

In situ-NIR 기술을 활용한 QbD 기반 고부가가치 건강기능식품의 개발

김준호*, 석부연, 윤하원, 황지민, 조성완*

*건양대학교 제약생명공학과

e-mail: kjhkis2@naver.com

Development and validation of a method for the analysis high valued health functional food based QbD by using In situ-NIR

Jun-Ho Kim*, Bu-Yeon Seok, Ha-Won Yoon, Ji-Min Hwang, Seong-Wan Cho*

*Dept. of Pharmaceutics & Biotechnology, Konyang University

요 약

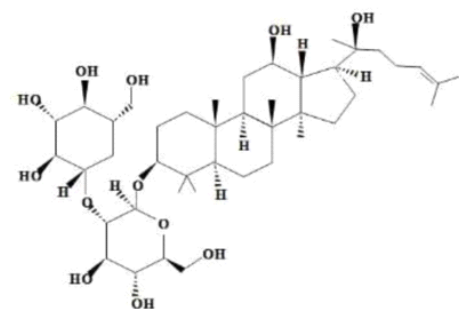
사포닌은 홍삼에 함유된 성분으로, 인체의 면역력 향상 등 여러 가지 효능을 가지고 있어 많은 건강기능식품의 원료로 이용되고 있다. 사포닌의 성분 분석을 위한 방법인 HPLC 분석 방법은 다수의 장비가 필요하며 분석 시간이 오래 걸리는 단점이 있다. 이를 보완하기 위하여 단시간에 비파괴 분석이 가능한 NIR을 이용하고자 하였다. 함량별로 제조된 홍삼 샘플을 NIR로 분석하였으며 추후 HPLC 분석을 진행한 뒤 결과값을 비교하여 HPLC가 NIR로 대체될 수 있는 가능성을 확인하고자 한다. 앞으로의 고부가가치 제품의 생산에 NIR 기술을 활용하면 객관적이고 신속한 품질 평가가 가능하여 제품 출하 시간을 단축할 수 있을 것이다.

n에 결합하여 항암제의 손실을 막아주는 기능을 가지고 있어
진세노사이드의 성분(Rb1, Rg3, Rg1)은 많은 건강기능식품
의 원료로 사용되고 있다.⁵⁾

1. 서론

최근, 사회적으로 바쁜 생활 패턴과 시민들의 건강에 대한 관심의 증대 등에 따라 다양한 유형의 식품 수요가 증가하는 추세이다. 특히 건강기능식품에 대한 관심이 증가하고 있는데, 한국건강기능식품협회의 조사 결과에 따르면, 국내 건강기능식품 시장의 규모가 2018년 4조 4천억 원에서 2020년 4조 9천억 원으로 약 11% 증가하였다. 그 중 2018년에서 2020년에 판매된 기능성 원료 중 홍삼이 약 14%를 차지하며 1위를 기록했다.¹⁾²⁾³⁾

사포닌(Saponin)은 홍삼에 함유된 효능성분으로 스테로이드, 스테로이드알카로이드 또는 트리테펜(triterpene)의 배당체로, 여러 식물에 존재하며 인체의 면역력을 높이는 성분이다. 홍삼에 들어있는 사포닌의 종류는 ginsenoside (진세노사이드), 엘루테로사이드(elutheroside)가 있다.⁴⁾ ginsenoside 성분 중 Rb1와 Rg3, Rg1은 뇌기능개선, 기억력손상과 혈소판 응집억제 및 노화방지, 항스트레스 등의 여러 가지 효능을 가지고 있다. ginsenoside Rg1은 혈관 확장 효과와 프리라디칼에 대한 보호 효과가 NO의 합성과 분비의 증진과 관련이 있으며 이를 통해 폐와 전신 고혈압의 치료에 효능이 있음을 말해준다. 특히 Rg3는 vin-cristine과 경쟁적으로 p-glycoprotei



