

발 간 등 록 번 호

11-1543000-000581-01

오디 수확후 관리기술 및 고부가가치 가공제품 개발

The development of post harvest technology and high value-added processed product for mulberry fruits

연 구 기 관
한 국 식 품 연 구 원

농 립 축 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “오디 수확 후 관리기술 및 고부가가치 가공제품 개발” 과제(1세부과제 “오디를 이용한 고부가가치 가공제품 개발”, 2세부과제 “오디의 고품질 유지를 위한 수확 후 관리기술 개발”, 1협동과제 “오디의 항당뇨 효능 평가”, 1위탁과제 “오디로부터 색소 및 기능성 소재의 분리 동정 및 표준화”)의 보고서로 제출합니다.

2014년 10월 10일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

주관연구책임자 : 김 영 언

1세부연구책임자 : 김 영 언

2세부연구책임자 : 김 동 만

협동연구기관명 : 강원대학교

협동연구책임자 : 홍 익 기

위탁연구기관명 : 경희대학교

위탁연구책임자 : 백 남 인

제1세부 : 오디를 이용한 고부가가치가공제품 개발

세부연구기관명	:	한국식품연구원
세부연구책임자	:	김영언
연구원	:	한대석
연구원	:	김영호
연구원	:	이남혁
연구원	:	이창호
연구원	:	박동준
연구원	:	차환수
연구원	:	양지원

요 약 문

I. 제 목

오디를 이용한 고부가가치 가공제품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 오디의 기능성 및 영양성의 우수성이 알려지면서 재배량과 생산량이 지속적으로 증가하는 추세에 있으나 저장성이 좋지 않은 단점이 있어 이를 제대로 소비할 수 있는 방법이 필요하며 이에 대한 해결책으로 고부가가치 가공제품(건강음료, 병조림, 반건조 및 건조제품, 다양한 소스류 등) 및 소재 개발이 필요함. 또한 오디 소비 창출을 통해 오디 생산 농가의 소득 증대와 오디 가공제품의 대중화를 통한 산업계의 발전에 기여하고자 함

III. 연구개발 내용 및 범위

- 안토시아닌 고함유 오디 물 추출물을 이용한 고부가가치 제품 개발
 - 오디 열수 추출물을 이용한 음료개발
 - 안토시아닌 고함유 물 추출물을 이용한 오디 주스 개발
 - 비가열처리 오디 주스 개발
 - Ohmic heating을 이용한 유효성분 최소 손실 오디 주스 살균 조건 연구
 - 오디 푸딩 개발
- 오디를 이용한 농축액 개발 및 농축액을 이용한 고부가가치 제품 개발
 - 안토시아닌 고함유 오디 농축액 개발
 - 오디 농축액을 첨가한 식혜 개발
 - Ohmic heating을 이용한 유효성분 최소 손실 오디 농축액 살균 조건 연구
- 오디를 이용한 원형유지 병조림 개발
- 여러 건조 조건을 이용한 오디 고부가가치 제품 개발
 - 감압건조 기술을 적용한 건조 오디 개발
 - 반건조 오디 제품 개발
 - 식품첨가물 등으로 활용 가능한 오디 건조분말 개발

- 오디의 동결건조 분말을 첨가한 면류 개발
- 오디를 이용한 다양한 종류의 소스 개발
 - 오디과육을 첨가한 샐러드용 소스 개발
 - 오디즙을 첨가한 스테이크용 소스 개발
 - 오디 콩포트(시럽용) 소스 개발
- 오디를 이용한 타블렛(정) 개발
- 오디를 이용한 식품 첨가물 등으로 활용 가능한 천연색소 개발
 - 천연색소의 소재화
 - 초음파처리를 통한 천연색소 추출 효율성 증대 기술 개발
- 오디의 혈액 순환기계 관련 효과 검증
 - 오디의 ACE 저해 활성 측정
 - 오디의 HMG-CoA reductase 저해 활성 측정
 - F1B Golden Syrian hamster를 이용한 오디의 항동맥경화 효과 검증

IV. 연구개발결과

- 안토시아닌 고함유 오디 물 추출물을 이용한 고부가가치 제품 개발
 - 안토시아닌 고함유 오디 열수 추출물을 이용한 음료는 가용성 고형물, pH, 색도를 측정하여 물 1 L에 오디 30 g을 첨가하여 60분 열수 추출한 추출물을 음료 베이스로 결정하였고, 음료 첨가물은 관능 평가를 통하여 0.63% 매실 농축액, 0.13% 자몽 농축액에 0.08% 오디향(해그린, 오디향592778)을 첨가하여 최종 오디 음료를 개발하였다. 오디 음료는 저장성 평가를 통해 안전성을 확인하였다.
 - 최적조건 안토시아닌 함유 물 추출물을 이용한 오디 주스는 가용성 고형물, pH, 색도, 안토시아닌 색소를 측정하여 물 900 mL에 오디 100 g을 첨가하여 15℃에서 8시간 추출한 추출물을 주스 베이스로 결정하였고, 첨가물은 관능평가를 통하여 첨가당은 고과당, 산 비율은 비타민 C : citric acid = 70 : 30으로 하여 최종 오디 주스를 개발하였다. 오디 주스는 저장성과 관능평가를 통하여 안전성과 기호성의 적합성을 확인하였다.
 - 비가열처리 오디 주스는 관능평가를 통하여 오디 함량 40%에 여러 가지 과일즙(배, 포

도 : 파인애플, 골드키위 = 2 : 1)을 첨가하여 최종 배합비를 완성하였고, 최종 비가열 처리 오디 주스는 저장성과 관능평가를 통하여 안전성과 기호성을 검증하였다.

- 비가열처리 오디 주스의 살균 조건은 Ohmic heating을 사용하여 75℃에서 1분간 처리되는 것으로 결정하였으며, 저장성 평가를 통하여 안전성을 검증하였다.
- 오디의 열수 추출물과 여과 추출물을 관능평가를 통하여 비교한 결과 열수 추출물을 푸딩액으로 결정하였으며, 200 g의 오디에 1 L의 물을 넣고 60분간 추출한 추출물 80%에 판젤라틴, 백설탕, 사과농축액, 자몽농축액, 파인애플농축액, 함수결정포도당, 구연산, 오디향을 배합비에 따라 첨가하여 70℃이하에서 모든 재료들을 완전히 용해한 후 오디를 첨가하고 4℃에서 24시간동안 겔화시켜 오디 푸딩을 개발하였고 관능평가를 통하여 기호성을 검증하였다.

○ 오디를 이용한 농축액 개발 및 농축액을 이용한 고부가가치 제품 개발

- 오디 500 g에 물 2 L를 첨가하여 추출한 후 30℃, 40℃, 60℃에서 70 °Bx까지 농축했을 때, 평균 6시간, 4시간, 2시간 30분이 소요되었다. 안토시아닌 색소를 흡광도로 측정 한 결과, 낮은 온도에서 고함량 안토시아닌 함유 농축액의 제조가 가능하나, 추출시간과 경제성을 고려하여 30℃를 최적온도로 결정하여 오디의 고함량 안토시아닌 함유 농축액을 개발하였다.
- 오디식혜는 관능평가를 통하여 5% 오디 농축액을 첨가하여 개발하였다. 오디 식혜는 이화학적 특성, 저장성, 관능평가 및 항산화 평가를 통하여 안전성과 기호성 및 기능성을 확인하였다.
- 유효성분 최소 손실 오디 농축액 살균 조건은 Ohmic heating을 사용하여 75℃에서 1분간 처리되는 것으로 결정하였으며, 저장성 평가를 통하여 안전성을 검증하였다.

○ 오디를 이용한 원형유지 병조림 개발

- 오디 병조림 당침액은 관능평가 및 이화학적 특성 측정을 통하여 설탕 : 솔비톨 = 50 : 50, 비타민 C : citric acid = 70 : 30, 젤란검 : 잔탄검 = 70 : 30을 최종 배합비로 결정하였으며, 원형 유지 오디 병조림의 저장성과 관능평가를 통하여 안전성과 기호성을 확인하였다.

○ 여러 건조 조건을 이용한 오디 고부가가치 제품 개발

- 감압건조 기술을 이용하여 개발된 건조 오디는 색도와 조직감 측정을 통하여 3-4% 수분 함량과 갈변 현상이 일어나지 않는 75℃, 48시간을 최적조건으로 결정하였고 천연 오디 스낵의 저장성과 관능평가를 통하여 안전성과 기호성을 확인하였다.
- 반건조 오디는 관능평가를 통하여 설탕 : 솔비톨 = 70 : 30, 비타민 C : citric acid = 50 : 50로 배합비를 결정하였으며, 이화학적 특성 및 관능 평가를 통하여 35℃에서 12시간 열풍건조하는 조건을 확립하였고 저장성과 관능평가를 통하여 안전성과 기호성을 확인하였다.
- 오디 물 추출물을 농축하고 동결건조하여 입자크기에 따라 품질평가를 통하여 식품첨가물 등으로 활용 가능한 오디 건조분말 개발하였다. 오디 건조분말은 수분흡수지수와 수분용해지수 입자크기의 측정을 통하여 입자 크기가 가장 작은 분말로 결정하였다. 입자 크기에 따른 오디 건조분말을 이용한 음료를 제조하여 관능평가를 측정한 결과 역시 입자 크기가 가장 작은 분말의 기호도가 가장 높게 나타났고 최종 식품첨가물 등으로 활용 가능한 오디 건조분말은 입자크기가 가장 작은 60 mesh로 결정하였다.
- 오디의 동결건조 분말을 비율별로 첨가한 면은 72시간동안 자연건조시켜 건면을 제조하였으며 오디 분말 첨가 반죽의 호화 특성, rheology 특성과 오디 생면의 이화학적 특성과 관능평가를 통하여 오디 동결건조 분말을 1% 첨가하는 것이 가장 좋은 것으로 나타났다.

○ 오디를 이용한 다양한 종류의 소스 개발

- 오디과육을 첨가한 샐러드용 소스는 이화학적 특성과 관능평가를 통하여 오디 과육의 함량을 15% 첨가하는 것으로 최종 결정하였고, 샐러드용 소스는 최종적으로 저장성과 관능평가를 통하여 안전성과 기호성을 검증하였다.
- 오디즙을 첨가한 스테이크용 소스는 이화학적 특성과 관능평가를 통하여 오디즙의 함량을 30% 첨가하는 것으로 최종 결정하였고, 스테이크용 소스는 최종적으로 저장성과 관능평가를 통하여 안전성과 기호성을 검증하였다.
- 오디 콤포트(시럽용) 소스는 이화학적 특성과 관능평가를 통하여 설탕10 : 아가베시럽5 : 솔비톨5로 당 배합비를 결정하였으며, 콤포트 소스는 최종적으로 저장성과 관능평가를

통하여 안전성과 기호성을 검증하였다.

○ 오디를 이용한 타블렛(정)

- 오디를 이용한 타블렛(정)은 붕해성, 이화학적 특성, 파손강도, 흡습성 및 관능평가를 측정하여 비타민 C를 10% 첨가한 오디 타블렛을 개발하였다.

○ 오디를 이용한 식품 첨가물 등으로 활용 가능한 천연색소 개발

- 천연색소 개발을 위한 오디의 최적 추출조건은 산첨가와 추출온도에 따른 이화학적 특성과 항산화 특성을 측정하여 25℃에서 citric acid를 0.1% 첨가하여 추출하는 것으로 결정되었다. 천연색소의 소재화를 위하여 오디의 최적 추출조건에 따른 안토시아닌 수율을 측정하였으나 안토시아닌 함량이 너무 극소량 존재하여 오디를 이용한 천연색소의 소재화는 경제성이 없는 것으로 판단되었다.
- 초음파 처리를 통한 천연색소 추출 효율성 증대 기술은 초음파 처리 시간에 따른 안토시아닌 색소 흡광도, 총 안토시아닌 함량, 총 페놀 함량 및 DPPH radical 소거능을 측정하여 5초 간격 초음파로 처리한 조건으로 하였다.

○ 오디의 혈액 순환기계 관련 효과 검증

- 오디 추출물의 ACE 저해 활성 측정 결과, 50% 에탄올 추출물, 산첨가 추출물 및 에틸 아세테이트 분획물 중 에틸 아세테이트 분획물 10(133.93%)는 모든 시료 중 가장 높은 ACE 저해 활성을 나타내었다.
- 오디의 HMG-CoA reductase 저해 활성 측정결과, 50% 에탄올 추출물, 산첨가 추출물, 에틸 아세테이트 분획물, 부탄올 분획물 및 에탄올 분획물중 에탄올 분획물 5(133.21%)이 가장 높은 HMG-CoA reductase 저해 활성을 나타냈다.
- F1B Golden Syrian hamster를 이용한 오디의 항동맥경화 효과를 검증하기 위해 실험기간 중 체중변화를 조사한 결과, 오디 추출물을 투여하지 않은 동맥경화유발 사료만을 섭취한 AC군의 체중은 정상대조군에 비해 실험이 진행되는 동안 가장 높게 증가하였으며 1000 mg/kg 오디 추출물 투여군은 체중 감소 효과를 나타냈다.
- 오디 추출물이 동맥경화를 유발시킨 햄스터의 혈중 지질성분에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 non HDL 콜레스테롤 수치를 분

석한 결과, 1000 mg/kg 오디 추출물을 투여한 S10은 동맥경화유발 식이를 섭취한 AC군에 비해 낮은 수치를 나타냈다. 오디 추출물의 투여가 동맥경화를 유발한 햄스터의 장기무게에 미치는 영향을 알아보기 위해 간, 심장, 신장 및 비장을 적출하여 무게를 측정 한 결과, 간의 무게는 NS10군이 AC군에 비해 1.2배 낮게 나타났다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 연구성과

- 학술발표 10건
- 논문 2편
- 특허 출원 5건, 등록 3건
- 홍보 1건
- 기술이전 1건 진행중

○ 성과활용 계획

- 2014년 9월 5일 현재 제1세부과제 참여기업인 농업회사법인 (주)수주촌과 무상기술이전을 위한 서류를 제출한 상태이며 10월 중 기술이전 할 계획임
- 2014년 하반기 내 ‘초음파 처리에 따른 오디의 유효성분 함량 증대 기술’ 특허 출원 2건 예정임
- 2014년 하반기 내 ‘산화칼슘을 이용한 오디의 소독효과’ 및 ‘초음파 처리에 따른 오디의 유효성분 함량 증대 기술’ 등 논문 3건 게재 예정임

SUMMARY

I. Title

The development of high value-added processed products using mulberry fruits

II. Purpose and Necessity of the Research and Development

Recently, Mulberry fruits was announced the superiority of the functionality and nutritionality. In order to increase mulberry fruits consumption it is necessary to identify new consumption methods that take advantage of the increased cultivation and production. The purpose of this study is to contribute to the development of the mulberry industry by popularizing processed mulberry products and to increase the income of mulberry farms by developing high value-added processed products (health drinks, bottled foods, half-dried and dried products, various sauces, etc.) and materials, considering that the fruits cannot be stored for long periods.

III. Research and Development Contents and Range

- The development of high value-added products using mulberry water extracts containing high anthocyanin content
 - The development of drinks using the hydrothermal extracts of mulberry fruit
 - The development of mulberry juice by using water extracts containing high levels of anthocyanins
 - The development of non-heat-treated mulberry juice
 - Sterilization conditions for mulberry juice that minimize the loss of active contents by using Ohmic heating
 - The development of mulberry fruit puddings
- The development of mulberry concentrates and high value-added products from concentrates
 - Develop mulberry concentrates containing high levels of anthocyanins

- The development of sweet rice drink(*Sikhye*) supplemented with mulberry concentrate
- Sterilization conditions for mulberry concentrates that minimize the loss of active contents using Ohmic heating
- The development of bottled mulberry fruits that preserve the original form of mulberries
- The development of high value-added mulberry products using various drying conditions
 - The development of dried mulberries using vacuum drying condition
 - The development of semi-desiccated mulberry products
 - The development of dried mulberry powders for use as food additives
 - The development of noodles with freeze-dried mulberry powders
- The development of various sauces using mulberries
 - The development of salad dressings containing mulberry pulp
 - The development of steak sauces containing mulberry juice
 - The development of mulberry compote(for syrups)
- The development of tablets using mulberries
- The development of natural pigments to be used as food additives by using mulberries
 - The materialization of natural pigments
 - The development of technologies to improve natural pigment extraction efficiency by using ultrasonication
- Identify the positive effects of mulberry on the blood circulatory system
 - Measure the ACE inhibition activity of mulberries
 - Measure the HMG-CoA reductase inhibition activity of mulberries
 - Measure the anti-arteriosclerotic effects of mulberries using F1B Golden Syrian hamsters

IV. Research and Development Results

- The development of high value-added products by using mulberry water extracts containing high anthocyanin content
- Mulberries hydrothermal extracts containing high anthocyanin content were determined by soluble solids, pH and color. The extracts were used as a drink base. Thirty grams of mulberries in 1 L of water were extracted for 60 min. Plum extracts (0.63%), grapefruit concentrates (0.13%), and mulberry scent (0.08%; Haegrin, mulberry scent 592778) were added as drink additives based on sensory evaluations. Safety and suitability of the drink were assessed by storability and sensory evaluations.
- Soluble solids, pH, color, and anthocyanin pigments were measured to determine the optimal conditions for the production of mulberry juice by using the extracts as the juice base. Mulberries were extracted with hot water for 8 h at 15 °C by adding 100 g of mulberries to 900 mL of water. High-fructose corn syrup and citric acid with vitamin C (vitamin C: citric acid = 70:30) were added to develop the mulberry juice. Safety and suitability of the juice were assessed by storability and sensory evaluations.
- The optimal proportions of the non-heat-processed mulberry juice were determined by adding pear and grapes: pineapple and gold kiwi in a 2:1 ratio to mulberry (40%) using sensory evaluations. Safety and suitability of the final non-heat-processed mulberry juice were assessed by storability and sensory evaluations.
- The optimal sterilization conditions of the non-heat-processed mulberry juice were determined to be 1 min at 75 °C using Ohmic heating. Safety and suitability were assessed by storability and sensory evaluations.
- Sensory evaluations of the hot water and filter extracts determined that hot water extract was optimal for pudding juice. Plate gelatin, sugar, apple concentrate, grapefruit concentrate, pineapple concentrate, hydrocrystalline glucose, citric acid, and mulberry scent were added according to the mix proportions into 80% extract produced by adding 200 g of mulberries to 1 L of water and subjecting the mixture to extraction for 60 min. After all the ingredients were completely dissolved at a temperature below 70 °C, the mulberries were added and gelled for 24 h at 4 °C. The suitability of the mulberry pudding was assessed by sensory evaluations.

- The development of mulberry concentrates and high value-added products from concentrates
 - When concentrating extracts by adding 500 g of mulberry to 2 L of water at 30 °C, 40 °C, 60°C, the average time required for concentration was 6 h, 4 h, and 2.5 h, respectively. For the concentrates containing high levels of anthocyanins, 30 °C was determined to be the optimal concentrate temperature, and the anthocyanin pigments were measured using absorption.
 - The mulberry Sikhye was developed by adding 5% mulberry concentrate, as judged by sensory evaluations. Safety and suitability of the mulberry Sikhye were determined by tests evaluating the physiochemical characteristics, storability, antioxidant activity, and sensory evaluations.
 - Ohmic heating for 1 min at 75 °C was determined to be the optimal sterilizing condition for the mulberry concentrate with minimal loss of active contents. Safety was determined by storability evaluations.
- The development of bottled mulberry fruits that preserve the original form of mulberries
 - The optimal ratios for bottled sugared solutions were determined to be sugar : sorbitol = 50 : 50, vitamin C : citric acid = 70 : 30, and gellan gum : xanthan gum = 70 : 30 as judged by sensory evaluations and physiochemical property measurements. The bottled mulberry fruits and their safety and suitability were identified through storability and sensory evaluations.
- The development of high value-added mulberry products using various drying conditions
 - The optimal conditions for the vacuum drying of mulberries (for which the end-product had a 3-4% moisture content and did not brown) were 48 h at 75 °C. Safety and suitability of the natural mulberry snack were identified by storability and sensory evaluations.

- The optimal semi-dry mulberry mix contained sugar : sorbitol in a 70 : 30 ratio and vitamin C : citric acid in a 50 : 50 ratio, as determined by sensory evaluations. The optimal hot air drying conditions were 12 h at 35 °C, based on the physiochemical properties and sensory evaluations. Safety and suitability of the semi-desiccated mulberry snack were identified by storability and sensory evaluations.
 - Dried mulberry powder for use as a food additive was developed using quality evaluations, according to particle size, by concentrating and freeze-drying mulberries. The powder with the smallest particle size was determined by measuring the absorptive and solubility index particle size. Sensory evaluations of drinks containing the dried mulberry powder revealed that the drink made using the smallest particles was preferable. The particle size of the end product to be used as a food additive was determined to be 60 mesh.
 - Dried noodles were produced by adding various amounts of freeze-dried mulberry powder to noodles and drying for 72 h. Evaluation of the pasting and rheological properties of the mulberry powder-added dough and physiochemical and sensory evaluations of the wet mulberry noodles indicated that the 1% mulberry freeze-dried powder-added noodle was optimal.
- The development of various sauces using mulberries
- The addition of 15% mulberry pulp was preferred for mulberry-supplemented salad dressings, based on physiochemical and sensory evaluations. Safety and suitability of the end product were determined by storability and sensory evaluations.
 - The optimal amount of mulberry juice added to steak sauce was 30%, as determined by physiochemical and sensory evaluations. Safety and suitability of the end product were determined by storability and sensory evaluations.
 - The optimal sugar mixture for the mulberry compote (syrup) sauce was determined to be sugar 10: Agave syrup 5: Sorbitol 5, based on the physicochemical properties and sensory evaluations. Safety and suitability of the final compote were determined by storability and sensory evaluations.

- The development of tablets using mulberries
 - Mulberry tablets containing vitamin C were determined to be optimal products based on measurements of disintegrability, physicochemical properties, breaking strength, and hygroscopic properties and sensory evaluations.

- The development of natural pigments to be used as food additives by using mulberries
 - The optimal extraction conditions for the development of natural pigments were 0.1% citric acid at 25 °C, as determined by the physicochemical and antioxidant properties as a function of the amount of acid added and extraction temperature. The yield of anthocyanin at the optimal mulberry extraction conditions was measured. The anthocyanin content was very low; hence, the materialization of natural pigments using mulberries will be expensive.
 - Ultrasonication at 5-s intervals improved the natural pigment extraction efficiency, as determined by the anthocyanin absorbance, total anthocyanin content, total phenol content, and antioxidative ability (determined by a DPPH radical scavenging assay).

- Identify the positive effects of mulberry on the blood circulatory system
 - Ethyl acetate fraction 10 (133.93%) had higher ACE inhibition activity than did 50% ethanol extract, acid-added extract, or ethyl acetate fraction.
 - Ethanol fraction 5 (133.21%) had higher HMG-CoA reductase inhibition activity than did 50% ethanol extract, acid-added extract, ethyl acetate fraction, butanol fraction, and ethanol fraction.
 - The anti-arteriosclerotic effects of mulberries were validated; the weight of the F1B Golden Syrian hamsters increased in the AC group provided only arteriosclerosis-inducing feed as compared with that in the normal control group. The group injected with 1,000 mg/kg mulberry extract showed a reduction in weight.
 - Neutral fat in blood, total cholesterol, HDL cholesterol, and non-HDL cholesterol were

evaluated to assess the effect of mulberry extracts on blood lipid components. S1 injected with 1000 mg/kg mulberry extract had lower values than the AC group fed with the arteriosclerosis-inducing feed.

- To assess the effects of mulberry extract injections on the organ weights of arteriosclerosis-induced hamsters, the weights of the liver, heart, kidney, and spleen were measured. The results showed that the liver weight of hamsters in the NS10 group was 1.2 times lower than that of hamsters in the AC group.

V. Research Results and Plans for Utilization

○ Research Results

- 10 Academic Publications
- 2 Papers
- 5 Patent Applications and 3 Patent Registrations
- 1 Publicity
- 1 Technology Transfer in Progress

○ Plans for Utilization

- As of September 5, 2014, an application for a free technology transfer with the agricultural corporation TMSooJooChon, a participant of Detailed Assignment No. 1, was submitted and the transfer is projected to occur in October.
- 2 patent applications for 'Increasing the active content in mulberries following ultrasonication' are planned for the latter half of 2014.
- 3 Papers concerning 'Sterilizing effects of mulberries using calcium oxide' and 'Increasing the active content in mulberries following ultrasonication' are planned for the latter half of 2014.

CONTENTS

Project Proposal	1
Overview	5
SUMMARY	11
CONTENTS	19
Contents	23
Chapter 1. Introduction	27
Chapter 2. Current status on Domestic and Foreign Technology	33
Chapter 3. Contents and Result	37
Section 1. Develop high value-added products using mulberry water extracts	37
1. Method	37
A. Physiochemical characteristics	37
B. Storability	38
C. Sensory evaluations	38
D. Antioxidant activity	38
E. Statistical analysis	38
2. Result	39
A. Develop mulberry drinks	39
B. Develop mulberry juice	44
C. Develop non-heat treated mulberry juice	51
D. Sterilizing conditions for mulberry juice using Ohmic Heating	54
E. Develop mulberry puddings	60
Section 2. Develop mulberry concentrates and high value-added products from concentrates	64
1. Method	64
A. Physiochemical characteristics	64
B. Storability	65
C. Sensory evaluations	65
D. Antioxidant activity	65
E. Statistical analysis	66
2. Result	67
A. Develop mulberry concentrates	67
B. Develop <i>Sikhye</i> with added mulberry concentrate	69
C. Sterilizing conditions for mulberry concentrates using Ohmic Heating	74

Section 3. Develop bottling that preserves original form using mulberry	77
1. Method	77
A. Material	77
B. Sugared solution method	77
C. Preserves original form using mulberry method	77
D. Bottling method	77
E. Physiochemical characteristics	77
F. Physical characteristics	78
G. Bacteria growth test	78
H. Storability	78
I. Sensory evaluations	78
J. Statistical analysis	79
2. Result	79
A. Develop optimal recipe of sugared solution	79
B. Develop optimal condition of preserves original form using mulberry	79
C. Storability	80
D. Sensory evaluations	80
Section 4. Develop mulberry products using various drying conditions	85
1. Method	85
A. Physiochemical characteristics	85
B. Physical characteristics	85
C. Storability	86
D. Sensory evaluations	86
E. Statistical analysis	86
2. Result	87
A. Develop dried mulberries using vacuum dry condition	87
B. Develop semi-desiccated mulberry products	91
C. Develop dried mulberry powders for use as food additives	94
D. Develop noodles with freeze-dried mulberry powders	96
Section 5. Develop various sauces using mulberries	100
1. Method	100
A. Physiochemical characteristics	100
B. Antioxidant activity	100
C. Storability	101
D. Statistical analysis	101
2. Result	102
A. Develop salad dressings with mulberry pulp	102
B. Develop steak sauces with mulberry juice	107
C. Develop mulberry compote (for syrups)	112
Section 6. Develop tablets using mulberries	116
1. Method	116

A. Pulverization	116
B. Tablet product	116
C. Disintegrability	116
D. Quality characteristic	116
E. Breaking strength	117
F. Color	117
G. Storability	117
H. Sensory evaluations	117
I. Statistical analysis	117
2. Result	118
A. Disintegrability	118
B. Quality characteristic	118
C. Breaking strength	118
D. Color	118
E. Sensory evaluations	118
F. Hygroscopic properties	119
Section 7. Develop natural pigments to be used as food additives using mulberries	122
1. Method	122
A. Physiochemical characteristics	122
B. Antioxidant activity	122
C. Statistical analysis	123
2. Result	124
A. Materialization	124
B. Develop technologies to improve natural pigment extraction efficiency using ultrasonication	126
Section 8. Identify the positive effects of mulberry on blood circulatory system	130
1. Method	130
A. <i>In vitro</i> test	130
B. <i>In vivo</i> test	131
C. Statistical analysis	133
2. Result	134
A. ACE inhibition activity	134
B. HMG-CoA reductase inhibition activity	136
C. Anti-arteriosclerotic effects	139
Chapter 4. Attainment of Objectives and Contribution	144
Chapter 5. Applications of the Results	146
Chapter 6. Scientific and Technological information from Abroad	148
Chapter 7. References	149
Chapter 8. Result evidence data	154

목 차

제 출 문	1
요 약 문	5
SUMMARY	11
CONTENTS	19
목 차	23
제 1 장 연구개발과제의 개요	27
제 2 장 국내외 기술개발 현황	33
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	37
제 1 절 안토시아닌 고함유 오디 물 추출물을 이용한 고부가가치 제품 개발	37
1. 연구방법	37
가. 이화학적 특성	37
나. 저장특성	38
다. 관능적 특성	38
라. 기능적 특성	38
마. 통계처리	38
2. 연구결과	39
가. 오디 열수 추출물을 이용한 음료개발	39
나. 안토시아닌 고함유 물 추출물을 이용한 오디 주스 개발	44
다. 비가열처리 오디주스 개발	51
라. Ohmic heating을 이용한 유효성분 최소 손실 오디주스 살균 조건 연구	54
마. 오디 푸딩 개발	60
제 2 절 오디를 이용한 농축액 개발 및 농축액을 이용한 고부가가치제품 개발	64
1. 연구방법	64
가. 이화학적 특성	64
나. 저장 특성	65
다. 관능적 특성	65
라. 기능적 특성	65
마. 통계처리	66
2. 연구결과	67
가. 안토시아닌 고함유 오디 농축액 개발	67
나. 오디 농축액을 첨가한 식혜 개발	69
다. Ohmic heating을 이용한 유효성분 최소 손실 오디 농축액 살균조건 연구	74

제 3 절 오디를 이용한 원형유지 병조림 개발	77
1. 연구방법	77
가. 실험재료	77
나. 오디 병조림 당침액 제조방법	77
다. 원형유지 오디 제조방법	77
라. 오디 병조림 제조방법	77
마. 오디 병조림의 이화학적 특성	77
바. 오디 병조림의 물리적 특성	78
사. 식품공정에 근거한 병조림의 세균발육시험	78
아. 오디 병조림의 저장 특성	78
자. 오디 병조림의 관능적 특성	78
차. 통계처리	79
2. 연구결과	79
가. 오디 병조림 당침액의 최적 배합비 개발	79
나. 오디 병조림 원형 유지 오디 최적 제조법 개발	79
다. 오디 병조림의 저장 특성	80
라. 최종 배합비로 제조된 오디 병조림의 관능적 특성	80
제 4 절 여러 건조 조건을 이용한 오디 고부가가치 제품 개발	85
1. 연구방법	85
가. 이화학적 특성	85
나. 물리적 특성	85
다. 저장 특성	86
라. 관능적 특성	86
마. 통계처리	86
2. 연구결과	87
가. 감압건조 기술을 적용한 건조 오디 개발	87
나. 반건조 오디 제품 개발	91
다. 식품첨가물 등으로 활용 가능한 오디 건조분말 개발	94
라. 오디의 동결건조 분말을 첨가한 면류 개발	96
제 5 절 오디를 이용한 다양한 종류의 소스 개발	100
1. 연구방법	100
가. 이화학적 특성	100
나. 관능적 특성	100
다. 저장 특성	101
라. 통계처리	101
2. 연구결과	102
가. 오디 과육을 이용한 샐러드용 소스 개발	102
나. 오디즙을 이용한 스테이크용 소스 개발	107
다. 오디 콤포트(시럽용) 소스 개발	112
제 6 절 오디를 이용한 타블렛(정) 개발	116
1. 연구방법	116

가. 오디의 분말화	116
나. 타블렛 제조	116
다. 봉해성	116
라. 품질특성	116
마. 파손강도	116
바. 색도	117
사. 저장 특성	117
아. 관능적 특성	117
자. 기능적 특성	117
차. 통계처리	117
2. 연구결과	118
가. 오디 타블렛의 봉해성	118
나. 오디 타블렛의 pH, 적정산도 및 가용성 고형물	118
다. 오디 타블렛의 파손강도	118
라. 오디 타블렛의 색	118
라. 오디 타블렛의 관능적 특성	118
바. 오디 타블렛의 흡습성	119
제 7 절 오디를 이용한 식품 첨가물 등으로 활용 가능한 천연색소 개발	122
1. 연구방법	122
가. 이화학적 특성	122
나. 기능적 특성	122
다. 통계처리	123
2. 연구결과	124
가. 천연색소의 소재화	124
나. 초음파 등을 이용한 천연색소 추출 효율성 증대 기술 개발	126
제 8 절 오디의 혈액 순환기계 관련 효과 검증	130
1. 연구방법	130
가. 혈액순환기계 관련 <i>in vitro</i> 효과 검증	130
나. 혈액순환기계 관련 <i>in vivo</i> 효과 검증	131
다. 통계처리	133
2. 연구결과	134
가. 오디의 ACE 저해 활성 측정	134
나. 오디의 HMG-CoA reductase 저해 활성 측정	136
다. FIB Golden Syrian hamster를 이용한 오디의 항동맥경화 효과 검증	139
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	144
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	146
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	148
제 7 장 참고문헌	149
제 8 장 실적 증빙 자료	154

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구 개발의 목적

본 연구는 저장성이 좋지 않은 오디를 고부가가치 가공제품(안토시아닌 고농도 건강음료, 병조림 제품, 반건조 제품 및 건조제품, 다양한 소스류 등)과 소재 개발 및 오디의 혈액순환기계 효과를 검증을 통해 최근 생산량 증대로 소비활로를 찾지 못하고 있는 오디의 소비 창출을 유도하여 오디 소비를 촉진을 통한 오디 생산 농가의 소득증대와 오디 가공제품의 대중화를 통한 산업계의 발전에 기여하고자 함

제 2 절 연구개발의 필요성

- 종래 ‘오디’는 뽕나무의 부산물로 일부 농가에서는 이를 수확하여 판매를 하기도 하였으나 수확 후 변질이 빠르게 진행됨에 따라 주로 수확철 농가에서 자체적으로 소비되고 있음
- 최근 ‘오디’가 건강기능식품소재로 각광 받으면서 ‘08년 이후 재배농가와 생산량이 급격히 증가하고 있음
- ‘09년도 기능성 양잠산물의 생산액 규모는 700억원 수준으로 추정되며 이중 오디의 생산액은 281억원으로 큰 비중을 차지하고 있음(누에가루, 동충하초, 뽕잎차, 잠분 등: 117억원, 오디: 281억원, 와인 화장품, 실크단백질 등: 300억원)
- 이에 따라 생산된 ‘오디’의 상품화를 시도하고 있으며 이를 통하여 ‘오디’가 고소득 작목으로 알려짐에 따라 전국적(부안, 영천, 예천, 상주, 산청, 원주, 화순 등)으로 ‘오디’ 생산을 위한 뽕나무의 식재면적이 계속 증가할 것으로 예상되며, ‘오디’ 생산에 적합한 품종의 육종 및 보급이 활발히 진행되고 있음
- 오디용 품종육성 보급(농진청): (‘09) 5종 → (‘15) 10종 → (‘20) 15종
- 오디의 소비는 직접 소비용과 가공제품 원료용으로 구분되며 직접 소비용은 수확직후의 생과 또는 이를 냉동한 형태로 출하되며, 가공용 원료의 경우 냉동 후 저장하면서 수요에 따라 출하되고 있음

<오디 재배농가수, 병발면적수 및 생산량 >

오디	2008년	2009년	2010년	2011년	2012년
재배농가수(호)	3248	5198	5702	5937	5996
병발면적수(상자)	1030	1547	1670	1750	1876
생산량(kg)	3244469	5613529	5625959	6752010	6160062

(기능성 양잠산업 현황, 국가통계포털, 통계청, 2014)

- 동의보감(東醫寶鑑) 탕액편(湯液篇)에 ‘오디는 성질은 차고 맛은 달며 독이 없다’, ‘까만 오디는 뽕나무의 정령이 모여 있는 것이며, 소갈증을 낮게 하고 오장을 편안하게 하며, 오래 먹으면 배가 고프지 않게 된다.’, ‘귀와 눈을 밝게 한다’, ‘오디를 오래 먹으면 백발이 검게 변하고 노화를 방지한다’고 기록되어 있음(Donggeuhak Institute 1994)
- 한방에서 오디(桑核子)를 상심(桑椹), 상실(桑實), 흑심(黑核) 등으로도 불리며, 빈혈, 고혈압, 관절통, 대머리 치료에 효능이 있는 것으로 알려짐(Kim SK 등 1991; Kangjoshineuihakwon 1985)
- 오디는 전통 한약재 임에도 불구하고, 관련된 홍보의 부족으로 젊은 세대에서는 오디 자체를 모르는 경우가 많음
- 오디(Mulberry)는 뽕나무과(Muraceae)에 속하는 낙엽교목인 뽕나무(*Morus alba* L.)의 열매로서 5월에서 6월에 걸쳐 과실의 색이 검은색 또는 자홍색을 나타낼 때 채취하여 식용하거나 건조한 후 한약제로 사용함(Kim SK 등 1991)
- 오디는 glucose와 fructose와 같은 당을 다량 함유하고 있고, Ca, K, vitamin C의 함량은 후지사과에 비해 각각 14배, 2배, 18배 높으며, oxalic acid와 citric acid를 지니고 있음(Go KC 1994)
- 항독성 물질인 레스베라트롤, 노화억제 항산화 색소인 C3G(cyanidin-3-glucoside), 고혈압 억제 물질인 루틴 등 기능성 물질이 함유되어 있음(김애정 등 2003; 김태완 1996)
- 오디는 카로틴, 탄닌산, 능금산, vitamin B1, B2, 니코틴 산 및 여러가지 몸에 좋은 유기산을 가지고 있음(이희완 등 1998)

- 오디 씨기름에는 스테이르산과 올레산, 동맥경화의 예방과 치료에 좋은 리놀레산이 함유되어 있음(김현복 등 2003)
- 오디의 효능은 노화억제, 당뇨병성 망막장애의 치료, 시력개선효과, 항산화 작용(김현복 등 2002), 항산화 물질 함유로 인한 지방산화 지연 및 방지(Block G 등 1994), 항당뇨, 항염증, 콜레스테롤 억제효과 빈혈, 관절통 및 대머리 치료에 효능이 있는 것으로 알려짐 (Donguehak Institute 1994; Kim SK 등 1991; Kangjoshineuihakwon 1985)
- 한방에서 주치(主治)는 보혈자음(補血滋陰), 생진윤조(生津潤燥), 현훈이명(鉉暈耳鳴), 심계실면(心悸失眠), 수발조백(鬚髮早白) 등을 치료하는 효능을 가진다고 알려져 있음(강경수 1999)
- 오디는 영양학적으로나 기능성면에서 복분자나 기타 수입 베리류 보다 장점을 많이 가지고 있음
- 오디는 맛이 좋고 칼슘, 비타민 C, 안토시아닌 색소 등을 많이 함유하고 있어 가공제품의 소재로도 활용도가 높음
- 오디는 생식, 잼, 술, 시럽 등으로 일부 이용되어 왔을 뿐이며, 과실의 크기가 작고 수분함량이 높아 부패하기 쉬어 저장에 어려운 점도 오디의 이용률이 현저히 낮은 원인 중의 하나임(강창수 등 2003, 김현복 2003)
- 오디의 기능성과 영양적인 우수성이 알려지면서 오디주스, 오디주, 오디즙, 오디잼 등이 연구되어 시제품이 개발됨
- 그러나, 여러 가지 기능적 효능을 갖추고 있음에도 불구하고 오디 가공제품에 대한 체계적인 연구가 이루어지지 않고 있고, 현재 오디가 주원료로 사용되는 식품이 개발되어 판매되고 있으나 일반화, 대중화 되어 있지 않은 실정
- 혈액순환이 원활히 일어나지 않을 때 협심증, 심근경색증, 부정맥에 의한 급사, 좌심실 부전이나 울혈성심부전 및 뇌경색 등이 진행될 수 있으며 따라서 혈액순환 장애에 의한 동맥경화증의 발생 및 심화는 많은 질환의 시초라고 할 수 있음
- 혈전이나 지질에 의해서 순환장애가 일어나게 되면 혈액의 공급이 원활하게 일어나지 않기 때문에 허혈현상이 발생하여 손·발 저림 등의 증상이 나타날 수 있음

- 최근 혈액순환 관련 질환이 매년 급격히 증가하는 추세에 있음
- 외국에서는 매년 혈액순환에 효과가 있는 건강기능식품의 매출이 급성장하고 있음
- 오디에 대한 혈액순환 관련 연구가 미진함
- 국내의 경우도 ‘오디’와 관련하여 가공제품제조를 위한 기초자료의 측면의 내용이 수 편 보고 되어 있으나, 오디의 수확 후 품질 유지에 관련된 연구내용은 보고된 바 없음
- 국내 자료의 내용을 보면 일부 품종 ‘오디’의 형태특성과 일반성분, 유리당, 무기질, 유기산, 색소 및 GABA 등 성분특성에 관한 연구가 주를 이루고 있음
- 오디는 저장성이 낮다는 약점이 있어 다양한 가공제품 개발을 통해 소비를 촉진할 필요가 있음
- 현재 부분적으로 오디 가공제품이 판매되고 있으나 맛과 품질이 떨어져 판매가 많이 이루어 지지 않고 있고 종류가 한정적임
- 소비자들의 건강에 대한 관심 고조로 인해 복분자, 블루베리 등은 제품화 및 판매가 많이 이루어지고 있음
- 따라서 다양하고도 고품질 오디가공제품의 개발이 절실함
- 수입산 베리류를 대체할 수 있는 고품질의 오디 가공제품의 개발이 필요함
- 식품 소재를 이용하여 효과를 거둘 수 있는 항혈전작용, 콜레스테롤 저하작용, ACE 억제작용을 검색시스템으로 하여 적합한 식품원료를 선발하여 그 효과를 적절한 방법으로 평가한다면 혈액순환을 개선시키는 기능성식품을 개발할 수 있을 것으로 판단됨
- 오디의 기능성부분에 대한 보다 체계적인 검증을 통해 우수성을 규명하고 이를 홍보하여 오디 가공식품 시장을 확대할 필요가 있음
- 오디에 대한 국내 연구를 통해 그 결과를 국내 오디 관련 농가 및 기업에 기술이전하여 활용하고 제품은 수출 상품화도 가능함

- 과량의 항산화제 섭취로 인한 부작용이 보고되고 있기 때문에 의약품보다는 고기능성식품소재로의 활용이 더 선호될 것으로 기대됨
- 오디를 소재·기반으로 한 신규 산업분야를 창출할 수 있으며 오디농가의 소득 증대와 농민의 신사업을 창출하는데 큰 기여를 할 것임

제 3 절 연구개발의 범위

제 1세부 과제명 : 오디를 이용한 고부가가치 가공제품 개발

1. 안토시아닌 고함유 오디 물 추출물을 이용한 고부가가치 제품 개발
 - 가. 오디 열수 추출물을 이용한 음료개발
 - 나. 안토시아닌 고함유 물 추출물을 이용한 오디 주스 개발
 - 다. 비가열처리 오디 주스 개발
 - 라. Ohmic heating을 이용한 유효성분 최소 손실 오디 주스 살균 조건 연구
 - 마. 오디 푸딩 개발
2. 오디를 이용한 농축액 개발 및 농축액을 이용한 고부가가치 제품 개발
 - 가. 안토시아닌 고함유 오디 농축액 개발
 - 나. 오디 농축액을 첨가한 식혜 개발
 - 다. Ohmic heating을 이용한 유효성분 최소 손실 오디 농축액 살균 조건 연구
3. 오디를 이용한 원형유지 병조림 개발
4. 여러 건조 조건을 이용한 오디 고부가가치 제품 개발
 - 가. 감압건조 기술을 적용한 건조 오디 개발
 - 나. 반건조 오디 제품 개발
 - 다. 식품첨가물 등으로 활용 가능한 오디 건조분말 개발
 - 라. 오디의 동결건조 분말을 첨가한 면류 개발
5. 오디를 이용한 다양한 종류의 소스 개발
 - 가. 오디과육을 첨가한 샐러드용 소스 개발
 - 나. 오디즙을 첨가한 스테이크용 소스 개발
 - 다. 오디 콩포트(시럽용) 소스 개발

6. 오디를 이용한 타블렛(정) 개발

7. 오디를 이용한 식품 첨가물 등으로 활용 가능한 천연색소 개발
 - 가. 천연색소의 소재화
 - 나. 초음파처리를 통한 천연색소 추출 효율성 증대 기술 개발

8. 오디의 혈액 순환기계 관련 효과 검증
 - 가. 오디의 ACE 저해 활성 측정
 - 나. 오디의 HMG-CoA reductase 저해 활성 측정
 - 다. F1B Golden Syrian hamster를 이용한 오디의 항동맥경화 효과 검증

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내·외 기술개발 현황

1. 국내외 관련분야 시장현황

가. 국내 제품 생산 및 시장 현황

- 2010년 농림수산식품부가 발표한 ‘기능성 양잠 산업육성 5개년 종합계획(2011-2015)’에 따르면 2009년 양잠농가는 6,549호, 뽕밭면적은 2,207ha 이며, 표 1에서와 같이 누에사육 농가는 1,351호, 뽕밭면적은 663ha, 누에 사육량은 16,000 상자로써 전년대비 누에사육농가는 25.4%, 뽕밭면적은 26.3%, 누에 사육량은 25.2%가 감소한 것으로 나타났음
- ‘기능성 양잠육성 및 지원에 관한 법률’시행을 계기로 관련기관 및 도시 단체, 일선 농가에 서는 양잠업에 대한 관심이 부쩍 늘어나고 있으며, 이와 더불어 오디재배 농가도 2009년 5,198호, 재배면적 1,544ha로써 2008년 대비 면적은 50%, 생산량은 73%가 증가하였음
- 2009년도 전체 양잠산물의 생산액은 약 400억원으로 추정되며 그 중 오디관련 제품시장의 생산액은 대략 281억원임
- 오디는 안토시아닌 색소뿐만 아니라 다양한 생리활성물질을 가지고 있으나 아직까지 이를 이용한 기능성 식품 개발은 미흡한 실정이며, 주로 생과 및 주스(즙), 잼, 주류로 약 200억 원대의 시장을 형성하며 가공 유통되고 있으며, 오디첨가 아이스크림, 오디첨가 요쿠르트, 오디효소고추장, 건조오디, 오디차, 오디환, 오디냉면 등도 조금씩 시도되고 있음
- 오디관련 제품 생산은 국내 식품회사 및 주류회사들이 중심이 되어 대량 가공생산 체제를 구축하고 있으며 재배가 용이하고 농약사용도 거의 없는 친환경 웰빙 식품으로 식품산업 전반에 걸쳐 더욱더 크게 성장할 가능성이 있는 블루오션 영역임

나. 국외 제품 생산 및 시장 현황

- 과거 양잠산업은 대부분 한국, 중국, 일본이 주도하였으며, 대부분 국가가 누에고치, 생사 등 견직물 원료나 제품을 생산하는 수준이었음. 최근 중국은 급격한 산업화로 생산량이 감소되는 추세이며, 일본은 잠업기술을 보유한 선진국이었으나 1980년대 이후 양잠산업의

수요 감소 추세를 보이고 있음

- 기능성 양잠산업 또한 한국, 일본이 1990년대 중반이후 적극적인 연구개발을 시도하였으나, 아직 초기단계이며 양잠산물의 가공, 유통시설의 부족으로 오디는 생과 또는 주스(즙), 잼, 와인 형태의 단순 가공을 통해 유통하는 것이 대부분이며 양잠지역에서 지역특산품으로만 소량 생산하고 있는 정도임
- 오디 관련 주요 제품 동향을 살펴보면 음료(즙, 주스, 식초, 와인), 오디시리얼형태, 건강식품형태, 잼, 스프레드류 등으로 생산되어지고 있으며, 최근에는 beauty관련 제품에서도 오디의 미백기능성 및 아로마테라피 효과와 관련하여 오디가 일부 사용되고 있으며, 점차 그 영역이 넓혀지리라 예상됨

2. 관련기술분야의 연구현황

- 오디에 관한 국내 학술 연구로는 오디 분말을 첨가한 파운드 케익의 품질특성(유승석 등 2012), 오디 농축액을 첨가한 머핀의 품질 특성(이정애 등 2011), 오디 착즙액을 이용한 와인발효 특성(김강일 등 2010), 오디 분말을 첨가한 chiffon cake의 물리적·관능적 특성(이영주 등 2009), 오디 추출물의 혈관신생 억제 효과(이숙희 등 2008), 오디 분말을 첨가한 쿠키의 품질 특성(박금순 등 2008), 오디 농축액을 첨가한 식빵의 품질 특성(이승범 등 2008), 오디를 이용한 과일주스 제조(김인숙 등 2004), 오디 와인의 발효조건 및 발효 특성(김용석 등 2008), 오디 침출주의 제조(김현복 등 2000; 김현복 등 2001), 오디 추출액 첨가비율을 달리한 오디편의 품질 특성(김애정 등 2003), 오디즙을 첨가한 녹말오디다식의 품질특성(이정희 등 2005), 오디 설기떡의 품질특성(홍정희 등 2003), 오디 샤베트 아이스크림의 제조 및 특성(김현복 등 2003), 오디 분말을 이용한 젤리 제조 및 이화학적 특성(김애정 등 2007), 오디잼의 제조(김현복 등 2000)등이 있음
- 오디에 관한 국내 특허로는 오디 발효주의 제조방법, 오디 추출액을 이용한 오디음료 제조방법, 오디추출액을 이용한 탄산음료 제조방법, 오디추출액을 이용한 농후발효유의 제조방법, 오디약주 및 이의 제조 방법, 동충하초 분말 및 오디분말을 함유하는 칼국수, 수제비 및 냉면 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 칼국수, 수제비 및 냉면, 고구마와 오디가 함유된 쌀빵의 제조방법 및 이에 의해 제조된 쌀빵, 오디, 부추 및 백토를 이용한 기능성 식품 및 이의 제조방법, 오디 냉면 및 그 제조방법, 오디식초와 그 제조방법 및 오디식초를 함유한 기능성 음료, 오디 전빵 및 그 제조방법, 오디 기능성 음료, 오디와인 및 그 제조방법, 오디를 이용한 전통주 및 식초 제조방법, 오디막걸리 제조방법 등 다양한 특허가 등록됨

- 오디에 관한 국외 학술 연구는 오디주스의 피로개선 및 항산화 효과(Jiang 등 2013), 오디의 안토시아닌 색소의 안정성(Aramwit 등 2010), 오디의 항산화능(Lou 등 2012), 오디 종류별 구성성분 분석(Ercisli 등 2007), 오디의 자연건조의 최적 조건(Doymaz 2004)으로 오디에 대한 연구는 외국에서 그리 많지 않음
- 오디에 관한 국외 특허로 젓산 발효 오디주스 제조법(일본), 여러 형태의 오디식품 제조법(일본), 오디 식초(중국), 오디우유음료 제조법(중국), 인스턴트 오디분말 제조법(중국), 오디 음료 제조법(중국), 오디와인 제조법(중국), 오디 아이스크림 제조법(중국), 오디케이크 제조법(중국)이 있음

제 2 절 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치

1. 산업화 방향(제품의 특징, 대상 등)

- 오디의 생리 기능활성 탐색 및 그의 기전 연구로 다양한 기능활성 효과를 입증하여 세계학술잡지에 투고 가능하며 이를 통하여 오디에 대한 국내·외 연구저변을 확대할 수 있음
- 국제학술잡지 게재를 통하여 우리나라 오디의 우수성을 인정받고 인식될 수 있는 기반 구축도 가능할 것임
- 지역특산물을 활용한 농민 소득 증대를 위한 제품 개발 기술 확립이 될 것이며 본 연구를 통하여 분리·동정된 오디의 생리 기능활성 유효성분에 대한 유효성 및 안전성 실험을 통하여 기능성 웰빙 식품 및 신약개발에 대한 기본 자료를 제공할 수도 있을 것임
- 오디의 생리기능 활성 탐색 및 그의 웰빙 식품개발의 연구를 통하여 오디의 생리기능 활성별 유효성분의 분획·분리 체계를 확립 및 그의 생리 기능활성에 대한 특허등록 가능함
- 건강기능성·웰빙 식품 산업에 활용으로 가공 및 대량생산체계를 확립하여 식품산업의 한 축으로 성장할 수 있음
- 웰빙 식품 개발 컨셉을 제공을 통하여 지역의 특산물을 활용한 제품에 대한 전 국민적 관심 증대와 오디 소재·기반으로 한 신규 산업분야를 창출할 수 있으며 농민의 소득 증대와 농민의 신사업을 창출하는데 큰 기여를 할 것임

- 오디의 기능성 물질 및 안토시아닌의 경우 대량 분리 및 물질을 검증하는 연구기반이 적립되어 있지 않은 실정이며 객관적인 검증을 통해 제품의 산업화를 유도하였음
- 해외에서 출시되어 판매되고 있는 주요 유명제품과의 비교 실험 및 평가를 통해서 본 연구사업 소재의 활성을 객관적으로 비교하여 이를 바탕으로 최종 제품 개발을 추진하는 것이 가능함
- 소재의 안전성을 확보하기 위하여 식품공전 상에 원료로 등재를 시켜 제품화하며, 소재의 가격 및 산업적 활용 가치를 높여야 함
- 아직 국내 시장이 형성단계에 있어 산업화 개발과 동시에 연구결과의 적극적인 홍보를 통해 소비자에게 정보를 전달해야 함

2. 산업화를 통한 기대효과

(단위 : 백만원)

산업화 기준 항 목	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
직접 경제효과	200	400	600	1,000	1,400	3,600
경제적 파급효과	200	400	800	1,200	1,500	4,100
부가가치 창출액	200	450	800	1,000	1,500	3,950
합 계	600	1,250	2,200	3,200	4,400	11,650

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 안토시아닌 고함유 오디 물 추출물을 이용한 고부가가치 제품 개발

1. 연구 방법

가. 이화학적 특성

(1) 가용성 고형물

가용성 고형물은 각 시료를 2배 희석한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 filter paper(Whatman No. 41)로 여과 후 당도계(N-1E°Brix 0~32%, Atago, Japan)로 측정하여 °Bx로 표시하였다.

(2) pH

pH는 시료를 10배 희석한 10 mL 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액을 취하여 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 pH meter(Model 320, Thermo Orion, Beverly, MA, USA)로 5회 반복 측정하여 평균치를 나타내었다.

(3) 적정산도

적정산도는 시료를 10배 희석한 10 mL 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액을 취하여 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 시료 10 mL에 0.1 N NaOH 용액을 pH가 8.2가 될 때까지 적가한 뒤 이에 소요된 0.1 N NaOH 양을 citric acid를 기준으로 환산하여 %로 나타내었으며, 5회 반복 측정하여 평균치를 나타내었다.

(4) 색도

색도는 색차계(Color-Eye 3100, Macbeth, New Windsor, NY, USA)를 사용하여 시료를 2배 희석한 후 측정하였다. Hunter's value인 명암도를 나타내는 L값(lightness), 적색도의 정도를 나타내는 a값(redness), 황색도의 정도를 나타내는 b값(yellowness)으로 10회 반복 측정하여 평균값을 나타내었다. 이때 사용된 표준백판(standard color value)의 L값은 98.75, a값은 -1.02, b값은 1.10인 calibration plate를 사용하였다.

(5) 탁도

탁도는 Spectrophotometer(U900, Human, Korea)를 이용하여 시료를 10배 희석한 후 600 nm에서 투과도(transmittance)를 측정하였다.

나. 저장 특성

(1) 일반세균수

멸균액에 각 처리구의 시료 10 mL씩을 넣고 0.85% Saline solution을 90 mL 가하여 3분간 좌우상하로 각 100회씩 교반한 후, 적절한 비율로 희석하였다. 총균수는 희석액을 aerobic count plate petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 48시간 배양한 후 생성된 붉은 집락수를 계산하고 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 일반세균수로 하였다.

(2) 대장균군수

대장균군수는 희석액을 coliform count plates petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 24시간 배양한 후 생성된 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성하고 있는 집락수를 계산하고, 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 대장균군수를 산출하였다.

다. 관능적 특성

시료의 관능검사는 한국식품연구원의 연구원 15명으로 구성된 전문패널들로 검사 방법과 평가 특성을 교육시킨 후 실시하였다. 검사 항목은 색, 향, 맛, 후미, 전반적인 기호도였으며 9점 척도법으로 평가하였고, 각 항목의 기호도가 좋을수록 높은 점수를 주었다.

라. 기능적 특성

Anthocyanin 색소함량 측정은 시료를 5배로 희석한 다음 Spectrophotometer(U900, Human, Korea)를 사용하여 anthocyanin 색소의 최대 흡수파장인 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

마. 통계처리

실험결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이검증은 일원배치분산분석(ANOVA)을 사용하였으며, Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

2. 연구결과

가. 오디 열수 추출물을 이용한 음료 개발

(1) 열수 추출물 조건 확립

오디 열수 추출 음료 베이스로 이용할 오디 열수추출물의 최적 추출조건을 선정하기 위하여 가용성 고형물 함량, pH, 색도를 측정하여 적합한 음료 추출조건을 조사하였다.

(가) 열수 추출 시간별 이화학적 특성

열수 추출 시간별 가용성 고형물 함량 및 pH의 변화는 표 1과 같다. 오디 열수 추출물의 가용성 고형물의 함량은 추출시간 30분까지 증가하는 경향을 나타내었으나 그 후 변화를 보이지 않았다. pH는 추출시간이 증가함에 따라 낮아지는 경향을 나타내었다.

(나) 색도

오디 열수 추출물의 시간에 따른 색도의 변화는 표 2와 같다. 백색도(L)와 황색도(b)는 시간이 증가할수록 높은 값을 나타내었다. 경제적인 측면 및 효율성을 고려하여 정제수 1 L에 30 g의 오디를 첨가하여 60분 동안 열수 추출한 추출물을 오디음료 베이스로 선정하였다.

(2) 오디 음료 첨가물 선정을 위한 관능적 특성

오디 열수 추출물에 액상과당, L-아스파라긴, 함수결정포도당, 비타민C, 타우린, 구연산, 말토덱스트린, 베타사이클로덱스트린, 백설탕, 정제염을 첨가하여 오디 음료를 제조한 후 과실계열의 농축액을 첨가하여 기호도를 높이고자 하였다. 그 중 가장 기호도가 높은 포도농축액과 매실, 자몽농축액을 혼합한 음료 두가지를 9점 척도법으로 관능검사를 실시하였다. 포도농축액을 첨가한 음료는 4.75 ± 1.03 , 매실, 자몽 혼합 농축액을 첨가한 음료는 6.75 ± 1.03 으로 매실, 자몽 혼합 농축액을 첨가한 음료가 기호도가 가장 높았다.

(3) 최종 오디 음료의 향첨가 관능적 특성

음료의 기호도를 높이기 위하여 최종 배합비로 제조된 오디 음료에 2가지의 향을 각각 첨가하여 비첨가군과 9점 척도법으로 비교 관능검사를 실시하였다. 관능검사 결과, 향에서 B(헤그린, 오디향 592768)와 C(헤그린, 오디향592778)가 비첨가군인 A에 비해 유의적으로 높게 나타났다(표 3). 전반적인 기호도에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 선호도 관능검사를 실시한 결과 C가 더 높은 값을 나타내었다. 최종 오디 음료에 향(헤그린, 오디향592778)을 0.08%첨가하여 제조하였다.

(4) 오디 음료의 저장 특성

최종 제품을 100 mL 유리병에 밀봉한 후 water bath에서 75°C로 20분간 살균한 후 45°C에 저장하며 48시간 간격으로 2주간 색도, pH, 가용성 고형물의 변화와 총균수와 대장균군수를 측정하였다. 오디 음료의 가용성 고형물 함량은 12-12.2 °Bx였으며, pH는 2.71에서 2.86으로 저장기간이 길어질수록 높아졌다(표 4). 저장기간 중 색도는 명도를 나타내는 *L*값은 24.55 ± 0.11 에서 30.44 ± 0.01 로 시간이 지나면서 높아지는 경향을 나타내었으며, 적색도를 나타내는 *a*값은 26.17 ± 0.2 에서 19.09 ± 0.08 로 낮아졌다. 황색도를 나타내는 *b*값은 18.86 ± 0.12 에서 17.35 ± 0.02 로 낮아지는 경향을 나타내었다(표 5). 그리고, 총균수와 대장균군수 모두 저장기간동안 검출되지 않아(표 6) 본 연구에서의 살균조건이 음료에 적합한 것으로 사료되었다.

(5) 오디 음료 제조 공정 및 recipe

오디 음료의 제조 공정은 물 1 L에 30 g의 오디를 첨가하여 60분 동안 열수 추출한 추출물에 매실, 자몽 혼합 농축액, 액상과당, L-아스파라긴, 함수결정포도당, 비타민C, 타우린, 구연산, 말토덱스트린, 베타사이클로덱스트린, 백설탕, 정제염, 오디향592778을 혼합하여 음료를 제조하였으며, 오디음료의 배합비는 표 7과 같다. 제조된 오디주스는 75°C에서 30분간 살균처리하였다.

표 1. 오디 열수 추출에 따른 시간별 가용성 고형물 함량 및 pH

오디함량	추출시간	0min	30min	60min	90min	120min
20g/L	가용성 고형물 (°Bx)	0.1±0.0b	0.2±0.0ab	0.3±0.0a	0.3±0.0a	0.3±0.0a
	pH	6.1±0.2a	5.4±0.1b	5.4±0.2b	5.3±0.1b	5.3±0.1b
30g/L	가용성 고형물 (°Bx)	0.1±0.0b	0.3±0.1a	0.4±0.0a	0.4±0.0a	0.4±0.0a
	pH	5.2±0.1a	4.9±0.5a	4.9±0.2a	4.9±0.2a	4.9±0.2a
40g/L	가용성 고형물 (°Bx)	0.1±0.0b	0.3±0.0a	0.4±0.0a	0.4±0.0a	0.4±0.2a
	pH	5.3±0.3a	5.0±0.1ab	5.0±0.1ab	4.9±0.3b	4.9±0.5b
50g/L	가용성 고형물 (°Bx)	0.4±0.1b	0.6±0.0ab	0.6±0.0ab	0.8±0.1b	0.8±0.1b
	pH	5.3±0.2a	5.0±0.0ab	4.9±0.5b	4.9±0.2b	4.9±0.5b

표 2. 오디 열수 추출에 따른 시간별 색도

오디함량	추출시간	0min	30min	60min	90min	120min
20g/L	<i>L</i>	10.5±0.7b	20.4±0.3ab	22.4±0.2ab	23.7±0.8a	24.4±0.1a
	<i>a</i>	11.4±0.1a	9.1±0.7ab	8.4±0.4b	8.1±0.2b	8.0±0.4b
	<i>b</i>	1.3±0.2c	2.1±0.4b	2.9±1.0ab	3.1±0.2a	3.4±0.2a
30g/L	<i>L</i>	12.1±1.2b	21.4±0.1a	25.7±0.4a	26.1±0.3a	28.4±0.9a
	<i>a</i>	6.2±0.4b	8.4±0.5ab	9.3±0.7ab	10.1±0.9a	10.8±0.4a
	<i>b</i>	1.7±0.7b	3.5±1.1ab	4.0±0.1ab	5.1±0.4a	5.5±0.2a
40g/L	<i>L</i>	12.9±0.3b	26.2±0.6ab	29.4±0.1a	29.5±0.7a	30.1±0.4a
	<i>a</i>	10.4±0.7a	9.2±1.7a	8.1±0.4a	8.8±0.3a	8.5±0.4a
	<i>b</i>	1.8±0.4b	3.5±0.8ab	4.1±0.6ab	4.4±0.4a	4.6±0.8a
50g/L	<i>L</i>	14.5±0.8b	33.7±1.0ab	35.1±0.4a	36.1±0.2a	37.4±0.7a
	<i>a</i>	4.9±1.2b	8.7±0.7ab	9.2±0.1a	10.4±0.9a	11.2±0.1a
	<i>b</i>	1.1±0.7a	-0.7±1.0b	1.2±0.9a	1.1±0.7a	1.2±0.4a

표 3. 오디 음료의 향 첨가에 따른 관능적 특성

	전반적기호도	색	향	맛	후미
A	5.7 ± 1.6a	6.8 ± 1.0a	4.9 ± 1.3b	5.7 ± 1.6a	5.9 ± 1.6a
B	6.7 ± 1.6a	7.1 ± 1.0a	6.5 ± 1.4a	5.9 ± 1.7a	6.2 ± 1.9a
C	6.6 ± 1.3a	6.6 ± 1.3a	6.7 ± 1.3a	6.6 ± 1.2a	6.4 ± 1.3a

표 4. 오디 음료의 저장 중의 이화학적 특성 변화

	0day	2day	4day	6day	8day	10day	12day	14day
가용성 고형물 (°Bx)	12.2±0.5a	12.2±0.1a	12.0±0.2a	12.2±0.1a	12.2±0.2a	12.2±0.2a	12.2±0.0a	12.2±0.3a
pH	2.71±0.1a	2.71±0.0a	2.72±0.3a	2.75±0.1a	2.86±0.0a	2.86±0.2a	2.86±0.0a	2.86±0.2a

표 5. 오디 음료의 저장 중의 색의 변화

	0day	2day	4day	6day	8day	10day	12day	14day
<i>L</i>	24.55 ±0.11b	25.32 ±0.12b	26.55 ±0.08ab	27.35 ±0.12ab	27.98 ±0.08ab	28.34 ±0.02ab	30.49 ±0.11a	30.44 ±0.01a
<i>a</i>	26.17 ±0.2a	25.13 ±0.11a	25.12 ±0.05a	24.76 ±0.04a	24.85 ±0.08a	24.36 ±0.1a	19.1 ±0.04b	19.09 ±0.08b
<i>b</i>	18.86 ±0.12a	18.02 ±0.06a	17.88 ±0.01a	17.15 ±0.02a	17.11 ±0.05a	17.14 ±0.09a	17.38 ±0.01a	17.35 ±0.02a

표 6. 오디 음료의 저장 중의 총균수, 대장균군수

	0day	2day	4day	6day	8day	10day	12day	14day
총균수	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
대장균군수	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

표 7. 오디 음료의 최종 배합비

Contents	(단위:%)
오디추출물	84.47
액상과당	12.67
자몽농축액	0.63
매실농축액	0.13
L아스파라긴	0.03
함수결정포도당	0.84
말토덱스트린	0.01
베타사이클로덱스트린	0.01
백설탕	0.84
타우린	0.11
정제염	0.01
구연산	0.13
비타민C	0.03
오디향(해그린 592778)	0.08

나. 안토시아닌 고함유 물 추출물을 이용한 오디 주스 개발

(1) 오디함량, 추출온도, 추출시간에 따른 이화학적 특성

최적의 조건으로 안토시아닌 함량을 물 추출하기 위하여 오디 함량별, 추출온도별, 추출시간별 가용성 고형물 함량, pH, 적정산도 및 색도의 변화를 측정하였다. 5%, 10%, 20% 오디 물 추출물은 5°C, 15°C, 25°C에서 1시간, 4시간, 8시간, 12시간, 18시간, 24시간, 36시간, 48시간 동안 추출되었다. 오디 함량별 물 추출물의 가용성 고형물 함량은 그림 1과 같다. 20% 오디 물 추출물이 평균 3.5 °Bx로 가장 높은 값을 나타내었다. 10% 오디 물 추출물은 평균 1.7 °Bx였으며, 5% 오디 물 추출물은 평균 0.9 °Bx의 값을 나타내었다. 추출 시간에 따른 가용성 고형물 함량의 변화는 유의적 차이를 나타내지 않았으며, 추출온도에 따른 변화도 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 오디 함량에 따른 pH의 변화는 그림 2와 같다. pH는 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 추출온도에 따른 pH의 변화는 높은 온도에서 차이를 보였으며, 12시간의 추출 시간 이후 급격히 낮아졌다. 그 중 25°C의 추출온도에서 낮은 pH값을 나타내었는데 이는 높은 온도에서의 추출이 오디의 성분에 변화를 주는 것으로 생각되었다. 오디 함량에 따른 적정산도의 변화는 그림 3과 같다. 오디 함량에 따른 적정산도는 20% 오디 물 추출물이 12시간 이후 급격한 증가를 보였으며, 오디함량이 높을수록 시간이 지남에 따라 높은 값을 나타냈다. 오디 함량별 물 추출물의 백색도(L), 적색도(a) 및 황색도(b)의 변화는 그림 4, 5, 6과 같다. 오디함량에 따른 백색도(L)와 황색도(b)의 변화는 시간이 지남에 따라 모든 시료군이 점점 낮은 값을 나타내었으며, 20% 오디 물 추출물이 가장 낮은 값을 나타내었고 10% 오디 물 추출물이 가장 높은 값을 나타내었다. 그리고 온도가 높을수록 낮은 값을 나타내었다. 추출조건에 따른 안토시아닌 색소 흡광도의 변화는 그림 7과 같다. 추출시간이 지남에 따라 안토시아닌 색소의 흡광도는 약간 증가하였으나 8시간 이후 변화를 보이지 않았다. 안토시아닌 고함유 물 추출물의 최종 조건은 오디 함량 10%를 15°C에서 8시간 추출한 것으로 확립하였다.

(2) 오디 주스 제조 방법

오디 50 g에 물 450 mL을 첨가하여 Homogenizer로 5분간 균질화 시킨 후 원심분리기를 이용하여 상층액을 얻었다. 상층액은 다시 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 고과당 50 g과 산류(비타민 C : citric acid = 70 : 30) 2.5 g을 첨가하여 주스제조에 사용되었다. 제조된 주스는 75°C에서 30분간 저온살균처리하였다. 오디는 2011년 5월-6월에 경북 예천에서 수확한 것으로 (주)수주촌에서 제공받아 -40°C에 냉동보관하면서 사용하였다.

(3) 오디 주스 최적 배합비 개발

(가) 당 종류별 가용성 고형물 함량 및 관능적 특성

당 종류별 가용성 고형물 함량에 따른 관능적 기호도는 표 8과 같다. 설탕, 고과당, 올리고

당, 솔비톨 첨가에 따른 가용성 고형물 함량의 차이는 설탕 > 올리고당 > 고과당 > 솔비톨 순으로 나타났다. 종류별 당 첨가에 따른 관능적인 기호도는 고과당 > 설탕 > 올리고당 > 솔비톨 순으로 나타났으나, 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 최종적으로 주스에 첨가할 당은 고과당으로 결정하였다.

(나) 산 비율별 pH 및 관능적 특성

산 비율별 pH 및 관능적 기호도는 표 9와 같다. 비타민 C와 citric acid 비율에 따른 pH의 차이는 citric acid 함량이 높을수록 낮은 결과를 나타냈으며, 관능적 기호도에서는 비타민 C와 citric acid 비율이 70 : 30일 경우 가장 높은 기호도를 0 : 100일 때 가장 낮은 기호도를 나타내었다. 주스에 첨가할 최종 산 비율은 비타민 C와 citric acid 비율을 70 : 30으로 결정하였다.

(4) 오디 주스의 이화학적 특성

오디 주스의 가용성 고형물 함량, pH 및 색도는 표 10과 같다. 가용성 고형물 함량은 9.2 °Bx 였으며, pH는 4.21 이었다. 색도의 백색도(*L*)는 22.985, 적색도(*a*)는 21.64, 황색도(*b*)는 6.695를 나타내었다.

(5) 오디 주스의 저장 특성

오디 주스의 저장 특성은 표 11과 같다. 75°C에서 20분간 저온살균한 오디 주스는 45°C에서 14일간 저장하면서 2일 간격으로 일반세균수와 대장균군수를 측정하였다. 일반세균수와 대장균군수 모두 검출되지 않았으며, 이는 오디 주스의 살균조건이 적합한 것으로 사료되었다.

(6) 오디 주스의 관능적 특성

오디 주스의 관능적 기호도는 그림 8와 같다. 맛 > 색 > 후미 > 향 순의 기호도를 나타냈으며, 전반적인 기호도는 높은 점수를 나타내었다.

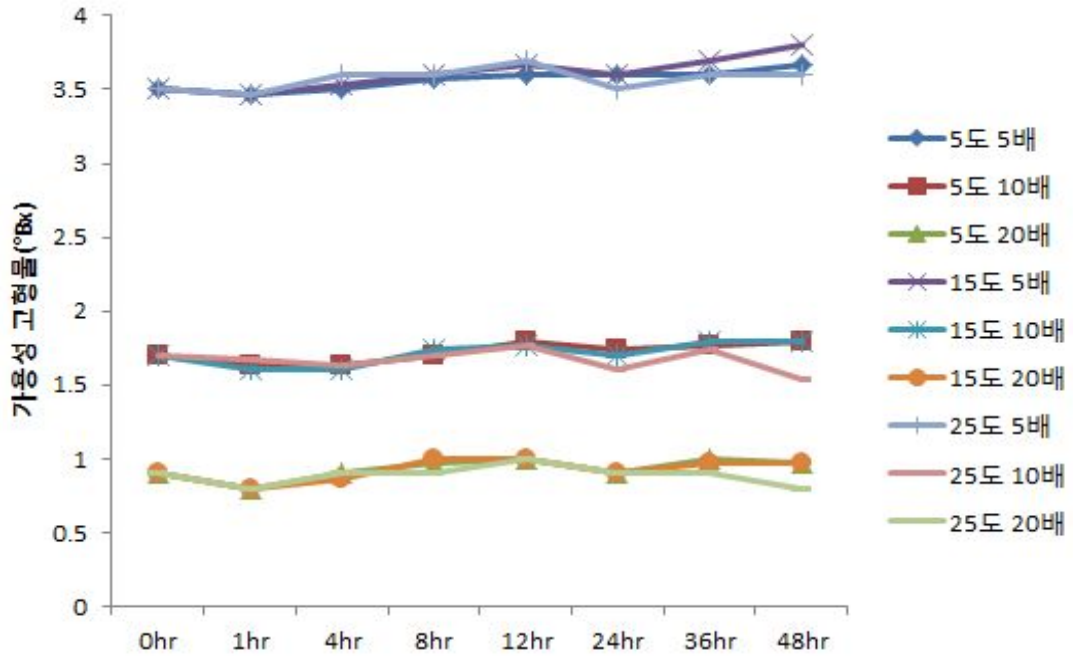


그림 1. 오디 함량별, 추출시간별, 추출온도별 가용성 고형물의 변화

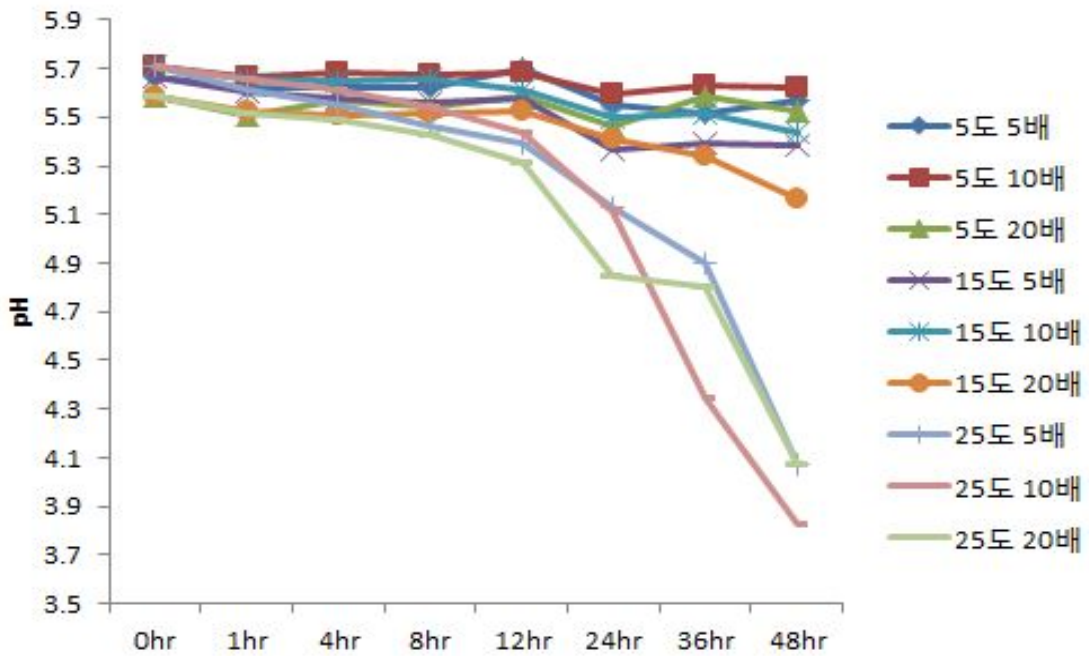


그림 2. 오디함량별, 추출시간별, 추출온도별 pH의 변화

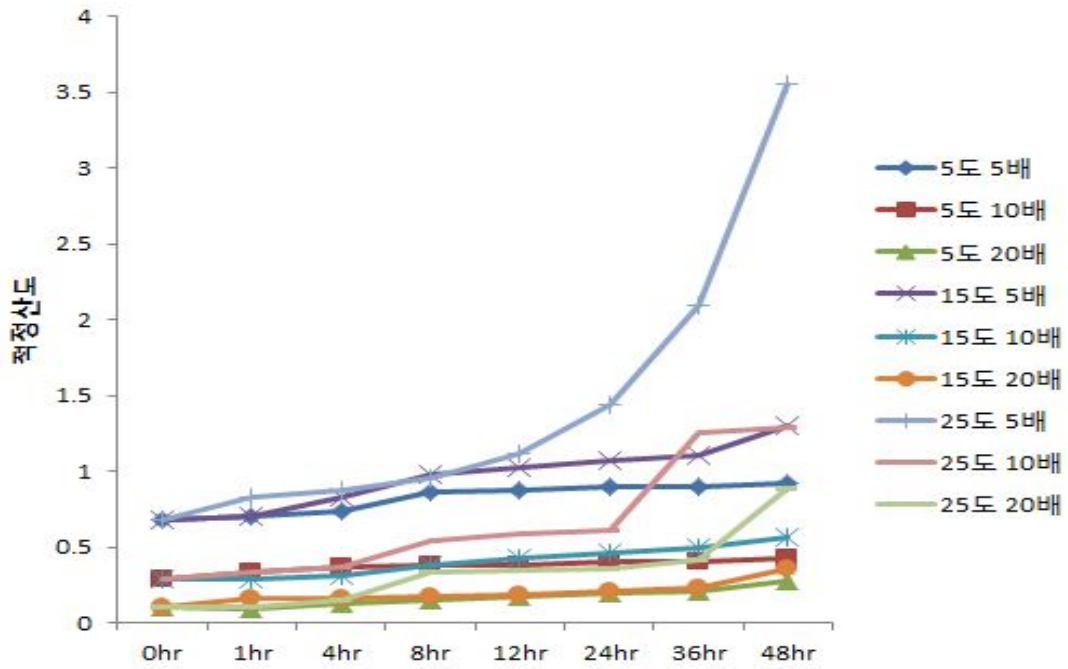


그림 3. 오디함량별, 추출시간별, 추출온도별 적정산도의 변화

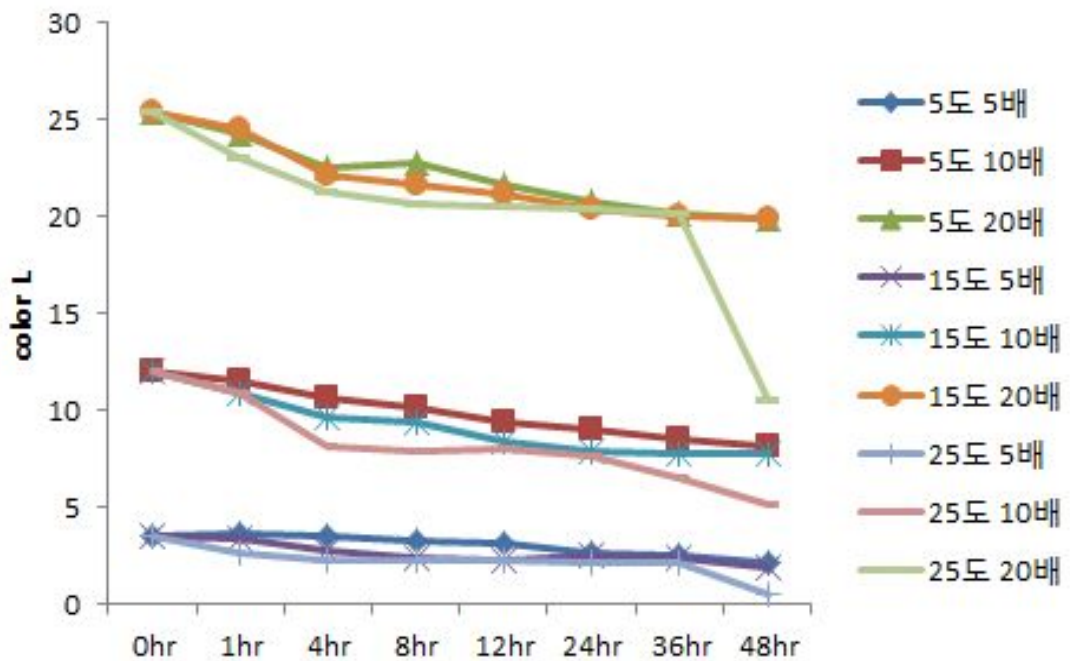


그림 4. 오디함량별, 추출시간별, 추출온도별 백색도의 변화

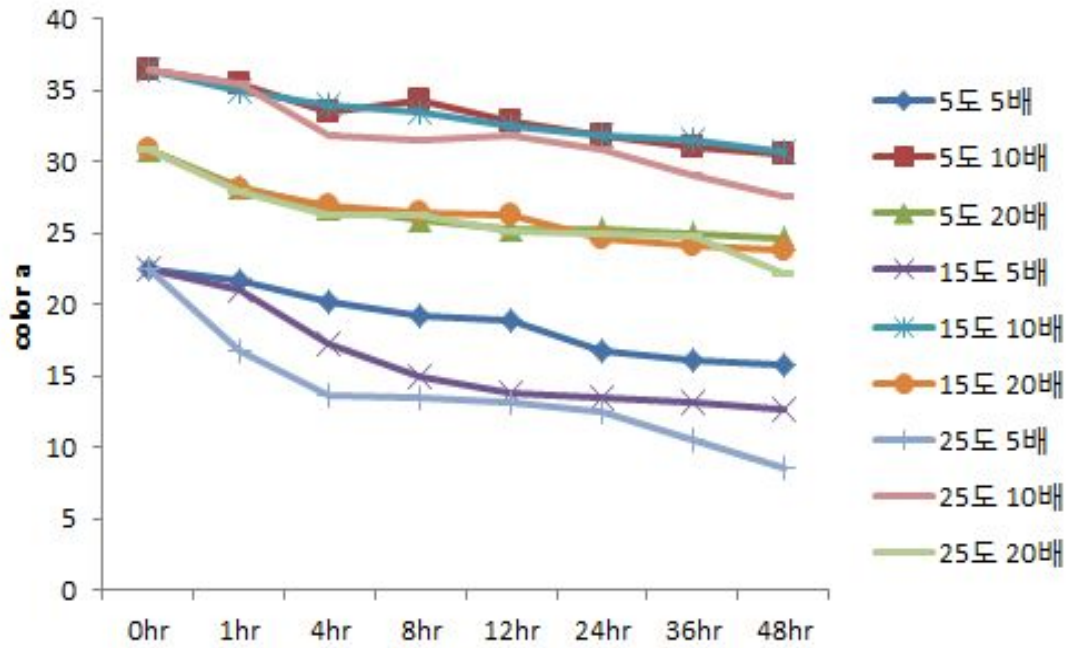


그림 5. 오디함량별, 추출시간별, 추출온도별 적색도의 변화

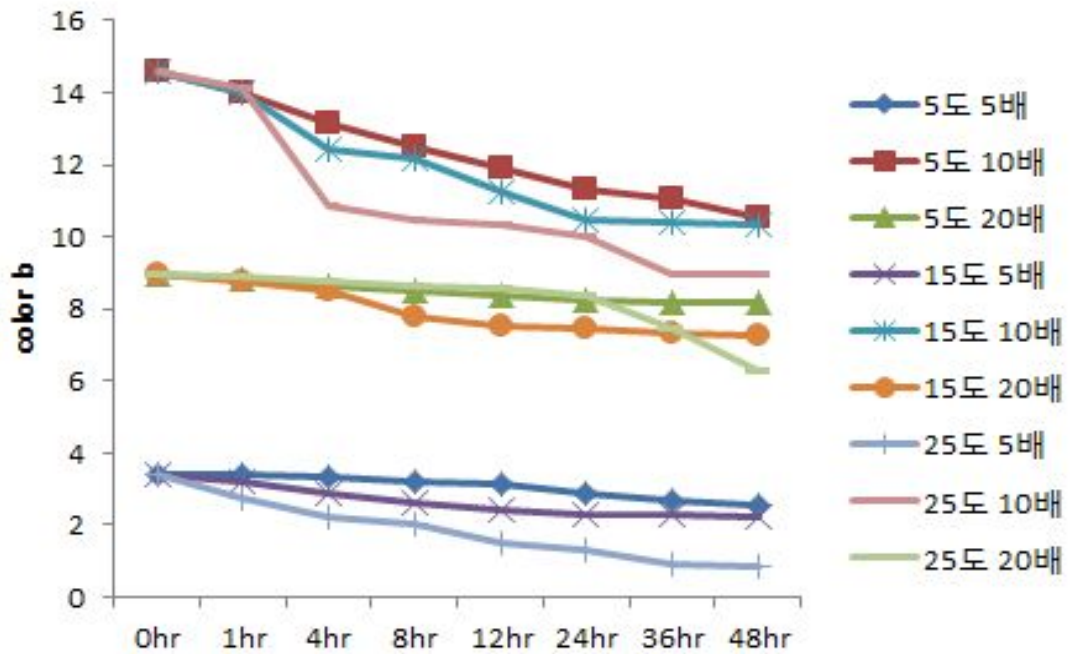


그림 6. 오디함량별, 추출시간별, 추출온도별 황색도의 변화

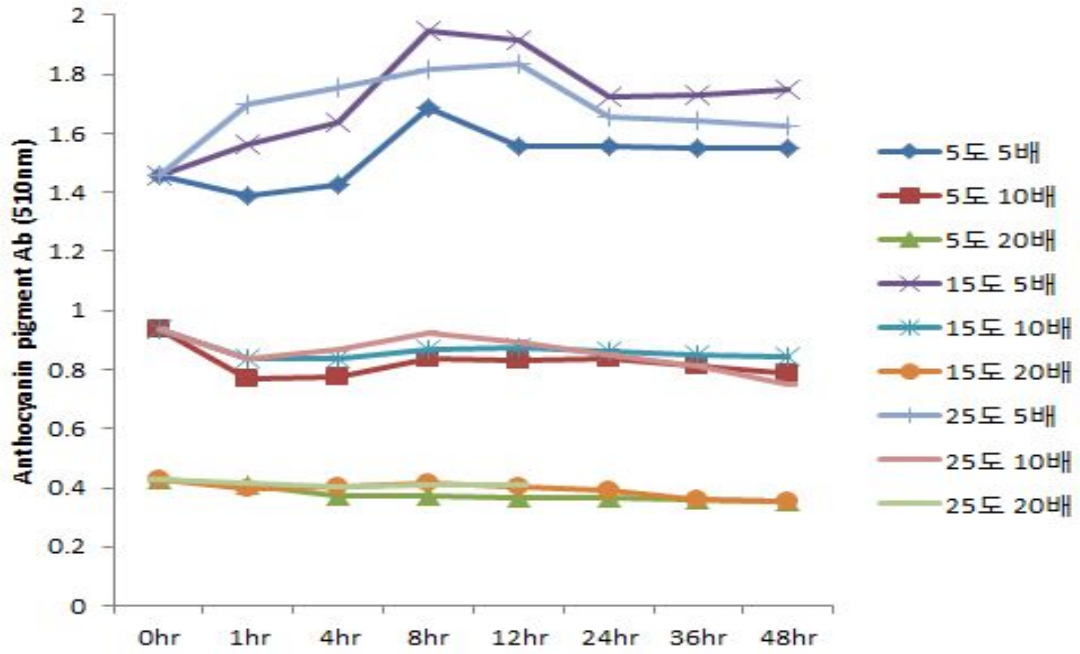


그림 7. 오디함량별, 추출시간별, 추출온도별 안토시아닌 색소 흡광도의 변화

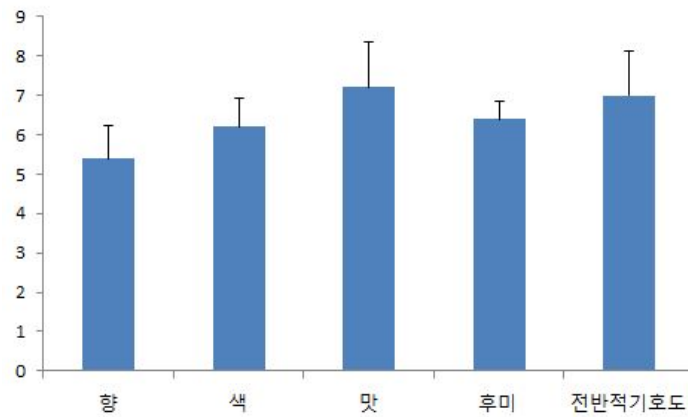


그림 8. 오디 주스의 관능적인 특성

표 8. 당 종류별 가용성 고형물 함량 비교 및 관능적 특성

	무가당 0%	설탕 100%	고과당 100%	올리고당 100%	솔비톨 100%
가용성 고형물 (°Bx)	1.67±0.01b	12±0.00a	9.2±0.01a	9.4±0.00a	8.3±0.00a
관능적 기호도	2.8±0.13c	4.3±0.11a	4.8±0.21a	3.9±0.10b	3.5±0.09b

표 9. 산 비율별 pH, 적정산도 및 관능적 기호도

VitaminC : Citiric acid ratio	pH	적정산도	관능적 기호도
0 : 0	5.06±0.22a	0.374±0.001b	3.2±0.03a
100 : 0	4.39±0.31ab	0.843±0.000ab	4.5±0.05a
70 : 30	4.21±0.17ab	1.238±0.014ab	4.8±0.11a
50 : 50	4.11±0.02ab	1.409±0.027ab	4.3±0.52a
30 : 70	4.00±0.30ab	1.598±0.016ab	3.5±0.32a
0 : 100	3.75±0.24b	2.040±0.025a	2.8±0.27a

표 10. 오디 주스의 이화학적 특성

이화학적 특성	가용성 고형물	pH	색도		
			백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
오디주스	9.2±0.81	4.21±0.13	22.985±2.26	21.64±1.91	6.695±2.04

표 11. 오디 주스의 저장기간에 따른 총균수와 대장균군수

	0day	2day	4day	6day	8day	10day	12day	14day
총균수	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
대장균군수	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND: Not detected(1×10^1 CFU/mL)

다. 비가열처리 오디 주스 개발

(1) 비가열처리 오디 주스의 최적 배합비 개발

오디 함량별 관능적 기호도는 30%, 40%, 50% 오디 첨가에 따른 관능적 기호도를 평가한 결과, 40%가 유의적으로 가장 높은 기호도를 나타내었다. 첨가 과일즙 비율별 가용성 고형물 함량 및 관능적 기호도 평가는 표 12와 같다. 첨가 과일즙 비율별에 가용성 고형물 함량은 배(10 °Bx), 포도(15 °Bx) : 파인애플(15 °Bx), 골드키위(13 °Bx) 비율이 1 : 2일 때 가장 높게 나타났으며, 관능적 기호도 평가에서는 과즙 2 : 1의 비율일 때 가장 높은 기호도를 나타내었다.

(2) 비가열처리 오디 주스의 이화학적 특성

비가열처리 오디 주스의 이화학적 특성은 표 13과 같다. 시판 A사(폴무원 블루베리 주스)와 비교하여 본 결과, 가용성 고형물은 시판 A사(폴무원 블루베리 주스)가 높게 나타났으나, pH, 적정산도 및 점도는 비가열 처리 오디 주스가 유의적으로 높게 나타났다. 비가열처리 오디 주스와 시판A사(폴무원 블루베리 주스)와의 색도 차이는 표 14와 같다. 백색도를 제외한 적색도와 황색도는 시판 A사(폴무원 블루베리 주스)가 낮은 값을 나타내었다. 비가열처리 오디 주스의 안토시아닌 색소 흡광도는 시판 A사(폴무원 블루베리 주스)보다 높은 값을 나타내었다. 이는 비가열처리 오디 주스가 시판 A사(폴무원 블루베리 주스)의 제품보다 안토시아닌 함량이 높음을 의미한다.

(3) 비가열처리 오디 주스의 저장 특성

비가열처리 오디 주스의 저장특성은 표 15와 같다. 4℃에서 14일간 저장되면서 비가열처리 오디 주스의 안전성을 평가하기 위해 2일 간격으로 일반세균수와 대장균군수를 측정된 결과, 저장기간이 증가함에 따라 총균수와 대장균군수 모두 증가하였다. 총균수는 저장기간 4일 이후 급격히 증가하였으나, 대장균군수는 저장기간이 늘어남에 따라 약간 증가하였다.

(4) 비가열처리 오디 주스의 관능적 특성

비가열처리 오디 주스의 관능적 특성은 표 16과 같다. 비가열처리 오디 주스의 관능적인 기호도 평가는 시판 A주스(폴무원 블루베리 주스)와 비교하였다. 향, 맛, 후미에서 시판 A주스(폴무원 블루베리 주스)보다 높은 기호도를 나타내었으며, 전반적인 기호도 역시 높게 나타났다.

(5) 비가열처리 오디 주스의 제조공정 및 recipe

오디 300g을 Homogenizer로 3분간 균질화 시킨 후 과일즙 300 mL(배, 포도 : 파인애플, 골드키위 즙 = 2 : 1)을 첨가하여 비가열 처리 오디주스를 제조하였다. 오디는 2011년 5월-6월에 경북 예천에서 수확한 것으로 (주)수주촌에서 제공받아 -40℃에 냉동보관하면서 사용하였다.

표 12. 첨가 과일즙 비율별 가용성 고형물 함량 및 관능적 기호도 평가

배, 포도: 파인애플, 골드키위즙	가용성 고형물 (°Bx)			관능적인 기호도
대조군	7.60±1.20	7.70±2.75	7.70±2.19	3.5±0.11b
1:1	14.3±1.33	14.2±1.61	14.2±3.13	3.9±0.21ab
2:1	14.2±1.95	14.1±1.92	14.1±1.22	4.5±0.55a
1:2	14.5±0.34	14.6±0.22	14.4±1.03	4.2±0.42a

표 13. 비가열처리 오디 주스의 이화학적 특성

이화학적 특성	가용성 고형물	pH	적정산도	점도(cP)
시판 A사	15.0±0.00a	3.62±0.00a	5.123±0.03a	110±0.20a
오디주스	14.1±0.00a	4.08±0.00a	5.592±0.01a	130±0.31a

표 14. 비가열처리 오디 주스의 색도 및 안토시아닌 함량

이화학적 특성	안토시아닌 색소 흡광도	색도		
		백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
시판A사	0.501±0.02a	16.77±0.12a	27.34±0.22b	7.95±0.15b
오디주스	0.522±0.01a	15.27±0.17a	44.99±0.10a	22.25±0.07a

표 15. 비가열처리 오디 주스의 저장기간에 따른 총균수와 대장균군수

CFU/mL	0day	2day	4day	8day	12day	14day
총균수	5.5×10 ³	7.0×10 ³	1.0×10 ⁴	9.8×10 ⁴	5.4×10 ⁵	10.8×10 ⁵
대장균군수	5.1×10 ⁵	5.3×10 ⁵	6.0×10 ⁵	6.1×10 ⁵	6.2×10 ⁵	6.5×10 ⁵

표 16. 비가열처리 오디 주스의 관능적 기호도 평가

	향	색	맛	후미	목넘김	전반적 기호도
시판 A사	5.4±1.3b	6.4±0.9a	5.2±1.9b	5.0±1.9b	5.4±1.9a	5.4±1.7b
오디주스	7.0±0a	6.2±1.3a	7.0±1a	6.2±1.3a	5.0±1.2a	6.6±1.1a

라. Ohmic heating을 이용한 유효성분 최소 손실 오디 주스 살균 조건 연구

(1) Ohmic heating을 이용한 비가열처리 오디 주스의 살균 최적 조건 확립

(가) Ohmic heating 온도별 최적조건 확립

55℃, 65℃, 75℃, 85℃에서 1분간 Ohmic heating 처리한 다음 35℃에 4시간 incubation 한 후 총균수 및 대장균균수의 변화를 측정된 결과, 75℃ 이상에서 총균수 및 대장균균수가 검출되지 않았다. Ohmic heating 처리 시 온도의 최적조건은 75℃로 결정하였다.

(나) Ohmic heating 시간별 최적조건 확립

75℃에서 30초, 1분, 3분, 5분 Ohmic heating 처리한 다음 35℃에 4시간 incubation 한 후 총균수 및 대장균균수의 변화를 측정된 결과, 30초 이후에서 총균수 및 대장균균수가 검출되지 않았다. Ohmic heating 처리 시 시간의 최적조건은 1분 이후로 결정하였다.

(2) 재래식 살균법과 Ohmic heating 이용한 살균법에 따른 차이 연구

살균 단축을 위하여 Ohmic heating 살균법 사용 시, 온도를 급격히 높이기 위해 식품용 젓산칼슘을 사용하였으며, 식품 공전에 의해 3%이하로 적용하였다. Ohmic heating 처리에 따른 오디 주스의 살균 시간 차이는 그림 9와 같다. 재래식 살균법은 젓산칼슘을 첨가에 따른 살균 시간의 변화를 나타내지 않았다. 1% 젓산칼슘 첨가 ohmic heating법은 무첨가 젓산칼슘군보다 약 3.5배 정도 빠른 온도 증가를 나타내었으며, 재래식 살균법보다 약 20배 정도 빠른 온도 증가를 나타내었다. 살균법에 따른 오디 주스의 이화학적 특성은 그림 10과 같다. 가용성 고형물은 살균법에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 젓산칼슘 첨가에서는 1% 젓산칼슘 오디주스가 약 2.7배 정도 높은 값을 나타내었다. pH와 적정산도는 살균법에 따라 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 환원당은 ohmic heating 살균법을 사용한 1% 젓산칼슘 첨가군이 다른 군들에 비해 높은 2.5배 높은 값을 나타내었다. Ohmic heating 처리에 따른 오디 주스의 색도는 표 17과 같다. 백색도(L)는 젓산칼슘 첨가에는 변화를 나타내지 않았으나, 살균법에서는 ohmic heating 살균법이 재래식 살균법에 비해 낮은 값을 나타내었다. 적색도(a)는 젓산칼슘을 첨가하였을 때 낮은 값을 나타내었으며, 황색도(b)는 ohmic heating 살균법이 재래식 살균법에 비해 낮은 값을 나타내었다. 살균법에 따른 오디 주스의 기능적 특성은 표 18과 같다. 젓산칼슘의 첨가가 비타민 C 함량과 안토시아닌 색소 함량의 변화에 영향을 나타내지는 않았으나, ohmic heating 살균법이 재래식 살균법에 비해 높은 함량을 나타내었다. 이는 살균시간이 감소함에 따른 항산화 물질에 영향을 최소화함으로써 사료된다. 살균법에 따른 오디 주스의 관능적 특성은 그림 11과 같다. 색은 ohmic heating 살균법을 사용한 젓산칼슘 무첨가군이 가장 높은 기호도를 나타내었으며, 향과 맛은 ohmic heating 살균법을 사용한 1% 젓산칼슘 첨가군이 가장 높은 기호도를 나타내었다. 후미는 젓산칼슘 무첨가군이 첨가군에 비해 높은 기호도를 나타내었으

며, 전반적인 기호도는 재래식 살균법을 사용한 젓산칼슘 무첨가 오디 주스와 ohmic heating 살균법을 사용한 1% 젓산칼슘 첨가 오디 주스가 같은 기호도를 나타내었다.

(3) Ohmic heating을 이용한 오디 주스의 저장기간에 따른 이화학적 특성

75℃에서 0분, 1분, 3분, 5분간 Ohmic heating 처리한 오디 주스의 가용성 고형물, pH, 안토시아닌 색소 흡광도 및 색도의 변화는 다음 표 19, 20과 같다. 가용성 고형물은 1일 까지 증가하다가 그 후 변화를 보이지 않았으며 OH처리시간에 따른 변화는 나타나지 않았다. pH는 저장기간이 증가함에 따라 약간 증가하는 경향을 나타내었으나 OH처리시간이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다. 안토시아닌 색소 흡광도는 저장기간이 증가함에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 나타냈으며 OH처리시간이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었는데 이는 OH처리시간이 증가할수록 안토시아닌 색소의 파괴를 증가시키는 것으로 판단되었다. OH처리에 따른 색도의 변화는 OH처리시간과 저장기간이 증가함에 따라 백색도(L)는 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 적색도(a)와 황색도(b)는 저장기간이 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. OH에 따른 적색도(a)와 황색도(b)는 OH처리시간이 증가함에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다.

(4) Ohmic heating을 이용한 오디 주스의 저장기간에 따른 저장 특성

OH처리 시 오디 주스의 저장성은 표 21과 같다. OH처리 오디 주스의 총균수는 처리시간이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었으며, 저장기간이 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었다. OH처리 오디 주스의 대장균균수는 모두 검출되지 않았다. 이는 위 연구의 OH처리를 하지 않은 오디 주스에서 검출된 것과 다른 결과를 나타내었으며, 살균처리에 유용한 것으로 생각되었다.

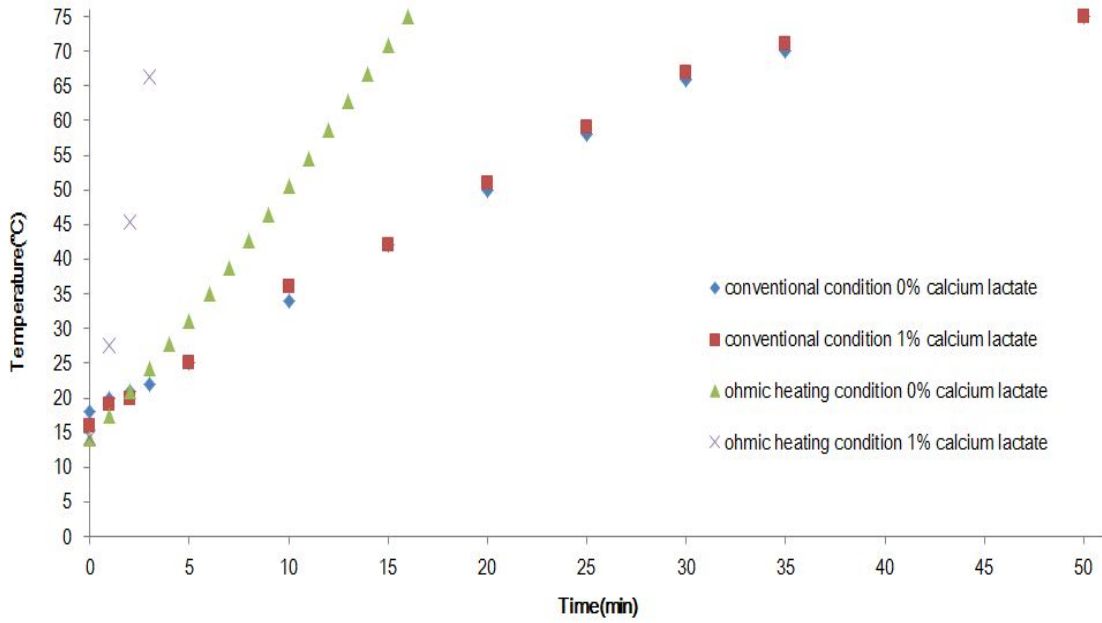


그림 9. Ohmic heating 처리에 따른 오디 주스의 살균 시간 차이

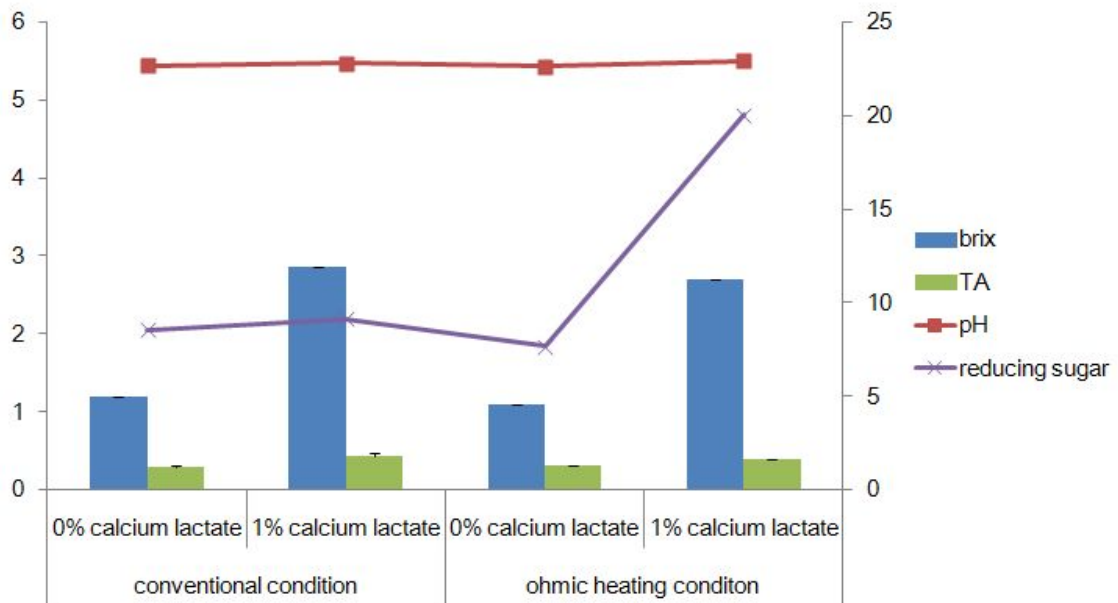


그림 10. Ohmic heating 처리에 따른 오디 주스의 이화학적 특성

표 17. Ohmic heating 처리에 따른 오디 주스의 색도

색도	재래식 살균법		ohmic heating 살균법	
	0% 젖산칼슘	1% 젖산칼슘	0% 젖산칼슘	1% 젖산칼슘
<i>L</i>	47.8±0.32a	43.3±0.03a	33.7±0.02b	33.7±0.02b
<i>a</i>	26.1±0.12a	19.5±0.04b	20.6±0.01b	15.6±0.01c
<i>b</i>	37.7±0.16a	33.6±0.04b	22.6±0.03c	21.9±0.01c

표 18. Ohmic heating 처리에 따른 오디 주스의 비타민 C 및 안토시아닌 함량

항산화 물질	재래식 살균법		ohmic heating 살균법	
	0% 젖산칼슘	1% 젖산칼슘	0% 젖산칼슘	1% 젖산칼슘
비타민 C 함량 (mg%)	1.12±0.02b	1.32±0.00b	3.24±0.52a	3.18±0.05a
안토시아닌 색소 흡광도 (510nm)	0.34±0.00b	0.32±0.01b	0.72±0.00a	0.69±0.00a

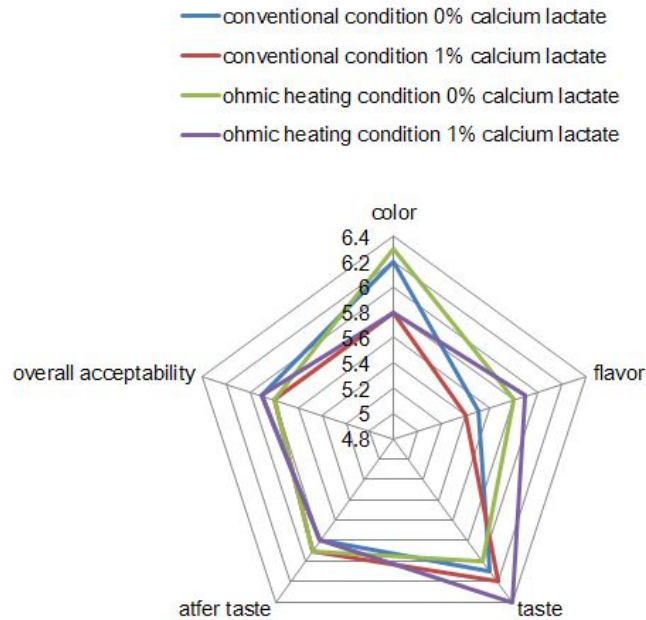


그림 11. Ohmic heating 처리에 따른 오디 주스의 관능적 특성

표 19. Ohmic heating 처리 후 오디 주스의 저장기간에 따른 가용성 고형물, pH 및 안토시아닌 색소의 변화

이화학적 특성	0day	1day	4day	8day	14day	
0min	가용성 고형물	4.00±0.00a	5.00±0.00a	5.00±0.00a	5.00±0.00a	5.00±0.00a
	pH	5.07±0.00a	5.10±0.00a	5.08±0.00a	5.09±0.01a	5.09±0.00a
	안토시아닌 색소 흡광도	0.68±0.00a	0.53±0.00b	0.51±0.00b	0.51±0.00b	0.49±0.00b
1min	가용성 고형물	3.00±0.00b	5.00±0.05a	5.00±0.05a	5.00±0.00a	5.00±0.05a
	pH	5.09±0.00a	5.10±0.00a	5.09±0.00a	5.11±0.01a	5.15±0.00a
	안토시아닌 색소 흡광도	0.68±0.01a	0.53±0.00b	0.50±0.00b	0.49±0.00b	0.48±0.00b
3min	가용성 고형물	3.00±0.00b	5.00±0.00a	5.00±0.00a	5.00±0.00a	5.00±0.00a
	pH	5.07±0.00a	5.10±0.00a	5.09±0.01a	5.09±0.00a	5.07±0.00a
	안토시아닌 색소 흡광도	0.67±0.01a	0.52±0.00b	0.49±0.00b	0.47±0.01b	0.45±0.00b
5min	가용성 고형물	4.00±0.00b	5.00±0.00a	5.00±0.05a	5.00±0.57a	5.00±0.00a
	pH	5.10±0.00a	5.12±0.01a	5.10±0.00a	5.13±0.01a	5.14±0.00a
	안토시아닌 색소 흡광도	0.56±0.00a	0.46±0.01ab	0.43±0.00b	0.41±0.00b	0.38±0.00b

표 20 Ohmic heating 처리 후 오디 주스의 저장기간에 따른 색도의 변화

색도	백색도(L)		적색도(a)		황색도(b)	
	0day	14day	0day	14day	0day	14day
0min	44.4±0.15a	50.13±0.07a	33.6±0.02a	23.13±0.07a	10.23±0.32a	4.05±0.12b
1min	47.6±0.03a	51.55±0.09a	33.7±0.03a	25.09±0.05a	10.68±0.18a	5.43±0.25b
3min	48.9±0.36a	52.05±0.27a	34.05±0.14a	25.64±0.11a	11.58±0.09a	7.66±0.03ab
5min	49.2±0.12a	52.41±0.16a	34.12±0.07a	30.02±0.32a	13.00±0.23a	11.13±0.04a

표 21. Ohmic heating을 이용한 오디 주스의 저장기간에 따른 저장 특성

저장특성		0day	1day	4day	8day	14day
0min	총균수	37×10 ¹	37×10 ¹	41×10 ¹	46×10 ¹	50×10 ¹
	대장균균수	ND	ND	ND	ND	ND
1min	총균수	5×10 ¹	4×10 ¹	10×10 ¹	12×10 ¹	15×10 ¹
	대장균균수	ND	ND	ND	ND	ND
3min	총균수	ND	ND	ND	ND	ND
	대장균균수	ND	ND	ND	ND	ND
5min	총균수	ND	ND	ND	ND	ND
	대장균균수	ND	ND	ND	ND	ND

마. 오디 푸딩 개발

(1) 시간에 따른 오디 열수 추출물의 이화학적 특성

오디 열수 추출물의 시간에 따른 가용성 고형물, pH, 갈색도 및 색도의 변화는 표 20과 같다. 열수 추출 시간이 증가함에 따라 가용성 고형물은 약간씩 증가하였고 pH와 갈색도는 30분까지는 증가하였으나 90분 이후에는 변화가 거의 없었다. 백색도(L)는 추출시간에 따른 변화가 없었고 적색도(a)와 황색도(b)는 추출시간 60분까지는 감소하였으나 그 이후에는 변화를 보이지 않았다. 최종 오디의 열수 추출조건은 200 g의 오디에 1 L의 물을 넣고 60분간 열수 추출하는 조건으로 결정하였다.

(2) 오디 푸딩 제조방법

(가) 실험재료

오디는 (주)수주촌에서 2012년 5-6월 경상북도 예천에서 채취하여 냉동보관된 것을 제공받아 -40℃에 냉동보관하면서 실험에 사용하였다. 오디 푸딩 첨가 당류는 설탕(제일제당, 한국), 사과농축액(이에스기술연구소, 한국), 자몽농축액(코시스, 한국), 파인애플 농축액(코시스, 한국), 함수결정포도당(삼양제넥스, 한국)을 사용하였고, 겔화제는 판젤라틴(루프사, 독일)을 사용하였다. 오디 푸딩 첨가제는 오디향(헤그린, 한국)과 구연산(삼양제넥스, 한국)을 사용하였다.

(나) 오디 푸딩 제조

오디 열수 추출물에 판젤라틴, 백설탕, 사과농축액, 자몽농축액, 파인애플농축액, 함수결정포도당, 구연산, 오디향을 배합비에 따라 첨가하여 70℃이하에서 모든 재료들이 완전히 용해되도록 일정한 속도로 교반하였다. 완성된 푸딩액을 일정용기(15×15×4 mm)에 기포없이 부운 후 오디를 첨가하여 4℃에서 24시간동안 겔화시켜 실험에 사용하였다. 최종 배합비는 오디 열수 추출물 80 g, 판 젤라틴 1.6 g, 사과농축액 9.7 g, 백설탕 6.5 g, 자몽농축액 0.6 g, 함수결정포도당 0.4 g, 구연산 0.2 g, 파인애플농축액 0.1 g, 오디향 0.2 g이다.

(3) 오디 열수 추출물의 이화학적 특성

오디 열수 추출물의 시간에 따른 당도, pH, 갈색도 및 색도의 변화는 표 22와 같다. 열수 추출 시간이 증가함에 따라 당도는 약간씩 증가하였고 pH와 갈색도는 30분까지는 증가하였으나 90분 이후에는 변화가 거의 없었다. 백색도(L)는 추출시간에 따른 변화가 없었고 적색도(a)와 황색도(b)는 추출시간 60분까지는 감소하였으나 그 이후에는 변화를 보이지 않았다.

(4) 관능적 특성을 통한 오디 푸딩의 품질평가

오디 푸딩의 관능적 특성은 한국식품연구원의 연구원 20명을 대상으로 기호도를 9점 척도법

으로 평가하였다. 그 결과는 표 23, 24, 25와 같다. 열수 추출물 오디 푸딩은 색, 향, 맛의 기호도에서 오디 함량에 따른 유의적인 차이를 나타내었으나, 전반적인 기호도에서는 유의적 차이를 나타내지 않았다. 최종 열수 추출물 오디 푸딩은 150 g/L로 선정하였다. 열과의 접촉을 최소화 하기 위한 오디 착즙 여과액 푸딩의 관능적인 결과는 향, 맛, 전반적인 기호도에서 유의적인 차이를 나타내었으나, 색에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 최종 오디 착즙 여과액 푸딩은 100 g/L로 선정하였다. 추출방법에 따른 오디 푸딩의 기호도는 색에서 유의적인 차이를 나타내었으며, 최종 추출법을 열수 추출법으로 선정하였다.

표 22. 추출시간에 따른 오디 200 g/L 열수 추출물의 이화학적 특성

min	가용성 고형물	pH	갈색도	색도		
				백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
30	1.5b	5.28a	0.86a	16.5a	8.2a	1.2a
60	1.6ab	5.31a	0.92a	16.1a	2.3b	0.3bc
90	1.6ab	5.31a	0.93a	16.4a	1.6b	-0.9c
120	1.6ab	5.31a	0.91a	16.0a	2.6b	0.4b
150	1.6ab	5.31a	0.89a	16.1a	1.9b	0.2bc
180	1.8a	5.31a	0.89a	16.1a	2.7b	0.4b
210	1.8a	5.31a	0.89a	16.1a	2.5b	0.4b
240	1.9a	5.31a	0.90a	16.0a	1.9b	0.5b

표 23. 열수 추출물 오디 푸딩의 관능적 특성

	색	향	맛	전반적인 기호도
50g/L	5.6±0.9b	5.1±0.6 b	5.4±1.3 b	5.9±1.0a
100g/L	6.9±1.1a	5.9±1.4ab	6.3±1.2ab	6.3±1.3a
150g/L	7.3±0.9a	6.8±1.0 a	7.0±1.8 a	6.6±2.0a
200g/L	6.9±1.2a	6.0±1.1ab	6.8±1.2ab	7.0±1.2a

표 24. 착즙 여과액 여과 추출물 오디 푸딩의 관능적 특성

	색	향	맛	전반적인 기호도
50g/L	5.2±1.7a	4.8±0.4 b	5.5±1.5a	5.0±1.1b
100g/L	7.0±1.4a	5.5±0.8ab	7.0±1.4a	6.8±1.3a
150g/L	6.8±1.2a	5.8±1.2ab	6.7±1.5a	6.5±0.8a
200g/L	6.8±1.5a	6.5±1.0 a	7.0±1.1a	6.8±1.2a

표 25. 추출방법에 따른 오디 푸딩의 관능적 특성

오디	색	향	맛	전반적인 기호도
열수 추출물 150g/L	6.0±3.1a	5.8±2.9a	5.9±2.8a	6.1±2.9a
착즙 여과액 100g/L	5.1±2.3b	5.4±2.4a	5.7±2.6a	5.5±2.4b

제 2 절 오디를 이용한 농축액 개발 및 농축액을 이용한 고부가가치 제품 개발

1. 연구 방법

가. 이화학적 특성

(1) 가용성 고형물

가용성 고형물은 각 시료를 2배 희석한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 filter paper(Whatman No. 41)로 여과 후 당도계(N-1E°Brix 0~32%, Atago, Japan)로 측정하여 °Bx로 표시하였다.

(2) pH

pH는 시료를 10배 희석한 10 mL 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액을 취하여 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 pH meter(Model 320, Thermo Orion, Beverly, MA, USA)로 5회 반복 측정하여 평균치를 나타내었다.

(3) 적정산도

적정산도는 시료를 10배 희석한 10 mL 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액을 취하여 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 시료 10 mL에 0.1N NaOH 용액을 pH가 8.2가 될 때까지 적가한 뒤 이에 소요된 0.1N NaOH 양을 citric acid를 기준으로 환산하여 %로 나타내었으며, 5회 반복 측정하여 평균치를 나타내었다.

(4) 색도

색도는 색차계(Color-Eye 3100, Macbeth, New Windsor, NY, USA)를 사용하여 시료를 2배 희석한 후 측정하였다. Hunter's value인 명암도를 나타내는 L값(lightness), 적색도의 정도를 나타내는 a값(redness), 황색도의 정도를 나타내는 b값(yellowness)으로 10회 반복 측정하여 평균값을 나타내었다. 이때 사용된 표준색판(standard color value)의 L값은 98.75, a값은 -1.02, b값은 1.10인 calibration plate를 사용하였다.

(5) 탁도

탁도는 Spectrophotometer(U900, Human, Korea)를 이용하여 시료를 10배 희석한 후 600 nm에서 투과도(transmittance)를 측정하였다.

나. 저장 특성

(1) 일반세균수

멸균팩에 각 처리구의 시료 10 mL씩을 넣고 0.85% Saline solution을 90 mL 가하여 3분간 좌우상하로 각 100회씩 교반한 후, 적절한 비율로 희석하였다. 총균수는 희석액을 aerobic count plate petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 48시간 배양한 후 생성된 붉은 집락수를 계산하고 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 일반세균수로 하였다.

(2) 대장균군수

대장균군수는 희석액을 coliform count plates petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 24시간 배양한 후 생성된 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성하고 있는 집락수를 계산하고, 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 대장균군수를 산출하였다.

다. 관능적 특성

시료의 관능검사는 한국식품연구원의 연구원 15명으로 구성된 전문패널들로 검사 방법과 평가 특성을 교육시킨 후 실시하였다. 검사 항목은 색, 향, 맛, 후미, 전반적인 기호도였으며 7점 척도법으로 평가하였고, 각 항목의 선호도가 좋을수록 높은 점수를 주었다.

라. 기능적 특성

(1) Anthocyanin 색소함량

Anthocyanin 색소함량 측정은 시료를 5배로 희석한 다음 Spectrophotometer(U900, Human, Korea)를 사용하여 anthocyanin 색소의 최대 흡수파장인 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(2) 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 다음과 같이 측정하였다. 추출 시료용액 1 mL에 50% Foiln-Ciocalteu's phenol reagent 0.5 mL를 가하여 실온에서 3분간 반응시켰다. 반응용액에 Na₂CO₃ 포화용액 1 mL와 7.5 mL 증류수를 차례로 혼합하여 30분간 정치시킨 뒤, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 취해 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 표준 물질로 이용하여 작성한 검량선에 따라 함량을 구하였으며 측정단위로는 GAE(Gallic acid equivalent)/g을 사용하였다.

(3) 총 안토시아닌 함량

총 안토시아닌 정량은 pH differential method에 따라 측정하였다. 각 추출물 0.5 mL에

0.025M potassium chloride buffer(pH 1.0)와 0.4M sodium acetate buffer(pH 4.5)를 가하여 최종 부피를 5 mL로 한 다음 510 및 700 nm에서 반응 액의 흡광도를 각각 측정하여 아래의 식으로 결과를 얻었다.

$$\text{Total anthocyanin content (mg/kg)} = \frac{A \times MW \times D \times 1000}{\epsilon \times V}$$

여기서, A(absorbance value) = (A 510 nm - A 700 nm)^{pH1.0} - (A 510 nm - A 700 nm)^{pH4.5}, MW(molecular weight of cyanidin-3-glucoside) = 449.2, D(dilution factor) = dilution ratio of sample, ϵ (cyanidin-3-glucoside molar absorbance) = 26,900M⁻¹cm⁻¹, V = final volume of sample 이다.

(4) DPPH 소거 활성

DPPH radical 소거활성은 다음과 같이 측정하였다. 시료 0.2 mL에 0.2 mM DPPH 용액 0.8 mL를 가한 후, 520 nm에서 정확히 30분 후에 분광광도계(UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 전자공여능은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였다.

마. 통계처리

실험결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이검증은 일원배치분산분석(ANOVA)을 사용하였으며, Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

2. 연구결과

가. 안토시아닌 고함유 오디 농축액 개발

(1) 안토시아닌 고함유 오디 농축액 제조 조건 확립

오디 500 g에 물 2 L을 첨가하여 추출한 후 30℃, 40℃, 60℃에서 70 °Bx까지 농축했을 때, 농축시간은 평균 6시간, 4시간, 2시간 30분으로 나타났다. 농축온도에 따른 가용성 고형물, pH 및 적정산도는 표 26과 같다. 가용성 고형물이 70 °Bx가 될 때 까지 농축하였을 경우, pH와 적정산도는 농축온도에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 농축온도에 따른 색도와 안토시아닌 색소 흡광도의 변화는 표 27과 같다. 색도는 농축온도가 높아짐에 따라 적색도(*a*)와 황색도(*b*) 모두 유의적으로 증가하였으나 백색도(*L*)는 온도가 높아짐에 따라 감소하였다. 농축온도에 따른 안토시아닌 색소 흡광도의 변화는 농축온도가 증가함에 따라 안토시아닌 색소의 흡광도는 유의적으로 감소하였다. 고함량 안토시아닌 함유 농축액 제조의 최적 온도는 낮을수록 안토시아닌 색소 흡광도가 높게 나타났으므로 낮은 온도에서 고함량 안토시아닌 함유 농축액의 제조가 가능하나, 제조 시간을 감안하여 30℃를 최적온도로 확립하였다.

표 26. 농축온도에 따른 가용성 고형물, pH 및 적정산도

농축온도	가용성 고형물(°Bx)	pH	적정산도
30℃	70.0±0.01a	5.54±0.00a	3.758±0.08a
40℃	70.4±0.01a	5.47±0.00a	3.494±0.12ab
60℃	70.0±0.00a	5.25±0.01a	3.215±0.15b

표 27. 농축온도에 따른 색도 및 안토시아닌 색소 함량

농축온도	안토시아닌 색소	색도		
		백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
30℃	0.901±0.12a	5.02±0.12a	24.21±0.10a	3.89±0.01b
40℃	0.750±0.01ab	4.36±0.08a	26.15±0.24a	4.69±0.20b
60℃	0.411±0.02b	3.11±0.24a	28.57±0.12a	7.58±0.07a

나. 오디 농축액을 첨가한 식혜 개발

(1) 오디 식혜 제조

(가) 실험재료

본 실험에 사용한 뽕쌀은 2012년도 경기도 여주산이며, 엿기름은 회사제품으로 찹쌀과 엿기름은 이마트에서 구입하여 냉장보관하면서 사용하였다. 2012년 5월-6월에 수확한 경북 예천산 오디는 (주)수주촌에서 제공받아 -40℃에 냉동보관하면서 사용하였다.

(나) 오디 농축액 제조

오디 100 g에 10배의 증류수를 가하고 4℃에서 2시간 동안 100 rpm으로 교반하여 추출하였다. 추출물은 원심분리기를 사용하여 4℃, 7500 rpm에서 30분간 원심분리한 후 여과지(watman No.41)를 이용하여 여과한 상등액을 대형농축기를 사용하여 water bath를 40℃로 유지하면서 50 °Brix가 되도록 농축하여 시료로 사용하였다.

(다) 엿기름 추출액 제조

엿기름 가루에 10배의 증류수를 넣고 2시간 동안 50℃에서 100 rpm으로 교반한 후 부직포로 착즙하였다. 고형분은 버리고 착즙액은 4℃에서 1시간 동안 정치시킨 후 맑은 상층액만 식혜 당화 시료로 사용하였다.

(라) 고두밥 제조

뽕쌀은 5회 세척한 후 10배 해당하는 증류수를 넣고 30℃에서 1시간 동안 침지한 후 다시 30분 동안 탈수를 시킨 불린 쌀과 물이 1 : 1.2로 하여 전기압력밥솥에서 밥을 고두밥을 제조하였다.

(마) 오디 식혜 제조

식힌 고두밥에 8배의 엿기름 추출액을 혼합하여 60℃에서 4시간 동안 당화하였다. 당화액은 4℃, 7500 rpm에서 10분간 원심분리한 후 여과지(watman No.41)를 이용하여 여과한 상등액에 오디농축액 5%를 첨가한 후 75℃에서 5분간 살균하여 오디 식혜를 제조하였다.

(2) 오디 농축액을 첨가한 오디 식혜의 최적 배합비 개발

오디 농축액을 각각 0%, 2.5%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%씩 첨가하여 식혜를 제조하여 이에 따른 가용성 고형물의 변화를 비교한 결과는 표 28과 같다. 오디 농축액 첨가량이 증가함에 따라 식혜의 가용성 고형물은 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 25%의 식혜는 0%의 식혜에 비해 2배 이상의 가용성 고형물 함량을 나타내었다. 이는 식혜 제조 시 보당을 따로 하지

않고 오디 농축액만으로도 충분한 효과를 가질 것으로 생각되었다. 5점 기호도 척도법을 사용한 관능적인 기호도에서는 오디 농축액 5%를 첨가한 시료군에서 유의적으로 가장 높은 점수를 나타내었다.

(3) 오디 식혜의 이화학적 특성

오디 농축액을 첨가하지 않은 식혜를 대조군으로 하여 오디 농축액 5%를 첨가한 오디 식혜와 이화학적 특성을 비교하였다. 오디 식혜의 가용성 고형물, pH, 적정산도 및 탁도는 표 29와 같다. 가용성 고형물, 적정산도와 탁도는 5% 오디 농축액 첨가 식혜가 유의적으로 증가하였고, pH는 유의적으로 감소하였다. 오디 농축액 함량별 오디 식혜의 색도에 변화는 표 30과 같다. 오디 식혜의 백색도(L)는 오디 농축액 함량이 증가할수록 유의적으로 감소하였으며, 황색도(b)와 백색도(L)는 2.5% 오디 농축액에서 가장 높은 값을 나타내었다.

(4) 오디 식혜의 항산화 특성

오디 농축액 함량에 따른 오디 식혜의 항산화 특성은 표 31과 같다. 총 폴리페놀 함량은 오디 농축액을 첨가하지 않는 식혜와 2.5%의 오디 농축액을 첨가한 식혜는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 오디 농축액의 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다. 안토시아닌 색소함량은 오디 농축액의 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다. DPPH free radical 소거능 역시, 오디 농축액의 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다. 따라서 오디 농축액의 함량이 높은 식혜 제조 시 항산화 효과를 가질 것으로 사료되었다.

(5) 오디 식혜의 저장 특성

오디 농축액을 첨가하여 제조한 식혜의 저장 기간에 따른 미생물의 변화를 관찰하기 위해 식품공전에 제시된 일반세균의 분석방법에 따라 4°C에서 14일간 저장하면서 연구한 결과는 표 32와 같다. 본 연구에서 14일간 저장하면서의 외관상의 변화는 발견되지 않았다. 저장기간에 따른 총균수의 변화는 0일에는 미생물이 검출되지 않았으나 저장기간이 증가함에 따라 총균수는 증가하였다. 대조군에 비해 오디 농축액 첨가군은 오디 농축액의 첨가량이 증가함에 따라 총균수는 감소하였다. 이 결과는 오디 농축액의 함량이 높아질수록 저장기간이 연장되는 결과를 보여주는 것으로, 오디 내 안토시아닌과 같은 플라보노이드색소의 증가에 의해 미생물이 억제되는 것으로 판단되었다.

(6) 오디 식혜의 관능적 특성

최종 배합비로 제조된 오디 식혜의 관능적 특성에 관한 결과는 그림 12와 같다. 오디 식혜의 향에 대한 기호도는 오디 농축액을 5% 첨가했을 때 가장 높게 나타났으며, 무첨가군이 가장 낮게 나타났다. 오디 식혜의 색에 대한 기호도는 15% 시료군에서 가장 높은 결과를 가졌으며, 5%의 시료군에서 가장 낮은 결과를 가졌다. 오디 식혜의 맛에 대한 기호도는 25%의 시료군이 가장 높은 값에 나타났다. 전반적인 오디 식혜의 기호도는 결과는 5%의 시료군에서 가장 높은 값을 나타내었다.

표 28. 오디 농축액 함량별 오디 식혜의 가용성 고형물 함량 및 관능적 기호도 결과

오디농축액 함량별	가용성 고형물 (°Bx)	관능적 기호도
0%	14.2±0.115g	3.9±0.12b
2.5%	16.4±0E-7f	4.1±0.05ab
5%	17.8±0.578e	4.6±0.21a
10%	21.2±0E-7d	4.2±0.01ab
15%	24.6±0E-7c	4.1±0.05ab
20%	27.9±0E-7b	4.5±0.21a
25%	31.3±0E-7a	4.2±0.22ab

표 29. 오디 농축액 5%를 첨가한 오디 식혜의 가용성 고형물, pH, 적정산도 및 탁도

	가용성 고형물(°Bx)	pH	적정산도	탁도
0%	14.2±0.115g	6.19±0.058a	0.43±0.011g	0.000±0.00173g
5%	17.8±0.578e	5.30±0.058c	1.25±0.003e	0.426±0.00558e

표 30. 오디 농축액 함량별 오디 식혜의 색도의 변화

오디농축액 함량	백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
0%	36.6±0.104a	-0.86±0.010g	-10.5±0.030g
2.5%	25.1±0.006a	38.3±0.015a	26.8±0.003a
5%	12.2±0.006b	37.6±0E-7b	17.6±0.038b
10%	1.88±0.006c	12.6±0.025c	2.23±0.003c
15%	0.47±0.012d	3.54±0.023d	0.53±0.003d
20%	0.13±0E-7e	1.02±0.015e	0.22±0.003e
25%	0.05±0.006f	0.37±0.058f	0.08±0E-7f

표 31. 오디 농축액 함량에 따른 오디 식혜의 항산화 활성 변화

	Total polyphenolics contents (ug GAE/mL)	Antocyanine pigment (OD value)	DPPH radical scavenging (%)
0%	12.2±0.19f	0.00±0.003g	1.14±6.14f
2.5%	14.2±0.32f	0.07±0.049f	11.5±0.64e
5%	22.2±1.17e	0.16±0.005e	30.0±3.26d
10%	38.4±0.97d	0.30±0.006d	36.5±0.29c
15%	55.3±0.60c	0.44±0.001c	38.7±0.18ab
20%	75.6±0.35b	0.60±0.009b	44.2±0.21b
25%	87.2±6.76a	0.76±0.032a	56.9±0.38a

표 32. 오디 농축액 함량에 따른 오디 식혜의 저장성

	0day	2day	4day	6day	8day	10day	12day	14day
0%	ND	0.5×10 ²	1.9×10 ²	7.5×10 ²	4.1×10 ³	4.9×10 ⁵	1.5×10 ⁶	6.3×10 ⁶
2.5%	ND	0.4×10 ²	1.8×10 ²	6.5×10 ²	3.5×10 ³	3.4×10 ⁵	0.9×10 ⁶	5.9×10 ⁶
5%	ND	0.4×10 ²	1.5×10 ²	5.1×10 ²	3.3×10 ³	2.9×10 ⁵	0.5×10 ⁶	5.2×10 ⁶
10%	ND	0.4×10 ²	1.4×10 ²	4.9×10 ²	2.9×10 ³	2.3×10 ⁵	0.1×10 ⁶	5.1×10 ⁶
15%	ND	0.3×10 ²	1.2×10 ²	4.5×10 ²	2.5×10 ³	2.0×10 ⁵	9.5×10 ⁵	4.3×10 ⁶
20%	ND	0.3×10 ²	1.1×10 ²	4.0×10 ²	2.1×10 ³	1.7×10 ⁵	8.7×10 ⁵	3.9×10 ⁶
25%	ND	0.3×10 ²	1.0×10 ²	3.4×10 ²	1.9×10 ³	1.5×10 ⁵	7.6×10 ⁵	3.2×10 ⁶

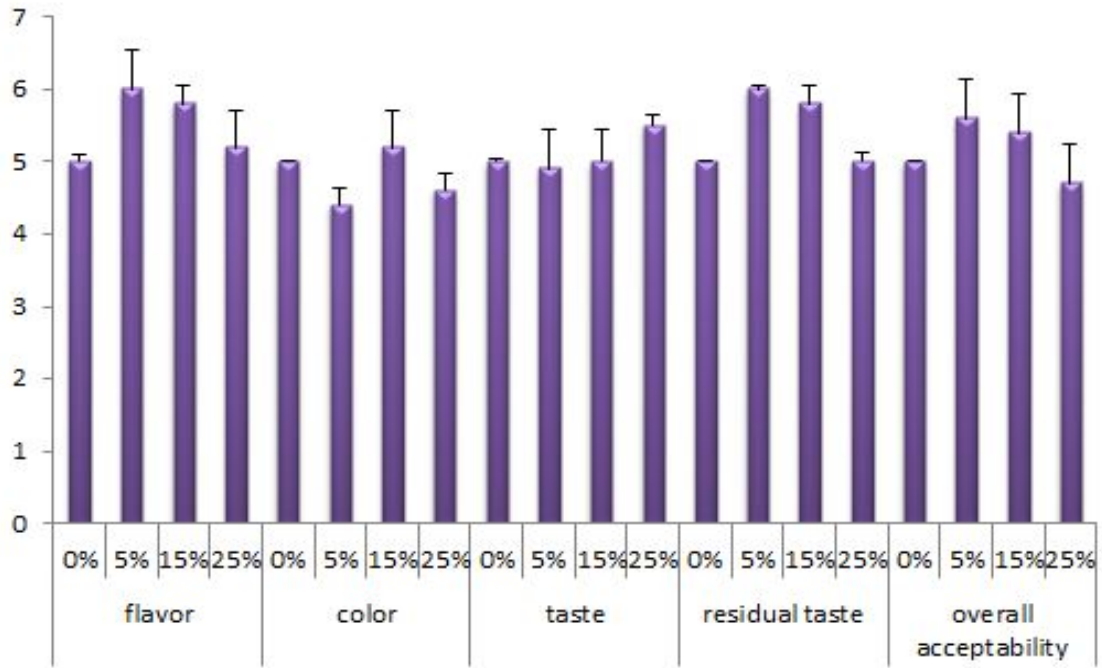


그림 12. 오디 농축액 함량별 오디 식혜의 관능적 기호도

다. Ohmic heating을 이용한 유효성분 최소 손실 오디 농축액 살균 조건 연구

(1) Ohmic heating을 오디 농축액의 살균 최적 조건 확립

55°C, 65°C, 75°C, 85°C에서 1분간 Ohmic heating 처리한 다음 35°C에 4시간 incubation 한 후 총균수 및 대장균균수의 변화를 측정한 결과, 75°C 이상에서 총균수 및 대장균균수가 검출되지 않았다. Ohmic heating 처리 시 온도의 최적조건은 75°C로 결정하였다. 75°C에서 30초, 1분, 3분, 5분 Ohmic heating 처리를 하고 35°C에 4시간 incubation 한 후 총균수 및 대장균균수의 변화를 측정한 결과, 30초 이후에서 총균수 및 대장균균수가 검출되지 않았다. Ohmic heating 처리 시 시간의 최적조건은 1분 이후로 결정하였다.

