

## 완결과제 최종보고서

일반과제(○), 보안과제( )

(과제번호 : PJ010181)

### 녹용 소비 활성화를 위한 가공기술 개발

(Development of processing technology for promoting the consumption of velvet antler)

주관연구기관명 : 전남대학교

연구수행기간  
2014.02 ~ 2016.12

농촌진흥청

## 제 출 문

농촌진흥청장 귀하

본 보고서를 “녹용 소비 활성화를 위한 가공기술 개발”(개발기간 : 2014.02.01 ~ 2016.12.31) 과제의 최종보고서로 제출합니다.

제1협동연구과제 : 녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정

제2협동연구과제 : 녹용의 수확 후 관리기술 개발

제1세부연구과제 : 녹용 제품화를 위한 가공기술 개발

제3협동연구과제 : 원료 녹용 및 녹용제품에 대한 효능 구명

2017. 02. 28.

제1협동/협동연구기관명 : 국립축산과학원

제1협동/협동연구책임자 : 이 성 수

참여 연구원 : 김 상 우, 김 관 우, 조 창 연

제2협동/협동연구기관명 : 전국대학교 (글로컬)

제2협동/협동연구책임자 : 김 은 경

참여 연구원 : 최 은 주, 당 육 교, 황 정 연, 최 영 진

제1세부/협동연구기관명 : 전남대학교

제1세부/협동연구책임자 : 정 선 희

참여 연구원 : 조 희 근, 이 지 우

제3협동/협동연구기관명 : 세명대학교

제3협동/협동연구책임자 : 김 태 면

참여 연구원 : 임 강 현, 김 혜 경, 권 민 서, 윤 정 원

주관연구책임자 : 정 선 희



주관연구기관장 : 전남대학교 산학협력단장



농촌진흥청 농업과학기술 연구개발사업 운영규정 제51조에 따라 보고서

열람에 동의합니다.

## 보고서 요약서

과제번호	PJ010181		연구기간	2014.02.01. - 2016.12.31
연구사업명	단위사업명	농업공동연구		
	세부사업명	농축산물부가가치향상기술개발		
	내역사업명	농축산물 수확후 관리 및 가공기술개발		
연구과제명	주관과제명	녹용 소비 활성화를 위한 가공기술 개발		
	세부(협동) 과제명	(1협동) 녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정 (2협동) 녹용의 수확 후 관리기술 개발 (1세부) 녹용 제품화를 위한 가공기술 개발 (3협동) 원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명		
연구책임자	구분	연구기관	소속	성명
	1협동	국립축산과학원	가축유전자원시험장	이성수
	2협동	건국대학교 (글로컬)	식품생명과학부	김은경
	1세부	전남대학교	해양바이오식품학과	정선희
	3협동	세명대학교	한의예과	김태연
총 연구기간 참여 연구원 수	총: 17명 내부: 4명 외부: 13명	총 연구개발 비	정부: 720,000천원 민간: 천원 계: 720,000천원	
위탁연구기관명 및 연구책임자		참여기업명		
국제공동연구	상대국명:	상대국	연구기관명:	
1. 연구목적 : 본 기술개발사업에서는 ① 녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정 ② 최적의 녹용 원료 생산을 위한 녹용 수확 후 관리기술 확립, ③ 녹용 제품화를 위한 가공 기술의 개발, ④ 원료 녹용 및 녹용제품에 대한 효능 구명을 통해 녹용의 소비를 활성화할 수 있는 방안을 마련하고자 함. 2. 연구내용 및 주요 결과 (1) 1협동과제 : 녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품	212쪽			

### 질기준 설정

- 엘크 및 꽃사슴의 절각시기에 따른 녹용생산량은 녹용의 성장 일수가 증가 할수록 녹용의 생산량은 증가하였으며 절각시기 경과에 따라 녹용 내 단백질 및 지방의 함량은 감소하는 반면 조회분 함량은 증가하였음.
- 생녹용 보관 및 녹용의 익음을 방지하기 위해 녹용과의 이격 거리는 15-20cm로 스텀세척기를 이용하여 세척 및 살균하며, 진공 비닐팩을 이용하여 포장, 저장하는 것이 효과적임.

### (2) 2협동과제 : 녹용의 수확 후 관리기술 개발

- 비닐랩과 고무줄을 이용하여 절단된 면을 봉한 후 상부와 약 15°의 각도로 절단면이 자연스럽게 상부를 향하게 하여 0°C에서 8시간 숙성한 후 방향을 180° 상하 전환한 후 같은 온도에서 8시간 숙성하여 녹혈 확장을 고르게 하여 4°C에서 4시간 더 숙성한 후 -20°C로 온도를 낮춰 하루 더 숙성하면 녹혈이 고르게 확장되었음.
- 동결건조를 실시한 녹용이 열풍건조를 실시한 녹용에 비해 유효성분함량이 높았으며 추출시간이 증가할수록 유효성분함량이 증가함을 보였고 상대로 갈수록 유효성분함량이 증가하였음.
- 동결건조 후 냉장에서 보관하는 것이 저장성과 상품성이 가장 높은 것으로 판명되었음.

### (3) 1세부과제 : 녹용 제품화를 위한 가공기술 개발

- 녹용 효소 가수분해 추출물의 항산화 활성은 상대가 가장 높고 중대, 및 하대로 갈수록 낮아지는 결과를 보였으며, 특히 protamex와 flavourzyme 가수분해물의 항산화 활성이 우수하였다.
- 녹용의 protamex 효소가수분해 추출물과 식물 혼합가수분해물을 이용하여 유산균 드링크제, 녹용 타정 및 녹용 양갱을 개발한 결과 유산균 음료의 경우 녹용 효소가수분해물 1%, 녹용 양갱의 경우 녹용 효소가수분해물을 2% 첨가한 군에서 기호도가 가장 높았음.
- 녹용 첨가량 및 가열 시간별 십전대보탕, 사물탕, 총명탕의 생리활성성분 및 항산화활성을 분석해 본 결과, 녹용의 첨가량은 1첩 (3.75g)이 가장 적절하며, 녹용 내 생리활성 성분의 손실 최소화 및 항산화활성의 극대화시키기 위해서는 녹용 전 부위 혹은 상대를 첨가 시 6~8시간, 중대 및 하대 첨가 시 8~12시간 가열하는 적합하였음.

### (4) 3협동과제 : 원료 녹용 및 녹용제품에 대한 효능 구명

- 녹용 가공 시료는 대식 세포 증식, NO 발현 억제 조골 세포 증식 효능 및 피부 관련 인자인 Elastase 분비에 대한 효능을 보였음.
- 골다공증 동물 모델에서 녹용 섭취에 의해 Bone alkaline phosphatase (BALP), C-terminal telopeptide (CTX),

Tartrate-resistant acid phosphatase-5b (TRACP 5b) 발현에 대한 유의적인 억제 효과 및 대식세포에서 녹용 시료의 투여에 따라 농도 의존적으로 식균작용이 증가하였음.

- 수영법을 이용한 동물 실험 결과 녹용의 지구력 증진에 대한 효능을 확인하였음.

## 〈 국 문 요 약 문 〉

<b>연구의 목적 및 내용</b>	<p>○ 연구목적 : 본 기술개발사업에서는 ① 녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정 ② 최적의 녹용 원료 생산을 위한 녹용 수확 후 관리기술 확립, ③ 녹용 제품화를 위한 가공 기술의 개발, ④ 원료 녹용 및 녹용제품에 대한 효능 구명을 통해 녹용의 소비를 활성화할 수 있는 방안을 마련하고자 하였다.</p> <p>○ 연구내용</p> <p>(1) 1협동과제 : 녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1차년도 : 엘크 사슴의 성장단계별 녹용생산량 및 이화학적 특성 규명</li> <li>- 2차년도 : 꽃사슴 사슴의 성장단계별 녹용생산량 및 이화학적 특성 규명</li> <li>- 3차년도 : 식품소재화를 위한 생녹용의 보관방법 확립</li> </ul> <p>(2) 2협동과제 : 녹용의 수확 후 관리기술 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1차년도 : 절단된 녹용의 녹혈 확장 및 고착 방법 결정</li> <li>- 2차년도 : 녹용의 건조 방법 결정</li> <li>- 3차년도 : 녹용의 저장 및 유통 기간 결정</li> </ul> <p>(3) 1세부과제 : 녹용 제품화를 위한 가공기술 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1차년도 : 녹용 제품화를 위한 녹용소재 개발 및 부재료의 배합비율 결정</li> <li>- 2차년도 : 식품 제형별 녹용 가공 제품 개발 (추출액, 드링크제, 젤편, 캡슐, 캔디, 과립 등)</li> <li>- 3차년도 : 녹용 이외의 첨가제의 상승효과 구명 (십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등)</li> </ul> <p>(4) 3협동과제 : 원료 녹용 및 녹용제품에 대한 효능 구명</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1차년도 : 녹용의 골성장, 콜라겐 생성 및 피부 미용에 대한 효능 평가</li> <li>- 2차년도 : 녹용의 골다공증 및 면역 기능에 대한 효능 평가</li> <li>- 3차년도 : 녹용의 지구력 증진 및 면역기능에 대한 효능 평가</li> </ul>
<b>연구개발성과</b>	<p>(1) 1협동과제</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 엘크사슴의 절각시기가 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92 및 99일 때 녹용생산량은 각각 3,838, 4,413, 5,363, 5,788, 7,713, 10,013, 12,275 및 15,100g으로 녹용의 성장일수가 증가 할수록 녹용의 생산량은 증가하는 경향을 보였다.</li> <li>- 꽃사슴 녹용의 절각시기가 50, 55, 60, 65, 70, 75, 및 80일 때</li> </ul>

	<p>녹용생산량은 685, 910, 1,206, 1,364, 1,619, 1,780 및 2,142g 임</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 절각시기가 늦어지면 녹용속의 단백질 및 지방의 함량은 낮아지고 조회분의 함량은 증가한다.</li> <li>- 절각시기가 늦어짐에 따라 상대와 3번가지의 함량은 증가한다.</li> <li>- 고압세척기를 이용하여 녹용을 세척하며 생녹용의 손상을 방지하기 위하여 세척기의 녹용의 이격거리는 60cm로 하였다.</li> <li>- 스팀세척기를 이용하여 녹용을 세척 및 살균하며, 녹용의 익음을 방지하기 위하여 녹용과의 이격거리는 15-20cm로 하여 살균하였다.</li> <li>- 진공 비닐팩을 이용하여 생녹용을 포장 저장하였다.</li> </ul> <p>(2) 2협동과제</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1차년도 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 비닐랩과 고무줄을 이용하여 녹혈이 소실되는 일 없이 녹혈 확장이 이루어졌다.</li> <li>• 절단된 면이 상부와 약 15°의 각도로 절단면이 자연스럽게 상부를 향하게 확장했을 때 전체적으로 고르게 녹혈이 확장된 것을 확인할 수 있었다.</li> <li>• 0°C에서 8시간 숙성한 후 방향을 180° 상하 전환한 후 같은 온도에서 8시간 숙성하여 녹혈 확장을 고르게 하여 4°C에서 4시간 더 숙성한 후 -20°C로 온도를 낮춰 하루 더 숙성하면 녹혈이 고르게 확장됨을 확인하였다.</li> <li>• 제모기, 쇠솔, 세제 등을 이용하여 세제가 남지 않도록 행군 후의 녹용은 골을 드러내어 세척전보다 훨씬 밝은 색상을 띠게 되었다.</li> </ul> </li> <li>- 2차년도 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 진조방법에 따라 색도의 차이가 있었으며, 열풍건조에 비해 동결건조 시 명도값(L)이 낮았으며, red를 나타내는 a값의 경우 동결건조시 열풍건조에 비해 그 값이 높았다. 또한 yellow를 나타내는 b값의 경우 열풍건조시 동결건조에 비해 그 값이 높았다.</li> <li>• 동결 및 열풍 등의 방법에 따라 일반성분의 차이가 있었으며 동결건조를 실시한 녹용은 단백질의 함량이 높았으며, 열풍건조를 실시한 녹용은 회분의 함량이 상대적으로 높았다.</li> <li>• 동결건조를 실시한 녹용이 열풍건조를 실시한 녹용에 비해 총당함량이 높았으며 추출시간이 증가할수록 당함량이 증가하였으며 상대로 갈수록 총당함량이 증가함을 보였다.</li> <li>• 동결건조를 실시한 녹용이 열풍건조를 실시한 녹용에 비해</li> </ul> </li> </ul>
--	--

	<p>유효성분 함량이 높았으며 추출시간이 증가할수록 유효성분 함량이 증가함을 보였고 상대로 갈수록 유효성분 함량이 증가하였다.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 3차년도           <ul style="list-style-type: none"> <li>• 건조방법에 상관없이 상대로 갈수록 유효성분 함량이 높았으며 실온보관의 경우 저장기간이 길어질수록 유효성분 함량이 줄어들었으나 냉장보관의 경우 저장기간이 길어져도 유효성분 함량의 손실은 없었다.</li> <li>• 또한, 동결건조 후 냉장 보관한 녹용은 저장기간에 L, a, b 값이 크게 영향 받지 않았다.</li> <li>• 건조방법에 상관없이 냉장에서 보관한 녹용은 4개월 후에도 미생물이 검출되지 않았다. 따라서 동결건조 후 냉장에서 보관하는 것이 저장성과 상품성이 가장 높은 것으로 판명되었다.</li> </ul> </li> </ul> <p>(3) 1세부과제</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1차년도           <ul style="list-style-type: none"> <li>• 엘크 녹용의 각 부위별 조단백, 조지방, 총 당 함량, Glycosaminoglycan, uronc acid 및 sialic acid의 함량은 상대, 중대, 하대의 순으로 낮아지는 결과를 보인 반면 회분과 콜라겐의 경우 하대로 갈수록 증가하였다.</li> <li>• 녹용 효소 가수분해 추출물의 항산화 활성은 상대가 가장 높고 중대, 및 하대로 갈수록 낮아지는 결과를 보였으며, radical scavenging activity는 농도에 비례하여 증가하였다. 특히 녹용 효소 가수분해물 중 protamex와 flavourzyme 가수분해물의 항산화 활성이 우수한 것으로 나타났다.</li> </ul> </li> <li>- 2차년도           <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1차년도 결과를 토대로 수율 및 항산화활성이 가장 높은 것으로 나타난 녹용의 protamex 효소가수분해 추출물과 식물 혼합가수분해물을 이용하여 유산균 드링크제, 녹용 타정 및 녹용 양갱을 개발하였다.</li> <li>• 녹용 효소가수분해물을 소재로 하여 제조한 유산균 음료의 경우 녹용 효소가수분해물 1%, 설탕 첨가량 2% 이상이 가장 적합하였으며, 녹용 양갱의 경우 녹용 효소가수분해물을 2% 첨가한 군에서 기호도가 가장 높은 것으로 나타났다.</li> </ul> </li> <li>- 3차년도           <ul style="list-style-type: none"> <li>• 녹용 첨가량 및 가열 시간별 십전대보탕, 사물탕, 총명탕의 생리활성성분 및 항산화활성을 분석해 본 결과, 녹용의 첨가량은 경제성 등으로 고려할 때 1첩, 즉 3.75g이 가장 적절하</li> </ul> </li> </ul>
--	---

며, 녹용 부위 및 가열 시간대별로 살펴보았을 때, 녹용에 함유되어 있는 다양한 생리활성 성분의 손실을 최소화함과 동시에 항산화활성을 극대화시키기 위해서는 녹용 전 부위 혹은 상대를 첨가하여 제조하였을 경우 가열 시간은 6~8시간, 중대 및 하대 첨가 시에는 가열 시간이 8~12시간 정도가 적합한 것으로 사료된다.

#### (4) 3협동과제

##### - 1차년도

- 국산 녹용 상대 · 중대 · 하대 및 뉴질랜드산 녹용 상대는 인간 골육종 세포인 MG-63 세포에서 세포 증식능을 보였다. 또한 국산 녹용 상대 · 중대 및 뉴질랜드 녹용 상대에서의 Calcium 침착 증가 및 국산 상대에서의 Collagen 발현 증대와 ALP 유전자 증대 효과를 확인할 수 있었다.
- 성장기 흰쥐에 대한 녹용의 효능을 평가한 결과, 녹용 시료를 투여한 모든 실험군에서 장골 및 성장판 길이 증가, BMP-2의 발현이 증가하는 경향성을 확인하였다.
- 피부 관련 인자인 Elastase 분비에 대한 효능을 평가한 결과 국산 녹용 상대 및 뉴질랜드 녹용 상대를 투여한 실험군에서 통계적으로 유의한 Elastase 활성 억제 효과를 확인할 수 있었다.
- 녹용 가공 시료의 대식 세포에 대한 증식 효능, NO 발현 억제에 대한 효능, 조골 세포에 대한 증식 효능을 평가한 결과 에탄올 추출물을 비롯한 몇몇 처리군에서 유효한 효능이 관찰되었다.

##### - 2차년도

- 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Bone alkaline phosphatase (BALP), C-terminal telopeptide (CTX), Tartrate-resistant acid phosphatase-5b (TRACP 5b) 발현에 대한 효과를 확인한 결과 녹용을 투여한 실험군에서 난소적 출 실험군에 비하여 유의한 억제 효과를 나타내었다.
- 녹용의 비장세포 및 골수세포, 대식세포 증식 대한 효능을 평가한 결과 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 세포 생존률이 증가하는 경향을 나타내었다.
- 녹용의 대식세포에서의 식균작용에 대한 효능을 평가한 결과 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 식균작용이 증가하는 경향을 나타내었다.

##### - 3차년도

- 수영법을 이용하여 녹용의 지구력 증진에 대한 효능을 평가

	<p>한 결과, 녹용 투여군 모두에서 대조군에 비해 유의성 있는 지구력 증진 효과가 있음을 확인할 수 있었다.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 녹용 처리에 따른 혈중 Lactic acid 함량을 확인한 결과, 분골 및 상대 투여군과 뉴질랜드산 상대 투여군의 경우 대조군에 비하여 3배 정도 오랜 시간 강제수영을 했음에도 불구하고 대조군과의 젖산 함량에 큰 차이가 없거나 오히려 유의성 있게 감소하였다.</li> <li>• 녹용의 자유기애 대한 항산화 효과를 확인한 결과 모든 군에서 5-10%의 free radical 소거능을 나타내었다.</li> <li>• 부위별 녹용 시료의 COX2, iNOS 발현 억제 평가 결과 국산 분골, 상대 및 중대 투여군에서 COX2의 발현량이 통계적으로 유의하게 감소하였다. iNOS의 발현량을 확인한 결과 대조군에 비해 모든 시료 투여군이 통계적으로 유의하게 iNOS를 감소시켰다.</li> <li>• 녹용 투여에 따른 IL-1 beta 및 IL-6 분비 양상을 확인한 결과 국산 분골 및 상대와 뉴질랜드 상대 투여군은 통계적으로 유의하게 IL-1 beta과 IL-6의 분비량을 감소시켰다.</li> </ul>				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 녹용의 식품소재화를 위한 최적 절각시기 설정</li> <li>- 녹용의 절각시기, 부위별 생산량 및 이화학적 특성 규명</li> <li>- 녹용의 품질 특성을 규명하고 식품소재로서의 품질 가치 확립</li> <li>- 녹용의 식품 소재화를 위한 표준 제시</li> <li>- 녹용의 식품 소재화를 위생적인 세척 및 살균 가능</li> <li>- 진공팩을 이용한 손쉬운 포장 및 노동력 절감</li> <li>- 녹용의 가공기술 촉진으로 국내녹용 소비 활성화 기대</li> <li>- 건강 기능성 식품화 및 기능성 원료로 활용 가능</li> <li>- 녹용을 이용한 신규 기능성 식품 상품화</li> <li>- 개별인정형 건강기능식품으로 제품화</li> <li>- 녹용 유래 기능성 물질을 바이오 의약품 소재로 활용</li> <li>- 녹용 유래 녹용의 수용성 (water-soluble), 알콜가용성 (alcohol-soluble), 지용성(fat-soluble) 성분을 바이오 의약품 소재로 활용</li> <li>- 기능성식품산업 진입의 발판 마련</li> <li>- 기능성 바이오 소재로의 제품화 기술 향상</li> <li>- 보신식품의 과학화 및 녹용제품 개발 기술력 확보</li> <li>- 녹용 관련 제품의 국가경쟁력 확보</li> </ul>				
중심어 (5개 이내)	녹용	품질기준	제품화	가공기술	기능성

## 〈 Summary 〉

Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Purpose: This study is to suggest a way to activate antler consumption by establishing optimal cutting time and quality standard for food materialization of velvet antlers. This study also was conducted to provide useful information to allow improved scientific assessment of velvet antler's quality by investigating the change of chemical composition and biological substances during different antler growth stages. We also studied on the development of the food processing technology for the velvet antler using velvet antler enzymatic hydrolysates and investigated the quality characteristics of functional foods.</li> <li>○ Contents <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1st year <ul style="list-style-type: none"> <li>• Investigate biological substances and free radical scavenging activities of velvet antler enzymatic hydrolysates</li> <li>• Investigate velvet antler production and physiochemical property by elk's growth stages</li> <li>• Efficacy evaluation of VA for bone growth, collagen production and skin aesthetics</li> </ul> </li> <li>- 2nd year <ul style="list-style-type: none"> <li>• Development of functional foods using velvet antler enzymatic hydrolysates</li> <li>• Investigate antler production and physiochemical property by sika deer's growth stages</li> <li>• Efficacy evaluation of VA for osteoporosis and immune function</li> </ul> </li> <li>- 3rd year <ul style="list-style-type: none"> <li>• Synergistic effects of the combination of velvet antler and medicinal plants</li> <li>• Establish the method of antler cleaning, fur elimination and velvet antler storage</li> <li>• Investigate active ingredient of elk's antlers by cutting time</li> <li>• Efficacy evaluation of VA for endurance enhancement and immune function</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>
Results	<p>(1) Cooperative-project 1</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• When the cutting time of elk's antlers was 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92 and 99 day, antler production was 3,838, 4,413, 5,363, 5,788, 7,713, 10,013, 12,275 and 15,100g each. It</li> </ul>

	<p>shows that as elk's growing days increase, antler production increases, too.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• When the cutting time of deer's antlers was 50, 55, 60, 65, 70, 75, and 80 day, antler yields was 685, 910, 1,206, 1,364, 1,619, 1,780 and 2,142g.</li><li>• If the cutting time of antlers is delayed, the antlers become low in protein and fat and high in crude ash.</li><li>• As cutting time is delayed, the content of upper part and the third branch of an antler increases.</li><li>• Antlers are cleaned using a high pressure cleaning machine and sterilized apart from 60cm to prevent antlers from ripening.</li><li>• Antlers are cleaned using a steam cleaning machine and sterilized apart from 15-20cm to prevent antlers from ripening.</li><li>• Antlers are vacuum-packed in plastic bags.</li></ul> <p>(2) Cooperative-project 2</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- The 1<sup>st</sup> year<ul style="list-style-type: none"><li>• Antler blood was expanded evenly using plastic wrap and rubber band.</li><li>• When the cut face was directed upward at an angle of about 15°, antler blood was expanded evenly.</li><li>• After ripening at 0°C for 8 hours, switch direction up and down, then aged at the same temperature for 8 hours to equalize the antler blood expansion, aged at 4°C for 4 hours more, then aged at - 20°C for 24 hours.</li><li>• After washing using an epilator, iron brush, detergent, so that detergent will not remain, the deer mattress exposed the nude skin and marked a much brighter color than before washing.</li></ul></li><li>- The 2<sup>nd</sup> year<ul style="list-style-type: none"><li>• The color values were different according to the drying method. The lightness value (L) was lower in the freeze drying than in the hot - air drying, and the a value in red was higher than that in the hot - air drying in the freeze drying. The b value of yellow was higher than that of freeze drying.</li><li>• Freeze-drying and hot-air drying showed the difference in</li></ul></li></ul>
--	---

	<p>approximate components. Frozen - dried antler had higher protein content and hot-air dried antler possessed higher ash content.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Total sugar content of freeze-dried antler was higher than that of hot-air dried antler, and total sugar content was increased with increasing extraction time and upper site.</li><li>• The biological active ingredient content of the freeze-dried antler was higher than that of the hot-air dried antler, and the biological active ingredient content was increased with increasing extraction time and upper site.</li></ul> <p>- The 3<sup>rd</sup> year</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Regardless of the drying method, the biological active ingredient content was higher with upper site. In case of storage at room temperature, the content of biological active ingredient decreased with longer storage period.</li><li>• In addition, L, a, and b values were not significantly influenced by storage period of refrigerated storage after frozen - dried antler.</li><li>• Regardless of the drying method, antler stored in the refrigerator had no microorganisms detected after 4 months. Therefore, it was found that storage in refrigeration after lyophilization was the highest in storage and commerciality.</li></ul>
--	---

- Based on the results of the 1<sup>st</sup> year, we developed the functional foods including yogurt, tablets and Yanggaeng using velvet antler protamex hydrolysate and then investigated the quality characteristics.
  - In this study, 1% in the yogurt and 2% in the Yanggaeng should be recommended as a optimum level of velvet antler protamex hydrolysate for improvement of the quality.
    - The 3<sup>rd</sup> year
  - The contents of uronic acid, sialic acid and total carbohydrate were the highest in the termamyl, ultroflo and protamex hydrolysates of the upper section. And the highest in the upper, middle of chongmyung-tang, middle of sipjeondaebotang, glycosaminoglycan content of the viscozyme hydrolysate was significantly higher in the upper section than in the base section.
  - DPPH radical scavenging activity of flavourzyme hydrolysate, middle section of samul-tang at the concentration inhibiting 50% of free radical generation ( $IC_{50}$ ) were 0.58 mL/L, 0.12 mL/L. The  $IC_{50}$  value against alkyl radical scavenging activities of ultroflo, flavourzyme hydrolysates were 0.80mL/L, 0.96mL/L, respectively.
  - These results suggested that the quality of velvet antler may be influenced by several enzymatic hydrolysates and three parts of velvet antler.
- (4) Cooperative-project 3
- The 1st year
  - Korean velvet antler(upper, medium, bottom) and New Zealand velvet antler(upper) showed cell proliferating ability in human osteosarcoma cell, MG-63. In addition, Korean velvet antler(upper, medium) and New Zealand velvet antler(upper) increased deposition of Calcium. Korean velvet antler(upper) increased gene expression of collagen and ALP.
  - Not only the length of iliac bone and physeal plate but also the expression of BMP-2 increased in all velvet antler intake rats on the growing state.
  - Korean valvet antler(upper) and New Zealand velvet

	<p>antler(upper) decreased elastase activity which is a skin related factor.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Several velvet antler processed samples including ethanol treatment extracts showed not only efficacy on NO inhibition but also proliferative effect on macrophages and osteoblasts.</li> </ul> <p>- The 2nd year</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Velvet antler showed the expression inhibitory effect of bone alkaline phosphatase (BALP), C-terminal telopeptide (CTX) and tartrate-resistant acid phosphatase-5b (TRACP 5b) in ovariectomy rats which were velvet antler intake.</li> <li>Velvet antler showed proliferative effect on splenocytes, macrophages and osteoblasts.</li> <li>The phagocytosis of macrophages increased depending on concentration of velvet antler treatment.</li> </ul> <p>- The 3rd year</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Evaluation of endurance using swimming method showed that endurance enhancement effect was significantly higher in all velvet antler intake groups compared to control group.</li> <li>Compared with the control group, there was no significant difference in the lactic acid content of the velvet antler intake group, even though the forced swimming time was longer than 3 times.</li> <li>All velvet antler treatment groups showed 5 ~ 10% free radical scavenging ability.</li> <li>The expressions of COX2 and iNOS were significantly decreased in Korean velvet antler(tip, upper, middle) groups.</li> <li>Korean valvet antler(upper) and New Zealand velvet antler(upper) decreased secretion of IL-1 beta and IL-6.</li> </ul>
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> <li>Establish optimal cutting time for food materialization of antlers</li> <li>Investigate cutting time, production per part and physiochemical property of antlers</li> <li>Investigate the quality characteristic of antlers and settle its quality value as food materials</li> <li>Offer a standard for antlers' food materialization</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Be capable of hygienic cleaning and sterilization of antlers</li> <li>• Pack antlers easily with vacuum-pack and reduce manpower</li> <li>• Expect to boost domestic antler consumption through improving antler processing techniques</li> <li>• Velvet antler may be the useful radical scavenger and a potential supplement for the food, pharmaceutical and cosmetic industries as well as feed and/or antibiotics because of its potent antioxidant capacities against various reactive radicals.</li> <li>• Velvet antler may have potential as an anti-aging ingredient in cosmetic markets. And it could be used as source of functional food.</li> </ul>				
Keywords	Velvet antler	Quality standardization	Commercialization	Processing technology	Functionalit y

## 〈 목 차 〉

제 1 장 연구개발과제의개요 .....	18
제 1 절 연구 개발 목적 .....	18
제 2 절 연구 개발의 필요성 .....	18
제 3 절 연구 개발 범위 .....	22
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	24
제 1 절 국내 연구 현황 .....	24
제 2 절 국외 연구 현황 .....	25
제 3 절 국내외 연구현황 비교 및 필요 연구 분야 .....	27
제 3 장 연구수행 내용 및 결과 .....	34
제 1 절 연구개발 수행 내용 .....	34
제 2 절 연구개발 수행 결과 .....	59
제 4 장 목표달성을 및 관련분야에의 기여도 .....	189
제 1 절 목표대비 달성도 .....	189
제 2 절 정량적 성과 .....	193
제 5 장 연구결과의 활용계획 등 .....	200
제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	200
제 7 장 연구개발성과의 보안등급 .....	201
제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록한 연구시설 · 장비현황 ..	201
제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적 ..	201
제 10장 연구개발과제의 대표적 연구실적 .....	202
제 11장 기타사항 .....	205
제 12장 참고문헌 .....	208

# 제 1 장 연구 개발 과제의 개요

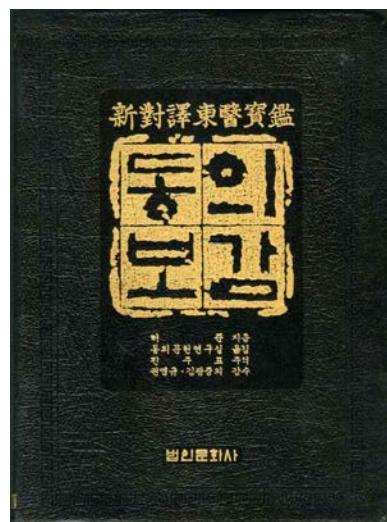
## 제1절 연구 개발 목적

본 연구과제의 목표는 국산 녹용의 소비 활성화를 위해 ① 녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정 ② 최적의 녹용 원료 생산을 위한 녹용 수확 후 관리기술 확립 ③ 녹용 제품화를 위한 가공 기술의 개발 및 ④ 원료 녹용 및 녹용제품에 대한 효능 구명을 통해 녹용의 소비를 활성화할 수 있는 방안을 마련하고자 한다. 이를 위해 본 연구개발의 제 1협동 과제에서는 식품소재화를 위한 생녹용의 보관방법 확립, 제 2협동과제는 녹용의 저장 및 유통 방법 결정, 제 1세부과제는 녹용 이외의 첨가제의 상승효과 구명 (십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등), 제 3협동과제에서는 녹용의 지구력 증진, 항산화 및 항염증에 대한 효능을 평가하였다.

## 제2절 연구 개발의 필요성

녹용(鹿茸)이란 매화록(梅花鹿) *Cervus nippon* Temminck, 마록(馬鹿) *Cervus elaphus* Linn 또는 대록(大鹿) *Cervus canadensis* Erxleben (사슴과 Cervidae)의 솟사슴의 털이 밀생되고 아직 골질화 되지 않았거나 약간 골질화된 어린 뿔을 자른 다음 말린 것으로 정의하고 있다 (대한약전외한약(생약)규격집). 녹용은 예로부터 간의 기능을 회복시키고, 대하, 하열, 간질에 좋으며 기운을 돋우고 의지를 강하게 하며 치아가 빨리 나오게 한다고 하여 보양식품으로 널리 이용되어져 왔다 (신농본초경).

동의보감에 따르면 녹용은 독이 없으며 허로로 몸이 여위는 것과 팔다리와 허리, 등뼈가 시리고 아픈 것을 치료하며 신기(腎氣)가 허랭하고 다리와 무릎에 힘이 없는 것을 보한다고 되어 있다.



通。○ 尿及尿以白馬爲良。『本草』○  
煎湯服。治暑病最佳。『俗方』

통(馬通)이라고 한다. ○ 똥과 오줌은 백마의 것이 좋다. 「본초」 ○ 달여서 먹으면 더위먹은 병을 치료하는 데는 가장 좋다. 「속방」

■ 諸傷門 馬驢驛咬踢傷.

• 鹿茸 ○ 사슴의 굳내민茸。性溫，味甘酸。一云苦辛，無毒。療虛勞羸瘦，四肢腰脊痠疼，補男子腎虛冷，脚膝無力，夜夢鬼交泄精，女人崩中漏血及赤白帶下，能安胎。『本草』○ 五月，角初生時取其茸，火乾，以形如小茄子者爲上。或云茄子草太嫩，血氣未具，不若分岐如馬鞍形者有力。『本草』○ 塗酥，火燎去毛，微灸入藥。『本草』○ 不可以鼻嗅，其茸中有小虫，入鼻害人。『本草』

349. 녹용(鹿茸, 시슴뿔) ○ 성질은 따뜻하고, 맛은 달면서 시고, 일설에는 쓰면서 맵다고 하였다. 독은 없다. 허로(虛勞)로 몸이 여위는 것과 팔다리와 허리·등뼈가 시큰거리고 아픈 것을 치료하며, 남자가 신기(腎氣)가 허랭(虛冷)하고 다리와 무릎에 힘이 없는 것을 보하고 몽설을 치료하며, 여인들이 냉으로 피를 쏟는 것과 적백대화를 치료하며 안태(安胎)시킨다. 「본초」 ○ 음력 5월에 뿔이 갓 돋아서 굳어지지 않은 것을 잘라 불에 그슬려 말리서 쓰는데, 생김새가 작은 가지처럼 된 것이 제일 좋다. 흑자는 가지처럼 된 녹용은 너무 연하고 혈기(血氣)가 온전히 갖추어지지 못하여 말안장처럼 가지가 갈라진 것보다 약기운이 못하다고 한다. 「본초」 ○ 젖기름을 발라 불에 그슬려 솜털을 없애고 약간 구워서 약으로 쓴다. 「본초」 ○ 코로 냄새를 맡아서는 안되는데, 그것은 녹용 가운데 작은 별레가 있어서 그것이 코로 들어가면 해롭기 때문이다. 「본초」

■ 虛勞門, 곤진단(拱辰丹, 삼38), 귀용원(歸葺元), 러시아산, 뉴질랜드산, 중국산, 국산(生)을 흔히 쓴다. 양기로 치자면 추운 지방에서도 머리에 뿔이 나오고 피가 울려가는 배를 취하여 추운 지방의 것을 우선으로 치고, 상대 부분을 우선으로 친다. 상대 부분에는 교원질이 많고(따로이 분골이라 한다), 하대 부분에는 칼슘염이 많이 포함되어 있다.

• 角 ○ 性溫，味鹹，無毒。主癰疽瘡腫，除惡血，除中惡心腹症痛。又治折傷腰脊痛。『本草』○ 麋壽千歲。五

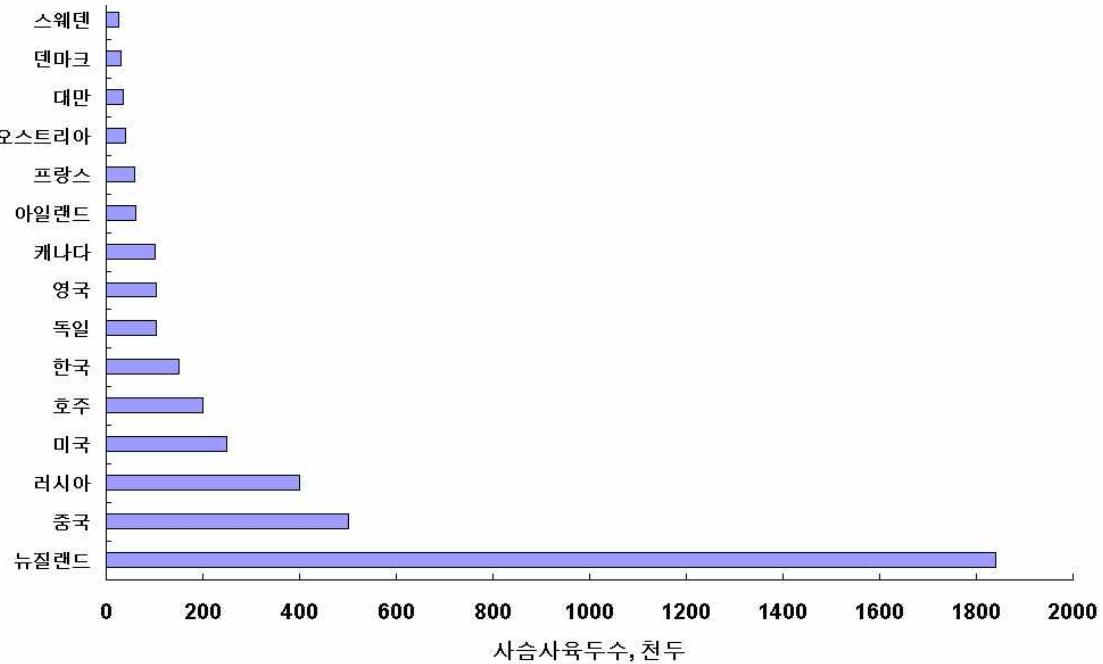
350. 녹각(鹿角, 사슴뿔) ○ 성질은 따뜻하고, 맛은 짜며, 독은 없다. 옹저(癰疽)·창종(瘡腫)을 치료하고, 악혈(惡血)을 없애주며, 중악(中惡)과 주병(主病)으로 가슴과 배가 아픈 것을 없애준다. 또한 뼈가 부러져서 생긴 상치나 허리나 등뼈가

《동의보감 (법인문화사)에 언급된 녹용의 내용 및 사슴 (산청)》

최근 연구에 따르면 녹용의 추출물은 발육촉진 작용 및 강장작용을 가지고 있으며 혈장 중 testosterone의 수치를 높이고 간과 신장에서의 단백질 합성을 촉진시킨다고 알려져 있으며, 또한 조혈작용 및 강심작용, 면역증강작용 등의 효능도 가지고 있다고 알려져 있다.

한편 콜라겐은 녹용을 구성하고 있는 대표적인 성분 중 하나로써 인체의 1/3을 구성하고 있는 단백질 성분으로, 콜라겐은 뼈와 관절의 질환에 예방 및 치료 효과가 뚜렷하다고 알려져 있으며, 피부의 보습 및 탄력 유지에도 뛰어난 효과를 가지고 있다고 연구되어 있다. 그러나 녹용에 함유되어 있는 콜라겐에 대한 효능 검증 및 제품화는 아직 초기단계에 있다. 따라서 녹용 유래 콜라겐을 이용해 주름 예방 기능성을 가진 고부가가치 제품 개발 가능성이 크다고 사료된다.

각 국가별 사슴사육두수는 뉴질랜드에서 약 1,840,000 마리로 가장 많으며, 우리나라는 중국, 러시아, 미국, 호주에 이어 6번째로 많은 사육두수를 나타내고 있다.



《각 국가별 사슴 사육두수》

또한 전 세계에서 유통되는 녹용의 시장규모는 약 10억불이상의 규모로 추정되고 있으며, 이 중 85%를 한국에서 수입하고 있을 정도로 세계시장에서 한국의 녹용시장은 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 그러나 국산 녹용은 기능성이 매우 우수함에도 불구하고 세계시장에서의 점유율이 낮은데, 이의 원인으로는 다양한 가공 상품의 부재 뿐 아니라 녹용의 기능성을 구명한 데이터의 미비에 있다.

국내 양록산업은 저비용, 저노동력, 친환경 및 고소득의 산업적 특징을 가지고 있어 1988년 37,104두에서 2006년에는 110,158두의 사슴 사육으로 약 4배 증가되었으나, 최근 수입개방으로 인한 사슴가격하락, 녹용 판매부진 및 밀수 저질 녹용의 시장 잡식 등으로 인해 2010년에는 64,926두로 국내 양록산업이 감소하는 추세이다(한국양록협회).

또한 국내에서 녹용은 식품공전에 식품의 부원료로 분류되어 있어, 제품제조 시 50% 이상 사용을 할 수 없도록 되어 있고, 또한 대부분이 한약재로 소비되고 있어 소비자가 녹용을 쉽게 구매하여 소비하는데 한계가 있다. 따라서 국내 녹용산업을 지속적으로 성장시키기 위해서는 국산 녹용에 대한 소비자의 접근성 및 선택성을 확대해야 할 필요가 있다.

한편 녹용의 수확시기는 5~8월로 한정되어 있고 이렇게 수확된 녹용의 대부분은 단순히 절편 후 냉동보관하여 생녹용으로 판매되거나 상온, 열풍 또는 냉풍으로 건조하여 판매되고 있어 유통과정 중 변질되거나 약효가 저하되는 등의 문제가 많다. 따라서 저장 및 유통기간을 연장하는 동시에 제조과정 중 녹용의 유효물질 손실을 최소화하면서 기능성을 극대화시키기 위해서는 녹용의 수확 후 저장방법 및 원료화를 위한 처리 조건 설정이 절실하다.



《국내산 녹용과 생녹용》

국외의 경우 녹용 및 사슴 유래 자원을 활용한 다양한 고부가가치 제품이 출시되어 소비자의 접근성 및 선택성이 높다. 따라서 우리나라도 차별화된 녹용 및 사슴 유래 자원을 이용한 다양한 고부가가치 제품을 개발하여 국산 녹용의 소비를 증가시키고 또한 이를 세계 각국으로 수출하고자 하는 노력이 절실하다. 또한, 우리나라는 단순한 녹용수입국이 아니고 가공된 녹용을 유럽과 북미로 역수출하는 나라이로 발전하고 있어 다양한 유효성분을 함유하는 다양한 종류의 기능성 제품을 개발해야 할 필요가 있다.

현재 녹용제품의 경우 일반가정에서는 주로 녹용젤리 형태로 소비되거나 한약재와 혼합, 중탕하여 이용되고 있으며, 이러한 형태로 소비되는 녹용시장의 규모는 약 1,000억 원대에 이르는 것으로 추정되고 있다 (한국축산연감, 2008). 녹혈의 경우는 양록농가의 주요 수입원에서 소비자에 대한 서비스 차원에서 제공되는 수준으로 전락했으며, 2003년부터 녹육의 유통이 가능해졌으나 아직까지 소비기반이 조성되지 않고 있다. 국외의 경우 녹용 및 사슴 유래 자원을 활용한 다양한 고부가가치 제품이 출시되고 있음에 따라 우리나라도 녹용 및 사슴 유래 자원의 가공 및 제품 개발 기술을 향상시켜 차별화된 시장을 형성해야만 하는 상황이며 사슴 유래 자원을 이용한 다양한 고부가가치 제품의 개발이 절실한 실정이다.

한편, 국산 녹용은 기능성이 매우 우수함에도 불구하고 세계시장에서의 점유율이 낮을 뿐 아니라 현재 유통되는 녹용가공품의 경우에도 인지도가 낮고 그 우수성이 알려지지 않고 있는데, 이의 원인으로는 다양한 기능성 상품의 부재 뿐 아니라 과학적인 기능성 관련 데이터의 미비에 있다.

국내의 양목연구는 주로 녹용의 효능 연구를 위한 성분 분석 조사를 시작으로 단순 건강 기능식품 개발에 대한 연구가 주를 이루고 있다. 그러나 녹용은 collagen, gangliosides, glycosaminoglycans, lecithin, acidic polysaccharide, glucosamine, phospholipids, IGF-I, polyamine, prostaglandins, proteoglycan 등의 생리활성성분을 함유하고 있으며, 이들은 골다공증 예방과 치료, 항궤양작용, 관절연골 유지 및 재생, 혈압강하작용, 노화방지 효과, 어린이 성장발육 촉진, 면역계의 항보체 활성, 기억과 학습능력 증진 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있어 과학적, 체계적인 녹용의 효능 구명이 절실하다.

따라서 국내 녹용산업을 지속적으로 성장시키기 위한 방안으로 한약재 및 건강식품 산업과 함께 특히 최근 대체의학의 발전과 건강에 대한 국민적 관심 증가시켜 녹용산업의 확장을 가속화시켜야 할 필요가 있다.

### 제3절 연구 개발 범위

연차	세부과제	목 표
1차년도 (2014년)	1협동과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 엘크 사슴 녹용의 성장 단계별 부위별 특성 및 성분 변화 구명           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 성장단계별 (낙각후 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92, 99)</li> <li>- 녹용의 부위별 생산량 및 이화학적 특성 조사</li> </ul> </li> </ul>
	2협동과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 절단된 녹용의 전처리 및 녹혈 확장/고착 방법 결정           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 녹용 절단 후 멸균 및 세정 방법 결정               <ul style="list-style-type: none"> <li>* 알콜 농도별 멸균 및 세정율 측정</li> <li>* 열처리 온도별 멸균 및 세정율 측정</li> </ul> </li> <li>- 녹혈 확장을 위한 온도 설정</li> <li>- 녹혈 확장을 위한 녹용 방치 방향 설정</li> <li>- 녹혈 확장을 위한 기간 설정</li> <li>- 확장된 녹혈을 고착하기 위한 주변 장치 설정</li> <li>- 확장된 녹혈을 고착하기 위한 온도 설정</li> <li>- 확장된 녹혈을 고착하기 위한 기간 설정</li> </ul> </li> </ul>
2차년도 (2015년)	1세부과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 녹용 제품화를 위한 녹용소재 개발 및 부재료의 배합비율 결정           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 녹용을 이용한 식품소재 (녹용 분말 및 녹용 농축액)의 제조</li> <li>- 녹용 가공 소재별 (녹용 분말 및 녹용 농축액) 일반 성분 및 유효성분 분석</li> <li>- 녹용 가공 소재별 (녹용 분말 및 녹용 농축액) 항산화능 분석 : DPPH, Hydroxyl, alkyl 및 superoxide radical 소거능</li> <li>- 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킬 수 있는 최적의 녹용 소재제형 및 기능성 향상을 위한 부원료 배합비율 확립</li> </ul> </li> </ul>
	3협동과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 녹용의 골성장에 대한 효능 평가           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 녹용 시료의 인간 골육종 세포에서의 골생성 효과 검증</li> <li>- 녹용 시료의 파골세포에서의 골재흡수 효과 검증</li> <li>- 성장기 흰쥐에서의 녹용 섭취에 따른 골 성장 효과 검증</li> </ul> </li> <li>• 녹용의 콜라겐 생성 및 피부 미용에 대한 효능 평가           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 엘라스타제 및 콜라게나제 등 피부주름개선 인자들에 대한 녹용의 효과 검증</li> </ul> </li> </ul>
2차년도 (2015년)	1협동과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 꽃사슴 녹용의 성장 단계별 부위별 특성 및 성분 변화 구명           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 성장단계별 (낙각후 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70)</li> <li>- 녹용의 부위별 생산량 및 이화학적 특성 조사</li> </ul> </li> </ul>
	2협동과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 녹용의 건조 방법 결정           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 녹용의 건조 온도 설정</li> <li>- 건조 온도에 따른 유효성분, 외관상태, 이취 분석</li> <li>- 녹용의 건조 기간 설정</li> <li>- 건조 기간에 따른 유효성분, 외관상태, 이취 분석</li> </ul> </li> </ul>

	1세부과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 식품 제형별 녹용 가공 제품 개발 (추출액, 드링크제, 젤편, 캡슐, 캔디, 과립 등)             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 이화학적 특성 : 당도, pH, 산도, 수분, 색도, 조직감, 녹용의 유효성분 함량 등</li> <li>- 관능평가 : 기호도 검사 (외관, 향, 맛, 조직감, 전체적인 기호도, 구입의향 등)</li> <li>- 식품제형별 녹용 가공제품 시제품 생산 및 공정 표준화</li> </ul> </li> </ul>
	3협동과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 녹용의 골다공증에 대한 효능 평가             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 난소 세포 훈련에서의 녹용 섭취에 의한 골다공증 치료 효과 검증</li> </ul> </li> <li>• 녹용의 면역 기능에 대한 효능 평가             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 비장 세포 배양에 녹용 시료 투여가 면역력 증진에 미치는 영향</li> <li>- 녹용 시료 투여에 의한 골수세포의 조혈 기능 평가</li> <li>- 대식세포에서의 녹용의 세포 증식 및 식세포 기능에 대한 효능 평가</li> </ul> </li> </ul>
	1협동과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 식품소재화를 위한 생녹용의 보관방법 확립             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 녹용의 세척 및 털제거 방법 확립</li> <li>- 생녹용의 보관방법별 성분변화 조사</li> </ul> </li> </ul>
	2협동과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 녹용의 저장 및 유통 방법 결정             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 건조된 녹용의 저장 방법 설정</li> <li>- 저장 방법에 따른 유효성분, 외관상태, 이취 분석</li> <li>- 건조된 녹용의 저장 온도 설정</li> <li>- 저장 온도에 따른 유효성분, 외관상태, 이취 분석</li> <li>- 건조된 녹용의 유통 방법 및 유통 기간 확립</li> </ul> </li> </ul>
3차년도 (2016년)	1세부과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 녹용 이외의 첨가제의 상승효과 구명 (십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등)             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 시 첨가되는 한약재의 종류 및 배합비 결정</li> <li>- 녹용 첨가량, 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 유효 성분 함량 분석</li> <li>- 녹용 첨가량, 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 항산화 활성 분석</li> <li>- 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킴과 동시에 기능성이 향상된 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 기술 개발 및 표준화 방안 제시</li> </ul> </li> </ul>
	3협동과제	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 녹용의 지구력 증진에 대한 효능 평가             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 수영법을 이용하여 녹용의 지구력 증진 효과 검증</li> <li>- 녹용 처리에 따른 지구력 및 근육 성장 관련 인자 (IGF-1 등) 확인</li> </ul> </li> <li>• 녹용의 항산화 및 항염증에 대한 효능 평가             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 비만세포에서의 녹용 투여에 따른 사이토 카인 분비 양상 확인</li> <li>- 녹용 투여에 따른 히스타민 분비 조절 등 면역 조절 기능 평가</li> </ul> </li> </ul>

		- 녹용의 자유기에 대한 항산화 효과 검증
최종	1협동과제	녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정
	2협동과제	녹용의 수확 후 관리기술 개발
	1세부과제	녹용 제품화를 위한 가공 기술 개발
	3협동과제	원료 녹용 및 녹용 제품에 대한 효능 구명

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제1절 국내 연구 현황

일반적으로 국내 녹용은 채취 후 소정의 두께로 절각하여 생녹용 또는 적당한 방법으로 건조시켜 저장 및 유통하면서 약재로 이용하고 있다. 국내에서는 녹용의 건조를 가내수공업적인 방법, 즉 녹용을 상온, 열풍 또는 냉풍으로 건조하는 등의 방법으로 수행하여 건조공정에서 약 30여일 정도의 오랜 시간을 소요하기 때문에 녹용의 영양소가 자연파괴되어 약효가 저하되고 변질 또는 부패의 위험이 클 뿐만 아니라, 장시간 건조를 거친 녹용은 건조효율이 높아 녹용 내 수분이 전혀 없는 부스러기 상태가 되는 것이 많이 발생하여 유통 시에 녹용의 변형으로 인하여 상품가치를 떨어뜨리게 된다. 이에 열풍 또는 냉풍건조가 아닌 급속동결을 이용한 박판녹용의 제조방법이 연구되었으나 급속동결 후 서서히 동결온도를 높여가며 동결진공건조한 것에 불과하고, 동결건조에 필요한 생녹용의 전처리 과정이나 동결건조 조건들이 최적화되어 있지 않은 실정이다. 또한 이 방법은 전지의 녹용을 급냉동 한 후 다시 0°C까지 서서히 해빙하여 이를 박판으로 절단하는 것이기 때문에 서냉으로 인하여 녹용의 내부까지 해빙하게 되며, 이 상태에서 절단을 실시하게 되면 녹용의 피부가 박탈되거나 밀리면서 파괴되어 양호한 품질의 절편을 얻기가 곤란하다는 문제점이 있다. 그 외, 스팀멸균 후 진공건조, 액체질소 급속동결건조, 해빙-급냉 혼합건조 등의 방법 등이 있으나 최적조건 및 조건별 원료화 효율 분석이 이루어지지 않았고 절차가 복잡하며 건조기간이 길고 고비용이라는 단점이 있다.

한편, 건조한 녹용은 통상 밀폐용기나 포장지에 보존하는 방법을 사용하고 있어 보존시 외부 공기와의 접촉으로 인한 변질이나 부스러지는 문제점이 있으므로 녹용의 유효성분과 상품가치를 최대한 보존할 수 있는 저비용 고효율의 원료화 처리 조건 및 보존방법 확립이 시급한 실정이다.

국내의 경우 현재 대부분의 녹용 관련 제품은 녹용과 다양한 한약재가 혼재된 형태로 열수 추출하는 형태의 가공제품으로 70% 정도가 건강기능식품 또는 건강기능식품 보조제 형태로 가공되고 있으며 대부분 파우치형태로 담아 판매되고 있다. 또한 국내 녹용 제품은 원재료부터 녹용음료, 화장품 그리고 한약재 까지 매우 다양하며, 정확한 종류 및 수량의 파악이 어려우나 대부분의 제품은 과학적 검증 없이 한방에서 효능이 알려진 한약재를 섞거나 기능성으로 인정된 기준 식품소재를 이용하여 제조된 경우가 대부분이다.

국산 녹용의 기능성이 우수하여 새로운 제품개발시도는 하고 있으나 마땅히 식품소재로

이용하고 있는 실정은 아니며, 이를 이용한 개발된 식품은 전무한 실정이다. 최근 녹용을 활용한 가공제품 중에서 건강보조식품류 다음의 위치를 차지하고 있는 것은 화장품 및 생활용품으로 녹용 및 녹용추출물이 함유된 화장품은 LG생활건강과 소망화장품에서 다양한 형태의 화장품이 출시되고 있다.

현재 전세계에서 가장 많은 사슴 사육과 녹용을 생산하고 있는 뉴질랜드의 경우 자국 내 양육산업 발전과 육성을 위해 사슴과 녹용에 대한 효능에 대한 연구와 다양한 제품 등을 개발하고 있으나 녹용 종주국이라 할 수 있는 우리나라에서는 지금까지 많은 연구노력에도 불구하고 과감한 연구투자 부족으로 인하여 많은 부분에서 선진국에 비해 낙후되어 있는 실정이다. 최근 광동제약, 보령제약, 한국인삼공사 등의 국내 굴지의 기업에서 녹용 특화 제품을 출시하고자 연구개발에 많은 노력을 기울이고 있는 것으로 알려져 있으나 더욱 적극적인 연구활동이 요구되고 있다. 뿐만 아니라 녹용 생산을 위한 사양기술 위주의 초보단계 수준이며, 식품 소재화를 위한 최적의 수확시기 등의 연구는 여전히 미미한 실정이다.

녹용은 오래전부터 동양의학에서 강정, 강장의 목적과 많은 병의 치료제로 이용되어 왔다. 특히 녹용은 강장작용, 생장발육촉진작용, 심부전증 치료작용, 콜레스테롤저하작용, 신경쇠약치료작용, 조혈작용, 면역활성증가 등 다양한 효능이 있는 것으로 보고되고 있다. 녹용에 대한 국내 보고들을 보면 녹용이 돌물의 발육에 미치는 효과연구(Bae, 1975, 1976), 녹용의 약효성분에 관한 연구(kim et al., 1975, 1976, 1977), 녹용중의 당 함유물질과 강글리오사이드의 분리와 분석(Han et al., 1994), 산지별로 녹용의 성분을 분석한 연구(Shin et al., 1999, Hong. et al., 1993, Ahn. 1994), 녹용을 발효시켜서 생리활성 물질의 변화를 조사한 연구들이 보고되어지고 있다 (Kim et al., 1994). 최근 녹용 소비량은 전 세계적으로 증가하여 소비자들은 녹용의화학 성분 및 품질에 관심이 증가하고 있는 실정이며, (Jeon and Moon, 2006) 몇몇 연구는 녹용 뿐의 품질이 부분적으로 나이, 성장 단계, 사료 공급 조건 및 사료 영양 수준에 달려있다고 보고하고 있다 (Ha et al., 2003; Moon et al., 2004).

## 제2절 국외 연구 현황

사슴의 뿐은 동물의 뿐 중에서 독특하게 매년 성장을 하고 낙각이 되며 매우 빠르게 성장을 하며 녹용은 골막이 두껍고 혈관과 신경이 살아있는 특징을 갖고 있다 (Li, 2003). 또한, 벨벳 녹용의 화학 성분은 사슴의 품종, 녹용 부위 및 녹용 발달 단계에 따라 다양하다고 보고되고 있다 (Chapman, 1975; Landete-Castillejos et al., 2007). 수많은 연구들은 녹용의 화학 성분을 조사하여 다양한 미네랄, 단백질, 콜라겐, 오메가-3 지방산, 글리코사미노글리칸 및 프로스타글란дин이 다양한 농도로 구성되어 있음을 발견하였다 (Sunwoo et al., 1995; Sunwoo et al., 1997; Choi et al., 2006). 뿐만 아니라 녹용의 성장과 관련된 IGF-1에 관한연구(Suttie et al., 1985, 1991), Wapiti 녹용의 성분에 관한 연구(Sunwoo, et al., 1995, 1997, 1998), 생화학적 및 조직학적 연구(Szuwart et al., 1994) 등 많은 연구들이 보고되었다.

최근의 많은 동물 연구에서는 녹용 소비를 조직과 뼈의 건강과 활력의 향상, 근골격계 기능의 개선, 질병 및 면역 체계 조절에 대한 저항력 증가, 혈류 및 혈압 조절의 증가, 급속 치료의 촉진과 관련되었다고 보고하였다 (Elliott et al., 1996; Hemmings and Song, 2004; Moreau et

al., 2004).

일부 녹용연구는 전체의 화학 성분 및 생체 이용률에 대한 연구가 수행되었지만, 녹용의 식품으로서의 표준화에 대한 연구 활동은 거의 없었으며, 특히 녹용의 부위별 및 서로 다른 절각시기에 대한 표준화 연구는 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 엘크사슴과 꽃사슴 녹용의 성장단계 따른 화학 성분의 변화를 조사하여 벨벳 녹용의 품질 향상과 번식 벨벳 녹용의 표준화에 대한 기본 정보를 제공코자 본 연구를 수행하였다.

한편 비교적 녹용건조 기술이 발달한 뉴질랜드나 캐나다의 경우 녹용을 절각하여 채취한 후 바로 냉동시키고 냉동된 상태의 녹용을 90°C 이상의 뜨거운 물에 절단면이 위로 향하도록 거꾸로 담그고 절단면에서 녹혈의 기포가 나올 때까지 가열시킨 다음 강한 열풍으로 2-3일간 열풍건조를 실시하여 녹용의 하대까지 퍼진 녹혈을 고착시킨 후 약 30일간의 냉풍건조와 1-2일간의 동결건조를 실시하여 건조녹용을 제조하고 있다. 그러나 이러한 방법은 녹용의 유효성분들이 열에 의해 상당부분 파괴되기 쉽고 총 건조기간도 1개월 이상으로 품질의 열화가 일어나기 쉬우며 여러 단계의 공정을 거쳐야 하므로 많은 인력과 경비를 소요해야만 한다.

최근 세계적인 양록산업 추세는 전통적인 아시아의 녹용시장에서 탈피하여 스포츠용 건강기능식품 시장과 가공기술의 발달을 바탕으로 한 새로운 형태의 양록 제품들이 주류를 이루고 있으므로 이에 따라 녹용 효능입증 및 이를 활용한 기능성식품 개발 연구에 대한 관심이 증가하고 있는 실정이다. 그러나 여전히 국외에서 행해지는 녹용과 관련된 연구는 주로 녹용의 성장 메커니즘과 생태적 역할 및 성분 분석에 대한 연구들이 대부분이며 전임상실험 및 작용 기전연구를 통한 기능성을 과학적으로 규명한 연구는 매우 미흡한 실정이다.

또한 국외의 경우 녹용의 복용에 대한 인식이 우리나라의 인식과는 상이하여 국내 제품처럼 다양화되지 못하여 주로 녹용 추출물을 tablet화 시킨 제품과 분말 제품들이 대부분을 이루고 있는 실정이다.



녹용추출물 분말

<http://www.southerncrossvelvet.com/extract.htm>



녹용추출물 농축액제

<http://www.homeapteka.com/productdetail.asp?ProductID=6435>



녹용과 뉴질랜드 꿀을 혼합한 제제

[http://www.thehealthstore.co.nz/nobots\\_product\\_info.php?enlarge=y&products\\_id=3634&language=en](http://www.thehealthstore.co.nz/nobots_product_info.php?enlarge=y&products_id=3634&language=en)

현재 전세계에서 가장 많은 사슴 사육과 녹용을 생산하고 있는 뉴질랜드의 경우 자국 내 양록산업 발전과 육성을 위해 사슴과 녹용의 효능에 대한 연구와 소비자의 기호에 적합한 제품을 개발하여 판매 또는 수출하고 있으며, 뉴질랜드의 경우 녹용 뿐만 아니라 사슴의 꼬리, 태반, 뼈, 신장, 힘줄 등 여러 부산물을 이용하여 다양한 제품을 생산하고 있다. 최근 뉴질랜드 등에서 녹용 발효를 통해 녹용 내의 고분자 단백질을 수용성의 저분자 웹티드로 분해시킴으로

써 소화율 증진 효과를 갖는 제품 등을 개발하고 있으나 이 역시 tablet 제품의 형태로써 발효녹용을 이용한 제품이 다양화되어 있지 못한 실정이다.

중국의 경우 중국정부의 지원을 받아 세계 3대 사슴과 사슴 물품의 공급원으로 급속도로 발전하였으나 현재 뉴질랜드와 러시아 등과 같은 국가와의 경쟁력에서 뒤쳐지고 있는 추세이다. 이는 경제력과 기술력 제약으로 단순 가공된 형태의 제품만이 시장에 나와 있고 녹용도 단순한 처리 과정만으로 시장에 공급되고 있어 이러한 제품들이 시장에서 큰 반향을 일으키지 못하고 있다. 따라서 중국업계에서는 사슴과 녹용 제품의 시장성을 증가시키기 위해 첨단기술의 접목은 피할 수 없는 선택이라 여기고 있다.

또한 1차 가공만을 거친 제품들은 기능성 식품이나 약제로 가공된 여타 상품들에 비해 경쟁력이 떨어져 판매처에서 판매를 기피하고 있으나 고부가가치 기능성 식품, 화장품, 음료 등의 시장 수요는 지속적으로 증가하고 있으며 이러한 제품을 찾는 소비자 그룹이 증가로 인해 판매현황도 좋아지고 있다.

### 제3절 국내외 연구현황 비교 및 필요 연구 분야

#### 1. 국내 · 외 시장 규모

본 기술개발사업과 밀접하게 관련되어 있는 세계 바이오산업 시장규모는 약 2,500억 달러 규모 (2010년 기준)이며, 연평균 성장률('06~'10년 기준)이 10.8%로 고성장세를 보이고 있다 (출처: DataMonitor, 2011). 2015년 세계 바이오산업 시장규모는 2010년 대비 약 59.3% 성장한 약 3,980억 달러 규모로 전망되고 있으며, 2010-2015년 세계 바이오산업 시장의 연평균성장률은 9.8%로 여전히 고성장세를 보일 것으로 전망하고 있다.

분야별 바이오산업 시장 규모에서 본 기술개발사업과 밀접하게 관련되어 있는 분야의 시장 규모를 살펴보면 바이오산업 중 의료/보건산업 분야가 가장 높은 시장점유율 (67%)을 차지하고 있으며, 농식품산업 분야의 시장점유율은 11% 수준이다.

한편 지역별 바이오산업 시장 규모를 살펴보면 지역별로는 북미를 중심으로 한 아메리카 대륙 지역의 시장점유율이 46.2%로 가장 높게 나타났으며, 한국이 속한 아시아-태평양 지역 (25.2%)은 유럽 (26.2%)과 비슷한 규모의 시장점유율을 보이고 있다.

<산업 분야별 바이오산업 시장 점유율>

산업 구분	시장점유율
의료/보건산업	67.1%
서비스산업	14.1%
농식품산업	10.6%
기술서비스	4.4%
환경 및 제조업	3.7%

2010년 국내 바이오산업 수급 규모는 총 7조 5,420억 원으로 지속적으로 성장세 (연평균성장률 15.4%)를 보이고 있다. 특히 국내 바이오산업 분야 관련 기업의 총 생산액 규모는 6조 1,604억 원으로 전체 공급의 81.7%를 차지하고 있으며, 수입 비중(18.3%)은 상대적으로 낮은 수준인 반면, 국내 바이오산업 시장 수요 규모는 내수시장이 4조 7,974억 원으로 63.6%를 차지하고 있으며, 수출 비중은 약 36.4%를 차지하고 있다.

2008-2010년 국내 바이오산업의 수급변화 추이를 살펴보면, 생산과 내수시장 규모 모두 지속적으로 성장하고 있는데, 특히 2010년 국내 바이오산업의 생산 규모는 6조 1,604억 원으로 국내판매 3조 4,158억 원(55.4%), 수출 2조 7,445억 원(44.6%)으로 나타났으며, 국내판매와 수입에 따른 내수시장 규모는 4조 7,974억 원이며, 국내판매 3조 4,158억 원(71.2%), 수입 1조 3,816억 원(28.8%)으로 나타났다.

2010년 바이오산업 분야별 국내 생산규모를 살펴보면 본 기술개발사업과 밀접하게 관련되어 있는 바이오의약산업이 2조 4,196억 원(39.3%)으로 가장 높은 비중을 차지하고 있으며, 마찬가지로 바이오식품산업이 2조 3,692억 원으로 전체 산업의 38.5%를 차지하고 있다. 특히 바이오산업 내수시장에서 가장 큰 비중을 차지하고 있는 산업 분야는 바이오의약산업이며, 전체 시장의 55.7%인 2조 6,700억 원 규모이며, 2010년 바이오의약산업 분야의 국내판매 규모는 1조 5,703억 원 (46.0%)으로 국내판매 규모에서 가장 큰 비중을 차지하였다.

다음으로 바이오식품산업이 1조 129억 원(29.7%)으로 나타났으며, 바이오화학산업도 2,644억 원(7.7%)으로 나타났다. 바이오산업의 국내판매는 상위 3개 분야인 바이오의약, 바이오식품, 바이오화학이 전체 시장 중 83.4%를 차지하고 있다.

## 2. 국내 · 외 주요 수요처 현황

수요처	국명	관련제품
종근당건강	대한민국	기능성 식품
광동제약	대한민국	기능성 식품
보령제약	대한민국	기능성 식품
LG생활건강	대한민국	기능성 화장품
소망화장품	대한민국	기능성 화장품
길림시쌍사약품유한공사	중국	기능성 식품 및 소재
길림성동오녹업집단유한공사	중국	기능성 식품 및 소재
Evergreen life	뉴질랜드	기능성 식품
UB-BIO	뉴질랜드	기능성 식품

## 3. 국내 · 외 경쟁기관 현황

- ① 본 기술/제품과 직접적 경쟁관계에 있는 국내 · 외 기관 · 기업 현황

국내		국외	
경쟁 기업명	관련제품	경쟁 기업명(국명)	관련제품
LG생활건강	후 공진향 녹용팩 오휘 청윤진 금강진액고	길림시쌍사약품유한공사 (중국)	녹용황기익신드링크제
소망화장품	다나한 효용 클렌징크림 다나한 효용 품클렌징	Evergreen life (뉴질랜드)	액티브녹용마누카꿀
종근당건강	공진액 홍삼녹용100환 홍삼녹용진액	UB-BIO (뉴질랜드)	숫사슴피철분 캡슐제
보령제약	녹용보 녹용홍삼골드	All green (뉴질랜드)	웰러스 녹혈
광동제약	광동구용대보	Yurtland Natural Health (캐나다)	녹용함유 기능성 캡슐제

#### 4. 국내 · 외 지식재산권 현황

##### ① 관련 기술/제품의 국내 지식재산권(특허 등) 현황

특허명	등록일자	출원인	발명자	등록번호	출원국
녹용 보관방법	2007.07.11	주식회사 천지인 (주)팜맥스, 남권희	남권희, 배기화, 김윤수, 박영민, 한병도	10-0740553	대한민국
사슴뿔의 급속동결 건조방법	2005.06.17	이성복	이성복	10-0497598	대한민국
건조 사슴뿔절편 제조방법	2002.06.27	류시훈	류시훈	10-0343818	대한민국
녹용분말의 제조방법	2005.01.28	김승용	김승용, 이부용	10-0470495	대한민국
분말형 녹용성분 농축물의 제조방법	2007.05.01	김승용	김승용, 이부용	10-0715628	대한민국
녹용 캡셀제	1999.06.15	백인범	백인범	10-0219439	대한민국
녹용 분말 캡슐의 제조 방법	2006.09.15	오상형	오상형	10-0627157	대한민국

특허명	등록일자	출원인	발명자	등록 번호	출원국
생약 추출물을 함유한 녹용 추출물의 제조방법과 이에의해 제조된 녹용 추출물, 그리고 이를 함유하는 식품 및 의약품	2006.12.15	매일유업주식회사	이임식, 김용기, 윤승섭, 전정숙, 전호남	10-0660477	대한민국
녹용으로부터 추출된 항진균 조성물 및 이의 제조방법	2005.12.28	전길자, 최원자, 한소엽	전길자, 최원자, 한소엽, 이윤진, 김영아, 민주영	10-0540941	대한민국
항산화 효과가 우수한 녹용 추출물의 제조방법 및 이에 의해 제조된 녹용 추출물	2010.04.15	광동제약주식회사 , 장문식	장문식, 우문제, 부성준	10-0954386	대한민국
녹용 액기스의 추출방법	2010.12.07	함관남	함관남	10-1000866	대한민국
녹용 추출물의 제조 방법	2011.01.27	주식회사 보고신약	이성권, 태경환	10-1012612	대한민국
항산화 및 피부 세포의 멜라닌 생성을 억제하는 녹용발효물의 제조 방법 및 그에 의한 녹용 발효물	2010.06.17	경희대학교 산학협력단	김동현, 김영수	10-1966139	대한민국
2단계 방식에 의한 기능성 강화 가공발효녹용 및 그 제조방법	2012.02.02	(주)비오티	정용진, 장세영	10-1114495	대한민국
항염 활성을 갖는 발효녹용 추출물의 제조 방법, 이로부터 얻어진 추출물 및 이러한 추출물의 용도	2012.07.24	주식회사 메래데코리아, 정창휘	정창휘, 최학주, 김동희	10-1169775	대한민국
버섯을 이용한 녹용, 사슴육 또는 사슴뼈의 발효방법 및 그 발효물	2011.12.14	김중순, 김영희	김영희, 김중순	10-1096642	대한민국
녹용을 함유하는 과자류 및 한과류의 제조방법	2005.07.19	전병태	전병태	10-0503974	대한민국

특허명	등록일자	출원인	발명자	등록 번호	출원국
녹용에서 추출한 콜라겐을 함유하는 기능성 강화 화장료조성물 및 그 제조방법	2008.06.05	김도완	김도완, 박연경	10-0837879	대한민국
녹용 농축액 제조방법	2007.06.11	(주)제이비티	전병태	10-0729513	대한민국
녹용 및 기타 한약재를 포함하는 한방음료	2004.04.14	매일유업주식회사	이진태, 안봉전, 이임식	10-0429244	대한민국
녹용을 이용한 기억력 및 학습능력 증진 기능성 식품 조성물	2012.08.29	(주)제이비티	전병태, 이치호	10-1179766	대한민국
녹용을 포함하는 한방 생약 복합 추출물을 함유한 화장료조성물	2006.08.21	(주)코리아나화장 품	이강태, 정지현, 조병기	10-0616251	대한민국

② 관련 기술/제품의 국외 지식재산권(특허 등) 현황

특허명	등록일자	출원인	발명자	등록번호	출원국
Deer antler extract for promoting angiogenesis	2011.11.29	Velvet Antler research New Zealand Limited	Coates Dawn Elizabeth, Haines Stephen Roy, Suttie James Miller	08067364	미국 호주 유럽
Health-care wine and preparing method thereof	2005.12.30	Yang Jianan	Yang Jianan, Yang Song	1990852	중국
Velvet antler insulin active factor extraction method	2008.12.16	Northeast Forestry University	Wang Zhenyu, Jiao Yan	101422486	중국
Hairy antler powder capsule and preparation method thereof	2007.07.11	Fushun Jiujiu Deer Industry Co., Ltd.	Tang Shuyou, Zhao Jiaxu, Lin Rentang, Ye Deming	1994321	중국
Method for preparing bone grafting material with pilose antler and deer bone as material	2008.03.26	Wang Xiwen	Li Deshan, Wang Xiwen	101147809	중국

특허명	등록일자	출원인	발명자	등록번호	출원국
and the bone grafting material prepared by the method					
Velvet deerhorn liquor for delaying apolexis and improving sleep and preparation method thereof	2009.01.28	Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd.	Xiao Wei, Dai Xiangling, Ling Ya, Wang Zhenzhong, Gao Gong, Zhu Yuefei, Fei Jingzhong, Xu Lianming	101352509	중국
Method for the extraction of deer antler	2006.06.28	Velvet Antler Res New Zealand	Coates Dawn Elizabeth, Haines Stephen Roy, Suttie James Miller	1795204	중국
Improved extraction process	2010.11.03	Velvet Antler research New Zealand Limited	HAINES, Stephen	01606232	유럽
Maca and antler for augmenting testosterone levels	2006.04.12	Biotics Research Corporation	Deluca Daryl, L Sparks, William S, Deluca Denis R.	01263448	유럽
Method for preparing gel from velvet antlers and waste in their pharmaceutical processing	2005.03.27	Kuleshove R S, Jartsev V G, Kuleshov S M	Kuleshove R S, Jartsev V G, Kuleshov S M	2248802	러시아
Method for reprocessing and preserving of Siberian stag and sika deer velvet antlers	2001.02.27	Tikhonov Sergei Nikolaevich, Shihsiakov Konstantin Nikolae	Tikhonov S N, Shihsiakov K N	2163438	러시아
Method of producing ultradispersed power from velvet antlers for preparation of food additives or pharmaceutic and cosmetic preparations	2000.03.20	Tikhonov Sergei Nikolaevich, Shihsiakov Konstantin Nikolae	Tikhonov S N, Shihsiakov K N	2146525	러시아
Man sexual potency enhancing drug	2008.11.10	Verkholtsev Jurii Anatol Evi, Kuranov Grigorii Vladimirovich	Verkholtsev Jurii Anatol Evi, Kuranov Grigorii Vladimirovich	2337570	러시아
Method of obtaining drug on base of velvet antlers of deer	1995.10.10	Nii Farmakologii, Tom Nauchnogo	Goldberg Evgenii D, Dygai Aleksandr M,	2045269	러시아

특허명	등록일자	출원인	발명자	등록번호	출원국
			Suslov Kikolai I, Litvinenko Vasilii I, Popova Tatyana P, Agafonov Vladimir I		
Antler herb medicine fermented with chicken gizzard and a method for preparation thereof	2002.11.19	Lee Youn-Soo	Lee Youn-Soo	06482443	미국
Hyaluronic acid and chondroitin sulfate based hydrolyzed collagen type II and method of making same	2004.08.24	BioCell Technology, LLC	Ishaq Suhail	06780841	미국
Antler composition and its manufacturing process	2006.02.28	Eve Szu-Ju Chen	Eve Szu-Ju Chen	07005144	미국
Process of purifying antler-derived bone growth factors	1995.04.18	Rhone-Poulenc Rorer Pharmaceuticals Inc., OsteoSA Inc.	Mundy; Gregory R., Gutierrez; Gloria E., Garrett; Ian R.	05408041	미국

5. 본 기술/제품과 직접적으로 관련 있는 국내·외 제품화 및 표준화 현황은 없는 실정이다.

