최종보고서

수정과의 기능성 효과 규명 및 세계화방안 연구

Determination of functional properties of *Sujeonggwa* and suggestions for globalization

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 "수정과의 기능성 효과 규명 및 세계화방안 연구"에 대한 최종 보고서로 제출합니다.

2014년 7월 29일

부 산 대 학 교

연 구 진

주관연구기관명: 부산대학교

연구책임자: 송 영 옥

공동연구원: 이 재 환 연구보조원: 김 미 정 연구보조원: 백 아 란 연구보조원: 정 고 운

협동연구기관명: 부산대학교

연구책임자: 이 지 현

연구보조원: 김 하 나 연구보조원: 김 슬 기

요 약 문

I. 제 목

수정과의 기능성 효과 규명 및 세계화방안 연구 (Determination of functional properties of *Sujeonggwa* and suggestions for globalization)

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

한국 전통 음료인 수정과의 전통 레시피를 발굴하고 이를 바탕으로 cross-culture 소비자 조사를 통해 건강기능성을 지닌 계피와 생강을 활용하여 동, 서양인의 기호를 고려한 수정과 음료의 표준 레시피를 개발하며, 수정과 및 재료의 식품기능성과 건강기능성을 과학적으로 규명하여 건강지향성 음료로써 수정과의 우수성에 대한 이론적, 실증적 자료를 제공하고, 기능성개선 및 음료 섭취의 접근성을 높인 다양한 형태의 수정과 음료 제품 개발에 대한 전략 수립으로 주식 위주의 한식세계화에서 기호성식품의 세계화에 이바지하고자 함.

- 세계 음료시장 규모는 2015년 까지 약 2,000조원(\$1,900 billion by MarketLine)이 될 것으로 예측되고 있고, 탄산음료 보다 건강기능성 음료 시장 위주로 변화해 갈 것으로 보고하고 있음.
- 국내 음료시장 규모는 3조 5천억 원(한국식품정보원, 2011) 규모이며 이중 커피 음료 약 5천 371억 원, 차 음료 2천 50억 원, 그리고 기능성 음료가 1조 8000억 원 규모로 이미 한국은 일본에 이어 기능성 음료가 주류를 이루고 있고, 중국 역시 탄산음료 시장이 급격히 감소하고 있어 기능성 음료에 대한 요구는 세계적으로 확대되고 있음.
- 세계적으로 음료 시장은 계속 확대되고 있고, 기능성음료 시장은 더 빠른 속도로 성장하고 있음. 미국 시장의 경우 기능성음료인 녹차가 소개된 이후, 잎녹차, 녹차 티백, 액상 녹차 등 10종 이상의 다양한 녹차 제품이 출시되었고, 녹차 음료 시장은 지속적으로 성장하고 있음.
- 기능성음료(functional drink)는 소재에 함유되어 있는 생리활성물질의 생체조절기능을 강조한 음료로 건강보조 식품의 형태로 이용되고 있으나 최근에는 기호성을 고려한 음료의 형태로 바뀌어 가고 있음.
- 서양 식문화에서 후식은 매우 중요하나 한식세계화 연구에서 후식 분야에 대한 관심이 상대적으로 관가 되고 있음. 이에 우리나라 전통 음료인 수정과의 기능성 효과를 규명하고 세계인의 기호를 바탕으로 다양한 형태의 제품을 개발하였을 때 수정과는 건강기능성 음료로서 뿐만 아니라 후식으로도 적합한 음료가 되어 한식 세계화의 기반 확충에 기여할 것 임.
- 한국 전통 음료는 서양의 대용차보다 건강기능성이 우수함에도 불구하고 소비층이 좁고 제 조과정의 불편함, 전통 음료에 대한 인식 부족, 간편한 음료의 선호 등의 제약에 부딪혀 국

내에서 조차 대중화 되지 못하고 있음.

- 수정과는 독특한 맛과 방향을 지니고 있어 기호성 음료로 뿐만 아니라 방향, 건위, 혈액순 환 촉진, 식욕 증진, 소화 촉진 등 다양한 약리효과를 지니고 있어 옛날부터 건강증진 목적으로 널리 음용되어 왔음.
- 수정과는 계피와 생강을 주재료로 만든 음료로 이들 재료가 지니고 있는 항산화, 항균, 항 염증 작용 및 혈행 개선 효과 등의 다양한 약리작용 및 의약 작용으로 퇴행성 질환을 예방 하는 효과가 있어 노화를 예방하는 효과가 있을 것으로 예상함.
- 계피의 약리작용으로는 혈압강화, 말초혈관 확장, 혈액순환이 알려져 있고, 한방에서는 감기 또는 진통 목적으로 사용하여 왔으며, 약리 성분으로는 cinnamonaldehyde (50%), cinnamic acid, benaenpropranal, benaenpropranal, borneol, benzaldehyde, camphene, coumarin, β
 -sitosterol, choline, vanillic acid, protocatechuic acid 등이 알려져 있음.
- 계피는 기존의 약리작용 외 항균, 항진균, 항산화, 항알레르기, 진경작용, 면역 증진 작용 등이 보고되고 있고, 골다공증 및 궤양에 치료 효과가 있는 것으로 동물 및 임상실험을 통해 알려지고 있음.
- 생강(Zingiber officinale Rosc.)은 열매, 잎, 가지, 뿌리 모두를 한약재, 조미료, 향신료로 사용해왔으며 특히 뿌리는 일반 식재료로도 널리 사용하고 있음.
- 생강의 약리 성분으로는 sitosterol, stigmasterol, campesterol, l-borneol, capric acid, lauric acid, myristic acid, linderic aicd 등이 알려져 있고, 방향성분으로는 monoterpene류, sesquiterpene류가, 그리고 맛 성분으로는 gingerol, shogaol, zingerone 등이 알려져 있음.
- 생강 역시 항균, 항진해작용, 해독작용이 있어 소화불량, 구토, 설사에 효과가 있고 혈액순 환 개선 효과가 알려져 있고, 최근에는 염증억제, 인지기능 개선, 위염 치료, 혈청 콜레스테 롤 저하 효과 등이 밝혀지고 있음.
- 이와 같이 계피와 생강은 한방, 의약품, 향신료 등으로 널리 이용되어 왔으며, 차, 음료, 껌, 치약, 화장품의 향성분, 구취제거제 등 다양한 분야에 활용되고 있음.
- 생강과 계피는 진저쿠키, Cinnamon Roll, 계피 껌, 계피 설탕 등 다양한 가공식품으로 판매되고 있어 이미 외국 소비자들에게도 친숙한 식재료임.
- 수정과는 곶감, 계피, 생강을 주재료로 만든 전통 음료이나 지금까지 수정과 레시피 및 제 조법에 대한 정확한 정보가 없음. 통후추는 수정과 제조 시 소량 사용되는 재료로, 이는 계 피의 개운하고 깔끔한 매운 맛을 증진시키는 효과가 있음.
- 전통 수정과의 당도는 15~20%로, 탄산음료의 9~10% 보다도 높은 수준임. 이에 신개념의 기능성 수정과 음료 제조 시 당의 함량을 낮추어 단맛은 유지하면서 칼로리가 낮은 음료의 개발이 필요함.
- 체내 reactive oxygen species의 증가는 산화스트레스를 유발하여 염증반응에 관여하는 NF-kB와 같은 염증관련 전사인자를 활성화시켜 pro-inflammatory cytokine 및 inflammation related molecule의 발현을 촉진하고, 이들은 체내 단백질, RNA 및 DNA 구조를 손상시키고,

혈관세포의 손상을 유발함으로써 암, 당뇨병, 동맥경화, 신장질환 등 다양한 형태의 성인성 질환을 일으켜 노화를 촉진하는 주요한 원인으로 알려져 있음.

- 혈관 내 미세염증은 혈관부착인자의 발현을 촉진함으로써 동맥경화를 유발하는 원인이며 이는 뇌질환, 심혈관계 질환을 일으켜 노화를 촉진하는 대표적인 원인이 되고 있음.
- 산화스트레스 개선을 위한 항산화식이의 섭취 증가는 체내 유리기 생성을 억제하는 방어 영양의 대표적인 방법으로 일상에서 실천할 수 있는 생활 전략임. 과다한 단순당, 지방 섭 취에 비해 야채 및 과일 섭취 기피 등과 같은 건강하지 않은 식습관, 일상생활의 과다한 스 트레스, 과도한 운동, 흡연과 같은 바람직하지 못한 생활습관은 산화스트레스를 증가시키는 주요한 원인임.
- 소비자는 문화적 차이에 따라 기호도가 달라질 수 있으므로, 제품을 판매하고자 하는 소비자를 대상으로 실제 기호도 조사를 실시하는 것이 중요함. 한식세계화 연구를 위해 외국인, 외국인의 식생활 문화에 접목될 수 있게 현지인의 선호도를 기반으로 한 레시피가 개발되어야 함.
- 관능묘사분석을 통해 확립된 Lexicon은 제품의 관능 특성, 강도 등을 정량적으로 표현하는 방법으로 제품 제조공정의 최적화(gold standard) 및 품질관리에 필수 요소임. 관능묘사분석 을 소비자 기호도 조사와 연계 분석 시 신제품의 관능 특성을 개선함으로써 소비자 기호도 를 향상시킴.
- Preference mapping 분석법은 소비자의 선호를 분석하여 묘사분석과 연계하는 방법으로 선호하는 관능 특성을 파악하여 mapping 함으로써 제품 개발 시 소비자의 기호도를 반영하는 분석법임. 또한 기호도가 다른 소비자 소그룹의 존재 판별에도 이용함.
- Cluster analysis 는 소비자 기호를 바탕으로 유사한 기호도를 가진 소비자를 소그룹으로 나누는 방법으로, 맞춤형 제품 개발 또는 마케팅 전략에 필수적 분석법임. Cluster analysis의 결과는 Principal Component Analysis로 확인함.
- 세계 시장은 새로운 기능성 소재를 찾고 있어 우리의 전통 음료인 수정과의 건강기능성의 우수성을 과학적으로 밝히고 동서양인의 기호에 맞는 다양한 형태의 수정과로 재해석 할 필요가 있음.
- 이에 객관적인 관능묘사분석 및 cross-culture 소비자 조사를 바탕으로 기능성이 확인된 신 개념 수정과 음료 레시피 개발이 필요하며, 이를 바탕으로 한식의 국제 경쟁력 강화 및 세 계화에도 기여할 수 있을 것으로 기대됨.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 한국 전통 음료인 수정과의 전통 레시피를 발굴하고 이를 바탕으로 cross-culture 소비자 조사를 통해 건강기능성을 지닌 계피와 생강을 활용하여 동, 서양인의 기호를 고려한 수정과 음료의 표준 레시피를 개발하며, 수정과 및 재료의 식품기능성과 건강기능성을 과학적 으로 규명하여 건강지향성 음료로써 수정과의 우수성에 대한 이론적, 실증적 자료를 제공하고, 기능성 개선 및 음료 섭취의 접근성을 높인 다양한 형태의 수정과 음료 제품 개발에 대한 전략 수립으로 주식 위주의 한식세계화에서 기호성 식품의 세계화에 이바지 하고자 함.

본 연구에서는 전통 수정과 및 수정과 음료의 개발을 위해 수정과의 건강기능성, 식품기능성 등 이화학 특성 및 수정과의 관능 특성 조사를 바탕으로 신개념의 수정과 음료 표준 레시피개발 및 다양화 등을 주요 내용으로 하는 2 세부과제로 구성되어 있음.

1. in vitro 및 in vivo에서 수정과 재료 및 수정과의 건강기능성 연구

1-1. in vitro에서 수정과 소재 및 수정과의 식품 기능성 연구

- 가, 수정과 및 소재의 항산화, 항균성 분석을 통한 건강기능성 평가
- 나. 수정과 및 소재의 파이토케미칼의 정량분석을 통한 건강기능성 개선 방법 모색
- 다. 신 개념의 수정과 음료 제품 개발을 위한 글로벌화 전략으로서 휘발성 성분 평가

1-2. in vivo에서 수정과의 혈관 염증 억제를 통한 항 노화 기능성 연구

- 가. 전통수정과 및 수정과 음료의 혈장에서 pro-inflammatory cytokine 발현 억제효과
- 나. 전통수정과 및 수정과 음료의 혈장 및 뇌에서 oxidative stress 개선 효과
- 다. 동맥의 미세염증 개선 통한 항노화 효과

2. Cross-culture 소비자 조사를 통한 신개념 수정과 음료 레시피 개발

- 가. 수정과의 전통 레시피 수집 분석, 재현 및 신개념의 수정과 음료 제품 개발
- 나. 수정과의 중요한 관능적 특성 용어 및 표준 척도 개발
- 다. 내국, 외국인을 대상으로 수정과의 cross-culture 소비자 조사
- 라. 신개념 수정과 음료의 표준 레시피 개발을 통한 세계화

Ⅳ. 연구개발결과

- 본 연구는 2개의 세부과제로 구성되었음. 제 1 세부과제는 *in vitro* 및 *in vivo*에서 수정과 소재 및 수정과의 건강기능성 연구, 제 2 세부과제는 Cross-culture 소비자 조사를 통한 신개념 수정과 음료 레시피 개발임.
- 제 1 세부과제: *in vitro* 및 *in vivo*에서 수정과 소재 및 수정과의 건강기능성 연구
 - 1-1. in vitro에서 수정과 소재 및 수정과의 식품 기능성 연구

본 실험에 사용한 수정과 시료는 곶감과 꿀로 가미하여 전통수정과를 재현한 S-PH, 설탕으로 가미한 S-sugar, 설탕과 sc-FOS로 가미한 S-scFOS, 설탕과 천연 감미료 stevia로 가미한 S-stevia, 본 연구에서 대조군으로 비교한 시판수정과제품 Positive control (비락 수정과, ㈜ 팔도)과 시판 수정과 S-slow (느린수정과, 서정쿠킹), S-sarang (사랑수정과 농축액, 보우식품), S-masil (마실수정과, 자연명가), S-cheong (하늘청 수정과 농축액, 산노을 태원푸드), S-han (한복선 수정과, 봉평메밀특산지 영농조합), S-organic (유기농 수정과, 해오름 식품) 는 농축액 제품을 제외한 제품은 전처리 없이 그대로 사용하였다. S-sarang과 S-cheong은 제품에 표기된 방법으로 희석하여 분석에 사용하였다. 총 11 종류의 수정과를 분석용 시료로 사용하였다.

- ① 수정과 및 소재의 항산화, 항균성 분석을 통한 건강기능성 평가
- 국내에서 판매하는 수정과 및 본 연구에서 개발한 수정과를 포함한 11종의 수정과의 항산화능을 분석한 결과, DPPH 라디칼 소거능 활성, FRAP 철이온 환원력과 총 페놀 함량은 S-PH가 가장 높은 항산화능을 보였으며, ABTS 라디칼 소거능 활성에서는 S-organic, 총 플라보노이드 함량에서는 S-han이 가장 높은 항산화능을 보였다.
- 계피는 S. pyogenes, C. albicans, B. cereus 균에 대해 항균활성을 나타내었으며, 항균활성의 정도는 250 mg/mL의 농도에서(S. pyogenes와 B.cereus) 확인되었다.
- 생강의 항균 활성은 *S. pyogenes, B. cereus* 균에서 나타났으며 500 mg/mL의 농도에서 계피와 유사한 항균 활성을 보여 생강의 항균활성은 계피의 50% 정도인 것으로 확인되었다.
- ② 수정과 및 소재의 파이토케미칼의 정량분석을 통한 건강기능성 개선 방법 모색
- 생강의 활성성분인 6-gingerol과 계피의 대표적인 활성성분인 cinnamic acid, cinnamaldehyde를 분석한 결과, 수정과 시료에서 가장 높게 측정된 활성성분은 cinnamaldehyde이었다. 유기농 재료를 사용한 S-organic 수정과의 cinnamaldehyde의 농도는 4.54 mM로 가장 높았다. 두 번째로 많이 함유된 파이토케미칼은 시료에 따라 달랐다. S-scFOS, S-sarang, S-masil, S-organic에서는 6-gingerol이 두 번째로 많이 함유된 성분으로 확인되었는데, S-masil 샘플에서 0.314 mM로 가장 높게 측정되었다. Positive control 에서는 6-gingerol이 검출되지 않았다. 나머지 샘플에서는 cinnamic acid가 두 번째로 많

은 성분으로 확인되었는데, S-PH 수정과에 0.529 mM로 가장 많이 함유되어 있었다.

- ③ 신 개념의 수정과 음료 제품 개발을 위한 글로벌화 전략으로서 휘발성 성분 평가
- 수정과의 총 휘발성분 분석 결과, S-organic ≥ Positive control ≥ S-stevia = S-scFOS ≥ S-PH = S-masil = S-slow ≥ S-cheong = S-cbn ≥ S-sarang = S-han ≥ S-sugar 순으로 휘발성 성분 함량이 나타났다. 유기농 재료를 사용한 수정과의 휘발성 성분 함량이 가장 높았다.
- 모든 수정과 시료에서 가장 높게 검출된 휘발성분은 cinnamaldehyde이었다. 두 번째로 검출된 휘발성분은 수정과 시료에 따라 다르게 나타났으며, S-cbn, Positive control, S-slow, S-sarang, S-cheong 등 5가지 샘플에서는 benzenaldehyde, S-sugar 샘플에서는 cinnamene, 나머지 샘플에서는 coumarin이 검출되었다. 이상의 결과에 의하면 재료의 함 량에 따라 수정과의 향에 영향을 미치는 것을 확인되었다.

1-2. in vivo에서 수정과의 혈관 염증 억제를 통한 항 노화 기능성 연구

본 연구에서는 문헌에 의거 전통수정과 레시피를 개발한 후 이로부터 현대인의 기호를 고려한 일반수정과(S-sugar), 그리고 일반수정과의 설탕을 stevia 또는 short chain fructo-oligosaccaride (scFOS)로 일부 대체한 기능성 수정과 2종류(S-stevia, S-scFOS)와 본연구에서 개발한 수정과의 효과를 비교하기 위해 시판되고 있는 캔 수정과를 긍정대조군 (positive control)으로 하여 총 4종의 수정과를 실험에 사용하였다. 고콜레스테롤 혈증을 유발한 apo E knock out mice (혈장 TC > 1000 mg/dL)에 동일량의 물(정상대조군), 설탕물(실험대조군), S-sugar, S-stevia, S-scFOS, 시판 캔 수정과(긍정대조군)를 경구로 6주간 섭취시켰다.

- ① 수정과 음료의 혈장 및 조직에서의 지질저하 및 oxidative stress 개선 효과
- 수정과의 지질 저하 효과 및 산화스트레스 개선 효과는 동일 농도의 설탕물을 섭취시킨 동물군에 비해 유의적으로 감소함으로써 수정과의 기능성이 확인되었다. 이러한 수정과 의 건강증진 기능성은 본 연구에서 개발한 기능성 수정과에서 더욱 높았으며 그 결과는 다음과 같다.
- 혈중 TG, TC, 그리고 LDL-C의 농도는 S-stevia군에서 가장 낮았으며, 설탕물을 섭취한 실험 대조군에 비해 TC, LDL-C의 농도가 20.8%, 22.6% 유의적으로 감소하였다. S-scFOS의 TG 농도는 시판 수정과를 섭취한 긍정대조군에 비해 22.3% 유의적으로 감소하였다.
- 혈중 TBARS 농도는 수정과 음료군인 *S*-sugar군, *S*-stevia군, 그리고 *S*-scFOS군에서 실험 대조군과 비해 27%, 35.7%, 그리고 34.1% 유의적으로 감소하였으며 특히 대체 감미료를 첨가하여 제조한 *S*-stevia와 *S*-scFOS군에서의 TBARS 농도는 정상 대조군과 유사하였다.
- 간의 TG, TC 농도는 S-sugar군에서 실험 대조군에 비해 17.9%, 12.6% 유의적으로 감소하였으며 기능성 당을 첨가한 S-stevia, S-scFOS군에서는 지질 축적 억제효과가 더욱 유의적으로 상승하였다.

- 뇌의 TG 농도는 S-stevia군과 S-scFOS군에서 실험 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며 감소율은 18.4%, 30.3%로 혈장 및 간 TG 농도와 유사한 경향을 보였다.
- 수정과 음료 섭취군인 *S*-sugar, *S*-stevia, 그리고 *S*-scFOS군의 간 ROS 농도는 실험 대조 군에 비해 17.9%, 33.8%, 그리고 24.9% 유의적으로 감소하였다. *S*-steiva군은 *S*-sugar군에 비해 간 ROS 농도가 19.4% 유의적으로 감소하였다.
- 간의 TBARS 농도는 ROS 농도와 유사한 경향을 보였으며, 실험 대조군에 비해 수정과 음료 섭취군인 *S*-sugar, *S*-stevia, *S*-scFOS군에서 각각 28.4%, 33.9%, 31.7% 유의적으로 감소하였다.
- 간에서 지방산 합성에 관련하는 효소 및 전사인자인 FAS와 SREBP-1의 발현 정도는 실험대조군군에 비해 동일 농도의 설탕이 함유된 S-sugar군에서 16.8%, 13.6% 감소하였다.
- S-sugar, S-stevia, S-scFOS군의 콜레스테롤 생합성에 관여하는 효소인 HMGCR의 발현은 실험 대조군에 비해 각각 23.7%, 36.3%, 24.5% 감소하였다. HMGCR의 전사인자인 SREBP-2의 발현 역시 실험 대조군에 비해 S-sugar, S-stevia, S-scFOS군에서 유의적으로 감소하였고, 감소율은 각각 21.5%, 30.5%, 24.3%였다.

② 수정과 음료의 염증 억제 효과 및 항 동맥경화 효과

- 염증반응에 관여하는 pro-inflammatory cytokine인 IL-6와 TNF-α의 혈중 농도는 실험 대조군에서 가장 높았으며, 이와 동일한 농도의 설탕이 함유된 S-sugar를 섭취한 군에서 는 IL-6와 TNF-α의 농도가 대조군에 비해 16%, 13.9% 감소하였다. 기능성 당을 첨가한 S-stevia, S-scFOS군에서는 대조군 및 S-sugar군에 비해 pro-inflammatory cytokine의 농 도가 유의적으로 감소하였다.
- 동맥 내 COX-2, iNOS, NF- κ B의 발현은 실험 대조군에서 가장 높았으며, 수정과 섭취에 의해 감소하였다. S-sugar, S-stevia, 그리고 S-scFOS군의 COX-2 발현은 실험 대조군에 비해 19.7%, 31.8%, 그리고 27% 유의적으로 감소하였다.
- 동맥 내 NF- κ B의 발현은 실험 대조군에 비해 S-stevia, S-scFOS군에서 14%, 10.7% 유의 적으로 감소하여 정상대조군과 유사하였다. 동맥 내 iNOS의 발현 역시 모든 수정과 섭취 군에서 유의적으로 감소하였다.
- 동맥궁 내 지질침착 정도는 실험 대조군에서 가장 높았으며 긍정 대조군을 포함한 모든 수정과 음료 섭취군에서 유의적으로 감소하였다.

③ 수정과 음료의 항 유전 독성 효과

- H_2O_2 를 처리하지 않은 간세포에서의 DNA 손상은 실험 대조군에 비해 S-stevia군과 긍정 대조군에서 유의적으로 감소하였고, 산화적 스트레스를 처리한 경우 S-stevia군에서만 통계적으로 유의적인 차이를 나타내었다.
- 비장세포에서의 tail DNA 수준 역시 산화적 스트레스에 노출되지 않은 세포와 노출된 세

포 모두에서 실험 대조군에 비해 S-stevia군에서 유의적인 DNA 보호 효과가 나타났다.

- 제 2 세부과제: Cross-culture 소비자 조사를 통한 신개념 수정과 음료 레시피 개발
 - ① 수정과의 전통 레시피 수집 분석, 재현 및 신개념의 수정과 음료 제품 개발
 - 고문헌, 전통요리책 등에서 수정과 레시피를 수집 분석하였을 때 계피, 생강, 곶감, 꿀, 설탕, 후추 등이 재료로 사용되는 것을 확인하였다.
 - 본 연구에서는 1) 계피와 생강의 열수 추출물 3.2 L에 곶감, 꿀 300 g을 사용하여 전통수정과 레시피(S-PH, 15.5 brix)를 재현하였고, 2) 계피와 생강 열수 추출물에 설탕만을 첨가하여 일반 수정과 레시피(S-sugar, 11 brix)를 개발하였고, 3) 일반 수정과 레시피 설탕의 19%를 stevia 2.7 g과 scFOS 45.07 g으로 대체한 S-scFOS 수정과, 4) 일반 수정과 레시피의 설탕 31.8%를 stevia 10.8 g으로 대체한 S-stevia 수정과 레시피를 개발하였다. 5) 탄산 수정과는 S-sugar 수정과에 탄산가스를 주입하였고 6) 수정과 티백을 개발하였다.
 - 티백형 수정과차는 계피가루 0.5 g과 동결건조 생강 0.75 g에 당의 종류를 달리하여 개발 하였다. ST_Sugar_H는 설탕 12 g(흑설탕:백설탕=1:2), ST_Sugar_L는 설탕 8 g(흑설탕:백설탕=1:2), ST_Stevia 는 설탕 4 g(흑설탕:백설탕=1:2)과 stevia 0.16 g을 첨가하였고, ST_scFOS 는 설탕 6 g(흑설탕:백설탕=1:2)과 scFOS 8 g을 첨가하였다. 차는 120 mL의 뜨거운 물에 우려내도록 재료를 조절하였다.
 - ② 수정과의 중요한 관능적 특성 용어 및 표준 척도 개발
 - 수정과의 lexicon으로 향미특성용어 10 가지(단맛, 신맛, 쓴맛, 짠맛, 인공감미료, 생강향, 계피향, 매운맛, 곶감향, 대추향)와 Trigeminal 특성 2가지(떫은맛, 탄산), 농도 및 시각 특성 2가지(색깔과 탁한 정도)의 총 15가지 용어를 개발하였다.
 - 수정과의 향미특성 묘사분석 결과 수정과의 단맛은 8-10점으로 강하였고, 신맛, 쓴맛 및 짠맛은 모두 2점 이하로 약하였다. 수정과의 주요 특성인 계피향은 2.6-5.6점 사이였으며, 생강향은 1-4점 사이, 그리고 (계피와 생강의) 매운맛은 1.2-4.8점 사이로 나타났다. 본연구에서 개발한 수정과 음료는(S-PH, S-sugar, S-scFOS, S-stevia) 시판 수정과보다 계피향 및 생강향, 매운맛이 유의적으로 강하였다(p<0.05). 곶감향의 강도는 S-PH에서 3.1점, 탄산 강도는 S-cbn에서 3.8점이었다.
 - 티백형 수정과차 Lexicon은 향미특성용어 9 가지(단맛, 신맛, 쓴맛, 짠맛, 인공감미료, 생 강향, 계피향, (계피와 생강의) 매운맛, 대추향)와 Trigeminal 특성 1가지(떫은맛), 및 시각 특성 2가지(색깔과 탁한정도) 총 12 가지의 용어를 개발하였다. Cinnamon Tea와 Ginger Tea 및 본 연구에서 개발한 4 종의 시료에서 짠맛과 대추향은 나타나지 않았다. 단맛의 강도는 Ginger tea=ST_sugar_H > ST-scFOS=ST_sugar_L = ST_stevia > Cinnamon Tea의 순이었고, 시료 간 유의적인 차이가 있었다(p<0.05). 시료의 단맛 강도는 0.3-4점으로 낮

은 편이었다.

- ③ 내국, 외국인을 대상으로 수정과의 cross-culture 소비자 조사
- 미국 동부의 미국인 소비자 93명, 한국 소비자 100명, 국내 거주 동양인(중국인) 소비자 51명을 대상으로 시판 수정과, 신개념 수정과 음료 5종(S-PH, S-sugar, S-scFOS, S-stevia, S-cbn)에 대해 기호도 조사를 실시하였을 때 모든 문화권에서 S-scFOS와 S-sugar의 기호도가 높은 편으로 나타났다.
- 수정과의 종합평가 점수에 의하면 한국 소비자는 S-scFOS와 S-sugar 수정과를 선호하였으며(6.4점) 미국 소비자는 시판 캔 수정과 (6.3점), S-scFOS (6.1점) 및 S-sugar (6점)를 선호하였다. 동양계 소비자는 캔 수정과 (5.7점) 과 S-sugar (5.5점)를 선호하였으나 전반적으로 종합적인 평가 점수 낮았다(4.18-5.68점).
- 소비자들이 선호하는 3종의 제품을 살펴보면 한국 소비자는 *S*-scFOS, *S*-sugar > *S*-stevia 를, 미국 소비자는 Positive Control, *S*-scFOS, *S*-sugar, 중국 소비자는 Positive control, *S*-sugar > *S*-scFOS 순으로 선호하였다.
- 소비자가 가장 싫어하는 제품은 한국인의 경우 시판 캔 수정과 이었고, 외국인의 경우 전통수정과로 조사되었다. 전통수정과는 곶감의 향미에 거부감을 나타낸 것으로 조사되 었다.
- 수정과 단맛에 대한 평가가 종합적인 기호도 평가에 미치는 영향을 살펴보았을 때 한국 소비자는 수정과의 단맛이 수정과의 기호에 크게 영향을 미치지 않는다고 분석된 반면 미국 소비자는 제품의 단맛이 큰 영향을 미친다고 분석되었다. 미국 소비자의 경우 단맛 이 부족하다고 느낀 경우 종합적인 평가 점수가 더욱 낮아진 것으로 조사되었다. 중국 소비자는 (계피와 생강의) 매운 맛 때문에 단맛에 대한 선호도가 높게 나타나 한국인과 반대되는 성향을 보였다. 문화권에 따라 수정과의 단맛이 기호도에 미치는 영향은 다른 것으로 조사되었다.
- ④ 신개념 수정과 음료의 표준 레시피 개발을 통한 세계화
- 본 연구에서 재현한 전통수정과 S-PH의 경우 cross-culture 기호도 평가에서 가장 낮게 평가되었는데, 이는 곶감 첨가에 의한 생소한 향미(곶감향), 색의 차이(밝아짐) 및 다른 수정과에 비해 높은 당도 때문인 것으로 조사되었다.
- 한국 소비자는 S-sugar, sc-FOS 및 S-scFOS 수정과를 선호하였는데 종합평가 점수가 시 판 캔수정과 보다 2점 높았다.
- 미국 소비자는 시판 캔수정과, S-sugar, S-scFOS 수정과를 선호하였는데 이는 미국인이 설탕의 단맛을 좋아하기 때문으로 생각되었다. 본 연구 결과 얻어진 S-scFOS의 건강 증진 기능성을 홍보할 때 세계화 가능성이 높을 것으로 생각된다.
- 탄산수정과는 다른 수정과 제품에 비해 기호도가 약 5점으로 다소 낮았는데 이는 탄산음

료가 높은 당 함량 때문에 건강에 나쁘다는 부정적인 인식을 가지고 있기 때문으로 생각된다. 그러나 탄산수정과 구매의향에 대한 조사에서 한국 소비자 42%, 미국 소비자 67%, 동양계 소비자 64%가 구매의사를 나타내어 탄산수정과를 적극적으로 홍보할 필요성이 있었다.

• 간편성을 강조한 티백 수정과를 한국 소비자 61명을 대상으로 기호도 조사를 하였을 때, 종합적인 기호도가 ST-Sugar-H 시료에서 6.7점으로 가장 높았고, ST-scFOS, ST-stevia, ST-Sugar-L 시료가 5.6점이었다. 개발된 4종류 제품의 종합평가가 한국에서 시판되고 있 는 생강차(4.4점)와 미국에서 시판되고 있는 계피차(3.7점)보다 유의적으로 높았다(P<0.05). 수정과 티백 제품의 세계화 가능성이 높은 것으로 생각된다.

⑤ 상관관계 분석

- 1세부의 휘발성 물질의 농도, 항산화 활성과 2세부의 향미특성 강도 사이의 상관관계 분석 결과, cinnamene은 단맛과 양의 상관관계(r=0.70)가 있었고, 2-cinnamic acid는 곶감향과 양의 상관관계(r=0.90)가 있었다. 생강향, 계피향, (계피와 생강의) 매운맛, 곶감향, 탁한 정도가 DPPH 라디칼 소거능(%)활성과 유의성 있는 양의 상관관계를 나타내었다.
- External Preference Mapping 통계분석법을 이용하여 소비자의 기호도에 영향을 미치는 향미 특성을 알아보았을 때, 한국 소비자는 대체적으로 수정과의 특징인 계피향, 생강향, (계피와 생강의) 매운맛, 단맛이 있는 수정과를 좋아하였다. 미국 소비자는 S-PH의 곶감향을 싫어하고 나머지 수정과 시료는 좋아한 그룹과, 수정과의 색에 영향을 받아 Positive control을 선호한 소그룹으로 나뉘었다.

⑥ 수정과 레시피의 개선

- 한국 소비자는 대체적으로 수정과의 특징인 계피향, 생강향, (계피와 생강의) 매운맛, 단 맛이 있는 수정과를 좋아하였기 때문에 본 연구에서 개발한 레시피를 사용하면 좋을 것 으로 생각된다.
- 미국 소비자중 일부는 수정과의 색에 영향을 받아 Positive control을 선호한 소그룹이 있었으므로 수정과 레시피의 설탕 사용량 중 흑설탕 사용량을 증가시켜 수정과 색을 개선하면 좋을 것으로 생각된다.
- 중국 소비자의 경우 계피향과 생강향에 대한 거부감이 높았으므로 이들 재료의 함량을 낮추어 자극적인 매운 맛을 낮추고 수정과의 단맛을 높임으로써 수정과의 향미 성분을 개선하는 것이 필요하다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

● 논문 : 2편

국내 논문(비 SCI) : 2편 논문 게재 확정

• 학술대회 발표 : 7편

국제학술대회 구두발표 : 1건 국제학술대회 포스터발표 : 3건 국내학술대회 포스터발표 : 3건

● 특허 출원 : 1건, '고콜레스테롤혈증 개선 효과가 있는 기능성 수정과 개발', 출원번호 10-2014-0088870

SUMMARY

- Main results obtained from this study are as follows:
 - In vitro antioxidant properties of Sujeonggwa were determined through DPPH, ABTS, FRAP, TPC, and TFC assays and its antioxidant activity were confirmed.
 - Non-volatile phenolics including 6-gingerol from ginger and cinnamic acid, cinnamaldehyde from cinnamon were analyzed from *Sujeonggwa*.
 - The greatest amount of phytochemical present in Sujeonggwa was cinnamaldehyde.
 - Volatile compounds including cinnamaldehyde, cinnamene, cinnamic alcohol, benzenaldehyde, and cinnamic acid were determined in *Sujeonggwa*.
 - Among volatile compounds, cinnamaldehyde was found to be the most important compound to determine the flavor of *Sujeonggwa*.
 - Plasma TG, TC, and LDL-C concentrations of *S*-stevia group were the lowest among all groups tested in this study. In particular, plasma TC, LDL-C concentrations of *S*-stevia decreased significantly by 20.8% and 22.3%, respectively, than those of the experimental control.
 - Plasma TBARS concentrations of *S*-sugar, *S*-stevia, and *S*-scFOS groups were lowered by 27%, 35.7%, and 34.1%, respectively, than those of the experimental control. Plasma TBARS concentrations of *S*-stevia and *S*-scFOS groups were comparavely similar to that of the normal control.
 - Hepatic TG, TC concentrations of S-sugar group were reduced by 17.9% and 12.6%, respectively, compared with those of the experimental control. Inhibitory effects of hepatic lipid accumulation might be increased by replacing sugar with functional sugar, such as stevia or scFOS.
 - In accordance with plasma and hepatic TG concentrations, cerebral TG concentrations of S-stevia and S-scFOS groups were significantly decreased by 18.4%, 30.3% than those of the experimental control.
 - Hepatic ROS concentrations of *Sujeonggwa* fed groups (*S*-sugar, *S*-stevia, and *S*-scFOS group) were significantly lowered by 17.9%, 33.8%, and 24.9%, respectively. Hepatic ROS concentration of *S*-stevia was significantly decreased by 19.4%, compared with that of *S*-sugar group.