(2) Ohmic heating을 오디 농축액의 저장기간에 따른 이화학적 특성

75°C에서 0분, 1분, 3분, 5분간 Ohmic heating 처리한 오디 농축액의 가용성 고형물 함량, pH, 안토시아닌 색소 흡광도 및 색도의 변화는 다음 표 33, 34와 같다. 가용성 고형물은 저장기간과 OH 처리에 유의적 차이를 나타내지 않았다. pH는 저장기간이 증가함에 따라 약간 증가하는 경향을 나타내었고 OH처리시간이 증가함에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 안토시아닌 색소 흡광도는 저장기간과 OH 처리에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. OH처리에 따른 색도의 변화는 다음과 같다. OH 처리시간과 저장기간이 증가함에 따라 백색도(L)는 유의적인 증가를 나타내었고, 적색도(a)와 황색도(b)는 저장기간이 증가함에 따라 유의적인 감소를 나타내었으며 OH처리시간에 따라서 유의적으로 증가하였다.

(3) Ohmic heating을 이용한 비가열처리 오디 농축액의 저장기간에 따른 변화

OH처리 시 오디 농축액의 저장성은 표 35와 같다. OH처리 오디 농축액의 총균수는 처리시간이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었으며, 저장기간이 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었다. OH처리 오디 농축액의 대장균균수는 모두 검출되지 않았다.

표 33. Ohmic heating 처리 후 오디 농축액의 저장기간에 따른 가용성 고형물, pH 및 안토시아닌 색소의 변화

이화학적 특성	0day	1day	4day	8day	14day	
0min	가용성 고형물	50.2±0.00a	50.1±0.00a	50.2±0.00a	50.1±0.00a	50.1±0.05a
	pH	5.47±0.00b	5.51±0.00ab	5.52±0.00ab	5.61±0.01ab	5.72±0.01a
	안토시아닌 색소 흡광도	0.51±0.00a	0.51±0.00a	0.50±0.01a	0.51±0.00a	0.50±0.00a
1min	가용성 고형물	50.0±0.00a	50.0±0.00a	50.1±0.00a	50.1±0.00a	50.1±0.00a
	pH	5.48±0.01b	5.53±0.00ab	5.55±0.01ab	5.61±0.00ab	5.71±0.00a
	안토시아닌 색소 흡광도	0.51±0.00a	0.51±0.01a	0.485±0.00a	0.50±0.01a	0.501±0.01a
3min	가용성 고형물	50.3±0.05a	50.3±0.00a	50.1±0.00a	50.2±0.05a	50.1±0.00a
	pH	5.48±0.00b	5.51±0.00ab	5.51±0.00ab	5.62±0.00ab	5.72±0.00a
	안토시아닌 색소 흡광도	0.50±0.01a	0.50±0.00a	0.49±0.00a	0.510±0.00a	0.50±0.00a
5min	가용성 고형물	50.1±0.00a	50.2±0.00a	50.2±0.00a	50.2±0.00a	50.2±0.00a
	pH	5.48±0.00b	5.52±0.01ab	5.52±0.00ab	5.66±0.01a	5.72±0.00a
	안토시아닌 색소 흡광도	0.50±0.00a	0.50±0.01a	0.49±0.00a	0.51±0.00a	0.50±0.00a

표 34. Ohmic heating 처리 후 오디 농축액의 저장기간에 따른 색도의 변화

색도	백색도(L)		적색도(a)		백색도(b)	
	0day	14day	0day	14day	0day	14day
0min	51.3±2.4aB	60.2±4.1bB	20.5±3.8aA	15.5±2.3bB	10.2±0.7aA	3.6±0.2bC
1min	53.2±3.3aB	64.6±4.0bB	21.6±2.1aA	17.5±2.1bAB	10.6±0.3aA	5.6±0.2bB
3min	55.2±1.9aAB	68.5±3.4bA	22.2±1.1aA	19.6±1.1aA	11.0±0.8aA	8.0±0.1aA
5min	59.5±5.9aA	69.0±1.0bA	23.1±3.7aA	20.6±1.0aA	11.6±0.1aA	10.5±0.1aA

표 35. Ohmic heating을 이용한 오디 농축액의 저장기간에 따른 저장 특성

저장특성		0day	1day	4day	8day	14day
0min	총균수	3×10 ¹	4×10 ¹	6×10 ¹	9×10 ¹	11×10 ¹
	대장균군수	ND	ND	ND	ND	ND
1min	총균수	ND	ND	ND	ND	ND
	대장균군수	ND	ND	ND	ND	ND
3min	총균수	ND	ND	ND	ND	ND
	대장균군수	ND	ND	ND	ND	ND
5min	총균수	ND	ND	ND	ND	ND
	대장균군수	ND	ND	ND	ND	ND

제 3 절 오디를 이용한 원형유지 병조립 개발

1. 연구 방법

가. 실험재료

오디는 (주)수주촌에서 2012년 5-6월 경상북도 예천에서 채취하여 냉동보관된 것을 본 연구원에서 제공받아 -40℃에 냉동보관하면서 실험에 사용하였다. 본 실험에 사용한 설탕은 삼양 제넥스 제품이며, 비타민 C와 citric acid는 식재료업체에서 구매하여 사용하였다. 잔탄검과 젤란검은 주피터 인터네셔널 제품을 사용하였다.

나. 오디 병조립 당침액 제조방법

오디 100 g과 당침액(설탕, 솔비톨) 100g을 중탕하여 여과포로 여과 후 산류(Vitami C, citric acid)를 0.2% 첨가하고 검류(잔탄검, 젤란검)를 0.8% 첨가 후 중탕한 후 다시 3분간 가열 살균하였다.

다. 원형유지 오디 제조방법

(1) 당침 오디 제조

오디 100 g과 설탕 100 g을 중탕하여 살균한 병에 담아 14일간 당침시킨다.

(2) 오디 코팅제 제조방법

오디 10 g에 물 95 mL에 비타민 C 0.2 g을 첨가하여 1분간 끓여 여과포로 여과 후 알긴산 나트륨을 2% 첨가하여 코팅제 용액을 제조한다.

라. 오디 병조립 제조방법

제조된 코팅제 용액에 당침된 오디를 침지 코팅한 후 3% CaCl₂용액에 다시 한 번 침지한 후 체에 받쳐 30초간 방치한다. 이후 오디를 100 mL의 살균된 병에 넣고 가열살균한 당침액을 넣은 후 핫필링(hot filling)한다.

마. 오디 병조립의 이화학적 특성

가용성 고형분은 굴절당도계(Master-2T, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 측정하여 °Bx로 표시하였다. pH는 pH meter(Model 320, Thermo Orion, Beverly, MA, USA)를 이용하여 시료를 2배 희석하여 측정하였다. 점도는 오디병조립 당침액 50 g을 비이커에 담아 25℃를 유지시키며 점도계(Brookfield DV-II+viscometer, Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, MA, USA)를 사용하여 측정하였다.

바. 오디 병조림의 물리적 특성

오디병조림의 원형유지오디에 대한 조직감을 비교하기 위하여 Texture analyzer(TAXT plus/50, Stable Micro Systems, England)를 이용하여 표 39와 같은 조건으로 생과 오디와 당칩 오디 및 원형유지오디를 return to start로 측정하였다.

사. 식품공전에 근거한 병조림의 세균발육시험

오디병조림의 안전성 평가를 위해 식품공전 (제 10-8-16)의 세균발육시험을 실시하였다. 제조된 오디병조림 3병을 35°C에서 10일간 incubation한 후 상온에서 1일간 추가 방치하였다. 최종 병의 팽창 또는 새는 것은 세균발육 양상으로 판단하고, 음성인 경우 다음과 같은 과정을 실시하여 시험하였다. 오디병조림 25 g과 인산완충희석액 225 mL을 균질화 한 후 균질화된 검체액 1 mL에 인산완충희석액 9 mL을 섞어 5개의 티오글리콜린산염배지에 시험용액 1 mL를 접종하여 35°C에서 48시간 배양한다. 배양한 시험용액 중 한 개라도 균 증식 시 양상으로 판단하였다.

아. 오디 병조림의 저장 특성

오디병조림은 생과, 당칩, 원형유지 오디를 사용하여 제조 후 저장특성을 조사하였다. 오디병조림은 45°C에서 14일간 보관하면서 총균수 및 대장균군을 측정하여 저장성 평가를 실시하였다. 멸균팩에 각 처리구의 오디병조림 시료 10 mL씩을 넣고 0.85% Saline solution을 90 mL 가하여 3분간 좌우상하로 각 100회씩 교반한 후, 적절한 비율로 희석하였다. 총균수는 희석액을 aerobic count plate petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 48시간 배양한 후 생성된 붉은 집락수를 계산하고 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 일반세균수로 하였다. 대장균군수는 희석액을 coliform count plates petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 24시간 배양한 후 생성된 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성하고 있는 집락수를 계산하고, 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 대장균군수를 산출하였다.

자. 오디 병조림의 관능적 특성

오디병조림의 관능적 특성 검사는 한국식품연구원의 연구원 15명으로 구성된 전문패널들로 검사 방법과 평가 특성을 교육시킨 후 실시하였다. 오디병조림은 생과, 당칩, 원형유지 오디를 사용하여 오디병조림을 제조하고 4°C에서 하루 저장 후 관능적 특성 검사를 하였다. 검사 항목은 향, 맛, 전반적인 기호도였으며 5점 척도법으로 평가하였고, 각 항목의 선호도가 좋을수록 높은 점수를 주었다

차. 통계처리

실험결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이검증은 일원배치분산분석(ANOVA)을 사용하였으며, Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

2. 연구결과

가. 오디 병조림 당침액의 최적 배합비 개발

(1) 당 비율별 당침액의 가용성 고형물 및 관능적 평가

당 비율별 당침액의 가용성 고형물 및 관능적 평가는 표 36과 같다. 오디 병조림 당침액 가용성 고형물은 설탕과 솔비톨 비율에 따라 결정하였다. 미생물 생육이 억제되는 가용성 고형물의 함량은 60 °Bx 이상이 안전하다고 보고되고 있다. 솔비톨은 수분을 잡아주는 역할을 함으로 당침액의 미생물 생육의 억제에 도움이 된다고 판단되어 첨가하였다. 솔비톨의 첨가량은 과량 섭취에 따른 부작용을 방지하기 위하여 20 g 이하로 첨가하였다. 당침액 비율별 가용성 고형물의 함량 변화는 설탕의 함량이 높을수록 가용성 고형물은 높은 값을 나타내었다. 관능적 기호도는 설탕과 솔비톨의 비가 50 대 50일 때 가장 높은 결과를 나타내었으며, 최종 결정 설탕 대 솔비톨 비율은 50 대 50으로 결정하였다.

(2) 산 비율별 당침액의 pH 및 관능적 평가

산 비율별 당침액의 pH 및 관능적 평가는 표 37과 같다. 오디 병조림 당침액의 적정산도는 비타민 C와 citric acid 비율에 따라 결정하였다. 산의 첨가는 당침액의 미생물 생육의 억제에 도움이 된다고 보고되고 있다. 비타민 C와 citric acid의 pH의 변화는 citric acid가 100%일 때 가장 낮은 결과를 나타내었다. 관능적인 기호도는 비타민 C와 citric acid의 비율이 70 대 30일 때 가장 높은 결과를 나타내었으며, 최종 결정 비타민 C와 citric acid의 비율은 70 대 30으로 결정하였다.

(3) 검류 비율별 당침액의 점도 및 관능적 평가

검류 비율별 당침액의 점도 및 관능적 평가는 표 38과 같다. 오디 병조림 당침액의 점도는 젤란검과 잔탄검 비율에 따라 결정하였다. 검의 비율에 따른 점도의 변화는 젤란검만을 사용했을 경우 가장 낮은 결과를 나타내었다. 관능적인 기호도는 젤란검과 잔탄검의 비율이 70 대 30일 때 가장 높은 결과를 나타내었으며, 최종 결정 젤란검과 잔탄검의 비율은 70 대 30으로 결정하였다.

나. 오디 병조림 원형유지 오디 최적 제조법 개발

오디 병조림 원형유지오디의 조직감을 Texture analyzer를 측정하여 원형유지 오디의 최적 제조법을 확립하였다. 원형유지 오디의 조직감 비교는 표 40와 같다. 생과, 당침, 원형유지 오디 3가지의 조직감을 비교한 결과, 당침 오디에 비해 생과 오디와 원형유지오디의 값이 유사한 값을 나타내었다.

다. 오디 병조림의 저장 특성

오디 병조림의 저장성 특성은 세균발육시험과 저장성 평가로 연구되었다. 세균발육시험은 생과로 만든 오디 병조림은 양성을 나타냈으며, 당침 오디와 원형유지오디로 만든 오디 병조림은 모두 음성반응을 나타내어, 안전성이 검증되었다. 오디 병조림의 저장성 평가는 표 41과 같다. 오디 병조림의 총균수는 모든 실험군이 시간이 지날수록 총균수는 증가하였으나, 생과로 만든 오디 병조림은 너무 많은 총균수를 나타내었다. 그러나, 당침 오디와 원형유지오디를 이용한 오디 병조림은 안정성을 유지하는 범위 내 측정값을 나타내었다.

라. 최종 배합비로 제조된 오디 병조림의 관능적 특성

최종배합비로 제조된 오디 병조림의 관능적인 특성은 그림 14와 같다. 오디 병조림의 관능적인 기호도는 향은 생과오디 > 원형유지오디 > 당침오디 병조림 순이었으며, 맛은 원형유지오디 > 생과오디 > 당침오디 병조림 순이었다. 조직감은 원형유지오디 > 생과오디 > 당침오디 순이었으며, 전반적인 기호도는 원형유지오디 > 생과오디 > 당침오디 순이었다.

표 36. 오디 병조립 당침액의 설탕과 솔비톨 비율에 따른 가용성 고형물 및 관능적인 기호도의 변화

Sugar : Sorbitol ratio	가용성 고형물(°Bx)	관능적인 기호도
100:0	61±0.00a	4.12±0.09ab
90:10	54±0.01ab	4.24±0.10ab
70:30	51±0.00ab	4.32±0.07ab
50:50	49±0.00ab	4.51±0.04a
30:70	45±0.00ab	3.10±0.12b
10:90	43±0.01b	3.04±0.13b
0:100	41±0.00b	2.95±0.05b

표 37. 오디 병조립 당침액의 비타민 C와 구연산 비율에 따른 pH와 적정산도 및 관능적인 기호도의 변화

Vitamin C : Citric acid ratio	pH	적정산도	관능적인 기호도
100:0	4.5±0.00a	5.01±0.04b	4.12±0.20ab
70:30	4.3±0.01a	5.12±0.07ab	4.52±0.12a
50:50	4.1±0.02a	5.31±0.05ab	4.00±0.01ab
30:70	4.0±0.00a	6.21±0.12a	3.95±0.03ab
0:100	4.0±0.00a	6.33±0.15a	3.51±0.04b

표 38. 오디 병조립 당침액의 젤란검과 잔탄검 비율에 따른 점도 및 관능적인 기호도의 변화

Gellan gum : Xanthan gum ratio	점도(cP)	관능적인 기호도
100:0	168±0.01b	4.35±0.02a
70:30	175±0.05ab	4.53±0.11a
50:50	180±0.15ab	3.95±0.08ab
30:70	199±0.85a	3.21±0.05b
0:100	212±0.20a	2.95±0.01b

표 39. 오디 병조립 원형유지오디의 조직감 측정 조건

Caption	Value	Unit
Test Mode	Compression	
Pre-Test Speed	2.00	mm/sec
Test Speed	1.00	mm/sec
Post-Test Speed	5.00	mm/sec
Target Mode	Strain	
Strain	50.00	%
Trigger Type	Auto (Force)	
Trigger Force	5.0	g
Stop Plot At	Start Position	
Tare Mode	Auto	
Advanced Options	On	
Control Oven	Disabled	

표 40. 오디 병조립 원형유지오디의 조직감 비교

오디 상태	조직감	
	area(kg/sec)	force(kg)
생과 오디	0.053±0.00a	0.109±0.01a
당침 오디	0.031±0.00b	0.084±0.00b
원형유지 오디	0.055±0.00a	0.115±0.05a



그림 13. 생과오디, 당침오디 및 원형유지오디의 외관

표 41. 오디 병조림의 저장기간에 따른 총균수와 대장균수의 측정

구분	Log CFU/g							
	총균수				대장균수			
	1day	50day	100day	150day	1day	50day	100day	150day
생과오디	ND	0.016	0.038	0.054	ND	1.32	2.59	3.70
	ND	0.019	0.043	0.071	ND	1.35	2.77	3.77
당침오디	0.005	0.041	0.074	0.112	0.88	3.12	6.92	10.42
	0.001	0.024	0.064	0.097	0.32	1.99	4.85	7.23
원형유지 오디	ND	0.021	0.059	0.089	ND	1.37	4.22	6.58
	ND	0.036	0.072	0.103	ND	1.71	5.18	8.11

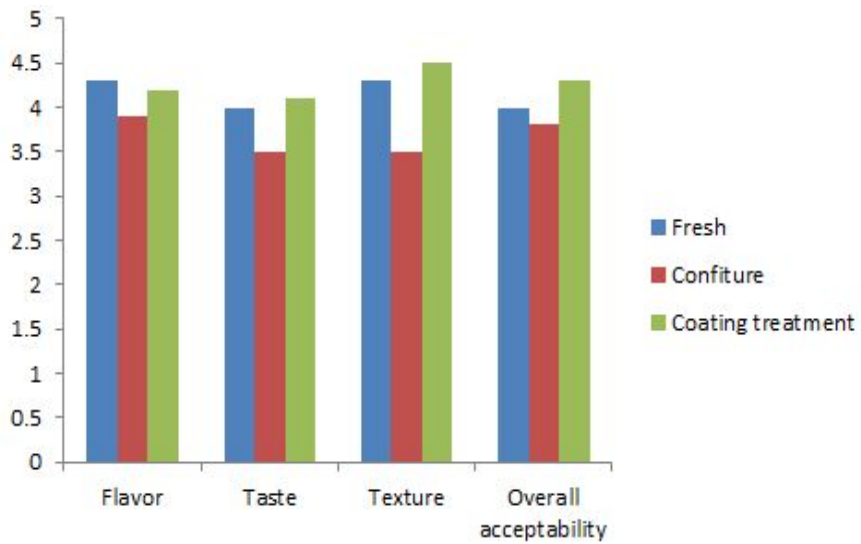


그림 14. 오디 병조림의 관능적 기호도

제 4 절 여러 건조 조건을 이용한 오디 고부가가치 제품 개발

1. 연구 방법

가. 이화학적 특성

(1) 가용성 고형물

가용성 고형물은 각 시료를 2배 희석한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 filter paper(Whatman No. 41)로 여과 후 당도계(N-1E°Brix 0~32%, Atago, Japan)로 측정하여 °Bx로 표시하였다.

(2) pH

pH는 시료를 10배 희석한 10 mL 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액을 취하여 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 pH meter(Model 320, Thermo Orion, Beverly, MA, USA)로 5회 반복 측정하여 평균치를 나타내었다.

(3) 적정산도

적정산도는 시료를 10배 희석한 10 mL 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액을 취하여 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 시료 10 mL에 0.1 N NaOH 용액을 pH가 8.2가 될 때까지 적가한 뒤 이에 소요된 0.1 N NaOH 양을 citric acid를 기준으로 환산하여 %로 나타내었으며, 5회 반복 측정하여 평균치를 나타내었다.

(4) 색도

색도는 색차계(Color-Eye 3100, Macbeth, New Windsor, NY, USA)를 사용하여 시료를 2배 희석한 후 측정하였다. Hunter's value인 명암도를 나타내는 L값(lightness), 적색도의 정도를 나타내는 a값(redness), 황색도의 정도를 나타내는 b값(yellowness)으로 3회 반복 측정하여 평균값을 나타내었다. 이때 사용된 표준백판(standard color value)의 L값은 98.75, a값은 -1.02, b값은 1.10인 calibration plate를 사용하였다.

나. 물리적 특성

시료에 대한 조직감을 비교하기 위하여 Texture analyzer(TAXT plus/50, Stable Micro Systems, England)를 이용하여 표 33과 같은 조건으로 건조 및 반건조 오디를 return to start 로 측정하였다.

다. 저장 특성

(1) 일반세균수

멸균팩에 각 처리구의 시료 10 mL씩을 넣고 0.85% Saline solution을 90 mL 가하여 3분간 좌우상하로 각 100회씩 교반한 후, 적절한 비율로 희석하였다. 총균수는 희석액을 aerobic count plate petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 48시간 배양한 후 생성된 붉은 집락수를 계산하고 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 일반세균수로 하였다.

(2) 대장균군수

대장균군수는 희석액을 coliform count plates petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 24시간 배양한 후 생성된 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성하고 있는 집락수를 계산하고, 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 대장균군수를 산출하였다.

라. 관능적 특성

시료의 관능검사는 한국식품연구원의 연구원 15명으로 구성된 전문패널들로 검사 방법과 평가 특성을 교육시킨 후 실시하였다. 검사 항목은 색, 향, 맛, 후미, 전반적인 기호도였으며 7점 척도법으로 평가하였고, 각 항목의 선호도가 좋을수록 높은 점수를 주었다.

마. 통계처리

실험결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이검증은 일원배치분산분석(ANOVA)을 사용하였으며, Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

2. 연구결과

가. 감압건조 기술을 적용한 건조 오디 개발

(1) 천연 오디 스낵 개발을 위한 건조 조건 확립

천연 오디 스낵 개발을 위한 오디는 4℃에서 4시간동안 냉풍건조기(Incubated Shaker, SIF 6000R, JEIO TECH)를 사용하여 1차 건조를 실시하였다. 2차 건조는 동결건조, 열풍건조, 감압건조로 나누어 스낵을 제조하였다. 동결건조 시료는 냉동한 시료를 진공 동결건조기(Freeze Dryer, PVTFD 100R, ILSHIN LAB)를 이용하여 동결건조하였다. 열풍건조 시료는 냉동한 시료를 열풍건조기(Dry Oven, HK-D01000F, 한국종합기기제작소)를 이용하여 55℃에서 열풍건조하였다. 감압증발건조 시료는 냉동한 시료를 감압증발기(Vaccum Oven, VOI 600, BK Instruments)를 이용하여 75℃에서 감압건조하였다. 2차 건조시 모든 시료는 수분함량이 3-5%이 되게 건조하였다. 건조 조건은 예비실험을 통해 확립하였다. 감압건조의 온도는 55℃, 75℃, 95℃ 중 갈변화가 일어나지 않는 75℃로 결정하였으며, 시간은 수분함량이 3-4%내외가 될 때까지 건조하였다. 열풍건조의 온도는 55℃, 75℃, 95℃ 중 갈변화가 일어나지 않는 55℃ 결정하였으며, 시간은 수분함량이 3-4%내외가 될 때까지 건조하였다. 동결건조는 수분함량이 3-4%내외가 되는 48시간동안 건조하여 시료로 사용하였다.

(2) 천연 오디 스낵의 건조 조건별 색의 변화

동결건조(48시간), 열풍건조(55℃, 60시간), 감압건조(75℃, 48시간)의 색의 변화는 표 42와 같다. 감압건조와 동결건조 간의 백색도(L)는 유의적인 차이를 나타나지 않았으나, 열풍건조와 다른 군과는 유의적인 차이를 나타내었다. 건조 조건에 따른 적색도(a)와 황색도(b)는 건조 조건별로 모두 유의적인 차이를 나타내었다. 냉풍 전처리 건조 조건이 전처리하지 않는 건조 조건에 비해 백색도는 높게 나타났으며, 적색도와 황색도는 낮게 나타났다.

(3) 천연 오디 스낵의 건조 조건별 조직감의 변화

모든 건조조건에서 건조시간과 온도가 높아질수록 높은 경도(hardness)를 나타내었다. 동결건조(48시간), 열풍건조(55℃, 60시간), 감압건조(75℃, 48시간)의 조직감의 변화는 표 42와 같다. 건조 조건에 따라 모든 처리군이 유의적인 차이는 나타났으며 열풍건조가 가장 높은 경도를 나타내었다. 냉풍 전처리 건조 조건이 전처리하지 않는 건조 조건에 비해 낮은 경도를 나타내었다.

(4) 천연 오디 스낵의 건조 조건별 저장 특성

건조 조건별 오디 스낵의 저장 특성은 표 43과 같다. 저장성 평가는 모든 실험군이 120일 동

안 시간이 지날수록 총균수, 대장균군수는 증가하였으나, 안전성을 유지하는 범위내 측정값을 나타내었다.

(5) 천연 오디 스낵의 건조 조건별 관능적 특성

건조 조건별 오디 스낵의 관능적 특성은 표 44와 같다. 외관과 색은 열풍건조, 감압건조, 동결건조 순으로 높게 나타났다. 이취는 동결건조가 가장 높게 나타났으며, 열풍건조, 감압건조 순으로 낮게 나타났다. 향, 맛과 전반적인 기호도에서 감압건조가 가장 높은 기호도를 나타내었으며, 열풍건조가 가장 낮은 기호도를 나타내었다.

(6) 천연 오디 스낵 제조 공정

천연 오디 스낵은 1차 건조와 2차 건조로 나누어 제조되었다. 1차 건조는 냉풍건조기 (Incubated Shaker, SIF 6000R, JEIO TECH)를 사용하여 4℃에서 4시간 동안 건조를 실시하였다. 2차 건조는 1차로 건조된 오디를 감압증발기(Vacuum Oven, VOI 600, BK Instruments)를 사용하여 75℃에서 수분함량이 3-4%내외가 될 때까지 건조를 실시하였다.

표 42. 천연 오디 스낵의 건조 조건별 색도의 변화

건조조건별	색도			경도(hardness) kg/sec	
	백색도	적색도	황색도		
무 전처리	동결건조	45.11±0.21a	15.88±1.04c	7.14±0.00c	711.51±12.21b
	열풍건조	30.27±0.97b	24.91±0.01a	12.91±0.04a	923.19±5.395a
	감압건조	43.94±0.33a	15.11±0.17b	8.23±0.51b	450.99±9.33c
냉풍 전처리	동결건조	50.18±1.05a	10.70±0.35c	5.23±0.18c	537.51±4.53b
	열풍건조	37.97±2.38b	21.37±0.84a	11.41±0.61a	811.09±10.04a
	감압건조	49.14±0.87a	12.09±0.13b	7.77±0.48b	398.18±2.61c

표 43. 천연 오디 스낵의 건조 조건별 저장 특성

구분	Log CFU/g				
	총균수				
	0day	60day	90day	120day	
무 전처리	동결건조	0.009	0.046	0.105	0.195
	열풍건조	0.001	0.008	0.021	0.066
	감압건조	0.005	0.024	0.055	0.071
냉풍 전처리	동결건조	0.001	0.031	0.067	0.075
	열풍건조	0.000	0.009	0.019	0.031
	감압건조	0.000	0.011	0.037	0.042

표 44. 천연 오디 스낵의 건조 조건별 관능적 특성

		외관	색	향	이취	맛	전반적 기호도
무 전처리	동결건조	3.5b	3.7b	4.2a	5.5b	3.5c	3.5c
	열풍건조	2.1c	4.5a	5.2a	6.9a	4.5b	4.9b
	감압건조	4.1a	5.0a	6.7a	5.1b	6.8a	6.1a
냉풍 전처리	동결건조	4.3b	4.2b	4.5c	4.9b	4.7c	4.7c
	열풍건조	6.4a	6.2a	5.5b	6.3a	5.4b	5.7b
	감압건조	6.1a	6.1a	7.1a	4.2b	7.2a	6.9a

나. 반건조 오디 제품 개발

(1) 당종류 및 첨가물의 비율에 따른 반건조 오디의 건조 조건

오디함량과 당의 함량을 50 : 50 중량 비율로 혼합하였다. 당종류 및 첨가물의 비율에 따른 반건조 오디의 가용성 고형물의 함량은 설탕의 함량이 높아질수록 높은 값을 나타내었다. 관능적 기호도는 설탕과 솔비톨의 함량 비율이 70 : 30일 때 가장 높은 값을 나타내었다. 솔비톨 함량이 설탕 함량보다 높을수록 낮은 관능적 기호도를 나타내었다. 오디함량과 산의 함량은 99.5 : 0.5 중량 비율로 혼합하였다. 비타민 C와 구연산 비율에 따른 pH와 적정산도의 값은 구연산 함량이 높아질수록 pH는 낮은 값을 나타내었고, 적정산도는 높은 값을 나타내었다. 비타민 C와 구연산 비율에 따른 관능적 기호도는 비타민 C와 구연산 함량 비율이 50 : 50일 때 가장 높은 값을 나타내었다. 구연산 함량이 비타민 C 함량보다 높을수록 낮은 기호도를 나타내었다.

(2) 건조 방법 조건 확립 시험

건조 온도에 따른 반건조 오디의 수율은 시간과 온도가 증가할수록 낮은 값을 나타내었다. 반건조 오디의 적정 수율은 35-40%이었다. 건조 온도에 따른 반건조 오디의 조직감은 시간과 온도가 증가할수록 높은 값을 나타내었고 시간과 온도의 증가는 경도를 증가시켰다. 건조 온도에 따른 반건조 오디의 색도는 시간과 온도가 증가할수록 백색도(L)는 낮은 값을 나타내었고, 적색도(a)와 황색도(b)는 높은 값을 나타내었다. 온도 조건에 따른 반건조 오디의 관능적 기호도 평가는 35°C에서 가장 높은 기호도를 나타내었다.

(3) 반건조 오디 제조

반건조 오디는 오디 100 g과 당류(설탕 : 솔비톨 = 70 : 30) 100 g에 산류(Vitami C : citric acid = 1 : 1)를 1 g을 첨가하여 중탕하여 살균한 병에 담아 14일간 당침한 후 당침액을 체에 받쳐 제거하고 당침 오디를 35°C에서 48시간 동안 열풍건조 시켜 제조되었다. 오디는 ㈜수주춘에서 2012년 5-6월 경상북도 예천에서 채취하여 냉동보관된 것을 본 연구원에서 제공받아 -40°C에 냉동보관하면서 실험에 사용하였다. 본 실험에 사용한 설탕은 삼양 제넥스 제품이며, 비타민 C와 citric acid는 식재료업체에서 구매하여 사용하였다.

표 45. 당종류 및 비율에 따른 반건조 오디의 가용성 고형물의 함량 및 관능적 평가

sugar:sorbitol ratio	가용성 고형물(°Bx)	관능적인 기호도
100:0	61±0.00a	5.2±0.12ab
90:10	54±0.00ab	5.8±0.14ab
70:30	51±0.01ab	6.1±0.21a
50:50	49±0.00ab	5.9±0.45a
30:70	45±0.00ab	5.7±0.22ab
10:90	43±0.01b	4.5±0.32b
0:100	41±0.01b	4.0±0.52b

표 46. 비타민 C와 구연산 비율에 따른 pH와 적정산도 및 관능적 기호도 평가

vitamin C: citric acid ratio	pH	적정산도	관능적인 기호도
100:0	4.5±0.00a	5.01±0.55b	5.5±1.07ab
70:30	4.3±0.00a	5.12±0.16b	5.9±0.58a
50:50	4.1±0.00a	5.31±0.20b	6.7±1.12a
30:70	4.0±0.00a	6.21±0.32ab	5.4±0.95ab
0:100	4.0±0.00a	6.33±0.11a	4.8±0.54b

표 47. 온도별 반건조 오디의 수율

수분함량(%)	30℃	35℃	40℃
12hr	62±0.1a	59±0.2a	51±0.0a
16hr	57±0.0a	55±0.1a	46±0.2a
20hr	49±0.2b	47±0.0b	39±0.0b
24hr	43±0.0bc	40±0.5bc	35±0.1c
48hr	39±0.1c	35±0.1c	33±0.2c

표 48. 온도별 반건조 오디의 조직감

Hardness(kg/sec)	열풍건조 (30℃)	열풍건조 (35℃)	열풍건조 (40℃)
12hr	0.045±0.00b	0.051±0.00b	0.065±0.00b
16hr	0.053±0.00ab	0.062±0.00b	0.071±0.00ab
20hr	0.065±0.00ab	0.077±0.00ab	0.088±0.00ab
24hr	0.072±0.00a	0.085±0.00ab	0.097±0.00a
48hr	0.079±0.00a	0.092±0.00a	0.112±0.00a

표 49. 온도별 반건조 오디의 색도

48H	백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
열풍건조(35℃)	45.12±0.55a	20.33±0.12a	7.67±0.07a
열풍건조(40℃)	40.31±0.41a	18.05±0.09ab	6.55±0.15ab
열풍건조(45℃)	34.89±0.32b	16.84±0.48b	5.98±0.21ab

표 50. 온도별 반건조 오디의 관능적 특성

48시간	외관	색	향	맛	전반적 기호도
열풍건조(35℃)	6.6±0.22a	6.3±1.11a	6.5±0.98a	6.7±0.85a	6.5±0.51a
열풍건조(40℃)	5.6±1.07b	5.5±0.08b	5.5±0.50b	5.6±0.24b	5.7±0.25a
열풍건조(45℃)	5.4±0.54b	5.3±0.24b	5.1±0.54b	5.3±0.12b	5.2±0.34b

다. 식품첨가물 등으로 활용 가능한 오디 건조분말 개발

(1) 오디 건조 분말 제조

오디 100 g에 10배의 증류수를 가하여 homogenizer로 1분간 균질화 시킨 후 4℃에서 2시간 동안 100 rpm으로 교반추출하고 4℃, 7500 rpm에서 30분간 원심분리한 후 여과지를 이용하여 상등액을 추출하였다. 여과한 상등액을 대형농축기를 사용하여 water bath를 40℃로 유지하면서 50 °Brix가 되도록 농축액을 제조하였다. 농축액과 멸균수를 50 : 50 중량비율로 섞어 균질화 한 후 동결건조하였다. 동결건조된 시료는 Hammer Mill을 이용하여 눈금크기가 20, 40 및 60 mesh 인 체를 통과하여 건식 제분한 후, -70℃에 보관하여 사용하였다.

(2) 오디 건조분말의 수분흡수지수 및 수분용해지수

오디 건조분말의 수분흡수지수 및 수분용해지수는 표 51과 같다. 오디 건조분말의 수분흡수지수 및 수분용해지수는 입자크기가 작을수록 수분흡수지수와 수분용해지수의 값은 높게 나타났다. 이 결과는, 오디 건조분말의 입자크기가 작을수록 물에 녹는 용해도와 속도가 높아짐을 나타내는 것이다.

(3) 오디 건조분말의 관능검사를 통한 품질 평가

오디 건조분말의 입자크기에 따른 관능적 기호도는 표 52와 같다. 오디 건조분말의 입자크기에 따른 관능적 기호도에서 향과 맛은 입자크기가 클수록 높은 기호도를 나타냈었고, 색과 목넘김과 전반적인 기호도는 입자크기가 작을수록 높은 기호도를 나타내었다.

표 51. 오디 건조분말의 수분흡수지수 및 수분용해지수

mesh	수분흡수지수(%)	수분용해지수(%)
control	0.27±0.03b	4.9±0.02a
20 mesh	0.32±0.15ab	4.1±0.01b
40 mesh	0.38±0.19a	3.7±0.11b
60 mesh	0.45±0.05a	0.7±0.05c

표 52. 오디 건조분말을 이용한 오디음료의 관능적 기호도 평가

	색	향	맛	목넘김	전반적인 기호도
control	5.4±0.00b	5.9±0.15a	6.2±0.05a	5.1±0.47b	5.2±1.00b
20 mesh	5.6±0.21ab	5.4±0.05ab	5.9±0.00ab	5.5±0.52ab	5.3±0.00b
40 mesh	5.9±0.11a	5.1±0.01b	5.7±0.05ab	5.7±0.15a	5.5±0.12b
60 mesh	6.2±0.02a	4.9±0.06b	5.6±0.07ab	5.9±0.44a	5.8±0.50a

라. 오디의 동결건조 분말을 첨가한 면류 개발

(1) 면 개발을 위한 배합비 확립

동결건조 오디분말을 첨가한 면류의 최적 배합비를 선정하기 표 53의 조성으로 면류를 제조하였다. 동결건조 오디 분말의 함량은 밀가루 함량에 대해 0%, 1%, 2%, 3%로 첨가하였으며, 밀가루와 오디 분말의 총량이 64.4%가 되도록 하였다. 면류의 탄력성과 조직감을 높이기 위해 감자전분을 첨가하였으며, 염과 정제수도 첨가하였다.

(2) 반죽의 이화학적 특성

동결건조 오디 분말 첨가량에 따른 반죽의 pH와 호화특성은 표 54와 같고, 반죽의 rheology 특성은 표 55와 같다. pH는 오디 첨가량이 증가할수록 감소하였으며, 호화특성은 오디 첨가량이 증가할수록 호화온도, 최고점도가 감소하였다.

(3) 면류 제조

오디 분말 함량별 배합비에 따른 면류의 제조는 다음과 같다. 배합비별 분말을 국수반죽기(Kitchen Aid, 5KSM150, USA)를 사용하여 10분간 반죽한 후 실온에서 30분간 숙성시킨다. 숙성된 반죽은 전기 국수 제조기(삼우공업사, SN-77)을 사용하여 롤간격 4 mm에서 면대를 형성한 후 반으로 접어 다시 4 mm 면대를 형성하는 과정을 총 20회 반복한다. 롤간격을 점차 줄여 최종 두께 1 mm가 되게 하고 너비 3 mm가 되게 하여 생면을 제조하였으며, 생면을 72시간 자연건조시켜 건면을 제조하였다.

(4) 생면의 이화학적 특성

동결건조 오디분말 첨가량에 따른 생면의 수분함량 및 색도는 표 56과 같고, 조직감 특성은 표 57과 같다. 수분함량과 적색도, 황색도는 오디함량이 증가할수록 증가하였고, 백색도와 신장도는 감소하였다.

(5) 생면 조리시 이화학적 특성

동결건조 오디 분말 첨가량에 따른 생면의 조리시 면류의 이화학적 특성은 표 58, 59, 60과 같다. 조리시 면의 중량, 부피, 수분 흡수율, 백색도(L)는 오디 첨가량이 증가할수록 감소하였으며, 탁도와 적색도(a), 황색도(b)는 증가하였다.

(6) 생면 조리시 관능적 특성

동결건조 오디 분말 첨가량에 따른 생면의 조리시 면류의 관능적 특성은 표 61과 같다. 오디 첨가량이 1%일 때 모든 기호도 검사 점수가 높게 나타났다.

표 53. 동결건조 오디 분말를 이용한 면류의 배합비

오디분말	0%	1%	2%	3%
밀가루	64.4%	63.8%	63.1%	62.5%
오디분말	0%	0.6%	1.3%	1.9%
정제수	30.5%	30.5%	30.5%	30.5%
전분	3.4%	3.4%	3.4%	3.5%
정제염	1.7%	1.7%	1.7%	1.7%
총량	100%	100%	100%	100%

표 54. 동결건조 오디 분말 첨가량에 따른 반죽의 호화특성 및 pH 변화

pH	호화특성						
	Pasting Temperature	Peak Viscosity	Holding Viscosity	Final Viscosity	Breakdown	Setback	
0%	7.5±0.1a	69.2±5.2a	1831.9±32.1a	1125.6±20.5a	2333.5±60.1a	706.3±8.9b	1208.1±15.7a
1%	7.4±0.0a	66.8±7.2a	1509.1±45.7b	789.0±11.1b	1825.7±21.1b	720.0±16.3ab	1051.3±20.5b
2%	7.2±0.4a	67.4±6.2a	1387.1±60.4c	660.8±25.1c	1594.6±37.8c	726.4±18.8a	933.9±31.1b
3%	7.1±0.2a	69.0±3.3a	1310.8±55.0c	568.5±20.1d	1409.1±58.2c	740.6±21.1a	839.5±29.2b

표 55. 동결건조 오디 분말 첨가량에 따른 반죽의 rheology 특성

	rheology 특성					
	Water Absorption	Dough Development time	Break Down Time	Stability	Peak Time	Mixing Tolerance Index
0%	65.6±5.9a	1.8±0.5b	23.2±0.7a	21.4±1.3a	11.2±0.2a	18.9±1.3d
1%	66.6±9.1a	2.5±0.7ab	16.1±0.5b	14.1±0.8b	8.5±0.1ab	58.0±10.5c
2%	66.8±3.3a	2.4±0.4ab	13.6±0.4c	11.5±0.1bc	7.7±0.2ab	81.0±12.1b
3%	67.8±4.8a	2.8±0.5a	12.1±0.5c	9.4±0.2c	6.1±0.1b	101.1±14.5a

표 56. 동결건조 오디 분말 첨가량에 따른 생면의 이화학적 특성

	수분함량(%)	신장도(cm)	색도		
			백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
0%	65.6±5.5a	16.9±1.1a	70.95±2.5a	2.12±0.5c	40.24±4.6b
1%	66.6±6.5a	17.2±2.3a	35.12±3.3b	3.21±0.7b	41.22±7.2ab
2%	66.8±5.7a	16.1±1.5a	34.11±2.1b	3.55±0.6ab	43.25±5.3ab
3%	67.8±8.7a	15.9±2.7a	31.12±3.4b	3.78±0.7a	45.11±3.3a

표 57. 동결건조 오디 분말 첨가량에 따른 생면의 조직감

	조직감				
	Firmness	Cohesiveness	Springiness	Gumminess	Chewiness
0%	1.49±0.2c	0.36±0.1a	0.82±0.1ab	0.49±0.0b	0.35±0.0c
1%	2.00±0.5b	0.32±0.0a	0.98±0.0a	0.73±0.1ab	0.72±0.1a
2%	2.47±0.2ab	0.35±0.0a	0.74±0.0b	0.87±0.0a	0.65±0.0ab
3%	2.77±0.1a	0.31±0.0a	0.66±0.0c	0.87±0.0a	0.57±0.0bc

표 58. 생면 조리시 면의 중량, 부피 및 수분 흡수율

	중량(g)	부피(ml)	수분 흡수율(%)
0%	83±2.3a	72±2.3a	10.1±0.5a
1%	82±2.2a	72±2.1a	9.4±0.9ab
2%	80±4.0b	71±1.0a	9.1±1.2b
3%	80±3.5b	71±1.1a	8.9±1.1b

표 59. 생면 조리시 면의 탁도 및 색도

	탁도	색도		
		백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
0%	0.775±0.12a	74.21±7.5a	-2.40±0.4b	5.52±0.4c
1%	0.735±0.13a	42.15±6.6b	1.19±0.2ab	15.55±2.1b
2%	0.733±0.11a	39.24±3.9b	2.31±0.3a	21.54±3.6a
3%	0.755±0.24a	36.54±1.7b	2.97±0.7a	24.12±3.4a

표 60. 생면 조리시 면의 조직감

	조직감				
	Firmness	Cohesiveness	Springiness	Gumminess	Chewiness
0%	1.49±0.5b	0.36±0.0a	0.82±0.1ab	0.49±0.0b	0.35±0.0c
1%	2.00±0.3a	0.32±0.0a	0.98±0.1a	0.73±0.1ab	0.72±0.1a
2%	2.47±0.7a	0.35±0.0a	0.74±0.0ab	0.87±0.1a	0.65±0.1b
3%	2.77±0.9a	0.31±0.0a	0.66±0.2b	0.87±0.1a	0.57±0.0b

표 61. 생면 조리시 관능적 특성

	기호도				
	외관	향	맛	조직감	전반적인 기호도
0%	5.0±0.5c	5.0±0.1b	5.0±0.0c	5.0±0.1b	5.0±0.3b
1%	7.2±0.1a	6.9±0.2a	7.2±0.1a	6.5±0.2a	7.1±0.2a
2%	6.5±0.1b	6.5±0.1ab	6.8±0.1a	5.5±0.0ab	6.5±0.4ab
3%	5.1±0.1c	6.6±0.1ab	5.8±0.0b	5.2±0.1ab	5.7±0.2ab

제 5 절 오디를 이용한 다양한 종류의 소스 개발

1. 연구 방법

가. 이화학적 특성

(1) 수분함량

수분 함량은 시료를 약 1.5 g을 취하여 수분측정기(Infrared moisture determination balance FD 610, Japan)를 사용하여 측정하였다. 시료는 3회 반복 측정하여 그 평균값을 구하였다.

(2) 가용성 고형물

가용성 고형물은 각 시료를 2배 희석한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 filter paper(Whatman No. 41)로 여과 후 당도계(N-1E°Brix 0~32%, Atago, Japan)로 측정하여 °Brix로 표시하였다.

(3) pH

pH는 시료를 10배 희석한 10 mL 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액을 취하여 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 pH meter(Model 320, Thermo Orion, Beverly, MA, USA)로 3회 반복하여 측정하였다.

(4) 색도

색도는 색차계(Color-Eye 3100, Macbeth, New Windsor, NY, USA)를 사용하여 측정하였다. 균질화한 소스를 Petri dish(50×12 mm)에 담아 Hunter L값(명도), a값(적색도), b값(황색도)을 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다. Standard color value(표준백판 값)는 L값 94.36, a값 92.41, b값 110.83인 calibration plate를 사용하였다.

(5) 점도

점도는 각 시료를 60°C water bath에 보관하면서 50 mL의 같은 형태의 비이커에 시료를 50 mL씩 3개 담아 점도계(Brookfield DV-II+viscometer, Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, MA, USA)를 이용하여 측정하였고, 이 때 사용한 spindle은 S3, 속도는 10 rpm으로 약 1분간 한 시료에 5회씩 반복 측정하였다.

나. 관능적 특성

기호도 평가방법을 충분히 훈련시킨 한국식품연구원 연구원 30명을 대상으로 실시하였다. 평가

방법은 평점법을 사용하였고, 7점 척도를 이용하여 1점은 특성의 기호도가 가장 싫음, 4는 보통, 7는 가장 좋음으로 하였다. 평가항목에 외관, 걸쭉한 정도(thickness), 향, 색, 맛, 전반적인 기호도를 평가하였다. 각각의 시료는 난수표를 이용하여 무작위의 시료번호를 적은 흰색 폴리에스틸렌 1회용 접시에 담아 제공하였으며, 물을 제공하여 평가하는 시료와 시료 사이에 반드시 입을 행구도록 하였다.

다. 저장 특성

(1) 일반세균수

멸균팩에 각 처리구의 시료 10 mL씩을 넣고 0.85% Saline solution을 90 mL 가하여 3분간 좌우상하로 각 100회씩 교반한 후, 적절한 비율로 희석하였다. 총균수는 희석액을 aerobic count plate petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 48시간 배양한 후 생성된 붉은 집락수를 계산하고 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 일반세균수로 하였다.

(2) 대장균군수

대장균군수는 희석액을 coliform count plates petrifilm(3 M Health care, USA; AOAC, 1995)에 1 mL를 접종하여 35°C에서 24시간 배양한 후 생성된 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성하고 있는 집락수를 계산하고, 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 대장균군수를 산출하였다.

라. 통계처리

실험결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이검증은 일원배치분산분석(ANOVA)을 사용하였으며, Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

2. 연구 결과

가. 오디 과육을 이용한 샐러드용 소스 개발

(1) 오디 과육 제조

오디 과육 제조방법은 다음과 같다. 냉동 오디를 흐르는 물에 3회 세척하고 이물질을 제거하여 상온에서 30분간 물기를 빼내고 마른 거즈를 이용하여 물기를 제거하였다. 꼭지를 제거한 후, 물 2 L에 오디 500 g을 첨가하여 오디액을 믹서기를 이용하여 곱게 분쇄한 후, 20 mesh 체로 거르고, 체에 남은 오디 과육을 샐러드용 소스에 사용하였다.

(2) 샐러드용 소스 제조

오디 과육에 레몬즙, 매실엑기스, 사과엑기스, 파인애플엑기스, 양파가루, 설탕, 물을 넣어 믹서기를 이용하여 혼합 분쇄한 후 끓여 샐러드용 소스를 제조하였다. 샐러드용 소스의 재료 배합비는 다음 표 62와 같다.

(3) 이화학적 특성

(가) 수분

오디 과육을 첨가한 샐러드 소스의 수분함량은 표 63과 같다. 오디 과육 5%를 첨가한 소스가 54.70%로 가장 높았고, 10%(50.77%) > 15%(48.86%) > 20%(47.30%) 순으로 오디 과육 첨가량이 증가할수록 샐러드 소스의 수분함량이 유의적으로 감소하였다. 대조군의 수분함량이 57.51%로 가장 높은 값을 나타내었다.

(나) pH 및 가용성 고형물

오디 과육을 첨가한 샐러드 소스의 pH 및 가용성 고형물은 표 63와 같다. 샐러드 소스의 pH는 오디 과육 20%를 첨가한 소스가 3.12로 가장 높았고, 15%(3.08) > 10%(3.05) > 5%(2.96) 순으로 오디 과육 첨가량이 증가할수록 샐러드 소스의 pH는 유의적으로 증가하였다. 대조군의 pH가 2.91로 가장 낮은 값을 나타내었다. 오디 과육을 첨가한 샐러드 소스의 가용성 고형물은 오디 과육 20%를 첨가한 소스가 26.33으로 가장 낮았고, 15%(26.80) < 10%(22.73) < 5%(27.77) 순으로 오디 과육 첨가량이 증가할수록 샐러드 소스의 가용성 고형물은 유의적으로 감소하였다. 대조군의 가용성 고형물은 28.07로 가장 높은 값을 나타내었다. 전반적으로 샐러드 소스에 오디 과육 첨가량이 증가할수록 pH는 증가하였고, 가용성 고형물은 감소하는 경향을 보였으며, 오디 과육 첨가량이 더 높은 pH와 가용성 고형물을 나타내었다.

(다) 색도

오디 과육을 첨가한 샐러드 소스의 색도는 표 64와 같다. 오디 과육을 첨가한 샐러드 소스의 백색도(L)는 오디과육 20%를 첨가한 소스가 20.68으로 가장 낮았고, 15%(20.74) < 10%(21.13) < 5%(22.35) 순으로 오디 과육 첨가량이 감소할수록 샐러드 소스의 백색도(L)는 증가하였다. 대조군의 백색도(L)는 34.00로 가장 높은 값을 나타내었다. 적색도(a)는 오디 과육 20%를 첨가한 소스가 2.30으로 가장 낮았고, 15%(2.75) < 10%(3.15) < 5%(5.42) 순으로 오디 과육 첨가량이 감소할수록 샐러드 소스의 적색도(a)는 증가하였다. 대조군의 적색도는 -2.22로 가장 낮은 값을 나타내었다. 황색도(b)는 오디과육 20%를 첨가한 소스가 0.88으로 가장 낮았고, 15%(0.94) < 10%(1.09) < 5%(2.02) 순으로 오디 과육 첨가량이 증가할수록 샐러드 소스의 황색도(b)는 감소하였다. 대조군의 황색도(b)는 6.60로 가장 높은 값을 나타내었다. 전반적으로 오디 과육 첨가량이 증가할수록 백색도(L), 적색도(a), 황색도(b) 모두 감소하였다.

(라) 점도

점도는 유동식품의 흐름에 대한 저항성을 나타내는 것으로 점도가 높을수록 유동식품의 흐름성이 적음을 의미하며, 점도가 낮을수록 흐름성이 높음을 의미한다. 오디 과육을 첨가한 샐러드 소스의 점도는 표 64와 같다. 오디과육 20%를 첨가한 소스가 646.67로 가장 높았고, 15%(630.00) > 10%(600.00) > 5%(553.33) 순으로 오디 과육 첨가량이 증가할수록 샐러드 소스의 점도는 유의적으로 증가하였다. 대조군의 점도는 526.67로 가장 낮은 값을 나타내었다.

(4) 관능적 특성

오디 과육의 첨가량을 달리하여 제조한 샐러드 소스의 관능적 특성은 표 65와 같다. 오디 과육의 첨가량을 달리하여 제조한 샐러드 소스의 색은 오디 과육 15%를 첨가한 소스가 6.10으로 가장 높았고, 20%(4.50) > 10%(4.30) > 5%(3.00) > con(2.80) 순서였다. 오디 과육의 첨가량을 달리하여 제조한 샐러드 소스의 향은 오디 과육 15%를 첨가한 소스가 5.70으로 가장 높았고, 10%(4.00) > 20%(3.50) > con(3.20) > 5%(3.00) 순서였다. 오디 과육의 첨가량을 달리하여 제조한 샐러드 소스의 단맛은 오디 과육 15%를 첨가한 소스가 5.50으로 가장 높았고, 20%(5.40) > 10%(3.50) > con(2.90) > 5%(2.70) 순서였다. 오디 과육의 첨가량을 달리하여 제조한 샐러드 소스의 신맛은 오디 과육 20%를 첨가한 소스가 6.10으로 가장 높았고, 15%(5.90) > 10%(3.50) > 5%(2.80) = con(2.80) 순서였다. 오디 과육의 첨가량을 달리하여 제조한 샐러드 소스의 전반적인 기호도는 오디 과육 15%를 첨가한 소스가 6.00으로 가장 높았고, 20%(5.90) > 20%(4.80) > 10%(2.80) > con(2.60) 순서였다.

(5) 저장 특성

오디 샐러드 소스의 저장특성은 표 66과 같다. 관능적 특성에서 가장 높은 기호도를 가진 오디과육 15% 첨가 샐러드 소스의 저장특성은 냉장보관(4℃)에서 0-30일간 보관하면서 기간별로 일반세균과 대장균군수를 측정하였다. 모든 실험군이 30일 동안 시간이 지날수록 총균수, 대장

균균수는 증가하였으나, 안전성을 유지하는 범위내 측정값을 나타내었다.

(6) 오디 샐러드 소스와 시판 중인 샐러드 소스의 소비자 기호도 평가

오디 샐러드 소스와 시판 중인 샐러드 소스(청정원 블루베리 드레싱 소스)를 소비자 기호도 평가한 결과는 표 67과 같다. 조직감을 제외한 색, 향, 맛, 전반적인 기호도에서 시판 중인 샐러드 소스(청정원 블루베리 드레싱 소스)보다 높은 기호도를 나타내었다.

표 62. 오디 과육을 이용한 샐러드 소스의 배합비

(%)	대조군	5%	10%	15%	20%
오디 과육	0	10	10	15	20
사과액기스	18.3	15	11.7	8.3	5
매실액기스	18.3	15	11.7	8.3	5
파인애플액기스	18.3	15	11.7	8.3	5
설탕	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4
레몬즙	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
식초	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
양파가루	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
물	40	40	40	40	40

표 63. 오디 과육을 이용한 샐러드 소스의 수분, pH 및 가용성 고형물

오디 과육	수분(%)	pH	가용성 고형물(°Bx)
대조군(0%)	57.51±1.25a	2.91±0.01	28.07±0.24a
5%	54.70±2.11a	2.96±0.00a	27.77±0.12a
10%	50.77±1.11ab	3.05±0.05a	27.73±0.32a
15%	48.86±1.57b	3.08±0.02a	26.80±0.25a
20%	47.30±2.00b	3.12±0.01a	26.33±0.58a

표 64. 오디 과육을 이용한 샐러드 소스의 색도 및 점도

오디 과육	색도			점도(cP)
	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	
대조군(0%)	34.00±1.25a	-2.22±0.01ab	6.60±0.24a	526.67
5%	22.35±2.11b	5.42±0.00a	2.02±0.12b	553.33
10%	21.13±1.11b	3.15±0.05a	1.09±0.32b	600.00
15%	20.74±1.57b	2.75±0.02a	0.94±0.25b	630.00
20%	20.68±2.00b	2.30±0.01a	0.88±0.58b	646.67

표 65. 오디 과육을 이용한 샐러드 소스의 관능적 특성

오디 과육	색	향	단맛	신맛	전반적인 기호도
대조군(0%)	2.8±0.5c	2.7±0.0c	2.9±0.1c	2.8±0.0b	2.6±0.0c
5%	3.0±0.1c	2.9±0.1c	2.7±0.1c	2.8±0.0b	2.8±0.0c
10%	4.3±0.1b	4.0±0.0b	3.5±0.2b	3.5±0.2b	4.8±0.1b
15%	6.1±0.2a	5.7±0.1a	5.5±0.1a	5.9±0.3a	6.0±0.1a
20%	4.5±0.0b	3.5±0.0b	5.4±0.5a	6.1±0.2a	5.9±0.2a

표 66. 오디 과육을 이용한 샐러드 소스의 저장 특성 (CFU/mL)

15%과육첨가 샐러드 소스	0day	5day	10day	15day	30day
대장균균수	2.51×10 ³	3.67×10 ³	6.01×10 ³	1.51×10 ⁴	1.47×10 ⁵
일반세균수	1.98×10 ²	2.01×10 ²	2.15×10 ²	2.35×10 ²	4.21×10 ²

표 67. 오디 샐러드 소스와 시판 중인 샐러드 소스의 소비자 기호도 평가

샐러드 소스	색	향	맛	조직감	전반적인 기호도
시판 샐러드 소스	5.28±0.9a	5.91±0.6a	4.57±0.2b	5.77±0.2a	5.51±0.2b
오디 샐러드 소스	6.12±0.5a	6.05±0.2a	5.78±0.1a	5.15±0.2b	6.01±0.3a

나. 오디즙을 이용한 스테이크용 소스 개발

(1) 오디즙 제조

오디즙 제조방법은 다음과 같다. 냉동 오디를 흐르는 물에 3회 세척하고 이물질 제거하여 상온에서 30분간 물기를 빼내고 마른 거즈를 이용하여 물기를 제거하였다. 꼭지를 제거한 후, 물 2 L에 오디 500 g을 첨가하여 오디액을 믹서기를 이용하여 곱게 간 후, 20 mesh 체에 거른 오디액을 내려 스테이크용 소스에 사용하였다.

(2) 스테이크용 소스 제조

오디즙에 하이라이스 가루, 설탕, 양파가루, 마늘가루, 다진 당근을 넣어 믹서기를 이용하여 혼합 분쇄하고 월계수잎을 넣어 걸쭉하게 끓여 스테이크용 소스를 제조하였다. 스테이크용 소스의 재료 배합비는 다음 표 68과 같다.

(3) 이화학적 특성

(가) 수분

오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 수분함량은 표 69와 같다. 오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 수분함량은 오디즙 40%를 첨가한 소스가 65.14%로 가장 높았고, 30%(63.27%) > 20%(60.47%) > 10%(58.59%) 순으로 오디즙 첨가량이 증가할수록 스테이크 소스의 수분함량이 유의적으로 증가하였다. 대조군의 수분함량은 56.65%로 가장 낮은 값을 나타내었다.

(나) 가용성 고형물 및 pH

오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 pH 및 가용성 고형물은 표 69와 같다. 오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 pH는 오디즙 40%를 첨가한 소스가 3.06으로 가장 높았고, 30%(3.01) > 20%(2.98) > 10%(2.95) 순으로 오디즙 첨가량이 증가할수록 스테이크 소스의 pH는 유의적으로 증가하였다. 대조군의 pH는 2.93로 가장 낮은 값을 나타내었다. 오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 가용성 고형물은 오디즙 40%를 첨가한 소스가 18.17으로 가장 낮았고, 30%(20.87) < 20%(22.87) < 10%(25.17) 순으로 오디즙 첨가량이 증가할수록 스테이크 소스의 가용성 고형물은 유의적으로 감소하였다. 대조군의 가용성 고형물은 28.13로 가장 높은 값을 나타내었다. 이러한 결과는 재료 배합 시 오디즙함량이 감소할수록 매실엑기스, 사과 엑기스, 파인애플엑기스의 함량이 증가했기 때문으로 생각되었다.

(다) 색도

오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 색도는 표 70과 같다. 오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 백색도(L)는 오디즙 40%를 첨가한 소스가 21.30으로 가장 낮았고, 30%(21.47) < 20%(22.11) <

10%(24.87) 순으로 오디즙 첨가량이 증가할수록 스테이크 소스의 백색도(L)는 감소하였다. 대조군의 백색도(L)는 233.92로 가장 높은 값을 나타내었다. 오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 적색도(a)는 오디즙 40%를 첨가한 소스가 3.24으로 가장 낮았고, 30%(4.33) > 20%(4.01) > 10%(6.75) 순으로 오디즙 첨가량이 증가할수록 스테이크 소스의 적색도(a)는 유의적으로 감소하였다. 대조군의 적색도(a)는 -2.23로 가장 낮은 값을 나타내었다. 오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 황색도(b)는 오디즙 40%를 첨가한 소스가 1.25으로 가장 낮았고, 30%(1.65) < 20%(1.75) < 10%(4.09) 순으로 오디즙 첨가량이 증가할수록 스테이크 소스의 황색도(b)는 감소하였다. 대조군의 황색도(b)는 6.49로 가장 높은 값을 나타내었다. 전반적으로 오디즙을 첨가량이 증가할수록 백색도(L), 적색도(a), 황색도(b) 모두 감소하였다.

(라) 점도

점도는 유동식품의 흐름에 대한 저항성을 나타내는 것으로 점도가 높을수록 유동식품의 흐름성이 적음을 의미하며, 점도가 낮을수록 흐름성이 높음을 의미한다. 오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 점도는 표 70과 같다. 오디즙을 첨가한 스테이크 소스의 점도는 오디즙 10%를 첨가한 소스가 506.67로 가장 높았고, 20%(450.00) > 30%(420.00) > 40%(410.00) 순으로 오디즙 첨가량이 증가할수록 스테이크 소스의 점도는 유의적으로 감소하였다. 대조군의 점도는 550.00로 가장 높은 값을 나타내었다.

(4) 관능적 특성 평가

오디즙의 첨가량을 달리하여 제조한 스테이크 소스의 관능적 특성은 표 71과 같다. 오디즙의 첨가량을 달리하여 제조한 스테이크 소스의 색은 오디 즙 30%를 첨가한 소스가 6.10으로 가장 높았고, 20%(3.90) > 40%(3.80) > 10%(3.70) > con(2.80) 순서였다. 오디즙의 첨가량을 달리하여 제조한 스테이크 소스의 향은 오디 즙 30%를 첨가한 소스가 5.80으로 가장 높았고, 40%(3.90) > 20%(3.80) > 10%(3.10) = con(3.10) 순서였다. 오디즙의 첨가량을 달리하여 제조한 스테이크 소스의 단맛은 오디 즙 30%를 첨가한 소스가 6.40으로 가장 높았고, 20%(4.90) = 40%(4.90) > 10%(2.80) = con(2.80) 순서였다. 오디즙의 첨가량을 달리하여 제조한 스테이크 소스의 신맛은 오디 즙 30%를 첨가한 소스가 6.10으로 가장 높았고, 20%(6.40) > 40%(4.30) > 10%(3.00) > con(2.70) 순서였다. 오디즙의 첨가량을 달리하여 제조한 스테이크 소스의 전반적인 기호도는 오디 즙 30%를 첨가한 소스가 6.00으로 가장 높았고, 40%(4.80) > 20%(4.60) > 10%(2.70) > con(2.50) 순서였다.

(5) 저장 특성

오디 스테이크 소스의 저장특성은 표 72와 같다. 관능적 특성에서 가장 높은 기호도를 가진 오디즙 30% 첨가 스테이크 소스의 저장특성은 실온보관(25℃)에서 0-90일간 보관하면서 기간 별로 일반세균과 대장균군수를 측정하였다. 일반세균수는 0일부터 90일 동안 시간이 지날수록

증가하였으며, 대장균군수는 60일 이후부터 시간이 지날수록 증가하였다. 일반세균 및 대장균군수는 안전성을 유지하는 범위내 측정값을 나타내었다..

(6) 오디 스테이크 소스와 시판 중인 스테이크 소스의 소비자 기호도 평가

오디 스테이크 소스(오디즙 30% 첨가)와 시판 중인 스테이크 소스(오뚜기 스테이크 소스)를 소비자 기호도 평가한 결과는 표 73과 같다. 향과 조직감을 제외한 색, 맛, 전반적인 기호도에서 시판 중인 스테이크 소스(오뚜기 스테이크 소스)보다 높은 기호도를 나타내었다.

표 68. 오디즙을 이용한 스테이크 소스의 배합비

(%)	대조군	10%	20%	30%	40%
오디즙	0	10	20	30	40
하이라이스 가루	5	5	5	5	5
설탕	25	25	25	25	25
양파가루	2	2	2	2	2
마늘가루	2	2	2	2	2
다진 당근	10	10	10	10	10
월계수잎	1	1	1	1	1
물	55	45	35	25	15

표 69. 오디즙을 이용한 스테이크 소스의 수분, pH 및 가용성 고형물

오디즙	수분(%)	pH	가용성 고형물(°Bx)
대조군(0%)	56.65±1.25a	2.93±0.01ab	28.13±0.24a
10%	58.59±2.11a	2.95±0.00a	25.17±0.12a
20%	60.47±1.11ab	2.98±0.05a	22.87±0.32a
30%	63.27±1.57b	3.01±0.02a	20.87±0.25a
40%	65.14±2.00b	3.06±0.01a	18.17±0.58a

표 70. 오디즙을 이용한 스테이크 소스의 색도 및 점도

오디즙	색도			점도(cP)
	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	
대조군(0%)	33.92±1.25b	-2.23±0.01c	6.49±0.24a	550.00
10%	24.87±2.11a	6.75±0.00b	4.09±0.12b	506.67
20%	22.11±1.11a	4.01±0.05a	1.75±0.32c	450.00
30%	21.47±1.57a	4.33±0.02a	1.65±0.25c	420.00
40%	21.30±2.00a	3.24±0.01a	1.25±0.58c	410.00

표 71. 오디즙을 이용한 스테이크 소스의 관능적 특성

오디즙	색	향	단맛	신맛	전반적인 기호도
대조군(0%)	2.8±0.0c	3.1±0.0c	2.8±0.0c	2.7±0.0c	2.5±0.0c
10%	3.7±0.1b	3.1±0.1c	2.8±0.0c	3.0±0.0c	2.7±0.2c
20%	3.9±0.1b	3.8±0.2b	4.9±0.5b	5.4±0.5b	4.6±0.0b
30%	6.1±0.2a	5.8±0.4a	6.4±0.2a	6.1±0.1a	6.0±0.2a
40%	3.8±0.0b	3.9±0.1b	4.9±0.1b	4.3±0.4bc	4.8±0.4b

표 72. 오디즙을 이용한 스테이크 소스의 저장 특성 (CFU/mL)

30%오디즙 첨가 스테이크 소스	0day	10day	30day	60day	90day
대장균균수	N.D.	N.D.	N.D.	0.11×10 ²	0.32×10 ²
일반세균수	0.51×10 ²	0.87×10 ²	1.05×10 ²	1.61×10 ²	2.00×10 ²

표 73. 오디 스테이크 소스와 시판 중인 스테이크 소스의 소비자 기호도 평가

스테이크 소스	색	향	맛	조식감	전반적인 기호도
시판 스테이크 소스	4.25±0.0a	5.98±0.2a	4.77±0.0b	5.41±0.2a	4.95±0.1b
오디 스테이크 소스	5.33±0.1a	5.44±0.0a	5.89±0.1a	5.30±0.0a	5.87±0.2a

다. 오디 콩포트 (시럽용) 소스 개발

(1) 콩포트 제조

냉동 오디를 흐르는 물에 3회 세척하고 이물질을 제거하여 상온에서 30분간 물기를 빼내고 마른 거즈를 이용하여 물기를 제거하였다. 꼭지를 제거한 오디를 과육을 다치지 않게 중불로 끓이고, 오디에서 즙이 빠져나오면 당류 (아가베시럽, 설탕, 솔비톨)를 비율별로 넣고 10분간 센불에서 졸인 후 중약불로 줄여 레몬즙을 넣고 10분간 졸여서 콩포트를 제조하였다. 오디 콩포트의 배합비는 표 74와 같다.

(2) 이화학적 특성

(가) 수분

오디 콩포트 소스의 수분함량은 표 75와 같다. 오디 콩포트의 수분함량은 콩포트 제조 시 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0을 첨가한 소스가 17.1%로 가장 높았고, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 5 : 5는 15.9%, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 20 : 0 : 0은 15.2%, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 0 : 10이 13.3% 순이었고 솔비톨 함량이 증가할수록 소스의 수분함량이 감소하였다.

(나) 가용성 고형물 및 pH

오디 콩포트 소스의 pH 및 가용성 고형물은 표 75와 같다. 오디 콩포트의 pH는 콩포트 제조 시 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 20 : 0 : 0을 첨가한 소스가 5.75로 가장 높았고, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 5 : 5는 5.72, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0은 5.71, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 0 : 10이 5.69 순이었다. 당류 비율별 유의적인 차이를 보이지는 않았으나, 솔비톨 함량이 높을수록 pH값이 낮았다. 오디 콩포트 소스의 가용성 고형물은 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 20 : 0 : 0을 첨가한 소스가 47.52로 유의적으로 가장 높았고, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0은 43.11, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 5 : 5은 42.21, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 0 : 10이 41.37 순이었다. 설탕 함량이 높을수록 소스의 가용성 고형물 함량이 증가하였으며, 솔비톨 함량이 증가할수록 가용성 고형물의 함량은 감소하였다.

(다) 색도

오디 콩포트 소스의 색도는 표 76과 같다. 오디 콩포트 소스의 백색도(L), 적색도(a), 황색도(b)는 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 20 : 0 : 0가 21.33, 3.45, 1.45로 가장 높은 값을 나타내었으나 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

(라) 점도

점도는 유동식품의 흐름에 대한 저항성을 나타내는 것으로 점도가 높을수록 유동식품의 흐름성이 적음을 의미하며, 점도가 낮을수록 흐름성이 높음을 의미한다. 오디 콩포트 소스의 점도는 표 76과 같다. 오디 콩포트 소스의 점도는 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0이 784.55로 가장 높았고, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 5 : 5는 752.31, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 0 : 10은 722.11, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 20 : 0 : 0이 701.21의 순이었다.

(4) 관능적 특성 평가

오디 콩포트 소스의 관능적 특성은 표 77과 같다. 오디 콩포트의 색은 콩포트 제조 시 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 5 : 5을 첨가한 소스가 5.65로 가장 높았고, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 20 : 0 : 0은 5.33, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0은 4.95, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 0 : 10이 4.33 순이었다. 오디 콩포트의 향은 콩포트 제조 시 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0을 첨가한 소스가 5.77로 가장 높았고, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 5 : 5는 5.69, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0은 5.77, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 0 : 10이 4.51 순이었다. 오디 콩포트의 맛은 콩포트 제조 시 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 20 : 0 : 0을 첨가한 소스가 6.01로 가장 높았고, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 5 : 5는 5.95, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0은 5.67, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 0 : 10이 5.01 순이었다. 오디 콩포트의 조직감은 콩포트 제조 시 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 5 : 5을 첨가한 소스가 6.03로 가장 높았고, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 20 : 0 : 0은 5.91, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0은 5.05, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 0 : 10이 4.97 순이었다. 오디 콩포트의 전반적인 기호도는 콩포트 제조 시 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 5 : 5을 첨가한 소스가 6.02로 가장 높았고, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 20 : 0 : 0은 5.81, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 10 : 0은 5.31, 설탕 : 아가베 시럽 : 솔비톨 = 10 : 0 : 10이 4.74 순이었다.

(5) 저장 특성

오디 콩포트 소스의 저장특성은 표 78과 같다. 저장특성은 실온보관(25℃)에서 0-90일간 보관하면서 기간별로 일반세균과 대장균군수를 측정하였다. 일반세균수는 0일부터 90일 동안 시간이 지날수록 증가하였으며, 대장균군수는 90일 이후부터 시간이 지날수록 증가하였다. 일반세균 및 대장균군수는 안전성을 유지하는 범위내 측정값을 나타내었다..

표 74. 오디를 이용한 콩포트 소스의 배합비

(%)	A	B	C	D
오디	79	79	79	79
설탕	20	10	10	10
아가베시럽	0	10	0	5
솔비톨	0	0	10	5
레몬즙	1	1	1	1

표 75. 오디를 이용한 콩포트 소스의 수분, pH 및 가용성 고형물

오디	수분(%)	pH	가용성 고형물(°Bx)
A (설탕20 : 아가베시럽0 : 솔비톨0)	15.2±0.47b	5.75±0.01a	47.52±1.51a
B (설탕10 : 아가베시럽10 : 솔비톨0)	17.1±0.32a	5.71±0.10a	43.11±1.72b
C (설탕10 : 아가베시럽0 : 솔비톨10)	13.3±0.54c	5.69±0.05a	41.37±0.98b
D (설탕10 : 아가베시럽5 : 솔비톨5)	15.9±0.33b	5.72±0.03a	42.21±1.47b

표 76. 오디를 이용한 콩포트 소스의 색도 및 점도

오디	색도			점도(cP)
	백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)	
A	21.33±311a	3.45±0.01a	1.45±0.24a	701.21±35c
B	20.15±2.07a	3.33±0.05a	1.11±0.32a	784.55±41a
C	20.51±1.99a	3.41±0.02a	1.32±0.25a	722.11±33bc
D	20.54±1.54a	3.15±0.01a	1.27±0.58a	752.31±42ba

표 77. 오디를 이용한 콩포트 소스의 관능적 특성

오디	색	향	맛	조각감	전반적인 기호도
A	5.33±0.12b	5.58±0.22c	6.01±0.97a	5.91±0.24a	5.81±0.05b
B	4.95±0.51c	5.77±0.31a	5.67±0.51b	5.05±0.21b	5.31±0.15c
C	4.33±0.78d	4.51±0.34d	5.01±0.55c	4.97±0.44b	4.74±0.11d
D	5.65±0.29a	5.69±0.54b	5.95±0.50a	6.03±0.37a	6.02±0.21a

표 78. 오디를 이용한 콩포트 소스의 저장 특성 (CFU/mL)

오디 콩포트 소스	0day	10day	30day	60day	90day
대장균군수	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.18×10 ²
일반세균수	0.09×10 ²	0.15×10 ²	0.27×10 ²	0.33×10 ²	0.51×10 ²

제 6 절 오디를 이용한 타블렛(정) 개발

1. 연구 방법

가. 오디의 분말화

오디 100 g에 10배의 증류수를 가하여 homogenizer로 1분간 균질화 시킨 후 4℃에서 2시간 동안 100 rpm으로 교반추출하고 4℃, 7500 rpm에서 30분간 원심분리한 후 여과지를 이용하여 상등액을 추출하였다. 상등액은 분무건조기를 사용하여 분말화하고 건더기는 동결건조 및 열풍 건조 (55℃)한 후 분말화하여 80 mesh 체를 통과시켜 오디 분말을 제조하였다. 타블렛 제조용은 건조 방법별로 즙액 분말과 건더기 분말을 혼합하여 사용하였다.

나. 타블렛 제조

건조한 오디 분말과 부재료 분말을 일정 비율로 혼합하여 일정량을 섞은 후 전분 paste를 이용하여 반죽을 성형한 다음 20 mesh 체를 통과시킨 후 50℃ 건조기에 약 두 시간 정도 건조하여 과립으로 성형하였다. 여기에 활택제로 stearic magnesium을 일정량을 첨가한 후 일정 크기의 성형 mold에 과립 0.5 g을 넣고 유압프레스로 일정압력을 가한 후 타블렛을 제조하였고 배합비는 표 79와 같다.

다. 붕해성

오디 타블렛 0.5 g을 20℃의 증류수에서 1분간 용해시키고 15,000 rpm에서 30분간 원심분리 (SupRa 21K, Hanil, Korea)하여 남은 침전물의 무게를 고형분 양으로 측정하여 붕해성으로 나타내었다.

라. 품질특성

오디 타블렛 0.5 g을 50 mL의 증류수에 넣고 20분간 stirring한 후 여과지 (whatman No. 2)로 여과하여 여액의 특성으로 pH 및 적정산도, 가용성 고형물을 측정하였다. pH는 pH meter (Model 320, Thermo Orion, Beverly, MA, USA)로 측정하였으며, 적정산도는 0.1 N NaOH용액으로 pH가 8.3이 될 때까지 적정한 후 타블렛 1 g을 중화시키는 데 소요되는 mL수를 citric acid로 환산하여 나타내었다. 가용성 고형물은 당도계(N-1E°Brix 0~32%, Atago, Japan)로 측정하여 °Bx로 표시하였다.

마. 파손강도

오디 타블렛의 파손강도는 rheometer(Compac-100, Sun Scientific Co., Japan)를 이용하여 failure test로서 측정하였으며, 이때 시료의 직경과 높이는 13 mm와 3 mm이었으며 plunger는 직경 10 mm, table speed는 60 mm/min이었다.

바. 색도

오디 타블렛의 색도는 색차계(Color-Eye 3100, Macbeth, New Windsor, NY, USA)를 사용하여 측정하였다. Hunter's value인 명암도를 나타내는 L값(lightness), 적색도를 정도를 나타내는 a값(redness), 황색도의 정도를 나타내는 b값(yellowness)으로 3회 반복 측정하여 평균값을 나타내었다. 이때 사용된 표준색판(standard color value)의 L값은 98.75, a값은 -1.02, b값은 1.10인 calibration plate를 사용하였다.

사. 저장 특성

오디 타블렛을 증류수를 채운 데시케이터에 넣고 1시간 간격으로 7시간 동안 무게를 측정하여 무게 증가량으로 흡습량을 나타내었다.

아. 관능적 특성

기호도 평가방법을 충분히 훈련시킨 한국식품연구원 연구원 30명을 대상으로 오후 3시와 4시에 실시하였다. 평가방법은 평점법을 사용하였고, 7점 척도를 이용하여 1점은 특성의 기호도가 가장 싫음, 4는 보통, 7는 가장 좋음으로 하였다. 평가항목에 색, 조직감, 풍미, 씹힘성, 전반적인 기호도를 평가하였다. 각각의 시료는 난수표를 이용하여 무작위의 시료번호를 적은 흰색 폴리에스테르 1회용 접시에 담아 제공하였으며, 물을 제공하여 평가하는 시료와 시료 사이에 반드시 입을 행구도록 하였다.

자. 기능적 특성

총 안토시아닌 정량은 pH differential method에 따라 측정하였다. 각 추출물 0.5 mL에 0.025 M potassium chloride buffer(pH 1.0)와 0.4 M sodium acetate buffer(pH 4.5)를 가하여 최종 부피를 5 mL로 한 다음 510 및 700 nm에서 반응 액의 흡광도를 각각 측정하여 아래의 식으로 결과를 얻었다.

$$\text{Total anthocyanin content (mg/kg)} = \frac{A \times MW \times D \times 1000}{\epsilon \times V}$$

여기서, A(absorbance value) = $(A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})^{\text{pH}1.0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})^{\text{pH}4.5}$, MW(molecular weight of cyanidin-3-glucoside) = 449.2, D(dilution factor) = dilution ratio of sample, ϵ (cyanidin-3-glucoside molar absorbance) = $26,900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, V = final volume of sample 이다.

차. 통계처리

실험결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이검증은 일원배치분산분석(ANOVA)을 사용하였으며, Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

2. 연구 결과

가. 오디 타블렛(정)의 붕해성

비타민 C 함량별 첨가 오디 타블렛의 붕해성은 표 80과 같다. 오디 타블렛을 20℃의 증류수에서 1분간 용해시킨 후 원심분리하여 남은 고형분의 무게로 붕해성을 살펴보았다. 비타민 C 함량이 증가함에 따라 잔존 고형분의 양이 감소하여 붕해성이 높은 무른 타블렛을 형성하였으며 비타민 C 함량별 유의적인 차이를 나타내었다.

나. 오디 타블렛(정)의 pH, 적정산도 및 가용성 고형물

오디 타블렛을 일정 양의 증류수로 용해한 후 용해액의 특성을 알아본 결과로 여액의 pH, 적정산도 및 가용성 고형물은 표 80과 같다. pH는 비타민 C 함량이 증가할수록 유의적으로 낮은 값을 나타내었으며, 적정산도는 비타민 C 함량이 증가할수록 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 가용성 고형물은 비타민 C 함량이 증가할수록 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 이는 비타민 C 함량이 높을수록 타블렛의 용해성이 높아 가용성 고형물의 함량이 높게 나타난 것으로 판단되었다.

다. 오디 타블렛(정)의 파손강도

오디 타블렛의 조직특성, 즉 파괴정도는 표 81과 같다. 여기서 max는 타블렛이 파괴될 때 드는 힘을 나타내며 yield는 파괴되기 직전에 드는 힘을, strength는 파괴되기까지 드는 총 힘을, hardness는 probe의 단위면적 당 드는 총 힘을 나타낸다. 조직특성 값들 모두가 타블렛의 비타민 C 함량이 높을수록 낮은 값을 나타내었다. 이는 비타민 C 함량이 낮을수록 조직이 더 치밀하게 성형됨을 알 수 있었다.

라. 오디 타블렛(정)의 색

제조된 오디 타블렛의 색은 표 82와 같다. 오디 타블렛의 백색도(L)는 비타민 C 함량이 증가할수록 유의적으로 높은 값을 나타내었고, 적색도(a)와 황색도(b)는 비타민 C 함량이 증가할수록 유의적으로 낮은 값을 나타내었다.

마. 오디 타블렛(정)의 관능적 특성

오디 타블렛의 관능적 특성은 표 83과 같다. 제조된 오디 타블렛의 색, 조직감, 풍미, 씹는 맛, 기호도 등에 대하여 조사한 결과 전반적으로 10% 비타민 C 첨가 타블렛이 높은 기호도를 나타내었다. 오디 타블렛의 색과 조직감은 비타민 C 함량이 증가함에 따라 유의적으로 높은 기호도를 나타내었으며 씹는 맛, 풍미 및 전반적인 기호도는 10% 비타민 C 첨가 타블렛이 가장 높은 기호도를 나타내었다.

바. 오디 타블렛(정)의 흡습성

오디 타블렛의 저장안정성과 관계가 있는 흡습특성은 그림 15와 같다. 비타민 C 함량이 높을수록 오디 타블렛은 많은 흡습량을 보여 타블렛이 단단할수록 흡습량이 낮아짐을 확인할 수 있었다.

사. 오디 타블렛(정)의 기능적 특성

오디 타블렛(정)의 총안토시아닌 함량은 A(0% Vit C) 0.81 mg/kg, B(10% Vit C) 0.80 mg/kg C(10% Vit C) 0.81 mg/kg으로 나타내었다. 이는 비타민 첨가 함량에 따른 타블렛 제조 시 오디의 분말량에 차이가 없기 때문으로 판단된다.

Table 79. 오디 타블렛(정)의 배합비

(%)	A	B	C
오디분말	70	63.9	58.3
비타민 C	0	9.1	16.7
유당	20	18.2	16.7
결정셀룰로오즈	9.5	8.6	7.9
스테아린산 마그네슘	0.5	0.5	0.4

표 80. 오디 타블렛(정)의 분해성 및 이화학적 특성

	잔존 고형물(g)	pH	적정산도	가용성 고형물(°Bx)
A (0% Vit C)	0.97±0.01a	5.54±0.07a	0.73±0.00c	6.33±0.04a
B (10% Vit C)	0.64±0.00b	4.42±0.04b	0.81±0.00b	5.64±0.01b
C (20% Vit C)	0.33±0.02c	4.01±0.04c	0.98±0.00a	5.06±0.01c

표 81. 오디 타블렛(정)의 조직 특성

	Max (×10 ³ g)	Yield (×10 ³ g)	Strength (×10 ⁶ dync.cm ²)	Hardness (×10 ⁶ dync.cm ²)
A (0% Vit C)	2.12±0.01a	2.02±0.09a	9.51±0.07a	35.11±0.10a
B (10% Vit C)	1.95±0.02b	1.89±0.05b	8.44±0.05a	28.12±0.15a
C (20% Vit C)	0.87±0.00c	0.74±0.01c	4.31±0.01b	14.8±0.12b

표 82. 오디 타블렛(정)의 색

	백색도(whiteness)	적색도(redness)	황색도(yellowness)
A (0% Vit C)	29.58±0.29c	0.97±0.01a	4.91±0.03a
B (10% Vit C)	36.21±0.33b	0.54±0.01b	4.37±0.03a
C (20% Vit C)	41.32±0.51a	0.25±0.00c	3.49±0.04b

표 83. 오디 타블렛(정)의 관능적 특성

	색	조직감	풍미	씹힘성	전반적인 기호도
A (0% Vit C)	4.92±0.15b	4.81±0.09c	5.75±0.21a	5.12±0.14b	5.43±0.01b
B (10% Vit C)	5.64±0.11a	5.12±0.10b	5.81±0.11a	6.00±0.25a	5.97±0.17a
C (20% Vit C)	5.87±0.09a	5.81±0.13a	5.21±0.10b	5.89±0.41a	5.54±0.13b

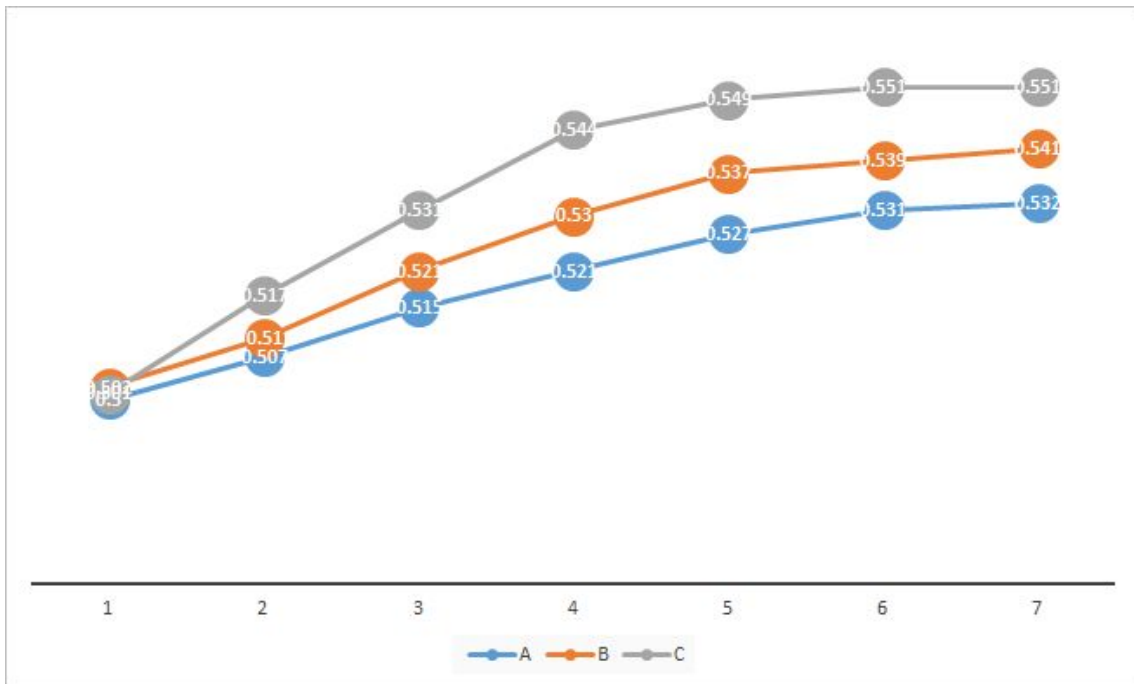


그림 15. 오디 타블렛(정)의 흡습성(g)

제 7 절 오디를 이용한 식품 첨가물 등으로 활용 가능한 천연색소 개발

1. 연구 방법

가. 이화학적 특성

(1) 가용성 고형물

가용성 고형물은 각 시료를 2배 희석한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 filter paper(Whatman No. 41)로 여과 후 당도계(N-1E°Brix 0~32%, Atago, Japan)로 측정하여 °Bx로 표시하였다.

(2) pH

pH는 시료를 10배 희석한 10 mL 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액을 취하여 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 pH meter(Model 320, Thermo Orion, Beverly, MA, USA)로 5회 반복 측정하여 평균치를 나타내었다.

(3) 적정산도

적정산도는 시료를 10배 희석한 10 mL 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상등액을 취하여 filter paper(Whatman No. 41)로 여과한 후 시료 10 mL에 0.1 N NaOH 용액을 pH가 8.2가 될 때까지 적가한 뒤 이에 소요된 0.1 N NaOH 양을 citric acid를 기준으로 환산하여 %로 나타내었으며, 5회 반복 측정하여 평균치를 나타내었다.

(4) 색도

색도는 색차계(Color-Eye 3100, Macbeth, New Windsor, NY, USA)를 사용하여 시료를 2배 희석한 후 측정하였다. Hunter's value인 명암도를 나타내는 L값(lightness), 적색도의 정도를 나타내는 a값(redness), 황색도의 정도를 나타내는 b값(yellowness)으로 3회 반복 측정하여 평균값을 나타내었다. 이때 사용된 표준색판(standard color value)의 L값은 98.75, a값은 -1.02, b값은 1.10인 calibration plate를 사용하였다.

나. 기능적 특성

(1) Anthocyanin 색소함량

Anthocyanin 색소함량 측정은 시료를 5배로 희석한 다음 Spectrophotometer(U900, Human, Korea)를 사용하여 anthocyanin 색소의 최대 흡수파장인 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(2) 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 다음과 같이 측정하였다. 추출 시료용액 1 mL에 50% Foiln-Ciocalteu's phenol reagent 0.5 mL를 가하여 실온에서 3분간 반응시켰다. 반응용액에 Na₂CO₃ 포화용액 1 mL와 7.5 mL 증류수를 차례로 혼합하여 30분간 정치시킨 뒤, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 취해 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 표준 물질로 이용하여 작성한 검량선에 따라 함량을 구하였으며 측정단위로는 GAE(Gallic acid equivalent)/g을 사용하였다.

(3) 총 안토시아닌 함량

총 안토시아닌 정량은 pH differential method에 따라 측정하였다. 각 추출물 0.5 mL에 0.025 M potassium chloride buffer(pH 1.0)와 0.4 M sodium acetate buffer(pH 4.5)를 가하여 최종 부피를 5 mL로 한 다음 510 및 700 nm에서 반응 액의 흡광도를 각각 측정하여 아래의 식으로 결과를 얻었다.

$$\text{Total anthocyanin content (mg/kg)} = \frac{A \times MW \times D \times 1000}{\epsilon \times V}$$

여기서, A(absorbance value) = (A 510 nm - A 700 nm)^{pH1.0} - (A 510 nm - A 700 nm)^{pH4.5}, MW(molecular weight of cyanidin-3-glucoside) = 449.2, D(dilution factor) = dilution ratio of sample, ε(cyanidin-3-glucoside molar absorbance) = 26,900M-1cm⁻¹, V = final volume of sample 이다.

(4) DPPH 소거 활성

DPPH radical 소거활성은 다음과 같이 측정하였다. 시료 0.2 mL에 0.2 mM DPPH 용액 0.8 mL를 가한 후, 520 nm에서 정확히 30분 후에 분광광도계(UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 전자공여능은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였다.

다. 통계처리

실험결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이검증은 일원배치분산분석(ANOVA)을 사용하였으며, Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

2. 연구 결과

가. 천연색소의 소재화

추출조건 중 산첨가와 추출온도가 오디의 천연색소의 추출함량에 미치는 영향을 조사하였으며, 추출수율에 따른 오디의 천연색소의 소재화에 대한 연구는 다음과 같다.

(1) 산 종류에 따른 이화학적 특성

산 종류에 따른 오디 추출물의 이화학적 특성은 표 84와 같다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 가용성 고형물은 산 비첨가 오디 추출물(control)이 1.12로 가장 높았고, fumaric acid(1.10) > citric acid(1.07) > malic acid(1.05) 순으로 유의적 차이를 보이지 않았다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 pH는 산 비첨가 오디 추출물(control)이 4.3으로 가장 높았고, citric acid(2.4) > malic acid(2.2) > fumaric acid(2.1) 순으로 산 첨가군이 비 첨가군보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 적정산도는 산 비첨가 오디 추출물(control)이 2.1로 가장 낮았고, citric acid(5.3) > fumaric acid(4.9) > malic acid(4.8) 순으로 산 첨가군이 비 첨가군보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다.

(2) 산 종류에 따른 색도

산 종류에 따른 오디 추출물의 색도는 표 85와 같다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 백색도(L)는 산 비첨가 오디 추출물(control)이 30.1로 가장 낮았고, fumaric acid(39.8) > malic acid(38.7) > citric acid(37.2) 순으로 산 첨가군간의 유의적 차이를 보이지 않았으나, 산 첨가군이 비 첨가군보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 적색도(a)는 malic acid 첨가 오디 추출물이 8.6으로 가장 높았고, citric acid(7.5) > fumaric acid(6.9) > 산 비첨가군(5.3) 순으로 malic acid와 control은 유의적인 차이를 나타내었다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 황색도(b)는 산 비첨가 오디 추출물(control)이 2.3으로 가장 낮았고, citric acid(4.1) > fumaric acid(3.8) > malic acid(3.7) 순으로 산 첨가군간의 유의적 차이를 보이지 않았으나, 산 첨가군이 비 첨가군보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다.

(3) 산 종류에 따른 안토시아닌 함량 및 항산화 특성

산 종류에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 함량 및 항산화 특성은 표 86과 같다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 색소의 흡광도 값은 산 비첨가 오디 추출물(control)이 0.31로 가장 낮았고, malic acid(0.54) > fumaric acid(0.51) > citric acid(0.45) 순으로 citric acid는 군간의 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, citric acid군을 제외한 산 첨가군은 비 첨가군보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 함량은 citric acid 첨가 오디 추출물이 0.68로 가장 높았고, malic acid(0.61) > fumaric acid(0.59) > 산 비첨가군(0.45) 순으로 산첨가군은 비첨가군보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 이는 오디 추출

시 산첨가가 안토시아닌 함량의 증대에 효과가 있음을 나타낸 것이다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 총페놀 함량은 fumaric acid이 55.2로 가장 높았고, citric acid(52.1) > malic acid(47.5) > control(37.5) 순으로 산 첨가군간의 유의적 차이를 보이지 않았으나, 산 첨가군이 비 첨가군보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 산 종류에 따른 오디 추출물의 DPPH radical 소거능은 malic acid이 63.1로 가장 높았고, citric acid(61.1) > fumaric acid(59.8) > control(45.0) 순으로 산 첨가군간의 유의적 차이를 보이지 않았으나, 산 첨가군이 비 첨가군보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다.

(4) 추출온도에 따른 이화학적 특성

추출온도에 따른 오디 추출물의 이화학적 특성은 표 87과 같다. 추출온도에 따른 오디 추출물의 가용성 고형물은 65°C에서 추출한 오디 추출물이 1.15로 가장 높았고, 45°C(1.08) > 25°C(0.87) > 5°C(0.75) 순으로 5°C와 65°C 추출한 오디 추출물은 유의적 차이를 나타내었다. 추출온도에 따른 오디 추출물의 pH는 65°C에서 추출한 오디 추출물이 4.7로 가장 높았고, 45°C(4.5) > 5(4.3) = 25(4.3) 순으로 추출온도에 따른 pH는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 추출온도에 따른 오디 추출물의 적정산도는 65°C에서 추출한 오디 추출물이 2.7로 가장 높았고, 45°C(2.5) > 25°C(2.2) > 5°C(2.1) 순으로 추출온도에 따른 적정산도는 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

(5) 추출온도에 따른 색도

추출온도에 따른 오디 추출물의 색도는 표 88과 같다. 추출온도에 따른 오디 추출물의 백색도(L)는 65°C에서 추출한 오디 추출물이 29.05로 가장 높았고, 45°C(27.37) > 25°C(24.81) > 5°C(22.75) 순으로 25°C에서 추출한 오디 추출물은 유의적 차이를 보이지 않았으나, 나머지 추출온도는 유의적인 차이를 나타내었다. 추출온도에 따른 오디 추출물의 적색도(a)는 65°C에서 추출한 오디 추출물이 5.1로 가장 높았고, 45°C(4.4) > 25°C(4.2) > 5°C(4.1) 순으로 65°C와 5°C는 유의적인 차이를 나타내었다. 추출온도에 따른 오디 추출물의 황색도(b)는 65°C에서 추출한 오디 추출물이 2.2로 가장 높았고, 45°C(1.9) > 25°C(1.6) > 5°C(1.5) 순으로 45°C와 65°C사이, 5°C와 25°C사이의 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

(6) 추출온도에 따른 안토시아닌 함량 및 항산화 특성

추출온도에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 함량 및 항산화 특성은 표 89와 같다. 추출온도에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 색소의 흡광도 값은 65°C에서 추출한 오디 추출물이 0.33으로 가장 낮았고, 25°C(0.36) > 5°C(0.35) > 45°C(0.34) 순으로 추출온도에 따른 안토시아닌 색소는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 추출온도에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 함량은 5°C와 25°C에서 추출한 오디 추출물이 0.47로 가장 높았고, 45°C(0.45) > 65°C(0.43) 순으로 추출온도에 따른 안토시아닌 함량은 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 추출온도에 따른 오디 추출물

의 총페놀 함량은 45℃에서 추출한 오디 추출물이 35.6으로 가장 높았고, 25℃(35.5) > 5℃(35.1) > 65℃(33.7) 순으로 추출온도에 따른 총 페놀함량은 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 추출온도에 따른 오디 추출물의 DPPH radical 소거능은 25℃에서 추출한 오디 추출물이 43.2로 가장 높았고, 45℃(43.1) > 5℃(43.0) > 65℃(42.2) 순으로 추출온도에 따른 DPPH radical 소거능은 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

(7) 오디의 최적 추출 조건에 따른 안토시아닌 수율

오디의 최적 추출조건에 따른 안토시아닌 수율은 표 90과 같다. 25℃에서 0.1% citric acid를 첨가하여 안토시아닌 수율을 측정된 결과, 분획물 내 함량은 8.12 mg/g이며 시료 내 함량은 0.04 mg/kg으로 나타났다. 오디를 최적 추출 조건으로 추출하였으나, 안토시아닌 함량이 너무 극소량으로 추출되어 오디를 이용한 천연색소의 소재화는 경제성이 없는 것으로 생각되었다.

나. 초음파 등을 이용한 천연색소 추출 효율성 증대 기술 개발

초음파 처리에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 함량 및 항산화 특성은 표 91과 같다. 초음파 처리에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 색소의 흡광도 값은 5초 간격 초음파 추출한 오디 추출물이 0.41로 가장 높았고, 30초 간격(0.37) > no treatment(0.36) > full treatment(0.33) 순으로, 초음파 처리에 따른 안토시아닌 색소는 5초 간격 초음파로 처리한 오디 추출물이 유의적으로 가장 높은 값을 나타내었다. 초음파처리에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 함량은 5초 간격 초음파 추출한 오디 추출물이 0.61로 가장 높았고, 30초 간격(0.55) > full treatment(0.49) > no treatment(0.47) 순으로 full treatment와 no treatment(control)는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 초음파 처리에 따른 오디 추출물의 총페놀 함량은 5초 간격 초음파 추출한 오디 추출물이 40.1로 가장 높았고, 30초 간격(36.1) > no treatment(35.5) > full treatment(34.2) 순으로, 초음파 처리에 따른 총페놀 함량은 5초 간격 초음파로 처리한 오디 추출물이 유의적으로 가장 높은 값을 나타내었다. 초음파 처리에 따른 오디 추출물의 DPPH radical 소거능은 5초 간격 초음파 추출한 오디 추출물이 50.1로 가장 높았고, 30초 간격(45.9) > no treatment(43.2) > full treatment(43.1) 순으로, 초음파 처리에 따른 DPPH radical 소거능은 5초 간격 초음파로 처리한 오디 추출물이 유의적으로 가장 높은 값을 나타내었다.

표 84. 산 종류에 따른 오디 추출물의 이화학적 특성

오디 100 g/L, 60°C, 1hr	가용성 고형물(°Bx)	pH	적정산도
Control	1.12±0.00a	4.3±0.12a	2.1±0.05b
Citric acid	1.07±0.01a	2.4±0.17b	5.3±0.07a
Fumaric acid	1.10±0.01a	2.1±0.10b	4.9±0.41a
Malic acid	1.05±0.02a	2.2±0.08b	4.8±0.24a

표 85. 산 종류에 따른 오디 추출물의 색도

오디 100 g/L, 60°C, 1hr	백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
Control	30.1±2.7b	5.3±0.22b	2.3±0.05b
Citric acid	37.2±5.1a	7.5±0.37ab	4.1±0.14a
Fumaric acid	39.8±3.6a	6.9±0.12ab	3.8±0.21a
Malic acid	38.7±4.2a	8.6±0.21a	3.7±0.37a

표 86. 산 종류에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 함량 및 항산화 특성

오디 100 g/L, 60°C, 1hr	Anthocyanin pigment (OD value)	Total anthocyanin contents (mg/kg)	Total polyphenolics contents (ug GAE/mL)	DPPH radical scavenging (%)
Control	0.31±0.00b	0.45±0.02b	37.5±1.25b	45.0±3.33b
Citric acid	0.45±0.02ab	0.68±0.01a	52.1±1.21a	61.1±4.12a
Fumaric acid	0.51±0.01a	0.59±0.03a	55.2±0.78a	59.8±3.35a
Malic acid	0.54±0.03a	0.61±0.00a	47.5±1.05a	63.1±4.51a

표 87. 추출온도에 따른 오디 추출물의 이화학적 특성

오디 100 g/L, 1hr	가용성 고형물(°Bx)	pH	적정산도
5℃	0.75±0.04b	4.3±0.20a	2.1±0.00a
25℃	0.87±0.02ab	4.3±0.23a	2.2±0.12a
45℃	1.08±0.07ab	4.5±0.17a	2.5±0.09a
65℃	1.15±0.03a	4.7±0.51a	2.7±0.07a

표 88. 추출온도에 따른 오디 추출물의 색도

오디 100 g/L, 1hr	백색도(L)	적색도(a)	황색도(b)
5℃	22.75±7.2b	4.1±0.01b	1.5±0.02b
25℃	24.81±3.9ab	4.2±0.00ab	1.6±0.00b
45℃	27.37±8.4a	4.4±0.02ab	1.9±0.00a
65℃	29.05±6.2a	5.1±0.02a	2.2±0.01a

표 89. 추출온도에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 함량 및 항산화 특성

오디 100 g/L, 1hr	Anthocyanin pigment (OD value)	Total anthocyanin contents (mg/kg)	Total polyphenolics contents (ug GAE/mL)	DPPH radical scavenging (%)
5℃	0.35±0.01a	0.47±0.02a	35.1±2.69a	43.0±3.33a
25℃	0.36±0.00a	0.47±0.00a	35.5±3.62a	43.2±2.18a
45℃	0.34±0.03a	0.45±0.01a	35.6±2.11a	43.1±3.11a
65℃	0.33±0.01a	0.43±0.02a	33.7±0.95a	42.2±2.05a

표 90. 오디의 최적 추출에 따른 안토시아닌 수율

	MeOH 분획		EtOAc와 <i>n</i> -BuOH		
	Anthocyanin	Rutin	Mrachelcone A	Isobavachalcone A	Artoindonesianin O
분획물 내					
함량	8.12±0.32	1424.31±1.21	29.79±0.15	72.46±0.23	71.73±0.22
(mg/100 g)					
시료 내 함량	0.04±0.00	37.29±2.2	0.78±1.5	1.90±1.8	1.88±2.1
(mg/1 kg)					

표 91. 초음파 처리에 따른 오디 추출물의 안토시아닌 함량 및 항산화 특성

25°C, 1hr	Anthocyanin pigment (OD value)	Total anthocyanin contents (mg/kg)	Total polyphenolics contents (ug GAE/mL)	DPPH radical scavenging (%)
Control	0.36±0.02ab	0.47±0.02c	35.5±1.21b	43.2±1.05c
5초 간격	0.41±0.10a	0.61±0.01a	40.1±2.11a	50.1±0.99a
30초 간격	0.37±0.02ab	0.55±0.02b	36.1±0.87b	45.9±1.12b
Full treatment	0.33±0.03b	0.49±0.03c	34.2±0.77b	43.1±0.85c

제 8 절 오디의 혈액 순환기계 관련 효과 검증

1. 연구 방법

가. 혈액순환기계 관련 *in vitro* 효과 검증

(1) 실험재료

오디는 (주)수주촌에서 2012년 5-6월 경상북도 예천에서 채취하여 냉동보관되었다. 오디 분획물의 시료는 경희대학교 백남인 교수님 연구실에서 제공받아 실험에 사용하였다.

(2) 오디의 Angiotensin I converting enzyme 저해활성

먼저 효소원을 준비하기 위해서 rabbit lung acetone powder(L-0756, Sigma-Aldrich Chemical Co., MO, USA) 10 g을 50 mM potassium phosphate buffer(pH 8.3) 100 mL에 충분히 섞어준 후에 40,000×g에서 40분간 원심분리를 하였다. 원심분리한 상등액은 활성이 매우 높고 5°C에서 한 달 정도 보관이 가능한 ACE의 효소원이 된다. ACE 저해활성의 측정은 먼저 0.25 mL assay mixture(100 mM potassium phosphate buffer pH 8.3, 300 mM NaCl, 5 mM hippuryl-his-leu(HHL, H-1635, Sigma-Aldrich Chemical Co., MO, USA)에 0~10 mU enzyme 0.15 mL를 가하여 30분간 37°C에서 반응시켰다. 이때 반응액의 시료구에는 시료를 60 µL 첨가하고 대조구에는 시료 대신 증류수를 동량으로 첨가하였다. 여기서 사용된 시료는 10 배씩 희석하여 농도별로 사용하였다. Blank는 효소원을 첨가하기 전에 먼저 0.25 mL 1 N HCl을 첨가하여 반응을 정지시킨 후 효소원을 첨가하였다. 반응을 끝낸 후 0.25 mL 1 N HCl을 첨가하여 반응을 정지시키고 1.5 mL ethyl acetate를 넣어준 후에 15초간 잘 섞어 900×g에서 15초간 원심분리하여 ethyl acetate 층을 분리하였다. 분리된 ethyl acetate 1 mL를 tube에 담은 후 120°C oil bath에서 15분간 증류 건조시켰다. 건조가 끝나면 2 mL의 증류수에 다시 녹이고 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. ACE 저해활성도는 아래의 식에 따라 계산하였다.

$$ACE\ inhibition\ rate\ (\%) = 1 - \left(\frac{S - SB}{C - CB} \right) \times 100$$

S: O.D. of sample

C: O.D. of control

SB: O.D. of sample blank

CB: O.D. of control blank

(3) 오디의 HMG(3-hydroxy-3-methyl-glutaryl)-CoA reductase 저해활성

HMG-CoA reductase 저해활성도의 측정을 위해서 먼저 효소원을 준비하였다. 실험동물은 4주령의 SD계 웅성 흰쥐를 일주일간 예비 사육하여 사육실 환경에 적응시킨 후에 AIN-76A diet(Dyets Inc., PA, USA)를 주어 7일간 사육하였다. 사육이 끝난 흰쥐는 밤 11시에 해부하여 간을 적출하여 무게를 측정하였다. 적출한 간은 rat liver 1 g당 ice cold buffer A(50 mM phosphate buffer, pH 7.0 with 0.2 M sucrose, 2 mM DL-dithiothreitol(DTT, D-0632, Sigma-Aldrich Chemical Co., MO, USA) 2 mL를 첨가한 후 Potter Elvehjem type glass homogenizer(GlassCol, LLC., IN, USA)로 15초간 full speed로 균질화한 다음 15,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액은 다시 100,000×g에서 75분간 초원심분리하여 상등액을 버리고 흰색의 지방층을 제거하였다. 이렇게 얻은 microsome pellet은 buffer A(containing 50 mM EDTA)를 rat liver 1 g당 1 mL씩 첨가하여 세척하고 100,000×g에서 60분간 원심분리한 다음 상등액은 버리고 -20℃에서 보관하였다. -20℃에서 최소 2시간에서 수주간 보관한 microsome pellet을 실온에서 해동시킨 후에 buffer B(50 mM phosphate buffer, pH 7.0 with 0.1 M sucrose, 2 mM DTT, 50 mM KCl, 30 mM EDTA)를 3 mL/1.5 g rat liver를 가하여 균질화하였다. 다시 같은 buffer를 7 mL/1.5 g rat liver 첨가한 후에 상온에서 15~30분을 방치한 다음 100,000×g, 20℃에서 60분간 초원심분리하여 상등액을 취한 후 효소원으로 하였고 사용 시 까지 -70℃에서 보관하였다. 측정방법은 1 mL cuvette에 시료 20 μL(control은 DMSO 20 μL), 0.5 mM phosphate buffer(pH 7.0), 20 mM DTT 600 μL, 3 mM NADPH(N-1630, Sigma-Aldrich Chemical Co., MO, USA) 100 μL, 효소원 100 μL를 넣었다. 이때 시료는 10배씩 희석하여 농도별로 사용하였다. 반응액의 온도는 37℃로 일정하게 유지하여 약 10분간 pre-incubation 한 후에 3 mM HMG-CoA(H-6132, Sigma-Aldrich Chemical Co., MO, USA) 100 μL를 가하여 효소반응을 시작하였다. 반응이 시작됨과 동시에 340 nm에서 5분간의 흡광도 변화를 기록하였다. HMG-CoA reductase의 억제활성은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$HMG-CoA\ reductase\ inhibition\ rate\ (\%) = (1 - \frac{T}{C}) \times 100$$

T: O.D. of sample

C: O.D. of blank

나. 혈액순환기계 관련 *in vivo* 효과 검증

(1) 재료

본 실험에 사용된 오디는 2012년 5-6월 경상북도 예천에서 채취하여 -10℃에서 냉동보관된 오디를 ㈜수주촌에서 제공받아 사용하였다. 냉동상태 오디는 동결건조 후 분말화하여 농도별로 실험에 사용되었다.

(2) 실험동물, 식이 및 실험군

생후 5주된 Golden Syrian종 수컷 F1B햄스터 48마리(Bio Breeders Inc., MA, USA)를 새론 바이오(Saeron Bio Inc., Seoul, Korea)를 통해서 구입하여 실험시작 전 1주일간 고형배합사료로 적응시켰다. 적응시간 후 햄스터들을 체중에 따른 난괴법(randomized complete block design)에 의해 18마리씩 4군으로 분류하여 6주간 사육하였다. 실험에 사용된 식이는 AIN-76A purified diet(Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA)를 대조사료로 사용하였고 동맥경화 유발식은 AIN-76A 식이에 10% coconut oil과 0.1% cholesterol을 첨가하여 사용하였으며 각각의 식이의 조성은 표 92와 같다. 정상대조군(NC)은 대조사료를 급여하고 동맥경화유발대조군(AC)은 동맥경화유발식을 급여하여 사육하였다. 시료군에서 S5군과 S10군은 오디 추출물을 증류수에 녹여 각각 500과 1000 mg/kg b.w.의 양으로 매일 경구투여하였다. 실험동물은 두 마리를 한 cage에 사육하였으며 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

(3) 체중측정, 식이섭취량 및 식이효율

식이섭취량은 체중은 매주 1회 일정한 시각에 측정하였다. 사육기간 동안의 일일 평균 식이섭취량과 체중증가량을 측정하였고 사육기간 중의 체중증가량을 같은 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군들의 식이효율(food efficiency ratio, F.E.R.)을 계산하였다.

(4) 혈액과 장기의 채취

실험기간이 종료된 실험동물은 16시간 절식시킨 후, ether로 마취시켜 개복하고 10 mL 주사기를 이용하여 복부대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위하여 heparin 처리된 tube에 담아 ice bath에 20분간 방치한 후 원심분리기로 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하고, 혈장은 혈장 내 지질과산화물함량과 지질수준을 측정하기 위해 -70°C deep freezer에 보관하였다. 혈액을 채취한 후, ice bath 위에서 즉시 간, 심장, 신장, 비장을 떼어 ice cold saline에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 간은 세절하여 -70°C deep freezer에 보관하여 지질과산화물 함량과 지질수준 측정에 사용하였다.

(5) 혈장, 간의 지질함량

혈장의 중성지방농도는 GPO, Trinder w/o serum blank(비색법)으로 검사하였으며 triglyceride reagents kit(Bayer, USA)를 사용하여 Chemistry Autoanalyzer(ADVIA 1650)으로 측정하였다. 혈장 내 총 콜레스테롤의 함량은 효소법으로 검사하였으며 cholesterol reagent kit(bayer, USA)를 사용하여 Chemistry Autoanalyzer(ADVIA 1650)으로 측정하였다. 혈장 내 HDL-cholesterol의 함량은 효소법으로 검사하였으며 Direct HDL-cholesterol II reagent kit(Bayer, USA)을 사용하여 Chemistry Autoanalyzer(ADVIA 1650)으로 측정하였다. VLDL과 LDL 콜레스테롤의 합(non HDL cholesterol)은 총콜레스테롤에서 HDL 콜레스테롤의 양을 뺀 값으로 계산하였다. 간장 내 지질함량을 측정하기 위해 간조직 2 g에 인산완충액(pH 7.4)을 넣

어 10배로 희석한 후, glass homogenizer로 균질화하고 원심분리하여 상층액을 분리하여 분석에 사용하였다. 간장 내 중성지방 농도는 GPO-PAP법을 이용한 kit(영동제약)로 측정하였고 콜레스테롤 농도는 효소법을 이용한 kit(영동제약)을 이용하여 측정하였다.

(6) 동맥경화지수와 심장위험지수

임상진단에서 순환계와 관련한 진단 지수인 동맥경화지수(atherogenic index, A.I.)와 심장위험지수(cardiac risk factor, C.R.F.)는 아래와 같은 공식에 의하여 산출하였다.

$$A.I. = \frac{\text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol}}{\text{HDL cholesterol}}$$

$$C.R.F. = \frac{\text{Total cholesterol}}{\text{HDL cholesterol}}$$

(7) 간기능 지표 검사

간기능 지표로 사용되는 SGOT 및 SGPT 활성은 IFCC법에 의한 AST reagents kit(Bayer, NY, USA)를 이용하여 ADVIA 1650(Bayer, Tokyo, Japan)으로 분석하였다.

다. 통계처리

실험결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이검증은 일원배치분산분석(ANOVA)을 사용하였으며, Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

2. 연구 결과

가. 오디의 ACE 저해 활성 측정

에탄올 오디 추출물 및 산첨가 오디 추출물의 ACE 저해 활성은 그림 16과 같다. 10 mg/mL 50% 에탄올 추출물에 대한 ACE 저해 활성은 98.21%로 53.93%의 에탄올 분획 추출물보다 1.8 배 높은 저해 활성도를 나타내었다. 10 mg/mL 산 첨가 추출물의 ACE 저해 활성도는 malic acid(112.14%) > citric acid(105.36%) > fumaric acid(47.14%)순으로 ACE 저해 활성을 나타내었다. 오디의 에틸 아세테이트 분획물 10 mg/mL에 대한 ACE 저해 활성은 그림 17과 같다. 오디의 에틸 아세테이트 분획물 10(133.93%)이 가장 높은 저해 활성도를 나타내었으며, 9(107.5%) > 11(101.43%) > 12(85.36%) > 3(78.57%) > 1(75.36%) > 2(71.43%) > 6(64.29%) > 5(54.29%) > 4(45%) > 8(15.71%)순으로 ACE 저해 활성을 나타내었다. 오디의 에틸 아세테이트 분획물 7은 ACE 저해 활성을 나타내지 않았다. 에틸 아세테이트 분획물 10(133.93%)은 모든 시료 중 가장 높은 ACE 저해 활성을 나타내었다.

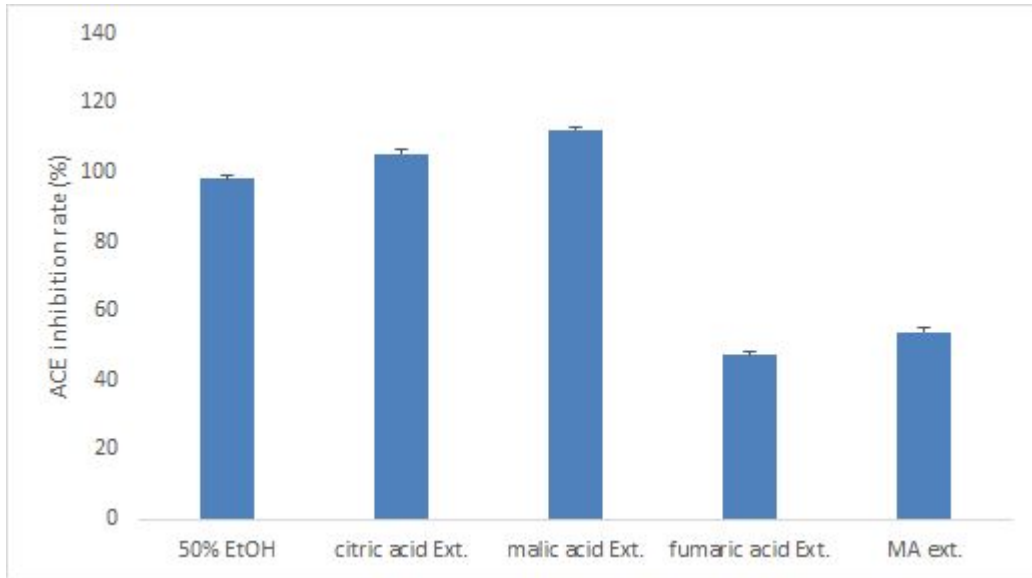


그림 16. 에탄올 오디추출물 및 산첨가 오디추출물의 ACE 저해 활성

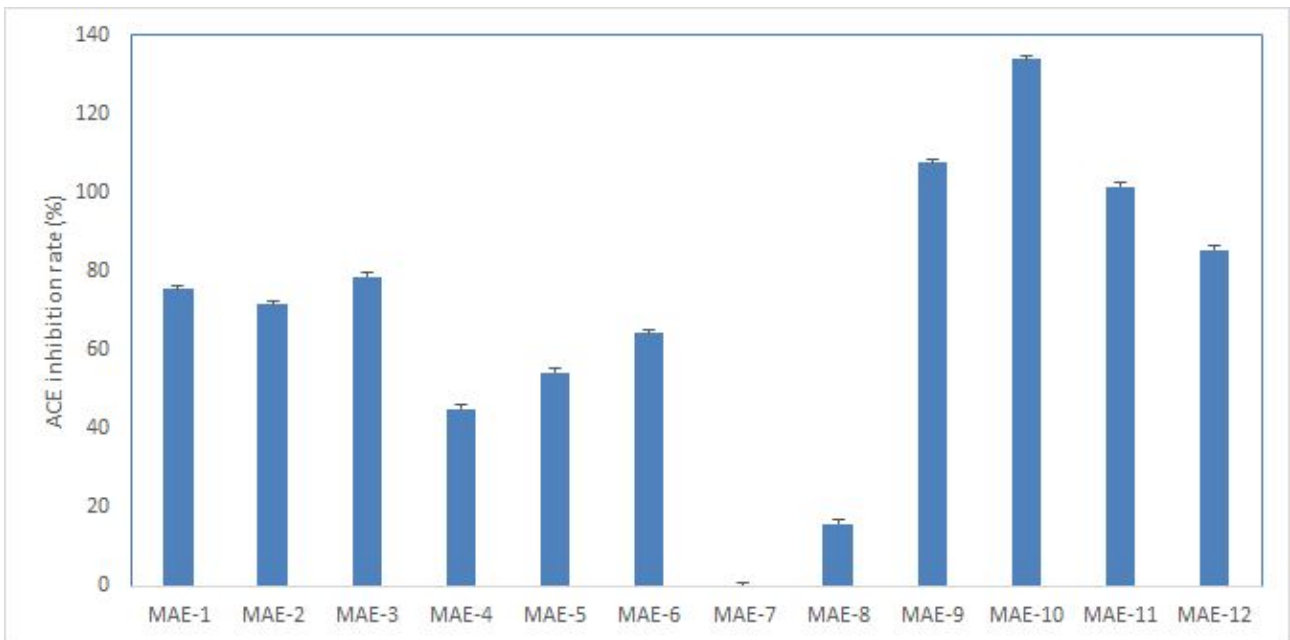


그림 17. 오디의 에틸 아세테이트 분획물에 대한 ACE 저해 활성

나. 오디의 HMG-CoA reductase 저해 활성 측정

에탄올 오디 추출물 및 산첨가 오디 추출물의 HMG-CoA reductase 저해 활성은 그림 18과 같다. 10 mg/mL 50% 에탄올 추출물에 대한 HMG-CoA reductase 저해 활성은 24.53%로 50.59%의 에탄올 분획 추출물보다 2배 낮은 저해 활성도를 나타내었다. 10 mg/mL 산 첨가 추출물의 HMG-CoA reductase 저해 활성도는 fumaric acid(28.94%) > citric acid(6.78%) > malic acid(1.01%)순으로 HMG-CoA reductase 저해 활성을 나타내었다. 오디의 에틸 아세테이트 분획물 10 mg/mL에 대한 HMG-CoA reductase 저해 활성은 그림 19와 같다. 오디의 에틸 아세테이트 분획물 13(88.93%)이 가장 높은 저해 활성도를 나타내었으며, 14(73.93%) > 1(28.71%) > 4(24.67%) > 5(19.68%) > 3(17.54%) > 2(13.63%) > 12(7.80%) > 6(4.58%)순으로 HMG-CoA reductase 저해 활성을 나타내었다. 오디의 에틸 아세테이트 분획물 7, 8, 9, 10, 11은 HMG-CoA reductase 저해 활성을 나타내지 않았다. 오디의 부탄올 분획물 10 mg/mL에 대한 HMG-CoA reductase 저해 활성은 그림 20과 같다. 오디의 부탄올 분획물 4(122.5%)이 가장 높은 저해 활성도를 나타내었으며, 7(121.43%) > 5(106.07%) > 3(99.29%) > 8(98.93%) > 2(95%) > 1(87.5%) > 6(82.5%)순으로 HMG-CoA reductase 저해 활성을 나타내었다. 오디의 부탄올의 모든 분획물이 83% 이상의 높은 HMG-CoA reductase 저해 활성을 나타내었다. 오디의 에탄올 분획물 10 mg/mL에 대한 HMG-CoA reductase 저해 활성은 그림 21과 같다. 오디의 에탄올 분획물 5(133.21%)이 가장 높은 저해 활성도를 나타내었으며, 7(121.07%) > 6(105%) > 4(97.86%) > 1(97.5%) > 2(94.29%) > 3(82.5%)순으로 HMG-CoA reductase 저해 활성을 나타내었다. 오디의 부탄올의 모든 분획물이 83% 이상의 높은 HMG-CoA reductase 저해 활성을 나타내었으며, 에탄올 분획물 5(133.21%)는 모든 시료 중 가장 높은 HMG-CoA reductase 저해 활성을 나타내었다.

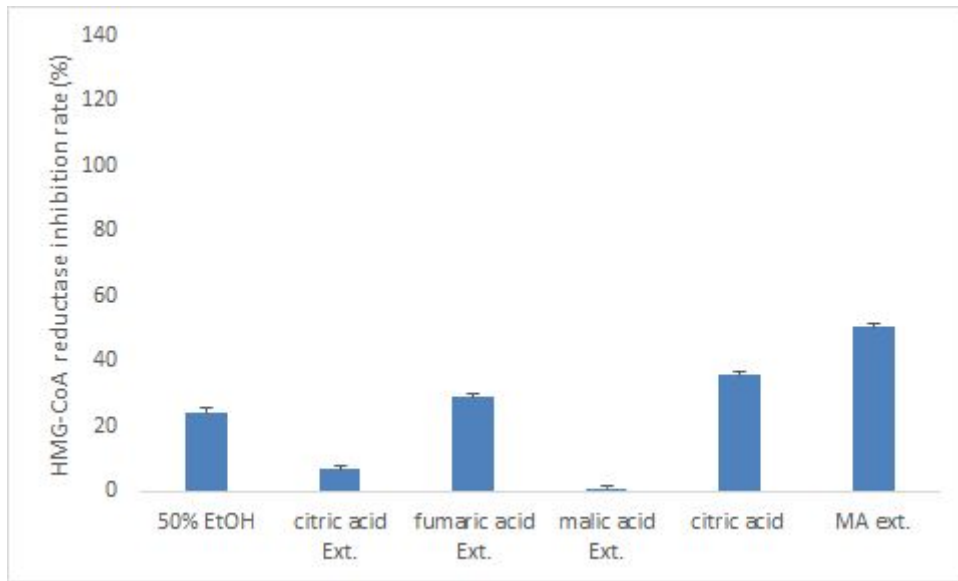


그림 18. 에탄올 오디 추출물 및 산첨가 오디 추출물의 HMG-CoA reductase 저해 활성

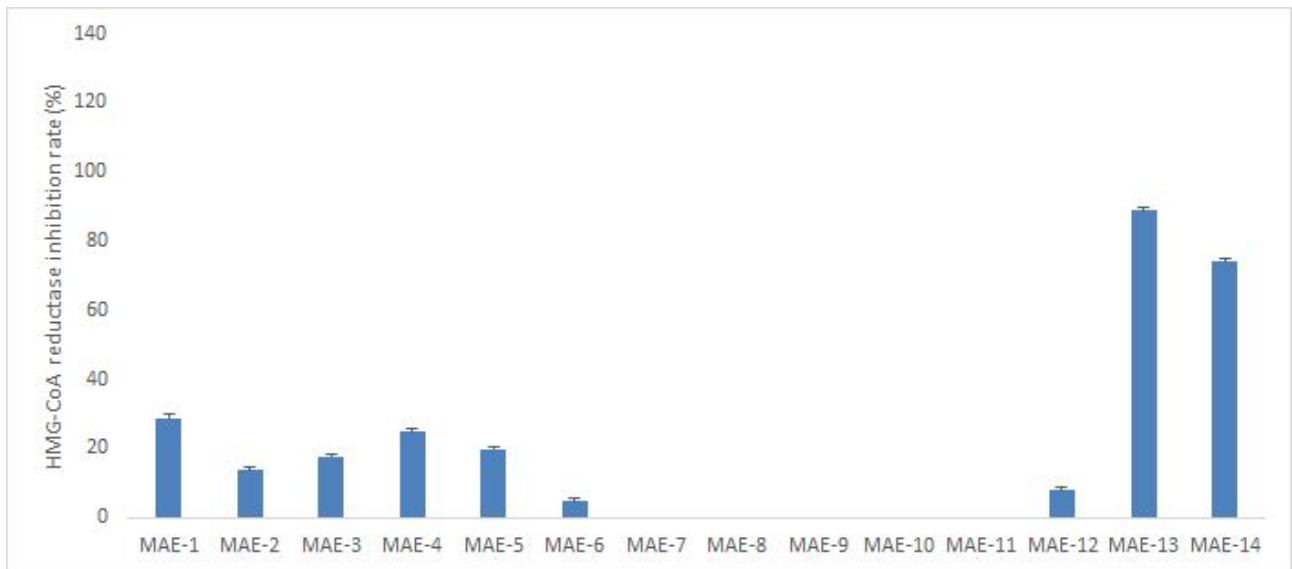


그림 19. 오디의 에틸 아세테이트 분획물에 대한 HMG-CoA reductase 저해 활성

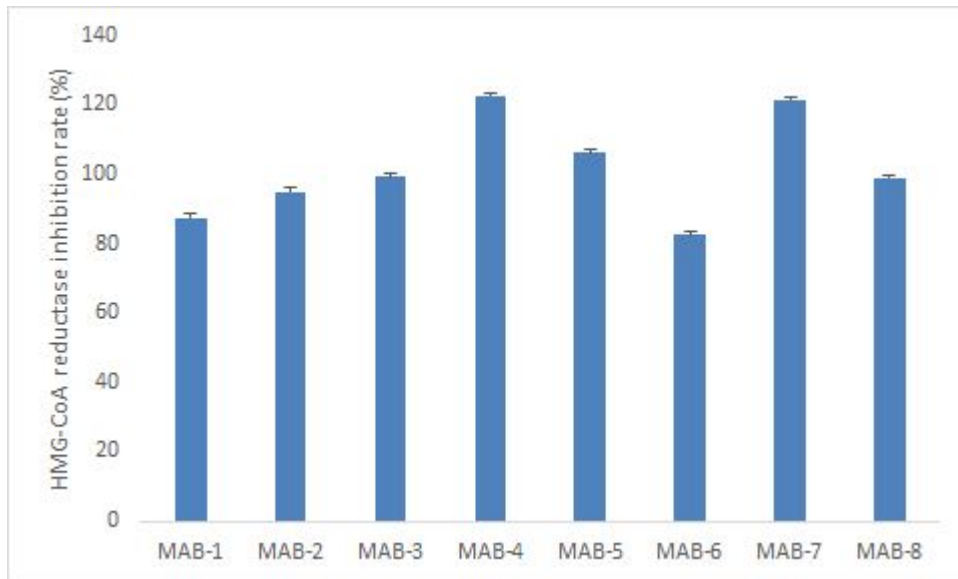


그림 20. 오디의 부탄을 분획물에 대한 HMG-CoA reductase 저해 활성

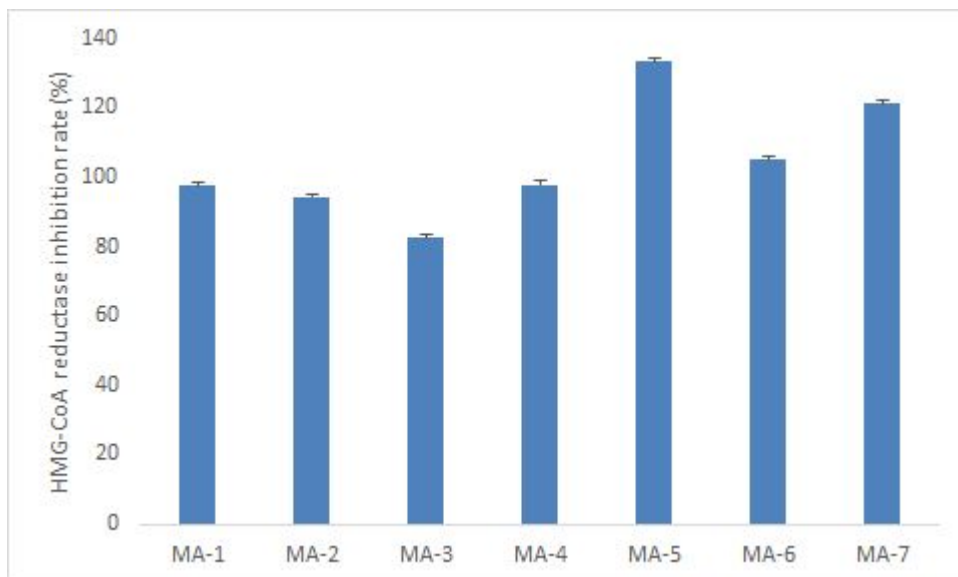


그림 21. 오디의 에탄올 분획물에 대한 HMG-CoA reductase 저해 활성

다. F1B Golden Syrian hamster를 이용한 오디의 항동맥경화 효과 검증

(1) 체중과 식이섭취량의 변화

오디 추출물의 경구투여가 동맥경화유발식이(식이 구성 조성표 표 92)를 섭취한 햄스터의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 체중의 변화를 측정된 결과는 그림 22와 같다. 실험 시작 시에 모든군은 110-120 g 내외의 체중으로 동일하게 시작되었으나, 오디 추출물을 투여하지 않은 동맥경화유발 사료만을 섭취한 AC군의 체중은 정상대조군에 비해 실험이 진행되는 동안 가장 높게 증가하였다. 500 mg/kg 오디 추출물 투여군은 정상대조군에 비해 실험이 진행되는 동안 점차로 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나, 1000 mg/kg 오디 추출물 투여군은 정상대조군에 비해 체중이 4주 이후부터 급격히 감소하여 체중감소 효과가 있는 것으로 판단되었다.

(2) 혈중 지질성분의 변화

오디 추출물이 동맥경화를 유발시킨 햄스터의 혈중 지질성분에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 non HDL 콜레스테롤 수치를 분석한 결과는 표 93과 같다. 혈중의 중성지방은 정상식이를 급여한 NC군이 동맥경화유발식을 섭취한 AC군에 비해 1.7배 낮은 수치를 나타내었으며, 1000 mg/kg 오디 추출물을 투여한 S10은 동맥경화유발 식이를 섭취한 AC군에 비해 1.5배 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 500 mg/kg 오디 추출물을 투여한 S5는 AC군과 유의적 차이를 나타내지 않았다. 혈중 총 콜레스테롤 함량은 정상식이를 급여한 NC군이 동맥경화유발식을 섭취한 AC군에 비해 1.6배 낮은 수치를 나타내었으며, 1000 mg/kg 오디 추출물을 투여한 S10은 동맥경화유발 식이를 섭취한 AC군에 비해 1.1배 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 500 mg/kg 오디 추출물을 투여한 S5는 AC군과 유의적 차이를 나타내지 않았다. 혈중 HDL 콜레스테롤 수치는 정상식이를 급여한 NC군이 동맥경화유발식을 섭취한 AC군에 비해 1.5배 낮은 수치를 나타내었으며, 500, 1000 mg/kg 오디 추출물을 투여한 S5와 S10군은 AC군과 유의적 차이를 나타내지 않았다. Non HDL 콜레스테롤 함량은 혈중 총 콜레스테롤 함량에서 HDL 콜레스테롤 함량을 뺀 값으로 NC군이 AC군에 비해 1.9배 낮은 수치를 나타내었으며, 1000 mg/kg 오디 추출물을 투여한 S10은 동맥경화유발 식이를 섭취한 AC군에 비해 1.3배 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 500 mg/kg 오디 추출물을 투여한 S5는 AC군과 유의적 차이를 나타내지 않았다. 위의 혈액 중 지질성분 결과를 토대로 동맥경화지수와 심장위험지수를 계산한 결과는 표 94와 같다. 동맥경화지수는 체내 고밀도 지단백질에 대한 중성지방의 농도를 대표하는 값이며, 심혈관위험지수는 심혈관질환에 대한 위험 신호로 사용되고 있다. NC군의 동맥경화지수는 AC군에 비해 1.3배 낮은 수치를 나타내었으며, S10 역시 AC군에 비해 1.3배 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 S5군은 AC군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. NC군의 심혈관위험지수는 AC군에 비해 1.8배 낮은 수치를 나타내었다. S5군과 S10군은 AC군에 비해 1.7배와 1.8배 낮은 수치를 나타내었다. 이 결과는 1000 mg/kg 오디 추출물 투여군이 혈중 지질 성분을 유의적으로 감소시키는 효과가 있음을 보여주는 것이다.