## 제 3 장 연구 수행 내용 및 결과

### 제1절 연구개발수행 내용

#### 제 1 협동과제 : 녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정

1차년도 (2014년) : 엘크 사슴의 성장단계별 녹용생산량 및 이화학적 특성 규명

#### 1) 재료 및 방법

엘크 성록 수컷 30두를 공시하여 성장단계별 녹용생산량을 측정하기 위하여 낙각 후 각각 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92 및 99일에 절각을 실시하였다. 녹용의 부위별 생산량은 그림1과 같이 제1지, 제2지, 제3지로 나누고 주 가지는 상대 중대 및 하대로 나누어 조사를 실시하였다. 일반 성분 및 영양성분조사는 주가지의 상대, 중대 및 하대의 3부위에서 시료를 채취하여 분석을 실시하였다.

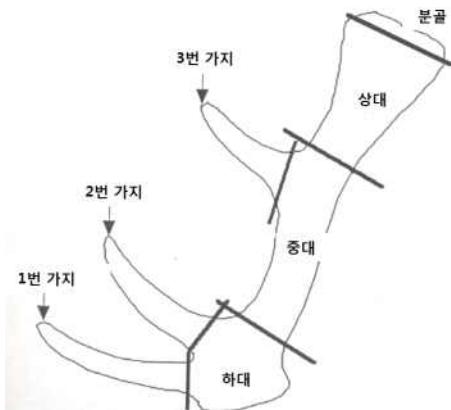


그림1. 엘크녹용의 부위 구별

#### 2) 일반성분 분석

##### 가) 수분

AOAC 방법(2006)을 따라 도가니를 건조기(WDF-105, 대한과학) 100 °C에서 90분간 건조시킨 다음 실온에서 30분간 방냉 시킨 후 접시 무게를 측정하여 기록하되 도가니 이동시에는 손과 직접 접촉하지 않도록 반드시 짐개를 이용한다. 시료는 분쇄 혼합하여 4 g정도의 시료를 도가니에 취하고 시료의 수분손실을 줄이기 위해 가능한 신속하게 무게를 측정한다. 시료가 담긴 도가니를 오븐에 넣고 100~102 °C에서 3~4시간정도 건조시켰다. 건조시간이 경과한 후에 시료를 오븐에서 꺼내 데시케이터에 넣고 실온으로 방냉(약 30분간)시킨 후 정확하게 무게를 측정하여 아래의 공식에 의해 수분함량을 계산하였다.

$$\text{수분}(\%) = \frac{\{\text{도가니무게}(g) + \text{시료무게}(g)\} - \text{건조 후 시료무게}(g)}{\text{건조 전 시료 무게}(g)} \times 100$$

#### 나) 조지방

AOAC 방법(2006)에 준하여 조지방은 Soxhlet 추출기(Soxtec System HT 1043 extraction unit, Foss Tecator)를 사용하여 diethyl ether로 추출하여 정량하였다. 여과지위에 솜(2-3장)을 올리고 시료무게 측정(2-5 g)후 105 °C 건조기에서 2시간 건조하고 지방수기를 건조기에 넣고 2시간 건조시킨다. 데시케이터에서 30분 방냉한 후 Soxhlet 추출기에서 diethyl ether로 지방을 추출한 지방수기를 건조기에 2시간이상 건조한 후 데시케이터 30분간 방냉시킨 다음 청량하여 아래의 공식에 의하여 조지방 함량을 계산하였다.

$$\text{조지방}(\%) = \frac{\text{건조 후 무게(g)} - \text{추출 후 무게(g)}}{\text{시료 무게(g)}} \times 100$$

#### 다) 조단백질

AOAC(2006)에 준하여 단백질은 Kjeltec Ststem(Kjeltec Auto 2400/2460, Foss Tecator AB, Hoganas, Sweden)을 이용하여 분석하였다. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 과 Kjeltab(분해촉매제)를 넣어 시료를 분해한 후 40 % 와 증류수(스팀)을 주입시켜 암모니아로 유리시켜 이를 혼합지시약이 들어 있는 Boric acid 으로 포집후 0.1N HCl로 적정하여 질소량 측정하여 질소계수 6.25를 곱하여 % 함량으로 표시하였다.

$$\% \text{ N} = \{0.014007 \times (\text{염산표준용액 ml} - \text{blank에 사용된 염산표준용액 ml}) \times \text{염산표준용액의 농도(N)}\} / \text{시료무게} \times 100$$

1.4007 : Meq. weight of nitrogen

6.25 : nitrogen에서 protein으로 전환되는 factor, protein은 16% nitrogen

$$\% \text{ protein}(\%) = \% \text{ N} \times 6.25$$

#### 라) 조회분

AOAC 방법(2006)을 따라 백색에서 회백색의 회분이 얻어질 때까지 회화하여 함량무게를 측정하였다. 실험 전 건조기에서 2시간 이상 도가니를 건조시킨 후 데시케이터에 30분간 방냉시키고 정밀 저울로 소수 4자리까지 무게를 잰다. 세절한 시료 10 g을 회화용 도가니에 취해 시료를 전기 회화로에 넣고 온도를 서서히 550 °C까지 올려 완전히 회화 될 때까지 가열하였다. 회분이 흰색이 아닐 경우 시료를 냉각시키고 물을 축인 다음 다시 건조시키고 항량이 될 때까지 550 °C 전기로에서 반복해 태우고 만일 시료의 순도가 낮아서 암회색의 덩어리진 회분이 나올 경우 시료를 냉각시키고 올리브유 몇 방울을 가하고 가열 판에 놓았다가 항량이 될 때까지 전기로에서 되풀이하여 회화시킨다. 회화가 끝난 시료는 집게를 이용하여 데시케이터에 담아 1시간 정도 충분히 방냉 후 청량을 하여 다음 식에 의하여 조회분을 계산하였다.

$$\text{조회분}(\%) = \frac{\text{회화 전 시료무게(g)} - \text{회화 후 시료무게(g)}}{\text{회화 전 시료 무게(g)}} \times 100$$

### 3) 성분분석

#### 가) 지방산조성

Folch 등(1957)의 방법에 따라 시료 50g과 chloroform:methanol(2:1) 용액 150 mL을 homogenizer 2500 rpm로 균질하여 지질을 추출한 다음 무수황산나트륨을 이용하여 수분을 제거하고 여과액을 50~55 °C에서 농축하였다. 농축한 액을 100 μl을 따고 0.5N NaOH 용액 1 mL를 가하여 100 °C에서 20분간 가열한 후 30분간 방냉한 다음 BF<sub>3</sub>-Methanol를 2 mL 첨가하고 20분간 가열한 후 30분간 방냉하였다. 1 mL heptane과 8 mL NaCl 첨가한 후 상등액을 취하여 GC에 주입하여 지방산 측정하였다.

Equipment	Condition
Model	Agilent Technologies, US/HP 6890
Column	Omegawax 205 fused-silica bond Capillary column (30m 0.3×2mm I.D., 0.25μm film thickness)
Detector	Flame Ionization Detector
Mobile phase	Nitrogen(99.99%, Research purity)
column influx rate	1ml/min
split ratio	100 : 1
Injection temperature	250°C
Detector temperature	260°C
Oven temperature	200°C

#### 나) 무기물

무기물함량은 AOAC(2006) 방법에 준하여 측정하였다. 시료를 Crucible에 적당량을 취하고 전기회화로(JSMF-270T) 600 °C에서 12시간 이상 회화시킨 뒤 방냉 시키고 염산용액(HCl:H<sub>2</sub>O=1:1) 10 mL를 가하여 하룻밤 방치하여 용해시킨 다음 여과지(Whatman No.6)로 여과하여 시료액을 제조하였다. 무기물 분석하기 위해서 각각 표준용액을 제조하고 원자흡광도계(ICP Spectrophotometer, Spectroflame, Spectro Company, Germany)를 이용하여 흡광도를 측정하고 표준검량곡선을 각각 작성하여 함량(mg/kg)을 계산하였다.

$$\text{무기물 함량(mg/kg)} = \frac{\text{시료액의 흡광도}/1 \text{ ppm 기준흡광도} \times \text{회석배수}}{\text{시료중량(g)} \times 10^6} \times 100$$

#### 다) 칼로리

칼로리 분석을 위하여 시료 1g을 취한 후 60 °C에서 4시간 건조하여 칼로리메터(Medel 6400, Parr Instrument Co., USA)로 분석하였다.

#### 라) 콜레스테롤

콜레스테롤은 시료 5 g과 60 % KOH/D.W.8 mL + 반응용알콜 40 mL (EtOH:MeOH:isoproylacohol =90:5:5) 넣고 100°C 검화(비누화) water bath에서 1시간후 50°C로 cooling 한 다음 반응용 알코올 60 mL를 냉각관 통해 주입한 후 분액여두 500 mL에 옮기고 지방수기 닦아주기 위해 benzene 50 mL를 2번 나눠서 분액여두로, 1N KOH 100 mL를 2번 나눠서 분액여두로 넣는다.

분액여두에서 1분간 진탕후 1시간 충분리 한 후 하층을 버리고 상층액에 0.5N KOH 20 mL 주입 후 강하게 진탕 1시간 후 하층 버린다. D.W.을 넣어서 수기의 진탕후 충분리 1시간 이상 3번 반복, 상층 액이 불투명에서 투명하게 변할 때까지 한다. 벤젠층(상층)을 탈수여과(100 mL 지방수 기에)하여 농축후 IS(스쿠알렌 0.5164 g/500 mL, 1000ppm) 핵산에 녹인다. IS 2 mL로 mass up하여 gas chromatography(HP-7890A, Agilent Technologies, USA)를 이용하여 분석하였다.

#### 마) 아미노산

아미노산 분석을 위하여 고기시료 5 g와 6N HCl 40 mL를 등근플라스크에 넣고 합한 다음 110 °C에서 24시간동안 질소가스를 주입하여 가수분해하였다. 염산을 50°C에서 증발 농축시킨 다음 농축시료는 0.2N Sodium citrate buffer(pH 2.2) 50 mL를 넣어 희석시킨 다음 여과지 (0.45 μm)로 여과하였다. 여과한 시료(30 μL)는 아미노산 분석기(Model L-8900, Hitachi, Japan)를 이용하여 분석하였다

### 2차년도 (2015년): 꽃사슴 사슴의 성장단계별 녹용생산량 및 이화학적 특성 규명

#### 1) 재료 및 방법

꽃사슴의 성장단계별 녹용생산량 및 이화학적 특성을 규명하기 위하여 꽃사슴 성록 수컷 30두를 공시하여 낙가 후 각각 50, 55, 60, 65, 70, 75 및 80일에 절각을 실시하였다. 녹용의 부위별 생산량은 그림2과 같이 제1지, 제2지로 나누고 주 가지는 상대 중대 및 하대로 나누어 조사를 실시하였다. 일반성분 및 영양성분조사는 주가지의 상대, 중대 및 하대의 3부위에서 시료를 채취하여 분석을 실시하였다.

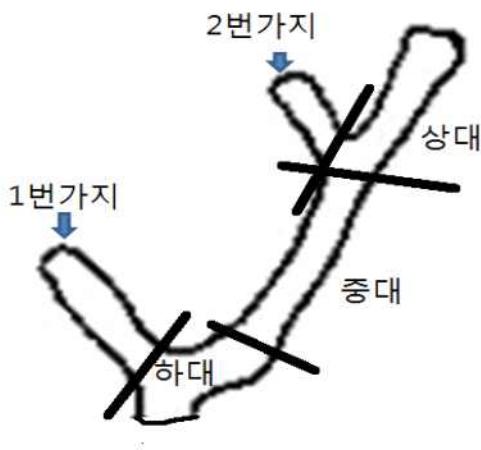


그림 2. 꽃사슴 녹용의 부위 구별

#### 2) 일반성분 및 영양성분 분석방법은 1년차와 동일하게 실시하였다

## 3차년도 (2016년) : 식품소재화를 위한 생녹용의 보관방법 확립

### 1. 재료 및 방법

녹용시료 5개를 공시하여 거치대에 녹용을 걸어놓고 녹용의 세척 및 포장방법 확립을 위하여 고압 세척기 및 스팀기를 이용하여 녹용을 세척하고 살균을 실시하였다. 녹용의 포장은 시중에서 유통되고 있는 랩 및 진공 비닐팩을 구입 하여 포장을 실시하였다. 또한 생녹용의 절각시기별 유효성분 분석을 위하여 녹용은 낙각 후 60, 70, 80, 90 및 100일에 각각 3두씩 절각하여 영하 20°C 냉동고에서 보관하였다가 시료는 상대, 중대, 하대로 나누어 채취하였다. 채취한 시료는 건국대 녹용연구센터에 의뢰하여 분석을 실시하였으며 분석항목은 Sulfated-GAGs, Sialic acid, Uronic acid, Hypoxanthine 및 Uridine, Uracil을 분석하였다.

### 2. 유효 성분 분석

#### 1)우론산 (Uronic acid) 분석:

녹용을 4°C에서 0.5M EDTA 2Na(pH 7.4)로 탈칼슘화 함. Crude Papein을 5mM EDTA와 5mM Cystein HCL을 포함하는 0.1M Phosphate buffer (pH 6.5)와 혼합하여 65°C에서 30분간 Papein을 활성화시킴. 그 후 활성화된 Papein으로 65°C에서 16시간 동안 단백질을 분해시켜서 Carbazole 반응에 의해 530nm에서 측정함. 이때 함량은 녹용 시료에 대한 %로 표기함하였다

#### 2)시알산 (Sialic acid) 분석:

녹용을 80°C에서 1시간 동안 0.1N Sulfuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)로 가수 분해한 후 Warren방법에 의해서 549nm에서 측정한다. 이때 함량은 녹용 시료에 대한 %로 표기하였다.

#### 3)글리코사미노글리칸 (Glycosaminoglycan)류의 분석:

우론산 (Uronic acid)에서 papein으로 분해시킨 것을 Dimethylmethylen blue dye binding 방법에 의해 540nm에서 측정하였다.

#### 4)Uracil, Uridine, Hypoxanthine의 함량 분석 HPLC 조건

Uracil, Uridine, Hypoxanthine의 함량 분석은 HPLC<sup>1)</sup>(Dionex Ultimate 3000 Pump, Thermo Scientific Inc., USA)를 사용하여 데이터를 산출하였다. 실험 조건으로 column은 Eclipse Plus C18(5 μm, 250×4.6 mm, Agilent Technologies, USA)로 column의 온도는 30°C로 유지하며 주입 부피(Injection volume)는 30 μL로 하였고, 유속(flow rate)은 1.0 mL/min으로 고정, 272 nm에서 측정하였다. 이동상(mobile phase)은 (A) filter 한 3차 D.W/methanol/acetic acid(970:30:0.7)와 (B) filter 한 3차 D.W의 두 용매이고 flow rate는 10분 [50:50(A:B,v/v)]의 비율로 하였다.

---

1) In vitro antioxidant analysis and characterisation of antler velvet extract

## 제 2협동과제 : 녹용의 수확 후 관리기술 개발

### 1차년도 (2014년) : 절단 직후 생 녹용 전처리 방법 결정

1. 절각 직후 절단면 밀봉을 위한 장치를 설정하였다.
  - 현재 농가에서 시행되고 있는 비닐캡의 매뉴얼화를 하였다.
  
2. 절각 직후 녹혈 확장을 위한 녹용 방향을 설정하였다.
  - 절단면 방향에 따른 녹혈 확장 정도를 분석하였다.
  - 절단면을 중력방향으로 방치하였다.
  - 절단면을 상부방향으로 방치하였다.
  - 절단면을 수평방향으로 방치하였다.
  
3. 절각 직후 녹혈 확장을 위한 온도 및 기간을 설정하였다.
  - 문헌 및 농가 증언들을 토대로 표준 방법을 설정하였다.
  - 녹용 샘플수, 시간, 비용 등의 한계를 고려하여 설정하였다.
  
4. 녹혈 확장 및 고정 후 녹용 세정 방법을 결정하였다.
  - 문헌 및 농가 증언들을 토대로 표준 방법을 설정하였다.
  - 녹용 샘플수, 시간, 비용 등의 한계를 고려하여 설정하였다.

### 2차년도 (2015년) : 녹용의 건조 방법 설정

1. 녹용의 건조 온도를 설정하였다.
  - 동결건조에 따른 방법 및 기간을 설정하였다.
  - 열풍건조에 따른 방법 및 기간을 설정하였다.
  
2. 건조 온도에 따른 일반성분, 유효성분, 외관상태 등을 분석하였다.
  - 녹용의 건조 온도별 일반성분 및 유효성분(uronic acid, sialic acid, sulfated-glycosaminoglycan)을 분석하였다.
  
  - 일반성분 분석: 일반성분은 AOAC법 (2005)에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조단백질 함량은 Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet법으로 가열 전과 후의 함량 변화를 분석하였다.
  
  - 우론산 (Uronic acid) 분석: 녹용을 4°C에서 0.5M EDTA 2Na(pH 7.4)로 탈칼슘화 함. Crude Papein을 5mM EDTA와 5mM Cystein HCL을 포함하는 0.1M Phosphate buffer

(pH 6.5)와 혼합하여 65°C에서 30분간 Papein을 활성화시킨다. 그 후 활성화된 Papein으로 65°C에서 16시간 동안 단백질을 분해시켜서 Carbazole 반응에 의해 530nm에서 측정한다. (Scott, 1960 ; Kosakai & Yoshizawa, 1979). 이 때 함량은 녹용 시료에 대한 %로 표기하였다.

- 시알산 (Sialic acid) 분석: 녹용을 80°C에서 1시간 동안 0.1N Sulfuric acid ( $H_2SO_4$ )로 가수 분해한 후 Warren 방법 (Warren, 1959)에 의해서 549nm에서 측정하였으며, 이 때 함량은 녹용 시료에 대한 %로 표기하였다.
- 글리코사미노글리칸 (Glycosaminoglycan)류의 분석: 우론산 (Uronic acid)에서 papein으로 분해시킨 것을 Dimethylmethylen blue dye binding 방법에 의해 540nm에서 측정하였으며, 이 때 함량은 녹용 시료에 대한 %로 표기하였다.
- 외관상태의 경우 선홍색 정도는 색차계(Digital color measuring/difference calculation meter)를 사용하여 Hunter L<sub>a</sub> (명도), a<sub>1</sub> (적색도), b<sub>1</sub> (황색도) 등을 측정하였다.

#### 4. 건조 기간에 따른 유효성분, 외관상태 등 분석

- 녹용의 건조 기간별 일반성분, 유효성분(uronic acid, sialic acid, sulfated-glycosaminoglycan) 분석은 온도에 따른 성분분석과 동일한 방식으로 측정하였다.

#### 3차년도 (2016년) : 건조 녹용의 저장 방법 설정

- 건조된 녹용의 저장 방법 설정
  - 시료 1. 열풍건조 후 진공포장 및 실온 (1-1, 상대; 1-2, 중대; 1-3, 하대)에 저장하였다.
  - 시료 2. 열풍건조 후 진공포장 및 냉장 (2-1, 상대; 2-2, 중대; 2-3, 하대)에 저장하였다.
  - 시료 3. 동결건조 후 진공포장 및 실온 (3-1, 상대; 3-2, 중대; 3-3, 하대)에 저장하였다.
  - 시료 4. 동결건조 후 진공포장 및 냉장 (4-1, 상대; 4-2, 중대; 4-3, 하대)에 저장하였다.
- 저장 방법에 따른 유효성분 등 분석
  - 저장 후 1개월마다 유효성분 3종을 분석하였다.
  - 우론산 (Uronic acid) 분석: 녹용을 4°C에서 0.5M EDTA 2Na(pH 7.4)로 탈칼슘화 하였다. Crude Papein을 5mM EDTA와 5mM Cystein HCL을 포함하는 0.1M Phosphate buffer (pH 6.5)와 혼합하여 65°C에서 30분간 Papein을 활성화시킨 후 활성화된 Papein으로 65°C에서 16시간 동안 단백질을 분해시켜서 Carbazole 반응에 의해 530nm에서 측정하였으며, 이 때 함량은 녹용 시료에 대한 %로 표기하였다.
  - 시알산 (Sialic acid) 분석: 녹용을 80°C에서 1시간 동안 0.1N Sulfuric acid ( $H_2SO_4$ )로 가수 분해한 후 Warren 방법에 의해서 549nm에서 측정하였으며, 이 때 함량은 녹용 시료에 대

- 한 %로 표기하였다.
- 글리코사미노글리칸 (Glycosaminoglycan)류의 분석: 우론산 (Uronic acid)에서 papein으로 분해시킨 것을 Dimethylmethylen blue dye binding 방법에 의해 540nm에서 측정하였다.
  - 외관상태의 경우 선홍색 정도는 색차계(Digital color measuring/difference calculation meter)를 사용하여 Hunter L값(명도), a값(적색도), b값(황색도) 등을 측정하였다.

### 제 1세부과제 : 녹용 제품화를 위한 가공기술 개발

#### 1차년도 (2014년) : 녹용 제품화를 위한 녹용소재 개발 및 부재료의 배합비율 결정

##### 1. 녹용을 이용한 식품소재 (녹용 분말 및 녹용 농축액)의 제조

- (1) 녹용 분말: 녹용 분말은 생녹용을 분쇄하여 동결건조하였다.
- (2) 녹용 농축액: 가전 약탕기(JH-D40, 휴먼플러스)를 이용하여 생녹용 1 Kg에 물 4L를 넣은 후 95 °C에서 7시간 추출 후 감압 농축하여 60~70 °Brix 이상이 되도록 제조하였다.

##### 2. 녹용 가공 소재별 (녹용 분말 및 녹용 농축액) 일반 성분 및 유효성분 분석

- (1) 녹용 가공 소재별 일반성분 분석 : 일반성분은 AOAC법 (2005)에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조단백질 함량은 Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet법으로 분석하였다.

##### (2) 녹용 가공 소재별 유효성분 분석

- 우론산 (Uronic acid) 분석: 녹용탕 시료를 4°C에서 0.5M EDTA 2Na(pH 7.4)로 탈칼슘화 하였다. Crude Papein을 5mM EDTA와 5mM Cystein HCL을 포함하는 0.1M Phosphate buffer (pH 6.5)와 혼합하여 65°C에서 30분간 Papein을 활성화시킨 후 활성화된 Papein으로 65°C에서 16시간 동안 단백질을 분해시켜서 Carbazole 반응에 의해 530nm에서 측정하였으며 (Scott, 1960 ; Kosakai & Yoshizawa, 1979), 이때 함량은 녹용탕 시료에 대한 %로 표기하였다.
- 시알산 (Sialic acid) 분석: 녹용탕 시료를 80°C에서 1시간 동안 0.1N Sulfuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)로 가수 분해한 후 Warren방법 (Warren, 1959)에 의해서 549nm에서 측정한다. 이때 함량은 녹용탕 시료에 대한 %로 표기하였다.
- 글리코사미노글리칸 (Glycosaminoglycan)류의 분석: 우론산 (Uronic acid)에서 papein으로 분해시킨 것을 Dimethylmethylen blue dye binding 방법에 의해 540nm에서 측정하였다. 이때 함량은 녹용탕 시료에 대한 %로 표기하였다.

- 총 당량 분석: 샘플 A, B 그리고 C용액을 200배와 400배로 희석시켜 사용하였다. glucose standard 100 $\mu$ g/ml와 Fructose standard 100 $\mu$ g/ml를 0, 10, 20, 30, 40, 50의 농도로 준비하고 5% 황산과 95.5%의 H2SO4를 준비하였다. standard 용액을 테스트 튜브에 2ml 넣고 폐놀 용액을 1ml 첨가한 후 서둘러 황산을 5ml 넣고 튜브를 voltexing 하여 10분간 방치하고 물 속에 15분간 넣어둔 후 준비된 standard용액을 microplate에 200 $\mu$ L씩 나눠 담는다. 산소와 반응하기 전에 absorbance를 읽어주며 이 때 standard의 absorbance결과는 0.97이상이 되어야 한다. 0.97이상이 되면 같은 방법으로 샘플 용액을 실험하였다.
- 콜라겐 (Collagen) 분석: Bergman and Loxley (1963)를 사용하여 Hydroxyproline량으로 정량하였다. 즉, 시료 0.1g을 screw cap tube에 넣고 6N염산 10ml을 첨가하여 110°C에서 24시간 이상 가수분해 한 후 가수분해 된 용액을 감압 농축하여 염산을 완전히 제거하고 구연산/초산완충용액 100ml을 넣어 syringe filter로 filtering을 한 후 구연산/초산완충용액 900 $\mu$ g에 시료 100 $\mu$ l를 희석하여 Hydroxyprolin량 측정시료로 사용하였다. 측정용 시료 300 $\mu$ l와 isopropanol 600 $\mu$ l을 혼합한 후 산화용액 300 $\mu$ l 첨가하여 vortexing 후 4분간 정지시켜 Ehrlich's시약 4ml을 첨가하여 60°C에서 25분간 가열 처리한 후 흐르는 물에 2-3분간 냉각 시킨 후 4시간 이내에 558nm에서 비색 정량하였다. 정량된 Hydroxyproline 함량에서 collagen계수 7.52를 곱하여 collagen량으로 환산하였다.
- 아미노산 (Amino acid) 분석: 시료는 산안정 전처리를 실시한다. 즉, 약 0.08g을 칭량한 후, 6N HCl 10ml을 넣고 혼합하여 질소로 치환한 후, 밀봉하여 110°C에서 24시간 동안 가수분해시킨다. 이 가수분해물을 여과 (0.45 nm syringe filter, whatman)한 후, 55~60°C에서 감압 여과한 다음 0.2N sodium citratebuffer (pH 2.2)로 10ml(Y)가 되게 정용한다. 기기분석은 아미노산 자동분석기 (L-8500A, Hitachi) 이용하여 캡슐에 20 $\mu$ g(Z)를 주입하여 시료자동주입기에 주입하여 Ninhydrin법으로 440nm와 570nm로 분석하며 계산식은 다음과 같다.

$$\text{Amino acid content}(\%) = M \cdot B / 1,000,000 \cdot 100$$

$$M(\text{ng}) = A \cdot 10(\text{cystine } 5) \cdot \text{MW}(\text{Mol.Wt})$$

$$A(\text{area}) = \text{sample area} / \text{standard area}$$

$$B(\text{희석 배수}) = (1,000/X) \cdot (Y/Z)$$

$$Z(\text{ml}) = (\text{주입량 } \mu\text{l}(Z) / \text{희석 배수}(B)) / 1,000$$

### 3. 녹용 가공 소재별 (녹용 분말 및 녹용 농축액) 항산화능 분석: DPPH, hydroxyl, alkyl 및 superoxide radical 소거능

- DPPH 라디칼 소거활성분석: DPPH 라디칼 소거활성은 Nanjo 등 (1996)에 의한 방법으로 측정한다. 각각의 녹용탕 추출물에 60 $\mu$ l의 에탄올 용액, 60 $\mu$ l의 DPPH 용액 (0.06 mM)을 혼합한 후 그 중 50 $\mu$ l를 100 $\mu$ l의 Teflon 모세관에 옮겨 담아 ESR spectrophotometer 분석에 사용하였다. 측정조건 : central field, 3475G ; modulation frequency, 100 kHz; modulation amplitude, 2 g; microwave power, 5mW; gain, 6.3×105 ; temperature, 298 K
- Hydroxyl 라디칼 소거활성분석: Hydroxyl 라디칼 소거활성은 Haber-Weiss의 촉매 이온

방법을 사용한다. 5,5-Dimethyl-1-pyrroline-N-oxide(DMPO) 스핀 트랩을 이용하여 hydroxyl 라디칼을 발생시키고, 전자스핀공명 기기(electron spin resonance)를 사용하여 분석한다. 각 효소에 의한 가수분해물 (0.2ml)을 0.2ml의 DMPO(0.3M), 0.2ml의 FeSO<sub>4</sub> (10mM) 그리고 0.2ml의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(10mM)를 phosphate 완충용액(pH 7.2)과 혼합하여 Teflon 모세관에 100ul를 옮긴 다음 2분 30초 후에 전자스핀공명 기기를 이용하여 측정하며 측정 조건은 다음과 같다. central field, 3475 g; modulation frequency, 100 kHz; modulation amplitude, 2 g; microwave power, 1mW; gain  $6.3 \times 105$  및 temperature, 298 K

- Alkyl 라디칼 소거활성분석: Alkyl 라디칼은 AAPH 처리에 의해 발생시킨다. 10mmol/L의 AAPH 10mmol/L의 4-POBN 그리고 적정농도의 시료를 phosphate- bufferedsaline (PBS, pH 7.4)와 혼합하여 항온수조에서 37°C로 30분 동안 반응시킨 후, Teflon capillary tube 에 100ul를 옮겨 담아 ESR spectrophotometer 분석에 사용하였다. 측정조건 : central field, 3475 g; modulation frequency, 100 kHz; modulation amplitude, 2 g; microwave power, 10mW; gain,  $6.3 \times 105$ ; temperature, 298 K
- Superoxide 라디칼 소거활성분석: Superoxide 라디칼은 자외선 조사된 리보플라빈/EDTA 계에 의해 측정하였다. 365nm 의 자외선에서 1분 동안 조사된 각기 다른 농도의 샘플과 0.3mM의 리보플라빈, 5.0 mM의 EDTA, 0.1M의 DMPO를 혼합하여 반응시킨다. 반응물을 Teflon capillary tube에 100ul 를 옮겨 담아 ESR spectrophotometer 분석에 사용하였다. 측정조건 ; central field, 3475 g; modulation frequency, 100 kHz; modulation amplitude, 2 g; microwave power, 4mW; gain,  $6.3 \times 105$ ; temperature, 298 K

4. 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킬 수 있는 최적의 녹용 소재제형 및 기능성 향상을 위한 부원료 배합비율 확립하였다.

## 2차년도 (2015년) : 식품 제형별 녹용 가공 제품 개발 (추출액, 드링크제, 젤편, 캡슐, 캔디, 과립 등)

### 1. 식품 제형별 녹용 가공 제품 개발

가. 1차년도 연구 결과를 바탕으로 녹용 제품 개발을 위한 최적의 녹용 소재 제형 및 첨가량 등을 결정한 후 녹용분말 및 녹용농축페이스트를 이용하여 녹용추출액, 녹용드링크제, 녹용젤 편, 녹용캡슐, 녹용캔디, 녹용 과립 등을 개발하고 이화학적 특성, 관능평가 등을 실시하였다.

#### ■ 녹용 유산균 음료 (요구르트) 제조방법

- 재료: starter (시판 유산균음료 사용), 우유, 요거트 제조기, 뜨거운 물



1. 유산균 발효를 위한 starter 첨가



2. 발효용기에 녹용 효소가수분해 추출물 (liquid)을 %에 따라 첨가



3. 요거트 메이커 본체의 내부 물 붓는 선까지 끓는 물 첨가



4. 본체의 보온 틀과 발효용기를 넣고 뚜껑을 닫음



5. 8시간 발효 후, 냉장 보관

■ 녹용 양갱 제조방법

- 재료 : 팥소 500g, 한천가루 15g, 물 300mL, 설탕 50g, 물엿 60g



1. 15분간 한천을 물에 불림    2. 중간불로 한천가루와 설탕을 넣어 녹임



3. 팥 앙금을 넣고 잘 섞은 후, 주걱으로 저어가며 끓임
4. 끓어오르면 약한 불로 줄여 10~15분간 저어가며 끓이다가 물엿을 첨가
5. 용량별 녹용 효소가수분해 추출물 (powder)을 첨가



6. 한 김 식힌 후, 모양틀에 부운 후, 1시간 상온에서 냉각



7. 완전히 굳은 양갱은 틀에서 꺼낸 후 적당한 크기로 자른다.

(1) 이화학적 특성: 당도, pH, 산도, 수분, 색도, 조직감, 녹용의 유효성분 함량 등

가. 수분함량 측정

○ 녹용을 이용한 가공식품의 수분함량을 측정하기 위해 각각의 시료를 일정량 취하여(3 g 이하) 적외선 수분 측정기(Sartorius, Germany)를 사용하여 측정함. 시료는 3회 반복 측정하여 그 평균값을 구하였다.

#### 나. pH 측정

- pH는 AOAC method(1990)를 적용하여 시료 5g을 30 mL의 중류수와 함께 넣고 균질화한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 pH meter(420 Benchtop, Orion Research, USA)로 측정하였다.

#### 다. 당도 측정

- 당도는 시료 5g에 중류수 30 mL를 균질화 한 후 원심분리(3,000 rpm, 20 min)하여, 상층액 을 취하여 당도계(N-1E Brix 0~32%, Atago, Japan)를 사용하여 측정하였다.

#### 마. 조직감 평가

- 시료의 조직감 특성을 알아보기 위하여 Texture analyser를 사용 probe( $\Phi$  3mm, cylinder type)를 연속 2회 압착 후 얻은 힘-시간 곡선으로부터 경도, 씹힘성, 응집성 및 탄력성 측정하였다.

#### 바. 색도 평가

- 시료를 blender에 마쇄한 후 투명한 플라스틱 용기 (50×12mm)에 담아 색차계(Digital color measuring/difference calculation meter)를 사용하여 Hunter L값(명도), a값(적색도), b값(황색도) 및  $\Delta E$ 값(색차지수) 측정하였다.

#### 사. 녹용 내 유효성분 함량 분석

- 우론산 (Uronic acid) 분석: 녹용탕 시료를 4°C에서 0.5M EDTA 2Na(pH 7.4)로 탈칼슘화 하였다. Crude Papein을 5mM EDTA와 5mM Cystein HCL을 포함하는 0.1M Phosphate buffer (pH 6.5)와 혼합하여 65°C에서 30분간 Papein을 활성화시킨 후 활성화된 Papein으로 65°C에서 16시간 동안 단백질을 분해시켜서 Carbazole 반응에 의해 530nm에서 측정하였으며 (Scott, 1960 ; Kosakai & Yoshizawa, 1979), 이때 함량은 녹용탕 시료에 대한 %로 표기하였다.
- 시알산 (Sialic acid) 분석: 녹용탕 시료를 80°C에서 1시간 동안 0.1N Sulfuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)로 가수 분해한 후 Warren방법 (Warren, 1959)에 의해서 549nm에서 측정한다. 이때 함량은 녹용탕 시료에 대한 %로 표기하였다.
- 글리코사미노글리칸 (Glycosaminoglycan)류의 분석: 우론산 (Uronic acid)에서 papein으로 분해시킨 것을 Dimethylmethylen blue dye binding 방법에 의해 540nm에서 측정하였다. 이때 함량은 녹용탕 시료에 대한 %로 표기하였다.
- 총 당량 분석: 샘플 A, B 그리고 C용액을 200배와 400배로 희석시켜 사용하였다. glucose standard 100 $\mu$ g/ml와 Fructose standard 100 $\mu$ g/ml를 0, 10, 20, 30, 40, 50의 농도로 준비하고 5% 황산과 95.5%의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 준비하였다. standard 용액을 테스트 튜브에 2ml 넣고 폐놀 용액을 1ml 첨가한 후 서둘러 황산을 5ml 넣고 튜브를 voltexing 하여 10분간 방치하고 물

속에 15분간 넣어둔 후 준비된 standard용액을 microplate에 200uL씩 나눠 담는다. 산소와 반응하기 전에 absorbance를 읽어주며 이 때 standard의 absorbance결과는 0.97이상이 되어야 한다. 0.97이상이 되면 같은 방법으로 샘플 용액을 실험하였다.

- 콜라겐 (Collagen) 분석: Bergman and Loxley (1963)를 사용하여 Hydroxyproline량으로 정량하였다. 즉, 시료 0.1g을 screw cap tube에 넣고 6N염산 10mℓ를 첨가하여 110℃에서 24시간 이상 가수분해 한 후 가수분해 된 용액을 감압 농축하여 염산을 완전히 제거하고 구연산/초산완충용액 100mℓ를 넣어 syringe filter로 filtering을 한 후 구연산/초산완충용액 900μg에 시료 100μl를 희석하여 Hydroxyprolin량 측정시료로 사용하였다. 측정용 시료 300μl와 isopropanol 600μl을 혼합한 후 산화용액 300μl 첨가하여 vortexing 후 4분간 정지시켜 Ehrlich's시약 4mℓ를 첨가하여 60℃에서 25분간 가열 처리한 후 흐르는 물에 2-3분간 냉각 시킨 후 4시간 이내에 558nm에서 비색 정량하였다. 정량된 Hydroxyproline 함량에서 collagen계수 7.52를 곱하여 collagen량으로 환산하였다.

#### 아. 녹용 가공 소재의 항산화능 분석 : DPPH, hydroxyl, alkyl 및 superoxide radical 소거능

- DPPH 라디칼 소거활성분석: DPPH 라디칼 소거활성은 Nanjo 등 (1996)에 의한 방법으로 측정한다. 즉, 각각의 녹용탕 추출물에 60ul의 에탄올 용액, 60ul의 DPPH 용액 (0.06 mM)을 혼합한 후 그 중 50ul를 100ul의 Teflon 모세관에 옮겨 담아 ESR spectrophotometer 분석에 사용하였다. 측정조건 : central field, 3475g ; modulation frequency, 100 kHz; modulation amplitude, 2 g; microwave power, 5mW; gain,  $6.3 \times 10^5$  ; temperature, 298 K
- Hydroxyl 라디칼 소거활성분석: Hydroxyl 라디칼 소거활성은 Haber-Weiss의 촉매 이온 방법을 사용한다. 5,5-Dimethyl-1-pyrroline-N-oxide(DMPO) 스픈 트랩을 이용하여 hydroxyl 라디칼을 발생시키고, 전자스핀공명 기기(electron spin resonance)를 사용하여 분석한다. 각 효소에 의한 가수분해물 (0.2ml)을 0.2ml의 DMPO(0.3M), 0.2ml의 FeSO<sub>4</sub> (10mM) 그리고 0.2ml의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(10mM)를 phosphate 완충용액(pH 7.2)과 혼합하여 Teflon 모세관에 100ul를 옮긴 다음 2분 30초 후에 전자스핀공명 기기를 이용하여 측정하며 측정조건은 다음과 같다. central field, 3475 g; modulation frequency, 100 kHz; modulation amplitude, 2 g; microwave power, 1mW; gain  $6.3 \times 10^5$  및 temperature, 298 K
- Alkyl 라디칼 소거활성분석: Alkyl 라디칼은 AAPH 처리에 의해 발생시킨다. 10mmol/L의 AAPH 10mmol/L의 4-POBN 그리고 적정농도의 시료를 phosphate- bufferedsaline (PBS, pH 7.4)와 혼합하여 항온수조에서 37℃로 30분 동안 반응시킨 후, Teflon capillary tube에 100ul를 옮겨 담아 ESR spectrophotometer 분석에 사용하였다. 측정조건 : central field, 3475 g; modulation frequency, 100 kHz; modulation amplitude, 2 g; microwave power, 10mW; gain,  $6.3 \times 10^5$ ; temperature, 298 K
- Superoxide 라디칼 소거활성분석: Superoxide 라디칼은 자외선 조사된 리보플라빈/EDTA 계에 의해 측정하였다. 365nm 의 자외선에서 1분 동안 조사된 각기 다른 농도의 샘플과 0.3mM의 리보플라빈, 5.0 mM의 EDTA, 0.1M의 DMPO를 혼합하여 반응시킨다. 반응물을 Teflon capillary tube에 100ul 를 옮겨 담아 ESR spectrophotometer 분석에 사용하였으며, 측정조건은 다음과 같다. central field, 3475 g; modulation frequency, 100 kHz; modulation

amplitude, 2 g; microwave power, 4mW; gain,  $6.3 \times 10^5$ ; temperature, 298 K

(2) 관능평가: 기호도 검사 (외관, 향, 맛, 조직감, 전체적인 기호도, 구입의향 등)

- 각 식품 제형별 녹용가공제품 (녹용 추출액, 드링크제, 젤편, 캡슐, 캔디, 과립 등)에 대해 7점 척도법을 사용하여 관능 평가를 실시하였다. 각 시료는 3자리 난수를 표기한 코팅된 일회용 컵에 담아서 물과 함께 제시한다. 관능검사로는 색, 맛, 향, 조직감, 전반적인 기호도 및 구입의향 등에 관해 조사하였다.

(3) 식품제형별 녹용 가공제품 시제품 생산 및 공정 표준화

- 녹용 추출액, 드링크제, 젤편, 캡슐, 캔디, 과립 등 (최소 6건)을 제조하였다.

3차년도 (2016년) : 녹용 이외의 첨가제의 상승효과 구명 (십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등)

1. 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 시 첨가되는 한약재의 종류 및 배합비 결정

- 본 연구에서 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조에 사용하는 한약재는 동의보감을 근거로 한 녹용대보탕의 처방을 근거로 하여 총 25전의 한약재를 선정하고 각각의 한약재의 항산화 활성을 알아보고자 DPPH radical 소거활성을 측정하였다. 일반적으로 약용식물과 한약재의 항산화 활성을 측정하기 위한 방법에는 electron spin resonance (ESR) spectrometer를 이용한 DPPH radical, hydroxyl radical, superoxide radical 및 alkyl radical 소거활성 측정법이 있는데, 이 중에서 DPPH radical을 이용한 측정법은 비교적 실험방법이 간단하고 재현성이 있으며 실험데이터의 오차가 적기 때문에 항산화활성 실험에 널리 이용되고 있다.

○ 한약재의 종류 (총 25전)

No	한약재 명	학명	No	한약재 명	학명
1	인삼	<i>Panax ginseng</i>	14	복분자	<i>Rubus coreanus miquel</i>
2	대추	<i>Zizhus jujube</i>	15	산사	<i>Crataegus pinnatifid Bunge</i>
3	생강	<i>Zingiber officinale roscoe</i>	16	황기	<i>Astragalus membranaceus</i>
4	삽주	<i>Atractylodes japonica</i>	17	귤피	<i>Citrus unshiu Markovich</i>
5	당귀	<i>Angelica nakai</i>	18	두충	<i>Eucommia ulmoides Oliver</i>
6	천궁	<i>Cnidium officinale</i>	19	칡	<i>Pueraria thunber guana</i>
7	백작약	<i>Paeoni lactiflora Pallas</i>	20	인진쑥	<i>Artemisia capillaris</i>
8	숙지황	<i>Rehmannia radix</i>	21	뽕나무	<i>Mulberry branches</i>

9	계피	<i>Cinnamomi cortex</i>	22	결명자	<i>Cassia obtusifolia L.</i>
10	감초	<i>Glycirrhizia glabra</i>	23	녹차	<i>Camellia sinensis O. KTZE</i>
11	백출	<i>Atractylodes rhizoma</i>	24	홍화	<i>Carthamus tinctorius L.</i>
12	백복령	<i>Poria cocos wolf</i>	25	마	<i>Dioscorea japonica hull</i>
13	구기자	<i>Eriophys macrodonis</i>			

- ① DPPH radical 소거 측정: 안정한 자유라디칼인 DPPH의 소거 측정은 Nanjo의 방법에 준하여 측정한다. 즉, 에탄올에 녹인 DPPH 용액 60 μl과 키토산 및 올리고당 유도체 용액 동량을 첨가하여 10초간 강하게 섞은 후 quartz capillary tube에 옮겨 electron spin resonance (ESR) spectrometer로 측정하였다.
- ② 각 한약재들의 DPPH radical에 대한 IC<sub>50</sub> value (DPPH radical 50% 억제 농도)를 근거로 한 배합비율을 결정하였다.

## 2. 녹용 첨가량, 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 유효 성분 함량 분석

- ① 일반성분 분석: 일반성분은 AOAC법 (2005)에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조단백질 함량은 Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet법으로 가열 전과 후의 함량 변화를 분석하였다.
- ② 유효 성분 분석: 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등에 함유된 녹용의 유효성분 함량 분석은 1차년도와 동일한 방법으로 분석하였다.
- 총 폴리페놀 함량 (Total polyphenol) 측정: 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법 (1912)으로 측정한다. 즉, 녹용탕의 25배 희석액 5ml에 Folin reagent 5ml를 가하고 5분간 정치시킨 후 5ml의 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액을 가한다. 이 혼합액을 1시간 동안 정치한 다음 분광광도계를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하고 (+)catechin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

## 3. 녹용 첨가량, 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 항산화 활성을 분석

- 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 항산화 활성을 1차년도와 동일한 방법으로 분석하였다.

## 4. 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킨 항산화 기능성이 향상된 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 기술 개발 및 표준화 방안 제시

- 본 연구의 실험결과들을 토대로 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 시 항산화 활성을 극대화시킬 수 있는 한약재 종류, 한약재의 배합비율, 녹용의 부위에 따른 최적 첨가량 및 최

적의 제조시간 등 표준화된 제조 기준 제시하였다.

### 제 3협동과제 : 원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명

#### [1차년도]

##### ○ 녹용의 골성장에 대한 효능 평가

###### 1. 인간 골육종 세포인 MG-63 세포에서의 증식 효능 평가

MG63 세포를 96well plate에  $5 \times 10^3$ 개씩 분주하여 24시간 배양하였다. 이후 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을 각각 100, 50, 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하였다. 다시 24시간 배양 후 BrdU kit를 이용하여 세포증식률을 측정하였다.

##### ○ 녹용의 골성장에 대한 기전 평가

###### 1. ALP 발현에 대한 효과

MG63 세포를 12well plate에  $5 \times 10^4$ 개씩 분주하여 24시간 배양하였다. 이후 Osteogenic medium ( $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  ascorbic acid, 10 mM beta-glycerophosphate, and 5 nM dexamethasone in DMEM)으로 배지를 교체한 후 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을 각각 50 및 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하였다. 다시 24시간 배양 후 배지를 제거하고 PBS로 세척하였다. 0.1% Triton X-100을 각 well에 0.5 ml씩 넣어 프로테인을 추출한 후 13,000 rpm으로 원심분리하여 상층액을 취하였다. 이후 기질액(22.4mM p-nitrophenyl phosphate in 2M diethanolamine pH 9.8 with 1mM MgCl<sub>2</sub>)에 원심분리한 시료를 첨가한 후 405 nM 흡광도에서 30분간 측정값의 기울기를 계산하였다.

###### 2. Calcium 침착에 대한 효과

MG63 세포를 12well plate에  $5 \times 10^4$ 개씩 분주하여 24시간 배양하였다. 이후 Osteogenic medium으로 배지를 교체한 후 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하고 격일로 배지 및 추출물을 교체하면서 7일간 배양하였다. 배양된 세포를 PBS로 세척한 후 10% formaldehyde 용액으로 15분간 고정하였다. 고정된 세포는 2%의 Alizarin Red (Sigma, USA)용액으로 20분간 염색하였으며, 이후 10% 아세트산으로 녹여서 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

###### 3. Collagen 발현에 대한 효과

MG63 세포를 12well plate에  $5 \times 10^4$ 개씩 분주하여 24시간 배양하였다. 이후 Osteogenic

medium으로 배지를 교체한 후 녹용 상태, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상태의 추출물을  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하고 격일로 배지 및 추출물을 교체하면서 7일간 배양하였다. 배양된 세포를 PBS로 세척한 후 8.3% 포름 알데하이드 및 4.8%의 아세트산을 함유한 포화 피크릭산 용액으로 1시간동안 고정하였다. 고정된 세포는 0.1% Sirius Red (Sigma, USA)를 함유한 포화 피크릭산 용액으로 30분간 염색하였으며 이후 0.1 M HCL용액으로 세척하였다. 염색된 콜라겐은 0.5 M NaOH 용액으로 녹여낸 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 4. RNA 발현에 대한 효과

성장 관련 유전자 발현에 대하여 녹용 시료의 효능을 확인하기 위하여 RealTime PCR 방법을 이용하여 RNA의 발현량을 확인하였다. MG63 세포를 6 well plate에  $1 \times 10^5$ 개씩 분주하여 24시간 배양하였다. 이후 녹용 상태, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상태의 추출물을  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하여 다시 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후 배지를 제거한 다음 RNA를 추출하여 cDNA를 합성하였다. 각 시료는 CYBR Green RealTime PCR Kit (Qiagen, USA)를 이용하여 Collagen (COL), Alkaline phosphatase (ALP), Osteocalcin (OCN), Osteopontin (OPN)의 유전자 발현 정도를 Realtime PCR로 분석하였다.

#### 5. 파골세포 분화에 대한 효과

마우스를 희생시킨 후 대퇴골로부터 골수세포를 분리하여 alpha-MEM 배지를 이용하여 3일간 배양하였다. 이후 골수세포로부터 파골세포로의 분화를 유도하기 위해 RANKL이 함유된 alpha-MEM 배지로 교체하고 녹용 상태, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상태의 추출물을  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하여 다시 4일간 배양하였다. 각 세포를 고정액으로 고정한 후 TRAP 염색 키트인 387-A kit (Sigma, USA)를 사용하여 염색한 후 파골세포로 분화된 세포 수를 측정하였다.

#### 6. 녹용의 성장기 흰쥐 장골 길이 생장에 대한 효능 평가

실험동물은 8 마리씩 나누어 3일간 환경에 적응 시킨 후 5일간 각 시료  $100 \text{ mg}/\text{kg}$ 을 경구투여하였다. 실험 종료 1일 전 각 실험동물에게 calcein ( $10 \text{ mg}/\text{kg}$ )을 복강주사하여 형광 표식을 하여 추후 장골의 길이 성장을 확인할 수 있도록 하였다. 실험 종료일에 각 동물을 chloral hydrate (純正化學, Japan,  $35.0 \text{ mg}/\text{kg}$ , i.p.)로 마취시켜 개흉한 다음, 우심이를 절개하고 needle (No. 18)을 좌심실에 주입한 후 혜파린 처리된 5% sodium nitrite (Sigma, U.S.A.) 생리식염수를 심장에 관류시키고, 이어서 0.1 M phosphate buffer에 녹인 pH 7.4의 4.0% formalin 고정액으로 관류시켰다. 그 후 흰쥐의 좌우 족경골 (tibia)를 떼어내어 2시간 동안 0.1 M phosphate buffered formalin 고정액에 후고정시킨 다음, 50 mM EDTA에 2-3일 동안 방치하여 탈회 후, 동결에 대한 보호를 위해 30% sucrose에 담가  $4^\circ\text{C}$ 에서 하룻밤동안 유지하였다. 고정된 골조직을 동결한 후 sliding microtome (HM440E, Zeiss, Germany)을 사용하여 족경골 (tibia) 근위 (proximal part)부의 시상

절편 (sagittal section)을 매  $40 \mu\text{m}$ 씩 수집하였다. 매  $40 \mu\text{m}$ 로 수집된 족경골 근위부 시상절편을 슬라이드 글라스 위에 올리고 건조한 후 형광현미경을 이용하여 자외선조사에 따른 골 조직 내 테트라사이클린의 침착으로 형성된 선과 성장판 하단 사이의 길이를 측정하여 1일간의 골 성장 지표로 사용하였다. 이 골조직에 cresyl violet 염색을 하여 성장판의 길이 생장을 측정하였으며 면역염색을 통해 BMP-2의 발현정도를 측정하였다.

#### 7. 녹용의 피부 관련 인자인 Elastase 분비에 대한 효능 평가

96 well plate에 substrate 용액 ( $2\text{mM}$  N-Succinyl-Ala-Ala-Ala -p-nitroanilide)를  $100\mu\text{l}$ 씩 분주한 후 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을 1, 5, 10, 및  $20 \text{ mg/ml}$ 의 농도로 만들어  $50\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 그 후 Elastase를 200배 희석하여 각 well에  $50\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 각 plate를  $410 \text{ nm}$ 에서 측정한 후  $36^\circ\text{C}$ 에서 15분간 반응시킨 후 다시 흡광도를 측정, 처음 값과의 차이를 계산하여 엘라스타제 억제 효과를 측정하였다.

#### 8. 녹용의 피부 관련 인자인 타이로시나제 분비에 대한 효능 평가

96 well plate에  $0.1\text{M}$  PB 용액을  $110\mu\text{l}$ 씩 분주하고 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을 1, 5, 10, 및  $20 \text{ mg/ml}$ 의 농도로 만들어  $10\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 이후  $2000 \text{ U/ml}$ 의 mushroom tyrosinase 시약을  $10\mu\text{l}$  첨가하고  $490 \text{ nm}$ 에서 흡광도 측정하였다. 이후  $1.5 \text{ mM}$ 의 L-tyrosine 시약을  $20\mu\text{l}$  씩 첨가하고 10분 동안 반응시킨 후 다시 흡광도를 측정하여 이전 값과의 차이로 타이로시나제 활성을 측정하였다.

#### 9. 녹용의 피부 관련 인자인 DOPA 활성에 대한 효능 평가

96 well plate에  $0.1\text{M}$  PB 용액을  $170\mu\text{l}$ 씩 분주하고 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을 1, 5, 10, 및  $20 \text{ mg/ml}$ 의 농도로 만들어  $10\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 이후  $2000 \text{ U/ml}$ 의 mushroom tyrosinase 시약을  $10\mu\text{l}$  첨가하고  $490 \text{ nm}$ 에서 흡광도 측정하였다. 이후  $6 \text{ mM}$ 의 L-DOPA 시약을  $20\mu\text{l}$  씩 첨가하고 10분동안 반응시킨 후 다시 흡광도를 측정하여 이전 값과의 차이로 DOPA 활성을 측정하였다.

### ○ 녹용 응용 제품의 효능 평가

#### 1. 시료의 추출, 농축 및 동결 건조

$70\%$  EtOH, 및 D.W.에 추출 및 동결건조 하여 시료를 제조하였다. 이 시료에 10 종의 효소를  $2\%$ 의 농도로 반응시킨 후  $70\%$  EtOH로 추출 및 동결건조 하여 시료로 사용하였다.

#### 2. 시료의 대식 세포에 대한 증식 효능 평가

각 시료를 대식세포주인 RAW 264.7 세포에 농도별로 처리한 후 BrdU Labeling 방법을 이용하여

세포 독성 및 세포 증식에 대한 효능을 평가하였다.

### 3. 시료의 NO 발현 억제에 대한 효능 평가

200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 각 시료를 RAW 264.7 대식 세포에 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. 이후 Nitric oxide의 생성량을 측정하기 위하여 LPS로 NO 생성을 유발 후 각 시료를 투여하였다. 다시 24시간 배양 후 griess reagent를 이용하여 NO 분비량을 측정하였다.

### 4. 시료의 히스타민 분비에 대한 억제 효능 평가

각 시료 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 Human Mast Cell에 투여한 후 compound 48/80으로 히스타민 분비를 유도하였다.

### 5. 시료의 조골 세포에 대한 증식 효능 평가

각 시료를 조골세포주인 MG-63 세포에 농도별로 처리한 후 BrdU Labeling 방법을 이용한 세포 독성 및 세포 증식에 대한 효능을 평가하였다.

## [2차년도]

### ○ 녹용의 골다공증에 대한 효능 평가

#### 1. 난소 제거 흰쥐에서의 녹용 섭취에 의한 골다공증 치료 효과 동물실험

노년기 흰쥐 골다공증 실험 모델에서의 녹용의 효능을 평가하기 위하여 골다공증 질환 동물 모델로서 폐경기 이후 골다공증 질환 실험 모델인 난소 적출 실험동물 모델을 이용하였다. 12주령의 SD계 흰쥐를 샘타코로부터 구입하여 실온 평균 24°C, 명암 12시간 주기의 환경에서 사료 및 물을 자유롭게 섭취하도록 하며 3일간 실험실 환경에 적응시켰다. 안정화 된 흰쥐를 마취한 후 난소를 적출하여 골다공증 모델을 제작하고 28일간 시료를 경구투여 하였다. 실험 종료 후 각 실험동물의 심장으로부터 혈액을 취하여 상온에서 30분간 응고시킨 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 취하여 골다공증 마커를 측정하는데 사용하였다.

#### 2. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Bone alkaline phosphatase (BALP) 분비에 대한 효과

BALP는 골아세포에서 생성되어 혈중으로 분비되는 효소로서 일중 변동이 적고 반감기가 비교적 길어 혈청 BALP의 측정은 골 형성의 좋은 표지자가 된다. BALP는 골 신생 시기에 주로 증가하나 골 파괴가 주된 질환에서도 증가하는 경향을 나타낸다. BALP 측정은 Bluegene (Shanghai, China)사의 BALP Elisa kit를 사용하였다. 그 결과 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군에서 난소적출 실험군에 비하여 각각 8.1 및 20.5%의 BALP 감소량을 나타내어 농도의 존적으로 BALP의 발현을 억제하였으며, 특히 100 mg/kg을 투여한 실험군에서는 통계적으로

유의한 BALP 감소량을 나타내었다.

3. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 C-terminal telopeptide (CTX) 분비에 대한 효과  
CTX 및 N-terminal telopeptide (NTX)는 콜라겐 구조의 양 말단 부위에 존재하는 peptide로 콜라겐이 pyridinium과 cross linking chain을 형성하는 주요 구조로서 파골세포에 의해 콜라겐이 분해되면서 혈중 및 뇌중으로 telopeptide가 유리되어 뼈의 분해를 반영하는 생화학 지표로 활용된다. CTX 측정은 CUSABIO사의 CTX Elisa kit를 사용하였다. 그 결과 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군에서 난소적출 실험군에 비하여 각각 7.8 및 43.8%의 CTX 감소량을 나타내어 농도 의존적으로 CTX의 발현을 억제하는 것을 확인하였으며, 특히 100 mg/kg을 투여한 실험군에서는 통계적으로 유의한 CTX 감소량을 나타내었다.

4. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Osteocalcin (OC) 분비에 대한 효과  
Osteocalcin은 뼈에서 콜라겐 다음으로 많은 단백질로서 골아세포에서 형성된 후 골 기질속에 침착되며 이때 새로 형성된 OC의 일부가 혈액내로 방출된다. OC 측정을 위해 Bluegene (Shanghai, China)사의 Osteocalcin Elisa kit를 사용하였다. 그 결과, 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군에서 난소적출 실험군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수 없었다.

5. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Tartrate-resistant acid phosphatase-5b (TRACP 5b) 발현에 대한 효과

Tartrate-resistant acid phosphatase는 파골세포에서 분비되어 콜라겐의 분해 및 파골세포의 부착, 이동 등에 관련하며 특히 Bone resorption 과정에서 파골세포에 의해 생성되는 TRAP의 이성질체이다. TRACP 5b 측정을 위해 CUSABIO사의 TRACP 5b Elisa kit를 사용하였으며 그 결과, 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군에서 난소적출 실험군에 비하여 통계적으로 유의한 차이는 나지 않았으나 농도의존적으로 TRACP 5b의 발현을 억제하는 경향을 확인할 수 있었다.

## ○ 녹용의 면역 기능에 대한 효능 평가

### 1. 녹용의 비장세포 증식 대한 효능 평가

비장은 면역 세포를 생성하며 면역 반응을 유발하는 중요한 기관으로서 비장의 세포를 배양하여 녹용 투여에 의한 면역기능에 대한 효능을 확인하였다. 무균상태에서 실험동물의 비장을 취하여 무균 HBSS 용액에 분쇄하여 세포 혼탁액으로 만들었다. 이후 세포수를 측정 한 후 24 well plate에 녹용 시료 및 Con A 용액을 첨가하여 72시간 배양하였다. 배양 종료 후 MTT 시약을 각 세포에 첨가하고 4시간 추가 배양하였다. 각 well에 산성 아이소프로페놀을 넣어 보라색 결정을 완전히 용해한 후 570 nm 파장에서 ELISA reader로 측정하여 비장세포의 증식에 대한 효능을 확인하였다. 그 결과 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 비장세포의 세

포생존률이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용 50 및 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 각각 108.8  $\pm$  0.7 및 118.5  $\pm$  5.2%로 통계적으로 유의한 세포 생존률 증가를 나타내었다.

## 2. 녹용의 골수세포의 증식에 대한 효능 평가

골수는 혈액을 생성하는 조혈기관이며 백혈구 등 면역 관련 세포들을 생산한다. 녹용 투여에 의한 골수 세포에서의 면역기능에 대한 효과를 확인하였다. 5주령 ICR 생쥐를 희생시킨 후 대퇴골과 경골을 깨끗이 분리하고 대퇴골과 경골의 양 끝을 제거하였다. 이후 뼈속질을 주사기로 수세하여 골수세포를 취하였다. 골수세포를 96 well plate에 분주한 후 녹용 시료를 투여하여 24시간 배양하였다. 배양 종료 후 MTT 시약을 각 세포에 첨가하고 4시간 추가 배양하였다. 각 well에 산성 아이소프로페놀을 넣어 보라색 결정을 완전히 용해한 후 570 nm 파장에서 ELISA reader로 측정하여 골수세포의 증식에 대한 효능을 확인하였다. 그 결과 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 골수세포의 세포생존률이 증가하는 경향을 나타내었으며 모든 녹용 투여군에서 통계적으로 유의한 세포 생존률 증가를 나타내었다.

## 3. 녹용의 대식세포 증식에 대한 효능 평가

대식세포는 면역 체계에서 중요한 세포로서 식균작용을 통해 자연면역기능을 수행한다. 녹용 투여에 의한 대식세포에서의 증식기능에 대한 효과를 확인하였다. 대식세포주인 RAW 264.7 세포를 96 well plate에 분주한 후 24시간 배양하였다. 이후 녹용 시료를 투여하여 다시 24시간 배양하였다. 배양 종료 후 MTT 시약을 각 세포에 첨가하고 4시간 추가 배양하였다. 각 well에 산성 아이소프로페놀을 넣어 보라색 결정을 완전히 용해한 후 570 nm 파장에서 ELISA reader로 측정하여 대식세포의 증식에 대한 효능을 확인하였다. 그 결과 녹용 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  까지는 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 대식세포의 세포생존률이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용 20 및 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 각각 105.0  $\pm$  2.0 및 107.9  $\pm$  2.2%로 통계적으로 유의한 세포 생존률 증가를 나타내었다.

## 4. 녹용의 RAW 264.7세포에서의 일산화질소 분비에 대한 효능 평가

RAW 264.7 세포를 이용하여 일산화 질소 분비에 대한 녹용의 억제효과를 확인하였다. RAW 264.7 세포를 96 well plate에 분주한 후 24시간 배양하였다. 이후 100 ng/ml의 LPS를 처리하여 일산화질소 분비를 유도하고 녹용 시료를 투여하여 다시 24시간 배양하였다. 배양 종료 후 배지를 취하여 새 plate에 옮기고 Griess reagent를 첨가한 후 10분간 반응시켰다. 반응 종료 후 540 nm 파장에서 ELISA reader로 측정하여 일산화질소 분비량을 측정하였다. 그 결과 녹용 시료 투여에 따른 일산화질소 분비량은 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수 없었으나 농도의존적으로 일산화질소 분비를 억제하는 경향을 확인할 수 있었다.

## 5. 녹용의 대식세포에서의 식균작용에 대한 효능 평가

녹용의 대식세포에서의 식균작용에 대한 효능을 대식세포인 RAW 264.7 세포를 이용하여 측정하였다. RAW 264.7 세포를 96 well plate에 분주한 후 24시간 배양하였다. 이후 녹용 시료를 투여하고 다시 12시간 배양하였다. 배양 종료 후 yellow green 형광을 띠는 비드를 각 well에 투여하여 식균작용을 유도한 후 남은 비드를 제거하고 형광 Excitation 360 nm, Emission 480 nm에서 측정하였다. 그 결과 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 식균작용이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용 50 및 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 각각  $108.7 \pm 2.1$  및  $116.7 \pm 1.4\%$ 로 통계적으로 유의한 식균작용의 증가를 나타내었다.

## [3차년도]

### ○ 녹용의 지구력 증진에 대한 효능 평가

#### 1. 수영법을 이용한 녹용의 지구력 증진 효과 검증

##### 1) 실험동물

5주령 ICR계 웅성 생쥐 40마리를 샘타코(오산, 대한민국)에서 분양받아 일정한 조건(온도:  $20\pm2^\circ\text{C}$ , 습도: 40~60%, 명암: 12시간 light/dark cycle)의 사육시설에서 5일간 충분하게 적응시킨 후 실험을 진행하였다. 실험동물은 Control(물 투여), DH-Tip(분골 열수추출물 100 mg/kg 투여), DH-Upper(상대 열수추출물 100 mg/kg 투여), DH-NZ(뉴질랜드산 상대 열수추출물 100 mg/kg 투여)의 4군으로 설정하고, 각각 10마리의 생쥐를 배정하였다. 물 및 녹용 열수추출물은 0.2ml의 동일한 양을 각 군의 실험동물에게 1일 1회, 총 4주 동안 경구 투여시켰다. 모든 실험은 세명대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 얻어 시행하였으며, 동물 관리 규정을 준수하였다(smeiae 16-06-03).

##### 2) 강제수영시험(Forced swimming test)

4주 동안 물을 섭취한 대조군 및 녹용 열수추출물을 섭취한 실험군의 실험동물들을 강제수영시험을 하기 16시간 전부터 물만 공급하고 절식시킨 후 강제수영시험에 사용하였다. 수영을 시작하기 전 아크릴 플라스틱 수조( $45\times25\times30\text{ cm}$ ) 내에 섭씨  $24\sim26^\circ\text{C}$  되는 물을 약 20% 정도 넣고 1%의 계면활성제를 첨가한 후 2분 동안 텔을 젖게 하여 텔 속의 지방성분을 제거하였다. 5000 ml 유리 비커(Diameter 170 Ømm \, Height 270 mm) 내에 섭씨  $24\sim26^\circ\text{C}$  되는 물을 약 90% 정도 넣고, Leichtweis 등의 방법에 따라 체중의 5%에 해당하는 추를 생쥐의 미근부(꼬리)에 매달아 강제로 수영하게 하였다. 탈진은 마우스가 물속에서 7초간 표면으로 떠오르지 않는 상태로 판단하였다.

#### 2. 녹용 처리에 따른 지구력 관련 인자 확인

##### 1) 젖산(Lactic acid) 농도 측정

지구력 증진과 관련이 있는 근육의 피로도에 대한 녹용의 효과를 알아보기 위하여 피로 원인

물질로 알려져 있는 젖산 함량을 혈액 중 수준으로 측정하고자 하였다. 강제수영 실시 후 탈진으로 판단된 동물을 30분간 휴식을 시킨 뒤 복부 대동맥을 통하여 혈액을 채취하고, 혈청을 분리한 후 Lactate assay kit(MET-5013, 고마바이오텍)를 사용하여 젖산 농도를 분석하였다.

## ○ 녹용의 항산화 및 항염증에 대한 효능 평가

### 1. 비만세포에서의 녹용 투여에 따른 사이토카인 분비 양상 확인

사람의 비만세포 계열인 HMC-1 세포를 이용하여 부위별 녹용이 사이토카인 분비 양상에 미치는 영향을 관찰하였다. HMC-1 세포를 24 well plate(SPL Lifesciences Inc, Korea)에  $5 \times 10^5$  cells/well 농도로 분주하여 37°C, 5%, CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양한 후, Phorbol 12-myristate 13 acetate(PMA) 20nM과 calcium ionophore A23187 1uM을 넣고, 동시에 100 μg/ml 농도의 분골, 상대, 중대, 하대, 및 뉴질랜드산 상대 열수추출물을 처리한 뒤에 다시 8시간 동안 배양하였다. 배양이 종료된 배양액은 2000rpm에서 5분간 원심분리하여 세포를 제거하고 상등액을 회수한 후 IL-6 및 IL-1β elisa kit(고마바이오텍, 서울)를 이용하여 각 사이토카인의 분비량을 측정하였다.

