

발간등록번호

11-1543000-000784-01

생활습관병 개선 기능성 가공제품 개발 및 산업화

(Development and industrialization of nutraceutical  
rice products for improvement of life style relate  
disease)

조선대학교 산학협력단

농림축산식품부

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “생활습관병 개선 기능성 가공제품 개발 및 산업화에 관한 연구에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2014 년 12 월 2 일

주관연구기관명 : 조선대학교산  
학협력단

주관연구책임자 : 정현숙

세부연구책임자 : 정현숙

세부연구책임자 : 박윤경

세부연구책임자 : 임동윤

세부연구책임자 : 박종대

세부연구책임자 : 박은주

세부연구책임자 : 김래영

세부연구책임자 : 신말식

세부연구책임자 : 허영란

세부연구책임자 : 정형식

세부연구책임자 : 김남훈

# 목 차

총괄 요약문 .....	1
총괄 영문 요약문 .....	4

## I. 1-1 세부과제

요약문 -----	8
영문 요약문 -----	10
제1장. 연구개발과제의 개요 -----	13
제2장 국내외 기술개발 현황 -----	15
제3장 연구개발수행 내용 및 범위 -----	18
제4장 연구개발수행 결과 -----	28
제5장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도-----	67
제6장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	70
제7장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보-----	83
제8장 연구시설·장비 현황-----	86
제9장 참고문헌-----	87

## II. 1-2 세부과제

요약문 -----	95
영문 요약문-----	97
제1장. 연구개발과제의 개요 -----	98
제2장 국내외 기술개발 현황 -----	103
제3장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	106
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	135
제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	137
제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 -----	138
제7장 연구시설·장비 현황 -----	139
제8장 참고문헌 -----	140

## III. 1-3 세부과제

요약문 -----	142
영문 요약문-----	144
제1장. 연구개발과제의 개요 -----	146
제2장 국내외 기술개발 현황 -----	148
제3장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	149
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	209
제5장 참고문헌 -----	210

#### IV. 1-4 세부과제

요약문 -----	211
영문 요약문-----	215
제1장. 연구개발과제의 개요 -----	220
제2장 국내외 기술개발 현황 -----	222
제3장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	223
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	303
제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	305
제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보-----	306
제7장 연구시설·장비 현황 -----	307
제8장 참고문헌 -----	308

#### V. 2-1 세부과제

요약문 -----	320
영문 요약문-----	326
제1장. 연구개발과제의 개요 -----	329
제2장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	332
제3장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	382
제4장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	383
제5장 참고문헌 -----	385

#### VII. 2-2세부과제

요약문 -----	388
영문 요약문-----	396
제1장. 연구개발과제의 개요 -----	399
제2장 국내외 기술개발 현황 -----	402
제3장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	403
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	476
제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	478
제6장 참고문헌 -----	480

#### VIII. 3-1세부과제

영문 요약문 -----	485
제1장. 연구개발과제의 개요 -----	489
제2장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	493
제3장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	628
제4장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	630
제5장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 -----	634
제6장 참고문헌 -----	636

#### IX.3-2세부과제

요약문 -----	643
영문 요약문-----	644
제1장. 연구개발과제의 개요 -----	645
제2장 국내외 기술개발 현황 -----	649
제3장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	651
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	739
제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	741

#### X.4-1세부과제

요약문 -----	742
영문 요약문-----	748

제1장. 연구개발과제의 개요 -----	754
제2장 국내외 기술개발 현황 -----	758
제3장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	760
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	812
제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	813
제6장 참고문헌 -----	815

#### XI.4-2세부과제

요약문 -----	816
영문 요약문-----	819
제1장. 연구개발과제의 개요 -----	824
제2장 국내외 기술개발 현황 -----	828
제3장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	832
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	858

# Contents

<b>EXECUTIVE KOREAN SUMMARY</b>	<b>1</b>
<b>EXECUTIVE SUMMARY</b>	<b>4</b>
I. 1-1 Detailed Project	
1. Korean Summary-----	8
2. Summary-----	10
3. Outline of Research & Development Project-----	13
4. Current status of Research & Development at home and abroad-----	15
5. Research contents & scope-----	18
6. Results-----	28
7. Achievement of target & level of contribution in related field-----	67
8. Effectiveness of research and application planing of its effectiveness-----	70
9. Scientific technical information collected from abroad through research and technology development process-----	83
10. Current status of research facilities and equipments-----	86
11. References-----	87
II. 1-2 Detailed Project	

1. Korean Summary-----	95
2. Summary-----	97
3. Outline of Research & Development Project-----	98
4. Current status of Research & Development at home and abroad-----	103
5. Research Contents & Results-----	106
6. Achievement of target & level of contribution in related field-----	135
7. Effectiveness of research and application planing of its effectiveness-----	137
8. Scientific technical information collected from abroad through research and technology development process-----	138
9. Current status of research facilities and equipments-----	139
10. References -----	140

### III. 1-3 Detailed Project

1. Korean Summary -----	142
2. Summary-----	144
3. Outline of Research & Development Project-----	146
4. Current status of Research & Development at home and abroad-----	148
5. Research Contents & Results-----	149
6. Achievement of target & level of contribution in related field-----	209
7. References -----	210



#### IV. 1-4 Detailed Project

1. Korean Summary -----	211
2. Summary-----	215
3. Outline of Research & Development Project-----	220
4. Current status of Research & Development at home and abroad-----	222
5. Research Contents & Results-----	223
6. Achievement of target & level of contribution in related field-----	303
7. Effectiveness of research and application planing of its effectiveness-----	305
8. Scientific technical information collected from abroad through research and technology development process-----	306
9. Current status of research facilities and equipments-----	307
10. References -----	308

#### V. 2-1 Detailed Project

1. Korean Summary -----	320
2. Summary-----	326
3. Outline of Research & Development Project-----	329
4. Research Contents & Results-----	332
5. Achievement of target & level of contribution in related field-----	382
6. Effectiveness of research and application planing of its effectiveness-----	383
7. References -----	385

#### VII. 2-2 Detailed Project

1. Korean Summary -----	388
2. Summary-----	396
3. Outline of Research & Development Project-----	399
4. Current status of Research & Development at home and abroad-----	402
5. Research Contents & Results-----	403
6. Achievement of target & level of contribution in related field-----	477

7. Effectiveness of research and application planing of its effectiveness-----	478
8. References -----	480

VIII. 3-1 Detailed Project

1. Summary-----	485
2. Outline of Research & Development Proje-----	489
3. Research Contents & Results-----	493
4. Achievement of target & level of contribution in related field-----	628
5. Effectiveness of research and application planing of its effectiveness-----	630
6. Scientific technical information collected from abroad through research and technology development process-----	634
7. References -----	636

IX. 3-2 Detailed Project

1. Korean Summary -----	643
2. Summary-----	644
3. Outline of Research & Development Proje-----	645
4. Current status of Research & Development at home and abroad-----	649
5. Research Contents & Results-----	651
6. Achievement of target & level of contribution in related field-----	793
7. Effectiveness of research and application planing of its effectiveness-----	741

X. 4-1 Detailed Project

1. Korean Summary -----	742
2. Summary-----	748
3. Outline of Research & Development Proje-----	754
4. Current status of Research & Development at home and abroad-----	758
5. Research Contents & Results-----	760
6. Achievement of target & level of contribution in related field-----	812
7. Effectiveness of research and application planing of its effectiveness-----	813

8. References -----	815
---------------------	-----

XI. 4-2 Detailed Project

1. Korean Summary -----	816
2. Summary-----	819
3. Outline of Research & Development Project-----	823
4. Current status of Research & Development at home and abroad-----	828
5. Research Contents & Results-----	832
6. Achievement of target & level of contribution in related field-----	857

## 총괄 요약문

### I. 제목 : 생활습관병 개선 기능성 가공제품 개발 및 산업화

#### II. 연구개발 목표 및 내용

1. 천연소재 관련 기술개발과 산학연 협동체운동을 통해 기능성 쌀 가공제품을 개발하여 신시장을 창출하고 고부가가치 브랜드화를 기해 전통식품의 첨단산업화의 성공모델을 제시함
2. 혈행 개선에 관여하는 솔잎액의 유효성분을 분리·정제 및 구조를 분석하여 기능을 밝히고 이를 이용하여 생활습관병 개선 기능성 가공제품 개발 및 상품화
3. 솔잎으로부터 병원성 미생물에 대한 항생 작용 펩타이드의 탐색 및 분리
4. 전통 동치미 제조공정을 현대화하여 떡류 등 쌀 가공식품에 적합한 기능성 동치미 쌀 음료 신제품 개발 및 상품화
5. 솔잎액이 부신카테콜아민 유리, 혈압, 카탈사이질세포의 항도잡이 자발운동, 혈관수축에 영향을 규명
6. 솔잎액의 기능성에 기초하여 반응표면분석을 이용하여 솔잎액이 첨가된 대사성질환개선 효능을 가진 기능성 떡 제품을 개발
7. 솔잎분말을 첨가한 증편과 한국형 솔잎편빵을 개발 및 솔잎편빵의 소로 사용할 충전물의 최적배합비 확립
8. 대사기능개선 쌀 가공용품개발과 상품화를 위하여 in vitro 및 in vivo study를 통한 쌀 가공용품 소재의 기능성을 평가

#### ○ 연구결과

1. 항고혈압, 항산화, 항혈전에 관여하는 솔잎액의 유효성분 분리 및 기능 분석
  - 가. 솔잎에서 항고혈압 물질인 dehydroabiectic acid와 communical acid를 분리 정제 및 활성을 측정한 결과 ACE 억제효능이 각각 74.83%, 69.90%로 나타남
  - 나. 솔잎액에서 분리한 protocatechuic acid(PCA)와 shikimic acid(SA)의 항산화 활성 비교분석 결과 ascorbic acid와 유사한 항산화 활성을 나타냄
  - 다. 솔잎액에서 분리한 PCA와 SA는 혈전분해 물질로도 작용하며, aspirin보다 출혈 시 지혈시간이 짧아 항혈전제로 개발이 유용함
2. 솔잎 발효 미생물로부터 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 개발 및 추출, 추출 및 보존제 활성 연구
  - 가. FPLC와 HPLC를 통한 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 분리 및 정제
  - 나. 천연소재 기능성 펩타이드의 항균성과 세포독성 및 hemolysis 활성 측정
  - 다. 솔잎 발효 미생물로부터 분리한 펩타이드의 아미노산 서열 및 구조 분석
3. 솔잎 추출물의 유효성분 중 항고혈압 및 소화관 운동 조절 작용기전 연구
  - 가. 솔잎에서 새로운 물질인 12,14-labdantrien-18-oic acid(LDTEA)를 분리·정제 함
  - 나. LDTEA의 칼슘유리를 억제함으로써 항고혈압작용을 나타냄
  - 다. 솔잎 분획물(Fr.3)은 대장 ICCs의 항도잡이 활성을 조절하는 것으로 보임
  - 라. 솔잎에서 분리·정제한 LDTEA는 심혈관계 질환의 치료나 예방에 도움을 줄 수 있음

4. 기능성 떡 제품의 대사성 질환개선 효과 규명

- 가. 솔잎착즙액이 첨가된 기능성 솔잎착즙분말을 이용한 동물모델연구 및 인체중재실험을 통하여 고지혈증 개선, 혈중 지질개선, 지질과산화억제, 비만예방, 혈당수준 감소, 혈압 감소, 혈중 산화질소 조절, 혈관 수축 및 혈액 응고 조절에 효능을 나타냄

5. 기능성 쌀 가공제품의 혈당대사 연구

- 가. 공복시 혈당 및 인슐린저항성 개선효과를 확인
- 나. 비알콜성간질환에서 나타나는 혈당대사의 개선 효과 확인
- 다. RS를 병용하여 쌀가공제품의 수용도를 높였으나 식후 혈당대사 개선 효과는 높이지 못함

6. 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

- 가. 쌀의 전처리과정인 습식제분에 의한 쌀가루의 단점 보완과 쌀가루의 건조를 통한 유통의 편이성 확보 및 쌀을 이용한 떡제품 및 가공품에 적용
- 나. 소비자 관능검사로 쌀가루를 이용한 솔잎 설기떡 제조
- 다. 계란 흰자 머랭 반죽을 활용한 증편의 제조공정 간소화 확립
- 라. 솔잎분말을 첨가한 증편 제조 배합비 규명
- 마. 활성글루텐의 사용범위를 제안을 통한 한국형 솔잎 쌀 찌빵 제조
- 바. 반응표면분석(RSM)을 활용하여 찌빵용 충전물 개발

7. 기능성 쌀음료 개발

- 가. 동치미 제조 공정 조건과 동치미 음료 개발을 위한 최적의 조건 확립
  - 1) 염도 0.8%, 신화당 첨가량 동치미의 기호성이 우수함
  - 2) 95~100℃에서 15분간 살균한 처리구가 품질변화가 제일 적음
- 나. 관능검사 결과를 토대로 현장 생산을 위한 고속 연속식여과 및 살균조건 확립
  - 1) 고속 연속식여과(11,000 rpm) 및 살균조건 (충진 전 100℃/10 min) 확립
- 다. 동치미에 젤리 고형분을 첨가하여 기호성 향상
- 라. 병의 뚜껑을 개선하여 음용하기 용이하게 함

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1. 기술이전과 제품화

- 가. 창신대학교 김래영 교수와 전남대학교 신말식 교수의 기술이전(무상 2건, 유상 1건) 및 예다손과 공동으로 5색 가래떡과 다양한 찌빵 제품 개발
- 나. 동치미 음료 시제품 개발을 위한 병 타입 시제품 5종 개발
- 다. 최종 시제품 동치미 음료 3종(파인애플 동치미水, 흑미 동치미水, 오미자 동치미水) 생산

2. 개별인정 획득을 위한 학술적 자료 확보 및 임상실험 준비

- 가. 솔잎액의 기능성을 인정 받기위한 학술적 기반 확립
  - 1) 항고혈압 관련특허등록 1건
  - 2) 항혈전 관련특허등록 5건

- 나. 솔잎착즙분말의 임상실험 준비

- 1) 솔잎착즙액을 동결건조와 분말과정을 거쳐 캡슐 제작
- 2) 솔잎착즙분말 중재인체실험은 경남대학교 박은주 교수와 공동으로 진행함.



# EXECUTIVE SUMMARY

I. Title : Development and industrialization of nutraceutical rice products for improvement of life style relate disease

## II. Purpose & Contents of Research

1. Establishment of successful model in high-tech industrialization through development of natural resources related technology and commercialization of functional rice cake by industry-university collaboration
2. Development and commercialization of health functional food for life style relate disease through purification and characterization functional compounds related to blood circulation improvement from pine needle extract (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)
3. Screening and the purification of antimicrobial peptides from *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. against pathogenic strains
4. Development and commercialization functional *Dongchimi* rice beverage by modernizing the traditional *Dongchimi* manufacturing process suitable for rice processed food such as rice cake.
5. Clarification of effect of pine needle extract on adrenal catecholamine release, blood pressure, spontaneous pacemaker potentials in interstitial cells of Cajal and vascular contractility
6. Development of rice cake added pine needle extract for beneficial effect on the metabolic syndrome by response surface methodology
7. Development of rice steamed bread and *Jeungpyun* added pine needle extract with optimal formula of diverse filling inside
8. Development and commercialization for rice products with improving metabolic disorder and assessment of functionality for rice products through *in vitro* and *in vivo*

## III. Results of Research

1. Purification and characterization of anti-hypertension, antioxidant and fibrinolysis compounds from pine needle extract
  - 1) Isolation and purification of Anti-hypertension compounds, dehydroabietic acid and communic acid, from pine needle extract, and assessment its effect by *in vitro* inhibition of ACE gene of RAS (74.83%, 69.9% respectability).

- 2) Protocatechuic acid(PCA) and shikimic acid(SA) isolated pine needle extract showed high antioxidant activity like ascorbic acid through chemical structure changes by numbers of hydroxyl groups and position
  - 3) Protocatechuic acid(PCA) and shikimic acid(SA) isolated pine needle extract posses fibrinolytic activity. It's degradation pattern is similar to aspirin, hemostasis time at a bleeding was shorter than aspirin. It's very useful to development of fibrinolytic agent.
2. Screening and purification of antimicrobial peptides from *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. against the pathogenic strains and study of food preservatives activity
    - 1) Purification of functional peptides for natural food preservation using FPLC and HPLC
    - 2) Analysis of natural functional peptide for antimicrobial activity, cytotoxicity and hemolysis activity
    - 3) Structural analysis and amino acid sequencing of purified microorganism from fermented pine needle extract
  3. Study of new action mechanism of gastric-mobility and anti-hypertension with compounds isolated pine needle extract
    - 1) The inhibitory effects of LDTEA(12,14-labdantrien-18-oic acid) to the CA secretion from the isolated perfused rat adrenal medulla evoked by stimulation of both cholinergic and ANG II receptors.
    - 2) Regulation of the pacemaker activity of colonic ICCs by the activation of non-selective cation channels via activation of muscarinic M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> receptors. And external Ca<sup>2+</sup> influx and intracellular Ca<sup>2+</sup> release are involved in F3 actions on ICCs.
    - 3) LDTEA purified pine needle extract might be helpful in treating or preventing the cardiovascular diseases
  4. Clarification for metabolic syndrome improvement of functional rice cake
    - 1) The regulation effects of pine needle extract powder to inhibit nitric oxide (NO) synthase, plasma endothelin-1 (ET-1), a potent vasoconstrictor, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), a endothelial plasminogen activator, and the activated partial thromboplastin time (aPTT) through human intervention studies.
  5. Study of blood glucose metabolism of functional rice products
    - 1) The improvement effect of blood glucose and insulin resistance at empty stomach
    - 2) The improvement effect of atherogenic diet induced nonalcoholic steatosis in mice



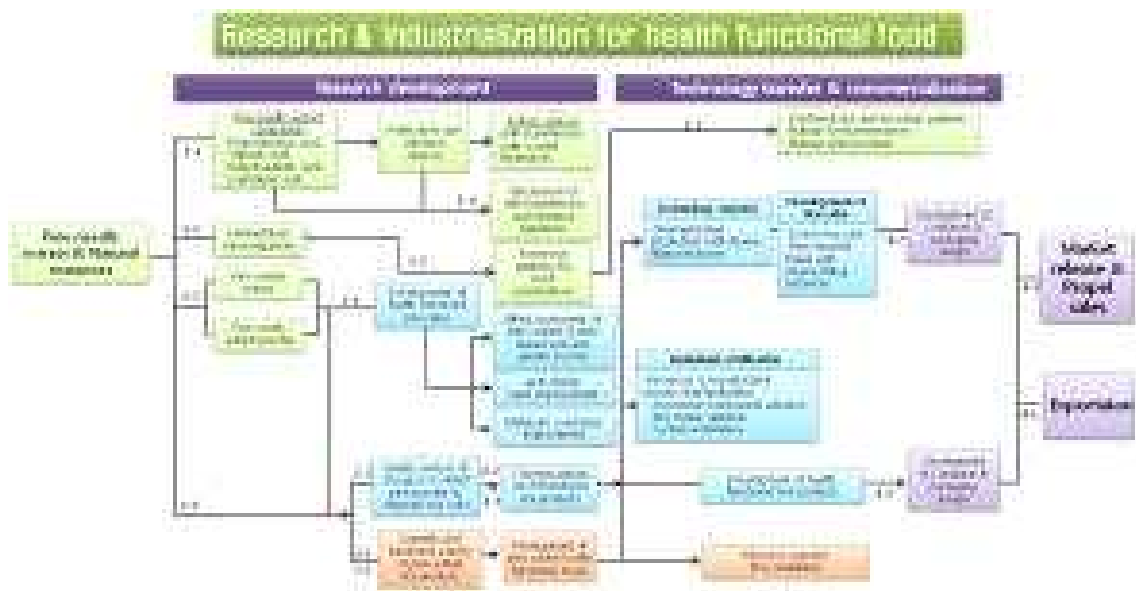
model

6. Development and optimizing the sensory evaluation of rice flour and functional rice cake
  - 1) The improvement of quality of rice flour and reducing milling steps by wet milling
  - 2) Manufacturing process of *Sulgidduk* added pine needle extract through consumer sensory test
  - 3) Simplification of *Jeungpyun* preparation step by application meringue of egg white.
  - 4) Ratio establishment of manufacturing mixture of *Jeungpyun* added pine needle extract
  - 5) Ratio establishment of manufacturing mixture of steamed bread using active gluten
  - 6) Development of diverse filling of steamed bread using RSM
7. Development of functional rice beverage
  - 1) Determination in *Dongchimi* manufacturing process conditions and optimum conditions, 0.8% in salinity and 95~100°C for 15 min in sterilization conditions
  - 2) Establishment of high-speed continuous filtration (11,000 rpm) and the sterilization conditions (filled before 100 °C / 10 min) for the field production by scale-up based on the sensory evaluation
  - 3) The improvement of palatability added jelly solids to *Dongchimi* beverage
  - 4) The improvement of easy cap form to remove with polypropylene cup container

#### IV. Implications and Application Plans of the Results

1. Technology transfer and commercialization
  - 1) Development of 5 color rice cake and diverse steamed breads through technology transfer from Prof. Shin at Chonnam university and Prof. Kim at Changshin university collaborated with Yedason
  - 2) Development of bottle type primary prototype 5 goods (*Dongchimi*, lemon grass *Dongchimi*, peppermint *Dongchimi*, red bit *Dongchimi*, black rice *Dongchimi*)
  - 3) Development of prototype *Dongchimi* 3 goods (pineapple *Dongchimi-su*, black rice *Dongchimi-su*, Omija *Dongchimi-su*)

2. Data establishment of health functional food for individual certification of reduced hypertension and preparation of human intervention studies
  - 1) Establishment of scientific and functional evidences of pine needle extract
    - Registered anti-hypertensive patent : one case
    - Registered fibrinolysis patents : five case
  - 2) Preparation of clinical trial analysis with pine needle extract powder
    - Capsuling of pine needle extract powder and designing of human intervention studies
    - Collaboration with Prof. Park in Kyungnam university for individual certification of reduced hypertension



## 1-1 세부과제

### 요 약 문

I. 제 목 : 솔잎액에서 혈행개선 물질 분리 및 기능성 연구

#### II. 연구개발의 목적

혈행 개선에 관여하는 솔잎액의 유효성분을 분리·정제 및 구조를 분석하여 그 기능을 밝히고 이를 이용하여 생활습관병 개선 기능성 가공제품 개발 및 상품화

#### III. 연구개발 내용 및 결과

##### 1. 솔잎액의 항고혈압 물질 분리 및 활성분석

가. 유기용매로 분리된 솔잎의 각 분획을 ACE inhibition으로 in vitro 분석하고 최종 단일성분을 NMR을 통해 유효성분의 구조를 분석하고, RAS의 ACE 유전자를 억제하는 유효성분의 활성을 평가함.

나. 솔잎에서 ACE 억제효능을 가진 세포독성이 없는 dehydroabiectin acid와 communic acid를 분리·정제 하였음

##### 2. 솔잎액의 항산화 활성과 화학적 구조변화에 따른 항산화 정리

솔잎액에서 분리된 PCA와 유도체를 DPPH 라디칼 소거활성 분석을 통해 항산화 활성을 평가하며 주요 잔기의 개수와 위치가 다른 유도체를 통하여 항산화 원리 규명

##### 3. 솔잎액의 혈전분해물질 분리 및 활성분석

솔잎액에서 분리된 PCA, SA와 PCA 유도체의 혈전분해 활성 및 혈전 분해 방법 비교 분석과 발효과정 중 PCA와 SA의 양적 변화 분석 및 동물시험시스템을 통한 혈전분해 양상 분석 및 동물시험시스템을 통한 혈전분해 양상 분석

가. PCA와 SA의 fibrin과 fibrinogen 분해 패턴은 plasmin과 다르며 aspirin과 비슷한 분해 패턴을 나타내지만 출혈시 지혈시간이 아스피린보다 짧아 항혈전제로 개발이 유용함.

나. PCA의 유도체 연구를 통하여 carboxyl group의 증가 등 구조에 따른 혈전 분해가 증가됨

##### 4. 개별인정획득을 위한 학술적 자료확보

가. 솔잎에서 분리된 항고혈압과 혈전분해 유효성분과 유도체들의 기능성을 인

정반기 위한 학술적 기반 확립

나. 개별인정형 건강기능식품을 위해 경남대학교 박은주 교수와 공동연구로 중재인체실험을 진행함

다. 이중맹검, 플라시보 대조구, 무작위, 병행 그룹 연구 - 29명의 대상자는 BP 120-139 mmHg 사이

라. 항고혈압 관련특허등록 1건, 항혈전 관련특허등록 5건

5. 기술이전을 통한 건강기능식품의 개발 및 상품화

가. 솔잎액을 이용한 제품화 연구는 전남대학교 신말식 교수와 창신대학교 김래영 교수의 기술이전을 통하여 예다손 공장에서 시제품 개발 및 보완을 통해 제품 개발 및 생산

나. 창신대학교 김래영 교수로부터 다양한 찜빵 제품 2건 기술이전, 전남대학교 신말식 교수로부터 오색가래떡 1건 기술이전

#### IV. 연구개발에 따른 기대성과

1. 솔잎액에서 항고혈압, 항산화, 혈전분해 효과를 가진 단일물질들이 분리·정제되고, 혈행개선에 대한 과학적 근거를 제시함

2. 솔잎액을 이용한 개별인정형 건강기능식품 개발의 기반 조성

3. 특허와 논문을 통한 지식권 확보 및 기술이전을 통하여 기능성 가공제품 개발 및 산업화

## SUMMARY

I. Title : Purification and characterization of functional compounds for the improvement of blood circulation from pine needle extract

### II. Purpose

1. Isolation and purification of functional compounds related to blood circulation improvement from pine needle extract (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.).
2. Functional characterization of anti-hypertension and fibrinolysis compounds derived from pine needle extract and its chemical derivatives for nutraceutical of individual certification.
3. Development and commercialization of functional rice cakes through project technology transfer for the improvement of the lifestyle related diseases.

### III. Research contents & Results

1. Purification and characterization of Anti-hypertension compounds from pine needle extract.
  - 1) Screening and purification of Anti-hypertension compounds using solvent partitioning and several column work from pine needle extract was performed, and confirmed of the component structure by NMR, and assessment its effect by *in vitro* inhibition of ACE gene of RAS.
  - 2) The dehydroabiectic acid and communie acid as ACE inhibitors was isolated and purified from pine needle extract without cytotoxicity.
2. Analysis Antioxidant activity and principle of antioxidant according to chemical structure.
  - 1) Antioxidant activity of protocatechuic acid(PCA) and its derivatives was measured antioxidant activity by DPPH radical removal activity assay and investigated the principle of antioxidant through chemical structure changes by numbers of OH groups and position.

3. Purification and characterization of Fibrinolytic compounds from pine needle extract.

1) Protocatechuic acid(PCA), shikimic acid(SA) isolated from pine needle extract and PCA derivatives were analyzed fibrinolytic activity and quantitative changes during fermentation process. Characterization of fibrinolytic compounds using thrombolytic activity *in vivo* animal system was performed.

2) The fibrinolytic activity was increased according to the number of the carboxyl group via PCA derivatives and thrombolysis activity in a dose dependent.

3) The fibrin and fibrinogen degradation pattern of PCA and SA is different to plasmin. It's degradation pattern is similar aspirin, hemostasis time at a bleeding was shorter than aspirin. It's very useful to development of fibrinolysis agent.

4. Data establishment of health functional food for individual certification of reduced hypertension

1) Functional characterization of anti-hypertension and fibrinolysis compounds derived from pine needle extract and its chemical derivatives.

2) Clinical trial analysis of pine needle powder for nutraceutical of individual certification in collaboration with Prof. Park in Kyungnam university.

3) Designed as double-blind, placebo-controlled, randomized, parallel-group intervention study including twenty -nine health subjects with systolic BP between 120 and 139 mmHg.

- Registered anti-hypertensive patent : one case

- Registered fibrinolysis patents : five case

5. Development and commercialization of health functional food through technology transfer

- Development and commercialization of functional rice cakes through

technology transfer for the improvement of the lifestyle related diseases collaborated with company Yedason, prof. Kim in Changshin university and Prof. Shin in Chonnam university.

- The company Yedason developed and produced functional five color rice cakes with Prof. Shin and diverse functional steamed bread with Prof. Kim through technology transfer

#### IV. Expected contribution

1. The anti-hypertension, antioxidant and fibrinolysis compounds were isolated and characterized for the improvement of blood circulation with scientific evidences from pine needle extract.
2. Health functional food developments through individual certification utilizing the pine needle extract.
3. Development and commercialization of functional rice cakes for the improvement of the lifestyle related diseases through project technology transfer about the patents and papers.

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절 연구개발의 필요성

1. 세계 식품시장 트렌드는 고지방, 고칼로리에서 저지방, 저칼로리 식으로 변화
  - 가. 전 세계적으로 심각하게 대두되고 있는 만성질환은 최근 우리나라에도 급격한 경제성장과 더불어 나날이 증가함
  - 나. 생활습관병은 최근 발병 연령층이 낮아지고 있어 심각한 사회문제로 대두
2. 다이어트, 고혈압, 당뇨병 등의 생활습관병 예방에 효능이 있는 기능성 소재 개발 요구됨
3. 솔잎은 다양한 생리활성을 가진 천연물소재로서 기능성 가공 제품의 첨가제로서 생리활성 및 과학적 증거확보가 필요함
  - 가. 솔잎은 항생, 항암, 혈압강하 및 호르몬 분비촉진 등 독특한 생리활성이 있다고 보고됨.
  - 나. 솔잎발효액은 항산화·항균 효과 및 위장관 운동성 조절 효과, 혈관이완작용, 항콜레스테롤작용 등이 있어 건강을 증진시키기 위해 유용한 기능성 소재임
  - 다. 솔잎의 어떠한 성분이 생리활성에 도움을 주는지에 대해서는 과학적 근거 자료가 매우 부족함
4. 솔잎을 이용한 식용제품으로 판매되는 주 제품은 솔잎환, 솔잎분말, 송유 및 음료, 등으로 과학적 접근을 통한 기능 연구와 생활습관병 예방을 위한 기능성 제품의 다양화 및 고급화가 필요함
  - 가. 솔잎을 이용한 몇몇 제품이 나오고 있으나 유용성의 범위, 검증 방법 및 특정 성분 생리적 조절 효능에 대한 원천 기반 기술 개발이 아주 미비한 실정임
  - 나. 솔잎의 다양한 화학물질과 영양성분에 대한 약리학적 작용, 안정성 확보 및 식물체내의 대사 작용기작에 관한 연구 개발이 선행되어야 함.
5. 국내 천연자원을 이용한 약리 활성 물질 분리 및 생성 분야에 대한 기능성 천연물질 특허 및 지적 소유권 강화에 따른 국제경쟁력 제고 차원에서 연구 개발



이 절실히 요구됨.

6. 생산자의 경쟁력 확보와 수준높은 소비자를 위하여 과학적 근거가 확보된 고기능성 제품개발이 요구됨

## 2절 연구개발의 범위

### 1. 술잎(액)의 발효 조건 확립과 생리활성 변화 분석

가. 술잎 발효 과정 중 발생하는 균의 종류 분석

나. 유용균에 따른 발효 진행 과정 분석 및 최적 조건 확립

다. 술잎(액)의 발효상태에 따른 생리활성 별 발효 조건 확립

### 2. 술잎(액)에서 생리 활성을 갖는 기능성 물질 분리 및 활성분석

가. 술잎액에서 항고혈압물질 분리정제 및 활성분석

나. 술잎액에서 분리 정제한 PCA와 SA 및 그 유도체의 항산화활성 측정 및 원리분석

다. 술잎액에서 항혈전 물질 분리정제 및 활성분석

### 3. 술잎발효액에서 선발한 균의 동정 및 물질 분석

술잎 발효과정 중 유용균 분리, 16S rRNA 분석 및 계통분석을 통해 발효에 영향을 미치는 미생물탐색과 PCA와 SA의 양적 변화 분석

### 4. 개별인정획득을 위한 학술적 자료 확보

경계 혈압 술잎착즙분말의 임상실험 분석을 위해 경남대학교 박은주 교수와 공동연구 진행. 임상을 위한 시제품제작과 플라시보 제작 및 포장

### 5. 제품화 연구

술잎액을 이용한 제품화 연구는 3-1세부와 2-2세부과제의 기술이전을 통하여 예다손 공장에서 시제품 개발 및 보완을 통해 제품 개발 연구

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1절 기술개발현황

1. 최근 정제, 반합성, 합성 등 화학의약품의 61%가 천연물 및 천연물 유도체임
2. 신약개발의 소재 고갈에 따른 바이오의약품의 급부상
3. 환경변화, 삶의 질 개선에 따른 음식문화 변화 따른 다양한 생활습관성 질환 증가와 생활습관병 발병 연령대가 낮아짐에 따라 예방과 치료에 대한 관심 증가
5. 최근 5년 동안 국내 천연물 신약 허가 6건인 반면, 국외 천연물 신약 허가는 250건으로 국내 천연물 신약 허가 건수는 국외 허가건수 보다 매우 낮음
6. 천연물 의약품의 장점인 경험적으로 입증된 안정성유효성에 때문에 최근 많은 식물에서 천연물질 정제 및 분석 연구 진행
7. 최근 사회적 문제로 대두되고 있는 생활습관병에 최적화되어 많은 연구가 진행되고 있음
8. 발효식품에 대한 관심 증가로 발효과정 중 발효에 관여하는 미생물의 분리와 관계 연구 진행
9. 발효식품의 생리활성에 영향을 미치는 천연물질 연구 진행
10. 국내 발효식품인 김치, 막걸리 등 고유의 식품 자체의 생리활성 연구와 기능성 물질 연구 진행
11. 동아시아(중국, 인도)를 중심으로 고대부터 자생식물을 이용한 민간요법 또는 고대의서(동의보감과 본초강목) 기초로 각 질환에 효능이 좋은 식물에서 천연물질 분리 연구
12. 최근 국내 식생활에서 기호식품을 소비하는 경향이 증가하고 있고 고령화 시대 및 핵가족화 추세에 따라 소비형태가 변화되고 있음. 세계 식품시장 트렌드는 고지방, 고칼로리에서 저지방, 저칼로리 식이로 변하고 있으며, 다이어트, 고혈압, 당뇨병 등의 생활습관병 예방에 효능이 지속적으로 보고되고 있는 아시아 식품이 최근에 건강식품으로 주목받고 있음.

## 2절 연구결과가 국내외 기술개발현황에 차지하는 위치

### 1. 항고혈압 연구

고혈압은 스트레스가 많은 현대인에게 가장 무서운 생활습관병 중 하나이다. 환경적인 요인과 유전적인 영향으로 인하여 그리고 고령화에 따른 혈관 수축 이완 문제 등이 고혈압으로 인한 합병증 유발과 이어지며 사망에 이르게 하는 무서운 질환으로 인식되어지고 있어 항고혈압제에 대한 연구와 기전연구가 다양하게 이루어지고 있다. 현재 항고혈압제로 사용되고 있는 Captopril과 같은 ACE inhibitors들은 최근 ACE의 active site 주변에 있는  $Zn^{2+}$ 이 주변 아미노산과 수소결합을 방해하는 대신 ACE inhibitors들이 아미노산과 수소결합을 하고 있다는 것이 보고되었다. 최근에는 기존에 사용되던 ACE inhibitors의 부작용 때문에 새로운 ACE inhibitors들이 절실하게 요구 되었고, 새로운 형태의 ACE inhibitor들이 보고되고 있다(11, 12). 현재 사용되고 있는 ACE inhibitor들은 합성 화학물질이나 합성 펩타이드들인데, 합성 화학물질과 합성 펩타이드는 대량합성으로 생산이 가능하다는 점이 유용하지만, 화학적 합성으로 인한 새로운 부작용이 발생할 수 있다는 단점이 있다.

본 연구에서는 항고혈압 물질연구의 일환으로, 솔잎에서 분리 정제한 Dehydroabietic acid와 communis acid를 이용하여 항 고혈압 기능을 분석하였다. 항 고혈압 기능은 Angiotensin I (HHL)을 분해하는 ACE 단백질의 활성을 억제하여 분석하였다. 두 화학물질의 ACE 억제활성 측정은 HPLC를 이용하여 hippuric acid의 검출량을 통하여 억제활성을 측정하였다. 두 화학물질은 항고혈압제로 시판되고 있는 captopril과 비슷한 효과를 나타내었다. 항고혈압 기능 분석은 물질 분리과정 중에 각 fraction의 빠른 분석을 위해 ACE *In vitro* 분석을 진행하였고 활성측정은 HPLC를 이용하였다. 항고혈압 분석은 혈압 상승 기전 중 가장 상위에 있는 Angiotensin converting enzyme을 억제하는 것이다. ACE 억제활성은 HHL(Angiotensin I)에서 hippuric acid(Angiotensin II)의 검출량을 분석하여 항고혈압 억제효과를 분석하였다.

Dehydroabietic acid와 communis acid는 기존에 판매되고 있는 항고혈압 약물과는 달리 솔잎에서 분리한 천연물질이다. 기존에 시판되고 있는 항고혈압 억제제는 부작용이 보고되고 있으며, 개인차가 커서 자신에게는 맞지 않은 약물에 대한 경우가 많이 보고되어 있으므로, 합성화학물질과 비슷한 효과를 내며 부작용이 적은 항고혈압제의 개발이 절대적으로 필요하다. 이 화학물질들은 식물의 2차대사 산물이며 기존에 시판되고 있는 항고혈압 억제제와 비슷한 효과를 나타내고 있으며 세포독성도 없어서 새로운 항고혈압 억제제로 적용할 수 있는 좋은 자료가 될 것임.

## 2. 혈전분해 연구

기존 혈전분해 성분은 단백질(또는 펩타이드)이 대부분이었으며, 식물의 이차대사산물의 혈전분해능에 관한 연구나 특허는 보고 되지 않음. 본 연구에서는 솔잎으로부터 항혈전물질인 Protocatechuic Acid (PCA)을 분리 정제하였으며, 구조적으로 PCA와 유사한 23개의 화학물질들의 항혈전 기능을 분석하였다. 특히 화학물질의 선택방법은 벤젠고리의 잔기 종류 및 위치를 통해 항혈전 작용에 활성을 나타내는지 분석하였다. PCA와 그 유도체 23개의 화학물질들이 어떻게 항혈전 기능을 나타내는지 기전을 밝히고 현재까지 알려지지 않은 항혈전 치료제를 찾고자 한다. 이러한 chemical screen과 engineering에 관한 연구는 100년 전 버드나무에서 salisilic acid를 분리하여 아스피린을 치료제로 발달시킨 연구와 비교할 수 있으며, PCA가 아스피린이 가지고 있는 생리활성의 유용성 및 기작과 비슷하지만 아스피린이 가진 혈액응고 시간의 지연에 따른 부작용을 극복할 수 있는 이점을 극대화시킬 수 있으므로, PCA와 그 유도체등에 관한 연구결과를 항혈전 약물치료제로 적용할 수 있는 훌륭한 기초자료를 될 것임.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 범위

### 1절 항고혈압 물질분리 정제 및 활성분석

#### 1. 솔잎 준비

가. 솔잎은 아황산가스의 오염을 최소화하기 위해 해발 350 m 이상에서 자란 청정지역의 건강한 소나무를 선택하여 영양상태가 좋은 가지부분을 채취한 후 싱싱하고 푸른 잎만을 선별하였다.

#### 2. 솔잎에서 항고혈압 기능성물질 분리를 위한 EtOAc 층 준비

가. 60% 메탄올을 건조된 솔잎 무게의 10배로 혼합

나. 60% 메탄올과 혼합된 솔잎을 교반하면서 추출

다. 메탄올에 추출된 용액을 상온에서 감압 농축기에서 농축

라. 농축된 솔잎 추출물을 물과 유기용매(EtOAc)를 1:1로 혼합 후 분획 깔대기를 이용하여 층 분리를 진행함

마. 혼합된 용액을 상온에서 일정 시간 유지 후 분리된 물층과 EtOAc층 중 EtOAc 층만을 분리 후 감압 농축기를 이용하여 농축

#### 3. 솔잎의 EtOAc층에서 항고혈압 기능 성분 분리

가. Silica gel (40 ~ 63 um particle size)을 15 × 30 cm column을 이용하여 분리 및 정제함

- 1) 농도구배 :  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 와 MeOH 비율을 30 : 1 ~ 0 : 1까지 농도 구배를 조절함
- 2) 분리된 분획은 Reverse Phase-Thin Layer Chromatography (RP-TLC) 확인을 통해 총 10개 분획으로 혼합 및 분리함
- 3) 총 10개의 분획에 대해 ACE inhibition에 대한 분석을 진행함

나. RP C-18 (40-63um particle size)을 10×30cm column chromatography을 이용하여 분리 및 정제함

- 1) 농도구배 :  $\text{CH}_3\text{CN}$  :  $\text{H}_2\text{O}$  비율을 1:3에서부터 1:0까지 농도 구배를 조절함
- 2) 분리된 분획은 RP-TLC 확인을 통해 총 13개의 분획으로 혼합 및 분리함

다. Silica gel (40-63um particle size)를 5×30cm column chromatography을 이용하여 분

리 및 정제함

- 1) 농도구배 : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH 비율을 1:0에서부터 0:1까지 농도 구배를 조절함
- 2) 분리된 분획은 RP-TLC 확인을 통해 총 15개의 분획으로 혼합 및 분리함
- 3) 10개의 분리된 분획은 항고혈압 분석(Angiotensin Converting Eenzyme assay - In vitro)와 NMR을 이용하여 구조 분석을 실시함

#### 4. 솔잎의 항고혈압 분석 - In vitro

가. 재료 준비

- 1) Open column을 이용하여 분리된 분획을 사용
- 2) Angiotensin Converting Enzyme (ACE) 준비 : enzyme은 Lung acetone powder from rabbit에서 ACE 추출
- 3) Lung acetone powder from rabbit은 borate buffer(1g/10mL)와 혼합 및 교반 후 4℃, 4,000g(6,600 rpm), 40분 동안 원심분리 후 상층액 만을 이용함
- 4) ACE는 Rabbit lung powder 1g을 50mM Borate buffer 10 mL에 녹인 후, 2시간 동안 4℃ 추출을 진행함
- 5) ACE을 추출하기 위해, 6600 rpm으로 40분 동안 4℃에서 분리 후 상층 액만을 사용한다. 사용하지 않는 ACE solution은 -20℃에서 보관함

나. 실험 방법

- 1) ACE 반응 solution 조건

ACE	100 uL
HHL 4mM	100 uL
Sample	50 uL
Total	250 uL

※ N-Hippuryl-His-Leu hydrate (HHL, sigma H1635)와 ACE(sigma, A6778)을 사용

- 2) ACE assay positive control은 항고혈압제로 알려진 Captopril을 사용함
- 3) 반응 solution 후 1N HCl을 이용하여 반응을 종료 시키고 EtOAc와 혼합하여 상층액을 Dry시킨 후 MeOH(HLPC) 1mL 첨가 후 hippuric acid의 함량을 HPCL를 이용하여 확인함
- 4) ACE 반응 부산물인 Hippuric acid 분석을 위한 HPLC 분석 조건
  - 가) 사용된 컬럼 : RP-C18 (250×4.6 mm I.D., S-6 um, YMC)을 사용함
  - 나) HPLC system : LC-20AT(liquid chromatograph)와 SPD-20A(UV/VIS detector)
  - 다) Injection Volume : 20 uL
  - 라) HA 확인 UV wavelength : 228 nm
  - 마) ACE inhibition rate 분석 : HA의 area를 이용하여 분석함

$$\frac{\text{HA (negative control)} - \text{HA (sample)}}{\text{HA (negative control)}} \times 100$$

마) HPLC condition

UV wavelength	228 nm
Mobile phase	MeOH 40% and H <sub>2</sub> O(0.1% formic acid) 60%
Flow rate	0.5 mL/min
Column	RP-C18
Hippuric acid Retention Time	19.4 min

5. 솔잎 분리된 유효성분의 세포독성 실험

가. RAW 264.7 및 EA.hy 926 cell 준비

- 1) 1 day : Counting된 Cell을 이용하여 96-well plate에 5x10<sup>4</sup>으로 seeding함 이때 Media의 양은 100ul로 함
- 2) 2 day : Cell이 seeding 된 각 well에 각 sample을 100 uL 첨가하여 총 200 uL가 되도록 만듦
- 3) 3 day : 세포독성 측정

나. 세포독성 측정 방법

- 1) MTT 시약을 Final 농도가 0.5 mg/mL이 되도록 넣어줌
- 2) CO<sub>2</sub> incubator에서 4시간 incubation
- 3) 4시간 뒤 96-well plate안에 있는 Media를 Cell이 따라 나오지 않도록 조심히 suction
- 4) Suction후 plate에 DMSO : EtOH (1:1)을 200 uL를 첨가 후 Cell이 녹을 때 까지 shaking
- 5) Shaking 후 새로운 Plate에 40ul의 양으로 덜어주고 나머지 160 uL는 DMSO : EtOH (1:1) 채워 희석
- 6) 570nm에서 흡광도를 측정

## 2절 항산화 활성 및 원리분석

### 1. 재료 준비

가. 술잎과 술잎발효액에서 분리된 유효성분을 1 mg/mL로 준비

나. 각 샘플의 측정 농도는 1, 5, 10, 50, 100, 300, 500, 1000 ug/ml

다. Positive control는 ascorbic acid 이용

라. U.V. spectrophotometer에서 측정 wavelength는 517 nm에서 측정

### 2. 실험 방법

가. DPPH는 MeOH에 녹이고 최종 농도는 0.04 mM

나. Positive control ascorbic acid를 이용하여 standard curve 측정하며 농도는 1, 5, 10, 50, 100, 300, 500, 1000 ug/ml

다. 측정에 사용되는 샘플은 각각 DPPH : sample 비율을 900 : 100 으로 혼합하여 준비함

라. 상온에서 30분 동안 반응 후 U.V. 517nm에서 측정함



### 3절 혈전분해 물질분리 정제 및 활성분석

#### 1. PCA, PCA 유도체, SA의 혈전분해 활성 분석

##### 가. 재료 준비

- 1) Fibrinogen (sigma-aldrich)에 distilled water를 넣어 1mg/ml로 만든 후 37 °C에서 incubation
- 2) 완전히 녹은 fibrinogen solution에 thrombin (sigma-aldrich)을 1U/ml에 넣은 후 96-well plate에 90ul 씩 분주하고 상온에서 fibrin을 굳힘

##### 나. 실험방법

- 1) 각 PCA, PCA 유도체, SA를 50 mM로 만들어 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM로 희석
- 2) 굳은 fibrin에 각 PCA, PCA 유도체, SA을 10 ul씩 점적한 후 UV spectrophotometer (Biotek)를 이용하여 wavelength 350 nm에서 2시간 동안 관찰

#### 2. PCA 함량 분석

##### 가. 재료 준비

- 1) Open column을 이용하여 분리된 10개의 분획을 사용
- 2) 분획 층은 희석을 위해 HPLC용 MeOH과 혼합 후 column 보호를 위해 유기용매 필터를 이용하여 필터링 후 사용

##### 나. 실험 방법

- 1) Open column을 이용하여 분리된 10개의 분획을 사용

UV wavelength	254 nm
Mobile phase	MeOH 50% and H <sub>2</sub> O(0.1% formic acid) 50%
Flow rate	0.7 mL/min
Column	RP-C18
Hippuric acid Retention Time	

## 4절 술잎 발효액의 유용균 선별

### 1. 술잎 발효액에서 미생물 동정 및 분석

#### 가. 재료 준비

- 1) 발효 기간에 따른 술잎 발효액 준비
- 2) TSB(Bacteria) 배지와 YPD(Yeast) 배지를 liquid와 agar 준비
- 3) 배지 조성

TSB medium (1L)		YPD medium (1L)	
-Peptone	10g	-Pancreatic Digest of Casin	17g
-Yeast Extract	20g	-Papic Digest of soybean	3g
-Dextrose	20g	-Dextrose	2.5g
-Agarose	10g	-Sodium Chloride	5g
		-Dipotassium Phosphate	2.5g
		-Agarose	10g

#### 나. 실험 방법

- 1) 준비된 술잎 발효액은 YPD와 TSB 배지에 도말 후 28℃와 37℃에서 배양
- 2) 형성된 colony는 각기 YPD와 TSB liquid 배지에 28℃와 37℃에서 배양
- 3) Bacteria 배지에서 성장한 미생물은 gram positive와 negative를 현미경에 관찰
- 4) 미생물의 genomic DNA 분리 후 PCR을 통해 Yeast와 Bacteria 각각 분리
- 5) PCR condition

Bacteria			Yeast		
94 °C	30 sec	30 cycle	94 °C	30 sec	30 cycle
94 °C	30 sec		94 °C	30 sec	
55 °C	1 min		55 °C	1 min	
72 °C	1 min		72 °C	1 min	
72 °C	10 min		72 °C	10 min	
4 °C	forever		4 °C	forever	

#### 6) Primer : universal primer

Bacteria		Yeast	
Forward	27 F	Forward	ITS 3
Reverse	1492 R	Reverse	LR 3R

- 7) 분리된 미생물의 Sequencing 분석 : 26S rRNA D1/D2와 16S rRNA region 분석 후 GenBank database에서 bacteria 중 분석
- 8) 분석된 미생물의 계통 분석은 EBL의 Cluster W를 이용 계통 분석

2. 솔잎 발효에 관여하는 유용균에 대한 조건 확립

가. 실험 재료

- 1) 발효가 진행되지 않은 솔잎 발효액을 U.V 하에서 살균 진행
- 2) 솔잎 발효에 관여하는 미생물을 동정하기 위해 솔잎 발효액에서 분리된 미생물의 병원성 유·무 및 발효 관여 분석

나. 실험 방법

- 1) 배지 조성

TBS medium (1L)		YPD medium (1L)	
-Peptone	10g	-Pancreatic Digest of Casin	17g
-Yeast Extract	20g	-Paptic Digest of soybean	3g
-Dextrose	20g	-Dextrose	2.5g
-Agarose	10g	-Sodium Chloride	5g
		-Dipotassium Phosphate	2.5g
		-Agaros	10g

- 2) 3종의 미생물을 liquid 배양 후 배지를 제거하기 위해 D.W를 이용하여 washing
- 3) 살균된 솔잎발효액(발효 전) 10 mL과 균 10 uL 혼합
- 4) 25°C에서 180 rpm으로 배양
- 5) 배양된 솔잎발효액은 1주일 간격으로 PCA와 SA 함량 변환 측정

## 4절 솔잎착즙분말의 개별인정획득을 자료 확보

### 1. 솔잎착즙분말을 이용한 개별인정 획득을 위한 학술적 자료 확보

가. 목표 : 솔잎착즙분말의 기능성 원료로 인정 받기 위한 특허 및 논문 확보

나. 기능성 확인을 위한 바이오마커 선정

- 1) 항고혈압 기능성 바이오마커 : ACE inhibition 활성 분석
- 2) 항산화 기능성 바이오 마커 : DPPH 분석

다. 솔잎착즙분말의 임상 실험 준비

- 1) 솔잎착즙분말 제조 : 솔잎착즙액은  $-50^{\circ}\text{C}$ 에서 예비 동결건조한 후 시료를 건조기에 두었고,  $-70^{\circ}\text{C}$ ~ $-85^{\circ}\text{C}$ 에서 진공 펌프를 가동하여 수분이 완전히 제거되고 상온이 될 때까지 유지함 완성된 건조물은 믹서로 분쇄하여 준비
- 2) 솔잎착즙분말 캡슐 제조 : 플라시보군에 쓰일 위약은 밀가루에 식용색소(녹색과 적색)을 가한 후 믹서로 혼합하여 준비함. 각각의 분말은 1캡슐당 0.35 g 씩 첨가하였으며, 1회분에 3개 캡슐(1.05g)을 동봉하여 포장함. 따라서 대상자는 1회 1.05g, 하루 3.15 g의 솔잎착즙분말을 섭취하며, 솔잎착즙액의 건조효율(26.7%)을 고려하면 솔잎착즙분말 하루 섭취량(3.15g)은 솔잎착즙액 11.8g에 해당하는 양에 해당됨

## 5절 제품개발

### 1. 쌀가루를 이용한 제빵 제품 개발

가. 창신대학교 김래영 교수의 레시피에 따른 시제품 제작

나. 제품 종류 : 쌀가루를 이용한 이스트 발효찜빵

다. 시제품 제작 진행 : 예다손 나주 공장

라. 제조공정

재료 배합 → 반죽 → 발효 → 성형 → 숙성 → 가열 → 냉각 → 포장

### 2. 천연 색소를 이용한 5색 가래떡 제품 개발

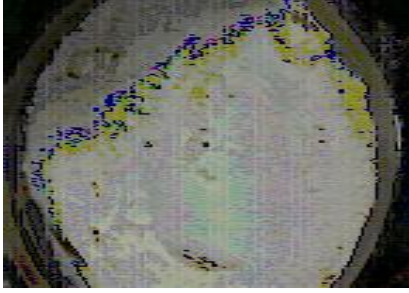
가. 전남대학교 신말식 교수의 레시피에 따른 시제품 제작

나. 제품 종류 : 천연 색소를 이용한 5색 가래떡

다. 시제품 제작 진행 : 예다손 나주 공장

라. 제조공정

재료배합



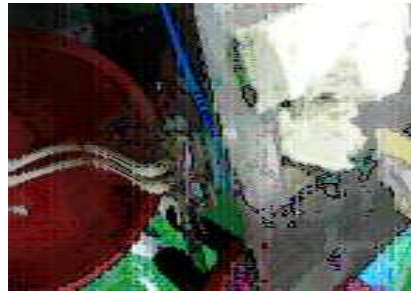
짜기



사출



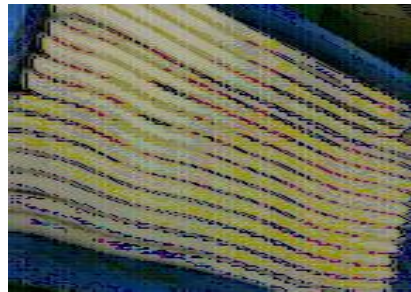
냉각



절단



포장



### 3. 찰떡류 제품 개발

가. 전남대학교 신말식 교수의 레시피에 따른 시제품 제작

나. 제품 종류 : 기존 제품에 미강 첨가한 찰떡류

다. 시제품 제작 진행 : 예다손 나주 공장

라. 제조공정

재료 배합 → 반죽 → 발효 → 성형 → 숙성 → 가열 → 냉각 → 포장

## 제 4 장 연구개발수행 결과

### 1절 항고혈압 물질분리 및 활성분석

#### 1. 솔잎에서 항고혈압 기능성 물질 분리

가. 솔잎(45 kg)은 MeOH(60%)을 이용하여 추출하였으며, MeOH 부피는 솔잎 무게의 10배로 첨가하여 추출하였음.

나. MeOH 추출 솔잎은 농축 후 EtOAc 층을 확보하기 위해 Water : EtOAc를 1 : 1 비율로 혼합 후 EtOAc 층만을 분리 후 감압 농축기를 이용하여 농축하였음. 농축된 EtOAc층은 약 500g이 확보되었음.

다. 분획 Fr.2의 분리 조건을 확인하기 위해 TLC 분석을 통해 CH<sub>3</sub>CN : H<sub>2</sub>O 조건이 가장 안정적으로 분리 되는 것을 확인하였음.

- 1) 농도 구배는 1 : 3부터 1 : 0 비율로 분리 종료하였으며 분리 분획들은 TLC 분석을 통해 최종 분획을 결정 (Fig. 1).
- 2) TLC 분석을 통해 최종 13개의 분획이 분리되었으며, 분리된 분획들은 생리활성 실험에 사용되었음. 이중 ACE inhibition 활성이 좋은 분획은 Fr.2.7로 확인됨.

라. 분획 Fr.2.7의 분리 조건을 확인하기 위해 TLC 분석을 통해 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH 조건이 가장 안정적으로 분리 되는 것을 확인하였음.

- 1) 농도 구배는 1 : 0 부터 0 : 1 비율로 분리 종료하였으며 분리 분획들은 TLC 분석을 통해 최종 분획을 결정 (Fig. 1).
- 2) TLC 분석을 통해 최종 5개의 분획이 분리되었으며, 분리된 분획들은 생리활성 실험에 사용되었음. 이 중 ACE inhibition 활성이 좋은 분획은 Fr.2.7.1로 확인됨.

마. 분획 Fr.2.7.1의 분리 조건을 확인하기 위해 HPLC를 이용

- 1) Column : Optimpak C18 250 × 10mm I.D.
- 2) Injection volume : 50uL, Flow rate : 2mL/min
- 3) 분리조건 : 0-60분과 70-80분 MeOH 80%, 62-67분 MeOH 100%
- 4) 사용파장 : 204와 254 nm
- 5) ACE inhibition 활성 분획 : Fr.2.7.1.8과 Fr.2.7.1.9

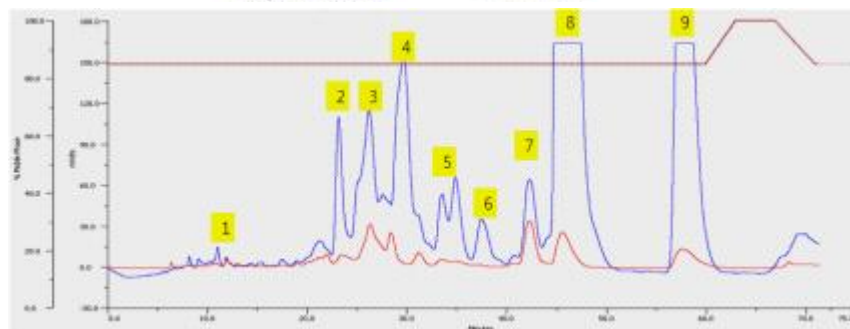
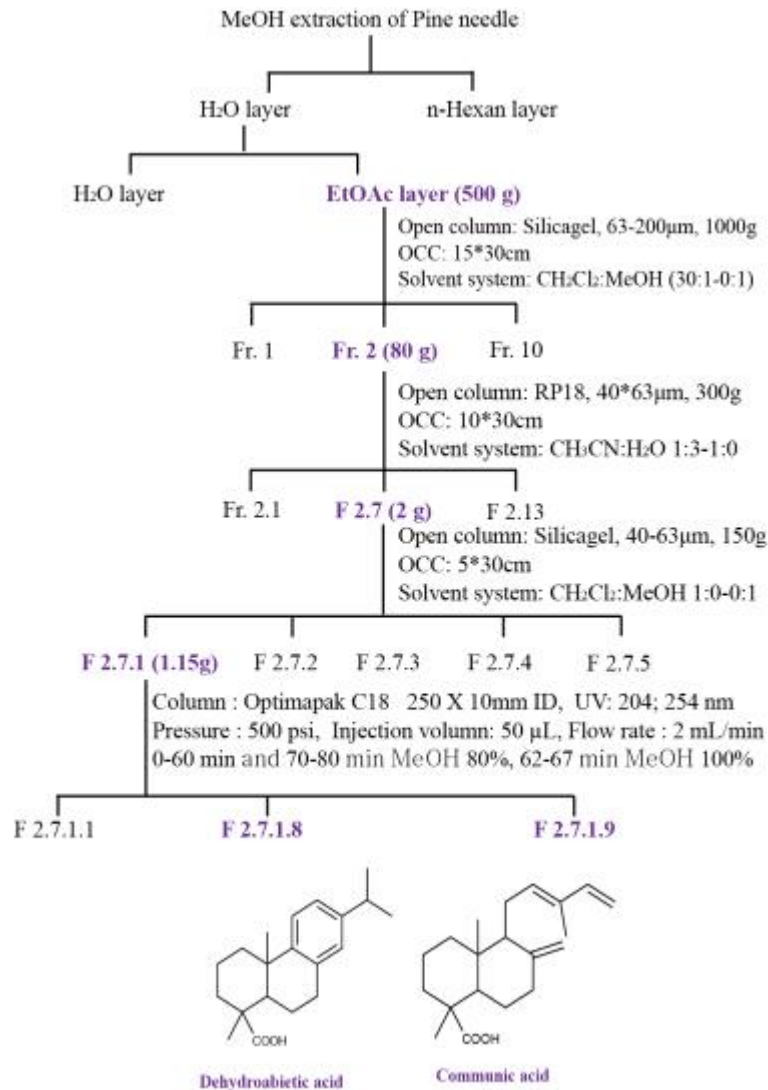


Fig. 1. 솔잎에서 ACE inhibitor 분리과정. A. 솔잎 45 kg에서 EtOAc 층 분획은 500g을 얻었으며, 3 단계의 Open column과 RP-HPLC 과정을 통해 ACE inhibition (항고혈압 활성) 기능이 있는 2개의 compound를 분리 함. B. HPLC로 분리 결과. 분획 2.7.1은 HPLC 용 메탄올 80%로 분리되어 총 9개의 분획이 확인 됨. 이 중 분획 8과 9번이 2.7.1의 주된 화학물질임. 파란색의 파장대는 254 nm이고 빨간색의 파장대는 204 nm 임. 8번과 9번을 제외한 나머지 분획들은 소량이기 때문에 1번부터 4번까지를 하나의 분획으로 5번부터 7번까지를 하나의 분획으로 모아 ACE inhibition assay를 분석함



## 2. 솔잎 분획의 항고혈압 분석 - In vitro

### 가. ACE inhibition 분석을 위한 HA standard curve

- 1) ACE는 HHL 펩타이드 중 첫 번째 아미노산 hippuric acid를 인식하여 HA와 HL로 분해하며 이는 ACE  $\parallel$  만들어내는 과정과 일치함 따라서, ACE와 측정하고 하는 sample을 처리하여 HA 생산량에 따라 ACE inhibition을 확인 할 수 있음.
- 2) HA standard curve에 따라  $Y=146196x - 71653$ 이며  $R^2=0.9966$ 임을 확인하였음. HA concentration은 HA 20, 10, 5, 2.5, 1.25 ug/mL을 사용하였음 (Fig. 3.)

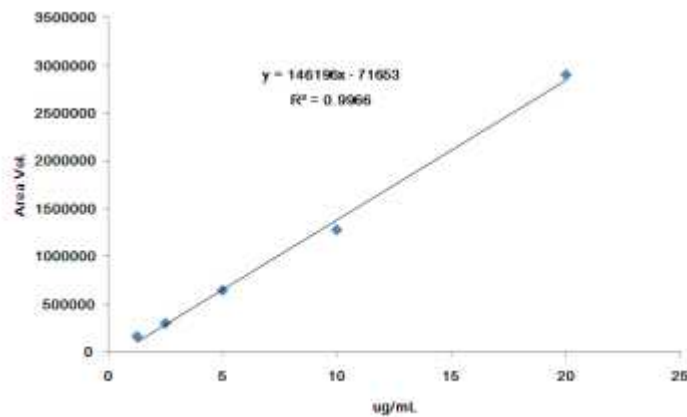


Fig. 3. HA standard curve. HA concentration은 20, 10, 5, 2.5, 1.25 ug/mL을 사용하였음. Y축 HA 각 농도별 area 값. X축 HA의 농도.

### 나. Hippuric acid (HA) detection을 위한 HPLC condition 분석

- 1) HA 1 mg/mL을 HPLC용 MeOH에 녹여 HPLC 분석
- 2) HA retention time은 19.48분에서 확인되었음 (Fig. 2).

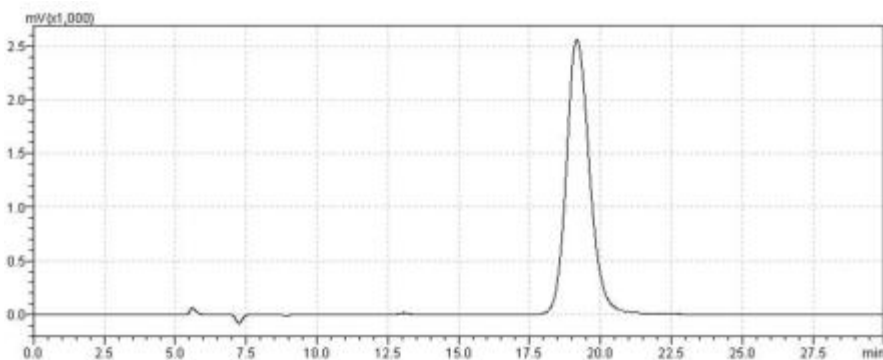


Fig. 2. Hippuric acid retention time. HA (1 mg/mL)를 20 uL injection 후 HA retention time은 19.4분으로 확인 되었음. Solvent gradient는 0 ~ 15 min과 25 ~ 30 min ; MeOH 40%로, 15 ~ 20 min MeOH 100% 구성으로 HPLC 진행.

### 다. 솔잎 EtOAc fraction의 ACE inhibition 분석 - In vitro

- 1) EtOAc fraction 2는 ACE 분석 결과

가) 1-4 세부과제의 카테콜아민 분비 억제효과(최대 억제율 50%)와 동일한 결과를 확인할 수 있음(Fig. 4).

나) Positive control인 captopril 10mg/mL과 동일하게 ACE를 inhibition함 (Fig. 5).

다) 고농도로 처리된 positive control과 비교 시 2번으로 분획과정에서 나온 효과는 상당히 높은 ACE 억제효과가 있음.

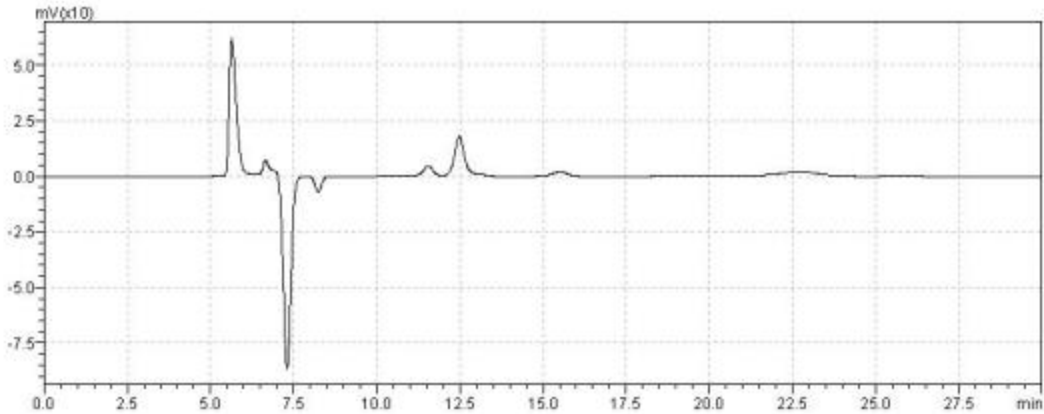


Fig. 4. EtOAc fraction 2의 ACE inhibition 효과. Captopril 10mg/mL과 동일 효과를 나타내고 있음. HPLC를 이용한 ACE inhibition 분석결과와 1-4 세부과제 결과와 동일한 효과를 확인 함.

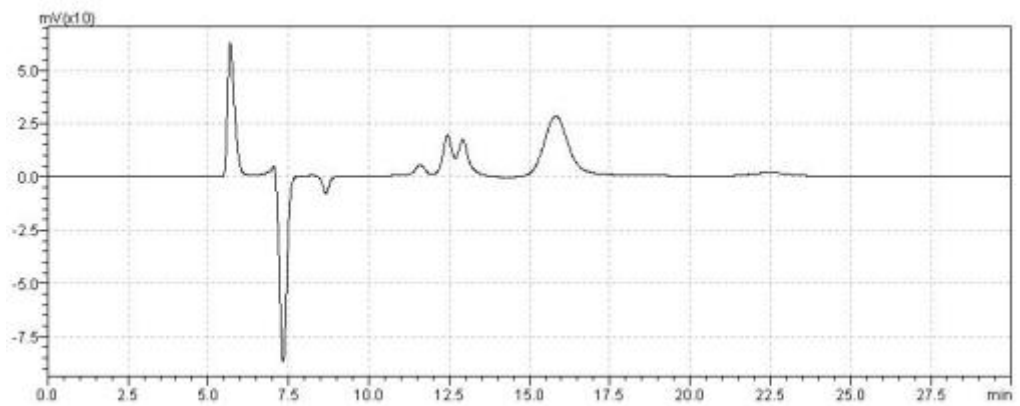


Fig. 5. Captopril(10 mg/mL)에 의한 ACE inhibition 효과. Captopril 10 mg/mL에 의한 억제 효과는 19.4분에 hippuric acid가 detection 되지 않는 것을 확인 함. Captopril 10 mg/mL는 positive control로 사용함.

## 2) EtOAc fraction 3과 4는 ACE 분석 결과

가) Fraction 3은 1-4 세부과제의 카테콜아민 분비 억제효과(최대 억제율 41%)가 확인 되었지만, ACE inhibition 분석에서는 hippuric acid가 검출됨 (Fig. 6).

나) Fraction 4은 1-4 세부과제의 카테콜아민 분비 억제효과(최대 억제율 19%)가 확인 되었지만, ACE inhibition 분석에서는 hippuric acid가 검출됨 (Fig. 7).

다) Negative control인 borate buffer를 사용하여 hippuric acid 생산량 확인 (Fig. 7).

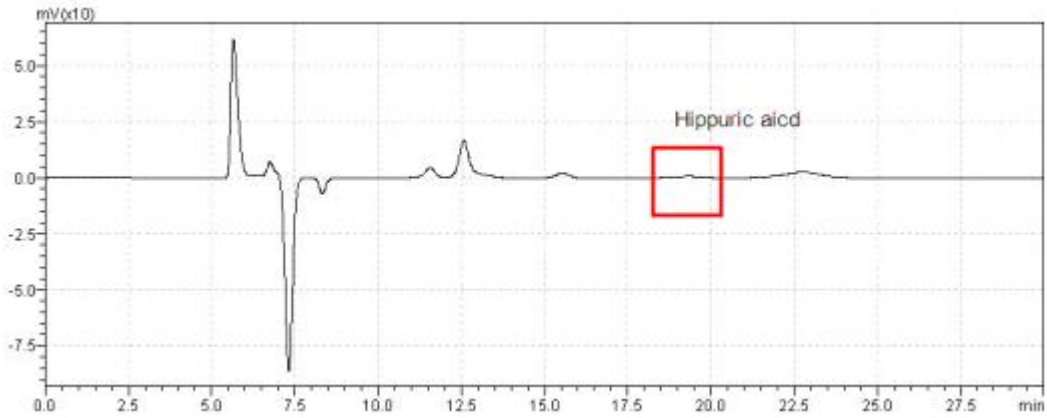


Fig. 6. EtOAc fraction 3의 ACE inhibition 효과. Captopril 10mg/mL과 동일 효과를 나타내고 있음. HPLC를 이용한 ACE inhibition 분석결과와 1-4 세부과제 결과와 동일한 효과를 확인 함.

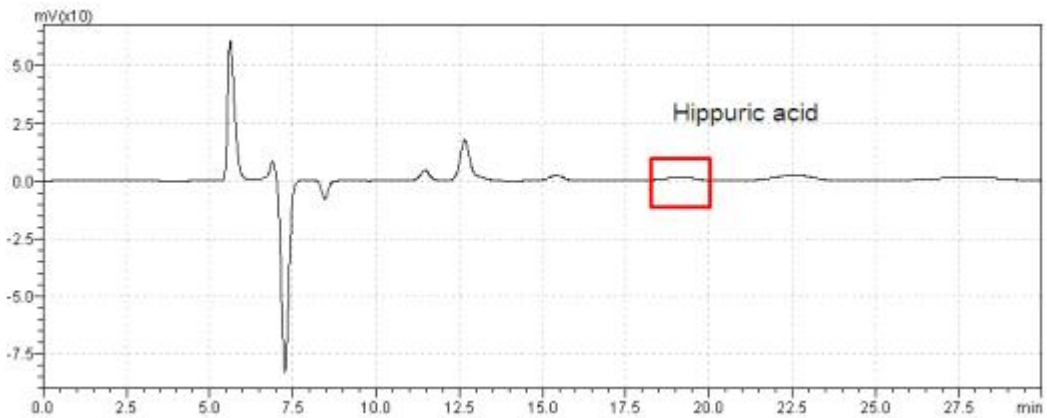


Fig. 7. EtOAc fraction 4의 ACE inhibition 효과. Captopril 10mg/mL과 동일 효과를 나타내고 있음. HPLC를 이용한 ACE inhibition 분석결과와 1-4 세부과제 결과와 동일한 효과를 확인 함.

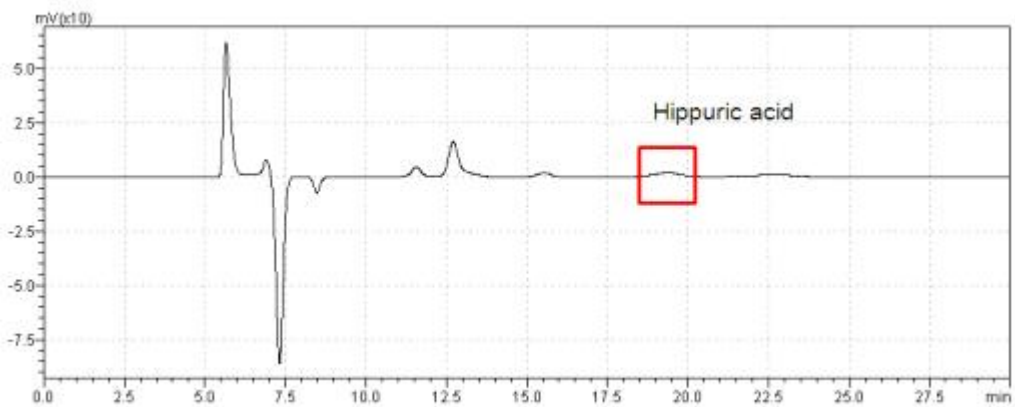


Fig. 8. Borate buffer를 이용한 ACE inhibition 효과. Borate buffer를 사용하여 hippuric acid의 생산량 확인. Borate buffer는 negative control로 이용.

라) Fraction 3과 4은 1-4 세부과제의 카테콜아민 분비 억제 분석결과 일치 하지는 않지만, fraction 3이 fraction 4보다 낮은 HA양이 확인 되는 것은 카테콜아민 분비억제와 유사한 결과를 확인할 수 있었음 (Fig 9).

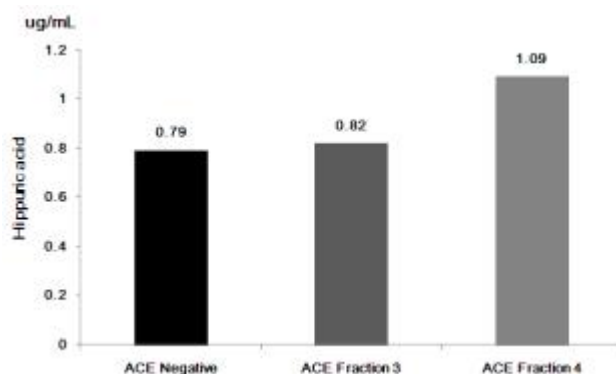


Fig. 9. Fraction 3과 Fraction 4에서 hippuric acid 검출량. HPLC 228 nm에서 확인된 EtOAc fraction 3의 HA양은 0.82 ug/mL 이며 EtOAc fraction 4의 HA양은 1.09 ug/mL 각각 확인 됨.

마) ACE inhibition 결과와 카테콜아민 분비 억제 결과를 종합적으로 판단할 때, in vitro 분석결과를 토대로 EtOAc Fraction 2의 추가 분리 시 ACE inhibition 분석을 통해 카테콜아민 분비억제 Fraction을 확인 할 수 있을 것으로 판단 됨.

바) 메탄올 추출 솔잎 분획의 ACE inhibition 활성 분석

- (1) 솔잎 분획 Fr.2.7와 Fr.2.7.1은 positive control Captopril과 유사한 활성을 가지고 있음
- (2) ACE inhibition 활성은 분획 Fr.2.7이 65.6%, 분획 Fr.2.7.1이 77% 각각 억제활성을 가지고 있음
- (3) 분획 Fr.2.7.1은 HPLC를 이용하여 최종 ACE inhibition 활성물질 분리

### ACE inhibition rate (%) of EtOAc layer compound

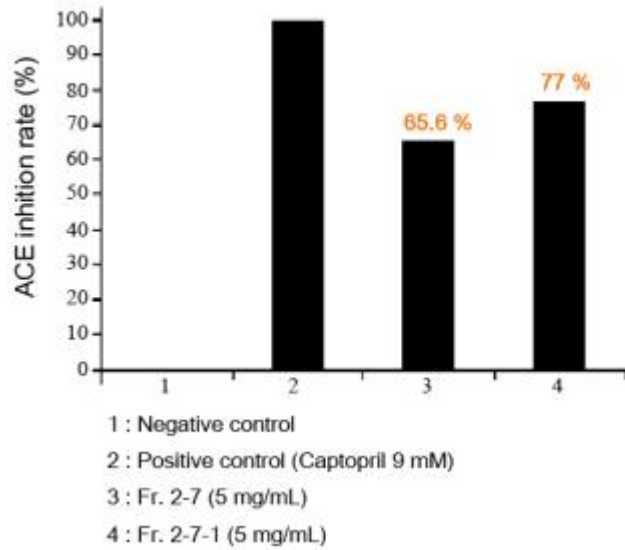


Fig. 솔잎 분획 Fr.2.7과 Fr.2.7.1의 ACE inhibition 활성. ACE inhibition 활성이 있는 분획들은 모두 비극성을 띄고 있음. 고농도 Captopril과 비교 시 Fr.2.7과 Fr.2.7.1은 높은 ACE inhibition 활성을 가지고 있음.

사) 솔잎의 ACE inhibition 활성 compound 분리

- (1) 솔잎 분획 Fr.2.7.1의 HPLC 분리 결과 최종 3개의 주요 compound를 분리함.
- (2) 분리된 3개의 compound에 대해 ACE inhibition 분석 결과 분획 Fr.2.7.1.8과 Fr.2.7.1.9 두 compound가 ACE inhibition 활성을 가지고 있는 것을 확인함

### ACE inhibition rate (%) of Fr. 2-7-1-8 and 2-7-1-9

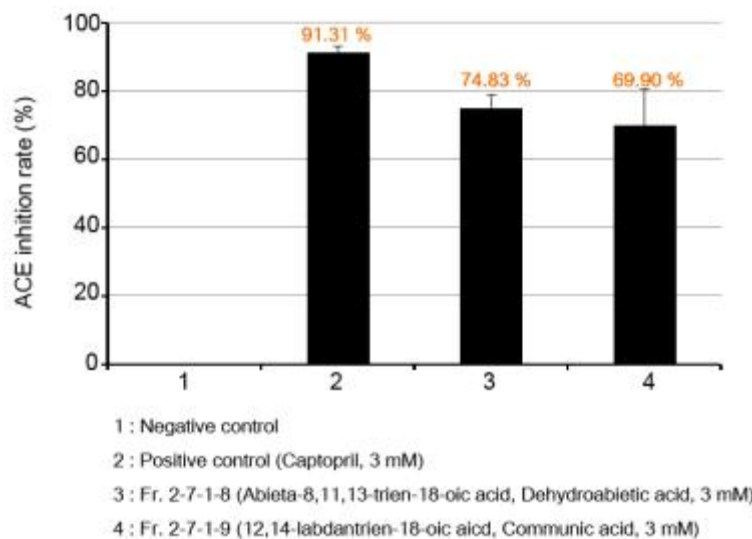


Fig. 솔잎 분획 Fr.2.7과 Fr.2.7.1의 ACE inhibition 활성. ACE inhibition 활성이 있는 분획들은 모두 비극성을 띄고 있음. 고농도 Captopril과 비교 시 Fr.2.7과 Fr.2.7.1은 높은 ACE inhibition 활성을 가지고 있음.

3. 솔잎에서 분리된 분획 2-7-1-8과 2-7-1-9의 구조분석

가. 분획 2-7-1-8의 구조 분석결과

(1)  $^1\text{H}$ 의 chemical shift와 coupling pattern 분석 (Fig. 4A and Table 1)

Proton이 확인 되지 않는 위치	한 개의 proton이 확인되는 위치	두 개의 proton이 확인되는 위치
4, 8, 9, 10, 13, 18과 20번	5, 11, 12, 14와 15번	1, 2, 3, 6과 7번

(2)  $^{13}\text{C}$ 의 chemical shift 분석 (Fig. 4B and Table 1)

(가) 한 개의 카르복실 탄소가 확인 됨

(나) 총 20개의 탄소가 존재하는 것으로 분석 됨

(다) 카르복실 탄소의 위치는 18번 탄소 ( $\delta_{\text{C}}$  값 185.3)가 카르복실 탄소임을 확인 함

(라) 4개의 탄소 (16, 17, 19, 20번)가 메틸기를 가지고 있는 것을 확인 함

(마) 3개의 이중결합 (8번과 14번 탄소, 9번과 11번 탄소, 12번과 13번 탄소)을 가지고 있는 것을 확인 함

(바) 이 화합물질의 기본 화학식은  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$ 이며, 분자량은 300.44 임.

(사) 이 화합물질의 명칭은 Dehydroabietic acid (DHA)임을 확인 함

나. 분획 2-7-1-9의 구조 분석결과

(1)  $^1\text{H}$ 의 chemical shift와 coupling pattern 분석 (Fig. 5A and Table 2)

Proton이 확인 되지 않는 위치	한 개의 proton이 확인되는 위치	두 개의 proton이 확인되는 위치
4, 8, 10과 18번	5,11,12,14와 15번	1, 2, 3, 6, 7, 11과 17번

(2)  $^{13}\text{C}$ 의 chemical shift 분석 (Fig. 5B and Table 2)

(가) 한 개의 카르복실 탄소가 확인 됨

(나) 총 20개의 탄소가 존재하는 것으로 분석 됨

(3) 카르복실 탄소의 위치는 18번 탄소 ( $\delta_{\text{C}}$  값 185.3)가 카르복실 탄소임을 확인 함

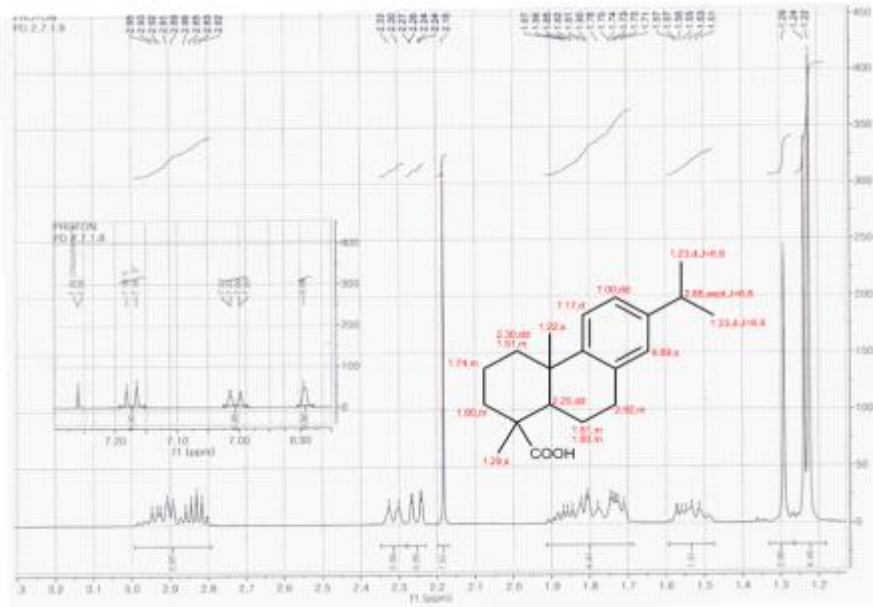
(4) 3개의 탄소 (16, 19과 20번)가 메틸기를 가지고 있는 것을 확인 함

(5) 3개의 이중결합 (8번과 7번 탄소, 12번과 13번 탄소, 14번과 15번 탄소)을 가지고 있는 것을 확인 함

(6) 이 화합물질의 기본 화학식은  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$ 이며, 분자량은 302.5 임

(7) 이 화합물질의 명칭은 Communic acid (12,14-labdantrien-18-oic) 임을 확인 함

A. Fr.2.7.18의  $^1\text{H}$  NMR 결과



B. Fr.2.7.18의  $^{13}\text{C}$  NMR 결과

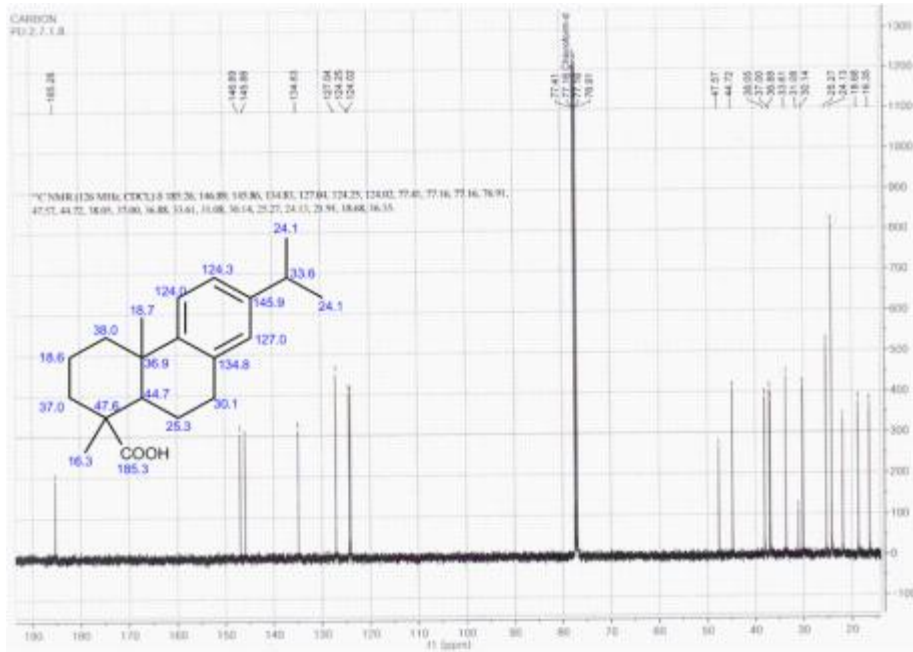
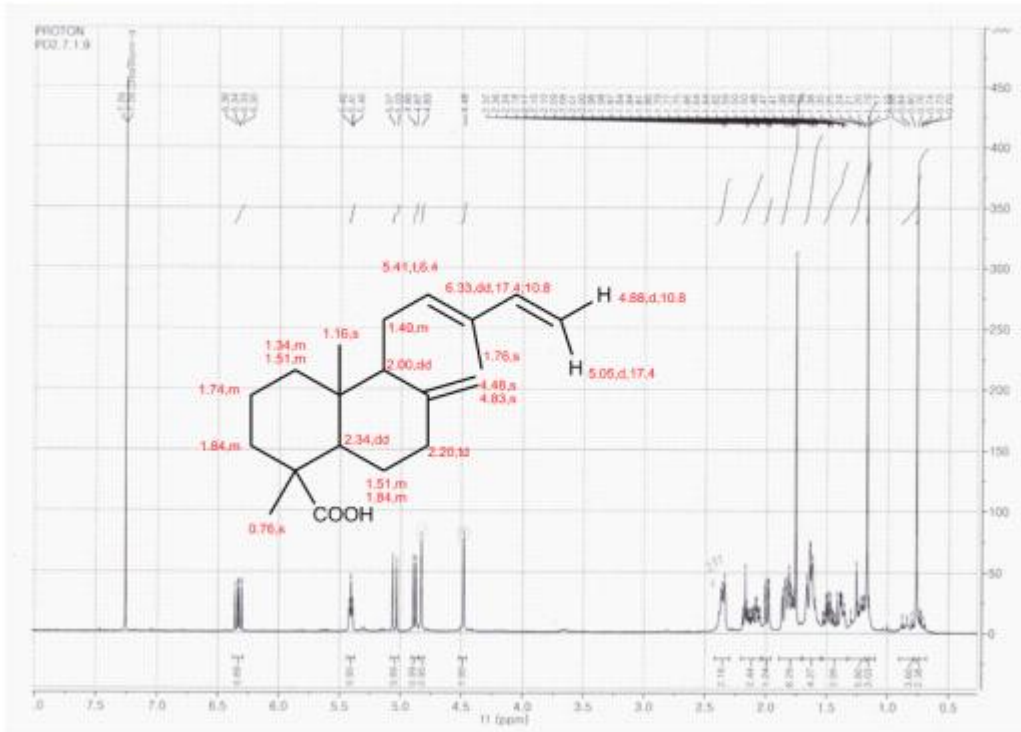


Fig. 분획 Fr.2.1.7.8의  $^1\text{H}$ 와  $^{13}\text{C}$ 의 NMR 결과.

Fr.2.7.18의  $^1\text{H}$  NMR 결과

Communic acid – NMR  $^1\text{H}$



Fr.2.7.18의  $^{13}\text{C}$  NMR 결과

Communic acid – NMR  $^{13}\text{C}$

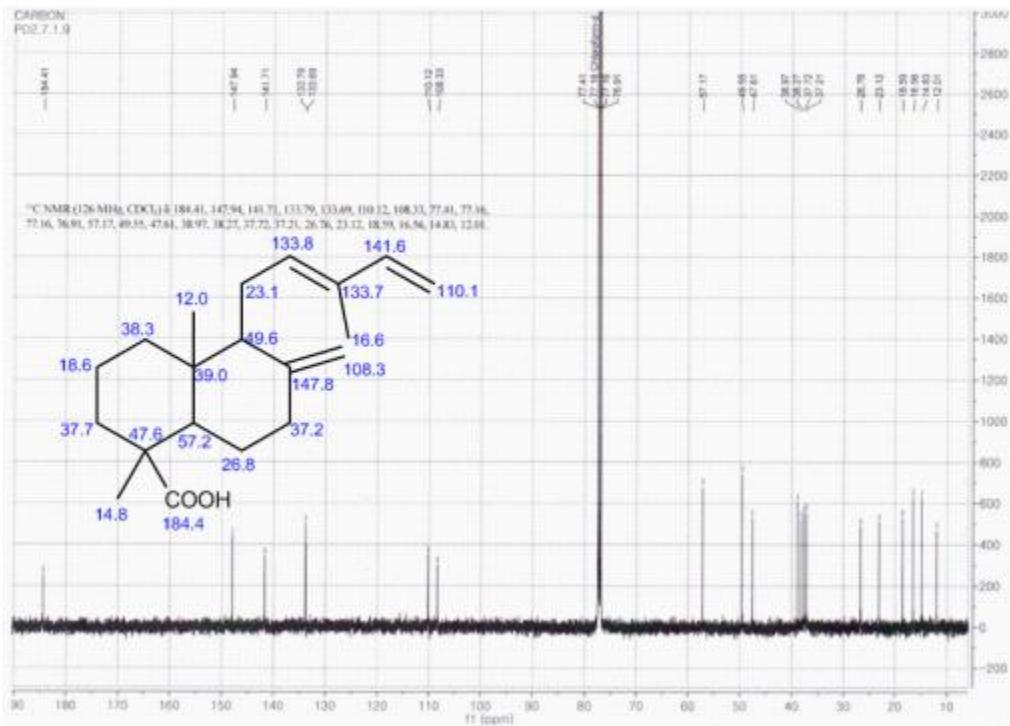


Fig. 분획 Fr.2.1.7.9의  $^1\text{H}$ 와  $^{13}\text{C}$ 의 NMR 결과.



Table 1. Compound 2-7-1-8의 <sup>1</sup> H NMR와 <sup>13</sup> C NMR 분석결과			테이블 2. Compound 2-7-1-9의 <sup>1</sup> H NMR와 <sup>13</sup> C NMR 분석결과		
No.	<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR	No.	<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR
1	2.30,dd; 1.51,m	38.0	1	1.34,m; 1.51,m	38.3
2	1.74,m	18.6	2	1.74,m	18.6
3	1.80,m	37.0	3	1.84,m	37.7
4		47.6	4		47.6
5	2.25,dd	44.7	5	2.34,dd	57.7
6	1.51,m; 1.80,m	25.3	6	1.51,m; 1.84,m	26.8
7	2.92,m	30.1	7	2.20,td	37.2
8		134.8	8		147.8
9		127.0	9	2.00,dd	49.6
10		36.9	10		39.0
11	7.17,d	124.0	11	1.40,m	23.1
12	7.00,dd	124.3	12	5.41,t,6.4	133.8
13		145.9	13	6.33,dd,17.4	133.7
14	6.89,s	127.0	14	10.8	141.6
15	2.85,sept,j=6.8	33.6	15	4.88,d,10.8; 5.05,d,17.4	110.1
16	1.23,d,j=6.8	24.1	16	1.76,s	16.6
17	1.23,d,j=6.8	24.1	17	4.48,s; 4.83,s	108.3
18		16.3	18		14.8
19	1.29,s	185.3	19	0.76,s	184.4
20		18.7	20	1.16,s	12.0

4. 솔잎에서 분리된 Dehydroabietic acid와 communic acid의 세포독성 분석 결과 - MTT assay

가. RAW 283.7 cell에서 세포 독성 결과

1) DHA의 농도가 증가 할수록 세포독성이 다소 증가함 (Fig. 6A)

(가) 200 ug/mL에서 세포 독성이 약 12%가 증가함

2) DHA와는 달리 Communic acid는 농도가 증가 하여도 세포독성이 나타나지 않음(Fig. 6B)

나. DHA가 Communic acid보다 다소 높은 항고혈압 기능을 가지고 있지만, 세포독성

측면에서는 communic acid가 좀 더 안정적임을 확인 함.

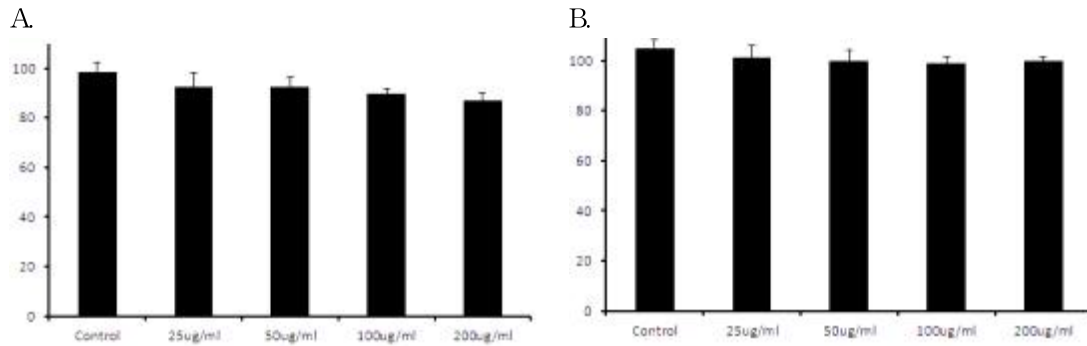


Fig. 6. Dehydroabietic acid와 Communic acid의 MTT assay. A. DHA에 대한 MTT 분석 결과. DHA는 농도가 증가 할수록 약한 세포 독성이 확인됨. B. Communic acid에 대한 MTT 분석 결과. Communic acid는 DHA보다 세포독성이 매우 낮으며, 농도 증가에 대해 세포에 영향을 미치지 않음. 따라서 Communic acid는 세포에서 안정적으로 항고혈압 활성을 나타낼 수 있음.

5. DHA와 Communic acid는 식물의 생합성 중 만들어지는 이차 대사산물이다

가. 두 chemical은 ACE inhibitor임을 확인한 최초의 연구결과임.

나. 고혈압과 심혈관 질환 치료제로 사용되고 있는 Captopril과 비슷한 ACE inhibition 활성을 가지고 있음.

다. Captopril은 70%만이 흡수되며 위장에서 생물학적 활성이 감소되며 이용되지 않은 일부는 소변으로 방출되는 됨

라. 또한, 최근 심혈관 치료제는 부작용에 대한 문제점들이 보고되고 있음

마. 부작용 : 가려움, 두통, 심계항진, 흉통, 허약과 같은 현상

바. 고혈압은 다양한 원인 때문에 발생하기 때문에 다양한 측면에서 항고혈압제가 필요함.

사. 술잎에서 분리된 두 chemical은 항고혈압제 인 Captopril과 비슷한 활성을 가지는 것은 새로운 항고혈압제 후보물질로서 충분한 활성을 가짐

아. 술잎이 항고혈압 활성을 가지는 것은 이 두 화학물질이 주된 역할 할 것으로 판단 됨

자. 다만, 이 두 화학물질 이외에 이번 연구에서 활성을 가지고 있는 분획에 대해서 추가적인 분리가 필요함

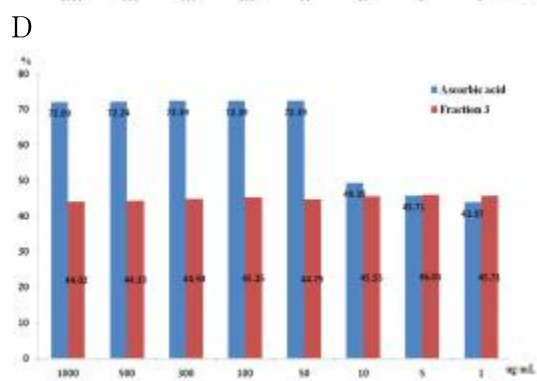
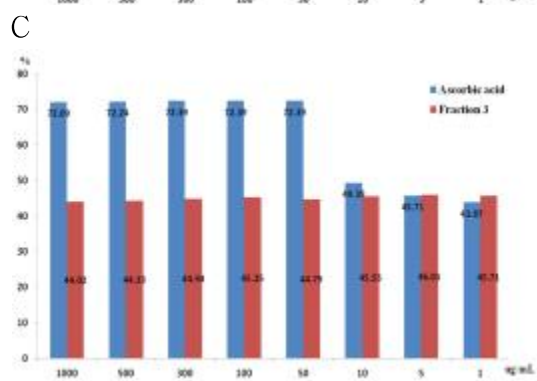
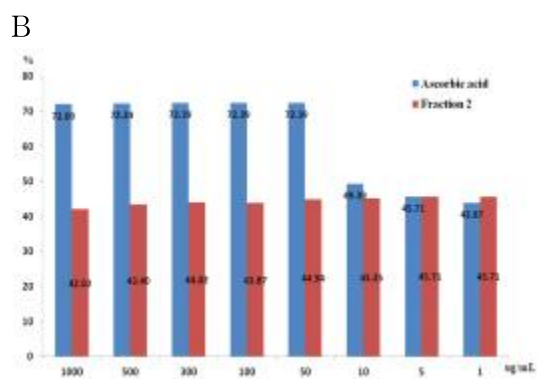
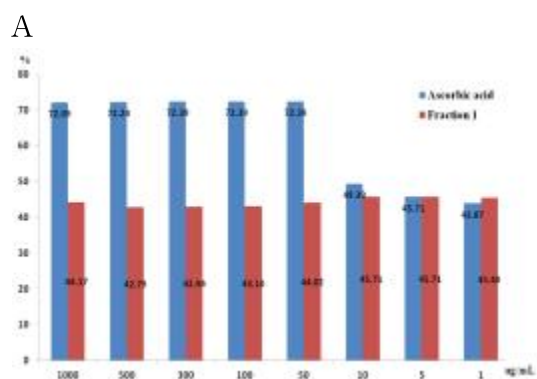
카. 만약, 이번 연구에서 제외된 분획에 대해 분리 및 정제 과정을 통해 추가적인 구조분석이 이루어진다면 항고혈압 활성을 가지는 솔잎의 화학물질에 대해 좀 더 정확한 분석이 이루어질 수 있을 것으로 판단됨

## 2절 항산화 활성 및 원리

### 1. 솔잎의 항산화 활성(Antioxidative activity assay)

#### 가. 솔잎분획의 DPPH를 이용한 항산화 활성 분석

- 1) Fraction 1부터 5번까지의 항산화 활성은 Positive control인 ascorbic acid 보다 낮은 소거능(%)을 확인하였음.
- 2) Fraction 1부터 5까지의 소거능(1 mg/mL)은 ascorbic acid 72.1 %, Fra. 1 44.2%, Fra. 2 44.0%, Fra. 3 44.0%, Fra. 4 52.1%, Fra. 5 60.7%를 확인 확인하였음 (Fig. 10 A ~ E).
- 3) Fraction 6부터 10까지의 소거능(1 mg/mL)은 Fra. 6 62.9%, Fra. 7 64.9%, Fra. 8 67.2%, Fra. 9 68.7%, Fra. 10 69.6%를 확인 확인하였음 (Fig. 10 F ~ J).
- 4) DPPH 활성의 세기는 Fra. 10 > Fra. 9 > Fra. 8 > Fra. 7 > Fra. 6 > Fra. 5 > Fra. 1 > Fra. 2, 3, and 4. 극성이 강한 앞쪽 fraction보다 극성이 약한 후반부 fraction에서 활성이 강하게 확인되었음.
- 5) DPPH 활성 결과는 EtOAc Fraction의 항고혈압 실험결과와 반대로 나오는 것을 확인할 수 있음. 항고혈압 in vivo(1-3세부과제 결과)와 in vitro(ACE assay) 결과와 비교 시 Fraction 2와 Fraction 3이 높은 활성이 가지는 반면, DPPH 활성이 약하게 확인되었음.
- 6) 이전 연구에서 분리된 protocatechuic acid (PCA)와 shikimic acid (SA)의 항산화 결과는 PCA는 강한 활성이 있는 반면, SA는 활성이 없음을 확인하였음 (Fig. 11). 특히, PCA가 분리된 solvent는 EtOAc 층에서 분리되었으며, 각 fraction에서 PCA 존재와 함량 분석 결과와 비교하였을 때 비슷한 결과를 확인 할 수 있었음 (Fig. 12).
- 7) 항산화와 항고혈압과의 분석 결과를 토대로 만약, 특정 분획에서 항산화 활성이 강하게 확인 될 경우 항고혈압 활성이 약하게 나올 수 있을 짐작할 수 있으며, 앞으로 fraction 2와 fraction 3이 추가 분리되었을 경우 상기 결과와 비슷한 결과가 나왔을 경우 항고혈압 활성이 있는 분획을 분리 시 많은 도움이 될 것으로 추측됨.