(3) 햄스터 체내 장기의 무게변화와 간의 변화

오디 추출물의 투여가 동맥경화를 유발한 햄스터의 장기무게에 미치는 영향을 알아보기 위해 간, 심장, 신장 및 비장을 적출하여 무게를 측정된 결과는 표 95와 같다. 간의 무게는 NC군에 비해 AC군이 1.4배 유의적으로 높게 나타났으며, S10군은 AC군에 비해 1.2배 낮게 나타났다. 신장은 정상대조군을 제외하고 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 심장과 비장은 모든 군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

표 92. 동맥경화 유발 식이의 구성 조성표 (g/kg diet)

구성	group	NC	AC, S5, S10
Casein		200	200
DL-Methionine		3	3
Corn starch		150	150
Sucrose		500	500
Cellulose		50	50
Corn oil		50	50
Salt Mix		35	35
Vitamin Mix		10	10
Choline bitartrate		2	2
Coconut oil		-	100
Cholesterol		-	1

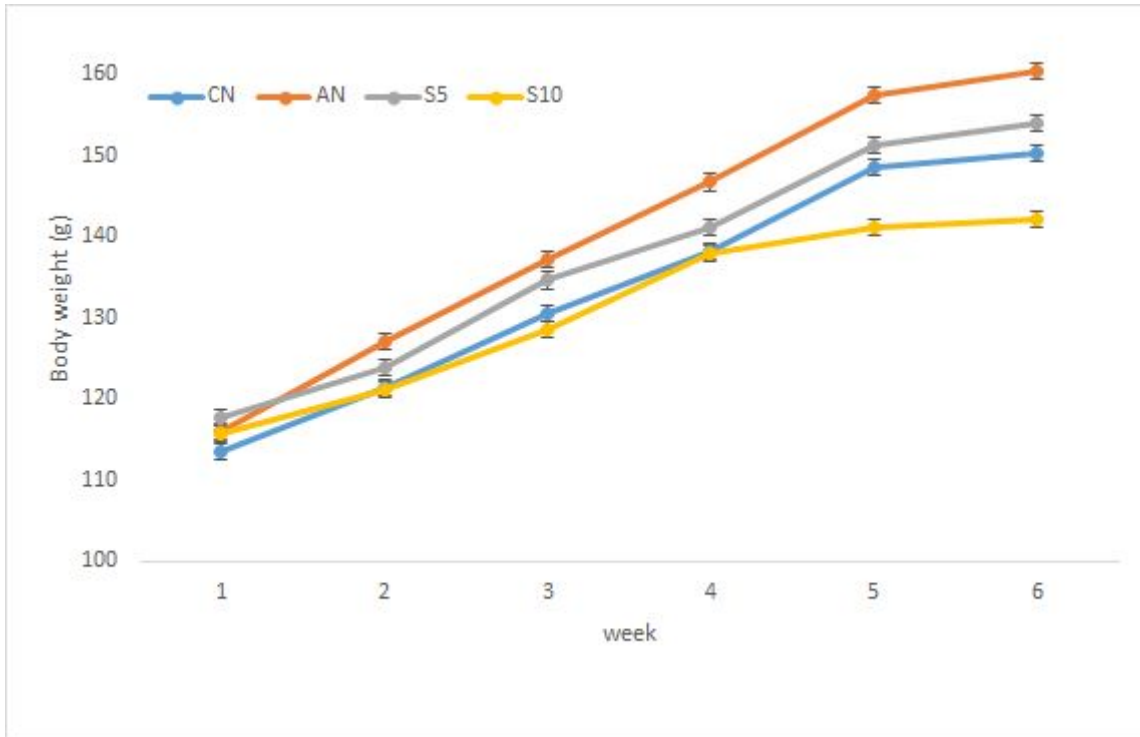


그림 22. F1B Golden Syrian hamster의 무게 변화

표 93. 오디추출물 경구투여에 따른 F1B Golden Syrian hamster의 혈중 지질성분의 변화

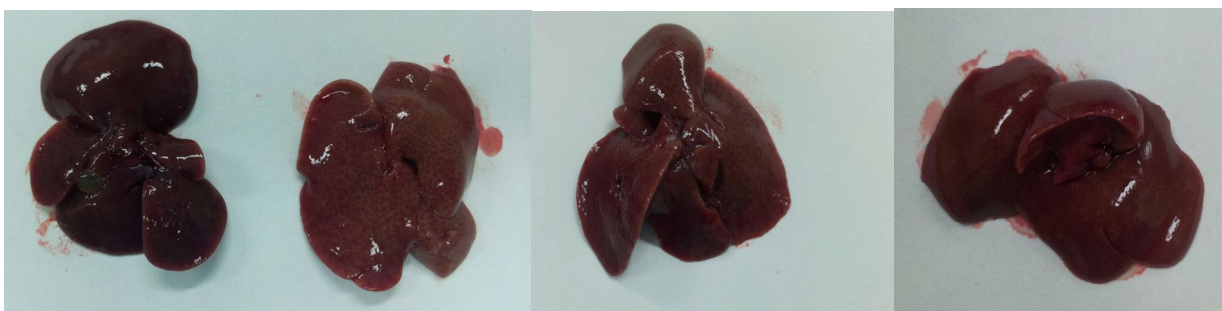
(mg/dL)	Triglyceride	Total cholesterol	HDL cholesterol	Non HDL cholesterol
NC	305.0±56.06c	142.0±11.31c	97.8±5.64b	44.17±8.43c
AC	499.5±213.91a	227.3±45.27a	144.7±17.81a	82.7±29.63a
S5	481.7±160.10a	227.7±22.17a	145.8±9.74a	81.8±15.12a
S10	346.2±132.12b	208.3±32.63b	144.8±16.90a	63.5±16.32b

표 94. 오디추출물 경구투여에 따른 F1B Golden Syrian hamster의 동맥경화지수와 심장위험지수

	Athergenic index	Cardiac risk factor
NC	0.451±0.058b	1.451±2.006b
AC	0.571±0.190a	2.541±2.542a
S5	0.561±0.086a	1.561±2.278b
S10	0.438±0.110b	1.438±1.931b

표 95. 오디추출물 경구투여에 따른 F1B Golden Syrian hamster의 간, 심장, 신장, 비장의 무게의 변화

(g/100g b.w.)	Liver	Heart	Kidney	Pancreas
NC	3.32±0.79c	0.23±0.03a	0.59±0.08b	0.11±0.01a
AC	4.64±0.88a	0.23±0.03a	0.65±0.04a	0.13±0.03a
S5	4.31±0.70a	0.23±0.03a	0.67±0.07a	0.14±0.03a
S10	4.03±0.87b	0.24±0.05a	0.63±0.06a	0.15±0.02a



정상대조군 동맥경화유발식이군 500 mg/kg 오디추출물 경구투여군 1000 mg/kg 오디추출물 경구투여군

그림 23. 오디 추출물 경구투여에 따른 F1B 햄스터 간의 형상

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연구개발목표의 달성도

구분	연도	세부연구개발 목표	달성도	평가의 착안점 및 기준
1차 년도	2011	오디를 이용한 음료, 농축액 개발	100%	- 제품의 컨셉 선정 및 prototype 배합비 개발 - 기존 음료의 문제점 도출 - 기능성 첨가물 활용한 고품질 음료 및 농축액 개발 - 관능검사를 통한 품질 제고 - Ohmic heating을 이용한 음료 및 농축액 가공 및 살균 효율성 증대기술 개발
		오디를 이용한 원형유지 오디 병조림 개발	100%	- 오디 원형 유지를 위한 전처리 조건 확립 - 병조림 제조를 위한 당액 개발 - 품질 및 살균특성 시험
		오디의 혈액 순환기계 효과검증	100%	-ACE 저해효과, HMG-CoA 저해효과에 대한 <i>in vitro</i> test
2차 년도	2012	오디를 이용한 면류 개발	100%	- 면 개발을 위한 배합비 조사 - 면 제조 및 물성 조사 - 관능검사를 통한 품질 제고
		감압증발 기술을 이용한 건조오디개발	100%	- 건조오디 개발을 위한 원적외선 조건 확립 - 건조오디 개발을 위한 감압증발 조건 확립 - 오디 건조품에 대한 복원력 시험 및 관능검사
		반건조 오디제품 개발	100%	- 건조오디 적합 당류 및 당농도 선정 시험 - 건조방법 등 건조조건 확립 시험 - 최적 배합비 선정 및 분리유 선정시험
		오디 푸딩 제품 개발	100%	- 푸딩 제품 물성 조사 - 관능검사를 통한 품질 제고
		식품 첨가물 등으로 활용 가능한 오디 건조분말 개발	100%	- 용도별 오디 건조분말 개발 (음료용, 첨가물용 등) 및 적용실험 - 유기산을 이용한 색소 안정화 조건 설정 - 스프레이 코팅을 통한 오디 건조분말의 고품질화 - 관능검사를 통한 품질 제고
		오디의 혈액 순환기계 효과 검증	100%	- 혈전용해활성에 대한 <i>in vitro</i> test
3차 년도	2013	오디 소스 개발	100%	- 샐러드용, 스테이크용, 시럽용 등 소스 개발 - 관능검사를 통한 품질 제고
		기능성 오디 타블렛(정) 개발	100%	- 주원료 함량별 배합비 및 부원료 선정시험 - 원료의 추출 및 분말화 등 전처리 시험 - 적정 타블렛의 크기, 중량 및 강도 시험
		식품 첨가물 등으로 활용 가능한 오디천연색소의 개발	100%	- 천연색소의 소재화 - 제품 적용 실험 - 초음파 등을 이용한 천연색소 추출효율성 증대 기술 개발
		오디의 혈액 순환기계 효과 검증	100%	- 혈액순환기계 관련 <i>in vivo</i> 효과 검증
최종 평가		참여기업을 위한 맞춤형 공정 개발	100%	- 고부가가치 오디 가공 제품 개발 및 기술이전

제 2 절 관련 분야의 기술발전예의 기여도

- 오디의 상품화율 제고로 생산 농민의 소득증대에 기여함
- 냉동 오디의 안정적 비축을 통하여 오디를 소재로 한 건강 기능식품 산업 활성화
- 새로운 소득 작목으로 부상하고 있는 오디의 생산 및 유통기반을 강화함
- 오디의 상품화 촉진으로 친환경 고부가가치 기능성 양잠산업 육성에 기여함
- 오디의 가공제품 개발 및 홍보를 통해 오디 생산 농가 및 가공제품 생산기업의 경제적 이윤 확대
- 최근 수입이 확대되고 있는 베리류 제품을 대체할 수 있어 국가경제에도 도움이 될 것으로 판단됨
- 국내소비 뿐 만 아니라 수출 상품화가 가능할 것으로 예측됨
- 참여기업에 기술이전을 실시하여 산업화하고 전국의 오디 관련 업체에도 홍보를 통해 기술이전을 실시
- 저명 전문 학술지에 연구결과 게재하여 기능성 성분 및 활성 공지
- 항산화 활성을 갖는 다른 소재로의 연구 개발 활용

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과

1. 학술 발표

발표일자 (년.월.일)	발표논문명	행사명	행사 장소	구분 *	영문 국문
2012. 06. 14	Optimizing the Hot-water Extraction Conditions for mulberry Fruit Using Response Surface Methodology	한국식품과학회	대전 컨벤션 센터	포스터	영문
2012. 06. 14	Effect of Aqueous Calcium Oxide Treatment on Product Quality and Shelf-life of Mulberry Fruit	한국식품과학회	대전 컨벤션 센터	포스터	영문
2012. 11. 01	Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Gamju, Korean traditional beverage, Added Concentrated Mulberry Fruits Extract	한국식품영양과학회	제주국제컨벤션센터	포스터	영문
2012. 11. 01	Optimization of manufacturing methods of bottled Mulberry Fruits	한국식품영양과학회	제주국제컨벤션센터	포스터	영문
2012. 11. 01	Ohmic and Conventional Heating of Mulberry Fruits Juice: Physicochemical Properties and Antioxidant Activity	한국식품영양과학회	제주국제컨벤션센터	포스터	영문
2013. 8. 29	Physicochemical Properties and antioxidant activity study of Gamju with Commercial Freezed Berries	한국식품과학회 학술대회	천안 휴리클리조트	포스터	영문
2013. 8. 29	Comparison of Proximate Composition and antioxidant activity study of Gamju with Pigmented Rice	한국식품과학회 학술대회	천안 휴리클리조트	포스터	영문
2013. 8. 29	Study of Cooking Scientific Characteristics of the Berries from old Korean Cookbooks	한국식품과학회 학술대회	천안 휴리클리조트	포스터	영문
2014. 8. 27	Preparation of Rutin-Enriched MulberryFruits Juice from Ultrasonication Treated Mulberry Fruits	한국식품과학회	광주 김대중 컨벤션센터	포스터	영문
2014. 8. 27	Preparation of resveratrol-enriched mulberry fruits juice from ultrasonication treated mulberry fruits(MorusalbaL.)	한국식품과학회	광주 김대중 컨벤션센터	포스터	영문

2. 논문

게재일자 (년.월.)	논문명	학술지명 (권,호,쪽)	SCI(E)	영문 국문
2014. 2.	한국고문헌(1400년대-1800년대) 및 근대문헌(1900-1940년대)에 나타난 장과류(베리류)의 종류 및 조리방법에 대한 문헌	한국식생활문화학회지(29, 1, 26-43)		국문
2014. 2.	비가열,재래식 및 통전가열한 오디주스의 품질 평가적 고찰	동아시아식생활학회지(24, 1, 80-91)		영문

3. 특허

출원 또는 등록일자 (년.월.일)	구분		제 목	특허/실용신안 (출원 또는 등록번호)	국가명 *
	출원	등록			
2012. 06. 14	o		원형유지 오디 당절임 및 그 제조 방법	특허 (10-2012-0063467)	한국
2012. 09. 06	o		당화시간이 단축된 식혜의 제조방법 및 이에 의해 제조된 식혜	특허 (10-2012-0098803)	한국
2013. 3. 11	o		원형유지 오디를 포함하는 오디푸딩의 제조방법 및 이에 의해 제조된 오디푸딩	특허 (10-2013-0025687)	한국
2013. 6. 13	o		감압건조기술을 이용한 천연 오디 스낵 및 이의 제조방법	특허 (10-2013-0067837)	한국
2014. 7. 3	o		저온에서 당화된 식혜의 제조방법 및 이에 의해 제조된 식혜	특허 (10-2014-0082969)	한국
2013. 7. 31		o	원형유지 오디 당절임 및 그 제조방법	특허 (10-1293489)	한국
2014. 2. 4		o	원형유지 오디를 포함하는 오디푸딩의 제조방법 및 이에 의해 제조된 오디푸딩	특허 (10-1360836)	한국
2014. 5. 29		o	당화시간이 단축된 식혜의 제조방법 및 이에 의해 제조된 식혜	특허 (10-1404229)	한국

4. 홍보

- o 오디 원형 유지 당절임 기술개발, 2014. 6. 12, 아시아투데이 등 6개 매체 게재

5. 기술이전

- o 2014년 9월 5일 현재 1세부과제 참여기업인 농업회사법인 (주)수주촌과 무상기술이전을 위한 서류를 제출한 상태이며 10월 중 기술이전 할 계획임

제 2 절 성과활용 계획

- o 2014년 9월 5일 현재 1세부과제 참여기업인 농업회사법인 (주)수주촌과 무상기술이전을 위한 서류를 제출한 상태이며 10월 중 기술이전 할 계획임
- o 2014년 하반기 내 ‘초음파 처리에 따른 오디의 유효성분 함량 증대 기술’ 특허 출원 2건 예정임
- o 2014년 하반기 내 ‘산화칼슘을 이용한 오디의 소독효과’ 및 ‘초음파 처리에 따른 오디의 유효성분 함량 증대 기술’ 등 논문 3건 게재 예정임

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1 절 해외 논문

- 북세비아 지역 오디의 phytochemical의 특성 및 성분 분석 (2014, Food Chemistry)
- 중국산 오디의 품종별 주스의 항산화 및 항피로 효과 (2013, Food and Chemical Toxicology)
- 중국산 오디의 chlorine dioxide 처리에 따른 영양성분 및 저장성 평가 (2011, Journal of Bioscience and Bioengineering)
- 태국산 오디의 안토시아닌 안정성 연구 (2010, Food Research International)
- 터키산 오디의 sun drying 전처리 효과 (2004, Journal of Food Engineering)
- 중국산 오디의 숙성에 따른 항산화 효과 (2013, Scientia Horticulturae)

제 2 절 해외 특허

- 젓산 발효 오디 주스 제조법 (일본)
- 오디 식초 (중국)
- 오디 우유 음료 (중국)
- 인스턴트 오디 분말 (중국)
- 오디 아이스크림 제조법 (중국)
- 오디 케이크 제조법 (중국)

제 7 장 참고문헌

Donggeuhak Institute, Donggeubogam (Oriental Medicin, original author: Hur, J.) p. 2803. Ryo-gang Pub. Co., Seoul, Korea (1994)

Go KC. Studies on productivity and utilization of mulberry fruits for change into new fruit tree crop, studies on quality and quantity improvement and utilization of mulberry fruits (I). Rural development Administration. (1994)

Kangjoshineuihakwon. Jungyakdaesajon. Sohakkwyan, Sanghai, China. p. 3717 (1985)

Kim SK. Bonchohak. Chapter 17, p. 598. In: Beneficial Medicine, Mulberry Fruit, Younglimsa, Seoul, Korea (1991)

Lee Ji Sun, Synytsya Andriy, Kim Hyun Bok, Choi Doo Jin, Lee Seu, Lee Jisun, Kim Woo Jung, Jang SeongJae, Park Yong Il. Purification, characterization and immunomodulating activity of a pectic polysaccharide isolated from Korean mulberry fruit Oddi (*Morus alba* L.). *International Immunopharmacology*. 17(3): 858-866 (2013)

Liu Chieh-Jung, Lin Jin-Yuarn. Anti-inflammatory effects of phenolic extracts from strawberry and mulberry fruits on cytokine secretion profiles using mouse primary splenocytes and peritoneal macrophages. *International Immunopharmacology*. 16(2): 165-170 (2013)

Liu Chieh-Jung, Lin Jin-Yuarn. Anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of strawberry and mulberry fruit polysaccharides on lipopolysaccharide-stimulated macrophages through modulating pro-/anti-inflammatory cytokines secretion and Bcl-2/Bak protein ratio. *Food and Chemical Toxicology*. 50(9): 3032-3039 (2012)

Jiang Dong-Qing, Guo Ying, Xu Dian-Hong, Huang Ya-Si, Yuan Ke, Lv Zhi-Qiang. Antioxidant and anti-fatigue effects of anthocyanins of mulberry juice purification (MJP) and mulberry marc purification (MMP) from different varieties mulberry fruit in China. *Food and Chemical Toxicology*. 59: 1-7 (2013)

Yang Xiaolan, Yang Lei, Zheng Haiying. Hypolipidemic and antioxidant effects of mulberry

(*Morus alba* L.) fruit in hyperlipidaemia rats. *Food and Chemical Toxicology*. 48(8-9): 2374-2379 (2010)

Chen Zhao, Zhu Chuanhe, Han Ziqiang. Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on nutritional components and shelf-life of mulberry fruit (*Morus alba* L.). *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 111(6): 675-681 (2011)

Aramwit Pornanong, Bang Nipaporn, Srichana Teerapol. The properties and stability of anthocyanins in mulberry fruits. *Food Research International*. 43(4): 1093-1097 (2010)

Lou Heqiang, Hu Ya, Zhang Lingying, Sun Peng, Lu Hongfei. Nondestructive evaluation of the changes of total flavonoid, total phenols, ABTS and DPPH radical scavenging activities, and sugars during mulberry (*Morus alba* L.) fruits development by chlorophyll fluorescence and RGB intensity values. *LWT - Food Science and Technology*. 47(1): 19-24 (2012)

Kang Tong Ho, Hur Jin Young, Kim Hyun Bok, Ryu Jong Hoon, Kim Sun Yeou. Neuroprotective effects of the cyanidin-3-O- β -d-glucopyranoside isolated from mulberry fruit against cerebral ischemia. *Neuroscience Letters*. 391(3): 122-126 (2006)

Ercisli Sezai, Orhan Emine. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chemistry*. 103(4): 1380-1384 (2007)

Lin Chian-Yei, Lay Horng-Liang. Characteristics of fruit growth, component analysis and antioxidant activity of mulberry (*Morus* spp.). *Scientia Horticulturae*. 162(23): 285-292 (2013)

Pretreatment effect on sun drying of mulberry fruits (*Morus alba* L.) Original Research Article

Journal of Food Engineering, Volume 65, Issue 2, November 2004, Pages 205-209

İbrahim Doymaz

Huang Lingxia, Wu Di, Jin Hangfeng, Zhang Jiukai, He Yong, Lou Chengfu. Internal quality determination of fruit with bumpy surface using visible and near infrared spectroscopy and chemometrics: A case study with mulberry fruit. *Biosystems Engineering*. 109(4): 377-384 (2011)

Chang Ho, Lo Yu-Jen. Pomegranate leaves and mulberry fruit as natural sensitizers for dye-sensitized solar cells. *Solar Energy*. 84(10): 1833-1837 (2010)

강경수. 본초학. 오디향. 영림출판사 (1999)

강창수, 마상조, 조원대, 김진만. 오디 색소의 안정성. *한국식품영양과학회지*. 32(7): 960-964 (2003)

김상순 식품가공저장학. 수학사 (1977)

강양선, 조태옥, 홍진숙. 오디가루를 첨가한 절편의 품질특성. *한국식품조리과학회지*. 25(4): 513-519 (2009)

김애정, 김미원, 우나리아, 김명희, 임영희. 오디 추출액 첨가비율에 따른 오디편의 품질특성에 관한 연구. *한국조리과학회지*. 19(6): 708-714 (2003)

김애정, 여정숙, 방인수, 박희용, 이진순. 오디 분말을 이용한 젤리 제조 및 이화학적 특성에 관한 연구. *한국식품영양학회지*. 20(1): 27-33 (2007)

김용석, 정도영, 신동화. 오디와인의 최적 발효조건 및 발효특성. *한국식품과학회지*. 40(1): 1-7 (2008)

김인숙, 이준영, 이순재, 윤광섭, 최상원. 최소가공기술을 이용한 오디 과실주스의 제조. *한국식품과학회지*. 36(2): 321-328 (2004)

김태완, 권영배, 이장현, 양일석, 염종경, 이희삼, 문재유. 오디의 항당뇨 효능에 관한 연구. *한국잡사학회지*. 38(2): 100-107 (1996)

김현복, 김애정, 김선여. 오디의 기능성 물질 분석 및 개발 식품 동향. *식품과학과 산업*. 36(3): 49-60 (2003)

김현복, 김애정, 여정숙, 장승중. 오디 샤베트 아이스크림의 관능적 특성 및 영양성분 분석. *한국잡사학회지*. 45(2): 85-89 (2003)

김현복, 류강선. 뽕나무 품종별 오디가공제품의 관능적 특성. *한국잡사학회지*. 42(2): 73-77

(2000)

김현복, 박광준, 석영식, 김선림, 성규병, 남학우, 문재유. 황성군 일대에서 채취한 야생빵의 형태학적 특성 및 오디의 효능. 한국잡사학회지. 44(1): 4-8 (2002)

김현복, 성규병, 강석우. 오디 생산을 위한 빵나무 계통별 과실 특성 평가. 한국잡사학회지 50(S): 224-227 (2005)

김현복, 이용우, 이완주, 문재유. 청일빵 오디를 이용하여 제조된 침출주의 관능평가 및 생리활성 연구. 한국잡사학회지. 42(1): 16-20 (2001)

김현복. 오디와 포도의 안토시아닌 색소 물질 조성 비교 및 C3G 정량. 한국잡사학회지. 45(1): 1-5 (2003)

농림통계연보, <http://ebook.maf.go.kr>

박금순, 이정애, 신영자. 오디분말을 첨가한 쿠키의 품질 특성. 동아시아식생활학회지. 18(6): 1014-1021 (2008)

배재석, 이의석, 홍순택. 오디분말을 첨가한 식빵의 품질 특성. 32(2): 249-254 (2010)

양향숙, 노정옥. 산지가공 오디음료의 이화학적 특성 및 관능평가. 동아시아식생활학회지. 22(2): 1225-6781 (2012)

유승석, 정현철. 오디분말을 첨가한 파운드케이크의 품질특성, 동아시아식생활학회지. 22(2): 239-245 (2012)

이숙희, 김환규. 오디 추출물의 혈관신생 억제 효과. 생명과학회지. 18(5): 653-659 (2008)

이정애, 최상호. 오디 농축액을 첨가한 머핀의 품질 특성. 한국조리과학회지. 17(4): 285-294 (2011)

이영주, 심창환, 전순실. 오디 분말을 첨가한 Chiffon Cake의 물리적, 관능적 특성. 한국식품영양학회지. 22(4): 508-516 (2009)

이정희, 우경자, 최원석, 김애정, 김미원. 오디즙을 첨가한 녹말오디다식의 품질특성에 관한 연구. 한국조리과학회지. 21(5): 629-636 (2005)

특허정보검색서비스 [www. wipson.com](http://www.wipson.com)

홍정희, 안상희, 김미지, 박금순, 최상원, 임순재. 구연산을 첨가한 오디 설기떡의 품질 특성. 한국조리과학회지. 19(6): 777-782 (2003)

제 8 장 실적 증빙 자료

한국식생활문화학회지 29(1): 26-43, 2014
KOREAN J. FOOD CULTURE 29(1): 26-43, 2014
본 논문의 저작권은 한국식생활문화학회에 있음.
Copyright © The Korean Society of Food Culture

ISSN 1225-7060(Print)
ISSN 2288-7148(Online)
<http://dx.doi.org/10.7318/KJFC/2014.29.1.026>

한국 고문헌(1400년대~1800년대) 및 근대문헌(1900년대~1940년대)에 나타난 장과류(베리류)의 종류 및 조리방법에 대한 문헌적 고찰

양지원 · 김영호 · 박동준 · 이남혁 · 김영언*
한국식품연구원

Literature Review on Berries and Their Cooking Methods in ancient (1400s~1800s) and Modern (1900s~1940s) Literature of Korea

Ji-won Yang, Young Ho Kim, Dong-June Park, Nam Hyouck Lee, Youngeon Kim*
Korea Food Research Institute

Abstract

This study is a literature review on berries and their cooking methods that appear in ancient and modern Korean literature. Due to recent reports on berries' excellent functionality and the public's growing interest in healthy living, berries have been attracted attention as promising forms of sustenance. By structuring and classifying the types of berries and their popularity as well as recipes using berries found in ancient and modern Korean literature, this review hopes to serve as an important source that reflects both the food culture and social aspects associated with the value of berries in the lives of Korean people as well as foster understanding of the superiority of Korean food culture. This study will also have implications on the possibility of integrating antioxidant-rich berries into the modern food landscape. The study results are summarized as follows. Types of berries were classified into six types (Korean cherry, *Omija*, *Gugija*, *Bokbunja*, Black cherry, Mulberry) while cooking methods were classified into five types (Korean traditional snack, Korean traditional beverage, Liquors, Porridge, *Pilule*) in the ancient and modern literature of Korea. The aim of this literature review is to highlight the value-creating aspect of berries as food materials that can yield high added-value products. Beyond their value as healthy fruits, this study will explore the features of berries that enhance their added value and brand marketing as well as their aspects suitable for application to the modern industry of berry product development.

Key Words: Korea, Berry, Cooking Method, Literature

1. 서론

베리류는 작은 열매가 많이 모여 하나의 과실 형태를 유지하는 장과류를 총칭하는 취과를 일컫고, 분류학상 다양한 식물군을 이루고 있다. 베리류 중 섭취량이 많은 종류로는 *Vaccinium*속(*cranberry*, *blueberry*)과 *Rubus*속(*raspberry*, *blackberry*) 등이 있으며, 우리나라에서는 딸기(*strawberry*) 및 복분자(*Rubuscoreanus*)가 주로 소비되고 있다(Choi 2013). 최근, 페놀성 화합물(phenolic compounds), 특히 안토시아닌이 풍부하여 항산화 효과가 뛰어난 것이 알려짐에 따라 블루베리나 오디의 소비도 증가되고 있다(Kang 2009). 베리류는 식이섬유, 비타민류, 무기질류 및 엽산을 풍부하게 함유하고 있으며, 항암과 항염증의 질병예방에 긍정적인 효과를 나타내고 있다. 최근, 베리류의 우수한 기능성을 갖고 있다

고 밝혀지면서 여러 가지 가공제품에 대한 소비 및 제품개발과 다양한 연구가 활발히 진행되고 있다. 한 민족의 고유한 음식 문화는 그 민족이 살고 있는 자연환경과 사회 환경 속에서 오랜 기간을 걸쳐 그 지역에서 산출되는 식품을 기본 재료로 하여 음식의 조리가공법이 개발된다(Oh 1995; Lee 2000). 또한 그 민족의 정치, 경제, 문화의 변천과 발전 내용이 식생활의 유형이나 풍습에 크게 영향을 미친다(Lee 2000). 우리의 전통음식은 신석기 시대 후기 농업을 시작하던 때를 기점으로 하여 자연환경의 제약에 합리적으로 순응하고, 역대의 사회 환경 조건을 예리하게 수용하면서 약식동(藥食同意)의 관점 아래서 이루어진 것으로, 외양이 섬세하고 맛도 조화로워졌으며 영양면이나 조리 가공면에서도 매우 과학적으로 발전되어 왔다(윤 1991). 전통음식은 우리민족의 역사적 정통성을 보여주며 식문화사적 가치를 지닌 소

*Corresponding author: Youngeon Kim, Division of Metabolism and Functionality Research, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9073 Fax: 82-31-701-9876 E-mail: radog@kfri.re.kr

비가열, 재래식 및 통전가열한 오디주스의 품질 평가

양지원¹ · 한대석¹ · 이창호¹ · 박성진² · 김영언^{1,*}

¹한국식품연구원, ²한림성심대학교 관광외식조리과

Evaluation on the Quality of Fresh, Conventionally Heated and Ohmically Heated Mulberry Fruit Juice

Ji-Won Yang¹, Dae-Seok Han¹, Chang-Ho Lee¹, Sung-Jin Park² and Young-Eon Kim^{1,*}

¹Division of Metabolism and Functionality Research, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea
²Dept. of Tourism Food Service Cuisine, Hallym Polytechnic University, Chuncheon 200-711, Korea

Abstracts

The aim of this study was to establish the superiority of ohmic heating over conventional heating for the sterilization of mulberry juice. Heat treatment of fresh juice significantly reduced the concentration of soluble solids, lowered the pH, and lowered the reducing sugar content ($p < 0.01$). Color measurements showed decreases in the *L* and *a* values and increases in the *b*, *H* and *C* values after heat treatment, although the total color differences were smaller after ohmic heating than after conventional heating of fresh juice. The antioxidant capacities, such as reducing power, FRAP, and DPPH, decreased in the order of fresh juice, ohmically heated juice and conventionally heated juice. Furthermore, the anthocyanin, flavonoid, and total antioxidant capacities of the juices significantly decreased in the same order. Sensory evaluations showed no difference between fresh and ohmically heated mulberry fruit juice excluding off-flavor, whereas conventionally heated juice received significantly lower evaluations. The microbial counts were zero in the juice after either heat treatment. Thus, ohmic heat treatment can be effectively used to sterilize fresh mulberry juice to obtain good shelf life with minimal physicochemical, color, antioxidant and sensory deterioration.

Key words: Mulberry fruits, juice, ohmic heating, sterilization

Introduction

To achieve efficient production of high-quality fruit juice, it is necessary to inactivate the juice by applying high-temperature heating for a very short duration to avoid microbial spoilage. The major drawbacks of conventional heating are its low energy efficiency and long drying times. For these reasons, Halleux *et al* (2005) examined ohmic heating, where the electrical resistance of the food itself generates heat as current is passed through it, and found that it provided 82.97% energy saving while reducing the heating time by 90.95% as compared to conventional heating. Ohmic heating avoids excessive thermal damage to labile substances and thus preserves the nutritional value of the food, flavor compounds and pigments (Palaniappan & Sastry 1991). It also achieves faster inactivation of lipoxygenase, polyphenol oxidase (Vikram *et al* 2005,

Nolsoe & Undeland 2009, Sagar & Kumar 2010, Ghnimi *et al* 2008, Zareifard *et al* 2003, Castro *et al* 2004) and microbial and pectin esterase (Leizerson & Shimoni 2005a).

In addition, many reactions affecting the color of foods can take place during thermal processing (Barreiro *et al* 1997, Suh *et al* 2003), such as degradation of carotenoids (lycopene, xanthophylls, etc.), anthocyanins, and chlorophylls and browning reactions (Barreiro *et al* 1997, Lozano & Ibarz 1997, Ibarz *et al* 1999). Thus, color can be used as a quality indicator to evaluate the extent of deterioration due to thermal processing (Avila & Silva 1999) and it is also an important attribute itself, because color is usually the first property the consumer observes (Saenz *et al* 1993). Therefore, in addition to changes in the total amount of phenolic compounds, color changes have an important role in explaining the changes occurring in food structures. Of particular concern regarding damage due to heat treatment are deep-colored fruits and vegetables rich in phenols including flavonoids, anthocyanins, and carotenoids, which have significant antioxidant capacities and thus play a poten-

* Corresponding author : Young-Eon Kim, Tel : +82-31-780-9073, Fax : +82-31-701-9876, E-mail : radog@kfri.re.kr

관인생략 출원번호통지서

출원일자 2012.06.14
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(3390)
 출원번호 10-2012-0063467 (접수번호 1-1-2012-0471667-53)
 출원인명칭 한국식품연구원(3-1998-007755-3)
 대리인성명 특허법인 총현(9-2010-100021-9)
 발명자성명 김영언 김영호 이남혁 이창호 차환수 구경형 하상근 양지원
 발명의명칭 원형유지 오디 당절임 및 그 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

2012-06-14

관인생략 출원번호통지서

출원일자 2012.09.06
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(3547)
 출원번호 10-2012-0098803 (접수번호 1-1-2012-0720800-15)
 출원인명칭 한국식품연구원(3-1998-007755-3)
 대리인성명 특허법인 총현(9-2010-100021-9)
 발명자성명 김영언 김영호 이남혁 이창호 양지원 백남인 홍억기
 발명의명칭 당화시간이 단축된 식혜의 제조방법 및 이에 의해 제조된 식혜

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

2012-09-06

관 인 생 략
출원번호통지서

출원일자 2013.03.11
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(3978)
출원번호 10-2013-0025687 (접수번호 1-1-2013-0210022-61)
출원인명칭 한국식품연구원(3-1998-007755-3)
대리인성명 특허법인 총현(9-2010-100021-9)
발명자성명 김영언 김영호 이남혁 이창호 양지원 한대석 박동준 차환수
발명의명칭 원형유지 오디를 포함하는 오디푸딩의 제조방법 및 이에 의해 제조된 오디푸딩

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
* 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
* 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
* 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
* 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
* 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
* 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

관인생략
출원번호통지서

출원일자 2013.06.13
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(4219)
출원번호 10-2013-0067837 (접수번호 1-1-2013-0526282-92)
출원인명칭 한국식품연구원(3-1998-007755-3)
대리인성명 특허법인 총현(9-2010-100021-9)
발명자성명 김영연 김영호 이남혁 이창호 양지원 한대석 박동준 차환수
발명의명칭 감압 건조기술을 이용한 천연 오디 스낵 및 이의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2014.07.03
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(5233)
 출원번호 10-2014-0082969 (접수번호 1-1-2014-0627755-12)
 출원인명칭 한국식품연구원(3-1998-007755-3)
 대리인성명 특허법인 총현(9-2010-100021-9)
 발명자성명 김영언 김영호 이남혁 이창호 양지원 한대석 박동준 김동만 차환수
 발명의명칭 저온에서 당화된 식혜의 제조방법 및 이에 의해 제조된 식혜

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.



특 허 증

CERTIFICATE OF PATENT

특 허 제 10-1293489 호	출원번호 (APPLICATION NUMBER)	제 2012-0063467 호
(PATENT NUMBER)	출원일 (FILING DATE:YY/MM/DD)	2012년 06월 14일
	등록일 (REGISTRATION DATE:YY/MM/DD)	2013년 07월 31일

발명의명칭 (TITLE OF THE INVENTION)
원형유지 오디 당절임 및 그 제조방법

특허권자 (PATENTEE)
한국식품연구원(130122-0*****)
경기도 성남시 분당구 안양판교로1201번길 62 (백현동)

발명자 (INVENTOR)
등록사항란에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록
되었음을 증명합니다.

(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN
INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)

2013년 07월 31일



특 허 청 장 김 영

COMMISSIONER, THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE



연차등록료 납부일은 실정등록일 이후 4년차부터 매년 07월 31일까지이며 등록원부로 권리관계를 확인바랍니다.



특 허 증

CERTIFICATE OF PATENT

특 허 제 10-1360836 호 (PATENT NUMBER)	출원번호 (APPLICATION NUMBER)	제 2013-0025687 호
	출원일 (FILING DATE:YY/MM/DD)	2013년 03월 11일
	등록일 (REGISTRATION DATE:YY/MM/DD)	2014년 02월 04일

발명의명칭 (TITLE OF THE INVENTION)
원형유지 오디를 포함하는 오디푸딩의 제조방법 및 이에 의해 제조된 오디푸딩

특허권자 (PATENTEE)
한국식품연구원(130122-0*****)
경기도 성남시 분당구 안양판교로1201번길 62 (백현동)

발명자 (INVENTOR)
등록사항관에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록
되었음을 증명합니다.

(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN
INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)

2014년 02월 04일

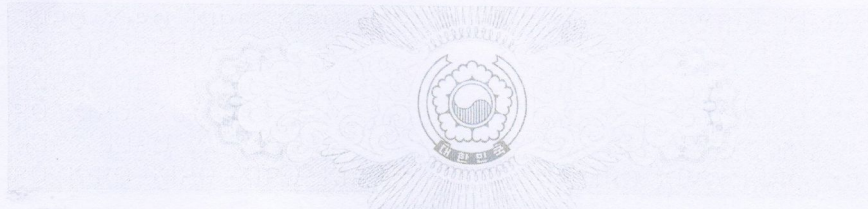


특 허 청 장 김 영

COMMISSIONER, THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE



연차등록료 납부일은 실정등록일 이후 4년차부터 매년 02월 04일까지이며 등록원부로 권리관계를 확인바랍니다.



특 허 증

CERTIFICATE OF PATENT

특 허 제 10-1404229 호 출원번호 제 2012-0098803 호
(PATENT NUMBER) (APPLICATION NUMBER)
출원일 2012년 09월 06일
(FILING DATE:YY/MM/DD)
등록일 2014년 05월 29일
(REGISTRATION DATE:YY/MM/DD)

발명의명칭 (TITLE OF THE INVENTION)
당화시간이 단축된 식혜의 제조방법 및 이에 의해 제조된 식혜

특허권자 (PATENTEE)
한국식품연구원(130122-0*****)
경기도 성남시 분당구 안양판교로1201번길 62 (백현동)

발명자 (INVENTOR)
등록사항관에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록
되었음을 증명합니다.

(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN
INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)

2014년 05월 29일



특 허 청 장 김 영
COMMISSIONER, THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE



연차등록료는 2017년부터 매년 05월 29일까지 납부하여야 하며, 등록원부로 권리관계를 확인바랍니다.

[오디 고부가가치 개발 시제품]



<오디음료> <오디주스> <오디식혜> <오디 병조림>



<오디푸딩>

<오디스낵>

<반건조오디>



<오디콩포트소스> <오디스테이크소스> <오디샐러드소스> <오디 타블렛>

제2세부: 오디의 고품질 유지를 위한 수확후 관리기술 개발

세부연구기관명 : 한국식품연구원
세부연구책임자 : 김 동 만
연 구 원 : 정 문 철
연 구 원 : 홍 석 인
연 구 원 : 이 호 준
연 구 원 : 이 현 희
연 구 원 : 박 주 현

요 약 문

I. 제 목: 오디의 고품질 유지를 위한 수확 후 관리기술개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

오디의 재배 및 생산량 증가와 더불어 그 이용가치가 부각되면서 생과로서의 유통이 활발해지고 있는데, 오디 생과는 과육이 연하고 수분을 다량 함유함에 따라 수확 후 품질저하가 급격히 발생하여 유통 및 저장에 어려움이 크나 이에 관련된 기술의 축적도가 매우 낮다. 본 연구는 오디의 신선도 및 고품위 유지를 위해 수확단계 부터 유통단계까지 전반에 걸친 관련 단위처리기술을 개발하고 이를 체계화하여 실용적이고 효과적인 수확 후 관리 시스템 구축을 목표로 하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

○수확현장에서의 처리기술개발

- 산지유통과정별 품질 손실률 조사
- 수확현장에서 오디의 선도 유지를 위한 용기 및 간이냉각 처리기술개발
- 수확시기 결정을 위한 속도연구
- 수확 현장에서의 품온 관리기술 연구

○생과용 오디의 유통기간 연장기술 개발

- 적정 저장온도 설정연구
- 신속 저온처리기술 개발
- Active MAP 처리기술 개발
- 소비자 지향 내포장재 단위 및 구조개발
- 단열처리를 위한 포장기술 연구
- 단위별 개발기술의 종합적용 및 실증실험

○오디의 냉동처리 및 냉동저장기술 개발

- 직접소비용 오디의 과립 원형유지를 위한 동결처리기술개발
- 가공용 오디의 적정 동결처리기술 개발
- 오디의 냉동저장 중 품질열화 억제기술 개발
- 냉동오디의 품질 및 온도관리를 위한 포장기술 구축

○오디의 수확 후 관리 및 유통기술 표준 매뉴얼 개발

- 수확방법, 수확 후 산지보관방법, 산지유통방법, 선별장에서의 작업공정 및 포장방법

IV. 연구개발 결과

○수확현장에서의 처리기술개발

- 오디의 유통 중 품질 손상율을 조사하였던바 외형적 손상 발생율은 평균 6.67-20.0%범위로, 대부분 오디 과일 중간부위의 손상이 다른 부위에 비해 압도적으로 높았다. 이러한 결과는 오디의 수확은 수작업으로 완숙과를 위주로 수확하며, 수확용기의 부적합, 작업자의 손에 의한 오디 표면의 손상이 주요인으로 분석되었다. 이를 방지키 위해서는 작업 시 사용하는 장갑, 수확용기의 개선이 필요한 것으로 나타났다. 작업자의 장갑은 가능한 얇고 작업이 편리한 라텍스 계통의 얇은 장갑이, 수확 용기는 기존 4-5리터의 바스켓타입의 용기 보다는 작은 바구니가 보다 효과적인 것으로 조사되었다.
- 수확된 오디는 선별 포장 과정을 거치는데, 이를 위한 수확후 현장 대기시간이 길고, 선별 시 용량이 큰 수확용기로부터 소분하는 과정을 거침에 따라 오디의 과육 손상이 크게 발생한다. 이를 개선키 위해서는 수확, 선별 포장 단계를 일원화하여, 이러한 단계를 줄이기 위해 수확 시 유통용 소포장 상자를 직접 사용하는 것이 바람직한 것으로 판단되었다.
- 오디의 과육 손상 정도는 오디의 속도와 밀접한 관계가 있는데 속도가 높을수록 손상발생률이 높아, 속도가 80%정도인 오디는 0.3-1.0%로, 90% 속도 오디의 2.8-4.7%, 100%속도 오디의 4.4-11.1%에 비해 손상율이 매우 낮았다. 속도에 따른 오디의 기호도를 조사하였던바 중·장년층은 완숙과를, 젊은 층은 90% 정도 속도의 오디를 선호하였다. 따라서 100%인 완숙과 보다는 90% 정도 속도의 오디를 수확하는 경우 과피 손상을 상당히 줄일 수 있으며, 포장 작업시 조직 손상이 덜 발생하며, 유통기간도 완숙과에 비해 더 연장되는 잇점을 얻을 수 있는 것으로 판단되었다.
- 조사결과, 오디는 수확 후 이송, 선별, 포장 과정을 거치는 시간은 오디의 수확량 대비 선별 포장 처리량과 포장 방법에 의해 결정되는데 대부분 수확후 30분-1시간 이내 포장작업이 이루어지며, 포장후 냉장시설까지 이송되는데 소요되는 시간은 최소 1시간 최대 4시간에 걸렸다. 수확된 오디의 품온은 외기의 온도보다 1.2-1.4℃ 정도 낮았고, 과수원에서 선과장으로 이송하기 전 단계에서는 외기보다는 0.5-0.8℃정도 높았다. 또한 수집된 오디가 간이 선과 및 포장장에서 대기하는 동안의 품온은 수확지에서 이송되는 시점의 온도보다 0.8-1.2℃정도 높은 수준을 유지하였다. 또한 선별 작업 전 방치되는 동안 오디 용기 내 품온은 외기보다는 오디의 품온이 1.3-2.0 ℃ 높게 유지되었다. 또한 포장 후 처리장 이동단계에서는 외기보다 2.8℃정도 높았다.
- 오디의 품온 관리를 위해서는, 일정 규모의 이동식 기계적 냉장시설을 오디 수확현지에 갖추는 것이 필요할 것으로 판단된다. 소규모 오디 생산농가의 경우에는 시설비용 및 시설운용이 여의치 않으므로 대형 스티로폼 보온상자의 적용이 적합할 것으로 판단된다. 이 경우 보온상자 내 저온 유지를 위해 PCM (아이스팩)의 사용이 필수적이다. 실증실험으로 현행 사용하고 있는 보냉 상자에 6kg의 오디와 4개의 아이스 팩을 넣은 후 밀봉하여 차량위에 방치하였던 바 3시간 30분간은 외부보다 최대 7℃정도 낮게 유지시킬 수 있었다.

○생과용 오디의 유통기간 연장기술 개발

- 오디의 적정 저장온도 연구를 위하여 1차적으로 실용적인 측면에서의 저장온도대인 0, 10 및 20℃에서 품질변화를 조사하였고, 아울러 각 저장온도에서 오디 속도(80, 90, 100%)별 저장성을 비교하였다. 이 실험결과를 바탕으로 저온저장을 위한 최적 조건 설정을 위하여 오디의 속도별 빙결온도를 조사하였다.
- 오디의 품질 유지를 위한 저장 온도 설정을 위하여 오디를 20℃, 10℃ 및 0℃에서 저장하면서 저장온도에 따른 미생물, 부패율, 관능적 품질의 변화를 조사하였던바 20℃와 10℃에 비해 0℃에서 곰팡이의 성장이 적었으며, 20℃와 10℃에서 2일, 6일째 완전한 부패가 일어난 반면 0℃에선 12일째에 일어났다. 또한 보다 더 적합한 온도 설정을 위하여 0℃근처의 1.5℃, 0℃, -1.5℃로 온도를 재설정 하여 25일간 저장하면서 품질의 변화를 조사하였던 바 총균과 곰팡이, 부패율은 저장기간에 따라 $-1.5^{\circ}\text{C} < 0^{\circ}\text{C} < 1.5^{\circ}\text{C}$ 순으로 높은 값을 나타내었다. 관능적 품질평가를 기준으로 1.5℃, 0℃, -1.5℃중 가장 낮은 온도인 -1.5℃가 다른 온도 보다 오디의 품질 유지에 효과적인 것으로 판단되었다.
- 수확 후 오디의 선도연장을 위한 active MA처리효과 조사로 포장 오디 용기 내 탄산가스를 10%, 20% 및 30% 주입 처리하여 밀봉하였던바, 오디의 총균 및 곰팡이는 통기 포장구의 경우 저장 중 점차 증가하였으나, 밀봉 포장구와 탄산가스 주입 포장구의 경우 그 값의 변화는 미미하였다. 상품성을 관능적으로 평가하였던바 통기 포장구는 10일간, 밀봉 포장구와 탄산가스 포장구는 저장 25일 후까지 상품성을 유지하였다.
- 소포장 Active MAP 기술을 오디 수확현장에 적용하기 위하여 관행적인 플라스틱 용기 (1kg)에 일정량의 드라이아이스와 오디를 넣거나 이를 진공 포장하여 수확현장 상온에서 2일간 보관하면서 품질변화를 조사한 결과, 드라이아이스를 넣고 진공 포장한 처리구가 관능적으로 가장 우수하였으며, 부패율은 대조구가 50%이었던 비해 드라이아이스 포장구에서는 약 18%, 드라이아이스와 진공 포장구에서는 거의 발생하지 않아 본 실험에서 시도된 드라이아이스와 진공포장구 포장방법이 오디 수확현장에 적용할 수 있는 적합한 active MAP 포장조건으로 여겨졌다
- 오디 포장용기의 구조를 개발하기 위하여 오디의 포장 내 축적 정도에 따른 손상 발생률을 조사하였다. 포장 내 오디의 축적 정도가 바닥으로부터 6cm 정도까지는 손상과 발생과 손상된 조직으로부터의 과즙 누출량이 거의 유사한 수준이었으나, 이 이상 높이에서는 손상과 발생과 손상된 조직으로부터의 과즙 누출량이 유의적으로 차이를 보였다. 따라서 유통량이 가장 많은 1Kg단위로 포장할 경우 포장용기 바닥으로부터 최대 6.5cm정도 까지만 오디를 넣을 수 있도록 구조를 변경하여야 하며, 이를 위하여서는 포장상자의 밑면을 보다 넓게 하여야 할 것으로 판단된다. 아울러 생 오디 포장단위를 500g 또는 250g 정도로 하는 것도 상자 내 오디 자체의 하중으로 인한 조직 손상 발생을 방지할 수 있는 방안이라 판단된다.
- 오디의 운송 중 외포장내로의 외부의 열이 침투하는 것을 방지하기 위하여서는 오디의 운송 시 냉장차량을 사용하는 것이 우선되어야 할 것으로 판단된다. 이와 더불어 오디의 외포장

용 스티로폼 상자의 열전도를 보다 낮추고 압축강도를 보다 높인 재질을 사용하는 것이 바람직하다. 따라서 현재 오디의 외포장재로 사용되고 있는 스티로폼을 비드법 1종 제품이 주를 이루며 초기 열전도도는 0.037W/m·K 이상으로 이보다 열전도도가 낮은 재질의 제품을 사용하는 것이 바람직하다.

- 예비실험 결과를 기반으로 수확현장에서 적용할 수 있는 신속저온처리기술 개발을 위해 오냉매제와 순환 fan을 장착한 EPS 상자를 고안하였다. 적정 냉매제를 선별하기 위하여 아이스팩(600-700g, 3 packs)과 드라이아이스(EPS 상자부피의 40%)를 단독 또는 병용하여 EPS 상자에 담은 후 일정량의(1 kg, 500 g) 오디를 넣고 24시간이 경과한 후 품질을 측정하였다. 관능적으로는 아이스팩과 드라이아이스 병용처리구>드라이아이스 단독처리구>아이스팩 단독처리구>대조구 순으로 향, 맛, 조직감, 외관, 전체적인 기호도 항목에서 우수하였고 부패율도 냉매제 병용처리구에서만 10% 이하로 가장 낮았다.

○오디의 냉동처리 및 냉동 저장기술개발

- 직접소비용 오디의 경우 과립형태가 중요한 품질인자임에 따라 오디의 빙결온도를 조사하였던바 속도에 따라 약간의 차이를 보였지만, -1.8~-2.9℃ 범위이었다. 또한, -10, -20, -40℃의 온도에 따른 오디의 빙결온도를 조사하였던바 빙결되는 온도는 거의 유사하였으며 냉동온도가 낮을수록 빙결에 이르는 시간이 짧았다. 이러한 특성을 이용하여 오디를 개체로 냉동시켜 과립을 유지하는 것은 실험실적으로는 가능하였으나, 오디의 조직이 매우 연하여 척급횡수가 증가하면 할수록 조직의 손상이 심하여 실용화 측면에서는 의미가 적은 것으로 판단되었다.
- -25℃에서 오디를 동결처리 시 -23℃에 도달하는 시간이 개체별로 처리한 경우 1시간 20분 이내에, 250g용기를 사용한 경우 7시간 30분에서 9시간 30분, 1kg 단위의 경우 약 14시간이 각각 소요되었다. 동결 시 포장용기의 뚜껑을 열어 놓은 경우가 밀폐 용기 및 통기구 개설 용기 보다 그 속도가 빨랐으며, 용기의 크기가 클수록 동결 소요시간도 증가하였다. 동결 방법별 외관 및 동결처리 중 오디로 부터 누출된 과즙의 발생정도를 비교하였던바 오디를 날개로 동결처리 한 경우가 외형이 가장 우수하였고, 과즙의 누출정도는 가장 적었다. 반면에 용기 포장의 경우 용량이 큰 용기일수록 외형변화 및 과즙 누출 정도가 비교적 컸다. 500g 단위의 경우 외형은 250g 단위에 비해 다소 떨어졌으나 과즙의 누출정도는 250g 단위 포장과 차이를 보이지 않았다. 한편, 오디를 기존 대형 플라스틱 용기로 수확한 후 포장 단계에서 250g 단위로 소포장한 경우 외관의 매우 불량하였고, 과즙의 누출 정도 역시 매우 심각하였다.
- 가공용 오디의 적정 동결처리기술 연구로 각각 2.5kg 플라스틱 상자, 10kg 스티로폼 상자, 10kg P 박스로 구분하여 포장한 후 -24℃ 냉동보관 하였으며, 추가로 드라이아이스를 포함한 2.5kg 플라스틱 상자와 10kg 스티로폼 상자에 각각 오디를 나눠 담아 드라이아이스 처리에 따른 효과를 조사하였다. 오디를 -24℃에서 동결 처리 시 2.5kg 소포장이 다른 포장에 비해 가장 빠르게 냉동고 외기에 도달하였고, 그 다음은 10kg-P박스, 10kg-스티로폼상자가

뒤를 이었다. 오디의 미생물은 저장기간에 따라 총균과 곰팡이 모두 감소하는 경향을 보였는데 드라이아이스 처리 유무와 포장 방법에 따른 차이는 미미한 반면 시료의 생산 및 취급 농가에 따라 보다 큰 차이를 보였다..

- 냉동 오디의 저장 중 품질열화를 억제키 위한 연구결과, 냉동속도 보다는 용기의 크기를 작게 하는 것이 효과적이었으며, 이와 더불어 원료자체가 건전하도록 수확 및 포장 단계에의 처리가 중요한 것으로 판단된다.
- 또한, 냉동오디의 품질 및 온도관리를 위한 포장 기술 확립을 위해 오디를 포장 냉동 후 드라이아이스와 진공 처리하여 품질을 비교하였던 바 대조구와 드라이아이스 처리구와 진공처리구간에는 관능적으로 외관상 차이가 뚜렷하게 나타나지 않았으나, 냉동 전 오디의 상태가 더 큰 영향을 미치는 것으로 조사되었다.

V. 연구성과 및 활용계획

본 과제를 통하여 현재까지 발생한 연구개발 성과로 논문 2편 게재, 학회 3건 발표, 특허 1건 등록, 특허 출원 1건, 기술교육 1건 및 홍보 1건이 발생하였다. 또한 개발기술 중 곰팡이 증식을 억제할 수 있는 고 탄산가스 처리 효과 등 학술적 의미가 있는 내용은 논문으로 작성하여 학술지에 게재토록 할 계획이다. 한편 본 연구를 통해 얻어진 오디의 수확후 관리기술의 활용을 위하여 우선적으로 본 연구과제의 참여 기관인 남부안 농업협동조합에 기술을 이전하여 현지 오디 생산 농민에 보급토록 할 계획이며, 관련 기술을 오디의 생산 및 유통현장에서 오디의 수확후 질적 양적 손실 발생에 따른 애로를 겪고 있는 관련자를 위해 기 작성된 매뉴얼을 토대로 고품질 오디를 소비자에서 공급할 수 있도록 매뉴얼화하여 보급토록 하며, 이를 바탕으로 오디 생산농민을 대상으로 한 교육을 통하여 단계적으로 보급토록 할 계획이다.

SUMMARY

I. Title: Development of post harvest technology for mulberry

II. Purpose of and Need for R&D

As mulberry's use value emerges along with the increase of mulberry growing and output, its distribution as fresh mulberry is becoming more active. The fresh mulberry's flesh is soft and contains large quantity of moisture. Therefore, quality decline is rapidly caused, after harvesting mulberries, and difficulties in handling and storage are huge. However, the relevant technology's accumulation rate is very low.

This study aims to develop relevant unit treatment technologies from mulberry harvesting stage to distribution stage to maintain mulberry's freshness and high quality, to systematize the technologies, and to build a practical and effective management system after harvesting mulberries.

III. R&D Scope Details and Scope

- Treatment technology development at harvesting site
 - Survey of quality loss rate by handling stages at producing area
 - Container and field cooling treatment technology development to maintain mulberry's freshness at harvesting site
 - Research on maturity to decide harvesting period
 - Research on management technology for internal temperature of fruit at harvesting site
- Development of handling period extension technology of fresh mulberries
 - Research on proper preservation temperature setting
 - Development of quick low temperature treatment technology
 - Development of active MAP treatment technology
 - Development of consumer-oriented inner packing material unit and structure
 - Research on packing technology for insulation treatment
 - Comprehensive application of development technology by unit and field test
- Mulberry refrigeration treatment and refrigeration preservation technology development
 - Freezing treatment technology development to maintain mulberry granule's original shape for direct consumption
 - Development of proper freezing treatment technology of mulberries for processing
 - Development of quality deterioration control technology during mulberry's refrigeration preservation

- Building packing technology to manage frozen mulberry's quality and temperature
- Development of mulberry's management and handling technology standard manual after harvesting mulberries
 - Harvesting method, preservation method at producing area after harvest, handling treatment at producing area, working environment conditions, work process and packing method at sorting & packing site

IV. R&D Results

- Treatment technology development at harvesting site
 - As this study investigated quality damage rate of mulberries during handling, appearance damage rate was 6.67-20.0% on average. Mostly, the damage in the middle part of the mulberry was overwhelmingly higher than other parts. Such a result shows that mulberry's surface damage is caused by worker's hands, since mulberry harvest is carried out manually, and mulberries are harvested, centered on fully matured fruit. To prevent this, the improvement of gloves and harvesting containers used during the work is necessary. It was investigated that latex thin gloves offering convenient work is effective and that small basket is more effective than existing 4-5 liter basket type container regarding harvesting container.
 - Harvested mulberries go through sorting & packing process. In this process, onsite waiting time is long, and thus, mulberry's flesh damage occurs greatly, according to subdivision process from large containers. To improve this, using small size packaging is judged desirable in harvesting by unifying harvesting and sorting & packing stages.
 - The degree of mulberry's flesh damage is closely related with mulberry's maturity. As maturity is higher, damage rate is higher. If mulberry's maturity was 80%, the damage rate was 0.3-1.0%, which was very low, compared to 2.8-4.7% of 90% matured mulberry, and 4.4-11.1% of 100% matured mulberry. According to mulberry preference survey via mulberry's maturity, the middle aged prefer fully matured fruit, and young generation prefers 90% matured mulberry. From this, if 90% matured mulberry is harvested, rather than the fully matured fruit, the damage can be reduced quite a lot, and less tissue damage will take place in the case of packing. And, keeping period of the 90% matured mulberry can be extended more than that of the fully matured fruit.
 - Harvested mulberries undergo transportation, sorting, and packing processes, and the time for these processes is decided by sorting & packing quantity and packing method. Mostly, packing is conducted within 30 minutes to an hour after harvest. The time spent to transport to cooling facility after packing is from an hour to four hours. The harvested mulberry's internal temperature of fruit was lower than air temperature by

1.2-1.4°C. In the stage before mulberry is transported from an orchard to sorting site, it was higher than air temperature by 0.5-0.8°C. The collected mulberries' internal temperature of fruit during waiting in the sorting & packing site maintained 0.8-1.2°C higher level than the temperature at the time of transporting from the harvesting site. While the collected mulberries are left alone before sorting & packing, the mulberry's internal temperature of fruit was higher than air temperature by 1.3-2.0°C. In the stage to move to treatment site after packing, it was 2.8°C higher than air temperature.

- To manage mulberry's internal temperature of fruit, mobile mechanical cooling facility with a certain size is judged to be required. For small-sized mulberry production farm, the application of large styrofoam insulation boxes is considered suitable from facility cost and operation aspect. In this case, the use of PCM (ice pack) is essential to maintain low temperature within the insulation box. Through the field test, after putting and sealing 6kg mulberries and four ice packs in the currently used insulation box, and leaving the box on a car, maximum 7°C lower temperature was maintained than air temperature for three hours and 30 minutes.
- Development of keeping period extension technology of fresh mulberries
 - To research mulberry's proper preservation temperature, this study examined quality change by mulberry's preservation temperature from a practical aspect. The temperature applied to the experiment was 0°C, 10°C and 20°C, respectively, and this study compared preservation attributes by mulberry's maturity (80%, 90% and 100%) at each preservation temperature. Based on the experiment results, mulberry's freezing point was investigated by mulberry's maturity to set optimum conditions for low temperature preservation.
 - For preservation temperature setting to maintain mulberry's quality, this study examined the changes of microorganisms, deterioration rate and organoleptic quality, according to preservation temperature, while preserving the mulberries at 20°C, 10°C and 0°C. The growth of fungi was smaller at 0°C than at 20°C and 10°C. Also, complete deterioration occurred at 20°C and 10°C on the second and sixth days; however, it occurred at 0°C on the 12th day. For more proper temperature setting, this study examined quality change, while preserving mulberries for 25 days by re-setting temperature at 1.5°C, 0°C, -1.5°C, which are 0°C or around 0°C. As a result, the values of total colony, fungi and deterioration rate showed higher values in the order of 1.5°C, 0°C and -1.5°C, according to preservation period. Based on sensual quality evaluation, the lowest temperature, -1.5°C, was judged to be more effective in mulberry quality retention than 1.5°C and 0°C.

- As an investigation of active MA treatment effect for the extension of mulberry's freshness after harvest of them, carbon dioxide was injected into packing mulberry container by 10%, 20% and 30%, and the container was sealed. As a result, the total colony and fungi of mulberry gradually increased while mulberries are preserved in the case of packaging treatment with vent holes. However, the change was minimal in the cases of sealed packaging treatment and packaging treatment with carbon dioxide injection. In the sensual evaluation of merchantable quality, the packaging treatment with vent holes maintained merchantable quality for 10 days, and the sealed packaging treatment and packaging treatment with carbon dioxide injection maintained more than 25 days.
- To apply the small size packaging active MAP technology to mulberry harvesting site, this study put a certain amount of dry ice and mulberries in a usual plastic container (1kg), or conducted vacuum packing, and then, examined quality change, while preserving them in the harvesting site at room temperature for two days. As a result, the vacuum packing treatment injected with dry ice was the most excellent in sensual evaluation, and the control group's deterioration rate was 50%, while packaging treatment with dry ice showed about 18% in deterioration rate. And the dry ice and vacuum packaging treatment showed almost no deteriorate rate. Therefore, the packing method using dry ice and vacuum packing was regarded as proper active MAP packing condition that can be applied to mulberry harvesting site.
- To develop mulberry packing container's structure, this study examined damage rate, according to accumulation degree of mulberry within packaging. The dipped quantity of juice was almost similar level from damaged fruit and damaged tissue up to 6cm from the bottom. Above the 6cm level, the dripped quantity of juice from damaged fruit and damaged tissue showed significant difference. Therefore, if packing is conducted in the unit of 1kg, whose handling quantity is the most, the structure needs to be changed to put mulberries up to 6.5cm maximum from the container bottom. To do so, the bottom of the container needs to be widen more. Also, making the mulberry's packing unit 500g or 250g can be a measure to prevent mulberry's tissue damage, arising from mulberry's load within the container.
- To prevent the penetration of heat into external packaging during the transportation of mulberries, the use of cooling vehicle should be preferred. Also, it is desirable to lower heat conduction of styrofoam box for mulberry's outer packing, and to use the material enhancing compression strength more. Therefore, it is desirable to use number 1 type product by bid method instead of the currently used styrofoam as outer packing

material, and the material with lower heat conduction than $0.037\text{W/m}\cdot\text{K}$ in terms of initial stage heat conduction.

- To develop a quick low temperature treatment technology that can be applied at harvesting site, based on the preliminary experiment results, this study devised an EPS box that installed refrigerant and circulation fan. To select proper refrigerant, after putting three ice packs (600–700g) and dry ice (EPS: 40% of box volume), respectively, or together, and then a certain quantity of mulberries (1kg, 500g), this study measured quality after 24 hours. Sensually, scent, flavor, tissue, appearance and overall taste items were excellent in the order of ice pack and dry ice composite treatment, dry ice single treatment, ice pack single treatment and control group. Deterioration rate was the lowest at 10% or less in the refrigerant composite treatment.
- Development of mulberry refrigeration treatment and refrigeration preservation technologies
- Concerning mulberry for direct consumption, as granule shape is an important quality factor, this study examined freezing point of mulberry. Actually, slight difference was shown, according to mulberry's maturity, but, the temperature difference was between -1.8°C and -2.9°C . According to the examination of mulberry's freezing point, according to -10°C , -20°C and -40°C , the freezing points were almost similar, and the time to reach freezing point was shorter, as refrigeration temperature was lower. Using this feature, it was possible to maintain mulberry's granule by freezing mulberry, however, mulberry's tissue damage became more severe, as mulberry touching frequency increased, due to very weak mulberry's tissue. And thus, it was not much meaningful in terms of commercialization.
- When freezing mulberries at -25°C , it was within an hour and 20 minutes in the case of treating a mulberry to reach -23°C , between seven hours and 30 minutes and nine hours and 30 minutes in the case of using 250g container, and about 14 hours in the case of 1kg container, respectively. When the packing container lid was open in the case of freezing, the speed was faster than the sealed container and packaging treatment. As container size was bigger, the freezing time increased. As a result of comparing the appearance and dripped quantity of juice from mulberry by freezing treatment by freezing method, the appearance was shown the most excellent and dipped quantity of juice was the smallest in the case of freezing individual mulberry. Meanwhile, as packaging container's volume was bigger, appearance change and dipped quantity of juice were relatively larger. In the case of 500g unit of mulberries, the appearance was slightly inferior to 250g unit, however, it did not show difference in terms of the dipped

quantity of juice, compared to 250 packing unit. In the case of packing mulberries in the unit of 250g of in small size in the packing stage, after mulberries were harvested with existing large plastic containers, the appearance was very inferior, and the dipped quantity of juice was very serious.

- This study classified packing containers into 2.5kg plastic box, 10kg styrofoam box and 10kg P box, respectively, packed mulberries with them and preserved them at -24°C using the research result on proper freezing treatment technology of mulberries for processing. In addition, mulberries were put into a 2.5kg plastic box including dry ice and a 10kg styrofoam box, respectively, and then, this study examined the effect according to dry ice treatment. When mulberries were frozen at -24°C, 2.5kg of small packing was frozen the fastest, compared to other packaging, followed by 10kg P box and 10kg styrofoam box. The microorganisms of mulberry showed a trend of diminishing total colony and fungi, according to preservation period. While the difference was minimal, according to the treatment with or without dry ice, and packing method, bigger difference was demonstrated, according to production and handling farm.
- As a result of research on controlling of quality deterioration during the preservation of frozen mulberries, it was more effective to make smaller containers than reducing freezing speed. Also, treatment at the harvesting and packing stages is judged important to make raw material itself sound.
- To build packing technology for quality and temperature management of frozen mulberries, this study froze mulberries after packing them in small packaging, and then, treated with dry ice and vacuum packing to compare quality. As a result, no clear difference was demonstrated in appearance sensually among the control group, treatment with dry ice and treatment with vacuum packing. However, the state of mulberry before refrigeration was investigated to affect more.

V. Research Achievements and Future Plan

As study accomplishments through this project so far, two theses were printed, the theses were presented in three academic societies, one patent was registered, one patent was applied, one technical exudation was offered and one PR case took place. The academically meaningful content including high carbon dioxide treatment effect that can control the proliferation of fungi, among developed technologies, is planned to be drawn up in the form of thesis and presented in an academic journal. Meanwhile, technology transfer to Nambu Agricultural Farmers' Association, an agency participating in this study project, is planned to diffuse the post-harvest management technology acquired through this study. Also, the relevant technologies are planned to be made into a manual to supply high quality

mulberries to consumers, based on the existing manual for those suffering difficulties, due to qualitative and quantitative losses, after mulberry harvest in the mulberry producing and distributing sites. Based on this, step-by-step dissemination is planned through education/training for mulberry farmers.

CONTENT

summary	167
SUMMARY	173
CONTENTS	181
contents	183
Chapter 1. Overview of R & D projects	185
Chapter 2. National and international technical developments	187
Chapter 3. Results of research and development carried out	191
Section 1. Materials and methods	191
Section 2. Development of technology for the field	193
1. Harvest site treatment technologies	193
A. Survey on loss of mulberry quality during distribution	193
B. Study on harvesting vessel and container after harvest	198
C. Temperature management in the field	207
D. Maturity studies for determining harvest time	212
E. Quality of mulberry according to the cultivation method	221
Section 3. Study on technology for shelf life extension of mulberry	224
1. Study on storage technology for shelf life extension of fresh mulberry	224
A. Optimum temperature of mulberry for storage	224
2. Study on technology for shelf life extension of mulberry	236
A. Rapid cooling treatment in field	236
B. Active MA packaging	263
3. Packaging materials of mulberry for consumer	290
Section 4. Study on freezing technology of mulberry	297
1. Freezing technology of mulberry for consumer level	297
2. Freezing technology of mulberry for processing purpose	302
3. Study on prevention of quality loss during storage	317
4. Packaging of mulberry for storage	321

Section 5. Posatharvest handling manual of mulberry	327
Chapter 4. Contribution to the achievement of objectives and related fields	342
Chapter 5. Research Achievements and Future Plan	343
Chapter 6. Information collected from International Science and Technology	345
Chapter 7. Reference	346
Chapter 8. Result evidence data	347

목 차

요 약 문	167
SUMMARY	173
CONTENTS	181
목 차	183
제 1 장 연구개발과제의 개요	185
제 2 장 국내외 기술개발 현황	187
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	191
제 1 절 재료 및 방법	191
제 2 절 수확 현장에서의 처리기술 개발	193
1. 수확현장 처리 기술 개선 연구	193
가. 오디 유통 중 품질 손실률 조사	193
나. 수확 시 용기 및 수확 후 수집 용기 연구 및 효과 분석	198
다. 수확 현장에서의 품온 관리기술 연구	207
라. 수확시기 결정을 위한 속도 연구	212
마. 재배 방식에 따른 오디의 품질	221
제 3 절 생과용 오디의 유통기간 연장기술 개발	224
1. 생과용 오디의 유통기간 연장을 위한 저장기술 연구	224
가. 오디의 적정 저장온도 연구	224
2. 생과용 오디의 유통기간 연장기술 연구	236
가. 신속저온처리기술 연구	236
나. 선도유지를 위한 active MAP 기술 연구	263
3. 소비자 지향 내포장 단위 및 구조연구	290
제 4 절 오디의 냉동처리 및 냉동저장기술 개발	297
1. 직접소비용 오디의 과립 원형유지를 위한 동결처리기술	297
2. 가공용 오디의 적정 동결처리기술 연구	302
3. 오디의 냉동저장 중 품질열화 억제기술 연구	317
4. 저장을 위한 오디의 포장 연구	321

제 5 절	오디의 수확 후 관리 메뉴얼	327
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	342
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	343
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	345
제 7 장	참고문헌	346
제 8 장	실적 증빙 자료	347

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구의 필요성

오디는 뽕나무 또는 산뽕나무의 열매로 상실(桑實) 또는 오들개라고도 하며 녹색의 미숙과는 검은빛을 띤 자주색으로 익으면서 지름이 약 2cm 정도 된다. 주요성분은 포도당과 과당, 시트르산, 사과산, 타닌 및 펙틴이며 미량성분으로는 비타민(A, B₁, B₂, D), 칼슘, 인 및 철 등이 있다. 오디는 강장제로도 알려져 있는데 내장, 특히 간장과 신장의 기능을 좋게 하고 갈증 해소와 알코올 분해 및 불면증과 건망증에도 효과가 있다. 이에 더하여 불포화지방산, 1-deoxy nojirimycin (DNJ), cinnamic acid와 quercetin 유도체 및 γ -aminobutyric acid(GABA) 등이 풍부하여 항고혈압, 항산화 및 항당뇨의 효과가 보고되어있다. 오디는 당과 유기산 및 anthocyanin을 다량 함유하고 있는데 anthocyanin은 polyphenol 화합물인 flavonoid에 속하는 대표적인 천연색소이며 3번 탄소에 당이 결합되어 있는 구조로 그 종류는 aglycone인 anthocyanidin에 결합된 당의 종류에 따라 결정된다. Anthocyanin은 산화방지 작용이 월등해 체세포를 보호하고, 인체의 만성적 질병과 연관된 항산화, 항염증, 항암, 동맥경화 억제 및 지질과산화 저해 등의 다양한 생리활성 효과가 있다고 보고되었으며, 이를 이용한 질환개선 제제의 개발 및 기능성 식품으로의 활용성이 검토되고 있다. 오디는 이러한 anthocyanin뿐만 아니라 그 외에 기타 천연 기능성 소재를 함유하며, 건강기능식품으로써의 역할이 알려지면서 오디의 생산량은 2008년 3,244톤에서 2012년 6,160톤으로 급증했으며 최근 전북 부안과 남원, 전남 장성을 비롯하여 경남 함양, 경북 김천, 상주, 예천, 경주 및 영덕 등을 중심으로 해마다 그 재배농가 또한 증가하고 있다. 이와 같이 오디의 생산량 증가와 더불어 식품업계에서도 이를 소재로 한 식품가공에 관심이 높아지면서 오디에 관한 연구가 활발해지고 있다. 그동안 진행된 연구사례를 보면 뽕나무 계통별 오디의 영양 및 화학성분과 생리활성, 품종별 오디의 특성 비교 및 과실로서의 특성에 관한 연구들이 주로 수행되었으며 오디를 이용한 잼, 와인, 식초 및 드레싱과 같은 다양한 가공식품 개발이 진행되고 있다.

오디의 재배 및 생산량 증가와 더불어 그 이용가치가 부각되면서 생과로서의 유통이 활발해 w 지는데, 오디 생과는 과육이 연하고 수분을 다량 함유함에 따라 수확 후 품질저하가 급격히 발생하여 유통 및 저장에 어려움이 크다. 이에 따라 고품질 오디의 신선도 연장과 유통기술 개발이 필요하나 현재 매우 미흡한 실정이다. 오디의 수확 및 유통과정에서 발생하는 품질 저하 요인 중 수확 및 취급 시 발생하는 과육의 손상이 주요인으로 작용하고 있으며, 이로 인해 유통·저장 시 곰팡이 증식이 빠르게 진행되어 조직의 연화가 심해지고 결과적으로 저장성과 상품성이 저하된다. 현재 국내 오디 농가에서는 일반적으로 숙도가 100% 수준인 완숙오디를 수확유통하고 있는데, 완숙과는 조직이 보다 약해 저장과 유통 중 품질손상이 심하게 발생된다. 딸기의 경우 80-100% 착색상태에서는 당도에 큰 차이가 없으며, 숙성이 시작되는 기점으로 에틸렌 발생이 증가하고 세포벽 구성성분의 저분자화를 일으키는 효소들의 활성이 증가하여 결과적으로 과실의 경도가 급격히 떨어지게 된다. 이에 따라 소비자의 기호를 고려한 범위 내 착색이

덜 된 상태의 딸기가 수확되고 있다. 오디의 경우도 속도가 낮으면 조직의 경도 및 탄력이 완속과에 비해 높을 것으로 추정되고, 이러한 특성을 이용하여 상품성을 띄는 범위 내에서 속도가 낮은 오디를 수확하면 유통 중 과육 손상에 의한 품질저하를 줄일 수 있을 것으로 판단된다.

현재 일부 생과로 유통되는 오디를 제외한 나머지 대부분은 냉동 유통되고 있는데 이를 통하여 장기간 저장과 유통이 가능하지만 냉동된 과육의 내부는 빙결정 생성으로 인한 기계적 손상과 조직학적 손상에 의한 물리적 품질의 저하와 함께 영양학적 손실이 발생한다. 현재 생과로 유통되는 오디의 양은 매우 적는데 생 오디의 신선상태를 유지하기 위한 수확 후 관리기술은 주로 저온 저장 방식에 크게 의존하고 있는 실정으로써 유통기한이 매우 제한적이다.

제2절 연구개발의 목적 및 범위

1. 최종목표

본 연구는 오디의 신선도 및 고품위 유지를 위해 수확단계 부터 유통단계까지 전반에 걸친 관련 단위처리기술을 개발하고 이를 체계화하여 실용적이고 효과적인 수확 후 관리 시스템 구축을 목표로 하였다.

2. 연구개발의 내용 및 범위

○ 수확현장에서의 처리기술개발

- 산지유통과정별 품질 손실률 조사
- 수확현장에서 오디의 선도 유지를 위한 용기 및 간이냉각 처리기술개발
- 수확시기 결정을 위한 속도연구
- 수확 현장에서의 품온 관리기술 연구

○ 생과용 오디의 유통기간 연장기술 개발

- 적정 저장온도 설정연구
- 신속 저온처리기술 개발
- Active MAP 처리기술 개발
- 소비자 지향 내포장재 단위 및 구조개발
- 단열처리를 위한 포장기술 연구
- 단위별 개발기술의 종합적용 및 실증실험

○ 오디의 냉동처리 및 냉동저장기술 개발

- 직접소비용 오디의 과립 원형유지를 위한 동결처리기술개발
- 가공용 오디의 적정 동결처리기술 개발
- 오디의 냉동저장 중 품질열화 억제기술 개발
- 냉동오디의 품질 및 온도관리를 위한 포장기술 구축

○ 오디의 수확 후 관리 및 유통기술 표준 매뉴얼 개발

- 수확방법, 수확 후 산지보관방법, 산지유통방법, 선별장에서의 작업공정 및 포장방법

제2장 국내외 기술 개발현황

오디의 수확후 관리기술 개선을 위한 기술개발현황을 개괄적으로 보면 오디의 기능성 성분 및 이러한 특성을 활용한 가공식품개발 분야 연구와 달리 매우 취약한 실정에 있으며, 오디의 적정 수확시기 결정을 위한 속도별 품질특성, 수확후 저장온도에 품질특성 변화, 오디의 예냉 및 세척 등에 관한 수편의 연구결과와 오디의 수확시 조직손상 및 품질 저하를 방지하기 위한 수확용기와 대량 수확을 위한 장치, 오디의 선도연장을 위한 포장방법 및 이와 관련된 포장용기에 관한 특허가 보고되어 있는 정도로 매우 미흡한 단계이다.

국외의 관련 기술개발현황 역시 국내의 경우와 거의 유사한 실정이다. 이와 같은 현황은 오디의 생산량이 다른 과일에 비해 상대적으로 매우 적고, 오디의 과일특성상 조직이 매우 연하여 수확 직후부터 연화가 빠르게 진행됨에 따라 상품으로의 취급이 매우 어려운데 기인한 것으로 판단된다.

국내의 오디의 수확후 관리기술 관련 보고를 보면 박 등은 오디의 신선도 유지기간 연장을 위한 수확 시 적정 속도 조사로 오디의 속도를 80%, 90% 및 100%로 구분하여 수확한 후 속도별 관능적 품질 등을 비교하였고, 이를 0℃, 10℃ 및 20℃에 각각 유통하면서 경도, 색도, 가용성고형물함량, pH, 적정산도, 곰팡이 및 변질율, 및 관능적 품질을 평가하였다. 수확 직후 속도에 따른 오디의 경도는 속도 100% 오디가 가장 낮았으며 이는 속도 80% 및 90% 오디 경도의 37%와 65% 수준이었다. 오디 과피의 'a'값과 적정산도는 속도가 낮을수록 높았고 안토시아닌 함량, 가용성 고형물 함량 및 pH는 속도가 높을수록 높았다. 총균 및 곰팡이 수는 오디의 속도가 증가함에 따라 높았는데 속도 100% 완숙과의 경우 속도 80% 오디에 비해 각각 1.6배 및 1.1배였다. 오디의 관능적 품질 중 '색'은 속도 100% 오디가, '맛', '조직감' 및 '전반적인 품질'은 속도 90% 오디가 가장 높은 기호도를 보였다. 아울러 속도에 따른 유통가능기간을 비교한 결과, 경도는 유통 중 속도가 낮을수록 높은 수준을 유지하며 감소하였는데 그 감소의 폭은 속도 80% 오디의 경우 가장 컸다. 곰팡이의 수는 속도 100% 오디가 다른 속도 오디에 비해 높았고, 변질율은 모든 유통조건에서 속도가 높을수록 높았다. 관능적 평가에 의한 상품성은 전반적으로 속도 100% 오디가 속도 80%, 90% 오디에 비해 빠르게 소실되었고, 유통온도가 낮을수록 상품성 유지 기간이 연장되었다. 수확 직후 오디의 속도에 따른 품질과 속도별 유통온도에 따른 품질변화 조사 결과를 종합하면, 속도 100% 오디에 비해 속도 80%와 90% 오디가 비교적 품질유지기간이 길었으며 이에 관능평가결과를 고려 시 속도 80% 보다 90% 오디가 적정 수확 속도라 판단하였다.

오디의 수확과 관련해서는 2개의 특허가 보고되어 있는데, 오디의 선도 연장을 위한 내용과 오디의 대량 수확방법에 관한 내용으로 구분된다. 오디의 선도 연장 위한 특허 내용을 우선 살펴보면, 채집한 오디 등의 열매를 수용하기 위해서, 종래에는 통상적인 플라스틱 바구니 등을 사용하였다. 구체적으로, 오디를 수확할 때, 채집자는 한 손으로 플라스틱 바구니를 잡고 다른 한 손으로 오디를 채집하여 플라스틱 바구니에 담는다. 하지만, 이와 같은 수확방식은 채집자

가 한 손으로만 오디를 채집하므로, 수확량과 수율에 한계가 존재한다. 게다가, 오디는 조직이 매우 연약하여 쉽게 손상되는데, 한 손으로만 오디를 채집하면서 손상 가능성이 높아지는 문제점이 존재한다. 뿐만 아니라, 플라스틱 바구니에 오디를 채집하면서, 오디 자체 무게로 인하여 오디의 연약한 조직이 손상되고, 그에 따라 즙이 생성되면서, 미생물의 감염 및 증식이 발생하는 문제점도 존재한다. 특히, 오디를 수확한 후 선별 및 포장 단계에서의 작업장 온도가 미생물이 쉽게 증식할 수 있는 25 내지 30℃이므로, 오디의 즙이 발생하는 것을 방지할 수 있는 방안이 절실히 요구되고 있는 상황이다.

본 발명은 상술한 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 일 측면은 채집자에 용기를 결합시키는 결합수단을 채용함으로써, 채집자가 양손으로 열매를 채집할 수 있는 열매 채집용 바구니를 제공하기 하며, 다른 측면은 용기의 외벽을 다중으로 형성함으로써, 채집자의 체온이 용기 내부의 열매에 전달되는 것을 방지할 수 있는 열매 채집용 바구니를 제공할 수 있도록 고안되어 있다.

이 이외 오디의 대량 수확에 관한 기술로 그물망을 이용한 오디의 수확방법에 관한 장치가 특허로 보고되어 있다. 오디는 다 익으면 하루 중 때를 가리지 않고 떨어져 버리므로 손으로 하나하나 직접 따서 채집하거나 뽕나무 아래에 그물망을 넓게 펼쳐 놓아 일정기간 동안 수거하는 방법을 사용하기도 한다. 개발된 수집장치는 오디의 아래에서 나무를 중심으로 방사상 펼쳐지는 그물망과, 이 그물망의 중심부에 설치되어 낙하되는 오디를 어느 일 측으로 안내하는 수집유도부와, 수집유도부에서 안내되는 오디를 담은 수집주머니를 포함하여 구성되어 있다. 이때, 수집유도부는 원판 형상을 가지면서 그물망의 중심과 어느 일 측으로 편심되게 설치되어 치우친 반대편으로 하향 경사지게 된다. 이 수집 장치는 오디 수확기에만 설치하고 일반 뽕밭 관리시기에는 제거할 수 있어 작업에 불편함이 없는 잇점이 있고, 연결수단에 의해 자유롭게 펼치거나 접을 수 있어 보관이 용이하며, 밴드 및 수집유도부의 특별한 구성에 의해 뽕나무의 꺾기에 상관없이 적용이 가능한 잇점이 있다고 기술되어 있다.

오디의 유통 온도에 따른 품질변화 연구로 박 등은 오디를 20℃, 10℃ 및 0℃에서 방치하면서 온도에 따른 미생물, 변질을 및 관능적 품질의 변화를 조사하였고, 이를 바탕으로 품질 유지기간을 연장키 위한 적정 저온저장 온도를 설정키 위해 오디를 재차 1.5℃, 0℃ 및 -1.5℃에 각각 저장하면서 색도, 미생물, 변질을, 경도, pH, 산도, 당도, 안토시아닌과 관능적 품질을 평가하였다. 유통온도에 따른 품질 변화 조사 결과 20℃와 10℃에서는 각각 2일 및 6일째, 0℃에선 12일째에 완전히 변질되었으며 관능적 평가에 의한 상품성은 20℃, 10℃ 및 0℃에서 각각 1일, 4일 및 12일간 유지되었다. 오디를 1.5℃, 0℃ 및 -1.5℃에 각각 저장하였던바 총 균수, 곰팡이 수 및 변질율은 -1.5℃ < 0℃ < 1.5℃ 순으로 높았다. 저장온도별 경도 및 안토시아닌 변화는 -1.5℃에서 가장 적었다. 적정산도와 가용성고형물 함량은 전반적으로 감소하였으며 저장 온도에 따른 차이는 뚜렷하지 않았다. 저장온도에 따른 오디의 관능적 상품성 유지기간은 0℃를 기준으로 1.5℃에서는 0.7배 정도로 짧아진 반면 -1.5℃에서는 1.3배정도 연장되었다.

이 이외 유사 보고로 이 등은 2010년 한국원예학회에서 포스터를 통하여 오디 수확후 저장온

도에 품질특성 변화에 관한 보고를 한바 있는데 이 보고에서는 ‘한울 2호’를 완숙된 과실만을 수확하여 25, 1, 0, -1°C에서 저장하면서, 호흡량과 과실 품질특성 등을 분석하였다. 오디의 과경 변색 정도를 관찰하여 그룹을 만든 결과 5단계로 분류할 수 있었다. 과실의 경도는 단계가 진행될수록 감소하였으며, 3단계에서 급격히 감소되었다. 온도별 저장실험에서 오디의 호흡량은 25°C에서 101.8ml/kg·h였고, 상온에서는 높게 유지되었으나, 저온에서 호흡량이 급격히 감소하였다. 당도는 시간이 경과함에 따라 다소 증가하였고, 산함량과 경도는 감소하였으나 큰 변화는 관찰되지 않았고, 상온에서 빠르게 진행되는 경향이였다. 과실의 외관품질인 과경변색단계와 물러짐 정도, 부패정도로 유통가능기간을 설정한 결과, 상온(25°C)에서는 수확 후 1일 만에 상품성을 잃은 반면, -1°C의 경우 수확 후 14일, 0, 1°C는 각각 8, 6일까지 유통이 가능할 것으로 보고하였다.

한편 오디의 수확 후 세척처리에 관한 연구보고를 보면 Zhao등 (2011)은 오디를 20, 60, 80ppm 이산화염소수 처리 후 -1°C에 저장하면서 영양 성분과 품질변화를 조사한 결과가 보고된바 있는데, 60ppm의 이산화 염소수에 15분간 침지 처리하였던 오디는 14일 까지 품질을 유지하여 수도수로 처리한 경우 8일에 비해 선도 유지기간을 더 연장할 수 있었다 하였다.

정 등 (2013) 등은 수도수, 전해수, 이산화염소수 처리에 의한 오디의 저장온도 및 기간에 따른 품질 양상을 분석한 결과를 보고하였다. 이 보고에 의하면 오디를 수도수, 전해수와 이산화염소수 농도별 10, 50, 100, 200 ppm으로 각각 30초 동안 담금질을 한 후, 실온과 냉장에 저장하여 시간에 따른 저장성 효과와 외관 품질 유지 및 갈변 저해 효과를 탐색하였던바 전해수와 이산화염소수 처리는 초기의 미생물 총 균수를 감소시켜 신선도를 유지하고, 상온보다 냉장 저장에서 효과가 더 우수하였으며, 품질 유지 및 저장성 향상에 기여할 것으로 보고하였다.

또한 박 등 (2014)은 수확 후 블루베리, 복분자, 오디의 냉동 전 처리 조건 및 미생물학적 안전성 확립을 위한 최적 세척조건을 연구하였다. 사용된 세척처리 중에서 50 ppm 이산화염소수와 0.1% 푸마르산의 병합처리가 대조구와 비교 시, 블루베리, 복분자, 오디의 총 호기성 세균에 있어서 2.56, 2.26, 2.56 log CFU/g을 감균시켜서 가장 효과가 높았다. 또한 병합처리는 효모 및 곰팡이 수에서도 2.24, 2.08, 1.49 log CFU/g 감소시켰다. 따라서 본 연구결과 블루베리, 복분자, 오디의 냉동 전처리 조건으로써 50 ppm 이산화염소수와 0.1% 푸마르산 세척 병합 처리가 냉동 베리류의 미생물학적 안전성 확보를 위한 가장 좋은 전처리 방법이라고 판단된다.

또한 이 등(2014)은 오디 수확후 살균세척수 처리효과를 조사키 위해, 생과로 판매되는 복분자와 오디는 수집(10kg용 PE상자)→예냉(1~2.5톤 축냉식컨테이너)→세척(이산화염소수 살균+침지브러시세척+에어나이프탈수)→저온저장(0°C 유지 저온저장고)→유통(1~2.5톤 축냉식컨테이너)으로, 냉동과는 수집(10kg용 PE상자)→예냉(1~2.5톤 축냉식컨테이너)→세척(이산화염소수 살균+침지브러시세척+에어나이프 탈수)→저온저장(-40°C 급속냉동고)→유통(아이스팩+스티로폼)으로 처리 조건을 설정하였다. 이와 같은 처리를 결과 살균 세척수 처리에 따른 미생물 제어 효과로는 수도수 처리구에서 미생물의 증식이 가장 빨랐으며, 전기분해수 처리구보다는 ClO₂ 처리구에서 농도에 비례하여 초기 균수가 적었다고 하였다. 살균수 처리 후 저장효과

를 비교한 결과를 보면 모든 실험구에서 살균 세척수에 따른 유의적인 차이는 관찰되지 않았으며, 세척 시간에 따른 차이 역시 크지 않았지만 무처리구에 비해서 모든 처리구에서 3일차 이후 차이가 크진 않지만 오염 진행 정도가 느려졌다고 하였다. 세척후 표면수 제거를 위한 예비건조시험 결과 예비건조의 목적이 살균수에 일정시간만큼 침지한 후 획득한 침지 표면수를 제거 목적을 두었을 때 오디 표면수 3.9% 정도를 제거할 수 있는 최소한의 온도와 시간조건은 20℃에서 5~20분 사이이며 그 이외의 온도를 높이거나 진공을 가했을 때는 5분 이내에 표면수를 제거할 수 있는 것으로 보고하였다.

장(2014)은 오디의 세척 장치를 고안하여 특허로 출원하였는데 오디 세척장치는 수확한 오디를 수용하기 위한 경사진 플레이트를 형성하는 투입조와, 상기 투입조 일측에 구비되어, 상기 오디를 수용하는 몸체 전면에 다수개의 타공이 형성된 제1세척부와 상기 제1세척부에서 분리된 이물질을 수용하여 배출하는 제2 세척부를 형성하여 상기 오디를 세척하는 세척조와, 상기 세척조 일측에 구비되어, 경사진 가이드부에 세척된 상기 오디를 수용하여 외부로 이송시키는 이송레일과, 상기 세척조 내부에 구비되어, 파이프 형상의 몸체상에 다수개의 에어분사구가 상기 파이프의 길이방향을 따라 연속 형성되어 상기 오디를 자동으로 상기 이송레일로 이송시키도록 공기를 공급하는 에어분사부와, 상기 제 1세척부의 하부에 구비되어, 파이프 형상의 몸체상에 다수개의 버블분사구가 상기 파이프의 길이방향을 따라 연속 형성되어 상기 제 1세척부 방향으로 버블을 발생시켜 상기 오디를 세척하는 버블발생부와, 상기 이송레일의 일측에 구비되어, 상기 오디의 표면에 남아있는 수분을 제거하는 건조부를 포함하여 구성되는 것을 특징으로 한다.

오디의 포장 관련 특허기술이 보고되어 있는데 해당 기술은 오디의 선도 연장 방법 및 선도 연장용 포장용기에 관한 것으로 용기에 오디 및 드라이아이스를 첨가하는 단계를 포함하되 드라이아이스가 용기 1 L에 대하여 0.15 내지 3 g으로 포함되도록 첨가함으로써, 오디의 부패가 억제되고 짓무름 발생률이 낮아질 뿐만 아니라 경도 및 가용성 고형물 함량이 유지되고 우수한 관능성을 부여한다. 또한 본 발명은 오디의 선도를 연장하기 위한 일체형 포장용기를 제공하는데, 포장용기는 드라이아이스 및 오디를 구비할 수 있는 포장용기로서, 외벽이 2중 또는 3중으로 형성되고 냉기가 외부로 빠져나가지 않으며 외부 온도에 영향을 받지 않기 위하여 포장용기의 표면이 고무 또는 폴리스티렌으로 형성될 수 있도록 고안되어 있다.

한편 오디의 냉동과 관련된 보고로 Bao(2006) 등은 오디의 냉동저장온도(-18~-40℃)가 품질에 미치는 영향을 조사하였던 바, -18℃에서 드립발생 등 품질 저하가 컸으며, polyphenol oxidase 활성이 저장 초기 크게 증가한 후 저장기간이 경과함에 따라 저하되었던 반면 peroxidase의 활성은 이와 반대되는 경향을 보였음을 보고하였다.

제3장 연구개발 수행내용 및 결과

제1절 재료 및 방법

1. 오디 시료

본 연구에 사용된 오디는 전북 남부안농협의 협력농장에서 재배된 과상 2호 품종으로 2012-2014년 5-6월에 수확된 시료를 사용하였으며, 실험실 실험에서는 수확 즉시 1 kg 플라스틱 용기에 담아 상부를 밀봉하지 않고 약간 통기되는 상태로 아이스 팩을 채운 보냉상자에 담아 실험실로 이송한 시료를 사용하였으며 수확현장 실험에서는 당일 오전에 수확한 건전한 오디만을 실험에 사용하였다.

2. 호흡률 및 용기 내부 기체조성

오디의 호흡률은 격막이 장착된 유리 용기 내에 전체 체적의 1/3 정도 분량으로 오디를 넣고 밀봉한 후 실험 온도에 보관하면서 경시적으로 gas-tight syringe(#1001, Hamilton Co., Reno, NY, USA)를 사용하여 용기 내부의 기체조성을 200 μ l씩 채취한 다음 GC(GC-14A, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 분석하여 O₂ 감소 및 CO₂ 발생의 호흡속도를 계산하였다. 이때 GC의 분석조건은 detector: TCD, column: Alltech CTR I, column temp.: 35°C, injection temp.: 60°C, detector temp.: 60°C, carrier gas: 50 mL He/min이었다. 용기 포장 내부의 기체 조성은 gas-tight syringe를 사용하여 덮개필름을 통해 내부기체를 천천히 200 μ l씩 채취한 다음 호흡률 측정과 동일한 조건에서 기체조성을 분석하였다.

3. 오디 곰팡이의 분리 및 동정

오디의 곰팡이 균주를 분리하기 위하여 시료의 곰팡이 발생부위를 TSA 배지에 접종한 후 20 \pm 1.5°C에서 약 3일간 배양하였고 증식한 곰팡이들을 형태학적으로 구분하여 다시 TSA배지에 접종한 후 동일한 조건에서 배양하였다. 분리된 각 곰팡이 균주들을 동정하기 위하여, (주)마크로젠(Seoul, Korea)에서 18S tRNA 염기서열 분석을 실시하였다. 염기서열 분석을 통하여 얻은 각 균주의 염기서열은 Blast Network Service를 이용하여 NCBI GenBank database의 염기서열과 비교함으로써 계통분류학적 유연관계를 분석하였다.

4. 탄산가스 처리

관행적 포장용기인 1 kg용 플라스틱 용기에 오디를 담은 후 O₂, CO₂, N₂의 조성비율을 임의로 조절할 수 있는 기체혼합기(KM 100-3M, WITT Gasetechink GmbH, Witten, Germany)를 사용하여 18% O₂/10% CO₂/72% N₂, 16% O₂/20% CO₂/64% N₂, 14% O₂/30% CO₂/56% N₂의 조건으로 혼합기체를 주입한 후 밀폐상태로 실험 온도의 저장고에 보관하면서 품질측정을 실시하였다.

5. 포장 및 수확 후 전처리

각 실험에 대한 전처리는 보고서의 개별 항목 내용에 설명하였다.

6. 일반 성분 분석방법

가. 중량감소율

각 포장단위의 시료를 분석시점마다 무게를 측정하여 그 감소량을 저장 전 초기 중량값에 대한 백분율(%)로 나타내었다.

나. 미생물

각 시료의 오디를 50g씩 무작위로 취하여 멸균 팩에 넣고 시료 중량 대비 3배의 0.85% 멸균된 생리식염수를 가하여 균질기(Bagimixer[®]400, Interscience, France)로 1분간 처리하였다. 처리 후 멸균 팩의 상징액을 1mL씩 취하여 멸균된 생리식염수가 9mL씩 담긴 시험관을 사용하여 단계적으로 희석하였다. 이후 각 단계별 희석액 1mL을 취하여 일반세균 배지(Petrifilm[™] aerobic count, 3M, St. Paul, USA) 및 곰팡이배지(Petrifilm[™] mold and yeast count, 3M, St. Paul, USA)에 각각 접종 후 일반 세균은 37°C에서 48시간, 곰팡이는 25°C에서 72시간동안 배양한 후 colony 수를 측정하여 log colony forming unit (CFU/g)으로 나타내었다.

다. 가용성고형물함량

오디의 전 부위를 파쇄(SQ-205, Iljin Electronics, Korea)한 후, 8겹의 거즈로 착즙하여 Refractometer(PR-32a, ATAGO[®], Japan)로 각 실험구당 3반복 측정하여 평균치로 나타내었다.

라. pH

오디를 상기와 같이 파쇄, 착즙 및 여과하고 5g을 취한 후 증류수 15g을 넣어 희석 한 용액을 pH meter(AR-15, Fisher scientific, USA)로 3반복 측정하여 평균치로 나타내었다.

마. 적정산도

pH측정 시 사용한 용액 20g에 0.1N NaOH 용액을 pH가 8.2가 될 때까지 적가한 뒤 이에 소요된 0.1N NaOH양을 citric acid를 기준으로 환산하여 %로 나타냈으며, 그 결과는 각 실험구당 3반복 측정하여 평균치로 나타내었다.

바. 색 측정

오디 과피의 색도는 Chroma meter (CR-400, Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan)로 측정하였다. 이를 위하여 각각의 처리구에서 오디를 10-15개씩 취하여 날개 오디의 상, 중, 하부분의 L(명도), a(적색도), b(황색도)값을 측정한 후 각각의 평균값으로 나타내었다.

사. 안토시아닌

오디의 anthocyanin은 파쇄 착즙하여 여과한 오디즙 0.1mL를 12mL의 pH 1.0 potassium chloride buffer(0.025M)와 pH 4.5 sodium acetate buffer(0.4M)에 각각 혼합한 다음 흡광도계(Multi Detection Microplate Reader, Synergy Mx, BioTek, USA)로 520nm와 700nm에서 OD를 측정한 후 그 값을 아래의 식을 사용하여 흡광도로 나타내었다.

$$\Delta \text{Abs} = (\text{OD } 520\text{nm} - \text{OD } 700\text{nm}) \text{ of pH } 1.0 - (\text{OD } 520\text{nm} - \text{OD } 700\text{nm}) \text{ of pH } 4.5$$

아. 경도 측정

오디의 경도는 크기와 모양이 일정한 시료를 취하여 Rupture test(Texture Analyzer, TAXT@, Stable Micro System, London, England)방법으로 측정하였다. 경도는 시료를 수평으로 놓은 상태에서 직경 25 mm의 plunger로 시료 중간부위의 높이 60%까지 압축 시 나타난 peak의 최고값으로 나타내었다.

자. 관능검사

오디의 관능적 품질은 ‘전반적인 품질’, ‘외관’, ‘색’, ‘향’, ‘맛’ 및 ‘조직감’으로 구분한 후, 이를 5점 척도(5점: 매우 좋음, 1점: 매우 나쁨)로 평가하여 각각의 평균값을 나타내었다. 평가는 무작위로 취한 10-15개의 오디를 시료로 하여 상기 품질인자의 식별력이 우수한 8명 이상의 훈련된 패널에 의하여 실시하였다.

제 2절 수확현장에서의 처리기술 개발

1. 수확현장 처리기술 개선 연구

가. 산지 유통 중 품질 손실을 조사

유통오디의 품질 손실을 조사를 위해 2012년 5월 20일 전남, 전북지역 4개 생산자에 의해 각각 수확하여 500g 단위로 포장된 오디를 다음날 오전 서울 가락도매시장 및 양재하나로 마트에서 구입한 후 각 상자 내 오디의 표면 손상발생 정도를 조사하였다.

구입 오디는 EPS 상자로 외포장하고 수송 중 저온을 유지하기 위해 외포장 상자 PCM (아이스팩)을 넣었는데 구입 직후 오디 소포장 상자 내 온도는 12.6-16.7℃ 범위이었다. 포장 내 오디의 크기를 분석하였던 바 3.0-4.6 g 범위로 생산자간에 약간의 차이를 보였다(Fig. 1-1).

Fig. 1-1. Individual weight of mulberry in the boxes packaged by different farmers.

오디의 유통 중 발생한 외형적 손상 발생율은 평균 6.67-20.0%범위로 생산자 간에 큰 이차 보였으며, 동일한 생산자가 포장한 오디더라도 포장 상자에 따라 편차의 값이 매우 컸다(Fig. 1-2). 포장 상자 내 오디를 숙도에 따라 구분한 후 숙도별 외형적 손상 발생율을 비교하였는데 생산자에 따라 그 값은 차이를 보였지만 숙도가 80%정도인 오디의 경우 0.3-1.0%로 90% 숙

도 오디의 2.8-4.7%, 100%숙도 오디의 4.4-11.1%에 비해 매우 낮은 손상 발생률을 보였다(Fig. 1-3). 유통 유대를 속도별로 구분한 후 오디의 부위별 외형상 손발 발생정도를 조사하였던바 오디 과일 중간부위의 손발발생정도가 꼭지 부위나 코 부위에 비해 압도적으로 높게 나타났다 (Fig. 1-4). 이와 같은 외형적 손상을 자체 압상 등에 의한 손상과 포장상자에 의한 손상으로 구분하였던바 속도가 100%인 오디의 경우 포장에 의한 손상도 어느 정도 발생하였지만 전반적으로는 자체 무게 등에 의한 압상이 주를 이루었다(Fig. 1-5). 이와 같은 압상은 수확 시 오디의 중간 부위를 잡고 수확함에 따라 이 부위에 잠제적인 압상이 발생하였고 이러한 손상이 유통 중 오디 상호간의 무게 등에 의해 가속되었기 때문으로 판단된다.

Fig. 1-2. Degree of damaged mulberry in the boxes packaged by different farmers after distribution.

Fig. 1-3. Degree of damaged mulberry with different ripening stage in the boxes packaged by different farmers after distribution.

80% maturity

90% maturity

100% maturity

Fig. 1-4. Degree of damaged mulberry by different portion of fruit in the boxes packaged by different farmers after distribution.

80% maturity

90% maturity

100% maturity

Fig. 1-5. Degree of damaged mulberry by cause of injury in the boxes packaged by different farmers after distribution.

유통오디의 품질인자 중 가용성 고형물 함량과 pH를 조사하였던바 가용성 고형물 함량은 11.6-12.9 °Brix 범위로 생산자간의 차이가 비교적 컸으며, pH는 4.1-4.4 범위를 나타내었다 (Fig. 1-6). 유통오디의 품질인자 중 조직의 과육의 손상발생과 밀접한 연관이 있는 경도를 시중에 유통되는 오디를 사용하여 분석하였다. 오디의 경도 측정을 위하여서는 지름이 1인치인 원통형 plunger를 사용하였고 적용 strain은 50%이었다. 유통오디의 경도는 0.74-1.15 kg.f범위로 출하 농가에 따라 큰 차이를 보였다. 한편 유통오디의 위생 상태를 조사키 위해 생산자별 오디의 생균수와 곰팡이 수를 조사하였던바 생산자에 따라 차이를 보여 생균수는 4.0-6.1 logCFU/g, 곰팡이수는 4.9-5.2 logCFU/g범위를 나타내었다(Fig. 1-7). 생산자중 C의 경우 생균수가, A생산자의 경우 곰팡이수가 그 중 가장 낮았다. 시중에서 구입한 시판오디의 품질을 관능적으로 평가하였는데 건전과의 외관은 4.7-4.8 범위로 양호하였으며, 전반적인 기호도도 양호한 것으로 평가되었다(Fig. 1-8).

Fig. 1-6. Soluble solids content, pH, and firmness of mulberry packaged by different farmers after distribution.

Fig. 1-7. Microbial population of mulberry packaged by different farmers after distribution.

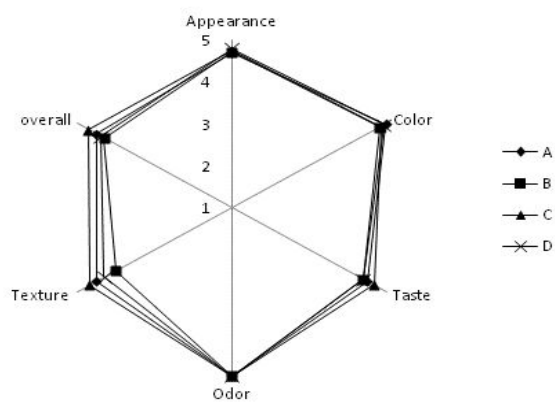


Fig. 1-8. Sensory quality of mulberry packaged by different farmers after distribution.

나. 수확 시 용기 및 수확 후 수집 용기 연구 및 효과분석

1) 오디의 관행적 수확 및 포장 실태 현장 조사

오디 수확현장에서의 수확, 처리, 포장 등에 관한 기술 개선을 위하여 1차적으로 현장에서 관행적으로 행하여지고 있는 수확, 선별, 포장 등에 관한 실태를 2012년 5월 25일, 5월 31부터 6월1일까지 남부안 농협 조합원이 경영하는 농장 현지에서 조사하였다.

오디의 수확은 Fig 1-8-1에서와 같이 면장갑 또는 고무장갑을 사용하여 오디를 따고, 이를 4리터 크기의 플라스틱 통에 넣은 후 이 플라스틱 통 안에 오디가 차이면 간이 선과 및 포장장으로 운반하고 있다. 오디의 수확에 사용하고 있는 다른 용기로는 소형 플라스틱 바구니를 한손에 잡고 다른 한손으로는 오디를 수확하여 플라스틱 바구니에 담은 후 이 바구니에 오디가 가득 차면 오디 나무 근처에 놓아둔 4-5 L용 플라스틱 통에 담아 간이 선과 및 포장 처리장으로 운반한다. 수확된 오디는 오디를 수확한 과수원 인근에 간이로 설치된 선과 및 포장장에 운반되어 선과 및 포장과정을 거치는데, 수확량에 비해 선과 및 포장 처리량이 많음에 따라 처리가 지연됨에 따라 운반된 오디는 플라스틱 통에 담긴 상태로 일정시간 방치된다. 플라스틱 통에 담긴 오디는 선과를 위해 일정량씩 소형 플라스틱 바구니에 소분되며, 이후 육안으로 이물질을 제거한 후 뚜껑이 없는 포장용기에 담아 밀봉 포장하거나, 뚜껑이 달린 용기에 담은 후 뚜껑을 덮는다. 이와 같이 처리된 포장오디는 플라스틱상자에 담겨 일정시간 그늘에 방치된 후 포장량이 일정 수준에 달하면 자체 냉장고나 농협 등이 운영하는 처리시설로 이송한다.

오디의 수확, 선별 및 포장과정에서 오디의 품질에 영향을 크게 미치는 인자로는 오디의 부적합한 수확 방법 및 수확용기로 인한 외관의 손상이다. 오디의 손상부위를 조사한 결과 오디의 조직이 매우 연약한데도 불구하고 오디 중간 부위를 잡고 수확함으로 과실 중간부위의 손상이 매우 많다. 오디 수확용기의 경우 4-5리터 용 플라스틱을 사용함으로 용기내 오디의 자체 무게에 의해 연약한 오디 조직의 손상이 크게 발생함에 따라 오디 수확용기의 개선이 필요한 것으로 판단된다(Fig. 1-9). 또한 대용량 플라스틱 통을 사용함에 따라 압상으로 발생한 오디의 즙이 플라스틱 통 안에 상존함에 따라 미생물의 감염 및 증식 요인으로 작용할 수 있다. 이러한 점을 감안하여 오디 수확에 사용하였던 통은 세척 후 재사용하거나, 플라스틱 용기 내에 비닐봉지를 씌워 사용하는 것도 고려할 필요가 있다. 한편 선별 및 포장단계에서는 수확량에 비해 선별 및 포장처리량이 적다보니 수확된 오디가 포장용기 내에 담긴 채 대기상태로 지체됨으로 포장 내 압상이 계속적으로 진행되고, 오디 수확용기 및 오디 표면에 묻어 있는 미생물의 증식이 진행될 수 있으며, 특히 작업장의 온도가 외기보다는 낮지만 미생물 증식에 영향을 줄 수 있는 25-30℃이므로 이러한 조건을 회피할 수 있는 포장방법의 적용이 필요한 것으로 판단된다. 따라서 sealer를 이용한 밀봉포장도 가능하겠지만 생과 유통을 위한 오디의 경우 뚜껑이 달린 포장재 상자의 적용이 보다 바람직한 것으로 판단된다. 선별 시에는 오디를 소분하기 위하여 사용하는 구멍 난 플라스틱 바구니를 선별작업 시작부터 종료 시까지 계속 사용하고 있는데 이 또한 손상된 오디로부터 유출된 오디 즙이 지속적으로 묻혀있고 이에 감염되어 있는 미생물이 다른 오디에도 영향을 줄 수 있으므로 이를 개선키 위해서는 주기적으로 플라스틱 바구니의 세척 및 교환이 필요한 것으로 판단된다.

Fig 1-8-1. Customary procedure from harvest to package in the mulberry farm



오디수확-1



오디수확-2



오디수확-1의 현장 수집용기



포장단계에서의 수집오디



오디 선별 포장 전경



오디 포장전경



포장용기에 오디 담기



손상된 오디로부터 유리된 즙 제거



Sealer사용 소포장



소포장된 오디 대포장



수확된 오디 포장하기(뚜껑이 달린 상자)



소포장된 오디 대포장



Fig. 1-9. Appearance of customary basket used for harvesting mulberry.
(Left: outside, right: inside)

2) 수확방법에 따른 수확량 및 품질손상조사

오디의 수확 현장조사 및 유통오디의 품질 분석을 통해 수확 후 유통중 발생하는 품질변화 중 오디 과육의 손상이 가장 중요한 요인으로 나타났다. 따라서 오디의 수확후 품질 유지를 위해서는 수확 단계부터 과육의 손상을 줄이기 위한 처리기술의 개발이 우선되어야 할 것으로 판단된다.

본 연구에서는 오디의 수확 시 과육손상을 줄이기 위해 우선 오디 수확 시 작업자가 사용하는 장갑에 의한 영향을 현장실험을 통하여 분석하였다(Fig. 1-10). 이 실험에서는 오디 수확현장에서 일반적으로 사용되고 있는 백색 면장갑, 붉은색 고무코팅 면장갑, 고무장갑과 손의 감촉이 부드러운 실험실용 라텍스 장갑을 각각 사용하였다. 이 실험은 2012년 5월 31일 남부안농협에서 마련된 동일한 농장에서 연구원 3사람의 작업자가 각각 동일한 장갑을 끼고 일정시간 수확한 오디를 관행적 수집용기에 담아 이송한 후 수확량과 오디의 상태를 분석하여 평균치로 나타내었다.

오디의 수확량은 5분을 단위시간으로 할 때 280.2-338 g 범위이었으며, 오디 수확 작업자가 관행적으로 사용하고 있는 장갑의 종류에 따른 오디 수확량을 비교하여 보면 고무코팅면장갑이 가장 적었고, 고무장갑, 면장갑 순으로 많았다. 본 실험에 사용한 실험실용 라텍스 장갑의 경우 338.8g으로 다른 어떤 장갑보다도 수확량이 많았다(Fig. 1-11). 오디 수확시 작업자가 착용한 장갑의 종류에 따른 수확 오디의 과육 표면 손상발생률을 조사하였던 바 15.1-52.3% 범위이었으며 수확량이 적었던 장갑의 순서와 유사한 경향을 보였다. 즉, 수확량이 적은 장갑의 경우 오디 표면 손상발생율이 높았던 반면, 수확량이 많았던 실험실용 라텍스 장갑의 경우 수확시 오디 표면의 손상률도 낮았다(Fig. 1-12).

한편 오디 수확 시 사용한 장갑에 따라 과육의 손상부위를 꼭지, 중간 부위 및 코 부위로 구분하여 분석하였던바 면장갑은 꼭지와 중간 부위의 손상발생정도가 높았고, 고무코팅 면장갑과 고무장갑은 중간부위의 손상발생정도가 높았던 반면, 실험실용 라텍스 장갑은 꼭지부위가 높은 것으로 나타났다.



Fig. 1-10. The gloves used for harvesting mulberry and actual harvest in the mulberry farm with various gloves.

Fig. 1-11. Comparison of harvesting yield of mulberry by glove used by worker for harvesting.

Fig. 1-12. Comparison of damage rate and damaged portion of mulberry fruits by glove used by worker for harvesting.

3) 수확용기에 따른 오디 수확량 및 과육손상발생률 조사

오디의 수확 시 문제점으로는 수확 시 발생하는 과육 손상이외 근본적으로 오디의 단위 시간당 수확량을 향상시킬 수 있는 방안의 모색이 필요하다. 일부 오디 산지에서는 수확속도를 향상시키기 위해 그물망 등의 이용도 권장하고 있는데, 오디를 신선한 과일형태로 유통 판매하기에는 적합하지 않다. 이에 본 연구는 작업자의 오디 수확량 향상을 위해 기존 관행방법과 본 연구를 통하여 고안한 오디 수확용기를 사용하여 수확속도 및 수확 후 오디의 품질을 비교하였다. 실험에 적용한 관행적인 수확 용기로는 4리터 용량의 플라스틱 통(A)과, 플라스틱 바구니(B)이었고, 새로 고안한 수확용기는 2.5 리터 용량의 스테인레스 스틸 용기(C)를 적용하였다. 한편 수확된 오디를 선별 및 포장처리장에서 재수집되는 과정에서 발생하는 과육 손상을 방지하기 위한 방안으로 최종 유통용 소포장 상자(D)도 본 실험에 적용하였다(Fig. 1-13).

각 용기의 사용방법은 관행의 4리터 용량의 플라스틱 통은 땅바닥에 놓은 상태로 오디를 두 손을 사용하여 수확 후 이에 담은 방식을 적용하였고, 플라스틱 바구니와 유통용 소포장 상자의 경우 한 손으로는 상자를 쥐고 다른 한손으로 오디를 수확하는 방식을 취하였다. 한편 새로 고안된 용기는 수확작업자의 허리에 용기를 매달고 두 손으로 오디를 수확하는 방식을 취하였다(Fig. 1-14).



Designed vessel and belt



Outside of designed vessel



Inside of designed vessel



Demonstration of harvest with designed vessel

Fig. 1-13. The designed vessel and demonstration of harvest in the farm.



Plastic basket (A)



Small plastic basket with holes (B)



Designed vessel (C)



Final small packaging container (D)

Fig. 1-14. The designed vessel and demonstration of harvest in the farm.

수확용기에 따른 오디의 5분 단위시간 당 수확량은 263-361g으로 용기 및 수확 방법에 따라 큰 차이를 보였는데, 관행적으로 많이 적용되고 있는 A방식과 B방식의 경우에서도 차이를 보였다. 즉, 오디를 한손으로 수확하는 것보다 두 손으로 수확하는 경우의 수확량이 많았다. 이에 비해 본 연구를 위해 새로 고안한 수확용기 및 수확방법의 경우 기존의 관행적인 방법에 비해 14-17% 정도 수확속도가 향상되는 것으로 나타났다. 한편 최종 유통용기를 사용하여 오디를 수확할 경우 5분 단위시간 당 수확량은 206g 정도로 다른 어떤 수확 용기 및 방법에 비하여 낮은 속도를 보였다.

오디 수확 시 작업자가 사용한 용기 및 이에 해당하는 수확방식에 따른 수확 오디의 과육 표면 손상발생률을 조사하였던 바 23.2-38.6% 범위이었으며 수확속도가 느렸던 최종 유통용 소포장 상자를 사용한 경우에서 32.2%의 손상률을 보였고, 플라스틱바구니를 사용하여 한손으로 오디를 수확하는 방식과 새로 고안 방식은 거의 유사한 28% 수준의 손상율을 보였으며, 관행적으로 많이 사용되고 있는 플라스틱 통을 사용한 경우 38.6%로 가장 높았다. 용기 및 수확 방법에 따라 과육의 손상부위를 꼭지, 중간 부위 및 코 부위로 구분하여 분석하였던바 대부분은 중간부위의 손상발생정도가 높았으며, 한손으로 플라스틱바구니를 쥐고 다른 한손으로 수확하는 방식(B)의 경우 꼭지와 중간 부위의 손상발생률이 거의 유사한 수준이었다(Fig. 1-15).

한편 수확한 오디의 소포장 시점에 따른 과일 표면의 손상발생정도를 수확단계(A), 수확 후 오

다 과수원 내 설치한 간이 선과 및 포장장소(B), 그리고 수확한 오디가 일정량이 되기까지 기다린 후 이를 모아 농협에서 운영하는 포장센터(C)로 옮겨 포장하는 경우로 구분하여 비교하였다. 오디를 수확할 때 유통용 포장상자에 직접 담는 경우(A) 23.1%의 손상 발생을 보였던 반면, 오디를 다른 용기를 사용하여 수확후 이를 오디 과수원 내 설치한 간이 선과 및 포장장소로 옮긴 후 이를 소분하여 포장하는 경우(B) 오디의 손상 발생률은 34.6%였다. 그러나 수확한 오디를 일정시간 방치한 후 포장 센터로 운반하여 포장하는 경우(C) 오디의 손상 발생률은 54.3%로 가장 높은 값을 보였다(Fig. 1-16).

Fig. 1-15. Harvesting yield(left), damage ratio(middle), and damaged portion(right) of mulberry by reservoir by worker for harvesting.

Fig. 1-16. Comparison of damage rate of mulberry by distribution packaging stage after harvest (A: Immediate package after harvest, B: Package at the packing place in the farm, C: Package at the packing house operated by agricultural cooperative)

4) 기존용기의 개선

오디의 수확, 선별 및 포장과정에서 오디의 품질에 영향을 크게 미치는 인자로는 오디의 부적합한 수확 방법 및 수확용기로 인한 외관의 손상이다. 오디의 손상부위를 조사한 결과 오디의 조직이 매우 연약한데도 불구하고 오디 중간 부위를 잡고 수확함으로 과실 중간부위의 손상이 매우 많다. 오디 수확용기의 경우 4-5리터 용 플라스틱을 사용함으로 용기내 오디의 자체 무게에 의해 연약한 오디 조직의 손상이 크게 발생함에 따라 오디 수확용기의 개선이 필요한 것으로 판단된다. 또한 대용량 플라스틱 통을 사용함에 따라 압상으로 발생한 오디의 즙이 플라스틱 통 안에 상존함에 따라 미생물의 감염 및 증식 요인으로 작용할 수 있다(Fig. 1-17). 따라서 수확시 채집용기의 크기를 최소화 하여야 하며 이러한 점을 감안하여 오디 수확에 사용하였던 통은 세척 후 재사용하거나, 플라스틱 용기 내에 비닐봉지를 씌워 사용하는 것도 고려할 수 있다.

한편 선별 및 포장단계에서는 수확량에 비해 선별 및 포장처리량이 적다보니 수확된 오디가 포장용기 내에 담긴 채 대기상태로 지체됨으로 포장 내 압상이 계속적으로 진행되고, 오디 수확용기 및 오디 표면에 묻어 있는 미생물의 증식이 진행될 수 있으며, 특히 작업장의 온도가 외기보다는 낮지만 미생물 증식에 영향을 줄 수 있는 25-30℃이므로 이러한 조건을 회피할 수 있는 포장방법의 적용이 필요한 것으로 판단된다. 따라서 sealer를 이용한 밀봉포장도 가능하겠지만 생과 유통을 위한 오디의 경우 뚜껑이 달린 포장재 상자의 적용이 보다 바람직한 것으로 판단된다.

선별 시에는 오디를 소분하기 위하여 사용하는 구멍 난 플라스틱 바구니를 선별작업 시작부터 종료 시까지 계속 사용하고 있는데 이 또한 손상된 오디로부터 유출된 오디 즙이 지속적으로 묻어있고 이에 감염되어 있는 미생물이 다른 오디에도 영향을 줄 수 있으므로 이를 개선키 위해서는 주기적으로 플라스틱 바구니의 세척 및 교환이 필요한 것으로 판단된다.



Fig. 1-17. Appearance of practical vessel used for harvesting mulberry.
(Left: outside, middle: inside, and right: dry after washing)

오디의 수확 시 채취 및 수집용기에 따른 조직손상 발생정도와 이로 인해 용기 내 발생한 과즙 유출정도를 기존방식 및 소포장용기 방식과 비교하였다(Fig. 1-18). 아울러 기존 수확후 처리 방법을 감안하여 플라스틱 통으로 수집 후 소비자용 소포장용기에 옮겨 담은 경우와 수확 시 소비자용 소포장용기를 사용한 경우와 그 차이를 비교하였다. 수확직후의 품질을 보면, 수확 시 소포장용기를 사용한 경우 대형 플라스틱 통을 사용하여 수확한 경우에 비해 과일형태의 건전도가 매우 우수하였고, 현장에서의 오디 처리시간을 고려하여 2시간 방치 후 건전도를 비교하였던 바 그 차이는 더욱 확연하였다. 수확 시 통으로 수확 후 현장에서 소분하여 이를 소포장한 경우 과일형태의 건전한 정도 및 과즙 유출정도는 대형 플라스틱용기에 담긴 채 2시간 방치한 것에 비해서는 품질이 양호하였으나, 수확 시 소포장 용기를 사용한 경우에 비하여서는 품질이 조악하였다. 수확용기 및 소분방법이 오디의 총균 및 곰팡이 수에 미치는 영향을 조사하였던 바 총 균의 경우 초기 3.37 log CFU/g 이었는데 2시간 후에는 대형 플라스틱 용기에 담긴 오디의 경우 5.69 log CFU/g, 이를 소분 포장한 경우 5.37 log CFU/g로 급격히 증가하였으나 수확 시 소포장용기를 사용하였던 경우는 3.58 log CFU/g로 수확직후와 거의 유사한 수준을 유지하였다. 곰팡이의 경우 플라스틱 통의 경우 약간의 증가를 보였으나 이를 소분한 경우와 수확 시 소포장용기를 사용한 경우 거의 초기 치와 유사한 수준을 나타내었다.

Fig. 1-18. Change in quality and microorganism of mulberry packaged in the small size container at different time after harvest.

다. 수확 현장에서의 품온 관리기술 연구

1) 수확현장에서의 온도관리실태 조사

오디의 수확현장에서 오디의 품질 유지를 위한 온도관리실태를 조사하였다(Fig. 1-19). 오디는 조기 수확을 위해 비닐하우스 내에서 재배하는 경우와 노지에서 재배하는 경우로 구분된다. 비닐하우스 내에서 재배하는 경우 비닐하우스 출입문 바로 옆에 선과 및 포장처리를 위해 간이 시설을 마련한 후 수확된 오디를 용기에 수집하여 이곳으로 옮겨 선별 포장한다. 간이 시설은 통풍이 가능하고 햇볕을 가릴 수 있는 차광막이 설치되어 있다.

오디 수확 후 이송, 선별, 포장 과정을 거치는 시간은 오디의 수확량 대비 선별 포장 처리량과 포장 방법에 의해 결정되는데 대부분 수확 후 30분-1시간 이내 포장작업이 이루어진다. 포장작업이 된 오디상자는 플라스틱 대 포장 상자에 담겨 포장작업장 내에 쌓아 놓았다가 일정량이 되면 자가 냉장고나 농협의 산지처리장으로 이송된다. 포장 후 냉장시설까지 이송되는데 소요되는 시간은 오디 농장의 규모, 수확량, 냉장시설과의 거리등에 따라 차이를 보이는데 최소 1시간 최대 4시간에 이른다.

오디의 수확후 선과장으로 이동전 과정 및 이동 후 선별 포장 및 저온저장시설로 이송되기까지 오디의 품온 관리를 위한 시설이나 시스템은 구축되어 있지 못한 실정이다.



Fig. 1-19. The representative simple facility for fruit sorting and packaging in the mulberry farm.

2) 수확현장/수확 용기 내/포장처리현장/포장 내 온도조사

수확된 오디의 품온을 수확 시부터 선과 포장되는 단계에 이르기까지 조사하였던바 수확된 오디의 품온은 외기의 온도보다 1.2-1.4℃ 정도 낮으며, 수확된 오디를 간이 선과장으로 이송하기 전 담아놓는 용기내의 품온은 오디량에 따라 차이가 있지만 외기보다는 0.5-0.8℃정도 높았다. 또한 수집된 오디가 간이 선과 및 포장장에서 대기하는 동안의 품온은 수확지에서 이송되는 시점의 온도보다 0.8-1.2℃정도 높은 수준을 유지하였다. 선별 및 포장을 위해 운반된 오디가 선별 작업 전 방치되는 동안 오디 용기 내 품온변화를 조사하였던바 외기보다는 오디의 품온이 1.3-2.0 ℃ 높게 유지되었다(Fig. 1-20, 21).



Fig. 1-20. Current state in controlling the temperature of out and inside of collecting container with mulberry at harvest and during waiting for sorting and packaging at the field.

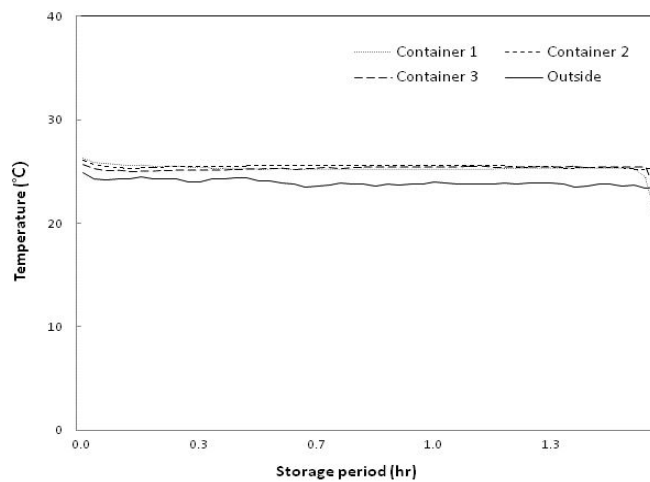


Fig. 1-21. Change in temperature of out and inside of collecting container with mulberry during waiting for sorting and packaging at the field.

3) 포장후 처리장 이동단계 온도조사

포장이 된 소포장 오디상자는 플라스틱 대 포장 상자에 담겨 포장작업장 내에 쌓여 놓았다가 일정량이 되면 생산량이 많고 판매처가 확보된 생산자의 경우 자가 냉장고로 옮겨 보관하고, 소량씩 생산하는 경우 플라스틱 상자로 대포장된 오디는 농협의 산지처리장으로 이송된다. 포장 후 냉장시설까지 이송되는데 소요되는 시간은 오디 농장의 규모, 수확량, 냉장시설과의 거리등에 따라 차이를 보이는데 최소 1시간 최대 4시간에 이른다. 이 시간 동안 상자 내 오디의 품온은 외기온도에 따라 달라지지만 외기보다 2.8℃정도 높았다(Fig. 1-22).



Fig. 1-22. Current state in controlling the temperature at the stage of transferring container with mulberry to farm facility after packaging in the field.

4) 온도관리방안 모색

오디 과수원당 1일 수확량은 과수원 면적 및 뽕나무의 수령에 따라 차이가 있지만 최대 100kg, 최소 10kg 정도로 추정된다. 생산량이 많은 농가의 경우 수확 후 포장 및 산지처리장 또는 자가 냉장시설로 이송되기 이전 오디의 품온 관리를 위해 일정 규모의 이동식 기계적 냉각시설을 오디 수확현지에 갖추는 것이 필요할 것으로 판단된다. 소규모 오디 생산농가의 경우에는 시설비용 및 시설운영이 여의치 않을 것으로 판단되어 대형 스티로폼 보온상자의 적용이 적합할 것으로 판단된다. 이 경우 보온상자 내 저온 유지를 위해 PCM (아이스팩)의 사용이 필수적이다. 오디의 선과 및 포장을 위한 현장 간이 시설에서 산지처리장 또는 자가 냉장시설로 이송 시에도 온도관리가 필요한데 소량 이송 시에는 PCM에 의해 저온이 유지되는 보냉 상자를 이용하거나, 단위농협이 소유하고 있는 냉장차를 이용하는 것이 적합할 것으로 판단된다. 산지 농협의 냉장차를 오디 수확현지에 투입하여 일정시간간격으로 오디 수확 현지를 순회하며 수거할 경우 생산자의 편의성 제고는 물론 오디의 고품질화를 기할 수 있을 것으로 판단된다. 이러한 방법 적용을 위한 예비조사로 오디의 품온 유지를 위해 보냉상자에 아이스 팩을 넣어 운송 시 외부온도와 상자 내 온도를 조사하였다. 이를 위해 현행 사용하고 있는 보냉 상자에 6kg의 오디와 4개의 아이스 팩을 넣은 후 밀봉하여 차량위에 방치하였던 바 3시간 30분간은 외부보다 최대 7℃정도 낮게 유지시킬 수 있었다(Fig. 1-23).

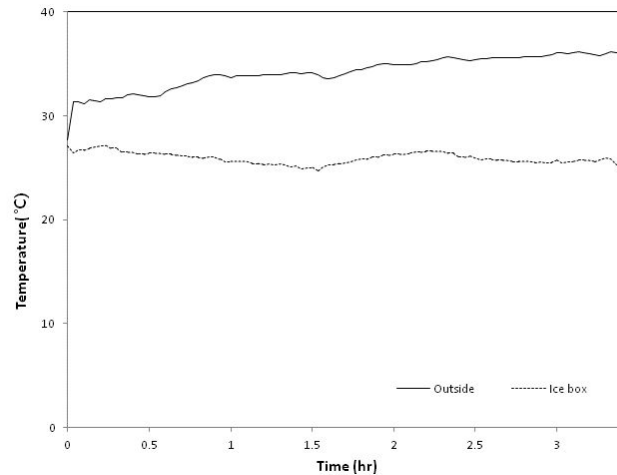


Fig. 1-23. Change in temperature of out and inside of ice box contained with mulberry and PCM packs.

5) 오디의 수확 후 품질관리를 위한 체계

수확현장 처리기술 확립을 위하여 오디의 관행적 수확 및 취급 실태를 우선 조사하였고, 오디의 수확 후 가장 큰 난제인 조직 손상을 최소화할 수 있는 방안을 강구키 위해 오디의 수확 적정 속도, 수확 시 채취장갑형태, 수확 오디의 수집 용기, 오디의 포장 및 수확 현장에서의 품온 관리를 위한 현장 조사 및 현장 실정을 감안하여 연구를 수행하였다. 이와 같은 결과를 토대로 오디의 수확 후 품질 관리를 위한 시스템을 구축하며 보면 Fig. 1-24과 같다.

오디는 가능한 작업자의 손을 보호할 수 있을 정도의 얇은 라텍스장갑을 착용한 후 소비자용 소포장용기를 사용하여 수확토록 한다. 소포장 용기 내 오디가 일정량 채워진 후 작업자는 이 상자의 뚜껑을 닫아 포장 내에 방치한다. 오디가 담긴 소포장용기는 다른 작업자에 의해 플라스틱 컨테이너에 담겨 오디농장인근 간이 처리장으로 옮겨진 후 내용물의 양을 일정하게 맞추는 후 자가 또는 농협 등이 운영하는 저온저장고로 가능한 빠른 시간 내에 운송한다. 운송된 오디 컨테이너는 저온저장고 입고 전 검수절차를 밟은 후 $-1.5 - 0^{\circ}\text{C}$ 를 조절된 저장고내 작업대에 단층, 또는 통기가 원활한 상태로 쌓아 빠르게 냉각시킨다. 냉각된 오디는 저장고내에 수확일자별로 구분하여 보관하며, 수확일자가 빠른 오디일수록 먼저 출하한다. 출하 시에는 단열정도가 높은 스티로폼 상자에 일정량씩을 담고 오디용기와 용기, 그리고 상자의 벽과 오디용기 사이에 축냉재를 넣고 뚜껑을 덮은 후 테이프로 완전 밀폐를 시킨다. 이와 같이 처리된 스티로폼 상자는 가능한 빠른 급송 방법을 택하여 소비자 및 소비지 시장으로 운송하는데 가능한 야간 운송이 바람직하다.

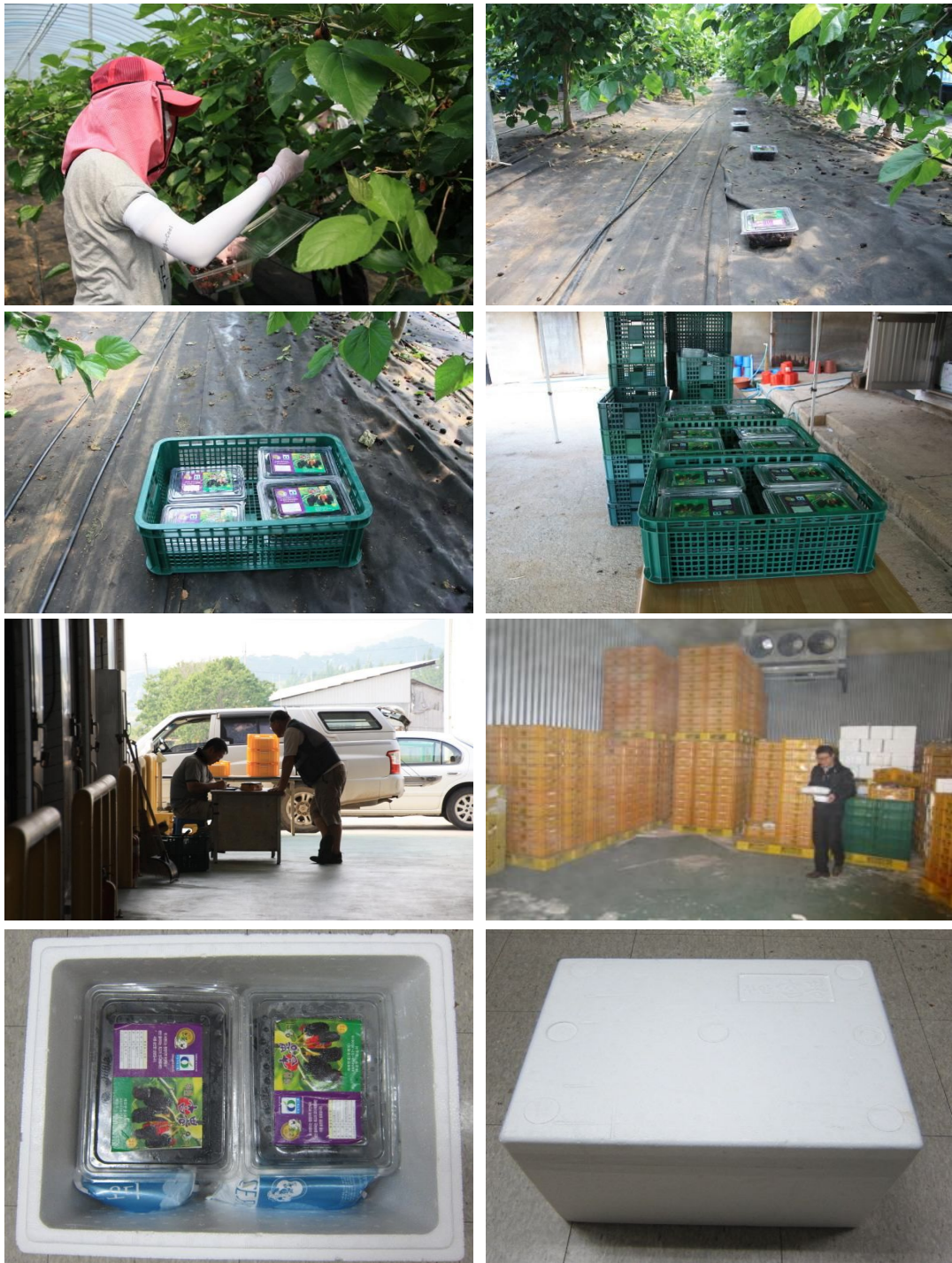


Fig. 1-24. Recommended system for maintaining the quality of mulberry after harvest.