### 2. 녹용 투여에 따른 히스타민 분비 조절 등 면역 조절 기능 평가

사람의 비만세포 계열인 HMC-1 세포를 이용하여 부위별 녹용이 히스타민 분비 양상에 미치는 영향을 관찰하였다. HMC-1 세포를 24 well plate(SPL Lifesciences Inc, Korea)에  $5 \times 10^5$  cells/well 농도로 분주하여 37°C, 5%, CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양한 후, 100 μg/ml 농도의 분골, 상대, 중대, 하대, 및 뉴질랜드산 상대 열수추출물을 처리한 뒤에 다시 3시간 동안 배양하였다. 이후 자극제인 compound 48/80을 처리하여 30분간 히스타민 분비 유도한 뒤 배양액을 2000rpm에서 5분간 원심분리하여 세포를 제거하고 상등액을 회수한 후 o-phthaldialdehyde 용액을 첨가하여 5분간 반응시킨 뒤, 370 nm의 excitation, 460 nm emission의 형광 파장에서 Synergy 2 microplate reader(BioTek, Winooski, VT, USA)로 측정하였다.

### 3. 녹용의 자유기애 대한 항산화 효과 검증

#### 1) 부위별 녹용 시료의 DPPH radical 소거능

Brand-Williams 등의 실험방법을 변형하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical에 대한 녹용의 소거능력을 측정하였다. 0, 10, 50, 100 μg/ml 농도의 분골, 상대, 중대, 뉴질랜드산 상대 열수추출물 500 μl를 1.5 ml tube에 넣고 0.3 mM DPPH 용액을 500 μl 가하여 10초 동안 잘 혼합한 다음, 실온에서 20분 동안 반응시킨 후 Synergy 2 microplate reader(BioTek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 525 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 함량은 [(흡광도시료무첨가 - 흡광도시료) / 흡광도시료무첨가] × 100의 공식으로 계산하였다.

## 2) 부위별 녹용 시료의 세포독성 평가

RAW 264.7 cells를 10% FBS를 포함한 DMEM에 혼탁시킨 후 96 well plate(Corning, USA)에  $5 \times 10^4$  cells/ml의 세포수가 되도록 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하여 37°C, 5%, CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양한 후 분골, 상대, 중대, 뉴질랜드산 상대 열수추출물을 각각 0, 10, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 이후 5 mg/ml의 MTT를 각 well에 20  $\mu\text{l}$  넣고 잘 섞어 준 후 4시간 동안 37°C incubator에서 배양한 후 상층액을 제거하고 DMSO를 200  $\mu\text{l}$ 씩 분주하여 well에 생성된 formazan이 잘 녹을 수 있게 충분히 흔들어 모두 녹인 후 Synergy 2 microplate reader(BioTek, Winooski, VT, USA)를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 3 회의 측정으로 그에 대한 평균값과 표준 편차를 구하였다.

## 3) 부위별 녹용 시료의 Nitric Oxide에 대한 억제 효능 평가

RAW 264.7 cells를 10% FBS를 포함한 DMEM에 혼탁시킨 후 96 well plate(Corning, USA)에  $5 \times 10^4$  cells/ml의 세포수가 되도록 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하여 37°C, 5%, CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양한 후 분골, 상대, 중대, 뉴질랜드산 상대 열수추출물을 각각 0, 10, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 전처리하여 1시간 동안 배양한 후, LPS를 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 상등액을 100  $\mu\text{l}$ 씩 취해 새로운 96 well plate에 넣은 후 Nitric Oxide Detection kit의 N1 buffer를 50  $\mu\text{l}$  첨가하고 10분간 incubator에 넣었다가 꺼낸 후, 다시 N2 buffer를 넣고 10분간 상온방치 한 뒤에 Synergy 2 microplate reader(BioTek, Winooski, VT, USA)를 사용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 3회 측정하였으며, 그에 대한 평균값과 표준 편차를 구하였다. 표준품으로 Nitrite standard를 사용하여 표준용량곡선을 작성하고 질소산화물(nitrite, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)의 생성을 산출하였다.

## 4) 부위별 녹용 시료의 COX2, iNOS 발현 억제 평가

RAW 264.7 cells를 10% FBS를 포함한 DMEM에 혼탁시킨 후 100 mm cell culture dishes(SPL Lifesciences Inc, Korea)에  $5 \times 10^5$  cells/ml의 세포수가 되도록 10 ml씩 분주하여 37°C 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24 시간 배양하였다. 새로운 DMEM 배지로 교환한 뒤 분골, 상대, 중대, 뉴질랜드산 상대 열수추출물을 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도로 세포에 처리하여 1시간 동안 배양하고 자극제 LPS(1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. RNeasy protect mini kit를 이용하여 spin column에 추출된 총 RNA는 QuantiTect Reverse Transcription Kit로 역전사(reverse transcription) 시킨 후 QuantiTect SYBR Green PCR kit를 이용하여 실시간 유전자 증폭(Real-time PCR)을 시행하였다. reaction mixture는 cDNA template 2  $\mu\text{l}$ , SYBR Green PCR master mix 10  $\mu\text{l}$ , primers 각 5 pM에 RNase free water를 넣어 총 20  $\mu\text{l}$ 의 양으로 시행하였다. 온도조건은 95°C에서 15분간 전변성 반응 후, 94°C 15초, 55°C 30초, 72°C 30초의 3 단계를 한 주기로 55주기를 반복하였다. mRNA 발현 정도는 유전자 정량 증폭 장비인 Rotor Gene Q 및 software(Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 정량·분석하였으며 iNOS, COX-2의 mRNA 정량 분석 시 housekeeping 유전자인 Cyclophilin을 internal control로 삼아 표준화

시켰다. primer 각각의 염기서열은 다음과 같다(표 1).

표 1. The Primers for RT-PCR Analysis

Gene	Strand	Oligonucleotide sequences(5' to 3' direction)
iNOS	Sense	GTGTTCCACCAGGAGATGTTG
	Antisense	CTCCTGCCCACTGAGTCGTC
COX-2	Sense	TGCATGTGGCTGTGGATGTCATCAA
	Antisense	CACTAAGACAGACCCGTCATCTCCA
Cyclophilin	Sense	ACCCCACCGTGTCTTCGAC
	Antisense	CATTTGCCATGGACAAGATG

## 제2절 연구개발수행 결과

### 제 1협동과제 : 녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정

#### 1차년도 (2014년)

##### 1. 녹용성장일수별 녹용생산량

표 1. 녹용성장일수별 녹용생산량

성장일수	녹용생산량(kg)
50	3,838
57	4,413
64	5,363
71	5,788
78	7,613
85	10,013
92	12,275
99일	15,100



그림1. 녹용성장일수별 녹용생산량

- 엘크사슴의 절각시기가 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92 및 99일 때 녹용산량은 각각 3,838, 4,413, 5,363, 5,788, 7,713, 10,013, 12,275 및 15,100g 으로 녹용의 성장일수가 증가 할수록 녹용의 생산량은 증가하는 경향을 보였으며, 절각일수별 녹용생산량을 회귀식으로 나타내면  $y=215.03x^2-340.92x+4100.9(R^2=0.99)$ 와 같다.

## 2. 엘크사슴 녹용의 절각시기별 부위별 생산량(g)

표 2. 엘크사슴 녹용의 절각시기별 부위별 생산량(g)

절각시기	녹용생산량	하대	중대	상대	분골	1번 가지	2번 가지	3번 가지
50일	3,838	537	883	928	323	673	493	-
57일	4,413	512	828	1,545	376	722	430	-
64일	5,363	524	812	1,950	367	558	963	188
71일	5,788	795	1,327	1,748	403	705	448	362
78일	7,613	840	1,750	2,226	463	1,133	576	623
85일	10,013	1,110	2,194	3,562	410	1,161	784	791
92일	12,275	1,740	2,027	4,651	443	1,293	1,342	780
99일	15,100	1,422	2,937	5,367	533	2,042	1,252	1,548

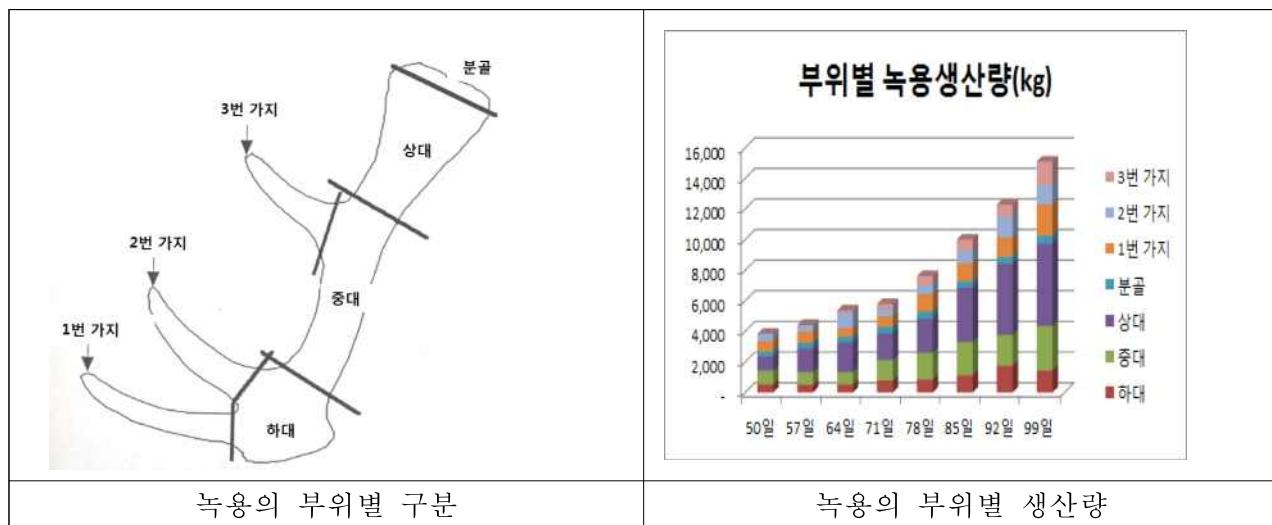
- 녹용의 성장일수가 증가할수록 부위별 생산량도 증가하지만 특히 상대의 무게와 3번가지의 무게가 증가하는 경향을 보였다.

### 3. 엘크사슴 녹용의 절각시기별 부위별 생산량 비율(%)

표 3. 엘크사슴 녹용의 절각시기별 부위별 생산량 비율(%)

절각시기	하대	중대	상대	분골	1번 가지	2번 가지	3번 가지
50일	14.0	23.0	24.2	8.4	17.5	12.9	0.0
57일	11.6	18.8	35.0	8.5	16.4	9.8	0.0
64일	9.8	15.1	36.4	6.9	10.4	18.0	3.5
71일	13.7	22.9	30.2	7.0	12.2	7.7	6.2
78일	11.0	23.0	29.2	6.1	14.9	7.6	8.2
85일	11.1	21.9	35.6	4.1	11.6	7.8	7.9
92일	14.2	16.5	37.9	3.6	10.5	10.9	6.4
99일	9.4	19.4	35.5	3.5	13.5	8.3	10.3

※ 절각시기 : 낙각일 기준 성장일수



### 4. 경제성 분석

- 92일 이후는 하대부분 골화로 도매가격이 하락하여 녹용의 최적절각일은 낙각후 85일에 절각하는 것이 현재로서는 경제적으로 가장 유리하다.

표 4. 녹용의 도매가격

절각시기	도매가격/37.5g	조수입
50일	8,000	1,154,286
57일	8,000	1,327,218
64일	8,000	1,612,932
71일	8,000	1,740,752
78일	8,000	2,289,624
85일	8,000	3,011,429
92일	6,500	2,999,530
99일	6,000	3,406,015



### ○ 일반성분

표 5. 절각일에 따른 녹용의 각 부위별(분골, 상대, 중대 및 하대) 일반성분 변화

구분	days	Moisture	Fat	Protein	Ash
-----(%-----					
Tip	50	3.77±1.12	3.11±0.28	75.7±1.47	12.2±0.52
	57	3.76±0.50	2.79±0.60	74.8±2.66	10.7±2.26
	64	3.76±0.55	2.71±0.16	78.7±1.71	9.37±1.34
	71	6.25±3.02	2.95±0.58	75.5±1.74	10.2±3.03
	78	3.94±0.88	2.91±0.80	70.5±4.75	17.1±6.44
	85	4.67±1.83	2.99±1.11	78.9±3.70	9.64±1.77
	92	3.19±0.19	2.94±0.25	74.0±1.16	13.0±0.59
	99	3.52±0.10	2.54±0.66	74.7±5.31	13.0±2.49
	50	2.30±0.20	2.59±0.63 <sup>abc</sup>	62.4± 2.39	28.0±0.94
Upper	57	2.77±0.45	2.87±0.41 <sup>bc</sup>	62.5±0.73	27.7±1.92
	64	2.70±0.75	2.61±0.39 <sup>abc</sup>	64.6±5.84	28.2±4.75
	71	2.00±0.25	2.64±0.16 <sup>abc</sup>	64.4±3.88	27.9±3.65
	78	2.51±0.26	2.96±0.33 <sup>c</sup>	61.8±2.31	28.0±3.68
	85	2.70±0.12	2.04±0.55 <sup>a</sup>	68.5±4.78	26.5±4.44
	92	2.88±0.14	2.15±0.41 <sup>ab</sup>	62.1±8.32	29.5±5.26
	99	2.45±0.32	1.92±0.13 <sup>a</sup>	61.5±3.61	30.1±2.91
	50	3.84±0.27	1.95±0.45	62.1±2.73	31.8±1.71 <sup>a</sup>
	57	3.41±0.34	2.27±0.38	62.1±0.45	32.2±0.75 <sup>ab</sup>
Middle	64	3.64±0.50	1.93±0.34	56.5±3.82	36.6±4.47 <sup>abc</sup>
	71	3.21±0.41	1.92±0.30	58.4±4.00	34.5±3.87 <sup>ab</sup>
	78	3.30±0.52	2.25±0.08	56.6±3.42	35.7±2.92 <sup>ab</sup>
	85	3.46±0.63	2.18±0.47	54.2±4.96	38.7±4.18 <sup>bc</sup>
	92	3.34±0.07	1.67±0.36	56.7±6.14	38.6±5.30 <sup>bc</sup>
	99	3.42±0.38	1.69±0.25	52.0±2.33	42.9±1.21 <sup>c</sup>
	50	3.77±0.72	2.63±0.45	57.0±3.53 <sup>ab</sup>	35.2±2.74 <sup>a</sup>
	57	3.99±0.68	2.14±0.19	56.1±0.66 <sup>c</sup>	37.4±1.35 <sup>ab</sup>
	64	3.76±0.66	2.37±0.50	54.6±2.45 <sup>ab</sup>	39.3±1.69 <sup>abc</sup>
Base	71	3.07±0.80	1.66±0.46	53.0±2.94 <sup>ab</sup>	41.8±2.51 <sup>bcd</sup>
	78	3.74±0.25	1.65±0.86	50.8±1.72 <sup>ab</sup>	44.2±2.65 <sup>cde</sup>
	85	2.88±0.61	1.82±0.52	50.5±2.69 <sup>ab</sup>	47.2±3.60 <sup>e</sup>
	92	2.68±0.16	2.64±1.58	51.3±2.01 <sup>a</sup>	43.8±0.80 <sup>cde</sup>
	99	2.73±0.59	1.75±0.71	49.3±2.97 <sup>a</sup>	46.6±4.47 <sup>de</sup>

- 녹용의 일반성분을 분석한 결과 부위별로 보면 절각시기와 상관없이 상대, 중대, 하대로 갈 수록 단백질 및 지방의 함량은 감소하고, 회분의 함량은 증가하는 경향을 보였다. 또한 절각시기가 길어질수록 상대에서는 지방, 단백질 및 회분 함량에 큰 변화가 없었으나 중대 및 하대는 절각시기가 늦어지면 단백질 및 회분함량은 감소하는 경향을 보이지만 회분의 함량은 증가하는 경향을 보였다. 이것은 절각시기가 늦어지면 녹용의 아래쪽부터 골화가 진행된다는 것을 알

수 있으며 이결과는 Sunwoo등의 결과와 같은 결과이다.

표 6. 절각일에 따른 콜레스테롤, 칼로리 및 무기물조성 변화

구분	50day	57day	64day	71day	78day	85day	92day	99day
Cholesterol (mg/100g)	243.5±42 .3 <sup>c</sup>	234.8±19.0 bc	203.8±28.9 bc	244.5±45.8 c	216.7±32.4 bc	174.9±30.1 ab	180.8±34.1 ab	136.4±6.39 a
kcal (cal/g)	3293.3±1 96.4	3406.7±86. 8	2991.3±35 7.3	3082.0±37 9.3	2981.7±33 1.2	2838.3±27 4.0	2924.0±29 9.9	2600.0±66. 6
Ca	59964.3± 1997.6 <sup>a</sup>	64096.6±2 153.1 <sup>a</sup>	74608.5±6 500.4 <sup>b</sup>	71414.0±2 520.5 <sup>b</sup>	72144.6±5 565.1 <sup>b</sup>	75855.5±3 760.8 <sup>b</sup>	71805.6±5 602.0 <sup>b</sup>	74074.9±9 35.7 <sup>b</sup>
Cr	3.94±1.3 2 <sup>a</sup>	6.44±2.10 <sup>b</sup>	4.52±1.43 <sup>a</sup>	2.58±0.12 <sup>a</sup>	3.01±0.51 <sup>a</sup>	2.82±0.56 <sup>a</sup>	3.23±1.02 <sup>a</sup>	2.61±0.09 <sup>a</sup>
Cu	2.28±0.7 2	2.95±1.28	2.88±0.14	3.31±1.08	2.46±0.16	2.77±0.68	2.83±0.48	2.16±0.31
Fe	125.2±13 .0	133.6±12.6	85.4±49.8	104.4±40.9	111.8±21.3	69.6±55.8	79.3±64.9	65.9±7.97
K	3322.3±3 76.7 <sup>b</sup>	3142.2±12 2.8 <sup>b</sup>	2310.8±64 2.6 <sup>ab</sup>	2545.9±76 8.8 <sup>ab</sup>	2461.9±72 0.4 <sup>ab</sup>	1862.2±48 7.4 <sup>b</sup>	2039.2±64 3.0 <sup>b</sup>	1603.0±12 8.1 <sup>b</sup>
Mg	1621.2±2 44.3	1640.7±20 0.1	1780.9±19 8.6	1723.8±13 9.3	1791.4±27 7.8	1822.7±17 4.5	1803.9±19 6.0	1979.7±51. 3
Mn	1.61±0.6 8 <sup>c</sup>	0.98±0.38 <sup>a</sup> b	0.86±0.39 <sup>a</sup> b	1.13±0.20 <sup>b</sup> c	0.58±0.23 <sup>a</sup> b	0.47±0.09 <sup>a</sup>	0.35±0.10 <sup>a</sup>	0.71±0.23 <sup>a</sup> b
Na	6651.7±5 7.8 <sup>d</sup>	6523.9±38 8.0 <sup>cd</sup>	6259.0±32 9.5 <sup>bcd</sup>	5971.9±32 1.4 <sup>abc</sup>	5762.5±61 5.6 <sup>ab</sup>	5593.8±35 7.8 <sup>a</sup>	5746.7±14 5.8 <sup>ab</sup>	5560.1±12 5.5 <sup>a</sup>
P	47702.1± 2584.1	49094.6±2 649.1	54737.0±6 494.2	53157.1±3 610.6	55333.4±6 391.9	59134.3±5 077.3	55927.3±6 779.5	60152.0±1 023.2
Zn	26.1±2.6 2 <sup>bc</sup>	21.4±3.30 <sup>a</sup>	24.3±1.04 <sup>a</sup> b	28.0±1.19 <sup>b</sup> c	25.9±0.87 <sup>a</sup> bc	26.2±0.18 <sup>b</sup> c	24.4±3.79 <sup>a</sup> b	29.1±3.39 <sup>c</sup>

- 절각시기별 무기물 조성을 보면 절각시기가 늦어질수록 무기물중 Ca, P 및 Mg 함량은 계속 증가하였다. 그 외에 K, Mn, 함량은 감소하였다. 절각시기별 에너지함량은 절각시기가 늦어지면 감소하였으며, 콜레스테롤 수치도 같이 감소하였다.

표 7. 절각일에 따른 지방산 조성 변화

구분	50day	57day	64day	71day	78day	85day	92day	99day
-----(%-----								
Myristicacid(C14:0)	2.02±0.3 9	1.92±0.2 3	2.24±0.8 1	2.03±0.3 0	2.03±0.2 2	3.20±2.3 9	2.08±0.7 3	1.82±0.1 2
Palmiticacid(C16:0)	28.8±1.8 2	27.9±0.7 2	28.7±2.0 3	28.9±0.9 5	30.1±0.1 9	29.2±0.7 2	29.2±0.4 7	27.6±2.2 5
Palmitoleicacid(C16:ln7)	2.29±0.1 9	2.34±0.0 5	2.37±0.1 6	2.37±0.2 4	2.34±0.2 6	2.23±0.4 4	2.30±0.1 7	2.40±0.1 0
Stearicacid(C18:0)	21.1±0.6 0 <sup>a</sup>	20.5±1.2 6 <sup>a</sup>	20.6±1.5 8 <sup>a</sup>	20.4±1.1 4 <sup>a</sup>	20.8±1.4 3 <sup>a</sup>	20.6±0.2 7 <sup>a</sup>	22.1±1.1 4 <sup>ab</sup>	23.9±0.6 8 <sup>b</sup>
Oleicacid(C18:ln9)	27.1±1.6 7	27.6±1.5 5	25.9±0.7 3	27.6±1.4 1	26.3±2.3 8	25.9±0.0 6	25.4±0.4 7	23.9±0.9 9
Vaccenicacid(C18:ln7)	-	-	-	-	-	-	-	-
Linoleicacid(C18:2n6)	8.04±0.5 0	8.57±0.2 7	8.82±0.3 4	8.99±0.2 3	8.98±0.4 0	7.77±0.4 5	8.83±0.1 4	9.17±1.3 1
γ-Linoleicacid(C18:3n6)	0.26±0.0 6	0.26±0.0 6	0.18±0.1 7	0.10±0.1 7	0.10±0.1 7	0.13±0.2 3	0.09±0.1 6	-
Linolenicacid(C18:3n3)	-	-	-	-	-	-	-	-
Eicosenoicacid(C20:ln9)	0.78±0.1 1	1.03±0.1 8	0.82±0.1 1	0.30±0.5 1	0.21±0.3 6	0.90±0.3 6	0.71±0.1 2	0.36±0.6 2
Arachidonicacid(C20:4n6)	9.59±1.0 1	9.92±1.1 1	10.32±0. 76	9.30±2.2 0	9.17±1.3 3	10.08±1. 84	9.31±1.3 5	10.9±1.3 7
Eicosapentaenoicacid(EP A) (C20:5n3)	-	-	-	-	-	-	-	-
Docosatetraenoicacid (C22:4n6)	-	-	-	-	-	-	-	-
Docosahexaenoicacid(DH A) (C22:6n3)	-	-	-	-	-	-	-	-
합계	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
포화지방산	51.9±2.8 2	50.3±0.4 6	51.6±1.5 3	51.4±2.1 4	52.9±1.3 2	53.0±1.9 8	53.4±1.6 1	53.3±1.6 0
불포화지방산	48.1±2.8 2	49.7±0.4 6	48.4±1.5 3	48.7±2.1 4	47.1±1.3 2	47.0±1.9 8	46.6±1.6 1	46.7±1.6 0
단가	30.2±1.9 0 <sup>b</sup>	30.9±1.4 5 <sup>b</sup>	29.1±0.6 0 <sup>ab</sup>	30.3±0.8 2 <sup>b</sup>	28.8±2.3 4 <sup>ab</sup>	29.0±0.1 6 <sup>ab</sup>	28.4±0.3 2 <sup>ab</sup>	26.6±1.4 5 <sup>a</sup>
다가	17.9±0.9 9	18.8±1.3 0	19.3±0.9 4	18.4±2.4 5	18.2±1.0 4	18.0±2.0 5	18.2±1.4 0	20.1±2.6 8

- 본시험에서 중대 부분을 분석한 결과로 각지방산의 함량은 절각시기 간에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

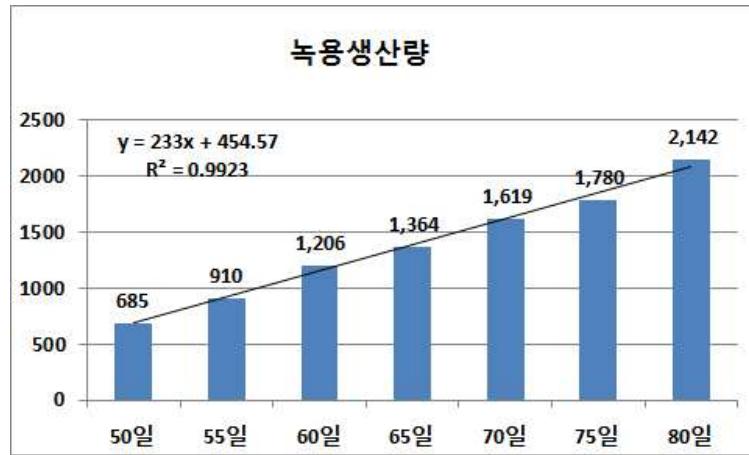
표 8. 절각일에 따른 아미노산 조성 변화

구분	50day	57day	64day	71day	78day	85day	92day	99day
-----(%-----								
시스테인(CYS)	0.70±0.10	0.63±0.08	0.59±0.13	0.51±0.08	0.53±0.14	0.47±0.10	0.49±0.08	0.47±0.01
메치오닌(MET)	0.41±0.03	0.41±0.02	0.37±0.04	0.38±0.04	0.37±0.06	0.36±0.04	0.35±0.03	0.34±0.02
아스파르트산(ASP )	4.32±0.32	4.31±0.20	3.73±0.67	3.88±0.60	3.93±0.46	3.60±0.52	3.59±0.63	3.53±0.18
트레오닌(THR)	2.08±0.19	2.04±0.09	1.78±0.36	1.82±0.30	1.83±0.24	1.67±0.28	1.67±0.29	1.63±0.08
세린(SER)	2.43±0.10	2.40±0.07	2.17±0.36	2.19±0.25	2.21±0.20	2.09±0.25	2.08±0.27	2.07±0.11
글루탐산(GLU)	6.25±0.21	6.20±0.14	5.76±0.64	5.73±0.52	5.68±0.43	5.57±0.45	5.50±0.40	5.55±0.30
글리신(GLY)	7.91±0.48	8.13±0.07	8.14±0.05	8.11±0.17	8.01±0.11	8.66±0.41	8.36±0.19	8.97±0.61
알라닌(ALA)	4.33±0.15	4.39±0.12	4.06±0.38	4.18±0.32	4.19±0.24	4.15±0.26	4.06±0.35	4.18±0.24
발린(VAL)	2.19±0.21	2.17±0.11	1.82±0.45	1.94±0.38	1.98±0.32	1.72±0.38	1.72±0.43	1.63±0.07
이소루신(I-LEU)	0.90±0.02	0.90±0.03	0.82±0.11	0.82±0.09	0.77±0.08	0.78±0.08	0.77±0.02	0.74±0.05
루신(LEU)	3.76±0.45	3.72±0.24	2.97±0.86	3.25±0.78	3.36±0.59	2.82±0.82	2.89±0.94	2.72±0.15
타이로신(TYR)	1.10±0.12	1.04±0.04	0.88±0.20	0.90±0.17	0.87±0.16	0.80±0.15	0.82±0.14	0.78±0.06
페닐알라닌(PHE)	2.01±0.20	2.01±0.12	1.63±0.43	1.78±0.38	1.82±0.30	1.57±0.38	1.61±0.47	1.52±0.08
라이신(LYS)	3.19±0.27	3.12±0.13	2.70±0.55	2.84±0.49	2.86±0.42	2.61±0.42	2.62±0.52	2.55±0.11
히스티딘(HIS)	1.32±0.22	1.32±0.13	0.98±0.39	1.16±0.36	1.25±0.25	0.93±0.40	0.95±0.50	0.88±0.05
아르기닌(ARG)	3.78±0.07	3.82±0.09	3.65±0.24	3.65±0.20	3.60±0.17	3.66±0.19	3.59±0.14	3.72±0.22
프롤린(PRO)	5.28±0.26	5.35±0.03	5.28±0.14	5.24±0.10	5.18±0.05	5.55±0.23	5.31±0.03	5.67±0.33

- 절각시기별 아미노산 조성은 절각시기가 늦어질수록 시스틴, 아스파르트산, 트리오닌, 및 라이신등은 절각시기가 늦어질수록 감소하였으며, 글리신만이 절각일수가 늦어질수록 증가하였다.

## 2차년도 (2015년)

### ○ 꽃사슴의 절각시기별 녹용생산량



꽃사슴 녹용의 절각시기가 50, 55, 60, 65, 70, 75, 및 80일 때 녹용생산량은 685, 910, 1,206, 1,364, 1,619, 1,780 및 2,142g 으로 나타났다. 회귀식으로 나타내면  $Y=233X + 454.57$ 이다.

표 10. 꽃사슴 녹용의 절각시기별 부위별 생산량(g)

절각시기	녹용생산량	하대	중대	상대	1번 가지	2번 가지
50일	685		245	334	105	0
55일	910		379	382	149	0
60일	1206	320	361	320	171	33
65일	1364	211	601	344	147	61
70일	1619	292	659	305	219	144
75일	1780	324	709	447	174	128
80일	2142	358	816	560	297	112

꽃사슴 녹용의 성장일수가 증가할수록 중대의 무게와 1, 2번 가지의 무게가 증가함하였다.

표 11. 꽃사슴 녹용의 절각시기별 부위별 생산량 비율(%)

절각시기	하대	중대	상대	1번 가지	2번 가지
50일		36	49	15	
55일		42	42	16	
60일	27	30	27	14	3
65일	15	44	25	11	4
70일	18	41	19	14	9
75일	18	40	25	110	7
80일	17	38	26	14	5

\* 절각시기 : 낙각일 기준 성장일수

#### 4. 경제성 분석

75일 이후는 하대부분 골화로 도매가격 하락, 70일 절각이 현재는 가장 유리하였다.

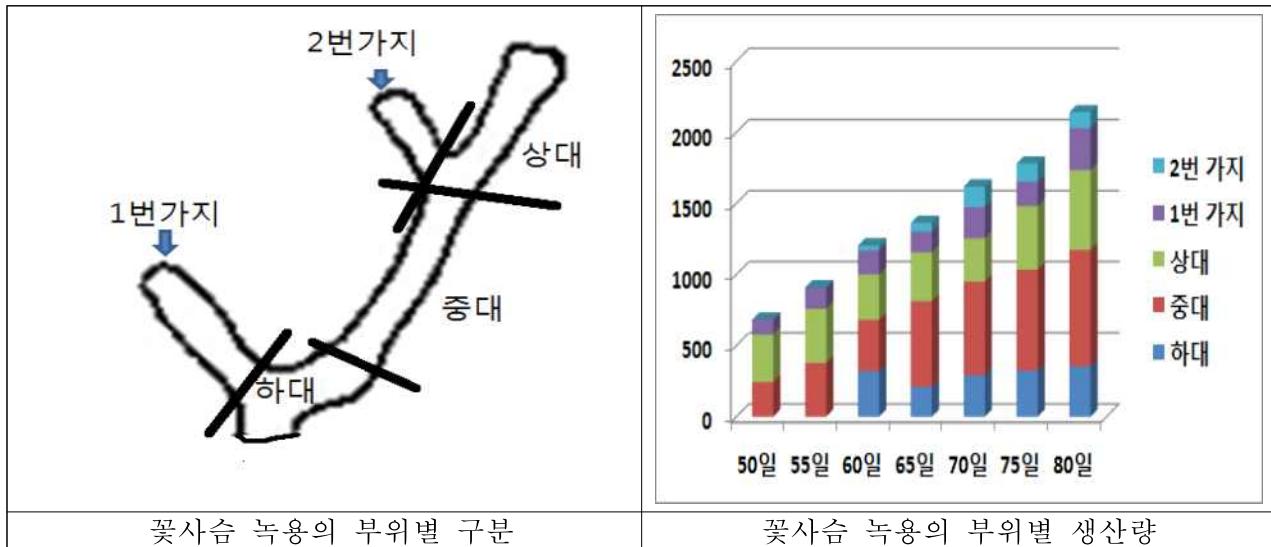


표 12. 녹용의 도매가격

절각시기	도매가격/37.5g	조수입
50일	12000	219,200
55일	12000	291,200
60일	12000	385,920
65일	12000	436,480
70일	12000	518,080
75일	9000	474,667
80일	8000	456,960



절각시기 증가할수록 녹용생산량은 증가하나 녹용의 각질화에 의한 도매가격의 하락으로 소득은 낙각후 70일 절각이 가장 소득이 높았다.

## 5. 꽃사슴 녹용의 이화학적 특성

표 13. 절각일에 따른 꽃사슴 녹용의 각 부위별(분골, 상대, 중대 및 하대) 일반성분 변화

구분	days	Moisture	Fat	Protein	Ash
-----(%-----					
상	50	5.50±0.02	2.75±0.48	60.18±2.25	28.59±4.08
	55	5.25±0.34	4.45±1.02	61.17±1.03	27.19±1.26
	60	4.59±0.49	3.36±1.08	58.04±9.01	31.61±9.48
	65	4.06±0.76	4.25±0.55	63.39±3.08	24.45±3.07
	70	4.37±0.54	4.72±0.69	59.13±2.07	28.93±1.52
	75	4.24±0.14	4.24±0.72	62.50±3.64	28.79±1.44
	80	3.58±0.82	4.53±1.31	63.04±4.66	23.01±2.48
중	50	4.91±0.35	2.25±0.37	51.77±1.65	40.12±4.51
	55	4.34±0.51	2.92±0.68	51.87±2.38	40.76±2.93
	60	3.79±0.31	2.40±1.22	55.93±5.40	35.38±6.67
	65	3.39±0.68	3.52±0.94	53.25±1.31	39.39±0.27
	70	3.25±1.28	1.89±0.12	50.01±4.33	40.87±1.45
	75	3.63±0.80	3.14±0.93	53.87±1.82	36.26±1.13
	80	4.42±0.22	3.04±0.09	52.55±3.39	37.89±2.25
하	50	-	-	-	-
	55	-	-	-	-
	60	4.32±0.03	1.95±0.39	47.75±1.38	46.29±0.11
	65	4.48±0.96	2.15±0.87	46.54±0.52	47.03±3.91
	70	4.39±0.94	1.97±0.19	45.09±3.94	46.21±1.58
	75	4.91±1.12	2.27±0.71	49.34±2.70	43.87±2.16
	80	5.00±0.07	1.98±0.19	48.04±0.78	44.73±1.55

꽃사슴 녹용의 일반성분을 분석한 결과 부위별로 보면 절각시기와 상관없이 상대, 중대, 하대로 갈수록 단백질 및 지방의 함량은 감소하고, 회분의 함량은 증가하는 경향을 보였다. 꽃사슴에서는 절각시기가 길어질수록 상대에서는 지방, 단백질 및 회분 함량에 큰 변화가 없었다.

표 14. 꽃사슴 녹용의 절각일에 따른 콜레스테롤, 칼로리 및 무기물조성 변화 (중대)

구분	50day	55day	60day	65day	70day	75day	80day
Cholesterol (mg/100g)	234.1±28.1	339.4±23.2	333.1±52.2	242.1±6.9	220.7±1.3	326.1±127.9	271.4±19.6
kcal (cal/g)	3061.8±245 .7	3058.5±278.6	3689.3±470.6	3077.5±169.0	3158.5±368.4	3304.0±141.4	3324.0±114.6
Ca	60464.6±35 75.6	57739.8±336 9.3	53566.7±122 90.9	76219.1±164 96.6	87455.0±109 1.8	73640.7±723. 5	83898.3±248 8.2
Cr	1.5±0.2	1.6±0.1	1.5±0.1	1.4±0.2	1.4±0.1	2.9±2.3	1.9±0.2
Cu	3.0±1.2	0.9±0.3	3.3±0.5	2.3±0.3	2.2±0.7	7.0±2.8	1.8±0.9
Fe	41.1±9.0	52.4±6.6	102.7±57.6	95.3±49.0	61.4±0.2	151.3±27.9	86.7±40.8
K	2701.1±699 .1	1913.4±206.9	3851.8±2114. 9	2118.2±66.5	1976.7±151.6	2688.3±227.3	2137.5±302.7
Mg	2579.7±286 .4	2567.0±282.5	2741.6±357.7	2849.7±128.7	2837.5±402.7	2311.8±112.6	2746.8±102.8
Mn	0.3±0.0	0.6±0.1	1.3±0.9	1.2±0.1	0.5±0.2	0.5±0.1	1.2±0.2
Na	7000.5±300 .2	6543.3±500.9	7672.2±17.3	6596.0±535.6	6168.9±83.3	6505.3±153.9	6025.4±104.2
P	62998.5±58 18.8	64706.1±644 6.6	55314.8±157 35.3	62920.2±305 6.7	64423.6±420 7.9	55494.2±341 8.8	64419.2±454 1.1
Zn	50.2±5.3	43.3±4.0	48.5±12.6	46.9±7.3	46.7±2.1	42.0±6.2	44.9±1.7

절각시가 늦어질수록 무기물중 CA 함량이 증가하는 경향을 보였다.

표 15. 꽃사슴 녹용의 절각일에 따른 지방산 조성 변화

구분	50day	55day	60day	65day	70day	75day	80day
-----(%-----)							
Myristicacid(C14:0)	1.37	1.05±0.15	0.95±0.09	0.84±0.12	0.95±0.17	0.98±0.06	0.96±0.21
Palmiticacid(C16:0)	25.94	28.07±0.69	26.89±1.85	26.45±0.30	26.08±0.93	27.90±0.06	25.76±3.19
Palmitoleicacid(C16:ln7)	3.30	3.06±0.12	3.49±1.03	2.46±0.06	2.11±0.31	2.02±0.02	2.04±0.36
Stearicacid(C18:0)	16.97	18.38±0.99	17.74±1.21	19.51±0.15	22.50±0.60	22.80±2.61	21.30±1.79
Oleicacid(C18:ln9)	31.12	29.15±2.45	31.68±0.91	29.29±0.70	23.57±1.24	25.34±2.00	27.04±0.95
Vaccenicacid(C18:ln7)	-	-	-	-	-	-	-
Linoleicacid(C18:2n6)	13.28	9.97±0.96	8.58±1.46	10.53±0.54	12.44±0.48	10.31±2.09	11.34±1.10
γ-Linoleicacid(C18:3n6)	0.41	0.28±0.07	0.50±0.00	0.24±0.04	0.16±0.22	0.39±0.26	0.45±0.08
Linolenicacid(C18:3n3)	1.03	0.81±0.31	1.45±1.46	2.08±0.11	2.92±2.13	2.11±1.00	1.91±0.25
Eicosenoicacid(C20:ln9)	0.77	0.94±0.40	1.65±0.53	1.18±0.27	0.62±0.08	1.41±1.13	0.96±0.10
Arachidonicacid(C20:4n6)	5.80	8.31±1.72	7.08±3.22	7.41±0.19	8.65±1.52	6.72±0.94	8.25±0.34
Eicosapentaenoicacid(EP A) (C20:5n3)	-	-	-	-	-	-	-
Docosatetraenoicacid (C22:4n6)	-	-	-	-	-	-	-
Docosahexaenoicacid(DH A) (C22:6n3)	-	-	-	-	-	-	-
합계	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
포화지방산	44.28	47.49±0.99	45.57±0.73	46.80±0.33	49.53±0.50	51.69±2.62	48.02±1.60
불포화지방산	55.72	52.51±0.99	54.43±0.73	53.20±0.33	50.47±0.50	48.31±2.62	51.98±1.60
단가	35.20	33.14±2.94	36.82±2.48	32.94±0.91	26.30±0.85	28.78±0.85	30.03±0.49
다가	20.53	19.37±2.37	17.61±3.21	20.26±0.58	24.17±0.35	19.54±1.77	21.94±1.12

절각시기가 늦어질수록 포화지방산의 비율이 증가하는 경향을 보였다.

표 16. 절각일에 따른 아미노산 조성 변화

구분	50day	55day	60day	65day	70day	75day	80day
-----(%-----							
시스테인(CYS)	0.441±0.067	0.357±0.012	0.566±0.177	0.380±0.022	0.335±0.055	0.446±0.037	0.358±0.013
메치오닌(MET)	0.381±0.011	0.341±0.020	0.477±0.115	0.341±0.013	0.323±0.057	0.358±0.009	0.320±0.006
아스파르트산(ASP)	3.325±0.369	3.199±0.062	3.961±0.801	3.320±0.014	3.170±0.197	3.857±0.179	3.289±0.050
트레오닌(THR)	1.597±0.242	1.445±0.022	1.889±0.426	1.527±0.038	1.421±0.094	1.815±0.095	1.496±0.030
세린(SER)	2.033±0.226	1.863±0.055	2.243±0.413	1.909±0.025	1.795±0.138	2.093±0.050	1.905±0.00
글루탐산(GLU)	5.100±0.448	4.943±0.130	5.711±0.853	4.955±0.226	4.852±0.339	5.302±0.051	5.036±0.064
글리신(GLY)	7.905±0.036	8.393±0.435	7.802±0.345	7.969±0.771	8.344±0.251	7.874±0.153	8.384±0.085
알라닌(ALA)	3.718±0.152	3.832±0.156	4.030±0.260	3.817±0.182	3.851±0.137	4.127±0.080	3.901±0.050
발린(VAL)	1.641±0.246	1.509±0.037	2.048±0.561	1.620±0.100	1.497±0.063	2.058±0.161	1.576±0.061
이소루신(I-LE)	0.894±0.091	0.818±0.016	0.984±0.232	0.779±0.049	0.756±0.051	0.882±0.005	0.805±0.029
루신(LEU)	2.575±0.370	2.437±0.016	3.349±1.010	2.647±0.146	2.432±0.102	3.342±0.268	2.522±0.117
타이로신(TYR)	0.992±0.156	0.881±0.037	1.141±0.252	0.910±0.017	0.829±0.052	1.014±0.036	0.892±0.008
페닐알라닌(PHE)	1.440±0.167	1.403±0.010	1.815±0.421	1.499±0.071	1.396±0.078	1.838±0.139	1.466±0.067
라이신(LYS)	2.298±0.278	2.224±0.011	2.795±0.509	2.296±0.013	2.197±0.128	2.713±0.096	2.273±0.035
히스티딘(HIS)	0.636±0.108	0.603±0.001	0.971±0.375	0.738±0.119	0.641±0.019	1.063±0.129	0.664±0.075
아르기닌(ARG)	3.391±0.131	3.385±0.188	3.634±0.388	3.378±0.233	3.374±0.181	3.500±0.008	3.425±0.040
프롤린(PRO)	4.960±0.082	5.214±0.330	5.042±0.228	5.059±0.416	5.280±0.233	5.141±0.054	5.329±0.090

절각시기별 아미노산 조성은 중대부위로 분석을 하였으나 처리간에 차이를 보이지 않았다. 이 것은 시료채취시의 문제점으로 추정된다.

### 3차년도 (2016년)

#### 1. 녹용의 세척 및 포장 방법

생 녹용의 위생적인 세척 및 손쉬운 포장 방법이 필요하여 고압세척기와 스텀세척기를 이용하였다. 고압세척기를 이용하여 녹용을 세척 할 때에는 생 녹용의 손상을 방지하기 위하여 세척기와 녹용의 이격거리는 60cm로 하여야 녹용의 벨벳 층이 찢어지는 것을 방지할 수가 있으며 스텀세척기를 이용하여 녹용을 세척 및 살균할 때에는 녹용의 익음을 방지하기 위하여 녹용과의 이격거리는 15~20cm로 하여 살균하는 것이 바람직하였다. 녹용의 포장을 위하여 비닐랩과 진공백을 이용하여 포장을 실시하였으며 진공팩을 이용하여 포장을 하면 표 17에서 보는 바와 같이 진공팩이 니닐랩에 비하여 노동력이 적게 들고 빠른 시간에 손쉽게 녹용을 포장할 수가 있었다.

표 17. 녹용세척 및 포장제 활용시간

구분	녹용	고압세척기		스템살균기		비닐랩		진공팩
	길이	이격거리	세척시간	이격거리	살균시간	포장시간	사용량	포장시간
내용	75cm	60cm	1분/한쪽	15~20cm	1분 40초	3분	30m	35초/한쪽
비고	가지수 4	벨벳 터짐 방지	물기 제거 시간 필요 30초	녹용 익음 방지	물기 제거 불필요			

\* 스텀온도:180도, 압력:8kgf/cm<sup>2</sup>,

\* 랩단가(50m):2,490원/롤, \* 역류방지 벨브형 이불압축팩(대형):5186원/개



<생ぬ용 세척 및 살균>

가

가



<생녹용 랩 및 진공포장>

## 2. 엘크녹용의 절각시기별 유효성분

글루코사미노글리칸은 크게 헥소사민과 글리코사민으로 구성하는 글루코사미노글리칸과 갈락토사민으로 구성하는 갈락토사미노글리칸으로 나누어진다. 히알루론산 외는 여러 위치에 황산기가 있어 구조가 다양하다. 최근 세포외 기질분자나 세포증식인자 등과의 결합능이 이러한 구조다양성에 따라 다르다는 것을 알게 되고 이러한 분자의 활성조절로서의 역할에 주목하고 있다.

표 18. 녹용의 절각시기별 Sulfated-GAGs 함량

Sulfated-GAGs (mg/g)					
일령	60일	70일	80일	90일	100일
Top	80.89±40.1	74.22±33.8	79.22±25.1	53.11±2.4	50.34±7.9
Middle	41.45±18.9	46.45±25.9	49.23±18.9	27.56±0.8	23.67±7.9
Base	26.45±13.4	32.56±23.6	26.45±14.9	17.00±3.1	16.44±7.1
Average	49.59	51.07	51.63	32.56	30.15

Sulfated-GAGs 함량은 절각시기가 빠를수록 함량이 높았으며, 상대쪽으로 갈수록 함량이 높았으며 평균함량은 30~51mg/g이었다.

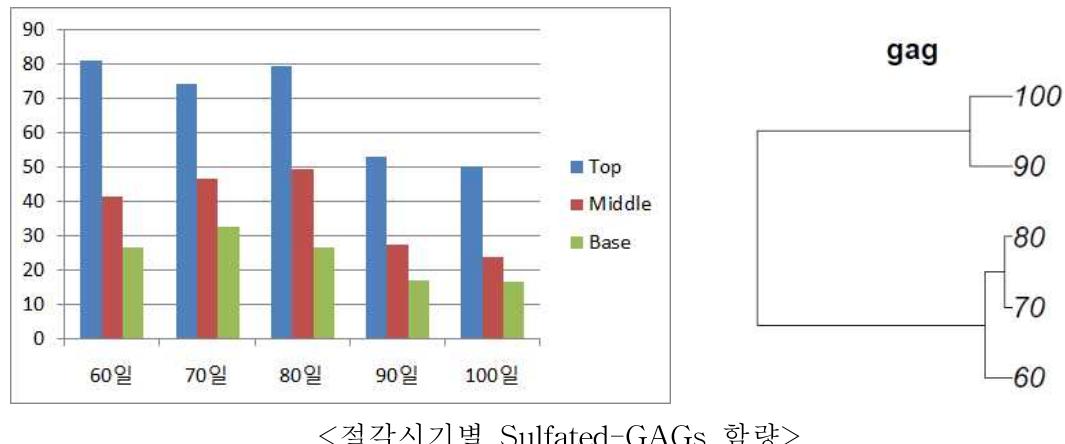
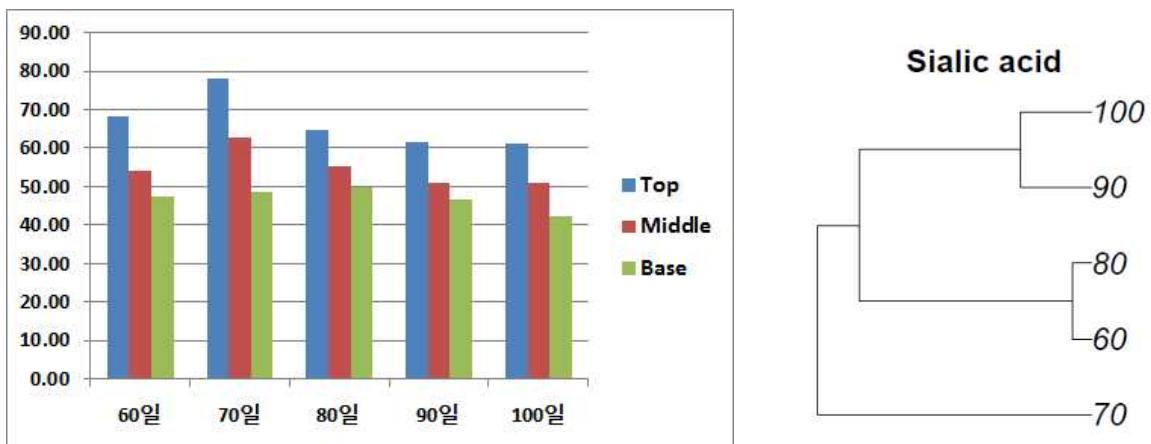


표 19. 녹용의 절각시기별 Sialic acid 함량

일령	sialicacid (mg/g)				
	60일	70일	80일	90일	100일
Top	68.13±11.63	77.87±9.25	64.67±7.25	61.59±1.09	61.34±5.81
Middle	54.03±1.63	62.75±4.53	55.31±4.89	51.08±3.26	50.95±6.35
Base	47.36±3.44	48.64±2.72	49.80±4.72	46.46±2.18	42.49±2.72
Average	56.50	63.09	56.59	53.04	51.59

sialic acid 함량은 절각시기 및 부위에 상관없이 전반적으로 함량이 비슷하였으며 평균 51~63mg/g 들어 있었다.



&lt;절각시기별 sialic acid 함량&gt;

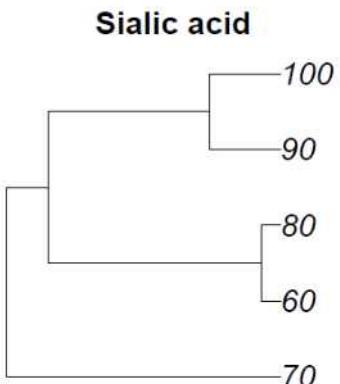


표 20. 녹용의 절각시기별 Uronic acid 함량

일령	Uronic acid (mg/g)				
	60일	70일	80일	90일	100일
Top	221.63±26.23	235.59±75.43	239.13±40.95	204.13±5.59	197.67±4.12
Middle	176.21±2.06	196.63±62.16	195.38±19.16	165.79±13.85	162.88±0.88
Base	159.54±2.06	169.33±49.5	164.33±15.91	150.17±10.61	148.71±3.83
Average	185.79	200.51	199.61	173.36	169.75

Uronic acid 함량은 절각시기별 및 처리별 함량이 뚜렷한 변화를 보여 주지 못하고 있으며, 분석한 녹용의 유효성분준 성분함량이 가장 높았다. Uronic acid의 평균 함량은 170~200mg/g 이 들어 있었다.

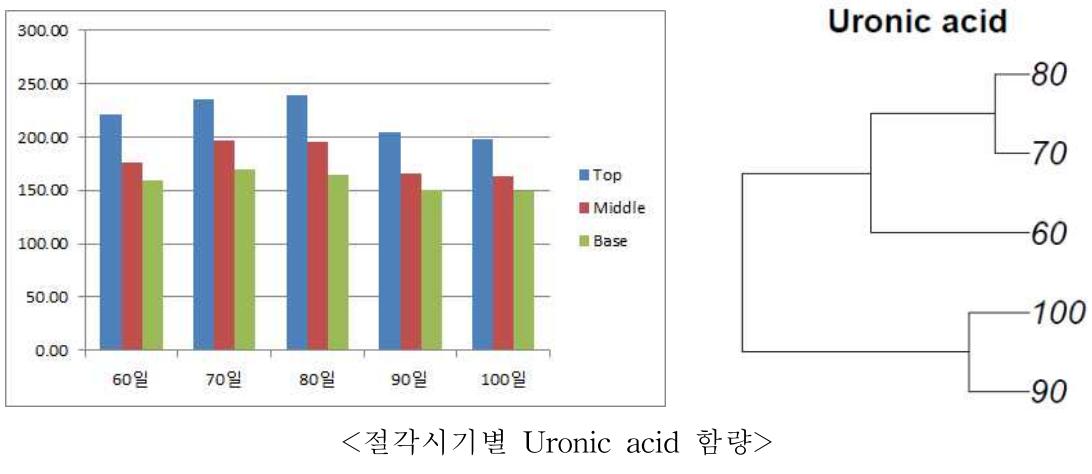


표 21. 녹용의 절각시기별 Hypoxanthine 함량

Hypoxanthine					
일령	60일	70일	80일	90일	100일
Top	41.00±8.36	59.21±41.01	21.29±10.48	37.71±7.95	20.56±8.99
Middle	17.70±0.72	21.07±3.13	15.39±0.40	37.02±7.58	14.93±0.73
Base	12.52±0.27	14.59±1.22	12.15±1.05	22.07±8.15	11.06±0.83
Average	23.74	31.62	16.27	32.27	15.52

70일령 상대에서 Hypoxanthine의 함량이 높았으나 분석의 오류로 생각되면 90일령에서 함량이 가장 높았다 Hypoxanthine의 평균 함량은 16~32mg/g이었다.

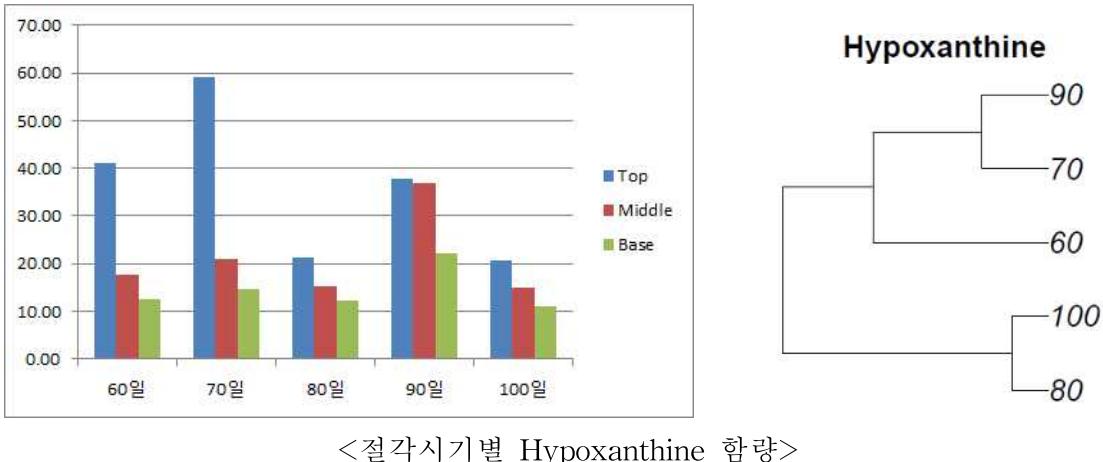


표 22. 녹용의 절각시기별 Uridine 함량

Uridine					
일령	60일	70일	80일	90일	100일
Top	3.29±0.27	3.77±1.71	2.18±0.58	2.52±0.20	1.89±0.34
Middle	1.86±0.07	1.97±0.16	1.87±0.08	2.01±0.04	1.84±0.30
Base	1.71±0.21	1.71±0.11	1.74±0.01	1.87±0.04	1.64±0.03
Average	2.29	2.48	1.93	2.13	1.79

녹용의 Uridine 함량은 60, 70일령 상대에서 성분함량이 높았으며, 전체적으로는 비슷하였다. 평균 Uridine 함량은 1.79~2.48mg/g 이었다.

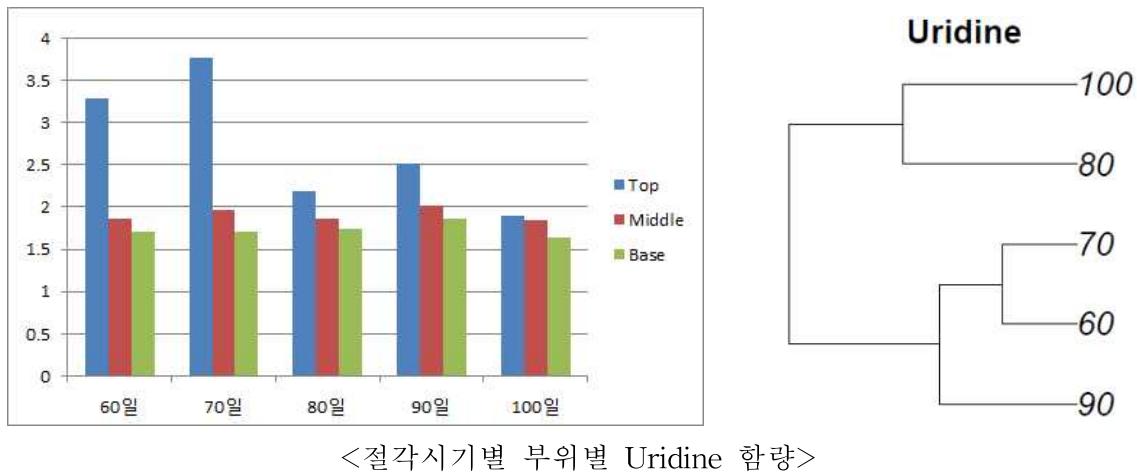
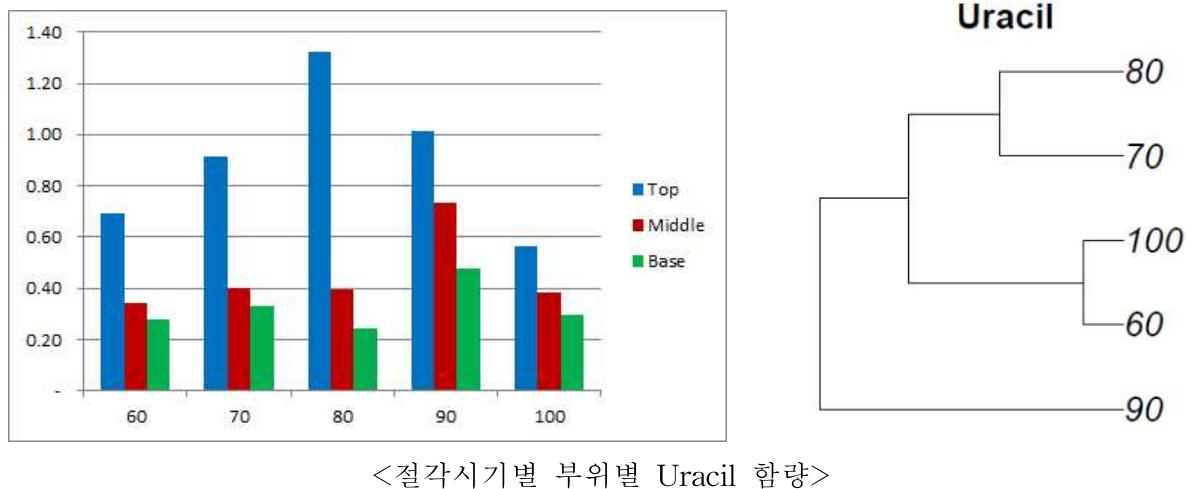


표 23. 녹용의 절각시기별 Uracil 함량

Uracil					
일령	60	70	80	90	100
Top	0.70±0.43	0.92±0.06	1.33± 1.36	1.02±0.21	0.57±0.43
Middle	0.35 ±0.04	0.40±0.04	0.40±0.06	0.74±0.01	0.39±0.15
Base	0.28±0.12	0.33±0.00	0.24±0.06	0.48±0.12	0.30±0.12
평균	0.44	0.55	0.65	0.74	0.42

녹용의 Uracil 함량은 80일령 상대에서 성분함량이 가장 높았으며, 전체적으로는 절각시기가 늦을수록 함량이 증가하였다. 평균Uracil 함량은 0.42~0.65mg/g 이었다.



**제 2협동과제 : 녹용의 수확 후 관리기술 개발**

1차년도 (2014년) : 절단 직후 생 녹용 전처리 방법 결정

1. 녹용 절각 과정

	
< ① 75-80일령 녹용 >	< ② 마취제를 맞은 뒤 15-30분 뒤 쓰러진 사슴 >
	
< ③ 완전히 마취된 사슴의 눈을 가림 >	< ④ 알콜을 이용한 톱 살균 >

	
< ⑤ 녹용 방향과 90°로 톱날을 향하게 하여 절단 >	< ⑥ 절각된 직후의 녹용 >
	
< ⑦ 반대쪽 녹용도 같은 방법으로 절각 >	< ⑧ 절각 후 상처부위에 약이 도포된 모습 >

- 녹용 절각 시 현장을 방문 및 참관하며 녹용 생산과정을 지켜봄으로서 절단 직후 녹용의 생리현상에 대한 이해력을 높였다. 이는 향후 과제 수행에 큰 도움이 될 것으로 사료된다.
- 녹용은 그 생리활성이 가장 높다고 알려진 75-80일령 녹용 3두를 선정하였다 (①). 마취제에 대한 두려움으로 인한 스트레스 감소 및 마취저항을 줄이기 위해 사슴이 눈치채지 못하도록 멀리서 마취제를 발사하여 주사하였다. 마취되는 시간은 개체별로 차이가 있으며 보통 15-30분 정도면 완전히 마취가 된다 (②). 마취가 완전히 된 것을 확인한 후 출혈을 대비한 장치와 마취가 갑자기 깨 때를 대비한 눈가림을 실시하였다 (③). 알콜을 이용하여 톱날을 살균 한 후 (④), 녹용과 90° 방향으로 톱질을 하여 절각한다 (⑤). 절각된 녹용은 녹혈 소모가 되지 않도록 절단면이 상부가 되도록 향하게 임시적으로 방치한다 (⑥). 반대편 녹용도 마찬가지로 절단한 후 (⑦), 절단된 면에 염증이 생기지 않도록 약품을 처리한다 (⑧). 작업 후, 회복제를 투여한 후 10-20분이 지나면 마취가 깨어난다 (⑧).

## 2. 절각 직후 절단면 밀봉 위한 장치 설정



- 녹혈을 지혈하기 위한 방법으로 끓는 물에 담그거나 고무캡을 이용하는 방법이 사용되어 왔으나, 가열로 인한 녹혈의 응고는 품질을 저하시키는 요인이었으며, 고무캡 녹용과 밀착이 완전히 이루어지지 않아 지혈이 제대로 되지 않는 단점이 있었다. 이에 현장에서는 다양한 방법이 시도되었으며 현재는 비닐랩을 사용하는 방법이 널리 사용되고 있다. 즉, 비닐랩을 이용하여 절단된 면을 충분히 감싸안고 또한 녹용과 완전히 밀착되도록 비닐랩을 최소 3겹 중복하여 도포한 후 직경 5 mm, 두께 2 mm의 고무줄 (일명 기저귀 고무줄)을 이용하여 랩을 녹용에 단단히 고정하면, 녹혈이 확장되는 동안 녹혈이 소실되는 일 없이 녹혈 확장이 이루어졌다.

## 3. 절각 직후 녹혈 확장을 위한 녹용 방향 설정

- 녹혈의 고른 확장은 녹용 품질에 중요한 요소 중 하나이다. 현장에서는 녹혈의 고른 확장을 위해 여러방법들이 적용되고 있었으며, 본 과제에서는 3가지 가능성에 대해 실험을 실시하였다.



< ① 절단면을 중력방향으로 녹혈 확장 >

< ② 절단면을 상부방향으로 녹혈 확장 >



< ③ 절단면을 수평방향( $15^\circ$ )으로 녹혈 확장 >

- 그 첫 번째는 절단면을 중력방향으로 녹혈을 확장했을 때이다 (①). 이럴 경우에는 녹혈이 상대 및 분골까지 충분히 확장되지 않은 것을 확인 할 수 있었으며 그 모습은 다음 그림과 같다.



①-1



①-2



①-3



①-4

< 절단면을 중력방향으로 녹혈 확장 >

- 위의 그림에서 보는 바와 같이 상대부분은 녹혈이 거의 전달되지 않아 백통이 된 모습 (①-1), 부위별로 녹혈이 확장된 상태가 다른 모습 (①-2), 같은 부위에서도 한방향으로 녹혈이 집중된 모습 (①-3), 상대 하부 및 중대 상층에서의 백통 (①-4) 등을 확인할 수 있었다.

두 번째는 절단면을 상부방향으로 녹혈을 확장했을 때이다 (②). 이럴 경우에는 녹혈이 상대 부분으로 집중되고 하대까지 충분히 확장되지 않은 것을 확인 할 수 있었으며 그 모습은 다음 그림과 같다.



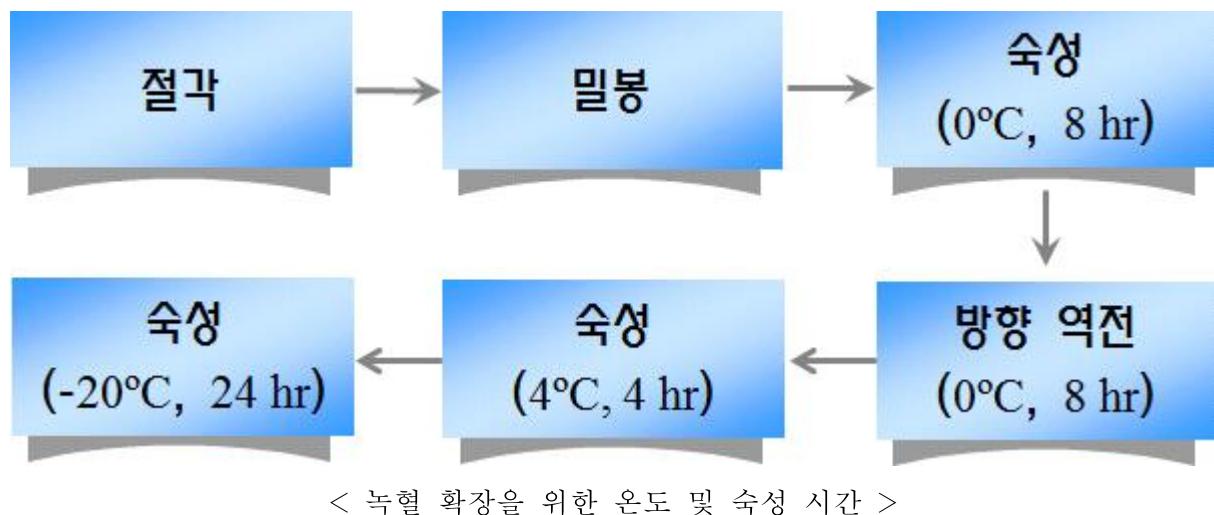
- 위의 그림에서 보는 바와 같이 하대부분은 녹혈이 거의 전달되지 않은 모습을 확인 할 수 있었으며, 특히 한 점은 가장자리 부분에는 혈이 모두 소멸되어 하얀띠를 형성하고 있었다.



- 세 번째는 절단면을 수평방향으로 녹혈을 확장하는 경우이다. 이때 절단된 면이 상부와 약 15°의 각도로 절단면이 자연스럽게 상부를 향하게 해야한다 (③). 이렇게 확장했을 때의 모습은 위의 그림과 같이 전체적으로 고르게 녹혈이 확장된 것을 확인할 수 있었다.

#### 4. 절각 직후 녹혈 확장을 위한 온도 및 기간 설정

- 녹용 샘플수, 시간, 비용 등의 한계를 고려하였을 때, 수없이 많은 경우의 수를 모두 실행해보는 것은 불가능하여 문헌 및 농가 증언들을 토대로 표준 방법 설정하여 녹혈을 확장 한 후 그 모습을 관찰하였으며 그 방법은 다음과 같다.



- 절각된 녹용은 랩을 이용하여 단단히 밀봉하여 지혈한다. 절단면을 수평방향(15°)으로 위치한 후 0°C에서 8시간 숙성한 후 방향을 180° 상하 전환한 후 같은 온도에서 8시간 숙성하여 녹혈 확장을 고르게 한다. 그 후 4°C에서 4시간 더 숙성한 후 -20°C로 온도를 낮춰 하루 더 숙성하면 앞에서 제시하였던 그림과 같이 녹혈이 고르게 확장됨을 확인하였다.

#### 5. 녹혈 확장 및 고정 후 녹용 세정 방법 결정

- 녹혈이 완전히 확장되어 안정된 녹용은 세척을 한 후 다음 가공과정을 거치게 된다. 예전에는 끓는 물을 이용하거나 밀가루를 이용하여 세척하기도 하였으나, 끓는 물에 넣게되면 가공 전 유용물질이 소실되며, 밀가루를 수질오염을 유발하여 현재에는 거의 사용되지 않고 있다. 현재 농가에서는 녹혈이 확장되어 안정된 녹용을 제모기를 이용하여 제모한 후 잔여털 및 불순물을 쇠모 및 세제를 이용하여 세척하고 있었으며 그 과정은 다음 그림과 같다.

	
< velvet이 있는 상태 >	< 제모기를 이용해 velvet을 제거한 상태 >
	
< velvet 제거 후 쇠솔 및 세제를 이용하여 세척하는 모습 >	< 표면의 잔털 및 이물질을 완전히 제거한 후 수돗물로 행구는 모습 >
	
< 세척이 끝난 후 녹용의 모습 >	< 쇠솔 막대 >

- 즉, 제모기로 velvet을 제모한 후 세제 (200:1, v:v)를 물한 쇠솔로 잔털과 이물질을 힘을 가하여 완전히 제거한다. 표면이 매끄럽게 정리가 되면 수돗물로 최소 4회 행구어 세제가 남지 않도록 행군다. 행군 후의 녹용은 골을 드러내어 세척전보다 훨씬 밝은 색상을 띠게 된다.

## 2차년도 (2015년) : 녹용의 건조 방법 설정

### 동결건조 과정





그림 1. 제모 및 동결건조 과정

- 동결 보관 된 생녹용을 깨끗하게 세척 및 제모한 후 재동결 하였다.
- 재동결된 녹용을 70% 알콜로 소독 후 4°C에서 6시간 동안 해동하였다.
- 절단기 또한 70% 알콜로 소독하였다.
- 각 부위별 사이즈 측정 후 상대, 중대, 하대 절단하였다.
- 건조 전 각 부위별 색도 측정하였다.
- 색도 측정 후 세절단 실시하였다.
- 각 부위별로 분해하여 -80°C에서 12시간 예비동결하였다.
- 수분측정기가 포함된 동결건조기에서 수분함량이 0가 될 때까지 동결건조하였다.
- 동결건조 후 무게 측정 및 부위별 분배하였다.



그림 2. 열풍건조 및 제모 과정

- 60°C에서 무게변화가 없을 때까지 건조하였다.
- 생녹용을 그대로 건조하여 이취가 매우 심했다.
- 열풍건조 완료 후 가열제모 준비하였다.
- 불로 녹용의 velvet을 태우고 쇠솔을 이용하여 제모하였다.
- velvet이 타며 그을음이 다수 발생하였다.
- 열풍 분사 후 알콜 및 무염색 광목천을 이용하여 그을음 및 잔여물을 제거하였다.