- In accordance with hepatic ROS level, hepatic TBARS concentrations of *S*-sugar, *S*-stevia, and *S*-scFOS groups were significantly decreased by 28.4%, 33.9%, and 31.7%, respectively, compared with those of the experimental control group.
- Compared with the experimental control, protein expression of FAS and its transcription factor, SREBP-1 responsible for TG synthesis decreased significantly in all *Sujeonggwa* fed groups.
- Compared with the experimental control, protein expression of HMGCR, responsible for TC synthesis was significantly lowered by 17.9%, 33.8%, and 24.9% in S-sugar, S-stevia, and S-scFOS group, respectively. Protein expression of SREBP-2 was significantly decreased by 21.5%, 30.5%, and 24.3% in S-sugar, S-stevia, and S-scFOS group, respectively.
- Plasma IL-6 and TNF- α concentrations of the experimental control were the highest among groups. Plasma IL-6 and TNF- α concentrations of the mice fed S-sugar which contains the same amount of sugar with sugar solution were decreased by 16%, 13.9% than those of the experimental control group. Compared with the experimental control, pro-inflammatory cytokines concentrations of S-stevia and S-scFOS were significantly decreased.
- COX-2, iNOS, and NF- κ B expressions at aorta of the experimental control group were the greatest among animal groups. COX-2 expressions of *S*-sugar, *S*-stevia, and *S*-scFOS were significantly reduced by 19.7%, 31.8%, and 27% than those of the experimental control, respectively.
- Compared with the experimental control group, iNOS expressions in the aorta were significantly decreased in all *Sujeonggwa* fed groups.
- Compared with the experimental control group, protein expression of NF- κ B in the aorta of S-stevia and S-scFOS groups were significantly decreased by 14% and 10.7%, respectivley. The protein expression of these samples were similar to that of the normal group.
- The lesion size of fatty streak in the aortic sinus of the experimental control was highest among animal groups. And the fatty streak lesion size observed from all groups fed *Sujeonggwa* were significantly lowered compared to the experimental control demonstrating that *Sujeonggwa* has anti-atherogenic effects.
- DNA damages of hepatocytes of the experimental control was significantly elevated compared with that of S-stevia and positive control groups. Under the condition of oxidative stress induced by H_2O_2 , DNA damage in S-stevia significantly decreased when it is compared with the experimental control.

- Consumption of *S*-stevia seems to have protective effect on splenocyte in terms of DNA damage compared with sugar solution.
- *Sujeonggwa* recipes were re-created based on traditional recipes. Ingredients may include cinnamon, ginger, dried persimmon, honey, sugar, black pepper, etc.
- S-PH, S-sugar, S-scFOS, S-stevia, and S-cbn were developed in this study using various sweeteners. Traditional recipe (S-PH) was sweetened with dried persimmon and 300 g of honey to 3.2 L of cinnamon and ginger water extract and it was 15.5 brix. S-sugar was sweetened with sugar to be 11 brix, S-scFOS was made by substituting 19% of sugar with stevia (2.7 g) and short-chain fructooligosaccharide (45.07 g). S-stevia was made by substituting 31.8% sugar with 10.8 g of a natural intensive sweetener, stevia. S-cbn was made by injecting carbonation to S-sugar.
- Sujeonggwa teas were developed and formula included cinnamon powder (0.5 g) and freeze-dried ginger (0.75 g) and was sweetened with various sweeteners. ST_Sugar_H had 12g of sugar (white sugar:brown sugar = 1:2); ST_Sugar_L had 8 g of sugar (white sugar:brown sugar = 1:2), ST_Stevia had 4 g of sugar (white sugar:brown sugar = 1:2) and 0.16 g of stevia; and ST_scFOS was sweetened with 6 g of sugar (white sugar:brown sugar = 1:2) and 8 g of scFOS. Ratio of these ingredients were to be brewed in 120 mL of boiling water.
- Descriptive panel was trained and they developed *Sujeonggwa* lexicon. It included 10 flavor terms (sweet, sour, bitter, salty, artificial sweetener, ginger aromatics, cinnamon aromatics, spicy (coming from cinnamon and ginger), dried persimmon aromatics, dried jujube aromatics), trigeminal terms (astringency and carbonation), concentration, and 2 appearance terms (color and turbidity). Attributes were defined and referenced to help understand characteristics. The lexicon was used to evaluate characteristics of *Sujeonggwa* samples.
- In evaluating characteristics of *Sujeonggwa* Tea, 12 terms were used from *Sujeonggwa* lexicon. It included 9 flavor terms (sweet, sour, bitter, salty, artificial sweetener, ginger aromatics, cinnamon aromatics, spicy (coming from cinnamon and ginger), dried jujube aromatics), a trigeminal term (astringency), and 2 appearance terms (color and turbidity). However, when evaluating 2 commercial samples (Cinnamon Tea and Ginger Tea) and 4 *Sujeonggwa* tea samples, salty and dried jujube were not detected.
- A total of 93 US consumers from Philadelphia, the United States, 100 Korean consumers from Busan, Korea, and 51 Asian consumers reside in Busan, Korea participated in the cross-culture consumers' acceptability evaluation of 6 Sujeonggwa samples. In general, acceptability for S-scFOS and S-sugar were higher than other samples evaluated. There were differences in acceptability of samples and its sweetness. Korean consumers liked

S-scFOS (6.4) and S-sugar (6.4). Contrarily, US consumers liked Positive control (6.3), S-scFOS (6.1) and S-sugar (6). Similarly to US consumers, Asian consumers liked Positive control (5.7) and S-sugar (5.5) but their overall liking score tended to be lower (4.18-5.68).

- Top three samples liked by consumers varied cross-culturally. Korean consumers liked S-scFOS, S-sugar > S-stevia; US consumers liked Positive Control, S-scFOS, S-sugar; and Asian consumers liked Positive control, S-sugar > S-scFOS.
- The least liked sample also differed cross-culturally. Korean consumers disliked Positive control the most, Both US and Asian consumers disliked S-PH the most because of dried persimmon aromatics.
- S-cbn received about 5 in overall liking evaluation, which corresponds to neither like nor dislike. However, about 42% of Korean consumers, 67% US consumers, and 64% Asian consumers indicated that they might purchase carbonated Sujeonggwa, if available. This indicates that there is a small group of consumers who liked carbonated Sujeonggwa sample. Some consumers indicated that it was hard to accept 'functional beverage' being carbonated. This might be explain why S-cbn received lower liking score.
- Sujeonggwa tea samples were developed and compared against similar commercial products available in Korea (Ginger Tea) and the United States (Cinnamon Tea). All four samples developed in this study (ST-Sugar-H, ST-scFOS, ST-stevia, and ST-Sugar-L) were liked more than the commercial products by Korean consumers.
- Correlation analysis was conducted among volatile compounds, antioxidant capacities, and flavor characteristics and cinnamene was positively correlated with sweetness (r=0.70) and 2-cinnamic acid was correlated with dried persimmon (r=0.90). Ginger aromatics, cinnamon aromatics, spicy, dried persimmon, and turbidity were positively correlated with DPPH radical scavenging activity(%).
- External preference mapping was conducted to determine how flavor characteristics influence consumers' acceptability. Korean consumers generally liked cinnamon aromatics, ginger aromatics, spicy, and sweet characteristics of *Sujeonggwa*. A group of US consumers generally disliked dried persimmon characteristic of *S*-PH but accepted the rest of Sujeonggwa samples and others were influenced color and preferred Positive control.
- Modification of Sujeonggwa recipe is unnecessary for Korean consumers because they
 liked characteristics of Sujeonggwa which are cinnamon aroma, ginger aroma, spicy, and
 sweetness. A small group of US consumers were influenced by color of Sujeonggwa, so
 it might be beneficial to match color of Positive control by adjusting brown sugar

content. Changing recipe to have less cinnamon and ginger aroma might increase liking of *Sujeonggwa* for Chinese consumers because they disliked that characteristics.

CONTENTS

Chapter 1.	Introduction (Objectives and Scope of the Study)	20
Chapter 2.	Experimentals (Methods and Results)	25
Chapter 3.	Degree of Goal Achievement and Contribution to the Related Areas	112
Chapter 4.	Outcomes and Future Plans for Application of the Results	115
Chapter 5.	Information and Technology Obtained from Abroad during Performance of the Study	119
Chapter 6.	References	121

목 차

제	1 장 연	구 개발 과제의 개요	20
	제 1 절	연구 개발의 목적 및 필요성	20
	제 2 절	연구의 범위	24
제	2 장 연	구 개발 수행 내용 및 결과	25
	제 1 절	in vitro 및 in vivo에서 수정과 소재 및 수정과의 건강기능성 연구 (제 1 세부과제)	25
	제 2 절	Cross-culture 소비자 조사를 통한 신개념 수정과 음료 레시피 개발(제 2 세부과제)	61
제	3 장 목	표 달성도 및 관련 분야에의 기여도	112
	제 1 절	목표 달성도	112
	제 2 절	관련 분야 발전에의 기여도	114
제	4 장 연	구 개발 성과 및 성과 활용 계획	115
	제 1 절	연구 개발 성과	115
	제 2 절	연구 성과 활용 및 계획	117
제	5 장 연	구 개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보	119
제	6 장 참	고문헌	121

연구개발보고서 초록

			(국문) 수정과의 기능성 효과 규명 및 세계화방안 연구								
과	제	명	(영문) Deter	(영문) Determination of functional properties of <i>Sujeonggwa</i> and suggestions for							
	globalization										
연	구 기	관	부산1	부산대학교 연 구 (소속) 부산대학교							
참	여 기	관				책		임		자	(성명) 송 영 옥
연	구	비	계	120,000	천원	총	연	구	기	간	2013.7.30. ~ 2014.7.29. (1년)
참	참 여 연 구 원										

○ 연구개발 목표 및 내용

한국 전통 음료인 수정과의 전통 레시피를 발굴하고 이를 바탕으로 cross-culture 소비자 조사를 통해 건강기능성을 지닌 계피와 생강을 활용하여 동, 서양인의 기호를 고려한 수정과 음료의 표준 레시피를 개발하며, 수정과 및 재료의 식품기능성과 건강기능성을 과학적으로 규명하여 건강지향성 음료로써 수정과의 우수성에 대한 이론적, 실증적 자료를 제공하고, 기능성 개선 및 음료 섭취의 접근성을 높인 다양한 형태의 수정과 음료 제품 개발에 대한 전략 수립으로 주식 위주의 한식세계화에서 기호성 식품의 세계화에 이바지 하고자 하였음.

○ 연구결과

- 수정과의 항산화능 분석 결과, DPPH 라디칼 소거능, FRAP 철이온 환원력, 총 페놀함량에서는 S-PH, ABTS 라디칼 소거능에서는 S-organic, 총 플라보노이드 함량에서는 S-han 샘플이 높은 항산화능을 보였다. 수정과의 비휘발성분인 파이토케미칼은 모든 수정과 샘플에서 cinnamaldehyde의 함량이 가장 높았다. 그리고 휘발성 성분 역시 모든 수정과 샘플에서 cinnamaldehyde이 가장 많이 검출되었으며, 총 휘발성분은 S-organic 샘플에서 가장 많이 검출되어 수정과 재료에 따른 차이가 있는 것으로 확인되었다.
- Short-chain fructooligosaccharide 및 stevia를 대체 당으로 첨가하여 개발한 기능성 수정과의 섭취는 동물의 지질 생합성 전사인자 및 효소의 발현을 낮춤으로써 혈중 및 간 지질 농도를 낮추고 이에 동맥 내 염증인자 발현을 억제함으로써 항동맥경화 기능성을 나타냈으며, 이런 효과는 동맥궁지질침착 정도가 억제되는 효과로 확인되었다.
- 기능성 수정과는 간 및 비장의 DNA 유전독성을 방지하는 효과가 있어 항노화 기능성이 있을 것으로 확인되었다.
- 계피와 생강 열수추출물을 기본 베이스로 하고 설탕, stevia, short-chain fructooligosaccharide (scFOS)을 사용한 단맛이 유지된 저칼로리 기능성 수정과 레시피 2종을 개발하였다. 곶감과 꿀을 첨가한 전통수정과에 대한 국내외 소비자 기호도 조사 결과는 '약간 싫어한다'로 나타났다.
- Cross-culture 기호도 조사 결과, 설탕의 일부를 scFOS와 stevia로 대체한 기능성 수정과와 일반수 정과를 선호하는 경향을 보여 수정과의 단맛이 제품 선택에 중요한 요인으로 확인되었다. 단맛을 지닌 저칼로리 기능성 수정과는 국내외에서 제품화에 성공할 것이다.

○ 연구성과 및 성과활용 계획

- 논문 2편 : 비 SCI 2편(게재 확정)
- 학술대회 발표 7편
 - ✓ 국제학술대회 구두발표 1
 - ✓ 국제학술대회 포스터발표 3
 - ✓ 국내학술대회 포스터발표 3
- 특허 출원: 1건 (고콜레스테롤혈증 개선 효과가 있는 기능성 수정과 개발, 10-2014-0088870)

제 1 장 연구 개발 과제의 개요

제 1 절 연구 개발의 목적 및 필요성

1. 연구의 필요성

가. 연구과제 수행 동기

- 기호 증진 목적으로 섭취하는 청량음료는 함유되어 있는 당의 함량 때문에 비만의 제 1 원인으로 지목받고 있으며 이에 세계 음료시장은 건강기능성을 중요시 하는 기능성 음료시장으로 바뀌어 가고 있으며 이러한 음료를 상시로 섭취할 수 있는 제품에 대한 요구가 증대되고 있음.
- 미국, 프랑스, 일본, 중국 등 현지 외국인을 대상으로 수행한 '한식에 대한 관능적 기호도' 조사 결과(농촌진흥청), 미국 소비자의 경우 전통 음료 중 수정과에 대한 기호도가 가장 높았음. 그리고 한국 전통음료를 후식으로 개발하면 외국인으로부터 반응을 얻을 것이라는 보고가 있음(Lee, 2007).
- 수정과 재료인 생강은 위를 보호하는 기능성이 있어 다량 섭취하여도 녹차, 커피 등이 지니고 있는 위장장애의 문제가 없으며, 에너지 소모 효율이 높아 체중감량 효과가 보고되고 있어 비만이 문제인 서양인의 기호성 음료로서의 성공 가능성이 매우 높음.
- 수정과 재료인 계피와 생강은 외국인들도 자주 접하는 음식 소재로 이에 대한 친숙함이 있어 음료 개발 시 선호도가 높을 것으로 예상함. 뿐만 아니라 수정과는 카페인이 없고 향미가 높은 기능성 음료로 단맛을 유지하면서 칼로리를 낮추는 제조방법을 사용하면 기존의 청량음료에 비해 경쟁력이 높을 것 임.
- 음료는 전 연령층이 즐겨 마시는 소비층이 넓은 기호성 식품으로, 수정과와 같은 음료는 후 식으로도 손상이 없어 후식을 중요시 하는 서양인의 식생활에 접근하기가 용이함. 한국 전통음료를 후식으로 적극 수용한다면 좋은 반응을 얻을 것이라는 연구 보고가 있음(Lee, Lee).
- 수정과는 carbonated drink type, tea bag 등 다양한 형태로의 제품 개발이 가능하여 소비자의 선택의 폭을 넓힐 수 있는 장점이 있는 음료로, 전통수정과의 기능성을 바탕으로 개발한 제품의 소비자층 선호도는 매우 높을 것으로 예상함.
- 주식 위주의 한식세계화에서 탈피하여 다양한 범주의 우리 전통 식품에 대한 연구를 수행 함으로써 외국인의 식생활의 일환이 될 수 있는 접근성 높은 연구가 요구되고 그 일환으로 한국 전통 음료와 같은 기호성 식품에 대한 세계화 연구가 필요함.
- 한식의 세계화 성공은 외국의 식문화 이해를 바탕으로 이루어질 수 있고 이에 한식에서 후 식의 위치를 밝히고 그 중요성을 인식하는 것이 필요함. 한국 음식점 메뉴에 후식이 없거나 종류가 제한적이어서 외국인은 마치 식사를 마치지 못한 느낌을 받는다는 점이 지적되고

있음.

나. 연구의 필요성

- 세계 음료시장 규모는 2015년 까지 약 2,000조원(\$1,900 billion by MarketLine)이 될 것으로 예측되고 있고, 탄산음료 보다 건강기능성 음료 시장 위주로 변화해 갈 것으로 보고하고 있음.
- 국내 음료시장 규모는 3조 5천억 원(한국식품정보원, 2011) 규모이며 이중 커피 음료 약 5천 371억 원, 차 음료 2천 50억 원, 그리고 기능성 음료가 1조 8000억 원 규모로 이미 한국은 일본에 이어 기능성 음료가 주류를 이루고 있고, 중국 역시 탄산음료 시장이 급격히 감소하고 있어 기능성 음료에 대한 요구는 세계적으로 확대되고 있음.
- 세계적으로 음료 시장은 계속 확대되고 있고, 기능성음료 시장은 더 빠른 속도로 성장하고 있음. 미국 시장의 경우 기능성음료인 녹차가 소개된 이후, 잎녹차, 녹차 티백, 액상 녹차 등 10종 이상의 다양한 녹차 제품이 출시되었고, 녹차 음료 시장은 지속적으로 성장하고 있음.
- 기능성음료(functional drink)는 소재에 함유되어 있는 생리활성물질의 생체조절기능을 강조한 음료로 건강보조 식품의 형태로 이용되고 있으나 최근에는 기호성을 고려한 음료의 형태로 바뀌어 가고 있음.
- 서양 식문화에서 후식은 매우 중요하나 한식세계화 연구에서 후식 분야에 대한 관심이 상 대적으로 관과 되고 있음. 이에 우리나라 전통 음료인 수정과의 기능성 효과를 규명하고 세 계인의 기호를 바탕으로 다양한 형태의 제품을 개발하였을 때 수정과는 건강기능성 음료로 서 뿐만 아니라 후식으로도 적합한 음료가 되어 한식 세계화의 기반 확충에 기여할 것 임.
- 한국 전통 음료는 서양의 대용차보다 건강기능성이 우수함에도 불구하고 소비층이 좁고 제 조과정의 불편함, 전통 음료에 대한 인식 부족, 간편한 음료의 선호 등의 제약에 부딪혀 국 내에서 조차 대중화 되지 못하고 있음.
- 수정과는 독특한 맛과 방향을 지니고 있어 기호성 음료로 뿐만 아니라 방향, 건위, 혈액순 환 촉진, 식욕 증진, 소화 촉진 등 다양한 약리효과를 지니고 있어 옛날부터 건강증진 목적으로 널리 음용되어 왔음.
- 수정과는 계피와 생강을 주재료로 만든 음료로 이들 재료가 지니고 있는 항산화, 항균, 항 염증 작용 및 혈행 개선 효과 등의 다양한 약리작용 및 의약 작용으로 퇴행성 질환을 예방 하는 효과가 있어 노화를 예방하는 효과가 있을 것으로 예상함.
- 계피의 약리작용으로는 혈압강화, 말초혈관 확장, 혈액순환이 알려져 있고, 한방에서는 감기 또는 진통 목적으로 사용하여 왔으며, 약리 성분으로는 cinnamonaldehyde (50%), cinnamic acid, benaenpropranal, benaenpropranal, borneol, benzaldehyde, camphene, coumarin, β -sitosterol, choline, vanillic acid, protocatechuic acid 등이 알려져 있음.
- 계피는 기존의 약리작용 외 항균, 항진균, 항산화, 항알레르기, 진경작용, 면역 증진 작용 등이 보고되고 있고, 골다공 및 궤양에 치료 효과가 있는 것으로 동물 및 임상실험을 통해

알려지고 있음.

- 생강(Zingiber officinale Rosc.)은 열매, 잎, 가지, 뿌리 모두를 한약재, 조미료, 향신료로 사용해왔으며 특히 뿌리는 일반 식재료로도 널리 사용하고 있음.
- 생강의 약리 성분으로는 sitosterol, stigmasterol, campesterol, l-borneol, capric acid, lauric acid, myristic acid, linderic aicd 등이 알려져 있고, 방향성분으로는 monoterpene류, sesquiterpene류가, 그리고 맛 성분으로는 gingerol, shogaol, zingerone 등이 알려져 있음.
- 생강 역시 항균, 항진해작용, 해독작용이 있어 소화불량, 구토, 설사에 효과가 있고 혈액순 한 개선 효과가 알려져 있고, 최근에는 염증억제, 인지기능 개선, 위염 치료, 혈청 콜레스테 롤 저하 효과 등이 밝혀지고 있음.
- 이와 같이 계피와 생강은 한방, 의약품, 향신료 등으로 널리 이용되어 왔으며, 차, 음료, 츄 잉껌, 치약, 화장품의 향성분, 구취제거제 등 다양한 분야에 활용되고 있음.
- 생강과 계피는 진저쿠키, Cinnamon Roll, 계피 껌, 계피 설탕 등 다양한 가공식품으로 판매되고 있어 이미 외국 소비자들에게도 친숙한 식재료임.
- 수정과는 곶감, 계피, 생강을 주재료로 만든 전통 음료이나 지금까지 수정과 레시피 및 제 조법에 대한 정확한 정보가 없음. 통후추는 수정과 제조 시 소량 사용되는 재료로, 이는 계 피의 개운하고 깔끔한 매운 맛을 증진시키는 효과가 있음.
- 전통 수정과의 당도는 15~20%로, 탄산음료의 9~10% 보다도 높은 수준임. 이에 신개념의 기능성 수정과 음료 제조 시 당의 함량을 낮추어 단맛은 유지하면서 칼로리가 낮은 음료의 개발이 필요함.
- 체내 reactive oxygen species의 증가는 산화스트레스를 유발하여 염증반응에 관여하는 NF-kB와 같은 염증관련 전사인자를 활성화시켜 pro-inflammatory cytokine 및 inflammation related molecule의 발현을 촉진하고, 이들은 체내 단백질, RNA 및 DNA 구조를 손상시키고, 혈관세포의 손상을 유발함으로써 암, 당뇨병, 동맥경화, 신장질환 등 다양한 형태의 성인성 질환을 일으켜 노화를 촉진하는 주요한 원인으로 알려져 있음.
- 혈관 내 미세염증은 혈관부착인자의 발현을 촉진함으로써 동맥경화를 유발하는 원인이며 이는 뇌질환, 심혈관계 질환을 일으켜 노화를 촉진하는 대표적인 원인이 되고 있음.
- 산화스트레스 개선을 위한 항산화식이의 섭취 증가는 체내 유리기 생성을 억제하는 방어 영양의 대표적인 방법으로 일상에서 실천할 수 있는 생활 전략임. 과다한 단순당, 지방 섭 취에 비해 야채 및 과일 섭취 기피 등과 같은 건강하지 않은 식습관, 일상생활의 과다한 스 트레스, 과도한 운동, 흡연과 같은 바람직하지 못한 생활습관은 산화스트레스를 증가시키는 주요한 원인임.
- 소비자는 문화적 차이에 따라 기호도가 달라질 수 있으므로, 제품을 판매하고자 하는 소비자를 대상으로 실제 기호도 조사를 실시하는 것이 중요함. 한식세계화 연구를 위해 외국인, 외국인의 식생활 문화에 접목될 수 있게 현지인의 선호도를 기반으로 한 레시피가 개발되어야 함.

- 관능묘사분석을 통해 확립된 Lexicon은 제품의 관능 특성, 강도 등을 정량적으로 표현하는 방법으로 제품 제조공정의 최적화(gold standard) 및 품질관리에 필수 요소임. 관능묘사분석을 소비자 기호도 조사와 연계 분석 시 신제품의 관능 특성을 개선함으로써 소비자 기호도를 향상시킴.
- Preference mapping 분석법은 소비자의 선호를 분석하여 묘사분석과 연계하는 방법으로 선호하는 관능 특성을 파악하여 mapping 함으로써 제품 개발 시 소비자의 기호도를 반영하는 분석법임. 또한 기호도가 다른 소비자 소그룹의 존재 판별에도 이용함.
- Cluster analysis 는 소비자 기호를 바탕으로 유사한 기호도를 가진 소비자를 소그룹으로 나누는 방법으로, 맞춤형 제품 개발 또는 마케팅 전략에 필수적 분석법임. Cluster analysis의 결과는 Principal Component Analysis로 확인함.
- 세계 시장은 새로운 기능성 소재를 찾고 있어 우리의 전통 음료인 수정과의 건강기능성의 우수성을 과학적으로 밝히고 동서양인의 기호에 맞는 다양한 형태의 수정과로 재해석 할 필요가 있음.
- 이에 객관적인 관능묘사분석 및 cross-culture 소비자 조사를 바탕으로 기능성이 확인된 신 개념 수정과 음료 레시피 개발이 필요하며, 이를 바탕으로 한식의 국제 경쟁력 강화 및 세 계화에도 기여할 수 있을 것으로 기대됨.

다. 연구결과의 유용성

- 수정과 재료의 항산화, 항균 기능성 및 수정과의 산화스트레스 개선 효과를 통한 pro-inflammatory cytokine 억제에 의한 면역효과, 그리고 혈관미세염증 억제를 통한 항 노화 기능성 규명으로 한국 전통 수정과의 우수성이 과학적으로 입증될 것임.
- 수정과의 건강기능성 및 외국인의 기호를 과학적으로 파악한 관능평가 연구를 바탕으로 개발한 신개념 수정과 음료는 국내외 기능성 음료 시장에 진출할 것 임.
- 전통 수정과를 변형한 즉, 곶감을 제외한 계피음료의 형태인 *Sujeonggwa* drink 또는 carbonated *Sujeonggwa* drink 그리고 침출차(tea bag)의 형태로 개발한 수정과 음료는 유통 기간의 제약이 적어 한국에서 제조하여 수출하는 데 문제가 없을 것으로 사료됨.
- 수정과의 기호도는 곶감에 의해 영향을 받지 않는 것으로 나타나(서 등, 2002) Sujeonggwa tea type 표준 레시피는 수정과의 산업화에 활용될 것 임.
- 계피와 생강은 이미 서양인에 매우 친숙한 식품이고 항균, 항염증, 항비만 등의 기능성이 알려져 있으므로 기능성 음료로 뿐만 아니라 후식으로 세계화될 수 있는 가능성이 매우 높음. 미국에서 한식 코스요리의 마지막에서 전통 수정과를 제시하고 기호도를 물어보았을 때, 평균 점수가 8점(9점 척도법)으로 높았음.
- 따라서 본 연구에서는 연구팀이 보유하고 있는 식품소재의 항산화, 항균, 휘발성 파이토케미칼 분석기술, 그리고 간, 동맥, 뇌 등의 동물조직을 이용한 immunohistochemisty, 효소발현 정도 및 이를 조절하는 전자인자의 발현을 확인하는 기술력과, 다년간 외국에서 관능평

가를 수행하면서 축적된 know-how을 이용하여 *Sujeonggwa* drink, tea bag type 수정과의 개발을 성공적으로 수행함으로써 우리의 전통 수정과의 식품 및 건강기능성 우수성에 대한 과학적 자료를 확보, 제시, 홍보하며, 기능성 개선 및 다양한 적용을 위한 전략을 제시함으로써 국내 및 세계 시장에서의 우리 수정과의 소비를 확대하고 한식세계화의 다양화에 이바지 하고자 하였음.

2. 연구 목적

- 전통수정과 및 수정과음료의 기능성을 *in vitro*에서 항산화, 항균 활성, phytochemical을 분석하여 신 개념 수정과 음료 개발을 위한 식품기능성을 확인하고, 전통 수정과 및 개발된수정과 음료의 체내 염증 억제를 통한 항노화 기능성에 관한 연구를 동물실험으로 수행하여 관련인자의 분석 및 조직병리학적 관점에서 확인하고자 하였음.
- 전통 레시피 및 개발 수정과의 중요 관능 특성 표준 용어 및 척도를 개발하며, 국내인, 동양인, 미국인을 대상으로 수정과의 cross-culture 소비자 조사를 통해 신개념 수정과 음료의 표준 레시피를 확립하고자 하였음.

제 2 절 연구의 범위

1. in vitro 및 in vivo에서 수정과 재료 및 수정과의 건강기능성 연구

- 1-1. in vitro에서 수정과 소재 및 수정과의 식품 기능성 연구
- 가. 수정과 및 소재의 항산화, 항균성 분석을 통한 건강기능성 평가
- 나. 수정과 및 소재의 파이토케미칼의 정량분석을 통한 건강기능성 개선 방법 모색
- 다. 신 개념의 수정과 음료 제품 개발을 위한 글로벌화 전략으로서 휘발성 성분 평가

1-2. in vivo에서 수정과의 혈관 염증 억제를 통한 항 노화 기능성 연구

- 가. 전통수정과 및 수정과 음료의 혈장에서 pro-inflammatory cytokine 발현 억제효과
- 나. 전통수정과 및 수정과 음료의 혈장 및 뇌에서 oxidative stress 개선 효과
- 다. 동맥의 미세염증 개선 통한 항노화 효과

2. Cross-culture 소비자 조사를 통한 신개념 수정과 음료 레시피 개발

- 가. 수정과의 전통 레시피 수집 분석, 재현 및 신개념의 수정과 음료 제품 개발
- 나. 수정과의 중요한 관능적 특성 용어 및 표준 척도 개발
- 다. 내국, 외국인을 대상으로 수정과의 cross-culture 소비자 조사
- 라. 신개념 수정과 음료의 표준 레시피 개발을 통한 세계화

제 2 장 연구 개발 수행 내용 및 결과

제 1절 *in vitro* 및 *in vivo*에서 수정과 소재 및 수정과의 건강기능성 연구 (제 1 세부과제)

1-1 (세부연구 1) 수정과 소재 및 수정과의 식품 기능성 연구

수정과 시료 제조

본 연구에 사용한 재료 중 생강과 계피는 모든 시료에 동일한 제품으로 사용하였으며, 수정과 제조법도 제 2세부과제에서 개발한 방법을 사용하였다.

가. 수정과 재료

수정과 음료 제조 시 사용된 재료는 다음과 같다. 물(삼다수, 제주특별자치도개발공사, 제주시, 한국)과 계피(이마트 청솔 계피, 베트남), 생강(이마트 황토밭 생강, 국산), 흑설탕(큐원 흑설탕, (주)삼양사, 울산광역시, 한국), 백설탕(큐원 흰색설탕, (주)삼양사, 울산광역시, 한국), 황설탕(큐원 갈색설탕,(주)삼양사, 울산광역시, 한국)은 E-Mart 인터넷 몰에서 구입하였고, 감미 대체재인 stevia는 stevia와 glucose가 1:3으로 혼합되어 판매하고 있는 제품(그린비아스위트, 전원식품, Gyeonggi, Korea)을 그리고 short-chain fructooligosaccharide는 미국에서 건강기능제품으로 판매되고 있는 제품(#71920, Allergy Research Group, Alameda, USA)을 사용하였다.

나. 수정과 제조

(1) 일반 수정과 제조

생강 200g을 깨끗하게 씻어 껍질을 벗긴 후 3 mm 두께로 일정하게 썬 다음 생수 2 L를 넣고 전기레인지(전기레인지, 스위스밀리터리, 중국) 온도세팅 200 (전기레인지 약, 550℃)에서 10분간 끓인 뒤, 160 온도세팅(전기레인지 기준 400℃)에서 50분간 끓였다. 깨끗하게 씻은 계피 120 g 을 생수 2 L에 넣고 온도세팅 200에 10분간 끓인 뒤, 이후 160 온도세팅에서 50분간 끓였다. 끓인 생강물 1600 mL와 계피물 1600 mL을 상온에서 완전히 식힌 다음 혼합하여 이에 설탕(흑설탕 79.2 g, 황설탕 158.4 g, 백설탕 158.4 g)을 넣고 다 녹을 때까지 저어서 수정과를 제조하였다.

(2) scFOS 수정과 제조

위와 동일한 방법으로 제조한 생강물 1600 mL와 계피물 1600 mL을 완전히 식힌 후 혼합하고, stevia 2.7 g과 sc-FOS 45.7 g, 설탕(흑설탕 64.1 g, 황설탕 128.6 g, 백설탕 128.6 g)을 넣고 완전히 녹을 때까지 저어 수정과를 제조하였다.

(3) Stevia 수정과 제조

상기와 동일한 방법으로 제조한 계피와 생강 혼합물에 stevia 10.8 g와 설탕(흑설탕 25.2 g, 황설탕 50.4 g, 백설탕 50.4 g)을 넣고 다 녹을 때까지 저어서 수정과를 제조하였다.

1. in vitro에서 수정과 및 소재의 항산화. 항균성 분석을 통한 건강기능성 평가

가. 수정과의 항산화성 분석

(1) 실험방법

(가) 수정과 시료

본 실험에 사용한 수정과 시료는 곶감과 꿀로 가미하여 전통수정과를 재현한 S-PH, 설탕으로 가미한 S-sugar, 설탕과 sc-FOS로 가미한 S-scFOS, 설탕과 천연 감미료 stevia 로 가미한 S-stevia, 본 연구에서 대조군으로 비교한 시판수정과제품 Positive control (비락 수정과, ㈜ 팔도)과 시판 수정과 S-slow (느린수정과, 서정쿠킹), S-sarang (사랑수정과 농축액, 보우식품), S-masil (마실수정과, 자연명가), S-cheong (하늘청 수정과 농축액, 산노을 태원푸드), S-han (한복선 수정과, 봉평메밀특산지 영농조합), S-organic (유기농 수정과, 해오름 식품)는 농축액 제품을 제외한 제품은 전처리 없이 그대로 사용하였다. S-sarang과 S-cheong은 제품에 표기된 방법으로 희석하여 분석에 사용하였다. 총 11 종류의 수정과를 분석용 시료로 사용하였다.

(나) DPPH 라디칼 소거능 활성

DPPH 라디칼 소거능 활성은 Lee 등(2004)의 방법을 사용하였다. 시료 0.25 mL를 메탄올 용액에 녹인 0.1mM DPPH 0.75 mL에 첨가하여 암실에서 30분간 정치시킨 후, UV/Vis-spectrophotometer (model UV-1240 CE, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 상대적인 소거능 (%)으로 나타내었다.

(다) ABTS 라디칼 소거능

ABTS (2,2'-azinobis-3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) 라디칼 소거능 활성은 Re 등 (1999)의 방법을 일부 변형하여 사용하였다. 7 mM ABTS 수용액과 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 암실에서 16시간 동안 반응시켰다. 이를 UV/Vis- spectrophotometer를 이용하여 734 nm에서 흡광도가 0.70±0.05가 되도록 ethanol로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 1.9 mL과 시료 0.05 mL를 혼합하여 6분간 상온에서 정치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 상대적인 소거능 (%)으로 나타내었다.

(라) FRAP 철이온환원력 분석

철이온환원력 분석은 FRAP (Ferric reducing antioxidant power)법을 사용하였다. pH 3.6이 되도록 acetic acid로 맞춘 300 mM Sodium acetate, 20 mM FeCl₃와 증류수에 40 mM HCl과 10 mM TPTZ을 녹인 용액을 10:1:1(v/v/v) 비율로 혼합한 후 37℃ 수조에 15분 동안 평형시켰다.

혼합된 FRAP reagent 0.9 mL과 시료 0.03 mL을 혼합하여 암실에서 30분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 철이온환원력은 Ascorbic acid equivalent (mM)로 나타내었다.