라. 수확시기 결정을 위한 속도연구

1) 오디 속도별 이화학적 특성비교

오디의 수확 및 유통 중 발생하는 품질 저하요인 중 수확 시 발생하는 과육의 손상이 주요인므로 작용함에 따라 오디의 과육손상을 줄이기 위해 현재 속도가 100% 수준인 오디를 수확하고 있는데, 속도가 낮은 경우 조직의 경도 및 탄력이 100%인 경우 비하여 높을 것으로 유추

되고, 이러한 특성을 이용하여 오디를 수확 시 과육 손상을 줄일 수 있을 것으로 판단되어 오디의 속도별 품질을 비교하였다(Fig. 1-25).

본 연구에 앞서 속도에 따른 과육 손상 발생 정도를 확인키 위해 유통 중인 오디를 시중에서 구입하여 이를 속도별로 분류한 후 각 속도별 오디의 손상발생 정도를 분석하였다. 오디의 속도별 손상발생정도는 생산자에 따라 차이를 보였지만 속도별로는 속도가 높을수록 손상발생률이 높아, 속도가 80%정도인 오디의 경우 0.3-1.0%로, 90% 속도 오디의 2.8-4.7%, 100%속도 오디의 4.4-11.1%에 비해 매우 낮은 손상 발생률을 보였다(Fig. 1-26). 또한, 오디의 속도별 개체 중량은 80%수준은 평균 3.35g이었고, 속도가 진행됨에 따라 무게가 증가하여 90%는 3.57g, 100%는 4.04 g 이었다(Fig. 1-27).



Fig. 1-25. Appearance of mulberry with different ripening stage.

Fig. 1-26. Degree of damaged mulberry with different ripening stage in the boxes packaged by different farmers after distribution.

Fig. 1-27. Individual weight of mulberry with different ripening stage.

오디의 속도별 과육의 경도를 비교키 위해 지름 1인치인 원통형 plunger가 50%의 strain에 도달할 때 까지 나타난 피크의 최대값으로 나타내었다. 실험결과 80% 속도를 갖는 오디의 경도는 2.35 kg.f으로 속도 90%인 오디에 비해 74%정도 높았고, 속도 100%인 오디에 비해 167%정도 높은 값을 나타내었다(Fig. 1-27).

또한 경도 측정을 위한 rupture test시 나타난 profile을 비교하여 보면 80% 수준의 속도를 갖는 오디의 피크 모양이 90% 및 100%의 경우에 비해 강하고 뚜렷하게 나타났다(Fig. 1-28).

Fig. 1-28. Firmness of mulberry with different ripening stage (strain 50%).

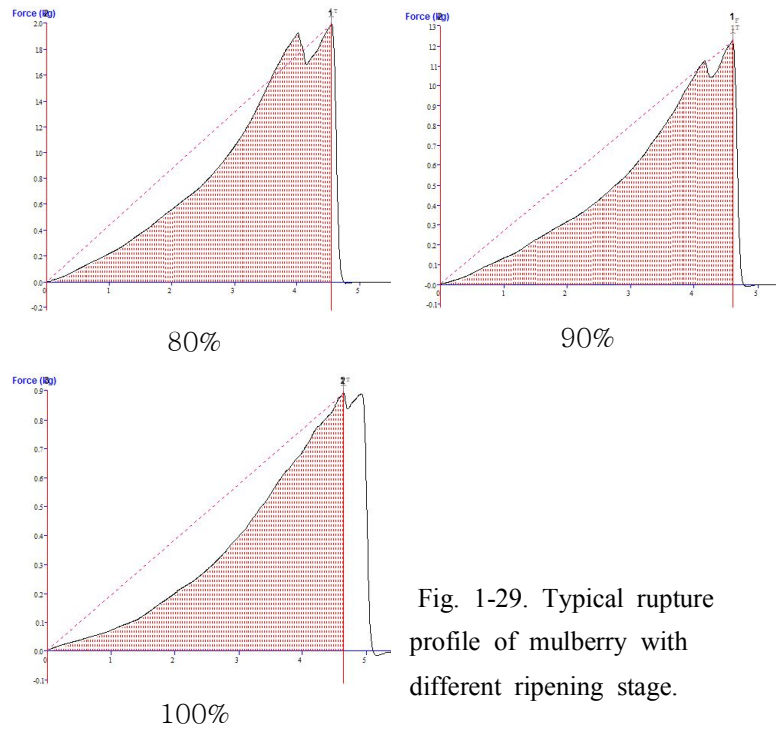


Fig. 1-29. Typical rupture profile of mulberry with different ripening stage.

오디의 속도별 탄력도를 조사하기 위해 동일한 plunger를 사용하여 35%의 strain 조건에서 TPA를 실시하였다. Strain 35%는 오디의 과육이 파괴되지 않는 조건으로 오디의 첫 번째 피크의 force는 rupture test의 결과와 같이 80% 속도의 오디의 값이 가장 높고 다음으로는 90%, 100% 순이었다(Fig. 1-30). 한편 과육의 탄성은 80%가 가장 높았고 속도 90%와 100%는 거의 유사한 수준을 나타내었다(Fig. 1-31).

TPA (Force)

TPA (Springness)

Fig. 1-30. Force and springness of mulberry with different ripening stage (strain 35%).

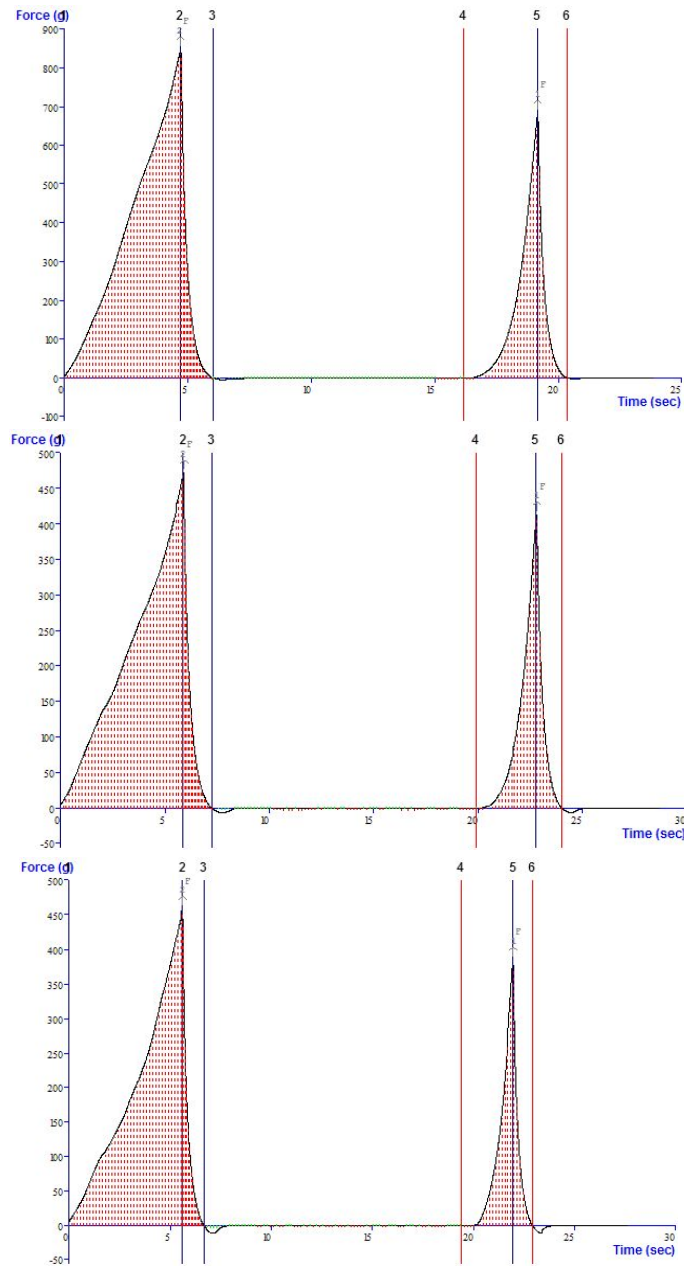


Fig. 1-31. TPA curve of mulberry with different ripening stage at 35% strain.

오디의 호흡률은 온도별로는 뚜렷한 차이를 보이며 높은 온도에서 저장할수록 호흡률이 증가하였다. 속도에 따라 호흡률을 비교한 결과 100% 완숙과에서의 호흡률이 뚜렷하게 가장 높았으며 80%와 90%에서의 호흡률의 차이는 미미하였다(Fig. 1-32).

오디에 존재하는 미생물 수를 속도별로 분석하였던바 생균의 경우 속도가 80% 수준의 오디는 $2.18 \pm 0.21 \log \text{CFU/g}$, 속도가 90% 수준의 오디는 $3.15 \pm 0.13 \log \text{CFU/g}$, 속도가 100% 수준의 오디는 $3.42 \pm 0.15 \log \text{CFU/g}$ 수준으로 속도가 낮을수록 생균수의 수가 적은 것으로 나타났다(Fig. 1-33). 곰팡이의 경우 속도가 80% 수준의 오디는 $4.51 \pm 0.07 \log \text{CFU/g}$, 속도가 90% 수준의 오디는 $4.37 \pm 0.09 \log \text{CFU/g}$, 속도가 100% 수준의 오디는 $4.10 \pm 0.01 \log \text{CFU/g}$ 수준으

로 속도와 거의 무관하게 4.10- 4.51 log CFU/g 수준을 나타내었다. 오디의 외관적 영향을 미치는 표면색을 속도별로 비교하였다(Fig. 1-34). L 값은 22.00-26.39 범위로 속도가 80% 수준인 오디의 L 값은 22.00 이었고, 90% 및 100%의 경우는 각각 24.66과 26.39로 거의 유사한 수준이었다. 붉은 색을 나타내는 a 값의 경우 -0.65-9.72 범위로 속도간의 차이가 매우 컸다. 특히 속도가 진행됨에 따라 그 값은 급속히 감소하였다. b값의 경우 -2.55~-2.18범위로 a값과는 달리 80%에 비해 90, 100%에서 높게 나타났다. 오디의 속도별 가용성 고형물함량은 14.2-16.3 °Brix로 속도가 100%인 경우 가장 높았으며 속도가 높을수록 그 함량이 높은 경향이였다. 오디의 pH는 4.24-5.31 범위로 오디의 속도가 진행됨에 증가하였고, 적정산도는 0.33-0.75% 로 속도가 낮을수록 그 함량이 높았다. 오디의 속도별 안토시안 함량을 비교하였던바 속도에 따라 그 함량 차이가 뚜렷하게 나타났다. 100% 완숙과의 경우 80% 속도 오디에 비해 3.98배 높은 함량을 나타내었다. 오디의 속도별 관능적 품질을 비교하였던바 아래의 Fig. 1-35와 같이 외관과 향은 속도와 무관하게 거의 유사한 수준이었고, 표면색과 맛은 속도가 높을수록, 조직감은 속도가 낮을수록 다소 높은 값을 보였다. 각 관능 평가인자를 종합한 전반적인 품질은 속도 간에 약간의 차이를 보였으나 유의적이지는 않았다.

Fig. 1-32. Respiration rate and color value of mulberry with different ripening stage.

Fig. 1-33. Microbial population of mulberry with different ripening stage.

Fig. 1-34. Quality of mulberry with different ripening stage.

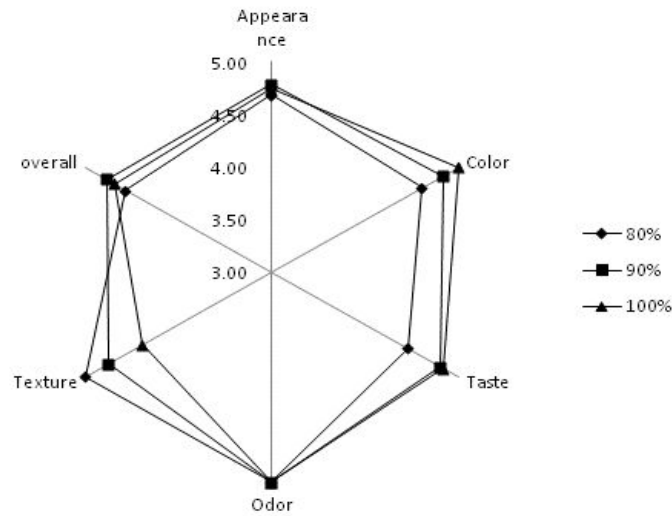


Fig. 1-35. Sensory characteristics of mulberry with different ripening stage.

2) 숙도별 관능적 품질

숙도에 따른 오디의 관능적 기호도를 연령대별로 평가하여 오디의 품질지표를 구축하고자 하였다(Fig. 1-36). 숙도 80, 90, 100% 오디를 관능평가 당일 수확 한 후 20대, 30대, 40대, 50대 연령의 소비자에게 관능평가를 실시한 결과 20대는 모든 항목에서 90%오디를 가장 좋게 평가하여 숙도 90% 오디를 선호하는 것을 알 수 있었다. 특히 숙도 100%의 경우 맛 항목에서 가장 높은 기호도를 보여주었지만 조직감과 외관 항목에서는 기호도가 뚜렷하게 낮았고 이로인해 전반적으로 숙도 90%보다 낮은 점수를 얻은 것으로 보아 20대의 경우 오디의 관능적 품질 지표 중 조직감과 외관을 중요시 하는 경향이 있음을 알 수 있었다.

30대와 40-50대의 경우 유사한 모양의 관능그래프를 나타내었는데, 전반적으로 100% 숙도의 오디를 선호하였으며 특히 맛 항목에서 100% 숙도 오디를 높게 평가하였다. 조직감의 경우 90% 오디가 다른 숙도에 비해 높은 기호도를 나타내었음에도 불구하고 전반적으로 100% 숙도의 오디가 90%에 비해 높은 기호도를 나타내는 것으로 보아 30대와 40-50대의 경우 조직감 보다 맛이 오디의 기호도를 결정하는데 중요한 인자로 작용함을 알 수 있었다.

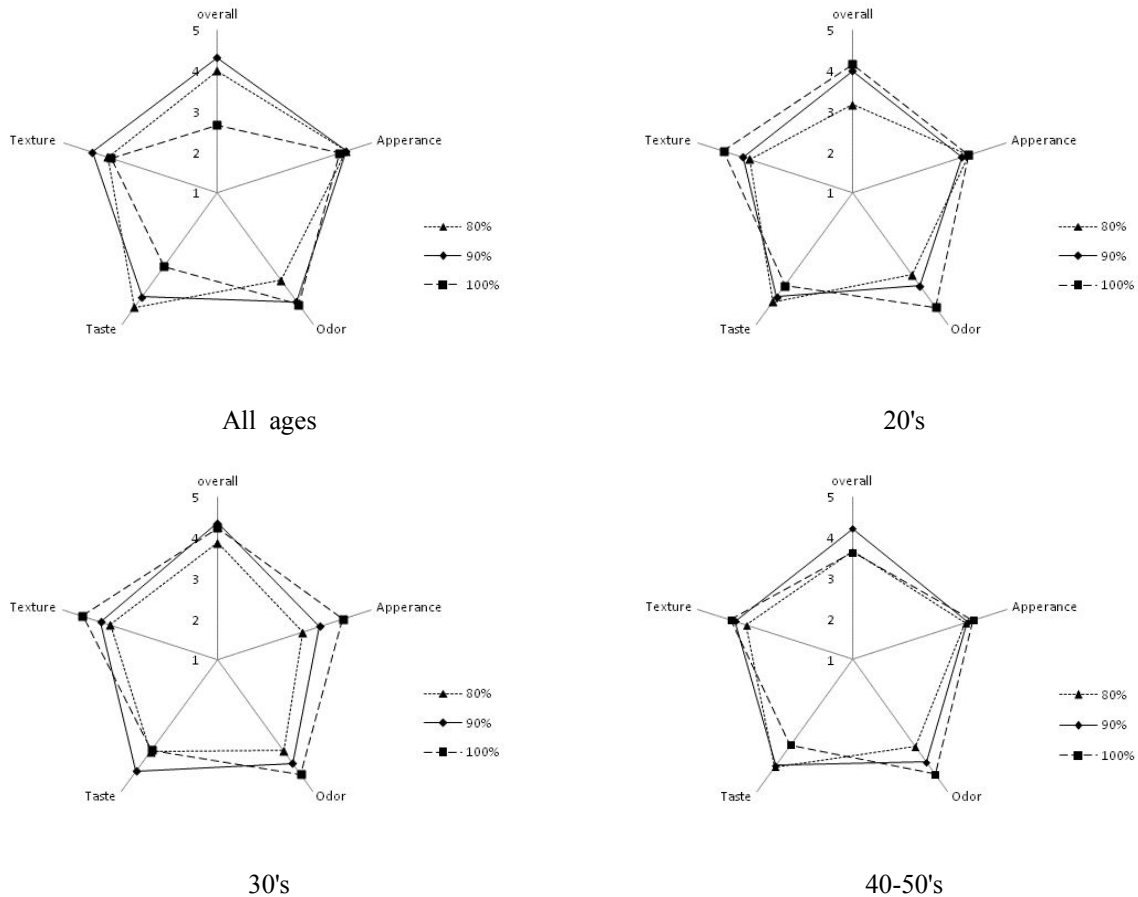


Fig. 1-36. Preference of consumer with different ages about mulberry with different ripening stage.

3) 수확 후 오디의 숙도에 따른 과피 색 변화

현지 농민들은 오디의 과피 색은 수확 후 결정되며 수확이후에는 변화하지 않는 것으로 오인하고 있다. 이에 수확후 오디의 과피 색 변화에 대한 현장에서의 오해를 불식시키기 위해 오디의 숙도별 표면색 변화를 현장에서 생산 농민들과 함께 공동으로 실험을 실시하였다. 오디를 과피의 착색정도를 기준으로 60%, 80% 및 100% 상태에서 수확하여 그늘진 상온에 2일간 방치하였다(Fig. 1-37). 그 결과 아래의 그림에서와 같이 관능적으로는 60% 숙도의 오디의 경우 2일 후 거의 100% 수준의 착색 정도를 나타내었다. 이를 Hunter color meter를 이용하여 'a' 값을 비교하였던 바 60% 숙도의 오디의 경우 2일 방치 후 그 값이 상당 수준 낮아 졌으나, 100% 착색 오디의 값에 미치지 못한 것으로 나타났다. 한편 80% 착색 오디의 경우 2일 방치 후 그 값이 거의 100% 착색 오디의 값과 유사하게 나타났다.

숙도에 따른 오디의 관능적 품질을 보면 60% 착색오디의 경우 100% 착색오디에 비해 품질이 매우 낮은 것으로 평가되었고, 80% 착색오디의 경우 100% 착색오디에 비해 다소 품질이 낮은 것으로 평가되었다(Fig. 1-38). 한편 이를 2일간 상온 방치 시에는 60% 착색 오디의 경우 후숙이 진행되어 외관은 80% 및 100% 착색 오디에 비하여서도 양호하였고, 조직의 견고도도

및 견고도도 80% 및 100% 착색 오디에 비하여서도 양호한 것으로 평가되었다. 또한 색과 맛 그리고 조직감은 60% 착색 오디의 경우 80% 및 100% 착색 오디에 비하여 거의 유사한 수준이었다.

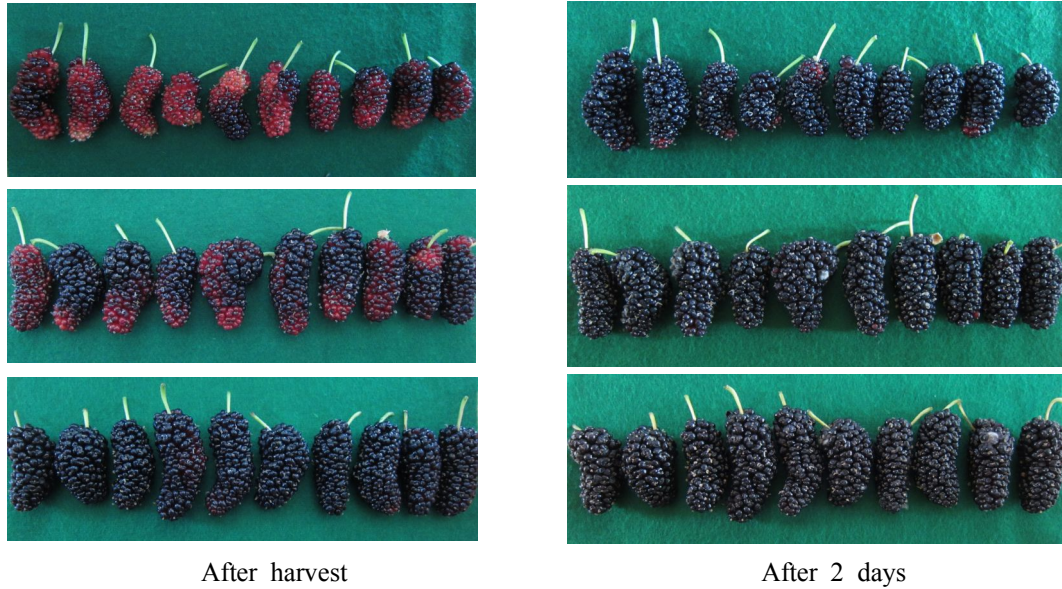


Fig. 1-37. Change in surface color of mulberry with different ripening stage after 2 days at room temperature.

Fig. 1-38. Change in sensory evaluation of mulberry with different ripening stage after 2 days at room temperature. (Left: after harvest, right: after 2 days)

마. 재배 방식에 따른 오디의 품질

오디 재배는 일반 노지 재배와 비닐하우스를 이용한 재배 방법이 적용되고 있다. 비닐하우스를 이용한 오디 재배는 오디의 수확시기를 노지재배의 경우에 비해 약 2주정도 앞당겨 판매함으로써 수익을 올릴 수 있는 잇점이 있다.

본 조사에서는 동일 농가에서 재배 되는 동일품종(과상3호)의 오디를 사용하여 재배 방법에 따른 품질을 비교하였다(Fig. 1-39, 1-40). 오디의 개체 당 평균중량은 비닐하우스 오디의 경우 5.71g으로 노지오디의 3.29g 보다 컸으며, 수확 후 비닐하우스 오디는 소분 포장 시 조직손상 정도가 노지오디에 비해 비교적 큰 것으로 평가되었다. 이와 연계하여 오디의 경도를 비교하였던바 경도는 비닐하우스에서 재배한 오디가 노지 오디에 비해 낮은 것으로 나타났다.

오디의 재배 방식에 따른 가용성 고형물 함량, pH 및 적정산도를 비교하였던 바 가용성함량은 가용성 고형물 함량 및 pH는 비닐하우스 재배 오디가 노지 재배 오디 보다 다소 높고, 적정산도는 이와 반대되는 경향을 보였다. 이를 과피의 착색정도를 기준으로 숙도를 80%, 90% 및 100%로 각각 구분하여 비교하여 보면 앞서 설명한 바와 같이 전반적으로 동일한 경향을 보였다(Fig. 1-41~43).

오디의 재배 방식에 따른 총균 및 곰팡이수를 비교하였던바 비닐하우스 재배 오디가 이반 노지 재배 오디에 비해 그 수가 적은 것으로 나타났다. 이를 보다 더 상세히 설명하면 총균은 비닐하우스 오디의 경우 1.69 log CFU/g으로 노지오디의 4.89 log CFU/g에 비해 훨씬 적었으며, 곰팡이는 비닐하우스 오디의 경우 3.04 log CFU/g으로 노지오디의 4.12 log CFU/g에 비해 적었다(Fig. 1-44).



Fig. 1-39. Appearance according to the cultivation method of mulberry (left: open field cultivation, right: plastic greenhouse cultivation) and individual weight



Fig. 1-40. Drip by tissue damage during subdivision for packaging according to mulberry cultivation method (left: greenhouse cultivation, right: open field cultivation)

Field

Greenhouse

Fig. 1-41. Change in sensory evaluation of mulberry with different ripening stage and cultivation.

Fig. 1-42. Quality of mulberry with different ripening stage and cultivation.

Fig. 1-43. Firmness of mulberry with different ripening stage and cultivation.

Fig. 1-44. Microorganisms of mulberry with different cultivation.

제 3절 생과용 오디의 유통기간 연장기술 개발

1. 생과용 오디의 유통기간 연장을 위한 저장기술 연구

가. 오디의 적정 저장온도 연구

오디의 적정 저장온도 연구를 위하여 실용적인 측면에서 1차적으로 오디의 저장온도별 품질 변화를 조사하였다. 실험에 적용한 온도는 0, 10 및 20°C이었고, 각 저장온도에서 오디 속도(80, 90, 100%)별 저장성을 비교하였다. 이 실험결과를 바탕으로 저온저장을 위한 최적 조건 설정을 위하여 오디의 속도별 빙결온도를 조사하였다.

실험용 오디는 2012. 5. 25 남부안 농협이 지원하는 오디 농장에서 속도별로 직접 수확한 후 실험온도를 고려하여 오디를 아이스팩이 담긴 보냉상자에 담아 당일 운송 후 건전과만을 선별, 포장하여 각 온도의 저장고에 입고하였다.

1) 오디의 저장온도 및 속도에 따른 관능적 품질변화

오디는 조직이 매우 연약하여 수확 시 수확 후 포장, 유통 중 품질변화가 매우 빠르게 진행되는 특징을 지니고 있다. 산지 현장에서 직접 수확한 오디를 보냉처리한 후 최대한 빠르게 운송하여 선별 포장한 후 0, 10 및 20°C에 저장하면서 품질의 변화를 조사하였는데 품질 조사항목 중 관능적 품질 변화 조사가 최우선시 되었다(Fig. 2-1~2-3).

0°C에 저장한 오디의 관능적 품질은 전반적으로 저장 12일까지 상품성을 유지하는 것으로 나타났으며 수고별로는 80% 및 90% 속도의 오디는 저장 14일 이후에도 상품성을 유지하였던 반면 속도가 100%인 완숙과의 경우 저장 14일후에는 상품성이 소실된 것으로 나타났다. 상품성 손실과 관련된 관능적 품질인자로는 외관상태 불량이었으며 이 항목의 평가치를 낮추었던 요인은 오디 표면상에 육안으로도 인식이 가능토록 증식된 곰팡이이었다.

10℃에 저장한 오디의 관능적 품질은 전반적으로 저장 2일까지 상품성을 유지하는 것으로 나타났으며 속도별로는 80% 및 90% 속도의 오디는 저장 4일 이후에도 상품성을 유지하였던 반면 속도가 100%인 완숙과의 경우 저장 4일후에는 상품성이 소실된 것으로 나타났다. 상품성 손실과 관련된 관능적 품질인자로는 0℃의 경우와 같이 외관상태 불량이었으며 이 항목의 평가치를 낮추었던 요인은 오디 표면상에 육안으로도 인식이 가능토록 증식된 곰팡이이었다.

20℃에 저장한 오디의 관능적 품질은 0℃와 10℃에 비해 매우 빠르게 저하되어 전반적으로 저장 1일까지 상품성을 유지하였으며 속도별로는 80% 및 90% 속도의 오디는 저장 2일 이후에도 상품성을 유지하였던 반면 속도가 100%인 완숙과의 경우 저장 2일후에는 상품성이 소실된 것으로 나타났다. 상품성 손실과 관련된 관능적 품질인자로는 외관상태 불량이었으며 이 역시 오디 표면상에 육안으로도 인식이 가능토록 빠르게 증식된 곰팡이 때문이었다.

Fig. 2-1. Change in sensory quality of mulberry with different ripening stage during storage at 0°C.

Fig. 2-2. Change in sensory quality of mulberry with different ripening stage during storage at 10°C.

Fig. 2-3. Change in sensory quality of mulberry with different ripening stage during storage at 20 °C.

2) 저장 중 곰팡이 수 변화

오디의 수확 후 유통 중 품질저하는 조직의 손상과 더불어 곰팡이의 증식이 주원인이다. 속도가 다른 오디를 0, 10 및 20℃에 저장하면서 곰팡이 수의 변화를 조사하였던 바 0℃에서는 저장 14일 후 5.03-5.42 log CFU/g 범위였고, 10℃에서는 저장 6일 후 5.53-5.69 log CFU/g 범위였다. 한편 20℃에서는 저장 2일 후 5.47-5.85 log CFU/g 범위에 도달하였다(Fig. 2-4~2-6). 오디의 속도에 따른 곰팡이 증식 정도를 보면 속도가 높을수록 그 속도가 빠른 것으로 나타났다.

Fig. 2-4. Change in mold of mulberry with different ripening stage during storage at 0, 10, and 20℃.

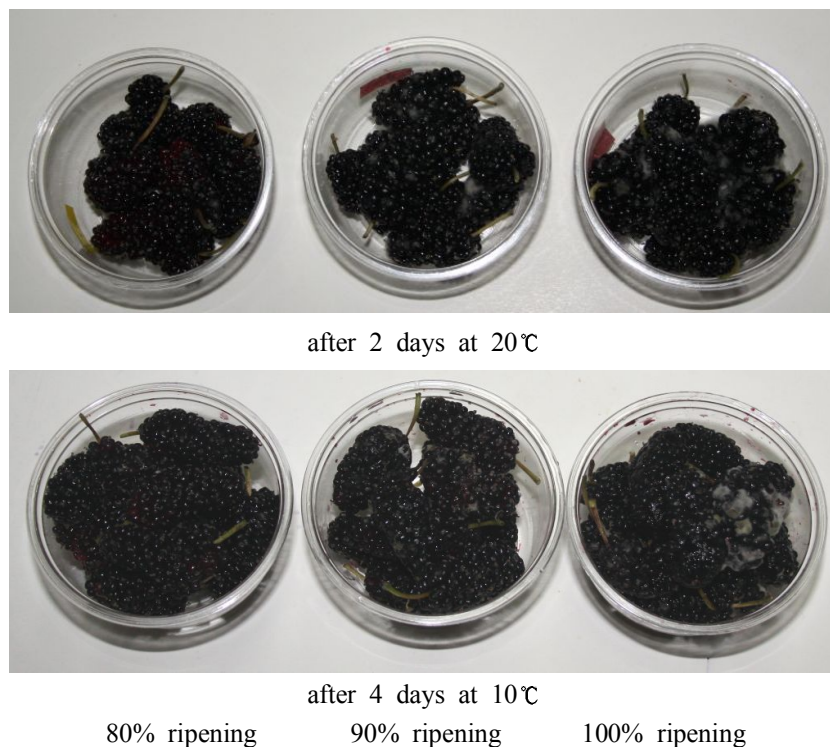


Fig. 2-5. Appearance of mulberry with different ripening stage during storage.



Fig. 2-6. Appearance of mold grown on mulberry during storage.

3) 오디의 저장온도 및 숙도에 따른 경도변화

수확 시 및 수확 후 포장, 유통 중 품질변화가 매우 빠르게 진행되는 주요 원인으로 과피 및 과육이 매우 연약함에 따른 조직 붕괴이다. 오디를 0, 10 및 20℃에 저장하면서 경도의 변화를 조사하였는데, 초기 경도는 숙도에 따라 차이가 있어 80%는 2.53 kg.f, 90%는 1.35 kg.f이었고, 완숙과의 경우 0.89 kg.f로 매우 낮은 값을 보였다(Fig. 2-7). 저장온도에 따른 경도 변화를 비교하여 보면 온도가 높을수록 경도 저하가 빠르게 진행되었고, 숙도에 따른 비교를 하여보면 숙도가 낮을수록 경도 변화가 상대적으로 빠르게 진행되었다(Fig. 2-8).

Fig. 2-7. Change in firmness of mulberry with different ripening stage during storage at 0, 10, and 20℃.

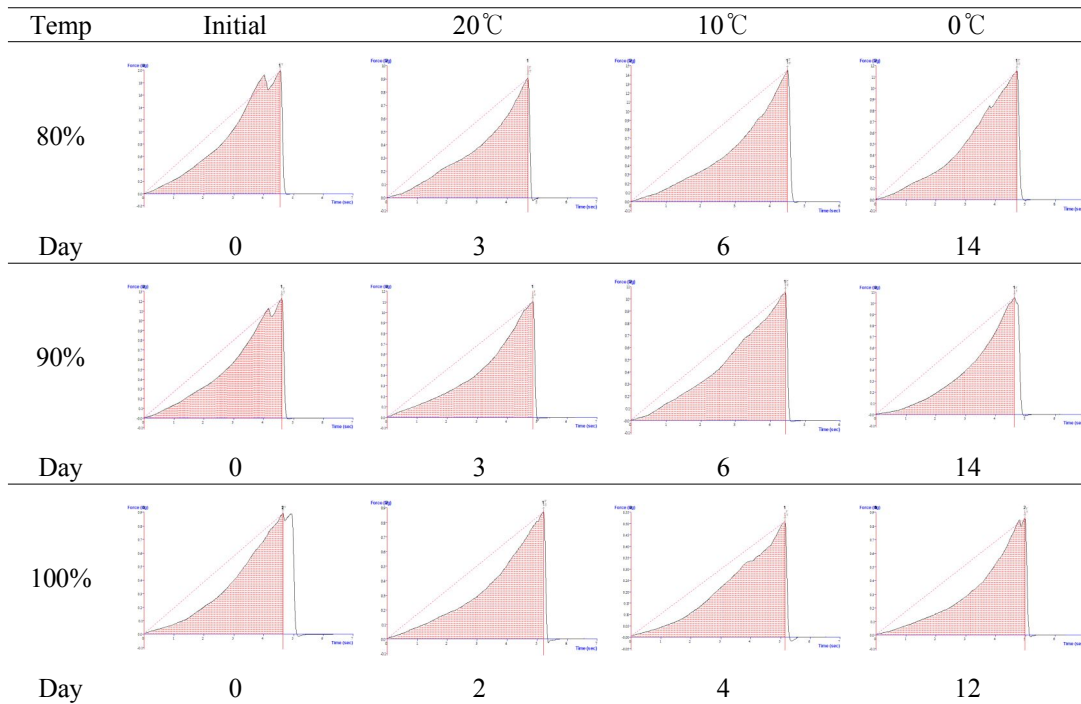


Fig. 2-8. Comparison of rupture test curve of mulberry at the final day with acceptable quality during storage at different temperature.

4) 오디의 저장온도 및 속도에 따른 과피 색상 및 안토시안 함량 변화

오디의 속도를 달리하여 0, 10 및 20°C에 저장하면서 과피 색의 변화를 조사하였는데, 오디의 속도는 과피의 붉은 정도를 기준으로 하였음에 따라 측정된 L, a, 및 b 값 중 'a' 값은 우선 도시하였다. 'a'값은 저장온도에 따라 차이를 보여 온도가 높을수록 빠르게 감소하는 하는 경향을 보였다. 속도에 따른 'a'값의 변화를 보면 속도가 낮을수록 변화의 속도가 빠른 것으로 나타났다(Fig. 2-9). 오디의 색상 중 'a'값은 감소하는 추세를 보였는데 오디의 표면색을 결정짓는 색소인 안토시안의 함량은 10 및 20°C에서는 뚜렷한 변화 경향을 나타내지 않았으나, 0°C에서의 경우 100% 속도의 시료에서는 다소 감소하는 경향으로 보인 반면 80 및 90% 속도의 오디는 저장기간 동안 일정한 수준을 유지하였다.

(Fig.2-10)

Fig. 2-9. Change in a value of mulberry with different ripening stage during storage at 0, 10, and 20°C .

Fig. 2-10. Change in anthocyanin content of mulberry with different ripening stage during storage at 0, 10, and 20°C .

5) 오디의 저장온도 및 숙도에 따른 가용성고형물, pH 및 적정산도 변화

오디의 가용성 고형물함량은 숙도에 따라 차이를 보여 100% 완숙과의 경우 14.0⁰Brix로 80 및 90%숙도의 오디보다 높은 값을 보였다(Fig. 2-11). 오디의 숙도별 온도에 따른 변화를 보면 80 및 90% 숙도의 오디는 10 및 20°C 모두에서 거의 유사한 수준의 경향으로 감소하였다. 이에 반하여 0°C에 저장하였던 경우 저장 중 그 함량이 등락은 있었지만 전반적으로 초기치를 유지하였다. 한편 100% 완숙과의 경우 20°C에서는 매우 빠르게 감소하였으나 10°C 및 0°C에서는 큰 변화를 보이지 않았다.

pH의 경우 저장기간이 경과함에 따라 그 값이 증가하였는데 변화의 그 변화속도는 숙도가 높을수록 빨랐다(Fig. 2-12). 저장온도에 따른 변화를 보면 온도가 높을수록 빠르게 진행되는 것으로 나타났다. 한편 적정산도의 변화를 보면 저장온도가 높을수록, 숙도가 높을수록 그 변화가 크게 나타났다.

Fig. 2-11. Change in soluble solids content of mulberry with different ripening stage during storage at 0, 10, and 20°C .

Fig. 2-12. Change in pH and titratable acidity of mulberry with different ripening stage during storage at 0, 10, and 20°C .

6) 오디의 최적 저장 온도

한편 저온 저장이 오디의 품질을 유지하는데 효과적인 것으로 사료되어 0°C 근처의 1.5°C, 0°C, -1.5°C로 온도를 재설정 하여 25일간 저장하면서 색도, 미생물, 부패율, 경도, pH, 산도, 당도, 안토시아닌과 관능적 품질의 변화를 조사하였다(Fig. 2-13~2-16). 색도에선 세 온도 시료 구간 별다른 차이를 나타내지 않았으며 총균과 곰팡이, 부패율은 저장기간에 따라 -1.5°C < 0°C < 1.5°C 순으로 높은 값을 나타내었다. 경도는 저장 기간이 지남에 따라 감소했는데 1.5°C에서 저장했을 시 저장 초기부터 급격하게 경도가 감소했으며 이는 다른 저장 온도 처리구와 유의적인 차이를 보였고 -1.5°C에서 저장한 오디의 경도가 가장 적은 변화를 보였다. 저장기간 동

안 세 저장온도의 오디 pH의 변화는 미미하였고 적정산도와 가용성고형물 함량은 전반적으로 감소하는 경향이었으나 저장온도에 따른 차이는 뚜렷하지 않았다. 안토시아닌 또한 저장기간에 따라 감소하는 경향을 나타내었는데 1.5℃에서 가장 급격하게 감소 한 반면 -1.5℃에서 가장 완만한 변화를 보였다. 관능적 품질에서 1.5℃와 0℃는 각각 5일, 8~9일까지 상품성을 나타냈으나 -1.5℃에선 13일까지 상품성이 유지되었다. '전반적인 품질', '외관', '조직감'등에서 온도가 낮을수록 높은 기호도를 나타내었으며 특히 -1.5℃에서 저장한 오디의 관능적 품질이 가장 우수했다(Table 2-1). 저장온도에 따른 오디의 품질인자의 변화 조사 결과, 전반적으로 저장 온도가 낮을수록 품질의 변화가 적게 나타났으며 위 실험 결과와 관능적 품질평가를 기준으로 1.5℃, 0℃, -1.5℃중 가장 낮은 온도인 -1.5℃가 다른 온도 보다 오디의 품질 유지에 효과적인 것으로 판단되었다.

Fig. 2-13. Changes in titratable acidity and soluble solids content of mulberry during storage at 1.5℃, 0℃ and -1.5℃.

Fig. 2-14. Changes in Hunter color 'a' value and ΔE of mulberry during storage at 1.5℃, 0℃ and -1.5℃.

Fig. 2-15. Changes in firmness and deterioration ratio of mulberry during storage at 1.5°C, 0°C and -1.5°C.

Fig. 2-16. Changes in total viable cell and mold of mulberry during storage at 1.5°C, 0°C and -1.5°C.

Table 2-1. Changes in sensory quality of mulberry during storage at 1.5°C, 0°C and -1.5°C for 25 days

Attribute	Temperature (°C)	Storage period (day)					
		0	5	10	15	20	25
Overall	1.5	4.87±0.11 ^{aA1)}	3.53±0.61 ^{bc}	2.44±0.65 ^{cb}	1.66±0.84 ^{dB}	1.25±0.42 ^{deB}	1.00±0.00 ^{cb}
	0	4.87±0.11 ^{aA}	3.87±0.61 ^{bAB}	2.96±1.19 ^{cb}	2.06±0.62 ^{dB}	2.30±0.71 ^{dA}	1.30±0.42 ^{cb}
	-1.5	4.87±0.11 ^{aA}	4.08±0.50 ^{bA}	3.74±0.91 ^{bA}	2.63±0.77 ^{cA}	2.66±0.39 ^{cA}	1.70±0.42 ^{dA}
Appearance	1.5	4.94±0.10 ^{aA}	3.14±1.25 ^{bA}	1.99±0.50 ^{cC}	1.42±0.51 ^{dB}	1.30±0.48 ^{dB}	1.00±0.00 ^{dB}
	0	4.94±0.10 ^{aA}	3.73±0.91 ^{bA}	2.93±1.06 ^{cb}	1.75±0.40 ^{dAB}	1.81±0.37 ^{deA}	1.30±0.48 ^{cb}
	-1.5	4.94±0.10 ^{aA}	4.01±0.76 ^{bA}	3.69±0.87 ^{bA}	1.92±0.51 ^{cA}	2.00±0.00 ^{cA}	1.70±0.42 ^{cA}
Color	1.5	5.00±0.00 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.98±0.05 ^{aA}	4.50±0.90 ^{bB}	-	-
	0	5.00±0.00 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.97±0.07 ^{aA}	4.97±0.05 ^{aA}	4.90±0.00	-
	-1.5	5.00±0.00 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.98±0.06 ^{aA}	4.97±0.07 ^{aA}	4.96±0.07 ^a	-
Taste	1.5	4.87±0.16 ^{aA}	4.23±0.15 ^{bB}	4.00±0.00 ^{cA}	-	-	-
	0	4.87±0.16 ^{aA}	4.28±0.11 ^{bAB}	4.17±0.17 ^{bA}	-	-	-
	-1.5	4.87±0.16 ^{aA}	4.43±0.27 ^{bA}	4.27±0.25 ^{bA}	-	-	-
Odor	1.5	5.00±0.00 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.91±0.12 ^{bA}	-	-	-
	0	5.00±0.00 ^{aA}	4.99±0.03 ^{bA}	4.96±0.07 ^{bA}	4.90±0.00	4.90±0.00	-
	-1.5	5.00±0.00 ^{aA}	5.00±0.00 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.95±0.07	4.97±0.06	-
Texture	1.5	4.81±0.12 ^{aA}	3.85±0.25 ^{bA}	3.44±0.59 ^{cAB}	3.18±0.41 ^{cB}	2.13±0.86 ^{dB}	1.00±0.00 ^{cC}
	0	4.81±0.12 ^{aA}	3.96±0.34 ^{bA}	3.32±0.93 ^{bcB}	3.56±0.55 ^{cdAB}	2.98±0.59 ^{dA}	2.27±0.80 ^{cb}
	-1.5	4.81±0.12 ^{aA}	4.03±0.37 ^{bA}	3.96±0.51 ^{bcA}	3.63±0.52 ^{cdA}	3.42±0.42 ^{dA}	2.94±0.44 ^{eA}

1) Data are presented as a means±standard deviation. Means with the same alphabet in each column are not significantly different at p<0.05 using Duncan's multiple range test.

2. 생과용 오디의 유통기간 연장기술 연구

가. 신속 저온처리기술연구

1) 오디 수확현장에서의 신속 저온처리기술연구

- 수확직후 포장 작업 전 수집용기 내 탄산가스처리효과

오디의 수확직후 포장 작업 전 대기시간 동안 오디의 품질변화를 억제할 목적으로 포장작업장으로 이송된 오디의 수집 용기 내에 드라이아이스를 이용한 탄산가스처리효과를 조사하였다. 대조구로는 오디가 담긴 동일한 용기로 용기의 뚜껑을 연 상태와 닫은 상태로 구분하였으며 처리시간은 6시간이었다(Fig. 2-17).

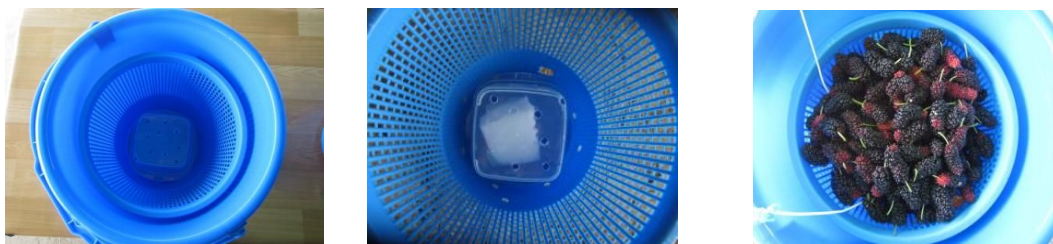


Fig. 2-17. Carbon dioxide (dry ice) treatment in containers after the harvest of mulberry

용기 내 드라이아이스를 처리한 후 시간이 경과함에 따라 각 용기 내 온도의 변화를 조사하였던바 오디가 담긴 대조구의 용기 내 온도는 변화의 폭이 적었으며 특히 뚜껑을 덮은 상태의 경우 거의 일정한 수준을 유지하였던 반면 드라이아이스를 처리한 오디의 경우 온도가 하강하여 6시간 후에는 초기에 비해 10℃정도 낮아졌다. 처리 후 오디의 품질을 관능적으로 비교하였던바 드라이아이스를 처리한 구와 뚜껑을 덮은 대조구는 거의 유사한 수준을 보였으며 뚜껑을 열은 상태로 방치한 경우에 다소 우수한 것으로 평가되었다(Fig. 2-18~2-19).

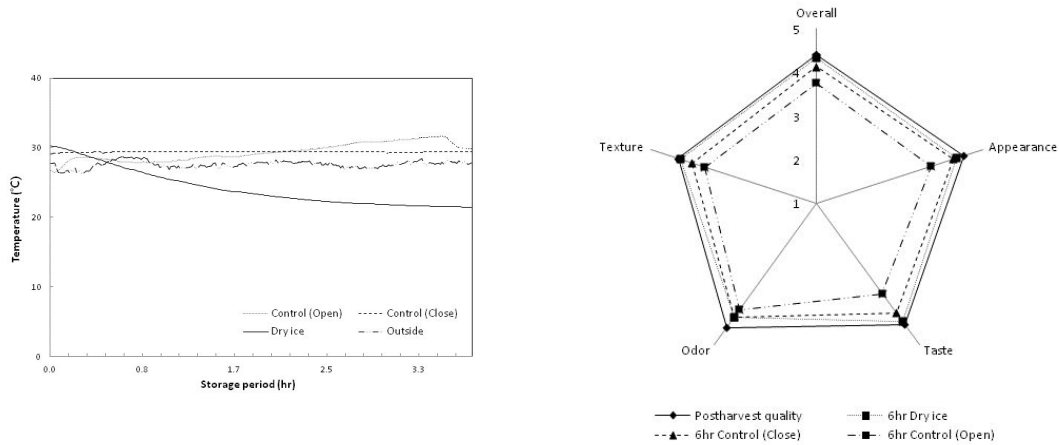


Fig. 2-18. Sensory quality of mulberry and vessel temperature after treatment

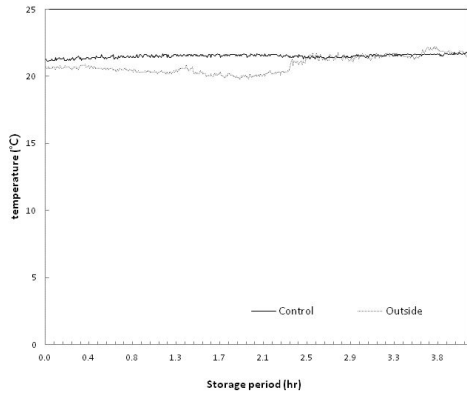
Fig. 2-19. Comparison of microbial of mulberry by treatment vessel

오디의 품질은 수확직후부터 빠르게 저하되기 시작하는데 품질 저하의 주요인은 수확 시 발생한 조상된 조직의 연화화, 손상된 조직으로부터 유출되는 과즙이 오디 표면에 존재하는 미생물의 증식에 이용되기 때문이다. 이를 방지키 위해서는 오디의 수확 및 수확 후 취급 시 과육의 손상이 발생치 않도록 주의하여 함이 우선되어야 한다. 이와 더불어 수확된 오디의 품온을 가능한 빠르게 내려 주어야 한다. 현재 오디의 수확현장에서는 오디의 수확 후 온도를 관리할 수 있는 시설 및 여력이 여의치 못하여, 오디는 수확 된 후 포장처리를 하고 포장수량이 일정량에 달하면 이를 자가 냉장고나 단위농협 등이 운용하는 냉장시설로 이송한 후 저온처리를 하는 실정이며 이송 전에는 상온에 노출된 상태로 방치되고 있다. 이는 오디의 품질저하가 주로 수

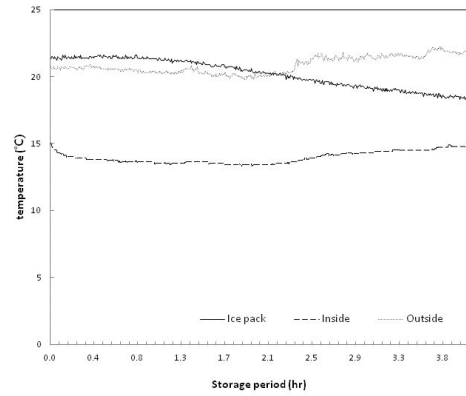
확 후 부터 현장에서의 포장 전 단계, 포장 후 이송 전 단계에서 주로 발생함을 의미한다. 따라서 오디의 품질 유지를 위하여서는 오디의 수확현장 및 처리 현장에서 온도관리를 하여야 하는데 현실적으로는 노동력 및 경제적인 여건 등으로 인해 시스템이 구축되어 있지 않다. 따라서 본 실험에서는 간이한 방법이지만 현장에서 수확된 오디의 품온을 신속하게 낮출 수 있는 방안으로 모색코자 아이스 팩(PCM) 및 드라이아이스를 이용한 저온 처리 방법을 시도하였다. 이를 위하여 수확된 오디를 1kg단위로 포장 후 스티로 폼상자에 각각 넣은 후 아이스 팩 및 드라이아이스를 오디상자에 채워 밀봉한 후 일정시간 방치하면서 각 냉매에 따른 상자 내 온도와 포장 내 오디의 품온 변화를 조사하였으며, 방치 후 오디의 품질 및 미생물 수를 비교하였다(Fig. 2-20). 각 냉매에 따른 스티로폼 상자 및 오디의 품온을 비교하면 상온방치구의 경우 오디의 수확현장에 비가 오는 날 실험을 실시하였기에 외기는 20-23℃ 범위로 6월 날씨로서는 비교적 낮았다(Fig. 2-21). 이에 따라 오디의 품온은 외기보다 1-2℃ 높으며 균일한 상태를 유지하였다. 냉매로 아이스 팩을 처리한 경우 스티로폼 상자내 온도는 13-15℃를 유지하였고, 오디의 품온은 초기 22℃에서 서서히 저하하여 4시간 후에는 18℃를 나타내었다. 아이스 팩을 사용하여 오디를 냉각시킬 때 오디 포장상자의 형태에 따른 오디의 품온 변화를 비교하였던 바 포장상자의 뚜껑을 열어 놓은 경우와 뚜껑은 닫아놓았지만 상자에 지름 1cm 정도의 구멍을 20개 정도 뚫어 놓은 포장 상자 내 오디의 품온이 뚜껑을 덮은 상태로 유지한 포장 내 오디에 비해 품온이 빠르게 저하되는 것으로 나타났다. 이중 뚜껑을 열어 놓은 상태가 포장에 구멍을 뚫은 경우에 비해 냉각 속도가 빨랐다. 이러한 결과를 통하여 수확 후 포장 전 오디는 그 자체를 냉매에 노출시키는 것이 품온을 떨어뜨리는데 효과적이며, 포장 오디의 경우에는 품온이 냉각 목표온도에 도달하기 전까지는 포장용기의 뚜껑을 열어 놓은 상태로 냉각 처리하는 것이 효과적인 것으로 판단되나, 실제현장에서 이를 적용 시에는 처리의 번잡함이 발생할 수 있음에 따른 고려가 필요하다.



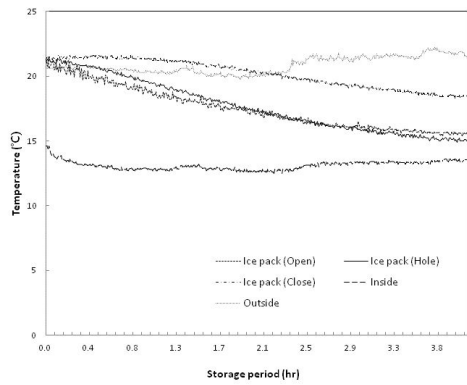
Fig. 2-20. Treatment to compare temperature in the test vessel according to cooling method



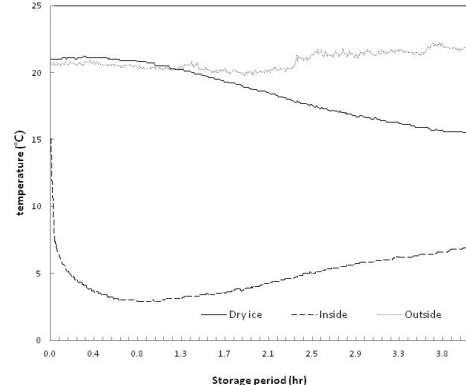
Room condition



Ice pack treatment



Low(open) vs low(perporating) vs low(closing)



Dry ice treatment

Fig. 2-21. Changes in internal temperature of mulberry by cooling treatment

현장에서 수확된 오디의 품온을 신속하게 낮출 수 있는 방안으로 모색코자 아이스 팩(PCM) 및 드라이아이스를 이용한 저온 처리 방법을 시도하였다. 이를 위하여 수확된 오디를 1kg단위로 포장 후 스티로폼 상자에 각각 넣은 후 아이스 팩 및 드라이 아이스를 오디상자에 채워 밀봉한 후 일정시간 방치하면서 각 냉매에 따른 상자 내 온도와 포장 내 오디의 관능적 품질을 비교하였던바 상온 방치 오디의 품질은 4시간이라는 짧은 시간동안이지만 초기 오디의 품질에 비해 품질이 빠르게 저하되었는데 외관 및 조직감의 변화가 특이적으로 빠르게 진행되었다(Fig. 2-22). 이에 반하여 아이스 팩 처리구 및 드라이아이스 처리구의 경우 품질 변화가 상온 방치 구에 비해 완만하였으며 두 처리구간의 차이는 뚜렷하지 않았다. 또한 처리방법에 따른 오디의 미생물 변화를 보면 처리구간에 큰 차이를 나타내지 않았으나 드라이아이스처리구가 나머지 두 처리구에 비해 낮은 수준을 나타내었다(Fig. 2-23).

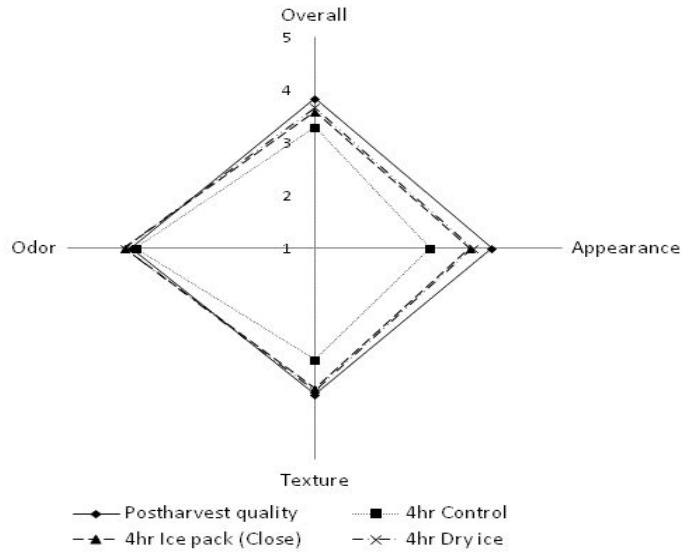


Fig. 2-22. Sensory quality of mulberry by cooling treatment

Fig. 2-23. Microorganism of of mulberry by cooling treatment

- 유통 중 탄산가스 처리효과

오디의 유통 중 품질저하에 미치는 중요 인자로는 수확 및 선별 포장 시 발생하는 조직 손상이며 이로 인해 곰팡이가 다른 과일류와 비교할 없을 정도로 급속한 증식되며 이를 통하여 상품성을 잃게 된다. 생 오디의 신선도 연장을 위한 active MA처리 실험을 통하여 탄산가스 처리가 오디의 곰팡이 증식을 억제하는 효과가 높은 것으로 나타남에 따라 이러한 결과를 오디 유통단계에 적용하여 그 효과를 조사하였다. 처리로는 상온 처리구, 저온 유지를 위한 아이스 팩 처리구, 탄산가스 효과를 조사하기 위한 드라이아이스 처리구, 저온 유지 및 탄산가스 효과를 위한 아이스 팩 및 드라이아이스 혼합처리구로 현장에서 약 3.5시간 방치하였다.

각 처리구 오디의 품온은 아이스 팩 및 드라이아이스 혼합처리구가 가장 낮았으며, 다음으로는 드라이아이스 처리구, 아이스 팩 처리구 순이었다(Fig. 2-24). 앞서 언급한 바와 같이 저온 유지를 위해 아이스 팩을 처리하였는데 이보다는 드라이아이스 처리구의 온도가 더 낮게 유지되었다.

드라이아이스 처리는 현장에서 오디의 품온을 신속하게 낮출 수 있는 방법이나 작업현지의 구입이 용이치 않은 단점이 있다. 처리방법에 따른 오디의 미생물 변화를 보면 총 균의 경우 아이스 팩 및 드라이아이스 혼합처리구와 드라이아이스 처리구가 가장 낮았으며, 다음으로는 아이팩 처리구, 상온 처리구 순이었다(Fig. 2-25). 곰팡이의 경우 아이스 팩 및 드라이아이스 혼합처리구, 드라이아이스 처리구 및 아이스 팩 처리구가 상온 구보다는 낮았으며, 그 차이는 미미하였지만 아이스 팩 및 드라이아이스 혼합처리구가 가장 낮았다. 오디의 품질은 상온처리구를 제외하고서는 거의 유사한 수준을 유지하였는데 드라이아이스 처리구의 경우 관능적 조직감은 다른 처리구와 차이가 뚜렷하지 않았으나 기계적인 경도는 낮은 값을 보였는데 이는 드라이아이스처리 시 일부 시료의 부분적인 조직 동결현상에 의한 것으로 판단된다(Fig. 2-26).

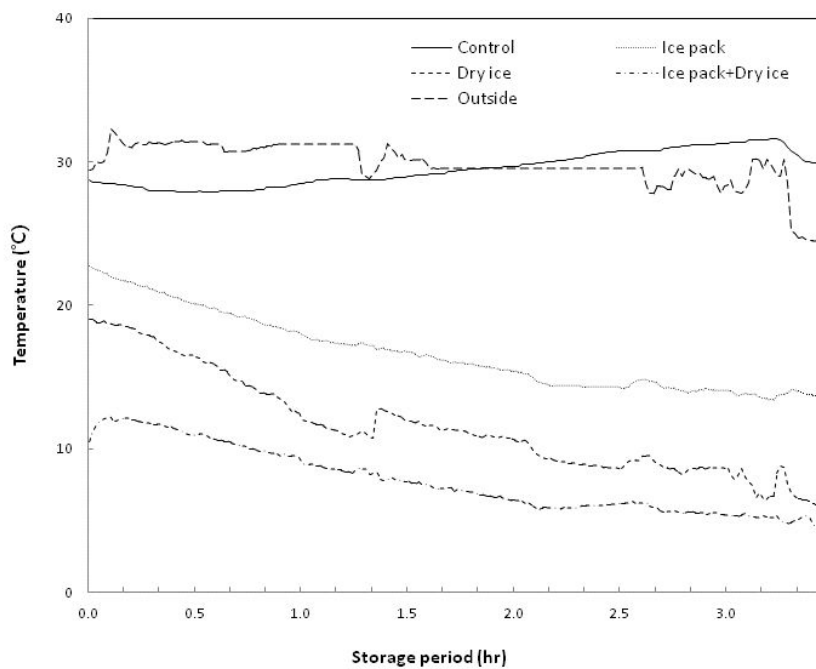


Fig. 2-24. Changes in internal temperature of mulberry by cooling treatment during distribution

Fig. 2-25. Changes in microorganism of mulberry by cooling treatment during distribution

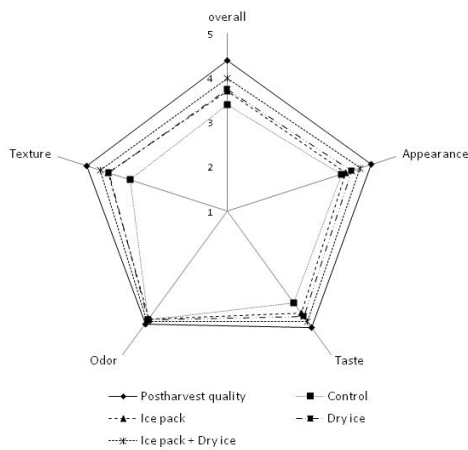


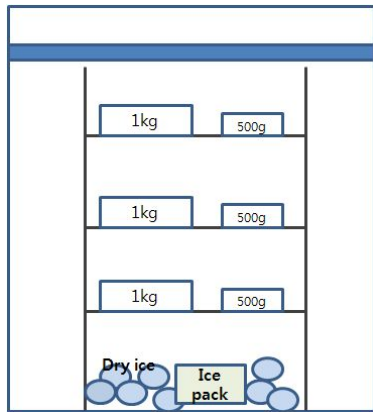
Fig. 2-26. Sensory quality and firmness of mulberry by cooling treatment during distribution

– 수확후 오디 포장 시 냉매제와 순환 팬 효과

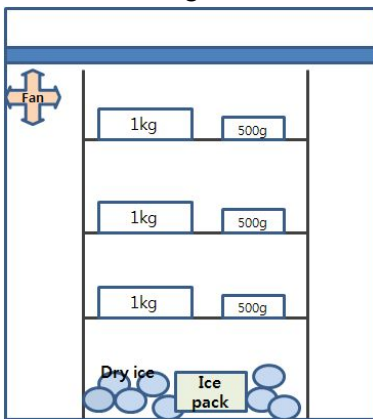
수확현장에서 적용할 수 있는 신속저온처리기술을 개발하기 위하여 오디의 초기품질을 유지할 수 있는 적정 냉매제와 순환 fan을 장착한 EPS 상자를 고안하였다(Fig. 2-27). 우선 적정 냉매제를 선별하기 위하여 아이스팩(600-700g, 3 개)과 드라이아이스(EPS 상자부피의 40%)를 단독 또는 병용하여 EPS 상자에 담은 후 일정량의(1 kg, 500 g) 오디를 넣고 24시간이 경과한 후 품질을 측정하였다. 드라이아이스의 첨가량은 2차년도 이산화탄소 가스를 이용한 MAP 포장실험에서 곰팡이 증식을 확실하게 억제했던 가스농도를 토대로 결정하였다. 24시간 동안 상온에 방치하였던 EPS 상자 내외의 온도변화는 Fig. 2-28에 제시하였다. 관행적인 플라스틱 용기에 담아 그 상태로 외부에 24시간 방치했던 대조구의 품온은 외부 온도에 의해 포장초기 약 7시간은 25℃에서 34℃까지 상승하였고 이후에는 평균 20℃를 유지하였다. 아이스팩을 넣은 처리구에서는 외기 온도가 변화되더라도 24시간동안 평균적으로 20-25℃를 유지하였고 드라이아이스만 넣은 처리구에서는 초기 약 7시간 동안 25℃에서 32℃까지 상승

하다가 서서히 25℃까지 저하되는 것을 알 수 있었다. 아이스팩과 드라이아이스를 병용한 처리구에서는 아이스 팩이 놓여있던 하층의 오디 품온이 평균 15℃로 가장 낮았지만 전반적으로 아이스팩 포장구와 유사하게 20-25℃를 유지하였다. 관능적으로는 아이스팩과 드라이아이스 병용처리구>드라이아이스 단독처리구>아이스팩 단독처리구>대조구 순으로 향, 맛, 조직감, 외관, 전체적인 기호도 항목에서 우수하였고 부패율도 냉매제 병용 처리구에서만 10% 이하로 가장 낮아 아이스팩과 드라이아이스 병용처리를 신속저온처리기술에 사용될 냉매제로 선정하였다(Fig. 2-29~2-32).

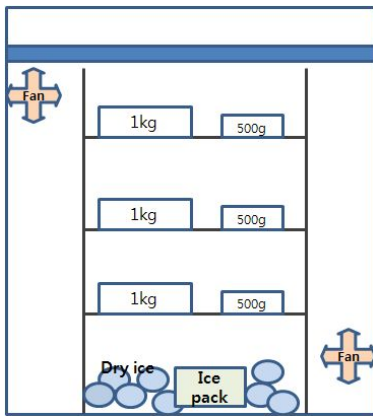
150 L 부피의 EPS 상자 안에 아이스팩과 드라이아이스 냉매제의 효과가 골고루 순환되도록 하기 위하여 냉매제(아이스팩+드라이아이스)가 들어있는 EPS 상자에 순환 Fan을 1개 또는 2개를 장착하여 그 효과를 살펴보았다. 오디의 품온은 대조구를 제외한 모든 포장처리구에는 동일한 양의 아이스 팩으로 인해 15-20℃를 유지하였고 이중 Fan을 장착하지 않은 처리구보다 장착한 처리구가, 그리고 상자 상부에 Fan을 하나만 장착한 처리구보다 상자 상부와 하부에 순환 Fan 2개를 장착한 처리구에서 포장 초기부터 상, 중, 하 모든 위치의 온도편차가 크지 않게 오디의 품온이 유지되었다(Fig. 2-33). 품질적인 면에서는 순환 Fan을 장착하지 않은 처리구에 비해 순환 Fan을 장착한 처리구에서 전반적으로 오디의 품질이 높게 유지되었다. 즉, 순환 Fan 2>순환 Fan 1>냉매제(아이스팩+드라이아이스)>대조구 순으로 관능평가가 우수하였고 부패율도 가장 낮았다(Fig. 2-34~2-37). 또한 2개의 순환 Fan 처리는 가용성 고형분 함량, pH, 적정산도와 같은 내부품질인자에 영향을 주지 않으면서 중온성 호기균의 생균수를 초기에 비해 0.5-1 log정도, 그리고 다른 처리구에 비해 2 log 정도 낮추고 경도의 초기값을 유지시켜 수확오디의 품질유지를 위한 적정 포장방법으로 여겨졌다(Fig. 2-38~2-41). 미생물 중 곰팡이의 생균수가 24시간 이후 증가하거나 처리구간에 차이가 없는 것은 사용된 드라이아이스의 양(상자부피의 40%)이 오디(4.5kg)에 내재된 곰팡이수를 감소시키기에는 부족하였기 때문이라고 판단되었다. 냉매제와 순환 Fan 실험 모두 오디 시료는 중량 1 kg보다는 중량 500g의 품질이 상대적으로 더 좋게 나타나 소량 포장이 품질유지에 유리한 것으로 판단되었다.



Refrigerant



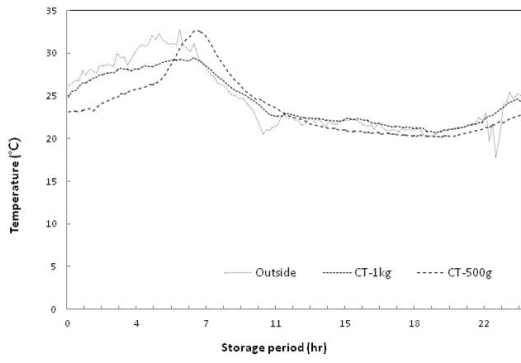
Refrigerant and one fan



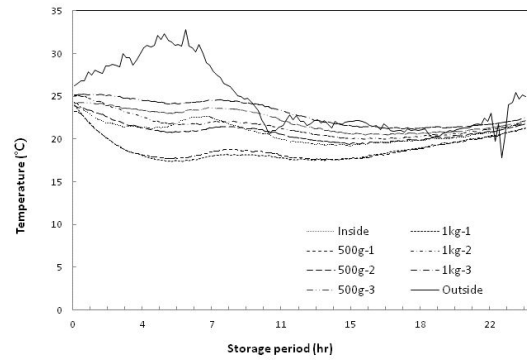
Refrigerant and Two fans



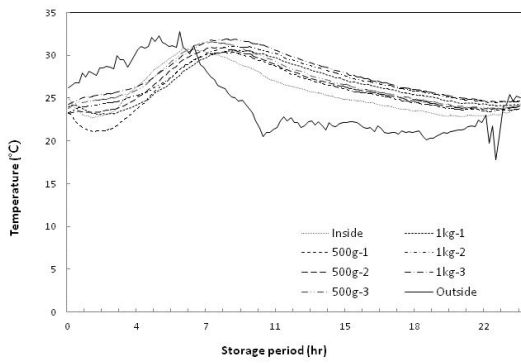
Fig. 2-27. Design of EPS box equipped with refrigerant and circulation fan.



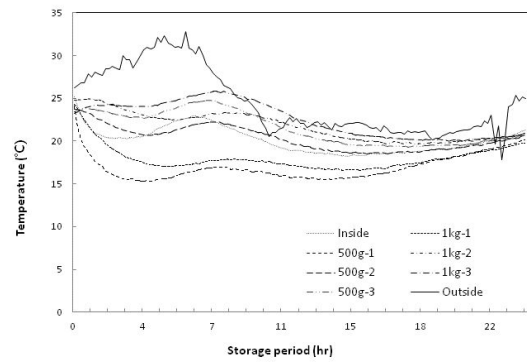
Control



Ice pack



Dry ice



Ice pack and dry ice

Fig. 2-28. Change of temperature in mulberry container within EPS boxes equipped with various refrigerants for 24 hours.

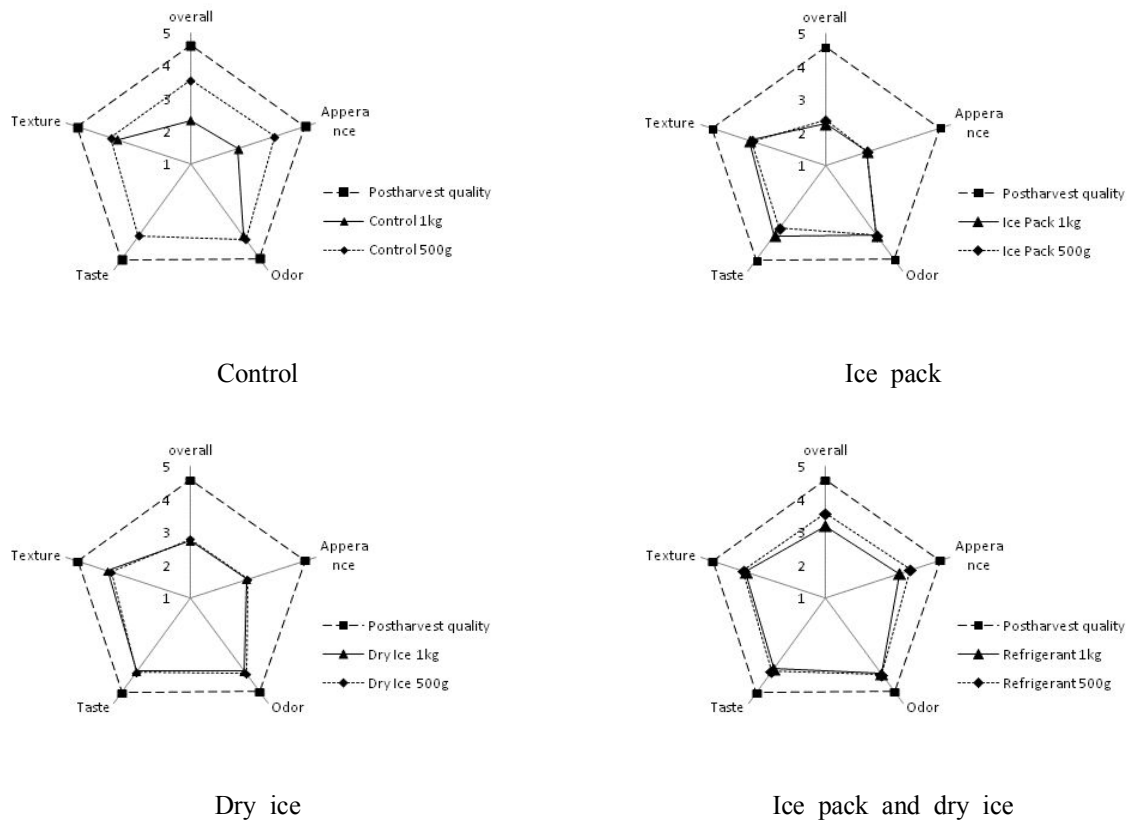


Fig. 2-29. Sensory characteristics of mulberry within EPS boxes equipped with various refrigerants for 24 hours.

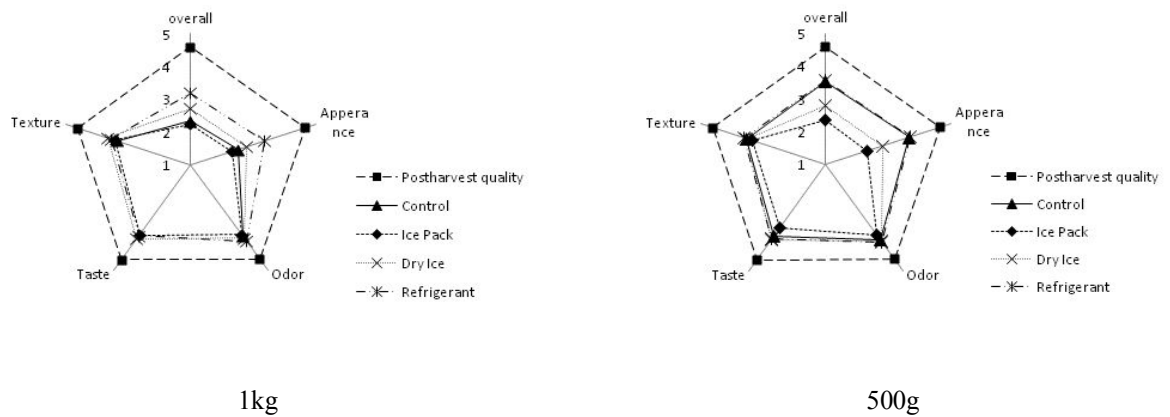


Fig. 2-30. Sensory characteristics of mulberry within EPS boxes equipped with various refrigerants for 24 hours.

1kg

500g

Fig. 2-31. Changes in deterioration rate of mulberry within EPS boxes equipped with various refrigerants for 24 hours.

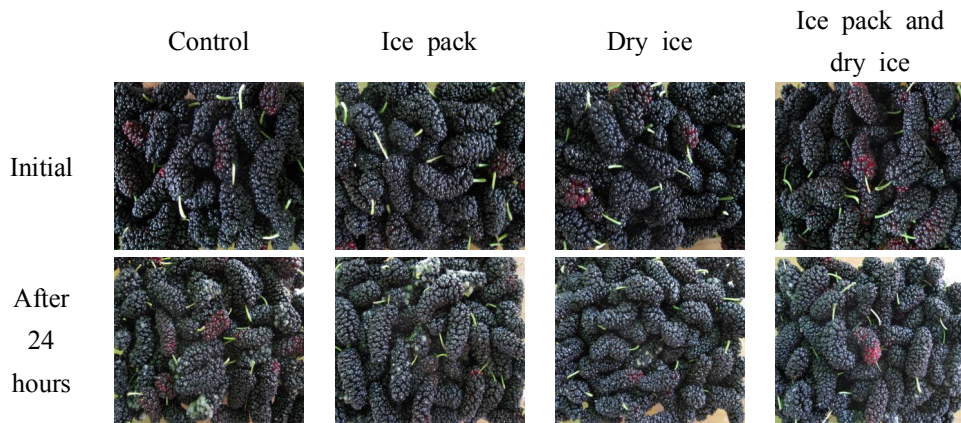
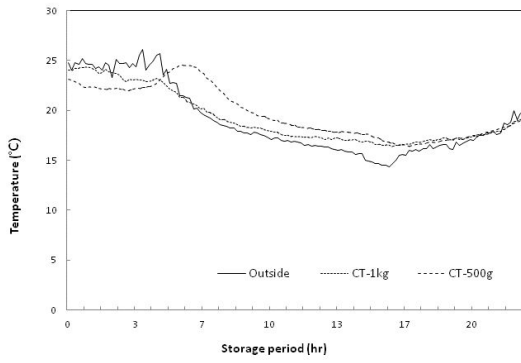
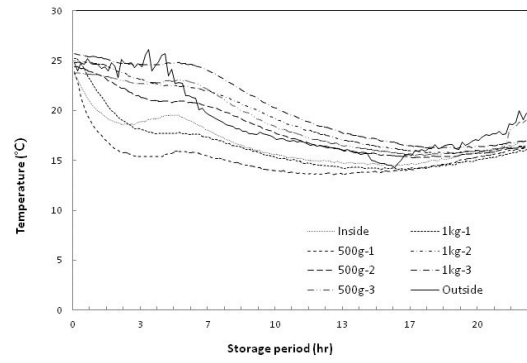


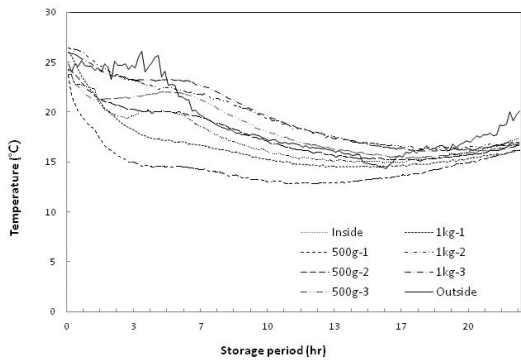
Fig. 2-32. Appearance of mulberry within EPS boxes equipped with various refrigerants for 24 hours.



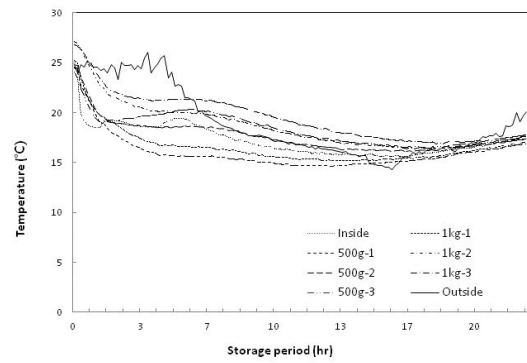
Control



Refrigerant(Ice pack and dry ice)

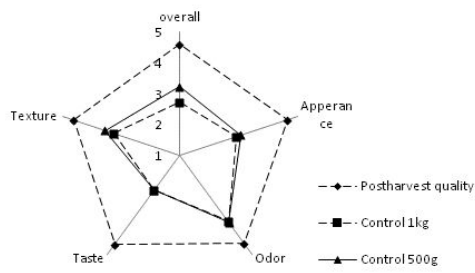


Refrigerant and one Fan

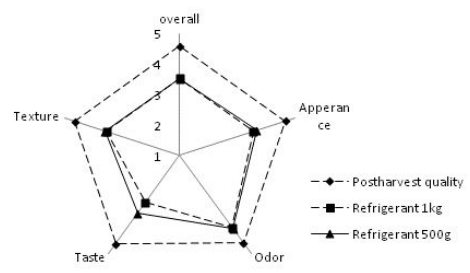


Refrigerant and two Fans

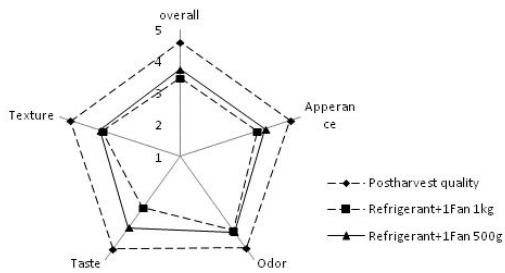
Fig. 2-33. Change of temperature in mulberry container within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.



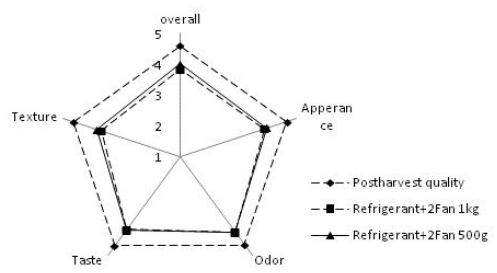
Control



Refrigerant(Ice pack and dry ice)

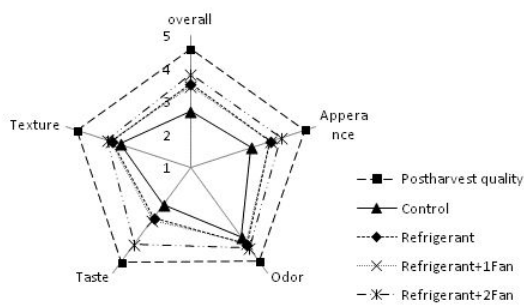


Refrigerant and one Fan

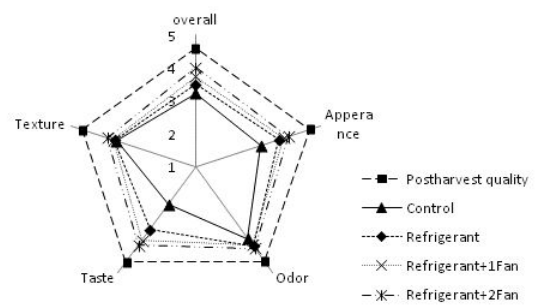


Refrigerant and two Fans

Fig. 2-34. Sensory characteristics of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.



1kg



500g

Fig. 2-35. Sensory characteristics of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

1kg

500g

Fig. 2-36. Changes in deterioration rate of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

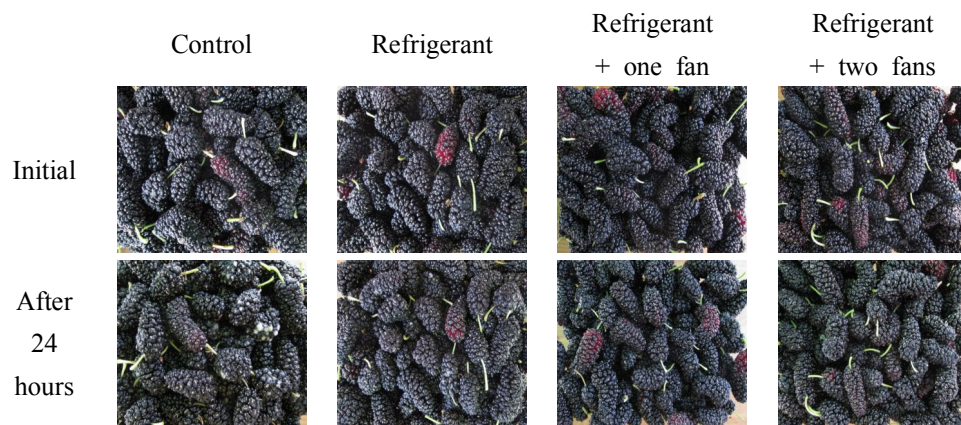


Fig. 2-37. Appearance of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

Mesophilic aerobes

Mold

1kg

1kg

500g

500g

Fig. 2-38. Changes in mesophilic aerobes and mold of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

pH

Titrateable acidity

1kg

1kg

500g

500g

Fig. 2-39. Changes in pH and titrateable acidity of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

1kg

500g

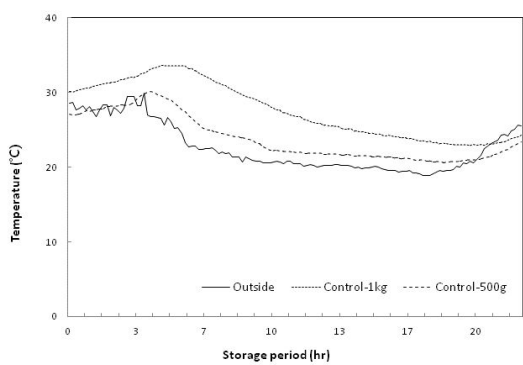
Fig. 2-40. Changes in soluble solids content of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

1kg

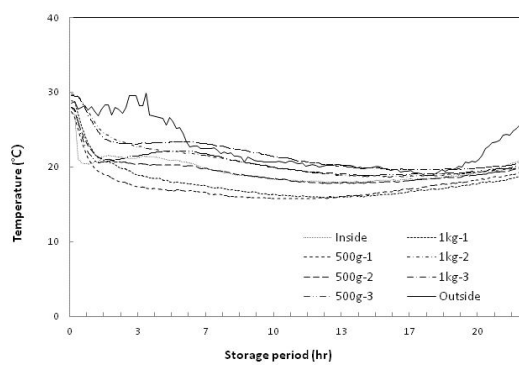
500g

Fig. 2-41. Changes in firmness of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

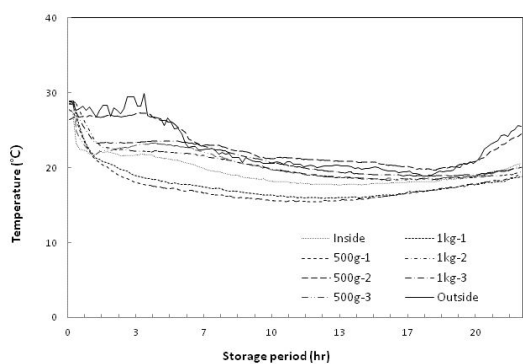
현장에서 소포장 단위로 시험한 결과를 토대로 많은 양의 오디시료를 신속저온처리용 EPS 상자포장에 적용해 보았다. 대용량 단위의 시험에 들어가기 전 앞선 시험에서 드라이아이스를 EPS 상자부피의 40%로 사용하였을 때 내부 품질이나 관능적으로는 이미와 이취가 느껴지지 않았으나 외관상 곰팡이가 효과적으로 억제되지 않아 드라이아이스의 적정농도를 다시 찾아보았다. 즉, 일정량의 아이스 팩과 50%, 60%, 70%로 농도를 달리한 드라이아이스를 EPS 상자에 넣어 오디와 함께 포장한 후 24시간 후에 품질변화를 측정한 결과, 60% 농도에서는 이미, 이취는 느껴지지 않았으나 곰팡이가 약간 발생하였고 70% 농도에서는 곰팡이가 효과적으로 억제되었으나 이미, 이취가 발생하였다(Fig. 2-42~2-45). 따라서 본 시험에서는 EPS 상자 부피의 65%를 드라이아이스의 양으로 정하여 사용하였다.



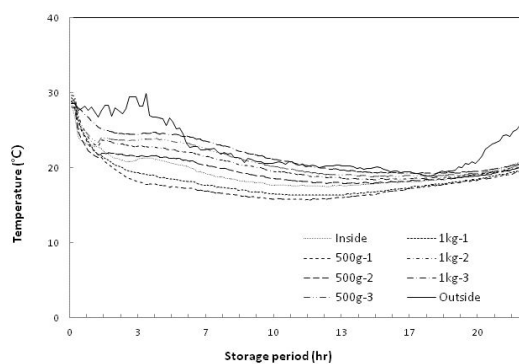
Control



Ice pack and 50% dry ice

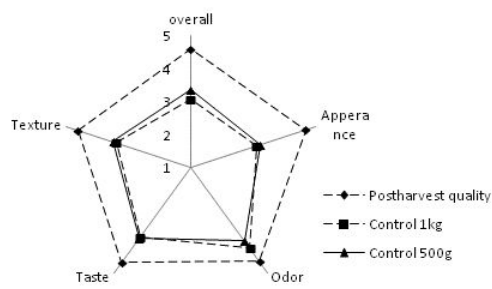


Ice pack and 60% dry ice

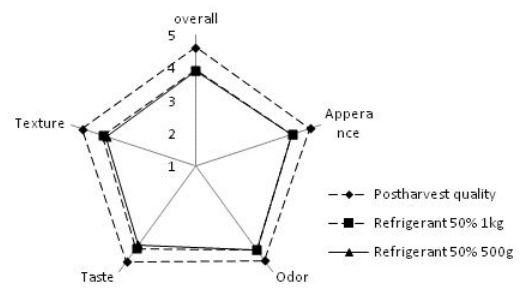


Ice pack and 70% dry ice

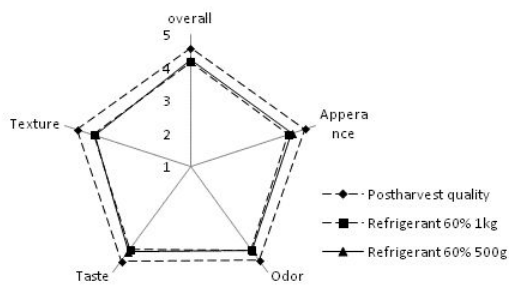
Fig. 2-42. Change of temperature in mulberry container within EPS boxes equipped with various contents of dry ice and circulation fan for 24 hours.



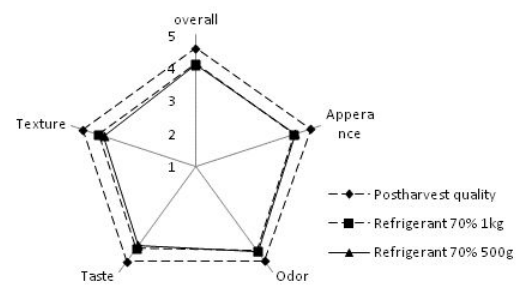
Control



Ice pack and 50% dry ice

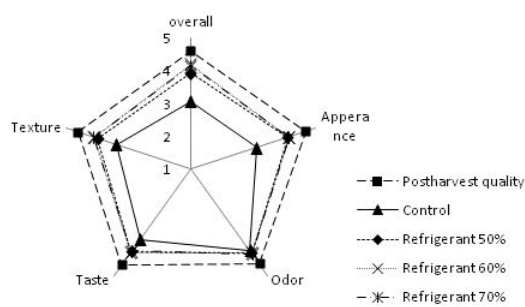


Ice pack and 60% dry ice

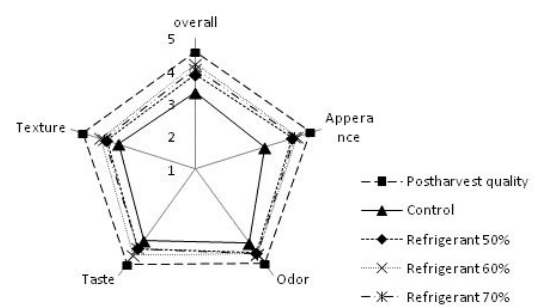


Ice pack and 70% dry ice

Fig. 2-43. Sensory characteristics of mulberry within EPS boxes equipped with various contents of dry ice and circulation fan for 24 hours.



1kg



500g

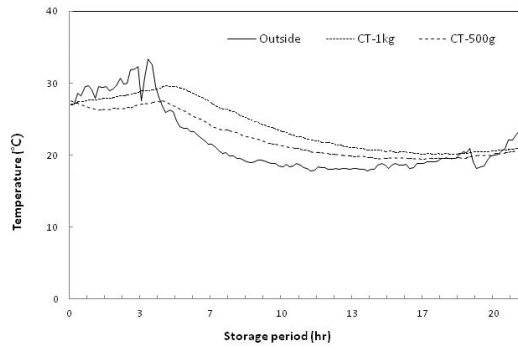
Fig. 2-44. Sensory characteristics of mulberry within EPS boxes equipped with various contents of dry ice and circulation fan for 24 hours.

1kg

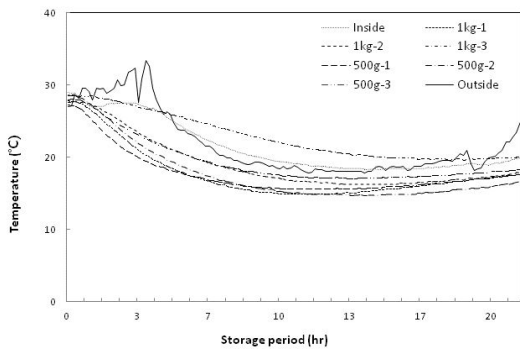
500g

Fig. 2-45. Changes in decay ratio of mulberry within EPS boxes equipped with various contents of dry ice and circulation fan for 24 hours.

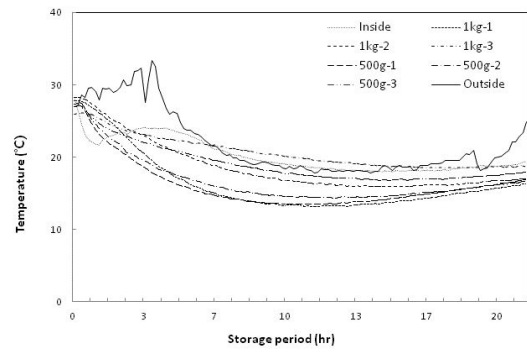
아이스 팩 6개와 일정량의 드라이아이스(용기부피의 65%)를 채운 EPS 상자에 오디 1 kg 8개와 500 g 12개를 담고 상자 내부 상, 하 위치에 순환 Fan을 각각 1개씩 장착하였다. 이를 상온에서 24시간 방치하면서 관행적으로 이루어지는 아이스팩 포장구 또는 플라스틱 용기 포장구(대조구)의 품질과 비교하였다. 오디의 품온은 대조구를 제외한 모든 포장처리구에는 6개의 아이스 팩으로 인해 순환 Fan 장착 여부와 상관없이 15-22°C가 유지되었다(Fig. 2-46). 전반적인 오디의 품질은 냉매제와 순환 Fan이 장착된 상자 포장구의 관능적 평가가 우수하였고 경도는 다소 저하되었으나 다른 처리구보다 높은 값을 보여주었으며 가용성 고형분 함량, pH, 적정산도는 초기에 비해 다소 증감이 있었으나 유의적인 차이는 없었다(Fig. 2-47~2-54). 다만 외관으로 판단한 부패율은 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮았음에도 실제 중온성 호기균수와 곰팡이 균수는 오히려 초기보다 1 log 정도 증가하였고 다른 처리구와도 차이가 나타나지 않아 시료 자체의 미생물 증식은 소량의 시료를 가지고 한 실험에 비해 효과적으로 억제되지 않은 것으로 판단되었다.



Control

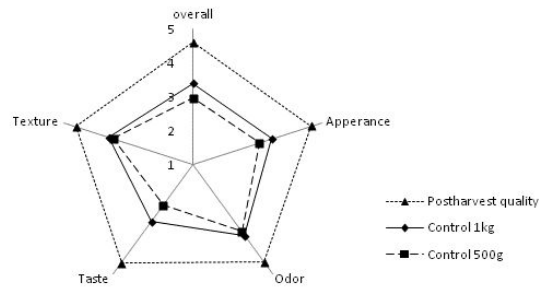


Ice pack

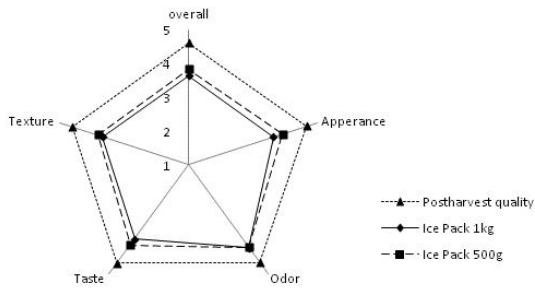


Refrigerant(65%) and two fans

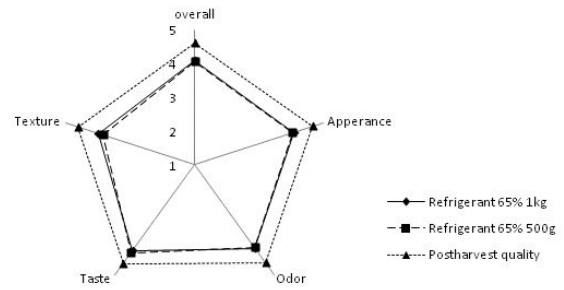
Fig. 2-46. Change of temperature in a large amount of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.



Control

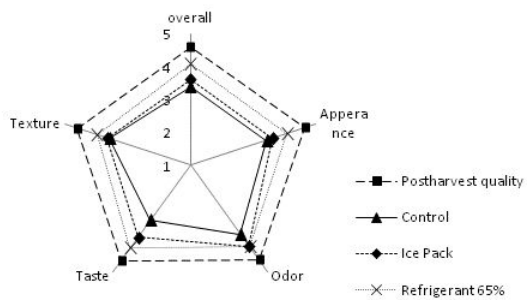


Ice pack

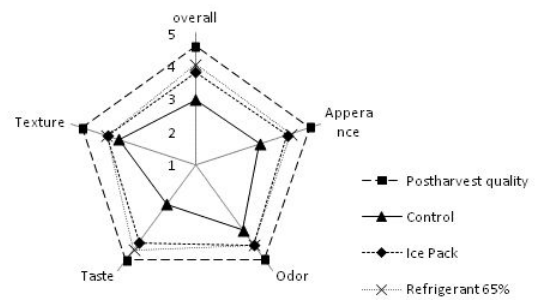


Refrigerant(65%) and two fans

Fig. 2-47. Sensory characteristics of a large amount of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.



1kg



500g

Fig. 2-48. Sensory characteristics of a large amount of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

1kg

500g

Fig. 2-49. Changes in decay ratio of a large amount of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

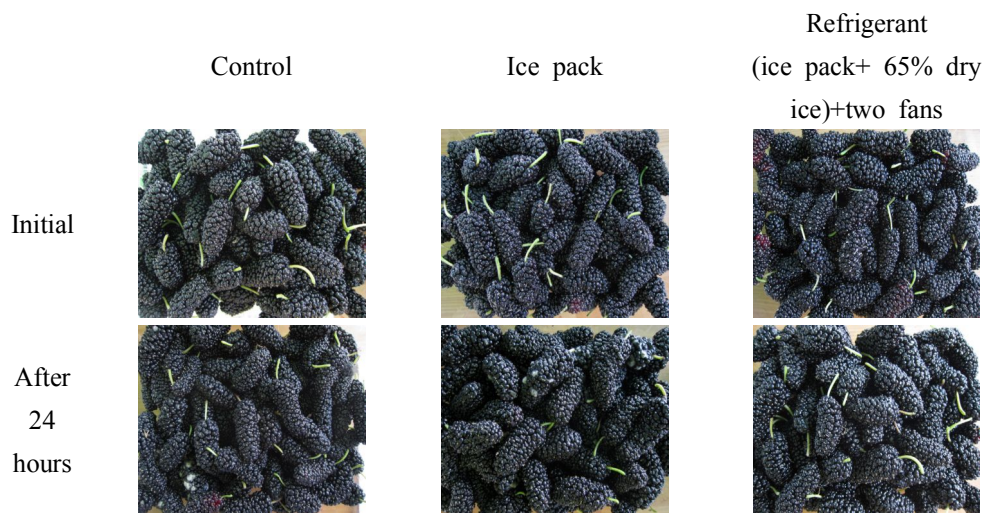


Fig. 2-50. Appearance of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

Mesophilic aerobes

Mold

1kg

1kg

500g

500g

Fig. 2-51. Changes in mesophilic aerobes and mold of a large amount of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

pH

Titratable acidity

1kg

1kg

500g

500g

Fig. 2-52. Changes in pH and titratable acidity of a large amount of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

1kg

500g

Fig. 2-53. Changes in soluble solids content of a large amount of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

1kg

500g

Fig. 2-54. Changes in firmness of a large amount of mulberry within EPS boxes equipped with refrigerant and circulation fan for 24 hours.

2) 저온저장고를 이용한 신속 저온처리기술연구

오디는 사과 등 다른 과일과는 달리 조직이 매우 연약하여 개체단위로 냉장 처리하는 것이 곤란하다. 따라서 오디의 품온을 신속하게 저하시키기 위해서는 수확한 오디를 현장에서 소포장한 후 가능한 신속하게 자가 또는 농협 등의 저온 저장고로 이송 입고시켜야한다. 저장고에 입고된 오디는 가능한 냉기와와의 접촉을 용이하도록 처리하여야 하는데 저온 저장고를 이용한 오디의 냉각은 공기의 흐름이 없는 간접냉각 방식에 의한 처리와 송풍에 의한 직접 냉각 방식이 있다. 이 두 가지 냉각 방법 중 송풍에 의한 직접 냉각 방식이 포장 내 오디의 냉각 속도를

향상시키는데 보다 효과적이다. 오디의 저온 처리 시 포장처리 현장에서 오디 상자의 뚜껑을 닫은 채로 이송된 후 냉장처리 시에는 전도에 의한 냉각만이 이루어지므로 냉각속도가 느리다. 이를 해소키 위해서는 저온 저장고로 운반 전 포장 시 오디 상자의 뚜껑을 완전 밀폐하지 않은 채 이송 후 냉장처리를 하고 냉각이 어느 정도 목표온도까지 진행된 후 뚜껑을 닫는 것이 효과적이다(Fig. 2-55). 아울러 오디 포장상자의 크기도 냉각속도에 영향을 크게 미치므로 가능한 소포장 단위로 처리하는 것이 효과적이며, 이는 취급 시 조직의 손상을 방지할 수 있어 소비자의 선호도 측면에서도 바람직하다.



Indirect cooling



Direct cooling by air circulation

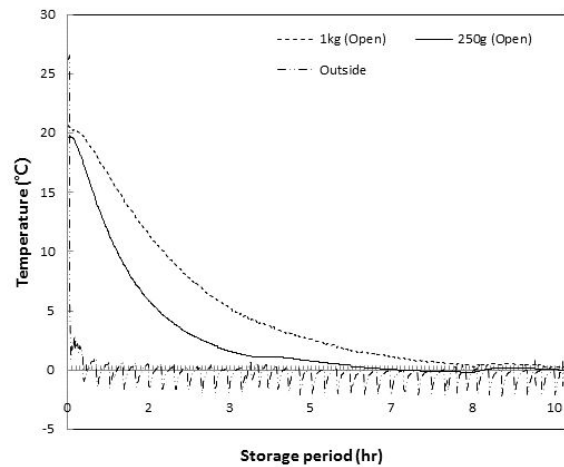
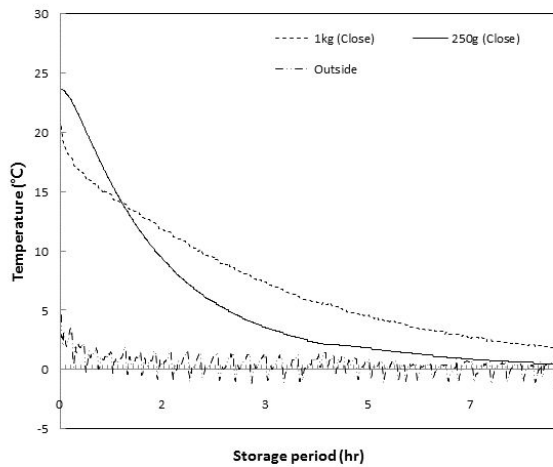


Fig. 2-55. Temperature change according to the size of the mulberry packing and cooling system (left: 0 °C direct cooling, lid closed, right; 0 °C direct cooling, open the lid of the state)

나. 선도 유지를 위한 active MAP 기술 연구

1) 탄산가스 처리에 의한 active MAP

오디의 수확량이 증가하면서 유통이 활발해 지고 있는데, 수확 된 오디는 수분을 다량 함유하고 있을 뿐 아니라 과육이 연하여 잘 물러지는 특성을 지녀 유통과정 중 품질 저하 현상이 심각하며 저장에도 어려움이 크다. 현재 생과로 유통되는 오디의 양은 매우 적는데 생 오디의

신선상태를 유지하기 위한 수확 후 관리기술은 주로 저온 저장 방식에 크게 의존하고 있는 실정으로써 유통기한이 매우 제한적이다. 이러한 문제를 개선키 위한 기타 환경 조절이 중요한 품질 유지 수단으로 대두되고 있는데 여러 처리기술 중 품질 저하를 억제하는데 효과가 큰 Modified Atmosphere Packaging(MAP)이 농산물의 신선도 유지에 많이 이용되고 있다. 이에 따라 본 연구에서는 오디의 신선도를 유지하며 장기간 저장 유통을 가능케 하기 위한 목적으로 탄산가스를 농도별로 각각 주입 후, 밀봉 포장하여 active MA처리유무와 처리농도가 오디의 품질에 미치는 영향을 조사하였다.

- 포장 용기 내 탄산가스 농도

오디의 저장기간 중 포장용기 내 탄산가스 농도는 Fig. 2-56과 같다. 포장구별로 살펴보면 통기 포장구는 저장 후 15일까지 탄산가스가 축적되지 않았으나 저장 20일 후에는 1.00%내외로 측정되었다. 탄산가스를 주입하지 않은 밀봉 포장구는 5일 째 탄산가스 농도가 급증하여 13.50%였으며 저장 10일 후 부터는 16.00~17.00% 수준을 유지하였다. 저장초기 포장 내 탄산가스를 주입하여 포장한 구중, 10% 주입 포장구는 저장 5일 째 탄산가스 농도가 22.27%로 급증하였으며 이후 30.00%내외의 수준을 유지하였다. 또한 탄산가스 20%와 30% 주입 포장구 역시 저장 5일 후 포장 내 탄산가스 농도는 각각 29.32%, 36.04%로 급증하였고 저장 15일후에는 각각 36.00%, 40.00% 정도까지 증가하였으나 이후 다소 감소하여 25일후엔 각각 33.41%, 35.51%를 나타내었다.

Fig. 2-56. Changes in CO₂ content of mulberry during active MA storage at 0°C.

- 가용성 고형물 함량 및 pH, 적정산도의 변화

Active MA처리 시 포장 내 탄산가스 처리농도에 따른 오디의 저장 중 가용성 고형물 함량의 변화를 비교하였던 바 그 결과는 Fig. 2-57과 같다. 각 포장구별로 보면 수확 후 오디의 저장 초기 가용성 고형물 함량은 15.40°Brix였는데, 통기포장구와 밀봉 포장구는 꾸준히 감소하여 15일 후 각각 13.80°Brix와 14.30°Brix를 나타냈으며 이후부터는 거의 일정한 수준이 유지되는 경향이였다. 반면 탄산가스 포장구들은 저장 중 통기 포장구와 밀봉 포장구에 비해 높은 가

용성 고형물 함량을 나타내었으며, 탄산가스 포장구들간의 가용성 고형물 함량을 비교하면 저장 후 15일까지는 탄산가스 10% 포장구가 탄산가스 20% 및 30% 포장구에 비해 더 높게 유지되었으나 20일 후에는 탄산가스 농도에 비례하여 높은 수준을 유지하였다. 이와 같이 탄산가스 포장구가 통기포장구와 밀봉 포장구에 비해 그 함량이 높게 유지된 것은 탄산가스 처리가 오디의 호흡률을 억제시키는 효과에 기인한 것으로 판단된다.

저장기간 동안 오디의 pH는 Fig. 2-57와 같이 전반적으로 증가하는 경향을 나타내었으며 각 포장구간의 차이는 유의적이지 않았다. 반면 모든 포장구의 적정산도는 저장기간 중 전반적으로 감소하는 경향을 나타내었고, 통기 포장구의 경우 초기 0.35%에서 저장 25일후 0.20%로 가장 급격히 감소하였지만 그 값은 나머지 포장구들과 차이가 유의적이지 않았다.

Fig. 2-57. Changes in pH, titratable acidity and soluble solids contents of mulberry during active MA storage at 0°C.

-색도변화

포장 내 가스 조건을 달리하여 저장한 오디의 외피 색도 변화는 Fig. 2-58와 같다. 전반적으로 모든 포장구에서 적색의 정도를 나타내는 'a'값은 시간이 경과함에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었는데, 이는 냉동 복분자 딸기를 저장 시 시간이 지날수록 복분자의 a값이 감소하는 것과 유사한 경향이였다. 명암을 나타내는 'L'값과 황색의 정도를 나타내는 'b'값은 각각 증가하는 경향을 나타냈다. 아울러 전반적인 색 변화를 나타내는 ΔE 값 또한 증가하는 경향을

보였는데 저장 25일째의 값을 비교하였던 바, 통기 포장구는 6.74로 가장 높은 값을 나타낸 반면 밀봉 포장구 중 탄산가스 20% 포장구는 4.78로 가장 낮은 색 변화를 보였으며 모든 포장구 간 그 값의 차이는 유의적이지 않았다.

Fig. 2-58. Changes in Hunter color value and ΔE of mulberry during active MA storage at 0°C.

-안토시아닌의 변화

저장기간에 따른 각 포장 오디의 안토시아닌 함량의 변화는 Fig. 2-59과 같이 모든 포장구에서 점차 감소하는 경향이였다. 이는 이산화염소수 처리한 오디의 저장 중 품질 및 이화학적 특성을 조사한 연구에서 저장기간이 지남에 따라 오디의 플라보노이드가 계속적으로 감소하였다는 결과 및 냉동저장 중 복분자의 안토시아닌 함량이 점차 감소하였다는 결과와 유사한 경향이였다. 이러한 변화를 각 포장구별로 비교해 보면 수확 후 오디의 초기 안토시아닌 함량은 39.08 mg/L이었으며 각 포장구는 저장하는 동안 점차 감소하여 저장 20일후 19.46-30.70 mg/L의 값들을 나타내었지만 포장구간 차이는 유의적이지 않았다. 저장 25일후에 통기 포장구는 급격히 감소하여 17.29 mg/L로 가장 낮은 값을 나타낸 반면 밀봉 포장구는 비교적 완만히 감소하여 25.05 mg/L를 나타내었다. 아울러 탄산가스를 주입한 포장구의 경우 10%, 20% 및 30% 포장구는 그 함량이 23.37-27.69mg/L의 수준이였고, 이중 탄산가스 10% 포장구의 안토시아닌 함량이 유의적으로 가장 적게 감소하였다.

Fig. 2-59. Changes in total anthocyanin content of mulberry during active MA storage at 0°C.

- 경도의 변화

가스농도를 달리하여 포장한 오디의 저장 중 경도변화를 나타낸 결과는 Fig. 2-60과 같다. 각각의 포장구를 비교하면 통기 포장구의 경도는 저장 중 전반적으로 감소하는 경향을 나타낸 반면 이 외 탄산가스 주입 포장구를 포함한 밀봉 포장구들은 경도의 변화가 적었다. 오디의 초기 경도는 1.40kg·f였으나 통기 포장구는 저장기간에 따라 점차 감소하여 25일 후 0.87kg·f였던 반면 밀봉 포장구는 1.26kg·f로 통기 포장구에 비해 유의적으로 높았다. 오디와 유사한 베리류인 딸기의 경우 PE 필름의 두께를 달리하여 MA 포장하였을 때 포장을 하지 않은 대조구보다 밀봉 처리를 한 딸기의 경도가 passive MAP의 효과에 의해 더 적게 감소했다는 결과가 보고되어 있으며 이는 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다. 밀봉 포장구와 탄산가스 주입 포장구의 경도를 비교하여 보면, 저장 25일 후 탄산가스 10%, 20% 및 30% 포장구는 각각 1.36kg·f, 1.33kg·f 및 1.38kg·f로 밀봉 포장구에 비해 높은 값을 유지하였으나 그 차이는 유의적이지 않았다. 특히 탄산가스 30% 포장구의 경우, 저장 10일 이후부터 25일까지 1.30kg·f 내외의 값을 유지하였으며 이 값은 통기 포장구에 비해 1.6배 높은 수준이였다. 이를 통해 오디의 경도를 유지하기 위해서는 통기 가능하게 포장하는 것보다 밀봉 포장 또는 실험범위 내 농도의 탄산가스를 주입하여 포장하는 것이 더 효과적인 것으로 판단된다.

Fig. 2-60. Changes in firmness of mulberry during active MA storage at 0°C.

-미생물의 변화

오디의 active MA 저장 중 총 균의 변화는 Fig. 2-61와 같다. 수확 후 초기 오디의 총 균은 5.28 log CFU/g이었으며, 통기 포장구의 총 균은 10일까지 변화가 미미했지만 15일 이후엔 7.15 log CFU/g로 급증하였고 저장 25일 후엔 7.28 log CFU/g로 다른 포장구들에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 밀봉 포장구의 총 균 또한 점차 증가하는 경향을 보이며 25일 후 6.57 log CFU/g의 값을 나타냈지만 통기 포장구 보다는 낮았다. 반면 탄산가스 10%, 20% 및 30% 포장구의 총 균은 5.28~4.95 log CFU/g, 5.28~4.57 log CFU/g 및 5.28~5.22 log CFU/g으로 저장 기간 동안 변화가 미미하였고 통기 포장구는 물론 밀봉 포장구에 비해서도 유의적으로 낮은 값을 나타내었다.

저장 기간 동안 각 포장구 오디의 곰팡이 변화는 총 균의 경우에서와 같이 통기 포장구에서 뚜렷이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 2-61). 이를 각 포장구별로 비교해 보면 수확 후 초기 오디의 곰팡이는 5.32 log CFU/g였는데 통기 포장구는 저장 10일 이후부터 급격히 증가하여 다른 포장구들에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었으며, 저장 25일 후에는 6.81 log CFU/g에 달하였다. 반면, 밀봉 포장구는 5.32 log CFU/g로 저장 중 곰팡이의 변화가 미미하였다. 한편 탄산가스 10%, 20% 및 30% 포장구의 경우, 곰팡이 수는 저장 25일 후 각각 5.21 log CFU/g, 5.29 log CFU/g 및 4.73 log CFU/g으로 저장기간 동안 밀봉 포장구에 비해 낮은 수준이었지만 그 차이가 유의적이지는 않았다. 이와 같은 결과는 Allende등이 여러 병행처리가 딸기의 신선도에 미치는 영향을 조사한 바, CO₂를 주입하여 active MAP 처리한 딸기의 효모와 곰팡이가 저장기간 동안 통기 포장구에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타내었다는 보고와 유사한 경향이였다.

Fig. 2-61. Changes in microbial population of mulberry during active MA storage at 0°C.

-관능적 품질의 변화

MA 처리하여 저장한 오디의 저장 중 관능적 품질은 Table 2-2와 같다. 각 포장구의 오디를 무작위로 선별하여 '색'과 '향'의 품질을 비교한바, 저장 기간 동안 모든 포장구의 품질변화가 미미하여 저장 25일까지 모두 3.00점 이상으로 상품성을 유지하였으며 포장구간의 차이는 유의적이지 않았다.

'맛'은 저장기간이 지남에 따라 모든 포장구에서 감소하는 경향이었는데, 통기 포장구의 경우 저장 10일후에는 4.17점으로 비교적 양호하였으나 15일 후엔 심한 곰팡이의 번식으로 평가할 수 없는 수준에 달하였다. 반면 밀봉 포장구 및 탄산가스 10%, 20%, 30% 포장구는 25일후에도 모두 3.5점으로 그 상품성을 유지하였으며, 밀봉포장구와 탄산가스 포장구간 품질차이는 뚜렷하지 않았다. '외관'은 오디 표면의 곰팡이 균사 유무가 품질결정에 중요한 요인으로 작용했는데, 통기 포장구는 저장 10일후 2.93점으로 상품성을 잃은 반면, 밀봉 포장구와 탄산가스 주입 포장구들은 25일후에도 3점 이상의 품질을 유지하였다. 저장 중 밀봉 및 가스처리 포장구간 외관을 비교하여 보면, 저장 15일 후 밀봉 포장구는 3.68점 이었던 반면 탄산가스 10%, 20% 및 30% 포장구들은 각각 4.03, 4.16, 4.06점으로 밀봉포장구와 유의적인 차이를 보였으나 20일후부터는 그 차이가 뚜렷하지 않았다. '조직감'은 통기 포장구를 제외한 나머지 포장구들은 저장 25일까지 3점 이상의 점수로 상품성을 유지하였다. 통기 포장구의 경우 점차 감소하여 저장 20일후 2.98점으로 상품성이 소실된 반면, 밀봉 포장구는 저장 25일까지 3.25점으로 상품성을 유지하였다. 밀봉 포장구와 가스처리 포장구 간 품질을 비교해보면, 탄산가스 10%, 20% 및 30% 포장구들은 저장 15일까지 밀봉 포장구에 비해 유의적으로 높은 조직감을 유지하였지만, 25일 후에는 각각 3.14, 3.15 및 3.39점으로 밀봉 포장구와 유의적인 품질 차이가 없었다. 포장방법에 따른 오디의 '전반적인 품질'은 통기 포장구의 경우 저장 5일까지 3.87점을 유지했으나 10일후 상품성이 소실된 반면, 밀봉 포장구는 3.85점으로 양호한 품질을 유지하였고 통기 포장구와 유의적인 차이를 보였다. 이후 밀봉 포장구는 점차 품질이 저하되어 저장 25일후엔

3.56점을 나타내었다. 한편 탄산가스 10%, 20% 및 30% 포장구들은 저장 15일까지 양호한 품질로 밀봉포장구에 비해 뚜렷이 높은 품질을 유지했으나 이후 점차 감소하여 저장 20일후부터는 밀봉 포장구와 비슷한 수준의 품질을 나타내었다. 통계처리를 기반으로 하여 active MA 처리유무와 처리농도에 따른 오디의 저장 중 관능적 품질을 비교했던 바, '외관', '조직감' 및 '전반적인 품질' 항목에서 통기 포장구와 밀봉 포장구 간 유의적인 차이를 보여 밀봉하여 포장하는 것이 오디의 품질유지에 더 효과적인 것으로 판단되었다. 아울러 탄산가스 주입 포장구가 밀봉 포장구 보다 저장 15일까지 유의적으로 품질이 높게 유지된 것으로 보아, 탄산가스를 주입하여 밀봉 포장하는 것이 저장 초기 오디의 관능적 품질유지에 보다 효과적인 것으로 사료된다.

-오디 곰팡이의 동정 및 탄산처리가 주요 곰팡이의 증식저해에 미치는 영향 조사

오디의 곰팡이 균주를 분리하기 위하여 시료의 곰팡이 발생부위를 TSA 배지에 접종한 후 배양한 곰팡이들을 형태학적으로 구분하여 18S rRNA 염기서열 분석을 실시하였다(Fig. 2-62). 또한, 오디 곰팡이 증식에 대한 환경기체조절포장과 저장온도의 영향을 살펴보기 위하여, 앞서 분리한 오디 곰팡이 균주 중 우점종인 *Cladosporium* sp.를 18% O₂/10% CO₂/72% N₂(탄산가스 10% 포장구), 16% O₂/20% CO₂/64% N₂(탄산가스 20% 포장구), 14% O₂/30% CO₂/56% N₂(탄산가스 30% 포장구)으로 설정하여 주입한 후 20±1.5℃, 10±2.1℃, 0±0.7℃로 유지되는 저장고에 보관하면서 곰팡이 크기를 측정하였다(Table 2-3~2-4). 대조구로는 일반 공기를 충전하였으며 20±1.5℃에서 보관하면서 곰팡이의 증식을 관찰하였다.

오디에서 분리된 곰팡이는 형태확상 및 18S rRNA 염기서열 분석 등을 통해 *Cladosporium* sp., *Aspergillus clavatus*, *Dothideomycetes* sp., *Botryotinia fuckeliana*와 높은 상관성을 갖는 균주 4종을 확인하였다(Table 2-7). 이 중 우점종인 *Cladosporium* sp.를 이용하여 환경기체조절포장 조건에 따른 곰팡이 증식정도를 살펴본 결과, 일반 대기조성에서는 20℃에서 6일간 저장한 후 약 1.80±0.16 cm 크기로 증식하였으나 10% CO₂ 조건에서는 1.60±0.12, 20% CO₂ 조건에서는 0.70±0.18, 30% CO₂ 조건에서는 0.30±0.08 cm 크기로 증식하여 CO₂ 가스함량이 높아질수록 *Cladosporium* sp.의 크기가 작은 것을 확인하였다(Table 2-5). 한편, 일정한 CO₂ 조성(20% CO₂)에서 온도에 따른 *Cladosporium* sp.의 증식정도를 살펴본 결과, 20℃에서 6일 후 0.63±0.12 cm까지, 10℃에서는 15일 후 1.59±0.11 cm까지, 0℃에서는 28일 후 0.23±0.06 cm까지 증식하였고 곰팡이의 크기가 가장 컸던 10℃ 온도 조건이 오디에서 증식하는 *Cladosporium* sp.의 생육에 최적 온도인 반면 곰팡이의 증식기간이 가장 길고 크기가 가장 작았던 0℃ 온도 조건이 *Cladosporium* sp.의 생육억제에 효과적인 것으로 판단되었다(Table 2-6).

Table 2-2. Changes in sensory quality of mulberry during active MA storage at 0°C

Attribute	Treatment*	Storage period (day)					
		0	5	10	15	20	25
Overall	PWH	4.87±0.11 ^{aA1)}	3.87±0.61 ^{bB}	2.96±1.19 ^{cB}	2.06±0.62 ^{dC}	2.06±0.55 ^{dB}	1.30±0.42 ^{eB}
	PWOH	4.87±0.11 ^{aA}	4.27±0.65 ^{bAB}	3.85±0.45 ^{cA}	3.63±0.49 ^{cB}	3.53±0.32 ^{cA}	3.56±0.18 ^{cA}
	10%	4.87±0.11 ^{aA}	4.33±0.65 ^{bA}	4.09±0.46 ^{bcA}	4.08±0.18 ^{cdA}	3.69±0.33 ^{dA}	3.40±0.27 ^{dA}
	20%	4.87±0.11 ^{aA}	4.55±0.19 ^{bA}	4.13±0.29 ^{cA}	4.10±0.23 ^{cA}	3.76±0.29 ^{dA}	3.46±0.35 ^{eA}
	30%	4.87±0.11 ^{aA}	4.52±0.41 ^{bA}	4.28±0.25 ^{bA}	3.93±0.35 ^{cAB}	3.87±0.16 ^{cA}	3.69±0.17 ^{cA}
Appearance	PWH	4.94±0.10 ^{aA}	3.73±0.91 ^{bB}	2.93±1.06 ^{cC}	1.75±0.40 ^{dC}	1.81±0.37 ^{dB}	1.30±0.48 ^{eB}
	PWOH	4.94±0.10 ^{aA}	4.15±1.05 ^{bAB}	3.72±0.67 ^{BB}	3.68±0.73 ^{BB}	3.70±0.29 ^{bA}	3.65±0.09 ^{bA}
	10%	4.94±0.10 ^{aA}	4.33±1.09 ^{abAB}	4.03±0.45 ^{bcAB}	4.03±0.24 ^{cdAB}	3.60±0.61 ^{cdA}	3.55±0.31 ^{dA}
	20%	4.94±0.10 ^{aA}	4.59±0.23 ^{bA}	4.17±0.26 ^{cAB}	4.16±0.25 ^{cA}	3.83±0.23 ^{dA}	3.59±0.23 ^{eA}
	30%	4.94±0.10 ^{aA}	4.57±0.46 ^{bA}	4.36±0.24 ^{bA}	4.06±0.37 ^{cAB}	3.93±0.15 ^{cdA}	3.69±0.17 ^{dA}
Color	PWH	5.00±0.00 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.97±0.07 ^{aA}	4.97±0.05 ^{aA}	4.90±0.00 ^{aA}	-
	PWOH	5.00±0.00 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.98±0.06 ^{aA}	4.98±0.06 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.99±0.04 ^{aA}
	10%	5.00±0.00 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.97±0.07 ^{aA}	4.98±0.05 ^{aA}
	20%	5.00±0.00 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.98±0.06 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.97±0.05 ^{aA}	4.99±0.04 ^{aA}
	30%	5.00±0.00 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.98±0.06 ^{aA}	4.98±0.06 ^{aA}	4.98±0.06 ^{aA}	4.98±0.05 ^{aA}
Taste	PWH	4.87±0.16 ^{aA}	4.28±0.11 ^{bC}	4.17±0.17 ^{bA}	- ²⁾	-	-
	PWOH	4.87±0.16 ^{aA}	4.35±0.26 ^{bBC}	4.26±0.16 ^{bA}	3.95±0.23 ^{cA}	3.63±0.32 ^{dB}	3.64±0.11 ^{dA}
	10%	4.87±0.16 ^{aA}	4.34±0.14 ^{bBC}	4.28±0.18 ^{bA}	4.07±0.20 ^{cA}	3.77±0.19 ^{dAB}	3.53±0.10 ^{eA}
	20%	4.87±0.16 ^{aA}	4.49±0.18 ^{bAB}	4.24±0.14 ^{cA}	4.04±0.21 ^{dA}	3.78±0.23 ^{eAB}	3.70±0.24 ^{eA}
	30%	4.87±0.16 ^{aA}	4.53±0.28 ^{bA}	4.18±0.21 ^A	4.00±0.23 ^{cdA}	3.88±0.09 ^{deA}	3.70±0.21 ^{eA}
Odor	PWH	4.99±0.03 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.96±0.07 ^{aA}	4.90±0.00 ^{aA}	4.90±0.00 ^{aA}	-
	PWOH	4.99±0.03 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.97±0.07 ^{aA}	4.97±0.07 ^{aA}	4.98±0.05 ^{aA}
	10%	4.99±0.03 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.97±0.07 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.99±0.04 ^{aA}
	20%	4.99±0.03 ^{aA}	5.00±0.00 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.98±0.04 ^{aA}	4.98±0.06 ^{aA}	4.98±0.07 ^{aA}
	30%	4.99±0.03 ^{aA}	5.00±0.00 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.99±0.03 ^{aA}	4.99±0.04 ^{aA}
Texture	PWH	4.81±0.12 ^{aA}	3.96±0.34 ^{bB}	3.32±0.93 ^{cB}	3.38±0.59 ^{cB}	2.98±0.59 ^{cB}	2.27±0.80 ^{dB}
	PWOH	4.81±0.12 ^{aA}	4.21±0.56 ^{bAB}	3.80±0.38 ^{cA}	3.63±0.41 ^{cB}	3.51±0.32 ^{cdA}	3.25±0.19 ^{dA}
	10%	4.81±0.12 ^{aA}	4.35±0.47 ^{bA}	4.08±0.54 ^{bA}	4.06±0.29 ^{bA}	3.71±0.37 ^{cA}	3.14±0.23 ^{dA}
	20%	4.81±0.12 ^{aA}	4.54±0.20 ^{bA}	4.03±0.37 ^{cA}	4.09±0.43 ^{cA}	3.71±0.28 ^{dA}	3.15±0.14 ^{eA}
	30%	4.81±0.12 ^{aA}	4.48±0.48 ^{bA}	4.22±0.30 ^{bcA}	4.03±0.39 ^{cdA}	3.85±0.15 ^{dA}	3.39±0.14 ^{eA}

* Treatments of mulberry: **PWH**; packaging with pin-holed lid, **PWOH**; packaging without pin-holed lid, **10%**; packaging with 10% of CO₂, **20%**; packaging with 20% of CO₂, **30%**; packaging with 30% of CO₂.

1) Data are presented as means±standard deviation. Means with the same small letter in each storage period and the same capital in each treatment are not significantly different at P<0.05 using Duncan's multiple range test.

2) Unacceptable for evaluation



Fig. 2-62. Mold grown on mulberry during distribution and storage.

Table 2-3. O₂ and CO₂ concentrations inside the package of Mulberry with different initial gas composition (Unit: %)

Air			10% CO ₂			20% CO ₂			30% CO ₂		
O ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO ₂	N ₂
20.74±	0.00±	79.19±	16.40±	8.00±	75.60±	13.43±	17.08±	69.49±	12.03±	27.11±	60.86±
0.16	0.00	0.06	0.23	0.39	0.62	0.35	1.21	1.55	0.45	4.59	5.04

Table 2-4. O₂ and CO₂ concentrations inside the package of Mulberry in the different storage temperature (Unit: %)

Air at 20°C			20% CO ₂								
			20°C			10°C			0°C		
O ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO ₂	N ₂
20.74±	0.00±	79.19±	14.55±	17.24±	68.72±	14.43±	17.45±	68.12±	14.78±	17.41±	67.81±
0.16	0.00	0.06	0.24	0.29	0.66	0.17	0.02	0.14	0.24	0.09	0.33

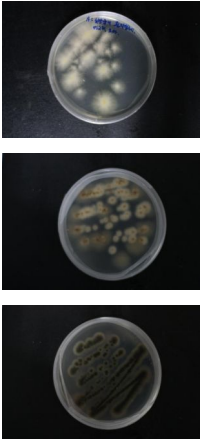
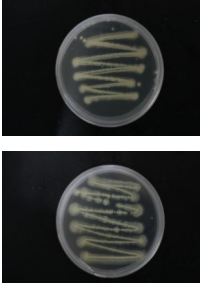
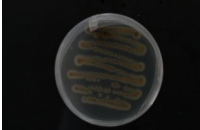
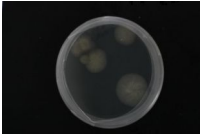
Table 2-5. Mycelium size of *Cladosporium* sp. isolated from Mulberry under various MAP conditions (Unit: cm)

Storage time (days)	Air	10% CO ₂	20% CO ₂	30% CO ₂
6 at 20°C	1.8±0.16	1.6±0.12	0.70±0.18	0.30±0.08

Table 2-6. Mycelium size of *Cladosporium* sp. isolated from Mulberry in the various storage temperatures (Unit: cm)

Air at 20°C for 6 days	Gas composition	20°C for 6 days	10°C for 15 days	0°C for 28 days
1.65±0.19	20% CO ₂	0.63±0.17	1.59±0.11	0.23±0.06

Table 2-7. Identification of strains isolated from Mulberry using 18S rRNA sequence analysis

	Description	Identified species
	yellow and white, white and gray, black and gray	<i>Cladosporium</i> sp.
	white and blue	<i>Aspergillus clavatus</i>
	black and gray	<i>Dothideomycetes</i> sp.
	white	<i>Botryotinia fuckeliana</i>

2) 현장에서의 간이 active MA 처리방법에 의한 선도연장

오디의 저장 및 유통 중 탄산가스 처리가 효과를 보임에 따라 현장에서도 처리가 용이한 방법으로 드라이아이스를 이용한 탄산가스 처리효과를 조사하였다.

이 실험을 위한 처리구로는 상온 유통기간을 연장할 목적으로 상온방치구(1), 드라이아이스를 처리한 후 이를 개봉하여 상온에 방치한구(2), 드라이아이스를 오디와 함께 PE필름포장에 넣어 밀봉한 구이었다. 또한 저온 유통기간을 연장키 위해서는 저온(0℃)에 방치(A), 드라이아이스를 처리한 후 이를 개봉하여 저온에 방치(B), 드라이아이스를 오디와 함께 PE필름포장에 넣어 밀봉하여 저온에 방치(C)하였다.

상온방치구의 경우 처리구(1)은 방치 1일 이전, 처리구(2)는 1.5일후, 처리구(3)은 2일후 각각 곰팡이가 관찰되었다(Fig. 2-63). 처리에 따른 미생물의 번식정도를 보면 총균의 경우 대조구인 처리구(1)과 유사한 slop로 증가하였지만 곰팡이의 경우 처리구(3)의 경우 다른 두 처리구와 확연하게 낮은 값을 보였다(Fig. 2-64). 관능적 품질은 처리구(3)이 가장 우수하였고, 다음으로

는 처리구(2), 처리구(1) 순이었다(Fig. 2-65). 처리에 따른 이화학적 품질을 비교하였던바 가용성 고형물 함량, 적정산도 및 경도의 경우 처리구(3)이 다른 처리구에 비해 우수함을 품질의 값을 나타내었다(Fig. 2-66).

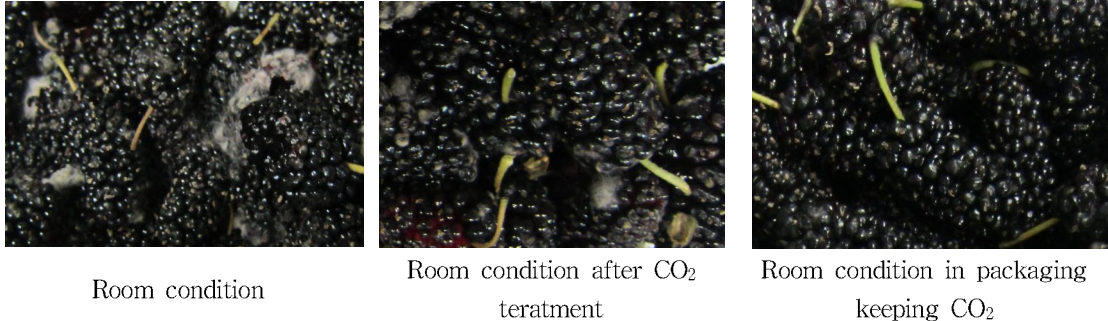


Fig. 2-63. Effect of dry ice treatment on appearance of mulberry at room condition(after 2 day)

Fig. 2-64. Effect of dry ice treatment on microorganism of mulberry at room condition (after 2 day)

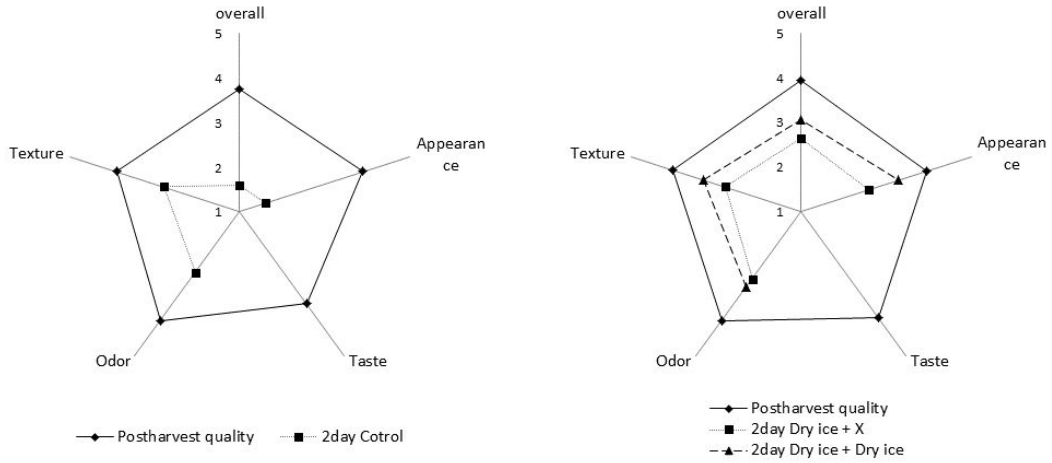


Fig. 2-65. Effect of dry ice treatment on sensory quality of mulberry at room condition (after 2 day)

Fig. 2-66. Effect of dry ice treatment on quality of mulberry at room condition (after 2 day)

한편 저온에서의 경우 13일 후 처리구간의 곰팡이 발생정도가 육안으로 차이를 보였는데 처리구(B) 및 처리구 (C)가 대조구(A)에 비해 총균 및 곰팡이가 수준이 훨씬 낮았으며, 관능적 품질은 상온에서와 같이 처리구(3)이 가장 우수하였고, 다음으로는 처리구(2), 처리구(1) 순이었다(Fig. 2-67~2-69). 처리에 따른 이화학적 품질을 비교하였던바 경도의 경우 처리구(3)이 다른 처리구에 비해 우수한 것으로 나타내었다(Fig. 2-70).