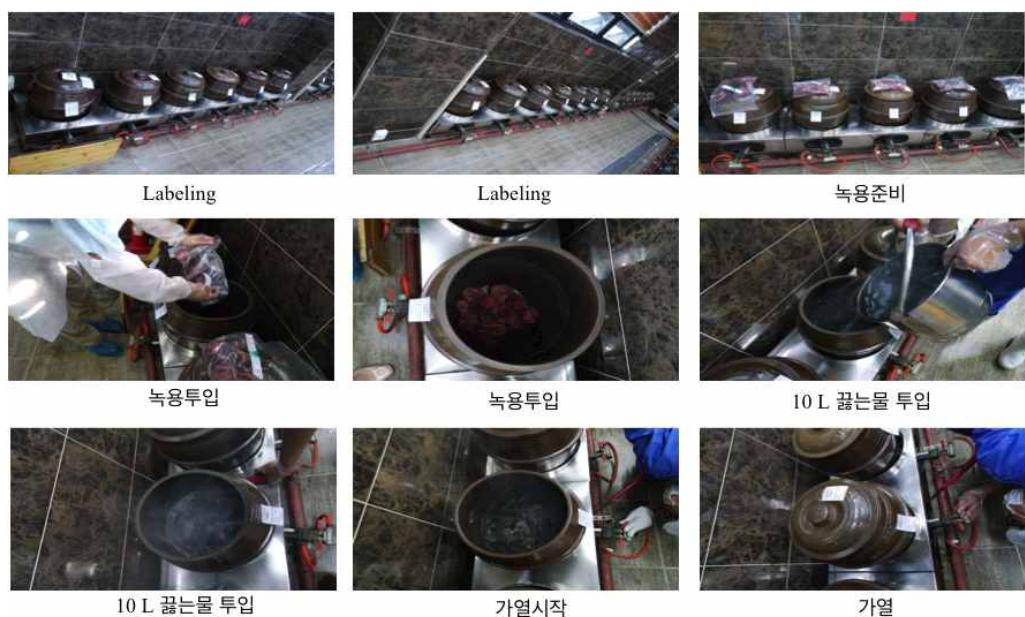


그림 3. 추출 과정

- 맥반석 항아리에 라벨링을 하여 각 시료간 혼입을 방지하였다.
- 라벨링에 맞춰 각 부위별 녹용을 준비하였다.
- 50 g의 녹용 투입 후 10 L 끓는 물을 투입하였다.
- 시간별로 가열하여 추출물을 수집하였다.

**표 1. 각 부위별 색도**

생녹용				동결건조			열풍건조				
	상대	중대	하대		상대	중대	하대		상대	중대	하대
L	16.674±1.375 <sup>b</sup>	41.010±8.314 <sup>a</sup>	43.036±8.158 <sup>a</sup>	L	31.154±7.587 <sup>b</sup>	41.629±11.190 <sup>a</sup>	37.042±13.083 <sup>ab</sup>	L	38.166±3.190 <sup>a</sup>	38.359±5.182 <sup>a</sup>	44.300±14.023 <sup>a</sup>
a	1.929±0.431 <sup>b</sup>	17.798±1.064 <sup>a</sup>	16.497±0.841 <sup>a</sup>	a	13.130±5.245 <sup>a</sup>	12.800±1.958 <sup>a</sup>	12.341±2.930 <sup>a</sup>	a	9.045±3.341 <sup>a</sup>	9.796±2.909 <sup>a</sup>	7.102±2.997 <sup>a</sup>
b	1.223±0.160 <sup>b</sup>	9.816±1.157 <sup>a</sup>	9.355±1.053 <sup>a</sup>	b	7.678±3.653 <sup>b</sup>	10.363±2.797 <sup>a</sup>	9.583±4.022 <sup>a</sup>	b	21.549±2.219 <sup>a</sup>	20.353±5.487 <sup>a</sup>	19.992±6.465 <sup>a</sup>

- 표 1과 같이 생녹용을 동결 및 열풍 건조했을 때 색의 변화를 관찰할 수 있었다.

**표 2. 일반성분**

동결건조					
	탄수화물	단백질	지방	회분	열량
상대	3.083±1.375 <sup>b</sup>	60.441±5.724 <sup>a</sup>	2.263±0.136 <sup>a</sup>	27.726±2.501 <sup>c</sup>	274.484±18.937 <sup>a</sup>
중대	4.172±0.851 <sup>b</sup>	50.913±5.480 <sup>b</sup>	1.437±0.910 <sup>b</sup>	38.373±3.155 <sup>b</sup>	233.261±21.538 <sup>b</sup>
하대	14.200±3.409 <sup>a</sup>	34.992±3.425 <sup>c</sup>	0.632±0.013 <sup>c</sup>	45.918±5.307 <sup>a</sup>	202.452±19.060 <sup>c</sup>

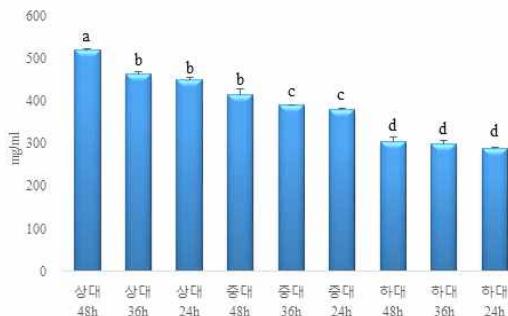
**열풍건조**

	탄수화물	단백질	지방	회분	열량
상대	9.861±0.972 <sup>a</sup>	39.612±3.087 <sup>b</sup>	2.983±0.957 <sup>a</sup>	41.709±3.895 <sup>b</sup>	224.731±21.057 <sup>ab</sup>
중대	1.037±0.141 <sup>b</sup>	48.190±5.230 <sup>a</sup>	1.080±0.497 <sup>b</sup>	43.618±4.095 <sup>b</sup>	206.628±19.805 <sup>bc</sup>
하대	0.364±0.054 <sup>c</sup>	47.191±4.506 <sup>a</sup>	0.835±0.053 <sup>c</sup>	45.587±4.650 <sup>a</sup>	197.738±18.407 <sup>c</sup>

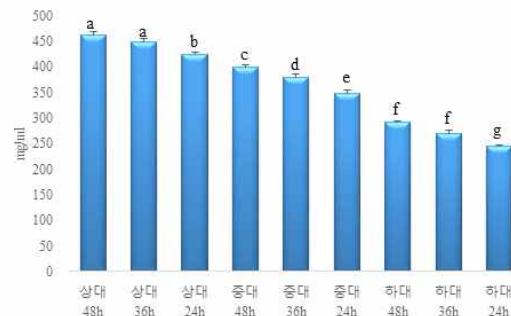
- 동결 및 열풍 등의 방법에 따라 일반성분의 차이가 있었다.
- 동결건조를 실시한 녹용은 단백질의 함량이 높았으며, 열분건조를 실시한 녹용은 회분의 함량이 높았다.

표 3. 총당함량

## 동결건조



## 열풍건조



- 동결건조를 실시한 녹용이 열풍건조를 실시한 녹용에 비해 총당함량이 높았다.
- 추출시간이 증가할수록 당함량이 증가하였다.
- 상대로 갈수록 총당함량이 증가하였다.

표 3. 유효성분분석

## 동결건조

Part	Contents (mg/g)			
	48h	36h	24h	
Top	Sialic acid	54.58±2.60 <sup>a</sup>	49.17±0.72 <sup>b</sup>	37.92±1.91 <sup>c</sup>
	Uronic acid	224.86±2.86 <sup>a</sup>	211.52±2.18 <sup>b</sup>	197.24±2.18 <sup>c</sup>
	Sulfated_GAGs	222.08±1.44 <sup>a</sup>	192.08±1.44 <sup>b</sup>	181.25±2.17 <sup>c</sup>
Middle	Sialic acid	37.50±1.25 <sup>a</sup>	29.17±2.89 <sup>b</sup>	25.42±1.91 <sup>c</sup>
	Uronic acid	151.05±4.36 <sup>a</sup>	137.24±3.60 <sup>b</sup>	133.43±2.47 <sup>c</sup>
	Sulfated_GAGs	172.08±1.44 <sup>a</sup>	161.67±0.72 <sup>b</sup>	155.83±2.89 <sup>c</sup>
Base	Sialic acid	17.50±2.50 <sup>a</sup>	13.33±1.91 <sup>b</sup>	4.17±1.91 <sup>c</sup>
	Uronic acid	110.57±2.47 <sup>a</sup>	98.19±0.82 <sup>b</sup>	80.10±4.36 <sup>c</sup>
	Sulfated_GAGs	95.42±3.15 <sup>a</sup>	92.50±2.50 <sup>a</sup>	82.50±1.25 <sup>b</sup>

## 열풍건조

Part	Contents (mg/g)			
	48h	36h	24h	
Top	Sialic acid	42.08±1.91 <sup>a</sup>	30.42±2.60 <sup>b</sup>	22.08±1.44 <sup>c</sup>
	Uronic acid	149.14±1.43 <sup>a</sup>	139.14±1.43 <sup>b</sup>	117.24±2.18 <sup>c</sup>
	Sulfated_GAGs	188.33±0.72 <sup>a</sup>	172.92±1.44 <sup>b</sup>	167.08±1.44 <sup>c</sup>
Middle	Sialic acid	24.58±1.44 <sup>a</sup>	20.00±1.25 <sup>b</sup>	13.75±2.17 <sup>c</sup>
	Uronic acid	102.48±1.65 <sup>a</sup>	92.48±0.82 <sup>b</sup>	70.10±1.65 <sup>c</sup>
	Sulfated_GAGs	164.17±0.72 <sup>a</sup>	151.25±2.17 <sup>b</sup>	150.42±1.91 <sup>b</sup>
Base	Sialic acid	12.92±1.91 <sup>a</sup>	8.33±1.91 <sup>b</sup>	8.75±2.50 <sup>b</sup>
	Uronic acid	67.24±1.65 <sup>a</sup>	53.90±1.65 <sup>b</sup>	40.57±2.86 <sup>c</sup>
	Sulfated_GAGs	135.42±1.44 <sup>a</sup>	112.08±0.72 <sup>b</sup>	106.25±2.17 <sup>c</sup>

- 동결건조를 실시한 녹용이 열풍건조를 실시한 녹용에 비해 유효성분함량이 높았다.
- 추출시간이 증가할수록 유효성분함량이 증가하였다.
- 상대로 갈수록 유효성분함량이 증가하였다.

### 3차년도 (2016년) : 건조 녹용의 저장 방법 설정

- 열풍건조 후 실온(25°C)에서 보관한 녹용의 유효성분

Part	Contents (mg/g)				
	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	Sialic acid	39.01±1.81 <sup>a</sup>	38.51±1.67 <sup>a</sup>	38.01±1.21 <sup>a</sup>	30.08±1.45 <sup>b</sup>
	Uronic acid	146.14±1.31 <sup>a</sup>	121.81±1.39 <sup>b</sup>	114.31±1.79 <sup>c</sup>	111.24±2.19 <sup>c</sup>
	Sulfated_GAGs	184.87±3.86 <sup>a</sup>	185.22±2.88 <sup>a</sup>	178.88±4.72 <sup>b</sup>	167.08±3.29 <sup>c</sup>
Middle	Sialic acid	30.92±1.53 <sup>a</sup>	31.76±1.23 <sup>a</sup>	29.50±1.21 <sup>a</sup>	23.54±2.84 <sup>b</sup>
	Uronic acid	109.11±3.38 <sup>a</sup>	107.50±2.21 <sup>a</sup>	108.91±3.23 <sup>a</sup>	70.10±1.66 <sup>b</sup>
	Sulfated_GAGs	160.37±10.84 <sup>a</sup>	161.25±4.17 <sup>a</sup>	158.83±5.80 <sup>a</sup>	157.42±3.69 <sup>a</sup>
Base	Sialic acid	22.15±1.68 <sup>a</sup>	23.80±1.68 <sup>a</sup>	22.67±2.06 <sup>a</sup>	18.89±2.51 <sup>b</sup>
	Uronic acid	65.62±1.88 <sup>a</sup>	63.90±2.65 <sup>a</sup>	64.48±2.18 <sup>a</sup>	50.64±2.46 <sup>b</sup>
	Sulfated_GAGs	128.82±11.29 <sup>a</sup>	122.81±10.45 <sup>a</sup>	126.38±9.75 <sup>a</sup>	106.42±9.64 <sup>b</sup>
					96.41±6.19 <sup>b</sup>

- 열풍건조 후 냉장(4°C)에서 보관한 녹용의 유효성분

Part	Contents (mg/g)				
	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	Sialic acid	42.60±1.39 <sup>a</sup>	40.42±1.60 <sup>a</sup>	42.08±2.76 <sup>a</sup>	40.22±3.39 <sup>a</sup>
	Uronic acid	148.39±3.52 <sup>a</sup>	149.11±5.27 <sup>a</sup>	147.07±2.09 <sup>a</sup>	149.09±3.65 <sup>a</sup>
	Sulfated_GAGs	183.08±2.15 <sup>a</sup>	184.87±2.44 <sup>a</sup>	182.71±3.86 <sup>a</sup>	182.65±2.94 <sup>a</sup>
Middle	Sialic acid	31.71±3.44 <sup>a</sup>	32.39±3.19 <sup>a</sup>	32.81±3.86 <sup>a</sup>	31.85±3.76 <sup>a</sup>
	Uronic acid	108.84±7.91 <sup>a</sup>	109.11±6.42 <sup>a</sup>	107.38±8.44 <sup>a</sup>	108.55±4.26 <sup>a</sup>
	Sulfated_GAGs	161.33±4.51 <sup>a</sup>	161.09±5.29 <sup>a</sup>	160.42±6.91 <sup>a</sup>	161.25±5.30 <sup>a</sup>
Base	Sialic acid	21.92±1.38 <sup>a</sup>	22.33±1.33 <sup>a</sup>	21.75±1.79 <sup>a</sup>	22.33±2.10 <sup>a</sup>
	Uronic acid	64.32±3.19 <sup>a</sup>	65.23±4.24 <sup>a</sup>	63.26±2.86 <sup>a</sup>	63.90±3.49 <sup>a</sup>
	Sulfated_GAGs	130.43±7.44 <sup>a</sup>	132.12±10.29 <sup>a</sup>	132.82±7.45 <sup>a</sup>	132.17±3.73 <sup>a</sup>
					130.65±6.16 <sup>a</sup>

- 동결건조 후 실온(25°C)에서 보관한 녹용의 유효성분

Part	Contents (mg/g)				
	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	Sialic acid	53.18±1.58 <sup>a</sup>	54.73±2.22 <sup>a</sup>	50.92±2.83 <sup>b</sup>	49.17±1.43 <sup>b</sup>
	Uronic acid	219.46±12.65 <sup>a</sup>	218.27±9.82 <sup>a</sup>	202.24±7.69 <sup>b</sup>	191.39±9.65 <sup>b</sup>
	Sulfated_GAGs	220.07±7.92 <sup>a</sup>	222.17±11.62 <sup>a</sup>	214.58±8.45 <sup>b</sup>	212.08±9.39 <sup>b</sup>
Middle	Sialic acid	35.62±2.63 <sup>a</sup>	35.86±2.60 <sup>a</sup>	30.01±2.64 <sup>b</sup>	27.87±2.17 <sup>b</sup>
	Uronic acid	150.38±8.57 <sup>a</sup>	147.49±11.59 <sup>a</sup>	143.75±9.23 <sup>b</sup>	135.74±8.59 <sup>c</sup>
					130.09±8.82 <sup>c</sup>

	Sulfated_GAGs	165.59±6.71 <sup>a</sup>	166.09±8.39 <sup>a</sup>	155.83±9.69 <sup>ab</sup>	151.19±11.48 <sup>c</sup>	145.38±8.10 <sup>c</sup>
Base	Sialic acid	18.23±1.16 <sup>a</sup>	18.33±2.07 <sup>a</sup>	14.16±1.89 <sup>b</sup>	13.87±1.36 <sup>b</sup>	9.11±104 <sup>c</sup>
	Uronic acid	112.80±7.74 <sup>a</sup>	109.87±10.53 <sup>a</sup>	108.28±6.93 <sup>a</sup>	88.29±8.83 <sup>b</sup>	82.87±3.89 <sup>b</sup>
	Sulfated_GAGs	90.43±4.62 <sup>a</sup>	89.09±8.17 <sup>a</sup>	84.67±6.78 <sup>ab</sup>	82.62±6.30 <sup>b</sup>	81.08±4.32 <sup>b</sup>

- 동결건조 후 냉장(4°C)에서 보관한 녹용의 유효성분

Part	Contents (mg/g)					
	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month	
Top	Sialic acid	55.30±2.98 <sup>a</sup>	54.56±4.39 <sup>a</sup>	55.12±3.79 <sup>a</sup>	54.11±2.43 <sup>a</sup>	55.28±3.48 <sup>a</sup>
	Uronic acid	220.48±8.76 <sup>a</sup>	221.48±9.69 <sup>a</sup>	220.87±9.79 <sup>a</sup>	219.49±8.19 <sup>a</sup>	217.65±9.47 <sup>a</sup>
	Sulfated_GAGs	222.75±10.44 <sup>a</sup>	222.08±9.91 <sup>a</sup>	221.25±9.17 <sup>a</sup>	222.69±9.45 <sup>a</sup>	221.27±9.79 <sup>a</sup>
Middle	Sialic acid	37.17±4.55 <sup>a</sup>	39.28±2.41 <sup>a</sup>	38.49±3.06 <sup>a</sup>	39.45±2.67 <sup>a</sup>	35.99±2.71 <sup>a</sup>
	Uronic acid	149.78±9.91 <sup>a</sup>	147.30±9.82 <sup>a</sup>	146.73±5.15 <sup>a</sup>	147.16±9.52 <sup>a</sup>	143.70±10.70 <sup>a</sup>
	Sulfated_GAGs	170.69±9.78 <sup>a</sup>	171.52±8.99 <sup>a</sup>	168.76±9.12 <sup>a</sup>	171.53±7.99 <sup>a</sup>	165.64±9.69 <sup>a</sup>
Base	Sialic acid	16.25±3.78 <sup>a</sup>	15.93±4.68 <sup>a</sup>	16.53±2.01 <sup>a</sup>	16.08±1.87 <sup>a</sup>	15.97±1.27 <sup>a</sup>
	Uronic acid	117.36±8.78 <sup>a</sup>	118.98±9.82 <sup>a</sup>	118.10±8.92 <sup>a</sup>	118.19±9.10 <sup>a</sup>	116.38±7.34 <sup>a</sup>
	Sulfated_GAGs	90.89±6.11 <sup>a</sup>	92.47±3.48 <sup>a</sup>	92.09±5.12 <sup>a</sup>	92.50±3.29 <sup>a</sup>	90.85±6.32 <sup>a</sup>

- 열풍건조 후 실온(25°C)에서 보관한 녹용의 색도

	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month	
Top	L	39.29±3.40 <sup>a</sup>	38.05±3.45 <sup>a</sup>	37.11±3.54 <sup>a</sup>	35.68±3.09 <sup>b</sup>	36.71±2.89 <sup>b</sup>
	a	10.65±1.31 <sup>a</sup>	10.72±1.22 <sup>a</sup>	11.09±1.53 <sup>a</sup>	9.53±1.11 <sup>b</sup>	8.54±1.98 <sup>b</sup>
	b	22.98±2.68 <sup>a</sup>	23.72±2.79 <sup>a</sup>	22.85±2.80 <sup>a</sup>	21.67±1.16 <sup>b</sup>	19.74±2.85 <sup>b</sup>
Middle	L	41.92±1.53 <sup>a</sup>	31.76±1.23 <sup>b</sup>	29.50±1.21 <sup>b</sup>	23.54±2.84 <sup>b</sup>	22.53±2.17 <sup>b</sup>
	a	9.11±1.38 <sup>a</sup>	10.50±0.21 <sup>a</sup>	8.91±0.23 <sup>b</sup>	7.10±1.66 <sup>c</sup>	7.10±1.67 <sup>c</sup>
	b	20.37±10.84 <sup>a</sup>	16.25±4.17 <sup>b</sup>	15.83±5.80 <sup>b</sup>	15.42±3.69 <sup>b</sup>	15.27±4.58 <sup>b</sup>
Base	L	43.15±1.68 <sup>a</sup>	43.80±1.68 <sup>a</sup>	42.67±2.06 <sup>a</sup>	38.89±2.51 <sup>b</sup>	35.15±3.18 <sup>b</sup>
	a	8.62±1.88 <sup>a</sup>	7.90±2.65 <sup>a</sup>	7.48±2.18 <sup>a</sup>	7.64±2.46 <sup>b</sup>	6.19±2.70 <sup>b</sup>
	b	18.82±11.29 <sup>a</sup>	15.81±10.45 <sup>b</sup>	14.38±9.75 <sup>a</sup>	13.42±9.64 <sup>a</sup>	12.41±6.19 <sup>a</sup>

- 열풍건조 후 냉장(4°C)에서 보관한 녹용의 색도

		0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	L	40.60±1.39 <sup>a</sup>	40.42±1.60 <sup>a</sup>	39.08±2.76 <sup>a</sup>	37.22±3.39 <sup>a</sup>	31.28±0.01 <sup>b</sup>
	a	18.39±3.52 <sup>a</sup>	19.11±5.27 <sup>a</sup>	17.07±2.09 <sup>a</sup>	16.09±3.65 <sup>a</sup>	16.43±3.19 <sup>a</sup>
	b	24.08±2.15 <sup>a</sup>	24.87±2.44 <sup>a</sup>	22.71±3.86 <sup>a</sup>	22.65±2.94 <sup>a</sup>	20.53±3.51 <sup>a</sup>
Middle	L	43.71±3.44 <sup>a</sup>	42.39±3.19 <sup>a</sup>	42.81±3.86 <sup>a</sup>	41.85±3.76 <sup>a</sup>	40.53±1.83 <sup>a</sup>
	a	10.84±1.91 <sup>a</sup>	10.11±0.42 <sup>a</sup>	8.98±0.44 <sup>b</sup>	8.55±0.26 <sup>b</sup>	8.14±0.75 <sup>b</sup>
	b	21.33±1.51 <sup>a</sup>	21.09±1.29 <sup>a</sup>	20.42±1.91 <sup>a</sup>	21.25±1.30 <sup>a</sup>	20.32±1.34 <sup>a</sup>
Base	L	41.92±1.38 <sup>a</sup>	42.33±1.33 <sup>a</sup>	41.75±1.79 <sup>a</sup>	42.33±2.10 <sup>a</sup>	42.52±2.11 <sup>a</sup>
	a	8.32±3.19 <sup>a</sup>	8.23±4.24 <sup>a</sup>	7.26±2.86 <sup>a</sup>	8.90±3.49 <sup>a</sup>	7.57±2.32 <sup>a</sup>
	b	18.43±7.44 <sup>a</sup>	17.12±10.29 <sup>a</sup>	18.82±7.45 <sup>a</sup>	17.17±3.73 <sup>a</sup>	16.65±6.16 <sup>a</sup>

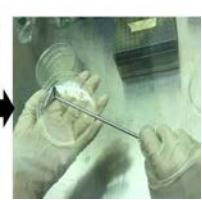
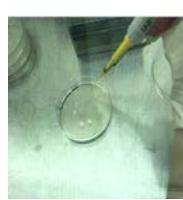
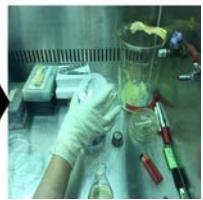
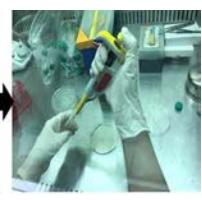
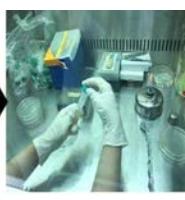
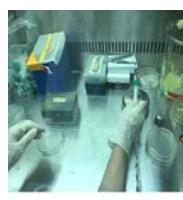
- 동결건조 후 실온(25°C)에서 보관한 녹용의 색도

		0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	L	33.18±1.58 <sup>a</sup>	34.73±2.22 <sup>a</sup>	30.92±2.83 <sup>b</sup>	29.17±1.43 <sup>b</sup>	27.21±3.75 <sup>c</sup>
	a	19.46±1.65 <sup>a</sup>	18.27±1.82 <sup>a</sup>	12.24±0.69 <sup>b</sup>	11.39±0.65 <sup>b</sup>	10.42±1.10 <sup>b</sup>
	b	10.07±7.92 <sup>a</sup>	12.17±0.62 <sup>a</sup>	11.58±0.45 <sup>a</sup>	10.08±1.39 <sup>b</sup>	9.55±0.45 <sup>b</sup>
Middle	L	40.62±2.63 <sup>a</sup>	41.86±1.60 <sup>a</sup>	40.01±1.64 <sup>a</sup>	37.87±1.17 <sup>b</sup>	35.87±1.91 <sup>c</sup>
	a	15.38±8.57 <sup>a</sup>	14.49±1.59 <sup>a</sup>	14.75±0.23 <sup>a</sup>	13.74±1.59 <sup>a</sup>	13.09±0.82 <sup>b</sup>
	b	10.59±0.71 <sup>a</sup>	10.09±0.39 <sup>a</sup>	9.83±0.69 <sup>a</sup>	10.19±0.48 <sup>a</sup>	9.38±0.10 <sup>a</sup>
Base	L	38.23±1.16 <sup>a</sup>	38.33±2.07 <sup>a</sup>	34.16±1.89 <sup>b</sup>	33.87±1.36 <sup>b</sup>	29.11±1.04 <sup>c</sup>
	a	12.80±0.74 <sup>a</sup>	10.87±1.53 <sup>b</sup>	10.28±1.93 <sup>b</sup>	8.29±0.83 <sup>c</sup>	8.87±0.89 <sup>c</sup>
	b	9.43±0.62 <sup>a</sup>	9.09±0.17 <sup>a</sup>	8.67±0.78 <sup>b</sup>	8.62±0.30 <sup>b</sup>	8.08±0.32 <sup>b</sup>

- 동결건조 후 냉장(4°C)에서 보관한 녹용의 색도

		0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	L	35.30±2.98 <sup>a</sup>	34.56±1.39 <sup>a</sup>	35.12±1.79 <sup>a</sup>	34.11±1.43 <sup>a</sup>	35.28±1.48 <sup>a</sup>
	a	20.48±8.76 <sup>a</sup>	21.48±1.69 <sup>a</sup>	20.87±2.79 <sup>a</sup>	19.49±1.19 <sup>a</sup>	17.65±0.47 <sup>b</sup>
	b	12.75±1.44 <sup>a</sup>	12.08±0.91 <sup>a</sup>	11.25±1.17 <sup>a</sup>	9.69±0.45 <sup>b</sup>	8.27±0.79 <sup>c</sup>
Middle	L	37.17±4.55 <sup>a</sup>	39.28±2.41 <sup>a</sup>	38.49±3.06 <sup>a</sup>	39.45±2.67 <sup>a</sup>	35.99±2.71 <sup>b</sup>
	a	14.78±0.91 <sup>a</sup>	14.30±0.82 <sup>a</sup>	14.73±1.15 <sup>a</sup>	14.16±0.52 <sup>a</sup>	14.70±1.70 <sup>a</sup>
	b	10.69±9.78 <sup>a</sup>	11.52±0.99 <sup>a</sup>	10.76±0.12 <sup>a</sup>	11.53±0.99 <sup>a</sup>	9.64±0.69 <sup>b</sup>
Base	L	36.25±0.78 <sup>a</sup>	35.93±1.68 <sup>a</sup>	36.53±2.01 <sup>a</sup>	36.08±1.87 <sup>a</sup>	35.97±1.27 <sup>a</sup>
	a	11.36±0.78 <sup>a</sup>	11.98±1.82 <sup>a</sup>	11.10±0.92 <sup>a</sup>	10.19±0.10 <sup>a</sup>	11.38±1.34 <sup>a</sup>
	b	9.89±0.11 <sup>a</sup>	9.47±0.48 <sup>a</sup>	9.09±0.12 <sup>a</sup>	9.50±0.29 <sup>a</sup>	9.85±0.32 <sup>a</sup>

- 저장방법 별 녹용의 저장성 분석
  - 저장 후 1개월마다 미생물 증식 분석



저장성 평가 배지 준비

저장성 평가 시료 도말

- 미생물증식 @ 열풍건조 / 실온(25도씨)

	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	10^-2	0	0	0	31
	10^-3	0	0	0	4
	10^-4	0	0	0	0
Middle	10^-2	0	0	0	30
	10^-3	0	0	0	7
	10^-4	0	0	0	1
Base	10^-2	0	0	0	28
	10^-3	0	0	0	9
	10^-4	0	0	0	1

- 미생물증식 @ 열풍건조 / 냉장(4도씨)

	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	10^-2	0	0	0	0
	10^-3	0	0	0	0
	10^-4	0	0	0	0
Middle	10^-2	0	0	0	0
	10^-3	0	0	0	0
	10^-4	0	0	0	1
Base	10^-2	0	0	0	0
	10^-3	0	0	0	0
	10^-4	0	0	0	0

- 미생물증식 @ 동결건조 / 실온(25도씨)

	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	10^-2	0	0	0	22
	10^-3	0	0	0	1
	10^-4	0	0	0	0
Middle	10^-2	0	0	0	50
	10^-3	0	0	0	1
	10^-4	0	0	0	0
Base	10^-2	0	0	0	19
	10^-3	0	0	0	8
	10^-4	0	0	0	2

- 미생물증식 @ 동결건조 / 냉장(4도씨)

	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month
Top	10^-2	0	0	0	0
	10^-3	0	0	0	0
	10^-4	0	0	0	0
Middle	10^-2	0	0	0	0
	10^-3	0	0	0	0
	10^-4	0	0	0	0
Base	10^-2	0	0	0	0
	10^-3	0	0	0	0
	10^-4	0	0	0	0

**제 1세부과제 : 녹용 제품화를 위한 가공기술 개발**

**1차년도 (2014년) : 녹용 제품화를 위한 녹용소재 개발 및 부재료의 배합비율 결정**

1. 엘크 녹용의 부위별 일반 성분

엘크 녹용의 각 부위별 (상대, 중대, 하대) 영양성분을 분석한 결과는 표 1과 같다. 각 부위의 건물 함량은 27~38%의 범위를 보였다. 조단백, 조지방 및 총 당 함량의 경우 상대, 중대, 하대의 순으로 낮아지는 결과를 보였다. 반면 회분의 경우 하대가 37.6%로 가장 높은 값을 보였다. 또한 회분의 증가와 동일하게 콜라겐, 칼슘과 인의 값도 하대로 갈수록 증가하는 결과를 보였다. 이와는 반대로 녹용의 생리활성물질로 알려져 있는 Glycosaminoglycan, uronc acid 및 sialic acid의 함량은 상대로 갈수록 뚜렷하게 증가하는 결과를 보였다.

**Table 1. 엘크 녹용의 일반성분**

Dry matter	Crude protein	Crude fat	Ash	Total carbohydrate	GAGs (mg/mL)	Uronic acid (mg/mL)	Sialic acid (mg/mL)	Collagen (mg/mL)	Ca (μg/mL)	P (μg/mL)
Upper	27.7±1.6 <sup>a</sup>	51.37±7.8 <sup>c</sup>	2.82±0.4 <sup>b</sup>	26.09±4.4 <sup>a</sup>	10.5±1.3 <sup>b</sup>	2.1±0.2 <sup>c</sup>	0.7±0.3 <sup>b</sup>	0.9±0.1 <sup>c</sup>	23.3±2.4 <sup>a</sup>	13.1±3.8 <sup>NS</sup>
Middle	32.8±2.3 <sup>b</sup>	33.27±3.4 <sup>b</sup>	2.41±0.4 <sup>a</sup>	38.55±3.4 <sup>b</sup>	9.1±1.7 <sup>ab</sup>	1.8±0.2 <sup>b</sup>	0.6±0.2 <sup>b</sup>	0.5±0.1 <sup>b</sup>	26.2±1.6 <sup>b</sup>	14.6±2.5
Base	37.9±4.3 <sup>b</sup>	25.99±2.8 <sup>a</sup>	2.45±0.4 <sup>a</sup>	42.06±3.4 <sup>b</sup>	7.8±1.6 <sup>a</sup>	1.3±0.1 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>a</sup>	0.1±0.1 <sup>a</sup>	28.6±1.4 <sup>b</sup>	15.9±1.4

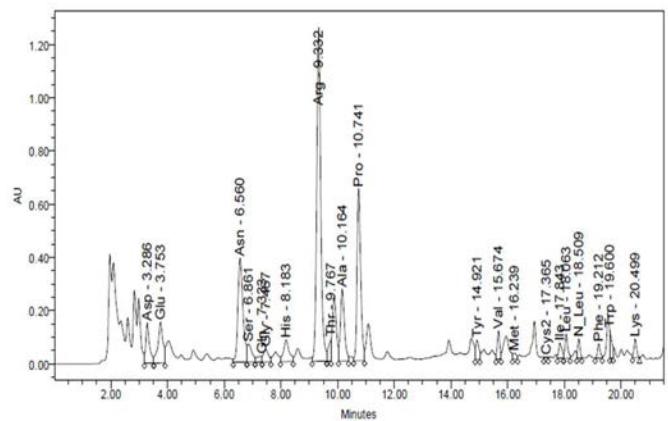
## 2. 엘크 녹용의 부위별 아미노산 조성

녹용의 부위를 달리하여 제조한 녹용 농축액의 아미노산 조성 분석 결과는 Table 2와 Fig. 1에 나타내었다. 녹용 농축액 내 유리 아미노산들 가운데 특히 proline과 glycine의 경우는 녹용 중대나 하대를 첨가한 경우 다소 증가하는 경향을 보였다. 일반적으로 녹용 내의 collagen은 Glycine-Proline-Hydroxyproline 구조로 되어 있으며 상대나 중대에 비해 하대에 collagen 함량이 높았던 결과와 일맥상통함을 확인할 수 있었다.

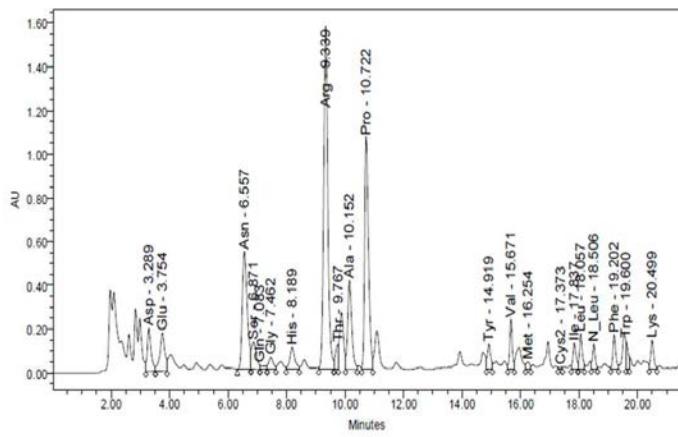
**Table 2. 녹용부위별로 제조한 녹용 농축액의 아미노산 함량 분석 (mg%)**

아미노산 종류	녹용 부위별	아미노산 함량 (mg%)
Asp	Upper	0.87
	Middle	0.75
	Base	0.93
Glu	Upper	1.33
	Middle	2.07
	Base	1.44
Lys	Upper	0.16
	Middle	0.13
	Base	0.20
Trp	Upper	0.61
	Middle	0.95
	Base	0.52
Phe	Upper	0.33
	Middle	0.20
	Base	0.38
Leu	Upper	0.39
	Middle	0.26
	Base	0.39
Ile	Upper	0.29
	Middle	0.23
	Base	0.32
Cys2	Upper	0.07

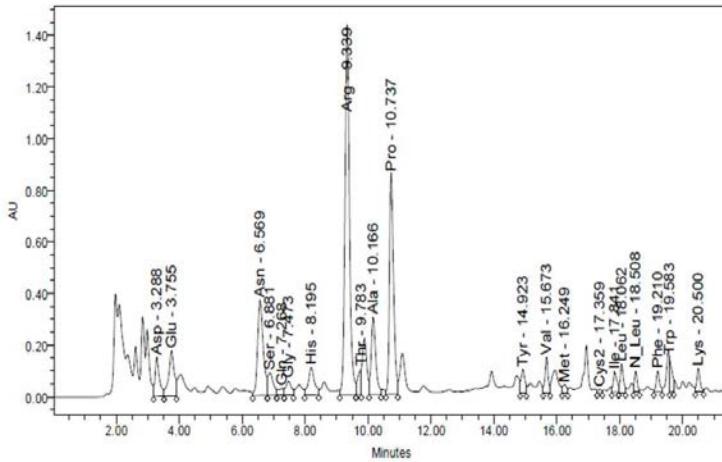
	Middle	0.06
	Base	0.05
Met	Upper	0.15
	Middle	0.24
	Base	0.15
Val	Upper	0.38
	Middle	0.32
	Base	0.44
Tyr	Upper	0.49
	Middle	0.43
	Base	0.50
Pro	Upper	3.55
	Middle	5.13
	Base	3.57
Ala	Upper	1.10
	Middle	1.19
	Base	1.15
Thr	Upper	0.27
	Middle	0.28
	Base	0.36
Arg	Upper	8.12
	Middle	8.41
	Base	10.30
His	Upper	0.84
	Middle	0.83
	Base	0.95
Gly	Upper	0.19
	Middle	0.19
	Base	0.19
Gln	Upper	0.27
	Middle	0.74
	Base	0.22
Ser	Upper	0.41
	Middle	0.42
	Base	0.48
Asn	Upper	3.41
	Middle	4.03
	Base	3.17



녹용 농축액 (Upper)



녹용 농축액 (Middle)



녹용 농축액 (Base)

Figure. 1 녹용부위별로 제조한 녹용 농축액의 HPLC chromatogram

### 3. 엘크 녹용의 단백질 및 탄수화물 가수분해 효소 추출물의 제조공정

본 연구에서는 단백질 및 탄수화물 가수분해 효소를 이용하여 엘크 녹용의 각 부위별 효소적 가수분해 추출물을 제조하였으며, 본 연구에 사용한 효소 및 가수분해 공정은 Table 3 및 Figure 2과 같다.

**Table 3. Specification of enzymes used of the hydrolysis of Velvet Antler**

Enzyme	Type	Enzyme characterization	Optimum conditions	
			pH	Temp (°C)
Celluclast	Mono	cellulase	4.5	50
Termamyl	Mono	$\alpha$ -amylase	6.0	60
AMG	Mono	amyloglucosidase	4.5	60
Ultraflo	Complex	$\beta$ -glucanase, cellulase xylanase, pentosanase, arabanase	6.5	60
Viscozyme	Complex	$\beta$ -glucanase, cellulase hemicellulase, zylanase, arabanase	4.5	50
Pepsin	Mono	protease	7.0	37
Alcalase	Mono	protease	8.0	50
Neutrase	Mono	protease	6.0	50
Flavourzyme	Mono	exopeptidase	7.0	50
Protamex	Mono	serine endoprotease	6.0	40



**Figure 2. The protocol of hydrolysis**



Figure 3. Enzymatic hydrolysates of Velvet antler

#### 4. 엘크 녹용의 단백질 및 탄수화물 가수분해 효소 추출물의 수율

본 연구에서는 단백질 및 탄수화물 가수분해 효소를 이용하여 엘크 녹용의 각 부위별 효소적 가수분해 추출물을 제조하였으며, 각 부위별 추출물의 수율은 Table 4에 나타내었다. 모든 가수분해 추출물에 있어서 전반적으로 상대의 추출 수율이 가장 높게 나타났으며, 이후 중대, 하대의 순으로 나타났다. 효소가수분해 추출물과 열수 추출 및 에탄올 추출물의 수율은 큰 차이를 보이지 않았으며 효소가수분해 추출물의 경우, 상대는 11.27~26.67%, 중대의 경우 6.49~17.38%, 하대의 경우 4.52~11.28%의 수율 범위를 보였다. 녹용의 분획별 가수분해도의 차이를 나타내는 것은 녹용의 조단백질의 함량이 상대가 높고 하대가 낮은 경향이 있기 때문인 것으로 판단된다. 또한, 효소는 기질과 결합하여 기질을 생성물로 전환시키는 활성부위 (active site)를 가지고 있는데, 보통 활성부위는 효소분자의 외부에 갈라진 틈을 형성하고 있으므로 기질의 구조와 상보적인 형태로 되어 있다. 효소별 가수분해도의 차이는 이와 같은 효소의 단백질에 대한 선택적 기질특이성에 따른 것으로 판단된다.

**Table 4. Extraction yields of the Velvet Antler hydrolysates**

	Enzyme	Extraction yields (%)
Water extract	Upper	33.42
	Middle	31.05
	Base	24.02
Ethanol extract	Upper	29.98
	Middle	8.41
	Base	2.89
Celluclast	Upper	21.77
	Middle	10.03
	Base	6.42
Termamyl	Upper	15.59
	Middle	11.72
	Base	6.99
AMG	Upper	18.21
	Middle	8.89
	Base	8.90
Ultraflo	Upper	11.27
	Middle	11.33
	Base	11.03
Viscozyme	Upper	23.71
	Middle	6.49
	Base	5.12
Pepsin	Upper	20.81
	Middle	15.95
	Base	11.28
Alcalase	Upper	20.85
	Middle	10.90
	Base	4.52
Neutrerase	Upper	26.67
	Middle	14.57
	Base	8.64
Flavourzyme	Upper	19.88
	Middle	12.65
	Base	9.21
Protamex	Upper	21.76
	Middle	17.38
	Base	8.86

## 5. 엘크 녹용의 단백질 및 탄수화물 가수분해 효소추출물의 생리활성성분

엘크 녹용의 단백질 및 탄수화물 가수분해 효소 추출물의 생리활성 성분 결과는 Table 5~9 및 Fig. 4~8에 나타내었다. 엘크 녹용의 다양한 효소가수 분해물 중 uronic acid 함량의 경우 전반적으로 하대에 비해 상대와 중대에서 높은 함량을 보였으며 특히 녹용 중대의 Termamyl과 Protamex 가수분해물에서 가장 높은 값을 보였다 (Table 5, Fig. 4). 녹용 효소 가수분해 추출물에서 Sialic acid 함량의 경우 대부분 상대에서 가장 높은 값을 보였으며, 특히 단백질 가수분해 효소인 Flavourzyme 및 탄수화물 가수분해 효소인 Ultroflo 추출물에서 가장 높은 값을 보였다 (Table 6, Fig. 5). Table 7과 Fig. 6에서 보는 바와 같이 Glycosaminoglycan 함량의 경우도 상대 및 중대 추출물이 하대 추출물에 비해 높은 함량을 보였으며, 특히 열수 추출물과 Viscozyme 추출물을 비롯하여 대부분의 단백질 가수분해 효소 추출물 (Alcalase, Neutrerase, Flavourzyme, Protamex)에서 높은 함량을 나타내었다. 반면 총 당 함량은 전반적으로 단백질 가수 분해 추출물에 비해 탄수화물 가수분해 추출물 (AMG, Termamyl, Ultroflo)에서 높은 값을 보였다 (Table 8, Fig. 7). 한편 단백질 가수분해효소인 Flavourzyme과 pepsin 가수분해물의 경우 중대 및 하대에서 높은 함량을 보였다. Collagen 함량의 경우는 전반적으로 상대에서 하대로 갈수록 증가하였으며, 특히 탄수화물 가수분해 효소인 Cellucalst, AMG 추출물과 단백질 가수분해 효소인 Flavourzyme, Alcalase 및 Neutrerase 추출물의 중대와 하대 추출물에서 높은 함량을 보였다 (Table 9, Fig. 8).

**Table 5. Uronic acid contents (mg/mL) of the Velvet Antler hydrolysates**

Sample		Average	STDEV
Viscozyme L	Upper	0.027 <sup>a</sup>	0.005
	Middle	0.021 <sup>a</sup>	0.011
	Base	0.044 <sup>b</sup>	0.013
Termamy L	Upper	0.050 <sup>a</sup>	0.005
	Middle	0.163 <sup>b</sup>	0.022
	Base	0.038 <sup>a</sup>	0.012
Cellucalst	Upper	0.037 <sup>a</sup>	0.000
	Middle	0.082 <sup>c</sup>	0.002
	Base	0.023 <sup>b</sup>	0.006
Alcalase	Upper	0.033 <sup>a</sup>	0.011
	Middle	0.028 <sup>b</sup>	0.003
	Base	0.020 <sup>a</sup>	0.003
AMG	Upper	0.001 <sup>a</sup>	0.005
	Middle	0.002 <sup>a</sup>	0.002
	Base	0.021 <sup>b</sup>	0.010
Neutrase	Upper	0.004 <sup>a</sup>	0.004
	Middle	0.016 <sup>b</sup>	0.002
	Base	0.003 <sup>ab</sup>	0.008
Ultroflo	Upper	0.015 <sup>c</sup>	0.004
	Middle	0.001 <sup>a</sup>	0.000
	Base	0.005 <sup>b</sup>	0.003
Flavourzyme	Upper	0.010 <sup>a</sup>	0.001
	Middle	0.057 <sup>c</sup>	0.007
	Base	0.029 <sup>b</sup>	0.002
Water extracts	Upper	0.131 <sup>c</sup>	0.015
	Middle	0.010 <sup>a</sup>	0.000
	Base	0.022 <sup>b</sup>	0.002
Pepsin	Upper	0.017 <sup>b</sup>	0.002
	Middle	0.037 <sup>c</sup>	0.015
	Base	0.005 <sup>a</sup>	0.001
Protamex	Upper	0.015 <sup>a</sup>	0.013
	Middle	0.116 <sup>b</sup>	0.001
	Base	0.032 <sup>a</sup>	0.003
Sonication	Upper	0.022 <sup>a</sup>	0.002
	Middle	0.021 <sup>a</sup>	0.004
	Base	0.036 <sup>b</sup>	0.012

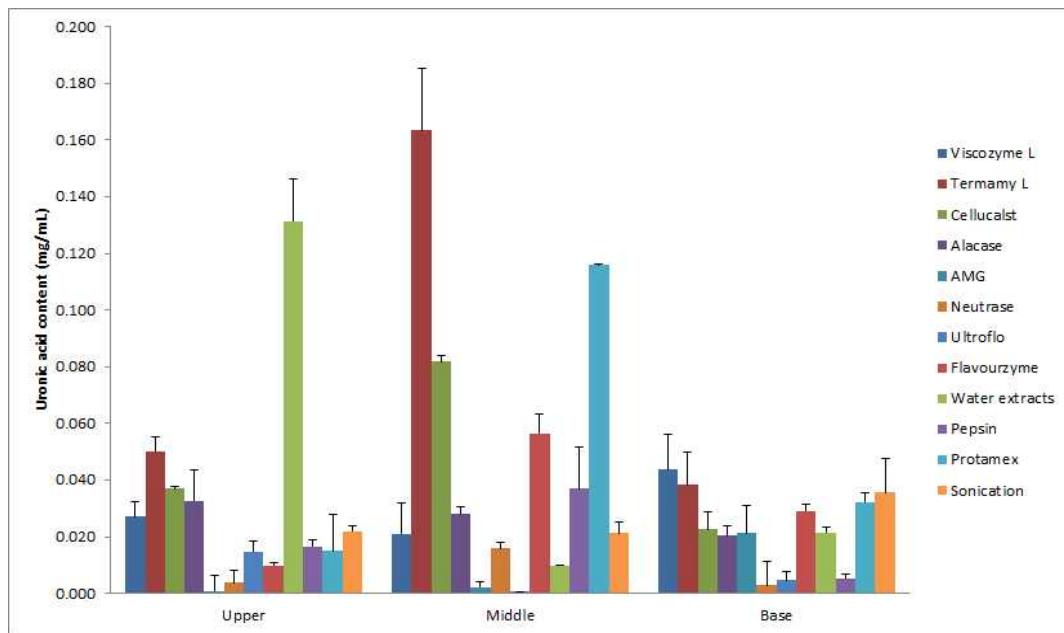


Figure 4. Uronic acid content (mg/mL) of enzymatic hydrolysates of Velvet antler

Table 6. Sialic acid contents (mg/mL) of the Velvet Antler hydrolysates

	Sample	Average	STDEV
Alcalase	Upper	0.364 <sup>b</sup>	0.007
	Middle	0.216 <sup>a</sup>	0.006
	Base	0.206 <sup>b</sup>	0.148
Viscozyme L	Upper	0.205 <sup>NS</sup>	0.002
	Middle	0.247	0.150
	Base	0.249	0.003
Termamy L	Upper	0.399 <sup>c</sup>	0.011
	Middle	0.157 <sup>b</sup>	0.008
	Base	0.028 <sup>a</sup>	0.002
Neutrase	Upper	0.313 <sup>NS</sup>	0.009
	Middle	0.386	0.004
	Base	0.348	0.014
AMG	Upper	0.505 <sup>c</sup>	0.013
	Middle	0.080 <sup>a</sup>	0.002
	Base	0.111 <sup>b</sup>	0.004
Flavourzyme	Upper	0.622 <sup>b</sup>	0.009
	Middle	0.478 <sup>a</sup>	0.015
	Base	0.456 <sup>a</sup>	0.012

	Upper	0.679 <sup>b</sup>	0.035
Ultroflo	Middle	0.535 <sup>b</sup>	0.006
	Base	0.383 <sup>a</sup>	0.006
	Upper	0.332 <sup>NS</sup>	0.009
Celluclast	Middle	0.377	0.011
	Base	0.366	0.009
	Upper	0.427 <sup>c</sup>	0.007
Water extracts	Middle	0.284 <sup>b</sup>	0.003
	Base	0.158 <sup>a</sup>	0.006
	Upper	0.343 <sup>a</sup>	0.007
Pepsin	Middle	0.699 <sup>c</sup>	0.014
	Base	0.475 <sup>b</sup>	0.067
	Upper	0.357 <sup>a</sup>	0.014
Protamex	Middle	0.466 <sup>b</sup>	0.007
	Base	0.576 <sup>b</sup>	0.015
	Upper	0.466 <sup>NS</sup>	0.029
Sonication	Middle	0.478	0.003
	Base	0.377	0.016

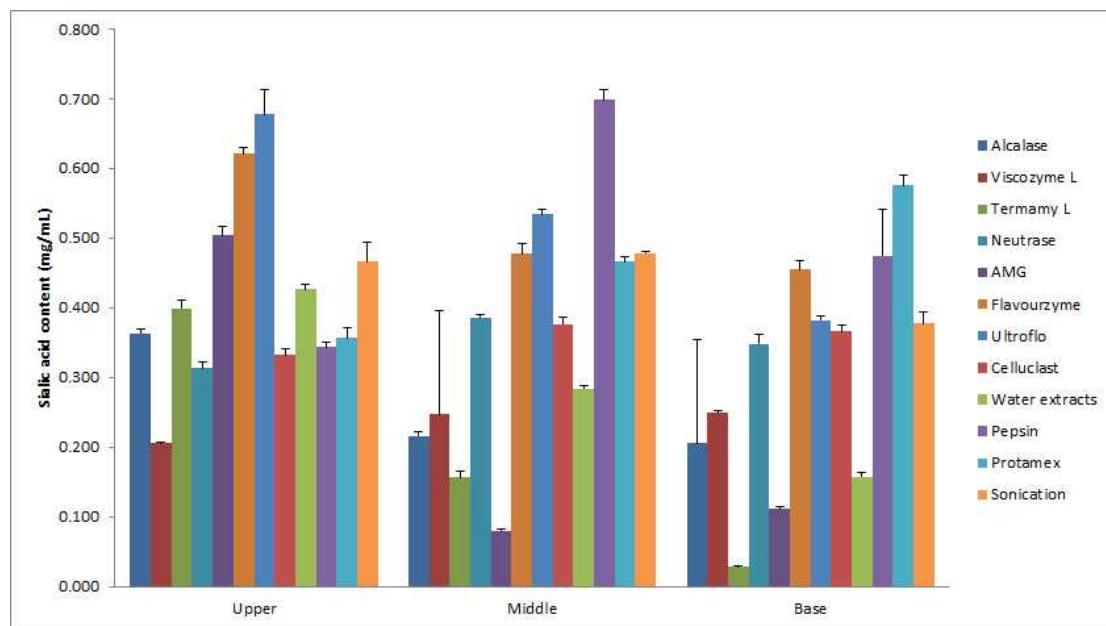


Figure 5. Sialic acid content (mg/mL) of enzymatic hydrolysates of Velvet antler

**Table 7. Glycosaminoglycan (GAG) contents (mg/mL) of the Velvet Antler hydrolysates**

Sample		Average	STDEV
Viscozyme L	Upper	11.524 <sup>b</sup>	0.334
	Middle	10.773 <sup>b</sup>	0.303
	Base	2.591 <sup>a</sup>	0.077
Termamy L	Upper	1.252 <sup>b</sup>	0.102
	Middle	0.853 <sup>a</sup>	0.193
	Base	0.697 <sup>a</sup>	0.102
Celluclast	Upper	0.193 <sup>a</sup>	0.067
	Middle	0.273 <sup>a</sup>	0.067
	Base	5.577 <sup>b</sup>	0.566
AMG	Upper	3.282 <sup>b</sup>	0.177
	Middle	3.919 <sup>b</sup>	0.435
	Base	2.190 <sup>a</sup>	0.235
Alcalase	Upper	6.881 <sup>b</sup>	0.077
	Middle	1.826 <sup>a</sup>	0.597
	Base	2.443 <sup>a</sup>	0.101
Neutrase	Upper	4.307 <sup>b</sup>	0.102
	Middle	2.133 <sup>a</sup>	0.199
	Base	2.781 <sup>a</sup>	0.192
Water extracts	Upper	7.588 <sup>b</sup>	0.302
	Middle	1.170 <sup>a</sup>	0.467
	Base	0.603 <sup>a</sup>	0.145
Sonication	Upper	2.176 <sup>NS</sup>	0.617
	Middle	2.048	0.353
	Base	1.882	0.194
Ultroflo	Upper	0.402 <sup>a</sup>	0.114
	Middle	2.395 <sup>b</sup>	0.552
	Base	1.170 <sup>ab</sup>	0.084
Flavourzyme	Upper	4.260 <sup>b</sup>	0.271
	Middle	2.834 <sup>a</sup>	0.114
	Base	2.505 <sup>a</sup>	0.138
Pepsin	Upper	1.064 <sup>a</sup>	0.178
	Middle	8.907 <sup>c</sup>	0.292
	Base	2.866 <sup>b</sup>	0.564
Protamex	Upper	9.100 <sup>c</sup>	0.292
	Middle	6.958 <sup>b</sup>	0.547
	Base	0.147 <sup>a</sup>	0.435

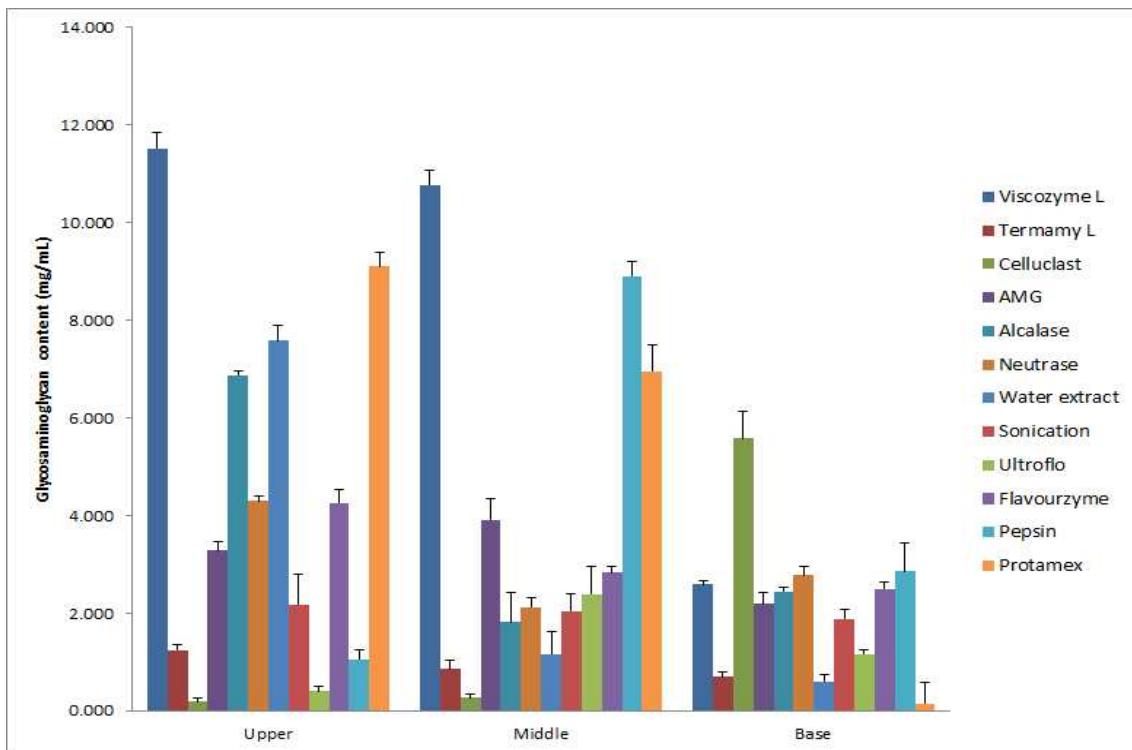


Figure 6. Glycosaminoglycan (GAG) content (mg/mL) of enzymatic hydrolysates of Velvet antler

Table 8. Total carbohydrate (TC) contents (mg/mL) of the Velvet Antler hydrolysates

Sample		Average	STDEV
AMG	Upper	12.210 <sup>b</sup>	0.034
	Middle	1.772 <sup>a</sup>	0.028
	Base	1.889 <sup>a</sup>	0.019
Alcalase	Upper	8.584 <sup>c</sup>	0.105
	Middle	4.344 <sup>b</sup>	0.016
	Base	2.854 <sup>a</sup>	0.167
Neutrase	Upper	3.551 <sup>a</sup>	0.074
	Middle	3.707 <sup>a</sup>	0.058
	Base	4.736 <sup>b</sup>	0.019
ViscozymeL	Upper	3.659 <sup>NS</sup>	0.037
	Middle	4.014	0.007
	Base	3.591	0.061
TermamyL	Upper	3.115 <sup>b</sup>	0.024
	Middle	19.851 <sup>c</sup>	0.191
	Base	1.751 <sup>a</sup>	0.007
Celluclast	Upper	2.588 <sup>NS</sup>	0.000

	Middle	2.750	0.007
	Base	2.542	0.019
Flavourzyme	Upper	1.956 <sup>a</sup>	0.154
	Middle	5.918 <sup>b</sup>	0.051
	Base	9.461 <sup>c</sup>	0.117
Ultroflo	Upper	1.583 <sup>a</sup>	0.144
	Middle	4.678 <sup>b</sup>	0.187
	Base	4.069 <sup>b</sup>	0.057
Sonication	Upper	6.474 <sup>b</sup>	0.190
	Middle	4.934 <sup>a</sup>	0.080
	Base	6.156 <sup>b</sup>	0.133
Water extracts	Upper	3.036 <sup>NS</sup>	0.110
	Middle	3.240	0.078
	Base	3.190	0.105
Pepsin	Upper	3.889 <sup>a</sup>	0.018
	Middle	13.975 <sup>c</sup>	0.050
	Base	4.545 <sup>b</sup>	0.005
Protamex	Upper	4.171 <sup>NS</sup>	0.028
	Middle	4.159	0.039
	Base	3.915	0.033

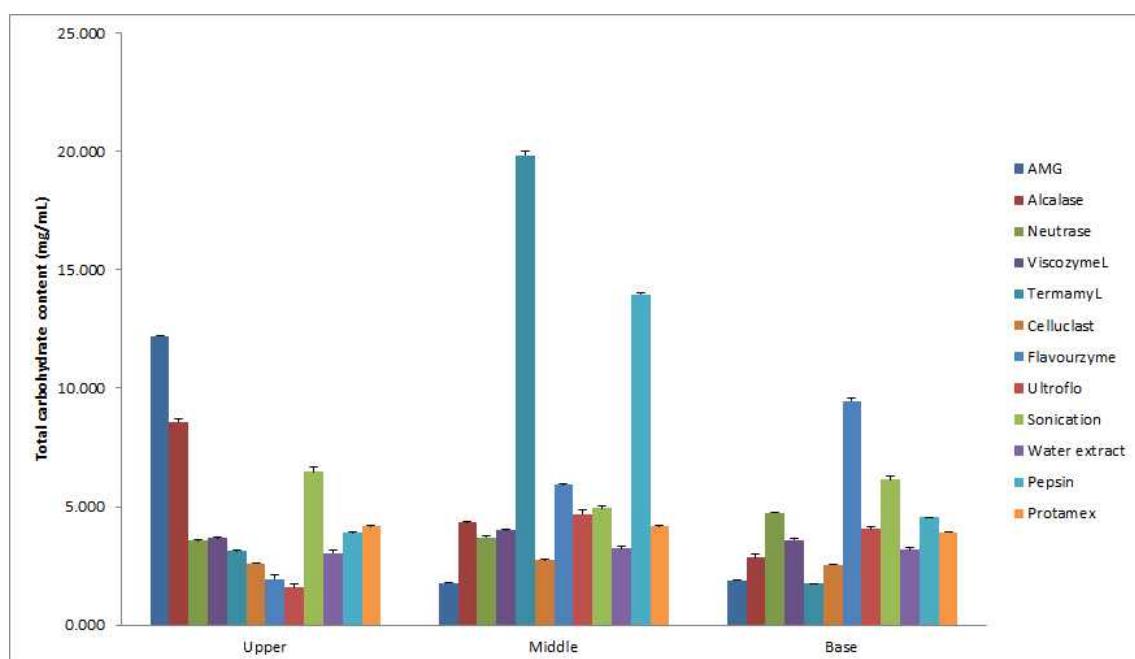


Figure 7. Total carbohydrate (TC) content (mg/mL) of enzymatic hydrolysates of Velvet antler

**Table 9. Collagen content (mg/mL) of the Velvet Antler hydrolysates**

Sample		Average	STDEV
celluclast	Upper	0.538 <sup>a</sup>	0.013
	Middle	0.711 <sup>b</sup>	0.023
	Base	1.238 <sup>c</sup>	0.034
AMG	Upper	0.741 <sup>a</sup>	0.057
	Middle	1.238 <sup>b</sup>	0.034
	Base	1.125 <sup>b</sup>	0.026
Viscozyme L	Upper	0.149 <sup>a</sup>	0.021
	Middle	0.234 <sup>b</sup>	0.021
	Base	0.255 <sup>b</sup>	0.037
Termamyl	Upper	0.510 <sup>a</sup>	0.000
	Middle	0.652 <sup>b</sup>	0.012
	Base	1.000 <sup>c</sup>	0.021
Alcalase	Upper	0.355 <sup>a</sup>	0.060
	Middle	0.793 <sup>b</sup>	0.012
	Base	0.883 <sup>c</sup>	0.021
Neutrase	Upper	0.612 <sup>c</sup>	0.021
	Middle	0.439 <sup>a</sup>	0.012
	Base	0.522 <sup>b</sup>	0.012
Flavourzyme	Upper	0.393 <sup>a</sup>	0.000
	Middle	0.761 <sup>b</sup>	0.014
	Base	0.894 <sup>c</sup>	0.000
Sonicate	Upper	0.176 <sup>a</sup>	0.014
	Middle	0.151 <sup>a</sup>	0.029
	Base	0.235 <sup>b</sup>	0.029
Ultroflo	Upper	0.117 <sup>a</sup>	0.007
	Middle	0.364 <sup>b</sup>	0.099
	Base	0.303 <sup>b</sup>	0.024
Water extracts	Upper	0.140 <sup>a</sup>	0.017
	Middle	0.689 <sup>c</sup>	0.033
	Base	0.587 <sup>b</sup>	0.024
Pepsin	Upper	0.359 <sup>b</sup>	0.036
	Middle	0.165 <sup>a</sup>	0.016
	Base	0.165 <sup>a</sup>	0.016
Protamex	Upper	0.264 <sup>a</sup>	0.018
	Middle	0.427 <sup>b</sup>	0.033
	Base	0.369 <sup>b</sup>	0.042

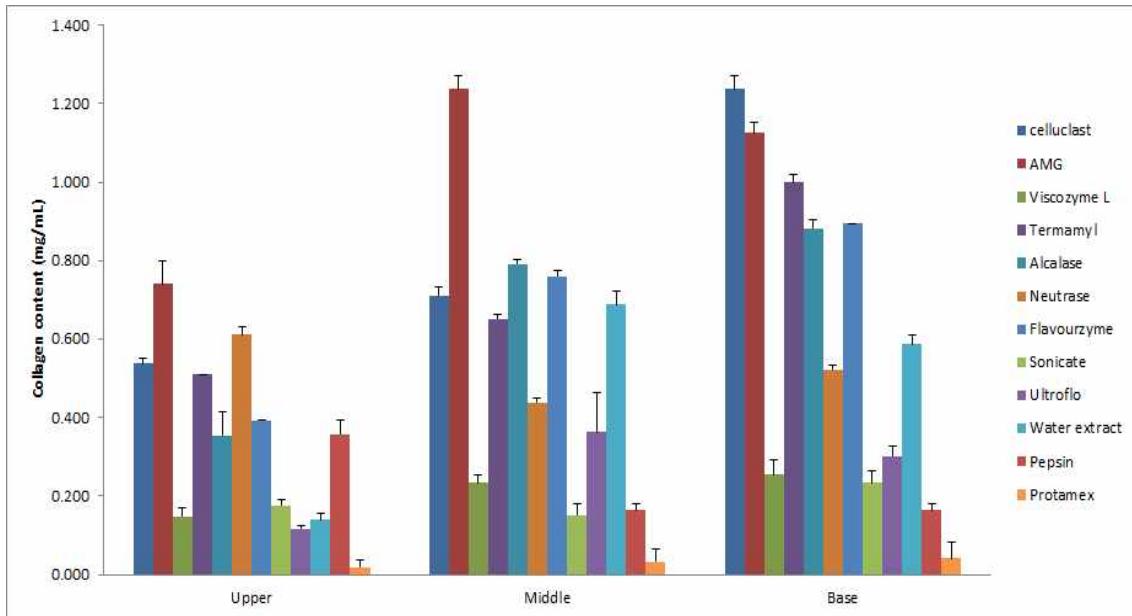


Figure 8. Collagen content (mg/mL) of enzymatic hydrolysates of Velvet antler

## 6. 엘크 녹용의 단백질 및 탄수화물 가수분해 효소 추출물의 radical scavenging activities

녹용 효소 가수분해 추출물의 항산화 활성은 ESR spectrophotometer를 사용하여 분석하였으며, 그 결과는 Table 10 및 Figure 9~11에 나타내었다. 녹용의 효소 가수분해물별 항산화 활성은 DPPH, hydroxyl 및 alkyl radical scavenging activity를 분석하여 각 radical에 대해 50%의 radical 억제하는 농도인 IC50 (mg/mL)로서 나타내었다. 모든 radical에 대한 항산화효능은 상대가 가장 높았으며 중대, 및 하대로 갈수록 낮아지는 결과를 보였다. 또한 모든 radical scavenging activity는 농도에 비례하여 증가하였다. 특히 DPPH radical scavenging activity는 녹용 상대에서 protamex (0.96 mg/mL), Flavourzyme (1.28 mg/mL), alcalase (1.71 mg/mL) 및 termamyl (1.77 mg/mL) 추출물의 항산화 효능이 우수한 것으로 나타났다. DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 프리 라디칼로서 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 사용되고 있다. 자유 라디칼은 인체 내에서 지질 또는 단백질 등과 결합하여 노화를 일으키기 쉬운데 폐놀성 화합물의 경우 프리 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 강해 인체 내에서 프리 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용할 수 있다.

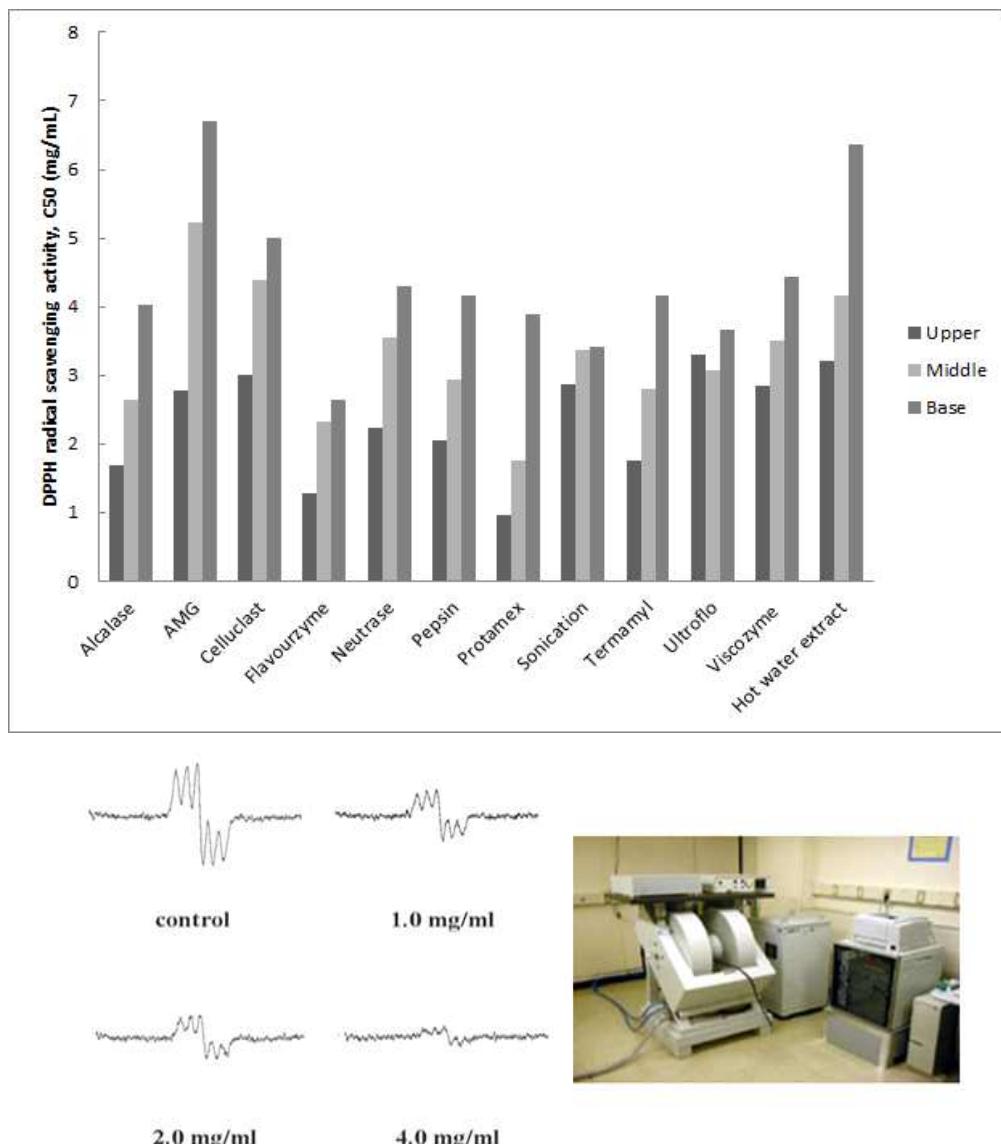
Hydroxyl 라디칼은 DMPO 트랩을 이용하여 Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에서 발생되어졌다. DMPO-OH의 정형적인 1:2:2:1 ESR 시그널이 관찰되었다. Hydroxyl radical에 대한 항산화 효능도 DPPH radical scavenging activity과 유사한 결과를 보였는데, Flavourzyme (0.89 mg/mL), protamex (1.37 mg/mL), pepsin (1.63 mg/mL), cellulast (1.95 mg/mL) 및 viscozyme (1.95 mg/mL) 추출물 순으로 hydroxyl radical scavenging activity가 큰 것으로 나타났다.

