pig	Promotes the formation of antibody and complement
	Mice	Increase the weight of immune organs
3. Hypoglycemic effect	Mice	Possibly enhances the oxidative phosphorylation of mitochondria and the activities of succinic dehydrogenase and cytochrome oxidase (20)
4. Hematopoiesis regulation	Human umbilical vein endothelial cell Ecv304	Up-regulates hematopoietic growth factor secreted by stromal cells inhematopoietic microenvironment (21)

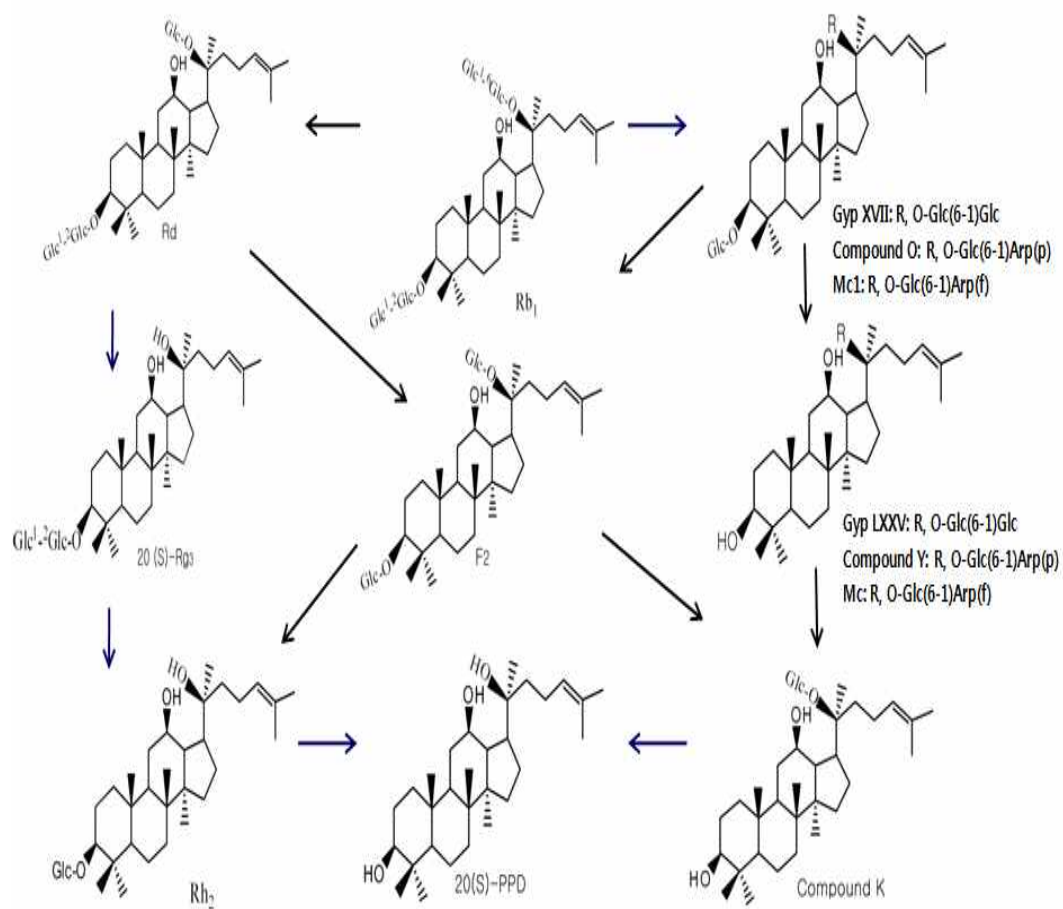
## 라. 사포닌 전환 원리



**Figure 1-3.** Biotransformation pathway of protopanaxatriol type saponins

Glu:  $\beta$ -D-glucopyranosyl, Rha:  $\alpha$ -L-rhamnose





**Figure 1-4.** Biotransformation pathway of protopanaxadiol type saponins

Glu:  $\beta$ -D-glucose, Ara(p):  $\alpha$ -L-arabinose (pyranose), Ara(f):  $\alpha$ -L-arabinose (furanose)

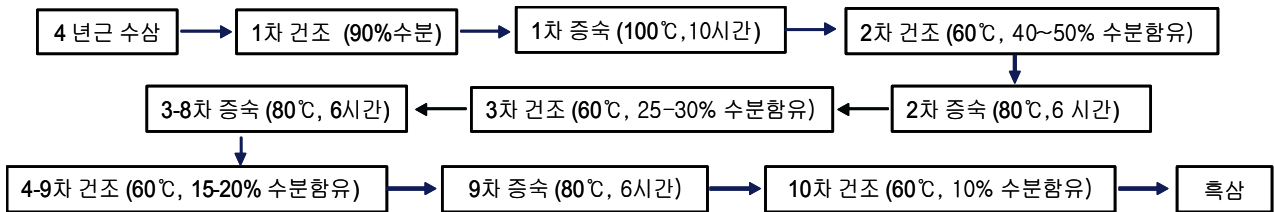
마. Ginsenoside biotransformation에 사용되는 미생물과 대사물

Substrates	Products	Microbes
Ra <sub>1</sub>	Rb <sub>2</sub>	<i>Bifidobacterium breve</i> K-110 (22)
Rb <sub>1</sub>	Rd	<i>Burkholderia pyrocinia</i> GP16, <i>Bacillus megaterium</i> GP27
		<i>Sphingomonas echinoides</i> GP50 (23)
	C-K	<i>Aspergillus niger</i> KCTC 6906, <i>A.usamii</i> var. <i>shirousamii</i> KCTC 6956, <i>Bifidobacterium</i> sp. Int57, <i>Bifidobacterium</i> sp. SJ32, <i>Fusobacterium</i> K-60, <i>Sterptococcu</i> SP, <i>Eubacterium</i> A-44 (24-26)
	F <sub>2</sub>	<i>Bifidobacterium</i> sp. SH5
	Rh <sub>2</sub>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> sp., <i>Delbrueckii</i> KCTC1047, <i>Leuconostoc paramesenteroides</i>
Rb <sub>2</sub>	Rd	<i>Bifidobacterium breve</i> K-110 (27)
	F <sub>2</sub>	<i>Bifidobacterium</i> sp. SH5
	C-K	<i>Aspergillus niger</i> KCTC 6906, <i>A.usamii</i> var. <i>shirousamii</i> KCTC 6956, <i>Bifidobacterium</i> sp. Int57, <i>Bifidobacterium</i> sp. SJ32, <i>Eubacterium</i> A-44
	Rh <sub>2</sub>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> sp., <i>Delbrueckii</i> KCTC1047
Rc	Rd	<i>Bifidobacterium breve</i> K-110
	C-K	<i>Aspergillus niger</i> KCTC 6906, <i>A.usamii</i> var. <i>shirousamii</i> KCTC 6956, <i>Bifidobacterium</i> sp. Int57, <i>Bifidobacterium</i> sp. SJ32,
	F <sub>2</sub>	<i>Bifidobacterium</i> sp. SH5
	Rh <sub>2</sub>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> sp., <i>Delbrueckii</i> KCTC1047
Rg <sub>3</sub>	Rh <sub>2</sub>	<i>Bacteroides</i> sp., <i>Eubacterium</i> sp., <i>Bifidobacterium</i> sp. (28)
		<i>Fusarium proliferatum</i> ECU2042 (29)
Re	Rg <sub>1</sub>	<i>Penicillium</i> sp (30)
	F <sub>1</sub>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i> , <i>Penicillium decumbens</i>
	Rg <sub>2</sub>	<i>A.usamii</i> var. <i>shirousamii</i> KCTC 6956, <i>Aspergillus oryzae</i>
	Rh <sub>1</sub>	<i>Aspergillus niger</i> KCTC 6906, <i>Bifidobacterium</i> sp. Int57, <i>Bifidobacterium</i> sp. SJ32, <i>Penicillium</i> sp., <i>Penicillium decumbenes</i> (31)
Rg <sub>1</sub>	F <sub>1</sub>	<i>Penicillium decumbens</i>
	Rh <sub>1</sub>	<i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus oryzae</i>
Rg <sub>2</sub>	Rh <sub>1</sub>	<i>Penicillium</i> sp., <i>Absidia</i> sp.39
	Ppt	<i>Penicillium decumbens</i>
Rf	Rh <sub>1</sub>	<i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus oryzae</i>
	Ppt	<i>Penicillium decumbens</i>

## 2. 구증구포 방법에 의한 흑삼 제조 및 HPLC 사포닌 분석조건 확립

### 가. 흑삼제조

4 년근 수삼을 그늘에서 약간 수분을 건조시킨 후 100℃에서 10시간 증숙한 후, 60℃ 오븐에서 8시간 건조 후 80℃에서 6시간 증숙 후 건조하는 과정을 8회 반복하여 흑삼을 제조하였다. 아래 도표는 구증구포 흑삼의 제조과정을 도식화한 것이며, Fig. 2-1은 증숙 횟수에 따른 흑삼모양을 나타내었다.



(나) TLC 분석

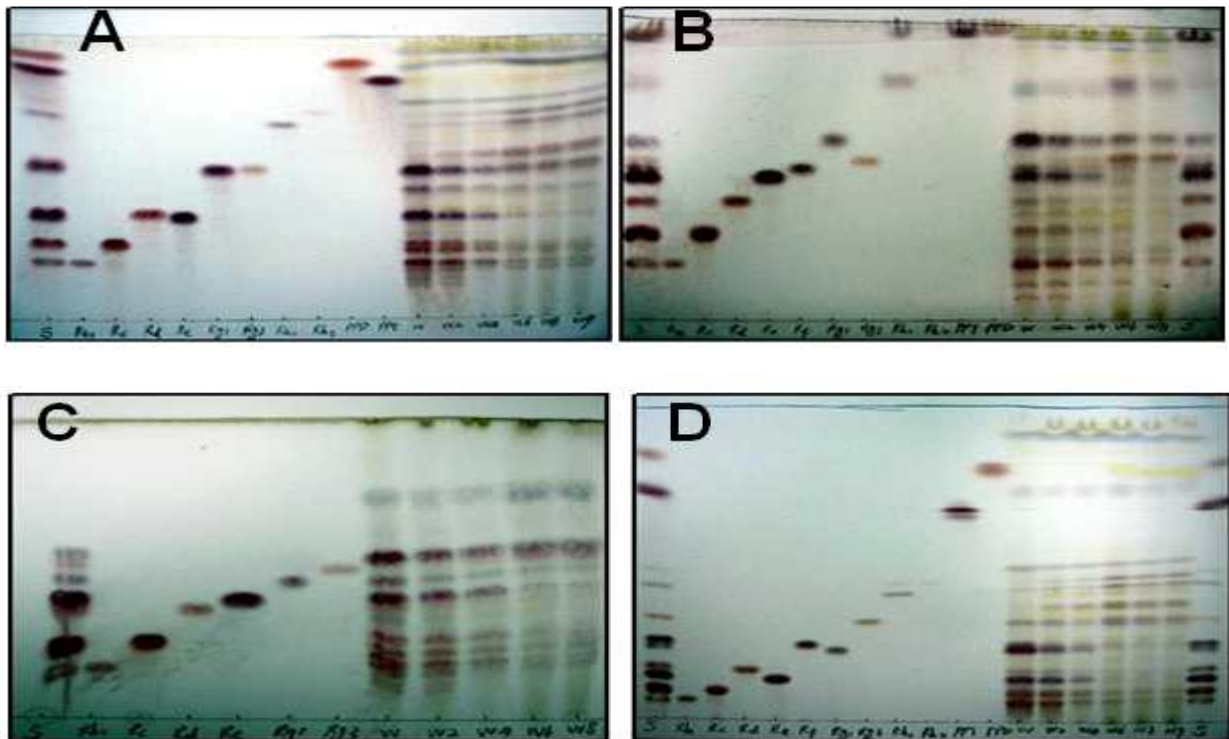
인삼 추출액을 TLC plate에 점적한 후 각 조건의 전개용매에 전개하여 건조시킨 후 10% 황산용액에 담근 후 알콜램프로 plate를 가열하여 인삼 추출물의 사포닌 조성을 분석하였다.

(다) TLC 전개용매

4 가지 조건의 TLC 전개용매 구성에 따라 인삼 추출물의 사포닌을 정성하기 위하여 분석한 결과 2번째 전개용매조성(BuOH : EtOAc : H<sub>2</sub>O = 4 : 1 : 5 (upper layer)에서 사포닌 분리도가 높게 나타났다 (Table 2-1. Fig. 2-2).

**Table 2-1.** The developing system for TLC analysis

Developing solvent ratio	
[A] CHCl <sub>3</sub> : MeOH : H <sub>2</sub> O = 65:35:10	lower layer
[B] <b>BuOH : EtOAc : H<sub>2</sub>O = 4:1:5</b>	<b>upper layer</b>
[C] CHCl <sub>3</sub> : MeOH : BuOH : H <sub>2</sub> O = 13:10:10:8	lower layer
[D] CHCl <sub>3</sub> : MeOH : EtOAc : H <sub>2</sub> O =16:40:22:10	lower layer



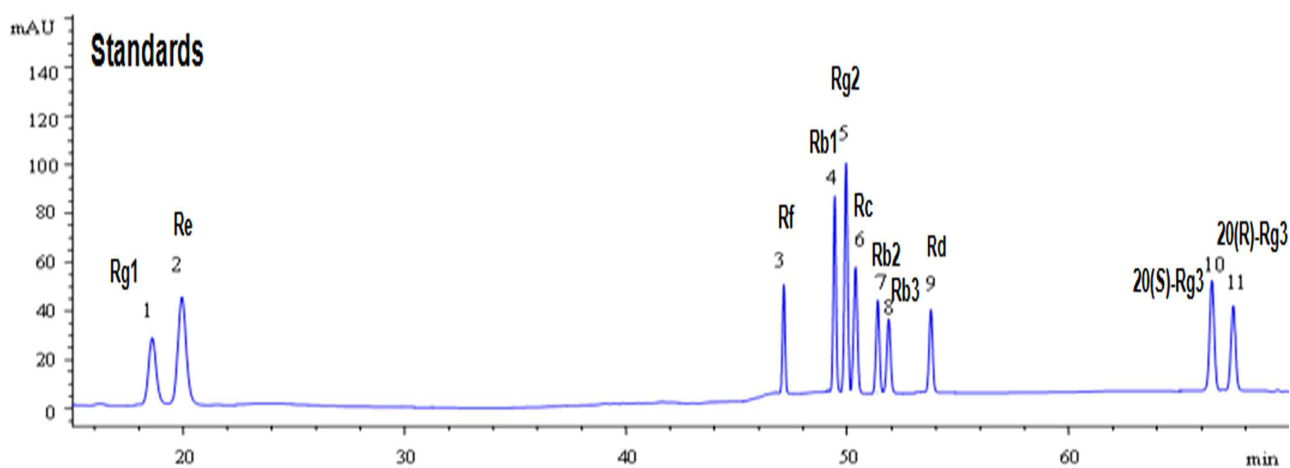
**Figure 2-2.** TLC results of ginsenoside standards and total ginsenosides extracted from Korean white ginseng, steamed ginseng for 2, 4, 6, 8, 9 times.

## (2) 유효 지표성분 Ginsenoside의 최적 분석 조건 확립

HPLC system을 이용하여 인삼의 사포닌을 분석하기 위하여, 조사포닌을 추출한 후 Table 2-2의 조건에 따라 이동상인 물과 Acetonitrile 용매를 다른 조성으로 전개하도록 하여 인삼 사포닌을 분리하는 gradient system을 적용하여 분석하였다. 시료주입은 15 uL, 유속은 1 mL/min이었다. 11개의 표준 사포닌을 본 system에 적용한 결과, 각 표준 사포닌의 분리시간은 (Retention time) Rg<sub>1</sub> 18.61분, Re 19.95분, Rf 47.13분, Rb<sub>1</sub> 49.02분, Rg<sub>2</sub> 49.71분, Rc 50.41분, Rb<sub>2</sub> 51.50분, Rb<sub>3</sub> 50.12분, Rd 53.78분, 20(S)-Rg<sub>3</sub> 66.13분, 20(R)-Rg<sub>3</sub> 66.45분으로 나타났다 (Fig. 2-3). 그 외 HPLC 분석조건의 정확도와 재현성을 알아보기 위한 표준 사포닌의 calibration curve, overall intra-, interday variation과 accuray에 대한 결과는 Table 2-3~5에 나타내었다.

**Table 2-2.** HPLC condition

HPLC	Agilent 110 (Palo Alto, CA, USA)
Column	Discovery C <sub>18</sub> column (5 μm, 250 × 4.6 mm)
Detection wavelength(UV)	203 nm
Flow rate	1 mL/min
Mobile phase	Water (A), Acetonitrile(B)
Injection volume	15 uL
Gradient elution system : B(%)	0-30 min 20%, 30-60 min 20-45%, 60-70 min 45-62%



**Figure 2-3.** Typical HPLC chromatogram of ginsenoside reference standards.

**Table 2-3.** Calibration curves and LODs for 11 ginsenosides

	RT (min)	Calibration curve <sup>a)</sup>	Correlation coefficient( $r^2$ )	Test range (mg/mL)	LOD <sup>b)</sup> ( $\mu$ g/ML)
Rg <sub>1</sub>	18.61	y=3246.7x+17.952	0.9995	0.050-1.000	3.6
Re	19.95	y=3683.2x-10.658	0.9996	0.050-1.000	2.6
Rf	47.13	y=3275.1x+21.432	0.9995	0.050-1.000	2.5
Rb <sub>1</sub>	49.02	y=3425.5x+8.8987	0.9997	0.010-0.200	2.6
Rg <sub>2</sub>	49.70	y=3262.3x+20.69	0.9999	0.050-1.000	3.2
Rc	50.41	y=3573.0x+15.459	0.9997	0.050-1.000	2.9
Rb <sub>2</sub>	51.50	y=2441.2x+14.129	0.9998	0.050-1.000	2.7
Rb <sub>3</sub>	50.12	y=5579.0x+42.583	0.9998	0.050-1.000	2.4
Rd	53.78	y=3253.4x+15.892	0.9998	0.050-1.000	3.9
20(S)-Rg <sub>3</sub>	66.13	y=2494.4x-11.716	0.9996	0.050-0.500	2.2
20(R)-Rg <sub>3</sub>	66.45	y=2598.7x-19.356	0.9997	0.050-0.500	2.9

<sup>a)</sup>y=peak area; x=concentration (mg/ml); <sup>b)</sup>LOD=Limit of detection (S/N=3)



**Table 2-4.** Intra- and inter-day variations of HPLC method for determination of 11 ginsenosides

Analytes	Intra-day (n=3)		Inter-day (n=5)	
	Content (mg/g)	R.S.D. <sup>1)</sup> (%)	Content (mg/g)	R.S.D.(%)
Rg <sub>1</sub>	1.68±0.08	2.62	1.57±0.05	2.32
Re	0.66±0.02	1.14	0.62±0.03	1.86
Rf	0.44±0.02	1.45	0.48±0.04	1.58
Rb <sub>1</sub>	2.66±0.07	2.14	2.43±0.05	1.84
Rg <sub>2</sub>	0.57±0.04	0.85	0.53±0.09	1.21
Rc	1.54±0.06	1.86	1.58±0.04	1.45
Rb <sub>2</sub>	0.52±0.04	1.32	0.49±0.05	1.74
Rb <sub>3</sub>	ND <sup>2)</sup>	ND	ND	ND
Rd	0.48±0.02	0.72	0.47±0.06	1.69
20(S)-Rg <sub>3</sub>	2.84±0.18	2.44	2.80±0.12	1.73
20(R)-Rg <sub>3</sub>	2.20±0.09	1.87	2.12±0.05	1.21

<sup>1)</sup>R.S.D.(%)=100×S.D./mean: <sup>2)</sup>ND, not detected

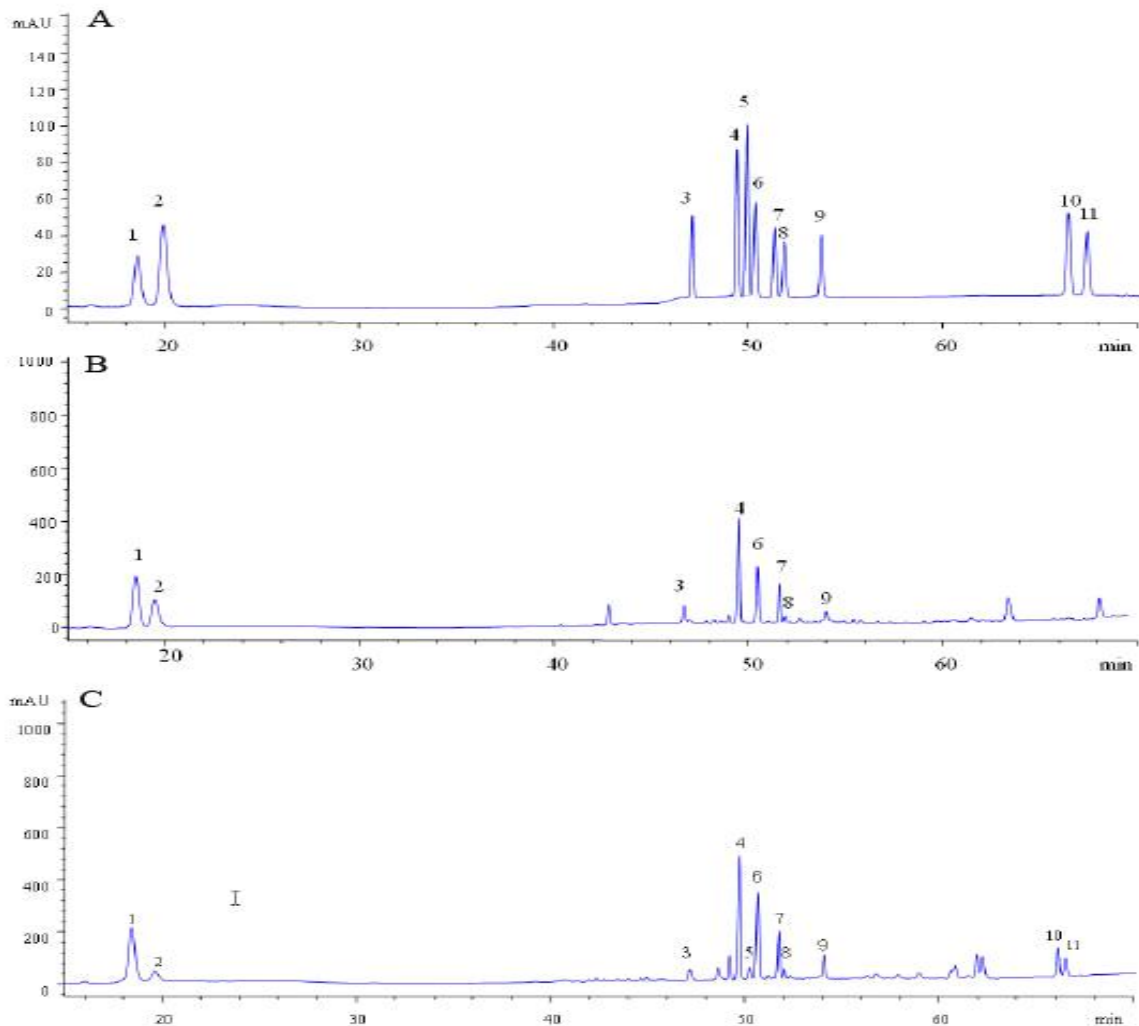
**Table 2-5.** Accuracy of HPLC method for the determination of 11 ginsenosides

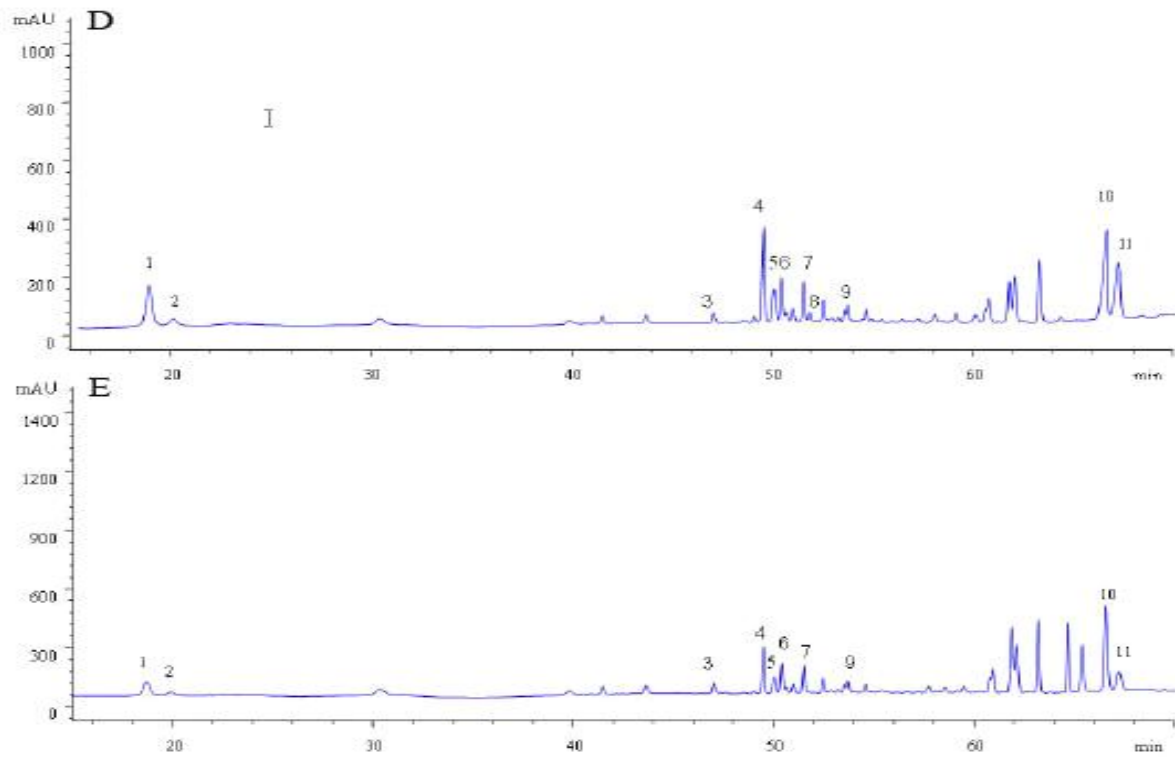
Analytes	Original (mg)	Spiked (mg)	Found (mg)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	R.S.D. (%)
Rg <sub>1</sub>	1.66	3.00	4.54	96.0	2.18
		1.50	3.20	102.7	1.67
Re	0.69	1.00	1.66	97.0	1.23
		0.50	1.20	102.0	0.75
Rf	0.47	1.40	1.90	102.1	3.16
		0.70	1.19	102.9	1.37
Rb <sub>1</sub>	2.64	5.00	7.52	97.6	2.36
		2.50	5.22	103.2	1.43
Rg <sub>2</sub>	0.53	1.50	1.96	95.3	1.67
		1.75	1.32	105.3	1.16
Rc	1.57	2.00	3.64	103.5	1.75
		1.00	2.59	102.0	2.16
Rb <sub>2</sub>	0.52	1.20	1.74	101.7	2.73
		0.60	1.15	105.0	1.25
Rb <sub>3</sub>	ND	0.40	0.41	102.5	0.96
		0.20	0.20	100	0.83
Rd	0.49	1.40	1.93	102.9	0.88
		0.70	1.17	97.1	0.75
20(S)-Rg <sub>3</sub>	2.84	5.00	7.90	101.2	2.48
		2.50	5.32	99.2	0.79
20(R)-Rg <sub>3</sub>	2.15	3.00	5.17	100.7	0.61
		1.50	3.69	102.7	0.84

<sup>a)</sup>Recovery(%)=100×(amount found-original amount)/amount spiked; R.S.D.(%)=100×S.D./mean.

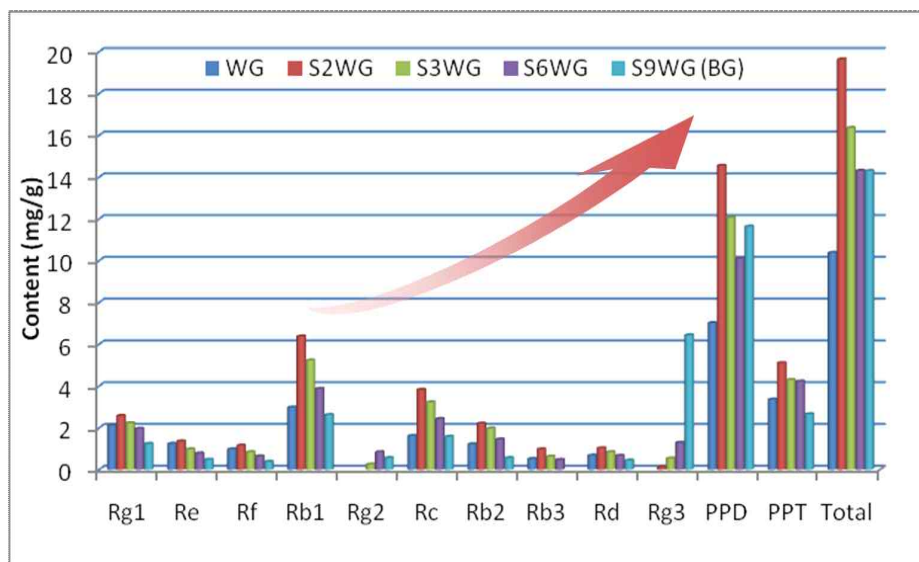
## 다. 증숙 횟수에 따른 사포닌 함량 변화

증숙 과정에 따라 변화되는 사포닌 함량을 HPCL로 분석한 결과와 전체적인 사포닌 함량의 변화를 Fig. 2-4와 2-5에 나타내었다. 증숙하지 않은 백삼의 경우 ginsenoside Rg<sub>3</sub> (S), (R) form이 보이지 않았다. 2번 증숙한 경우 전체적으로 모든 사포닌 함량이 미량으로 증가하였고, 새로운 peak인 9, 10의 ginsenoside Rg<sub>3</sub>(S), (R) 사포닌 새롭게 형성되는 것을 볼 수 있었다. 3회, 6회, 9회의 증숙이 반복될수록 1, 2번 peak인 Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>는 거의 없어지고, 3-8번의 peak도 함량이 많이 감소하였다. 그러나 9, 10번의 ginsenoside Rg<sub>3</sub>(S), (R) peak는 상당히 증가하였다(Table 2-6). 이러한 결과는 가열 증숙과정시 열에 불안정한 수용성 malonyl ginsenoside의(m-Rb<sub>1</sub>, m-Rb<sub>2</sub>, m-Rb<sub>3</sub>, m-Rc, m-Rd) malony기가 떨어져 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rc, Rd와 같은 PPD계 사포닌이 생성되고, 열에 의해서 C-20에 결합되어 있는 당이 가수분해되거나, C-20 위치의 OH 기가 이성화되어 ginsenoside Rg<sub>3</sub>으로 새롭게 전환되는 것으로 사료된다.





**Figure 2-4.** HPLC-UV chromatograms of mixed standards (A) and ginsenosides in WG (B) AND steamed ginseng 3 times (C), 6 times (D), 9 times (E). Peaks: 1, Rg<sub>1</sub>; 2, Re; 3, Rf; 4, Rb<sub>1</sub>; 5, Rg<sub>2</sub>; 6, Rc; 7, Rb<sub>2</sub>; 8, Rb<sub>3</sub>; 9, Rd; 10-11, 20(S)-, 20(R)-Rg<sub>3</sub>



**Figure 2-5.** Comparison of ginsenosides with steaming times

**Table 2-6.** The amounts of ginsenosides in WG and 2-, 3-, 6- and 9 times steamed ginseng

Compound (mg/g)	WG <sup>a)</sup>	S <sub>2</sub> WG <sup>b)</sup>	S <sub>3</sub> WG <sup>c)</sup>	S <sub>6</sub> WG <sup>d)</sup>	S <sub>9</sub> WG <sup>e)</sup>
Rg <sub>1</sub>	2.12±0.06	2.58±0.07	2.23±0.03	1.96±0.05	1.24±0.04
Re	1.24±0.04	1.36±0.05	0.98±0.03	0.78±0.05	0.48±0.03
Rf	0.98±0.03	1.16±0.02	0.84±0.05	0.64±0.06	0.38±0.03
Rb <sub>1</sub>	2.98±0.07	6.38±0.12	5.23±0.15	3.87±0.08	2.62±0.09
Rg <sub>2</sub>	ND <sup>2)</sup>	ND	0.25±0.02	0.84±0.02	0.56±0.04
Rc	1.62±0.03	3.83±0.08	3.23±0.07	2.43±0.09	1.58±0.07
Rb <sub>2</sub>	1.22±0.07	2.21±0.04	1.97±0.05	1.45±0.04	0.56±0.02
Rb <sub>3</sub>	0.52±0.05	0.98±0.02	0.63±0.04	0.47±0.03	ND
Rd	0.68±0.07	1.03±0.02	0.84±0.04	0.67±0.05	0.44±0.01±
Rg <sub>3</sub>	ND	0.12±0.02	0.54±0.05	1.29±0.03	6.44±0.08
PPD <sup>3)</sup>	7.02±0.14	14.55±0.15	12.06±0.12	10.09±0.09	11.64±0.19
PPT <sup>4)</sup>	3.36±0.12	5.10±0.08	4.30±0.09	4.22±0.11	2.66±0.09
Total	10.38±0.17	19.64±0.19	16.36±0.14	14.31±0.21	14.30±0.13

<sup>a)</sup>WG, white ginseng(*P. ginseng* C.A. Meyer);

<sup>b),c),d),e)</sup> S<sub>2</sub> WG, S<sub>3</sub> WG, S<sub>6</sub>WG, and S<sub>9</sub>WG : white ginsengs were steamed 2, 3, 6, and 9times according to the traditional method of making blacking ginseng, respectively;

<sup>1)</sup>All values were expressed as the means ± S.D. (n=3)

<sup>2)</sup>ND, Not detected;

<sup>3)</sup>PPD: Protopanaxdiol type saponins: Pb<sub>1</sub>+Rc+Rb<sub>2</sub>+Rd+Rg<sub>3</sub>

<sup>4)</sup>PPT: protopanaxtriol type saponins: Rg<sub>1</sub>+Re+Rf+Rg<sub>2</sub> .

## 라. 증숙횟수에 따른 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량의 변화

증숙횟수를 반복할수록 새롭게 형성되는 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 Fig. 2-6에 나타내었다. 2회 증숙시 ginsenoside Rg<sub>3</sub>는 0.12 mg/g을 나타내었고, 증숙횟수가 반복될수록 그 함량이 증가되어, 최종 흑삼을 제조하였을 때의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 6.44 mg/g으로 홍삼보다 50배 이상의 증가하였다.

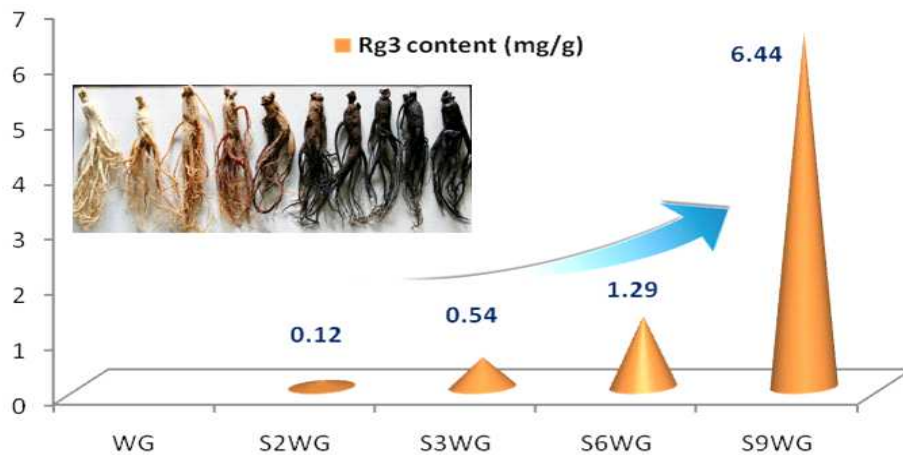


Figure 2-6. Change of ginsenoside Rg<sub>3</sub> contents in a traditional way for preparing BG

## 3. 새로운 흑삼제조 기술 탐색

### 가. 과일 Juice 침지방법을 이용한 흑삼의 제조

#### (1) 흑삼제조

4년근 수삼을 80℃에서 15분간 증숙한 후 60℃에서 24시간 건조한 후 사과주스, 포도주스, 파인애플 주스에 24시간 침지한 후 60℃ 오븐에서 24시간 건조한다. 흑삼의 제조는 전통적인 구증구포 방법으로 증숙하여 제조하였다(Fig. 2-7)

#### (2) 과일 Juice 침지에 따른 흑삼의 사포닌 함량 변화

인삼 사포닌이 산성 조건에서 열을 가하면 C-20에 결합되어 있는 당의 가수분해를 촉진하는 특성을 이용하여 파인애플주스, 사과주스, 포도주스에 침지하여 흑삼을 제조한 후 각각의 사포닌 함량 변화를 HPLC 분석을 통하여 살펴보았다. 각 제조인삼 사포닌의 크로마토 그래프와 사포닌 함량 변화를 Fig. 2-8, 2-9에 나타내었다. 수삼을 아무런 처리 없이 4번 증숙한 대조군의 경우 총 사포닌 함량은  $15.10 \pm 0.12$  mg/g이었고, 사과주스에 침지하여 제조한 흑삼은  $14.43 \pm 0.17$  mg/g, 파인애플 주스에 침지한 흑삼은  $16.16 \pm 0.14$  mg/g, 포도주스에 침지하여 제조한 흑삼은  $16.70 \pm 0.21$  mg/g으로 포도주스에 침지하여 제조한 흑삼의 총사포닌 함량이 가장 높았다(Table 2-7).





A. 대조군

B. Apple juice

C. Grape juice

D. Pineapple juice

Figure 2-7. Black ginseng produced by soaking into several fruit juices

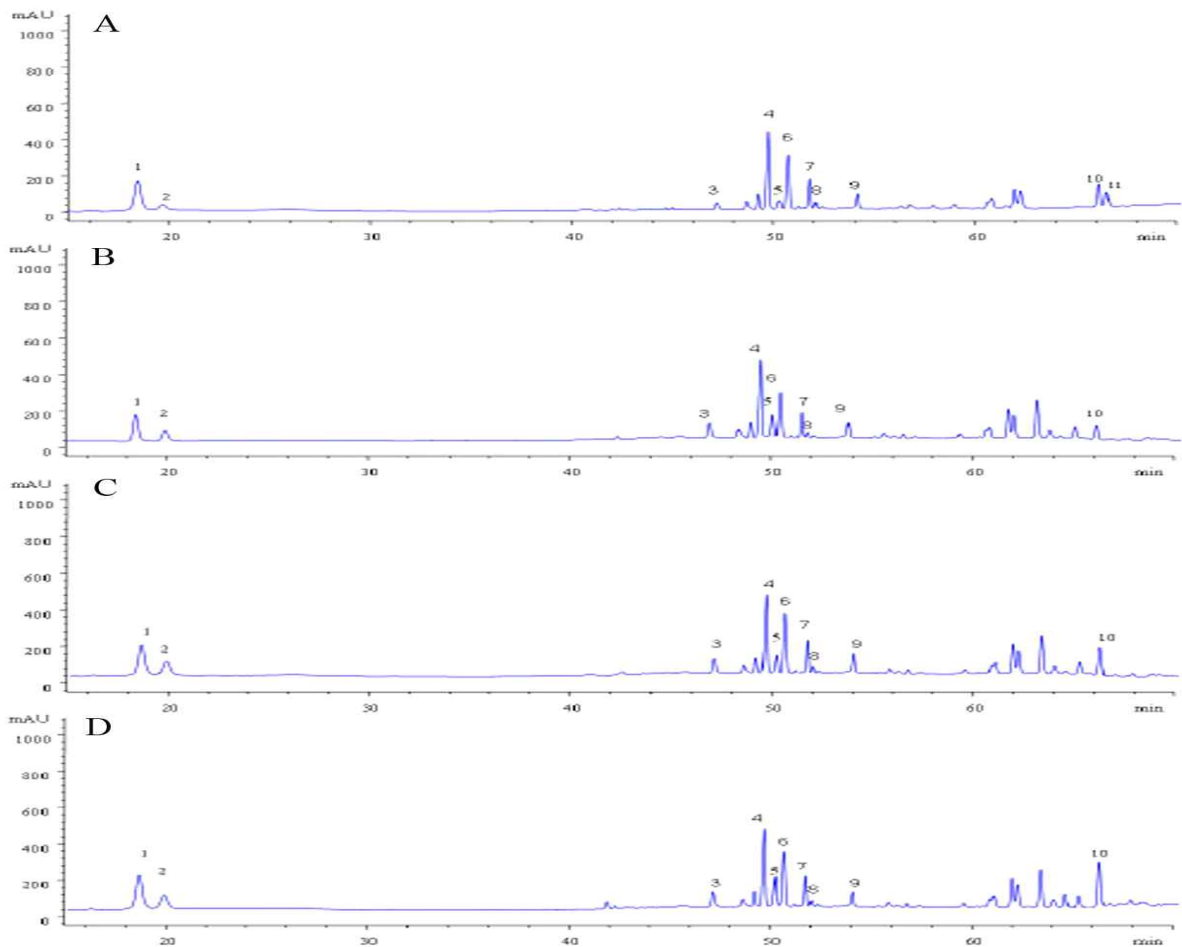


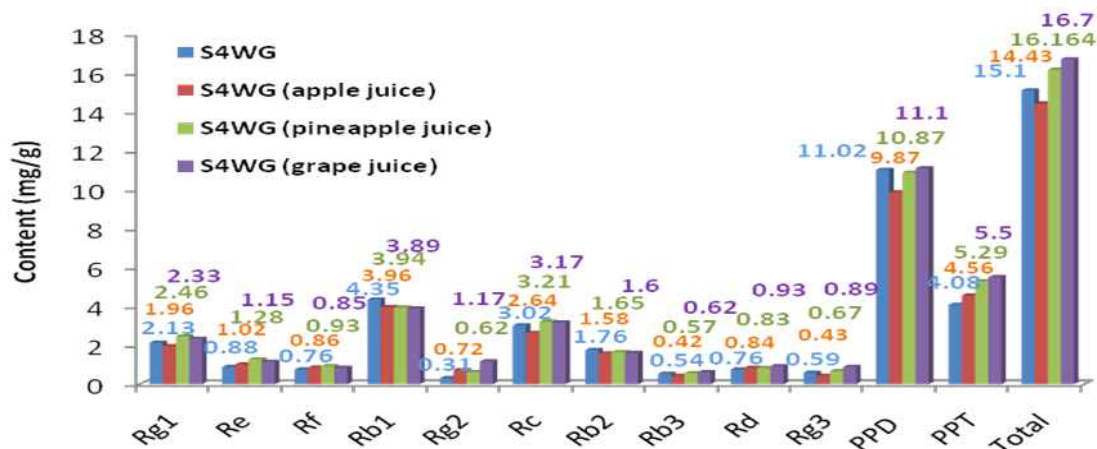
Figure 2-8. HPLC-UV chromatograms of ginsenosides extracted from the ginsengs steamed 4 times after soaking in apple (B), pineapple (C), grape (D) juices, and 4 times repeated steaming white ginseng (A), respectively.

**Table 2-7.** The amounts of ginsenosides in 4 times steamed ginseng after soaking into different fruit juices

Compound (mg/g)	S <sub>4</sub> WG	S <sub>4</sub> WG (apple juice)	S <sub>4</sub> WG (pineapple juice)	S <sub>4</sub> WG (grape juice)
Rg <sub>1</sub>	2.13±0.02	1.96±0.02	2.46±0.02	2.33±0.04
Re	0.88±0.03	1.02±0.04	1.28±0.02	1.15±0.04
Rf	0.76±±0.05	0.86±0.02	0.93±0.04	0.85±0.06
Rb <sub>1</sub>	4.35±0.12	3.96±0.13	3.94±0.02	3.89±0.05
Rg <sub>2</sub>	0.31±0.03	0.72±0.03	0.62±0.03	1.17±0.01
Rc	3.02±0.06	2.64±0.08	3.21±0.07	3.17±0.04
Rb <sub>2</sub>	1.76±0.04	1.58±0.02	1.65±0.05	1.60±0.03
Rb <sub>3</sub>	0.54±0.01	0.42±0.05	0.57±0.03	0.62±0.01
Rd	0.76±0.02	0.84±0.04	0.83±0.06	0.93±0.04
Rg <sub>3</sub>	0.59±0.04	0.43±0.02	0.67±0.02	0.89±0.02
PPD	11.02±0.12	9.87±0.12	10.87±0.12	11.10±0.09
PPT	4.08±0.07	4.56±0.05	5.29±0.09	5.50±0.12
<b>Total</b>	<b>15.10±0.12</b>	<b>14.43±0.17</b>	<b>16.16±0.14</b>	<b>16.70±0.21</b>

PPD: Protopanaxdiol type saponins: Pb<sub>1</sub>+Rc+Rb<sub>2</sub>+Rd+Rg<sub>3</sub>

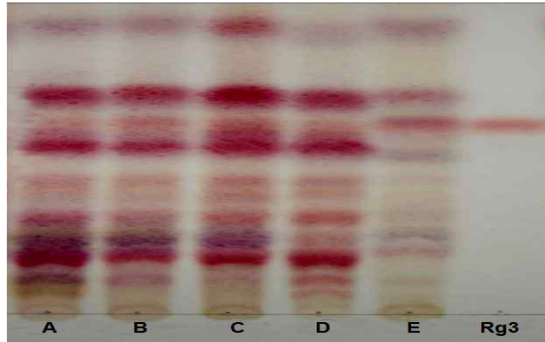
PPT: protopanaxtriol type saponins: Rg<sub>1</sub>+Re+Rf+Rg



**Figure 2-9.** Comparison of ginsenosides with different fruit juices

### (3) 과일Juice 침지에 따른 흑삼의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량 비교

각 주스에 침지하여 제조한 흑삼 엑기스의 조사포닌 TLC 분석결과 (Fig. 2-10), 포도주스에 침지하여 제조한 흑삼의 Rg<sub>3</sub> 함량은  $0.89 \pm 0.02$  mg/g으로 무처리 4회 증숙 인삼의 Rg<sub>3</sub> 함량  $0.59 \pm 0.04$  mg/g보다 현저히 증가하였다. 본 실험을 통하여 포도주스 침지방법을 이용한 흑삼제조가 흑삼의 유효사포닌 Rg<sub>3</sub> 함량을 극대화시킬 수 있는 방법으로 사료되어진다.

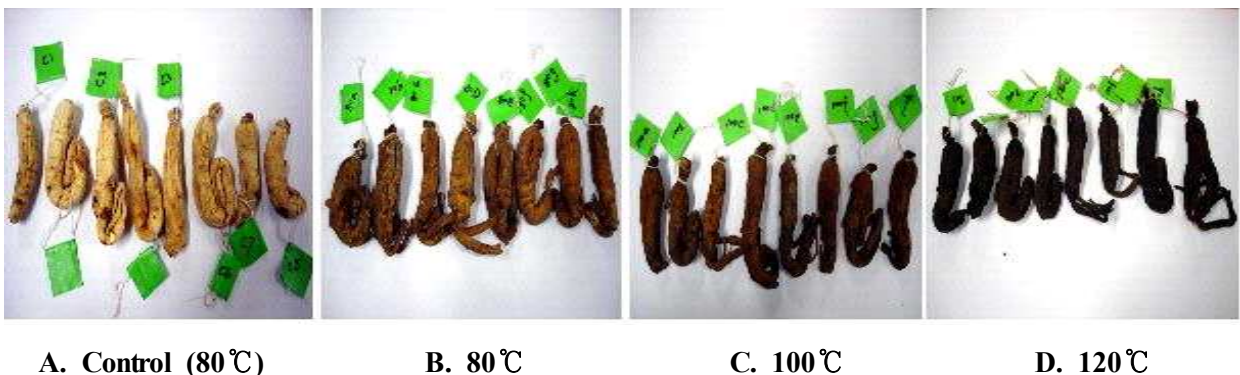


**Figure 2-10.** TLC of methanol extracts from 4-time steaming WG which firstly was soaked with 3 kinds of fruit juices. A: 4th steamed WG (Apple juice), B: 4th steamed WG (pineapple juice), C: 4th steamed WG (grape juice), D: 4th steamed WG, E: 8th steamed WG.

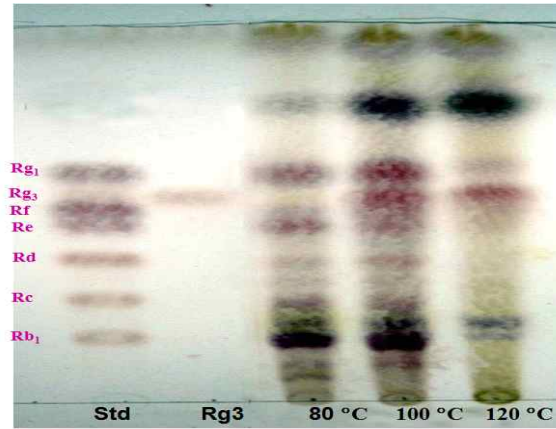
### 나. 과일Juice 침지를 이용한 흑삼 제조의 최적 조건 탐색

#### (1) 최적온도 조건 탐색

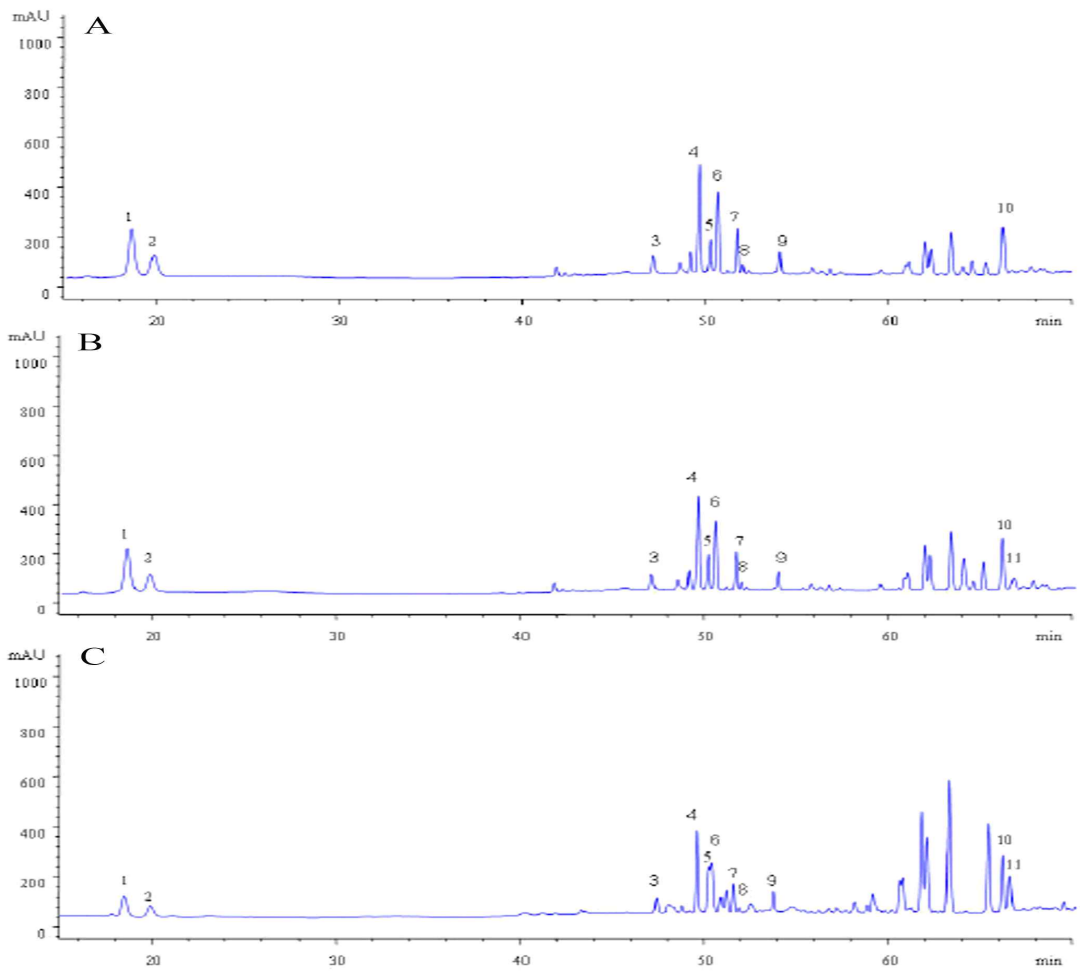
과일주스 침지방법 중 가장 높은 사포닌 함량을 보여준 포도주스를 이용하여 포도주스 침지 후 3회~6회 증숙시 80℃, 100℃, 120℃로 온도를 달리하여 흑삼을 제조하였다 (Fig. 2-11). 각 조건으로 제조한 흑삼 추출물의 TLC 분석결과, 증숙온도 100℃, 120℃에서 Rg<sub>3</sub> 함량이 높게 나타났다 (Fig. 2-12, Table 2-8).



**Figure 2-11.** Black ginseng soaked into grape juice steamed at different steaming temperature



**Figure 2-12.** TLC analysis of ginsenosides extracted from 3 times steaming ginseng treated firstly with grape juice. (steaming time: 1 h)



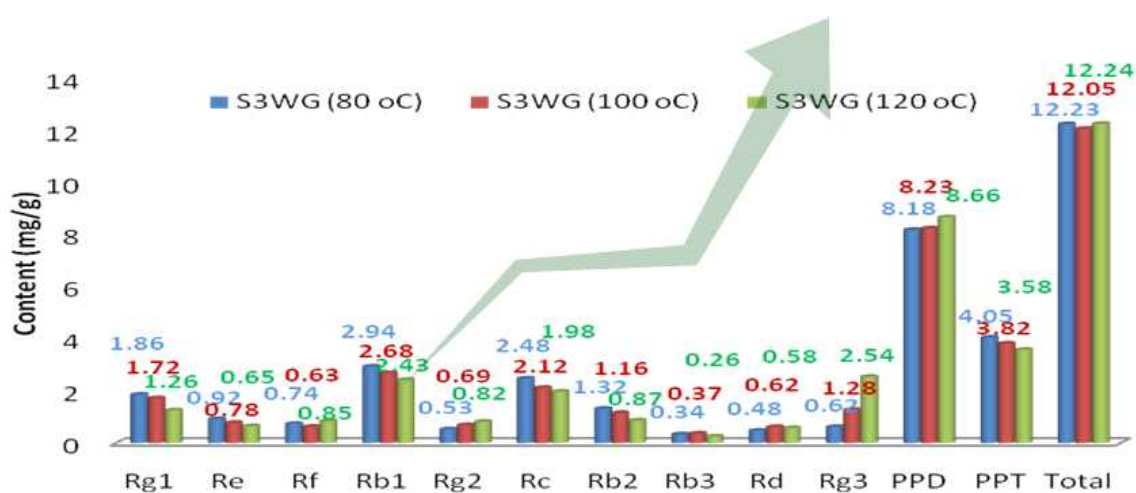
**Figure 2-13.** HPLC-UV chromatograms of ginsenosides extracted from the ginsengs steamed at different temperature 3 times after soaking in grape juice. A 80°C, B 100°C, C 120°C.