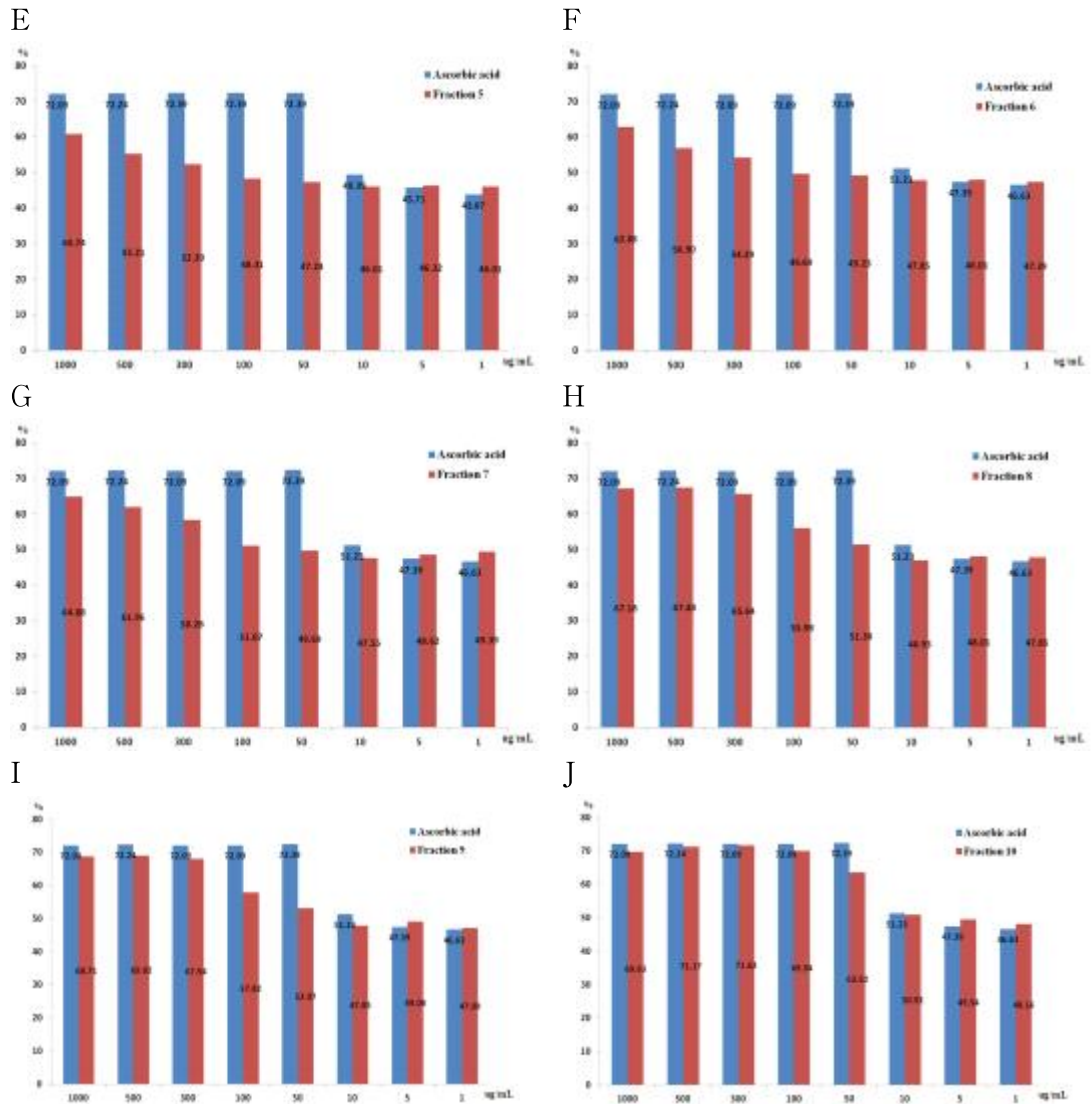


Fig. 10. EtOAc fraction 1부터 10의 항산화 활성 분석. DPPH 활성은 Fra. 10 > Fra. 9 > Fra. 8 > Fra. 7 > Fra. 6 > Fra. 5 > Fra. 1 > Fra. 2, 3, and 4 순서로 활성이 확인 되었으며, 극성이 강한 분획 앞쪽보다는 극성이 약한 분획 후반에서 활성이 강하게 확인되었음.

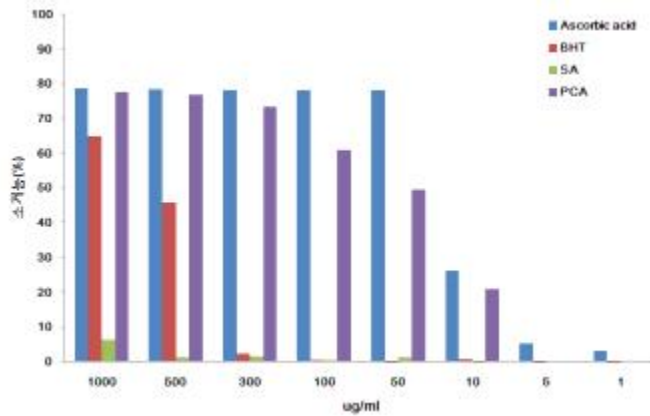


Fig. 11. PCA와 SA의 DPPH 활성 측정. PCA는 positive control과 비슷한 활성을 확인 하였지만, SA는 매우 약한 활성을 가지고 있는 것을 확인함. Y축 소거능(%), X축 sample 처리 농도 (ug/mL).

나. 술잎에서 분리된 3,4-dihydroxybenzoic Acid (PCA)와 Shikimic Acid (SA)의 항산화 효과

1) 항산화 활성 분석 결과 PCA는 높은 항산화 활성을 나타냄 (Fig. 7)

가) PCA는 50 ~ 1000 uL/mL까지 강한 항산화 효과를 나타냄

(1) L-Ascorbic acid와 비슷한 항산화 효과를 나타냄

(2) SA는 고 농도에서도 항산화 효과를 나타내지 못함

나) 50% 항산화 억제효과는 12 uL/mL에서 나타남

2) PCA와 SA의 화학구조 차이점

가) PCA는 OH를 2개 가지는 불포화 벤젠 고리의 폴리페놀 구조

나) SA는 OH를 3개 가지는 포화 시클로헥실 폴리 알코올 구조

다) 다중 OH를 가진 벤젠 고리가 항산화 활성을 증가시키는 것으로 확인

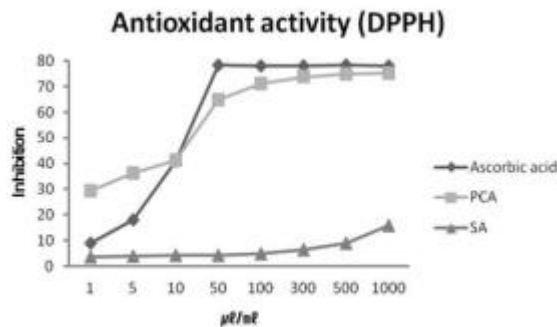


Fig. 7. L-Ascorbic acid, PCA와 SA의 DPPH 활성 효과. PCA는 항산화활성이 높은 반면, SA는 고농도에서도 항산화 활성이 나타나지 않음.

다. PCA와 화학구조가 유사한 compound 12개의 항산화 효과 분석 (Fig. 8)

1) R1 ~ R5 작용기의 변화에 따른 항산화 효과

- 2) OH기가 1개 일 때는 항산화 활성효과가 상실 됨
- 가) benzoic acid, salicylic acid, 3-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid
- 3) OH기가 2개 일 때는 항산화 활성효과 각각 다르게 나타남
- 가) 항산화 활성이 강화되는 chemical
- 2,3-dihydroxybenzoic acid, 2,5-dihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid
- 나) 항산화 활성이 감소되는 chemical
- 2,4-dihydroxybenzoic acid, 3,5-dihydroxybenzoic acid, 2,3,4-Trihydroxybenzoic acid
- 4) OH기가 3개 일 때는 2개 일 때와 같이 항산화 활성효과가 각각 다르게 나타남
- 가) 항산화 활성이 강화되는 chemical
- 2,3,4-Trihydroxybenzoic acid
- 나) 항산화 활성이 감소되는 chemical
- 2,4,6-Trihydroxybenzoic acid monohydrate
- 5) DHA와 communis acid는 항산화 활성이 없음

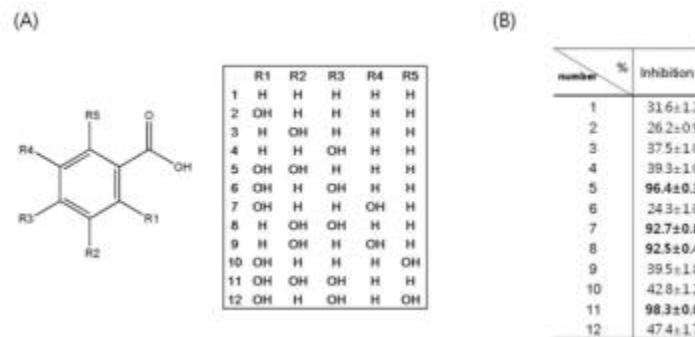


Fig. 8. 항산화 활성이 우수한 PCA의 유도체들을 이용한 항산화 활성 분석. A. 항산화 활성 분석에 사용된 PCA의 유도체. 1번 : benzoic acid, 2번 : salicylic acid, 3번 : 3-hydroxybenzoic acid, 4번 : 4-hydroxybenzoic acid, 5번 : 2,3-dihydroxybenzoic acid, 6번: 2,4-dihydroxybenzoic acid, 7번 : 2,5-dihydroxybenzoic acid, 8번 : 3,4-dihydroxybenzoic Acid, 9번 : 3,5-dihydroxybenzoic acid, 10번 : 2,3,4-Trihydroxybenzoic acid, 11번 : 2,3,4-Trihydroxybenzoic acid, 12번 2,4,6-Trihydroxybenzoic acid monohydrate. B. PCA 유도체 들의 항산화 억제 효과. B. PCA 유도체 중 100 uL/mL에서 강한 항산화 활성을 가지는 chemical 은 2,3,4-Trihydroxybenzoic acid, 2,3-dihydroxybenzoic acid, 2,5-dihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic Acid 순서이다.



### 3절 혈전분해 물질분리 및 활성분석

#### 1. 술잎 발효액에서 분리된 혈전분해 유효성분인 PCA와 SA 활성 분석

가. 농도 변화에 따른 PCA와 SA의 혈전분해 활성 (Fig. 9)

1) Fibrin solution에서 PCA와 SA는 농도가 증가할수록 (1 mM) 혈전분해 활성이 강화된다.

(1) PCA와 SA는 30분에 fibrin solution의 turbidity가 현저히 감소되는 것을 확인함

(2) PCA와 SA의 저 농도에서는 fibrin solution turbidity가 감소하지 못함.

(3) PCA와 SA는 plasmin처럼 fibrin을 분해한다는 것을 확인 함

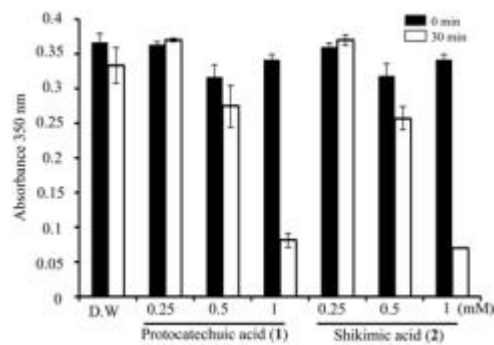


Fig. 9. 술잎발효액에서 분리된 PCA와 SA의 혈전분해 활성. Fibrin solution에서 PCA와 SA는 농도 의존적으로 혈전분해 효과를 나타냄. 두 chemical의 1 mM 처리 후 30분 만에 fibrino solution의 turbidity가 현저히 감소되는 것을 확인 함.

#### 나. PCA와 SA의 fibrin과 fibrinogen 분해 패턴 분석 (Fig. 10)

1) positive control은 plasmin과 aspirin을 사용함

2) PCA와 SA는 negative control (물)과 동일한 A $\alpha$ , B $\beta$ ,와  $\gamma$  band들이 존재함

가) Aspirin은 혈전분해 활성이 보고됨. Aspirin을 positive control로 사용함.

나) Fibrin과 fibrinogen에 두 chemical이 처리되어도 A $\alpha$ , B $\beta$ ,와  $\gamma$  band가 aspirin처럼 유지되는 것을 확인

3) PCA와 SA는 단백질인 plasmin과 달리 fibrin과 fibrinogen의  $\alpha$ 와  $\beta$  band를 분해하지 않음

가) 이 결과는 Fig. 9와 상반된 결과임

나) Fig. 9과 10의 결과를 통해 PCA와 SA는 단백질 plasmin과 다른 band fibrin과 fibrinogen 분해 활성을 가지고 있는 것을 알 수 있음.

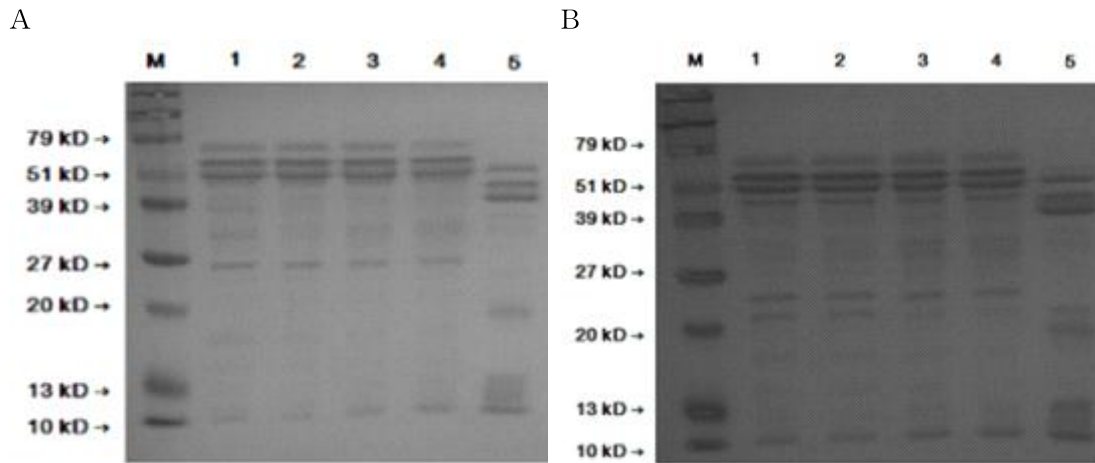
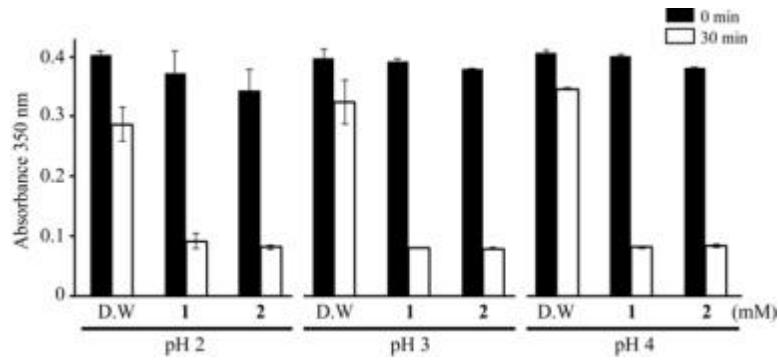


Fig. 10. PCA와 SA의 fibrin 및 fibrinogen의 분해 패턴 분석. A. PCA와 SA가 처리된 fibrin solution에서  $\alpha$ ,  $\beta$ ,와  $\gamma$  band의 분해 패턴. B. PCA와 SA가 처리된 fibrinogen solution에서  $\alpha$ ,  $\beta$ ,와  $\gamma$  band의 분해 패턴.

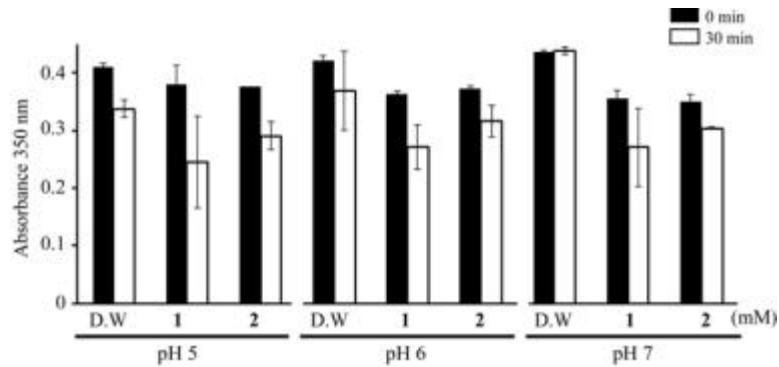
다. PCA와 SA의 혈전분해 활성에 대한 pH 영향

- 1) 낮은 pH에서 PCA와 SA는 혈전분해 활성을 유지함 (Fig. 11A and C)
  - 가) pH 2 ~ 4 범위에서 30분 경과 후 완전하게 fibrin을 분해하는 효과를 나타냄
  - 나) pH 2 ~ 4 범위의 PCA와 SA는 fibrin solution을 마치 negative control (물)처럼 된다
  - 다) 이 결과는 Fig. 9와 동일한 결과임
- 2) 높은 pH에서 PCA와 SA는 혈전분해 활성을 유지 하지 못함 (Fig. 11B and C)
  - 가) pH 5 ~ 7 범위에서 혈전분해 활성을 거의 상실함
- 3) Fig. 9, Fig. 10와 Fig. 11을 통해 PCA와 SA는 혈전분해 활성을 가지고 있으며, 혈전 분해 활성을 위한 pH 범위는 2 ~ 4이다. 또한, PCA와 SA는 단백질 plasmin과 다른 방식으로 혈전을 분해하는 것을 확인 함

A



B



C

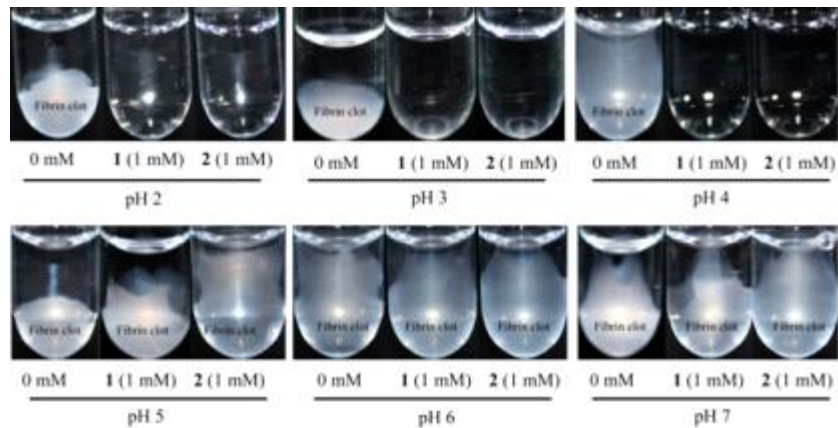


Fig. 11. pH 변화에 따른 PCA와 SA의 혈전분해 활성 효과. A. pH 2 ~ 4에서 PCA와 SA의 혈전분해 활성 효과. pH 2 ~ 4는 PCA와 SA가 혈전분해 활성을 갖는 최적의 pH 범위임. B. pH 5 ~ 7에서 PCA와 SA의 혈전분해 활성 효과. 이 범위에서는 혈전분해 활성을 거의 상실함. C. test tube에서 pH 변화에 따른 혈전분해 활성 시각화. pH 2 ~ 4에서는 PCA와 SA가 첨가된 test tube는 맑은 상태로 돌아가지만, pH 5 ~ 7에서는 fibrin이 남아 있는 것을 볼 수 있음.

라. PCA와 SA의 혈전형성 억제 활성 분석 (Fig. 12)

- 1) Fibrinogen solution에서 PCA와 SA는 fibrin 형성을 억제함.
- 2) PCA와 SA는 fibrin 분해 활성뿐만 아니라 fibrinogen이 fibrin으로 전환되는 것을 억제하는 활성을 가지고 있음.

- 3) 또한, aspirin도 PCA와 SA처럼 fibrin 형성을 억제하는 것이 확인 됨
- 4) PCA와 SA가 fibrinogen에서 fibrin으로 전환을 억제하는 것이 fibrinogen의 A $\alpha$ , B $\beta$ ,  
와  $\gamma$  band 중 일부를 분해하여 억제하는 방법은 아님 (Fig. 10B).

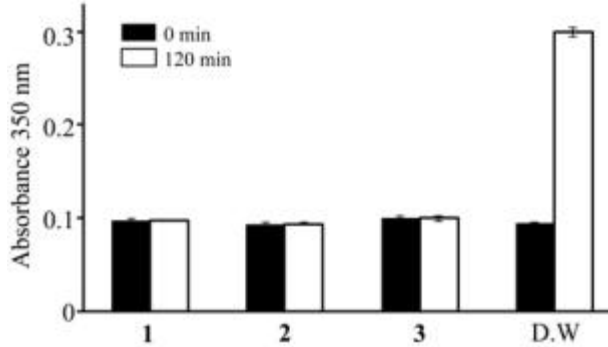
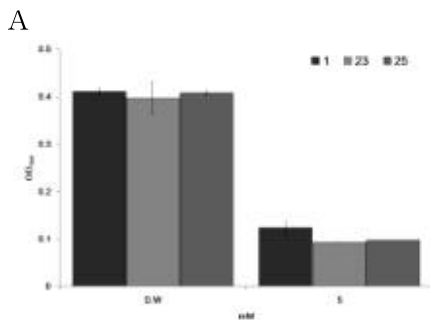


Fig. 12. PCA, SA와 Aspirin은 fibrinogen solution에서 fibrin 형성을 억제함. PCA, SA와 Aspirin이 첨가된 fibrinogen solution에서 120 경과 후에도 fibrinogen이 fibrin으로 전환되지 못하는 것을 확인 할 수 있음.

마. 술잎의 혈전분해 유효성분 인 PCA의 유도체들의 혈전분해 활성 분석

- 1) 페닐유기산 중 C(=O)OH의 개수에 따른 혈전분해 효과 비교 (Fig. 13)
  - 가) C(=O)OH의 개수가 증가할수록 PCA보다 혈전분해 활성이 증가함
  - 나) Benzoic acid보다 COOH가 1 ~ 2개 많은 Phthalic acid와 Trimesic acid의 turbidity 값이 더 낮게 확인됨



B

	No	Final concentration (mM)	
		D.W	5
Benzoic acid		0.411 ± 0.006	0.124 ± 0.013
Phthalic acid		0.398 ± 0.033	0.093 ± 0.001
Trimesic acid		0.408 ± 0.004	0.098 ± 0

Fig. 13. C(=O)OH의 증가가 혈전분해 효과에 미치는 영향. A. C(=O)OH가 증가하는 혈전분해활성을 강화시킴. B. 3 chemical의 turbidity 측정 결과. C(=O)OH하나 있는 benzoic acid보다 C(=O)OH가 더 많은 phthalic acid와 trimesic acid의 turbidity 값이 더 낮음.

2. 술잎발효액과 술잎에서 PCA와 SA의 양적 변화 분석

가. 술잎 발효액에서 PCA와 SA의 양 분석 (Fig. 13)

- 1) 발효 전 단계에서는 PCA와 SA의 양은 큰 차이를 보임
  - (가) 각각 PCA와 SA의 양은 19.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and 300.07  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 확인 됨

나. 발효 1 ~ 3년 진행 된 시점에서 PCA와 SA의 양은 큰 차이를 보임

- 1) 발효가 진행된 1년 후부터 PCA는 계속적으로 증가를 하는 것을 확인 함
- 2) 발효 3년 시점에 PCA의 양은 2년보다 약 2배가 증가됨
- 3) PCA가 발효가 진행되면서 그 양이 증가되지만, SA보다는 현저히 낮음
- 4) PCA와 SA의 양이 큰 차이를 보이지만, 혈전분해와 항산화효과에 효과가 있는 이 두 chemical이 양적으로 증가되는 것은 술잎의 발효액이 혈행개선과 항산화에 효과가 왜 있는 것인지를 보여주는 중요한 결과임

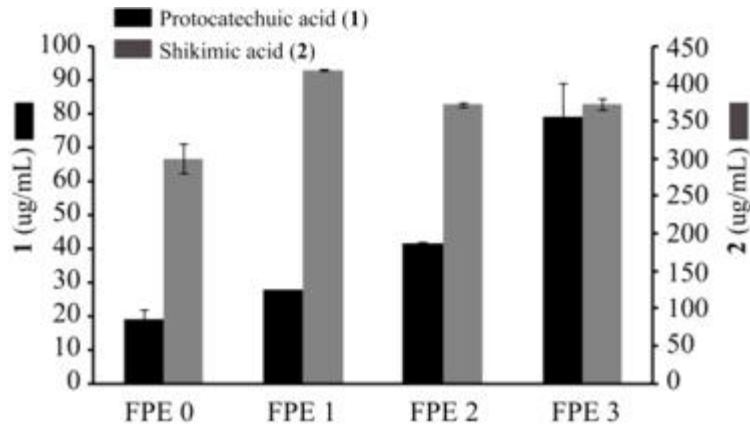


Fig. 13. 다양한 술잎발효액에서 PCA와 SA의 정량적 분석. PCA에는 발효가 진행될수록 그 양이 증가하지만, SA는 발효와 SA의 양 증가와 비례하지 않음. SA는 술잎발효액이 발효되기전부터 많은 양이 존재하는 것을 확인함.

다. 술잎(EtOAc fraction 1 ~ 10)에서 PCA 추적과 함량 분석

- 1) EtOAc fraction 중 DPPH 활성이 가장 강한 fraction 10에서 확인하였음 (Fig. 10-J).
- 2) PCA single compound의 retention time은 15.9분이며 fraction 10에서 retention time은 15.89분으로 확인하였음.
- 3) PCA content는 37.77494 ug/mL로 확인되었음 (Fig. 12).
- 4) 나머지 9개 fraction에서는 PCA가 확인되지 않았음.
- 5) PCA와 SA는 혈전분해활성이 강한 물질임을 확인하였음. 다만, 두 물질은 항고혈압 분석 시 항고혈압으로서 기능을 하지 못하였음. 이러한 결과를 미루어 볼 때 항고혈압 분획 추적 시 혈전분해활성과 항산화활성을 Marker로서 활용이 가능할 수 있을 것으로 추측됨.
- 6) 혈전분해활성과 항산화 활성이 우수한 분획의 경우 항고혈압 활성이 낮음은 추측할 수 있을 것 임.

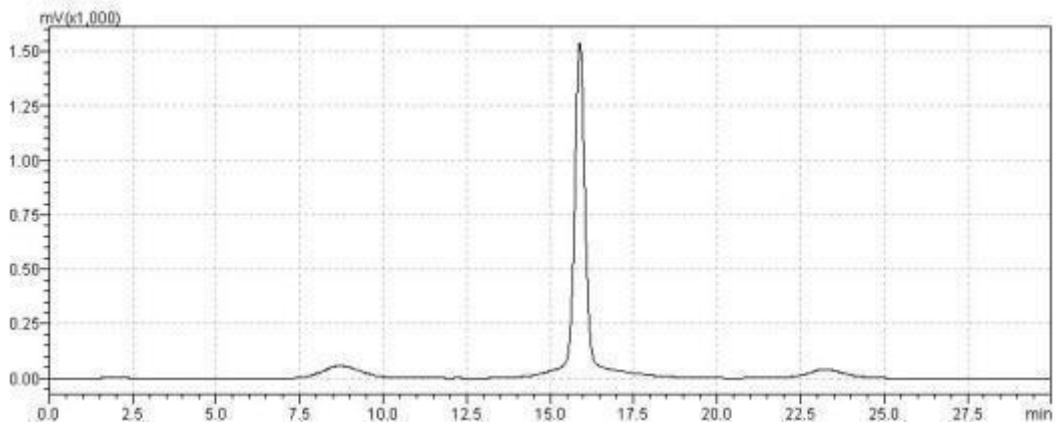


Fig. 12. EtOAc fraction 10에서 PCA 함량 분석. PCA 함량은 PCA single compound의 standard curve를 이용하여 측정하였음. PCA는 37.77494 ug/mL로 측정되었음.

## 4절 술잎발효액에서 미생물 동정 및 분석

### 1. 미생물 동정 결과

#### 가. *Lodderomyces elongisporus* PCR 분석 결과

- 1) Sequencing 분석 후 GenBank database에서 조사 결과 이 미생물은 Yeast 계열에 속하며 (Fig. 13), homologous가 가장 높은 종은 *Lodderomyces*로 확인되었음.
- 2) 정확한 종·속을 확인하기 위해 NCBI BLAST 결과를 토대로 Phylogenic tree 분석 진행.
- 3) Phylogenic tree 분석은 EBL Cluster W 2.0 프로그램을 사용하였음. Phylogenic tree 분석 결과 이 미생물은 *Lodderomyces elongisporus*로 확인되었으며, 99% homologous를 확인하였음 (Fig. 14).
- 4) *Lodderomyces elongisporus*는 와인의 발효 과정에서 발견되는 미생물로서 술잎발효액과 관련이 있을 것으로 추정됨.
- 5) 이 미생물이 술잎발효에 관여하는지를 확인하기 위해 살균된 술잎발효액과 혼합하여 1주 단위로 술잎발효액의 물질변화를 추적함. 특히 물질변화를 추적하기 위해 이차 대사 산물 중 중요한 shikimic acid와 protocatechuic acid의 변화를 확인 및 분석 진행하였음 (Fig. 19 and 20).

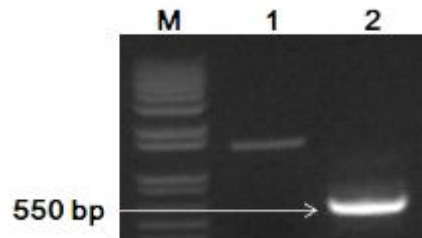


Fig. 13. *Lodderomyces elongisporus* PCR 결과. 16S rRNA는 약한 밴드를 확인하였으며, 26S rRNA는 강한 밴드를 확인하였음. RDF와 RDR primer를 이용하여 sequencing 분석. M ; marker, 1 ; 16S rRNA, 2 ; 26S rRNA.

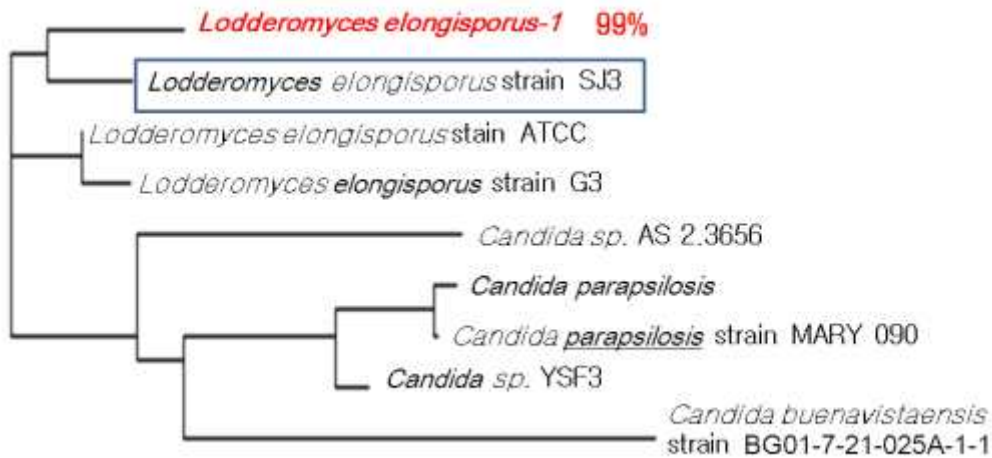


Fig. 14. *Lodderomyces elongisporus*의 phylogenetic tree 분석 결과. NCBI BLAST 결과를 토대로 대표균주를 선별하여 분석 진행. 기존에 보고된 *Lodderomyces elongisporus* strain SJ3과 99% 유사성을 확인하였으며, 이는 술잎발효액에서 분리된 *Lodderomyces*는 *Lodderomyces elongisporus* 균으로 추정됨.

나. *Nakazawaea hostii* PCR 분석 결과

- 1) Sequencing 분석 후 GenBank database에서 조사 결과 이 미생물은 Yeast 계열에 속하며(Fig 15), homologous가 가장 높은 종은 *Nakazawaea*로 확인되었음.
- 2) 정확한 종·속을 확인하기 위해 NCBI BLAST 결과를 토대로 Phylogenetic tree 분석 진행.
- 3) Phylogenetic tree 분석은 EBL Cluster W 2.0 프로그램을 사용하였음. Phylogenetic tree 분석 결과 이 미생물은 *Nakanawaea hostii*로 확인되었으며, 99% homologous를 확인하였음 (Fig. 16).
- 4) 이 미생물이 술잎발효에 관여하는지를 확인하기 위해 살균된 술잎발효액과 혼합하여 1주 단위로 술잎발효액의 물질변화를 추적함. 특히 물질변화를 추적하기 위해 이차 대사 산물 중 중요한 shikimic acid와 protocatechuic acid의 변화를 확인 및 분석 진행하였음 (Fig. 21 and 22).

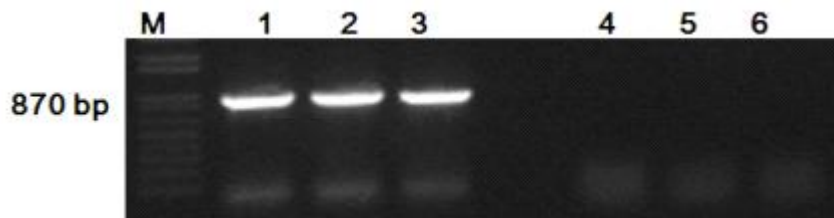


Fig. 15. *Nakazawaea hostii* PCR 결과. 16S rRNA는 약한 밴드를 확인하였으며, 26S rRNA는 강한 밴드를 확인하였음. ITS3와 LR3R primer를 이용하여 sequencing 분석. M ; marker, 1 ~ 3 ; 26S rRNA, 4 ~ 5 ; 16S rRNA.



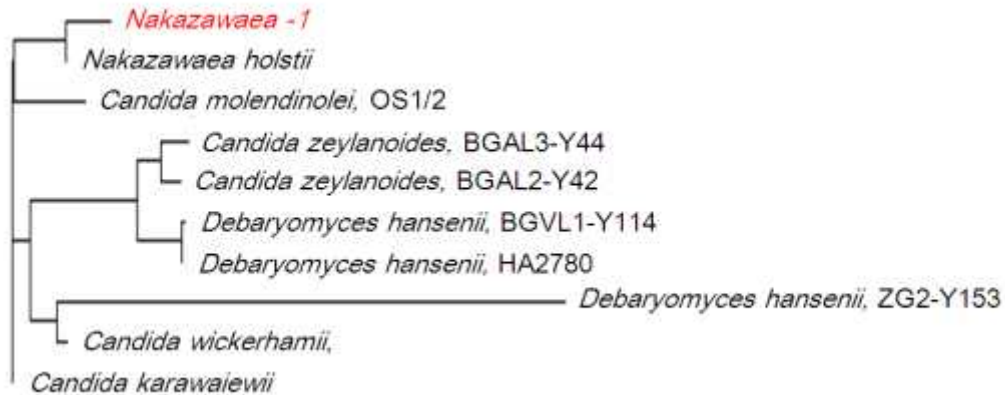


Fig. 16. Nakanawaea hostii의 phylogenic tree 분석 결과. NCBI BLAST 결과를 토대로 대표균주를 선별하여 분석 진행. 기존에 보고된 Nakanawaea hostii과 98% 유사성을 확인하였으며, 이는 술잎발효액에서 분리된 Nakanawaea는 Nakanawaea hostii 균으로 추정됨.

다. *Zygoascus steatolyticus* PCR 분석 결과

- 1) Sequencing 분석 후 GenBank database에서 조사 결과 이 미생물은 Yeast 계열에 속하며(Fig 17), homologus가 가장 높은 종은 *Zygoascus*로 확인되었음.
- 2) 정확한 종·속을 확인하기 위해 NCBI BLAST 결과를 토대로 Phylogenic tree 분석 진행.
- 3) Phylogenic tree 분석은 EBL Cluster W 2.0 프로그램을 사용하였음. Phylogenic tree 분석 결과 이 미생물은 *Zygoascus steatolyticus*로 확인되었으며, 99% homologous를 확인하였음 (Fig. 18).
- 4) 이 미생물이 술잎발효에 관여하는지를 확인하기 위해 살균된 술잎발효액과 혼합하여 1주 단위로 술잎발효액의 물질변화를 추적함. 특히 물질변화를 추적하기 위해 이차 대사 산물 중 중요한 shikimic acid와 protocatechuic acid의 변화를 확인 및 분석 진행하였음 (Fig. 23 and 24).

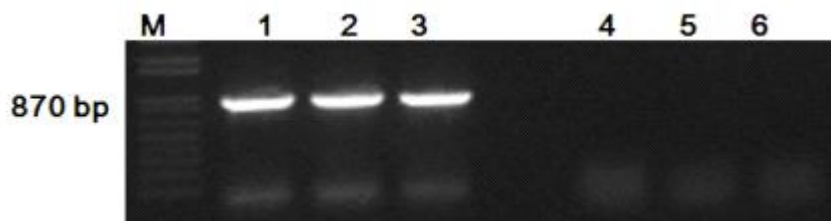


Fig. 17. *Zygoascus steatolyticus* PCR 결과. 16S rRNA는 약한 밴드를 확인하였으며, 26S rRNA는 강한 밴드를 확인하였음. ITS3와 LR3R primer를 이용하여 sequencing 분석. M ; marker, 1 ~ 3 ; 26S rRNA, 4 ~ 5 ; 16S rRNA.

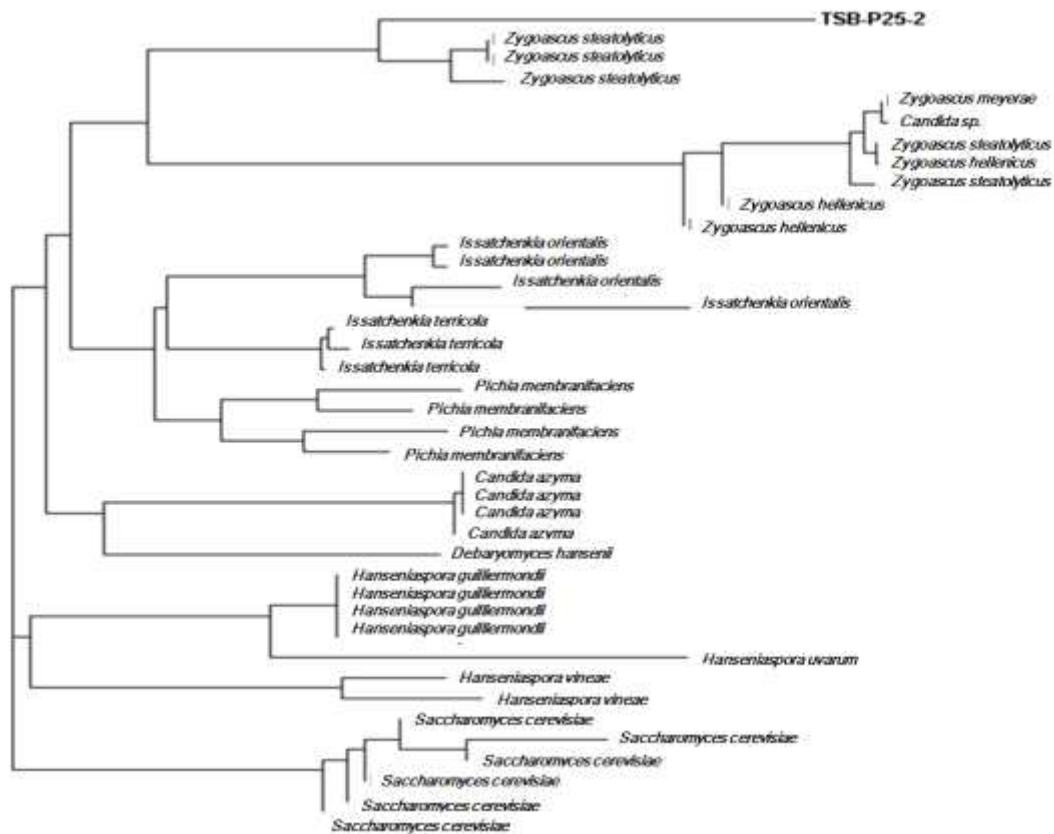


Fig. 18. *Zygoascus steatolyticus*의 phylogenetic tree 분석 결과. NCBI BLAST 결과를 토대로 대표균주를 선별하여 분석 진행. 기존에 보고된 *Zygoascus steatolyticus*과 98% 유사성을 확인하였으며, 이는 술잎발효액에서 분리된 *Zygoascus*는 *Zygoascus steatolyticus* 균으로 추정됨. TSB-P25-2는 *Zygoascus steatolyticus*임.

## 2. 술잎 발효에 관여하는 유용균에 대한 조건 확립

가. 술잎발효액에서 분리된 3종의 미생물과 살균된 미생물을 혼합하여 배양 후 이차대사 산물인 PCA와 SA 함량의 변화 분석

- 1) 3종의 미생물과 살균된 술잎발효액을 혼합 후 이차대사 산물인 PCA와 SA의 함량 변화를 분석결과 모두 배양 후 PCA와 SA의 함량이 증가되는 것을 확인하였음.
- 2) PCA와 SA 중 가장 많은 증가량을 보인 균은 *Lodderomyces elongisporus*로 혼합 배양 1 주일 후 440.85 ug/mL이 증가 됨 (Fig. 19)
- 3) PCA는 초기 함량이 SA보다 낮게 확인 되었으며, PCA는 그 함량 증가량이 SA 보다 낮음을 확인 함(Fig. 19, 21과 23).
- 4) 3종의 균을 혼합 2 주경과 후 모두 PCA와 SA의 증가량이 낮게 형성되는 것을 확인하였음 (Fig. 19 ~ 24). 특히, *Nakanawaea hostii*는 혼합 배양 2 주경과 후 SA 증가량은 0.16 ug/mL로 가장 낮은 증가량을 확인하였음 (Fig. 21 and 22).
- 5) 분리 및 동정된 3 종의 균은 모두 혼합 배양 1 주후 PCA와 SA의 양이 증가되는

것을 확인하였고, 이 후 지속적으로 확인예정임.

- 6) 앞으로 항고혈압 기능이 있는 single compound가 분리 된 후 3종의 미생물을 이용하여 PCA와 SA 함량 변화를 추적하여 항고혈압 기능이 있는 유용물질을 함유하는 솔잎발효액을 만드는데 많은 도움이 될 것으로 판단됨.

나. *Lodderomyces elongisporus*과 살균된 솔잎발효액 혼합 후 배양에 따른 PCA와 SA 함량 변화 분석

1) PCA 함량 변화 분석

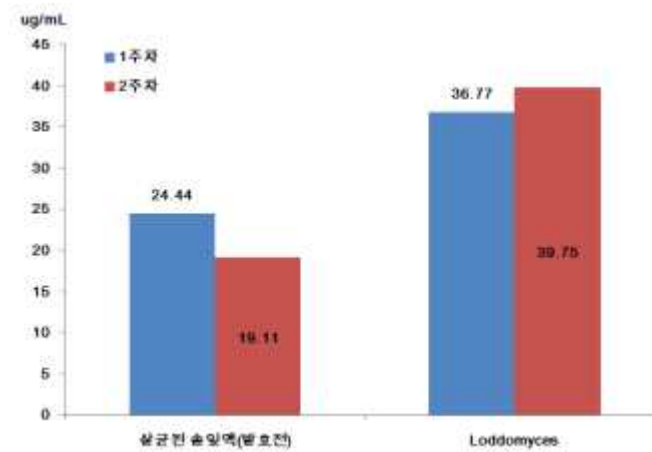


Fig. 19. *Lodderomyces elongisporus*을 이용한 솔잎발효에 따른 PCA 함량 변화 분석. PCA 함량을 1주와 2주 간격으로 PCA 함량을 분석. 1주 후 PCA 함량은 증가 되는 것을 확인되었으며 증가량은 12.33 ug/mL 임. 2주 후 증가되는 양은 2.98 ug/mL 이 증가 됨.

2) SA 함량 변화 분석

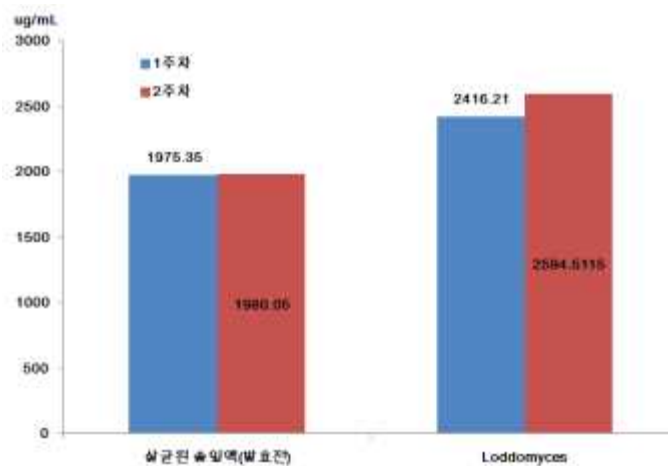


Fig. 20. *Lodderomyces elongisporus*을 이용한 솔잎발효에 따른 SA 함량 변화 분석. 1 주 일 후 SA양은 440.85 ug/mL이 증가됨. 이 후 2주차에는 1주차와 비교하여 178.30 ug/mL 이 증가 됨.

다. *Nakanawaea hostii*과 살균된 술잎발효액 혼합 후 배양에 따른 PCA와 SA 함량 변화 분석

1) PCA 함량 변화 분석

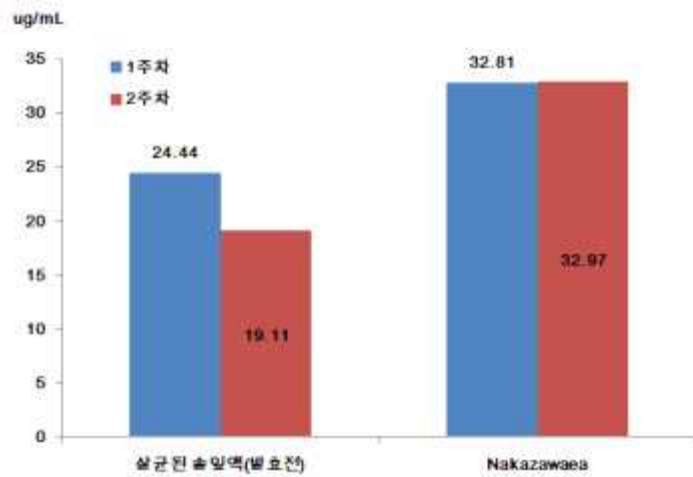


Fig. 21. *Nakanawaea hostii*을 이용한 술잎발효에 따른 PCA 함량 변화 분석. PCA 함량을 1주와 2주 간격으로 PCA 함량을 분석. 1주 후 PCA 함량은 증가 되는 것을 확인되었으며 증가량은 8.37 ug/mL 임. 2주 후 증가되는 양은 0.16 ug/mL 이 증가 됨.

2) SA 함량 변화 분석

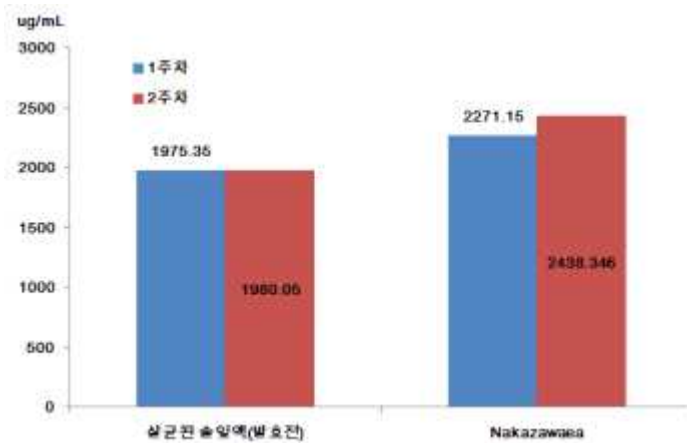


Fig. 22. *Nakanawaea hostii*을 이용한 술잎발효에 따른 SA 함량 변화 분석. 1 주일 후 SA양은 295.8 ug/mL이 증가됨. 이 후 2주차에는 1주차와 비교하여 178.30 ug/mL이 증가 됨.

라. *Zygoascus steatolyticus*과 살균된 술잎발효액 혼합 후 배양에 따른 PCA와 SA 함량 변화 분석

1) PCA 주차별 함량 변화 분석

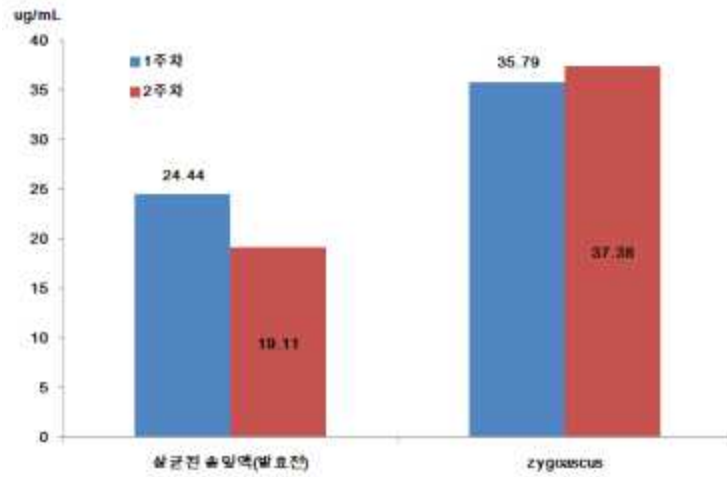


Fig. 23. Zygoascus steatolyticus을 이용한 술잎발효에 따른 PCA 함량 변화 분석. PCA 함량을 1주와 2주 간격으로 PCA 함량을 분석. 1주 후 PCA 함량은 증가 되는 것을 확인 되었으며 증가량은 11.35 ug/mL 임. 2주 후 증가되는 양은 1.59 ug/mL 이 증가 됨.

2) SA 주차별 함량 변화 분석

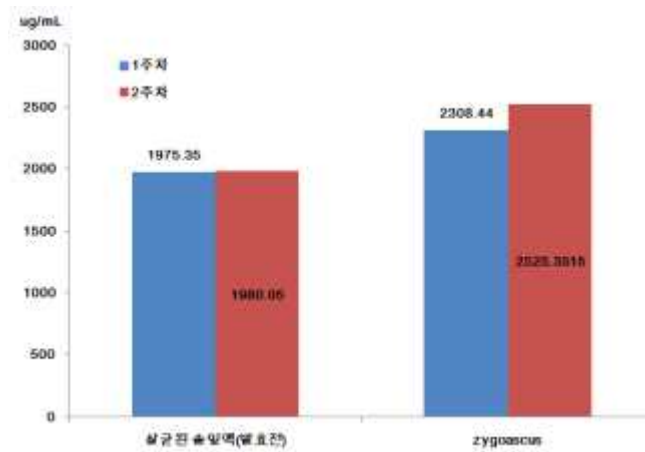


Fig. 24. Zygoascus steatolyticus을 이용한 술잎발효에 따른 SA 함량 변화 분석. 1 주일 후 SA양은 333.09 ug/mL이 증가됨. 이 후 2주차에는 1주차와 비교하여 216.91 ug/mL이 증가 됨.

## 5절 솔잎착즙분말을 이용한 개별인정 획득을 위한 학술적 자료 확보

### 1. 개별인정 획득을 위한 과학적 근거 확립

#### 가. 솔잎(액 또는 발효액)의 기능성 원료로 인정 받기위한 학술적 기반 확립

- 1) 솔잎의 유용성분인 dehydroabietic acid와 communis acid의 항고혈압 특허 출원 1건
  - 디하이드로아비어트산 또는 코문산을 유효성분으로 함유하는 고혈압 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 건강식품 조성물 (10-2013-0040162)
- 2) 솔잎발효액의 유용성분인 PCA와 SA의 항산화 활성 특허출원 1건
  - 항산화 활성을 갖는 프로토카테큐산 유도체 및 이의 용도 (10-2013-0019040)

#### 나. 개별인정 기능성 분야

- 1) 솔잎 발효액에서 분리된 PCA와 SA를 이용한 항산화 기능성 원료
- 2) 솔잎에서 분리된 DHA와 Communic acid를 이용한 항고혈압 기능성 원료

### 2. 기능성 확인을 위한 바이오마커 선정

#### 가. 항고혈압 기능성 바이오마커

- 1) ACE inhibition 활성 분석

#### 나. 항산화 기능성 바이오마커

- 1) DPPH 활성 분석

### 3. 항고혈압 개별인정을 위한 실험 분석 성과

#### 가. 솔잎에서 분리된 항고혈압 유효성분 분리

- 1) 항고혈압 유효성분인 DHA와 Communic acid 분리
- 2) 항고혈압 시스템의 레닌-안지오텐신계 중 Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) inhibition 활성 분석 실시

#### 나. ACE activity 분석 결과 - In vitro

- 1) DHA와 Communic acid는 모두 ACE assay 분석 결과 우수한 항고혈압 효능이 확인 됨
  - (1) DHA와 Communic acid의 항고혈압 효능은 captopril과 유사함
  - (2) DHA와 Communic acid의 항고혈압 활성에 관한 특허출원 및 국제저널 논문 심사 중
- (가) 디하이드로아비어트산 또는 코문산을 유효성분으로 함유하는 고혈압 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 건강식품 조성물 (10-2013-0040162)

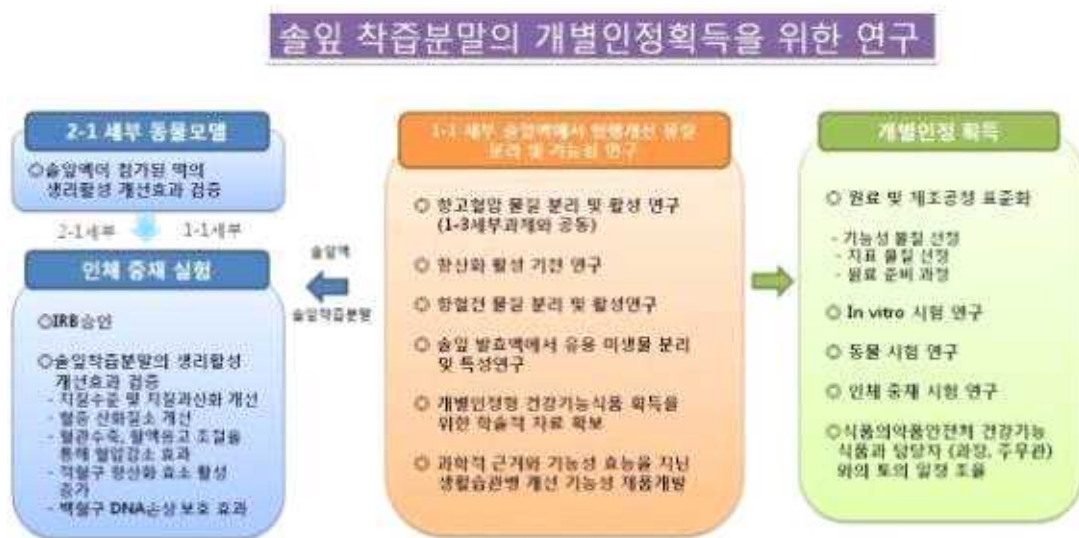
4. 항산화 개별인정을 위한 실험 분석 성과

가. 술잎발효액에서 분리된 항산화 유효성분 분리

- 1) 항산화 유효성분인 PCA와 SA 분리
- 2) 항산화 시스템의 총 항산화능 중 1,1-diphenyl-2picrylhydrazyl (DPPH) 분석 실시

나. DPPH 분석 결과 - In vitro

- 1) PCA와 SA는 모두 DPPH 분석 결과 우수한 항산화 효능이 확인 됨
- 2) PCA와 SA의 항산화 효능은 ascorbic acid와 유사함
- 3) PCA 유도체들의 화학구조 (OH기)가 항산화 활성에 미치는 영향 분석
- 4) PCA와 PCA 유도체들의 항산화 활성에 관한 특허출원
  - 항산화 활성을 갖는 프로토키테쿠산 유도체 및 이의 용도 (10-2013-0019040)



5. 술잎착즙분말의 임상실험 준비

가. 술잎착즙분말 제조 : 술잎착즙액은 -50°C에서 예비 동결건조한 후 시료를 건조기에 두었고, -70~-85°C에서 진공 펌프를 가동하여 수분이 완전히 제거되고 상온이 될 때까지 유지함 완성된 건조물은 믹서로 분쇄하여 준비

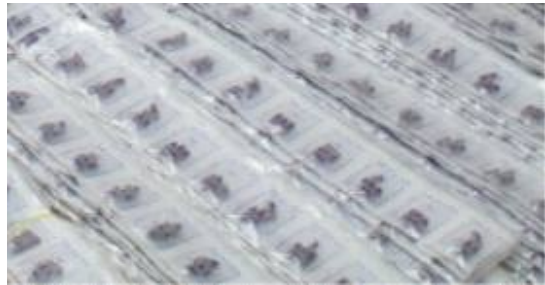


동결건조된 솔잎착즙액

나. 솔잎착즙분말 캡슐 제조 : 플라시보군에 쓰일 위약은 밀가루에 식용색소(녹색과 적색)를 가한 후 믹서로 혼합하여 준비함. 각각의 분말은 1캡슐당 0.35 g 씩 첨가하였으며, 1회분에 3개 캡슐(1.05g)을 동봉하여 포장함. 따라서 대상자는 1회 1.05g, 하루 3.15 g의 솔잎착즙분말을 섭취하며, 솔잎착즙액의 건조효율(26.7%)을 고려하면 솔잎착즙분말 하루 섭취량(3.15g)은 솔잎착즙액 11.8g에 해당하는 양에 해당됨



솔잎착즙분말의 캡슐링



1회 분량으로 약제 봉투에 포장



플라시보 캡슐 박스 포장



솔잎착즙분말 캡슐 박스 포장



## 6절 프랜차이즈 매장용 시제품 개발

### 1. 쌀가루 종류 및 제품별 저장 특성 및 재 가열 품질 특성 조사

가. 저장시간에 따른 떡의 일반세균수 측정

1) 기정과 가래떡을 제외한 나머지 5개 떡은 19시간 이후 많은 박테리아 증식

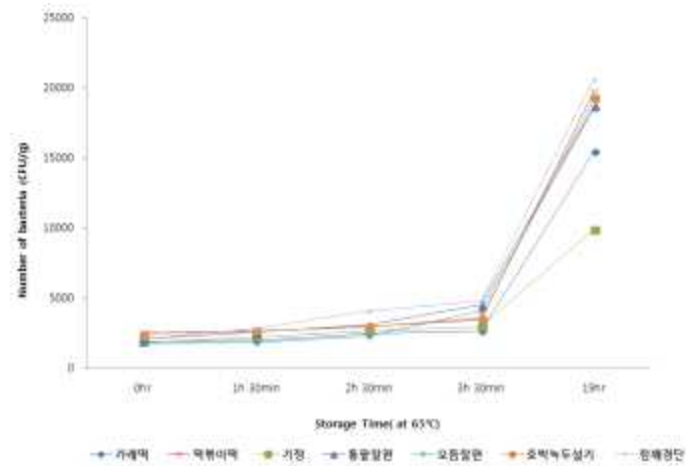


Fig. 14. 저장기간에 따른 일반 박테리아 수.

2) 저장시간에 따른 떡의 관능검사

Table. Sensory test of Dduk for storage periods

Sample	관능평가(총 기호도)		
	Storage time( at 65°C)		
	1h 30min	2h 30min	3h 30min
가래떡	3.7±1.2	3.7±0.6	5.0±1.0
떡볶이떡	3.7±1.2	7.0±0.0	5.0±0.0
기정	7.0±0.0	7.0±0.0	7.0±0.0
통팔찰편	6.7±0.6	6.7±0.6	6.7±0.6
모듬찰편	5.7±1.2	6.3±0.6	7.0±0.0
호박녹두설기	6.7±0.6	7.0±0.0	7.0±0.0
참깨경단	7.0±0.0	7.0±0.0	6.7±0.6

3) 재 가열에 따른 떡의 특성 조사

Number of general bacteria (CFU/g)		
Control	1542	
1차(1hr 재가열, 5hr 저장)	재가열	23
	저장	163
2차(1hr 재가열, 5hr 저장)	재가열	27
	저장	87
3차(1hr 재가열, 9hr 저장)	재가열	34
	저장	155
4차(1hr 재가열, 5hr 저장)	재가열	102
	저장	170

## 2. 시제품 제작

가. 쌀가루를 이용한 제빵제품 : 2-2세부 결과 활용제품

- 1) 창신대학교 김래영 교수로부터 레시피 제공받아 시제품 제작
- 2) 쌀가루를 이용한 이스트 발효전빵
- 3) 제조공정

재료 배합 → 반죽 → 발효 → 성형 → 숙성 → 가열 → 냉각 → 포장



나. 5색 가래떡 : 3-1세부과제 결과 활용제품

- 1) 전남대학교 신말식 교수로부터 레시피 제공받아 시제품 제작
- 2) 미강, 흑미 등 천연색소 첨가 가래떡
- 3) 제조공정

재료배합



짜기



사출



냉각



절단



포장



4) 5색 가래떡 시제품



다. 찰떡류 : 3-1세부과제 소재응용 테스트

- 1) 기존 제품에 미강 첨가 테스트
- 2) 제조공정

재료 배합 → 반죽 → 발효 → 성형 → 숙성 → 가열 → 냉각 → 포장

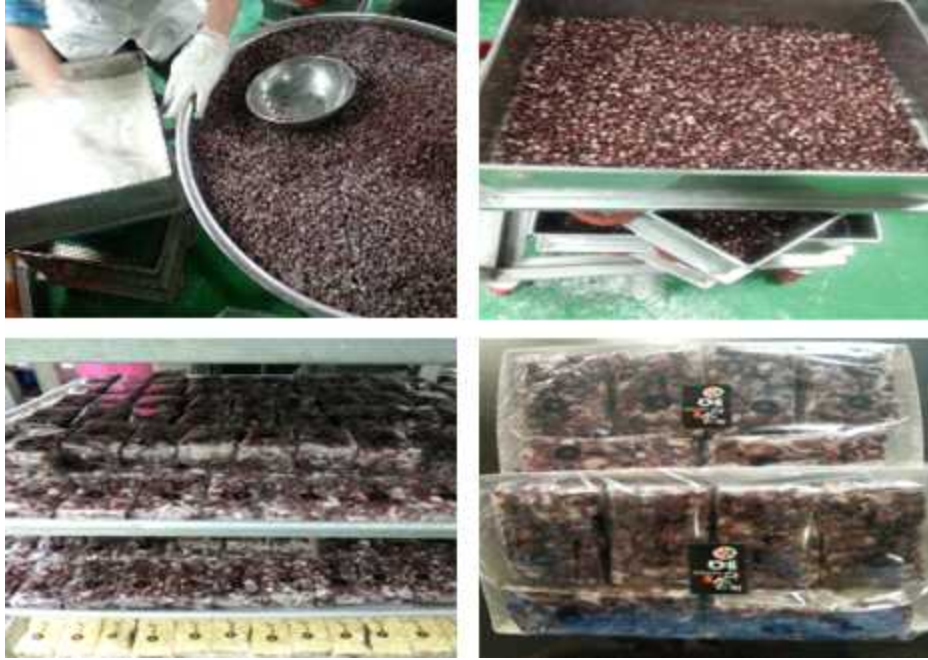
3) 미강 첨가 모듬찰 떡 테스트



4) 미강 첨가 호박설기 떡 테스트



5) 미강 첨가 콩팥찰 떡 테스트



## 제 5 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

구분	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도(%)
1차년도 (2011)	솔잎에서 혈행 개선을 위한 분획 분석 및 솔잎발효 조건 확립과 생리활성 변화 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 농축된 솔잎에서 분리된 분획은 ACE, DPPH 분석 등 생리활성에 관한 활성 분석</li> <li>○ 솔잎발효액에 존재하는 미생물을 bacteria와 yeast 선별 배지를 이용하여 분리</li> <li>○ 각 분리된 미생물은 16S rRNA와 26S rRNA primer를 이용하여 서열분석 후 phylogenic tree를 통해 종·속 확인</li> <li>○ 분리된 미생물과 솔잎발효액(발효진)을 혼합하여 배양 후 변화분석</li> </ul>	100
2차년도 (2012)	솔잎에서 혈행 개선을 위한 물질 분리 및 항산화 기능 분석과 천연소재를 이용한 시제품 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Open column의 분리 및 사용할 유기용매 선별을 위하여 매 분리과정마다 TLC를 이용하여 최적 조건 확립</li> <li>○ 분리된 분획은 ACE 분석을 통해 항고혈압 유효성분 확인</li> <li>○ 항고혈압 유효성분의 세포독성 분석</li> <li>○ NMR을 통한 항고혈압 유효성분의 구조분석</li> <li>○ PCA와 SA의 혈전분해에 영향을 미치는 다양한 환경 분석 및 혈전형성에 미치는 영향 분석</li> <li>○ PCA 유도체들의 혈전분해 활성 분석</li> <li>○ DPPH를 이용한 PCA와 SA의 항산화 효능 분석 및 PCA 유도체의 항산화 효능 분석</li> <li>○ 쌀가루를 이용한 제빵 제품 개발                             <ul style="list-style-type: none"> <li>-쌀가루를 이용한 이스트 발효전빵</li> </ul> </li> <li>○ 5색 가래떡                             <ul style="list-style-type: none"> <li>-미강, 흑미 등 천연색소를 이용한 가래떡</li> </ul> </li> <li>○ 기존 제품에 미강 첨가 테스트</li> </ul>	100

		-모듬찰 떡, 호박설기 떡, 콩팥찰 떡	
3차년도 (2013)	개별인정 획득을 위해 생리활성을 가지는 솔잎(착즙액·분말)에 IRB 신청과 임상분석(2-1세부과제 연계) 및 시제품의 제품화(4핵심연계)	○ 생리활성을 가지는 솔잎(착즙액·분말)의 IRB 신청 및 임상분석(2-1세부과제연계) ○ 2차년도 시제품의 제품화를 위해 시장 조사를 통해 고급화 및 다양한 세분화 시장을 위한 소비자 선호도에 따른 맞춤형 기능성 떡 제품 개발 (4핵심연계) ○ 참여기업의 기술이전 3건 및 생산라인 가동	100

## 2절 관련분야 기술발전 기여도

1. 솔잎에서 생리활성 기능을 갖는 유용성분 분리를 통한 기능성 식품 및 의약품에 적용

가. 항고혈압 기능을 갖는 유용성분 분리

- 1) 솔잎에서 항고혈압 활성을 갖는 Dehydroabietic acid(DHA)와 communis acid 분리
- 2) 식물의 이차대사 산물인 DHA와 communis acid의 항고혈압 기능은 기존에 보고가 되지 않은 새로운 기능임(특허등록)
- 3) DHA와 communis acid가 항고혈압에 관여하는 기능은 angiotensin converting enzyme을 억제하여 aldosterone 분비를 억제하여 혈압 조절 기작

나. 항산화 기능을 갖는 PCA와 그 유도체 분석을 통한 화학적 기전을 밝힘으로 각종 질환치료제 개발에 자료 제공

- 1) PCA는 항산화 기능이 보고됨
- 2) PCA의 side group의 변화를 통해 항산화 기능을 분석함
- 3) -OH, -COOH와 -NH의 개수와 위치에 따라 기능이 변화되는 원리를 정립함

다. 혈전분해 기능을 갖는 유용성분 분리를 통한 기능성 식품 및 의약품에 적용

- 1) 솔잎발효액에서 혈전 분해 활성을 갖는 Protocatechuic acid(PCA)와 shikimic acid(SA) 분리 (기존 혈전분해 물질은 대부분 미생물 또는 동물의 단백질에서 분리 정제됨)
- 2) 식물의 이차대사 산물을 이용한 혈전 분해 물질 분리는 본 연구팀에서 최초 확인함

- 3) 분리 정제된 두 화학물질의 혈전 분해 활성은 기존 연구에서도 보고되지 않은 새로운 기능임 (특허등록 5건 등록)
- 4) 두 화합물의 유도체를 분석을 통해 어떠한 side group이 중요한 역할을 하는지에 대한 과학적 해답을 제시
- 5) 두 화합물의 pH 변화에 따라 혈전분해 활성이 변화되며 기존에 보고된 혈전분해 물질과 다른 방식의 혈전 분해 활성을 갖고 있는 것을 확인함
- 6) 향후 혈전분해 연구에 화합물의 side group의 변화에 따른 혈전분해 방식을 통해 새로운 혈전분해 물질 개발에 기여할 것으로 판단됨

2. 솔잎에서 생활습관병 개선을 위한 기능성 물질을 분리 정제하는 시스템 확립함  
 가. 솔잎의 혈행개선 효과는 PCA, SA, DHA와 communnic acid가 관여하는 점을 확인함

나. PCA와 SA는 혈전 분해에 관여하며, DHA와 communnic acid는 혈압을 낮추는 기능을 가지고 있음

다. 본 연구를 통해 동의보감과 본초강목에서 언급한 솔잎의 혈행 개선 효과는 4개의 화합물 등이 작용하여 피를 맑게 한다는 것을 증명하는 좋은 기초자료임

3. 천연자원으로 솔잎은 생활습관병개선을 위한 뛰어난 기능성 가공제품 소재 임  
 가. 솔잎의 혈행 개선 효과와 항산화와 효과는 새로운 제품 개발에 이용 될 수 있으며 건 강기능식품 원료로도 사용 할 수 있는 뛰어난 천연 소재임

나. 2핵심연구와 3핵심연구결과를 종합하여 볼 때 솔잎의 다양한 제품이 심혈관 질환 뿐 아니라 대사질환에 좋은 효과를 보이는 것으로 보아 솔잎은 기능성 가공제품을 위한 뛰어난 천연소재로 생활습관병 개선을 위한 기능성 가공제품의 개발 및 산업화에 적합한 소재임.



## 제 6 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### 1절 실용화 및 산업화 계획(기술실시 등)

#### 1. 사업화 계획

##### 1-1. 사업화 추진 전략

<사업화 계획>

(단위 : 억원)

구 분		사 업 화 년 도				
		2014년 12월	2015년 1분기	2015년 2분기	2015년 3분기	2015년 4분기
목표		생산, 디자인 마케팅 수립	제품 출시	과생상품 개발	퓨전상품 개발	해외시장확 대
사업화과제		과제통한 개발 상품 출시	개발상품 출시 및 유통	리뉴얼 및 과생상품 개발	퓨전상품 개발	냉동포장 확대를 통한 수출 시도
사 업 화 품 목		기정떡, 가래떡	기정떡, 가래떡	찐빵	피자, 불고기, 술있소 기정떡	기술상품 전 품목
투 자 계 획	인 건 비	기존 인력 활용 가능				
	재료비 및 설비투자비	기존 시설 활용 가능				
	경상운영비	기존 운영비와 거의 동일				
생 산 계 획		-	1	4	8	15
판매계 획	매 출 (억원)	-	5	8	16	20
	수 출 (만불)	-	-	-	-	10
	계	-	5	8	16	30

## (1) 개발제품 사업화의 필요성

### 1) 기정떡

- 기존 예다손의 경영 노하우를 바탕으로할 때 매장에 방문하는 고객의 성별과 연령층의 특징을 가지고 있으며 떡의 상품적 특성은 빵과는 다른 개념을 가지고 있음.
- 성별의 경우 여성이 남성보다 크게 높음
- 연령층은 10~30대에 비해 40대 이상의 비중이 상당히 높음
- 10~30대의 경우 새로 개발된 떡, 예쁜 떡에 주로 관심을 보이는 반면 40대 이상은 기존에 자신이 아는 떡을 고집하며 새로운 제품에 도전하지 않는 성향이 있음
- 10~30대의 경우 당도에 따라서 기호도가 많이 바뀌는 반면 40대 이상은 당도가 높은 떡은 기피하는 성향을 갖음
- 빵은 일반적으로 쉽게 자주 접할 수 있는 일반 식품으로 인식하는 반면 떡은 특별한날 선물로 주는 음식이라는 특성을 지니고 있음
- 이러한 떡의 상품적 특성을 고려할 때 다음 개발기술을 활용한 제품 개발에는 두가지 관점에서 접근할 필요성이 있으며 젊은 층과 성인층을 타겟으로 하는 두가지 판매 전략에 따른 제품 개발이 필요함
- 젊은 층에게는 기존 기술개발 상품에 미적, 미각적, 후각적의 새로운 요소를 추가하여 신메뉴 개발이 필요함
- 성인층의 경우 기존 떡의 맛과 식감의 범주를 벗어나지 않는 범위 내에서 생활 습관병 개선에 대한 기능성을 추가하여 소비자에게 호소할 필요성이 있음
- 떡이 가지고 있는 다이어트에 좋지 못하다는 불신을 해소하기 위해 기정떡과 같은 가볍고 소화시키기 쉬운 제품등을 활용하여 아침식사 대응 또는 간식 대응의 제품을 개발한다면 기존 예다손에서 갖고 있지 못하는 소비층들을 흡수할 수 있을 것으로 예상됨

### 2) 가래떡

- 최근 쌀 가공식품 산업의 전체적인 경기악화에도 불구하고 전체적인 쌀 가공식품 산업의 매출은 증가추세에 있음(쌀가공식품 협회 통계자료)
- 주요 매출 품목으로는 가래떡과 떡국떡 시장이 차지하는 비중이 약 85%로 전체 떡 산업에 대부분을 차지하고 있으며 주요 대기업이 독식하고 있다.
- 예다손과 같은 신선떡 판매는 전체 떡 시장의 15%를 차지하고 있으며 예다손과 같은 전통과 맛으로 전국에 체임점 및 좋은 시장 인지도를 갖고 있는 중소기업으로 후발주자이기는 하지만 기능성과 맛을 앞세운 차별화 전략으로 시장에 진입 한다면 기존 대기업들의 제품에 경쟁력이 있음
- 기존 일반 떡류와 신선떡 시장을 벗어나 가래떡 및 떡국떡 시장에 진출한다면 경쟁력있는 새로운 매출원을 확보 할 수 있을 것으로 기대됨

(2) 사업화 경제성 확보 전략

가. 미강 및 솔잎의 단가 조사

	최저 단가(원)	평균 단가(원)
솔잎 (건조물)	11200/kg	21500/1kg
미강 (건조물)	4200/1kg	6000/1kg

나. 생산 단가 상승으로 인한 경제성 확보 전략

- 선행연구 결과 솔잎 분말의 1일 적정 섭취량은 1g 이었으며 1일 권장량에 대한 섭취량 원재료가는 11원으로 제조가 가능함. 예다손 부재료 원가로 가장 단가가 비싼 딸기분말의 경우 15원/g으로 최고단가보다 낮음
- 솔잎 분말은 개발제품의 레시피에 따라 100원/100g (솔잎분말 함량1% 적용) 떡으로 제조가 가능하며 100g 원형설기(기본 떡) 기준 평균 1000원의 가격대를 형성하고 있어 원재료 투입에 따른 가격 경쟁력 감소는 없어 사업성이 가능할 것이라 판단됨.
- 솔잎 분말을 떡류의 제품에 적용할 경우 기존에 판매되고 있는 제품 중 800원/100g에 판매되는 제품에 솔잎 분말 또는 솔잎 추출물 하루섭취량 기준을 첨가할시 평균단가는 900원/100g으로 상승된다고 할 수 있음. 본사에서 판매하는 떡의 경우 가격이 더 비싼 제품군이 있으므로 떡의 가격이 고가라고 할 수 없으며, 부 원료가가 비교적 낮은 제품에 기능성 원료를 첨가하여 제품생산을 하고 건강기능식품 원료가 첨가된 제품으로 판매하면 일반적으로 소비자의 구매 촉진을 유발, 이로 인하여 사업성이 가능할 것이라 판단됨. 떡류로 제조할 경우 현재 건강기능식품이 아니므로 추출물 또는 분말 제조를 GMP 업체에서 해야 하는 의무 사항이 없으므로 솔잎 분말을 본사 설비로 제조하고 첨가량을 조절할 경우 원료 단가를 더 감소시킬 수 있으며 기존 제품 가격과 거의 유사하게 판매도 가능할 것으로 판단됨
- 미강의 경우 기타 부재료에 비해 투입비 및 원가가 적어 전체 생산에 차지하는 비중이 매우 적어 생산원가 상승요인으로 작용하지 않으므로 기존 제품 가격과 거의 유사하게 판매도 가능할 것으로 판단된다. 또한 기능성 식품이 아니므로 본사의 제분라인을 활용한다면 추가적인 시설투자 비용이 불필요함

(3) 개발대상제품 차별성 및 기호도 컨셉

시판 제품	차별성	대상제품	기호도 컨셉
가래떡 떡보의 하루	시판제품의 경우 무미, 무취, 무색인 반면 개발대상제품의 경우 미강의 고소한 맛과 향이 살아있으며 영양적으로 기존 가래떡에 비해 월등함	미강가래떡	기존 가래떡과 포장 및 판매방법과 동일하게하여 비교할 수 있도록 하며 맛은 비슷하지만 영양적으로 훨씬 뛰어나다는 기능성을 강조함
떡국떡 떡보의 하루	시판제품의 경우 가래떡과 유사한 반면 개발제품의 경우 미강 및 기타 유색미를 활용하여 오색으로 색을주어 기존 제품보다 맛, 영양, 품질면에서 우수함을 느낄 수 있음	미강 오색 떡국떡	미강을 활용하여 기능성을 첨가하고 유색미를 활용하여 시각적으로 뛰어난 점을 강조함
떡볶이떡 풀무원, 송학	떡볶이떡의 특성상 조리 후 쫄깃함을 그대로 유지해야한다. 개발대상제품의 경우 활성전분으로 인해 조리후에도 퍼짐이 없이 쫄깃함을 그대로 유지할 수 있으며 미강을 이용하여 기능성을 포함하고 있음	미강 떡볶이떡	미강 및 미강의 식미증진을 위한 활성 전분의 역할로 인하여 쫄깃함이 조리후에도 유지되며 기능성을 포함함을 강조함
방울기정 청주방울기정	단순 막걸리 발효를 벗어나 기정떡 특성상 발생하는 이취가 거의 없음.	미니기정	기존 전통방식의 방울 기정보다 적은 사이즈로 먹기 편하며 솔잎 및 유색미를 활용한 다양한 색상을 적용하여 시각적인 미와 기능성을 강조함
기정떡 사평기정떡	단순 막걸리 발효를 벗어나 기정떡 특성상 발생하는 이취가 거의 없음.	기정떡	기존 전통방식의 막걸리발효의 이취를 싫어하는 소비자층에게도 쉽게 권할 수 있는 소화가 잘되는 가벼운 떡을 강조함
전빵	밀로 만든 전빵과 비교하여 식감이 전혀 차이가 없는 쌀 전빵으로 국내산 쌀을 이용함	쌀 전빵	밀가루를 전혀 사용하지 않은 국내산 쌀로 만든 전빵임을 강조함 추가적으로 다양한 패티를 적용함으로써 젊은 층의 기호도 충족

(4) 제품별 사업화 추진 전략

개발 제품	마케팅 전략	Target	유통 경로	판매 촉진 전략
미강가래떡	·미강의 기능성을 강조하여 기존 가래떡 고객층에게 기존제품과 비교하며 판매 ·기존 제품과 가격적인 차이를 적게 함으로서 쉽게 접해볼 수 있도록 함	·일반 소비자	·직영점 및 가맹점 ·이마트등 대형 유통점 ·인터넷 쇼핑몰	·특허 등 기술적인 측면을 이용한 마케팅을 전략적으로 활용하여 판매를 촉진.  ·기존 제품들과의 기능적 영양학적 차별성을 활용한 비교 판매를 통한 소비자 이해도를 높혀 판매 촉진  ·제품의 다양한 패키지 구성을 통한 판매 촉진  ·초기 제시된 제품의 중량을 포함하여 다양한 제품의 중량으로 소비자의 필요성 또는 기호성에 맞게 제품을 생산하여 판매 촉진  ·소비자의 편의성을 위한 사전 예약 주문 및 배달 서비스를 통한 판매 촉진
미강 오색떡국떡	·미강의 기능성을 강조하여 기존 떡국떡 고객층에게 기존제품과 비교하며 판매 ·기존 제품들과의 영양학적 차별성을 강조하며 식미 및 식감의 차이가 없음을 강조하여 비교 판매	·일반 소비자	·직영점 및 가맹점 ·이마트등 대형 유통점 ·인터넷 쇼핑몰 ·편의점	
미강 떡볶이떡	·미강의 기능성을 강조하여 기존 떡국떡 고객층에게 기존제품과 비교하며 판매 ·기존 제품들과의 영양학적 차별성을 강조하며 식미 및 식감의 차이가 없음을 강조하여 비교 판매	·일반 소비자	·직영점 및 가맹점 ·이마트등 대형 유통점 ·인터넷 쇼핑몰 ·편의점	
미니기정	·기존 미니기정의 특성을 살리며 이취를 없애 술 냄새의 이취가 없음을 강조 ·기존 제품보다 뛰어난 식감뿐만 아니라 솔잎분말 및 유색미를 활용하여 시각적인 미를 강조함 ·건강지향적인 측면의 마케팅을 활용하여 요일별 제품으로 패키지 상품을 구성하여 판매	·청소년층 ·일반 소비자	·직영점 및 가맹점 ·이마트등 대형 유통점 ·인터넷 쇼핑몰	
기정떡	·기존 막걸리 발효 기정떡과 차별화된 기정떡으로 이취가 없으며 식감이 뛰어난을 강조하여 판매 ·기존 제품보다 뛰어난 식감뿐만 아니라 솔잎 분말 및 유색미를 활용하여 시각적인 미를 강조함	·여성 ·중장년층 ·일반 소비자	·직영점 및 가맹점 ·이마트등 대형 유통점 ·인터넷 쇼핑몰	
쌀 전빵	·밀가루를 전혀 사용하지 않은 발효 전빵을 강조하여 판매 ·젊은 소비층을 위한 다양한 패티 적용으로 다양한 기호도를 충족시킬 수 있는 제품임을 홍보하여 판매	·청소년층 ·일반 소비자	·직영점 및 가맹점 ·이마트등 대형 유통점 ·인터넷 쇼핑몰 ·편의점	

## (5) 사업화를 위한 시설투자 및 핵심인력 확보 방안

- 본 과제가 진행되는 동안 쌀산업의 경기 침체에도 불구하고 사업화 인력채용 및 연구인력을 꾸준히 채용하여 현장에 배치하였음
- 본 과제가 진행되는 동안 이미 연구인력과 생산관리 인력을 채용하여 연구를 진행 중이며 향후 연구 및 생산인력을 필요시에 확대 채용하여 현장에 투입할 계획임
- 본 과제를 통해서 개발된 기술들은 따로 새로운 라인을 만들 필요가 없어 바로 현장에 적용이 가능하며 따로 고가의 장비를 요하는 기술이 아니므로 기존에 구축된 라인에 신규인력과 기존인력을 동시 배치시켜 신규인력의 적응도를 높일 것임
- 본 과제를 통해서 개발된 기술을 적용할 뿐만 아니라 부설연구소 자체적으로 연구개발되고 있는 면역관련 기술을 융합하여 시너지효과를 극대화할 계획임
- 과제가 진행되는 동안 개발한 시제품을 생산하여 현재 구축된 라인을 통해 여러 타입의 떡 생산을 통해 본과제에서 연계되는 제품을 충실히 생산하고자 함
- 본 과제가 진행되는 동안 떡 냉동장치 및 포장기 등 고급화된 기능성 떡류 생산 및 유통을 위한 설비를 위해 3억원 이상 투자하였음
- 부설연구소내에 건강기능사업부를 신설하고 매장 내 기능식품 코너를 신설하여 개발제품 매출 증진에 기여하고자 함

## 2절 교육·지도·홍보 등 기술확산 계획

### 1. 식품의약품안전처 개별인정형 원료 인정 획득

- 가. 식품의약품안전처에서 인정한 식품가용 원료인 솔잎을 이용하여 혈압조절에 도움을 주는 개별인정형 건강기능식품을 산업화 하기 위해 솔잎의 지표성분설정, 원재료 표준화, 제조공정표준화 및 기능성 평가 진행
- 나. 기능성 떡 개발을 위해 원재료의 기능성 획득을 우선적으로 진행하여 원재료에 대한 우선권을 획득을 통해 시장을 선점함. 식품의약품안전처에서는 인정된 개별인정형 원료에 대해 승인된 회사에게 일정 기간 우선권을 주기 때문에 시장 선점에 도움됨

### 다. 솔잎액의 원료 표준화

평가방법	평가항목
지표성분설정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 솔잎 추출물의 지표 물질 확보</li> <li>• 솔잎 추출물(원료) 품질관리를 위한 기준 및 시험방법 설정</li> <li>• 솔잎 추출물을 포함 한 제품의 품질 관리를 위한 기준 및 시험 방법 설정</li> </ul>
원재료표준화	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 솔잎 추출물(원료)의 기준 규격 설정 및 시험방법 제시</li> <li>• 솔잎 추출물 지표 성분의 안정성 입증</li> <li>• 솔잎 추출물 유래 지표물질의 분석법 벨리데이션</li> </ul>
제조공정표준화	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 추출방법 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 용매, 온도, 시간 등</li> </ul> </li> <li>• 농축방법 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 온도, 압력, 시간 등</li> </ul> </li> <li>• 건조방법 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 건조(VD, FD, SD 등</li> </ul> </li> <li>• 분말</li> </ul>
기능성 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 안전성(독성)평가</li> <li>• 시험관 및 동물시험</li> <li>• 인체적용 시험</li> </ul>

라. 솔잎액의 기능성 평가

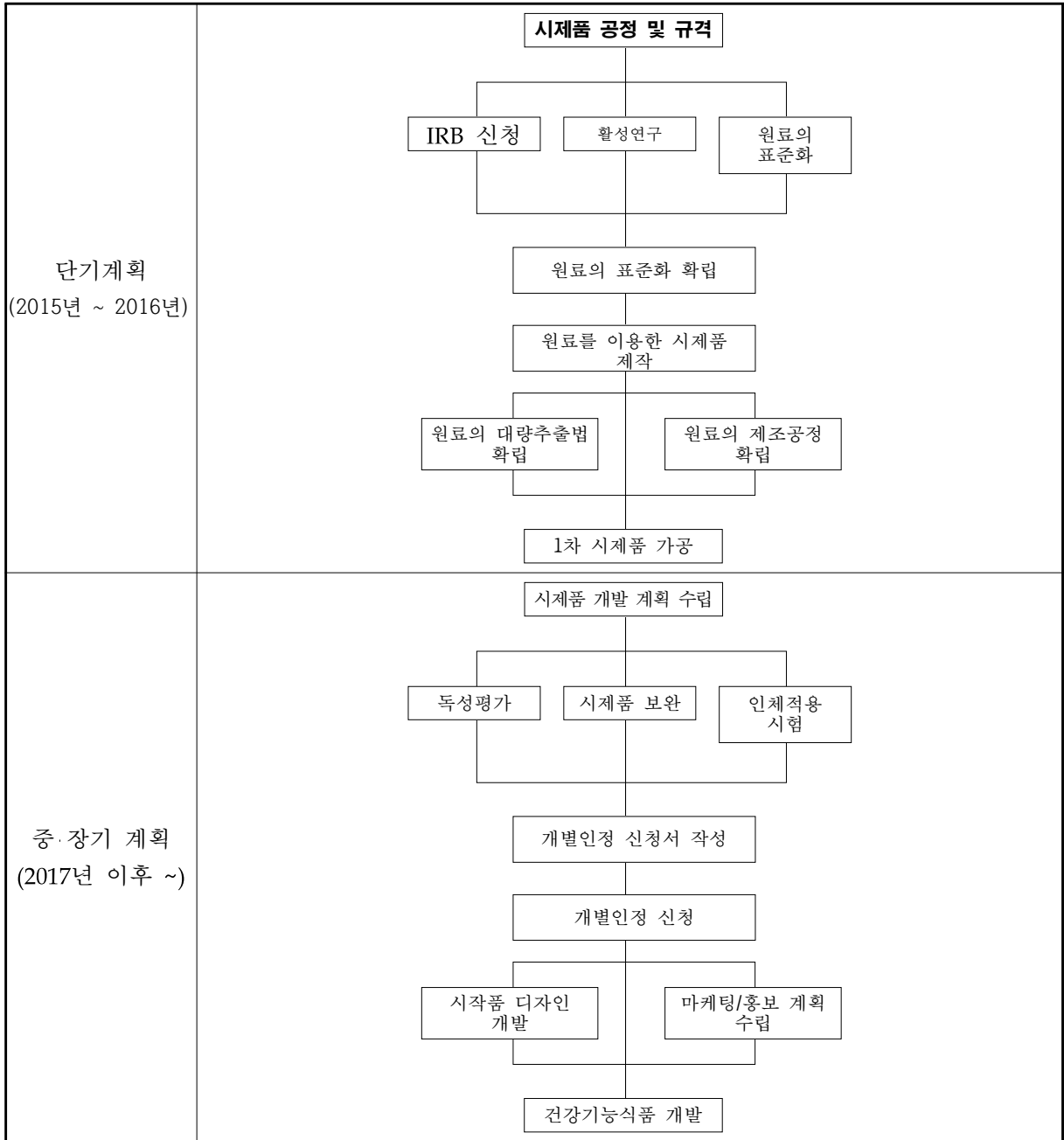
평가	평가항목
솔잎착즙액분말의 레닌-안지오텐신계 기능성 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Angiotension I -converting enzyme (ACE) 활성 억제</li> <li>· 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT) 확보</li> </ul>
솔잎착즙액분말의 혈관이완 기능성 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 내피 유래 혈관이완 인자 활성</li> <li>· 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT) 확보</li> </ul>

라. 사업화 추진 전략

	대학	기업
단기 계획	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능 및 지표성분 설정</li> <li>○ 원재료 표준화</li> <li>○ 제조공정 표준화               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 추출 및 농축</li> </ul> </li> <li>○ 기능성 성분의 생리활성 연구               <ul style="list-style-type: none"> <li>- In vivo</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pilot 규모의 생산공정에서 시제품 개발</li> <li>○ 제품의 레시피 설정 및 제품화</li> <li>○ 제품의 시장 반응 조사</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제조공정 표준화               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 건조 및 분말</li> </ul> </li> <li>○ 기능성 평가               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 위험성 및 독성평가</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 초기 제품의 시장 반응 조사에 대한 미비점 보완</li> <li>○ 소비시장의 변화 및 소비 패턴에 대한 제품 개발</li> </ul>
중·장기 계획	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 전문기관을 통한 개별인정 획득               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 절차 진행 (개별인정)</li> </ul> </li> <li>1. 기술수준 체크리스트 점검</li> <li>2. 연구기술서 작성 및 컨설팅</li> <li>3. 전북대 병원 기능성 식품 임상 시험센터에서 임상실험 진행</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품화               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 기술수준 체크 리스트 점검</li> <li>- 연구기술서 작성 및 컨설팅</li> <li>- 전라남도 식품 산업 연구센터</li> </ul> </li> </ul>

라. 사업화 추진 체계





라. 기술이전 계획

- 1) 관련 기술이전은 기능성 원재료의 표준화 및 독성 평가가 완료되는 시점에 특허 등록 이후에 진행할 계획임
- 2) 특허 등록 이전에는 사업화 이후 타 업체와의 경쟁에서 유리한 위치를 선점하기 위해 해당 기술의 원천 특허의 기술이전을 협의 중임(관련 특허 : 디하이드로아비어트산 또는 코문산을 유효성분으로 함유하는 고혈압 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 건강식품 조성물, 10-1424032, 2014.07.22.)

### 3절 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보

#### 1. 특허

##### 가. 등록

- 1) 발효에 의해 쉬킴산이 증가된 솔잎발효액을 유효성분으로 함유하는 심혈관계 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 건강식품 조성물, 10-1137407, 2012.04.10.
- 2) 발효에 의해 쉬킴산이 증가된 솔잎 발효액을 유효성분으로 함유하는 심혈관계 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 건강식품 조성물, 10-1186849, 2012.09.24
- 3) 디하이드로아비어트산 또는 코문산을 유효성분으로 함유하는 고혈압 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 건강식품 조성물, 10-1424032, 2014.07.22.
- 4) 항혈전 활성을 갖는 폴리아크릴산 고분자 및 이의 용도, 10-1427384, 2014.07.31.

##### 나. 출원

- 1) 항산화 활성을 갖는 프로토카테큐산 유도체 및 이의 용도, 10-2013-0019040, 2013.02.22.
- 2) 항혈전 활성을 갖는 프로토카테큐산 유도체 및 이의 용도, 10-2013-0026277, 2013.03.12.
- 3) 항혈전 활성을 갖는 폴리아미도아민 텐드리머 및 이의 용도, 10-2013-0035182, 2014.04.01.

#### 2. 논문

##### 가. 국제저널(SCI, SCIE)

- 1) One-Pot Synthesis and Structural Characterization of Poly(alkoxysilane)s Catalyzed by Silver-Gold Complexes, Jorunal of nanoscience and nanotechnology, 2013.01.31
- 2) Facile Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticle Bis(o-phenolpropyl)Silicone Composites Using a Gold Catalyst, Jorunal of nanoscience and nanotechnology, 2013.01.01
- 3) Isolation and Purification of a Novel Deca Antifungal Peptide from Potato Solanum tuberosum L cv Jopung Against Candida albicans, International journal of molecular science, 2012.04.01
- 4) PG-2, a Potent AMP against Pathogenic Microbial Strains, from Potato (Solanum tuberosum L cv. Gogu Valley) Tubers Not Cytotoxic against Human Cells, International journal of molecular science, 2013.02.21
- 5) Colonization and infection of the skin by S. aureus: immune system evasion and the response to cationic antimicrobial peptides, International journal of molecular science, 2014.05.16
- 6) Synthesis and Characterization of Phosphine/Borane-Terminated Poly(silole-co-germole) for the Evaluation of Luminescent Polymer Light-Emitting

Diode, Journal of nanoscience and nanotechnology, 2013.03.27.

- 7) Easy Synthesis and Characterization of Poly(alkoxysilane)s Promoted by Silver-Platinum Mixed Complexes, Journal of nanoscience and nanotechnology, 2014.12.31.

나. 국내저널(KCI)

- 1) Transgenic Potato Plants Expressing mW-Ry gene Enhanced Resistance to Potato virus YO,

3. 학술발표

- 1) Transgenic Potato Plants Expressing mW-Ry gene Enhanced Resistance to Potato virus YO, 2013.10.17, 부산 BEXCO
- 2) Effect of Fibrinolysis Compounds Purified from Pinus densiflora, 2013.10.17, 부산 BEXCO
- 3) Antihypertension Effect of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor Compounds purified from Pinus densiflora sieb. et Zucc., 2013.10.18, 부산 BEXCO
- 4) Antioxidant Principles of Compounds Purified from Pinus densiflora, 2013.10.18, 부산 BEXCO
- 5) Purification and characterization of the fibrinolytic compounds from Pinus densiflora Sieb. et Zucc, 2013.10.18, 부산 BEXCO
- 6) Chemical Screening for Antioxidant Activity of Protocatechuic Acid Derivatives Purified from Pinus densiflora, 2013.11.29, 광주 김대중컨벤션센터
- 7) Recombination of Ry Gene for Improving of PVYO Resistant in Solanum tuberosum, 2013.11.29, 광주 김대중컨벤션센터
- 8) Chemical Structure and Functional Relation for Fibrinolytic Activity of Derivative Compounds of Protocatechuic Acid Isolated from Pinus densiflora, 2013.11.29, 광주 김대중컨벤션센터
- 9) Fibrinolytic Activity of Protocatechuic acid Isolated in Pinus densiflora, 2013.11.29, 광주 김대중컨벤션센터
- 10) Fibrinolytic Activity of Derivative Compounds and Protocatechuic acid Isolated from Pinus densiflora, 2013.11.29, 광주 김대중컨벤션센터
- 11) Purification and characterization of the fibrinolytic compounds from Pinus densiflora Sieb. et Zucc, 2013.11.29, 광주 김대중컨벤션센터
- 12) Antihypertension Effect of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor Compounds purified from Pinus densiflora sieb. et Zucc, 2013.11.29, 광주 김대중컨벤션센터
- 13) Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitory Compounds Isolated from Pinus densiflora, 2013.11.29, 광주 김대중컨벤션센터

- 14) Antioxidant Effects of Compounds Isolated from *Pinus densiflora* in SVEC4-10, 2013.11.29, 광주 김대중컨벤션센터
- 15) Influence of 12,14-labdatrien-18-oic acid a Component Isolated from *Pinus densiflora* Needle on Adrenal Catecholamine Release, 2013.10.18, 충북오송
- 16) PVYO resistance improvement using modified mhd motif of resistance y gene in *Solanum tuberosum*, 2014.02.10, Seri Pacific Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia
- 17) Chemical Structure and Functional Relation for Antioxidant Activity of Derivative Compounds of Protocatechuic Acid Isolated from *Pinus densiflora*, 2014.02.10, Seri Pacific Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia
- 18) Antioxidant activity of *Pinus densiflora* extracts - Protocatechuic acid and derivatives, 2014.02.10, Seri Pacific Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia
- 19) Fibrinolytic activity of protocatechuic acid and derivative compounds isolated from *Pinus densiflora*, 2014.02.10, Seri Pacific Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia
- 20) Effect of Pine Needle Extract on Blood Pressure, Lipid Profiles, and Antioxidant Status in Subjects with Prehypertension, 2014.10.28, 대전 컨벤션센터
- 21) Inhibitory Effects of 12,14-labdatrien-18-oic acid Isolated from *Pinus Densiflora* Needle on Catecholamine Secretion from the Adrenal Medulla, 2013.10.25, 일본 오사카
- 22) Characterization of Novel Antihypertensive Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Compounds Isolated from *Pinus densiflora* Needles, 2014.04.10, 경주 현대호텔
- 23) Effect of Protocatechuic Acid and Derivative Compounds as Fibrinolytic Agents Isolated from *Pinus densiflora*, 2014.04.10, 경주 현대호텔
- 24) Antihypertensive effect of angiotensin converting enzyme inhibitory compounds purified from *Pinus densiflora*, 2014.04.10, 경주 현대호텔
- 25) Determination of Antioxidant Activity through Structure Change of Protocatechuic Acid Isolated from *Pinus densiflora*, 2014.04.10, 경주 현대호텔
- 26) Characterization of microorganisms Isolated from Fermented dark vinegar, 2014.04.10, 경주 현대호텔
- 27) Antibiotic activity against *Malassezia furfur* in needle extracts of *Pinus densiflora*, 2014.04.10, 경주 현대호텔
- 28) Determination of Antioxidant Activity through Structure Change of Protocatechuic Acid Isolated from *Pinus densiflora*, 2014.04.10, 경주 현대호텔
- 29) THROMBOLYTIC, ANTICOAGULANT ACTIVITIES OF PROTOCATECHUIC ACID AND DERIVATIVE COMPOUNDS ISOLATED FROM *PINUS DENSIFLORA*, 2014.06.17, John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center, Boston, MA, USA

- 30) ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PROTOCATECHUIC ACID FROM PINUS DENSIFLORA AND DERIVATIVES, 2014.06.17, John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center, Boston, MA, USA
- 31) ANTIHYPERTENSIVE ACTIVITY OF COMPOUNDS ISOLATED FROM NEEDLES OF PINUS DENSIFLORA, 2014.06.17, John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center, Boston, MA, USA
- 32) DEVELOPMENT OF PVYO RESISTANCE TRANSGENIC POTATOES BY MHD MOTIF ENGINEERING IN SOLANUM TUBEROSUM, 2014.06.17, John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center, Boston, MA, USA
- 33) ANTIHYPERTENSION EFFECTS OF PROTOCATECHUIC ACID AND DERIVATIVE COMPOUNDS ISOLATED FROM PINUS DENSIFLORA, 2014.06.17, John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center, Boston, MA, USA
- 34) Influence on Dehydroabietic and Communic acids inhibiting Angiotensin I -Converting Enzyme Activity, 2014.10.06, 창원컨벤션센터
- 35) Lipase inhibition activity against Malassezia furfur of compounds isolated from needle extracts of Pinus densiflora Sieb. et Zucc., 2014.10.06, 창원컨벤션센터
- 36) Regulation of the Renin-angiotensin system by Antihypertensive compounds isolated from Pinus densiflora sieb. et zucc., 2014.10.06, 창원컨벤션센터
- 37) Physiological Characterization of Moju Fermented Unpolished Rice, 2014.10.06, 창원 컨벤션센터
- 38) Physiological Characterization of Dark Vinegar Fermented Unpolished Rice, 2014.10.06, 창원컨벤션센터
- 39) Development of PVYO resistance transgenic potatoes in Solanum tuberosum L., 2014.10.06, 창원컨벤션센터

## 제 7 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 1절 항고혈압 분해 연구

#### 1. 기존 특허

##### 가. 종류

- 1) 솔잎 추출물을 함유하는 테스토스테론 5-알과 환원효소저해제, 1020040105854
- 2) 항균 및 항진균 활성을 갖는 솔방울 추출물, 및 이를 유효성분으로 하는 피부질환 개선용 화장료 조성물, 1020050026068
- 3) Use Of Rottlerin And Its Derivatives As Activators Of BK Channel For Therapy Of Hypertension And Related Disorders, 11792202

나. 기존 특허와 차이점 : 솔잎의 항고혈압 기능에 작용하는 이차대사산물을 분리, 정제 및 구조를 확인하였다. 분리된 식물의 이차대사산물은 기존에 보고되지 않은 항고혈압 기능을 확인하였다.

다. 기존 진보성 : DHA와 communic acid는 기존 생리활성이외에 항고혈압억제효과가 있다. 그 활성효과는 ACE inhibition 효과이다. 기존 시판제품과는 다른 화학구조로 이루어져있다. 또한, 이 두 화학물질은 식물의 이차대사산물이며 합성화학물질이 아니다.

#### 2. 기존 논문

##### 가. 종류

- 1) Labdane-type diterpenes chemistry and biological activity
- 2) Antiparasitic, nematicidal and antifouling constituents from juniperus berries

나. 기존 논문과 차이점 : 두 논문은 DHA와 Communic acid 분리 및 생리활성을 분석한 논문임

다. 기존 진보성 : DHA 생리활성은 주로 항박테리아, 항콜레스콜, NO 생산 억제를 확인하였고 Communic acid는 항박테리아, 항암, 근육이완과 같은 생리활성을 확인하였다. 이 두 화학물질의 항고혈압에 관한 연구는 아직까지 보고되지 않았다

## 2절 혈전 분해 연구

### 1. 기존 특허

#### 가. 종류

- 1) 플라즈미노겐 액티베이터 인히비터-1 저해제, 10-2012-0006027, 2012.01.17
- 2) Factor VIII remodeling and glycoconjugation of Factor VIII, US 7,157,277 B2, 2007.01.02
- 3) PREVENTING AND/OR TREATING CARDIOVASCULAR DISEASE AND/OR ASSOCIATED HEART FAILURE, US 20111/ 0212188 A1, 2011.09.01
- 4) Flavanoids and isoflavanoids for the prevention and treatment of cardiovascular diseases, WO 2006/045096 A3, 2006. 04.27
- 5) Storage-stable fibrinogen preparation, 5,962,405, 1999.09.05
- 6) PYRAZINONE THROMBIN INHIBITOR, 2010.07.08, P2010-150275A
- 7) Thrombin inhibitors, 5,872,138, 1999.04.16

나. 기존 특허와 차이점 : 기존 특허는 고분자 단백질 또는 화합물을 이용하여 항혈전 기능과 심혈관질환에 관한 특허들이다. 또한, 고분자 화합물의 유도체를 이용하여 플라즈미노겐 액티베이터 인히비터-1 저해제(PAI-1) 활성을 확인하는 특허들이다. 본 특허는 기존에 보고된 고분자 단백질 또는 화합물보다 그 분자량이 낮은 저분자로 항혈전활성을 확인하였으며, 특히 benzen ring을 기본으로 하여 ring 주변에 어떠한 잔기와 어느 위치에 잔기가 존재하는지를 통해 항혈전활성을 확인하였으며, 그 결과를 통해 항혈전활성 기능을 가지고 있으면서 기존에 보고되지 않은 화합물들의 새로운 기능을 확인하였고, 어떠한 잔기가 어느 위치에 있어야 항혈전활성이 우수한지를 분석하였다.