(마) 총 페놀함량

총 페놀함량은 Folin-Denis' 방법에 따라 측정하였다. 시료 0.25 mL에 증류수 4 mL와 증류수와 Folin- Denis' reagent를 1:1(v/v)로 희석한 용액 0.25 mL를 첨가하여 30초간 혼합 후 5분간 정치하였다. 위 용액에 포화된 sodium carbonate 0.5 mL를 첨가하여 30분간 정치한 뒤, UV/V is spectrophotometer를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 tannic acid equivalent (μ M)로 나타내었다.

(바) 총 플라보노이드 함량분석

총 플라보노이드 함량은 시료 0.5 mL에 ethanol 1.5 mL, 10% aluminum chloride 0.1 mL, 1M potassium acetate 0.1 mL 및 증류수 2.8 mL를 혼합한 뒤 30분간 정치하고 UV/V is spectrophotometer를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin equivalent (μ M)로 나타내었다.

(사) 통계처리

측정된 결과는 평균값±표준편차로 표시하였고 SPSS program (SPSS lnc., Chicago, IL, USA) 을 이용하여 분산분석 후 유의차가 있는 경우에는 다중비교법인 Duncan's multiple range test 를 이용하여 p<0.05 유의수준에서 비교하였다.

(2) 수정과의 항산화 활성

(가) DPPH 라디칼 소거능 활성

DPPH 라디칼 소거능(%) 은 S-PH > S-scFOS = S-han > S-slow > S-stevia > S-sugar > positive control > S-cbn > S-organic = S-sarang > S-cheong > S-masil 순으로 나타났다. S-PH 시료가 82.58%로 가장 높았으며, S-masil 시료가 23.14%로 가장 낮은 DPPH 라디칼 소거능 활성을 보였다.

(나) ABTS 라디칼 소거능 활성

ABTS 라디칼 소거능(%) 은 S-organic > S-cheong > S-masil > S-sarang > S-PH > S-scFOS > S-stevia > S-han = S-sugar > S-slow > S-cbn > positive control 순으로 나타났다. S-organic 시료가 38.76 %로 가장 높았으며, positive control 시료가 9.58 %로 가장 낮은 ABTS 라디칼 소 거능 활성을 보였다.

(다) FRAP 철이온환원력 분석

FRAP 철이온환원력을 Ascorbic acid equivalent (mM)로 나타냈을 때, S-PH > S-scFOS > S-han > S-stevia = S-masil = S-cheong > S-organic > S-slow > S-sarang > S-sugar > S-cbn > positive control 순으로 나타났다. 그 중 S-PH 시료가 0.89 mM로 가장 높았으며, positive control이 0.25 mM로 가장 낮은 철이온 환원력을 보였다.

(라) 총 페놀함량

총 페놀함량을 tannic acid equivalent (μm) 로 나타냈을 때, S-PH > S-scFOS > S-cheong > S-masil > S-organic > S-stevia > S-sarang > S-han > S-slow = S-sugar > S-cbn = positive control 순으로 나타났다. 그 중 S-PH 시료가 90.47 μM로 가장 높았으며, positive control 시료가 8.55 μM로 가장 낮은 페놀 함량을 보였다.

(마) 총 플라보노이드 함량분석

총 플라보노이드 함량을 quercetin equivalent (μ m) 로 나타냈을 때, S-han > S-cheong = S-PH > S-sarang = S-masil = S-cbn > S-sugar $\geq S$ -scFOS $\geq S$ -slow $\geq S$ -organic \geq positive control = S-stevia 순으로 나타났다. 그 중 S-han 시료가 385.24 μ M로 가장 높았으며, S-stevia 시료가 85.71 μ M로 가장 낮은 플라보노이드 함량을 보였다.

일반적으로 총 페놀성 물질 및 플라보노이드 함량이 높은 시료가 상대적으로 높은 라디칼 소거능 및 철이온 환원능을 보유하고 있었다. 예를 들어 TPC, TFC함량이 높은 S-PH는 DPPH 라디칼 소거능 및 철이온 환원능이 높았다. 하지만 ABTS 소거능은 상대적으로 낮은 경향을 보였다.

Table 1-1-1. Antioxidant capacities of *Sujeonggwa* using DPPH, ABTS, FRAP, total phenolic and total flavonoid content.

			FRAP	TPC	TFC
	DPPH(%)	ABTS(%)	Ascorbic acid (mM)	Tannic acid (µM)	Quercetin (µM)
S-PH	82.58 ±0.19a	34.23 ±1.60c	0.89 ±0.04a	90.47 ±4.17a	262.97 ±11.00b
S-sugar	$44.07 \pm 0.28e$	$\begin{array}{c} 16.87 \\ \pm0.19 \mathrm{g} \end{array}$	$0.39 \pm 0.01 f$	$26.39 \pm 1.44g$	$124.03 \pm 2.32 d$
S-scFOS	$68.03 \pm 0.57 b$	$29.69 \pm 1.16 d$	0.74 ± 0.03 b	77.08 ± 3.12 b	$116.66 \pm 13.77 de$
<i>S</i> -stevia	$60.18 \pm 0.24 d$	$26.77 \pm 0.70e$	$0.65 \pm 0.02c$	63.31 ±0.98d	85.71 ±15.45g
S-cbn	$34.89 \pm 0.14g$	$12.24 \pm 0.75 h$	$0.23 \pm 0.02g$	$7.68 \pm 0.57 h$	$187.13 \pm 3.21c$
Positive control	$36.32 \pm 0.57f$	$9.58 \pm 0.41i$	$0.25 \pm 0.02g$	8.55 ±0.59h	$88.93 \pm 2.12g$
S-slow	$63.12 \pm 0.37c$	$15.53 \\ \pm 1.05 g$	0.50 ±0.02e	$23.96 \pm 0.86g$	$108.05 \pm 1.39 \mathrm{ef}$
S-sarang	$25.00 \pm 0.41 h$	36.38 ± 0.41 b	$0.53 \pm 0.00e$	$53.80 \pm 1.48e$	$181.42 \pm 6.54c$
S-masil	$\begin{array}{c} 23.14 \\ \pm 1.08 \mathrm{j} \end{array}$	$\begin{array}{c} 37.34 \\ \pm 1.31 \mathrm{ab} \end{array}$	$0.65 \pm 0.01c$	$69.65 \pm 1.28c$	$181.90 \\ \pm 4.12c$
S-cheong	$24.05 \pm 0.75i$	37.98 ±0.158a	$0.64 \pm 0.00c$	75.77 ± 1.55 b	$268.09 \pm 5.77b$
<i>S</i> -han	67.45 ± 0.07 b	$22.97 \pm 0.27 f$	$\begin{array}{c} 0.74 \\ \pm 0.04 \text{b} \end{array}$	$41.27 \pm 2.05 f$	385.24 ±7.00a
S-organic	25.33 ±0.73h	38.76 ±0.89a	$0.59 \pm 0.01d$	$60.63 \pm 1.02 d$	$96.66 \pm 5.40 fg$

^{*} Different letters are significantly different at 0.05 among the same volatile.

나. 수정과 재료의 항균 활성 측정

(1) 실험방법

항균활성은 paper disk법을 이용하여 측정하였다. 균주 선정 및 균주별로 적합한 배지를 선정하고 petri-dish에 분주하여 굳힌 다음 각 균들을 멸균증류수에 10^{-1} 의 농도로 희석한 후, 희석된 각 균주를 함유한 용액을 $100~\mu$ L씩 배지 위에 도말하였다. 균주를 도말한 배지 위에 멸균된 paper disk (지름 8 mm, Advantec, Japan)를 올린 다음 수정과 시료를 $40~\mu$ L씩 점적하였다. 각 균별로 생장 최적 온도에서 약 24시간 동안 배양하였다. 샘플의 항균활성은 균주의 생육 저해 환 크기를 비교함으로써 확인하였다. 본 실험에 사용되어진 균주의 종류는 Table 1-1-2와 같다.

^{*} Data are Mean ± SD.

Table 1-1-2. Microorganisms for antimicrobial activity and their growth condition.

Bacteria	Strain number	Temp.	Media
Escherichia coli	KCCM 11234	37℃	TSA ¹⁾
Staphylococcus aureus	KCCM 11335	37℃	TSA ¹⁾
Staphylococcus epidermidis	KACC 13234	37℃	TSA ¹⁾
Streptococcus mutans	KCTC 3065	37℃	BHIA ²⁾
Streptococcus pyogenes	KACC 11858	37℃	BHIA ²⁾
Candida albicans	KACC 30004	28℃	$YMA^{3)}$
Bacillus cereus	KACC 10097	28℃	$NA^{4)}$

¹⁾TSA: Tryptic Soy Agar (Difco. co., USA),

(2) 수정과 및 수정과 재료의 항균 활성

(가) 수정과 재료의 항균 활성

수정과 제조 시 사용되는 재료인 계피와 생강의 항균 활성을 총 7가지의 균주를 이용하여 확인하였다. 수정과는 *S. pygenes, C. albicans, B. cereus*의 생육을 500 및 1,000 mg/mL 농도에서 억제하는 효과가 있었으나 *E. coli, S. aureus, S. epidermidis, S. mutans*균에 대해서는 서는 항균 효과가 없었다(Table 1-1-3, Figure 1-1-1).

Table 1-1-3. Anti-microbial activity of cinnamon and ginger.

					(Diameter	of clear z	zone, mm)		
		Cinna	amon			Ginger			
	1,000 500 250 100 mg/mL mg/mL mg/mL mg/mL						250 mg/mL	100 mg/mL	
E. coli	-	-	-	-	-	-	-	-	
S. aureus	-	_	_	_	_	_	_	-	
S. epidermidis	-	-	-	-	-	-	-	-	
S. mutans	-	-	-	-	_	-	-	-	
S. pyogenes	16	14	11	-	14	-	-	-	
C. albicans	14	13	-	-	-	-	-	-	
B. cereus	18	17	12	_	12	11	_	_	

²⁾BHIA: Brain Heart Infusion Agar (Difco. co., USA) ³⁾YMA: Yeast Malt extract Agar (Difco. co., USA)

⁴⁾NA: Nutrient Aagar (Difco. co., USA)

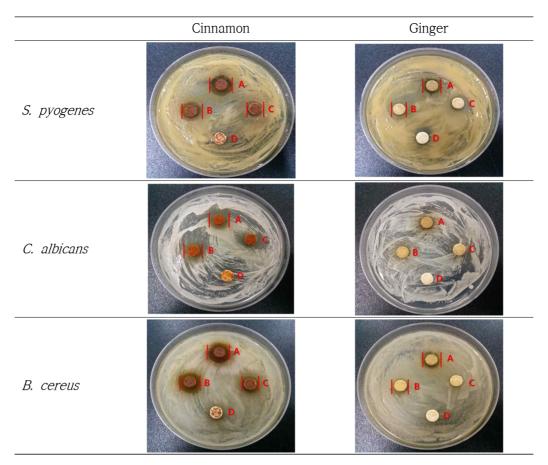


Figure 1-1-1. Anti-microbial activity of cinnamon and ginger.

A: 1,000 mg/mL, B: 500 mg/mL, C: 250 mg/mL, D: 100 mg/mL

(나) 수정과의 항균 활성

수정과를 동결 건조시킨 후 항균 활성을 확인하였으나 1,000 mg/mL의 높은 농도에서도 항균활성이 확인되지 않았다. 이는 수정과 제조 시 사용한 설탕이 균주의 생장을 도와 균의 생장이촉진되어 수정과의 항균활성을 확인하기기 어려웠다.

다. 수정과 소재의 파이토케미칼의 정량분석

(1) 수정과 소재의 파이토케미칼의 정량분석법

생강의 6-gingerol과 계피의 cinnamic acid, cinnamaldehyde 성분은 각각의 표준물질을 기준으로 HPLC 분석조건을 확립한 후 측정하였다. 분석기기는 HPLC-UV 검출기(Model 1430, Hitachi, Tokyo, Japan)와 5 μm Waters Symmetry C18 HPLC column (150 x 3.9 mm)을 사용하였으며, 각 표준물질은 methanol에 녹여 잘 혼합한 후 0.45 μm syringe filter에서 1차 여과한후 vial안에 주입하였다. 이동상으로 A용매는 ammonium acetate (3차 증류수에 0.98 g의 ammonium acetate를 녹인 후 acetic acid를 사용하여 pH 5.0로 조절함), B용매는 100% acetonitrile을 사용하였다. A용매는 0-1분 동안 80%, 1-8분 동안 40%로 감소시킨 후 8-14분 동안 유지하고 14-20분 동안 80%로 증가시켰다. 반대로 B용매는 0-1분 동안 20%, 1-8분 동안 60%로 증가시킨 후 8-14분 동안 유지하고 14-20분 동안 유지하고 14-20분 동안 유지하고 14-20분 동안 유지하고 14-20분 동안 20%로 감소시켰다. B용매는 0-5분 동

안 15%, 5-20분 동안 20%로 증가시켰고 A용매는 0-5분 동안 85%, 5-20분 동안 80%로 감소시켰다. 검출 파장범위는 220-400 nm이었고, 최대 검출 파장은 250 nm이었으며, 유량은 0.35 mL/min, 분석시간은 20분이었다. 시료의 파이토케미칼 함량은 각 표준물질의 equivalent (mM)로 나타내었다.

(2) 수정과 및 수정과 재료의 파이토케미칼 정량 분석

수정과의 주요한 파이토케미칼로서 수정과의 주요 재료인 계피로부터 유래되는 cinnamic acid와 cinnamaldehyde을 선정하였으며, 생강으로부터 유래되는 6-gingerol을 선정하여 이를 정량 분석하였다. Cinnamic acid, cinnamaldehyde와 6-gingerol의 검출시간은 각각 3분, 10분, 11분으로 나타났다.

S-PH의 HPLC 크로마토그램의 결과는 다음과 같다(Figure 1-1-2). 모든 수정과 시료에서 cinnamaldehyde의 함량이 가장 높게 측정되었다. 시료 중에서는 S-organic에서 4.54 mM로 가장 높았고, S-han에서 0.72 mM로 가장 낮았다. S-scFOS, S-sarang, S-masil, S-organic에서는 cinnamic acid보다 6-gingerol의 함량이 더 높아 다른 샘플보다 생강의 함량이 많음을 알 수 있다. 위의 4가지 샘플 중 S-masil의 6-gingerol 농도가 0.314 mM로 가장 많이 함유되어 있었으며, S-slow 샘플은 0.07 mM로 가장 적게 함유하고 있었다. Positive control인 비락 캔 수정과에서는 6-gingerol이 검출되지 않았다. 나머지 수정과 시료는 6-gingerol 보다 cinnamic acid의 함량이 더 높았는데 S-PH에서 0.529 mM로 가장 많이 함유되어 있었으며, S-sarang에서 0.062 mM로 가장 적게 함유되어 있었다. Positive control인 비락 캔 수정과의 경우, cinnamic acid 0.083 mM과 cinnamaldehyde 0.860 mM이 함유되어 있었으며 6-gingerol은 검출되지 않았다.

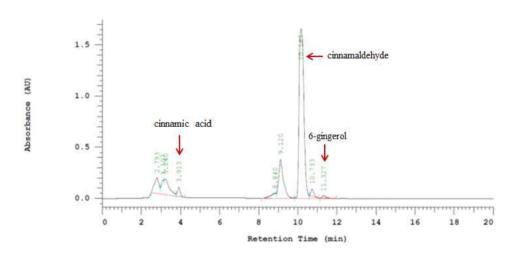


Figure 1-1-2. HPLC chromatogram of S-PH

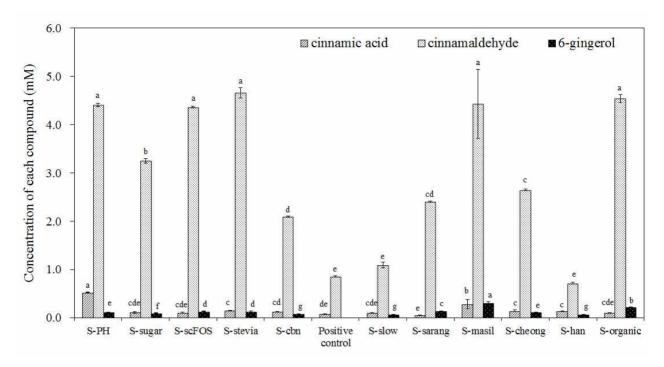


Figure 1-1-3. Profiles of selected major non-volatiles in Sujeonggwa

- * Different letters are significantly different at 0.05 among the same volatile.
- * Different letters are significantly different at 0.05 among the same volatile.

라. 신개념의 수정과 음료 제품 개발을 위한 글로벌화 전략으로서 휘발성 성분 평가

(1) 실험방법

시료의 휘발성 물질은 Lee 등(2010) 의 조건을 이용하여 SPME (Solid Phase Micro Extraction) 법으로 추출하였다. 밀봉된 시료 병을 Autosampler (MPS-2, GERSTEL GmbH & Co.KG)를 이용하여 30℃에서 0.5시간 동안 방치시켜 headspace내 휘발성 물질의 평형을 유도한 후, 50/30 μm DVB/CarboxenTM/PDMS Stable FlexTM SPME fiber를 20분 동안 노출시켜 휘발성분을 포집하였다.

50/30 μm DVB/CarboxenTM /PDMS Stable FlexTM에 농축된 휘발성 물질은 GC (Agilent 6890, Agilent Technology, Palo alto, CA, USA)-MS (Agilent 5973, Agilent technology)에 의해 분리 및 동정되었다. 고정상으로는 DB-5 ms (30 m × 0.25 mm ID, 0.25 μm film) 컬럼을, 이동상은 헬륨을 사용하였으며, 유속은 0.6 mL/분이었다. GC 오븐은 0에서 0.5분까지 40℃로 유지시킨 후, 6℃/분의 속도로 150℃까지 증가시키고 150℃에서 250℃까지 8℃/분의 속도로 증가시켰다. MS 분석 조건은 70 eV와 150℃ quadrupole, 230℃ ion source 온도를 사용하였고, 주입구(injector)의 온도는 250℃이었다. SPME fiber는 주입구에서 2분간 노출시켰다. 수정과의 휘발성 물질 중 cinnamaldehyde, cinnamene, cinnamic alcohol, benzenaldehyde, cinnamic acid를 NIST Mass spectra library을 비교하여 동정하였다.

(2) 수정과 및 수정과 재료의 휘발성분 평가

S-PH의 GC-MS 크로마토그램은 다음과 같다(Figure 1-1-4). 주요 휘발성분은 cinnamaldehyde, cinnamene, cinnamic alcohol, benzenaldehyde, cinnamic acid 등이었으며 특히 cinnamaldehyde 가 가장 많이 검출되었다.

수정과의 총 휘발성분 분석 결과, S-organic ≧ Positive control ≧ S-stevia = S-scFOS ≧ S-PH = S-masil = S-slow ≧ S-cheong = S-cbn ≧ S-sarang = S-han ≧ S-sugar 순으로 나타 났다.

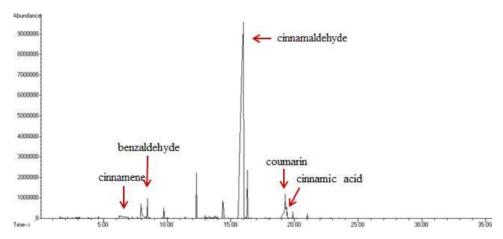


Figure 1-1-4. GC-MS chromatogram of S-PH

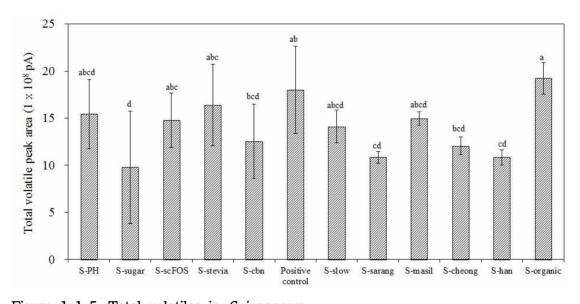


Figure 1-1-5. Total volatiles in Sujeonggwa

* Different letters are significantly different at 0.05 among the same volatile.

각 수정과의 주요 휘발성분 분석결과, 모든 수정과 샘플에서 가장 많이 검출된 휘발성분은 cinnamaldehyde로 나타났으며, 두 번째로 많이 검출된 휘발성분은 각 수정과별로 차이를 보였다. S-cbn, Positive control, S-slow, S-sarang, S-cheong 등 5가지 샘플에서는 benzenaldehyde 가 S-sugar 샘플에서는 cinnamene이, 나머지 샘플에서는 coumarin이 두 번째로 많이 검출되었

다.

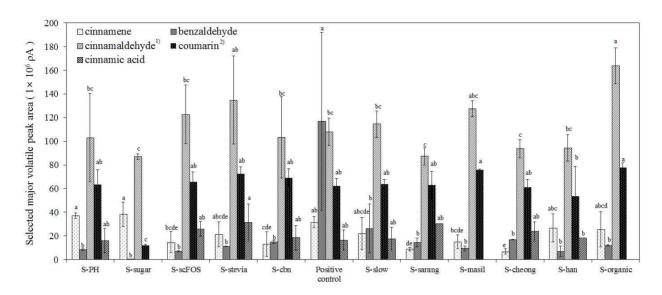


Figure 1-1-6. Selected major volatiles in Sujeounggwa

- 1) Units of cinnamaldehyde was $1 \times 10^7 \ \rho \, A$
- 2) Benzaldehyde was $5 \times~10^6~\rho~A$ those of other volatiles were $1~\times~10^6~\rho~A$.
- * Different letters are significantly different at 0.05 among the same volatile.
- 1) Units of cinnamaldehyde was $1 \times 107 \ \rho A$
- 2) Benzaldehyde was 5imes 106 ho A those of other volatiles were 1 imes 106 ho A.
- * Different letters are significantly different at 0.05 among the same volatile.

이상의 휘발성분 분석을 통해 제 2 세부과제의 관능성 결과 해석의 과학적 기초자료를 제공할 수 있을 것으로 판단된다.

1-2 (세부연구 2) 실험동물을 이용한 수정과의 혈관 염증 억제를 통한 항 노화기능성 검증

1. 동물실험 방법

가. 실험식이 제조

실험 식이는 분말 chow diet (2018S Teklad global 18% protein rodent diet, USA)에 cholesterol 1.25%, cholic acid 0.5% 그리고 coconut oil 10%를 중량비로 첨가한 후 pellet으로 제조하였다.

나. 동물사육

고콜레스테롤혈증 유발 및 산화스트레스 증가를 위해 apolipoprotein E knockout (Apo E KO) 마우스를 사용하였다. Apo E KO 마우스(Male) 46마리를 구입하여(SLC Inc., Hamamatsu, Japan) 1주일 간 적응시킨 후 1 마리씩 개별 케이지에 넣어 사육하였다. 사육실의 온도는 22±1℃, 습 도는 55±5%로 유지하였고, 조명은 12시간 주기로 조절하였다. 수정과의 기능성을 확인하기 위 해 고콜레스테롤혈증을 유발한 후 수정과를 구강으로 투여하였다. 4주간 고콜레스테롤 식이를 투여한 후 꼬리 채혈을 통해 혈장의 콜레스테롤 농도가 1,000 mg/dL 이상으로 증가되어 고콜 레스테롤혈증이 유발되었음을 확인하였다. 각 군의 콜레스테롤 농도가 동일하도록 분배하여 6 군의 실험군으로 나눈 후 고콜레스테롤 식이와 수정과를 경구로 투여하면서 6주간 실험을 진 행하였다. 총 실험 기간은 10주였다. 실험에 사용된 동물군은 6군(n=7)으로 정상대조군인 물 섭 취군(normal group, NOR group), 실험대조군인 설탕물 섭취군(sucrose solution fed group, Exp. control group), 설탕 첨가 수정과 음료군(Sujeonggwa drinks with sugar, S-sugar group), stevia 첨가 기능성 수정과 음료군(Sujeonggwa drinks with stevia, S-stevia group), short-chain fructooligosaccharide 첨가 기능성 수정과 음료군(Sujeonggwa drinks with scSFO, S-scSFO group), 그리고 긍정대조군으로 시판 비락수정과를 섭취시킨 군(Vilac Sujeonggwa drinks, Positive control)이다(Table 1-2-1). 긍정대조군으로 사용한 비락 수정과는 공장에서 대량 생산 한 제품으로 계피, 생강 및 곶감 추출물 0.25%를 고형분으로 함유하고 백설탕과 흑설탕을 10.92g/100 mL 첨가한 제품으로 열량은 44.1 Kcal/100 mL로 설탕 사용량 및 열량은 본 연구에 서 개발한 설탕 첨가 수정과와 동일하다. 본 연구에서 개발한 수정과에는 계피 및 생강 추출물 이 0.19% 함유되어 있어 긍정대조군의 0.25% 보다 다소 낮았는데 이는 곶감 추출물을 사용하 지 않았기 때문이다. 본 연구의 계피와 생강 수율은 0.11% 및 0.26%이었다.

시료는 존대를 사용하여 매일 동일 시간에 경구 투여하였다. 마우스에 투여하는 수정과의 양은 성인 1일 기호성 음료 섭취량(통계청, 2012)을 기준으로 산출하였을 때(마우스 보정계수 10)체중 1 kg 당 22 mL이었고 이를 본 실험에 사용한 마우스의 평균 체중 25 g으로 계산하였을 때 하루 섭취량은 약 500 μL이었다. 마우스에게 경구로 투여할 수 있는 1회 최대 용량이 100 μL이므로 수정과를 진공 농축기(Rotavator R-200, Büchi, Switzerland)에서 부피를 1/5로 농축하였다. 농축 전 후의 당도를 측정하여(당도계, AR 200, Reichert, Inc. 3362 Walden Ave Depew, NY14043, USA) 정확히 5배가 농축되었는지 확인한 후 -20℃에 보관하면서 동물에 경구 투여하

였다. 본 동물실험의 전 과정은 부산대학교 동물실험윤리위원회(Pusan National University-Institutional Animal Care and Use Committee, PNU-IACUC, Approval Number PNU-2014-0502)의 승인 후 수행되었다.

Table 1-2-1. Experimental groups

Group ¹⁾ (n=7/group)	Diet	Oral administration
NOR		Water
Exp. control		Sugar (Sucrose) solution
S-sugar	High	Sujeonggwa drinks prepared with sugar only
<i>S</i> -stevia	cholesterol diet	Sujeonggwa drinks prepared with sugar and stevia
S-scFOS ²⁾		Sujeonggwa drinks prepared with sugar, stevia, and scFOS
Positive control ³⁾		Vilac Sujeonggwa drinks

¹⁾Oral administration of 100 μ L of water, sugar solution or *Sujeonggwa* drinks were carried out daily to hypercholesterolemia induced apo E KO mice for 6 weeks. NOR group fed water as a vehicle and control group fed sugar solution that is the same amount of sugar used to prepare *Sujeonggwa*.

Table 1-2-2. Recipe for the various Sujeonggwa drinks

Ingredient –	Sujeonggwa containing			
liigiedielit —	sugar	sugar+stevia	sugar+stevia+scFOS	
Cinnamon extracts ¹⁾ (mL)	500	500	500	
Ginger extracts ²⁾ (mL)	500	500	500	
Sugar ³⁾ (g)	110	35	89	
ScFOS (g)	-	-	10	
Stevia ⁴⁾ (g)	-	3	0.75	
kcal/100 mL	44.4	15.5	37.8	

¹⁾Cinnamon sticks and water (1:17, w/v) were boiled for 10 min at 2,000 (equivalent to 550℃) of electric range (Swiss Military Electric Range, Gyeonggi, Korea) followed by boiling for 50 min at 1,400 (equivalent to 400℃).

²⁾scFOS: short-chain fructooligosaccharide

³⁾Can Sujeonggwa (Vilac Sujeonggwa, Vilac, Korea) was used as the positive control for the study.

²⁾Sliced ginger and water (1:10, w/v) were boiled for 10 min at 2,000 (equivalent to 550℃) of electric range (Swiss Military Electric Range, Gyeonggi, Korea) followed by boiling for 50 min at 1,400 (equivalent to 400C).

³⁾Black, brown, and white sugar (1:2:2/w:w:w) were mixed.

⁴⁾Stevia product used in this study is composed of 25% stevia and 75% glucose which is commercially available on the market.

다. 희생 및 시료수집

10주 사육 후, 마우스를 12시간 절식시키고 zoletil (30 mg/kg BW, Virbac Laboratories, Carros, France)과 xylazine (10 mg/kg BW, Bayer Korea, Seoul, Korea) 혼합액을 복강 주사하여 마취시킨 후 복부를 절개하여 하대정맥 및 심장에서 채혈하였다. 혈액은 heparin tube에 채취하여 3,000 rpm, 4℃에서 20분간 원심 분리였으며, 얻어진 혈장은 -80℃에 보관하였다. 채혈후 PBS로 관류하여 장기 내 혈액을 제거하였고 간, 신장, 비장, 고환, 뇌를 적출하여 여과지로 수분을 제거한 후 무게를 측정하였다. 장기는 -80℃에 보관하면서 실험에 사용하였다.

라. 실험방법

(1) 혈장, 간 및 뇌의 지질농도 측정

혈장 내 총 콜레스테롤(AM202-K), 중성지방(AM157S-K), 그리고 HDL-C (AM203-K) 농도는 효소법을 이용한 정량용 kit (Asan pharm., Korea)를 사용하여 측정하였고, LDL-C는 Friedwald법 (1972)에 의해 계산하였다. 간과 뇌의 지질농도를 측정하기 위해 조직 균질액을 제조하였다. 일정량의 간 및 뇌 조직을 취한 후 PBS를 첨가하여 homogenizer (Polytron, PT-MR 3100, Switzedland)로 균질화하였다. 조직 균질액에 15배의 추출용매(chloroform: methanol, 2:1, v/v)를 첨가하여 때때로 vortex로 격렬하게 혼합하면서 상온에서 2시간 동안 지방을 추출한 뒤 여과하여 지방 추출액을 얻었다. 일정량의 지방 추출액을 취해 용매를 휘발시킨 후 총 콜레스테롤(AM202-K) 및 중성지방(AM157S-K) 측정용 kit를 이용하여 측정하였다.

(2) 혈장 총 항산화능(TRAP) 분석

총 항산화능은 Rice-Evans와 Miller등(1994)의 방법을 변형하여 실험하였다. 각 시료는 ABTS [2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), 150 μM]와 metmyo-globin (2.5 μM)을 H₂O₂ (75 μM)로 활성화시켜 형성된 ferryl myoglobin 라디칼종의 상호작용에 의해 생성된 ABTS radical cation의 흡광도를 측정하는 것으로 흡광도의 억제 정도는 시료 중(0.84% plasma)에 들어있는 antioxidant capacity에 비례하게 된다. 유리시험관에 PBS buffer, ABTS, metmyoglobin을 넣고 혼합한 후, plasma를 넣고 H₂O₂로 반응시켜 734 nm의 파장에서 UV/VIS spectrophotometer (Shimadzu UV-1601, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 혈장의 TRAP 농도는 trolox의 calibration curve를 이용하여 계산하였으며 TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity, mM)로 나타냈다.

(3) 혈장, 간 및 뇌의 ROS 농도 측정

혈중 reactive oxygen species (ROS)의 농도는 Ali 등(1991)의 방법으로 측정하였다. 96-well plate에 혈장 10 µL와 50 mM phosphate buffer (pH 7.4) 190 µL를 첨가한 후 12.5 mM의 DCFH-DA를 50 µL 첨가하여 excitation 485 nm/emission 530 nm에서 배양액의 형광강도를 5분 간격으로 30분간 측정하였다. 혈중 ROS 농도는 fluorscence per min으로 계산하였다. 간 및 뇌의 ROS 농도 측정을 위해 일정량의 간 조직에 PBS를 첨가하여 homogenizer (Polytron, PT-MR 3100, Switzedland)로 균질화하였다. 조직 균질액을 3,000 rpm, 4℃에서 15분간 원심분

리한 상층액을 다시 12,000 rpm 4℃에서 15분간 원심분리하여 상층액을 ROS 분석에 사용하였다. 간 및 뇌의 ROS 농도는 혈장 ROS 농도 측정법과 동일한 방법으로 측정하였다.

(4) 혈장, 간 및 뇌의 지질과산화물 측정

혈장, 간 및 뇌의 지질 과산화물 농도는 thiobarbituric acid related substances (TBARS)의 함량으로 측정하였다(Ohkawa H et al. 1979). 혈장 내 지질과산화물을 측정하기 위해 혈장 50 瓜에 0.05N HCl 500 瓜, 0.67% TBA용액 167 瓜를 넣고 95℃의 water bath에서 30분간 반응시킨후 얼음물에서 냉각시켰다. 여기에 15% methanol이 함유된 n-butanol 0.7 mL를 첨가한 후 2,500 rpm에서 10분간 원심분리 시켜 얻은 상층액의 흡광도를 540 nm에서 측정하였다. 간 및 뇌의 지질과산화물을 측정하기 위해 일정량의 조직을 취한 후 PBS를 넣어 균질화한 조직 균질액에 0.67% TBA, 0.1% phosphoric acid를 첨가한 다음 95℃에서 45분간 반응시켰다. 반응 직후 얼음에서 냉각시킨 다음 n-butanol을 첨가하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상층액의 흡광도를 540 nm에서 측정하였다. 조직의 TBARS 농도는 malonaldehyde (MDA) 표준곡선을 이용하여 나타내었다.

(5) 지질대사 관련 단백질의 (SREBP-1, SREBP-2, FAS, HMGCR) 발현정도 확인

지방산 합성 FAS) 합성 효소 효소(Fatty acid synthase, 및 콜레스테롤 (3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase, HMGCR)의 발현은 세포질에서 분석하였다. 간 조 직에 protease inhibitor cocktail (10 μL/mL protease inhibitor cocktail, Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France)과 cytosol extraction buffer (10 mM HEPES (pH 7.8), 10 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 1 mM dithiothreitol (DTT), 0.1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 0.1 mM phenylmethylsulfonyl flouride (PMSF)을 1:100으로 혼합한 용액을 간 중량의 3배(w:v)가 되도록 첨가하여 균질화하였다. 균질액을 20분간 얼음에 방치한 후 10% NP-40을 첨가해 vortex로 격 렬히 섞어준 뒤 12,000 rpm, 4℃에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액 얻어 세포질 추출액으로 사용하였다. 전기영동을 위해 단백질 농도를 측정한 후(Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 일정량의 단백질이 함유된 세포질 추출물에 Laemmli sample buffer (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)와 β -mercaptomethanol을 첨가하여 혼합하고 이를 8% sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel (SDS-PAGE)에서 전기영동 하였다(90 V, 2시간). 분리된 단백질은 nitrocellulose membrane (0.45 um pore size, Whatman, Dassel, Germany)으로 이동시킨 후 5% skim milk에서 1시간 동안 blocking 하였다. 1차 항체인 Anti-Fatty Acid Synthase (ab22759, Abcam Inc., Cambridge, UK) 는 1:1,000 비율로, HMGCR (sc-33827, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)은 1:500 비율로, Anti-alpha Tubulin (ab52866, Abcam Inc., Cambridge, UK)은 1:50,000 비율로 희 석하여 membrane이 충분히 잠기게 한 상태에서 $4\mathbb{C}$ 에서 밤새 반응 시켰다. 이후 세척하여 1차 항체를 제거하고, 2차 항체와 상온에서 1시간 동안 반응시켰다. 2차 항체는 Donkey polyclonal secondary antibody to rabbit IgG (ab6802, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)와 Goat polyclonal secondary antibody to mouse IgG (ab6789, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)를 사용하였다. Rabbit IgG는 1:3000으로 mouse IgG는 1:5,000으로 희석하여 사용하였다. 반응 후 membrane을 세척하여 부착되지 않은 항체를 제거 하고, enhanced chemiluminescence (ECL) 용액(HyGLO, Denbille Scientific, Metuchen, NJ, USA) 으로 발색시켜 CAS-400SM (Davinch-K, Seoul, Korea)로 촬영하였다. 단백질의 발현은 image J software (http://rsbweb.nih.gov/ij/)를 사용하여 측정하고, 발현 정도는 α -tubulin에 대한 비율로 표시하였다.