**Table 2-8.** The amounts of ginsenosides in 3 times steamed ginseng at different temperature after soaking into grape juice

Compound (mg/g)	S <sub>3</sub> WG (80 °C)	S <sub>3</sub> WG (100 °C)	S <sub>3</sub> WG (120 °C)
Rg <sub>1</sub>	1.86±0.03	1.72±0.03	1.26±0.03
Re	0.92±0.01	0.78±0.01	0.65±0.01
Rf	0.74±0.03	0.63±0.03	0.85±0.06
Rb <sub>1</sub>	2.94±0.12	2.68±0.02	2.43±0.02
Rg <sub>2</sub>	0.53±0.03	0.69±0.02	0.82±0.02
Rc	2.48±0.03	2.12±0.09	1.98±0.03
Rb <sub>2</sub>	1.32±0.04	1.16±0.07	0.87±0.06
Rb <sub>3</sub>	0.34±0.01	0.37±0.03	0.26±0.02
Rd	0.48±0.03	0.62±0.06	0.58±0.05
Rg <sub>3</sub>	0.62±0.01	1.28±0.03	2.54±0.01
PPD	8.18±0.10	8.23±0.14	8.66±0.08
PPT	4.05±0.06	3.82±0.08	3.58±0.11
<b>Total</b>	<b>12.23±0.12</b>	<b>12.05±0.13</b>	<b>12.24±0.16</b>

PPD: Protopanaxdiol type saponins: Pb<sub>1</sub>+Rc+Rb<sub>2</sub>+Rd+Rg<sub>3</sub>

PPT: protopanaxtriol type saponins: Rg<sub>1</sub>+Re+Rf+Rg<sub>2</sub>



**Figure 2-14.** Comparison of ginsenosides



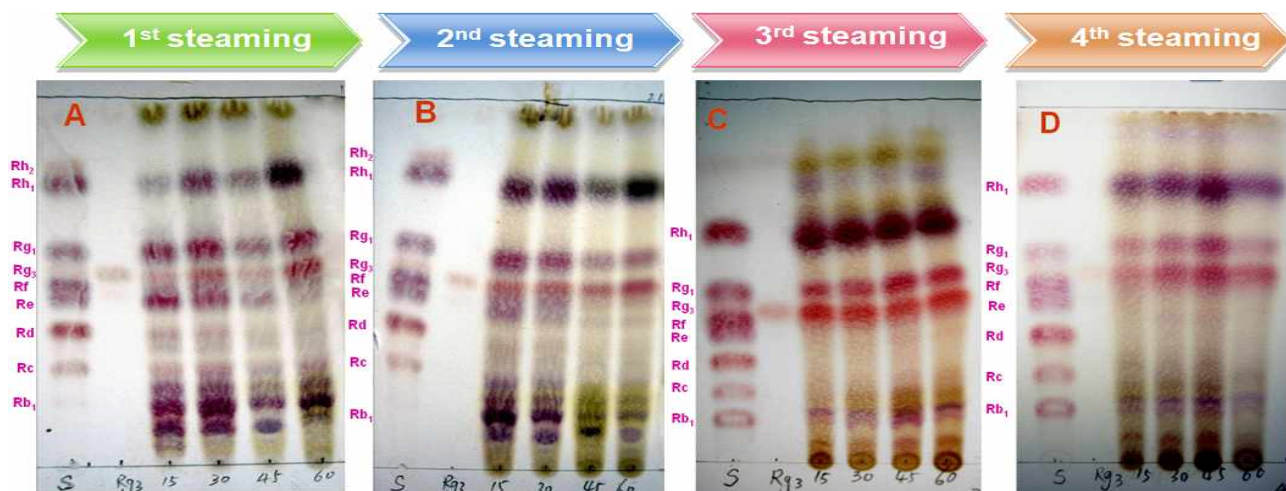
(2) 증숙온도 120℃에서의 최적의 증숙시간 탐색

포도주스에 침지한 후 120℃에서 15분, 30분, 45분, 1시간, 각각의 제조 시간에 따라 4번 증숙하여 흑삼을 제조하였다 (Fig. 2-15). 증숙 시간과 횟수가 증가할수록 흑삼의 색이 더 검색 변하는 것을 알 수 있었다. 또한 TLC 분석결과 증숙 시간이 증가할수록 Rg<sub>3</sub> 함량이 증가하였다 (Fig. 2-16). 120℃에서 시간별 증숙에 따른 사포닌 함량은 Table 2-9에 나타내었다. 증숙시간이 증가할수록 Rg<sub>1</sub>, Rf, Rb<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> 사포닌의 함량이 감소하고, Re, Rc, Rb<sub>3</sub>, Rd는 60분 증숙시 소멸되었다. 그러나 Rg<sub>3</sub> 함량은 대조군 0.44±0.02 mg/g, 30분 증숙시 2.00±0.08 mg/g, 45분 증숙시 2.14±0.07 mg/g, 60분 증숙시 2.54±0.12 mg/g으로 증숙시간이 증가할수록 Rg<sub>3</sub> 함량도 함께 증가하였다 (Fig. 2-17).

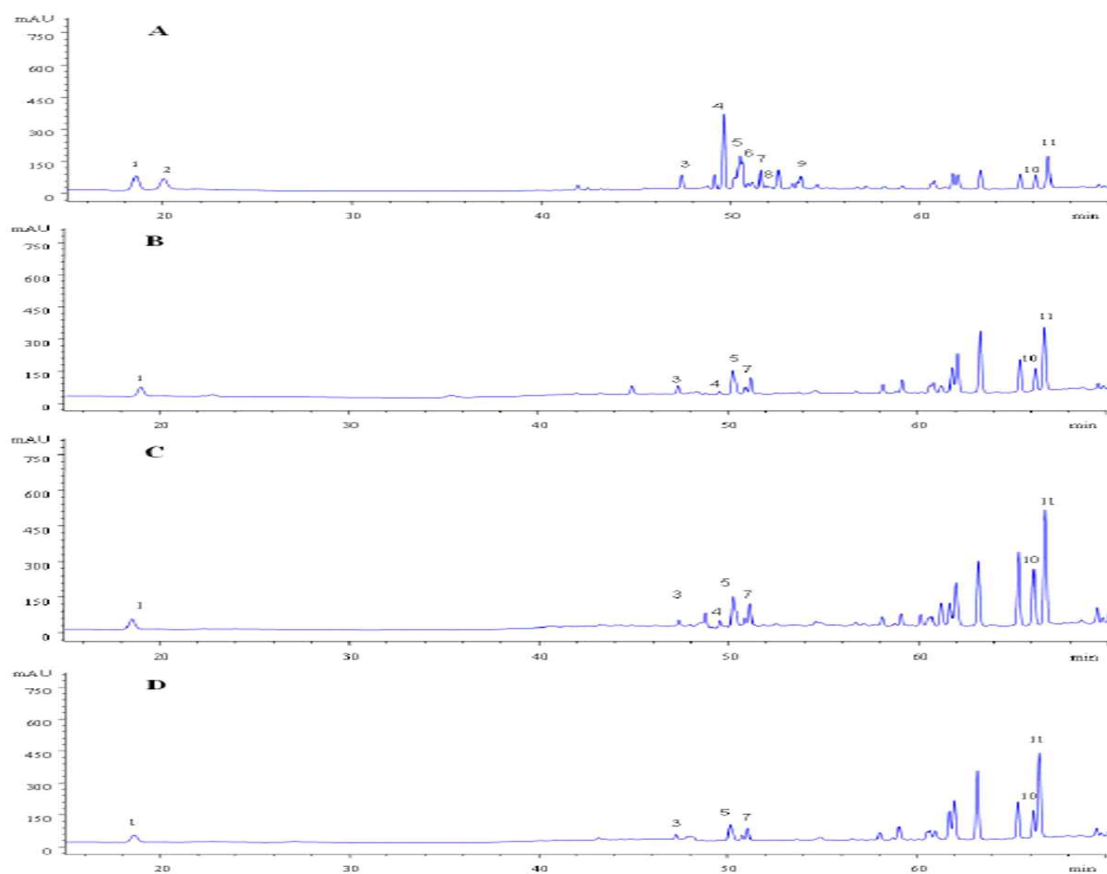


**Figure 2-15.** The morphological changes of ginsengs steamed at 120℃ in various times (15, 30, 45, and 60 min). Before steaming each time, ginsengs were soaked in grape juice for 24h.





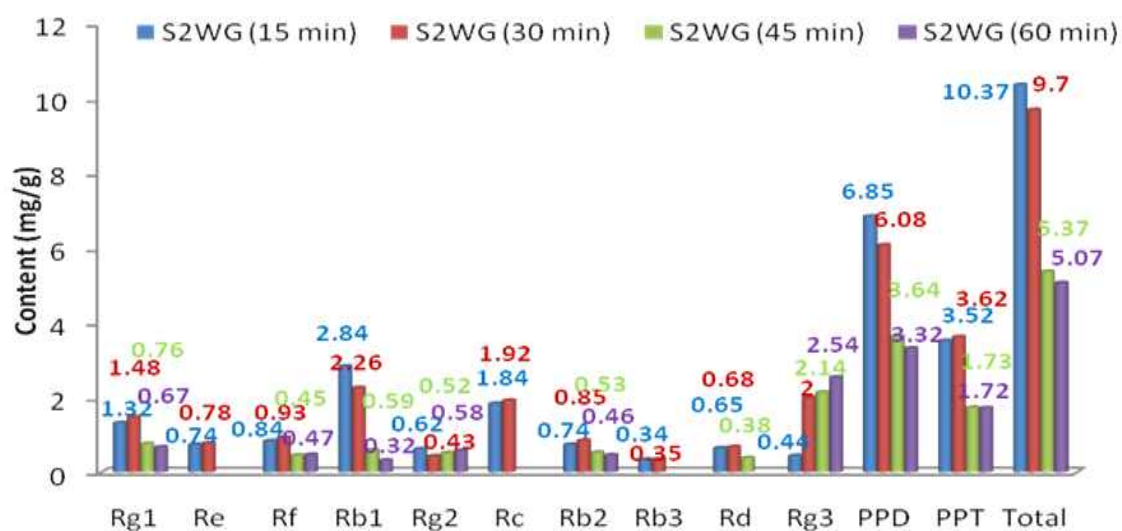
**Figure 2-16.** Thin layer chromatograms of total ginsenosides extracted from ginsengs steamed at 120°C in various times (15, 30, 45, and 60 min). Before steaming each time, ginsengs were soaked in grape juice for 24 h.



**Figure 2-17.** HPLC-UV chromatograms of total ginsenosides extracted from ginseng steamed 2 times at 120°C in various times (15, 30, 45, and 60 min). Before steaming each time, ginsengs were soaked in grape juice for 24 h. A, 15 min; B, 30 min; C, 45 min; D, 60 min.

**Table 2-9.** The amounts of ginsenosides in 2 times steamed ginseng in different steaming time

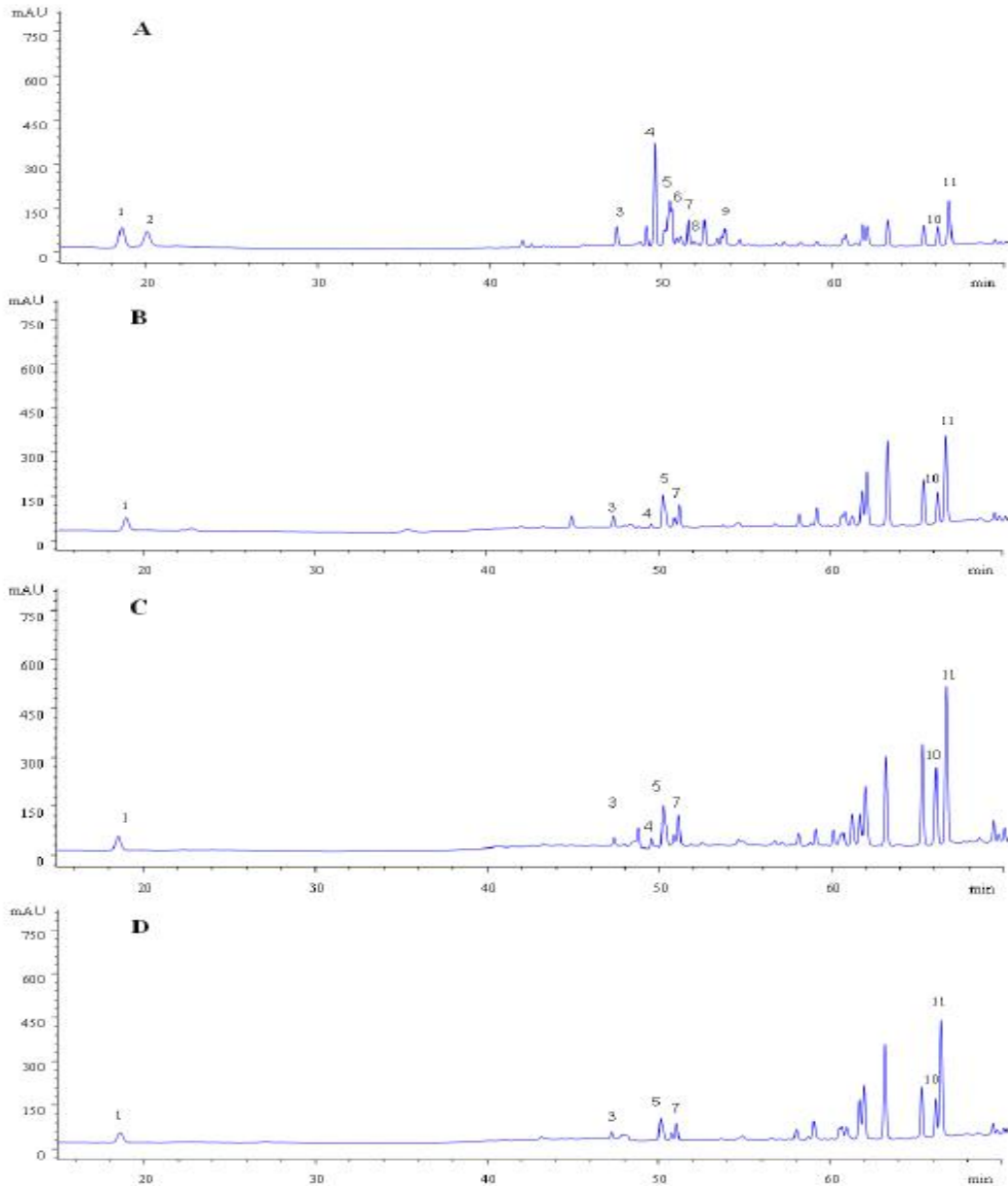
Compound (mg/g)	S <sub>2</sub> WG (15min)	S <sub>2</sub> WG (30min)	S <sub>2</sub> WG (45min)	S <sub>2</sub> WG (60min)
Rg <sub>1</sub>	1.32±0.01	1.48±0.01	0.76±0.02	0.67±0.01
Re	0.74±0.02	0.78±0.02	-	-
Rf	0.84±0.03	0.93±0.01	0.45±0.03	0.47±0.02
Rb <sub>1</sub>	2.84±0.09	2.26±0.02	0.59±0.02	0.32±0.03
Rg <sub>2</sub>	0.62±0.04	0.43±0.02	0.52±0.03	0.58±0.02
Rc	1.84±0.02	1.92±0.07	-	-
Rb <sub>2</sub>	0.74±0.05	0.85±0.06	0.53±0.04	0.46±0.03
Rb <sub>3</sub>	0.34±0.01	0.35±0.04	-	-
Rd	0.65±0.04	0.68±0.04	0.38±0.04	-
Rg <sub>3</sub>	0.44±0.02	2.00±0.08	2.14±0.07	2.54±0.12
PPD	6.85±0.09	6.08±0.10	3.64±0.09	3.32±0.07
PPT	3.52±0.08	3.62±0.08	1.73±0.07	1.72±0.09
<b>Total</b>	<b>10.37±0.14</b>	<b>9.70±0.09</b>	<b>5.37±0.12</b>	<b>5.07±0.07</b>



**Figure 2-18.** Effects of different steaming time on Rg<sub>3</sub> content.

### (3) 증숙 횟수에 따른 흑삼제조 (120℃, 60 min)

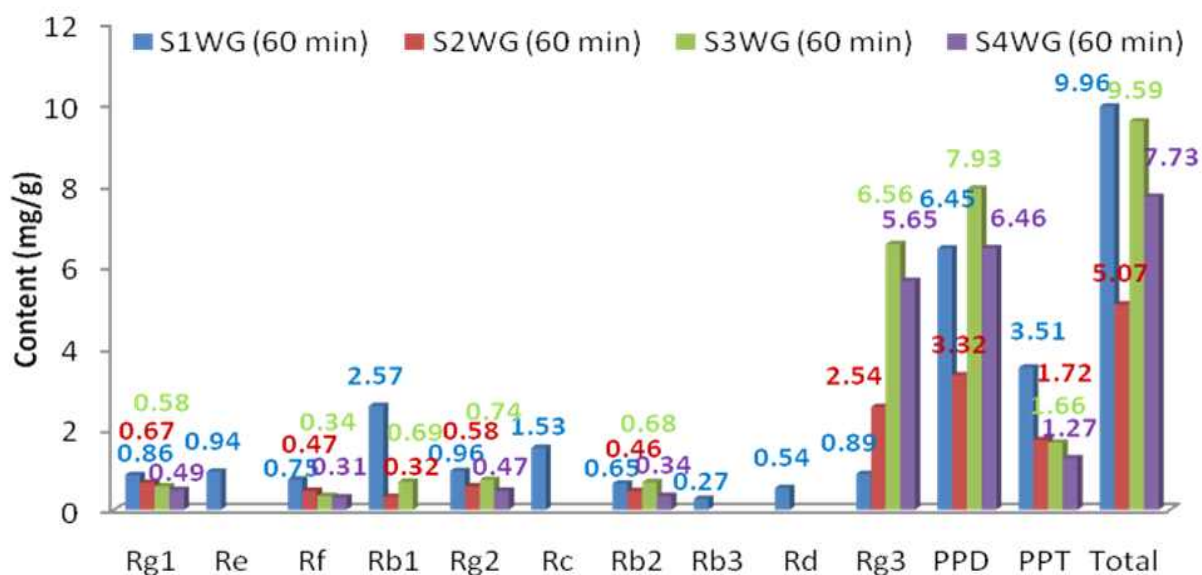
포도주스를 이용한 흑삼 제조의 최적조건을 찾기 위하여 증숙 온도와 시간을 고정한 후 적정 증숙 횟수를 찾기 위하여 4회의 증숙과정을 반복하여 각 과정에서 제조한 흑삼의 사포닌 함량을 분석하여 Table 2-10와 Fig. 2-20에 사포닌 함량 변화를 비교하여 나타내었다. 120℃에서 60분간 3회 증숙하여 제조한 흑삼의 총 사포닌 함량과 Rg<sub>3</sub> 함량이 가장 높게 나타났다.



**Figure 2-19.** HPLC-UV chromatograms of total ginsenosides extracted from ginseng steamed 2 times at 120℃ in various times (15, 30, 45, and 60 min). Before steaming each time, ginsengs were soaked in grape juice for 24 h. A, 1 time; B, 2 times; C, 3 times; D, 4 times.

**Table 2-10.** The amounts of ginsenosides in ginsengs steamed at 120°C for 60 min (different steaming numbers)

Compound (mg/g)	S <sub>1</sub> WG (60min)	S <sub>2</sub> WG (60min)	S <sub>3</sub> WG (60min)	S <sub>4</sub> WG (60min)
Rg <sub>1</sub>	0.86±0.03	0.67±0.01	0.58±0.03	0.49±0.02
Re	0.94±0.02	-	-	-
Rf	0.75±0.06	0.47±0.02	0.34±0.03	0.31±0.03
Rb <sub>1</sub>	2.57±0.12	0.32±0.03	0.69±0.02	-
Rg <sub>2</sub>	0.96±0.07	0.58±0.02	0.74±0.03	0.47±0.01
Rc	1.53±0.03	-	-	-
Rb <sub>2</sub>	0.65±0.09	0.46±0.03	0.68±0.04	0.34±0.02
Rb <sub>3</sub>	0.27±0.02	-	-	-
Rd	0.54±0.07	-	-	-
Rg <sub>3</sub>	0.89±0.07	2.54±0.12	6.56±0.17	5.65±0.14
PPD	6.45±0.14	3.32±0.07	7.93±0.09	6.46±0.07
PPT	3.51±0.10	1.72±0.09	1.66±0.05	1.27±0.06
<b>Total</b>	<b>9.96±0.14</b>	<b>5.07±0.07</b>	<b>9.59±0.18</b>	<b>7.73±0.09</b>



**Figure 2-20.** Effects of different steaming numbers on Rg<sub>3</sub> content (120°C, 60 min).

## 다. 제조 흑삼의 잔류농약 안전성 평가

여러 방법에 의해 제조한 각 흑삼의 잔류농약을 분석한 결과 농약성분이 검출되지 않았다. 특히, 흑삼의 증숙시 직화로 인한 잘못된 제조기술로 인해 생성되는 발암성분인 Bezopyrene 역시 검출되지 않았다.

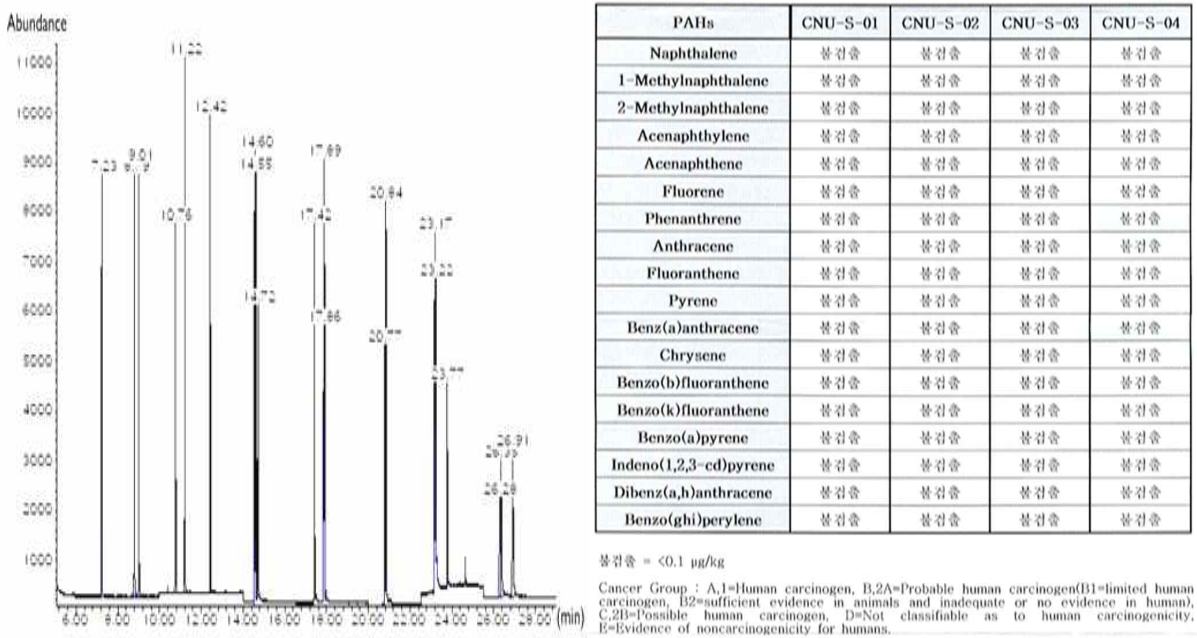


Figure 3-1. GC-MS chromatograms of PAHs standards.

## 라. 흑삼의 제조공정 개선으로 품질향상

### (1) 흑삼의 제조공정 개선

(가) 종래의 구증구포 흑삼제조공정(Photo-1)에 대한 제조 문제점을 조사하고 흑삼 제조공정의 개선방향을 설정하고자 하였다. 우선 흑삼제조 공정의 1차 증숙과정 에서 심각한 균열현상(Photo-2)이 있었으며, 이의 개선을 위하여 시험으로 원료수삼을 건조시켜 피부백삼(Photo-3)을 제조 후 흑삼제조방법과 원료수삼을 증숙가열 건조시켜 홍삼을 제조한 다음 흑삼제조방법을 검토하였다. 백삼으로 제조된 흑삼은 흑삼 제조과정 중에 균열(갈라짐) 현상이 나타나지 않는 장점이 있었으나 갈색화 반응이 서서히 촉진되어 미약하였고 백삼고유의 흑냄새와 백삼맛이 남게되어 흑삼제조에 적합하지 않았다.



(나) 홍삼을 제조한 다음 흑삼제조방식이 적합한 것으로 조사되어 1차 증숙과정 에서 균열억제를 위하여 식품용랩과 인삼동체의 밴딩(Photo-4)으로 균열현상과 내공 현상 등을 거의 억제할 수 있었다. 한편 원료용 수삼을 60℃에서 0, 30, 45, 90, 180 및 300분 예열처리 하여 흑삼을 제조 실험결과(Photo-5) 균열을 다소 감소시키고 최종 제조된 흑삼의 쓰고, 텁텁한맛을 다서 감소시킬 수 있었다. 원료용 수삼 4년근(Photo-6)을 60℃ 습열을 이용 예열 45분 처리 후 온도별 증숙 흑삼제조 실험결과(Photo-7) 갈색도 측진이 대체로 양호하였고 80℃ 증숙 흑삼제조구가 종래의 흑삼제조 문제점 개선에 적합하였음. 1차 증숙과정에서 홍삼제조 후 온도별 증숙 흑삼제조(Photo-8) 실험결과 80℃ 증숙 제조구는 종래의 흑삼제조 문제점 개선에 적합하였다.

**Photo-1.** 종래의 구증구포 방식으로 흑삼제조 후 제조공정의 문제점 조사



**Photo-2.** 98℃ 까지 승온 증삼 1차 후 흑삼 제조시 균열현상 개선책 요망



**Photo-3.** 60 ℃ 가열건조하여 피부백삼 제조 후 흑삼제조 결과 균열 및 내공은 현저하게 줄일 수 있었으나, 갈색화반응 촉진이 저조하고 백삼의 향미와 흑냄새 감지



**Photo-4.** 흑삼 제조공정의 1차 증숙과정에서 식품용랩을 감고 밴딩으로 제조된 홍삼의 균열, 내공 엑스 유출 등 현저하게 감소되어 양질의 흑삼뿌리를 포장 상품화에 활용



**Photo-5.** 원료용수삼을 60℃에서 0, 30, 45, 90, 180 및 300분 예열 처리 후 흑삼을 제조 결과 균열을 감소시키고 최종 제조된 흑삼의 쓰고, 텁텁한맛을 다소 감소

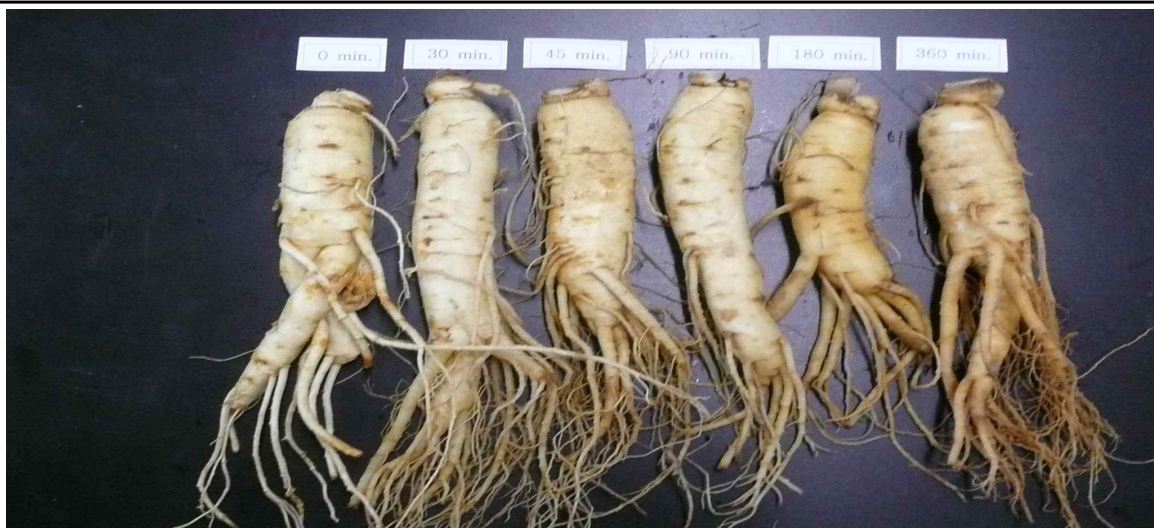
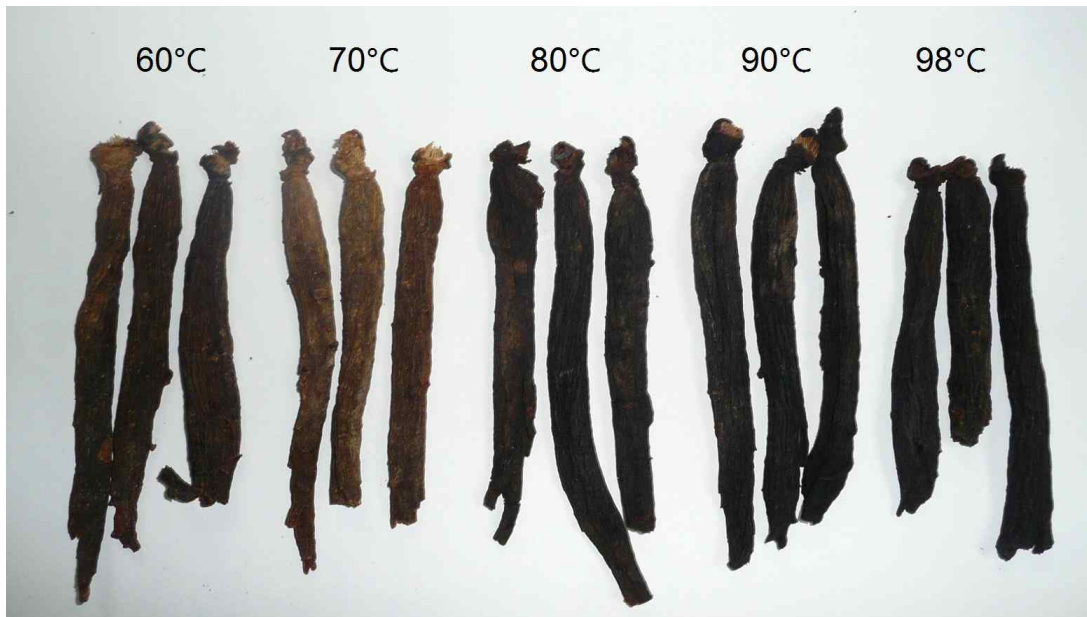




Photo-6. 흑삼제조시험에 사용된 4년근 원료수삼



Photo-7. 60℃ 습열을 이용 예열 45분 처리 후 온도별 증숙 흑삼 제조 갈색도 촉진양호 종래의 98℃ 흑삼 제조구 대비 80℃ 흑삼제조구의 제조수율 및 품질 양호



## (2) 흑삼 제조 조건별 흑삼수율, 흑삼의 품질 및 유효성분 함량변화 조사

### (가) 흑삼 제조공정의 증숙 온도별 수율 및 엑스함량 조사

- (1) 흑삼제조과정에서 추가되는 공정인 증삼과정의 증삼온도별로 최종 제조 수율은 Table 3-1 에서와 같이 현저한 차이를 보였다. 홍삼 대조구의 제조 수율 28.47% 대비 98℃ 흑삼 제조구는 10.78%의 감소를 나타내어 최종 제조 수율수율은 25.4% 였으며, 80℃ 흑삼 제조구는 홍삼 대조구의 제조 수율 28.47% 대비 3.22%의 감소를 나타내어 27.6% 제조 수율은 27.54% 였다.

(2) 온도별 제조 흑삼의 50% 건조엑스 수율을 비교해 볼 때 98℃ 흑삼 제조구는 총 9번의 증삼공정과 건조과정을 거치면서 가용성엑스의 용출현상이 매우 심하여 50%엑스 수율은 26.1% 였으나, 80℃ 개선 흑삼 제조구는 31.1%로 흑삼제조과정 중에 가용성엑스의 유출에 따른 엑스수율 감소현상을 현저하게 줄일 수 있었다.

**Table 3-1. Fluctuation of weight reduction, starch content and extract yield in the red ginseng processes by steam heating processing at various temperatures**

Sample of red and black ginseng	Weight reduction (%)	Extract yield (%) <sup>3)</sup>
Red ginseng	0.83±0.09 <sup>1)a2)</sup>	36.31±3.65 <sup>d</sup>
Steaming at 60℃	0.85±0.62 <sup>a</sup>	34.74±0.94 <sup>d</sup>
Steaming at 70℃	1.44±0.48 <sup>a</sup>	33.83±0.69 <sup>cd</sup>
Steaming at 80℃	3.22±0.56 <sup>a</sup>	31.10±1.27 <sup>bc</sup>
Steaming at 90℃	6.86±1.14 <sup>b</sup>	29.42±1.12 <sup>ab</sup>
Steaming at 98℃	10.78±2.95 <sup>c</sup>	26.13±1.86 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> All values are mean ± SD (n=3)

<sup>2)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05

<sup>3)</sup> The red ginseng powder was extracted with 50% ethyl alcohol.

#### (나) 흑삼 제조공정의 증숙 온도별 흑삼의 색도, pH 및 갈색도 비교

- (1) 흑삼제조 온도별 색도 비교결과 Table 3-2에서와 같이 백색도 (L)은 대조구 홍삼의 78.81 대비 종래흑삼 제조방법으로 제조한 98℃ 증삼구는 41.62로 현저하게 감소되었으며, 80℃ 증삼 흑삼 개선구는 57.09였다. 반면에 적색도 (a)는 홍삼의 1.09 대비 80℃ 증삼 흑삼 개선구는 7.13으로 증가되었으며 98℃ 증삼구는 8.79로 현저하게 증가를 보였다.
- (2) pH 비교결과 대조구 홍삼의 pH는 5.63 이었으나 80℃ 증삼 흑삼제조구는 4.96 이었고 98℃ 증삼 제조구는 4.25 였다. 이와 같은 현상은 흑삼제조과정 중 증삼온도가 증가됨에 따라 갈색화반응 이 과도하게 촉진되어 Table 3-2에서와 같이 pH가 현저하게 낮아져서 고온제조 흑삼의 경우 신맛과 떫은맛의 주된 요인이 추가됨을 알 수 있었다.
- (3) 갈색도는 홍삼의 경우 0.03 이었으나 80℃ 증삼 흑삼 개선구는 0.14 였고 98℃ 증삼 제조구는 0.47로 현하게 증가되어 홍삼이나 80℃ 증삼 흑삼 대조구에 비하여 98℃ 증

삼 대조구는 비효소적으로 Maillard type-browning reaction 갈색화반응이 현저하게 촉진 되어 증가되어 그 결과 매우 진한 흑삼으로 제조됨을 알 수 있었다.

**Table 3-2. Color difference, pH and brown color intensity in the red ginsengs prepared by the steam heating processing at various temperature**

Sample of red ginseng	Hunter value			pH	Brown color intensity
	L	a	b		
Red ginseng	78.81±0.28 <sup>c</sup>	1.09±0.37 <sup>a</sup>	23.12±0.50 <sup>b</sup>	5.63±0.08 <sup>c</sup>	0.03±0.01 <sup>a</sup>
Steaming at 60°C	66.75±3.89 <sup>d</sup>	4.90±1.15 <sup>b</sup>	24.64±0.35 <sup>b</sup>	5.24±0.03 <sup>d</sup>	0.07±0.01 <sup>a</sup>
Steaming at 70°C	62.39±1.20 <sup>c</sup>	5.93±0.32 <sup>b</sup>	25.01±0.89 <sup>b</sup>	5.15±0.06 <sup>d</sup>	0.14±0.03 <sup>b</sup>
Steaming at 80°C	57.09±2.05 <sup>b</sup>	7.13±0.54 <sup>c</sup>	24.94±0.68 <sup>b</sup>	4.96±0.09 <sup>c</sup>	0.14±0.03 <sup>b</sup>
Steaming at 90°C	53.47±1.73 <sup>b</sup>	8.01±0.48 <sup>cd</sup>	24.37±1.25 <sup>b</sup>	4.67±0.12 <sup>b</sup>	0.20±0.03 <sup>c</sup>
Steaming at 98°C	41.62±3.38 <sup>a</sup>	8.79±0.3 <sup>d</sup>	18.70±1.68 <sup>a</sup>	4.25±0.08 <sup>a</sup>	0.47±0.02 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup> All values are mean ± SD (n=3)

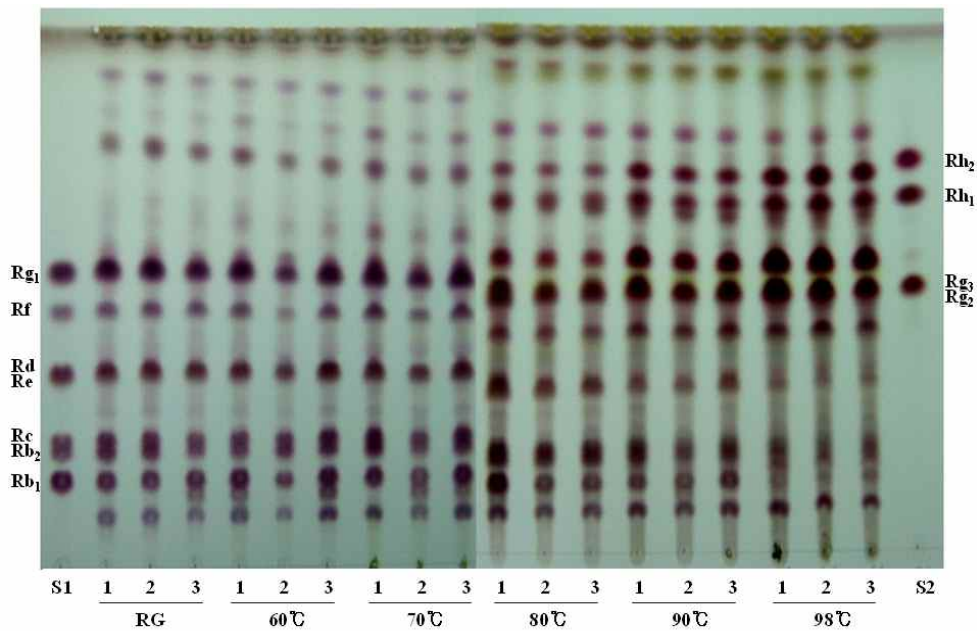
<sup>2)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05

#### (다) 흑삼 제조공정의 증숙 온도별 흑삼의 사포닌 함량변화

(1) 증숙제조 온도별 제조흑삼의 사포닌성분에 대한 TLC 패턴변화는 Figure 3-1와 같은 온도별 사포닌성분의 변화를 보였으며 HPLC 분석결과 Figure 3-2와 같이 사포닌 성분을 분리 정량하였다. 식약청 품질기준에 준하여 ginsenoside(G)- Rb1 과 G-Rg1을 HPLC로 분석결과 Table 3-3과 같이 홍삼 대조구는 각각 2.41 mg/g 및 2.46 mg/g 이었고, 80°C 에서 증삼하여 제조된 흑삼은 1.59 mg/g 및 0.87 mg/g 이었으며 98°C에서 증숙하여 제조된 흑삼의 경우는 0.45 mg/g 및 0.08 mg/g 이었다. 여기서 알 수 있는 바와 같이 종래의 흑삼제조 방법은 G-Rb1 과 G-Rg1의 합이 0.53 mg/g으로 식약청 품질기준 0.8 ~ 34 mg/g에 미달됨을 알 수 있었다. 따라서 종래의 흑삼 제조방법으로 볼 수 있는 구증구포 제조방법은 사포닌 품질관리 지표성분 함량면에서 볼 때 사포닌 하량의 품질기준에 부적합함을 알 수 있었다. 그러나 80°C에서 개선조건으로 제조된 흑삼의 경우 G-Rb1: 1.59 mg/g 및 G-Rg1 : 0.87 mg/g으로 2 개 사포닌성분의 합이 2.46 mg/g으로 식약청의 품질기준에

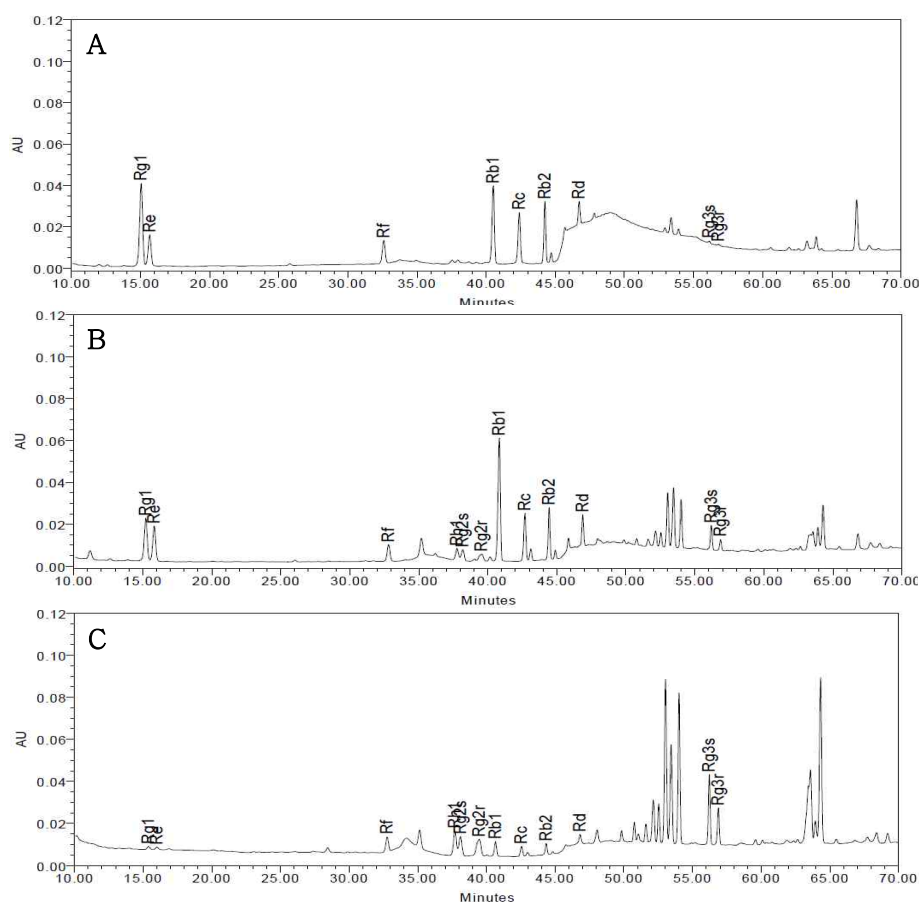
적합하였다.

(2) 흑삼 제조과정에서 인삼 사포닌성분 중 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd 등 protopanaxadiol 사포닌 성분들의 탄소 20위치의 배당체결합이 가수분해되어 Rg<sub>3</sub>(S)와 Rg<sub>3</sub>(R)으로 전환이 증가되고 protopanaxatriol 사포닌성분인 Re는 탄소 20위치의 배당체결합이 가수분해되어 Rg<sub>2</sub>(S)와 Rg<sub>2</sub>(R)로 전환되어 이들 전환 사포닌성분의 함량이 증가되는 것으로 밝혀졌다. 홍삼은 Rg<sub>2</sub> + Rg<sub>3</sub> 함량이 0.24 mg/g 이었고, 80℃ 증숙제조 흑삼은 0.93 mg/g이었으며 98℃ 고온 증숙 흑삼의 경우는 3.14 mg/g으로 크게 증가되어 현행 고온증숙 흑삼 제조공정은 이들 전환사포닌 함량이 높은 흑삼을 만들하고자 할 경우는 이용이 가능함을 알 수 있었다.



**Figure 3-1. TLC of the red ginsengs processed by the steam heating processing at the various temperatures**

\* The developing system was as flow : Chloroform-Methanol-Water (65 : 35 : 10, lower). The TLC plate was sprayed with 20% sulfuric acid, followed by heating at 105℃ for 10minutes.



**Figure 3-2. HPLC chromatograms of ginsenosides of the red ginsengs prepared by the steam heating processing at various temperatures.** A: Normal red ginseng, B : Processing at 80°C, C : Processing at 98°C

**Table 3-3. Ginsenosides amount of the red ginsengs prepared by steam heating processing at various temperatures**

Sample of red ginseng	Ginsenoside contents (mg/g)						
	Rb1	Rg1	Rg2(S)	Rg2(R)	Rg3(S)	Rg3(R)	Rg2 + Rg3 <sup>**</sup>
Red ginseng	2.41±0.38 <sup>1)(k2)</sup>	2.46±0.27 <sup>c</sup>	0.14±0.03 <sup>a</sup>	0.04±0.02 <sup>a</sup>	0.04±0.02 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>a</sup>	0.24
Steaming at 60°C	2.53±0.44 <sup>e</sup>	2.45±0.20 <sup>c</sup>	0.13±0.03 <sup>a</sup>	0.08±0.04 <sup>ab</sup>	0.07±0.02 <sup>a</sup>	0.03±0.02 <sup>a</sup>	0.31
Steaming at 70°C	2.45±0.36 <sup>e</sup>	2.11±0.13 <sup>c</sup>	0.27±0.09 <sup>ab</sup>	0.13±0.03 <sup>bc</sup>	0.12±0.02 <sup>a</sup>	0.06±0.01 <sup>ab</sup>	0.58
Steaming at 80°C	1.59±0.64 <sup>b</sup>	0.87±0.36 <sup>b</sup>	0.35±0.12 <sup>b</sup>	0.19±0.03 <sup>c</sup>	0.27±0.10 <sup>b</sup>	0.12±0.05 <sup>b</sup>	0.93
Steaming at 90°C	1.22±0.11 <sup>b</sup>	0.40±0.03 <sup>a</sup>	0.56±0.09 <sup>c</sup>	0.39±0.05 <sup>d</sup>	0.69±0.11 <sup>c</sup>	0.29±0.08 <sup>c</sup>	1.93
Steaming at 98°C	0.45±0.09 <sup>a</sup>	0.08±0.04 <sup>a</sup>	0.72±0.15 <sup>c</sup>	0.62±0.04 <sup>c</sup>	1.20±0.05 <sup>d</sup>	0.60±0.02 <sup>d</sup>	3.14

<sup>1)</sup> All values are mean ± SD (n=3)

<sup>2)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05

※ Rg2 + Rg3 = Rg2(S) + Rg2(R) + Rg3(S) + Rg3(R)

(라) 흑삼 제조공정의 증숙 온도별 흑삼의 말톨함량(Maltol) 분석

(1) 홍삼 및 흑삼의 말톨 함량 분석결과 Table 3-4에서와 같이 홍삼  $0.35 \pm 0.04$  mg/g, 80℃ 제조 흑삼 0.41 mg/g 및 98℃ 구증구포 흑삼  $1.56 \pm 0.23$  이었다. 홍삼의 증숙 제조 과정의 갈색화반응 생성물로 생성되는 말톨의 경우 80℃ 제조흑삼의 경우 홍삼에 비하여 증가량이 적은편 이었으나 98℃ 구증구포 흑삼에서 현저하게 증가됨을 알 수 있었다.

식약처 품질관리 기준에는 홍삼 및 흑삼의 품질관리 규격에 말톨 기준이 설정되어 있지 않았으나, 홍삼 및 흑삼의 제조조건에 따라서 자가 품질관리 기준을 설정하고 말톨 함량 기준치를 자가 품질관리에 활용할 수 있을 것으로 고찰되었다.

(2) 홍삼의 증숙제조 과정에서 갈색화반응이 촉진되면서 말톨 성분이 생성되고 생성되는 항산화과가 있는 것으로 보고되었다. 그러나 홍삼 및 흑삼의 물추출 엑스 제조과정이나 이를 함유한 생약복합제품의 제조과정에서 갈색화 반응이 촉진됨에 따라서 그 함량이 변화될 수 있으므로 홍삼 및 흑삼의 추출물엑스나 이들 원료인삼을 함유하는 생약복합제 제품에서 말톨 성분을 품질관리 지표성분으로 설정하여 품질관리 하기에는 부적합한 것으로 고찰되었다.

Table 3-4. The amount of maltol in red and black ginseng

Ginseng sample	Maltol content (mg/g)
Red ginseng	$0.35 \pm 0.05^{1)2)}$
Black ginseng (steaming at 80 ℃)	$0.41 \pm 0.06^a$
Black ginseng (steaming at 98 ℃)	$1.56 \pm 0.23^b$

<sup>1)</sup> All values are mean  $\pm$  SD (n=3)

<sup>2)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at  $p < 0.05$

## 4. 흑삼추출물의 콜레스테롤 저하 효능결과

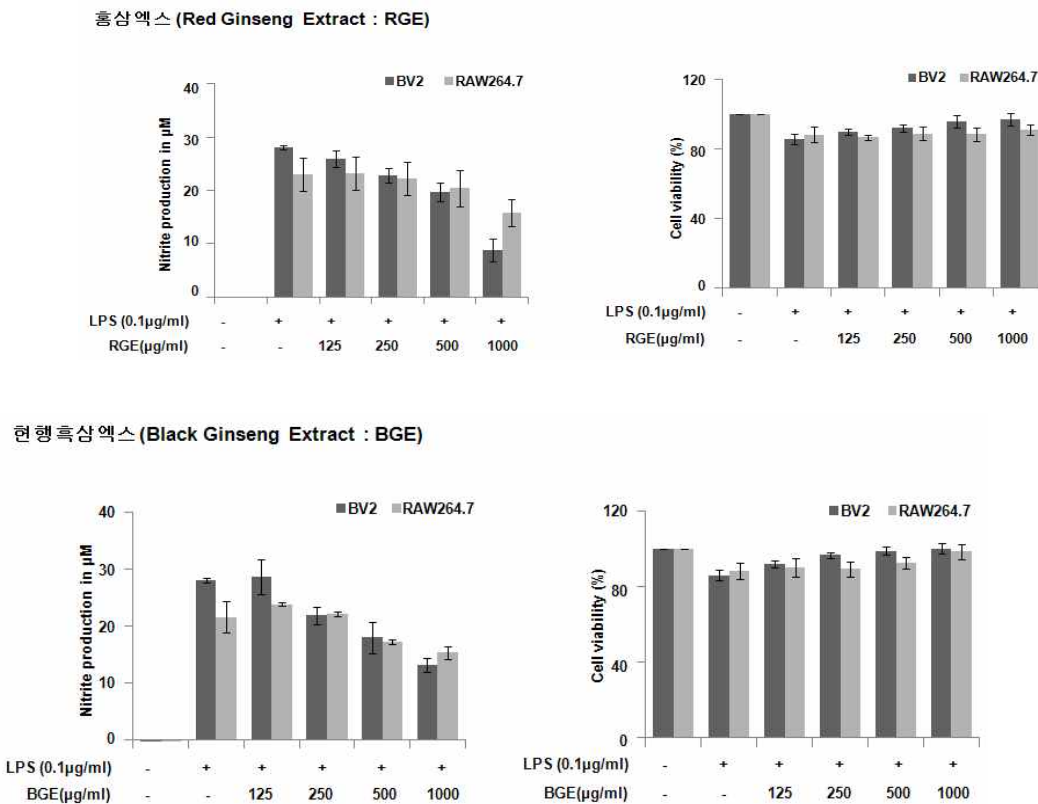
가. *in vitro* 콜레스테롤 저하 효능

### (1) 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 NO and MTT assay

- 24well plate에 RAW264.7과 BV2 cell을 배양한 뒤 sample과 LPS 처리 후 18시간 배양, 세포배양액 100 $\mu$ l에 Griess reagent를 100 $\mu$ l처리하여 5분간 반응 후 540nm에서 수치 읽음 (NO assay). 세포에 MTT시약을 처리하여 4시간 배양 뒤 formazan을 500 $\mu$ l DMSO로 녹인 뒤 560nm에서 수치 읽음 (MTT assay).

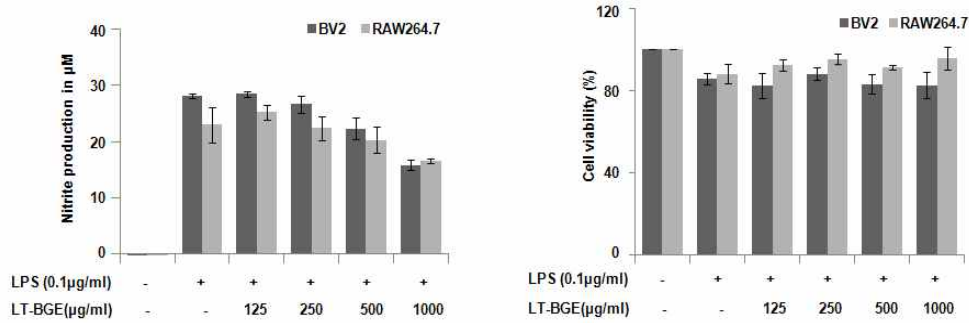
- RAW264.7과 BV2 cell에서 LPS에 의해 유도된 NO 생성을 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스가 억제할 수 있는지 알아보기 위해 NO assay를 진행함. RAW264.7과 BV2 cell 모두에서 농도 의존적으로 (125, 250, 500 and 1000ug/ml) NO의 생성을 억제하였음. 또한 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 NO 생성 억제능은 RAW264.7보다 BV2 cell에서 조금 더 강한 것을 확인함. MTT assay결과 RAW264.7과 BV2 모두 1000ug/ml의 농도까지 독성을 보이지 않았기 때문에 NO 생성의 억제는 독성과는 무관한 것으로 확인됨.

Figure 4-1)





저온흑삼엑스 (Low-temperature Black Ginseng Extract : LT-BGE)



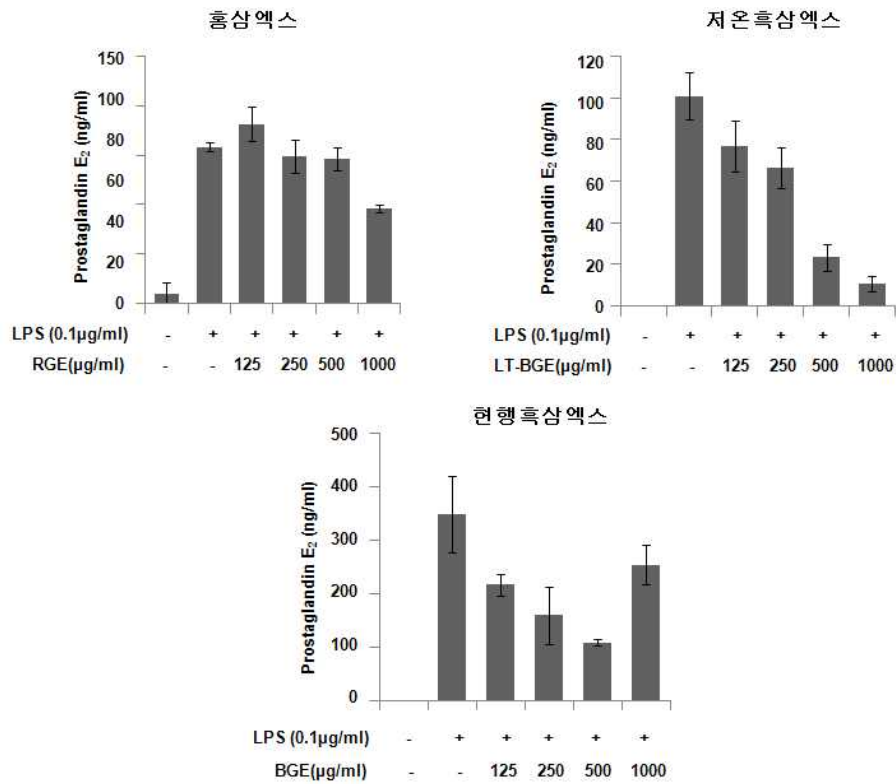
(2) 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 RT-PCR

- 6well plate에 BV2 cell을 배양 한 뒤 샘플과 LPS 처리 후 18시간 배양. cool PBS를 이용하여 washing 후 TRIZOL reagent를 이용하여 total RNA 추출. RT-premix를 이용하여 cDNA 합성 (45°C 1시간 30분, 95°C 5분) 후 각각의 primer를 이용하여 PCR. PCR product를 1% agarose gel에 65V 30분간 전기영동.

- BV2 cell에서 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 iNOS, COX2와 proinflammatory cytokine의 발현 억제 양상을 확인하기 위하여 BV2 cell에 샘플처리 후 LPS를 이용하여 염증반응을 유발 시킨 뒤 PCR을 실시함. 총 5가지 인자 (iNOS, COX-2, IL-6, IL-1β and TNF-α)의 발현정도를 확인함.