다. 기존 진보성 : 고분자 합성 화합물을 이용하여 항혈전 기능에 대한 보고가 되어 있으나, 저분자 화합물을 이용하여 fibrinolytic activity에 대한 보고는 확인되지 않았다(다만, 저분자 화합물 일부가 thrombin inhibitor로 기능은 확인되었다). 본 특허는 기존에 사용되었던 고분자량의 화합물들 대신 솔잎에서 분리된 저분자 화합물 PCA와 그 유도체를 사용하였으며, 특히 유도체들은 benzen ring을 기본으로 하여 저분자 화합물들(PCA와 그 유도체)의 항혈전 활성을 분석하였다. 본 특허에서 사용된 PCA 유도체들의 보고된 특허들은 대부분 심혈관 질환예방과 치료에 목적을 두고 있다.

### 2. 기존 논문

#### 가. 종류

- 1) Structure-Activity relationships of PAI-1 Inhibitors, Karen Sanders, 2010.

- 2) Aspirin acetylates fibrinogen and enhances fibrinolysis. Fibrinolytic effect is independent of changes in plasminogen activator levels, Thorir D. Bjornsson, 1989, Vol. 250, 154-161.
- 3) Determination of phthalic acid, mono-(2-ethylhexyl) phthalate and di-(2-ethyl-hexyl) phthalate in human plasma and in blood products, Hideharu Shintani, 1985, Vol. 337, 279-290.
- 4) Effect of Terephthalic Acid upon Sulfadimethoxine Contents in Blood Plasma., Akio Hoshi, 1967, Vol. 15, 1138-1144.

나. 기존 논문과의 차이점 : 저분자 화학물질을 이용하여 항혈전 활성을 분석하였다. 2010년에 발표된 논문 좌1)은 저분자 화학물질을 합성하여 PAI-1 inhibitor 활성이 있는 물질을 분리 정제하였다. 특히, 저분자 aspirin 좌2)은 acetylation을 통해 fibrinolysis 활성을 확인 하였다. 이 두 논문은 항혈전 효과를 확인하는데 기존에 중점을 두던 고분자량의 단백질을 이용하지 않고 저분자량의 화학물질을 사용한 점이 유사하고, 그 유도체를 이용하여 항혈전 활성을 확인하였다는 점이 유사한 점이다.

다. 기존 진보성 : 참고 문헌과 비교하여 본 특허의 차이점은 기존에 활성이 보고되지 않은 PCA의 새로운 활성을 확인 하였으며, 그 유도체 또한 기존 논문에서는 항혈전효과가 보고되지 않았다. 특히, benzen ring을 기본으로 잔기의 종류와 위치를 변경시켜 항혈전 효과를 분석하였다는 점은 그 동안 보고된 논문과의 차이점이다.



## 제 8 장 연구시설·장비 현황

품 명	UV spectrophotometer
규 격	EON Biotek3
국가과학기술종합정보시스템 장비 등록 번호	해당 사항 없음(3천만원 이하 장비)

## 제 9 장 참고문헌

1. P.K. Janitha P. D. Wanasundara, Peptide with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity from defibrinated, hydrolyzed bovine plasma, *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50, 6981-6988.
2. Ronald B. Pegg, Determination of hippuric acid by RP-HPLC using two different analytical columns—a shoot report, *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, 57, 477-450.
3. Amaranth seed protein hydrolysates have in vivo and in vitro antihypertensive activity, 2011, *Food Chemistry*, 126, 878-884.
4. Duchin, KL; McKinstry, DN; Cohen, AI; Migdalof, BH (1988). "Pharmacokinetics of captopril in healthy subjects and in patients with cardiovascular diseases". *Clinical pharmacokinetics* 14 (4): 241 - 59. PMID 3292102.
5. Kang MS, Hirai S, Goto T, Kuroyanagi K, Lee JY, Uemura T, et al. Dehydroabietic acid, a phytochemical, acts as ligand for PPARs in macrophages and adipocytes to regulate inflammation. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 369: 333-338.
6. Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991.
7. Molecular genetics of human blood pressure variation, 1996, *science*, Vol. 272, 676-680.
8. Dipeptidyl carboxypeptidase that converts angiotensin I and inactivates bradykinin, 1970, *Biochim Biophys Acta*, Vol. 214, 374-376.
9. Significance of renin and angiotensin in hypertension, 1978, *Cardiovasc Clin*, Vol. 9, 55-89.
10. The role of renin in normal and pathological cardiovascular homeostasis, 1976, *Circulation*, Vol. 54, 849-861.
11. High-Resolution crystal structures of *Drosophila melanogaster* Angiotensin-converting enzyme in complex with novel inhibitors and antihypertensive drugs, 2010, Vol. 400, 502-517.

12. Anti-hypertensive molecules and process for preparation thereof, 2008, US 7,335,644.
13. Synthesis and biological evaluation of dehydroabietic acid derivatives, 2010, Vol. 45, 811-816.
14. Rapid analysis of abietanes in conifers, 2006, Vol. 32, 2679-85.
15. Two new compounds from *Abies holophylla*, 2012, Vol. 5, 446-449.
16. Abietane diterpene acids and other constituents from the leaves of *Larix Kaempferi*, 1997, Vol. 46, 1051-1057.
17. Isolation, structure, and bioactivities of abiesadines A-Y, 25 new diterpenes from *Abies georgei* Orr, 2010, Vol. 18, 744-754.
18. Changes in volatile terpene and diterpene resin acid composition of resistant and susceptible white spruce leaders exposed to simulated white pine weevil damage, 2000, Vol. 20, 1087-1095.
19. Gastroprotective and cytotoxic effect of dehydroabietic acid derivatives, 2005, Vol. 52, 429-437.
20. Cardioactive terpenoids and a new rearranged diterpene from *Salvia syriaca*, 2000, Vol. 66, 627-629.
21. Pine Needle Extracts Inhibit Contractile Responses of the Isolated Rat Aortic Strips, 2010, Vol. 16, 123-132.
22. Chemistry of the natural order Cupressales-41, 1961, Vol. 16, 255-263.
23. Antimycobacterial terpenoids from *Juniperus communis* L. (Cupressaceae), 2009, Vol. 126, 500-505.
24. Two New Bislabdane-type diterpenoids and three new diterpenoids from the root of *Cunninghamia lanceolata*, 2001, Vol. 67, 542-547.
25. Terpenoids from *Pinus densata* Mast. and their chemotaxonomic significance, 2012,

Vol. 44, 79-82.

26. A new ligand Glycoside from *Juniperus rigida*, 2011, Vol. 34, 2043-2049.
27. Antibacterials and modulators of bacterial resistance from the immature cones of *Chamaecyparis lawsoniana*, 2007, Vol. 68, 201-217.
28. Cancer chemopreventive agents, labdane diterpenoids from the stem bark of *Thuja standishii* (Gord.) Carr, 2000, Vol. 161, 165-170.
29. Labdane diterpenes in *Curcuma mangga* rhizomes inhibit lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes and human tumour cell proliferation, 2011, Vol. 124, 527-532.
30. The (8)17,12E,14-labdatrien-18-oic acid (labdane302), labdane-type diterpene isolated from *Xylocarpus langsdorffii* St. Hil. & Tul. (Annonaceae) relaxes the guinea-pig trachea, 2007, Vol. 17, 197-203.
31. Hypolipidemic effects of Korean softwood components, 2001, Vol. 30, 1204-1214.
32. 솔잎 추출물을 함유하는 테스토스테론 5-알파 환원효소저해제, 2006, 1020060067255.
33. Anti-inflammatory Constituents of Topically Applied Crude Drugs. II. : Constituents and Anti-inflammatory Effect of *Cryptomeria japonica* D. DON, 1988, Vol. 36, 3976-3973.
34. Cesarman-Maus, G.; Hajjar, K. A. Molecular mechanisms of fibrinolysis. *BrJHaematol*2005,129,307-321.
35. McKee, P. A.; Rogers, L. A.; Marler, E. H.; Robert L. The subunit polypeptides of human fibrinogen. *ArchBiochemBiophys*.1966,116,271-279.
36. Williams, S.; Fatah, K.; Hjemdahl, P.; Blombäck, M. Better increase in fibrin gel porosity by low dose than intermediate dose acetylsalicylic acid. *EurHeartJ*.1998,19,1666-1672.
37. Henschen, A.; McDonagh, J. Fibrinogen, fibrin and factor XIII, Blood coagulation, in: Zwaal, R. F. A.; Hemker, H. C., Eds.;

- EsevierScience,Amsterdam,Netherlands,1986;13,171-242.
38. Pizzo, S. V.; Schwartz, M. L.; Hill, R. L.; McKee, P. A. The effect of plasmin on the subunit structure of human fibrin. *JBiolChem*.1973,248,4574-4583.
  39. *Ann N Y Acad Sci*. 1992, 667, 52-63.
  40. Lord, S. T., Molecular mechanisms affecting fibrin structure and stability. *ArteriosclerThrombVascBiol*.2011,31,494-499.
  41. Zamolodchikov, D.; Strickland, S. A $\beta$  delays fibrin clot lysis by altering fibrin structure and attenuating plasminogen binding to fibrin. *Blood*.2012,119,3342-3351.
  42. Mihara, H.; Sumi, H.; Yoneta, T.; Mizumoto, H.; Ikeda, R.; Seiki, M.; Maruyama, M. A novel fibrinolytic enzyme extracted from the earthworm, *Lumbricusrubellus**JpnJPhysiol*.1990,41,461-472.
  43. Jia, Y. H.; Jin, Y.; Lü, Q. M.; Li, D. S.; Wang, W. Y.; Xiong, Y. L.; Jerdonase, a Novel Serine Protease with Kinin-releasing and Fibrinogenolytic Activity from *Trimeresurus jerdonii* Venom. *ActaBiochimBiophysSinica*.2003,35,689-694.
  44. Jia, Y. H.; Jin, Y.; Lü, Q. M.; Li, D. S.; Wang, W. Y.; Xiong, Y. L.; Jerdonase, a Novel Serine Protease with Kinin-releasing and Fibrinogenolytic Activity from *Trimeresurus jerdonii* Venom. *ActaBiochimBiophysSinica*.2003,35,689-694.
  45. Lee, J. S.; Bai, H. S.; Park, S. S. Purification and characterization of two novel fibrinolytic proteases from mushroom, *Fomitella fraxinea*. *JMicrobiolBiotechnol*.2006,16,264-271.
  46. Sumi, H.; Nakajima, N.; Mihara, H.; Fibrinolysis relating substances in marine creatures. *CompBiochemPhysiolB:BiochemMolBiol*.1992,102,163-167.
  47. Jeong, Y. K.; Park, J. U.; Baek, H.; Park, S. H.; Kong, I. S.; Kim, D. W.; Joo, W. H. Purification and biochemical characterization of a fibrinolytic enzyme from *Bacillus subtilis* BK-17. *WorldJMicrobiolBiotechnol*.2001,17,89-92.
  48. Patrono, C.; García Rodríguez, L. A.; Landolfi, R.; Baigent, C. Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *NEnglJMed*.2005,353,2373-2383.

49. Aspirin acetylates fibrinogen and enhances fibrinolysis. Fibrinolytic effect is independent of changes in plasminogen activator levels. *JPharmacolExpTher*.1989, 250, 154-161.
50. Antovic, A.; Perneby, C.; Ekman, G. J.; Wallen, H. N.; Hjemdahl, P.; Blombäck, M.; He, S. Marked increase of fibrin gel permeability with very low dose ASA treatment. *ThrombRes*.2005,116,509-517.
51. Antovic, A.; Perneby, C.; Ekman, G. J.; Wallen, H. N.; Hjemdahl, P.; Blombäck, M.; He, S. Marked increase of fibrin gel permeability with very low dose ASA treatment. *ThrombRes*.2005,116,509-517.
52. Williams, S.; Fatah, K.; Hjemdahl, P.; Blombäck, M. Better increase in fibrin gel porosity by low dose than intermediate dose acetylsalicylic acid. *EurHeartJ*.1998,19,1666-1672.
53. Ajjan, R. A.; Standeven, K. F.; Khanbhai, M.; Phoenix, F.; Gersh, K. C.; Weisel, J. W.; Kearney, M. T.; Ariëns, R. A. S.; Grant, P. J. Effects of aspirin on clot structure and fibrinolysis using a novel in vitro cellular system. *Arterioscler.ThrombVascBiol*.2009,29,712-717.
54. Collet, J. P.; Allali, Y.; Lesty, C.; Tanguy, M. L.; Silvain, J.; Ankri, A.; Blanchet, B.; Dumaine, R.; Gianetti, J.; Payot, L. Altered fibrin architecture is associated with hypofibrinolysis and premature coronary atherothrombosis. *ArteriosclThrombVascBiol*.2006,26,2567-2573.
55. Caboun, V. Tree-tree allelopathic interactions in middle European Forests. *AllelopathyJ*.2006,17,17-31.
56. Kim, K. Y.; Chung, H. J. Flavor Compounds of Pine Sprout Tea and Pine Needle Tea. *JAgricFoodChem*.2000,48,1269-1272.
57. Choi, E. M. Antinociceptive and antiinflammatory activities of pine (*Pinus densiflora*) pollen extract. *PhytotherRes*.2007,21,471-475.
58. Jung, M. J.; Chung, H. Y.; Choi, J. H.; Choi, J. S.; Antioxidant principles from the needles of red pine, *Pinus densiflora*. *PhytotherRes*.2003,17,1064-1068.

59. Park, G. Y.; Paudyal, D. P.; Hwang, I. D.; Tripathi, G. R.; Yang, Y. K.; Cheong, H. S. Production of fermented needle extracts from red pine and their functional characterization. *BiotechnolBioprocessEng*.2008a,13,256–261.
60. Park, G. Y.; Paudyal, D. P.; Park, Y. M.; Lee, C. S.; Hwang, I. D.; Tripathi, G. R.; Cheong, H. S. Effects of pine needle extracts on plasma cholesterol, fibrinolysis and gastrointestinal motility. *BiotechnolBioprocessEng*.2008b,13,262–268.
61. Herrmann, K. M. The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *PlantCell*.1995,7,907–919.
62. Lin, H. H.; Chen, J. H.; Huang, C. C.; Wang, C. J. Apoptotic effect of 3, 4-dihydroxybenzoic acid on human gastric carcinoma cells involving JNK/p38 MAPK signaling activation. *Int.J.Cancer*.2007,120,2306–2316.
63. Tanaka, T.; Tanaka, T.; Tanaka, M. Potential cancer chemopreventive activity of protocatechuic acid. *JExpClinMed*.2011,3,27–33.
64. Chou, T. H.; Ding, H. Y.; Lin, R. J.; Liang, J. Y.; Liang, C. H. Inhibition of melanogenesis and oxidation by protocatechuic acid from *Origanumvulgare*(oregano).*JNatProd*.2010,73,1767–1774.
65. Lin, W. L.; Hsieh, Y. J.; Chou, F. P.; Wang, C. J.; Cheng, M. T.; Tseng, T. H. Hibiscus protocatechuic acid inhibits lipopolysaccharide-induced rat hepatic damage. *ArchToxicol*.2003,77,42–47.
66. Protective effect of protocatechuic acid from *Alpiniaoxyphylla* on hydrogenperoxide-induced oxidative PC12 cell death. *JEurPharmacol*.2006, 538, 73–79.
67. Shui, G.; Dan, G.; Liua, T. Q.; Maa, X. H.; Cuib, Z. F. Protocatechuic acid promotes cell proliferation and reduces basal apoptosis in cultured neural stem cells. *ToxicolInVitro*.2009,23,201–208.
68. Hiroki, O.; Naota, T.; Taku, M. A.; Masaru, W.; Smith, R. L. Rapid separation of shikimic acid from Chinese star anise (*Illiciumverum*Hook.f.) with hot water extraction. *SepPurifTechnol*.2009,69,102–108.

69. Enrich, L. B.; Scheuermann, M. L.; Mohadjer, A.; Matthias, K. R.; Eller, C. F.; Newman, M. S.; Fujinaka, M.; Poon, T. Liquidambar styraciflua: a renewable source of shikimic acid. *Tetrahedron Lett.* 2008, 49, 2503-2505.
70. Colombo, S. L.; Andreo, C. S.; Chollet, R.; The interaction of shikimic acid and protein phosphorylation with pep carboxylase from the C4dicot *Amaranthus viridis*. *Phytochemistry* 1998, 48, 55-59.
71. Immunomodulatory activity of shikimic acid and quercetin in comparison with oseltamivir (Tamiflu) in an "in vitro" model. *J Med Virol.* 2008, 80, 741-745.
72. Jiang, S.; Singh, G.; Boam, D. J.; Coggins, J. R. Synthesis of 3-deoxy-3,3-difluoroshikimic acid and its 4-epimer from quinic acid. *Tetrahedron: Asymmetry.* 1999, 10, 4087-4090.
73. Carr, M. E.; Hermans, J. Size and density of fibrin fibers from turbidity. *Macromolecules* 1978, 11, 46-50.
74. Determination of soluble fibrin by turbidimetry of its protamine sulphate-induced paracoagulation. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1989, 27, 57-64.
75. Shulman, S.; Katz, S.; Ferry, J. D.; The conversion of fibrinogen to fibrin. XII. Influence of pH, ionic strength and hexamethylene glycol concentration on the polymerization of fibrinogen. *Arch Biochem Biophys.* 1953, 42, 245-256.
76. Izzo, S. V.; Schwartz, M. L.; Hill, R. L.; McKee, P. A. The effect of plasmin on the subunit structure of human fibrinogen. *J Biol Chem.* 1972, 247, 636-645.
77. Fersht, A. *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding.* W.H. Freeman, Eds. 1999; 1.
78. Barrero, A. F.; Oltra, J. E.; Poyatos, J. A. Acidic metabolites from *Phycomyces blakesleeana*. *Phytochemistry.* 1996, 42, 1427-1433.
79. Borazan, A. A.; Bozan, B. The influence of pectolytic enzyme addition and prefermentative mash heating during the winemaking process on the phenolic composition of Okuzgozu red wine. *Food Chem.* 2013, 138, 389-395.



80. Ginjom, I.; D'Archy, B.; Caffin, N.; Gidley, M.; Phenolic compound profiles in selected Queensland red wines at all stages of the wine-making process. *FoodChem*.2011,125,823-834.
81. Ivanova, V.; Vojnoski, B.; Stefova, M. Effect of the winemaking practices and aging on phenolic content of Smederevka and Chardonnay wines. *FoodBioprocessTechnology*.2011,4,1512-1518.
82. Sui, R. Separation of shikimic acid from pine needles. *ChemEngTechnol*.2008,31,469-473.
83. Johansson, L.; Lindskog, A.; Silfversparre, G.; Cimander, C.; Nielsen, K. F.; Lidén, G. Shikimic acid production by a modified strain of *E.coli*(W3110.shik1) under phosphatelimited and carbon limited conditions. *BiotechnolBioeng*. 2005,92,541-552.

## 1-2 세부과제

### 요 약 문

#### I. 제 목

##### 술잎 발효 미생물 유래의 천연 식품보존제 기능성 펩타이드 개발

(Development of nutraceutical peptides from natural sources)

#### II. 연구개발의 목적 및 필요성(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

- 술잎으로부터 병원성 미생물에 대한 항생 작용 펩타이드의 탐색 및 분리
- 탐색 및 분리된 1차 활성이 확인된 술잎으로부터 항생활성 펩타이드 분리
- 술잎에서 유래한 천연형 항균 단백질(펩타이드)을 인체 병원성 미생물에서 작용 탐색
- 천연형 항생제의 단백질(펩타이드) 아미노산 서열 분석
- 식중독 유발 세균 및 여드름 유발 미생물에 대해 항생제 기능성 검증
- 천연 항생펩타이드의 사람의 정상세포 및 장내 유익균에 대한 세포 독성 검사
- 아미노산 서열 분석
- 아미노산 서열에 따른 구조 분석

#### III. 연구개발 내용 및 범위(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

- 술잎으로부터 병원성 미생물에 대한 항생 작용 펩타이드의 탐색 및 분리
- 탐색 및 분리된 1차 단백질 추출물에 대한 항생 활성 탐색
- 1차년도에서 활성이 확인된 술잎으로부터 항생활성 펩타이드 분리
- 술잎으로부터 유래한 천연형 항균 단백질(펩타이드)을 인체 병원성 미생물에서 작용 탐색
- 천연형 항생제의 단백질(펩타이드) 아미노산 서열 분석
- 천연 항생펩타이드의 사람의 정상세포 및 장내 유익균에 대한 세포 독성 검사
- 식중독 유발 세균 및 여드름 유발 미생물에 대해 항생제 기능성 검증

IV. 연구개발결과(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

- 솔잎 발효 미생물로부터 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 개발
- 솔잎 발효 미생물로부터 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 추출
- 솔잎 발효 미생물 유래의 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드)의 보존제 활성 연구
- Gel Filtration by FPLC
- Reverse-Phase HPLC
- 솔잎 발효 미생물 유래의 천연 식품보존제 펩타이드 분리
- 천연소재 기능성 펩타이드의 활성 측정
  - 병원성 미생물(*E. coli* 및 *S. aureus*)
  - 식중독 균주(*Salmonella*와 *Listeria*)
- 세포독성의 측정
  - Cytotoxicity test (human cell lines)
- Hemolysis 측정
  - Human red blood(RBC) cell
- 아미노산 서열 및 분자량 확인
- 항생 펩타이드의 구조 분석
- 신규 항생 펩타이드의 특허 출원

V. 연구성과 및 성과활용 계획(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

- 식물로부터 분리된 항생펩타이드를 이용하여 구조-기능 및 구조-기작연구를 통한 새로운 다기능성 항생펩타이드 개발 가능
- 천연 식품 보존제, 화장품 보존제 개발 가능
- 전 세계적으로 심각한 문제가 되고 있는 항생제 내성 세균에 대한 천연항생제제 개발 및 치료제 개발 가능.
- 항생제 내성균(MDRS) 극복 가능성 제시
- 체내에서 보다 안정하며, 무독성이고, 강력한 신개념 펩타이드 항생제의 개발 가능

## SUMMARY

Purpose& contents	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Screening and the purification of antimicrobial peptides from <i>Pinus densiflora</i> Sieb. et Zucc against pathogenic strains</li> <li>- Study of the mechanism of natural antimicrobial proteins (peptides) derived from <i>Pinus densiflora</i> Sieb. et Zucc in human pathogenic microorganisms</li> <li>- Development of purified antimicrobial peptides using peptidomimic techniques</li> </ul>		
Result	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Screening and purification of antimicrobial peptides from <i>Pinus densiflora</i> Sieb. et Zucc against the pathogenic strains</li> <li>- Screening of antimicrobial activity with extracted proteins</li> <li>- Purification of antimicrobial peptide will be screened in first year from <i>Pinus densiflora</i> Sieb. et Zucc</li> <li>- Mechanism of natural antimicrobial protein (peptides) derived from <i>Pinus densiflora</i> Sieb. et Zucc in human pathogenic microorganisms</li> <li>- Amino acid sequence will be analyzed from natural antimicrobial protein (peptide)</li> <li>- Study of the mechanism of antimicrobial peptide</li> <li>- Cytotoxic study of antimicrobial peptides in human normal cell lines and probiotics</li> <li>- Antimicrobial assay will be determined against food-borne microorganisms</li> </ul>		
Expected Contribution	<p>The peptides possessing higher antimicrobial activity without cellular toxicity. These peptides could be applied in elucidating the details of target cell specificity. We will apply to the development of an antimicrobial peptides as a therapeutic antibiotics.</p>		
Keywords	natural plants	antimicrobial peptides	pathogenic strains
	Cytotoxic study	human normal cell line	probiotics
	food-borne microorganisms	Amino acid sequence	therapeutic antibiotics

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절 연구개발의 개요

### 1) 연구 목표

- (1) 솔잎으로부터 병원성 미생물에 대한 항생 작용 펩타이드 탐색 및 분리
- (2) 탐색 및 분리된 1차 활성이 확인된 솔잎으로부터 항생활성 펩타이드 분리
- (3) 솔잎으로부터 유래한 천연형 항균 단백질 또는 펩타이드를 인체 병원성 미생물에  
서 작용 메카니즘 탐색
- (4) 천연형 항생제의 단백질 또는 펩타이드 아미노산 서열 분석
- (5) 식중독 유발 세균에 대해 항생제 기능성 검증
- (6) 천연 항생 펩타이드에 대한 사람의 정상세포에 대한 세포 독성 검사

### 2) 연차별 연구 내용

#### (1) 1차년도

- 솔잎 발효 미생물로부터 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 개발
- 솔잎 발효 미생물로부터 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 추출
- 솔잎 발효 미생물 유래의 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드)의 보존제 활성  
연구
- Gel Filtration by FPLC
- Reverse-Phase HPLC

#### (2) 2차년도

- 솔잎 발효 미생물 유래의 천연 식품보존제 펩타이드 분리
- 천연소재 기능성 펩타이드의 활성 측정
  - 병원성 미생물(*E. coli* 및 *S. aureus*)
  - 식중독 균주(*Salmonella*와 *Listeria*)
- 세포독성의 측정
  - Cytotoxicity test (human cell lines)

## (2) 3차년도

- Hemolysis 측정
  - Human red blood(RBC) cell
- 아미노산 서열 및 분자량 확인
- 항생 펩타이드의 구조 분석
- 신규 항생 펩타이드의 특허 출원

## 3) 최종 연구 개발에 따른 기대 효과

### (1) 해당분야 학문발전의 기여효과

- 가. 식물로부터 유래하는 천연 식품보존제 개발에 기여 가능
- 나. 전세계적으로 심각한 문제가 되고 있는 항생제 내성균에 대한 치료제의 개발 가능하다. 항생제 다제 내성균(MDRS) 극복 가능성 제시
- 라. 구조-기능 및 구조-기작연구를 통한 새로운 다기능성 항생펩타이드 개발 가능하다. 체내에서 보다 안전하며, 무독성이고, 강력한 신개념 펩타이드 항생제의 개발 가능

### (2) 산업 발전에의 기여도 등 국가 경제에 미치는 효과

- 가. 항생 펩타이드의 개발로 인한 국민보건복지 향상 및 수입대체 효과
- 나. 펩타이드 공학을 이용한 약리 효능 증진에 이용
- 다. 각종 생체기능 조절 펩타이드 이용 기술에 활용
- 라. 식물 및 펩타이드 공학과 관련된 생명공학산업을 활성화

### (3) 연구수행 과정을 통한 연구 인력 양성 효과

- 가. 펩타이드 공학 분야의 인력 및 식물 생명공학 분야 인력 양성 효과

## 2절 연구개발의 필요성

### (1) 식물에서 추출된 항생제 안전성

식물자원을 이용한 천연 항생 펩타이드 소재의 식품 보존제 개발이므로 체내에서의 안전성 및 화장품 천연 보존제등의 기능으로써 그 전망은 대단히 크다 할 수 있음.

### (2) 항생활성이 있는 천연형 펩타이드 소재 개발

전 세계적으로 심각한 문제가 되고 있는 다중류 약물에 저항성 (multi-drug resistant strains, MDRS) 및 균막 (biofilm)을 형성하는 박테리아 출현에 대한 항생제, 무공해 방부제, 무공해 식품 보존제, 항진균제, 항바이러스제 및 항암제 등으로 그 이용범위가 넓음.

### (3) 국내 항생제 내성률 증가 문제

최근 학계(International Symposium on Antimicrobial Agents and Resistance, ISSAR)의 보고에 의하면 한국의 항생제 내성률이 다른 국가들에 비해 극단적으로 높은 것으로 나타나 적극적인 대책이 요구되고 있고 이러한 항생제를 대체할 수 있는 분야가 자생식물을 이용한 연구라는 점에서 연구 결과에 대해서 큰 중요성이 있음. 즉, 폐렴, 뇌수막염 등의 원인이 폐렴구균의 페니실린 내성률은 한국이 55%로 베트남(71%)에 이어 높은 수치를 기록했고 프랑스는 46%, 홍콩은 43%로 그 뒤를 이었고 중국과 태국은 각각 23%, 27%, 미국은 33% 임.

### 3절 연구개발의 범위

구분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 솔잎으로부터 병원성 미생물에 대한 항생 작용 펩타이드의 탐색 및 분리</li> <li>○ 탐색 및 분리된 1차 단백질 추출물에 대한 항생 활성 탐색</li> </ul>	<p><b>1) 솔잎으로부터 단백질 추출:</b> 솔잎을 이용하여 단백질을 추출하며 Ana Segura 등의 방법과 Quang Khai Huynh 등의 방법을 변형하여 수행한다.</p> <p><b>2) 솔잎으로부터 분리된 단백질의 1차 항생활성 탐색:</b> 솔잎으로부터 분리된 단백질 추출물의 항균 활성을 갖는 단백질을 탐색하고 이들을 일차 항균 활성을 측정한다.</p> <p><b>3) 단백질 전기영동:</b> 항균 활성 부위를 갖는 단백질(펩타이드)의 부분을 분리, 확인하기 위한 방법으로 SDS-PAGE를 수행하고 활성 단백질을 가시화 한다.</p>
2차년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 1차년도에서 활성이 확인된 솔잎으로부터 항생활성 펩타이드 분리</li> <li>○ 솔잎으로부터 유래한 천연형 항균 단백질(펩타이드)을 인체 병원성 미생물에서 작용 메카니즘 탐색</li> </ul>	<p><b>1) FPLC에 의한 Gel Filtration:</b> 1차년도에 확인된 항생 활성 단백질을 이용하여 Column에 의한 gel filtration을 수행한 후, 항균활성이 있는 펩타이드 분리를 위해 활성 peak만을 모아 농축한다.</p> <p><b>2) Reverse-Phase HPLC:</b> FPLC에 의해 분리된 fraction을 Shim-pack VP-ODS, C18 column Reverse Phase (RP)-HPLC에 의해 정제 한다</p> <p><b>3) 항균 활성의 측정:</b> 분리한 단백질(펩타이드)의 항균 활성 측정을 위해 식품 유해균 및 사람 병원성 세균을 이용하여 항균 활성을 측정한다.</p> <p><b>4) 항진균 활성의 측정:</b> 분리한 단백질(펩타이드)의 항진균 활성 측정을 위해 식중독 유발 곰팡이 등을 이용하여 MTT assay의 방법을 이용하여 항진균 활성을 측정한다.</p>
3차년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 항생 펩타이드의 구조 탐색</li> </ul>	<p><b>1) 세포 독성에 대한 검사:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 분리한 항생펩타이드가 정상인 사람 세포에 대해서 세포독성을 갖는지 여부를 확인하기 위해 LDH test를 시</li> </ul>



<p>○ 식중독 유발 세균 및 여드름 유발 미생물에 대해 항생제 기능성 검증</p> <p>○ 천연 항생펩타이드의 사람의 정상세포 및 장내 유익균에 대한 세포 독성 검사</p> <p>○ 천연형 항생제의 단백질(펩타이드) 아미노산 서열 분석</p>	<p>○ 식중독 유발 세균 및 여드름 유발 미생물에 대해 항생제 기능성 검증</p> <p>○ 천연 항생펩타이드의 사람의 정상세포 및 장내 유익균에 대한 세포 독성 검사</p> <p>○ 천연형 항생제의 단백질(펩타이드) 아미노산 서열 분석</p>	<p>행.</p> <p>- 사람의 적혈구 세포를 분리하여 신규 항생펩타이드를 처리한 후 독성이 나타나는지 여부 확인.</p> <p><b>2) 식중독 및 여드름 유발 미생물에 대한 항생활성 측정:</b></p> <p>- 분리한 펩타이드의 항균 활성 측정을 위해 식품 유해균 및 <i>E. coli</i> 및 <i>S. aureus</i>를 사용하여 항균 활성을 측정</p> <p><b>3) 아미노산 서열분석:</b> 단백질 및 펩타이드를 구성하는 아미노산의 서열을 분석</p> <p><b>4) 신규 항생 펩타이드의 구조 탐색:</b> CD analysis, NMR 분석에 의한 작용 기작 및 2차 및 3차 구조분석</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1절 기술개발현황

#### 1) 국내·외 연구동향 분석

##### (1) 천연항균제란

가. 천연 자원이나 미생물 자원으로부터 선택성이나 생화학적, 생리학적 차이를 극대화하여 바이러스, 세균, 효모, 곰팡이 등을 선택적으로 제어하나 인체에는 무해하게 또는 독성을 최소화한 항균제를 말한다. 현재 보고된 천연항균제로는 편백나무에서 회노키티올, 목련에서 메그노놀, 자몽종자 추출물인 DF-100등이 개발되어 있으나 현재 그 사용되는 규모는 매우 미미하다. 또한 이러한 연구 결과의 대부분이 단백질성인 펩타이드 성분이 아니라 화학물질성이란 점이며, 특히 국내에서 식물을 이용한 항균 펩타이드의 식품보존제, 의약품화 및 의약품화를 위한 제제화 연구는 전혀 개발되어 있지 않은 실정이다.

##### 나. 천연 항균제의 실생활에서 활용 예

예로부터 감자껍질을 말려서 가루로 만든 뒤 화장실이나 습기가 많은 곳에 뿌려 두면 벌레가 생기지 않으며, 더운물에 데었을 때 감자를 갈거나 얇게 썰어 환부에 붙여주면 흉터가 생기지 않고 잘 낫는 등 민간요법으로 이미 식물체는 천연 항균제로써의 역할을 수행하고 있다. 현재 식용 식물체들의 대부분이 식용 및 가공용으로 그 열매만이 이용되는데, 열매를 제외한 그 외 식물체를 이용하여 천연항균제를 개발할 때 수확 시 폐기처리에 곤란을 겪고 있는 식물체가 감자 산업에서 훌륭한 고부가가치 창출의 재료로 이용될 수 있다. 천연 자생식물체를 이용한 천연항균제가 개발되면 식물체가 식용뿐만 아니라 화학 가공분야의 재료로도 이용될 수 있어 수요의 다양성을 꾀할 뿐 아니라 식물 및 식품 산업의 안정화를 꾀하며, 작물의 가격 안정 및 국제화 시대에서 경쟁력을 가질 수 있다. 식물을 이용하여 천연 항균제를 개발하였을 경우 이를 이용하여 작물 재배에서 발생하는 역병을 잡을 뿐 아니라 토양과 수질에 오염을 막으며, 인체에 무해하여 친환경적 작물 등을 재배할 수 있다.

##### 다. 향후 항균제 응용으로써 시장 규모

글로벌 항균제 시장은 2005년 1340억 원에 이르렀으며, 2009년 98억달러에서 연 3.8% 성장해 2014년 118억달러로 보고되었다. 식물체를 이용한 천연 항균제가 개발되면 그 값어치는 작물 재배 산업뿐만 아니라 세계 천연항균제 시장도 엄청난 부를 창출 할 수 있다. 자생식물체의 천연항균제 개발 산업의 성공은 작물 소비의 다양성과 생산성 유지 및 환경보존이라

는 두 마리 토끼를 잡는 성과를 가져온다.

## 2) 기존 연구의 문제점 분석

현재까지 사용되고 있는 항생제는 그들의 남용으로 인하여 항생제에 의해 내성균이 많아지고 있어 새로운 대체 항생제의 개발이 필요하며, 현재까지 국내 연구는 아직 항생제 내성균에 대한 천연형 항균 펩타이드의 연구개발이 미약한 실정이다. 일부 연구팀에 의해 개발 중인 항생 펩타이드 연구도 이들 펩타이드에 대한 생화학, 분자생물학 및 생리학적 연구는 많이 진행되고 있으나, 실제적으로 임상학적 연구의 적용이 부족한 실정이며, 약물을 원하는 부위까지 delivery시키는 기술과 bioavailability를 증진시킬 수 있는 다양한 연구가 필요하다. 세포 사멸 정도는 높으나 세포독성이 동시에 높은 펩타이드(melittin)들이 존재하므로 이를 개선시킬 필요가 있고 합성원가가 높아 항생펩타이드가 개발 되더라도 고가인 단점을 보유하고 있다.

## 2절 연구결과가 국내외 기술개발현황에 차지하는 위치(차별성)

### (1) 해외 연구 동향

- 가. 생물체 유래의 천연형 항균 펩타이드 공학 기술 즉 생체 기능성 펩타이드 및 생리활성이 향상된 펩타이드를 개발하고 설계 및 합성 연구
- 나. 의학, 제·약학적, 농생·화학적 및 식품화학적인 측면에서 상품화 하고자하는 연구가 다소 진행되고 있다.

### (2) 국내 연구 동향

- 가. 국내에서는 이와 같은 연구는 아주 미흡한 실정이며, 이러한 연구의 수단이 되는 펩타이드의 분리 및 분석의 기술도 미약한 실정
- 나. 펩타이드의 합성 등을 막대한 비용을 지급하고 외국의 회사 및 연구소에 의뢰하고 있는 실정이다.
- 다. 본 연구팀의 차별성
  - 연구 책임자 그룹에서 국제논문에 보고된 기존의 펩타이드성 항생물질(항 박테리아, 항 진균, 항암물질)의 아미노산 서열 및 구조를 토대로 하여 기존의 항생물질보다 항생 활성 강화
  - 세포독성을 나타내지 않는 새로운 기능성 펩타이드를 개발한 실적을 통하여 국제 논문 및 국내외 특허를 다수 보유하고 있다.
  - 공동 연구팀에서는 직접 식물체로부터 항생제 기능성 펩타이드를 분리 및 정제 하는 기술이 이미 수립되어 있다.
  - 이들 두 그룹의 연구 조합은 현재 농작물, 특히 서양 인스턴트 식품 등에 밀려서 그 소비가 점점 감소 추세에 있는 식물체를 이용하여 천연형 항생 작용을 밝힘으로써 식물자원 소비 촉진에 큰 도움이 되리라고 사료된다.
  - 화학 물질성 항생제 사용이 문제가 되고 있는 즘음에 이러한 문제점들을 보완하는 쪽으로 그 대체 물질의 개발에 많은 노력을 기울이고 있는 실정으로 펩타이드 공학을 이용한 펩타이드성 항균 펩타이드의 개발 연구를 통한 무공해 항균제의 개발은 이와 같은 문제를 해결해 줄 수 있고 나아가서는 의약품·농작물·식품 보존제로서의 응용이 가능하므로 앞으로의 전망은 높다고 사료된다.

### 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

#### 1절 연구내용

연 도	주요연구내용	가중치 (%)	비고
1년차	○ 솔잎 발효 미생물로부터 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 개발	20	
	○ 솔잎 발효 미생물로부터 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 추출	30	
	○ 솔잎 발효 미생물 유래의 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드)의 보존제 활성 연구	15	
	○ Gel Filtration by FPLC	15	
	○ Reverse-Phase HPLC	20	
2년차	○ 솔잎 발효 미생물 유래의 천연 식품보존제 펩타이드 분리	25	
	○ 천연소재 기능성 펩타이드의 활성 측정 - 병원성 미생물( <i>E. coli</i> 및 <i>S. aureus</i> )	25	
	- 식중독 균주( <i>Salmonella</i> 와 <i>Listeria</i> )	25	
	○ 세포독성의 측정 - Cytotoxicity test (human cell lines)	25	
3년차	○ Hemolysis 측정 - Human red blood(RBC) cell	25	
	○ 아미노산 서열 및 분자량 확인	20	
	○ 항생 펩타이드의 구조 분석	20	
	○ 신규 항생 펩타이드의 특허 출원	35	

## 2절 연구결과

### (1) 실험 방법

#### 1) 천연물(솔잎)로부터 단백질 추출

단백질을 추출하기 위해 천연물(솔잎)을 액체질소(Liquid nitrogen)가 첨가된 상태에서 막자사발(Mortar)과 절구공이(Pestle)를 이용하여 분말로 분쇄한 후, 10mM HEPES +10mM NaCl를 첨가해 1시간 동안 상온에서 교반기를 이용해 단백질(펩타이드)을 추출한다. 원심 분리기를 이용해 상층액을 취한 뒤, 동결건조기에 의해 solvent를 제거한다.

#### 2) 단백질 추출물의 분자량 크기에 따른 분리

① Dialysis - 분리한 sample에 함유되어 있는 것들 중 당과 salt를 제거 하기 위해서 dialysis bag을 이용해서 저온에서 Dialysis를 실시한다. 그리고 동결 건조기를 이용해서 solvent를 제거한다.

② 분자량에 따른 단백질 분리 - Dialysis한 sample을 저분자의 펩타이드를 분리하기 위해서 분자량 30,000Da인 membrane과 10,000Da인 membrane을 가지고 cut-off한다. 그리고 sample을 동결 건조한다.

#### 3) SPE(Solid Phase Extraction) C<sub>18</sub> column

단백질(펩타이드)의 hydrophilic과 hydrophobic한 성질을 이용해서 펩타이드들을 분리 및 정제하기 위하여 다음과 같이 실시하였다. 펩타이드는 C<sub>18</sub> 칼럼(5 μm, 300 Å, 4.6 x 250 mm, Vydac, Hesperia, CA) 역상 HPLC(Reverse Phase HPLC)(Shimadzu, Japan)를 이용하여 분리 및 정제하였다. 이때, 완충용액(0.05% TFA가 포함된 아세토아니트릴 B)의 기울기(linear gradient, 30-60%, 1 ml/min, 30 min)에 의해 용출하였다.

#### 4) Reverse-Phase HPLC

SPE(Solid Phase Extraction) C<sub>18</sub> column에 의해 분리된 sample중 활성이 가장 좋은 ACN 40% sample을 C<sub>18</sub> column(4.6 X 250 mm)을 통해 Reverse Phase (RP)-HPLC system에 의해 정제한다. 그리고 buffer(0.1% TFA가 포함된 Acetonitrile의 B)의 linear gradient(10%-60%, 1%/min)에 의해 용출한 후, peak fraction을 모아 식품 보존제로써 기능성 분석을 위해 항균 활성을 검토한다.

#### 5) 항균 활성 측정

위 단계로부터 얻은 솔잎으로부터 유래된 펩타이드의 항균 활성을 측정하기 위하여 다음과 같이 실시하였다. 이때, 항균활성을 측정하기 위하여, 병원성 미생물인 *E. coli* 및 *S.*

*aureus*, 식중독 균주인 *Salmonella*와 *Listeria*를 균주로 사용하였다. 균의 수는 96-웰 마이크로적정 플레이트(microtiter plate)에 각 웰당  $2 \times 10^5$  셀이 되도록 희석하여 균을 포함한 각각의 배지  $100 \mu\text{l}$ 를 플레이트에 분주한 후, 음성 대조군에는 균 만을 분주하고 나머지 한 개의 플레이트에는 균 및 상기 단계로부터 얻은 슬릿으로부터 추출된 추출물 및 각 단계별 샘플들을 같이 접종하여  $37^\circ\text{C}$  배양기에서 4 시간동안 배양하였다. 이후, 항균 활성을 가시화하기 위해 도말하여 다시  $37^\circ\text{C}$  배양기에서 24 시간동안 배양하였다.

#### 6) 세포독성의 측정

상기 슬릿으로부터 유래된 펩타이드에 대하여, 동물의 세포를 통해 세포독성의 여부를 판별하기 위하여 하기와 같이 실시하였다. 동물세포(사람피부세포 및 쥐 대식세포)를 96-웰 마이크로적정 플레이트(microtiter plate)에  $2 \times 10^4$  셀로 분주한 후,  $37^\circ\text{C}$   $\text{CO}_2$  배양기에 넣고 24시간동안 배양한다. 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용해 정제해 낸 샘플들 중 항균활성이 있는 4-10까지의 샘플을 동물세포가 분주된 96-웰 마이크로적정 플레이트(microtiter plate)에 처리한 후,  $37^\circ\text{C}$   $\text{CO}_2$  배양기에 넣고 24시간동안 반응시킨다. 그 후,  $5\text{mg/ml}$ 의 MTT을  $10\mu\text{l}$ 씩 각각의 웰에 넣은 후  $37^\circ\text{C}$   $\text{CO}_2$  배양기에 넣고 4시간동안 반응시킨다. 상층액을 제거한 후,  $50\mu\text{l}$ 의 DMSO를 각각의 웰에 넣고 30분간 반응 시킨다. 그 후,  $570\text{nm}$ 에서 흡광도를 측정하여 동물세포에서의 독성 정도를 확인한다.

#### 7) 적혈구 용혈활성의 측정

슬릿으로부터 유래된 펩타이드에 대하여, 사람의 적혈구 용혈활성을 통하여 세포독성 여부를 판별하기 위하여 하기와 같이 실시하였다. 사람의 적혈구(human erythrocytes)를 PBS(phosphate-buffered saline:  $35 \text{ mM}$  포스페이트 완충용액/ $0.15 \text{ M}$   $\text{NaCl}$ 의 혼합용액,  $\text{pH}$  7.0) 완충용액으로 3회 세척하고, PBS 완충용액으로 희석한 8.0% 적혈구 용액을 96-웰 마이크로적정 플레이트(microtiter plate)에  $100\mu\text{l}$ 씩 로딩한 후, 상기에 상기 단계로부터 얻은 고구벨리 품종의 감자 추출물로부터 유래된 펩타이드 용액을  $100\mu\text{l}$ 씩 섞어 준 후,  $37^\circ\text{C}$ 에서 1 시간동안 배양한 후,  $414 \text{ nm}$ 에서의 흡광도를 측정하였다. 또한, 대조군으로서, 공지된 펩타이드인 멜리틴(melittin)에 동일하게 실시하였다. 이때, 0.1% 트리톤 X-100로 처리하였을 경우의 값을 100% 용혈도로 계산하고, 펩타이드의 용혈율, 즉 세포 파괴정도(hemolysis)는 하기 수학적 식 1에 의하여 산출하였다. 하기에서, A는 펩타이드 용액에서의  $414 \text{ nm}$ 의 흡광도이고, B는 0.1% 트리톤 X-100에서의  $414 \text{ nm}$ 의 흡광도이고, C는 PBS 용액에서의  $414 \text{ nm}$ 의 흡광도를 나타낸다.

【수학적 식 1】

$$\text{세포 파괴정도(Hemolytic)} = \frac{A}{B-C} \times 100$$

8) 아미노산 서열 및 분자량 확인

솔잎으로부터 유래되는 항균활성이 있으며 세포독성이 없는 4-10번까지의 샘플을 6N-HCl에 녹인 후 22시간 110°C에서 가수분해하여 건조시킨 후 아미노산 분석기(amino acid analyzer)로 아미노산 서열을 확인하고 MALDI-MS(Kratos Analytical Ins)로 분자량을 확인하였다.

9) 항생 펩타이드의 구조 분석

아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 5번부터 15번까지 11개의 아미노산을 구조분석을 시행 하였다.



## (2) 연구 결과

### 1) 천연물(솔잎)로부터 식품 보존제 기능성 펩타이드(펩타이드)의 분리 과정

식품보존제 기능성 펩타이드를 최종 분리하기 위한 첫 번째 과정으로 전체 단백질을 추출하기 위해 천연물(솔잎)을 액체질소가 첨가된 상태에서 분말로 분쇄한 후, 단백질(펩타이드)을 추출한다. 이 후 단백질(펩타이드) 추출물을 분자량 크기에 따라 분리한 후 식품 보존제 기능이 있는 최종 펩타이드를 HPLC를 이용하여 분리한다. 그 전체의 자세한 과정은 다음과 같다 (그림 1).

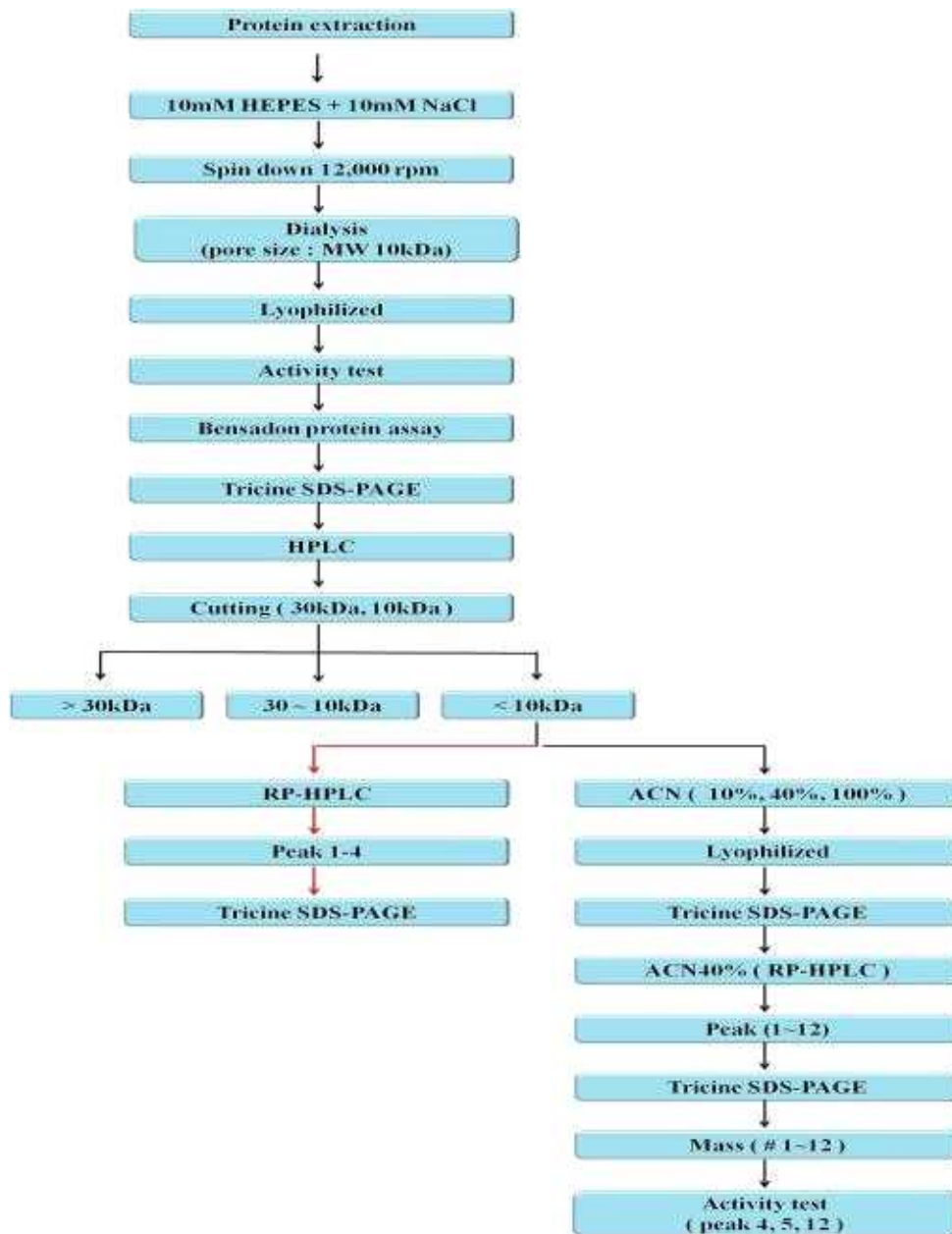


그림 1. 천연물로부터 식품보존제 기능성 펩타이드의 순수 분리 과정

2) 10mM HEPES +10mM NaCl 추출물

솔잎으로부터 10mM HEPES + 10mM NaCl에 의해 추출된 단백질(펩타이드)들을 Biorad protein assay를 통해 원하는 sample만을 모은 후에 Tricine SDS-PAGE 및 Silver staining에 의해 확인 하였다. 그 결과 1 kDa과 3.5 kDa 사이에서 밴드가 나타나는 것을 확인 할 수가 있었다(그림 2).

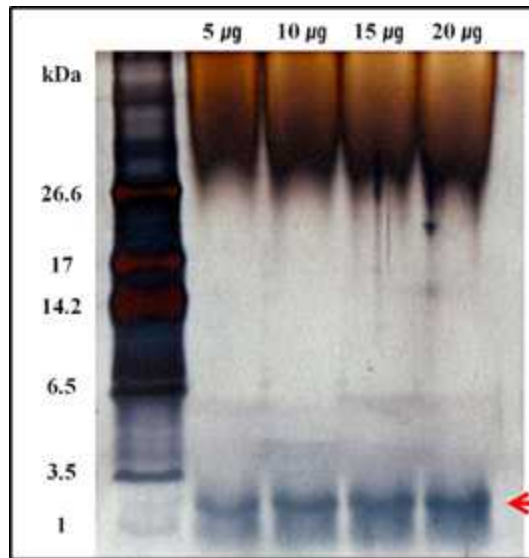


그림 2. 솔잎으로부터 추출된 단백질의 Tricine SDS-PAGE 및 Silver staining

3) 천연물(솔잎)로부터 추출된 전체 단백질(펩타이드)의 식품 유해균에 대한 항균활성 측정

10mM HEPES +10mM NaCl에 의해 추출된 단백질들을 Gram negative bacteria인 *E. coli*와 *P. aeruginosa*에 활성 측정을 하여 본 결과 위 박테리아만 첨가된 대조군(Control)에 비해 100 mg의 솔잎 단백질(펩타이드) 추출물이 첨가된 실험군이 현저히 균체가 줄어들었음을 확인 할 수 있었고, 솔잎 단백질(펩타이드) 추출물의 양의 증가에 따라 균체의 감소가 보임을 확인 하였다(그림 3).

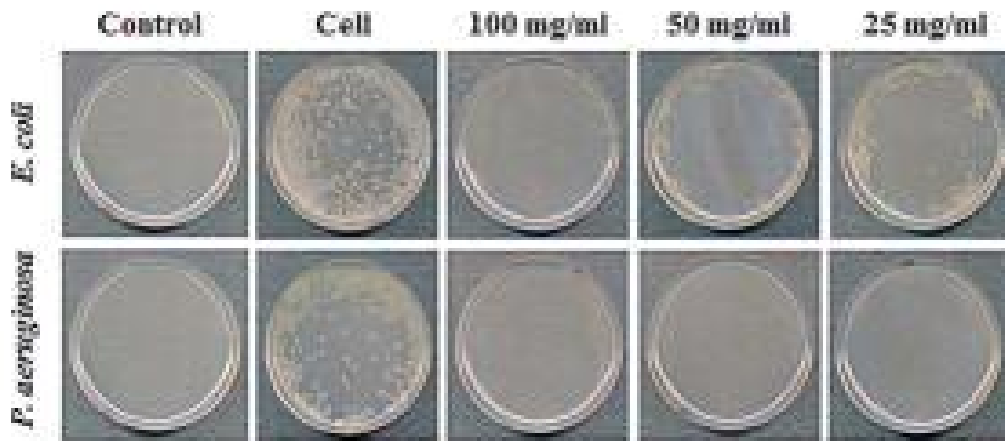


그림 3. Gram negative bacteria의 식품보존제 기능성 항균활성 측정

② Gram positive bacteria의 식품 유해균에 대한 항균활성 측정

10mM HEPES +10mM NaCl에 의해 추출된 단백질들을 Gram negative bacteria인 *S. aureus*와 *S. epidermis*에 활성 측정을 하여 본 결과 위 박테리아만 첨가된 대조군 (Control)에 비해 100 mg의 솔잎 단백질(펩타이드) 추출물이 첨가된 실험군이 현저히 균체가 줄어들었음을 확인 할 수 있었고, 솔잎 단백질(펩타이드) 추출물의 양의 증가에 따라 균체의 감소가 보임을 확인 하였다(그림 4).

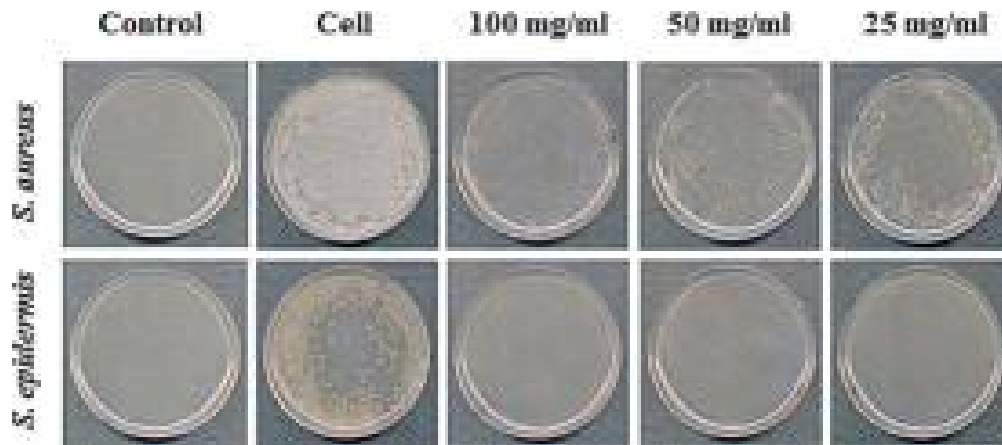


그림 4. Gram positive bacteria의 식품 유해균에 대한 항균활성 측정

4) 분자량에 따른 천연 식품보존제 활성평가

① 식품 보존제 기능성 단백질(펩타이드)의 분자 크기별 항균활성 평가 (*E. coli*)

Centricon을 이용하여 분자량 크기에 따라 분리를 하였으며, *E. coli*에 항균 활성을 측정해 본 결과 30kDa 이상이나 10~30kDa sample 에서는 조금의 활성을 보이는 것을 확인 할 수 있었다. 하지만 10kDa 이하의 추출물에서 Cell만을 처리한 Control에 비해 sample을 처리하였을 때 현저히 균주가 감소하는게 확인 되었다(그림 5).

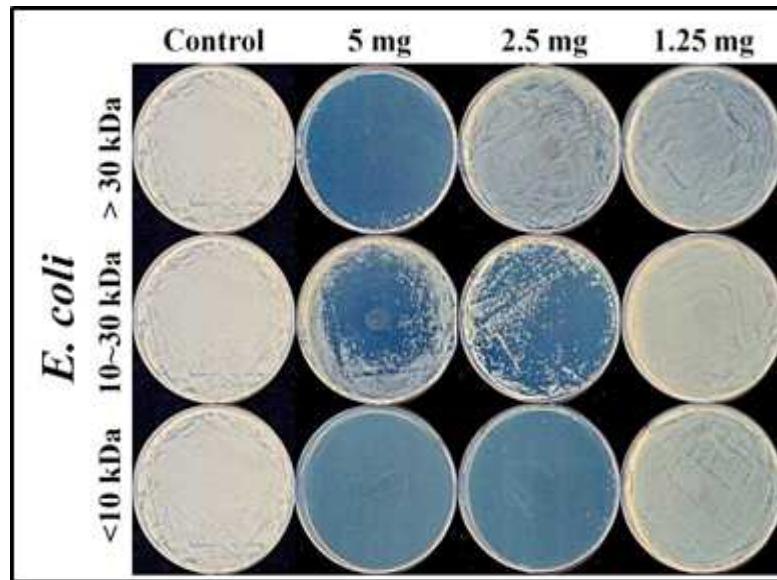


그림 5. 식품 보존제 기능성 단백질(펩타이드)의 분자 크기별 항균활성 평가 (*E. coli*)

② 식품 보존제 기능성 단백질(펩타이드)의 분자 크기별 식품 유해 세균에 대한 항균활성 평가 (*S. aureus*)

Centricon을 이용하여 분자량 별로 분리를 하여 *S. aureus*에 항균 활성을 측정해 본 결과 30kDa 이상이나 10~30kDa sample 에서는 조금의 활성을 보이는 것을 확인 할 수 있었다. 하지만 10kDa 이하의 추출물에서 Cell만을 처리한 Control에 비해 sample을 처리하였을 때 현저히 균주가 감소하는 것이 확인 되었다. 즉, 그림 6은 *S. aureus*에 항균 활성을 측정하여 본 결과로써 강한 항균활성을 갖는 것을 확인 할 수 있었다(그림 6).

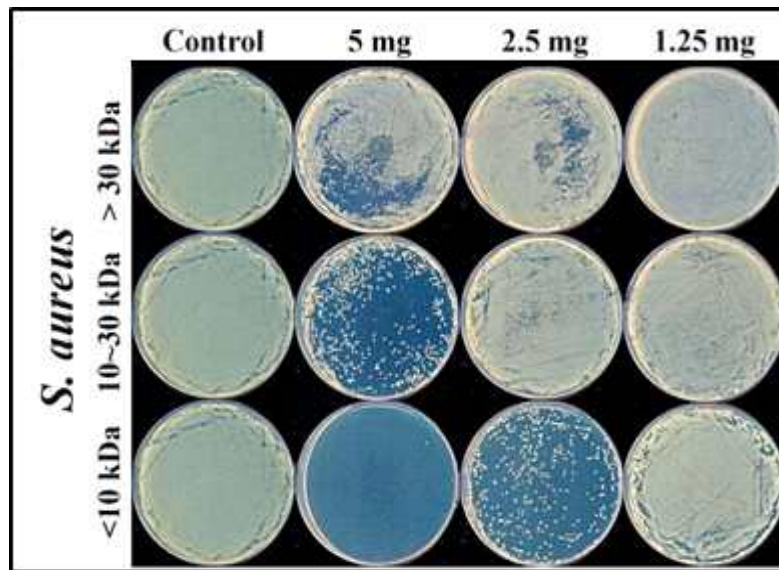


그림 6. 식품 보존제 기능성 단백질(펩타이드)의 분자 크기별 식품 유해 세균에 대한 항균활성 평가 (*S. aureus*)

5) SPE(Solid Phase Extraction) C<sub>18</sub> column에 의해 분리된 식품 보존제 기능성 단백질(펩타이드)의 식품 유해 세균에 대한 항균활성 평가

10 kDa 이하의 추출물을 SPE(Solid Phase Extraction) C<sub>18</sub> column을 이용하여 ACN 10%, 40%, 100%로 분리를 하여 식품 보존제로써의 활성을 측정해 본 결과 ACN 40%에서 가장 좋은 항균활성을 보여 주었다. 즉, 그림 7과 8은 솔잎으로부터 추출된 추출액을 크기별로 분리한 샘플의 항균활성을 측정한 결과이다. 보다 구체적으로, 그림 7은 크기별로 분리한 3개의 샘플을 병원성 균주인 *E. coli*와 *S. aureus*에 항균 활성을 측정하여 본 결과로써 강한 항균활성을 갖는 것을 확인 할수 있었고, 특히 <10kDa에서 항균활성이 좋은 것을 알 수가 있었다.

그림 8은 *Salmonella*와 *Listeria*균에 항균활성을 측정하여 본 결과로서 강한 항균활성을 갖는 것을 확인 할 수 있었다.

그림 9는 <10kDa의 샘플을 식중독 균주인 *Salmonella*와 *Listeria*균에 항균활성을 측정하여 본 결과로서 강한 항균활성을 갖는 것을 확인 할 수 있었다.

그림 10은 <10kDa의 샘플을 아세트나이트릴 농도별로 분리한 샘플을 항균활성을 측정한 결과이다. 보다 구체적으로, 도 7은 아세트나이트릴 40%로 분리한 샘플을 병원성 균주인 *E. coli*와 *S. aureus*에 항균 활성을 측정하여 본 결과로써 강한 항균활성을 갖는 것을 확인 할 수 있었다.

그림 11. 아세트나이트릴 40% 샘플을 식중독 균주인 *Salmonella*와 *Listeria*균에 항균활성을 측정하여 본 결과로서 강한 항균활성을 갖는 것을 확인 할 수 있었다.

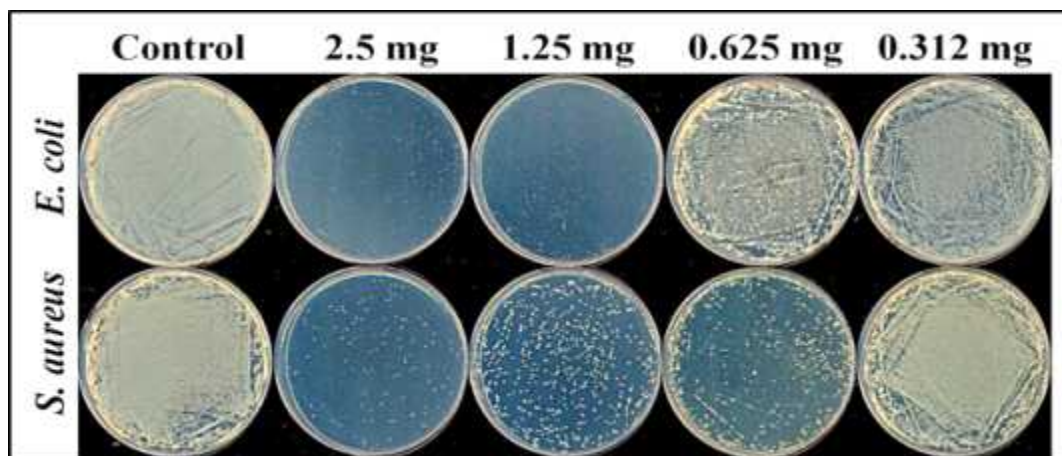


그림 7. SPE(Solid Phase Extraction) C<sub>18</sub> column에 의해 분리된 식품 보존제 기능성 단백질(펩타이드)의 식품 유해 세균에 대한 항균활성 평가

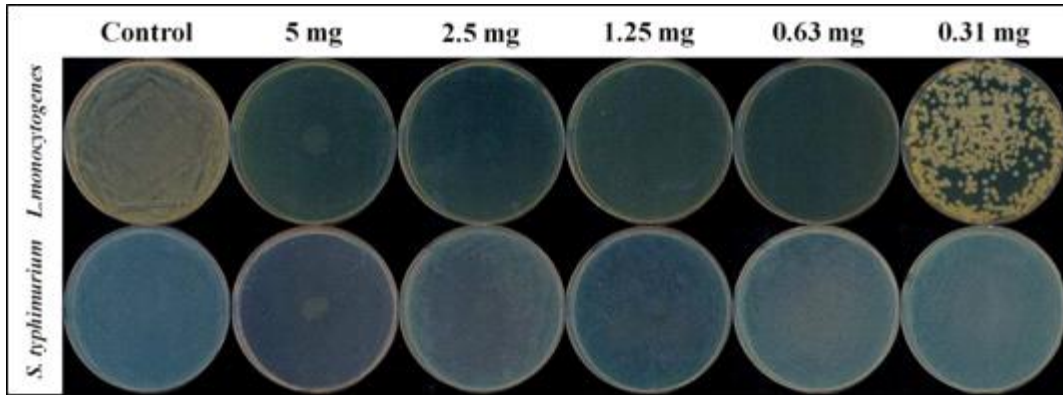


그림 8. Salmonella와 Listeria균에 항균활성

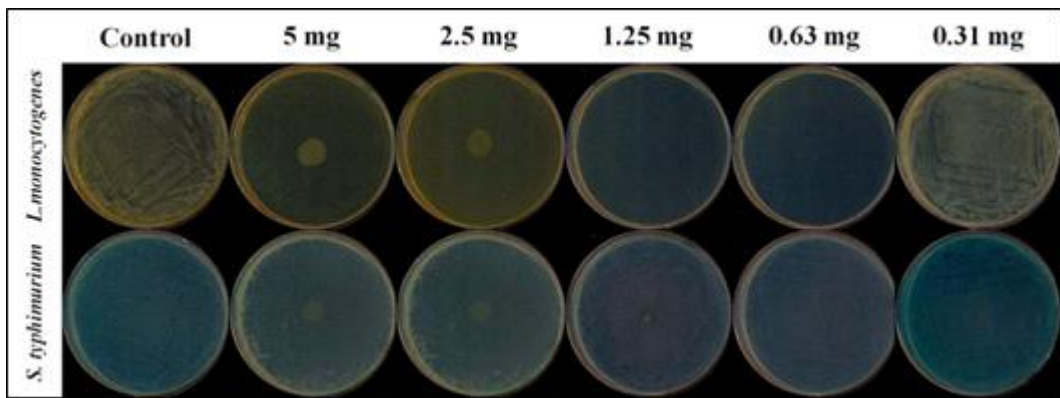


그림 9. <10kDa의 샘플을 식중독 균주인 Salmonella와 Listeria균에 항균활성 측정

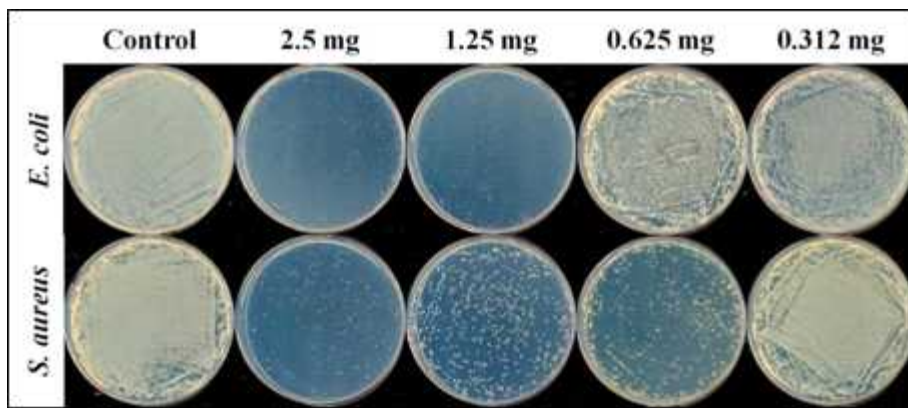


그림 10. <10kDa의 샘플을 병원성 균주인 E. coli와 S. aureus에 대한 항균 활성 측정



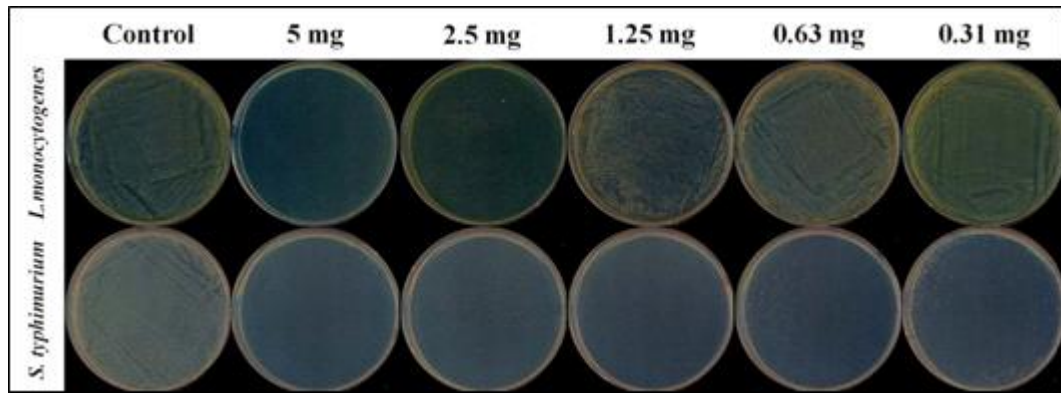


그림 11. 아세트나이트릴 40% 샘플을 식중독 균주인 Salmonella와 Listeria균에 항균활성 측정

6) HPLC에 의한 식품 보존제 기능성 단백질(펩타이드)의 순수 분리 (ACN 40%)

Reverse-Phase HPLC system에서 Acetonotrile(ACN) 40%의 조건으로 추출된 샘플 12개의 peak를 얻을 수 있었으며, 이 중 식품 보존제로써 기능이 우수하다고 사료되는 peak를 얻을 수 있었다. 다음 실험으로 목적으로 하는 작은 분자량을 갖는 펩타이드 찾기 위하여 Tricine SDS-PAGE를 시행 하였으며 식품보존제로써 기능이 우수한 펩타이드를 확인 할 수 있었다. 즉, 그림 12는 아세트나이트릴 40% 샘플을 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용해 정제해 낸 샘플들의 항균활성을 측정된 결과이다. 보다 구체적으로, 그림 12는 아세트나이트릴 40% 샘플을 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용해 정제해 낸 샘플을 병원성 균주인 이 콜라이와 스테필라코코스 아우레우스에 항균 활성을 측정하여 본 결과로써 4-10까지의 샘플이 항균활성이 있는 것을 확인 할 수 있었다.

아세트나이트릴 40% 샘플을 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용하여 분리 및 정제를 하였다. 분리 및 정제 과정을 통해 1-10까지의 샘플을 얻어 낼 수 있었고, 얻어진 샘플 및 표준단백질을 사용하여 Tricine SDS-PAGE 법에 의해 분자량을 비교해 본 결과 대부분의 샘플에서 1-3.5kD사이에서 펩타이드의 존재를 확인 할 수 있었다(그림 13).

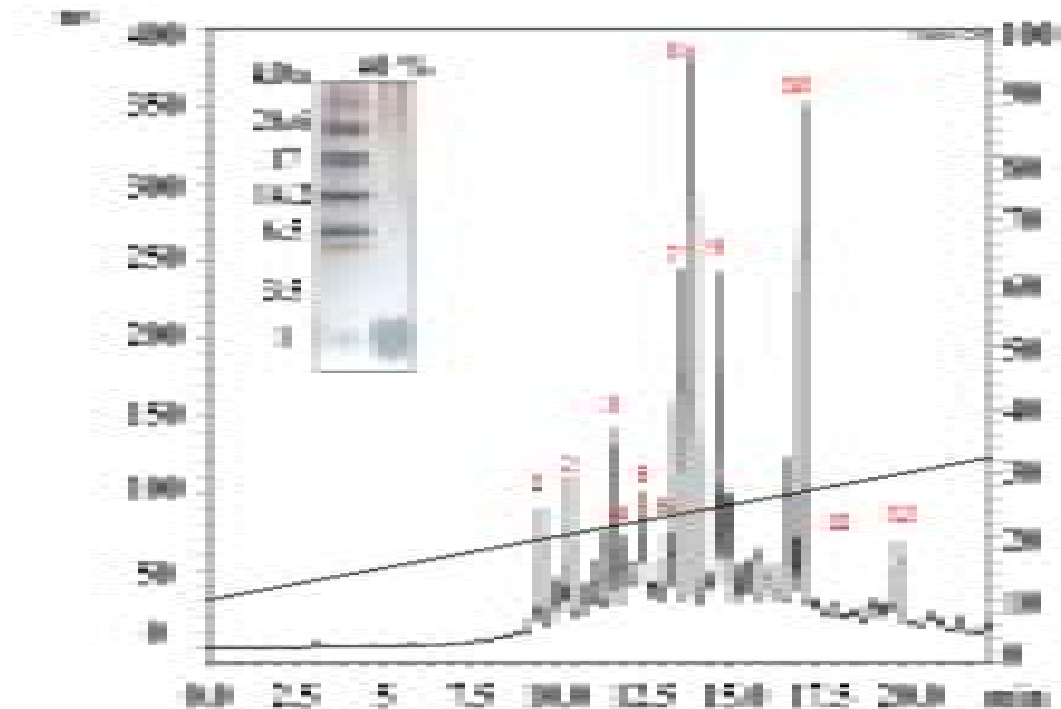


그림 12. HPLC에 의한 식품 보존제 기능성 단백질(펩타이드)의 순수 분리 (ACN 40%)

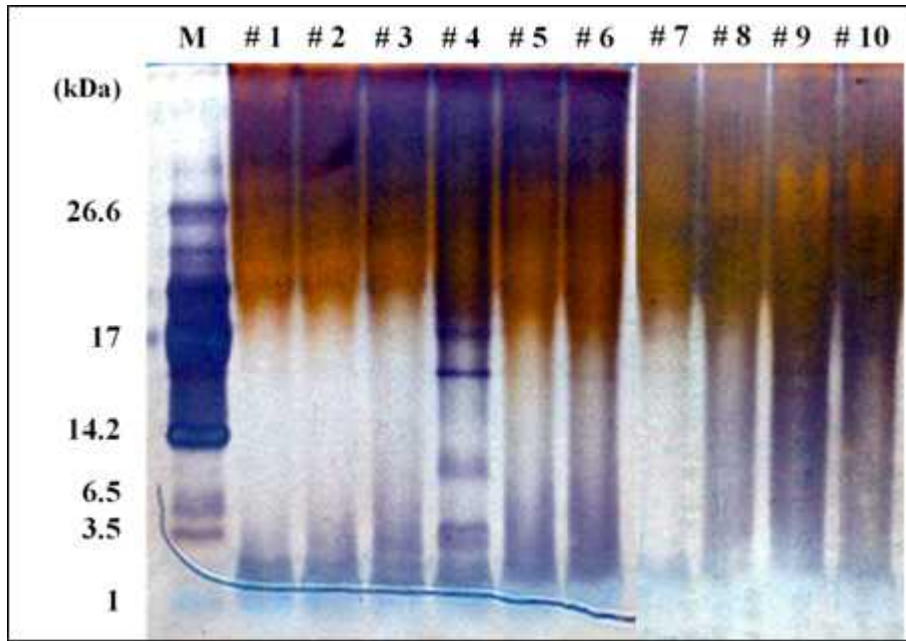


그림 13. 아세토나이트릴 40% 샘플을 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용하여 분리 및 정제

7) 아세트나이트릴 40% 샘플을 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용해 항균활성 측정

그림 14는 아세트나이트릴 40% 샘플을 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용해 정제해 낸 샘플들의 항균활성을 측정한 결과이다. 즉, 아세트나이트릴 40% 샘플을 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용해 정제해 낸 샘플을 병원성 균주인 *E. coli*와 *S. aureus*에 항균 활성을 측정하여 본 결과로써 4-10까지의 샘플이 항균활성이 있는 것을 확인 할 수 있었다.

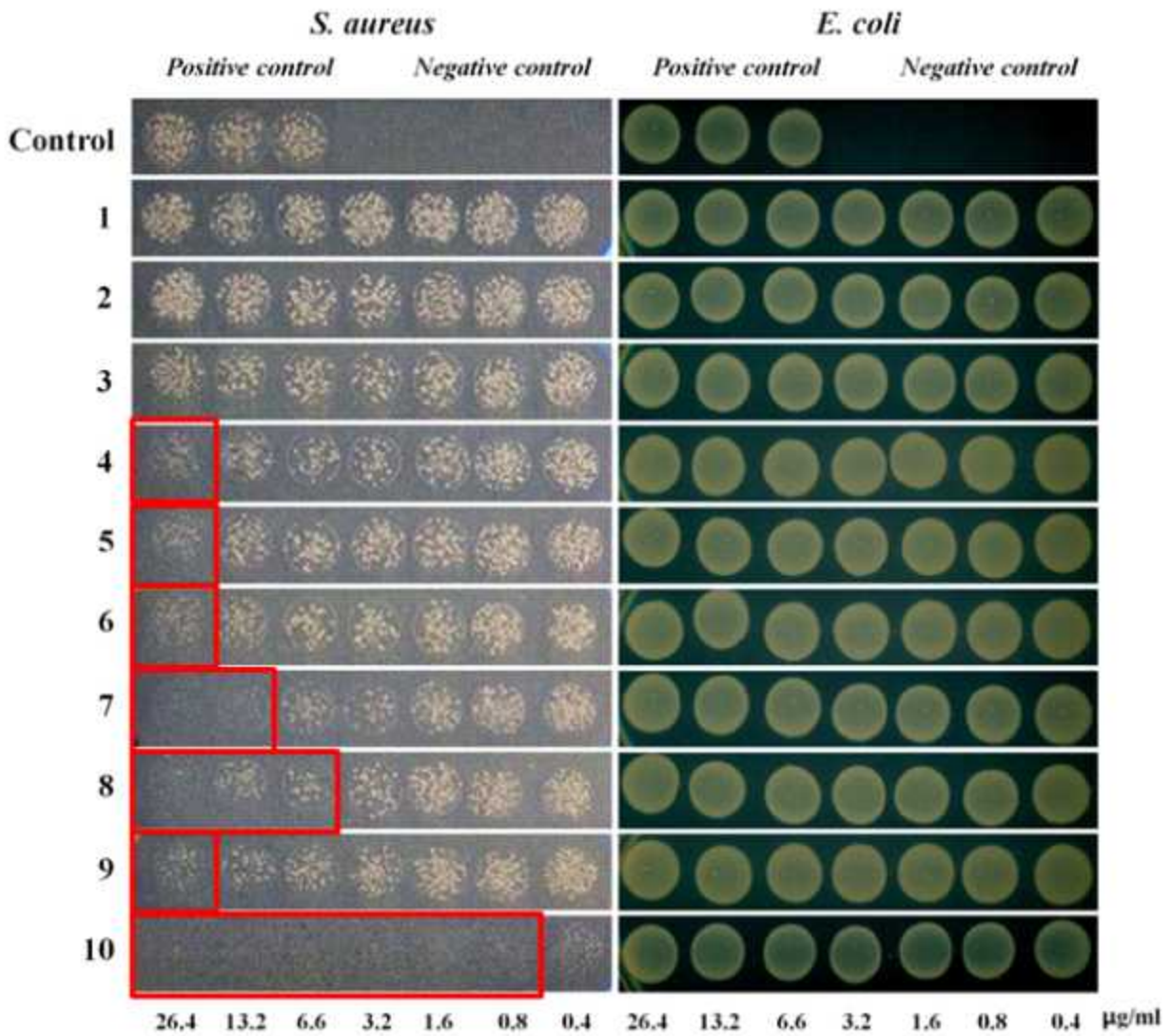
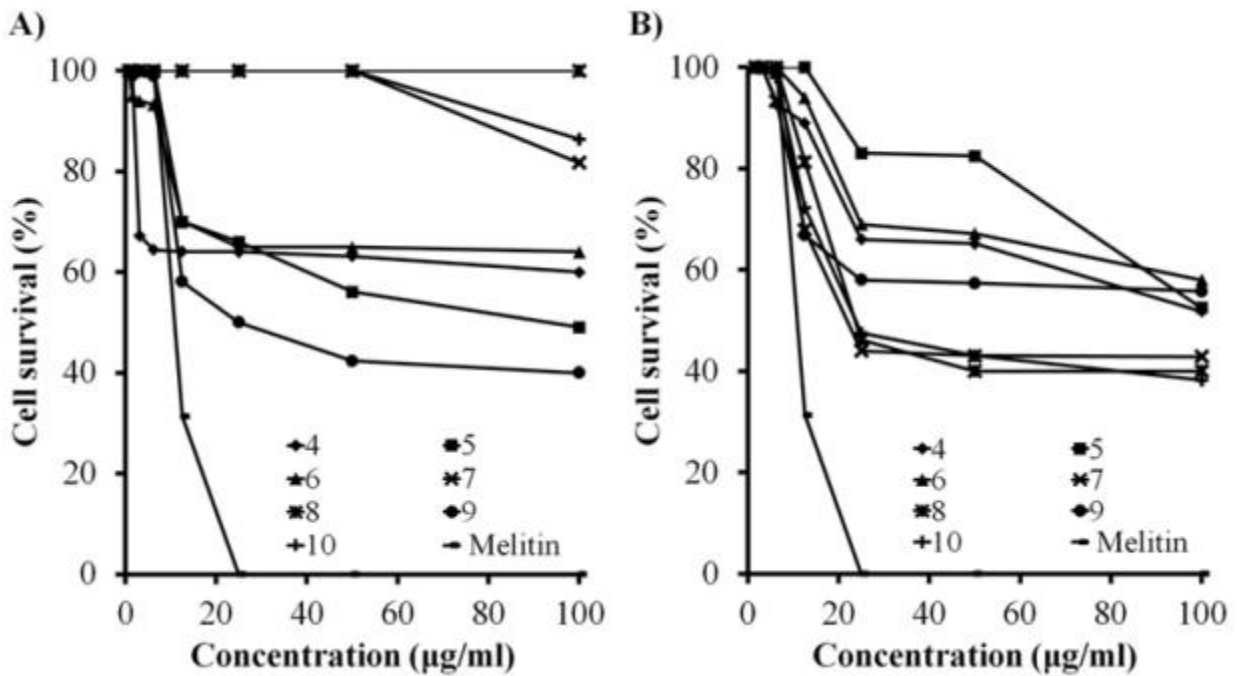


그림 14. 아세트나이트릴 40% 샘플을 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용해 항균활성 측정

8) 동물 세포를 이용한 세포독성 여부 확인

솔잎으로부터 유래된 펩타이드에 대하여, 동물의 세포를 통해 세포독성의 여부를 판별하기 위하여 동물세포(사람피부세포 및 쥐 대식세포)를 이용하였고, 항균활성이 있는 4-10까지의 샘플을 동물세포가 분주된 96-웰 마이크로적정 플레이트(microtiter plate)에 처리한 후 반응시켰다. 570nm에서 흡광도를 측정하여 동물세포에서의 독성 정도를 확인한 결과 동물세포에서 독성이 없거나 낮게 나타나는 것을 확인 하였다(그림 15).



Raw 264.7 cells (A) and HaCat cells (B)

그림 15. 동물 세포를 이용한 세포독성 여부 확인

9) 사람의 적혈구 세포에 대한 Hemolysis 측정

그림 16은 솔잎으로부터 유래된 펩타이드가 사람의 적혈구 세포에 대한 세포 파괴정도 (Hemolytic)를 측정한 결과로서, 공지의 펩타이드인 멜리틴의 경우, 펩타이드 농도 0.31 $\mu$ M에도 세포의 용혈율이 30%를 나타내며, 펩타이드 농도 5 $\mu$ M의 조건에서는 적혈구 세포들이 100% 파괴되었다. 반면에, 본 발명의 솔잎으로부터 유래된 펩타이드는 동일 농도 조건에서 실시한 결과, 적혈구 세포들이 전혀 파괴되지 않은 결과를 보임으로써, 세포독성이 전혀 없음을 확인하였다.

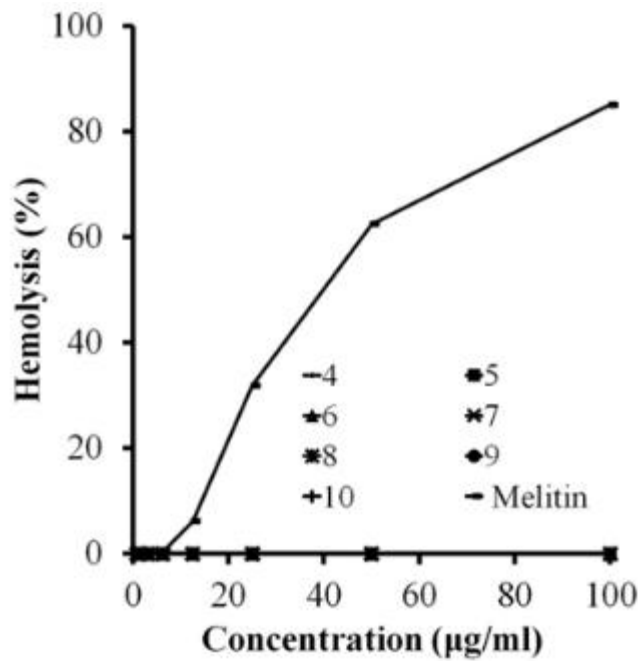


그림 16. 사람의 적혈구 세포에 대한 Hemolysis 측정

10) MALDI-MS(Kratos Analytical Ins)를 이용한 분자량 측정

솔잎으로부터 유래되는 항균활성이 있으며 세포독성이 없는 4-10번까지의 샘플을 6N-HCl에 녹인 후 22시간 110℃에서 가수분해하여 건조시킨 후 아미노산 분석기(amino acid analyzer)로 아미노산 서열을 확인하고 MALDI-MS(Kratos Analytical Ins)로 분자량을 확인하였다(그림 17).

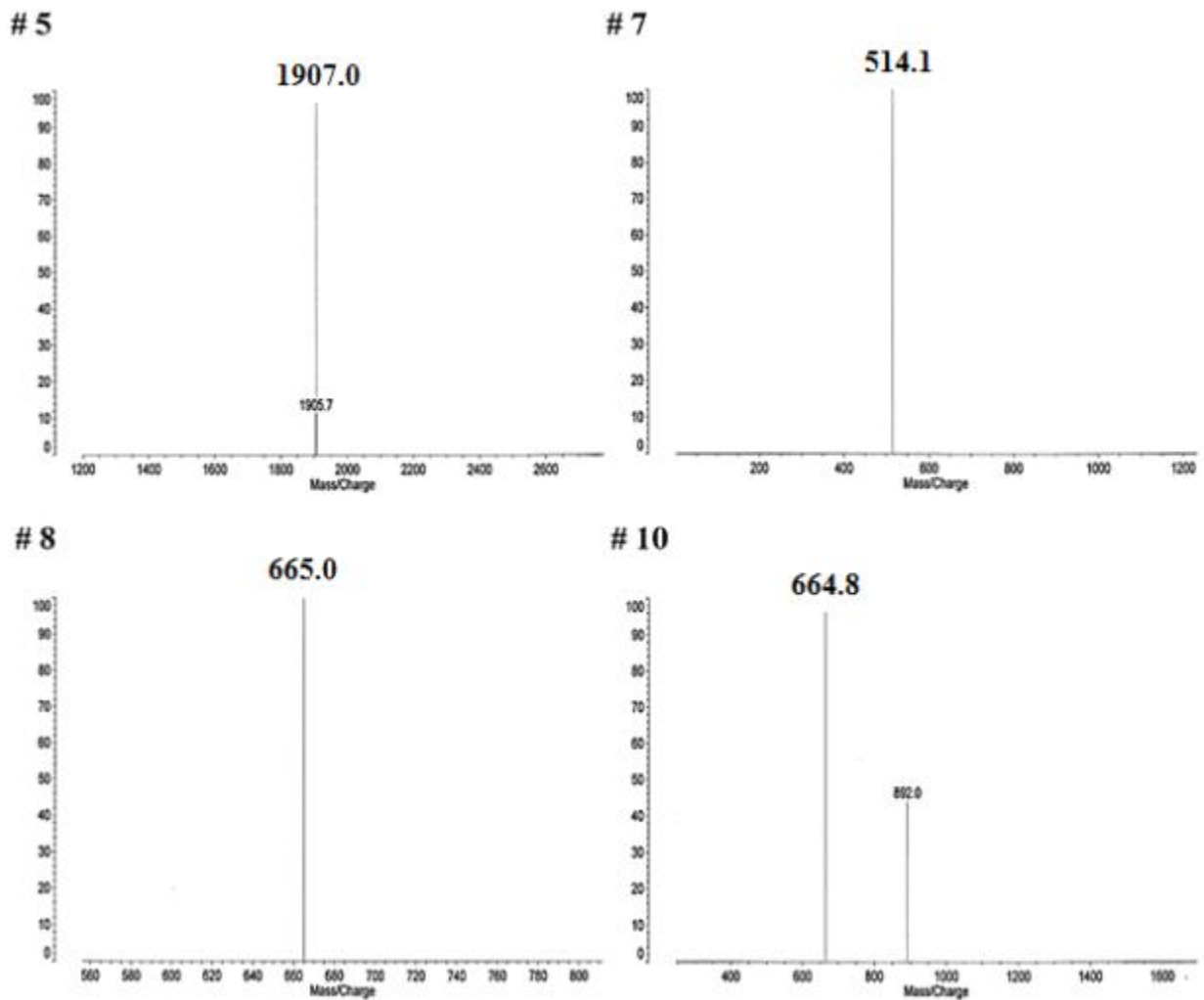


그림 17. MALDI-MS(Kratos Analytical Ins)를 이용한 분자량 측정

10) N-아미노 말단 서열 분석

Peak 5번을 PN5로 명명하고 이를 아미노산 서열 분석을 시행하였으며, N-아미노 말단 서열은 X-X-X-X-F-K-F-L-A-R-T-G-K-F-L이고, 분자량은 1907.0 Da임을 확인 하였다(그림 18).



그림 18. N-아미노 말단 서열 분석



10) 신규 항생펩타이드의 구조 분석

아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 5번부터 15번까지 11개의 아미노산을 구조분석을 시행 하였다(그림 19).

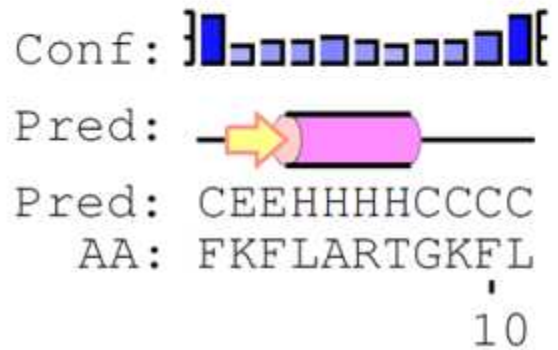
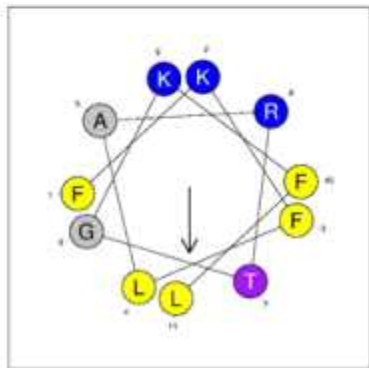
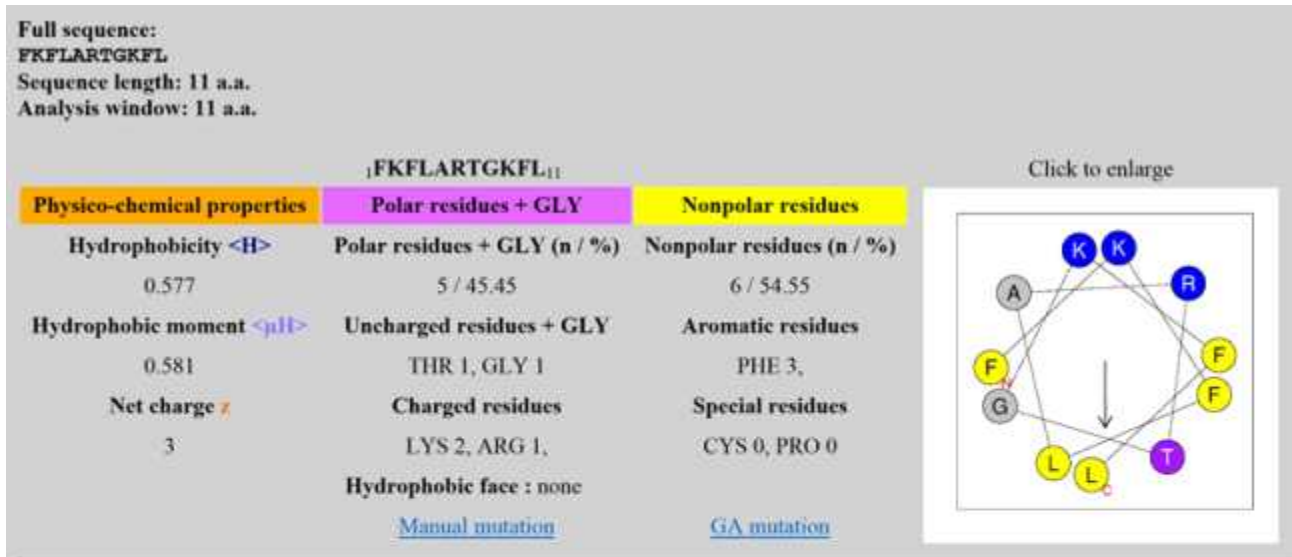


그림 19. 항생 펩타이드의 구조 분석(PN5-DEL-XXXX:FKFLARTGKFL)

11) 신규 항생펩타이드의 구조 분석(항생 펩타이드의 XXXX 입력에 따른 예상 구조 분석 (Nonpolar [hydrophobic] (L)). )

그림 20는 아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 1번부터 15번까지 15개의 아미노산을 구조분석을 시행 하였다. 즉, 1-4번까지를 Nonpolar [hydrophobic] (L)로 예상하여 구조를 완성 하였다.

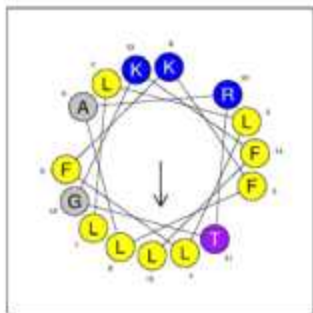
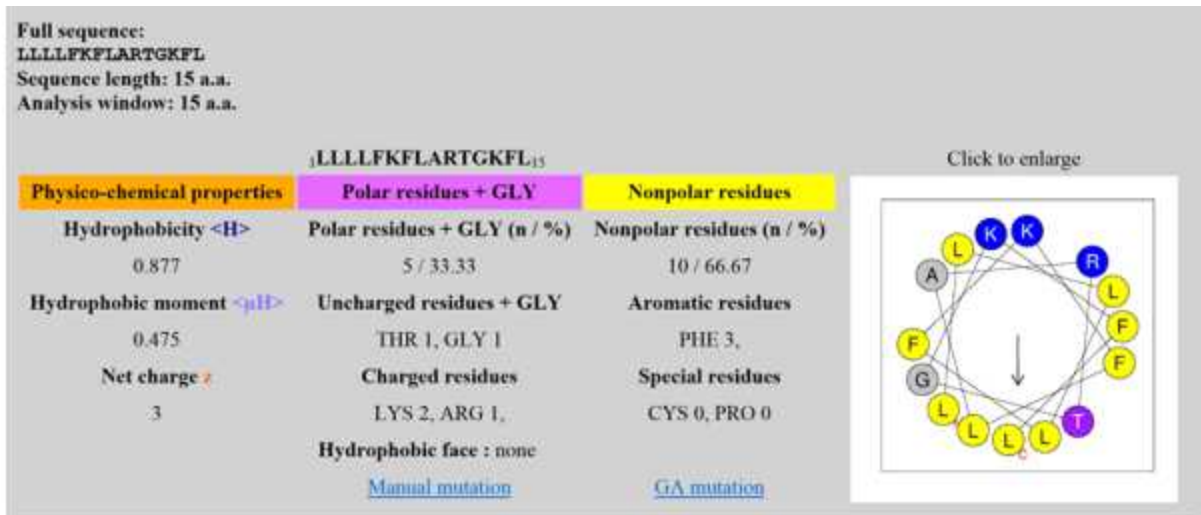


그림 20. 항생 펩타이드의 XXXX 입력에 따른 예상 구조 분석(Nonpolar [hydrophobic] (L)).

Full sequence:  
 WWWFKFLARTGKFL  
 Sequence length: 15 a.a.  
 Analysis window: 15 a.a.

1 WWWFKFLARTGKFL 15

Physico-chemical properties	Polar residues + GLY	Nonpolar residues
<b>Hydrophobicity &lt;H&gt;</b>	<b>Polar residues + GLY (n / %)</b>	<b>Nonpolar residues (n / %)</b>
1.023	5 / 33.33	10 / 66.67
<b>Hydrophobic moment &lt;μH&gt;</b>	<b>Uncharged residues + GLY</b>	<b>Aromatic residues</b>
0.491	THR 1, GLY 1	TRP 4, PHE 3,
<b>Net charge z</b>	<b>Charged residues</b>	<b>Special residues</b>
3	LYS 2, ARG 1,	CYS 0, PRO 0
	<b>Hydrophobic face : none</b>	
	<a href="#">Manual mutation</a>	<a href="#">G/A mutation</a>

Click to enlarge

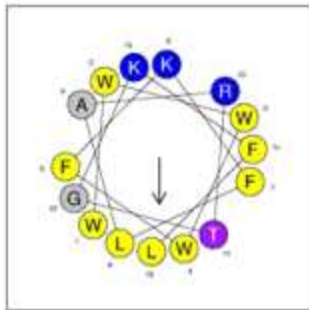
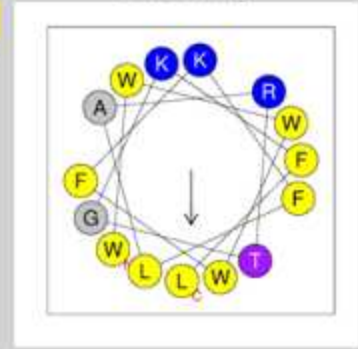
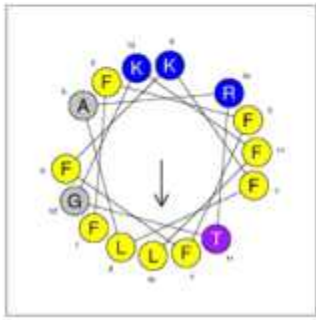
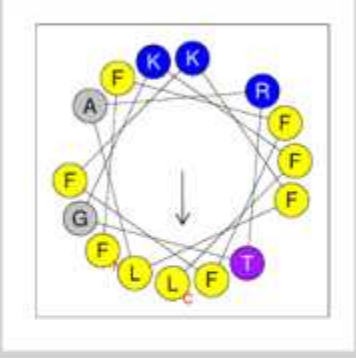


그림 21. 항생 펩타이드의 XXXX 입력에 따른 예상 구조 분석(Nonpolar [hydrophobic] (W)). 아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 1번부터 15번까지 15개의 아미노산을 구조분석을 시행 하였다.

Full sequence:  
**FFFFKFLARTGKFL**  
 Sequence length: 15 a.a.  
 Analysis window: 15 a.a.

_FFFFKFLARTGKFL_15		
Physico-chemical properties	Polar residues + GLY	Nonpolar residues
Hydrophobicity <H>	Polar residues + GLY (n / %)	Nonpolar residues (n / %)
0.901	5 / 33.33	10 / 66.67
Hydrophobic moment < $\mu$ H>	Uncharged residues + GLY	Aromatic residues
0.477	THR 1, GLY 1	PHE 7,
Net charge $\Sigma$	Charged residues	Special residues
3	LYS 2, ARG 1,	CYS 0, PRO 0
	Hydrophobic face : none	
	<a href="#">Manual mutation</a>	<a href="#">GA mutation</a>



Conf:   
 Pred:   
 Pred: CHHHHHHHHHHCCCC  
 AA: FFFFFKFLARTGKFL  
 10

그림 22. 항생 펩타이드의 XXXX 입력에 따른 예상 구조 분석(Nonpolar [hydrophobic]-Aromatic (F)). 아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 1번부터 15번까지 15개의 아미노산을 구조분석을 시행 하였다.