지질합성 효소의 발현에 관여하는 전사인자인 sterol regulatory element binding protein-1, 2 (SREBP-1, 2)의 발현은 핵에서 측정하였다. 세포질 단백질 추출 후 얻어진 pellet에 cytosol extraction buffer와 10% NP-40 혼합액을 첨가하여 vortex한 다음 12,000 rpm, 4℃에서 30초간원심분리하여 상층액을 제거하였다. 이 과정을 2회 반복 실시하여 pellet을 얻었다. 여기에 high salt nuclear extraction buffer (50 mM HEPES (pH 7.8), 50 mM KCl, 300 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM PMSF, 10% glycerol)와 protease inhibitor을 1:100로 혼합하여 100 μL 첨가하여 얼음에서 30분간 방치하면서 교반하였다. 이를 12,000 rpm, 4℃에서 10분간원심분리한 후 상층액을 얻어 핵단백질 추출물로 사용하였다. 단백질 정량, 전기영동 및 현상은 세포질 추출물을 이용한 실험과 동일하게 진행하였다. 1차 항체는 SREBP-1 (sc-8984, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)과 SREBP-2 (sc-5603, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)으로 모든 항체를 1:500으로 각각 희석하여 사용하였다. 2차 항체인 rabbit과 mouse의 IgG는 상기에 설명한 방법과 동일하게 1;3,000 및 1:5,000으로 희석하여 사용하였다. 실험에 사용한 antibody의 종류는 Table 1-2-3과 같다.

Table 1-2-3. Antibodies used in western blot analysis

Primary antibody		Secondary antibody	
FAS	Anti-Fatty Acid Synthase antibody (ab22750)		
HMGCR	HMGCR (H-300): sc-33827	Donkey polyclonal secondary	
SREBP-1	SREBP-1 (H-160): sc-8984	antibody to rabbit IgG (ab6802)	
SREBP-2	SREBP-2 (H-164): sc-5603		
α -tubulin	Anti-alpha Tubulin (ab52866)	Goat polyclonal secondary	
Lamin B1	Lamin B1 (ZL-5): sc-56145	antibody to mouse IgG (ab678	

(6) 혈중 pro-inflammatory cytokine 측정

혈중 interleukine (IL)-6 (431304)와 tumor necrosis factor (TNF)-α (430904)의 농도는 효소 면역측정법을 이용한 kit (enzyme-linked immunosorbent assay, Mouse ELISA MAX Deluxe Sets, Biolegend, CA, USA)로 측정하였다. 96-well plate에 IL-6와 TNF-α의 capture antibody를 coating buffer로 희석한 후 100 μL씩 첨가하여 4℃에서 17시간 동안 방치하였다. 이를 wash buffer (PBS, 0.05% tween 20, pH 7.4)로 4회 세척 후 200 μL의 assay diluent로 1시간 동안 blocking하였다. Blocking이 끝난 plate를 wash buffer로 4회 세척 후 희석된 sample을 100 μL씩 well에 분주하고 실온에서 2시간 동안 방치하였다. Wash buffer로 4회 세척 후 detection antibody를 100 μL 첨가하여 1시간 동안 상온에서 반응시켰다. 반응이 끝난 후 결합되지 않은 antibody를 wash buffer로 4회 세척한 뒤 avidin-horseradish peroxidase를 100 μL 첨가하여 30

분 동안 방치하고, wash buffer로 5번 세척하였다. 여기에 TMB substrate 용액을 $100~\mu$ L 첨가하여 암실에서 IL-6는 20분, TNF- α 는 15분 방치한 후 $2~N~H_2SO_4$ 를 $100~\mu$ L 씩 첨가하여 반응을 정지시켰다. 흡광도는 450~nm에서 측정하였다.

(7) 동맥 내 염증인자 발현 측정

동맥 내 염증반응에 관여하는 효소인 COX-2, iNOS 및 염증반응을 조절하는 전사인 NF- n B의 발현부위를 면역조직화학염색법(immunohistochemistry, IHC)으로 확인하였으며, color agent 로는 diaminobenzidine hydrochloride (DAB)을 사용하였고 hematoxylin으로 대조염색하였다.

우선 마우스를 희생한 후, 동맥을 채취하여 4% paraformaldehyde에 고정시킨 후 파라핀 블록을 제작하였다. 이를 4 μ m의 두께로 절단한 후 젤라틴으로 코팅된 슬라이드에 부착한 후 PBS를 이용하여 세척하였다. 1차 항체를 30분간 반응시킨 후 결합되지 않은 항체는 세척하였다. 여기에 2차 항체(biotinylated secondary antibody)를 반응시킨 후 avidin biotin complex (DAKO co, Carpinteria, CA)에 방치시켰다. 반응이 일어난 항원-항체 복합체는 갈색으로 염색되어지며 이를 정립현미경(Eclipse 80i, Nicon, Japan)으로 관찰하였다. 갈색으로 염색된 면적은 image J software (http://rsbweb.nih.gov/ij/)를 이용하여 pixcel 단위로 계산하였으며, Exp. control군에서 염색되어진 면적을 100으로 하여 다른 실험군과 발현 면적을 비교하였다.

1차 항체인 COX-2 (sc-1747, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)는 1:100으로 희석하였으며, iNOS (sc-7271, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)는 1:50, NF- κ B (#6956, Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA)는 1:200으로 희석하여 사용하였다. 2차 antibody로는 COX-2의 경우 Real Envision (K5007, DAKO, Glostrup, Danmark), iNOS, NF- κ B 는 M.O.M. Immunodetection kit(PK-2200, Vector Laboratories, CA, USA)를 사용하였다.

(8) 동맥궁 내의 지질 침착 정도 측정

동맥궁의 지질 침착정도를 측정하기 위해 해부 시 동맥궁을 채취하여 4% paraformaldehyde에 고정한 후 조직을 30% sucrose 용액에 담가 하루 동안 안정화시킨 후 PBS (10 mM, pH 7.2)로 3회 씻어낸 후 동결용 포매제(Tissue-Tek OCT compound; Miles Inc., Elkhard, IN, USA)를 사용하여 동결시킨 후 cryostat에서 6 μ m 두께로 cutting 하였다. Cutting된 절편은 slide glass에 붙여 건조시켜서 동결 slide 표본을 제작하였다. 동결 slide 표본을 100% propylene glycerol에 담가 완전히 탈수시킨 다음 상온에서 oil red O 용액에 10분간 염색한 후 60% iso-propanol으로 염색하였다. 마지막으로 증류수로 3회 세척하고 수용성 봉입제로 봉입하였다. oil red O 염색으로 붉게 염색된 지질 침착 정도는 광학 현미경(Olympus CH30, Olympus, Tokyo, Japan)에 부착된 카메라에서 관찰하였고, DMC advance image software를 사용하여 측정하였다.

(9) 항유전 독성 평가

DNA 손상을 측정하기 위해 Singh 등(1988)의 방법을 변형하여 comet assay를 실험하였다.

(가) 백혈구의 DNA 손상 : 1% normal melting agarose gel (NMA)가 precoating된 slide 위로 전혈 20 μL와 150 μL의 0.7% low melting agarose gel (LMA)을 섞은 현탁액을 고르게 분주한 후 cover glass로 덮어 4℃ 냉장고에 보관하였다.

- (나) 간의 DNA 손상 : 간 1 g을 적출하여 HBSS buffer에 담은 간 조직에 240 unit collagenase 를 처리한 다음 37℃에서 30분간 처리하였다. 그 다음 40×g에서 5분간 원심분리 하여 간 조직을 가라앉힌 후 상층액을 분리하여 700 g에서 10분간 다시 원심분리 하여 세포층인 하층액을 분리하였다. Cell pellet에 300 μL의 1% low melting agarose gel (LMA)을 골고루 섞어 그 중 150 μL를 취하여 1% normal melting agarose gel (NMA)로 precoating된 slide 위에 분주한 후 cover glass로 덮어 4℃ 냉장고에 보관하였다.
- (다) 비장세포의 DNA 손상 : 비장을 적출한 뒤 RPMI 1640 배양액으로 씻은 후 멸균 유리봉으로 분쇄하여 세포를 유리시킨 후, 세포 현탁액을 100 μM nylon cell strainer에 통과시켜 배양액으로 2번 세척하고 3000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 적혈구를 제거하기 위해 RBC lysis buffer 10 mL을 넣고, 5분간 실온방치 후, 200×g에서 10분간 원심분리 하였다. 하층 cell에 PBS 10 mL과 섞어 2×106 cell/mL이 되도록 조정한 다음, 150 μL의 0.7% low melting agarose gel (LMA)과 섞은 후, 1% NMA로 precoating된 slide에 현탁액이 골고루 분산되게 한후 cover glass로 덮어 4℃ 냉장고에 보관하였다.
- (라) 산화적 스트레스의 처리 : 각 샘플 당 두 개의 slide를 제작하여 한 개의 slide는 control용으로 사용하고, 다른 한 개의 slide는 DNA에 산화적 스트레스를 가하기 위해 간과 비장에는 $200~\mu\text{M}$, 백혈구에는 $400~\mu\text{M}$ H_2O_2 용액에 slide를 담가 5분간 처리한 뒤 PBS로 세척하였다.
- (마) 전기영동 및 이미지 관찰: 4℃ 냉장고에서 gel이 굳으면 cover glass를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 100 μL로 한 겹 더 덮었다. Cell lysis를 위해 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis bugger (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM tris)에 사용직전 1% Triton X-100을 섞은 후 slide를 담가 4℃, 암실 조건에서 1시간 동안 침지시켜 DNA의 double strand를 풀어주었다. Lysis가 끝난 slide를 전기영동 수조에 배열하고 4℃ 차가운 electrophoresis buffer를 채워 20분간 unwinding 시킨 후 25 V/300±3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝나고 0.4 M Tris 완충용액(pH 7.5)으로 충분히 세척하고 20 μL/mL 농도의 ethidium bromide로 핵을 염색하여 형광 현미경으로 관찰하여 CCD camera를 통해 각각의 세포핵 image 는 comet image analyzing system이 설치된 컴퓨터로 분석하였다.

(10) 통계처리

모든 실험결과는 평균±표준편차로 나타내었고 one-way analysis of variance (ANOVA)로 군간 유의성을 검증하고(SPSS version 21, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) Duncan's multiple range test로 사후 검증하여 유의 수준 0.05에서 유의성을 검증하였다. 각 실험군 간의 효과 비교는 student's t-test로 검증하였다.

2. 수정과 음료 섭취에 따른 지질농도 저하 및 oxidative stress 개선 효과

수정과 음료 섭취에 따른 지질 농도 저하 및 oxidative stress 개선 효과를 살펴보기 위하여 마우스에 물만 섭취한 정상대조군(NOR group)과 설탕물만 섭취한 실험대조군(Exp. control group)을 비교하여 과량의 설탕섭취에 의한 지질농도 및 oxidative stress 증가 정도를 살펴보았으며, 긍정대조군(positive control group)으로 현재 시판중인 비락 수정과를 섭취시킨 군을 이용해 비교하였다. 수정과 음료의 효과를 살펴보기 위하여 실험대조군과 동일한 양의 설탕이 포함된 수정과를 먹인 일반 수정과 음료군(S-sugar group), stevia가 첨가된 수정과를 섭취한 stevia 수정과 음료군(S-stevia group), scFOS가 첨가된 수정과를 섭취한 scFOS 수정과 음료군(S-scFOS group)으로 총 6군을 비교하여 수정과 음료 섭취에 따른 효과를 살펴보았다.

가. 체중변화

실험 10주간의 체중변화량은 설탕물 섭취한 Exp. control군, 비락수정과를 섭취한 positive control군, 그리고 일반수정과를 섭취한 S-sugar군에서 다소 높았으나 전 실험군 간의 유의적인 차이는 없었다(Table 1-2-4).

Table 1-2-4. Effects of functional *Sujeonggwa* drinks on the body weight and body weight gains of hypercholesterolemia induced apo E KO mice¹⁾

(g)

Group ²⁾	Initial	Final	Body weight gain
NOR	20.96 ± 1.30^{NS}	28.84 ± 1.88^{NS}	7.89 ± 1.02^{NS}
Exp. control	21.43 ± 1.65	30.30 ± 1.20	8.87 ± 1.15
S-sugar	21.27 ± 1.08	29.83 ± 1.64	8.56 ± 1.02
S-stevia	21.33 ± 1.64	29.46 ± 2.71	8.14 ± 1.90
S-scFOS	20.49 ± 0.84	28.68 ± 2.27	8.19 ± 2.50
Positive control	21.31 ± 1.41	30.15 ± 3.64	8.84 ± 2.87

Data are mean \pm SD (n=7 each group).

 $^{1)}$ Plasma cholesterol concentration of apo E KO mice reached over 1,000 mg/dL after 4 weeks of 1.25% cholesterol diet consumption with mean value of 1077.28 ± 164.00 mg/dL (n=42). Mean value of plasma triglyceride concentration of apo E KO mice (n=42) at 4th weeks was 162.98 ± 39.87 mg/dL in the range of 154.42 to 167.12 mg/dL.

²⁾See the legend of Table 1-2-1

NSData in the column are not significantly different.

나. 혈중 지질 농도

대조군과 동일한 양의 설탕이 포함된 수정과 음료를 먹인 S-sugar군에서는 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, LDL콜레스테롤 농도가 대조군에 비해 감소하였으나 유의적인 차이를 보이진 않았다. 그에 비해 stevia가 함유된 수정과 음료 섭취군에서는 총콜레스테롤, LDL콜레스테롤의 농도가 대조군에 비해 각각 20.8%, 22.6% 유의적으로 감소하였으며(Table 1-2-5, p<0.05), HDL콜레스테롤의 농도는 76.9% 유의적으로 상승하였다(p<0.05). ScFOS가 함유된 수정과 음료 섭취군은 시판 수정과를 섭취한 positive control군에 비해 중성지방 농도가 22.3% 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 따라서 stevia가 첨가된 수정과는 고콜레스테롤혈증을 개선하는 효과가 높았으며, scFOS가 첨가된 수정과는 혈중 중성지질 농도를 개선하는 효과가 있는 것으로 확인되었다.

Table 1-2-5. Plasma lipid concentrations of hypercholesterolemia induced apo E KO mice¹⁾ with oral administration of *Sujonggwa* drinks for 6 weeks

(mg/dL)

Group ²⁾	Triglyceride	Total cholesterol	LDL cholesterol	HDL cholesterol
NOR	$190.58 \pm 39.56^{\rm b}$	$1286.30 \pm 234.23^{\rm b}$	$1235.82 \pm 227.84^{\text{b}}$	4.23 ± 1.84^{ab}
Exp. control	$241.88 \pm 20.65^{\text{ab}}$	$1668.49 \pm 168.47^{\rm a}$	1618.44 ± 160.73^{a}	3.64 ± 2.40^{b}
<i>S</i> -sugar	$231.24\!\pm\!59.92^{ab}$	1412.79 ± 241.98^{ab}	1351.90 ± 183.75^{ab}	$4.91\!\pm\!1.99^{ab}$
<i>S</i> -stevia	229.18 ± 21.54^{ab}	$1321.69 \pm 174.06^{\rm b}$	$1252.43 \pm 180.22^{\rm b}$	6.44 ± 1.89^{a}
S-scFOS	$213.81\!\pm\!48.61^{\rm b}$	1355.94 ± 243.38^{ab}	1312.79 ± 241.77^{ab}	5.30 ± 1.26^{ab}
Positive control	275.13 ± 8.32^{a}	1533.42 ± 165.88^{ab}	$1481.92 \pm 193.66^{\mathrm{ab}}$	3.94 ± 1.69^{ab}

Data are mean ±SD (n=7 each group).

다. 혈장 총 항산화능 측정

혈장 내 항산화제들의 복합된 활성을 알아보고자 혈장의 총 유리기 포집 항산화능을 나타내는 TRAP을 측정하였다(Table 1-2-6). 그 결과, 모든 군에서 유의적인 차이를 볼 수 없었다.

 $^{^{}a,b}$ Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

 $^{^{1),\ 2)}\!\}mathsf{See}$ the legend of Table 1-2-1

Table 1–2–6. Effects of functional *Sujeonggwa* drinks on the plasma total radical trapping antioxidant potential (TRAP) in hypercholesterolemia induced apo E KO mice¹⁾

Group ²⁾	TRAP (mM)
Exp. control	0.78±0.08 ^{NS}
S-sugar	0.72±0.07
<i>S</i> -stevia	0.66 ± 0.11
S-scFOS	0.68±0.20
Positive control	0.72±0.04

Data are mean \pm SD (n=7)

라. 혈중 ROS와 TBARS 농도

동물 실험군간 혈중 ROS의 농도는 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 1-2-7). 그러나 혈중 TBARS 농도는 설탕물을 섭취한 대조군에서 가장 높았으며 정상대조군에 비해 38.7% 유의적으로 증가하였다(Table 1-2-7, p<0.05). 수정과 음료군인 *S*-sugar군, *S*-stevia군, 그리고 *S*-scFOS군의 TBARS 농도는 Exp. control군에 비해 각각 27%, 35.7%(p<0.05), 그리고 34.1%(p<0.05) 감소하였으며, 기능성 수정과의 TBARS 농도는 정상대조군과 유사하였다.

Table 1-2-7. Inhibitory effects of functional *Sujeonggwa* drinks on plasma lipid peroxidation in hypercholesterolemia induced apo E KO mice¹⁾

Group ²⁾	ROS (Flu/min/mL)	TBARS (nmol MDA/mL)
NOR	422.00 ± 109.47 NS	21.30±5.95 ^b
Exp. control	563.67 ± 123.42	$34.73 \pm 3.00^{\circ}$
S-sugar	441.00 ± 189.57	25.36 ± 7.05^{ab}
S-Stevia	424.50 ± 60.10	$22.35 \pm 8.10^{\text{b}}$
S-scFOS	428.20 ± 128.28	$22.88 \pm 8.56^{\text{b}}$
Positive control	543.25 ± 299.21	32.55 ± 11.18^{ab}

Data are mean ± SD (n=7 each group).

 $^{^{1),\ 2)}}$ See the legend of Table 1-2-1

NSData in the column are not significantly different.

 $^{^{}a,b}$ Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

 $^{^{1), 2)}}$ See the legend of Table 1-2-1

NSData in the column are not significantly different.

마. 조직 내 지질 농도

설탕물을 경구로 섭취한 실험 대조군의 간 TG 농도는 정상대조군에 비해 31.4% 유의적으로 증가하여(Table 1-2-8, p<0.05) 과량의 설탕 섭취는 간의 중성지방 농도를 높인다는 기존의 연구결과와 일치하였다(Souza GA et al. 2008). 이러한 간 TG 축적 현상은 수정과 섭취에 의해 저하되었는데 한국 전통 수정과 레시피를 기반으로 대량 생산을 위해 본 연구에서 계피와 생강 추출물로만 개발한 수정과인 S-sugar군의 TG 농도는 동일 농도의 설탕물을 섭취시킨 Exp. control군에 비해 17.9% 유의하게 감소하였으나(p=0.044) 공장 생산하여 시판되고 있는 V 수정과를 섭취시킨 긍정대조군의 TG 농도는 control군과 유의적인 차이가 없었다. 기능성 수정과인 S-stevia와 S-scFOS군의 간 TG 농도는 Exp. control군에 비해 19.7% (p=0.005)와 21.7% (p=0.035) 감소하였으나 S-sugar군에 비해서는 2.2%와 4.6% 정도 미미하게 감소하였다. 간 TC 농도 역시 Exp. control군에 비해 S-sugar, S-stevia, S-scFOS군에서 각각 12.6%(p=0.027), 20.6%(p=0.000), 그리고 19.8%(p=0.010) 유의적으로 감소하였나 대체 당의 첨가에 따른 수정과군간의 차이는 유의적이지 않았다. S-stevia군과 S-scFOS군의 간 TC 농도는 S-sugar군에 비해 9.2% 및 8.3% 각각 감소하여 설탕만을 첨가하여 제조한 수정과보다 대체 감미료를 첨가하였을 때 간의 지질 축적 억제 효과가 상승하는 것으로 관찰되었다.

뇌 TG 농도는 S-stevia군과 S-scFOS군에서 Exp. control군에 비해 18.4%, 30.3% 유의하게 감소하여(Table 1-2-8, p<0.05) 혈장 및 간의 TG 농도와 유사한 경향을 보였다. 뇌 TC 농도는 수정과를 섭취한 S-sugar, S-stevia, S-scFOS군에서 Exp. control군에 비해 각각 3.1%, 6.7%, 4.2% 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다.

Table 1–2–8. Hepatic, cerebral lipid concentrations of hypercholesterolemia induced apo E KO mice¹⁾ with oral administration of *sujonggwa* drinks for 6 weeks

(mg/g tissue)

Group ²⁾	Triglyceride	Total cholesterol
iver		
NOR	$36.54 \pm 9.53^{\circ}$	7.97 ± 0.80^{b}
Exp. control	53.28 ± 7.47^{ab}	$10.11 \pm 1.20^{\rm a}$
S-sugar	$43.74 \pm 13.98^{ m abc,*}$	$8.84 \pm 1.49^{\mathrm{ab},^{**}}$
<i>S</i> -stevia	$42.79 \pm 6.23^{\mathrm{abc}, \#}$	$8.02 \pm 1.14^{\text{b,##}}$
S-scFOS	$41.74 \pm 15.89^{\mathrm{bc,}\ddagger}$	$8.11 \pm 2.16^{b, \pm \pm}$
Positive control	54.38 ± 13.96^a	9.55 ± 1.96^{a}
rain		
NOR	1.53 ± 0.25^{bc}	$15.15 \pm 1.17^{\rm b}$
Exp. control	1.92 ± 0.41^{a}	$17.20 \pm 0.97^{\rm a}$
S-sugar	$1.76 \pm 0.26^{\rm ab}$	16.66 ± 0.92^{ab}
<i>S</i> -stevia	1.57 ± 0.26^{bc}	$16.48 \pm 1.24^{\rm ab}$
S-scFOS	$1.34 \pm 0.08^{\circ}$	$16.04 \pm 1.72^{\rm ab}$
Positive control	$1.97\pm0.12^{\text{a}}$	$16.74 \pm 1.39^{\rm ab}$

Data are mean \pm SD (n=7 each group).

바. 조직 내 ROS와 TBARS 농도

간 ROS 농도는 Exp. control군이 모든 실험군 중에서 가장 높았으며 NOR군에 비해 40.4% 높았다(Table 1-2-9, p<0.05). 수정과 음료군인 S-sugar, S-stevia 그리고 S-scFOS군의 ROS 농도는 Exp. control군에 비해 17.9%, 33.8%, 그리고 24.9% 유의적으로 감소하여(p<0.05) 수정과의 유리기 소거효과를 확인하였다. 기능성 수정과의 유리기 소거능은 S-stevia군에서 S-sugar군보다 19.4% 유의적으로 감소하여(p<0.05) 설탕이 ROS 생성과 관계가 있는 것으로 관찰되었다. 이에 반해 positive control군인 시판 수정과의 ROS 농도는 Exp. control군과 유사하여 그 효과를 살펴볼 수 없었다. 간 TBARS의 농도는 Exp. control군이 NOR군에 비해 37.9% 유의적으로 상승

 $^{^{}a-c}$ Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

 $^{^{1),\ 2)}}$ See the legend of Table 1-2-1

^{*}Significantly different from the control group (p=0.044)

[#]Significantly different from the control group (p=0.005)

^{*}Significantly different from the control group (p=0.035)

^{**}Significantly different from the control group (p=0.027)

^{##}Significantly different from the control group (p=0.000)

^{‡ ‡}Significantly different from the control group (p=0.010)

하여(p<0.05) ROS와 유사한 경향을 보였다(Table 1-2-9). 수정과를 섭취시킨 군의 TBARS 농도는 Exp. control군에 비해 유의적으로 감소하여(p<0.05) 수정과의 지질산화 억제효과를 확인할수 있으나. 기능성 수정과의 TBARS 농도는 일반수정과와 유사하여 대체 감미료의 사용에 의한상승적인 효과는 나타나지 않았다. 이상의 결과에 의하면 간의 ROS 및 TBARS 농도는 설탕의사용량에 영향을 받는 것으로 나타났으며, 동일한 양의 설탕을 섭취함에도 불구하고 수정과에의한 지질 산화 억제 효과는 생강과 계피의 유리기 소거 효과 및 항산화 효과에서 기인한 것으로 생각된다. 계피추출물 0.44 mg은 BHT 100 ppm 보다 지질산화억제 효과가 높았으며(El-Baroty GS et al. 2010) 계피의 정유 성분은 α-tocopherol과 유사한 유리기 소거능을 보였다(Mancini-Filho J et al. 1998). 생강추출물 역시 유리기 소거 효과 및 항산화능이 있고(Ahmed RS et al. 2008) 이는 생강의 유효성분인 [6]-shogaol, [10]-gingerol, [8]-gingerol 등의 항산화 효과(Dugasani S et al. 2010)에서 기인한 것으로 알려져 있다.

되 ROS 및 TBARS 농도는 Exp. control군에서 가장 높았으며 수정과 섭취에 의해 감소하는 경향을 보였으나 각 군 간의 유의적인 차이는 없는 것으로 보아 수정과의 섭취가 뇌에 미치는 영향은 간에 미치는 영향에 비해 미미한 것으로 확인되었다(Table 1-2-9).

Table 1–2–9. Inhibitory effects of functional *Sujeonggwa* drinks on hepatic and cerebral reactive oxygen species (ROS) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) concentrations in hypercholesterolemia induced apo E KO mice¹⁾

Z=0.1=2)	ROS	TBARS
Group ²⁾	(Flu/min/mg tissue)	(nmol MDA/mg tissue)
iver		
NOR	$2172.88 \pm 147.71^{\text{e}}$	$19.26 \pm 1.71^{\rm b}$
Exp. control	3644.08 ± 246.15^{a}	31.02 ± 5.74^{a}
S-sugar	$2993.47 \pm 529.81^{\rm bc}$	$22.22 \pm 5.70^{\text{b}}$
S-stevia	$2412.32 \pm 357.73^{\mathrm{de}}$	$20.50 \pm 4.85^{\text{b}}$
S-scFOS	$2737.93 \pm 354.99^{\rm cd}$	$21.19 \pm 7.87^{\text{b}}$
Positive control	$3330.39 \pm 323.57^{\mathrm{ab}}$	25.11 ± 6.77^{ab}
Brain		
NOR	$15751.67 \pm 2972.54^{\rm NS}$	$26.44 \pm 3.35^{\rm NS}$
Exp. control	19507.88 ± 3540.60	29.45 ± 5.46
S-sugar	16248.21 ± 2405.73	26.73 ± 4.63
S-stevia	16099.62 ± 4379.01	27.98 ± 0.51
S-scFOS	15914.02 ± 3482.53	25.78 ± 1.44
Positive control	17307.39 ± 2337.39	28.89 ± 3.52

Data are mean ± SD (n=7 each group).

 $^{^{}a-e}$ Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

^{1), 2)}See the legend of Table 1-2-1

NSData in the column are not significantly different.

사. 간의 지질 합성 관련 효소 및 전사인자의 발현 정도

(1) 지방산 합성 전사인자 및 효소의 발현 정도 측정

지방산 합성효소인 FAS의 단백질 발현은 Exp. control군과 positive control군에서 가장 높았고 수정과 섭취에 의해 낮아졌다(Figure 1-2-1). S-sugar, S-stevia, 그리고 S-scFOS군에서 FAS 단백질 발현은 각각 16.8%, 28.4%(p<0.05), 그리고 30.5%(p<0.05) 낮아졌다. FAS의 전사인자인 SREBP-1의 단백질 발현 역시 FAS 발현과 동일한 경향을 보였으며 S-sugar, S-stevia, 그리고 S-scFOS군에서 13.6%, 31.1%(p<0.05), 그리고 31.1%(p<0.05) 감소하였다. 따라서 수정과 섭취로 인한 간에서의 지방산 합성 억제 효과는 수정과 섭취로의 간 중성지방 감소 효과의 한 가지 메커니즘으로 생각된다. 계피 추출물은 과당 섭취로 비만을 유도한 취에서 SREBP-1의 mRNA 발현을 억제하여 FAS의 발현을 낮춤으로써(Qin B et al. 2010) 유리지방산, 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도를 낮추었고(Kannappan S et al. 2006), 지질대사 관련 인자인 PPAR α 및 PPAR γ 에 발현을 억제함으로써 인슐린 민감성과 관련 지질대사 이상을 개선하는 효과가 있다고 보고되었다(Sheng X et al. 2008). 생강추출물 역시 지방산 합성효소 및 이의 전사인자의 발현을 억제한다고 알려져 있는데(Nammi S et al. 2009), 생강에서 추출한 페놀화함물인 gingerol은 고지방식이를 섭취한 마우스의 간에서 FAS, ACC의 발현을 억제한다고 알려져 있다(Okamoto M et al. 2011). 고설탕식이를 제공한 동물에 scFOS를 보충 섭취할 경우 간에서 FAS의 활성이 유의하게 감소한다고 보고되고 있다(Agheli N et al. 1998).

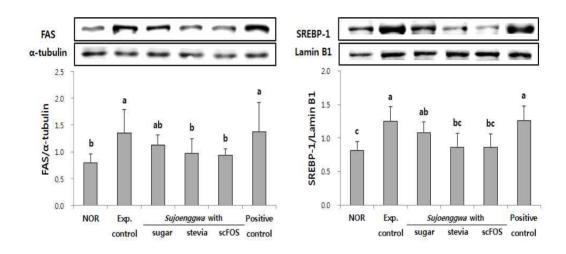


Figure 1–2–1. Effects of functional *Sujeonggwa* drinks on fatty acid synthase (FAS) and sterol regulatory element binding protein (SREBP)–1 expressions in the liver of hypercholesterolemia induced apo E KO mice¹⁾

(2) 콜레스테롤 합성 전사인자 및 효소의 발현 정도 측정

콜레스테롤 생합성에 관여하는 율속효소인 HMGCR과 SREBP-2의 단백질 발현 정도는 Exp. control군이 모든 실험군에 비해 가장 높아(Figure 1-2-2) 과량의 당 섭취는 혈당을 상승시키고

¹⁾See the legend of Table 1-2-1 for the experimental group.

 $^{^{}a-c}$ Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

이는 HMGCR의 발현을 촉진한다는 기존의 연구결과와 일치하였다(Cherng S et al. 2008). 이러한 HMGCR의 단백질 발현은 positive control군에서는 관찰되지 않았으나 본 연구팀이 개발한수정과를 섭취한 S-sugar, S-stevia, S-scFOS군에서는 유의적으로 감소하였다(Figure 1-2-2. all p<0.05). HMGCR 발현을 조절하는 전사인자인 SRBEBP-2의 발현 역시 동일한 경향으로 수정과섭취군에서 유의적으로 낮아졌다(Figure 1-2-2. all p<0.05). 특히 기능성 수정과 섭취군의HMGCR과 SREBP-2의 발현은 Exp. control군에 비해 S-stevia군에서 26.3%(p=0.036) 및 30.5%(p=0.009) 낮아졌고, S-scFOS군에서는 24.5%(p=0.019) 및 24.3%(p=0.005) 낮아져 대체 당사용에 의한 콜레스테롤 합성 효소 및 전사 인자의 발현이 낮아짐을 발견하였다. 생강 추출물은 콜레스테롤 합성효소 및 전사인자의 발현을 억제한다고 보고되고 있으나(Sheng X et al. 2008, Nammi S et al. 2009) 계피는 혈중 콜레스테롤 저하효과에 관한 연구보고는 있으나(Subash Babu P et al. 2007) 계피의 HMGCR 및 전사인자인 SREPB-2 발현에 관한 연구는 아직까지 보고되고 있지 않다.

따라서 수정과의 지질저하 효과는 계피와 생강의 지질 저하 효과에 기인하는 것으로 생각된 다. 당의 농도가 동일한 시판수정과 섭취군은 설탕물 섭취군과 유사한 지질 농도를 보였는데, 이는 정확한 자료가 제공되지 않아 정확히 확인할 수는 없지만, 시판수정과에 포함된 계피와 생강의 농도가 본 연구팀에서 개발한 수정과와 차이가 있기 때문으로 생각된다. 수정과 당의 일부를 기능성 당인 stevia로 대체한 수정과를 섭취시킨 S-stevia군의 콜레스테롤 합성효소와 그의 전사인자의 발현은 Exp. control군에 비해 감소하였다. Stevia 잎과 줄기를 열수 추출하여 쥐에 섭취시켰을 때 간의 지방산 β -oxidation에 관련 acyl-CoA oxidase, acyl-CoA synthetase, carnitine palmitoyltransferase- I 의 발현은 증가시켰다는 보고는 있으나(Park JE et al. 2009) 지방산 합성 및 관련 전사인자에 대한 연구보고는 이제까지 발표된 적이 없다. 뿐만 아니라 scFOS와 같은 기능성 당의 사용도 지질 대사에 중요한 영향을 미치는 것으로 본 연구에서 발 견되었다. 본 연구에서 기능성 수정과 제조 시 수정과의 맛을 고려하여 설탕 사용량의 일부만 stevia나 scFOS로 대체하였데, 특히 scFOS을 첨가하여 제조한 수정과의 설탕 함량은 stevia를 사용한 수정과에 비해 약 2.5배 높았음에도 불구하고 지질합성 효소 및 이의 전사인자의 발현 억제를 통한 지질 축적 억제 효과는 stevia와 유사하였다. 이러한 scFOS의 효과는 prebiotics의 효과 때문으로 생각된다. scFOS 섭취에 의해 장내에서 생성된 단쇄지방산 중 propionate에 의 한 효과로 propioante는 HMG-CoA synthase와 HMG-CoA reductase의 발현을 억제한다고 알려 져 있다(Bush RS et al. 1971, Rodwell VW et al. 1976).

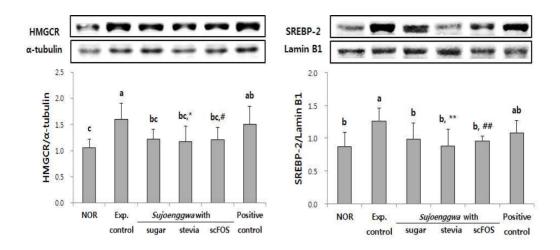


Figure 1-2-2. Effects of functional *Sujeonggwa* drinks on 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase (HMGCR) and sterol regulatory element binding protein (SREBP)-2 expression in the liver of hypercholesterolemia induced apo E KO mice¹⁾

4. 수정과 음료 섭취에 따른 염증 억제 효과 및 항 동맥경화 효과

가. 혈중 pro-inflammatory cytokine 농도

IL-6 및 TNF-α의 농도는 Exp. control군에서 가장 높았으며 수정과 음료 섭취 시 감소하는 경향을 보였다(Figure 1-2-3). S-sugar, S-stevia, S-scFOS군의 IL-6 농도는 Exp. control군에 비해 각각 16%, 34.1%(p<0.05), 21.2%(p<0.05) 감소하여 수정과 섭취에 따른 염증 억제 효과를 확인할 수 있었다. 감미료의 종류 및 양을 달리하여 개발한 기능성 수정과의 염증억제 효과도 타나났는데, S-stevia군에서 S-sugar군에 비해 21.6%(p=0.043) 감소하여 stevia 첨가 수정과의 섭취시 IL-6의 농도가 물을 섭취한 정상대조군과 비슷한 수준으로 감소됨을 확인할 수 있었다. TNF-α에서도 유사한 경향을 보였는데, S-sugar, S-stevia, S-scFOS군에서 Exp. control군에 비해 TNF-α 농도가 각각 13.9%, 31.3%(p<0.05), 30.3%(p<0.05) 감소하였으며, 감미료로 설탕만을 첨가하여 제조한 S-sugar군에 비해 기능성 감미료를 첨가하여 제조한 S-stevia, S-scFOS군에서 20%(p=0.026), 19%(p=0.038) 유의적으로 감소하였다.