홍삼엑스는 NO assay의 데이터와 비슷하게 최고농도인 1000ug/ml에서 50%이상의 발현 억제능을 보였고, IL-1β 또한 농도의존적으로 많은 양의 cytokine 생성을 홍삼엑스가 억제함. COX-2는 20%정도의 억제를 보였고 나머지 IL-6와 TNF-α의 발현은 전혀 억제하지 못함. 현행흑삼엑스는 iNOS, TNF-α와 IL-1β에서 농도의존적으로 발현이 억제되었고, COX-2는 농도의존적인 양상을 보이진 않았지만 최고농도인 1000ug/ml에서 50% 정도의 억제능을 보인 반면 IL-6에서는 아무런 효과를 보이지 않음. 저온흑삼엑스는 NO assay에서 3가지 샘플 중 가장 적은 NO 생성 억제능을 보인것과 유사하게 iNOS의 발현을 눈에 띄게 감소시키지는 못함. 하지만 다른 두 샘플과는 다르게 COX-2의 발현을 농도 의존적으로 많은 양 감소시켰으며 IL-1β 또한 농도 의존적으로 감소하는 그래프를 나타냄. IL-6와 TNFα는 저온흑삼엑스의 처리에 어떠한 효과를 보이지 않음.

Figure 4-3)

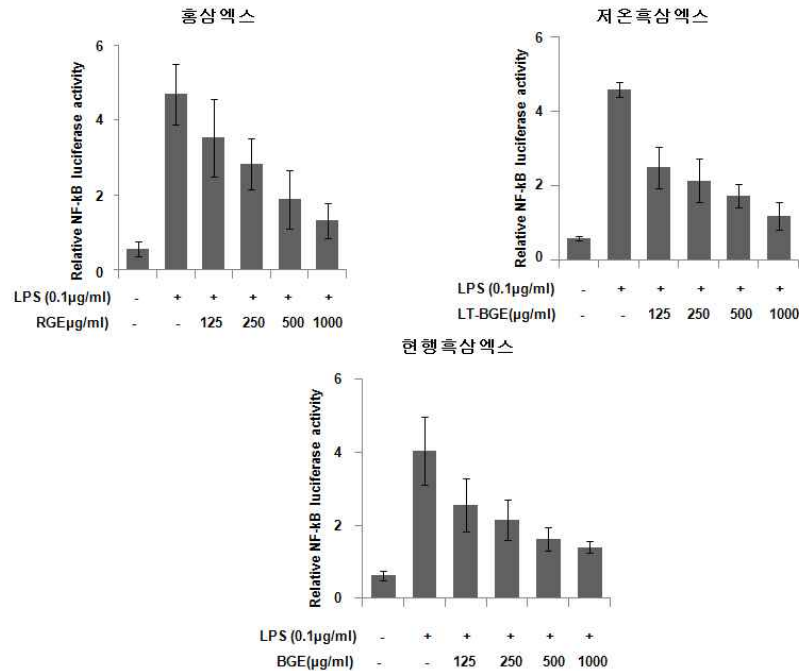


(4) 홍삼엑스, 현행홍삼엑스와 저온홍삼엑스의 NF- $\kappa$ B luciferase assay

- 60mm plate에 penicillin/streptomycin이 없는 DMEM을 이용하여 배양 후 다음날 NF- $\kappa$ B plasmid 2ug + TK renilla 0.83ug을 Lipofectamin 2000을 이용하여 transfection. 6시간 후 penicillin/streptomycin이 들어있는 DMEM으로 배지를 바꿔준 후 하루 더 배양함. 다음날 24well plate에 cell을 옮긴 뒤 하루 더 배양. 다음 날 24well plate에 sample과 LPS를 처리한 뒤 6시간 후 1X passive lysis buffer를 이용하여 세포를 모음. 원심 12000rpm/5min/4°C 후 상층액 80µl를 옮긴 후 luciferase assay kit (promega)의 매뉴얼에 따라 실험 진행.

- LPS만 단독으로 처리한 세포에서는 NF- $\kappa$ B activity가 증가하였지만 홍삼엑스, 현행홍삼엑스와 저온홍삼엑스를 처리함에 따라 농도의존적으로 NF- $\kappa$ B의 activity가 감소하는 것을 확인함.

Figure 4-4)

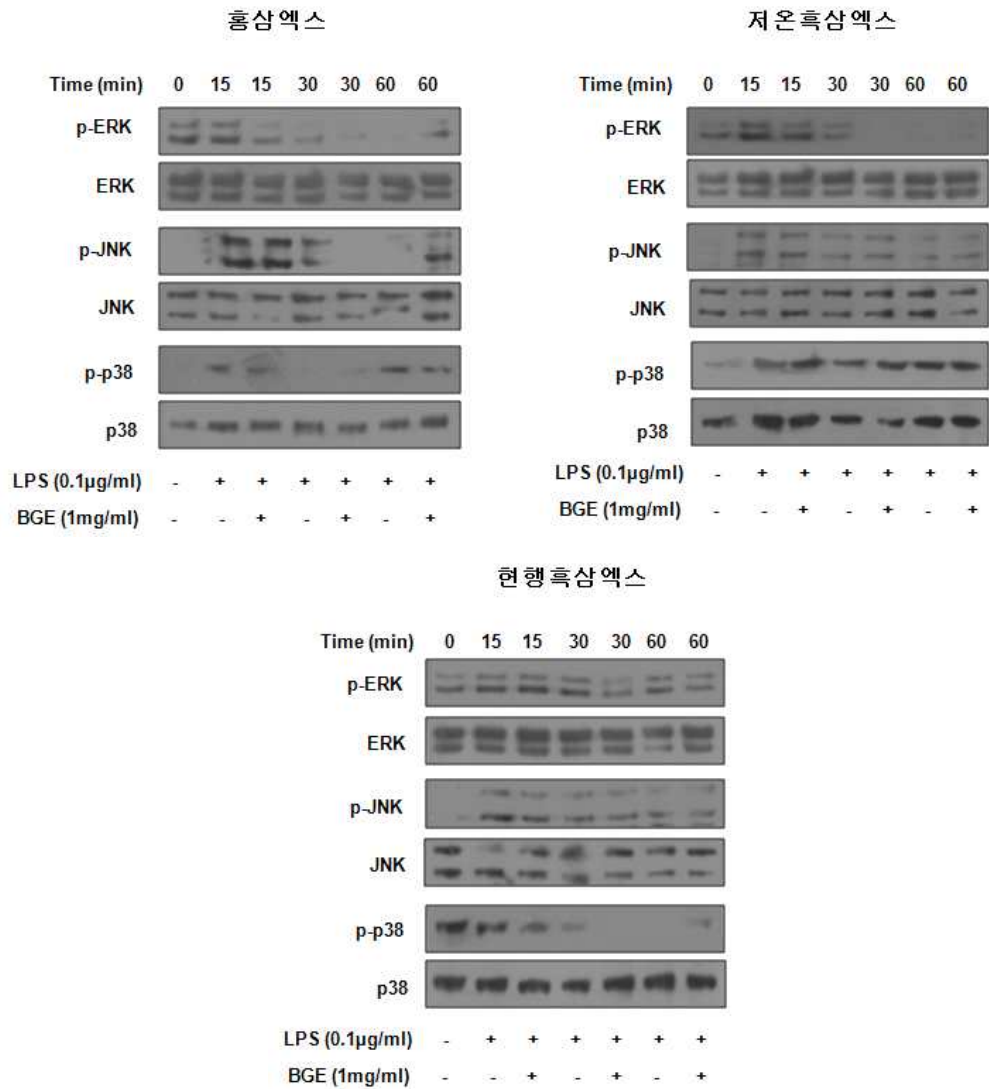


(5) 홍삼엑스, 현행홍삼엑스와 저온홍삼엑스의 western blotting

- 6well plate에 BV2 cell을 배양한 뒤 time course(15, 30, 60분)로 sample과 LPS 처리 후 단백질을 추출. cell을 cool PBS 1ml로 모은 후 원심 12000rpm/5min/4℃. pellet에 pro-prep (intron) 200 μl를 넣은 뒤 강하게 vortex후 원심 12000rpm/5min/4℃. 상층액 180 μl 덜어 western blotting에 사용. 10% SDS-PAGE gel에 sample을 넣은 후 85V로 running, polyvinylidene fluoride (PVDF)에 transfer 후 10% skim milk를 이용해 blocking, 1차항체와 2차항체 붙인 후 암실에서 ECL을 이용하여 현상.

- 홍삼엑스, 현행홍삼엑스와 저온홍삼엑스의 MAPKs phosphorylation 억제 정도를 알아보기 위해 time course로써 15분, 30분, 60분에 단백질을 추출하여 실험을 진행함. 세가지 샘플이 각기 다른 시간에 phosphorylation을 억제하는 것으로 확인됨. 홍삼엑스에서 p-ERK는 15분, p-JNK는 30분 그리고 p-p38은 15분에 약하게 phosphorylation이 억제됨. 저온홍삼엑스의 경우 p-ERK는 15분, 30분에서 강하게 phosphorylation을 억제하였지만 p-JNK와 p-p38는 효과가 없었음. 현행홍삼엑스는 p-ERK 30분에 phosphorylation이 억제되었고, p-JNK와 p-p38는 15분에서 약한 억제능을 보였음.

Figure 4-5)

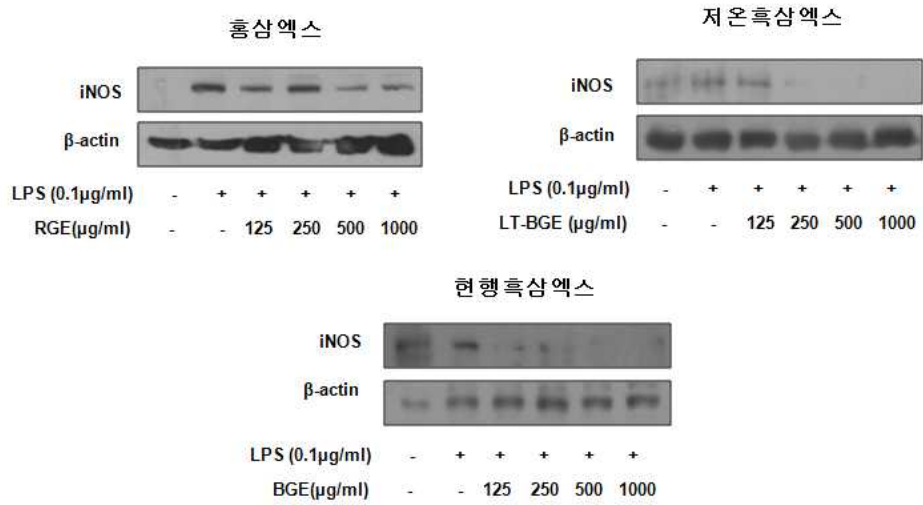


(6) 홍삼엑스, 현행홍삼엑스와 저온홍삼엑스의 western blotting

- 6well plate에 BV2 cell을 배양한 뒤 sample과 LPS 처리, 24시간 배양 후 단백질 추출. cell을 cool PBS 1ml로 모은 후 원심 12000rpm/5min/4°C. pellet에 pro-prep (intron) 200μl를 넣은 뒤 강하게 vortex후 원심 12000rpm/5min/4°C. 상층액 180μl 덜어 western blotting에 사용. 10% SDS-PAGE gel에 sample을 넣은 후 85V로 running, polyvinylidene fluoride (PVDF)에 transfer 후 10% skim milk를 이용해 blocking, 1차항체와 2차항체 붙인 후 암실에서 ECL을 이용하여 현상.

- 홍삼엑스, 현행홍삼엑스와 저온홍삼엑스의 iNOS 단백질 발현 억제능을 알아보기 위하여 실험을 진행. 홍삼엑스, 현행홍삼엑스와 저온홍삼엑스 모두 LPS에서 증가된 iNOS 발현이 추출물을 처리함에 따라 많은 양 억제되는 것을 확인함.

Figure 4-6)



### 5. 흑삼 추출물(BG\_EoTH & BG\_H2O)들의 콜레스테롤개선에 관한 동물효력평가

콜레스테롤 조절작용과 관련된 in vivo 바이오마커들을 그 조절 작용 유형에 따라 적절하게 선정하였으며 결과는 편의상 다음에 제시되는 동물과 인체시험의 일반시험법 부분에서 제시하였다.

콜레스테롤 대사부위/조절 명칭	바이오마커의 의미	주요 바이오마커들	보조 바이오마커들
장내 콜레스테롤 흡수 조절	장내 콜레스테롤 흡수 관련 효소 저해지표	<ul style="list-style-type: none"> <li>콜레스테롤 섭취량</li> <li>pCEH 활성도(소장액)</li> <li>ACAT활성도(소장조직)</li> <li>콜레스테롤 수준(분변, 혈장)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>동위원소 표지자 콜레스테롤의 수준(소장과 대장 내용물, 분변, 혈장)</li> </ul>
	흡수 경쟁에 의한 콜레스테롤 흡수 감소 지표	<ul style="list-style-type: none"> <li>콜레스테롤 섭취량</li> <li>콜레스테롤 수준 (소장 점막조직, 혈장, 분변)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>동위원소 표지자 콜레스테롤의 활성도 (혈장, 분변, 소장 대장내용물)</li> </ul>
콜레스테롤과 담즙산 배설 조절	스테롤의 체외 배설 지표	<ul style="list-style-type: none"> <li>분변 중성스테롤 배설량</li> <li>분변 산성스테롤 배설량</li> <li>Total cholesterol (혈장)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>간조직의 7-<math>\alpha</math> hydroxylase 활성도</li> <li>콜레스테롤 (간)</li> <li>HDL-cholesterol</li> <li>LDL-cholesterol</li> </ul>
혈장 콜레스테롤 대사 조절	고콜레스테롤혈증 및 동맥경화유도 위험성 예측 지표	<ul style="list-style-type: none"> <li>Total cholesterol (혈장)</li> <li>LDL-cholesterol</li> <li>HDL-cholesterol</li> <li>Apo A-I</li> <li>Apo B</li> <li>산화 LDL 수준</li> <li>Atherogenic index</li> <li>Paraoxonase 활성도</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>HDL-C/Total-C 비율</li> <li>TBARS 농도(혈장, 간)</li> <li>항산화효소 활성도 (적혈구, 간)</li> </ul>
조직 콜레스테롤 축적 조절 (간, 동맥)	조직 콜레스테롤 대사 지표	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cholesterol(간, 동맥, 혈장)</li> <li>HMG-CoA reductase 활성도 (간)</li> <li>ACAT 활성도 (간, 동맥)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>조직 fat droplet 비율(간, 동맥)</li> <li>LDL-C</li> </ul>
콜레스테롤 역수송 조절	혈장 콜레스테롤 제거 지표	<ul style="list-style-type: none"> <li>혈장 CETP 활성도</li> <li>혈장 LCAT 활성도</li> <li>Total cholesterol (혈장)</li> <li>HDL-cholesterol</li> <li>LDL-cholesterol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>콜레스테롤 수준 (간)</li> <li>HMG-CoA reductase 활성도</li> <li>ACAT 활성도 (간)</li> <li>HDL-C/Total-C 비율</li> </ul>
콜레스테롤 생합성 조절	간의 콜레스테롤 생합성 지표	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cholesterol(간, 혈장)</li> <li>HMG-CoA reductase 활성도 (간)</li> <li>ACAT 활성도 (간, 동맥)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>HDL cholesterol</li> <li>LDL cholesterol</li> <li>분변 중성스테롤</li> <li>분변 산성스테롤</li> </ul>



가) BG\_EoTH & BG\_H2O의 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 병태모델의 콜레스테롤개선 효과

고콜레스테롤혈증 흰쥐모델을 대상으로 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물의 콜레스테롤개선 효과를 검증하고자 정상대조군(SD-vehicle, ND), 고콜레스테롤혈증 대조군 (고콜레스테롤식이군, D12336-NC), 양성대조군 고콜레스테롤식이군, D12336-Lovastatin) (200 mg/kg) 실험군 (고콜레스테롤식이군, 콜레스테롤개선 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물)들을 비교 검증하였다. 이를 위하여 고콜레스테롤식이로 유도한 고콜레스테롤혈증 병태모델을 다음과 같이 제작하였다. 8 주령의 수컷 SD rat 흰쥐(대한바이오텍)를 항온(25±2℃), 항습(50±5%) 및 12시간 간격의 광주기(light on 07:00 ~ 19:00)로 조절되는 SPF환경에서 2 주간 기본사료(AIN-76A diet)와 물을 자유롭게 공급하면서 적응시킨 후, 체중이 약 250g 이상 되는 10 주령부터 고콜레스테롤식이(#D122391, Research Diets Inc, USA)를 투여하여 고콜레스테롤혈증 병태모델을 제작하였다. 상기 고콜레스테롤혈증 병태모델의 10 주령기에 고콜레스테롤식이와 시험물질 투여를 6주간 병행하였다. 식이섭취량 및 체중은 매주 1회 일정한 시간에 측정하여 기록하고, 사육이 끝난 시험동물은 희생시키고 각각의 혈청을 수집하여 혈청내 중성지방의 수준 및 저밀도 콜레스테롤의 수준을 측정하였다.

고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 체중변화 수준을 나타내는 그래프이다. 최종 15주에서 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)은 정상군에 비하여 평균적으로 14.1 g의 체중증가를 나타내었고, 양성대조군은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)과 비교하여 Lovastatin은 평균 5.6g 증가경향을 나타냈다. 실험군에서는 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여 BG\_EoTH (200 mg/kg)에서는 11.6g과 BG\_H2O (200 mg/kg)에서는 11.0g 감소된 추이를 보여서 체중변화와는 큰 차이를 나타내지 않았다 (Fig. 5-1).

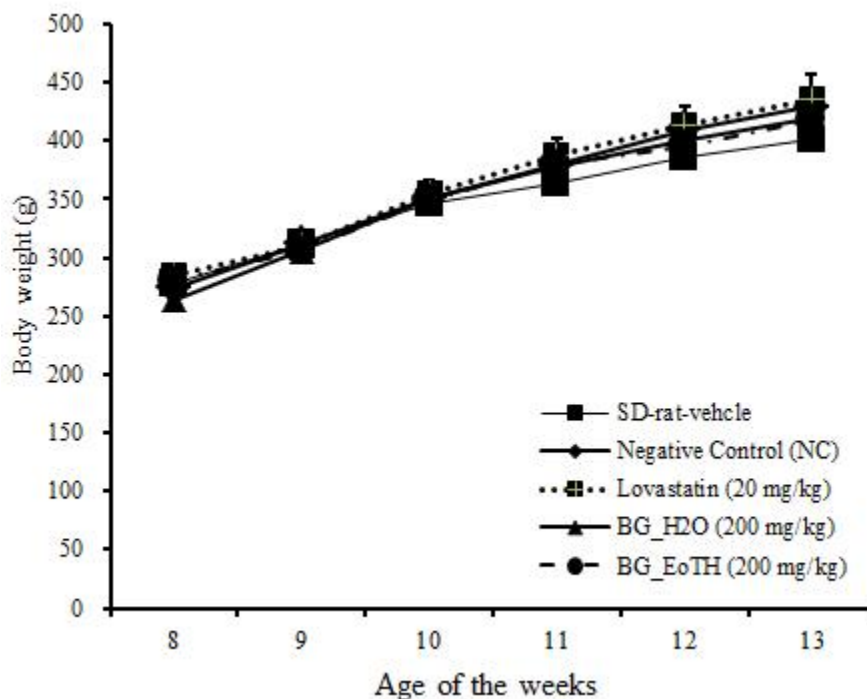




Fig. 5-1. Body weight change

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg)(n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg)(n=5)

식이효율은 아래의 공식에 대입시켜 최종 체중증가량을 총 사료섭취량으로 나누어 산출하고 통계처리 하였다. 식이효율 (feeding efficiency ratio: FER%) = 체중증가량 (g)/사료섭취량 (g)×100)의 공식에서 의미하는 바와 같이 사료를 섭취하는 양이 많음에도 불구하고 체중의 증가가 적다는 것은 체중 조절효과가 있는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 식이효율은 고콜레스테롤혈증을 나타내는 하나의 척도로 사용할 수 있고, 식이효율의 수치가 적을수록 체중 조절효과가 있다고 할 수 있다. 우리의 연구결과에서 Table 1.에서 보듯이 식이효율 (Fig.2)의 측면에서 볼 때, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)의 식이효율이 23.62%임을 나타내고 있으며, 이에 비하여 식이효율은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여 양성대조군인 Lovastatin 투여군, BG\_EoTH (200 mg/kg), 그리고 BG\_H2O (200 mg/kg) 등 실험그룹에서 감소된 추이를 보였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다 (Fig. 5-1, Table 5-1).

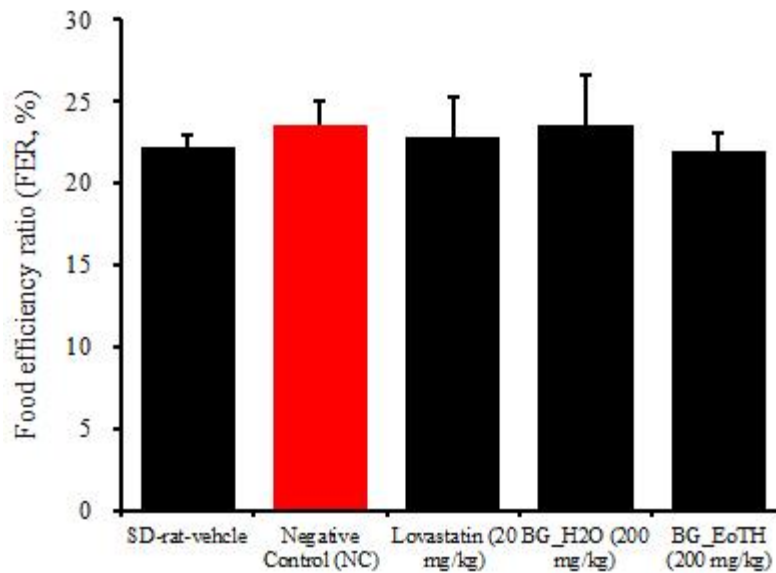


Fig. 5-2. Food efficiency ratio (FER, %)

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg)(n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg)(n=5)

Table 5-1. Food intake, body weight gain, and food efficiency ratio of D12336 diet-fed hypercholesterolemic rats with Lovastatin, BG\_EoTH, and BG\_H<sub>2</sub>O bar during administration for 6 weeks.

Group	Food intakes	Bodyweight gain	Food efficiency
	(g/day)	(g/day)	ratio (FER, %)
SD-rat-vehicle	19.95	4.436±0.15	22.23±0.75
Negative Control (NC)	23.51	5.554±0.34	23.62±1.43
Lovastatin (20 mg/kg)	23.58	5.396±0.56	22.89±2.38
BG_H <sub>2</sub> O (200 mg/kg)	23.38	5.514±0.72	23.59±3.07
BG_EoTH (200 mg/kg)	22.47	4.939±0.24	21.98±1.05

Fig. 5-3은 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 혈청내 총콜레스테롤(total cholesterol)의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈청내 총콜레스테롤(total cholesterol) 수준은 정상대조군의 혈청내 총콜레스테롤(total cholesterol)에 비하여 약 5.4%이상 증가를 나타내었다. 실험군에서는 BG\_H<sub>2</sub>O (200 mg/kg) (p<0.05)과 BG\_EoTH (200 mg/kg) (p<0.05)등이 대조군에 비하여 33.9%와 30.4% 이상 통계학적 유의성 있게 감소를 나타냈다 (Fig. 5-3, Table 5-3). 그러나 양성대조군인 Lovastatin 투여군은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 혈청내 총콜레스테롤(total cholesterol) 수준이 감소는 하였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다.

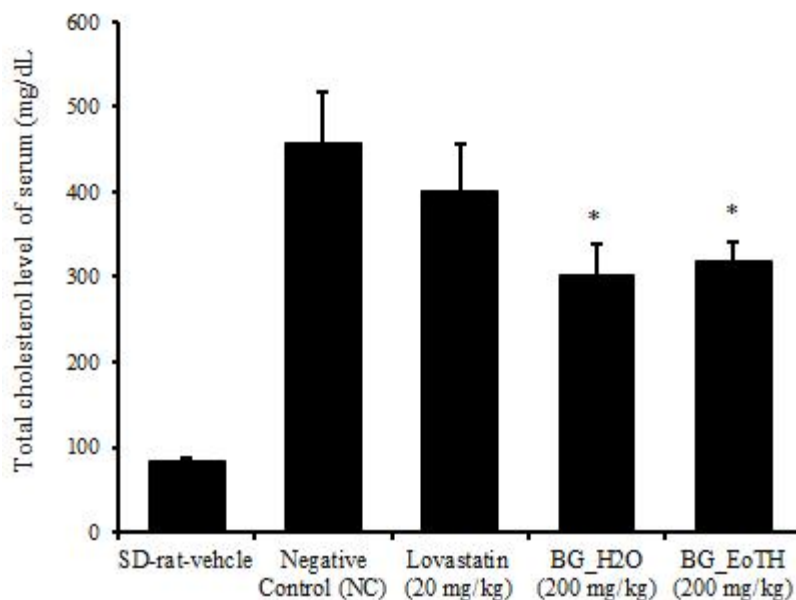


Fig. 5-3. Total cholesterol level in serum

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H<sub>2</sub>O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H<sub>2</sub>O, 200 mg/kg) (n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg) (n=5)

Table 5–2. The effect of Lovastatin, BG\_EoTH, and BG\_H<sub>2</sub>O extract on food intake, body weight gain, food efficiency ratio and organ weights in D12336-fed hypercholesterolemic Rats.

	SD rat vehicle	D12336-NC	D12336+Lovastatin (20 mg/kg)	D12336+BG_H2O (200 mg/kg)	D12336+BG_EoTH (200 mg/kg)
Food intake (g/day)	19.95	23.51	23.58	23.38	22.47
Body weight gain (g/day)	4.436±0.15	5.554±0.34	5.396±0.56	5.514±0.72	4.939±0.24
Food efficacy ratio(FER,%)	22.23±0.75	23.62±1.43	22.89±2.38	23.59±3.07	21.98±1.05
Spleen weight (g)	0.928±0.036	1.082±0.052	1.140±0.097	1.106±0.154	1.102±0.062
Liver weight (g)	11.750±0.484	22.058±0.493	22.066±0.782	20.396±1.443	19.246±0.358***
Kidney weight (g)	2.798±0.105	2.958±0.121	2.866±0.039	2.662±0.113	2.504±0.073**

Table 5-3. The effect of Lovastatin, BG\_EoTH, and BG\_H<sub>2</sub>O on blood biochemistry parameters in D12336-fed hypercholesterolemic Rats.

	SD rat vehicle	D12336-NC	D12336+Lovastatin (20 mg/kg)	D12336+BG_H2O (200 mg/kg)	D12336+BG_EoTH (200 mg/kg)
Total cholesterol, mg/dL	84±2.66	457±61.1	401±55.2	302±36.9*	318±23.6*
Triacylglycerol, mg/dL	53±4	46±7	45±7	48±8	42±3
LDL-cholesterol, mg/dL	27±3.2	360±55.2	312±47.5	233±30.7*	238±20.0*
HDL-cholesterol, mg/dL	55±2	28±2	27±3	25±1	29±1
GOT	120±10	127±8	135±8	144±29	131±13
GPT	43±7	32±2	39±9	45±13	26±1*
Creatinine, mg/dL	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3

Fig. 5-4은 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 혈청내 중성지방 (triglyceride)의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈청내 중성지방 (triglyceride) 수준은 정상대조군의 혈청내 중성지방 (triglyceride)과 차이를 나타내지 않았다. 양성대조군인 Lovastatin, 또한 실험군에서는 BG\_H2O (200 mg/kg)등에서 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 혈청내 중성지방 (triglyceride) 수준이 차이가 없었고, BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여군은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 감소는 하였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다 (Fig. 5-4, Table 5-3).

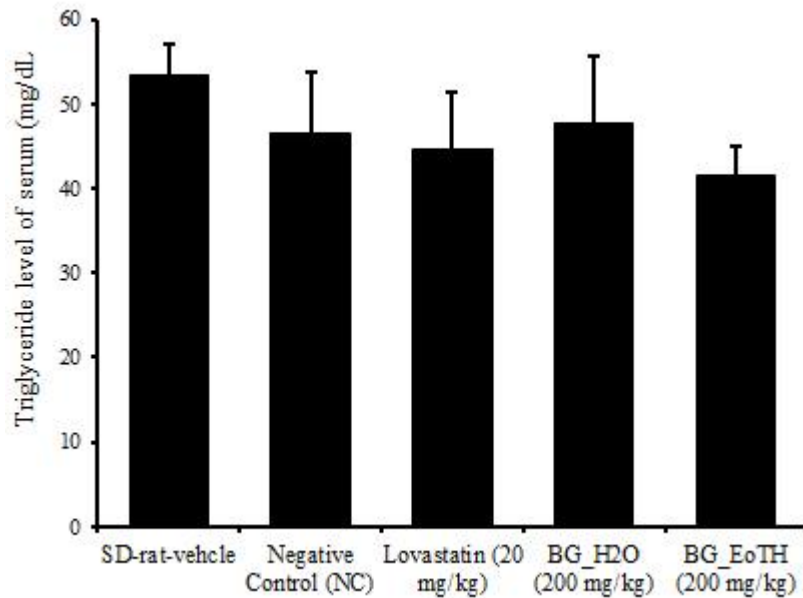


Fig. 4. Triglyceride level in serum

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg) (n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg) (n=5)

Fig. 5-5에서 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol)의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈청내 저밀도 콜레스테롤(LDL-cholesterol) 수준은 정상대조군의 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol)에 비하여 약 13.3%이상 증가를 나타내었다. 실험군에서는 BG\_H2O (200 mg/kg) (p<0.05)과 EoTH (200 mg/kg) (p<0.05)등이 고콜레스테롤혈증 대조군에 비하여 35.2%와 33.8% 이상 통계학적 유의성 있게 감소를 나타냈다 (Fig. 5-5, Table 5-3). 그러나 양성대조군인 Lovastatin 투여군은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol) 수준이 감소는 하였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다. (Fig. 5-5, Table 5-3).

혈청내 고밀도 콜레스테롤 (HDL-cholesterol)의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤

혈중 대조군 (D12336-control)의 혈청내 고밀도 콜레스테롤 (HDL-cholesterol) 수준은 정상대조군의 혈청내 고밀도 콜레스테롤 (HDL-cholesterol)에 비하여 약 49% 감소를 나타내었고, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여, Lovastatin, BG\_H2O, 그리고 BG\_EoTH등 모든 투여농도에서 고콜레스테롤혈증 대조군과 차이가 없었다 (Fig. 5-5, Table 5-3).

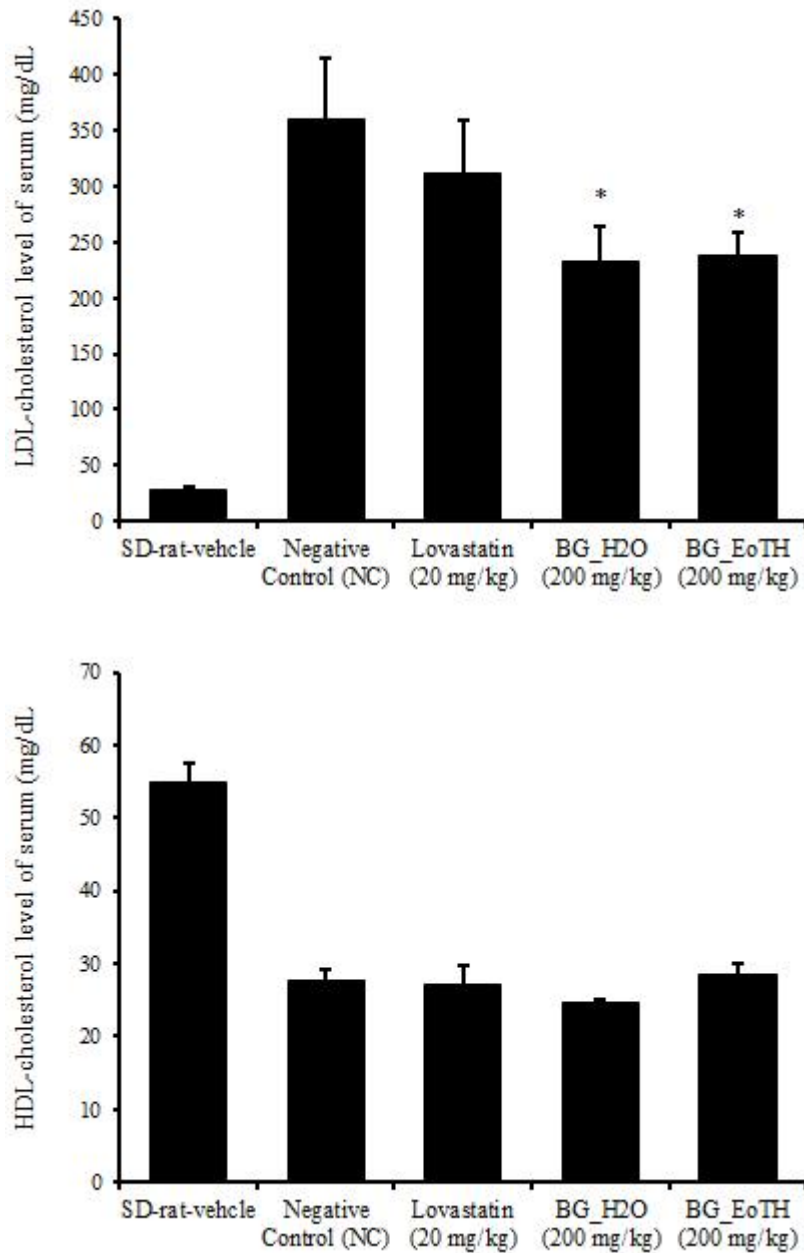


Fig. 5-5. LDL & HDL cholesterol level in serum

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg) (n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg) (n=5)



Fig. 5-6은 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 혈청내 크레아틴 (creatinine)의 수준을 나타내는 그래프로, 정상대조군(SD rat-vehicle)에 비하여 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)의 혈청내 크레아틴 (creatinine) 수준이 20% 증가하였고, 그리고 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여, Lovastatin, BG\_H2O, 그리고 BG\_EoTH등 모든 투여농도에서 고콜레스테롤혈증 대조군과 차이가 없었다 (Fig. 5-6, Table 5-3). 그래서 실험군간 큰 차이가 없어 신장독성은 없는 것으로 생각된다.

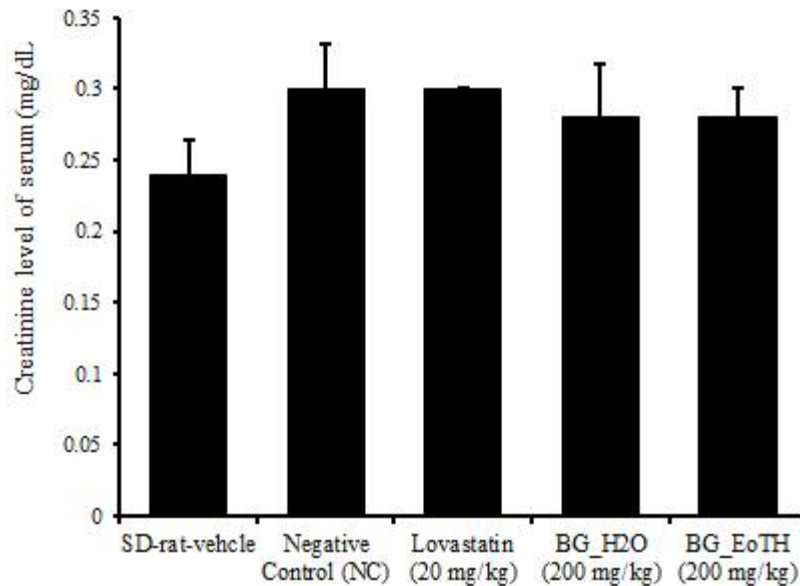


Fig. 5-6. Creatine level in serum

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg)(n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg)(n=5)

Fig. 5-7에서 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 혈청내 GOT의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈청내 GOT 수준은 정상대조군의 혈청내 GOT와 차이가 없었고, 실험군에서 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여 실험군에서 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여 양성대조군 Lovastatin, BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg)등에서 차이가 없었다 (Fig. 5-7, Table 5-3).

또한 혈청내 GPT의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈청내 GPT 수준은 정상대조군의 혈청내 GPT에 비하여 감소를 나타내었다. 실험군에서 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여 Lovastatin과 BG\_H2O (200 mg/kg)투여군이 증가를 나타내었으나 통계학적으로 유의성은 없었다. 그러나

BG\_EoTH (200 mg/kg)투여군은 고콜레스테롤혈증 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있게 감소를 나타내었다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 5-7, Table 5-3).

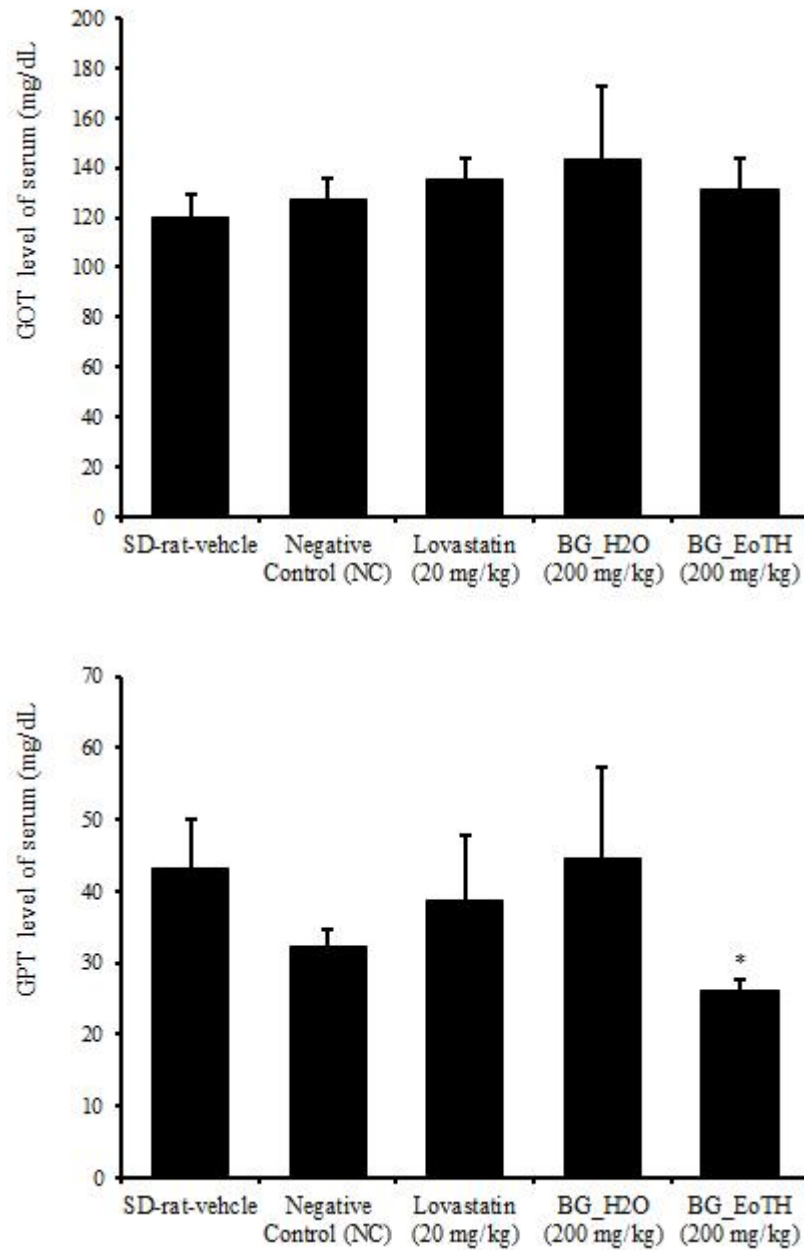


Fig. 5-7. GOT & GPT level in serum

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg) (n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg) (n=5)

나) BG\_EoTH & BG\_H2O들의 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 장기무게 분석

Fig. 5-8에서 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 Lovastatin, BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여에 따른 간무게 (liver weight), 신장무게 (Kidney), 비장무게 (spleen weight)를 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 간무게 (liver weight)은 정상대조군의 간무게 (liver weight)에 비하여 46.7% 이상 증가를 하였다. 그리고 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 양성대조군인 Lovastatin 투여군은 차이가 없었고, BG\_H2O (200 mg/kg)과 BG\_EoTH (200 mg/kg)은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 감소하였으나 통계학적으로 유의성 있게 감소한 투여군은 BG\_EoTH (200 mg/kg) ( $p < 0.001$ )으로 나타났다 (Fig.5-8, Table 5-2).

고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 신장무게 (Kidney)는 정상대조군의 신장무게 (Kidney)에 비하여 5.4% 이상 증가를 하였다. 그리고 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 양성대조군인 Lovastatin와 BG\_H2O (200 mg/kg) 투여군은 차이가 없었고, BG\_EoTH (200 mg/kg)은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 통계학적으로 유의성 있게 감소를 나타냈다 ( $p < 0.01$ ) (Fig. 5-8, Table 5-2).

그리고 비장무게 (spleen weight)는 정상대조군, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control), 양성대조군인 Lovastatin, BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여군등 모든 실험군에서 차이가 없었다 (Fig. 5-8, Table 5-2).

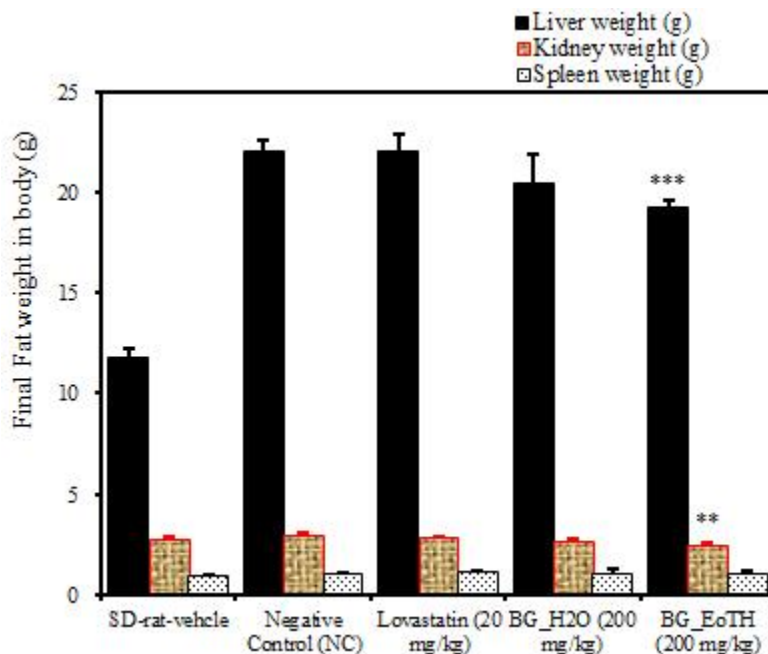


Fig. 5-8. Organ weight in body

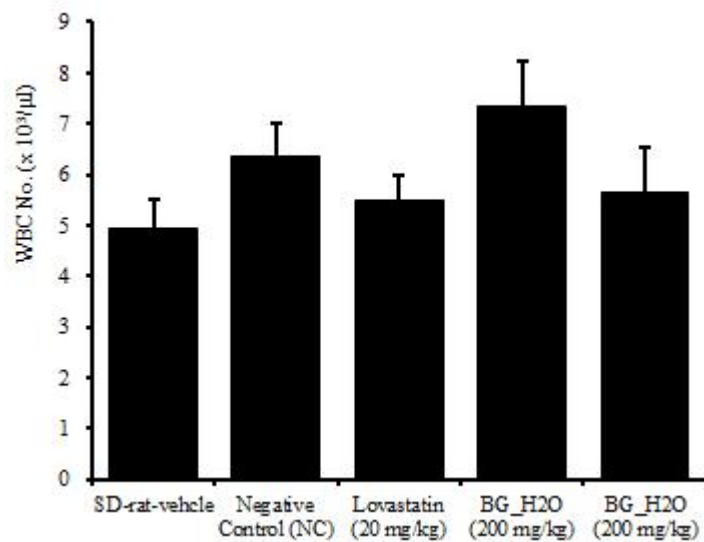
- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)

④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg) (n=5)

⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg) (n=5)

#### 다) BG\_EoTH & BG\_H2O들의 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 혈액변화 분석

Fig. 5-9에서 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 Lovastatin, BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여에 따른 백혈구 수(white blood cells)와 혈소판 수(Platelet)를 나타내는 그래프다. 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 백혈구 수(white blood cells)는 정상대조군의 백혈구 수(white blood cells)에 비하여 22.0% 이상 증가를 하였다. 그리고 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 BG\_H2O (200 mg/kg)투여군은 차이가 없었고, 양성대조군인 Lovastatin 투여군과 BG\_EoTH (200 mg/kg)은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 감소하였으나 통계학적으로 유의은 나타나지 않았다 (Fig. 5-9). 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈소판 수(Platelet)는 정상대조군의 혈소판 수 (Platelet)에 비하여 22.5% 이상 증가를 하였다. 그러나 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control), BG\_H2O (200 mg/kg)투여군, 양성대조군인 Lovastatin 투여군, BG\_EoTH (200 mg/kg)등 모든 투여군과 차이가 없었다 (Fig. 5-9).



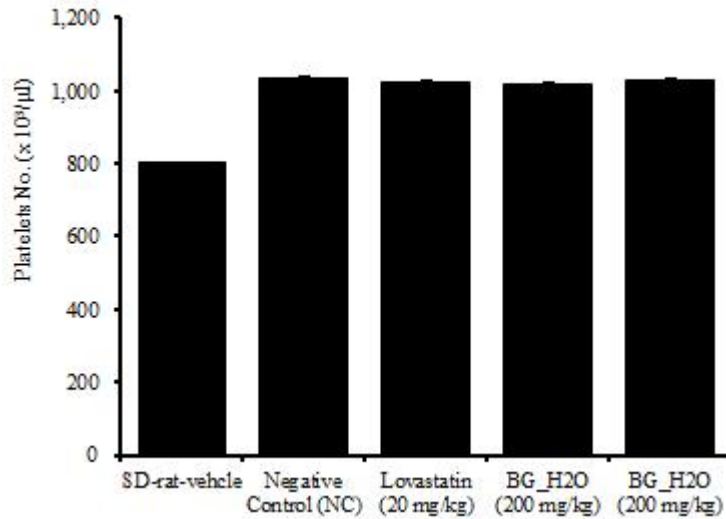


Fig. 5-9. WBC and Platelet number in blood

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg)(n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg)(n=5)

**라) BG\_EoTH & BG\_H2O들의 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 백혈구 빈도 변화 분석**

Fig. 5-10에서 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 Lovastatin, BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여에 따른 백혈구 빈도수(WBC differential number)를 나타내는 그래프다. 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 백혈구중 호중구 (neutrophils) 빈도수는 정상대조군의 호중구 (neutrophils) 빈도수에 비하여 28.0% 이상 증가를 하였다. 그리고 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 BG\_H2O (200 mg/kg)투여군은 차이가 없었고, 양성대조군인 Lovastatin 투여군과 BG\_EoTH (200 mg/kg)은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 감소하였으나 통계학적으로 유의성은 나타나지 않았다 (Fig. 5-10). 그리고 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 백혈구중 호산구 (eosinophils)과 호염구 (basophils) 빈도수는 정상대조군의 호중구 (neutrophils) 빈도수에 비하여 감소를 하였다. 그리고 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 양성대조군인 Lovastatin 투여군과 BG\_EoTH (200 mg/kg), 그리고 BG\_H2O (200 mg/kg)투여군은 차이가 없었다 (Fig. 5-10).

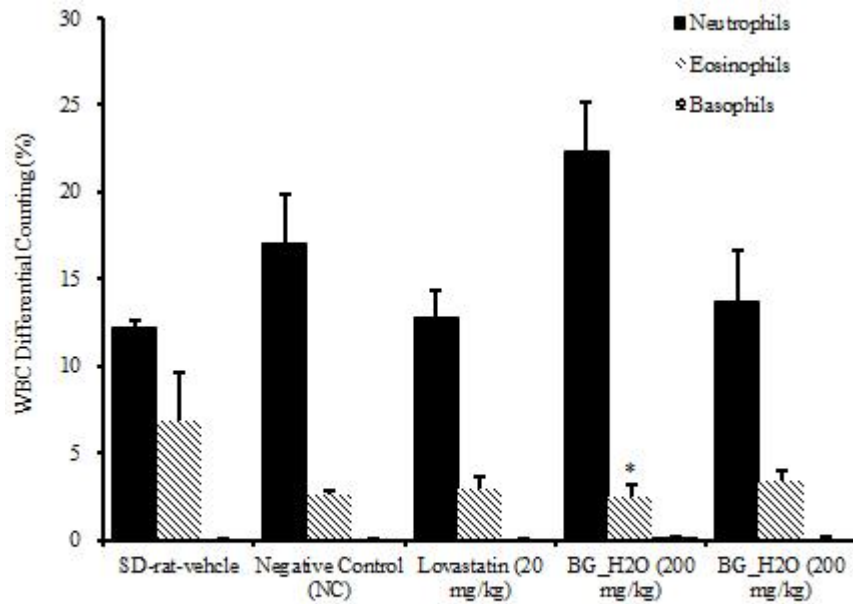


Fig. 5-10. WBC differential number in blood

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg)(n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg)(n=5)

#### 마) BG\_EoTH & BG\_H2O들의 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 콜레스테롤 관련 유전자 발현 분석

##### (1)간에서 ACAT2(acyl-coenzyme A:cholesterol acyl transferase 2) 유전자 발현 분석

최근 연구에 의하면 콜레스테롤을 축적시키는 주범은 ACAT2 (acyl-coenzyme A:cholesterol acyl transferase 2)라는 효소라고 한다. ACAT2는 간으로부터 콜레스테롤을 방출시키는데 관여하는 4개의 효소 중의 하나이다. 즉, ACAT2는 콜레스테롤이 동맥을 순환하도록 함으로써 치명적인 플라크를 형성하는 요인이 된다. 그래서 연구진은 유전적으로 ACAT2를 생성하지 못하도록 조작된 마우스를 대상으로 동물실험을 통하여, 이 마우스는 ACAT2 효소를 생성하는 마우스보다 동맥경화 정도가 85%나 적게 나타났다고 보고하였다.

Fig. 5-11에서 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 Lovastatin, BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여에서 간조직에서 발현되는 ACAT2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 ACAT2 mRNA 유전자 발현의 RQ 값을 1로 했을 때 실험군의 상대정향 값을 분석하였다. 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 간조직에서 ACAT2 mRNA 유전자 발현이 1.000 (RQ)로 정상대조군 (SD rat-vehicle) 0.456 (RQ)에 비하여 약 2.95배 이상 증가를 나타내었고, 실험군 투여군은 간조직에서 ACAT2 mRNA 유전자 발현이 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 Lovastatin ( $p<0.05$ )와 BG\_EoTH (200 mg/kg) ( $p<0.01$ ) 투여군은 통계학적 유의성 있게 감소



를 나타내었다. 그러나 BG\_H2O (200 mg/kg)은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 감소하였으나 통계학적으로 유의성은 나타나지 않았다 (Fig 5-11).

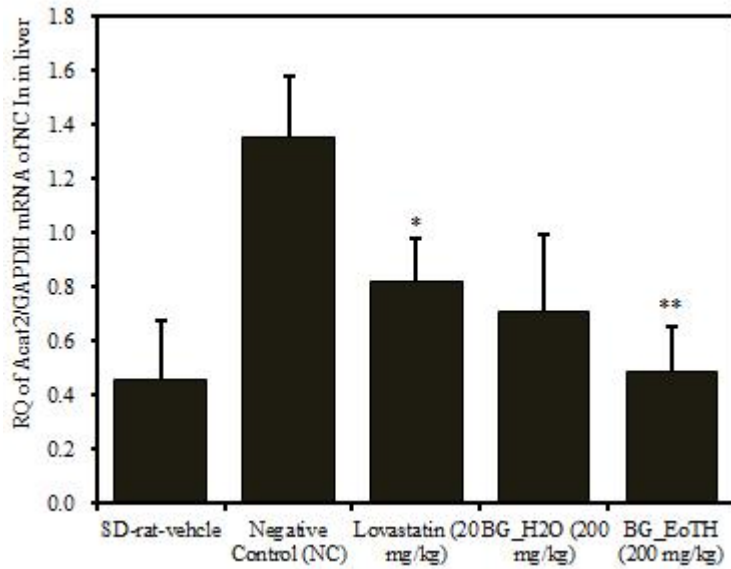


Fig. 5-11. ACAT2 (acyl-coenzyme A:cholesterol acyl transferase 2) mRNA expression in liver tissue by real-time PCR

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (용성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg) (n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg) (n=5)

(2) 간에서 HMG-CoAR (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A) 유전자 발현 분석

콜레스테롤 생합성에서 율속 단계인 메발론산으로의 HMG-CoA 전환을 자극하는 HMG-CoA 환원 요소의 유전자 발현 감소가 총 콜레스테롤의 감소를 설명할 수 있으며, 혈장의 LDL-콜레스테롤 감소는 혈액에서 간으로 수송되는 LDL 콜레스테롤 흡수에 관여하는 LDLR mRNA의 증가로 설명될 수 있다. 즉 콜레스테롤의 인위적인 감소시키는 기전은 두가지 기전을 제시하는데, 콜레스테롤 항상성 유지를 목표로 전체 체계의 콜레스테롤 불충분을 보완하기 위한 증가하는 것, 또다른 하나는 HMGCR활성의 저해제로서, 즉 세포 실험에서 파악된 로바스타틴의 결과와 유사하게, 총 콜레스테롤을 줄이기 위해 AFRWC가 HMGCR활성을 억제하는 것이다.

Fig.5-12에서 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 Lovastatin, BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여에서 간조직에서 발현되는 HMG-CoAR mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 HMG-CoAR mRNA 유전자 발현의 RQ값을 1로 했을 때 실험군의 상대정향 값을 분석하였다. 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 간조직에서 HMG-CoAR mRNA 유전자 발현이 1.000 (RQ)로 정상대조군 (SD rat-vehicle) 0.496 (RQ)에 비하여 약 2.29배 이상 증가를 나타내었고, 실험군 투여군은 간조직에서 HMG-CoAR mRNA 유전자 발현이 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 Lovastatin (p<0.05), BG\_H2O (200 mg/kg) (p<0.05), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg)

( $p < 0.05$ ) 투여군은 통계학적 유의성 있게 감소를 나타내었다 (Fig.5-12).

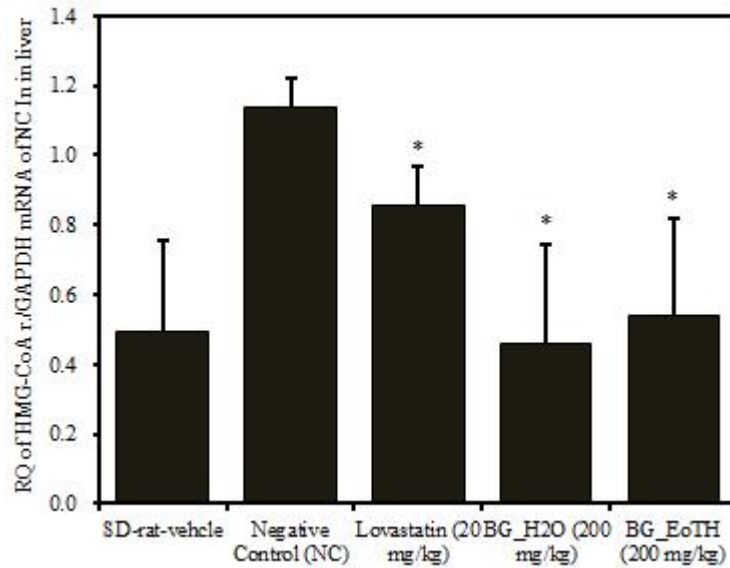


Fig. 5-12. HMG-CoAR (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase) mRNA expression in liver tissue by real-time PCR

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg)(n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg)(n=5)

(3) 간에서 SREBP2 (sterol regulatory element binding protein number 2) 유전자 발현 분석

간세포의 콜레스테롤 함량이 감소할 때, 세포질에 비활성 형태로 상주하는 SREBPs가 단백 분해 효소로 인해 쪼개지고 전사 인자로 활성화된다는 사실은 이미 널리 보고되었다. 활성화된 SREBPs는 이후 세포핵으로 옮긴 뒤 유전자에 직접적으로 결합되거나 HMGCR과 LDLR 등의 콜레스테롤 생합성에 간접적으로 관여하게 되고, 따라서 이 유전자들의 발현이나 전사를 조절하게 된다.