Alkyl 라디칼은 37°C에서 30분 동안 AAPH 처리된 4-POBN/자유기로부터 측정되었다. Alkyl radical 소거능의 경우도 녹용 단백질 가수분해물 중 상대가 가장 활성이 크고 중대, 상대로 내려올수록 활성이 작아지는 결과를 보였다. 효소 추출물별 alkyl radical scavenging activity는 녹용 상대에서 protamex (0.37 mg/mL), pepsin (0.42 mg/mL), alcalase

(0.46mg/mL), viscozyme (0.79 mg/mL), termamyl (1.34 mg/mL), Neutrerase (1.55 mg/mL) 및 Flavourzyme (1.64 mg/mL) 추출물의 항산화 효능이 우수한 것으로 나타났다. 이러한 결과들로 미루어 녹용 단백질 가수분해물의 항산화능은 효소의 단백질에 대한 선택적 절단특이성에 의해 생성된 펩타이드의 종류에 따라 다를 것으로 판단된다. 단백질 가수분해물의 항산화능은 구성 펩타이드의 성상에 따라 차이가 있으며, 이는 가수분해에 의하여 생성된 펩타이드의 말단 아미노산에 의한 펩타이드의 입체구조 변화 및 분자량과 관련이 있다고 사료된다.

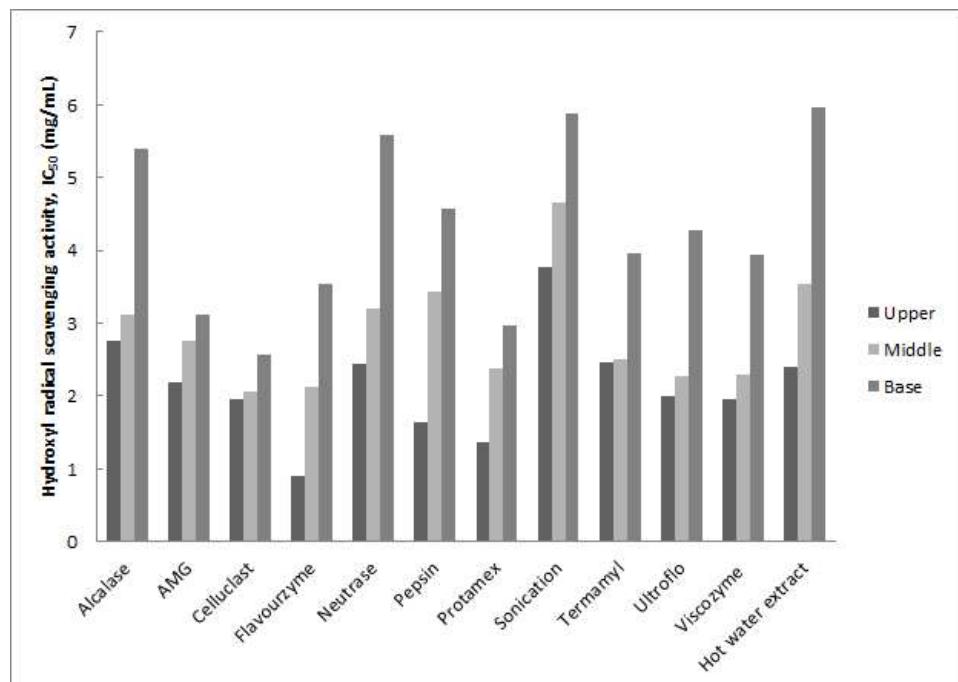
**Table 10. Radical scavenging activity of enzymatic hydrolysates from velvet antler**

Sample		DPPH	Hydroxyl	Alkyl
Alcalase	Upper	1.71	2.76	0.46
	Middle	2.64	3.11	1.42
	Base	4.02	5.40	1.85
AMG	Upper	2.79	2.18	2.57
	Middle	5.22	2.76	3.73
	Base	6.71	3.10	4.41
Celluclast	Upper	3.02	1.95	2.23
	Middle	4.40	2.06	2.94
	Base	5.00	2.56	3.75
Flavourzyme	Upper	1.28	0.89	1.64
	Middle	2.34	2.12	1.83
	Base	2.65	3.54	3.74
Neutrerase	Upper	2.24	2.43	1.55
	Middle	3.56	3.18	1.74
	Base	4.30	5.57	1.91
Pepsin	Upper	2.06	1.63	0.42
	Middle	2.95	3.42	1.37
	Base	4.16	4.57	2.27
Protamex	Upper	0.96	1.37	0.37
	Middle	1.76	2.37	1.27
	Base	3.90	2.97	1.38
Sonication	Upper	2.88	3.76	3.39
	Middle	3.37	4.66	4.25
	Base	3.41	5.88	4.98
Termamyl	Upper	1.77	2.45	
	Middle	2.80	2.51	3.13
	Base	4.16	3.95	3.16
Ultroflo	Upper	3.30	1.98	1.38
	Middle	3.07	2.27	1.80
	Base	3.67	4.26	2.13
Viscozyme	Upper	2.86	1.95	0.79
	Middle	3.51	2.28	1.18
	Base	4.44	3.94	1.41
Hot water extract	Upper	3.21	2.39	2.08
	Middle	4.16	3.54	3.63
	Base	6.37	5.97	5.11



**Figure 9. DPPH radical scavenging activity of various enzymatic hydrolysates from elk velvet antler.**

ESR spectra of the flavourzyme extracts of the upper section of elk velvet antler obtained in an methanol solution of 60  $\mu$ M DPPH at various concentrations.



control                    0.5 mg/ml



**Figure 10. Hydroxyl radical scavenging activity of various enzymatic hydrolysates from elk velvet antler**

ESR spectra of the flavourzyme extracts of the upper section of elk velvet antler obtained in Fenton reaction system at various concentrations.

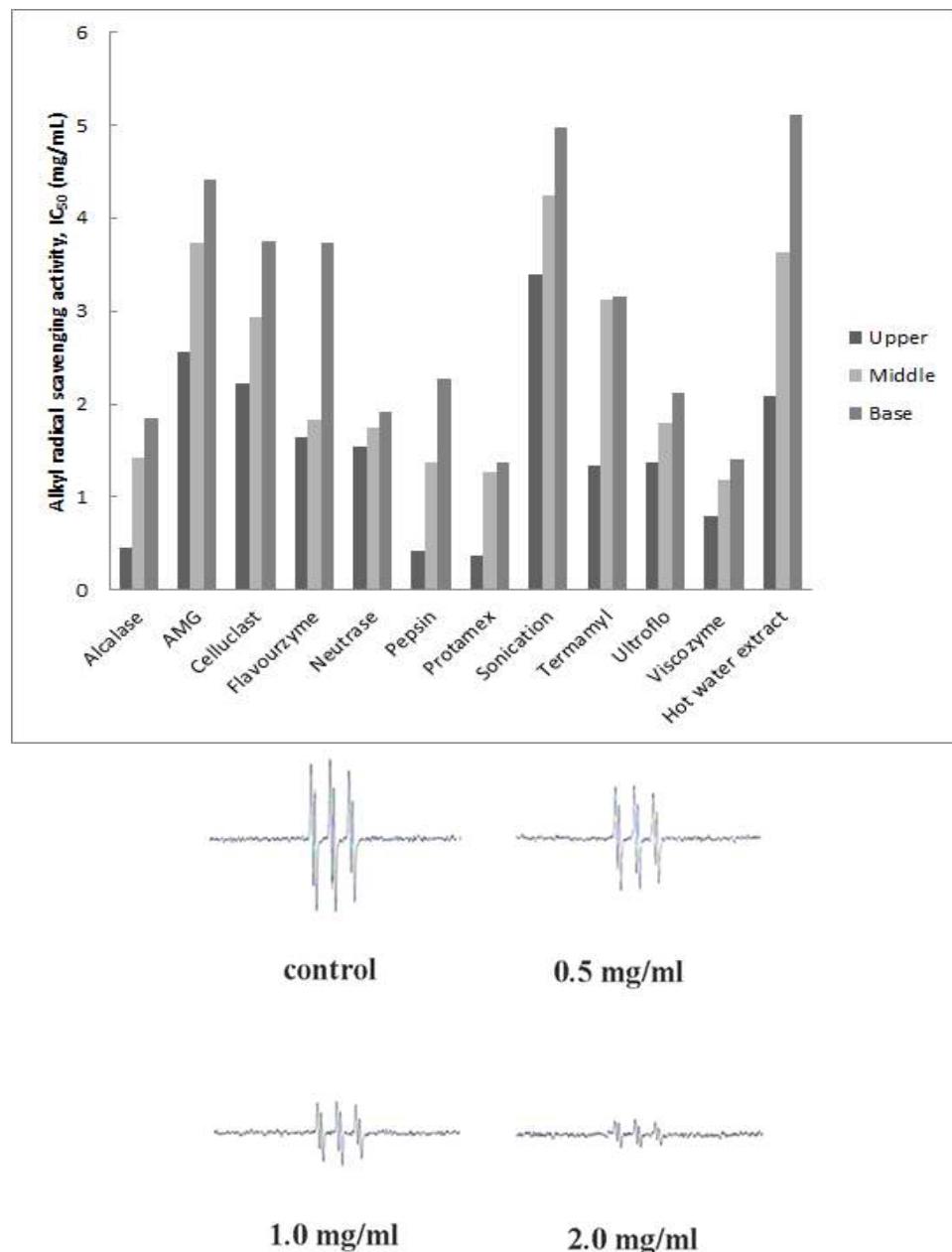


Figure 11. Alkyl radical scavenging activity of various enzymatic hydrolysates from elk velvet antler

ESR spectra of the acalase extracts from the upper section of elk velvet antler observed during incubation of AAPH with 4-POBN at various concentration.

## 7. 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킬 수 있는 최적의 녹용 소재제형 및 기능성 향상을 위한 부원료 배합비율 확립

본 연구에서 부원료로 활용하기 위한 식물 추출물의 DPPH radical 소거능을 분석한 결과는 Table 11 및 Fig. 12와 같다. 즉 본 연구에서는 녹용을 이용한 다양한 가공제품 개발에 활용하고자 각 종 문헌을 참고로 하여 항산화성이 큰 것으로 알려져 있는 10종의 한약재를 선택한 후 각 식물 추출물의 항산화 활성을 측정하기 위해 electron spin resonance (ESR) spectrometer를 이용하여 DPPH radical 소거능을 측정하였다. DPPH radical 소거능을 측정하여 각각의 IC<sub>50</sub> (mg/ml) 값을 비교해 본 결과 각 식물추출물의 DPPH radical에 대한 IC<sub>50</sub> 값은 0.12~3.87 mg/ml의 범위를 보였으며, 그 중 백작약의 IC<sub>50</sub> 값이 0.12 mg/ml로 가장 큰 항산화능을 보였다. 반면 황기의 IC<sub>50</sub> 값이 3.87 mg/ml로 항산화능이 가장 적은 결과를 보였으며, 대추의 경우에는 항산화능이 거의 없는 것으로 나타났다.

**Table 11. 식물추출물의 배합비율**

No.	식물 추출물의 종류	배합비율 (%)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
1	인삼	5.0 (10.9)	3.40
2	백출	5.0 (10.9)	3.45
3	백복령	5.0 (10.9)	3.47
4	당귀	5.0 (10.9)	0.96
5	천궁	5.0 (10.9)	0.57
6	숙지황	5.0 (10.9)	1.79
7	백작약	5.0 (10.9)	0.12
8	황기	4.0 (8.6)	3.87
9	육계	4.0 (8.6)	3.80
10	감초	3.0 (6.5)	1.42

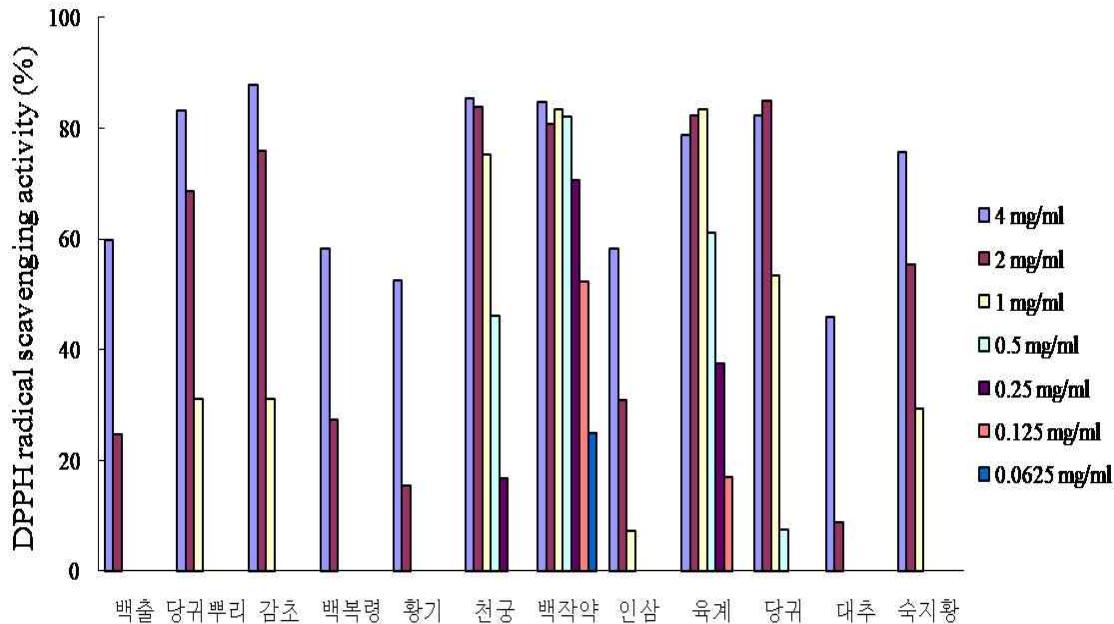


Figure 12. 식물추출물별 DPPH radical scavenging activity

8. 이상의 식물추출물의 항산화 활성 측정 결과를 바탕으로 녹용의 효소 가수분해 추출물을 이용한 기능성 제품 개발을 위한 부원료 배합비율 예

Table 12. 녹용 효소가수분해 추출물 및 부원료 배합비율 예

원료명	함량	비고
녹용 효소가수분해 추출물 (액상 혹은 동결건조 시료)	32%	고형분 0.5%이상
식물추출액	60.93%	고형분 15%이상
자몽종자추출액(DF-100)	0.07%	
기타버섯추출액	7%	고형분 0.3%이상
합계	100%	

※식물혼합추출물 (인삼 10.9%, 백출 10.9%, 당귀 10.9%, 천궁 10.9%, 백복령 10.9%, 백작약 10.9%, 숙지황 10.9%, 육계 8.6%, 황기 8.6%, 감초 6.5%)

#### - 제조방법 예시

- ① 각 원료는 식품공전 및 첨가물 공전상의 적합한 원료를 구입하여 사용
- ② 검수된 적합한 원료를 배합비율에 맞게 청량함
- ③ 황정, 황기, 당귀, 천궁, 구기자, 창출, 감초, 계피, 숙지황을 배합비율에 맞게 혼합추출기에 물과 함께 넣은 후 고형분이 15% 이상이 될 때까지 농축, 추출하여 식물혼합추출물을 제조함
- ④ 식물혼합추출물과 녹용 효소가수분해 추출물 및 기타 버섯추출액을 배합비율에 맞게 혼합,

농축기에 넣고 85°C로 고형분이 10%가 될 때까지 농축함.

⑤ ④의 농축액에 자몽종자추출물을 넣고 85°C에서 고형분이 최종 8%가 될 때까지 농축, 여과한 후 90°C에서 1시간동안 살균처리 하여 최종 제품개발을 위한 원료로 사용.

⑥ 최종 원료는 개발하고자 하는 제품의 제형에 맞게 농축액 (액상) 혹은 동결 건조하여 사용함.

**2차년도 (2015년) : 식품 제형별 녹용 가공 제품 개발 (추출액, 드링크제, 젤편, 캡슐, 캔디, 과립 등)**

식품 제형별 녹용 가공 제품의 개발 (추출액, 드링크제, 젤편, 캡슐, 캔디, 과립 등)

**1. 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킬 수 있는 최적의 녹용 소재제형 및 기능성 향상을 위한 부원료 배합비율 확립 (추출액 및 분말 소재 제조)**

본 연구과제의 2차년도에는 1차년도 결과를 토대로 수율 및 항산화활성이 가장 높은 것으로 나타난 녹용의 protamex 효소가수분해 추출물을 이용하였고, 녹용의 부위는 부위별로 상, 중, 하대를 동일한 비율로 혼합하여 protamex 효소가수분해 추출물을 제조하여 사용하였다. 또한 본 연구의 2차년도에서 녹용 특유의 비린맛을 최소화하기 위한 부원료로 활용하기 위한 식물 추출물의 DPPH radical 소거능을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 즉, 본 연구에서는 녹용을 이용한 다양한 가공제품 개발에 활용하고자 각 종 문헌을 참고로 하여 항산화성이 큰 것으로 알려져 있는 10종의 한약재를 선택한 후 각 식물 추출물의 항산화 활성을 측정하기 위해 electron spin resonance (ESR) spectrometer를 이용하여 DPPH radical 소거능을 측정하였다. DPPH radical 소거능을 측정하여 각각의 IC50 (mg/ml) 값을 비교해 본 결과 각 식물추출물의 DPPH radical에 대한 IC50 값은 0.12~3.87 mg/ml의 범위를 보였으며, 그 중 백작약의 IC50 값이 0.12 mg/ml로 가장 큰 항산화능을 보였다. 반면 황기의 IC50 값이 3.87 mg/ml로 항산화능이 가장 적은 결과를 보였으며, 대추의 경우에는 항산화능이 거의 없는 것으로 나타났다.

**Table 1. 식물추출물의 배합비율**

No.	식물 추출물의 종류	배합비율 (%)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
1	인삼	5.0 (10.9)	3.40
2	백출	5.0 (10.9)	3.45
3	백복령	5.0 (10.9)	3.47
4	당귀	5.0 (10.9)	0.96
5	천궁	5.0 (10.9)	0.57
6	숙지황	5.0 (10.9)	1.79
7	백작약	5.0 (10.9)	0.12
8	황기	4.0 (8.6)	3.87
9	육계	4.0 (8.6)	3.80
10	감초	3.0 (6.5)	1.42

이상의 식물추출물의 항산화 활성 측정 결과를 바탕으로 녹용의 효소 가수분해 추출물을 이용한 기능성 제품 개발을 위한 부원료 배합비율 예는 Table 2에 나타내었다.

**Table 2. 녹용 효소가수분해 추출물 및 부원료 배합비율 예**

원료명	함량	비고
녹용 효소가수분해 추출물 (액상 혹은 동결건조 시료)	30%	고형분 0.5%이상
식물혼합추출액	70%	고형분 15%이상
합계	100%	

※ 식물혼합추출물 (인삼 10.9%, 백출 10.9%, 당귀 10.9%, 천궁 10.9%, 백복령 10.9%, 백작약 10.9%, 숙지황 10.9%, 육계 8.6%, 황기 8.6%, 감초 6.5%)

#### - 제조방법 예

- ① 각 원료는 식품공전 및 첨가물 공전상의 적합한 원료를 구입하여 사용
- ② 검수된 적합한 원료를 배합비율에 맞게 청량함
- ③ 황정, 황기, 당귀, 천궁, 구기자, 창출, 감초, 계피, 숙지황을 배합비율에 맞게 혼합추출기에 물과 함께 넣은 후 고형분이 15% 이상이 될 때까지 농축, 추출하여 식물혼합추출물을 제조함
- ④ 식물혼합추출물과 녹용 효소가수분해 추출물을 배합비율에 맞게 혼합, 농축기에 넣고 85°C로 고형분이 10%가 될 때까지 농축, 여과한 후 90°C에서 1시간동안 살균처리 하여 최종 제품 개발을 위한 원료로 사용.
- ⑤ 최종 원료는 개발하고자 하는 제품의 제형에 맞게 농축액 (액상) 혹은 동결 건조하여 사용

함.

녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 유효성분 함량 및 항산화활성은 Table 3과 Table 4에 나타내었다. 최종 제조된 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 DPPH, hydroxyl 및 alkyl radical 소거능에 대한 IC<sub>50</sub>값은 각각 1.61 mg/mL, 2.24 mg/mL, 1.01 mg/mL 으로 alkyl radical에 대한 소거능이 가장 큰 것으로 나타났다.

**Table 3. 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 유효성분 함량**

Bioactive substances	Contents (mg/mL)
Uronic acid	0.054±0.006
Sialic acid	0.147±0.012
Glycosaminoglycan (GAG)	0.154±0.025
Total carbohydrate (TC)	0.382±0.033
Collagen	0.253±0.031

**Table 4. 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 radical scavenging activity [IC<sub>50</sub> (mg/mL)]**

Sample	DPPH	Hydroxyl	Alkyl
Protamex exzymatic hydrolysate	1.61	2.24	1.01

이상의 녹용의 유효성분 함량 및 항산화활성이 높은 소재를 이용하여 다양한 형태의 기능성 제품을 개발하기 위한 최적의 녹용 소재제형은 크게 액상 추출물 (Fig. 1A)의 형태와 분말 형태 (Fig. 1B)로 Fig. 1에 나타내었다.



녹용 효소가수분해물 액상 추출물 (Fig. 1A)      녹용 효소가수분해물 powder (Fig. 1B)

## 2. 녹용 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물을 이용한 유산균 드링크제 (yogurt) 제조

녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (1%, 3%, 5%, 10%, w/v)을 달리하여 제조한 yogurt는 Fig. 2와 같이 녹용 소재 첨가량이 증가함에 따라 현저하게 색이 진해지는 것으로 나타났다.

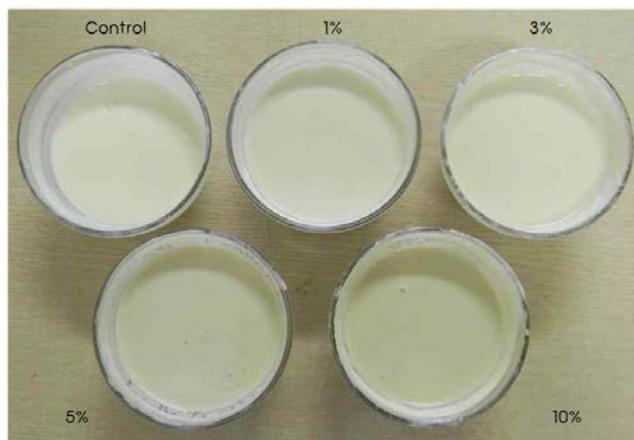


Fig. 2 녹용 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량을 달리하여 제조한 yogurt

녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량을 달리하여 제조한 yogurt의

pH 및 당도 평가 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. 녹용 소재 첨가 yogurt의 pH는 4.1~4.15의 범위를 보여 녹용 소재 첨가량이 증가함에 따라 pH는 감소하는 경향을 보였으나 녹용 소재를 첨가하지 않은 대조군과 유의적인 차이는 보이지 않았다. 한편 당도의 경우는 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량에 따라 7.8~9.9 Brix % 범위를 보여 녹용 소재 첨가량이 증가함에 따라 당도가 감소한 반면 녹용 소재 3% 첨가까지는 대조군과 큰 차이를 보이지 않았다.

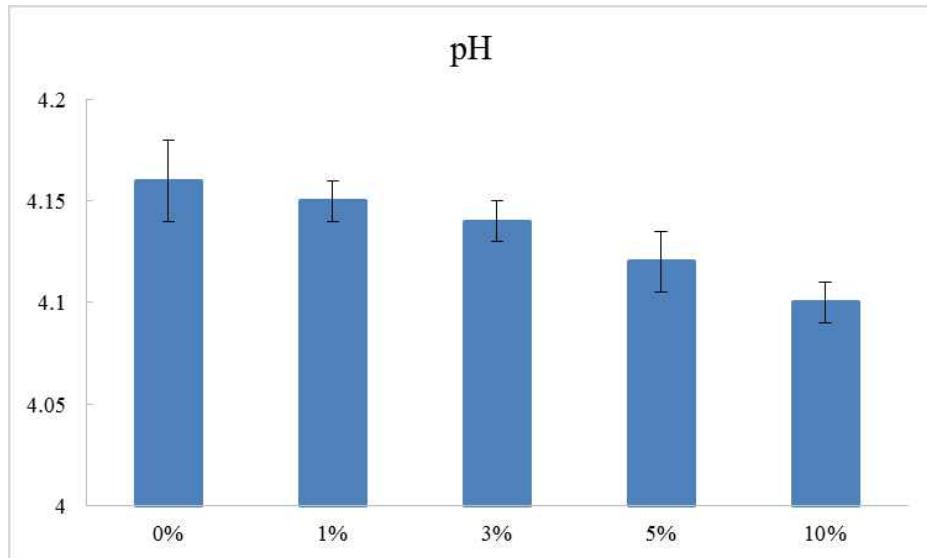


Fig. 3 녹용 첨가 yogurt의 pH

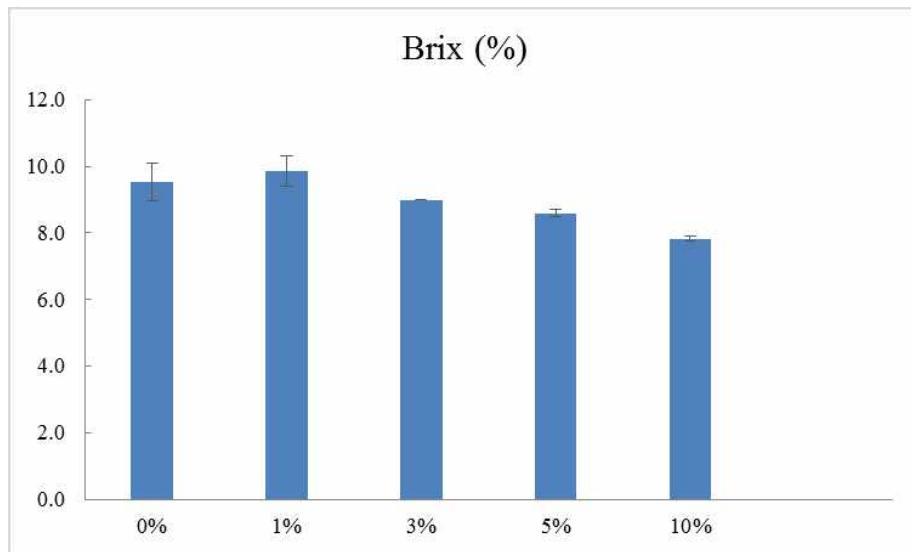


Fig. 4 녹용 첨가 yogurt의 당도

녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량을 달리하여 제조한 yogurt의 점도 평가 결과는 Table 5와 같다. 요구르트의 점도는 녹용 소재의 첨가량이 증가함에 따라 3%까지는 유의적으로 증가하는 결과를 보인 반면 4% 첨가시에는 점도가 크게 감소하는 결과를 보였다. 이는 녹용소재가 요구르트 내의 단백질과 결합하여 단백질 수화율 그리고 보수력

등의 젤 강도에 영향을 주어 점도가 오히려 감소되었을 것으로 사료된다.

Table 5. 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량을 달리하여 제조한 yogurt의 점도 변화

	0%	1%	2%	3%	4%
점도 (cp)	2312±32	2759±85	5623±62	8230±75	5055±49

녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량을 달리하여 제조한 yogurt의 관능 평가 결과는 Table 6와 Fig. 5에 나타내었다. 녹용소재 첨가 yogurt의 관능 평가를 7점 척도법을 사용하여 실시한 결과 녹용소재 3% 첨가한 경우의 색, 향, 맛, 조직감 및 전반적인 기호도가 가장 높은 것으로 조사되었다. 반면 5% 이상 첨가한 경우는 유의적으로 관능평가 결과값이 낮아졌으며 이는 녹용소재 5%이상 첨가의 경우 녹용을 비롯한 한약재 맛이 너무 강하게 느껴짐에 따른 결과로 보이며 대조군에 비해 녹용 소재를 첨가한 경우 약간의 한약재 향 및 맛이 느껴짐으로 인해 기호도가 높게 나타났을 것으로 사료된다.

Table 6. 녹용 소재 첨가 yogurt의 관능평가 결과 (7점 척도법)

	0%	1%	3%	5%	10%
색	4.4	4.5	5.3	4.9	4
향	5.7	5.6	5.9	5.3	5
맛	6.1	6.3	6.5	5.4	5.2
조직감	5.4	5.1	5.6	5.2	4.9
전반적인 기호도	5.7	6	6.2	5.9	5

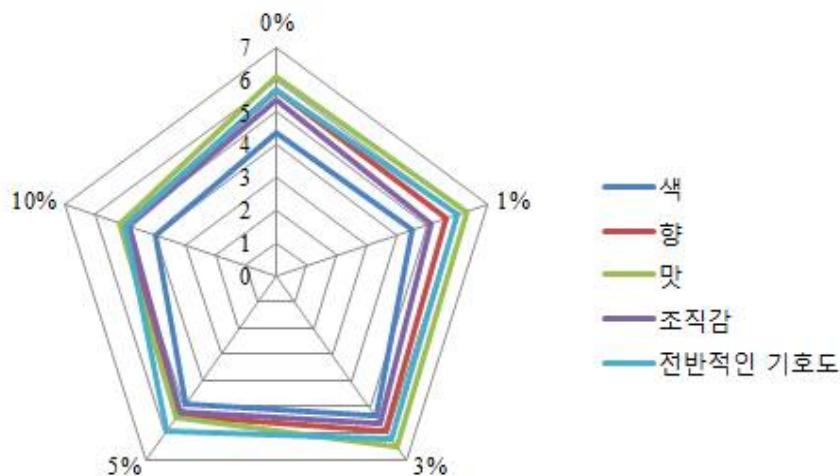


Fig. 5 녹용 소재 첨가 yogurt의 관능평가 결과

이상의 결과로 종합해볼 때 항산화활성을 보이는 녹용소재를 이용하여 기능성 드링크제 개발 시 1~3%의 녹용소재를 첨가하는 것이 최적인 것으로 사료되며, 본 연구에서는 녹용소재의 경제성을 고려하여 항산화 활성 및 기호도가 높은 녹용 소재 첨가량을 1%로 고정하여 이후 부원료 등의 첨가량 등을 표준화하여 시제품을 제조하였다.

녹용 protamex 효소가수분해물의 첨가량을 1%로 결정하고 이에 당의 첨가량을 달리하여 제조한 녹용 유산균 음료 (Fig. 6)의 pH, 당도 및 관능평가 결과는 다음과 같다. Fig. 7과 8에서 보는 바와 같이 설탕의 첨가량 (1%~5%)을 달리하여 제조한 녹용 유산균 음료의 pH 및 당도는 설탕 첨가량에 비례하여 증가하는 결과를 보였다.



Fig. 6 녹용 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물 (1%)과 당의 함량을 달리하여 제조한 yogurt

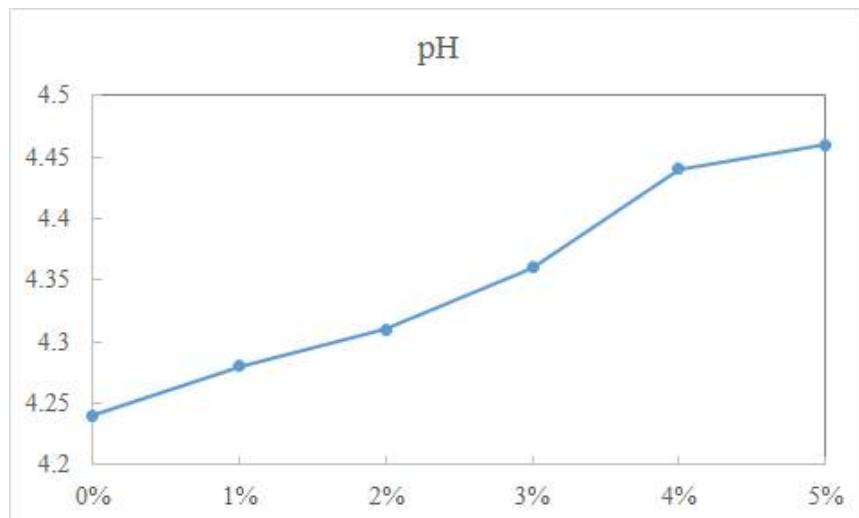


Fig. 7 설탕량을 달리하여 제조한 yogurt (녹용 효소가수분해추출물, 1%)의 pH

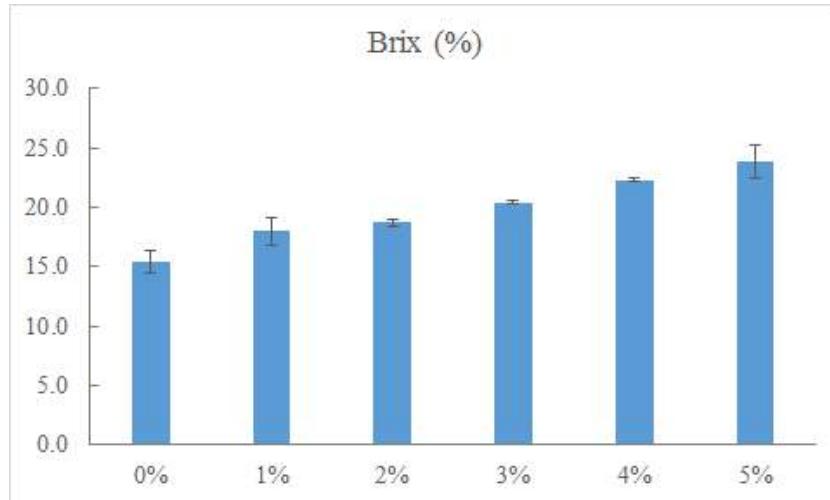


Fig. 8 설탕량을 달리하여 제조한 yogurt (녹용 효소가수분해추출물, 1%)의 당도

녹용 protamex 효소가수분해물의 첨가량을 1%로 결정하고 이에 당의 첨가량을 달리하여 제조한 녹용 유산균 음료의 색도 및 점도 분석 결과는 Table 7에 나타내었다. 전반적으로 녹용 소재를 첨가함에 따라 밝기의 L값은 무 첨가군에 비하여 현저히 낮아졌고 노란색의 b값과 붉은색을 나타내는 a값은 높아졌다. 이와 같은 변화는 녹용 소재 첨가량이 증가할수록 뚜렷이 나타났다. 한편 녹용 요구르트의 점도는 당 함량의 증가에 비례하여 증가하는 결과를 보였다.

Table 7. 설탕량을 달리하여 제조한 yogurt (녹용 효소가수분해추출물 함량, 1%)의 색도 및 점도 변화 측정 결과

	0%	1%	2%	3%	4%	5%
<b>색도</b>						
L value	86.84±0.19	80.84±0.58	78.94±0.43	77.60±0.39	74.20±1.38	72.58±0.59
a value	-1.69±0.08	-1.49±0.08	0.04±0.09	0.67±0.19	1.26±0.94	1.44±0.46
b value	8.89±0.24	11.25±0.21	13.57±0.64	13.63±0.21	15.43±1.19	17.29±0.81
점도 (cp)	2575±39	3935±82	5431±58	6055±92	6638±74	9638±49

- 녹용 protamex 효소가수분해물의 첨가량을 1%로 하여 이에 당의 첨가량을 달리하여 제조한 녹용 유산균 음료의 관능평가 결과는 Table 8과 Fig. 9에 나타내었다. 녹용소재 첨가 yogurt의 관능 평가를 7점 척도법을 사용하여 실시한 결과 설탕을 첨가하지 않은 대조구에 비해 설탕을 첨가한 요구르트에서 전반적인 기호도 값이 높은 것으로 나타났으며, 특히 설탕 첨가량 2% 이상에서 기호도 값이 크게 증가하는 결과를 보였다.

Table 8. 설탕량을 달리하여 제조한 yogurt (녹용 효소가수분해추출물 함량, 1%)의 관능 평가 결과 (7점 척도법)

	0%	1%	2%	3%	4%	5%
색	5.4	5.3	5.6	5.9	5.5	5.6
향	5.7	5.2	4.4	4.9	4.9	4.7
맛	5.4	5.8	6	6.1	5.9	6.3
조직감	5.7	5.3	5.2	5.4	5.3	5.9
전반적인 기호도	5.1	6	6.9	6.6	6.6	6.5

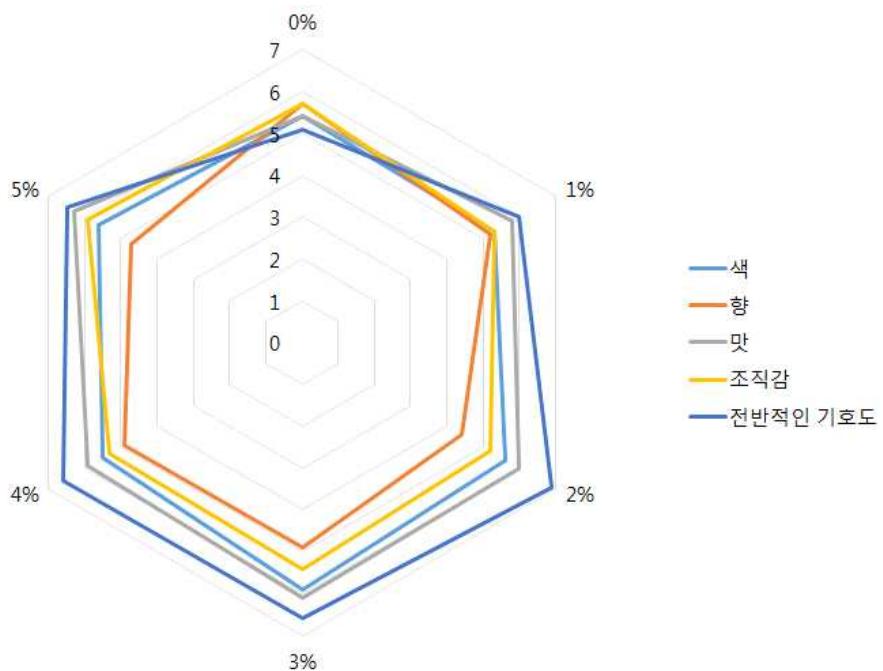


Fig. 9 설탕량을 달리하여 제조한 yogurt (녹용 효소가수분해추출물 함량, 1%)의 관능평가 결과 (7점 척도법)

이상의 결과를 종합해 볼 때 녹용 효소가수분해물을 소재로 하여 제조한 유산균 음료의 경우 녹용 효소가수분해물 1%, 설탕 첨가량 2% 이상이 가장 적합할 것으로 사료된다.



Fig. 10 녹용 소재를 활용하여 제조한 유산균 음료 시제품

녹용 소재를 이용하여 제조한 유산균 음료 시제품의 유효성분 함량은 Table 9에 나타내었다. 최종 제조된 녹용 유산균 음료내의 유효성분 및 그 함량은 uronic acid 0.075mg, sialic acid 0.221mg, Glycosaminoglycan 0.225mg, Total carbohydrate 0.625mg 및 collagen 0.380mg으로 나타났다.

Table 9. 녹용 소재를 활용하여 제조한 유산균 음료 시제품의 유효성분 함량

Bioactive substances	Contents (mg/150mL)
Uronic acid	0.075±0.009
Sialic acid	0.221±0.091
Glycosaminoglycan (GAG)	0.225±0.036
Total carbohydrate (TC)	0.625±0.013
Collagen	0.380±0.022

### 3. 녹용 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물을 이용한 녹용 타정 제조

앞서 살펴본 바와 같이 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물은 각각 DPPH, hydroxyl 및 alkyl radical 소거능에 대해 1.61 mg/mL, 2.24 mg/mL, 1.01 mg/mL의 IC50값을 보였다. 하지만 이러한 항산화 활성을 갖는 녹용소재를 그대로 섭취하기에는 향과 맛이 너무 강해 어려움을 있으므로 이러한 단점을 보완하고자 타정 (혹은 연질캡슐)의 형태로 제조하였으며, 제조된 녹용 타정은 Fig. 11에 나타내었다 (제조된 녹용 타정은 서울대학교 약학대학에 의뢰하였음).

제조된 녹용 타정의 영양성분에 대한 STANDARD FLOW SHEET는 다음과 같다.

**[STANDARD FLOW SHEET]**

Product	녹용 정	Total volume	Pilot	
Lot No	2015070101	Date	2015. 7.	
실험목적	<b>정제 타정 (성상 : 원형의 필름코팅 정)</b>			
코드번호 호	성 분	조 성(1정) mg	투입량(g)	비 고
	1. Ascorbic acid	100	60	
	2. 녹용 가수분해 추출물	50	30	
	3. Lactose(Anhydrous)	330	198	
	4. Talc	10	6	
	5. Mg-stearate	10	6	
	<b>Total</b>	<b>500</b>	<b>300</b>	

Product	녹용 정(chewable)	Total volume	Pilot	
Lot No	2015070102	Date	2015. 7.	
실험목적	<b>정제 타정 (성상 : Chewable)</b>			
코드번호 호	성 분	조 성(1정) mg	투입량(g)	비 고
	1. Ascorbic acid	100	60	
	2. 녹용 가수분해 추출물	50	30	
	3. Sorbitol	130	78	
	4. Sucrose, powder	200	120	
	4. Talc	10	6	
	5. Mg-stearate	10	6	
	<b>Total</b>	<b>500</b>	<b>300</b>	



Fig. 11 녹용 소재 첨가 타정

Table 10. 녹용 타정 1정 당 (500mg) 유효성분 함량

Bioactive substances	Contents (mg)
Uronic acid	2.5
Sialic acid	7.5
Glycosaminoglycan (GAG)	7.5
Total carbohydrate (TC)	20
Collagen	12.5

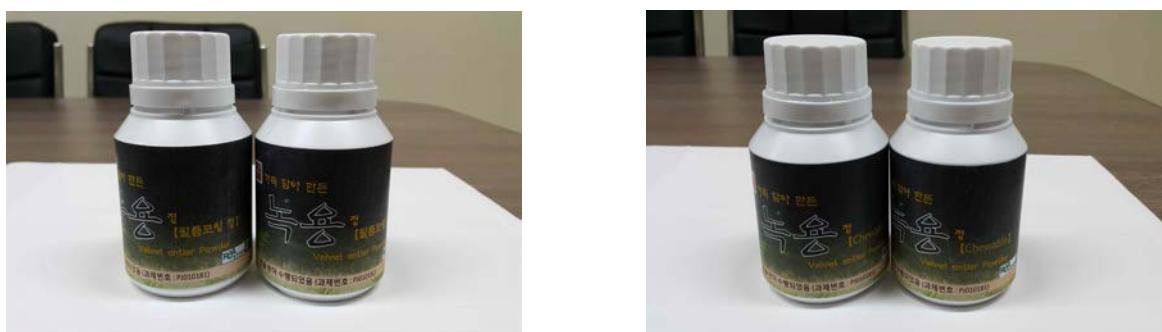


Fig. 12 녹용 소재를 활용하여 타정 시제품 (2종)

#### 4. 녹용 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물을 이용한 녹용 양갱 제조

녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (0%, 1%, 2% 3%, w/v)을 달리하여 제조한 녹용 양갱은 Fig. 13에 나타내었다.



Fig. 13 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (0%, 1%, 2% 3%, w/v)을 달리하여 제조한 녹용 양갱

녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (0%, 1%, 2% 3%, w/v)을 달리하여 제조한 녹용 양갱의 pH, 점도, 당도 및 색도 분석 결과는 Table 11에 나타내었다. pH는 녹용소재 첨가량이 증가함에 따라 감소하는 결과를 보인 반면 점도는 증가하는 결과를 보였다. 당도 또한 점도와 같이 녹용 소재 첨가량의 증가에 따라 증가하는 결과를 보였다.

녹용 소재 첨가에 따른 색도의 결과에서 명도 (L value)는 녹용소재 첨가에 따라 감소하는 결과를 보였으며 적색도 (a value)와 황색도 (b value)는 대조구에 비해 증가하는 결과를 보였다.

Table 11. 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (0%, 1%, 2%, 3%, w/v)을 달리하여 제조한 녹용 양갱의 pH, 점도, 당도 및 색도

	0%	1%	2%	3%
pH	6.34±0.08	5.76±0.03	5.65±0.05	5.45±0.04
점도	7606±95.68	8362±58.32	9283±49.75	9765±73.19
당도 ( $^{\circ}$ Brix)	62.2±0.8	65.9±0.7	71.2±2.0	75.8±1.3
색도				
<i>L</i> value	96.25±1.39	92.16±2.30	83.26±1.69	81.96±1.02
<i>a</i> value	-0.08±0.01	2.29±0.06	4.95±0.07	5.53±0.06
<i>b</i> value	1.73±0.09	5.69±0.74	6.94±0.09	8.71±0.11

녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (0%, 1%, 2%, 3%, w/v)을 달리하여 제조한 녹용 양갱의 texture 측정 결과는 Table 12와 같다. 녹용소재 첨가에 따른 경도는 녹용 소재 첨가량의 증가에 따라 비례적으로 증가하는 결과를 보였다. 부착성은 녹용소재 첨가에 의해 큰 차이를 보이지 않은 반면, 탄성은 대조구가 가장 높게 나타났고 녹용 소재 3% 첨가시 가장 낮은 값을 보였다. 경도 및 응집성과 연관된 검성, 삼키기 쉬운 상태로 반 고체 식품을 씹는데 요구되는 에너지인 씹힘성과 응집성은 녹용 소재 첨가량이 증가함에 따라 비례적으로 증가하는 결과를 보였다.

Table 12. 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (0%, 1%, 2%, 3%, w/v)을 달리하여 제조한 녹용 양갱의 texture 측정

	0%	1%	2%	3%
경도 (hardness)	1954±53.26	2168±96.54	2310±85.64	2569±76.52
부착성 (adhesiveness)	-90.65±1.59	-92.32±8.64	-90.46±9.24	-89.65±7.46
탄성 (springiness)	0.958±0.02	0.893±0.05	0.862±0.09	0.793±0.13
씹힘성 (chewiness)	992.36±12.35	1065.12±32.58	1258.22±52.03	1269.62±13.58
검성 (gumminess)	1102.32±23.25	1305.13±32.56	1340.62±21.85	1536.96±42.59
응집성 (cohesiveness)	0.33±0.01	0.35±0.01	0.41±0.01	0.43±0.01

녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (0%, 1%, 2%, 3%, w/v)을 달리하여 제조한 녹용 양갱의 관능평가 결과는 Table 13 및 Fig. 14에 나타내었다. 녹용소재 첨가 양갱의 관능 평가를 7점 척도법을 사용하여 실시한 결과 씹힘성을 제외한 색, 향, 맛과 전

반적인 기호도는 녹용 소재를 2% 첨가한 군에서 기호도가 가장 높은 것으로 나타났다. 이상의 결과를 바탕으로 최종 녹용 소재 첨가 양갱 시제품을 개발한 결과는 Fig. 15와 같다.

Table 13. 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (0%, 1%, 2%, 3%, w/v)을 달리하여 제조한 양갱의 관능평가 결과 (7점 척도법)

	0%	1%	2%	3%
색	5.1	5.2	5.4	5.0
향	3.7	5.5	5.7	5.3
맛	4.4	4.9	4.9	4.3
조직감	4.3	4.1	4.1	4.0
전반적인 기호도	4.0	4.3	4.8	3.8

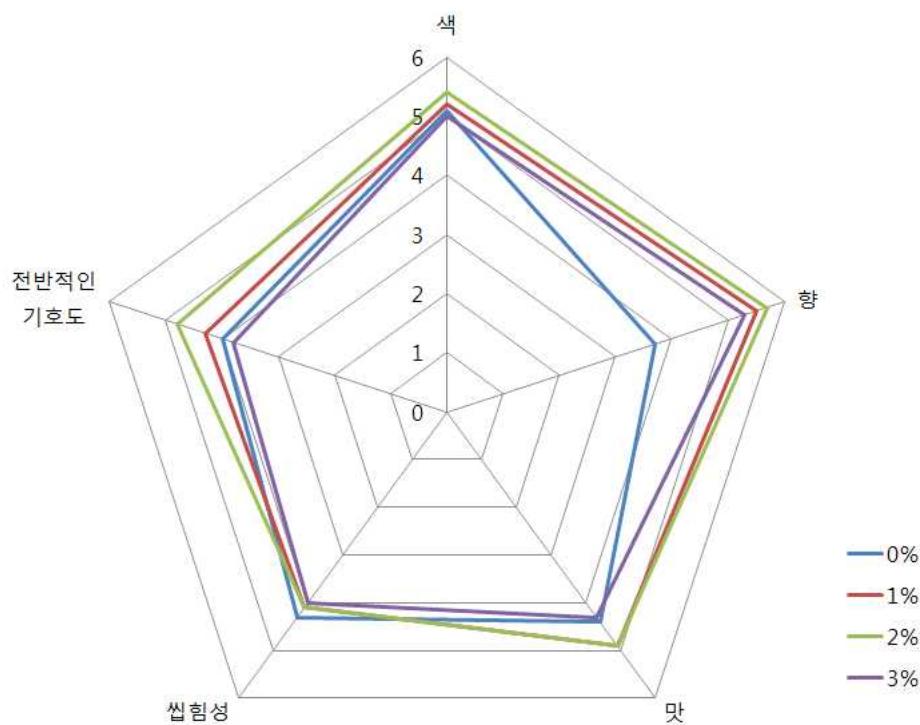


Fig. 14 녹용의 protamex 효소가수분해물 및 식물혼합추출물의 첨가량 (0%, 1%, 2%, 3%, w/v)을 달리하여 제조한 양갱의 관능평가 결과 (7점 척도법)



Fig. 15 녹용 소재를 활용하여 제조한 양갱 시제품

녹용 소재를 이용하여 제조한 양갱의 유효성분 함량은 Table 14에 나타내었다. 최종 제조된 녹용 양갱 내의 유효성분 및 그 함량은 uronic acid 0.110mg, sialic acid 0.295mg, Glycosaminoglycan 0.310mg, Total carbohydrate 0.760mg 및 collagen 0.510mg으로 나타났다.

Table 14. 녹용 소재를 활용하여 제조한 양갱 시제품의 유효성분 함량

Bioactive substances	Contents (mg/100g)
Uronic acid	0.110±0.012
Sialic acid	0.295±0.024
Glycosaminoglycan (GAG)	0.310±0.050
Total carbohydrate (TC)	0.760±0.066
Collagen	0.510±0.062

### 3차년도 (2016년) : 녹용 이외의 첨가제의 상승효과 구명 (십전대보탕, 사물탕, 총명탕)

#### 1. 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 시 첨가되는 한약재의 종류 및 배합비 결정

본 연구에서 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조에 사용하는 한약재는 동의보감을 근거로 한 녹용대보탕의 처방을 바탕으로 하여 총 25전의 한약재를 선정하고 각각의 한약재의 항산화 활성을 알아보고자 electron spin resonance (ESR) spectrometer를 이용하여 DPPH radical과 alkyl radical 소거활성을 분석한 결과는 표 1과 같다. DPPH radical 소거능의 경우 25종의 한약재 중 녹차가 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로 복분자, 인진쑥, 계피와 결명자 등의 순으로 나타났다. 한편 Alkyl radical 소거능은 복분자와 인진쑥의 IC<sub>50</sub> 값이 0.05 mg/ml로서 가장 강한 소거능을 보였으며, 다음으로는 결명자와 녹차, 계피 및 백작약 등의 순으로 나타났다.

[표 1] 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 시 첨가되는 한약재의 DPPH radical 및 alkyl radical scavenging activities

No	한약재 명	학명	DPPH radical scavenging activity	alkyl radical scavenging activity
			IC <sub>50</sub> (mg/ml)	
1	인삼	<i>Panax ginseng</i>	1.91	3.50
2	대추	<i>Zizhus jujube</i>	1.24	0.92
3	생강	<i>Ziniber officinale roscoe</i>	<b>0.33</b>	0.39
4	삽주	<i>Atractylodes japonica</i>	1.02	0.95
5	당귀	<i>Angelica nakai</i>	0.90	1.12
6	천궁	<i>Cnidium officinale</i>	0.73	0.35
7	백작약	<i>Paeoni lactiflora Pallas</i>	0.11	<b>0.13</b>
8	숙지황	<i>Rehmannia radix</i>	0.52	0.99
9	계피	<i>Cinnamomi cortex</i>	<b>0.08</b>	<b>0.11</b>
10	감초	<i>Glyciranrhiza glabra</i>	2.06	2.28
11	백출	<i>Atractylodes rhizoma</i>	2.72	0.79
12	백복령	<i>Poria cocos wolf</i>	2.59	1.20
13	구기자	<i>Eriophys macrodonis</i>	0.76	0.70
14	복분자	<i>Rubus coreanus miquel</i>	<b>0.02</b>	<b>0.05</b>
15	산사	<i>Crataegus pinnatifid Bunge</i>	0.45	0.24
16	황기	<i>Astragalus membranaceus</i>	≥ 4	≥ 4
17	귤피	<i>Citrus unshiu Markovich</i>	≥ 4	≥ 4
18	두충	<i>Eucommia ulmoides Oliver</i>	0.36	0.32
19	갈근	<i>Puerari thunber guana</i>	0.40	0.13
20	인진쑥	<i>Artemisia capillaris</i>	<b>0.03</b>	<b>0.05</b>
21	뽕나무	<i>Mulberry branches</i>	0.51	0.35
22	결명자	<i>Cassia obtusifolia L.</i>	<b>0.08</b>	<b>0.10</b>
23	녹차	<i>Camellia sinensis O.</i>	<b>0.01</b>	<b>0.10</b>

KTZE				
24	홍화	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	0.73	0.58
25	산약 (마)	<i>Dioscorea japonica</i> hull	2.43	1.76

이상의 결과 동의보감을 근거로 하여 각각 십전대보탕, 사물탕, 총명탕을 표 2의 배합비로 제조시간에 따른 유효성분 함량 변화 및 항산화 활성을 분석하였다.

[표 2] 십전대보탕, 사물탕, 총명탕의 한약재 배합비 (g), [%]

KTZE				
한약재 종류		배합비율 [%]		
사물탕	녹용 (velvet antler)	3.75 [15.80]		
	숙지황 (Rehmannia Radix Preparata)	5 [21.05]		
	백작약 (Paeoniae Radix Alba)	5 [21.05]		
	당귀 (Angelicae Gigantis Radix)	5 [21.05]		
	천궁 (Cnidium officinale Makino)	5 [21.05]		
십전대보탕	녹용 (velvet antler)	3.75 [6.85]		
	인삼 (Panax ginseng)	5 [9.13]		
	백출 (Atractylodes macrocephala Koidzumi)	5 [9.13]		
	백복령 (Poria cocos)	5 [9.13]		
	당귀 (Angelicae Gigantis Radix)	5 [9.13]		
	천궁 (Cnidium officinale Makino)	5 [9.13]		
	백작약 (Paeoniae Radix Alba)	5 [9.13]		
	계피 (Cinnamomum loureirii)	3 [5.48]		
	숙지황 (Rehmannia Radix Preparata)	5 [9.13]		
	황기 (Astragalus membranaceus)	4 [7.31]		
총명탕	감초 (Glycyrrhiza glabra L.)	3 [5.48]		
	대추 (Phoenix daotylifera)	3 [5.48]		
	생강 (Zingiber officinale)	3 [5.48]		
	녹용 (velvet antler)	3.75 [19.9]		
	원자 (Polygala tenuifolia)	5 [26.7]		
	석창포 (Acorus gramineus)	5 [26.7]		
	백복령 (Pachyma hoelen Rumphius)	5 [26.7]		

## 2. 녹용 첨가량, 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 유효 성분 함량 분석

### 2.1. 녹용 첨가량에 따른 십전대보탕의 유효 성분 함량 분석

본 연구에서는 녹용의 부위별로 제조한 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕 등의 제조시간에 따른 유효성분 함량 분석에 앞서 녹용의 적정량을 결정하고자 녹용의 첨가량을 달리하여 2시간 간격으로 12시간 동안 제조한 십전대보탕의 유효성분 함량 변화를 검토하였다.

#### 2.1.1. 녹용 첨가량에 따른 십전대보탕의 총 당 함량

녹용 첨가량을 달리하여 제조한 십전대보탕의 총 당 함량 변화는 표 1에 나타내었다. 총 당 함량은 가열시간 또는 녹용의 첨가량에 따라 특이적인 경향성을 보이지는 않았다. 이는 십전대보탕 제조 시 녹용 이외에 첨가된 여러 종류의 한약재 성분들에 함유되어 있는 당류가 함께 추출되어 나왔기 때문인 것으로 사료된다.

표 1. 녹용 첨가량을 달리하여 제조한 십전대보탕의 총 당 함량 (g/ml)

Group	Heating time (h)					
	2	4	6	8	10	12
녹용 처리 I 군 <sup>1</sup>	1.79±0.01 <sup>c</sup>	1.84±0.01 <sup>c</sup>	1.86±0.03 <sup>b</sup>	1.88±0.04 <sup>b</sup>	1.77±0.20 <sup>b</sup>	1.57±0.16 <sup>a</sup>
녹용 처리 II 군	1.93±0.02 <sup>bC</sup>	2.10±0.03 <sup>bB</sup>	2.15±0.03 <sup>cA</sup>	1.96±0.02 <sup>cB</sup>	1.87±0.01 <sup>cD</sup>	2.09±0.02 <sup>bA</sup>
녹용 처리 III 군	1.45±0.01 <sup>aD</sup>	1.69±0.01 <sup>aB</sup>	1.54±0.04 <sup>aC</sup>	1.61±0.01 <sup>aB</sup>	1.42±0.01 <sup>aD</sup>	1.91±0.06 <sup>abA</sup>

A,B,C,D Means in the same column with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

a,b,c Means in the same row with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

<sup>1</sup>녹용처리 I 군: 녹용 1첩 (3.75g) 첨가군, 녹용처리 II 군: 녹용 2첩 (7.5g) 첨가군, 녹용처리 III 군: 녹용 3첩 (11.25g) 첨가군

#### 2.1.2. 녹용 첨가량에 따른 십전대보탕의 sialic acid 함량

본 연구에서 가열시간대별로 녹용 첨가량을 달리하여 제조한 십전대보탕의 sialic acid 함량 변화는 표 2에 나타내었다. sialic acid는 일반적으로 탄소원자 9개를 포함하는 아미노당인 뉴라민산의 여러 유도체의 총칭으로써 한 분자 내에 카르복시기, 케톤기, 아세트아미드기를 가지

는 복잡한 구조로 된 단당류의 일종이다. 본 연구에서 십전대보탕 내의 sialic acid 함량은 전반적으로 녹용 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 결과를 보였으나, 녹용 첨가량을 2첩 이상 첨가하였을 때는 그 증가폭이 다소 감소하는 결과를 보였다. 반면 가열시간 별로 살펴보았을 때 sialic acid 함량은 가열 시간이 증가함에 따라 유의적인 증가는 보이지 않았을 뿐만 아니라 가열 4시간 이후부터는 십전대보탕 내의 sialic acid 함량이 오히려 감소하는 결과를 보였다.

표 2. 녹용 첨가량을 달리하여 제조한 십전대보탕의 sialic acid 함량 (mg/ml)

Group	Heating time (h)					
	2	4	6	8	10	12
녹용처리 I 군 <sup>1</sup>	0.37±0.003 <sup>aC</sup>	0.46±0.06 <sup>A</sup>	0.38±0.01 <sup>aBC</sup>	0.42±0.01 <sup>aBC</sup>	0.45±0.01 <sup>A</sup>	0.42±0.02 <sup>aBC</sup>
녹용처리 II 군	0.47±0.01 <sup>cA</sup>	0.47±0.01 <sup>A</sup>	0.42±0.01 <sup>bC</sup>	0.48±0.01 <sup>aC</sup>	0.46±0.01 <sup>AB</sup>	0.49±0.03 <sup>bA</sup>
녹용처리 III 군	0.41±0.01 <sup>bC</sup>	0.52±0.01 <sup>A</sup>	0.51±0.01 <sup>cA</sup>	0.50±0.02 <sup>bA</sup>	0.46±0.02 <sup>B</sup>	0.53±0.01 <sup>cA</sup>

<sup>A,B,C</sup>Means in the same column with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

<sup>a,b,c</sup>Means in the same row with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

<sup>1</sup>녹용처리 I 군 : 녹용 1첩 (3.75g) 첨가군, 녹용처리 II 군 : 녹용 2첩 (7.5g) 첨가군, 녹용처리 III 군 : 녹용 3첩 (11.25g) 첨가군

### 2.1.3. 녹용 첨가량에 따른 십전대보탕의 uronic acid 함량

가열 시간별 녹용 첨가량에 따른 uronic acid 함량의 변화는 표 3에 나타내었다. Uronic acid는 녹용 내에 함유되어 있는 다당류로서 Hyaloid(vitreous)라는 다른 당 분자와 결합하여 Hyaluronic acid를 형성한다. Hyaluronic acid는 진피에 주로 나타나는 GAGs (glycosaminoglycan)로써 세포의 성장, 막 수용체 기능, 접합에 중요한 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 젊은 피부의 경우 콜라겐과 엘라스틴 섬유주변에 많은데, 나이가 들어 피부노화가 진행될수록 감소하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 십전대보탕 내의 uronic acid는 녹용의 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 결과를 보였다. 한편 가열시간에 따른 십전대보탕 내의 uronic acid의 함량은 가열 6~8시간까지는 다소 증가하다가 가열 8시간 이후부터는 다소 감소하는 경향을 보이기는 했지만 녹용의 첨가량에 따른 유의적 차이를 보이지는 않았다.

표 3. 녹용 첨가량을 달리하여 제조한 십전대보탕의 uronic acid 함량 (mg/ml)

Group	Heating time (h)					
	2	4	6	8	10	12
녹용처리 I 군 <sup>1</sup>	1.38±0.02 <sup>bBC</sup>	1.47±0.11 <sup>bB</sup>	1.91±0.02 <sup>bA</sup>	1.88±0.02 <sup>cA</sup>	0.99±0.05 <sup>aD</sup>	1.30±0.03 <sup>bC</sup>
녹용처리 II 군	1.24±0.04 <sup>aA</sup>	1.22±0.07 <sup>aA</sup>	1.15±0.02 <sup>aAB</sup>	1.13±0.02 <sup>aAB</sup>	1.03±0.11 <sup>bC</sup>	1.15±0.04 <sup>aAB</sup>
녹용처리 III 군	1.45±0.05 <sup>bA</sup>	1.46±0.05 <sup>bA</sup>	1.22±0.03 <sup>aB</sup>	1.49±0.11 <sup>bA</sup>	1.43±0.03 <sup>cA</sup>	1.20±0.02 <sup>aB</sup>

A,B,C,D Means in the same column with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

a,b,c Means in the same row with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

<sup>1</sup>녹용처리 I 군 : 녹용 1첩 (3.75g) 첨가군, 녹용처리 II 군 : 녹용 2첩 (7.5g) 첨가군, 녹용처리 III 군 : 녹용 3첩 (11.25g) 첨가군

#### 2.1.4. 녹용 첨가량에 따른 십전대보탕의 glycosaminoglycan (GAG) 함량

결합조직 가운데 복합단백질의 대부분을 차지하는 단백당의 구성성분인 glycosaminoglycan(글라이코사미노글리칸)은 현재 관절염 치료제의 지표물질로 관심이 증대되고 있다. 특히 황산화된 콘드로이틴은 glycosaminoglycan의 80% 이상을 차지하고 있고, 강력한 항염증 작용이 있어 관절염의 치료에 탁월한 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 녹용 첨가량을 달리 하여 가열 시간대 별로 십전대보탕을 제조하면서 십전대보탕내의 glycosaminoglycan 함량 변화를 살펴본 결과는 표 4와 같다. 녹용탕 내의 glycosaminoglycan 함량의 경우 가열 시간이 증가함에 따라 꾸준히 증가하는 결과를 보이기는 했으나 그 증가폭에 있어서 큰 차이를 보이지 않았으며, 이는 glycosaminoglycan의 경우 녹용탕 가열 초기 2시간 이내에 충분히 추출되어 나왔기 때문인 것으로 여겨진다. 또한 녹용 첨가량에 따라서도 녹용 3첩을 첨가하여 2시간 동안 가열하였을 때의 함량이 가장 높은 것으로 나타났다.

표 4. 녹용 첨가량을 달리하여 제조한 십전대보탕의 Glycosaminoglycan 함량 (mg/ml)

Group	Heating time (h)					
	2	4	6	8	10	12
녹용처리 I 군 <sup>1</sup>	0.205±0.001 <sup>bD</sup>	0.212±0.002 <sup>aBC</sup>	0.209±0.002 <sup>aCD</sup>	0.225±0.002 <sup>bA</sup>	0.215±0.002 <sup>aB</sup>	0.229±0.002 <sup>bA</sup>
녹용처리 II 군	0.215±0.003 <sup>aAB</sup>	0.217±0.004 <sup>aA</sup>	0.207±0.002 <sup>aB</sup>	0.208±0.003 <sup>aB</sup>	0.210±0.004 <sup>aAB</sup>	0.207±0.002 <sup>aB</sup>
녹용처리 III 군	0.279±0.002 <sup>cA</sup>	0.220±0.006 <sup>aCD</sup>	0.240±0.002 <sup>bB</sup>	0.205±0.002 <sup>aE</sup>	0.212±0.002 <sup>aDE</sup>	0.225±0.002 <sup>aC</sup>

A,B,C,D,E Means in the same column with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

a,b,c Means in the same row with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

<sup>1</sup>녹용처리 I 군 : 녹용 1첩 (3.75g) 첨가군, 녹용처리 II 군 : 녹용 2첩 (7.5g) 첨가군, 녹용처리 III 군 : 녹용 3첩 (11.25g) 첨가군

#### 2.1.5. 녹용 첨가량에 따른 십전대보탕의 콜라겐 함량

녹용 첨가량을 달리하여 제조한 십전대보탕의 가열 시간별 collagen 함량 분석 결과는 표 5에 나타내었다. collagen은 뼈, 힘줄, 인대, 연골의 주요 구조섬유단백질로 collagen의 비율이 녹용의 품질을 결정하는 중요한 요인으로 간주되고 있다. collagen은 12종류 이상 연관된 단백질로서 1~5형까지가 잘 알려져 있는데, 이 중 1형은 대부분 결합조직에 분포하며 아교섬유의 구성성분이 되고, 2형은 연골에 분포하며, 3형은 세망섬유 (세망조직에서 볼 수 있는 특수한 결합조직섬유)를 구성하는 성분이며, 4형은 기저막 (상피조직·근육조직·신경조직이 결합조직과 맞닿은 곳에 존재하는 막구조)의 성분, 5형은 태반의 기저막에 주로 존재하는 것으로 알려져 있다. 녹용에는 1, 2, 3, 4, 5형이 모두 함유되어 있으며, 그 중에서 분골에는 연골 특이적인 분자인 2형 collagen이 많이 존재하는 것으로 보고되어 있다. 본 연구에서 십전대보탕 제조 시 녹용 첨가량에 따른 collagen 함량은 녹용 첨가량이 증가함에 따라서 유의적으로 증가하는 결과를 보였다. 가열 시간에 따라서는 모든 군에서 가열시간이 증가함에 따라 collagen 함량은 지속적으로 증가하는 결과를 보였다.

표 5. 녹용 첨가량을 달리하여 제조한 십전대보탕의 collagen 함량 (mg/ml)

Group	Heating time (h)					
	2	4	6	8	10	12
녹용처리 I 군 <sup>1</sup>	13.62±2.50 <sup>aC</sup>	23.16±2.06 <sup>aAB</sup>	21.78±2.50 <sup>aAB</sup>	18.80±2.16 <sup>aBC</sup>	22.89±1.64 <sup>aAB</sup>	25.07±1.25 <sup>bA</sup>
녹용처리 II 군	20.98±2.06 <sup>b</sup>	21.25±2.16 <sup>a</sup>	23.70±1.64 <sup>a</sup>	22.89±0.82 <sup>b</sup>	21.53±2.06 <sup>a</sup>	22.89±2.95 <sup>a</sup>
녹용처리 III 군	21.80±1.25 <sup>bD</sup>	25.07±4.11 <sup>bCD</sup>	24.25±1.70 <sup>aCD</sup>	29.15±1.25 <sup>cBC</sup>	35.97±1.64 <sup>bA</sup>	31.61±1.25 <sup>cAB</sup>

A,B,C,D Means in the same column with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

a,b,c Means in the same row with different subscripts differ ( $p<0.05$ ).

<sup>1</sup>녹용처리 I 군 : 녹용 1첩 (3.75g) 첨가군, 녹용처리 II 군 : 녹용 2첩 (7.5g) 첨가군, 녹용처리 III 군 : 녹용 3첩 (11.25g) 첨가군

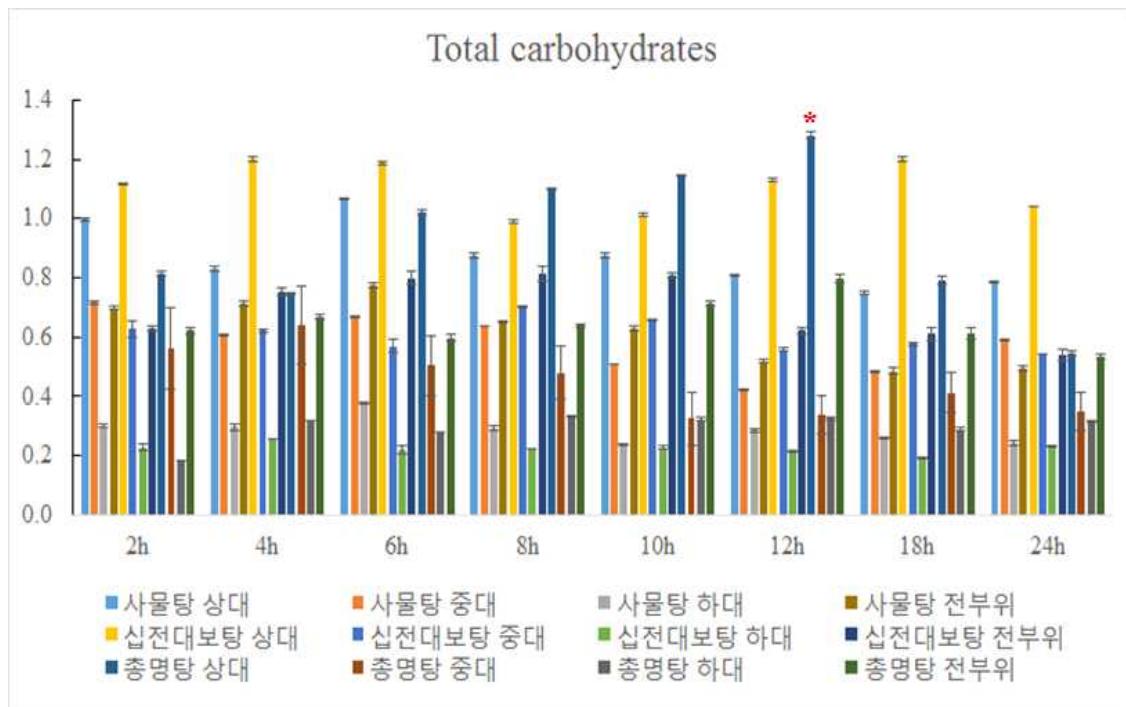
## 2.2. 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 유효 성분 함량 분석

### 2.2.1. 녹용 부위별 제조시간에 따른 총 당 함량

본 연구결과에서는 상기의 연구 결과 및 동의보감 등 문헌을 토대로 하여 녹용의 함량을 1첩, 즉 3.75g으로 정하고 각각 십전대보탕, 사물탕, 총명탕을 표 2의 배합비로 하여 2시간~24시간까지 제조시간에 따른 유효 성분 함량 변화를 분석하였다. 가열 시간별 녹용 첨가 부위를 달리하였을 때 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕 내의 총 당 함량 변화는 표 6 및 그림 1에 나타내었다. 총 당량의 경우, 녹용 상대를 첨가하였을 때 중대나 하대 첨가시에 비해 더 높은 함량을 나타내었으며, 녹용 전부위 첨가시에는 모든 그룹에서 상대만 첨가한 경우보다는 낮고 중대만 첨가한 경우보다는 다소 높은 값을 보였다. 십전대보탕 및 사물탕의 경우 시간대 별로 큰 차이를 보이지 않은 반면, 총명탕의 경우는 녹용 상대 첨가 시 가열 12시간까지 총 당량이 꾸준히 증가하다가 18시간 이후 급격히 감소하는 결과를 보였다.