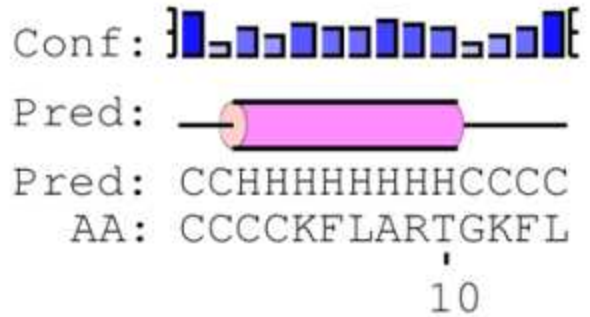
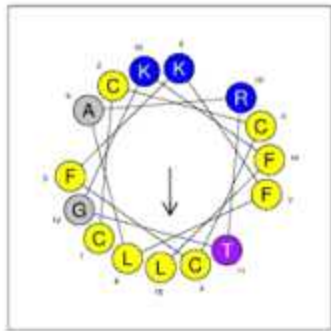
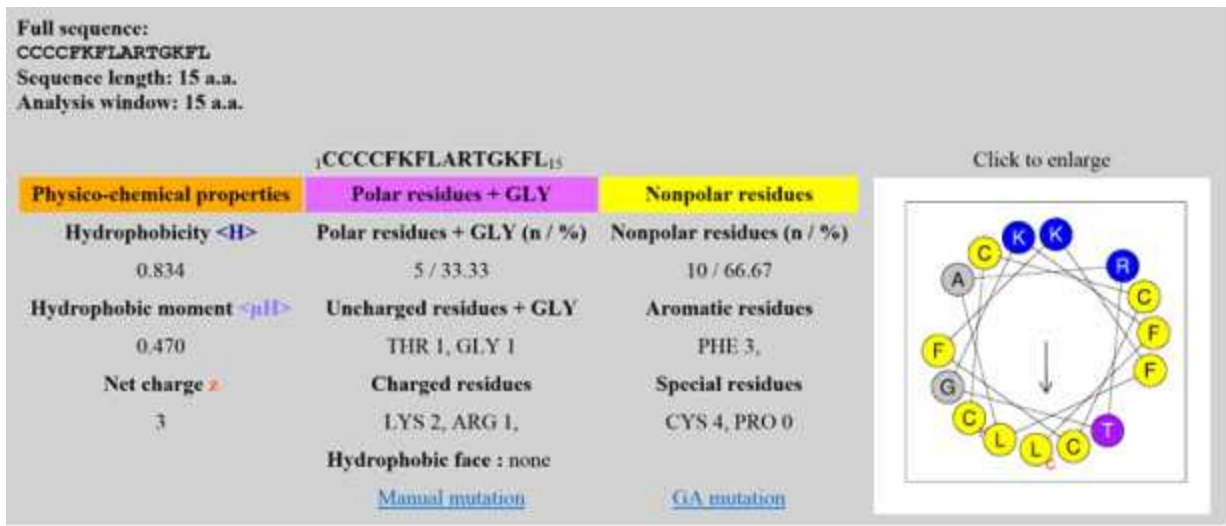


그림 23. 항생 펩타이드의 XXXX 입력에 따른 예상 구조 분석(Nonpolar [hydrophobic]-special residues (C)). 아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 1번부터 15번까지 15개의 아미노산을 구조분석을 시행 하였다.

Full sequence:  
 PPPPKFLARTGKFL  
 Sequence length: 15 a.a.  
 Analysis window: 15 a.a.

Physico-chemical properties	Polar residues + GLY	Nonpolar residues
Hydrophobicity <H>	Polar residues + GLY (n / %)	Nonpolar residues (n / %)
0.615	5 / 33.33	10 / 66.67
Hydrophobic moment < $\mu$ H>	Uncharged residues + GLY	Aromatic residues
0.447	THR 1, GLY 1	PHE 3,
Net charge $\Sigma$	Charged residues	Special residues
3	LYS 2, ARG 1,	CYS 0, PRO 4
	Hydrophobic face : none	
	<a href="#">Manual mutation</a>	<a href="#">GA mutation</a>

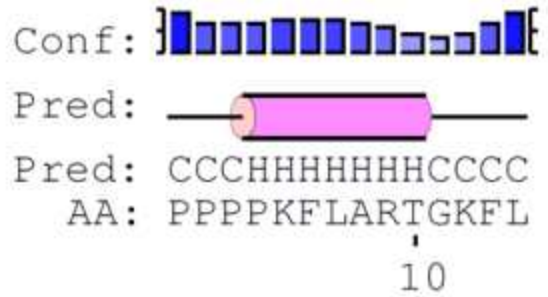
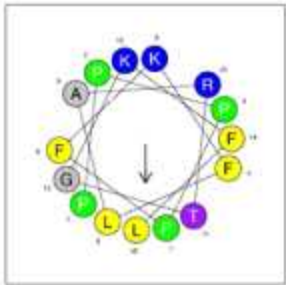
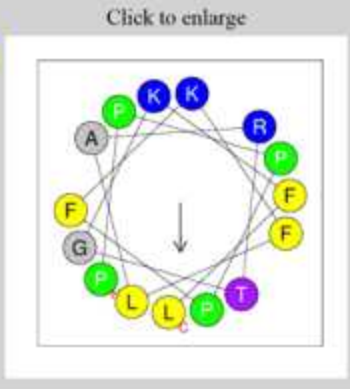
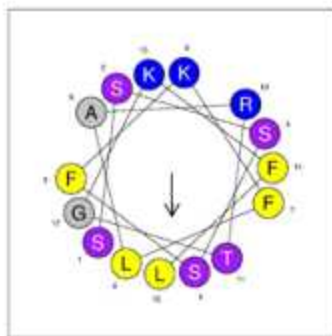
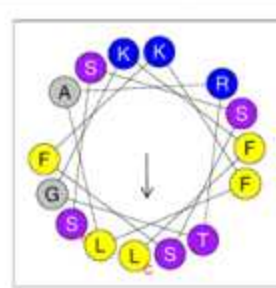


그림 24. 항생 펩타이드의 XXXX 입력에 따른 예상 구조 분석(Nonpolar [hydrophobic]-special residues (P)). 아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 1번부터 15번까지 15개의 아미노산을 구조분석을 시행 하였다.

Full sequence:  
 SSSSFKFLARTGKFL  
 Sequence length: 15 a.a.  
 Analysis window: 15 a.a.

[SSSSFKFLARTGKFL] <sub>15</sub>		
Physico-chemical properties	Polar residues + GLY	Nonpolar residues
Hydrophobicity <H> 0.413	Polar residues + GLY (n / %) 9 / 60.00	Nonpolar residues (n / %) 6 / 40.00
Hydrophobic moment < $\mu$ H> 0.425	Uncharged residues + GLY SER 4, THR 1, GLY 1	Aromatic residues PHE 3,
Net charge z 3	Charged residues LYS 2, ARG 1,	Special residues CYS 0, PRO 0
	Hydrophobic face : none	
	<a href="#">Manual mutation</a>	<a href="#">GA mutation</a>

Click to enlarge



Conf: [ ]  
 Pred:   
 Pred: CCCHHHHHHHHCCCC  
 AA: SSSSFKFLARTGKFL  
 10

그림 25. 항생 펩타이드의 XXXX 입력에 따른 예상 구조 분석(Polar [uncharged] (S)). 아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 1번부터 15번까지 15개의 아미노산을 구조분석을 시행 하였다.

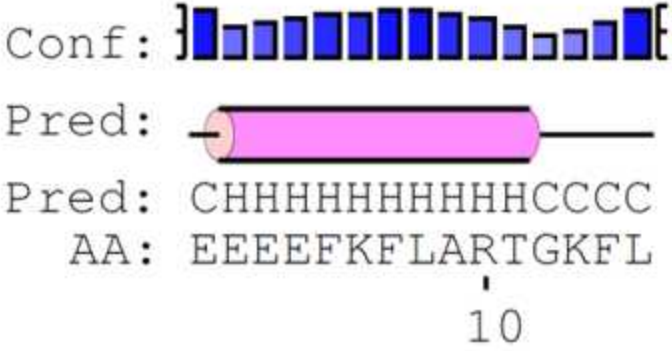
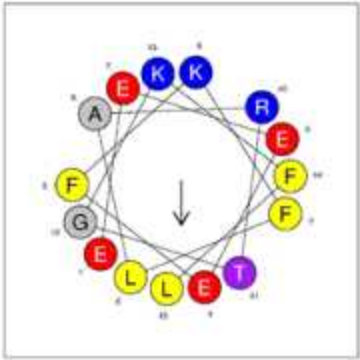
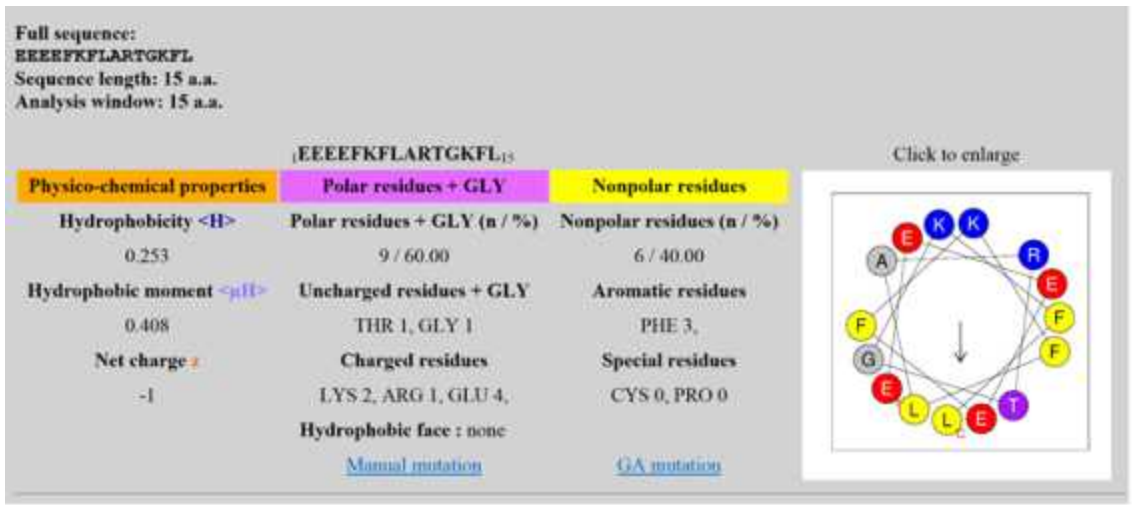


그림 26. 항생 펩타이드의 XXXX 입력에 따른 예상 구조 분석(Acidic (E)). 아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 1번부터 15번까지 15개의 아미노산을 구조분석을 시행하였다.



Full sequence:  
 KKKKFKFLARTGKFL  
 Sequence length: 15 a.a.  
 Analysis window: 15 a.a.

1KKKKFKFLARTGKFL15

Click to enlarge

Physico-chemical properties	Polar residues + GLY	Nonpolar residues
Hydrophobicity <H>	Polar residues + GLY (n / %)	Nonpolar residues (n / %)
0.159	9 / 60.00	6 / 40.00
Hydrophobic moment <μH>	Uncharged residues + GLY	Aromatic residues
0.398	THR 1, GLY 1	PHE 3,
Net charge z	Charged residues	Special residues:
7	LYS 6, ARG 1,	CYS 0, PRO 0
	Hydrophobic face : none	
	<a href="#">Manual mutation</a>	<a href="#">GA mutation</a>

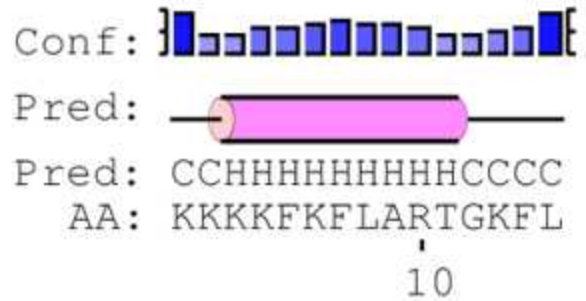
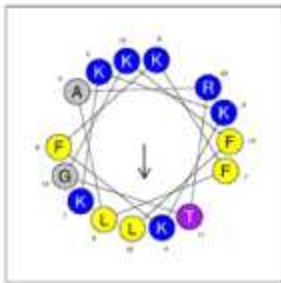
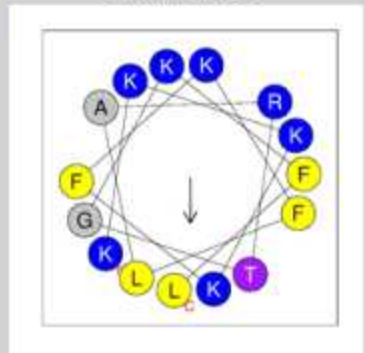


그림 27. 항생 펩타이드의 XXXX 입력에 따른 예상 구조 분석(Basic (K)). 아미노산 서열 분석 결과를 바탕으로 신규 분리된 항생 펩타이드의 구조를 분석한 결과 기본적으로 alpha-helix 구조이며, 구조 분석을 위하여 아미노산 1번부터 15번까지 15개의 아미노산을 구조분석을 시행하였다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

연 도	주요연구내용	달성도 (%)
1년차	○ 솔잎 발효 미생물로부터 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 개발	100
	○ 솔잎 발효 미생물로부터 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드) 추출	100
	○ 솔잎 발효 미생물 유래의 천연 식품보존 기능성 단백질(펩타이드)의 보존제 활성 연구	100
	○ Gel Filtration by FPLC	100
	○ Reverse-Phase HPLC	100
2년차	○ 솔잎 발효 미생물 유래의 천연 식품보존제 펩타이드 분리	100
	○ 천연소재 기능성 펩타이드의 활성 측정	
	- 병원성 미생물( <i>E. coli</i> 및 <i>S. aureus</i> )	100
	- 식중독 균주( <i>Salmonella</i> 와 <i>Listeria</i> )	100
3년차	○ 세포독성의 측정	
	- Cytotoxicity test (human cell lines)	100
	○ Hemolysis 측정	
	- Human red blood(RBC) cell	100
	○ 아미노산 서열 및 분자량 확인	100
	○ 항생 펩타이드의 구조 분석	100
	○ 신규 항생 펩타이드의 특허 출원	100

## 2절 관련분야 기술발전 기여도

- 펩타이드 신약 관련 연구의 활성화 및 **펩타이드 생산 관련 소재의 국가 경쟁력 확보**
- 펩타이드 메디컬 소재 개발을 통한 다양한 질병의 치료 및 예방책 개발
- 펩타이드 친화적인 펩타이드 대량 합성공정기술을 확보하고, 다국적 제약회사에 치료제 원천기술을 판매함으로써 국가 경제발전에 기여
- **조기 예방약의 상품화**를 통한 국가 보건의료비용의 감축효과



[연구결과의 기여도]

### √ 해당분야 학문발전의 기여효과

- 식물생리 및 기능성 식물 학문 분야 발전에 기여 가능
- 전세계적으로 심각한 문제가 되고 있는 항생제 내성균에 대한 치료제의 개발 가능.
- 항생제 다제 내성균(MDRS) 극복 가능성 제시
- 구조-기능 및 구조-기작연구를 통한 새로운 다기능성 항생펩타이드 개발 가능
- 체내에서 보다 안정하며, 무독성이고, 강력한 신개념 펩타이드 항생제의 개발 가능

### √ 산업 발전에의 기여도 등 국가 경제에 미치는 효과

- 항생 펩타이드의 개발로 인한 국민보건복지 향상 및 수입대체효과
- 펩타이드 공학을 이용한 약리 효능 증진에 이용
- 각종 생체기능 조절 펩타이드 이용 기술에 활용
- 식물 및 펩타이드 공학과 관련된 생명공학산업을 활성화

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### 1절 실용화 및 산업화 계획(기술실시 등)

본 과제와 주요 소재인 항균펩타이드에 대한 연구개발을 통해 초기 계획에 의거하여 성실히 수행하였으며, 항균펩타이드의 상용화를 위하여 참여 기업의 떡과 음료 개발 과정에 식품 보존제로써 사용 가능 여부를 확인 후, 국내 식품 기업 시장을 진입하고자 한다. 특히 항균효과가 매우 뛰어난 항균 펩타이드의 개발은 고가의 천연 식품 보존제로 적극 활용하여 좀 더 과학적이고, 고부가가치적인 접근을 하고자 한다. 또한 국내외 박람회의 부스 설치를 통한 적극적인 소개를 통해 해외 수출로 연결될 수 있도록 적극 마케팅을 계획하고 있다.

### 2절 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획

본 연구에 대한 결과는 2014년 특허 출원 완료 되었으며, 신규 분리된 항균 펩타이드에 대한 연구 결과는 국제학술지 Journal of Agricultural Food Chemistry에 투고 예정이다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 1) 화학 물질성 보존제 사용이 문제가 되고 있고 이런 문제점들을 보완하는 대체 물질 개발에 많은 노력을 기울이고 있는 실정.
- 2) 펩타이드 공학을 이용한 펩타이드성 항균 펩타이드의 개발 연구를 통한 무공해 항균제의 개발은 이와 같은 문제를 해결해 줄 수 있고, 또 의약품·농작물·식품 보존제로서의 응용이 가능.
- 3) 그러나 국내에서 이와 같은 연구는 아주 미흡한 실정이며, 이러한 연구의 수단이 되는 펩타이드의 분리 및 분석의 기술도 미약한 실정이므로 펩타이드의 합성 등을 막대한 비용을 지급하고 외국의 회사 및 연구소에 의뢰하고 있는 실정.
- 4) 특히, 항생펩타이드의 응용 분야로써 항생제의 개발이 시급한 이유는 전세계 항균제 시장 규모는 2005년 1340억 원에 이르렀으며 해양생물체를 이용한 천연 항균제가 개발되면 그 값어치는 세계 천연항균제 시장에서 엄청난 부를 창출 가능.
- 5) 따라서 본 연구는 아직까지 미지의 상태로 있는 해양생물, 특히 식품으로 이용되는 해양생물체에서 기능성 항생제 단백질(펩타이드)을 개발하고, 펩타이드 공학 기술의 발전에 중요하며, 강력한 항생 펩타이드의 개량 기술을 발달시킬 수 있을 것이라 생각되어지며, 나아가서는 해양생물체의 항생 기능을 탐색함으로써 해양생물의 소비 촉진에도 큰 도움이 되리라고 사료 됨.
- 6) 그리고 병원균에 강력한 항생활성을 가지며 인체에 무해한 펩타이드의 개발은 현재 문제가 대두되고 있는 인체의 유해성, 토질오염 및 환경오염을 피할 수 있는 대체물질로서도 이용 될 수 있을 것이라 사료 됨.

## 제 7 장 연구시설·장비 현황

\* 도입·개발한 연구시설·장비 현황 및 국가과학기술종합정보시스템 장비 등록번호를 기술

품 명	HPLC(High Performance Liquid Chromatograph)
규 격	LC-20AD Series
국가과학기술종합정보시스템 장비 등록번호	해당 사항 없음(3천만원 이하 장비)

## 제 8 장 참고문헌

- 1) Andra, J., Berninghausen, O., Leippe, M. (2001) Cecropins, antibacterial peptides from insects and mammals, are potently fungicidal against *Candida albicans*. *Med Microbiol Immunol.* 189, 169-173.
- 2) Dempsey C. E., The actions of melittin on membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1031 (1990) 143-161
- 3) Giacometti, X., Cirioni, O., Del Prete, M.S., Paggi, A.M., D'Errico, M.M., Scalise, G. (2000) Combination studies between polycationic peptides and clinically used antibiotics against gram-positive and gram-negative bacteria, *Peptides* 21, 1155-1160.
- 4) Lehrer R., Lichtenstein A. K., Ganz T. (1993) Defensins: antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells, *Annu. Rev. Immunol.* 11, 105-128.
- 5) Lee, D., D.-H. Kim, Y. Park, H. Kim, HK, Kim, Y. Shin, and K.-S. Hahm. 2001. Fungicidal effect of antimicrobial peptide PMAP-23, isolated from porcine myeloid against *Candida albicans*. *Biochem Biophys Res Communication.* 282, 570-574.
- 6) Lee, K.H., Lee, D.G., Park, Y., Kang, D.I., Shin, S.Y., Hahm, K.-S., Kim, Y. (2006) Interactions between the Antimicrobial Peptide, HP (2-20) and Its Analogues Derived from *Helicobacter Pylori*, and Membrane. *Biochemical Journal.* 394, 105-114.
- 7) Maeng C.Y., Oh M.S., Park I.H., Hong H.J. (2001) Purification and structural analysis of the hepatitis B virus preS1 expressed from *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys..Res. Commun.* 282, 787-792.
- 8) Mangoni, M.L., Rinaldi, A.C., Di Giulio, A., Mignogna, G., Bozzi, A., Barra, D. (2000) Structure-function relationships of temporins, small antimicrobial peptides from amphibian skin, *European Journal of Biochemistry* 267, 1447-1454.
- 9) Merrifield R. B. (1986) Solid phase synthesis, *Science.* 232, 341-347.
- 10) Park, Y., Park, S.N., Park, S.-C., Shin, S.O., Hahm, K.-S. (2006) Synergism of Leu-Lys rich antimicrobial peptides and chloramphenicol against bacterial cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 1764, 24-32.
- 11) Park, Y., Park, S-C., Park, H-K., Shin, S. Y., Kim, Y. and Hahm, K-S., "Structure-Activity Relationship of HP (2-20) Analogue Peptide: Enhanced Antimicrobial Activity by N-Terminal Random Coil Region Deletion", *Biopolymers: Pept. Sci.*, 88(2):199-207, 2007.
- 12) Pal T, Sonnevend A, Galadari S, Conlon JM. Design of potent, non-toxic antimicrobial agents based upon the structure of the frog skin peptide, pseudin-2. *Regul Pept.* 2005, 129, 85-91.

- 13) Shin S.Y., Lee M.K., Kim K.L., Hahm K.-S. (1997) Structure-antitumor and hemolytic activity relationships of synthetic peptides derived from cecropin A-magainin 2 and cecropin A-melittin hybrid peptides. *J. Pept. Res.* 50, 279-285.
- 14) Song, Y.M., Park, Y., Lim, S.S., Yang, S.-T., Woo, E.-R., Park, I.-S., Lee, J.S., Kim, J.I., Hahm, K.-S., Kim, Y.K., Shin, S.Y. (2005) Cell Selectivity and Mechanism of Action of Antimicrobial Model Peptides Containing Peptoid Residues. *Biochemistry.* 44(36), 12094-12106.
- 15) Steiner, H., Hultmark, D., Engstrom, A., Bennich, H., Boman, H.G. (1981) Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature* 292: 246-248.
- 16) Wade D., Silveira A., Rollins-Smith L., Bergman T., Silberring J., Lankinen H. (2001) Hematological and antifungal properties of temporin A and a cecropin A-temporin A hybrid. *Acta Biochim. Pol.* 48, 1185-1189.
- 17) Zasloff, M. (1987) Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 5449-5453.



## 1-3 세부과제

### 요 약 문

#### I. 제 목

기능성 쌀음료 개발 및 상품화 연구

#### II. 연구개발의 목적 및 필요성

본 과제의 목적은 전통 동치미 제조공정을 현대화하여 떡류 등 쌀 가공식품에 적합한 기능성 동치미 쌀음료 신제품을 개발하고 상품화하기 위함임. 우리의 쌀음료는 폭발적인 수요를 창출한 식혜, 미수가루, 승농 등을 제외하고도 아직 미발굴된 음료들이 많음. 지금까지 전통음료가 다양하게 산업화되지 못한 이유는 탐색, 발굴 및 선발 작업이 매우 미흡했으며, 전통적인 소재와 제법에 구애되어 소비자의 다양한 기호를 충족시킬 수 있도록 기호를 현대화하지 못함. 전통 음료중 동치미는 예로부터 감기와 소화에 좋고, 치아 건강과 숙취해소에도 도움을 준다고 알려져 오고 있음. 또한 다량 함유되어 있는 유허아미노산이 하이드록시라디칼에 손상된 세포 복구에 효과를 나타내며 노화억제를 유발하며, 떡류와 쌀로 만든 식품과 매우 잘 어울리는 식품으로 평가됨. 따라서 전통 음료인 동치미를 재현하여 기능성과 기호성이 높은 음료 제품으로 개발하여 현대적 생산공정으로 산업화하여 쌀소비 촉진에 기여할 필요성이 있음.

#### III. 연구개발 내용 및 범위

- 동치미 흑미 쌀음료 개발을 위한 전처리 기술 개발
- 떡류 소비에 적합한 기능성 쌀음료 제조공정 확립 및 최적 배합비 완성
- 기능성 쌀음료 제품 고급화, 다양화 및 산업화

#### IV. 연구개발결과

1. 동치미 제조 공정 조건과 동치미 음료 개발을 위한 최적의 조건을 확인한 결과, 염도는 0.8%로, 당류로는 설탕 첨가구가 신화당 첨가구 동치미보다 기호성이 우수하게 나타남. 전처리 공정에 따른 최적 조건 확인 결과, 상온숙성이 유리할 것으로 판단되었으며 살균조건은 95~100℃에서 15분 실시한 처리구가 품질변화가 가장 적은 것으로 나타남.
2. 동치미 음료 시제품 개발을 위한 lab scale의 병 타입 1차 시제품 5종(동치미, 레몬그라스 동치미, 페퍼민트 동치미, 레드비트 동치미, 흑미 동치미)을 개발하였으며, 떡과 함께 관능특성을 비교한 결과를 토대로 scale-up하여 현장 생산을 위한 고속 연속식여과(11,000 rpm)

및 살균조건(충진 전 100℃/10 min)을 확립하였음.

3. 시제품 평가 및 개선을 통하여 개발한 최종 시제품 동치미 음료 3종(파인애플 동치미水, 흑미 동치미水, 오미자 동치미水)을 생산하였으며, 마시면서 동시에 씹을 수 있는 젤리 고형분을 첨가하여 기호성을 향상시켰음. 동치미 음료 최종 시제품의 규격은 폴리프로필렌 재질의 컵 용기(상면지름:높이:하면지름=80×60×40 mm, 100 mL)로 뚜껑을 벗겨내 음용하기 용이한 형태임.

#### V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 국내 학회의 학술발표회에 4편의 포스터를 발표하고, 식품기술지에 동치미의 연구동향 및 산업적 이용 1편의 논문을 게재하여 쌀음료 관련 분야에서 연구 개발 또는 제품 생산시에 활용할 수 있도록 기여하였음.
2. 본 과제외 동치미 쌀음료 개발 기술은 레몬그라스 추출물을 함유한 동치미 음료 및 이의제조방법(출원번호 10-2012-0092275), 레드비트를 이용한 동치미 음료 및 이의 제조방법(출원번호 10-2012-0080046)과 파인애플 동치미 음료의 제조방법 및 이에 따라 제조된 파인애플 동치미 음료(출원번호 10-2013-0097636), 가공된 무를 함유하는 동치미 음료의 제조방법 및 이에 따라 제조된 동치미 음료(출원번호 10-2013-0104919)로 4건 특허출원 하였으며, 이 중 레드비트를 이용한 동치미 음료 및 이의 제조방법(제 10-1381587호), 레몬그라스 추출물을 함유한 동치미 음료 및 이의 제조방법(제 10-1384566호) 2건이 현재까지 등록되었음.
3. 본 연구과제 수행으로 전통 동치미의 발효속도를 줄이고 보존성을 향상시킨 간편 음료 개발 기술에 대하여 연합뉴스, 뉴시스, 이데일리, 아주경제 등에 9건의 홍보자료가 보도되었음. 또한, 일산 KINTEX에서 11/27~11/29 개최되는 2015 농업생명대전에 신기술 개발제품으로 전시되어 홍보함.

# SUMMARY

## I. Title

Research of development and commercialization of functional rice beverages

## II. Purpose and need for research and development

The purpose of this project is to develop and to commercialize functional Dongchimi rice beverage by modernizing the traditional Dongchimi manufacturing process suitable for rice processed food such as rice cake. Our rice beverages have created explosive demand like Sikhye, Misugaru, Sungnyung etc., even still there are many undiscovered rice beverages. So far, the reason that traditional beverages could not diversely industrialize is very poor for investigation, excavation and selection, and is not to modernize for satisfaction by a variety of consumer preferences due to stick to traditional materials and production method. Dongchimi among traditional beverages is well known from old times that it is helpful for cold, digestion, tooth health and hangover cure. And the sulfur amino acids contained in large amount of Dongchimi have the effect on the repair of damaged cell by hydroxy radical, induce anti-aging, and is evaluated as good match food with rice foods such as rice cake. Therefore, it is necessary to contribute to the consumption promotion of rice by industrialization in the modern production process with development of high functionality and taste as beverage product by reproducing traditional beverage Dongchimi.

## III. Content and scope of the research and development

- Development of pre-processing technology for the development of Dongchimi black rice beverages
- Establishing the manufacturing processing and functional rice beverage optimum mixing ratio suitable for consumption of rice cakes
- Gentrification, diversification and industrialization of functional rice beverage products

## IV. Results of research and development

1. The results of determination in Dongchimi manufacturing process conditions and optimum conditions, it is 0.8% in salinity and better cane sugar than invert sugar in palatability. The results of determination in optimum conditions of pre-processing, room temperature aging is advantageous and 95~100°C for 15 min in sterilization conditions showed the least change quality.
2. Bottle type primary prototype 5 goods (Dongchi-mi, lemon grass Dongchi-mi, peppermint Dongchi-mi, red bit Dongchi-mi, black rice Dongchi-mi) were developed for Dongchimi

beverage prototype, and high-speed continuous filtration (11,000 rpm) and the sterilization conditions (filled before 100 °C / 10 min) for the field production by scale-up based on the result of sensory evaluation served with rice cakes were established.

3. By evaluating and improving prototype, final prototype Dongchimi 3 goods (pineapple Dongchimi-su, black rice Dongchimi-su, Omija Dongchimi-su) were produced, and we improved palatability by adding jelly solids that can be biting at the same time during drinking it. The specification of final Dongchimi beverage prototype is easy form to remove the cap and drink it as polypropylene cup container (top diameter : height : bottom diameter=80×60×40 mm, 100 mL).

#### V. Research results and achievements utilization plan

1. It is contributed to be use in rice beverage related fields for the research and development and the product production by representing 4 posters in domestic conference and by publishing 1 paper in Food technology as Dongchimi research trends and industrial use.
2. The developed technology of this project, there were 4 of patent application, Dongchimi beverages and manufacturing method containing lemongrass extract (application number 10-2012-0092275), Dongchimi beverage and manufacturing method using the Red-bit (application number 10-2012 - 0080046), pineapple Dongchimi beverage manufacturing methods and pineapple Dongchimi beverage produced by this method (application number 10-2013-0097636), and Dongchimi beverage manufacturing method containing processed radish and Dongchimi beverage produced by this method (application number 10-2013-0104919). Among those patent application, Dongchimi beverage manufacturing method containing processed radish and Dongchimi beverage produced by this method was registered.
3. 9 publicity materials such as Yeonhap news, Newsis, Edaily etc. were reported about the development technology of simple drinking with decreasing fermentation rate and improving storage stability of traditional Dongchimi by this project task performance.

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절 연구개발의 목적

전통 동치미 제조공정을 현대화하여 떡류 등 쌀 가공식품에 적합한 기능성 동치미 쌀음료 신제품을 개발하고 상품화하고자 함.

## 2절 연구개발의 필요성

최근 식생활에서 쌀을 이용하여 밥류 뿐만 아니라 한과, 면류 및 주류로 기호식품으로 소비하는 경향이 증가하고 있고 고령화 시대 및 핵가족화 추세에 발맞추어 쌀의 소비형태도 변화되고 있음. 세계 식품시장 트렌드는 고지방, 고칼로리에서 저지방, 저칼로리 식이로 변하고 있으며, 다이어트, 고혈압, 당뇨병 등의 생활습관병 예방에 효능이 지속적으로 보고되고 있는 아시아 식품이 최근에 건강식품으로 주목받고 있음. 쌀 가공식품 소비 방향의 대전환이 시급히 요구되며 대량 소비방안으로 새로운 쌀 수요 창출로 쌀 가공제품 및 이에 대한 신제품의 개발이 절실함. 쌀 가공식품의 발전 동향을 보면 국제화 시대에 맞는 경쟁력 강화제품과 다양화에 대한 요구가 급격히 높아지고 있는데 쌀 가공제품 중 음료에 대한 체계적인 기초조사가 매우 시급함. 따라서 전통음료를 발굴하여 전통의 제조방법에 따라 재현해보고 관능검사를 통하여 현대인의 기호에 적합하도록 원부재료와 향미를 조정한 제품의 배합비를 확립해야 함. 우리의 쌀음료는 폭발적인 수요를 창출한 식혜, 미수가루, 송농 등을 제외하고도 아직 미발굴된 음료들이 많음. 지금까지 전통음료가 다양하게 산업화되지 못한 이유는 탐색, 발굴 및 선별 작업이 매우 미흡했으며, 전통적인 소재와 제법에 구애되어 소비자의 다양한 기호를 충족시킬 수 있도록 기호를 현대화하지 못함. 전통 음료중 동치미는 예로부터 감기와 소화에 좋고, 치아 건강과 숙취해소에도 도움을 준다고 알려져 오고 있음. 또한 다량 함유되어 있는 유허아미노산이 하이드록시라디칼에 손상된 세포 복구에 효과를 나타내며 노화억제를 유발하며, 떡류와 쌀로 만든 식품과 매우 잘 어울리는 식품으로 평가됨. 따라서 전통 음료인 동치미를 재현하여 기능성과 기호성이 높은 음료 제품으로 개발하여 현대적 생산공정으로 산업화하여 쌀소비 촉진에 기여할 필요성이 있음.

## 3절 연구개발의 범위

- 동치미 흑미 쌀음료 개발을 위한 전처리 기술 개발
  - 국내외 기능성음료 동향 분석
  - 주부원료의 선별 및 원료 특성 분석
  - 흑미 안토시안 추출 및 pH 안정성
  - 전처리 공정별 최적 조건 확립
  
- 떡류 소비에 적합한 기능성 쌀음료 제조공정 확립 및 최적 배합비 완성
  - 주원료의 추출, 살균 등 제조공정별 특성
  - 동치미 음료 최적 제조공정 확립
  - 기능성 동치미 쌀음료 시제품 개발

- 개발제품 품질 및 관능특성
  - 기능성 쌀음료 제품 고급화, 다양화 및 산업화
- 타겟층 쌀음료 신제품 개발 컨셉 도출
- 기호성 증진 및 영양성분 강화
- 시제품 생산 및 소비자 기호도 평가
- 시제품의 개선 및 품질특성
- 산업화 공정 설정 및 제품규격 확립

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1절 기술개발현황

#### 1. 국내·외 기술개발 현황

- 컬러동치미 제조를 위한 홍갓, 맨드라미, 비트에 함유된 안토사이안 색소의 최적 추출 조건 (1)에서 최적 추출용매 및 추출방법을 확립하여 컬러동치미 제조 가공적성을 확인한 결과, 홍갓이 적색색소원 중 동치미 부재료로 사용하기에 가장 안정된 재료로 사료되었으며, 비트는 단시간에 쉽게 용출되며, 추출 시간을 증가시켜도 색소 추출량이 유의적인 증가를 보이지 않아 동치미에 활용하기 적합한 부재료임을 확인하였음.
- 자색고구마를 이용하여 기호성, 영양과 함께 수용성 phenolics와 anthocyanins와 관련된 항산화활성이 높은 기능성 냉면육수 개발 연구(2)에 관하여 발표하였음.
- 천일염을 이용한 전통음료의 개발을 목적으로 천일염을 사용한 김치를 이용한 김치 음료제품 개발에 관한 연구(3)를 발표하였음. 음료의 관능특성은 동치미, 백김치, 배추김치 음료 순으로 기호도가 높은 것으로 평가되었으며, 상온에서 저장 시간의 경과에 따라 배추김치음료의 관능평점이 저하하는 것으로 나타남.
- 동치미의 제조에 일반적으로 사용하는 4종의 부재료(마늘, 고추, 생강, 파) 중 한 종류의 부재료를 제외하고 만든 동치미와 한 종류의 부재료만을 첨가하여 제조한 동치미 시료의 발효 중 이화학적 품질 및 관능특성을 평가하여 동치미의 기본적인 맛 특성을 유지하도록 하는 부재료를 확인하여 동치미의 발효관리 및 가공에 활용하기 위한 연구(4)가 발표되었음.
- 동치미에 대하여 현재까지 발표된 주요 연구 및 기술개발 내용은 부재료(유자, 자소자, 자일리톨, 청각채 등)의 첨가에 따른 동치미의 품질특성에 관한 연구(5-8)와 맛 성분에 관한 연구(9), 발효조건에 따른 동치미의 성분변화(10), 소금농도에 관한 연구(11), 저장성 향상을 위한 살균 및 냉장 시스템에 관한 연구(12) 등이 발표되었음.

### 2절 연구결과가 국내외 기술개발현황에 차지하는 위치

동치미에 대한 연구는 배추김치에 비하여 많이 이루어져 있지 않지만 최근 동치미에 관한 연구 관심이 높아지고 있음. 또한, 동치미와 같은 전통 발효식품의 생체 조절기능에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있는데 동치미는 무의 섬유질이 변비를 예방해 주며 diastase는 탄수화물을 가수분해하는 소화효소로 밥이나 떡을 먹을 때 곁들이면 소화를 촉진시켜 주는 역할을 함. 본 연구과제를 통하여 동치미와 같은 전통식품을 현대인의 기호에 맞추어 상품화하기 위하여, 동치미 가공시 문제가 되는 담금조건과 보존성을 증대시키기 위한 방안을 수립하여 대량생산이 가능케 한다면, 건강지향적 의미가 제품에 포함되어 동치미의 음료화를 통한 산업화에 기여할 수 있을 것으로 생각됨.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 1. 동치미 흑미 쌀음료 개발을 위한 전처리 기술 개발

#### 가. 국내·외 기능성 음료 동향 분석

##### (1) 국내 기능성 음료 동향

- 최근 소비자들은 건강을 생각하는 웰빙 트렌드에 힘입어 기호 식품으로 즐기는 음료를 선택할 때에도 탄산음료 보다는 건강음료를 구매하는 경향을 보이고 있음. 건강음료 시장은 2000년대 중반, 차 음료 시장을 기점으로 활성화되기 시작하였고 녹차음료가 주를 이루던 경향에서 벗어나 콩, 현미, 보리, 옥수수 등의 천연곡물차로 소재와 기능이 다양화되면서 확대되고 있음. 기능성을 강화한 음료로는 변비 예방을 위한 식이섬유 음료, 체중조절을 위한 다이어트 음료, 수분과 전해질 공급을 위한 이온 음료, 피부미용 및 노화방지를 위한 콜라겐 음료 등이 시판되고 있음. 이 외에도 다양한 식품 소재를 발굴하여 소비자들의 요구에 부응하는 기능성 음료를 개발하려는 연구가 학계와 산업계를 중심으로 활발히 진행되고 있음. 또한, 우리나라의 전통음료를 현대인의 기호에 맞추어 상품화한 음료는 두유를 비롯하여 식혜, 수정과, 대추, 곡류 음료, 우유 음료 등을 들 수 있으며 한국인의 취향에 맞는 새로운 기능성 음료들이 개발되고 고유의 기능성을 이용한 기능성 건강음료의 개발이 진행되어 왔음. 전통소재 우리 음료인 식혜와 대추음료는 한때 선풍을 일으켜 건강음료로 되었으며, 쌀음료를 비롯한 곡류음료들은 건강지향적 의미가 제품에 반영되어 건강을 지켜주고 삶의 질을 높여주는 건강음료로 인식되고 있음.

표 1. 국내 음료 시장 현황

(단위 : 억원, %)

분류	2004		2005		2006		2007		2008	
	매출액	성장률	매출액	성장률	매출액	성장률	매출액	성장률	매출액	성장률
두유	2,330	-5.3	2,300	-1.3	1,230	10	-	-	-	-
스포츠음료	2,100	4.5	1,900	-9.5	900	-16	2,150	9	2,300	7
니어워터	1,400	8.5	950	-32.1	360	-30	630	-15	420	-33.3
전통음료	780	-13.3	734	-5.9	200	-9	490	7	590	20.4
커피음료	3,180	3.6	3,100	-2.5	1,230	-5	3,360	20	4,060	20.8
생수	3,020	19.4	3,200	6.0	1,700	9	3,800	5	4,400	15.8
차음료	760	7.0	1,000	31.6	720	70	2,150	32	1,640	23.7
기능성음료	1,000	14.0	1,300	30	500	-17	900	-15	750	-16.7
곡류음료	-	-	-	-	-	-	-	-	140	10
합계	15,190	5.6	14,734	-3.0	6,900	-	16,500	11	16,900	2.4

자료 : 음료 시장 동향, 식품세계, 2009

- 2007년 900억원을 기록한 이후 2008년 750억원, 2009년 650억원 등의 흐름을 이어온 기능성 음료 시장(표 1)은 최근 다시 증가추세에 이르고 있음. 고객의 수요 증가로 인하여 기능성 음료가 전문화, 세분화되고 있는 것이 기능성 음료 시장의 성장을 견인하는 것으로 보고 있음.
- 한국야쿠르트는 최근 촉촉한 피부를 위한 미용음료 '콜라겐화이트'를 출시했으며, 이 제품은



200ml 한 병에 액상 피쉬콜라겐과 식이섬유가 각각 4,000mg, 1,600mg씩 들어가 있음. 기존 콜라겐을 함유한 음료 제품은 주로 고가의 소용량 형태로 화장품 회사들이 선보여 왔는데, 그 틈새를 음료 시장이 공략한다는 전략임.

- 롯데칠성음료는 에너지음료 '핫식스'를 최근 새롭게 리뉴얼해 내놓았음. 신제품은 타우린과 과라나추출물 함유량을 높이고 디자인을 바꿨으며, 홍삼과 가시오가피 등을 첨가해 다른 에너지음료와 차별화했음. 대학생이나 직장인들이 공부나 야근, 운전 시 집중력이 필요하거나 졸음을 쫓을 때, 체력이 부족할 때 마시는 음료로 적합한 제품임.

- 탄산수에 과즙을 넣은 스파클링 워터 '디톡(d-toc)'도 출시되었음. 동원F&B가 출시한 이 제품은 해독 작용과 피부 미용에 효과가 있는 것으로 알려진 레몬과 자몽의 비타민C와 미네랄 등이 들어가 있음. 상쾌한 탄산 맛을 제로칼로리로 즐길 수 있어 젊은 여성 층에게 인기를 끌고 있음.

## (2) 해외 기능성 음료 동향

### (가) 미국

- 장기적인 경기 불황과 웰빙에 따른 건강관심 증대로 인한 미국 소비자들의 음료에 대한 소비 성향이 점차 변하고 있음. 이는 단순히 탄산음료의 소비가 줄고 과일주스 등의 건강 음료의 수요가 증가하는 식의 단순 변화가 아닌 식생활 전반에 걸친 새로운 변화라고 볼 수 있음. 특히 기능성 식품에 대한 인식이 높아지면서 비타민, 미네랄 및 각종 영양보충제등이 포함된 기능성 음료시장이 강화되고 있음. 이러한 기능성 음료 시장에는 기능성 성분, 생화학 성분 가미 생수, 에너지 드링크, 차음료 등이 포함될 수 있으며 매년 15~30% 성장률을 보이고 있음. 한편, 전문 리서치 업체인 Zenith에 따르면 2015년 까지 미국 기능성 음료시장은 전체 음료 소비의 25%까지 성장할 것으로 예측하며, 연간 일인당 8리터 정도를 소비할 것이라고 예상하였음.

- 이와 같은 추세를 반영해 대형업체들은 기능성 음료에 대한 투자를 늘리고 있으며, 마케팅 홍보비를 증액하는 등 젊은 소비층을 잡기위해 노력하고 있음. 코카콜라의 경우 Glaceau's vitaminwater, Fuze, Zico 등과 같은 기능성 음료가 인기를 끌고 있으며, 펩시의 경우, Izze Natural Soda, Naked Juice, Amacoco 등의 기존의 음료에 기능성 성분이 포함된 제품을 출시하고 있음. 그 밖에 Arizona, Hansen, Ocean Spray, Nestle, Cott 업체 등이 특화된 기능성 음료를 가지고 소비자들을 잡기위해 노력 중에 있음.

- 판매량을 살펴보면 여성 소비자 비중이 75% 이상으로 나타났으며, 남성의 경우 근육운동 전 후에 복용 가능한 농축 프로테인 성분이 들어간 음료가 인기를 끌고 있음.

### (나) 일본

- 기능성 음료는 2001년까지는 산토리사의 'DAKARA'가 시장에서 독주했으며, 2002년엔 기린 비버리지사의 '아미노사푸리'가 출시되어 인기를 끌었음. 이처럼 아미노산 음료가 각광을 받자 산토리사가 같은 아미노산 음료인 '아미노식'을 시장에 출시하였음. 그 결과 일본 기능성 음료 시장은 기린비버리지사의 '아미노사푸리'와 산토리사의 '아미노식'이 대두되면서, 아미노산 음

료가 기능성 음료의 상징이 되었음.

- 칼피스사는 '아미노칼피스', 아사히음료는 구연산과 아미노산을 사용한 '차지', 포카사가 '아미노산 & 구연산 다이어트 워터'를 출시하였음.

- 기능성 음료는 스포츠 음료와 함께 2ℓ 페트병 제품이 주목받을 것으로 예상되고 있으며, 동시에 스포츠 음료와의 경계선도 허물어질 것으로 기대되고 있음. 다만 막연하게 몸에 이롭다는 차원이 아니라 영양 보급이나 노폐물 제거 등 특정한 기능성을 살린 상품이 개발되고 이들이 각광받게 될 것으로 예상되고 있음.

(다) 홍콩





- 홍콩 기능성 음료 시장은 주로 스포츠음료와 에너지드링크로 구성됨. 기능성 음료 연간 판매량은 2008년 기준으로 5억7190만 홍콩달러 정도로 스포츠음료가 2억5100만 홍콩달러, 에너지드링크가 3억2090만 홍콩달러를 차지함. 2003~2008년 기능성 음료시장은 66%의 높은 성장률을 보였으며, 이러한 성장은 홍콩인들의 체육활동 증가와 직장인 근무부담(업무량, 근무시간)으로 인한 피로회복 음료 수요증가에서 주로 기인함. 또한 기업들의 편의점을 활용한 적극적인 마케팅활동이 판매고를 올린 주요인으로 작용함.

- 기능성 음료는 탄산류 보다 무탄산류가 인기임. 기능성 음료는 슈퍼마켓·편의점에서 판매되며, 식당·호텔과 같은 업소에서는 판매되지 않음. 그러나 일부 음료는 칵테일 형태로 판매됨.

- 편의점에서 판매되는 기능성 음료에는 카페인 다량 함유의 에너지드링크 외에 비타민, 식이섬유, 아미노산을 함유한 제품 등이 있음. PaoLiTa의 Man Meu는 비타민B, 타우린을 함유한 자양강장음료임. 미국에서도 판매 중인 SHARK(태국산)는 최근 홍콩에서도 판매되면서 '천연 카페인'임을 강조함. 그 외 Ajinomoto사(일본)의 Amino Gear는 '한국인삼 함유'를 강조해 품질에 대한 인식향상을 유도함.

표 2. 국내·외 기능성 음료 제품 현황

제품명	콜라겐화이트	핫식스	디톡	미숫가루 (곡물음료)
제조원/원산지	한국야쿠르트/한국	롯데칠성음료/한국	동원F&B/한국	롯데칠성음료/한국
사진				

제품명	Man Meu	SHARK Energy Drink	DAKARA	Glaceau's vitaminwater
제조원/원산지	Pao Li Ta/홍콩	SHARK/홍콩	산토리사/일본	Coca-Cola/미국
사진				

#### 나. 시중판매 동치미의 품질특성

동치미 쌀음료 개발을 위한 기초 자료로 활용하기 위하여 시중에서 판매 중인 동치미의 품질특성을 측정하여 비교하였음.

##### (1) 재료

시료는 시중에서 판매중인 해남화원과 (주)한성식품, (주)대상FNF 중가집의 동치미와 일반 외식업체의 동치미를 구매하여 사용하였음. 해남화원의 동치미는 제조 2일 후에 배송되었으며, 대상FNF 중가집 동치미는 제조 22일 후에 배송된 동치미를 사용하였음. 시중판매 및 외식업체 동치미 시료 약어는 표 3에 나타내었음.

표 3. 시중판매 및 외식업체 동치미 시료 약어

약어	제품명	원재료명	구입처	비고
HW	해남화원 동치미	-	해남화원농협	
HS	동치미	무, 파, 고추, 소금 등	(주)한성식품	시중판매
JG	중가집 동치미	무, 갓, 쪽파, 배, 정제소금, 생강, 마늘 등	(주)대상FNF	
MN	동치미	-	무안낙지	외식업체

##### (2) 방법

동치미 쌀음료 개발을 위한 동치미의 탁도는 동치미 국물의 원액을 spectrophotometer(Model V-650, Jasco)를 사용하여 파장 558 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며, pH는 동치미 국물을 잘 흔들어 국물 10 mL씩 취하여 측정하였으며, 실온에서 pH meter(Model 520A, Orion Research INC., USA)로 측정하였음. 염도는 염도측정기(기미상공, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 당도는 굴절당도계(Model WM-7, ATAGO Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 비중은 비중계(대광, Korea)를 이용하여 측정하였으며, 산도는 동치미 국물 10 mL을 취하여 0.1 N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 젯산 함량으로 환산하였음. 동치미의 관능특성은 동치미 고형분을 뺀 동치미액을 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며 평가항목은 색, 현탁도, 신냄새, 탄산미, 신맛, 짠맛, 단맛의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적기호도에 관하여 평가하였음. 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여 유의성 검정을 시행하였음.

(3) 결과 및 고찰

(가) 이화학적 특성

시중판매 및 외식업체 동치미의 이화학적 특성은 표 4에 나타내었음. 모든 동치미의 탁도는 0.77~1.11의 범위로 나타났으며, pH는 4.62~4.87의 범위로 나타났음. 염도는 1.30~1.40%로 나타났으며, 비중은 1.014~1.020 범위로 나타났음. 당도는 MN 동치미가 2.80 °Brix로 다른 동치미에 비해 가장 낮게 나타났으며, HS 동치미는 3.50 °Brix로 가장 높은 당도를 나타내었음. 산도는 HW 동치미가 0.52%로 가장 높게 나타났음.

표 4. 시중판매 및 외식업체 동치미의 이화학적 특성

시료 <sup>1)</sup>	탁도	pH	염도(%)	당도(°Brix)	비중	산도(%)
HW	0.95±0.00	4.62±0.01	1.30	3.00	1.016	0.52
HS	1.11±0.01	4.87±0.01	1.30	3.50	1.018	0.42
JG	0.94±0.01	4.71±0.01	1.30	3.00	1.020	0.41
MN	0.77±0.01	4.75±0.00	1.40	2.80	1.014	0.28

<sup>1)</sup> 표 3 약어 참조

(나) 관능특성

– 시중판매 동치미의 관능특성은 표 5에 나타내었음. 강도에서 신냄새는 HW 동치미가 5.86으로 나타나 다른 동치미에 비해 높게 나타났으며, 신맛은 6.43으로 가장 높게 나타나 산도 측정 결과와 일치하는 것으로 나타남. 짠맛은 JG 동치미가 6.29로 나타나 HW, HS 동치미(5.86점)보다 높게 나타났음. 기호도에서 맛과 전반적기호도는 HW 동치미와 HS 동치미가 보통(5점) 이상을 나타내어 JG 동치미 보다 기호성이 우수한 것으로 나타남.



그림 1. 시중판매 및 외식업체 동치미의 외관(HW, JG).

표 5. 시중판매 동치미의 관능특성

시료 <sup>1)</sup>	강도							기호도			
	색	현탁도	신냄새	탄산미	신맛	짠맛	단맛	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
HW	4.29 ±1.25 <sup>a2)</sup>	5.00 ±0.82 <sup>a</sup>	5.86 ±0.90 <sup>a</sup>	4.57 ±1.13 <sup>a</sup>	6.43 ±0.53 <sup>a</sup>	5.86 ±0.69 <sup>a</sup>	4.29 ±1.11 <sup>a</sup>	5.86 ±0.69 <sup>a</sup>	5.71 ±1.25 <sup>a</sup>	5.14 ±1.21 <sup>a</sup>	5.57 ±0.79 <sup>a</sup>
HS	4.43 ±0.98 <sup>a</sup>	5.43 ±0.79 <sup>a</sup>	4.43 ±0.98 <sup>b</sup>	4.29 ±1.60 <sup>a</sup>	5.57 ±1.27 <sup>a</sup>	5.86 ±1.07 <sup>a</sup>	4.43 ±1.27 <sup>a</sup>	6.00 ±0.82 <sup>a</sup>	5.29 ±1.25 <sup>a</sup>	5.29 ±1.38 <sup>a</sup>	5.29 ±1.11 <sup>a</sup>
JG	4.71 ±1.11 <sup>a</sup>	5.29 ±1.50 <sup>a</sup>	4.57 ±1.27 <sup>b</sup>	4.86 ±1.95 <sup>a</sup>	5.86 ±1.57 <sup>a</sup>	6.29 ±0.76 <sup>a</sup>	3.71 ±1.80 <sup>a</sup>	6.14 ±0.69 <sup>a</sup>	3.57 ±1.13 <sup>b</sup>	3.71 ±0.95 <sup>b</sup>	4.00 ±1.00 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> 표 3약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

- 시중판매 및 외식업체 동치미의 이화학적 및 관능특성 측정결과, 동치미의 pH는 4.62~4.87의 범위를 나타내어 5이하인 것을 확인하였으며, 당도는 3.00 °Brix를 초과하면 단맛의 강도가 약간 강하게 느껴지는 것으로 나타나 3.00 °Brix 이하로 제조하여야 할 것으로 사료되었음. 또한 시중판매 동치미의 모든 시료에서 짠맛의 강도가 보통(5점) 이상을 나타내어 동치미 음료 제조 시 염도를 1.30% 아래로 조정하여야 할 것으로 판단됨.

다. 주·부 원료의 선별 및 원료 특성 분석

(1) 재료

알타리무와 무는 서울 경동시장에서 구입한 것으로 강원도산 재래종 무이며, 레드비트, 잣, 양파, 쪽파, 배, 생강, 마늘, 절인고추도 같이 구입하여 사용하였음. 천일염은 청정원, 설탕은 백설의 백설탕, 신진식품의 신화당을 사용하였음. 흑미는 2011년 진도산을 사용하였음.

(2) 방법

(가) 동치미 제조

동치미 쌀음료 개발을 위한 동치미의 전처리 품질특성을 측정하기 위해 동치미의 일반적인 제조 공정(그림 2, 3)을 이용하여 동치미를 제조하였음. 즉 주원료인 알타리무는 깨끗이 씻은 후 물기를 빼고 다듬은 후 소금물(20% w/v)에 2시간 상온에서 침지하여 절인 후 탈수하였음. 부재료인 양파와 배, 생강, 마늘, 절인고추 등은 다듬은 후 첨가하였음. 쪽파는 깨끗이 씻은 후 다듬어 소금물에 30분간 절인 후 사용하였음. 준비된 재료에 천일염과 설탕, 물을 혼합하여 제조한 동치미 국물을 첨가한 후, 25~28℃에서 12~24 시간 숙성하여 동치미를 완성하였음. 절인 알타리무와 부재료는 표 6과 같은 비율로 첨가하였으며, 동치미의 최종 염도는 0.8~0.9%가 되도록 하였음.

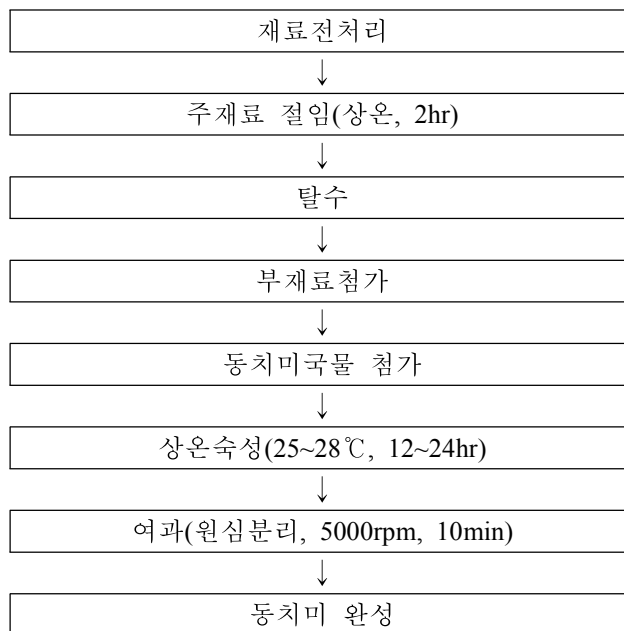


그림 2. 동치미 제조공정.



표 6. 동치미의 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량
Con	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추

(나) 품질특성 측정

동치미 쌀음료 개발을 위한 동치미의 탁도는 동치미 국물의 원액을 spectrophotometer(Model V-650, Jasco)를 사용하여 파장 558 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며, pH는 동치미 국물을 잘 흔들어 국물 10 mL씩 취하여 측정하였으며, 실온에서 pH meter(Model 520A, Orion Research INC., USA)로 측정하였음. 염도는 염도측정기(기미상궁, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 당도는 굴절당도계(Model WM-7, ATAGO Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 비중은 비중계(대광, Korea)를 이용하여 측정하였으며, 산도는 동치미 국물 10 mL을 취하여 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 젖산 함량으로 환산하였음. 저장된 동치미의 관능적 품질 평가는, 시료의 이취와 성상에 대한 강도와 외관과 색의 기호도로 평가하였음. 평가방법은 5점 척도법으로 평가하였고, 1점은 아주 나쁘다, 3점은 보통이다, 5점은 아주 좋다고 평가하였음. 동치미의 관능특성은 동치미 고형분을 뺀 동치미액을 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며 평가항목은 색, 현탁도, 신냄새, 탄산미, 신맛, 짠맛, 단맛의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적기호도에 관하여 평가하였음. 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여 유의성 검정을 시행하였음.

(3) 결과 및 고찰

(가) 염도에 따른 동치미의 품질특성

염도에 따른 동치미 시료 약어는 표 7에 나타내었음.

표 7. 염도에 따른 동치미 시료 약어

시료	원재료 및 함량	최종 염도(%)
0.5	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	0.5
0.8	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	0.8
1.4	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	1.4

① 탁도

염도에 따른 동치미의 탁도는 그림 4에 나타내었음. 탁도는 담금 초기 0.40~0.43의 범위를 나타냈으며, 발효숙성 3일까지 1.20~1.41로 증가하다가 이후 일정한 값을 유지하였음. 1.4% 염도 동치미는 다른 처리구에 비해 탁도가 가장 낮은 것으로 나타났으며, 모든 처리구에서 발효가 진행됨에 따라 발효초기 탁도가 증가하는 것을 확인할 수 있었음.

그림 4. 염도에 따른 동치미의 탁도.

② pH

염도에 따른 동치미의 pH 변화는 그림 5에 나타내었음. pH는 담금 초기 6.27~6.40의 범위를 나타내었으며, 발효숙성 초기 pH가 급격히 감소하면서 발효숙성 2일 이후 4.71~5.02의 일정한 값을 유지하였으며, 염도에 따른 영향은 나타나지 않았음.

그림 5. 염도에 따른 동치미의 pH.

③ 관능특성

염도에 따른 동치미의 관능특성은 표 8, 그림 6에 나타내었음. 강도에서 탄산미는 염도가 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타났으며, 짠맛은 증가하였음. 기호도에서 맛과 전반적기호도는 0.8% 염도 동치미가 각각 6.60으로 가장 높게 나타났으며, 1.4% 염도 동치미는 보통(5점) 이하의 수준으로 나타났음.

표 8. 염도에 따른 동치미의 관능특성

시료 <sup>1)</sup>	강도							기호도			
	색	현탁도	신냄새	탄산미	신맛	짠맛	단맛	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
0.5	4.20±0.84 <sup>a1)</sup>	4.80±0.84 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	6.00±0.71 <sup>a</sup>	5.80±0.45 <sup>a</sup>	4.80±0.84 <sup>b</sup>	2.20±0.45 <sup>a</sup>	4.80±0.45 <sup>a</sup>	6.00±0.71 <sup>ab</sup>	5.80±0.84 <sup>a</sup>	5.80±0.84 <sup>a</sup>
0.8	4.20±0.84 <sup>a</sup>	5.60±0.55 <sup>a</sup>	5.40±0.55 <sup>a</sup>	5.20±0.45 <sup>b</sup>	5.80±0.45 <sup>a</sup>	5.40±0.55 <sup>b</sup>	2.40±0.55 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	6.60±0.55 <sup>a</sup>	6.60±0.55 <sup>a</sup>	6.60±0.55 <sup>a</sup>
1.4	5.00±0.71 <sup>a</sup>	5.40±0.55 <sup>a</sup>	5.60±0.55 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>b</sup>	6.20±0.84 <sup>a</sup>	6.60±0.55 <sup>a</sup>	2.40±0.55 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	5.40±0.55 <sup>b</sup>	4.60±0.55 <sup>b</sup>	4.60±0.89 <sup>b</sup>

1) 표 7 약어 참조

2) Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

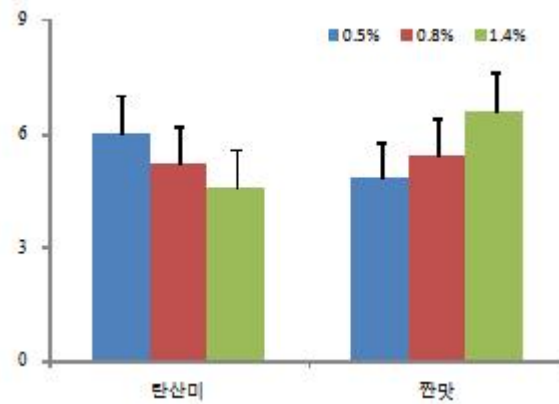


그림 6. 염도에 따른 동치미의 강도(탄산미, 짠맛).

(나) 당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 품질특성

당 종류 및 첨가량에 따른 동치미 원재료 및 함량은 표 9에 나타내었음.

표 9. 당 종류 및 첨가량에 따른 동치미 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량	비고
Con	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	설탕 46 g
고설탕	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	설탕 70 g
신화당	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	신화당 2 g

① 탁도

당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 탁도는 그림 7에 나타내었음. 탁도는 담금 초기 0.41로 나타났으며, 발효숙성이 진행되면서 1.04~1.39의 범위로 일정한 값을 유지하였음. 당을 첨가한 동치미는 다른 처리구에 비해 탁도가 가장 낮은 것으로 나타났으며, 설탕의 첨가량이 많은 동치미가 Con 동치미에 비해 발효숙성 중 탁도가 더 높게 나타나는 것을 확인하였음.

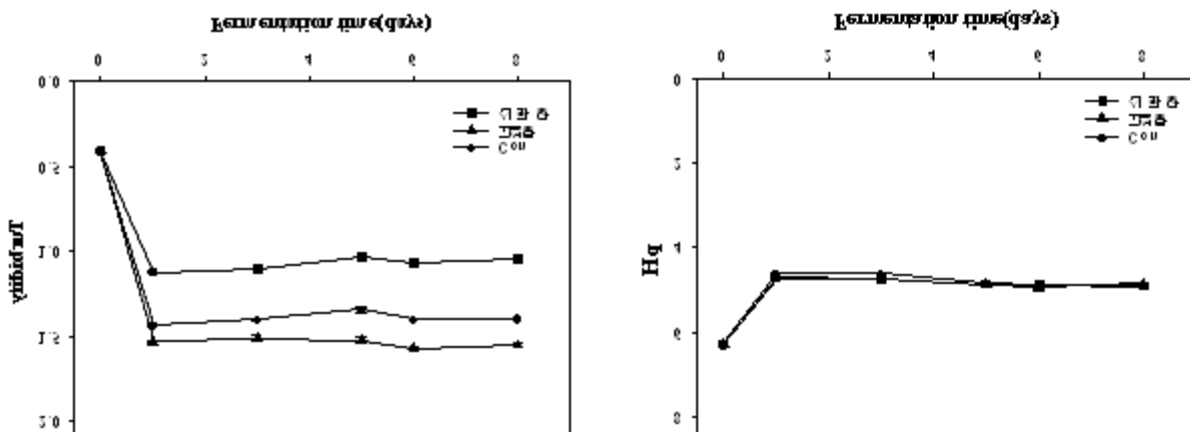


그림 7. 당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 탁도와 pH.



② pH

당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 pH는 그림 8에 나타내었음. 모든 처리구 동치미의 담금 초기 pH는 6.27~6.29의 범위로 나타났으며, 발효숙성 8일째에는 4.85~4.91로 나타났음. 당 종류 및 첨가량에 따른 영향은 나타나지 않았음.

③ 염도 및 비중

당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 염도 및 비중은 표 10에 나타내었음. 모든 처리구의 동치미의 염도는 발효숙성 8일 후 0.80으로 나타났으며, 비중은 1.012~1.018의 범위로 나타나 발효가 진행되면서 당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 염도와 비중의 차이는 나타나지 않았음.

표 10. 당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 염도 및 비중

시료 <sup>1)</sup>	Day	염도(%)	비중
Con	0	0.80	1.012
	1	0.90	1.012
	5	0.90	1.016
	8	0.80	1.018
고설탕	0	0.80	1.012
	1	0.90	1.014
	5	0.90	1.018
	8	0.80	1.018
신화당	0	0.80	1.012
	1	1.00	1.008
	5	0.90	1.012
	8	0.80	1.012

<sup>1)</sup> 표 9의 첨가량 참조

④ 당도

당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 당도는 그림 7에 나타내었음. Con 동치미는 담금 초기 2.80 °Brix로 나타났으며 담금 8일 후에는 3.93 °Brix로 나타났음. Con에 비해 설탕을 많이 첨가한 고설탕 동치미 처리구의 당도는 담금 초기 3.20 °Brix이였으며, 담금 8일 후에는 4.40 °Brix로 증가하였음. 당을 첨가한 동치미의 당도는 담금 초기 1.50 °Brix로 설탕을 첨가한 다른 처리구의 동치미에 비해 낮게 나타났으며, 담금 8일 후에는 2.43 °Brix로 가장 낮은 당도를 나타내었음.

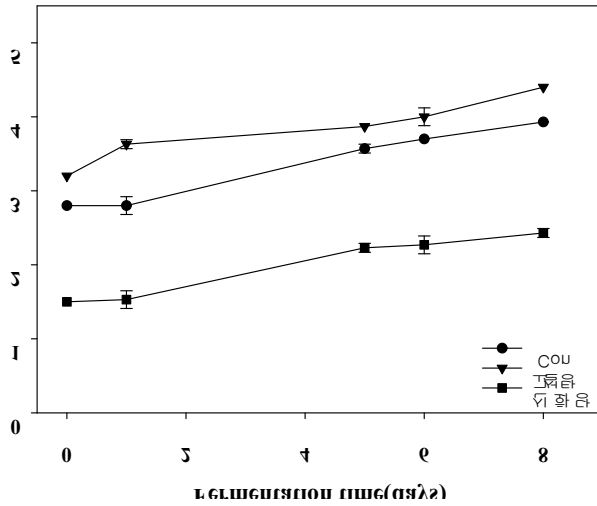


그림 8. 당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 당도.

⑤ 산도

당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 산도는 그림 9에 나타내었음. 발효숙성 1일 후 Con 동치미의 산도가 0.06%로 가장 높게 나타났으며, 단금 8일 후 0.30%로 나타나 다른 처리구의 동치미에 비해 산도가 높은 것을 확인하였음. 당을 첨가한 처리구의 동치미는 설탕을 첨가한 처리구의 동치미 보다 산도의 증가가 완만하게 나타났음. 따라서, 동치미 제조시 당을 첨가하는 것보다 설탕을 첨가하는 것이 동치미의 빠른 최적 숙기 도달을 위하여 적합할 것으로 사료됨.

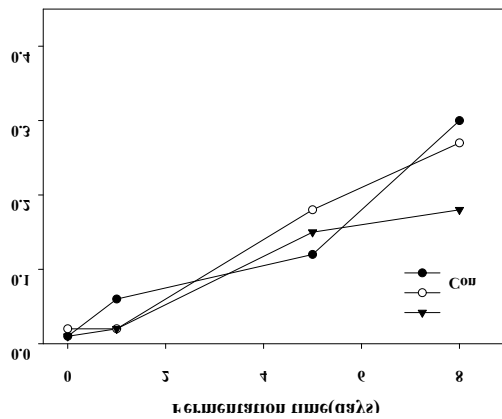


그림 9. 당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 산도.

⑥ 관능특성

당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 관능특성은 표 11에 나타내었음. 강도에서 현탁도는 당을 첨가한 동치미가 3.20으로 다른 처리구의 동치미에 비해 낮게 나타났으며, 단맛은 당을 첨가한 동치미가 6.80으로 가장 높게 나타남. 기호도에서 외관 및 색은 고설탕이 가장 낮게 나타난 반면, 맛과 전반적기호도는 고설탕 동치미가 가장 높은 값을 나타내어, 당 보다 설탕을 첨가한 처리구의 동치미의 기호성이 우수한 것으로 나타남.

표 11. 당 종류 및 첨가량에 따른 동치미의 관능특성

시료 <sup>1)</sup>	강도							기호도			
	색	현탁도	신냄새	탄산미	신맛	짠맛	단맛	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
Con	6.40±0.55 <sup>a1)</sup>	6.60±0.55 <sup>a</sup>	6.40±0.55 <sup>a</sup>	4.20±0.45 <sup>a</sup>	5.80±0.45 <sup>a</sup>	5.40±0.89 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>a</sup>	5.20±0.45 <sup>a</sup>
고설탕	7.20±0.84 <sup>a</sup>	6.20±0.84 <sup>a</sup>	6.00±0.71 <sup>b</sup>	5.40±0.89 <sup>a</sup>	5.60±0.55 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	6.40±0.55 <sup>a</sup>	4.60±0.89 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>a</sup>	5.60±0.55 <sup>a</sup>	5.80±0.45 <sup>a</sup>
신화당	3.80±0.84 <sup>a</sup>	3.20±0.45 <sup>a</sup>	4.60±0.89 <sup>b</sup>	4.40±1.14 <sup>a</sup>	4.20±0.84 <sup>a</sup>	4.20±0.45 <sup>a</sup>	6.80±0.45 <sup>a</sup>	5.40±0.55 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>b</sup>	4.00±0.71 <sup>b</sup>	4.00±0.71 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> 표 9의 첨가량 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

(다) 부재료 첨가별 동치미의 품질특성

부재료 첨가에 따른 동치미 시료의 원재료 및 함량은 표 12에 나타내었음.

표 12. 부재료 첨가별 동치미 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량
Con	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
무	무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
갓	알타리무(1.5 kg), 갓(50 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
흑미	알타리무(1.5 kg), 흑미(50 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
비트	알타리무(1.5 kg), 비트(50 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
흑미+비트	알타리무(1.5 kg), 흑미(25 g), 비트(25 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추

① 탁도

부재료 첨가에 따른 동치미의 탁도는 그림 10에 나타내었음. 모든 처리구의 동치미는 발효숙성 1일 후 탁도가 급격하게 증가하면서 2일째에는 1.01~1.46으로 나타났음. 담금 4일 후 비트 첨가 동치미의 탁도가 다른 처리구의 동치미의 탁도에 비해 1.60으로 가장 높게 나타났으며, 흑미 첨가 동치미의 탁도는 1.06으로 가장 낮게 나타났음.

② pH

부재료 첨가에 따른 동치미의 pH는 그림 10에 나타내었음. pH는 담금 초기 6.33~7.27의 범위로 나타났으며, 발효숙성 1일 후 4.69~5.41로 감소하여 발효숙성 4일까지 일정한 pH를 유지하였음. 부재료 첨가에 따른 pH의 영향은 나타나지 않았음.

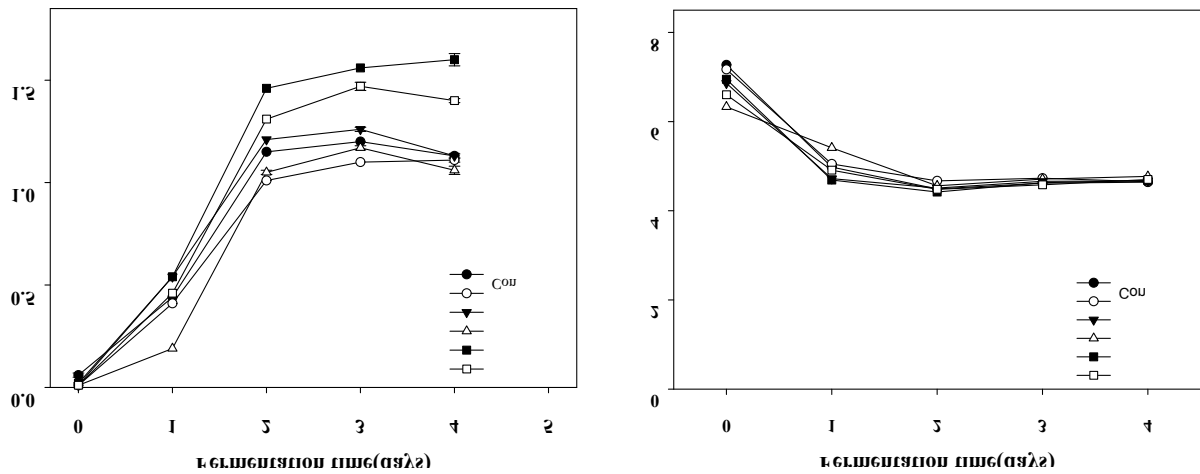


그림 10. 부재료 첨가에 따른 동치미의 탁도와 pH.

### ③ 관능특성

부재료 첨가에 따른 동치미의 관능특성은 표 13, 그림 11에 나타내었음. 주재료를 알타리무로 제조한 동치미의 맛 및 전반적기호도가 각각 5.67, 5.50으로 무로 제조한 동치미 보다 높게 나타났음. 외관 및 색의 기호도는 흑미 첨가 동치미가 6.00으로 나타나 다른 처리구의 동치미 보다 높게 나타났으며, 맛과 전반적기호도는 보통(5점) 수준보다 약간 낮게 나타나 향후, 흑미 첨가시 첨가량 및 전처리가 필요할 것으로 사료되었음. 또한, 기호도에서 맛과 전반적기호도는 비트 첨가 동치미가 각각 6.00을 나타내어 대조구 동치미보다 높게 나타났음.

표 13. 부재료 첨가에 따른 동치미의 관능특성

시료	강도							기호도			
	색	현탁도	신냄새	탄산미	신맛	짠맛	단맛	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
Con	5.33±1.21 <sup>b1)</sup>	5.67±1.75 <sup>a</sup>	5.67±1.63 <sup>ab</sup>	4.17±2.04 <sup>a</sup>	5.67±1.03 <sup>ab</sup>	3.83±1.17 <sup>a</sup>	3.17±0.41 <sup>a</sup>	5.83±0.75 <sup>a</sup>	5.67±1.37 <sup>a</sup>	5.67±1.37 <sup>a</sup>	5.50±1.38 <sup>a</sup>
무	5.00±1.26 <sup>b</sup>	5.50±1.38 <sup>a</sup>	4.67±1.97 <sup>ab</sup>	3.17±1.47 <sup>a</sup>	3.67±1.03 <sup>c</sup>	3.67±1.03 <sup>a</sup>	3.50±0.84 <sup>a</sup>	6.00±0.89 <sup>a</sup>	5.83±0.75 <sup>a</sup>	3.83±0.75 <sup>b</sup>	4.33±0.52 <sup>a</sup>
갓	5.00±1.10 <sup>b</sup>	5.17±1.17 <sup>a</sup>	5.33±0.82 <sup>ab</sup>	4.17±2.14 <sup>a</sup>	5.50±1.05 <sup>ab</sup>	5.00±1.26 <sup>a</sup>	2.67±0.52 <sup>a</sup>	5.50±1.64 <sup>a</sup>	5.83±0.75 <sup>a</sup>	5.50±1.05 <sup>a</sup>	5.50±1.05 <sup>a</sup>
흑미	5.83±0.75 <sup>b</sup>	5.67±0.82 <sup>a</sup>	4.17±0.75 <sup>b</sup>	3.00±1.10 <sup>a</sup>	4.33±1.37 <sup>bc</sup>	4.00±0.89 <sup>a</sup>	3.17±0.98 <sup>a</sup>	6.00±1.55 <sup>a</sup>	5.00±1.10 <sup>a</sup>	4.50±1.64 <sup>ab</sup>	4.67±1.97 <sup>a</sup>
비트	7.33±0.52 <sup>a</sup>	6.67±0.52 <sup>a</sup>	6.00±1.10 <sup>a</sup>	4.67±2.25 <sup>a</sup>	6.17±1.17 <sup>a</sup>	4.83±2.04 <sup>a</sup>	3.00±1.10 <sup>a</sup>	4.33±1.51 <sup>a</sup>	6.00±0.89 <sup>a</sup>	6.00±1.10 <sup>a</sup>	5.17±1.33 <sup>a</sup>
흑미+ 비트	7.17±0.98 <sup>a</sup>	6.67±0.82 <sup>a</sup>	5.33±0.82 <sup>ab</sup>	4.33±1.97 <sup>a</sup>	6.00±1.10 <sup>a</sup>	5.33±1.63 <sup>a</sup>	2.83±1.17 <sup>a</sup>	4.50±1.05 <sup>a</sup>	5.83±0.75 <sup>a</sup>	5.67±1.03 <sup>a</sup>	5.00±1.26 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

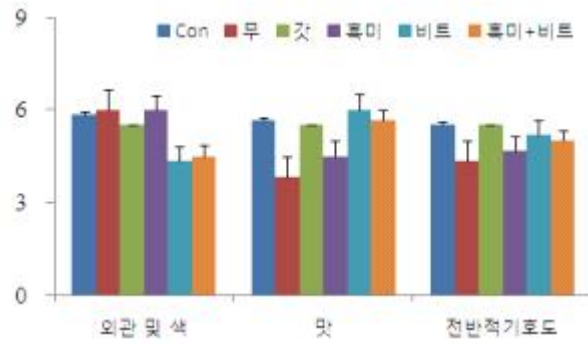


그림 11. 부재료 첨가에 따른 동치미의 기호도.



그림 12. 부재료 첨가에 따른 동치미의 외관.

(라) 동치미 음료 안토시아닌 추출 및 pH 안정성

- 흑미를 첨가한 기능성 동치미 음료 제조 시 동치미 음료의 안토시아닌 함량과 pH 안정성을 측정하기 위하여, 그림 2와 같은 공정으로 동치미를 제조하였으며, 동치미국물 제조 시 흑미를 첨가하여 완성된 동치미를 시료로 사용하였음. 각각의 동치미는 살균 전과 살균 후(95°C, 15분)로 나누어 살균에 따른 흑미 안토시아닌의 안정성을 측정·비교하였음. 안토시아닌 측정은 Ribereau-Grayon의 방법으로 실시하였음. 즉, 시험관에 각 동치미 음료 1 mL를 넣은 후, 0.01% HCl을 함유한 95% ethanol 1 mL를 각각 넣음. 한 개의 튜브(A1)에 2% HCl 10 mL를 넣고, 또 다른 튜브(A2)에 pH 3.5(0.2M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>와 0.1M citric acid)로 만든 용액 10 mL를 넣었으며 계산식은 다음과 같음.

$$\text{총 안토시아닌 함량(mg/L)} = (A1 - A2) \times f$$

$$f = 396.598$$

이 반응액을 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였음.

- 흑미 첨가 동치미의 pH 변화에 따른 안토시아닌 함량은 표 14에 나타내었음. 살균 전 흑미를 첨가한 동치미의 pH 6에서의 안토시아닌 함량은 4.40 mg/L로 나타났으며, 발효숙성이 진행되면서 pH 4에서는 3.08 mg/L로 약간 감소하는 것으로 나타났음. 살균 후 흑미를 첨가한 동치미에서는 pH 4에서의 총 안토시아닌 함량이 2.68 mg/L로 나타나 살균 후에는 흑미 안토시아닌 함량이 감소하는 것을 확인할 수 있었음.

표 14. 흑미 첨가 동치미의 안토시아닌 함량 변화

시료	총 안토시아닌 함량(mg/L)	
	숙성 전(pH 6)	숙성 후(pH 4)
살균 전	4.40±1.11	3.08±0.91
살균 후	-	2.68±1.77

라. 전처리 공정별 최적 조건 확립

(1) 발효기간에 따른 동치미의 휘발성 향기성분 분석

(가) 재료

발효기간에 따른 동치미 시료의 약어는 표 15에 나타내었음. 각각의 시료는 발효 기간별로 발효숙성 후 -18℃ 냉동실에서 동결하여 시료로 사용하였음.

표 15. 발효기간에 따른 동치미 시료 약어

시료	원재료 및 함량	발효기간
A	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	1일
B	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	3일
C	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	8일

(나) 방법

① 휘발성 향기성분의 추출

본 연구에서는 SPME법에 의한 동치미의 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>(MW 40-275)으로 다양한 범위의 분석물질이 흡착 가능하여 휘발성 향기성분 분석에 적합한 DVB/PDMS/CAR(divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane 30/50 μm, 1 cm, Supelco) fiber를 사용하였음. 동치미 휘발성 향기성분의 추출은 SPME fiber holder가 장착된 autosampler(Agilent CTC Combi PAL, USA)를 이용하였음. PALDVB/PDMS/CAR fiber는 SPME holder에 장착하고 분석에 앞서 250℃ injector에서 60분 동안 노출시켜 conditioning하였음. 각각의 시료 약 1 g을 headspace vial(20 mL, 22.5 mm × 75.5 mm)에 취하여 70℃에서 300 rpm으로 교반하면서 20분 동안 incubation한 후 40분간 시료 내의 휘발성 향기성분을 fiber에 흡착시켰음. 휘발성 향기성분이 포집된 SPME fiber는 자동으로 GC injector에 주입되어 splitless mode에서 3분간 휘발성분을 탈착하였음.

② 휘발성 향기성분의 분석

휘발성 향기성분의 분석조건을 수립하기 위하여 다양한 온도 프로그램과 여러 종류의 capillary column(DB-5, Stabilwax)들을 사용하여 분리도를 비교하는 예비실험을 거쳐 최적의 분석조건을 수립하였음. 휘발성 향기성분의 정량분석을 위해 GC/MS는 HP 5973 Mass selective detector(Agilent technologies Inc., USA)가 연결된 HP 6890 Series gas chromatograph를 사용하였음. 휘발성 향기성분의 분리를 위해 column은 Stabilwax(30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness, Restek, USA)를 사용하였고, oven의 온도는 40℃에서 3

분간 유지한 다음 2°C/min의 속도로 150°C까지 상승시키고 다시 4°C/min의 속도로 200°C까지 상승시킨 후 10분간 유지하였으며, 이때 carrier gas의 유속은 1 mL/min(He)로 유지하였음. 분리된 화합물의 이온화는 electron impact ionization(EI) 방법으로 행하였으며 ionization voltage와 ion source의 온도는 각각 70 eV와 230°C로 설정하였고, 분석할 분자량의 범위는 45~350(m/z)로 설정하였음.

③ 휘발성 향기성분의 확인

GC/MS에 의해 total ionization chromatogram(TIC)에 분리된 각 peak의 성분 분석은 mass spectrum library(WILEY7N, NBS75K, NTIS08)와 mass spectral data book의 spectrum과의 일치, 문헌상의 retention index와의 일치 및 표준물질의 분석 data를 비교, 확인하였음.

(다) 결과

발효기간별 동치미의 향기특성을 확인하기 위하여 휘발성 향기성분을 SPME방법으로 추출하고 GC/MS로 분석하여 나타난 chromatogram은 그림 13에 나타내었음.

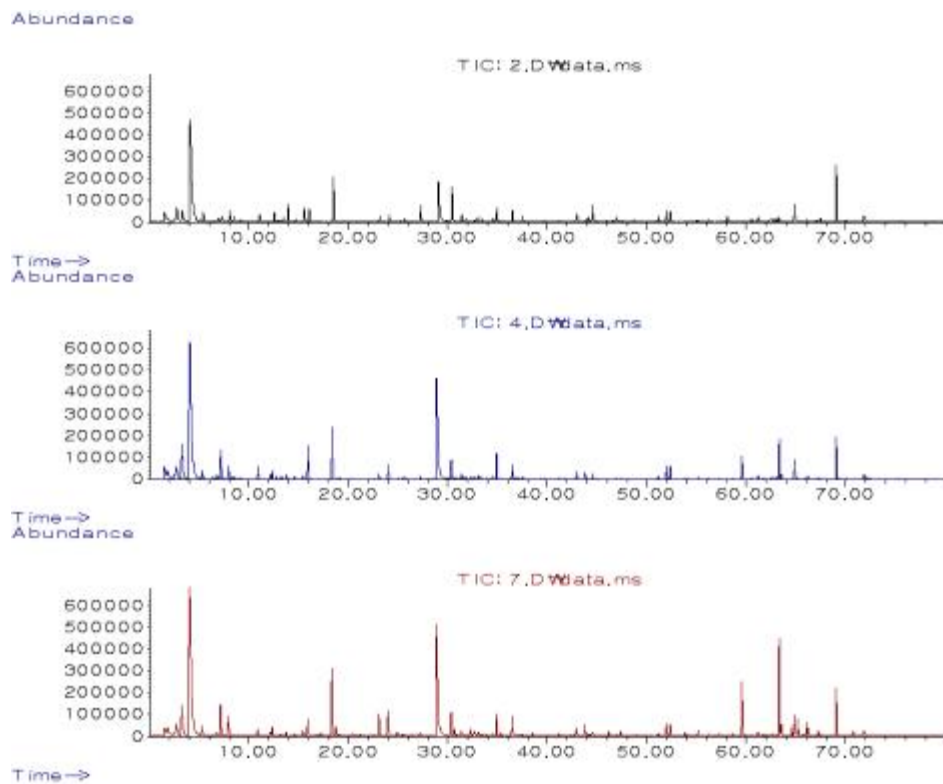


그림 13. 발효기간에 따른 동치미의 휘발성 향기성분 분석.

(2) 재료

전처리 공정에 따른 동치미의 최적 조건 확립을 위하여 알타리무와 무는 서울 경동시장에서 구입한 것으로 강원도산 재래종 무이며, 양파, 쪽파, 배, 생강, 마늘, 절인고추도 같이 구입하여 사용하였음. 천일염은 청정원, 설탕은 백설의 백설탕을 사용하였음.

### (3) 방법

#### (가) 동치미 제조

동치미 쌀음료 개발을 위한 동치미의 전처리 공정별 최적 조건을 확립하기 위해 동치미의 일반적인 제조 공정(그림 2)을 이용하여 동치미를 제조하였으며, 절인 알타리무와 부재료는 표 6과 같은 비율로 첨가하였음. 즉 주원료인 알타리무는 깨끗이 씻은 후 물기를 빼고 다듬은 후 소금물(20% w/v)에 2시간 상온에서 침지하여 절인 후 탈수하였음. 부재료인 양파와 배, 생강, 마늘, 절인고추 등은 다듬은 후 첨가하였음. 쪽파는 깨끗이 씻은 후 다듬어 소금물에 30분간 절인 후 사용하였음. 준비된 재료에 천일염과 설탕, 물을 혼합하여 제조한 동치미 국물을 첨가한 후, 절임공정 및 숙성온도별, 여과조건별, 살균조건별 동치미를 제조하였음.

#### (나) 품질특성 측정

동치미 쌀음료 개발을 위한 동치미의 탁도는 동치미 국물의 원액을 spectrophotometer(Model V-650, Jasco)를 사용하여 파장 558 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며, pH는 동치미 국물을 잘 흔들어 국물 10 mL씩 취하여 측정하였으며, 실온에서 pH meter(Model 520A, Orion Research INC., USA)로 측정하였음. 염도는 염도측정기(기미상궁, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 당도는 굴절당도계(Model WM-7, ATAGO Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 비중은 비중계(대광, Korea)를 이용하여 측정하였으며, 산도는 동치미 국물 10 mL을 취하여 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 젖산 함량으로 환산하였음. 저장된 동치미의 관능적 품질 평가는, 시료의 이취와 성상에 대한 강도와 외관과 색의 기호도로 평가하였음. 평가방법은 5점 척도법으로 평가하였고, 1점은 아주 나쁘다, 3점은 보통이다, 5점은 아주 좋다고 평가하였음. 동치미의 관능특성은 동치미 고형분을 뺀 동치미액을 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며 평가항목은 색, 현탁도, 신냄새, 탄산미, 신맛, 짠맛, 단맛의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적기호도에 관하여 평가하였음. 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여 유의성 검정을 시행하였음.

### (4) 결과 및 고찰

#### (가) 절임공정 및 숙성온도별

절임공정에 따른 동치미 시료 약어는 표 16에 나타내었음.

표 16. 절임공정별 동치미 시료 약어

시료	숙성온도(°C)	원재료 및 함량	비고
A	고온숙성(50°C)	총각무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	
B	상온숙성(20°C)	총각무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	절임
C	저온숙성(4°C)	총각무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	
D	상온숙성(20°C)	총각무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	비절임

#### ① pH



절임공정 및 숙성온도별 동치미의 pH 변화는 그림 14에 나타내었음. 상온숙성한 동치미는 절임의 유무에 관계없이 담근 후부터 pH가 감소하기 시작하여 발효숙성 2일째에는 4.63~5.14로 나타났으며, 일정한 pH를 유지하였음. 저온숙성한 동치미의 pH는 담금 10일 후 5.15로 나타나, 상온숙성한 동치미보다 pH 감소가 느리게 나타났음. 또한, 고온숙성한 동치미는 다른 처리구보다 pH 변화가 가장 느리게 나타났으며, 발효숙성이 적절하게 이루어지지 않고 재료들이 고온에서 익혀져 좋지 않은 외관과 냄새를 일으키는 것을 확인하였음. 절이지 않은 동치미는 절임공정을 거친 동치미에 비해 향과 맛 등의 품질변화가 느리게 나타났음. 따라서, 동치미 제조시 절임공정을 거친 후 상온에서 숙성하는 것이 동치미의 기호도에 바람직할 것으로 판단되었음.

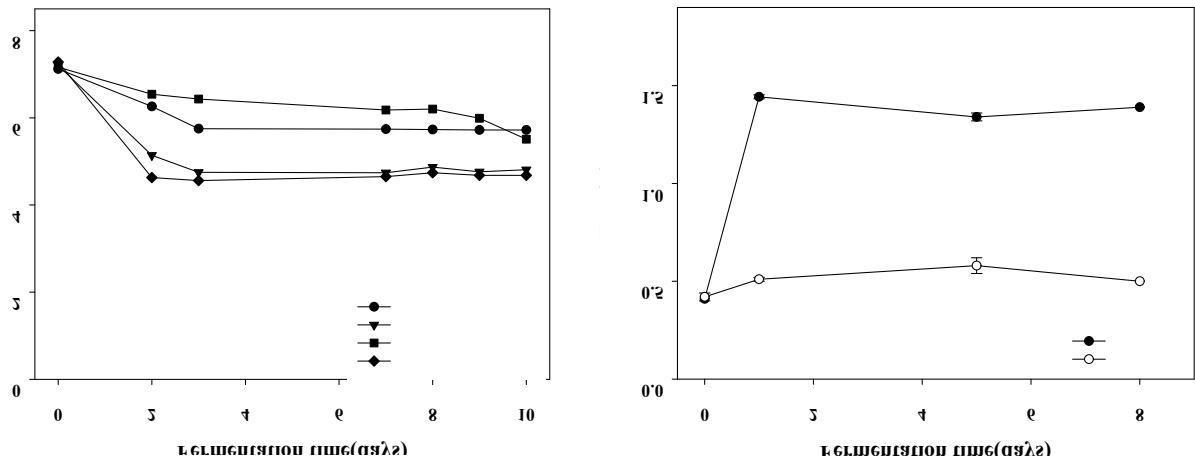


그림 14. 절임공정 및 숙성온도별 동치미의 pH와 타도.

② 타도

절임공정 및 숙성온도별 동치미의 타도는 그림 15에 나타내었음. 상온숙성한 동치미는 담금 초기 0.41에서 발효숙성 1일 후, 1.43으로 증가하였으며, 8일째까지 1.34~1.39로 일정한 수준을 유지하였음. 고온숙성한 동치미는 발효숙성 1일 후 0.51로 나타나 상온숙성한 동치미에 비해 타도의 변화가 크게 나타나지 않았으며, 시간이 경과함에 따라 타도의 큰 변화를 나타내지 않았음.

③ 염도

숙성온도별 동치미의 염도는 표 16에 나타내었음. 숙성온도에 따른 동치미의 염도는 차이를 나타내지 않았으며, 모든 처리구에서 0.8~0.9의 범위를 나타내었음.

④ 당도

숙성온도별 동치미의 당도는 표 16에 나타내었음. 상온숙성한 동치미는 담금 초기 2.80 °Brix을 나타냈으며, 발효숙성이 진행되면서 담금 5일째에는 3.57 °Brix, 8일째에는 3.93 °Brix로 증가하였음. 반면, 고온숙성한 동치미는 담금 초기 2.80 °Brix을 나타냈으며, 발효숙성 1일째 3.53 °Brix, 8일째에는 4.07 °Brix로 증가하여 상온숙성한 동치미보다 당도의 변화가 빠르게 일어나는 것을 확인할 수 있었음.

⑤ 비중 및 산도

숙성온도별 동치미의 비중 및 산도는 표 17에 나타내었음. 숙성온도에 따른 동치미의 비중은 차이를 나타내지 않았으며, 모든 처리구에서 1.012~1.018의 범위를 나타내었음. 발효기간이 경과함에 따라 비중이 조금씩 증가하는 경향을 나타내었으나 큰 차이는 나타내지 않았음. 산도는 고온숙성한 동치미가 고온숙성한 동치미에 비해 발효기간이 경과함에 따라 완만하게 증가하는 것으로 나타났으며, 발효 5일까지 산도의 변화가 적은 것으로 나타나 발효숙성이 적절하게 이루어지지 않는 것으로 보아 고온숙성보다 상온숙성이 적합할 것으로 판단되었음.

표 17. 숙성온도별 동치미의 염도, 당도, 비중 및 산도

시료 <sup>1)</sup>	Day	염도(%)	당도	비중	산도(%)
A	0	0.80	2.80	1.012	0.01
	1	0.90	3.53	1.012	0.02
	5	0.90	3.13	1.016	0.10
	8	0.80	4.07	1.018	0.12
B	0	0.80	2.80	1.012	0.01
	1	0.90	2.80	1.014	0.03
	5	0.80	3.57	1.016	0.12
	8	0.80	3.93	1.018	0.30

<sup>1)</sup> 표 16 약어 참조



그림 15. 숙성온도별 동치미의 외관(상온숙성, 고온숙성).

⑥ 관능평가

숙성온도에 따른 동치미의 관능특성은 표 18에 나타내었음. 강도에서 현탁도는 고온숙성한 동치미가 현저히 낮게 나타났으나, 신냄새와 탄산미, 신맛의 강도가 상온숙성한 동치미보다 낮게 나타났으며, 불쾌취와 이미 등이 강하게 느껴지는 것을 확인할 수 있었음. 기호도에서 향, 맛, 전반적기호도는 상온숙성한 동치미가 고온숙성한 동치미보다 높게 나타나 동치미의 숙성온도와 적정기간을 고려할 때, 상온 25~28℃에서 숙성하는 것이 적합할 것으로 사료되었음.

표 18. 숙성온도별 동치미의 관능특성

시료	강도							기호도			
	색	현탁도	신냄새	탄산미	신맛	짠맛	단맛	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
A	2.40±0.55	2.20±0.45	1.60±0.55	2.00±0.71	1.60±0.55	3.40±1.14	5.80±0.45	4.80±1.64	1.60±0.55	2.00±0.71	2.20±0.45
B	6.40±0.55	6.20±0.84	6.20±0.45	4.40±0.55	5.60±0.55	5.00±1.00	5.20±0.45	4.40±0.55	4.60±0.55	5.20±0.45	5.40±0.55

<sup>1)</sup> 표 16 약어 참조

(나) 여과조건별

여과조건에 따른 동치미 시료 약어는 표 19에 나타내었음. 즉, 그림 2와 같은 공정으로 동치미를 제조하여 동치미액을 분리하였으며, 동치미액의 탁한 부유물을 제거하기 위한 원심분리는 원심분리기(Sorvall RC5C, USA)로 3,000, 5,000, 7,000 rpm에서 10분간 실시하여 얻어진 동치미액을 시료로 사용하였음.

표 19. 여과조건별 동치미 시료 약어

시료	원재료 및 함량	Speed(rpm)	Time(min)
Con	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	-	-
3A	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	3,000	10
5A	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	5,000	10
7A	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	7,000	10

① 탁도

여과조건에 따른 동치미의 탁도는 그림 16에 나타내었음. 모든 처리구의 담금 초기 탁도는 0.41로 나타났으며, 발효숙성 1일 후 Con은 1.43, 여과처리한 동치미는 0.62~0.67의 범위로 나타나 여과를 실시하지 않은 동치미에 비하여 탁도가 낮은 것으로 나타남. 발효숙성 8일 후 Con은 1.39, 여과를 실시한 동치미는 0.73~0.78의 범위로 나타났으며, 여과 rpm 속도가 증가할수록 탁도가 낮게 나타났으나 큰 차이는 나타내지 않았음.

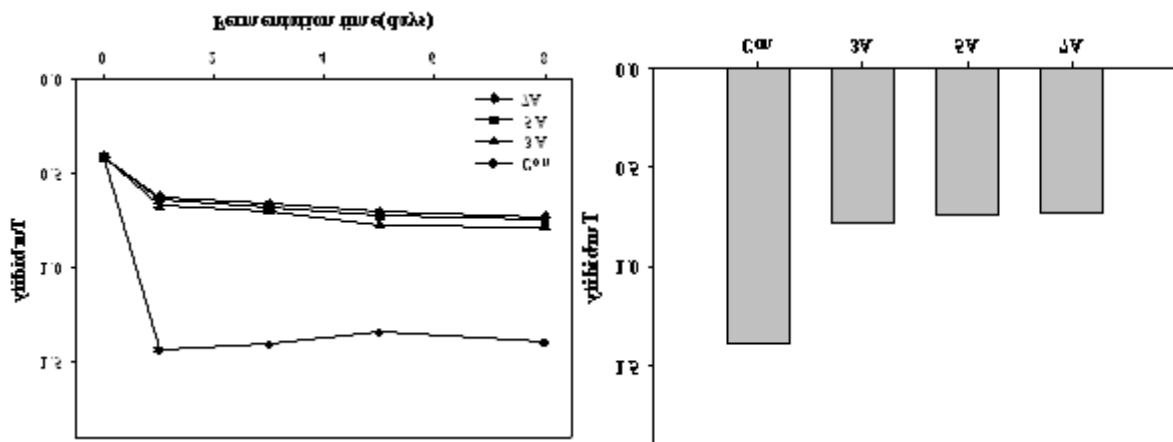


그림 16. 여과조건별 동치미의 탁도와 담금 8일 후 탁도.

② pH

여과조건별 동치미의 pH는 그림 17에 나타내었음. 여과조건에 따른 동치미의 pH는 차이를 나타내지 않았으며, 모든 처리구에서 담금 8일 후 4.62~4.87의 범위를 나타내었음.

③ 염도

여과조건에 따른 동치미의 염도는 표 20에 나타내었음. 여과조건에 따른 동치미의 염도는 차이를 나타내지 않았으며, 모든 처리구에서 0.8~0.9의 범위를 나타내었음.

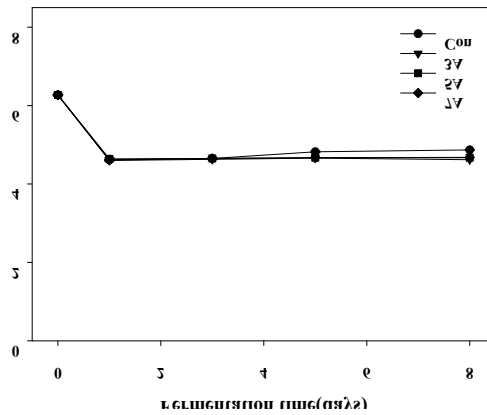


그림 17. 여과조건별 동치미의 pH.

④ 당도

여과조건별 동치미의 당도는 표 20에 나타내었음. 모든 처리구의 동치미는 담금 초기 2.80 °Brix을 나타냈으며, 발효숙성이 진행되면서 담금 8일에는 여과를 실시한 3A, 5A, 7A 동치미 시료의 당도가 3.20 °Brix로 나타나, Con 동치미보다 낮게 나타났음. 여과 rpm 속도에 따른 당도의 영향은 나타나지 않았음.

⑤ 비중 및 산도

여과조건별 동치미의 비중 및 산도는 표 20에 나타내었음. 여과조건에 따른 동치미의 비중은 차이를 나타내지 않았으며, 모든 처리구에서 1.012~1.018의 범위를 나타내었음. 산도는 여과처리한 동치미가 담금 8일 후 0.35~0.40 범위로 나타나 Con 동치미의 산도 0.30에 비해 산도가 약간 높게 나타나는 것으로 나타났음.

표 20. 여과조건별 동치미의 염도, 당도, 비중 및 산도

시료 <sup>1)</sup>	Day	염도(%)	당도	비중	산도(%)
Con	0	0.80	2.80	1.012	0.01
	1	0.90	2.80	1.012	0.03
	5	0.90	3.57	1.016	0.24
	8	0.80	3.93	1.018	0.30
3A	0	0.80	2.80	1.012	0.01
	1	0.90	2.80	1.012	0.03
	5	0.90	3.20	1.014	0.32
	8	0.90	3.20	1.016	0.35
5A	0	0.80	2.80	1.012	0.01
	1	0.90	2.80	1.012	0.02
	5	0.90	3.20	1.014	0.40
	8	0.90	3.20	1.016	0.42
7A	0	0.80	2.80	1.012	0.01
	1	0.90	2.80	1.012	0.03
	5	0.90	3.30	1.014	0.35
	8	0.90	3.20	1.016	0.40

<sup>1)</sup> 표 19 약어 참조

⑥ 관능평가

여과조건에 따른 동치미의 관능특성은 표 21에 나타내었음. 강도에서 색은 rpm이 증가할수록 유의적으로 강도가 약한 것으로 나타났으며, 현탁도는 7,000 rpm에서 여과한 7A 동치미가 4.80으로 가장 낮게 나타났음. 기호도에서 향과 맛, 전반적기호도는 여과조건에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았음.

표 21. 여과조건별 동치미의 관능특성

시료 <sup>1)</sup>	강도							기호도			
	색	현탁도	신냄새	탄산미	신맛	짠맛	단맛	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
Con	6.20±0.45 <sup>2)</sup>	6.60±0.55 <sup>a</sup>	5.80±0.45 <sup>b</sup>	4.00±0.71 <sup>a</sup>	5.60±0.55 <sup>a</sup>	5.20±0.84 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>a</sup>	4.40±0.55 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	5.40±0.55 <sup>a</sup>
3A	5.60±0.55 <sup>ab</sup>	5.80±0.45 <sup>ab</sup>	6.20±0.45 <sup>ab</sup>	2.80±0.84 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>b</sup>	5.40±0.55 <sup>a</sup>	4.80±0.84 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>a</sup>	4.20±0.45 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>a</sup>	4.80±0.45 <sup>a</sup>
5A	5.20±0.84 <sup>b</sup>	5.60±0.55 <sup>bc</sup>	6.60±0.55 <sup>a</sup>	3.40±1.14 <sup>a</sup>	4.80±0.84 <sup>ab</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>	4.80±0.84 <sup>a</sup>	4.60±0.89 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>a</sup>
7A	4.80±0.84 <sup>b</sup>	4.80±0.84 <sup>c</sup>	6.00±0.71 <sup>ab</sup>	3.40±1.14 <sup>a</sup>	5.00±0.71 <sup>ab</sup>	5.80±0.84 <sup>a</sup>	4.60±0.55 <sup>a</sup>	5.20±0.84 <sup>a</sup>	4.60±0.89 <sup>a</sup>	4.80±0.84 <sup>a</sup>	5.20±0.84 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> 표 19 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄



그림 17. 여과조건에 따른 동치미의 외관.

(다) 살균조건별

살균조건에 따른 동치미 시료 약어는 표 22에 나타내었음. 즉, 그림 2와 같은 공정으로 동치미를 제조하여 동치미액을 분리하였으며, 각각을 65°C, 75°C, 95°C 열수에서 15분간 가열살균 처리한 동치미액을 시료로 사용하였음.