Fig. 5-13에서 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 Lovastatin, BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여에서 간조직에서 발현되는 SREBP2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 SREBP2 mRNA 유전자 발현의 RQ값을 1로 했을 때 실험군의 상대정향 값을 분석하였다. 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 간조직에서 SREBP2 mRNA 유전자 발현이 1.000 (RQ)로 정상대조군 (SD rat-vehicle) 0.727 (RQ)에 비하여 약 1.88배 이상 증가를 나타내었고, 실험군 투여군은 간조직에서 SREBP2 mRNA 유전자 발현이 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 양성대조군인 Lovastatin ( $p < 0.05$ )투여군은 통계학적 유의성 있게 감소를 나타내었다, 그러나 BG\_H2O (200 mg/kg)와 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여군은 간조직에서 SREBP2 mRNA 유전자 발현이 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 감소는 하였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다 (Fig. 5-13).

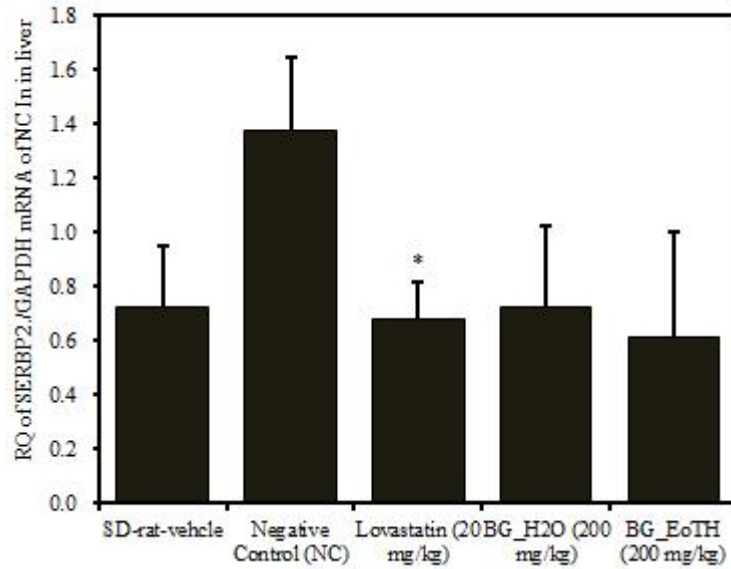


Fig. 5-13. SREBP2 (sterol regulatory element binding protein number 2) mRNA expression in liver tissue by real-time PCR

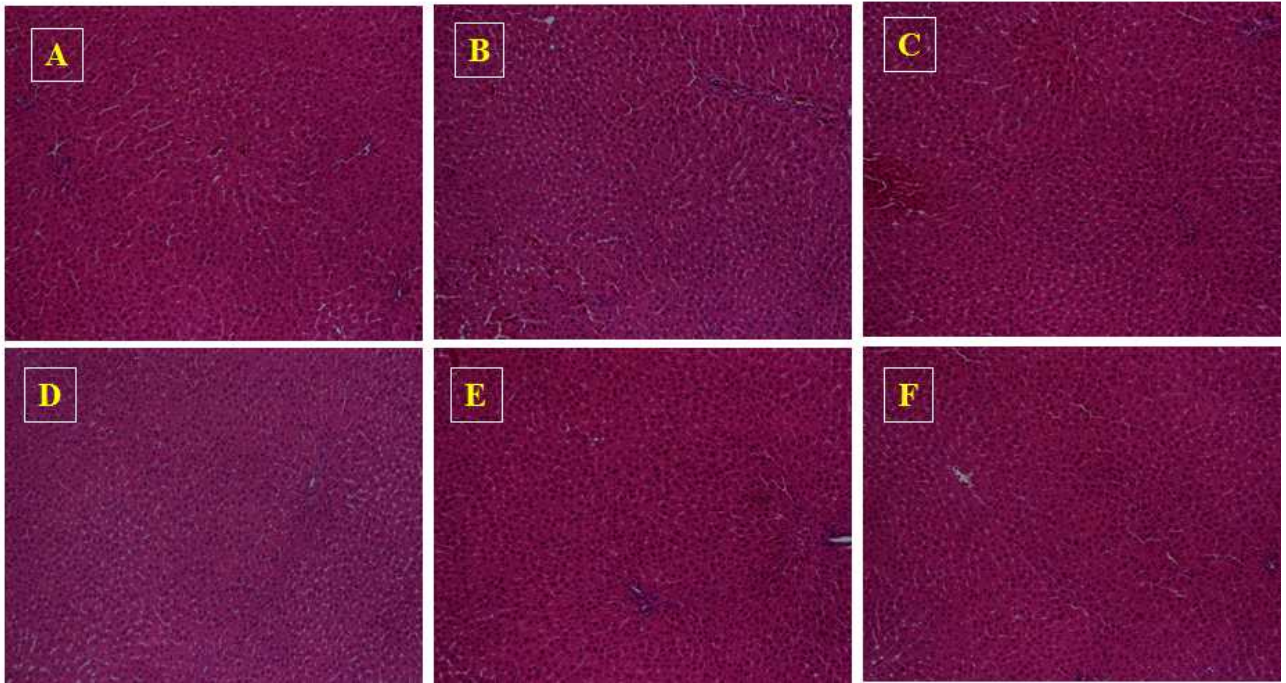
- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg)(n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg)(n=5)

**바) BG\_EoTH & BG\_H2O들의 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 간조직검사 분석**

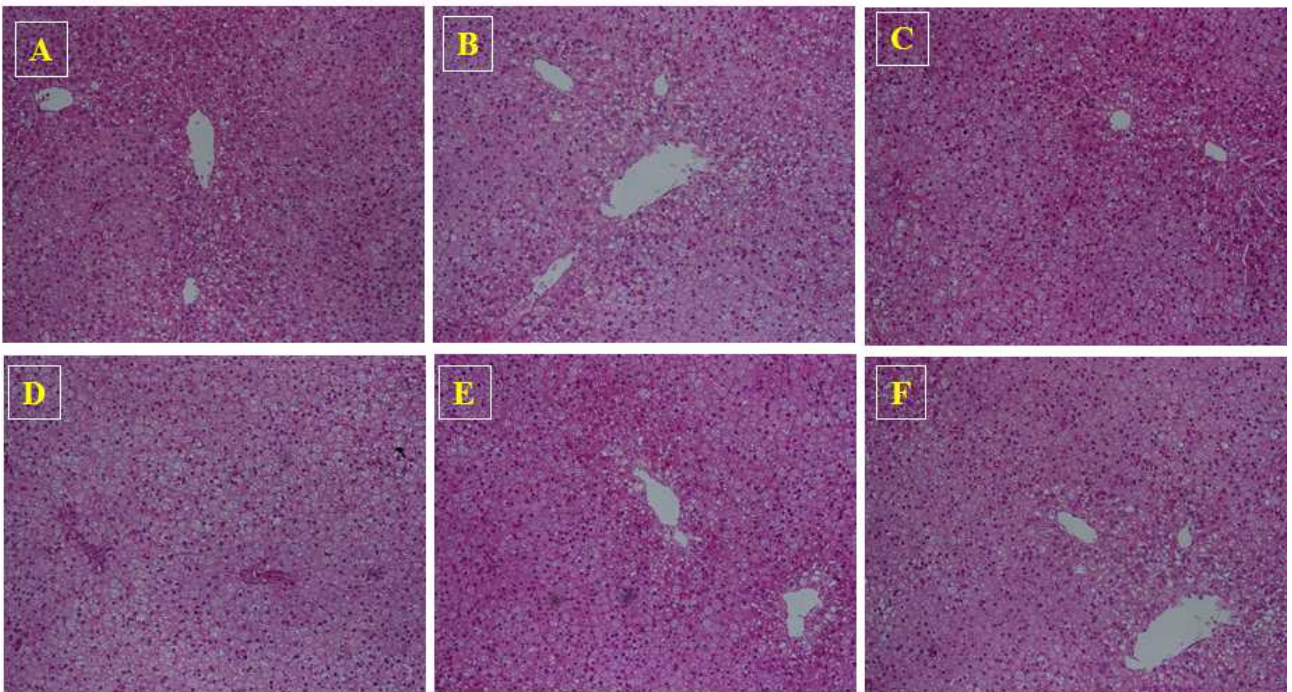
Fig.5-14와 Fig. 5-15는 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 간 조직검사 (H&E 염색)를 나타낸 조직사진이다. Fig.15에서 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에서 보듯이 지방간이 유발된 간조직에서는 마이크로 지방구가 간세포질에 축적되어 마이크로 지방구들이 거대세포성(macrovesicular) 지방증으로 진행되어 조직상에 큰 지방구들이 나타나며, 또한 헤마톡실린-에오신(H-E)과 oil red O 염색으로 염색시 지방의 축적으로 회색지방축적세포들이 넓게 분포하는 지방간이 나타난다. 즉, 정상식이 정상군 (Fig. 5-14와 Fig. 5-15, SD rat -normal)와 비교하여, 고콜레스테롤식이 섭취에 의해 고콜레스테롤혈증이 유발된 고콜레스테롤식이 대조군 (D12336-control)에서 강하게 회색지방축적세포들이 전체에 존재하고, 거대세포성(macrovesicular) 지방증도 많이 존재함을 관찰하였다. 양성대조군 (Lovastatin) 200 mg/kg과 유사한 수준 또는 그 이상으로 BG\_H2O (200 mg/kg)과 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여군은 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 회색지방축적세포들과 거대세포성(macrovesicular) 지방증이 감소가 현저하게 개선되었다.



SD RAT - Nr

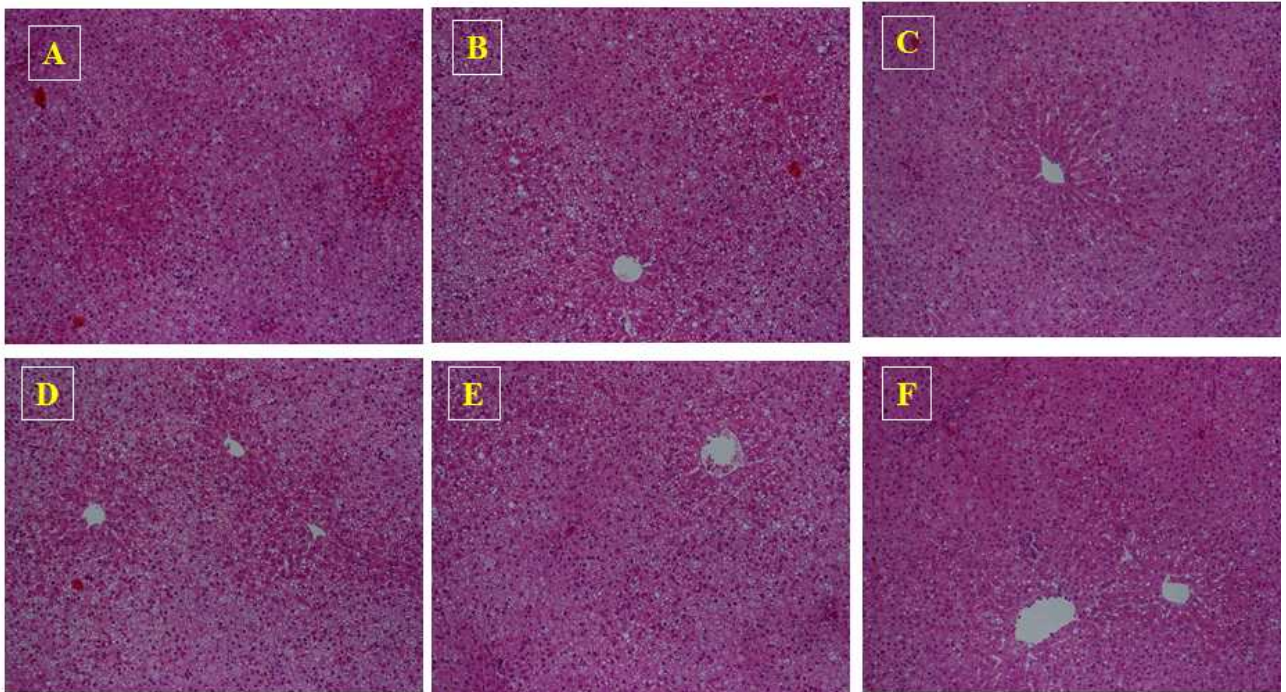


D12336 - NC

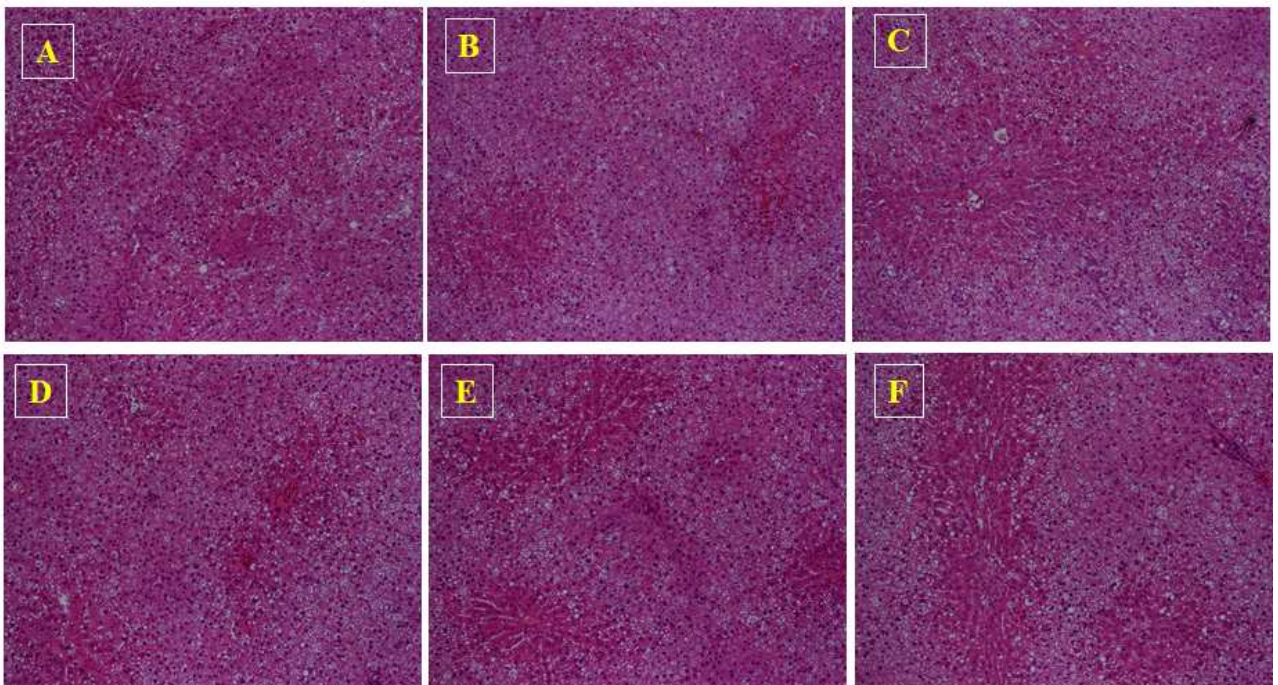




D12336 - 로바스타틴 20 mg/kg



D12336 - BG\_H2O 200mg/kg





D12336 – BG\_EoTH 200mg/kg

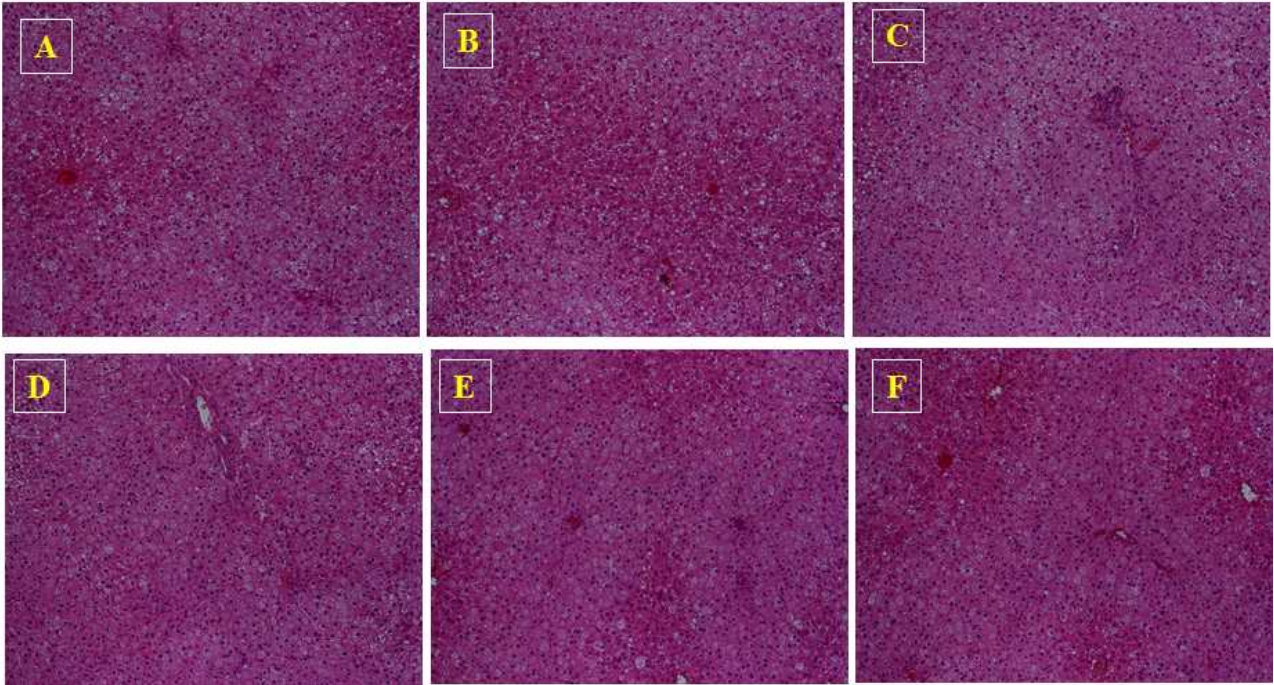
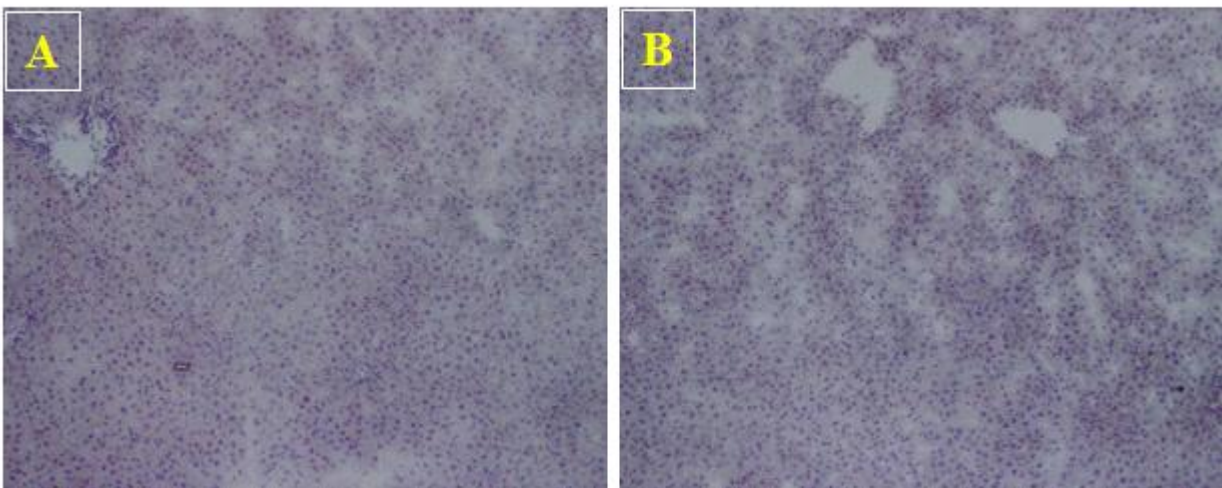


Fig. 5-14. Liver (H&E staining) histology

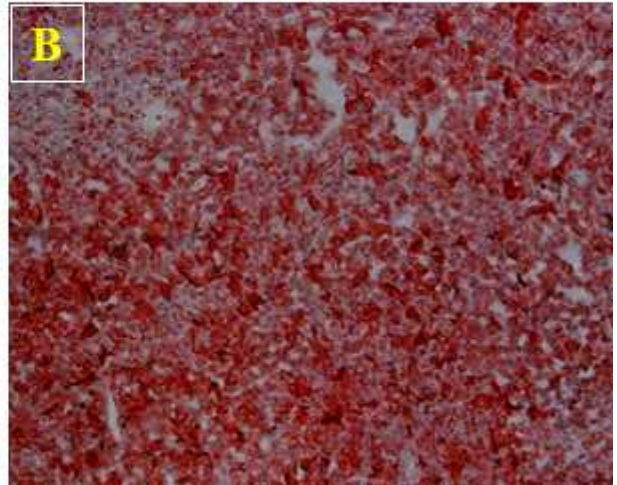
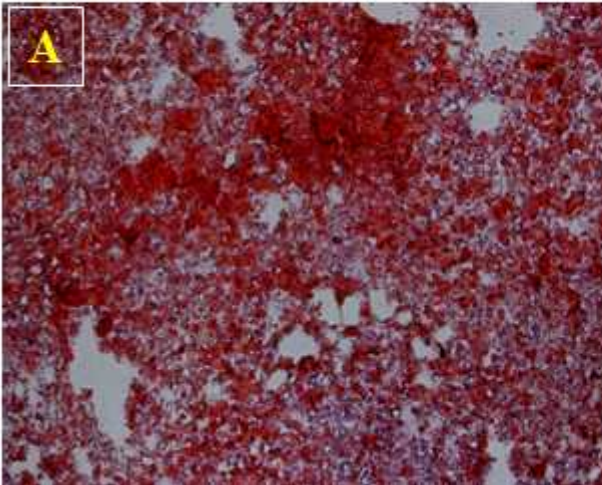
- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg)(n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg)(n=5)

SD RAT - Nr

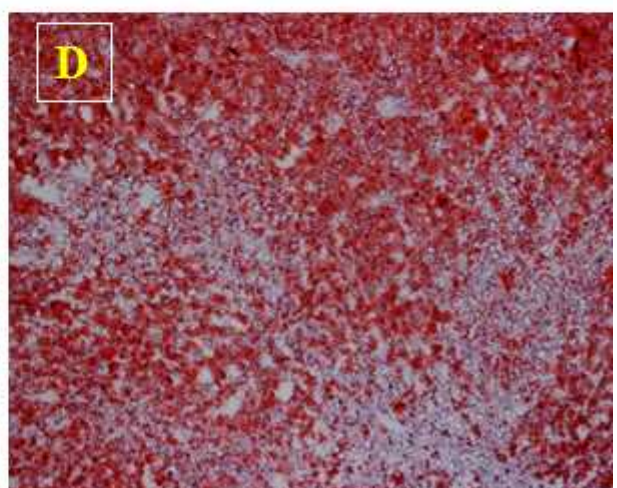
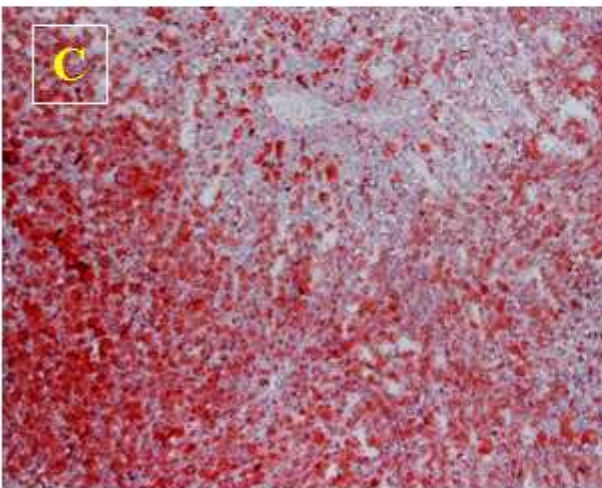
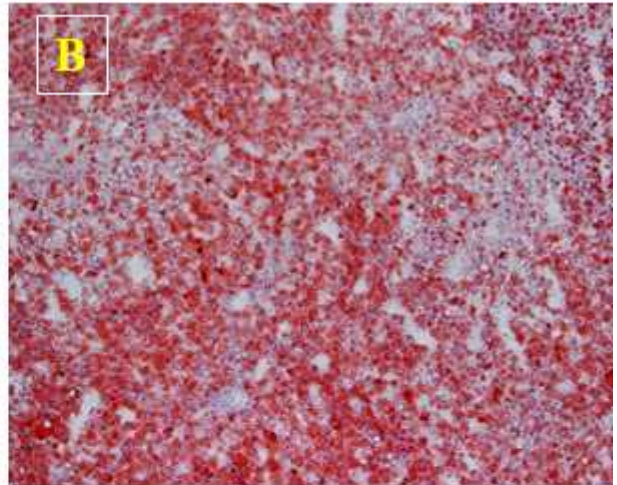
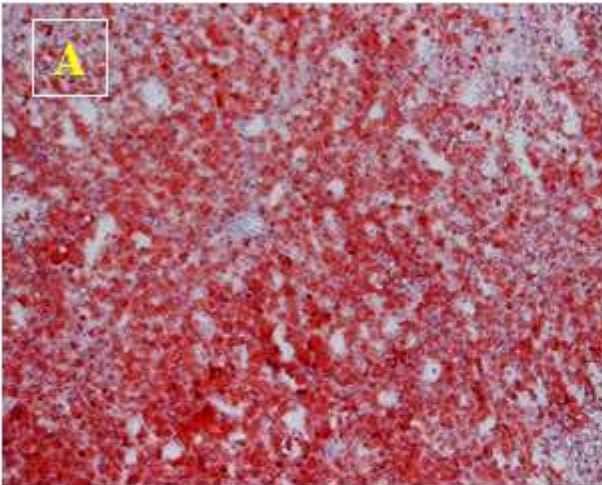




D12336-NC

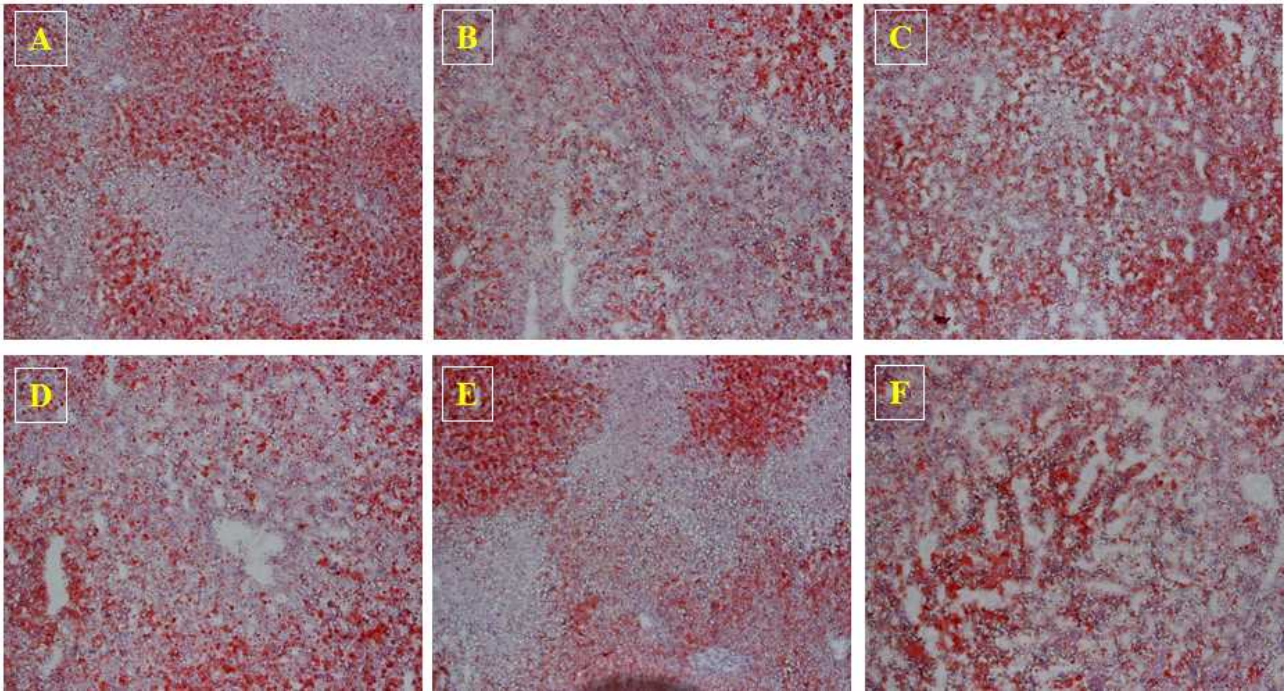


D12336-로바스타틴\_20 mg/kg





D12336 – BG\_H2O\_200 mg/kg



D12336 – BG\_EoTH\_200 mg/kg

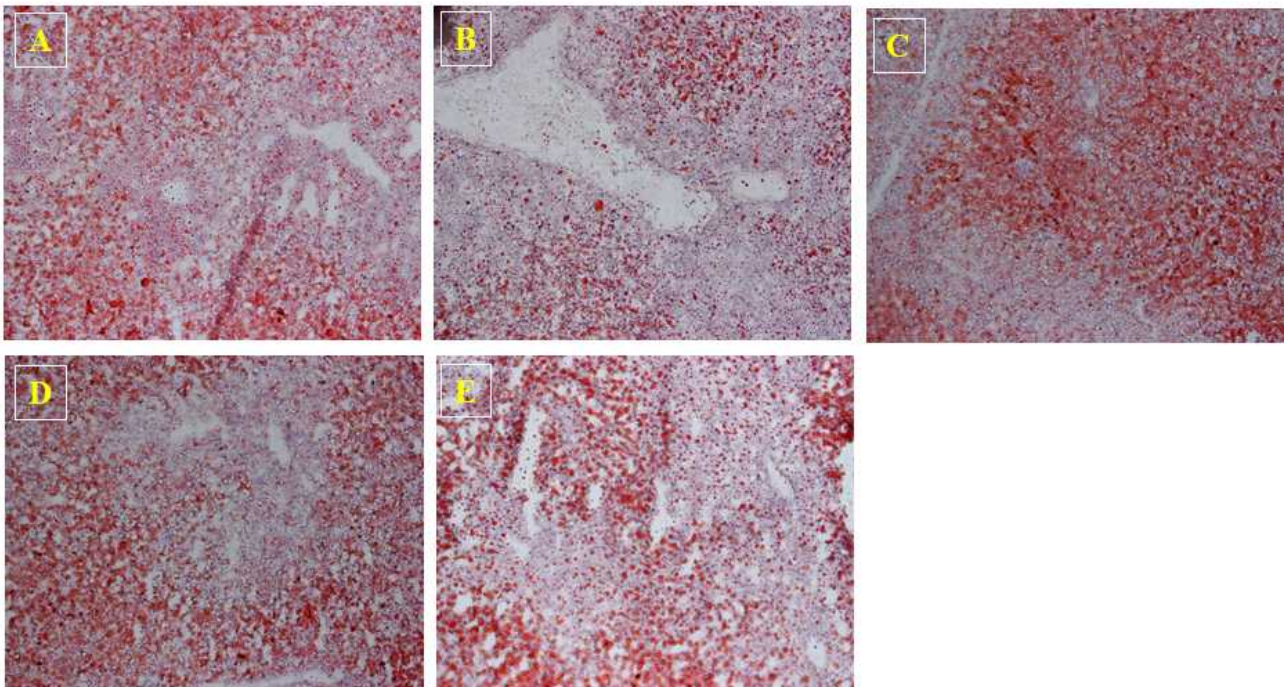


Fig. 5-15. Liver (oil red O staining) histology

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg) (n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg) (n=5)

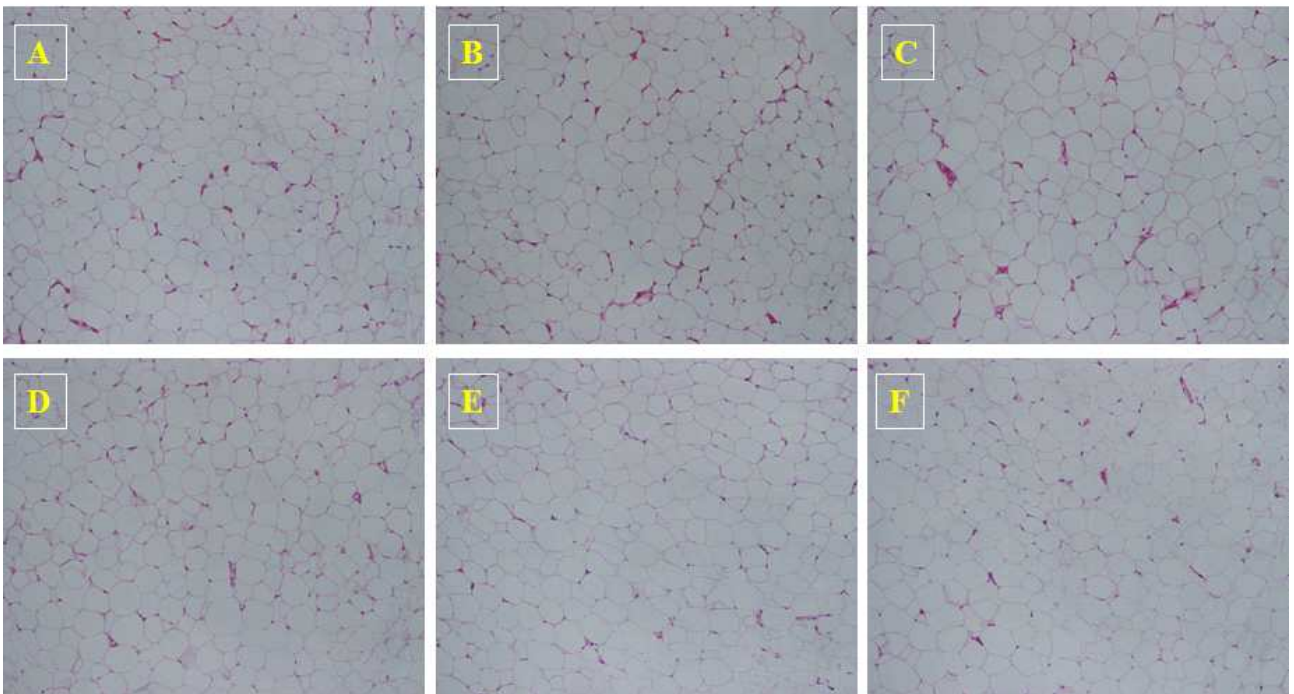
마) BG\_EoTH & BG\_H2O들의 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 복부지방



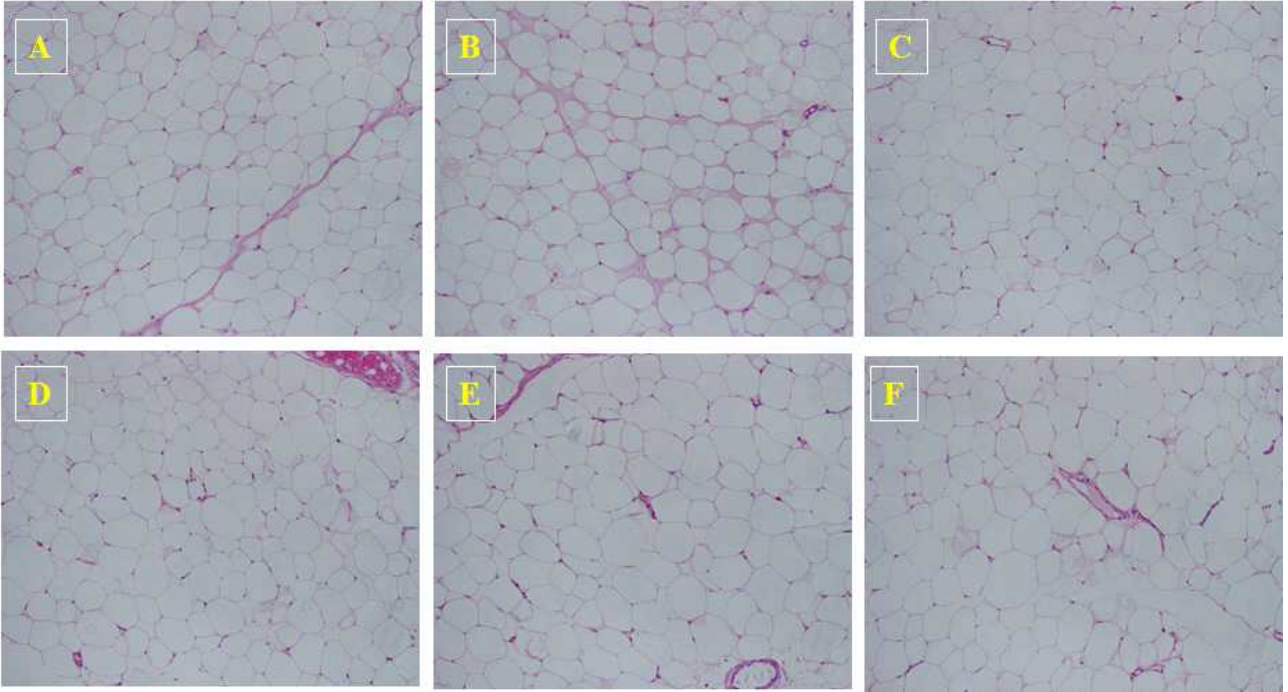
## 조직분석

Fig. 5-16은 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 복부 adipose 조직검사 (H&E 염색)로 병리형태학적 관찰하기 위하여, 실험 종료 후 ethyl ether로 마취하고 부검하여 적출한 복부지방조직 일부를 10% 포르말린용액에 24시간 고정하고, 같은 용액으로 2회 교환하였다. 그 다음 2배수 에탄올로 탈수하여 파라핀에 포매하고, 이것을 4  $\mu$ m 두께로 박절하여 헤마톡실린-에오신(H-E) 염색한 다음 광학현미경에서 복부지방세포는 200배 배율로 관찰하였다. 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 흰쥐모델에서 시험물질에 따른 지방 조직 형태에 대한 효과를 나타내는 그래프이다. 고콜레스테롤식이 섭취로 인해 고콜레스테롤혈증이 유발되면 지방세포의 크기가 현저히 증가하게 된다. Fig.5-16에서 보듯이, 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 대조군(D12336-control)는 정상군 (SD rat-normal)에 비하여 지방세포 크기가 증가한 반면, 양성대조군 (Lovastatin) 200 mg/kg, BG\_H2O (200 mg/kg), 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg)등에서 감소를 나타내었다.

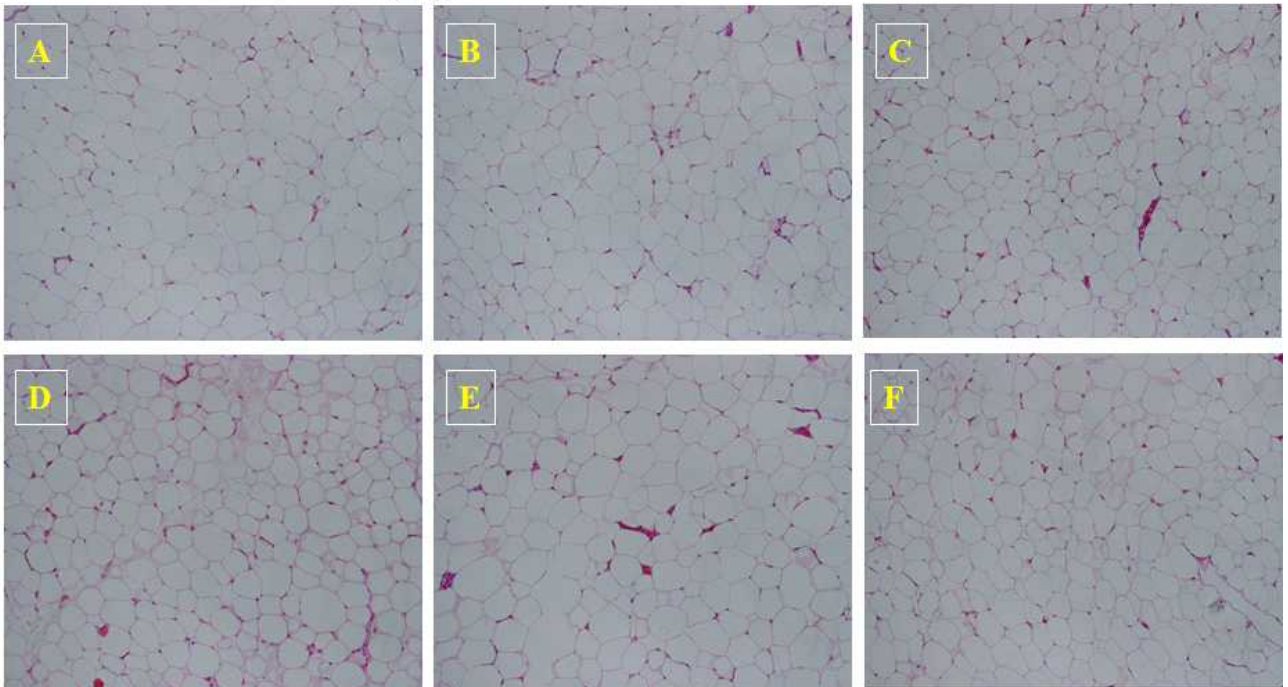
SD RAT - Nr



D12336 - NC

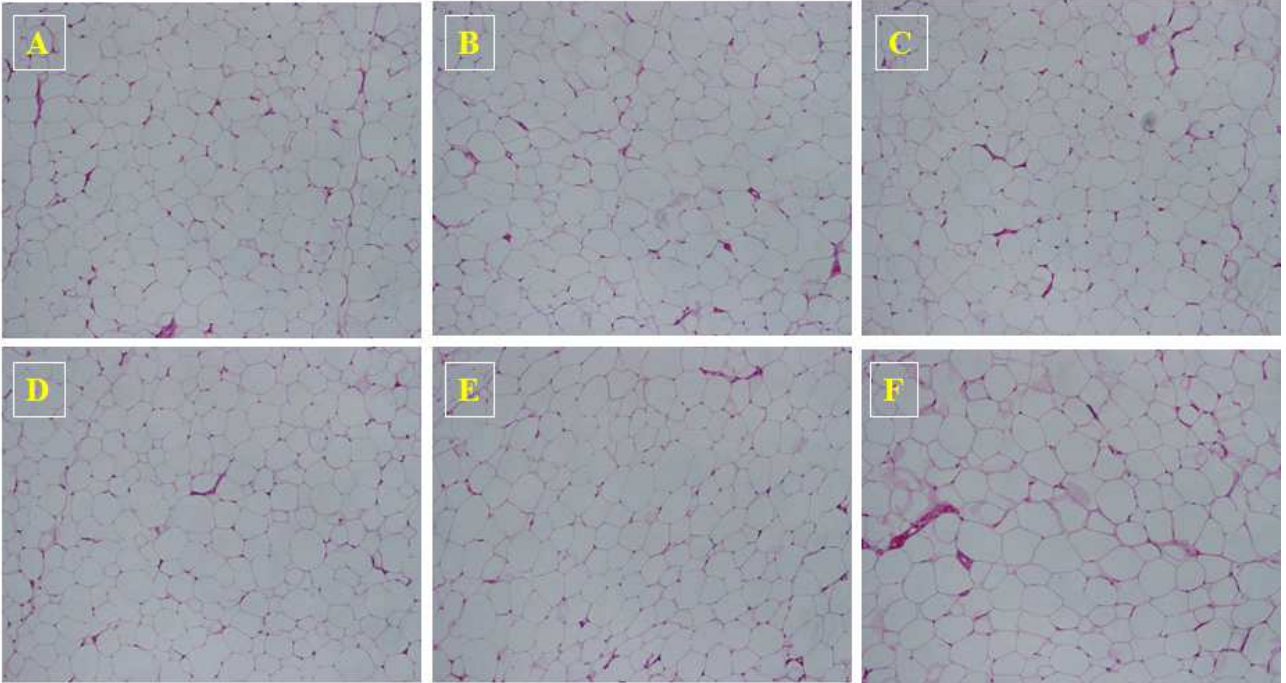


D12336 - 로바스타틴 20 mg/kg





D12336 – BG\_H2O 200mg/kg



D12336 – BG\_EoTH 200mg/kg

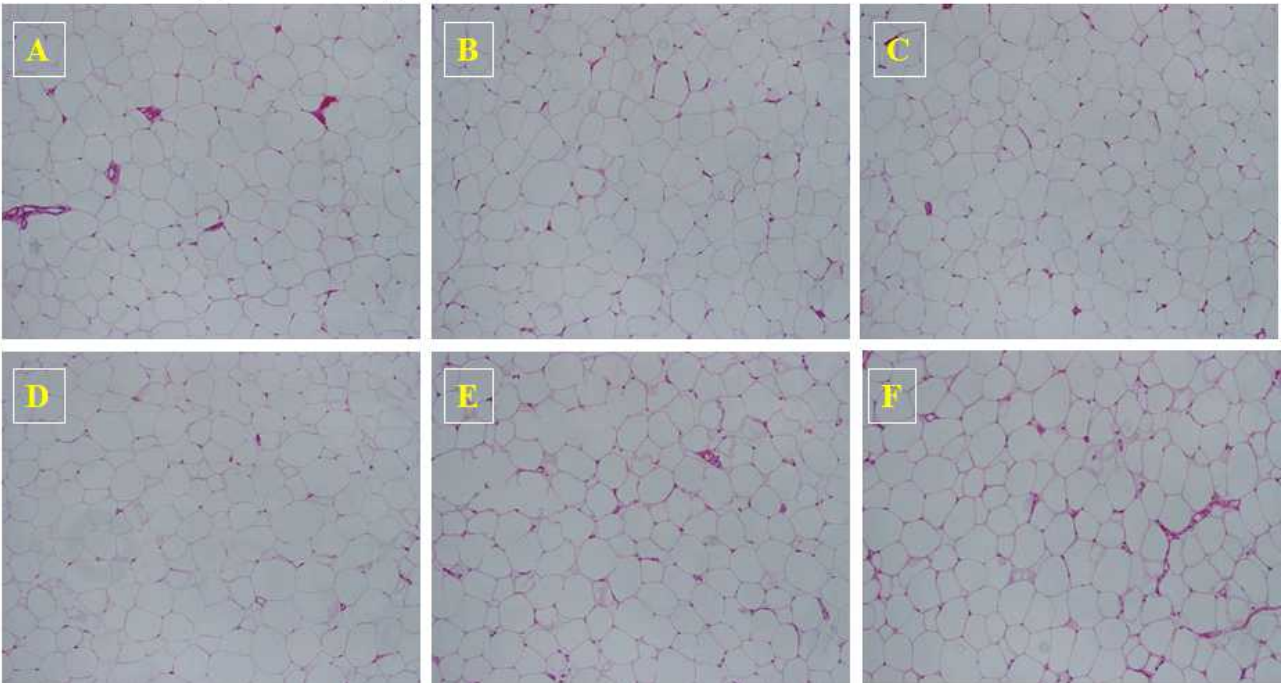


Fig. 5-16. Adipose tissue histology

- ① SD-rat vehicle : 정상 SD rat 흰쥐 (웅성 8주령 250g 흰쥐) (n=5)
- ② D12336-NC : D12336 Vehicle 대조군 (n=5)
- ③ D12336-Lovastatin\_20 mg/kg : D12336+로바스타틴 투여군 (20 mg/kg (n=5)
- ④ D12336-BG\_H2O(200 mg/kg): D12336+흑삼물추출물 (BG\_H2O, 200 mg/kg)(n=5)
- ⑤ D12336-BG\_EoTH(200 mg/kg): D12336+흑삼주정추출물 (BG\_EoTH, 200 mg/kg)(n=5)

## 6. 저온제조 흑삼(75℃~85℃ 증숙)을 활용한 콜레스테롤저하 헬스푸드 개발

본 연구 결과를 통해 개발된 흑삼제조방법(특허등록 :10-0991351, 10-2015-0052188)으로 제조한 흑삼으로 (주) 대덕바이오에서 흑삼의 원료 소재를 이용하여 다양한 제품의 사업화 추진 상품화 하였다.

### 논문게재

No.	논문제목	게재지	SCI 여부	게재일
1	Characterization of black ginseng extract with acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities	Journal of Korean Ginseng Research	SCIE	Accepted
2	Anti-obesity effects of black ginseng extract in high fat-diet mice	Journal of Korean Ginseng Research	SCIE	Accepted
3	Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in rats	Journal of Korean Ginseng Research	SCI	Accepted

### 특허(출원 및 등록)

No.	특허/프로그램명	출원일/등록번호	출원인
1	탄산나트륨을 이용한 활성성분 함량이 우수한 흑삼제조방법	2010년 1월 19일 (출원) 10-1205200	(주) 대덕바이오
2	고품질 흑삼 및 이의 제조방법	2010년 1월 19일 (출원) 10-0991351	(주) 대덕바이오
3	과일주스를 이용한 홍삼 또는 흑삼의 제조방법	2013년 07월 22일 (출원)	(주) 대덕바이오
4	콜레스테롤 개선 활성이 우수한 흑삼 추출물을 함유하는 조성물	2015년 07월 22일 (출원) 10-2015-0052188	(주) 대덕바이오

## 가. 저온제조 흑삼의 원료 소재를 활용한 헬스푸드 개발

본 연구기술의 핵심원료인 저온제조 흑삼(75℃~85℃ 증숙)을 이용한 다양한 제품을 상품화 및 사업화를 추진할 계획이다. 또한 대덕바이오의 높은 바이오 기술력과 개발 제품의 특성을 잘 드러나는 새로운 **브랜드 네이밍인 Weache를 사용하여** Weache 신구증 구포흑삼, Weache 흑삼분말, Weache 흑삼농축액, Weache 흑삼(절삼), Weache 흑삼(원삼), Weache 흑삼 드링크 등으로 다양한 제품 형태로 상품화 및 사업화 추진 계획 중이다.