¹⁾See the legend of Table 1-2-1 for the experimental group.

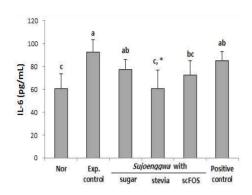
 $^{^{}a-c}$ Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

^{*}Significantly different from the Exp. control group (p=0.036)

[#]Significantly different from the Exp. control group (p=0.019)

^{**}Significantly different from the Exp. control group (p=0.009)

^{##}Significantly different from the Exp. control group (p=0.005)



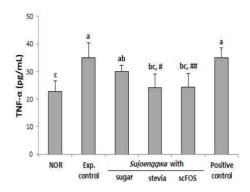


Figure 1-2-3. Inhibitory effects of functional *Sujeonggwa* drinks on plasma pro-inflammatory cytokines in hypercholesterolemia induced apo E KO mice¹⁾

1)See the legend of Table 1-2-1 for the experimental group.

a-cData with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

*Significantly different from the S-sugar group (p=0.043)

#Significantly different from the S-sugar group (p=0.026)

##Significantly different from the S-sugar group (p=0.038)

나. 동맥 내 염증 관련 효소 및 전사인자의 발현

(1) Cyclooxygenase-2 (COX-2)의 발현

COX-2는 염증반응에 관여하는 효소로써 정상적인 동맥에서는 발현이 되지 않고, 동맥경화병변에서만 발현된다. Apo E KO mice의 동맥을 immunohistochemistry로 살펴본 결과, Exp. control군에서 COX-2의 발현이 가장 높았으며(Figure. 1-2-4), 동일한 농도의 설탕을 함유한 수정과를 섭취시킨 S-sugar군에서 19.7%(p<0.05) 유의적으로 감소하였는데, 이는 계피 및 생강의항염증효과 때문인 것으로 생각된다. 기능성 감미료를 첨가하여 개발한 수정과를 먹인 S-steiva, S-scFOS군에서는 Exp. control에 비해 31.8%(p<0.05), 27%(p<0.05) 감소하여 칼로리 감소에 따른 염증반응 개선 효과를 확인할 수 있었다.

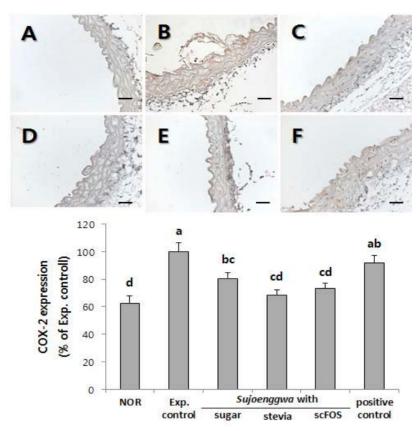


Figure 1–2–4. Immuno-histochemical analysis of COX–2 expression in the aorta of hypercholesterolemia induced apo E KO mice with oral administration of functional *sujeonggwa* drinks for 6 weeks

A: Apo E KO mice fed distilled water (NOR group), B: Apo E KO mice fed sugar solution (Exp. control group), C: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks with sugar (S-sugar group), D: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks with stevia (S-stevia group), E: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks with scFOS (S-scFOS group), F: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks (Positive control group) Bar length is 200 μ m (X400).

Data are mean ± SD (n=7 each group).

 a,b Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

(2) Inducible nitric oxide synthase (iNOS) 발현

Figure 1-2-5는 마우스의 동맥 내 iNOS의 발현을 immunohistochemistry로 살펴본 것으로 Exp. control에 비해 모든 군에서 iNOS의 발현이 감소함을 확인할 수 있었다. 시판 수정과를 섭취한 positive control군의 iNOS 발현은 Exp. control군에 비해 15.3%(p<0.05) 유의적으로 감소하였으며, 본 연구팀에서 개발한 수정과를 섭취시킨 S-sugar, S-stevia, S-scFOS군에서 역시 iNOS의 발현이 각각 18.3%, 24.1%, 20.3%(all groups, p<0.05) 유의적으로 감소하였다.

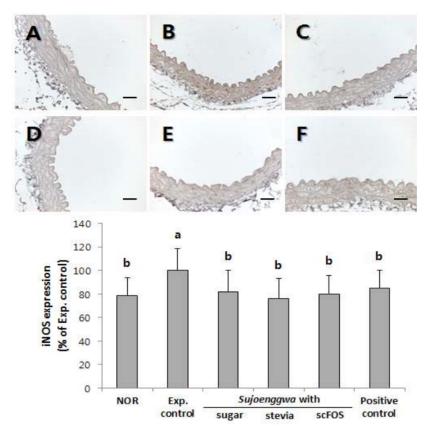


Figure 1–2–5. Immuno-histochemical analysis of iNOS expression in the aorta of hypercholesterolemia induced apo E KO mice with oral administration of functional *sujeonggwa* drinks for 6 weeks

A: Apo E KO mice fed distilled water (NOR group), B: Apo E KO mice fed sugar solution (Exp. control group), C: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks with sugar (S-sugar group), D: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks with stevia (S-stevia group), E: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks with scFOS (S-scFOS group), F: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks (Positive control group) Bar length is 200 μ m (X400).

Data are mean \pm SD (n=7 each group).

 a,b Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

(3) Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- x B) 발현

NF- κ B는 체내 산화스트레스 의해 대식세포, 평활근세포, 내피세포에서 염증반응에 관여하는 cytokines, 혈관내벽 부착인자, COX-2 및 iNOS의 전사에 관여하는 핵 내 전사인자로서 Exp. control군에서 동맥 내 NF- κ B의 발현이 가장 높았으며, positive control군과 S-sugar군에서는 각각 7.4%, 9.2% 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다(Figure 1-2-6). S-stevia, S-scFOS군에서는 Exp. control군에 비해 14%, 10.7% 유의적으로 감소하여(p<0.05) 발현정도가 NOR군과 유사한 수준으로 감소하였다.

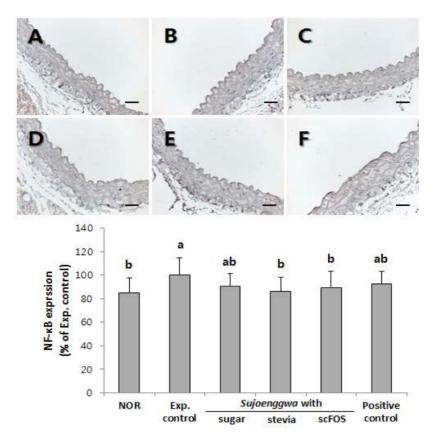


Figure 1-2-6. Immuno-histochemical analysis of NF- κ B expression in the aorta of hypercholesterolemia induced apo E KO mice with oral administration of functional *sujeonggwa* drinks for 6 weeks

A: Apo E KO mice fed distilled water (NOR group), B: Apo E KO mice fed sugar solution (Exp. control group), C: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks with sugar (S-sugar group), D: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks with stevia (S-stevia group), E: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks with scFOS (S-scFOS group), F: Apo E KO mice fed Sujeonggwa drinks (Positive control group) Bar length is 200 μ m (X400).

Data are mean \pm SD (n=7 each group).

 a,b Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

다. 동맥궁 지질침착 정도

Figure 1-2-7은 apo E KO mice의 동맥궁을 촬영한 사진으로 A 정상대조군, B 실험대조군 C 설탕을 함유한 일반 수정과군, D stevia 수정과군, E scFOS 수정과군, F 긍정대조군이다. 동맥궁에 침착된 지질 면적은 Exp. control군이 470422.17 μm²로 가장 높았다. S-sugar군의 동맥궁에 침착된 지질의 면적은 317023.14 μm²로 Exp. control군에 비해 32.6% 유의적으로 감소하여 (p<0.05) 수정과의 동맥경화 억제 효과를 확인할 수 있었다. 기능성 수정과인 S-stevia와 S-scFOS군 역시 39% 및 37.5% Exp. control군에 비해 유의적으로 감소하여(p<0.05) 수정과의 기능성을 확인할 수 있었으나, S-sugar군에 비해 유의적인 차이는 없었다. 그러나 칼로리 함량이 낮은 기능성 수정과를 장기적으로 섭취 할 때 일반 수정과를 섭취하는 것 보다 동맥경화를 예방효과가 더욱 높을 것으로 생각된다.

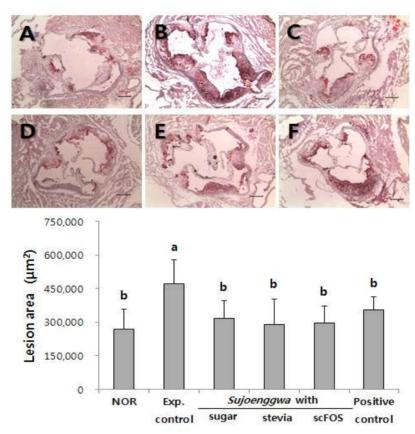


Figure 1–2–7. Retardation on the formation of fatty streak in the aortic sinus of hypercholesterolemia induced apo E KO mice with oral administration of *sujeonggwa* drinks for 6 weeks

A: Apo E KO mice fed distilled water (NOR group), B: Apo E KO mice fed sugar solution (Exp. control group), C: Apo E KO mice fed *Sujeonggwa* drinks with sugar (*S*-sugar group), D: Apo E KO mice fed *Sujeonggwa* drinks with stevia (*S*-stevia group), E: Apo E KO mice fed *Sujeonggwa* drinks with scFOS (*S*-scFOS group), F: Apo E KO mice fed *Sujeonggwa* drinks (Positive control group)

Bar length is 200 μ m (X40).

Data are mean \pm SD (n=7 each group).

 a,b Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05

5. 수정과 음료 섭취에 따른 항 유전 독성 효과

수정과의 항노화 효과를 확인하기 위하여 백혈구, 간, 비장을 이용하여 comet assay를 실시하여 DNA 유전 독성을 방어하는 수정과 효과를 확인하였다. 기능성 수정과의 섭취가 H₂O₂로 유발된 DNA 손상 보호 효과에 미치는 영향을 형광 현미경 상에서 관찰한 결과는 Fig. 1-2-8, 1-2-9와 같다. 혈액에서는 산화적 스트레스를 처리하지 않은 것과 처리한 것 모두 그룹 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 조직의 경우, H₂O₂를 처리하지 않은 간세포에서의 DNA 손 상은 설탕물을 먹인 대조군에 비해 S-stevia군과 positive control군에서 유의적으로 감소하였고 (p<0.05), 산화적 스트레스를 처리한 경우 stevia군에서만 통계적으로 유의적인 차이를 확인할수 있었다(p<0.05). 면역을 담당하는 비장세포에서의 tail DNA 수준 역시 산화적 스트레스에 노출되지 않은 세포와 노출된 세포 모두에서 대조군보다 stevia군에서 뚜렷한 DNA 보호 효과가난 것으로 보아, 산화적 스트레스의 유무에 관계없이 stevia를 첨가한 수정과는 간, 비장조직의 항유전독성에 가장 뛰어난 효과를 보인 것으로 사료된다.

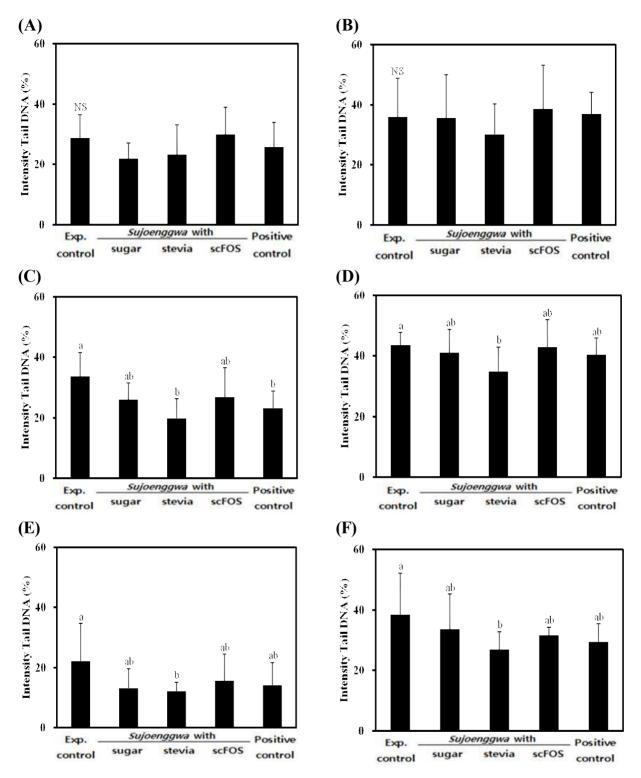
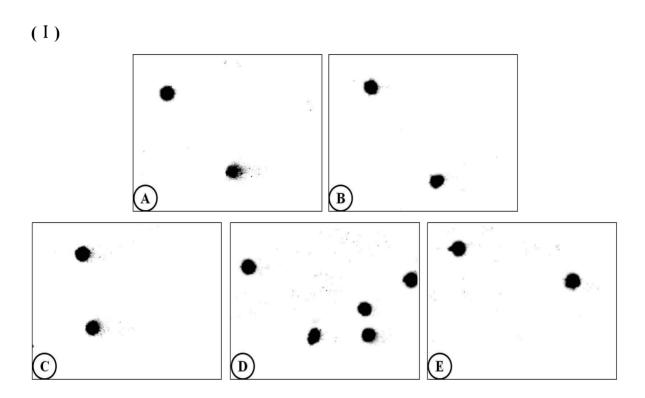
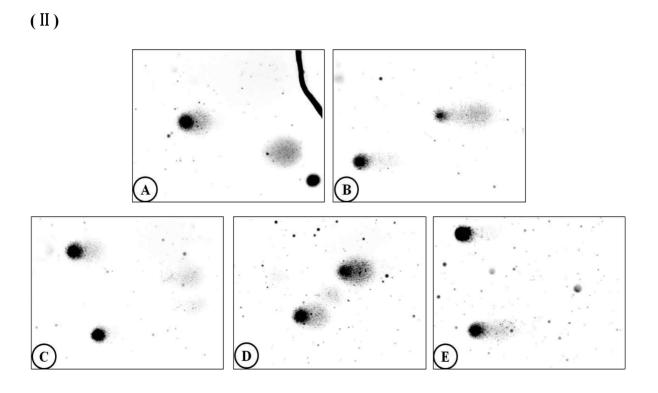


Figure. 1-2-8. Antigenotoxic effect of functional *Sujeonggwa* drinks on H₂O₂ treated DNA damage in leukocyte (A,B), hepatocyte (C,D), and splenocyte (E,F) in hypercholesterolemia induced apo E KO mice with oral administration of *sujonggwa* drinks for 6 weeks.

Leukocyte, H_2O_2 untreated (A) or treated; hepatocyte, H_2O_2 untreated (C) or treated (D); splenocyte H_2O_2 untreated (E) or treated (F). Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05. NSData are not significantly different.





(III)

(A)

(B)

(C)

(D)

Figure. 1-2-9. Comet image of leukocyte (I), hepatocyte (II), and splenocyte (III) in hypercholesterolemia induced apo E KO mice with oral administration of *sujeonggwa* drinks for 6 weeks.

A: Exp. control group, B: S-sugar group, C: S-stevia group, D: S-scFOS group, E: Positive control group. Data are mean \pm SD.

Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p < 0.05.

NS Data are not significantly different.

제 2절 Cross-culture 소비자 조사를 통한 신개념 수정과 음료 레시피 개발 (제 2 세부과제)

1. 수정과의 전통적인 조리법 수집 분석 및 재현

가. 문헌조사 연구를 통해 수정과 전통적인 조리법 조사

(1) 고 문헌 조리서

수정과는 『수작의궤(1765년 영조 41년)』에 처음 기록 되었다. 수정과에 계피 사용은 『조선 요리법(1938년)』부터 사용되었고, 이전의 수정과에 단맛을 내는 재료로는 꿀을 사용하였고 『조선요리법(1938년)』부터 설탕을 사용하기 시작하였다. 『조선무쌍신식요리제법』에서는 수 정과에 배를 사용했던 기록이 있다. 전통 수정과에 사용 되었던 조리 재료는 곶감, 배, 호두, 유자, 밀감껍질, 생강, 통후추, 연꽃순, 계피, 감초, 녹말가루, 꿀, 설탕, 잣, 석류알, 오미자, 연지 등이 있었다.

고 조리서인 『조선무쌍신식요리제법』의 수정과는 "생강을 끓인 물에 설탕을 넣어 달게 한 국물에 곶감과 계피를 넣어 계피 맛이 우러나고 곶감이 생강물을 흡수한 다음 잣을 띄워 국물 과 곶감을 같이 먹는 것"이라고 기록되어 있다.

나. 문헌조사 연구를 통해 설탕 대체재 감미료 조사

(1) Stevia

스테비아의 감미성분인 스테비오사이드는 저칼로리의 무독성 자연 원료이며, 열에 매우 안정적이어서 120℃에서 1시간 가열 한 후에도 pH의 변화가 없을 뿐만 아니라 단맛을 그대로 유지하고 있다. 스테비오사이드는 음식 첨가제로 다양하게 쓰일 수 있고, 카페인이 들어있는 커피나차에 넣었을 때에도 매우 안정적이다. 스테비오사이드 결정체는 설탕의 약 300배 정도의 단맛이 있으며, 스테비아 잎 건조분말은 약 30-40배 정도 단맛이 있다.

(2) short chain fructo-oligosaccharide (scFOS)

프락토올리고당은 설탕의 과당 잔기에 1-3개의 과당이 결합된 당류의 혼합물이다. 프락토올리고당은 설탕으로부터 생성된 성분으로서 그 구조도 설탕과 유사하여 두 물질의 물리 화학적특성이 유사하지만 프락토올리고당은 설탕과 달리 난소화성이므로 생리적인 특성이 매우 다르다. 특히 Prebiotics로서 장내 유익균에 의해 대사되어 다양한 건강 기능성을 나타낸다. 고순도 프락토올리고당은 설탕과 비슷한 맛이지만 감미도는 설탕의 약 30%정도이다.

다. 전통적인 조리법 재현 및 기능성 수정과 레시피 개발

신개념 수정과 레시피 개발을 통한 수정과의 세계화를 위하여 고문헌 및 조리서, 기타 학술 연구를 바탕으로 전통 수정과 제조법을 재현하고, 이를 바탕으로 현대인의 기호에 맞는 설탕을 사용한 일반 수정과 레시피를 개발하였다. 현재 시판되고 있는 기존의 수정과 제품은 전통수정 과의 경우 꿀과 곶감 추출액을 감미료로 사용하고 있고, 대다수의 수정과 제품은 흑설탕을 감 미료로 사용하고 있어, 칼로리를 낮추거나 건강 기능성이 있는 소재를 이용하고자 하였다. 수정과의 칼로리를 낮추기 위하여 설탕 대체재로 사용할 수 있는 감미료인 stevia와 short chain fructo-oligosaccharide (scFOS)를 사용하여 수정과의 단맛이 그대로 유지되는 레시피를 개발하였다. 그리고, 청소년층을 겨냥하여 탄산을 첨가한 수정과를 제조하였다. 본 연구에서 개발한 수정과는 전통수정과(Sujeonggwa with persimmon and honey, S-PH), 일반수정과(Sujeonggwa with sugar, S-sugar), 탄산수정과(carbonated S-sugar, S-cbn), stevia와 scFOS를 함유한 기능성 수정과(S-stevia, S-scFOS)이다. 제조법은 다음과 같다.

(1) 전통 수정과(S-PH) 제조법

수정과의 주재료로 계피와 생강을 사용하고, 단맛을 내기위해 설탕대신 꿀과 곶감을 사용하여 전통적인 조리법을 재현하였다. 생강 200 g을 깨끗하게 씻어 껍질을 벗긴 후 3 mm 두께로 썬 뒤 생수 4 L에 넣고 전기레인지(스위스밀리터리, 중국) 온도 세팅 200(전기레인지 기준 55 0℃)에서 10분간 끓인 뒤, 온도세팅 160(전기레인지 기준 400℃)에서 50분 더 끓이고 난 뒤, 꿀 300 g을 넣었다. 여기에 깨끗이 씻은 계피 120 g을 넣고 온도 세팅 160 에서 60분간 끓여 계피 생강물을 제조한 뒤 불을 끈 후 미리 준비해 둔 곶감을 담갔다. 곶감은 꼭지와 씨를 제거한 뒤 1 cm³ 정도의 크기로 잘라 두었다. 곶감 427 g(약10개 분량)을 2시간 정도 우리고 난 뒤 곶감은 건져내었다.

(2) 일반수정과(S-sugar) 제조법

『아름다운 한국음식 300선((사)한국전통음식연구소)』참고하여 수정과를 제조하였다. 깨끗하게 씻어 껍질을 벗긴 200 g의 생강을 3 mm 두께로 일정하게 썬 뒤 생수 2 L에 넣고 전기레인지(전기레인지, 스위스밀리터리, 중국) 온도 200(전기레인지 기준 550℃)에서 10분간 끓인 뒤, 끓기 시작하면 온도세팅 160(전기레인지 기준 400℃)에서 50분 끓였다. 깨끗하게 씻은 계피 120 g을 생수 2L에 넣고 온도 200에 10분간 끓인 뒤, 끓고 나면 160에서 50분간 끓였다. 끓여진 생강물 1600 mL와 계피물 1600 mL을 완전히 식힌 후 혼합하여 설탕(흑설탕 79.2g, 황설탕 158.4 g, 백설탕 158.4 g)을 넣고 완전히 녹을 때까지 서서히 저어 주었다.

(3) 탄산 수정과(S-cbn) 제조

계피, 생강, 설탕을 사용한 일반 수정과 음료((2)에서 설명)를 제조한 뒤 탄산수 제조기(트위스트앤스파클링, ㈜티디에프코리아, 오스트리아)에 수정과 약 700 mL을 넣은 뒤 탄산가스(트위스트앤스파클링 탄산가스, ISI Gnbh, 오스트리아) 8 g을 주입하였다.

(4) scFOS 수정과(S-scFOS) 제조

생강물과 계피물을 상기에 설명한 방법((2)에서 설명)으로 준비하여, 끓인 생강물 1600 mL와 계피물 1600 mL에 Stevia 2.7 g와 sc-FOS 45.7 g, 설탕(흑설탕 64.1 g, 황설탕 128.6 g, 백설탕 128.6 g)을 넣고 다 녹을 때까지 저어주었다.

(5) stevia 수정과(S-stevia) 제조

생강물과 계피물을 상기에 설명한 방법((2)에서 설명)으로 준비하여, 끓인 생강물 1600 mL와

계피물 1600 mL에 Stevia 10.8 g와 설탕(흑설탕 25.2 g, 황설탕 50.4 g, 백설탕 50.4 g)을 넣고 다 녹을 때까지 저어주었다.

(6) 본 실험에 사용된 수정과 레시피

(가) 전통 수정과 레시피

- 1. 깨끗이 씻어서 껍질을 제거한 생강 200 g을 0.3 mm 두께로 어슷썰기하여 물 4 L에 넣고 전기레인지 온도 세팅 200(전기레인지 기준 550℃)에 10분간 끓인 뒤, 끓기 시작하면 160 (전기레인지 기준 400℃)에서 50분 끓인다.
- 2. 1시간 동안 끓인 생강물에 꿀 300 g을 넣는다. 건조 계피 120 g을 씻어서 넣고 1시간을 더 끓인다.
- 3. 곶감의 꼭지와 씨를 제거하고, 1 cm³ 정도의 크기로 자른다.
- 4. 생강과 계피를 함께 끓인 물에 불을 끄고 곶감 427 g (10개정도 분량)을 2시간 정도 우려내고 제거한다.



(나) 일반 수정과 레시피

- 1. 생강을 깨끗이 씻어 껍질을 벗긴 뒤, 3 mm 두께로 일정하게 썬다. 생강 200 g을 물 2 L 에 넣고 전기레인지온도 200(전기레인지 기준 550℃) 에 10분간 끓인 뒤, 끓기 시작하면 160(전기레인지 기준 400℃)에서 50분 끓인다.
- 2. 계피 120 g을 물 2 L에 넣고 200에 10분간 끓인 뒤, 끓기 시작하면 160에서 50분간 끓인다.
- 3. 식힌 다음, 생강물 1600 mL와 계피물 1600 mL를 섞고 설탕(흑설탕 79.2 g, 황설탕 158.4 g, 백설탕 158.4 g)을 넣고 다 녹을 때까지 저어준다.









(다) 일반 수정과 음료에 탄산을 넣은 레시피

- 1. ②번 일반수정과 제조방법과 동일하게 계피, 생강을 사용한 일반 수정과 음료를 제조한다.
- 2. 탄산수 제조기에 수정과 약 700 mL을 넣은 뒤 탄산가스 8 g을 주입한다.









- (라) 설탕 대체재를 사용한 기능성 수정과 제조
- sc-FOS 수정과 레시피
- 1. 생강을 깨끗이 씻어 껍질을 벗긴 뒤, 3 mm 두께로 일정하게 썬다. 생강 200 g을 물 2 L 에 넣고 전기레인지 온도 세팅 200(전기레인지 기준 550℃)에서 10분간 끓인 뒤, 끓기 시작하면 온도 세팅 160(전기레인지 기준 400℃)에서 50분 끓인다.
- 2. 계피 120 g을 물 2 L에 넣고 200에 10분간 끓인 뒤, 끓기 시작하면 160에서 50분간 끓인다.
- 3. 식힌 다음, 생강물 1600 mL와 계피물 1600 mL를 섞고 stevia 2.7 g과 sc-FOS 45.7 g, 설탕(흑설탕 64.1 g, 황설탕 128.2 g, 백설탕 128.6 g)을 넣고 다 녹을 때까지 저어준다.









• Stevia 수정과 레시피

- 1. 생강을 깨끗이 씻어 껍질을 벗긴 뒤, 3 mm 두께로 일정하게 썬다. 생강 200 g을 물 2 L에 넣고 전기레인지온도 200 (전기레인지 기준 550℃)에서 10분간 끓인 뒤, 끓기 시작하면 160(전기레인지 기준 400℃)에서 50분 끓인다.
- 2. 계피 120 g을 물 2 L에 넣고 200에 10분간 끓인 뒤, 끓기 시작하면 160에서 50분간 끓인다.
- 3. 식힌 다음, 생강물 1600 mL와 계피물 1600 mL를 섞고 stevia 10.8 g와 설탕(흑설탕 25.2 g, 황설탕 50.4 g, 백설탕 50.4 g)을 넣고 다 녹을 때까지 저어준다.









(7) 수정과 제조에 사용된 실험 재료와 기기

본 실험에 사용된 주재료와 부재료는 Table 2-1과 같다.

Table 2-1. The information of all ingredients used in this study

재료	브랜드 명	구입처
생수	삼다수 (제주특별자치도개발공사, Jeju-do, Korea)	이마트 인터넷 쇼핑몰
생강	이마트 황토밭 생강 (Korea)	이마트 인터넷 쇼핑몰
계피	이마트 청솔 계피 (Vietnam)	이마트 인터넷 쇼핑몰
꿀	동서 아카시아 벌꿀 (동서식품, Chungcheongbuk-do, Korea)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
곶감	상주 곶감 (정과원, Gyeongsangbuk-do, Korea)	롯데백화점 식품관
백설탕	큐원 흰색설탕 ㈜삼양사, Ulsan, Korea)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
흑설탕	큐원 흑설탕 (㈜삼양사, Ulsan, Korea)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
황설탕	큐원 갈색설탕 ㈜삼양사, Ulsan, Korea)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
Stevia	그린비아스위트 (전원식품, Gyeonggi-do, Korea)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
short-chain frutooligosac charide	#71920 (Allergy Research Group, Alameda, USA)	Amazon 인터넷 쇼핑몰
전기레인지	DO-3015 (스위스밀리터리, China)	현대 백화점
탄산제조기	트위스트앤스파클링 (㈜티디에프코리아, Austria)	인터파크 인터넷 쇼핑몰
탄산가스 실린더	트위스트앤스파클링 탄산가스 (ISI Gnbh, Austria)	인터파크 인터넷 쇼핑몰
당도계	AR 200 (Reichert Ophthalmic Instruments, Reichert, Inc. Depew, NY, USA)	Reichert, Inc.

(8) 수정과 제조 원가 산출 (1L)

본 연구에서 제조한 수정과의 원가는 아래의 표와 같다. 아래 가격은 현재 판매되고 있는 수 정과의 판매가격을 1L로 환산한 가격과 동일한 수준이지만, 대량생산의 경우 계피, 생강, 설탕, 물, 페트병 등의 원료를 보다 저렴한 가격으로 구매할 수 있어 경쟁력이 있을 것으로 사료된다(표2-2).

Table 2-2. Price to produce Sujeonggwa samples in this study

재료	<i>S</i> -PH	S-sugar	S-cbn	S-scFOS	S-stevia
계피	972원	972원	972원	972원	972원
생강	500원	500원	500원	500원	500원
물	870원	870원	870원	870원	870원
곶감	2,204원				
꿀	1,635원				
흑설탕		44.7원	44.7원	34.9원	14.2원
황설탕		86.2원	86.2원	69.8원	27.4원
백설탕		66.4원	66.4원	53.8원	21.1원
stevia				26.9원	107.4원
sc-FOS				162.7원	
탄산주입			570원		
Pet병 가격	250.0)	250.0)	250 ()	250.6)	250.0
(1L 용)	350원	350원	350원	350원	350원
총 생산원가	6,531원	2,889원	3,459원	3,040원	2,862원
(1L)	0,551원	2,009년	3,439편	5,040원	2,002편

2. 수정과의 관능적 특성 표준 용어 및 척도 개발

가. 수정과의 관능적 특성 표준 용어 및 척도 개발

(1) 관능 검사자 선발

수정과의 특징적인 성질에 대한 정보를 제공하기 위하여 수정과를 대표적으로 나타낼 수 있는 특성을 묘사분석 기법을 통해 알아내기 위하여 관능검사원을 모집하였다. 부산대학교 홈페이지를 통해 공고를 보고 응모한 사람 중 실험에 적합한 사람 30명을 선발하여 예비조사를 실시하였다. 단맛과 짠맛의 강도 측정검사, 차이식별 검사, 향 확인검사, 삼점 검사, 인지된 강도를 숫자로 표현하는 능력을 테스트하는 척도 검사 그리고 관능검사에 필요한 감각의 예민도를 측정하였다. 응모자 중 각종 검사의 종합 점수가 정답률 상위 약 30%에 속하는 9명을 관능검사원으로 선발하였다.

(2) 묘사분석 훈련

(가) 기본 맛 감별 및 척도사용 훈련

선발된 관능검사원 9명은 일주일에 2회, 회당 약 2시간씩 6개월간 총 40회의 훈련을 받았다. 1차 이론교육에서는 관능평가 훈련의 목적과 중요성을 설명하고 관능검사의 정의, 원리 및 방 법, 그리고 향미 특성의 종류 및 강도를 척도를 이용하여 표현하는 방법 등을 강의하였다. 2차실기 교육에서는 기본 맛인 단맛, 짠맛, 신맛, 쓴맛 그리고 떫은맛에 대해 표준시료를 사용하여해당 되는 맛의 강도를 감별하는 훈련을 실시하였다. 맛 강도에 대한 훈련은 15점 척도법으로 실시하였다.

(나) 수정과 향미 특성용어 개발

맛 및 맛의 강도를 구분할 수 있는 기본 훈련을 마친 후 본 실험에 사용하지 않는 다양한 종류의 시판 수정과를 제시하여 수정과 향미에 대한 묘사분석 용어 개발을 위한 훈련을 하였고(Seo and others 2002, Drake and Civille, 2002) 관능검사원들이 모두 동의하는 15가지의 특성용어와 정의를 개발하고 표준물질을 정하였다(Bett-Garber and Lea 2013). 신맛과 쓴맛은 수정과의 전형적인 특성은 아니지만, 시판 수정과에서 이 두가지 특성이 나타났고, 대추향(Jujube Aromatics), 곶감(Dried Persimmon Aromatics)도 같은 이유로 포함하였다. 개발된 향미특성 묘사분석용어는 표 2-3에 나타내었다.

Table 2-3. Definitions and references of attributes for Sujeonggwa

Attributes	Definitions	Reference with intensity
		6% sucrose solution = 6 (flavor)
Sweet	The fundamental taste of which	8% sucrose solution = 8 (flavor)
Sweet	sucrose in water is typical.	10% sucrose solution =10 (flavor)
		12% sucrose solution =12 (flavor)
Sour	The fundamental taste of which	0.15% citric acid solution = 1.5 (flavor)
Jour	citric acid in water is typical.	0.2% citric acid solution = 2.5 (flavor)
Bitter	The fundamental taste of which	0.01% caffeine solution = 2.0 (flavor)
Bittei	caffeine in water is typical.	0.02% caffeine solution = 3.5 (flavor)
C. N	The fundamental taste of which	0.15% sodium solution = 1.5 (flavor)
Salty	sodium in water is typical.	0.2% sodium solution = 2.5 (flavor)
	The fundamental taste of which	0.03% alum solution = 1.5 (flavor)
Astringency	alum in water is typical.	0.05% alum solution = 2.5 (flavor)
		2% stevia solution = 2 (flavor)
Artificial Sweetener	The fundamental taste of which stevia in water is typical.	4% stevia solution = 4 (flavor)
	otto in motor to express.	6% stevia solution = 6 (flavor)
	Cooked flavor of ginger ,bitter,	Ginger aroma = 7.5 (flavor)
Ginger aromatics	spicy complex harmonious flavor and aroma	Boiled 200g ginger slices in 2000 mL water for 1 hours on medium heat
Cinnamon	Balanced and complex flavor	Cinnamon = 7.5 (flavor)
aromatics	associated with boiled cinnamon, bitterness, and spiciness	Boiled 120g cinnamon stick in 2000 mL water for 1 hours on medium heat

Cniev	Spicy flavor comes from ginger and	Ginger = 7.5 (flavor)	
Spicy	cinnamon	Cinnamon = 5.0 (flavor)	
Dried-Persimmo	When keep dried pesimmon steeped	Dried-Persimmon = 5.0 (flavor)	
n aromatics	in water, persimmon aroma, sweet and astringency	Soak 200g Dried-Persimmon in 70° 500mL water for 2 hours	
Dried injuhe	The arems associated with dried	Dried-jujube aroma = 5.0 (flavor)	
Dried-jujube aromatics	The aroma associated with dried jujube (Korean date)	Boiled 100g Dried-jujube in 1000mL water for 1 hours on medium heat	
Carbonation	Trigeminal feeling caused by carbonation similar to carbonated beverage	Tropicana sparkling = 5.0 (flavor)	
Concentration	The difference caused by the amount of water		
		5% Black sugar solution = 3.5	
	Degree of brown color observed.	10% Black sugar solution = 7.5	
Color	This was evaluated before oral evaluation	16% Black sugar solution = 10	
		About 30mL of samples were provided in Plastic cups (45x45x50 mm)	
Turbidity	Degree of cloudiness because of small particles from adding Korean	keep dried persimmon steeped in water = 5.0 (flavor)	
Turbidity	date or dried persimmon	Soak 200 g Dried-Persimmon in 70℃ 500 mL water for 2 hours	

(3) 수정과 묘사 분석

(가) 시료 준비 및 제시

본 실험에서는 총 6가지 수정과를 시료로 사용하였다. S-PH, S-sugar, S-scFOS, stevia와 S-stevia, S-cbn, 그리고 시판되고 있는 비락수정과 캔음료(㈜팔도, Chungcheongbuk-do, Korea)를 Positive control로 사용하였고, Positive control을 제외한 모든 수정과는 평가전 48시간 이내에 제조하여 평가시까지 냉장보관(4℃) 하였으며, 실험 2시간 전 냉장고에서 꺼내어 실온에 보관하였다. 평가시에는 하얀색 민무늬 종이컵(2.3x2.3x17.2 inches)에 일정량(20.0 mL)을 담아 제시하였다. 시료 평가시 입안을 헹굴 수 있도록 생수 500 mL 삼다수(제주특별자치도개발공사, Jeju-do, Korea)와 크래커(Crich, Nuova Industria Biscottispa, Italy)를 함께 제시하였다.