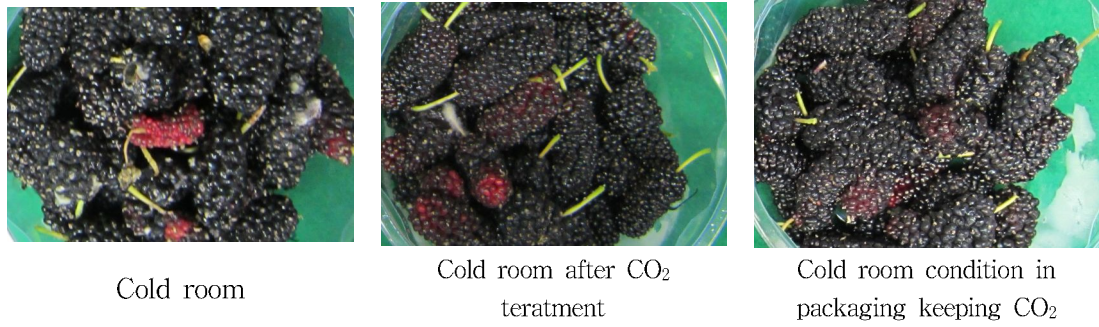


Fig. 2-67. Effect of dry ice treatment on microorganism of mulberry at cold room (after 2 day)

Fig. 2-68. Effect of dry ice treatment on microorganism of mulberry at cold room condition (after 2 day)

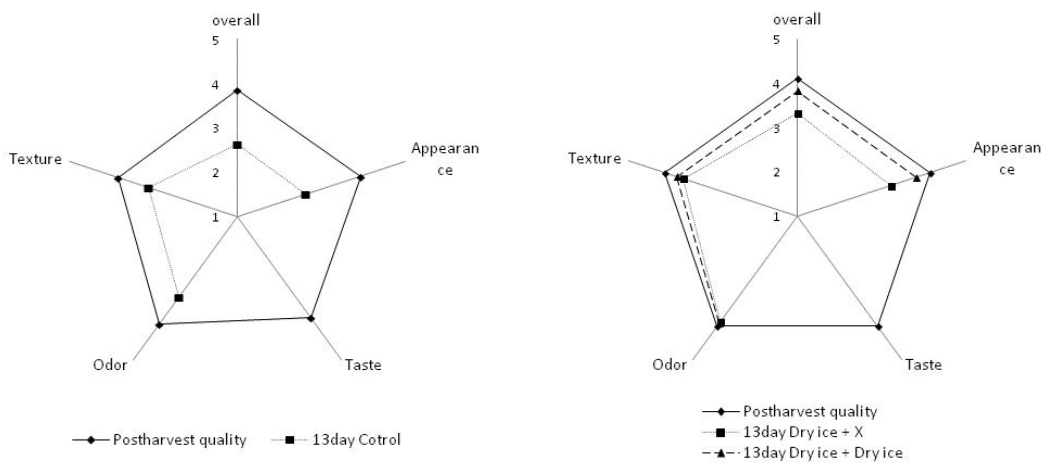


Fig. 2-69. Effect of dry ice treatment on sensory quality of mulberry at room condition (after 2 day)

Fig. 2-70. Effect of dry ice treatment on quality of mulberry at room condition (after 2 day)

소포장 Active MAP 기술을 오디 수확현장에 적용하기 위하여 관행적인 플라스틱 용기(1kg)에 일정량의 드라이아이스와 오디를 넣거나 이를 진공 포장하여 수확현장 상온에서 2일간 보관하면서 품질변화를 조사하였다(Fig. 2-71). 그 결과 드라이아이스를 넣고 진공 포장한 처리구가 가장 우수한 관능 평가를 받았으며 부패율 또한 50%에 이르는 대조구에 비해 드라이아이스 포장구에서는 약 18%, 드라이아이스와 진공포장구에서는 0%에 가까운 결과를 나타내어 본 실험에서 시도된 드라이아이스와 진공포장구 포장방법이 오디 수확현장에 적용할 수 있는 적합한 active MAP 포장조건으로 판단된다(Fig. 2-72, 2-73).

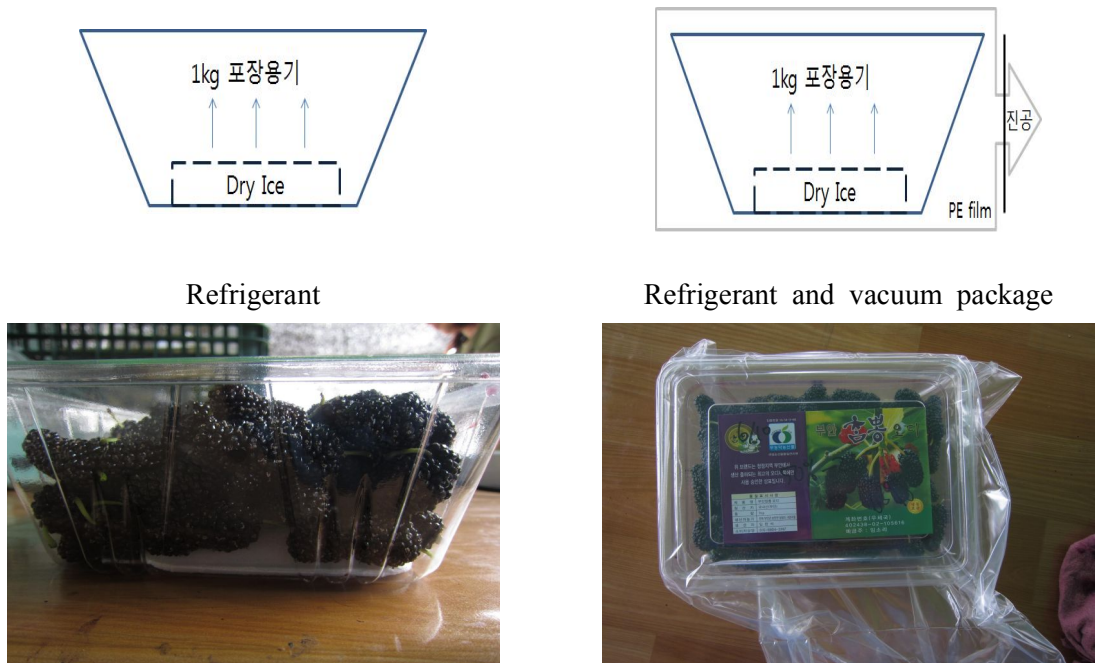


Fig. 2-71. Design of active MAP with refrigerant and vacuum.

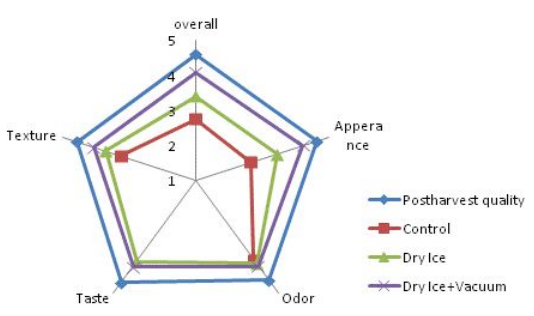


Fig. 2-72. Changes in sensory evaluation and decay ratio of mulberry packaged with active MAP for 48 hours.

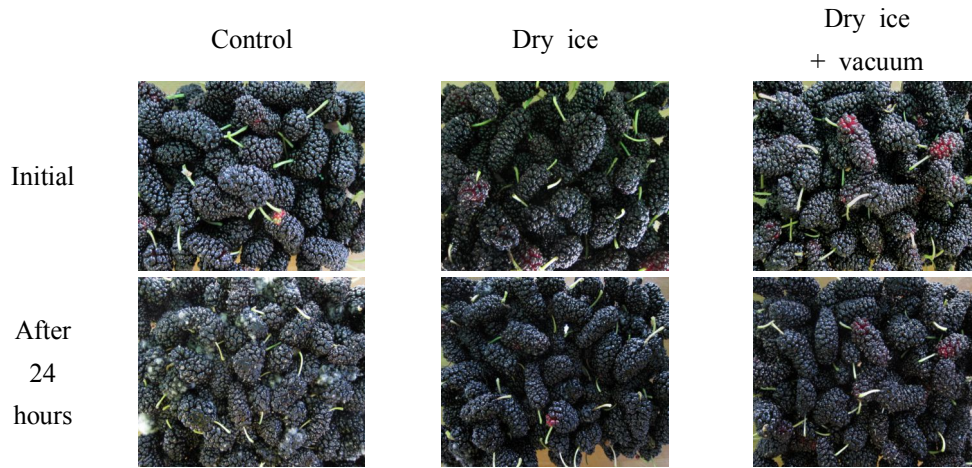


Fig. 2-73. Appearance of mulberry packaged with active MAP for 48 hours.

한편, 소포장 active MAP 기술이 저장 중에도 오디의 품질을 유지할 수 있는지 확인해보고 자 상기와 동일한 포장조건으로 오디를 포장한 후 0, 10, 20℃ 온도에서 저장하면서 품질변화를 살펴보았다. 오디의 품질에 큰 영향을 주는 플라스틱 용기 내부의 기체조성은 용기내에 들어있는 드라이아이스로 인해 모든 저장온도에서 저장 2-4일부터 40% 이상의 이산화탄소가 축적되었고 산소 농도는 3-5% 수준으로 유지하였다(Fig. 2-74). 10℃에서는 저장 말기에 이산화탄소 함량이 50%에 이를 정도로 높았는데 높은 가스압력으로 진공포장구의 용기뚜껑이 열리는 경우가 있어 포장용기 내부의 이산화탄소 농도가 저하되기도 하였다. 용기 내 이산화탄소의 유출량만큼 산소 농도가 증가하지는 않은 것은 PE 필름 내부로 산소의 유입 속도가 이산화탄소의 유출속도 만큼 높지 않기 때문으로 판단된다. 미생물 중 중온성 호기균의 경우, 저장온도마다 증식속도는 다르게 나타났으나 모든 온도조건에서 드라이아이스를 넣은 포장구의 균수가 대조구에 비해 낮게 유지되었다. 구체적으로 10℃에서는 10일만에, 20℃에서는 3일만에 중온성 호기균수가 초기에 비해 2 log 이상 증가하였고 처리구별로는 드라이아이스를 넣은 포장구(드라이아이스, 드라이아이스+진공포장)의 균수가 대조구에 비해 약간 (0.5 log 정도) 낮았다(Fig. 2-75). 이와 다르게 0℃에서는 대조구에서도 저장 20일 동안 약 0.5-1 log 정도만 증가하였고 드라이아이스 또는 드라이아이스+진공포장 처리구의 중온성 호기균의 생균수는 초기값을 유지하거나 초기에 비해 다소 감소하는 양상을 나타내어 미생물이 증식하기 어려운 저온에서 드라이아이스에 의한 미생물 저감효과를 좀더 분명하게 알 수 있었다. 저장 중 용기 내부의 저산소/고이산화탄소 기체 조성은 시료의 호흡작용과 첨가된 드라이아이스에 의해 형성된 것으로 미생물의 증식을 효과적으로 억제시키는 것으로 알려져 있다. 이러한 현상은 곰팡이 생균수에서도 유사하게 나타나 오디를 저온에서 보관하거나 저온 유통시 적당량의 드라이아이스를 사용하면 오디 품질열화의 주된 원인인 곰팡이 발생을 충분히 억제시킬 수 있을 것으로 여겨졌다. 외관적으로 판단한 부패율도 미생물 결과와 유사한 것을 알 수 있었는데, 부패율이 가장 높았던 20℃ 저장 시료에서도 대조구>드라이아이스 포장>드라이아이스+진공포장 순으로 부패

율이 높아 드라이아이스에 의한 부패방지 효과를 알 수 있었다. 내부 품질 중 오디의 가용성 고형분 함량은 저장 온도가 높을수록 저장 중 감소하는 경향이었으나 포장처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 2-76). 저장 중 pH는 약간 상승하였고 산도는 저하되었지만 진공포장을 포함한 드라이아이스를 넣은 처리구에서는 그 변화정도가 다소 완만하였다(Fig. 2-77). 경도의 경우, 20℃ 저장 중에는 처리구간의 차이없이 감소하였으나 10℃와 0℃ 저장 중에는 대조구만 급격히 감소하고 진공포장을 포함한 드라이아이스를 넣은 처리구에서는 초기 경도값을 유지하였다(Fig. 2-78). 이는 이산화탄소에 의해 베리류의 경도가 증가하거나 유지되는 것과 마찬가지로 저장 중 용기내부의 높은 이산화탄소 농도에 의해 오디의 조직연화가 방지되는 것으로 여겨졌다. 따라서 오디를 저온에서 보관하거나 저온 유통할 때에 드라이아이스를 사용한다면 장기간 품질을 유지할 수 있는 효과를 얻을 수 있을 것으로 여겨졌다. 오디의 안토시아닌은 20℃ 저장 중에는 큰 변화가 없었는데, 이는 안토시아닌의 색변화가 일어나기 전에 부패가 빠르게 발생하여 측정이 불가하였기 때문으로 보고 있다(Fig. 2.76). 반면에 10℃와 0℃에서는 저장 중 안토시아닌의 변화를 볼 수 있었고 저장기간이 20일로 가장 길었던 0℃에서는 안토시아닌의 변화가 충분히 일어나 안토시아닌 감소현상을 좀 더 분명하게 확인할 수 있었다. 처리구별로는 10℃와 0℃ 모두 전반적으로 드라이아이스 처리구가 대조구나 드라이아이스+진공포장구에 비해 비교적 높은 값을 유지하여 드라이아이스를 관행적인 플라스틱 포장 용기 안에 넣어주기만 해도 오디의 색변화를 방지할 수 있는 것으로 판단되었다.

관능적으로는 20℃에서는 드라이아이스+진공 포장구가, 10℃와 0℃에서는 드라이아이스 포장구와 드라이아이스+진공 포장구가 다른 처리구에 비해 맛, 향, 조직감, 외관, 전체적인 품질 항목에서 비교적 높은 평가를 받았고, 이 처리구들로 포장한 오디는 20℃에서는 2일, 10℃에서는 8일, 0℃에서는 16일까지 상품성을 지니는 것으로 나타났다(Fig. 2-79~2-84). 오디의 부패율은 20℃에서 최대 95%까지 나타났으나 드라이아이스 포장구에서는 30%, 드라이아이스+진공 포장구에서는 10%로 발생하여 드라이아이스의 부패억제 효과를 확인할 수 있었으며 10℃와 0℃에서도 드라이아이스 포장구에서는 거의 부패가 일어나지 않았고 대조구에서만 각각 100%와 80% 정도 발생하여 동일한 효과를 얻을 수 있었다. 결과적으로 오디를 상온에서 단시간 유통할 때에는 드라이아이스와 진공포장 방법을, 그리고 저온에서 보관하거나 저온 유통할 때에는 적정량의 드라이아이스 사용만으로도 장기간 품질을 유지할 수 있는 효과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.



Fig. 2-74. Changes in O₂ and CO₂ composition of mulberry container packaged with active MAP during storage at 0, 10, and 20°C .

Mesophilic aerobes

Mold

20°C

10°C

0°C

Fig. 2-75. Changes in mesophilic aerobes and mold of mulberry packaged with active MAP during storage at 0, 10, and 20°C .

Soluble solids content(°Brix)

Anthocyanin

20°C

10°C

0°C

Fig. 2-76. Changes in soluble solids content and anthocyanin of mulberry packaged with active MAP during storage at 0, 10, and 20°C .

pH

Titrateable acidity (%)

20°C

10°C

0°C

Fig. 2-77. Changes in pH and titrateable acidity of mulberry packaged with active MAP during storage at 0, 10, and 20°C.

Firmness

Deterioration

20°C

10°C

0°C

Fig. 2-78. Changes in firmness and deterioration of mulberry packaged with active MAP during storage at 0, 10, and 20°C .

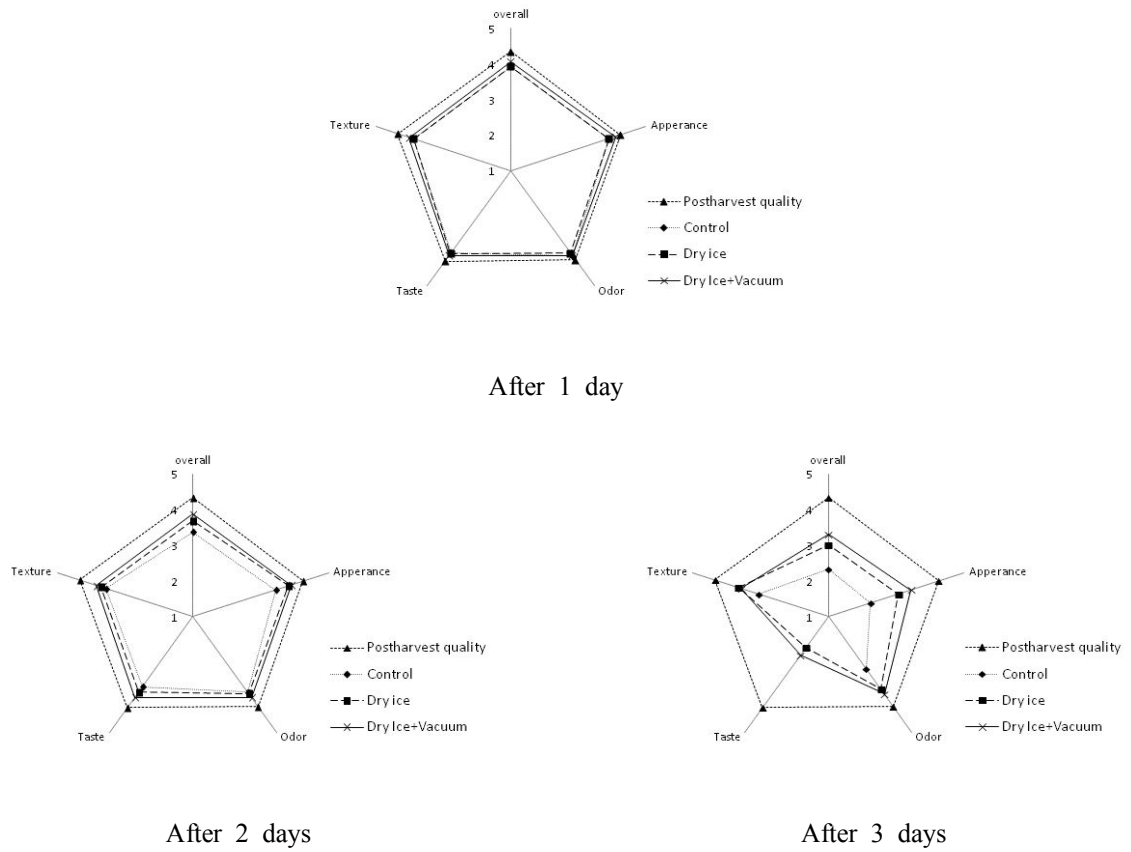


Fig. 2-79. Sensory characteristics of mulberry packaged with active MAP during storage at 20°C .

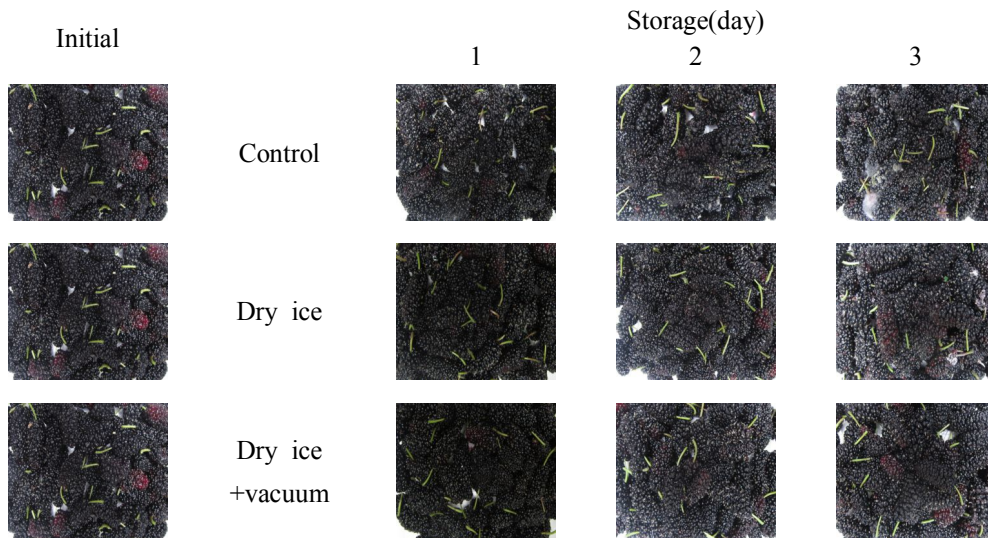
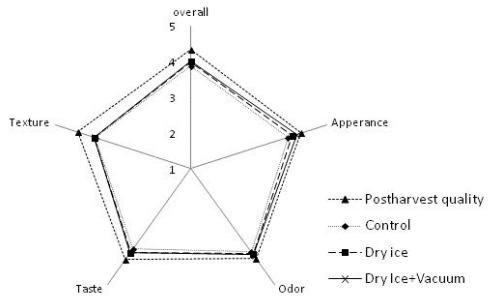
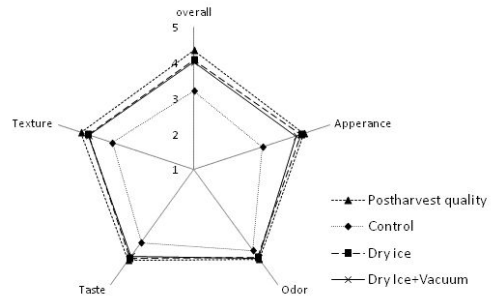


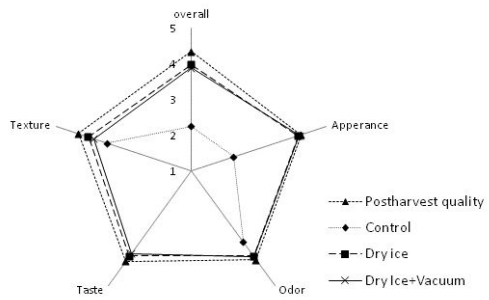
Fig. 2-80. Appearance of mulberry packaged with active MAP during storage at 20°C .



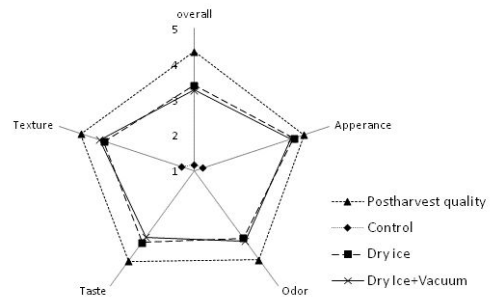
After 2 days



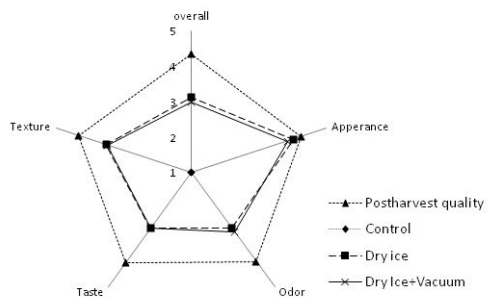
After 4 days



After 6 days



After 8 days



After 10 days

Fig. 2-81. Sensory characteristics of mulberry packaged with active MAP during storage at 10°C .

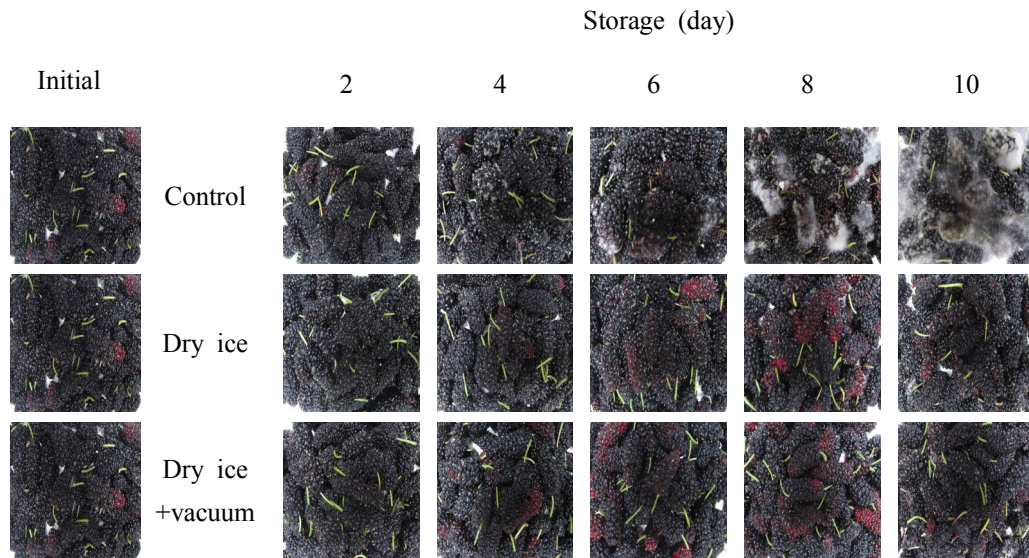
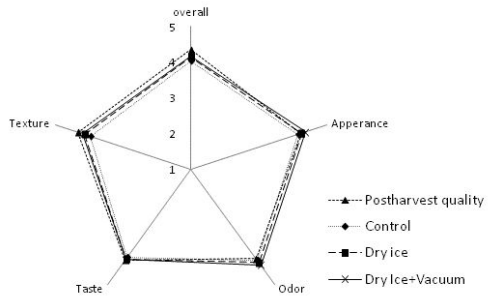
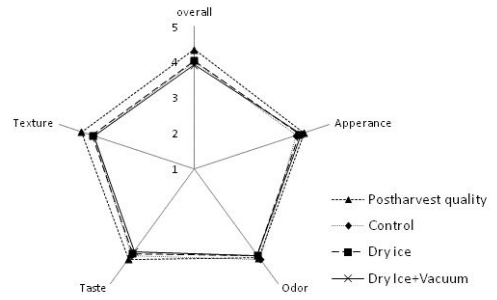


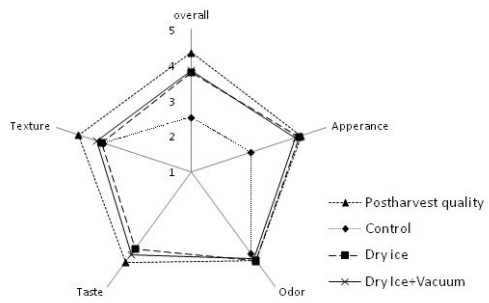
Fig. 2-82. Appearance of mulberry packaged with active MAP during storage at 10°C .



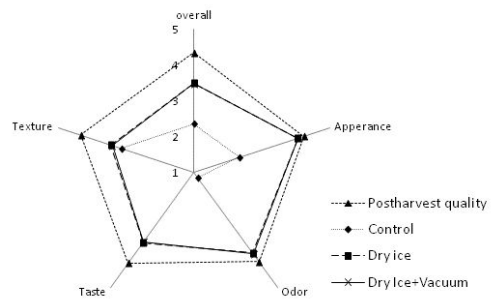
After 4 days



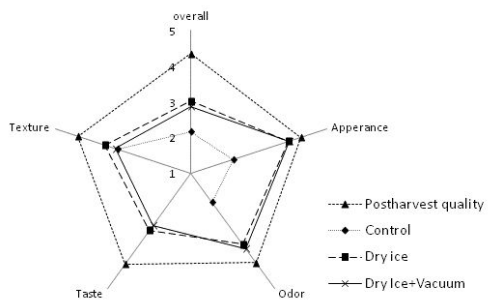
After 8 days



After 12 day



After 16 day



After 20 days

Fig. 2-83. Sensory characteristics of mulberry packaged with active MAP during storage at 0°C.

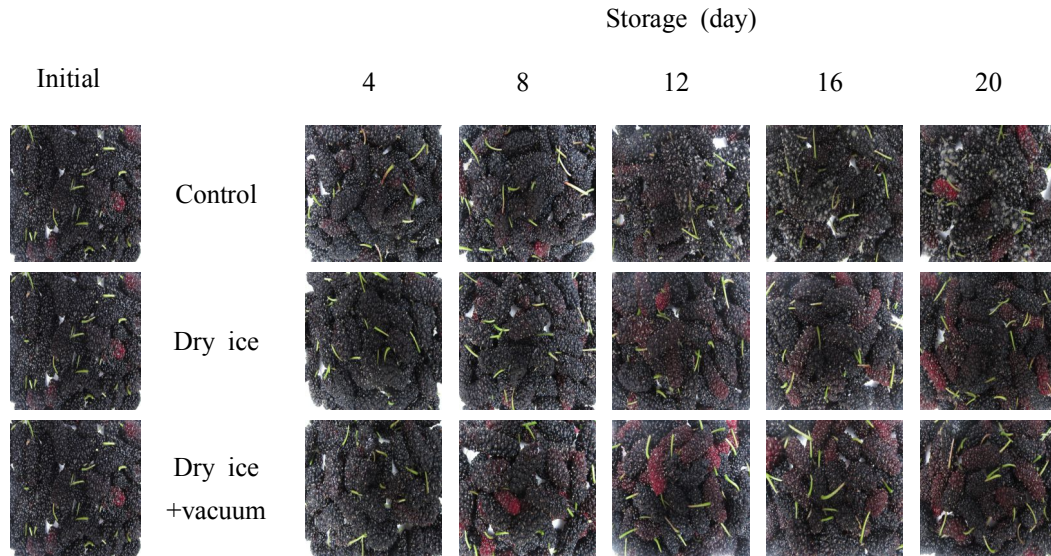


Fig. 2-84. Appearance of mulberry packaged with active MAP during storage at 0℃.

3. 소비자 지향 내포장 단위 및 구조연구

현행 오디의 유통포장단위는 1kg, 3kg, 5kg 및 10kg이 있으며 이중 1kg 단위가 가장 많이 적용되고 있다(Fig. 2-85). 이와 같은 오디의 포장단위는 주로 냉동 오디의 유통을 위해 생산자 및 생산자 단체가 임의적으로 설정되었고 이것이 관행적으로 적용되고 있다. 생 오디의 유통을 위해 500g 및 1kg 포장 단위가 현재 일부에서 사용되고 있는데 오디의 과육이 매우 약하고, 오디 개체의 단위무게가 3-5g 정도임을 감안해 현재 최소 단위인 500g보다도 작은 단위의 포장 도입이 필요한 것으로 판단된다.

현행 과일 및 채소 포장단위를 보면 소비자의 사용 효율성과 경제 등을 고려하여 소포장화가 추세를 이루고 있다. 딸기의 경우 250g, 500g의 소포장이 대부분이고, 방울토마토의 경우 250g, 400g, 500g, 800g 및 1kg 등 다양한 단위의 소포장이 있지만 대부분 1kg 미만이 주를 이루고 있다. 딸기의 경우 일본, 미국 및 유럽 등지에서도 100g, 250g, 450g, 500g이 주로 사용되고 있다. 따라서 생 오디의 소비시장 확대를 위해서는 현재 관행적으로 적용되고 있는 포장 단위보다 작은 100g 및 250g의 소포장적용이 필요할 것으로 판단되며 오디 개체중량을 고려하여 50g 단위의 포장도 고려할 만하다. 현재 사용되고 있는 오디 내포장재의 재질은 대부분 PP 및 PET이며 포장내부 오디의 상태를 볼 수 있도록 투명재질을 사용한 경우와 내부를 차단한 불투명 재질을 사용한 경우로 나뉜다. 포장재는 가능한 포장 내 오디의 품질상태를 판단할 수 있도록 투명재질을 사용하는 것이 바람직하다.

현행 오디 포장재의 구조를 보면 뚜껑의 경우 상자의 중간부위에서 닫히게 되어 있는 구조(A)와 상자 상단에 닫히게 되어 있는 구조(B)로 대별된다. 뚜껑이 오디상자 상단에 닫히게 되어 있는 구조를 갖는 상자의 경우 포장 내 오디 상단을 누르는 경우가 발생하여 오디의 손상을 초래할 수 있다. 현재 1kg 단위로 유통되는 오디상자가 대부분이 이런 구조(B)를 갖고

있는데 포장 내 오디에 압상을 줄 수 있으며 밀폐도가 높아 유통 중 외포장내 냉기와의 열 교환이 지장을 받아 포장 내 저온 유지가 원활치 못한 단점이 있다. 뚜껑이 포장 상자 중간에 닫히게 되어 있는 상자의 경우 오디를 담을 수 있는 양이 상자 부피 1/2 정도로 담는 양이 전자에 비해 적고, 덮데 밀착 부위에 일정간격의 공기 유통구를 만들어 됴으로서 저장 및 유통 중 외부 냉기의 유입을 원활히 할 수 있는 구조를 갖고 있다. 오디 포장용기의 구조에 있어 또 다른 고려사항은 포장 상자의 높이이다. 오디과육 자체가 다른 과일과 달리 매우 연약하여(완숙과: 400gf) 상자의 높이가 높을 경우 상자내 상층의 오디의 압력에 의해 하층부 오디의 조직이 손상받을 수 있으며, 유통중 취급 부주의로 인한 외부 충격에 의해 손상이 촉진될 수 있다.

오디와 유사하지만 과육이 다소 견고한 gooseberry와 raspberry의 포장상자(미국 Naturipe사) 구조를 보면 중간부위에 뚜껑이 닫히며, 뚜껑부위에는 일정 간격으로 통기구가 마련되어 있다. 또한 포장상자의 높이는 가로 및 세로에 비해 낮은 특성을 갖고 있다.

이와 같은 내용을 고려하여 오디의 250g(A) 및 500g(B) 용 소포장 상자로 아래의 형태의 구조를 갖는 포장상자가 바람직하다고 판단된다(Fig. 2-86, Table 2-8).

오디의 단위포장으로 250g 이하인 경우는 4각형의 상자보다는 원통형상자가 더 선호도가 높을 것으로 판단하여 아래와 같은 4종류의 원통형 포장재(A: 50g, B: 100g, C: 200g, D: 200g)에 대한 선호도를 조사하였던바 종이 포장재 보다는 투명한 플라스틱 포장재(A, B, C)에 대해 호감을 갖는 것으로 나타났다. 투명 플라스틱용기 중 특히 50g 및 100g용 용기에 대한 선호도가 200g용 보다 높았다(Fig. 2-87).



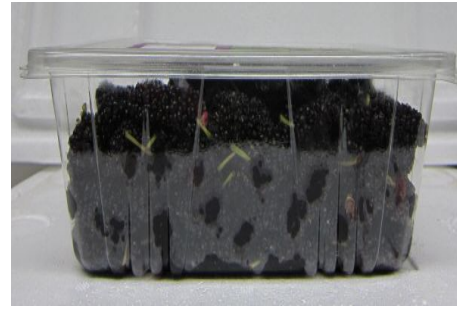
For fresh mulberry(A)



For fresh and frozen mulberry(B)



Container with vent (height 6.4cm)



Closing type container (height .1cm)



Gooseberry (Ex)



Raspberry (Ex)

Fig. 2-85. Various containers for mulberry.



A



B

Fig. 2-86. Recommended containers for mulberry.

Table 2-8. Volume and dimension of Type A and Type B box

Type	Volume(g)	Dimension(mm)
A	250	175x120x50
B	500	170x155x60

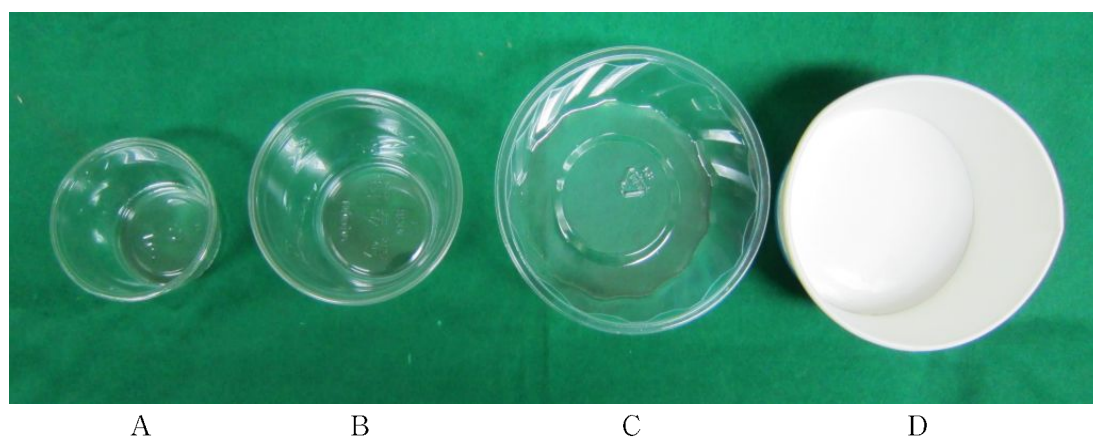


Fig. 2-87. Various cup-containers for mulberry.

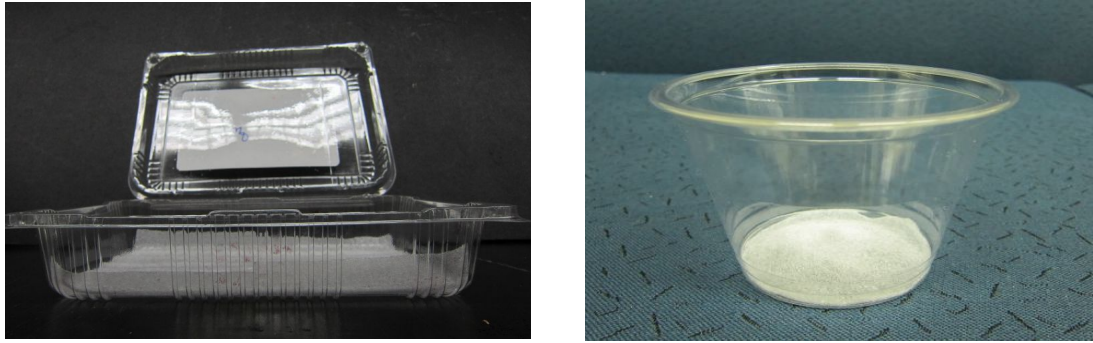


50g



100g

Fig. 2-88. Recommended cup-containers for mulberry.



Container with cushion on bottom

Fig. 2-89. Recommended containers with fender for mulberry.

한편 포장용기 내 오디의 손상 및 손상오디로 부터 유출되는 과즙에 의해 포장 내 오디가 불량하게 보이는 것을 방지하기 위해 포장재 바닥에 완충 및 흡수가 가능한 바닥재로 마감하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다(Fig. 2-88, 2-89).

1) 소비자 지향 내포장 구조확립

현행 1kg 포장용 용기로 범용되고 있는 용기를 사용하여 오디 포장 내 축적 높이에 따른 오디의 손상과와 손상에 따른 과즙 유출정도를 비교하였던바 포장 내 오디의 축적 정도가 바닥으로부터 1.5cm부터 6cm 정도까지는 그 정도에 따라 다소 차이는 보였지만 손상과 발생과 손상된 조직으로부터의 과즙 누출량이 거의 유사한 수준이었으나, 오디의 축적 정도가 바닥으로부터 7.5cm부터는 이 이전 보다는 손상과 발생과 손상된 조직으로부터의 과즙 누출량이 유의적으로 차이를 보였다(Fig. 2-90). 이와 같은 결과를 통하여 오디를 1Kg 단위로 포장할 경우 포장용기 바닥으로부터 최대 6.5cm정도 까지만 오디를 넣을 수 있도록 구조를 변경하여야 하며, 이를 위하여서는 포장상자의 밑면을 보다 넓게 하여야 할 것으로 판단된다. 아울러 생 오디 포장단위를 500g 또는 250g 정도로 하는 것도 상자 내 오디 자체의 하중으로 인한 조직 손상 발생을 방지할 수 있는 방안이라 판단된다.



Fig. 2-90. Appearance and juice drip of mulberry by accumulation level in packing

2) 단열처리를 위한 외포장재 연구

오디의 외포장은 주로 오디의 유통 중 품온 변화를 억제키 위해 스티로폼상자가 주로 사용되고 있다. 스티로폼 상자의 크기는 내포장 오디 상자의 크기 및 개수에 의해 결정되어져 있는데 500g용 오디 내포장 상자와 1kg용 내포장 상자의 치수를 고려하여 일반 시판되고 있는 외포장용 단열 스티로폼 상자를 구입사용하고 있다. 500g용 내포장 상자의 경우 4개 또는 6개, 1kg용 내포장 상자의 경우 4개 또는 6개가 들어가는 크기의 상자가 이용되고 있으며 외포장 상자 내부에는 내포장 오디 상자이외 2개 또는 4개의 아이스 팩이 들어 갈수 있는 공간적 여유가 있다(Fig. 2-91, Table 2-9). 그러나 대부분 오디 외포장 용기의 크기는 기존의 제품을 주로 사용하기에 외 포장 용기 안에 축냉재에 의해 온도를 고루 확산시킬 수 있도록 아이스 팩 등의 축냉재를 합리적으로 배치할 수 있는 공간적 여유가 부족한 실정이다. 또한 외포장 본체와 뚜껑을 결합 시 외포장 내부로 부터의 냉기가 외부로 유출되거나 외부의 온기가 외포장 내부로 유입되는 것을 막기 위한 접합부위의 마감처리가 미흡한 경우가 많다.

이 이외 오디의 유통 중 품온 변화를 최소화할 수 있는 방안으로는 오디의 수확시기가 5월 하순 부터 6월 중하순으로 외부의 온도가 높음에 따라 오디의 운송 중 외포장내로의 외부의 열리 침투하는 것을 방지하는 것이 필수적이다. 이를 위하여서는 오디의 운송 시 냉장차량을 사용하는 것이 우선되어야 할 것으로 판단된다. 이와 더불어 오디의 외포장용 스티로폼 상자의 열전도를 보다 낮추고 압축강도를 보다 높은 재질을 사용하는 것이 바람직하다. 현재 오디의 외포장재로 사용되고 있는 스티로폼은 비드법 1종 제품이 주를 이루며 초기 열전도도는 $0.037\text{W/m}\cdot\text{K}$ 이상으로 이보다 열전도도가 낮은 재질의 제품을 사용하는 것이 바람직하다.

Table 2-9. Physical characteristics of the styrofoam material recommended (KS M 3808)

종 류	밀 도 (kg/m ³)	초기 열전도율 (평균 온도 23±2℃) (W/m · K)		굴곡 강도 (N/cm ²)	압축 강도 (N/cm ²)	흡 수 량 (g/100 cm ²)	연 소 성	(참 고) 투습 계수 (두께 25 mm당) (ng/m ² · s · Pa)
		비드법 1종	비드법 2종					
단열판	1 호	30 이상	0.036 이하	0.031 이하	35 이상	16 이상	3초 이내에 불꽃 이 꺼져서 찌꺼 가 없고 한계선 을 초과하여 연 소하지 않을 것.	146 이하
	2 호	25 이상	0.037 이하	0.032 이하	30 이상	12 이상		208 이하
	3 호	20 이상	0.040 이하	0.033 이하	22 이상	8 이상		250 이하
	4 호	15 이상	0.043 이하	0.034 이하	15 이상	5 이상		292 이하
단열통	1 호	35 이상	0.036 이하	0.031 이하	30 이상	-	두께 30 mm 미만은 2.0 이하 두께 30 mm 이상은 1.0 이하	-
	2 호	30 이상	0.036 이하	0.032 이하	25 이상			
	3 호	25 이상	0.037 이하	0.033 이하	20 이상			

종 류	열 전도율 (평균 온도 23±2℃) (W/m · K)	열 전도율 (평균 온도 23±2℃) (W/m · K)		굴곡강도 (N/cm ²)	압축강도 (N/cm ²)	연 소 성	(참 고) 투습 계수 (두께 25 mm당) (ng/m ² · s · Pa)
		초기 열 전도율	장기 열 전도율				
단열판	특 호	0.027 이하	0.029 이하	45 이상	25 이상	3초 이내에 불꽃 이 꺼져서 찌꺼가 없고 한계선을 초 과하여 연소하지 않을 것.	146 이하
	1 호	0.028 이하	0.030 이하	35 이상	18 이상		
	2 호	0.029 이하	0.031 이하	30 이상	14 이상		
	3 호	0.031 이하	0.033 이하	25 이상	10 이상		



Fig. 2-91. Outside and inside of practical packaging box for mulberry.

제4절 오디의 냉동처리 및 냉동저장기술 개발

1. 직접소비용 오디의 과립 원형유지를 위한 동결처리기술

오디의 대부분은 수확 후 조직 손상 및 곰팡이의 급속한 번식 등으로 인해 생과로 유통되는 량보다는 수확 후 현장에서 포장한 후 일정량의 포장 량에 달하면 이를 자가 또는 농협 등이 가동하는 냉동저장고에 입고하여 냉동 처리 후 수요에 따라 출하하고 있다. 직접 소비용 오디의 냉동단위는 주로 1kg 단위이며, 수확후 오디의 상태가 양호한 경우(Fig. 3-1)에는 아래의 그림에서와 같이 1kg단위이더라도 약 250g 단위로 분획된 용기를 이용하여 오디의 형태가 양호하게 유지되도록 냉동처리를 한다. 냉동처리 시에는 일정량의 오디를 용기에 담은 후 뚜껑을 닫고 이를 플라스틱 컨테이너에 2단 적재 후 냉동고에 입고시킨다. 이 경우 영기내 오디의 냉동 소요시간은 오디의 냉동고 입고량에 따라 차이가 있지만 -40℃ 냉동고라 하더라도 최소 1일 최대 2일 정도 소요된다. 수확 시 오디의 형태가 양호하지 않은 경우(Fig. 3-2)에는 오디를

선별 포장하기가 곤란함으로 우선 오디를 3-5kg단위의 포장 용기에 담아 냉동실에 입고하여 오디를 냉동시킨 후, 포장 상자를 냉동고에서 반출하여 냉동고의 전실에서 냉동된 오디를 개체별로 떼어 소형 포장용기에 재포장한 후 냉동실에 입고시켜 재 냉동처리를 한다. 이 경우 오디의 외형은 다소 불량한 수준이며 낮은 가격으로 유통된다.



Fig. 3-1. Sorting and freezing for commercial mulberry(1).



Fig. 3-2. Sorting and freezing for commercial mulberry(2).

가. 오디의 빙결온도 조사

현행 오디의 저장을 위해서는 일반적으로 0℃가 적용되고 있는데 오디의 품질을 보다 연장시키기 위해서는 오디의 빙결점대에서의 저장도 고려함직하다. 이를 위하여 오디의 빙결온도를 조사하였던바 속도에 따라 약간의 차이를 보였지만 -1.8~ -2.9℃ 범위이었으며 이때 오디의 가용성 고형물 함량은 10.2-11.1 범위였다(Fig. 3-3). 이와 같은 조건을 유지하기 위해서는 온도 편차가 매우 적고 정교하게 온도가 유지되는 저온시설이 필요하다. 현 상업용 저온 저장고의 온도편차가 최소 ± 1.0℃ 정도임을 고려할 때 오디가 동해를 받지 않고 안전하게 저장하기 위해서는 0℃가 적합할 것으로 판단된다. 또한, -10, -20, -40℃의 온도에 따른 오디의 빙결온도

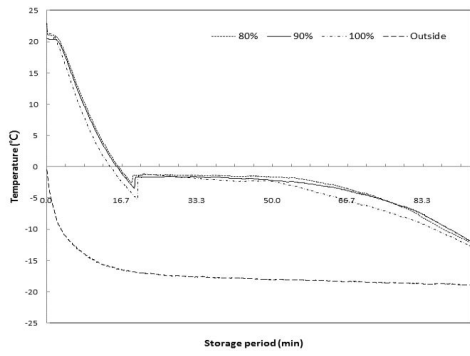
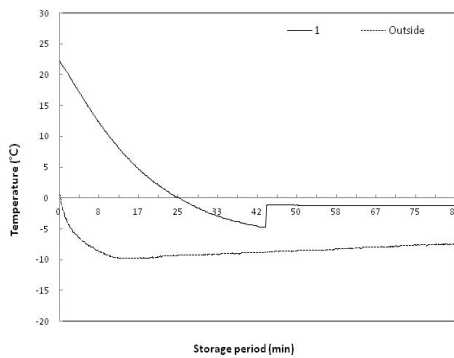
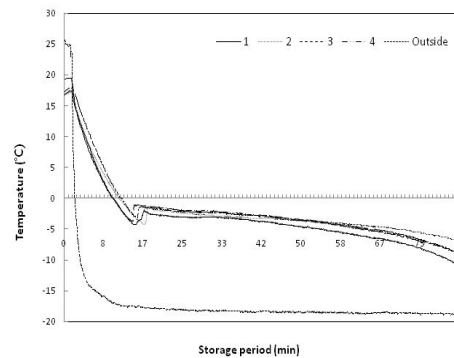


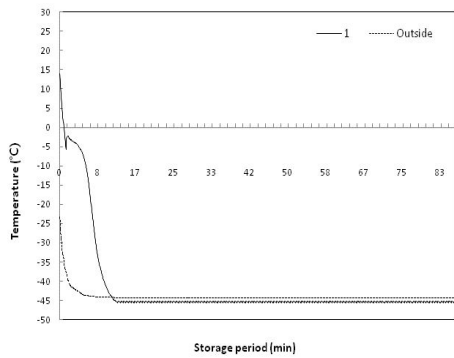
Fig. 3-3. Cooling curve and soluble solids content of mulberry.



-10°C



-20°C



-40°C

Fig. 3-4. Cooling curve of mulberry with 100% maturity.

를 조사하였던바 빙결되는 온도는 냉동온도에 상관없이 거의 유사하였으며 냉동온도가 낮을수록 빙결에 이르는 시간이 짧은 것을 알 수 있었다(Fig. 3-4).

직접소비용 오디의 과립 원형유지를 위한 동결처리기술연구로 오디를 날개로 냉동처리 시 소요되는 시간을 조사하였고, 오디의 조직특성상 다른 과일과 달리 날개처리가 곤란함에 따라 소포장 단위에 따른 오디의 냉동속도를 비교하였다. 또한 동일한 소포장 단위이더라도 포장용기의 개폐 여부에 따라 오디의 동결속도의 차이가 있으므로, 뚜껑의 개폐여부, 용기의 통기구 여부 등에 따른 속도를 비교하였다.

-25℃에서 오디를 개체별로 냉동처리 시 6분 이내 품온이 0℃ 이하로 강하되었으며, 1시간 20분 이내에 -23℃에 도달하였다(Fig. 3-5). 250g용기의 경우 최종 동결온도인 -23℃에 도달시간은 7시간 30분에서 9시간 30분 소요되었으며 포장용기의 뚜껑을 열어 놓은 경우가 밀폐 용기 및 통기구 개설 용기 보다 그 속도가 빨랐다. 한편 용기의 크기가 클수록 동결 소요시간도 증가하여 1kg 단위의 경우 약 14시간이 소요되었다. 동결처리 시 포장단위 및 포장의 뚜껑 개폐여부 등을 달리하여 처리한 후 동결오디의 외관 및 동결처리 중 오디로부터 누출된 과즙의 발생정도를 비교하였던바 그림에서와 같이 오디를 날개로 동결처리 한 경우가 외형이 가장 우수하였고 과즙의 누출정도는 가장 적었다(Fig. 3-6). 반면에 1kg단위 수확 포장한 경우 외관이 이보다 작은 용량의 포장단위에 비해 외형 및 과즙 누출 정도가 비교적 컸다. 500g 단위의 경우 외형은 250g 단위에 비해 다소 떨어졌으나 과즙의 누출정도는 250g 단위 포장과 차이를 보이지 않았다. 250g 단위의 경우 뚜껑의 개폐여부 벽면의 기공 여부에 거의 무관하게 냉동 후 오디의 외관과 과즙 누출정도가 유사하였다. 단 오디를 기존 대형 플라스틱 용기로 수확한 후 포장 단계에서 250g 단위로 소포장한 경우 외관의 매우 불량하였고, 과즙의 누출 정도 역시 매우 심각하였다.

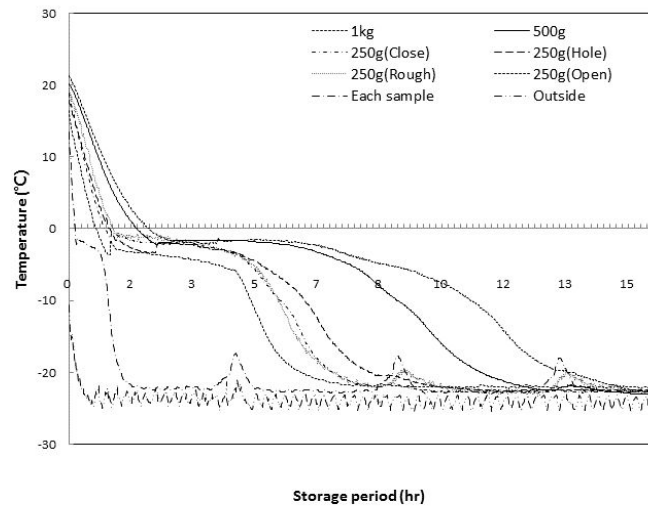


Fig. 3-5. Freezing curve of mulberry according to packing unit and packaging method

Fig. 3-6. Appearance and level of drip occurred after freezing and packaging according to the packing unit and packaging methods. 1: 1kg, 2: 500g, 3: 250 (closed), 4: 250 (open), 5: 250 (holes) 6: 250g serving vessel at harvest site, 7: individual

2. 가공용 오디의 적정 동결처리기술 연구

가공용 오디는 수확 시 플라스틱 대형 용기를 사용하여 오디를 수집한 후 농장의 현장에서 내부에 PE 필름이 깔린 스티로폼 상자 또는 다공성 플라스틱 사각 바구니에 10kg 단위로 오디를 담은 후 자가 또는 농협 등에서 운용하는 냉동고에 입고하여 냉동처리를 한다(Fig. 3-7). 이때 스티로폼 상자를 사용한 경우 뚜껑을 덮으며, 다공성 플라스틱 사각 바구니는 바구니 바닥에 깔린 PE필름으로 상자 상부를 덮는다. 스티로폼 상자의 경우 동결처리 시 뚜껑을 덮음으로 동결속도는 다공성 플라스틱 사각 바구니를 사용한 경우에 비해 떨어진다. 한편 다공성 플라스틱 사각 바구니를 사용한 경우 소비자 수요에 따라 오디를 바닥에 깔려 있는 PE필름과 함께 스티로폼 상자도 옮겨 담은 처리를 한다. 따라서 오디의 냉동 처리를 위해서는 동결 속도를 향상시키기 위해 스티로폼상자 보다는 열 교환이 용이한 다공성 플라스틱 사각 바구니가 보다 효과적일 것으로 판단된다. 다공성 플라스틱 사각 바구니를 사용할 경우 냉동처리 후 재포장작업의 번거로움을 피하기 위해 부득이 스티로폼 상자를 사용할 경우 상자 내 오디의 냉각속도를 높이기 위해 상자의 뚜껑은 열어 놓은 상태로 동결 처리 후 뚜껑을 닫는 방식의 처리가 바람직할 것으로 판단된다. 한편 가공용 오디는 수확 시 부터 일반 소비자용과는 달리 오디의 속도, 조직손상도 등 품질이 일반 소비자용 소포장 오디에 비해 다소 낮고, 수확 후 냉동고 입고 전 방치 시간 및 취급의 조심성 등이 일반 소비자용 비해 떨어짐에 따라 냉동 후 외관 및 오디로부터의 과즙 누출정도가 심한 문제가 있다. 따라서 가공용의 경우라도 품질측면을 고려하여 수확 시부터 조직의 손상을 줄이고, 미생물학적으로 안전한 상태를 유지하며, 포장처리 후 가능한 빠른 시간 내 냉동고로 이송하여 동결처리 시킬 수 있는 시스템 구축이 필요하다.



Fig. 3-7. Pre and freezing treatment of mulberry for processing usage

가공용 오디의 적정 동결처리기술 연구를 위해 2013년 6월 21일 농가 A와 B에서 수확한 오디 40kg을 각각 2.5kg 플라스틱 상자, 10kg 스티로폼 상자, 10kg P 박스로 나눠 포장규격 및 용기를 다르게 하여 -24℃ 냉동보관 하였다. 추가로 드라이아이스를 포함한 2.5kg 플라스틱 상자와 10kg 스티로폼 상자에 각각 오디를 나눠 담아 드라이아이스 유무에 따른 효과를 확인코자 하였다(Fig. 3-8).

-24℃에 저장하며 2.5kg, 10kg-스티로폼상자 및 10kg-P박스의 오디 품온을 측정했던 결과 2.5kg 소포장시 다른 포장규격에 비해 급속도로 온도가 떨어지며 가장 빠르게 냉동외기에 도달하였고, 그 다음은 10kg-P박스, 10kg-스티로폼상자가 뒤를 이었다. 같은 10kg여도 덮개가 있는 스티로폼 재질의 상자일 경우 오디의 품온이 좀 더 느리게 떨어짐을 확인 할 수 있었다 (Fig. 3-9). 냉동 오디의 관능적 외관은 전반적으로 A농가에 비해 B농가가 더 높은 경향을 나타내었는데, 이는 냉동 전 B농가가 A농가에 비해 외관이 많이 깨져있었으며 이에 따른 드립발생율이 더 심해져 결국 냉동오디의 외관에 영향을 미치는 것으로 판단된다. 전반적으로 두 농가 모두 2.5kg 소포장시 외관이 비교적 양호했으며 드라이아이스 처리에 따른 외관차이는 뚜렷하지 않았다(Fig. 3-10~3-13). 약 1년간 냉동 저장하며 2014년 1월과 4월 각 포장구의 중량을 확인하여 감소율을 확인한 결과, A와 B 농가 모두 2.5kg 소포장보다 10kg의 경우 중량감소율이 더 높게 나타났고, 10kg-스티로폼상자와 10kg-P박스의 경우 P박스가 스티로폼상자에 비해 높은 감소율을 나타내었다. 이는 2.5kg 소포장용기의 경우 플라스틱재질에 덮개가 있어 오디의 수분증발로 인한 중량감소를 억제했던 것으로 보이며, 10kg 스티로폼 상자 역시 덮개로 인해

P박스에 비해 중량감소 억제에 좀 더 유리했던 것으로 판단된다(Fig. 3-14).

미생물의 경우 저장기간에 따라 총균과 곰팡이 모두 감소하는 경향을 보였는데 드라이아이스 처리 유무와 포장규격에 따른 차이는 미미한 반면 A농가가 B농가보다 전반적으로 높은 총균값을 나타내어, 냉동 전 오디의 상태가 미생물 수에 영향을 미침을 알 수 있다(Fig. 3-15~3-20).

냉동저장 중 안토시아닌은 A, B농가 모두 감소하는 경향을 보였는데 드라이아이스유무 및 포장규격에 따른 경향은 보이지 않았다(Fig. 3-21~3-23). 가용성고형물함량은 저장기간 동안 증가하는 경향을 나타내었는데 이는 냉동저장 중 오디의 수분감소에 기인한 것이라 사료되며, B농가가 A농가에 비해 약 6°Brix정도 높게 나타나 농가 간 차이는 있었지만 드라이아이스처리 유무 및 포장규격에 따른 차이는 미미하였다(Fig. 3-24~3-26). pH는 A, B농가 모두 4.74~5.12범위로 큰 차이를 보이지 않았고, 적정산도의 경우 농가 간 차이를 나타내며 저장기간에 따라 증가하는 경향이었으며 같은 포장규격일 때 드라이아이스 처리구가 대조구에 비해 높은 적정산도를 나타내었지만 그 차이는 미미하였다(Fig. 3-27~3-32).

가공용 오디의 동결처리에 있어 내적인 품질보다는 수분손실에 기인한 중량감소 억제와 우수한 관능적 외관유지에 신경을 써야할 것으로 판단되며, 이는 냉동 전 오디의 외관손상에 의한 드립 발생율을 최대한 줄이는 것이 관건이므로 소단위로 덮개로 덮어 동결처리하는 것이 우수한 냉동오디 품질유지에 적당한 것으로 보인다.



Fig. 3-8. Shape of mulberry container.(Left: 10kg-S, Middle: 10kg-P, Right: 2.5kg)

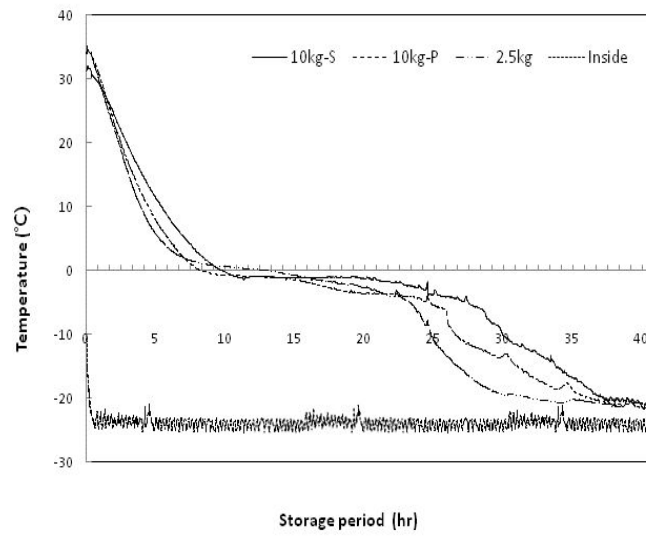


Fig. 3-9. Internal temperature of mulberry container at initial storage.

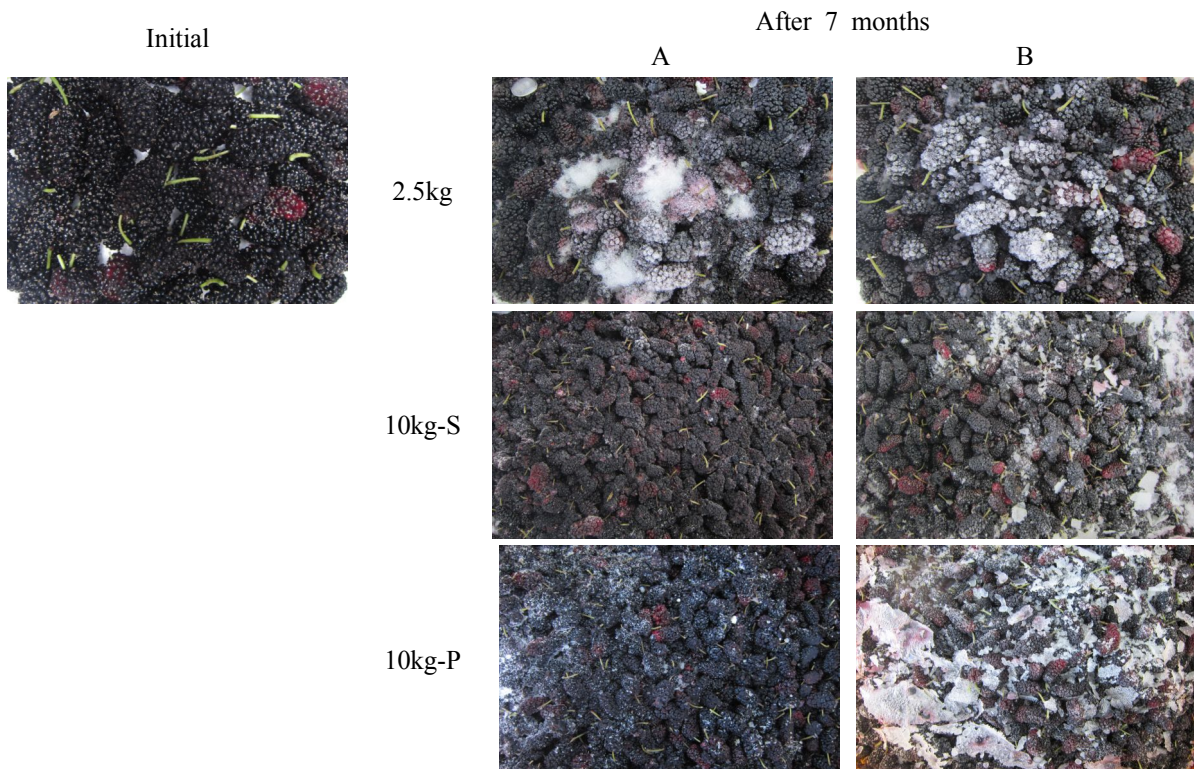


Fig. 3-10. Appearance of freezing mulberry packaged with various container during storage at -24°C .

A farm

B farm

Fig. 3-11. Changes in appearance quality of mulberry with different container and processing during storage at -24°C .

2.5kg

A farm

10kg

B farm

Fig. 3-12. Changes in appearance quality of mulberry with different processing during storage at -24°C

A farm

B farm

Fig. 3-13. Changes in appearance quality of mulberry with different container during storage at -24°C

A farm

B farm

Fig. 3-14. Weigh loss rate of mulberry with different container during storage at -24°C

A farm

B farm

Fig. 3-15. Changes in viable cell of mulberry with different container and processing during storage at -24°C .

2.5kg

A farm

10kg

B farm

Fig. 3-16. Changes in viable cell of mulberry with different processing during storage at -24°C .

A farm

B farm

Fig. 3-17. Changes in viable cell of mulberry with different container during storage at -24°C .

A farm

B farm

Fig. 3-18. Changes in mold of mulberry with different container and processing during storage at -24°C .



Fig. 3-19. Changes in mold of mulberry with different processing during storage at -24°C.



Fig. 3-20. Changes in mold of mulberry with different container during storage at -24°C.

A farm

B farm

Fig. 3-21. Changes in anthocyanin of mulberry with different container and processing during storage at -24°C.

2.5kg

A farm

10kg

B farm

Fig. 3-22. Changes in anthocyanin of mulberry with different processing during storage at -24°C.

A farm

B farm

Fig. 3-23. Changes in anthocyanin of mulberry with different container during storage at -24°C .

A farm

B farm

Fig. 3-24. Changes in soluble solids content of mulberry with different container and processing during storage at -24°C .



Fig. 3-25. Changes in soluble solids content of mulberry with different processing during storage at -24°C.



Fig. 3-26. Changes in soluble solids content of mulberry with different container during storage at -24°C.

A farm

B farm

Fig. 3-27. Changes in pH of mulberry with different container and processing during storage at -24°C .

2.5kg

A farm

10kg

B farm

Fig. 3-28. Changes in pH of mulberry with different processing during storage at -24°C .

A farm

B farm

Fig. 3-29. Changes in pH of mulberry with different container during storage at -24°C .

A farm

B farm

Fig. 3-30. Changes in titratable acidity of mulberry with different container and processing during storage at -24°C .



Fig. 3-31. Changes in titratable acidity of mulberry with different processing during storage at -24°C.



Fig. 3-32. Changes in titratable acidity of mulberry with different container during storage at -24°C.

3. 오디의 냉동저장 중 품질열화 억제기술 연구

냉동 오디의 저장 중 품질열화를 억제키 위한 연구로 우선 2012년 6월 남부안 농협 소유 - 25℃로 유지되는 냉동저장고에서 1 kg 단위로 동결처리 후 냉동 저장한 오디를 2013년 5월 15 일 반출하여 미생물학적인 품질과 관능적 품질을 평가하였다. 냉동오디는 15-23℃의 상온(1) 및 4-8℃로 유지되는 일반 냉장고에서 해동처리(2)를 하였고, 시료 오디는 수확시기 양호한 외형을 유지한 오디(1)와 플라스틱 대형 용기로 수확하여 5kg 단위로 냉동 후 꺼내어 과립을 재 선별 후 다시 냉동 처리하여 보관한 오디(3)이었다.

상온에서 오디 1 및 3을 해동한 경우 소요시간은 4시간 50분정도로 시료에 따른 차이는 거의 없었으며, 저온에서 해동한 오디의 경우 약 9시간 소요되었다(Fig. 3-33). 각각의 조건에서 해동한 오디의 총 균 및 곰팡이수를 해동 전과 비교하였던바 저온 해동과 상온해동(1)의 경우 해동 전 각각 5.30 log CFU/g 및 5.40 log CFU/g 으로 거의 유사한 수준이었으며, 상온 해동 구(3)의 경우 이보다는 약간 높은 수준이었다(Fig. 3-34). 해동 후 총 균수를 비교하여 보면 저온 해동 및 상온해동(1)의 경우 거의 그 수의 변화가 없었으나 상온해동(3)의 경우 6.94 log CFU/g 로 해동 중 그 값의 증가가 다른 구에 비해 컸다. 곰팡이의 경우 해동 전 그 수는 세 처리구 모두 거의 유사한 5.70-5.90 log CFU/g였으나 해동 후에는 해동방법에 따라 차이를 보였는데 저온 해동구의 경우 해동전과 차이를 보이지 않았던 반면, 상온 해동구는 6.24-6.28 log CFU/g를 나타내었다. 시료로 사용한 냉동오디의 총균 및 곰팡이 수의 수준은 수확직 후 신선한 오디에 비해 매우 높은 수준이며, 이와 같은 결과는 냉동 저장에 의해 발생되었다 기 보다는 2012년 냉동처리 전 오디의 품위가 낮았기 때문인 것으로 판단된다.

냉동오디의 해동 전후위 관능적 품질을 비교하였던 바 저온해동시료 및 상온해동시료(1)의 외관은 비교적 양호한 반면 상온해동시료(3)의 경우는 상품성이 낮은 것으로 평가되었다(Fig. 3-35). 이와 같은 오디를 저온 및 상온에서 해동 시 외관상태가 해동 전에 비해 많이 저하되어 상품성이 낮은 상태로 되었으며, 향은 그나마 어느 정도 상품적 가치가 유지되었으나 조직감 역시 낮게 평가되어, 전반적으로 상품적 가치가 낮은 것으로 평가되었다.

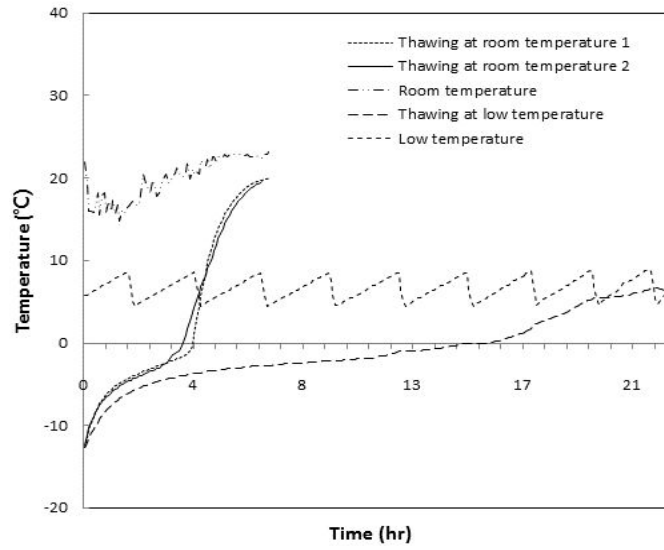


Fig. 3-33. Thawing curve of frozen mulberry produced in year of 2012.

Fig. 3-34. Microorganisms of mulberry by thawing method (June 2012 freezing, thawing in May 2013)

으께지 않은 오디 냉장고에서 해동, 상온1: 분리치 않은 오디 상온에서 해동, 상온2: 분리후 상온에서 해동

Fig. 3-35. Appearance and sensory quality of mulberry by thawing method (June 2012 freezing, thawing in May 2013)

냉동 오디의 품질열화를 억제키 위해서는 동결 처리 전 및 냉동 보관 방법의 개선이 필요하다. 냉동의 품질은 냉동 후 상태 및 해동 후 외관 및 해동 중 냉동 오디로 부터의 과즙유출 정도가 중요한 평가 요소이다. 고품질 냉동오디를 제조키 위하여서는 동결속도 및 동결 후 변질을 억제키 위한 처리가 중요하다. 특히 냉동 전 오디의 외관 및 조직의 상태가 냉동 후 해동 시 품질에 미치는 영향이 매우 크다. 이에 냉동 전 오디의 수확방법 및 수확 후 포장처리 방법에 따른 오디의 냉동속도를 비교하였고, 냉동 후 해동 시 오디의 해동속도 및 품질의 상태를 비교하였다. 이를 위한 시료로는 수확 시 오디 조직의 손상을 막기 위해 250g 단위의 최종 소비자용 소포장 용기에 오디를 담은 후 포장단계에서 재포장 작업을 하지 않은 오디와 현행 실시되고 있는 방법인 플라스틱 대형 용기에 오디를 수확 후 포장 단계에서 오디를 250g 단위의 소포장용기에 담은 오디로 구분하였다. 아울러 오디의 동결속도에 따른 품질의 차이를 조사하기 위해 동일한 250g 용 소포장 용기에 오디를 담은 후 용기의 뚜껑을 열어 놓은 상태와 밀폐시켜 놓은 상태로 $-24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 동결처리 하였고 $14-29^{\circ}\text{C}$ 의 상온에서 해동처리를 하였다. 처리에 따른 오디의 동결 속도를 보면 수확 시 오디를 250g 용 소포장용기에 담아 뚜껑을 열어 놓은 상태로 동결 처리한 오디의 경우 동결 소요 시간이 뚜껑을 닫은 상태에 비해 4시간 정도 빨랐다(Fig. 3-36). 이와 같은 결과는 플라스틱용기를 사용하여 오디를 수확 후 소포장한 오디의 경우에서도 유사하였다. 한편 수확 시 소포장용기를 사용한 경우와 플라스틱용기를 사용하여 오디를 수확 후 소포장한 오디의 동결속도를 비교하여 보면 수확 시 소포장용기를 사용한 경우 그 속도가 빨랐는데 이는 수확 시 소포장용기를 사용한 경우 조직의 손상이 적고 형태가 온전한 상태로 유지되어 포장 내 공극이 플라스틱용기를 사용하여 오디를 수확 후 소포장한 오디의 경우에 비해 많았기 때문인 것으로 판단된다. 각각의 조건에서 냉동 처리한 오디를 상온에서 해동하였던 바 그 속도는 동결처리 시 처리 조건에 따라 다르게 나타난 해동속

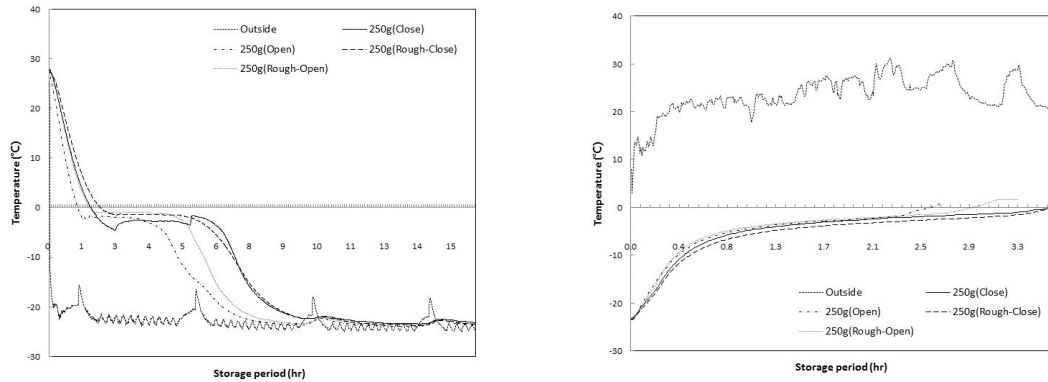


Fig. 3-36. Freezing and thawing curves of mulberry by packing site, packaging method and packaging lid

선과는 달리 거의 유사한 속도의 곡선을 나타내었다. 동결 후 오디의 외관 상태를 처리 조건에 따라 비교하였던바 수확 시 소포장용기를 사용한 경우 뚜껍의 개폐여부와 거의 무관하게 5점 만점 중 4.7점의 매우 양호한 상태를 보였던 반면 플라스틱용기를 사용하여 오디를 수확 후 소포장한 오디의 경우 이보다 낮은 3.9점을 나타내었다(Fig. 3-37). 한편 이들 오디를 상온에서 해동시킨 후 외관의 상태를 비교하였던바 해동 중 외관의 손상이 발생하여 품질이 최고 3.1점 이하의 상태로 저하되었는데 이중 수확 시 오디를 250g 용기를 사용한 후 동결 처리 시 뚜껍을 열어 신속하게 처리한 경우가 그나마 가장 높은 점수를 보였고 다음으로는 동일하게 수확 후 동결 시 뚜껍을 닫아 처리한 경우이었다. 수확 시 플라스틱용기를 사용하여 오디를 수확 후 소포장한 오디의 외관은 소포장 용기를 사용하여 수확한 경우에 비해 훨씬 조악한 형태를 보였다. 오디의 동결 후 오디로부터 유출된 오디 즙의 양을 비교하였던바 용기 뚜껍의 개폐 여부와 무관하게 소포장 용기를 사용하여 수확한 오디의 경우 플라스틱용기를 사용하여 오디를 수확 후 소포장한 오디의 경우에 비해 훨씬 적었으며, 해동 후에는 그 차이가 매우 심하였다. 이로써 냉동오디의 품질은 동결처리 시 그 속도보다는 동결처리 전 오디의 품질 상태가 보다 크게 영향을 미치는 것으로 판단되었다.

Fig. 3-37. Quality of mulberry after freezing and thawing by packing site, packaging method and packaging lid

4. 냉동오디의 품질 및 온도관리를 위한 포장기술연구

냉동오디의 품질을 우수하게 관리하기위하여서는 우선적으로 냉동용 오디의 조직 손상을 최소화하여야 한다. 오디의 조직 손상은 수확단계에서부터 발생하는데 이를 방지키 위한 조심스런 수확 작업이 우선되어야한다. 이에 수반하여 수확 오디의 수집 용기에 대한 고려가 필요한데 오디 과육은 매우 연약하여 약간의 압력에 의해서도 손상이 발생하므로 수집 및 포장용기의 높이에 대한 고려가 필요하다. 수확 후 용기 내 오디의 축적 높이(1.5-7.5cm)에 따른 조직 손상 발생정도를 조사하였던 바 5.5-6cm 정도의 축적상태 까지는 축적 높이에 따른 오디 조직의 손상정도는 차이를 보이지 않았으나 이 후 부터는 증가하는 경향을 보여 오디의 포장요기 고안에 있어 이에 대한 고려가 필요하다(Fig. 3-38). 용기의 크기(250g-1kg)에 따른 오디의 냉동전 및 냉동후 조직 손상정도를 비교하였던 바 이 범위 내에서의 차이는 뚜렷하지 않았다(Fig. 3-39). 한편 오디를 날개로 동결처리 하였을 경우에도 과육으로 과즙이 유출되는 것으로 나타났으며, 이는 오디 과육 조직이 매우 약함으로 동결처리 시 수분이 얼음으로 바뀌며 부피가 팽창하였기 때문일 것으로 판단된다.

Fig. 3-38. Degree of dripping according to the level of accumulation of mulberry

Fig. 3-39 Drip from frozen mulberry according to the size of the container, 1: 1kg, 2: 500g, 3: 250(closed), 4: 250(open), 5: 250(hole), 6: 250g(harvested with bucket), 7: individual

오디의 동결처리 시 포장 내 부위에 따른 오디의 동결속도를 비교하였다. 온도측정부위는 상자의 중앙을 중심으로 상, 중, 하와 상자의 좌측 및 우측의 벽면 부위였고, 냉동고의 온도는 -35℃이었다. 상자의 부위별 온도 변화는 상자 중앙과 하단 부위였고, 다음으로는 상단 부위였다. 상자 좌, 우측 온도는 오디의 상태 및 공극정도에 따라 약간의 차이를 보였지만 다른 부위에 비해 빠르게 변화되었다(Fig. 3-40).

오디의 동결속도를 높이려면 포장상자의 구조에 대한 고려가 필요한 것으로 판단된다. 현행 오디의 포장에 사용되는 용기로는 250g, 500g, 1kg 및 2.5kg단위가 있다(Fig. 3-41, 3-42). 포장 용기의 리드부위는 일체형과 분리형이 있고, 필름 접착형도 일부 사용되고 있다. 본체와 뚜껑의 일체형 용기는 대부분 투명용기로 뚜껑을 닫을 경우 완전 밀폐가 되지 않아 오디의 동결 후 냉동 저장중 수분의 손실 발생 우려가 있는 단점이 있다. 용기와 뚜껑의 분리형 용기의 경우 이러한 문제를 차단할 수 있는 장점이 있으며, 일반 소비자용의 경우 용기 내 분획을 두어 일정량의 오디를 담아 냉동 저장하더라도 외관의 손상이 발생치 않도록 고안된 것도 있다. 가용용 오디의 경우 2.5kg 용량의 용기를 사용하는데 이 경우 오디자체의 하중으로 인해 동결과정 중 용기 내에서 압상이 발생하고 이로 인해 해동후 오디로 부터 과즙 분리가 심하게 발생한다.

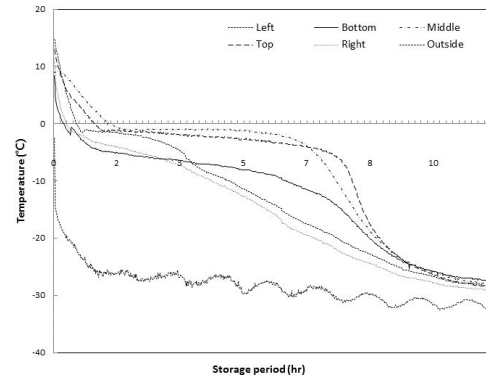


Fig. 3-40. Freezing curve of mulberry by location in the same container



Fig. 3-41. Container using for fresh and frozen mulberry(250g, 500g, 1kg, 1kg)



Fig. 3-42. Containers for frozen mulberry (500g, 1kg+1kg, 1kg+2.5kg, lid)

오디의 품질 유지를 위하여서는 우선적으로 동결속도가 빨라야 하고, 용기 내 오디자체의 하중으로 인한 압상 발생을 최소화하여야 한다. 오디 용기의 크기에 따른 동결속도를 보면 용기의 크기가 작을수록 그 속도가 향상됨을 알 수 있다(Fig. 3-43). 또한 동일한 용기이더라도 동결처리 시 용기의 뚜껑을 열린 상태, 그리고 용기에 냉동고내 냉기가 용기 안으로 유입될 수 있도록 용기의 벽을 천공하는 것이 보다 효과적이다(Fig. 3-44). 이 경우 동결 처리 후 용기의 뚜껑 등을 닫아 냉기의 흐름으로 인한 오디 표면의 수분 손실을 최소화 하여야 한다.

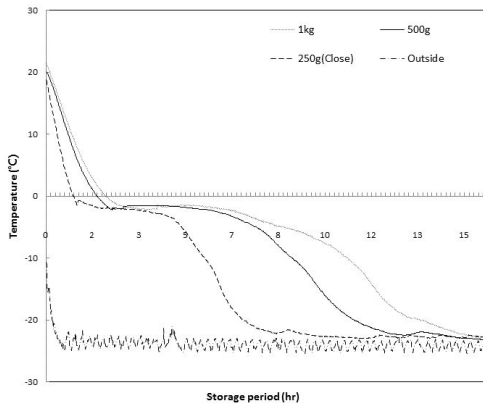


Fig. 3-43. Freezing curve of mulberry by container

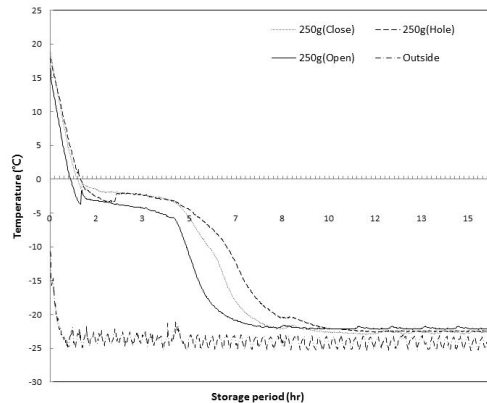


Fig. 3-44. Freezing curve of mulberry in container by lid (open/closing, perforation)

동결처리 중 오디의 품온을 신속하게 저하시키며, 동결 후 냉동 저장 시 품온을 일정하게 유지하게 하기 위하여서는 단위 포장용기를 플라스틱 다공 컨테이너 한 단 정도씩 담은 후 냉동실



Fig. 3-45. Stacking treatment of container for freezing and storage

로 신속히 운송하고, 냉동고내의 공기 흐름이 원활하도록 통로를 확보하면서 플라스틱 컨테이너를 쌓아야 한다(Fig. 3-45). 냉동오디의 품질 및 온도관리를 위한 포장 기술 확립을 위해 오디를 소량 포장 냉동 후 드라이아이스와 진공 처리하여 품질을 비교하였다. 실험에 사용된 오디는 2013년 6월에 수확하여 1kg 소포장하고 -24°C 에 냉동 저장하였다. 냉동 저장 중인 소포장 오디를 진공처리 및 드라이아이스를 이용한 탄산처리 후 밀봉하여 -24°C 에 저장하여 2014년 1월과 4월에 각 처리구별로 3상자씩 무작위로 취하여미생물, 가용성고형물함량, pH, 적정산도 및 안토시아닌을 측정하였다.

우선 대조구와 드라이아이스처리구, 진공처리구간 관능적인 외관상의 차이는 뚜렷하게 나타나지 않았고 냉동전 오디의 상태가 우수했기 때문에 냉동오디의 외관 또한 우수한 편이었다(Fig. 3-46). 각 포장구마다 오디표면에 얼음 결정양의 차이는 있었지만, 이는 냉동고에서 출하시 주위 수증기가 얼어붙은 것으로 보이며 처리에 따른 차이는 없었다.

미생물은 약 1년의 저장기간 동안 일정한 수준을 유지하였는데, 전반적으로 총균과 곰팡이는 각각 $2 \log\text{CFU/g}$, $3 \log\text{CFU/g}$ 미만으로 낮은 수준을 나타낸 것은 수확 시 오디의 상태가 우수했던 것과 생과가 아닌 냉동상태인 것으로 사료되며, 각 처리구간 차이는 미미하였다(Fig. 3-47). 가용성고형물함량은 모든 처리구가 초기치 11.45°Brix 에 비해 저장 후 약 3°Brix 정도 증가하는 경향을 나타내었는데, 이는 냉동 중 수분함량 감소에 기인하는 것으로 보이며 드라이아이스 처리구가 다른처리구에 비해 높은 함량을 유지하였다(Fig. 3-52->3-48). 반면 pH와 적정산도는 저장기간 중 값의 변화가 미미했으며 각 처리구간 차이는 보이지 않았다. 냉동 오디 안토시아닌의 경우 저장기간 동안 모든 처리구가 $0.42\sim 0.47\text{Abs}$ 범위로 안토시아닌 함량에 큰 변화를 보이지는 않았으나 드라이아이스 처리구의 경우 다른 처리구에 비해 높은 함량을 유지하였다.

가용성고형물함량, 적정산도 및 안토시아닌의 내적인 품질인자에서 드라이아이스 처리구가 비교적 높음 수준을 나타내며 냉동오디의 품질 유지에 좀 더 유리한 것으로 판단된다.

Fig. 3-46. Changes in appearance quality of mulberry with different processing during storage at -24°C.

Fig. 3-47. Changes in viable cell and mold of mulberry with different processing during storage at -24°C.

Fig. 3-48. Quality of mulberry with different processing during storage at -24℃.

제5절 오디의 수확후 관리기술 매뉴얼

재배 및 생산현황

- 종래 ‘오디’는 뽕나무의 부산물로 일부 농가에서는 이를 수확하여 판매를 하기도 하였으나 생산량이 소량이며 수확 후 변질이 빠르게 진행됨에 따라 주로 수확 철 농가에서 자체적으로 소비되었음
- 2002년부터 국내에서 오디를 상업적 목적으로 생산하기 시작하여 매년 크게 증대되고 있음, 뽕밭 면적은 전북, 전남지역에서 단지화로 조성되고 있으며, 타 지역으로 확대되고 있는 추세임. 재배면적(ha): 200(‘02) → 500(‘04) → 700(‘05) → 1000(‘05)¹⁾ → 1,670(‘10) → 1,751(‘11) → 1,878(‘12)
- 오디의 생산량도 재배 면적이 증가함에 따라 꾸준히 증가하고 있는데, 2012년의 경우 오디 생산농가는 1.0%, 재배면적은 7.3% 전년 대비 증가한 반면, 생산량은 전북을 비롯한 일부지역에서 균핵병, 냉해 등 자연재해가 발생하여 8.8% 감소하였음. 생산량: (‘09) 5,613 →

1) 농업과학기술원 잠사양봉소재과 성규병 박사

(‘10) 5,626 → (‘11) 6,752 → (‘12) 6,160 톤²⁾)

연도 및 지역별 오디의 재배 및 생산 현황

시도별	2010		2011		2012	
	면적 (ha)	생산량(kg)	면적 (ha)	생산량(kg)	면적 (ha)	생산량(kg)
제주	6	-	6	3,000	7.2	15,000
대구	0.5	3,500	0.3	3,750	0.3	3,000
광주	23	6,000	19.2	15,000	20.1	18,500
세종	-	-	-	-	0.8	3,000
경기	87.3	90,860	102.2	167,400	103.1	319,900
강원	27.8	2,220	23.8	12,855	38.1	37,615
충북	10.6	11,500	33.4	7,600	56.4	22,700
충남	28.4	24,350	28.4	38,600	46.3	65,078
전북	977.4	3,970,360	1,031.4	4,789,166	1,071.5	4,057,359
전남	272.0	1,130,290	246.8	1,114,584	255.4	1,019,910
경북	147.9	236,879	147.6	377,500	162.2	336,920
경남	89.4	150,000	111.7	222,555	116.8	261,080
계	1,670.3	5,625,959	1,750.8	6,752,010	1,878.2	6,160,062

오디 산업의 전망

- ‘오디’가 고소득 작목으로 알려짐에 따라 전국적으로 ‘오디’ 생산을 위한 뽕나무의 식재면적이 계속 증가할 것으로 예상되며, ‘오디’ 생산에 적합한 품종의 육종 및 보급이 활발히 진행되고 있음
- 이와 더불어 오디의 생산량이 매년 증가하는 추세에 있어 효과적으로 이를 소비할 수 있는 방안이 필요함
- 오디의 소비는 직접 소비용과 가공제품 원료용으로 구분되며 직접 소비용은 수확직후의 생과 또는 이를 냉동한 형태로 출하되며, 가공용 원료의 경우 냉동 후 저장하면서 수요에 따라 출하되고 있음
- 오디 수확 시기는 5월말부터 6월 상중순으로 수확 직후 생과일 유통은 오디 특성상 한계가 있어 대부분 냉동 유통함
- 오디 생과의 수요가 증가함에 따라 각 농가에서 생과 유통이 시도되고 있지만, 그 방법이 한정적임
- ‘오디’는 과실이 매우 작고, 조직이 연약함에 따라 수확직후부터 품질의 변화가 빠르게 진행됨에 따라 생과로서는 1-2일 정도 유통이 가능하나 유통 중 품질저하가 심각하며, 유통기간을 연장하기 위해 냉동처리 및 저장 후 판매하고 있으나 품질 자체가 조악한 상태임
- 따라서 생산량이 급격히 증가하는 오디의 소비를 촉진하여야 하며, 이를 위해서는 소비자

2) 농림축산식품부








의 욕구를 충족시킬 수 있는 수준의 상품성을 유지시킬 수 있는 수확후 관리 및 유통기술의 현장 보급이 우선되어야 함

오디 과실의 영양학적 특성



- 오디는 맛이 좋고 칼슘, 비타민 C, 안토시아닌 색소 등을 많이 함유하고 있어 생과는 물론, 가공제품의 소재로도 활용도가 높음
- 뽕나무의 열매인 오디(桑核子)는 상심(桑椹), 상실(桑實), 흑심(黑核) 등으로도 불리는 전통 한약재 임. 강장제로도 알려져 있으며 내장, 특히 간장과 신장의 기능을 좋게 하는 기능이 있는 것으로 보고되어 있음
- 갈증을 해소하고 관절을 부드럽게 하며 알코올을 분해하고 마음을 편안하게 하여 불면증과 건망증에도 효과가 있을 뿐만 아니라, 머리가 희어지는 것을 막아주고 조혈작용 및 혈당과 콜레스테롤 저하 효과가 있음
- 상엽은 콜레스테롤 흡수 저해 작용, 항당뇨, 항고지혈증, 항산화작용 및 혈당강하작용 등이 보고되어 있고, 분리된 성분으로는 rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin과 같은 flavonoid 외에 steroid 및 triterpenoid 등의 다양한 연구가 진행되고 있음
- 오디는 아주 높은 항산화색소, C3G(cyanidin-3-glucoside)를 함유하고 있으며 그 함량은 포도에 비해서는 20배정도, 검정콩에 배해서는 8배 이상 높음³⁾
- 최근 연구 보고된 자료에 의하면 뽕나무의 부위중 항산화 활성 및 총 페놀함량은 열매 > 잎 > 가지 순으로 높음

3) 예천양잠농업협동조합

오디의 주요 품종⁴⁾

품종	모양	특성
대성뽕		<ul style="list-style-type: none"> - 최초의 오디용 등록 품종(2004) - 2배성 휘카스를 4배체로 육성 한 품종 - 심은 후 2년차부터 오디생산 가능 - 대과형이며 다수성인 품종 - 항노화성분C3G, 혈당강화 Rutin 고함유 품종 - 당도는 청일뽕에 비하여 낮음(12~13°Brix)
대자뽕(맛나 오디)		<ul style="list-style-type: none"> - 2번째 오디용 품종(2006년 등록) - 심은 후 3년차부터 생산 가능 - 검붉은 색 대과형 오디 - 다수성이며 당도는 청일뽕에 비하여 높음(16~17°Brix) - 덜 익은 상태에서도 잘 떨어지는 특성이 있으며, 이때 약간 신맛과 단맛이 같이 나므로 생과 이용 가능
대봉뽕		<ul style="list-style-type: none"> - 3번째 오디용 품종 (2007년 육성) - 오디가 단단하여 생과로 유통가능 - 검은색 오디, 구부러진 것이 많음 - 중대과형, 균핵병 저항성은 보통 - 오디의 당도는 약간 낮은 편임(12~14°Brix) - 초기의 결실이 매우 양호
수홍뽕		<ul style="list-style-type: none"> - 국내 4번째 오디용 품종(2008년 육성) - 오디색이 검 붉은색으로 칼라오디 - 당도가 높고(15~16°Brix) 중대과형(3~4g)이다. - 2년차부터 결실이 되며 결실 초기 수량성이 높음 - 균핵병에도 청일뽕보다 다소 강함
청일뽕		<ul style="list-style-type: none"> - 뽕잎용으로 많이 보급되어 있는 품종 - 병해충에 강하고 생육이 왕성하며 엽질이 좋음 - 오디는 비교적 작으나(과중 2~3g) 향이 좋고 당도가 높아 품질이 우수(15~16°Brix) - 익은 오디는 잘 떨어지므로 흔들어 수확 가능 - 수량성은 보통이며, 심은 후 3년 차부터 수확가능
수원뽕		<ul style="list-style-type: none"> - 오디 결실성이 좋으며, 청일뽕보다 약간 큼 - 수꽃이 피고 난 다음에 암꽃이 많이 필 - 조생종 품종으로 흑자색 중과형 - 수량성은 청일뽕보다 높거나 같은 수준, 품질은 약간 떨어짐(13~14°Brix)
수성뽕		<ul style="list-style-type: none"> - 잎에 GABA, 루틴 고함유 기능성 품종 - 오디가 비교적 크고, 다수성 품종 - 오디의 품질은 보통(13~14°Brix) - 생육이 왕성하여 늦게까지 자람

4) 충청남도 농업기술원 잠사곤충사업장, 농업과학기술원 성규병 박사

과상 2호		<ul style="list-style-type: none"> - 외국 도입품종으로 추정됨 - 심은 후 2년부터 생산 가능 한 대과형 다수성 품종 - 오디 씨가 거의 없으며 고당도(15~16°Brix) - 조생종(5월하순경)으로 늦서리 피해 우려 - 병해충에 매우 약함 - 적응지역에 문제가 있음
익수뽕		<ul style="list-style-type: none"> - 가지는 황갈색, 주위에 다소 강함 - 식재 2년차부터 조기 수확할 수 있음 - 완전히 익으면 잘 떨어지고즙이 많으며 품질은 양호한 편임(13~14°Brix) - 중생종으로 6월 초순부터 하순까지 수확할 수있음 - 현재 경북 영천, 경주, 김천, 경산, 경기도 양평, 전북 정읍, 진안 등에 보급되었음

뽕나무 재배

1) 오디용 뽕나무 심기

○ 뽕밭적지 선정

- 표 고: 경영상 재배한계는 중북부 지방, 남부지방은 600m 정도
- 경사도: 경사도 15~25% 정도까지는 등고선식 또는 간이계단식으로 이용가능 하나 기계화를 위해서는 평지가 적당함
- 천수답: 배수가 잘 되도록 주위에 배수로를 파주고 두둑식으로 조성

○ 토양 물리성 및 화학성 개량

- 뽕밭 토양은 양토 또는 사양토가 좋음
- 지하수위가 높은 밭은 배수로를 잘 만들어야함
- 구덩이를 깊게 파고 심는 것이 나무의 생육을 위해 중요함
- 토양의 pH가 6.5이하로 산성인 경우, 뽕나무를 심기 전에 토양검정을 통해 적정량의 농용석회를 주어 토양을 개량함
- 보통의 밭에서는 10a당 200~300kg의 농용석회가 필요함
- 뽕밭토양의 유기물 함량이 3% 이하인 경우 뽕나무 생육이 불량하므로 완숙퇴비를 10a당 2톤 이상 줘야함
- 벧짚 또는 보리짚과 같이 썩지 않은 유기물을 직접 뽕밭에 주었을 때는 일시적인 질소이탈현상을 막기 위하여 유기물 1톤당 요소 20kg을 같이 뿌려줌
- 개간지 토양은 일반적으로 인산함량이 부족하기 쉬우므로 용성인비를 10a당 100~150kg을 주어 생산성을 높임

○ 심는 시기

시 기		내 용
가을	11월 중순이후	·일손이 비교적 한가할 때 심을 수 있음 ·심은 뒤 흙과 뿌리가 잘 다져져서 이듬해 뿌리발육에 도움
봄	3월 하순경	·겨울동안에 동해발생이 우려되는 지역에서는 꼭 봄에 식재

○ 오디용 뽕나무 식재 거리와 10a당 주수

수 형	이랑사이(cm)	나무사이(cm)	10a당 식재수(그루)
낮추만들기	250~300	200~250	133~200
중간만들기	300~400	250~300	83~133

○ 나무모양 만들기

오디는 뽕나무를 심은 뒤 3년차부터 수확이 가능하며 3년차까지는 오디의 재배가 쉽도록 나무의 수형을 만드는 작업을 함. 오디 뽕나무의 모양 만들기는 낮취만들기, 중간만들기, 교목만들기 등 3가지로 나눌 수 있음.



- 낮취만들기: 뽕나무를 심고 나서 첫해 봄(묘목상태) 3월 중에 원줄기를 땅에서 15cm 정도 높이까지 자르고 원줄기에서 나온 새순 중 3가지만 남겨 키우는 방법임
- 중간만들기: 원줄기를 1m 내외로 하고 원줄기에서 2-3개의 결줄기가 나오게 함
- 교목만들기: 묘목을 따로 자르거나 인위적으로 만들지 않는 것으로 나무가 커질수록 오디가 작아지고 좋은 나무 모양을 만들기 힘들

- 낮취 또는 중간 만들기 적합 품종

적합성	낮취만들기	중간만들기
적합	대성뽕, 과상 2호, 익수뽕 등	청일뽕, 대자뽕, 수성뽕(YK209)
가능	수원뽕, 목상, 수성뽕	수원뽕, 목상, 수성뽕
부적합	청일뽕, 대자뽕	대성뽕, 과상 2호, 익수뽕

2) 오디용 뽕밭 비료주기

○ 시비 요령

- 퇴비 위주로 재배하는 것이 오디품질 향상에 좋음
- 석회와 퇴비 주는 시기 및 시비량

시기: 낙엽 진 후(11월)부터 수액이동 전(3월 중하순)까지

시비량: 석회 300kg, 퇴비 2,000kg/10a당

○ 봄비료

- 월 하순까지 시비를 끝냄
- 과수원에서와 같이 뿌리 근처에 골을 파고 유기물과 화학비료를 한꺼번에 주고 흙으로 덮어줌
- 해가 지날수록 시비하는 골을 그루터기서 바깥쪽으로 확대
- 봄 비료는 일년 시비량의 40%를 줌

○ 여름비료

- 오디수확 후 바로 가지정리하고 여름비료 시비
- 자라는 기간이 봄보다 길어 일년 시비량의 60%를 줌
- 퇴비를 많이 줄 경우 요소는 적게 주고 인산 칼리는 그대로 줌

병충해

오디 뽕밭에서 가장 문제가 되는 해충은 ‘뽕나무이’이고, 병은 오디균핵 병이다. 그러나 일부 병에 약한 품종이 재배되면서 가지무름병과, 뽕나무 줄기마름병 피해가 크게 늘어나고 있음
‘뽕나무이’는 잎 뒷면에서 즙액을 빨아먹고 흰색의 분비물을 내어 잎과 오디에 피해를 주고, 균핵병으로 걸린 오디는 먹을 수 없음

충해

종 류	모 양	피해 상 및 방제
<p>뽕나무 이</p>		<ul style="list-style-type: none"> -애벌레가 잎뒷면에 살면서 즙액을 빨아먹어 잎이 오그라들 -5월 하순경에 흰 분비물이 뽕잎과 오디를 덮음 -몸에 분비물이 닿으면 가려움증을 나타내는 등 2차 피해 발생 <hr/> <ul style="list-style-type: none"> -뽕밭의 잡초를 제거하고 전지, 전정을 철저히 하여 통풍이 잘 되게 함 -흰색 낱물질이 날리기 전에 피해가지 및 잎을 잘라 태움 -이른 봄 겨울눈이 틀 무렵 DDVP유제, 디프수화제 등을 1000배액으로 희석하여 잎의 앞뒷면과 뽕나무 주변에 있는 잡초에도 충분히 살포
<p>오리나무 좀벌레</p>	 <p data-bbox="400 1301 564 1335"><피해 가지></p>	<ul style="list-style-type: none"> -1차 피해는 줄기에 침입공을 내어 수액을 유출시키는 것임 -가장 큰 피해는 오리나무좀 유충이 먹고 자라는 암브로시아균에 의한 줄기고사 피해임 -암브로시아균은 오리나무좀과 공생관계로서 좀이 침입할 때 줄기에 감염되어 증식을 함 -이들에 의해 나무의 통도조직이 파괴되어 침입공 위쪽의 줄기가 고사 <hr/> <ul style="list-style-type: none"> -밤나무가 많은 인근에서는 뽕나무 재배를 가급적 피함 -성충이 출현하는 6월 하순부터 7월에 오디를 수확한 나무는 전정을 한 후 메프유제나 파프유제 500배액을 줄기가 흠뻑 젖도록 10일 간격으로 2회 살포 -성목에서는 침입한 부위를 잘라내고 조직이 부패되지 않도록 도포제를 처리하여 오리나무좀이 다시 침입하지 못하도록 함 -침입공에는 주사기를 이용하여 메프나 파프유제 500배액을 주입
<p>뽕나무 애바구미</p>		<ul style="list-style-type: none"> -뽕가지에서 겨울을 난 어른벌레는 4월 초,중순부터 겨울눈을 갇아 먹어 봄철 싹을 못트게 하는 원인이 됨 -잎이 핀 뒤에는 잎자루나 새순의 밑부분을 갇아 먹음 -특히 봄베기나 여름베기 뒤에 트는 눈을 파먹어 그루당 가지수가 적게 나오고 피해가 심할 때는 나무 전체가 말라 죽거나 새순은 기부에서 부러지는 수도 있음 -피해가 가장 심한 시기는 이른 봄철과 봄베기나 여름베기 한 직후 <hr/> <ul style="list-style-type: none"> -겨울동안 반정도 말라죽은 상태의 가지는 잘라 버림 -4월 초,중순경 활동이 시작되면 즉시 방제 -방제는 지오릭스 유제(또는 분제)나 파프유제를 뿌려줌

병 해

종 류	모 양	피해 상 및 방제
오디 균핵병		<ul style="list-style-type: none"> - 병걸린 오디는 익어도 회백색을 띄고, 작고 딱딱함 - 한번 병에 걸린 밭에서는 매년 반복해서 발생 - - 병든 오디는 땅에 떨어져 오디 속에 있는 균핵이 흙 속에 들어감 - 겨울나고 이듬해 4월초, 중순~5월상순 사이에 자낭반(버섯)이 형성 - 자낭반으로부터 자낭포자(병균)가 나와 암꽃으로 가서 발병 - 곰팡이병으로 오디에만 전염 - 병에 약한 품종을 심었을 때 (과상2호, 대성뽕, 대자뽕 등) - 밀식하거나 가지가 무성하게 자라 통풍이 잘 안될 때 - 뽕나무 눈이 트고 잎이 필 때, 습기가 많아 자낭반 형성이 잘 될 때 - 전년도에 병이 발생했을 때 - 치료방법이 없으므로 예방위주로 방제 - 병 발생 상습지역에는 약한 품종을 심지 않음 - 방제약제 살포 (4월 중하순~5월 상순 방제약제인 지오판수화제 또는 지오판, 리프졸수화제를 10일 간격으로 3회 정도 살포) - 바람이 잘 통하는 지역에 심고, 통풍 잘되게 해줌 - 3월 중하순까지 시비를 겸하여 퇴비와 석회를 뿌리고 경운하여 주면, 오디 균핵이 땅속에 묻히고, 석회자체에도 살균력이 있어 자낭반의 형성을 억제하여 피해 줄일수 있음
가지 무름병		<ul style="list-style-type: none"> - 가을에 자른 가지에서 수액이 멈추지 않고 계속 나오면서 곰팡이게 피게 되고 가지는 흑갈색으로 썩음 - 3~4월에도 가지가 흑갈색의 길고 둥근 병무늬 형태로 썩는데, 병에 걸린 가지는 온도가 높아지면 껍질이 잘 벗겨짐 - 어린 묘목은 가지와 뿌리가 썩어 말라 죽음 - 피해물이나 땅에 병원균이 들어 있다가 상처를 통하여 침입 - 가을철 가지를 잘라준 후 비가 오거나 다습할 때 - 채소류 등의 작물이 본병에 걸렸던 땅에 뽕나무를 심은 경우 - 질소질 과용, 썩지않은 소, 돼지똥이나 이병 뽕가지를 넣었을 때 - 좀벌레 등 해충 피해를 받거나, 가지에 상처가 많을 때 - 병에 약한 품종 심었을 때 - 비오는 날 가지를 자르지 말고 다비재배를 하지 않음 - 뽕나무좀 등 해충방제를 철저히 함 - 채소류의 사이짓기를 하지 않음 - 가지를 자른 뒤 약제를 뿌림
뽕나무 녹병		<ul style="list-style-type: none"> - 어린 싹과 잎표면, 잎맥이 약간 볼록하게 튀어나오며 노란색의 작은 흑이 생김 - 새순에는 갈색이나 검은색의 병무늬가 생기다가 적홍색의 흑이 있는 병무늬로 변하게 됨 - 때로는 새순에도 피해를 주는데 겉으로 보면 축엽세균병으로 혼동하는 수가 많음 - 이 병은 4월 말부터 9월까지 발생 - 병에 걸린 가지와 겨울눈 부근에 침입하여 균사의 행태로 겨울을 나고 이듬해 5월부터 포자를 내어 전염 - 장마철 저온(15~20℃) 다습할 때 - 일조가 부족하거나 밀식뽕밭일 때 - 전년도 병에 걸린 가지를 뽕밭에 그대로 방치 했을 때 - 병에 걸린 새순과 가지는 발견하는 즉시 잘라 태움 - 12월부터 이듬해 3월 사이에 병에 걸린 부분을 잘라 태움 - 오디수확 후에 적용약제인 지오판 수화제를 1~회 뿌려줌

월별 (작업시기별) 핵심 실천사항⁵⁾

시기	핵심 실천 사항	주의점	
휴면기	11~3월	<ul style="list-style-type: none"> - 시비 (300평당) 퇴비 2톤, 염화가리 10kg, 용인10kg - 밭갈기 3월까지 퇴비 석회 뿌린 후 - 전지전정 잔가지 솜음, 웃자란 가지 절단 - 병해충방제 오디균핵병: 3월 상~중순 석회살포 및 경운(3월중) 가지병 피해: 석회유황합제, 석회보르도액, 눈뜨기 전(3월상~중순) 	<p>퇴비 위주시비 요소 살포 지양</p> <p>석회유황합제는 나무세력이 약하거나 어린 나무 약해 우려</p>
눈틀 때~잎떨 때 (꽃떨 때)	4.15~5.5	<ul style="list-style-type: none"> - 병해충방제 오디균핵병 방제 <ul style="list-style-type: none"> • 지오판, 지오판리프졸 수화제 • 1주일 간격 3회 • 뽕나무 이, 잎벌레 등 • DDVP, 엘산수화제 	<p>균핵병 비오고, 저온 때 방제 철저</p>
비대기	4.중~5.중	<ul style="list-style-type: none"> - 병해충방제 뽕나무 이 방제 <ul style="list-style-type: none"> • 친화경 자재(충스타, 뉴바이오다킬, 나방깍 등) - 토양관리 <ul style="list-style-type: none"> • 가뭄시 관수, 벚짚갈기 등으로 토양수분 확보 - 오디 수확준비 <ul style="list-style-type: none"> • 초생재배 포장 잡초 절단 • 벚짚 갈기, 그물망 설치 등 	<p>농약 절대 살포 금지</p>
익을 때	5.중~6.중	<ul style="list-style-type: none"> - 오디수확 생과용은 손수확, 가공용은 흔들어 수확 	
오디 수확 후	6.중~7.상	<ul style="list-style-type: none"> - 전지전정 과상2호, 익수(울트라)뽕 새가지 눈 3개 정도 남기고 절단, 청일뽕은 웃자란 가지 절단 - 시비(300평당) 염화가리 20kg, 용성인비 20kg - 병해충방제 좁벌레 방제: 전지전정 후 메프, 파프 수화제 	<p>전지전정은 수확 후 즉시 실시</p>
재발아, 화아분화, 양분축적기	6.중~10	<ul style="list-style-type: none"> - 병해충방제 잎말이 나방 등 해충 방제: 살충제 살포 줄기마름병: 9월상중순 지오판 10일 간격 2회 줄기무름병: 9월상중순 쿠파 10일 간격 2회 	

5) 품목별 농업소득 향상 운영 매뉴얼, 농촌진흥청, 민승규

오디의 수확

오디는 품종 및 지역에 따라 차이를 보이지만 5월 하순경 부터 익기 시작하여 2~3주간에 걸쳐 대부분 익는다. 오디는 다른 과실과 달리 크기가 작아 인력이 많이 필요로 하며, 조직이 연하여 수확 시 주의가 필요하다.

오디는 오디의 품종에 따라 익는 시기가 차이 큰 경우가 있으며, 한 나무에서도 익는 시차가 크다. 익기 전에 따면 저장성은 다소 좋을 수도 있지만 따기도 어렵고 맛이 떨어지므로 완숙한 것을 따는 것이 유리하다. 땅에 떨어진 오디는 식용으로 적합지 않으며, 당도가 급격히 낮아지고, 흙이나 이물질이 묻을 뿐 아니라 상하기 쉬우므로 절대로 수확한 오디에 넣지 말고 버려야 한다. 단, 나무 밑에 그물을 쳐 놓으면 떨어진 오디라도 바로 모으면 버리지 않고 활용할 수 있다. 어디의 대부분은 수작업으로 통하여 손으로 일일이 수확하지만 최근에는 가공용 등의 경우 인건비의 절감 등을 위하여 나무 아래 그물망을 치고 흔들여 떨어지게 하여 모으는 방법도 제시되어 있다. 오디는 품종에 따라 성숙 후 떨어지는 특성이 다른데, 청일빵의 경우 익은 후 잘 떨어지는 반면, 대성빵 같은 품종은 잘 떨어지지 않는 특성이 있다.

오디 품종별 수확시기

숙기	품종	수확시기
조생종	수원빵, 과상2호 등	5.중~6.초
중생종	상베리, 청일빵, 구성빵, 대봉빵, 대자빵, 익수빵 등	6.초~6.하
만생종	수홍빵, 대성빵 등	6.중~7.초

수확시 오디의 속도 결정

- 오디는 대부분 과실이 충분히 익어 표면색이 완전히 자색을 띠 때 수확하고 있다. 이 경우 꼭지가 매우 약하여 약간의 충격에 의해서도 과목으로부터 매우 쉽게 분리된다. 이러한 특성을 이용하여 일부에서는 빵나무 주변에 그물망을 쳐 자연스럽게 떨어지는 오디를 모으거나, 과목을 흔들여 오디가 떨어지는 것을 유도하기도 한다. 이 경우 오디의 조직이 손상이 발생하고, 오디 이외 병과, 고엽 등이 함께 떨어지므로 이를 제거 키 위한 작업을 추가적으로 하여야 한다.
- 이러한 번잡스러움과 품질 손상을 방지하기 위해 대부분 오디 생산 농가에서는 수작업으로 오디를 수확하는데 완숙과를 위주로 수확하다 보니, 작업자의 손에 의하여 오디 표면의 손상이 발생한다. 이를 방지하기 위해서는 오디를 속도를 고려하여야 하는데, 고품질 오디의 유통을 위해서는 오디의 속도를 기존에 비해 다소 덜 숙성된 것을 수확하는 것이 바람직하다. 즉, 과피의 착색정도를 기준으로 자색이 100%인 완숙과보다는 90% 정도 속도의 오디를 수확하는 경우 과피 손상을 상당히 줄일 수 있으며, 포장 작업시 조직 손상이 덜 발생하며, 유통기간도 완숙과에 비해 더 연장되는 잇점을 얻을 수 있다.
- 또한 90%정도 속도의 오디는 약간 새콤하여 젊은 소비자들에게는 완숙 오디에 비해 그 맛을 새롭게 인식은 경향을 보임에 따라 완숙 오디를 선호하는 기존의 장년 및 노년층과 더

불어 오디 소비자 층을 젊은 층까지 확대하는 새로운 소비자를 창출하는 효과가 있을 것으로 판단된다.

오디의 수확 및 취급

- 오디는 대부분 완전히 익은 상태의 것을 위주로 수확하는데 작업자는 면장갑 또는 고무장갑을 사용하여 수작업으로 일일이 수확하며 수확된 오디는 4-5리터 용기의 플라스틱 통에 넣은 후 이 플라스틱 통 안에 오디가 차이면 간이 선과 및 포장장으로 운반하고 있다. 오디의 수확에 사용하고 있는 다른 용기로는 소형 플라스틱 바구니를 한손에 잡고 다른 한손으로는 오디를 수확하여 플라스틱 바구니에 담은 후, 이 바구니에 오디가 가득 차이면 오디 나무 근처에 놓아둔 4-5리터용 플라스틱 통에 담아 간이 선과 및 포장 처리장으로 운반한다.
- 수확된 오디는 조직이 매우 빠르게 짓무르는데, 그 정도는 품종에 따라 차이를 보이며, 과상 2호와 같은 품종의 경우 그 정도가 매우 심하다. 수작업으로 오디를 수확 시 오디 과실 부위중 중간 부위의 손상 발생이 매우 크며, 이는 오디 수확 시 과실을 잡는 부위가 그 부위이기 때문이다.
- 오디의 수확 시 작업자가 사용하는 장갑의 종류에 따라 과실의 손상발정 정도가 차이를 보이는데, 면장갑 및 고무장갑에 비하여 얇은 라텍스 장갑을 사용할 경우 손상 발생을 줄일 수 있으며, 수확량도 증대시킬 수 있는 이점이 있다.
- 오디의 수확용기는 오디의 품질에 지대한 영향을 미치는데, 특히 오디 수확용기가 크면 클수록 용기내 오디 자체의 무게에 의한 압상 발생이 크게 발생한다. 특히, 과육인 연한 과상 2호의 경우 오디를 3-5cm정도만 높이 쌓으면 아래쪽 오디의 경우 위에 쌓인 오디의 무게에 의해 과즙이 누출된다. 따라서 수확 시 수확현장의 수집용기 내 오디가 압상으로 인한 품질 손상이 발생치 않도록 수확용기의 크기 및 형태에 대한 고려가 매우 중요하다.
- 오디의 수확 용기는 작으면 작을수록 오디의 짓물러짐을 방지 할 수 있을 뿐만 아니라 작업의 편이성도 동시에 얻을 수 있는 이점을 준다. 작업 시 작은 용기로 수확한 오디는 오디 수확 현장에 비치된 큰 용기에 옮겨 담지 않고 그대로 모아 놓았다가 일정량의 오디가 담긴 작은 수집용기가 모여 지면 이를 처리장으로 옮기는 것이 비록 작업이 번잡스럽지만 오디의 짓물름을 방지할 수 있는 방안이다.
- 또한 대용량 플라스틱 통을 사용함에 따라 압상으로 발생한 오디의 즙이 플라스틱 통 안에 상존함에 따라 미생물의 감염 및 증식 요인으로 작용할 수 있다. 이러한 점을 감안하여 오디 수확에 사용하였던 통은 세척 후 재사용하거나, 플라스틱 용기 내에 비닐봉지를 씌워 사용하는 것도 필요하다.
- 한편 수확한 오디는 선과장으로 운반되어 선별 및 포장과정을 거친 후 대부분 250g, 500g 및 1kg 들이 포장을 한다. 선별장에서 오디의 선과 및 포장과정 중 조직의 손상이 크게 발생하고 있어, 수확 단계에서 최종 포장용 용기를 사용하여 오디를 수확하는 것이 추후 실시

되는 선별 및 포장 과정을 줄일 수 있으며, 처리 중 발생하는 조직 손상 등 품질 저하를 억제시킬 수 있을 뿐만 아니라 수확 직후부터 포장과정을 거치는데 소요되는 시간을 크게 단축시킬 수 있어 품질 유지에 보다 효과적인 수확방법인 것으로 판단된다.

오디의 선과 및 포장

- 수확된 오디는 과수원 인근에 간이로 설치된 선과 및 포장장으로 운반되어 선과 및 포장처리과정을 거치는데, 대부분 수확량이 선과 및 포장 처리량에 비해 많아 처리가 지연되어, 운반된 오디는 플라스틱 통에 담긴 상태로 일정시간 방치된다. 큰 플라스틱 통에 담긴 오디는 선과를 위해 일정량씩 소형 플라스틱 바구니에 소분되며, 이후 육안으로 이물질 제거한 후 소포장 용기에 담아 포장처리를 한다. 선별 시 오디를 소분하기 위하여 사용하는 구멍 난 소형 플라스틱 바구니는 선별작업 시작부터 종료 시까지 계속 사용하고 있는데 이 경우 손상된 오디로 부터 유출된 오디 즙이 지속적으로 묻어있고, 이에 감염되어 있는 곰팡이 등의 미생물이 다른 오디에도 영향을 줄 수 있으므로 이를 개선키 위해서는 주기적으로 플라스틱 바구니의 세척 및 교환이 필요하다.
- 선별 과정을 통하여 병과 및 고엽 등 이물질이 제거된 오디는, 뚜껑이 없는 소포장 용기에 담은 후 sealer를 사용하여 상부를 필름으로 밀봉 포장하거나, 뚜껑이 딸린 용기에 담은 후 뚜껑을 덮어 밀봉한다. 이와 같이 처리된 포장오디는 운반용 플라스틱상자에 담겨 일정시간 그늘에 방치된 후 포장상자가 일정 수준에 달하면 자체 냉장고나 농협 등이 운영하는 처리 시설로 이송된다.
- 선별 및 포장처리 속도가 느린 경우, 소포장된 오디가 운반용 플라스틱상자에 담긴 채 상당 기간 처리 현장에서 대기상태가 됨으로, 포장 내 오디 자체에 의한 압상발생이 계속 되고, 오디 수확용기 및 오디 표면에 묻어 있던 곰팡이 등 미생물의 증식이 진행되며, 특히 작업장이 그늘져있지만 온도가 25-30℃되므로, 오디 표면의 미생물 증식에 크게 영향을 줄 수 있어 가능한 이러한 조건을 회피할 수 있는 포장방법의 적용이 필요하다.
- 따라서 sealer를 이용한 밀봉포장도 가능하겠지만 생과 유통을 위한 오디의 경우 뚜껑이 딸린 포장재 상자의 적용이 보다 바람직하다. 이때 사용하는 용기의 구조는 높이가 낮을수록 오디 자체의 무게에 의한 압상을 줄일 수 있는 잇점이 있다.
- 또한 오디 단위 포장 용기의 크기는 250g, 500g, 1kg, 2.5kg 등인데, 생과의 경우 250g 및 500g 용기가 주로 이용된다. 현행 사용되는 생과용 오디의 포장 용기는 가족단위의 후식용 및 기타 용도로 이용되어 나름대로의 수요를 갖고 있지만 젊은 층을 대상으로 유통시키기 위한 시도로서 기존의 용기 크기보다 작은 50g 및 100g 용의 새로운 형태를 갖는 용기포장도 고려해야할 것이다.
- 아울러 소포장된 오디는 운반용 플라스틱 상자에 담긴 채 냉장 시설로 운반되기 전까지 일정 시간을 상온에 방치됨에 따라 발생하는 품질 저하가 진행하는데 현장에서 발생하는 이와 같은 이와 같은 품질 손상을 억제키 위해서는 처리직후 가능한 신속히 저온 저장고로

운반하거나, 거리 및 취급상 이와 같은 운반비용이 많을 경우, 간이 냉장 처리 방법으로 뚜껑이 있는 대형 스티로폼 상자 내에 미리 냉동시킨 아이스 팩(PCM 팩)등 축냉제를 채운 후 이에 소포장 용기를 보관함으로서 비록 상온의 현장이지만 저온 저장고로 이동 전 오디의 품온을 낮추어 줄 수 있는 방안으로 활용할 수 있다.

- 수확직후부터 육안으로 나타는 품중 손상 징후는 오디 표면에 증식하는 곰팡이이며, 오디의 조직 손상 등 품질상태 및 외기 온도에 따라 차이가 매우 크다. 특히 수확 및 포장처리 작업중 오디 과육의 손상 정도가 크고, 온도가 높을 경우 포장 수 시간 내에 오디 표면에 곰팡이가 하얗게 퍼지게 된다. 이와 같은 현상을 방지키 위해서는 오디의 과육 손상을 줄이기 위해 수확, 선별, 포장 단계를 가능한 단축하고, 오디의 품온을 가능한 낮추어 주는 것이 필요하다. 아울러 오디 표면에서 증식하는 곰팡이는 탄산가스에 크게 영향을 받으므로, 오디의 소포장 용기 및 현장에서의 소포장된 용기를 일시 보관 컨테이너 안에 아이스 팩과 함께 소량의 드라이아이스를 채워 줌으로서 소포장된 오디 표면의 곰팡이 증식을 효과적으로 억제 시킬 수 있다. 연구를 통하여 오디의 수확 후 유통 중 문제가 되고 있는 곰팡이 증식을 억제키 위해서는 오디를 담은 용기 내 공기의 30-40% 정도를 탄산가스로 치환하는 처리가 매우 효과적인 것으로 평가되었다. 이와 같은 처리를 위해서는 고체형 탄산가스인 드라이아이스의 사용이 현장 실용화에 경제적이고 편리한 방법으로 판단된다. 오디를 1Kg용기에 포장 시 용기 내부 부피는 1.2~1.5 리터 정도 되는데, 이 1.5리터 용기 내 공기 중 탄산가스 농도를 40%로 유지키 위해서는 1.18g 정도의 드라이아이스가 필요하다. 오디의 탄산가스 처리에 따른 비용 상승 정도는 매우 미미하여 이 처리에 따른 오디 유통가격에는 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다(2014년 현재 드라이아이스 가격: 20,000원/30Kg, 1kg 소포장 처리 시 비용: 2원 내외). 아울러 탄산가스를 소포장 용기에 효과적으로 처리를 위해서는 용기의 구조 일부를 변경할 필요가 있는데, 폴리스틸렌 용기의 경우 이에 따른 포장 용기 추가구입비용은 개당 15원 내외로 추정된다.

출하 및 유통

- 소포장후 저온 저장에서 온도를 냉각시킨 오디는 스티로폼 상자를 사용하여 외포장 한 후 출하 시킨다. 출하 전 오디는 저온 저장고 내에서 가능한 충분히 0℃ 부근 까지 온도를 낮추어 주어야 한다. 이와 같이 냉장 처리된 오디 소포장상자는 수요에 따라 크기에 맞는 스티로폼 외 포장상자에 넣은 후 외 포장상자 내부 공간에 드라이아이스를 소량 채워 밀봉한다. 이때 사용하는 스티로폼 상자는 운반 중 내부 오디 품온 변화를 최소화하기 위해 가능한 단단하고, 두꺼운 것이 바람직하다. 소포장 오디의 품온을 충분히 낮추어 주지 못한 경우에는 오디를 담은 소포장용기를 외포장 용기에 담은 후 아이스 팩을 외포장 내부 벽면을 따라 채워 주어야 한다. 이와 같은 처리는 외포장 상자의 운송 거리 및 시간 등을 고려하여 조절한다.

냉장 및 냉동처리

- 오디의 유통기간을 연장시키기 위해서는 냉장 및 냉동처리가 필요하다. 냉장 처리는 오디를 생과용으로 유통기간을 연장시키기 위한 단기간 저장처리로 소포장 위주이며, 냉동처리는 현행 오디의 장가 보관 유통을 위해 많이 사용되는 방식으로 2.5, 5kg 단위 등 중형포장과, 10kg의 대형 포장이 적용되고 있다.
- 오디의 품질을 유지하기 위해서는 냉장 및 냉동 시 우선 적인 고려 사항으로는 오디의 수확 현장에서 단위 포장된 오디를 가능한 신속히 저온 저장고 이동시켜 상자 내 오디의 품온을 저장고 내의 온도 수준에 이르도록 신속히 떨어뜨려 줌이다.
- 오디의 품온을 떨어뜨리기 위해서는 저장고 내의 공기가 오디 상자주변에 충분하고도 신속히 닿을 수 있도록 오디 상자를 배치하여 야 한다. 즉, 오디 상자간의 좌우 및 상하 사이의 공간을 두어 저장고 내의 냉기가 원활히 흐르도록 하여 오디 상자내의 열기를 신속히 제거해 주어야 한다.
- 이를 위하여서는 저장고 입고 시 예냉 단계와 본 저장 단계로 구분하여 하며, 예냉 시에는 가능한 상자 간 공간을 넓게 확보하여 주며 상자 내 오디의 품온이 저장고내의 온도에 도달하면, 이 상자간의 공간을 줄이는 쌓기를 다시 한다. 이 경우에도 상자간의 거리를 두어야 하는데 특히 냉장 저장 시에는 오디가 계속 호흡을 하며 열을 발산하므로 냉동 저장 시에 비해 다소 넓은 공간유지가 필요하다.
- 냉장·냉동 시 오디의 냉각 속도를 높이기 위한 또 다른 고려사항으로 저장고 내의 공기가 오디에 직접 닿을 수 있도록 오디 단위 포장상자의 뚜껑 부위를 열어 놓는 작업도 필요하다. 이 처리는 작업이 다소 번잡스러워도 뚜껑을 열어 냉각시키는 경우에 비해 냉각 시간을 상당히 단축시키는 효과가 있다.
- 오디의 포장 용기 구조도 냉각 속도에 영향을 미치는데, 정육면체의 용기보다는 직육면체의 용기가 동일한 용량이라도 냉각이 빠르다. 특히 중대형 포장 단위 경우 소포장에 비해 그 차이가 매우 크다.
- 오디과실의 형태 유지는 오디의 상품성을 결정하는데 주요 인자인데, 다른 과일과 달리 오디는 과육이 매우 연하여 취급과정이 많아질수록 조직을 손상 발생이 심하여 가능한 수확 후 포장 단계에서 이에 대한 고려가 매우 중요하다. 즉, 출하 및 유통계획을 고려하여 포장 단위를 결정하여야 하며, 이 이후에는 가능한 오디에 직접 손이 닿는 어떠한 작업 및 취급도 오디의 형태를 손상시킴으로 이에 대한 주의가 필요하다.
- 오디의 냉장 및 냉동 중 품질 저하를 방지하기 위한 또 다른 처리로서 오디 상자 내 탄산가스 충전 처리가 효과를 보이는데, 특히 냉장 시에는 오디에 증식하는 곰팡이를 제어 하는데 매우 효과적이다. 이러한 효과를 얻기 위한 상자 내 탄산가스 농도는 30-50%이며, 탄산가스 처리 및 농도 조절을 위해서는 드라이아이스 사용이 편리하다.

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

3개년간의 연구를 통하여 오디의 신선도 및 고품위 유지를 위해 수확단계 부터 유통단계까지 전반에 걸친 관련 단위처리기술을 개발하고 이를 체계화하여 실용적이고 효과적인 수확 후 관리 시스템을 구축하여, 본 과제 초기 제시한 연구목표를 충분히 달성한 것으로 판단한다.

또한 본 연구를 통한 관련 분야의 기여도를 보면 오디의 수확 후 관리기술을 확립하는데 기반을 구축하는데 기여도가 매우 큰 것으로 판단된다. 즉, 오디의 수확, 전처리, 포장 및 유통부분에 있어 기존의 문제점을 파악하고 과학적인 접근 방법을 통해 고품질 오디의 유통을 위한 기술 개발에 기여가 큰 것으로 판단된다.

단위연구내용별 목표 달성도와 기여도를 보면, 관련기술 개발 전 오디 산지유통과정별 품질 손실률 조사를 조사하였고, 이를 바탕으로 수확현장에서 오디의 선도 유지를 위한 용기 및 간이냉각 처리기술을 개발하였으며, 수확시기 결정을 위한 속도연구를 통하여 오디 수확시 문제가 되고 있는 압상발생을 줄일 수 있는 방도를 강구하였으며, 아울러 수확 현장에서의 품은 관리기술의 연구를 통하여 오디 수확현장에서의 체계적인 처리기술개발을 개발하였다.

기존 오디의 유통방식을 보면 대부분 수확 후 냉동 처리하여 판매하는 있는데, 오디의 상품성 제고 및 부가가치 제고를 위한 기술 개발로 오디를 신선한 상태로 출하할 수 있는 기술 개발을 시도하였다. 이를 위하여 적정 저장온도, 신속 저온처리기술, active MAP 처리기술, 소비자 지향 내포장재 단위 및 구조 및 단열처리를 위한 포장기술을 연구하였고, 각 단위별 개발기술의 종합적용 및 실증실험을 통하여 생과용 오디의 유통기간 연장기술을 개발하였다. 특히, 이 연구를 통하여 오디의 수확 후 유통 중 품질 손상에 큰 영향을 미치는 곰팡이의 증식을 억제할 수 있는 기술을 개발 하였고, 이를 특허로 출원한 바 있다.

또한 오디의 대부분이 냉동 유통되고 있음에 따라 고품질 냉동오디 유통을 위하여 직접소비용 오디의 과립 원형유지를 위한 동결처리기술과 가공용 오디의 적정 동결처리기술 개선을 시도하였고, 오디의 냉동저장 중 품질열화 억제기술과 냉동오디의 품질 및 온도관리를 위한 포장기술을 현장을 실정을 고려하여 개발하였다.

이와 같이 개발된 오디의 수확현장에서의 처리기술, 고품질 생 오디의 유통기술 및 냉동처리 기술 등을 종합하여 오디의 수확 후 관리 및 유통기술 표준 매뉴얼을 개발하였다.

아울러 기술개발 부문에 있어서는 본 과제 수행이전 오디 관련 연구의 대부분이 오디의 기능성 성분 및 이러한 특성을 활용한 가공식품개발 분야에 치우쳐 있었고, 오디의 수확후 관리 기술 관련하여서는 기술개발이 거의 시도된바 없었는데 연구가 종료된 시점에서 보면, 본 연구를 시발점으로 하여 수확, 세척 등 일부 분야의 기술 개발 등이 수행되고 있으며, 이러한 상황 개선은 본 과제의 수행 중 얻어진 연구결과를 학회 및 흥매 매체를 통한 발표 등이 촉매 역할을 한 것으로 판단된다.

제5장 연구개발 성과 및 성과활용계획

제1절 연구개발성과

본 과제를 통하여 현재까지 발생한 연구개발 성과로 논문 2편 게재, 학회 3건 발표, 특허 1건 등록, 특허 출원 1건, 기술교육 1건 및 홍보 1건이 발생하였으며, 해당 성과 항목별 내용을 열거하면 아래와 같다.

논문게재

1. 박주현, 홍석인, 정문철, 김동만, 오디의 속도에 따른 품질특성 및 유통 중 품질변화, 한국식품저장유통학회지 20(3) 304-316 2013
2. 박주현, 최정희, 홍석인, 정문철, 김동만, 유통 및 저장 온도에 따른 오디의 품질의 변화, 한국식품저장유통학회지 20(2), 141-150, 2013

학회발표:

1. 박주현, 홍석인, 정문철, 김동만, 오디의 속도에 따른 품질특성과 저장성, 한국식품저장유통학회 학술대회 2012. 11. 16 경북대학교, P1-23,
2. 박주현, 이현희, 홍석인, 정문철, 김동만, Active MAP처리에 따른 오디의 저장 중 품질변화, 한국식품저장유통학회 학술대회, 2012. 11. 16 경북대학교, P1-23, ,
3. 박주현, 홍석인, 정문철, 김동만, 유통 및 저장 온도에 따른 오디의 전반적인 품질의 변화, 한국식품저장유통학회 학술대회, 2012. 11. 16 경북대학교, P1-22,

특허

1. 김동만, 홍석인, 정문철, 최정희, 김영언, 박주현, 이현희, 오디의 선도연장방법 및 선도연장용 포장용기, 대한민국 특허, 출원 10-2014-0066800, 2014
2. 김동만, 정문철, 홍석인, 이호준, 박주현, 열매채집용 바구니, 대한민국특허, 등록 10-1374601, 2014

기술교육

1. 김동만, 오디의 수확후 관리기술, 3차 양잠농업인 기술교육, 농림수산식품교육문화 정보원, 2013. 11.19

홍보

1. 김동만, 오디의 수확후 유통 중 곰팡이 억제 및 선도 연장기술 개발, 2014. 5. 22, 문화일보 등 18개 매체 게재

‘오디’ 유통기한 3주이상 연장기술 개발

박양수기자 yspark@munhwa.com

뽕나무 열매로 당도 개선 및 항산화 등의 효능이 있는 오디의 유통기한을 3주 이상 연장할 수 있는 기술이 개발됐다.

한국식품연구원은 22일 오디를 유통하기 전에 탄산가스를 주입함으로써 오디 표면에서 증식하는 회색곰팡이를 억제해 저장 기간을 늘리는 데 성공했다고 밝혔다.

오디는 플라스틱 용기에 소포장한 뒤 스티로폼 상자에 마이스팩과 함께 밀봉해 상온 유통시킨다. 이 경우 반나절가량 지나면 곰팡이가 증식하기 시작하지만 탄산가스를 함께 넣어 유통시킬 경우 2일 이상 곰팡이 증식을 억제할 수 있다. 또 저온 보관시 유통기한을 3주 이상 늘릴 수 있다고 식품연구원은 설명했다.

기술 개발을 주도한 김동만 식품연구원 박사는 “최근 오디의 효능이 널리 알려지면서 생산량이 급증하는 추세인데 유통과정에서 발생하는 문제로 품질 유지에 어려움이 많았다”며 “이번 연구 결과를 잘 활용하면 생산농가의 소득 증대에도 크게 기여할 것으로 기대된다”고 말했다.