기술 성과 제품 사진

◆ 흑삼제조(종래의 구증구포 방법에 의한 흑삼제조)



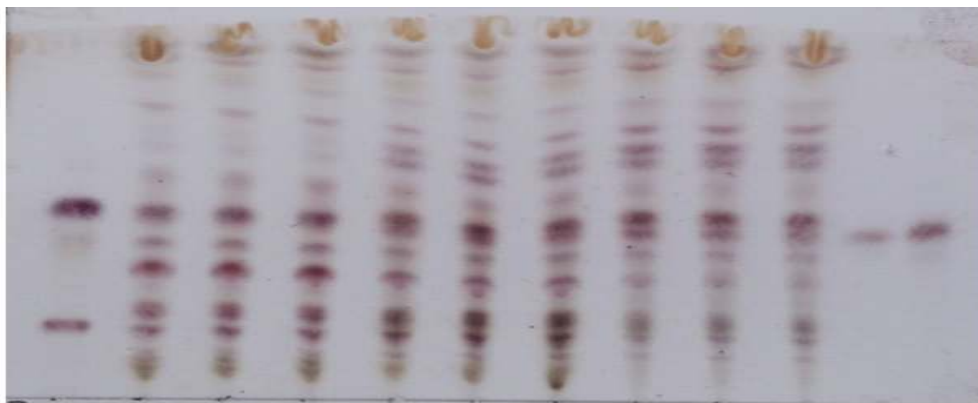
◆ 증삼온도에 따른 흑삼의 제조 사진



60°C 증숙    70°C 증숙    80°C 증숙    90°C 증숙    98°C 증숙

• 흑삼의 제조공정시 증삼 온도에 따른 흑삼의 제조 모습 : 흑삼의 제조시 55~70°C 습열에서 45분~300분간 예열 한 후 증삼하는 것을 특징으로 하는 고콜레스테롤혈증 예방 및 치료용 약학 조성물

◆ 홍삼, 저온제조 흑삼, 현행 흑삼의 사포닌 TLC 패턴



Rg1    Rb1    1    2    3    RG    1    2    3    BG at 80°C    1    2    3    BG at 98°C    Rg3    Rg2

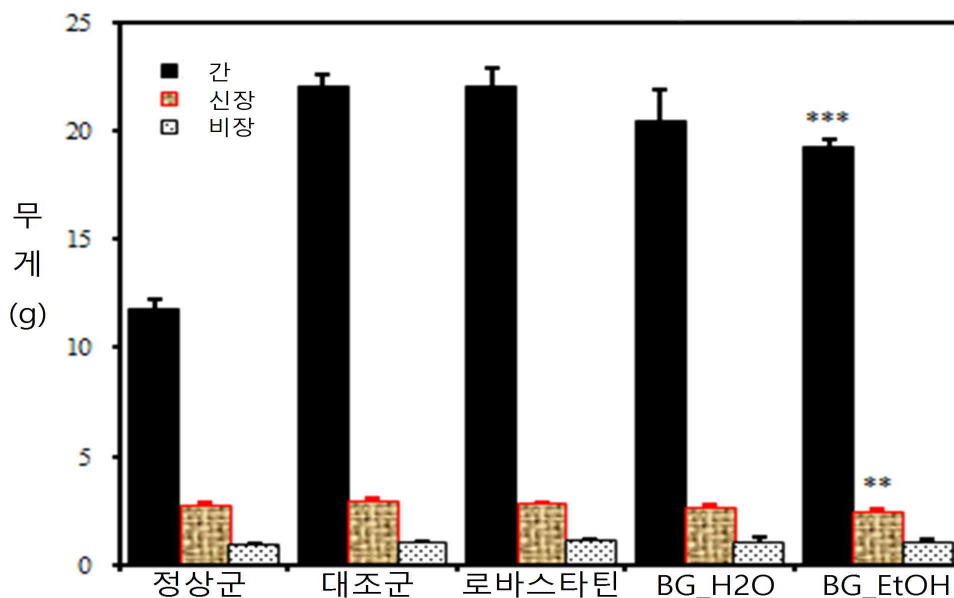
## 기술 성과 제품 사진

◆ 흑삼제조(증삼시 랩핑 및 밴딩에 의한 동체 균열 억제 효과를 보여주는 사진)



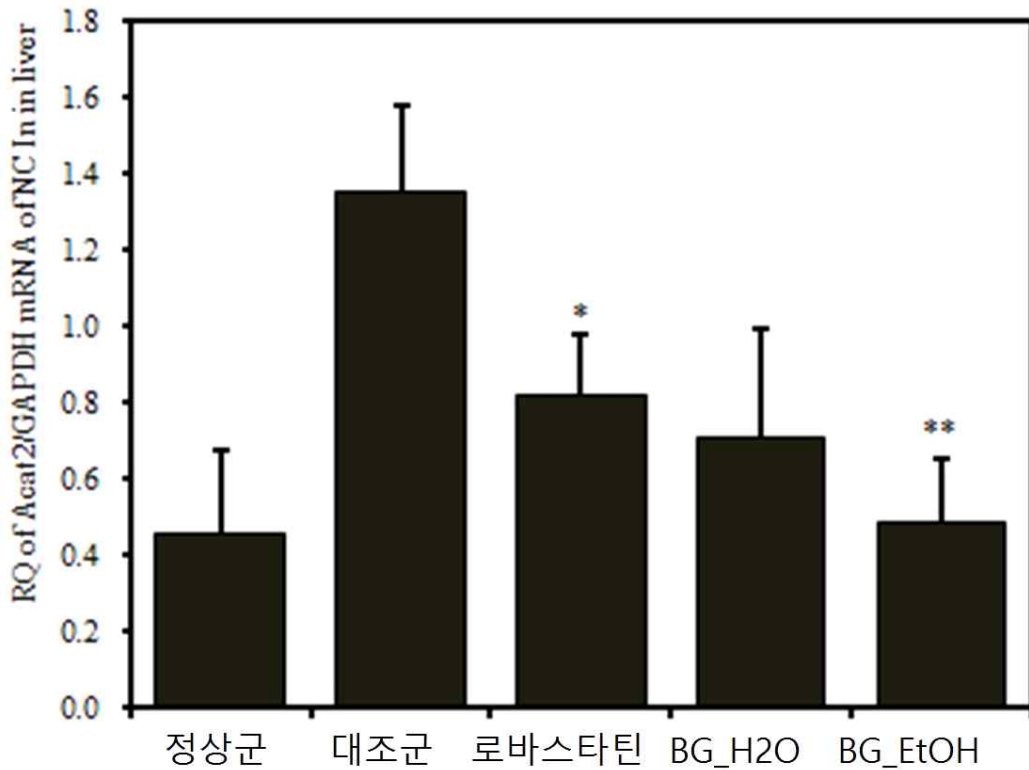
• 흑삼의 제조 시 동체의 균열을 억제하기 위하여 수삼의 동체를 내열성 재질로 감아서 밴딩한 상태에서 1차 증삼하는 것을 특징으로 하는 고콜레스테롤혈증 예방 및 치료용 약학 조성물

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



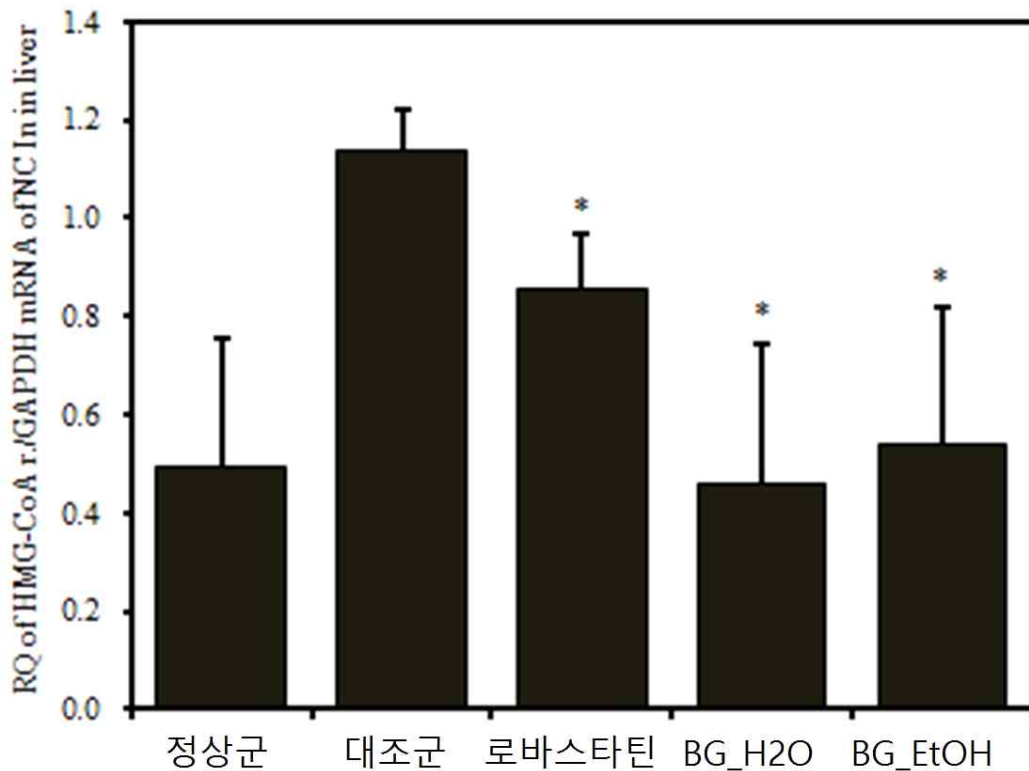
• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군별 장기무게의 차이를 보여주는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



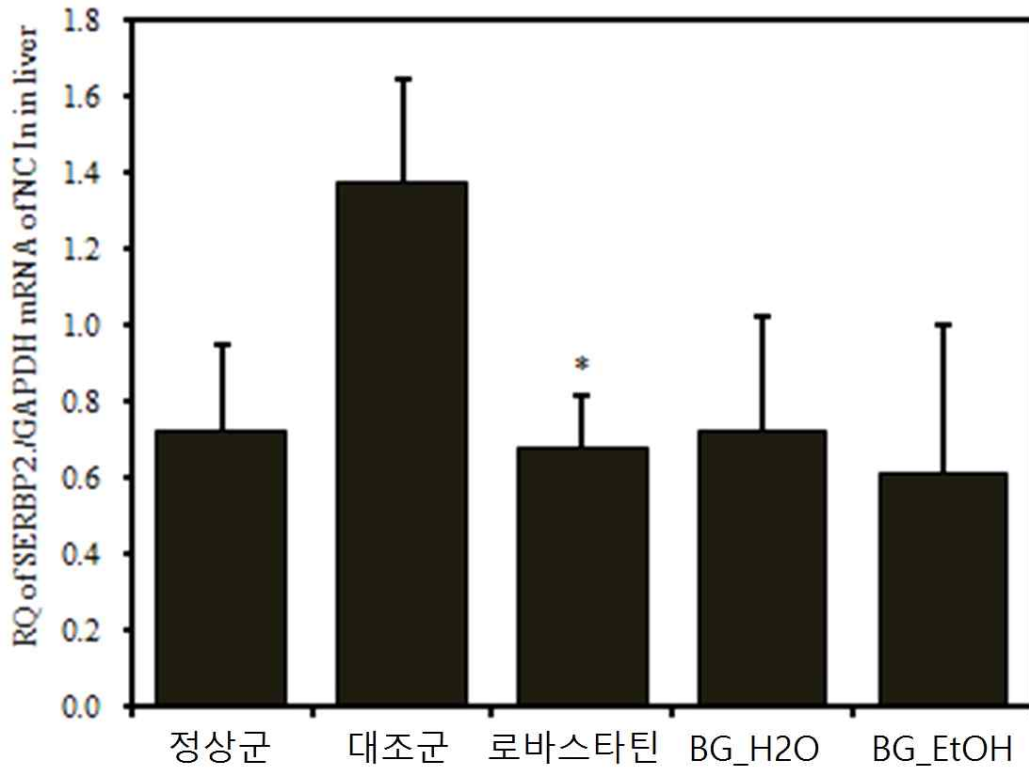
- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군에서 간조직에서 발현되는 ACAT2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



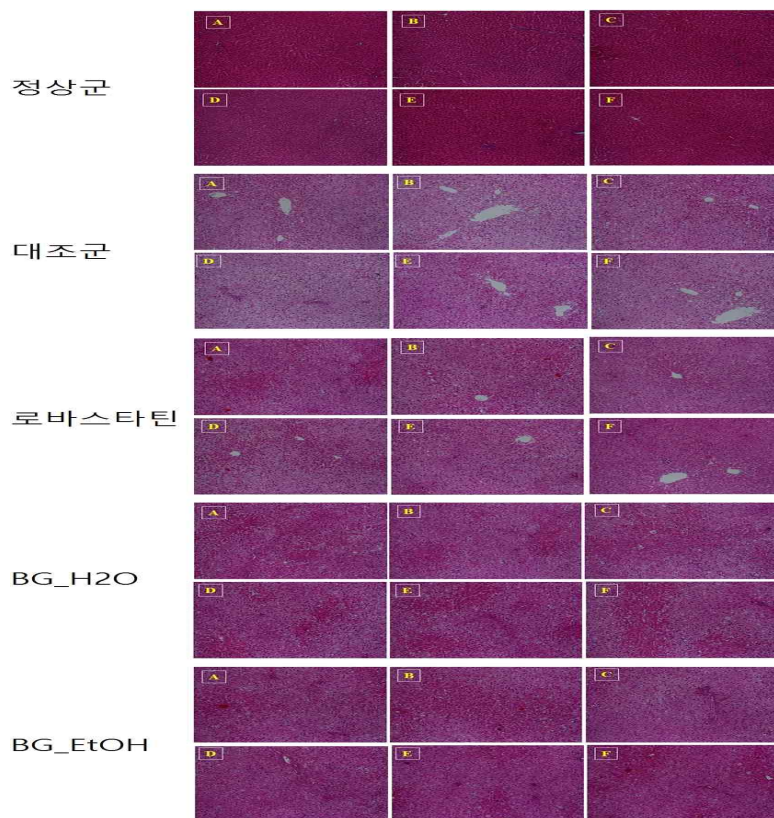
- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군의 HMG-CoAR mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군의 간조직에서의 SREBP2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과

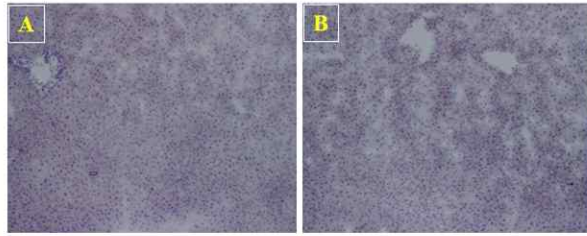


• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 H&E 염색한 이미지

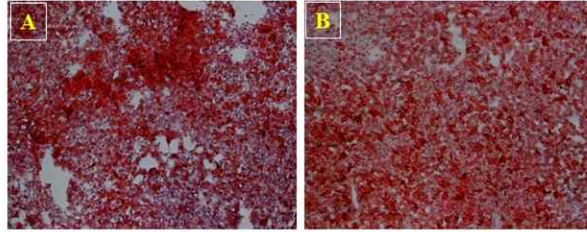
◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



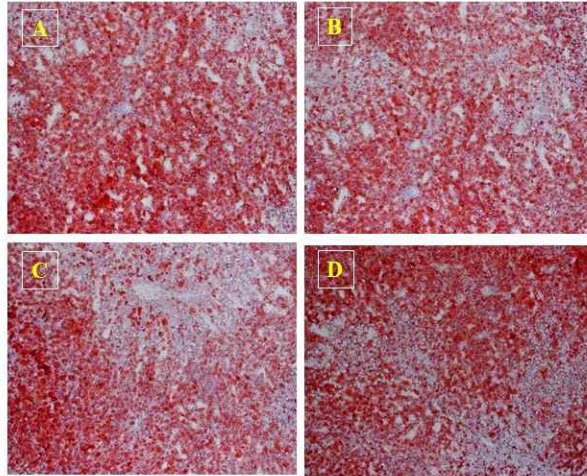
정상군



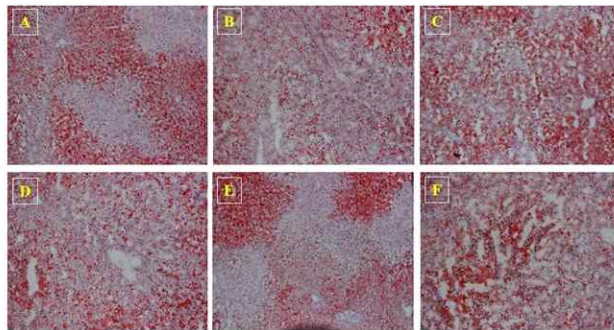
대조군



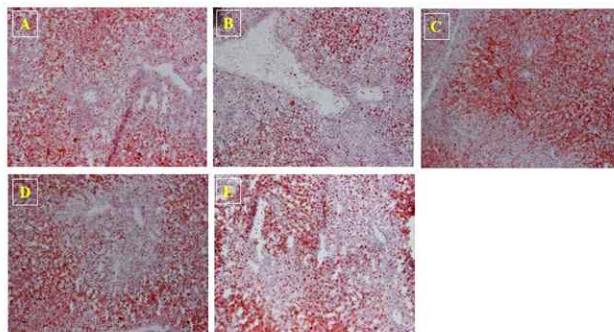
로바스타틴



BG\_H2O

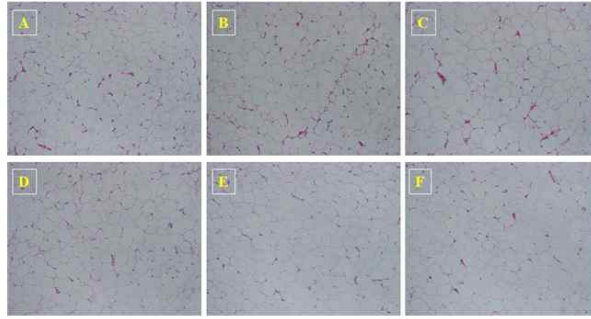


BG\_EtOH

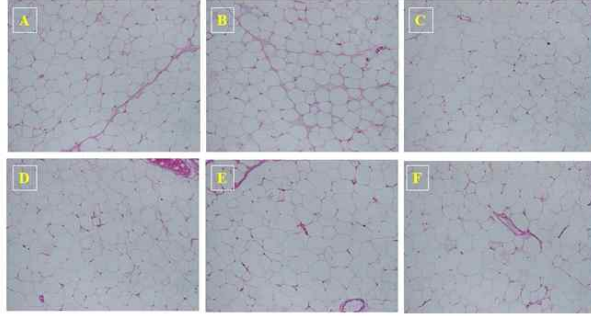


- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 오일-레드 염색한 이미지
- ◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과

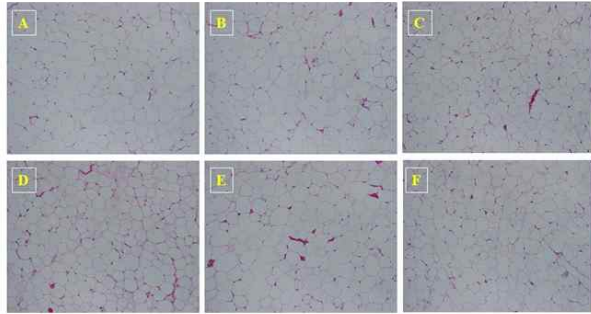
정상군



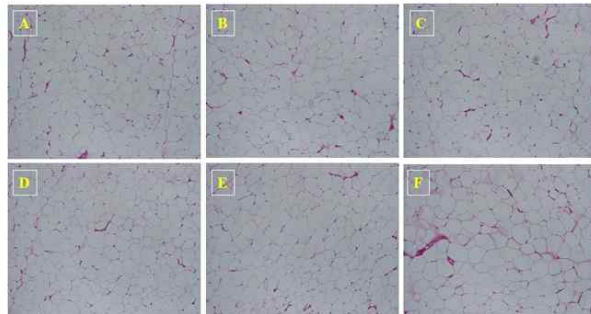
대조군



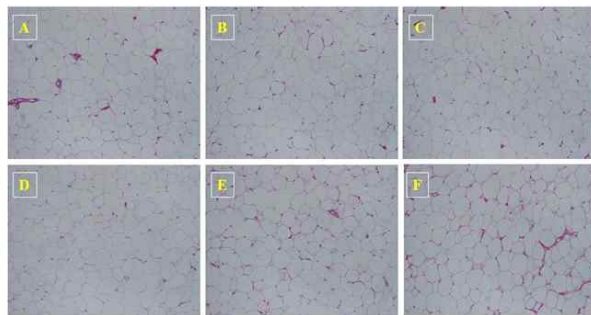
로바스타틴



BG\_H2O



BG\_EtOH



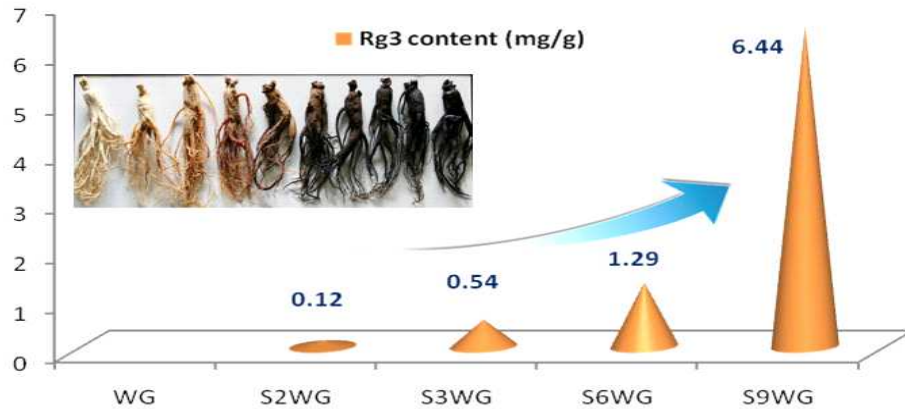
- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 복부지방 조직을 오일레드 염색한 이미지



## 기술 성과 제품 사진

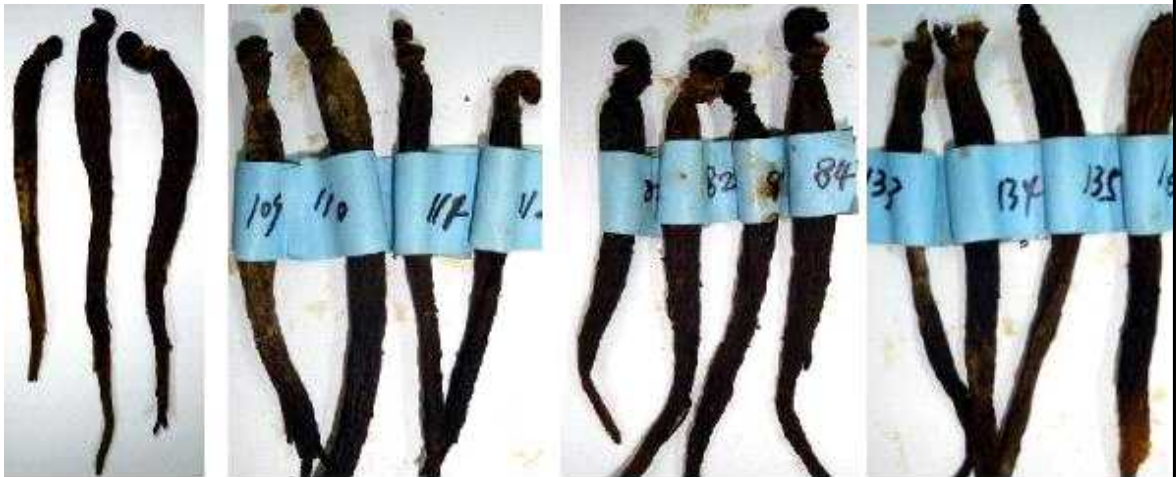
### ◆ 증숙 횟수에 따른 특정 진세노사이드 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량의 변화

증숙 횟수를 반복할수록 새롭게 형성되는 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 다음과 같이 나타내었다. 2회 증숙시 ginsenoside Rg<sub>3</sub>는 0.12 mg/g을 나타내었고, 증숙 횟수가 반복될수록 그 함량이 증가되어, 최종 흑삼을 제조하였을 때의 ginsenoside Rg<sub>3</sub> 함량은 6.44 mg/g으로 홍삼보다 50배 이상 증가하였다.



Change of ginsenoside Rg<sub>3</sub> contents in a traditional way for preparing BG

### ◆ 새로운 흑삼제조기술 탐색(과일산 침지 방법을 이용한 흑삼의 제조)



A. 대조군

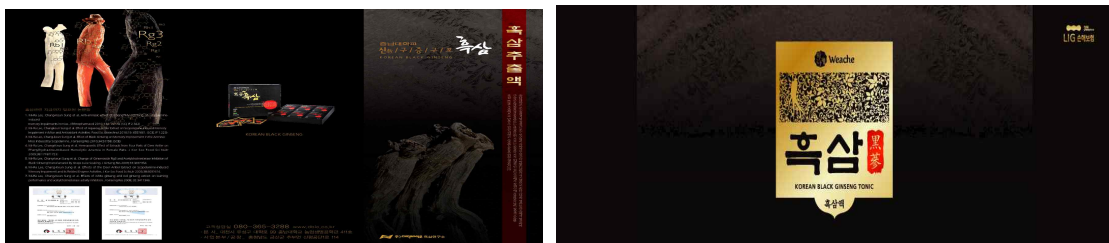
B. Apple juice

C. Grape juice

D. Pineapple juice

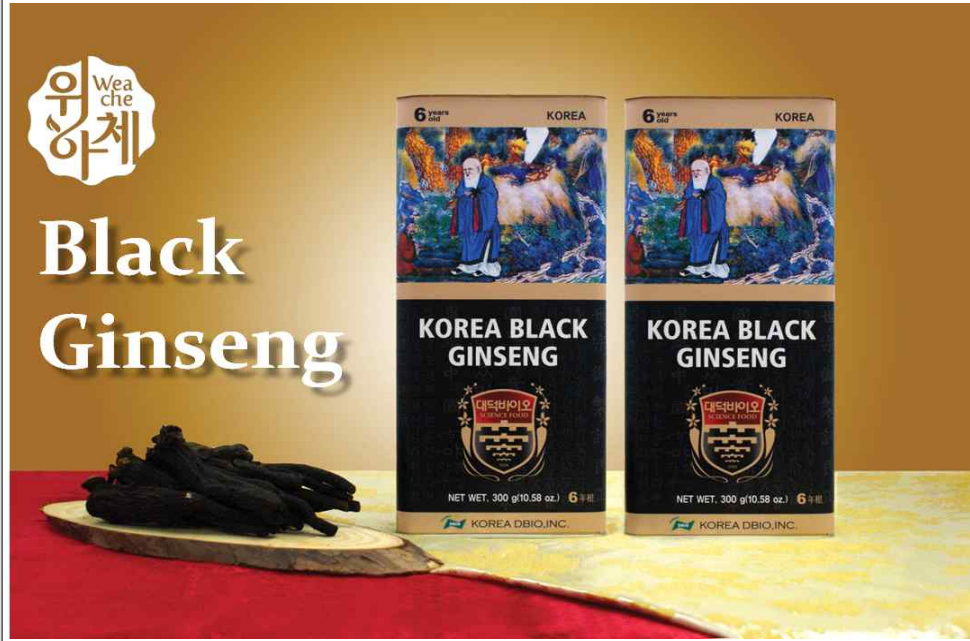
Black ginseng produced by soaking into several fruit juices

### ◆ 저온제조 흑삼을 이용한 콜레스테롤저하 헬스케어 드링크제 제품개발



신규 제품 도면(시안) 첨부

제품생산  
제품정보



- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 300 g
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

신규 제품 도면(시안) 첨부

제품생산  
제품정보



- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 g
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

기술 성과 제품 사진

신규 제품 도면(시안) 첨부

제품생산  
제품정보



- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 mL
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

신규 제품 도면(시안) 첨부

제품생산  
제품정보

**저온 신규증구포 공법으로 제조한 흑삼**  
**고콜레스테롤, 동맥경화, 심장질환 예방**



(주)대덕바이오는 기존 흑삼의 제조공법 방법을 개선한 신기술을 연구개발하여 저온 신규증구포로 제조된 흑삼을 원료로 연구를 거듭한 결과, 국내에서는 최초로 흑삼수인 '흑삼에 빠지다' 제품을 개발하였습니다. (출시예정)

- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 mL
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

## 나. 시제품의 사포닌 분석

파우치의 사포닌 함량을 측정하기 위하여 ethyl-ether로 지용성 성분을 제거한 후 수포화 부탄올로 조사포닌 층을 수거한 후 농축, 여과하여 HPLC로 분석하였다(Fig. 6-1). 크로마토그램은 파우치 한 팩속에 함유된 사포닌 패턴을 나타내주고 있다. 또한, 흑삼의 주요 사포닌 Rg<sub>3</sub>의 피크가 증가된 것을 확인할 수 있었다. Rg<sub>3</sub> 함량은 12.52 mg/ea이었다. Rf는 2.19 mg/ea, Rb<sub>1</sub>은 0.75 mg/ea, 40분 대에 나타나는 Rg<sub>1</sub> 및 Re의 피크는 보이지 않으므로, 흑삼 가열시 Rg<sub>3</sub>로 전환되었음을 알 수 있었다.

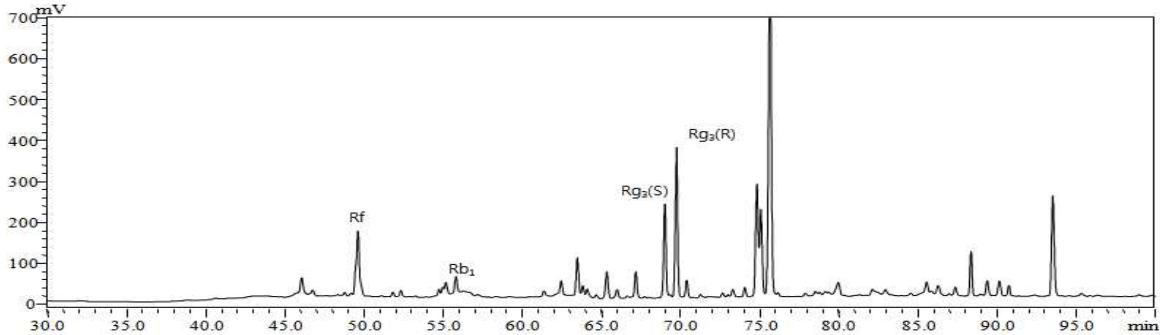
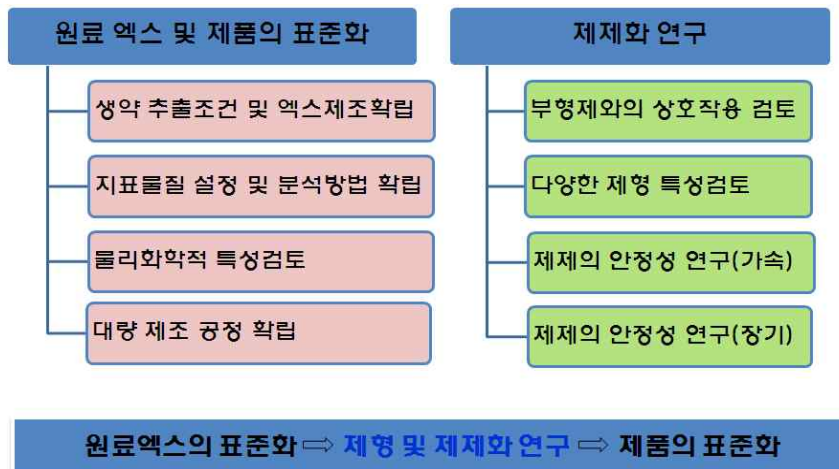


Figure 6-1. Chromatograms of ginsenosides in the liquid product used black ginseng

## 다. Preformulation 연구

가) 원료소재의 preformulation 연구

- 핵심 원료소재인 80℃증숙 흑삼 엑스를 대상으로 맛, 색상, 취, 용해도, 침전, 탁도, 균질성, 흡습성, 안정성 등 제반 물성 파악
- 건조 엑스에 대해 흡습의 정도 관찰 및 흡습 대책 수립을 위해 엑스 제조 공정 개선 및 부형제 첨가법 검토
- 농축물 엑스에 대해 안토시아닌 색소 탈색 등 색상 변화 예측을 위한 예비 안정성 시험 진행
- 지표성분 Ginsenosides(G-Rb<sub>1</sub>, G-Rg<sub>1</sub>, -Rg<sub>2</sub>, G-Rg<sub>3</sub>)의 경시적 변화 관찰을 위한 안정성 시험 착수



<원료 및 제품의 표준화 및 제품화 연구>



나) 제형 적용 설계 연구

- 원료소재의 제반 물성과 고콜레스테롤 대상 복용 제품의 특성을 고려한 제형 설계를 위해 시판 유관 샘플들 수집
- 연조엑스를 활용한 액제, 시럽제, 현탁액제 및 겔제 등 액상제제 제조 및 비교 검토 하였음
- 또한, 건조엑스를 활용한 과립제, 속방과립제, 정제, 캡셀제 등 고형제제 제조 및 비교 검토 중

다) 제제 및 제형연구

1) 흑삼 물 추출물 및 50% 에탄올(주정) 엑스에 대한 기준시험법

- 성상 : 짙은 적갈색으로 흑삼 특유의 향 및 맛을 가지고 있음
- 함량 : 흑삼의 지표성분인 Ginsenosides(G-Rb<sub>1</sub>, G-Rg<sub>1</sub>, -Rg<sub>2</sub>, G-Rg<sub>3</sub>)으로 설정하였음
- 기타시험항목 : 흑삼 연조엑스를 이용하여 제제화 연구를 통한 산업화를 추진하는 식품의 유형에 기본적으로 포함되어 있는 납 및 카드뮴에 대한 기준규격을 검토하였음
  - ① 납(mg/kg) (0.3 이하) : 불검출
  - ② 카드뮴(mg/kg) (0.1 이하) : 불검출

2) 흑삼 물 추출물 및 50% 에탄올(주정) 엑스에 대한 기준시험법

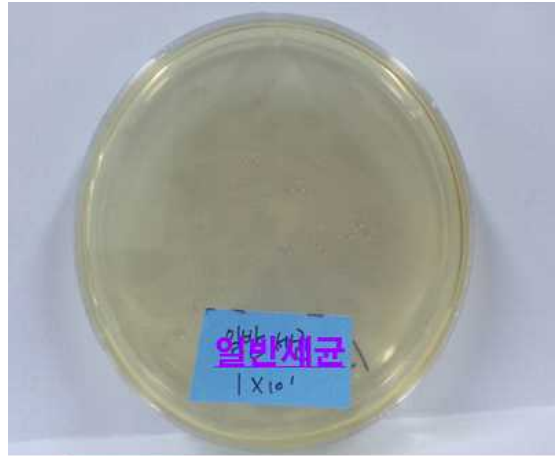
- 성상 : 짙은 적갈색으로 흑삼 특유의 향 및 맛을 가지고 있음
- 함량 : 흑삼의 지표성분인 Ginsenosides(G-Rb<sub>1</sub>, G-Rg<sub>1</sub>, -Rg<sub>2</sub>, G-Rg<sub>3</sub>)으로 설정하였음
- 기타기준시험법 : 흑삼 건조엑스를 이용하여 제제화연구를 통한 산업화를 추진하는 식품의 유형에 기본적으로 포함되어 있는 납 및 카드뮴에 대한 기준규격을 검토하였음
  - ① 납(mg/kg) (0.3 이하) : 불검출
  - ② 카드뮴(mg/kg) (0.1 이하) : 불검출

라. 저장 기간 중 파우치 제품의 세균수(제품 안정성) 측정

생산 후 1주, 2주, 1달, 3달 동안 제품속의 대장균, 세균, 곰팡이의 오염을 측정한 결과, 실험기간 동안 어떤 미생물도 발견되지 않았다.



흑삼제품의 저장 기간중 제품의 세균수(제품 안정성) 측정



일반세균 BG 1x10<sup>1</sup>



대장균 BG 1x10<sup>1</sup>

[결과해석] 생산 후 1주, 2주, 1달, 3달 동안 제품속의 대장균, 세균, 곰팡이의 오염을 측정한 결과, 실험기간 동안 어떤 미생물도 발견되지 않았다.

다. 저온제조 흑삼제품의 가온가속 조건에서 장기안정성 테스트

저온제조 공법(75℃~80℃) 증숙제조 흑삼 물 추출물의 농축액을 액상 용액으로 제조 후 40℃ 가온가속에서 6개월간 경시적으로 조사 한 결과, 정상, 기준 사포닌함량(G-Rb<sub>1</sub>, (단위 : mg/ 100ml)

Storage period	G-Rg1	G-Rb1	G-Rg3(S+R)	G-Rg2(S+R)	Total of 4 ginsenosides
Control	0.43 ± 0.06 <sup>1)2)</sup>	0.83 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.73 ± 0.07 <sup>a</sup>
Stored for 1 month	0.45 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.28 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.81 ± 0.07 <sup>a</sup>
Stored for 2 months	0.45 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.82 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.27 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.12 <sup>a</sup>
Stored for 3 months	0.47 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.84 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.88 ± 0.15 <sup>a</sup>
Stored for 6 months	0.48 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.85 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.82 ± 0.11 <sup>a</sup>
미생물실험결과 (대장균, 일반세균, 곰팡이 등)		1개월 음성(적합)	2개월 음성(적합)	3개월 음성(적합)	6개월 음성(적합)

⇒ 80℃ 증숙제조 흑삼의 물추출물(흑삼 추출물 → 물 100ml 정용 비율)로 액상용액 제조 후 40℃ 가온 가속조건에서 6개월간 경시적 조사

G-Rg<sub>1</sub>, -Rg<sub>2</sub>, G-Rg<sub>3</sub>), 중금속, 타르색소, 세균수, 대장균수, 미생물 등 실험기간 동안 어떤 것도 발견되지 않았다.

바. 흑삼추출물의 시제품에 대한 관능평가 및 기호도 조사

- ① 흑삼 및 흑삼생약복합제품의 관능평가 시험방법

## 1. 시료조제

흑삼 및 흑삼생약복합제품 gold type, premium type 및 light type에 사용된 각각의 흑삼 엑스 첨가 농도별로 1.4%, 3.0% 및 0.7% 농도로 물에 용해시켜 type 별 시제품의 대조구로 사용하였다. 한편, 흑삼 및 흑삼생약복합제품 gold type, premium type 및 light type은 제조된 시제품을 그대로 사용하여 관능평가 하였다.

## 2. 관능평가

관능평가는 단맛, 구수한맛, 신맛, 쓴맛, 나무맛, 생약맛, 전체적인 만족도 및 뽕은맛을 각각의 평가항목으로 하여 직접 시음하여 평가하였다. 이때 평가항목별 평가 점수는 최저(0점) ~ 최고(9점) 범위로하여 각각 평가하여 QDA(quantitative description analysis) 도식화하여 비교가 용이하도록 하였다.

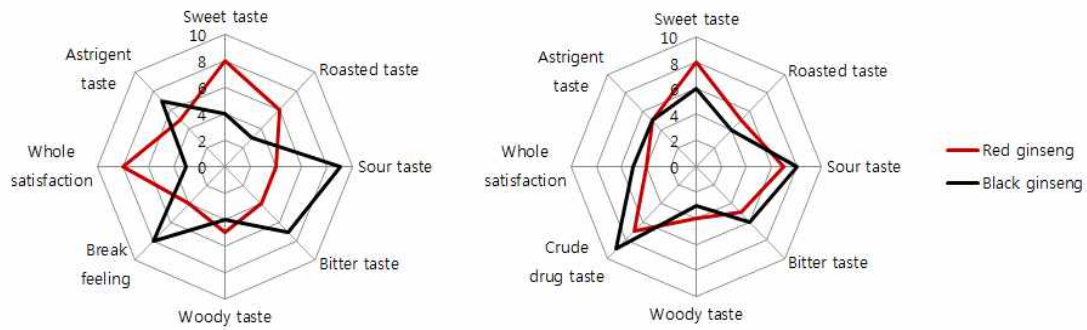
### ㉓ 흑삼 및 흑삼생약복합제품의 관능평가 시험결과

흑삼 및 흑삼생약복합제품 gold type, premium type 및 light type에 사용된 각각의 흑삼 엑스 첨가 농도별로 1.4%, 3.0% 및 0.7% 농도로 물에 용해시켜 QDA 방법으로 관능평가 결과 신맛, 쓴맛, 나무맛, 생약재맛, 뽕은맛이 매우 강하였고 전체적인 만족도가 매우 낮았다.

이와 같은 현상은 생약재 추출액과 고미감소제 및 당류 등을 첨가함으로써 다소 완화시킬 수는 있었으나, 흑삼과 생약재를 사용한 복합제품의 경우 전반적인 문제점으로 지목되었다.

한편 여성 및 젊은층을 대상으로 개발한 light type은 이와 같은 흑삼과 생약재 특이의 맛이 현저하게 감소되어 비교적 온화한 맛을 갖게 되는 것으로 평가되었다. 그러나 흑삼과 생약재를 주된 원료로 사용하여 개발된 제품류는 근본적으로 이와 같은 흑삼과 생약재의 향미 관련 문제점의 개선이 요구되었다.

### 홍삼 및 흑삼의 QDA 방법에 의한 관능평가



홍삼 및 흑삼의 QDA 방법에 의한 관능평가

고급형 홍삼 및 흑삼 생약 파우치 제품의 QDA 방법에 의한 관능평가

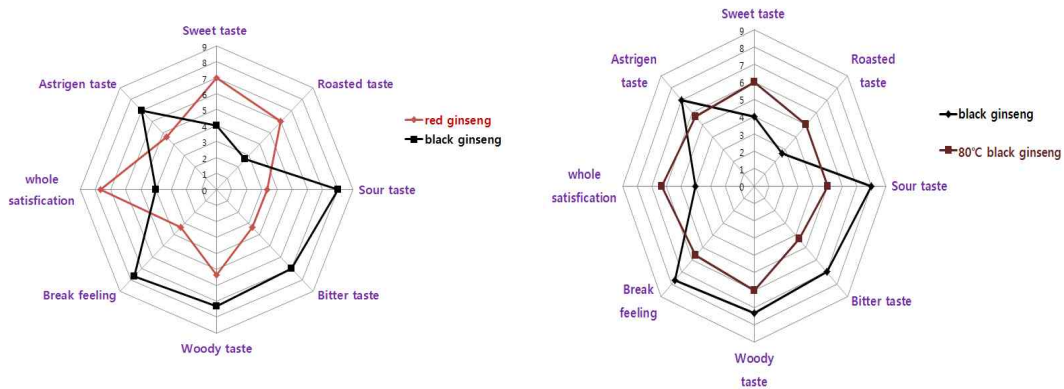


Figure 6-1. Sensory evaluation of black ginseng pouch product

[결과요약] 홍삼 및 종래 흑삼의 관능평가 결과 홍삼은 단맛, 구수한맛이 양호하였고, 흑삼은 신맛, 떫은맛, 부서지는 감촉이 높았으며, 전체적인 만족도는 홍삼이 양호한 것으로 나타났으며, 80℃ 가온처리 제조 흑삼은 이와같은 향미관리 저해 요인을 감소시켜 품질을 향상함. 또한 높은 기능성과 제품의 관능성을 고려 할 때 기준 Ginsenosides 함량도 높게 유지되는 조건을 사용하여 제품화 연구 방향을 설정하는 것이 좋다고 판단됨.

#### 사. 흑삼 추출물의 시제품의 이화학적 특성 평가

Parameters	용량 (mL)	pH	당도	색도		
				L	a	b
	49.5±0.04	4.26±0.07	1.86±0.06	17.10±0.23	0.20±0.08	1.20±0.06

(가) 흑삼제조 온도별 색도 비교결과 백색도 (L)은 대조구 홍삼의 78.81 대비 종래흑삼 제조방법으로 제조한 98℃ 증삼구는 41.62로 현저하게 감소되었으며, 80℃ 증삼

흑삼 개선구는 57.09였다. 반면에 적색도 (a)는 홍삼의 1.09 대비 80℃ 증삼흑삼 개선구는 7.13으로 증가되었으며 98℃ 증삼구는 8.79로 현저하게 증가를 보였다.

(나) pH 비교결과 대조구 홍삼의 pH는 5.63 이었으나 80℃ 증삼 흑삼제조구는 4.96 이었고 98℃ 증삼 제조구는 4.25 였다. Table 3에서 흑삼제조과정 중 증삼온도가 증가됨에 따라서 pH가 현저하게 낮아져서 고온제조 흑삼의 경우 신맛과 떫은 맛의 주된 요인이 될 수 있음을 알 수 있었다.

(다) 갈색도는 홍삼의 경우 0.03 이었으나 80℃ 증삼 흑삼 개선구는 0.14 였고 98℃ 증삼 제조구는 0.47로 현저하게 증가되어 홍삼이나 80℃ 증삼 흑삼 대조구에 비하여 98℃ 증삼 대조구는 갈색도가 현저하게 증가되어 갈색화반응이 현저하게 촉진되어 그 결과 매우 진한 흑삼으로 제조됨을 알 수 있었다.

(라) 흑삼을 이용한 시제품에 사용될 흑삼 추출물의 이화학적 특성 조사 결과, 백색도 (L)은  $17.10 \pm 0.23$ , 적색도 (a)는  $0.20 \pm 0.08$ , 갈색도(b)는  $1.20 \pm 0.06$  으로 조사 되었으며, pH 값은  $4.26 \pm 0.07$ , 당도는  $1.86 \pm 0.06$  값을 나타 냄을 알 수 있었다.

## 아. 흑삼추출물의 제조공정 개선으로 품질향상 제형화 및 제품화 연구

### (1) 흑삼의 제조공정 개선

흑삼제조시험은 원료수삼을 건조시켜 피부백삼을 제조 후 흑삼제조방법과 원료수삼을 증숙과 건조시켜 홍삼을 제조한 다음 흑삼제조방법을 검토하였다. 백삼으로 제조된 흑삼은 흑삼 제조과정 중에 균열(갈라짐) 현상이 나타나지 않는 장점이 있었으나 갈색화 반응이 현저하게 촉진되지 않았으며 인삼고유의 흑냄새와 백삼취가 남아 흑삼제조에 적합하지 않은 반면에 홍삼을 제조하여 흑삼제조방식은 갈색화반응 촉진이 양호하였고 특히 80℃ 증숙시켜 저온에서 제조된 흑삼의 경우 홍삼 특이의 구수한 감미와 흑삼의 특징을 보완할 수 있었다. 또한 식약처의 홍삼과 백삼에 대한 품질기준은  $Rg_1 + Rb_1$  함량을 0.8 ~ 34 mg/g 으로 기준이 마련되었으나 흑삼에 대해서는 별도 기준이 마련되어 있지 않다. 따라서 홍삼의 품질기준에 준하여  $Rg_1 + Rb_1$  함량 분석결과 현행 구증구포 흑삼제조방법으로 제조된 흑삼은 0.53 mg/g으로 식약처의 품질기준에 미달되어 이에 대한 개선책이 시급하게 요구되었다.

(2) 또한 현행 흑삼의 제조공정은 Table 6-3 에서와 같이 홍삼 대비 백색도의 값은 78.81 → 41.62으로 감소하였고 적색도의 값은 1.09 → 8.79로 증가되었으며 갈색도 역시 0.03 → 0.47로 현저하게 증가되어 종래의 흑삼 제조 방법은 갈색화 반응이 현저하게 촉진되었음을 알 수 있었다. 그러나 흑삼 제조과정의 증숙온도에 따라서 pH는 5.63 → 4.25으로 현저하게 감소되어 고온 증숙과정을 거쳐 흑삼을 제조할 경우 신맛과 텁텁한맛이 증가되는 주된 요인이 됨을 알 수 있었으며, pH가 낮아져 산성화가 됨으로써  $Rb_1$ 외에  $Rb_2$ ,  $Rc$ ,  $Rd$  등 protopanaxadiol 사포닌성분들의 탄소 20위치의 배당체결합이 가수분해되어  $Rg_3(S)$ 와  $Rg_3(S)$ 로 전환이 증가되고, protopanaxadiol 사포닌성분인  $Re$ 는 탄소 20위치의 배당체결합이 가수분해되어  $Rg_2(S)$ 와  $Rg_2(S)$ 로 전환함량이 증가됨을 알 수 있었다.

**(3) 흑삼제조 제조조건별 흑삼제조 수율 및 엑스수율 비교**

- (가) 흑삼제조 수율을 비교해 볼 때 흑삼제조공정의 증삼온도별로 최종 제조 수율은 Table 6-2 에서와 같이 현저한 차이를 보였다. 홍삼 대조구의 제조 수율 28.47% 대비 98℃ 흑삼 제조구는 10.78%의 감소를 나타내어 최종 제조 수율수율은 25.4% 였으며, 80℃ 흑삼 제조구는 홍삼 대조구의 제조 수율 28.47% 대비 3.22%의 감소를 나타내어 27.6% 제조 수율은 27.54% 였다.
- (나) 온도별 제조 흑삼의 50% 건조엑스의 수율을 비교해 볼 때 98℃ 흑삼 제조구는 총 9 번의 증삼과 건조과정을 거치면서 가용성엑스의 용출현상이 매우 심하여 엑스 수율은 26.1% 였으나, 80℃ 개선 흑삼 제조구는 31.1%로 흑삼제조과정 중에 가용성엑스의 유출에 따른 엑스수율 감소현상을 현저하게 줄일 수 있었다.

**Table 6-2. Fluctuation of weight reduction, starch content and extract yield in the red ginseng processed by steam heating processing at various temperatures**

Sample of red and black ginseng	Weight reduction (%)	Extract yield (%) <sup>3)</sup>
Red ginseng	0.83±0.09	36.31±3.65
Steaming at 60℃	0.85±0.62	34.74±0.94
Steaming at 70℃	1.44±0.48	33.83±0.69
Steaming at 80℃	3.22±0.56	31.10±1.27
Steaming at 90℃	6.86±1.14	29.42±1.12
Steaming at 98℃	10.78±2.95	26.13±1.86

<sup>1)</sup> All values are mean ± SD (n=3)

<sup>2)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05

<sup>3)</sup> The red ginseng powder was extracted with 50% ethyl alcohol.

**(4) 흑삼제조 제조조건별 색도, pH 및 갈색도 비교**

- (가) 흑삼제조 온도별 색도 비교결과 Table 3에서와 같이 백색도 (L)은 대조구 홍삼의 78.81 대비 종래흑삼 제조방법으로 제조한 98℃ 증삼구는 41.62로 현저하게 감소되었으며, 80℃ 증삼 흑삼 개선구는 57.09였다. 반면에 적색도 (a)는 홍삼의 1.09 대비 80℃ 증삼흑삼 개선구는 7.13으로 증가되었으며 98℃ 증삼구는 8.79로 현저하게 증가를 보였다.
- (나) pH 비교결과 대조구 홍삼의 pH는 5.63 이었으나 80℃ 증삼 흑삼제조구는 4.96 이



있고 98℃ 증삼 제조구는 4.25 였다. Table 3에서 흑삼제조과정 중 증삼온도가 증가됨에 따라서 pH가 현저하게 낮아져서 고온제조 흑삼의 경우 신맛과 짙은 맛의 주된 요인이 될 수 있음을 알 수 있었다.

(다) 갈색도는 홍삼의 경우 0.03 이었으나 80℃ 증삼 흑삼 개선구는 0.14 였고 98℃ 증삼 제조구는 0.47로 현하게 증가되어 홍삼이나 80℃ 증삼 흑삼 대조구에 비하여 98℃ 증삼 대조구는 갈색도가 현저하게 증가되어 갈색화반응이 현저하게 촉진되어 그 결과 매우 진한 흑삼으로 제조됨을 알 수 있었다.

**Table 6-3. Color difference, pH and brown color intensity in the red ginsengs prepared by the steam heating processing at various temperature**

Sample of red ginseng	Hunter value			pH	Brown color intensity
	L	a	b		
Red ginseng	78.81±0.28 <sup>e</sup>	1.09±0.37 <sup>a</sup>	23.12±0.50 <sup>b</sup>	5.63±0.08 <sup>e</sup>	0.03±0.01 <sup>a</sup>
Steaming at 60℃	66.75±3.89 <sup>d</sup>	4.90±1.15 <sup>b</sup>	24.64±0.35 <sup>b</sup>	5.24±0.03 <sup>d</sup>	0.07±0.01 <sup>a</sup>
Steaming at 70℃	62.39±1.20 <sup>c</sup>	5.93±0.32 <sup>b</sup>	25.01±0.89 <sup>b</sup>	5.15±0.06 <sup>d</sup>	0.14±0.03 <sup>b</sup>
Steaming at 80℃	57.09±2.05 <sup>b</sup>	7.13±0.54 <sup>c</sup>	24.94±0.68 <sup>b</sup>	4.96±0.09 <sup>c</sup>	0.14±0.03 <sup>b</sup>
Steaming at 90℃	53.47±1.73 <sup>b</sup>	8.01±0.48 <sup>cd</sup>	24.37±1.25 <sup>b</sup>	4.67±0.12 <sup>b</sup>	0.20±0.03 <sup>c</sup>
Steaming at 98℃	41.62±3.38 <sup>a</sup>	8.79±0.3 <sup>d</sup>	18.70±1.68 <sup>a</sup>	4.25±0.08 <sup>a</sup>	0.47±0.02 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup> All values are mean ± SD (n=3)

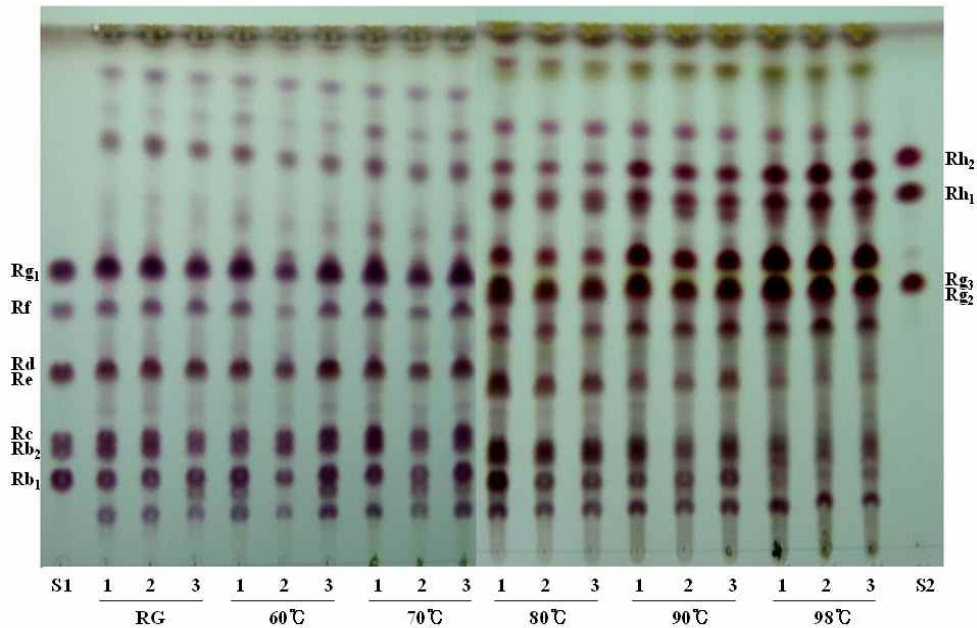
<sup>2)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05

### (5) 흑삼 제조 조건별 사포닌 함량변화

(가) 증삼제조 온도별 제조흑삼의 사포닌성분에 대한 TLC 패턴변화는 Figure 6-3 와 같은 온도별 사포닌성분의 변화를 보였으며 HPLC 분석결과 Figure 6-4와 같이 사포닌 성분을 분리 정량하였다. 식약청 품질기준에 준하여 ginsenoside(G)-Rb<sub>1</sub> 과 G-Rg<sub>1</sub>을 HPLC로 분석결과 Table 6-4과 같이 홍삼 대조구는 각각 2.41 mg/g 및 2.46 mg/g 이었고, 80℃에서 증삼하여 제조된 흑삼은 1.59 mg/g 및 0.87 mg/g 이었으며 98℃에서 증삼하여 제조된 흑삼의 경우는 0.45 mg/g 및 0.08 mg/g 이었다. 여기서 알 수 있는 바와 같이 종래의 흑삼제조 방법은 G-Rb<sub>1</sub> 과 G-Rg<sub>1</sub>의 합이 0.53 mg/g으로 식약청 품질기준 0.8~34 mg/g에 미달됨을 알 수 있었다. 따라서 종래의 흑삼 제조방법으로 볼 수 있는 구증구포 제조방법

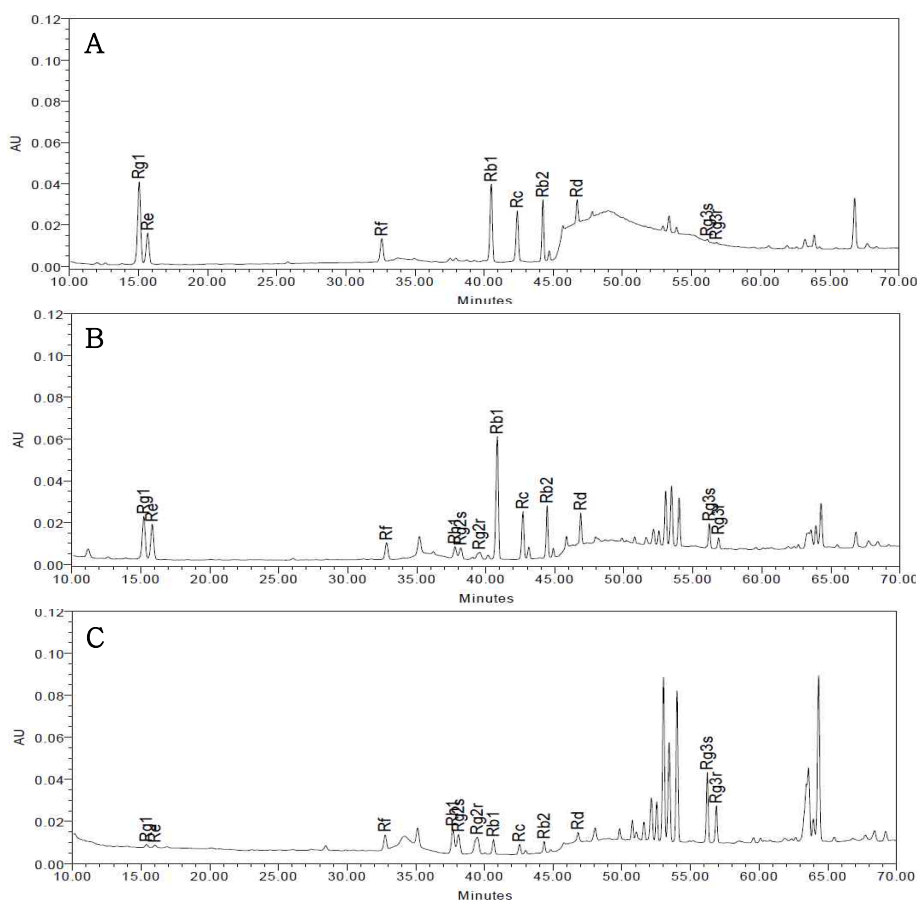
은 사포닌 품질관리 지표성분 함량면에서 볼 때 사포닌 하량의 품질기준에 부적합함을 알 수 있었다. 그러나 80℃에서 개선조건으로 제조된 흑삼의 경우 G-Rb<sub>1</sub>: 1.59 mg/g 및 G-Rg<sub>1</sub> : 0.87 mg/g으로 2 개 사포닌성분의 합이 2.46 mg/g으로 식약청의 품질기준에 적합하였다.

(나) 흑삼 제조과정에서 인삼 사포닌성분 중 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd 등 protopanaxadiol 사포닌성분들의 탄소 20위치의 배당체결합이 가수분해되어 Rg<sub>3</sub>(S)와 Rg<sub>3</sub>(R)으로 전환이 증가되고 protopanaxatriol 사포닌성분인 Re는 탄소 20위치의 배당체결합이 가수분해 되어 Rg<sub>2</sub>(S)와 Rg<sub>2</sub>(R)로 전환되어 이들 전환 사포닌성분의 함량이 증가되는 것으로 밝혀졌다. 홍삼은 Rg<sub>2</sub> + Rg<sub>3</sub> 함량이 0.24 mg/g 이었고, 80℃ 증숙제조 흑삼은 0.93 mg/g이었으며 98℃ 고온증숙 흑삼의 경우는 3.14 mg/g으로 크게 증가되어 현행 고온증숙 흑삼 제조공정은 이들 전환사포닌 함량이 높은 흑삼을 만들고자 할 경우는 이용이 가능함을 알 수 있었다.



**Figure 6-3. TLC of the red ginsengs processed by the steam heating processing at the various temperatures**

\* The developing system was as flow : Chloroform-Methanol-Water (65 : 35 : 10, lower). The TLC plate was sprayed with 20% sulfuric acid, followed by heating at 105℃ for 10minutes.