표 22. 살균조건별 동치미 시료 약어

시료	살균	살균온도(°C)	살균시간(min)	원재료 및 함량
Con	비살균	비살균	-	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
65°C	살균	65°C	15	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
75°C	살균	75°C	15	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
95°C	살균	95°C	15	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추

① 탁도 및 pH

살균조건별 동치미의 탁도 및 pH는 그림 18에 나타내었음. 65°C로 살균처리한 동치미는 75°C, 95°C 살균 동치미 보다 탁도가 높게 나타났으며, 살균 온도에 따른 pH의 변화는 차이를 나타내지 않았음.

그림 18. 살균조건별 동치미의 탁도와 pH.

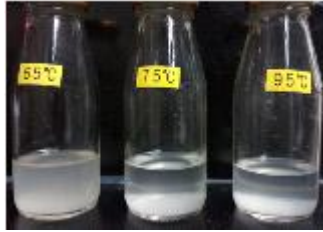


그림 19. 살균조건별 동치미의 외관.

② 관능적 품질변화

살균조건별 동치미 음료의 저장 중 관능적 품질변화는 표 23에 나타내었음. 저장 후 일주일 경과 후, 65°C로 살균한 처리구의 동치미에서 이취가 약간 느껴졌으며, 외관 및 색의 기호도가 3점(보통) 이하 수준을 나타내어 저장 중 동치미 음료의 관능적 품질이 나빠진 것을 확인하였음. 95°C에서 살균한 동치미 음료는 저장 4주 후에도 이취 및 성상의 변화가 없고, 외관 및 색의 기호도 값이 보통 수준으로 나타나 관능적 품질이 유지된 것으로 사료되었음.

표 23. 살균조건별 동치미 음료의 저장 중 관능적 품질변화

시료 <sup>1)</sup>	저장기간 (week)	강도		기호도		관능적 품질변화
		이취	성상 (부패정도)	외관	색	
65°C	1	-	-	3 <sup>1)</sup>	3	색이 약간 탁하며, 불투명함
	2	2	-	2	3	
	4	1	-	3	2	
75°C	1	-	-	3	3	색 및 외관특성 변화없음
	2	-	-	2	3	
	4	-	-	3	3	
95°C	1	-	-	3	4	색 및 외관특성 변화없음
	2	-	-	4	3	
	4	-	-	3	3	

<sup>1)</sup> 5-point scoring test(5점:매우 강하다/매우 좋다, 3점:보통, 1점:매우 약하다/매우 나쁘다)

2. 떡류 소비에 적합한 기능성 쌀음료 제조공정 확립 및 최적 배합비 완성

가. 동치미 음료의 제조공정별 품질특성

(1) 재료

알타리무는 서울 경동시장에서 구입한 것으로 강원도산 재래종 무이며, 레드비트, 양파, 쪽파, 배, 생강, 마늘, 절인고추도 같이 구입하여 사용하였음. 흑미는 2012년 진도산을 사용하였으며, 레몬그라스, 페퍼민트는 (주)다미안에서 공급받아 사용하였음. 천일염은 청정원, 설탕은 백설의 백설탕, 델몬트의 파인애플, (주)케이피라인필립스 파인애플 분말을 사용하였음.

(2) 방법

(가) 동치미 음료 제조

동치미 음료 개발을 위한 제조공정별 품질특성을 측정하기 위해 동치미의 일반적인 제조 공정(그림 20, 21)을 이용하여 동치미 음료를 제조하였음. 즉 주원료인 알타리무는 깨끗이 씻은 후 물기를 빼고 다듬은 후 소금물(20% w/v)에 2시간 상온에서 침지하여 절인 후 탈수하였음. 부재료인 양파와 배, 생강, 마늘, 절인고추 등은 다듬은 후 첨가하였음. 쪽파는 깨끗이 씻은 후 다듬어 소금물에 30분간 절인 후 사용하였음. 준비된 재료에 천일염과 설탕, 물을 혼합하여 제조한 동치미 국물을 첨가한 후, 25~28℃에서 12~24 시간 숙성하여 동치미를 완성하였음. 절인 알타리무와 부재료는 표 24와 같은 비율로 첨가하였으며, 동치미의 최종 염도는 0.8~1.0%가 되도록 하였음. 숙성된 동치미는 pH가 5.0 이하에 도달했을 때를 숙성완료 시점으로, 동치미의 고형분을 제거한 동치미액을 5,000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 여과하였음. 여과한 동치미액은 병에 충전하여 95℃에서 15분간 살균 후 냉각하여 동치미 음료를 완성하였음.



재료 전처리



절임



탈수



부재료 첨가



동치미 국물 첨가



상온 숙성



여과 및 살균



동치미 음료 완성

그림 20. 동치미 음료 제조과정(Lab scale).

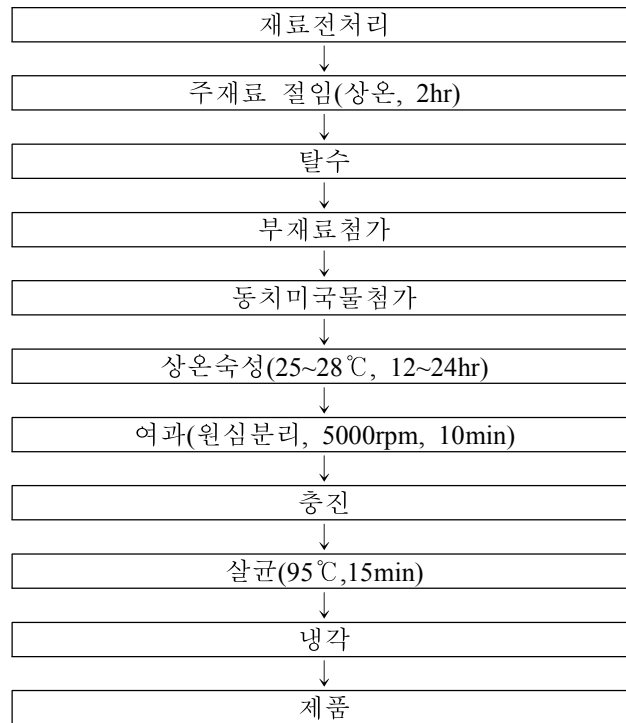


그림 21. 동치미 음료 제조공정(Lab scale).

표 24. 동치미 음료의 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량
Con	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추

#### (나) 품질특성 측정

동치미 음료 개발을 위한 탁도는 동치미 국물의 원액을 spectrophotometer(Model V-650, Jasco)를 사용하여 파장 558 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며, pH는 동치미 음료를 잘 흔들어서 10 mL씩 취하여 측정하였으며, 실온에서 pH meter(Model 520A, Orion Research INC., USA)로 측정하였음. 염도는 염도측정기(기미상공, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 가용성 고형분은 굴절당도계(Model WM-7, ATAGO Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 비중은 비중계(대광, Korea)를 이용하여 측정하였으며, 산도는 동치미 음료 10 mL을 취하여 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 젯산 함량으로 환산하였음. 동치미 음료의 관능특성은 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며 평가항목은 색, 현탁도, 신냄새, 탄산미, 신맛, 짠맛, 단맛의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적기호도에 관하여 평가하였음. 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의성 검정을 시행하였음.

#### (3) 결과 및 고찰

##### (가) 부재료 첨가별

부재료 첨가에 따른 동치미 시료의 원재료 및 함량은 표 25에 나타내었음.



표 25. 부재료 첨가별 동치미 음료의 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량
Con	알타리무(1.5 kg), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
레몬그라스	알타리무(1.5 kg), 레몬그라스(15 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
페퍼민트	알타리무(1.5 kg), 페퍼민트(15 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
레드비트	알타리무(1.5 kg), 레드비트(30 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
흑미	알타리무(1.5 kg), 흑미(30 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추

① pH 및 탁도

부재료 첨가에 따른 동치미 음료의 pH 및 탁도는 표 26에 나타내었음. pH는 모든 처리구에서 4.59~4.87의 범위를 나타내었으며, 큰 차이를 나타내지 않았음. 탁도는 모든 처리구에서 0.23~0.55의 범위를 나타내었으며, 레몬그라스와 페퍼민트를 첨가한 처리구가 다른 처리구에 비해 탁도가 낮은 것으로 나타났음.

② 염도 및 가용성 고형분

부재료 첨가에 따른 동치미 음료의 염도 및 가용성 고형분은 표 26에 나타내었음. 염도는 모든 처리구에서 0.80~0.97의 범위를 나타내었음. 가용성 고형분은 레드비트와 흑미를 첨가한 처리구가 각각 4.07 °Brix, 4.13 °Brix로 나타나 대조구 동치미 음료보다 높은 값을 나타내었음.

③ 비중 및 산도

부재료 첨가에 따른 동치미 음료의 비중 및 산도는 표 26에 나타내었음. 비중과 산도는 부재료 첨가에 따른 차이를 나타내지 않았음.

표 26. 부재료 첨가별 동치미 음료의 품질특성

시료 <sup>1)</sup>	pH	탁도	염도(%)	가용성 고형분 (°Brix)	비중	산도(%)
Con	4.64	0.55	0.97	3.20	1.012	0.01
레몬그라스	4.73	0.23	0.80	3.83	1.012	0.01
페퍼민트	4.87	0.31	0.80	3.97	1.012	0.01
레드비트	4.66	0.41	0.80	4.07	1.012	0.01
흑미	4.59	0.47	0.90	4.13	1.012	0.00

④ 관능평가

부재료 첨가에 따른 동치미 음료의 관능특성은 표 27, 그림 22에 나타내었음. 관능평가 결과, 기호도에서 외관 및 색은 흑미가 6.63으로 가장 높게 나타났으며, 맛과 전반적기호도는 레몬그라스와 흑미를 첨가한 동치미가 각각 5.88, 5.63으로 보통(5점) 이상으로 나타나 동치미 음료 제조를 위한 부재료 첨가의 가능성을 확인하였음.

표 27. 부재료 첨가에 따른 동치미 음료의 관능특성

시료	강도						기호도			
	색	현탁도	신냄새	신맛	짠맛	단맛	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
Con	3.63±0.74 <sup>b1)</sup>	4.50±1.20 <sup>ab</sup>	5.75±1.28 <sup>a</sup>	4.75±0.89 <sup>a</sup>	5.13±0.64 <sup>a</sup>	4.38±1.60 <sup>a</sup>	5.63±0.52 <sup>ab</sup>	4.88±1.36 <sup>bc</sup>	5.25±1.16 <sup>bc</sup>	5.13±0.99 <sup>ab</sup>
레몬그라스	5.13±0.83 <sup>a</sup>	3.13±1.25 <sup>b</sup>	4.25±1.67 <sup>ab</sup>	5.13±2.10 <sup>a</sup>	4.63±1.69 <sup>a</sup>	4.00±1.07 <sup>a</sup>	4.75±1.04 <sup>b</sup>	6.50±0.93 <sup>a</sup>	6.38±0.92 <sup>a</sup>	5.88±0.99 <sup>a</sup>
페퍼민트	5.50±0.93 <sup>a</sup>	3.88±1.46 <sup>ab</sup>	3.50±1.77 <sup>b</sup>	4.13±1.36 <sup>a</sup>	4.00±1.85 <sup>a</sup>	4.25±1.83 <sup>a</sup>	4.88±1.81 <sup>b</sup>	4.25±0.89 <sup>c</sup>	4.00±0.76 <sup>d</sup>	4.00±1.20 <sup>c</sup>
레드비트	5.63±0.92 <sup>a</sup>	4.63±1.19 <sup>a</sup>	5.13±0.99 <sup>ab</sup>	4.88±1.46 <sup>a</sup>	4.63±1.30 <sup>a</sup>	4.13±1.55 <sup>a</sup>	5.88±0.64 <sup>a</sup>	5.38±0.92 <sup>ab</sup>	4.63±0.74 <sup>ab</sup>	4.63±0.52 <sup>a</sup>
흑미	5.88±1.25 <sup>a</sup>	4.75±1.49 <sup>a</sup>	4.75±1.39 <sup>a</sup>	5.50±1.20 <sup>a</sup>	5.13±0.99 <sup>a</sup>	4.25±1.28 <sup>a</sup>	6.63±1.60 <sup>ab</sup>	5.50±1.07 <sup>b</sup>	5.75±0.71 <sup>cd</sup>	5.63±0.74 <sup>bc</sup>

1) Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

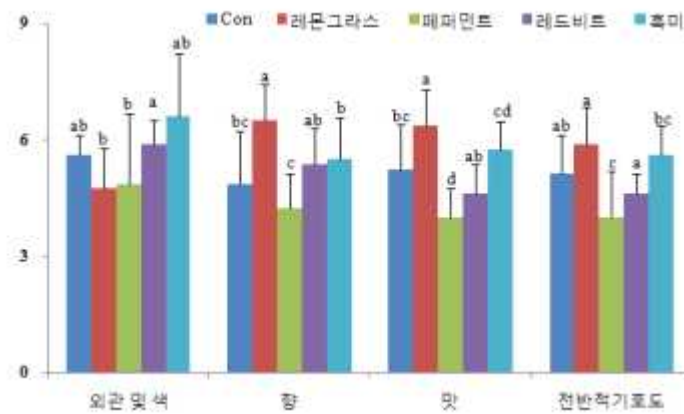


그림 22. 부재료 첨가에 따른 동치미 음료의 관능특성.

(나) 부재료 형태별

파인애플 부재료 형태에 따른 동치미 시료의 원재료 및 함량은 표 28에 나타내었음.

표 28. 부재료 형태별 동치미 음료의 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량
고형분	알타리무(8 kg), 파인애플 과육(1 kg), 쪽파(300 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
분말	알타리무(8 kg), 파인애플 분말(250 g), 쪽파(300 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추

① pH 및 탁도

파인애플 부재료 형태에 따른 동치미 음료의 pH 및 탁도는 표 29에 나타내었음. pH 측정 결과, 파인애플 고형분을 첨가한 음료는 4.66, 분말을 첨가한 음료는 4.59로 나타났음. 탁도는 파인애플 고형분을 첨가한 음료는 0.41, 분말을 첨가한 음료가 0.47로 나타나 분말을 첨가한 처리구의 동치미 음료의 탁도가 높게 나타났음.

② 가용성 고형분

파인애플 부재료 형태에 따른 동치미 음료의 가용성 고형분은 표 29에 나타내었음. 파인애플 분말을 첨가한 동치미 음료의 가용성 고형분은 4.13 °Brix로 파인애플 고형분을 첨가한 동치미 음료의 가용성 고형분 4.07 °Brix 보다 높은 것으로 나타났음.

표 29. 부재료 형태별 동치미 음료의 품질특성

시료 <sup>1)</sup>	pH	탁도	염도(%)	가용성 고형분 (°Brix)	비중	산도(%)
고형분	4.66±0.02	0.41	0.80	4.07	1.014	0.01
분말	4.59±0.01	0.47	0.90	4.13	1.012	0.00

<sup>1)</sup> 표 28의 약어 참조

③ 관능적 품질

파인애플 부재료 형태에 따른 동치미 음료의 관능적 품질은 표 30에 나타내었음. 파인애플을 첨가한 동치미 음료의 관능적 품질은 분말 형태로 첨가한 동치미 음료는 단맛이 너무 강해 동치미 특유의 향미를 해치는 것으로 나타났으며, 고형분 형태로 첨가한 동치미 음료는 파인애플 향미와 동치미가 잘 어우러져 관능적 품질이 우수한 것으로 나타났음.

표 30. 부재료 형태별 동치미 음료의 관능적 품질

시료 <sup>1)</sup>	강도		기호도			관능적 품질
	향미	성상 (탁한 정도)	외관	색	맛	
고형분	3 <sup>1)</sup>	2	4	4	5	파인애플 향과 맛 우수
분말	4	3	3	4	2	고형분 첨가 보다 약간 탁하며, 단맛이 강함

<sup>1)</sup> 5-point scoring test (5점: 매우 강하다/매우 좋다, 3점: 보통, 1점: 매우 약하다/매우 나쁘다)

(다) 추출온도별

흑미 추출 온도에 따른 동치미 시료의 원재료 및 함량은 표 31에 나타내었음.

표 31. 흑미 추출온도별 동치미 음료의 원재료 및 함량

시료	추출온도	원재료 및 함량
냉수	25°C	알타리무(1.5 kg), 흑미(30 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
열수	70°C	알타리무(1.5 kg), 흑미(30 g), 쪽파(50 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추

① pH 및 탁도

흑미 추출온도에 따른 동치미 음료의 pH 및 탁도는 표 32에 나타내었음. 냉수와 열수추출 흑미 첨가 동치미 음료의 pH는 4.45로 나타났음. 탁도는 냉수 추출한 흑미 동치미 음료는 0.37, 열수 추출한 처리구는 0.40으로 나타났음.

② 염도 및 가용성 고형분

흑미 추출온도에 따른 동치미 음료의 염도 및 가용성 고형분은 표 32에 나타내었음. 냉수 추출한 흑미 동치미 음료는 3.20 Brix°, 열수 추출한 흑미 동치미 음료는 3.37 Brix°로 나타나 열수추출한 흑미를 첨가한 동치미 음료의 가용성 고형분이 냉수 추출한 처리구 보다 높은 것으로 나타났음.

③ 비중 및 산도

흑미 추출온도에 따른 동치미 음료의 비중 및 산도는 표 32에 나타내었음. 흑미 추출온도에 따른 비중 및 산도는 차이를 나타내지 않았음. 흑미의 추출온도에 따른 동치미 음료의 품질특성은 큰 차이를 나타내지 않았으나, 흑미 추출 시 냉수 추출보다 열수 추출 조건에서 추출속도가 빨라 효율적인 동치미 음료 제조를 위해서는 열수 추출하는 것이 적합할 것으로 사료됨.

표 32. 흑미 추출온도에 따른 동치미 음료의 품질특성

시료	pH	탁도	염도(%)	가용성 고형분 (°Brix)	비중	산도(%)
냉수	4.45	0.37	1.00	3.20	1.012	0.02
열수	4.45	0.40	1.00	3.37	1.012	0.02

나. Lab scale 동치미 음료 시제품 개발

Lab scale 동치미 음료 시제품 개발 과정은 그림 23에 나타내었음. 1차년도 동치미 재료의 전처리 공정에 따른 최적 제조조건과 여러 가지 부재료를 첨가하여 제조한 동치미의 품질특성 및 관능평가를 통하여 동치미 음료와 가장 어울리는 소재를 선발하였으며, 이를 토대로 1차 시제품 5종(동치미, 레몬그라스 동치미, 페퍼민트 동치미, 레드비트 동치미, 흑미 동치미)을 개발하였음. 개발 시제품은 떡이나 기타 쌀 가공제품과의 조화성을 확인하기 위한 관능평가를 통하여 개선점을 도출하고 최종 시제품 개발에 피드백 하고자 하였음.

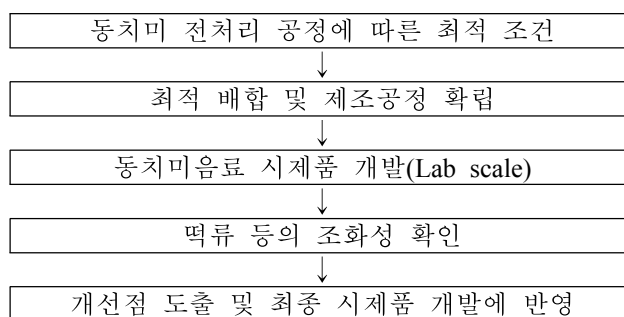


그림 23. Lab scale 동치미 음료 시제품 개발 과정.






(1) Lab scale 동치미 음료 시제품의 관능특성

(가) 재료

Lab scale 동치미 음료 시제품 5종의 원재료 및 함량은 표 33에 나타내었음. 각각의 동치미

음료 시료는 그림 1과 같은 과정으로 제조하였으며, 냉장 보관한 음료를 실온에 1시간 방치한 후 백설기 떡과 함께 관능 평가 시료로 제공하였음.

표 33. Lab scale 동치미 음료 시제품 5종

분류	동치미	레몬그라스 동치미	페퍼민트 동치미	레드비트 동치미	흑미 동치미
시제품					
원재료 및 함량	알타리무 35%, 배 5%, 천일염, 설탕	알타리무 35%, 레몬그라스 0.2%, 배 5%, 천일염, 설탕	알타리무 35%, 페퍼민트 0.2%, 배 5%, 천일염, 설탕	알타리무 35%, 레드비트 0.5%, 배 5%, 천일염, 설탕	알타리무 35%, 흑미 1.5%, 배 5%, 천일염, 설탕

(나) 방법

Lab scale 동치미 음료 시제품 5종의 관능평가는 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 색, 현탁도, 신냄새, 신맛, 짠맛, 단맛, 후미의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적 조화성, 전반적 기호도 항목으로 9점 기호 척도를 사용하여 표기하도록 하였음.

(다) 결과 및 고찰

- 동치미 음료 시제품 5종과 백설기의 관능특성은 표 34, 35, 그림 24, 25에 나타내었음. 강도에서 색은 흑미 동치미 음료가 6.13으로 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었으며, 단맛은 모든 시료에서 4.00~4.38으로 나타났으며 시료간의 유의적인 차이를 나타내지 않았음. 후미는 레몬그라스와 페퍼민트를 첨가한 시료에서 각각 6.38, 7.38으로 대조구 4.63 보다 유의적으로 높게 나타나 허브를 첨가한 동치미 음료에서 후미가 보통(5점) 이상의 수준을 나타내는 것을 확인하였음.

표 34. Lab scale 동치미 음료 시제품 5종과 백설기의 관능특성

시료	강도						
	색	현탁도	신냄새	신맛	짠맛	단맛	후미
Con	3.75±1.04 <sup>(1)</sup>	4.50±1.20 <sup>ab</sup>	5.75±1.28 <sup>a</sup>	4.75±0.89 <sup>a</sup>	5.13±0.64 <sup>a</sup>	4.38±1.60 <sup>a</sup>	4.63±0.74 <sup>c</sup>
레몬그라스	5.38±1.19 <sup>ab</sup>	3.13±1.25 <sup>b</sup>	4.25±1.67 <sup>ab</sup>	5.13±2.10 <sup>a</sup>	4.63±1.69 <sup>a</sup>	4.00±1.07 <sup>a</sup>	6.38±0.92 <sup>b</sup>
페퍼민트	5.50±1.31 <sup>ab</sup>	3.88±1.46 <sup>ab</sup>	3.50±1.77 <sup>b</sup>	4.13±1.36 <sup>a</sup>	4.00±1.85 <sup>a</sup>	4.25±1.83 <sup>a</sup>	7.38±0.52 <sup>a</sup>
레드비트	4.50±1.07 <sup>bc</sup>	4.63±1.19 <sup>a</sup>	5.13±0.99 <sup>a</sup>	4.88±1.46 <sup>a</sup>	4.63±1.30 <sup>a</sup>	4.13±1.55 <sup>a</sup>	4.25±1.28 <sup>c</sup>
흑미	6.13±1.36 <sup>a</sup>	4.75±1.49 <sup>a</sup>	4.75±1.39 <sup>ab</sup>	5.50±1.20 <sup>a</sup>	5.13±0.99 <sup>a</sup>	4.25±1.28 <sup>a</sup>	4.50±1.20 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

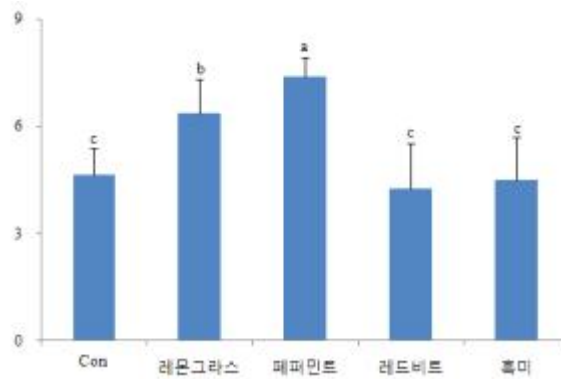


그림 24. Lab scale 동치미 음료 시제품 5종의 후미 강도.

- 기호도에서 외관 및 색은 흑미 동치미 음료가 6.63으로 대조구 보다 유의적으로 높은 값을 나타내었으며, 맛과 전반적 조화성 및 전반적 기호도는 대조구와 흑미 동치미 음료가 보통(5 점) 이상의 점수를 나타내어 5종 시제품 음료 중 기호도가 가장 우수한 것으로 나타났다. 레몬그라스와 페퍼민트 동치미 음료는 외관 및 색을 제외한 모든 항목에서 대조구보다 유의적으로 낮은 값을 나타내었는데, 이는 허브 특유의 향이 강하여 기호도가 낮게 나타난 것으로 사료되며 추후 허브류 첨가시 배합 및 공정의 개선이 필요할 것으로 사료되었음.

표 35. Lab scale 동치미 음료 시제품 5종과 백설기의 관능특성

시료	기호도				
	외관 및 색	향	맛	전반적 조화성	전반적 기호도
Con	6.13±0.64 <sup>ab1)</sup>	5.38±1.41 <sup>ab</sup>	5.50±1.31 <sup>ab</sup>	5.50±1.31 <sup>a</sup>	5.50±1.31 <sup>ab</sup>
레몬그라스	6.00±1.85 <sup>ab</sup>	4.13±1.46 <sup>bc</sup>	3.38±1.06 <sup>c</sup>	3.50±1.31 <sup>b</sup>	3.50±1.31 <sup>cd</sup>
페퍼민트	4.88±1.81 <sup>b</sup>	3.63±1.81 <sup>c</sup>	3.75±2.05 <sup>c</sup>	3.13±1.55 <sup>b</sup>	3.13±1.64 <sup>d</sup>
레드비트	5.88±0.64 <sup>ab</sup>	5.38±0.92 <sup>ab</sup>	4.63±0.74 <sup>bc</sup>	4.75±0.71 <sup>a</sup>	4.63±0.52 <sup>bc</sup>
흑미	6.63±1.60 <sup>a</sup>	6.50±1.31 <sup>a</sup>	6.13±1.13 <sup>a</sup>	5.88±0.83 <sup>a</sup>	6.13±0.83 <sup>a</sup>

1) Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

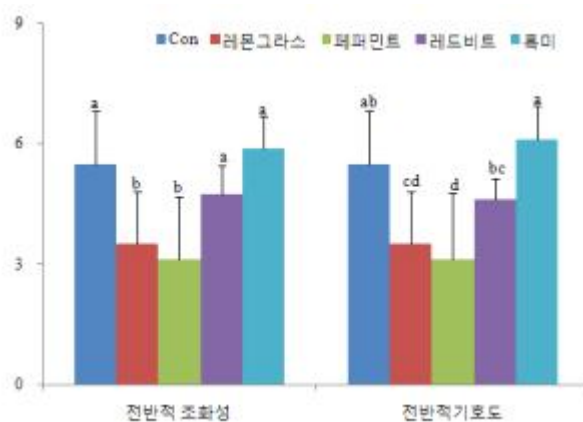


그림 25. Lab scale 동치미 음료 시제품 5종의 기호도 관능특성.



그림 26. Lab scale 동치미 음료 시제품 5종 관능평가.

표 36. 동치미 음료 1차 시제품 5종 관능특성 기타 의견

분류	기타 의견
전반적조화성	식혜나 동치미 음료처럼 단맛의 음료가 떡 제품과 어울림.
전반적기호도	동치미 특유의 향이 강하지 않아서 거부감이 없고, 깔끔한 뒷맛이 떡과 잘 어울림.
레몬그라스 동치미 음료	레몬그라스 동치미 음료는 향이 너무 강함.
페퍼민트 동치미 음료	페퍼민트 동치미 음료는 박하향이 너무 강하게 느껴짐.
제품 형태	음용하기에 다소 부담스러운 양.

- 동치미 음료의 시제품 5종의 관능평가를 통하여, 최종 시제품 개발시 동치미 음료의 현장 적용 생산을 위해서는 단맛이 가미된 상태가 동치미를 음료로서 섭취하기에 적합함을 확인할 수 있었음. 또한, 개발 시제품의 병 타입 동치미 음료는 음용하기에 양이 다소 부담스러울 수 있어 최종 시제품 개발 시에는 다른 형태의 동치미 음료 제품 개발이 필요할 것으로 사료되었음.

#### 다. 동치미 음료 최적 제조공정 확립

##### (1) 재료

알타리무는 서울 경동시장에서 구입한 것으로 강원도산 재래종 무이며, 양파, 쪽파, 배, 생강, 마늘, 절인고추도 같이 구입하여 사용하였음. 천일염은 청정원, 설탕은 백설의 백설탕을 사용하였음.

##### (2) 방법

##### (가) Scale-up 동치미 음료 제조

Lab scale 동치미 음료 시제품 개발을 토대로 동치미 음료를 현장에 적용하여 생산하기 위한 최적 제조공정을 확립하고자 기존 동치미 음료 제조보다 scale-up 하여 동치미 음료를 제조하였다. 즉 주원료인 알타리무는 깨끗이 씻은 후 물기를 빼고 다듬은 후 소금물(20% w/v)에 2시간 상온에서 침지하여 절인 후 탈수하였음. 부재료인 양파와 배, 생강, 마늘, 절인고추 등은 다듬은 후 첨가하였음. 쪽파는 깨끗이 씻은 후 다듬어 소금물에 30분간 절인 후 사용하였음.

준비된 재료에 천일염과 설탕, 물을 혼합하여 제조한 동치미 국물을 첨가한 후, 25~28℃에서 12~24 시간 숙성하여 동치미를 완성하였음. 절인 알타리무와 부재료는 표 37과 같은 비율로 첨가하였으며, 동치미의 최종 염도는 0.8~1.0%가 되도록 하였음. 숙성된 동치미는 pH가 5.0 이하에 도달했을 때를 숙성완료 시점으로, 동치미의 고형분을 제거한 동치미액을 Tabular 원심분리기(Hanil SME Co., Model HC-140HO, Korea)를 이용하여 11,000 rpm에서 고속으로 연속 원심분리하여 여과하였음. 여과한 동치미액은 병에 충전하여 95℃에서 15분간 살균 후 냉각하여 동치미 음료를 완성하였음.

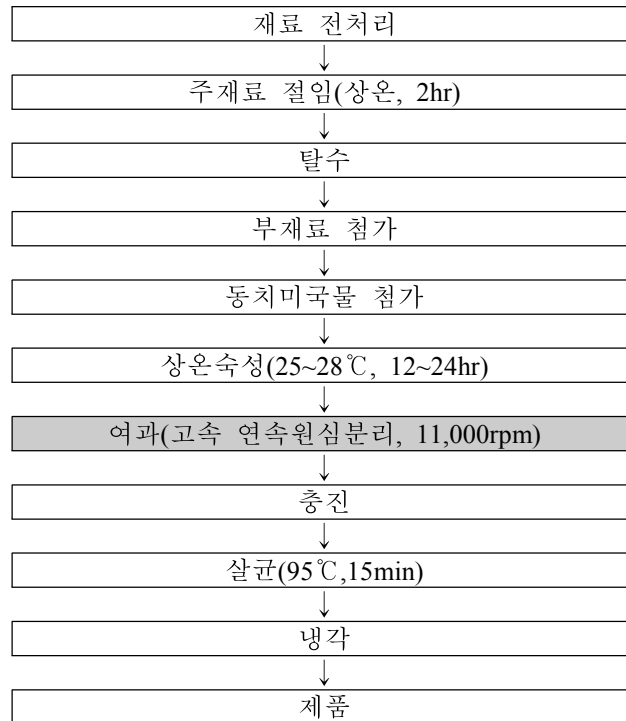


그림 27. 동치미 음료 제조과정(Scale-up).

표 37. Scale-up 동치미 음료의 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량
Con	알타리무(8 kg), 쪽파(300 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추

#### (나) 품질특성 측정

동치미 음료 개발을 위한 탁도는 동치미 국물의 원액을 spectrophotometer(Model V-650, Jasco)를 사용하여 파장 558 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며, pH는 동치미 음료를 잘 흔들어서 10 mL씩 취하여 측정하였으며, 실온에서 pH meter(Model 520A, Orion Research INC., USA)로 측정하였음. 염도는 염도측정기(기미상공, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 가용성 고형분은 굴절당도계(Model WM-7, ATAGO Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 비중은 비중계(대광, Korea)를 이용하여 측정하였으며, 산도는 동치미 음료 10 mL을 취하여 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 젯산 함량으로 환산하였음. 동치미 음료의 관능특성은 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며 평가항목은 색, 현탁도, 신냄새, 탄



산미, 신맛, 짠맛, 단맛의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적기호도에 관하여 평가하였음. 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의성 검정을 시행하였음.

(다) 여과공정 확립

동치미 음료를 대량으로 생산하기 위한 최적 제조공정을 확립하고자 기존 lab scale 동치미 음료 제조시 여과공정을 개선하여 고속 연속식 대량 여과를 실시하였으며, 여과조건에 따른 동치미 음료의 품질특성을 측정·비교하였음. 여과조건별 동치미 음료의 약어는 표 38에 나타내었음. 즉, 기존의 lab scale 원심분리기(Sorvall RC5C, USA)를 이용한 여과 공정과 Tabular 원심분리기(Hanil SME Co., Model HC-140HO, Korea)를 이용하여 11,000 rpm 고속으로 펌프 rpm을 70 rpm, 90 rpm으로 조건을 다르게 하여 여과를 실시한 후, 품질특성을 비교하였음.

표 38. 여과조건별 동치미 음료 약어

시료	원재료 및 함량	비고
Con	알타리무(8 kg), 쪽파(300 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	5,000 rpm      기존 여과
A1	알타리무(8 kg), 쪽파(300 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	11,000 rpm/70 rpm      고속
A2	알타리무(8 kg), 쪽파(300 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	11,000 rpm/ 90 rpm      연속여과

(3) 결과 및 고찰

(가) pH 및 탁도

여과조건에 따른 동치미 음료의 pH 및 탁도는 표 39, 그림 28에 나타내었음. 모든 시료의 pH는 4.26~4.64로 나타났음. 탁도 측정 결과, 고속 연속식 여과를 실시한 처리구의 탁도는 0.19, 0.27로 기존 여과를 실시한 처리구의 탁도 0.55 보다 낮게 나타나 고속 연속식 여과를 실시한 동치미 음료의 탁도가 현저히 감소하였음을 확인할 수 있었음.

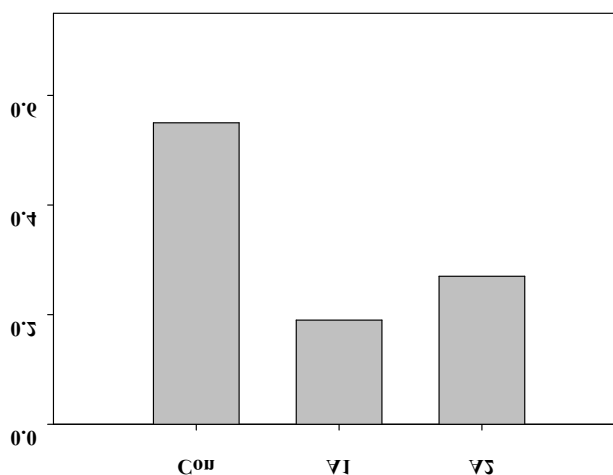


그림 28. 여과조건별 동치미 음료의 탁도.

\* 표 38 약어 참조.

(나) 염도 및 가용성고형분

여과조건에 따른 동치미 음료의 염도 및 가용성 고형분은 표 39에 나타내었음. 염도는 대량 여과를 실시한 동치미 음료가 0.97, 기존 여과를 실시한 동치미 음료가 0.90으로 나타났음. 가용성 고형분은 대량 여과를 실시한 동치미 음료가 3.37~3.40 °Brix로 나타나 기존 여과를 실시한 동치미 음료의 가용성 고형분 3.20 °Brix 보다 높게 나타났음.

표 39. 여과조건별 동치미 음료의 품질특성

시료 <sup>1)</sup>	pH	탁도	염도(%)	가용성 고형분 (°Brix)	비중	산도(%)
Con	4.64	0.55	0.90	3.20	1.012	0.01
A1	4.26	0.19	0.97	3.40	1.012	0.01
A2	4.44	0.27	0.97	3.37	1.012	0.01

<sup>1)</sup> 표 38 약어 참조

라. Scale-up 동치미 음료 시제품 개발

(1) 재료

알타리무는 서울 경동시장에서 구입한 것으로 강원도산 재래종 무이며, 양파, 쪽파, 배, 생강, 마늘, 절인고추도 같이 구입하여 사용하였음. 흑미는 2012년 진도산을 사용하였으며, 레몬그라스는 (주)다미안에서 공급받아 사용하였음. 천일염은 청정원, 설탕은 백설의 백설탕, 델몬트 파인애플을 사용하였음.

(2) 방법

(가) 동치미 음료 시제품 제조

동치미 음료 시제품 개발을 위해 동치미 음료 1차 시제품의 개선점을 피드백하고, 기존 공정에서 scale-up하여 여러 차례 예비 제조를 통해 현장 생산을 위한 동치미 음료 배합을 재확립하였으며, 시중 음료를 판매하고 있는 A회사의 음료 제조 공정을 변형하여 이용하면서(그림 31) 최종 동치미 음료 시제품 4종(Con, 파인애플, 레몬그라스, 흑미)을 제조하였음. 즉 주원료인 알타리무는 깨끗이 씻은 후 물기를 빼고 다듬은 후 소금물(20% w/v)에 2시간 상온에서 침지하여 절인 후 탈수하였음. 부재료인 양파와 배, 생강, 마늘, 절인고추 등은 다듬은 후 첨가하였음. 쪽파는 깨끗이 씻은 후 다듬어 소금물에 30분간 절인 후 사용하였음. 준비된 재료에 천일염과 설탕, 물을 혼합하여 제조한 동치미 국물을 첨가한 후, 25~28℃에서 12~24 시간 숙성하여 동치미를 완성하였음. 절인 알타리무와 부재료는 표 37과 같은 비율로 첨가하였으며, 동치미의 최종 염도는 0.8~1.0%가 되도록 하였음. 숙성된 동치미는 pH가 5.0 이하에 도달했을 때를 숙성완료 시점으로, 동치미의 고형분을 제거한 동치미액을 Tabular 원심분리기(Hanil SME Co., Model HC-140HO, Korea)를 이용하여 11,000 rpm에서 고속으로 연속 원심분리하여 여과하였음. 여과한 동치미액은 100℃에서 10분간 살균 후 폴리프로필렌 재질(상면 지름:높이:하면 지름=80×60×40 mm, 100 mL)의 컵에 무 큐브와 함께 충전한 후, 8~10℃ 냉각수에 냉각하여 동치미 음료를 완성하였음(그림 30).

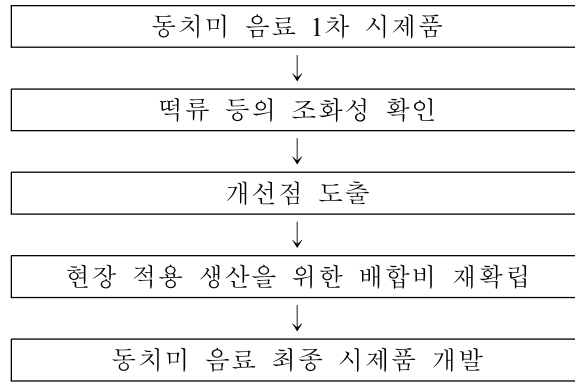


그림 29. 동치미 음료 최종 시제품 개발 과정.

(나) 무 큐브 제조

무 큐브는 동치미의 고형분을 활용하기 위한 방안으로 기존의 동치미 음료의 마시는 느낌에 씹는 느낌을 동시에 주어 식감을 가지는 새로운 형태의 동치미 음료를 컨셉으로 제조하였음. 즉 숙성이 완료된 동치미의 무 고형분을 1차적으로 얇게 절단하고, 절단한 무 단면을 2차적으로 큐브 형태로 절단하였음. 무 큐브는 -70℃에서 48~72 시간 동결건조하여 시제품 동치미 음료에 첨가하였음.

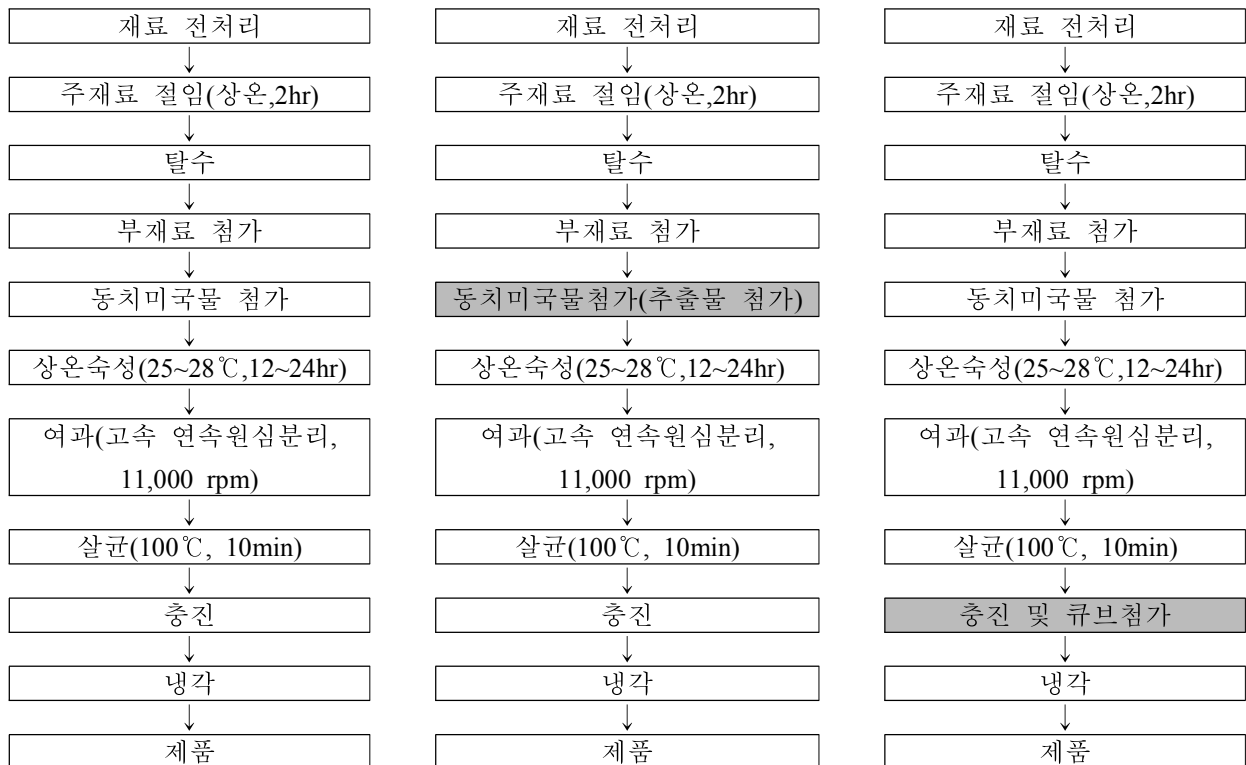


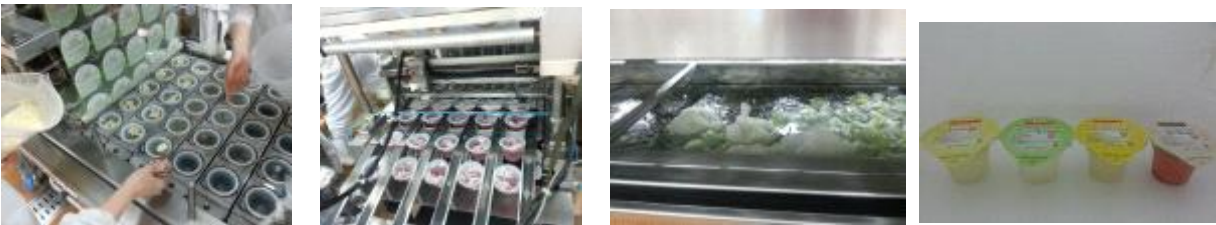
그림 30. 시제품 동치미 음료 제조과정(Factory scale, 일반형/첨가별/큐브형).



재료 전처리 → 절임 → 탈수 → 부재료 첨가



동치미 국물 첨가 → 상온 숙성 → 고속 연속여과 → 살균 및 충전



큐브 첨가 → 이송 → 냉각 → 제품

그림 31. 큐브형 동치미 음료 시제품 제조과정.

(다) 품질특성 측정

시제품 동치미 음료의 탁도는 동치미 음료의 원액을 spectrophotometer(Model V-650, Jasco)를 사용하여 파장 558 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며, pH는 동치미 음료를 잘 흔들어서 10 mL씩 취하여 측정하였으며, 실온에서 pH meter(Model 520A, Orion Research INC., USA)로 측정하였음. 염도는 염도측정기(기미상공, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 가용성 고형분은 굴절당도계(Model WM-7, ATAGO Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 비중은 비중계(대광, Korea)를 이용하여 측정하였으며, 산도는 동치미 음료 10 mL을 취하여 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 젯산 함량으로 환산하였음. 동치미 음료의 관능특성은 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며 평가항목은 색, 현탁도, 신냄새, 탄산미, 신맛, 짠맛, 단맛의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적기호도에 관하여 평가하였음. 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의성 검정을 시행하였음.

(3) 결과 및 고찰

(가) 살균공정 확립

살균조건에 따른 동치미 시료 약어는 표 40에 나타내었음. 즉, 그림 10과 같은 공정으로 동치미 음료를 제조하였으며, 시제품 제조 시 폴리프로필렌 용기 형태의 음료 제조에 적합한 살균 공정을 탐색하기 위하여 충전 전, 후 가열살균 처리한 동치미 음료를 시료로 사용하였음.

표 40. 살균조건별 동치미 시료 약어

시료	살균조건	살균온도	살균시간	원재료 및 함량
A	충진 후	85℃	20 min	알타리무(8 kg), 쪽파(300 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
B	충진 전	100℃	10 min	알타리무(8 kg), 쪽파(300 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추

① 관능적 품질

살균조건별 동치미 음료 약어는 표 41에 나타내었음. 충진 전, 후의 살균조건을 달리하여 제조한 동치미 음료의 관능적 품질 측정 결과, 용기에 충진한 후 음료를 가열살균한 처리구에서는 냉각 후 용기가 찌그러지며, 리드지가 제대로 sealing 되지 않아 음료가 새는 문제점이 발생하였음. 이에 따라, 살균과정에서는 용기에 충진하기 전에 100℃ 10분간 가열살균 처리하는 것이 적합할 것으로 사료됨.

표 41. 살균조건별 동치미 음료 약어

시료 <sup>1)</sup>	강도		기호도		외관 품질
	외관 변화	외관	색	맛	
A	5	1	3	5	냉각 후, 용기 형태 변화
B	-	5	3	5	용기 형태 변화 없음

<sup>1)</sup> 표 40의 약어 참조

<sup>2)</sup> 5-point scoring test (5점: 매우 강하다/매우 좋다, 3점: 보통, 1점: 매우 약하다/매우 나쁘다)

(나) 동치미 음료 시제품 품질 및 관능특성

① pH 및 탁도

동치미 음료 시제품 4종의 pH 및 탁도는 표 42에 나타내었음. 모든 시료의 pH는 4.39~4.50의 범위로 나타났음. 탁도는 모든 시료에서 0.24~0.32로 나타났음.

② 염도 및 가용성 고형분

동치미 음료 시제품 4종의 염도 및 가용성 고형분은 표 42에 나타내었음. 염도는 모든 시료에서 0.80~1.00의 범위로 나타났음. 가용성 고형분은 파인애플을 첨가한 동치미 음료가 4.30으로 다른 동치미 음료 보다 높게 나타났음.

표 42. 동치미 음료 시제품 4종의 품질특성

시료	pH	탁도	염도(%)	가용성 고형분 (°Brix)	비중	산도(%)
Con	4.46	0.26	0.90	3.53	1.012	0.01
파인애플	4.45	0.25	0.80	4.30	1.012	0.01
레몬그라스	4.50	0.24	1.00	3.53	1.012	0.02
흑미	4.39	0.32	0.90	3.10	1.012	0.02

### ③ 관능특성

- 동치미 음료 시제품 4종의 관능특성은 표 43, 44에 나타내었음. 강도에서 현탁도는 2.60~3.20으로 나타났으며, 각 시료간의 유의적인 차이를 나타내지 않았음. 단맛은 파인애플 동치미 음료가 5.90으로 Con 동치미 음료 5.20 보다 유의적으로 높게 나타나 단맛의 강도가 높은 것을 확인하였음.

표 43. 동치미 음료 시제품 4종의 관능특성

시료	강도					
	색	현탁도	신냄새	신맛	짠맛	단맛
Con	2.90±0.74 <sup>c1)</sup>	2.60±0.52 <sup>a</sup>	4.60±0.84 <sup>a</sup>	4.60±0.52 <sup>b</sup>	4.50±0.53 <sup>b</sup>	5.20±0.63 <sup>b</sup>
파인애플	2.90±0.74 <sup>c</sup>	2.60±0.52 <sup>a</sup>	2.40±0.52 <sup>c</sup>	3.70±0.67 <sup>c</sup>	4.10±0.57 <sup>b</sup>	5.90±0.74 <sup>a</sup>
레몬그라스	4.80±0.79 <sup>b</sup>	3.10±0.88 <sup>a</sup>	3.80±1.23 <sup>b</sup>	5.30±0.95 <sup>a</sup>	5.30±0.67 <sup>a</sup>	4.40±0.52 <sup>c</sup>
흑미	6.30±0.48 <sup>a</sup>	3.20±0.92 <sup>a</sup>	4.40±0.52 <sup>ab</sup>	5.40±0.52 <sup>a</sup>	5.40±0.70 <sup>a</sup>	4.70±0.67 <sup>bc</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

- 기호도에서 외관 및 색은 흑미 동치미 음료가 7.60으로 나머지 동치미 음료 보다 유의적으로 높게 나타나 외관의 기호도가 우수함을 확인하였음. 맛은 파인애플, 흑미를 첨가한 동치미 음료가 각각 6.50, 5.80 순으로 가장 높은 값을 나타내었으며, 전반적기호도는 파인애플 동치미 음료가 6.20, 흑미 동치미 음료가 5.90으로 보통(5점) 이상의 수준을 나타내어 동치미 음료 시제품 4종 중 가장 기호도가 우수한 것으로 나타났음.

표 44. 동치미 음료 시제품 4종의 관능특성

시료	기호도			
	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
Con	5.40±0.52 <sup>c1)</sup>	4.50±0.53 <sup>c</sup>	5.30±0.82 <sup>bc</sup>	5.10±0.74 <sup>b</sup>
파인애플	5.30±0.48 <sup>c</sup>	6.30±0.67 <sup>a</sup>	6.50±0.71 <sup>a</sup>	6.20±0.79 <sup>a</sup>
레몬그라스	5.90±0.57 <sup>b</sup>	6.90±0.99 <sup>a</sup>	5.00±0.67 <sup>c</sup>	4.90±0.74 <sup>b</sup>
흑미	7.60±0.52 <sup>a</sup>	5.30±0.82 <sup>b</sup>	5.80±0.63 <sup>b</sup>	5.90±0.74 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

(다) Scale-up 동치미 음료 시제품 개발

Scale-up 동치미 음료 개발 시제품의 특징 및 표기사항은 표 45, 그림 32에 나타내었음. 동치미 음료 시제품은 폴리프로필렌 재질의 컵 용기(상면지름:높이:하면지름=80×60×40 mm, 100 mL)로 뚜껑을 벗겨내 음용하기 용이한 형태임.



그림 32. 동치미 음료 시제품 4종 디자인.

표 45. 동치미 음료 시제품 및 특징(성분표기사항)






사진	특징
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명 : 동치미수</li> <li>○ 식품의 유형 : 과·채음료(살균제품)</li> <li>○ 내용량 : 100 mL</li> <li>○ 원재료 및 함량 : 알타리무 고형분 30%, 배, 천일염, 설탕</li> <li>○ 포장재질 : 용기/리드지-폴리프로필렌/폴리에틸렌</li> <li>○ 보관방법 : 냉장보관(0~10℃)</li> <li>○ 유통기한 : 제조일로부터 3개월</li> </ul>

표 46. 동치미 음료 시제품 4종

분류	동치미수	파인애플 동치미수	레몬그라스 동치미수	흑미 동치미수
시제품				
원재료 및 함량	알타리무 35%, 배 5%, 천일염, 설탕	알타리무 35%, 레몬그라스 0.2%, 배 5%, 천일염, 설탕	알타리무 35%, 레드비트 0.5%, 배 5%, 천일염, 설탕	알타리무 35%, 흑미 1.5%, 배 5%, 천일염, 설탕

### 3. 기능성 쌀음료 제품 고급화, 다양화 및 산업화

#### 가. 동치미 쌀음료 신제품 개발 컨셉 도출

##### (1) 타겟별 기능성 소재의 선정 및 동치미 음료 컨셉 도출

타겟별 기호도에 적합한 동치미 음료 첨가 기능성 소재를 선정하기 위하여, 기능성 음료 개발 및 기능성 소재에 관한 연구를 참조하였음. 또한, 타겟별 제품 컨셉을 도출하고 적용 소재를 달리하기 위하여 어린이, 성인, 노인을 각각 대상으로 실시한 음료 섭취 현황 연구 등을 참조하였음. 기능성 음료 제품 컨셉에 따른 적용 원료는 표 47과 같이 소재가 다양하였으며, 최근의 음료 동향 및 동치미 음료에 적합성 여부 등을 중점으로 연구원들의 Brain-storming 개발회의를 거쳐 우리나라의 전통 동치미에 천연 기능성 원료를 첨가한 동치미 음료를 개발하고자 하였음. 즉, 어린이를 대상으로 한 파인애플 동치미 음료, 성인 여성을 대상으로 한 오미자 동치미 음료, 노인을 대상으로 한 흑미 동치미 음료의 3종 소재를 선정하였음.

표 47. 기능성 음료 제품 컨셉 및 적용 원료

적용 컨셉	소재명	유래	지표성분	제조국
위벽보호/위건강	Mucosave	선인장추출물+ 올리브잎 추출물	폴리페놀	이탈리아
	비타민 U	양배추추출물	비타민 U	미국
간건강/항피로/ 알콜대사	안세린	참치유래 펩타이드	안세린 펩타이드	일본
다이어트	Slendesta	감자단백	Protenase inhibitor	미국
	바오밥식이섬유	바오밥 열매	식이섬유	이탈리아
	Oxi-fend	키위추출물	Actinidin(단백질 소화촉진) 프리바이오틱	뉴질랜드
여성/피부건강 항산화	Bergavit	레드오렌지	플라보노이드	이탈리아
	딸기종자엑스	딸기종자추출물	티리로사이드	일본
	카무카무 농축분말	CAMU-CAMU	천연 비타민C 2700 mg/ 100 g	일본, 인도
면역	유산균 유래 천연 셀레늄, 아연	유산균 (Lactobacillus Bulgaricus)	셀레늄, 아연	미국
	Soypolya	대두	폴리아민	일본
	ColFos	초유+ 프락토올리고당	IgG 40% 이상 Fructose 33.3%	체코
미네랄 보충	천연마그네슘	바닷물유래	Mg/Polyol	프랑스
남성/활력/항피로	유산균 유래 천연 비타민B کم플렉스	유산균 (Lactobacillus Bulgaricus)	비타민 B <sub>1</sub> 비타민 B <sub>2</sub> 비타민 B <sub>5</sub> 비타민 B <sub>6</sub> 비타민 B <sub>9</sub>	미국



적용 컨셉	소재명	유래	지표성분	제조국
어린이/면역, 성장	유산균 유래 천연 Multi Vitamin & Mineral complex	유산균 (Lactobacillus Bulgaricus)	Thiamin(B <sub>1</sub> ) Rivoflavin(B <sub>2</sub> ) Pantothenic acid(B <sub>5</sub> ) Pyridoxine(B <sub>6</sub> ) Folic acid(B <sub>9</sub> ) Vitamin D <sub>3</sub> Selenium Zinc Chromium	미국

#### 나. 타겟별 동치미 쌀음료 시제품 개발 및 품질특성

##### (1) 재료

알타리무는 서울 경동시장에서 구입한 것으로 강원도산 재래종 무이며, 양파, 쪽파, 배, 생강, 마늘, 절인고추도 같이 구입하여 사용하였음. 흑미는 2013년 진도산을 사용하였으며, 오설록 오미자, 델몬트 파인애플을 사용하였음. 천일염은 청정원, 설탕은 백설의 백설탕을 사용하였음.

##### (1) 방법

###### (가) 동치미 음료 시제품 제조

타겟별 기능성 소재 적용을 위한 기본형 동치미 음료 시제품 4종 즉, CON, 파인애플(어린이용), 오미자(여성), 흑미(노인) 동치미 음료를 제조하였음(그림 33). 즉 주원료인 알타리무는 깨끗이 씻은 후 물기를 빼고 다듬은 후 소금물(20% w/v)에 2시간 상온에서 침지하여 절인 후 탈수하였음. 부재료인 양파와 배, 생강, 마늘, 절인고추 등은 다듬은 후 첨가하였음. 쪽파는 깨끗이 씻은 후 다듬어 소금물에 30분간 절인 후 사용하였음. 준비된 재료에 천일염과 설탕, 물을 혼합하여 제조한 동치미 국물을 첨가한 후, 25~28℃에서 12~24 시간 숙성하여 동치미를 완성하였음. 절인 알타리무와 부재료는 표 48과 같은 비율로 첨가하였으며, 동치미의 최종 염도는 0.8~1.0%가 되도록 하였음. 숙성된 동치미는 pH가 5.0 이하에 도달했을 때를 숙성완료 시점으로, 동치미의 고형분을 제거한 동치미액을 5,000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 여과하였음. 여과한 동치미액은 100℃에서 10분간 살균 후 폴리프로필렌 재질(상면 지름:높이:하면지름=80×60×40 mm, 100 mL)의 컵에 충전한 후, 방냉하여 동치미 음료를 완성하였음(그림 34).

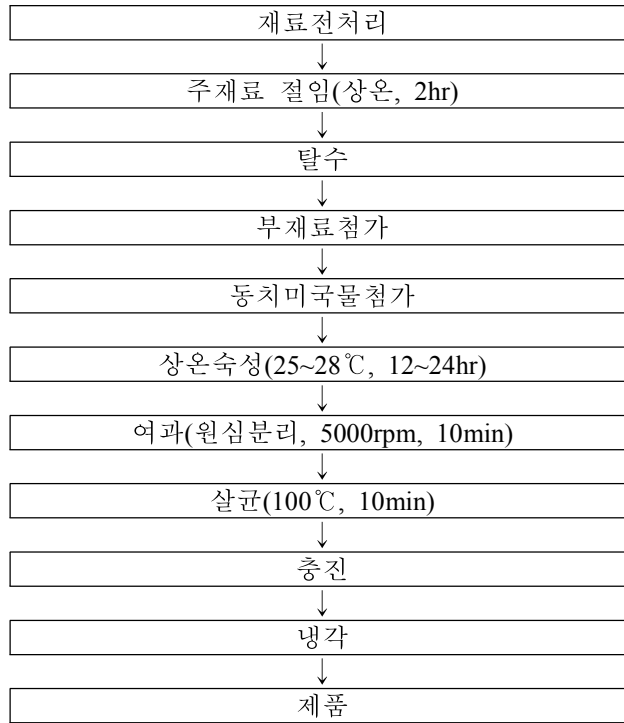


그림 33. 기본형 동치미 음료 제조과정.

표 48. 기본형 동치미 음료 4종 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량
Con	알타리무(1.2 kg), 쪽파(30 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
파인애플	알타리무(1.2 kg), 파인애플(150 g), 쪽파(30 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
흑미	알타리무(1.2 kg), 흑미(50 g), 쪽파(30 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
오미자	알타리무(1.2 kg), 오미자(25 g), 쪽파(30 g), 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추



상온 숙성 → 여과 및 살균 → 충전 및 포장

그림 34. 기본형 동치미 음료 시제품 제조과정.

(나) 품질특성 측정

동치미 시제품 음료 4종의 탁도는 동치미 음료의 원액을 spectrophotometer(Model V-650, Jasco)를 사용하여 파장 558 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며, pH는 동치미 음료를 잘 흔들어서 10 mL씩 취하여 측정하였으며, 실온에서 pH meter(Model 520A, Orion Research INC., USA)로 측정하였음. 염도는 염도측정기(기미상공, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 가용성 고형분은 굴절당도계(Model WM-7, ATAGO Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 산도는 동치미 음료 10 mL을 취하여 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 젯산 함량으로 환산하였음. 색도는 색차계(Color and color difference meter, CR-300, Minolta, Japan)를 이용하여 각각의 시료를 직경 3 cm, 높이 1 cm cell에 담아 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값을 3회 반복 측정하였으며, 이 때 백색표준판은 L값 93.32, a값 -0.38, b값은 2.52였음. 동치미 음료의 관능특성은 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며 평가항목은 현탁도, 신냄새, 신맛, 짠맛, 단맛, 후미의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적기호도에 관하여 평가하였음. 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의성 검정을 시행하였음.

### (3) 결과 및 고찰

#### (가) 색도

기본형 동치미 음료 시제품 4종의 색도는 표 49에 나타내었음. 밝기를 나타내는 L값은 흑미, 오미자 첨가 동치미 음료가 대조구 보다 유의적으로 낮게 나타남. 적색도를 나타내는 a값은 오미자 첨가 동치미 음료가 1.49로 시제품 중 유의적으로 가장 높아 적색의 정도가 큰 것을 확인할 수 있었음.

표 49. 기본형 동치미 음료 시제품 4종의 색도

시료	L	a	b
Con	33.06±0.06 <sup>a1)</sup>	0.45±0.02 <sup>c</sup>	0.05±0.05 <sup>c</sup>
파인애플	33.17±0.07 <sup>a</sup>	0.47±0.03 <sup>c</sup>	-0.17±0.15 <sup>c</sup>
흑미	31.56±0.16 <sup>b</sup>	0.90±0.04 <sup>b</sup>	1.66±0.17 <sup>b</sup>
오미자	31.65±0.35 <sup>b</sup>	1.49±0.16 <sup>a</sup>	2.49±0.38 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄



그림 35. 기본형 동치미 음료 시제품 4종의 외관(Con, 파인애플, 흑미, 오미자).

#### (나) 이화학적 특성

기본형 동치미 음료 시제품 4종의 품질특성은 표 50에 나타내었음. 동치미 음료 시제품 4종의 pH는 3.29~4.04로 나타남. 염도는 0.73~0.93으로 나타났으며, 흑미, 오미자 첨가 동치미 음료의 염도가 대조구 보다 낮았음. 가용성 고형분은 파인애플, 흑미, 오미자 첨가 동치미 음료가 대조구 보다 높은 것으로 나타남. 탁도는 흑미 동치미 음료가 가장 높게 나타나 비교적

흔탁한 정도가 높게 나타났으며, 산도는 오미자 첨가구가 시제품 4종 중 가장 높게 나타남.

표 50. 기본형 동치미 음료 시제품 4종의 이화학적 특성

시료	pH	염도	가용성 고형분 (°Brix)	탁도	산도(%)
Con	3.85±0.01	0.97±0.06	4.50±0.00	0.26±0.00	0.01±0.00
파인애플	3.87±0.01	0.97±0.06	5.10±0.00	0.21±0.00	0.01±0.00
흑미	4.04±0.03	0.83±0.06	4.60±0.00	0.44±0.00	0.01±0.00
오미자	3.29±0.01	0.73±0.06	6.00±0.00	0.26±0.00	0.06±0.00

(다) 관능특성

- 기본형 동치미 음료 시제품 4종의 관능특성은 표 51, 52에 나타내었음. 강도에서 현탁도는 오미자 첨가구가 유의적으로 가장 낮았으며, 신냄새 및 신맛은 오미자 첨가구가 유의적으로 가장 높게 나타남. 단맛은 파인애플 첨가구가 보통(5점) 수준 이상으로 높게 나타나 어린이 타겟의 음료 컨셉에 적합할 것으로 사료되었음.

표 51. 기본형 동치미 음료 시제품 4종의 관능특성(1)

시료	강도					
	현탁도	신냄새	신맛	짠맛	단맛	후미
Con	4.25±0.89 <sup>a1)</sup>	4.00±0.76 <sup>bc</sup>	5.00±2.00 <sup>b</sup>	5.25±0.89 <sup>a</sup>	4.25±1.58 <sup>b</sup>	5.50±0.53 <sup>a</sup>
파인애플	3.00±0.76 <sup>b</sup>	3.00±1.07 <sup>c</sup>	3.25±0.89 <sup>c</sup>	3.50±1.20 <sup>b</sup>	6.50±0.93 <sup>a</sup>	4.25±0.89 <sup>b</sup>
흑미	4.50±1.60 <sup>a</sup>	4.25±1.16 <sup>b</sup>	4.50±1.20 <sup>bc</sup>	3.25±0.89 <sup>b</sup>	5.50±0.93 <sup>a</sup>	6.25±0.89 <sup>a</sup>
오미자	1.75±0.46 <sup>c</sup>	7.25±0.89 <sup>a</sup>	7.75±0.46 <sup>a</sup>	4.50±1.60 <sup>ab</sup>	4.00±1.31 <sup>b</sup>	6.25±1.16 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

- 기호도에서 외관 및 색은 오미자 첨가 동치미 음료가 7.75로 유의적으로 가장 높았으며, 향, 맛, 전반적 기호도는 파인애플 동치미 음료가 보통(5점) 수준 이상으로 나타나 기호도가 우수한 것을 확인할 수 있었음. 흑미, 오미자를 각각 첨가한 동치미 음료는 대조구 보다 전반적 기호도가 낮아 관능적 품질 향상이 필요할 것으로 사료됨.

표 52. 기본형 동치미 음료 시제품 4종의 관능특성(2)

시료	기호도			
	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
Con	5.75±1.39 <sup>b1)</sup>	6.00±1.07 <sup>b</sup>	5.00±1.31 <sup>b</sup>	5.25±1.58 <sup>b</sup>
파인애플	6.50±1.20 <sup>b</sup>	7.00±0.76 <sup>a</sup>	7.25±0.46 <sup>a</sup>	7.50±0.53 <sup>a</sup>
흑미	5.75±1.16 <sup>b</sup>	4.50±1.20 <sup>c</sup>	4.00±0.76 <sup>b</sup>	4.00±0.76 <sup>b</sup>
오미자	7.75±0.89 <sup>a</sup>	4.00±0.76 <sup>c</sup>	4.00±1.51 <sup>b</sup>	4.00±1.51 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

다. 시제품 평가 및 개선점 도출

## (1) 재료

시제품 평가에 사용된 동치미 음료는 그림 33, 34와 같은 공정으로 제조한 기본형 동치미 음료이며, 조화성 평가에 함께 섭취한 기호 식품의 종류는 표 54의 결과에 제시하였음. 기호 식품과의 조화성 평가를 통하여 평가 결과는 최종 시제품 개발에 반영하도록 하였음.

## (2) 방법

### (가) 항산화 활성 평가

#### ① Ferric reducing antioxidant power(FRAP) 측정

FRAP 활성은 Benzie & Strain의 방법을 일부 변형하여 96 well microplate에 시료를 분주하여 microplate reader로 측정하였음. 시료 용액 10  $\mu$ L에 10 mM TPTZ/40 mM HCl, 20 mM ferric chloride 및 300 mM acetate buffer(pH 3.6)를 1:1:10(v/v/v)의 비율로 혼합하여 제조한 FRAP reagent 300  $\mu$ L를 가한 후 실온에서 10 min 방치 후에 593 nm에서 흡광도를 측정하였음. 이때 표준물질로 Trolox를 사용하여 얻은 표준곡선( $y=1.0573x + 0.0122$ ,  $r^2=0.9994$ )으로 부터 시료의 항산화 활성을 Trolox equivalent (TE)로 환산하여 mM TE/mL로 나타냄.

#### ② DPPH radical 소거능 측정

시료의 DPPH radical 소거활성은 Brand-Williams의 방법을 일부 변형하여 96 well microplate에 시료를 분주하여 microplate reader로 측정하였음. 시료 용액 10  $\mu$ L에 0.12 mM DPPH 용액 190  $\mu$ L를 가한 후 실온에서 30 min 방치 후에 517 nm에서 흡광도를 측정하였음. 이때 표준물질로 Trolox를 사용하여 얻은 표준곡선( $y=-0.5895x + 0.7067$ ,  $r^2=0.9995$ )으로 부터 시료의 항산화 활성을 Trolox equivalent (TE)로 환산하여 mM TE/mL로 나타냄.

#### ③ ABTS radical 소거능 측정

ABTS radical 소거활성은 Thaipong 등의 방법을 일부 변형하여 96 well microplate에 시료를 분주하여 측정하였음. 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulphate를 1:1(v/v) 비율로 혼합하고 16 h 동안 암소에 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 phosphate buffered saline(pH 7.4)을 이용하여 734 nm에서 흡광도 값이 0.9-1.0이 되도록 희석하였음. 시료 용액 10  $\mu$ L에 희석된 ABTS radical 용액 190  $\mu$ L를 가한 후 실온에서 60 min 방치 후에 734 nm에서 흡광도를 측정하였음. 이때 표준물질로 Trolox를 사용하여 얻은 표준곡선( $y=-0.5029x + 0.7788$ ,  $r^2=0.9972$ )으로 부터 시료의 항산화 활성을 Trolox equivalent (TE)로 환산하여 mM TE/mL으로 나타냄.

### (나) 조화성 평가

동치미 음료 시제품의 관능적 품질을 확인하기 위하여 시중판매 중인 떡류 제품과 기타 기호 식품을 함께 섭취하도록 하였으며, 동치미 음료와의 조화성과 전반적기호도를 평가하고자 하였음. 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며, 평가 항목은 조화성, 전반적기호도로 구성하였음. 동치미 음료는 완제품 100 mL 컵 형태의 음료를 제공하여, 기호식품과 함께 음용 또는 떠먹을 수 있도록 하였음. 조사 결과의 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여 유의성

검정을 시행하였음.

(3) 결과 및 고찰

(가) 항산화 활성

기본형 흑미, 오미자 동치미 음료의 항산화 활성 평가 결과는 표 53에 나타내었음. 평가 결과, FRAP에서 흑미 동치미 음료는 0.53 mM TE/mL였으며, 오미자 동치미 음료는 0.63 mM TE/mL였음. DPPH 및 ABTS radical 소거활성은 오미자 동치미 음료가 각각 0.44 mM TE/mL, 6.51 mM TE/mL로 흑미 동치미 음료 보다 높게 나타남.

표 53. 기본형 흑미, 오미자 동치미 음료의 항산화 활성 평가

시료	FRAP (mM TE/mL)	DPPH (mM TE/mL)	ABTS (mM TE/mL)
흑미	0.53±0.01 <sup>1)</sup>	0.28±0.02	5.16±0.03
오미자	0.63±0.02	0.44±0.04	6.51±0.05

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

(나) 조화성 평가

동치미 음료 시제품의 조화성 평가 결과는 표 54에 나타내었음. 평가 결과, 조화성은 떡볶이를 제외한 모든 제품에서 보통(5점) 이상 수준으로 평가되어 조화성이 우수한 것으로 나타남. 떡류 중에서는 백설기, 인절미와 조화성이 높았으며, 기타 제품에서는 죽과의 조화성이 7.71로 유의적으로 가장 높게 나타남. 떡류, 죽 등 쌀 가공제품을 제외한 기타 인스턴트 식품인 피자, 치킨과의 조화성도 높게 평가되었음. 전반적기호도는 죽, 치킨, 백설기, 인절미 순으로 높았으며, 모든 제품에서 전반적으로 기호도가 양호한 것으로 나타남.

표 54. 동치미 음료 시제품의 조화성 평가

제품	조화성	전반적기호도	
떡류	백설기	6.71±1.25 <sup>abc1)</sup>	6.57±1.27 <sup>ab</sup>
	인절미	6.86±1.57 <sup>abc</sup>	6.57±1.62 <sup>ab</sup>
	영양찰떡	5.29±1.25 <sup>cd</sup>	4.71±0.95 <sup>cd</sup>
	경단	5.86±1.86 <sup>bc</sup>	6.14±1.46 <sup>bc</sup>
기타	술빵	4.00±1.53 <sup>de</sup>	4.43±1.81 <sup>d</sup>
	죽	7.71±0.95 <sup>a</sup>	8.00±1.00 <sup>a</sup>
	피자	6.57±1.51 <sup>abc</sup>	6.29±1.50 <sup>b</sup>
	치킨	7.29±1.11 <sup>ab</sup>	7.14±1.35 <sup>ab</sup>
	떡볶이	3.57±0.98 <sup>c</sup>	3.29±1.11 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄



그림 36. 기호 식품과 기본형 동치미 음료의 조화성 평가.

- 기타 의견(표 55)으로는 동치미 음료가 강한 향의 음식과 어울리지 않는다는 의견이 있었으며, 동치미의 달콤 상큼한 맛이 인스턴트 식품의 느끼함을 억제해 주어 조화가 뛰어나다는 의견, 떡류와의 조화성이 높다는 의견, 떡 중에서도 백설기와 가장 잘 어울린다는 의견 등이 있었음. 또한, 새로운 컨셉의 동치미 음료 개발을 위해서는 고휘분 첨가와 같은 아이디어 첨가물이 필요하다는 의견들이 도출되어 최종 시제품 개발에 반영하도록 하였음. 이상의 조화성 평가를 통하여, 동치미 음료의 우수한 관능적 품질을 확인할 수 있었으며, 향후 동치미 음료 시제품의 보급 및 보편화 가능성이 기대됨.

표 55. 기호 식품과 동치미 음료 관능특성 기타 의견

기타 의견
단맛 또는 강한 향의 음식과는 어울리지 않음.
동치미가 느끼함을 잡아주는 것 같아 치킨과 잘 어울림.
떡과의 조화성 높음.
피자, 치킨과 같은 인스턴트 식품과 잘 어울림.

## 라. 기호성 증진 및 영양성분 강화 동치미 음료 제조

### (1) 재료

알타리무는 서울 경동시장에서 구입한 것으로 강원도산 재래종 무이며, 양파, 쪽파, 배, 생강, 마늘, 절인고추도 같이 구입하여 사용하였음. 흑미는 2013년 진도산을 사용하였으며, 오설록 오미자, 텔몬트 파인애플을 사용하였음. 천일염은 청정원, 설탕은 백설의 백설탕을 사용하였으며, 멀티비타민, 액상칼슘은 (주)서울우유에서 제공받아 사용하였음.

### (2) 방법

#### (가) 동치미 음료 제조

영양성분 강화 동치미 음료는 그림 37과 같은 공정으로 제조하였음. 즉 주원료인 알타리무는 깨끗이 씻은 후 물기를 빼고 다듬은 후 소금물(20% w/v)에 2시간 상온에서 침지하여 절인 후 탈수하였음. 부재료인 양파와 배, 생강, 마늘, 절인고추 등은 다듬은 후 첨가하였음. 쪽파는 깨끗이 씻은 후 다듬어 소금물에 30분간 절인 후 사용하였음. 준비된 재료에 천일염과 설탕, 물을 혼합하여 제조한 동치미 국물을 첨가한 후, 25~28℃에서 12~24 시간 숙성하여 동치미의 최

중 염도는 0.8~1.0%가 되도록 하였음. 숙성된 동치미는 pH가 5.0 이하에 도달했을 때를 숙성완료 시점으로, 동치미의 고형분을 제거한 동치미액을 5,000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 여과하였음. 여과한 동치미액에 기능성 성분(멀티비타민 또는 액상칼슘)을 첨가한 후 100℃에서 10 분간 살균하여 폴리프로필렌 재질(상면 지름:높이:하면지름=80×60×40 mm, 100 mL)의 컵에 충전 및 방냉하여 동치미 음료를 완성하였음.

(나) 품질특성 측정

영양성분 강화 동치미 음료의 탁도는 동치미 음료의 원액을 spectrophotometer(Model V-650, Jasco)를 사용하여 파장 558 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며, pH는 동치미 음료를 잘 흔들어 10 mL씩 취하여 측정하였으며, 실온에서 pH meter(Model 520A, Orion Research INC., USA)로 측정하였음. 염도는 염도측정기(기미상궁, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 가용성 고형분은 굴절당도계(Model WM-7, ATAGO Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 산도는 동치미 음료 10 mL을 취하여 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 젯산 함량으로 환산하였음. 색도는 색차계(Color and color difference meter, CR-300, Minolta, Japan)를 이용하여 각각의 시료를 직경 3 cm, 높이 1 cm cell에 담아 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값을 3회 반복 측정하였으며, 이 때 백색표준판은 L값 93.32, a값 -0.38, b값은 2.52였음. 동치미 음료의 관능특성은 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며 평가항목은 현탁도, 신냄새, 신맛, 짠맛, 단맛, 후미의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적기호도에 관하여 평가하였음. 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의성 검정을 시행하였음.

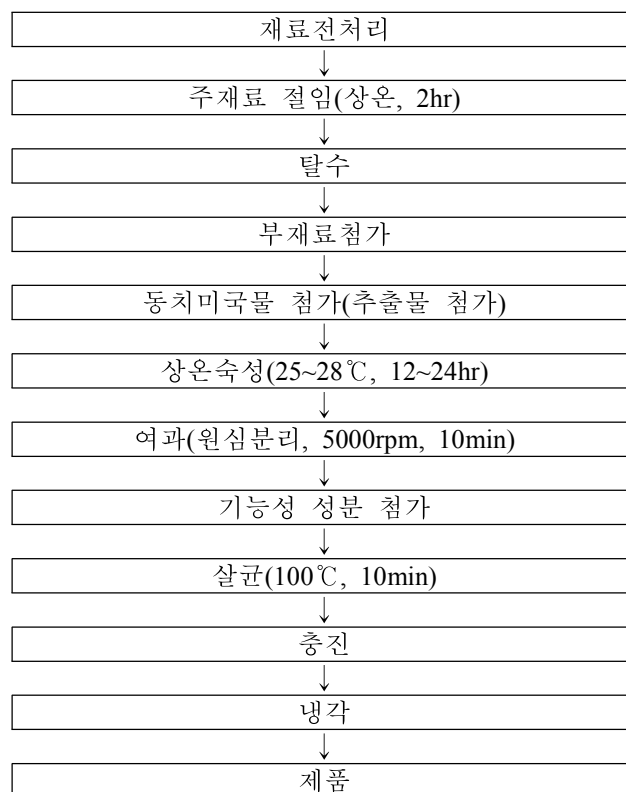


그림 37. 기능성 동치미 음료 제조과정.



(3) 결과 및 고찰

(가) 파인애플 기능성 동치미 음료의 품질특성

파인애플 기능성 동치미 음료의 원재료 및 함량은 표 56에 나타내었음.

표 56. 파인애플 기능성 동치미 음료 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량	비고
Con	알타리무(1.2 kg), 파인애플(150 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	무첨가
0.05PV	알타리무(1.2 kg), 파인애플(150 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	멀티비타민 0.05%
0.10PV	알타리무(1.2 kg), 파인애플(150 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	멀티비타민 0.10%
0.20PV	알타리무(1.2 kg), 파인애플(150 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	멀티비타민 0.20%

① 색도

파인애플 기능성 동치미 음료의 색도는 표 57에 나타내었음. 밝기를 나타내는 L값은 Con과 0.05PV가 유의적으로 가장 높았으며, 황색도를 나타내는 b값은 Con이 가장 낮아 황색의 정도가 낮은 것을 확인할 수 있었음. 멀티비타민을 첨가한 0.05PV, 0.10PV, 0.20PV는 대조구 보다 L값은 낮고, b값은 높아 외관의 명도가 낮고 황색의 정도가 큰 것으로 나타남.

표 57. 파인애플 기능성 동치미 음료의 색도

시료 <sup>1)</sup>	L	a	b
Con	33.17±0.07 <sup>a2)</sup>	0.47±0.03 <sup>a</sup>	-0.17±0.15 <sup>c</sup>
0.05PV	32.59±0.19 <sup>a</sup>	0.37±0.06 <sup>b</sup>	0.24±0.18 <sup>b</sup>
0.10PV	31.06±0.51 <sup>b</sup>	0.25±0.03 <sup>c</sup>	0.95±0.24 <sup>a</sup>
0.20PV	29.87±0.32 <sup>c</sup>	0.25±0.03 <sup>c</sup>	0.19±0.06 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> 표 56의 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄



그림 38. 파인애플 기능성 동치미 음료의 외관(Con, 0.05PV, 0.10PV, 0.20PV).

② 이화학적 특성

파인애플 기능성 동치미 음료의 이화학적 특성은 표 58에 나타내었음. pH는 3.84~3.91로 나타났으며, 멀티비타민 첨가에 따른 pH의 변화는 나타나지 않았음. 가용성 고형분은 Con이 5.10 °Brix였으며, 멀티비타민을 첨가한 0.05PV, 0.10PV, 0.20PV는 Con 보다 가용성 고형분이 높게 나타남. 또한, 멀티비타민의 첨가량이 증가할수록 가용성 고형분이 높아지는 경향을 나타냄. 탁도는 멀티비타민 첨가 동치미 음료가 0.60~2.49로 Con의 탁도 보다 높게 나타나 멀티비타민 첨가로 인하여 음료의 혼탁한 정도가 증가한 것을 확인할 수 있었음.

표 58. 파인애플 기능성 동치미 음료의 이화학적 특성

시료 <sup>1)</sup>	pH	염도	가용성 고형분 (°Brix)	탁도	산도(%)
Con	3.87±0.01	0.97±0.06	5.10±0.00	0.21±0.00	0.01±0.00
0.05PV	3.84±0.01	1.00±0.00	5.83±0.06	0.60±0.00	0.04±0.00
0.10PV	3.89±0.01	1.00±0.00	5.97±0.06	1.28±0.00	0.04±0.00
0.20PV	3.91±0.01	1.00±0.00	6.17±0.06	2.49±0.00	0.04±0.00

<sup>1)</sup> 표 56의 약어 참조

③ 관능특성

- 파인애플 기능성 동치미 음료의 관능특성은 표 59, 60과 같음. 강도에서 현탁도는 멀티비타민을 첨가하지 않은 Con이 유의적으로 가장 낮았으며, 신맛은 0.15PV, 0.20PV가 유의적으로 가장 높았음. 단맛은 Con이 가장 높고 멀티비타민 첨가 동치미 음료 0.05PV, 0.10PV, 0.20PV가 Con 보다 낮게 나타나, 멀티비타민을 첨가하는 경우 단맛이 감소하고 신맛이 상승하는 것으로 보여짐.

표 59. 파인애플 기능성 동치미 음료의 관능특성(1)

시료 <sup>1)</sup>	강도					
	현탁도	신냄새	신맛	짠맛	단맛	후미
Con	3.00±0.76 <sup>d2)</sup>	3.00±1.07 <sup>b</sup>	3.25±0.89 <sup>b</sup>	3.50±1.20 <sup>b</sup>	6.50±0.93 <sup>a</sup>	4.25±0.89 <sup>a</sup>
0.05PV	4.00±0.76 <sup>c</sup>	4.25±1.39 <sup>b</sup>	4.25±1.58 <sup>b</sup>	4.25±0.89 <sup>ab</sup>	6.00±0.76 <sup>ab</sup>	5.25±0.89 <sup>a</sup>
0.10PV	6.00±1.07 <sup>b</sup>	4.25±1.16 <sup>b</sup>	5.75±0.89 <sup>a</sup>	4.50±1.20 <sup>ab</sup>	5.50±0.53 <sup>bc</sup>	5.00±1.31 <sup>a</sup>
0.20PV	7.00±1.07 <sup>a</sup>	6.13±1.25 <sup>a</sup>	6.50±0.93 <sup>a</sup>	5.50±1.77 <sup>a</sup>	5.00±0.76 <sup>c</sup>	5.00±1.07 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> 표 56의 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

- 기호도에서 외관 및 색은 Con이 가장 높았으며, 멀티비타민 첨가 동치미 음료는 유의적으로 낮게 나타남. 이는, 음료의 현탁도 정도가 외관의 기호도에 영향을 미치는 것으로 사료됨. 향, 맛, 전반적기호도는 Con이 유의적으로 가장 높았으며, 멀티비타민 첨가 처리구 중에서는 0.05PV, 0.10PV가 보통(5점) 수준 이상으로 나타나 비타민 첨가 동치미 음료의 기호에 적합한 것으로 판단되었음.

표 60. 파인애플 기능성 동치미 음료의 관능특성(2)

시료 <sup>1)</sup>	기호도			
	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
Con	6.50±1.20 <sup>a2)</sup>	7.00±0.76 <sup>a</sup>	7.25±0.46 <sup>a</sup>	7.50±0.53 <sup>a</sup>
0.05PV	5.75±0.46 <sup>a</sup>	5.88±0.99 <sup>ab</sup>	6.00±1.31 <sup>b</sup>	5.75±1.39 <sup>b</sup>
0.10PV	4.50±0.93 <sup>b</sup>	5.88±0.99 <sup>ab</sup>	6.75±0.89 <sup>ab</sup>	6.50±0.53 <sup>b</sup>
0.20PV	4.00±1.31 <sup>b</sup>	4.75±1.75 <sup>b</sup>	4.25±0.46 <sup>c</sup>	4.00±0.76 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup> 표 56의 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

(나) 흑미 기능성 동치미 음료의 품질특성

흑미 기능성 동치미 음료의 원재료 및 함량은 표 61에 나타내었음.

표 61. 흑미 기능성 동치미 음료 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량	비고
Con	알타리무(1.2 kg), 흑미(50 g), 오미자(25 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	무첨가
0.05BC	알타리무(1.2 kg), 흑미(50 g), 오미자(25 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	액상칼슘 0.05%
0.10BC	알타리무(1.2 kg), 흑미(50 g), 오미자(25 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	액상칼슘 0.10%
0.20BC	알타리무(1.2 kg), 흑미(50 g), 오미자(25 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	액상칼슘 0.20%

① 색도

흑미 기능성 동치미 음료의 색도는 표 62에 나타내었음. 밝기를 나타내는 L값은 Con과 0.05BC가 가장 높았으며, 적색도를 나타내는 a값은 Con이 가장 높게 나타남. 칼슘을 첨가한 0.05BC, 0.10BC, 0.20BC는 Con 보다 a값이 낮아 칼슘 첨가에 따라 적색의 정도가 감소하는 것을 확인할 수 있었음. 황색도를 나타내는 b값은 0.10BC, 0.20BC가 유의적으로 가장 높게 나타남.

표 62. 흑미 기능성 동치미 음료의 색도

시료 <sup>1)</sup>	L	a	b
Con	30.77±0.31 <sup>a2)</sup>	0.98±0.07 <sup>a</sup>	2.11±0.21 <sup>b</sup>
0.05BC	30.37±0.78 <sup>a</sup>	0.76±0.13 <sup>b</sup>	2.75±0.64 <sup>ab</sup>
0.10BC	29.93±0.25 <sup>a</sup>	0.74±0.07 <sup>b</sup>	3.19±0.28 <sup>a</sup>
0.20BC	27.62±0.46 <sup>b</sup>	0.87±0.07 <sup>ab</sup>	3.09±0.05 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> 표 61의 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄



그림 39. 흑미 기능성 동치미 음료의 외관(Con, 0.05BC, 0.10BC, 0.20BC).

### ② 이화학적 특성

흑미 기능성 동치미 음료의 이화학적 특성은 표 63과 같음. pH는 Con이 4.04로 가장 낮았으며, 액상칼슘을 첨가한 동치미 음료는 5.22~7.18로 첨가량이 증가할수록 pH가 상승하였음. 이는, 액상칼슘의 첨가로 인한 pH의 완충작용으로 숙성 동치미의 pH 저하를 감소시키는 것으로 판단되었음. 염도는 Con이 0.83, 액상칼슘 첨가 흑미 동치미 음료는 1.10~1.20으로 나타남. 가용성 고형분은 4.53~5.17 °Brix로 나타나 액상칼슘 첨가에 따른 경향을 나타내지 않았음. 탁도는 Con, 0.05BC, 0.10BC가 각각 0.44, 0.35, 0.41로 나타났으며, 0.20BC는 1.96으로 가장 높았음. 이에 따라, 0.20% 액상칼슘 첨가는 음료의 혼탁한 정도가 커서, 0.20% 이하의 액상칼슘 첨가가 적합할 것으로 사료되었음.

표 63. 흑미 기능성 동치미 음료의 이화학적 특성

시료 <sup>1)</sup>	pH	염도	가용성 고형분 (°Brix)	탁도	산도(%)
Con	4.04±0.03	0.83±0.06	4.60±0.00	0.44±0.00	0.01±0.00
0.05BC	5.22±0.01	1.10±0.00	4.53±0.06	0.35±0.00	0.02±0.00
0.10BC	5.82±0.01	1.20±0.00	5.17±0.06	0.41±0.00	0.01±0.00
0.20BC	7.18±0.01	1.20±0.00	5.10±0.10	1.96±0.02	0.01±0.00

<sup>1)</sup> 표 61의 약어 참조

### ③ 관능특성

- 흑미 기능성 동치미 음료의 관능특성은 표 64, 65에 나타내었음. 강도에서 현탁도는 Con이 3.25로 유의적으로 가장 낮았으며, 액상칼슘 첨가 흑미 동치미 음료는 모두 보통(5점) 이상으로 평가되었음. 신맛, 짠맛은 Con이 유의적으로 낮았으며 단맛은 가장 높게 나타남. 0.05BC는 0.10BC, 0.20BC 보다 단맛이 유의적으로 높게 평가되었으나, 전반적으로 액상칼슘 첨가량에 따른 강도의 차이는 확연하게 나타나지 않았음.

표 64. 흑미 기능성 동치미 음료의 관능특성(1)

시료 <sup>1)</sup>	강도					
	현탁도	신냄새	신맛	짠맛	단맛	후미
Con	3.25±0.89 <sup>c</sup>	3.88±0.64 <sup>b</sup>	4.00±0.76 <sup>b</sup>	3.00±0.76 <sup>b</sup>	5.13±0.83 <sup>a</sup>	4.50±0.93 <sup>a</sup>
0.05BC	5.25±0.71 <sup>b</sup>	4.50±0.93 <sup>b</sup>	5.00±0.76 <sup>a</sup>	4.50±0.93 <sup>a</sup>	4.38±0.74 <sup>ab</sup>	5.00±0.93 <sup>a</sup>
0.10BC	6.00±0.93 <sup>b</sup>	4.63±0.92 <sup>b</sup>	5.63±0.92 <sup>a</sup>	4.50±0.76 <sup>a</sup>	3.63±0.74 <sup>b</sup>	5.13±0.83 <sup>a</sup>
0.20BC	7.13±0.83 <sup>a</sup>	5.75±0.71 <sup>a</sup>	5.88±0.83 <sup>a</sup>	3.75±1.04 <sup>ab</sup>	3.50±0.93 <sup>b</sup>	5.25±0.89 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> 표 61의 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

- 기호도에서 외관 및 색은 Con이 7.13으로 외관의 기호도가 우수한 것으로 평가되었으며, 액상칼슘 첨가 흑미 동치미 음료는 4.13~5.25로 보통(5점) 수준으로 나타남. 이는, 액상칼슘 첨가에 따른 현탁도의 증가로 인해 외관의 기호도가 약간 저하한 것으로 사료됨. 맛은 0.20BC를 제외한 모든 시료에서 유의적인 차이가 나타나지 않았음. 전반적기호도는 Con이 6.00으로 높았으며, 액상칼슘 첨가구는 보통(5점) 수준 이하로 나타나 첨가량을 미량으로 조절하여야 할 것으로 사료되었음.

표 65. 흑미 기능성 동치미 음료의 관능특성(2)

시료 <sup>1)</sup>	기호도			
	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
Con	7.13±0.83 <sup>a</sup>	5.38±0.74 <sup>a</sup>	6.13±0.83 <sup>a</sup>	6.00±0.76 <sup>a</sup>
0.05BC	5.25±0.89 <sup>b</sup>	5.25±0.89 <sup>a</sup>	6.00±1.31 <sup>a</sup>	4.75±0.71 <sup>b</sup>
0.10BC	4.25±0.89 <sup>c</sup>	5.00±0.93 <sup>a</sup>	6.75±0.89 <sup>a</sup>	4.63±1.06 <sup>b</sup>
0.20BC	4.13±0.99 <sup>c</sup>	3.63±0.92 <sup>b</sup>	4.25±0.46 <sup>b</sup>	3.50±0.93 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup> 표 61의 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

(다) 오미자 기능성 동치미 음료의 품질특성

오미자 기능성 동치미 음료의 원재료 및 함량은 표 66에 나타내었음.

표 66. 오미자 기능성 동치미 음료 원재료 및 함량

시료	원재료 및 함량	비고
Con	알타리무(1.2 kg), 파인애플(75 g), 오미자(25 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	무첨가
0.05OV	알타리무(1.2 kg), 파인애플(75 g), 오미자(25 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	멀티비타민 0.05%
0.10OV	알타리무(1.2 kg), 파인애플(75 g), 오미자(25 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	멀티비타민 0.10%
0.20OV	알타리무(1.2 kg), 파인애플(75 g), 오미자(25 g), 쪽파, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추	멀티비타민 0.20%

① 색도

오미자 기능성 동치미 음료의 색도는 표 67에 나타내었음. L, a값은 Con이 유의적으로 가장 높아 밝고 적색도가 비교적 큰 것으로 나타남. 황색도는 멀티비타민을 첨가한 0.05OV, 0.10OV, 0.20OV가 Con 보다 유의적으로 높게 나타남.

표 67. 오미자 기능성 동치미 음료의 색도

시료 <sup>1)</sup>	L	a	b
Con	32.99±0.17 <sup>a2)</sup>	0.68±0.02 <sup>a</sup>	0.33±0.03 <sup>c</sup>
0.05OV	31.43±0.76 <sup>b</sup>	0.57±0.03 <sup>b</sup>	1.67±0.63 <sup>b</sup>
0.10OV	28.88±0.43 <sup>d</sup>	0.64±0.01 <sup>a</sup>	2.46±0.11 <sup>a</sup>
0.20OV	29.85±0.44 <sup>c</sup>	0.49±0.04 <sup>c</sup>	1.36±0.04 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> 표 66의 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄



그림 40. 오미자 기능성 동치미 음료의 외관(Con, 0.05OV, 0.10OV, 0.20OV).

### ② 이화학적 특성

오미자 기능성 동치미 음료의 이화학적 특성은 표 68에 나타내었음. pH는 3.53~4.39 였으며, 염도는 멀티비타민을 첨가한 오미자 동치미 음료가 1.07~1.10으로 Con 보다 높게 나타남. 가용성 고형분은 Con이 5.97로 멀티비타민 첨가구 보다 낮았음. 탁도는 Con이 가장 낮았으며, 멀티비타민 첨가량 증가에 따라 탁도가 증가하는 경향을 나타내었음. 산도는 멀티비타민 첨가량에 따른 경향을 나타내지 않았음.

표 68. 오미자 기능성 동치미 음료의 이화학적 특성

시료 <sup>1)</sup>	pH	염도	가용성 고형분 (°Brix)	탁도	산도(%)
Con	3.53±0.02	1.00±0.00	5.97±0.06	0.13±0.00	0.06±0.00
0.05OV	4.32±0.01	1.07±0.06	7.07±0.23	0.76±0.00	0.04±0.00
0.10OV	4.35±0.01	1.10±0.00	6.90±0.10	1.47±0.00	0.04±0.00
0.20OV	4.39±0.01	1.07±0.06	7.00±0.10	2.57±0.00	0.04±0.00

<sup>1)</sup> 표 66의 약어 참조

### ③ 관능특성

- 오미자 기능성 동치미 음료의 관능특성은 표 69, 70에 나타내었음. 강도에서 현탁도는 Con이 2.25로 매우 낮은 반면, 멀티비타민 첨가 오미자 동치미 음료는 모두 보통(5점) 이상 수준으로 평가되어 외관의 혼탁한 정도가 큰 것을 확인할 수 있었음. 멀티비타민 첨가 동치미 음료 0.05OV, 0.10OV, 0.20OV는 Con 보다 신냄새, 신맛이 유의적으로 낮았으며, 짠맛, 단맛, 후미는 유의적인 차이를 나타내지 않았음.

표 69. 오미자 기능성 동치미 음료의 관능특성(1)

시료 <sup>1)</sup>	강도					
	현탁도	신냄새	신맛	짠맛	단맛	후미
Con	2.25±0.46 <sup>(c2)</sup>	6.00±1.31 <sup>a</sup>	7.25±0.89 <sup>a</sup>	4.50±0.93 <sup>a</sup>	4.00±1.07 <sup>a</sup>	5.50±0.93 <sup>a</sup>
0.05OV	5.00±1.20 <sup>b</sup>	4.88±0.83 <sup>b</sup>	5.00±0.76 <sup>b</sup>	4.38±0.74 <sup>a</sup>	4.25±0.71 <sup>a</sup>	4.75±1.04 <sup>a</sup>
0.10OV	6.13±0.83 <sup>a</sup>	4.63±1.06 <sup>b</sup>	5.63±0.92 <sup>b</sup>	4.00±0.76 <sup>a</sup>	3.88±0.83 <sup>a</sup>	5.00±1.07 <sup>a</sup>
0.20OV	6.75±0.71 <sup>a</sup>	5.50±0.76 <sup>ab</sup>	5.88±0.83 <sup>b</sup>	4.13±0.99 <sup>a</sup>	3.75±1.04 <sup>a</sup>	5.00±0.76 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> 표 66의 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

- 기호도에서 외관 및 색은 Con이 유의적으로 가장 높았으며, 맛은 0.20BC가 가장 낮았으나

멀티비타민 첨가량에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았음. 전반적기호도는 Con이 5.50으로 가장 높았으며, 0.05OV, 0.10OV, 0.20OV 순으로 높게 나타나 양호한 기호도의 멀티비타민 첨가량을 예측할 수 있었음.

표 70. 오미자 기능성 동치미 음료의 관능특성(2)

시료 <sup>1)</sup>	기호도			
	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
Con	7.00±0.76 <sup>a</sup>	5.00±1.07 <sup>a</sup>	5.13±1.55 <sup>a</sup>	5.50±0.76 <sup>a</sup>
0.05OV	4.88±0.83 <sup>b</sup>	4.88±0.99 <sup>a</sup>	5.63±1.51 <sup>a</sup>	5.13±0.83 <sup>ab</sup>
0.10OV	4.00±0.93 <sup>bc</sup>	4.63±1.06 <sup>a</sup>	5.63±0.92 <sup>a</sup>	4.38±0.92 <sup>bc</sup>
0.20OV	3.75±1.04 <sup>c</sup>	3.25±0.71 <sup>b</sup>	4.25±0.89 <sup>a</sup>	3.88±0.83 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup> 표 66의 약어 참조

<sup>2)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

#### 마. 동치미 음료 산업화 공정 설정 및 제품규격 확립

##### (1) 재료

알타리무는 서울 경동시장에서 구입한 것으로 강원도산 재래종 무이며, 양파, 쪽파, 배, 생강, 마늘, 절인고추도 같이 구입하여 사용하였음. 흑미는 2013년 진도산을 사용하였으며, 오설록 오미자, 델몬트 파인애플을 사용하였음. 천일염은 청정원, 설탕은 백설의 백설탕을 사용하였음.

##### (2) 방법

###### (가) 동치미 음료 제조

동치미 음료 최종 시제품 개발을 위해 조화성 평가를 통한 동치미 음료 시제품의 개선점을 피드백하고, 이를 산업화 공정에 적용하기 위하여 여러 차례 예비 제조를 통해 현장 생산을 위한 동치미 음료 배합을 재확인하였음. 즉, 시중 음료를 판매하고 있는 A회사의 음료 제조 공정을 변형하여 이용하면서(그림 41) 최종 동치미 음료 시제품 3종(파인애플, 흑미, 오미자)을 제조하였음. 또한, 기존의 동치미 음료의 마시는 느낌에 씹는 느낌을 동시에 주어 식감을 가지는 새로운 형태의 동치미 음료 컨셉으로 제조하기 위하여 큐브를 첨가하였음. 첨가 큐브는 예비실험을 통하여 동치미 음료의 맛을 그대로 유지하면서 큐브의 느낌도 살릴 수 있는 코코넛 큐브를 첨가하도록 하였음. 즉, 동치미 음료의 제조를 위하여 주원료인 알타리무는 깨끗이 씻은 후 물기를 빼고 다듬은 후 소금물(20% w/v)에 2시간 상온에서 침지하여 절인 후 탈수하였음. 부재료인 양파와 배, 생강, 마늘, 절인고추 등은 다듬은 후 첨가하였음. 쪽파는 깨끗이 씻은 후 다듬어 소금물에 30분간 절인 후 사용하였음. 준비된 재료에 천일염과 설탕, 물을 혼합하여 제조한 동치미 국물을 첨가한 후, 25~28℃에서 12~24 시간 숙성하여 동치미를 완성하였음. 절인 알타리무와 부재료는 표 71과 같은 비율로 첨가하였으며, 동치미의 최종 염도는 0.7~1.0%가 되도록 하였음. 숙성된 동치미는 pH가 5.0 이하에 도달했을 때를 숙성완료 시점으로, 동치미의 고형분을 제거한 동치미액을 Tabular 원심분리기(Hanil SME Co., Model HC-140HO, Korea)를 이용하여 11,000 rpm에서 고속으로 연속 원심분리하여 여과하였음. 여과한 동치미액은 10℃에서 10분간 살균 후 폴리프로필렌 재질(상면 지름:높이:하면지름=80×60×40 mm, 100 mL)

의 컵에 코코넛 큐브와 함께 충전한 후, 냉각하여 동치미 음료를 완성하였음(그림 42).

(나) 품질특성 측정

최종 시제품 동치미 음료의 탁도는 동치미 음료의 원액을 spectrophotometer(Model V-650, Jasco)를 사용하여 파장 558 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며, pH는 동치미 음료를 잘 흔들어 10 mL씩 취하여 측정하였으며, 실온에서 pH meter(Model 520A, Orion Research INC., USA)로 측정하였음. 염도는 염도측정기(기미상궁, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 가용성 고형분은 굴절당도계(Model WM-7, ATAGO Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 비중은 비중계(대광, Korea)를 이용하여 측정하였으며, 산도는 동치미 음료 10 mL을 취하여 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 젓산 함량으로 환산하였음. 동치미 음료의 관능특성은 한국식품연구원 패널 20명을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며 평가항목은 색, 현탁도, 신냄새, 탄산미, 신맛, 짠맛, 단맛의 강도와 외관 및 색, 향, 맛, 전반적기호도에 관하여 평가하였음. 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan의 다범위 검정을 사용하여  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의성 검정을 시행하였음.