표 6. 녹용 부위별 제조시간에 따른 총 당 함량 변화

녹용 부위	가열 시간	Sample		
		십 전대보탕	사물탕	총명탕
전부위	2h	0.629±0.008 <sup>b</sup>	0.698±0.005 <sup>b</sup>	0.621±0.013 <sup>b</sup>
	4h	0.751±0.013 <sup>c</sup>	0.712±0.010 <sup>bc</sup>	0.669±0.008 <sup>b</sup>
	6h	0.799±0.021 <sup>c</sup>	0.775±0.009 <sup>c</sup>	0.597±0.010 <sup>a</sup>
	8h	0.811±0.025 <sup>c</sup>	0.652±0.004 <sup>b</sup>	0.637±0.007 <sup>b</sup>
	10h	0.809±0.009 <sup>c</sup>	0.630±0.008 <sup>b</sup>	0.713±0.009 <sup>c</sup>
	12h	0.621±0.010 <sup>b</sup>	0.519±0.007 <sup>a</sup>	0.795±0.015 <sup>c</sup>
	18h	0.611±0.023 <sup>b</sup>	0.485±0.010 <sup>a</sup>	0.611±0.021 <sup>a</sup>
	24h	0.539±0.017 <sup>a</sup>	0.496±0.009 <sup>a</sup>	0.535±0.009 <sup>a</sup>
상대	2h	1.116±0.011 <sup>NS</sup>	0.997±0.006 <sup>c</sup>	0.814±0.010 <sup>c</sup>
	4h	1.200±0.009	0.830±0.008 <sup>b</sup>	0.744±0.003 <sup>b</sup>
	6h	1.187±0.007	1.067±0.003 <sup>c</sup>	1.021±0.006 <sup>d</sup>
	8h	0.989±0.013	0.874±0.007 <sup>b</sup>	1.100±0.003 <sup>d</sup>
	10h	1.012±0.028	0.875±0.006 <sup>b</sup>	1.146±0.003 <sup>d</sup>
	12h	1.129±0.018	0.807±0.004 <sup>b</sup>	1.280±0.010 <sup>d</sup>
	18h	1.203±0.020	0.749±0.008 <sup>a</sup>	0.792±0.013 <sup>b</sup>
	24h	1.040±0.010	0.787±0.004 <sup>a</sup>	0.545±0.008 <sup>a</sup>
중대	2h	0.626±0.027 <sup>a</sup>	0.717±0.006 <sup>c</sup>	0.561±0.023 <sup>c</sup>
	4h	0.622±0.005 <sup>a</sup>	0.606±0.005 <sup>b</sup>	0.641±0.030 <sup>d</sup>
	6h	0.568±0.022 <sup>a</sup>	0.667±0.004 <sup>bc</sup>	0.503±0.013 <sup>bc</sup>
	8h	0.703±0.002 <sup>b</sup>	0.637±0.001 <sup>b</sup>	0.479±0.015 <sup>b</sup>
	10h	0.659±0.003 <sup>ab</sup>	0.509±0.001 <sup>a</sup>	0.324±0.022 <sup>a</sup>
	12h	0.557±0.006 <sup>a</sup>	0.421±0.001 <sup>a</sup>	0.337±0.015 <sup>a</sup>
	18h	0.576±0.006 <sup>a</sup>	0.483±0.004 <sup>a</sup>	0.412±0.019 <sup>b</sup>
	24h	0.542±0.002 <sup>a</sup>	0.589±0.003 <sup>ab</sup>	0.346±0.013 <sup>a</sup>
하대	2h	0.228±0.012 <sup>NS</sup>	0.300±0.001 <sup>NS</sup>	0.185±0.001 <sup>a</sup>
	4h	0.256±0.001	0.297±0.001	0.317±0.001 <sup>c</sup>
	6h	0.220±0.015	0.374±0.001	0.280±0.001 <sup>b</sup>
	8h	0.222±0.001	0.293±0.006	0.331±0.001 <sup>c</sup>
	10h	0.228±0.005	0.237±0.001	0.323±0.004 <sup>c</sup>
	12h	0.214±0.002	0.284±0.001	0.324±0.005 <sup>c</sup>
	18h	0.194±0.002	0.258±0.001	0.289±0.005 <sup>b</sup>
	24h	0.232±0.003	0.243±0.004	0.314±0.003 <sup>c</sup>



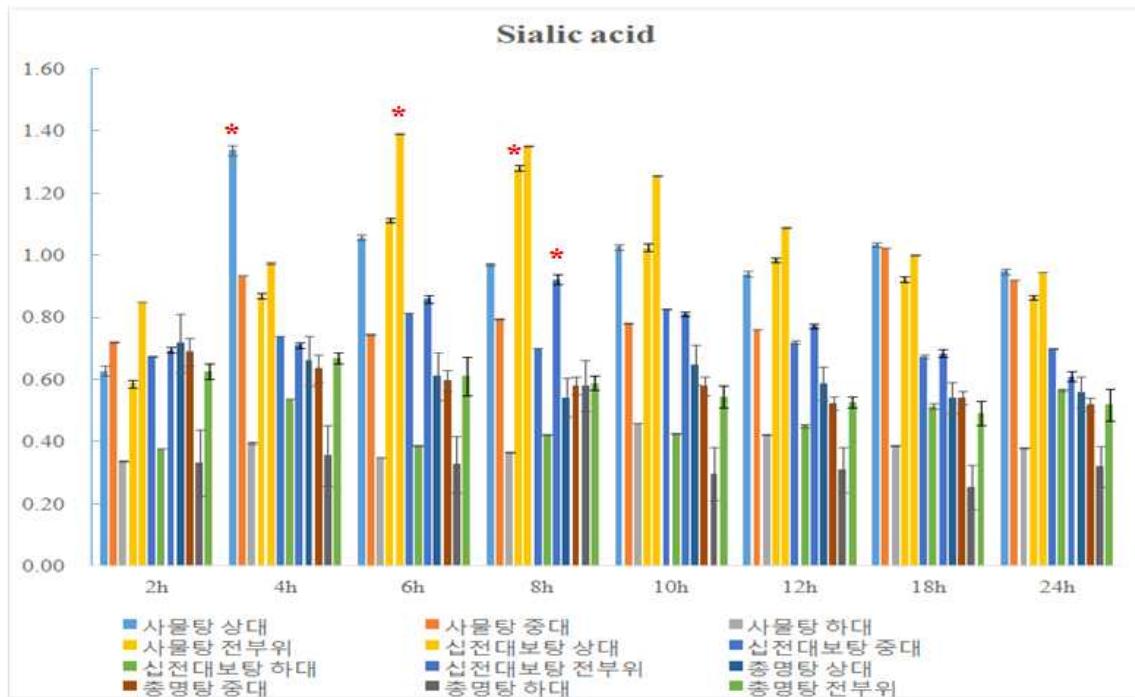
[그림 1] 녹용 부위별 제조시간에 따른 총 당 함량 변화

### 2.2.2. 녹용 부위별 제조시간에 따른 sialic acid 함량

가열 시간별 녹용 첨가 부위를 달리하였을 때 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕 내의 sialic acid 함량의 변화는 표 7 및 그림 2에 나타내었다. sialic acid의 경우, 녹용 상대를 첨가하였을 때 중대나 하대 첨가시에 비해 더 높은 함량을 나타내었으며, 사물탕의 경우 가열 4시간째 급격한 증가를 보인 이후 점차 감소하는 결과를 보였다. 십전대보탕의 경우는 가열 6시간까지 sialic acid의 함량이 꾸준히 증가하다가 이후 감소하는 경향을 보였다. 반면, 총명탕의 경우는 녹용 첨가 부위에 따라서는 상대 첨가 시 가장 높고 하대 첨가 시 가장 낮은 함량을 보였으나 가열 시간에 따라서는 큰 차이를 보이지 않았다. 녹용 전 부위 첨가 시, 십전대보탕 및 사물탕의 경우 가열 8시간 이후부터 급격히 감소한 반면, 총명탕의 경우는 가열시간에 따른 차이는 보이지 않았다.

표 7. 녹용 부위별 제조시간에 따른 sialic acid 함량 변화

녹용 부위 (mg/ml)	제조 시간	Sample		
		십 전대보탕	사물탕	총명탕
전부위	2h	0.695±0.008 <sup>a</sup>	0.586±0.012 <sup>a</sup>	0.626±0.025 <sup>NS</sup>
	4h	0.711±0.009 <sup>ab</sup>	0.869±0.009 <sup>b</sup>	0.669±0.019
	6h	0.859±0.011 <sup>bc</sup>	1.112±0.008 <sup>c</sup>	0.611±0.063
	8h	0.922±0.015 <sup>c</sup>	1.280±0.010 <sup>c</sup>	0.589±0.024
	10h	0.810±0.008 <sup>b</sup>	1.025±0.011 <sup>c</sup>	0.544±0.036
	12h	0.772±0.007 <sup>b</sup>	0.985±0.006 <sup>bc</sup>	0.527±0.019
	18h	0.685±0.012 <sup>a</sup>	0.922±0.008 <sup>b</sup>	0.492±0.040
	24h	0.610±0.016 <sup>a</sup>	0.865±0.007 <sup>b</sup>	0.519±0.051
상대	2h	0.849±0.001 <sup>a</sup>	0.628±0.016 <sup>a</sup>	0.718±0.094 <sup>NS</sup>
	4h	0.974±0.003 <sup>b</sup>	1.337±0.015 <sup>d</sup>	0.661±0.081
	6h	1.391±0.001 <sup>d</sup>	1.056±0.008 <sup>c</sup>	0.611±0.076
	8h	1.352±0.002 <sup>d</sup>	0.970±0.003 <sup>b</sup>	0.543±0.062
	10h	1.255±0.002 <sup>cd</sup>	1.026±0.009 <sup>c</sup>	0.647±0.063
	12h	1.089±0.002 <sup>c</sup>	0.939±0.008 <sup>b</sup>	0.586±0.053
	18h	1.001±0.003 <sup>c</sup>	1.035±0.007 <sup>c</sup>	0.543±0.049
	24h	0.946±0.001 <sup>b</sup>	0.948±0.009 <sup>b</sup>	0.560±0.051
중대	2h	0.674±0.001 <sup>a</sup>	0.720±0.001 <sup>a</sup>	0.689±0.046 <sup>NS</sup>
	4h	0.740±0.001 <sup>b</sup>	0.935±0.001 <sup>b</sup>	0.636±0.043
	6h	0.813±0.000 <sup>c</sup>	0.745±0.003 <sup>a</sup>	0.597±0.034
	8h	0.701±0.001 <sup>b</sup>	0.795±0.002 <sup>a</sup>	0.581±0.029
	10h	0.826±0.002 <sup>c</sup>	0.780±0.001 <sup>a</sup>	0.579±0.030
	12h	0.720±0.004 <sup>b</sup>	0.760±0.000 <sup>a</sup>	0.524±0.021
	18h	0.674±0.005 <sup>a</sup>	1.024±0.001 <sup>c</sup>	0.541±0.022
	24h	0.699±0.001 <sup>a</sup>	0.920±0.001 <sup>b</sup>	0.520±0.021
하대	2h	0.379±0.000 <sup>a</sup>	0.337±0.002 <sup>a</sup>	0.332±0.106 <sup>a</sup>
	4h	0.538±0.001 <sup>c</sup>	0.397±0.003 <sup>ab</sup>	0.356±0.096 <sup>a</sup>
	6h	0.389±0.001 <sup>a</sup>	0.350±0.001 <sup>a</sup>	0.329±0.091 <sup>a</sup>
	8h	0.422±0.002 <sup>b</sup>	0.366±0.003 <sup>a</sup>	0.580±0.082 <sup>b</sup>
	10h	0.425±0.002 <sup>b</sup>	0.460±0.001 <sup>b</sup>	0.297±0.084 <sup>a</sup>
	12h	0.451±0.006 <sup>b</sup>	0.424±0.002 <sup>b</sup>	0.310±0.072 <sup>a</sup>
	18h	0.514±0.010 <sup>c</sup>	0.386±0.001 <sup>a</sup>	0.255±0.072 <sup>a</sup>
	24h	0.567±0.004 <sup>c</sup>	0.379±0.002 <sup>a</sup>	0.320±0.065 <sup>a</sup>



[그림 2] 녹용 부위별 제조시간에 따른 sialic acid 함량 변화

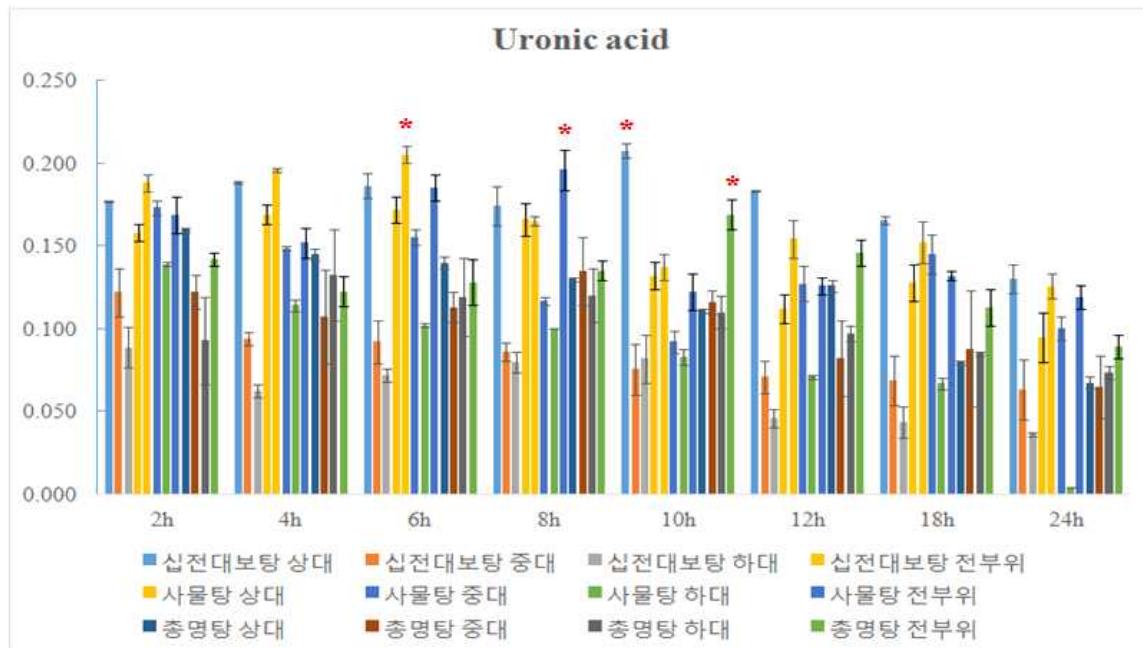
### 2.2.3. 녹용 부위별 제조시간에 따른 uronic acid 함량

가열 시간별 녹용 첨가 부위에 따른 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕 내의 uronic acid 함량의 변화는 표 8 및 그림 3에 나타내었다. 십전대보탕 및 사물탕의 경우 Uronic acid 함량은 녹용 첨가부위에 따라 큰 차이를 보였으며 녹용 상대를 첨가하였을 때 가장 높은 함량을 나타냈다. 가열 시간에 따라서는 십전대보탕의 경우 녹용 상대 첨가시 가열 10시간까지 꾸준히 증가하다가 이후 감소하는 결과를 보였으며, 녹용 중대 및 하대 첨가시에는 가열 2시간 이후부터 꾸준히 uronic acid 함량은 감소하였다. 한편 녹용 상대를 첨가한 사물탕의 경우는 가열 6시간까지 uronic acid 함량이 꾸준히 증가하였으나 이후에는 감소하는 결과를 보였으며, 중대 및 하대 첨가시에는 십전대보탕과 유사하게 가열 2시간 이후 계속적으로 감소하였다.

총명탕의 경우는 녹용 첨가 부위와 관련 없이 가열 시간이 길어짐에 따라 uronic acid 함량은 감소하는 경향을 보였다. 한편 녹용 전부위 사용 시, uronic acid 함량은 십전대보탕의 경우는 6시간, 사물탕은 8시간, 총명탕은 10시간 이후부터 감소하는 결과를 보였다.

표 8. 녹용 부위별 제조시간에 따른 uronic acid 함량 변화

녹용 부위 (mg/ml)	가열 시간	Sample		
		십 전대보탕	사물탕	총명탕
전부위	2h	0.158±0.005 <sup>b</sup>	0.169±0.011 <sup>b</sup>	0.142±0.004 <sup>b</sup>
	4h	0.169±0.006 <sup>bc</sup>	0.152±0.009 <sup>b</sup>	0.123±0.009 <sup>a</sup>
	6h	0.172±0.008 <sup>c</sup>	0.185±0.008 <sup>c</sup>	0.128±0.014 <sup>a</sup>
	8h	0.166±0.010 <sup>bc</sup>	0.196±0.012 <sup>c</sup>	0.135±0.006 <sup>b</sup>
	10h	0.132±0.008 <sup>ab</sup>	0.122±0.011 <sup>a</sup>	0.169±0.009 <sup>c</sup>
	12h	0.112±0.009 <sup>a</sup>	0.126±0.005 <sup>a</sup>	0.146±0.008 <sup>b</sup>
	18h	0.128±0.011 <sup>a</sup>	0.132±0.003 <sup>a</sup>	0.113±0.011 <sup>a</sup>
	24h	0.095±0.015 <sup>a</sup>	0.119±0.007 <sup>a</sup>	0.089±0.007 <sup>a</sup>
상대	2h	0.177±0.001 <sup>b</sup>	0.188±0.005 <sup>c</sup>	0.160±0.001 <sup>e</sup>
	4h	0.189±0.001 <sup>c</sup>	0.196±0.001 <sup>d</sup>	0.145±0.004 <sup>d</sup>
	6h	0.186±0.008 <sup>cd</sup>	0.205±0.005 <sup>d</sup>	0.139±0.004 <sup>cd</sup>
	8h	0.174±0.012 <sup>b</sup>	0.165±0.003 <sup>b</sup>	0.130±0.001 <sup>c</sup>
	10h	0.208±0.004 <sup>d</sup>	0.137±0.008 <sup>a</sup>	0.111±0.001 <sup>c</sup>
	12h	0.183±0.005 <sup>c</sup>	0.154±0.011 <sup>ab</sup>	0.126±0.004 <sup>c</sup>
	18h	0.166±0.003 <sup>b</sup>	0.152±0.013 <sup>ab</sup>	0.080±0.001 <sup>b</sup>
	24h	0.130±0.009 <sup>a</sup>	0.126±0.008 <sup>a</sup>	0.068±0.004 <sup>a</sup>
중대	2h	0.122±0.015 <sup>b</sup>	0.173±0.005 <sup>d</sup>	0.122±0.010 <sup>b</sup>
	4h	0.094±0.004 <sup>b</sup>	0.149±0.001 <sup>c</sup>	0.107±0.029 <sup>ab</sup>
	6h	0.092±0.013 <sup>b</sup>	0.155±0.005 <sup>c</sup>	0.113±0.009 <sup>ab</sup>
	8h	0.086±0.005 <sup>ab</sup>	0.117±0.002 <sup>a</sup>	0.135±0.021 <sup>b</sup>
	10h	0.075±0.015 <sup>a</sup>	0.092±0.007 <sup>a</sup>	0.116±0.007 <sup>b</sup>
	12h	0.071±0.010 <sup>a</sup>	0.127±0.010 <sup>b</sup>	0.082±0.023 <sup>ab</sup>
	18h	0.069±0.015 <sup>a</sup>	0.145±0.012 <sup>b</sup>	0.088±0.035 <sup>ab</sup>
	24h	0.063±0.018 <sup>a</sup>	0.100±0.007 <sup>a</sup>	0.065±0.019 <sup>a</sup>
하대	2h	0.089±0.012 <sup>c</sup>	0.139±0.001 <sup>e</sup>	0.093±0.026 <sup>b</sup>
	4h	0.062±0.004 <sup>b</sup>	0.114±0.003 <sup>d</sup>	0.132±0.027 <sup>b</sup>
	6h	0.072±0.004 <sup>c</sup>	0.102±0.001 <sup>c</sup>	0.119±0.024 <sup>b</sup>
	8h	0.080±0.007 <sup>c</sup>	0.100±0.001 <sup>c</sup>	0.120±0.016 <sup>b</sup>
	10h	0.082±0.015 <sup>c</sup>	0.083±0.005 <sup>b</sup>	0.110±0.010 <sup>b</sup>
	12h	0.046±0.006 <sup>a</sup>	0.071±0.001 <sup>b</sup>	0.097±0.005 <sup>b</sup>
	18h	0.043±0.009 <sup>a</sup>	0.067±0.003 <sup>b</sup>	0.085±0.001 <sup>ab</sup>
	24h	0.036±0.001 <sup>a</sup>	0.004±0.000 <sup>a</sup>	0.073±0.004 <sup>a</sup>



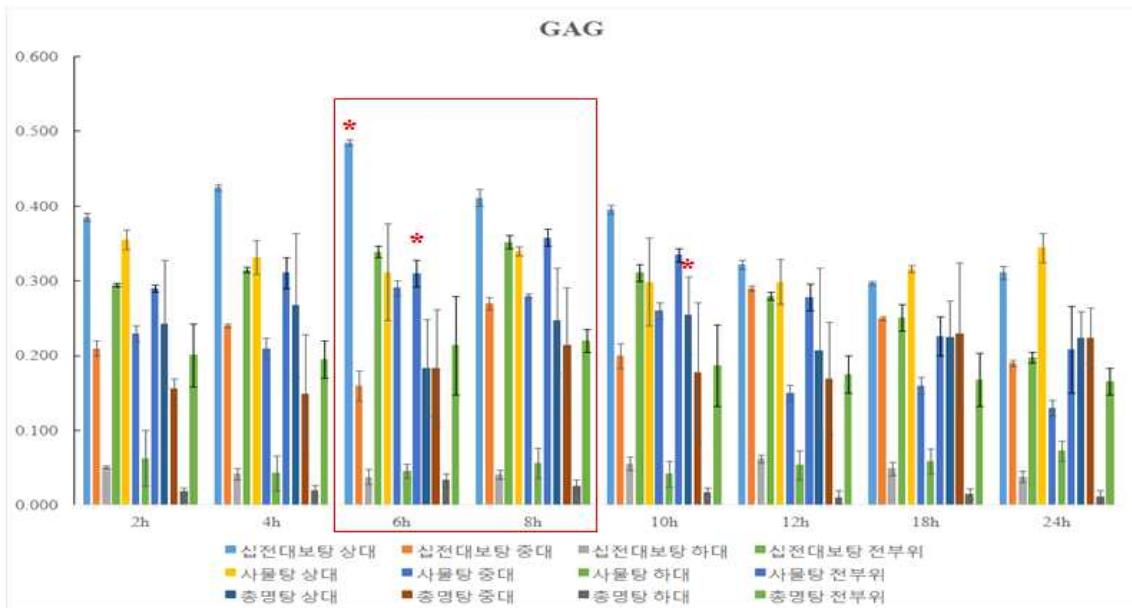
[그림 3] 녹용 부위별 제조시간에 따른 uronic acid 함량 변화

#### 2.2.4. 녹용 부위별 제조시간에 따른 glycosaminoglycan (GAG) 함량

가열 시간별 녹용 첨가 부위에 따른 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕 내의 glycosaminoglycan (GAG) 함량의 변화는 표 9 및 그림 4에 나타내었다. 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕 모두에서 GAG 함량은 녹용 상대에서 하대 첨가로 갈수록 현저히 감소하는 결과를 보였다. 가열 시간에 따라서는 십전대보탕의 경우 녹용 상대 첨가시 가열 6시간까지 증가하다가 이후 감소하였으며, 중대나 하대 첨가시에는 가열 시간에 따른 큰 차이를 보이지 않았다. 사물탕의 경우, 녹용 상대 첨가시 가열 시간에 따른 차이를 보이지 않았으나 중대 첨가시에는 가열 6시간 이후 GAG 함량이 꾸준히 감소하는 결과를 보였다. 총명탕의 경우는 녹용 상대 첨가시 가열 10시간까지는 꾸준히 증가하는 경향을 보이다 이후 감소하는 결과를 보였다. 녹용 중대 및 하대 첨가의 경우는 가열 시간에 따른 큰 차이를 보이지 않았다. 녹용 전부위를 첨가하였을 경우, 녹용 상대만 첨가하였을 때보다 전반적으로 낮은 GAG 함량을 보였으며, 가열 시간에 따라서는 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕 모두에서 가열 6~8시간까지 증가하다 이후 감소하는 경향을 보였다.

표 9. 녹용 부위별 제조시간에 따른 glycosaminoglycan (GAG) 함량 변화

녹용 부위 (mg/ml)	가열 시간	Sample		
		십전대보탕	사물탕	총명탕
전부위	2h	0.295±0.002 <sup>ab</sup>	0.290±0.005 <sup>a</sup>	0.201±0.042 <sup>NS</sup>
	4h	0.315±0.003 <sup>b</sup>	0.311±0.021 <sup>ab</sup>	0.195±0.025
	6h	0.339±0.008 <sup>b</sup>	0.310±0.018 <sup>ab</sup>	0.214±0.066
	8h	0.352±0.009 <sup>b</sup>	0.358±0.011 <sup>b</sup>	0.220±0.015
	10h	0.311±0.011 <sup>b</sup>	0.335±0.009 <sup>b</sup>	0.187±0.054
	12h	0.280±0.005 <sup>ab</sup>	0.278±0.018 <sup>a</sup>	0.175±0.025
	18h	0.251±0.018 <sup>ab</sup>	0.226±0.026 <sup>a</sup>	0.168±0.036
	24h	0.198±0.007 <sup>a</sup>	0.208±0.058 <sup>a</sup>	0.166±0.018
상대	2h	0.385±0.005 <sup>NS</sup>	0.355±0.013 <sup>NS</sup>	0.243±0.085 <sup>NS</sup>
	4h	0.425±0.004	0.332±0.023	0.267±0.096
	6h	0.485±0.004	0.312±0.065	0.184±0.065
	8h	0.411±0.011	0.340±0.006	0.247±0.070
	10h	0.396±0.006	0.299±0.059	0.254±0.052
	12h	0.322±0.005	0.299±0.030	0.207±0.109
	18h	0.297±0.002	0.316±0.005	0.225±0.048
	24h	0.311±0.009	0.344±0.019	0.224±0.035
중대	2h	0.210±0.010 <sup>a</sup>	0.231±0.011 <sup>b</sup>	0.156±0.013 <sup>a</sup>
	4h	0.241±0.002 <sup>a</sup>	0.218±0.014 <sup>b</sup>	0.148±0.080 <sup>a</sup>
	6h	0.168±0.021 <sup>a</sup>	0.291±0.010 <sup>b</sup>	0.183±0.078 <sup>ab</sup>
	8h	0.270±0.008 <sup>b</sup>	0.282±0.003 <sup>b</sup>	0.214±0.077 <sup>ab</sup>
	10h	0.208±0.017 <sup>a</sup>	0.261±0.011 <sup>b</sup>	0.177±0.093 <sup>ab</sup>
	12h	0.298±0.004 <sup>b</sup>	0.159±0.013 <sup>a</sup>	0.170±0.075 <sup>ab</sup>
	18h	0.256±0.002 <sup>ab</sup>	0.162±0.010 <sup>a</sup>	0.229±0.095 <sup>b</sup>
	24h	0.190±0.004 <sup>a</sup>	0.138±0.015 <sup>a</sup>	0.224±0.041 <sup>b</sup>
하대	2h	0.051±0.002 <sup>ab</sup>	0.063±0.037 <sup>NS</sup>	0.019±0.005 <sup>a</sup>
	4h	0.042±0.008 <sup>ab</sup>	0.043±0.023	0.020±0.008 <sup>a</sup>
	6h	0.038±0.010 <sup>a</sup>	0.046±0.010	0.034±0.009 <sup>b</sup>
	8h	0.041±0.006 <sup>ab</sup>	0.057±0.020	0.026±0.008 <sup>ab</sup>
	10h	0.056±0.009 <sup>ab</sup>	0.042±0.017	0.018±0.006 <sup>a</sup>
	12h	0.062±0.005 <sup>b</sup>	0.054±0.019	0.011±0.009 <sup>a</sup>
	18h	0.049±0.009 <sup>ab</sup>	0.059±0.017	0.015±0.007 <sup>a</sup>
	24h	0.038±0.007 <sup>a</sup>	0.073±0.014	0.011±0.009 <sup>a</sup>



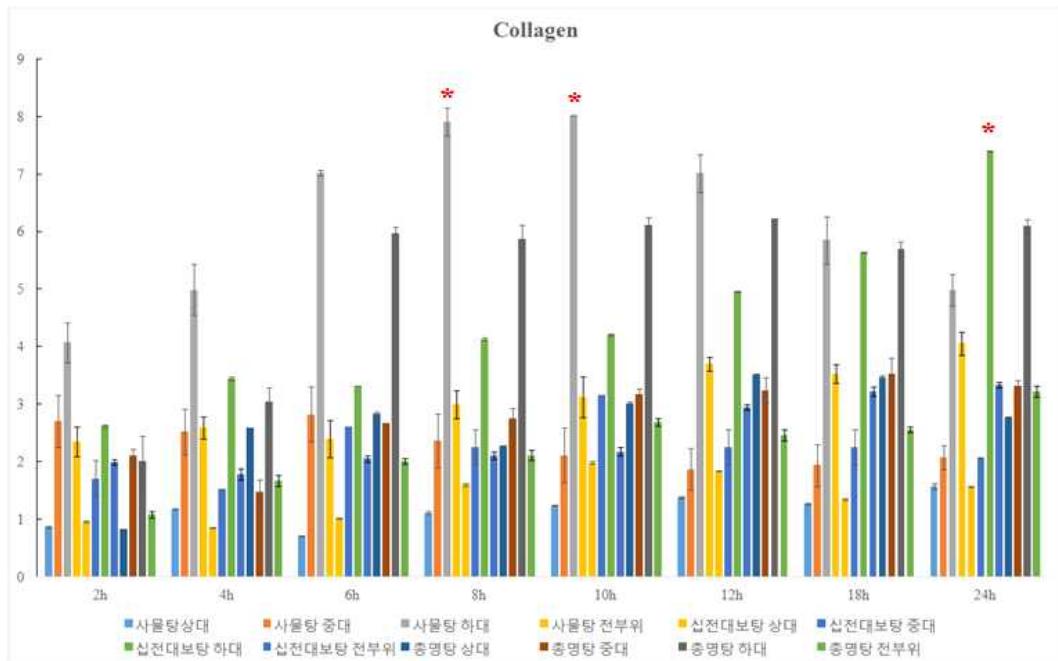
[그림 4] 녹용 부위별 제조시간에 따른 glycosaminoglycan (GAG) 함량 변화

### 2.2.5. 녹용 부위별 제조시간에 따른 콜라겐 함량

가열 시간별 녹용 첨가 부위에 따른 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕 내의 콜라겐 함량의 변화는 표 10 및 그림 5에 나타내었다. 콜라겐 함량의 경우, 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕 모두에서 녹용 하대 첨가시 가장 높은 함량을 보였으며, 상대 첨가시 가장 낮은 콜라겐 함량을 보였다. 이는 기존에 이루어진 녹용 성분 분석 결과와 유사하게 녹용 하대로 갈수록 콜라겐의 함량이 높아지는 연구와 같은 맥락을 보여주는 결과이다. 가열 시간에 따라서는 사물탕의 경우 상대나 중대 첨가시에는 가열 시간에 따른 콜라겐 함량이 큰 차이를 보이지 않은 반면, 녹용 하대 첨가시에는 가열 8~10시간까지는 점차적으로 콜라겐 함량이 증가하였으나 가열 10시간 이후부터는 점차 감소하는 결과를 보였다. 반면 십전대보탕과 총명탕의 경우는 가열 시간이 경과함에 따라 꾸준히 콜라겐의 함량이 증가하는 결과를 보였는데, 이는 각 한약재 향에 혼합되는 한약재의 배합 종류에 따라 콜라겐 함량에 영향을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 녹용 전부위 사용 시, 녹용 하대만 첨가하였을 때보다 콜라겐 함량이 전반적으로 낮았으나 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕의 경우 모두에서 가열 시간이 증가함에 따라 콜라겐 함량이 높아지는 결과를 보였다.

표 10. 녹용 부위별 제조시간에 따른 콜라겐 함량 변화

녹용 부위 (mg/ml)	Collagen	가열 시간	Sample		
			십 전대보탕	사물탕	총명탕
전부위		2h	1.99±0.05 <sup>a</sup>	2.35±0.26 <sup>a</sup>	1.08±0.06 <sup>a</sup>
		4h	1.78±0.09 <sup>a</sup>	2.59±0.19 <sup>a</sup>	1.67±0.09 <sup>b</sup>
		6h	2.05±0.05 <sup>ab</sup>	2.39±0.32 <sup>a</sup>	2.01±0.04 <sup>c</sup>
		8h	2.12±0.06 <sup>ab</sup>	2.99±0.24 <sup>ab</sup>	2.12±0.08 <sup>c</sup>
		10h	2.18±0.07 <sup>ab</sup>	3.13±0.36 <sup>b</sup>	2.69±0.06 <sup>cd</sup>
		12h	2.95±0.05 <sup>b</sup>	3.69±0.12 <sup>b</sup>	2.46±0.10 <sup>cd</sup>
		18h	3.22±0.08 <sup>b</sup>	3.53±0.16 <sup>b</sup>	2.56±0.05 <sup>cd</sup>
		24h	3.34±0.04 <sup>b</sup>	4.05±0.19 <sup>c</sup>	3.23±0.09 <sup>d</sup>
상대		2h	0.96±0.02 <sup>a</sup>	0.86±0.02 <sup>ab</sup>	0.83±0.01 <sup>a</sup>
		4h	0.85±0.01 <sup>a</sup>	1.18±0.01 <sup>b</sup>	2.59±0.01 <sup>b</sup>
		6h	1.02±0.01 <sup>a</sup>	0.71±0.01 <sup>a</sup>	2.84±0.03 <sup>b</sup>
		8h	1.60±0.02 <sup>bc</sup>	1.11±0.02 <sup>b</sup>	2.28±0.01 <sup>b</sup>
		10h	1.99±0.02 <sup>c</sup>	1.24±0.02 <sup>b</sup>	3.02±0.02 <sup>c</sup>
		12h	1.84±0.01 <sup>c</sup>	1.38±0.01 <sup>c</sup>	3.52±0.01 <sup>c</sup>
		18h	1.35±0.02 <sup>b</sup>	1.27±0.02 <sup>b</sup>	3.47±0.03 <sup>c</sup>
		24h	1.56±0.01 <sup>b</sup>	1.57±0.04 <sup>d</sup>	2.78±0.01 <sup>b</sup>
중대		2h	1.71±0.31 <sup>a</sup>	2.70±0.45 <sup>NS</sup>	2.11±0.11 <sup>b</sup>
		4h	1.53±0.12 <sup>a</sup>	2.52±0.39	1.48±0.22 <sup>a</sup>
		6h	2.62±0.10 <sup>b</sup>	2.83±0.48	2.68±0.12 <sup>bc</sup>
		8h	2.25±0.32 <sup>ab</sup>	2.37±0.47	2.75±0.18 <sup>bc</sup>
		10h	3.16±0.09 <sup>c</sup>	2.12±0.48	3.17±0.11 <sup>c</sup>
		12h	2.25±0.32 <sup>ab</sup>	1.87±0.36	3.24±0.22 <sup>c</sup>
		18h	2.25±0.16 <sup>ab</sup>	1.94±0.35	3.52±0.28 <sup>c</sup>
		24h	2.07±0.19 <sup>ab</sup>	2.01±0.21	3.31±0.11 <sup>c</sup>
하대		2h	2.62±0.02 <sup>a</sup>	4.07±0.35 <sup>a</sup>	2.01±0.44 <sup>a</sup>
		4h	3.45±0.03 <sup>b</sup>	4.99±0.44 <sup>ab</sup>	3.05±0.25 <sup>b</sup>
		6h	3.32±0.01 <sup>b</sup>	7.02±0.45 <sup>c</sup>	5.96±0.12 <sup>c</sup>
		8h	4.13±0.02 <sup>c</sup>	7.91±0.25 <sup>c</sup>	5.87±0.24 <sup>c</sup>
		10h	4.21±0.01 <sup>c</sup>	8.02±0.12 <sup>c</sup>	6.11±0.12 <sup>c</sup>
		12h	4.96±0.01 <sup>cd</sup>	7.01±0.33 <sup>c</sup>	6.23±0.11 <sup>c</sup>
		18h	5.64±0.01 <sup>d</sup>	5.85±0.41 <sup>b</sup>	5.70±0.12 <sup>c</sup>
		24h	7.40±0.01 <sup>e</sup>	4.98±0.27 <sup>ab</sup>	6.09±0.13 <sup>c</sup>



[그림 5] 녹용 부위별 제조시간에 따른 콜라겐 함량 변화

### 3. 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 항산화 활성 분석

가열 시간별 녹용 첨가 부위에 따른 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕의 항산화활성 분석 결과는 표 11과 12에 나타내었다. 본 연구결과 녹용 부위를 달리하여 가열 시간대 별로 분석한 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕의 경우 hydroxyl radical에 대한 소거능은 보이지 않았다 (data not shown). 반면 표 11에서 보는바와 같이 DPPH radical scavenging activity의 경우는 가열 시간 및 녹용 첨가부위별로 차이를 보였는데, 전반적으로 볼 때 녹용 전 부위 및 녹용 상대를 첨가하였을 경우 녹용 중대 및 녹용 하대 첨가시보다 더 높은 항산화 활성을 보였다. 특히 십전대보탕 및 총명탕의 경우, 녹용 첨가부위와 상관없이 가열 8~10 범위에서 가장 높은 항산화 활성을 보였다. 사물탕은 녹용 전 부위 또는 중대 첨가 시에는 가열 4~6시간 범위에서 가장 큰 항산화활성을 나타낸 반면, 녹용 상대 혹은 하대 첨가 시에는 가열 10~12 범위에서 가장 높은 DPPH radical scavenging activity를 나타냈다. 가열 시간별 녹용 첨가 부위에 따른 십전대보탕, 사물탕 및 총명탕의 alkyl radical scavenging activity 분석 결과는 표 12와 같다. alkyl radical scavenging activity의 경우도 DPPH radical scavenging activity와 유사한 경향성을 보였는데, 녹용 부위별로는 녹용 상대, 전 부위, 중대 및 하대로 갈수록 항산화 활성이 낮아지는 경향을 보였으며, 가열시간별 살펴보았을 때, 십전대보탕의 경우 녹용 첨가 부위와 상관없이 가열 8~10시간이 가장 큰 항산화 활성을 보였다. 총명탕의 경우도 십전대보탕과 유사한 결과를 보였으며, 사물탕의 경우는 녹용 전 부위 또는 중대를 첨가하였을 때 가열 6시간, 녹용 상대 혹은 하대 첨가 시 가열 8~12시간 범위에서 가장 큰 alkyl radical scavenging activity를 보였다.

표 11. 녹용 부위를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕의 DPPH radical scavenging activity ( $IC_{50}$ , mg/ml)

녹용 부위	가열 시간	Sample		
		십전대보탕	사물탕	총명탕
전부위	2h	0.541	0.248	0.367
	4h	0.356	<b>0.230</b>	0.468
	6h	0.398	<b>0.186</b>	0.545
	8h	<b>0.209</b>	0.265	<b>0.327</b>
	10h	<b>0.219</b>	0.269	<b>0.308</b>
	12h	0.276	0.315	0.406
	18h	0.458	0.347	0.388
	24h	0.576	0.324	0.683
D P P H r a d i c a l scavenging activity	2h	0.448	0.277	0.398
	4h	0.408	0.254	0.534
	6h	0.311	0.247	0.525
	8h	<b>0.132</b>	0.283	<b>0.266</b>
	10h	<b>0.171</b>	<b>0.216</b>	0.334
	12h	0.254	0.334	0.468
	18h	0.478	0.331	0.408
	24h	0.556	0.361	0.691
( I C <sub>50</sub> , mg/ml)	2h	0.632	0.218	0.335
	4h	0.304	0.206	0.401
	6h	0.485	<b>0.124</b>	0.565
	8h	<b>0.285</b>	0.247	0.387
	10h	<b>0.267</b>	0.321	<b>0.282</b>
	12h	<b>0.297</b>	0.296	0.343
	18h	0.438	0.362	0.367
	24h	0.596	0.287	0.675
중대	2h	0.494	0.501	0.545
	4h	0.487	0.357	0.437
	6h	0.363	0.249	0.431
	8h	<b>0.299</b>	0.353	<b>0.338</b>
	10h	0.400	<b>0.183</b>	0.476
	12h	0.352	<b>0.199</b>	0.356
	18h	0.410	0.393	0.391
	24h	0.454	0.397	0.398
하대	8h	<b>0.299</b>	0.353	<b>0.338</b>
	10h	0.400	<b>0.183</b>	0.476
	12h	0.352	<b>0.199</b>	0.356
	18h	0.410	0.393	0.391
	24h	0.454	0.397	0.398

표 12. 녹용 부위를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕의 alkyl radical scavenging activity ( $IC_{50}$ , mg/ml)

녹용 부위	가열 시간	Sample		
		십전대보탕	사물탕	총명탕
전부위	2h	0.639	0.665	0.504
	4h	0.652	0.584	0.403
	6h	0.648	<b>0.380</b>	0.616
	8h	<b>0.363</b>	0.494	<b>0.267</b>
	10h	<b>0.374</b>	0.421	<b>0.299</b>
	12h	0.473	0.340	0.348
	18h	0.566	0.453	0.335
	24h	0.558	0.443	0.401
alkyl radical scavenging activity ( $IC_{50}$ , mg/ml)	2h	0.535	0.713	0.616
	4h	0.669	0.594	0.475
	6h	0.684	0.477	0.786
	8h	<b>0.353</b>	<b>0.304</b>	<b>0.255</b>
	10h	<b>0.372</b>	<b>0.310</b>	<b>0.319</b>
	12h	0.445	<b>0.234</b>	0.373
	18h	0.636	0.401	0.315
	24h	0.665	0.406	0.435
상대	2h	0.742	0.617	0.392
	4h	0.635	0.574	0.330
	6h	0.611	<b>0.282</b>	0.446
	8h	<b>0.373</b>	0.684	<b>0.279</b>
	10h	<b>0.376</b>	0.532	<b>0.279</b>
	12h	0.501	0.446	0.322
	18h	0.496	0.504	0.355
	24h	0.451	0.480	0.367
중대	2h	0.736	0.451	0.421
	4h	0.864	0.499	<b>0.311</b>
	6h	<b>0.511</b>	0.616	<b>0.313</b>
	8h	<b>0.546</b>	<b>0.377</b>	0.415
	10h	0.580	<b>0.369</b>	0.447
	12h	0.618	<b>0.318</b>	0.825
	18h	0.711	0.444	0.659
	24h	0.721	0.589	0.353
하대	2h	0.736	0.451	0.421
	4h	0.864	0.499	<b>0.311</b>
	6h	<b>0.511</b>	0.616	<b>0.313</b>
	8h	<b>0.546</b>	<b>0.377</b>	0.415
	10h	0.580	<b>0.369</b>	0.447
	12h	0.618	<b>0.318</b>	0.825
	18h	0.711	0.444	0.659
	24h	0.721	0.589	0.353

#### 4. 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킨 항산화 기능성이 향상된 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 기술 개발 및 표준화 방안 제시

이상의 결과들을 종합하여 판단해볼 때, 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시 녹용의 첨가량은 경제성 등으로 고려할 때 1첩, 즉 3.75g이 가장 적절하며, 녹용 부위 및 가열 시간대별로 살펴보았을 때, 녹용에 함유되어 있는 다양한 생리활성 성분의 손실을 최소화함과 동시에 항산화활성을 극대화시키기 위해서는 녹용 전 부위 혹은 상대를 첨가하여 제조하였을 경우 가열 시간은 6~8시간, 중대 및 하대 첨가 시에는 가열 시간이 8~12시간 정도가 적합할 것으로 사료된다.

### 제 3협동과제 : 원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명

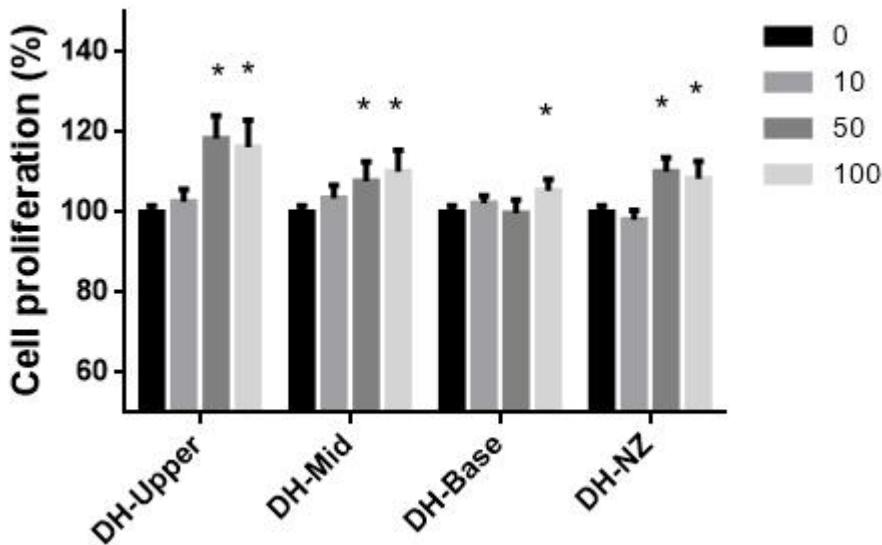
#### [1차년도]

##### ○ 녹용의 골성장에 대한 효능 평가

###### 1. 인간 골육종 세포인 MG-63 세포에서의 증식 효능 평가

MG63 세포에 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을 각각 100, 50, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 투여 후 BrdU kit를 이용하여 세포증식률을 측정하였다. 그 결과 아무 것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 1.6\%$ 의 세포증식률을 나타내었으며, 대조군으로서 뉴질랜드산 녹용 상대 추출물을 10, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리한 실험군은 각각  $98.1 \pm 2.4\%$ ,  $110.2 \pm 3.5\%$ , 및  $108.4 \pm 4.4\%$ 의 세포증식률을 나타내었다. 녹용 상대 추출물을 10, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리한 실험군은 각각  $102.6 \pm 3.2\%$ ,  $118.4 \pm 5.8\%$ , 및  $116.3 \pm 6.7\%$ 의 세포증식률을 나타내었으며, 녹용 중대 추출물을 10, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리한 실험군은 각각  $103.5 \pm 3.3\%$ ,  $107.8 \pm 4.9\%$ , 및  $110.2 \pm 5.3\%$ 의 세포증식률을 나타내었으며, 녹용 하대 추출물을 10, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리한 실험군은 각각  $102.3 \pm 1.8\%$ ,  $99.8 \pm 3.3\%$ , 및  $105.4 \pm 2.9\%$ 의 세포증식률을 나타내었다.

이상의 실험에서 녹용을 투여한 실험군은 모든 농도에서 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해 세포증식률이 증가하는 경향을 나타내었으며, 특히 뉴질랜드산 및 국산 녹용 상대 및 중대 50 및 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  투여군, 그리고 하대 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  투여군에서는 통계적으로 유의한 증식률을 나타내었다. 그 중 상대는 뉴질랜드산 상대에 비해서도 통계적으로 유의한 증식 효과를 나타내었다.



<녹용 시료가 골육종 세포인 MG63 세포의 증식에 미치는 영향>

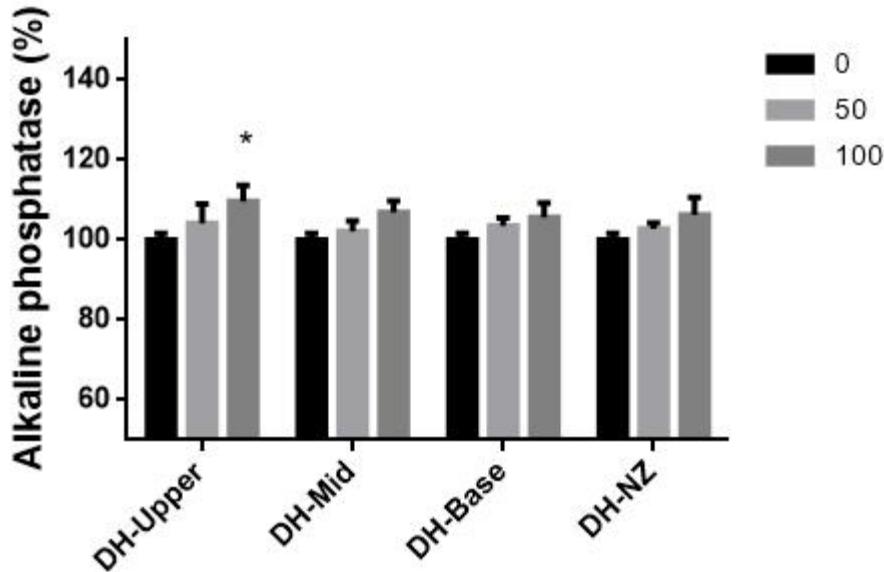
### ○ 녹용의 골성장에 대한 기전 평가

#### 1. ALP 발현에 대한 효과

MG63 세포를 12well plate에  $5 \times 10^4$ 개씩 분주하여 24시간 배양하였다. 이후 Osteogenic medium ( $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  ascorbic acid, 10 mM beta-glycerophosphate, and 5 nM dexamethasone in DMEM)으로 배지를 교체한 후 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드상대의 추출물을 각각 50 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하였다. 다시 24시간 배양 후 배지를 제거하고 PBS로 세척하였다. 0.1% Triton X-100을 각 well에 0.5 ml씩 넣어 프로테인을 추출한 후 13,000 rpm으로 원심분리하여 상층액을 취하였다. 이후 기질액(22.4mM p-nitrophenyl phosphate in 2M diethanolamine pH 9.8 with 1mM MgCl<sub>2</sub>)에 원심분리한 시료를 첨가한 후 405 nM 흡광도에서 30분간 측정값의 기울기를 계산하였다.

그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 1.7\%$ 의 ALP 활성을 나타내었으며, 뉴질랜드 상대 추출물 50 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $102.8 \pm 1.5\%$  및  $106.3 \pm 4.4\%$ 의 ALP 활성을 나타내었다. 녹용 상대 추출물 50 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $104.2 \pm 4.8\%$  및  $109.7 \pm 3.9\%$ 의 ALP 활성을 나타내었으며, 녹용 중대 추출물 50 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $102.1 \pm 2.7\%$  및  $106.9 \pm 2.9\%$ 의 ALP 활성을 나타내었고, 녹용 하대 추출물 50 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $103.5 \pm 2.0\%$  및  $105.6 \pm 3.7\%$ 의 ALP 활성을 나타내었다.

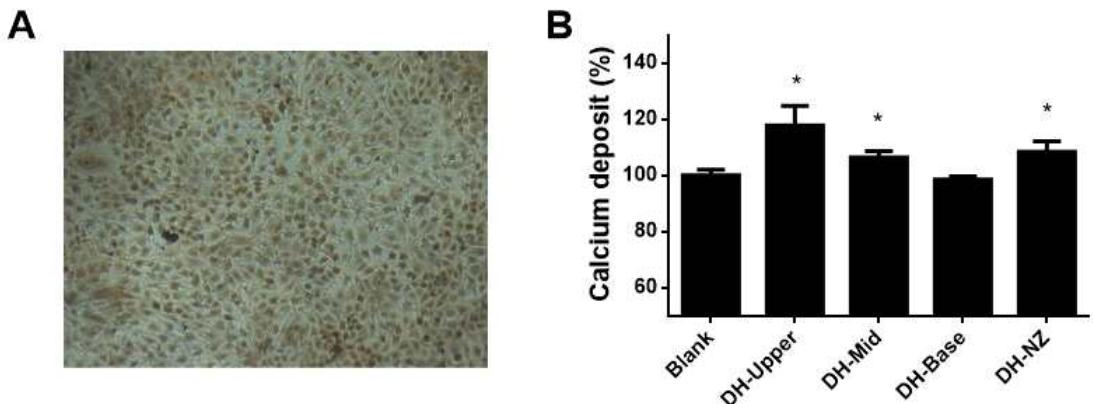
이상의 실험에서 녹용을 투여한 실험군은 모든 농도에서 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해 ALP 활성이 증가하는 경향을 나타내었으며, 특히 국산 녹용 상대  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 통계적으로 유의하게 ALP 활성을 증가시켰다.



<녹용 시료가 MG63 세포주에서의 ALP 발현에 미치는 영향>

## 2. Calcium 침착에 대한 효과

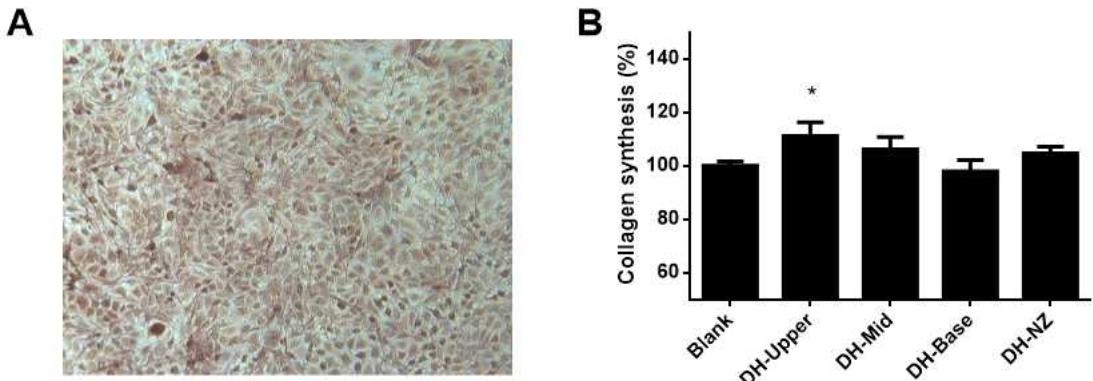
MG63 세포를 12well plate에  $5 \times 10^4$ 개씩 분주하여 24시간 배양하였다. 이후 Osteogenic medium으로 배지를 교체한 후 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하고 격일로 배지 및 추출물을 교체하면서 7일간 배양하였다. 배양된 세포를 PBS로 세척한 후 10% formaldehyde 용액으로 15분간 고정하였다. 고정된 세포는 2%의 Alizarin Red (Sigma, USA)용액으로 20분간 염색하였으며, 이후 10% 아세트산으로 녹여서 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 2.0\%$ 의 칼슘 침착을 나타내었으며, 뉴질랜드 상대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $108.4 \pm 3.7\%$ 의 칼슘 침착을 나타내었다. 녹용 상대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $117.8 \pm 7.0\%$ 의 칼슘 침착을 나타내었으며, 녹용 중대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $106.4 \pm 2.3\%$ 의 칼슘 침착을 나타내었고, 녹용 하대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $98.5 \pm 1.1\%$ 의 칼슘 침착을 나타내었다. 이상의 실험에서 뉴질랜드 녹용 상대 및 국산 녹용 상대와 중대를 투여한 실험군에서 통계적으로 유의한 칼슘 침착 증가를 확인할 수 있었다.



<녹용 시료가 칼슘의 침착에 미치는 영향>

### 3. Collagen 발현에 대한 효과

MG63 세포를 12well plate에  $5 \times 10^4$ 개씩 분주하여 24시간 배양하였다. 이후 Osteogenic medium으로 배지를 교체한 후 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 투여하고 격일로 배지 및 추출물을 교체하면서 7일간 배양하였다. 배양된 세포를 PBS로 세척한 후 8.3% 포름 알데하이드 및 4.8%의 아세트산을 함유한 포화 피크릭산 용액으로 1시간동안 고정하였다. 고정된 세포는 0.1% Sirius Red (Sigma, USA)를 함유한 포화 피크릭산 용액으로 30분간 염색하였으며 이후 0.1 M HCL용액으로 세척하였다. 염색된 콜라겐은 0.5 M NaOH 용액으로 녹여낸 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 1.6\%$ 의 콜라겐을 생성하였으며, 뉴질랜드 상대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 을 투여한 실험군은  $104.7 \pm 2.5\%$ 의 콜라겐을 생성하였다. 녹용 상대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 을 투여한 실험군은  $111.2 \pm 5.1\%$ 의 콜라겐을 생성하였으며, 녹용 중대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 을 투여한 실험군은  $106.2 \pm 4.6\%$ 의 콜라겐을 생성하였고, 녹용 하대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 을 투여한 실험군은  $97.9 \pm 4.3\%$ 의 콜라겐을 생성하였다. 이상의 실험에서 국산 녹용 상대를 투여한 실험군에서 통계적으로 유의하게 콜라겐의 생성량을 증가시켰음을 확인할 수 있었다.



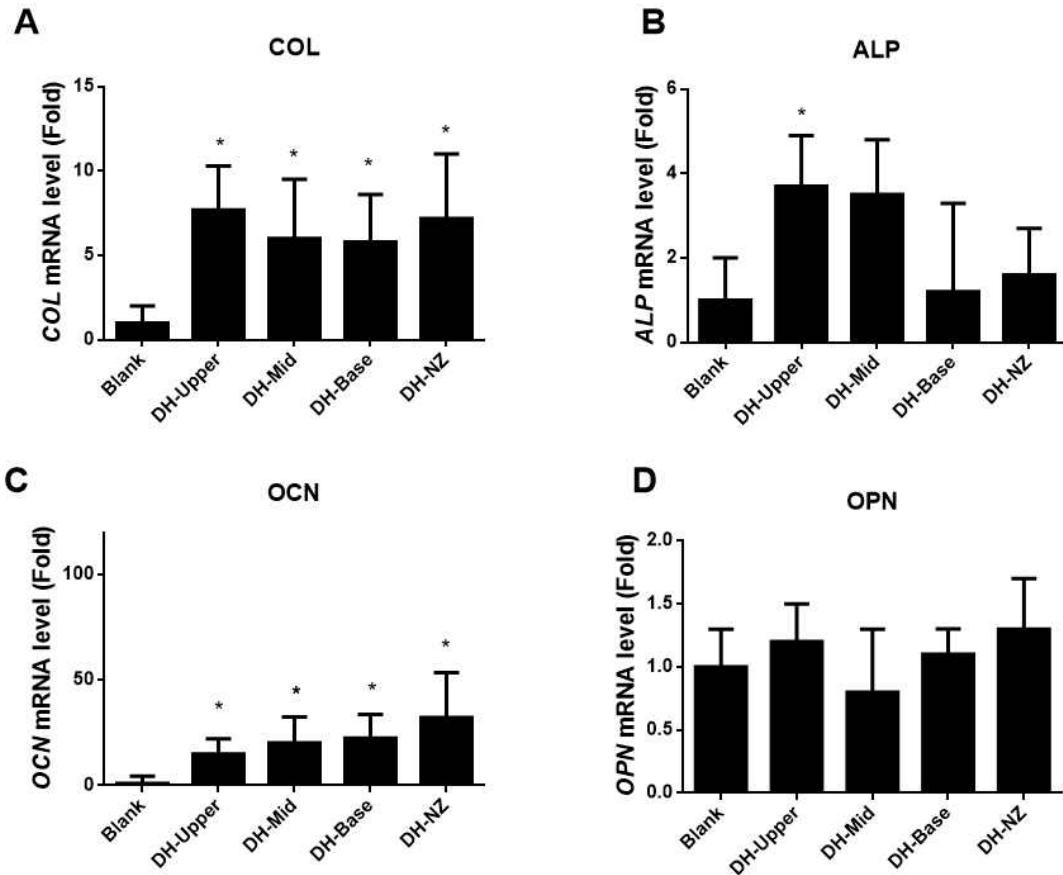
<녹용 시료가 콜라겐 생성에 미치는 영향>

#### 4. RNA 발현에 대한 효과

성장 관련 유전자 발현에 대하여 녹용 시료의 효능을 확인하기 위하여 RealTime PCR 방법을 이용하여 RNA의 발현량을 확인하였다. MG63 세포를 6 well plate에  $1 \times 10^5$ 개씩 분주하여 24시간 배양하였다. 이후 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하여 다시 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후 배지를 제거한 다음 RNA를 추출하여 cDNA를 합성하였다. 각 시료는 CYBR Green RealTime PCR Kit (Qiagen, USA)를 이용하여 Collagen (COL), Alkaline phosphatase (ALP), Osteocalcin (OCN), Osteopontin (OPN)의 유전자 발현 정도를 Realtime PCR로 분석하였다. 그 결과 뉴질랜드 상대 추출물을 처리한 실험군의 COL 유전자의 발현 양상은 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해  $7.2 \pm 3.8$ 배로 유전자 발현이 증가하였으며, 녹용 상대, 중대 및 하대의 추출물을 처리한 실험군은 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해 각각  $7.7 \pm 2.6$ 배,  $6.0 \pm 3.5$ 배, 및  $5.8 \pm 2.8$ 배로 유전자 발현이 증가하였다. 뉴질랜드 상대 추출물을 처리한 실험군의 ALP 유전자의 발현 양상은 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해  $1.6 \pm 1.1$ 배의 유전자 발현량을 나타내었으며, 녹용 상대, 중대 및 하대의 추출물을 처리한 실험군은 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해 각각  $3.7 \pm 1.2$ 배,  $3.5 \pm 1.3$ 배, 및  $1.2 \pm 2.1$ 배의 유전자 발현량을 나타내었다. 뉴질랜드 상대 추출물을 처리한 실험군의 OCN 유전자의 발현 양상은 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해  $32.2 \pm 21.4$ 배의 유전자 발현량을 나타내었으며, 녹용 상대, 중대 및 하대의 추출물을 처리한 실험군은 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해 각각  $15.0 \pm 7.1$ 배,  $20.2 \pm 12.4$ 배, 및  $22.5 \pm 11.2$ 배의 유전자 발현량을 나타내었다. 뉴질랜드 상대 추출물을 처리한 실험군의 OPN 유전자의 발현 양상은 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해  $1.3 \pm 0.4$ 배의 유전자 발현량을 나타내었으며, 녹용 상대, 중대 및 하대의 추출물을 처리한 실험군은 아무것도 처리하지 않은 실험군에 비해 각각  $1.2 \pm 0.3$ 배,  $0.8 \pm 0.5$ 배, 및  $1.1 \pm 0.2$ 배의 유전자 발현량을 나타내었다.

이상의 결과, COL 및 OCN 유전자는 모든 시료 처리군에서 통계적으로 유의하게 발현량이

증가하였으며, ALP는 국산 상대 추출물 투여의 경우 통계적으로 유의한 유전자 발현 증가를 확인할 수 있었다. OPN은 모든 시료 처리군에서 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수 없었다.

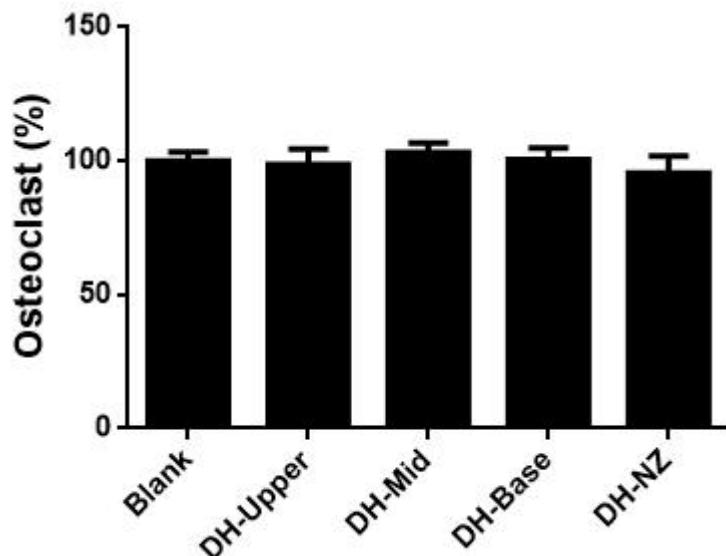


<녹용 시료가 골 생성 관련 유전자 발현에 미치는 영향>

## 5. 파골세포 분화에 대한 효과

마우스를 희생시킨 후 대퇴골로부터 골수세포를 분리하여 alpha-MEM 배지를 이용하여 3일간 배양하였다. 이후 골수세포로부터 파골세포로의 분화를 유도하기 위해 RANKL이 함유된 alpha-MEM 배지로 교체하고 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하여 다시 4일간 배양하였다. 각 세포를 고정액으로 고정한 후 TRAP 염색 키트인 387-A kit (Sigma, USA)를 사용하여 염색한 후 파골세포로 분화된 세포 수를 측정하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 3.3\%$ 의 파골세포 분화율을 나타내었으며, 뉴질랜드 상대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $95.6 \pm 6.2\%$ 의 파골세포 분화율을 나타내었다. 녹용 상대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $98.7 \pm 5.9\%$ 의 파골세포 분화율을 나타내었으며, 녹용 중대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $103.2 \pm 3.5\%$ 의 파골세포 분화율을 나타내었고, 녹용 하대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $100.6 \pm 4.3\%$ 의

파골세포 분화율을 나타내었다. 이상의 실험 결과 모든 녹용 처리군에서 통계적으로 유의한 파골세포 분화율에 대한 효과는 확인할 수 없었다.

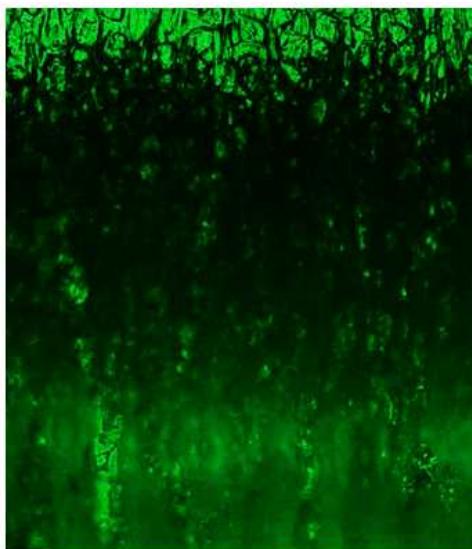
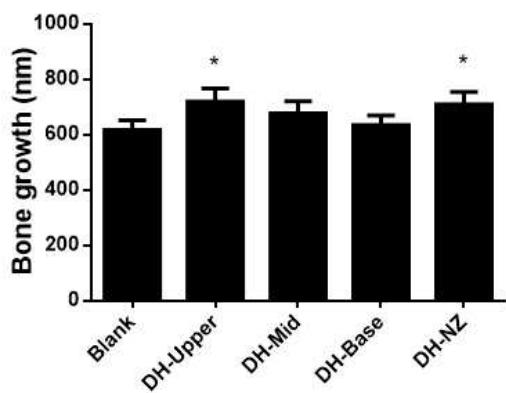


<녹용 시료가 파골세포의 분화에 미치는 영향>

## 6. 녹용의 성장기 흰쥐 장골 길이 생장에 대한 효능 평가

실험동물은 8 마리씩 나누어 3일간 환경에 적응 시킨 후 5일간 각 시료 100 mg/kg을 경구투여 하였다. 실험 종료 1일 전 각 실험동물에게 calcein (10 mg/kg)을 복강주사하여 형광 표식을 하여 추후 장골의 길이 성장을 확인할 수 있도록 하였다. 실험 종료일에 각 동물을 chloral hydrate (純正化學, Japan, 35.0 mg/kg, i.p.)로 마취시켜 개흉한 다음, 우심이를 절개하고 needle (No. 18)을 좌심실에 주입한 후 혈관을 처리된 5% sodium nitrite (Sigma, U.S.A.) 생리식염수를 심장에 관류시키고, 이어서 0.1 M phosphate buffer에 녹인 pH 7.4의 4.0% formalin 고정액으로 관류시켰다. 그 후 흰쥐의 좌우 족경골 (tibia)를 떼어내어 2시간 동안 0.1 M phosphate buffered formalin 고정액에 후고정시킨 다음, 50 mM EDTA에 2-3일 동안 방치하여 탈회 후, 동결에 대한 보호를 위해 30% sucrose에 담가 4 °C에서 하룻밤동안 유지하였다. 고정된 골조직을 동결한 후 sliding microtome (HM440E, Zeiss, Germany)을 사용하여 족경골 (tibia) 근위 (proximal part)부의 시상절편 (sagittal section)을 매 40 μm씩 수집하였다. 매 40 μm로 수집된 족경골 근위부 시상절편을 슬라이드 글라스 위에 올리고 건조한 후 형광현미경을 이용하여 자외선조사에 따른 골 조직 내 테트라사이클린의 침착으로 형성된 선과 성장판 하단 사이의 길이를 측정하여 1일간의 골 성장 지표로 사용하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은 617.4 ± 34.2 nm의 골길이 성장을 나타내었으며, 뉴질랜드 상대 추출물 100 μg/ml을 투여한 실험군은 709.7 ± 44.6 nm의 골길이 성장을 나타내었다. 녹용 상대 추출물 100 μg/ml을 투여한 실험군은 718.6 ± 48.6 nm의 골길이 성장을 나타내었으며, 녹용 중대 추출물 100 μg/ml을 투여

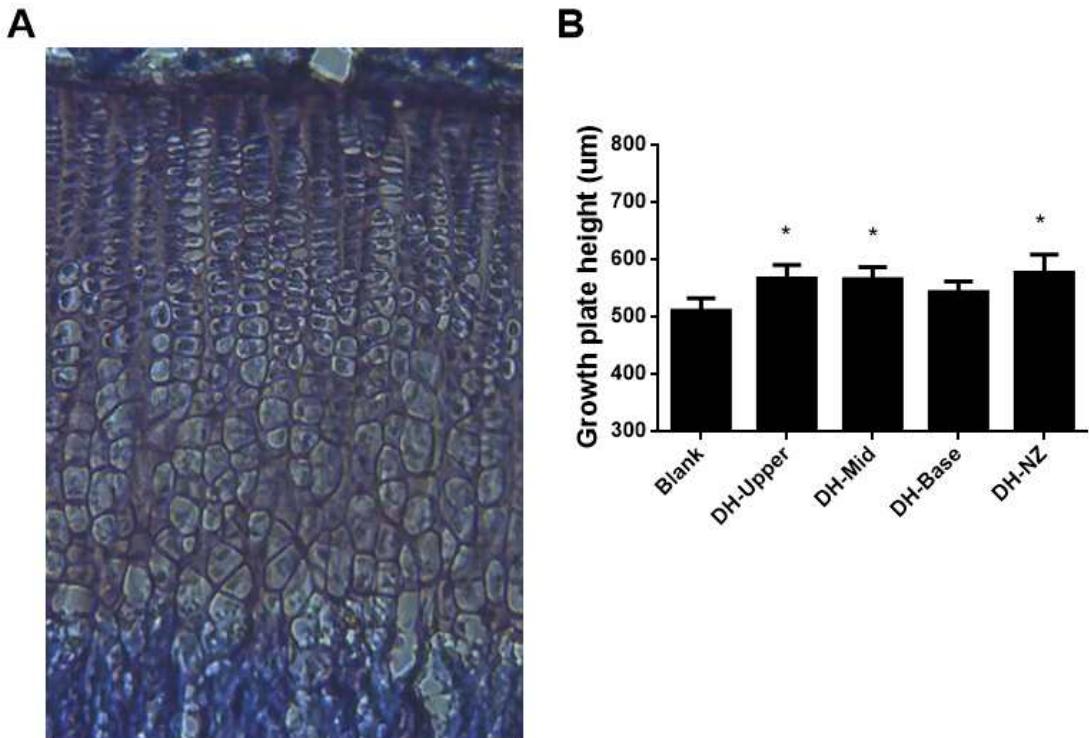
한 실험군은  $676.5 \pm 35.2$  nm의 골길이 성장을 나타내었고, 녹용 하대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $634.2 \pm 35.2$  nm의 골길이 성장을 나타내었다. 이상의 실험에서 녹용 시료를 투여한 모든 실험군에서 장골의 길이가 증가하는 경향성을 나타내었으며 특히 뉴질랜드 녹용 상대 및 국산 녹용 상대를 투여한 실험군에서 통계적으로 유의한 골길이 성장 효과를 확인할 수 있었다.