**Figure 6-4. HPLC chromatograms of ginsenosides of the red ginsengs prepared by the steam heating processing at various temperatures**

A: Normal red ginseng, B : Processing at 80°C, C : Processing at 98°C

**Table 6-3. Ginsenosides amount of the red ginsengs prepared by steam heating processing at various temperatures**

Sample of red ginseng	Ginsenoside contents (mg/g)						
	Rb <sub>1</sub>	Rg <sub>1</sub>	Rg <sub>2</sub> (S)	Rg <sub>2</sub> (R)	Rg <sub>3</sub> (S)	Rg <sub>3</sub> (R)	Rg <sub>2</sub> + Rg <sub>3</sub> <sup>※</sup>
Red ginseng	2.41±0.38 <sup>1)(c2)</sup>	2.46±0.27 <sup>c</sup>	0.14±0.03 <sup>a</sup>	0.04±0.02 <sup>a</sup>	0.04±0.02 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>a</sup>	0.24
Steaming at 60°C	2.53±0.44 <sup>c</sup>	2.45±0.20 <sup>c</sup>	0.13±0.03 <sup>a</sup>	0.08±0.04 <sup>ab</sup>	0.07±0.02 <sup>a</sup>	0.03±0.02 <sup>a</sup>	0.31
Steaming at 70°C	2.45±0.36 <sup>c</sup>	2.11±0.13 <sup>c</sup>	0.27±0.09 <sup>ab</sup>	0.13±0.03 <sup>bc</sup>	0.12±0.02 <sup>a</sup>	0.06±0.01 <sup>ab</sup>	0.58
Steaming at 80°C	1.59±0.64 <sup>b</sup>	0.87±0.36 <sup>b</sup>	0.35±0.12 <sup>b</sup>	0.19±0.03 <sup>c</sup>	0.27±0.10 <sup>b</sup>	0.12±0.05 <sup>b</sup>	0.93
Steaming at 90°C	1.22±0.11 <sup>b</sup>	0.40±0.03 <sup>a</sup>	0.56±0.09 <sup>c</sup>	0.39±0.05 <sup>d</sup>	0.69±0.11 <sup>c</sup>	0.29±0.08 <sup>c</sup>	1.93
Steaming at 98°C	0.45±0.09 <sup>a</sup>	0.08±0.04 <sup>a</sup>	0.72±0.15 <sup>c</sup>	0.62±0.04 <sup>e</sup>	1.20±0.05 <sup>d</sup>	0.60±0.02 <sup>d</sup>	3.14

<sup>1)</sup> All values are mean ± SD (n=3)

<sup>2)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05

※ Rg<sub>2</sub> + Rg<sub>3</sub> = Rg<sub>2</sub>(S) + Rg<sub>2</sub>(R) + Rg<sub>3</sub>(S) + Rg<sub>3</sub>(R)

**(6) 홍삼 및 흑삼의 말톨(maltol) 함량 분석 결과**

(가) 홍삼 및 흑삼의 말톨 함량 분석결과 Table 6-5에서와 같이 홍삼 0.35 ± 0.04 mg/g, 80℃ 제조 흑삼 0.41 mg/g 및 98℃ 구증구포 흑삼 1.56 ± 0.23 이었다. 홍삼의 증숙 제조과정의 갈색화반응 생성물로 생성되는 말톨의 경우 80℃ 제조흑삼의 경우 홍삼에 비하여 증가량이 적은편 이었으나 98℃ 구증구포 흑삼에서 현저하게 증가됨을 알 수 있었다. 식약청 품질관리 기준에는 홍삼 및 흑삼의 품질관리 규격에 말톨 기준이 설정되어 있지 않았으나, 홍삼 및 흑삼의 제조조건에 따라서 자가 품질관리 기준을 설정하고 말톨함량 기준치를 자가 품질관리에 활용할 수 있을 것으로 고찰되었다.

(나) 홍삼의 증숙제조 과정에서 갈색화 반응이 촉진되면서 말톨성분이 생성되고 생성되는 항산화 효과가 있는 것으로 보고되었다. 그러나 홍삼 및 흑삼의 물추출 엑스 제조 과정이나 이를 함유한 생약복합제품의 제조과정에서 갈색화반응이 촉진됨에 따라서 그 함량이 변화 될 수 있음으로 홍삼 및 흑삼의 추출물엑스나 이들 원료인삼을 함유하는 생약복합제 제품에서 말톨 성분을 품질관리 지표성분으로 설정하여 품질관리 하기에는 부적합 한 것으로 고찰되었다.

Table 6-5. The amount of maltol in red and black ginseng

Ginseng sample	Maltol content (mg/g)
Red ginseng	0.35 ± 0.05 <sup>1,2)</sup>
Black ginseng (steaming at 80 °C)	0.41 ± 0.06 <sup>a</sup>
Black ginseng (steaming at 98 °C)	1.56 ± 0.23 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> All values are mean ± SD (n=3)

<sup>2)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05

**(7) 저온제조 흑삼공법을 이용한 제품화 개발**

**① 콜레스테롤 저하 흑삼생약복합제품 개발**

**1. 원료사용**

1) Gold type :

흑삼엑스(1.4%)와 당귀, 천궁 황기 등 혈액순환촉진, 간장보호 및 면역기능 등 증진 생약류를 배합하여 흑삼의 콜레스테롤 저하효과를 보완 증대시킬 수 있는 천연물 생약재를 배합 추출하고 쓴맛을 감소시키고 맛을 조화시키기 위하여 텍스트린, 꿀, 올리고당 및 과당 등을 첨가하였다.

2) Premium type :

흑삼엑스(3.0%)와 당귀, 천궁 황기 등 혈액순환촉진, 간장보호 및 면역기능 등증진 생약류를 배합하여 흑삼의 콜레스테롤 저하효과를 보완 증대시킬 수 있는 천연물생약재를 배합 추출하고 쓴맛을 감소시키고 맛을 조화시키기 위하여 텍스트린, 꿀, 올리고당 및 과당 등을 첨가 하였다.

### 3) Mild type :

흑삼엑스(0.7%)와 당귀, 천궁 등 혈액순환촉진 생약류와 운지버섯, 표고버섯 등 면역효과와 콜레스테롤 저하효과가 있는 원료를 사용하여 흑삼의 콜레스테롤 저하효과를 보완 증대시킬 수 있는 천연물생약재를 배합 추출하고, 쓴맛을 감소시키고 맛을 조화시키기 텍스트린, 꿀, 올리고당 및 과당 등 첨가

## ② 추출 제조조건

### 1) 흑삼엑스제조

흑삼은 원료값이 고가이고 엑스 및 사포닌의 추출 효율성이 낮은 점을 고려하여, 흑삼에 물을 1차(15배: V/W), 2차(10배: V/W), 3차(10배: V/W) 용량으로 각각 가하여 85 °C에서 8시간 씩 1 ~ 3차 추출 후 여과 농축한 다음 60°C에서 감압 농축시켜 고형분 함량이 60% 이상이 되도록 흑삼엑스 제조한 다음 인삼의 적정복용량 ( 2 ~ 5g/일)과 콜레스테롤 저하 효과 등을 고려하여 제품 타입별로 흑삼엑스 배합 농도를 설정하여 원료로 사용한다.

### 2) 생약재추출액 제조

당귀, 천궁 황기 등 혈액순환 촉진효과, 간장보호효과 및 면역기능이 있는 생약류를 원료 (g) 대비 용량(ml) 기준으로 20배(ml/g) 물을 가하여 85 °C에서 24시간 x 1회 추출 후 여과하여 파우치액으로 한다.

### 3) 흑삼생약복합제품 제조

생약재추출액에 흑삼엑스를 gold, premium 및 mild 타입별로 배합하고 잘 혼합하여 용해시킨 다음 각종 첨가물을 배합비율에 준하여 혼합 용해시킨 다음 여과하고 90°C에서 30분간 살균시킨 다음 파우치에 포장한다. Gold 타입과 premium 타입은 작업 현장에서 작업상의 편의성 도모를 위하여 생약재추출액 및 첨가물의 배합 농도는 같게하고 흑삼엑스 배합 농도와 최종 파우치에 포장 용량만을 달리하여 포장한 다음 90°C에서 30분간 후살균 처리하여 제조공정을 마치고 실온에서 약 3일간 이상 충분히 식힌 다음 외관 등 최종 포장상태 및 품질을 확인 후 타입별로 박스포장을 한다. 한편 Light 타입은 쓴맛을 선호하지 않은 여성 및 젊은 층을 주 대상으로 개발하였다.



▣ 흑삼생약복합제품(gold) 배합비율

재료명	원료 사용량 ※ <sup>1</sup>	비고 (한방, 민간 전통약물로 알려진 효능)
흑삼엑스	1.4g	콜레스테롤 저하, 면역증강, 피로회복
당귀	2.8g	혈액순환 도와주고 장 기능개선
천궁	2.8g	혈액순환 촉진 및 당귀의 효능을 높여줌
황기	2.8g	간장보호, 면역기능 보호
숙지황	2.8g	혈액순환 촉진
작약	1.2g	이뇨, 조혈 및 지;한 등 효능
뽕잎	1.2g	콜레스테롤 배출로 심혈관 질환에 좋음
구기자	1.2g	간장세포 촉진 및 지방간 예방
녹용엑스분말	0.42g	발육촉진 및 저항력 증진
대추	3.0g	혈액순환을 원활하게 하고, 맛을 조화시킴
젓산칼슘	0.2g	골과 치아 형성, 골의 강도 유지
Vit C	70 mg	콜라겐 형성에 필수, 철분흡수 촉진 등
Vit B1 인산염	2.0 mg	당질대사에 필요, 신경의 기능 유지
Vit B2 인산에스테르나트륨	2.0 mg	당질, 단백질, 지방 대사에 필요
타우린	0.2g	간기능 개선 및 피로회복
시크로텍스트린	2.0g	흑삼 및 생약재 추출물의 고미 감소효과
말토텍스트린	2.0g	당류의 흡수를 억제시켜 기 후 혈당조절
꿀	4.0g	피로회복 및 감미 부여
프락토올리고당	6.0g	배변활동 원활 및 칼슘 흡수에 도움
과당	6.0g	Vit C 함께 감기예방, 면역력 강화

※<sup>1</sup> : 원료사용량/파우치액 100ml 기준

- 포장단위/1 box : 15ml x 60포 = 900ml /1 box

- 총 제품제조량 ( 작업공정에서 5% 손실을 고려) : 945ml /1 box

▣ 흑삼생약복합제품 (premium)의 배합비율

재료명	원료 사용량 ※ <sup>1</sup>	비고 (한방, 민간 전통약물로 알려진 효능)
흑삼엑스	3.0	콜레스테롤 저하, 면역증강, 피로회복
당귀	2.8g	혈액순환 도와주고 장 기능개선
천궁	2.8g	혈액순환 촉진 및 당귀의 효능을 높여줌
황기	2.8g	간장보호, 면역기능 보호
숙지황	2.8g	혈액순환 촉진
작약	1.2g	이뇨, 조혈 및 지;한 등 효능
뽕잎	1.2g	콜레스테롤 배출로 심혈관 질환에 좋음
구기자	1.2g	간장세포 촉진 및 지방간 예방
녹용엑스분말	0.42g	발육촉진 및 저항력 증진
대추	3.0g	혈액순환을 원활하게 하고, 맛을 조화시킴
젖산칼슘	0.2g	골과 치아 형성, 골의 강도 유지
Vit C	70 mg	콜라겐 형성에 필수, 철분흡수 촉진 등
Vit B1 인산염	2.0 mg	당질대사에 필요, 신경의 기능 유지
Vit B2 인산에스테르나트륨	2.0 mg	당질, 단백질, 지방 대사에 필요
타우린	0.2g	간기능 개선 및 피로회복
시크로텍스트린	2.0g	흑삼 및 생약재 추출물의 고미 감소효과
말토텍스트린	2.0g	당류의 흡수를 억제시켜 기 후 혈당조절
꿀	4.0g	피로회복 및 감미 부여
프락토올리고당	6.0g	배변활동 원활 및 칼슘 흡수에 도움
과당	6.0g	Vit C 함께 감기예방, 면역력 강화

※<sup>1</sup> : 원료사용량/파우치액 100ml 기준

- 포장단위/1 box : 40ml x 30포 = 1,200ml /1 box

- 총 제품제조량 ( 작업공정에서 5% 손실을 고려) : 1,260ml /1 box

▣ 흑삼생약복합제품(mild) 배합비율

재료명	원료 사용량 ※ <sup>1</sup>	비고 (한방, 민간 전통약물로 알려진 효능)
흑삼엑스	0.7g	콜레스테롤 저하, 면역증강, 피로회복
당귀	0.6g	혈액순환 도와주고 장 기능개선
천궁	0.6g	혈액순환 촉진 및 당귀의 효능을 높여줌
운지버섯	0.6g	면역효과, 콜레스테롤 저하, 혈당증가
표고버섯	0.6g	혈액순환 촉진, 콜레스테롤 저하
작약	0.6g	이뇨, 조혈 및 지;한 등 효능
뽕잎	0.6g	콜레스테롤 배출로 심혈관 질환에 좋음
구기자	0.6g	간장세포 촉진 및 지방간 예방
노루궁뎅이버섯	0.6g	당뇨예방, 장질환예방
대추	1.5g	혈액순환을 원활하게 하고, 맛을 조화시킴
젓산칼슘	0.2g	골과 치아 형성, 골의 강도 유지
Vit C	70 mg	콜라겐 형성에 필수, 철분흡수 촉진 등
Vit B2	1.0 mg	당질, 단백질, 지방대사에 필요
Vit B6	1.0 mg	지방과 아미노산 eio사와 단백질합성에 필요
타우린	0.2g	간기능 개선 및 피로회복
시크로텍스트린	1.0g	흑삼 및 생약재 추출물의 고미 감소효과
말토텍스트린	1.0g	당류의 흡수를 억제시켜 각 후 혈당조절
꿀	4.0g	피로회복 및 감미 부여
프락토올리고당	4.0g	배변활동 원활 및 칼슘 흡수에 도움
과당	4.0g	Vit C 함께 감기예방, 면역력 강화

※<sup>1</sup> : 원료사용량/파우치액 100ml 기준

- 포장단위/1 box : 15ml x 60포 = 900ml /1 box

- 총 제품제조량 ( 작업공정에서 5% 손실을 고려) : 945 ml /1 box

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1. 흑삼제조 기술 개발 및 표준화 공정 확립

#### □ 흑삼의 표준화 제조 공정 확립

기존의 흑삼 제조방법은 구증구포 방식으로 제조시간이 오래 걸리고, 잘못 증숙하게 되면 인삼이 탄화되어 발암물질인 벤조피렌 성분이 생성되는 문제점들이 발견되었다. 본 연구는 인삼 성분의 물리·화학적 전환원리를 과학적으로 적용하여 제조시간을 단축시키고, 유효 특정사포닌 성분 함량을 극대화한 흑삼을 다량 제조할 수 있는 방법을 개발하여 특허등록을 완료하였다. 종래의 흑삼 제조방법은 주로 구증구포 제조 방법을 이용하여 원료인삼을 9번 증숙하고 말리는 과정을 거쳐 제조되어 왔으며, 제조규모 시설에 따라 약 18일 이상이 소요될 뿐 아니라 반복되는 증숙 과정중에 가용성 엑스성분이 용출되어 흑삼 제조수율이 약 25.4%로 저조하고 신맛, 텁텁한맛 및 쓴맛이 강하여 향미에 문제점이 있어 이에 대한 개선책이 우선적으로 요구되었다. 이와 같은 문제점 개선을 위하여 60 ~ 98℃ 범위의 증숙 과정을 반복하여 흑삼을 제조한 결과, 80℃ 제조구의 품질 및 제조수율이 가장 양호하였으며, 종래 흑삼구증구포 제조 : 최소 11일 이상 → 80℃ 저온흑삼 제조 6일 소요, 증숙조건: 습열, 증숙온도: 80℃, 증숙횟수: 3회, 건조온도: 65℃, 종래 흑삼 제조수율: 25.4% → 저온 개선 흑삼제조 수율: 27.6%, 종래 흑삼 건조엑스함량: 26.1% → 저온개선 흑삼제조 수율: 31.0%로 흑삼제조시간 단축 및 수율증대 효과를 얻었다. 기존의 흑삼 제조방법은 숙지황 제조에 사용되어 온 구증구포 방식을 도입하여 제조시간이 매우 길고, 잘못 증숙하게 되면 직화열이 직접 인삼에 닿아 탄화되어 발암물질인 벤조피렌이 생성되는 문제점들이 발견되었다. 본 연구는 인삼성분의 물리·화학적 전환원리를 과학적으로 적용하여 제조시간을 단축시키고, 안전한 방법으로 다량의 흑삼을 제조할 수 있는 방법을 개발하여 특허 등록을 완료하였다. 본 연구에서 개발된 기술은 기존의 인삼시장에서 ‘흑삼’ 시장개척의 경쟁력 있는 새로운 블루오션을 창출할 수 있을 것으로 사료된다.

#### □ 흑삼의 표준 Ginsenoside 최적분석 조건 확립

HPLC를 이용한 흑삼의 유효 표준 Ginsenoside 지표물질 설정 및 지표물질 성분 분석법을 확립하여 표준화된 검사방법으로 제조 흑삼의 품질을 향상 시킬 수 있었다. 식약처의 인삼사포닌 Rg<sub>1</sub> + Rb<sub>1</sub> 품질규격 및 흑삼의 특이 사포닌 Rg<sub>3</sub> + Rg<sub>2</sub> 함량도 양호하였다.

- 종래 흑삼제조 (Rg<sub>1</sub>+Rb<sub>1</sub>): 0.53 mg/g → 저온개선 흑삼제조 2.46 mg/g
- 저온 제조 기준치 설정 : (Rg<sub>3</sub>+Rg<sub>2</sub>): 0.6 mg/g → (실제분석치: 0.93mg/g)
- 말톨(maltol) 함량기준치: 0.25% 이상

### 2. 흑삼의 콜레스테롤 저하 기능에 대한 *in vitro* 효능 평가

■ **홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 NO and MTT assay :**

RAW264.7과 BV2 cell에서 LPS에 의해 유도된 NO 생성을 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스가 억제할 수 있는지 알아보기 위해 NO assay를 진행하였다. RAW264.7과 BV2 cell 모두에서 농도 의존적으로 (125, 250, 500 and 1000 $\mu$ g/ml) NO의 생성을 억제하였다. 또한 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 NO 생성 억제능은 RAW264.7보다 BV2 cell에서 조금 더 강한 것을 확인하였다. MTT assay결과 RAW264.7과 BV2 모두 1000 $\mu$ g/ml의 농도까지 독성을 보이지 않았기 때문에 NO 생성의 억제는 독성과는 무관한 것으로 확인되었다.

■ **홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 RT-PCR**

BV2 cell에서 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 iNOS, COX2와 proinflammatory cytokine의 발현 억제 양상을 확인하기 위하여 BV2 cell에 샘플처리 후 LPS를 이용하여 염증반응을 유발 시킨 뒤 PCR을 실시함. 총 5가지 인자 (iNOS, COX-2, IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ )의 발현정도를 확인하였다. 그 결과 **홍삼엑스**는 NO assay의 데이터와 비슷하게 최고농도인 1000 $\mu$ g/ml에서 50%이상의 발현 억제능을 보였고, IL-1 $\beta$  또한 농도의존적으로 많은 양의 cytokine 생성을 홍삼엑스가 억제함. COX-2는 20%정도의 억제를 보였고 나머지 IL-6와 TNF- $\alpha$ 의 발현은 전혀 억제하지 못함. **현행흑삼엑스**는 iNOS, TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 에서 농도의존적으로 발현이 억제되었고, COX-2는 농도의존적인 양상을 보이진 않았지만 최고농도인 1000 $\mu$ g/ml에서 50%정도의 억제능을 보인 반면 IL-6에서는 아무런 효과를 보이지 않음. **저온흑삼엑스**는 NO assay에서 3가지 샘플 중 가장 적은 NO 생성 억제능을 보인 것과 유사하게 iNOS의 발현을 눈에 띄게 감소시키지는 못함. 하지만 다른 두 샘플과는 다르게 COX-2의 발현을 농도 의존적으로 많은 양 감소시켰으며 IL-1 $\beta$  또한 농도 의존적으로 감소하는 그래프를 나타냄. IL-6와 TNF $\alpha$ 는 저온흑삼엑스의 처리에 어떠한 효과를 보이지 않았다.

■ **홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 Prostaglandin E2 assay**

Prostaglandin E2 assay를 통해 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 PGE2 분비 억제능을 확인함. 3가지 추출물 중 저온흑삼엑스가 농도의존적으로 가장 많은 양의 PGE2 분비를 억제함. 현행흑삼은 500 $\mu$ g/ml까지 많은 양의 PGE2의 분비를 억제하였지만 최고농도인 1000 $\mu$ g/ml에서는 다시 PGE2의 분비를 증가시킴. 반면 홍삼엑스는 RT-PCR의 COX-2 결과와 유사하게 PGE2 분비에 있어 강한 효과를 보이지 않았다.

■ **홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 NF- $\kappa$ B luciferase assay**

LPS만 단독으로 처리한 세포에서는 NF- $\kappa$ B activity가 증가하였지만 홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스를 처리함에 따라 농도의존적으로 NF- $\kappa$ B의 activity가 감소하는 것을 확인하였다.

■ **홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 western blotting**

홍삼엑스, 현행흑삼엑스와 저온흑삼엑스의 MAPKs phosphorylation 억제정도를 알아보



기 위해 time course로써 15분, 30분, 60분에 단백질을 추출하여 실험을 진행함. 세가지 샘플이 각기 다른 시간에 phosphorylation을 억제하는 것으로 확인되었다. 홍삼엑스에서 p-ERK는 15분, p-JNK는 30분 그리고 p-p38은 15분에 약하게 phosphorylation이 억제됨. 저온홍삼엑스의 경우 p-ERK는 15분, 30분에서 강하게 phosphorylation을 억제하였지만 p-JNK와 p-p38는 효과가 없었음. 현행홍삼엑스는 p-ERK 30분에 phosphorylation이 억제되었고, p-JNK와 p-p38는 15분에서 약한 억제능을 보였다.

### 3. 흑삼의 콜레스테롤 저하 기능에 대한 *in vivo* 효능 평가

#### ■ 백삼엑스, 홍삼엑스, 저온홍삼엑스와 현행홍삼엑스의 지질성분변화

총 콜레스테롤 (total cholesterol, T-CHOL)은 high cholesterol diet 식이군 (HCD)에서 Normal diet 식이군(ND)보다 상승하였으나 각각의 샘플에서는 효과가 없었다. 중성지방 (Triglyceride, TG)은 HCD군에서 오히려 ND군보다 수치가 감소하였고, 모든 샘플에서 효과가 없었다. 고밀도지단백 (High-density lipoprotein, HDL)은 샘플을 투여한 군에서 HCD군 보다 조금 수치가 상승하는 것을 확인하였다. 저밀도지단백 (Low-density lipoprotein, LDL)은 HCD군에서 ND군보다 2배이상 수치가 증가하였으며, 백삼과 저온홍삼을 투여한 마우스에서 수치가 일정량 감소하는 것을 확인하였다.

#### ■ 백삼엑스, 홍삼엑스, 저온홍삼엑스와 현행홍삼엑스의 GOT, GPT변화

ND보다 HCD에서 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT or AST)와 glutamic-pyruvic transaminase (GPT, ALT)의 수치가 증가한 것을 확인하였다, GOT 수치는 저온홍삼과 현행홍삼이, GPT수치는 백삼엑스와 저온홍삼엑스가 약한 효과를 가지고 있는 것으로 확인되었다.

### 4. 흑삼의 고콜레스테롤혈증 동물모델에서의 효능 평가

본 연구는 흑삼의 새로운 제조 공정 방법을 통하여 제조된 흑삼의 저온제조 흑삼의 에탄올 추출물(BG\_EoTH) 과 저온제조 물추출물(BG\_H2O)이 고콜레스테롤 사료(D12336)로 유도된 고콜레스테롤혈증 생쥐 모델에서 콜레스테롤개선 효능을 입증하고자 하였다.

- 체중변화는 실험종료 13주 최종기준으로 대조군에 비하여 양성대조군 Lovastatin, 그리고 실험군에서는 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여 BG\_EoTH (200 mg/kg)에서는 11.6g과 BG\_H2O (200 mg/kg)에서는 11.0g 감소된 추이를 보여서 체중변화와는 큰 차이를 나타내지 않았다.
- 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)의 식이효율이 23.62%임을 나타내고 있으며, 이에 비하여 식이효율은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-NC)에 비하여 양성대조군인 Lovastatin 투여군, BG\_EoTH (200 mg/kg), 그리고 BG\_H2O (200 mg/kg)등 실험그룹에서 감소된 추이를 보였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다.
- 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 혈청내 총콜레스테롤(total

cholesterol)의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈청내 총콜레스테롤(total cholesterol) 수준은 정상대조군의 혈청내 총콜레스테롤(total cholesterol)에 비하여 약 5.4%이상 증가를 나타내었다. 실험군에서는 BG\_H2O (200 mg/kg) (p<0.05)과 BG\_EoTH (200 mg/kg) (p<0.05) 등이 대조군에 비하여 33.9%와 30.4% 이상 통계학적 유의성 있게 감소를 나타냈다.

- 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol)의 수준을 나타내는 그래프로, 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol) 수준은 정상대조군의 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol)에 비하여 약 13.3%이상 증가를 나타내었다. 실험군에서는 BG\_H2O (200 mg/kg) (p<0.05)과 EoTH (200 mg/kg) (p<0.05) 등이 고콜레스테롤혈증 대조군에 비하여 35.2%와 33.8% 이상 통계학적 유의성 있게 감소를 나타냈다 (Fig. 5, Table 3). 그러나 양성대조군인 Lovastatin 투여군은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 혈청내 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol) 수준이 감소는 하였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다.
- 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)의 간무게 (liver weight)은 정상대조군의 간무게 (liver weight)에 비하여 46.7% 이상 증가를 하였다. 그리고 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 양성대조군인 Lovastatin 투여군은 차이가 없었고, BG\_H2O (200 mg/kg)과 BG\_EoTH (200 mg/kg)은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 감소하였으나 통계학적으로 유의성 있게 감소한 투여군은 BG\_EoTH (200 mg/kg) (p<0.001)으로 나타났다.
- 간조직에서 발현되는 ACAT2, HMG-CoAR, SREBP2 mRNA 유전자 발현은 고콜레스테롤혈증 대조군 (D12336-control)에 비하여 Lovastatin와 BG\_H2O (200 mg/kg) , 그리고 BG\_EoTH (200 mg/kg) 투여군은 통계학적 유의성 있게 감소를 나타내었다.
- 조직검사에서 양성대조군 Lovastatin 200 mg/kg (D12336-Lovastatin\_20) 투여군, BG\_EoTH 과 BG\_EoTH 투여군이 지방세포 크기 증가, 지방 축적 (oil red O 염색)을 억제하였고, 간조직에서는 양성대조군 Lovastatin 200 mg/kg (D12336-Lovastatin\_20) 투여군, BG\_EoTH과 BG\_EoTH 투여군이 대조군에 비하여 지방구 및 지방 침착을 억제하는 결과를 나타내었다.

☞ 결론적으로 고콜레스테롤 사료(D12336) (D12336) 급여 고콜레스테롤혈증모델에서 콜레스테롤개선 BG\_EoTH & BG\_H2O 추출물을 6주간 투여로 지방조직 중량 감소, 혈중 총콜레스테롤 수준 감소, 혈중 저밀도콜레스테롤수준 감소, ACAT2, HMG-CoAR, SREBP2 mRNA 유전자 발현량 감소등으로 콜레스테롤개선 효과를 나타내고, 간과 지방세포에서 생체 에너지 대사 조절하는 ACAT2, HMG-CoAR, SREBP2 mRNA 유전자 발현이 억제되어 간에서 콜레스테롤의 합성을 억제하는 기전으로 콜레스테롤개선 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

\* 본 연구기술 개발 결과물에 대한 제품사진

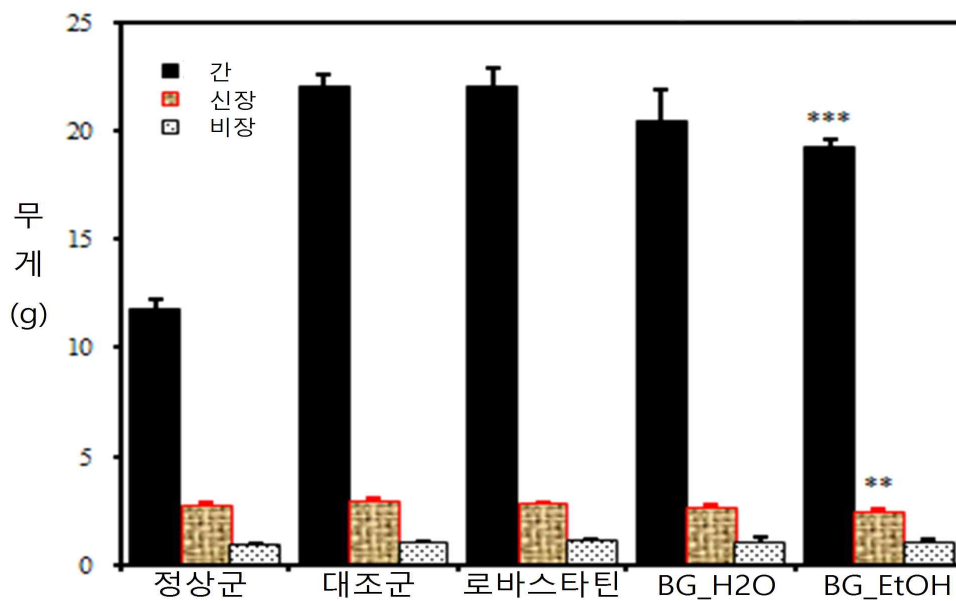
기술 성과 제품 사진

◆ 흑삼제조(증삼시 랩핑 및 밴딩에 의한 동체 균열 억제 효과를 보여주는 사진)



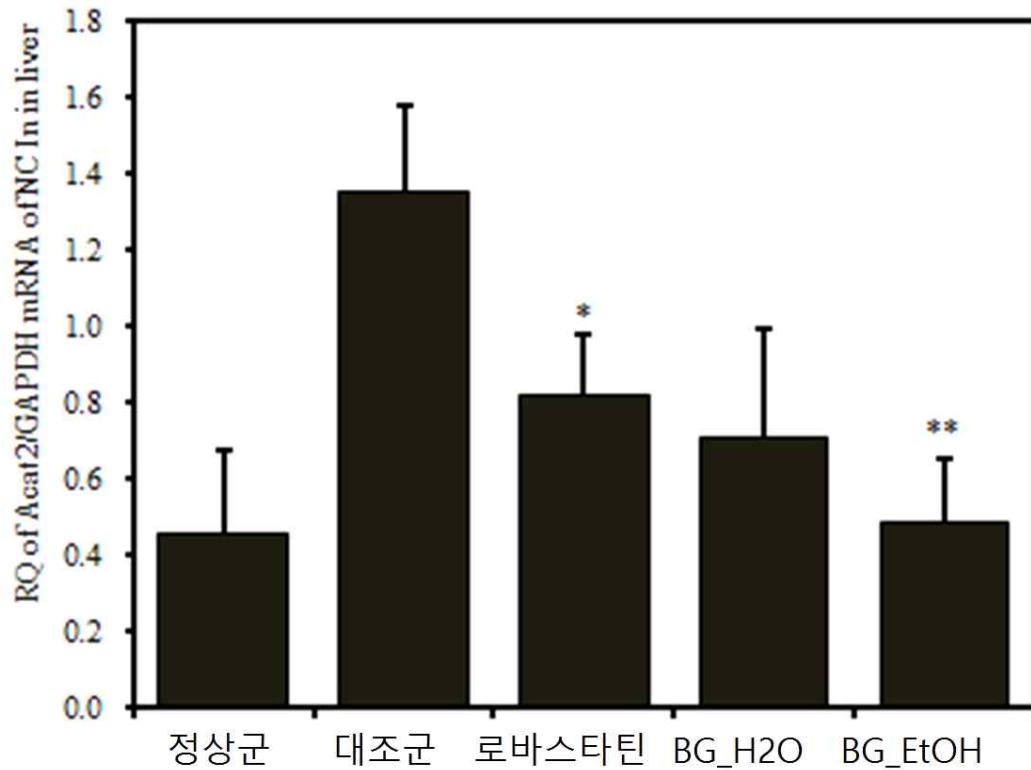
• 흑삼의 제조 시 동체의 균열을 억제하기 위하여 수삼의 동체를 내열성 재질로 감아서 밴딩한 상태에서 1차 증삼하는 것을 특징으로 하는 고콜레스테롤혈증 예방 및 치료용 약학 조성물

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



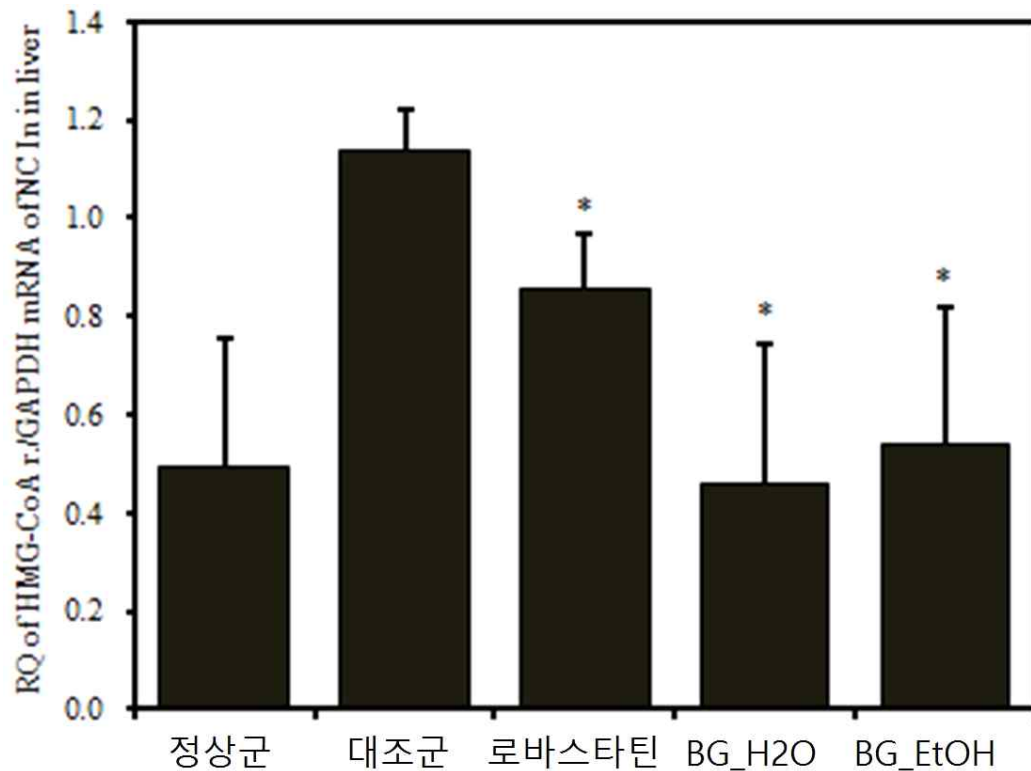
• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군별 장기무게의 차이를 보여주는 그래프

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군에서 간조직에서 발현되는 ACAT2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

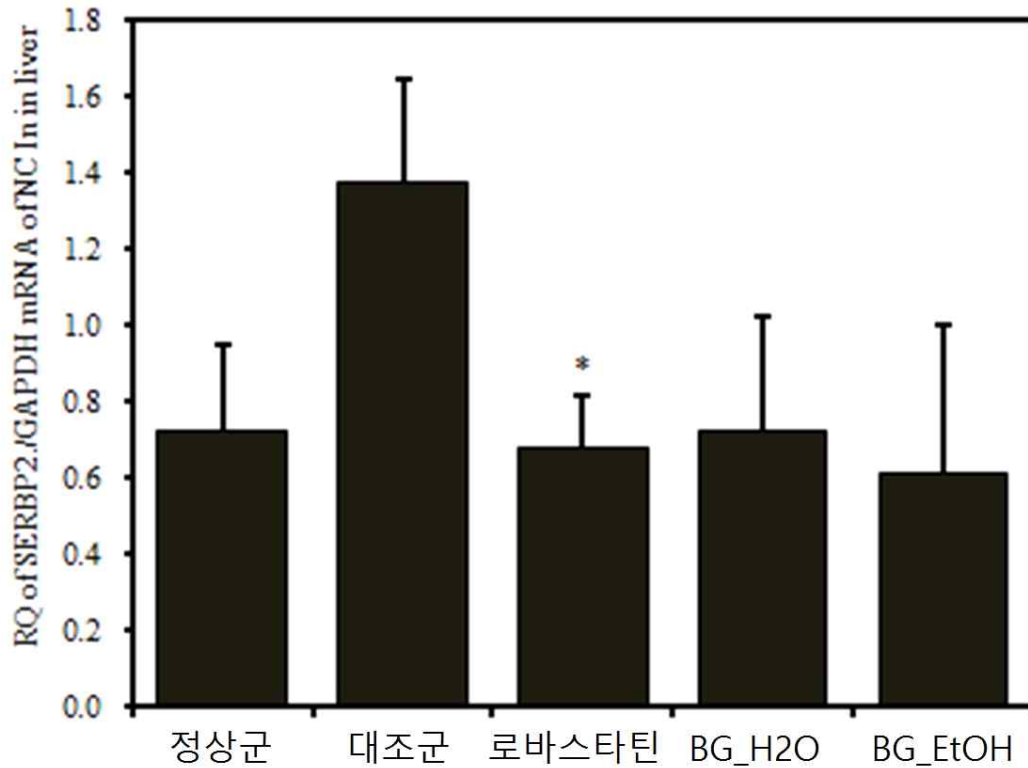
◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군의 HMG-CoAR mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

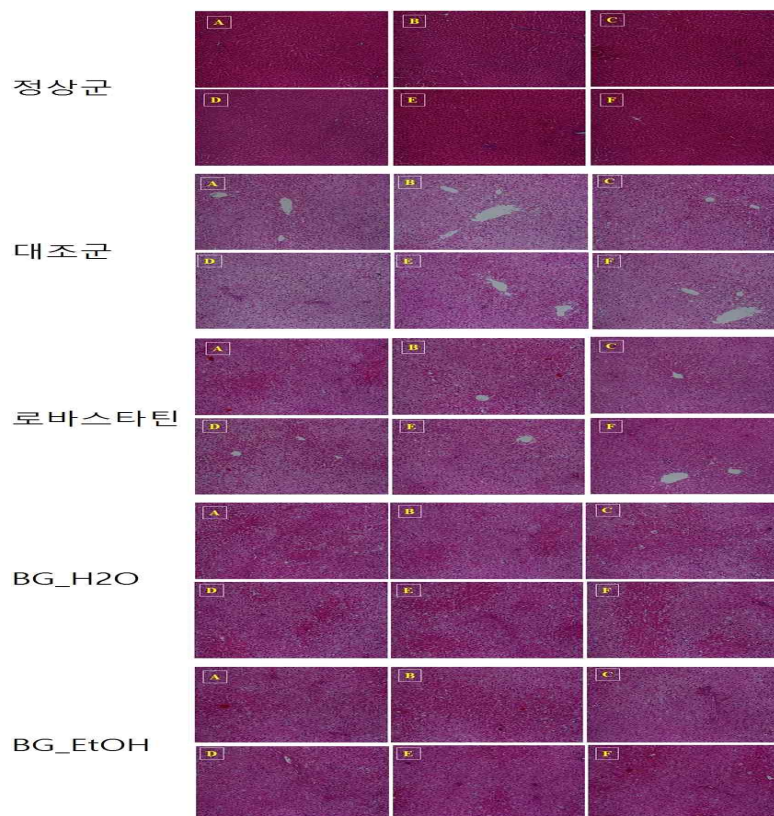
◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과





• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 실험군의 간조직에서의 SREBP2 mRNA 유전자 발현을 나타내는 그래프

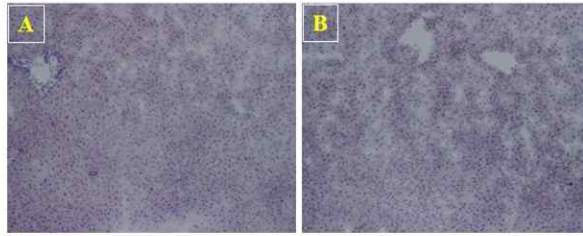
◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



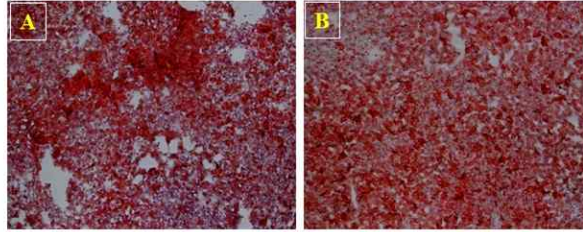
• 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 H&E 염색한 이미지

◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과

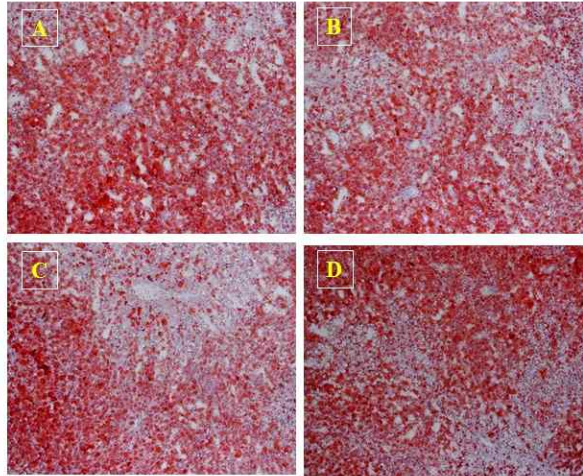
정상군



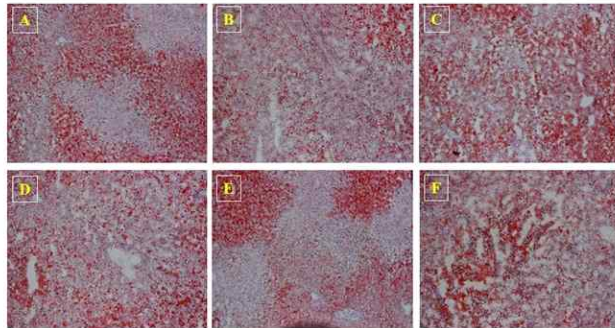
대조군



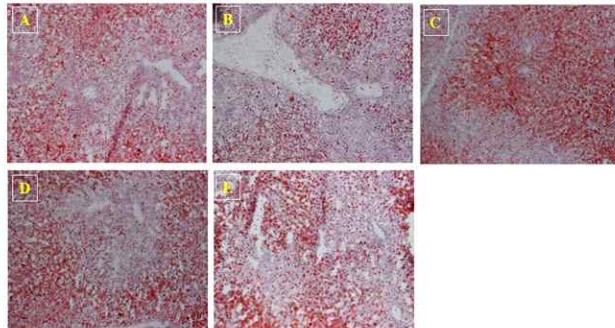
로바스타틴



BG\_H2O



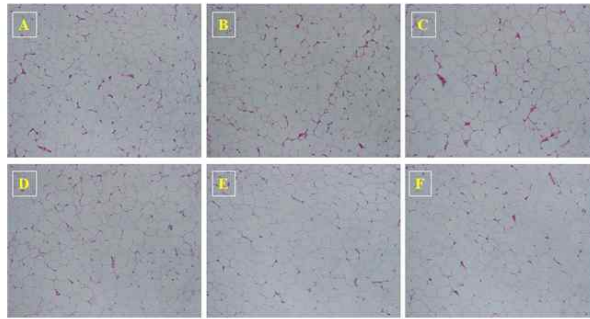
BG\_EtOH



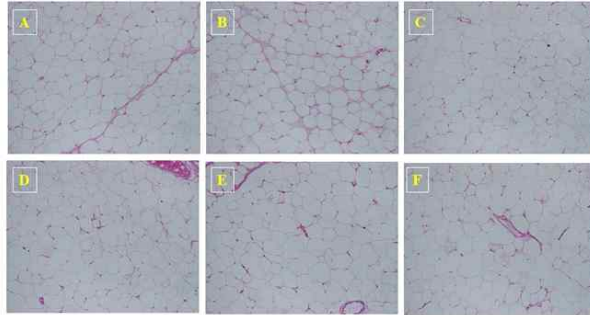
- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 오일-레드 염색한 이미지
- ◆ 저온제조 흑삼을 이용한 고콜레스테롤 효능 효과



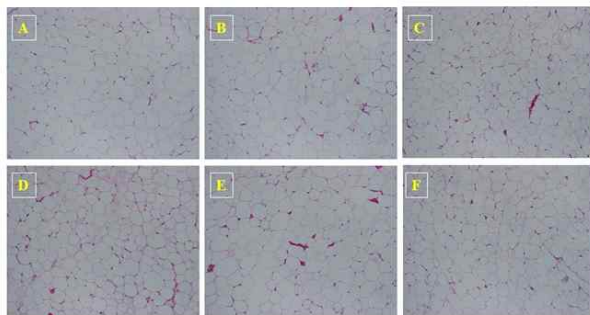
정상군



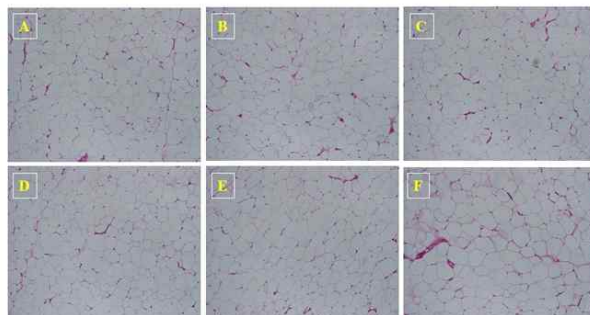
대조군



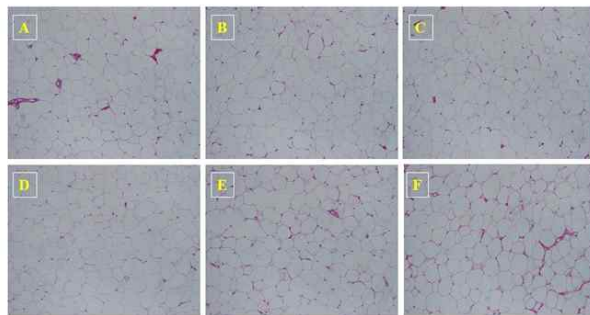
로바스타틴



BG\_H2O



BG\_EtOH



- 고콜레스테롤 혈증 병태모델에서 각 실험군의 간조직을 복부지방 조직을 오일레드 염색한 이미지

5. 저온제조 흑삼 공법을 이용한 콜레스테롤 저하 헬스케어 제품 개발

저온제조 흑삼을 이용한 콜레스테롤 저하 헬스케어 제품으로 파우치, 절편, 액기스, 드링크 제품을 개발하여 상품화하였다.

기술 성과 제품 사진	
제품생산 제품정보	<p style="text-align: center;">신규 제품 도면(시안) 첨부</p>  <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 공급가격 : 미정</li> <li>○ 규격(size) : 50 mL</li> <li>○ 소재 : 저온제조 흑삼추출물</li> <li>○ 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과</li> </ul>
제품생산 제품정보	<p style="text-align: center;">신규 제품 도면(시안) 첨부</p>  <p>(주)대덕바이오는 기존 흑삼의 제조공법 방법을 개선한 신기술을 연구개발하여 저온 신구증구포로 제조된 흑삼을 원료로 연구를 거듭한 결과, 국내에서는 최초로 흑삼수인 '흑삼에 빠지다' 제품을 개발하였습니다. (출시예정)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 공급가격 : 미정</li> <li>○ 규격(size) : 50 mL</li> <li>○ 소재 : 저온제조 흑삼추출물</li> <li>○ 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과</li> </ul>

<p>제품생산 제품정보</p>	<p style="text-align: center;">신규 제품 도면(시안) 첨부</p>  <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 공급가격 : 미정</li> <li>○ 규격(size) : 50 g</li> <li>○ 소재 : 저온제조 흑삼추출물</li> <li>○ 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과</li> </ul>
<p>제품생산 제품정보</p>	<p style="text-align: center;">신규 제품 도면(시안) 첨부</p>  <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 공급가격 : 미정</li> <li>○ 규격(size) : 50 g</li> <li>○ 소재 : 저온제조 흑삼추출물</li> <li>○ 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과</li> </ul>
<p>제품생산 제품정보</p>	<p style="text-align: center;">신규 제품 도면(시안) 첨부</p>  <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 공급가격 : 미정</li> <li>○ 규격(size) : 50 mL</li> <li>○ 소재 : 저온제조 흑삼추출물</li> <li>○ 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과</li> </ul> 



기술 성과 제품 사진

신규 제품 도면(시안) 첨부

제품생산  
제품정보



- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 mL
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

신규 제품 도면(시안) 첨부

제품생산  
제품정보

**저온 신구증구포 공법으로 제조한 흑삼**  
**고콜레스테롤, 동맥경화, 심장질환 예방**



(주)대덕바이오는 기존 흑삼의 제조공법 방법을 개선한 신기술을 연구개발하여 저온 신구증구포로 제조된 흑삼을 원료로 연구를 거듭한 결과, 국내에서는 최초로 흑삼수인 '흑삼에 빠지다' 제품을 개발하였습니다. (출시예정)

- 공급가격 : 미정
- 규격(size) : 50 mL
- 소재 : 저온제조 흑삼추출물
- 특징 : 콜레스테롤 저하, 면역증강, 항암, 인지 등 효과

\* 본 연구 결과물에 대해 논문게재 및 특허출원 등도 실시하여 지식재산권 확보 달성 :

논문 및 특허	
논문 (JGR 게재)	Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in rats
논문 (JGR 투고)	Anti-obesity effects of black ginseng extract in high fat diet-fed mice
특허	콜레스테롤 개선 활성이 우수한 흑삼 추출물을 함유하는 조성물 (출원번호 10-2015-0052188)
특허	과일주스를 이용한 홍삼 또는 흑삼의 제조방법 (등록번호 제 10-1552093 호)

✓ 논문(JGR투고) : Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in rats

✓ 특허출원 : 콜레스테롤 개선 활성이 우수한 흑삼 추출물을 함유하는 조성물  
(출원번호 10-2015-0052188)

\* 본 연구 결과물에 대해 전시회 및 다수의 포스터 발표로 홍보유치 기술확산 및 보급화도 실시함.

- ✓ The effect of black ginseng extract on the hypercholesterolemia in mice and in rats(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ The protective effect of black ginseng extracts on neuro-inflammation in BV2 microglia (2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ Neuroprotective effects of black ginseng against Aluminum(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ The properties of Maillard type-browning reaction and caramelization with the formations of amino sugars and maltol on the red ginseng preparative processing(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ The maillard type-browning reaction and the non-enzymatic conversion of ginsenosides on the preparative processes of red and black ginseng at the different temperature(2014 The 11<sup>th</sup> International Symposium on Ginseng)
- ✓ Studies on characteristic compounds and lipid metabolic activity in black ginseng(2015 Spring Ginseng Conference)
- ✓ Black ginseng extracts ameliorates hypercholesterolemia in SD rats(2015 Spring Ginseng Conference) 등 다수의 포스터 발표로 기술확산·홍보화 유치·기술 보급화 성과를 거둠



\* 본 연구기술 개발 결과물에 대한 전시회 및 박람회 참가 사진

번호	전시회 or 박람회 명	일시	참가 내용
1	중국 청두 구정쇼핑 페스티벌	02.06.~02.16	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 한국 전시관 제품 전시</li> <li>▪ 중국 전역 200여개 식품 shop에 제품홍보 및 판매계획</li> </ul>
2	터키 이스탄불 박람회	03.09.~03.17	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 전시회 참가 후 다양한 교류를 통해 협상 진행 중</li> <li>▪ 터키 식품업체와 협상 중</li> <li>▪ Trial order 진행 후 수출관련 협약 체결</li> </ul>
3	중국 심천 가정용품/선물용품 전시회	04.24~04.29	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 한국 전시관 제품 전시</li> </ul>
4	중국 쿤밍 전시회	06.11~06.17	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 한국 전시관 제품 전시</li> <li>▪ Trial order 진행 후 수출관련 협약 체결</li> </ul>
5	우즈베키스탄, 카자흐스탄 시장 개척단	09.14~09.19	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 다양한 바이어와의 비즈니스 매칭 상담회 진행</li> </ul>

전시회 및 박람회 참가 이미지



## 6. 흑삼을 이용한 콜레스테롤 저하 헬스케어 제품을 위한 상표출원

본 연구 결과를 바탕으로 흑삼을 이용한 콜레스테롤 저하 개선효과를 부각시킨 제품 생산을 위한 상표를 출원하였다(위아체 흑삼 Weache Black Ginseng).



절실한 니즈는?

- ◆ 여성 : 소화장애, 혈액순환장애, 관절염, 원기부족, 갱년기
- ◆ 남성 : 피로/원기부족
- ◆ 자녀 : 아토피

건강기능성음료

- 1개월 이상 섭취 시 효과 체감 발현
- 배변기능에 탁월한 효과

기능성음료

- 음용 시 원활한 배변
- 음용 시 흡수가 빠른 느낌
- 음용 시 숙취 해소 느낌

차음료

- 소비자의 이중적 심리요구 충족  
→ 다이어트, 영양부실걱정
- 소비자의 심리적/이성적 욕구 충족  
→ 맛있을 뿐 아니라 2차적 혜택 부여

- ✓ 입 소문
- ✓ 제품속성 이면의 추가적인 혜택
- ✓ 대체품목이 희박

✓건강, 웰빙, 로하스에 대한 지속적인 증가와 정보 채널의 다양화로 소비자들의 수준이 높아지고 있으며, 국내 건강기능성식품 시장은 방문판매 및 다단계 채널은 정체 또는 감소하고 있는 반면 할인점, 백화점 내 건강기능식품 취급율이 증가 하고 있는 것으로 나타남.

✓ 최근 비타민 등 건강관련 식품 콘텐츠가 인기를 얻어 시장의 기대감이 커지고 있기에, 한약재를 소재로 한 기능성식품 개발은 큰 의의가 있다고 사료된다.

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

- 본 연구에서 개발한 흑삼제조 공정은 제조시간을 단축시키고, 흑삼의 제조수율 제고 및 품질 개선에 활용함으로써 전반적인 흑삼제품의 품질개선 향상이 가능하였다. 안전한 흑삼제조 공정개발 방법으로 다량의 흑삼을 제조할 수 있는 방법으로, 인삼시장이 홍삼류 제품에 제한을 받고 있어 산업 확장에는 다소 어려움이 있지만, 소규모 인삼 농가의 수익성 확보를 위해 지자체나 관련 기관을 통한 기술소재를 통해 인삼시장에서 경쟁력 있는 새로운 블루오션을 창출할 수 있는 사업으로 사료된다.
- 흑삼의 지표 유효 사포닌인 ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub>, Rg<sub>3</sub> 등의 분석을 위한 표준화된 검사 방법을 확립함으로써 제조 흑삼의 품질을 향상시킬 수 있고, 소비자들에게 신뢰를 줄 수 있는 제품을 생산할 수 있다.
- 본 연구에서 규명한 흑삼의 신규 기능성인 콜레스테롤저하 예방 효과에 대한 과학적 자료를 바탕으로, 흑삼을 단순한 건강보양식으로 제한하지 않고, 연령층과 특정효능을 타겟으로 삼는 건강기능식품 개발의 주류를 따라 특정 진세노사이드 성분을 강화한 제품과 특정 효능-콜레스테롤 저하 효과를 위한 헬스케어 제품 개발을 시도하였다.
- 오랜 전통 문화를 지닌 우리나라가 전통약물을 이용함으로써 한약제제를 이용한 고콜레스테롤혈증치료제 개발이 가능하였다.
- 콜레스테롤개선 효능 물질의 활용기술 개발을 통해 국제적 경쟁력을 확보로 국제 경쟁력을 통해 선진국들과 대등하게 경쟁할 수 있다.
- 본 연구결과를 바탕으로 하여, 아직까지 규명되지 않은 흑삼의 기능성을 다양한 연구를 통하여 규명함으로써, 새로운 시장진입을 위한 과학적 근거 자료로 활용 가능 할 것으로 사료된다.