Figure 2-1. Sujeonggwa samples used for the descriptive sensory evaluation

(나) 수정과 특성 평가

훈련과정 중 개발된 특성들에 대해서 외관, 맛, 향미, 후미 순으로 15점 항목 척도(1점 =none ~ 15점 = strong)를 사용하여 수정과의 특성별로 모든 시료에 대해 강도를 표시하게 하였다. 각시료 컵에 난수표에서 추출한 세 자리 숫자를 표기 하였고, 라틴 스퀘어 디자인(Jaeger SR 등 1998, Drake MA 등 2005)에 따른 순서대로 제시하여 시료 제시 상에 오류를 방지 하도록 하였다. 관능검사 요원들에게 서로 다른 시료를 한 번에 하나씩 제공하였고 크래커와 물을 제공하여 한 시료평가마다 물 또는 크래커로 입을 헹궈 주도록 하였다. 필요에 따라 이미 평가했던 시료를 다시 맛보고 점수를 수정 할 수 있게 하였다. 칸막이가 있는 개인검사대에서 실험을 진행하였으며 검사는 감각이 피로하지 않는 오전 10시에 시작하였다. 평가는 3회 반복하여 수행하였다.

(4) 통계 분석

통계분석은 SAS® Software 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하였고, 분산분석 (analysis of variance, ANOVA) 절차를 사용하였다.

(5) 묘사분석 결과

개발한 묘사분석용어를 이용하여 6가지 수정과 시료의 향미특성을 평가한 결과는 Figure 2-2와 Table 2-4에 나타내었다. 분산분석을 한 결과, 대부분의 향미특성이 시료 간에 p value<0.05에서 유의성이 있었고, 짠맛(salty), 합성감미료(Artificial Sweetener), 대추(Dried Jujube Aromatics)는 시료 간에 유의성이 없었다.

단맛은 S-sugar, S-PH, S-scFOS 시료 간에 유의적인 차이가 없었다. S-stevia와 S-cbn는 단맛이 유의적으로 낮게 평가되었는데, S-stevia에서는 천연감미료로 포함된 스티비아의 쓴맛이 단

맛을 억제하기 때문으로 생각되며, S-cbn에서는 탄산으로 인해 단맛이 억제되는 현상으로 사료된다. 쓴맛의 경우, 강도는 약하였지만, S-stevia가 가장 높았고, Positive control이 가장 낮았다. 그러나 S-stevia의 쓴맛은 S-scFOS, S-sugar의 쓴맛과 유의적인 차이는 없었다. 떫은맛의 경우, Positive control은 다른 시료와 비교하여 유의적으로 낮았다. 신맛의 경우, 시료 간 유의적인 차이는 있었지만, 모든 시료가 15점 척도에서 1.5 이하의 낮은 강도를 나타내었다.

계피향과 생강향 및 재료에서 유래된 매운 맛은 Positive control과 S-cbn이 나머지 시료 4종류에 비해 유의적으로 낮았다. 곶감향은 S-PH에서만 발견되었다. 수정과의 색은 큰 차이를 보였는데, Positive control의 색이 가장 짙었고, 시료간의 유의적인 차이도 크게 나타났다. 탄산은 S-cbn에서만 약한 정도로 감지되었다. 농도는 당도가 가장 높고, 곶감 우린 물이 들어간 S-PH에서 가장 높았고, Positive control과 S-cbn이 가장 낮았다. 탁한 정도는 S-PH가 가장 높았고, 나머지 시료 사이에서는 강도의 차이가 없었다.

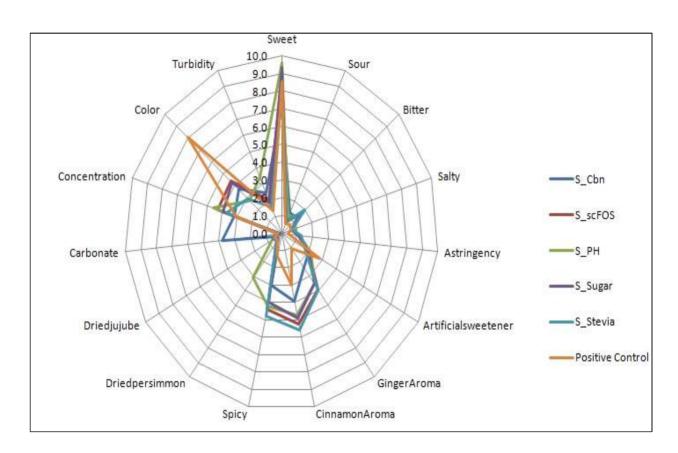


Figure 2-2. Descriptive evaluation of six Sujeonggwa samples

Table 2-4. Mean intensity of six Sujeonggwa samples.

Attribute	Positive control	S-scFOS	<i>S</i> -sugar	S-Cbn	<i>S</i> -S
Sweet	8.5 bc	8.8 ab	9.3 a	7.2 d	7.9
Sour	0.6 с	0.7 c	0.8 bc	1.2 a	0.
Bitter	0.7 c	1.8 ab	1.7 ab	1.3 b	2.
Salty	0.6	0.7	0.6	0.7	
Astringency	0.4 b	1.0 a	1.1 a	1.1 a	1.
Artificial sweetener	2.8	2.0	2.0	2.0	
Ginger Aromatics	1.1 c	3.9 a	3.5 a	2.4 b	3.
Cinnamon Aromatics	3.0 d	5.2 ab	4.9 ab	3.9 c	5.
Spicy	1.4 d	4.4 ab	4.0 b	3.0 c	4.
Dried persimmon	0.4 b	0.5 b	0.5 b	0.4 b	0.
Dried jujube	0.5	0.4	0.7	0.4	
Carbonation	0.3 b	0.2 b	0.1 b	3.8 a	0.
Concentration	3.0 b	4.3 a	3.9 ab	3.1 b	3.′
Color	8.1 a	4.4 b	4.3 bc	3.7 c	2.
Turbidity	1.4 c	2.0 bc	1.9 bc	2.5 b	1.

3. 국내·외국인을 대상으로 수정과의 cross-culture 소비자 조사

가. 소비자 기호도 조사

(1) 소비자 평가워 모집

한국에서 실시한 기호도 조사에 참여할 소비자는 부산대학교 홈페이지를 통해 한국인 100명 그리고 중국 유학생 51명을 모집하였다. 미국에서 실시한 기호도 조사에 참여할 소비자는 Philadelphia시에 거주하는 시민 93명을 모집하였다. 본 소비자 기호도 조사의 전 과정은 부산대학교 생명윤리위원회(Pusan National University-Institutional Review Board, PNU-IRB, Approval Number PNU IRB/2014_06_HR)의 심의 승인 후 수행되었다.

(2) 시료 준비 및 제시

설탕 및 설탕 대체제(꿀, Stevia, scFOS)로 제조한 수정과 5 종류와 시판수정과 1 종, 총 6 종류의 시료를 사용하여 소비자 조사를 실시하였다. 한국인과 중국인을 대상으로 한 소비자 조사는 한국에서 실시하였고, 미국인을 대상으로 한 소비자 조사는 미국 필라델피아 현지에서 실시하였다. 1) 한국에서 실시한 소비자 조사를 위해 수정과는 제조한 후 냉장보관(4℃) 하였다가평가 당일 2시간 전에 냉장고에서 꺼내어 실온에 보관한 후 소비자에게 제공하였다. 제조한 수정과 시료는 48시간을 넘기지 않았다. 2) 미국 현지에서의 소비자 조사를 위해 한국에서 수정과를 제조한 후 즉시 고온상태에서 병입하여 냉동시키고, 이를 미국으로 냉동 배송하였다. 소비자 조사 전에 냉장 온도에서 해동하여 냉장 보관(4℃)하였다. 해동 후 냉장 보관시간이 48시간을 경과하지 않도록 하여 한국 소비자를 대상으로 제공한 수정과 시료와 동일한 조건이 되도록 유의하였다. 소비자 조사 당일, 시료 제공을 위해 2시간 전부터 실온에 보관하였다.

수정과 시료는 하얀색 민무늬 종이컵(2.3x2.3x17.2 inches)에 일정량(20.0 mL)의 수정과를 담았다. 시료 번호는 난수표에서 추출한 세 자리 숫자를 사용하였고, 라틴 스퀘어 디자인(Jaeger SR 등 1998, Drake MA 등 2005)을 사용하여 시료의 제공 순서를 정하였다. 한국에서 실시한소비자 조사에서는 생수 500 mL(삼다수,제주특별자치도개발공사, Jeju-do, Korea)와 크래커(Crich, Nuova Industria Biscottispa, Italy)를 제공하여 각 시료 평가 사이에 입을 헹구고 크래커를 섭취하여 이전 시료의 잔여 맛 및 향을 제거하였다. 미국에서 실시한소비자 조사에서 물과크래커를 동일량 제공하였으나 현지에서 구입할 수 있는 생수(PureLife, Nestle, North America INC, Stamford, USA)와 크래커(Premium Rounds Unsalted Tops Saltine Crackers, Nabisco division, Kraft foods, USA)를 사용하였다.

(3) 기호도 평가 항목

전체 기호도(Overall liking), 외관 기호도(Appearance liking), 향미 기호도(Flavor liking), 단맛기호도(Sweet liking), 식후 음료 기호도(Dessert liking)는 9점 척도법(1=굉장히 싫어한다, 5=좋아하지도 싫어하지도 않는다, 9=굉장히 좋아한다)을 사용하여 평가하였고, 단맛, 쓴맛, 톡 쏘는맛, 계피향 강도의 적절성에 대한 평가는 5점 Just-about-right(JAR) 척도(1점=너무 ~하지 않다, 3점=적당하다, 5점=너무 ~하다)를 (Yeh and others 1998) 사용하여 평가 하였다.

(4) 통계 분석

통계분석은 SAS® Software 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하여 기호도 평가항목은 분산분석(analysis of variance, ANOVA)을 하였고, 한국과 미국 소비자 데이터를 이용하여전반적인 기호도에 따라 소그룹으로 나뉘는 지 알아보고자 군집분석(cluster analysis)을 실시하였다. XLSTAT (Addinsoft, New York, NY, USA)을 이용하여, 단맛의 Just about right 질문의 응답은 '단맛이 너무 강하다 ', ' 적당하다 ', ' 단맛이 너무 낮다 ' 세 그룹으로 나누었고 각 그룹에 속하는 소비자 전반적인 기호도의 평균을 비교하는 Penalty analysis를 실시하였다.

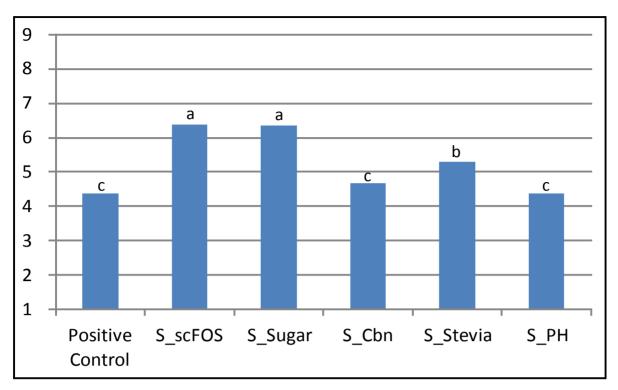
(5) 소비자 기호도 조사 결과

(가) 한국 소비자의 수정과 기호도

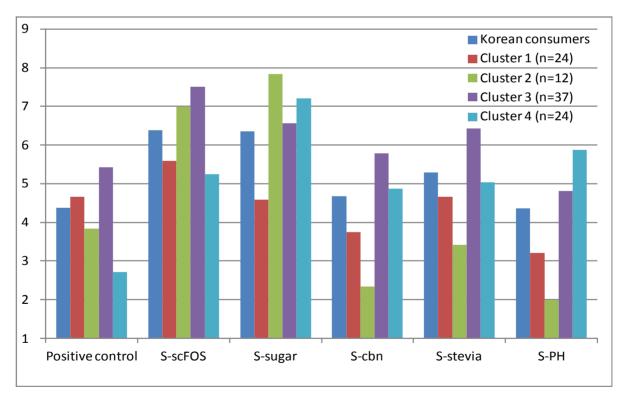
Figure 2-3(a)는 한국 소비자 100명의 수정과 6종류에 대한 전반적인 기호도 평가 결과이다. 기능성 수정과인 S-scFOS와 S-sugar가 가장 높은 선호도를 보였으며, 기능성 수정과인 S-stevia도 Positive control에 비해 유의적으로 높은 기호도를 나타내었다. S_PH와 S_cbn은 Positive control와 전반적인 기호도 평가에 유의적인 차이가 없었다. Figure 2-3(b)에는 군집분석 결과를 나타내었다. 한국 소비자는 크게 4집단으로 나뉘어졌는데, Cluster 1에 속하는 소비자 24명은 전반적으로 수정과를 좋아하지 않았고, 유일하게 기능성 수정과인 S-scFOS에만 약간 좋아하는 기호도를 보였다. Cluster 2 (n=12)의 소비자는 S-scFOS와 S-sugar는 아주 좋아하였고, 나머지 시료는 약간 싫어하였다. Cluster 3에 속하는 소비자는 37명으로 S-scFOS의 기호도가 적당히 좋아한다로 가장 높았다. Cluster 4(n=24)는 S-sugar와 S-PH를 좋아하였고, S-scFOS, S-stevia, S-cbn에는 좋아하지도 싫어하지도 않는다고 응답하였으나, Positive control은 싫어하였다. S-scFOS는 S-sugar와 같이 두 집단에서 기호도 7점 이상을 받아 기능성 수정과이면서 기호성도 갖춘 것을 알 수 있다.

Table 2-5에는 전반적인 기호도, 외관에 대한 기호도, 향미에 대한 기호도, 단맛에 대한 기호도 결과를 나타내었고, Table 2-6는 소비자의 인적사항을 정리한 결과이다.

Figure 2-4에는 Just About Right Scale을 사용하여 수정과의 단맛 특성에 대하여 소비자가 제안하는 개선점을 나타내었다. S-sugar 시료의 경우 소비자의 60% 가량이 단맛이 적당하다고 답하였으며, 33% 정도는 단맛이 너무 강하다고 하였으나 기호도의 감소폭은 작은 편이었다. 단맛이 너무 약하다고 응답한 소비자의 비율은 매우 낮았다. S-scFOS 시료는 약 50%의 소비자가 단맛이 적당하다고 하였으며 적당하다고 응답한 소비자의 기호도 평균과 비교하였을 때 너무 달다고 응답한 소비자의 기호도는 평균 0.8점이 감소하였고 약 40%의 소비자가 너무 달다고 답하였다. 약 10%의 소비자는 단맛이 약하다고 대답하였지만 기호도는 적당하다고 한 소비자에 비해 0.5점 정도 상승하였다. 이 경우 소비자의 숫자가 적어서 통계적인 유의성을 검증하기에는 적당하지 않지만 sc-FOS의 첨가가 소비자의 단맛에 대한 감각에 영향을 미치는 것을 알 수 있으며 이 부분은 추가 연구가 필요한 분야이다. S-stevia 시료는 47%의 소비자가 단맛이 적당하다고 답하였으나 35%는 단맛이 낮다고 하였고 기호도가 0.8점 낮았다.



(a) Overall acceptability of Sujeonggwa samples and its significant differences by Korean consumers



(b) Overall acceptability of Sujeonggwa samples by Korean consumers (n=100) and its four clusters

Figure 2-3. Acceptability of Sujeonggwa samples by Korean consumers (n=100)

 $^{^{\}text{a-c}}\textsc{Data}$ with different letters are significantly different at p<0.05

Table 2-5. Korean consumers' ratings on overall acceptability, appearance, flavor, sweetness, and the beverage as a dessert.

Korean	Overall	Appearance	Flavor	Sweetness	Dessert
Consumer	Liking	Liking	Liking	Liking	Liking
Positive control	4.4 c	5.7 b	4.4 c	5.1 c	4.3 c
S-scFOS	6.4 a	6.2 a	6.4 a	6.4 a	6.5 a
S-sugar	6.4 a	6.2 a	6.4 a	6.4 a	6.5 a
S-cbn	4.7 c	4.7 c	4.9 c	5.2 bc	4.7 c
S-stevia	5.3 b	5.6 b	5.6 b	5.6 b	5.3 b
S-PH	4.4 c	5.2 d	4.4 c	5.0 с	4.2 c
LSD	0.52	0.42	0.52	0.49	0.55

(나) 한국인 소비자의 일반사항

Table 2-6에서 보면 한국인 소비자의 경우 성별은 남자가 30.3% 여자가 66.6% 로 여성의 비율이 높았다. 참여한 소비자의 연령대는 18세 이상 25세 이하가 49명으로 가장 높았으며 20대 초 중반 참여자가 많았다. 수정과 음료의 섭취 비율은 '한 달에 한번 섭취한다.'라고 응답한 사람이 31명으로 가장 높게 나타났으나, 실험에 참여한 소비자의 50%정도가 한 달에 한번, 또는 3달에 한번 수정과를 소비한다고 대답하여, 수정과의 섭취 빈도가 높지 않은 것을 알수 있다. 수정과 음료의 섭취 형태는 '식당에서 섭취한다.'라고 응답한 사람이 85명으로 나타났다. 한국 소비자는 '탄산을 주입한 수정과를 구입하겠습니까?'라는 질문에 42명이 긍정적으로 응답하였다. 또한, 단맛을 줄였거나 칼로리가 낮은 수정과에 대해서는 과반수이상의 소비자가 구매할 의향이 있다고 답하였다. 한국인 소비자는 음료를 선택할 때 맛과 가격을 가장중요시하는 것으로 나타났다.

Table 2-6. General characteristics of the Korean consumers

	Korean (n=100)	
	Gender (Male/Female)	30/66
	18-25 years old	49
	26-35 years old	27
Ago (yooro)	36-45 years old	6
Age (years)	46-55 years old	4
	56-65 years old	7
	Older than 66 years old	5
	Once a day	2
	2-3 times a week	6
Frequency of Sujeonggwa	Once a week	22
beverage consumption	Once a month	31
	Once in 3 month	25
	Once in 6 month	7

	Once a year	3
	Never tried	0
	non-response	4
	Once a day	11
	2-3 times a week	7
	Once a week	14
Frequency of ginger beverage	Once a month	25
consumption	Once in 3 month	21
onoumption	Once in 6 month	10
	Once a year	7
	Never tried	0
	non-response	4
	Canned	19
	Coffee shop or tea house	14
	Food court	11
Type of Sujeonggwa consumed	Bottled	6
	Restaurant	83
	Other	2
	non-response	3
	Large grocery store	18
	Small grocery store	8
	Convenience store	9
4:	Vending machine	6
cocation	I make my own beverages	25
f Sujeonggwa purchased	I order it at the coffee shop or tea house	19
	I order it from restaurant	65
	I do not purchase beverages	21
	non-response	3
	Definitely would purchase	5
	Probably would purchase	15
Purchase intent of carbonated	Might purchase	22
Sujeonggwa	Probably would not purchase	27
	Definitely would not purchase	13
	non-response	3
	Definitely would purchase	6
	Probably would purchase	35
Purchase intent	Might purchase	39
f reduced calorie Sujeonggwa	Probably would not purchase	14
	Definitely would not purchase	2
	non-response	3
Purchase intent	Definitely would purchase	7
of reduced sweetness	Probably would purchase	25
Sujeonggwa	Might purchase	35

	— Probably would not purchase	24
	Definitely would not purchase	4
	non-response	3
	Price	62
	Functionality (Good for health)	53
	Weather	27
	Taste	77
	Time of the day	13
	Food Additives	31
Consideration	Calorie	33
of choosing beverage	Nutritional Label	25
	Shelf Life	36
	Carbonation	25
	Packaging	24
	Other	9
	non-response	3

S-Sugar

	Too high	Target average	6.21
		Population size %	33.33%
		Population size	33
	Too low	Target average	5.56
Sweetness		Population size %	9.09%
		Population size	9
	Just right	Target average	6.54
		Population size %	57.58%
		Population size	57

S-scFOS

		Target average	5.88
	Too high	Population size %	41.41%
		Population size	41
	Too low	Target average	7.10
Sweetness		Population size %	10.10%
		Population size	10
		Target average	6.63
	Just right	Population size %	48.48%
		Population size	48

S-stevia

		Target average	5.39
	Too high	Population size %	18.37%
		Population size	18
	Too low	Target average	4.79
Sweetness		Population size %	34.69%
		Population size	34
	Just right	Target average	5.59
		Population size %	46.94%
		Population size	46

Figure 2-4. Just-about-right evaluation of Korean consumers' perceived intensity of sweetness in *Sujeonggwa*

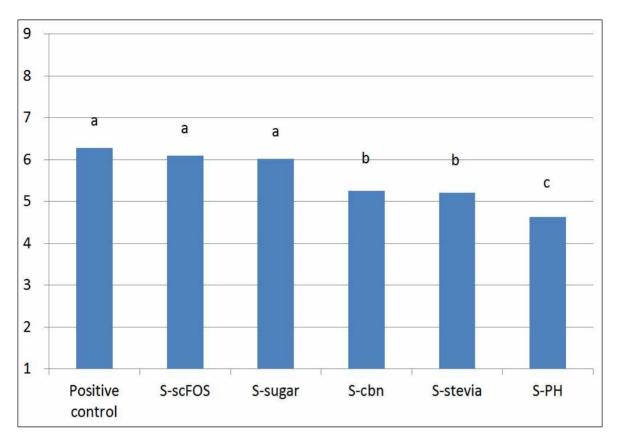
(다) 미국 소비자의 수정과 기호도

Figure 2-5(a)에 미국 소비자 93명의 수정과 6종류에 대한 전반적인 기호도 평가 결과를 나타내었다. Positive control, S-scFOS, S-sucrose의 기호도가 높았고, 세 시료 간에 유의적인 차

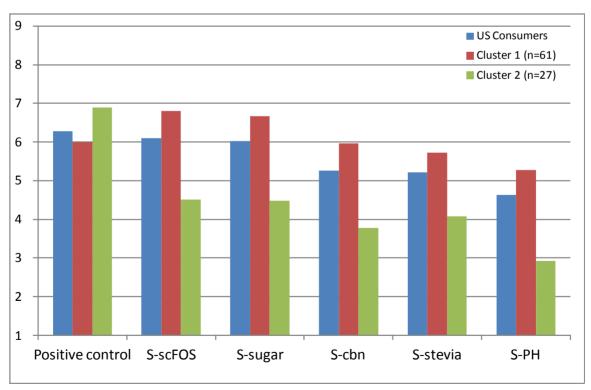
이는 없었다. S-cbn와 S-stevia는 5점을 약간 상회하는 점수로 좋아하지도 싫어하지도 않는다는 평가를 받았다. S-PH의 경우 기호도가 가장 낮게 평가되었는데, 이는 곶감의 첨가에 의한색의 차이(밝아짐)와 높은 당도 때문으로 사료된다. Figure 2-5(b)에는 군집분석 결과를 나타내었다. 미국 소비자는 2집단으로 나뉘어졌는데, Cluster 1에 속하는 소비자 61명은 S-scFOS, S-sugar, Positive control, S-cbn의 순서로 좋아하였다. 반면 Cluster 2에 속하는 소비자 27명은 Positive control만 좋아하였고, 나머지 다섯 종류의 시료는 약간 싫어하였다. 본 연구에서 개발된 S-scFOS와 S-stevia의 건강기능성과 S-scFOS, S-sugar와 S-cbn의 기호성은 Cluster 1에 속하는 소비자와 비슷한 성향을 가진 미국 소비자에게 기호성 음료 또는 후식으로 세계화될 가능성이 높을 것으로 기대된다.

Table 2-7에는 외관에 대한 기호도, 향미에 대한 기호도, 단맛에 대한 기호도 결과를 나타내었고, Table 2-7에는 소비자의 인적사항을 정리하였다.

Figure 2-6에는 Just About Right Scale을 사용하여 수정과의 단맛 특성에 대하여 미국 소비자가 제안하는 개선점을 나타내었다. 단맛이 적당하다고 느끼는 비율은 한국 소비자들과 비슷하였으나, 부족하다거나 많다고 느끼는 비율은 차이가 있었다. S-sugar의 경우 소비자의 60%가단맛이 적당하다고 답하였으며, 23% 정도는 단맛이 너무 강하다고 평가하였고 기호도가 1.3점 감소하였다. 단맛이 너무 약하다고 한 소비자의 비율은 17%였으며 기호도는 1.8점 감소하였다. S-scFOS는 약 50%의 소비자가 단맛이 적당하다고 대답하였으며 이들의 기호도 평균은 6.7이었다. 단맛이 적당하다고 한 소비자의 기호도 평균과 비교하여 너무 달다고 응답한 소비자의 기호도는 평균 1.1점이 감소하였다. 약 29%의 소비자가 너무 달다고 답하였다. 약 20%의 소비자가 단맛이 약하다고 대답하였으며 인터에 1.5점 감소하였다. S-stevia는 40%의 소비자가 단맛이 적당하다고 답하였으나 22%는 너무 달다고 하였고 기호도가 1점 감소하였으며, 35%의 소비자는 단맛이 낮다고 응답하였고 기호도가 0.7점 감소하였다. 미국 소비자의 경우, 대체적으로 너무 달다고 느끼는 소비자들보다는 단맛이 부족하다고 느끼는 경우에 기호도의 감소폭이 더 큰 것으로 나타났다.



(a) Overall acceptability of Sujeonggwa samples and its significant differences



(b) Overall acceptability of Sujeonggwa samples by US consumers (n=93) and its two clusters

Figure 2-5. Acceptability of Sujeonggwa samples by US consumers (n=93)

 $^{^{\}mathrm{a-c}}\mathrm{Data}$ with different letters are significantly different at p<0.05

Table 2-7. US consumers' ratings on overall acceptability, appearance, flavor, sweetness, and the beverage as a dessert.

	Overall	Appearance	Flavor	Sweetness	Dessert
	Liking	Liking	Liking	Liking	Liking
Positive control	6.3 a	6.9 a	6.4 a	6.2 a	5.7 a
S-scFOS	6.1 a	6.5 b	6.2 a	5.9 ab	5.4 ab
S-sugar	6.0 a	6.3 b	5.9 ab	5.9 ab	5.1 b
S-cbn	5.3 b	6.1 b	5.4 bc	5.6 bc	4.3 c
S-stevia	5.2 b	6.2 b	5.1 cd	5.3 cd	4.2 c
S-PH	4.6 c	5.1 c	4.6 d	5.0 d	4.0 c
LSD	0.54	0.38	0.53	0.53	0.54

(라) 미국인 소비자의 일반사항

미국인 소비자의 경우 성별은 남자가 41.9% 여자가 56.9%로 여성의 비율이 약간 높았다 (Table 2-8). 참여한 소비자의 연령대는 18세 이상 25세 이하가 63명으로 가장 높았으며 한국과 마찬가지로 20대 초 중반의 소비자가 많이 참여하였다. 계피 또는 생강 음료의 섭취 비율을 조사 해 봤을 때 '세 달에 한번 섭취한다.'라고 응답한 사람이 각각 19명과 23명으로 가장높게 나타났으며 계피와 생강 음료의 섭취 형태는 '병 음료로 섭취한다.'를 응답한 사람이 89명으로 나타났다. 한국 소비자의 경우와는 다르게 '탄산을 주입한 수정과를 구입하겠습니까?'라는 질문에 28명이 구입할 것이라고 답하였고, 35명이 '어쩌면 구입할 것이다.'라고 응답하였다. 미국인 소비자는 탄산수정과의 구매의향이 있는 것으로 나타났다. 미국 소비자도한국 소비자와 같이 '단맛과 열량을 줄인 수정과를 구입하겠습니까?'는 질문에 긍정적으로 응답한 사람들이 과반수이상으로 나타났다. 한국인 소비자와 같이 미국인 소비자도 음료를 선택할 때 맛과 가격을 가장 중요시하는 것으로 나타났다.

Table 2-8. General characteristics of the US consumers.

	Items	US consumer
		(n=93)
Gende	er (Male/Female)	39/53
-	18-25 years old	63
	26-35 years old 36-45 years old	15 5
Age (years)	46-55 years old	6
	56-65 years old	4
-	Older than 66 years old	0
	Once a day	17
	2-3 times a week	12
	Once a week	9
	Once a month	17
Frequency of cinnamon beverage	Once in 3 month	19
consumption	Once in 6 month	14
	Once a year	5
	Never tried	0
	non-response	1
	Once a day	9
	2-3 times a week	11
	Once a week	5
	Once a month	22
requency of ginger	Once in 3 month	23
everage consumption	Once in 6 month	14
		9
	Once a year Never tried	
		0
	non-response	1
	Canned	62
	Coffee shop or tea house	78
Beverage forms consumed in last	Food court	60
months	Bottled	89
	Restaurant	85
	Other	6
	non-response	1
	Large grocery store	75
	Small grocery store	41
	Convenience store	52
	Vending machine	22
Purchase of beverage	I make my own beverages	40
-	I order it at the coffee shop or tea house	54
	I order it from restaurant	55
	I do not purchase beverages	1
	non-response	1
Purchase intent of carbonated	Definitely would purchase	8

	Probably would purchase	20
	Might purchase	35
Sujeonggwa	Probably would not purchase	20
	Definitely would not purchase	9
	non-response	1
	Definitely would purchase	5
	Probably would purchase	18
Purchase intent	Might purchase	29
of reduced calorie <i>Sujeonggwa</i>	Probably would not purchase	25
	Definitely would not purchase	15
	non-response	1
	Definitely would purchase	5
Purchase intent	Probably would purchase	25
of reduced sweetness	Might purchase	28
	Probably would not purchase	22
Sujeonggwa	Definitely would not purchase	12
	non-response	1
	Price	90
	Functionality (Good for health)	66
	Weather	45
	Taste	93
	Time of the day	39
Consideration	Food Additives	36
	Calorie	40
for choosing beverage	Nutritional Label	38
	Shelf Life	15
	Carbonation	45
	Packaging	25
	Other	11
	non-response	1

S-sugar

	Too high	Target average	5.38
		Population size %	22.83%
		Population size	21
	Too low	Target average	4.81
Sweetness		Population size %	17.39%
o weethess		Population size	16
	Just right	Target average	6.62
		Population size %	59.78%
		Population size	55

S-scFOS

		Target average	5.64
	Too high	Population size %	29.17%
		Population size	28
	Too low	Target average	5.16
Sweetness		Population size %	19.79%
o weethese		Population size	19
		Target average	6.71
	Just right	Population size %	51.04%
		Population size	49

S-stevia

	Too high	Target average	4.67
		Population size %	22.58%
		Population size	21
	Too low	Target average	5.00
Sweetness		Population size %	35.48%
Owecuress		Population size	33
		Target average	5.69
	Just right	Population size %	41.94%
		Population size	39

Figure 2-6. Just-about-right evaluation of US consumers' perceived intensity of sweetness in *Sujeonggwa*

(마) 동양계 소비자의 수정과 기호도

Figure 2-7 에 동양계 소비자 51명이 수정과 6종류에 대한 전반적인 기호도 평가 결과를 나타내었다. Positive control과 S-sugar의 기호도가 상대적으로 높았고, 두 시료 간에 유의적인

차이는 없었다. S-scFOS, S-cbn와 S-stevia는 5점 정도로 좋아하지도 싫어하지도 않는다는 평가를 받았다. S-PH는 기호도가 가장 낮게 평가되었다.

Table 2-9에는 외관에 대한 기호도, 향미에 대한 기호도, 단맛에 대한 기호도 결과를 나타내었고, Table 2-9에는 소비자의 인적사항을 정리하였다.

Figure 2-8에는 Just About Right Scale을 사용하여 수정과의 단맛 특성에 대하여 동양계 소비자가 제안하는 개선점을 나타내었다. S-sugar의 경우 소비자의 61% 가 단맛이 적당하다고 답하였으며, 28% 정도는 단맛이 너무 강하다고 하였으나 기호도의 감소폭은 작은 편이었다. 단맛이 너무 약하다고 한 소비자의 비율은 10% 정도로 낮았다. S-scFOS는 약 50%의 소비자가 단맛이 적당하다고 하였으며 적당하다고 한 소비자의 기호도 평균과 비교하여 너무 달다고 응답한 소비자의 기호도는 평균 0.9점이 감소하였다. 약 36%의 소비자가 너무 달다고 답하였다. 약 14%의 소비자는 단맛이 약하다고 대답하였고 기호도는 적당하다고 한 소비자에 비해 1.5점정도 감소하였다. 이는 한국 소비자의 결과와 상반되는 것으로 sc-FOS의 첨가가 소비자의 단맛에 대한 감각에 영향을 미치는 것에 대해 문화적 배경이 다른 소비자들이 기호도가 다르게나타나는 것을 관찰할 수 있으며 이 부분 역시 추가 연구가 필요한 분야이다. S-stevia 시료는 46%의 소비자가 단맛이 적당하다고 답하였으나 38%의 소비자는 단맛이 높다고 답하였고, 기호도는 소폭 상승하였다. 소비자의 16%는 단맛이 낮다고 하였고 기호도가 단맛이 적당하다고 답한 소비자의 기호도와 비교하여 1점 낮았다.

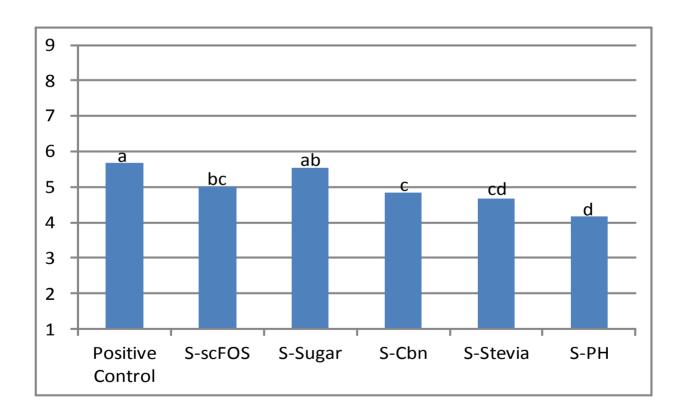


Figure 2-7. Acceptability of Sujeonggwa samples by Asian consumers (n=51)

^{a-d}Data with different letters are significantly different at p<0.05

Table 2-9. Asian consumers' ratings on overall acceptability, appearance, flavor, sweetness, and the beverage as a dessert.

	Overall	Appearance	Elever Liling	Sweetness	Dessert
	Liking	Liking	Flavor Liking	Liking	Liking
Positive control	5.68 a	5.96 a	5.39 a	5.96 a	5.12 a
S-scFOS	5.02 bc	5.43 b	5.31 ab	5.20 bc	4.41 bc
S-sugar	5.53 ab	5.51 ab	5.47 a	5.49 ab	4.92 ab
S-cbn	4.84 c	4.73 c	4.78 b	5.22 bc	4.45 ab
S-stevia	4.68 cd	5.33 b	5.20 ab	5.06 bc	4.41 bc
S-PH	4.18 d	5.10 bc	4.88 ab	4.67 c	3.75 c
LSD	0.65	0.51	0.59	0.66	0.68

(바) 동양계 소비자의 일반사항

동양계 소비자의 경우 성별은 남자가 29.4% 여자가 70.6% 로 여성의 비율이 높았다(Table 2-10). 참여한 소비자의 연령대는 18세 이상 25세 이하가 32명으로 가장 높았다. 수정과 음료의 섭취 비율은 '전혀 섭취 하지 않는다.'라고 응답한 사람이 19명 가장 높게 나타났으며계피와 생강 음료의 구입 형태는 '편의점을 이용한다.'라고 응답한 사람이 20명 이었다. 미국인 소비자의 경우와 같이 '탄산을 주입한 수정과를 구입하겠습니까?'라는 질문에 33명이 긍정적으로 응답하였다. 동양계 소비자는 '단맛' 또는 '열량'을 줄인 수정과를 구입하겠습니까?'는 질문에 '구입할 것이다.'라고 응답한 사람들이 각각 41명, 39명으로 나타났다. 동양계 소비자는 음료를 선택할 때 기능성, 맛과 브랜드를 가장 중요시하는 것으로 나타났다.