**A****B**

<녹용 시료가 성장기 흰 쥐 장골 길이 성장에 미치는 영향>

## 7. 녹용의 성장판 길이 생장에 대한 효능 평가

상기와 같이 처리된 골조직에 cresyl violet 염색을 하여 성장판의 길이 생장을 측정하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $511.2 \pm 21.6$  nm의 성장판 길이 생장을 나타내었으며, 뉴질랜드 상대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $577.4 \pm 31.4$  nm의 성장판 길이 생장을 나타내었다. 녹용 상대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $567.4 \pm 23.4$  nm의 성장판 길이 생장을 나타내었으며, 녹용 중대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $566.2 \pm 20.6$  nm의 성장판 길이 생장을 나타내었고, 녹용 하대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $543.3 \pm 18.7$  nm의 성장판 길이 생장을 나타내었다. 이상의 실험에서 녹용 시료를 투여한 모든 실험군에서 성장판의 길이가 증가하는 경향성을 나타내었으며 특히 뉴질랜드 녹용 상대, 국산 녹용 상대, 및 중대를 투여한 실험군에서 통계적으로 유의한 성장판 길이 생장 효과를 확인할 수 있었다.

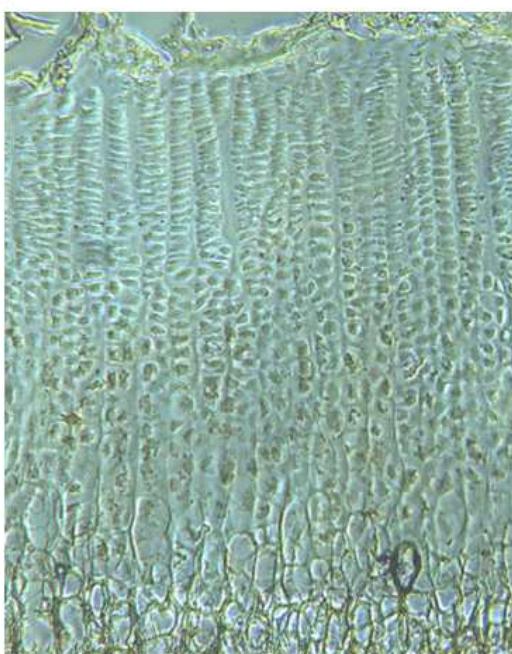
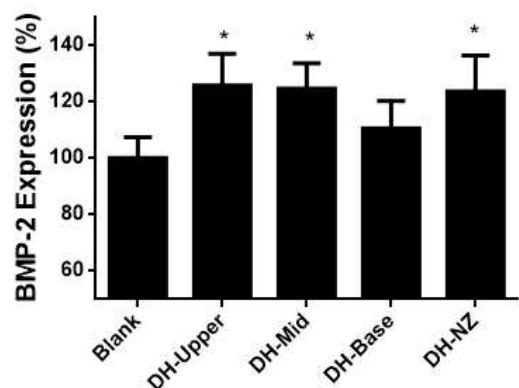


<녹용 시료가 성장기 흰 쥐의 성장판 길이 생장에 미치는 영향>

#### 8. 녹용의 BMP-2 발현에 대한 효능 평가

녹용의 BMP-2 발현에 대한 효능을 평가하기 위하여 상기와 같이 40  $\mu\text{m}$ 로 준비된 조직절편을 사용하였다. 면역염색에 사용된 1차 항체는 BMP-2 antibody (Santa Cruz Biotech., U.S.A.) 와 IGF-1 antibody (Santa Cruz Biotech., U.S.A.)를 사용하였고, secondary antibody로는 각각 anti-goat antibody (Vector Lab, U.S.A.)와 anti-rabbit antibody (Vector Lab, U.S.A.)를 사용하였고, Vectastatin elite ABC kit (Vector Lab, U.S.A.)를 사용하였다. 실험방법은 조직 절편들을 0.1M PBS (phosphate-buffered saline, pH 7.2)에 5분 동안 담그고, Triton-X 100 용액 (Sigma, U.S.A.)에서 15분간 2회, 0.1M PBS + 0.5% BSA (Bovine Serum Albumin, Sigma, U.S.A.)에서 15분간 2회 씻어낸 다음, 1차 항체와 함께 상온에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 다음 날 15분간 2회 0.1 M PBS + 0.5% BSA에서 행군 다음 그 section을 60분간 secondary antibody와 함께 반응시키고, 다시 0.1 M PBS + 0.5% BSA로 15분간 2회 행군 후 60분 동안 ABC (avidin-biotin-peroxidase) 복합체를 1:50의 농도로 첨가하여 상온에서 반응시켰다. 각 조직절편들을 0.1 M PB로 15분간 2회 수세한 다음 최종적으로 0.05%의 DAB (3,3-diaminobenzidine, Sigma, U.S.A.)과 0.03% 과산화수소가 있는 0.1 M PB에 반응시켰다. 발색된 후 0.1 M PB에 각 조직절편을 넣어 반응을 중지한 뒤 슬라이드표본으로 제작하여 관찰하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 7.4\%$ 의 BMP-2 발현 양상을 나타내었으며, 뉴질랜드 상대 추출물 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $123.6 \pm 12.8\%$ 의 BMP-2 발

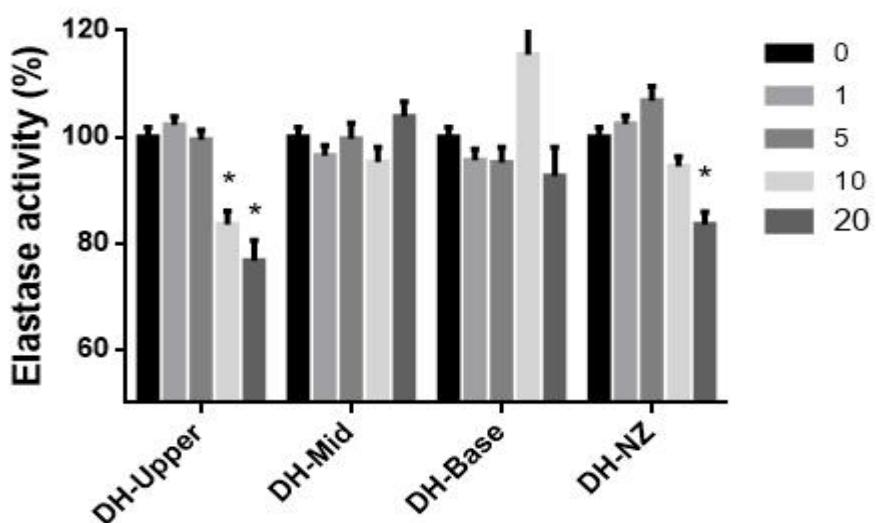
현 양상을 나타내었다. 녹용 상대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $125.8 \pm 11.2\%$ 의 BMP-2 발현 양상을 나타내었으며, 녹용 중대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $124.7 \pm 8.9\%$ 의 BMP-2 발현 양상을 나타내었고, 녹용 하대 추출물  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은  $110.5 \pm 9.8\%$ 의 BMP-2 발현 양상을 나타내었다. 이상의 결과에서 녹용 시료를 투여한 모든 실험군에서 BMP-2의 발현이 증가하는 경향성을 나타내었으며 특히 뉴질랜드 녹용 상대, 국산 녹용 상대, 및 중대를 투여한 실험군에서 통계적으로 유의하게 BMP-2의 발현이 증가되었음을 확인할 수 있었다.

**A****B**

<녹용 시료가 BMP-2 발현에 미치는 영향>

## 9. 녹용의 피부 관련 인자인 Elastase 분비에 대한 효능 평가

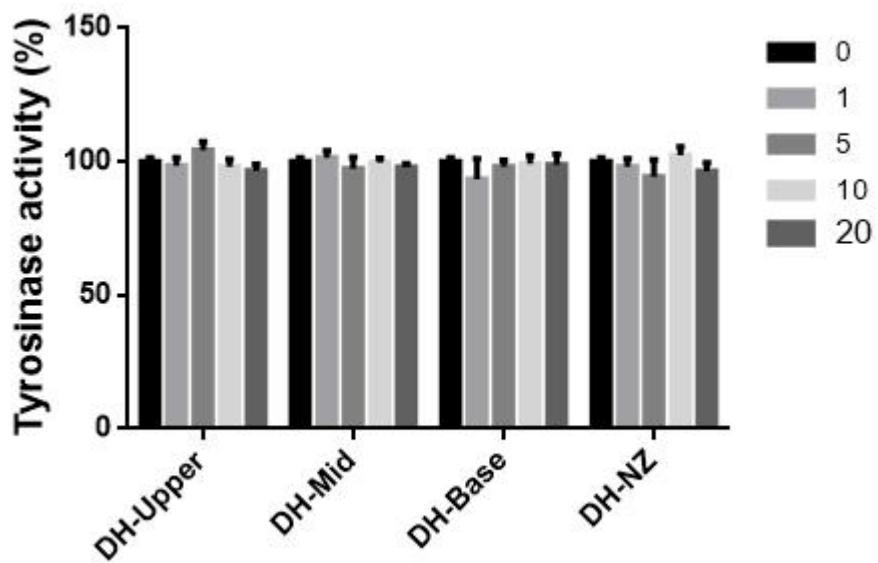
96 well plate에 substrate 용액 (2mM N-Succinyl-Ala-Ala-Ala -p-nitroanilide)를  $100\mu\text{l}$ 씩 분주한 후 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드 상대의 추출물을 1, 5, 10, 및 20  $\text{mg}/\text{ml}$ 의 농도로 만들어  $50\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 그 후 Elastase를 200배 희석하여 각 well에  $50\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 각 plate를 410 nm에서 측정한 후  $36^\circ\text{C}$ 에서 15분간 반응시킨 후 다시 흡광도를 측정, 처음 값과의 차이를 계산하여 엘라스타제 억제 효과를 측정하였다. 그 결과, 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 1.8\%$ 의 Elastase 활성을 나타내었으며, 뉴질랜드 상대 추출물 1, 5, 10, 및 20  $\text{mg}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $102.4 \pm 1.6\%$ ,  $106.8 \pm 2.7\%$ ,  $94.5 \pm 1.8\%$ , 및  $83.6 \pm 2.3\%$ 의 Elastase 활성을 나타내었다. 국산 녹용 상대 추출물 1, 5, 10, 및 20  $\text{mg}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $102.3 \pm 1.5\%$ ,  $99.5 \pm 1.8\%$ ,  $83.5 \pm 2.6\%$ , 및  $76.7 \pm 3.9\%$ 의 Elastase 활성을 나타내었으며, 국산 녹용 중대 추출물 1, 5, 10, 및 20  $\text{mg}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $96.5 \pm 1.9\%$ ,  $99.7 \pm 2.9\%$ ,  $95.3 \pm 2.8\%$ , 및  $103.8 \pm 2.8\%$ 의 Elastase 활성을 나타내었고, 국산 녹용 하대 추출물 1, 5, 10, 및 20  $\text{mg}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $95.6 \pm 2.1\%$ ,  $95.2 \pm 2.9\%$ ,  $115.5 \pm 11.2\%$ , 및  $92.7 \pm 5.4\%$ 의 Elastase 활성을 나타내었다. 이상의 결과에서 뉴질랜드 녹용 상대 20  $\text{mg}/\text{ml}$  및 국산 녹용 상대 10 및 20  $\text{mg}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군에서 통계적으로 유의한 Elastase 활성 억제 효과를 확인할 수 있었다.



<녹용 시료의 Elastase 활성 억제 효과>

## 10. 녹용의 피부 관련 인자인 타이로시나제 분비에 대한 효능 평가

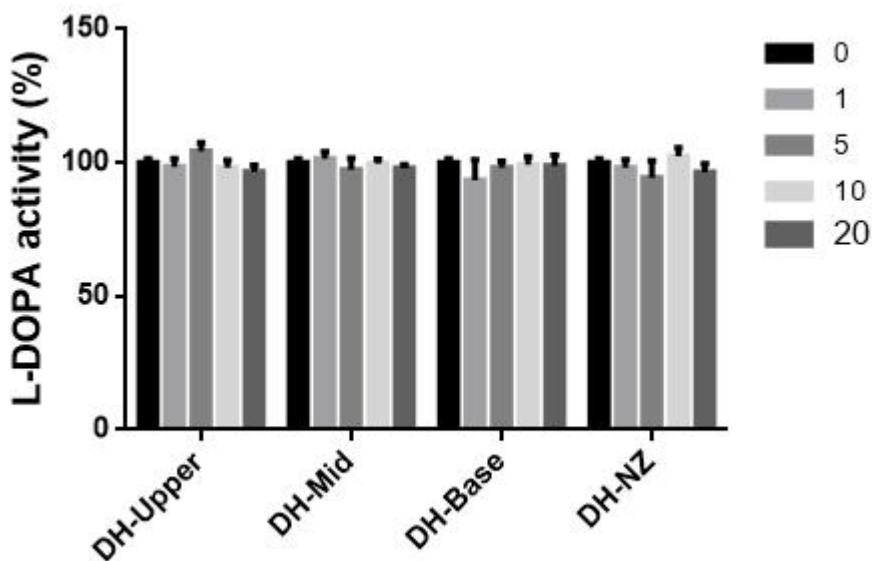
96 well plate에 0.1M PB 용액을  $110\mu\text{l}$ 씩 분주하고 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 의 농도로 만들어  $10\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 이후 2000 U/ml의 mushroom tyrosinase 시약을  $10\mu\text{l}$  첨가하고 490 nm에서 흡광도 측정하였다. 이후 1.5 mM의 L-tyrosine 시약을  $20\mu\text{l}$  씩 첨가하고 10분동안 반응시킨 후 다시 흡광도를 측정하여 이전값과의 차이로 타이로시나제 활성을 측정하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 1.6\%$ 의 Tyrosinase 활성을 나타내었으며, 뉴질랜드 상대 추출물 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $98.1 \pm 3.0\%$ ,  $94.3 \pm 6.5\%$ ,  $102.4 \pm 3.3\%$ , 및  $96.4 \pm 3.3\%$ 의 Tyrosinase 활성을 나타내었다. 국산 녹용 상대 추출물 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $98.5 \pm 2.9\%$ ,  $104.3 \pm 3.1\%$ ,  $98.1 \pm 2.8\%$ , 및  $96.7 \pm 2.4\%$ 의 Tyrosinase 활성을 나타내었으며, 국산 녹용 중대 추출물 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $101.5 \pm 2.5\%$ ,  $97.3 \pm 4.4\%$ ,  $99.7 \pm 1.6\%$ , 및  $97.9 \pm 1.3\%$ 의 Tyrosinase 활성을 나타내었고, 국산 녹용 하대 추출물 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $93.4 \pm 7.7\%$ ,  $98.2 \pm 2.3\%$ ,  $99.2 \pm 3.1\%$ , 및  $98.8 \pm 4.0\%$ 의 Tyrosinase 활성을 나타내었다. 이상의 실험 결과 녹용 추출물의 투여로 인해 통계적으로 유의한 Tyrosinase 활성 억제 효과를 확인할 수 없었다.



<녹용 시료의 Tyrosinase 활성 억제 효과>

## 11. 녹용의 피부 관련 인자인 DOPA 활성에 대한 효능 평가

96 well plate에 0.1M PB 용액을  $170\mu\text{l}$ 씩 분주하고 녹용 상대, 중대, 하대 및 대조군으로서 뉴질랜드산 상대의 추출물을 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 의 농도로 만들어  $10\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 이후 2000 U/ml의 mushroom tyrosinase 시약을  $10\mu\text{l}$  첨가하고 490 nm에서 흡광도 측정하였다. 이후 6 mM의 L-DOPA 시약을  $20\mu\text{l}$  씩 첨가하고 10분동안 반응시킨 후 다시 흡광도를 측정하여 이전값과의 차이로 DOPA 활성을 측정하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 9.0\%$ 의 DOPA 활성을 나타내었으며, 뉴질랜드 상대 추출물 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $104.3 \pm 4.4\%$ ,  $92.8 \pm 14.2\%$ ,  $120.4 \pm 21.3\%$ , 및  $94.8 \pm 10.5\%$ 의 DOPA 활성을 나타내었다. 국산 녹용 상대 추출물 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $97.5 \pm 12.0\%$ ,  $103.2 \pm 4.8\%$ ,  $108.7 \pm 11.4\%$ , 및  $102.3 \pm 10.8\%$ 의 DOPA 활성을 나타내었으며, 국산 녹용 중대 추출물 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $108.6 \pm 5.6\%$ ,  $126.9 \pm 21.5\%$ ,  $116.4 \pm 16.9\%$ , 및  $115.8 \pm 23.4\%$ 의 DOPA 활성을 나타내었고, 국산 녹용 하대 추출물 1, 5, 10, 및  $20\text{ mg/ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $90.4 \pm 14.8\%$ ,  $112.9 \pm 11.3\%$ ,  $85.8 \pm 18.7\%$ , 및  $102.3 \pm 12.4\%$ 의 DOPA 활성을 나타내었다. 이상의 실험 결과 녹용 추출물의 투여로 인해 통계적으로 유의한 DOPA 활성 억제 효과를 확인할 수 없었다.



<녹용 시료의 L-DOPA 활성 억제 효과>

## ○ 녹용 응용 제품의 효능 평가

### 1. 녹용 가공 초리를 위한 시료의 추출, 농축 및 동결 건조

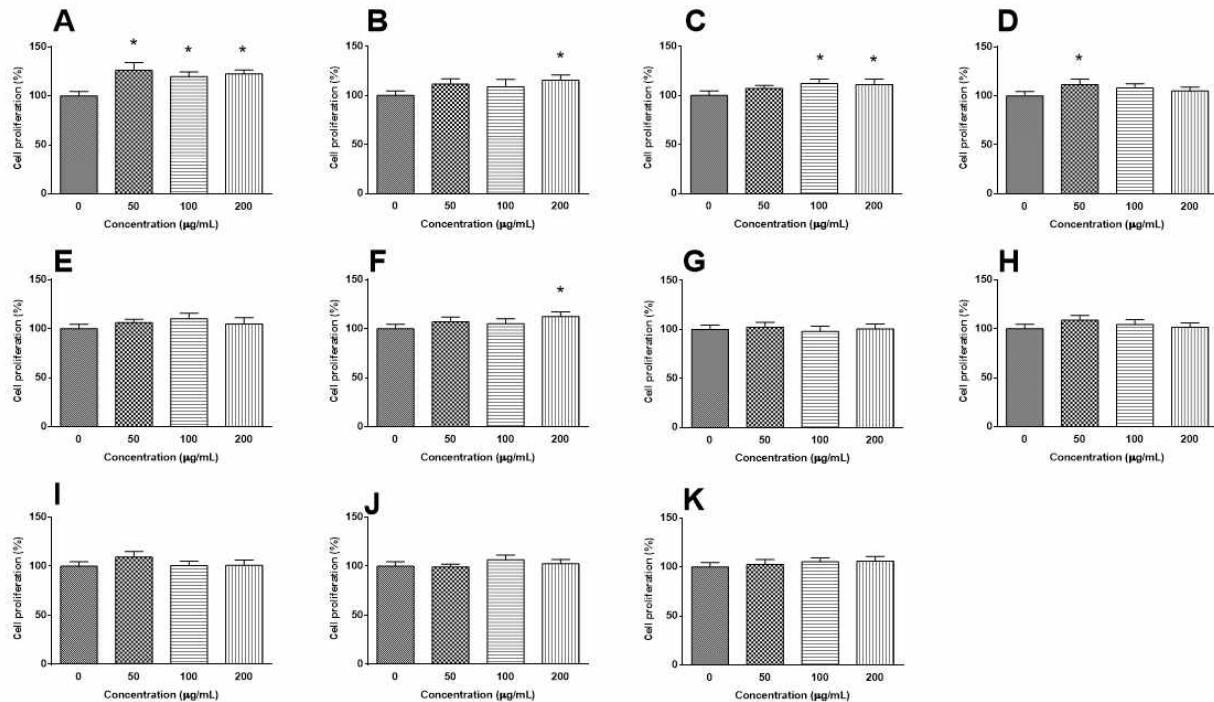
70% EtOH, 및 D.W.에 추출 및 동결건조 하여 시료 제조하였다. 이후 녹용 시료에 10 종의 효소를 2%의 농도로 반응시킨 후 70% EtOH로 추출 및 동결건조 하여 시료로서 사용하였다.

구분	추출 방법	수율 (%)
D.W.	D.W.로 추출	7.4
EtOH	70% EtOH로 추출	26.1
1	Alcalase 효소처리 후 70% EtOH로 추출	6.0
2	Flavourzyme 효소처리 후 70% EtOH로 추출	5.1
3	Neutrase 효소처리 후 70% EtOH로 추출	6.4
4	Protamex 효소처리 후 70% EtOH로 추출	5.2
5	AMG 효소처리 후 70% EtOH로 추출	20.8
6	Celluclast 효소처리 후 70% EtOH로 추출	13.2
7	Termamyl 효소처리 후 70% EtOH로 추출	12.5
8	Ultraflo max 효소처리 후 70% EtOH로 추출	12.8
9	Viscozyme 효소처리 후 70% EtOH로 추출	16.7
10	Novozym33095 효소처리 후 70% EtOH로 추출	17.9

<녹용 가공 처리를 위해 사용한 효소>

## 2. 시료의 대식 세포에 대한 증식 효능 평가

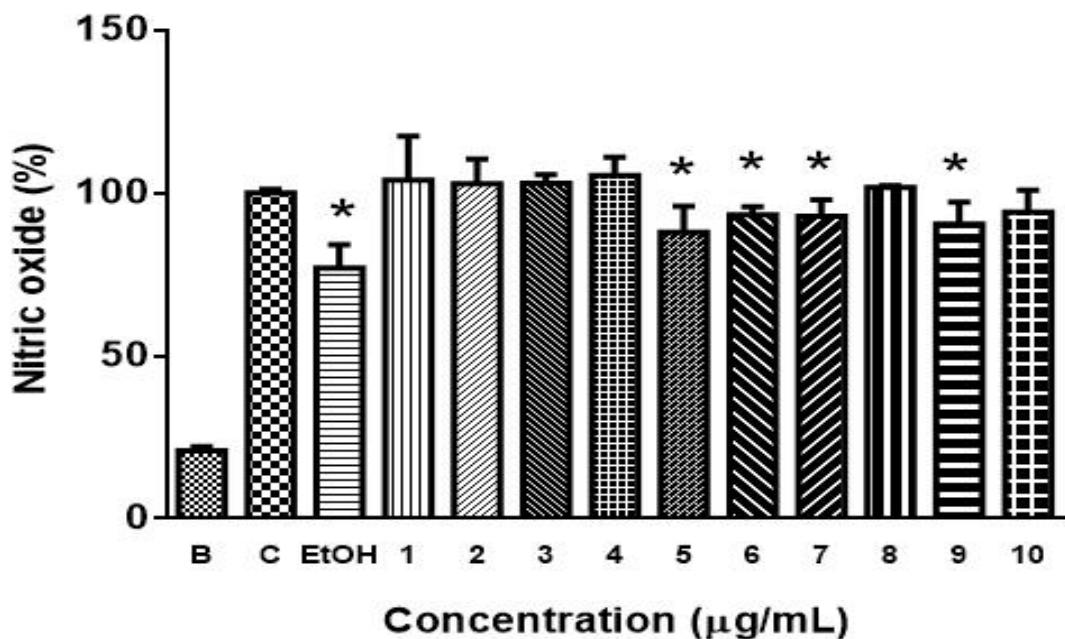
각 시료를 대식세포주인 RAW 264.7 세포에 농도별로 처리한 후 BrdU Labeling 방법을 이용한 세포 독성 및 세포 증식에 대한 효능을 평가하였다. 그 결과 에탄올 추출물 및 Alcalase, Flavourzyme, Neutrase, AMG 처리군에서 세포 증식능이 증가하였다.



<녹용 시료가 대식세포주인 RAW 264.7 세포의 증식에 미치는 영향>

### 3. 시료의 NO 발현 억제에 대한 효능 평가

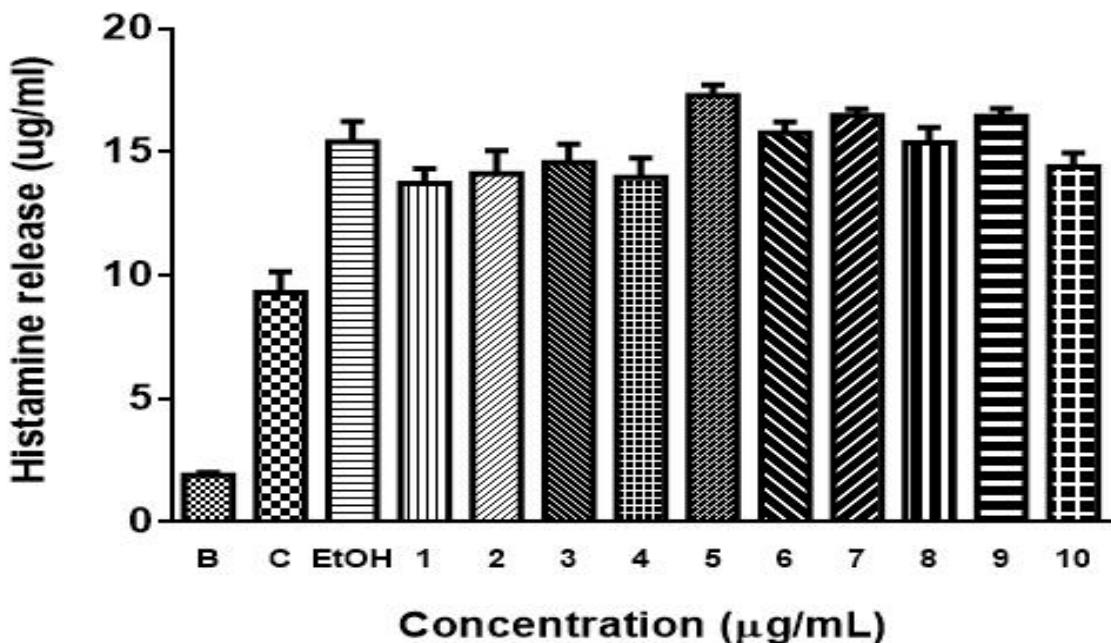
200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 각 시료를 RAW 264.7 대식 세포에 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. 이후 Nitric oxide의 생성량을 측정한 결과 LPS로 NO 생성을 유발한 실험군은  $100 \pm 1.2\%$ 의 NO 발생량을 나타내었으며, 아무것도 처리하지 않은 군은  $20.9 \pm 1.2\%$ 를 나타내었다. 에탄올 추출물은  $76.8 \pm 7.2\%$ 를 나타내었고, AMG ( $87.8 \pm 8.1\%$ ), Celluclast ( $93.3 \pm 2.4\%$ ), Termamyl ( $92.8.8 \pm 5.1\%$ ), 및 Viscozyme ( $90.5 \pm 6.6\%$ )를 처리한 후 추출한 실험군에서 유효한 NO 억제 효과를 나타내었다.



<녹용 시료의 Nitric Oxide 제거효과>

### 4. 시료의 히스타민 분비에 대한 억제 효능 평가

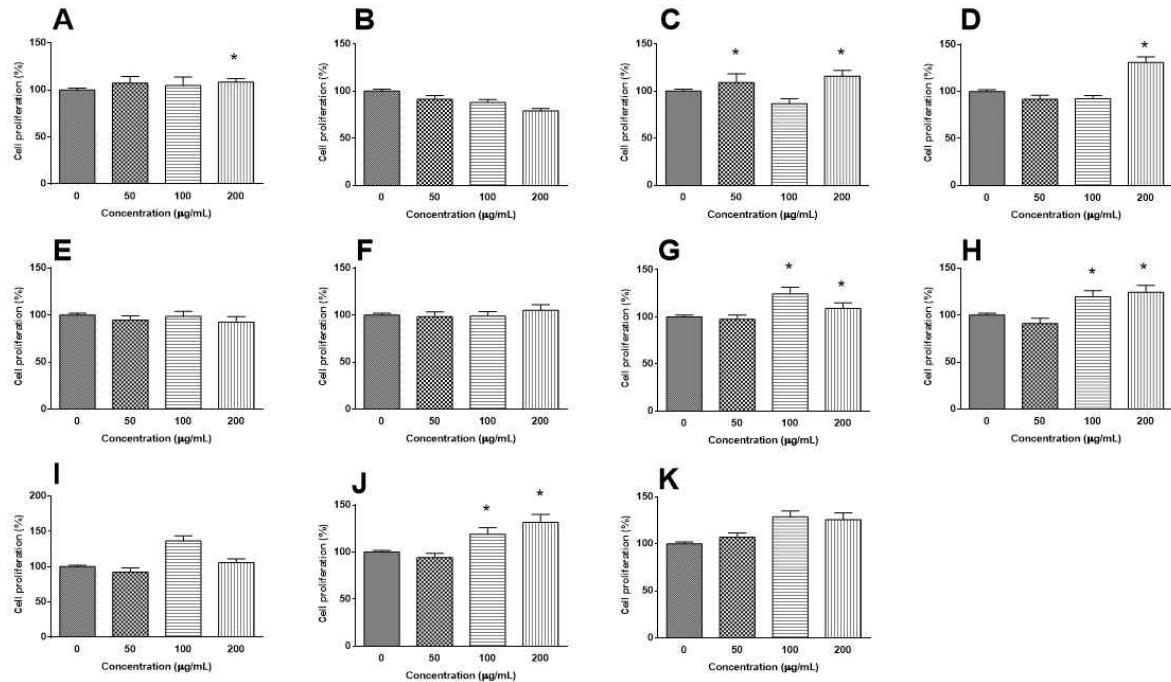
각 시료 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 Human Mast Cell에 투여한 후 compound 48/80으로 히스타민 분비를 유도하였다. 그 결과 유의하게 히스타민 분비를 억제하는 실험군은 확인할 수 없었다.



<녹용 시료의 Histamine 분비 억제 효과>

##### 5. 시료의 조골 세포에 대한 증식 효능 평가

각 시료를 조골세포주인 MG-63 세포에 농도별로 처리한 후 BrdU Labeling 방법을 이용한 세포 독성 및 세포 증식에 대한 효능을 평가하였다. 그 결과 에탄올 추출물 및 Flavourzyme, Neutrerase, Celluclast, Termamyl, Ultraflo max, Viscozyme, Novozym33095 처리군에서 세포 증식 능이 증가하였다.



<녹용 시료가 조골세포인 MG-63 세포의 증식에 미치는 영향>

## [2차년도]

### ○ 녹용의 골다공증에 대한 효능 평가

#### 1. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Bone alkaline phosphatase (BALP) 분비에 대한 효과

노년기 흰쥐 골다공증 실험 모델에서의 녹용의 효능을 평가하기 위하여 골다공증 질환 동물 모델로서 폐경기 이후 골다공증 질환 실험 모델인 난소 적출 실험동물 모델을 이용하였다. Bluegene (Shanghai, China)사의 BALP Elisa kit를 사용하여 BALP의 양을 측정한 결과 가수술만 진행한 Sham군은  $90.5 \pm 6.6$  U/L의 분비량을 나타내었으며 난소를 적출한 OVX 실험군은  $140.3 \pm 10.9$  U/L의 분비량을 나타내었고, 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군은 각각  $128.9 \pm 7.9$  및  $111.5 \pm 4.9$  U/L의 분비량을 나타내었다. 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군은 OVX군에 비하여 각각 8.1 및 20.5%의 BALP 감소량을 나타내어 농도 의존적으로 BALP의 발현을 억제하였으며, 특히 100 mg/kg을 투여한 실험군에서는 통계적으로 유의한 BALP 감소량을 나타내었다 (그림 1).

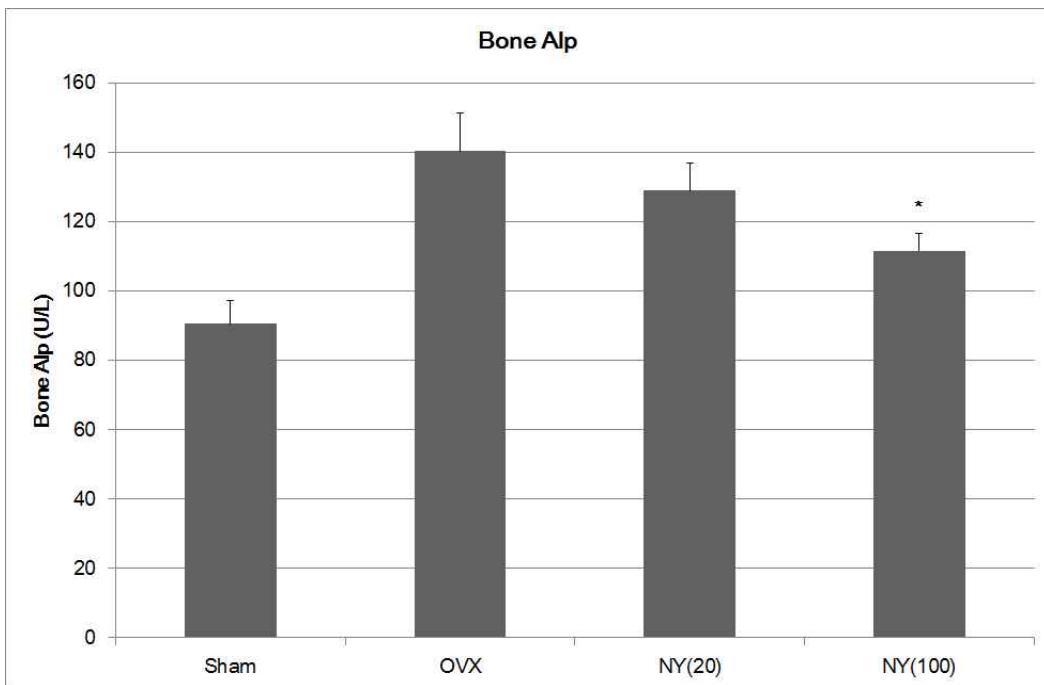


그림 1. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Bone alkaline phosphatase (BALP) 분비에 대한 효과. 녹용 투여군은 농도 의존적으로 BALP의 발현을 억제하였으며, 특히 100 mg/kg을 투여한 실험군에서는 통계적으로 유의한 BALP 감소량을 나타내었다 ( $p<0.05$ ). Sham : 가수술 실험군; OVX : 난소 적출군; NY(20) : 녹용 20 mg/kg 투여군; NY(100) : 녹용 100 mg/kg 투여군

## 2. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 C-terminal telopeptide (CTX) 분비에 대한 효과

골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 CTX 분비에 대한 효과를 확인하기 위하여 CUSABIO사의 CTX Elisa kit를 사용하여 CTX의 양을 측정한 결과 가수술만 진행한 Sham군은  $32.1 \pm 2.4$  ng/ml의 분비량을 나타내었으며 난소를 적출한 OVX 실험군은  $92.3 \pm 10.2$  ng/ml의 분비량을 나타내었고, 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군은 각각  $85.1 \pm 10.5$  및  $51.9 \pm 7.0$  ng/ml의 분비량을 나타내었다. 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군은 OVX군에 비하여 각각 7.8 및 43.8%의 CTX 감소량을 나타내어 농도 의존적으로 CTX의 발현을 억제하였으며, 특히 100 mg/kg을 투여한 실험군에서는 통계적으로 유의한 CTX 감소량을 나타내었다 (그림 2).

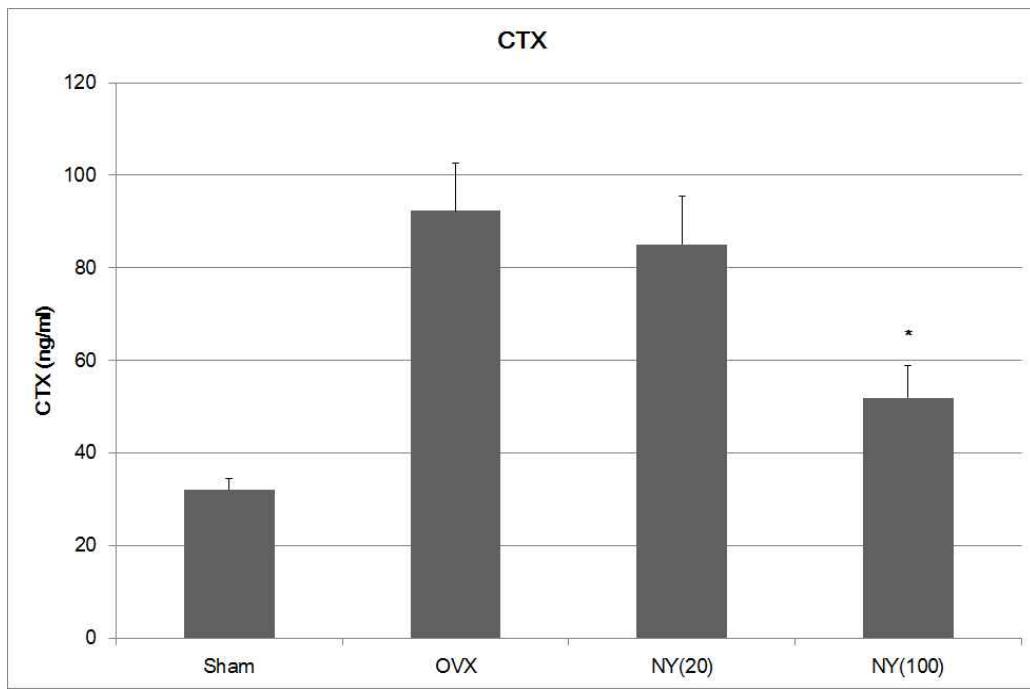


그림 2. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 C-terminal telopeptide (CTX) 분비에 대한 효과. 녹용 투여군은 농도 의존적으로 CTX의 발현을 억제하였으며, 특히 100 mg/kg을 투여한 실험군에서는 통계적으로 유의한 CTX 감소량을 나타내었다 ( $p<0.05$ ). Sham : 가수술 실험군; OVX : 난소 적출군; NY(20) : 녹용 20 mg/kg 투여군; NY(100) : 녹용 100 mg/kg 투여군

### 3. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Osteocalcin (OC) 분비에 대한 효과

골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 OC 분비에 대한 효과를 확인하기 위하여 Bluegene (Shanghai, China)사의 Osteocalcin Elisa kit를 사용하여 OC의 양을 측정하였다. 그 결과 가수술만 진행한 Sham군은  $49.4 \pm 2.8$  ng/ml의 분비량을 나타내었으며 난소를 적출한 OVX 실험군은  $73.9 \pm 6.8$  ng/ml의 분비량을 나타내었고, 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군은 각각  $92.0 \pm 8.0$  및  $88.0 \pm 7.6$  ng/ml의 분비량을 나타내었다. 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군에서 난소적출 실험군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수 없었다 (그림 3).

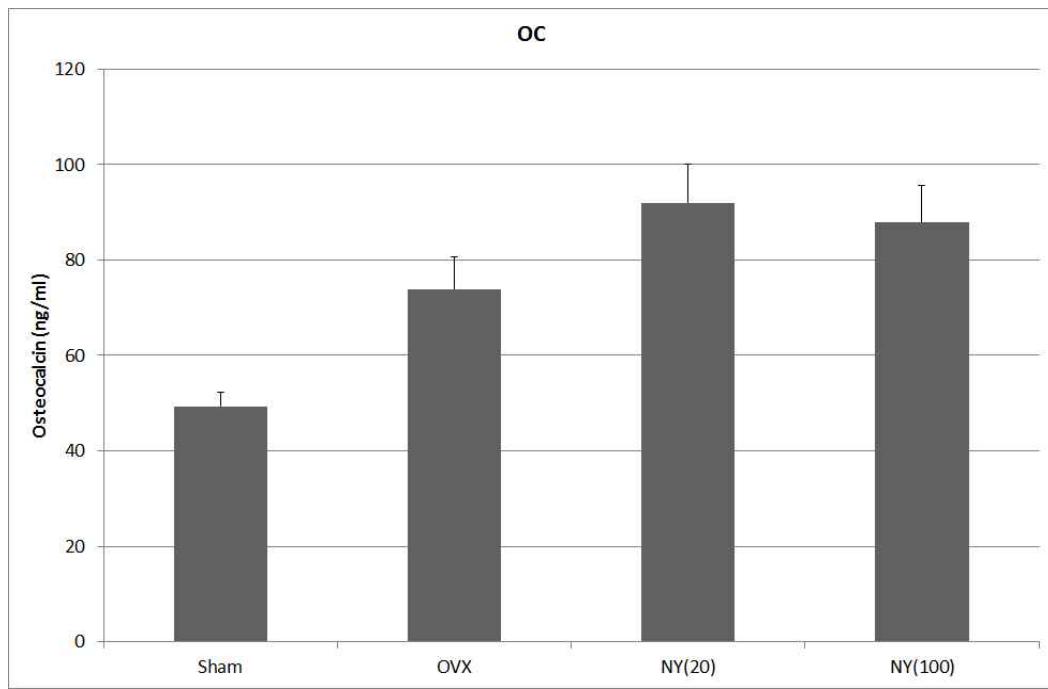


그림 3. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Osteocalcin (OC) 분비에 대한 효과. 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군에서 난소적출 실험군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 확인 할 수 없었다. Sham : 가수술 실험군; OVX : 난소 적출군; NY(20) : 녹용 20 mg/kg 투여군; NY(100) : 녹용 100 mg/kg 투여군

#### 4. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Tartrate-resistant acid phosphatase-5b (TRACP 5b) 발현에 대한 효과

골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 TRACP 5b 발현에 대한 효과를 확인하기 위하여 CUSABIO사의 TRACP 5b Elisa kit를 사용하여 TRACP 5b의 양을 측정하였다. 그 결과, 가수술만 진행한 Sham군은  $1.09 \pm 0.04$  U/L의 분비량을 나타내었으며 난소를 적출한 OVX 실험군은  $1.49 \pm 0.1$  U/L의 분비량을 나타내었고, 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군은 각각  $1.44 \pm 0.05$  및  $1.25 \pm 0.05$  U/L의 분비량을 나타내었다. 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군에서 난소적출 실험군에 비하여 통계적으로 유의한 차이는 나지 않았으나 농도의 준적으로 TRACP 5b의 발현을 억제하는 경향을 확인할 수 있었다 (그림 4).

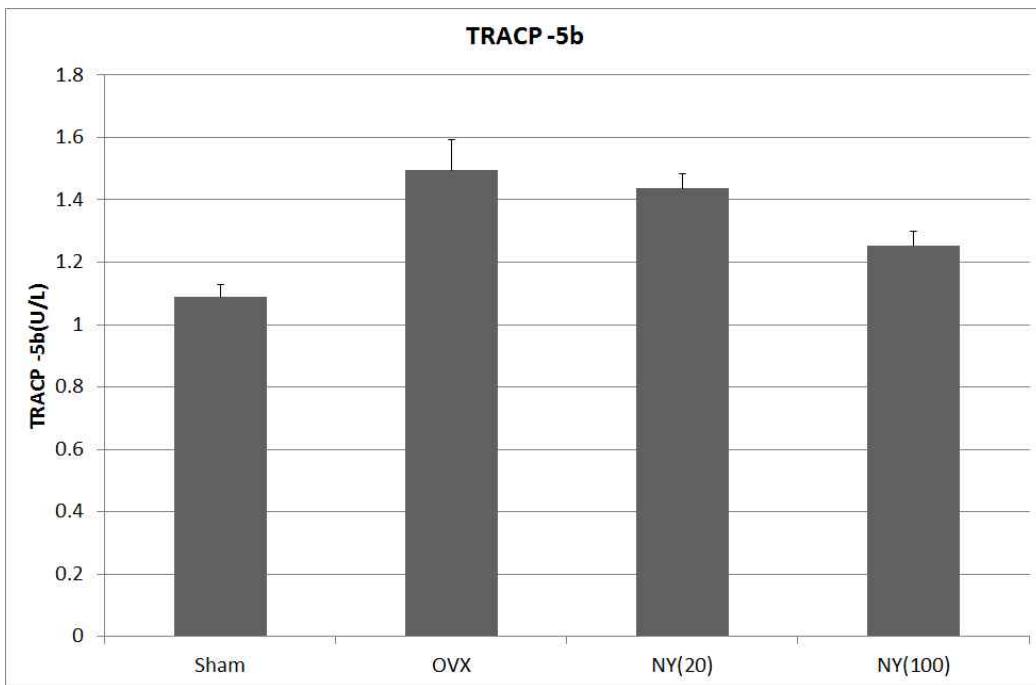


그림 4. 골다공증 모델에서의 녹용 섭취에 의한 Tartrate-resistant acid phosphatase-5b (TRACP 5b) 발현에 대한 효과. 녹용 20 및 100 mg/kg을 투여한 실험군에서 난소적출 실험군에 비하여 통계적으로 유의한 차이는 나지 않았으나 농도의존적으로 TRACP 5b의 발현을 억제하는 경향을 확인할 수 있었다. Sham : 가수술 실험군; OVX : 난소 적출군; NY(20) : 녹용 20 mg/kg 투여군; NY(100) : 녹용 100 mg/kg 투여군

### ○ 녹용의 면역 기능에 대한 효능 평가

#### 1. 녹용의 비장세포 증식 대한 효능 평가

비장은 면역 세포를 생성하며 면역 반응을 유발하는 중요한 기관으로서 비장의 세포를 배양하여 녹용 투여에 의한 면역기능에 대한 효능을 확인하였다. 그 결과 아무것도 처치하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 2.0\%$ 의 세포생존률을 나타내었으며 녹용 시료 10, 20, 50, 및 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $103.4 \pm 2.6$ ,  $104.7 \pm 1.4$ ,  $108.8 \pm 0.7$ , 및  $118.5 \pm 5.2\%$ 의 세포생존률을 나타내었다. 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 비장세포의 세포생존률이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용 50 및 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 통계적으로 유의한 세포 생존률 증가를 나타내었다 (그림 5).

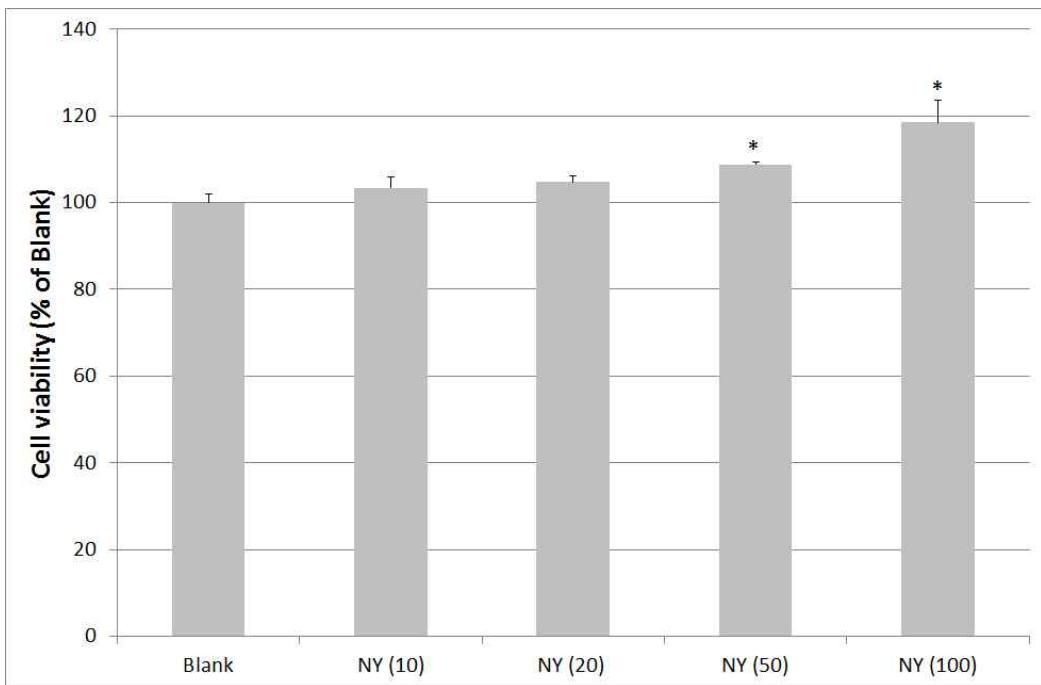


그림 5. 녹용의 비장세포 증식 대한 효능 평가. 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 비장세포의 세포생존률이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용 50 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 통계적으로 유의한 세포 생존률 증가를 나타내었다 ( $p<0.05$ ). Blank : 아무 처리 안한 실험군; NY(10) : 녹용  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(20) : 녹용  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(50) : 녹용  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(100) : 녹용  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군

## 2. 녹용의 골수세포의 증식에 대한 효능 평가

비장은 면역 세포를 생성하며 면역 반응을 유발하는 중요한 기관으로서 비장의 세포를 배양하여 녹용 투여에 의한 면역기능에 대한 효능을 확인하였다. 그 결과 아무것도 치치하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 1.6\%$ 의 세포생존률을 나타내었으며 녹용 시료 10, 20, 50, 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $104.6 \pm 1.5$ ,  $104.5 \pm 1.5$ ,  $125.2 \pm 4.6$ , 및  $146.5 \pm 4.3\%$ 의 세포생존률을 나타내었다. 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 골수세포의 세포생존률이 증가하는 경향을 나타내었으며 모든 녹용 투여군에서 통계적으로 유의한 세포 생존률 증가를 나타내었다 (그림 6).

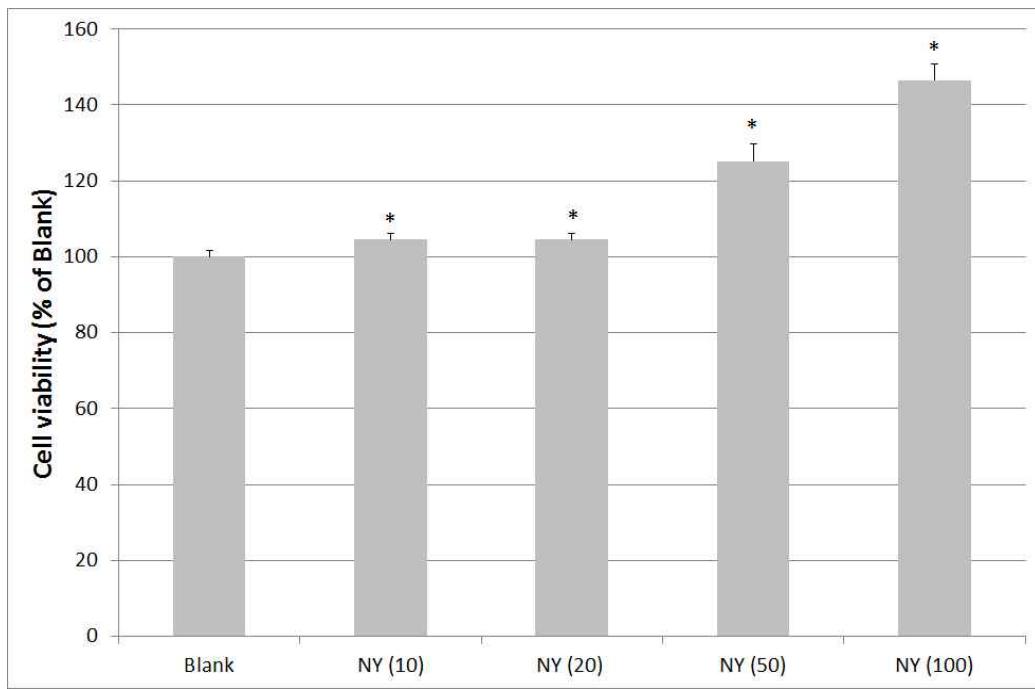


그림 6. 녹용의 골수세포의 증식에 대한 효능 평가. 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 골수세포의 세포생존률이 증가하는 경향을 나타내었으며 모든 녹용 투여군에서 통계적으로 유의한 세포 생존률 증가를 나타내었다 ( $p<0.05$ ). Blank : 아무 처리 안한 실험군; NY(10) : 녹용  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(20) : 녹용  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(50) : 녹용  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(100) : 녹용  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군

### 3. 녹용의 대식세포 증식에 대한 효능 평가

대식세포는 면역 체계에서 중요한 세포로서 식균작용을 통해 자연면역기능을 수행한다. 녹용 투여에 의한 대식세포에서의 증식기능에 대한 효과를 확인하였다. 그 결과 아무것도 처치하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 1.9\%$ 의 세포생존률을 나타내었으며 녹용 시료  $10, 20, 50$ , 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  을 투여한 실험군은 각각  $103.0 \pm 2.7$ ,  $105.0 \pm 2.0$ ,  $107.9 \pm 2.2$ , 및  $101.0 \pm 3.6\%$ 의 세포생존률을 나타내었다. 녹용  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  까지는 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 대식세포의 세포생존률이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용  $20$  및  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 통계적으로 유의한 세포 생존률 증가를 나타내었다 (그림 7).

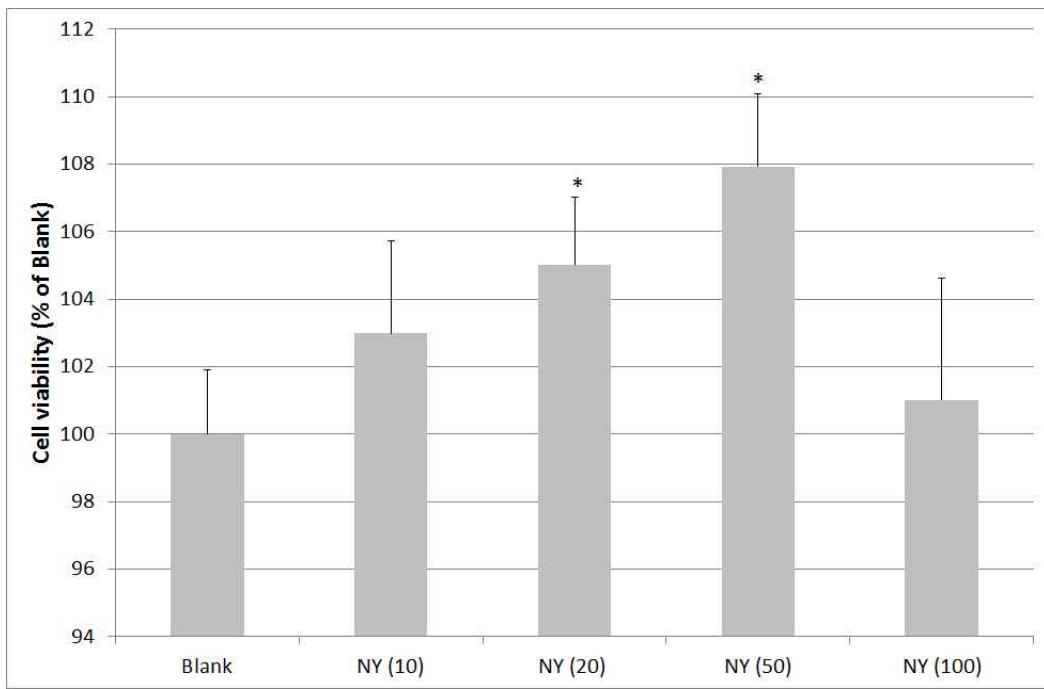


그림 7. 녹용의 대식세포 증식에 대한 효능 평가. 녹용  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  까지는 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 대식세포의 세포생존률이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용 20 및  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 통계적으로 유의한 세포 생존률 증가를 나타내었다 ( $p<0.05$ ). Blank : 아무 처리 안한 실험군; NY(10) : 녹용  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(20) : 녹용  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(50) : 녹용  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(100) : 녹용  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군

#### 4. 녹용의 RAW 264.7세포에서의 일산화질소 (NO) 분비에 대한 효능 평가

RAW 264.7 세포를 이용하여 NO 분비에 대한 녹용의 억제효과를 확인하였다. 그 결과 아무 것도 쳐치하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 3.3\%$ 의 NO 분비를 나타내었으며 녹용 시료 10, 20, 50, 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $100.3 \pm 2.7$ ,  $101.8 \pm 3.1$ ,  $99.7 \pm 1.8$ , 및  $97.7 \pm 1.2\%$ 의 NO 분비를 나타내었다. 녹용 시료 투여에 따른 NO 분비량은 통계적으로 유의한 차이를 확인 할 수 없었으나 농도의존적으로 NO 분비를 억제하는 경향을 확인할 수 있었다 (그림 8).

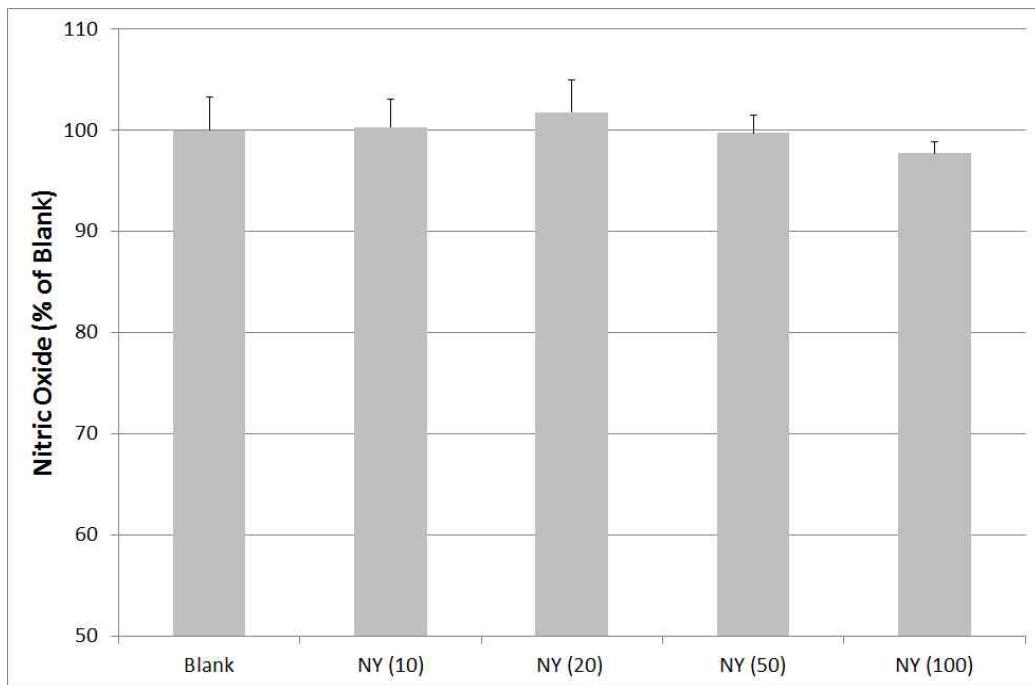


그림 8. 녹용의 RAW 264.7세포에서의 일산화질소 (NO) 분비에 대한 효능 평가. 녹용 시료 투여에 따른 NO 분비량은 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수 없었으나 농도의존적으로 NO 분비를 억제하는 경향을 확인할 수 있었다 ( $p<0.05$ ). Blank : 아무 처리 안한 실험군; NY(10) : 녹용  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(20) : 녹용  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(50) : 녹용  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(100) : 녹용  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군

##### 5. 녹용의 대식세포에서의 식균작용에 대한 효능 평가

녹용의 대식세포에서의 식균작용에 대한 효능을 대식세포인 RAW 264.7 세포를 이용하여 측정하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군은  $100.0 \pm 1.0\%$ 의 식균작용을 나타내었으며 녹용 시료  $10, 20, 50$ , 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 을 투여한 실험군은 각각  $100.0 \pm 1.7, 101.0 \pm 2.4, 108.7 \pm 2.1$ , 및  $116.7 \pm 1.4\%$ 의 식균작용을 나타내었다. 녹용 시료의 투여에 따라 농도의존적으로 식균작용이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용  $50$  및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 통계적으로 유의한 식균작용의 증가를 나타내었다 (그림 9, 10).

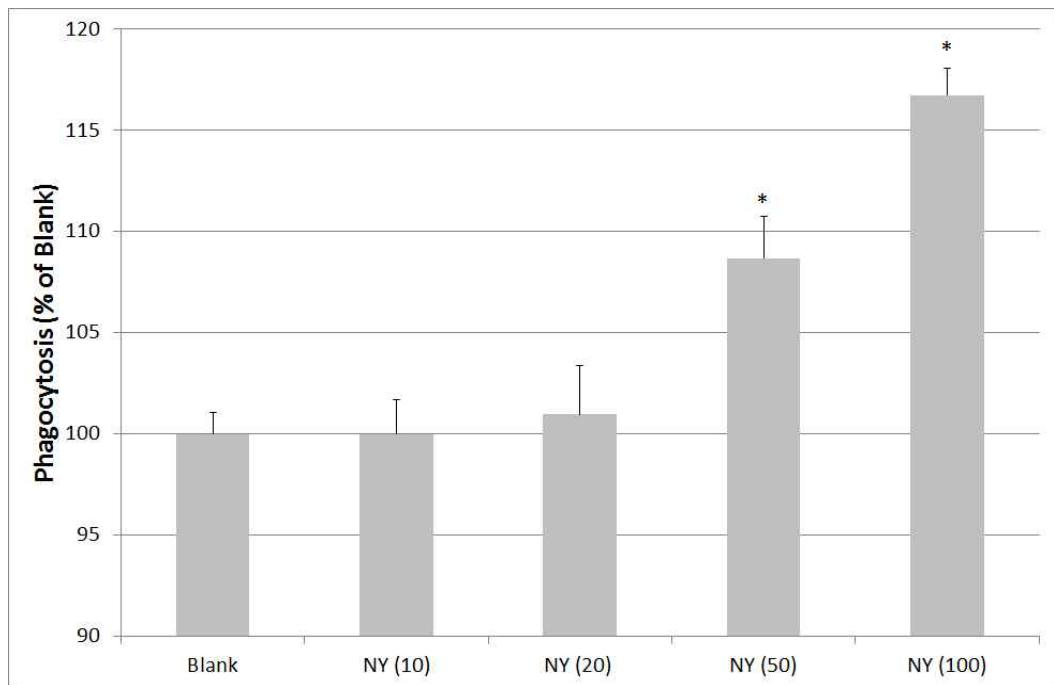


그림 9. 녹용의 대식세포에서의 식균작용에 대한 효능 평가. 녹용 시료의 투여에 따라 농도의 존적으로 식균작용이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용 50 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 통계적으로 유의한 식균작용의 증가를 나타내었다 ( $p<0.05$ ). Blank : 아무 처리 안한 실험군; NY(10) : 녹용  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(20) : 녹용  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(50) : 녹용  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; NY(100) : 녹용  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군

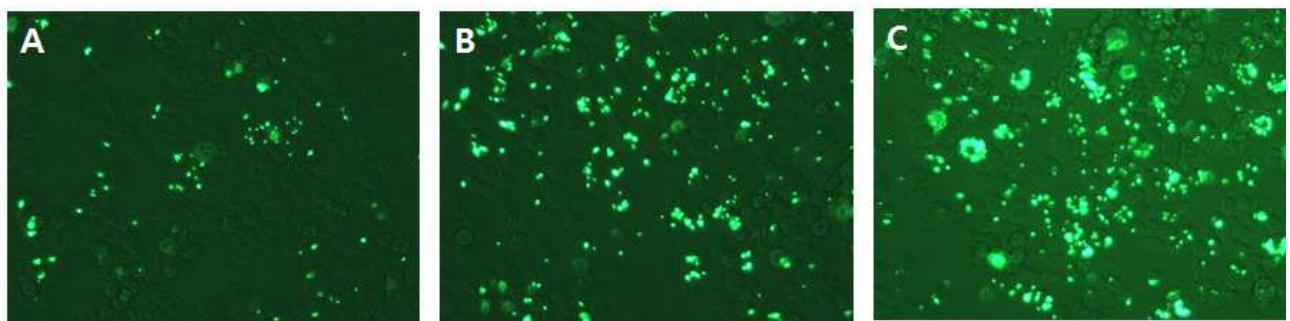


그림 10. 녹용의 대식세포에서의 식균작용에 대한 효능 평가. 녹용 시료의 투여에 따라 농도의 존적으로 식균작용이 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 녹용 50 및  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군에서 통계적으로 유의한 식균작용의 증가를 나타내었다.

A : Blank; B : 녹용  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군; C : 녹용  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  투여군

### [3차년도]

#### ○ 녹용의 지구력 증진에 대한 효능 평가

##### 1. 수영법을 이용한 녹용의 지구력 증진 효과 검증

4주간 녹용 투여 후 강제수영시간은 대조군  $69.9 \pm 15.8$  초, 분골 열수추출물 100 mg/kg 투여군  $223.7 \pm 36.1$  초, 상대 열수추출물 100 mg/kg 투여군  $133.3 \pm 198.6$  초, 뉴질랜드산 상대 열수추출물 100 mg/kg 투여군  $206.9 \pm 23.4$  초로 측정되었다. 이를 통해 녹용 투여군 모두에서 대조군에 비해 유의성 있는 지구력 증진 효과가 있음을 확인할 수 있었다(그림 1).

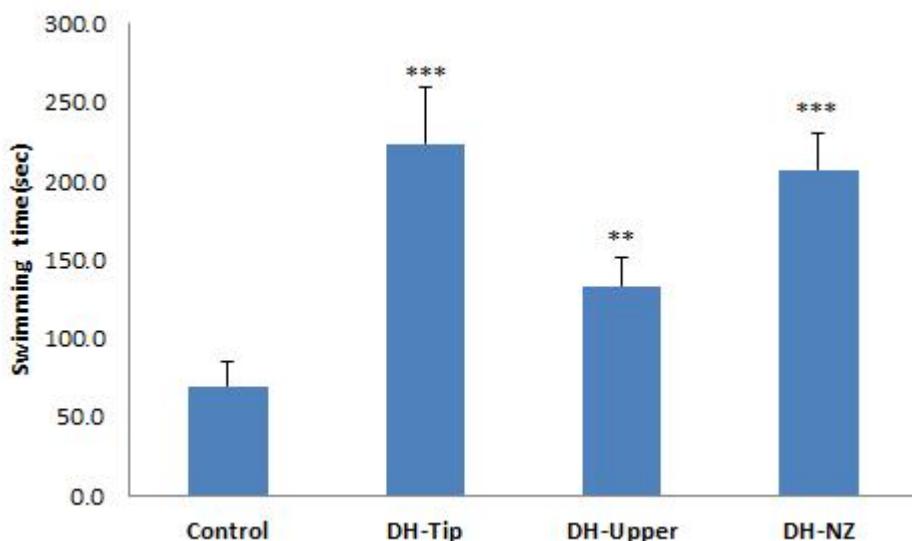


그림 1. 수영법을 이용한 녹용의 지구력 증진 효과. 녹용 투여군 모두에서 대조군에 비해 유의성 있는 지구력 증진 효과가 있음을 확인하였다. (\*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001)

##### 2. 녹용 처리에 따른 Lactic acid 함량 확인

Lactic acid는 운동 후 피로상태를 반영하는 생체지표 중 하나로 4주간 녹용 투여 후 대조군은  $89.3 \pm 1.95$  mg/dl, 분골 열수추출물 100 mg/kg 투여군은  $93.4 \pm 3.90$  mg/dl, 상대 열수추출물 100 mg/kg 투여군은  $81.6 \pm 2.75$  mg/dl, 뉴질랜드산 상대 열수추출물 100 mg/kg 투여군은  $82.3 \pm 2.19$  mg/dl로 측정되었다. 분골 투여군과 뉴질랜드산 상대 투여군의 경우 대조군에 비하여 3배 정도 오랜 시간 강제수영을 했음에도 불구하고 오히려 대조군과의 젖산 함량에 큰 차이가 없거나 오히려 유의성 있게 감소하였으며, 상대 추출물의 경우에도 대조군과 비교하여 2배 정도 오랜 시간 강제수영을 했음에도 오히려 유의성 있게 감소한 것은 녹용 복용군에 있어서 간 기능이 향상되어 젖산이 제거되었거나 유산소운동의 증진이 있어 젖산 생성이 감소되었을 것으로 사료된다(그림 2).

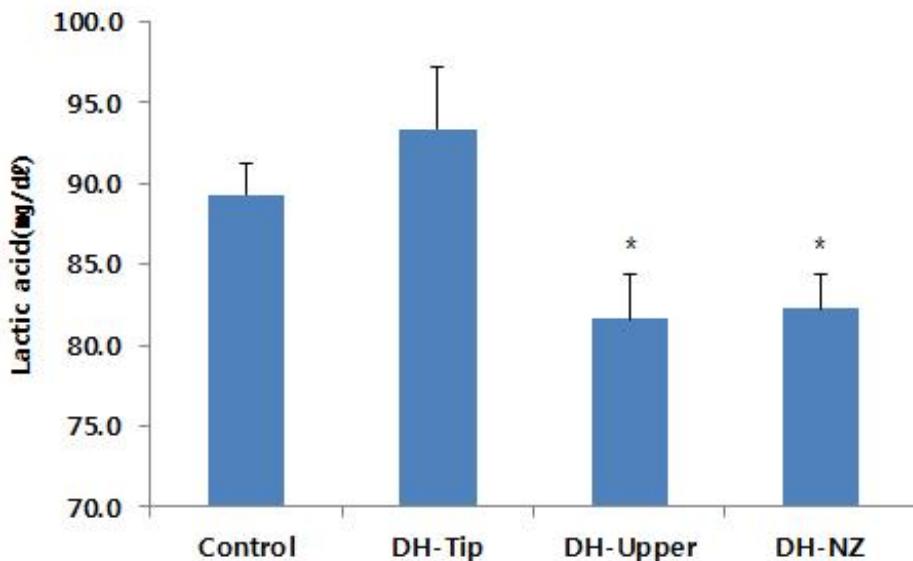


그림 2. 녹용 처리에 따른 Lactic acid 함량 확인. 분골 투여군과 뉴질랜드산 상대 투여군의 경우 대조군에 비하여 3배 정도 오랜 시간 강제수영을 했음에도 불구하고 오히려 대조군과의 젖산 함량에 큰 차이가 없거나 오히려 유의성 있게 감소하였으며, 상대 추출물의 경우에도 대조군과 비교하여 2배 정도 오랜 시간 강제수영을 했음에도 오히려 유의성 있게 감소하였다. (\*p<0.05)

### ○ 녹용의 항산화 및 항염증에 대한 효능 평가

#### 1. 비만세포에서의 녹용 투여에 따른 IL-1 beta 및 IL-6 분비 양상 확인

타 세부로부터 제공받은 분골, 상대, 중대 및 하대의 투여가 PMA 및 calcium ionophore A23187로 유발한 IL-1 beta 및 IL-6의 분비에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군에서는 PMA 및 calcium ionophore A23187를 투여하여 사이토카인 분비를 유발한 실험군 ( $100 \pm 8.3\%$ )에 비하여  $29.8 \pm 14.6\%$ 의 사이토카인 분비량을 나타내었으며 분골, 상대, 중대 및 하대를 투여한 실험군에서는 각각  $83.2 \pm 3.3\%$ ,  $81.6 \pm 0.2\%$ ,  $85.2 \pm 2.0\%$  및  $94.0 \pm 1.6\%$ 의 IL-1 beta 분비량을 나타내었으며 뉴질랜드 상대 투여군에서는  $84.6 \pm 3.5\%$ 의 IL-1 beta 분비량을 나타내었다. IL-6의 분비량을 측정한 결과 아무것도 처리하지 않은 실험군에서는 PMA 및 calcium ionophore A23187를 투여한 실험군 ( $100 \pm 1.1\%$ )에 비하여  $25.8 \pm 2.7\%$ 의 IL-6 분비량을 나타내었으며 분골, 상대, 중대 및 하대를 투여한 실험군에서는 각각  $91.3 \pm 4.8\%$ ,  $86.8 \pm 3.0\%$ ,  $94.8 \pm 4.8\%$  및  $98.2 \pm 5.5\%$ 의 IL-6 분비량을 나타내었고 뉴질랜드 상대 투여군은  $92.0 \pm 4.8\%$ 의 분비량을 나타내었다. 이상의 실험 결과 PMA 및 calcium ionophore A23187로 사이토카인 분비를 유발한 세포주에서 분골 및 상대, 중대와 뉴질랜드 상대 투여군은 통계적으로 유의하게 IL-1 beta의 분비량을 감소시켰으며(그림 3), IL-6의 경우 분골 및 상대와 뉴질랜드 상대 투여군에서 통계적으로 유의하게 분비량을 감소시켰다(그림 4).