오디는 검정콩의 9배, 포도와 비교해선 23배나 많은 안토시아닌 색소와 당, 유기산 등을 다량 함유하고 있어 당도 개선 및 항산화 등의 효능이 뛰어나 기능성 소재로 주목받고 있다. 생산량도 전국적으로 급증하는 추세다. 그러나 오디는 조식이 매우 약해 수확할 때부터 손상이 생기고, 수확 시기가 초여름이어서 곰팡이 증식 등으로 인해 상품화하는 데 어려움이 많았다.

식품연구원은 연구 결과에 대한 특허를 출원 중에 있으며, 냉동오디의 상품화를 위한 기술 개발도 진행할 예정이다.

제2절 연구개발 성과활용계획

오디의 수확단계에서부터 유통단계에 이르기 까지 관련된 기술은 매우 취약한 실정으로, 고품질 오디 유통을 위해 수행한 본 연구를 통해 얻어진 오디의 수확후 관리기술은 우선적으로 본 연구과제의 참여 기관인 남부안 농업협동조합에 기술을 이전하여 현지 오디 생산 농민에 보급토록 할 계획이며, 관련 기술을 오디의 생산 및 유통현장에서 오디의 수확후 질적 양적 손실 발생에 따른 애로를 겪고 있는 관련자를 위해 기 작성된 매뉴얼을 토대로 고품질 오디를 소비자에서 공급할 수 있도록 매뉴얼화하여 보급토록 하며, 이를 바탕으로 오디 생산농민을 대상으로 한 교육을 통하여 단계적으로 보급토록 할 계획이다.

또한 개발기술 중 곰팡이 증식을 억제할 수 있는 고 탄산가스 처리 효과 등 학술적 의미가 있는 내용은 논문으로 작성하여 학술지에 게재토록 할 계획이다.

제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

국내 오디의 수확후 관리기술 연구개발 기반이 매우 취약함으로 인해 관련기술의 축적이 미흡한 단계인 것과 같이, 해외의 경우도 오디의 수확후 고품질 유지를 위한 관련기술 개발이 시도된 바가 적음에 따라 오디의 수확후 관리 기술 개발에 참고할 만한 해외기술정보로 제시할 만한 적합한 내용이 없음

제7장 참고문헌

- 박주현, 홍석인, 정문철, 김동만, 오디의 숙도에 따른 품질특성 및 유통 중 품질변화, 한국식품저장유통학회지 20(3) 304-316 2013
- 박주현, 최정희, 홍석인, 정문철, 김동만, 유통 및 저장 온도에 따른 오디의 품질의 변화, 한국식품저장유통학회지 20(2), 141-150, 2013
- 이지현, 홍윤표, 김형돈, 오디의 수확후 저장온도에 따른 품질특성 변화, 한국원예학회 학술발표회, 포스터-222, 2010
- 이선호, 기능성 소과류 수확후 처리기술 연구, 국립농업과학원, 2014
- 김동만, 정문철, 홍석인, 이호준, 박주현, 열매채집용 바구니, 대한민국특허, 등록 10-1374601, 2014
- 류강선, 이희삼, 강필돈, 김기영 등, 그물망을 이용한 오디 수집장치, 대한민국 특허, 등록 10-1367994, 2014
- Zhao Chen, Chuanhe Zhu, Ziqiang Han, Effect of aqueous chlorine dioxide treatment on nutritional components and shelf-life of mulberry, J. Boiscince and Bioengineering, 111(6), 675-681, 2011
- 박승중, 정승훈, 박종태, 김하윤, 송경빈, 수확 후 블루베리, 복분자, 오디의 냉동 전처리를 위한 세척시스템 확립, J. Applied Biological Chemistry 57(2) 161-164, 2014
- 팅후이, 이선호, 이원영, 전해수와 이산화염소수 세척에 따른 뽕나무 오디(*Morus alba L.*)의 살균효과, 동아시아식생활학회지23(5) 654-661, 2013
- 김동만, 홍석인, 정문철, 최정희, 김영언, 박주현, 이현희, 오디의 선도연장방법 및 선도연장용 포장용기, 대한민국 특허, 출원 10-2014-0066800, 2014
- Bao, Hairong Cheng, Yudong Yu, Jun Wang, Huabo, Effects of Frozen Storage Temperature on the Quality of Mulberry, Food Science(China), 27(12), 130-133, 2006

Quality characteristics and changes in mulberry (*Morus alba* L.) depending on their maturity during distribution

Ju-Hyun Park, Seok-In Hong, Moon-Cheol Jeong, Dongman Kim*
Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

오디의 숙도에 따른 품질특성 및 유통 중 품질변화

박주현 · 홍석인 · 정문철 · 김동만*
한국식품연구원

Abstract

To determine the appropriate harvest maturity of mulberry to prolong the freshness during distribution, mulberries were classified into three groups (80%, 90%, and 100%) based on their degree of maturity and then compared for their firmness, color, anthocyanin, soluble solids content, pH, titratable acidity, viable cell, mold and sensory quality. They were then investigated for quality changes by maturity under different distribution temperature at 20°C, 10°C and 0°C. Immediately after harvest, the 80% matured mulberries were shown to be the firmest and 1.74 and 2.64 times firmer than 90% and 100% matured mulberries respectively. The more mature the mulberries were the lower the "a" value was while anthocyanin content was higher. The soluble solids content and pH of mulberries increased as they matured. Less mature the mulberries were the higher titratable acidity was and lower microbial levels in mulberries were. In terms of sensory quality, color of the 100% matured mulberries was the highest but the 90% matured mulberries were most preferred based on other sensory indexes. In comparison to storability of mulberries by maturity, although the firmness of the 80% matured mulberry decreased rapidly, they were the firmest during distribution periods. The level of mold of the 100% matured mulberries was higher than others. Moreover, the more mature mulberries were the quicker they deteriorated. According to quality indexes, depending on maturity and sensory evaluation of mulberry distributed at different temperatures, the storability of the 80 and 90% matured mulberries were higher than that of the 100% matured mulberries. In conclusion, judging by their sensory quality, the 90% matured mulberries were more appropriate for harvesting than the 80% matured mulberries.

Key words : mulberry (*Morus alba* L.), maturity, quality, distribution, temperature

서론

오디는 뽕나무 또는 산뽕나무의 열매로 상실(桑實) 또는 오들개라고도 하며 녹색의 미숙과는 검은빛을 띤 자주색으로 익으면서 지름이 약 2 cm 정도 된다. 주요성분은 포도당과 과당, 시트르산, 사과산, 탄닌 및 펙틴이며 미량성분으로는 비타민(A, B₁, B₂, D), 칼슘, 인 및 철 등이 있다. 오디는 강장제로도 알려져 있는데 내장, 특히 간장과 신장의 기능을 좋게 하고 갈증 해소와 알코올 분해 및 불면증과 건망증

에도 효과가 있다(1). 이에 더하여 불포화지방산, 1-deoxynojirimycin(DNJ), cinnamic acid와 quercetin 유도체 및 γ -aminobutyric acid(GABA) 등이 풍부하여 항고혈압, 항산화 및 항당뇨의 효과(1-8)가 보고되어있다. 오디는 당과 유기산 및 anthocyanin을 다량 함유하고 있는데 anthocyanin은 polyphenol 화합물인 flavonoid에 속하는 대표적인 천연색소이며 그 종류는 aglycone인 anthocyanidin에 결합된 당의 종류 및 위치에 따라 결정된다(9). Anthocyanin은 항산화작용이 월등해 체세포를 보호하고, 압, 동맥경화, 염증 등 만성적 질병을 유발하는 지질과산화 반응을 저해하는 다양한 생리적 효과가 있다고 보고되었으며, 이를 이용한 만성질환개선 제제의 개발 및 기능성 식품

*Corresponding author. E-mail : dmkim@kfri.re.kr
Phone : 82-31-780-9140, Fax : 82-31-780-9165

Changes in Quality of Mulberry Depending on Distribution and Storage Temperature

Ju-Hyun Park, Jeong-Hee Choi, Seok-In Hong, Moon-Cheol Jeong,
and Dongman Kim[†]

Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

유통 및 저장 온도에 따른 오디의 품질의 변화

박주현 · 최정희 · 홍석인 · 정문철 · 김동만[†]
한국식품연구원

Abstract

For the investigation of the quality loss of mulberry during distribution, the deterioration rate, microorganism growth, and sensory quality of mulberry kept at 20, 10 and 0°C, respectively, were investigated. Based on the results, the optimum temperature for extending the freshness of mulberry was examined in the temperature range of -1.5 to 1.5°C. The level of mold in the mulberry kept at 20 and 10°C, respectively, was much higher than that kept at 0°C. The quality of the mulberry deteriorated seriously after two days at 20°C, after six days at 10°C, and after 12 days at 0°C. The marketability of mulberry as determined via sensory evaluation was much more prolonged by decreasing the keeping temperature from 20 to 0°C. To extend the freshness of mulberry using these results, the optimum temperature was evaluated at the range of -1.5 to 1.5°C for 25 days. During storage, the changes in the color and pH of the berry were not significantly different by storage temperature, but the microbial levels and deterioration rate increased in the order of 1.5, 0, and -1.5°C. In particular, the firmness of the mulberry decreased rapidly at 1.5°C, showing a significant difference from the others. The titratable acidity and sugar contents decreased gradually at all the applied temperatures. The anthocyanin content decreased sharply at 1.5°C but gently changed at -1.5°C. Through the sensory results of this study, it was adjudged that the marketability of mulberry could be maintained about 0.7 times at 1.5°C and 1.3 times at -1.5°C compared with the marketability at 0°C, respectively.

Key words : Mulberry, freshness, temperature, distribution, storage

서론

오디는 뽕나무 열매로서 뽕나무과에 속하는 낙엽, 활엽 교목으로 잎은 난형(卵形) 또는 난상(卵狀), 심장(心臟)형이고 짧은 날카로운 반면 밀은 둥글며 거친 톱니가 있고 잎 뒷면에 짧은 털이 있다. 오디는 5월 초에 꽃이 피고 열매는 5월 말부터 수확하는데, 오디를 한방에서는 상심(桑葚)이라고 하며 동의보감에서는 보약(補藥)으로 기록되어 있다(1). 이에 의하면 오디를 장기간 섭취 시 흰 머리가 검어지고 늙지 않으며, 까맣게 익은 것은 벌에 말려 찢어서 꿀에 개어 환(丸)으로 만들어 장복(長服)하고 또 술을 만들어 먹어도

몸을 보(補)한다고 되어 있다. 오디는 당과 유기산뿐만 아니라 anthocyanin 색소를 다량 함유하고 있는데 붉은 색 쌀에 비해서는 4배 이상, 검정콩에 비해서는 약 9배, 포도에 비해서는 23배나 많다(2). Anthocyanin은 3번 탄소에 당이 결합되어 있는 형태로 polyphenol 화합물인 flavonoid에 속하는 대표적인 천연색소로서 그 종류는 aglycone인 anthocyanidin에 결합된 당의 종류에 따라 결정된다(3). 뿐만 아니라 불포화지방산, 1-deoxynojirimycin (DNJ), 2-arylbenzofuran 유도체, cinnamic acid 및 quercetin 유도체 및 γ -aminobutyric acid (GABA) 등이 풍부하여 항고혈압, 항산화, 항당뇨의 효과(4-10)가 있는 것으로 보고되어 있다. 최근 서구화된 식생활 패턴과 노인인구 증가에 따라 암을 비롯한 심장병, 고혈압, 심근경색증, 동맥경화증, 당뇨병 및 치매 등의 여러

[†]Corresponding author. E-mail : dmkim@kfri.re.kr
Phone : 82-31-780-9140, Fax : 82-31-780-9165

관 인 생 략

출원번호통지서

출원일자 2012.10.16
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(3427)
 출원번호 10-2012-0114905 (접수번호 1-1-2012-0840563-69)
 출원인명칭 한국식품연구원(3-1998-007755-3)
 대리인성명 특허법인 총현(9-2010-100021-9)
 발명자성명 김동만 정문철 홍석인 이호준 박주현
 발명의명칭 열매 채집용 바구니

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보 변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록 결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2014.06.02
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(5045)
 출원번호 10-2014-0066800 (접수번호 1-1-2014-0519411-66)
 출원인명칭 한국식품연구원(3-1998-007755-3)
 대리인성명 특허법인 총현(9-2010-100021-9)
 발명자성명 김동만 홍석인 정문철 최정희 김영언 박주현 이현희
 발명의명칭 오디의 선도 연장 방법 및 선도 연장용 포장용기

특허청장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr-특허마당-PCT/마드리드>
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.

특 허 증

CERTIFICATE OF PATENT

특 허 제 10-1374601 호 (PATENT NUMBER)	출원번호 (APPLICATION NUMBER)	제 2012-0114905 호
	출원일 (FILING DATE:YY/MM/DD)	2012년 10월 16일
	등록일 (REGISTRATION DATE:YY/MM/DD)	2014년 03월 10일

발명의명칭 (TITLE OF THE INVENTION)
열매 채집용 바구니

특허권자 (PATENTEE)
한국식품연구원 (130122-0*****)
경기도 성남시 분당구 안양판교로1201번길 62 (백현동)

발명자 (INVENTOR)
등록사항란에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록
되었음을 증명합니다.

(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN
INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)

2014년 03월 10일



특 허 청 장 김 영

COMMISSIONER, THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE



연차등록료 납부일은 실정등록일 이후 4년차부터 매년 03월 10일까지이며 등록원부로 권리관계를 확인바랍니다.

제1협동 : 오디의 항당뇨 효능 평가

강 원 대 학 교 홍 억 기

요 약 문

I. 제 목

- 오디의 항당뇨 효능평가

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 모든 질병의 근본적인 치료로, 항산화에 대한 관심이 집중되고 있는 가운데, 오디가 갖는 항산화 효능에 의한 항당뇨 효능의 객관적 증명은 기능성식품 소재의 가치상승 및 신뢰성을 증대할 수 있다. 현재 항산화, 당뇨라는 주제는 기능성식품 소재뿐만 아니라 화장품, 의약품 분야 등의 주요 연구 분야이기 때문에 본 소재는 일회성 개발로 끝나는 것이 아니라 여러 분야에 응용될 수 있다. 이 연구를 통하여 고부가가치, 고기능성식품 소재를 개발하는데 목표를 두고 있다.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 본 연구는 분리 정제와 확인과정을 거친 오디 추출물이 산화적 스트레스로부터 손상된 췌장 베타세포를 보호함을 ROS, Apoptosis, 인슐린 등을 통해 확인함으로써, 항산화 작용과 항당뇨 효과의 연관성을 증명하고, 나아가 오디 추출물이 갖는 당뇨병 예방, 치료 효능을 *in vitro* 와 *in vivo*에서 확인함으로써 항당뇨 기능성 식품으로써의 가능성을 증명하고자 한다. 이에 아래와 같은 세부 목표를 제시한다.

- 협동 연구개발의 목표 및 내용

1. 췌장베타세포 독성평가 및 항산화 활성 효능평가

본 연구에서 사용할 췌장베타세포의 배양최적화를 진행하고, 분리 정제를 거친 분획별 오디 추출물의 세포내 독성을 검토하여 차 후 실험에 사용할 분획별 오디 추출물의 최적 농도를 선별하였다. 췌장 세포에 독성이 없는 농도내에서 DPPH radical 소거능 평가를 통하여 분획별 오디 추출물의 항산화 활성을 평가하였다.

2. 세포사멸 및 증식 효능평가

췌장 베타세포에서 산화적 스트레스를 유도하기 위한 과산화수소 (H_2O_2)의 최적 농도를 선별하고, 오디 추출물의 전 처리를 통하여 보호능을 평가하였다. 췌장 베타세포에 과산화수소로 산화적 스트레스를 유발한 후 이전 실험에서 선별된 분획별 오디 추출물을 처리하여 회복능을 평가하고, 분획별 오디 추출물의 항산화 활성이 세포 내 활성산소 소거에 어떠한 영향이 있는지 평가하기 위하여 DCF-DA 시약을 이용하여 확인하였다. 각 실험군의 비교를 위하여 세포 파쇄 후 Microplate fluorometer를 이용하여 ROS의 양을 측정하였고,

육안으로 변화정도를 비교하기 위하여 형광 현미경을 통하여 관찰하였다. 세포사멸 효능평가와 항산화 활성이 가장 우수했던 분획들을 선별하여 산화적 스트레스를 유도한 췌장 베타세포내에서 과산화지질 억제능을 TBARS assay를 통하여 평가하였다. 보호능, 회복능, 활성산소 소거능, 과산화지질 억제능을 종합하여 가장 우수한 분획에서의 세포사멸 (Apoptosis) 억제능을 Apoptosis detection kit (Annexin-V & PI)를 이용하여 flow cytometry 분석을 하였다. 산화적 스트레스에 의한 DNA damage 현상중에 하나인 DNA fragmentation 및 condensation을 확인하기 위하여 Hoechst33342 시약을 이용하여 DNA 말단을 염색 후 형광 현미경을 통하여 관찰하였다.

3. 메커니즘 규명 및 *In vitro* 항당뇨 효능평가

산화적스트레스로 유도된 세포사멸시에 내부 신호 경로에 변화를 확인하기 위하여 western blot을 통하여 분석하였다. Caspase-3, Cleaved caspase-3, Apoptosis inducing factor 등의 주요 Apoptosis 인자들을 확인하였다. 또한, 활성산소로 인한 세포 내 항산화 효소들의 변화를 확인하기 위하여 Superoxide Dismutase와 Catalase의 발현변화를 western blot을 통하여 확인하였다. 췌장 베타세포의 주 기능인 Insulin 분비능의 변화를 Insulin ELISA kit를 이용하여 측정하였고, glucose uptake를 확인하기 위하여 2-NBDG를 이용하여 형광을 측정하였다.

4. *In vivo* 항당뇨 효능평가

ICR mouse에 췌장베타세포를 파괴하는 Streptozotocin을 이용하여 당뇨를 유발하고 오디 추출물을 주기적으로 경구투여 하였을 때의 ICR mouse의 체중 및 장기무게를 측정하고 비교하였다. ICR mouse에 당뇨 유발 후 오디를 경구 투여하는 4주간의 혈당변화를 혈당측정기를 통하여 측정하고, 실험동물 개복시에 혈액을 채취하여 베타세포의 파괴로 인해 줄어든 Serum Insulin의 변화를 측정하여 비교하였다. 또한, 당뇨에서 나타날 수 있는 현상인 혈중 콜레스테롤 및 중성지방의 변화를 측정하였다.

5. 추가 연구 내용

오디 추출물의 효능이 오디 속 단일물질의 효능일 것으로 판단하여 정제된 단일물질을 통한 항당뇨 효능을 재검토하였다. 추출용매로 가장 많이 사용되는 에탄올의 농도에 변화를 주어 추출을 진행한 후 각 분획별로 세포 생존률, DPPH radical 소거능, ROS 소거능, 과산화지질 억제능을 평가하여 가장 우수한 분획을 선별하였고, 우수한 분획에서의 주요 구성성분을 확인하였다. 분리정제 과정을 거쳐 오디로부터 분리된 주요 구성성분으로 *In vitro* 항당뇨 효능평가를 진행하였다. Hyperglycemia로 유도된 췌장베타세포에서의 세포사멸에 대하여 세포내 활성산소 소거능, Apoptosis 확인, 세포보호 작용 메커니즘확인, 인슐린 분비능 등을 통한 효능을 검토하였다.

IV. 연구개발결과

1. 세포독성 및 항산화 활성 효능평가

가. 췌장 베타세포 독성평가 및 농도분석

세포는 mouse insulinoma 인 MIN6N 세포를 선정하였으며 DMEM 배지에 fetal bovine serum을 10% 농도로 첨가하여 배양하였다. 분획별 오디 추출물의 독성 평가에서는 MAE (EtOAc 추출물) 500 µg/ml 에서 세포생존률 84% 이상을 유지하면서 가장 적은 세포독성을 보였으며 MAB (n-BuOH 추출물)는 80.8%, MAH (H₂O 추출물)는 75%, MA (Et-OH) 69.9% 의 세포독성을 확인하였다. 모든 분획에서 400 µg/ml의 농도까지는 세포에 큰 영향을 주지 않는다고 판단하였다.

나. 항산화활성 효능평가

이전 실험에 근거하여 세포 독성이 없는 농도내에서 항산화 활성을 DPPH 소거활성을 확인하였다. MA군과 MAH군은 50 µg/ml 농도에서부터 DPPH 소거활성이 크게 증가하여 이후 농도 의존적으로 활성이 증가하였고, MAE와 MAB군은 100 µg/ml 의 농도부터 DPPH 소거 활성이 증가하였다.

2. 세포사멸 및 증식 효능평가

가. 세포 보호능 및 회복능 효능평가

(1) 세포 보호능 효능평가

세포의 산화적 스트레스를 유발하기 위한 H₂O₂의 농도는 0.7mM의 농도에서 50.7%를 보였으므로 최적 농도는 0.7 mM의 농도를 선정하였으며 분획별 오디 추출물의 전 처리 후 0.7 mM의 과산화수소를 처리하였을 때 MAE군은 50 µg/ml에서 과산화수소 처리군에 비해 약 11% 증가한 세포생존률을 보였고 100 µg/ml의 농도에서 약 20% 증가한 세포생존률을 보이며 가장 높은 세포 보호능을 보였고, MA 군은 50 µg/ml에서 13%, 최대 17% 생존률 증가를 확인하였다. MAB 군과 MAH군은 각각 11%, 14% 증가한 세포 생존률을 보였으나 MA와 MAE에 비해 적은 세포 생존률을 보였다. 이 중 가장 활성이 우수했던 MAE 분획을 용매별 극성과 분자량에 따라 세분화한 14가지 분획으로 나누어 세포 보호능을 진행한 결과 14가지 분획중에 MAE1과 MAE2 군에서 각각 최대 21%, 20%의 세포 생존률을 보이며 가장 우수한 세포 보호능을 보임을 확인하였다. 위 시료군과 별도로 추출용매인 Et-OH 조성을 50%로 변경해 추출한 시료군과 가장 상위분획인 MA 군에 각각 유기산 (Citric, Malic, Fumaric acid)을 첨가한 시료군을 추가로 실험하였다. 실험결과 세포 보호능은 보이거나 시료군 A와 시료군 B 보다는 미약함을 확인하여 차 후 실험은 시료군 A와 시료군 B를 선별하여 진행하였다.

(2) 세포 회복능 효능평가

효능 비교를 위하여 분획별 오디추출물을 전 처리한 보호능외에 후 처리한 회복능 평가를 진행하였다. MA군은 과산화수소 (H_2O_2) 처리군에 비해 13% 증가한 세포 생존률을 보였으며 최대 15% 증가율을 보였다. MAE 군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 과산화수소 (H_2O_2) 처리군에 비해 11% 증가한 65%의 세포 생존률을 확인하였고, 최대 13%의 세포생존률을 보였다. MAB와 MAH는 이전과 마찬가지로 세포생존률 증가 경향을 보였으나 MA와 MAE에 비하여 낮은 세포 생존률을 보였다. 이러한 결과를 통해 분획별 오디추출물은 세포 회복능 보다는 보호능에서 비교적으로 우수한 효능을 보였다.

나. 세포 내 활성산소 소거능 평가

(1) 과산화물 (ROS) 소거능 평가

과산화수소 처리군에서 ROS의 양이 급격하게 증가함을 확인하였고, MA군에서 농도 의존적으로 과산화물이 소거됨을 확인하였고, 400 $\mu\text{g/ml}$ 에서 약 44%의 감소를 보였다. MAE군에서도 마찬가지로 농도 의존적으로 과산화물이 소거되었고, 최대 47%의 감소율을 보였다. MAB와 MAH 군에서도 과산화물 소거능이 확인되었으나 MA와 MAE에 비하여 낮은 과산화물 소거능을 보였다. 분획 중 MAE를 세분화한 시료군 B에서는 세포 보호능과 마찬가지로 MAE1과 MAE2에서 가장 높은 과산화물 소거능을 보였다. 시료군 C에서도 마찬가지로 소거능을 보였으나 시료군 A와 시료군 B 보다는 미약한 소거능을 보임으로써 차 후 실험에는 가장높은 활성을 보인 시료군 A의 MA, MAE 와 시료군 B의 MAE1, MAE2를 사용하였다.

(2) 과산화 지질 억제능 효능평가

MA군에서는 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 유의적으로 과산화지질 억제능이 증가하기 시작하여 400 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 26%의 억제능을 보였다. MAE군에서는 최대 30%의 과산화 지질 억제능을 보임으로써 가장 높은 활성을 보였고, MAE1과 MAE2는 각각 30%와 28%의 과산화 지질 생성 억제능을 확인함으로써 결과적으로 이전 실험들을 종합하였을 때 MAE 군이 가장 우수한 효능을 보임을 확인하였다. 차 후 실험은 MAE군으로 진행하였다.

다. 세포사멸 저해 효능평가

(1) Apoptosis 저해 효능 평가

Control (18%) 에 비하여 과산화수소 처리 군에서 Apoptosis가 58%까지 증가하였으며 MAE 100 $\mu\text{g/ml}$ 군에서는 과산화수소 처리 군에 비하여 23% 감소한 35%의 apoptotic cell rate를 보임으로써 산화적 스트레스로 인한 췌장베타세포의 apoptosis 진행을 억제하였다.

(2) DNA fragmentation

Control 군에서의 파란색 형광은 약하게 관찰되며 morphology가 정상적인 것을 확인하였다. 과산화수소 처리시에는 DNA fragmentation이 일어나면서 파란색형광이 밀집되어 강하게 관찰되는 부분이 증가하였고, morphology 또한 변형된 모양이 관찰되었다. MAE 100 $\mu\text{g/ml}$ 처리시에는 과산화수소 처리 군에 비하여 형광이 감소되고 Control과 유사하

함을 확인하였다. 다른 분획인 MA, MAB, MAH를 처리한 결과도 마찬가지로 산화적 스트레스로 인한 DNA fragmentation이 감소됨을 확인하였다.

3. 메커니즘 규명 및 *In vitro* 항당뇨 효능평가

가. Western blot

(1) Apoptosis 관련인자 확인

Apoptosis 저해 효능이 어떠한 내부 신호를 경유하는지 확인하기 위하여 Apoptosis 인자인 Caspase-3와 AIF (Apoptosis Inducing Factor)를 단백질 수준에서 확인하였다. 과산화 수소 처리시에 Caspase-3 활성화 form인 Cleaved caspase-3 의 활성이 증가하였고, AIF 또한 발현이 증가함을 확인하였다. MAE 처리 시에 50 µg/ml에서 70 µg/ml 로 농도가 증가 할수록 활성이 감소함을 확인함으로써 Caspase-3의 활성화와 AIF 발현에 영향을 주는 것을 확인하였다.

(2) 항산화 효소 활성 (Catalase, SOD) 확인

항산화 효소의 발현을 확인한 결과, 과산화수소 처리시에 SOD (Superoxide Dismutase)와 CAT (Catalase)의 활성이 증가함을 확인하였고, MAE 처리시에 과산화물 소거에 의하여 SOD와 CAT의 발현이 감소함을 확인하였다.

나. *In vitro* 항당뇨 효능평가

(1) 인슐린 분비능 확인

Insulin secretion에서 Control 에 비하여 과산화수소 처리군에서 Insulin 분비가 약 50%까지 유의적으로 감소한 것을 확인하였고, 과산화 수소 처리군에 비하여 MAE 처리 시에 농도 의존적으로 Insulin 분비능이 증가하였다.

(2) 포도당 흡수능 평가

Glucose uptake 실험에서는 Control군에 비하여 과산화수소를 처리하였을 때 형광이 감소하면서 포도당 흡수가 감소하였고, MAE를 처리하였을 때 농도 의존적으로 포도당 흡수가 증가하면서 산화적 스트레스로 인하여 손상된 glucose uptake가 MAE에 의해서 회복됨을 확인하였다.

4. *In vivo* 항당뇨 효능평가

가. 체중 및 장기 무게 측정

(1) 체중 측정

베타세포에 손상을 주는 Streptozotocin (STZ)을 이용하여 ICR mouse에 당뇨를 유발하였고, 유발 후 4 주간 오디추출물 (MAE)을 이틀 간격으로 경구 투여 하였다. Normal 군에 비하여 STZ 투여 군에서 체중 감소를 나타내었고, 4주간 MAE를 처리한 실험군에서는 체중감소를 완화시키는 결과를 보였다.

(2) 장기무게 측정

장기 무게의 경우 다른 장기에는 큰 변화가 일어나지 않았지만 STZ를 처리한 실험군에서 비장의 크기가 비대해 지는 경향을 확인하였고, MAE를 4주간 경구 투여한 실험군에서 완화됨을 확인하였다.

나. 혈중 인슐린 및 혈당 측정

(1) 혈중 인슐린 측정

Normal 군에 비하여 STZ를 복강 투여한 군에서 베타세포 손상에 의한 Insulin의 분비가 감소됨을 확인하였고, 4주간 MAE를 경구투여한 실험군에서 회복됨을 확인하였다.

(2) 혈당 측정

Insulin 분비에 따른 혈당의 증감을 확인한 결과, STZ 처리 군에서는 4주차까지 지속적으로 혈당이 증가하였으나 MAE를 4주간 경구투여한 군에서는 STZ 단독처리 군에 비하여 혈당이 감소한 경향을 확인하였다.

다. 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 측정

(1) 혈중 콜레스테롤 측정

Normal군에 비하여 STZ를 처리한 군에서 혈중 콜레스테롤의 양이 증가함을 확인하였고, STZ만을 투여한 실험군과 비교하였을 때 MAE를 4주간 경구 투여한 실험군에서 유의적으로 콜레스테롤의 수치가 낮아짐을 확인할 수 있었다.

(2) 혈중 중성지방 측정

STZ만을 투여한 실험군과 비교하였을 때 MAE를 4주간 경구 투여한 실험군에서 유의적으로 중성지방의 수치가 감소하였으므로, 당뇨 유발시에 나타날 수 있는 혈중 중성지방의 증가를 회복함을 알 수 있었다.

5. 추가 연구내용

가. 오디 유래 안토시아닌 분리정제

(1) 에탄올 농도에 따른 추출물의 효능평가

에탄올 용매 비율 100%, 70%, 50%, 30% 따라, 각각 300 µg/ml 의 농도에서 80%, 84%, 79%의 세포 생존율을 보였으며 70% 에탄올 오디 추출물 군은 200 µg/ml의 농도에서 91.5%의 높은 생존율을 확인할 수 있었다. 100%, 70%, 50%, 30% 에탄올 오디 추출물 군은 70 µg/ml 의 농도부터 DPPH 소거활성이 증가하여 이후 농도 의존적으로 소거활성능이 증가하였으나 에탄올 용매 50%, 30% 의 오디 추출물은 소거활성능 증가폭이 70% 보다 작았다. 70% 에탄올 오디 추출물 군은 300 µg/ml 농도에서 68.9%의 높은 radical 소거능을 보였으며 세포독성이 없는 농도내에서 오디 추출물의 농도 의존적으로 항산화 활성이 증가함을 확인하였다. 과산화물 소거능 평가와 과산화 지질 억제능 평가에서도 마찬가지로 70% 에탄올 오디 추출물이 다른 군에 비해 우수한 효능을 확인하였으므로 차 후 실험은 70% 에탄올 추출물로 진행하였다.

(2) 안토시아닌 분리정제 및 함량 확인

에탄올 용매 비율에 따른 각 분획에서 70% 에탄올 오디 추출물이 391 mg/g 으로 가장 많은 양의 안토시아닌을 가지고 있음을 확인하였다. 이 물질을 정제하여 standard와 시료의 피크를 확인하였을 때 Retention time 이 같음을 확인하여 분리된 정제물질이 Cyanidine-3-glucoside임을 확인하였다.

나. 오디로부터 분리된 C3G의 항당뇨 효능평가

(1) 세포사멸 및 항산화활성 효능평가

췌장 베타 세포에서 고혈당 유도를 하였을 때 (25 mM glucose, 18 h) 72.9% Cell viability를 보였으며 삼투압 컨트롤으로는 mannitol 25 mM 이 사용되었다. 고혈당에 의해서 감소한 Cell viability를 C3G 70 µg/ml 처리시에 83.8%를 보이며 시료가 세포를 보호하였다. 항산화활성 실험에서는 High glucose 처리군에서 7.6배의 과산화물이 생성되었고, C3G 70 µg/ml 군에서는 6.5배로 과산화물 생성의 감소가 보였으며, 100 µg/ml 에서는 5.4배로 감소하였다. 또한 형광 현미경을 통해 ROS 소거를 가지적으로 관찰하였다. Control의 apoptotic cell rate는 약 4.9%에 비하여 high glucose 처리 시 apoptotic cell rate가 약 33.9% 증가함을 확인하였다. C3G 70 µg/ml 처리 시 High glucose 처리군에 비해 약 9% 줄어든 24.8%의 apoptotic cell rate를 보이며 High glucose 유도 산화적 스트레스로 인한 췌장 베타세포의 apoptosis 진행을 억제함을 확인하였다.

(2) 세포보호 작용 메커니즘 확인

Apoptosis 와 관련있는 인자인 p-ERK, p-JNK, p-38의 발현이 High glucose 처리된 군이 비해 C3G를 처리한 군에서 발현량이 저해되어 세포를 보호 하는 것을 확인하였다. 또한 anti-apoptotic protein인 Bcl-2이 C3G 처리 군에서 발현이 많이 되어 apoptosis를 저해하였고, pro-apoptotic protein인 Bax의 발현량은 감소하였다. C3G 처리 군에서 cytochrome C의 방출은 적게 일어남을 확인 하였다. 그리고, Cleaved caspase-3의 발현량은 C3G 농도 의존적으로 감소 하여 apoptosis를 억제하였으며, NF-κB의 핵내로의 translocation이 감소함을 확인하였다.

(3) 인슐린 분비능 확인

Control 에 비하여 High glucose 처리군에서 Insulin 분비가 약 74.8%까지 유의적으로 감소하였고, High glucose 처리군에 비하여 C3G 70 µg/ml과 50 µg/ml처리 시에 Insulin 분비능이 각각 78.1%, 84.2%로 증가하였으므로 고혈당으로 저해된 Insulin 분비능이 회복됨을 확인하였다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구개발 성과

- 전문 학술지 (SCI/SCIE) 게재 4건
- 학술대회 발표 국내 6건

2. 연구개발 성과활용 계획

- 생물산업 관련업체에 기술을 이전하여 고품질의 기능성 식품 생산에 활용
- 현존하는 당뇨 치료제의 부작용을 완화시키고 도움을 줄 수 있는 보조제로서의 개발
- 항산화 활성을 이용한 의약품뿐만 아니라 기능성 식품, 화장품 등의 다양한 분야의 소재로 활용
- 다양한 기능성 식품 생산 공정에 응용하여 관련 제품 생산성 증대에 활용
- 활성물질의 작용 기전 규명을 통한 비교우위 항당뇨 효능평가 기술 개발
- 당뇨병뿐만 아닌 각종 성인병을 예방하기위한 기능성 식품 개발

SUMMARY

I . Title

Anti-Diabetes efficacy evaluation of mulberry

II. Propose and significance

In modern medicine, therapies for diabetes, such as insulin injection and hypoglycemic agents, usually have adverse side effects and, decreased efficacy over time. They can also be relatively ineffective against some long-term diabetic complications and are associated with high-cost for patients and healthcare industry. Therefore, the development of anti-diabetic natural products would be a promising solution for patients confronted with the side effects of current anti-diabetic therapies.

In this study, the anti-diabetic effects of mulberry extracts was investigated in oxidative stress-induced apoptotic pancreatic beta-cells and streptozotocin-induced diabetic mice to evaluate its anti-diabetic efficacies. Based on results, mulberry might be a potential phytotherapeutic agent for prevention to oxidative stress-induced diabetes.

III. Contents and scope

A. Cytotoxicity and efficacy evaluation of anti-oxidative activity

In this study, optimum conditions were kept for cultivation of pancreatic MIN6N beta-cells. To confirm the cytotoxicity of sample in pancreatic MIN6N beta-cells, cell viability assay was evaluated using the (3-[4,5-dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium) bromide (MTT) assay, which is based on the reduction of a tetrazolium salt by mitochondrial dehydrogenase in viable cells. And then, this study measured anti-oxidative activity by detecting DPPH radical in the nontoxic concentration of cell viability.

B. Efficacy evaluation of Apoptosis and proliferation

The range of doses of hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced oxidative stress to pancreatic MIN6N beta-cells were determined with various H_2O_2 concentrations, and estimated prevention efficiency fractionated extracts using pre-treatment on the MIN6N

beta-cells. Also, recovery ability of extracts is determined on the cells treated H_2O_2 . Intracellular ROS levels in H_2O_2 -treated MIN6N beta-cells were determined using the ROS-sensitive fluorescent probe, H_2DCF -DA, which is cleaved by intracellular esterases into its non-fluorescent form DCFH. This form, which was no longer membrane permeable, can be further oxidized by H_2O_2 to its fluorescent form DCF. For image analysis of the production of intracellular ROS, after treatments, H_2DCF -DA solution was added to each well of the plate, which was incubated for 2 h at 37 °C. Images of the stained cells were collected using a fluorescence microscope. And then, excellent results of fractioned extractions were selected to determine the anti-apoptotic efficacy on H_2O_2 -treated MIN6N beta-cells using Apoptosis detection kit and analyzed by flow cytometry. Further, in order to confirm the DNA fragmentation upon apoptosis induced by H_2O_2 , DNA fragmentation in MIN6N beta-cells was determined by staining with the fluorescent Hoechst 33342 dye.

C. Mechanism analysis and *In vitro* anti-diabetes efficacy evaluation

To analyze the effects of fractioned extracts on inhibition of apoptosis, the effects of each samples on apoptosis signaling pathways related with Caspase-3, cleaved caspase-3 and AIF were studied by western blot analysis. Also, catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) have major effects on the apoptosis signaling pathway. This study observed the expression of anti-apoptotic enzymes (CAT and SOD) using western blot analysis. Effect of fractioned extracts on insulin release and glucose uptake in MIN6N beta-cells was estimated using a insulin ELISA kit, 2-NBDG, respectively.

D. *In vivo* anti-diabetes efficacy evaluation

ICR mice were used in the study. Diabetes was induced using streptozotocin (STZ) and then sample preparations were fed orally to mice of respective groups. Changes in 1-4 weeks body and organs weight in normal and experimental groups are measured. Blood glucose and serum insulin levels were determined as well as cholesterol and neutral fat level related with diabetes symptoms.

E. Supplement research

To application of the industrialization, the mulberry fruits were extracted with various concentrations of ethanol, which is using as an extraction solvent in the wide range of industry. And then, each extractions were estimated for efficiency of cell viability, DPPH radical scavenging activity, intracellular ROS scavenging activity and lipid peroxidation inhibitory activity. Selected extraction shown as excellent results in these experiments was separated for purification of anthocyanin isolated from Mulberry. Furthermore, separated cyanidin-3-glucoside was estimated to Anti-diabetic efficacy by

measuring intracellular ROS scavenging activity, apoptosis signaling pathway and insulin release in pancreatic MIN6N beta-cells.

IV. Results

A. Cytotoxicity and efficacy evaluation of anti-oxidative activity

(1) Evaluation of Cytotoxicity in MIN6N beta-cells

The MIN6N pancreatic beta-cells were derived from a mouse pancreatic islet cell line. MIN6N beta-cells were cultured in DMEM (11 mmol glucose, GIBCO, USA) supplemented with 10% inactivated FBS and 1% penicillin/streptomycin and maintained at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator. Cell viability was greater than 84% in the presence of MAE (EtOAc extracts), up to a concentration of 500 µg/ml and MAB extract (n-BuOH extracts), MAH (H₂O extracts), MA (Et-OH extracts) viability was value 80.8%, 75% and 69.9%, respectively.

(2) Efficacy evaluation of anti-oxidative activity

To determine their radical scavenging activities, this study measured scavenged DPPH radical in the nontoxic concentration of cell viability. Fractionated extracts (MA, MAH) scavenged the DPPH radicals in a dose-dependent manner, with a 50 µg/mL and DPPH radical scavenger activity of fractionated extracts (MAE, MAB) increased in a dose-dependent manner, with a 100 µg/mL

B. Efficacy evaluation of Apoptosis and proliferation

(1) Protective effect and recovery ability

The cyto-protective effect of MAE on the H₂O₂-treated MIN6N beta-cells was measured using the MTT assay. In this study, H₂O₂ was used to induce oxidative stress in MIN6N beta-cells. At the concentration of 0.7 mM H₂O₂ cell viability was reduced to 50.7% compared with control. Therefore, 0.7 mM H₂O₂ concentration was selected for experiments. Treatment of MAE 50 µg/ml increased cell viability to 11% in comparison with H₂O₂-treated MIN6N beta-cells and increased to 20%, the highest protective effects, in the presence of MAE 100 µg/ml. Fractionated extracts MA was confirmed an increase in the cell viability value of 13% at the 50 µg/ml. MAH and MAB, Respectively, showed a cell viability was increased by 11% and 14% ,showed a cell viability of less than the MAE and MA. Among of 14 types fractions, sample of MAE1 and MAE2 showed the highest values of cell viability at 21%, 20% respectively. To analyze after-treatment efficiency as a recovery effect, each samples was treated under H₂O₂ condition. MA and MAE produced an

increase in the cell viability value. This cell viability was showed that more than the results of treat-MAB and MAH in the recovery ability experimentation.

(2) Intracellular ROS scavenging activity

Intracellular ROS levels in H₂O₂-treated cells were determined using the ROS-sensitive fluorescent probe H₂DCF-DA. In experiments, H₂O₂-treated cells dramatically increases amounts of intracellular ROS and treated MA was able to scavenge intracellular ROS in dose-dependent manner. The ROS scavenging activity decreased level of ROS up to 47% at MA 400 µg/ml compared to cells treated only with H₂O₂. Also, ROS scavenging activity was confirmed in MAB, MAH group but this activity was less than MA and MAE. Sample group B divided in MAE group was the highest ROS scavenging activity in the presence of MAE1 and MAE2. Whereas, sample group C showed result of low ROS scavenging activity. Therefore, samples of MA, MAE, MAE1, and MAE2 were used for next experiments.

(3) Anti-apoptotic efficacy

Treated with 0.7 mM H₂O₂ cells group caused 58% of the cells to undergo apoptosis. However, pre-treatment with 100 µg/ml MAE significantly inhibited H₂O₂-induced apoptotic cell death (35%). In this study, MAE was shown to decrease undergoing apoptotic cell rate in H₂O₂-treated MIN6N beta-cells.

C. Mechanism analysis and *In vitro* anti-diabetes efficacy evaluation

(1) Western blot analysis

To further analyze the effects of MAE on inhibition of apoptosis, the effects of MAE on apoptosis signaling pathways such as Caspase-3 and AIF (Apoptosis Inducing Factor), plays an essential role as executioner in apoptosis, were studied by western blot analysis. MIN6N beta-cells were cultured in H₂O₂ condition, with or without MAE and then the phosphorylation levels for cleaved caspase-3 and AIF were examined. The cleaved form of caspase-3 was appeared in H₂O₂-treated group. However, MAE (from 50 to 70 µg/ml) dose dependently inhibited the H₂O₂-dependent phosphorylation of caspase-3 and AIF proteins. Furthermore, it is well known that anti-oxidative enzymes such as catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) have major effects on the apoptosis signaling pathway. The two anti-oxidative enzymes were distinctly appeared in H₂O₂-treatedgroup. However, pre-treatment with MAE reduced the SOD and CAT expression compared with H₂O₂-treated group.

(2) In vitro anti-diabetes efficacy evaluation

The evaluation of anti-diabetic efficacy, effect of MAE on insulin release and glucose uptake in MIN6N beta-cells, pre-treatment with MAE produced an increase in insulin secretion and glucose uptake in a dose-dependent manner compared with the H₂O₂-treated group.

D. *In vivo* anti-diabetes efficacy evaluation

(1) Measurement of body and organs weight

Changes body and organs weight in normal and experimental groups are measured for 4 weeks. Loss of body weight was observed in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice compared to normal mice. But, treatment with MAE mice improved the body weight as compared to diabetic mice. Also, the weight of organs such as liver, heart, and kidney was not change in the MAE treated group compared to the diabetic mice except the spleen, treatment with MAE mice decreased the spleen weight as compared with increased spleen weight of diabetic mice. Thus, it was seemed that MAE may can be protection against weight changes.

(2) Measurement of insulin secretion and blood glucose level

The level of serum insulin significantly decreased in the STZ-induced diabetic mice caused by the destruction of pancreatic beta-cells as compared with normal mice. The administration of the MAE mice increased the levels of serum insulin as compared to diabetic mice. These results suggest MAE improved the insulin release of STZ-induced diabetic mice. The level of blood glucose related with insulin release increased in the STZ-induced diabetic mice. But, the administration of the MAE mice decreased the levels of blood glucose as compared to diabetic mice.

(3) Measurement of cholesterol and neutral fat

The level of cholesterol and neutral fat significantly increased in the STZ-induced diabetic mice as compared with normal mice. The administration of the MAE decreased the levels of cholesterol and neutral fat as compared to diabetic mice. These results suggest MAE inhibits the level of cholesterol and neutral fat induced diabetic mice.

E. Supplement research

(1) Separate purification of anthocyanin isolated from Mulberry

Cell viability was greater than 85% in the presence of H₂O and EtOH extracts, up to a concentration of 200 µg/ml and in the case of EtOH extract, viability was still

above this value (91.5%) at a 200 µg/ml dose. DPPH scavenging activity of 100%, 70%, 50% and 30% ethanol mulberry extract increased in the concentration of 70 µg/ml, but the best DPPH scavenging activity was 70% ethanol mulberry extract. It was confirmed that the antioxidant activity is increased in a manner dependent on the concentration of the mulberry extract. This DPPH scavenging activity showed a high radical scavenging effects of 68.9% at a concentration of 300 µg/ml. All fractionated extracts were able to scavenge intracellular ROS in dose-dependent manner. Consistent with its protective effects on cell viability, 70% EtOH extract was a much more effective suppressor of intracellular ROS compared with other fractions. The ROS scavenging activity increased up to about 34.1% at 70% EtOH extract 70 µg/ml compared to cells treated only with H₂O₂. All fractionated extracts were able to lipid peroxidation inhibitory activity in dose-dependent manner. The inhibitory effect of 30%, 50%, 70%, and 100% EtOH extracts were 21.6%, 32.5%, 32.5% and 22.6% at 70 µg/ml compared to cells treated only with H₂O₂, respectively. These results indicated that the ability of fractionated EtOH extracts to inhibit lipid peroxidation on H₂O₂ condition might be due to their intracellular ROS scavenging activity. The 70% EtOH extract was found to possess the highest total monomeric anthocyanin content among various concentrations EtOH extracts, which is 25% higher than other EtOH extracts. The pure cyanidin-3-glucoside standard (kuromanin chloride) and purified anthocyanin isolated from mulberry were identified by high performance liquid chromatography (HPLC) retention time.

(2) Anti-diabetic efficacy of Cyanidin-3-glucoside isolated from Mulberry

Since high-glucose (HG) condition increase osmolarity in cells, the MIN6N beta-cells were also cultured with 25 mM mannitol, osmotic control, to distinguish the effects of glucose and osmotic pressure. The HG-dependent increase into 7.6 times of intracellular ROS level and green fluorescence intensity was dramatically decreased after pretreatment C3G 70 µg/ml compared with HG group. Also intracellular ROS was visually observed through a fluorescence microscope. HG, but not mannitol, caused 33.9% of the cells to undergo apoptosis. However, pretreatment with 70 µg/ml C3G significantly inhibited HG-induced apoptotic cell death (24.8%). To further analyze the effects of C3G on inhibition of apoptosis, the effects of C3G on mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathways were studied by western blot analysis. The phosphorylation levels for ERK, JNK, p38 were examined. C3G (50 and 70 µg/ml) dose dependently inhibited the HG-dependent phosphorylation of MAPK proteins, mitochondrial permeability-mediated activation of apoptotic proteins, such as Bcl-2 family proteins, and cytochrome c were examined. This study confirmed the release of cytochrome c and expression of Bcl-2 family proteins that protein expression of Bcl-2 was decreased and Bax was increased in HG-treated cells. In contrast, expression of the Bcl-2 family proteins was regulated similar to the

control in C3G 70 µg/ml pretreatment group. Caspase-3 plays an essential role as executioner in apoptosis. The cleaved form of caspase-3 was appeared in HG-treated group. However, pre-treatment with C3G 70 µg/ml reduced the cleaved caspase-3 compared with HG-treated group. Nuclear factor-kappa B (NF-κB) has been known to be involved in oxidative stress-induced cell death in different cell type. HG-induced nuclear translocation of NF-κB p65 was inhibited by pre-treatment with C3G 70 µg/ml. As a final step for the evaluation of anti-diabetic efficacy, effect of C3G on insulin release in MIN6N beta-cells, Pre-treatment with 70 µg/ml C3G produced an increase in insulin secretion (84.2%) compared with the HG-treated group (74.8%).

V. Research Achievements and Applications

A. Research achievements

- (1) Paper publication (SCI/SCIE) 4
- (2) Proceedings 6

B. Application of research achievements

- (1) Application for production of high quality functional food through transferring the technology developed biotechnology-related enterprise
- (2) Development of adjuvant mitigating side effects of existing diabetes medicine
- (3) Application for various field of materials such as medicine using antioxidant activity as well as functional food, cosmetic
- (4) Utilization to enhance the productivity about application of various functional food manufacturing
- (5) Development of technology to estimate competitive antidiabetes effects through mechanism on active compound
- (6) Development of functional food to prevent diabetes and adult disease

CONTENTS

SUMMARY	363
CONTENTS	371
Contents	375
Chapter 1. Introduction of Project	379
Chapter 2. Current status on Domestic and Foreign Technology	383
Chapter 3. Results of Research	387
Section 1. Cytotoxicity and efficacy evaluation of anti-oxidative activity	387
1. Cytotoxicity of sample	387
A. Culture conditions	387
B. Cell viability and selection of concentration	387
2. Anti-oxidative activity	389
A. DPPH radical scavenging activity	389
Section 2. Efficacy evaluation of anti-apoptosis and proliferation	391
1. Protective effect of Mulberry extracts	391
A. Protective effect on Hydrogen peroxide-induced cell death	391
(1) Optimal concentration of Hydrogen peroxide	391
(2) Cyto-protective effect of sample group A	391
(3) Cyto-protective effect of sample group B	394
(4) Cyto-protective effect of sample group C	396
B. Recovery ability on H ₂ O ₂ -induced cell death	396
2. Intracellular ROS scavenging activity	399
A. Efficacy evaluation of ROS scavenging activity	399
(1) Sample group A	399
(2) Sample group A - fluorescene microscope	399
(3) Sample group B	403
(4) Sample group C	405
B. Lipid peroxidation inhibitory activity	407
3. Anti-apoptosis activity	409
A. Efficacy evaluation of anti-apoptosis	409

B. DNA fragmentation analysis	409
Section 3. Mechanism analysis and <i>In vitro</i> anti-diabetes effects	413
1. Signaling analysis	413
A. Western blot	413
(1) Apoptosis related protein activity	413
(2) Anti-oxidative enzyme activity	413
2. <i>In vitro</i> anti-diabetes efficacy evaluation	414
A. Insulin secretion analysis (<i>In vitro</i>)	414
B. Glucose uptake analysis	416
Section 4. In vivo anti-diabetes efficacy evaluation	417
1. Effects of mulberry extracts on STZ-induced diabetic mouse	417
A. Identification STZ-induced diabetic ICR mouse	417
B. Measurement of animal weight	417
(1) Measurement of body weight	417
(2) Measurement of organ weight	417
C. Measurement of blood glucose and insulin secretion	420
(1) Measurement of blood glucose	420
(2) Measurement of insulin secretion	420
D. Measurement of cholesterol and neutral fat	422
(1) Measurement of cholesterol	422
(2) Measurement of neutral fat	422
Section 5. Supplement research	423
1. Separate purification of anthocyanin isolated from Mulberry	423
A. Efficacy evaluation of mulberry Et-OH extracts	423
(1) Cell viability	423
(2) DPPH radical scavenging activity	423
(3) Intracellular ROS scavenging activity	426
(4) Lipid peroxidation inhibitory activity	426
B. Separate purification of anthocyanin and confirm total content	428
(1) Confirm total anthocyanin content	428
(2) Separate purification of anthocyanin	428
(3) HPLC analysis of C3G	428

2. Anti-diabetic efficacy of Cyanidin-3-glucoside isolated from Mulberry	431
A. Efficacy evaluation of anti-apoptosis and anti-oxidative activity	431
(1) Cyto-protective effect of C3G	431
(2) Intracellular ROS scavenging activity of C3G	431
(3) Anti-apoptosis effect of C3G	434
B. Mechanism analysis of protective effects	436
(1) MAPK signaling	436
(2) Bax, Bcl-2, Cytochrome C	436
(3) Apoptosis factor	437
C. Insulin secretion analysis	440
Chapter 4. Attainment of Objectives and Contribution	442
Chapter 5. Applications of the Results	443
Chapter 6. Scientific and Technological information from Abroad	446
Chapter 7. References	447
Chapter 8. Result evidence data	450

목 차

요 약 문	355
SUMMARY	363
CONTENTS	371
목 차	375
제 1 장 연구개발과제의 개요	379
제 2 장 국내외 기술개발 현황	383
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	387
제 1 절 췌장베타세포 독성평가 및 항산화 활성 효능평가	387
1. 췌장베타세포 독성평가	387
가. 췌장베타세포 배양조건	387
나. 독성평가 및 농도 분석	387
2. 항산화 활성 효능평가	389
가. DPPH radical 소거능 평가	389
제 2 절 세포사멸 및 증식 효능평가	391
1. 세포 보호능 및 회복능 평가	391
가. H ₂ O ₂ 로부터 세포사멸 보호능 평가	391
(1) 과산화수소(H ₂ O ₂) 농도선별	391
(2) 세포 보호능 평가 (시료군 A)	391
(3) 세포 보호능 평가 (시료군 B)	394
(4) 세포 보호능 평가 (시료군 C)	396
나. H ₂ O ₂ 로부터 세포사멸 회복능 평가	396
2. 세포 내 활성산소 소거능 평가	399
가. 활성산소 소거능 평가	399
(1) 시료군 A - Microplate reader	399
(2) 시료군 A - 형광 현미경	399
(3) 시료군 B	403
(4) 시료군 C	405
나. 과산화지질 억제능 효능평가	407
3. 세포사멸 저해 효능평가	409
가. Apoptosis 저해 효능평가	409

나. DNA fragmentation 분석	409
제 3 절 메커니즘 규명 및 In vitro 항당뇨 효능평가	413
1. 내부 신호 분석	413
가. Western blot	413
(1) Apoptosis 관련인자 확인	413
(2) 항산화 효소 활성 확인	413
2. In vitro 항당뇨 효능평가	414
가. 인슐린 분비능 확인 (In vitro)	414
나. 포도당 흡수능 평가	416
제 4 절 In vivo 항당뇨 효능평가	417
1. 당뇨 유발 쥐를 이용한 오디 추출물 효능평가	417
가. ICR mouse를 이용한 당뇨 유발 실험	417
나. 체중 및 장기무게 측정	417
(1) 체중 측정	417
(2) 장기무게 측정	417
다. 혈중 인슐린 및 혈당 측정	420
(1) 혈중 인슐린 측정	420
(2) 혈당 측정	420
라. 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 측정	422
(1) 혈중 콜레스테롤 측정	422
(2) 혈중 중성지방 측정	422
제 5 절 추가 연구 내용	423
1. 오디 유래 안토시아닌 분리정제	423
가. 에탄올 농도에 따른 추출물의 효능평가	423
(1) 에탄올 농도설정 (Cell viability)	423
(2) 에탄올 농도설정 (DPPH radical 소거능 평가)	423
(3) 에탄올 농도설정 (ROS 소거능 평가)	426
(4) 에탄올 농도설정 (과산화지질 소거능 평가)	426
나. 안토시아닌 분리정제 및 함량 확인	428
(1) 우수분획에서의 안토시아닌 함량 확인	428
(2) 안토시아닌 분리정제	428
(3) C3G의 물질 정제도 확인	428

2. 오디로부터 분리된 C3G의 항당뇨 효능평가	431
가. 세포사멸 및 항산화활성 효능평가	431
(1) 고혈당 농도 선별 및 세포 보호능 평가	431
(2) C3G의 활성산소 소거능 평가	431
(3) C3G의 세포사멸 보호능 평가	434
나. 세포보호 작용 메커니즘 확인	436
(1) MAPK signaling	436
(2) Bax, Bcl-2, Cytochrome C 확인	436
(3) Apoptosis 관련인자 확인	437
다. 인슐린 분비능 확인	440
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	442
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	443
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	446
제 7 장 참고문헌	447
제 8 장 실적 증빙 자료	450

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 당뇨

- 당뇨병이란 췌장 베타세포가 인슐린을 제대로 분비하지 못하거나, 타 세포가 인슐린을 인식하지 못하면서 혈중의 당이 소비되지 못하고 소변으로 나오게 되는 당대사 장애의 일종으로 장기간 지속 되었을 때, 혈관, 신장, 뇌 등 체내 대부분의 기관에 손상을 주게 되고 결국은 합병증으로 발전함 [1-3].
- 당뇨병은 일반적으로 인슐린 의존형 당뇨병(Type I)과 인슐린 비의존형 당뇨병(Type II)로 나눌 수 있음 [4-5]. 우리나라는 근래에 급속한 사회적 경제적 발전과 더불어 과식, 운동부족, 스트레스 증가 등으로 인하여 당뇨병 인구가 늘고 있는 추세임 [6-7].

Forms	Symptoms
Type I/IDD (Insulin Dependant Diabetes)	<i>Auto immune disorder</i> → <i>Insulin-producing cells destroyed</i>
	- Daily insulin replacement necessary - Age of onset: usually childhood, young adulthood - Most prevalent type of diabetes in children and adolescents
Type II/NIDD (Non-Insulin Dependent Diabetes)	<i>Not enough insulin production</i> + <i>Insulin resistance</i>
	- The elderly (increasingly common in children) - Some times insulin-injection requirement - Most overweight or obese
<i>Etc</i>	- Genetic mutations, abnormal insulin action, many drugs etc

< 당뇨의 분류 >

- 현재 전체 인구 4,600만명 중 5%인 230만명 정도가 당뇨병 환자인 것으로 추정되고 있으나, 이중의 반 이상은 아직 자신이 당뇨병 환자임을 모르고 지내고 있는 실정임. 한국당뇨병학회는 우리나라 성인의 당뇨병 유병률은 10%선으로 최소 300만 명에서 최대 500만명 정도가 당뇨병 환자로 추산되며, 지속적으로 증가 추세에 있다고 보고함.

구 분	2008년	2010년(예상)
세계당뇨시장	17조원	30조원
한국당뇨시장	3,000억원	4,500억원

* 관련 자료근거 : 2008' Global industry 조사 보고서

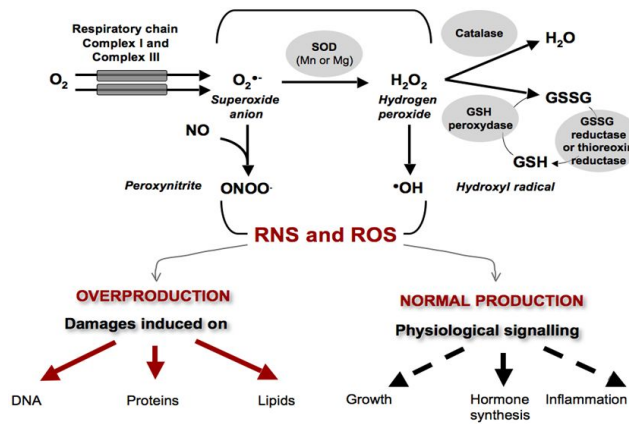
< 당뇨시장 >

2. 당뇨와 항산화

- 당뇨병은 산화 스트레스가 증가된 상태일 수 있기 때문에, 당뇨병 환자에 항산화 비타민을 투여하는 것에 많은 관심이 있어 왔음. 일반적으로 비타민C, 비타민E, 셀레늄, 베타카로틴, 카로티노이드와 같은 항산화제의 투여로 인한 심혈관질환, 당뇨병, 또는 암 예방 효능은 증명되지 않음. 비록 일부 연구에서 항산화제들의 투여와 심장 혈관계의 긍정적인 효능에 대한 연관성을 시사한 바 있었지만, 대규모 위약 비교 연구에서 효능을 입증하는데 실패하였고, 어떤 경우에는 항산화 비타민들의 부작용이 생길 수 있음을 시사하였음.
- 현재 베타세포의 손상을 입는 것을 제1형 당뇨병의 근본적인 원인이라고 보고 있으며 그 손상의 원인이 산화적 스트레스라고 연구를 통해 알려져 있음 [8-11]. 또한 이러한 산화적 스트레스로 인한 점진적인 췌장 베타세포 기능 이상은 제2형 당뇨병에서 인슐린 저항성을 더욱 증가한다고 함. 그렇기에 가장 근본적인 원인인 베타세포에서의 항산화 효능을 통하여 항당뇨 효과를 볼 수 있음.
- 본 연구에서는 췌장 베타세포에서의 항산화 활성에 의한 항당뇨 효능의 연관성을 입증하려고 함.

3. 당뇨와 활성산소

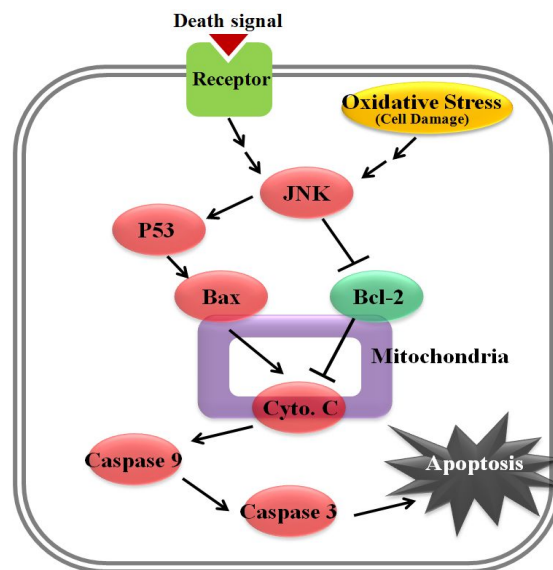
- 췌장 베타세포가 고농도 당에 노출되었을 때, 과도한 대사 작용으로 인해 미토콘드리아 세포막의 전자전달계에서 superoxide(O_2^-) 등의 reactive oxygen species(ROS) 들이 과량 생성됨 [12-14]. 이렇게 생성된 ROS는 직접적으로 또는 advanced glycation end product(AGE) pathway, polyol pathway, hexosamine pathway 등의 경로를 통해서 췌장 베타세포에 손상을 입히고 그 기능을 저하시킴 [15-17]. 이는 인슐린 분비능을 저하시키는 결과를 초래하고 제2형 당뇨와 합병증으로 이어짐. 최근 연구에서는 항산화제가 췌장 베타세포의 산화적 스트레스로부터 세포를 보호한다는 보고가 있음 [18-22].
- 항산화제가 세포내 ROS로부터 췌장 베타세포를 보호하는 방법으로는 superoxide dismutase (SOD), catalase 및 glutathione peroxidase(GPx) 같은 항산화 효소활성과 ascorbic acid, polyphenol류 같은 저분자 물질의 ROS scavenging 작용과 hydroxyl radical 생성 반응(fenton reaction)의 trigger 인 Fe^{2+} 등의 metal ion chelating 과정이 있음 [23-24].
- 본 연구에서는 항산화 효소 활성화와 활성산소 제거에 초점을 맞추고자 함.



< 체내 활성산소 생성과 보호기작 >

4. 산화적 손상에 의한 췌장 베타세포의 세포자살 (Apoptosis)

- 세포자살이란 세포가 유전자에 의해 제어되어 죽는 방식의 한 형태로 세포의 괴사나 병적인 죽음인 네크로시스와는 구별됨 [25-26]. 발생 과정에서 몸의 형태 만들기를 담당하고, 성체에서는 정상적인 세포를 갱신하거나 이상이 생긴 세포를 제거하는 일을 담당함.
- 세포자살은 세포축소, 세포막 역전, DNA 축소 및 단편화 등의 외형적 특성과 JNK, p53, Bax, Cyt C, Caspase 활성화 등의 내부적 특성으로 구분되어질 수 있다 [27-28].
- 최근 다양한 연구를 통하여 산화적 스트레스에 의해 췌장 베타 세포의 세포자살의 발생이 보고되고 있음 [29-37].
- 본 연구에서는 산화적 스트레스에 의한 췌장 베타세포의 세포자살과 항산화 물질에 의한 세포자살 보호효과에 초점을 맞추고자 함.



<세포자살 관련 세포내 signal>

5. 당뇨와 기능성식품

- 당뇨병을 포함하여 대사증후군으로 지칭되는 질병들이 현저하게 증가되고 있는 현재 건강에 대한 욕구와 삶의 질에 대한 개념이 확산되면서, 건강에 도움이 되고 아울러 안전한 식품에 대한 요구도가 증가됨. 많은 식품업체에서는 이에 부응하여 건강증진 기능을 갖는 식품의 개발에 역점을 둠.
- 당뇨병 치료를 위해 가장 중요한 지침은 식사요법, 운동요법 및 생활요법이고 필요시 약물요법을 병행하는 것이나 실제로 많은 당뇨질환자들은 관련 기능성식품에 의존하고 있으며 그 효능에 대한 검증도 없이 사용하는 경우가 많음.

6. 전망

- 당뇨 인구의 급격한 증가로 건강 기능성식품에 대한 수요급증 현상에 맞추어 다양한 소재의 연구개발이 진행될 것임.
- 객관적인 효능 입증을 거치지 않은 무분별한 소재 개발을 지양하고 다양한 효능 검정을 통해 소재의 부가가치를 향상시키는 방향으로 연구개발이 진행될 것임.
- 과량의 항산화제 섭취로 인한 부작용이 보고되고 있기 때문에 의약품보다는 고기능성식품소재로의 활용이 더 선호될 것으로 기대됨.

7. 연구개발 필요성

- 모든 질병의 근본적인 치료로, 항산화에 대한 관심이 집중되고 있는 가운데, 오디가 갖는 항산화 효능에 의한 항당뇨 효능의 객관적 증명은 기능성식품 소재의 가치상승 및 신뢰성을 증대할 수 있음.
- 체계적인 항산화 및 항당뇨 효능검증을 통해 기능성식품으로서 신뢰감을 주고 객관성을 획득함으로써 자실체와도 견줄 수 있는 고부가가치, 고기능성식품 소재를 개발함.
- 현재 항산화, 당뇨라는 주제는 기능성식품 소재뿐만 아니라 화장품, 의약품 분야 등의 주요 연구 분야이기 때문에 본 소재는 일회성 개발로 끝나는 것이 아니라 여러 분야에 응용될 수 있음.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내외 연구현황

1. 국내 기술동향

- 우리나라는 천연으로부터 보다 안전하고 강한 활성을 지닌 신규 천연 항산화제의 개발에 집중하고 있으며 그 재료로는 미생물 대사산물, 버섯류, 해양생물, 식물, 동물, 식품 가수분해산물 등을 있음. 그중에서도 버섯류에 대한 연구는 활발히 진행되고 있으며 항산화, 항암, 항아토피, 항당뇨등 여러 분야에서 많은 버섯류의 연구가 진행되었고 진행되고 있음.
- 기능성식품 소재 개발연구는 많은 경험과 노하우가 필요한 분야로 아직은 초기단계임. 하지만 항산화 성분을 이용한 기능성 식품 시장은 선진국과 같은 형태로 발전할 것으로 예측됨.

2. 국외 기술동향

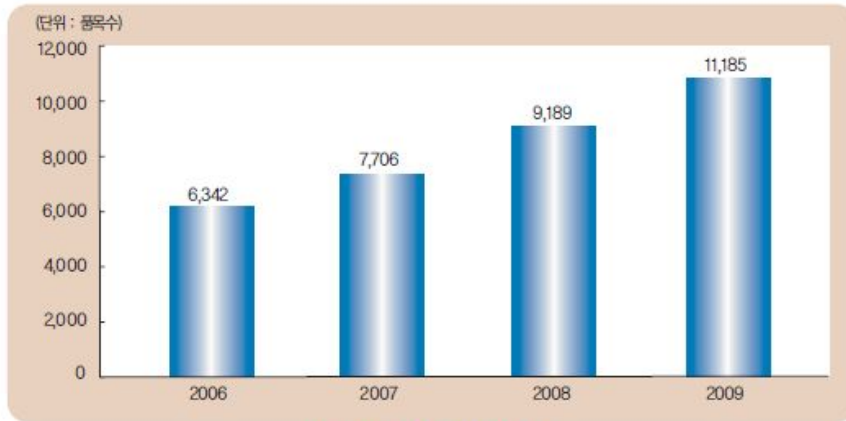
- 미국은 천연 항산화제의 개발 및 이의 응용을 위한 생물학적 기능 연구가 진행되고 있으며 산화작용과 항산화 방어기구 및 생물계에서 산화제와 항산화제의 연구가 중점을 진행되고 있으며 노화, 허혈, 피부질환, 장기손사, 당뇨, 암 등에서 항산화제 기능연구가 진행중임.
- 유럽의 경우 리딩대학에서 플라보노이드, 비타민C, 토코페롤을 중심으로 천연물 연구가 진행되고 있으며 독일은 항산화제의 기작과 작용 증명, 세계적으로 산화기작 연구에 선두임.
- 일본의 경우 특정 기능성 식품의 형태에 대한 규제가 완화됨으로써 다양한 종료 기능성 식품이 시장에 나오고 있음. OEM을 비롯하여 제조신청이 간소화되어 기능성식품의 신고 허가 승인이 빨라졌음.
- 당뇨에 효과가 있는 기능성 식품의 국가별 점유율에 대한 특허청의 조사에 따르면 당뇨에 효과가 있는 바이오 기능성 식품의 국가별 점유율을 보면 일본 438건으로 가장 많은 출원이 이루어지고 있으며 그 뒤를 한국이 390건으로 뒤를 잇고 있음.
- 이는 한국, 일본 등 동양권 국가에서는 식품을 약과 동일시하는 전통적인 사상에 의해 질병의 예방 및 치료를 위해 식품과 함께 발전되어 왔기 때문에 많은 출원이 나타나고 있다고 판단됨.

3. 국내 시장규모

- 한국의 식품 시장은 전체 시장 규모는 35조 수준으로 최근 연간 1%에도 못 미치는 낮은 성장율을 보이고 있음. 하지만 식품에 대한 소비자들의 인식 수준이 높아지고 요구도 다양화되는 추세이며 웰빙과 로하스등의 개념이 식품 산업에도 도입되고 있는 실정임. 이

에 따라 기능식품 시장은 매년 성장을 하고 있는 실정임.

- 건강 기능식품 시장은 80년대에 도입기를 거쳐 90년대 IMF 시기에 잠시 마이너스 성장을 보인 이후 지속적으로 성장을 거듭해 오고 있으며 앞으로 3~4년후부터는 성숙된 시장으로 진입할 것으로 예측하고 있음. 이미 건강 기능식품 시장은 작년 2조 5천억원의 시장 규모로 성장해 있으며, 금년에도 일부 품목군의 성장과 수입 제품의 증가와 신규로 시장에 침입하는 업체의 증가에 따라 전체 시장 규모는 소폭의 성장이 기대되고 있음. 현재 천연물 유래 향산화 식품소재 개발이 국내 생물산업의 원동력 역할을 할 전망이다.



[건강기능식품 품목 수]

* 관련 자료근거 : 식약청, 식품의약품통계연보 (2010)

- 건강기능식품 품목 수는 '09년 현재 11,185품목으로 전년(9,189품목) 대비 21.7% 증가함. '09년 매출액은 9,598억원으로 전년(8,031억원) 대비 19.5% 증가함.
- 국내 기능성식품 시장은 약 2,500 여종의 제품이 판매되고 있으나, 특허를 받은 제품은 1,300여종으로 절반수준에 머물고 있음. 2007년 건강기능식품 제조업소는 332개소, 수입업소 2,100개소, 일반판매업 37,693개소, 유통전문판매업소 840개소로 나타났으며, 이는 2006년도에 비하여 판매업소가 대폭 감소된 것으로 집계되었음. 과학적 효능에 대한 검증 없이 유통이 되고 있는 제품들이 다수 포함되고 있는 것으로 나타나 적절한 규제가 시급한 실정임.

4. 국외 시장규모

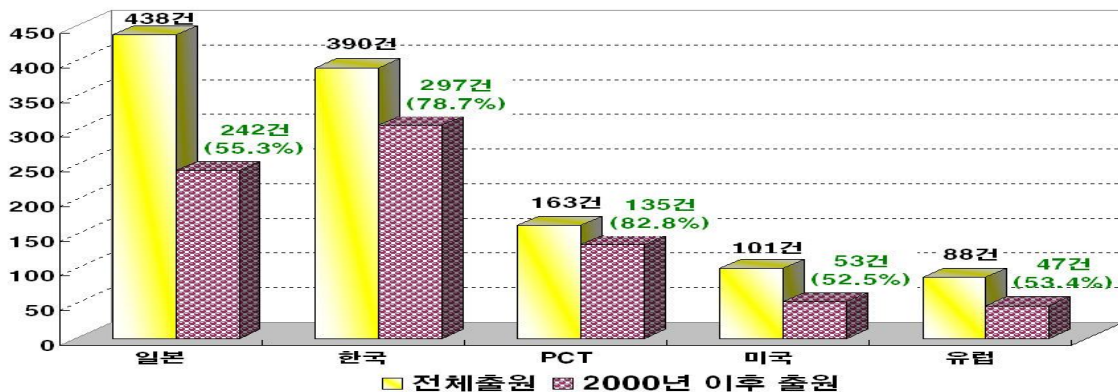
- 전세계 기능성 식품 시장은 꾸준히 성장을 거듭하고 있으며 2007년에도 10%이상의 성장을 예측하고 있음. 미국의 경우 건강식품 산업 시장은 2006년 총 약 849억 달러로 나타났으며 이것은 세계 시장 2,261억 중 약 38%를 차지하고 있음. NBJ(2006) 자료에 따르면 매년 성장하는 건강식품 산업 시장 중 향후 'Natural Personal Care'와 자연 유기식품 군이 10%정도 성장할 것으로 추정되며 비타민 및 식이보충용제품 등의 성장은 비교적 저조할 것으로 예상되며 자가 치료운동에 기능성식품의 중요성이 강조가 되면서 중요한 역할을 맡고 있음.

- 일본의 건강식품 시장은 건강을 지향하는 분위기와 고령화로 인해 최근 몇 년간 지속적인 성장을 보이면서 주목받고 있음. 2005년도의 건강식품(의약품 형상의 것)의 시장규모는 전년도에 비해 2.8% 증가한 7039억엔 규모이나 최근 몇 년간의 성장률에 비해 둔화됐으며 일본의 민간시장경제연구소인 야노경제연구소에 따르면 2006년 시장은 마이너스 성장을 기록할 것이라고 예측했음. 또한, 건강식품 시장의 성장이 지속된 요인으로 2005년도 중반까지는 코엔자임 Q10이나 알파리포산의 히트 등을 들고 있고, 성장률 둔화 요인으로는 건강식품에 대한 법 규제 및 행정 감시의 강화, 부정 상법 적발 등에 의한 소비자 심리 악화 등 건강식품 비즈니스를 둘러싼 환경이 점점 더욱 불리해져 가고 있다고 지적했음. 후지경제연구소에 따르면 2006년 기능성 건강식품의 시장규모를 효능별 세부품목으로 나누면 다이어트식품이 1,071억엔으로 최대규모가 될 것으로 전망하고 있으며 그 다음으로 생활습관병 예방식품 820억엔, 피부미용식품 588억엔, 시력개선작용식품 207억엔의 순이었음. 건강식품을 둘러싼 일본의 시장환경은 그다지 좋은 것은 아니나 그럼에도 불구하고 확대가 가능했던 것은 소비자들의 필요 요구의 증가에 있음. 최근 소비자동향조사에서 반을 넘어선 이용자들이 건강식품이 일회성의 붐이 아니라 정착된 하나의 시장을 형성하며 성장을 계속해왔다고 조사되었음.
- 21세기 식품산업은 생체조절 활성이 강조된 기능성식품 또는 약용식품이 식품시장을 주도할 전망이며 2005년 약 20조원의 시장형성과 더불어 의약품과의 구별이 불명확한 상황으로 전개되고 있음. 기능성 제품에 대한 규제가 시장 성장에 장애가 될 가능성이 있음.

구 분	2002년	2007년	2010년(예상)
세계건강보조식품시장	138조원	377조원	500조원
한국건강보조식품시장	1,500억원	7,215억원	10,000억원

* 관련 자료근거 : Nutriton Business Journal, 2003 Food Technology, USA (2003)
 식품의약품안전청, 2007년도 식품 및 식품첨가물 생산실적, 2008

< 보조식품시장 규모 >



* 관련 자료근거 : 2006' 특허청보고서

<당뇨에 효과가 있는 바이오 기능성 식품 분야 특허출원(등록) 동향>

- 2000년대 이후의 한국 출원건수가 전체 건수의 79%로 이 분야 개발이 활발함을 뜻함. 다만, 최근 2000년도 이후의 국제출원 비율은 약 83%로서 매우 높게 나타나고 있는데, 이는 최근 완성도 높은 기술을 해외에 적극 출원한 결과, 그 출원 경향이 상승한 것으로 판단됨.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 췌장베타세포 독성평가 및 항산화 활성 효능평가

1. 췌장베타세포 독성평가

가. 췌장베타세포 배양조건

(1) 췌장베타세포주 선정 : Mouse insulinoma인 MIN6N beta-cells

(가) 배지는 11 mM glucose를 포함한 DMEM 배지에 10% FBS, 1% Steptomycin/Penicillin 함유

(나) 100 mm dish에는 2.5×10^6 마리 접종 후 37 도, 5% CO₂에서 2일간 배양

(다) 48시간 마다 Cell transfer 하여 새로 2.5×10^6 마리 접종 하여 Cell culture

(라) 12 well에는 2.5×10^5 , 6 well에는 8×10^5 세포 접종 후, 24시간 sub-culture

나. 독성평가 및 농도분석

(1) 분획별 오디 추출물의 세포독성 평가

(가) 분획별 오디 추출물을 농도별(0~1000 µg/ml)로 MTT assay를 통해 MIN6N beta-cells에 대한 독성평가를 수행함.

(나) 췌장베타세포 MIN6N beta-cells를 12 well plate에 접종하여 24시간 전배양

(다) 농도별, 분획별 시료를 처리하고 24시간 배양

(라) MTT solution을 처리하여 형성된 formazan 결정체를 Iso-propylalcohol에 용해하여 595 nm 흡광도를 측정

① 그림 1. MA (A) 군은 오디 추출물이 400 µg/ml 의 농도까지 세포생존률 94% 이상을 유지함. 500 µg/ml에서 세포 생존률이 69% 로 떨어지며 500 µg/ml 이상의 농도에서 독성을 나타낸다고 판단함.

② 그림 1. MAE (B) 군은 500 µg/ml 의 농도까지 세포생존률 84% 이상을 유지함. MA(A) 군과 비교하여 조금 더 낮은 세포독성을 보인다고 판단함.

③ 그림 1. MAB (C) 군은 500 µg/ml 의 농도에서 세포생존률 80.8% 를 보임. MAE(B)군과 유사한 세포독성을 나타낸다고 판단함.

④ 그림 1. MAH (D) 군은 400 µg/ml 의 농도에서 86% 이상을 유지함. 500 µg/ml 의 농도에서 75% 로 떨어지며 세포독성을 나타낸다고 판단함.

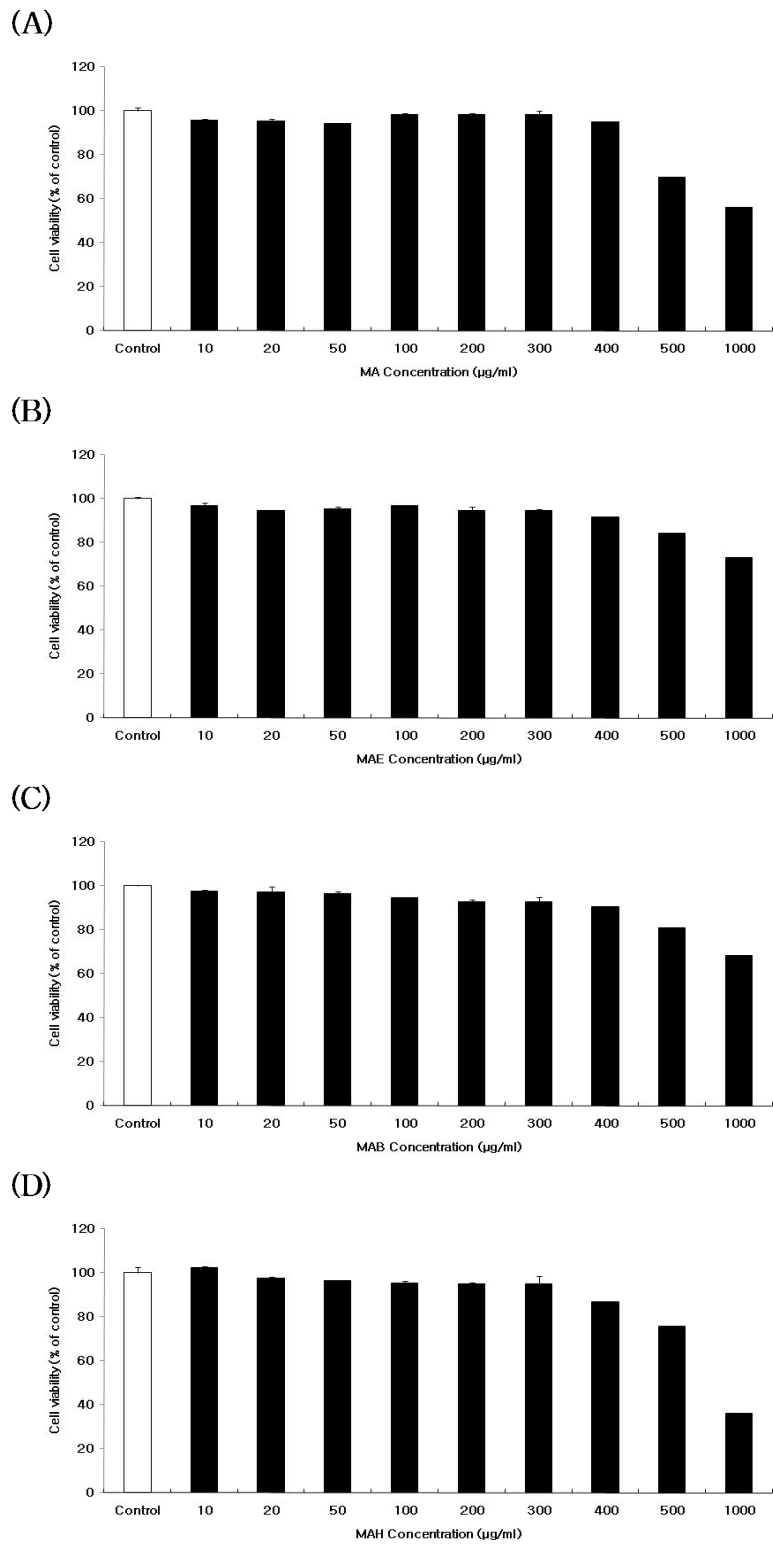


그림 1. 분획별 오디 추출물의 세포독성 평가

(A) MA (*Morus Alba* EtOH fr.) (B) MAE (*Morus Alba* EtOAc fr.)
 (C) MAB (*Morus Alba* n-BuOH fr.) (D) MAH (*Morus Alba* H₂O fr.)

2. 항산화활성 효능평가

가. DPPH radical 소거능 평가

(1) 분획별 오디 추출물의 농도에 따른 DPPH radical 소거능

(가) 세포독성도 평가 후 독성이 없는 농도 내에서 항산화활성을 확인할 수 있는 과산화물 소거능 평가중에 하나인 DPPH radical scavenging activity를 진행함 [38].

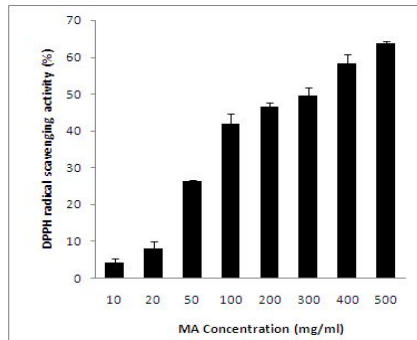
(나) 분획별 오디 추출물과 DPPH solution 섞은 후, 10분간 반응

(다) 520 nm에서 흡광도 측정

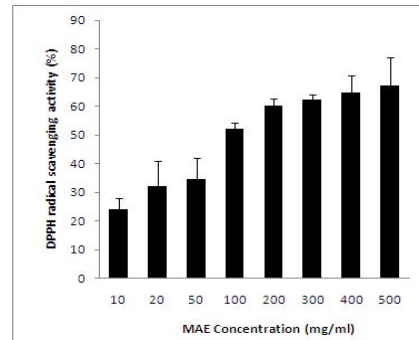
(라) Radical인 DPPH가 분획별 오디 추출물에 의해 소거되는 정도로 항산화활성을 확인

- ① 그림 2. MA (A) 군은 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도부터 DPPH 소거활성이 크게 증가하여 이후 농도 의존적으로 소거활성능이 증가함.
- ② 그림 2. MAE (B) 군과 MAB(C) 군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도부터 DPPH 소거활성이 크게 증가하고 이후 농도에서 농도 의존적으로 소거활성능이 증가함.
- ③ 그림 2. MAH (D) 군은 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도부터 소거활성이 증가하고 이후 농도의존적으로 소거활성능이 증가함.
- ④ 세포에 독성이 없는 농도내에서 분획별 오디추출물이 농도의존적으로 항산화 활성을 나타냄을 확인함.

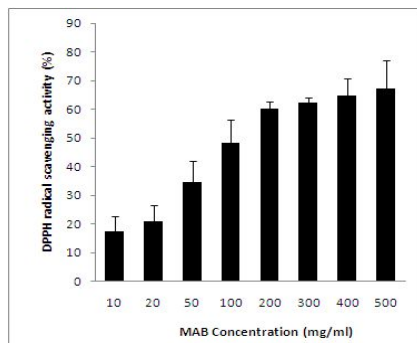
(A)



(B)



(C)



(D)

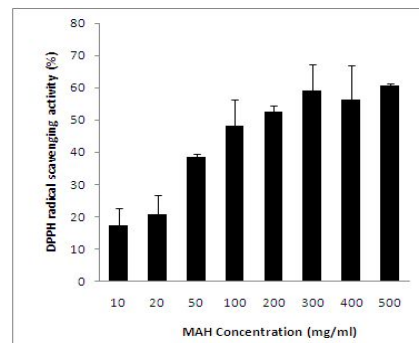


그림 2. 분획별 오디 추출물의 농도에 따른 DPPH radical 소거능 평가

(A) MA (*Morus Alba* EtOH fr.) (B) MAE (*Morus Alba* EtOAc fr.)

(C) MAB (*Morus Alba* n-BuOH fr.) (D) MAH (*Morus Alba* H₂O fr.)

제 2 절 세포사멸 및 증식 효능평가

1. 세포 보호능 및 회복능 효능평가

가. H₂O₂로부터 세포사멸 보호능 평가

(1) 과산화수소 (H₂O₂) 농도선별

(가) 농도별 과산화수소 (H₂O₂)로 MIN6N beta-cells 에 대해 4시간 동안 산화적 스트레스를 유발

(나) 0-1.0 mM 의 농도별 과산화수소를 4시간 처리 후 세포생존률 평가를 통하여 negative control 로의 최적 과산화수소 농도를 선별함.

① 그림 3. 에서 0.7 mM 의 농도에서 세포생존률 50.7% 를 보여 최적 농도로 선정함.

(2) 세포 보호능 평가 (시료군 A)

(가) 보호능 확인을 위해 MIN6N beta-cells를 12 well plate에 접종하여 24시간 전배양

(나) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

(다) 0.7 mM 과산화수소 (H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발, 4시간 배양

(라) 과산화수소 유도된 산화적 스트레스에 대한 분획별 오디추출물의 보호능을 세포생존률로 평가함.

① 그림 4. MA (A) 군은 50 µg/ml에서 control에 비해 약 13% 증가한 세포생존률을 보이며 산화적 스트레스에 대한 세포 보호능이 있음을 확인하였고, 이후 농도에서 최대 17% 의 세포생존률 증가를 확인함.

② 그림 4. MAE (B) 군은 50 µg/ml에서 control에 비해 약 11% 증가한 세포생존률을 보였고 100 µg/ml의 농도에서 control 에 비해 약 20% 세포생존률이 증가하여 보호능이 있음을 확인함.

③ 그림 4. MAB (C) 군은 300 µg/ml에서 control에 비해 약 11% 증가한 세포생존률을 보이며 MA (A)군과 MAE (B)에 비해 낮은 세포보호능을 확인함.

④ 그림 4. MAH (D) 군은 400 µg/ml에서 control 에 비해 약 14% 증가한 세포생존률을 보였고 500 µg/ml의 농도에선 독성으로 인하여 보호능이 감소하였고, MA (A) 군과 MAE (B)에 비해 낮은 세포보호능을 보임.

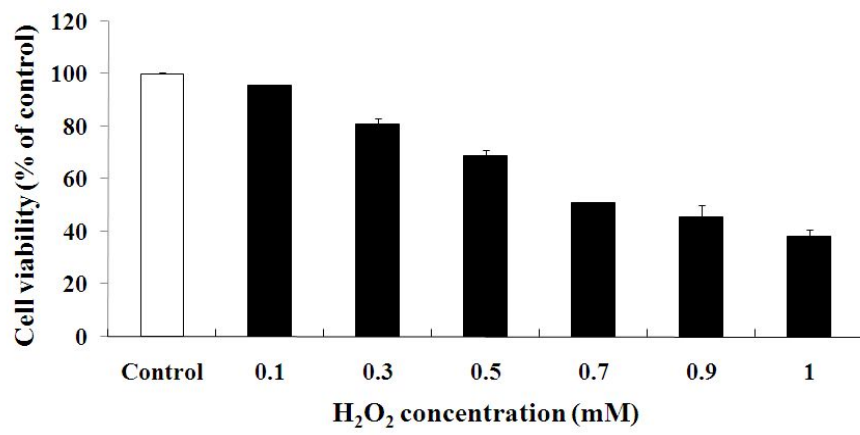


그림 3. 농도별 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스를 받은 MIN6N beta-cells의 세포 생존률

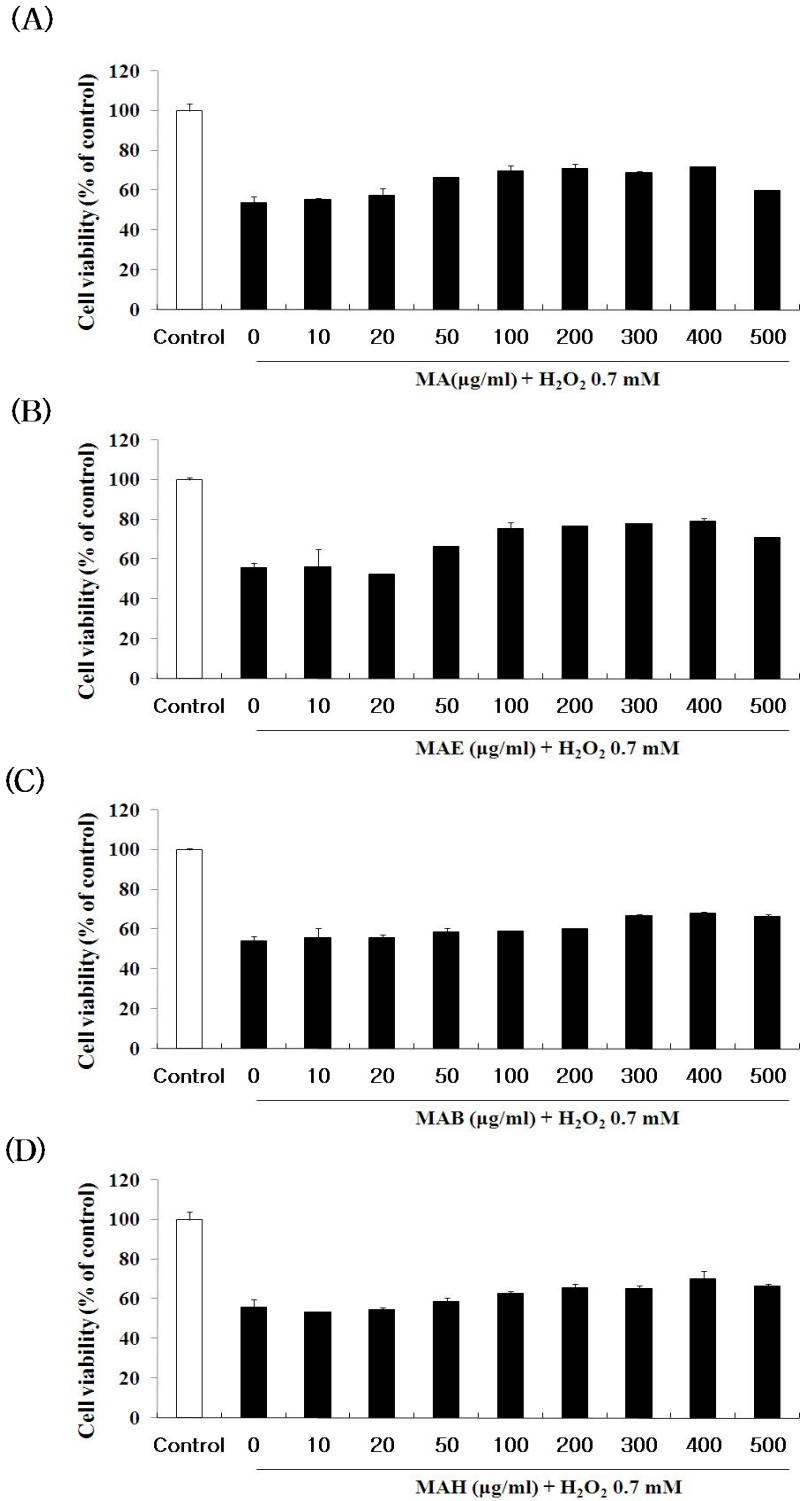


그림 4. 분획별 오디 추출물의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스에 대한 세포 보호능
 (A) MA (*Morus Alba* EtOH fr.) (B) MAE (*Morus Alba* EtOAc fr.)
 (C) MAB (*Morus Alba* n-BuOH fr.) (D) MAH (*Morus Alba* H₂O fr.)

(3) 세포 보호능 평가 (시료군 B)

(가) 1차년도 연구내용인 세포 보호능 평가 중 가장 우수한 시료군A의 MAE 분획을 용매별 극성과 물질의 분자량에 따라 세분화한 14가지 분획을 시료군 B라 하고 시료군B의 세포 보호능을 평가하고자 실험을 진행함.

(나) 세포 보호능 확인을 위해 MIN6N beta-cells를 12 well plate에 접종, 24시간 전 배양

(다) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

(라) 0.7 mM 과산화수소 (H_2O_2)로 산화적 스트레스를 유발, 4시간 배양

(마) 과산화수소 유도 산화적 스트레스에 대한 분획별 오디추출물의 세포보호능을 세포 생존률로 평가

- ① 그림 5. 시료군B의 MAE1 (A) 군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 약 75%의 세포생존률을 보이며 과산화수소 (H_2O_2) 처리군에 비해 약 20% 증가했고, 이후 400 $\mu\text{g/ml}$ 농도까지 농도 의존적으로 세포 생존률이 증가하여 최대 21%의 세포 생존률을 확인함.
- ② 그림 5. MAE2 (B) 군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 약 73%의 세포생존률을 보이며 과산화수소 (H_2O_2) 처리군에 비해 약 16% 증가하였고, 이후 400 $\mu\text{g/ml}$ 농도까지 농도의존적으로 세포생존률이 증가하여 최대 20%의 세포생존률을 확인함.
- ③ 그림 5. 그 외 시료군B의 실험군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 평균적으로 약 63~67%의 세포생존률을 보이며 이후 500 $\mu\text{g/ml}$ 농도까지 농도의존적으로 증가하여 과산화수소 (H_2O_2) 처리군에 비해 평균적으로 약 6~9%의 세포생존률 증가를 보였으나 동일 시료군 내 MAE1 (A) 및 MAE2 (B)군에 비해 낮은 세포보호능을 확인함.
- ④ 시료군B 14가지 분획 중 세포보호능 평가 결과 MAE1 (A) 및 MAE2 (B)군이 시료농도 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 가장 우수한 세포보호능을 보임을 확인함.

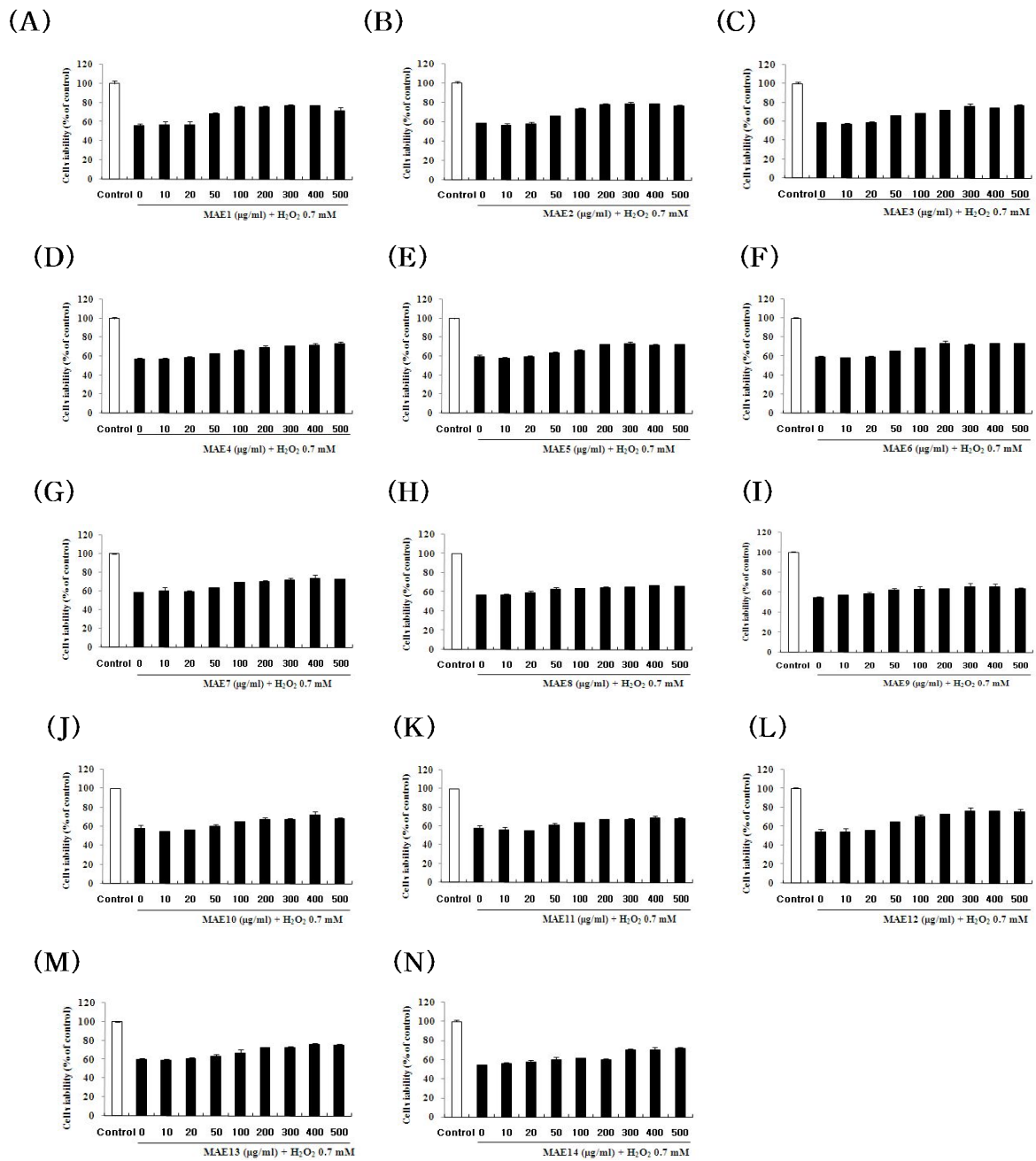


그림 5. 시료군B의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스에 대한 세포보호능
 (A)MAE1 (B)MAE2 (C)MAE3 (D)MAE4 (E)MAE5 (F)MAE6 (G)MAE7
 (H)MAE8 (I)MAE9 (J)MAE10 (K)MAE11 (L)MAE12 (M)MAE13 (N)MAE14

(4) 세포 보호능 평가 (시료군 C)

(가) 위 시료군과 별도로 오디추출물에 유기산을 첨가하여 그에 따른 췌장베타세포 내 항당뇨 효능 및 항산화 활성을 평가하기 위해 시료군A 및 B와는 별도로 오디열매 상위 추출용매인 EtOH의 조성을 50%로 변경해 추출한 시료군과 가장 상위분획인 시료군A의 MA군에 각각 다른 유기산 (Citric, Malic, Fumaric acid)을 첨가한 시료군 (MAC, MAF, MAM)을 추가로 실험함.

(나) 50% EtOH군과 세 가지 유기산 첨가군 (MAC, MAF, MAM)의 세포보호능 확인을 위해 MIN6N beta-cells를 12 well plate에 접종하여 24시간 전배양

(다) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

(라) 0.7 mM 과산화수소 (H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(마) 과산화수소 유도 산화적 스트레스에 대한 분획별 오디추출물의 세포보호능을 세포 생존률로 평가

① 그림 6. 시료군C의 50% EtOH (A)군은 100 µg/ml에서 과산화수소(H₂O₂) 처리군에 비해 약 8% 증가한 63%의 세포 생존률을 보이고, 이후 농도 의존적으로 세포 생존률이 증가하여 500 µg/ml 농도에서 최대 71%의 세포 생존률을 확인함.

② 그림 6. 시료군C의 MAC (B), MAF (C) 및 MAM (D)군은 세포보호능 실험결과 세 가지 시료군은 100 µg/ml에서 과산화수소(H₂O₂) 처리군에 비해 약 7~8% 증가한 61~62%의 세포 생존률을 보였으며 이후 농도 의존적으로 세포 생존률이 증가하여 500 µg/ml 농도에서 최대 64~65%의 세포 생존률을 확인함.

③ 그림 6. 시료군C의 세포 보호능 실험결과 과산화수소 (H₂O₂) 유도 산화적 스트레스에 대한 세포보호능이 있음을 확인하였으나 시료군A 및 B와 비교해 세포보호능이 미약함을 확인하여 이후 과산화물 소거능 평가 및 과산화지질 억제 능 평가에서 시료군A 및 B를 선별하여 우선 진행함.

나. H₂O₂로부터 세포 사멸 회복능 평가

(1) 회복능 (Post-treatment) : H₂O₂로부터 세포 회복 평가 (시료군 A)

(가) 세포사멸 및 증식 효능평가 중 세포보호능(Pre-treatment) 뿐만 아니라 효능 비교를 위하여 세포회복능(Post-treatment)을 평가함.

(나) 오디추출물 상위분획인 시료군A (MA, MAE, MAB, MAH)을 선별하여 우선적으로 실험을 진행함.

(다) 회복능 확인을 위해 MIN6N beta-cells를 12well plate에 접종하여 24시간 전배양

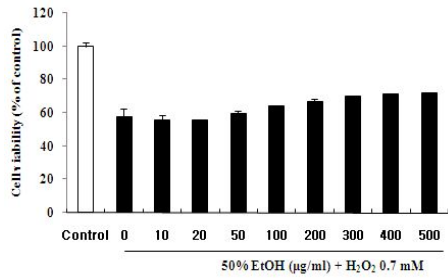
(라) 0.7 mM 과산화수소 (H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(마) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

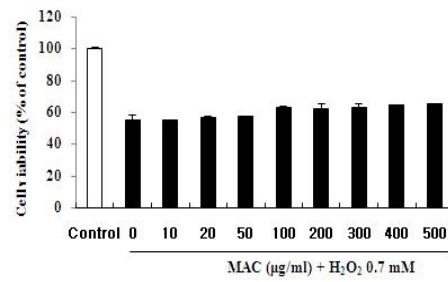
(사) 과산화수소 유도된 산화적 스트레스에 대한 분획별 오디추출물의 회복능을 세포생존률로 평가함.

- ① 그림 7. MA(A)군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 과산화수소 (H_2O_2) 처리군에 비해 13% 증가한 67%의 세포생존률을 확인함. 이후 농도 의존적으로 세포 생존률이 증가하여 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 최대 69%의 세포생존률을 확인함.
- ② 그림 7. MAE(B)군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 과산화수소 (H_2O_2) 처리군에 비해 11% 증가한 65%의 세포 생존률을 확인함. 이후 농도 의존적으로 세포 생존률이 증가하여 400 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 최대 67%의 세포생존률을 확인함.
- ③ 그림 7. MAB(C) 및 MAH (D) 군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 과산화수소 (H_2O_2) 처리군에 비해 약 8% 증가한 세포생존률을 보이며 동일 시료군 내 MA(A) 및 MAE(B)군과 비교하여 낮은 세포회복능을 보임을 확인함.
- ④ 세포사멸 및 증식 효능평가 중 세포 보호능 (Pre-treatment) 과 세포 회복능 (Post-treatment) 실험결과 오디추출물은 세포보호능 (Pre-treatment)에서 매우 우수한 효능이 있음을 확인하였으며 세포 회복능에서도 비교적 우수한 효능을 확인함.

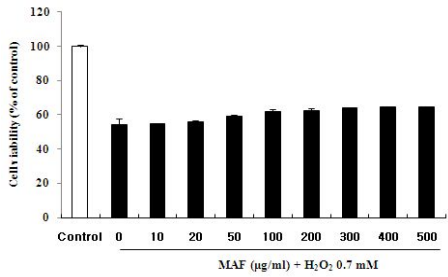
(A)



(B)



(C)



(D)

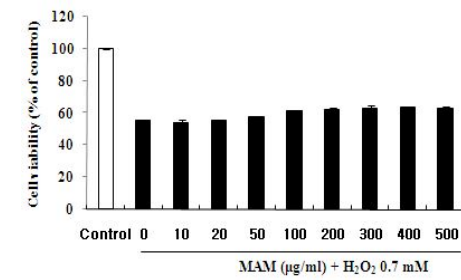
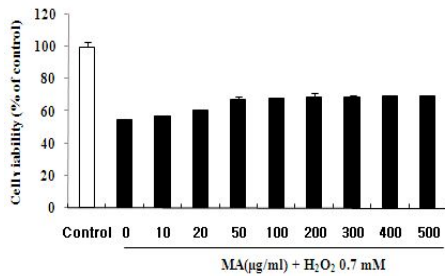
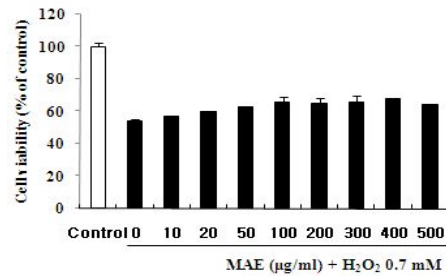


그림 6. 시료군C의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스에 대한 세포 보호능
(A) 50% EtOH (B) MAC (C) MAF (D) MAM

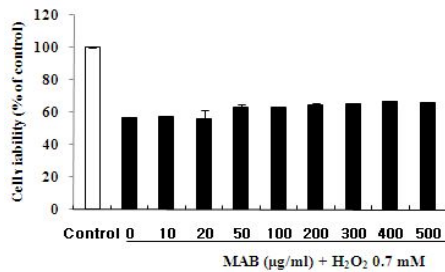
(A)



(B)



(C)



(D)

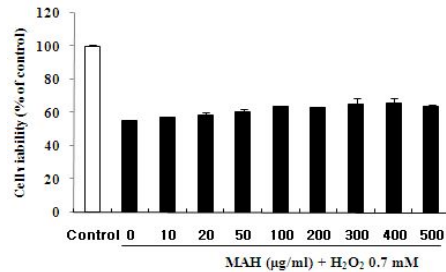


그림 7. 시료군A의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스에 대한 세포 회복능
(A) MA (B) MAE (C) MAB (D) MAH

2. 세포 내 활성산소 소거능 평가

가. 활성산소 소거능 평가

(1) 시료군 A - Microplate fluorometer

(가) 과산화물 (ROS) 소거능 확인을 위해 MIN6N beta-cells를 12 well plate에 접종하여 24시간 배양

(나) 이전실험에서 사용된 분획별 (MA, MAE, MAB, MAH) 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

(다) 0.7 mM 과산화수소(H_2O_2)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(라) 산화적 스트레스에 의해 생성된 과산화물 (ROS) 양을 Control에서 1로 표기하고, 과산화수소 (H_2O_2) 처리군 및 실험군에서 생성된 과산화물 (ROS) 양을 Control의 배수 (fold-induction)로 나타내어 시료군에서 확인되는 과산화물 (ROS) 양이 적을수록 우수한 과산화물 소거능임을 보임.

① 그림 8. MA(A), MAE(B), MAB(C) 및 MAH(D)군 모두에서 Control과 비교해 과산화수소 (H_2O_2) 처리군 에서는 약 9배로 과산화물 (ROS) 양이 증가하여 과산화수소 (H_2O_2) 유도 산화적 스트레스로 인해 췌장 베타세포 내 과산화물 (ROS)이 급격하게 증가함을 확인함.

② 그림 8. MA(A)군은 100 μ g/ml에서 과산화물 (ROS)이 소거되어 Control 대비 약 6 배의 과산화물 양 (과산화수소 처리군 대비 약 28% 감소)을 보이며 이후 농도 의존적으로 과산화물 (ROS)이 소거되어 400 μ g/ml 에서 4.6배의 양 (과산화수소 처리군 대비 약 44% 감소)을 보임을 확인함.

③ 그림 8. MAE(B)군은 100 μ g/ml 에서 과산화물 (ROS)이 소거되어 Control대비 약 5배의 과산화물 양 (과산화수소 처리군 대비 약 33% 감소)을 보이며 이후 농도 의존적으로 과산화물이 소거되어 400 μ g/ml 에서 4배의 양 (과산화수소 처리군 대비 약 47% 감소)을 보이며 가장 우수한 효능을 보임을 확인함.

④ 그림 8. 시료군A의 MAB (C)와 MAH (D)군은 모두 농도 의존적으로 과산화물 (ROS)이 소거됨을 확인하였으나 100 μ g/ml 에서 Control 대비 약 7배의 과산화물 양 (과산화수소 처리군 대비 약 23% 감소)을 보였으나 MA (A) 및 MAE (B)군에 비해 낮은 과산화물 (ROS) 소거능을 보임.

⑤ 과산화물 (ROS) 소거능 평가결과 MA (A) 및 MAE (B)군이 가장 우수한 과산화물 (ROS) 소거능을 보임을 확인하여 MA (A)군과 MAE (B)군을 선별하여 이후 실험을 진행함.

(2) 시료군 A - 형광 현미경

(가) 과산화물 (ROS) 소거능 평가결과 가장 우수한 효능을 보인 MAE군을 선별하여 췌장

베타세포 내 과산화물 (ROS)의 소거를 가시적으로 확인하기 위해 세포 내 과산화물 (ROS)을 염색하여 확인하는 DCF-DA (dichlorofluorescein-diacetate) 염색을 시행함.

(나) MIN6N beta-cells를 12 well plate에 접종하여 24시간 배양

(다) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

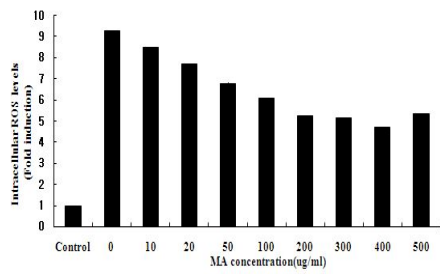
(라) 0.7 mM 과산화수소 (H_2O_2)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(마) 12well plate에 DCF-DA를 처리하고 2시간 배양하여 과산화물을 염색

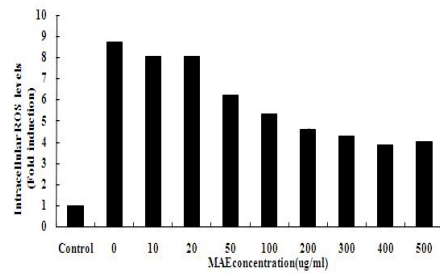
(바) 염색된 과산화물의 녹색형광을 형광현미경 400배율로 확인

- ① 그림 9. A에서 Control인 정상세포 내 염색된 과산화물(ROS)의 양과 비교해 0.7 mM 과산화수소 (H_2O_2)에 의해 유도된 과산화물의 양이 크게 증가함을 확인
- ② 그림 9. A에서 MAE 50 $\mu\text{g/ml}$ + 0.7mM 과산화수소 (H_2O_2) 군과 MAE 100 $\mu\text{g/ml}$ + 0.7 mM 과산화수소군에서 MAE 농도의존적으로 췌장 베타세포 내 염색된 과산화물 (ROS)의 양이 소거됨을 확인함.
- ③ 그림 9. A에서 MAE 100 $\mu\text{g/ml}$ + 0.7 mM 과산화수소군에서 우수한 과산화물 (ROS) 소거능을 보이며 Control에 유사하게 췌장 베타세포 내 과산화물이 소거됨을 확인함.
- ④ 그림 9. B에서 시료군 A의 다른 분획 (MA, MAB, MAH) 모두 과산화물 소거능을 보이며 췌장 베타세포 내 과산화물을 소거시켰음을 형광현미경을 통해 확인함.

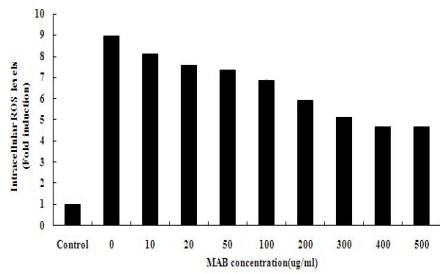
(A)



(B)



(C)



(D)

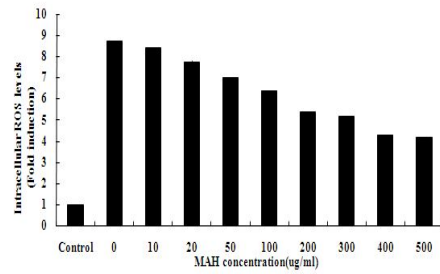


그림 8. 시료군A의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 과산화물 소거활성능

(A) MA (B) MAE (C) MAB (D) MAH

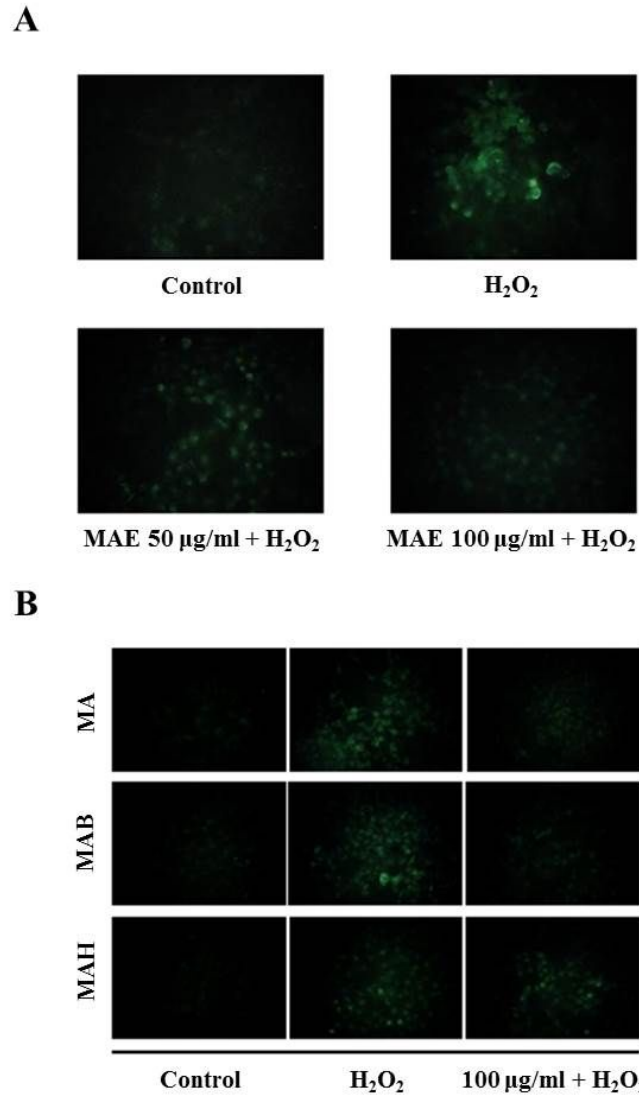


그림 9. 시료군 A의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 과산화물 소거활성 (형광현미경)

A : MAE 군의 농도에 따른 과산화물 소거능

B : MA, MAB, MAH 군의 과산화물 소거능

(3) 시료군 B

(가) 세포보호능 효능평가와 과산화물 (ROS) 소거능 평가 결과 우수한 효능을 보인 MAE 군을 세분화한 시료군B의 췌장 베타세포 내 과산화물 (ROS) 소거능 평가를 진행

(나) 과산화물 소거능 확인을 위해 MIN6N beta-cells를 12 well plate에 접종하여 24시간 배양

(다) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

(라) 0.7 mM 과산화수소 (H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(마) 산화적 스트레스에 의해 생성된 과산화물 (ROS) 양을 Control에서 1로 표기하고 과산화수소 (H₂O₂) 처리군 및 실험군에서 생성된 과산화물의 양을 Control의 배수 (fold-induction)로 나타내어 시료군에서 확인되는 과산화물의 양이 적을수록 우수한 과산화물 소거능임을 보임

- ① 그림 10. Control과 비교해 열네 가지 시료군 모두에서 과산화수소 (H₂O₂) 유도 산화적 스트레스에 의해 약 9배로 과산화물이 양이 증가하여 과산화수소 (H₂O₂) 유도 산화적 스트레스로 인해 췌장 베타세포 내 과산화물이 증가함을 확인함.
- ② 그림 10. 시료군B의 MAE1 (A)군은 100 µg/ml에서 과산화물 (ROS)이 소거되어 Control 대비 약 5 배의 과산화물(ROS) 양 (과산화수소 처리군 대비 약 33% 감소)을 보이며 과산화물 소거능을 보이고, 이후 농도의존적으로 과산화물이 소거되어 400 µg/ml 에서 4.1배의 양 (과산화수소 처리군 대비 약 46% 감소)을 보임을 확인함.
- ③ 그림 10. 시료군B의 MAE2 (B)군은 100 µg/ml에서 과산화물이 소거되어 Control 대비 약 6 배의 과산화물의 양 (과산화수소 처리군 대비 약 28% 감소)을 보이며 과산화물 소거능을 보이고, 이후 농도의존적으로 과산화물이 소거되어 500 µg/ml 에서 4.3배의 양 (과산화수소 처리군 대비 약 44% 감소)을 보임을 확인함.
- ④ 그림 10. 시료군B의 그 외 실험군은 모두 농도의존적으로 과산화물이 소거되어 과산화수소 (H₂O₂) 처리군에 비해 낮은 과산화물양을 보여 소거능을 확인 하였으나 동일 시료군 내 MAE1 (A) 및 MAE2 (B)에 비해 낮음을 확인함.
- ⑤ 항산화 활성 효능평가 중 과산화물(ROS) 소거능 효능평가 결과 시료군B 중 MAE1 (A) 및 MAE2 군 (B)에서 가장 우수한 과산화물 소거능을 확인하여 이후 실험에서 MAE1 (A) 및 MAE2 (B)군 을 선별하여 진행함.

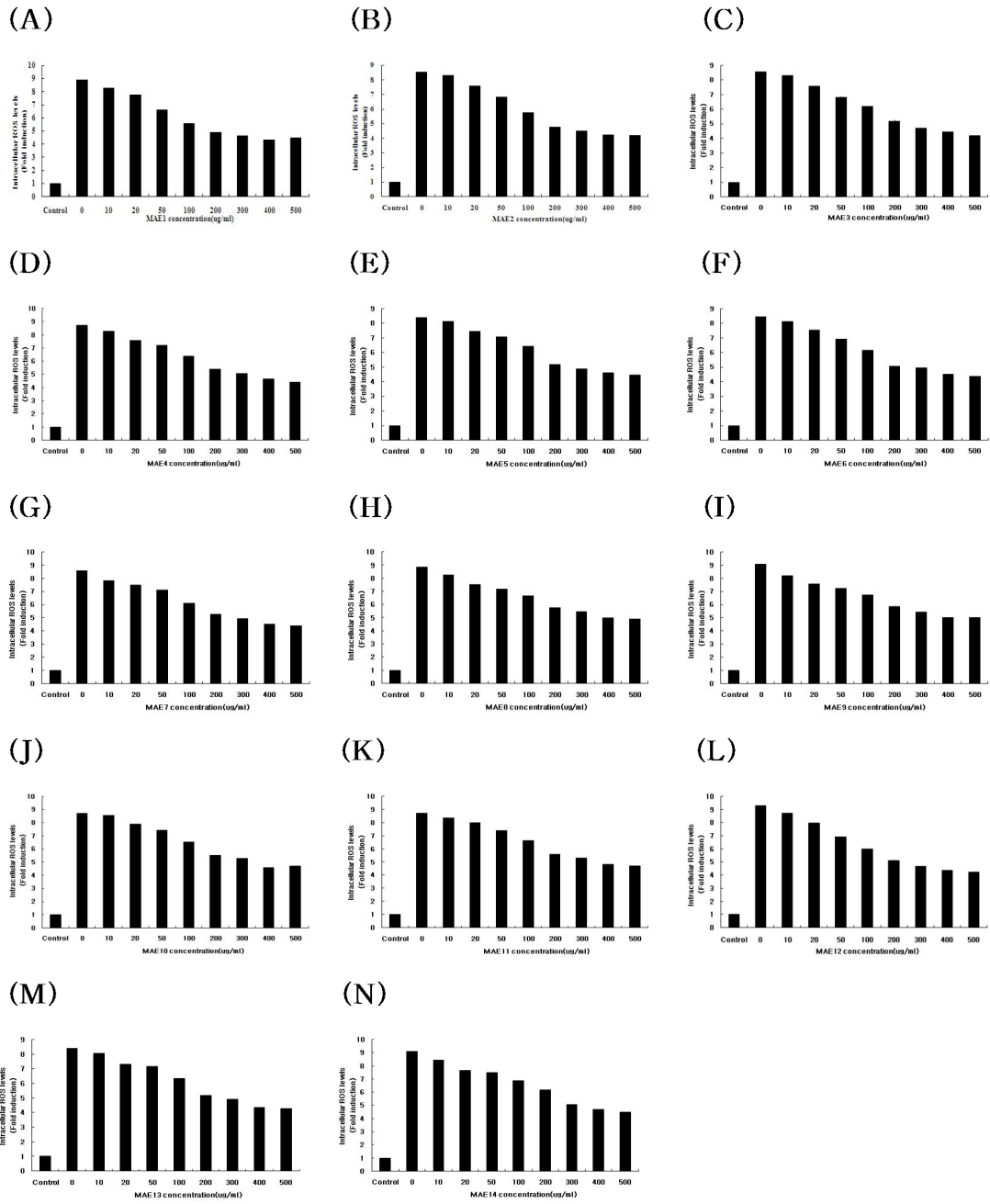


그림 10. 시료군B의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 과산화물 소거활성능

(A) MAE (B) MAE2 (C) MAE3 (D) MAE4 (E) MAE5 (F) MAE6 (G) MAE7
 (H) MAE8 (I) MAE9 (J) MAE10 (K) MAE11 (L) MAE12 (M) MAE13 (N) MAE14

(4) 시료군 C

(가) 위 시료군과 별도로 오디추출물에 유기산을 첨가하여 그에 따른 췌장 베타세포 내 과산화물 소거능을 평가하기 위해 시료군C로 실험을 진행함.

(나) MIN6N beta-cells를 12 well plate에 접종하여 24시간 전배양

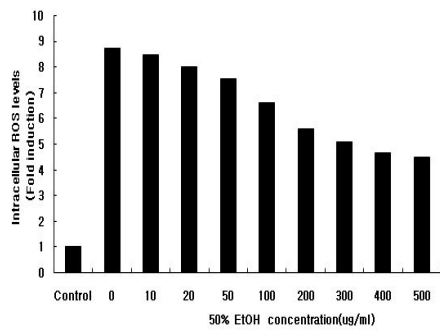
(다) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

(라) 0.7 mM 과산화수소 (H_2O_2)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

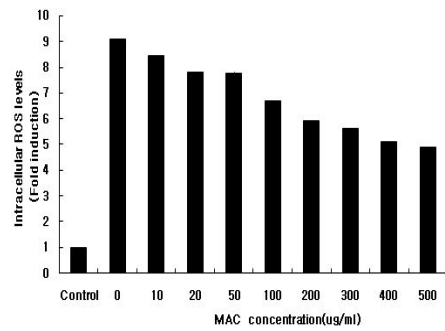
(마) 산화적 스트레스에 의해 생성된 과산화물 양을 Control에서 1로 표기하고 과산화수소 (H_2O_2) 처리군 및 실험군에서 생성된 과산화물의 양을 Control의 배수 (fold-induction)로 나타내어 시료군에서 확인되는 과산화물의 양이 적을수록 우수한 과산화물 소거능임을 보임

- ① 그림 11. Control과 비교해 시료군C의 50% EtOH (A), MAC (B), MAF (C) 및 MAM (D)군 모두에서 과산화수소 (H_2O_2) 유도 산화적 스트레스에 의해 약 9배로 과산화물의 양이 증가하여 과산화수소 (H_2O_2) 유도 산화적 스트레스로 인해 췌장 베타 세포 내 과산화물이 증가함을 확인함.
- ② 그림 11. 50% EtOH (A)군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 과산화물이 소거되어 Control 대비 약 7배의 과산화물의 양(과산화수소 처리군 대비 약 21% 감소)을 보이며 과산화물(ROS)이 소거되었고, 이후 농도의존적으로 과산화물이 소거되어 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 4.6배의 양 (과산화수소 처리군 대비 42% 감소)을 보임을 확인함.
- ③ 그림 11. MAC (B)군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 과산화물이 소거되어 Control 대비 6.7 배의 과산화물의 양 (과산화수소 처리군 대비 약 23% 감소)이 소거되었고, 이후 농도 의존적으로 과산화물이 소거되어 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 5배의 양 (과산화수소 처리군 대비 약 41% 감소)을 보임을 확인함.
- ④ 그림 11. MAF (C)군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 과산화물 (ROS)이 소거되어 Control 대비 6.8 배의 과산화물 (ROS) 양(과산화수소 처리군 대비 약 24% 감소)을 보이며 과산화물 (ROS) 소거능을 보이고 이후 농도 의존적으로 과산화물 (ROS)이 소거되어 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 5배의 양 (과산화수소 처리군 대비 약 42% 감소)을 보임을 확인함.
- ⑤ 그림 11. MAM (D)군은 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 과산화물이 소거되어 Control 대비 약 7배의 과산화물 양(과산화수소 처리군 대비 약 21% 감소)을 보이며 이후 농도 의존적으로 과산화물이 소거되어 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 약 5배의 양 (과산화수소 처리군 대비 약 40% 감소)을 보임을 확인함.

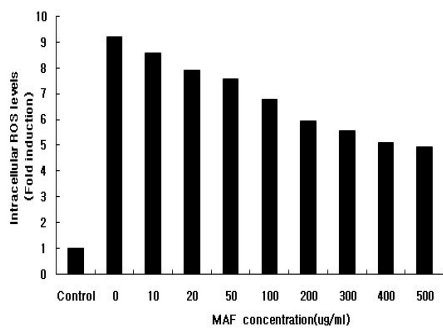
(A)



(B)



(C)



(D)

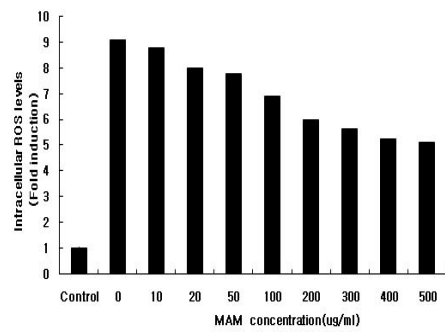


그림 11. 시료군C의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 과산화물 소거활성능

(A) 50% EtOH (B) MAC (C) MAF (D) MAM

나. 과산화지질(Lipid peroxidation) 억제능 효능평가

(1) TBARS assay

(가) 세포사멸 및 증식 효능평가와 항산화활성 효능평가 중 과산화물(ROS) 소거능

효능평가를 통해 효능이 가장 우수했던 분획들(•시료군A: MA, MAE, •시료군B : MAE1, MAE2)을 선별하여 췌장 베타세포 내 과산화지질 억제능을 평가함 [39].

(나) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

(다) 0.7 mM 과산화수소 (H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(라) 생성된 과산화지질의 양을 TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) assay를 통해 확인함.

(마) 과산화수소 (H₂O₂) 처리군을 N.C. (negative control)로, 생성된 과산화지질의 양을 0으로 표기하여 시료 처리군에서 농도에 따라 억제된 과산화지질의 상대적인 양을 N.C.군 대비 %로 나타냄.

- ① 그림 12. MA (A)군은 100 µg/ml 농도에서 과산화수소 (H₂O₂) 처리군에 비해 약 24% 과산화지질 생성을 억제하며 이후 농도의존적으로 억제능이 증가하여 400 µg/ml 농도에서 최대 26%의 과산화지질 생성 억제능을 확인함.
- ② 그림 12. MAE (B)군은 100 µg/ml 농도에서 과산화수소 (H₂O₂) 처리군에 비해 약 25% 과산화지질 생성을 억제하며 이후 농도 의존적으로 억제능이 증가하여 500 µg/ml 농도에서 최대 30%의 과산화지질 생성 억제능을 확인함.
- ③ 그림 12. MAE1 (C)군은 100 µg/ml 농도에서 과산화수소 (H₂O₂) 처리군에 비해 약 22% 과산화지질 생성을 억제하며 이후 농도의존적으로 억제능이 증가하여 500 µg/ml 농도에서 최대 30%의 과산화지질 생성 억제능을 확인함.
- ④ 그림 12. MAE2 (D)군은 100 µg/ml 농도에서 과산화수소 (H₂O₂) 처리군에 비하여 약 20% 과산화지질 생성을 억제하며 이후 농도의존적으로 억제능이 증가하여 500 µg/ml 농도에서 최대 28%의 과산화지질 생성 억제능을 확인함.
- ⑤ 세포사멸 및 증식 효능평가와 항산화 활성 효능평가 중 과산화물 소거능 평가, 과산화지질 생성 억제능 평가 결과 시료군A의 MAE군이 가장 우수한 효능을 보임을 확인함.
- ⑥ 항산화 활성 효능평가 중 과산화지질 생성 억제능 평가 결과를 토대로 시료군A 및 B의 분획 중 시료군A의 MAE군을 선별하여 이후 실험을 진행

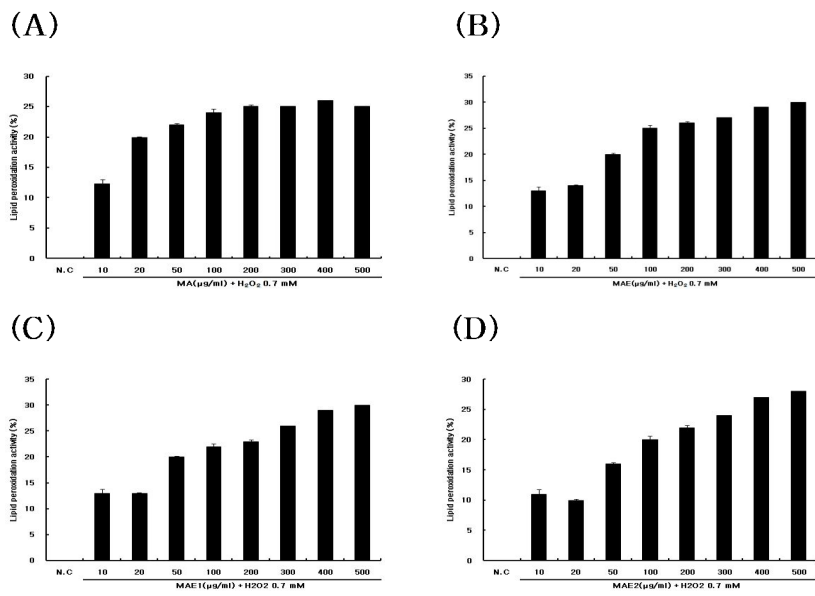


그림 12. 분획별 오디추출물의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 과산화지질 억제능
 (A) MA (B) MAE (C) MAE1 (D) MAE2

3. 세포사멸 저해 효능평가

가. Apoptosis 저해 효능평가

(1) Annexin V & PI double staining (시료군A : MAE)

- (가) 세포사멸 및 증식 효능평가와 항산화활성 효능평가 중 가장 효능이 우수했던 시료군 A 의 MAE 분획을 선별하여 H₂O₂ 로부터 유도된 apoptosis 저해를 kit를 이용하여 flow cytometry로 관찰함 [40].
- (나) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양
- (다) 0.7 mM 과산화수소 (H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양
- (라) Apoptosis detection kit를 이용, Annexin V 와 PI 로 세포를 염색
- (마) FACs를 이용해 early-apoptosis, late-apoptosis 및 necrosis 정도를 확인함.
- (바) 4개의 분면 중, 오른쪽 분면 (Upper right + Lower right)의 세포 수를 측정하여 apoptosis가 진행중인 세포 수의 변화를 확인함.
 - ① 그림 13. Control 의 apoptotic cell rate는 약 18%에 비해 과산화수소 처리 시 apoptosis rate가 약 58% 증가함을 확인함.
 - ② 그림 13. MAE 100 µg/ml 처리 시 과산화수소 처리군에 비해 약 23% 줄어든 35% 의 apoptotic cell rate를 보이며 과산화수소 유도 산화적 스트레스로 인한 췌장 베타세포 의 apoptosis 진행을 억제함을 확인함.

나. DNA fragmentation 분석

(1) Hoechst 33342 staining : H₂O₂로 유도된 DNA fragmentation 보호 평가

(• 시료군A : MA, MAE, MAB, MAH)

- (가) 세포사멸 및 증식 효능평가와 항산화활성 효능평가 중 효능이 우수했던 시료군 A를 선별하여 H₂O₂로부터 유도된 산화적 스트레스로 인한 세포 내 DNA fragmentation 보호능을 확인함.
- (나) 분획별 오디 추출물을 처리하고 세포를 Cover-slip 위에서 18시간 배양
- (다) 0.7 mM 과산화수소 (H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양
- (라) DNA fragmentation detection dye 인 Hoechst 33342 로 15 분간 상온에서 염색
- (마) 형광 현미경을 이용해 관찰
- (바) DNA fragmentation 진행시, 세포 DNA 말단이 증가하게 되고, Hoechst 33342 는 증가한 DNA 말단에 결합하여 apoptotic cell rate 가 증가할수록 파란색 형광이 강하게 관찰되고 세포의 morphology 가 Control과 비교해 응축되어 작게 관찰됨.
 - ① 그림 14. A에서 Control 의 파란색 형광은 약하게 관찰되며 morphology 또한 정상적인 것을 확인함.
 - ② 그림 14 A에서 과산화수소 처리시 DNA fragmentation이 증가하고 DNA 가 응축되어

파란색 형광이 강하게 관찰되는 부분이 증가하고 세포의 morphology 또한 응축되어 Control과 비교해 작아졌음을 확인함.