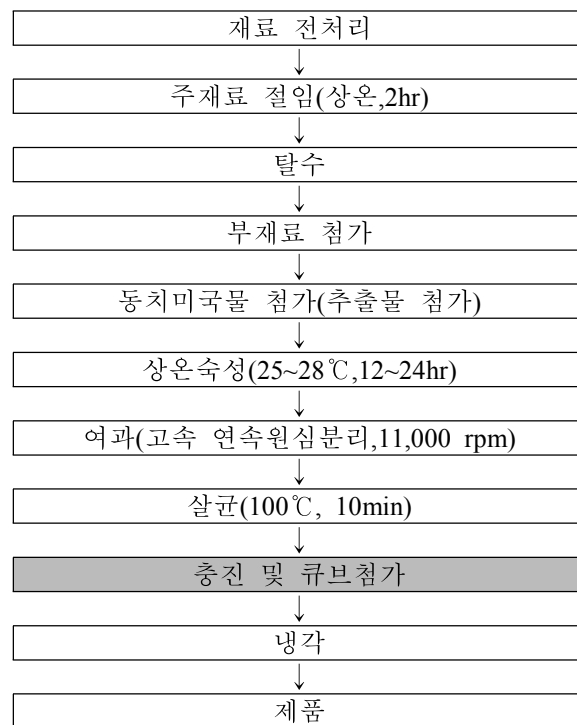


그림 41. 동치미 음료 산업화 공정.

표 71. 최종 시제품 동치미 음료 3종 원 재료 및 함량

시료	원재료 및 함량
파인애플	알타리무 40%, 파인애플 6%, 쪽파 2%, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
흑미	알타리무 40%, 흑미 2%, 쪽파 2%, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추
오미자	알타리무 40%, 오미자 1%, 쪽파 2%, 양파, 배, 마늘, 생강, 절인고추





재료 전처리 및 절임 → 탈수 → 동치미 국물 첨가 → 상온 숙성



여과 → 살균 → 충전 → 포장 및 완제품

그림 42. 동치미 음료 산업화 제조과정.

### (3) 결과 및 고찰

#### (가) 최종 시제품 동치미 음료의 품질특성

##### ① 색도

최종 시제품 동치미 음료 3종의 색도는 표 72와 같음. 밝기를 나타내는 L값은 파인애플, 오미자 동치미 음료가 유의적으로 높았으며, 적색도를 나타내는 a값은 흑미 동치미 음료가 2.26으로 가장 높게 나타남. 황색도를 나타내는 b값은 오미자 동치미 음료가 가장 낮았으며, 이에 따라 오미자 동치미 음료는 황색의 정도가 적고 명도가 높은 것을 확인할 수 있었음.

표 72. 최종 시제품 동치미 음료 3종의 색도

시료	L	a	b
파인애플	33.05±0.16 <sup>a1)</sup>	0.43±0.04 <sup>c</sup>	0.37±0.28 <sup>a</sup>
흑미	31.77±0.18 <sup>b</sup>	2.26±0.15 <sup>a</sup>	0.78±0.24 <sup>a</sup>
오미자	33.33±0.19 <sup>a</sup>	0.99±0.07 <sup>b</sup>	-0.11±0.12 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

##### ② 이화학적 특성

최종 시제품 동치미 음료 3종의 이화학적 특성은 표 73에 제시하였음. 시제품 3종의 pH는 3.56~3.85였으며, 염도는 0.73~0.97이었음. 가용성 고형분은 7.20~7.70으로 시제품 3종이 유사한 것으로 나타남. 탁도는 오미자 동치미 음료가 0.02로 가장 낮게 나타나 비교적 청정한 것으로 사료되었음.

표 73. 최종 시제품 동치미 음료 3종의 이화학적 특성

시료	pH	염도	가용성 고형분 (°Brix)	탁도	산도(%)
파인애플	3.85±0.01 <sup>1)</sup>	0.83±0.06	7.20±0.00	0.16±0.01	0.03±0.00
흑미	3.64±0.01	0.97±0.00	7.27±0.06	0.07±0.00	0.03±0.00
오미자	3.56±0.01	0.73±0.00	7.70±0.00	0.02±0.00	0.07±0.00

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

③ 관능특성

- 최종 시제품 동치미 음료의 관능특성은 표 74, 75에 나타내었음. 강도에서 현탁도는 오미자 동치미 음료가 1.50으로 유의적으로 가장 낮았으며, 시제품 3종의 현탁도가 모두 보통(5점) 수준 이하로 나타나 음료의 청정한 정도가 높은 것으로 평가되었음. 신냄새, 신맛은 오미자 동치미 음료가 유의적으로 가장 높고 보통(5점) 이상 수준을 나타내어 다른 동치미 음료 시제품 보다 오미자 첨가로 인한 신맛의 강도가 큰 것을 확인할 수 있었음. 단맛은 파인애플, 흑미 동치미 음료가 각각 6.75, 6.00으로 가장 높아 어린이와 노인 타겟 음료에 적합함을 확인하였음.

표 74. 최종 시제품 동치미 음료의 관능특성(1)

시료	강도					
	현탁도	신냄새	신맛	짠맛	단맛	후미
파인애플	3.25±0.89 <sup>a1)</sup>	2.75±0.46 <sup>b</sup>	2.75±0.89 <sup>b</sup>	3.38±1.06 <sup>b</sup>	6.75±0.46 <sup>a</sup>	5.75±1.16 <sup>a</sup>
흑미	2.00±0.76 <sup>b</sup>	3.50±1.20 <sup>b</sup>	3.50±1.20 <sup>b</sup>	3.50±1.20 <sup>b</sup>	6.00±0.76 <sup>a</sup>	6.50±0.53 <sup>a</sup>
오미자	1.50±0.53 <sup>b</sup>	6.75±1.39 <sup>a</sup>	6.25±0.89 <sup>a</sup>	5.50±0.53 <sup>a</sup>	4.25±1.39 <sup>b</sup>	6.50±0.93 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

- 기호도에서 외관 및 색은 모든 시제품 동치미 음료가 6.00~7.50으로 우수하게 나타남. 향, 맛은 파인애플 동치미 음료가 유의적으로 가장 높았으며, 전반적기호도는 모든 시제품 동치미 음료가 5.00~6.50으로 나타나 시제품 동치미 음료의 관능적 품질이 보통(5점) 수준 이상으로 우수하였으며, 기호성 음료용으로서의 소비 가능성을 확인할 수 있었음.

표 75. 최종 시제품 동치미 음료의 관능특성(2)

시료	기호도			
	외관 및 색	향	맛	전반적 기호도
파인애플	6.00±1.07 <sup>b1)</sup>	6.75±0.89 <sup>a</sup>	6.50±0.53 <sup>a</sup>	6.50±0.53 <sup>a</sup>
흑미	7.50±0.53 <sup>a</sup>	5.50±0.93 <sup>b</sup>	5.50±0.93 <sup>b</sup>	5.75±1.39 <sup>ab</sup>
오미자	7.25±0.46 <sup>a</sup>	4.13±0.83 <sup>c</sup>	4.25±0.89 <sup>c</sup>	5.00±0.76 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Duncan의 다중범위검정 결과  $p < 0.05$ 의 범위에서 유의차를 나타냄

(나) 최종 동치미 음료 시제품 규격 확립

동치미 음료 개발 시제품의 특징 및 표기사항은 표 76, 77에 나타내었음. 어린이용 파인애플 동치미 음료와 성인 여성을 위한 오미자 동치미 음료, 노인 타겟의 흑미 동치미 음료의 3종을 최종 시제품 동치미 음료로 확립하였음. 동치미 음료 최종 시제품은 폴리프로필렌 재질의 컵 용기(상면지름:높이:하면지름=80×60×40 mm, 100 mL)로 뚜껑을 벗겨내 음용하기 용이한 형태임.

표 76. 최종 시제품 동치미 음료의 특징 및 특징(성분표기사항)





사진	특징
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제품명 : 동치미수</li> <li>○ 식품의 유형 : 과·채음료(살균제품)</li> <li>○ 내용량 : 100 mL</li> <li>○ 원재료 및 함량 : 알타리무 고형분 30%, 배, 천일염, 설탕</li> <li>○ 포장재질 : 용기/리드지-폴리프로필렌/폴리에틸렌</li> <li>○ 보관방법 : 냉장보관(0~10℃)</li> <li>○ 유통기한 : 제조일로부터 3개월</li> </ul>

표 77. 최종 시제품 동치미 음료 3종

분류	파인애플 동치미수	흑미 동치미수	오미자 동치미수
시제품			
원재료 및 함량	알타리무 35%, 파인애플 6%, 배 5%, 천일염, 설탕	알타리무 35%, 흑미 2%, 배 5%, 천일염, 설탕	알타리무 35%, 오미자 1%, 배 5%, 천일염, 설탕

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

구분	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도(%)
1차년도 (2011)	동치미 흑미 쌀음료 개발을 위한 전처리 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내외 기능성음료 동향 분석</li> <li>- 주부원료의 선별 및 원료 특성 분석</li> <li>- 흑미 안토시아닌 추출 및 pH 안정성</li> <li>- 전처리 공정별 최적 조건 확립</li> </ul>	100
2차년도 (2012)	떡류 소비에 적합한 기능성 쌀음료 제조공정 확립 및 최적 배합비 완성	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 주원료의 추출, 살균 등 제조공정별 특성</li> <li>- 동치미 음료 최적 제조공정 확립</li> <li>- 기능성 동치미 쌀음료 시제품 개발</li> <li>- 개발제품 품질 및 관능특성</li> </ul>	100
3차년도 (2013)	기능성 쌀음료 제품 고급화, 다양화 및 산업화	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 타겟층 쌀음료 신제품 개발 컨셉 도출</li> <li>- 기호성 증진 및 영양성분 강화</li> <li>- 시제품 생산 및 소비자 기호도 평가</li> <li>- 시제품의 개선 및 품질특성</li> <li>- 산업화 공정 설정 및 제품규격 확립</li> </ul>	100

## 제 5 장 참고문헌

1. MH Kim, Optimal conditions for extraction of anthocyan from *Celosia cristata* L., *Brassica juncea czerniak et coss*, *Beta vulgaris* L. for manufacture of color Dongchimi, Korean J. Food Culture, 27(6); 686-694 (2012)
2. WT Seo, HG Kim, JS Lee, KM Cho, Making of *Dongchimi Naengmyeun* broth which has enhanced antioxidant activity using purple sweet potato, Korean J. Microbiology, 47(2); 143-150 (2011)
3. JJ Lee, HO Jung, MY Lee, HC Chang, Development of sun-dried salt Kimchi beverage, Korean J. Food Preserv, 17(6); 800-806 (2010)
4. SH Lee, JH Kim, Effect of ingredients on the sensory characteristics of *Dongchimi*, Korean J. Food Sci&Technol, 41(2); 162-166 (2009)
5. MS Jang, NY Kim, Physicochemical and microbiological properties of *Dongchimi* added with Citron(*Citrus junos*), Korean J. Food Sci, 13(3); 286-292 (1997)
6. JH Hwang, MS Jang, Physicochemical properties of *Dongchimi* added with *Jasoja*(*Perillae semen*), Korean J. Food Cookery Sci, 17(6); 555-564 (2001)
7. SW Moon, MS Jang, Effect of xylitol on the taste and fermentation of *Dongchimi*, Korean J. Food Cookery Sci, 20(1); 42-48 (2004)
8. BH Park, HS Cho, Effect of Glue Plant(*Codium Fragile*) on physicochemical characteristics of *Dongchimi* during fermentation, Korean J. Food Culture, 20(5); 508-515 (2005)
9. MR Lee, HS Rhee, A study on the flavor compounds of *Dongchimi*, Korean J. Food Sci, 6(1); 1-8 (1990)
10. KO Kang, KH Ku, JK Lee, WJ Kim, Changes in physical properties of *Dongchimi* during fermentation, Korean J. Food Sci&Technol, 23(3); 262-266 (1991)
11. DH Um, HG Chang, JG Kim, WJ Kim, Optimal temperature and salt concentration for low salt Dongchimi juice preparation, Korean J. Food Sci, 13(5); 578-584 (1997)
12. JS Noh, JH Kim, MJ Lee, MH Kim, YO Song, Development of auto-aging system for the Kimchi refrigerator for optimal fermentation and storage of *Dongchimi*, Korean J. Food Sci&Technol, 40(6), 661-668 (2008)

## 1-4 세부과제

### 요 약 문

#### I. 제 목

솔잎 추출 천연소재의 항고혈압 및 소화관 운동 조절 작용기전 연구

#### II. 연구개발의 목적

솔잎추출물이 심혈관계 특히 부신 카테콜아민 유리, 혈압, 위장관 운동 및 혈관수축에 대한 효과에 대해서 별로 알려진 바가 없다. 따라서 본 연구에서 솔잎추출물이 부신카테콜아민 유리, 혈압, 카탈사이질세포의 항도잡이 자발운동 그리고 혈관수축에 영향을 미치는가를 규명하고, 나아가 솔잎추출물로부터 활성성분을 분리 정제하고 그들의 작용기전을 규명코자 연구를 수행하였다.

#### III. 연구방법

1. 부신을 적출 분리하여 Krebs-bicarbonate 액으로 관류한다. 카테콜아민(CA)은 형광분석기로 직접 측정하거나 chemical detector가 부착된 HPLC를 이용하여 분리 측정한다.
2. Balb/c 마우스에서 분리하여 배양한 ICCs의 막전위를 측정하기 위해 whole-cell configuration 패치 클램프 기술을 이용하였다. 막전위는 Axopatch200B로 증폭하였으며 데이터는 5KHz에서 여과하여 oscilloscope나 컴퓨터 모니터상에 표기하였다.
3. 흰쥐에서 적출분리한 대동맥편을 두 개의 stainless-steel hook로 걸어서 Bath 내에 고정한다. 아래 hook는 Bath 밑에 고정하고, 위 hook는 isometric transducer에 연결하여 신호를 폴리그래프상에 기록한다.
4. 동맥압 변화를 관찰하기 위하여, 한쪽 경동맥이나 대퇴동맥에 카놀라를 삽입고정한 다음 pressure transducer에 연결한다. 평균동맥압의 pulse가 생물학적 폴리그래프상에 계속적으로 기록된다.

#### IV. 연구결과

##### <부신카테콜아민 분비>

1. 솔잎자가발효액의 methylene chloride 추출물로부터 6개의 분획을 제조하였다.

ACh(5.32 mM)의 CA 유리에 대한 6개 분획의 억제효력을 측정한 결과는 다음과 같다:  
Fr.4-5>Fr.8-11≫Fr.3>Fr.6=Fr.7>Fr.1-2

2. 솔잎의 ethylacetate 추출물로부터 최종적으로 4개의 분획을 얻었다. ACh의 CA 유리작용에 대한 4개 분획의 억제효력은 다음과 같다: Fr.2.7.1.9>Fr.2.7.1.8>Fr.2.7.1.3≥Fr.2.7.1.4

NMR 분석에서 Fr.2.7.1.9와 Fr.2.7.1.8은 각각 12,14-labdantrien-18-oic acid과 dehydroabietic acid로 판명되었다.

3. 솔잎 Fr.4-5 (20-180 µg/ml)과 12,14-labdantrien-18-oic acid(LDTEA, Fr.2.7.1.9, 70-600 µM)은 90분간 부신통맥내로 관류시 ACh(5.32 mM)의 CA분비반응을 비교적 농도 및 시간의존적으로 억제하였다.

4. 솔잎 Fr.4-5 (60 µg/ml) 또는 LDTEA (200 µM) 존재 하에서 DMPP(니코틴 수용체 선택성 작용제, 100 µM), McN-A-343 (무스카린 M<sub>1</sub> 수용체 선택성 작용제, 100 µM), 고칼륨(직접적인 막탈분극제, 56 mM), Angiotensin II(Ang II, 0.1 µM), veratridine (나트륨통로 선택성 활성화제, 10 µM) 그리고 cyclopiazonic acid (세포질내 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 억제제, 10 µM)에 대한 CA 분비 반응도 현저히 감소되었다.

5. 솔잎 Fr.4-5 분획과 LDTEA 자체는 기초 CA 분비에 영향을 미치지 않았다.

6. 솔잎 Fr.4-5 (60 µg/ml)이나 LDTEA (200 µM)을 L-NAME(NO synthase 억제제, 30 µM)과 동시 처치한 상태에서 ACh, 고칼륨, DMPP, McN-A-343, Ang II, Bay-k-8644, cyclopiazonic acid(thapsigargin) 및 veratridine에 의한 CA 분비반응은 솔잎 Fr.4-5 분획이나 LDTEA 단독 투여한 경우보다 비교해서 거의 대조치 수준으로 회복되었다.

7. 솔잎 Fr.4-5 분획(60 µg/ml)이나 LDTEA(200 µM) 처치후에 부신통맥에서 NO유리량이 기초유리량과 비교해서 현저히 증가되었다.

### <ICCs의 향도잡이 전위>

1. 솔잎 Fr.3 분획이 가장 강력한 막탈분극을 나타내었다.

2. 솔잎 Fr.3 분획은 막을 탈분극시키고, 향도잡이 전위의 빈도와 크기를 용량의존적으로 감소시켰다.

3. 향도잡이 전위에 대한 솔잎 Fr.3 분획의 효과는 무스카린 M<sub>2</sub> 수용체 차단제인 methoctramine과 무스카린 M<sub>3</sub> 수용체 차단제인 glycopyrrolate에 의해서 차단되었다.

4. 또한 향도잡이 전위에 대한 솔잎 Fr.3 분획의 효과는 Na<sup>+</sup> 제거용액과 비선택성 양이온통로 차단제인 flufenamic acid에 의해서 차단되었을 뿐만 아니라 칼슘제거 용액과 내형질세망에서 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 억제제인 thapsigargin에 의해서도 차단되었다.

### <혈관이완 및 혈압하강>

1. LDTEA (100-300  $\mu\text{M}$ )은 적출 가슴대동맥편에서 phenylephrine(PE, 10  $\mu\text{M}$ )과 고칼륨 (56mM)에 의한 혈관수축반응을 용량의존적으로 뚜렷이 억제하였다.
2. L-NAME(NO합성효소억제제, 300  $\mu\text{M}$ )과 LDTEA (200  $\mu\text{M}$ ) 동시 처치한 상태에서 PE 와 고칼륨의 수축반응은 LDTEA(200  $\mu\text{M}$ ) 단독처치의 억제작용과 비교해서 거의 대조 치 수준으로 회복되었다.
3. 그러나 indomethacine (선택성 cyclooxygenase 억제제, 10  $\mu\text{M}$ )과 LDTEA (200  $\mu\text{M}$ )를 동시 처치시 이들 CA 분비반응은 영향을 받지 않았다.
4. CHAPS(내피제거제, 0.4%) 처치 대동맥편에서 LDTEA (200  $\mu\text{M}$ )는 PE나 고칼륨의 수 축반응에 영향을 미치지 못하였다.
5. 마취한 흰쥐에서 LDTEA(3 $\mu\text{g}/\text{kg}/30\text{min}$ )를 정맥내로 주입시 노르에피네프린의 승압반 응이 현저하게 억제되었으며, 또한 LDTEA(0.1mg/kg)을 정맥주사시 지속적인 혈압하강 반응을 나타내었다.

## V. 연구결론

### 1. 부신카테콜아민 분비:

본 연구에서 술잎 Fr.4-5 분획과 LDTEA는 흰쥐 적출 관류부신에서 콜린수용체와 AngII 수용체 흥분에 의한 CA 분비를 억제함을 증명되었다. 이러한 술잎 Fr.4-5 분획 과 LDTEA의 억제작용은 부신크롬친화세포내로  $\text{Ca}^{2+}$ 과  $\text{Na}^{+}$  유입을 차단하고, 세포질내 칼슘저장고에서 칼슘유리를 억제함으로써 나타나며, 이것은 적어도 NO합성효소의 활성화 로 NO생성증가에 기인하는 것으로 생각된다. 이러한 결과를 기반으로 보면, LDTEA 는 술잎에서 새로이 분리정제한 활성성분으로 유익한 항고혈압작용을 갖는 것으로 사료 되며, 술잎 Fr.4-5 분획 또한 고혈압치료나 예방에 사용 가능한 유익한 항고혈압성분을 함유하고 있는 것으로 생각된다.

### 2. ICCs의 향도잡이 전위:

술잎 Fr.3은 무스카린  $\text{M}_2$  및  $\text{M}_3$  수용체 활성화를 통해서 비선택성 양이온 통로를 활 성화하여 대장 ICCs의 향도잡이 활성을 조절하는 것으로 생각된다. 세포내 칼슘유입과 세포질내 칼슘유리가 ICCs에 대한 술잎 Fr.3분획의 작용에 관련되어 있는 것 같다.

### 3. 혈관이완 및 혈압하강:

LDTEA는 흰쥐 적출 가슴대동맥편에서 혈관이완을 일으키며, 이는 혈관내피의 NO synthase



활성화로 NO 생성의 증가에 기인되는 것으로 생각된다. 그러나, 이는 prostanoids와는 관련이 없는 것 같다. 이러한 결과는 LDTEA가 심혈관계 질환의 치료나 예방에 도움이 될 것으로 생각된다. 이런 결과를 보아 LDTEA는 심혈관질환, 고혈압과 협심증의 예방 또는 경감에 도움이 될 것으로 사료된다.

## VI. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 솔잎추출물이 혈압상승을 차단하는 새로운 작용기전이 규명되어 빈맥을 초래하지 않고 고혈압을 하강시킬 수 있을 것으로 기대된다. 나아가, 산업 및 경제적인 측면에서의 기대효과는 부신에서 카테콜아민분비억제, 혈관이완, 혈압하강 및 위장관운동촉진작용을 나타낼 수 있는 새로운 항고혈압의 신약개발, 즉 새로운 구조의 화합물 창출에 중요한 학술정보를 제공할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 이로 인해서 새로운 신약개발이 유도되어 심혈관계 질환치료에 획기적인 전기가 마련됨으로서 국민보건 향상에도 크게 기여 할 것으로 생각된다.
2. 기초 의학적인 측면에서 부신수질에서 솔잎추출물의 카테콜아민 분비억제작용의 기전에 대한 보다 중요한 학술적인 정보를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.
3. 임상 의학측면에서는 순환기 질환, 특히, 고혈압, 심장질환 및 말초혈관질환의 치료에 솔잎추출물이나 새로 분리한 LDTEA의 이용 가능성에 대한 중요한 임상의학 정보가 될 것으로 사료된다.
4. 석.박사과정의 대학원생을 연구조원으로 참여시킴으로서 연구의욕의 고양과 새로운 아이디어 창출을 위한 기본적인 자세를 배양토록 함으로서 미래의 연구인력 양성에 기대효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

# SUMMARY

## I. Title

Action Mechanism of Antihypertensive and Gastrointestinal Motility Modulation by Natural Components from pine needle extract

## II. Aims

There is so far little evidence on the effect of pine needle extract on cardiovascular system, especially adrenal catecholamine release, blood pressure, gastrointestinal motility, and vascular contractility. Therefore, the present study was conducted to clarify whether pine needle extracts affect adrenal catecholamine release, blood pressure, spontaneous pacemaker potentials in interstitial cells of Cajal, and vascular contractility and to isolate and purify active components from pine needle extract as well as to establish the mechanism of their action

## III. Methods

1. The adrenal gland was isolated and perfused with Krebs-bicarbonate solution. CA was measured directly by using the fluorospectrophotometer or HPLC with attached chemical detector.
2. The whole-cell configuration patch clamp technique was used to record membrane potentials of the cultured ICCs isolated from Balb/C mice. Membrane potentials were amplified by Axopatch 200B. Data were filtered at 5 kHz and displayed on an oscilloscope and a computer monitor.
3. The ring segment of aorta isolated from the rat was mounted in a muscle bath by sliding the ring over two parallel stainless-steel hooks. The lower hook was fixed on bottom of the bath and the upper was connected to isometric transducer. The signal from the transducer was displayed on a polygraph.
4. In order to observe the change of arterial pressure, one of the common carotid arteries or the femoral arteries was catheterized with polyethylene tubing. The tubing was connected to a pressure transducer and pulse of mean arterial blood

pressure was recorded on a biological polygraph continuously.

## IV. Results

### Adrenal catecholamine secretion:

1. We obtained 6 fractions from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extract of self-fermented pine needle. For the ACh (5.32 mM)-evoked CA release, the following rank order of inhibitory potency was obtained: Fr.4-5>Fr.8-11>>Fr.3>Fr.6=Fr.7>Fr.1-2.
2. We obtained 4 fractions from ethylacetate extract of *Pinus densiflora* needle. For the ACh (5.32 mM)-evoked CA release, the following rank order of inhibitory potency was obtained: Fr.2-7-1-9> Fr.2-7-1-8> Fr.2-7-1-3<sub>≥</sub> Fr.2-7-1-4. In NMR analysis, Fr.2-7-1-9 and Fr.2-7-1-8 among these fractions have been identified as 12, 14-labdantrien-18-oic acid and dehydroabietic acid, respectively.
3. Both Fr. 4-5 (20~180 µg/mL) and 12, 14-labdantrien-18-oic acid (LDTA, Fr.2-7-1-9, 70~600 µM) perfused into an adrenal vein for 90 min relatively concentration- and time-dependently inhibited ACh (5.32 mM)-evoked CA secretory responses.
4. In the presence of Fr. 4-5 (60 µg/mL) or LDTA (200 µM), the CA secretory responses evoked by DMPP (100 µM), McN-A-343 (100 µM), high K<sup>+</sup> (56 mM), angiotensin II (Ang II, 0.1 µM), veratridine (a selective Na<sup>+</sup> channel activator, 10 µM), Bay-K-8644 (an L-type dihydropyridine Ca<sup>2+</sup> channel activator, 10 µM), and cyclopiazonic acid (a cytoplasmic Ca<sup>2+</sup>-ATPase inhibitor, 10 µM) were significantly reduced, respectively.
5. Both Fr.4-5 and LDTA themselves did not affect basal CA secretion.
6. In the simultaneous presence of Fr. 4-5 (60 µg/mL) or LDTA (200 µM) and L-NAME (an inhibitor of NO synthase, 30 µM), the CA secretion evoked by ACh, high K<sup>+</sup>, DMPP, and Bay-K-8644 were considerably recovered to the extent of the control secretion compared with that of LDTA-treatment alone.
7. The level of NO released from adrenal medulla after the treatment of Fr. 4-5 (60 µg/mL) or LDTA (200 µM) was greatly elevated compared with the basal level.

### Pacemaker potentials in ICCs:

1. Fraction 3 (F3) elicited the most powerful depolarization of membrane.
2. F3 depolarized the membrane and decreased the frequency and amplitude of

pacemaker potentials in a dose-dependent fashion.

3. The F3-induced effects on pacemaker potentials were blocked by methoctramine, a muscarinic M<sub>2</sub> receptor antagonist, and by glycopyrrolate, a muscarinic M<sub>3</sub> receptor antagonist.
4. The F3-induced effects on pacemaker potentials were blocked by external Na<sup>+</sup>-free solution and by flufenamic acid, a non-selective cation channel blocker, as well as by the removal of external Ca<sup>2+</sup> and in the presence of thapsigargin, a Ca<sup>2+</sup>-ATPase inhibitor in the endoplasmic reticulum.

### **Vasorelaxation and Hypotension:**

1. LDTEA (100~300 μM) significantly depressed both phenylephrine (10 μM)- and high potassium (56 mM)-induced contractile responses of the isolated aortic strips in a dose-dependent fashion.
2. In the simultaneous presence of L-NAME (an inhibitor of NO synthase, 300 μM) and LDTEA (200 μM), both phenylephrine- and high potassium-induced contractile responses were considerably recovered to the extent of the corresponding control response compared with the inhibitory effect of LDTEA (200 μM)-treatment alone.
3. However, in the simultaneous presence of indomethacin (10 μM, a selective cyclooxygenase inhibitor) and LDTEA (200 μM), they were not affected.
4. In the CHAPS-treated aortic strips, LDTEA did not affect the contractile responses induced by phenylephrine or high potassium.
5. Interestingly, LDTEA (3 μg/kg/ 30 min, i.v.) significantly inhibited norepinephrine-induced pressor responses in anesthetized rats, and also LDTEA (0.1 mg/kg, i.v.) produced lasting depressor response.

## **V. Conclusions**

### **Adrenal catecholamine secretion:**

Collectively, these results demonstrate that both Fr. 4-5 and LDTEA inhibits the CA secretion from the isolated perfused rat adrenal medulla evoked by stimulation of both cholinergic- and Ang II-receptors. This inhibitory effect of Fr. 4-5 and LDTEA seems to be mediated by blocking the influx of Ca<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup> into the adrenal medullary chromaffin cells as well as by inhibition of Ca<sup>2+</sup> release from the

cytoplasmic  $\text{Ca}^{2+}$  store, which is exerted at least partly through the increased NO production due to the activation of NO synthase. Based on these results, it is strongly suggested that LDTEA, an active component isolated newly from *Pinus densiflora* needle has beneficial antihypertensive activity, and Fr. 4-5 isolated from  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extract of pine needle may contain beneficial antihypertensive components to prevent or treat hypertension.

### **Pacemaker potentials in ICCs:**

Taken together, these results suggest that F3 of pine needle extract modulates the pacemaker activity of colonic ICCs by the activation of non-selective cation channels via activation of muscarinic  $\text{M}_2$  and  $\text{M}_3$  receptors. And external  $\text{Ca}^{2+}$  influx and intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  release are involved in F3 actions on ICCs.

### **Vasorelaxation and Hypotension:**

Collectively, these results suggest that LDTEA causes vascular relaxation in the isolated rat thoracic aortic strips at least partly by the increased NO production through the activation of NO synthase of vascular endothelium, but not by prostanoids. This result demonstrates that LDTEA might be helpful in treating or preventing the cardiovascular diseases. In light of these results, it seems that LDTEA might be helpful to prevent or alleviate cardiovascular diseases, including hypertension and angina pectoris.

## **VI. Effectiveness of Research**

1. In the present study, it is expected that new mechanism of action that pine needle extract can inhibit elevation of blood pressure will be established, leading to lower high blood pressure without tachycardia. Industrially and economically, therefore, the results of this study will provide us with the important scientific information that is essential to create new structural compounds, especially new antihypertensive drugs, which can cause inhibition of catecholamine release from adrenal medulla, vascular relaxation, and depressor responses as well as stimulation of gastrointestinal motility. Moreover, based on this finding if new type of antihypertensive agents were developed and also the epochal event in treating cardiovascular diseases were also made, it would be surely contributed to the improvement in national health.

2. In basic medical science, the present study will provide us with the exact scientific information about the inhibitory effect of pine needle extract on CA release from adrenal medulla.
3. Furthermore, in clinical medical science the present work will also provide the clinicians with clinically important information that pine needle extract or newly isolated component (LDTEA) is available in treating circulatory diseases, especially hypertension, heart diseases and peripheral vascular diseases.
4. Some students presently attending master and doctorate courses participated in this research project as the member of investigators. Their participation in this study will make good experience to cultivate the ability to perform their given project as well as will be also good strategy to secure manpower in research in future. They will also make a great chance to enhance their ability to create new idea in research.

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절 연구개발의 목적

한국산 소나무(*Pinus densiflora*)잎은 아시아 지역에서 음료수 제조에 사용되어 왔으며(Kim 및 Chung, 2000), 더욱이 솔잎 음료수는 항고혈압제로서 민간 의약품으로도 사용되고 있다. Hsu 등(2005)은 솔잎이 superoxide를 제거하며 백혈구세포U937의 성장을 억제한다고 보고하였다. 솔잎의 생물학적 효과에 관한 보고는 아직까지 보고되지 않았다. 그러나 솔껍질 추출물은 약리적 항산화작용, 항증식효과 및 항염증작용을 나타낸다고 하였다(Rohdewald, 2002; Schäfer 등, 2005; Tourino 등, 2005). 최근에 솔잎의 ethyl acetate 추출물(EAE-PN)이 염증부위에서 과도한 NO생산을 감소시키고, LDL산화에 대한 보호작용을 나타내며, 이와 같은 작용이 EAE-PN의 항죽상경화 및 항염증작용에 기여한다고 보고되었다(Yen 등, 2008). 최근에 Cheong등(2005)은 솔잎추출물이 마우스의 소장에서 분리한 Cajal 간질세포(interstitial cells of Cajal)에서 프로스타글란딘의 합성증가를 통한 ATP민감성 칼륨통로를 활성화함으로써 pacemaker current를 억제한다고 하였다. 최근에 정과 임(2010)은 2년 발효 솔잎분획(SFPE2)과 ethylacetate (EtOAc)분획이 정상혈압쥐 및 자연발증고혈압쥐(SHRs)의 적출대동맥편에서 혈관이완을 일으킬 뿐만 아니라 혈압하강작용을 나타낸다고 하였다. 따라서 SFPE2나 EtOAc 분획이 항고혈압 활성이 있는 성분을 함유하는 것으로 생각된다고 하였다. 솔잎추출물은 또한 여러 암세포주에서 세포독성작용(Chung 등, 2002), 질산염제거활성(Pa가 등, 2002), superoxide제거 및 백혈암세포 U937의 성장억제 등(Hsu 등, 2005)을 나타내는 것으로 알려져 있다. Fitzpatrick 등(1998)은 솔수피엑기스가 *in vitro*에서 산화질소(NO)생성을 촉진시켜 흰쥐적출대동맥편에서 adrenaline이나 noradrenaline의 혈관수축작용을 상쇄하는 것으로 알려져 있다.

일반적으로 심혈관질환은 개발도상국가에서 주요 사망원인이며, 이러한 심혈관 질환의 예방에 지중해 식이가 유익한 것으로 간주되어왔다(Lorgeril 등, 1996). 흥미롭게도 고혈압이나 혈청 콜레스테롤 농도와 같은 일부 관상질환 위험인자의 유사한 분포에도 불구하고 관상심혈관 질환에 기인한 프랑스의 사망률은 다른 서방 국가에 비해서 낮다고 보고되었다. Renand와 Lorgeril (1992)은 이런 역설을 프랑스에서 포도주소비가 기타 서방 국가에 비해서 훨씬 높다는 사실로 설명하고 있다. 이것을 프랑스 역설(French paradox)이라고 칭하며, 관상심장 질환의 예방에 대해서 일반적으로 포도주와 기타 알콜 음료의 유익한 작용을 시험하는 광범위한 연구가 개발되어 있다. 중등도의 포도주 섭취에 대한 유익한 효과에 대해서 일부 증

거가 있다. 즉 고밀도지단백(HDL)의 생산증가(Castelli 등, 1997; Gaziano 등, 1993), 산화형 저밀도지단백(LDL)의 감소, Quercetin (Pérez-Vizcaino 등, 2002) 및 탄닌산(Flesch 등, 1998)과 같은 일부 포도주 성분의 혈관이완작용, 포도주의 폴리페놀성분에 기인한 항산화작용(Frankel 등, 1993) 등이 있다.

한편, 아직까지 술잎에 대한 항고혈압작용에 대한 기전에 대해서는 거의 알려진 바가 없다. 그러므로 본 연구는 한국산 술잎발효액에서 추출한 분획의 유효성분 탐색을 위해서 분리 추출한 몇 가지 분획을 이용하여 정상혈압 흰쥐의 적출부신 관류모델에서 카테콜아민 분비에 대한 영향, 적출대동맥편의 수축반응에 대한 영향, 소화관운동 및 전신혈압반응에 대한 영향 등을 검색하고, 작용기전을 규명하여, 최종적으로 유효성분을 분리함으로써 고혈압, 협심증 및 위장관질환 등을 비롯한 심혈관계 및 소화기계 질환치료제로서 새로운 신약개발 가능성을 제시코자 하며, 나아가 국민 보건향상에 기여하는데 목적이 있다.

## 2절 연구개발의 필요성

현재까지 알려진 항고혈압제의 장기사용으로 인한 부작용이 많이 알려져 있다. 따라서 천연자원으로 부터 특히 한국산 천연자원으로 부터 항고혈압작용이 있는 유효성분을 분리정제함으로써 새로운 신약개발에 대한 중요한 정보제공 및 그 가능성을 밝히는데 본 연구의 필요성이 있다. 또한 전국적으로 분포에 되어있는 수많은 술잎자원이 풍부하지만 현재까지 술잎의 생리활성이나 약리작용에 대한 확실한 증거나 규명된 기전이 발표되어 있지 아니하기 때문에 본 연구를 시도코자 하였다.

## 3절 연구개발의 범위

1. 술잎을 이용한 여러가지 추출물제조 및 약리활성 검색
2. 추출물 중 가장 강력한 추출물의 약리작용 검색 및 기전규명
3. 약리작용이 우수한 추출물에서 유효성분의 분리 및 정제
4. 분리한 유효성분에 대한 약리작용검색 및 작용기전 규명
5. 가장 강력한 약리작용이 있는 유효성분 분획에 대한 화학구조 규명



## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1절 기술개발현황

1. Kim 및 Chung (2000): 한국산 소나무(*Pinus densiflora*)잎은 아시아 지역에서 음료수 제조에 사용되어 왔으며, 더욱이 솔잎 음료수는 항고혈압제로서 민간 의약품으로도 사용되고 있다.
2. Hsu 등(2005): 솔잎추출물이 superoxide를 제거하며 백혈구세포U937의 성장을 억제한다고 보고하였다.
3. Rohdewald (2002); Schafer 등(2005); Tourino 등(2005): 솔껍질 추출물은 약리적 항산화 작용, 항증식효과 및 항염증작용을 나타낸다고 하였다.
4. Yen 등(2008): 솔잎 ethyl acetate 추출물(EAE-PN)이 염증부위에서 과도한 NO생산을 감소시키고, LDL산화에 대한 보호작용을 나타내며, 이와 같은 작용이 EAE-PN의 항죽상경화 및 항염증작용에 기여한다고 보고하였다.
5. Cheong 등(2005): 솔잎추출물이 마우스의 소장에서 분리한 Cajal 간질세포(interstitial cells of Cajal)에서 프로스타글란딘의 합성증가를 통한 ATP민감성 칼륨통로를 활성화함으로써 pacemaker current를 억제한다고 하였다.
6. Cheong 및 Lim(2010): 2년 발효솔잎분획(SFPE2)과 ethylacetate (EtOAc)분획이 정상혈압 쥐 및 자연발증고혈압쥐(SHRs)의 적출대동맥편에서 혈관이완을 일으킬 뿐만 아니라 혈압하강작용을 나타낸다고 하였다. 따라서 SFPE2나 EtOAc 분획이 항고혈압 활성이 있는 성분을 함유하는 것으로 생각된다고 하였다.
7. Chung 등(2002): 솔잎추출물이 여러 암세포주에서 세포독성작용을 나타낸다고 하였다.
8. Park 등(2002): 솔잎추출물이 질산염제거활성을 나타낸다고 하였다.
9. Fitzpatrick 등(1998): 솔수피엑기스가 *in vitro*에서 산화질소(NO)생성을 촉진시켜 흰쥐 적출대동맥편에서 adrenaline이나 noradrenaline의 혈관수축작용을 상쇄시킨다고 하였다.

### 2절 연구결과가 국내외 기술개발현황에 차지하는 위치

상기 한 바와 같이 국내·외 연구결과를 보면 특히 심혈관계나 소화기계 관련분야에 대한 솔잎관련 기술개발현황은 거의 전무한 상태입니다. 솔잎추출물과 분리한 성분을 이용한 심혈관계나 소화기계에 대한 연구는 본 연구가 처음 시도한 것으로 사료됩니다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 1절 연구재료 및 방법

#### 1. 슬릿 추출분획이 흰쥐 적출부신의 관류모델에서 카테콜아민 분비에 미치는 영향 가. 부신의 적출

실험동물로는 체중 200-250g Sprague-Dowley 종의 흰쥐를 성의 구별 없이 사용하였으며 실험에 이용할 때에는 thiopental-Na를 체중 kg당 50mg을 복강 내로 주사하여 마취를 시행하였다. 일단 마취된 흰쥐를 동물 고정대에 배위로 고정 한 후 복부 정중선을 따라서 절개하고 적출을 용이토록 주위의 조직장기를 three-hook retractor를 이용하여 고정시킨 후 부신을 노출시킨 다음 혈액의 응고를 방지하기 위하여 heparin-saline액(400 I.U./ml)을 신정맥 직하부위의 대정맥에서 상행쪽으로 주사하였다. 그림 1에서와 같이, 부신의 관류를 위해서 부신주위의 모든 혈관을 결찰한 다음 가는 polyethylene tube를 삽입 고정하였다. 부신정맥 입구 반대쪽의 부신피질부위에 작은 slit를 만든 후 즉시 관류를 시작하여 slit 이외의 부위로부터 누출 유무를 확인하고 결찰한 혈관과 cannula를 따라서 서서히 조심스럽게 적출 분리하여 leucite chamber 상에 고정한 다음 Krebs액으로 관류를 계속하였다 (그림 1).

#### 나. 부신의 관류

적출 분리한 부신은 Isco사(U.S.A.)의 연동펌프(Peristaltic pump)를 이용하여 0.31ml/min 속도로 관류를 시행하였으며, 관류액으로는 Krebs-bicarbonate액을 사용하였다. 관류액의 조성은 다음과 같다. (mM): NaCl, 118.4; KCl, 4.7; CaCl<sub>2</sub>, 2.5; MgSO<sub>4</sub>, 1.18; NaHCO<sub>3</sub>, 25; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2; Glucose, 11.7. 이렇게 제조된 Krebs액은 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub>로 실험 종료 시까지 공급시켜 주었고 최종 pH는 7.4-7.5로 조절하였다. 또한 CA의 산화를 방지하기 위하여 disodium EDTA (10µg/ml) 및 ascorbic acid(100µg/ml)를 첨가하였다. 관류실험은 37°C±1°C에서 시행하였다 (그림 1).

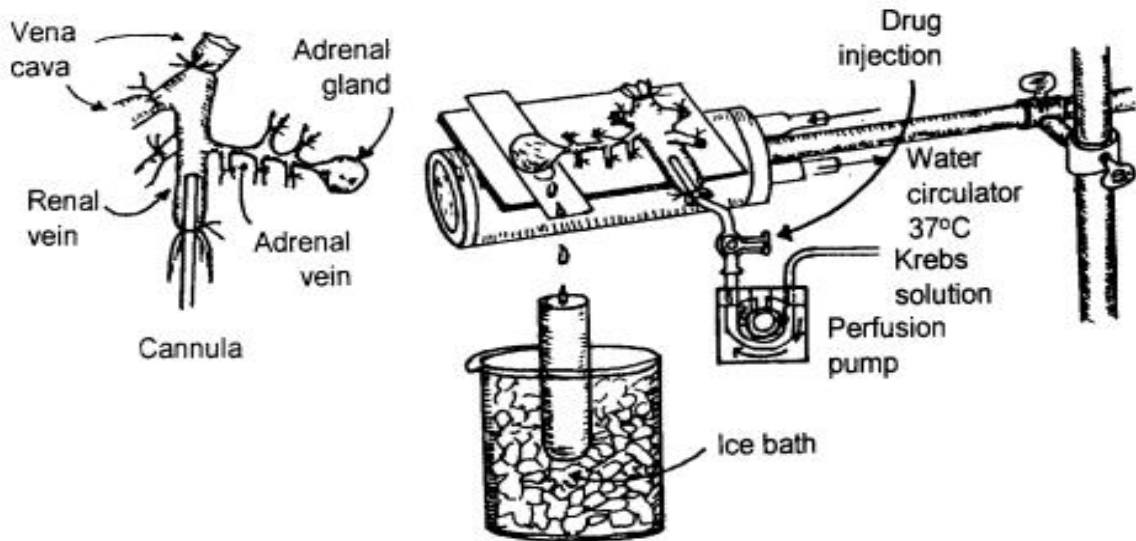


그림1. 흰쥐 부신의 적출분리방법(좌측그림) 및 관류 방법(우측)의 모식도

#### 다. 약물의 투여

약물투여 시는 고정해 놓은 three-way stopcock을 통해서 관류액 내로 acetylcholine (ACh) 등을 직접 주입하였으며, 이때의 투여량은 0.05ml로 조절하여 투여하였다. 또한 타 약물을 전처치 시에는 Krebs액에 용해하여 관류시켜 투여한다. 예비실험을 통해서 분비촉진제의 일회 투여에 의한 CA분비효과는 대략 4분내지 8분 후에 투여 전 상태로 복귀됨을 확인하였으며, 따라서 모든 부신의 perfusate는 약물투여 후 4분내지 8분 동안 채집하였다. 실험조작을 완료한 후 약 1시간동안 Krebs액으로 관류시킨 다음 ACh을 투여하여 부신수질로부터 분비기능을 확인한 다음 본 실험을 시행하였다. 부신으로부터 perfusate의 채집 시는 CA의 분해를 최소화하기 위하여 ice bath 상에서 채집하였다 (그림 1).

#### 라. Perfusate의 채집

일반적으로 여러 분비 촉진제로 자극하기 전에 기초 CA분비량을 측정하기 위해 4분간 관류액을 채집하였다. 그리고 이와 같은 background 샘플을 채집한 후 즉시 분비촉진제를 함유한 관류액이 부신에 도착하자마자 다른 시험관에 perfusate의 채집을 계속하였다. 분비촉진제 샘플의 perfusate는 4분 내지 8분간 채집하였다. 샘플 중 CA함량은 분비자극제에 의해 분비된 CA량에서 background의 CA분비량을 뺀 값을 순수 CA분비량으로 환산하였으며, 이 CA

함량을 모든 그림에 표기하였다.

솔잎분획물이 기초 및 분비촉진제에 의한 CA분비에 미치는 영향을 연구하기 위해서 부싯을 솔잎분획물로 90분간 관류하면서 perfusate는 일정시간(background 샘플시간)동안 채집하였다. 즉 관류액은 분비촉진제 단독 또는 솔잎분획물을 포함한 용액으로 교환시킨 다음 perfusate는 background 샘플과 동일한 시간 동안 냉각시킨 시험관에 채집하였다.

#### 마. CA의 측정

부싯 perfusate 중의 CA함량 측정은 Anton 및 Sayre (1962)의 방법에 따라서 alumina상에서 중간정제과정을 거치지 않고 fluorospectrophotometer (Kontron사, Italy)를 이용하여 직접적으로 측정하였다. 채취한 perfusate중 0.2 ml를 취하여 CA측정에 이용하였으며 perfusate중 CA 함량 계산은 기지농도의 표준 norepinephrine (base로 환산) 치와 비교, 환산하여 총량으로 표시하였다. 본 실험의 모든 Data는 평균±표준오차로 기록하였다.

#### 바. 솔잎으로부터 분획의 제조

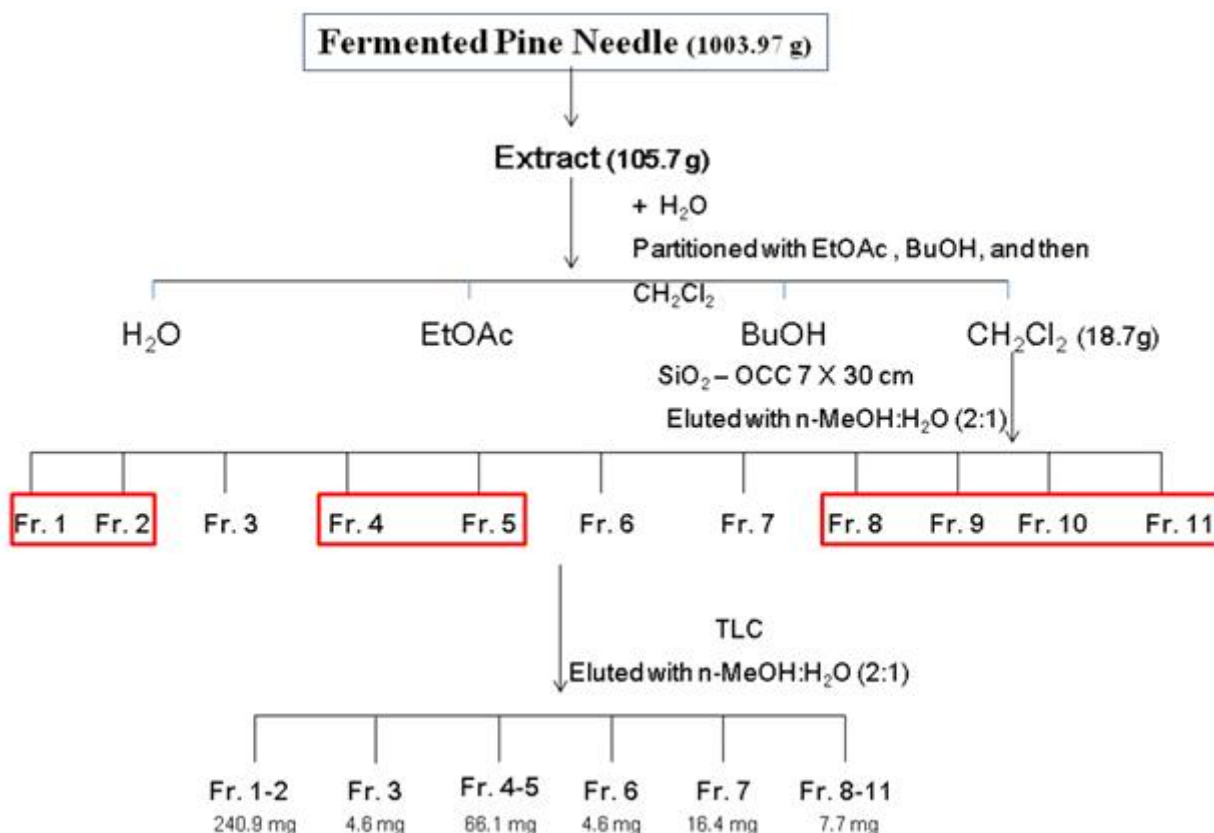


그림 2. 솔잎(*Pinus densiflora*) 발효액의 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>추출물로부터 농축 및 분획과정 모식도

상기 그림2에서와 같이 발효액으로 유기용매를 추출하였으며 이들 분획 중에서 methylene chloride 분획에서 methanol로 추출하여 TLC상에서 Fr.1-2 240.8 mg, Fr.3 4.6mg, Fr.4-5 66.1mg, Fr.7 16.4mg 그리고 Fr.8-11, 7.7mg을 수득하였다. 실험에 이용 시는 실험 당일 DMSO에 용해하여 투여 전에 0.9%생리식염수에 용해하여 투여하였다.

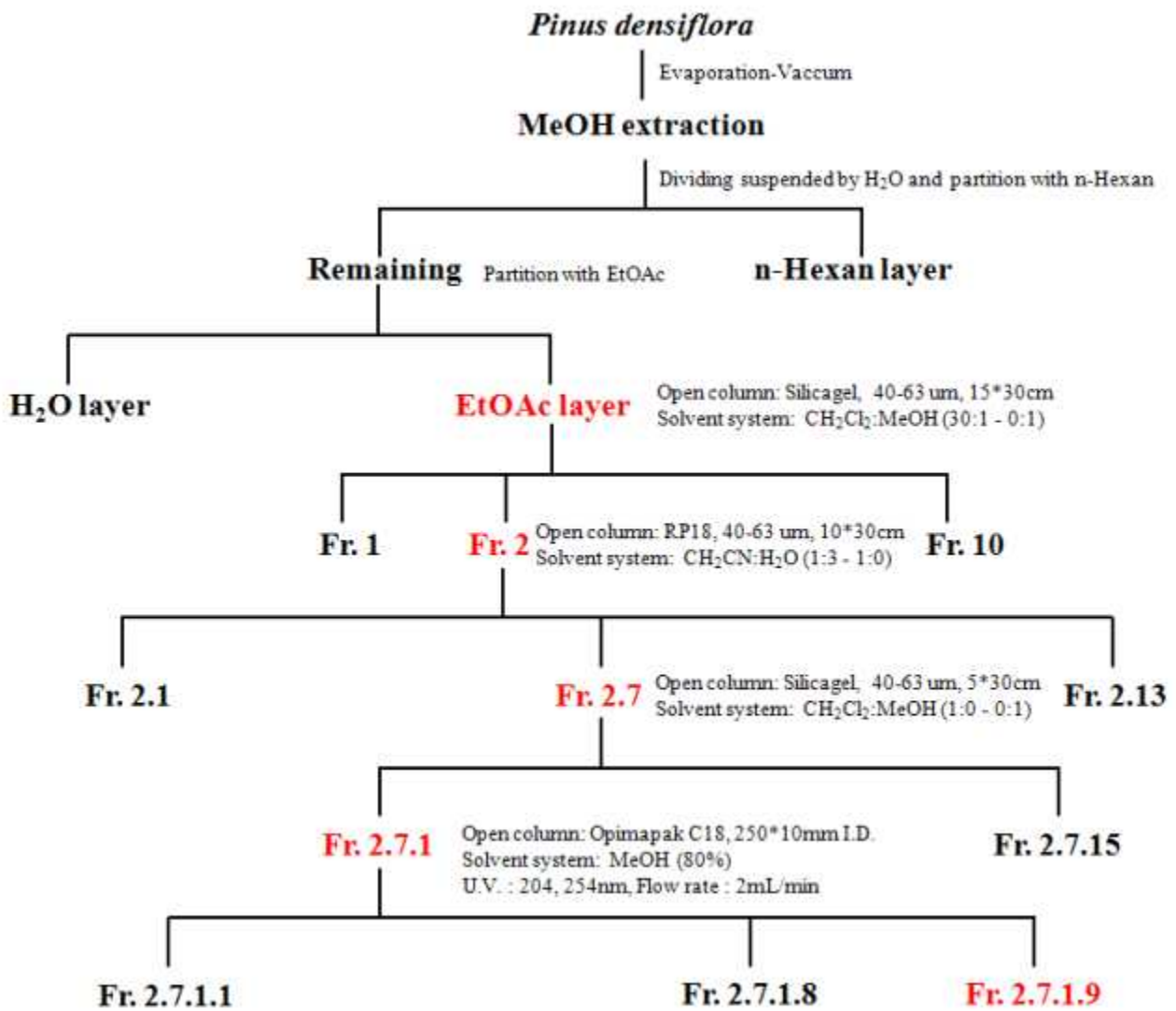


그림 3. 솔잎(*Pinus densiflora*)으로부터 농축 및 분획과정 모식도

The chemical structure of Fraction 2.7.1.9 is proved to be 12,14-labdantrien-18-oic acid

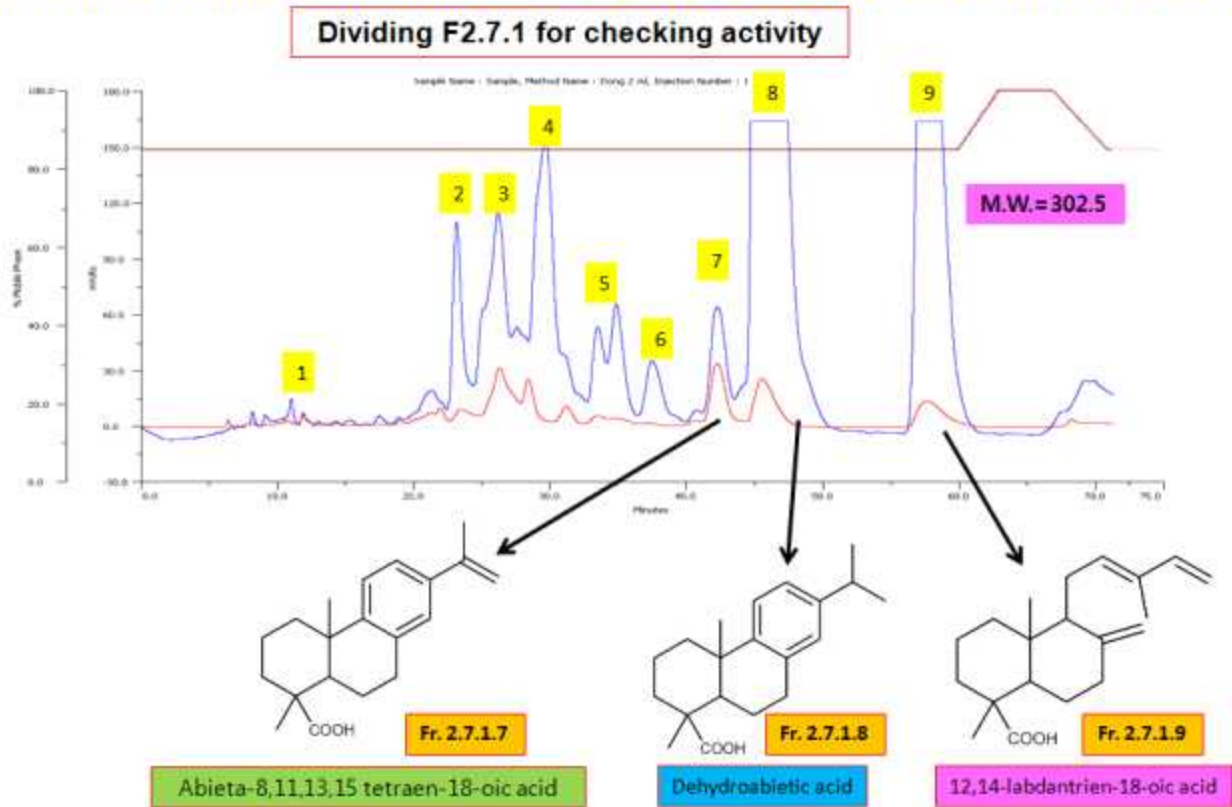


그림 4. NMR분석에 의한 2.7.1.9분획의 화학구조 규명

#### 사. 사용약물

본 연구에 사용한 약물로는 수종의 솔잎분획물을 비롯하여, 1,1-dimethyl-4-phenyl piperazinium iodide (DMPP), acetylcholine chloride (ACh), norepinephrine bitartrate, potassium chloride (KCl), verataridine, N $\omega$ -nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME), methyl-1,4-dihydro-2,6-dimethyl-3-nitro-4-(2-trifluoromethyl-phenyl)-pyridine-5-carboxylate (BAY-K-8644), cyclopiazonic acid (Sigma Chemical Co., U.S.A.), and (3-(m-chloro-phenyl-carbamoyl-oxy)-2-butynyltrimethyl ammonium chloride [McN-A-343] (RBI, U.S.A.) 등이며, 모든 약물은 증류수에 용해하여 정상 Krebs-bicarbonate용액에 첨가하여 사용하였다. 그러나 Bay-K-8644는 99.5% ethanol에 용해하여 Krebs-bicarbonate용액으로 적절히 희석하여(용매의 최종농도는 0.1%이하로 하였음) 사용하였다. 연구에 사용한 모든 약물의 농도는 몰 농도로 사용하였다. Norepinephrine은 0.9% acid saline (pH=4.0)에 용해하여 사용하였고, 그 량은 base로 환산하였다.

아. 통계학적 분석

대조그룹과 실험(전처치)그룹 간의 통계학적 차이는 Student's t-test나 ANOVA test로 검정하였다. 본문에 특별히 기술하지 않는 한 P값이 0.05이하인 경우를 통계학적으로 유의한 변화를 나타내는 것으로 간주하였다. 본문에 기술한 Data값은 평균±표준오차(S.E.M.)으로 표기하였다. 본 연구에서 모든 실험결과의 통계학적 분석은 Tallarida 및Murray(1987)의 컴퓨터 프로그램을 이용하여 검정하였다.

2. 슬릿분획이 흰쥐의 적출 대동맥편의 수축반응에 미치는 영향

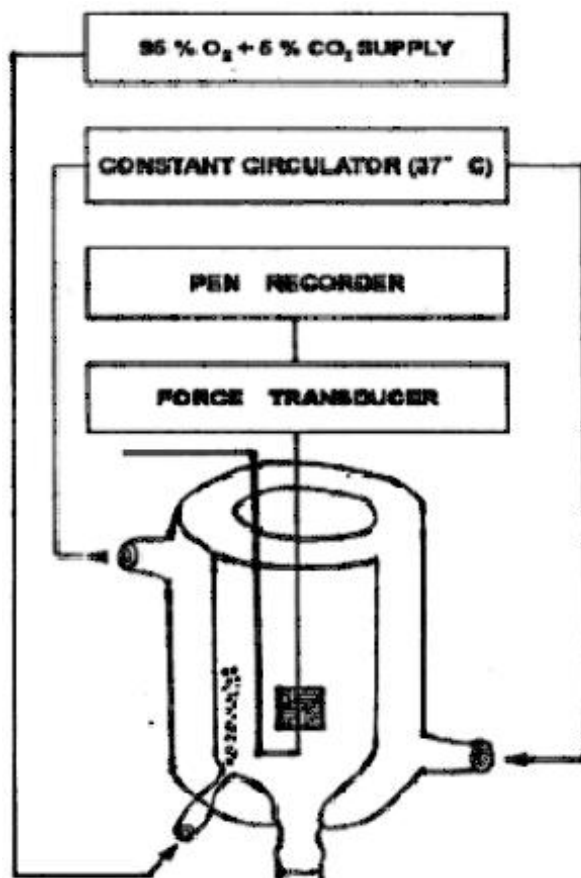


그림 5. 혈관이완실험 모식도

가. 실험동물: 체중 200-250g Sprague-Dowley 종의 정상혈압 흰쥐를 성의 구별 없이 사용하였으며 실험에 이용할 때에는 사혈 치사시킨 다음 흰쥐를 동물 고정대에 배위로고정한후

갑상연골에서 하복부까지 정중선을 따라서 절개하고 흉강을 절개하여, 기관을 노출시켜 적출을 용이토록 주위의 조직장기를 three-hook retractor를 이용하여 고정시킨 후 대동맥을 심장직하부에서 간장 상부까지를 분리 적출하여 혈관내의 혈액을 제거 한 후 3-4 mm 길이로 절단한다.

**나. 혈관이완실험:** 절단한 대동맥편을 Magnus bath 내에 force transducer (Grass FT, 03)에 스테인레스 후크(지경 0.15 mm)를 이용하여 고정한 다음 polygraph (Grass제 Model 79)에 연결한 후 고칼륨으로 수축반응을 확인한다. 반응이 일정하게 안정된 다음 이어서 아드레날린  $\alpha_1$ -수용체 작용제인 phenylephrine과 막탈분극제인 고칼륨으로 혈관을 수축시킨 다음 EtOAc분획을 투여하여 이완반응을 확인 검색한다(그림 5).

**다. Bath액:** Krebs-bicarbonate액을 사용하였다. bath액의 조성은 다음과 같다. (mM): NaCl, 118.4; KCl, 4.7;  $\text{CaCl}_2$ , 2.5;  $\text{MgSO}_4$ , 1.18;  $\text{NaHCO}_3$ , 25;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.2; Glucose, 11.7. 이렇게 제조된 Krebs액은 95%  $\text{O}_2$ 와 5%  $\text{CO}_2$ 로 실험 종료 시까지 공급시켜 주었고 최종 pH는 7.4-7.5로 조절하였으며, Bath내 온도는  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하였다.

**라. 약물투여:** Resting tension은 0.5그램으로 조정하였다. Bath액은 30분 간격으로 교환하여 주었으며, 약물투여는 120분 간격으로 Bath내로 투여하였다. 모든 데이터는 대조치의 %로 표기하였다.

**마. 사용약물:** 술잎에서 추출한 여러 분획을 비롯하여 Phenyephine HCl, potassium chloride, N $\omega$ -nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME), indomethacin (Sigma Chemical Co., U.S.A.), thiopental sodium and heparin sodium (Daehan Choongwae Pharm. Co., Korea) 등을 실험당일에 0.9% 생리식염수나 Krebs 액으로 희석하여 사용하였다.

**바. 통계학적 분석:** 대조그룹과 실험(전처치)그룹 간의 통계학적 차이는 Student's t-test나 ANOVA test로 검정하였다. 본문에 특별히 기술하지 않는 한 P값이 0.05이하인 경우를 통계학적으로 유의한 변화를 나타내는 것으로 간주하였다. 본문에 기술한 Data값은 평균 $\pm$ 표준오차(S.E.M.)으로 표기하였다. 본 연구에서 모든 실험결과의 통계학적 분석은 Tallarida 및 Murray (1987)의 컴퓨터 프로그램을 이용하여 검정하였다.

### 3. 술잎분획이 흰쥐 혈압에 미치는 영향

**가. 실험동물:** 체중 200-300g Sprague-Dowley 종의 웅성 정상혈압 흰쥐를 사용하였으며 실험에 이용할 때에는 복강 내에 thiopental-Na을 체중kg당 50mg을 주사하여 마취를 유도한 다음 urethane 0.5 g/kg을 피하로 주사하여 마취를 유지하였다. 일단 마취된 흰쥐를 동물 고정대에 배위로 고정한 후 갑상연골에서 흉골직하부까지 정중선을 따라서 절개하고



기관을 노출시켜 플라스틱제 기관 카늘을 삽입 고정하여 호흡을 용이하게 해준다. 체온 보존을 위해서 heating blanket을 덮어준 다음 heating lamp를 조사시켜 체온을 36.5℃로 실험 종료 시까지 유지였다.

**나. 혈압측정:** 우측 경동맥을 노출시켜 heparin (400 IU) 식염수로 채워진 컷다운 (Cutdown) 튜브 (21 G)를 경동맥에 삽입고정하고 pressure transducer (Gould)에 연결한다. Pressure transducer는 polygraph (Grass)에 연결하여 혈압변동을 기록하면서 동시에 polygraph와 PowerLab (AD Instruments)을 연결하였고 이때 polygraph로부터 나온 signals를 PowerLab을 통하여 컴퓨터에 기록 저장하였다.

**다. 약물투여:** 양측 대퇴정맥을 노출시켜 polyethylene 튜브 (OD 0.61 mm)를 각각 삽입고정하고, 한쪽 대퇴정맥은 단회 (oneshot) 약물주사 경로로, 다른 쪽은 솔잎분획의 지속적 주입 (infusion) 경로로 사용하였다. 약물의 단회 주사량은 150  $\mu$ l 이내로 하였고, 솔잎분획의 지속적 주입속도는 Infusion pump (Harvard)를 이용하여 0.013 ml/min 이내로 하였다.

**라. 사용약물:** Norepinephrine bitartrate (NE), (Sigma Chemical Co., U.S.A.), thiopental sodium and heparin sodium (Daehan Choongwae Pharm. Co., Korea) 이용하였고, 솔잎분획은 시료의 공정성을 기하기 위하여 CA분비작용 연구에 사용한 솔잎분획과 동일한 방법으로 제조하여 본 실험에 사용하였다. NE는 산성 (PH=4.0) 0.9% 식염수에, 솔잎분획을 포함한 다른 약물은 모두 0.9% 식염수에 용해하여 사용하였다. 특히 솔잎분획 주입액은 투여 직전에 흰쥐의 체중과 투여량 ( $X \mu$ g/kg/min)을 고려하여 만들어 사용하였다.

**마. 자료분석:** 약물투여에 의한 혈압의 변동은 일련의 실험이 끝난 다음 PowerLab을 통하여 컴퓨터에 저장된 signals 기록을 분석하여 측정하였다. 즉 약물투여 전후 일정 시점에서 일정 기간 혈압의 각 변동치 (mmHg)를 측정하여 약물투여 전후를 비교분석하였다. 실험 성적은 평균 $\pm$ 표준오차로 나타냈고, 유의성 검정은 양 군 간에 Students' "t"-test를 실시하여  $p < 0.05$  이하를 유의한 것으로 종합 표기하였다.

#### 4. 대장 카탈 사이질세포의 자발적 활동도에 대한 솔잎 추출물의 효과

##### 가. 세포분리

8~13일 된 Balb/C mice를 암수 구별 없이 실험 동물로 사용하였다. Ether로 마취시킨 다음 경추 부위를 탈구시켜 희생시켰다. 개복하여 pyloric ring에서부터 회장에 해당하는 소장 부위를 적출하였다. 실온에서 Krebs-Ringer bicarbonate 용액으로 채워진 준비용기 속에서 장간연(mesenteric border)을 따라 절개하여 내용물을 제거하였다. 핀으로 조직을 고정 한 후 현미경 하에서 미세가위를 이용하여 점막층을 제거하고 윤상근을 노출시켰다. 분리된 소장근 조직을 collagenase(1.3 mg/mL, Worthington Biochemical Co., Lakewood, NJ, USA),

bovine serum albumin (2 mg/mL, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA), trypsin inhibitor (2 mg/mL, Sigma), ATP (0.27 mg/mL)를 포함하고  $Ca^{2+}$ 은 들어있지 않은 Hank's 용액에 옮긴 다음 37°C에서 20분간 항온 소화시켰다. 소화시킨 후 다시  $Ca^{2+}$ 이 들어있지 않은 Hank's 용액으로 교체하고 끝이 무딘 유리피펫을 사용하여 조심스럽게 진탕시켜 단일세포를 분리하였다.

분리된 세포들을 35 mm 배양용기내 murine collagen (2.5  $\mu$ g/mL, Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, USA)으로 표면처리된, 멸균된 유리 coverglass 위에 분주하였다. 10분 후에 stem cell factor (SCF, 5 ng/mL, Sigma)와 2% antibiotic/antimycotic (Gibco-BRL)가 들어있는 SmGm (smooth muscle growth medium, Clonetics Corp., San Diego, CA, USA) 용액을 분주한 후 37°C, 95%  $O_2$  5%  $CO_2$  배양기에서 배양시켰다. 배양된 다음날 전날 배양된 용액에서 2% antibiotic/antimycotic만 제외시켜 영양액을 바꾸어 주었다. 실험은 배양 2일 후부터 시행하였다. 배양된 ICC의 확인은 Kit단백에 대한 항체(ACK2, Gibco-BRL)를 사용하였으며, Alexa Fluor 488 (Molecular Probes, Eugene, OR, USA)로 면역형광염색을 실시하였다. 염색이 끝난 후 공초점레이저주사현미경(confocal laser scanning microscopy, FV300, Olympus, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

#### 나. 세포막 전압 및 전류의 기록

배양된 용기를 도립형미경 위에 설치되어 있는 항온조절계에 옮긴 후 분당 2-3 ml 속도로 세포의 용액을 관류시켰다. Whole-cell patch clamp를 사용하여 배양된 ICC에서 세포막 전류(voltage clamp)와 세포막 전압(current clamp)을 기록하였다. Patch clamp 증폭기 (Axopatch 1-D, Axon Instruments, Foster, CA, USA)를 통하여 나오는 신호는 디지털 오실로스코프, 생리적 기록기를 통해서 관찰하였고 고정전압과 자극전압의 조정 및 전류의 기록은 pClamp (version, 6.0, Axon Instruments)와 IBM-compatible computer를 사용하였다. 세포막 전류는 -80 mV의 유지전압에 고정하여 기록하였다. 막전압 고정 실험에서 얻어진 결과는 Pclamp와 GraphPad Prizm (version 2.01, San Diego, CA, USA)을 이용하여 분석 처리 하였다. 모든 실험은 29°C에서 시행하였다.

#### 다. 실험용액

세포의 관류용액의 조성은 다음과 같다(각 수치는 mM단위임). KCl 5, NaCl, 135,  $CaCl_2$  2,  $MgCl_2$  1.2, glucose 10, HEPES (N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethansulfonic acid]) 10이며 Tris를 첨가하여 pH가 7.4가 되도록 적정하였다. 세포의  $Na^+$  농도 변화시 같은 농도의 N-methyl-D-glucamine (NMDG)로 치환하였으며,  $Ca^{2+}$ -free용액은 위 조성에서  $CaCl_2$  만

을 제거하였다. 전극내 용액의 조성은 다음과 같다(각 수치는 mM단위임). K-aspartate 20, KCl 120, MgCl<sub>2</sub> 5, K<sub>2</sub> ATP 2.7, Na<sub>2</sub> GTP 0.1, creatine phosphate disodium 2.5, HEPES 5, EGTA 0.1이며 Tris를 첨가하여 pH가 7.2가 되도록 적정하였다.

## 라. 사용 약물

솔잎 추출물을 비롯하여, atropine sulfate, methocytamine, glycopyrrolate, thapsigargin, flufenamic acid, N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethansulfonic acid](HEPES), N-methyl-D-glucamine (NMDG), bovine serum albumin, antibiotic/antimycotic+creatine phosphate disodium, trypsin inhibitor, ATP, stem cell factor (SCF)(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA), collagenase (Worthington Biochemical Co., Lakewood, NJ, USA), SmGm (smooth muscle growth medium, Clonetics Corp., San Diego, CA, USA).

## 2절 연구결과

### 1. 솔잎분획이 흰쥐적출관류부신에서 ACh의 CA분비작용에 미치는 영향

흰쥐 적출 관류부신에서 Krebs-bicarbonate용액으로 한 시간 동안 산소 공급과 함께 관류한 후 기초 CA 유리량은 2분간 22±3ng (n=8)이었다. 최근 연구에서 정과 임(2010)은 2년 발효솔잎분획(SFPE2)과 ethylacetate (EtOAc)분획이 정상혈압쥐 및 자연발증고혈압쥐(SHRs)의 적출대동맥편에서 혈관이완을 일으킬 뿐만 아니라 혈압하강작용을 나타낸다고 하였다. 따라서 솔잎발효액에서 추출 분리한 여러 분획을 이용하여 흰쥐부신의 관류모델에서 아세틸콜린(ACh)에 의한 CA 분비작용에 대한 효과를 검색하여 효력을 평가하기 위해 본 연구를 시도하였다.

여러 가지 솔잎 분획을 관류부신에 처치하기 전에 ACh (5.32 mM)을 부신정맥내로 주사하였을 때 CA분비량은 4분간 1298±23ng이었으나, 솔잎발효액에서 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 추출한 분획을 TLC상에서 methanol로 분리한 6개의 분획 Fr.1-2, Fr.3, Fr.6, 그리고 Fr.7을 각각 60 µg/ml 농도로 90분간 관류하면서 15min 간격으로 ACh를 투여하였을 때 CA분비량은 대조치와 비교해서 별다른 영향을 받지 아니하였다 (그림 6 및 7). 그러나 솔잎분획 Fr.4-5 와 Fr.8-11을 각각 60 µg/ml 농도로 90분간 관류하면서 15min 간격으로 ACh를 투여하였을 때 CA분비량은 90-94분대에서 최대의 억제 반응을 나타내었으며, 각각 대조치의 70% 와 74%로 유의하게 감소되었다 (그림 6 및 7). 이들 결과로 기반으로 전술한 바와 같이 ACh (5.32 mM)에 의한 CA분비작용에 대한 6가지의 솔잎분획의 억제작용을 비교하여 보면 다음과 같다: Fr.4-5>Fr.8-11>>Fr.3>Fr.6=Fr.7>Fr.1-2. 따라서 methylene chloride추출물에서 얻어진 분

획 중에서 가장효력이 강한 Fr.4-5를 이용하여 CA분비작용에 대한 영향과 그 기전규명을 위한 다음 실험을 계속하였다.

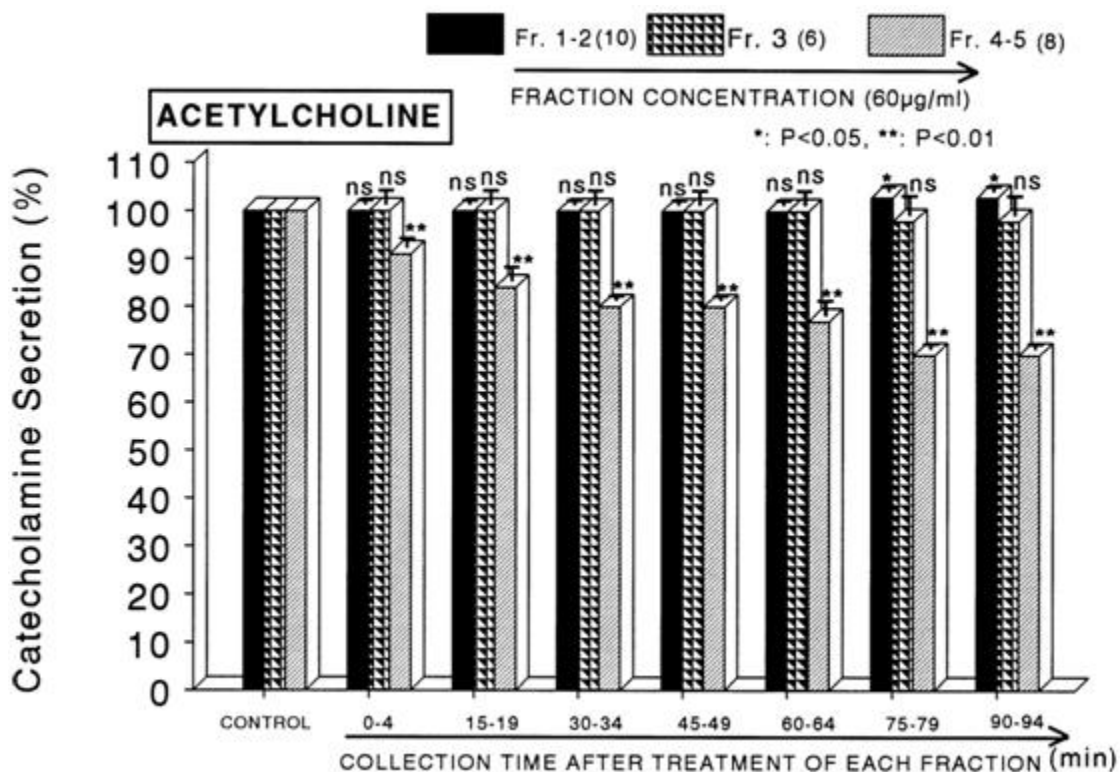


그림 6. 흰쥐 적출관류부신에서 아세틸콜린 (ACh)의 카테콜아민(CA) 분비작용에 대한 솔잎의 methylene chloride추출물에서 분리한 Fr.1-2분획, Fr.3분획, Fr.4-5분획의 효과비교. 화살표로 표시된 바와 같이 Fr.1-2분획, Fr.3분획, Fr.4-5분획을 각각 60  $\mu\text{g/ml}$ 를 각각 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3} \text{M}$ )을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[ $1298 \pm 23 \text{ ng/4분}$ ])의 100%로 표기). X축: Perfusate의 채집시간(분). 통계적 차이는 각 분획을 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계학적 유의성이 없음.

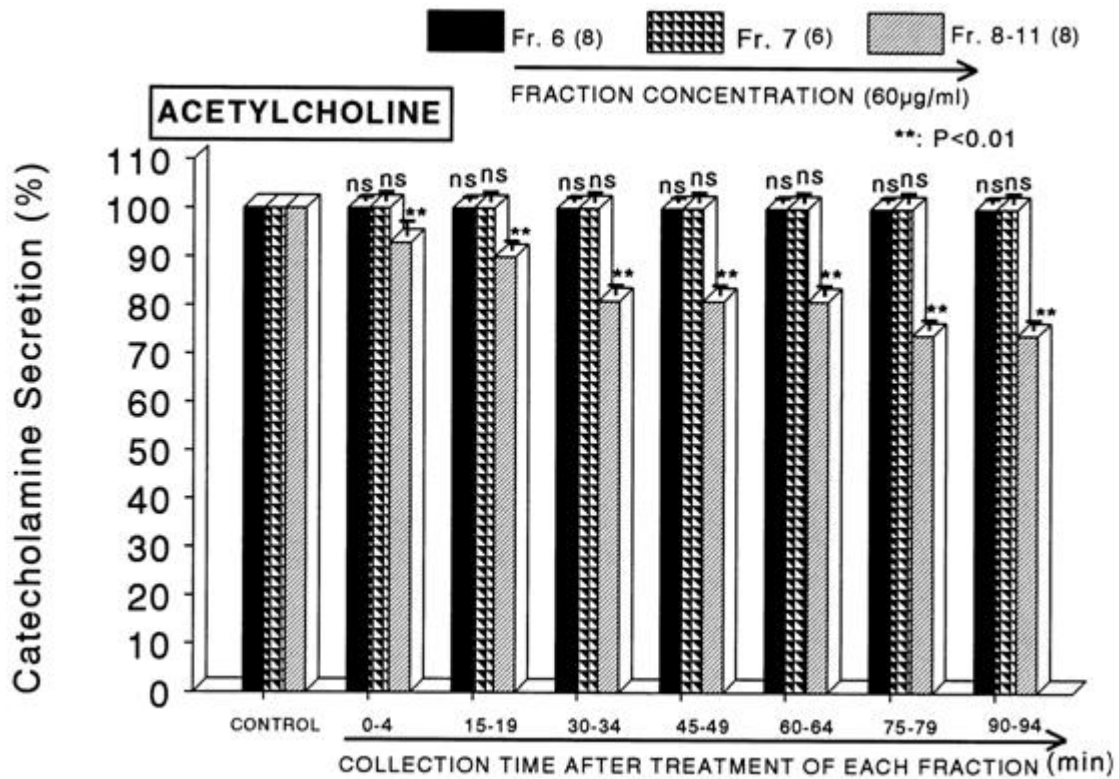


그림 7. 흰쥐 적출관류부신에서 아세틸콜린 (ACh)의 카테콜아민(CA) 분비작용에 대한 솔잎의 methylene chloride추출물에서 분리한 Fr.6분획, Fr.7분획, Fr.8-11분획의 효과비교. 화살표로 표시된 바와 같이 Fr.6분획, Fr.7분획, Fr.8-11분획을 각각 60  $\mu\text{g/ml}$ 를 각각 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3}\text{M}$ )을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[ $1298 \pm 23 \text{ ng/4분}$ ])의 100%로 표기. X축: Perfusate의 채집 시간(분). 통계적 차이는 각 분획을 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계학적 유의성이 없음.

또한 ethylacetate (EtOAc)추출물에서 1차로 분리한 9개의 분획 중 Fr.8은 60 µg/ml 농도로 90분간 관류하면서 15min 간격으로 ACh를 투여하였을 때 CA분비량은 대조치와 비교해서 별다른 영향을 미치지 못하였다 (그림 9). 또한 Fr.5, Fr.6, Fr.7, Fr.9 그리고 Fr.10을 각각 60 µg/ml 농도로 투여하였을 때 ACh의 CA분비량은 90-94분대에서 최대의 억제 반응을 나타내었으며, 각각 대조치의 90~97%로 큰 차이를 볼 수 없었다 (그림 9). 그러나 Fr.2, Fr.4와 Fr.4를 각각 60 µg/ml 농도로 90분간 관류하면서 15min 간격으로 ACh를 투여하였을 때 CA분비량은 90-94분대에서 최대의 억제 반응을 나타내었으며, 각각 대조치의 50%, 59% 와 81%로 유의하게 감소되었다 (그림 8). 이들 결과로 기반으로 전술한 바와 같이 ACh (5.32 mM)에 의한 CA분비작용에 대한 9가지의 솔잎분획의 억제작용을 비교하여 보면 다음과 같다: Fr.2>Fr.3>Fr.4>>Fr.9=Fr.10>Fr.6>Fr.5=Fr.7>Fr.8.

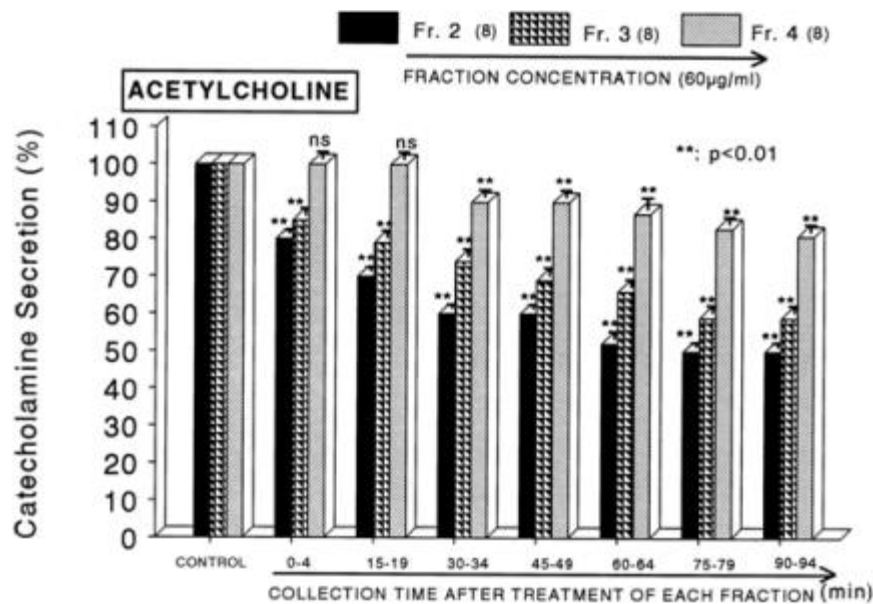


그림 8. 흰쥐 적출관류부신에서 아세틸콜린 (ACh)의 카테콜아민(CA) 분비작용에 대한 솔잎의 ethylacetate추출물에서 분리한 Fr.2분획, Fr.3분획, Fr.4분획의 효과비교. 화살표로 표시된 바와 같이 Fr.2분획, Fr.3분획, Fr.4분획을 각각 60 µg/ml를 각각 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3}M$ )을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[1358±27 ng/4분]의 100%로 표기). X축: Perfusate의 채집시간(분). 통계적 차이는 각 분획을 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*\*: P<0.01, ns: 통계학적 유의성이 없음.

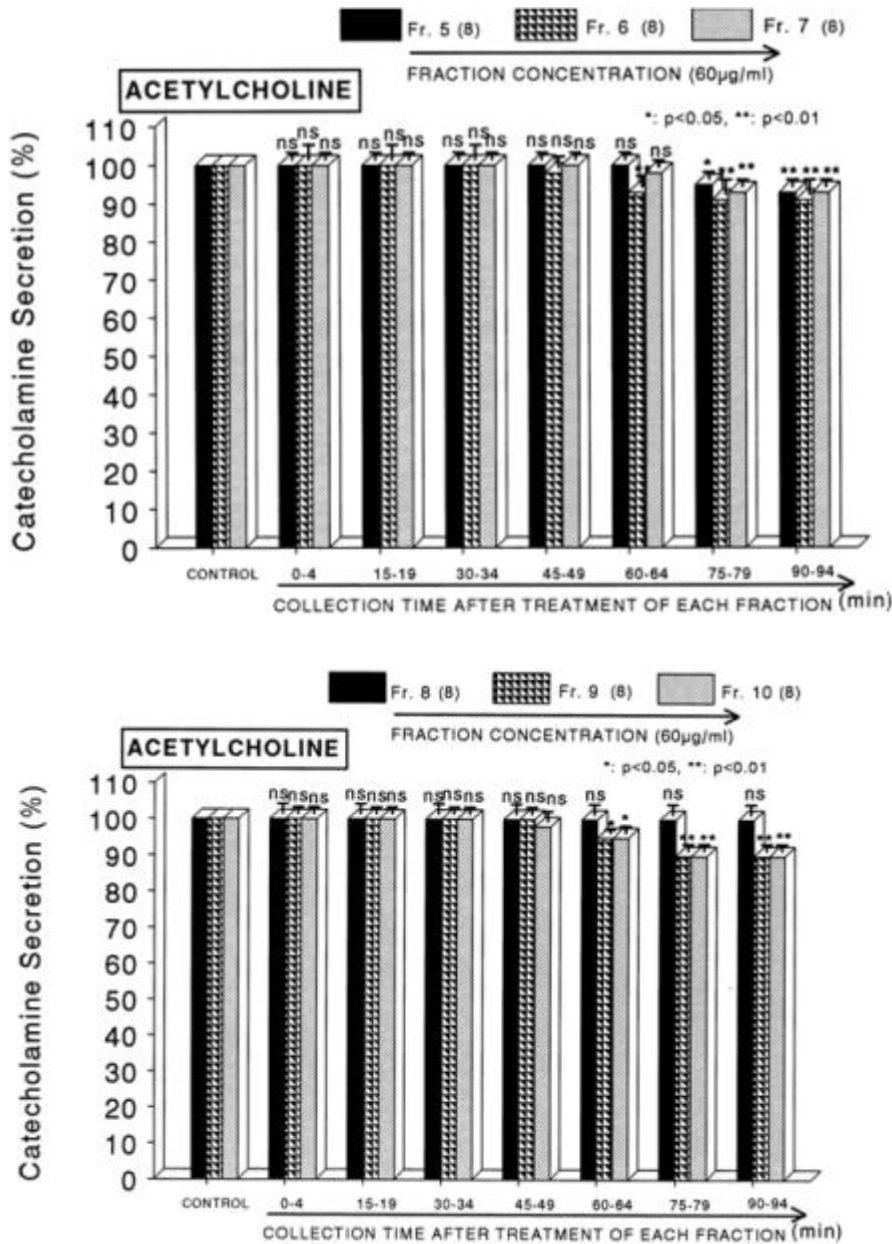


그림 9. 흰쥐 적출관류부신에서 아세틸콜린 (ACh)의 카테콜아민(CA) 분비작용에 대한 솔잎의 ethylacetate추출물에서 분리한 Fr.5분획, Fr.6분획, Fr.7분획(위그림) 및 Fr.8분획, Fr.9분획, Fr.10분획(아래그림)의 효과비교. 화살표로 표시된 바와 같이 Fr.5분획, Fr.6분획, Fr.7분획(위그림) 및 Fr.8분획, Fr.9분획, Fr.10분획(아래그림)을 각각 60  $\mu$ g/ml를 각각 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3}$ M)을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[ $1358 \pm 27$  ng/4분]의 100%로 표기). X축: Perfusate의 채집 시간(분). 통계적 차이는 각 분획을 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출

하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*: P<0.05, \*\*: P<0.01, ns: 통계학적 유의성이 없음.

다시 이 중에서 가장 강력한 Fr.2에서 분리 추출한 9개의 분획 중 Fr.2.12는 60 µg/ml 농도로 90분간 관류시 ACh의 CA분비량이 대조치와 비교해서 별다른 영향을 받지 않았다 (그림 11-아래). 또한 Fr.2.5, Fr.2.6, Fr.2.8, Fr.2.9, Fr.2.10 그리고 Fr.13을 각각 60 µg/ml 농도로 투여하였을 때 ACh의 CA분비량은 90-94분대에서 최대의 억제 반응을 나타내었으나, 각각 대조치의 90~97%로 큰 차이를 볼 수 없었다 (그림 10 및 11). 그러나 Fr.2.7 과 Fr.2.11을 각각 60 µg/ml 농도로 90분간 관류시 ACh의 CA분비량은 역시 90-94분대에서 최대의 억제 반응을 나타내었으며, 각각 대조치의 49% 와 81%로 현저하게 감소되었다 (그림 10 및 11-아래). 이들 결과로 기반으로 ACh (5.32 mM)의 CA분비작용에 대한 9가지의 2차솔잎분획의 억제작용을 비교하여 보면 다음과 같다;

Fr.2.7>>Fr.2.11>>Fr.2.13>>Fr.2.8>Fr.2.9=Fr.2.10>Fr.2.5>Fr.2.6>Fr.2.12

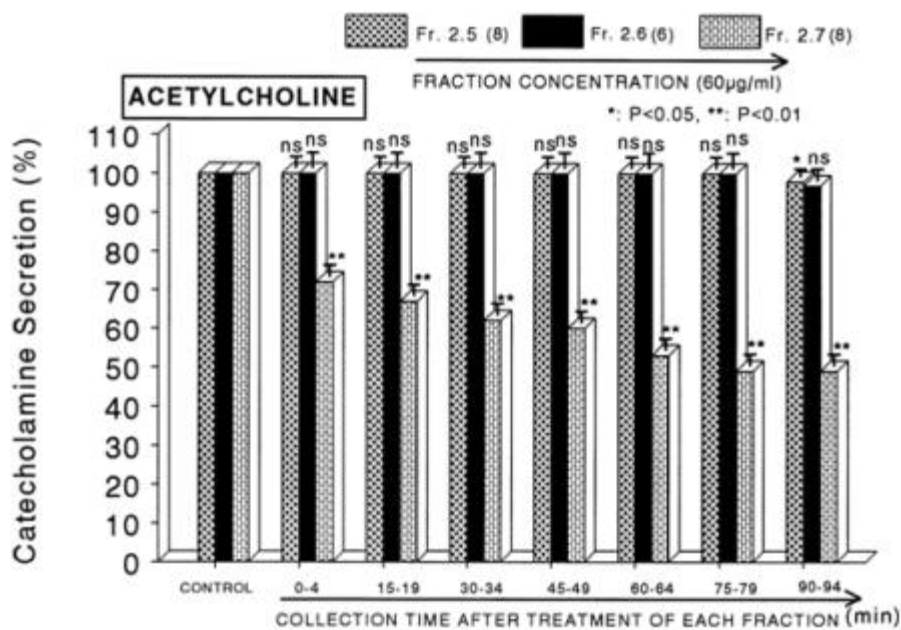


그림 10. 흰쥐 적출관류부신에서 아세틸콜린 (ACh)의 카테콜아민(CA) 분비작용에 대한 솔잎의 ethylacetate추출물에서 분리한 Fr.2.5분획, Fr.2.6획, Fr.2.7분획의 효과비교. 화살표로 표시된 바와 같이 Fr.2.5분획, Fr.2.6획, Fr.2.7분획을 각각 60 µg/ml를 각각 90분간 관류하면서 ACh (5.32×10<sup>-3</sup>M)을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[1358±27 ng/4분]의 100%로 표기). X축: Perfusate의 채집시간(분).



통계적 차이는 각 분획을 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*: P<0.05, \*\*: P<0.01, ns: 통계학적 유의성이 없음.

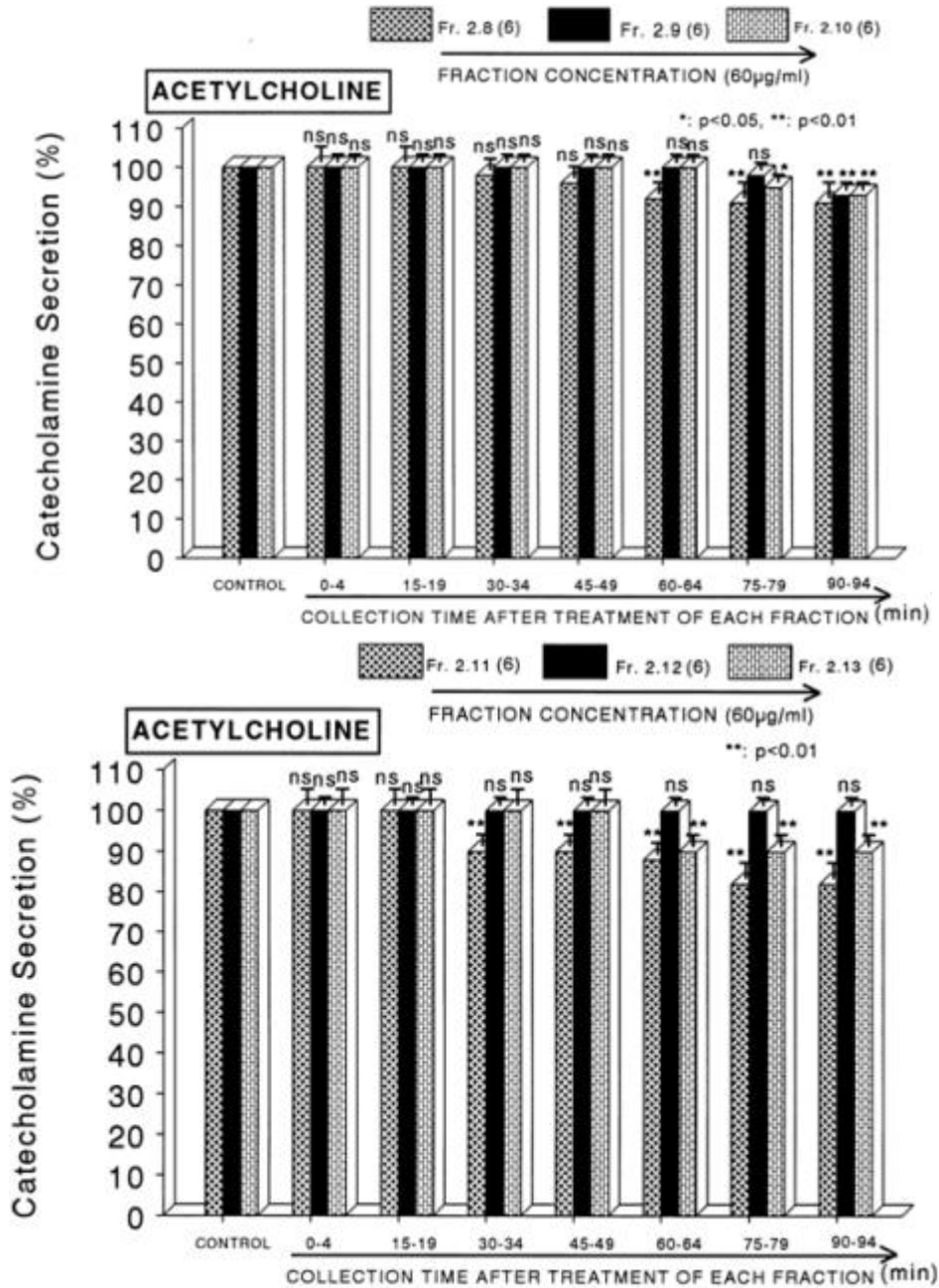


그림 11. 흰쥐 적출관류부신에서 아세틸콜린 (ACh)의 카테콜아민(CA) 분비작용에 대한 솔잎의 ethylacetate추출물에서 분리한 Fr.2.8분획, Fr.2.9분획, Fr.2.10분획(위그림) 및 Fr.2.11분획, Fr.2.12분획, Fr.2.13분획(아래그림)의 효과비교. 화살표로 표시된 바와 같이 Fr.5분획, Fr.6분획, Fr.7분획(위그림) 및 Fr.8분획, Fr.9분획, Fr.10분획(아래그림)을 각각 60 µg/ml를 각각 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3}M$ )을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)

임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[1358±27 ng/4분]의 100%로 표기). X축: Perfusate의 채집시간(분). 통계적 차이는 각 분획을 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*: P<0.05, \*\*: P<0.01, ns: 통계학적 유의성이 없음.

다시 이 중에서 가장 효력이 좋은 Fr.2.7에서 추출 분리한 4가지 분획, Fr.2.7.1, Fr.2.7.3, Fr.2.7.4 그리고 Fr.2.7.7을 각각 60 µg/ml 농도로 관류시 ACh의 CA분비량은 각각 대조치의 65%, 82%, 81% 과 79%로 현저하게 감소되었다 (그림 12). 이들 결과로 기반으로 ACh (5.32 mM)의 CA분비작용에 대한 4가지의 3차솔잎분획의 억제작용을 비교하여 보면 다음과 같다; Fr.2.7.1>>Fr.2.7.7>Fr.2.7.4>Fr.2.7.3

또다시 이 4가지 분획 중에서 가장 효력이 좋은 Fr.2.7.1에서 추출 분리한 4가지 분획, Fr.2.7.1.3, Fr.2.7.1.4, Fr.2.7.1.8 그리고 Fr.2.7.1.9를 각각 60 µg/ml 농도로 관류시 ACh의 CA분비량은 각각 대조치의 80%, 81%, 74% 과 71%로 현저하게 감소되었다 (그림 13). 이들 결과로 기반으로 ACh (5.32 mM)의 CA분비작용에 대한 4가지의 3차 솔잎분획의 억제작용을 비교하여 보면 다음과 같다; Fr.2.7.1.9>Fr.2.7.1.8>>Fr.2.7.1.3>Fr.2.7.1.4 이들 중에서 가장 강력한 효력을 가진 Fr.2.7.1.9의 화학구조를 NMR로 규명한 결과, 12,14-labdantrien-18-noic acid로 판명되었다 (그림4). 따라서 methylene chloride추출물에서 얻어진 분획 중에서 가장효력이 강력한 Fr.4-5과 ethylacetate 추출물에서 최종적으로 얻어진 12,14-labdantrien-18-noic acid (Fr.2.7.1.9)를 이용하여 CA분비작용에 대한 영향과 그 기전규명을 위한 다음 실험을 계속하였다.

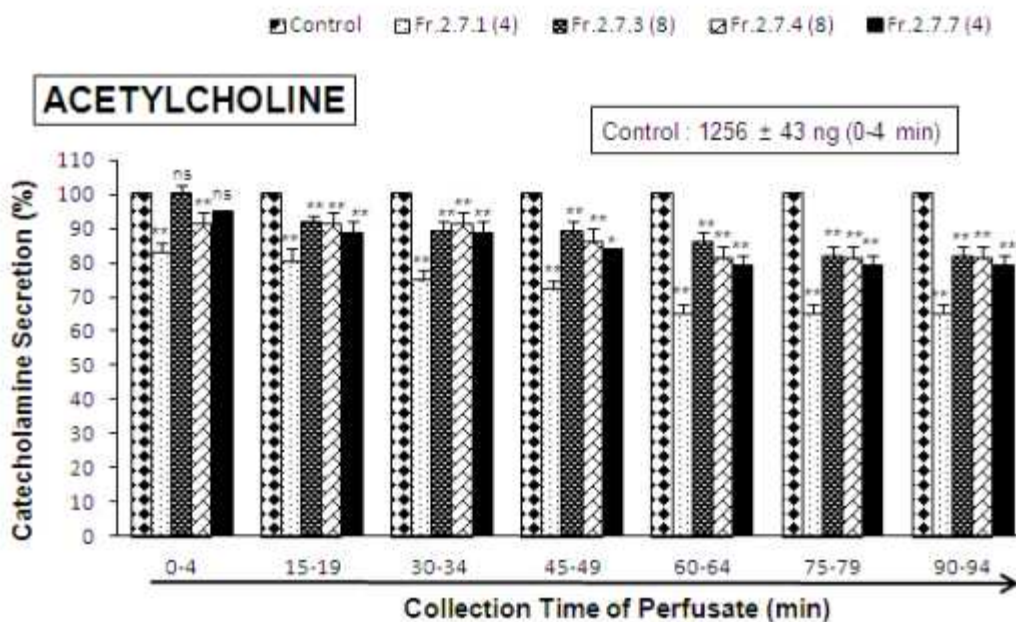


그림 12. 흰쥐 적출관류부신에서 아세틸콜린 (ACh)의 카테콜아민(CA) 분비작용에 대한 슬 앞의 ethylacetate추출물에서 분리한 Fr.2.7.1분획, Fr.2.7.3분획, Fr.2.7.6분획, Fr.2.7.7분획의 효과 비교. 화살표로 표시된 바와 같이 Fr.2.7.1분획, Fr.2.7.3분획, Fr.2.7.6분획, Fr.2.7.7분획을 각각 60 µg/ml를 각각 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3}M$ )을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[1358±27 ng/4분]의 100%로 표기). X축: Perfusate의 채집시간(분). 통계적 차이는 각 분획을 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계학적 유의성이 없음.