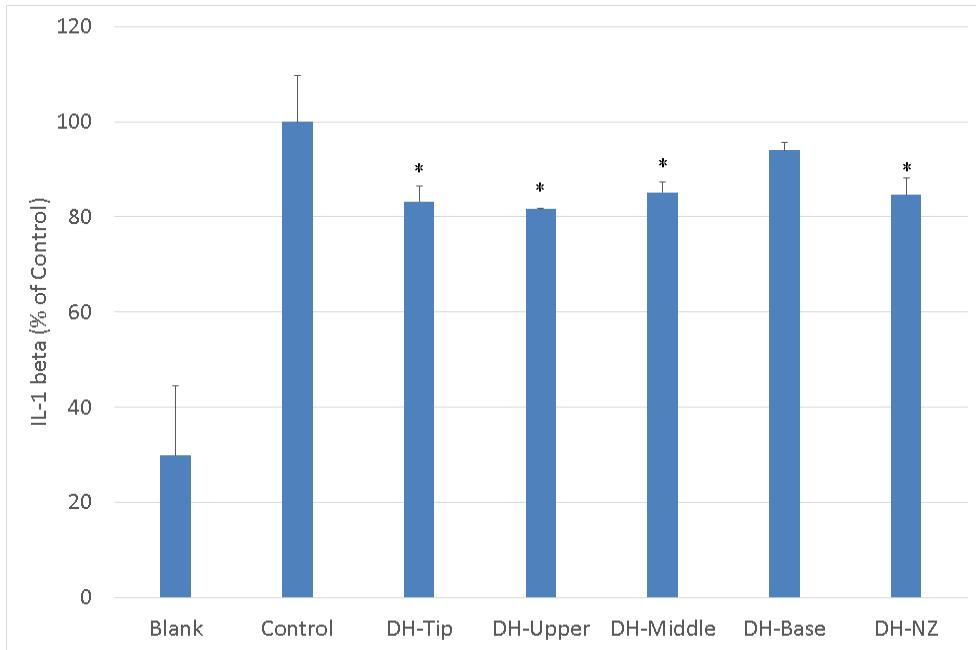


그림 3. 비만세포에서의 녹용 투여에 따른 IL-1 beta 분비 양상. PMA 및 calcium ionophore A23187로 사이토카인 분비를 유발한 세포주에서 분골 및 상대, 중대와 뉴질랜드 상대 투여군은 통계적으로 유의하게 IL-1 beta의 분비량을 감소시켰다. (\*p<0.05)

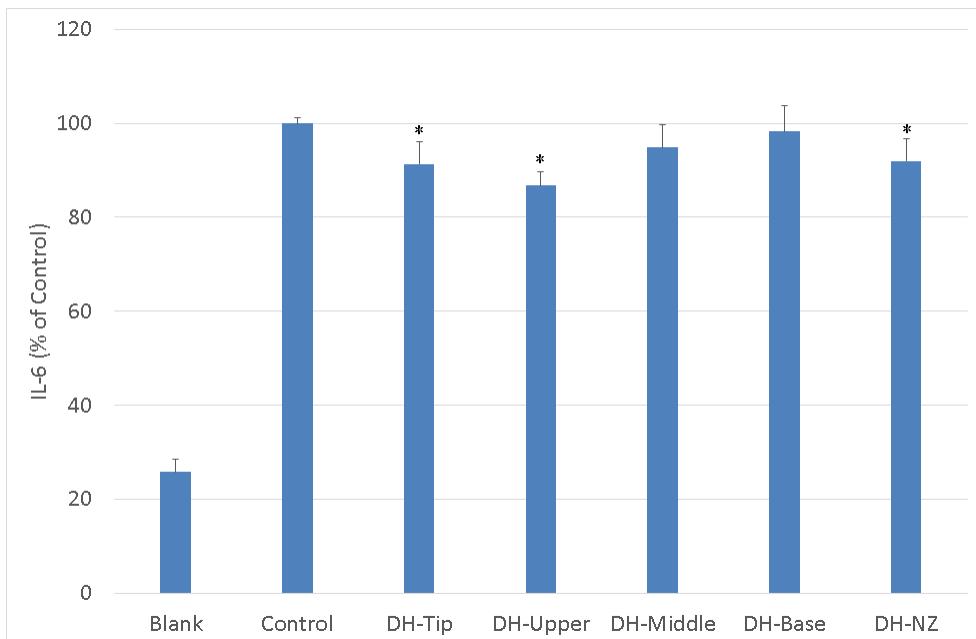


그림 4. 비만세포에서의 녹용 투여에 따른 IL-6 분비 양상. PMA 및 calcium ionophore A23187로 사이토카인 분비를 유발한 세포주에서 분골 및 상대, 뉴질랜드 상대 투여군은 통계적으로 유의하게 IL-6의 분비량을 감소시켰다. (\*p<0.05)

## 2. 녹용 투여에 따른 히스타민 분비 조절 기능 평가.

녹용 시료의 투여가 compound 48/80으로 유발한 히스타민 분비에 미치는 영향을 알아보았다. 그 결과 compound 48/80으로 히스타민 분비를 유발한 실험군은  $100.0 \pm 2.8\%$ 의 사이토카인 분비량을 나타내었으며 분골, 상대, 중대 및 하대를 투여한 실험군에서는 각각  $97.9 \pm 1.2\%$ ,  $99.1 \pm 0.3\%$ ,  $97.3 \pm 0.1\%$  및  $98.0 \pm 1.0\%$ 의 히스타민 분비량을 나타내어 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수 없었다(그림 5).

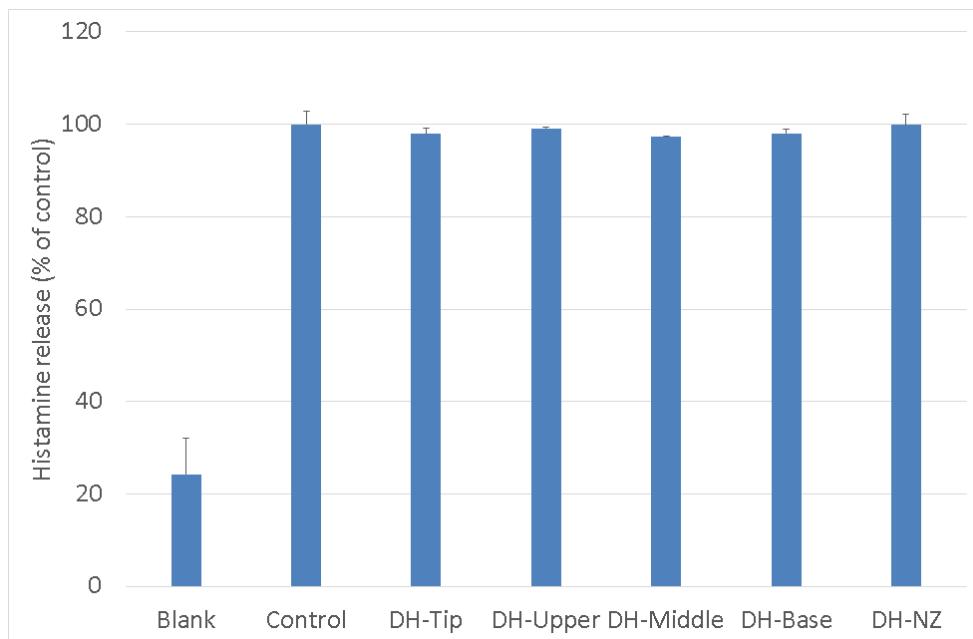


그림 5. 녹용 투여에 따른 히스타민 분비 조절 기능 평가. 실험군간의 통계적으로 유의한 차이는 확인할 수 없었다.

## 3. 녹용의 자유기애 대한 항산화 효과 검증

### 1) 부위별 녹용 시료의 DPPH radical 소거능

녹용시료의 자유기애 대한 항산화 효과를 확인하기 위하여 타 세부로부터 제공받은 분골, 상대, 중대 및 하대의 DPPH radical 소거능을 확인하였다. 그 결과 분골, 상대, 중대 및 하대를 투여한 실험군에서는 각각  $12.5 \pm 0.8\%$ ,  $10.0 \pm 3.6\%$ ,  $9.9 \pm 6.7\%$  및  $5.3 \pm 3.1\%$ 의 free radical 소거능을 나타내었으며 뉴질랜드 상대 투여군은  $11.9 \pm 5.3\%$ 의 free radical 소거능을 나타내었다. 이상의 실험 결과 모든 군에서 5-10%의 free radical 소거능을 나타내었다(그림 6).

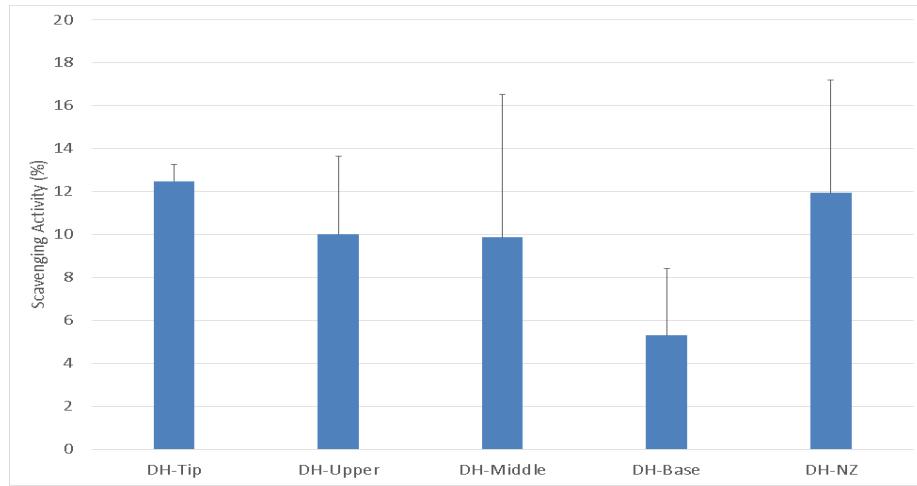


그림 6. 녹용의 자유기억에 대한 항산화 효과. 모든 군에서 5-10%의 free radical 소거능을 나타내었다.

## 2) 부위별 녹용 시료의 세포독성 평가

타 세부로부터 제공받은 분골, 상대, 중대 및 하대의 항염증 효과를 확인하기 위하여 우선 염증 관련 세포인 RAW 264.7 세포주에서의 세포 독성을 확인하였다. 각 시료의 물 추출물을 동결건조하여 시료로 사용하였으며 RAW 264.7 세포주에 각각 0, 10, 50, 및 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하여 세포생존률을 관찰한 결과 모든 시료 투여군에서 통계적으로 유의한 세포독성은 관찰할 수 없었다(그림 7).

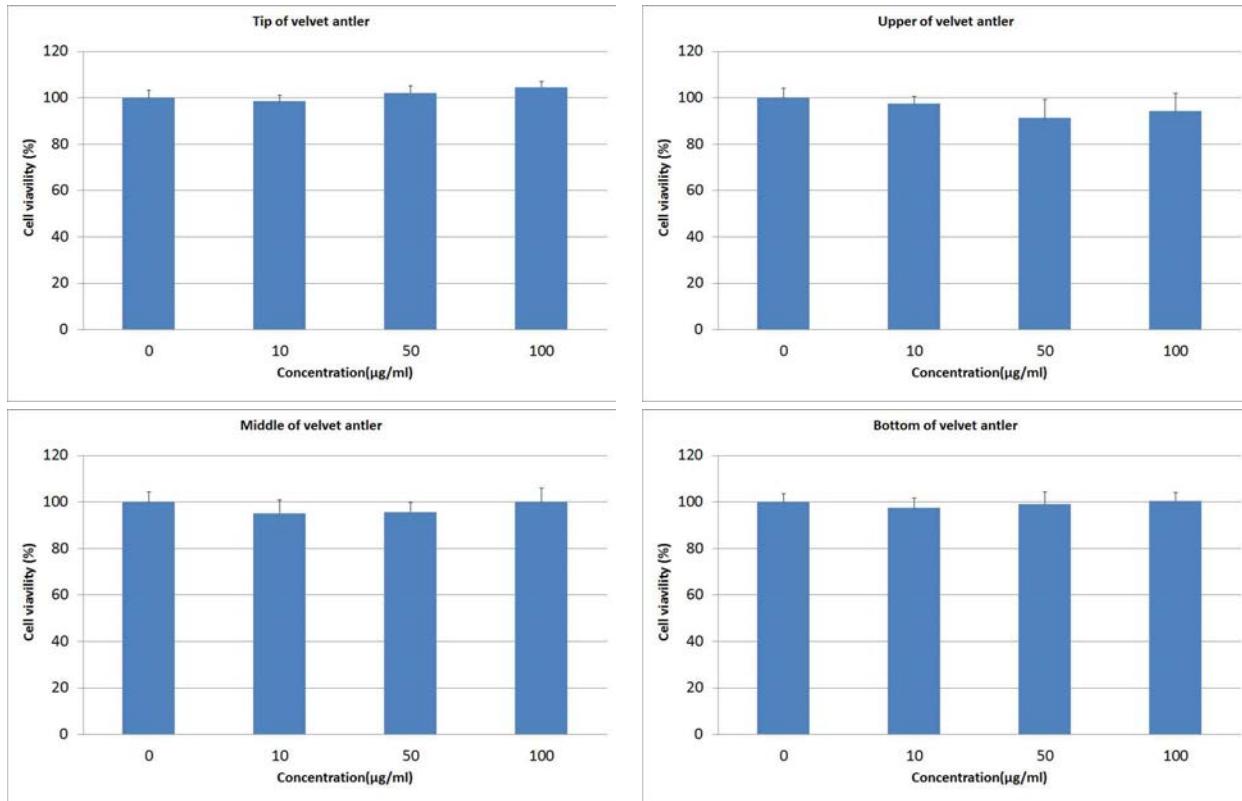


그림 7. 부위별 녹용 시료의 세포 독성 평가 - 모든 시료 투여군에서 통계적으로 유의한 세포 독성은 관찰할 수 없었다.

### 3) 부위별 녹용 시료의 Nitric Oxide에 대한 억제 효능 평가

타 세부로부터 제공받은 분골, 상대, 중대 및 하대의 항염증 효과를 확인하기 위하여 염증 관련 세포인 RAW 264.7 세포주에서의 NO 발현을 확인하였다. 각 시료의 물 추출물을 동결건조하여 시료로 사용하였으며 RAW 264.7 세포주에 각각 0, 10, 50, 및 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하여 NO의 발현량을 관찰한 결과 분골, 상대 및 중대 투여군에서 NO의 발현량이 농도 의존적으로 감소하였으며 통계적으로 유의한 NO감소 효과를 확인할 수 있었으며(그림 8), 비교군으로서 뉴질랜드산 상대와 비교한 결과 상대 투여군은 뉴질랜드산 상대 투여군과 비슷한 효능을 나타내었다(그림 9).

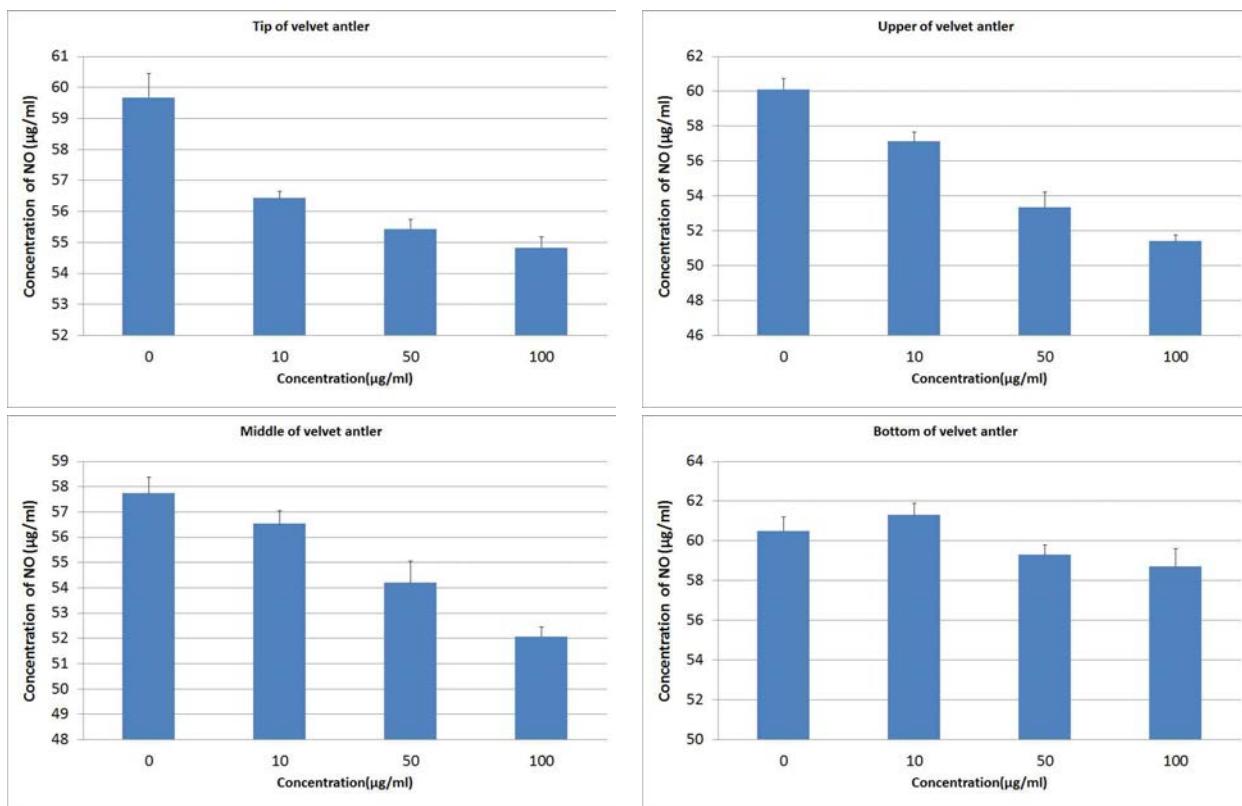


그림 8. Nitric Oxide에 대한 억제 효능 평가. 분골, 상대 및 중대 투여군에서 NO의 발현량이 농도 의존적으로 감소하였으며 통계적으로 유의한 NO감소 효과를 확인할 수 있었다.

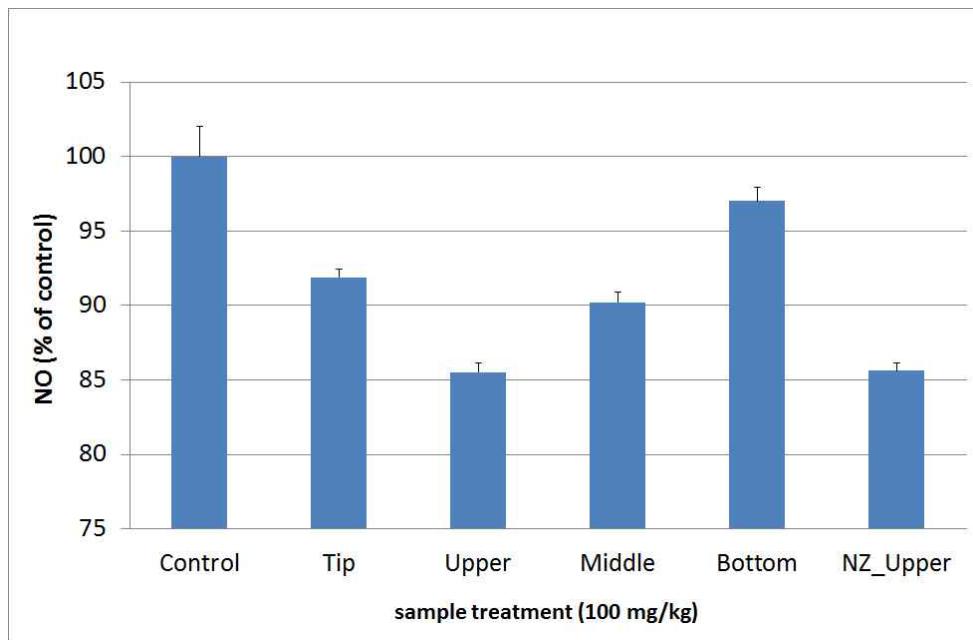


그림 9. Nitric Oxide에 대한 억제 효능 평가. 분골, 상대 및 중대 투여군에서 NO의 발현량이 농도 의존적으로 감소하였으며 통계적으로 유의한 NO감소 효과를 확인할 수 있었으며 비교군으로서 뉴질랜드산 상대와 비교한 결과 상대 투여군은 뉴질랜드산 상대와 비슷한 효능을 나타내었다.

#### 4) 부위별 녹용 시료의 COX2, iNOS 발현 억제 평가

상기 NO 실험에서 효과를 확인한 분골, 상대, 및 중대와 뉴질랜드산 상대 추출물 투여에 의한 COX2 및 iNOS의 발현을 확인하였다. 그 결과 뉴질랜드 상대 투여군의 경우 COX2 발현량이 큰 변화가 없는 반면, 분골, 상대 및 중대 투여군에서 COX2의 발현량이 통계적으로 유의하게 감소하였음을 확인할 수 있었다(그림 11). iNOS의 발현량을 확인한 결과 다른 시료 투여군에 비해 분골이 약간 높게 나온 경향이 있으나 대조군에 비해 모든 시료 투여군이 통계적으로 유의하게 iNOS를 감소시켰음을 확인하였다(그림 11).

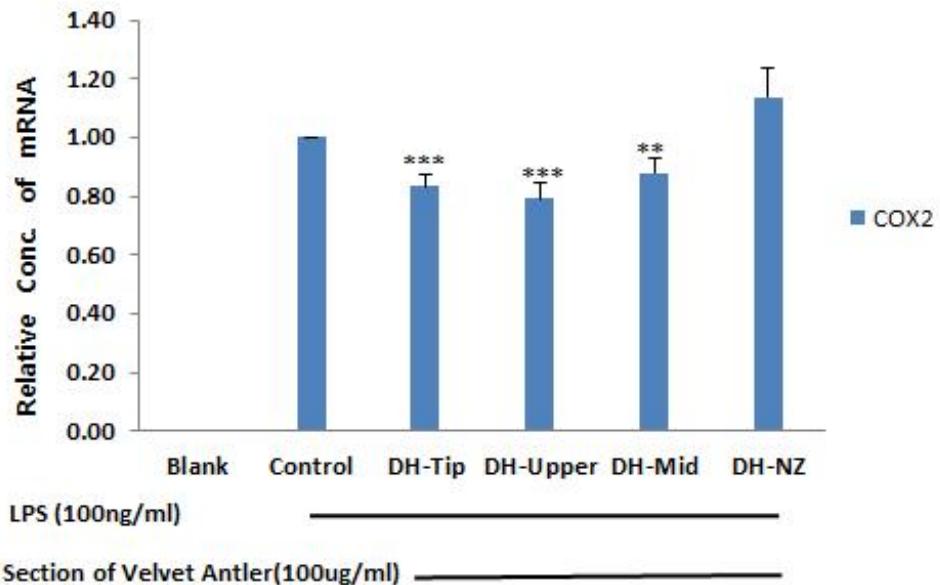


그림 10. COX2발현 억제 평가. 녹용 시료의 투여에 따른 COX2 발현량을 확인한 결과, 분골, 상대 및 중대 투여군에서 COX2의 발현량이 통계적으로 유의하게 감소하였다. (\*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001)

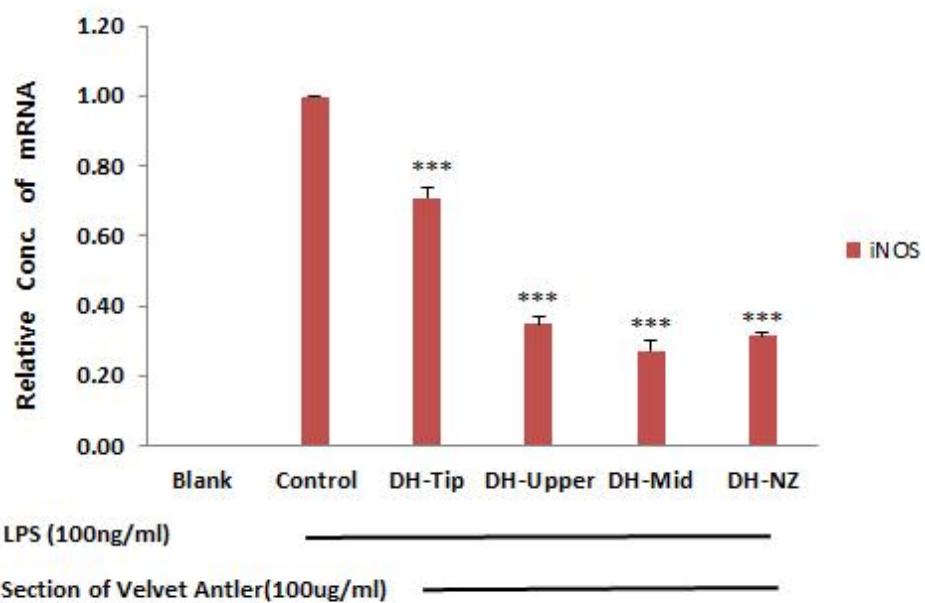


그림 11. iNOS 발현 억제 평가. 녹용 시료의 투여에 따른 iNOS 발현을 확인한 결과 대조군에 비해 모든 시료 투여군이 통계적으로 유의하게 iNOS를 감소시켰다. (\*\*p<0.001)

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야 기여도

### 제1절 : 목표대비 달성도

#### 1) 제 1협동과제

	당초 목표	가중치(%)	개발 내용	달성도(%)
1년차	엘크 녹용의 성장 단계별 부위별 특성 및 성분 변화 구명	100	1) 성장단계, 부위별 녹용생산량 조사	100
			2) 부위별 녹용의 이화학적 특성 조사	100
2년차	꽃사슴 녹용의 성장 단계별 부위별 특성 및 성분 변화 구명	100	1) 성장단계, 부위별 녹용생산량 조사	100
			2) 부위별 녹용의 이화학적 특성 조사	100
3년차	생녹용의 세척 및 포장방법 및 녹용유효성분 분석	100	1) 생녹용의 세척 및 포장방법	100
			2) 녹용 유효성분 분석	100
		100%		

\* 당초 목표 및 가중치는 협약 시(신규연구과제 등록 시) 제시한 최종 목표 및 가중치를 입력함(협약 변경에 의해 변경된 경우에는 변경된 목표 및 가중치를 입력)

#### 2) 제 2협동과제

	당초 목표	가중치(%)	개발 내용	달성도(%)
1년차	절단된 녹용의 전처리 및 녹혈 확장/고착 방법 결정	100	1) 절각 직후 절단면 밀봉 위한 장치 설정	100
			2) 절각 직후 녹혈 확장을 위한 녹용 방치 방향 설정	100
			3) 절각 직후 녹혈 확장을 위한 온도 및 기간 설정	100
			4) 녹혈 확장 및 고정 후 녹용 세정 방법 결정	100
2년차	녹용의 건조 방법 결정	100	1) 녹용의 건조 온도 설정	100
			2) 건조 온도에 따른 유효성분,	100

			외관상태 등 분석	
			3) 녹용의 건조 기간 설정	100
			4) 건조 기간에 따른 유효성분, 외관상태 등 분석	100
3년차	녹용의 저장 및 유통 방법 결정	100	1) 건조된 녹용의 저장 방법 설정 2) 저장 방법에 따른 유효성분, 외관상태 등 분석 3) 건조된 녹용의 저장 온도 설정 4) 저장 온도에 따른 유효성분, 외관상태 등 분석	100 100 100 100
최종	녹용의 수확 후 관리기술 개발	100%	녹용의 수확 후 관리기술 개발	100

### 3) 제 1세부과제

	당초 목표	가중치(%)	개발 내용	달성도(% )
	녹용 제품화를 위한 녹용소재 개발 및 부재료의 배합비율 결정			
1차년도	1) 녹용을 이용한 식품소재 (녹용 분말 및 녹용 농축액)의 제조 2) 녹용 가공 소재별 (녹용 분말 및 녹용 농축액) 일반 성분 및 유효성분 분석 3) 녹용 가공 소재별 (녹용 분말 및 녹용 농축액) 항산화능 분석 : DPPH, Hydroxyl, alkyl 및 superoxide radical 소거능 4) 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킬 수 있는 최적의 녹용 소재제형 및 기능성 향상을 위한 부원료 배합비율 확립	25% 25% 25% 25%	1) 녹용을 이용한 식품소재 (녹용 분말 및 녹용 농축액)의 제조 2) 녹용 가공 소재별 (녹용 분말 및 녹용 농축액) 일반 성분 및 유효성분 분석 3) 녹용 가공 소재별 (녹용 분말 및 녹용 농축액) 항산화능 분석 : DPPH, Hydroxyl, alkyl 및 superoxide radical 소거능 4) 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킬 수 있는 최적의 녹용 소재제형 및 기능성 향상을 위한 부원료 배합비율 확립	100% 100% 100% 100%
2차년도	식품 제형별 녹용 가공 제품 개발 (추출액, 드링크제, 젤편, 캡슐, 캔디, 과립 등)			

	1) 이화학적 특성 : 당도, pH, 산도, 수분, 색도, 조직감, 녹용의 유효성분 함량 등 2) 관능평가 : 기호도 검사 (외관, 향, 맛, 조직감, 전체적인 기호도, 구입의 향 등) 3) 식품제형별 녹용 가공제품 시제품 생산 및 공정 표준화	40% 30% 30%	1) 이화학적 특성 : 당도, pH, 산도, 수분, 색도, 조직감, 녹용의 유효성분 함량 등 2) 관능평가 : 기호도 검사 (외관, 향, 맛, 조직감, 전체적인 기호도, 구입의 향 등) 3) 식품제형별 녹용 가공제품 시제품 생산 및 공정 표준화	100% 100% 100%
3차년도	녹용 이외의 첨가제의 상승효과 구명 (십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등)			
	1) 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 시 첨가되는 한약재의 종류 및 배합비 결정	25%	1) 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 시 첨가되는 한약재의 종류 및 배합비 결정	100%
	2) 녹용 첨가량, 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 유효 성분 함량 분석	25%	2) 녹용 첨가량, 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 유효 성분 함량 분석	100%
	3) 녹용 첨가량, 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 항산화 활성 분석	25%	3) 녹용 첨가량, 녹용의 부위 (상대, 중대, 하대)를 달리하여 제조한 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등의 제조 시간에 따른 항산화 활성 분석	100%
	4) 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킴과 동시에 기능성이 향상된 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 기술 개발 및 표준화 방안 제시	25%	4) 녹용의 유효성분 손실을 최소화시킴과 동시에 기능성이 향상된 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 기술 개발 및 표준화 방안 제시	100%
최종	녹용 제품화를 위한 가공 기술 개발	100%	녹용 제품화를 위한 가공 기술 개발	100%

#### 4) 제 3협동과제

당초 목표	가중치(%)	개발 내용	달성도(%)
1) 녹용의 골성장에 대한 효능 평가	75	1) 녹용 시료의 인간 골육종 세포에서의 골생성 효과 검증 2) 녹용 시료의 파골세포에서의 골재흡수 효과 검증 3) 성장기 흰쥐에서의 녹용 섭취에 따른 골 성장 효과 검증	100
2) 녹용의 콜라겐 생성 및 피부 미용에 대한 효능 평가	25	1) 피부주름개선인자인 엘라스타제에 대한 녹용의 효과 검증 2) 피부주름개선인자인 콜라제나 제 및 L-DOPA에 대한 녹용의 효과 검증	100
3) 녹용의 골다공증에 대한 효능 평가	25	1) 난소 제거 흰쥐에서의 녹용 섭취에 의한 골다공증 치료 효과 검증	100
4) 녹용의 면역기능에 대한 효능 평가	75	1) 비장 세포 배양에 녹용 시료 투여가 면역력 증진에 미치는 영향 2) 녹용 시료 투여에 의한 골수 세포의 조혈 기능 평가 3) 대식세포에서의 녹용의 세포 증식 및 식세포 기능에 대한 효능 평가	100
5) 녹용의 지구력 증진에 대한 효능 평가	40	1) 수영법을 이용하여 녹용의 지구력 증진 효과 검증 2) 녹용 처리에 따른 지구력 및 근육 성장 관련 인자 (IGF-1 등) 확인	100
6) 녹용의 항산화 및 항염증에 대한 효능 평가	60	1) 비만세포에서의 녹용 투여에 따른 사이토 카인 분비 양상 확인 2) 녹용 투여에 따른 히스타민 분비 조절 등 면역 조절 기능 평가 3) 녹용의 자유기에 대한 항산화 효과 검증	100
	100		100

## 제2절 : 정량적 성과(논문게재, 특허출원, 기타)를 기술

성과지표명	연도	1년차 (2014)		2년차 (2015)		3년차 (2016)		계	
		목표	실적	목표	실적	목표	실적	목표	실적
논문게재	SCI	1		1		2		4	8
	비SCI	1		3		3		7	8
산업재산권	출원			1		2		3	3
	등록								
학술발표	국제	2		1		1		4	20
	국내	1		2		2		5	16
품종	출원								
	등록								
기술이전				1		1		2	2
정책제안 기관제출				1		2		3	0
홍보성과				1		1		3	8
영농활용 기관제출				1		2		3	6
기능성물질소재 개발					1		1	2	2
우수인력양성 지원				1		1		3	2
자료발간						1		1	0
우량계통 육성/선발/증식									2
농가기술지도/컨설팅 /현장기술지원									2
계		8		15		20		43	75

세부과제명	세부 과제 책임자	성과물 유형	성과물명	성과물 주담당 자	성과적 용년월	성과물 승인여 부
녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정	김상우	홍보성과	싱싱농수산(뉴질랜드 양록산업)	김상우	2014년 06월	승인
녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정	김상우	홍보성과	농촌진흥청, 봄철 사슴 사양관리 요령 제시	김상우	2014년 06월	승인
녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수확시기 및 품질기준 설정	김상우	우량계통 육성/선발/증식	사슴 우량계통 선발 결과	김상우	2014년 12월	승인
녹용의 식품 소재화를 위한 최적 수	김상우	학술발표 (국내)	꽃사슴 난자의 배아생산에 관한 연구	김관우	2014년 06월	승인

확시기 및 품질기 준 설정						
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	학술발표 (국내)	엘크 수사슴의 발정기 전·후 도체특성에 관한연구	김상우	2014년 06월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	우량계통 육성/선 발/증식	사슴 인공수정	이용재	2014년 12월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	농가기술 지도·컨 설팅·현 장기술지 원	사슴 농가기술지도 및 컨설팅	김상우	2014년 12월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	홍보성과	사슴사양관리	김상우	2015년 12월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	홍보성과	사슴기르기	김상우	2015년 06월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	홍보성과	사슴의 거세효과	김상우	2015년 06월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	농가기술 지도/컨 설팅/현 장기술지 원	흑염소 사슴 농가 기술지도	김상우	2015년 12월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	영농활용 채택	엘크사슴의 절각시기별 녹용성분분석표 활용	김상우	2015년 12월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	영농활용 채택	꽃사슴의 절각시기별 녹용생산량 활용	김상우	2015년 12월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	영농활용 기관제출	꽃사슴의 절각시기별 녹용생산량 활용	김상우	2015년 11월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	영농활용 기관제출	엘크사슴의 절각시기별 녹용성분분석표 활용	김상우	2015년 11월	승인
녹용의 식품 소재	김상우	학술발표	사슴의 계절별 정소의 크기 및	김관우	2015년	승인

화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정		(국내)	정자 농도의 변화		11월	
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	김상우	학술발표 (국내)	엘크사슴의 절각시기별 녹용 생산량 및 각 부위별 일반성분 변화	박성복	2015년 08월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	이성수	홍보성과	사슴의 봄철 사양관리	김상우	2016년 03월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	이성수	영농기술 · 정보 기관제출	생녹용의 세척 및 포장 방법 활용	김상우	2016년 11월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	이성수	학술발표 (국내)	엘크 사슴의 거세기별 체중 변화 및 도체특성	김관우	2016년 06월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	이성수	학술발표 (국내)	꽃사슴의 절각시기별 녹용생산량 및 각 부위별 일반성분 변화	김상우	2016년 06월	승인
녹용의 식품 소재 화를 위한 최적 수 확시기 및 품질기 준 설정	이성수	학술발표 (국내)	거세 사슴의 사슴뿔 성장 및 체중변화 연구	김상우	2016년 06월	승인
녹용의 수학 후 관리기술 개발	김은경	홍보성과	녹용 소비 활성화를 위한 가공기술 개발한다	김은경	2014년 09월	승인
녹용의 수학 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Androgen's effect on MCP-1 and monocyte attraction to prostate cancer cells	김은경	2014년 11월	승인
녹용의 수학 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Investigation of Bioactivities of Agricultural By-products and Medicinal Herbs as Potential Functional Feed for Domestic Animals	김은경	2014년 11월	승인
녹용의 수학 후 관리기술 개발	김은경	우수인력 양성 지원 인원 수	석사배출	김은경	2014년 09월	승인
녹용의 수학 후 관리기술 개발	김은경	영농활용 채택	절단된 녹용의 관리 및 보관 방법	김은경	2015년 12월	승인
녹용의 수학 후 관리기술 개발	김은경	산업재산 권 출원	녹용 가공을 위한 전처리 방법	김은경	2015년 06월	승인
녹용의 수학 후 관리기술 개발	김은경	영농활용 기관제출	절단된 녹용의 관리 및 보관 방법	김은경	2015년 10월	승인
녹용의 수학 후 관리기술 개발	김은경	논문게재 (SCI)	Advances in Experimental Medicine and Biology	김은경	2015년 06월	승인

녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	논문게재 (SCI)	Growth Period Effects on the Protective Properties of Aloe vera Against t-BHP-Induced Oxidative Stress in Chang Cells	김은경	2015년 10월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	논문게재 (비SCI)	Effect of pH and temperature on the hydrolysis degree of venison	김은경	2015년 10월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	논문게재 (비SCI)	버섯류 추출물이 전립선 암 세포 내 PSA 발현에 미치는 영향	김은경	2015년 10월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Extract of Moringa oleifera leaves suppress the diabetes mellitus in db/db mice	김은경	2015년 06월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Physicochemical and Sensory Characteristics of Sulgidduck Fortified with Moringa oleifera Water Extracts	김은경	2015년 06월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Antioxidant Effects of Sulgidduck Prepared with Moringa oleifera Lam.	김은경	2015년 06월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	First Evaluation of Antioxidant Potential of Regrowth Velvet Antler by Means of Multiple Biochemical Assays	김은경	2015년 06월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	홍보성과	생녹용 고품질화 전처리법 전국대 김은경 교수 확립	김은경	2016년 09월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	산업재산권 출원	녹용의 건조 방법	김은경	2016년 11월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	영농기술 · 정보 기관제출	녹용 수확 후 건조기술	김은경	2016년 10월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	기술이전 (무상)	녹용 가공을 위한 전처리 방법	김은경	2016년 07월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	논문게재 (SCI)	Effect of Enterococcus faecalis EF-2001 on experimentally induced atopic eczema in mice	김은경	2016년 08월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	논문게재 (SCI)	Heat-Killed Enterococcus faecalis EF-2001 Ameliorates Atopic Dermatitis in a Murine Model	김은경	2016년 03월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	논문게재 (비SCI)	Effect of Sika Deer ( <i>Cervus nippon</i> ) Velvet Antler on Prostate-specific Antigen Levels and Migration of LNCaP Human Prostate Cancer Cells	김은경	2016년 10월	승인

녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국내)	Taurine attenuates kidney failure induced by doxorubicin in mice	김은경	2016년 05월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국내)	Sika deer ( <i>Cervus nippon</i> ) velvet antler attenuate prostate-specific antigen level and metastasis in human prostate cancer cells, LNCaP	김은경	2016년 05월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국내)	Inhibitory Activity of Taurine on Epithelial-Mesenchymal Transition	김은경	2016년 05월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국내)	Taurine Suppresses Migration of Human Lung Cancer Cells	김은경	2016년 05월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국내)	Sika deer ( <i>Cervus nippon</i> ) velvet antler extract attenuates epithelial-mesenchymal transition-related genes in prostate xenograft tumors	김은경	2016년 05월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Taurine Attenuates Epithelial-Mesenchymal Transition-related Genes in Human Prostate Cancer Cells	김은경	2016년 05월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Effects of Taurine on Endurance Capacity and Physical Fatigue in Trained Mice	김은경	2016년 05월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Inhibitory Effects of Taurine on Migration in Human Lung Cancer Cells	김은경	2016년 05월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Antioxidative Effects of Taurine on Hepatic System and Muscle Fatigue after High Intensity Workout in Mice	김은경	2016년 05월	승인
녹용의 수확 후 관리기술 개발	김은경	학술발표 (국제)	Protective Effect of Taurine on Doxorubicin-induced Acute Kidney Injury Mice	김은경	2016년 05월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	학술발표 (국내)	6,6'-bieckol isolated from <i>Ecklonia cava</i> protects oxidative stress through inhibiting expression of ROS and proinflammatory enzymes in high glucose-induced Human Umbilical Vein Endothelial Cells	정선희	2014년 09월	승인
녹용 제품화를 위	정선희	학술발표	Octaphlorethol A: A potent	정선희	2014년	승인

한 가공기술 개발		(국내)	$\alpha$ -glucosidase inhibitor isolated from Ishige foliacea shows an anti-hyperglycemic effect in mice with streptozotocin-induced diabetes		09월	
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	논문게재 (비)SCI)	젖산에 의한 혈관 이완: Brief review	정선희	2014년 11월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	학술발표 (국내)	Chemical Composition and Antioxidant Activities of Enzymatic Hydrolysates from Velvet Antler	정선희	2015년 06월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	학술발표 (국내)	Octaphlorethol A, a Natural Marine Algae Product, Activates AMP-activated Protein Kinase with Beneficial Metabolic Effects in Type-2 Diabetic Mice	정선희	2015년 06월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	학술발표 (국제)	Ecklonia cava ameliorates hyperglycemia and insulin resistance in C57BL/KsJ-db/db mice	정선희	2015년 06월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	논문게재 (비)SCI)	Volatile organosulfur and nutrient compounds derived from garlic ( <i>Allium sativum</i> ) according to cultivating areas and processing methods	정선희	2015년 11월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	기술이전 (무상)	유효성분 손실을 최소화시킬 수 있는 녹용 유래 최적 식품소재 개발 (Know-how)	정선희	2015년 11월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	기능성물질·소재 개발	녹용의 고생리활성성분을 함유한 녹용효소가수분해추출물의 제조방법 및 녹용효소가수분해추출물	정선희	2016년 08월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	산업재산권 출원	녹용 효소가수분해 추출물을 포함하는 가공식품물	정선희	2016년 08월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	영농기술 · 정보 기관제출	녹용의 유효성분 손실을 최소화시킨 십전대보탕, 사물탕, 총명탕 등 제조 기술 개발 및 표준화 방안 제시	정선희	2016년 11월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	논문게재 (SCI)	Anti-inflammatory effects of trans-1,3-diphenyl-2,3-epoxypropane-1-one in zebrafish embryos <i>in vivo</i> model	정선희	2016년 04월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	논문게재 (비)SCI)	Physicochemical properties of calcium lactate prepared by single-phase aragonite precipitated calcium	정선희	2016년 04월	승인

			carbonate			
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	논문게재 (비SCI)	Physiochemical Characteristics of Functional Tofu Fortified with Garlic ( <i>Allium sativum</i> ) and Calcium Lactate as a Coagulant	김종보	2016년 04월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	학술발표 (국제)	TAURINE PROVIDES NEUROPROTECTION AGAINST OXIDATIVE STRESS-INDUCED MOUSE HIPPOCAMPAL HT22 CELL DAMAGE THROUGH THE NRF2 AND MAPK PATHWAYS	정선희	2016년 06월	승인
녹용 제품화를 위한 가공기술 개발	정선희	학술발표 (국제)	ANTIOXIDANT EFFECTS OF SHORT-NECK CLAM ( <i>TAPES PHILIPPINARUM</i> ) WATER EXTRACT CONTAINING TAURINE AGAINST AAPH-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN ZEBRAFISH EMBRYOS	정선희	2016년 06월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	임강현	논문게재 (SCI)	Collagen hydrolysates increased osteogenic gene expressions via a MAPK signaling pathway in MG-63 human osteoblasts	김혜경	2014년 03월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	임강현	논문게재 (SCI)	Extrusion Process Enhances the Anti-inflammatory Effect of <i>Acanthopanax senticosus</i> Leaves	임강현	2014년 07월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	임강현	학술발표 (국제)	Cervi Pantotrichum Cornu Increased Osteogenic Genes via MAPK Signaling Pathway in MG-63 Human Osteoblasts	김혜경	2014년 08월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	임강현	학술발표 (국제)	Effects of Cervi Pantotrichum Cornu and Cervi Cornu on the Longitudinal Bone Growth in Adolescent Male Rats	임강현	2014년 08월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	임강현	학술발표 (국제)	Effect of Deer Antler Extract on Osteogenic Gene Expression and Longitudinal Bone Growth of Adolescent Male Rats	임강현	2015년 07월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	임강현	학술발표 (국제)	Bone morphogenetic protein-2, deer antler, longitudinal bone growth, osteogenic genes.	김혜경	2015년 07월	승인

원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	임강현	논문제재 (비SCI)	Effects of Draconis Resina on the Collagenase Activities and the Procollagen Synthesis in Hs68 Human Fibroblasts, and Tyrosinase	김태연	2015년 11월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	임강현	기능성물질·소재 개발	골다공증 예방 및 개선 활성을 갖는 녹용 효소 가수분해물에 대한 효능 평가	임강현	2015년 11월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	김태연	학술발표 (국제)	Anti-Osteoporotic Effect of Deer Antler in Ovariectomized Rats	김혜경	2016년 11월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	김태연	학술발표 (국제)	Immunomodulatory Effect of Deer Antler Extract	임강현	2016년 11월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	김태연	우수인력 양성 지원 인원 수	윤정원_석사_우수인력양성 지원	김태연	2016년 11월	승인
원료 녹용 및 녹용 제품의 효능 규명	김태연	논문제재 (SCI)	Comparison of the Effect of Velvet Antler from Different Sections on Longitudinal Bone Growth of Adolescent Rats	김혜경	2016년 11월	승인

## 제 5 장 연구 결과의 활용 계획

엘크사슴과 꽃사슴의 성장단계별, 부위별 녹용생산량은 영농활용 자료로 농가에 기술을 보급하였으며, 진공비닐팩을 활용한 녹용 포장방법은 한국양록축협 및 비닐팩 제조업체와 협의하여 녹용포장용 비닐팩을 제작 활용코자 한다. 엘크사슴과 꽃사슴 절각시기별 녹용의 이화학적 특성은 농촌진흥청 식품성분표 올려서 활용할 계획이며, 엘크사슴과 꽃사슴의 절각시기별 부위별 녹용생산량 및 이화학적 특성은 논문으로 작성하여 활용할 계획이다.

분석적이고 과학적인 방법을 통해 녹용유래 기능성 성분의 기능성을 파악함으로서 양록인 및 정책 담당자에게 양록산물에 대한 정확하고 과학적 자료를 제공하며, 건강 기능성 식품화 및 기능성 원료로 활용이 가능할 뿐 아니라 녹용 가공 제품 시료 선택 및 가공 방법의 선택에 보조 자료로서 활용할 계획이다. 또한 항산화 기능성을 갖는 녹용 효소가수분해물 및 녹용 첨가량 및 가열시간에 따른 녹용탕 내 기능성 물질 변화에 대한 정보는 특히 및 논문으로 작성하여 활용할 계획이다.

## 제 6 장 연구 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보

연구 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보는 본 연구의 서론 및 본론에 인용하였다.

## 제 7 장 연구 개발 결과의 보안 등급

보안 등급 분류	보안	일반
		✓
결정 사유	「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의 4에 해당하지 않음.	

## 제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록한 연구시설·장비 현황

구입 기관	연구 시설/ 연구 장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천 원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치장소)	NTIS장비 등록 번호

## 제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

### 가. 연구실 안전조치 이행계획

#### 1. 기술적 위험요소 분석 : 연구과제의 기술적 위험요소는 없다.

(「연구실 안전환경 조성에 관한 법률」 및 「산업안전보건법」에 따른 연구실 안전조치 이행계획(해당 연구실안전점검 및 정밀안전진단실시, 참여연구원의 교육훈련 및 건강 검진실시, 보험가입 등) 및 기타 당해 연구개발사업 수행 시 필요한 연구실안전 확보 계획 등을 서술)

#### 2. 안전관리대책

연구실 안전관리비 측정으로 지속적으로 안전보호장비를 구축하였다, 대학 차원에서 정기적인 안전점검을 실시하고 있으며 위험물질 분리수거를 위탁업체에 위탁하여 실시하고 있다. 연구원 전원에 대하여 1년에 1회씩 건강검진을 대학차원에서 실시하고 있으며, 연구실 안전에 관한 수업과목을 개설하여 학생 및 연구원에 대하여 안전교육을 실시하고 있다. 또한 기타 안전 교육 및 조치가 필요할 경우 상시 교육 및 안전조치를 이행하였다.

### 나. LMO 연구시설 및 수입신고 현황(해당사항 없음)

(유전자변형생물체(LMO)를 이용하는 연구과제의 경우에는 「유전자변형생물체의 국가간 이동에 관한 법률」에 따른 연구시설 설치·운영신고확인서 및 시험·연구용 LMO 수입 신고확인서에 기재된 내용을 기술)

## 제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문 /특허 /기타 )	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지 / 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록 일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부 /인용횟수 등)
1	책자	사슴기르기	축산원	저자			2014.	단독	영농교본
2	영농	엘크사슴의 절각시기별 녹용성분분석표 활용	축산원	주담당			2014		
3	영농	꽃사슴의 절각시기별 녹용생산량 활용	축산원	주담당			2014		
4	영농	꽃사슴의 절각시기별 녹용생산량 활용	축산원	주담당			2015		
5	영농	엘크사슴의 절각시기별 녹용성분분석표 활용	축산원	주담당			2015		
6	영농	생녹용의 세척 및 포장 방법 활용	축산원	주담당			2016		
7	논문	Effect of Taurine on Prostate-Specific Antigen Level and Migration in Human Prostate Cancer Cells	건국대학교	교신저자	Advances in Experimental Medicine and Biology	1.958	2014.05.01	공동사사	SCIE
8	논문	Growth Period Effects on the Protective Properties of Aloe vera Against t-BHP-Induced Oxidative Stress in Chang Cells	건국대학교	주저자	Journal of Microbiology and Biotechnology	1.525	20151030	공동사사	SCIE
9	논문	Effect of pH and temperature on the hydrolysis degree of venison	건국대학교	주저자	Journal of Antler Science	-	20150701	공동사사	비SCIE
10	논문	The effect of the mushrooms extract on the PSA expression in prostate cancer cells	건국대학교	주저자	Journal of Mushrooms	-	20151030	공동사사	비SCIE
11	논문	Effect of	건국대	공동	Food	0.653	20160831	공동사사	SCIE

		Enterococcus faecalis EF-2001 on experimentally induced atopic eczema in mice	학교	저자	Science and Biotechnology				
12	논문	Heat - Killed Enterococcus faecalis EF-2001 Ameliorates Atopic Dermatitis in a Murine Model	건국대학교	교신 저자	Nutrients	3.759	20160331	공동사사	SCIE
13	논문	Effect of Sika Deer (Cervus nippon) Velvet Antler on Prostate-specific Antigen Levels and Migration of LNCaP Human Prostate Cancer Cells	건국대학교	교신 저자	Asian Journal of Animal and Veterinary Advances	0.54	20161015	공동사사	비SCIE
14	논문	The mechanism of lactate-induced vasodilation: A brief review.	전남대학교	교신 저자	한국웰니스 학회지 9(4):169-176	-	2014.11.30	단독사사	비SCIE
15	논문	Volatile Organosulfur and Nutrient Compounds Derived From Garlic ( <i>Allium sativum</i> ) According To Cultivating Areas and Processing Methods	전남대학교	교신 저자	Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 6(6):978-984	0.35	2015.12.31	단독사사	비SCIE
16	논문	Physicochemical Properties of Calcium Lactate Prepared by	전남대학교	교신 저자	Research Journal of Pharmaceutical,	0.35	2016.02.28	단독사사	비SCIE

		Single-Phase Aragonite Precipitated Calcium Carbonate			Biological and Chemical Sciences 7(1):1786-1 794				
17	논문	Physiochemical Characteristics of Functional Tofu Fortified with Garlic ( <i>Allium sativum</i> ) and Calcium Lactate as a Coagulant	전남대 학교	교신 저자	Research Journal of Pharmaceu tical, Biological and Chemical Sciences 7(1):243-25 0	0.35	2016.02.28	단독사사	비SCIE
18	논문	Anti-inflammatory effects of trans-1,3-diphenyl -2,3-epoxypropane -1- one in zebrafish embryos <i>in vivo</i> model	전남대 학교	주 저자	Fish & Shellfish Immunolog y 50:16-20	3.025	2016.03.30	단독사사	SCI
19	논문	Collagen hydrolysates increased osteogenic gene expressions via a MAPK signaling pathway in MG-63 human osteoblasts	세명대 학교	저자	Food & Function	2.694	2014.02.26	단독사사	SCI(E)
20	논문	Extrusion Process Enhances the Anti-inflammatory Effect of <i>Acanthopanax</i> <i>senticosus</i> Leaves	세명대 학교	저자	Food Science And Biotechnol ogy	0.695	2014.06.30	단독사사	SCI(E)
21	논문	Effects of <i>Draconis Resina</i> on the	세명대 학교	저자	대한본초학 회지	0.8784	2015.11.16	단독사사	-

		Collagenase Activities and the Procollagen Synthesis in Hs68 Human Fibroblasts, and Tyrosinase							
22	논문	Comparison of the Effect of Velvet Antler from Different Sections on Longitudinal Bone Growth of Adolescent Rats	세명대학교	저자	Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine	1.88	2016.05.19	단독사사	SCI(E)

## 제 11 장 기타사항

연차	지적사항	반영사항
1년차 (2014)	○ 선정평가위원회 지적사항 - 녹용 절각시기를 5일 간격에서 1주일 간격으로 하는 것이 통계처리나 시험수행을 용이하게 할 것으로 사료됨 - 녹용의 유효성분(지표성분)을 개발하고 기능성식품 원료 등록 추진을 염두에 둔 연구 필요 - 국내 양록산업의 활성화 방안 미진 - 녹용의 기능성 확인연구보다는 녹용소비 활성화를 위한 가공기술개발에 중점을 둘 것 - 동물 효능실험에 추가하여 사람을 대상으로 한 임상실험 계획이 추가되	→ 엘크 녹용 절각시기를 1주일 간격으로 수정하여 보완 → 본 연구에서는 녹용의 절각시기, 가공방법 등에 따른 유효성분 변화에 관한 분석을 포함하고 있으며, 향후 녹용의 지표물질 확립 및 인체임상실험을 통한 개별 인정형 건강기능식품 소재 등록을 위한 근거자료로 활용할 수 있을 것으로 사료됨. → 본 연구과제에서는 국산녹용을 사용하여 기능성 검증 및 다양한 녹용가공기술 개발을 통해 국내 양록 산업 활성화에 기여할 수 있을 것으로 사료됨. → 본 연구의 3세부과제에서 녹용을 이용한 다양한 식품 소재 및 가공기술개발에 관한 연구를 수행할 예정이며, 참여기업을 통해 개발한 가공기술에 관한 기술이전을 실시할 예정임. → 인체임상시험의 경우에는 시험기간과 사전 서류준비, 임상시험비 등의 여러 가지 해

	어야 할 것	결해야 할 문제가 많이 있음. 따라서 대안으로 유효한 기능성 및 효능의 경우, 과제 종료시점에 식약처 건강기능식품 담당자와 면담 후 임상시험 후보 분야를 선정하고, 향후 과제 도출을 위한 근거자료로 활용할 수 있을 것으로 사료됨.
1년차 (2014)	- 녹용 소비량 증대보다는 국내 양록 산업의 활성화에 초점을 두어야 함	→ 본 연구과제에서는 국산녹용을 사용하여 기능성 검증 및 다양한 녹용가공기술 개발을 통해 국내 양록 산업 활성화에 기여할 수 있을 것으로 사료됨.
	- 정량적 연구성과	→ 농촌진흥청 성과 기준에 맞게 수정
	- 성장단계별, 부위별 성분 및 특성에 따른 차별화된 가공품개발이 필요	→ 본 연구과제에서는 1세부과제와 3세부과제가 유기적으로 협력하여 성장단계 및 부위별 녹용을 제공받아 각 부위 및 성장단계에 따른 생리활성 성분 검토를 통해 차별화된 제품을 개발하고자 함.
	- 시장성 확보에 적합한 시제품 생산을 위한 가공기술 개발 필요	→ 본 연구의 3세부과제에서는 향후 시장성 확보를 위해 기호도 조사 등을 토대로 제형을 달리한 최소 6종류 이상의 가공제품을 개발할 예정임.
	- 정량적 성과 목표치 상향조정(영농활용 분야)	→ 정량적 성과 중 영농 활용 분야 목표치 상향 조정 (5건 → 6건)
	- 국내산 녹용의 가치평가가 객관화되고 차별화에 대한 근거가 될 수 있는 명확한 연구내용 제시 필요	→ 본 연구에서는 녹용의 절각시기, 가공방법 등에 따른 유효성분 변화에 관한 체계적인 분석을 통해, 향후 녹용의 지표물질 확립 및 개별 인정형 건강기능식품 소재 등록을 위한 근거자료로 활용할 수 있도록 할 것임.
	- 국가예산 투입 연구가 공공의 목적을 기반으로 하는 것으로 특정업체(제품)의 공식적으로 포함하는 것이 타당한지 검토 필요	→ 본 연구에서는 특정업체를 공식적으로 포함하지 않고 녹용을 이용하여 다양한 가공식품 제조 조건이 확립되어 있는 기업을 통해 본 연구결과 도출되는 시제품을 제작할 예정임.
	○ 1년차 연차평가위원회 지적사항 - 녹용의 이화학적 특성 조사 조속히 추진 - 가공 시 국내산 녹용의 우수성 제시	→ 녹용의 이화학적 특성 분석 결과를 1차년도 최종보고서에 추가, 보완하였음. → 본 연구 수행과정에서 국내산 녹용의 가공 시에는 수입산에 비해 녹용의 절각시기를 비교적 정확하게 파악할 수 있어 녹용의 절각시기에 따른 유효성분의 함량을 표준화시키기에 유용할 것으로 사료됨.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 녹용 소비 유형과 가공기술의 문제점 개선 대책 제시</li> </ul>	<p>→ 국내의 경우 현재 대부분의 녹용 관련 제품은 녹용과 다른 한약재를 혼합하여 열수 추출하는 형태의 가공제품으로 70% 정도가 건강기능식품 또는 건강기능식품 보조제 형태로 가공되고 있으며 대부분 파우치형태로 담아 유통, 판매되고 있으나 본 연구과제의 2차년도에는 1차년도 결과를 바탕으로 유효성분을 다량 함유하는 녹용 효소 가수분해물, 추출물 등을 이용하여 다양한 형태의 가공제품을 개발할 예정이며 특히 녹용 가공시 문제가 될 수 있는 특유의 비린맛과 냄새를 마스킹 할 수 있는 소재를 이용하여 녹용 가공시의 문제점을 해결할 예정임.</p>
2년차 (2015)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 2년차 연차평가위원회 지적사항 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 일부 연구결과는 추가적인 반복실험이 필요하다고 판단됨 (예, 녹용의 건조방법에 따른 일반성분 분석 등)</li> </ul> </li> </ul>	<p>→ 이미 3반복을 한 실험이며 SD값 추가하여 보완함.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 사슴산업의 활성화를 위해서는 녹용 및 녹육의 소비확대가 관건이므로 차년도에는 영농활용기술 발굴 및 홍보에 노력이 요구됨</li> </ul>	<p>→ 영농활용 및 홍보를 추가적으로 실시하겠습니다.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 녹용 가공제품을 개발하였어도 시판제품의 원가 상승요인에 따른 소비자 부담 검토 필요</li> </ul>	<p>→ 차년도에 녹용 시판제품의 원가 상승요인 및 그에 따른 소비자 부담 등에 관한 조사자료 등을 보완할 예정임.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 녹용의 채취시기가 유효성분의 함량을 바탕으로 판단되어야 하나 시장가격에 의해 결정되었음.</li> </ul>	<p>→ 실험결과를 바탕으로 한 홍보자료등을 발간하여 농가를 대상으로 유효성분이 높을 때 채취하도록 유도할 예정임.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 수확 후 관리도 녹용 유효성분을 높이기 위해 특정 처리 등의 설계가 되어야 하나 단순히 열풍과 건조의 함량만 비교하여 식품개발과 연관을 갖지 못함.</li> </ul>	<p>→ 현재 이용되고 있는 녹용의 건조법은 대부분 열풍건조임. 녹용의 형태를 보존하고 영양성분을 유지하기 위해서는 열풍 및 동결건조가 현재 유일함. 한편, 동결건조가 권장되어야하나 이는 초기비용이 많이 들어가므로 농가에서 사용을 기피하고 있는 실정임. 따라서 본 결과를 활용한다면 동결건조법으로 유도할 수 있고 또한 수입녹용과의 차별화가 분명해질 것으로 사료됨. 향후 동결건조 외, 또는 동결건조 동안 더욱 유효성분을</p>

		보존할 수 있는 방법을 적극적으로 검토하겠다. 녹용의 유효성분을 높이기 위한 방법에는 건조 후 추출법(효소이용)의 변화를 주어 1차 및 2차년도에 실시하였음.
	- 1세부 3년차 과제도 생녹용 보관방법으로 2세부에 포함되어 수행되어야 할 것임	→ 3년차에는 녹용 저장기간 중 성분변화는 제2과제에서 수행하고, 제1과제에서 녹용 성장기간 중 유효성분 함량 조사 연구를 수행할 예정임.
3년차 (2016)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 3년차 연차평가위원회 지적사항</li> <li>- 녹용성분에 대한 통계분석시 유의성 표시요망</li> <li>- 2세부과제 건조방법과 온도 BY MONTH에서 가장 적합한 처리 방식이 무엇인지 제시요망</li> <li>- 구체적 산업적 활용방안 제시 필요</li> </ul>	<p>→ 녹용 성분에 대한 유의성을 표시하였음.</p> <p>→ 최적방법 제시하였음.</p> <p>→ 연구결과의 활용계획에 제시하였음.</p>

## 제 12 장 참고문헌

AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 15th edition. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.

Bae, D.S. 1975. Study on the effects of velvet on growth of animal. Korea J. Animal. Sci. 17; 571-576.

Bae, D.S. 1976. Study on the effects of velvet on growth of animal. Korea J. Animal. Sci. 18; 342-348.

Bergman, I., Loxley, R., 1962. Two improve and simple methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. Anal. Chem. 35, 1961 - 1965.

Chapman, D. I. 1975. Antlers-bones of contention. Mamm. Rev. 5:121-172.

Choi, H. K., K. H. Kim, K. H. Kim, Y. S. Kim, M. W. Lee and W. K. Whang. 2006. Metabolomic differentiation of deer antlers of various origins by HNMR spectrometry and principal components analysis. J. Pharm. Biomed. Anal. 4:1047-1050.

Datamonitor 2011. Google, Inc. Datamonitor Report

Elliott, J. L., J. M. Oldham, G. W. Asher, P. C. Molan and J. J. Bass. 1996. Effect of

- Testosterone on binding of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II in growing antlers of fallow deer (*Dama dama*). *Growth Regul.* 6:214–221.
- Ha, Y. W., B. T. Jeon, S. H. Moon and Y. S. Kim. 2003. Biochemical components among different fodders-treated antlers. *Kor. J. Pharmacogn.* 34:40–44.
- Ha, Y. W., B. T. Jeon, S. H. Moon, H. Toyoda, T. Toida, R. J. Linhardt and Y. S. Kim. 2005. Characterization of heparin sulfate from the unossified antler of *Cervus elaphus*. *Carbohydr. Res.* 340:411–416.
- Han, N.Y. and Jhon, G.J. 1994. Purification and analysis gangliosides from deer antler, *Korean Biochem. J.* 27; 459–465
- Han, N.Y. and Jhon, G.J. 1992. Purification and analysis carbohydrate-containing component from deer antler, *Korean Biochem. J.* 25; 444–451
- Hemmings, S. and X. Song. 2004. The effects of elk velvet antler consumption on the rat: Development, behaviour, toxicity and the activity of liver gamma-glutamyltranspeptidase. *Comp. Biochem. Physiol.* 138:105–112.
- Hong, N.D., Won, D.H., Kim, N.J., Chang, S.Y., Youn, W.G. and Kim, H.S. 1993. Stdies on the analysis of constituents od deer horn( I ) *Korean J. Pharmacogn.* 24; 38–46
- Jeon, B. T., S. J. Kim, S. M. Lee, P. J. Park, S. H. Sung, J. M. Kim and S. H. Moon. 2009. Effect of antler growth period on the chemical composition of velvet antler in sika deer (*Cervus nippon*). *Mamm. Biol.* 74:374–380.
- Jeon, B. T. and S. H. Moon. 2006. A review on feeding system for deer production. *JIFS.* 3:39–44.
- Jo, SJ., Kim, JH., Kim, JW., Choi, HO., Lee, SH., Kim, MK., Woo, SH., Han, BH. 2013, Comparative Studies on Velvet Deer Antler and Ossified Deer Antler on the Contents of Bioactive Components and on the Bone Mineral Density Improving Activity for Oophorectomized Rat, *Natural Product Sciences* 19(4):303–310.
- Kwak, HB., Kim, JH., Kim, DJ., Kwon, YM., Oh, JM., Kim, YK. 2008, Effect of Water Extract of Deer Antler in Osteoclast Differentiation, *Korean J. Physioloogy & Pathology*, 22(4):891–895.
- Kim, D.H., Han., S.B., Park, J.S. and Han. M.J. 1994. Fermentation of antler and its biologocal activity. *Korean J. Pharmacogn.* 25; 233–237.
- Kim, SK., Kim, SW., Kim, MS. 2000, Studies on the Effects of Antler Extract in Osteoporosis-Induced Rats I. Effects of Antler Extract on Hormones, Ca, P and ALP

- Levels in Osteoporosis-Induced Rats, Korean J. Animal Reprod, 24(2):179-188.
- Kim, Y.E., Lee, S.K., Yoon, U.C. and Kim, J.S. 1975. Biochemical studies on antler(I) Korea Biochem. J. 89-107.
- Kim, Y.E., Lee, S.K. and Yoo, H.J. 1976. Biochemical studies on antler(II) Korea Biochem. J. 89-107.
- Kim, Y.E., Lee, S.K., Lee, M.H., and Shin, S.U. 1976. Biochemical studies on antler(III) Korea Biochem. J. 9;153-164.
- Kosakaki, M., Yosizawa, Z., 1979. A partial modification of the cartilage method of Bitter and Muir for quantization of hexuronic acids. Anal. Biochem. 93, 295 - 298.
- Landete-Castillejos, T., A. Garcia and L. Gallego. 2007. Body weight, early growth and antler size influence antler bone mineral composition of Iberian Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*). Bone 40:230-235.
- Lee, JH., Lee, KM., Kim, JS., Jung, TY., Kim, SC. 2010. Anti-wrinkle Effects of Cervi Pantotrichum Cornu Pharmacopuncture Solution, The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society, 27(4):1-8.
- Li, C. 2003. Development of deer antler model for biochemical research. Rec. Adv. Res. Updates 4:255-274.
- Moon, S. H., S. K. Kang, S. M. Lee, M. H. Kim and B. T. Jeon. 2004. A study on the seasonal comparison of dry matter intake, digestibility, nitrogen balance and feeding behavior in spotted deer fed forest by-product silage and corn silage. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 17:57-65.
- Moreau, M., J. Dupuis, N. H. Bonneau and M. Lecuyer. 2004. Clinical evaluation of a powder of quality elk velvet antler for the treatment of osteoarthritis in dogs. Can. Vet. J. 45:133-139.
- Nanjo F, Goto K, Seto R, Suzuki M, Sakai M, Hara Y., 1996. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Free Radical Biology & Medicine 21, 890 - 895.
- Scott, J.E., 1960. Aliphatic ammonium salts in the assay of acidic polysaccharides from tissues. Methods Biochem. Anal. 8, 145 - 197.
- Shin, K.H., Lim, S.S., Chung, H.S. and Baek, I.B. 1999. Analysis of the composition of biochemical components in unossified antlers. Korean J. Pharmacogn. 30; 314-319.
- Sunwoo, H. H. 1998. Isolation, characterization and localization of glycosamines in growing

- antlers of wapiti (*Cervus elaphus*). Comp. Biochem. Physiol. Part B. 120:273–283.
- Sunwoo, H. H., T. Nakano, R. J. Hudson and J. S. Sim. 1995. Chemical composition of antlers from Wapiti (*Cervus elaphus*). J. Agric. Food Chem. 43:2846–2849.
- Sunwoo, H. H., L. Y. M. Sim, T. Nakano, R. J. Hudson and J. S. Sim. 1997. Glycosaminoglycans from growing antlers of wapiti (*Cervus elaphus*). Can. J. Anim. Sci.
- Suttie, J. M., Gluckman, P. D., Butler, J. H., Fennessy, P. F., Corson, I. D. and F. J. Laas. 1985. Insulin-like growth factor-I(IGF-I) antlerstimulating hormone. Endocrinol., 116(2):846–848.
- Suttie, J. M., P. F. Fennessy, et al. 1988. Elevated plasma IGF 1 levels in stags prevented from growing antlers. Endocrinology. 122:3005–3007.
- Szuwart. T., Gath, U., Althoff, J. and Hohling, H.J. 1994. Biochemical and histological study of the ossificatin in the early developing pedicle of the fallow(*Dama dama*). Cell Tissue Res. 277; 123–129.
- Warren, L., 1959. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. J. Biol. Chem. 234, 1971 – 1975.
- 한국축산연감. 2008-2009, 농축산신문 편집부, 2008.09.01.
- 한국양록협회, 사슴통계자료, <http://www.koreadeer.or.kr/>

## 주         의

1. 이 보고서는 농촌진흥청에서 시행한 「농축산물부가가치향상기술개발」의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농촌진흥청에서 시행한 「농축산물부가가치향상기술개발」의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.