- ③ 그림 14. A에서 MAE 100 $\mu\text{g/ml}$ 처리 시 과산화수소 처리군과 비교해 강한 파란색 형광이 많이 줄어들어 Control과 유사하게 변화했음을 확인하여 MAE 가 과산화수소 유도 산화적스트레스로 인한 세포 내 DNA fragmentation을 억제하여 췌장 베타세포를 보호하였음을 확인함.
- ④ 그림 14. B에서 시료군 A의 다른 분획인 MA, MAB, MAH를 처리한 결과 마찬가지로 분획들 모두 과산화수소 처리군과 비교해 강한 파란색 형광이 많이 줄어들어 Control과 유사하게 변화했음을 확인하여 과산화수소 유도 산화적 스트레스로 인한 세포 내 DNA fragmentation을 억제하여 췌장 베타세포를 보호하였음을 확인함.
- ⑤ 그림 14. A와 B의 결과를 보아 오디추출물 시료군 A (MA, MAB, MAE, MAH) 모두 DNA fragmentation 억제에 효능이 있음을 확인하고 그 중 가장 우수한 효능을 보인 MAE 군을 선별하여 3차년도 실험을 진행

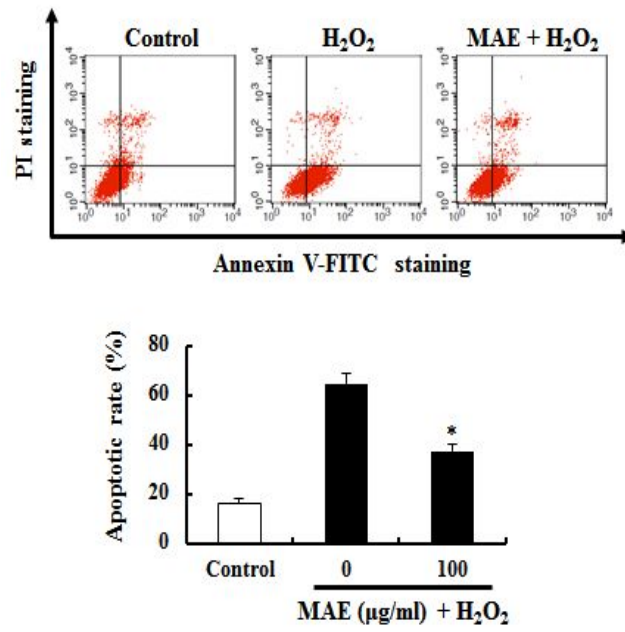


그림 13. MAE의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 세포사멸 저해능

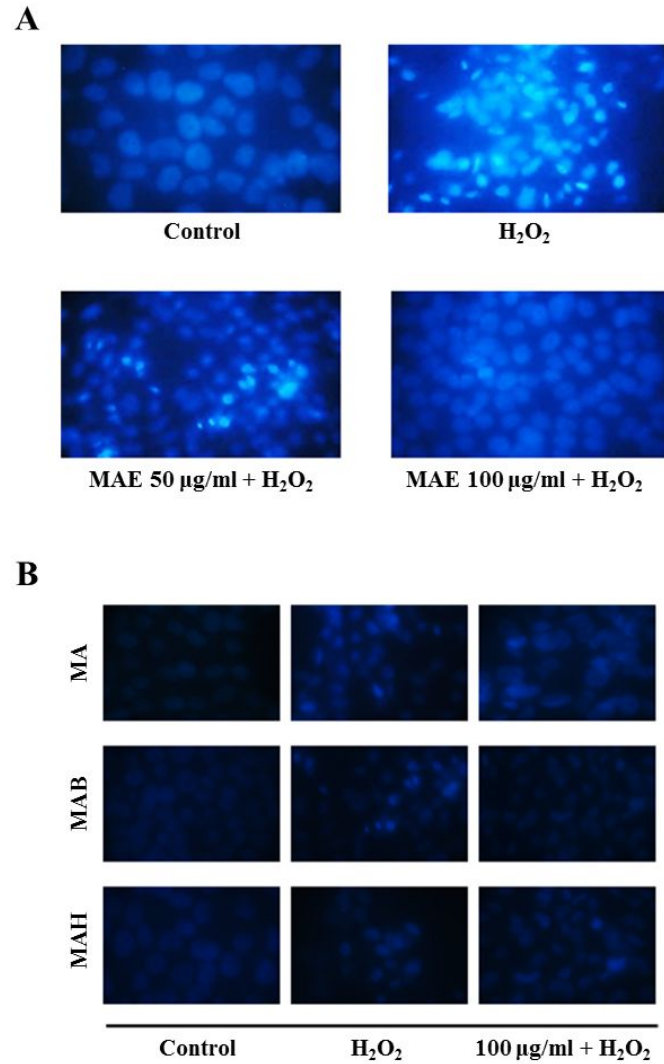


그림 14. 시료군 A의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 DNA 단편화 억제능
 A : MAE 군의 농도에 따른 DNA 단편화 억제능
 B : MA, MAB, MAH 군의 DNA 단편화 억제능

제 3 절 메커니즘 규명 및 In vitro 항당뇨 효능평가

1. 내부 신호 분석

가. Western blot

(1) Apoptosis 관련인자 (Caspase-3, Cleaved Caspase-3, AIF) 확인

(가) 이전 실험에서 가장 활성이 우수했던 MAE군의 단백질 발현변화를 western blot 분석을 통하여

(나) 오디 추출물 (MAE군)을 처리하고 18시간 배양

(다) 0.7 mM 과산화수소 (H_2O_2)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(라) 세포파쇄 후 원심분리를 통하여 상등액의 단백질만을 분리하고 gel electrophoresis 후에 membrane 으로 transfer 진행

(마) Skim milk를 이용하여 blocking 한 후 1차 Antibody, 2차 Antibody를 순차적으로 붙인 뒤 ECL solution을 이용하여 필름을 현상

(바) 해당 단백질의 발현 및 활성화가 많이 진행되었을 경우 진하고 두꺼운 band가 형성된다. 이를 비교하여 각 실험군마다의 단백질 차이를 비교, 분석

- ① 그림 15. A에서 Cleaved caspase-3 의 발현 (Apoptosis 관련인자)이 Control군 (첫번째 line)의 band에 비하여 과산화수소 처리군의 band 가 더 진하게 나타났으므로 apoptosis 유도가 되었음을 확인함.
- ② 그림 15. A에서 과산화수소 처리에 비교하여 MAE 50 $\mu\text{g/ml}$ 처리 시에 Cleaved caspase-3의 활성화가 감소함을 확인하므로써 MAE가 Caspase-3의 활성화를 저해함으로써 세포를 보호함을 확인함.
- ③ 그림 15. A에서 MAE 70 $\mu\text{g/ml}$ 처리 시 50 $\mu\text{g/ml}$ 처리 보다 더 약한 band가 나타났으므로 농도의존적으로 활성화가 감소함을 확인.
- ④ 그림 15. B에서 과산화수소 처리 시 AIF (Apoptosis Inducing Factor)의 발현이 증가함을 확인하므로써 AIF 단백질 또한 과산화수소로 유도된 췌장베타세포의 apoptosis에 관여한다는 것을 확인.
- ⑤ 그림 15. B에서 MAE 50 $\mu\text{g/ml}$, MAE 70 $\mu\text{g/ml}$ 처리 시 과산화수소 처리 군보다 적은 단백질 발현을 보였으므로 AIF 단백질에도 관여한다는 것을 확인함.
- ⑥ 그러므로 과산화수소로 유도된 apoptosis에서 Caspase-3의 활성화와 AIF를 통하여 apoptosis를 저해함을 확인하였고, AIF 보다 Caspase-3 활성화에 더 연관성이 있음을 확인함.

(2) 항산화 효소 활성 (Catalase, SOD) 확인

(가) 이전 실험에서 가장 활성이 우수했던 MAE군의 항산화효소의 변화를 western blot 분석을 통하여 확인함.

- (나) 오디 추출물(MAE군)을 처리하고 18시간 배양
- (다) 0.7 mM 과산화수소(H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양
- (라) 세포파쇄 후 원심분리를 통하여 상등액의 단백질을 분리하고 gel electrophoresis 후에 membrane 으로 transfer 진행
- (마) Skim milk를 이용하여 blocking 한 후 1차 Antibody, 2차 Antibody를 순차적으로 붙인 뒤 ECL solution을 이용하여 필름을 현상
- (바) 해당 단백질의 발현 및 활성화가 많이 진행되었을 경우 진하고 두꺼운 band가 형성된다. 이를 비교하여 각 실험군마다의 단백질 차이를 비교, 분석
 - ① 그림 16. 과산화수소를 처리 하였을 때 항산화효소인 SOD와 CAT의 발현이 증가함을 확인. 산화적 스트레스로 인하여 항산화 효소가 활성화 되었음을 확인함.
 - ② 그림 16.에서 MAE 70 µg/ml와 50 µg/ml를 처리 하였을 때 농도 의존적으로 효소의 발현이 감소함을 확인.

2. *In vitro* 항당뇨 효능평가

가. 인슐린 분비능 확인 (In vitro)

(1) Insulin ELISA kit를 이용한 Insulin secretion

- (가) 췌장베타세포의 주 기능인 인슐린 분비를 Insulin ELISA kit를 이용하여 측정함.
- (나) 오디 추출물 (MAE군)을 처리하고 18시간 배양
- (다) 0.7 mM 과산화수소 (H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양
- (라) Glucose가 포함된 KRB buffer에서 2시간 배양
- (마) Buffer를 회수하고 Insulin ELISA kit를 이용하여 흡광도를 측정. 세포가 분비한 insulin의 양을 비교함.
 - ① 그림 17. Control 에 비하여 H₂O₂ 처리군에서 Insulin 분비가 약 50%까지 유의적으로 감소한 것을 확인하였으므로 췌장베타세포의 인슐린 분비에 영향을 준 것으로 판단됨.
 - ② 그림 17. H₂O₂ 처리군에 비하여 MAE 50 µg/ml, MAE 70 µg/ml, 처리 시에 Insulin 분비능이 증가하였으므로 H₂O₂로 저해된 Insulin 분비능이 회복됨을 확인함.

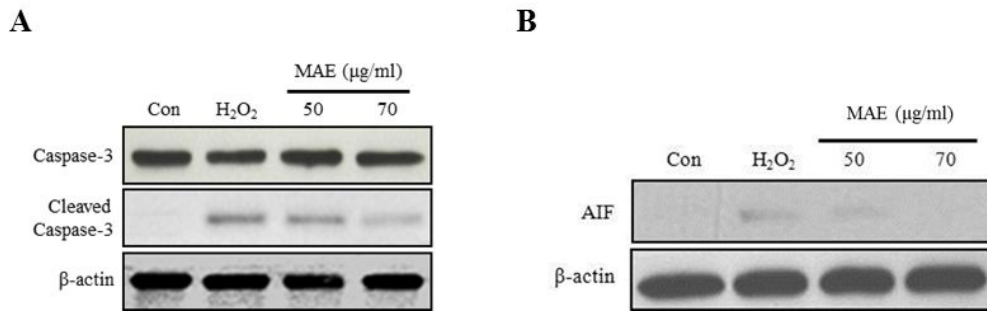


그림 15. MAE의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 Apoptosis 관련 단백질 발현 저해능

A : MAE군의 농도에 따른 Cleaved caspase-3 발현 저해능

B : MAE군의 농도에 따른 AIF 발현 저해능

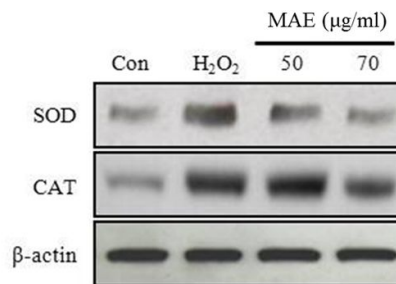


그림 16. 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 항산화효소 발현변화와 MAE의 영향

SOD : Superoxide Dismutase, CAT : Catalase

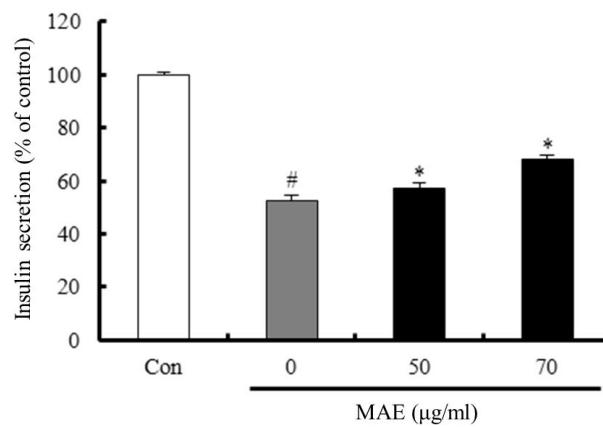


그림 17. MAE군의 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스로 인한 Insulin 분비 저해 회복능

나. 포도당 흡수능 평가

(1) 2-NBDG uptake

(가) 포도당 흡수능을 Glucose uptake assay중 하나인 2-NBDG를 이용하여 측정

(나) 오디 추출물 (MAE균)을 처리하고 18시간 배양

(다) 0.7 mM 과산화수소 (H_2O_2)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(라) KRB buffer에서 2시간 배양 (Serum free, glucose free)

(마) Tris-HCl buffer (pH 8.0) 추가 후 세포파쇄

(바) 원심분리 후 상등액을 분리하여 Microplate fluorometer로 측정한다.

① Control군에 비하여 과산화수소를 처리하였을 때 감소한 경향을 보임을 확인함

② 과산화수소 처리군에 비하여 MAE 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MAE 70 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리한 실험군에서 농도 의존적으로 glucose uptake가 증가한 경향을 확인함.

③ 과산화수소에 의해서 손상된 glucose uptake mechanism이 MAE 처리에 의해서 회복 됨.

제 4 절 *In vivo* 항당뇨 효능평가

1. 당뇨 유발 쥐를 이용한 오디 추출물 효능평가

가. ICR mouse를 이용한 당뇨 유발 실험

(1) Streptozotocin (STZ)을 이용한 당뇨 유발 모델

(가) 4주령 ICR mouse 수령 후 일주일 동안 적응 순화 및 적응 기간을 가짐

(나) 12시간동안 단식을 시킨 후 STZ를 50mg/kg/2 day 로 injection

(다) 오디 추출물 (MAE군)은 4주 동안 이틀간격으로 5mg/kg을 경구 투여 시킨다. Normal 군은 증류수를 같은 용량으로 투여함.

나. 체중 측정 및 장기 무게 측정

(1) 체중 측정

(가) STZ 투여 후 4주동안 각 실험군마다 mouse의 체중을 측정하여 비교

① 그림 18. 에서 Normal 군은 체중이 점차 증가하여 4주차에 41.9 g까지 증가함.

② 그림 18. 에서 STZ (streptozotocin)을 처리하였을 때 Normal 군에 비하여 체중이 감소하는 경향을 나타내었으므로 당뇨유발에 의한 체중감소를 확인함.

③ 그림 18. 에서 STZ 처리 후 MAE를 지속적으로 4주간 처리한 결과 STZ로 유도한 그룹과 비교하였을 때 체중감소가 일어나지 않았고, 일정하게 유지됨을 확인함.

(2) 장기 무게 측정

(가) STZ 투여 후 4주간의 실험 완료 후 실험동물을 개복하여 장기적출 후 각 장기의 무게를 측정함.

① 표 1. 에서 비장 (Spleen)을 제외한 다른 장기의 큰 변화는 관찰되지 않음.

② 표 1. Spleen에서 STZ (streptozotocin)을 처리하였을 때 Normal 군에 비하여 비장의 크기가 증가한 것을 확인함.

③ 표 1. Spleen에서 STZ (streptozotocin) injection 후 오디 추출물 (MAE)를 4주간 경구 투여한 결과 STZ 처리 군과 비교하였을 때 감소된 경향을 확인함.

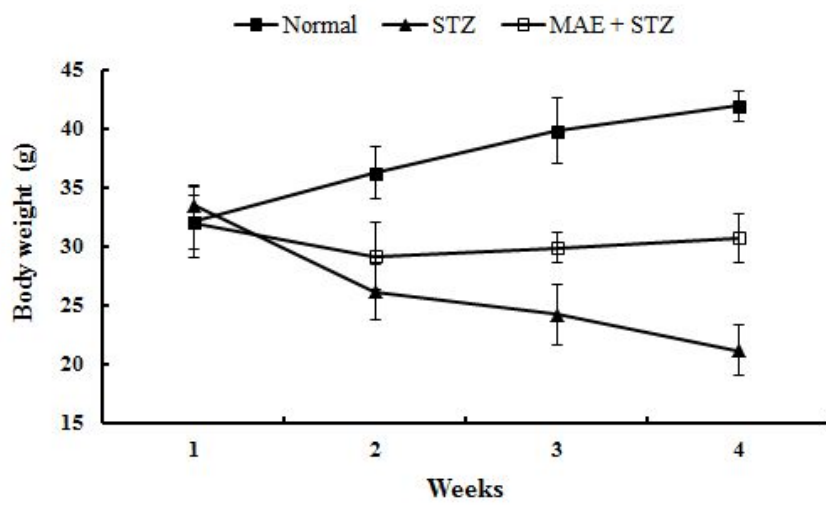


그림 18. Streptozotocin 처리된 ICR mouse의 체중변화와 MAE의 영향

표 1. Streptozotocin 처리된 ICR mouse의 장기무게와 MAE의 영향

Groups	Liver	Spleen	(g/ 100g body weight)	
			Heart	Kidney
Normal	4.608 ± 0.39	0.419 ± 0.05	0.438 ± 0.01	0.692 ± 0.08
STZ	5.992 ± 0.42	0.922 ± 0.21	0.440 ± 0.02	0.896 ± 0.11
MAE + STZ	5.335 ± 0.32	0.469 ± 0.10	0.441 ± 0.02	0.811 ± 0.06

다. 혈중 인슐린 및 혈당 측정

(1) 혈중 인슐린 측정

(가) Streptozotocin (STZ)을 이용하여 ICR mouse에 당뇨를 유발하고 4주 동안 MAE를 경구투여 한 후 mice 개복시에 혈액을 채취하여 혈장 분리 후 인슐린 kit를 통하여 측정함.

- ① 그림 19. Normal 군에 비하여 STZ 군에서 Insulin 의 분비가 감소함을 확인. STZ에 의한 췌장베타세포 파괴에 의하여 Insulin 의 분비가 정상적으로 이루어지지 않음.
- ② 그림 19. MAE + STZ 군에서 serum insulin의 수치가 STZ 군에 비하여 증가함. STZ에 의한 췌장베타세포 파괴에서 MAE 처리를 통한 예방을 확인함.

(2) 혈당 측정

(가) Streptozotocin (STZ)을 이용하여 ICR mouse에 당뇨를 유발하고 4주 동안 MAE를 경구투여 하는 동안 매 주 실험동물의 꼬리 정맥으로부터 혈액을 뽑아 혈당측정기를 통해 측정.

- ① 그림 20. Normal 군에서는 실험이 종료되는 4주차 까지 혈당이 일정 수치를 유지함.
- ② 그림 20. STZ 처리 군에서는 4주차 까지 지속적으로 증가함. Insulin의 결핍으로 인한 혈당 상승이 확인됨.
- ③ 그림 20. MAE + STZ 처리 군에서는 4주차까지 지속적인 증가는 보이나 STZ 단독처리군보다 혈당수치가 감소된 경향을 보임. STZ에 의한 Insulin의 결핍을 MAE 처리를 통하여 회복하였고 이로 인하여 STZ를 처리하였을 때보다 감소된 혈당수치를 확인함.

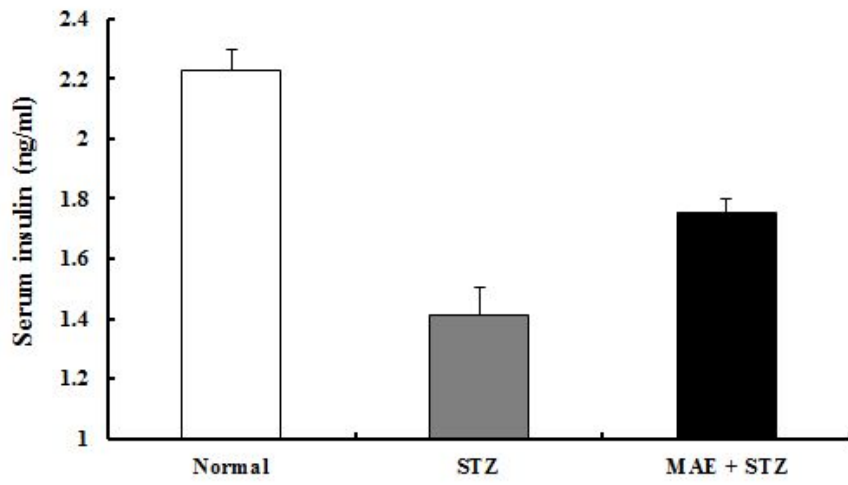


그림 19. Streptozotocin 처리된 ICR mouse의 혈중 insulin농도와 MAE의 영향

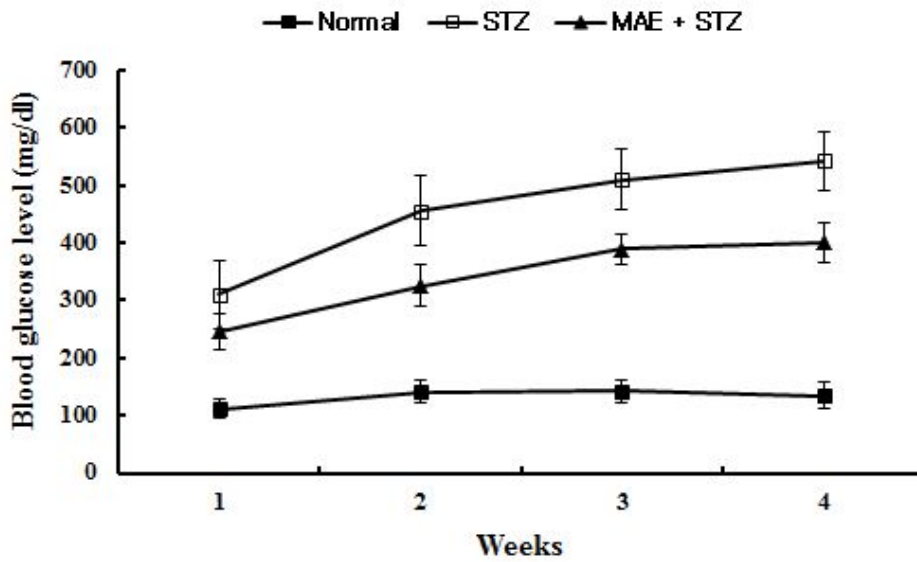


그림 20. Streptozotocin 처리된 ICR mouse의 혈당과 MAE의 영향

라. 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 측정

(1) 혈중 콜레스테롤 측정

(가) Streptozotocin (STZ)을 이용하여 ICR mouse에 당뇨를 유발하고 4주 동안 MAE를 경구투여 후 혈장을 분리함. EP tube로 옮긴 혈액을 30분간 incubation한 후 10분정도 원심분리 함. 원심분리 된 혈액에서 윗부분에 있는 serum만을 micropipet 으로 채취한 후 효소시약 (cholesterolesterase 20.5KU/L, cholesterol oxidase 10.7KU/L, NaOH 1.81g/L), 표준액 (cholesterol 300mg/dl)을 넣음. vortexing후에 37℃에서 5분간 incubation하고 파장 500nm를 측정하여 콜레스테롤의 양을 구함.

- ① Control군에 비하여 STZ를 처리한 군에서 혈중 콜레스테롤의 양이 증가함을 확인함
- ② STZ만을 투여한 실험군과 비교하였을 때 MAE를 4주간 경구 투여한 실험군에서 유의적으로 콜레스테롤의 수치가 낮아짐.
- ③ 당뇨유발에 의하여 LDL 콜레스테롤이 증가함을 확인하였고, MAE 투여 시에 콜레스테롤의 감소를 확인함으로써 MAE의 투여가 당뇨 유발시에 나타나는 혈중콜레스테롤의 증가를 유의적으로 감소시킴을 확인함.

(2) 혈중 중성지방 측정

(가) Streptozotocin (STZ)을 이용하여 ICR mouse에 당뇨를 유발하고 4주 동안 MAE 경구투여 후 혈장을 분리하여 중성지방 측정용시약 (Asan Co.)을 통해 중성지방을 측정하였다.

- ① Control군에 비하여 STZ를 처리한 군에서 혈중 중성지방의 양이 증가함을 확인함
- ② STZ만을 투여한 실험군과 비교하였을 때 MAE를 4주간 경구 투여한 실험군에서 유의적으로 중성지방의 수치가 감소함.
- ③ 당뇨가 유발되면 나타나는 혈중 중성지방의 증가를 STZ군에서 확인하였고, 이를 MAE처리 후 감소되는 경향을 확인함으로써 STZ로 유도된 당뇨를 개선시킴을 확인함.

제 5 절 추가 연구 내용

본 절에서는 오디 추출물의 효능이 오디 속 단일물질의 효능일 것으로 판단하여 정제된 단일물질을 통한 항당뇨 효능을 재검토하였다. 단일 물질의 정제를 위하여 산업화에 적용이 가장 용이한 에탄올 농도에 따른 추출물의 효능을 확인하였고, 가장 우수한 분획에서 안토시아닌의 분리 정제와 함량을 확인하였다. 분리된 정제물질은 안토시아닌계의 Cyanidin-3-glucoside (C3G)로 확인되었으며 C3G를 통하여 세포사멸 및 항산화활성, 작용메커니즘을 확인하였고, 최종적으로 인슐린 분비능을 확인함으로써 오디유래 안토시아닌인 C3G의 항당뇨 효능을 검토하였다.

1. 오디 유래 안토시아닌 분리정제

가. 에탄올 농도에 따른 추출물의 효능평가

(1) 에탄올 농도 설정 (Cell viability)

(가) 오디 추출물을 산업화에 적용하기 위해 추출 용매로 가장 많이 사용되는 에탄올의 농도에 변화를 주어 추출을 진행한 후 세포 생존률을 진행하였다. (에탄올의 농도 변화 : 30%, 50%, 70%, 100%)

(나) 분획별 오디 추출물을 농도별 (10~300 μ g/ml)로 MTT assay를 통해 MIN6N beta-cells에 대한 독성평가

(다) 배양배타세포 MIN6N beta-cells를 12well plate에 접종하여 24시간 전 배양

(라) 농도별, 분획별 시료를 처리하고 18시간 배양

(마) MTT solution을 처리하여 형성된 formazan 결정체를 Iso-propylalcohol에 용해하여 595nm 흡광도를 측정

① 그림 21. 100% 에탄올 오디 추출물 균은 300 μ g/ml 의 농도에서 80% 의 세포 생존률을 보임을 확인함.

② 그림 21. 70% 에탄올 오디 추출물 균은 300 μ g/ml 의 농도에서 84% 이상의 세포 생존률을 보였고, 200 μ g/ml의 농도에서 91.5% 의 세포생존률을 보이면서 가장 높은 세포 생존률을 확인함.

③ 그림 21. 50%, 30% 에탄올 오디 추출물 균은 300 μ g/ml 의 농도에서 각각 79% 의 세포 생존률을 보임

(2) 에탄올 농도 설정 (DPPH radical 소거능 평가)

(가) 세포독성도 평가 후 독성이 없는 농도 내에서 과산화물 소거능 평가

(나) 분획별 오디 추출물과 DPPH solution 섞은 후, 10분간 반응

(다) 520 nm에서 흡광도 측정

(라) Radical인 DPPH가 분획별 오디 추출물에 의해 소거되는 정도로 항산화 활성을 확인

- ① 그림 22. 100% 에탄올 오디 추출물 군은 70 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도부터 DPPH 소거활성이 크게 증가하여 이후 농도 의존적으로 소거활성능이 증가함.
- ② 그림 22. 70% 에탄올 오디 추출물 군은 70 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도부터 DPPH 소거활성이 크게 증가하여 이후 농도 의존적으로 소거활성능이 증가함. 300 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 68.9% 의 소거능을 보임
- ③ 그림 22. 50% 에탄올 오디 추출물 군과 30% 에탄올 오디 추출물 군은 70 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도부터 DPPH 소거활성이 크게 증가하여 이후 농도 의존적으로 소거활성능이 증가하나. 증가폭의 변화가 미미하다고 판단함
- ④ 세포에 독성이 없는 농도내에서 분획별 오디추출물이 농도 의존적으로 항산화 활성을 나타냄을 확인함.

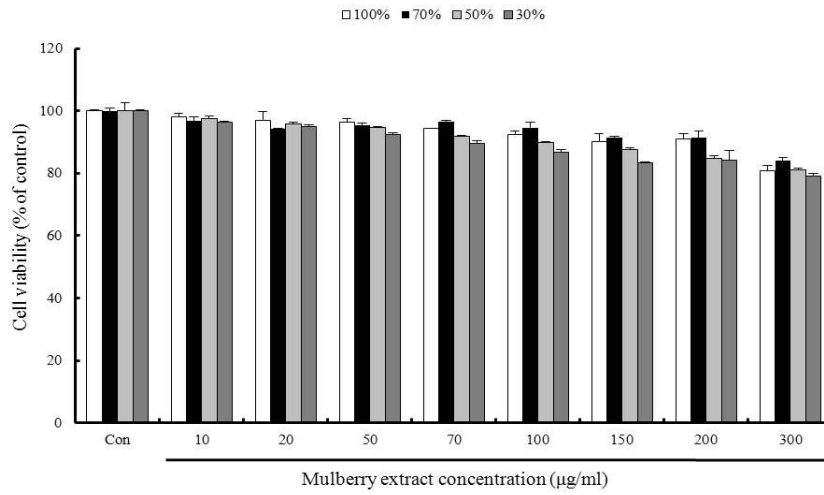


그림 21. Et-OH 농도별 오디 추출물의 세포독성 평가

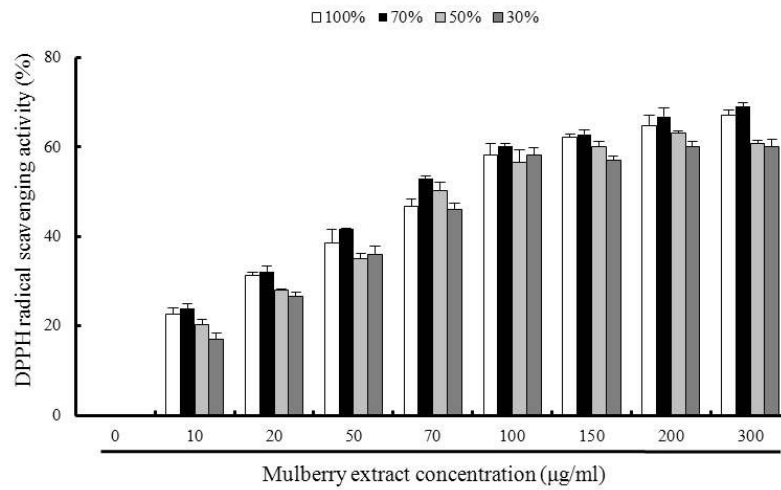


그림 22. 에탄올 농도별 오디 추출물의 DPPH radical 소거능 평가

(3) 에탄올 농도 설정 (ROS 소거능 평가)

(가) 과산화물 (ROS) 소거능 확인을 위해 MIN6N beta-cells를 12well plate에 접종하여 24 시간 배양

(나) 분획별 오디 추출물을 농도별로 (0~200 µg/ml) 처리하고 18시간 배양

(다) 0.7 mM 과산화수소(H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(라) 12well plate에 DCF-DA를 처리하고 2시간 배양하여 과산화물을 염색

(마) 염색된 cell을 microplate fluorometer를 사용하여 485 nm/538 nm 로 측정

(사) 산화적 스트레스에 의해 생성된 과산화물 양을 Control(오디추출물 0 µg/ml 처리) 에서 0 으로 표기하고, 과산화수소(H₂O₂) 처리군 및 실험군에서 생성된 과산화물 소거양을 Control 대비 퍼센트로 나타내어 수치가 높을수록 과산화물 소거능이 우수함을 보임

- ① 그림 23. 100%, 70%, 50%, 30% 에탄올 오디 추출물 군 모두에서 control과 비교해 과산화수소(H₂O₂) 소거능이 40% 정도 증가한 것을 확인함
- ② 그림 23. 70% 에탄올 오디 추출물 군은 70 µg/ml에서 34.1%에 달하는 과산화물 소거능을 보이며 농도 의존적으로 소거능이 증가하였으며 다른 군에 비해 이후 농도에서 높은 소거능을 보이며 가장 우수한 효능을 보임을 확인

(4) 과산화지질 (Lipid peroxidation) 억제능 효능평가

(가) 분획별 오디 추출물을 처리하고 18시간 배양

(나) 0.7 mM 과산화수소 (H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(다) 생성된 과산화지질의 양을 TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) assay를 통해 확인함.

(라) Control의 과산화지질의 양을 0으로 표기하여 시료 처리군에서 농도에 따라 억제된 과산화지질의 상대적인 양을 Con.군 대비 %로 나타냄.

- ① 그림 24. 100%, 70%, 50%, 30% 에탄올 오디 추출물 군 모두에서 control과 비교해 과산화지질 생성 억제능이 증가함을 확인함
- ② 그림 24. 70 µg/ml 농도에서 100%, 70%, 50%, 30% 에탄올 오디 추출물 군은 각각 22.6%, 32.5%, 29.6%, 21.6%의 과산화 지질 생성 억제능을 확인
- ③ 그림 24. 70% 에탄올 오디 추출물 군은 다른 군에 비해 과산화지질 생성 억제능이 우수한 것을 확인

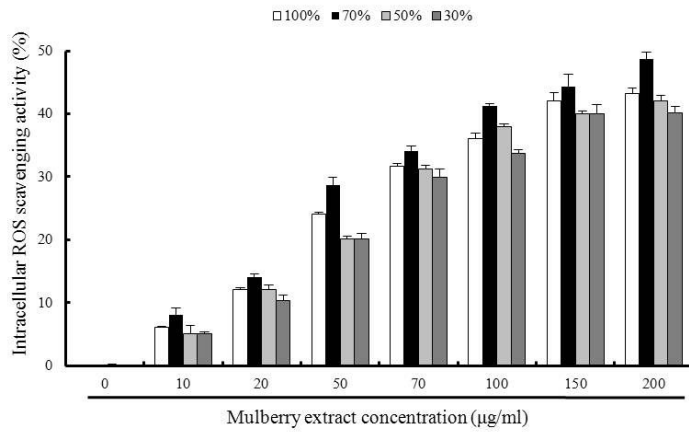


그림 23. 에탄올 농도별 오디 추출물의 ROS 소거능 평가

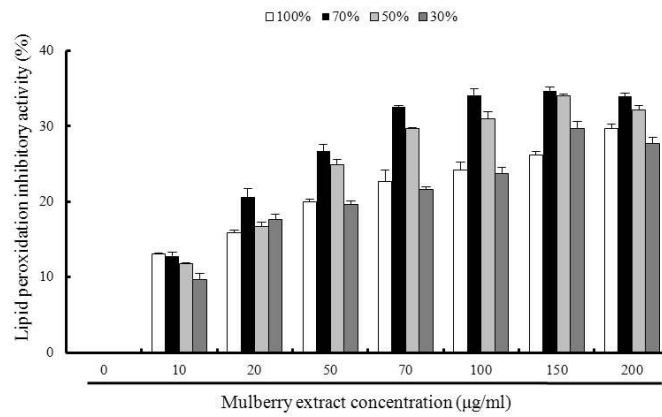


그림 24. 에탄올 농도별 오디 추출물의 과산화 지질 억제능 평가

나. 안토시아닌 분리정제 및 함량 확인

(1) 우수분획에서의 안토시아닌 함량 확인

(가) Potassium chloride pH 1.0 buffer 와 pH 4.5 buffer 의 흡광도 차이를 이용하여 안토시아닌 함량 계산

(나) 안토시아닌 함량 계산

① Anthocyanin pigment (mg/L) = $(A \times MW \times DF \times 10^3) / (\epsilon \times 1)$

$A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH 1.0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH 4.5}$

MW (molecular weight) = 484.5 g/mol, cyanidin-3-glucoside (cyd-3-glu)

DF = 희석 인자, $\epsilon = 26\,900 \text{ L/mol} \times \text{cm}$

② 그림 25. 100%, 70%, 50%, 30% 에탄올 오디 추출물 군중 70% 에탄올 오디 추출물이 391 mg/g 으로 가장 많은 양을 가지고 있음을 확인

(2) 안토시아닌 분리 정제

(가) 각 추출물의 n-hexane으로 24 h, room temp.에서 탈지

(나) 산성 메탄올을 사용하여 24 h, 3 times 색소 추출

(다) Centrifugation (15,600 rpm)으로 침전물을 가라앉힌 뒤 pore size 0.22 μm 크기 filter를 사용하여 filtration

(라) D.W.를 사용하여 수세한 뒤 동결건조 시켜 시료를 준비

(마) 전체 분리정제과정은 그림 26. 참조

(3) HPLC를 통한 C3G (Cyanidin-3-glucoside) 물질 정제도 확인

(가) 70% 에탄올 오디 추출물에서 C3G (Cyanidin-3-glucoside)정제

(나) Reversed-phase HPLC (Waters 486 detector), Column $\mu\text{Bondapak C18}$ (Waters 3.9 x 300 mm) 사용

(다) 흡광도 520 nm에서 측정

(라) Standard (1 mg/ml)과 비교

① 그림 27. standard와 시료의 피크를 확인하였을 때 Retention time 이 같음을 확인

② 앞서 보였던 효능 평가의 결과를 검토해봤을 때 70% 에탄올 오디 추출물의 효능이 C3G일 것이라고 판단함. 차 후 실험은 C3G로 진행하였음.

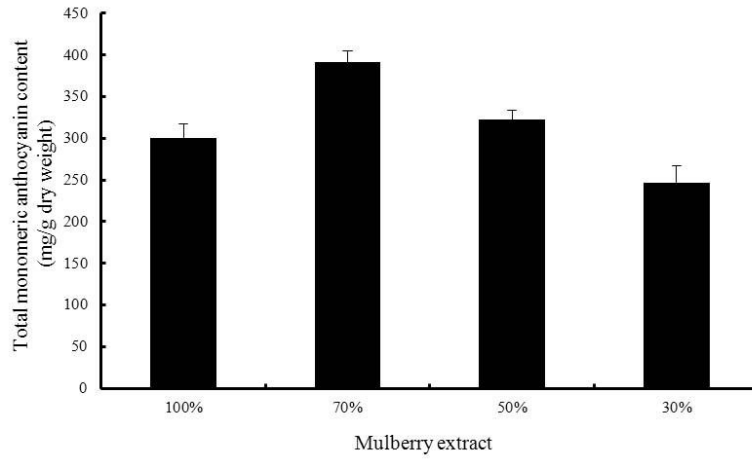


그림 25. 에탄올 농도별 오디 추출물의 안토시아닌 함량 평가

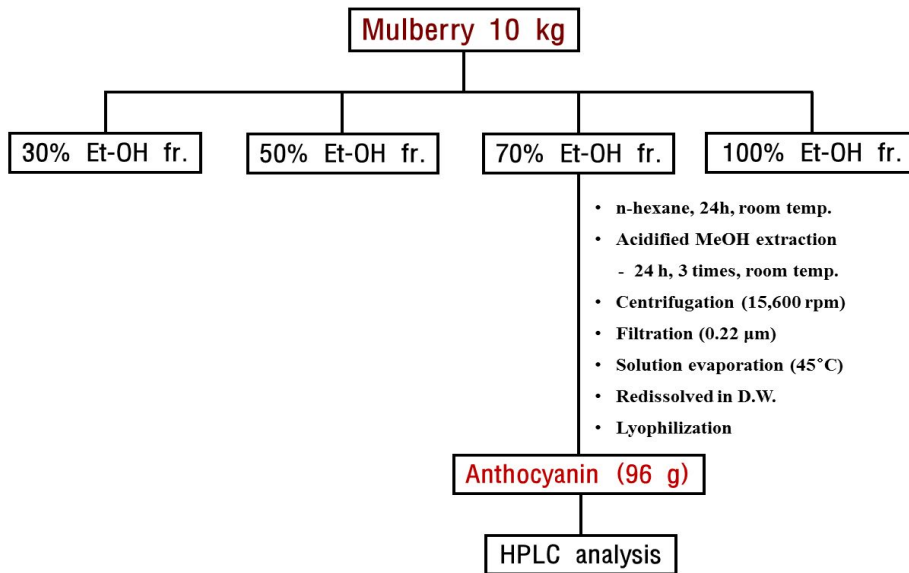
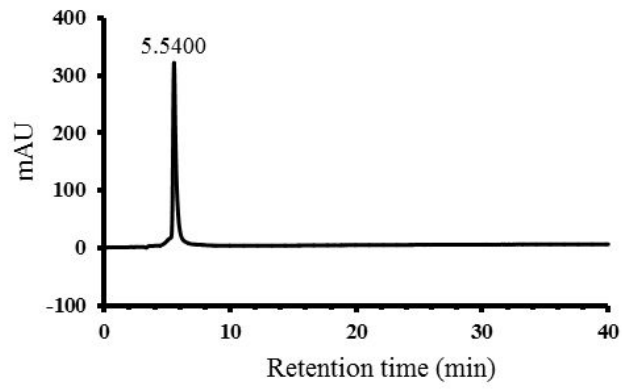


그림 26. 오디 유래 안토시아닌의 분리정제 과정

A



B

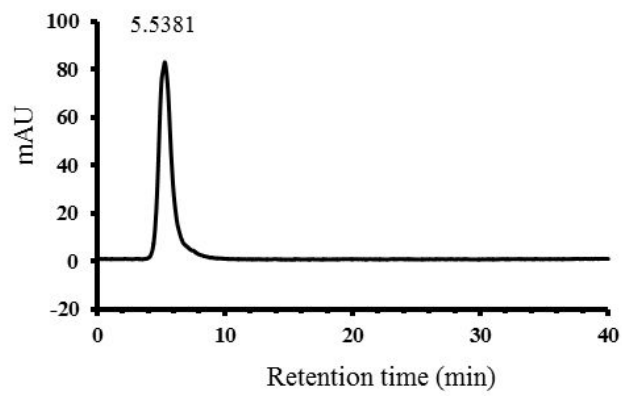


그림 27. 오디로부터 분리된 안토시아닌의 HPLC chromatogram

A : Cyanidin-3-glucoside (C3G) Standard (1 mg/ml)

B : 오디로부터 분리된 Cyanidin-3-glucoside

2. 오디로부터 분리된 C3G의 항당뇨 효능평가

가. 세포사멸 및 항산화활성 효능평가

(1) 고혈당 농도 선별 및 세포 보호능 평가

(가) Hyperglycemia 상태가 지속될 경우 고혈당에 의하여 췌장 베타세포에 ROS가 생성되고 결국 세포 내 기능이상이 발생하게 되어 결국 세포 사멸을 하게됨. 이에 근거하여 고혈당으로 ROS 유도 모델을 만들고, 오디로부터 분리된 C3G의 세포 보호능을 확인함

(나) 췌장베타세포 MIN6N beta-cells를 12well plate에 접종하여 24시간 전 배양

(다) 농도별 시료를 전처리 후, Normal glucose 5.5 mM, High glucose 25 mM 처리 18시간

(라) MTT solution을 처리하여 형성된 formazan 결정체를 Iso-propylalcohol에 용해하여 595nm 흡광도를 측정

① 그림 28. A 고혈당 처리 시간에 따른 세포 독성이 18 h에서 72.9%의 독성을 보임

② 그림 28. B에서 삼투압 컨트롤로 사용된 mannitol 25 mM 처리군과 비교하여 고혈당에 의한 세포 독성은 삼투압에 의한 것이 아니라는 사실을 확인함. 농도별 시료에 따라 세포를 보호하며, 70 µg/ml에서 83.8% Cell viability를 보이며 고혈당에 대해 세포를 보호함.

(2) C3G의 활성산소 소거능 (ROS) 평가

(가) 과산화물 (ROS) 소거능 확인을 위해 MIN6N beta-cells를 12well plate에 접종하여 24시간 배양

(나) C3G를 농도별로 (0~200 µg/ml) 처리하고 18시간 배양

(다) 0.7 mM 과산화수소(H₂O₂)로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 4시간 배양

(라) 12well plate에 DCF-DA를 처리하고 2시간 배양하여 과산화물을 염색

(마) 염색된 cell을 microplate fluorometer를 사용하여 485 nm/538 nm로 측정

(사) 산화적 스트레스에 의해 생성된 과산화물(ROS) 양을 Control(오디추출물 0 µg/ml 처리)에서 0으로 표기하고, 과산화수소(H₂O₂) 처리군 및 실험군에서 생성된 과산화물(ROS) 소거량을 Control 대비 퍼센트로 나타내어 수치가 높을수록 과산화물 소거능이 우수함을 보임

① 그림 29. A mannitol 군에서는 과산화물의 생성이 거의 나타나지 않았으며, high glucose 처리군에서 7.6배의 과산화물이 생성되었음을 확인함.

② 그림 29. A 시료 처리 70 µg/ml 군에서 6.5배로 과산화물 생성의 감소가 보였으며, 100 µg/ml에서는 5.4배로 감소함.

③ 앞선 실험에서 시료군 70 µg/ml에서 과산화물의 생성 감소가 우수하여 이후 형광 현미경을 통해 확인함.

④ 그림 29. B 과산화물의 소거를 가시적으로 확인하기 위해 형광 현미경 400배율로 확인 Control인 정상 세포내 염색된 과산화물의 양과 비교해 mannitol 군에서는 비슷한 양

상을 보임을 확인함.

- ⑤ 그림 29. B Control인 정상 세포내 염색된 과산화물의 양과 비교해 high glucose에 의해 유도된 과산화물의 양이 크게 증가함을 가지적으로 확인함.
- ⑥ 그림 29. B C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 처리군에서는 Control과 유사하게 과산화물이 소거됨을 가지적으로 확인함.

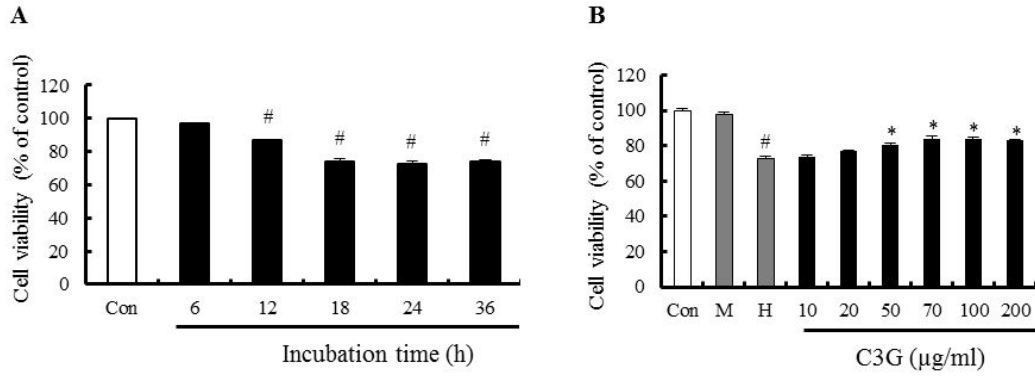


그림 28. 고혈당 유도조건 설정 및 C3G의 세포 회복능

A : 25 mM glucose 의 시간 별 cell viability

B : 고혈당으로 유도된 세포사멸에서의 C3G의 보호능 평가

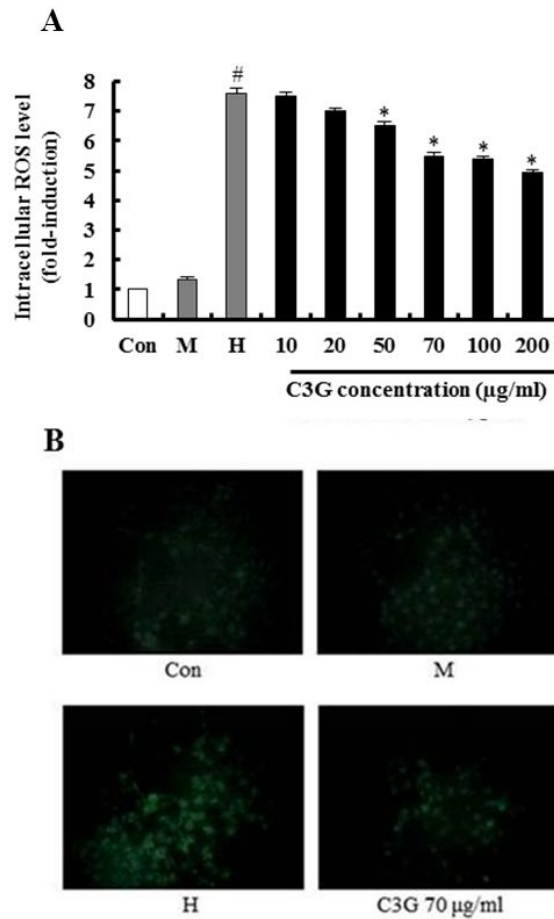


그림 29. C3G의 고혈당으로 유도된 활성산소 소거능

A : 25 mM glucose 의 시간 별 cell viability

B : 고혈당으로 유도된 세포사멸에서의 C3G의 보호능 평가

(3) C3G의 고혈당으로 유도된 세포사멸 보호능 평가

(가) Annexin V & PI double staining를 통해 효능이 우수했던 C3G 70 µg/ml 선별하여

high glucose로부터 유도된 apoptosis 저해를 kit를 이용하여 flow cytometry로 관찰함

(나) C3G 70 µg/ml를 전 처리

(다) 25 mM High glucose로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 18시간 배양

(라) Apoptosis detection kit를 이용, Annexin V 와 PI 로 세포를 염색

(마) FACs를 이용해 early-apoptosis, late-apoptosis 및 necrosis 정도를 확인함

(바) 4개의 분면 중, 오른쪽 분면 (Upper right + Lower right)의 세포 수를 측정하여 apoptosis가 진행중인 세포 수의 변화를 확인함

- ① 그림 30. Control 의 apoptotic cell rate는 약 4.9%이고 mannitol 처리 시 apoptosis rate가 약 5.5%로 양상이 비슷함을 확인함.
- ② 그림 30. Control 의 apoptotic cell rate는 약 4.9%에 비해 High glucose 처리 시 apoptosis rate가 약 33.9% 증가함을 확인함.
- ③ 그림 30. C3G 70 µg/ml 처리 시 High glucose 처리군에 비해 약 9% 줄어든 24.8% 의 apoptotic cell rate를 보이며 High glucose 유도 산화적 스트레스로 인한 췌장 베타세포의 apoptosis 진행을 억제함을 확인함.

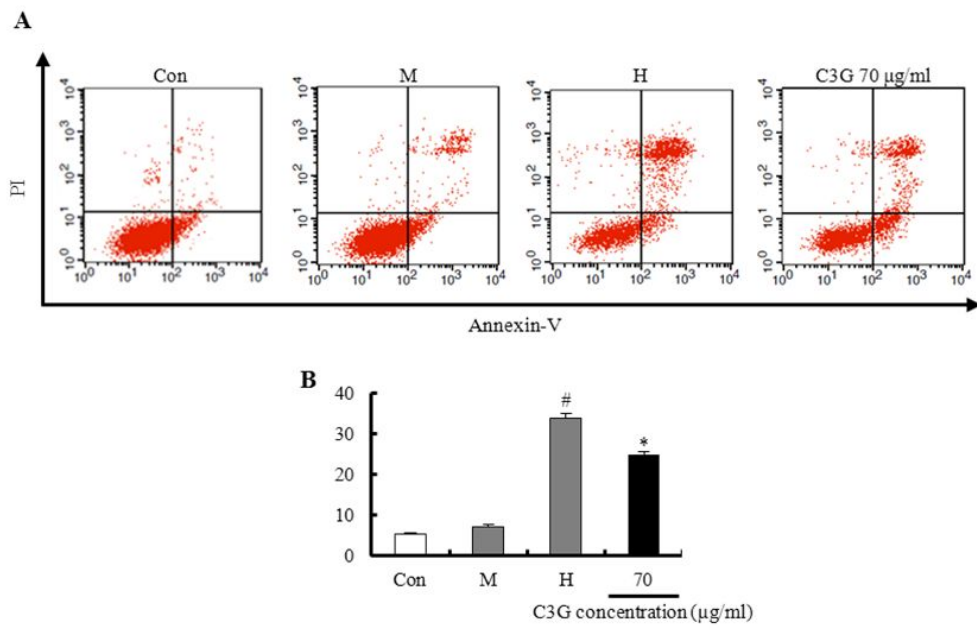


그림 30. C3G의 고혈당으로 유도된 세포사멸 저해능 평가

나. 세포보호 작용메커니즘 확인

(1) MAPK signaling (Western blot)

- (가) C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 과 C3G 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 단백질 발현변화를 western blot 분석을 통하여 apoptosis 관련인자인 MAPK signaling (ERK, JNK, p-38)과 phosphate form을 확인
- (나) C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 과 C3G 50 $\mu\text{g/ml}$ 진처리
- (다) 25 mM High glucose로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 18시간 배양
- (라) 세포파쇄 후 원심분리를 통하여 상등액의 단백질만을 분리하고 gel electrophoresis 후에 membrane 으로 transfer 진행
- (마) Skim milk를 이용하여 blocking 한 후 1차 Antibody, 2차 Antibody를 순차적으로 붙인 뒤 ECL solution을 이용하여 필름을 현상
- (바) 해당 단백질의 발현 및 활성화가 많이 진행되었을 경우 진하고 두꺼운 band가 형성된다. 이를 비교하여 각 실험군마다의 단백질 차이를 비교, 분석
 - ① 그림 31. 에서 p-ERK 의 발현이 High glucose 처리된 군이 비해 C3G를 처리한 군에서 band가 더 열게 나타났음을 확인.
 - ② 그림 31. 에서 High glucose 처리에 비교하여 C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 처리 시에 p-JNK의 활성화가 감소함을 확인하므로써 C3G가 p-JNK의 활성화를 저해함으로써 세포를 보호함을 확인함.
 - ③ 그림 31. 에서 High glucose 처리에 비교하여 C3G 처리 시에 p-38의 활성화가 band의 두께로 감소함을 확인하므로써 C3G가 p-38의 활성화를 저해함으로써 세포를 보호함을 확인함.
 - ④ 그림 31.에서 C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 처리 시 50 $\mu\text{g/ml}$ 처리 보다 더 약한 band가 나타났으므로 농도 의존적으로 활성화가 감소함을 확인.

(2) Bax, Bcl-2, Cytochrome C 확인 (Western blot)

- (가) C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 과 C3G 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 단백질 발현변화를 western blot 분석을 통하여 mitochondria apoptosis 관련인자인 pro-apoptotic protein인 Bax와 anti-apoptotic protein인 (Bcl-2, Cytochrome C의 방출)을 확인함.
 - ① 그림 32. A 에서 anti-apoptotic protein인 Bcl-2이 C3G 처리 군에서 band의 두께가 두꺼워 지면서 많이 발현되어 high glucose에 대한 세포의 apoptosis 저해 효과를 확인함.
 - ② 그림 32. A 에서 pro-apoptotic protein인 Bax가 C3G 처리 군에서 band의 두께가 얇아지면서 high glucose에 대한 세포의 apoptosis 저해 효과를 확인함.
 - ③ 그림 32. B 에서 High glucose 처리군에서 mitochondria와 cytosol에서의 band 발현의 비교를 통해 cytochrome C의 방출이 일어나 apoptosis가 일어남을 확인함.
 - ④ 그림 32. B에서 C3G 70 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$ 처리시에 Cyt. C의 cytosol로의 방출이 적게

일어남을 확인함으로써 C3G의 apoptosis 저해 효과 확인함.

(3) Apoptosis 관련인자 확인 (Western blot)

(가) C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 과 C3G 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 단백질 발현변화를 western blot 분석을 통하여 apoptosis 관련인자 (Caspase-3의 cleaved form, NF- κB 의 핵 내 translocation)을 확인함.

- ① 그림 33. A 에서 apoptosis 인자인 caspase-3의 cleaved form의 발현량이 high glucose 처리군에 비해 C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 처리군에서 줄어든 것을 확인하여 apoptosis 억제 효과를 확인함.
- ② 그림 33. B 에서 NF- κB 의 cytosol에서 nuclear로 translocation이 high glucose 처리군에 비하여 C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 처리군에서 발현량이 줄어든 것을 확인하여 apoptosis 억제 효과를 확인함.

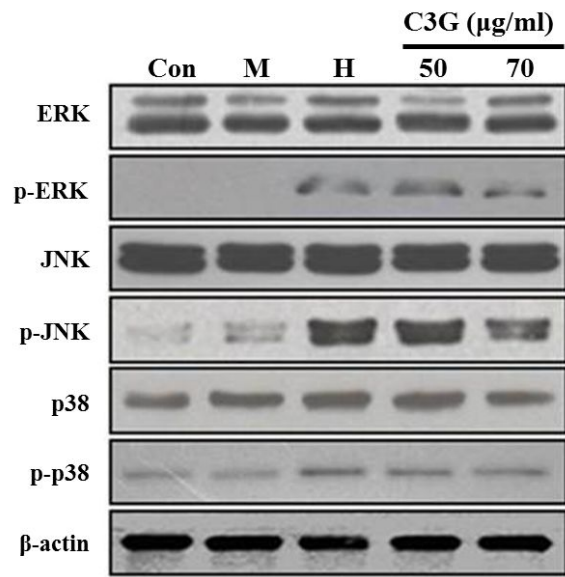


그림 31. 고혈당으로 유도된 세포사멸에서의 MAPK 변화와 C3G의 영향

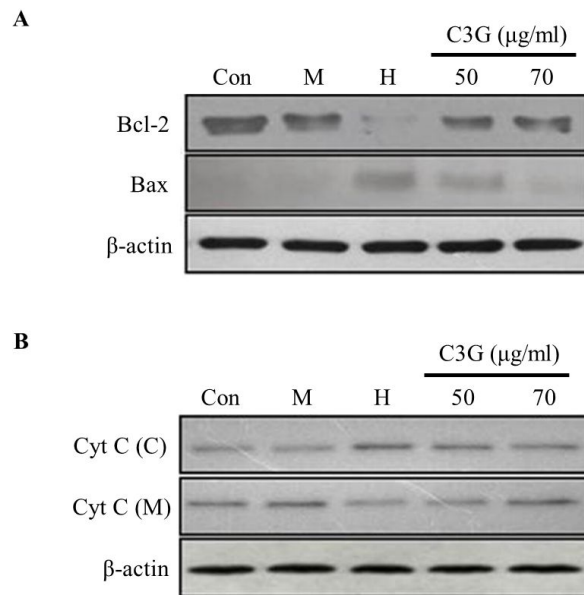


그림 32. 고혈당으로 유도된 세포사멸에서의 미토콘드리아관련 단백질의 변화와 C3G의 영향

A : Bcl-2, Bax 단백질의 변화와 C3G의 영향

B : 미토콘드리아로부터 방출된 Cytochrome C 에서의 C3G의 영향

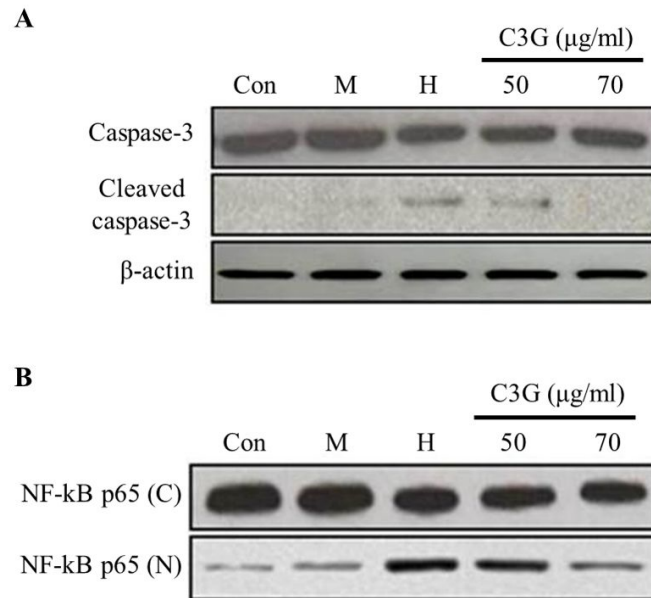


그림 33. 고혈당으로 유도된 세포사멸에서의 Apoptosis 관련 단백질의 변화와 C3G의 영향

A : Caspase-3 활성화에서 C3G의 영향

B : NF-kB translocation 과 C3G의 영향

다. 인슐린 분비능 확인

(1) Insulin ELISA kit를 이용한 인슐린 분비능 확인

(가) 앞서 작용메커니즘을 살펴본 C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 과 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도를 선택하여 췌장베타세포의 주 기능인 인슐린 분비를 Insulin ELISA kit를 이용하여 측정함.

(나) C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 과 50 $\mu\text{g/ml}$ 전처리

(다) 25 mM High glucose로 산화적 스트레스를 유발시킨 후 18시간 배양

(라) Glucose가 포함된 KRB buffer에서 2시간 배양

(마) Buffer를 회수하고 Insulin ELISA kit를 이용하여 흡광도를 측정. 세포가 분비한 insulin의 양을 비교함.

① 그림 34. Control 에 비하여 High glucose 처리군에서 Insulin 분비가 약 74.8%까지 유의적으로 감소한 것을 확인하였으므로 췌장베타세포의 인슐린 분비에 영향을 준 것으로 판단됨.

② 그림 34. High glucose 처리군에 비하여 C3G 70 $\mu\text{g/ml}$ 과 50 $\mu\text{g/ml}$ 처리 시에 Insulin 분비능이 78.1%, 84.2%로 증가하였으므로 High glucose로 저해된 Insulin 분비능이 회복됨을 확인함.

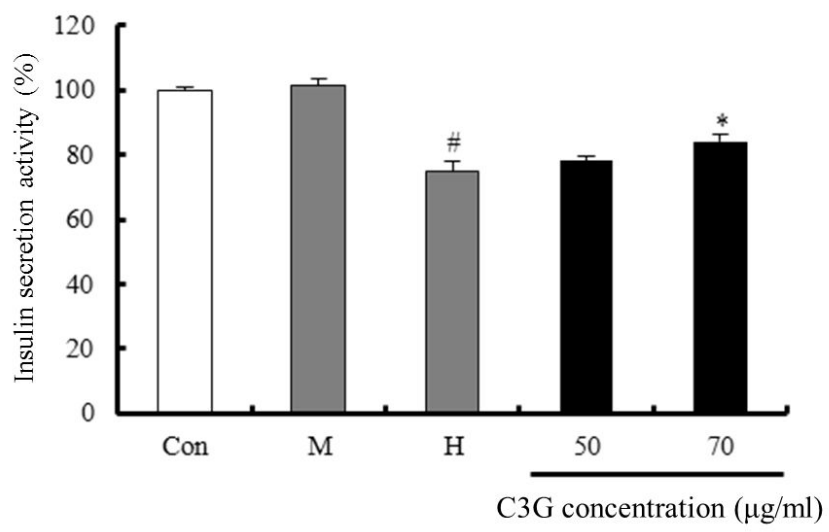


그림 34. 고혈당으로 유도된 인슐린 분비 변화와 C3G의 영향

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표대비 달성도

과제명	연구목표 및 연구내용	달성도(%)
오디의 항당뇨 효능평가	췌장베타세포 독성평가	100%
	항산화활성 효능평가	100%
	세포사멸 및 증식 효능평가	100%
	세포사멸 저해 효능평가	100%
	<i>In vitro</i> 항당뇨 효능평가	100%
	<i>In vivo</i> 항당뇨 효능평가	100%

제 2 절 관련분야에의 기여도

1. 고 효능의 항당뇨 기술을 확립함으로써 관련분야의 기술적 진보에 기여함.
2. 기능성을 강화시킨 고품질의 가공제품 개발을 통해 외국의 항산화 및 항당뇨관련 기능성 가공제품의 수입대체 효과를 이룸과 동시에 국내시장뿐만 아니라 국제시장에 경쟁력을 갖출 것으로 기대됨.
3. 당뇨 환자의 치료식 또는 예방식으로 섭취 가능한 기능성 가공제품 개발을 통하여 새로운 가공제품 시장 창출과 의약산업 발전에 기여함.
4. 고 부가가치의 생리활성물질 생산성을 향상시켜 산업화를 이루는데 기여함.
5. 고기능성 항산화 생리활성물질 소재 개발을 통한 기능성 제품의 다양화 및 산업화에 기여함.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발성과

1. 연구개발 성과

가. 전문 학술지 (SCI/SCIE) 게재 4

나. 학술대회 발표 국내 6건

2. 연구개발 성과 세부 내용

세부(협동) 과제명	과 제 책임자	성 과 물 유 형	성 과 물 명	적용 년월	학술지명 Vol.(No.):page.
오디의 항당뇨 효능평가	홍억기	논문게재 (SCI)	Effects of mulberry ethanol extracts on hydrogen peroxide-induced oxidative stress in pancreatic β -cells	'14.01	<i>International Journal of Molecular Medicine</i> 33(1):128-134
	홍억기	논문게재 (SCIE)	Mulberry Fruit Extract Protects Pancreatic β -Cells against Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis via Antioxidative Activity	'14.07	<i>Molecules</i> 19(7):8904-8915
	홍억기	논문게재 (SCIE)	Cyanidin-3-glucoside isolated from mulberry protects pancreatic β -cells against glucotoxicity-induced apoptosis	'14.04	<i>Molecular Medicine Reports</i> (In press)
	홍억기	논문게재 (SCI)	Cyanidin-3-glucoside isolated from mulberry confers protection pancreatic β -cells against oxidative stress-induced apoptosis	'14.08	<i>International Journal of Molecular Medicine</i> (In press)

세부(협동) 과제명	과제 책임자	성과물 유형	성과물명	적용 년월	비고
오디의 항당뇨 효능평가	홍익기	학술대회발표 (한국 생물공학회)	Anti-diabetic Effect of Mulberry Extracts on Oxidative Damage in Pancreatic Beta-Cells	'13.04	광주 (김대중 컨벤션 센터)
	홍익기	학술대회발표 (한국 생물공학회)	Effect of Mulberry Fruit on Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress in Pancreatic MIN6N Beta-Cells	'13.04	광주 (김대중 컨벤션 센터)
	홍익기	학술대회발표 (한국 생물공학회)	Anthocyanin from Mulberry Extract Protects Hyperglycemia- Induced Pancreatic β -Cell Apoptosis	'13.10	부산 (Bexco)
	홍익기	학술대회발표 (한국 생물공학회)	The Effects of Mulberry Against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Damage in Pancreatic β -Cell Apoptosis	'13.10	부산 (Bexco)
	홍익기	학술대회발표 (한국 생물공학회)	Effect of Cyanidin-3-Glucoside on Hydrogen Peroxide-Induced Caspase-Dependent Apoptosis in MIN6N Beta-cells	'14.04	경주 (현대호텔)
	홍익기	학술대회발표 (한국 생물공학회)	Effect of Cyanidin-3-Glucoside Isolated from Mulberry on Streptozotocin-Induced Diabetic Mouse	'14.04	경주 (현대호텔)

제 2 절 성과활용 계획

- 항산화 활성이 췌장 베타세포를 보호함으로써 당뇨치료제의 개발에 활용
- 현존하는 당뇨 치료제의 부작용을 완화시키고 도움을 줄 수 있는 보조제로서의 개발
- 항산화 활성을 이용한 의약품뿐만 아니라 기능성 식품, 화장품 등의 다양한 분야의 소재로 활용
- 기술개발을 통한 가공제품의 개발 가능성을 제시하고 관련 산업 활성 유도
- 다양한 기능성 식품 생산 공정에 응용하여 관련 제품 생산성 증대에 활용
- 기존 제품과의 특성을 비교 분석하여 기술 비교우위 및 제품 차별화를 확보할 수 있는 지적재산권을 통한 사업화 기반 및 전략을 확립
- 우리 농특산물의 해외로 시장 진출 , 기능성 식품 개발기술 수출
- 활성물질의 작용 기전 규명을 통한 비교우위 항당뇨 효능평가 기술 개발
- 당뇨병뿐만 아닌 각종 성인병을 예방하기위한 기능성 식품 개발

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 오디는 항산화 물질로 알려진 phytochemical 중 폴리페놀이 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있음. 폴리페놀은 강력한 항산화제로 활성산소에 의한 단백질, 지질의 손상을 막아주고 혈관 손상을 보호하며 또한 암세포의 증식을 억제, 혈당을 현저하게 감소, 발암물질을 불활성화 시키고 세포 손상을 보호효과를 나타냄.
- 현재 항산화 관련 시장은 화장품, 기능성 식품, 의약품 등 관련 시장이 계속해서 증가하고 있음. 항산화물질은 여러 질병에 영향을 끼침. 특히 당뇨 치료제에 항산화제를 도입하여 신약 개발을 할 필요가 있음.
- 당뇨병자는 매년 증가하는 추세이고 대한 당뇨병 학회에 따르면 우리나라 당뇨병 유병률은 2001년 8.6%에서 2010년 10.1%로 증가함. 현재 당뇨치료제로는 혈당이 높을 때 췌장을 자극해 인슐린 분비를 촉진하는 약, 간의 포도당 생성을 억제하는 약, 혈당 조절 호르몬 분비 촉진 약이 있음. 현재 시중에 판매되는 당뇨치료제는 부작용 사례가 증가하고 있으며 근본적인 치료를 할 수가 없음. 따라서 부작용이 없는 천연물을 이용하여 항당뇨제를 개발할 필요가 있음.
- 이러한 천연물을 이용하여 미국 버지니아 주 알링턴에 소재한 기능식품 원료업체 바이오티미아 랩스사에서는 대표적인 항당뇨제로 손꼽히는 메트포르민(metformin)과 천연물의 폴리페놀을 병용하면 약효를 증강시킬 수 있을 뿐 아니라 지속적인 효과발현까지 기대할 수 있다는 연구결과를 발표했다.
- 유럽의 경우 리딩대학에서 플라보노이드, 비타민C, 토코페롤을 중심으로 천연물 연구가 진행되고 있으며 독일은 항산화제의 기작과 작용 증명, 세계적으로 산화기작 연구에 선두임. 일본의 경우 특정 기능성 식품의 형태에 대한 규제가 완화됨으로서 다양한 기능성 식품이 시장에 나오고 있음. 여러 국가에서 천연물을 이용한 당뇨 보조제, 치료제에 개발에 치중하고 있음.

제 7 장 참고문헌

1. Tuomilehto, J., J. Lindstrom, J. G. Eriksson, T. T. Valle, H. Hamalainen, P. Ilanne-parikka, S. Keinanen-kiukaanniemi, M. Laakso, A. Louheranta, M. Rastas, V. Salminen, and M. Uusitupa (2001), Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance, *New. Engl. J. Med.*, 344:1343-1350.
2. Gerich, G. E. (1998), The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: Impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitivity, *Endocr. rev.*, 19(4): 491 - 503.
3. Fowler, M. J. (2008), Microvascular and macrovascular complications of diabetes, *Clinical. Diabetes.*, 26: 77-82.
4. Rabinovitch, A., and W. L. Suarez-Pinzon (1998), Cytokines and their roles in pancreatic islet β -cells destruction and insulin-dependent diabetes mellitus, *Biochem. Pharmacol.*, 55:1139-1149.
5. Rolo, A. P., and C. M. Palmeira (2006), Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 212:167-178.
6. Kim, D. J. (2011), The Epidemiology of diabetes in korea, *Diabetes. Metab. J.*, 35: 303-309.
7. Frank, B. (2010), Globalization of diabetes: the role of diet, lifestyle, and genes., *Diabetes Care.*, 34: 1249-1257.
8. Cnop, M., N. Welsh, J. C. Jonas, A. Jorns, S. Lenzen, and D. L. Eizirik (2005), Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 1 and type 2 diabetes: Many differences, Few similarities, *Diabetes*, 54: 97-107.
9. Kaneto, H., J. Fujii, T. Myint, N. Mitazawa, K. N. Islam, Y. Kawasaki, K. Suzuki, M. Nakamura, H. Tatsumi, Y. Yamasaki, and N. Taniguchi (1996), Reducing sugars trigger oxidative modification and apoptosis in pancreatic beta-cells by provoking oxidative stress through the glycation reaction, *Biochem. J.*, 320: 855-863.
10. Matsuoka, T., Y. Kajimoto, H. Watade, H. Kaneto, M. Kishimoto, Y. Umayahara, Y. Fujitani, T. Kamada, R. Kawamori, and Y. Yamasaki (1997), Glycation-dependent, reactive oxygen species-mediated suppression of the insulin gene promoter activity in HIT cells, *J. Clin. Invest.*, 99: 144-150.
11. Carlsson, C., L. A. Borg, and N. Welsh (1999), Sodium palmitate induces partial mitochondrial uncoupling and reactive oxygen species in rat pancreatic islets in vitro, *Endocrinology*, 140: 3422-3428.
12. Robertson, R. P. (2004), Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes, *J. Biol. Chem.*, 279: 42351-42354.
13. Schulze, P. C., J. Yoshioka, T. Takahashi, Z. He, G.L. King, and R. T. Lee (2004), Hyperglycemia promotes oxidative stress through inhibition of thioredoxin function

- by thioredoxin-interacting protein, *J. Biol. Chem.*, 279: 30369–30374.
14. Lim, S., M.A. Rashid, M. Jang, Y. Kim, H. Won, J. Lee, J. T. Woo, Y. S. Kim, M. P. Murphy, L. Ali, J. Ha, and S. S. Kim (2011), Mitochondria-targeted antioxidants protect pancreatic β -cells against oxidative stress and improve insulin secretion in glucotoxicity and glucolipotoxicity, *Cell. Physiol. Biochem.*, 28: 873–886.
 15. Robertson, R. P. (2004), Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes, *J. Biol. Chem.* 279:42351–42354.
 16. Zhang, Z, C. W. Liew, D. E. Handy, Y. Zhang, J. A. Leopold, J. Hu, L. Guo, R. N. Kulkarni, J. Loscalzo, and R. C. Stanton (2010), High glucose inhibits glucose-6-phosphate dehydrogenase, leading to increased oxidative stress and β -cell apoptosis, *FASEB. J.*, 24: 1497–1505.
 17. Hamaoka, R., J. Fujii, J. Miyagawa, M. Takahashi, M. Kishimoto, M. Moriwaki, K. Yamamoto, Y. Kajimoto, Y. Yamasaki, T. Hanafusa, Y. Matsuzawa, and N. Taniguchi (1999), Overexpression of the aldose reductase gene induces apoptosis in pancreatic beta-cells by causing a redox imbalance, *J. Biochem.*, 126: 41–47.
 18. Kowluru, R. A., R. L. Engerman, and T. S. Kern (2000), Diabetes-induced metabolic abnormalities in myocardium: effect of antioxidant therapy, *Free Radic. Res.*, 32: 67–74.
 19. Kaneto, H., Y. Kajimoto, J. Miyagawa, T. Matsuoka, Y. Fujitani, Y. Umayahara, T. Hanafusa, Y. Matsuzawa, Y. Yamasaki, and M. Hori (1999), Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta-cells against glucose toxicity, *Diabetes*, 48: 2398–2406.
 20. Martin, M. A., S. Ramos, I. C. Herrero, L. Bravo, and L. Goya (2013), Cocoa phenolic extract protects pancreatic beta cells against oxidative stress, *Nutrients*. 5: 2955–2968.
 21. Srinivasan, A., V. P. Menon, V. Periaswamy, and K. N. Rajasekaran (2003), Protection of pancreatic β -cell by the potential antioxidant bis-o-hydroxycinnamoyl methane, analogue of natural curcuminoid in experimental diabetes, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 6: 327–333.
 22. Xiong, F. L., X. H. Sun., L. Gan, X. L. Yang, and H. B. Xu (2006), Puerarin protects rat pancreatic islets from damage by hydrogen peroxide, *Eur. J. Pharmacol.*, 529: 1–7.
 23. Robertson, R. P., J. Harmon, P. O. Tran, Y. Tanaka, and H. Takahashi (2003), Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection, *Diabetes*, 52: 581–587.
 24. Tanaka, Y., P. O. Tran, J. Harmon, and R. P. Robertson (2002), A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic β cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity, *P. Natl. Acad. Sci. Usa.*, 99: 12363–12368.
 25. Edinger, A. L., and C. B. Thompson (2004), Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 16: 663–669.
 26. Nikolettou, V., M. Markaki, K. Palikaras, and N. Tavernarakis (2013), Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1833: 3448–3459.
 27. Krysko, D. V., T. V. Berghe, K. D'Herde, and P. Vandenabeele (2008), Apoptosis and

- necrosis: Detection, discrimination and phagocytosis, *Methods*, 44: 205-221.
28. Kannan, K., and S. K. Jain (2000), Oxidative stress and apoptosis, *Pathophysiology*, 7: 153-163.
 29. Schwartzman, R. A., and L. A. Cidlowski (1993), Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death, *Endocrine rev.*, 14: 133-151.
 30. Nunez, G., M. A. Bebedict, Y. Hu, and N. Inohara (1998), Caspases: the proteases of the apoptotic pathway, *Oncogene*, 17: 3237-3245.
 31. Cohen, G. M. (1997), Caspases: the executioners of apoptosis, *Biochem. J.*, 326: 1-16.
 32. Kirsch, D. G., A. Doseff, B. N. Chau, D. S. Lim, N. C. Souza-Pinto, R. Hansford, M. B. Kastan, Y. A. Lazebnik, and J. M. Hardwick (1999), *J. Biol. Chem.*, 274: 21155-21161
 33. Davis, R. J. (2000), Signal transduction by the JNK group of MAP Kinases, *Cell*, 103: 239-252.
 34. Thornberry, N. A., and Y. Lazebnik (1998), Caspases: enemies within, *Science*, 281: 1312-1316.
 35. Swanton, E., P. Savory, S. Cosulich, P. Clarke, and P. Woodman (1999), Bcl-2 regulates a caspase-3/caspase-2 apoptotic cascade in cytosolic extracts, *Oncogene*, 18: 1781-1787.
 36. Danial, N. N., and S. J. Korsmeyer (2004), Cell death: critical control points, *Cell*, 166: 205-219.
 37. Susin, S. A., H. K. Lorenzo, N. Zamzami, I. Marzo, B. E. Snow, G. M. Brothers, J. Mangion, E. Jacotot, P. Costantini, M. Loeffler, N. Larochette, D. R. Goodlett, R. Aebbersold, D. P. Siderovski, J. M. Penninger, and G. Kroemer (1999), Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor, *Nature*, 397: 441-446.
 38. Okawa, M., J. Kinjo, T. Nohara, and M. Ono (2001), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants, *Biol. Pharm. Bull.*, 24: 1202-1205.
 39. Lefevre, G., M. Beljean-Leymarie, F. Beyerle, D. Bonnefont-Rousselot, J. P. Cristol, P. Therond, and J. Torrealles (1998), [Evaluation of lipid peroxidation by measuring thiobarbituric acid reactive substances], *Ann. Biol. Clin (Paris)*, 56: 305-319.
 40. Wilkins, R. C., B. C. Kutzner, M. Truong, J. Sanchez-Dardon, and J. R. N. McLean (2002), Analysis of radiation-induced apoptosis in human lymphocytes: flow cytometry using annexin V and propidium iodide versus the neutral comet assay, *Cytometry*, 48: 14-19.

Effects of mulberry ethanol extracts on hydrogen peroxide-induced oxidative stress in pancreatic β -cells

YOUNG RAE KIM¹, JONG SEOK LEE¹, KI RIM LEE¹, YOUNG EON KIM²,
NAM IN BAEK³ and EOCK KEE HONG¹

¹Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University, Chuncheon, Kangwon-do 200-701;

²Korea Food Research Institute, Songnam-si, Kyunggi-do 463-746; ³Department of Oriental Medicinal Materials and Processing, Kyung Hee University, Yongin-si, Gyeonggi-do 446-701, Republic of Korea

Received July 10, 2013; Accepted October 1, 2013

DOI: 10.3892/ijmm.2013.1534

Abstract. Reactive oxygen species (ROS) are key mediators of mammalian cellular damage and are associated with diseases such as aging, arteriosclerosis, inflammation, rheumatoid arthritis and diabetes. Type 1 diabetes develops upon the destruction of pancreatic β -cells, which is partly due to ROS activity. In this study, we investigated the cytoprotective and anti-oxidative effects of fractionated mulberry extracts in mouse insulin-producing pancreatic β -cells (MIN6N cells). Treatment with hydrogen peroxide (H_2O_2) induced significant cell death and increased intracellular ROS levels, lipid peroxidation and DNA fragmentation in the MIN6N cells. Fractionated mulberry extracts significantly reduced the H_2O_2 -dependent production of intracellular ROS, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals and lipid peroxidation. In addition, mulberry extracts inhibited DNA fragmentation induced by H_2O_2 . Thus, the antioxidant properties of mulberry extracts in pancreatic β -cells may be exploited for the prevention or treatment of type 1 diabetes.

Introduction

Reactive oxygen species (ROS) are derived from the metabolism of molecular oxygen and chemically reactive molecules containing oxygen, such as superoxide anion radicals (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radicals ($\cdot OH$). Under normal cellular conditions, ROS are primarily generated by mitochondrial respiratory metabolism and are then efficiently neutralized by cellular antioxidant defense mechanisms such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) (1-3). However, the excessive generation of

ROS during environmental stress results in significant oxidative damage to lipids, DNA and proteins (4). Such ROS-dependent damage can lead to dysfunction or cell death. Consequently, ROS have been implicated in the aging process, carcinogenesis, rheumatoid arthritis and inflammation (5). Excessive ROS are particularly deleterious in the pancreas, and their levels correlate with the loss of β -cell mass, islet destruction and dysfunction in diabetes (6).

Diabetes is a group of metabolic diseases in which a person has high blood sugar caused either by defective insulin production, insufficient insulin activity or both (7). Among the subtypes, type 1 diabetes is due to an absolute deficiency of insulin secretion resulting from the loss of β -cells upon autoimmune attack or oxidative stress (8). The major effects of insulin include the promotion of glucose uptake, the stimulation of glycogen synthesis in the liver and muscle, triglyceride formation and storage in adipocytes and an increase in protein synthesis (9,10). Insufficient insulin secretion and its downstream consequences thus lead to high blood sugar levels. Prolonged insulin dysfunction results in the progressive development of specific complications, including retinopathy with potential blindness, nephropathy that may lead to renal failure, neuropathy with risk of foot ulcers, limb amputation and cardiovascular disease (11). In modern medicine, there are no effective curative therapies for diabetes mellitus (12). In addition, current anti-diabetic therapies, such as insulin injection and hypoglycemic agents, usually have adverse side-effects and decreased efficacy over time (13,14). They can also be relatively ineffective against certain long-term diabetic complications and are associated with a high cost for patients and the health care industry (15,16). Therefore, the development of anti-diabetic natural products would be a promising solution for patients confronted with the negative side-effects of current anti-diabetic therapies (17).

In traditional medicine, several medicinal plants or their extracts are widely used in a number of countries for the treatment of disease. *Morus alba* (*M. alba*), the mulberry plant, belongs to this class of well-known natural medicinal species. *M. alba* belongs to the family Moraceae and the genus *Morus* and is a perennial, fast-growing woody plant that has a short proliferation period (18). Usually, 10-16 species of the genus *Morus* are found in subtropical, warm and temperate regions

Correspondence to: Professor Eock Kee Hong, Department of Bioengineering and Technology, College of Engineering, Kangwon National University, 192-1 Hyoja-2-dong, Chuncheon, Kangwon-do 200-701, Republic of Korea
E-mail: ekhong@kangwon.ac.kr

Key words: MIN6N cells, diabetes, oxidative stress, mulberry, *Morus*, pancreas

Article

Mulberry Fruit Extract Protects Pancreatic β -Cells against Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis via Antioxidative Activity

Jong Seok Lee ^{1,†}, Young Rae Kim ^{1,†}, Jun Myoung Park ¹, Suk-Jin Ha ¹, Young Eon Kim ², Nam In Baek ³ and Eock Kee Hong ^{1,*}

¹ Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200701, Korea; E-Mails: jongseoklee78@gmail.com (J.S.L.); youngrackim0709@gmail.com (Y.R.K.); three0313@nate.com (J.M.P.); sjha@kangwon.ac.kr (S.-J.H.)

² Korea Food Research Institute, Seongnam 463746, Korea; E-Mail: radog@kfri.re.kr

³ Department of Oriental Medicinal Materials and Processing, Kyung Hee University, Youngin 446701, Korea; E-Mail: nibaek@khu.ac.kr

[†] These authors contributed equally to this work.

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: ekhong@kangwon.ac.kr; Tel.: +82-33-250-6275; Fax: +82-33-243-6350.

Received: 20 May 2014; in revised form: 7 June 2014 / Accepted: 18 June 2014 /

Published: 26 June 2014

Abstract: Among the many environmental stresses, excessive production of reactive oxygen species (ROS) and the ensuing oxidative stress are known to cause significant cellular damage. This has clinical implications in the onset of type 1 diabetes, which is triggered by the destruction of pancreatic β -cells and is associated with oxidative stress. In this study, we investigated the protective and antioxidative effects of mulberry extract (ME) in insulin-producing pancreatic β -cells. We found that ME protects pancreatic β -cells against hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced oxidative stress and the associated apoptotic cell death. ME treatment significantly reduced the levels of H_2O_2 -induced 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals, and lipid peroxidation and intracellular ROS accumulation. In addition, ME inhibited DNA condensation and/or fragmentation induced by H_2O_2 . These results suggest that ME protects pancreatic β -cells against hydrogen peroxide-induced oxidative stress.

Keywords: mulberry; oxidative stress; apoptosis; diabetes; pancreatic β -cells



Oncology
Letters

International
Journal
of Oncology

Molecular
and Clinical
Oncology

Experimental
and Therapeutic
Medicine

International
Journal
of Molecular
Medicine

Biomedical
Reports

Oncology
Reports

Mole
Med
Rep

Online Submission & Tracking System

Submissions

Reference	Title	Journal	Type	Status	Date	Ac
9943/131716- DJO	Inonotus obliquus-derived polysaccharide inhibits the migration and invasion of human non-small cell lung carcinoma cells via suppression of MMP-2 and MMP-9	International Journal of Oncology	Article	Accepted	15-06-2014	
MMR-4811- 125350-01	Cyanidin-3-glucoside isolated from mulberry protects pancreatic β -cells against glucotoxicity-induced apoptosis	Molecular Medicine Reports	Article	Accepted	01-04-2014	
2193/124948- OR	Polysaccharide from Inonotus obliquus inhibits migration and invasion in B16-F10 cells by suppressing MMP-2 and MMP-9 via down-regulation of NF- κ B signaling pathway	Oncology Reports	Article	Accepted	26-12-2013	
IJMM-164- 116968	Effects of Mulberry Ethanol Extracts on Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress in Pancreatic β -cells	International Journal of Molecular Medicine	Article	Accepted	10-07-2013	

[Submit New Manuscript](#)

Click on the "Submit Manuscript" button to create a new submission. Click on the reference number of a submission in progress to edit/add to it.
NOTE: Once a manuscript has been submitted it cannot be edited or deleted. If you wish to make changes to a submission that has been completed,



Oncology Letters

International Journal of Oncology

Molecular and Clinical Oncology

Experimental and Therapeutic Medicine

International Journal of Molecular Medicine

Biomedical Reports

Oncology Reports

Molecular Medicine Reports

Online Submission & Tracking System

Submissions

Reference	Title	Journal	Type	Status	Date	Action
IJMM-679-132863	Cyanidin-3-glucoside isolated from mulberry confers protection pancreatic β -cells against oxidative stress-induced apoptosis	International Journal of Molecular Medicine	Article	Accepted	15-07-2014	
IJMM-347-123456	Antiviral activity of ginseng extract against respiratory syncytial virus infection	International Journal of Molecular Medicine	Article	Published	14-12-2013	

[Submit New Manuscript](#)

Click on the "Submit Manuscript" button to create a new submission. Click on the reference number of a submission in progress to edit/add to it.
NOTE: Once a manuscript has been submitted it cannot be edited or deleted. If you wish to make changes to a submission that has been completed, please send a request to contact@spandidos-publications.com. Notification will be sent once the submission process has been re-enabled.

제1위탁 : 오디로 부터 색소 및 기능성 소재의
분리 동정 및 표준화

경희대학교 백남인

요 약 문

I. 제 목

오디로부터 색소 및 기능성 소재의 분리 동정 및 표준화

II. 연구개발의 목적 및 필요성

소비자들의 웰빙 식품의 선호 및 건강에 대한 관심이 고조됨에 따라 복분자, 블루베리 등의 제품화 및 판매가 많이 이루어지고 있다. 특히 오디는 영양학적으로나, 기능성면에서 복분자나 기타 수입 베리류 보다 장점이 많은 열매이다. 상업은 소갈증, 소담성, 이뇨, 완화, 진해 및 거담제 등의 효능이 수록되어 있고, 콜레스테롤 흡수 저해 작용, 항당뇨, 항고지혈증, 항산화작용 및 혈당강하작용 등이 보고되어 있고, 분리된 성분으로는 rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin과 같은 flavonoid 외에 steroid 및 triterpenoid 등의 다양한 연구가 보고되어 있다. 따라서 열매인 오디도 다양한 성분 및 활성이 있을 것이라 추정된다. 오디 색소 (안토시아닌) 는 열, 빛, 산도, 공기 등에 매우 불안정하기 때문에 제품화의 걸림돌이 되고 있다. 따라서 오디 색소 분획의 안정화 방법이 확립되어야 한다. 또한 오디로부터 각종 비타민류, 유기산류, 당류 등의 성분이 보고되어 있으며, 근래 오디에 함유된 색소는 노화억제, 시력개선 효과 및 항산화 작용이 있다고 보고되었지만, 동정된 성분이 많지 않으며 활성성분의 분리 동정 및 정량 분석이 필요하다. 이러한 연구결과는 오디를 이용하여 신규 산업분야를 창출할 수 있으며 오디농가의 소득 증대와 농업인의 신사업을 창출하는데 큰 기여를 할 것으로 기대된다.

III. 연구개발 내용 및 범위

오디로부터 기능성 성분 추출물, 색소 고함유 추출물 조제한다. 추출물로부터 chromatography 법을 이용하여 기능성 성분 및 안토시아닌을 분리 정제한다. 분리한 물질에 대해서는 다양한 spectroscopic data 를 해석하여 구조를 동정한다. 또한 안토시아닌 및 기능성 성분의 효율적인 추출방법과 안정화 방법을 확립한다. 소재의 표준화를 위하여 기능성 성분 및 안토시아닌의 정량 분석법을 확립한다.

IV. 연구개발결과

오디로부터 70% EtOH 을 이용하여 기능성성분 추출 조건을 확립하였다. 또한 상기 추출용매에 4종 유기산을 처리하여 안토시아닌을 높은 수율로 추출하는 방법을 확립하였다. 추출물에 대하여 column chromatography를 이용하여 6종의 플라보노이드를 분리, 정제하였다. 각 정제된 화합물에 대해서는 NMR, IR, MS 등의 스펙트럼 데이터를 이용하여 각각 astragalín, quercetin, isoquercetin, rutin, morachalcone A 및 isobavachalcone으로 구조 동정하였다. 제조한 추출물과 분리한 화합물에 대해선 공동연구팀에 활성시료로 제공하였다. 안토시아닌의 저장 효과를 높이기 위하여, 처리하는 유기산의 종류와 적절한 농도를 결정하였다. 오디를 이용한 소재의 표준화를 위하여 주요 활성 화합물 rutin, morachalcone A, artoindonesianin O 및 isobavachalcone에 대하여 HPLC를 이용하여 정량 분석법을 확립하였다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

오디로부터 기능성 물질을 선별하여 functional food 혹은 새로운 약물 소재 개발을 촉진한다. 이를 위하여 활성 기능성분을 규명하여 활성 기작을 밝히고, 약물 소재를 개발할 수 있을 것이다. 또한 소재 중의 기능성분 함량을 분석하여 제품 품질 표준화 확립한다. 얻어진 결과는 저명 전문 학술지

에 연구결과 게재하여 기능성 성분 및 활성을 공지하고, 천연물 유래 기능성 소재 특허를 등록하여 독점권을 확보하고 기술이전을 통한 산업화를 촉진한다.

SUMMARY

(영문요약문)

I. The title of the research

Isolation, identification, and standardization of pigments and functional materials from the *Morus alba* fruits

II. The objectives and importance of the research

The mulberry has high nutritional potential as well functionality. The leaves of *Morus alba* are reported to treat thirst symptom and have the diuretic, cough dropping, and expectorant effect. And the leaves have been reported to exhibit the inhibition activity on cholesterol absorption, anti-diuretic, anti-hypercholesterolemia, anti-oxidant, and decrease of blood sugar. The principal components were known as rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin, steroids, and triterpenoids. Therefore, the fruits of *M. alba*, mulberries, are suggested to have a variety of components as well biological activities. The mulberry pigments, anthocyanins, are unstable against heat, light, acidity, and oxygen, which has been a setback for industrialization of the mulberries. The stabilization method of the mulberry pigments is necessary to be established. And, the standardization of the functional materials should be established for industrialization. This study will lead to development of new industry using mulberry, also contribute to increase of farming income.

III. Contents of research and reach

The functional components- and pigments-riched fractions are prepared. And the components and pigments are isolated through chromatography separation method. The isolated components were identified based on spectroscopic analyses. The effective extraction of the components and stabilization method are established. The quantitative and qualitative analyses of the active components and anthocyanins are studied for standardization of functional materials.

IV. Results of research

70% EtOH was used for effective extraction of active components from the mulberries. And three organic acids citric acid, malic acid, and fumaric acid were used to extract anthocyanins with high yield. From the extracts six flavonoids were isolated through repeated SiO₂, and ODS column chromatography methods. The purified flavonoids were identified to be rutin, quercetin, isoquercetin, astragalins, artoindonesianin O and isobavachalcone on the basis of spectroscopic data. The extracts and compounds were evaluated for several pharmacological activities. To increase the stability of anthocyanins the kind and concentration of treated organic acids were determined. And for standardization of active materials and products, the quantitative analyses for the principal components rutin, morachalcone A, artoindonesianin O, and isobavachalcone were established using HPLC method.

V. Achievement of objective and application plan of the results

New materials for drugs or functional foods will be developed by searching for active

compounds from mulberries. To achieve this purpose, the identification of the active components and evaluation of activity mechanism should be fulfilled. And standardization of active materials and production process of the products are also necessary. The project results will be published in the high-leveled journals and registered in patent to acquire an exclusive right. Finally, the industrialization of the materials will be processed by the transfer of technical know-how to the industrial companies.

CONTENTS

Chapter 1 Outline of the project-----	465
Section 1 Object and necessity of the project-----	465
1. Object and necessity of the project-----	465
Chapter 2 Present condition of domestic and global technology-----	467
Section 1. Present circumstance and practical difficulty of domestic and global technology---	467
A. Present circumstance and practical difficulty of domestic and global technology----	467
Section 2 Present circumstance of the project-----	467
Chapter 3 Achievement of project contents and results-----	468
Section 1 Project contents and scope-----	468
1. Preparation of active extracts from mulberry-----	470
A. Establishment of solvent extraction method-----	470
2. Preparation of pigments-rich fraction from mulberry-----	470
A. Preparation of anthocyanins-riched fraction using edible organic acids-----	470
B. Measurement of maximal absorption for anthocyanins-riched fractions-----	470
3. Stabilization of anthocyanins-riched fraction-----	471
A. Variation of anthocyanins-riched fraction according to storage conditions-----	471
4. Fractionation of Yechun mulberry extracts-----	474
A. Fractionation of mulberry extracts using solvent polarity-----	474
5. Isolation of pigments and active components from Yechyn mulberry-----	474
A. Isolation of active components from EtOAc fraction-----	474
B. Isolation of active components from <i>n</i> -BuOH fraction-----	476
6. Fractionation of Boan mulberry extracts-----	477
A. Fractionation of mulberry extracts using solvent polarity-----	477
7. Isolation of pigments and active components from Yechyn mulberry-----	478
A. Isolation of active components from EtOAc fraction-----	478
8. Spectroscopic data analyses and structure determination of isolated components-----	479
A. Examination of physico-chemical characteristics and interpretation of spectroscopic data-----	479
9. Structure determination of isolated components-----	480
A. Structure determination of β -sitosterol-----	480
B. Structure determination of artoindonesianin O-----	481
C. Structure determination of isobavachalcone-----	483
D. Structure determination of morachalcone A-----	484
E. Structure determination of quercetin-----	486
F. Structure determination of astragalin-----	486
G. Structure determination of isoquercetin-----	487
H. Structure determination of rutin-----	488
I. Structure determination of moracin C-----	489
J. Structure determination of mulberrofuran E-----	491
K. Structure determination of chalcomoracin-----	492

10. Quantitative analysis of active components-----	493
A. Preaparration of sample for LC/MS/MS analysis-----	493
B. LC/MS/MS analysis-----	493
C. Quantitative analysis of active compounds of EtOAc and <i>n</i> -BuOH fractions-----	494
11. Validation-----	495
A. Specificity-----	496
B. Linearity, calibration curve and range-----	496
C. Limit of detection-----	497
D. Limit of quantitation-----	497
E. Presision-----	498
12. Preparation of anthocyanin-riched fraction from Yechun mulberry-----	498
A. Preparation of anthocyanin-riched fraction by treatment of organic acids-----	498
13. Isolation of anthocyanin from Yechun mulberry-----	498
14. Development of anti-diabetic materials-----	498
A. Evaluation of anti-diabetic potential by detection of Zebrafish pancreatic isle--	498
 Chapter 4 Achievement of the project object and contribution for related-filed-----	 501
Section 1 Achievement of the project object-----	501
Section 2 Contribution for related-filed-----	503
 Chapter 5 Project results and the application plan-----	 504
Section 1 Annual project results-----	504
1. Publication of papers-----	504
2. Application and registration of patents-----	505
3. Academic conference abstracts-----	505
Section 2 Application plan of project results-----	505
1. Submission of papers-----	506
 Chapter 6 Overseas scientific information acquired during project execution process--	 507
 Chapter 7 References-----	 508

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요-----	465
제 1 절	연구개발의 목적 및 필요성-----	465
1.	연구개발의 목적 및 필요성-----	465
제 2 장	국내외 기술개발 현황-----	467
제 1 절	국내·외 기술개발 현황과 문제점-----	467
1.	국내·외 기술개발 현황과 문제점-----	467
제 2 절	연구 현황-----	467
제 3 장	연구 개발수행 내용 및 결과-----	468
제 1 절	연구개발 내용 및 범위-----	468
1.	오디로부터 기능성 물질 추출물의 제조-----	470
가.	용매 추출 조건 선정-----	470
2.	오디로부터 색소 고함유물의 조제-----	470
가.	식용 가능한 유기산을 이용한 안토시아닌 색소 고함유 추출물 제조 조건 확립-----	470
나.	유기산 첨가 안토시아닌 고함유 추출물에 대한 안토시아닌 최대 흡광도 측정-----	470
3.	오디 안토시아닌 고함유 추출물 안정화 방법 확립-----	471
가.	오디 유기산 첨가 안토시아닌 고함유 추출물 저장 조건에 따른 변화 측정-----	471
4.	예천 오디 추출물로부터 분획물 조제-----	474
가.	오디 추출물에 대하여 용매 극성을 이용한 분획물 조제-----	474
5.	예천 오디로부터 색소 및 기능성 소재의 분리-----	474
가.	EtOAc 분획물로부터 활성 물질 분리-----	474
나.	<i>n</i> -BuOH 분획물로부터 활성 물질 분리-----	476
6.	부안 오디 추출물로부터 분획물 조제-----	477
가.	오디 추출물에 대하여 용매 극성을 이용한 분획물 조제-----	477
7.	부안 오디로부터 색소 및 기능성 소재의 분리-----	478
가.	EtOAc 분획물로부터 활성 물질 분리-----	478
8.	분리된 화합물의 기기분석 및 구조 확인 동정-----	479
가.	물리화학적 성상의 관찰, 기기분석 자료의 해석-----	479
9.	분리된 화합물의 구조 확인 동정-----	480
가.	β -sitosterol의 구조 동정-----	480
나.	artoindonesianin O의 구조 동정-----	481
다.	isobavachalcone의 구조 동정-----	483
라.	morachalcone A의 구조 동정-----	484
마.	quercetin의 구조 동정-----	486
바.	astragalin의 구조 동정-----	486
사.	isoquercetin의 구조 동정-----	487
야.	rutin의 구조 동정-----	488
자.	moracin C의 구조 동정-----	489
차.	mulberrofuran E의 구조 동정-----	491
카.	chalconmoracin의 구조 동정-----	492

10. 기능성 성분 정량 분석-----	493
가. LC/MS/MS 분석 시료 준비-----	493
나. LC/MS/MS 분석-----	493
다. EtOAc와 <i>n</i> -BuOH 분획 중의 시료 정량분석-----	494
11. 분석법검증-----	495
가. 특이성-----	496
나. 4종시료에 대한 직선성, 검량선 및 범위-----	496
다. 검출한계-----	497
라. 정량한계-----	497
마. 정밀성-----	498
12. 예천 오디로부터 안토시아닌 고함유 추출물 조제-----	498
가. 오디 유기산 첨가 안토시아닌 고함유 추출물 조제-----	498
13. 예천 오디로부터 안토시아닌의 분리-----	498
14. 항당뇨 효능 강화 소재 개발-----	498
가. Zebrafish 체도 변화를 통한 항당뇨 효능-----	498
나. Zebrafish 체도 변화를 통한 항당뇨 측정-----	498
다. Zebrafish의 체도의 형광 염색 intensity 분석-----	499
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도-----	501
제 1 절 목표달성도-----	501
제 2 절 기여도-----	503
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획-----	504
제 1 절 연차별 연구개발 성과-----	504
1. 논문 게재 성과-----	504
2. 특허 출원 성과-----	505
3. 학술대회 초록-----	505
제 2 절 성과 활용 계획-----	505
1. 논문 계획-----	506
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보-----	507
제 7 장 참고문헌-----	508

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적 및 필요성

뽕나무 (*Morus alba* L.)는 뽕나무과(Moraceae)에 속하는 낙엽교목으로 우리나라 전역에 분포하고 있다. 6~10 m 까지 자라며, 수피는 회갈색이다. 열매는 장과로 6월에 흑색으로 익는다 [Lee, 2003; Yoon, 2004]. 뽕나무 열매인 오디는 상심자(桑椹子), 상실(桑實), 흑심(黑核) 등으로 불리며 백발을 검게 하며, 소갈을 덜어주고 오장을 이롭게 하는 자양 강장제로 전통 한약재이다 [Kim, 1991; Park 등 1997]. 그럼에도 불구하고, 관련된 홍보의 부족으로 젊은 세대에서는 오디 자체를 모르는 경우가 있다. 상업은 뽕잎을 제조한 약재로 ‘신농본초경’에 의하면 소갈증, 소담성, 이뇨, 완화, 진해 및 거담제 등의 효능이 수록되어 있으며 연구보고에 따르면 콜레스테롤 흡수 저해 작용, 항당뇨, 항고지혈증, 항산화작용 및 혈당강하작용 등이 보고되어 있고, 분리된 성분으로는 rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin과 같은 flavonoid 외에 steroid 및 triterpenoid 등의 다양한 연구가 진행됨으로써 그 과실인 오디도 근경에 활성을 가지고 있을 것 이라 사료되며, 오디로부터 각종 비타민류, 유기산류, 당류 등의 성분이 보고되어 있으며, 근래 오디에 함유된 색소는 노화억제, 시력개선 효과 및 항산화 작용이 있다고 보고되어 있으며 [Politzer, 1977; Yoshiki 등, 1995; Du 등, 2008], 뽕나무의 부위중 항산화 활성 및 총 페놀함량은 열매 > 잎 > 가지 순으로 높은 것으로 보고되어 있다. 하지만 동정된 성분이 많지 않으며 활성성분의 정량 분석이 필요한 실정이다

뽕나무와 관련된 산업 중에 하나인 양잠 산업은 1980년대 이후 급격한 쇠퇴의 길을 걸어 왔지만, 최근 양잠소재를 이용한 누에그라, 실크화장품, 기억력과 학습능력을 향상시키는 BF-7 등의 다양한 상품들이 출시되어 시장 규모 1조원을 목표로 할 만큼 그 규모를 넓혀가고 있으며, 이를 개기로 2007년 주요 양잠산물의 생산량은 23.9% 그리고 총 생산액은 32%나 증가하였다. 농촌진흥청에서는 다양한 뽕나무 품종을 개발 진행 중에 있으며 국가적으로는 관심이 높은 상황이다.

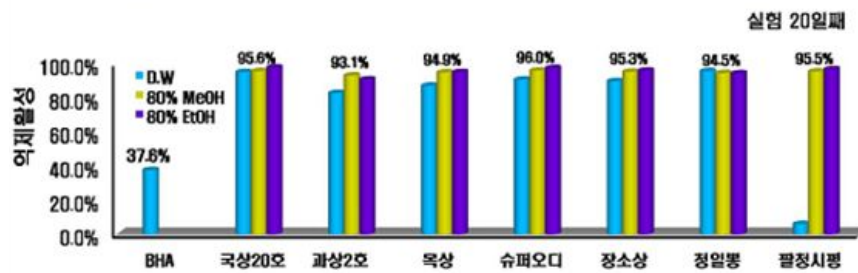


그림 1. 품종별 오디 추출물의 항산화 활성 비교 (농촌진흥청, (<http://www.rda.go.kr>))

최근 농촌진흥청에서 새로이 육종된 YK-209 뽕나무가 경북 영천지역에 양잠농가와 영천양잠농업 협동조합에서 시험재배에 성공하여 현재 오디 생산량이 증가 하고 있다.



그림 2. 최근 오디 생산량 (농촌진흥청, <http://www.rda.go.kr>)

안토시아닌 색소는 식물의 열매, 꽃, 잎, 줄기 등에 함유되어 있어 붉은색, 푸른색, 보라색 등의 색을 띤다. 시력개선, 항산화 등 다양한 생리 활성이 보고되어 있고, 인체에 무해한 천연 색소 및 기능성 식품 소재로 각광받고 있다. Phenylchromane ($C_6C_3C_6$)의 기본 골격으로 C환의 1번 위치의 산소가 3개로 되어 있어서 양이온으로 하전 되어 있는 oxonium 형태가 anthocyanin의 불안정성을 야기하기 때문에 제폭화의 걸림돌이 되고 있다. 따라서 오디 색소의 안정화 방법이 확립되어야 한다. 국외에서는 라즈베리, 블루베리, 딸기, 포도의 anthocyanin의 안정성 및 분석법에 대한 연구가 보고되어 있다 [Cristina, 1998; Skrede 등, 2006; Khanal 등, 2010]. 국내에서는 오디, 유색감자, 유색미, 자색고구마 등 다양한 식물에 관하여 연구되어 있다 [Kang 등, 2003; Park 등, 2004; Yoon 등, 1997; Park 등, 2011]. 대부분의 연구결과는 주로 anthocyanin 색소의 안정성에 대한 것이지만 오디에 함유된 anthocyanin에 관한 연구는 미진하다. 또한 오디로부터 anthocyanin 추출 시 추출 수율을 높이기 위하여 무기산을 첨가한 보고가 있다 [Kim, 2003; Kim 등, 2005]. 무기산의 음이온이 안토시아닌의 oxonium 양이온과 안정한 염의 형태를 생성하기 때문에 추출 속도가 높아지게 된다. 또한 무기산을 이용하면, 산화효소의 작용을 억제하여 anthocyanin 색소를 안정화 시키는 역할을 한다. 하지만 기능성 식품에 이용하기 위해 무기산을 대체 할 수 있는 방법의 개발이 필요하다. 따라서 본 연구는 천연소재로부터 효과적으로 색소를 추출하고, 오디 가공 및 저장 시 발생할 수 있는 anthocyanin 색소의 안정성을 측정하기 위한 방법을 확립하여 오디의 맛과 기능성을 최대한 유지시키면서 오디의 기능성 식품 소재화에 대한 기초 자료를 과학적으로 규명하여 규격화시킴으로서 오디를 소재기반으로 한 신규 산업 분야를 창출할 수 있으며 오디농가의 소득 증대와 농민의 신사업을 창출하는데 큰 기여를 할 것으로 예상된다.

제 2 장 국내·외 기술개발 현황

제 1 절 국내·외 관련기술의 현황과 문제점

1. 국내·외 관련기술의 현황과 문제점

오디 색소의 안정화 연구는 국외에서는 라즈베리, 블루베리, 딸기, 포도의 anthocyanin의 안정성 및 분석법에 대한 연구가 보고되어 있다[Cristina, 1998; Skrede 등, 2006; Khanal 등, 2010]. 국내에서는 오디, 유색감자, 유색미, 자색고구마 등 다양한 식물에 관하여 연구되어 있다[Kang 등, 2003; Park 등, 2004; Yoon 등, 1997; Park 등, 2011]. 대부분의 연구결과는 주로 anthocyanin 색소의 안정성에 대한 것이지만 오디에 함유된 anthocyanin에 관한 연구는 미진하다. 또한 오디로부터 anthocyanin 추출 시 추출 수율을 높이기 위하여 무기산을 첨가한 보고가 있다[Kim, 2003; Kim 등, 2005]. 무기산의 음이온이 안토시아닌의 oxonium 양이온과 안정한 염의 형태를 생성하기 때문에 추출 속도가 높아지게 된다. 또한 무기산을 이용하면, 산화효소의 작용을 억제하여 anthocyanin 색소를 안정화 시키는 역할을 한다. 하지만 기능성 식품에 이용하기 위해 무기산을 대체 할 수 있는 방법의 개발이 필요하다. 따라서 본 연구는 천연소재로부터 효과적으로 색소를 추출하고, 오디 가공 및 저장 시 발생할 수 있는 anthocyanin 색소의 안정성을 측정하기 위한 방법을 확립하여 오디의 맛과 기능성을 최대한 유지시키면서 오디의 기능성 식품 소재화에 대한 기초 자료를 과학적으로 규명하여 규격화시키므로써 오디를 소재기반으로 한 신규 산업분야를 창출할 수 있으며 오디농가의 소득 증대와 농민의 신사업을 창출하는데 큰 기여를 할 것으로 예상된다.

뽕나무의 잎과 껍질은 활성 기능성 성분의 분리 및 구조 분석 연구가 많이 이루어진 반면, 오디의 이차대사산물에 대한 활성 성분의 분리 및 분석의 연구는 미흡한 상태이다. 이에 분리한 활성 기능성분의 LC/MS를 이용한 정량 분석, 지표성분의 회귀 곡선 작성 및 분석 방법에 대한 validation 확보 등의 연구가 필요하다.

제 2 절 연구현황

경상대학교 박기훈 교수와 진주산업대학교의 갈상완 교수는 뽕나무 (*Morus ihou*) 껍질로부터 이차대사산물을 분리하고 분리한 화합물에 대하여 타이로시나아제 저해활성, 항산화, 엘라스테아제 저해활성과 같은 약리활성 연구결과를 보고하였다. 하지만 종의 차이가 있으며 뽕나무 열매인 오디로부터는 연구 보고가 되어 있지 않았다. 또한 대구카톨릭대학교의 최상원 교수와 부안군 농업기술센터는 오디 추출물에 대한 약리활성 연구를 수행하여 항당뇨, 성인병예방 상승효과, 항산화, 항노화와 같은 유의한 약리활성이 있는 것을 확인하였다. 하지만 약리활성을 나타내는 성분이 무엇인지 규명하지는 못하였다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발 내용 및 범위

구분 (연도)	세부연구목표	연구개발 수행내용
1차 년도 (2011)	한국식품연구원에서 제공 받은 예천 오디로부터 기능성 물질 추출물의 제조	-오디를 70% EtOH로 추출 -여액 및 잔사추출액을 합하여 감압 농축 (2219 g) -농축한 추출물 50 mg 조제하여 활성 검색용 시료로 제공
	오디로부터 안토시아닌 고함유 추출물의 조제	-오디에 citric acid, malic acid, fumaric acid를 각각 첨가하여 70% EtOH로 추출 -여액 및 잔사추출액을 합하여 감압 농축 -농축한 추출물 50 mg씩 조제하여 활성 검색용 시료로 제공
	오디 안토시아닌 고함유 추출물 안정화 확립	-유기산 첨가 안토시아닌 추출물의 정량법 확립을 위해 최대 흡광도(543 nm) 측정 -오디 안토시아닌 고함유 추출물 저장 조건[빛, 차광, 냉장 차광 (4℃), 고온(60℃)]에 따른 안토시아닌 함량 측정
	기능성 추출물에 대하여 용매 극성별 분획물 조제	-EtOAc, <i>n</i> -BuOH, H ₂ O로 분획 -여과한 후 감압 농축 [EtOAc (40 g), <i>n</i> -BuOH (247 g), H ₂ O (1949 g)] -농축한 분획물 50 mg씩 조제하여 활성검색용 시료로 제공 -EtOAc 분획물로부터 Silica gel column chromatography를 실시하여 14개의 분획물을 얻어 감압 농축 -농축한 분획물 50 mg씩 조제하여 활성 검색용 시료로 제공
	EtOAc 분획물에 대하여 활성물질 분리	-Silica gel, Sephadex LH-20, RP-silica gel 등의 각종 matrix를 적절히 이용하고, 다양한 용출용매로 column chromatography를 실시하여 3개의 물질 분리·정제
	분리된 화합물의 기기분석 미 구조 확인 동정	-3개의 물질에 대하여 NMR 및 MS data를 이용하여 β -sitosterol, astragalín, artoindonesianin O를 분리
2차 년도 (2012)	EtOAc와 <i>n</i> -BuOH 분획물에 대하여 활성물질 분리	-Silica gel, Sephadex LH-20, RP-silica gel 등의 각종 matrix를 적절히 이용하고, 다양한 용출용매로 column chromatography를 실시 -5개의 물질 분리·정제 -단일물질 1 mg씩을 조제하여 활성 검색용 시료로 제공
	분리한 기능성 성분 구조 결정	-5개의 물질에 대하여 NMR 및 MS data를 이용하여 isobavachalcone, morachalcone A, isoquercetin, rutin, γ -tocopherol로 구조동정
	기능성 성분 정량 분석	-LC/MS를 이용한 지표성분의 회귀 곡선 작성 -분석 방법에 대한 validation 확보
	천연소재 오디로부터 기능성 성분 분리 방법 확립 및 표준화	-기능성 성분 분리 방법 확립

구분 (연도)	세부연구목표	연구개발 수행내용
3차 년도 (2013)	한국식품연구원에서 제공받은 부안 오디로부터 기능성 물질 추출물의 제조	-오디를 100% MeOH로 1차 추출 -오디를 80% MeOH로 2차 추출 -여액 및 잔사추출액을 합하여 감압 농축 (1980 g)
	오디로부터 기능성 추출물에 대하여 용매 극성별 분획물 조제	-EtOAc, <i>n</i> -BuOH, H ₂ O로 분획 -여과한 후 감압 농축 [EtOAc (38 g), <i>n</i> -BuOH (202 g), H ₂ O (1740 g)] -EtOAc 분획물로부터 Silica gel column chromatography를 실시하여 8개의 분획물을 얻어 감압 농축
	EtOAc 분획물에 대하여 활성물질 분리	-Silica gel, Sephadex LH-20, RP-silica gel 등의 각종 matrix를 적절히 이용하고, 다양한 용출용매로 column chromatography를 실시 -4개의 물질 분리·정제
	분리한 기능성 성분 구조 결정	-4개의 물질에 대하여 NMR 및 MS data를 이용하여 quercetin, moracin C, mulberrofuran E, chalconmoracin로 구조동정
	항당뇨 효능 강화 소재 개발	-오디에서 분리한 4종의 flavonoid 화합물에 대하여 alloxan으로 당뇨를 유발한 zebrafish의 췌도의 사이즈를 측정
	지표성분 정성 및 정량 분석	-활성 지표 성분 (rutin)에 대하여 HPLC를 이용하여 분석 조건 확립 -분석 조건을 이용한 지표성분의 회귀 곡선 작성 -분석 방법에 대한 validation 확보 (정밀성, 정확성, 검출한계, 정량한계 등) -위의 방법을 적용하여 활성소재, 제품의 표준화 규격 확립
	안토시아닌 고함유 추출물 조제 및 안토시아닌 분리	-산을 이용한 용매 추출 (0.1% HCl) -Diaion HP-20 수지 흡착을 이용하여 추출물에서의 안토시아닌 고함유 추출물 조제 -종이크로마토 그래피를 이용한 안토시아닌의 분리

1. 오디로부터 기능성 물질 추출물의 제조

가. 용매 추출 조건 선정

- (1) 용매 중 식용 가능한 추출 조건을 확립하기 하여 70% EtOH을 사용
- (2) 분쇄된 완숙 오디 생체 15.4 kg에 대하여 100% EtOH (36 L × 1)을 가하여 실온에서 24시간 추출
- (3) 여액에 대하여 감압 농축
- (4) 잔사에 대하여 70% EtOH (35 L × 2)을 가하여 실온에서 24시간 추출
- (5) 여액 및 잔사추출액을 합하여 감압 농축 (2219 g)
- (6) 농축한 추출물 50 mg씩을 조제하여 활성 검색용 시료로 제공

2. 오디로부터 색소 고함유 추출물의 조제

가. 식용 가능한 유기산을 이용한 안토시아닌 색소 고함유 추출물 제조 조건 확립

- (1) 분쇄된 오디 100 g에 citric acid (1 g, 5 g, 10 g), malic acid (1 g, 5 g, 10 g), fumaric acid (1 g, 5 g, 10 g)을 각각 첨가하여 70% EtOH로 2회 100 ml로 추출
- (2) 여액 및 잔사추출액을 합하여 감압 농축
- (3) 농축한 추출물 50 mg씩을 조제하여 활성 검색용 시료로 제공

나. 유기산 첨가 안토시아닌 고함유 추출물에 대한 안토시아닌 최대 흡광도 측정

- (1) 유기산이 첨가된 안토시아닌 고함유 추출물에 대하여 UV 흡광계를 이용하여 543 nm에서 측정
(가) 오디 100 g당 유기산 첨가 안토시아닌 고함유 추출물에 대하여 흡광도를 측정
 - ① 대조군에 비하여 유기산 첨가 시 흡광도 증가하였고, 유기산의 농도가 높아질수록 흡광도도 같이 높아지는 것을 확인하여 안토시아닌의 추출이 더 많이 되는 것을 확인
 - ② 오디 100 g에 citric acid 1 g 첨가 추출 시 대조군에 비하여 51±0.08%, 5 g 첨가 시 150±0.03%, 10 g 첨가 시 213±0.02% 추출 수율이 증가
 - ③ 오디 100 g에 malic acid 1 g 첨가 추출 시 대조군에 비하여 62±0.02%, 5 g 첨가 시 145±0.04%, 10 g 첨가 시 195±0.05% 증가
 - ④ 오디 100 g에 fumaric acid 1 g 첨가 추출 시 대조군에 비하여 52±0.04%, 5 g 첨가 시 186±0.03%, 10 g 첨가 시 219±0.02% 추출 수율이 증가
 - ⑤ 오디에 첨가한 유기산 종류에 따른 안토시아닌 추출물에 대한 흡광도의 차이는 그다지 크게 나타나진 않았지만, 몰 농도로 환산하였을 때에는 citric acid > fumaric acid > malic acid 순으로 나타남. 이는 유기산 첨가에 따른 농색화 현상에 기인하는데, 각 유기산의 산 해리상수 즉 pKa 값이 citric acid는 2.93±0.28, fumaric acid는 3.15±0.10, malic acid는 3.61±0.23인 점으로부터 확인됨. 하지만 기존에 citric acid 첨가에 의한 안토시아닌 추출에 대한 연구가 많이 보고되어 있는 실정이라 [Kang 등, 2003; Park 등, 2004], fumaric acid를 사용하여 안토시아닌 추출물의 안정성 실험 실시함

안토시아닌 고함유 추출물 최대 흡광도

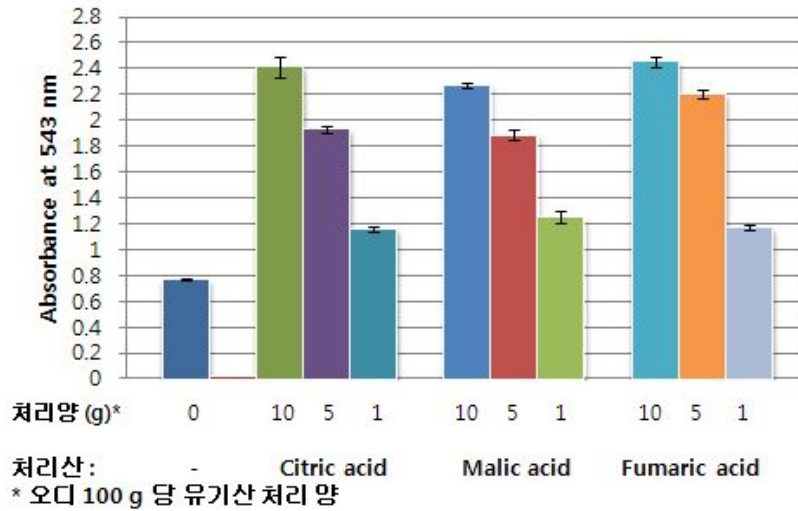


그림3. 유기산 첨가 추출물에 대한 안토시아닌 고함유 추출물 최대 흡광도

3. 오디 안토시아닌 고함유 추출물 안정화 방법 확립

가. 오디 유기산 첨가 안토시아닌 고함유 추출물 저장 조건에 따른 변화 측정

(1) 유기산이 첨가된 안토시아닌 고함유 추출물에 대하여 색소의 안정성에 대한 온도의 영향, 냉장(4℃), 상온(25℃), 고온(60℃)에 따른 안토시아닌 변화를 측정하기 위하여 UV 흡광계를 이용하여 543 nm에서 측정

(가) 안토시아닌 추출 효과가 가장 우수한 것으로 나타난 fumaric acid를 오디 100 g에 1 g, 5 g 10 g씩을 각각 첨가하여 같은 방법으로 추출

(나) 1차 추출은 100% EtOH 100 ml로 추출한 다음 여액 및 잔사를 여과하여 70% EtOH 100 ml로 2회 추출한 여과액을 합한 여액 20 ml를 25 ml vial에 넣고 밀봉하여 빛을 차단하기 위하여 aluminum foil로 감싼 후 4, 25, 60℃에서 각각 보관

(다) 저장 일에서 7일까지는 24시간 간격으로 시료를 1 ml씩 취하여 분광광도계를 이용하여 543 nm에서 추출액의 흡광도 변화를 측정하였으며, 이후는 3일 혹은 7일 간격으로 시료를 취하여 41일까지 측정

① 냉장 조건(4℃) : 0일부터 41일간에 따른 흡광도를 측정

㉠ 유기산 무첨가 시 안토시아닌의 변화 없음

㉡ 10 g을 첨가 시 10일차부터 감소하였으며 0일차에 비해 6% 감소하였음

㉢ 5 g을 첨가 시 7일차부터 감소하였으며 0일차에 비해 5% 감소하였음

㉣ 1 g을 첨가 시 감소가 뚜렷하게 보이지 않았음

㉤ 냉장 조건(4℃)에서는 안토시아닌의 분해는 거의 일어나지 않음

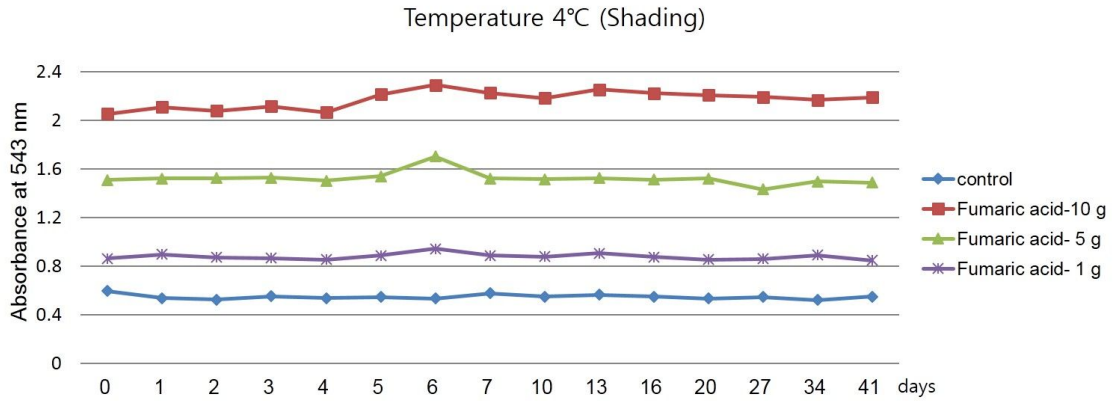


그림 4. 오디 fumaric acid 첨가 안토시아닌 고함유 추출물 냉장 조건(4°C)에 대한 최대흡광도.

② 상온 조건(25°C) : 0일부터 41일간에 따른 흡광도를 측정

- ㉠ 유기산 무첨가 시 안토시아닌의 변화 없음
- ㉡ 10 g을 첨가 시 7일차부터 감소하였으며, 41일차에는 0일차에 비해 16% 감소하였음
- ㉢ 5 g을 첨가 시 7일차부터 약간씩 감소하였으며 0일차에 비해 3% 감소하였고, 41일차에는 17% 감소하였음
- ㉣ 1 g을 첨가 시 흡광도가 매우 서서히 감소하여 41일차에는 6일에 비해 12% 감소하였음
- ㉤ 상온 조건(25°C)에서는 6일차까지는 거의 변화가 없었으나 그 이후 조금씩 안토시아닌이 분해하는 것으로 나타남

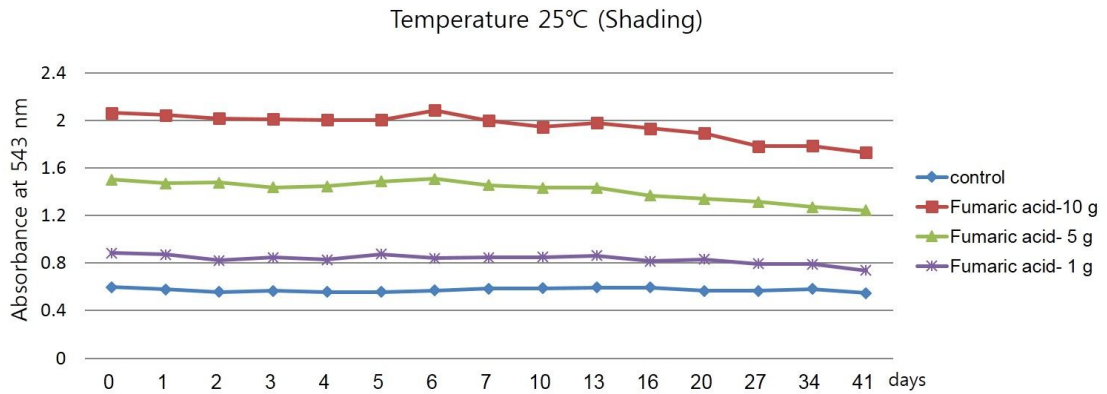


그림 5. 오디 fumaric acid 첨가 안토시아닌 고함유 추출물 상온 조건(25°C)에 대한 최대흡광도.

③ 고온 조건(60°C) : 0일부터 41일간에 따른 흡광도를 측정

- ㉠ 유기산 무첨가 시 3일차부터 감소하였으며 16이차에 최대 감소하여 0일차에 비하여 43% 감소하였으나 그 이후에는 다시 서서히 증가함
- ㉡ 10 g을 첨가 시 1일차부터 감소하여 20일차에 최대 감소하여 초기에 비하여 65%나 감소하였고 그 이후 다시 증가하여 41일차에는 27일차에 비해 33% 증가하였고 초기와 비교 시 40% 감소함
- ㉢ 5 g을 첨가 시 1일차부터 감소하여 27일차 최대 감소하여 초기에 비하여 54% 감소하였으나 41일차에는 27일차에 비하여 48% 증가하여 초기와 비교시 32% 감소함
- ㉣ 1 g을 첨가 시 1일차부터 감소하여 16일차에 최대 감소하여 초기에 비하여 44% 감소하

였으나, 그 이후에는 다시 증가하여 41일차에는 16일차에 비해 42% 증가하여 초기와 비교 시에는 20% 감소함

- ㉞ 고온 조건(60℃)에서는 저장 후 즉시 급격하게 감소하였으나 저장 16~20일부터는 다시 증가함. 이는 열에 의해 분해된 분해산물들이 다시 열에 의하여 축합하여 543 nm의 빛을 흡수하는 어떤 화합물을 생성하는 것으로 예측됨

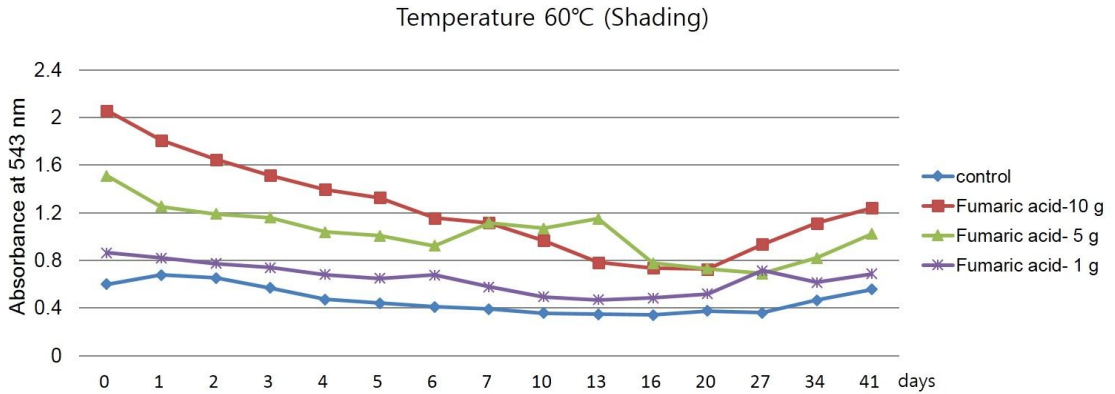


그림 6. 오디 fumaric acid 첨가 안토시아닌 고함유 추출물
고온 조건(60℃)에 대한 최대흡광도.

(2) 유기산이 첨가된 안토시아닌 고함유 추출물에 대하여 색소의 안정성에 대한 빛의 영향, 상온 (25℃), 상온차광(25℃)에 따른 안토시아닌 변화를 측정하기 위하여 UV 흡광계를 이용하여 543 nm에서 측정

(가) 안토시아닌 추출 효과가 가장 우수한 것으로 나타난 fumaric acid를 오디 100 g에 1 g, 5 g 10 g씩을 각각 첨가하여 같은 방법으로 추출

(나) 1차 추출은 100% EtOH 100 ml로 추출한 다음 여액 및 잔사를 여과하여 70% EtOH 100 ml로 2회 추출한 여과액을 합한 여액 20 ml를 25 ml vial에 넣고 밀봉하여 상온 (25℃) 183 lux 형광 하에서 각각 보관하고 다른 vial은 빛을 차단하기 위하여 aluminum foil로 감싼 후 상온 (25℃) 암소에서 보관하였다.

(다) 저장 일에서 7일까지는 24시간 간격으로 시료를 1 ml씩 취하여 분광광도계를 이용하여 543 nm에서 추출액의 흡광도 변화를 측정하였으며, 이후는 3일 혹은 7일 간격으로 시료를 취하여 41일까지 측정

① 상온 형광 조건(25℃) : 0일부터 41일간에 따른 흡광도를 측정

㉠ 유기산 무첨가 시 안토시아닌의 변화 없음

㉡ 10 g을 첨가 시 약간씩 감소하여 41일차에서 10일차에 비해 21% 감소함

㉢ 5 g을 첨가 시 약간씩 감소하여 41일차에서 10일차에 비해 17% 감소함

㉣ 1 g을 첨가 시 아주 조금씩 감소하여 41일차에서는 10일차에 비하여 3% 감소함

㉤ 상온 형광 조건(25℃)에서는 183 lux의 형광 하에서 저장 기간에 따른 안토시아닌의 흡광도 차이는 거의 없음

② 상온 차광 조건(25℃) : 0일부터 41일간에 따른 흡광도를 측정

㉠ 유기산 무첨가, 1 g, 5 g, 10 g 첨가 시 안토시아닌의 변화 없음

㉡ 식품 제조나 저장 시 183 lux 이하의 형광조건에서 작업하는데 이 경우 빛에 의해 안토시아닌이 파괴되는 정도는 무시할 수 있는 정도로 판단됨

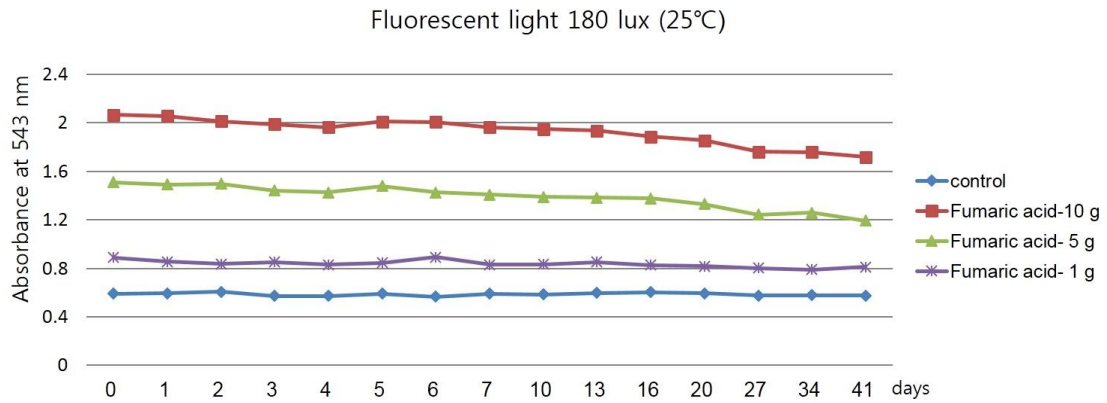
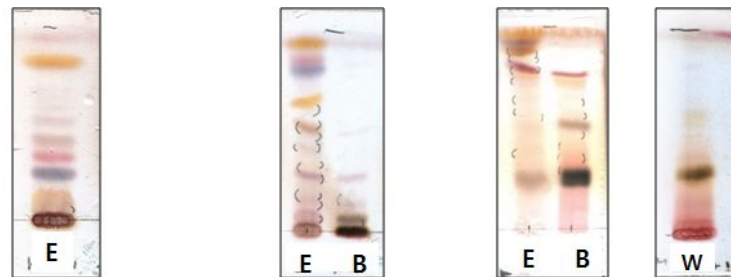


그림 7. 오디 fumaric acid 첨가 안토시아닌 고함유 추출물 상온 형광 조건(25°C)에 대한 최대흡광도.