### 1. 기술적 성과

- 인삼 산업법의 시행에 따라 허용된 흑삼의 제조가공 유통뿐만 아니라, 효능에 대한 과학적 규명을 통하여 인삼시장에서 흑삼산업의 경쟁력을 확보할 수 있었다.
- 인삼시장의 경쟁 대상국인 중국, 캐나다에 없는 흑삼가공 기술을 통하여, 대한민국의 국제적인 브랜드 창출과 제조기술의 선점을 통하여 국부 창출의 기회를 모색할 수 있었다.
- 기능성 유효성분의 소재 개발을 통한 헬스제품 개발로 고부가가치를 극대화 시킬 수 있었다.
- 흑삼을 이용한 콜레스테롤 조절 작용에 대한 체계적인 연구가 가능할 수 있도록 연구기반의 토대를 제공하였다.
- 흑삼제조공정 개선 및 흑삼의 표준지표물질 분석법 확립, 흑삼의 신맛, 텁텁한 맛 등 개선을 위한 제품제조 품질기술 확립화 등의 기술적 성과를 달성 하였다.
- 연구성과와 관련된 특허, 실용신안, 논문 발표 등 실적을 달성하여 기술확산 및 보급화를 실현 하였다.

## 2. 경제적 성과

- 농산물인 흑삼의 지역 특성화 사업을 통한 농가의 소득증대에 기여함 : 흑삼의 원료인 인삼 재배의 본고장인 금산이므로, 흑삼을 이용한 본 기술개발 사업의 성공과 지속적인 연구 개발로 인한 그 이용성이 확대될 경우 충청지역의 고부가가치를 갖는 특화 작물로의 성장이 가능 할 것으로 판단된다.
- 충청남도 유망 중소기업 및 INNOBIZ기술 혁신형 중소기업으로, 충청남도에 제1, 2공장 연구소를 보유하고 있기에, 지역개발 육성 사업에 기여하는바가 매우 클 것으로 예상된다.
- 신규 가능성을 입증한 고부가가치를 지닌 헬스케어 흑삼제품 개발로 관련 산업을 활성화 시킬 수 있을 것으로 사료된다.
- 흑삼을 이용하여 콜레스테롤저하 헬스케어 드링크제 제품을 보급함 으로서 세계 및 한국인의 사망원인의 1위인 심혈관계 질환의 사망자수를 저하시키는 직접적인 효과를 창출 하였다. <콜레스테롤 수치를 10% 낮추면 심혈관계 질환의 발병률이 30%이상 감소시킬 수 있음>.
- 심혈관계 발병률을 저하시킴으로서 의료비용 및 생산성 감소로 인한 경제적 손실을 줄여 주는 효과를 주었다.

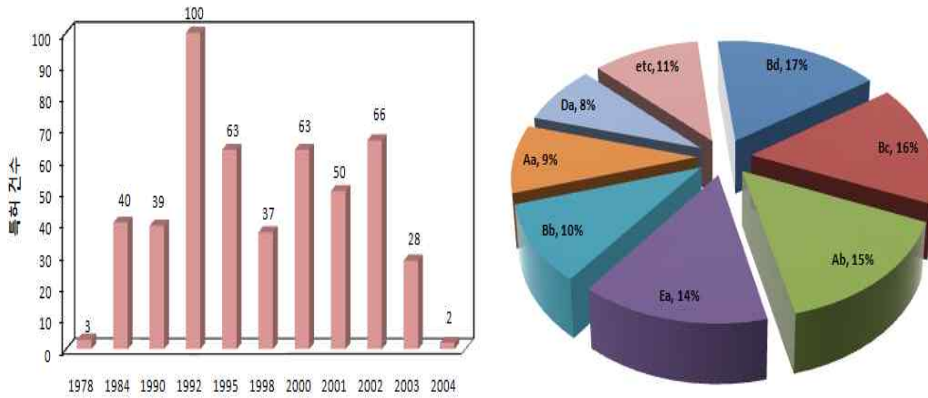


- 개발기업의 이익창출 및 수출증대에 기여함 : 안정성이 확보된 흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 제품으로 산업화 시 국내에서의 이익창출은 물론이고 해외로까지 수출이 가능하다고 판단된다.
- 콜레스테롤 저하관련 헬스케어 제품 및 원료의 수입대체효과 가져옴 : 우리나라의 대부분의 건강기능성식품의 수출은 미비한 반면에 대부분의 원료 및 제품으로 수입하는 실정으로, 국내의 콜레스테롤관련 제품과 소재의 대부분은 수입하는 것으로 본 기술개발의 성공으로 인한 산업화시 원료와 제품의 수입대체 효과를 기대함과 동시에 제품 및 원료 수출에 기여할 것으로 기대된다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

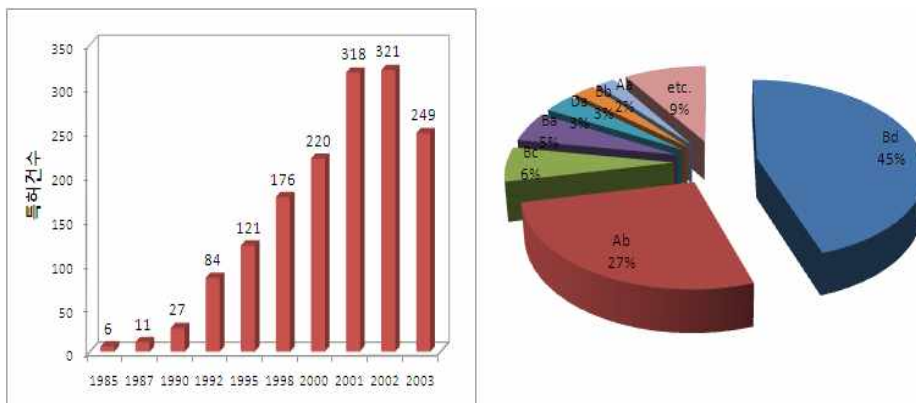
### ■ 세계 인삼관련 특허 현황

○일본의 특허 동향: Bd 분야의 ADIS 치료제, 항알러지, 위장질환 분야 36건, 조혈 및 혈관 질환개선 분야 32건, 위암 예방 및 치료제 분야 24건으로 인삼의 의약분야에 응용이 증가되고 있음



[일본의 특허 출원 및 기술요인 점유율 분석 - 자료 : 일본 통계청]

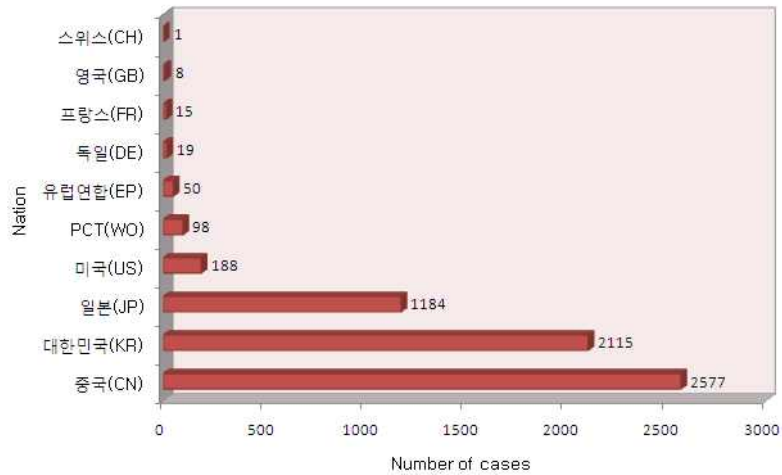
○중국의 특허 동향: 중국 특허에서는 Bd분야 45%(1155건)와 Ab분야가 27%(691건)로써 약 70%의 점유율을 나타내고 있으며, 이 분야에 대한 연구개발이 많이 이루어지고 있음



[중국의 특허 출원 및 기술요인 점유율 분석 - 자료 : 중국 통계청]

○총괄 특허 동향 분석 : 특허를 출원한 국가는 총 10개국 (WO, EP 포함)이다. 출원은 중국이 가장 많고 그 다음 한국, 일본 미국 순으로 나타났다. 각국 점유율을 보면 상위 3개국인 중국, 한국, 일본이 전체 특허의 94%를 차지함





[총괄 특허 동향 분석 - 자료 : 통계청]

## ■ 세계 인삼제품 생산 현황

- 프랑스는 해외에서 수입한 인삼 원료 외에도 지난 '91년부터 피카르디(프랑스 북부)지방에서 재배하는 인삼(연간 5톤 정도)을 사용해 크림, 삼푸, 젤리형 등 영양제를 제조하고 있다. 나머지는 제약회사에서 강장제 등 갱년기 현상 방지 보약을 캡슐이나 분말 형태로 제조, 판매하고 있는 것으로 알려졌다
- 프랑스 225개의 의약품 제조업체들 가운데 Arkopharma (22.3%), Phycience (8.6%), Oenobiol (7.7%) 등 3개 사가 인삼을 원료로 한의약품(주로 영양제 및 강장제) 시장의 약 40%를 차지하고 있고 Plantes et Medecines (4.4%), Les Laboratoires Richelet (4.1%) 및 Boiron (3.9%) 등 3개 사가 인삼시장의 12.4%를 차지하고 있어 상기한 6개 사의 동 시장 점유율은 52%인 셈이다.
- 독일, 스위스에서는 인삼을 비타민, 미네랄, 다른 생약제들과 복합 제조하여 새로운 제품을 만들어 상품화하였다.
- 스위스의 파마톤 회사는 인삼 추출물 G115을 만들었는데 G115는 일정량의 ginsenoside 15종을 모아 40mg를 표준화하여 만든 것으로 매년 20~30억 달러의 매출을 기록하고 있으며, 인삼 전체 시장의 15%를 차지하고 있다.
- 유럽의 PhytoLab사는 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1같은 ginsenoside을 표준물질로 판매하고 있다.
- LGC-Promehem사는 Rb1, Rb2, Rc, Rh2, Re, Rf, Rg1, Rg2, Rg3, notoginsenoside-R1, Pseudoginsenoside-F11을 판매하고 있다.
- 미국의 Chromadex사는 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1를 표준물질로 생산하여 판매하고 있다.

○중국의 Hong-Ju Ginseng Co. Ltd. 에서는 순도 95%이사의 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rc, Rd, Re, Rf, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>, Rh, F<sub>11</sub>의 표준물질을 판매하고 있다.

## ■ 세계 인삼산업의 현황

○인삼을 상업적으로 재배 생산하는 나라는 한국을 비롯한 중국, 일본, 미국, 캐나다, 유럽 일부지역이다.

○수삼의 생산량은 중국, 한국, 그리고 북미 순으로 많이 생산한다.

○전체 생산량은 약 4만톤 정도이며 1980년대 말까지 전 세계 인삼 생산량의 46%를 유지하던 우리나라는 1990년대 30% 내외로 감소하였고, 중국은 1990년대 세계 인삼 생산량의 50%로 증가하였다.

○미국과 캐나다의 화기삼은 세계 인삼의 10%내외를 차지한다.

## ■ 세계 인삼산업의 여건 변화

○자연치료와 대체요법에 대한 관심이 늘어나면서 인삼은 다른 한약재나 허브와 함께 기능성 식품으로 취급되고 있는데, 미국, 일본, 유럽 등 선진국에서 건강 기능성 식품 시장은 대체로 연평균 10%를 상회하는 높은 성장을 거듭하고 있다. 특히, 중국계 소비자들의 경우 오랜 세월동안 인삼복용의 효과를 체험하였을 뿐만 아니라, 인삼은 노인들의 면역기능 강화에서 중년의 체력 보강과 피로 회복, 청소년들의 지능과 학업성적을 향상하는데 도움이 되는 등 적용범위가 넓다고 믿고 있어서, 특히 인삼을 원료로 한 건강기능식품의 소비를 선호하고 있는 것으로 알려졌다. 기능성 식품에 대한 소비의 일환으로 세계 인삼 소비는 건강기능성 식품 소비와 비슷한 성장을 할 것으로 추정되며, 이를 놓고 미국, 캐나다, 중국 등 경쟁국들의 약진이 두드러질 것으로 전망된다.

○세계 인삼 시장의 새로운 추세는 무엇보다 먼저 화기삼의 시장 확장과 산양삼의 등장을 들 수 있다. 즉, 미국과 캐나다는 서양삼과 동양삼을 차별화하고, 노인이나 여성, 어린이들에게 위험한 동양삼보다 안전한 서양삼을 소비하라고 홍보하여 화상 네트워크를 통해 동양삼 시장을 침투하고 있다.

○국제 인삼거래의 중심지인 홍콩에서 2004년 나라별 인삼 수입자료를 보면 소위 서양삼이라 할 수 있는 캐나다와 미국으로부터 수입이 88,683 천달러로 78.3% (물량 기준 92.8%)를 차지하는데 비해 우리나라로부터 수입은 11,809 천달러로 10.4% (물량기준 2.2%)에 불과하다. 특히 야생삼은 전체수입량의 99.4%인 27,432 kg을 미국으로부터 수입하고 있는데, 이는 같은 해 미국이 홍콩에 수출한 재배삼 9,132 천달러보다 배가 넘는 21,204 천달러가 된다.

○세계 인삼 시장의 또 다른 변화추세는 기존의 동양인에서 유럽이나 남미, 아프리카 등으로 확대되면서 인삼뿌리로 거래되는 원형삼 유통체제에서 탈피하여 과학적 효능을 전제로 한

가공식품시장이 확대되고 있다. 최근 인삼의 효능에 대한 과학적인 접근이 활발하게 이루어지고 이를 바탕으로 새로운 제품을 개발하거나 마케팅활동이 이루어지고 있다.

○특히 중국의 경우 약전의 인삼에 대한 시험내용에 인삼의 주성분인 ginsenoside 중 Rg1과 Re는 각기 총량의 0.3% 이상, Rb1은 0.2%이상으로 규정하고 있어 효능에 기초한 관리를 시도하고 있다는 점도 인삼산업의 향후 발전방향을 시사한다고 할 수 있다.

## 제 7 장 참고문헌

1. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 1958; 181:1199-1202.
2. JLavnikova, N., S. Prokhorova, L. Helyar, and D.L. Laskin. 1993. Isolation and partial characterization of subpopulations of alveolar macrophages, granulocytes, and highly enriched interstitial macrophages from rat lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 8:384-392.
3. Hamelmann, E., A. Oshiba, J. Loader, G.L. Larsen, G. Gleich, J. Lee, and E.W. Gelfand. 1997. Antiinterleukin-5 antibody prevents airway hyperresponsiveness in a murine model of airway sensitization. *Am J Respir Crit Care Med* 155:819-825.
4. Myou, S., M. Fujimura, M. Yasui, T. Ueno, and T. Matsuda. 1993. Bronchoalveolar lavage cell analysis in measles viral pneumonia. *Eur Respir J* 6:1437-1442.
5. Stock, P., O. Akbari, G. Berry, G.J. Freeman, R.H. Dekruyff, and D.T. Umetsu. 2004. Induction of T helper type 1-like regulatory cells that express Foxp3 and protect against airway hyper-reactivity. *Nat Immunol* 5:1149-1156
6. Tanaka, H., T. Masuda, S. Tokuoka, Y. Takahashi, M. Komai, K. Nagao, and H. Nagai. 2002. Time course study on the development of allergen-induced airway remodeling in mice: the effect of allergen avoidance on established airway remodeling. *Inflamm Res* 51:307-316.
7. Van Rijt LS, Vos N, Hijdra D, de Vries VC, Hoogsteden HC, Lambrecht BN. Airway eosinophils accumulate in the mediastinal lymph nodes but lack antigen-presenting potential for naive T cells. *J Immunol*. 2003;171(7):3372-8.
8. Liard R., B Leynaert, M Zureik, FX Beguin, and F Neukirch. Using Global Initiative for Asthma guidelines to assess asthma severity in populations. *Eur Respir J*. 2000; 16: 615-620.
9. Mosmann, T R., H. Cherwinski, M. W. Bond, M. A. Giedlin, and R. L. Coffman. 1986. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.* 136:2348.
10. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med*. 1989;170(6):2081-2095.
11. Okudaira H, Hongo O, Ogita T, et al : Serum IgG and IgE antibody levels in patients with bronchial asthma, atopic dermatitis, eosinophilic granulomas of the soft tissue (Kimura's disease) and other diseases, *Ann Allergy*, 50:51-4, 1983.
12. Iijima OT, Takeda H, Komatsu Y, Matsumiya T, Takahashi H. : Atopic dermatitis in NCJic mouse associated with *Myobia musculi* infestation, *Comp. Med*, 50:225-228, 2000.
13. Yamaguchi T, Ono K, Shigeta S et al. : Differences in response of patient's blood cells with bronchial asthma to diverse house dust Mite Ext. allergens by histamine release assay, *Jpn. J.*

Allergol, 42:1754-63, 1993.

14. Leung DYM, Bieber T. : Atopic dermatitis, *Lancet*, 361:151-160, 2003.
15. Kang K, Stevens SR. : Pathophysiology of atopic dermatitis, *Clin. Dermatol*, 2003: 21;116-121, Ellis C, Luger T, Abeck D et al. : International Consensus Conference on Atopic Dermatitis II (ICCAD II): clinical update and current treatment strategies, *Br. J. Dermatol*, 63:3-10, 2003.
16. Hamid Q, Boguniewicz M, Leung DYM : Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis, *J. Clin. Invest*, 94:870-876, 1994.
17. Ohmen JD, Hanifin JM, Nickoloff BJ et al. : Overexpression of IL-10 in atopic dermatitis. Contrasting cytokine patterns with delayed-type hypersensitivity reactions, *J. Immunol*, 154:1956-63, 1995.
18. Siwiec J, Zaborowski T, Jankowska O, Wojas-Krawczyk K, Krawczyk P, Milanowski J. Evaluation of Th1/Th2 lymphocyte balance and lipopolysaccharide receptor expression in asthma patients. *Pneumonol Alergol Pol*. 2009;77(2):123-30.
19. Nawrocki AR, Scherer PE. The delicate balance between fat and muscle: adipokines in metabolic disease and musculoskeletal inflammation. *Curr Opin Pharmacol*. 2004. 4(3):281-9.



<첨부. 특허, 논문 및 시장분석 보고서>

특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서

신청과제명	흑삼의 콜레스테롤 저하 헬스케어 드링크제 상품화		
주관연구책임자	김 현 경	주관기관	(주) 대덕바이오

1. 본 연구관련 국내외 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라	연구신청팀		
흑삼제조기술	대한민국	80%	95%	100%	

2. 특허분석

가. 특허분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr)
검색기간	2009. 4. ~2015. 12.
검색범위	흑삼, 콜레스테롤 저하, 헬스케어 드링크

(1) 국내 특허 검색 결과

① 흑삼제조에 관한 특허 내용

등록번호 (등록일)	발명의 명칭	출원인
101348974 (2014.01.02)	고온고압처리 후 감압 건조를 통한 신규 홍삼의 제조방법	한국식품연구원
101230438 (2013.01.31)	구증구포홍삼의 제조방법	(재)금산국제인삼약초연구소
101106487 (2012.01.10)	진세노사이드 R g3 및 R h2가 강화된 홍삼농축액 제조방법	대동고려삼 주식회사
101117072 (2012.02.09)	방사선 조사를 이용하여 진세노사이드 함량이 증가된 가공삼의 제조방법	한국원자력연구원
101152827 (2012.05.29)	자외선 조사 단계를 포함하는 흑삼 제조방법	안준민
101181515 (2012.09.04)	흑삼 제조방법	주식회사 진생바이팜
101194265 (2012.10.18)	해양심층수를 이용하여 인삼 또는 홍삼 농축액의 고미 제거방법	주식회사 케이티앤지
101064719 (2011.09.06)	코팅 단계를 포함하는 흑삼 제조방법	안준민

② 흑삼을 이용한 기능성 조성물 제조에 관한 특허

등록번호	발명의 명칭	출원인
1007815710000	신규한 흑삼의 추출물을 함유하는 약학조성물	충남대학교산학협력단
1007542530000	신규한 흑삼의 제조방법 및 이를 함유하는 조성물	충남대학교산학협력단
1010354630000	흑삼 가공뿌리추출물을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류 인플루엔자바이러스의 예방 및 치료용 조성물	충남대학교산학협력단
1010707700000	벤조피렌함량이 저감된 인삼가공제품 제조방법 및 이 방법에 의하여 제조된 인삼가공제품	중부대학교산학협력단
1011209960000	진세노사이드 Rg3 및 Rg2를 포함하는 운동능력증진 및 피로회복 증진용 조성물	대동고려삼 주식회사
1011236420000	인삼 특유의 향과 쓴맛을 감소시킨 인삼농축액의 제조방법	고려인삼연구 주식회사
1010277070000	구증구포홍삼 농축액과 이를 이용한 당대사조절강화 기능성 식품의 제조방법	금산고려홍삼 주식회사
1007673930000	퀘양성 대장염 및 크론병을 포함하는 대장염에 효능을 갖는 인삼 또는 인삼의 유산균 발효물 조성물	구안산업 주식회사

③ 흑삼을 이용한 기능성 음료 조성물개발에 관한 특허

등록번호	발명의 명칭	출원인
01357112 (2014.01.23)	지질대사 개선용 흑삼음료 및 그 제조방법	영주시(농업기술센터)
101302513 (2013.08.27)	우려먹는 홍삼 또는 흑삼 건조절편 및 이의 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 홍삼 또는 흑삼 추출차(액)	이현실
101123642 (2012.02.28)	인삼 특유의 향과 쓴맛을 감소시킨 인삼 농축액의 제조방법	고려인삼연구 주식회사
101240106 (2013.02.27)	발효홍삼을 포함하는 음료 조성물 및 이의 제조방법	웅진식품주식회사
101260047 (2013.04.25)	마이크로웨이브 조사에 의해 진세노사이드 알지3, 알지5 및 알케이1의 함량비율이 증가된 파낙스속 식물 추출물, 그 제조방법, 및 그 가공 파낙스속 식물 추출물을 포함하는 조성물	한국과학기술연구원
101314725 (2013.09.27)	홍삼의 쓴맛을 경감시킨 홍삼농축액	(주)에스제이바이오텍
101362351 (2014.02.06)	진세노사이드의 함량을 증가시키는 인삼의 가공방법 및 그 가공물	(주)지앤브이
10107077 (2011.09.29)	벤조피렌 함량이 저감된 인삼가공제품 제조방법 및 이 방법에 의하여 제조된 인삼가공제품	중부대학교 산학협력단 대동고려삼 (주)

나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성-국내 특허

개발기술명		흑삼 제조기술	흑삼 기능성 음료 조성물 개발
Keyword		흑삼, 증숙, 사포닌	흑삼, 조성물, 콜레스테롤
검색건수		117	50
유효특허건수		20	7
핵심특허 및 관련성	특허명	구증구포홍삼의 제조방법	지질대사 개선용 흑삼음료 및 그 제조방법
	보유국	대한민국	대한민국
	등록년도	2013. 01. 31.	2014.01.23
	관련성(%)	40%	60%
	유사점	반복증숙과 건조를 통한 흑삼제조기술	흑삼추출물을 주성분으로 한 기능성 음료 개발조성물
	차이점	저온증숙 및 외부공기 유입을 차단한 장치를 이용하여 건조하여 흑삼이 진액과 내공을 막는 기술은 탁월하나, 대량생산에 한계가 있을 것으로 보임	단순히 단맛성분을 첨가하여 흑삼의 쓴맛을 고려하지 못함
핵심특허 및 관련성	특허명	방사선 조사를 이용하여 진세노사이드 함량이 증가된 가공삼의 제조방법	우려먹는 홍삼 또는 흑삼 건조절편 및 이의 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 홍삼 또는 흑삼추출차(액)
	보유국	대한민국	대한민국
	등록년도	2012.02.09	2013.08.27
	관련성(%)	20%	30%
	유사점	고온증숙 및 건조를 반복하여 흑삼을 제조하는 일반적 방법이 포함됨	흑삼절편을 이용한 침출차 제조방법
	차이점	수삼에 1차적으로 방사선을 조사하여 흑삼의 유효사포닌 함량을 증가시키고자 함	인삼을 잘게 잘라 1회 증숙으로 흑삼을 제조하여 흑삼에 함유되는 유효사포닌의 전환이 부족함

(2) 관련 기술/제품의 국외 지식재산권(특허 등) 현황

■ 해외 특허 검색결과

발명의 명칭	등록(출원)번호 /등록(출원)일	비고
Method of making a black ginseng a condensed black-ginseng and a black ginseng preserved in honey	20090104323 (2009.04.23)	미국
A method for preparing novel black red ginseng and the extract therefrom and the composition comprising the extract isolated therefrom	PCT/KR2008/003057 (2008.05.30)	PCT
A method for preparing a black ginseng having high ginsenoside composition	PCT/KR2008/000805 (2008.02.12)	PCT
Medicinal plants extract using processing of herbal medicine and composition of skin external application comprising the same	12990699 (2008.11.06)	미국
A novel process for preparing black ginseng and the composition comprising the same	PCT/KR2007/002418 (2007.05.17)	PCT
Brain cell or nerve cell-protecting agents comprising medicinal ginseng	07235267 (2007.06.26)	미국
Compositions and methods for enhancing cognitive function	07923041 (2011.04.12)	미국
Powder or extracts of plant leaves with anti-obesity effects and anti-obesity food comprising them	07867525 (2011.01.11)	미국
Pharmaceutical composition for preventing and treating diabetes or glucose control abnormality comprising ginsenosides	11908947 (2006.03.17)	미국
Method for producing ginseng fruit and ginseng flower stalk with high content of ginsenoside	11975354 (2007.10.17)	미국
Method of preventing or treating body weight disorders by employing clusterin	12599135 (2007.05.07)	미국
Composition for suppressing obesity	12596018 (2007.05.01)	미국

### 3. 논문분석

#### 가. 논문분석 범위

대상국가	전세계
논문 DB	Science direct
검색기간	최근 5년간
검색범위	black ginseng, serum lipid, metabol

#### 나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	흑삼제조	흑삼의 콜레스테롤 저하	
Keyword	black ginseng, steaming, ginsenoside	black ginseng, cholesterol	
검색건수	25	10	
유효논문건수	6	3	
핵심논문 및 관련성	논문명	Changes in the Contents of Prosapogenin in the Red Ginseng ( <i>Panax ginseng</i> ) Depending on Steaming Batches	Anti-obesity effects of black ginseng extract in high fat diet-fed mice
	학술지명	Journal of Ginseng Research	Journal of Ginseng Research
	저자	Lee SA, Jo HK, Im BO, Kim S, Whang WK, Ko SK.	Lee MR, Kim BC, Kim R, Oh HI, Kim HK, Choi KJ, Sung CK.
	게재년도	2012	2013
	관련성(%)	30%	50%
	유사점	인삼증숙에 따른 유효사포닌의 전환으로 흑삼사포닌 증가를 목적으로 연구함	흑삼의 항비만효과와 관련하여 혈청 콜레스테롤 저하효과를 규명함
차이점	이미 제조된 홍삼을 8번 저온증숙하여 만들어진 흑삼의 사포닌 함량을 분석함	흑삼고농축액을 이용한 연구결과로 상품화된 제품의 기능성을 규명하기엔 투여농도가 너무 높음	
핵심논문 및 관련성	논문명	Optimization of the manufacturing process for black ginseng	Black ginseng inhibits ethanol-induced teratogenesis in cultured mouse embryos through its effects on antioxidant activity
	학술지명	Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry	Toxicol In Vitro
	저자	Young-Ju Ban, Byung-Wook Yang, Moo-Yeol Baik, Young-Tae Hahm, Byung-Yong Kim	Lee SR, Kim MR, Yon JM, Baek IJ, Park CG, Lee BJ, Yun YW, Nam SY.
	게재년도	2010	2009
	관련성(%)	30%	25%
	유사점	고온증숙 및 건조에 따른 흑삼제조시 사포닌 함량증가 및 페놀성분증가를 연구함	흑삼의 항산화활성연구
차이점	고온에서 건조시켜 상품성이 떨어짐	마우스배아를 이용한 기억억제기전을 항산화활성과 연관하여 연구함	

## 4. 제품 및 시장 분석

### 가. 생산 및 시장현황

#### 1) 국내 제품생산 및 시장 현황

##### (가) 국내 제품생산현황

##### ① 인삼제품의 생산동향

(단위:M/T)

구분 \ 년도	1999	2000	2001	2002	2003
홍삼본삼류	147	214	207	176	170
홍삼 제품류	7,267	11,857	13,521	14,037	25,898
<b>소계</b>	<b>7,414</b>	<b>12,071</b>	<b>13,728</b>	<b>14,213</b>	<b>26,0688</b>
백삼 본삼류	471	468	428	417	384
백삼 제품류	5,934	11,016	4,658	4,230	5,299
태극삼 본삼류	78	57	65	57	45
<b>소계</b>	<b>6,483</b>	<b>11,541</b>	<b>5,151</b>	<b>4,704</b>	<b>5,728</b>
<b>합계</b>	<b>13,4256</b>	<b>23,144</b>	<b>18,451</b>	<b>18,917</b>	<b>31,796</b>

자료 : 한국인삼공사, 한국인삼제품공업협회, 국립농산물관리원

- ⊛ 인삼제품은 백삼(태극삼포함) 또는 홍삼을 주원료로 하여 제조, 가공한 제품을 말하며, 이 경우 백삼 또는 홍삼을 소량 사용한 것도 포함
- ⊛ 본삼류 : 인삼의 원형이 그대로 유지되어 있는 제품  
가공제품 : 가공처리하여 원형이 유지되지 않는 인삼
- ⊛ 홍삼제품류 : 홍삼을 제조할 때 생기는 잡삼이나 미삼을 이용하여 엑기스를 추출하거나 제조한 것 - 홍삼정, 홍삼차, 홍삼분, 캡슐, 드링크, 절편삼, 홍삼액 등
- ⊛ 백삼 제품류 : 제조방법에 따라 가용성 성분을 추출, 농축하여 이를 원료로 하는 엑기스류, 분쇄 분말화하여 조제하는 분말제품, 원형을 그대로 유지하는 당삼 및 절편삼, 그리고 제품 성상에 따라 차류, 엑기스류, 분말류, 캡슐류, 당인삼류, 드링크류 등 10여종이 넘음

##### ② 신제품 개발동향

- ⊛ 수요층별로 기호 적성에 부합하면서도 차별화가 되는 제품을 요구함
- ⊛ 남녀성별로, 기능성 또는 효능·효과 발현에서도 기대효과와 요구특성이 다르고, 기호성과 선호성에서도 차이를 보임
- ⊛ 따라서 남녀성별과 연령층으로 수요층을 세분화하고 수요층별로 요구수준에 맞추어 개발 방향을 설정하고 다른 식품류와 같이 다품종 소량생산체제로 차별화를 기해야 함



### ③ 국내외 건강기능식품 시장

#### ③-1. 국내 시장동향 및 신소재현황 (식품의약품 안전청, 2004)

- ★ 국민총생산 (GDP, Gross Domestic Product ) 국민총생산 : 778 4,450 억원
- ★ 국민총생산 대비 식품 산업 비율 : 3.86 % (30 조원 / 30 조원)
- ★ 국내 제조업 대비 식품 산업 비율 : 15.09 % ; % (30조원 / 199조원) (억원 / 조원)



자료 : 바이오네트워크사업단, 바이오 식품산업의 수요도조사

#### ③-2. 해외 시장 동향

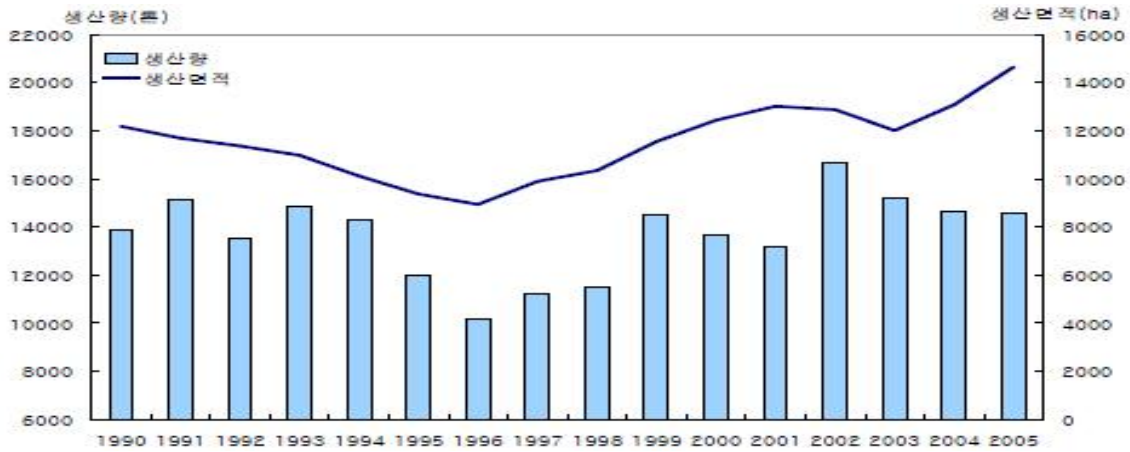
- ★ 세계적으로 많은 천연 허브들이 생약제, 추출물 및 식품의 형태로 사용되고 있다.
  - ★ 의료비 및 노화인구의 증가로 인한 건강기능식품(Health food) 및 건강보조식품(Dietary supplement)의 수요가 지속적으로 증가하는 추세
  - ★ 세계 생약재 농축액 (Herbal extract) 시장 중 가장 큰 비중을 차지하고 있는 미국과 유럽 시장의 2007년 약 9억달러 규모를 형성하고 있으며, 연 9%의 성장률을 보임.
  - ★ 이 중 인삼 농축액은 2007년 유럽과 미국의 전체 허브 농축액 시장의 21%를 차지함.
- ★ 세계 건강 기능 식품 시장 현황

	미국	EU	일본	캐나다	한국	아시아	기타	계
매출액	708	647	364	60	10	139	95	2,023
%	35.0	32.0	18.0	3.0	0.5	6.9	4.6	100

Nutrition Business Journal(2003)

(나) 국내 인삼 시장 현황

① 국내 인삼 생산 면적과 생산량

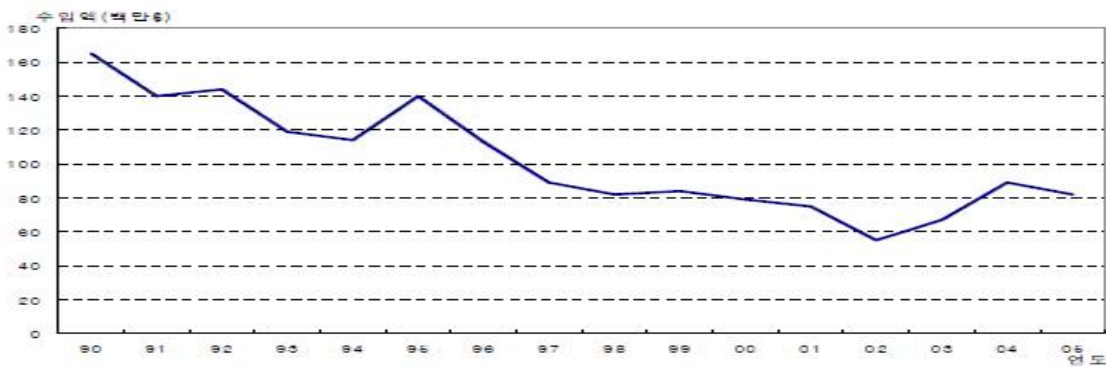


자료 농림부, 농림업주요통계 2006

- ⊛ 인삼의 재배면적은 1996년 이후 지속적으로 증가하고 있다.
- ⊛ 인삼의 생산량은 1996년부터 생산면적 증가와 함께 2002년까지 증가하다가 2003년부터 감소하고 있다.

② 국내 인삼의 수출 현황

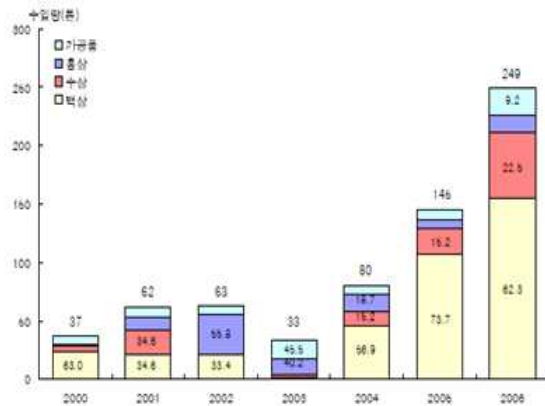
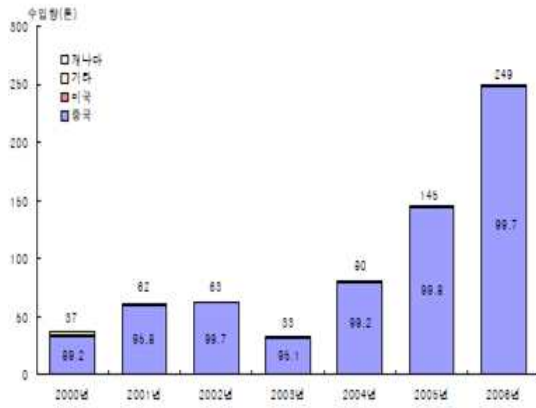
- ⊛ 1990년 인삼 수출액은 1억 6,357만 달러였으나 2005년에는 50.4% 감소한 8,250만달러 수준으로 감소하였다.



농협중앙회인삼부

③ 우리나라의 인삼 수입 동향

- ⊛ 수삼과 백삼은 222.8%, 홍삼 및 홍삼가공품은 754.3%의 고율관세가 부과됨
- ⊛ 인삼수입량은 2004년부터 급증세를 보여 2006년 249통으로 2003년보다 7배이상 증가
- ⊛ 인삼은 대부분 중국에서 수입되며 뿌리삼의 형태로 수입된다.
  - 수입량의 대부분은 백삼, 수삼이 차지함



자료: 농협중앙회 인삼사업부

## 2) 국외 제품생산 및 시장 현황

### (가) 국외 제품 생산 현황

- ★ 프랑스는 해외에서 수입한 인삼 원료 외에도 지난 '91년부터 피카르디(프랑스 북부)지방에서 재배하는 인삼(연간 5톤 정도)을 사용해 크림, 삼푸, 젤리형 등 영양제를 제조하고 있다. 나머지는 제약회사에서 강장제 등 갱년기 현상 방지 보약을 캡슐이나 분말 형태로 제조, 판매하고 있는 것으로 알려졌다
- ★ 프랑스 225개의 의약품 제조업체들 가운데 Arkopharma(22.3%), Phycience(8.6%), Oenobiol(7.7%) 등 3개 사가 인삼을 원료로 한의약품(주로 영양제 및 강장제) 시장의 약 40%를 차지하고 있고 Plantes et Medecines(4.4%), Les Laboratoires Richelet(4.1%) 및 Boiron(3.9%) 등 3개 사가 인삼시장의 12.4%를 차지하고 있어 상기한 6개 사의 동 시장 점유율은 52%인 셈이다.
- ★ 독일, 스위스에서는 인삼을 비타민, 미네랄, 다른 생약제들과 복합 제조하여 새로운 제품을 만들어 상품화함
- ★ 스위스의 파마톤 회사는 인삼 추출물 G115을 만들었는데 G115는 일정량의 ginsenoside 15종을 모아 40mg를 표준화하여 만든 것으로 매년 20~30억 달러의 매출을 기록하고 있으며, 인삼 전체 시장의 15%를 차지하고 있음
- ★ 유럽의 PhytoLab사는 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1같은 ginsenoside을 표준물질로 판매하고 있다.
- ★ LGC-Promehem사는 Rb1, Rb2, Rc, Rh2, Re, Rf, Rg1, Rg2, Rg3, notoginsenoside-R1, Pseudoginsenoside-F11을 판매하고 있음
- ★ 미국의 Chromadex사는 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1를 표준물질로 생산하여 판매하고 있음
- ★ 중국의 Hong-Ju Ginseng Co. Ltd. 에서는 순도 95%이상의 ginsenoside Rb1, Rb2, Rb3, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rg2, Rg3, Rh, F11의 표준물질을 판매하고 있음

### (나) 국외 시장현황

① 세계 인삼산업의 현황

- ★ 인삼을 상업적으로 재배 생산하는 나라는 한국을 비롯한 중국, 일본, 미국, 캐나다, 유럽 일부 지역임.
- ★ 수삼의 생산량은 중국, 한국, 그리고 북미 순으로 많이 생산함
- ★ 전체 생산량은 약 4만톤 정도이며 1980년대 말까지 전 세계 인삼 생산량의 46%를 유지하던 우리나라는 1990년대 30% 내외로 감소하였고, 중국은 1990년대 세계 인삼 생산량의 50%로 증가함
- ★ 미국과 캐나다의 화기삼은 세계 인삼의 10%내외를 차지한다.

<세계 주요국 인삼 생산 및 수출입 비교>

국가별(년도)	재배면적 (ha)	생산량 (MT)	수출량 (M/T)	수출금액 (백만불)	수입량 (M/G)	수입금액 (백만불)
한국('01)	13,018	13,215	1,899	74.8	133	4.9
중국('01)		20,000	4,155	53.3	2,869	33
미국('97)	774	1,080	569	37	651	11
캐나다('01)	2,894	2,483	1,541	42	100	5
일본('01)	217	207	10	171.1(엔)	625.1	1.53(엔)

<2002년 홍콩 국제 인삼 시장의 주요국별 수입현황>

구분	수입국 물량(톤)	수입국 금액(천불)	톤당가격(천불)
한국	139(9.6)	12,953(1.6)	156
중국	3,913(22.7)	30,551(44.2)	13
미국	446(24.7)	33,216(5.0)	124
캐나다	4,245(38.2)	51,436(48.0)	20
기타	107(4.5)	6,497(1.2)	61
합계	8,850(100.0)	134,653(100.0)	15

출처 : 식품기술 2005. 6

(다) 콜레스테롤 개선에 도움을 주는 제품시장 분석

■ 콜레스테롤 개선에 도움을 주는 기능성 원료 등록현황

<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 인장원 기능성원료</li> <li>▶ 대나무잎추출물</li> <li>▶ 사탕수수 왜스알코올</li> <li>▶ 아미인</li> <li>▶ 향냉양파추출액</li> <li>▶ 고시형 원료</li> <li>▶ 감마리놀렌산 함유 유지</li> <li>▶ 구마검/구마검가수분해물</li> <li>▶ 대두식이첨유</li> <li>▶ 키토산/키토올리고당</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 보리 베타글루칸 추출물</li> <li>▶ 스피루리나</li> <li>▶ 알로에추출물</li> <li>▶ 홍국쌀</li> <li>▶ 레시틴</li> <li>▶ 글루코만난</li> <li>▶ 옥수수겨</li> <li>▶ 차전자피</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 보미차추출물</li> <li>▶ 식물스타늘에스테르</li> <li>▶ 알로에복합추출물</li> <li>▶ 식물스테롤/식물스테롤에스테르</li> <li>▶ 키리</li> <li>▶ 대두단백</li> <li>▶ 이눌린/치커리추출물</li> </ul>
--	--	--

■ 콜레스테롤 저하 기능성 음료현황

제품	특징
	<p>°제품명 : 다운초이스                      °제조사: CJ                      °특징: 보이차추출물의 기능성과 안정성을 식약청으로부터 인정받음</p>
	<p>°제품명 :따스한 보이차, 개운한 우롱차                      °제조사: 롯데칠성                      °특징: 기존 다이어트 컨셉의 차음료에서 벗어나 몸의 건강을 위해 마시는 기능적 특성을 지닌 제품</p>
	<p>°제품명 :태양의 마테차                      °제조사: 코카콜라                      °특징: 마테는 식물성 콜레스테롤이 전혀 없고, 카페인 함유량도 적어 다이어트용 음료로 인기를 끄</p>
	<p>°제품명 :양파와 삼채                      °제조사: 풀무원                      °특징: 물 한 방울 넣지 않고 껍질째 추출한 전남 무안산 양파와 히말라야의 보물로 알려진 삼채 한 뿌리를 껍 하나에 담은 건강음료</p>
	<p>°제품명: 당조차                      °제조사: (주)하늘땅자연마을                      °특징: 돼지감자, 녹차와 물로키아 식물, 홍삼, 상백피, 영지버섯, 백봉령, 감잎, 뽕잎, 둥글레, 맥문동, 검은콩, 백출, 구아바, 줄풀, 차가버섯, 가시오가피, 구기자, 갈근 등 혈당 개선과 췌장기능에 도움을 주는 천연원료들을 천연 유기 게르마늄으로 추출한 액상차</p>
	<p>°제품명: 베네콜                      °제조사: 핀란드의 라이시오 그룹(Raisio)                      °특징: 콜레스테롤 저하 기능성 소재 ‘식물스타놀에스테르’가 식품의약품안전청으로부터 일반식품의 제한적 사용원료로 인정받음. 제품 kg당 6.5g 이하로 사용하고, 1일 섭취량이 3g을 초과하지 않도록 함</p>

■ 콜레스테롤 개선에 도움을 주는 건강기능식품

제품사진	제품명	제조사	원료
	콜레스테롤컨트롤	코스맥스바이오(주)	홍국 제품
	혈중콜레스테롤개선 에도움을줄수있는키 토올리고당	천호식품(주)	키토올리고당
	유연m혈당&콜레스 테롤 컨트롤	(주)한국씨엔에스팜	귀리식이섬유 제품
	웰화이버 포르테	(주)정은헬스케어	차전자피
	닥터 스피리루나	(주)비오팜	스피리루나
	화지인 홍국	(주)아이기스 화진엔앤에이치	홍국
	태웅 레시틴	태웅식품	레시틴



## (라) 기능성음료의 산업적 특성분석에 따른 고부가가치화 측면

- ① 음료도 이제 지금까지의 기호성 중심에서 건강 및 기능성을 추구하는 방향으로 변화 되고 있으며, 생활수준이 향상됨에 따라 단순히 갈증해소나 맛에 치중하여 선택하는 경향에서 기호는 물론 건강을 생각하고 영양을 보충.강화하는 음료로 빠르게 발전하고 있고, 기능성음료의 범위도 점차 확대되어 가고 있으며 해마다 전체 음료에서 차지하는 비중도 늘고 있음.
- ② 또한 효능을 특화해 타깃층도 다양화, 세분화 하고 있다. 이에 따라 소비자의 입맛에 맞춘 다양한 종류의 음료들이 출시되고 있으며, 이러한 경향을 반영 하 듯 최근 들어 기능성을 가진 음료분야에 대한 특허 출원이 급증하고 있음.
- ③ 특허청에 의하면, 1990년 이후 음료분야의 특허출원 추이를 살펴보면, 90년대 이후 음료 특허출원 건수가 꾸준한 증가를 보이다가 1995년에서 2001년 까지의 특허출원이 851건으로 95년까지의 214건의 특허출원에 비해 급증한 것을 볼 수 있는데, 특히 두드러진 특징은 94년 이전까지는 주로 제조방법이나 가공방법과 관련된 특허출원이 주류를 이루었으나, 95년 이후부터는 음료소재의 성분 분석에 따른 효능 및 생체방어, 질병의 방지 및 회복, 생체 리듬의 조절, 노화억제 등)의 재발견과 관련된 특허출원이 급증하고 있는 것으로 분석되고 있으며, 이러한 현상은 소비자들의 건강에 대한 관심증대로 기능성을 가진 건강음료에 대한 수요가 급격히 증가하면서, 기존 음료 전문 업체 뿐 아니라 비 음료업체에서도 사업 다각화 차원에서 음료 시장에 적극 진출하고 있기 때문인 것으로 분석되어짐.
- ④ 그러나 기능성 음료의 산업화 형태 및 분야는 다양하며, 1989년 5월 현대약품의 ‘미에로 화이바’ 를 시작한 섬유음료, 최근 몇 년간 음료시장의 최대 화제는 비타민이 함유된 ‘비타민 음료’ , 아미노산이 함유된 ‘아미노산 음료’ 같은 건강지향형 음료, 2002년 9월에 출시된 CJ의 ‘팻다운’ 과 같은 ‘비만개선 음료’ 형태로도 출시 되어지고 있다.
- ⑤ 본 기술개발을 통한 산업화를 추진하는 방향은 상기 표와 같이 **물같이 쉽게 마실 수 있는 제품화** 방향으로, 콜레스테롤 예방 및 저하 효과를 가지면서, 산업적 경쟁력 측면에서도 충분히 가능하다고 판단되는 생물자원(흑삼)을 활용한 고부가가치 기능성 음료개발이 필요하다.

➡ 필요성 측면 : 이와 같이 기능성 음료의 수요는 급격히 증가되고 있어, 본 사업을 통한 프리미엄급 헬스케어 기능성음료를 개발할 경우 매출증대는 물론이고 고부가가치 식품 산업 발전에 기여할 것으로 판단되어 기술 개발이 필요하다고 판단된다.

### <기능성 음료시장>

- ★ 2005년 녹차→2009년 숙취해소음료→2011년 비타민 워터→2012년 에너지음료→ 2013년 기능성음료

- ★ '기능성 음료'는 음료 시장의 트렌드를 읽을 수 있는 바로미터다. 히트 상품으로 떠오르는 기능성 음료 제품군이 시기마다 바뀌면서 음료 시장의 유행을 주도한다. 주스, 탄산 음료 등 전통적인 인기 음료 제품군에 비해 매출 규모는 적지만 시장 흐름이 훨씬 역동적이고 매출 증감폭이 더 가파르다.
- ★ 2012년 음료시장 최대 '히트상품' 중 하나였던 에너지 음료는 올해도 기능성 음료 시장의 견인차 역할을 할 전망이다. 2011년부터 주목받기 시작한 비타민 워터도 꾸준한 성장세를 유지하는 가운데 최근 사회적 화두인 '다이어트 효능'을 강조한 각종 음료들이 새롭게 출시돼 기능성 음료 시장 제품군이 다양화되는 추세다.

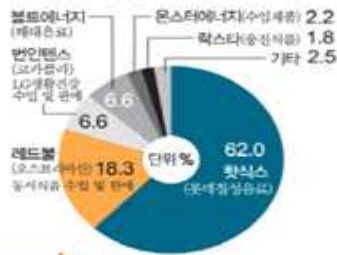
**음료시장 품목별 연간 판매현황**



**기능성 음료 시장 현황**

● 에너지 음료 시장 점유율 현황

2012년 3분기 매출액 기준 / 자료 : 링크아르베



● 비타민워터 판매율 현황



★ 기능성 음료, 전년 대비 65% 급성장 전망

기능성 음료란 무엇일까. “흔히 말하는 건강기능식품과 달리 식약처에서 기능성 음료의 기준이나 정의를 규정하고 있지는 않다”는 전제 조건하에 “에너지, 비타민, 숙취해소, 체지방분해, 피로회복 등 다양한 기능을 하는 음료들을 한 데 모아 일반적인 개념의 기능성 음료라고 통칭한다.

- ★ 기능성 음료 시장은 2012년 기준 약 1조8000억원에 이른다. 전년 대비 13%의 성장세인데, 상승폭은 올해 훨씬 더 가파를 전망이다.
- ★ 국내 업계 1위 롯데칠성음료의 관계자는 ‘기능성 음료는 카테고리 분류가 애매한 측면이 있다’고 말했다. 롯데칠성음료는 에너지 음료, 비타민 음료 등으로 기능성 음료의 범위를 좁힌다. 이에 따르면 2013년 국내 기능성 음료 시장 예상 규모는 약 3200억원(에너지 음료 2000억원+비타민 음료 1200억원)이다. 전년(2012년 1950억원) 대비 약 65% 성장세다.
- ★ 기능성 음료의 범위를 어디까지 보는지에 대한 이견은 존재하지만 기능성 음료 시장이 급성장하고 있다는 것은 업계의 공통된 시각이다. 전체 음료 시장 성장세가 매년 5~7%인데 비해 기능성 음료 시장은 성장률이 최소 두자릿수다. 음료 하나를 마실 때 갈증 해소는 물론 피로 회복이나 다이어트 효능까지 기대하는 수요가 꾸준히 증가한다는 의미다.



## ⊛ ‘2배 급성장’ 에너지 음료 시장, 3위 경쟁 치열

2012년 전체 매출이 1020억원 가량이었던 에너지음료의 인기는 올해도 여전하다. 시장 규모는 지난해에 비해 약 2배 가량 성장한 2000억원에 이를 전망이다.

- ⊛ 에너지음료 시장 1위는 롯데칠성음료의 핫식스다. 시장조사기관 링크아즈텍의 분석에 따르면 핫식스는 지난 1분기 동안 전체 시장의 62%를 차지했다. 세계 1위 에너지 드링크인 오스트리아 업체 레드불이 18.3%로 집계됐다. 롯데칠성음료는 최근 ‘핫식스 라이트’와 ‘후르츠 에너지’ 등 신제품을 출시하며 1위 굳히기에 박차를 가하고 있고, 레드불은 지난 1월 30% 가량 가격을 인하하며 1위 추격의 의욕을 보이고 있다.
- ⊛ 핫식스와 레드불, 양강 체제를 뚫기 위한 음료업계의 경쟁도 뜨겁다. LG생활건강 계열사가 판매하는 번인텐스와 볼트에너지도 각각 6.6%의 시장 점유율을 기록하며 1, 2위 업체를 추격하고 있다. 지난해 12월부터 수입판매되고 있는 ‘몬스터에너지’의 1분기 시장 점유율도 2.2%까지 높아졌고, 지난해 9월 웅진식품이 출시한 ‘락스타’도 1.8%로 점유율을 확대했다. 시장 규모가 급팽창하자 음료업계 외에 제약업계도 뛰어들면서 경쟁이 치열해지고 있다.

## <기능성 음료시장 ; ‘다양화’ 추세>

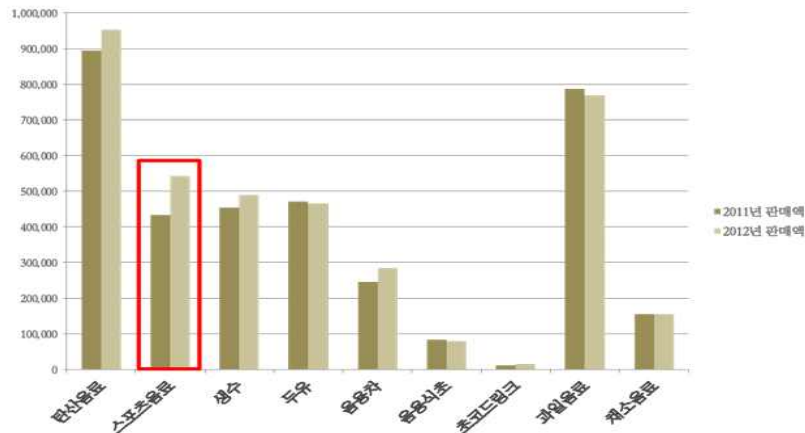
- ⊛ 비타민, 미네랄 등 다양한 영양성분을 함유하고 있어 물 대신 즐길 수 있는 음료로 2011년 무렵부터 각광받기 시작한 비타민 워터 시장에서는 부동의 1위 브랜드인 코카콜라의 글라소 비타민워터를 2위 롯데칠성음료의 데일리C가 바짝 추격하는 양상이다. 데일리C는 2011년 14%였던 점유율을 지난해 35%까지 끌어올렸다. 지난달에는 무지방, 저칼로리 자연 음료를 표방하는 미국 코코넛워터 1위 업체 비타코코가 국내에 상륙해 관심을 끌고 있다.
- ⊛ ‘다이어트 효능’을 강조한 차 음료에 대한 수요도 지속적으로 증가하는 추세다.
  - 코카콜라는 차 다이어트 시장을 주목하고 마테차로 만든 정열의 라틴 스타일 ‘태양의 마테 차’를 출시해 ‘차(茶) 다이어트’의 개념을 강조 중이다.
  - CJ제일제당은 제로 칼로리를 앞세운 ‘컨디션 헛개수’로 차 다이어트 시장 공략에 나서고 있다.
  - 컨디션 헛개수는 나트륨, 탄수화물, 지방, 칼로리 등이 0일뿐만 아니라 100% 국산 헛개나무 열매에 100% 국산 침즙 등의 성분을 함유했다.
- ⊛ 최근 음료시장 진출을 선언한 대상은 홍초를 근간으로 테아닌, 아르기닌, 타우린, 비타민 등 기능성 성분을 첨가한 ‘홍초밸런스워터 멘탈’과 ‘청정원 석류초베이스’ 등 음료 4종을 출시했다. 대상은 새로 선보인 음료 4종의 올해 매출 목표를 100 억원으로 잡고 있다.