[그림 1] 진세노사이드 Rg3의 화학구조

건강기능식품 제조업체에서는 사포닌의 성분을 분석하는 방법으로 고성능액체크로마토그래피법(HPLC)을 주로 사용하고 있다. HPLC 분석 방법은 고도의 분리기술을 통한 높은 정확성과 재현성이 우수하여 대부분의 품질관리에서 일반적으로 사용되며 건강기능식품의 성분을 보다 정확하게 분석할 수 있다.⁶⁾ 하지만 다수의 장비 및 분석 소모품이 필요하고 기기의 이동이 어려워 ex situ에서의 사용만이 가능하며, 이동상의 제조와 관리 및 분석 시간이 오래 소요되기 때문에 분석 결과가 나오기까지의 시간 소요가 많아 이후 개발에도 시간

이 지연된다.⁷⁾⁸⁾ 또한 고가의 건강기능식품 시료 손상과 전처리가 이루어져야 하므로 인건비와 생산단가가 증가하게 된다. 따라 인건비 및 생산단가의 절감을 위한 새로운 분석 방법인 NIR분석법의 활용이 기대된다.

근적외선을 이용한 건강 기능식품 분석은 국내에서 꾸준히 발표되고 있지만, 발표 건수는 많지 않아 현재는 NIR분석 연구가 미흡한 것으로 보인다. NIR 분석법은 물질이 각각 다른 특성을 지닌 특정한 파장의 빛만 흡수하는 원리를 이용하는 방법으로 현장 분석이 가능하여 분석 시간을 줄일 수 있으며 시약과 용매 등 화학약품 및 전처리 과정이 필요하지 않아 시료의 조제가 간편하여 생산단가를 줄일 수 있다.⁹⁾ 또한 동일 시료를 측정할 때 오차를 최소화하여 여러 성분을 동시 측정하고 분석하여 시료의 손상이 없는 비파괴 분석이 가능하다. QbD는 21세기형 의약품제조품질관리기준이라고 불리며 품질 목표를 미리 설정하고 제품 및 공정에 대한 이해와 공정관리를 통하여 체계적인 의약품 개발 방법을 의미한다.¹⁰⁾ 이는 현재까지 건강기능 식품에는 적용되지 않는 개념으로 체계적인 설계 및 전주기적 공정 관리를 통해 건강기능식품의 제조 공정 최적화와 품질 확보를 시도해 볼 예정이다.¹¹⁾

2. 실험방법

2.1 사용 기기

NIR(N-500, BUCHI, Switzerland), 단발타정기(XENA- I, RAON, Korea), Mixer(SYM - 2009, 삼양전자, Korea), balance(PW-214, AEADAM, UK)

2.2 사용 시약

Red ginseng powder(더고운삼, Korea), Microcrystalline Cellulose(WHAWON, Korea), A-TAB(WHAWON, Korea), Hydroxypropyl Cellulose(한아름팜, Korea), Croscarmellose-Na(WHAWON, Korea), Magnesium stearate(SAMCHUN, Korea), Methanol(DUKSAN, Korea), Acetonitrile(SAMCHUN, Korea), Distilled water

2.3 검체 제조 방법

검체를 제조하기 위해 주성분으로 Red ginseng을 사용하였고 부형제로 Microcrystalline Cellulose와 A-TAB을 사용하였으며, 결합제로는 Hydroxypropyl Cellulose를, 붕해제로는 Croscarmellose-Na, 활택제로는

Magnesium Stearate를 사용하였다. 아래의 [표 1], [표 2]와 같이 원료약품과 Placebo 구성성분의 함량(mg)과 각각의 NIR 1회 측정 분량을 90배로 하여 칭량한 후 균일하게 혼합하였다.¹²⁾ [표 3]은 Red ginseng 함량이 80%, 90%, 100%, 110%, 120%가 되도록 칭량한 값을 나타내었다.