Table 2-10. General characteristics of the Asian consumers

	Items	Asian
	1 (M.1.17)	(n=51)
	ender (Male/Female)	15/36 (%)
Age (years)	18-25 years old 26-35 years old 36-45 years old 46-55 years old 56-65 years old	14 0 0 0
	Older than 66 years old	0
	Once a day	19
	2-3 times a week	1
	Once a week	3
Programmy of Chican game	Once a month	6
Frequency of Sujeonggwa	Once in 3 month	11
peverage consumption	Once in 6 month	4
	Once a year	2
	Never tried	0
	non-response	5
	Once a day	21
	2-3 times a week	2
	Once a week	48
	Once a month	10
Frequency of ginger tea	Once in 3 month	1
peverage consumption	Once in 6 month	0
	Once a year	0
	Never tried	0
	non-response	5
	Canned	3
	Coffee shop or tea house	5
o	Food court	16
Consumption	Bottled	11
of Sujeonggwa forms	Restaurant	20
	Other	8
	non-response	5
	Large grocery store	15
	Small grocery store	2
	Convenience store	20
	Vending machine	5
	I make my own beverages	1
Purchase of <i>Sujeonggwa</i>	I order it at the coffee shop or tea house	6
	I order it from restaurant	11
	I do not purchase beverages	10
	non-response	5

	Definitely would purchase	4
	Probably would purchase	10
Purchase intent of carbonated	Might purchase	19
Sujeonggwa	Probably would not purchase	9
	Definitely would not purchase	4
	non-response	5
	Definitely would purchase	6
	Probably would purchase	20
Purchase intent	Might purchase	15
of reduced calorie Sujeonggwa	Probably would not purchase	5
	Definitely would not purchase	0
	non-response	5
	Definitely would purchase	4
	Probably would purchase	18
Purchase intent	Might purchase	17
of reduced sweetness Sujeonggwa	Probably would not purchase	7
	Definitely would not purchase	0
	non-response	5
	Price	19
	Functionality (Good for health)	28
	Weather	10
	Taste	4 2 2
	Time of the day Food Additives	2 14
Consideration	Calorie	20
for choosing beverage	Nutritional Label	27
	Shelf Life	9
	Carbonation	4
	Packaging	12
	Other	0
	non-response	5

S-Sugar

	Too high	Target average	5.57
		Population size %	28.57%
		Population size	14
	Too low	Target average	4.20
Sweetness		Population size %	10.20%
		Population size	5
	Just right	Target average	5.73
		Population size %	61.22%
		Population size	30

S-scFOS

	Too high	Target average	4.67
		Population size %	36.00%
		Population size	18
	Too low	Target average	4.00
Sweetness		Population size %	14.00%
		Population size	7
	Just right	Target average	5.56
		Population size %	50.00%
		Population size	25

S-stevia

	Too high	Target average	4.95
		Population size %	38.00%
		Population size	19
	Too low	Target average	3.75
Sweetness		Population size %	16.00%
		Population size	8
	Just right	Target average	4.78
		Population size %	46.00%
		Population size	23

Figure 2-8. Just-about-right evaluation of Asian consumers' perceived intensity of sweetness in *Sujeonggwa*

4. 국내 소비자를 대상으로 한 티백형 수정과차의 관능묘사분석 및 소비자 조사

가. 시장조사를 통한 신개념 티백형 수정과차 개발

국내외 시장을 통해 간편하게 섭취 할 수 있는 티백형 음료를 조사하였다. 국내의 경우 당분이 첨가되지 않은 티백형 음료 또는 차류가 많았고 당분이 첨가되어있는 음료는 대부분 가루형태 또는 액상형태로 물에 희석해서 마시는 종류가 시장을 점유 하고 있었다. 하지만 국외의경우에는 티백형 형태임에도 당분이 첨가되어있는 것들이 많이 있었으며 이런 제품들이 대중화 되어 손쉽게 당분이 첨가되어있는 제품을 구매할 수 있었다.

이에 본 연구에서 수정과의 주재료인 생강, 계피를 사용하고 여기에 설탕 또는 대체감미료를 첨가한 티백형 수정과를 제조하여 수정과 맛을 내면서 손쉽게 섭취할 수 있는 티백형 수정과 를 개발하고자 하였다.











국내 제품

국외 제품

- 나. 티백형 수정과차 레시피 개발
- (1) 설탕을 사용한 티백형 수정과차
- 8 g 설탕 사용한 티백형 수정과차(ST_sugar_L)
- 1. 시판되는 동결 건조 생강 0.75 g 과 계피 가루 0.5 g을 티백에 넣는다.
- 2. 설탕 8 g(흑설탕 2.7 g, 백설탕 5.3 g)을 넣은 뒤 이중 티백을 한 뒤 밀봉하여 실온에 보관한다.









- 12 g 설탕 사용한 티백형 수정과차(ST_sugar_H)
 - 1. 시판되는 동결 건조 생강 0.75 g 과 계피 가루 0.5 g을 티백에 넣는다.
 - 2. 설탕 12 g(흑설탕 4 g, 백설탕 8 g)을 넣은 뒤 이중 티백을 한 뒤 밀봉하여 실온에 보관 한다.









(2) 설탕 대체재를 사용한 기능성 티백형 수정과차

- stevia 티백형 수정과차(ST_stevia)
- 1. 시판되는 동결 건조 생강 0.75 g 과 계피 가루 0.5 g을 티백에 넣는다.
- 2. 설탕 4 g(흑설탕 1.33 g, 백설탕 2.67 g)과 stevia 0.16 g을 넣은 뒤 이중 티백을 한 뒤 밀 봉하여 실온에 보관한다.









- scFOS 티백형 수정과차(ST_scFOS)
- 1. 시판되는 동결 건조 생강 0.75 g 과 계피 가루 0.5 g을 티백에 넣는다.
- 2. 설탕 6 g(흑설탕 2 g, 백설탕 4 g)과 scFOS 8 g을 넣은 뒤 이중 티백을 한 뒤 밀봉하여 실온에 보관한다.









(3) 시판되는 생강차(Ginger tea) 및 계피차(Cinnamon tea)

한국에서 판매되고 있는 분말 생강차((주) 담터, Gyeonggi-do, Korea)와 미국에서 구매한 티백형 계피차(Cinnamon Stick, R.C.BIGELOW, INC, FAIRFIELD, CT, USA)를 대조군으로 사용하였다.





다. 티백형 수정과차 제조에 사용된 재료

본 실험에 사용된 주재료와 부재료의 정보는 Table 2-11과 같다.

Table 2-11. The information of all ingredients used in Sujeonggwa in a tea bag

재료	브랜드 명	구입처
생수	삼다수 (제주특별자치도개발공사, Jeju-do, Korea)	이마트 인터넷 쇼핑몰
건조생강	산마을 건조생강(㈜산마을, 경상남도, Korea)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
계피가루	계피분(㈜움트리, Gyeonggi-do, Korea)	이마트 인터넷 쇼핑몰
백설탕	큐원 흰색설탕(㈜삼양사, Ulsan, Korea)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
흑설탕	큐원 흑설탕(㈜삼양사, Ulsan, Korea)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
Stevia	그린비아스위트(전원식품, Gyeonggi-do, Korea)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
short-chain		
frutooligosac	#71920 (Allergy Research Group, Alameda, USA)	Amazon 인터넷 쇼핑몰
charide		
티백	다시백(㈜티앤씨일렉트로닉스, Gyeonggi-do, Korea)	롯데 인터넷 쇼핑몰
플라스틱 컵	70*30mm 다용도 컵(㈜삼부팩, Gyeonggi-do, Korea)	삼부팩 인터넷 쇼핑몰
종이컵	120*120*255 340ml 종이컵 (㈜페리칸앤플러스, Korea)	롯데 인터넷 쇼핑몰
종이컵	Planet + 100% Compostable PLA Laminated Hot Cup, 4-Ounce (Stalkmarket, USA)	Amazon 인터넷 쇼핑몰
Tea filter	Finum 100 Tea Filters (Finum, USA)	Amazon 인터넷 쇼핑몰
전기포트	전기보온포트(쿠쿠홈시스, China)	홈플러스 인터넷 쇼핑몰
전기레인지	DO-3015(스위스밀리터리, China)	현대 백화점
당도계	AR 200 (Reichert Ophthalmic Instruments, Reichert, Inc. Depew, NY, USA)	Reichert, Inc.

라. 티백형 수정과차 제조 원가 산출 (24 티백/1상자)

본 연구에서 제조한 티백형 수정과차의 원가는 24티백 들이 1상자로 계산하였고, 표 2-12와 같다. 대량생산의 경우 계피가루, 건조 생강, 설탕, 티백 등의 원료를 보다 저렴한 가격으로 구매할 수 있어 경쟁력이 있을 것으로 사료된다. 특히 ST-scFOS 제조에 사용되는 sc-FOS의 경우원료 업체 Ingredion을 통하여 수입하면 제조원가를 낮출 수 있을 것으로 예상된다. 현재의 가격은 해외에서 소매로 구매한 원료의 가격으로 계산하였다.

Table 2-12. Price to produce Suieonggwa teabag samples in this study

재료	ST-sugar-L	ST-sugar-H	ST-stevia	ST-scFOS
계피 가루	189.6원	189.6원	189.6원	189.6원
건조 생강	1,034원	1,034원	1,034원	1,034원
흑설탕	132원	194.4원	64.8원	98.4원
백설탕	192원	288원	96원	144원
stevia			136.8원	
sc-FOS				6,874원
티백	1,056원	1,056원	1,056원	1,056원
총 생산원가	2 604 6]	2 762 0	2 570 0	0 206 ¢)
(24티백/1상자)	2,604원	2,762원	2,578원	9,396원

5. 티백형 수정과의 관능적 특성 표준 용어 및 척도 개발

가. 티백형 수정과의 관능적 특성 표준 용어 및 척도 개발

(1) 관능검사원 선정

티백형 수정과에 대한 묘사분석은 수정과 묘사분석에 참여하였던 관능검사원 5명을 선발하여 실험하였다.

(2) 묘사분석을 수행하기 위한 훈련

관능검사원 훈련에는 본 실험에 사용된 다양한 당도로 제조된 티백형 수정과와 시판중인 계 피 또는 생강차 등의 제품도 있었다. 티백형 수정과의 향미에 대한 묘사분석 용어는 수정과의 향미에 대한 묘사분석 용어를 참고하여 개발하였다(Seo and others 2002). 마지막 단계에서는 본 실험에서 표준화된 티백형수정과를 제시하여 티백형 수정과의 향미특성을 재정립하였다. 훈련을 통하여 개발된 묘사분석 용어는 Table 2-13에 나타내었다.

Table 2-13. Definitions and references of attributes for Sujeonggwa in a tea bag

Attributes	Definitions	Reference with intensity
		1% sucrose solution = 1.0 (flavor)
Constant	The fundamental taste of which	2% sucrose solution = 2.0 (flavor)
Sweet	sucrose in water is typical.	4% sucrose solution = 4.0 (flavor)
		6% sucrose solution = 6.0 (flavor)
Sour	The fundamental taste of which	0.15% citric acid solution= 1.5 (flavor)
Jour	citric acid in water is typical.	0.2% citric acid solution = 2.5 (flavor)
D'''	The fundamental taste of which	0.01% caffeine solution = 2.0 (flavor)
Bitter	caffeine in water is typical.	0.02% caffeine solution = 3.5 (flavor)
	The fundamental taste of which	0.15% sodium solution = 1.5 (flavor)
Salty	sodium in water is typical.	0.2% sodium solution = 2.5 (flavor)
	The fivedemental tests of velocity	0.03% alum solution = 1.5 (flavor)
Astringency	The fundamental taste of which alum in water is typical.	0.05% alum solution = 2.5 (flavor)
		2% stevia solution = 2 (flavor)
Artificial Sweetener	The fundamental taste of which	4% stevia solution = 4 (flavor)
3 weetellel	stevia in water is typical.	6% stevia solution = 6 (flavor)
	Cooked flavor of ginger ,bitter,	Ginger aroma = 7.5 (flavor)
Ginger aromatics	spicy complex harmonious flavor and aroma	Boiled 200g ginger slices in 2000 mL water for 1 hours on medium heat
	Delenged and compley flavor	Cinnamon = 7.5 (flavor)
Cinnamon aromatics	Balanced and complex flavor associated with boiled cinnamon, bitterness, and spiciness	Boiled 120g cinnamon stick in 2000 mL water for 1 hours on medium heat
	Spicy flavor comes from ginger and	Ginger = 7.5 (flavor)
Spicy	cinnamon	Cinnamon = 5.0 (flavor)
		Dried-jujube aroma = 5.0 (flavor)
Dried-jujube aromatics	The aroma associated with dried jujube (Korean date)	Boiled 100g Dried-jujube in 1000mL water
aromatics	jujuse morean date,	for 1 hours on medium heat
		5% Black sugar solution = 3.5
	Degree of brown color observed.	10% Black sugar solution = 7.5
Color	This was evaluated before oral evaluation	16% Black sugar solution = 10
		About 30mL of samples were provided in Plastic cups (45x45x50 mm)
Turbidity	Degree of cloudiness because of	keep dried persimmon steeped in water = 5.0 (flavor)
Turbidity	small particles from adding Korean date or dried persimmon	Soak 200 g Dried-Persimmon in 70℃ 500 mL water for 2 hours

(3) 시료 준비 및 제시

본 실험에서는 총 4가지의 티백형 수정과 시료(ST_Sugar_L, ST_Sugar_H, ST_scFOS, ST_Stevia)와 대조군으로 Ginger tea 및 Cinnamon tea를 사용하였다.

티백형 수정과 시료 4종류는 제조하여 48시간 이내에 사용하였으며, 무색, 무취인 70*30 mm 플라스틱 컵(㈜삼부팩, Gyeonggi-do, Korea)에 넣어 시료준비 시까지 밀봉 보관하였다. 시료를 준비할 때에는 340 mL 종이컵(120*120*255 inch, ㈜페리칸앤플러스, Korea)에 티백을 넣고 끓인 생수 (100℃, 삼다수(제주특별자치도개발공사, Jeju-do, Korea)) 120 mL를 부어 2분 동안 우린 뒤 Tea filters (Finum 100 Tea Filters, Finum, USA)에 한 번 더 걸러서 준비한 뒤 2.3 x 2.3 x 17.2 inches 종이컵(Planet + 100% Compostable PLA Laminated Hot Cup, 4-Ounce, Stalkmarket, USA)에 적정량(50 mL)을 담아 제시하였다.

시료 평가시 입을 헹굴 수 있도록 생수 500 mL(삼다수, 제주특별자치도개발공사, Jeju-do, Korea)와 크래커(Crich, Nuova Industria Biscottispa, Italy)를 함께 제시하였다.

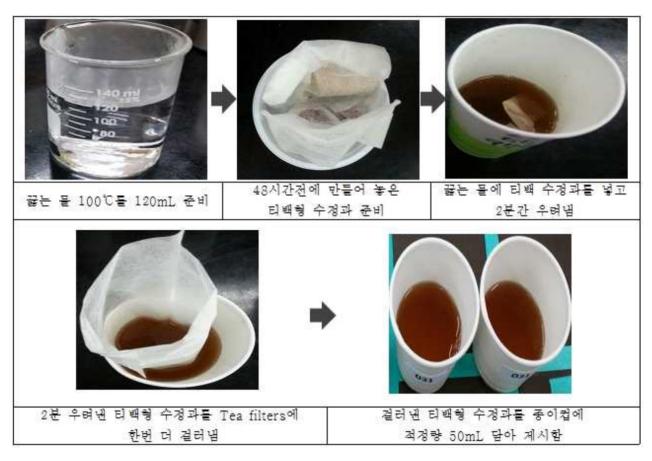


Figure 2-9. Preparation of Sujeonggwa in a tea bag samples

(4) 평가 절차

수정과의 묘사분석과 같이 티백형 수정과의 훈련과정 중 개발된 특성들에 대해서 외관, 맛, 향미 순으로 15점 항목 척도(1점 = none ~ 15점 = strong)를 사용하여 티백형 수정과의 특성별로 모든 시료에 대해 강도를 표시하도록 하였다. 각 시료 컵에 난수표에서 추출한 세 자리 숫자를 표기 하였고, 라틴 스퀘어 디자인(Jaeger SR 등 1998, Drake MA 등 2005)에 따른 순서대

로 제시하여 시료 제시 상에 오류를 방지하였다. 티백형 수정과 특성상 온도를 중요시 여겨야 되므로 시료 제시 직전 티백을 100℃의 뜨거운 물에 우려 티백형 수정과가 식지 않도록 하여 관능검사 요원들에게 제시하였다. 관능검사 요원들에게 서로 다른 시료를 한 번에 하나씩 제공하였고 크래커와 물을 제공하여 한 시료평가마다 물 또는 크래커로 입을 헹구도록 하였다. 필요에 따라 이미 평가했던 시료를 다시 맛보고 점수를 수정 할 수 있게 하였다. 칸막이가 있는 개인검사대에서 실험을 진행하였으며 검사는 감각이 피로하지 않는 오전 10시에 시작하였다. 평가는 3회 반복하여 수행하였다.

(5) 통계 분석

통계분석은 SAS® Software 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하여 분산분석 (analysis of variance, ANOVA)을 하였다.

(6) 묘사분석 결과

개발한 묘사분석용어를 이용하여 6가지 티백형 수정과 시료의 향미특성을 평가한 결과는 Figure 2-10와 Table 2-14에 나타내었다. 분산분석 결과, 대부분의 향미특성이 시료 간에 유의성이 있었고, 짠맛(salty)은 시료 간에 유의적인 차이가 없었다. 단맛은 Ginger tea, ST_Sugar_H 간에는 유의적인 차이가 없었다. ST_Stevia와 ST_Sugar_L, ST_scFOS는 단맛이 유의적으로 낮게 나타났다. 쓴맛과 떫은맛의 경우, 강도는 약했지만 Cinnamon Tea가 가장 높았다.

인공감미료(Artificial sweetener)는 Ginger tea가 가장 높게 나타났지만 티백형 수정과 시료 간에 유의적인 차이는 없었다. (계피와 생강의) 매운맛은 Ginger tea가 다른 시료와 비교해봤을 때 유의적으로 높게 나타났다. 티백형 수정과의 색은 ST_Sugar_H이 가장 짙었는데 설탕 첨가 양이 다른 시료보다 많아 색을 내는 흑설탕양의 증가로 색이 짙게 나타난 것으로 사료된다. 탁한 정도는 Ginger tea가 가장 높았고 ST_Sugar_H, ST_Sugar_L과 ST_scFOS는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

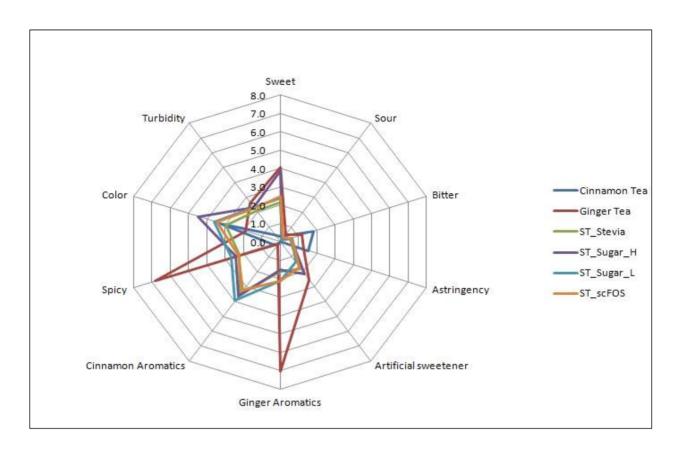


Figure 2-10. Descriptive evaluation of six Sujeonggwa in a tea bag samples

Table 2-14. Mean table of descriptive evaluation of Sujeonggwa in a tea bag

Attribute	Cinnamon tea	Ginger tea	ST_Stevia	ST_Sugar_H	ST_Sugar_L	ST_sc
Sweetness	0.3 с	4.0 a	2.2 b	3.9 a	2.4 b	2.5
Sourness	0.5	0.5	0.2	0.2	0.2	0.3
Bitterness	1.8 a	1.2 b	0.6 с	0.5 с	0.7 bc	0.6
Astringency	1.5 a	1.3 a	0.7 b	0.8 b	0.8 b	0.8
Artificial sweetener	0.0 b	2.5 a	1.8 a	2.2 a	1.4 a	1.7
Ginger Aromatics	0.0 с	7.0 a	1.6 b	1.5 b	2.1 b	2.1
Cinnamon Aromatics	0.2 c	0.2 c	3.5 ab	3.7 ab	4.0 a	3.3
Spicy	0.4 c	6.8 a	2.2 b	2.4 b	2.7 b	2.3
Color	3.3 bc	1.9 d	3.0 с	4.5 a	3.6 b	3.5
Turbidity	0.5 b	2.6 a	2.1 a	2.3 a	2.3 a	2.3

6. 티백형 수정과의 한국인 소비자 기호도 조사

가. 소비자 평가원 모집

기호도 검사의 소비자 모집은 부산대학교 홈페이지를 통해 관능검사에 관심이 있고, 식품에 알레르기가 없고, 사용되는 원료에 거부감이 없는 실험에 적합한 사람 61명을 선발하여 실험에 참여하도록 하였다.

나. 시료 준비 및 제시

설탕 및 설탕 대체제(stevia, scFOS)로 제조한 티백형 수정과 4종류, 시판되는 티백 계피차 1종, 그리고 가루로 된 생강차 1종 총 6종의 시료를 사용하여 한국인 소비자 조사를 실시하였다. 묘사분석과 마찬가지로 실험에 사용한 모든 티백형 수정과는 제조 후 밀봉하여 실온에 보관하였으며, 48시간 이내에 사용하였다. 시료는 묘사분석에서 사용한 방법으로 준비하였다. 각우려낸 티백형 수정과를 하얀색 민무늬 종이컵(2.3 x 2.3 x 17.2 inches)에 일정량(50.0 mL)을 담아 제시하였고, 난수표에서 추출한 세 자리 숫자를 사용하였고, 라틴 스퀘어 디자인(Jaeger SR 등 1998, Drake MA 등 2005)을 사용하여 시료의 순서를 정하여 제시하였다. 소비자 검사패널들에게 각 시료 평가 할 때마다 입을 헹굴 수 있도록 생수 500 mL(삼다수, 제주특별자치도개발공사, Jeju-do, Korea)와 크래커(Crich, Nuova Industria Biscottispa, Italy)를 제공하였다.



Figure 2-11. Sujeonggwa in a tea bag samples used for the descriptive sensory evaluation and consumer acceptability test.

다. 기호도 평가 항목

전체 기호도(Overall liking), 외관 기호도(Appearance liking), 향미 기호도(Flavor liking), 단맛기호도(Sweet liking), 식후 음료로서의 기호도(Dessert liking)는 9점 척도법(1=굉장히 싫어한다, 5=좋아하지도 싫어하지도 않는다, 9=굉장히 좋아한다)을 사용하여 평가하였고, 단맛, 쓴맛, 톡쏘는 맛, 계피향 강도의 적절성에 대한 평가는 5점 Just-about-right(JAR) 척도(1점=너무 ~하지 않다, 3점=적당하다, 5점=너무 ~하다)를 (Yeh and others 1998) 사용하여 평가하였다.

라. 통계 분석

통계분석은 SAS[®] Software 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하여 분산분석 (analysis of variance, ANOVA)을 실시하였다.

마. 소비자 기호도 조사 결과

Figure 2-12에 한국 소비자 61명의 티백형 수정과 6종류에 대한 전반적인 기호도 평가를 나타내었다. 설탕이 12 g 들어간 ST_Sugar_H가 가장 선호도가 높았으며, 티백형 기능성 수정과인 ST_Stevia와 ST_scFOS 또한 시판되는 Ginger_Tea와 Cinnamon_Tea보다 유의적으로 높은 기호도를 나타내었다.

Table 2-15에는 티백형 수정과에 전반적인 기호도, 외관에 대한 기호도, 향미에 대한 기호도, 단맛에 대한 기호도의 분산분석 결과를 나타내었고, Table 2-16에는 소비자의 인적사항을 정리하였다. 실험에 참여한 소비자의 50% 정도가 한 달에 한번, 또는 3달에 한번 수정과를 소비한다고 대답하여, 수정과의 섭취 빈도가 높지 않은 것을 알 수 있다. 칼로리가 낮은 수정과에 대한 구매의향에 과반수가 넘는 소비자가 구매할 의향이 있다고 대답하였다.

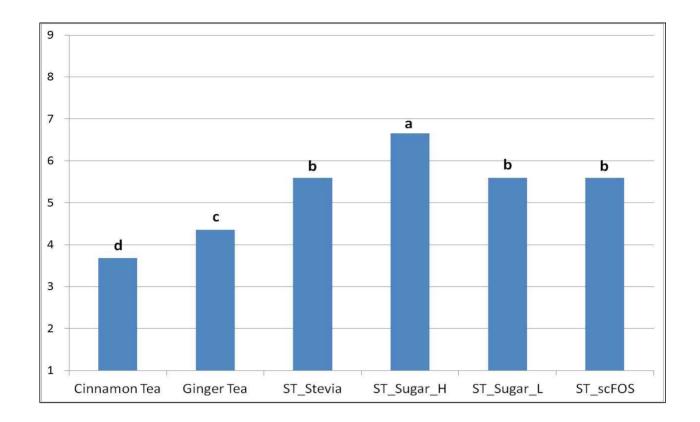


Figure 2-12. Acceptability of *Sujeonggwa* in a tea bag samples by Korean consumers (n=61) $^{a-d}$ Data with different letters are significantly different at p<0.05

Table 2-15. Korean consumers' ratings on overall acceptability, appearance, flavor, sweetness, and the beverage as a dessert.

Korean Consumer	Overall Liking	Appearance Liking	Flavor Liking	Sweetness Liking	Dessert Liking
Cinnamon tea	3.7 d	5.6 b	3.5 d	3.2 c	3.2 d
Ginger tea	4.4 c	4.4 c	4.6 c	5.0 b	4.2 c
ST_Stevia	5.6 b	6.0 ab	5.6 b	5.3 b	5.4 b
ST_Sugar_H	6.7 a	6.3 a	6.8 a	6.8 a	6.6 a
ST_Sugar_L	5.6 b	5.9 ab	5.5 b	5.4 b	5.3 b
ST_scFOS	5.6 b	5.9 ab	5.7 b	5.4 b	5.5 b
LSD	0.63	0.54	0.64	0.64	0.71

 $^{^{\}text{a-d}}\text{Data}$ with different letters are significantly different at p<0.05

Table 2-16. General characteristics of Korean consumer who evaluated Sujeonggwa in a tea bag

Items Gender (Male/Female)		
	26-35 years old	10
Age (veors)	36-45 years old	3
Age (years)	46-55 years old	6
	56-65 years old	6
	Older than 66 years old	1
	Once a day	0
	2-3 times a week	2
	Once a week	9
Fraguency of Cuiconggue	Once a month	13
Frequency of Sujeonggwa	Once in 3 month	10
beverage consumption	Once in 6 month	9
	Once a year	8
	Never tried	8
	no response	1
	Once a day	0
	2-3 times a week	1
	Once a week	9
D	Once a month	8
Frequency of ginger beverage	Once in 3 month	12
consumption	Once in 6 month	11
	Once a year	6
	Never tried	12
	no response	1
	Canned	23
	Coffee shop or tea house	17
T. () (C ()	Food court	14
Type(s) of <i>Sujeonggwa</i> consumed	Bottled	3
(Choose all that apply)	Restaurant	53
	Other	8
	no response	1
	Large grocery store	13
	Small grocery store	3
	Convenience store	4
Location	Vending machine	7
of <i>Sujeonggwa</i> purchased	I make my own beverages	18
	I order it at the coffee shop or tea house	6
	I order it from restaurant	41

	I do not purchase beverages	12
	no response	1
	Definitely would purchase	2
	Probably would purchase	7
Purchase intent of carbonated	Might purchase	26
Sujeonggwa	Probably would not purchase	17
	Definitely would not purchase	8
	no response	1
	Definitely would purchase	3
	Probably would purchase	22
Purchase intent	Might purchase	26
of reduced calorie Sujeonggwa	Probably would not purchase	5
	Definitely would not purchase	4
	no response	1
	Definitely would purchase	2
	Probably would purchase	13
Purchase intent	Might purchase	19
of reduced calorie Sujeonggwa	Probably would not purchase	19
	Definitely would not purchase	7
	no response	1
	Price	45
	Functionality (Good for health)	26
	Weather	11
	Taste	52
	Time of the day	0
Consideration	Food Additives	23
of choosing beverage	Calorie	18
(Choose all that apply)	Nutritional Label	12
	Shelf Life	23
	Carbonation	10
	Packaging	12
	Other	0
	no response	1

7. 탄산을 주입한 수정과의 소비자 기호도 조사

Cross-culture 소비자 기호도 조사에서 탄산 수정과의 기호도가 예상보다 낮아 그 이유를 확인하기 위하여 추가 실험을 실시하였다. 본 실험은 수정과에 탄산을 주입하였을 경우 기호도가 개선되는 지를 알아보기 위하여 실시하였다.

가. 소비자 평가원 모집

탄산 수정과 기호도 조사에 참여한 소비자는 부산대학교 홈페이지를 통해 관능검사에 관심이 있고, 식품에 알레르기가 없고, 사용되는 원료에 거부감이 없는 실험에 적합한 사람 75명을 선발하여 실험에 참여하도록 하였다. 소비자는 2가지 시료만 평가하였고 수정과와 탄산 수정과비교 조건에 20명에서 30명 정도가 참여하였다.

나. 탄산을 주입한 수정과 시료 준비 및 제시

본 실험은 앞서 실험한 수정과에 탄산을 주입하여 수정과의 레시피를 개선하여 다른 조건에서 실험하였다. 기존 S-sugar에 탄산을 주입한 S-cbn-sugar, Positive Control에 탄산을 주입한 cbn-Positive control, S-sugar를 흑설탕으로만 제조한 S-Bsugar에 탄산을 주입한 S-cbn-Bsugar총 6가지를 소비자 조사 시료로 사용하였다.

시료는 실험 직전까지 4℃ 정도의 냉장(일렉트로룩스 일반냉장고, ETE5107TA-RKR, 대우일 렉트로닉스, Korea) 보관하였고, 평가 시 탄산이 충분히 남아있을 수 있도록 탄산은 소비자 기호도 조사 직전에 주입하여 2시간 이내에 사용되도록 하였고 충분한 양의 시료를 제시하였다. 80 mL의 시료를 민무늬 종이컵 (37cm*30cm*37cm, 동국위생종이컵, 동국피앤시, Chungcheongbuk-do, Korea)에 담아 3자리 숫자로 표기하여 제시하였다.

소비자 패널이 입을 헹굴 수 있도록 생수 500 mL (삼다수, 제주특별자치도개발공사, 제주도) 와 크래커(Crich, Nuova Industria Biscottispa, Italy)를 함께 제공하였다.

다. 기호도 조사 항목

전체 기호도(Overall liking), 외관 기호도(Appearance liking), 향미 기호도(Flavor liking), 단맛기호도(Sweet liking), 식후 음료로서의 기호도(Dessert liking)는 9점 척도법(1=굉장히 싫어한다, 5=좋아하지도 싫어하지도 않는다, 9=굉장히 좋아한다)을 사용하여 평가하였고, 단맛, 쓴맛, 톡쏘는 맛, 계피향 강도의 적절성에 대한 평가는 5점 Just-about-right(JAR) 척도(1점=너무 ~하지 않다, 3점=적당하다, 5점=너무 ~하다)를(Yeh and others 1998) 사용하여 평가 하였다. 2가지 시료에 대한 평가가 끝난 후, 수정과와 탄산수정과 시료의 선호도에 대한 질문을 하였다.

라. 통계 분석

수정과와 탄산 수정과 비교 통계분석은 SAS® Software 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하여 t-test를 실시하였다.

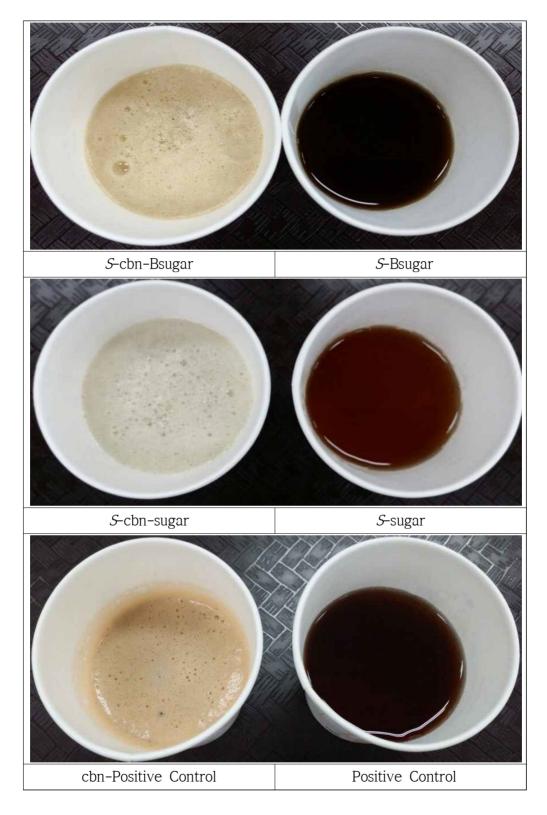


Figure 2-13. Pictures of samples tested to compare Sujeonggwa and carbonated ones.

마. 소비자 기호도 조사 결과

소비자의 기호도 조사 결과는 Table 2-17에 나타내었다. 수정과(S-sugar, S-Bsugar, Positive Control)와 각 수정과에 탄산을 주입한 탄산수정과를 비교하였을 때, 수정과를 선호하는 경향을 보였으나 t-test 결과 모든 질문 항목에서 유의성은 없었다. 소비자들의 의견에 탄산 수정과가 계피나 생강의 맛을 감소시키는 효과가 있어서 좋다고 하였으나, 건강기능성과 탄산은 어울리지 않는다는 의견이 많았다.

Table 2-17. Consumers' ratings on overall acceptability, appearance, flavor, sweetness, and the beverage as a dessert of *Sujeonggwa*.

	Overall	Appearance	Flavor	Sweetness	Dessert
	Liking	Liking	Liking	Liking	Liking
S-sugar	6.3	6.2	5.7	6.3	6.3
S-cbn-sugar	4.6	4.0	4.8	5.1	4.7
S-Bsugar	5.3	5.6	5.9	6.4	5.6
S-cbn-Bsugar	5.1	5.3	5.6	5.6	5.4
Positive Control	5.8	6.2	5.8	5.6	2.9
cbn-Positive Control	5.4	5.0	5.8	5.3	2.6

8. 상관관계 분석

가. 수정과의 향미특성과 휘발성물질, 항산화활성의 상관관계

통계분석은 SAS® Software 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하였고, 상관관계분석(correlation analysis) 절차를 사용하였다.

(1) 향미특성과 휘발성물질의 상관관계

2세부의 향미특성 강도와 1세부의 휘발성 물질의 농도를 이용하여 묘사분석과 GC-MS 기기 분석의 상관관계를 분석하였다. 상관관계 분석에 사용된 휘발성 물질은 cinnamene, benzaldehyde, cinnamaldehyde, coumarin, cinnamic acid, 2,6-gingerol, 2-cinnamaldehyde와 2-cinnamic acid였고 결과는 Table 2-18에 나타내었다.