## <국내 기능성 음료시장 현황>

- ⊛ 기능성 음료란 음료 중 천연 영양소의 성분 및 함량의 비율조정을 통해 에너지, 비타민, 숙취해소, 체지방분해, 피로회복 등의 다양한 기능을 가미한 음료들을 뜻한다.

- ★ 농림축산 식품부와 한국농수산물유통공사가 발표한 시장보고서에 따르면 국내 음료시장은 2012년 약 3조 7572억 규모로, 2011년 대비 6.2% 성장한 것으로 나타났다. 이중 탄산음료, 스포츠 음료, 생수, 차 음료, 초코 드링크는 판매가 증가한 반면, 두유, 음용식초, 과일·채소음료는 감소하였다. 또한, 에너지 음료의 국내 유통은 1년사이 7.7배 증가하고, 시장규모 역시 300억에서 1천억으로 증가하였다.

[ 음료류 판매액 현황 ]



음료류 판매액 및 점유율 현황

(판매액 : 백만원, 성장률/점유율 : %, 증감 : %p)

구분	품목	판매액			점유율		
		2011년	2012년	성장률	2011년	2012년	증감
음료류	탄산음료	894,186	952,242	6.5	25.3	25.4	0.1
	스포츠음료	434,143	542,903	25.1	12.3	14.5	2.2
	생수	454,695	489,400	7.6	12.9	13.0	0.2
	두유	471,107	465,144	-1.3	13.3	12.4	-0.9
	음용차	244,377	285,442	16.8	6.9	7.6	0.7
	음용식초	82,709	79,723	-3.6	2.3	2.1	-0.2
	초코드링크	11,555	14,790	28.0	0.3	0.4	0.1
	과일음료	787,152	768,777	-2.3	22.3	20.5	-1.8
	채소음료	154,901	154,316	-0.4	4.4	4.1	-0.3
합계		3,534,826	3,752,735	6.2	100.0	100.0	0.0

자료 : 닐슨 소매점 판매액 지수

- ★ 현재 국내 기능성 음료 시장의 판매 구도는, 크게 ▲에너지 ▲다이어트 ▲웰빙 건강음료로 나뉜다.
- ★ [에너지 음료] 시장만의 전체 매출은, 2013년 1020억원 가량으로, 2014년에는 약 2배 성장한, 2000억원대를 육박할 예정이다.
  - 핫식스 : 롯데칠성
  - 레드볼 : 오스트리아업체
  - 핫식스 라이트, 후르츠 에너지 : 롯데칠성

- 번인텐스, 볼트에너지 : LG 생활건강
- 락스타 : 웅진식품

❖ **다이어트 음료시장** : 기본 음료 형태를 포함해 발포타입, 워터믹스형까지 종류가 다양하게 확대되었다. 특히 최근 다이어트 음료 신제품들의 특징은, 일본처럼 생활밀착형 음료로 콘셉트를 강화시켜, 휴대가 간편하고 다이어트 효과까지 볼 수 있는 기대감을 확대시켰다.

- 팻다운 아웃도어, 컨디션 헛개수 : CJ
- 룩, 팻 스타핑, 슬림 핏 : 한국야구르트
- 차 다이어트, 태양의 마테차 : 코카콜라
- 홍초밸런스 워터 멘타, 청정원 석류초 베이스 : 대상
- 셰이킹 : 서울우유

### <국의 건강기능식품 시장>

- 건강기능식품의 분류기준에 따라 세계 시장규모의 추정에는 차이가 있지만, Nutrition Business Journal('12)의 자료에 따르면, '10년 세계시장규모는 약 3,014억불로 추정됨.
- 건강기능식품 시장 규모는 '06년 2,332억불 규모에서 '10년 약 3,014억불로 연평균 6.6%의 성장을 기록하고 있음.
- 연평균성장율은 동유럽/러시아(11.7%)가 가장 높았으며, 그 다음 라틴아메리카(11.6%), 중국(11.4%)순으로 나타났음

[지역별 세계 건강기능식품 규모 (2006~2010)] : (단위: 백만불)

지역	지역	2007년	2008년	2009년	2010년	성장률
미국	87,199	97,399	105,939	110,626	117,117	7.7
서유럽	65,750	71,203	76,306	77,056	78,912	4.7
일본	37,303	37,066	38,309	39,551	42,169	3.1
캐나다	5,846	6,354	6,838	7,149	7,631	6.9
중국	9,770	10,920	12,144	13,340	15,033	11.4
기타 아시아	10,325	11,236	12,114	13,160	14,725	9.3
라틴아메리카	6,069	6,921	7,931	8,442	9,420	11.6
호주/뉴질랜드	4,487	5,144	5,788	6,117	6,755	10.8
동유럽/러시아	4,042	4,819	5,669	5,781	6,291	11.7
중동	1,268	1,432	1,601	1,677	1,809	9.3
아프리카	1,107	1,218	1,326	1,403	1,524	8.3
합계	233,166	253,711	273,966	284,303	301,386	6.6

출처 : Nutrition Business Journal, NBJ's Global Supplement & Nutrition Industry Report, USA (2012)

### <세계 기능성 소재 동향>

#### ■ 미국

- 미국식품과학회(IFT)에 따르면 미국 기능성식품 시장의 키워드는 아동, 파이토케미컬즈(phytochemicals), 50대 이상의 실버 세대, 유기농, 스포츠 연계, 저지방, 무설탕, 저인슐린, 글루텐제거, 자연친화 등이라고 보고하였음
- 가장 인기를 끌고 있는 품목은 프로바이오틱스,비타민,오메가 3제품을 들 수 있음
- 프로바이오틱스는 미국 식이보충제 시장의 23%를 차지하고 있을 정도로 비중이 큼. 특히 유럽에서 성공한 프로바이오틱스 제품이 미국에서도 유행하는 공식이 통하고 있음.
- 비타민은 종합비타민이 46억불, 단일제 형태의 비타민이 40억불 정도의 규모를 형성하고 있음. 단일 비타민 중에서는 비타민 B가 가장 각광받고 있으며 비타민C,비타민 D가 뒤를 잇고 있음. 오메가-3 제품 역시 해마다 가파른 성장세를 보이고 있음

## ■ 일본음료시장

### □ 원전 사고 이후 소비자 건강 관심 증대

- 일본 음료 시장에서 야채음료가 강세를 보일 것으로 전망
- 대지진과 원전 사고 등의 영향으로 소비자 건강 관심 증대
- 방사능 오염문제로 인해 선선야채 및 건강음료 수요 증가

일본음료시장 통계

(단위:억엔)

	2011년	2012년전망	전년대비(%)	2013년예측
과실/야채음료	4,936	4,958	101	4,972
탄산음료	4,739	4,905	104	4,904
유제품	11,025	11,015	100	10,906
기호음료	18,577	18,827	101	18,826
미네랄워터류	3,042	3,019	99	2,974
기능성음료	5,483	5,531	101	5,531
기타 음료	748	744	100	752
<b>시장합계</b>	<b>48,550</b>	<b>49,026</b>	<b>101</b>	<b>48,865</b>

\* 일본농협협동조합신문

\* 방사능 오염으로 인한 신선야채 대체 수요 상승 2011년에는 전년대비 113.4% 증가

### □ 소비자들이 건강의 중요성을 인식하는 추세

#### ○ 미네랄워터

- 지하수 중에 음용 가능한 물을 용기에 넣은 것을 말함
- 방사능 문제로 수요가 높아졌으나 수입품은 경수라는 특성과 높은 가격으로 일본산에 밀림

#### ○ 유제품 음료

- 지진 직후 우유 등의 대폭적인 감소가 예상했지만 실적은 양호
- 두유류는 신규 수요로 호조세인 두유음료와 함께 무조정 두유와 조정 두유도 수요가 증가함

#### ○ 야채(토마토) 음료

- 토마토는 대사증후군 개선에 효과가 있다는 언론 보도된 후 토마토가 주축인 기업의 주력도가 높아짐

### □ 일본음료 내수 상황

#### ○ 과실음료

- 일본 내 과실음료는 작년 1~12월은 약 3% 감소하고 올해도 상황은 나아지지 않고 있음
- 음료 카테고리에서 과일 맛을 내는 음료가 늘어나고 있지만, 과실음료 자체 이슈가 적기 때문에 적극적인 상품 개발이나 웰빙을 추구하여 어필할 필요성이 있음

#### ○ 채소·과즙을 믹스한 음료

- 채소·과즙을 믹스한 음료는 각 사의 주력 아이템이 서로 중복되는 동시에 기복이 심한 카테고리이기도 함
- 시장성을 유지하기 위해 계절별로 새로운 맛 출시와 다른 소재와 조합시킨 상품도 눈에 띄



- 향후에는 채소음료의 기본이라고 말할 수 있는 녹색계 상품의 부활을 기대하며 지속적인 이슈를 만들어 가는 것이 필요함

## ■ 중국의 음료시장

### □ 생산동향

- 중국에서 유통되는 기능성 음료에는 건강(영양소) 음료, 스포츠 음료, 기타 기능성 음료 3종류가 있으며 주로 피로회복과 에너지 보충이 주요 기능
- 세계적인 기능성 음료 인기의 영향으로 중국 내의 기능성 음료 생산량도 2012년에는 280만 톤으로 2008년 대비 약 75% 성장
  - 중국의 기능성 음료 매출액 역시 2000년 4억 위안에서 2010년 약300억 위안에 이르며 매년 두 자리수의 성장률을 기록 중
  - 소득수준 향상과 스포츠 활동증가, 건강 및 미용 중시 등에 따라 주로 1~2선 도시의 젊은 층을 중심으로 기능성 음료에 대한 수요가 증가
- 특히 2004년 사스(SARS)의 영향으로 기능성 음료에 대한 관심이 높아졌으며, 2006년 왕라오지의 판매금지 이후 기능성 음료의 판매량이 뚜렷한 상승세를 보임

<중국 기능성 음료 연도별 생산량>

구분	2008년	2009년	2010년	2011년	2012년
생산량(만톤)	160	190	230	260	280

\* 자료원 : 국가통계국

### □ 소비동향

- 주요 브랜드별 판매현황
  - 2012년 기능성 음료시장의 4대 브랜드는 홍니우(紅牛), 마이퐁(脉動), 지엔짜오(尖叫), 썬더리(三得利)이며 그 중 홍니우, 마이퐁, 지엔짜오 3개 브랜드가 시장 점유율의 절반을 차지
  - 판매량 기준 점유율 : 홍니우 24%, 마이퐁 18.62%, 지엔짜오 7.85%, 썬더리 3%, 기타 47%
- 기능성 음료 중 건강(영양소) 음료의 경우 주로 각종 중약재를 함유한 양차(涼茶) 계열의 점유 비중이 높은 편이며, 그중 양차 계열에서는 지아뉘바오(加多宝)의 시장 점유율이 약 73%에 달함
  - 양차는 주로 하절기에 열은 낮추거나 혹은 외식업체에서 매운 음식 등을 먹을 때 소비가 많음
  - 양차 시장점유율 : 지아뉘바오(加多宝), 왕라오지(王老吉), 허치정(和其正), 바오칭탕(宝慶堂)가 전체의 86.7% 차지 (중국국가통계국 2012년 연말 자료 기준)
- 스포츠, 에너지 음료의 경우 외국계인 홍니우(RED BULL)과 마이퐁의 시장점유율이 높은 편이며, 주로 운동 활동이나 피곤할 시에 구매하여 소비
- 중국산 기능성음료의 발전이 신속하여 외국산 제품의 시장진출은 매우 제한되어 있음
  - 외국산의 경우 홍니우(RED BULL) 등 오스트리아, 일본, 미국산 제품이 진출해 있으나,

- 낮은 소비자 인지도 및 선호도, 현지산과의 가격차이 등으로 판로개척이 어려운 상황임
- 한국산은 박카스, 홍삼원, 비타500 등이 진출되어 있으며, 일부 한인마트, 식당가 위주로 판매

<중국 기능성 음료 주요 브랜드 및 대표제품>

브랜드 (소매가)	제품사진	회사 및 제품소개	브랜드 (소매가)	제품사진	회사 및 제품소개
마이동 (脉动) 3.8위안		광둥 러바이어 그룹은 프랑스 다농기업의 산하업체로 중국 10대 음료업체	홍니우 (红牛) 5.8/6.8위안		세계적인 에너지음료 브랜드. 1966년 태국에서 처음 생산되었고 1995년 중국에 들어와 홍니우비타민음료유한회사 설립
지취 (激活) 3.2위안 치리 (磁力) 5.6위안		항주와하하그룹은 중국 최대 식품공정업체로 지취, 치리 등의 기능성 음료 브랜드 보유	자연짜오 (尖叫) 3.8/3.9/3.6 위안		농부향청구유한회사는 중국 생수 생산업체로 자연짜오, 웨이쑤 C100, 웨이타밍웨이 브랜드 보유
피엔리바오 (健力宝) 3.2/3.0위안		1984년 피엔리바오는 중국 반셰이에서 생산됨. 피엔리바오, 아이퀸동, 피우지 3개 브랜드 보유	싼더리 (三得利) 3.0위안		싼더리투자유한회사(중국)는 일본산더리주식회사의 투자에 의해 설립된 외국 단독자본회사 차오저웨이티라는 기능성 음료 보유

자료원 : 온라인 판매사이트 1호점(一号店 / <http://channel.yihaodian.com>)

<수입 기능성음료 주요브랜드 대표제품>

제품명	복합 비타민음료	에너지 음료	에너지 음료
제품사진			
브랜드	두어웨이닝량(多维能量)	커커란(柯可蓝)	홍니우(红牛)
원산지	미국	미국	오스트리아
가격	19위안	29,9위안	5,8위안

자료원 : 온라인 판매사이트 1호점(一号店 / <http://channel.yihaodian.com>)

<중국 진출 주요 한국산 기능성음료 브랜드 및 소매가>

제품명	박카스D	정관장 고려삼원음료	비타500
제품사진			
제조업체	동아제약	한국인삼공사	광동제약
원산지	한국	한국	한국
가격	4,5위안	105위안	4위안

자료원 : 온라인 판매사이트 1호점(一号店 / <http://channel.yihaodian.com>)

## □ 시사점

- 중국 내 기능성 음료시장은 매년 빠른 성장을 보이고 있으나 자국산 혹은 현지생산 제품 (RED BULL)의 시장점유가 높아 한국산 등 수입산 제품이 진입애로
  - 특히 최근 양차(凉茶) 계열의 지아뉘바오(加多宝)가 단기간에 높은 시장점유율을 차지하고 있는데, 기능성 음료의 경우 인지도 제고, 판매 확대를 위해서는 광고, 프로모션 등 많은 마케팅 비용이 필요
- 이에 한국산의 경우 유통매장과 함께 타오바오(淘宝), 이하오디엔(一号店) 등 온라인 판매 사이트와 SNS 등을 통한 바이럴 마케팅 활용 필요

- 또한 중국산 기능성 음료의 경우 제품이 비교적 단일하다는 약점이 있어 세분화된 소비자층을 타겟으로 하는 제품개발 및 마케팅 필요
  - 예컨대 수입식품에 수용도가 높은 20~30대 직장인 여성 등
  - 제품 컨셉도 단순히 어떠한 성분이 들어 건강 등에 좋다는 포괄적인 것보다 정확히 어떠한 시기, 장소 등 용도를 구체적으로 특화할 필요성 있음 (기존 제품과의 차별화 반드시 필요)
  - 중국에서 성공한 외국 기능성 음료인 홍니우(RED BULL)의 경우 시장 초창기(95년)에 진입하여 성공한 경우이나 경쟁이 심한 현재, 후발주자들은 반드시 제품의 특색을 찾고 현지 문화에 맞는 마케팅 필요
- 한국산 기능성 음료 중 수입이 많은 비타민 음료의 경우 중국 내 이미 유사제품이 많음
- 숙취음료의 경우 중국은 과음하는 분위기가 적고 술을 마신 후 숙취를 해결한다는 한국식 문화가 적음

### ■ 미국의 음료시장

□ 신경안정 기능성 음료 서서히 인기몰이 중

○ 지난 몇 년간 에너지 드링크 제품의 인기에 가려 큰 인기를 누리지 못했던 신경안정 기능성 음료(Anti-Energy Drink, 혹은 Non-Energy Drink)가 최근 미국 음료시장에서 두각을 나타내기 시작함.

- 편의점과 대형마트 음료코너에서 손쉽게 신경안정 기능성 음료를 찾아볼 수 있으며 이들 제품의 판매도 증가세에 있다고 언론 보도됨.
- 장기적인 경기침체 등으로 소비자들의 스트레스가 상승하면서 긴장·스트레스 완화, 수면유도효과가 있는 Anti-Energy 제품에 관심이 고조됨.
- 가격은 2~3달러 선에서 판매 중

대표적인 신경안정 기능성 음료

제품명	제품 사진	특징
Drank		<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 감기약 성분을 포함해 강력한 신경안정 효과가 있는 불법 드러그인 Purple Drank 이미지를 마케팅화한 제품으로 젊은 층에게 어필</li> <li>▪ 의료업계와 전문가들의 우려에도 FDA 승인을 받아 2008년 첫 출시</li> <li>▪ 주요 성분: 멜라토닌, rose hip, valerian root</li> </ul>
Marley's Mellow Mood		<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 레게음악의 대가 Bob Marley의 이름을 따서 출시된 제품</li> <li>▪ 홍차와 그린티 제품도 추가 출시</li> <li>▪ 주요 성분: 카모밀꽃 추출물, 멜라토닌</li> </ul>
RockStar Relax		<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 에너지 드링크 RockStar Energy의 자매품</li> <li>▪ 탄산, 카페인 무첨가</li> <li>▪ 주요 성분: 카모밀과 passionflower 추출물, l-theanine</li> </ul>

□ 차별화된 제품으로 인기 얻는 Neuro Drink

○ Neuro Drink는 6종류의 차별화된 제품으로 인기몰이 중. 현대인들이 겪는 수면장애, 비타민 D 부족, 스트레스 문제 등을 해소할 제품들로 구성돼 있어 소비자들의 구매욕구 자극에 충분

- 대부분 식물이나 자연물질에서 추출한 성분이며 소량의 탄산을 함유함.

○ Neuro Drink 인기 비결:

- 다양한 소비자들의 니드에 부합할 수 있는 기능성 음료: 수면 불규칙, 비만, 집중력 저하, 스트레스 문제 등 현대인들이 겪는 다양한 문제를 완화시켜줄 수 있는 제품 구성이 Neuro Drink만의 경쟁력으로 작용함.
- 독특한 제품 디자인: 심플하고 감각적인 디자인과 컬러로 진열대에서도 단연 소비자의 시선을 끄.
- 내용 전달이 확실한 제품명: 제품명만 보더라도 소비자들이 한눈에 제품의 효과를 알 수 있도록 함.



Neuro Drink 제품 구성

자료원: Google

제품별 주요 성분과 특징

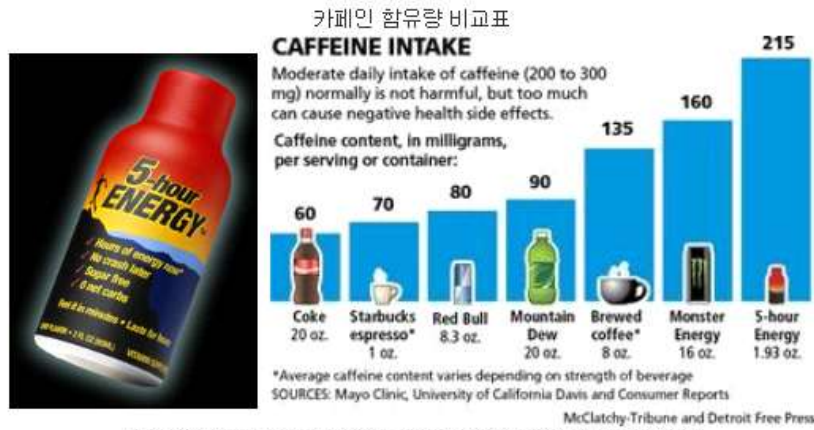
제품명	주요 성분과 특징
Neuro SUN	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 비타민 D 부족 현상이 흔한 현대인을 타겟으로 한 제품</li> <li>• 주요 성분: 1병당 1000IU 비타민 D 함유</li> </ul>
Neuro SLEEP	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 신경을 안정시켜 수면유도와 지속을 돕는 성분 함유</li> <li>• 주요 성분: 멜라토닌(수면유도), L-theanine(신경안정), 마그네슘(수면유지, 뇌 내분기 기능 활성화), 5-HTP(세라토닌 멜라토닌 생성·활성화), 타우린(신경 전달물질 관련)</li> </ul>
Neuro SONIC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 집중력 향상에 도움이 되는 제품</li> <li>• 주요 성분: L-theanine(신경안정), 카페인(정신적 에너지 향상), Alpha GPC(기억력 향상), Phosphatidylserine, 비타민 D(뇌 전달물질 관련), 비타민 B(뇌-신경계통 관련)</li> </ul>
Neuro PASSION	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 기분을 활기차게 만들어 주는 기능</li> <li>• 주요 성분: L-Citrulline(혈액순환 촉진), L-Theanine(신경안정), 카페인, Phosphatidylserine(세포 구성물질 형성, 뇌 영양공급), 비타민 D(뇌 전달물질 관련), 비타민 B(뇌-신경계통 관련), 타우린(신경 전달물질 관련), Resveratrol(항산화제)</li> </ul>
Neuro BLISS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 스트레스 완화, 긴장해소 기능</li> <li>• 주요 성분: L-theanine, 카모밀(신경안정), Alpha GPC, Phosphatidylserine, 비타민 D, 비타민 B</li> </ul>
Neuro TRIM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 식욕감소효과</li> <li>• 주요 성분: Glucomannan fiber(식욕조절, 체중감소), 비타민 D</li> </ul>
Neuro SPORT	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 12가지 미네랄과 5가지 전해질 함유, 운동 후에 마시는 수분공급 음료</li> <li>• 주요 성분: 나트륨, 마그네슘, 칼륨, 염화물</li> </ul>

자료원: 업체 홈페이지



□ 에너지 드링크 전성시대, 부작용 파동으로 위기 맞아

- 에너지 드링크계 대박상품으로 정평이 나 있는 5 hour Energy와 지난 4년간 발생한 13명 사망, 33명 입원 사건이 밀접한 관련이 있다는 민원이 FDA에 접수됨.
- 5 hour Energy 1병은 2온스에 미치지 못하는 적은 양이나, 에스프레소 1잔(1온스) 대비 3배 이상의 카페인을 함유함.



자료원: Google, McClatchy-Tribune and Detroit Free Press

□ 시사점과 전망

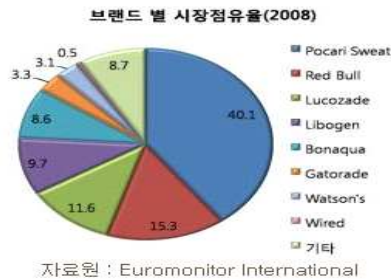
- 지난 수년간 에너지 드링크가 급부상하며 음료시장에서 각광받는 제품으로 인기를 구가했으나, 최근 카페인 과다 섭취로 인한 건강문제가 대두하면서 제품 판매에 위기로 작용함.
  - 향후 FDA의 수사결과 발표에 따라 에너지 드링크 시장이 크게 위축될 가능성도 배제할 수 없음.
- 반면, 에너지 드링크와 반대성격을 띠는 신개념 신경안정 기능성 음료가 부상하고 있어 향후 다른 브랜드에서도 제품 출시에 적극적으로 나서 경쟁이 치열해질 전망
- 우리 기업은 음료시장의 트렌드 변화에 민감하게 반응할 필요가 있으며 다각도적인 시장분석과 소비자 니드 파악을 통해 미국 시장 진출을 준비해야 할 것임.
  - Nuero Drink의 인기 비결을 바탕으로 우리 기업도 제품 개발에 있어 소비자 니드 파악, 제품 디자인·제품명 선정에 심혈을 기울여 제품 경쟁력으로 발전시켜야 할 것임.

■ 홍콩, 기능성 음료

- 연간 시장규모 5억7000만 홍콩달러
  - 기능성 음료 연간 판매량은 5억7190만 홍콩달러 정도로 스포츠음료가 2억5100만 홍콩달러, 에너지드링크가 3억2090만 홍콩달러를 차지함(2008년 기준).
  - 2003~08년 기능성 음료시장은 66%의 높은 성장률을 보였으며, 이러한 성장은 홍콩인들의 체육활동 증가, 직장인 근무부담(업무량, 근무시간)으로 인한 피로회복음료 수요증가에서 주로 기인함. 또한, 기업들의 편의점을 활용한 적극적인 마케팅활동이 판매고를 올린 주요인으로 작용함.
- 브랜드경쟁 치열, Red Bull, Pocari Sweat가 시장 절반 이상 차지
  - Pocari Sweat는 TV광고에 투자해 브랜드 인지도를 높여 시장의 40% 이상을 점유함. 일본 제품에 대한 홍콩소비자의 선호와 홍콩의 더운 기후가 판매율 상승에 크게 기여함.

•에너지음료 판매율에 기여도가 높은 Red Bull의 시장점유율은 15%에 달함. Red Bull은 단 시간 내에 에너지를 발산하게 해준다고 인식되며, 젊고 강한 이미지를 내세워 남성소비자들에게 특히 인기가 많음.

•기능성 음료시장에서 브랜드 간 경쟁은 매우 치열해 2008년 신규 브랜드 진출은 매우 미미했음.



## ■ 시장 트렌드

### ○ 스포츠음료가 인기

■ 2008년 기능성 음료 매출액은 전년 대비 9.8% 성장했는데, 스포츠음료와 에너지드링크의 연간 매출 성장률은 각각 12%, 4.5%로 스포츠음료(Pocari Sweat, Lucozade, Gatorade 등)의 인기상승이 두드러짐.

■ 스포츠음료 인기 증가는 홍콩에서 요가, 헬스 등의 실내체육 인기가 꾸준히 증가한 것과 관련됨.

### ○ 무탄산음료가 대세

■ 기능성 음료는 탄산류(Fibe Mini, Shark 등)보다 무(無)탄산류(Pocari Sweat, Gatorade 등)가 인기임.

■ 무탄산음료 : 탄산음료 비율은 87 : 13임.(2008년)

### ○ 칵테일 형태로 팔기도

■ 기능성 음료는 슈퍼마켓·편의점에서 판매되며, 식당·호텔과 같은 업소에서는 판매되지 않음.

■ 그러나 일부 음료는 칵테일 형태로 판매됨. 대표적인 예는 Red Bull과 보드카를 섞은 믹스(보드카 레드불)이며, Pocari Sweat와 위스키를 섞어 판매하기도 함.

### ○ 기타 인기음료

■ 편의점에서 판매되는 기능성 음료에는 카페인 다량 함유의 에너지드링크 외에 비타민, 식이 섬유, 아미노산을 함유한 제품 등이 있음.

■ PaoLiTa(保力達, 대만)의 Man Meu는 비타민B, 타우린을 함유한 자양강장음료임.

■ 미국에서도 판매 중인 SHARK(태국산)는 최근 홍콩에서도 판매되면서 ‘천연 카페인’임을 강조함.

■ 그 외 Ajinomoto사(일본)의 Amino Gear는 ‘한국인삼 함유’를 강조해 품질에 대한 인식향



상을 유도함.

■ 시사점

○ 건강을 위한 기능성 음료 수요 증가할 듯(예 : 면역증강, 무설탕 등)

■ 현재 기능성 음료시장에서 건강음료 시장점유율은 비교적 낮지만 건강에 대한 소비자 인식이 높아져 수요가 증가할 전망

■ 특히 신종플루가 장기화됨에 따라 면역력 증강상품 인기가 증가함. 한 예로 홍콩 유명 음료기업 Vita Green사는 면역증강제로 ‘오색영지’ (야생 영지버섯 가공제품)를 판매 중임.

■ 참고로 현재 시판 중인 기능성 음료 다수가 다량의 설탕을 함유했음에도 불구하고 아직까지 이에 대한 소비자 인식이 낮음.

○ 에너지드링크는 이미지메이킹이 중요

■ 에너지드링크 최고 인기제품인 Red Bull은 젊고 강인한 이미지로 홍콩시장 진입에 성공했음. 동일시장 후발주자인 Shark는 이러한 이러한 이미지 위에 세련된 디자인 로고로 이른바 쿨(Cool)한 이미지를 통해 젊은 소비자층을 공략함.

○ 하이엔드 기능성 음료, 비타민워터 등장

■ 미국의 비타민음료 Glaceau Vitamin Water(Coca Cola사)는 최근 홍콩 금융가 Central 지역에 사무실을 열고, 레스토랑과 호텔 등을 대상으로 마케팅활동을 벌임.

[주요 기능성 음료 현황]

이미지	제품명	브랜드	이미지	제품명	브랜드
	Pocari Sweat Ion Supply Drink 500ml	Pocari Sweat		Libogen Tonic Drink 100ml	Libogen
	Lucozade Glucose Energy Drink 300ml	Lucozade		SHARK Energy Drink	SHARK
	Gatorade Blueberry 600ml	Gatorade		Man Meu	Pao Li Ta
	Watson's Iso-Tone Pure-Ice 500ml	Watson's		Fibe-Mini	Fibe Mini
	Red Bull Energy Drink 250ml	Red bull		AMINO GEAR	Ajinomoto

■ 인도의 기능성 식품 · 음료시장 현황

○ 2009년도 FFB(Functional foods and beverage :기능성 식품 및 음료) 시장규모는 약 10억 달러 규모

○인도의 기능성 식품 및 음료 시장 규모는 세계 1% 미만을 차지하지만 지난 5년간 연평균 14~15% 성장률 기록하며 빠르게 성장 중

○ 젊은 소비층 및 가처분소득 증가, 건강에 관심도 높아짐

○ 20~35세의 젊은 소비자층 비율이 인도 전체 인구의 25%에 달함. 이들은 건강·외모에 대한 관심이 높아 다른 세대에 비해 기능성식품에 친화적임.

○ 중산층 부모세대 비율 증가 및 10세 이하 유아 층 비율 또한 인도 전체 인구의 약 20%로, 이들 부모 세대가 육아 시 신체발달 및 건강관리 관련 기능성식품 선택 호함에 따라 시장 매출 꾸준히 증가함.

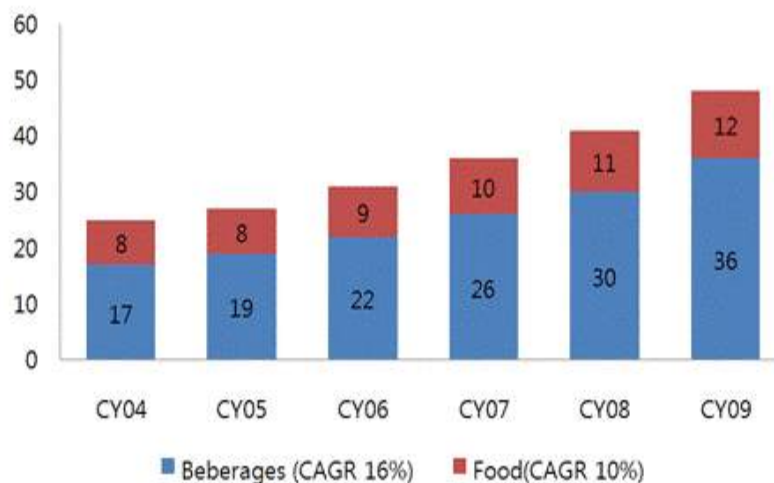
○ 소매시장 연평균 성장률이 50%로 2013년까지 성장 전망, 급격한 도시화 또한 시장성장에 긍정적 요인으로 작용함.

○ 2013년까지 도시 및 농촌지방 소매시장 각각 30%·10% 성장할 것으로 전망.

○ 개인가처분소득이 향후 5년간 연평균 8~9% 성장이 예상됨. 이는 새로운 제품에 대한 관심도 및 소비촉진에 기여할 것으로 보임.

[인도 식품 음료 시장 성장 추이]

(단위 : 십억 루피)



자료원 : Mordern Food Processing, 2010년 9월

## ■ 기능성 식품 및 음료 시장 제품군별 동향

○ Health food drinks (HFD : 건강 식품 음료)

■ 건강식품음료는 기능성 식품 및 음료시장 내 가장 큰 시장 비율을 차지하며, 지난 5년간 CAGR 8%로 성장함.

■ 주요 기업으로는 GSK·Heinz·Cadbury's 등이 있으며, 이들은 틈새시장 공략에 집중함. GSK는 Junior Horlicks(미취학아동용)·Horlicks Lite(당뇨병 환자 및 예방용)·Mother's

Horlicks(임산부 및 수유자용)· Women's Horlicks(여성용) 등 다양한 제품군 보유함.

- 몇몇 기업은 다른 제품라인으로 사업영역 확장을 시도함. Complan은 영양 강화 아침용 시리얼을, GSK는 Foodles라는 제품명의 영양강화 제품 출시함.

### ○ Energy and sports drinks(에너지 및 스포츠 음료)

- 에너지 및 스포츠 음료시장은 인도 내에서 아직 큰 성과를 내지 못함. 젊은층이 주요 타겟으로 레스토랑과 술집 등이 주요 판매처임.
- Red Bull 등 주요 기업들은 BTL(Below the Line : 주요 광고매체 외 마케팅 전략) 마케팅·저가전략·식품안전성 홍보 등을 수단으로 판매증진 도모
- 다양한 현지/글로벌 기업들이 시장에 진출했으며 최근 PepsiCo사의 Sobe·UB Group의 Romanov Red·코카콜라사의 Burn 등이 새로 시장에 등장함.

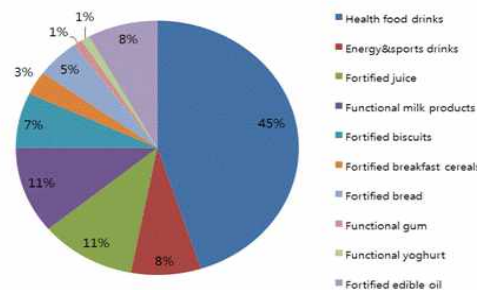
### ○ Fortified juices(영양 강화 주스)

- 영양강화주스 사업분야는 기능성 식품 및 음료시장 내에서 가장 빠르게 성장하는 분야 중 하나로, 지난 5년간 연간성장률 25~30%로 급등
- 신선한 과일·채소 주스에 비타민이나 각종 미네랄이 첨가된 주스 수요 늘어나고 포장기술이 발달함에 따라 판매량 급증함.

### ○ Functional milk&Yoghurt(영양 강화 우유&요거트)

- 국가적으로 우유 과잉 생산됨에 따라 영양 강화우유 &요거트 시장 잠재력 기대됨.
- 바이오 박테리아, 오메가, 칼슘, 철분 등을 첨가한 기능성 우유가 시장에 진출해 있으나 적절한 보관 및 운송수단 부족현상이 시장 성장 발목을 잡고 있음.
- 유제품 시장 내 주요 기업인 Amul사는 최근 Global Alliance for Improved Nutrition(GAIN)과 협력, 강화우유와 같은 사업모델 개발해 대중에게 공급하고자 함.
- 기능성 요거트 시장규모는 약 1200만 달러 규모로 시장형성 초기단계에 머물러 있으나 점차 소비자 소득 증가함에 따라 가정에서 요거트를 직접 만들어 먹는 비율보다 간편하게 사 먹는 소비자 비율 증가함.
- 바이오 요거트는 소화기능 향상 등 건강증진에 도움을 주는 제품으로 기존 포장 제품에 비해 프리미엄 가격 형성이 가능하며 시장 규모 또한 연평균 45~50%로 급격히 성장함.

[기능성 식품 및 음료 시장 구성 비율]



자료원: Pwc Analysis, Industry reports, Trade estimates, Euromonitor, Datamonitor

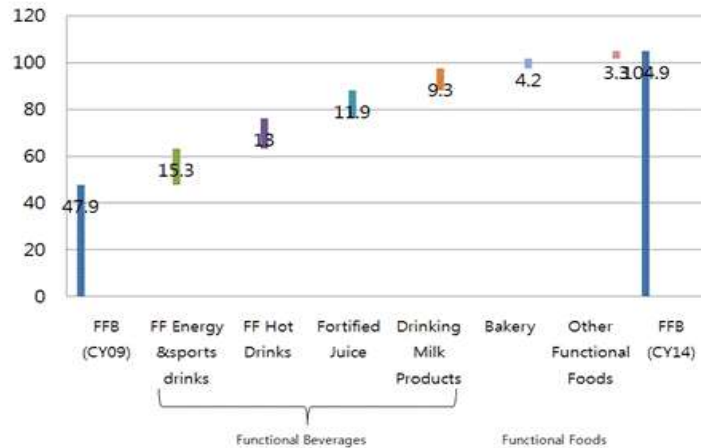
## ■ 시사점 및 전망

- 인도 기능성 식품 및 음료 시장은 향후 5년 내 연평균 성장률이 15~18%로 상승, 현재 시

장규모보다 두 배 이상 성장 할 전망이다.

- 2014년에 이르면 시장 규모가 약 20억 달러(1049억 루피)에 이를 것으로 전망

[기능성 식품 음료 시장 전망] (단위 : 십억 루피)



자료원 : Modern Food Processing, 2010년 9월

- 인도 정부가 기능성 식품 및 음료 제품을 식품 안전 및 기준법 Food Safety and Standards Act(FSSA) 제22조항 하에 관리하고 있으나 여전히 초기단계에 머물러 있음. 제조·판매·보관 및 유통 등 모든 분야에 걸쳐 엄격하게 통제하고 있어 절차가 복잡하고 어려움.
- 기능성 식품 및 음료 제품 기능에 대한 자세한 설명을 통해 소비자 이해도 증가 및 소비촉진 필요
  - 대부분 소비자들이 기능성 식품 및 음료 제품에 대한 기초적인 지식수준을 갖고 있으며 기능성 식품 및 음료 제품이 단지 기업의 수익증대 방법 중 하나라고 치부하는 경향이 있음.
  - 위와 같은 잠재 소비자로부터 실질적인 수익을 창출하기 위해 제품에 대한 정확한 정보와 신뢰를 제공해야 함. 전문의·전문기관으로부터 획득한 보증서·정확한 연구 결과 제공 등을 통해 소비자에게 실질적으로 건강증진에 도움 줄 수 있다는 이미지 심어주어야 함.
- 세계적인 FMCG(Fast Moving Consumer Goods) 기업들이 재료 제조업체 및 제약회사와 조인트벤처 형태로 인도 시장에 진출함.
  - FMCG 기업들이 시장규모를 개척하는 동안 제약회사 및 식품 재료 회사들은 R&D 센터 통해 제품 기능을 향상시키는데 주력함.
  - 이미 많은 다국적기업이 제휴 및 합작투자 형태로 인도시장 진출을 계획 중임.
- 제품 포장이 소비자 구매의사를 결정하는데 큰 역할을 함에도 불구하고 인도 내 포장기술은 아직 세계 기준에 못 미치는 수준임.
  - 기능성 식품 및 음료 제품의 디자인·포장단위·라벨링 등은 기타 제품 대비 포장에 특별한 노력 기울일 필요가 있음.
  - Britannia 사의 Cheese Slices와 Nutrichoice 5 Grain biscuit 알맞은 분량의 포장 단위 구성의 한 예라고 볼 수 있음.

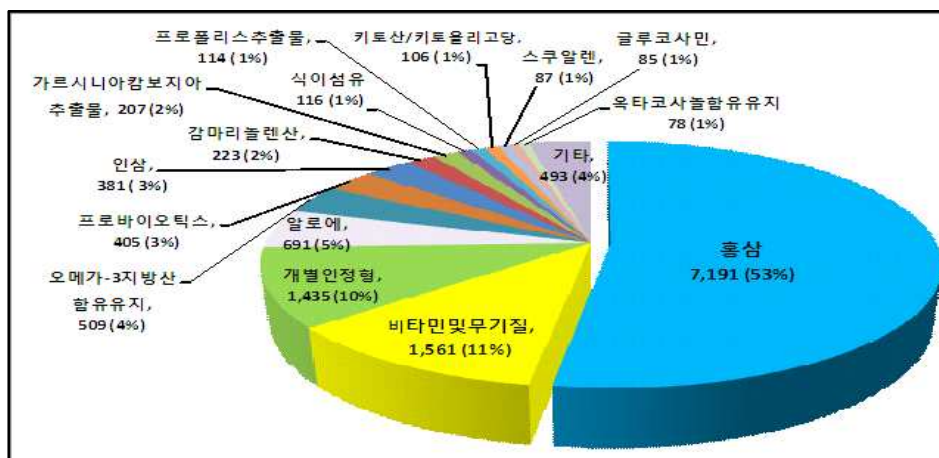
- PackPlus · Intelpack · India Converting Show과 India Packaging Show 등 다양한 포장 관련 전시회가 인도 국내에서 개최되고 기능성식품사업자들은 포장기술의 개발을 통해 시장의 수요를 촉진시킬 수 있도록 총력을 기울여야 함.

## ■ 국내 건강기능식품 시장

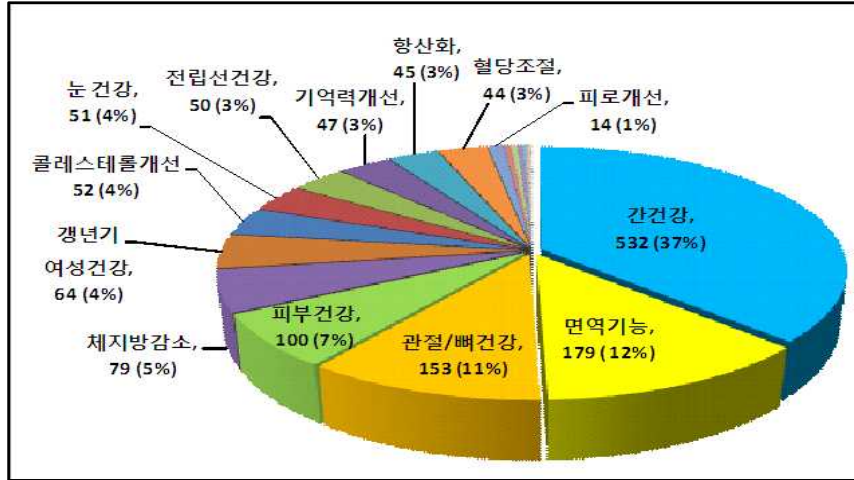
- 우리나라의 경우 건강기능식품에 대한 지속적인 소비자의 수요증대와 함께 2002년 8월 26 일자로 건강기능식품에 관한 법률이 제정, 공포됨에 따라 건강기능식품에 대한 비상한 관심이 쏠리고 있음
- 국민소득수준의 증가와 삶의 질 향상, 고령화 사회로의 진입에 따라 건강의 유지 및 증진이 무엇보다 중요한 사회적 트렌드가 형성됨에 따라 건강기능 식품산업은 더욱더 큰 관심을 받고 있음
- 건강기능식품산업은 선진기술을 바탕으로 국내 자생원료만으로 개발이 가능하므로, 국내 식품산업 구조개선 전략분야로 인식되어 관련제도 및 국가적 지원규모가 크게 확대될 전망이다
- '11년 건강기능식품 생산실적을 분석한 결과 총생산액은 1조 3천 682억원으로 '10년 대비 (1조 671억원) 대비 28.2% 증가하였으며, 이는 건강기능식품 연평균 성장률(27.4%)과 비슷한 수준임
- 건강기능식품 생산액은 건강기능식품 제도가 시행된 '04년 2천 506억원에서 '11년에는 1조 3천 682억원으로 4.5배가량 증가함

억원	'04년	'07년	'08년	'09년	'10년	'11년
생산액	2,506	7,235	8,031	9,598	10,671	13,682
수출액	242	346	514	415	460	556

- 건강기능식품 생산액 기준 연평균 성장률은 27.4%로 국내 총생산(GDP) 5.9%, 제조업 (GDP) 7.8% 보다 높은 성장률을 보임
- 이러한 건강기능식품 산업 성장 추세는 우리나라가 고령화 사회로 진입하고 자기 건강관리 (Self-Health Care)에 대한 관심 증가 등의 이유로 해석됨
- 건강기능식품 품목별 시장 현황('11년/억원)



○ 개별인정형 제품 기능성 내용별 현황('11년/억원)



○ '04년-'12년 기능성 원료 인정 현황 (년도별) (단위 : 건수)

구분	'04년	'05년	'06년	'07년	'08년	'09년	'10년	'11년	'12년
당해연도 건수	9	23	29	36	84	97	68	42	38
누적건수	9	32	61	97	181	268	346	388	426

○ '04년-'12년 기능성 원료 인정현황 (수입/국내 제조)

구분	'04년	'05년	'06년	'07년	'08년	'09년	'10년	'11년	'12년	총계
수입	5	15	19	27	65	73	50	30	28	312
국내 제조	4	8	10	9	19	24	18	12	10	114
총계	9	23	29	36	84	97	68	42	38	426

■ 세계 건강식품 시장 규모와 동향

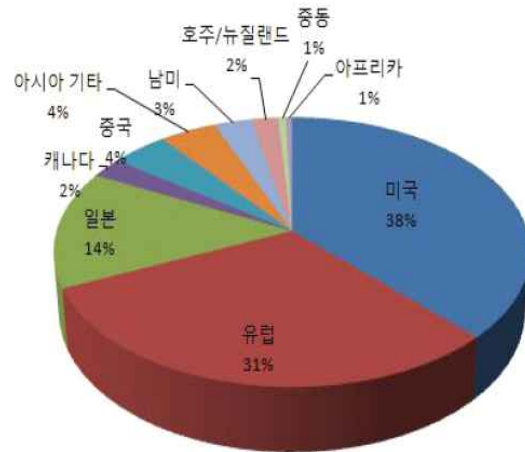
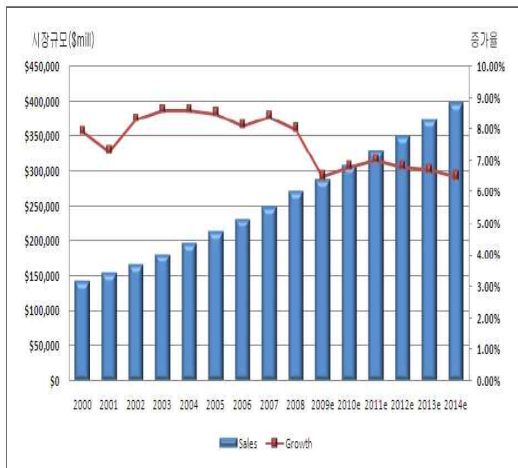
- 건강 지향적 소비 경향 증가, 신제품 개발 가속화로 건강(기능)식품 시장은 날이 갈수록 그 규모가 확대.
- 전 세계적으로 건강기능식품은 일반적으로 식이보조제품 (Dietary Supplements), 유기식품 (Natural & Organic Foods), 유기상품 (Natural& Organic Products) 및 기능성식품 (Functional Foods)의 4가지 분류로 구성됨.
- 세계 기능성식품 시장동향은 통계기관별로 다소 차이가 있으나, NBJ(Nutrition Business Journal, 2010)의 보고에 따르면 2000년 1,435억불 규모였던 세계 기능성식품시장은 높은 성장률로 2008년 2,697억불 시장규모를 차지함. 세계 기능성식품 시장은 지속적 성장으로 2014년도에는 3,973억불 시장을 형성 할 것으로 전망됨
- 2008년 2,697억 세계기능성식품 시장 중 1,017억불에 달하는 총 38%를 미국이 차지하는 것으로 나타났으며, 유럽은 31%(824억불)를 차지함. 아시아 시장에서는 일본이 14%(382억불)로 가장 많은 비중을 차지하고 있는 것으로 나타났으며, 중국이 3%(119억불)를 그 뒤를 잇



는 것으로 나타남. 미국, 유럽, 일본 등이 세계 시장의 87%를 차지함으로써 해외 기능성식품시장은 산업화된 선진국가를 중심으로 발달됨.

- 글로벌 시장은 향후 5년 간 연평균 10% 수준으로 성장해 나갈 것으로 전망(NBJ, 2010).
- 소득 수준의 향상과 더불어 최근에는 중국과 인도, 브라질 등 신흥 개발국에서도 도 건강 기능식품에 대한 수요가 크게 높아지는 추세이기 때문에, 글로벌 차원에서 주목할 만한 잠재력을 지닌 시장으로 평가.

연도별 세계 기능성식품 시장현황



자료: NBJ(Nutrition Business Journal), 2010

### (1) 미국

- 최근 미국 소비자들의 식품 소비 경향의 변화와 인구의 고령화가 지속되면서 사회에서 소아비만, 성인병에 대한 경각심이 부각되고 있어, 미국 건강기능식품 시장은 장기적으로 성장 가능성이 높을 것으로 기대되고 있다.
- 미국의 건강기능식품 시장은 2008년 총 약 1,040억 달러로 나타났으며, 이것은 세계시장 2,697억 중 약 38%를 차지하는 수치다. 이 중 국내 건강기능식품에 해당되는 품목을 다수 보유한 Specialty/Other 군의 경우 2008년 45억 700만 달러로 전년 대비 6.5%의 성장률을 보였으며, Specialty/Other 군이 속해있는 Supplement 시장은 앞으로도 4~5%의 지속적인 성장률을 보일 것으로 예상된다.

품목군별 미국의 건강기능식품시장 매출현황 및 증가율

(단위: 백만불)

	2005	2006	2007	2008	2012e	'05~'08 평균성장률
vitamins	7,148	7,485	7,778	8,528	30,500	5.50%
Herbs/Bortanicals	4,38	4,561	4,759	4,800		2.85%
Sports Nutrition	2,205	2,343	2,539	2,713		6.80%
Minerals	1,812	1,849	1,937	2,052		4.25%
Meal Replacements	2,300	2,362	2,461	2,577		2.58%
Specialty/Other	3,433	3,811	4,233	4,507		10.53%
Natural&Organic Foods	21,284	24,773	28,608	31,925	43,382	13.30%
Functional Food	28,500	31,400	34,338	36,819	42,582	7.36%
N&OPC&Household products	6,348	7,241	8,951	10,104	16,729	15.04%
합계	77,412	85,824	95,603	104,025	33,193	

자료: NBJ(Nutrition Business Journal), 2010

## (2) 일본

- 일본의 건강 기능 식품시장은 2007년 기준 164억 달러, 2010년 기준 약218억달러규모로 세계 2위의 시장을 형성하고 있으며, 건강 기능성 식품섭취 및 소비욕구가 매우 강한 일본 소비자들의 성향을 기반으로 시장이 급속도로 성장하다가 현재 약간의 정체시기를 경험하고 있음
- 일본의 건강식품 시장은 건강을 지향하는 분위기와 고령화로 인해 2000년 중반까지 지속적인 성장을 보이면서 주목받아 왔다.
- 2005년부터 건강식품(의약품 형상의 것)의 시장규모는 저조한 성장률로 정체기가 왔으며 9~10% 성장을 해오던 2000년 초반보다 시장이 둔화되었다.
- 경기침체로 저가격대 상품 출시 등 제품의 다양화가 극대화되고 있으며, 최근에는 미용유지를 위한 기능성 식품시장의 큰 성장이 예상되고 있음
  - '03년~'09년까지 6년간 가장 크게 성장한 효능: 간기능 개선(235%), 아이케어(199%), 피부미용(153%), 릴랙스(149%), 각성효과(129%), 영양균형(128%)
- 성장률 둔화 요인으로는 건강식품에 대한 법 규제 및 행정 감시의 강화와 부정 상법 적발 등에 의한 소비자 심리 약화 등 건강식품 비즈니스를 둘러싼 환경이 점점 불리해져 가고 있다고 지적했다.
- 그러나 2008년 4월 개정노인보건법에서 검진, 질병예방을 보험자에 의무화하는 보건제도가 시작되면서 일본의 건강식품에 대한 기대는 더욱 커질 것이며 더불어 건강산업의 성숙기가 도래될 것이라고 전망하고 있다.
- 일본의 건강식품은 주로 방문판매 등 무점포/직판이 주력채널인 반면, 특정 보건용식품은 대형점포/편의점이 주력 채널임

품목군별 미국의 건강기능식품시장 매출현황

(단위: 백만불)

	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009e	2010e
Supplements	9,366	10,078	11,214	11,640	11,185	10,778	10,423	10,645	10,889
Natural& Organic Foods	2,328	2,607	2,946	3,300	3,795	4,478	5,598	7,277	9,460
Functional Food	14,790	16,417	16,417	17,895	19,058	18,724	18,911	18,343	17,977
N&OPC& Household Products	2,340	2,422	2,543	2,695	2,884	3,086	3,333	3,599	3,887
합계	28,824	31,525	34,598	36,694	37,303	37,066	38,264	39,343	42,213

자료: NBJ(Nutrition Business Journal), 2010

## (3) 중국

- 소득수준의 증가, 건강에 대한 관심 고조, 노령인구 증가에 따라 중국에서 보건식품의 성장이 예상되며, 특히 여성, 어린이, 중년, 고령인구를 중심으로 보건식품 소비가 이루어지고 있음
- 시장연구기관의 보건식품 전문연구조사(2009년)에 따르면, 건강식품을 사용하는 주 연령층에 대한 질문에 응답자의 63.5%가 노년층임
- 보건식품을 소비하는 소비자들은 국내에서 생산된 제품보다 외국에서 수입된 제품을 선호하

는 것으로 나타남

- 노령 소비자들은 국내에서 생산된 제품이나 외국 수입제품 보다 중국 전통 의약품 (Traditional Chinese Medicine)을 더 선호하는 것으로 나타남
- 한방/한의학에 대한 오래된 전통이 있으며, 중국 전통 명절용 선물로 보건기능식품을 주고받는 것이 일상화됨
  - 최근 통계자료에 따르면, 전체 보건기능식품 구매 중 ‘본인이 직접 복용(40%)’, ‘중장년층 선물용(28%)’, ‘자녀 선물용(16%)’, ‘친지 선물용(14%)’순으로 나타남
- 중국의 건강 기능식품 시장은 2007년 기준 125억달러, 2010년 기준 약162억달러 규모로 세계 3위의 시장을 형성하고 있으며, 특히 수입기능성 식품은 지난 5년간연간 12%씩 성장하여 전체 기능성 식품시장의40% 규모를 차지하고 있음
- 고소득층 및 고령인구증가, 만성질환으로 인한 의료 비용 증가등 보건 식품산업 발전이 필연적일 수밖에 없는 환경에 있으며, 실제 모든 유형의 기능성 식품에 대한 수요가 더욱 증가할 것으로 전망되고 있음
- 직접 판매 방식은 가장 급격한 성장을 하고 있는 유통채널이나 유명브랜드, 지명도가 높은 유통업체가 주도하고 있음
- 직접 판매를 위해서는 중국정부의 ‘직접 판매권’ 취득이 필요하나, 지명도가 낮은 중소기업 및 외국기업은 허가받기가 매우 어려움
- 약국은 소비자가 보건식품을 구입하는 주요 유통창구이며, 중국의 지리적인특성, 경제발전 수준, 시장 환경 등 각 지역마다 다른 매우 복잡한 유통구조를 가지고 있음

## 주 의

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