[표 1] 원료약품 구성성분 및 함량

원료명	함량(mg)	NIR 1회 측정 분량(mg)	백분율(%)
Red ginseng	199	17,910.0	39.80
MCC	149.31	13,437.5	29.86
A-TAB	74.62	6,715.8	14.92
L-HPC	37.28	3,355.2	7.46
Croscarmellose-Na	24.86	2,237.4	4.97
St.Mg	14.934	1,344.1	2.99
총중량	500	45,000	100.00

[표 2] Placebo 구성성분 및 함량

원료명	함량(mg)	NIR 1회 측정 분량(mg)
MCC	82.67	7,440.5
A-Tab	41.32	3,718.6
L-HPC	20.64	1,857.8
Croscarmellose-Na	13.77	1,238.9
St.Mg	8.27	744.2
총중량	166.67	15,000

[표 3] 농도별 원료약품 및 Placebo 분량 (단위:mg)

농도(%)	80	90	100	110	120
주성분	0	0	0	670	1,340
현장시료	8,000	9,000	10,000	9,330	8,660
Placebo	2,000	1,000	0	0	0
총중량	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000
조제농도(%)	80.0	90.0	100.0	110.1	120.3
시료 수(개)	3	3	9	3	3

2.4 NIR을 이용한 홍삼 정제의 spectra 분석

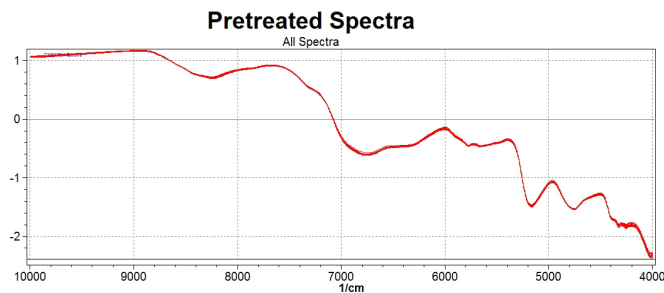
QTPP(품질 목표 사항)는 일정한 품질과 정확한 함량을 가진 홍삼 정제의 제조를 목표로 설정하였으며, CQA(주요 품질 특성)는 용출, 함량, 중량 편차의 총 세 개로 분류하였다. CPP(주요 공정 변수)로는 정제의 두께, 타정기 압력, 타정 속도, 혼합 시간을 중점으로 설정하여 DoE를 실시하였다.¹³⁾¹⁴⁾

2.5 NIR을 이용한 홍삼 정제의 spectra 분석

검체 혼합 후 Mixer를 이용하여 10초간 분쇄하는 과정을 거쳐 입자를 균일하게 조제한 후, 검체를 NIR 전용 Sample cup에 담아 1개의 검체 당 3회 반복 측정하여 각 3개의 spectra를 도출하도록 하였다. 분석항목에서 장치는 NIRFlex N500, 측정셀은 Solids XL, 스캔횟수는 32로 설정하고 측정 셀에서 외부 표준물질 측정주기를 60분으로 하였다. 측정하여 얻어진 spectra를 분석하여 직선성, 특이성 및 범위가 적합하지 확인하였다.

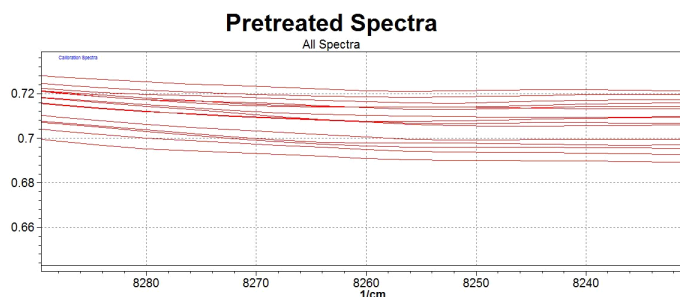
3. 결과 및 고찰

홍삼 샘플을 각각 3, 3, 6, 3, 3개를 조제하여 NIR을 이용해 측정한 %농도별 spectra를 [그림 2]에서 나타내었다.



[그림 2] 홍삼 샘플의 %농도별 spectra

[그림 3]은 부분과장에서의 %농도별 spectra로 각각의 농도별로 8240-8280nm에서 층 분리가 비교적 명확하게 이루어져 유의성을 나타내고 있음을 확인하였다.¹⁵⁾ 따라서 NIR을 이용하여 측정했을 때 샘플의 각 농도별로 정확한 함량값을 나타낼 수 있음을 판단하였다.