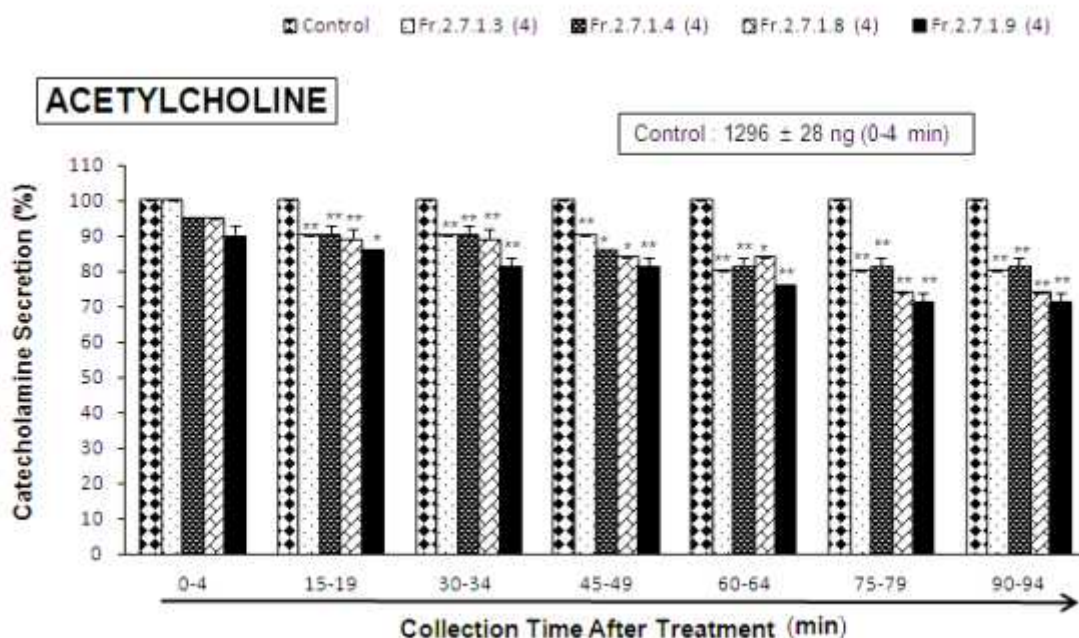


그림 13. 흰쥐 적출관류부신에서 아세틸콜린 (ACh)의 카테콜아민(CA) 분비작용에 대한 슬 앞의 ethylacetate추출물에서 분리한 Fr.2.7.1.3분획, Fr.2.7.1.4분획, Fr.2.7.1.8분획, Fr.2.7.1.9분획의 효과 비교. 화살표로 표시된 바와 같이 Fr.2.7.1.3분획, Fr.2.7.1.4분획, Fr.2.7.1.8분획, Fr.2.7.1.9분획을 각각 60 µg/ml를 각각 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3}M$ )을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[1358±27 ng/4분]의 100%로 표기). X축: Perfusate의 채집시간(분). 통계적 차이는 각 분획을 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계학적 유의성이 없음.

2. 솔잎의 Methylene chloride 추출물에서 Fr.4-5분획 과 Ethylacetate 추출에서 분리정제한 12,14-labdantrien-18-noic acid (LDTEA, Fr.2.7.1.9)이 흰쥐관류부신에서 ACh, 고칼륨, DMPP 및 McN-A-343에 의한 CA 분비작용에 미치는 영향

상기에서 기술한 바와 같이 methylene chloride 분획 중 Fr.4-5와 ethylacetate 분획 중 Fr.2.7.1.9 (12,14-labdantrien-18-noic acid, LDTEA)이 ACh의 CA분비에 대한 가장 강력한 억제작용을 나타내었다. 그러므로 콜린수용체 흥분작용 및 막탈분극에 의한 CA분비작용에 대한 먼저 솔잎 분획의 Fr.4-5와 LDTEA의 효과를 검색코자 하였다. 본 실험에서 몇 가지의 분비촉진제를 15-20분 간격으로 투여하였다. 솔잎분획인 Fr.4-5 와 LDTEA는 각 분비촉진제의 대조치 유리량을 확립한 후 90분 동안 관류하였다.

이 두 분획은 다 같이 부신수질에서 CA 기초분비량에는 별다른 영향을 미치지 못하였다. Fr.4-5분획(20~180  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )을 각각 흰쥐(s)의 부신정맥 내로 90분간 관류 시 비교적 용량 및 시간 의존적으로 ACh에 의한 CA 분비반응을 억제하였고, 90-94 분대에서 최대 억제반응을 나타내었으며, 대조치(1267 $\pm$ 34ng/0-4분)의 61%까지 분비량이 감소되었다(그림 14).

또한 LDTEA (70~600  $\mu\text{M}$ )을 각각 흰쥐(SDs)의 부신정맥 내로 90분간 관류 시 처음부터 뚜렷이 감소하기 시작하여 90-94 분대에서 최대 억제반응을 나타내었으며, 대조치(1267 $\pm$ 34ng/0-4분)의 56%로 비교적 용량 및 시간 의존적으로 유의한 감소효과를 나타내었다(그림 15). 따라서 이후 실험연구에서는 Fr.4-5분획의 중간 용량인 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 그리고 LDTEA의 중간 용량인 200  $\mu\text{M}$ 만을 사용하였다.

흰쥐관류부신에서 고칼륨과 같은 막탈분극화제는 전압의존성 칼슘통로 활성화제로써 CA분비를 현저히 촉진시켰다. Fr.4-5분획의 중간용량인 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 전처치한 후 고칼륨 ( $5.6\times 10^{-2}\text{M}$ )에 의한 CA분비작용은 대조치 분비량(742 $\pm$ 32ng/0-4분)과 비교 시 시간이 경과함에 따라서 점차적으로 억제되었으며, 90-94분대에서 최대 억제반응을 나타내었으며 대조치의 69%까지 차단되었다(그림 16). 또한 LDTEA의 경우도 중간 용량 즉, 200  $\mu\text{M}$ 로 전처치한 후 고칼륨 ( $5.6\times 10^{-2}\text{M}$ )에 의한 CA분비작용은 대조치 분비량(768 $\pm$ 40ng/0-4분)과 비교 시 초기부터 시간의 경과에 따라 현저하게 억제되었으며, 90-94분대에서 최대로 대조치의 68%까지 차단되었다(그림 17).

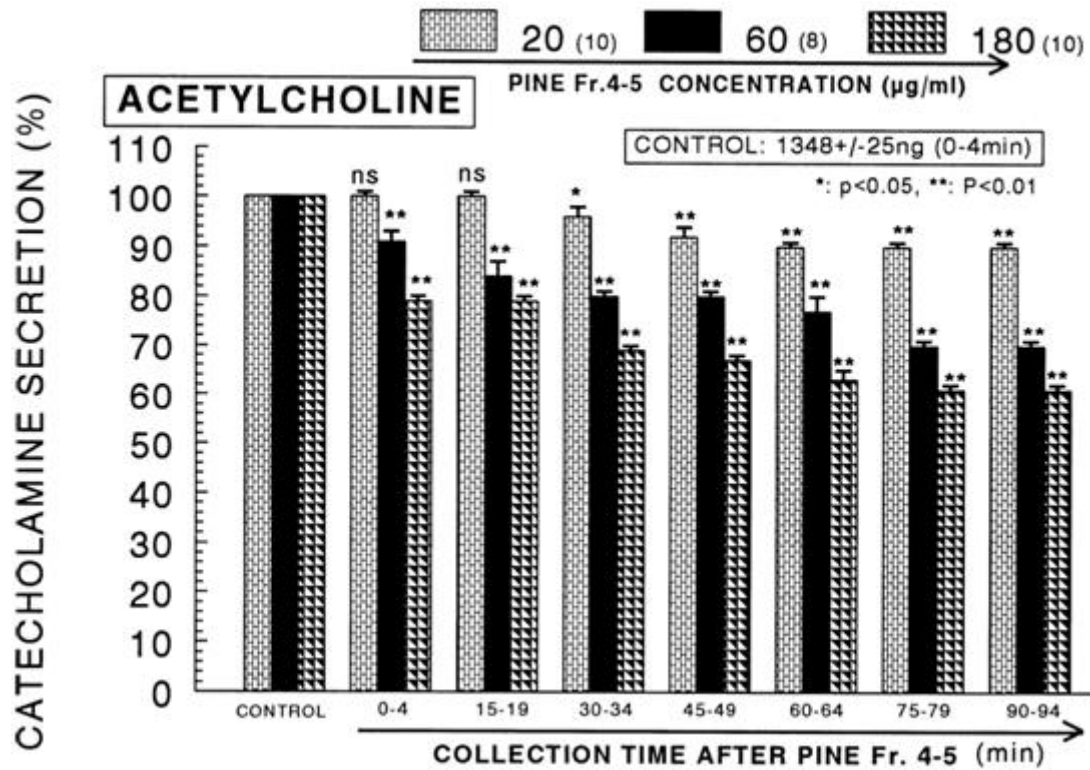


그림 14. 흰쥐 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획이 아세틸콜린 (ACh)에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. 화살표로 표시된 바와 같이 Fr.4-5분획 20, 60, 180 µg/ml를 각각 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3} M$ )을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[1348±25 ng/4분]의 100%로 표기). X축: Perfusate의 채집시간(분). 통계적 차이는 Fr.4-5분획 각 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*: P<0.05, \*\*: P<0.01, ns: 통계학적 유의성이 없음.

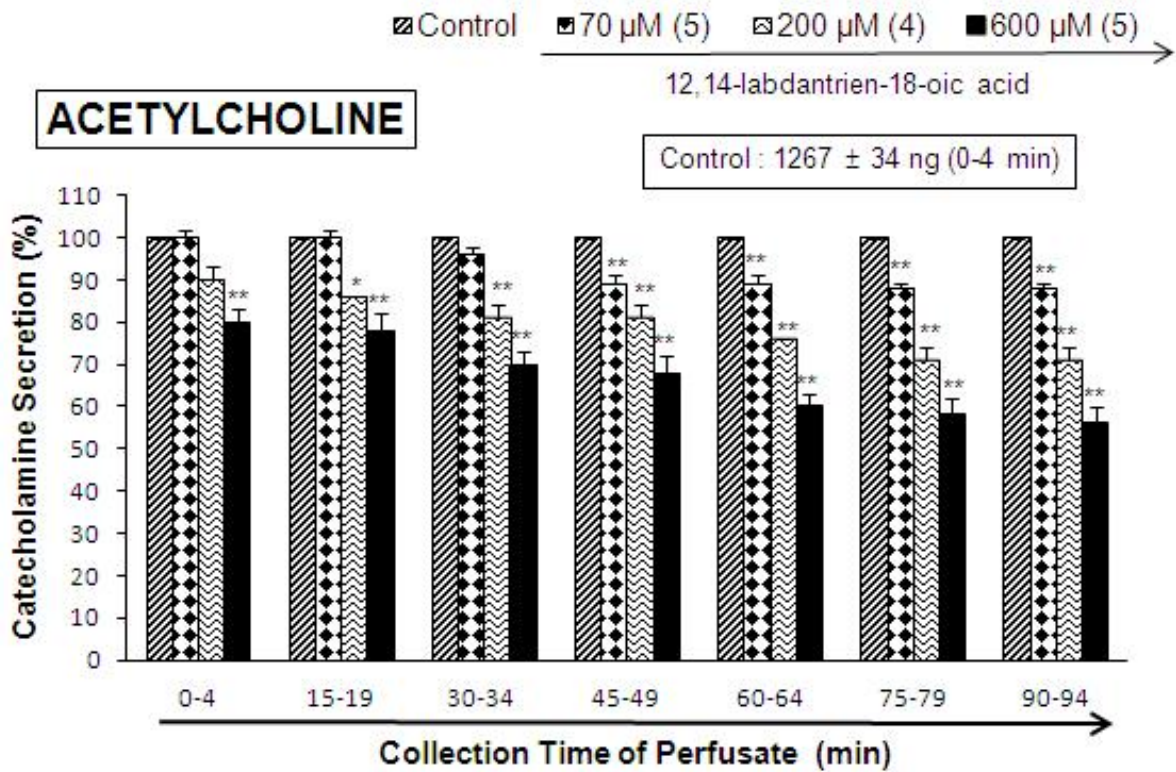


그림 15. 흰쥐 적출관류부신에서 LDTEA가 아세틸콜린 (ACh)에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. 화살표로 표시된 바와 같이 LDTEA 70, 200, 600  $\mu\text{M}$ 을 각각 90분간 관류 하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3}\text{M}$ )을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 흰쥐 부신의 개수임. 각 칼럼상의 수직막대는 표준오차 (S.E.M)임. Y축: 부신에서 4분간 분비된 CA량 (대조치[1348 $\pm$ 25 ng/4분]의 100%로 표기). X축: Perfusate의 채집시간(분). 통계적 차이는 Fr.4-5분획 각 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계학적 유의성이 없음.

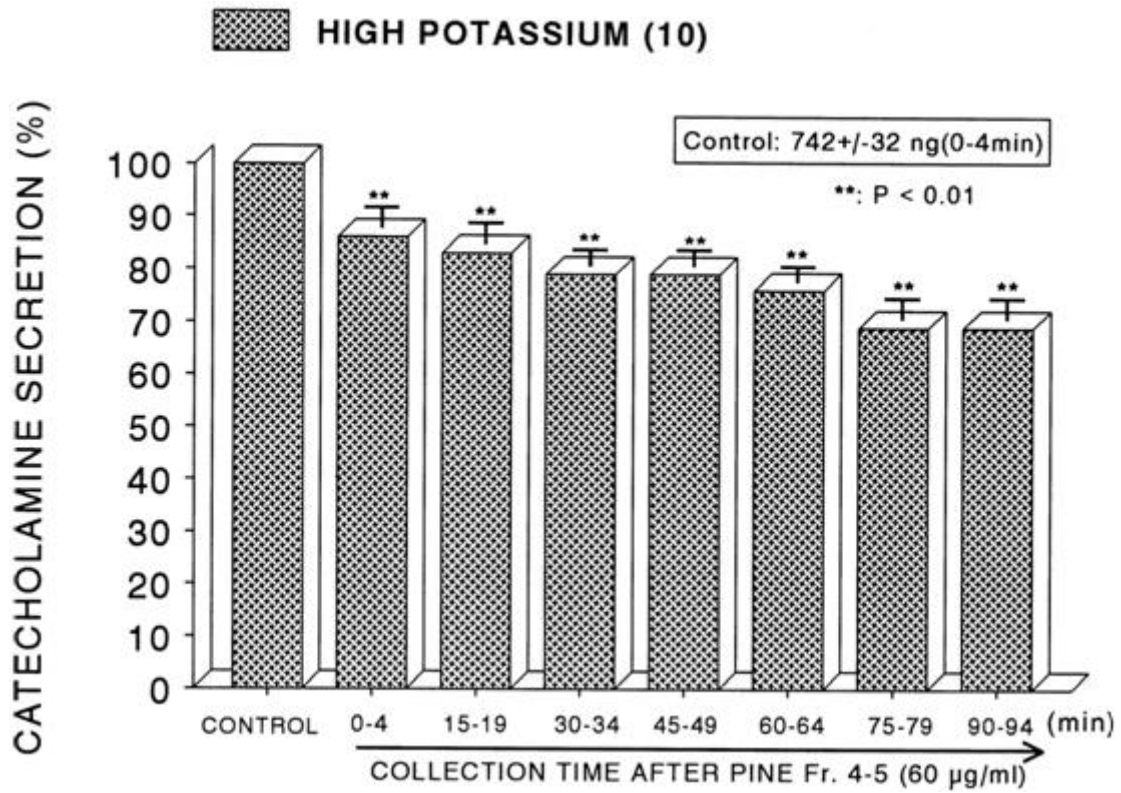


그림 16. 흰쥐 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획이 고칼륨에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. 솔잎 Fr.4-5분획 투여 후 고칼륨( $5.6 \times 10^{-2}M$ )을 0.1ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60µg/ml 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (742±32 ng/ 4 min)를 비교하여 산출하였음. 고칼륨에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림6에서와 동일함. \*\*: P<0.01

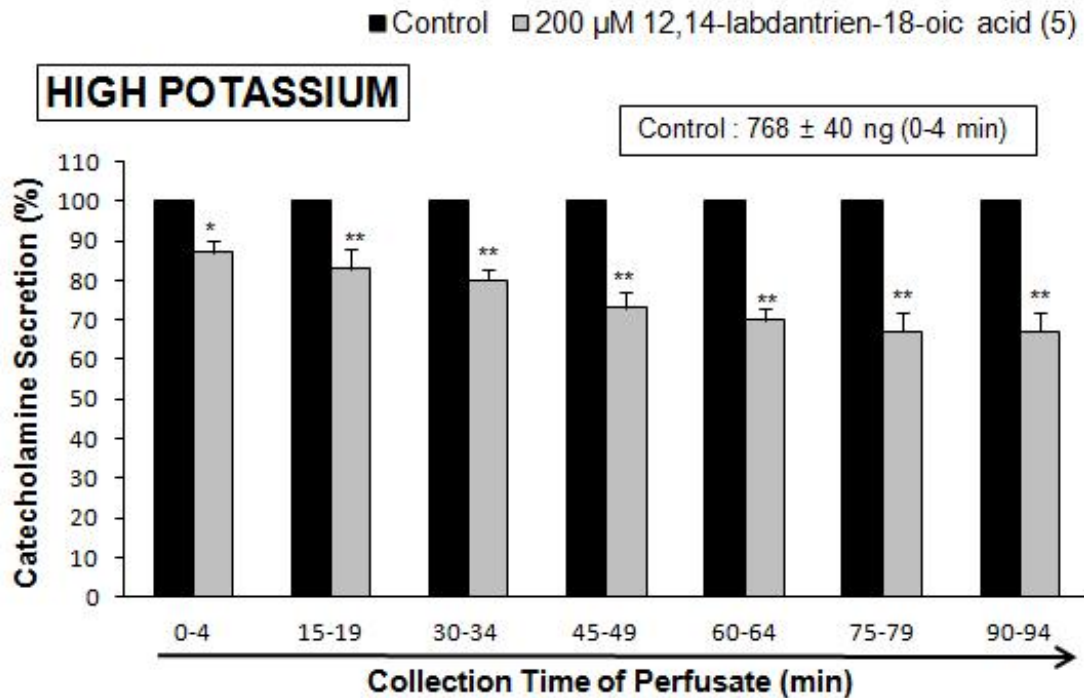


그림 17. 흰쥐 적출관류부신에서 솔잎 LDTEA가 고칼륨에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. LDTEA 투여 후 고칼륨( $5.6 \times 10^{-2} M$ )을 0.1ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200 $\mu$ M 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (768 $\pm$ 40 ng/ 4 min)를 비교하여 산출하였음. 고칼륨에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험 방법 및 약어는 그림6에서와 동일함. \*: P<0.05, \*\*: P<0.01

니코틴수용체의 선택적인 작동제인 DMPP ( $10^{-4} M$ )는 신속하고 뚜렷한 CA분비작용을 나타내었다. 그러나, 그림 18에서 나타난 바와 같이, 솔잎 Fr.4-5분획을 60 $\mu$ g/ml로 전처치 후에 DMPP에 의한 CA분비작용은 초기부터 뚜렷하게 억제되기 시작하여 80-88분대에서 대조치 (1229 $\pm$ 21ng/0-8분)의 73%까지 최대로 감소하는 반응을 나타내었다.

또한 LDTEA는 200 $\mu$ M로 전처치 후에 DMPP에 의한 CA분비작용은 초기부터 뚜렷하게 억제되기 시작하여 시간이 경과함에 따라 80-88분대에서 최대로 억제되어 대조치(1229 $\pm$ 31ng/0-8분)의 69%로 감소하였다(그림 19).



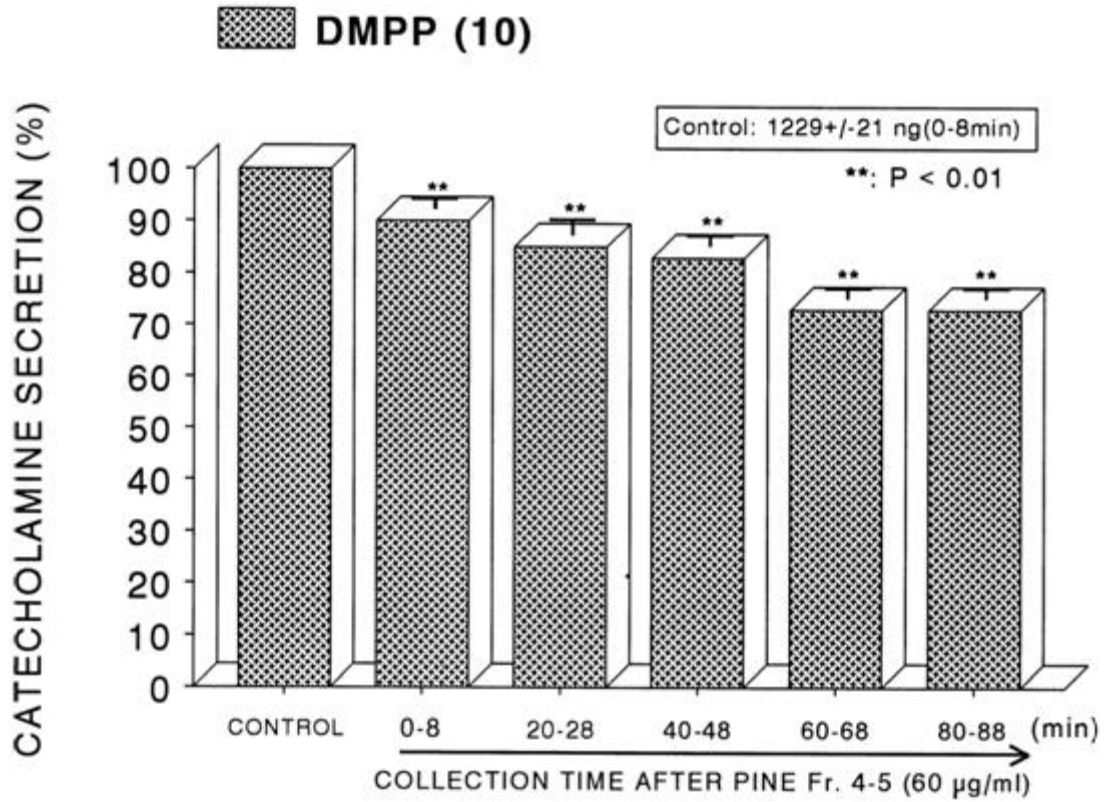


그림 18. 흰쥐 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획이 DMPP에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. 솔잎 Fr.4-5분획 투여 후 DMPP( $10^{-4}$ M)을 20분 간격으로 1분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60 µg/ml 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. DMPP에 의한 Perfusate는 8분간 채집하였음. 기타 실험 방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*: P<0.01

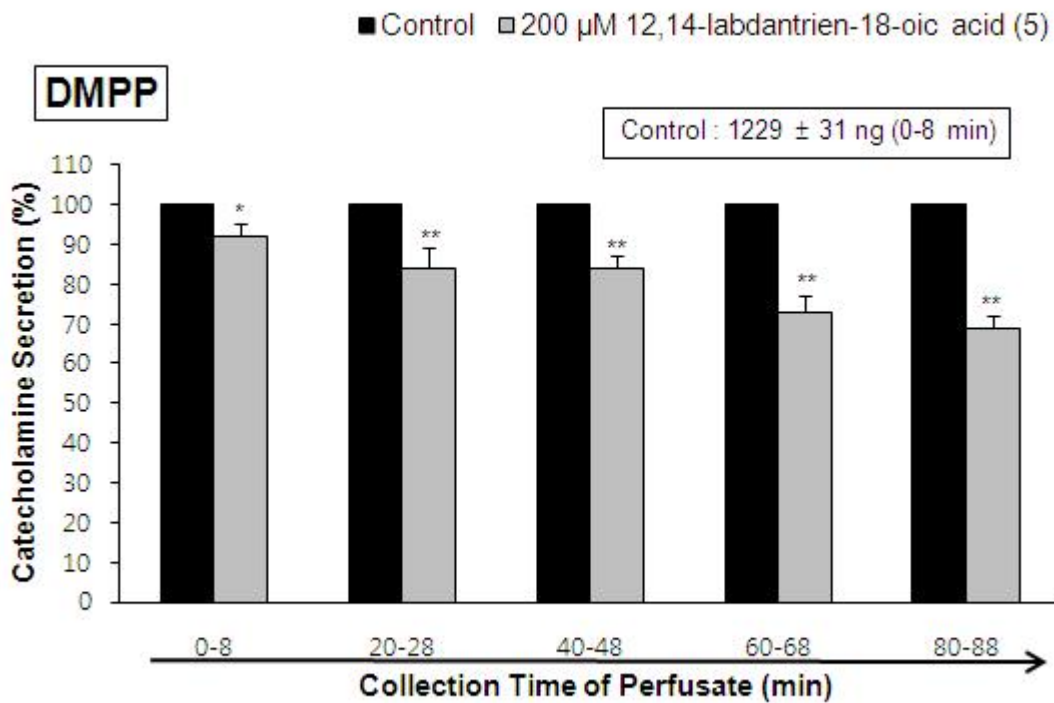


그림 19. 흰쥐 적출관류부신에서 LDTEA가 DMPP에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. LDTEA 투여 후 DMPP( $10^{-4}$ M)을 20분 간격으로 1분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200 $\mu$ M 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. DMPP에 의한 Perfusate는 8분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*:  $P < 0.01$

선택적 무스카린  $M_1$ -수용체 작동제인 McN-A-343 ( $10^{-4}$ M) (Hammer 및 Giachetti, 1982)을 부신정맥 내로 4분간 관류 시 CA분비작용은 4분간  $672 \pm 21$ ng이었다. 그러나, 솔잎 Fr.4-5분획 60  $\mu$ g/ml농도 존재 하에서 McN-A-343에 의한 CA분비작용은 소량에서 첫 4분간은 영향이 없었으나 시간의 경과에 따라서 90-94분대에서 대조치 분비량( $672 \pm 21$ ng/4min)의 68%까지 현저하게 감소하는 반응을 나타내었다(그림 20).

또한 LDTEA 200 $\mu$ M 존재 하에서 McN-A-343에 의한 CA분비작용은 처음부터 감소하기 시작하여 시간이 경과함에 따라서 점차 감소하여 90-94분대에서 최대의 억제 반응을 나타내어 대조치( $640 \pm 33$ ng/4min)의 63%까지 감소하였다 (그림 21).

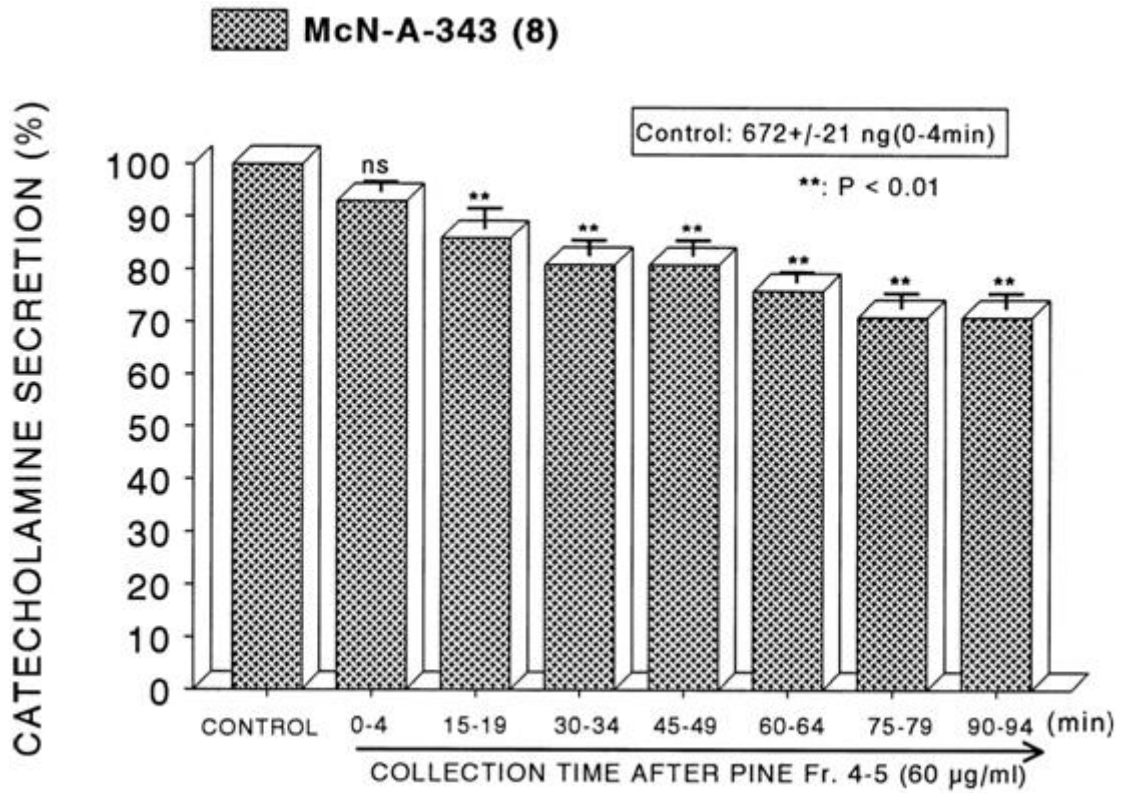


그림 20. 흰쥐 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획이 McN-A-343에 의한 카테콜아민(CA) 분비 작용에 미치는 효과. 솔잎 Fr.4-5분획 투여 후 McN-A-343 ( $10^{-4}M$ )을 20분 간격으로 4분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획  $60 \mu g/ml$  농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. McN-A-343에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*:  $P < 0.01$

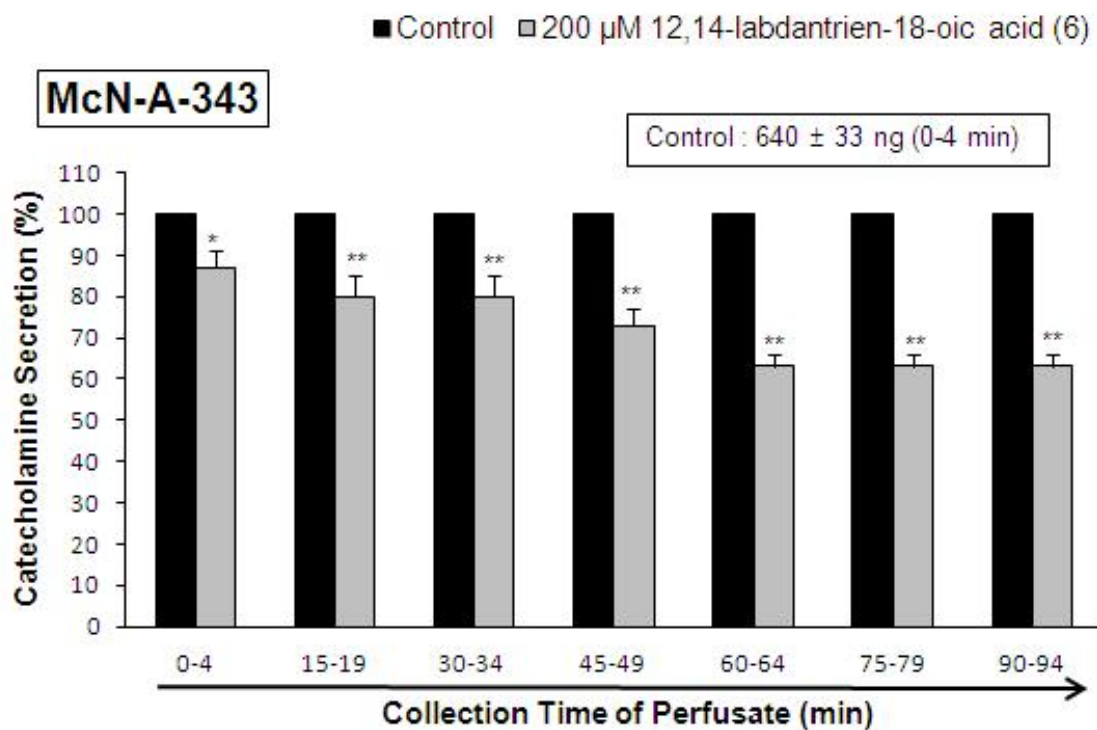


그림 21. 흰쥐 적출관류부신에서 LDTEA이 McN-A-343에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. LDTEA 투여 후 McN-A-343 ( $10^{-4}$ M)을 20분 간격으로 4분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200 $\mu$ M 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. McN-A-343에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*: P<0.01

### 3. 솔잎 Fr.4-5 분획과 LDTEA가 흰쥐 관류부신에서 Bay-K-8644, cyclopiazonic acid, veratridine 및 angiotensin II에 의한 CA분비작용에 미치는 영향

Bay-K-8644는 칼슘통로 활성화제로 알려져 있으며, 기초 칼슘섭취(Garcia 등, 1984) 및 CA유리(Lim 등, 1992)를 향진시키기 때문에, 흰쥐 적출 관류부신에서 Bay-K-8644에 의한 CA분비작용에 대해서 솔잎 Fr.4-5분획 및 LDTEA의 작용을 검색하고자 하였다. 그림 22에서와 같이, 흰쥐 관류부신 7예에서 Bay-K-8644 ( $10^{-5}$ M)에 의한 CA분비작용은 솔잎 Fr.4-5 분획(60  $\mu$ g/ml) 처치 전 4분 동안에 622 $\pm$ 18 ng을 나타내었다. 그러나 솔잎 Fr.4-5분획 (60  $\mu$ g/ml) 존재 하에서 Bay-K-8644 ( $10^{-5}$ M)에 의한 CA분비작용은 대조치 유리량과 비교하여 첫 4분간을 제

외하고, 시간이 지남에 따라서 대조치(622±18ng/0-4분)의 71%로 감소하였다.

또한 LDTEA (200 μM)으로 처치한 경우 L형 칼슘통로 활성화제인 Bay-K-8644 (10<sup>-5</sup>M)에 의한 CA분비작용은 처음 0-4분대는 별다른 영향이 없었으나 그 이후부터 유의하게 감소하기 시작하여 90-94분대에서 최대로 억제되어 대조치(614±26ng/0-4분)의 65%로 감소하였다(그림 23).

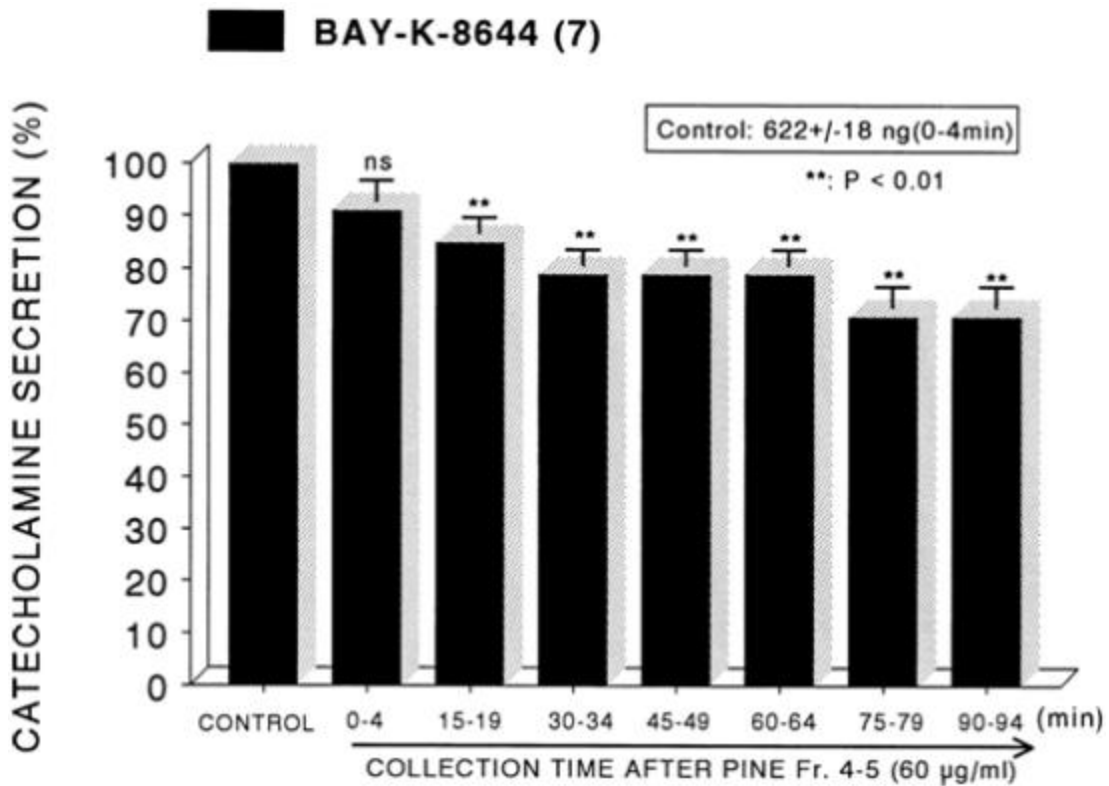


그림 22. 흰쥐 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획이 Bay-K8644에 의한 카테콜아민(CA) 분비 작용에 미치는 효과. 솔잎 Fr.4-5분획 투여 후 Bay-K8644 (10<sup>-5</sup>M)을 20분 간격으로 4분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60 μg/ml 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. Bay-K8644에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*: P<0.01

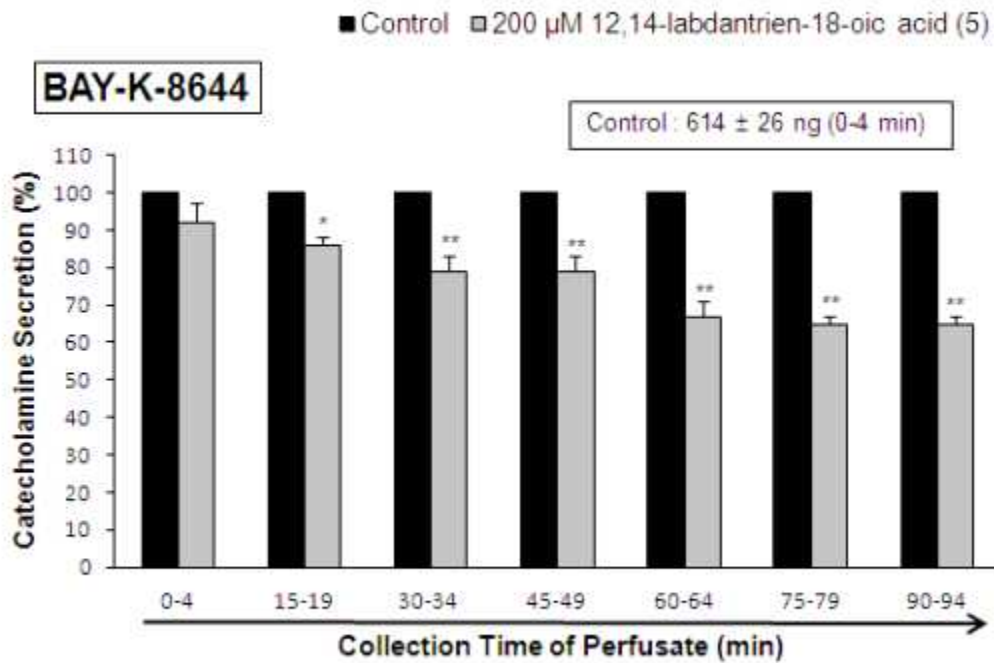


그림 23. 흰쥐 적출관류부신에서 LDTEA가 Bay-K8644에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. LDTEA 투여 후 Bay-K8644 ( $10^{-5}$ M)을 20분 간격으로 4분간 부신정맥으로 투여 하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200  $\mu$ M 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. LDTEA에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$

Cyclopiazonic acid는 *Aspergillus* 및 *Penicillium*에서 분리한 진균독소(mycotoxin)이며, 골격근의 근형질세망(SR)에서  $Ca^{2+}$ -ATPase의 매우 선택적인 억제제로 알려져 있다(Goeger 및 Riley, 1989; Seidler 등, 1989). 세포질내 칼슘이동에 대한 솔잎 Fr.4-5분획의 영향을 관찰하기 위하여, cyclopiazonic acid의 CA 분비반응에 대한 솔잎 Fr.4-5분획의 억제작용을 관찰하였다. 그림 24에서와 같이 즉, 10예의 흰쥐 부신에서 cyclopiazonic acid ( $10^{-5}$ M)에 의한 CA분비작용은 솔잎 Fr.4-5분획(60  $\mu$ g/ml) 존재 하에서 처음 4분간은 영향이 없었으나 시간의 경과에 따라 점차 감소되어 90-94분대에서 최대로 억제되었으며, 대조치(563 $\pm$ 21ng/4분)의 73%로 억제되었다.

또한 LDTEA (200  $\mu$ M)으로 처치한 후에 세포내 칼슘 통로 길항제인 thapsigargin ( $10^{-5}$ M)에 의한 CA분비작용은 초기 0-4분대는 영향을 받지 않았으나 그 이후부터는 유의하게 감소하기 시작하여 90-94분대에서 최대 억제 반응을 나타내었으며, 대조치(619 $\pm$ 21ng/4분)의 66%로 감소

하였다(그림 25).

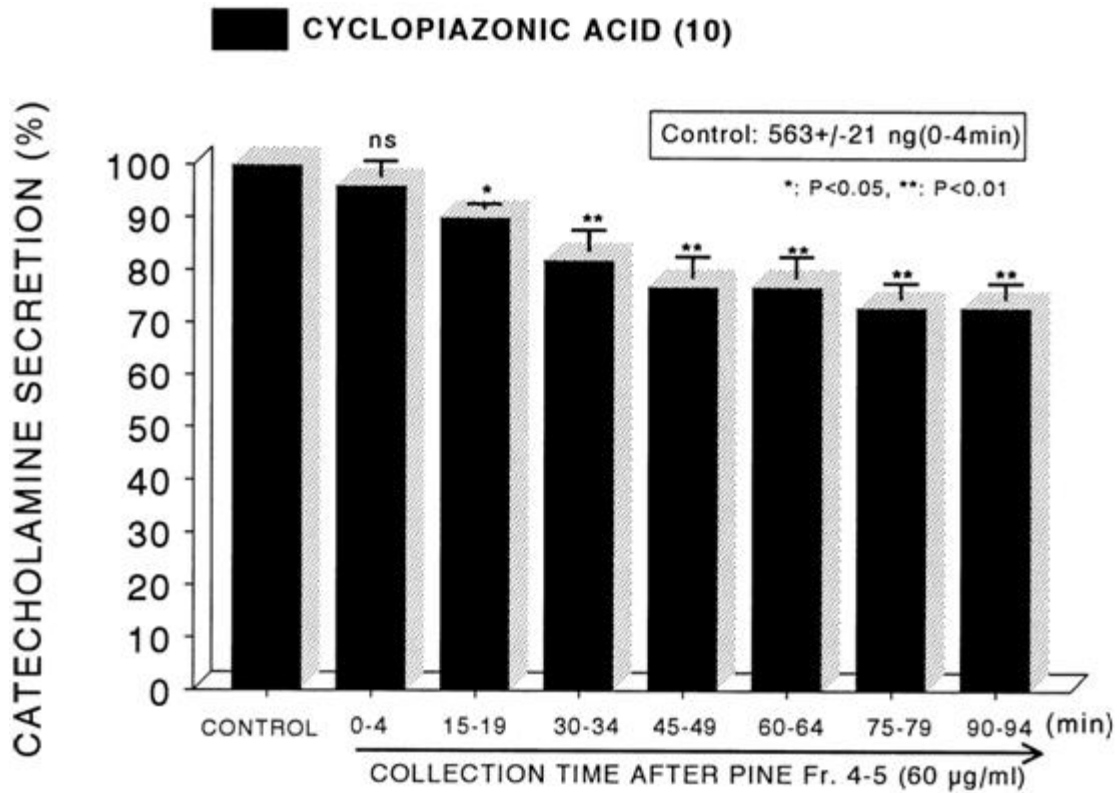


그림 24. 흰쥐 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획이 cyclopiazonic acid에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. 솔잎 Fr.4-5분획 투여 후 cyclopiazonic acid ( $10^{-5}M$ )을 20분 간격으로 4분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획  $60 \mu g/ml$  농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. Cyclopiazonic acid에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$ , ns: 통계적 유의성이 없음.

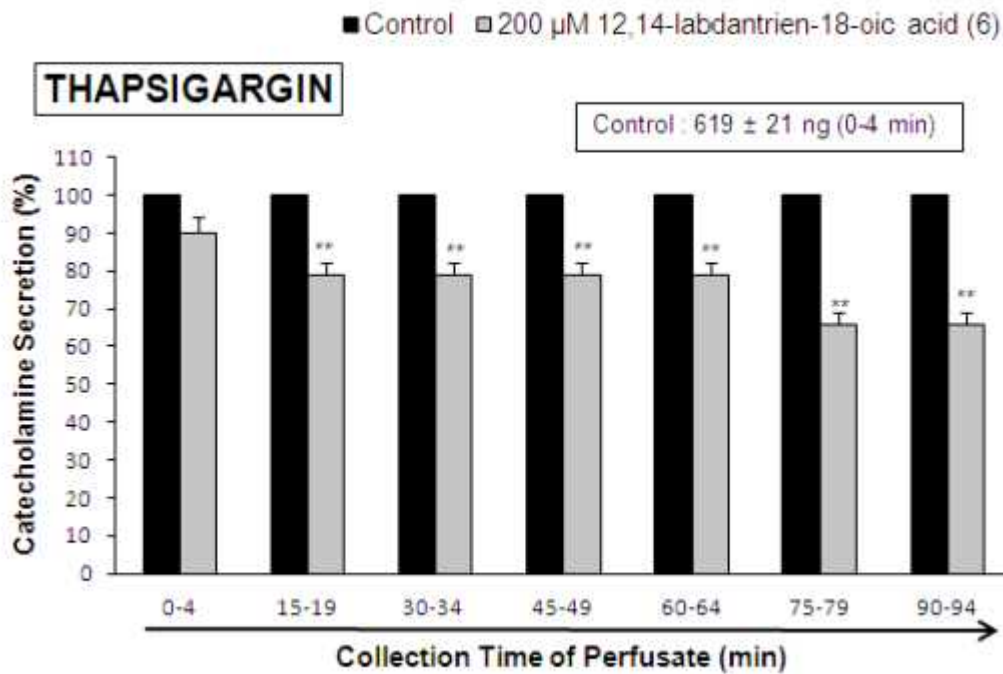


그림 25. 흰쥐 적출관류부신에서 LDTEA가 thapsigargin에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. LDTEA 투여 후 thapsigargin ( $10^{-5}M$ )을 20분 간격으로 4분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 LDTEA  $200\mu M$  농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. Thapsigargin에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*:  $P < 0.01$

Veratridine은 전압의존성  $Na^+$ 통로의 불활성화를 차단함으로써 흥분성 세포를 탈분극시키는 것으로 알려져 있으며(Catterall 및 Coppersmith, 1981), 장시간 동안  $Na^+$ 통로를 개방된 채로 유지시킨다(Bönisch 및 Keller, 1983). 이와 같은 탈분극 효과가 나트륨 및 칼슘 유입을 다같이 증가시켜(Amy 및 Kiesner, 1982), 크롬친화세포로부터 CA유리를 증가시키는 것으로 알려져 있다(Ceña 등, 1983; Sihra 등, 1984; Yokoo 등, 1998). 흰쥐 관류부신수질에서 veratridine ( $10^{-4}M$ )을 4분간 주입 시 현저한 CA 분비작용을 일으켰다. 그러나 술잎 Fr.4-5분획( $60 \mu g/ml$ ) 처치 하에서 veratridine의 CA분비작용은 시간 의존적으로 점차 감소하여 90-94분대에서 대조치( $736 \pm 21ng/0-4분$ )의 69%로 감소하였다(그림 26).

또한 LDTEA ( $200 \mu M$ )로 처치한 후에  $Na^+$ 통로 활성화제인 veratridine의 CA분비작용은 처음부터 유의하게 감소하기 시작하여 90-94분대에서 최대로 억제된 반응을 나타내었으며, 대조치( $691 \pm 31ng/0-4분$ )의 66%로 감소되었다 (그림 27).



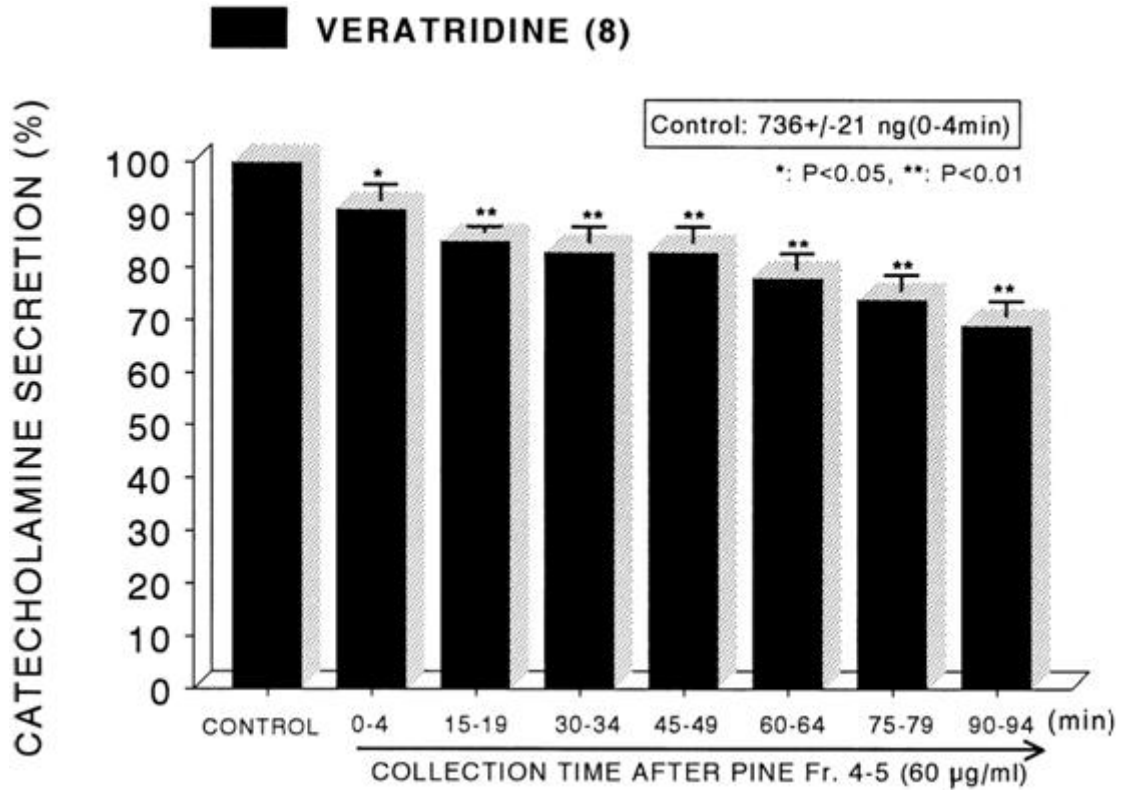


그림 26. 흰쥐 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획이 veratridine에 의한 카테콜아민(CA) 분비 작용에 미치는 효과. 솔잎 Fr.4-5분획 투여 후 veratridine (50 µM)을 15분 간격으로 4분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60 µg/ml 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. Veratridine에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*: P<0.01

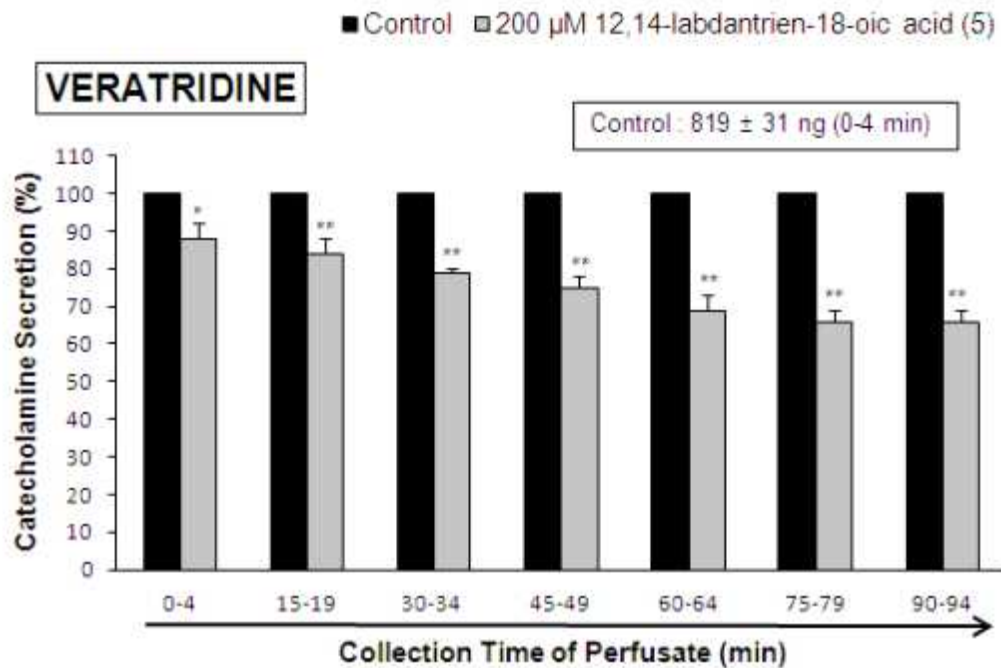


그림 27. 흰쥐 적출관류부신에서 LDTEA가 veratridine에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. LDTEA 투여 후 veratridine (50  $\mu$ M)을 15분 간격으로 4분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200  $\mu$ M 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. Veratridine에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*: P<0.01

Hano 등 (1994)은 angiotensin II가 부신수질에서 AT<sub>1</sub> 수용체를 통해서 에피네프린 유리를 증가시킨다고 하였다. 따라서 angiotensin II에 대한 솔잎 Fr.4-5분획의 영향을 관찰하기 위하여, angiotensin II의 CA 분비반응에 대한 솔잎 Fr.4-5분획의 억제작용을 관찰하였다, 그림 28에서와 같이 즉, 6예의 흰쥐 부신에서 angiotensin II (100 nM)에 의한 CA분비작용은 솔잎 Fr.4-5분획(60  $\mu$ g/ml) 존재 하에서 처음 4분간은 영향이 없었으나 시간의 경과에 따라 점차 감소되어 90-94분대에서 최대로 억제되었으며, 대조치(624 $\pm$ 29ng/4분)의 77%로 억제되었다.

또한 LDTEA (200  $\mu$ M)으로 처치한 후에 세포내 칼슘 통로 길항제인 angiotensin II (100 nM)에 의한 CA분비작용은 초기 0-4분대는 영향을 받지 않았으나 그 이후부터는 유의하게 감소하기 시작하여 90-94분대에서 최대 억제 반응을 나타내었으며, 대조치(691 $\pm$ 31ng/4분)의 63%로 감소하였다(그림 29).

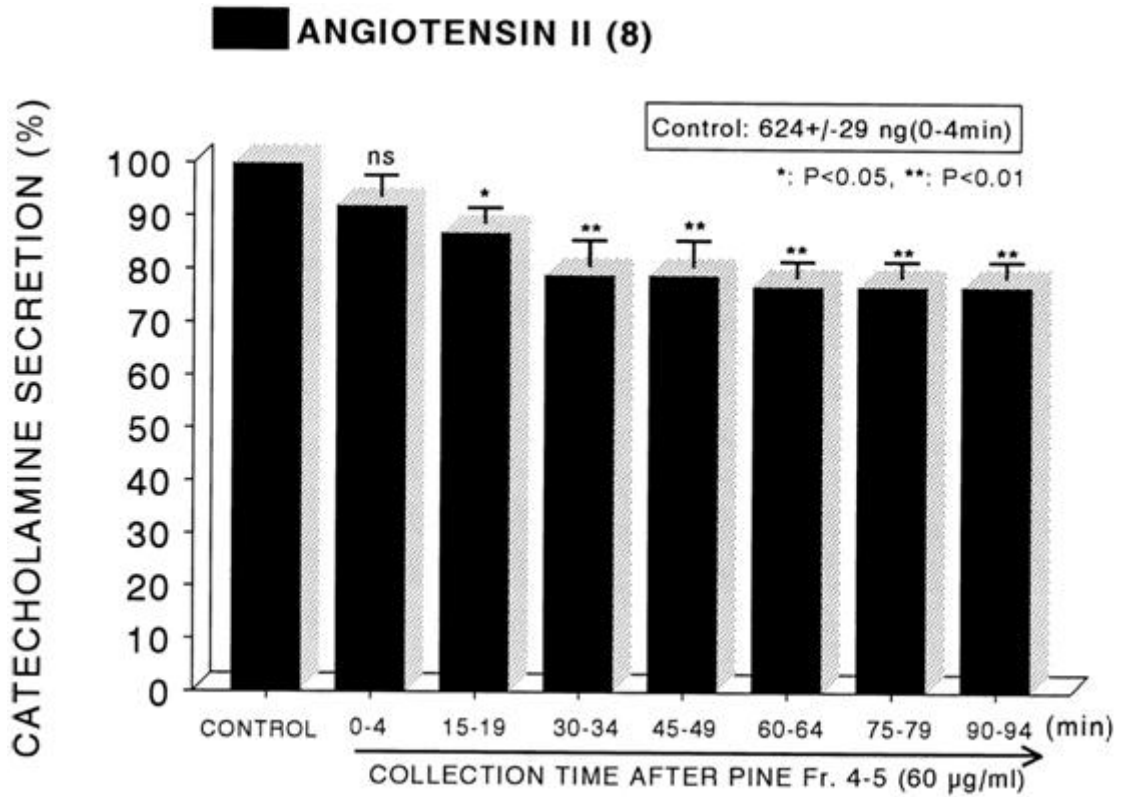


그림 28. 흰쥐 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획이 angiotensin II에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. 솔잎 Fr.4-5분획 투여 후 angiotensin II (100 nM)을 15분 간격으로 1분간 부신정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60 µg/ml 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. Angiotensin II에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*: P<0.01

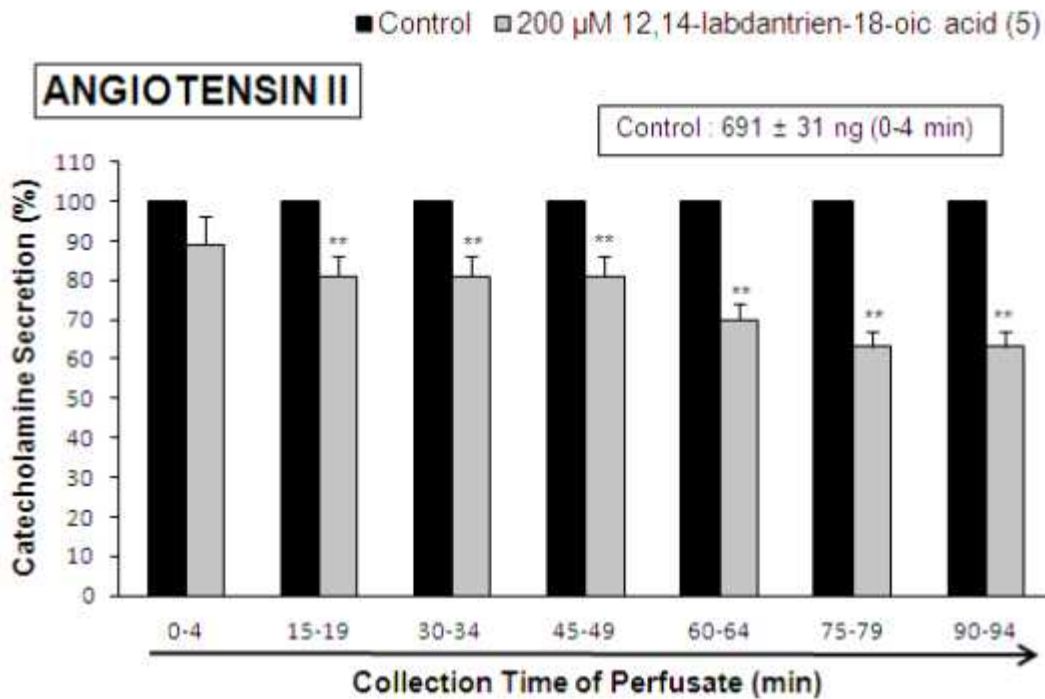


그림 29. 흰쥐 적출관류부신에서 LDTEA가 angiotensin II에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 효과. LDTEA 200  $\mu$ M 투여 후 angiotensin II (100 nM)을 15분 간격으로 1분간 부신 정맥으로 투여하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200  $\mu$ M 농도로 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. Angiotensin II에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. \*\*: P<0.01

#### 4. 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME 와 LDTEA+L-NAME가 흰쥐 관류부신에서 ACh, 고칼륨, DMPP, McN-A-343, Bay-K-8644, cyclopiazonic acid, veratridine 및 angiotensin II에 의한 CA 분비작용에 미치는 영향

앞의 그림 14~29에서 나타난 결과에서 보는 바와 같이 솔잎 Fr.4-5분획 및 LDTEA가 흰쥐 관류부신에서 콜린성 흥분에 의한 CA분비반응을 억제하는 것으로 확인되었다. 따라서, 흰쥐 부신에서 CA유리작용에 대한 솔잎 Fr.4-5분획 및 LDTEA의 억제작용이 산화질소(NO)와 관련성이 있는지를 확인하기 위하여, 콜린성 흥분 및 막탈분극에 의한 CA분비작용에 대한 솔잎 Fr.4-5분획 및 LDTEA의 억제작용에 대해 NO Synthase 억제제로 알려진 L-NAME의 영향을 검색하였다.

본 연구에서, 흰쥐부신에서 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME 관류 전 ACh (5.32 mM)에 의한 CA유

리작용은  $1348 \pm 25 \text{ ng}$ (0-4분)이었다. 그러나 90분간 솔잎 Fr.4-5분획( $60 \mu\text{g/ml}$ ) 및 L-NAME( $30 \mu\text{M}$ ) 동시 존재 하에서, ACh의 CA분비작용은 0-49분대까지는 대조치와 거의 동일한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서도 대조치의 92%까지 회복되었다(그림 30).

또한, 복분자주 LDTEA( $60 \mu\text{g/ml}$ )+L-NAME( $30 \mu\text{M}$ ) 동시 처치 하에서, ACh ( $5.32 \text{ mM}$ )의 CA분비작용은 0-64분대까지는 대조치( $1338 \pm 36 \text{ ng}/0-4\text{분}$ )와 거의 동일한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서도 대조치의 88%까지 회복되었다(그림 31).

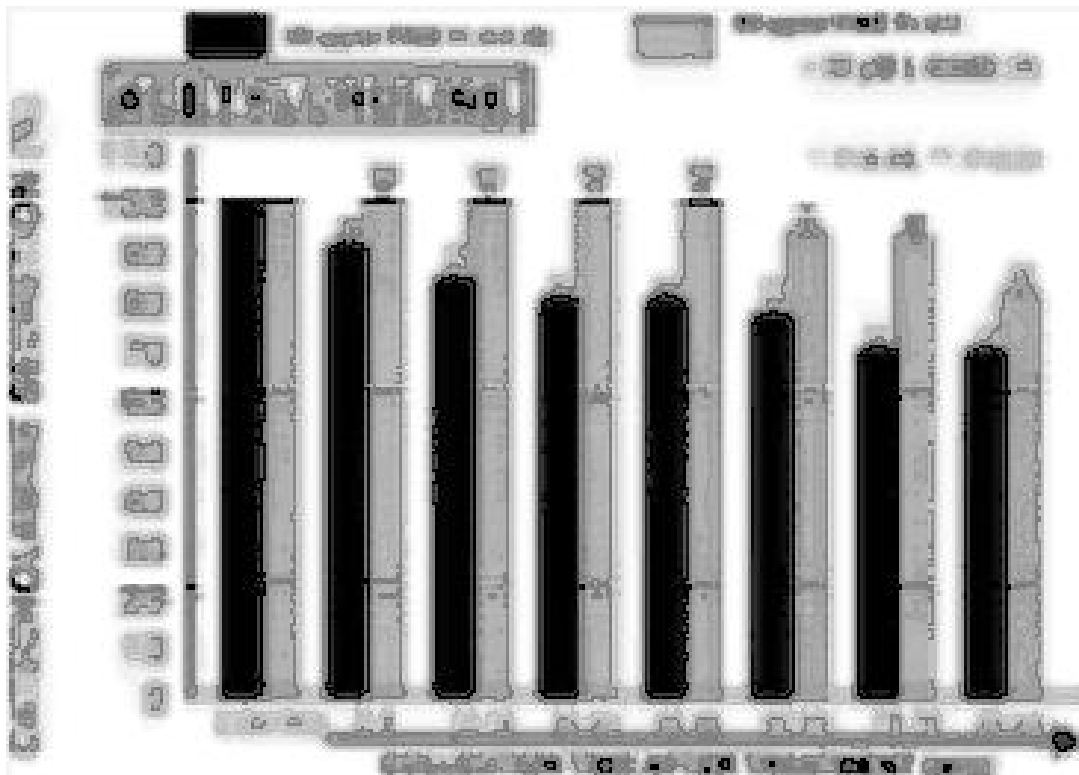


그림 30. 흰쥐의 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME가 아세틸콜린(ACh)에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 솔잎 Fr.4-5분획  $60 \mu\text{g/ml}$  과 L-NAME  $30 \mu\text{M}$ 를 동시에 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3} \text{ M}$ )을  $0.05 \text{ ml}$  용적으로 부신 정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획  $60 \mu\text{g/ml}$ 과 L-NAME  $30 \mu\text{M}$ 를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계적 유의성이 없음.

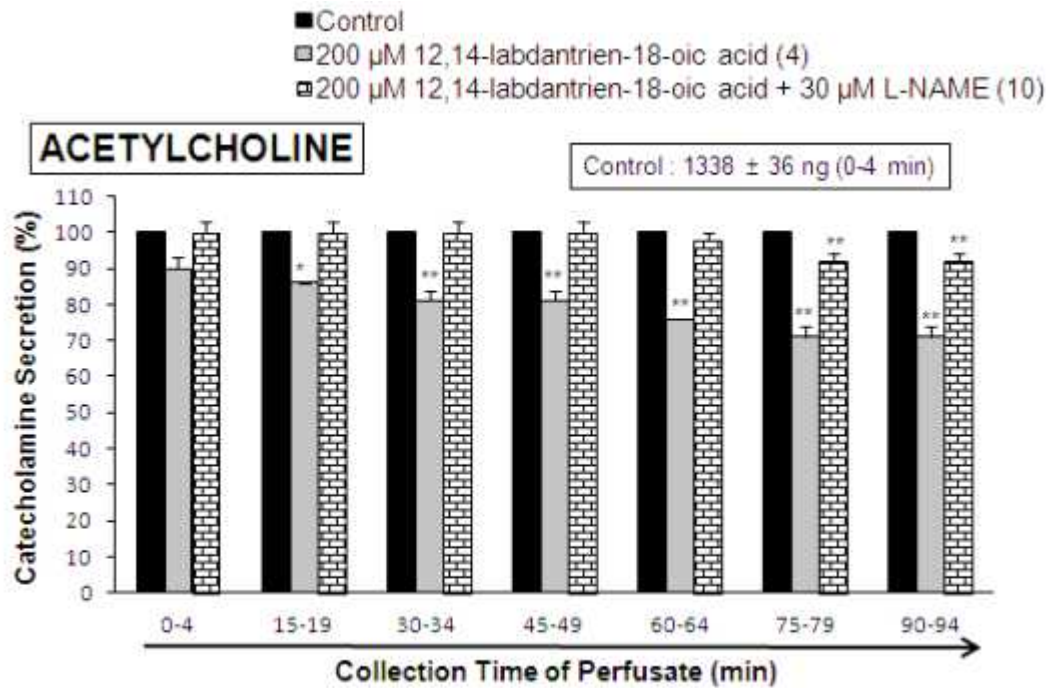


그림 31. 흰쥐의 적출관류부신에서 LDTEA+L-NAME가 아세틸콜린(ACh)에 의한 카테콜아민 (CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 90분간 관류하면서 ACh ( $5.32 \times 10^{-3} M$ )을 0.05ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. ACh에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ .

또한 흰쥐 관류부신에서 고칼륨(56 mM)에 의한 CA분비작용은 90분간 솔잎 Fr.4-5분획( $60 \mu g/ml$ ) 및 L-NAME(30 μM) 존재 하에서 0-64분까지는 대조치와 동일한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서도 대조치( $742 \pm 32 ng/4분$ )와 비교해서 대조치의 88%까지 회복되었다(그림 32). 또한 LDTEA(200 μM) 및 L-NAME(30 μM)을 90분간 동시 처치 하에서 고칼륨(56 mM)에 의한 CA분비작용은 0-64분까지는 대조치와 동일한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서도 대조치( $736 \pm 35 ng, 0-4분$ )와 비교해서 대조치의 88%까지 회복되었다(그림 33).

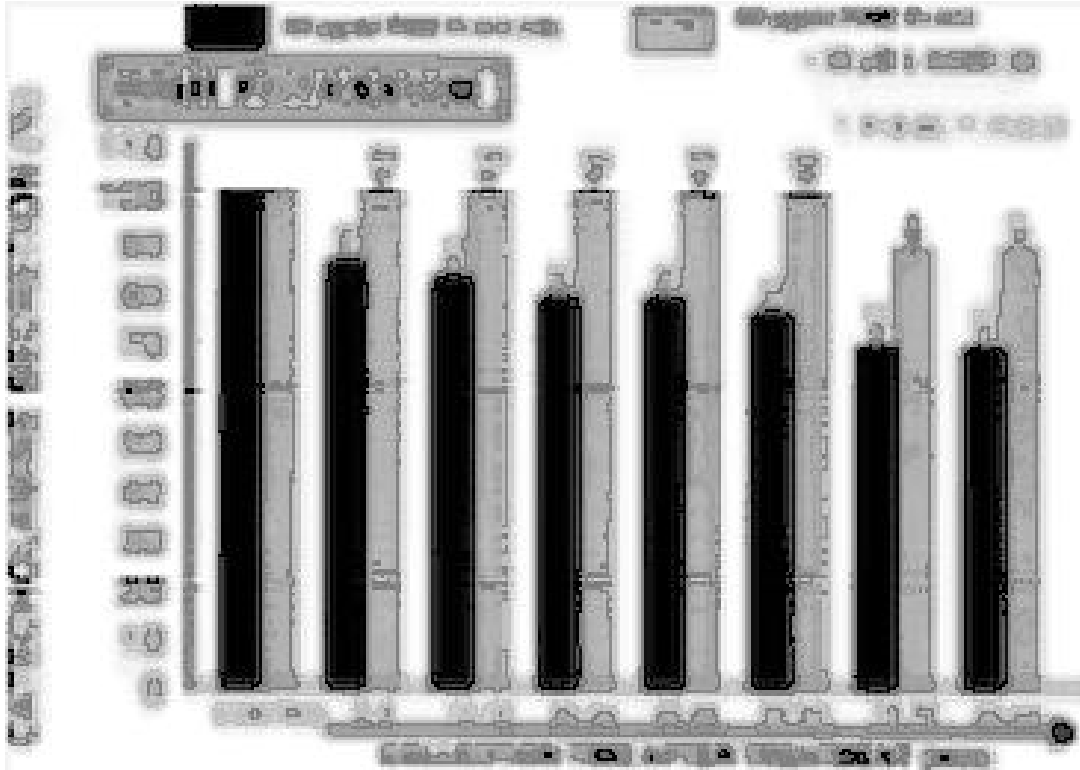


그림 32. 정상혈압 흰쥐의 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME가 고칼륨에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 솔잎 Fr.4-5분획 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 L-NAME 30  $\mu\text{M}$ 를 동시에 90분간 관류하면서 고칼륨 ( $5.6 \times 10^{-2}\text{M}$ )을 0.1ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 L-NAME 30  $\mu\text{M}$ 를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. 고칼륨에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계적 유의성이 없음.

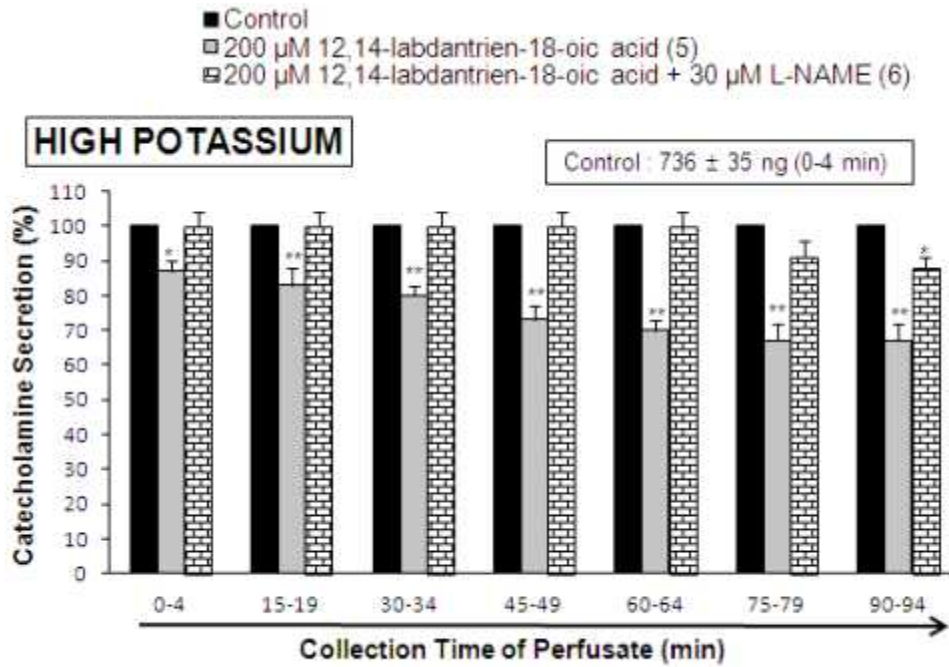


그림 33. 정상혈압 흰쥐의 적출관류부신에서 LDTEA+L-NAME가 고칼륨에 의한 카테콜아민 (CA) 분비작용에 미치는 용량반응 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 LDTEA 200μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 90분간 관류하면서 고칼륨 ( $5.6 \times 10^{-2}M$ )을 0.1ml 용적으로 부신정맥으로 15분 간격으로 투여하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 15에서와 동일함. 고칼륨에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*\*: P<0.01, ns: 통계적 유의성이 없음.

그림 34에서와 같이, 흰쥐부신에서 솔잎 Fr.4-5분획 및 L-NAME를 관류하기 전 DMPP(100 μM)의 CA분비작용은 1229±21ng(0-8분)이었다. 그러나 90분간 솔잎 Fr.4-5분획 및 L-NAME를 동시 관류 시 0-48분대에서 DMPP의 CA분비작용은 대조치와 거의 동일한 수준으로 회복되었으며 80-88분대에서도 대조치의 92%까지 회복되었다.

또한 LDTEA(200 μM) 및 L-NAME(30 μM)을 90분간 동시 처치한 흰쥐 관류부신에서 0-48분대까지는 대조치와 거의 동일한 수준으로 회복되었으며, 0-68분대에서도 대조치와 거의 유사한 수준으로 회복되었으며, 80-88분대에서도 대조치(1376±21ng, 0-4분)의 92%까지 회복되었다 (그림 35).



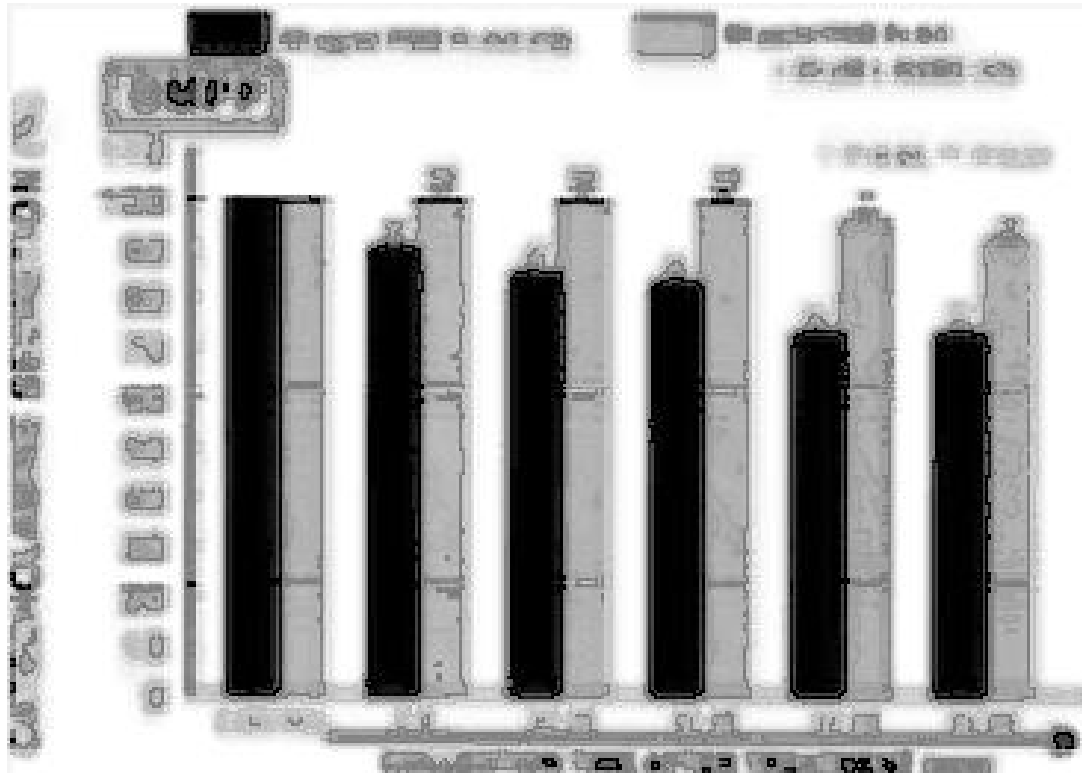


그림 34. 흰쥐의 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME가 DMPP에 의한 카테콜아민 (CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 솔잎 Fr.4-5분획 60  $\mu\text{g/ml}$ 과 L-NAME 30  $\mu\text{M}$ 를 동시에 90분간 관류하면서 DMPP ( $10^{-4}\text{M}$ )을 부신정맥으로 15분 간격으로 2분간 주입하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60  $\mu\text{g/ml}$ 과 L-NAME 30  $\mu\text{M}$ 를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. DMPP에 의한 Perfusate는 8분간 채집하였음. \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계적 유의성이 없음.

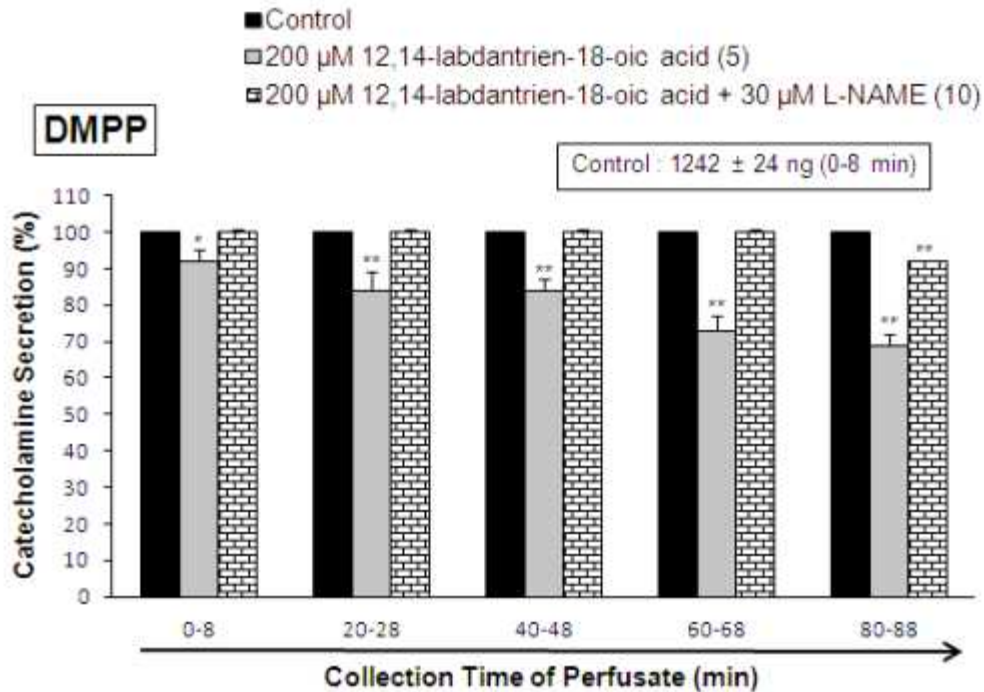


그림 35. 정상혈압 흰쥐의 적출관류부신에서 LDTEA+L-NAME가 DMPP에 의한 카테콜아민 (CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 LDTEA 200 $\mu$ M과 L-NAME 30  $\mu$ M를 동시에 90분간 관류하면서 DMPP ( $10^{-4}$ M)을 부신정맥으로 15분 간격으로 2분간 주입하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200  $\mu$ M과 L-NAME 30  $\mu$ M를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. DMPP에 의한 Perfusate는 8분간 채집하였음. \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계적 유의성이 없음.

흰쥐부신에서 McN-A-343에 의한 CA분비작용은 90분간 술잎 Fr.4-5분획 및 L-NAME 존재 하에서 0-64분대까지는 대조치와 거의 동일한 수준까지 회복되었으며, 최종 90-94분대에서도 대조치 분비량( $672 \pm 21$ ng, 0-4분)의 85%까지 회복 되었다(그림 36).

또한 LDTEA 및 L-NAME가 90분간 동시 존재 하에서 McN-A-343에 의한 CA분비작용은 0-64분대까지는 역시 대조치와 거의 동일한 수준까지 회복되었으며, 90-94분대에서도 대조치 분비량( $640 \pm 33$ ng, 0-4분)의 92%까지 회복 되었다(그림 37).

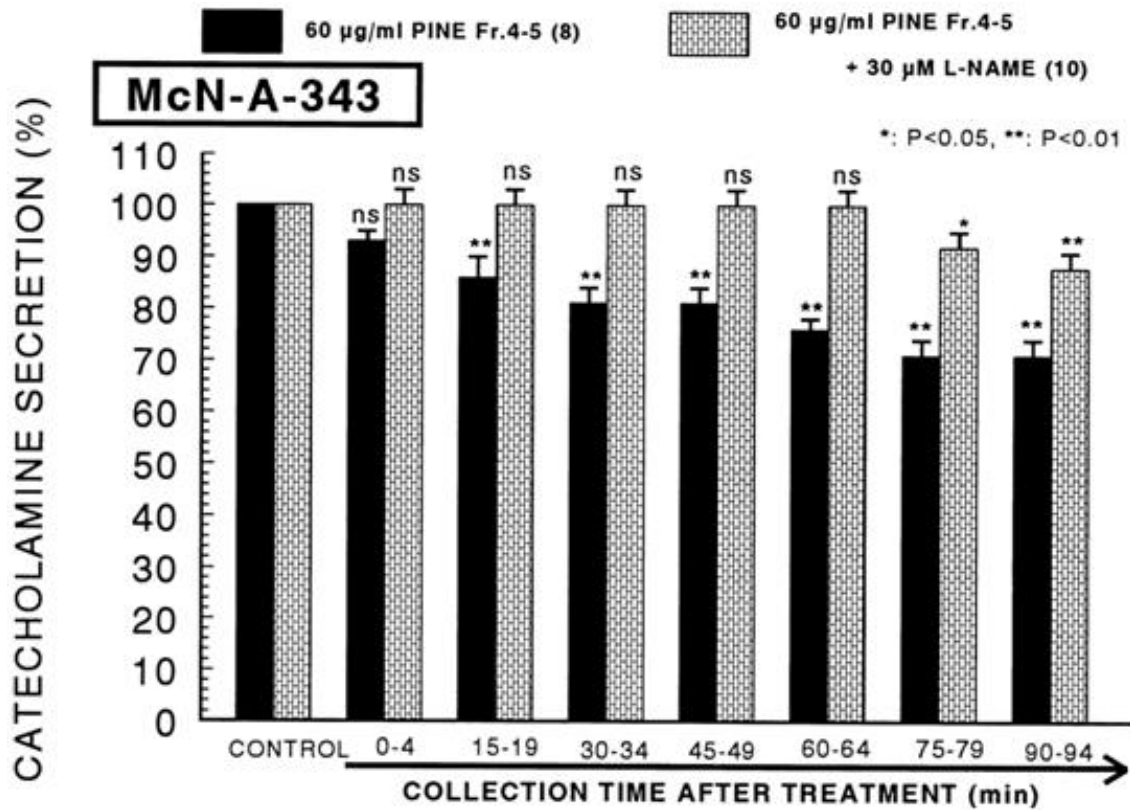


그림 36. 정상혈압 흰쥐의 적출관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME가 McN-A-343에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 솔잎 Fr.4-5분획 60 µg/ml과 L-NAME 30 µM를 동시에 90분간 관류하면서 McN-A-343 (10<sup>-4</sup>M)을 부신정맥으로 15분 간격으로 4분간 주입하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60 µg/ml과 L-NAME 30 µM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. McN-A-343에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*: P<0.05, \*\*: P<0.01, ns: 통계적 유의성이 없음.

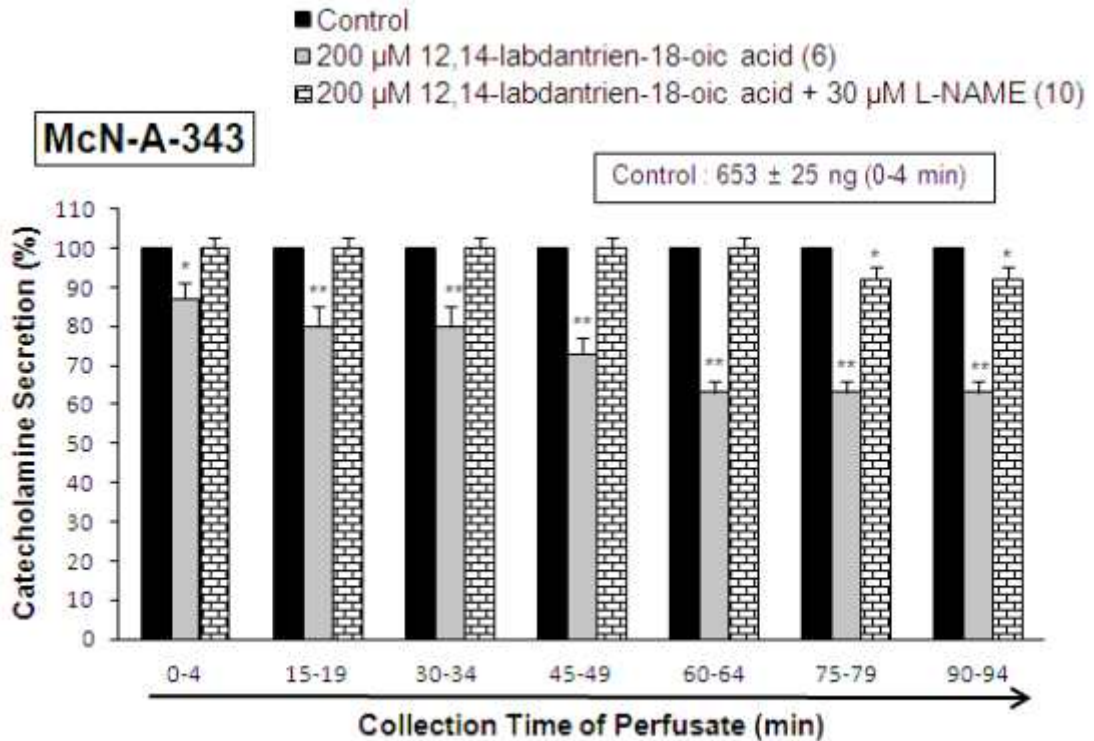


그림 37. 정상혈압 흰쥐의 적출관류부신에서 LDTEA+L-NAME가 McN-A-343에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 90분간 관류하면서 McN-A-343 (10<sup>-4</sup>M)을 부신정맥으로 15분 간격으로 4분간 주입하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200 μM 과 L-NAME 30 μM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 15에서와 동일함. McN-A-343에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*\*: P<0.01, ns: 통계적 유의성이 없음.

그림 38에서와 같이, 90분간 솔잎 Fr.4-5분획 (60 μg/ml) 및 L-NAME (30 uM)의 동시 관류시 Bay-K-8644에 의한 CA분비작용은 0-64분대에서 대조치와 거의 동일한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서 대조치 분비량(622±18ng/0-4분)에 비해서 대조치의 82%까지 회복되었다. 또한 LDTEA (200 uM) 및 L-NAME (30 uM)의 90분간 동시 처치 시 Bay-K-8644에 의한 CA분비작용은 0-64분대에서 대조치와 거의 동일한 수준으로 회복되었으며, 75-94분대에서 대

조치 분비량( $627 \pm 27 \text{ ng}/0\text{-}4\text{분}$ )에 비해서 대조치의 88%까지 회복되었다(그림 39).

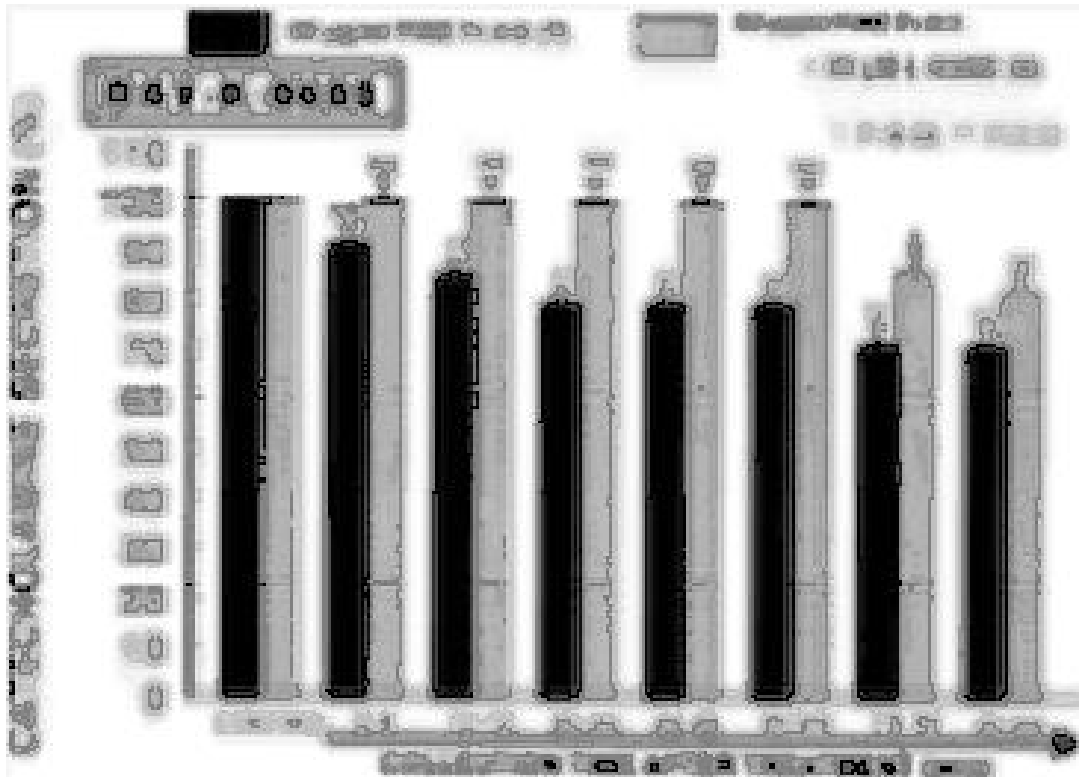


그림 38. 정상혈압 흰쥐의 적출 관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME가 Bay-K-8644에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 솔잎 Fr.4-5분획 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 L-NAME 30  $\mu\text{M}$ 를 동시에 90분간 관류하면서 Bay-K-8644 ( $10^{-5}\text{M}$ )을 부신정맥으로 15분 간격으로 4분간 주입하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 L-NAME 30  $\mu\text{M}$ 를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. Bay-K-8644에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계적 유의성이 없음.

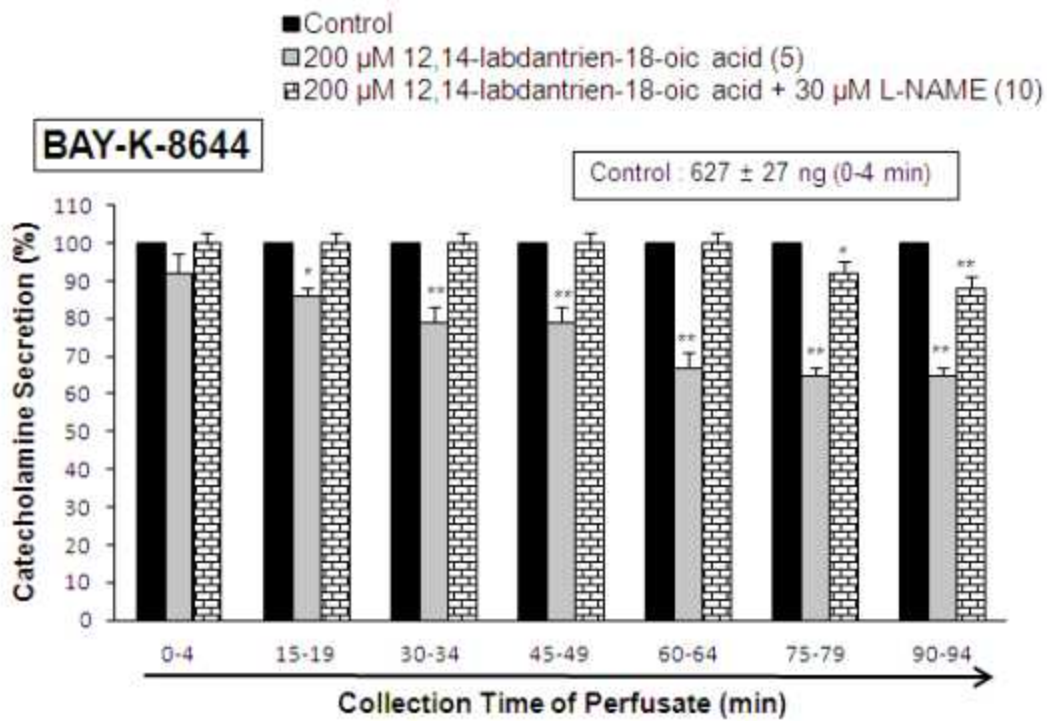


그림 39. 정상혈압 흰쥐의 적출 관류부신에서 LDTEA+L-NAME가 Bay-K-8644에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 90분간 관류하면서 Bay-K-8644 (10<sup>-5</sup>M)을 부신정맥으로 15분 간격으로 4분간 주입하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. Bay-K-8644에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*: P<0.05, \*\*: P<0.01

흰쥐 관류부신에서, cyclopiazonic acid (10<sup>-5</sup>M)의 CA분비량은 4분간 563±21ng이었으나, 슬릿 Fr.4-5분획 및 L-NAME를 90분간 동시 관류 시, cyclopiazonic acid에 의한 CA분비량은 0-64분대까지는 대조치와 거의 동일한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서 대조치의 80%까지 회복되었다(그림 40).

또한 LDTEA 및 L-NAME를 90분간 동시 처치한 후, thapsigargin (10<sup>-5</sup>M)의 CA분비량은 0-79분대까지는 대조치와 거의 비슷한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서도 대조치 (598±25ng/0-4 분)의 85%까지 회복되었다(그림 41).

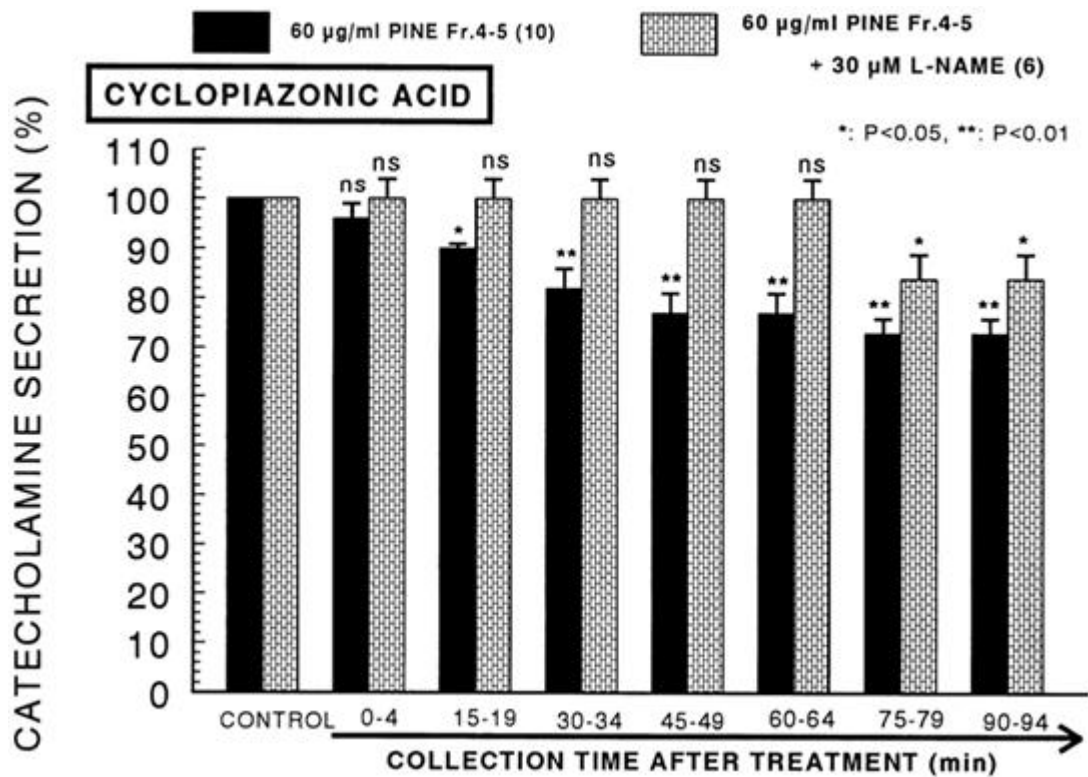


그림 40. 정상혈압 흰쥐의 적출 관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME가 cyclopiazonic acid에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 솔잎 Fr.4-5 분획 60 µg/ml과 L-NAME 30 µM를 동시에 90분간 관류하면서 cyclopiazonic acid ( $10^{-5}$ M)을 부신정맥으로 15분 간격으로 4분간 주입하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60 µg/ml과 L-NAME 30 µM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. cyclopiazonic acid에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*: P<0.05, \*\*: P<0.01, ns: 통계적 유의성이 없음.

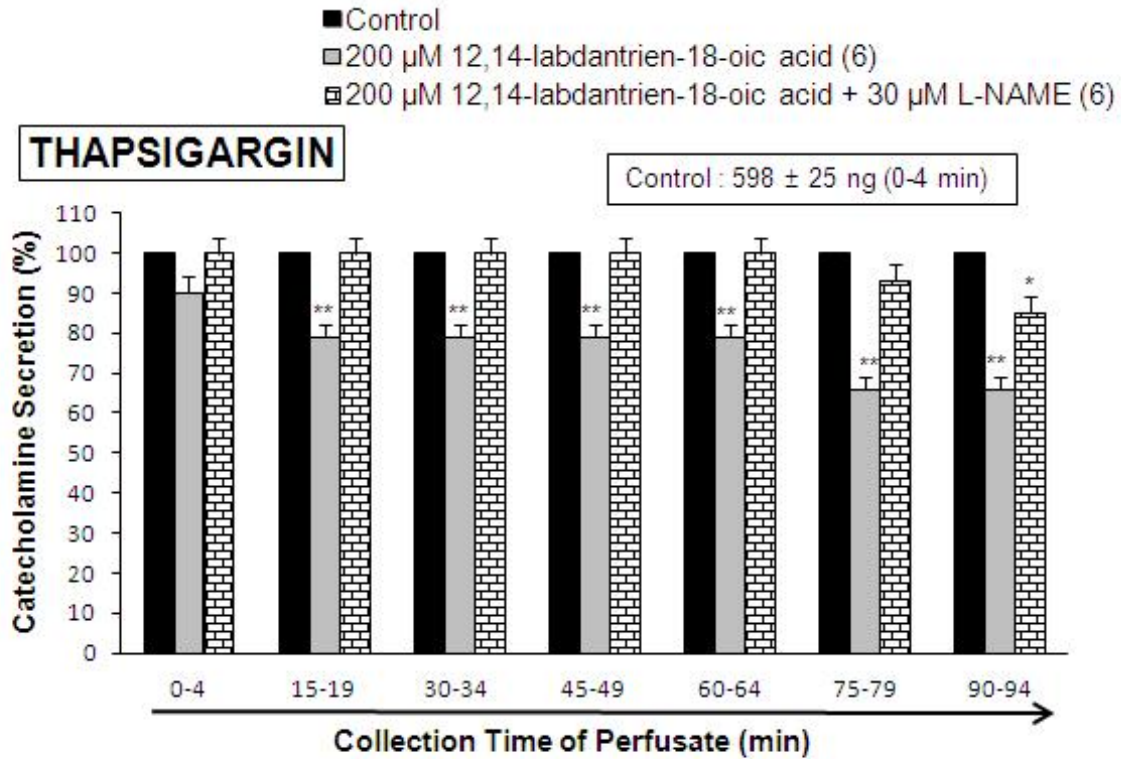


그림 41. 정상혈압 흰쥐의 적출 관류부신에서 LDTEA+L-NAME가 thapsigargin에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 90분간 관류하면서 thapsigargin ( $10^{-5}$ M)을 부신정맥으로 15분 간격으로 4분간 주입하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. thapsigargin에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$

그림 42에서와 같이, 흰쥐 관류부신에서 전압의존성 나트륨통로 활성화제인 veratridine ( $10^{-4}$ M)에 의한 CA분비작용은 90분간 술잎 Fr.4-5분획( $60 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) 및 L-NAME( $30 \mu\text{M}$ ) 존재 하에서 0-49대까지는 대조치와 동일한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서도 대조치 ( $736 \pm 21\text{ng}/0-4\text{분}$ )와 비교해서 대조치의 87%까지 회복되었다.

또한 LDTEA 200 μM 및 L-NAME( $30 \mu\text{M}$ )을 90분간 처치한 후 veratridine ( $10^{-4}$ M)에 의한 CA분비작용은 0-49분대까지는 대조치와 비슷한 수준으로 회복되었으며, 64-94분대에서도 대조치( $832 \pm 26\text{ng}/0-4\text{분}$ )와 비교해서 대조치의 91%까지 회복되었다(그림 43).



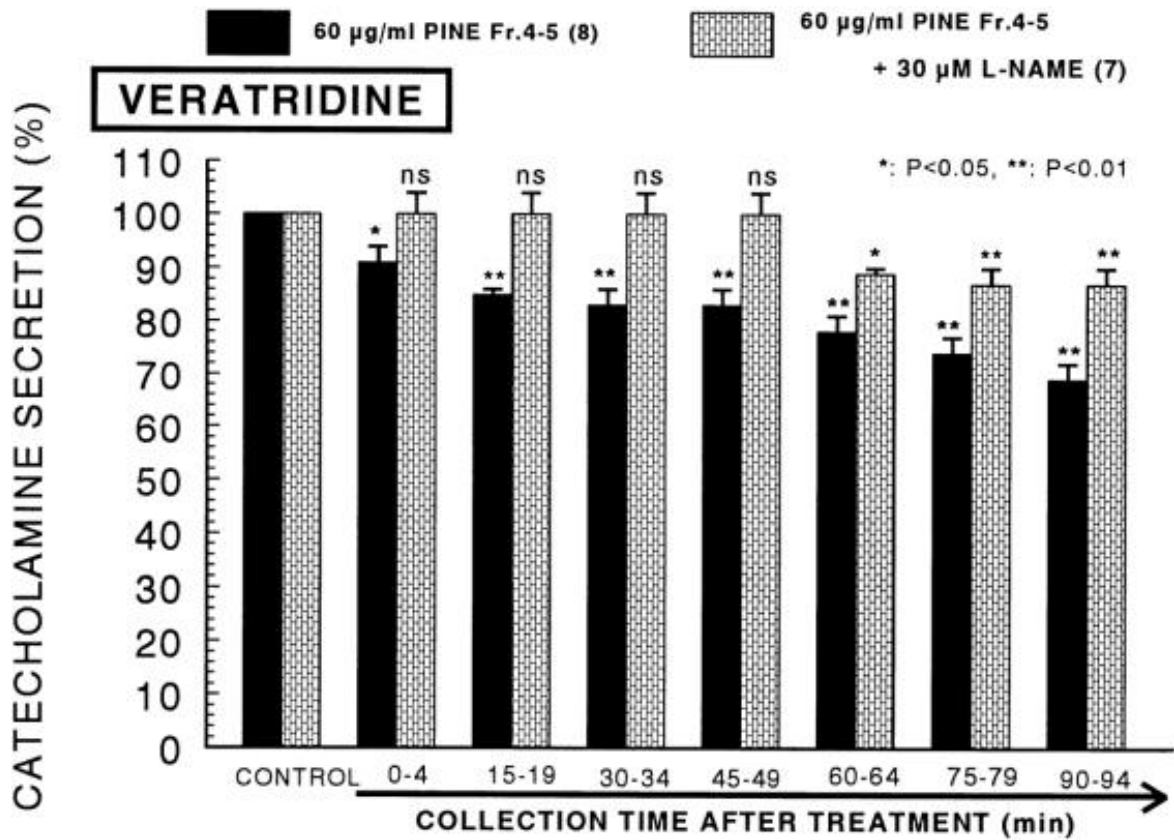


그림 42. 흰쥐의 적출 관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME가 veratridine에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 솔잎 Fr.4-5분획 60 µg/ml과 L-NAME 30 µM를 동시에 90분간 관류하면서 veratridine ( $10^{-4}$ M)을 부신정맥으로 15분 간격으로 4분간 주입하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60 µg/ml과 L-NAME 30 µM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. veratridine에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계적 유의성이 없음.