4. 예천 오디 추출물로부터 분획물 조제

가. 오디 추출물에 대하여 용매 극성을 이용한 분획물 조제

- (1) 오디 추출물(2219 g)을 물(1.7 L)로 현탁한 후 separating funnel에 정지
- (2) EtOAc (1.7 L)를 이용하여 4회 추출하고, 추출액을 합한 후, 무수 MgSO₄로 탈수
- (3) 여과지로 여과한 후, 감압 농축 (41 g)
- (4) 남은 수층을 *n*-BuOH (1.5 L)로 4회 추출하고, 추출액을 합하여 감압 농축 (247 g)
- (5) 남은 수층 감압농축 (1949 g)
- (6) 농축한 분획물을 50 mg씩 제조하여 활성 검색용 시료로 제공
- (7) TLC plate를 이용하여 물질군 확인



n -hexane-EtOAc=7:1 CHCl₃-MeOH=10:1 CHCl₃: MeOH: H₂O=6:4:1
SiO₂ TLC

그림 8. TLC를 이용한 각 분획물의 물질군 확인

5. 예천 오디로부터 색소 및 기능성 소재의 분리

가. EtOAc 분획물로부터 활성 물질 분리

- (1) EtOAc 분획(40 g)에 대하여 SiO₂ column chromatography를 실시하여 14개로 분획
- (2) 각 분획물을 감압 농축
- (3) 농축한 분획물 50 mg씩 조제하여 활성 검색용 시료로 제공

MAE (40 g)

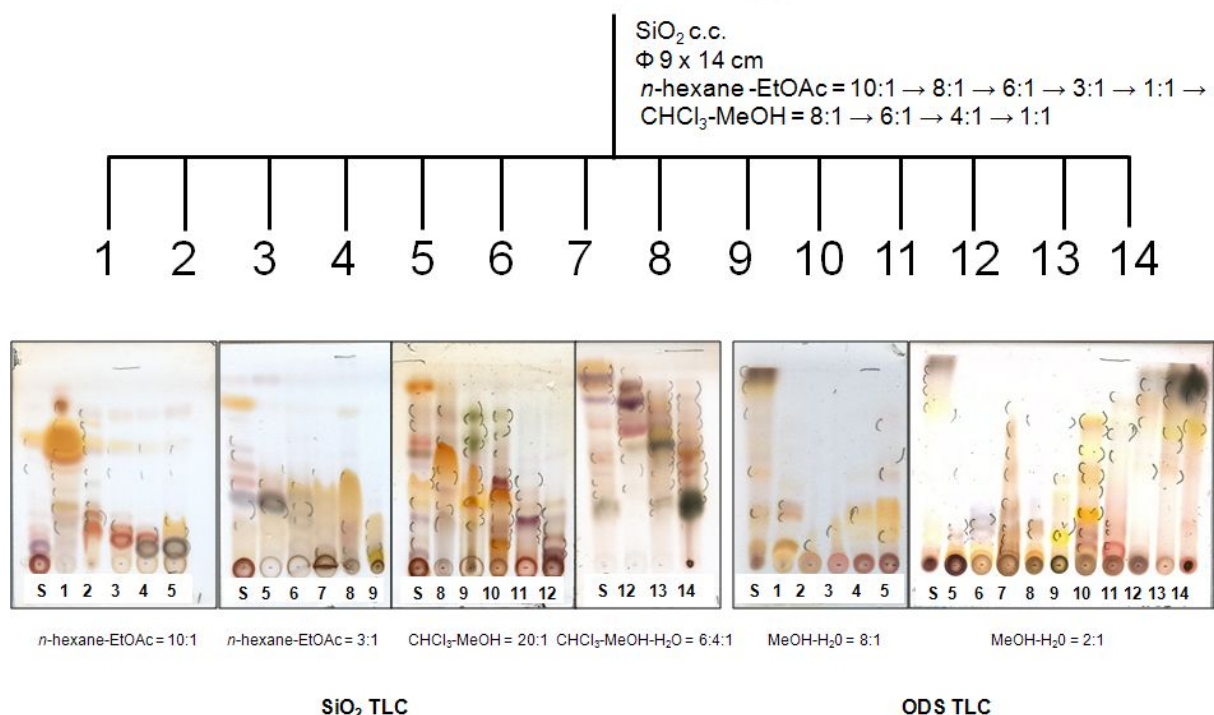


그림 9. 예천 오디 EtOAc 분획에 대한 SiO₂ column chromatography.

(4) 소분획으로부터 SiO₂, ODS 등의 각종 matrix를 적절히 이용하고, 다양한 용출용매로 소분획 column chromatography (c.c.)를 실시하여 활성 물질 분리

(가) MAE-1 (9.21 g)에 대하여 SiO₂ c.c. (*n*-hexane-EtOAc = 30:1)를 실시하여 12개의 분획물 (MAE-1-1~MAE-1-12)을 얻었고, 그 중 6번 분획 MAE-1-6 (33.1 mg)에 대하여 ODS c.c. (acetone-H₂O = 4:1)을 실시하여 5개의 분획물 (MAE-1-6-1~MAE-1-6-5)을 얻었고, γ -tocopherol (MAE-1-6-3, 18 mg)을 분리

(나) MAE-5 (811.6 mg)에 대하여 SiO₂ c.c. (*n*-hexane-EtOAc = 12:1)를 실시하여 13개의 분획물 (MAE-5-1~5-13)을 얻었고, 화합물 β -sitosterol (MAE-5-10, 100 mg)을 분리

(다) MAE-9 (670 mg)에 대하여 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 3:1 → 4:1 → 5:1 → 6:1)를 실시하여 28개의 분획물(MAE-9-1~MAE-9-28)을 얻었고, 화합물 artoindonesianin O (MAE-9-7, 7.4 mg), 화합물 isobavachalcone (MAE-9-9, 17.7 mg)을 분리

(라) MAE-10 (649 mg)에 대하여 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 3 : 1)를 실시하여 17개의 분획물 (MAE-10-1~MAE-10-17)을 얻었고, 화합물 morachalcone A (MAE-10-6, 14.5 mg)을 분리

(마) MAE-13 (800 mg)에 대하여 SiO₂ c.c. (CHCl₃-MeOH-H₂O = 16:3:1 → 12:3:1)를 실시하여 30개의 분획물(MAE-13-1~MAE-13-30)을 얻었고, 화합물 quercetin (MAE-13-15, 24 mg)을 분리. 그 중 22번 분획 MAE-13-22 (42 mg)에 대하여 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 1:1)를 실시하여 8개의 분획물 (MAE-13-22-1~MAE-13-22-8)을 얻었고, 화합물 astragalin (MAE-13-22-5, 5 mg)을 분리

(5) 분리한 화합물 2종에 대하여 1 mg씩 제조하여 활성 검색용 시료로 제공

나. *n*-BuOH 분획물로부터 활성 물질 분리

- (1) *n*-BuOH 분획(247 g)에 대하여 Diaion HP-20 c.c.를 실시하여 8개로 분획
- (2) 각 분획물을 감압 농축
- (3) 농축한 분획물 50 mg씩 조제하여 활성 검색용 시료로 제공
- (4) 소분획으로부터 SiO₂, ODS 및 Sephadex LH-20의 각종 matrix를 적절히 이용하고, 다양한 용출용매로 소분획 column chromatography를 실시하여 활성 물질 분리
 - (가) MAB-5 (1.31 g)에 대하여 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 2:3)를 실시하여 12개의 분획물 (MAB5-1~MAB-5-12)을 얻었고, 그 중 7번 분획 MAB-5-7 (271 mg)에 대하여 SiO₂ c.c. (CHCl₃-MeOH-H₂O = 8:3:1)를 실시하여 12개의 분획물 (MAB-5-7-1 ~ MAB-5-7-12)을 얻었고, 화합물 isoquercetin (MAB-5-7-6, 11.4 mg), 화합물 rutin (MAB-5-7-8, 19.1 mg)을 분리
- (5) 분리한 화합물 2종에 대하여 1 mg씩 제조하여 활성 검색용 시료로 제공

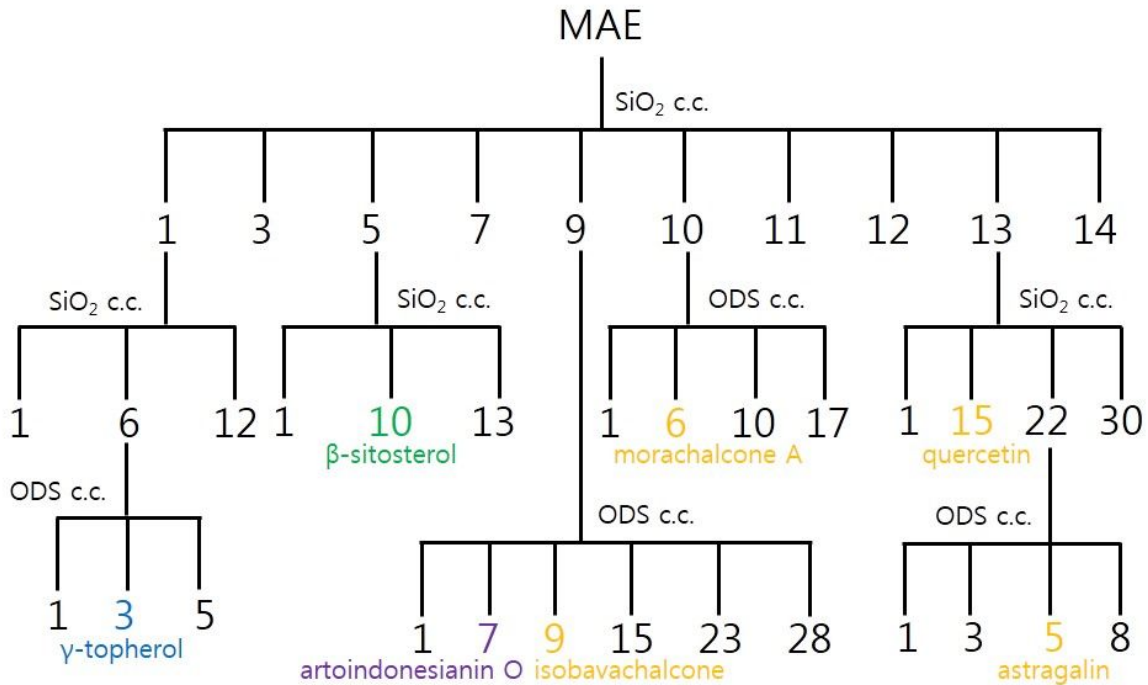


그림 10. 예천 오디 EtOAc 분획에 대한 이차대사산물 분리도.

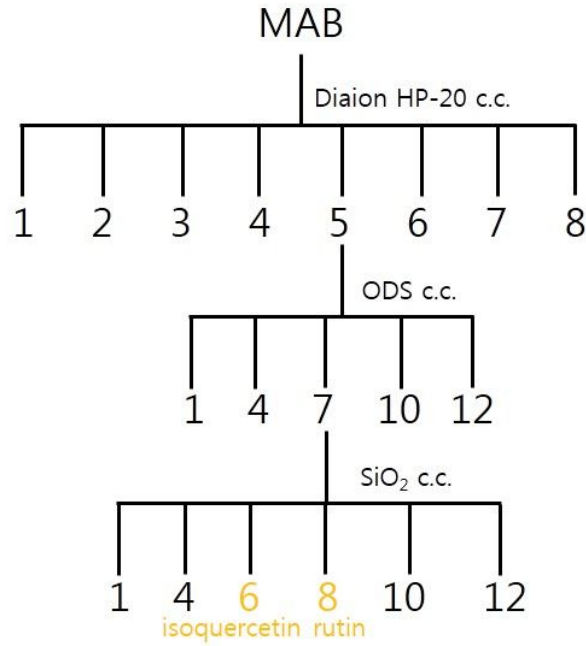
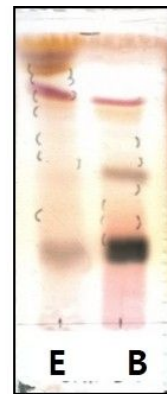
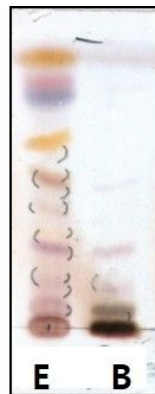


그림 11. 예천 오디 *n*-BuOH 분획에 대한 이차대사산물 분리도.

6. 부안 오디 추출물로부터 분획물 조제

가. 오디 추출물에 대하여 용매 극성을 이용한 분획물 조제

- (1) 오디 추출물(1980 g)을 물(3.5L)로 현탁한 후 separating funnel에 정치
- (2) EtOAc (3.5 L)를 이용하여 3회 추출하고, 추출액을 합한 후, 무수 MgSO₄로 탈수
- (3) 여과지로 여과한 후, 감압 농축 (38 g)
- (4) 남은 수층을 *n*-BuOH (3 L)로 3회 추출하고, 추출액을 합하여 감압 농축 (202 g)
- (5) 남은 수층 감압농축 (1740 g)
- (6) TLC plate를 이용하여 물질군 확인



n-hexane-EtOAc = 7 : 1
SiO₂ TLC

CHCl₃-MeOH = 10 : 1
SiO₂ TLC

CHCl₃ : MeOH : H₂O = 6 : 4 : 1
SiO₂ TLC

그림 12. TLC를 이용한 각 분획물의 물질군 확인.

7. 부안 오디로부터 색소 및 기능성 소재의 분리

가. EtOAc 분획물로부터 활성 물질 분리

- (1) EtOAc 분획(38 g)에 대하여 SiO₂ column chromatography를 실시하여 8개로 분획
- (2) 각 분획물을 감압 농축

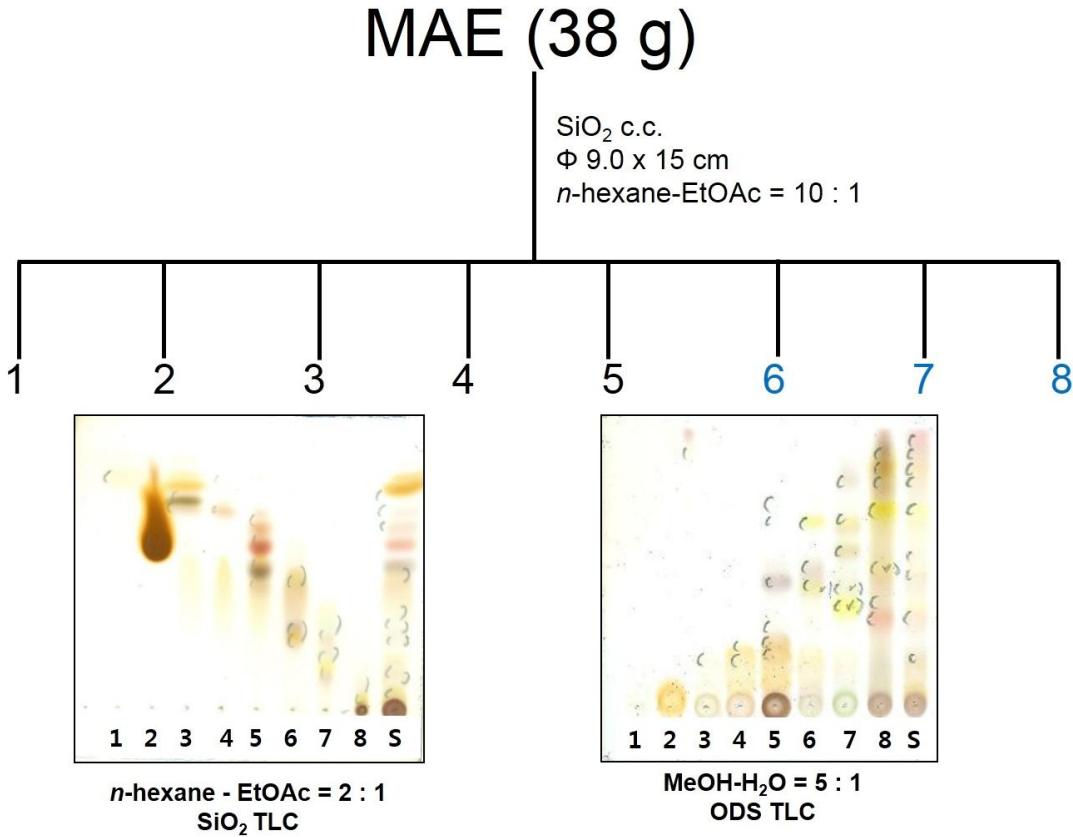


그림 13. 부안 오디 EtOAc 분획에 대한 SiO₂ column chromatography.

- (3) 소분획으로부터 SiO₂, ODS 등의 각종 matrix를 적절히 이용하고, 다양한 용출용매로 소분획 column chromatography (c.c.)를 실시하여 활성 물질 분리

(가) MAE-6 (607 mg)에 대하여 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 2:1)를 실시하여 10개의 분획물 (MAE-6-1~MAE-6-10)을 얻었고, moracin C (MAE-6-2, 32.5 mg)을 분리

(나) MAE-8 (4.5 g)에 대하여 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 1:1 → 3:1)를 실시하여 9개의 분획물 (MAE-8-1~8-9)을 얻었고, 그 중 7번 분획 MAE-8-7 (130.5 mg)에 대하여 SiO₂ c.c. (CHCl₃-MeOH = 12:1 → 10:1)를 실시하여 14개의 분획물 (MAE-8-7-1~MAE-8-7-14)을 얻었고, 화합물 mulberrofuran E (MAE-8-7-5, 7.2 mg)을 분리, 화합물 chalcomoracin (MAE-8-7-11, 13.8 mg)을 분리

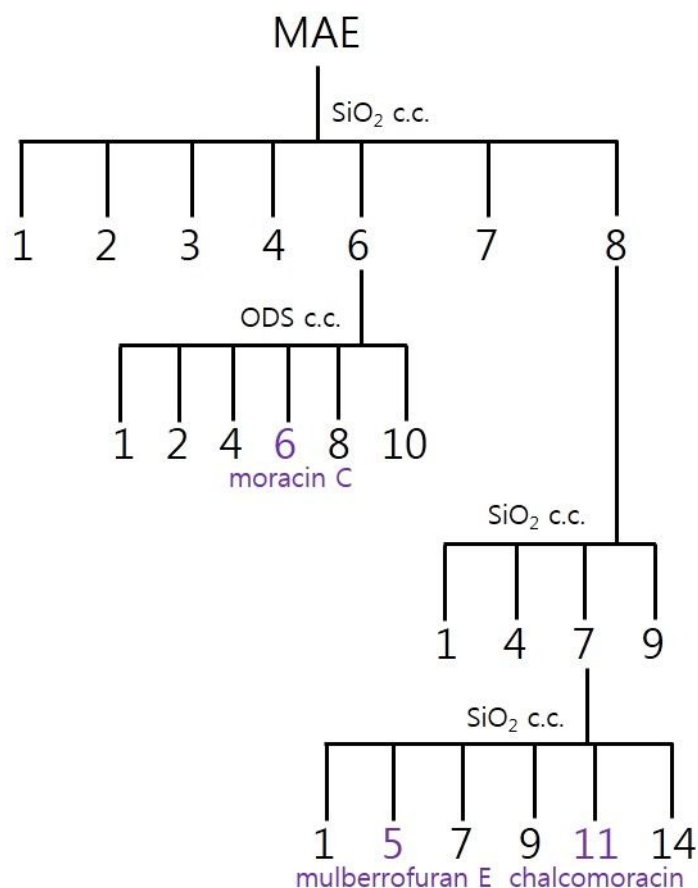


그림 14. 부안 오디 EtOAc 분획에 대한 이차대사산물 분리도.

8. 분리된 화합물의 기기분석 및 구조 확인 동정

가. 물리화학적 성상의 관찰, 기기분석 자료의 해석

(1) 분리된 화합물에 대하여 UV detection (254, 365 nm)와 TLC plate상의 10% H₂SO₄ 발색시 약 분무 시 나타나는 양상에 따라 화합물의 물질군을 예상

(2) 분리된 화합물에 대하여 NMR 측정 및 해석

(가) ¹H-NMR spectrum상의 chemical shift로부터 수소관련 화학적 환경해석, coupling constant으로부터 인접 수소와의 입체배열 해석, integration을부터 수소 signal의 개수를 확인

(나) ¹³C-NMR spectrum으로부터 화합물을 구성하는 탄소수 및 탄소 주위 환경을 해석

(다) DEPT data로부터 탄소의 다중도를 확인

(라) ¹H-¹H COSY spectrum으로부터 인접 수소의 환경을 해석하고 부분구조를 확인

(마) ¹H-¹³C COSY spectrum으로부터 수소와 탄소의 direct 연결을 확인

(바) gHMBC spectrum으로부터 부분 구조를 포함한 전체적인 화학구조를 확인

(사) 얻어진 data로부터 γ-tocopherol, β-sitosterol, artoindonesianin O, isobavachalcone, morachalcone A, quercetin, astragalín, isoquercetin, rutin, moracin C, mulberrofuran E, chalconoracin로 구조동정

9. 분리된 화합물의 구조 확인 동정

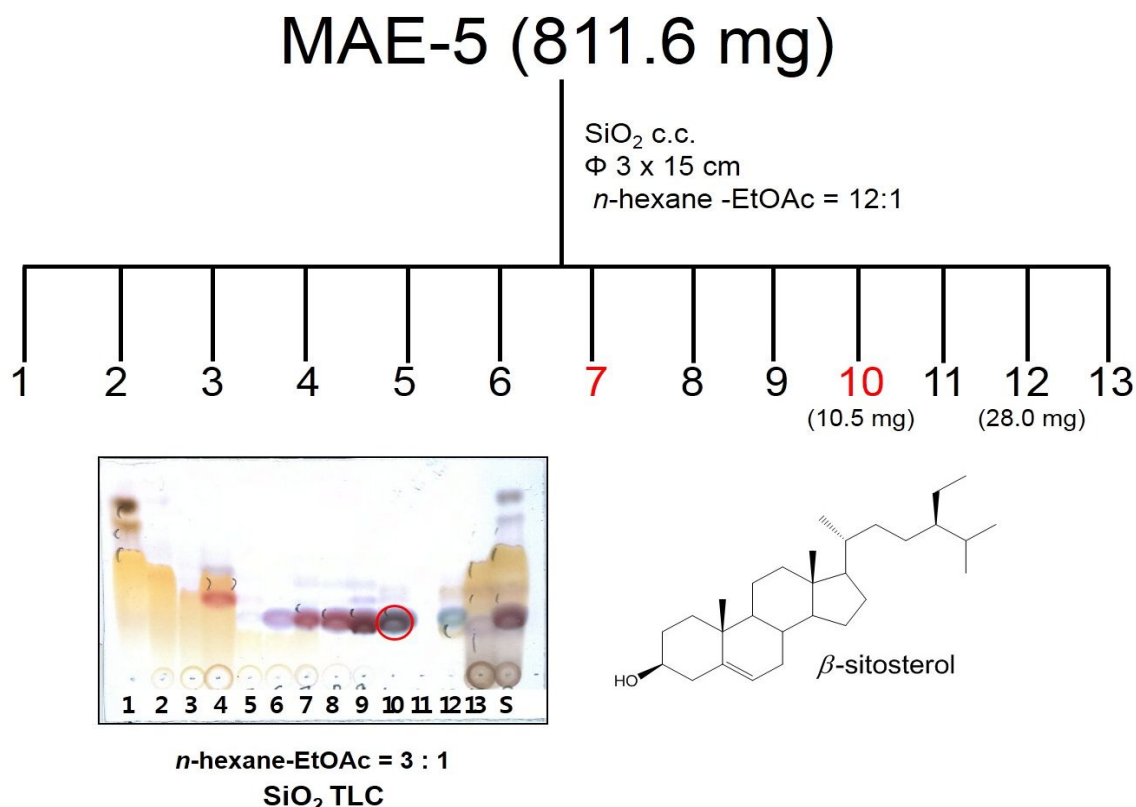


그림 15. MAE-5 분획에 대한 *β*-sitosterol의 분리.

가. *β*-sitosterol의 구조 동정

(1) *β*-sitosterol은 EI/MS에서 m/z 414 [M]⁺의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 414로 결정하였다. ¹H-NMR spectrum (400 MHz, pyridine-*d*₅, δ_H)의 저자장 영역에서 olefin methine proton signal δ 5.42 (1H, br s, H-6)이 관측되었다. 산소가 치환된 영역에서 oxygenated methine proton signal δ 3.82 (1H, m, H-3)이 관측되었다. 고자장 영역에서, 6개의 methyl proton signal 1.06 (3H, s, H-19), δ 1.00 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-21), δ 0.91 (3H, t, *J*=7.6 Hz, H-29), 0.89 (3H, d, *J*=7.2 Hz, H-26), 0.85 (3H, d, *J*=7.2 Hz, H-27), 0.69 (3H, s, H-18)들이 관측되었고, 다수의 methine과 methylene proton signal δ 2.62-1.06을 관측하였다. 이 결과로부터 이중결합이 한 쌍 존재하는 stigmastane 골격의 sterol임을 예상할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum (100 MHz, pyridine-*d*₅, δ_C)에서는 29개의 carbon signal이 관측되었으며 stigmastane 골격임을 확인하였다. Olefin quaternary 및 olefin methine carbon signal이 각각 δ 142.0 (C-5) 및 δ 121.2 (C-6)에서 관측되어 이중결합이 한 쌍 존재함을 확인하였으며 oxygenated methine carbon signal δ 71.3 (C-3)을 관측하였다. 그밖에 aglycone에서 기인된 7개의 methine carbon signal δ 57.0 (C-14), δ 56.4 (C-17), δ 50.6 (C-9), δ 46.1 (C-24), δ 36.4 (C-20), δ 32.2 (C-8), δ 29.6 (C-25)과 11개의 methylene carbon signal δ 43.5 (C-4), δ 40.1 (C-12), δ 37.9 (C-1), δ 34.3 (C-22), δ 32.6 (C-7), δ 32.3 (C-2), δ 28.5 (C-16), δ 26.6 (C-23), δ 24.5 (C-15), δ 23.5 (C-28), δ 21.4 (C-11)이 관측하였고, 6개의 methyl carbon signal δ 20.0 (C-19), δ 19.6 (C-26), δ 19.3 (C-27), δ 19.0 (C-21), δ 12.2 (C-29), δ 12.0 (C-18)이 관측하였다. 위의 모든 결과를 종합하여 이 화합물을 stigmastane 골격의 sterol인 *β*-sitosterol로 구조동정하였다.

나. artoindonesianin O의 구조 동정

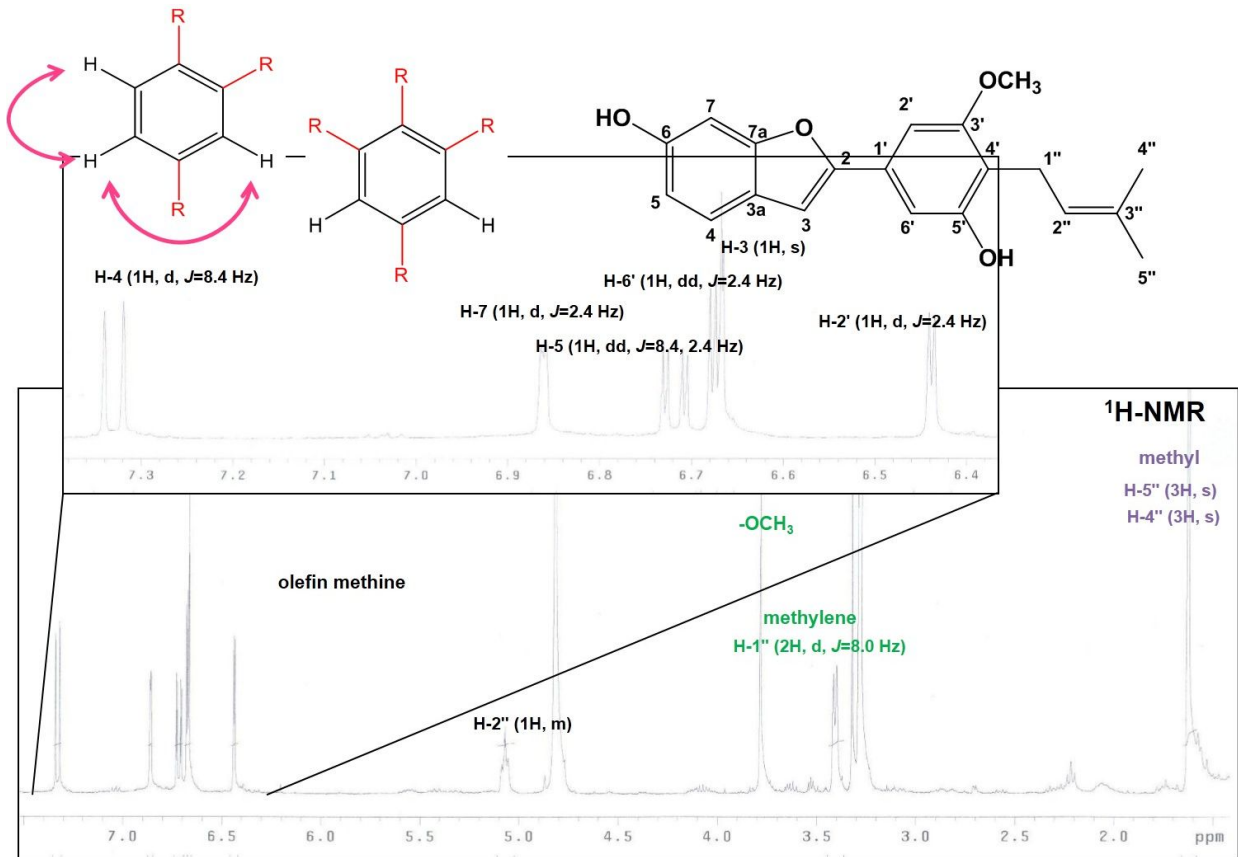


그림 16. artoindonesianin O의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼.

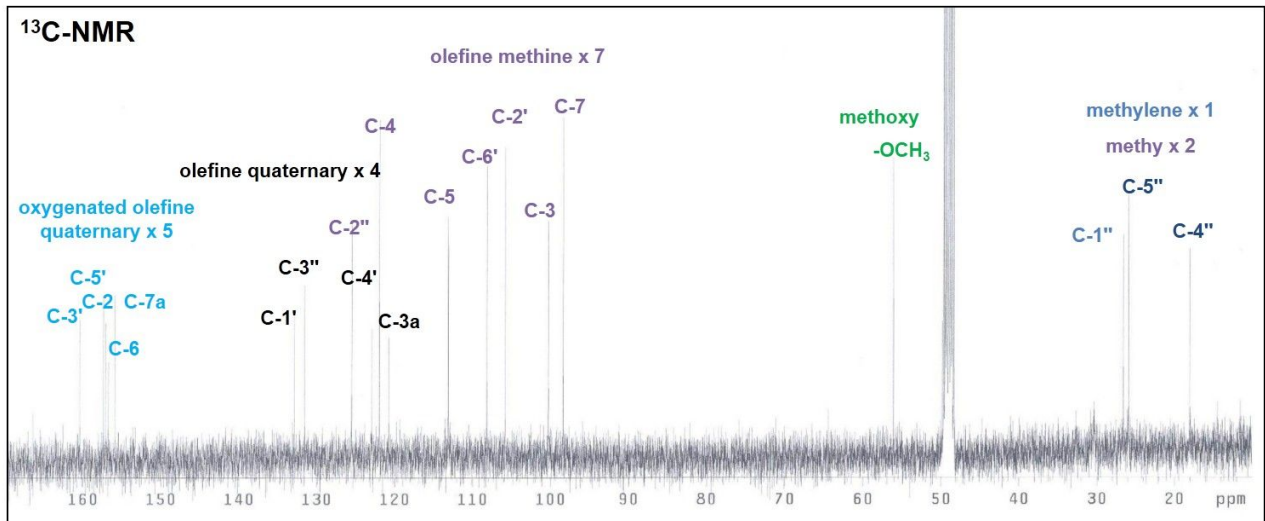


그림 17. artoindonesianin O의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼.

- (1) Artoindonesianin O는 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 시, 황색으로 발색되었다 EI-MS에서 m/z 324 $[\text{M}]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 324로 결정하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , δ_{H})의 저자장 영역에서 olefine methine proton signal δ 7.34 (1H, br. d, $J=8.4$ Hz, H-4), δ 6.86 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-7), δ 6.73 (1H, dd, $J=8.4, 2.4$ Hz, H-5)이 관측되어 1,2,4-치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었

다. 또한 δ 6.68 (1H, d, $J=2.8$ Hz, H-6'), δ 6.44 (1H, d, $J=2.8$ Hz, H-2')로부터 *meta*-benzene ring이 존재함을 알 수 있었다. δ 6.66 (1H, d, $J=0.8$ Hz, H-3) signal로부터 furan proton signal을 관측하였으며, 하나의 olefinic methine proton signal δ 5.11 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-2'')과 하나의 methoxy δ 3.78 (3H, s)을 관측하였다. 고자장 영역에서 하나의 benzylic methylene proton signal δ 3.42 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'')과, 두 개의 allyl methyl proton signal δ 1.63 (3H, s, H-5'')과 δ 1.62 (3H, s, H-4'')을 관측하였다. 이를 미루어보아 isoprenyl이 존재함을 알 수 있었다. proton nmr data로부터 arylbenzofuran에 isoprenyl기가 결합되어 있음을 예상할 수 있었다. ^{13}C -NMR spectrum (100 MHz, CD_3OD , δ_{C})에서는 하나의 methoxy carbon signal δ 56.0 (OCH_3 -3')을 포함하여 20개의 carbon signal을 관측하였다. 저자장 영역에서 5개의 sp^2 oxygenated olefin quaternary carbon signal δ 160.3 (C-3'), δ 157.3 (C-5'), δ 157.0 (C-2), δ 156.7 (C-6), δ 155.8 (C-7a), 3개의 sp^2 olefin quaternary carbon signal δ 132.8 (C-1'), δ 122.9 (C-4'), δ 120.7 (C-3a), 6개의 sp^2 olefin methine carbon signal δ 121.9 (C-4), δ 113.1 (C-5), δ 108.1 (C-6'), δ 105.8 (C-2'), δ 100.2 (C-3), δ 98.3 (C-7)로부터 1,2,4-3치환 benzene ring과 *meta*-치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었다. 또한 1개의 sp^2 olefin quaternary carbon signal δ 131.5 (C-3''), 1개의 sp^2 olefin methine carbon signal δ 125.4 (C-2'')을 관측하였다. 고자장 영역에서 1개의 benzylic methylene carbon signal δ 26.5 (C-1'')과 2개의 methyl carbon signal δ 25.8 (C-5''), δ 18.0 (C-4'')으로부터 isoprenyl기를 확인하였다. 위의 모든 결과를 종합하여 이 화합물을 artoindonesianin O로 구조 동정 하였다.

다. isobavachalcone의 구조 동정

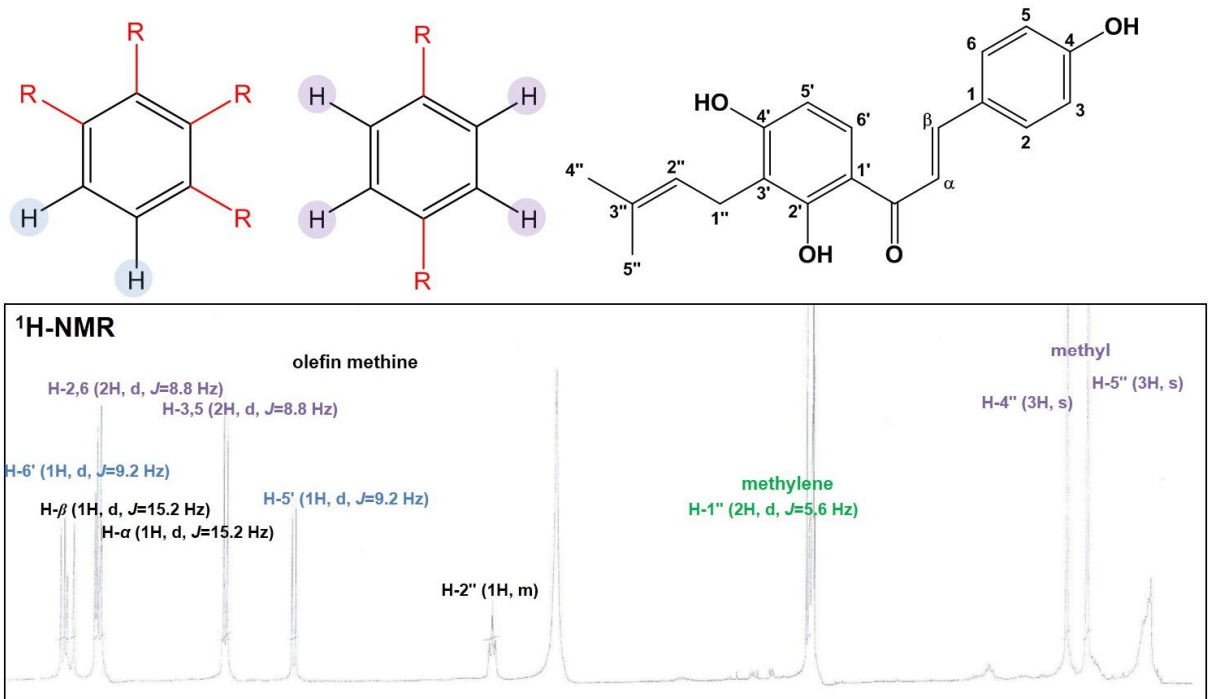


그림 18. isobavachalcone의 ¹H-NMR 스펙트럼.

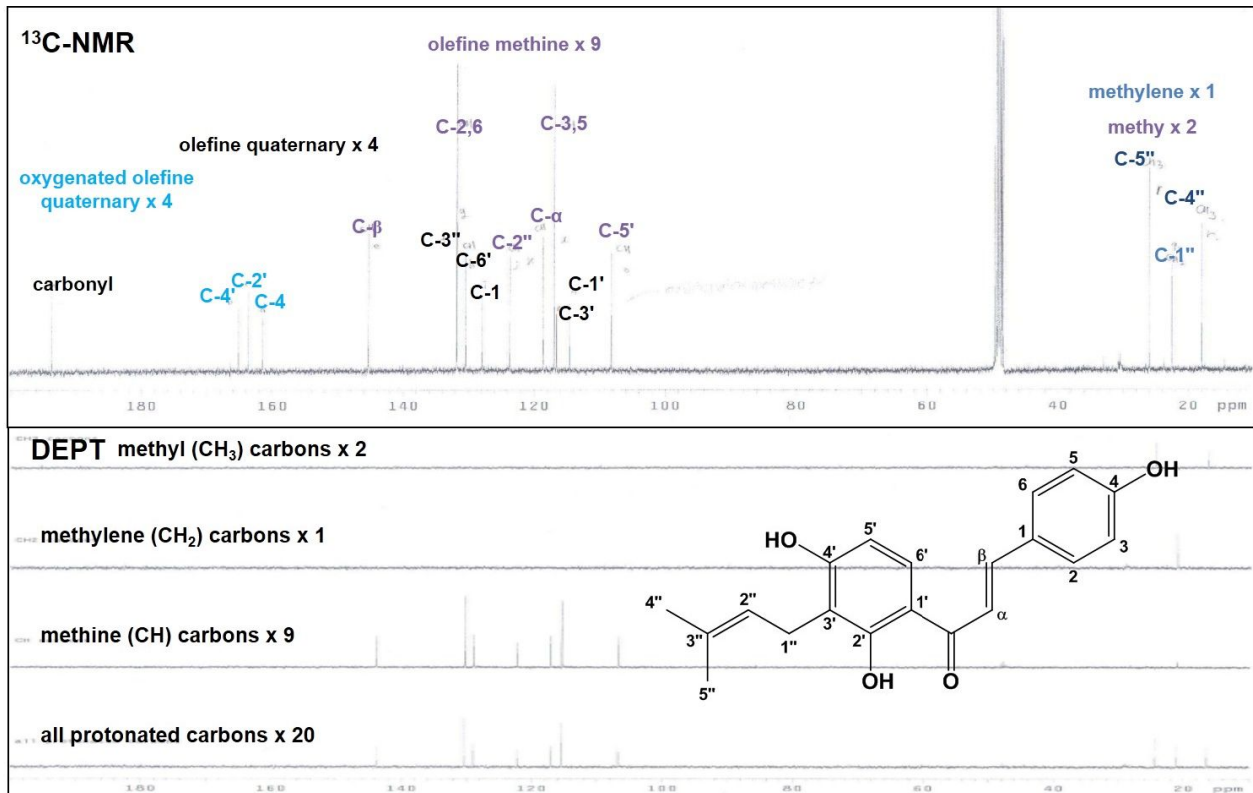


그림 19. isobavachalcone의 ¹³C-NMR 및 DEPT 스펙트럼.

(1) isobavachalcone은 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 시, 밝은 황색으로 발색되었다 EI-MS에서 m/z 324 $[M]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 324로 결정하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , δ_{H})의 저자장 영역에서 olefin methine proton signal δ 7.75 (1H, d, $J=9.2$ Hz, H-6'), δ 7.53 (1H, d, $J=9.2$ Hz, H-5')이 관측되어 1,2,3,4-치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었고, 7.70 (1H, d, $J=15.2$ Hz, H- β), δ 7.54 (1H, d, $J=15.2$ Hz, H- α)로부터 trans 이중결합이 한 쌍 존재함을 알 수 있었다. 또한 δ 7.53 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2,6)과 δ 6.78 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3,5) signal로부터 *para*-benzene ring 관측하였다. 하나의 olefinic methine proton signal δ 5.14 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-2'')을 관측하였다. 고자장 영역에서 하나의 benzylic methylene proton signal δ 3.25 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'')과, 두 개의 allyl methyl proton signal δ 1.69 (3H, s, H-5'')과 δ 1.60 (3H, s, H-4'')을 관측하였다. 이를 미루어보아 isoprenyl이 존재함을 알 수 있었다. proton nmr data로부터 chalcone flavonoid에 isoprenyl기가 결합되어 있음을 예상할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum (100 MHz, CD_3OD , δ_{C})에서는 20개의 carbon signal을 관측하였다. 저자장 영역에서 1개의 ketone carbon signal δ 192.1이 관측되었으며, 3개의 oxygenated olefin quaternary carbon signal δ 165.3 (C-4'), δ 164.3 (C-2'), δ 161.7 (C-4), 4개의 olefin quaternary carbon signal δ 131.28 (C-3''), δ 127.9 (C-1), δ 118.8 (C-3'), δ 116.4 (C-1'), 9개의 olefin methine carbon signal δ 144.7 (C- β), δ 130.1 (C-2, 6), δ 128.1 (C-6'), δ 123.7 (C-2''), δ 119.8 (C- α), δ 128.5 (C-3, 5), δ 108.2 (C-5')로부터 *para*-benzene ring과 *ortho*-치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었다. 고자장 영역에서 1개의 benzylic methylene carbon signal δ 22.4 (C-5'')과 2개의 methyl carbon signal δ 26.1 (C-5''), δ 18.0 (C-4'')으로부터 isoprenyl기를 확인하였다. 위의 모든 결과를 종합하여 이 화합물을 isobavachalcone으로 구조 동정 하였다.

라. morachalcone A의 구조 동정

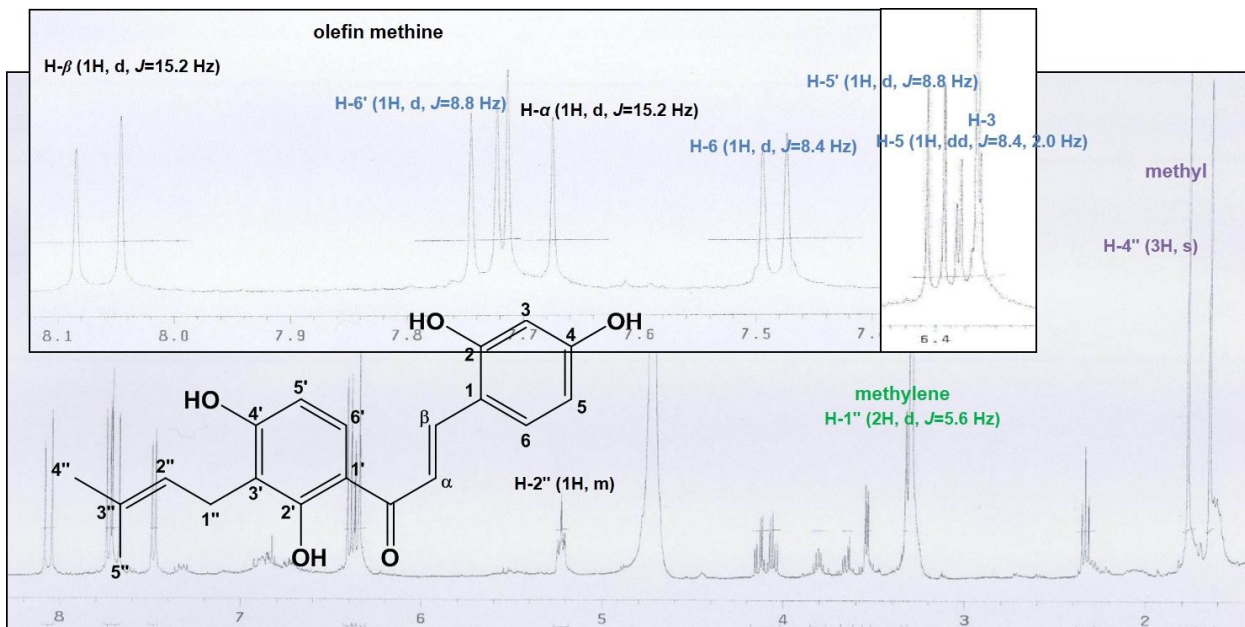


그림 20. morachalcone A의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼.

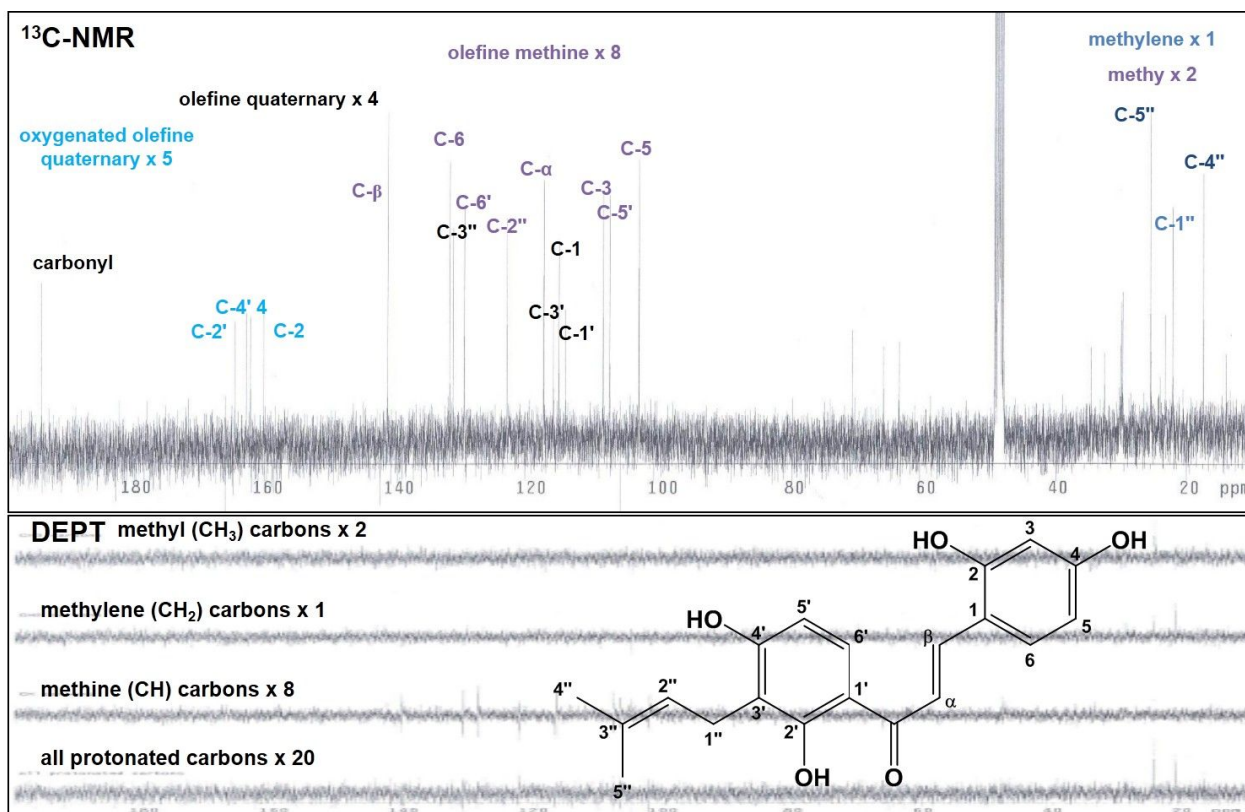


그림 21. morachalcone A의 ^{13}C -NMR 및 DEPT 스펙트럼.

(1) morachalcone A는 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 시, 밝은 황색으로 발색되었다 EI-MS에서 m/z 340 $[\text{M}]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 340으로 결정하였다. ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD , δ_{H}) 스펙트럼에서 isobavachalcone과 매우 비슷한 양상의 signal이 관측됨을 확인할 수 있었다. 다른 점은 의 저자장 영역에서 *para*-benzene ring 대신 olefin methine proton signal δ 7.49 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), δ 6.39 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-5), δ 6.36 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-3)이 관측되어 1,2,4-3치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었다. ^{13}C -NMR spectrum (100 MHz, CD_3OD , δ_{C})에서는 20개의 carbon signal을 관측하였다. 저자장 영역에서 1개의 ketone carbon signal δ 192.1이 관측되었으며, 4개의 oxygenated olefin quaternary carbon signal δ 165.3 (C-4'), δ 164.3 (C-2'), δ 163.7 (C-4), δ 160.7 (C-4), 8개의 olefin methine carbon signal δ 142.2 (C- β), δ 134.1 (C-6), δ 128.8 (C-6'), δ 122.8 (C-2''), δ 118.8 (C- α), δ 110.5 (C-3), δ 108.8 (C-5'), δ 104.2 (C-5)로부터 1,2,4-3치환 benzene ring과 *ortho*-치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었다. 위의 모든 결과를 종합하여 이 화합물을 morachalcone A로 구조 동정 하였다.

마. quercetin의 구조 동정

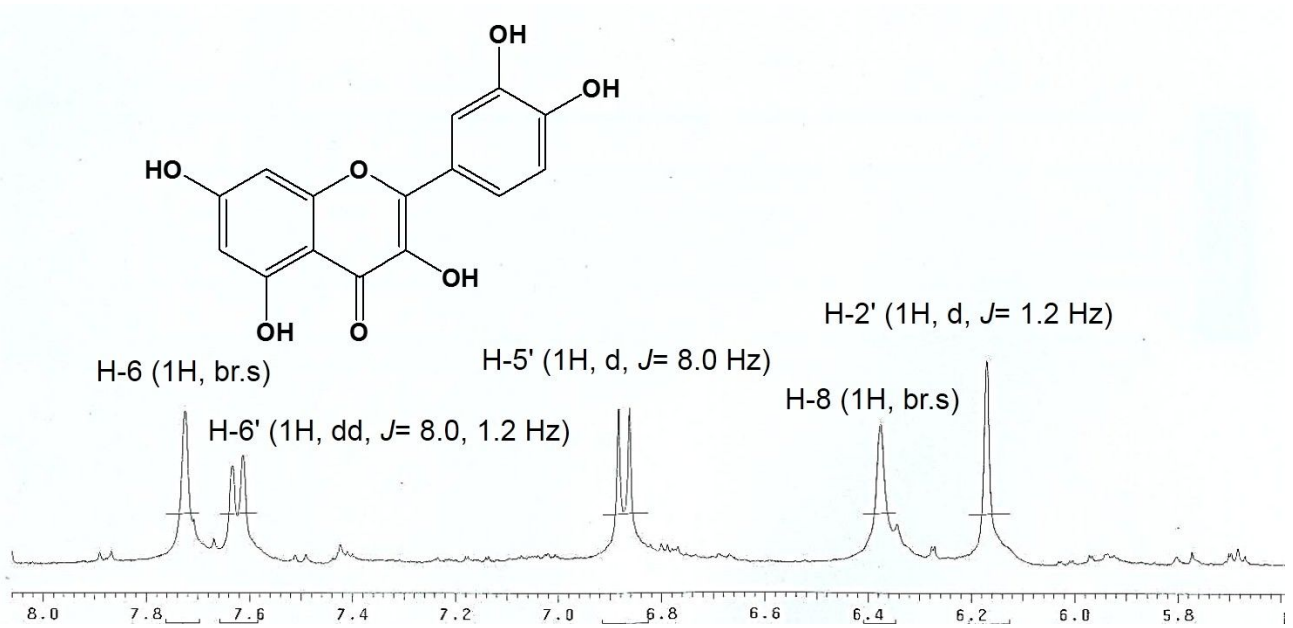


그림 22. morachalcone A의 ¹H-NMR 스펙트럼.

(1) quercetin은 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 시, 노란 색으로 발색되었다 EI-MS에서 m/z 302 $[M]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 302으로 결정하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, δ_H)의 저자장 영역에서 olefin methine proton signal δ 7.77 (1H, br.s, H-6), δ 6.41 (1H, br.s, H-8)이 관측되어 H-6과 H-8이 meta coupling 하는 것을 알 수 있었으며, δ 7.64 (1H, dd, $J=8.0, 1.2$ Hz, H-6'), δ 6.90 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5'), δ 6.19 (1H, d, $J=1.2$ Hz, H-2')이 관측되어 1,2,4-3치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었다. 위를 종합하여 quercetin으로 구조 동정하였다.

바. astragalins의 구조 동정

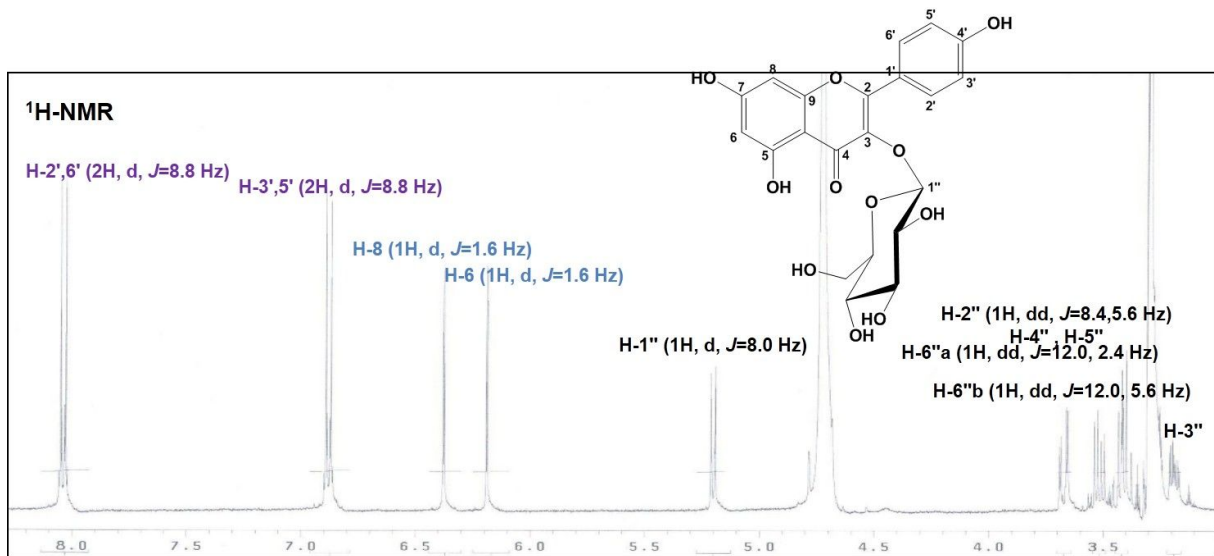


그림 23. astragalins의 ¹H-NMR 스펙트럼.

(1) astragalalin은 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 시, 황색으로 발색되었다 FAB-MS에서 m/z 471 $[M+H]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 470으로 결정하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , δ_{H}) 스펙트럼으로부터 aromatic proton signal과 당에서 기인하는 hemiacetal signal과 다수의 oxygenated methine 및 methylene signal이 관측되어 이 화합물은 flavonoid 배당체임을 예측할 수 있었다. Flavonoid B환의 δ 8.02 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2',6')과 δ 6.97 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3',5')이 관측되어 *para*-benzene ring이 존재함으로 kaempferol 골격을 갖는 것으로 추정되었으며, A환의 δ 6.48 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-8)과 δ 6.38 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-6) signal로부터 H-6과 H-8이 meta coupling 하는 것을 알 수 있었다. 1개의 hemiacetal proton signal δ 5.40 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'')로부터 당의 1번과 2번의 proton이 axial-axial 형태로 존재함을 알 수 있었으며, 산소가 치환된 영역에서 당에서 유래된 시그널들이 관측되었다. 위를 종합하여 astragalalin으로 구조 동정 하였다.

사. isoquercetin의 구조 동정

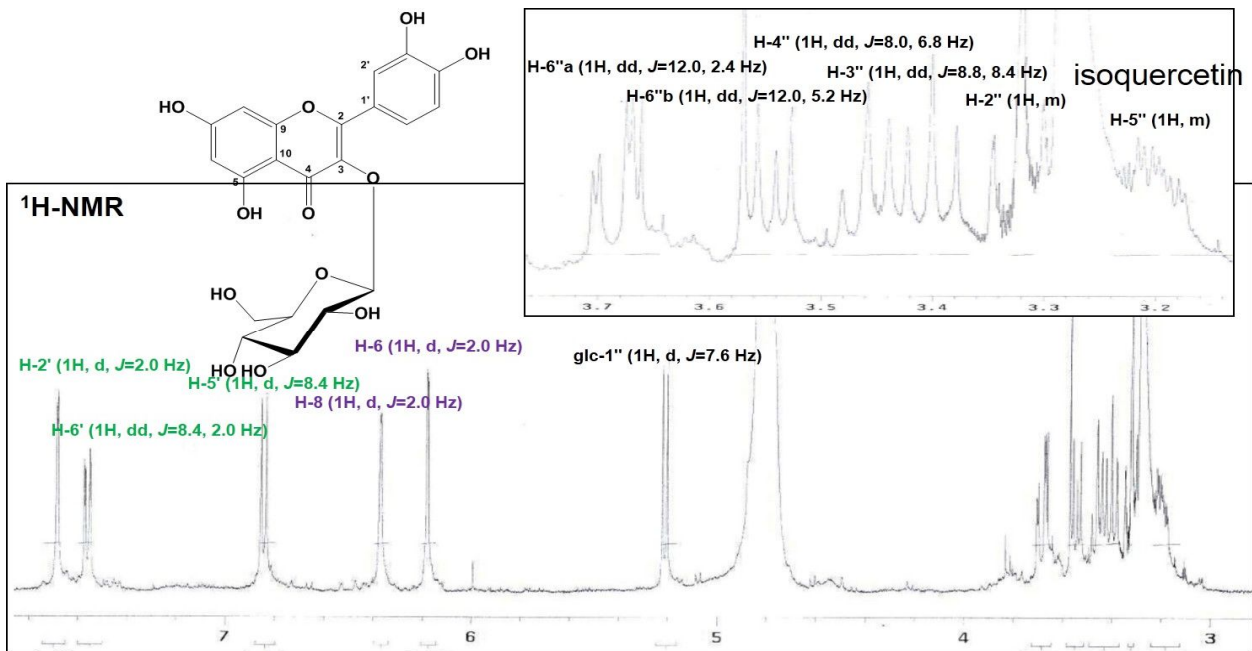


그림 24. isoquercetin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼.

(1) isoquercetin은 EI/MS에서 m/z 464 $[M]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 464로 결정하였다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum (400 MHz, CD_3OD , δ_{H})의 스펙트럼으로부터 aromatic proton signal과 당에서 기인하는 hemiacetal signal과 다수의 oxygenated methine 및 methylene signal이 관측되어 이 화합물은 flavonoid 배당체임을 예측할 수 있었다. Flavonoid B환의 δ 7.88 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2')과 δ 7.78 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-6'), δ 6.84 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5')이 관측되어 1,2,4-3치환 benzene ring이 존재함으로 quercetin 골격을 갖는 것으로 추정되었으며, A환의 δ 6.39 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8)과 δ 6.20 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8) signal로부터 H-6과 H-8이 meta coupling 하는 것을 알 수 있었다. 1개의 hemiacetal proton signal δ 5.20 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'')로부터 당의 1번과 2번의 proton이 axial-axial 형태로 존재함을 알 수 있었으며, 산소가 치환된 영역에서 당에서 유래된 시그널들이 관측되었다. 위를 종합하여 isoquercetin으로 구조 동정 하였다.

아. rutin의 구조 동정

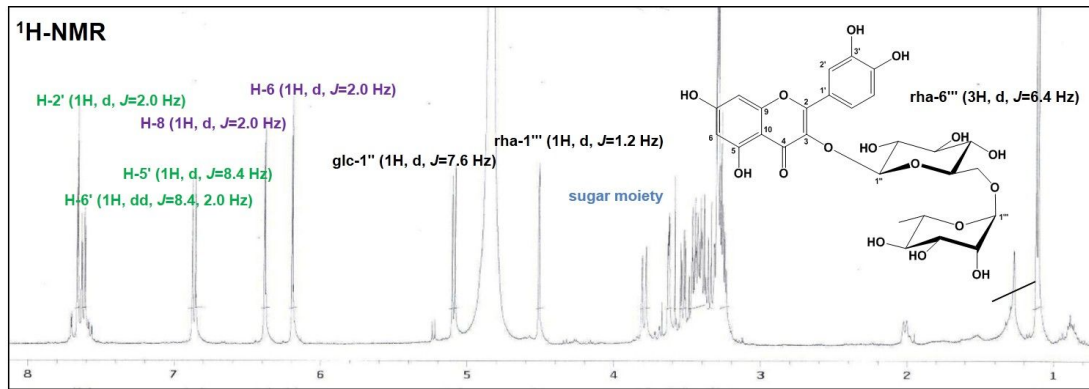


그림 25. isoquercetin의 ¹H-NMR 스펙트럼.

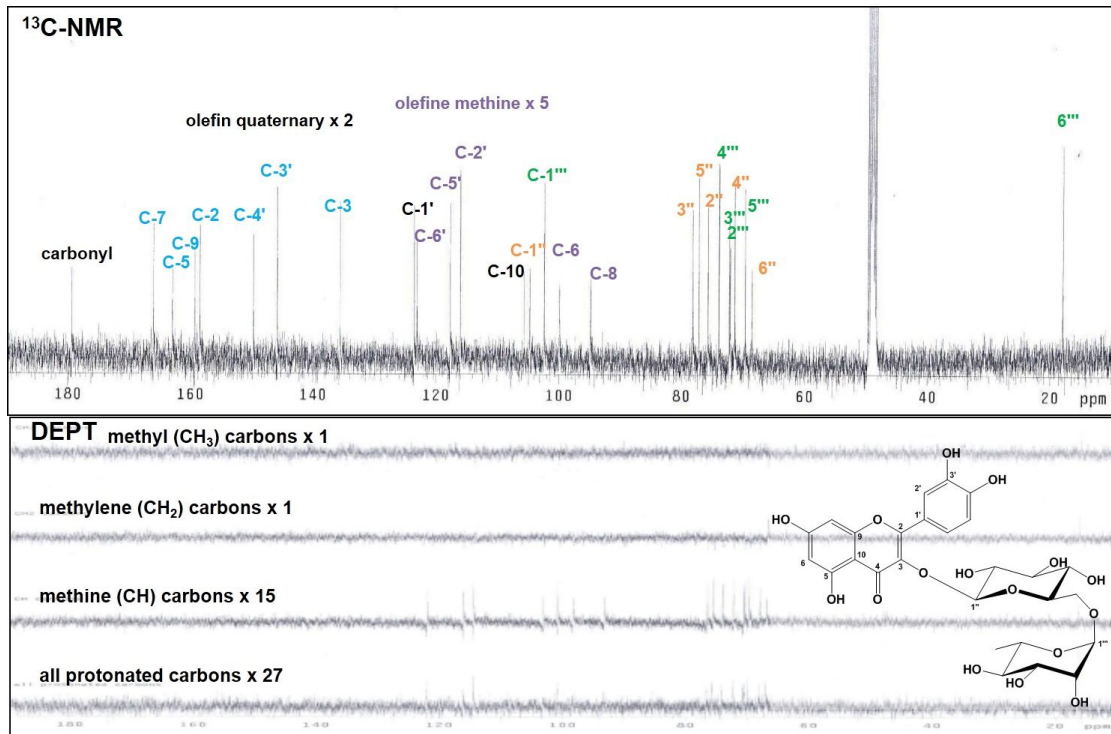


그림 26. isoquercetin의 ¹³C-NMR 스펙트럼.

(1) rutin은 FAB/MS에서 m/z 611 $[M+H]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 610으로 결정하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, δ_H)의 스펙트럼으로부터 isoquercetin과 매우 비슷한 양상의 signal이 관측되었으나 분자량으로부터 육탄당이 한 분자 더 결합한 화합물임을 예상할 수 있었다. aromatic proton signal과 당에서 기인하는 hemiacetal signal과 다수의 oxygenated methine 및 methylene signal이 관측되어 이 화합물은 flavonoid 배당체임을 예측할 수 있었다. Flavonoid B환의 δ 7.78 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2')과 δ 7.62 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-6'), δ 6.81 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5')이 관측되어 1,2,4-3치환 benzene ring이 존재하므로 quercetin 골격을 갖는 것으로 추정되었으며, A환의 δ 6.39 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8)과 δ 6.20 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8) signal로부터 H-6과 H-8이 meta coupling 하는 것을 알 수 있었다. 2개의 hemiacetal proton signal δ 5.20 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1''), δ 4.45 (1H, d, $J=1.2$ Hz, H-1''')이 관측되었으며 δ 3.80~δ 3.30에서 당에서 유래한 proton signal들을 관측할 수 있었으며, δ

1.12 (3H, d, $J=6.4$ Hz)로부터 rhamnose에서 signal (H-6)임을 예상할 수 있었다. ^{13}C -NMR spectrum (100 MHz, CD_3OD , δ_{C})에서는 27개의 carbon signal을 관측하여, flavonoid 골격에 육탄당당이 2분자 결합하고 있음을 확인하였다. 저자장 영역에서 1개의 conjugated ketone carbon signal δ 179.9 (C-4)이 관측되었으며, 7개의 oxygenated olefin quaternary carbon signal δ 164.3 (C-7), δ 161.9 (C-5), δ 160.2 (C-9), δ 158.7 (C-2), δ 150.2 (C-4'), δ 146.8 (C-3'), δ 137.3 (C-3), 2개의 olefin quaternary carbon signal δ 121.9 (C-1'), δ 114.3 (C-10), 5개의 olefin methine carbon signal δ 121.8 (C-6'), δ 119.1 (C-5'), δ 118.7 (C-2'), δ 99.9 (C-6), δ 96.8 (C-8)로부터 1,2,4-3치환 benzene ring과 meta-치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었다. 각각 당으로부터 유래된 carbon chemical shift δ 103.5 (C-1''), δ 78.1 (C-5''), δ 77.2 (C-3''), δ 75.7 (C-2''), δ 71.4 (C-4''), δ 68.5 (C-6'')은 β -D-glucopyranoside로 확인하였으며, δ 102.4 (C-1'''), δ 73.9 (C-4'''), δ 72.2 (C-3'''), δ 72.0 (C-2'''), δ 69.7 (C-5'''), δ 17.9 (C-6''')은 α -L-rhamnopyranoside로 확인하였다. Glucose의 oxygenated methylene carbon signal δ 68.5 (C-6'')이 glycosideation 효과에 의해 다소 저자장으로 shift 되어 관측됨에 따라 rhamnose가 결합하고 있음을 알 수 있었다. 위의 모든 결과를 종합하여 rutin으로 구조 동정 하였다.

자. moracin C의 구조 동정

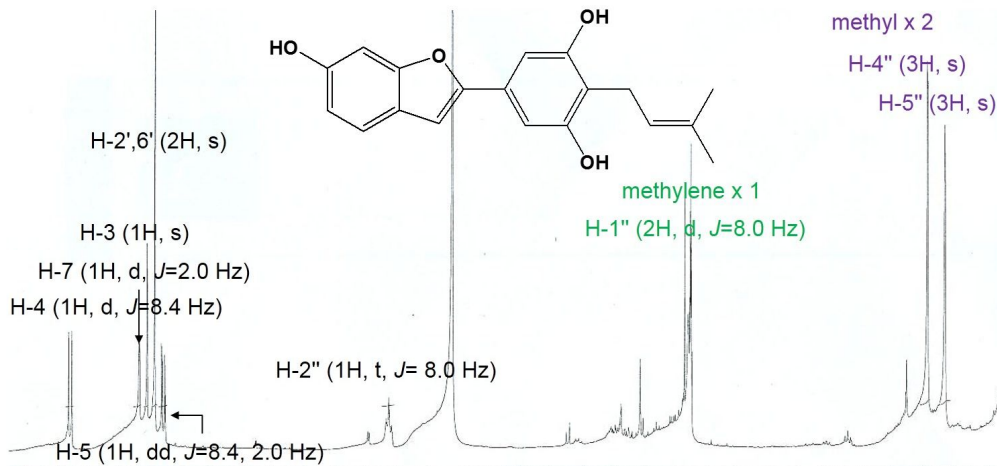


그림 27. moracin C의 ^1H -NMR 스펙트럼.

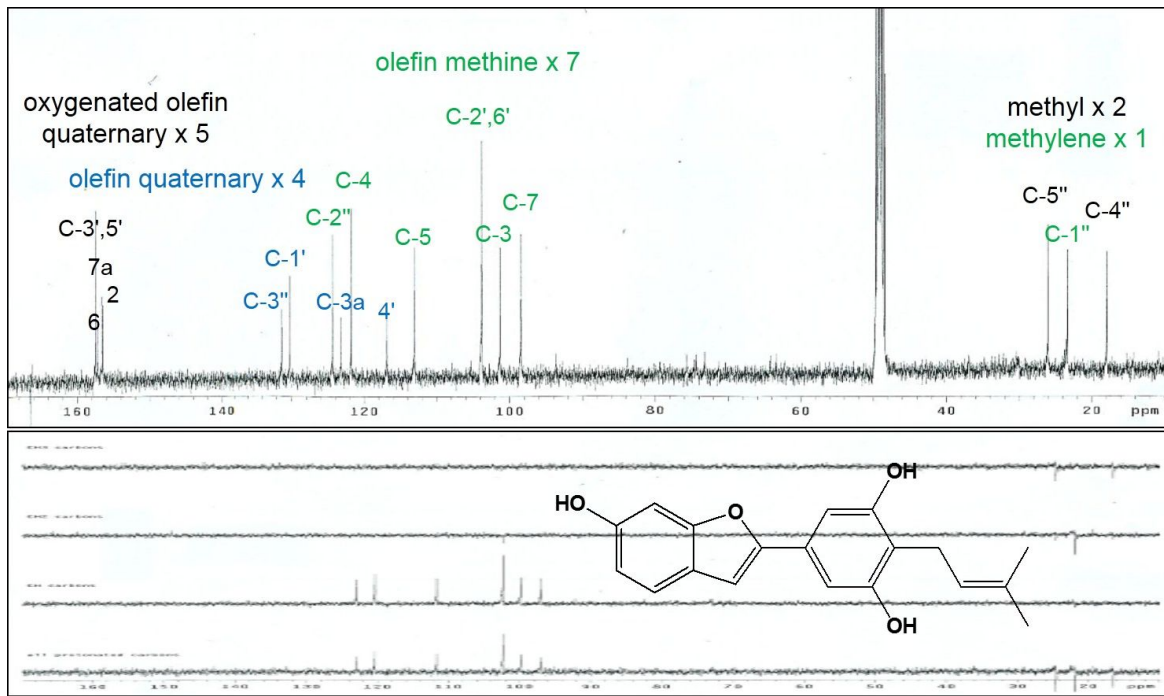


그림 28. moracin C의 ^{13}C -NMR 스펙트럼.

- (1) moracin C는 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 시, 황색으로 발색되었다 EI-MS에서 m/z 310 $[M]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 310로 결정하였다. ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD , δ_{H}) 스펙트럼으로부터 artoindonesianin O와 매우 비슷한 양상의 signal을 관측할 수 있었다. 다만 다른 점은 artoindonesianin O에서 관측되었던 1개의 methoxy proton signal δ 3.78 (3H, s)이 관측되지 않았으며, 분자량으로부터 methyl기의 차이를 확인할 수 있었다. ^{13}C -NMR spectrum (100 MHz, CD_3OD , δ_{C})에서는 19개의 carbon signal을 관측하였다. 저자장 영역에서 5개의 sp^2 oxygenated olefin quaternary carbon signal δ 158.8 (C-3',5'), δ 157.3 (C-6), δ 157.0 (C-2), δ 156.2 (C-7a), 3개의 sp^2 olefin quaternary carbon signal δ 130.9 (C-1'), δ 123.7 (C-3a), δ 117.7 (C-4'), 5개의 sp^2 olefin methine carbon signal δ 122.0 (C-4), δ 113.9 (C-5), δ 104.1 (C-2',6'), δ 101.8 (C-3), δ 98.5 (C-7)로부터 1,2,4-3치환 benzene ring과 *meta*-치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었다. 또한 1개의 sp^2 olefin quaternary carbon signal δ 131.9 (C-3''), 1개의 sp^2 olefin methine carbon signal δ 124.2 (C-2'')을 관측하였다. 고자장 영역에서 1개의 benzylic methylene carbon signal δ 23.8 (C-1'')과 2개의 methyl carbon signal δ 26.1 (C-5''), δ 19.2 (C-4'')으로부터 isoprenyl기를 확인하였다. 위의 모든 결과를 종합하여 이 화합물을 moracin C로 구조 동정 하였다.

차. mulberrofuran E의 구조 동정

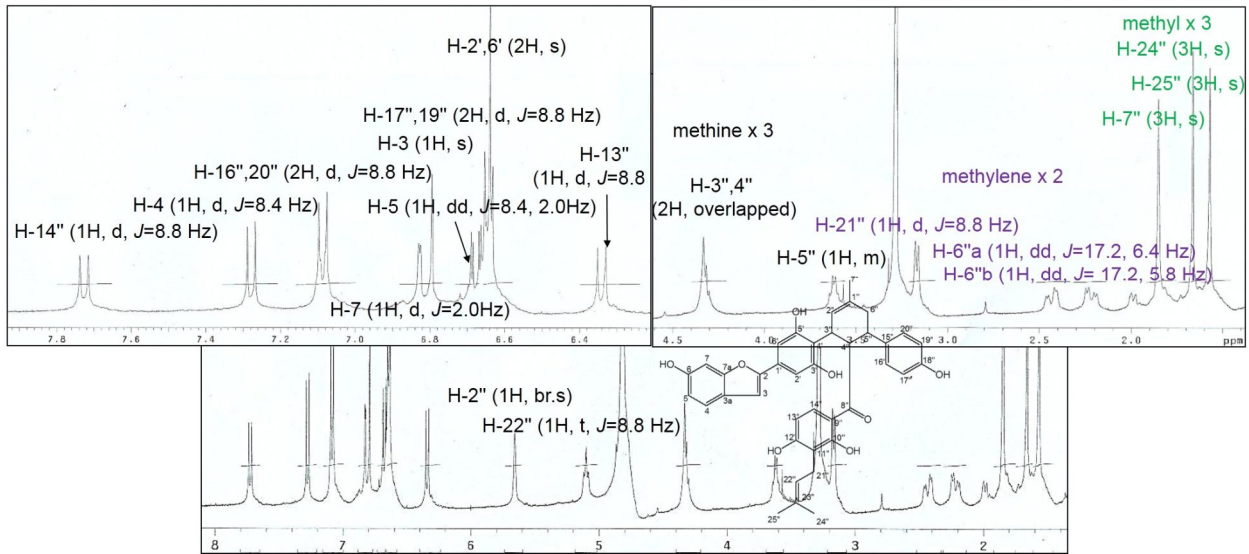


그림 29. mulberrofuran E의 ¹H-NMR 스펙트럼.

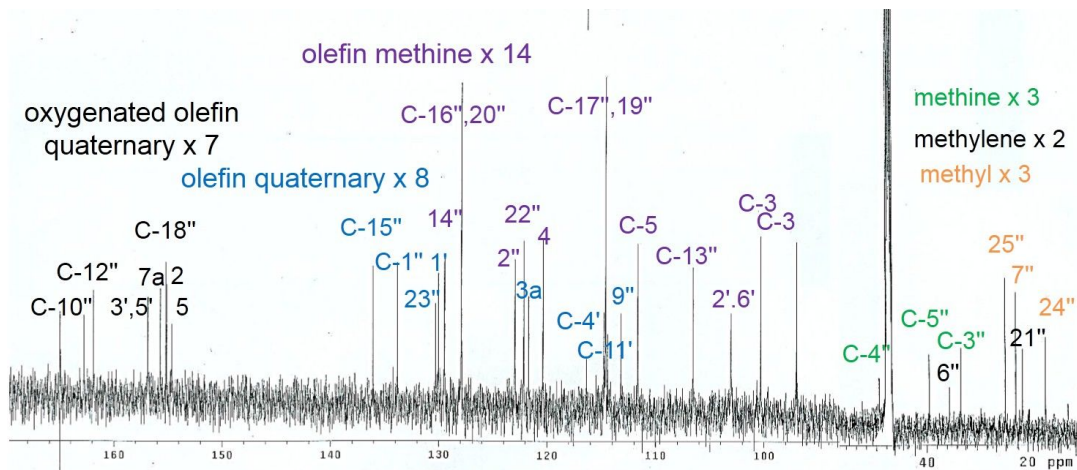


그림 30. mulberrofuran E의 ¹³C-NMR 스펙트럼.

- (1) mulberrofuran E는 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 시, 붉은색으로 발색되었다 EI-MS에서 m/z 632 $[M]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 632로 결정하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, δ_H) 저자장 영역에서 olefin methine proton signal δ 7.73 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-14''), δ 6.35 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-13'')이 관측되어 1,2,3,4-4치환 benzene ring, δ 7.28 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-4), δ 6.83 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-7), δ 6.69 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-5)로부터 1,2,4-3치환 benzene ring, δ 7.09 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-16'', 20''), δ 6.65 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-17'', 19'')이 관측되어 *para*-benzene ring, δ 6.79 (1H, s, H-3), δ 5.66 (1H, br.s, H-2''), δ 5.10 (1H, t, $J=7.6$ Hz, H-22'')이 관측되었다. 3개의 allyl methine proton signal δ 4.33 (2H, overlapped, H-4'', 3''), δ 3.62 (1H, m, H-5''). allyl methylene proton signal δ 3.17 (2H, d, $J=7.6$ Hz, H-21'')이 관측되었다. 고자장 영역에서 1개의 methylene proton signal δ 2.41 (1H, dd, $J=17.2, 6.8$ Hz, H-6''a), δ 2.24 (1H, dd, $J=17.2, 6.4$ Hz, H-6''b), 3개의 methyl proton signal δ 1.85 (3H, s, H-7''), δ 1.66 (3H, s, H-24''), δ 1.57 (3H, s, H-25'')이 관측되어

arylbenzofuran과 prenylchalcone에 Diels-Alder type이 결합되어 있음을 예상할 수 있었다. ^{13}C -NMR spectrum (100 MHz, CD_3OD , δ_{C})에서는 39개의 carbon signal을 관측하였다. 저자장 영역에서 1개의 ketone carbon signal δ 206.7 (C-8''), 8개의 oxygenated olefin quaternary carbon signal δ 162.7 (C-10''), δ 161.9 (C-12''), δ 155.7 (C-7a), δ 155.2 (C-18''), δ 155.1 (C-2), δ 154.6 (C-5), 8개의 olefin quaternary carbon signal δ 136.0 (C-15''), δ 133.8 (C-1''), δ 130.3 (C-23'), δ 130.0 (C-1'), δ 121.6 (C-3a), δ 114.7 (C-4'), δ 113.4 (C-11''), δ 113.2 (C-9'')이 관측되었으며, 14개의 olefin methine carbon signal δ 129.4 (C-14''), δ 127.9 (C-16'', 20''), δ 122.9 (C-2''), δ 122.1 (C-22''), δ 120.3 (C-4), δ 113.6 (C-17'', 19), δ 111.6 (C-5), δ 106.5 (C-13''), δ 103.0 (C-2', 6'), δ 100.3 (C-3), δ 97.0 (C-7)이 관측되었다. 고자장 영역에서 3개의 methine carbon signal δ 48.1 (C-4''), δ 39.4 (C-5''), δ 33.2 (C-3''), 2개의 methylene carbon signal δ 35.9 (C-6''), δ 20.9 (C-21''), 3개의 methyl carbon signal δ 24.4 (C-25''), δ 22.3 (C-7''), δ 16.4 (C-24'')이 관측되었다. 위의 모든 결과를 종합하여 mulberrofuran E로 구조 동정하였다.

카. chalconoracin의 구조 동정

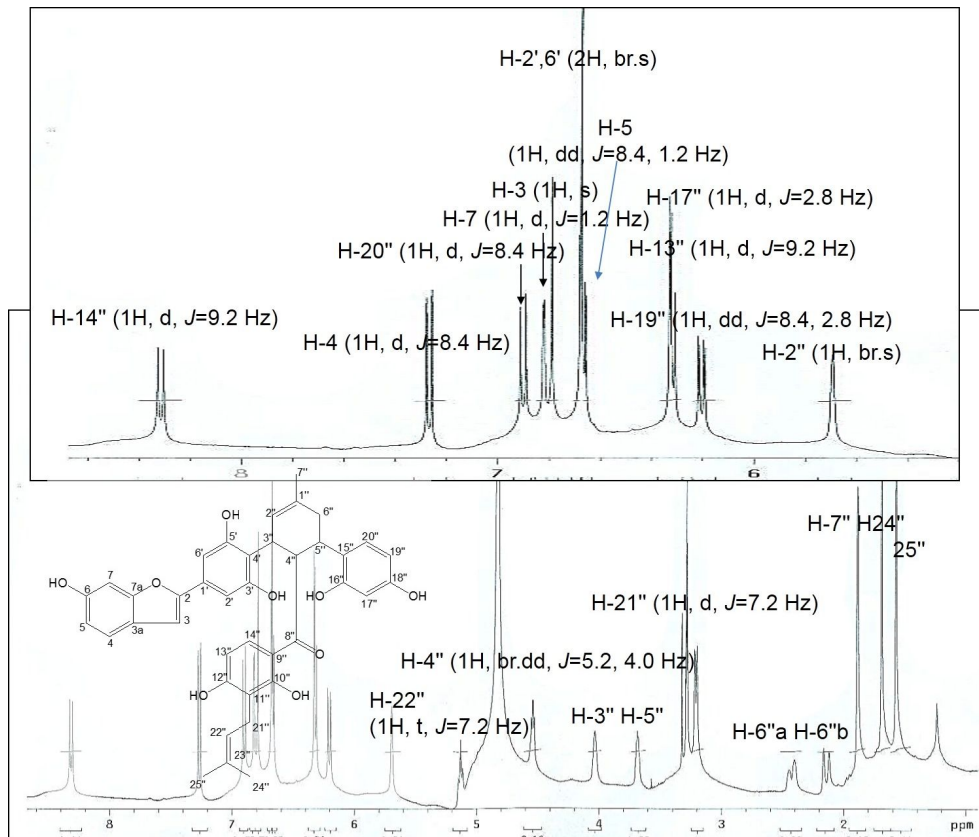


그림 31. chalconoracin의 ^1H -NMR 스펙트럼.

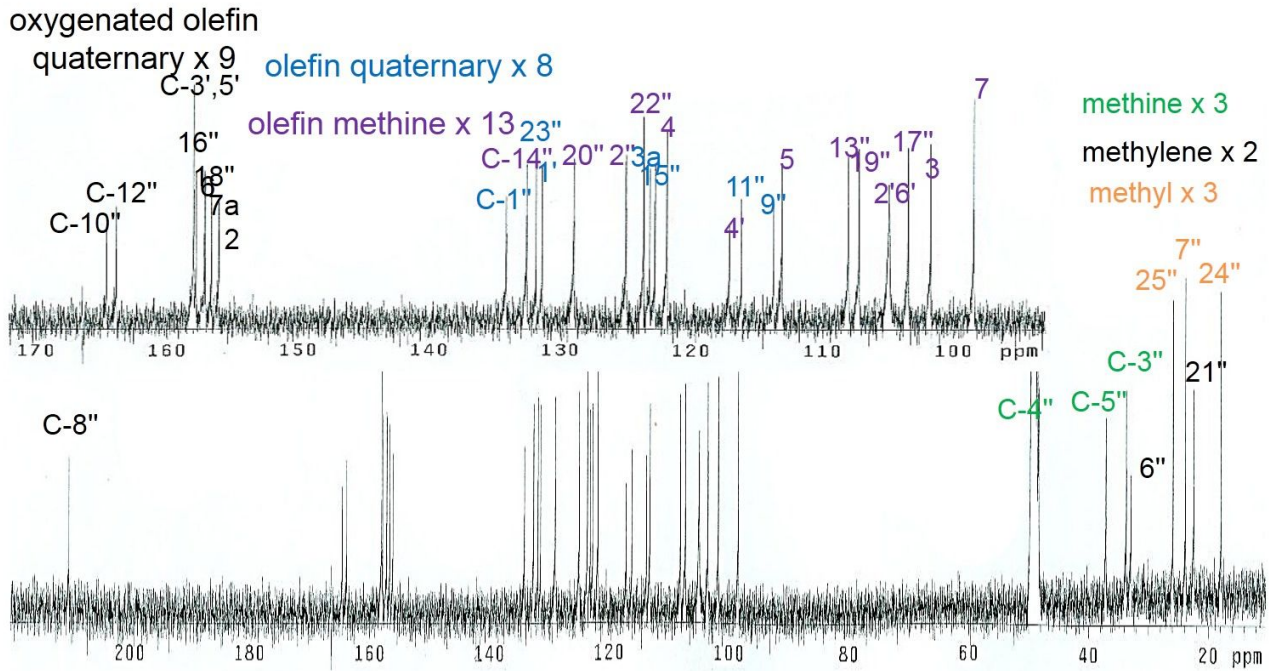


그림 32 chalconoracin의 ^{13}C -NMR 스펙트럼.

(1) chalconoracin은 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한 UV 흡수를 보였으며, 10% 황산 시, 붉은색으로 발색되었다. EI-MS에서 m/z 648 $[\text{M}]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 632로 결정하였다. ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD , δ_{H}) 스펙트럼에서 mulberrofuran E와 매우 비슷한 양상의 signal이 관측되었으며, 분자량의 차이로부터 수산기가 하나 더 결합한 화합물임을 예상할 수 있었다. Mulberrofuran E에서의 *para*-benzene ring (δ 6.65, 2H, d, $J=8.8$ Hz, H-17'', 19'') 대신 olefin methine proton signal δ 6.92 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-20''), δ 6.34 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-17''), δ 6.23 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-19'')로부터 1,2,4-3치환 benzene ring이 존재함을 알 수 있었다. ^{13}C -NMR spectrum (100 MHz, CD_3OD , δ_{C})에서는 39개의 carbon signal을 관측하였다. 저자장 영역에서 1개의 ketone carbon signal δ 210.1 (C-8''), 9개의 oxygenated olefin quaternary carbon signal δ 164.5 (C-10''), δ 163.8 (C-12''), δ 157.9 (C-3',5'), δ 157.7 (C-16''), δ 157.1 (C-18''), δ 157.0 (C-6), δ 156.6 (C-7a), δ 156.0 (C-2), 13개의 olefin methine carbon signal δ 132.5 (C-14''), δ 128.9 (C-20''), δ 124.9 (C-2''), δ 123.6 (C-22''), δ 121.8 (C-4), δ 113.0 (C-5), δ 108.0 (C-13''), δ 107.2 (C-19''), δ 104.9 (C-2', 6'), δ 103.4 (C-17''), δ 101.7 (C-3), δ 98.4 (C-7)이 관측되었다. 위를 종합하여 chalconoracin으로 구조 동정하였다.

10. 기능성 성분 정량 분석

가. LC/MS/MS 분석 시료 준비

- (1) EtOAc와 *n*-BuOH 분획 1 ml을 ependorff tube에 취하여 vacuum evaporator로 농축
- (2) 농축물을 MeOH로 녹인 후, 0.45 μm membrane filter로 여과

나. LC/MS/MS 분석

(1) LC 분석 조건

- 기기명 : Agilent 6410B, RRLC system

- Column : Column SB-C18 (1.8 μm , 21 mm \times 50 mm)
- 검출기 : Diode array detector
- 용출용매 : 처음 농도를 10% acetonitrile로 맞추고 25분 후 90% acetonitrile이 되도록 조절하였으며, 27분까지 농도를 유지한 다음 30분까지 10% acetonitrile이 되도록 하여 용출하였다.
- 용출속도 : 0.2 ml/min
- Injection volume : 2 μl

(2) MS 분석 조건

Stop Time (min)	30	Post Time (min)	10
Flow (ml/min)	0.2	Max Flow Gradient (ml/min)	100
Pressure Max	600	Pressure Min	0
Solvent A	Acetonitrile	Solvent B	0.1% Formic acid
Solvent Ratio A	10	solvent Ratio B	90

다. EtOAc와 *n*-BuOH 분획중의 표준시료 정량분석

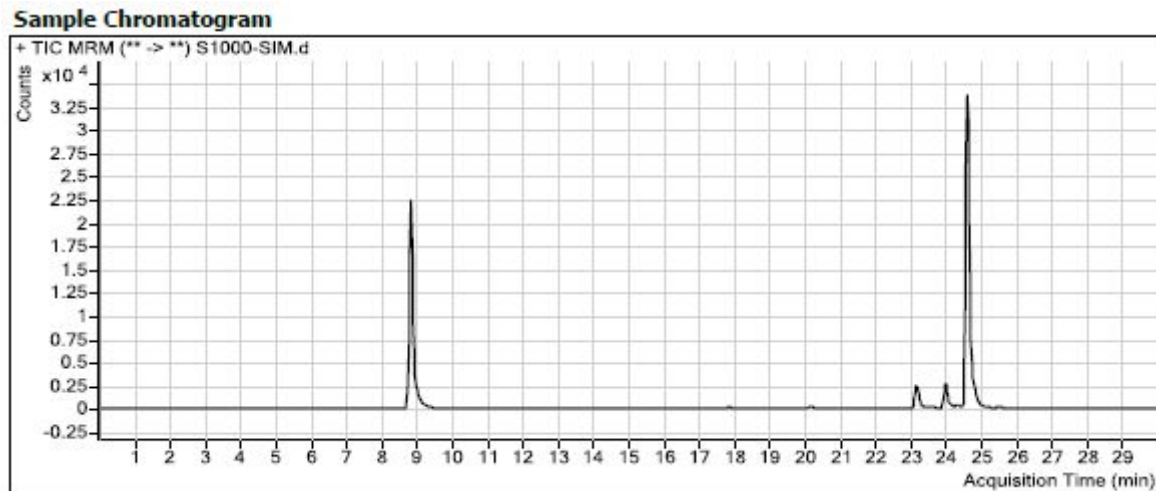


그림 33. 표준시료 LC/MS TIC spectrum.

(1) 시료를 MRM으로 분석한 chromatogram이다. 8.769분 peak가 rutin, 23.084분 peak가 morachalcone A, 23.905분 peak가 artoindonesiain O, 그리고 24.529분 peak가 isovabachalcone A임을 확인하였다.

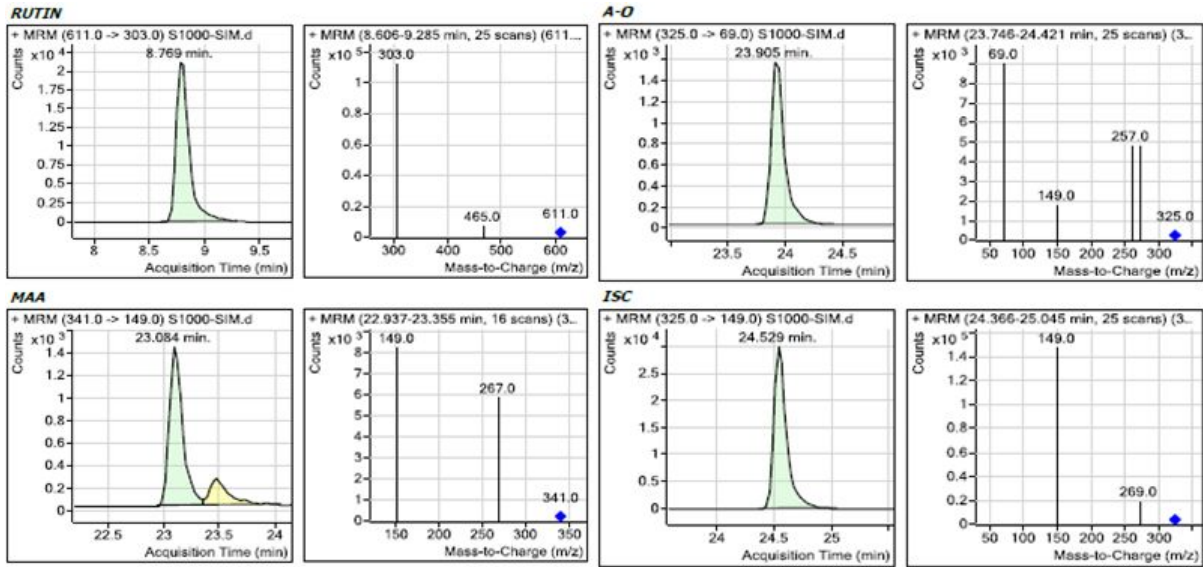


그림 34. 표준시료 화합물의 MRM peak 및 MS spectrum.

(2) 최종농도

Table 1. 오디 EtOAc와 *n*-BuOH 분획 및 시료에 대한 4종의 단일물질 함량

	rutin	morachalcone A	isobavachalcone A	artoindonesianin O
EtOAc와 <i>n</i> -BuOH 분획 중의 함량 (mg/100 g)	1424.31±1.2 1	29.79±0.15	72.46±0.23	71.73±0.22
시료중의 함량 (mg/1 kg)	37.29±2.2	0.78±1.5	1.90±1.8	1.88±2.1

11. 분석법 검증

Rutin, isobavachalcone A, morachalcone A와 artoindonesianin O를 각각 2,500, 500, 250, 25 mg/ml의 농도로 제조한 후, 특이성 (specificity), 직선성 (linearity), 범위 (Range), 검출한계 (limit of detection, LOD), 정량한계 (limit of quantitation, LOQ)을 측정하였다.

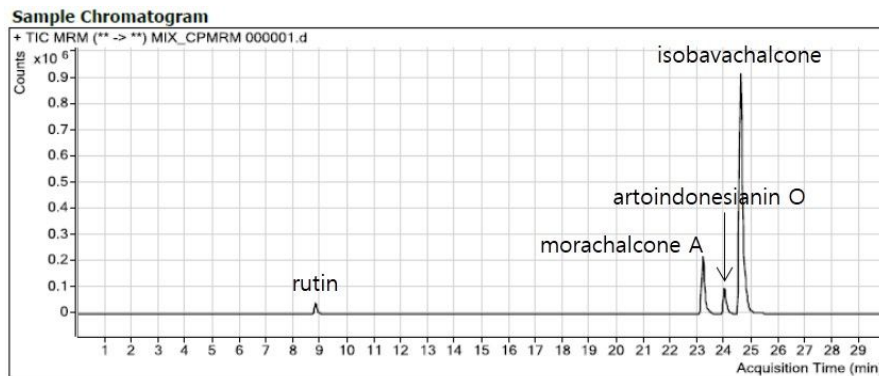


그림 33. 표준시료 LC/MS TIC spectrum

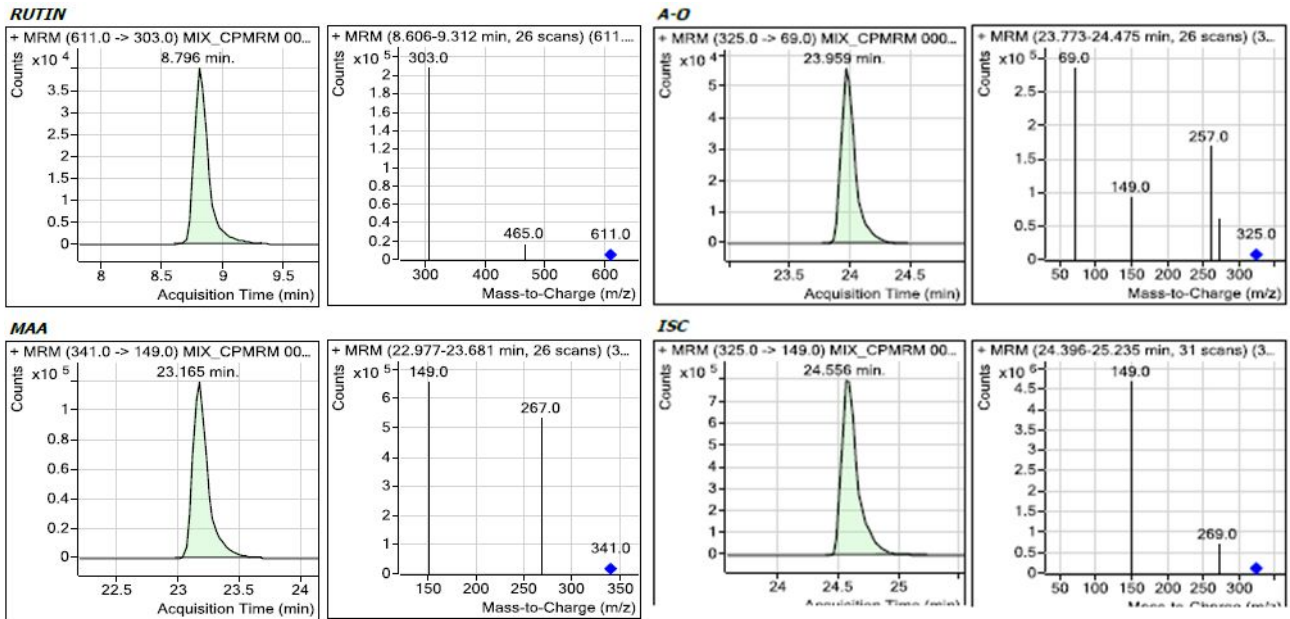


그림 35. 표준품 화합물의 MRM peak 및 MS spectrum.

가. 특이성 : 특이성은 불순물, 분해물, 배합성분 등의 다른 물질의 공존 시 해당 분석물질을 분리하고 정량하는 분석 능력으로 다른 물질과의 간섭 없이 성분이 분리되는 것에 의해 특이성을 확인하였다. 표준용액과 동일한 전처리방법으로 처리한 오디를 LC로 분석한 뒤 크로마토그램을 비교하였다. 각 화합물의 머무름 시간은 rutin (t_R , 8.7 min), morachalcone A (t_R , 23.1 min), artoindonesianin O (t_R , 23.9 min)와 isobavachalcone A (t_R , 24.6 min)의 peak의 분리를 확인하였다.

나. 4종 시료에 대한 직선성, 검량선 및 범위

compound	calibration curve	R^2
rutin	$y=13.708x-550.43$	0.9987
morachalcone A	$y=37.174x+165.81$	0.9989
artoindonesianin O	$y=17.576x-350.75$	0.9995
isobavachalcone A	$y=403.601x-2689.48$	1.0000

검량선은 각 화합물의 표준용액을 25, 250, 500, 2500 mg/ml로 단계적으로 희석한 후 LC로 분석하여 검량선을 그림 35와 같이 나타내었다. 검량선의 상관계수 (R^2)는 rutin (0.9987), morachalcone A (0.9989), artoindonesianin O (0.9995)와 isobavachalcone (1.0000)으로 높은 직선성을 보여 본 농도를 범위 (range)로 설정하였다.

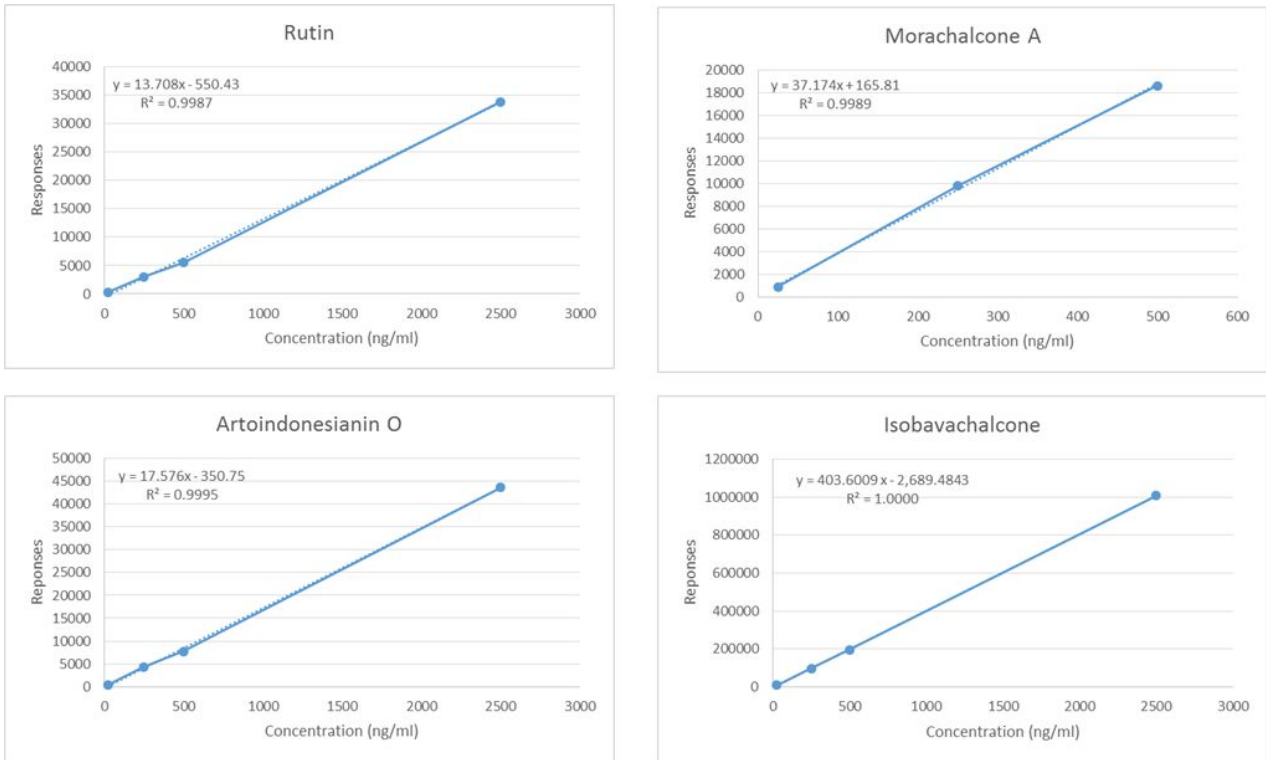


그림 36. 표준시료에 대한 회귀곡선.

- (1) Rutin의 경우 표준시료의 농도 25 mg/ml에서 2500 mg/ml까지 LC로 분석했을 때 농도에 따른 peak 면적은 $y = 13.708x - 550.43$ 와 같은 식으로 나타났으며, 회귀계수는 0.9987이었다. 따라서 이 농도 범위에서 얻어진 값을 사용하여 정량하고자 하였다.
- (2) Morachalcone A의 경우 표준시료의 농도 25 mg/ml에서 500 mg/ml까지 LC로 분석했을 때 농도에 따른 peak 면적은 $y = 37.174x + 165.81$ 와 같은 식으로 나타났으며, 회귀계수는 0.9989이었다. 따라서 이 농도 범위에서 얻어진 값을 사용하여 정량하고자 하였다.
- (3) Isobavachalcone A의 경우 표준시료의 농도 25 mg/ml에서 2500 mg/ml까지 LC로 분석했을 때 농도에 따른 peak 면적은 $y = 403.6009x - 2689.4843$ 와 같은 식으로 나타났으며, 회귀계수는 1.0000이었다. 따라서 이 농도 범위에서 얻어진 값을 사용하여 정량하고자 하였다.
- (4) Artoindonesianin O의 경우 표준시료의 농도 25 mg/ml에서 2500 mg/ml까지 LC로 분석했을 때 농도에 따른 peak 면적은 $y = 17.576x - 350.75$ 와 같은 식으로 나타났으며, 회귀계수는 0.9995였다. 따라서 이 농도 범위에서 얻어진 값을 사용하여 정량하고자 하였다.

다. 검출한계 (LOD) : 검출한계는 반응의 표준편차와 검량선의 기울기를 이용하여 계산하였다. ($3.3 \times \sigma/S$, σ : 반응의 표준편차, S: 표준검량선의 기울기)

- (1) Rutin : 0.02 ppm
- (2) Morachalcone A : 0.04 ppm
- (3) Isobavachalcone A : 0.002 ppm
- (4) Artoindonesianin O : 0.05 ppm

라. 정량한계 (LOQ) : 정량한계는 반응의 표준편차와 검량선의 기울기를 이용하여 계산하였다 ($10 \times \sigma$)

/S, σ: 반응의 표준편차, S: 표준검량선의 기울기).

- (1) Rutin : 0.06 ppm
- (2) Morachalcone A : 0.13 ppm
- (3) Isobavachalcone A : 0.007 ppm
- (4) Artoindonesianin O : 0.17 ppm

마. 정밀성 : 분석값의 분산, 표준편차를 이용하여 계산하였다 (% RSD).

- (1) Rutin : 0.085
- (2) Morachalcone A : 0.503
- (3) Isobavachalcone A : 0.262
- (4) Artoindonesianin O : 0.307

12. 예천 오디로부터 안토시아닌 고함유 추출물의 조제

가. 오디 산 (0.1% HCl) 첨가 안토시아닌 고함유 추출물 조제

- (1) 오디 생체 100 g에 0.1% HCl 첨가 MeOH로 2회 500 ml로 추출
- (2) 여액 및 잔사추출액을 합하여 감압 농축

13. 예천 오디로부터 안토시아닌의 분리

가. 오디 추출물로부터 안토시아닌 분리

- (1) 추출물에 대하여 Diaion HP-20 c.c.를 실시
- (2) MeOH 분획물 감압 농축
- (3) MeOH 분획물에 대하여 paper chromatography를 실시
- (4) *n*-BuOH-acetic acid-H₂O = 4 : 1 : 5의 전개용매를 이용하여 전개
- (5) 분리된 3개의 주요 밴드를 잘라 산 (0.1% HCl) 첨가 MeOH 용매를 이용하여 추출
- (6) upper (31.2 mg), middle (8 mg), low (3.3 mg)로 안토시아닌을 분리

14. 항당뇨 효능 강화 소재 개발

가. Zebrafish의 사육

- (1) Zebrafish의 알과 성어를 분리하기 위한 망(수조)을 설치
- (2) 수조에 암컷과 수컷을 1:1 비율로 넣고 12시간 후 zebrafish embryo 수집
- (3) 채취 후 0.03% sea salt solution을 사용하여 3회 세척
- (4) 28.5℃ 광주기 (14 light / 10 dark)가 설정된 인큐베이터에서 사육

나. Zebrafish 체도 변화를 통한 항당뇨 측정

- (1) 5 dpf (day post fertilization)의 zebrafish larvae를 96 well에 위치시킨 후 25 μM 2-NBDG로 12시간 동안 염색
- (2) 100 μM alloxan에 15분간 노출
- (3) 0.03% sea salt solution으로 바꾸어 5시간동안 노출
- (4) 25 μM 2-NBDG로 1시간동안 재염색

- (5) 형광현미경으로 췌도 관찰 및 1차 현미경 촬영
- (6) 양성대조 약물인 glimepiride와 4종의 flavonoid를 각각 10 μ M로 제조하여 1시간동안 노출
- (7) 25 μ M 2-NBDG로 1시간동안 재염색
- (8) 현미경으로 화합물로 인한 췌도 변화 관찰 및 2차 현미경 촬영
 - ① Alloxan은 췌도 내 β -세포 만을 선택적으로 파괴시키는 당뇨 유발물질로서 alloxan에 노출된 zebrafish는 alloxan을 처리하지 않은 zebrafish에 비해 $41.2\pm 1.8\%$ 췌도 크기가 감소하는 것을 확인 ($p < 0.001$).
 - ② 손상된 췌도를 항당뇨 물질로 이미 알려진 glimepiride에 노출시켜 변화를 관찰한 결과 glimepiride는 감소된 췌도 크기를 $38.6\pm 1.9\%$ 증가
 - ③ Rutin 처리 시 감소된 췌도 크기를 $32.3\pm 1.7\%$ 증가
 - ④ Isoquercetin 처리 시 감소된 췌도 크기를 $63.9\pm 20.3\%$ 증가
 - ⑤ Quercetin 처리 시 감소된 췌도 크기를 $46.6\pm 15.4\%$ 증가

다. Zebrafish의 췌도의 형광 염색 intensity 분석

- (1) Fluorescence intensity 측정
 - ① Glimepiride는 감소된 췌도 크기를 $49.4\pm 3.8\%$ 증가
 - ② Rutin 처리 시 감소된 췌도 크기를 $22.4\pm 1.8\%$ 증가
 - ③ Isoquercetin 처리 시 감소된 췌도 크기를 $32.6\pm 2.2\%$ 증가
 - ④ Quercetin 처리 시 감소된 췌도 크기를 $33.5\pm 2.7\%$ 증가
 - ⑤ Astragalin 처리 시 감소된 췌도 크기를 $4.22\pm 2.5\%$ 증가
 - ⑥ Zebrafish의 췌도 크기 및 intensity를 분석하였을 시 flavonoid의 B환의 C-3'위치에 수산기의 유무로 효능 차이가 나타나는 것을 알 수 있었으며, 육탄당이 2분자 결합한 rutin에 비해 1분자 결합한 isoquercetin이 1.45배 차이가 나며, 비 배당체인 quercetin과는 1.49배 차이가 나타났다는 점으로 보아 배당체의 개수보다는 B환의 C-3'위치에 수산기의 유무가 항당뇨 효능에 매우 중요한 영향을 준다는 것을 알 수 있음

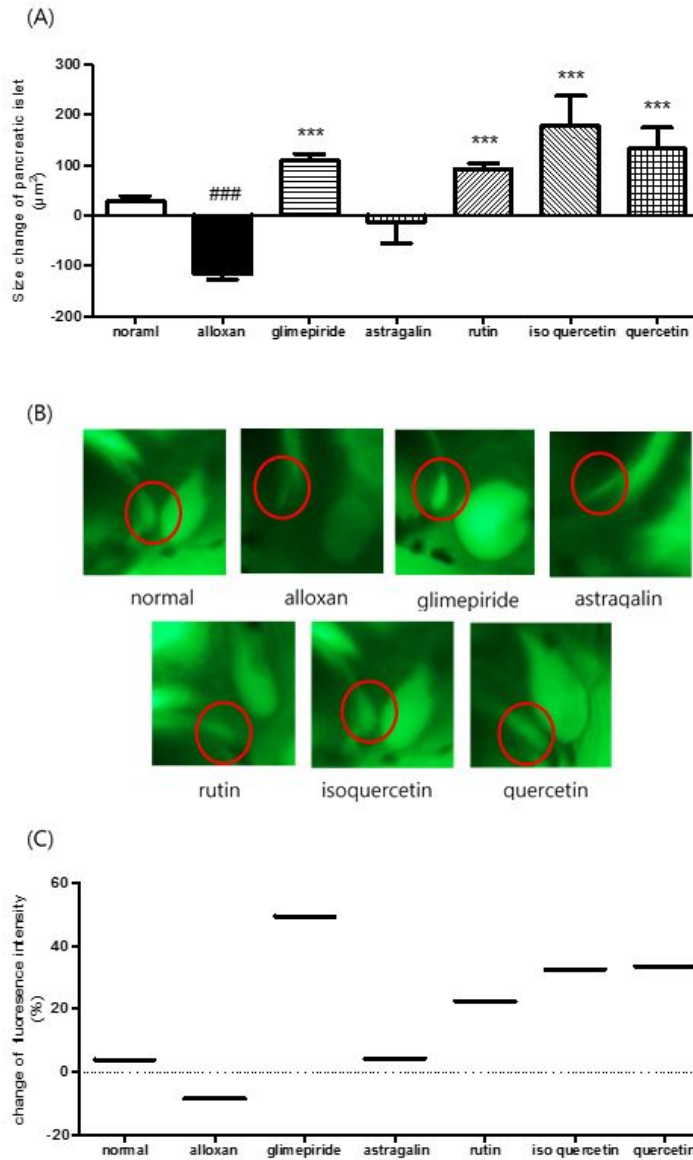


그림 36. Alloxan에 의해 감소된 zebrafish embryo 췌도에 glimepiride와 오디로부터 분리한 4종의 flavonoids의 항당뇨 효과. (A); Alloxan 처리 후 당뇨를 유발한 glimepiride 및 flavonoid 처리 후 zebrafish 췌도의 크기 변화. (B); 대조군 및 화합물에 대한 염색한 췌도 사진. (C); 췌도 fluorescence intensity의 변화에 대한 이미지 분석. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, $p < 0.001$; alloxan 대비), (# $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$; 대조군 대비).

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표달성도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2011)	오디로부터 색소 및 기능성 소재의 분리 동정 및 표준화	오디로부터 기능성 물질 추출물의 제조	100	-건조 분쇄된 오디를 70% EtOH로 추출 -여액 및 잔사추출액을 합하여 감압 농축 (2219 g) -농축한 추출물 50 mg 조제하여 활성 검색 용 시료로 제공
		오디로부터 안토시아닌 고 함유 추출물의 조제	100	-건조 분쇄된 오디에 citric acid, malic acid, fumaric acid를 각각 첨가하여 70% EtOH로 추출 -여액 및 잔사추출액을 합하여 감압 농축 -농축한 추출물 50 mg씩을 조제하여 활성 검색용 시료로 제공
		오디 안토시아닌 고함유 추출물 안정화 확립	100	-유기산 첨가 안토시아닌 추출물의 정량법 확립을 위해 최대 흡광도(543 nm) 측정 -오디 안토시아닌 고함유 추출물 저장 조건 [빛, 차광, 냉장차광(4℃), 고온(60℃)]에 따른 안토시아닌 함량 측정
		기능성 추출물에 대하여 용매 극성별 분획물 조제	100	-EtOAc, <i>n</i> -BuOH, H ₂ O로 분획 -여과한 후 감압 농축 [EtOAc (40 g), <i>n</i> -BuOH (247 g), H ₂ O (1949 g)] -농축한 분획물 50 mg씩 조제하여 활성검 색용 시료로 제공 -EtOAc 분획물로부터 Silica gel column chromatography를 실시하여 14개의 분획 물을 얻어 감압 농축 -농축한 분획물 50 mg씩 조제하여 활성 검 색용 시료로 제공
		EtOAc 분획물에 대하여 활성물질 분리	100	-Silica gel, Sephadex LH-20, RP-silica gel 등의 각종 matrix를 적절히 이용하고, 다양한 용출용매로 column chromatography를 실시 -3개의 물질 분리·정제
		분리된 화합물의 기기분석 및 구조 확인 동정	100	-3개의 물질에 대하여 NMR 및 MS data를 이용하여 β -sitosterol, astragalín, arतोindonesianin O를 분리

2차 년도 (2012)	오디로부터 색소 및 기능성 소재의 분리 동정 및 표준화	EtOAc와 <i>n</i> -BuOH 분획물에 대하여 활성물질 분리	100	- Silica gel, Sephadex LH-20, RP-silica gel 등의 각종 matrix를 적절히 이용하고, 다양한 용출용매로 column chromatography를 실시 - 5개의 물질 분리·정제 - 단일물질 1 mg씩을 조제하여 활성 검색용 시료로 제공
		분리한 기능성 성분 구조 결정	100	- 5개의 물질에 대하여 NMR 및 MS data를 이용하여 isobavachalcone, morachalcone A, isoquercetin, rutin, γ -tocopherol로 구조동정
		기능성 성분 정량 분석	100	- LC/MS를 이용한 지표성분의 회귀 곡선 작성 - 분석 방법에 대한 validation 확보
		천연소재 오디로부터 기능성 성분 분리 방법 확립 및 표준화	100	- 기능성 성분 분리 방법 확립 - 안토시아닌 분석법 확립
3차 년도 (2013)	오디로부터 색소 및 기능성 소재의 분리 동정 및 표준화	부안 오디로부터 기능성 물질 추출물의 제조	100	-오디를 100% MeOH로 1차 추출 -오디를 80% MeOH로 2차 추출 -여액 및 잔사추출액을 합하여 감압 농축 (1980 g)
		오디로부터 기능성 추출물 에 대하여 용매 극성별 분 획물 조제	100	-EtOAc, <i>n</i> -BuOH, H ₂ O로 분획 -여과한 후 감압 농축 [EtOAc (38 g), <i>n</i> -BuOH (202 g), H ₂ O (1740 g)] -EtOAc 분획물로부터 Silica gel column chromatography를 실시하여 8개의 분획물 을 얻어 감압 농축
		EtOAc 분획물에 대하여 활성물질 분리	100	-Silica gel, Sephadex LH-20, RP-silica gel 등의 각종 matrix를 적절히 이용하고, 다양한 용출용매로 column chromatography를 실시 -4개의 물질 분리·정제
		분리한 기능성 성분 구조 결정	100	-4개의 물질에 대하여 NMR 및 MS data를 이용하여 quercetin, moracin C, mulberrofuran E, chalconmoracin로 구조동정
		항당뇨 효능 강화 소재 개 발	100	-오디에서 분리한 4종의 flavonoid 화합물 에 대하여 alloxan으로 당뇨를 유발한 zebrafish의 pancreatic islet의 크기를 측 정
		기능성 소재 지표성분 정 성 및 정량 분석	100	-활성 지표 성분에 대하여 HPLC를 이용하 여 분석 조건 확립 -분석 조건을 이용한 지표성분의 회귀 곡선 작성 -분석 방법에 대한 validation 확보 (특이성, 직선성, 범위, 검출한계, 정량한계) -위의 방법을 적용하여 활성소재, 제품의 표 준화 규격 확립
		안토시아닌 고함유 추출물 조제 및 안토시아닌 분리	100	-산을 이용한 용매 추출 (0.1% HCl) -Diaion HP-20 수지 흡착을 이용하여 추출 물에서의 안토시아닌 고함유 추출물 조제 -종이크로마토 그래피를 이용한 안토시아닌 의 분리

제 2 절 기여도

1. 오디로부터 기능성 물질 및 안토시아닌 고함유 추출물의 제조
2. 안토시아닌 고함유 추출물 안정화 확립
3. 오디로부터 moracin C, mulberrofuran E, quercetin, rutin 등 11종의 이차대사산물 분리 및 동정
4. 기능성 성분 및 안토시아닌에 대한 NMR, MS, HPLC 및 LC/MS 등의 표준화 자료 확보 및 확립
5. 항당뇨 효능 강화 소재 개발

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연차별 연구 개발 성과

구분		특허		신품종				유전자 원 등록	논문		기타
		출원	등록	품명 명칭	종 등록	품 수	생 입 신 고		품종보호		
									출원	등록	
1차 년도	목표									1	
	달성									0	
2차 년도	목표									1	
	달성									0	
3차 년도	목표	1							1		
	달성	2							1	1	
계	목표	1							1	2	
	달성	2							1	1	

1. 논문 게재 성과

게재 연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	국내 외 구분	SCI 구분
		주저자	교신 저자	공동저자				
2014	Extraction and Stabilization of Anthocyanin Pigments from <i>Morus alba</i> Fruits	서경화	백남인	이대영, 정락훈, 김영언, 김영래, 홍억기, 방면호	<i>J Appl Biol Chem</i>	57(1)	국내	비SCI
2014	Neuroprotective effect of prenylated arylbenzofuran and flavonoids from <i>Morus alba</i> fruits on glutamate-induced oxidative injury in HT22 hippocampal cells	서경화	백남인	이대영, 정락훈, 이동성, 김영언, 홍억기, 김윤철	<i>J Med Food</i>	-	국외	SCI

* Recovery effect of flavonoids from *Morus alba* fruits on alloxan-induced pancreatic islet in zebrafish (*Danio rerio*), 서경화, 남윤희, 김영언, 홍억기, 홍빛나, 강동호, 백남인, J Appl Biol Chem - 투고

2. 특허 출원 성과

백남인, 서경화, 김영언, 이동성, 김윤철 “오디 유래 아릴벤조퓨란 및 플라보노이드 화합물을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방, 개선 및 치료용 조성물” 출원번호/ 일자/ 출원인 : 10-2014-0072643 / 2014.06.16. / 경희대학교 산학협력단, 한국식품연구원

* 백남인, 서경화, 김영언, 남윤희, 홍빛나, 강동호 “오디 flavonoid의 alloxan 처리 zebrafish의 항당뇨 회복효과” 출원심사중

3. 학술대회 초록

1. Kyeong-Hwa Seo, Dae-Young, Young-Eon Kim, Eock-Kee Hong, Myun-Ho Bang, Nam-in Baek (2012) **Extraction and Stabilization of Anthocyanin Pigments from *Morus alba* Fruits**, 한국응용생명화학회 천연물분과, LIG 인재니움, 2012.04.20.-21. 사천
2. Kyeong-Hwa Seo, Dae-Young Lee, Ji-Hae Park, Su-Yeon Kim, Young-Eon Kim, Eock-Kee Hong, Eun-Mi Ahn, Nam-in Baek (2012) **Flavonoid and Prenylated Arylbenzofuran from *Morus alba* Fruits**, 한국응용생명화학회 추계학술대회, 김대중컨벤션센터, 2012.11.08.-10. 광주
3. Kyeong-Hwa Seo, Dae-Young Lee, Ji-Hae Park, Jung-Hwa Kwon, Young-Eon Kim, Eock-Kee Hong, Youn-Hyung Lee, Nam-in Baek (2013) **Flavonoids from the Fruits of *Morus alba***, 한국응용생명화학회 추계학술대회, 해운대 그랜드호텔, 2013.06.27.-29. 부산
4. Kyeong-Hwa Seo, Dae-Young Lee, Young-Eon Kim, Eock-Kee Hong, Nam-in Baek (2013) **Quantitative Analysis of Principal Flavonoids in Mulberry Fruits Using LC/MS/MS**, 한국응용생명화학회 천연물분과, KIST 강릉분원 연수원, 2013.10.24.-25. 강릉
5. Kyeong-Hwa Seo, Dae-Young Lee, Young-Eon Kim, Eock-Kee Hong, Youn-Hyung Lee, Nam-In Baek (2014) **Two diels-alder type adducts and prenylated arylbenzofurans from the fruits of *Morus alba* L.**, 한국약용작물학회 춘계학술대회, 충남대학교 농업생명대학, 2014.05.13.-14, 대전
6. Kyeong-Hwa Seo, Dong-Sung Lee, Young-Eon Kim, Dong-Man Kim, Eock-Kee Hong, Youn-Chul Kim, Nam-in Baek (2014) **Neuroprotective effect of prenylated arylbenzofuran and flavonoids from *Morus alba* fruits of on glutamate-induced oxidative injury in HT22 cells**, 한국응용생명화학회 추계학술대회, 해운대 그랜드호텔, 2014.06.19.-21. 부산

제 2 절 성과 활용 계획

1. 오디로부터 분리, 정제하고, 정확히 동정한 표준품과 확립된 분석 방법을 오디 제품 표준화에 이용할 수 있도록 기술 이전 할 계획이다.
2. 정확히 동정한 1종의 diterpenoid, 1종의 sterol, 4종의 prenylated arylbenzofuran, 6종의 flavonoid 등의 12종의 이차대사산물 및 안토시아닌을 확보함으로써 모든 연구자들이 사용할 수 있도록 공급, 활용할 수 있게 되었다.
3. 모든 연구자들이 분석 방법을 효과적으로 사용할 수 있도록, 또는 오디를 산업화 하는데 확립된 분석 방법을 효과적으로 이용할 수 있도록 교육을 진행할 계획이다.

4. 오디로부터 분리, 정제한 12종의 이차대사산물을 정확히 동정하고, 표준품을 확보함으로써 오디 이차 대사산물에 대한 data base를 구축하였다. HPLC, LC/MS, 및 NMR을 이용한 분석 방법을 확립하였으며, flavonoid 및 안토시아닌에 대한 표준화 자료를 확보하여 metabolomics 연구에 중요한 기초자료로 이용될 것이다.

5. 논문 투고 계획

가. Two diels-alder type adducts and prenylated arylbenzofurans from the fruits of *Morus alba*, Natural Product Research (SCIE)

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 61st International congress and annual meeting of the society for medicinal plant and natural product research 참가

- 일시 : 2013.09.01.-05

- 장소 : 독일, Munster

- 내용 : 유럽 각국에서 참가한 International congress and annual meeting of the society for medicinal plant and natural product research은 metabolomics 및 natural product 학문을 연구하는 저명한 교수들이 참가하여, 연구결과를 발표하고 토론하였다. 분리·동정, 활성 및 plant metabolomics등의 연구방법을 습득함으로써 본 연구 과제를 수행하는데 많은 도움이 되었다.

제 7 장 참고문헌

1. Christina GV, Pilar Z, Francisco A, Fernando R, Pedro A, and Francisco TB (1998) Colour and anthocyanin stability of red raspberry jam, *J Sci Food Agric* **78**, 565-573.
2. Du Q, Zheng J, and Xu Y (2008) Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity, *J Food Composition and Analysis* **21**, 390-395.
3. Kang CS, MA SJ, Cho WD, and Kim JM (2003) Stability of anthocyanin pigment extracted from mulberry fruits, *J Korean Soc Food Sci Nutr* **32**, 960-964.
4. Kim HB (2003) Quantification of cyanidin-3-glucoside in mulberry fruits and grapes, *Korean J Seric Sci* **45**, 1-5.
5. Kim HB, Kim SY, Lee HY, Kim SL, and Kang SW (2005) Protective effect against neuronal cell and inhibitory activity against bacteria of mulberry fruit extracts, *Korean J Crop Sci* **50**, 220-223.
6. Kim SK (1991) Beneficial Medicine, Mulberry Fruit, In *Bonchohak*, p. 598-605, Yoinglimsa, Seoul, Korea
6. Khanal RC, Howard LR, and Prior RL (2010) Effect of heating on the stability of grape and bluberry pomace procyanidins and total anthocyanins, *Food Res Int* **43**, 1464-1469.
7. Lee TchB (2003) In *Coloured Flora of Korea*, p. 222, Hyang Mun Sa, Seoul, Korea.
8. Park JS, Bae JO, Chung BW, Jung MY, and Choi DS (2011) Degradation kinetics of anthocyanin pigment solutions from purple-fleshed sweet potato cultivars, *J Korean Soc Food Sci Nutr* **24**, 559-566.
9. Park HJ, Jeon TW, Lee SH, Cho YS, Cho SM, and Chang KS (2004) Studies on characteristics and stability of anthocyanin pigment extracted from Korean purple-fleshed potatoes, *J Korean Soc Food Sci Nutr* **33**, 1544-1551.
10. Park SW, Chung IS, and Ko GC (1997) Quantitative Analysis of anthocyanins among mulberry cultivars and their pharmacological screening, *J Korean Soc Food Sci Nutr* **38**, 722-724.
11. Polizer M (1977) Experience in the midical treatment of progressive myopia, *Klin Monatsbl Augenheilkd* **4**, 616-619.
12. Skerede G, Wrolstad RE, Lea P, and Enersen G (2006) Color stability of strawberry and blackcurrant syrups, *J Food Sci* **57**, 172-177.
13. Yoon JB (2004) *Find Wood Easily*, Jin Sun, Seoul, Korea.
14. Yoon JM, Cho MH, Hahn TR, Paik YS, and Yoon HH (1997) Phsicochemical stability of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety as natural food colorants, *Korean J Food Sci Technol* **29**, 211-217.
15. Yoshiki Y, Okubo K, and Igarashi K (1995) Chemiluminescenece of anthocyanins in the presence of actetaldehyde and tert-butyl hydroperoxide, *J Biolumin Chemilumin* **10**, 335-338.

실 적

1. 논문

논문게재일	잡지명	권.호.쪽	제목	저자
2014.03.	J Appl Biol Chem	57(1), 29-32	Extraction and Stabilization of Anthocyanin Pigments from <i>Morus alba</i> Fruits	서경화, 이대영, 정락훈, 김영언, 김영래, 홍억기, 방면호, 백남인
2014.12	J Med Food	-	Neuroprotective Effect of Prenylated Arylbenzofuran and Flavonoids from <i>Morus alba</i> Fruits on Glutamat-induced Oxidative Injury in HT22 Hippocampal	서경화, 이대영, 정락훈, 이동성, 김영언, 홍억기, 김윤철, 백남인

* Recovery Effect of Flavonoids from *Morus alba* Fruits on Alloxan-induced Pancreatic Islet in Zebrafish (*Dirio rerio*), 서경화, 남윤희, 김영언, 홍억기, 홍빛나, 강동호, 백남인 - J Appl Biol Chem (in submitted)

2. 학술발표

발표일	학회명	발표장소	발표제목	저자
2012.04.20-21	응용생명화학회	LIG 인재니움, 사천	Extraction and Stabilization of Anthocyanin Pigments from <i>Morus alba</i> Fruits	서경화, 이대영, 김영언, 홍억기, 방면호, 백남인
2012.11.08-10	응용생명화학회	김대중 컨벤션센터, 광주	Flavonoid and Prenylated Arylbenzofuran fom <i>Morus alba</i> Fruits	서경화, 이대영, 박지혜, 김수연, 김영언, 홍억기, 안은미, 백남인
2013.06.27.-29	응용생명화학회	해운대 그랜드호텔, 부산	Flavonids from the Fruits of <i>Morus alba</i>	서경화, 이대영, 김영언, 홍억기, 백남인
2013.10.24.-25	응용생명화학회	KIST 강릉분원, 강릉	Quantitative Analysis of Principal Flavonoids in Mulberry Fruits Using LC/MS/MS	서경화, 이대영, 김영언, 홍억기, 백남인
2014.05.13.-14	약용작물학회	충남대학교, 대전	Two Diels-alder Type Adducts and Prenylated Arylbenzofurans from the Fruits of <i>Morus alba</i> L.	서경화, 이대영, 김영언, 홍억기, 이윤형, 백남인
2104.06.19.-21	응용생명화학회	해운대 그랜드호텔, 부산	Neuroprotective effect of prenylated arylbenzofuran and flavonoids from <i>Morus alba</i> fruits of on glutamate- induced oxidative injury in HT22 cells	서경화, 이동성, 김영언, 김동만, 홍억기, 김윤철, 백남인

3. 특허

출원/등록	출원등록일	특허명	발명자
출원	2014.06.16	오디 유래 아릴벤조퓨란 및 플라보노이드 화합물을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방, 개선 및 치료용 조성물	백남인, 서경화, 김영언, 이동성, 김윤철

* 백남인, 서경화, 김영언, 남윤희, 홍빛나, 강동호 “오디 flavonoid의 alloxan 처리 zebrafish의 항당뇨 회복효과” - 출원심사중

4. 홍보 : 해당사항 없음

5. 교육 : 해당사항 없음

6. 기술이전 : 해당사항 없음

Extraction and Stabilization of Anthocyanin Pigments from *Morus alba* Fruits

Kyeong-Hwa Seo · Dae-Young Lee · Rak-Hun Jeong · Young-Eon Kim ·
Young-Rae Kim · Eock-Kee Hong · Myun-Ho Bang · Nam-In Baek*

오디 anthocyanin 색소의 추출 및 저장 안정성

서경화 · 이대영 · 정락훈 · 김영언 · 김영래 · 홍억기 · 방면호 · 백남인*

Received: 7 June 2013 / Accepted: 30 August 2013 / Published Online: 31 March 2014
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2014

Abstract This study was initiated to search for the most effective method for extraction of anthocyanins from *Morus alba* Fruits using organic acids and to evaluate the stability of the pigments at various storage environments. The anthocyanins were effectively extracted by addition of organic acids such as citric acid, malic acid and fumaric acid. The anthocyanins were not degraded at 25°C and under a fluorescent light with 183 lux, but sharply degraded at 60°C.

Keywords anthocyanin · extraction · *Morus alba* · mulberry · organic acid · stability

뽕나무(*Morus alba*)는 뽕나무과(Moraceae)에 속하는 낙엽교목으로 우리나라 전역에 분포하고 있다. 6–10 m까지 자라며, 수피는 회갈색이다. 열매는 장과로 6월에 흑색으로 익는다(Lee,

2003; Yoon, 2004). 뽕나무 열매인 오디는 상심자(桑子), 상실(桑實) 흑심(黑) 등으로 불리며 백발을 검게 하며, 소갈을 덜어주고 오장을 이롭게 하는 자양 강장제로 널리 사용되고 있다(Kim, 1991; Park 등 1997). 지금까지 오디로부터 분리된 성분으로는 flavonoid와 stilbene 등이 있으며, 색소인 anthocyanin도 많이 함유되어 있다(Du 등, 2008; Kim 등, 2008; Dat 등, 2010).

Anthocyanin 색소는 식물의 열매, 꽃, 잎, 줄기 등에 함유되어 있어 붉은색, 푸른색, 보라색 등의 색을 띤다. 시력개선(Politzer, 1977), 항산화(Yoshiki 등, 1995; Du 등, 2008) 등 다양한 생리 활성이 보고되어 있고, 인체에 무해한 천연색소 및 기능성 식품 소재로 각광받고 있다. Phenylchromane (C₆C₃C₆)의 기본 골격으로 C환의 1번 위치의 산소가 3개로 되어 있어서 양이온으로 하전되어 있는 oxonium 형태가 anthocyanin의 불안정성을 야기시키기 때문에 제폭화의 걸림돌이 되고 있다. 따라서 오디 색소의 안정화 방법이 확립되어야 한다. 국외에서는 라즈베리, 블루베리, 딸기, 포도의 anthocyanin의 안정성 및 분석법에 대한 연구가 보고되어 있다(Cristina, 1998; Skrede 등, 2006; Khanal 등, 2010). 국내에서는 오디, 유색감자, 유색미, 자색고구마 등 다양한 식물에 관하여 연구되어 있다(Kang 등, 2003; Park 등, 2004; Yoon 등, 1997; Park 등, 2011). 대부분의 연구결과는 주로 anthocyanin 색소의 안정성에 대한 것이지만 오디에 함유된 anthocyanin에 관한 연구는 미진하다. 또한 오디로부터 anthocyanin 추출 시 추출 수율을 높이기 위하여 무기산을 첨가한 보고가 있다(Kim, 2003; Kim 등, 2005). 무기산의 음이온이 안토시아닌의 oxonium 양이온과 안정한 염의 형태를 생성하기 때문에 추출 속도가 높아지게 된다. 또한 무기산을 이용하면, 산화효소의 작용을 억제하여 anthocyanin 색소를 안정화시키는 역할을 한다. 하지만 기능성 식품에 이용하기 위해 무기산을 대체 할 수 있는 방법의 개발이 필요하다. 따라서 본 연구는 천연소재로부터 효과적으로 색소를 추출하고, 오디 가공 및 저장 시 발생할 수 있는 anthocyanin 색소의 안

K. -H. Seo · R. -H. Jeong · M. -H. Bang · N. -I. Baek
Graduate School of Biotechnology and Department of Oriental Medicinal Materials & Processing, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Republic of Korea

D. -Y. Lee
Department of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Eumseong 369-873, Republic of Korea

Y. -E. Kim
Korea Food Research Institute, Sungnam 463-746, Republic of Korea

Y. -R. Kim · E. -K. Hong
School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Republic of Korea

*Corresponding author (N. -I. Baek: nibaek@khu.ac.kr)


Journal of
MEDICINAL FOOD
KFN Korean Food Science & Nutrition

Certificate of Publication

This is to certify that our Editorial Board Accepted Paper of Kyeong-Hwa Seo, Dae-Young Lee, Rak-Hun Jeong, Dong-Sung Lee, Young-Eon Kim, Eock-Kee Hong, Youn-Chul Kim, and Nam-In Baek, Title: Neuroprotective Effect of Prenylated Arylbenzofuran and Flavonoids from Morus alba Frutis on Glutamate-induced Oxidative Injury in HT22 Hippocampal

*This Paper is Original & Informative and it is Done Peer Review.
Your Article will be published in Journal of Medicinal Food.*

Authorized Signature



Prof. Young-Eun, Lee
Editor-in-Chief

The Korean Society of Food Science and Nutrition
103-1307, 1130, Jungang-daero, Yeonje-gu, Busan 611-820, Korea
TEL: +82-51-866-3693,4 FAX: +82-51-866-3695
Website: www.kfn.or.kr E-mail: kfn@kfn.or.kr

관인생략 출원번호통지서

출원일자 2014.06.16
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
 출원번호 10-2014-0072643 (접수번호 1-1-2014-0557088-91)
 출원인명칭 경희대학교 산학협력단(2-2004-007362-3) 외 1명
 대리인성명 특허법인 대아(9-2009-100101-8)
 발명자성명 김영언 백남인 서경화 김윤철 이동성
 발명의명칭 오디 유래 아릴벤조퓨란 및 플라보노이드 화합물을 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방, 개선 및 치료용 조성물

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-00000000, 상표등록출원 40-2010-00000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.