[그림 3] 8240-8280nm에서의 % 농도별 spectra

참고문헌

- [1] 공병만, 박민주, 민진우, 김호빈, 김세화, 김세영 and 양덕준. 2008, "백삼, 발효인삼, 홍삼 농축액의 이화학적 특성", Journal of Ginseng Research, vol.32, no.3 pp.238-243.
- [2] 김승섭, 하지혜, 정명훈, 안주희, 윤원병, 박성진, 성동호, and 이현용. "생더덕과 발효더덕의 유용생리활성 비교." 韓國藥用作物學會誌 17.4 (2009): 280-285.
- [3] 박성진(Sung Jin Park), 박동식(Dong Sik Park), 이수복(Su Bock Lee), 허신용(Xinlong He), 안주희(Ju Hee Ahn), 윤원병(Won Byung Yoon), and 이현용(Hyeon Yong Lee). "초고압 추출 처리에 의한 더덕 및 발효더덕의 항산화 증진." 한국식품영양과학회지 39.12 (2010): 1898-1902.
- [4] 윤영식 / Young Sic Yun (2013) '인삼꽃 발효물의 항산화 활성 및 면역활성 효과와 사포닌 함량 분석
- [5] 박효정. "인삼 및 홍삼의 발효에 의한 사포닌 조성 변화에 관한 연구." 국내석사학위논문 수원대학교 일반대학원, 2010. 경기도
- [6] 김영봉, and Kim Yeong-Bung. "식품의 성분분석을 위한 근적외선(NIR)의 이용(I)." 食品技術 9.1 (1996): 24-37.
- [7] 송이슬(Lee-Seul Song), 김영학(Young-Hak Kim), 김기쁨(Gi-Ppeum Kim), 안경근(Kyung-Geun Ahn), 황영선(Young-Sun Hwang), 강인규(In-Kyu Kang), 윤성원(Sung-Won Yoon), 이준수(Junssoo Lee), 신기용(Ki-Yong Shin), 이우영(Woo-Young Lee), 조영숙(Young Sook Cho), and 정명근(Myong-Gun Choung). "근적외 분광분석법을 이용한 국내 유통 식품 함유 탄수화물, 단백질 및 지방의 정량 분석." 한국식품영양과학회지 43.3 (2014): 425-430.
- [8] 김용호, 안형균, 이은섭, and 김희동. "근적외분광분석기를 이용한 김정콩 안토시아닌의 함량 분석." Korean journal of crop science 53.1 (2008): 15-20.
- [9] 최성업(Choi Sung-Up). "근적외부스펙트럼 측정법을 이용한 록소프로펜의 정량화 및 밸리데이션." 한국산학기술학회논문지 15.1 (2014): 396-401.
- [10] 이종혁, and 김주은. "설계기반품질고도화(QbD)의약품 개발을 위한 오픈소스 기반 실험설계 R 프로그램의 활용." 약학회지 63.5 (2019): 274-281.
- [11] 이지한 Lee, Ji Han. 2021. "QbD 방식을 이용한 Linagliptin 과 Metformin의 이중정 복합제 개발 / QbD Approach to Development of Linagliptin and Metformin Fixed-Dose Combination Tablet," January.
- [12] Mark A. Berhow, Mukti Singh, Michael J. Bowman, Neil P.J. Price, Steven F. Vaughn, Sean X. Liu, Quantitative NIR determination of isoflavone and saponin content of

ground soybeans, Food Chemistry, Volume 317, 2020, 126373, ISSN 0308-8146

[13] Kim, Kang-Min & Kang, Jae. (2016). Design of Experiments for Tablet Compression of Valsartan and Pravastatin Fixed-Dose Combination Tablet. Asian Journal of Chemistry. 28. 2539-2544. 10.14233/ajchem.2016.20079.

[14] Kim, Kang-Min & Kim, Geun-Tae & Kang, Jae. (2016). Design of Experiments for Wet Granulation of Valsartan and Pravastatin Fixed-Dose Combination Tablet. Asian Journal of Chemistry. 28. 2759-2763. 10.14233/ajchem.2016.20115.

[15] Lu YJ, Qu YL, Feng ZQ, Cao ZQ, Song M. [Analysis of saponin in Chinese ginsengs by NIR spectroscopy]. Guang pu xue yu Guang pu fen xi = Guang pu. 2007 Mar;27(3):490-493. PMID: 17554905.