Table 2-18. Correlation between volatile compounds and flavor characteristics of Sujeonggwa.

Volatile Compounds	Attribute (correlation coefficient, p-value)
Cinnamene	sweet (0.70; 0.0113)
Benzaldehyde	astringency (-0.59; 0.0436), artificial sweetener (0.62; 0.0323)
Cinnamaldehyde	-
Coumarin	-
Cinnamic acid	sweet (-0.6216; 0.031)
2,6-gingerol	-
2-cinnamaldehyde	-
2-cinnamic acid	dried persimmon (0.90; <0.0001), turbidity (0.69; 0.0133)

(2) 향미특성과 항산화 활성의 상관관계

2세부의 향미특성강도와 1세부의 항산화 활성의 상관관계를 분석하였다. 생강향, 계피향, (계피와 생강의) 매운맛, 곶감향, 탁한 정도가 DPPH 라디칼 소거능(%)활성과 유의성 있는 상관관계를 나타내었고, 상관계수는 Table 2-19에 나타내었다.

Table 2-19. Correlation between antioxidant capacity measured using DPPH and flavor characteristics of *Sujeonggwa*

	Correlation coefficient (r)	p-value
Ginger aromatics	0.74	0.0063
Cinnamon aromatics	0.66	0.0199
Spicy	0.76	0.0042
Dried persimmon	0.62	0.0318
Turbidity	0.75	0.0053

(3) 휘발성 물질과 항산화 활성의 상관관계

수정과의 휘발성 물질 중에서 특히 2-cinnamaldehyde의 농도는 ABTS 라디칼 소거능 활성 (r=0.64, p=0.026)과 총 페놀함량(r=0.72, p=0.008)과 양의 상관관계였다. Cinnamic acid는 FRAP 철이온환원력과 양의 상관관계(r=059, p=0.045)를 보였다.

나. 묘사분석과 소비자 기호도의 상관관계

소비자의 기호도에 영향을 미치는 향미 특성을 알아보기 위하여 기호도와 향미특성강도와의 상관관계를 External Preference Mapping을 이용하여 분석하였다. 소비자의 기호도는 전반적인 기호도 평균값을 사용하였으며, 한국 소비자와 미국 소비자는 전체와 군집분석 결과를 함께 사 용하였다. 통계분석은 XLSTAT (Addinsoft, New York, NY, USA)을 이용하여 묘사분석 결과를 주성분분석(principal component analysis)으로 도식화한 다음 external preference mapping을 사용하였다. 결과는 Figure 2-14에 나타내었다. 주성분 1에서 묘사분석 데이터의 50.5%를 설명되었고, 주성분 2는 데이터의 22.4%를 설명하여 총 데이터의 72.9%를 주성분 1과 2로 나타낼 수있었다. External preference map의 1사분면은 곶감향, 탁한정도, 단맛, 농도 등으로 설명되었고, S-PH가 이런 특성이 높아 1사분면에 위치하였다. 2사분면은 인공감미료와 색으로 설명되었고, Positive control에 여기에 위치하였다. Positive control을 좋아한 US, US2, Asian 소비자는 Positive control과 가까운 2사분면과 3사분면의 경계 부근에 위치하여 기호도를 반영하였다. 3 사분면에 S-cbn가 있었고, 4사분면에 S-sugar, S-scFOS, S-stevia로 나뉘어졌다, US1 과 대부분의 한국 소비자는 주로 3사분면과 4사분면의 S-sugar, S-scFOS, S-cbn, S-stevia 부근에 위치하여 수정과 시료에 대한 기호도를 반영하였다.

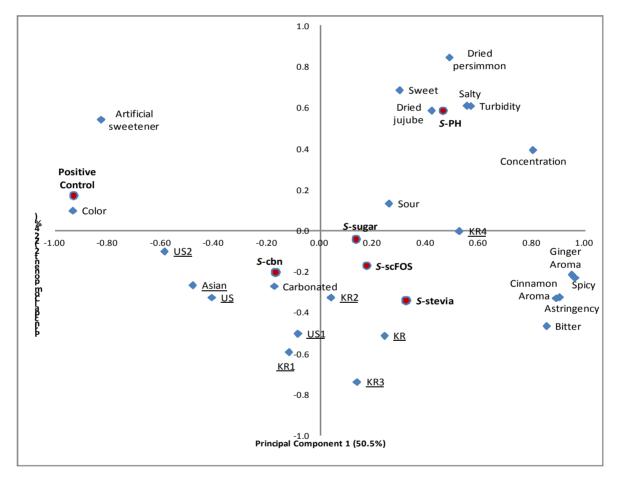


Figure 2-14. External preference mapping of 6 sujeonggwa samples evaluated by descriptive sensory panel and consumers from three different countries of Korea^a, China^b, and the United States^c.

^aMean acceptability ratings of overall Korean consumers' (KR) and 4 clusters (KR1 to KR4)were used for the analysis

^bMean acceptability ratings of overall Asian consumers' (Asian) was used for the analysis.

^cMean acceptability ratings of overall US consumers' (US) and two clusters (US1 and US2) were used for the analysis.

9. 문화적 차이를 고려한 수정과 세계화를 위한 레시피 개선에 대한 제안

- 한국 소비자는 대체적으로 수정과의 특징인 계피향, 생강향, (계피와 생강의) 매운맛, 단맛이 있는 수정과를 좋아하였기 때문에 본 연구에서 개발한 레시피를 사용하면 좋을 것으로 생각된다.
- 미국 소비자중 일부는 수정과의 색에 영향을 받아 Positive control을 선호한 소그룹이 있었으므로 수정과 레시피의 설탕 사용량 중 흑설탕 사용량을 증가시켜 수정과 색을 개선하면 좋을 것으로 생각된다.
- 중국 소비자의 경우 계피향과 생강향에 대한 거부감이 높았으므로 이들 재료의 함량을 낮추어 자극적인 매운 맛을 낮추고 수정과의 단맛을 높임으로써 수정과의 향미 성분을 개선하는 것이 필요하다.

제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도

제 1절 목표달성도

• 세부과제 등 모든 과제의 연도별 목표 및 계획에 기술한 연구 내용은 다음 표와 같이 100% 달성하였음

연구개발의 목표	연구개발의 내용		
	수정과 재료의 항산화성 분 석	in vitro 항산화능 확인을 통해 수정과 자체로 상당한 항산화능을 보유하고 있음을 확인	100
	(1	페놀성 물질 함유량과 라디칼 소거능 및 철이온 환원력간의 관계가 있음을 확인	100
	수정과 재료 및 수정과의 항균 활성 측정	수정과 재료인 계피와 생강의 항균 활성 확인	100
	8만 월 6 국 8	수정과의 항균활성 유무 확인	100
	수정과 및 소재의 파이토케	계피의 cinnamic acid, cinnamaldehyde와 생강의 6-gingerol이 주요 파이토케미칼임 을 정성 및 정량분석	100
	미칼 정량분석	cinnamaldehyde 등 주요 휘발성분을 정성 및 정량분석	100
제 1세부: in vitro 및 in vivo에서 수정과 소재 및 수정과의 건강기능성 연구	수정과의 지질저하 및 항 염증 기능성 확인	stevia를 첨가하여 개발한 기능성 수정과의 혈중 총콜레스테롤, LDL-cholesterol 감소 및 HDL-cholesterol 증가 효과 확인	100
		기능성 수정과의 혈액, 간 및 뇌의 지질 농도 저하 효과 확인	100
		기능성 수정과의 혈액, 간, 뇌의 지질과산 화물 축적 억제 효과 확인	100
		기능성 수정과의 간 지방산 및 콜레스테롤 합성 효소 및 전사인자 발현 억제 효과 확 인	100
		기능성 수정과의 혈중 pro-inflammatory cytokine 분비 억제효과 확인	100
		기능성 수정과의 동맥 내 염증인자 발현 억제 효과 확인	100
		수정과의 동맥 내 지질침착 억제 효과 확 인	100
	수정과의 항노화 기능성 확 인	기능성 수정과 섭취 동물의 항 유전독성 검사를 위한 산화스트레스 유발	100
	ਰ	기능성 수정과의 백혈구, 간, 비장에서의	100

		commet assay를 통한 DNA 유전 독성 억 제 효과 확인	
	기능성 수정과 레시피 개발	수정과의 전통 레시피 수집 분석 및 재현을 통한 계피와 생강 열수추출물에 설탕, stevia, scFOS를 대체한 수정과 및 기능성수정과 3종의 레시피 개발 및 제조법 확립	100
		묘사분석 패널 모집 및 훈련	100
제 2세부: Cross-culture 소비자 조사를 통한 신개념 수정과 음료 레시피개발		수정과 Lexicon 개발 (특성용어 및 표준물질)	100
		수정과 묘사분석 실험	100
	Cross-culture 소비자 기호도 조사	국내 기호도 조사 (한국인, 동양인)	100
		미국 현지 기호도 조사	100
	수정과 레시피 개선	기호도 조사 결과를 바탕으로 한 Sweetener 배합의 최적화	100
	신개념 수정과 개발	탄산 수정과의 기호도 조사	100
		티백형 수정과 차 개발 및 기호도 조사	100
	상관관계 분석	수정과의 향미특성과 휘발성물질, 항산화 활성의 상관관계	100
		묘사분석과 소비자 기호도의 상관관계	100

제 2절 관련 분야 발전에의 기여도

- 수정과의 주요 성분인 계피 및 생강 유래 휘발성분 및 비휘발성분을 정량분석함으로서 항산화, 항균, 지질저하 및 염증 완화 등의 수정과의 건강기능성에 대한 기초자료를 제공함.
- 휘발성분 분석을 통해 소비자가 수정과로부터 느끼는 향기의 질을 해석할 수 있는 과학적 기초자료를 제공 할 수 있을 것으로 판단됨.
- 수정과 음료의 항동맥경화 기능성 확인을 통해 전통음료인 수정과 제품의 생산 및 소비를 촉진할 수 있는 과학적 근거를 제시할 수 있음.
- 서양인의 기호도를 맞출 수 있는 후식류를 개발함으로써 한식 코스요리를 완성하여 한식의 세계화에 기여할 수 있음.

제 4 장 연구 개발 성과 및 성과 활용 계획

제 1절 연구 개발 성과

1. 논문

_							
	게재	논문명	주저자	교신	공동	학술지다	
	연도	도		저자	저자	75.1	
	2014	고콜레스테롤혈증 Apo E knock-out mice에서 기능성 수정과의 간지질 축적 억제 효과	Aran baek	Yeong Ok Song	Koeun Jung, Seulki Kim, Jeehyun Lee	Jornal of the Society of Foo Science and Nutrition	
	2014	고콜레스테롤혈증 Apo E knock-out 마우스에서 기능성 수 정과의 지질과산화 및 산화적 DNA 손상 억제 효과	Eunju Park	Yeong Ok Song	Aran Baek, Mijeong Kim, Seon Woo Lee, Eunji Lee, Mi-Joo Choi, Jeehyun Lee	Jornal of the Society of Foo Science and Nutrition	

2. 학술발표

발표 연월	제목	저자	학회명	국내 외 구분	특기 사항
2014.06.24	Antioxidant capacities and major non-volatile compounds analysis of <i>Sujeonggwa</i> , a cinnamon and ginger based beverage	Sumi Oh, JaeHwan Lee, Hana Kim, Jeehyun Lee, Yeongok Song	Institute of Food Technologists	국외	
2014.06.22	Sensory characterization and acceptability evaluation of Sujeonggwa, a Korean traditional cinnamon and ginger beverage	Hana Kim, Jeehyun Lee, Yeong-Ok Song	Institute of Food Technologists	국외	
2014.07.16	Consumer liking and perceived sweetness of <i>Sujeonggwa</i> differing sweeteners	Jeehyun Lee, Hana Kim, Yeong-Ok Song	The Nutrition Society	국외	
2014.08.09.	Consumer acceptance of <i>Sujeonggwa</i> by cross-culture consumers and its relationship to flavor profile	Jeehyun Lee, Hana Kim, Yeong-Ok Song	US-Korea Conference	국외	Oral
2014.08. 25~27	Inhibitory effects of functional Sujeonggwa drink on hepatic lipid accumulation in hypercholesterolemia induced Apo E KO mice	Aran Baek, Mijeong Kim, Koeun Jung, Jeehyun Lee, Yeong Ok Song	The Korean Society of Food Science and Technology	국내	
2014.08. 25~27	Potential mechanism of <i>Sujeonggwa</i> on hepatic lipid accumulation via suppressing the enzyme expression for lipid synthesis and related transcription factors in hypercholesterolemia induced Apo E KO mice	Aran Baek, Mijeong Kim, Koeun Jung, Jeehyun Lee, Yeong Ok Song	The Korean Society of Food Science and Technology	국내	
2014.08. 25~27	Development of <i>Sujeonggwa</i> in a tea bag form and its descriptive and affective evaluation	Hana Kim, Jiyun Yang, Juyoung Kim, Yeong-Ok Song, Jeehyun Lee	The Korean Society of Food Science and Technology	국내	

3. 특허

출원 1건

출원일: 2014년 7월 15일 출원번호: 10-2014-0088870

명 칭: '고콜레스테롤혈증 개선 효과가 있는 기능성 수정과 개발'

발명자: 이지현, 김하나, 송영옥, 백아란

제 2절 연구 성과 활용 및 계획

1. 활용성과

- 논문발표
 - 국내 유명 학술지에 수정과의 간지질 저하 효과 및 수정과의 항 유전독성 관련 논문을 각각 투고 하여 2편의 논문을 게재 확정하였음. 본 연구에서 개발한 저칼로리 수정과 음료의 우수성을 과학적으로 증명함으로써 한식 세계화 홍보에 활용하였음.
- 학술대회 연구발표를 통해 우수한 연구결과 홍보
 - 국제 학술대회에서 수정과 및 개발한 수정과의 특성과 관능검사 결과 관련된 3편을 학 술 발표하여 한식의 세계화를 홍보하였음.
 - 수정과의 관능에 관련된 구두 발표가 2014년 8월에 미국에서 예정되어 있음.
 - 국내 학술대회에서 수정과 및 개발한 수정과의 건강기능성 및 관능검사 결과 3편을 학술 발표할 예정으로 이미 제출한 상태임.

• 특허출원

- '고콜레스테롤혈증 개선 효과가 있는 기능성 수정과 개발'으로 특허 출원함으로써 개발한수정과의 건강기능성 및 관능성에 대한 본 연구의 결과를 특허로 확보하였음.

홍보

- 농림축산식품부에서 발간하는 책자에 수정과의 지질저하 기능성에 대하여 홍보함
- 부산대학교 여름 계절학기에 참여하는 외국인 학생을 대상으로 수정과를 섭취시키고 수정과의 건강기능성에 대하여 홍보함.

2. 성과 활용계획

가. 교육·지도·홍보 등 기술 확산 계획 등

- 항동맥경화 및 항노화 건강기능성이 확인되고, 국내외에서 수정과의 기호까지 확인된 단 맛을 유지하고 있는 저칼로리 기능성 수정과의 섭취를 권장함으로써 음료 섭취에 의해 유발될 수 있는 생활습관병을 예방하고 개선할 수 있는 음료 가이드라인으로 활용할 예 정
- 국내외 소비자로부터 높은 평가를 받은 기능성 수정과의 레시피에 대한 자문에 활용할 예정임.

나. 추가연구, 타 연구에 활용 계획 등

- 수정과의 주요 성분인 계피 및 생강 유래 휘발성분 및 비 휘발성분의 정량 분석 자료와 관능평가 결과와의 상관관계 및 건강 증진 기능성을 확립함으로써 수정과 제조 시 소재 사용 및 사용량에 대한 기초자료를 제공할 수 있을 것으로 생각됨.
- 향후 건강기능성이 증가된 단맛이 유지된 저칼로리 수정과 제조에 관한 과학적 근거를 제시 할 수 있음.
- 휘발성분 분석을 통해 소비자가 수정과로부터 느끼는 향기의 질을 해석할 수 있는 과학 적 기초자료를 제공 할 수 있을 것으로 판단됨.
- 국외에서 수정과 제조를 위한 레시피를 공급할 컨텐츠 개발에 대한 연구가 필요함.
- 수출용 수정과 공장 생산 및 맛의 일괄성에 대한 연구가 필요함
- Cross-culture 소비자 조사 확인된 결과 대체 당의 사용에 따른 소비자 기호도가 달라지는 것을 확인하였으며, 이 분야에 대한 추가 연구가 필요함.
- 중국인들의 계피 및 생강의 매운 맛에 대한 거부감을 극복할 수 있는 수정과 음료 개발 이 필요하며, 아시아의 다른 국가를 대상으로 한 기능성 수정과 평가 연구가 필요함.

제 5 장 연구 개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보

- 계피 추출물은 과당 섭취로 비만을 유도한 쥐에서 간의 지방산 합성효소 fatty acid synthase (FAS)와 이의 전사인자인 sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1의 mRNA 발현을 억제함으로써 혈중 유리지방산, 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도를 낮추는 효과를 있다(Qin B and others 2010, Kannappan S and others 2006).
- 계피는 비만 쥐에 있어서 지질대사 관련 인자인 peroxisome proliferato-activated receptor (PRAR)인 PPAR α 및 PPAR γ 에 발현을 억제함으로써 인슐린 민감성과 관련 지질대사 이상을 개선하는 효과가 있다(Sheng X and others 2008).
- 계피는 고콜레스테롤혈증 쥐에서 체내 항산화능을 증가시킴으로써 지질대사를 개선하는 효과가 있다(Lee JS and others 2003).
- 계피의 건강기능성은 cinnamaldehyde나 cinnamic acid의 유효성분 때문으로 보고되고 있다 (Huang B and others 2011, Subash Babu P and others 2007).
- 생강은 항동맥경화 효과가 탁월한 것으로 알려져 있다. 생강추출물은 지방산 합성효소 및 이의 전사인자의 발현 억제(Gao H and others 2012), 콜레스테롤 합성 억제(Nammi S and others 2009), 혈전용해능 개선 (Verma SK and others 2004, Thomson M and others 2002) 그리고 유리기 소거 효과, 항산화능 개선 등의 효과로(El-Baroty GS and others 2010, Ahmed RS and others 2000), 동맥 내 지질 침착을 억제하여 동맥경화를 예방하는 효과가 있음이 보고되고 있다(Verma SK and others 2004, Thomson M and others 2002).
- 생강의 유효성분인 gingerol, zingerone 그리고 shogal은 항산화 효과, 항염증 및 항암, 항당 뇨, 간독성 보호효과 및 콜레스테롤 저하효과 등이 있음이 보고되고 있다 (Fuhrman B et al. 2000, Dugasani S et al. 2010, Choudhury D et al. 2010).
- 설탕 대체재인 stevia는 설탕의 50-300배 감미를 지니고 있으나 칼로리는 없어(Park JE and others 2010) 설탕 함량이 문제가 되는 제품에 사용되고 있으며 주로 음료의 칼로리를 낮추기 위해 사용된다.
- Stevia는 간에서 지방산의 β-oxidation에 관여하는 효소인 acyl-CoA oxidase (ACO), acyl-CoA synthetase (ACS), carnitine palmitoyltransferase (CPT)- I 의 발현을 증가시킨다 (Park JE and others 2009).
- Stevia의 유효물질인 6-O-acetyl-austroinulin은 대식세포에서 TNF- α , IL-6, IL-1 β 의 농도를 감소시키는 항염증 효과가 있다(Cho BO et al. 2013).
- Neosugar로 불리는 short chain fructooligossachride (scFOS)는 비소화성 탄수화물로 fructose가 3개 정도 결합된 올리고당으로 단맛은 약한 편이나 prebiotics 기능성이 있는 것으로 보고되고 있다(Bornet FRJ and others 2002).

- 60대 노인에게 하루 8g의 scFOS를 4주간 섭취시켰을 때 분변의 콜레스테롤 농도가 증가하 였으며 bifidobacteria의 수도 유의적으로 증가하였다고 보고되었다(Bouhnik Y and others 2007).
- 동물실험에서 scFOS는 간에서 지방산 합성을 억제하거나(Agheli N and others 1998), 분변으로의 지방 배설을 촉진하여(Tokunaga T and others 1986) 혈중 지질농도를 저하하는 효과가 보고되고 있다.
- scFOS는 prebiotics로서의 기능을 하는데, prebiotics는 장내 유용한 세균 증식을 통해 단쇄 지방산의 생성을 촉진하고 이들이 흡수되어 지방산합성 효소(Agheli N and others 1998) 및 콜레스테롤 합성 효소인 HMG-CoA reductase (HMGCR)의 발현을 억제하거나(Bush RS and others 1971) 당 신생을 저해하는 등의 기전이 알려져 있고(Baird GD and others 1984), 장내 균총의 변화를 초래함으로써 배설을 촉진시킨다.
- 묘사분석은 다양한 음료 제품의 향미 특성을 결정하기 위해 사용되고 있으며, 최근 연구에 서는 블루베리 주스(Bett-garber and Lea 2013), 녹차(Lee and Chambers 2007), 오렌지 주스 (Lotong et al. 2003), 두유(Chambers 2006)의 제품 개발을 위해 적용하고 있다.
- 소비자기호도 조사의 경우 제품개발단계에서 사용하도록 권장되어 왔고, 특히 Just about right 척도의 경우 제품 개선의 방향을 제시해 줄 수 있어 많은 식품업체에서 제품의 완성 도를 높이기 위해 사용하고 있다(Meilgaard, Civille, Carr 2007).
- 소비자 기호도 조사는 목적에 따라 대상자의 숫자가 50명에서 300명 이상까지 범위가 크다 (Hough and others, 2006). 주로 사용되는 대상자 수는 소비자들이 미리 지정된 장소에 와서 관능평가를 하는 Central Location Test의 경우 50명 이상 100명 정도임, 제품개발의 각 지역마다 100명으로 설정한다. 소비자 검사의 경우 9점 척도법을 사용할 때, 0.6점 이상의 차이가 유의하다고 나오려면 연구 대상자의 수가 최소한 40명이 되어야 한다고 보고하고 있다(Gacula and Rutenbeck 2006).

제 6 장 참고문헌

- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Anal. Biochem. 239: 70–76.
- Hsiang-yu Yeh, Cheng-hung Chuang, Hsin-chun Chen, Chu-jen Wan, Tai-liang Chen, Li-yun Lin. 2014. Bioactive components analysis of two various ginger (Zingiber officinale Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. LWT - Food Science and Technology 55: 329-334
- Kim MJ, Park MH, Jeong MK, Yeo JD, Cho WI, Chang PS, Chung JH, Lee JH. 2010. Radical scavenging activity and anti-obesity effects in 3T3-L1 preadipocyte differentiation of Ssuk (Artemisia princeps Pamp.) extract. Food Sci. Biotechnol. 19: 535-540.
- Mancini-Filho J, Van-Koiij A, Mancini DA, Cozzolino FF, Torres RP. 1998. Antioxidant activity of cinnamon (Cinnamomum Zeylanicum, Breyne) extracts. Boll Chim Farm 137: 443-447.
- Muchuweti M, Kativu E, Mupure CH, Chidewe C, Ndhlala AR, Benhura MAN. 2007.
 Composition and Properties of Some Spices. American Journal of Food Technology 2: 414-420
- Riedl KM, Lee JH, Renita M, St Martin SK, Schwartz SJ, Vodovotz Y. 2007. Isoflavone profiles, phenol content, and antioxidant activity of soybean seeds as influenced by cultivar and growing location in Ohio. J. Sci. Food Agr. 87: 1197–1206
- Qin B, Polansky MM, Anderson RA. 2010. Cinnamon Extract Regulates Plasma Levels of Adipose-derived Factors and Expression of Multiple Genes Related to Carbohydrate Metabolism and Lipogenesis in Adipose Tissue of Fructose-fed Rats. Horm Metab Res 42: 187-193.
- Kannappan S, Jayaraman T, Rajasekar P, Ravichandran M K, Anuradha C V. 2006.
 Cinnamon bark extract improves glucose metabolism and lipid profile in the fructose-fed rat. Singapore Med J 47: 858.
- Sheng X, Zhang Y, Gong Z, Hunag C, Zang YQ. 2008. Improved insulin resistance and lipid metabolism by cinnamon extract through activation of peroxisome proliferato-activated receptors. PPAR Research 2008: 1-9.
- Lee JS, Jeon SM, Park EM, Huh TL, Kwon OS, Lee MK, and others 2003. Cinnamate supplementation enhances hepatic lipid metabolism and antioxidant defense systems in high cholesterol-fed rats. J Med Food 6: 183-191.

- Bo Huang, Hai Dan Yuan , Do Yeon Kim , Hai Yan Quan , and Sung Hyun Chung. 2011.
 Cinnamaldehyde Prevents Adipocyte Differentiation and Adipogenesis via Regulation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ (PPAR γ) and AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) Pathways. J Agric Food Chem 59: 3666-3673.
- Subash Babu P, Prabuseenivasan S, Ignacimuthu S. 2007. Cinnamaldehyde—a potential antidiabetic agent. Phytomedicine 14: 15–22.
- Gao H, Guan T, Li C, Zuo G, Yamahara J, Wang J, Li Y. 2012. Treatment with ginger ameliorates fructose-induced fatty liver and hypertriglyceridemia in rats: modulating of the hepatic carbohydrate response element-binding protein-mediated pathway. J Evidence-Based Complementary Altern Med 2012: 1-12.
- Nammi S, Kim MS, Gavande NS, Li GQ, Roufogalis BD. 2009. Regulation of low-density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase expression by Zingiber officinale in the liver of high-fat diet-fed rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol 106: 389-395.
- Verma SK, Jain MSP, Bordia A. 2004. Protective effect of ginger, Zingiber officinale rose on experimental atherosclerosis in rabbits. Indian J Exp Biol 42: 736–738.
- Thomson M, al-Qattan K, al-Sawan S, Alnaqeeb M, Khan I, Ali M. 2002. The use of ginger (Zingiber officinale Rosc.) as a potential antiinflammatory and antithrombotic agent. Prostaglandins, Leukotrienes Essent. Fatty Acids 67:475-478.
- El-Baroty GS, El-Baky HA, Farag RS, Saleh MA. 2010. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. Afr J Biochem Res 4: 167-174.
- Ahmed RS, Seth V, Banerjee BD. 2008. Influence of dietary ginger (Zingiber officinales Rosc) on antioxidant defense system in rat: comparison with ascorbic acid. Indian J Exp Biol 38: 604–606.
- Jiang X, Blair EY, McLachlan AJ. 2006. Investigation of the effects of herbal medicines on warfarin response in healthy subjects: a population pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling approach. J Clin Pharmacol 46:1370–1378.
- Nicoll R, Henein MY. 2007, Ginger (Zingiber officinale roscoe): A hot remedy for cardiovascular disease?. Int J Cardiol 131: 408–409.
- Fuhrman B, Rosenblat M, Hayek T, Coleman R, Aviram M. 2000. Ginger extract consumption reduces plasma cholesterol, inhibits LDL oxidation and attenuates development of atherosclerosis in atherosclerotic, apolipoprotein E-deficient mice. J Nutr 130: 1124–231.

- Dugasani S, Pichika MR, Nadarajah VD, Balijepalli MK, Tandra S, Korlakunta JN. 2010. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. J Ethnopharmacol 127: 515-520.
- Choudhury D, Das A, Bhattacharya A, Chakrabarti G. 2010. Aqueous extract of ginger shows antiproliferative activity through disruption of microtubule network of cancer cells. Food Chem Toxicol 48: 2872–2880.
- Park JE, Cha YS. 2009. Stevia rebaudiana Bertoni extract supplementation improves lipid and carnitine profiles in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. J Sci Food Agric 2010: 1099-1105.
- Geeraert B, Crombe F, Hulsmans M, Benhabilès N, Geuns JM, Holvoet P. 2010. Stevioside inhibits atherosclerosis by improving insulin signaling and antioxidant defense in obese insulin-resistant mice. Int J Obes 34: 569-577.
- Cho BO, Ryu HW, So Y, Cho JK, Woo HS, Jin CH, Seo KI, Park JC, Jeong IY. 2013. Anti-inflammatory effect of austroinulin and 6-O-acetyl-austroinulin from Stevia rebaudiana in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. Food Chem Toxicol 62: 638-644.
- Bornet FRJ, Brouns F, Tashiro Y, Duvillier V. 2002. Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. Dig Liver Dis 34: 111-120.
- Bouhnik Y, Achour L, Paineau D, Riottot M, Attar A, Bornet F. 2007. Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. Nutr J 6: doi:10.1186/475-2891-6-42.
- Agheli N, Kabir M, Berni-Canani S, Petitjean E, Boussairi A, Luo J, Bornet F, Slama G, Rizkalla SW, 1998. Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructo-oligosaccharides in sucrose-fed insulin-resistant rats. J Nutr 128: 1283-1288.
- Tokunaga T, Oku T, Hosoya N. 1986. Influence of chronic intake of new sweetener fructooligosaccharide (Neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat. J Nutr Sci Vitaminol 32: 111-121.
- Bush RS. Milligan LP. 1971. Study of the mechanism of inhibition of keotgenesis by propionate in bovine liver. Can J Anim Sci 51:121–127.
- Baird GD, Lomax MA, Symonds HW, Shaw DR. 1984. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cow in vivo in relation to lactation and nutrient supply. Biochem J 186: 47–57.

- Seo JH, Sung TH, Kim MR. 2002. Quality characteristics of Sujongkwa. J East Asian Soc Dietary Life 12: 370–378.
- Kusunoki J, Hansoty DK, Aragane K, Fallon JT, Badimon JJ, Fisher FA. 2001. Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase inhibition reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. Circulation 103: 2604–2609.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 226: 497–509.
- Souza GA, Ebaid GX, Seiva FRF, Rocha KHR, Galhardi CM, Mani F, Novelli ELB. 2008. N-Acetylcysteine an Allium plant compound improves high-sucrose diet-induced obesity and related effects. J Evidence-Based Complementary Altern Med 2011: 30-36.
- Sudhahar V, Kumar SA, Mythili Y, Varalakshmi P. 2007. Remedial effect of lupeol and its ester derivative on hypercholesterolemia-induced oxidative and inflammatory stresses. Nutrition research 27: 778–787.
- Monetti M, Levin MC, Watt MJ, Sajan MP, Marmor S, Hubbard BK, Stevens RD, Bain JR, Newgard CB, Farese RV, Hevener AL, Farese RV. 2007. Dissociation of Hepatic Steatosis and Insulin Resistance in Mice Overexpressing DGAT in the Liver. Cell Metabolism 6: 69-78.
- Shimano H, Horton JD, Hammer RE, Shimomura I, Brown MS, Goldstein JL. 1996. Overproduction of cholesterol and fatty acids causes massive liver enlargement in transgenic mice expressing truncated SREBP-1a. J Clin Invest 98: 1575-1584
- Okamoto M, Irii H, Tahara Y, Ishii H, Hirao A, Udagawa H, Shimizu I. 2011. Synthesis of a new [6]-gingerol analogue and its protective effect with respect to the development of metabolic syndrome in mice fed a high-fat diet. J Med Chem 54: 6295-6304.
- Cherng S, Young J, Ma H. 2008. HMG-CoA reductase (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase) (HMGR). Journal of American Science 4: 62-64.
- Rodwell VW, Nordstrom JL, Mitschelen JJ. 1976. Regulation of HMGCoA reductase. Adv Lipid Res: 1-74.
- Bett-Garber KL, Lea JM. 2013. Development of flavor lexicon for freshly pressed and processed blueberry juice. J Sens Stud 28: 161-170.
- Chambers E IV, Lee J, Chun S, Miller AE. 2012. Development of a lexicon for commercially available cabbage (Baechu) Kimchi. J Sens Stud 27: 511-518.
- Chambers E IV, Jenkins A, McGuire BH. 2006. Flavor properties of plain soymilk. J Sens Stud 21: 165–179.

- Cherdchu P, Chambers E IV, Suwonsichon T. 2013. Sensory lexicon development using trained panelists in Thailand and the U.S.A.: soy sauce. J Sens Stud 28: 248-255.
- Choi NS, Chung SJ, Choi JY, Kim HW, Cho JJ. 2013. Physico-chemical and sensory properties of commercial Korean traditional soy sauce of mass-produced vs. small scale farm produced in the Gyeonggi area. Korean J Food Nutr 26: 553-564.
- Hong JH, Park HS, Chung SJ, Chung L, Cha SM, Le S, Kim KO. 2014. Effect of familiarity
 on a cross-cultural acceptance of a sweet ethnic food: a case study with Korean
 traditional cookie (Yackwa). J Sens Stud 29: 110-125.
- Yeh HY, Chuang CH, Chen HC, Wan CJ, Chen TI, Lin LY. 2010. Bioactive components analysis of two various ginger (Zingiber officinale Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. LWT Food Sci Technol 55: 329–334.
- Keane P. 1992. Manual on descriptive analysis testing for sensory evaluation. ASTM: Philadelphia, PA. Pp5-14.
- Kim DH, Kim HS. 2007. Sensory profiles of cooked rice, including functional rice and ready-to-eat rice by descriptive analysis. Korean J Food Cookery Sci 23: 761–769.
- Kim MJ, Park MH, Jeong MK, Yeo JD, Cho WI, Chang PS, Chung JH and Lee JH. 2010. Radical scavenging activity and anti-obesity effects in 3T3-L1 preadipocyte differentiation of Ssuk (Artemisia princeps Pamp.) extract. Food Sci Biotechnol 19: 535-540.
- Korean Food Foundation. 2012. International Hansik menu guide. DongA E&D, Seoul, Korea. Pp. 195.
- Lee J, Chambers DH. 2007. A lexicon for flavor descriptive analysis of green tea. J Sens Stud 22: 256-272.
- Lee HJ, Sul MS, Park JN, Kim JH, Song BS, Lee JW, Byun MW. 2007. Evaluation of the sensory quality characteristics during storage and mutagenicity of gamma-irradiated Sujeongwa powder (Korean traditional cinnamon beverage). Korean J Food Preserv 14: 408-413.
- Lee YJ, Byun GI. 2006. A study on the preference and intake frequency of Korean traditional beverages. Korean J Food Culture 21: 8-16.
- Lotong V, Chambers E IV, Chambers DH. 2003. Categorization of commercial orange juices based on flavor characteristics. J Food Sci 68: 722-725.
- Mancini-Filho J, Van-Koiij A, Mancini DA, Cozzolino FF, Torres RP. 1998. Antioxidant activity of cinnamon (Cinnamomum Zeylanicum, Breyne) extracts. Boll Chim Farm 137: 443-447.

- Meilgaard MC, Civille GV, Carr BT. 2006. Sensory evaluation techniques 4th eds. CRCPress, New York, NY. Pp.448.
- Muchuweti M, Kativu E, Mupure CH, Chidewe C, Ndhlala AR, Benhura MAN. 2007. composition and properties of some spices. Am J Food Techno 12: 414-420.
- Riedl KM, Lee JH, Renita M, St Martin SK, Schwartz SJ, Vodovotz Y. 2007. Isoflavone profiles, phenol content, and antioxidant activity of soybean seeds as influenced by cultivar and growing location in Ohio. J Sci Food Agr 87: 1197–1206.
- Seo JH, Sung TH, Kim MR. 2002. Quality characteristics of Sujongkwa. J East Asian Soc Dietary Life 12:370–378.
- Gacula M, Jr., Rutenbeck S. 2006. Sample size in consumer test and descriptive analysis. Journal of Sensory Studies 21: 129–145
- Hough G, Wakeling I, Mucci A, Chambers E IV, Gallardo IM, Alves LR. 2006. Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. Food Quality and Preference 17: 522–526.
- Meilgarrd MC, Civille GV, Carr BT. 2007. Sensory evaluation techniques 4th ed. CRC Press.