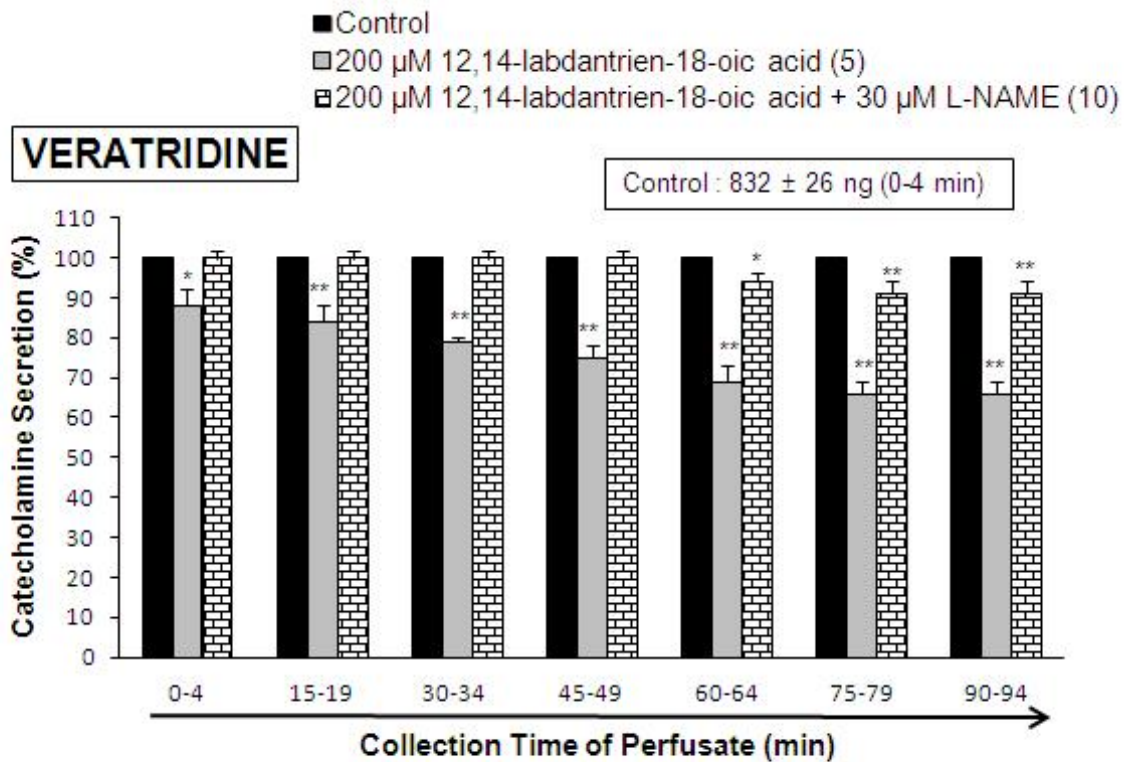


그림 43. 흰쥐의 적출 관류부신에서 LDTEA+L-NAME가 veratridine에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 90분간 관류하면서 veratridine ( $10^{-4}$ M)을 부신정맥으로 15분 간격으로 4분간 주입하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치(CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. veratridine에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$

흰쥐 관류부신에서, angiotensin II (100 nM)의 CA분비량은 4분간  $624 \pm 29$ ng이었으나, 솔잎 Fr.4-5분획 및 L-NAME를 90분간 동시 관류 시, angiotensin II에 의한 CA분비량은 0-64분대까지는 대조치와 거의 동일한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서 대조치의 88%까지 회복되었다(그림 44).

또한 LDTEA 및 L-NAME를 90분간 동시 처치한 후, angiotensin II (100 nM)의 CA분비량은 0-49분대까지는 대조치와 거의 비슷한 수준으로 회복되었으며, 90-94분대에서도 대조치 ( $650 \pm 26$ ng/0-4 분)의 86%까지 회복되었다(그림 45).

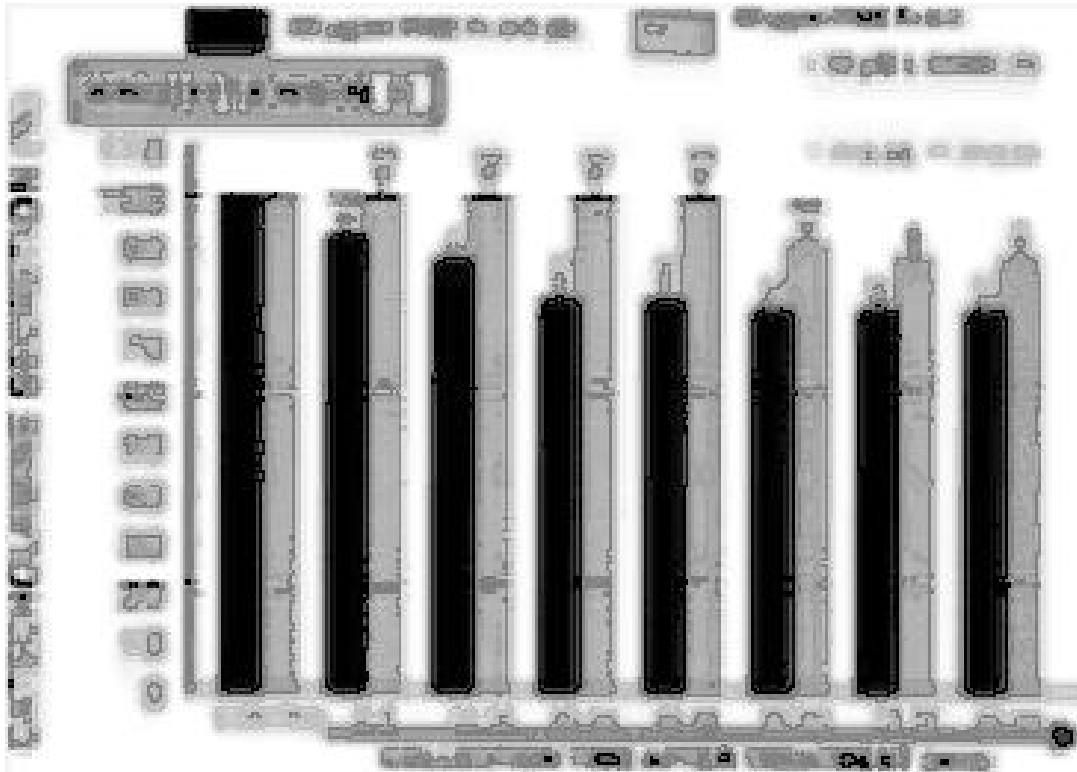


그림 44. 흰쥐의 적출 관류부신에서 솔잎 Fr.4-5분획+L-NAME가 angiotensin II에 의한 카테콜아민(CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 솔잎 Fr.4-5분획 60  $\mu\text{g/ml}$ 과 L-NAME 30  $\mu\text{M}$ 를 동시에 90분간 관류하면서 angiotensin II (100 nM)을 부신정맥으로 15분 간격으로 1분간 주입하였음. 통계적 차이는 솔잎 Fr.4-5분획 60  $\mu\text{g/ml}$ 과 L-NAME 30  $\mu\text{M}$ 를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. angiotensin II에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계적 유의성이 없음.

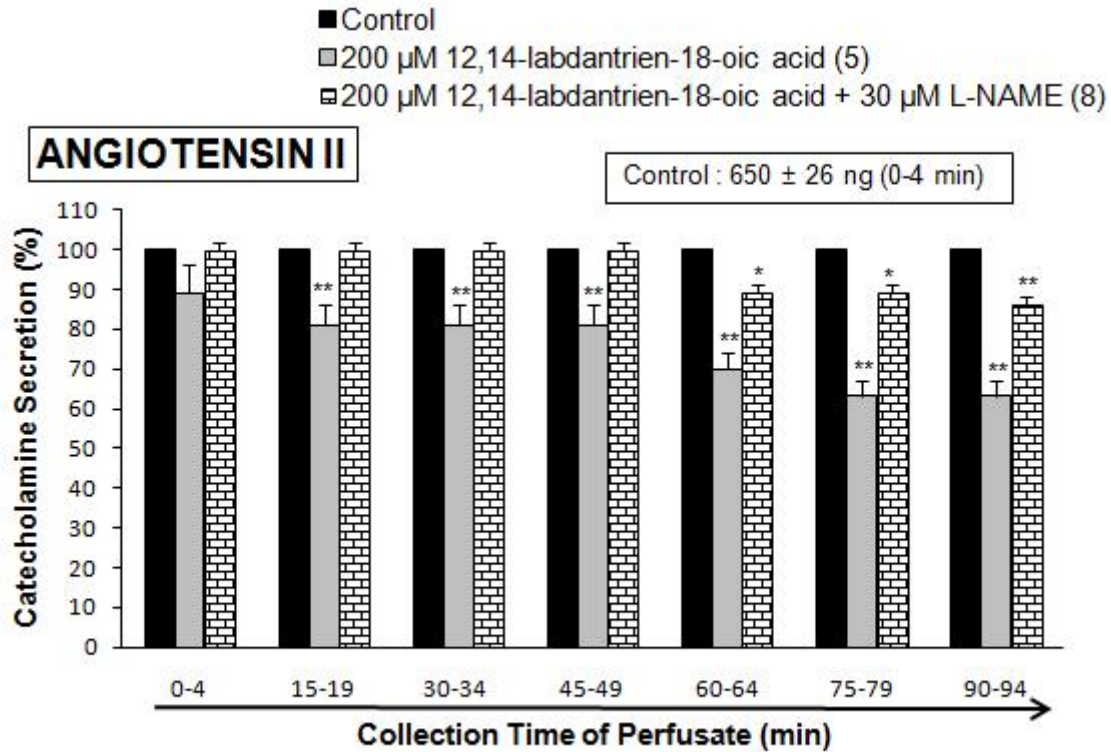


그림 45. 흰쥐의 적출 관류부신에서 LDTEA+L-NAME가 angiotensin II에 의한 카테콜아민 (CA) 분비작용에 미치는 영향. 화살표로 표시된 바와 같이 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 90분간 관류하면서 angiotensin II (100 nM)을 부신정맥으로 15분 간격으로 1분간 주입하였음. 통계적 차이는 LDTEA 200 μM과 L-NAME 30 μM를 동시에 처치한 그룹과 해당 대조치 (CONTROL)를 비교하여 산출하였음. 기타 실험방법 및 약어는 그림 6에서와 동일함. angiotensin II에 의한 Perfusate는 4분간 채집하였음. \*: P<0.05, \*\*: P<0.01

##### 5. 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 흰쥐 관류부신에서 산화질소(NO) 유리에 미치는 영향

그림 30-45에 나타난 결과에서 보는 바와 같이 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA에 의해 억제된 CA 분비반응이 L-NAME 동시 존재 하에서 거의 대조치 수준으로 회복됨을 관찰할 수 있었다. 따라서 먼저 그림 46에서 보는 바와 같이, 실제로 솔잎 Fr.4-5분획이 부신수질에서 NO를 유리시키는데 영향을 미치는지 검색코자 하였다. 솔잎 Fr.4-5분획으로 처치하기 전 기초 NO유리량은 18.7±2 picomole을 나타내었다. 그러나 솔잎 Fr.4-5분획 (180 μg/ml)으로 처치한 후 30분에서 채집한 관류액내에 유리된 NO농도는 대조치(18.7±2 picomole)의 197%까지 현저하게 증가하였다.

또한 LDTEA의 경우와 동일한 방법으로 LDTEA 200 μM을 처치한 후 30분에서 채집한 관류

액내에 유리된 NO농도는  $25 \pm 3$  picomole로 현저히 증가하였으며, 대조치( $13 \pm 2$  picomole)의 192%까지 상승하였다(그림 47).

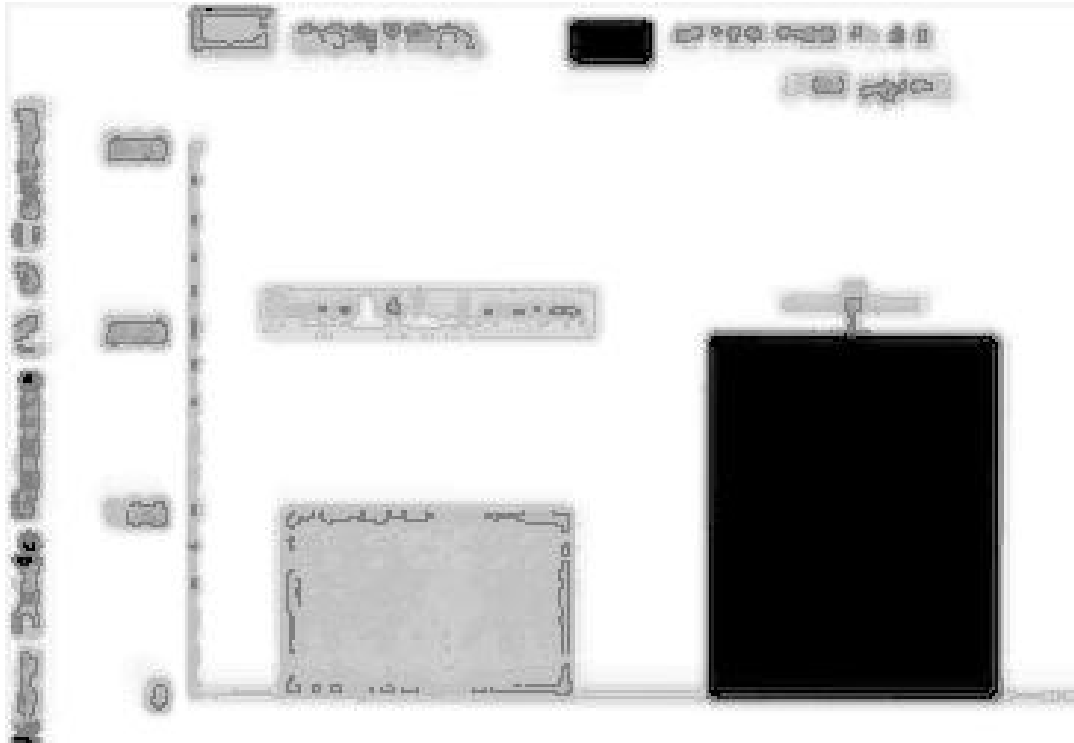


그림 46. 흰쥐의 적출관류부신에서 술잎 Fr.4-5분획 처치 전후의 NO유리량 비교. 관류액 채집은 분당 0.31 ml속도로 술잎 Fr.4-5분획( $180 \mu\text{g/ml}$ )을 관류한 후 8분간 시행하였다. Y축: 부신수질로부터 유리된 NO량 (대조치의 %). X축: 술잎 Fr.4-5분획 처치 전과 후. 통계적 유의성은 술잎 Fr.4-5분획 처치 그룹과 대조치 ( $18.7 \pm 2$  picomoles)와 비교하여 검정하였다. \*\*:  $P < 0.01$ .

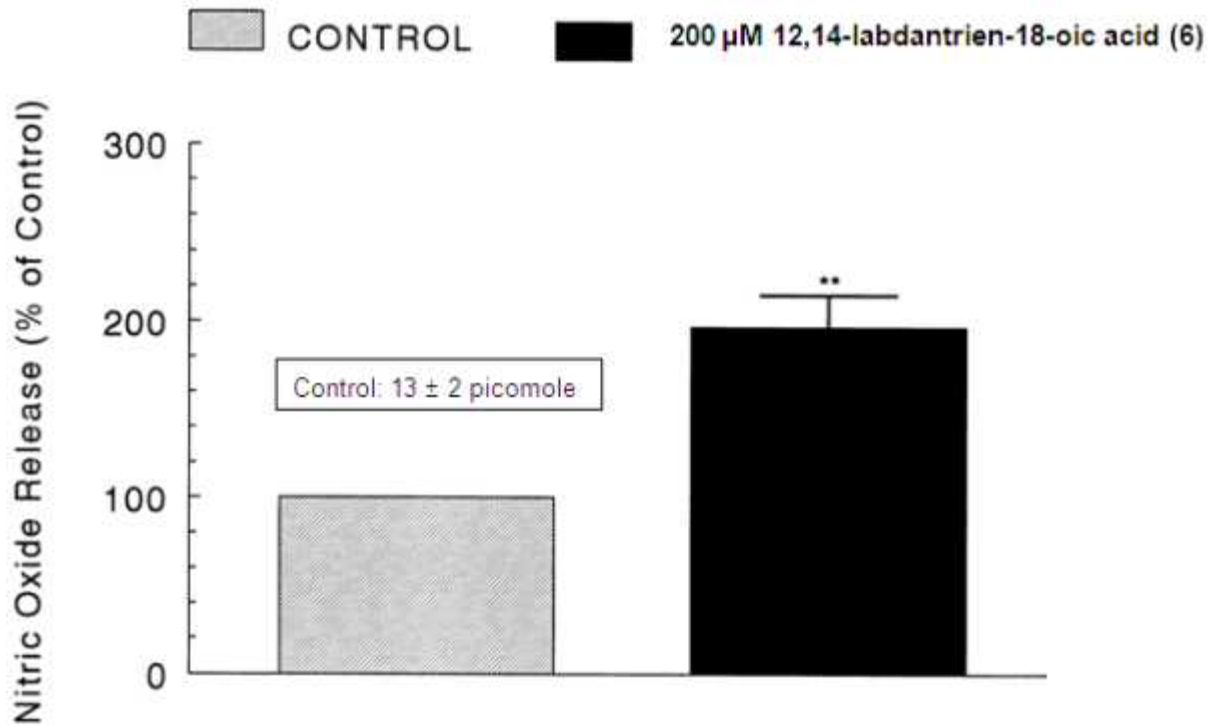


그림 47. 흰쥐의 적출관류부신에서 LDTEA 처치 전후의 NO 유리량 비교. 관류액 채집은 분당0.31 ml속도로 LDTEA(200  $\mu$ M)을 관류한 후 8분간 시행하였다. Y축: 부신수질로부터 유리된 NO량 (대조치의 %). X축: LDTEA처치 전과 후. 통계적 유의성은 LDTEA 그룹과 대조치 (13 $\pm$ 2 picomoles)와 비교하여 검정하였다. \*\*: P< 0.01.

## 6. 대장 카탈 사이질 세포(ICC)의 자발적 활동도에 대한 솔잎 추출물의 효과

### 가. ICC의 자발적 향도잡이 전압에 대한 솔잎분획 F3의 효과

자발적 향도잡이 전압을 기록하면서 3가지 성분, 즉 fraction 2 (F2), fraction 3 (F3), 그리고 fraction 4 (F4)의 효과를 관찰하였다. F3를 투여한 경우 안정막 전압이 탈분극 되면서 향도잡이 전압 빈도 수 및 전압의 크기가 감소되는 흥분성 반응을 나타냈다. 이와는 반대로 F2 및 F4는 안정막 전압의 과분극이 초래되는 억제성 반응을 보였다. 본 연구에서는 흥분성 기전을 규명하고자 F3만을 사용하였다.

F3는 농도-의존적으로 대장 ICC의 안정막 전압에 탈분극을 초래하였다.

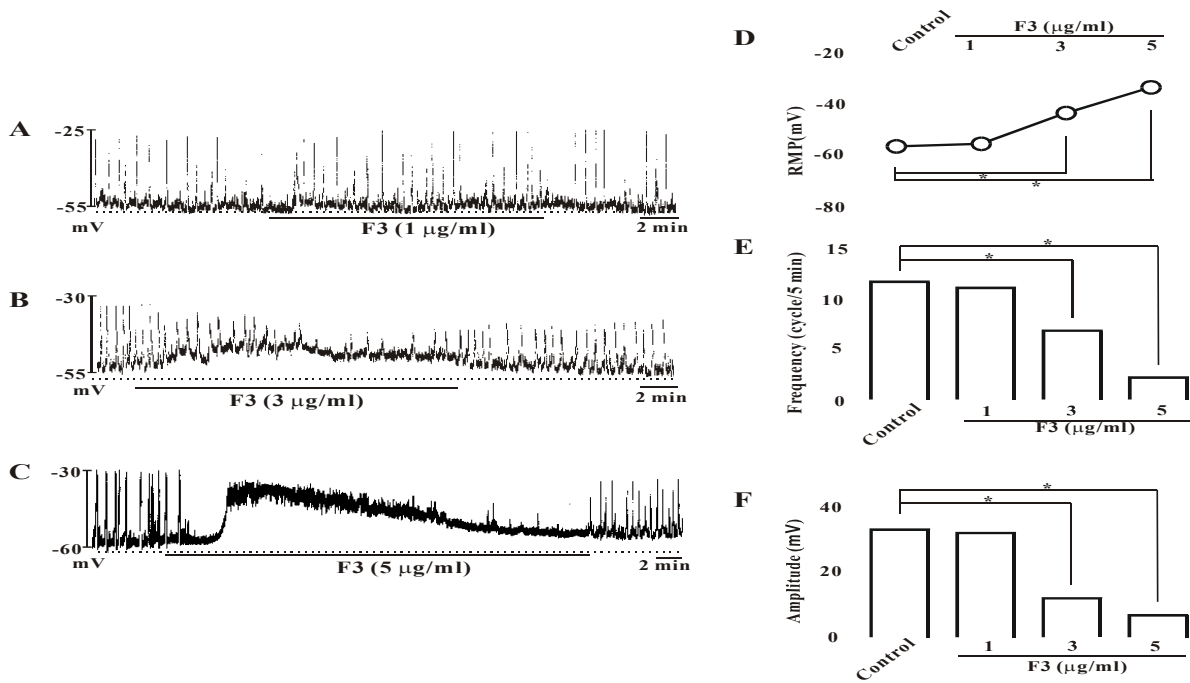


그림 48. 대장 카할 사이질 세포(ICC)의 자발적 활동도에 대한 솔잎분획 F3의 용량반응효과. A, B, C는 솔잎분획 F3의 1, 3, 5  $\mu\text{g/ml}$ 에 대한 ICCs의 향도잡이 활동전위에 미치는 효과를 나타낸다. D, E, F는 ICCs의 향도잡이 활동전위에 대한 솔잎분획 F3의 효과를 요약한 것이다. Bar는 평균 $\pm$ 표준오차이고 \* $P < 0.05$ 는 대조군과의 유의한 차이를 나타낸다.

#### 나. F3 작용에 있어 무스카린성 수용체의 역할

자발적 향도잡이 전압에 대한 F3의 효과는 무스카린성 수용체 차단제인 atropine에 의해 차단되었으며, 특히 무스카린성 M2 수용체 차단제인 methoctramine 및 무스카린성 M3 수용체 차단제인 glycopyrrolate에 의해서 차단되었다.

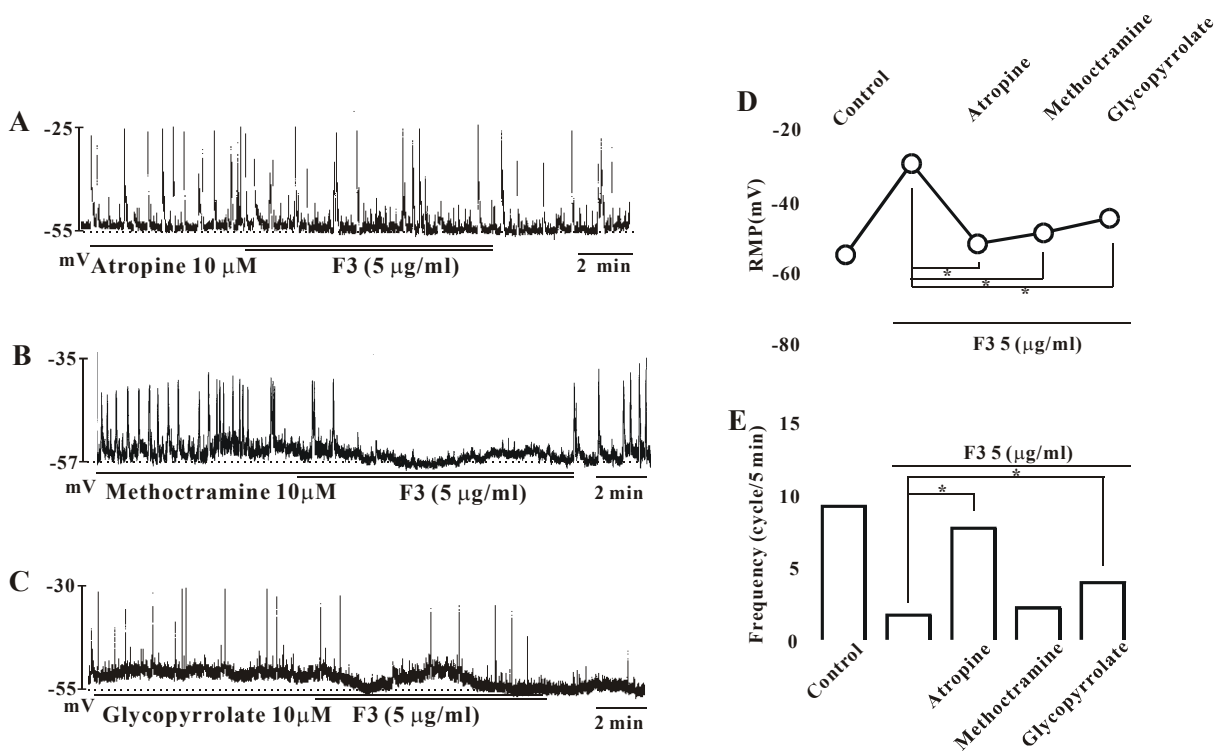


그림 49. 대장 카할 사이질 세포(ICC)의 자발적 활동도에 대한 솔잎분획 F3의 효과에 미치는 무스카린수용체 차단제의 영향. A, B, C는 솔잎분획 F3의 ICCs 향도잡이 활동전위에 대한 무스카린 차단제인 atropine (10 µM), M2 수용체 차단제인 methoctramine (10 µM) 및 M3 수용체 차단제인 glycopyrrolate (10 µM)의 효과를 나타낸다. D 와 E는 ICCs의 향도잡이 활동전위에 대한 솔잎분획 F3의 효과에 대해 atropine, methoctramine 및 glycopyrrolate의 영향을 요약한 것이다. Bar는 평균±표준오차이고 \*P< 0.05는 대조군과의 유의한 차이를 나타낸다.

**다. F3 작용에 있어 세포의 Na<sup>+</sup>-free 용액과 비선택성 양이온 통로 차단제 효과**

F3에 의한 세포막 탈분극 효과에 대한 기전을 규명하고자 세포의 Na<sup>+</sup>-free 용액과 비선택성 양이온 통로 차단제인 fulfenamic acid를 투여하였다. 세포의 Na<sup>+</sup>-free 용액을 투여한 경우 자발적 향도잡이 전압 발생이 소실되었으며, 이 경우 F3를 투여한 경우 탈분극 현상이 발생되지 않았다. 또한 fulfenamic acid를 투여한 경우에도 자발적 향도잡이 전압 발생이 소실되었으며, 이 경우 F3를 투여한 경우 탈분극 현상이 발생되지 않았다. 이러한 결과는 F3에 의한 탈분극 작용이 비선택성 양이온 통로의 활성화를 통하여 나타남을 시사한다.



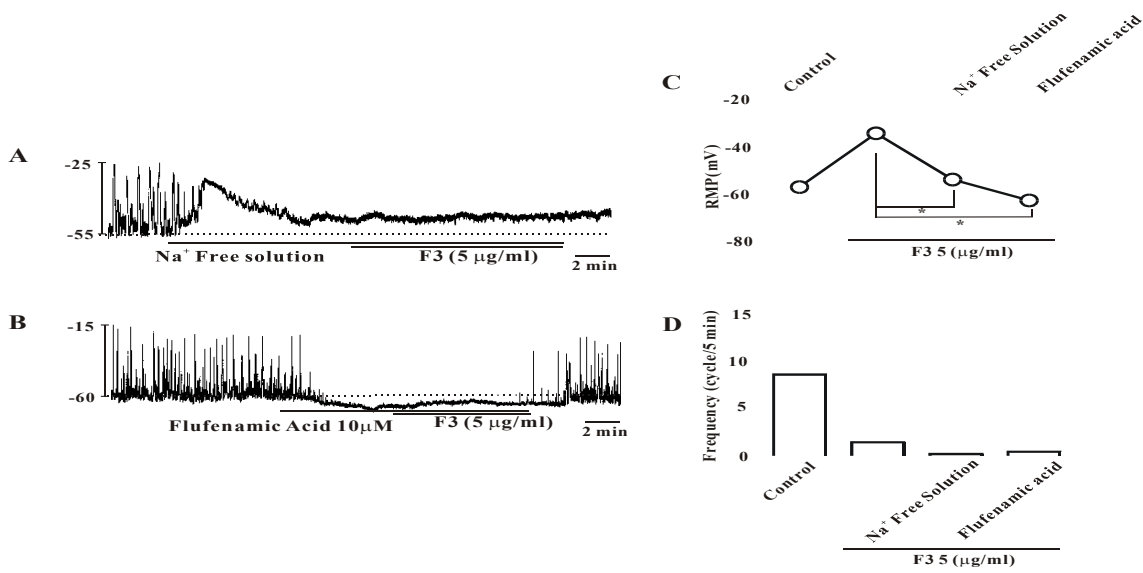


그림 50. 대장 카탈 사이질 세포(ICC)의 자발적 활동도에 대한 솔잎분획 F3의 효과에 미치는 나트륨제거 용액과 flumenamic acid의 영향. A와 B는 ICCs 향도잡이 활동전위에 대한 솔잎분획 F3의 흥분작용에 대해 나트륨제거 용액과 flumenamic acid (10  $\mu$ M) 처치가 억제작용을 나타낸다. C 와 D는 ICCs의 향도잡이 활동전위에 대한 솔잎분획 F3의 효과에 대해 나트륨제거 용액과 flumenamic acid의 영향을 요약한 것이다. Bar는 평균 $\pm$ 표준오차이고 \* $P < 0.05$ 는 대조군과의 유의한 차이를 나타낸다.

#### 라. F3 작용에 있어 세포외 및 세포내 $Ca^{2+}$ 의 역할

F3 작용에 있어 세포외 및 세포내  $Ca^{2+}$ 이 관여하는 가를 알아보기 위하여 세포외  $Ca^{2+}$ -free 용액과 세포내 내형질 세망의  $Ca^{2+}$ -ATPase 차단제인 thapsigargin을 투여하였다. 세포외  $Ca^{2+}$ -free 용액을 투여한 경우 자발적 향도잡이 전압 발생이 소실되었으며, 이 경우 F3를 투여한 경우 탈분극 현상이 발생되지 않았다. 또한 thapsigargin를 투여한 경우에도 자발적 향도잡이 전압 발생이 소실되었으며, 이 경우 F3를 투여한 경우 탈분극 현상이 발생되지 않았다. 이러한 결과는 F3에 의한 탈분극 작용에 세포외 및 세포내  $Ca^{2+}$ 이 관여하고 있음을 시사한다.

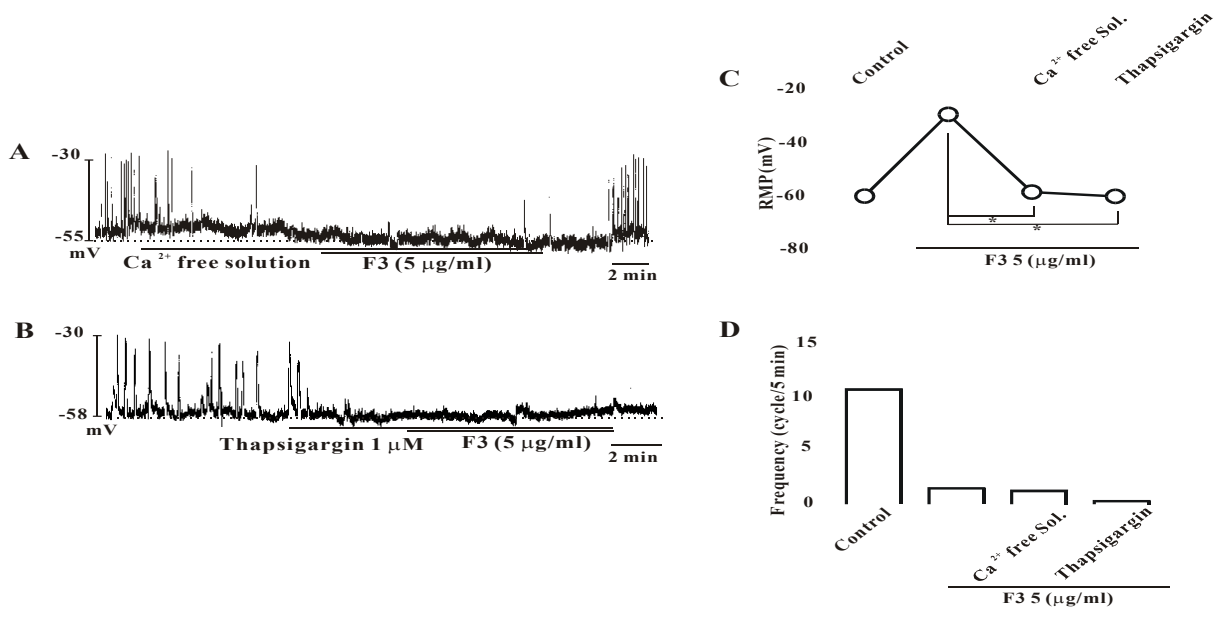


그림 51. 대장 카할 사이질 세포(ICC)의 자발적 활동도에 대한 솔잎분획 F3의 효과에 미치는 칼슘제거 용액과 thapsigargin의 영향. A와 B는 ICCs 항도잡이 활동전위에 대한 솔잎분획 F3의 흥분작용에 대해 칼슘제거 용액과 thapsigargin (1 µM) 처치가 억제작용을 나타낸다. C와 D는 ICCs의 항도잡이 활동전위에 대한 솔잎분획 F3의 효과에 대해 나트륨제거 용액과 flumenamic acid의 영향을 요약한 것이다. Bar는 평균±표준오차이고 \*P< 0.05는 대조군과의 유의한 차이를 나타낸다.

### 7. LDTEA가 흰쥐 적출 가슴대동맥편에서 Phenylephrine(PE)과 고칼륨에 의한 혈관수축반응에 미치는 영향

실험시작 전 90분 동안 산소를 포화시킨 Krebs-bicarbonate액으로 안정화시킨 후에 정상혈압 흰쥐(SDs)의 적출대동맥편의 resting tension이 일정한 상태에 도달하게 된다. Resting tension은 0.5g으로 조정하였다. 최근 연구에서 솔잎발효액 추출물(SFPE2)이 흰쥐의 적출 대동맥편에서 phenylephrine (PE) 및 고칼륨에 의한 수축반응을 억제시키는 것으로 알려져 있다 (Cheong 및 Lim, 2010). 전술한 바와 같이 따라서, 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 흰쥐 적출 관류부신수질에서 카테콜아민 분비를 현저히 억제함을 확인하였다. 그러므로 솔잎 ethylacetate 분획에서 최종적으로 추출한 Fr. 2.7.1.9가 12,14-labdantrien-18-oic acid (LDTEA)로 화학구조가 밝혀졌기 때문에 다음 연구에서는 솔잎의 최종 유효성분인 LDTEA를 이용하여 흰쥐의 적출 가슴대동맥편에서 phenylephrine (PE) 및 고칼륨(KCl)의 수축반응에 대한 효과를 검색하여 혈관이완에 대한 효력을 평가하기 위해 본 연구를 시도하였다.

흰쥐의 적출 대동맥편에서 LDTEA (100, 200 및 300  $\mu\text{M}$ )로 전처리한 후에 선택성 아드레날린  $\alpha_1$ -수용체 작용제인 페닐에프린(PE, 10  $\mu\text{M}$ )에 의한 수축반응은 용량 의존적으로 현저하게 억제되었으며, 대조치( $1.93 \pm 0.2$ 그램)의 각각  $93 \pm 9\%$  (ns),  $75 \pm 12\%$  ( $P < 0.01$ ) 및  $61 \pm 6\%$  ( $P < 0.01$ )로 감소하였다(그림 52 및 53).

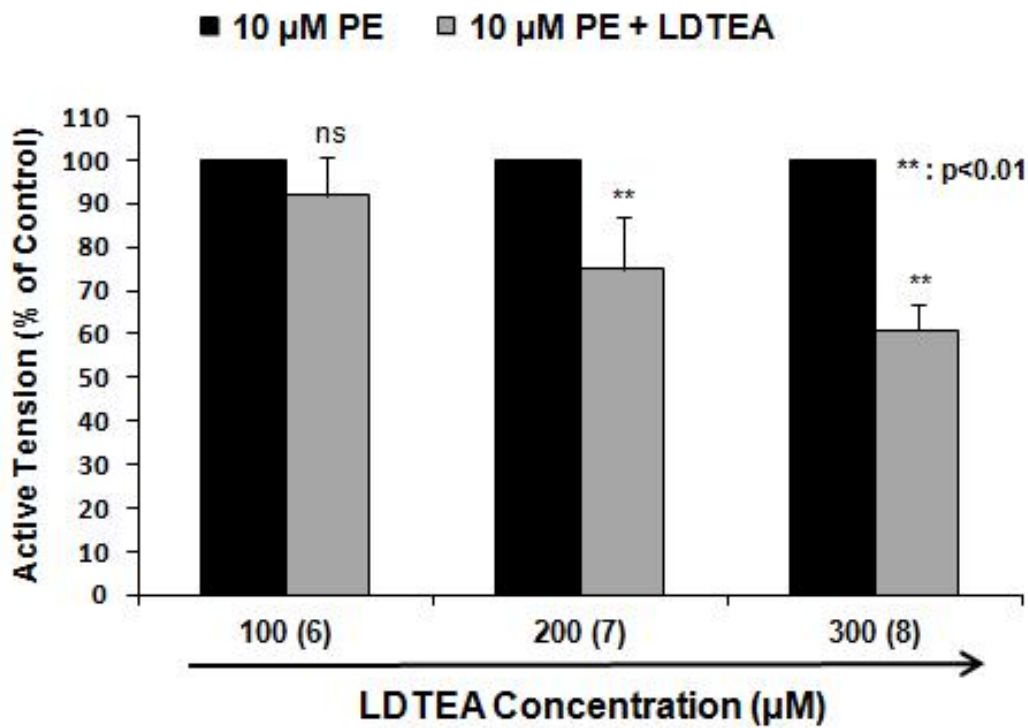


그림 52. 정상혈압 흰쥐(SDs)의 적출 가슴대동맥편에서 LDTEA가 페닐에프린(PE)의 수축반응에 미치는 영향. 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 10  $\mu\text{M}$  PE을 투여하였다. “10  $\mu\text{M}$  PE 단독처리군” 과 “10  $\mu\text{M}$  PE+LDTEA (100, 200 및 300  $\mu\text{M}$ ) 동시처리군”을 각각 투여하기 전 과 투여 후 10  $\mu\text{M}$  PE의 Active tension을 나타낸다. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 가슴대동맥편의 개수임. 각 칼럼상의 수직바는 표준오차임. Y축: Active tension (대조치의 %). X축: LDTEA의 농도. 통계적인 차이는 LDTEA를 전처리한 그룹과 대조치를 비교하여 산출하였음. \*\*:  $P < 0.01$ , ns: 통계적 유의성이 없음.

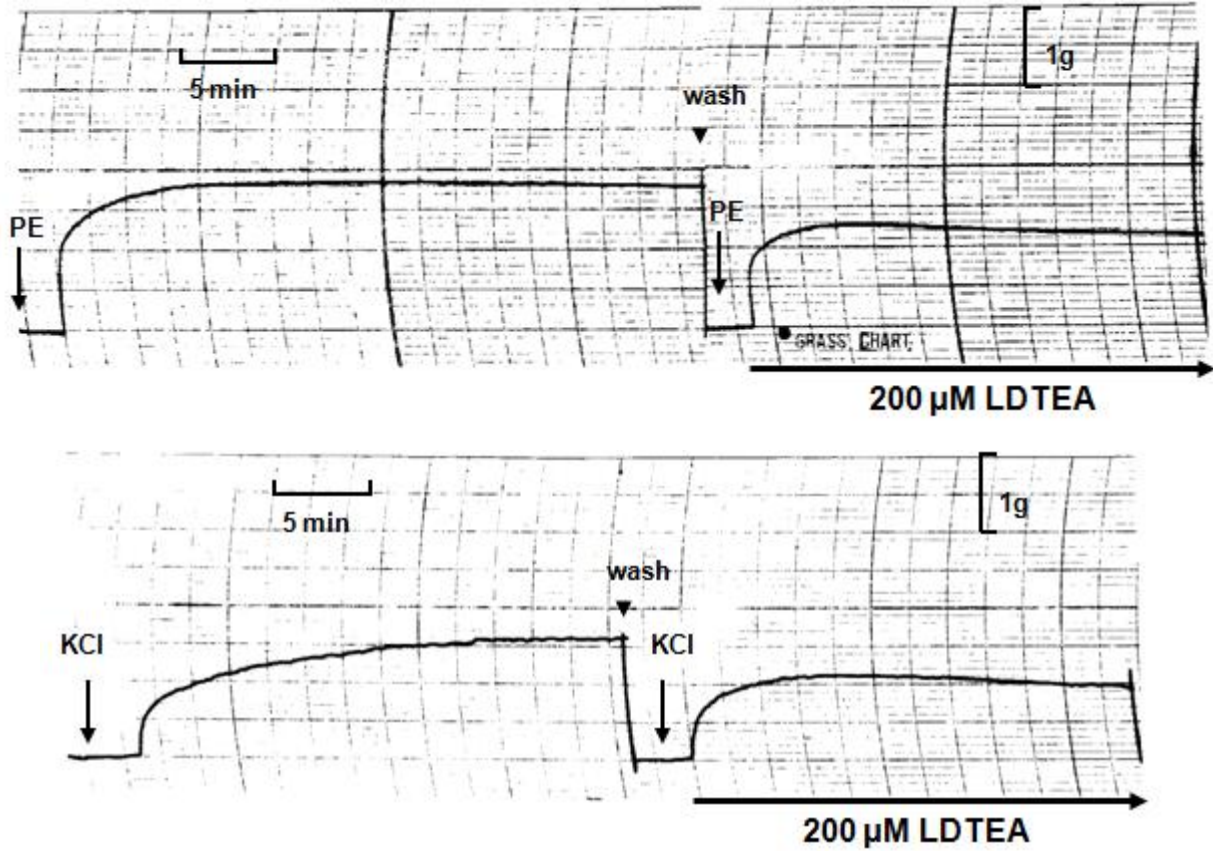


그림 53. 흰쥐의 적출 가슴대동맥편에서 LDTEA가 페닐에프린(PE) 및 고칼륨의 수축반응에 미치는 영향을 보여주는 실험의 한 예. 위그림: (좌) 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 10  $\mu$ M PE을 투여한 후의 수축반응. (우) LDTEA, 200  $\mu$ M 존재 하에서 10  $\mu$ M PE을 투여한 후의 수축반응. 아래그림: (좌) 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 56 mM KCl을 투여한 후의 수축반응. (우) LDTEA 200  $\mu$ M 존재 하에서 56 mM KCl을 투여한 후의 수축반응. 화살표에서 10  $\mu$ M PE 및 56 mM KCl을 각각 투여하였음. 차트속도는 분당 5 mm임. 약물투여는 120분 간격으로 투여하였음.

일반적으로, 고칼륨은 세포에 대해서 두 가지 작용을 나타낸다; (1) 세포막 탈분극, (2) 전압의 존성 칼슘통로를 통한 탈분극에 의한 칼슘유입(Wada 등, 1985a)을 들 수 있다. 고칼륨을 막탈분극 농도인 56 mM 농도로 bath 내에 투여하였을 때, 뚜렷한 대동맥 수축 반응을 나타내었다. 즉, 직접적인 막탈분제인 고칼륨(56 mM)에 의한 수축반응도 LDTEA (100, 200 및 300  $\mu$ M) 존재 하에서 역시 용량 의존적으로 억제반응을 나타내었으며, 대조치(1.4 $\pm$ 0.1그램)의 각각 90 $\pm$ 4%(P<0.01), 59 $\pm$ 8%(P<0.01) 및 49 $\pm$ 4%(P<0.01)로 감소하였다(그림 53 및 54).

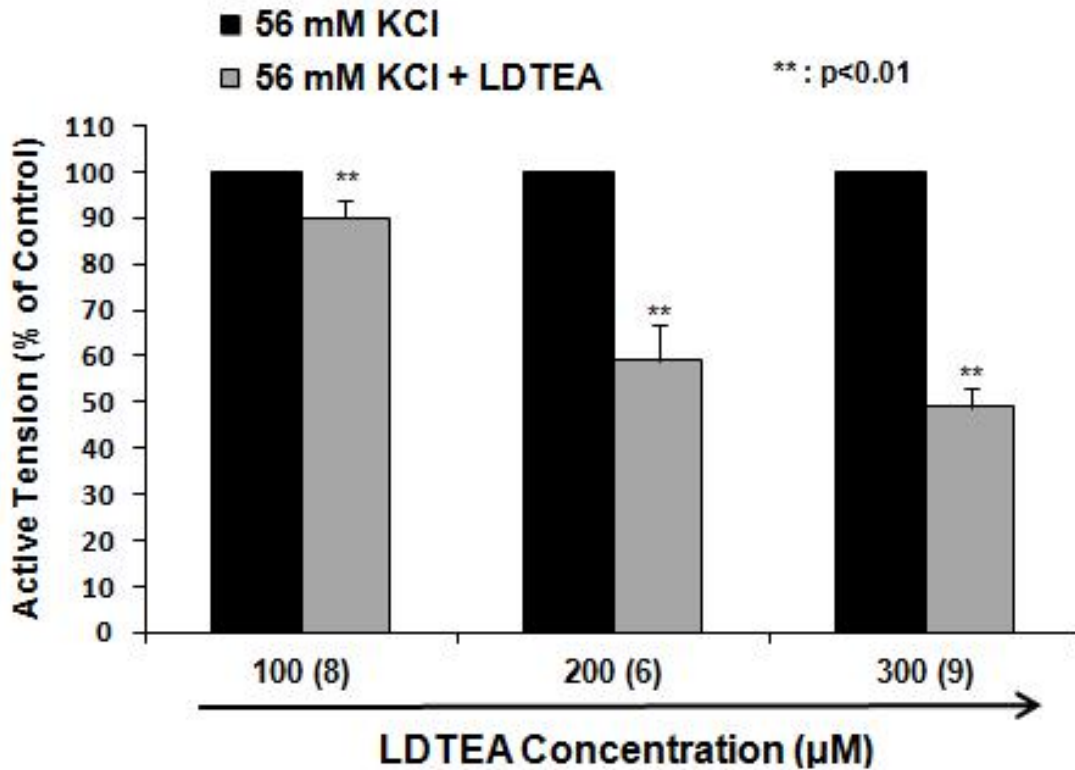


그림 54. 정상혈압 흰쥐(SDs)의 적출 가슴대동맥편에서 LDTEA가 고칼륨 (KCl)의 수축반응에 미치는 영향. 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 56 mM KCl을 투여하였다. “56 mM KCl 단독처치군” 과 “56 mM KCl+LDTEA (100, 200 및 300 µM) 동시처치군”을 각각 투여하기 전 과 투여 후 56 mM KCl의 Active tension을 나타낸다. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 가슴대동맥편의 개수임. 각 칼럼상의 수직바는 표준오차임. Y축: Active tension (대조치의 %). X축: LDTEA의 농도. 통계적인 차이는 LDTEA를 전처치한 그룹과 대조치를 비교하여 산출하였음. \*\*: P< 0.01

#### 8. 흰쥐 적출 가슴대동맥편에서 LDTEA가 L-NAME존재 하에서 PE 및 고칼륨에 의한 혈관수축반응에 미치는 영향

전술 한 바와 같이 LDTEA가 흰쥐(SDs)의 적출 관류 부신에서 카테콜아민 분비를 억제하며, 이와 같은 억제작용은 NO Synthase의 활성화에 의한 NO합성의 증가에 기인함을 증명한 바 있다. 또한 LDTEA가 흰쥐(SDs)의 적출 가슴대동맥편에서 페닐에프린 및 고칼륨에 의한 혈관수축반응을 뚜렷이 억제함을 확인하였다. 따라서 LDTEA의 혈관이완작용이 NO합성증가와

연관성이 있는지를 검색하기 위하여 NO 합성효소억제제인 L-NAME와 LDTEA를 동시에 전 처치한 후 고칼륨 및 PE의 수축반응에 대한 영향을 관찰하였다.

그림 55~56에서와 같이, 흰쥐 적출 가슴대동맥편에서 PE (10  $\mu$ M) 및 고칼륨 (56 mM)의 혈관수축반응은 LDTEA (200  $\mu$ M) 단독 처치 하에서 각각 대조치의 75% 및 59%로 현저히 억제 되었으나 L-NAME (300  $\mu$ M)와 LDTEA (200  $\mu$ M) 동시 처치 하에서 PE(10 $\mu$ M) 및 고칼륨(56 mM)의 혈관수축반응은 각각 대조치의 102 $\pm$ 14% 및 94 $\pm$ 12%로 회복되었다.

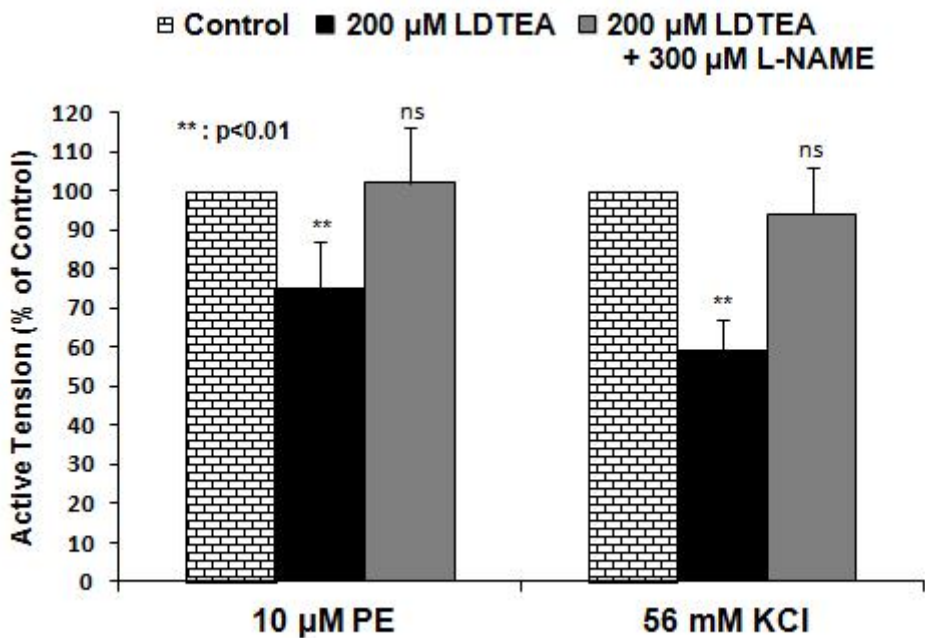


그림 55. 흰쥐의 적출 대동맥편에서 L-NAME가 페닐에프린(PE) 및 고칼륨의 수축반응에 대한 LDTEA의 이완작용에 미치는 영향. 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 10  $\mu$ M PE 및 56 mM KCl을 각각 투여하였다. “10  $\mu$ M PE 또는 56 mM KCl단독처치군” 과 “LDTEA (200  $\mu$ M)+L-NAME (300  $\mu$ M) 동시처치군”을 투여하기 전과 투여 후의 Active tension을 나타낸다. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 대동맥편의 숫자임. 각 칼럼상의 수직바는 표준오차임. Y축: Active tension (대조치의 %). X축: LDTEA의 농도 ( $\mu$ M). 통계적인 차이는 LDTEA 전처치한 그룹과 대조치, LDTEA 전처치한 그룹과 LDTEA+L-NAME 그룹을 비교하여 산출하였음. \*\*: P< 0.01. ns: 통계적 유의성이 없음.

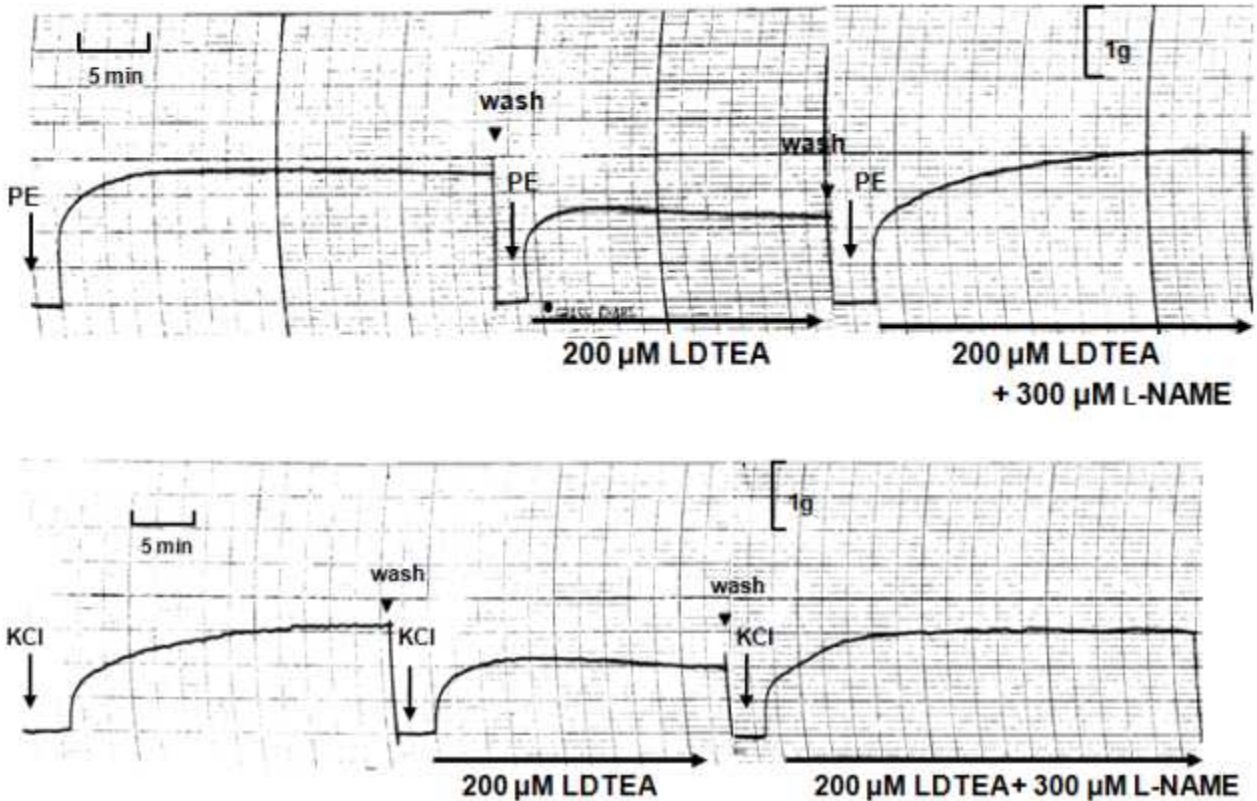


그림 56. 흰쥐의 적출 대동맥편에서 L-NAME가 페닐에프린(PE) 및 고칼륨의 수축반응에 대한 LDTEA의 이완작용에 미치는 영향을 보여주는 실험의 한 예. 위그림: (좌); 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 10 μM PE을 투여한 후의 수축반응. (중); LDTEA 200 μM 단독 존재 하에서 10 μM PE을 투여한 후의 수축반응. (우); LDTEA 200 μM+L-NAME 300 μM 존재 하에서 10 μM PE을 투여한 후의 수축반응. 아래그림: (좌); 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 56 mM KCl을 투여한 후의 수축반응. (중); LDTEA 200 μM 단독 존재 하에서 56 mM KCl 을 투여한 후의 수축반응. (우); LDTEA 200 μM+L-NAME 300 μM 존재 하에서 56 mM KCl 을 투여한 후의 수축반응. 화살표에서 10 μM PE 및 56 mM KCl 을 각각 투여하였음. 차트속도는 분당 5 mm임. 약물투여는 120분 간격으로 투여하였음.

### 9. CHAPS처리 한 흰쥐 적출 가슴대동맥편에서 LDTEA가 PE 및 고칼륨에 의한 혈관수축반응에 미치는 영향

그림 55~56에서 기술된 바와 같이, NO 합성효소억제제인 L-NAME 존재 하에서 고칼륨 및 PE에 의한 수축반응이 거의 대조치 수준으로 회복되는 현상을 관찰하였다. 따라서 LDTEA의 혈관이완 효과가 내피 유래 NO와 관련성이 있는 지를 증명하기 위하여 내피제거 물질인

CHAPS 처치 하에서 LDTEA의 혈관이완효과를 검색하였다.

흰쥐적출 가슴대동맥편에서 0.4% CHAPS로 전 처치한 다음 LDTEA (200  $\mu$ M) 존재 하에서 PE(10 $\mu$ M) 및 고칼륨(56 mM)의 혈관수축반응은 각각 대조치의 91 $\pm$ 4% 및 96 $\pm$ 4%로 회복되었다(그림 57 및 58).

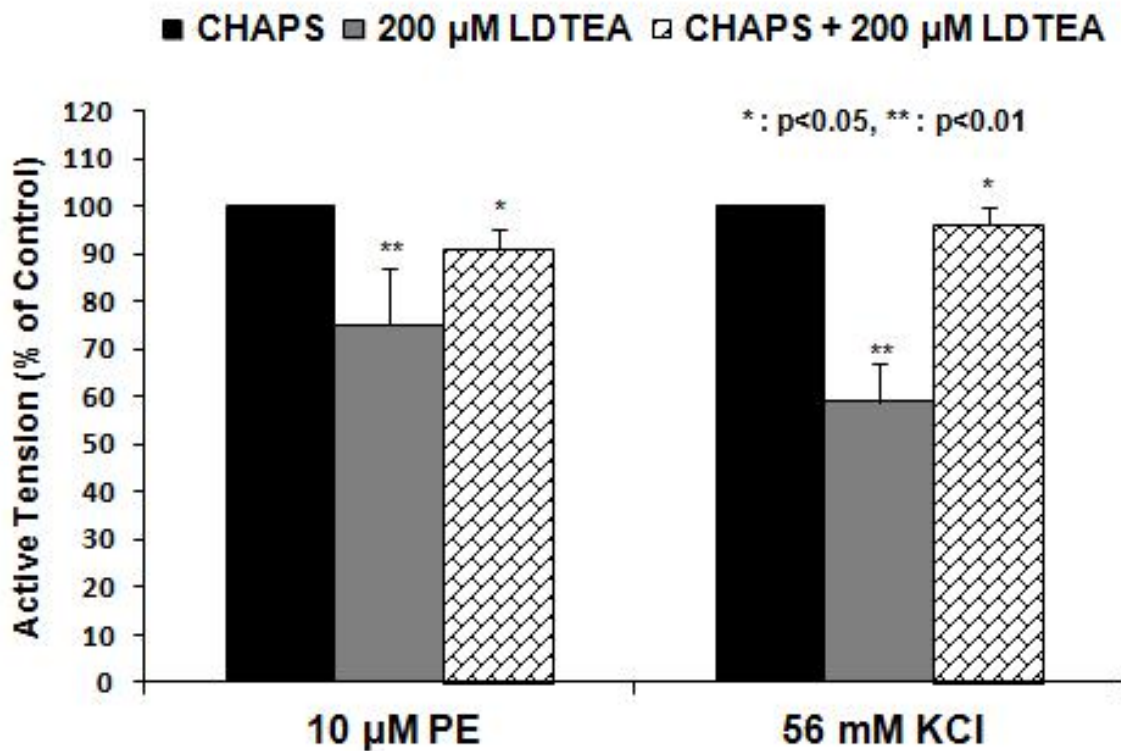


그림 57. 흰쥐의 적출 대동맥편에서 CHAPS처치가 페닐에프린(PE) 및 고칼륨의 수축반응에 대한 LDTEA의 이완작용에 미치는 영향. 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 10  $\mu$ M PE 및 56 mM KCl을 각각 투여하였다. “CHAPS처치군” 과 “CHAPS+LDTEA (200  $\mu$ M)처치군”에서 10  $\mu$ M PE 및 56 mM KCl에 대한 Active tension을 나타낸다. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 대동맥편의 숫자임. 각 칼럼상의 수직바는 표준오차임. Y축: Active tension (대조치의 %). X축: PE 및 KCl의 농도. 통계적인 차이는 CHAPS 처치한 그룹과 대조치, CHAPS+LDTEA (200  $\mu$ M) 전 처치한 그룹과 비교하여 산출하였음. \*\*: P< 0.01



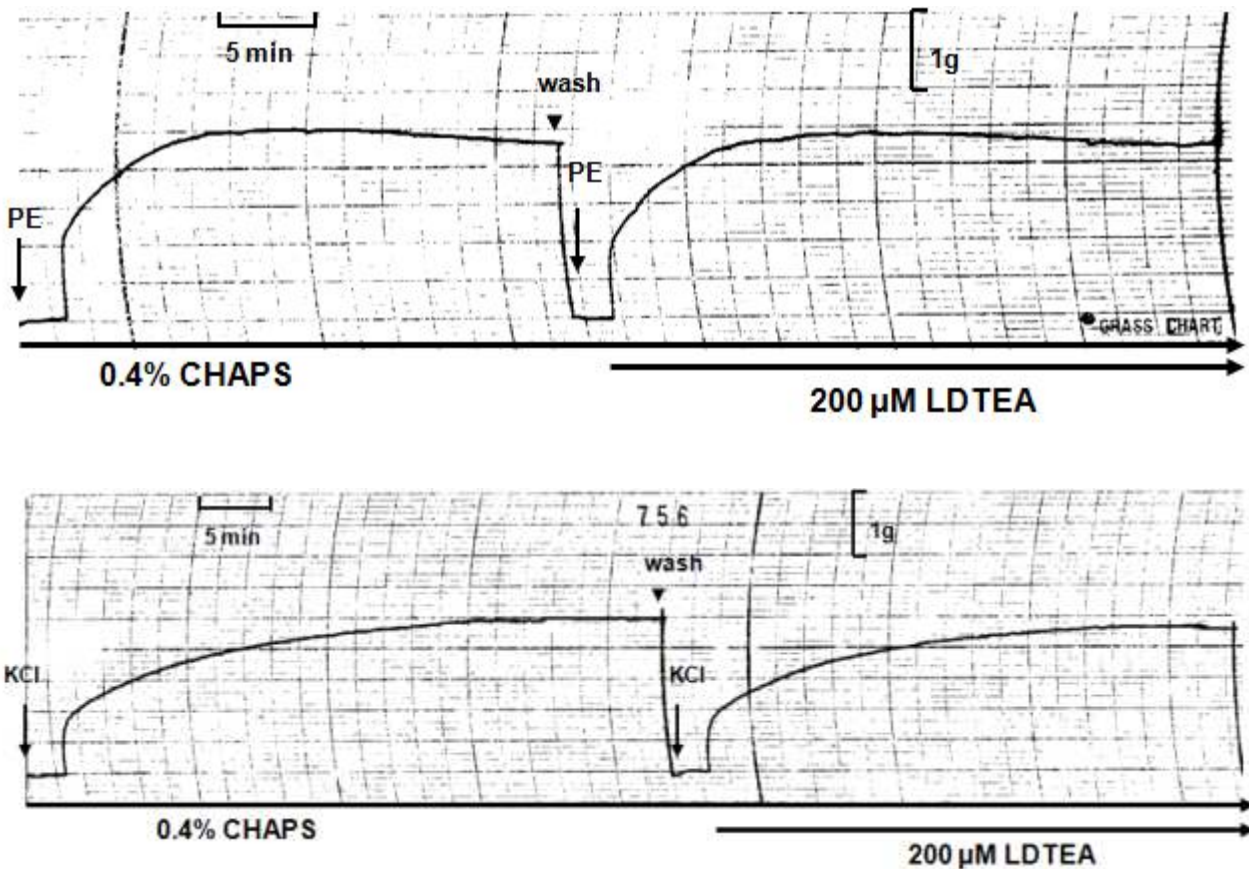


그림 58. CHAPS처리한 흰쥐의 적출 가슴대동맥편에서 LDTEA가 페닐에프린(PE) 및 고칼륨(KCl)의 수축반응에 미치는 영향을 보여주는 실험의 한 예. 위그림: (좌) CHAPS처리후 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 10  $\mu$ M PE을 투여한 후의 수축반응. (우) CHAPS처리 후 LDTEA 200  $\mu$ M 존재 하에서 10  $\mu$ M PE을 투여한 후의 수축반응. 아래그림: (좌) CHAPS처리 후 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 56 mM KCl을 투여한 후의 수축반응. (우) CHAPS처리후 LDTEA 200  $\mu$ M 존재 하에서 56 mM KCl을 투여한 후의 수축반응. 화살표에서 10  $\mu$ M PE 및 56 mM KCl을 각각 투여하였음. 차트속도는 분당 5 mm임. 약물투여는 120분 간격으로 투여하였음.

#### 10. 흰쥐 적출 가슴대동맥편에서 LDTEA가 Indomethacine존재 하에서 PE 및 고칼륨에 의한 혈관수축반응에 미치는 영향

그림 55~58에서 기술된 바와 같이, NO 합성효소억제제인 L-NAME 나 CHAPS처리 하에서 고칼륨 및 PE에 의한 수축반응이 거의 대조치 수준으로 회복되는 현상을 관찰하였다. 따라서 LDTEA의 혈관이완 효과가 내피 유래 NO와 관련성이 있음이 증명되었다. 그러나 LDTEA의

혈관이완작용이 prostaglandin과 관련성이 있는 가를 확인하기 위하여 prostaglandin합성에 중요한 효소인 cyclooxygenase 억제제인 indomethacine 처치 하에서 LDTEA의 혈관이완효과를 검색하였다.

흰쥐적출 가슴대동맥편에서 10  $\mu$ M indomethacine으로 전 처치한 다음 LDTEA (200  $\mu$ M) 존재 하에서 PE(10 $\mu$ M) 및 고칼륨(56 mM)의 혈관수축반응은 각각 대조치의 71 $\pm$ 10% 및 51 $\pm$ 5%로 indomethacine처치전과 비교 시 LDTEA의 혈관이완작용이 indomethacine처치로 영향받지 아니하였다 (그림 59 및 60).

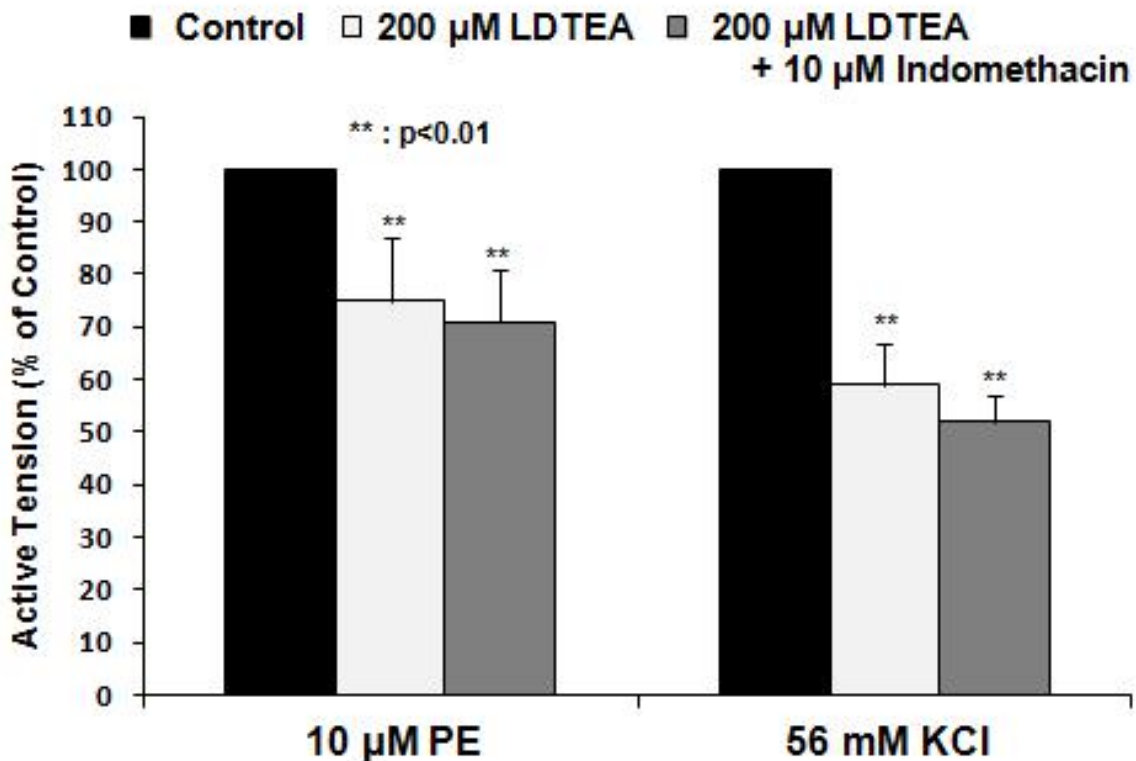


그림 59. 흰쥐의 적출 대동맥편에서 indomethacine이 페닐에프린(PE) 및 고칼륨의 수축반응에 대한 LDTEA의 이완작용에 미치는 영향. 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 10  $\mu$ M PE 및 56 mM KCl을 각각 투여하였다. “10  $\mu$ M PE 또는 56 mM KCl 단독처치군” 과 “LDTEA (200  $\mu$ M)+L-indomethacine (10  $\mu$ M) 동시처치군”을 투여하기 전과 투여 후의 Active tension을 나타낸다. 괄호안의 숫자는 실험에 사용한 대동맥편의 숫자임. 각 칼럼상의 수직바는 표준오차임. Y축: Active tension (대조치의 %). X축: LDTEA의 농도 ( $\mu$ M). 통계적인 차이는 LDTEA 전처치한 그룹과 대조치, LDTEA 전처치한 그룹과 LDTEA+indomethacine 그룹을 비교하여 산출하였음. \*\*: P< 0.01. ns: 통계적 유의성이 없음.

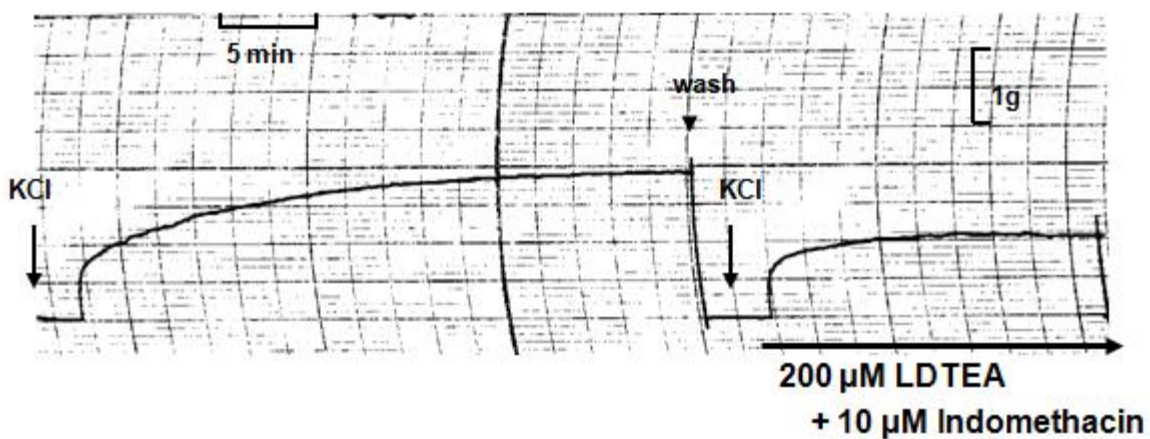
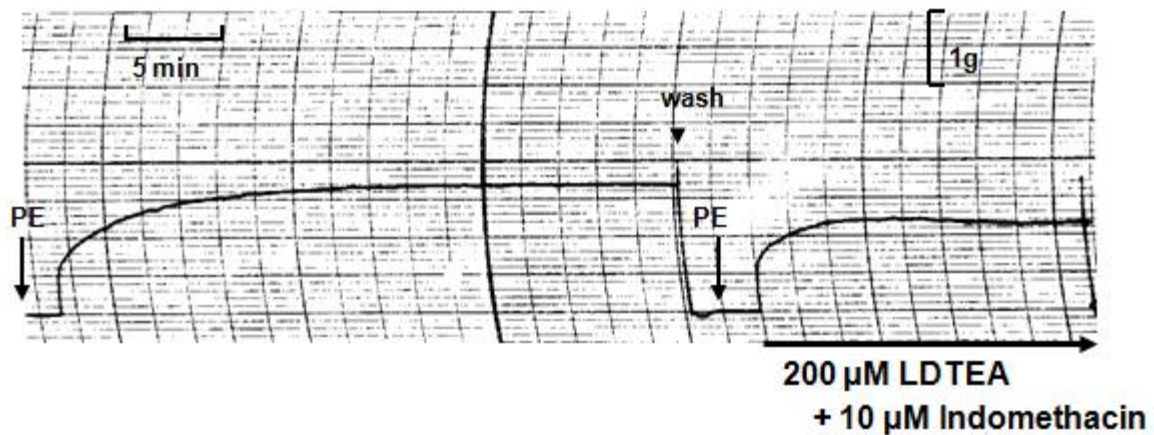


그림 60. 흰쥐의 적출 대동맥편에서 Indomethacin이 페닐에프린(PE) 및 고칼륨의 수축반응에 대한 LDTEA의 이완작용에 미치는 영향을 보여주는 실험의 한 예. 위그림: (좌); 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 10  $\mu$ M PE을 투여한 후의 수축반응. (중); LDTEA 200  $\mu$ M 단독 존재 하에서 10  $\mu$ M PE을 투여한 후의 수축반응. (우); LDTEA 200  $\mu$ M+Indomethacin 10  $\mu$ M 존재 하에서 10  $\mu$ M PE을 투여한 후의 수축반응. 아래그림: (좌); 약물투여 전 2시간동안 정상 Krebs액으로 안정시킨 다음 56 mM KCl을 투여한 후의 수축반응. (중); LDTEA 200  $\mu$ M 단독 존재 하에서 56 mM KCl을 투여한 후의 수축반응. (우); LDTEA 200  $\mu$ M+Indomethacin 10  $\mu$ M 존재 하에서 56 mM KCl을 투여한 후의 수축반응. 화살표에서 10  $\mu$ M PE 및 56 mM KCl을 각각 투여하였음. 차트속도는 분당 5 mm임. 약물투여는 120분 간격으로 투여하였음.

### 11. LDTEA가 마취한 흰쥐에서 norepinephrine의 승압반응 및 혈압에 미치는 영향

앞에서 기술한 바와 같이 LDTEA이 아드레날린  $\alpha$ -수용체 흥분에 의한 혈관수축을 일으키는 phenylephrine의 작용을 차단할 뿐만 아니라 이러한 부신에서 카테콜아민 분비를 뚜렷이 억제하며, 이러한 작용이 NO synthase 억제제인 L-NAME 처치로 현저하게 억제되었다. 따라서 교감 신경말단에서 신경전달물질로서 혈관평활근에서 아드레날린  $\alpha$ -수용체 흥분에 의한 혈관수축을 일으키는 norepinephrine의 승압반응에 대한 LDTEA의 영향을 검색코자 하였다.

노르에피네프린(NE)은 0.3, 1, 및 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 을 대퇴정맥 내 주사 시 용량-의존적 승압효과를 나타냈고, 주사 직후부터 상승하기 시작하여 혈압상승을 일으켜 투여 15분 전후에 대조 혈압수준으로 회복되었다. 그러나 LDTEA을 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/30\text{min}$  속도로 주입한 후에 NE의 승압효과는 세 용량에서 모두에서 뚜렷한 억제 반응을 나타내었다 (그림 61 및 62).

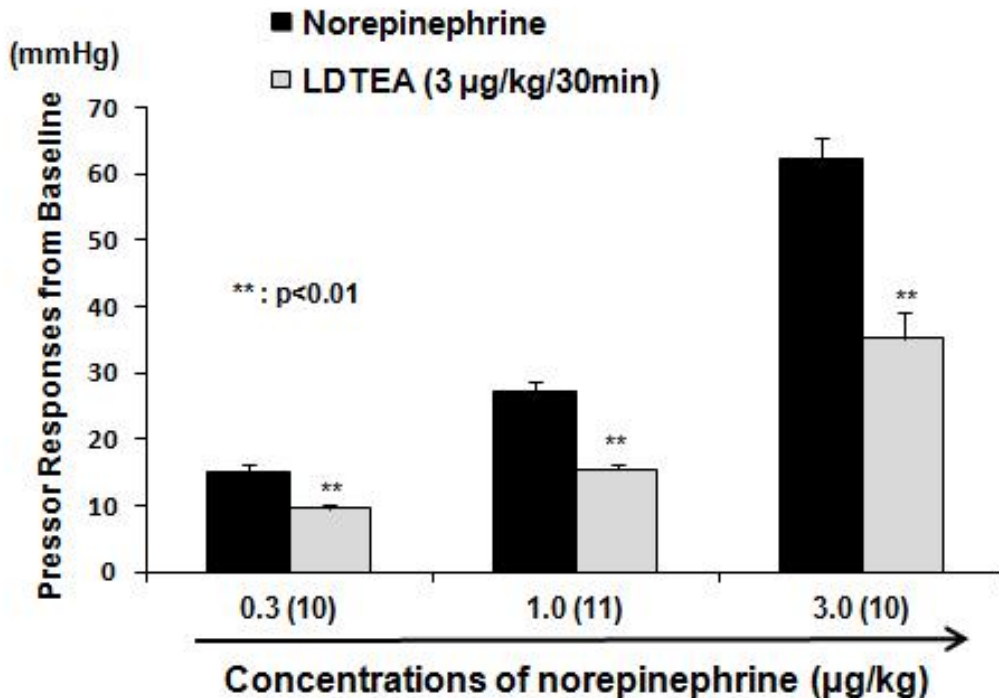


그림 61. 흰쥐에서 LDTEA가 노르에피네프린(NE)의 승압반응에 미치는 영향.

Y축: 혈압변화(mmHg). X축: 노르에피네프린(NE)의 용량(0.3, 1 and 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). LDTEA의 투여는 3  $\mu\text{g}/\text{kg}/30\text{min}$  속도로 대퇴정맥내에 주입하였으며, NE의 투여는 15-20min간격으로 시행하였다. 각 칼럼은 평균값이며 수직바는 표준오차임. 통계적 유의성은 대조군과 LDTEA투여군과 비교하였다. \*\*: P < 0.01

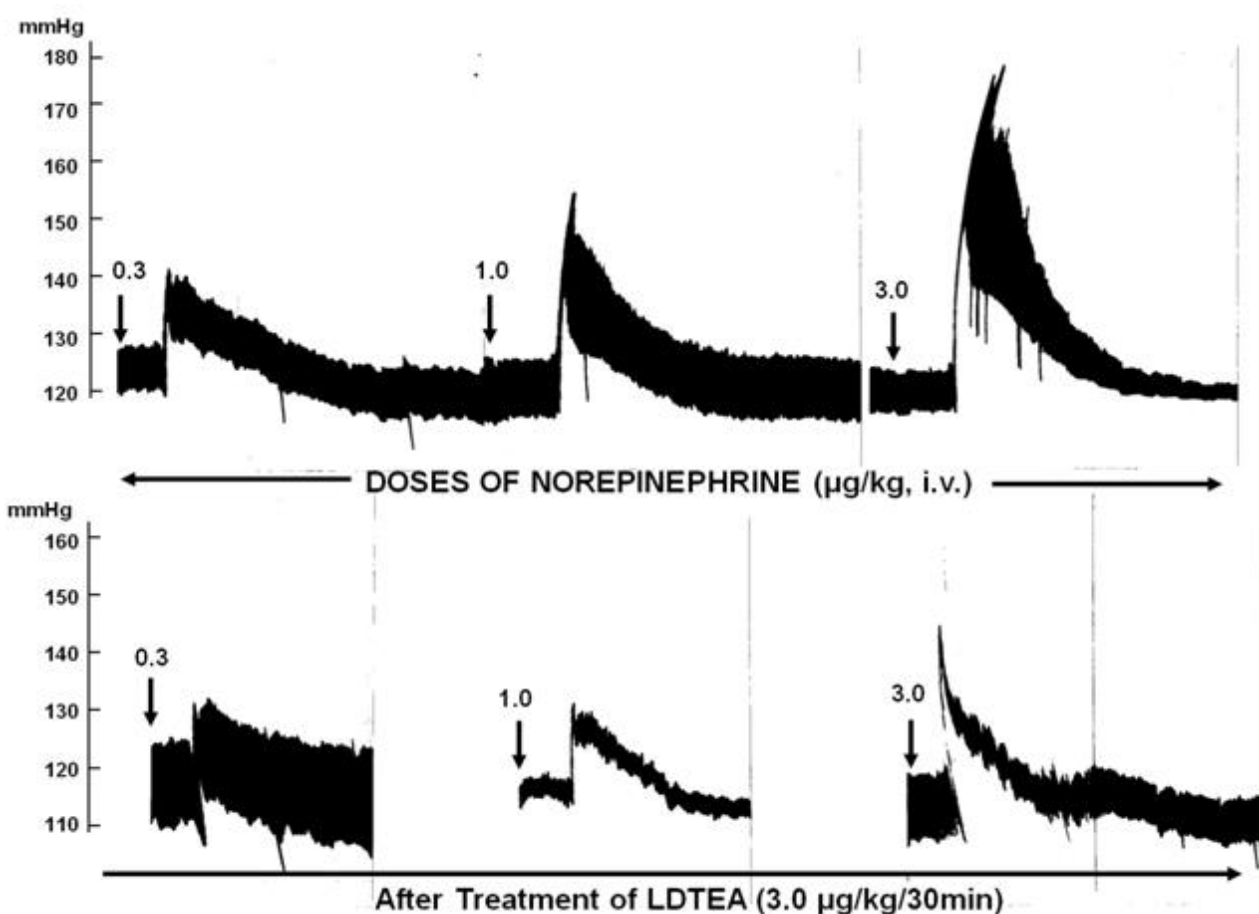


그림 62. 흰쥐에서 LDTEA가 노르에피네프린(NE)의 승압반응에 미치는 영향의 한 예.

화살표에서 NE, 0.3, 1.0 and 3.0 µg/kg을 대퇴정맥내로 주사하였다. 위 그림: LDTEA 처치 전 NE의 승압반응. 아래 그림: LDTEA 처치 후 NE의 승압반응. LDTEA는 대퇴정맥 내로 3 µg/kg/30 min 속도로 주입하였다. 경동맥압을 mmHg로 표기 하였으며, 차트속도는 10 mm/min 이었다.

실험조작을 완료한 후 약 30분정도 기다렸다가 혈압상태가 어느 정도 일정하게 안정되었을 때, 치오펜탈로 마취한 흰쥐에서 LDTEA를 0.9% 생리식염수에 용해하여 0.1 mg/kg용량으로 흰 쥐의 일측 대퇴정맥내로 투여 시 예외 없이 혈압하강을 일으켰다. 즉 원혈압 122 mmHg를 보이던 흰쥐 혈압은 LDTEA 투여 직후부터 하강하여 94 mmHg의 혈압하강을 나타내었다 (그림 63).



그림 63. 치오펜탈 마취한 흰쥐에서 LDTEA의 동맥압에 미치는 영향을 보여주는 한 예.

Y축: 혈압변화(mmHg). X축 LDTEA의 투여용량(0.1 mg/kg, i.v.). LDTEA의 투여는 60-120 min간격으로 시행하였다. 차트속도: 20 mm/min.

### 3절 고찰

## 1. 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 흰쥐 적출관류 부신수질에서 카테콜아민 분비작용에 미치는 영향

본 연구결과는 흰쥐의 적출 관류부신에서 솔잎의 methylene chloride추출물에서 분리한 Fr.4-5 분획과 솔잎의 ethylacetate추출물에서 분리 정제한 LDTEA가 콜린성 (니코틴 및 무스카린) 수용체 및 angiotensin II (AT<sub>1</sub>) 수용체 흥분작용 그리고 직접 막탈분극 작용에 의한 카테콜아민 (CA) 분비반응을 억제함을 증명하였다. 이러한 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA의 억제작용은 흰쥐의 부신수질 크롬친화세포에서 칼슘 및 나트륨 통로를 차단함으로써 세포 내로 나트륨 및 칼슘유입을 봉쇄하고, 또한 세포질 내 칼슘저장고로 칼슘섭취를 억제함으로써 나타나며, 이는 NO Synthase를 활성화함으로써 산화질소(NO)생산의 증가에 기인하는 것으로 사료된다.

일반적으로, 부신수질은 노르아드레날린성 신경세포뿐만 아니라 뉴론을 포함한 수많은 세포기능을 연구하는데 연구모델로서 이용되고 있다. 부신수질의 신경흥분 시 아세틸콜린(ACh)이 내장 신경말단으로부터 유리되어 크롬친화세포막에 있는 콜린수용체를 활성화한다(Viveros, 1975). 이와 같이 콜린수용체가 활성화되면 흥분-분비 결합(stimulus-secretion coupling)으로 알려진 일련의 반응을 개시하여 최종적으로 분비소포로부터 CA 및 기타 성분을 세포외 간격으로 유출(exocytosis)을 일으킨다. 일단 내장신경이 흥분하면 ACh이 신경말단에서 유리된 다음 니코틴성 CA분비작용을 촉진시킨다.

이와 같은 사실로 보아, 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 흰쥐부신수질에서 니코틴수용체 흥분작용 및 막탈분극에 의한 CA분비반응을 억제한다는 본 연구결과는 복분자주 폴리페놀화합물이 정상혈압 흰쥐(Kee 및 Lim, 2007) 및 자연발증 고혈압쥐(lim, 2008)의 적출 관류부신에서 콜린성 흥분과 직접 막탈분극에 의한 CA분비작용을 억제 한다는 보고와 일치함을 볼 수 있다. 또한 나아가 적포도주 폴리페놀화합물(PCRW)이 정상혈압 흰쥐 및 고혈압쥐에서 혈압을 하강시킨다는 사실(Mizutani 등, 1999; Diebolt 등, 2001)은 본 연구 결과를 뒷받침해주는 것으로 생각된다. 더욱이, 적포도주 및 포도가 내피의존성 혈관이완을 일으키며, 이는 NO생산 및 생물학적 활성을 촉진시켜 cyclic GMP 농도를 증가시킴으로써 기인된다고 하였다(Fitzpatrick 등, 1993; Fitzpatrick 등, 1995; Fitzpatrick 등, 2000; Zenebe 등, 2003). 이들 실험결과 보아 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 니코틴 수용체 흥분에 의한 CA분비반응을 억제하는 작용이 적어도 혈압하강기전에 기여할 수 있음을 나타낸다.

일반적으로 ACh은 부신수질에서 생리적 시냅스전 신경전달물질이며, 내장신경말단을 탈분극시킴으로써 유리된 다음 니코틴 수용체를 활성화하여 CA를 유리시키며, 칼슘의존성 분비과정에 의한 도파민 베타-수산화효소(dopamine  $\beta$ -hydroxylase)를 유도한다(Dixon 등, 1975; Viveros 등, 1975). 이와 같은 사실로 보아, 본 연구결과는 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 니코틴수용체

차단작용을 통한 내장신경말단으로부터 니코틴 수용체 흥분에 의한 CA분비작용을 억제할 수 있음을 암시해준다. 내장신경흥분이나 니코틴 작동제에 대한 반응으로 부신수질에서 에피네프린(epinephrine)의 유리작용은 크롬친화세포에 존재하는 니코틴 수용체 활성화에 의해 매개된다. 크롬친화세포에서 CA 세포의 유출 (exocytosis)은 노르아드레날린성 신경축삭에서 일어나는 것과 본질적으로 유사하다(Douglas, 1968; Sorimachi 및 Yoshida, 1979). ACh에 의한 CA분비작용은 기니아픽 부신(Nakazato 등, 1988) 및 흰쥐 관류부신(Lim 및 Hwang, 1991)에서 니코틴 및 무스카린 수용체의 흥분을 통해서 나타나는 것으로 알려져 있다.

녹차추출물이 흰쥐 적출부신(Lim 등, 2003) 및 가토 적출부신(Lim, 2005)에서 콜린성 흥분 및 막탈분극에 의한 CA분비반응을 억제한다는 사실이 보고되었다. 본 연구에서 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 ACh, DMPP, McN-A-343, Angiotensin II 및 고칼륨에 의한 CA분비반응을 유의하게 억제하였다. 이와 같은 본 연구의 결과는 쥐 및 가토에서 녹차추출물의 효과와 흰쥐 부신수질에서 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 유사한 작용을 일으킨다는 점을 암시해준다. 녹차에 함유된 탄닌류가 신장성 고혈압쥐에서 혈압하강작용을 나타낸다고 하였으며(Yokozawa 등, 1994), 녹차추출물 (Fitzpatrick 등, 1995) 및 녹차에 함유된 플라보노이드(Fitzpatrick 등, 1993)도 혈관이완작용이 있다고 보고되었다. 그러나 정상 남자에서 녹차섭취 시 카페인 단독 섭취보다 현저하고 급속한 혈압상승을 일으킨다는 보고도 있다(Hodgson 등, 1999).

본 연구에서 흰쥐 부신수질에서 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 다같이 Bay-K-8644에 의한 CA분비반응을 시간-의존적으로 억제하였다. Bay-K-8644는 L-형 전압의존성 칼슘통로를 활성화시키는 것으로 알려져 있다(Garcia 등, 1984; Schramm 등, 1983). 이러한 연구결과는 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 흰쥐 부신수질세포 내로 칼슘유입을 억제할 수 있음을 나타낸다. 이와 같은 사실을 지지하는 몇 가지 연구결과가 있다. 즉, 소의 배양 부신수질세포에서 니코틴(무스카린은 아님) 수용체가 칼슘-의존성 CA분비작용을 매개한다고 하였다(Fisher 등, 1981; Yanagihara 등, 1979). 또한 니코틴 수용체 활성화가 흰쥐 관류부신(Wakade 및 Wakade, 1983; Lim 및 Hwang, 1991) 및 소의 적출부신 크롬친화세포(Kilpatrick 등, 1981; 1982; Knight 및 Kesteven, 1983)에서 다 같이 수용체 및 전압의존성 칼슘통로를 통한 칼슘유입을 증가시켜 CA분비작용을 촉진시킨다고 알려져 있다.

Wada 등(1985b)은 부신수질의 크롬친화세포가 1) Carbachol에 의한 나트륨유입에 관여하는 니코틴수용체-관련 이온통로, 2) Veratridine에 의한 나트륨유입에 관여하는 전압의존성-나트륨통로, 그리고 3) 전압의존성 칼슘통로를 가지고 있어서, carbachol이나 veratridine에 의한 나트륨유입이 막전위를 변화시켜 전압의존성 칼슘통로를 활성화한다.

반면에 고칼륨은 나트륨유입 증가없이 전압-의존성 칼슘통로를 직접 활성화시킨다고 하였다. 본 연구에서 흰쥐 부신수질로부터 고칼륨에 의한 CA분비반응이 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA로



전 처치함으로써 억제된다는 사실은 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA의 억제효과가 부신의 크롬친화세포내로 칼슘유입을 직접 억제함으로써 나타나는 것으로 생각된다. 더욱이, 세포의 칼륨농도가 약간 증가해도 기본 활동전위 빈도 및 CA분비가 증가한다(Kidokoro 및 Ritchie, 1980)는 사실은 활동전위기간 중 일어나는 칼슘유입은 분비속도와 직접연관이 있음을 암시한다.

따라서 본 연구에서 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 Bay-K-8644 및 고칼륨에 의한 CA분비를 억제시킨 점은 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 직접적으로 전압의존성 칼슘통로를 억제한다는 사실을 암시한다.

소의 크롬친화세포에서 무스카린성 ACh 수용체가 아니고, 니코틴성 ACh 수용체 흥분 시 대부분 전압의존성 칼슘통로를 통한 칼슘유입에 의한 CA분비작용을 일으키는 것으로 알려져 있다(Burgoyne, 1984; Oka 등, 1979). 그러므로 본 연구에서 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 DMPP로 니코틴성 ACh 수용체에 의해 활성화되는 전압의존성 칼슘통로를 통한 칼슘유입을 억제함으로써 DMPP에 의한 CA 분비작용을 억제하는 것으로 사료된다.

본 연구는 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 흰쥐 관류부신에서 cyclopiazonic acid에 의한 CA분비작용을 억제함을 증명하였다. Cyclopiazonic acid는 골격근의 근형질세망(SR)에서  $Ca^{2+}$ -ATPase의 고도의 선택적 억제제이며(Goeger 및 Riley, 1989; Seidler 등, 1989), 세포내 칼슘이동 및 세포칼슘에 의해 조절되는 이온전류를 연구하는데 중요한 약리학적 도구(Suzuki 등, 1992)로 알려져 있다. 그러므로 콜린성흥분 및 막탈분극에 의한 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA의 억제작용은 세포질 내 칼슘저장고로부터 세포질내 칼슘이동과 관련이 있는 것으로 생각된다. 이 같은 결과는 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 무스카린수용체 흥분에 의한 세포내 저장고로부터 칼슘유리를 억제시키는 작용을 가진 것으로 생각된다. 무스카린성ACh 수용체는 약하지만 CA분비작용에 관여한다.

카페인에 민감한 세포내 저장고로 칼슘섭취(Iino, 1989)는  $Ca^{2+}$ 부하를 진행시키는 동안 cyclopiazonic acid로 처치함으로써 거의 완전히 차단된다(Suzuki 등, 1992). 이 결과는 칼슘섭취가 cyclopiazonic acid에 의해서 억제되는 기니이픽 회장 세로층의 표피 평활근섬유에서 얻어진 결과와 일치한다(Uyama 등, 1992). Suzuki 등(1992)은 cyclopiazonic acid가 혈장막을 통해서 세포질 내로 용이하게 침투하여 근형질세망/내형질세망에서  $Ca^{2+}$ -ATPase활성을 감소시켜, 이들 저장고로부터 연속적인 칼슘유리를 증가시킨다고 하였다. 더욱이, 소의 부신크롬친화세포에서 무스카린성 ACh 수용체 흥분이 phosphoinositide 대사를 활성화시키며, inositol-1,4,5 trisphosphate를 생성하여 세포질 내 저장고로부터 칼슘이동을 일으킨다고 하였다(Cheek 등, 1989; Challiss 등, 1991). 흰쥐 관류부신에서 McN-A-343 및 cyclopiazonic acid에 의한 CA분비작용을 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 억제하는 작용은 무스카린 ACh수용체 흥분에 의한 세포질 내 저장고로부터 칼슘유리억제작용에 기인함을 암시한다. 그러나 본 연구에서 세포내 저

장고로부터  $Ca^{2+}$  이동에 대한 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA의 억제작용이 PI반응에 대한 직접작용이나 간접작용에 기인하는지는 불확실하다.

본 연구에서 솔잎 Fr.4-5분획이나 LDTEA 와 L-NAME (NO Synthase 억제제) 동시 존재 하에서, ACh, DMPP, 고칼륨 및 Bay-K-8644에 대한 CA분비반응이 솔잎 Fr.4-5분획이나 LDTEA 단독처치의 반응에 비하여 대조치의 분비량 정도까지 상당히 회복되었다. 이와 같은 결과는 적포도주에서 분리한 폴리페놀 화합물이 세포외 칼슘의존성 기전을 통해서 혈관내피의 NO의존성 이완작용을 일으킨다는 보고(Andriambeloston 등, 1999)와 잘 일치한다.

PCRW에 존재하는 상이한 폴리페놀 화합물 중에서 안토시아닌류(anthocyanins) 및 올리고머 축합 탄닌류는 PCRW와 동일한 약리작용을 나타내는 것으로 보고되어 있다(Andriambeloston 등, 1998). 포도주에서 분리한 상이한 안토시아닌류 중에서 delphinidin만이 내피의존성 이완작용을 일으키지만 PCRW보다 약간 미약하다고 알려져 있다(Andriambeloston 등, 1998).

Huang 등 (1998)은 녹차의 폴리페놀 화합물 중 하나인 (-)epicatechin은 기능성 내피없이 U46619로 수축시킨 동맥을 농도 의존적으로 이완시킨다고 하였다. 또한 (-)epicatechin은 이완작용을 나타내는 prostaglandin 수용체의 길항제로써 작용하지는 않는 것 같다. 왜냐하면 (-)epicatechin이 phenylephrin 및 endothelin-1과 같은 다른 혈관수축제에 의한 동맥수축반응을 감약시키기 때문이다(Huang 등, 1998). (-)Epicatechin에 의한 내피-비의존성 이완작용은 혈관 평활근 세포의 전압-민감성 칼슘 통로를 통한 칼슘유입억제를 통해서 부분적으로 기인할 수 있다. 왜냐하면 (-)epicatechin이 동일표본에서 고칼륨에 의한 수축반응을 뚜렷이 억제하기 때문이다(Huang 등, 1998). 또한 (-)epicatechin은 내피에 직접 작용하여 세포내 칼슘 및 산화질소(NO)유리를 증가시킬 수 있으며, 이것이 내피의존성 이완작용을 설명해준다(Huang 등, 1999). 더욱이, 내피존재 조직에서 (-)epicatechin의 이완작용은 iberiotoxin 민감성 칼륨통로의 NO의존성 활성화에 기인할 수 있다. 이들 기전은 혈관계에 대한 녹차 epicatechin류의 유익한 작용과 연관성이 있다(Huang 등, 1999).

일부 역학연구는 적절한 적포도주 소비와 관상동맥 심장질환의 위험감소 사이에 연관성이 있음을 나타낸다(Renaud 및 de Lorgeril, 1992; German 및 Walzem, 2000). PCRW가 내피의존성 이완작용을 촉진시키며, NO Synthase를 활성화하며, 혈소판 응집을 억제하고, LDL-cholesterol 산화작용을 차단한다(Fitzpatrick 등, 1993; Andriambeloston 등, 1997; Flesch 등, 1998; Leikert 등, 2002; Demrow 및 Slane, 1995; Frankel 등, 1993). 적포도주에 존재하는 폴리페놀 화합물인 resveratrol이 유익한 심혈관계효과를 나타내는 원인이 되는 인자라고 사료된다. 왜냐하면, resveratrol이 혈관확장촉진, NO합성효소 활성화, 혈소판응집 및 백혈구 활성화 억제작용, LDL콜레스테롤 산화방지 및 콜레스테롤 합성 감소와 같은 RWPC와 유사한 효과를 가지고 있기 때문이다(Chen 및 Pace-Asciak, 1996; Wallerath 등, 2002; Pace-Asciak 등,

1995; Rotondo 등, 1998; Frankel 등, 1993). 이와 같은 resveratrol 및 PCRW의 작용은 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 흰쥐 관류부신에서 적어도 NO합성 효소를 활성화하여 NO생성을 증가시켜 콜린성 흥분 및 막탈분극에 의한 CA분비작용을 억제할 수 있다는 본 연구결과와 일치한다. 왜냐하면 CA분비작용에 대한 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA의 이와 같은 억제작용이 산화질소합성효소 억제제인 L-NAME 존재 하에서 현저히 억제되었을 뿐만 아니라 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA 처치 후에 실제로 NO유리량이 기초유리량에 비해 현저히 증가하였기 때문이다. 이와 같은 사실을 지지하는데 있어서, 일반적으로 NO는 산화질소 합성효소(NO Synthase)의 작용에 의해 L-arginine의 말단 guanidino 질소로부터 효소반응에 의해 생산된다(Palmer 등, 1988; Sakuma 등, 1988). 산화질소 합성효소 (NO Synthase, NOS)에는 적어도 3개의 아이소형이 있다. 즉, 신경 NOS (nNOS), 내피 NOS (eNOS) 및 유도 NOS (iNOS)가 있다. 부신수질은 특징적인 절후교감신경 뉴론을 가지고 있으며 nNOS 존재가 증명되어 있다(Marley 등, 1995; Oset-Gasque 등, 1994; Palacios 등, 1989; Schwarz 등, 1998). NOS 억제제 및 NO 공여제가 부신수질로부터 CA분비작용을 조절하는데 NO 역할을 검색하기 위해 수행되었으나 결과에 대해서 논란이 많다. 본 연구에서 L-NAME 존재 하에서 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA의 CA분비작용에 대한 억제반응이 솔잎 Fr.4-5분획이나 LDTEA 단독 처치에 의한 억제효과와 비교해서 대조치 분비의 상당한 정도까지 회복되었다.

이 결과는 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 적어도 흰쥐 관류부신에서 nNOS의 활성화를 통해서 CA분비작용을 억제할 수 있음을 증명한 것이다. 이와 같은 사실을 지지하는데 있어서 NO합성 효소 억제제인 L-NAME는 소의 배양 크롬친화세포에서 고칼륨에 의한 CA분비작용을 항진시키며(Torres 등, 1994), Sodium nitroprusside (SNP)는 소의 크롬친화세포에서 ACh에 의한 CA분비작용을 억제한다(Rodriguez-Pascual 등, 1996)고 보고되어 있다. 이들 연구는 NO가 CA분비조절에 억제적 역할을 할 수 있다고 제시하였다. 더욱이, 내피세포가 존재 시 소의 배양 크롬친화세포에서 칼륨이나 니코틴 수용체 작동제인 DMPP에 의한 CA분비작용을 억제하며(Torres 등, 1994), nNOS뿐만 아니라 eNOS가 부신의 CA분비조절에 역할을 할 수 있음을 암시한다. 이와는 대조적으로, L-NAME가 소의 배양 크롬친화세포에서 ACh에 의한 CA분비작용을 억제하며(Uchiyama 등, 1994), NO공여제인 sodium nitroprusside (SNP)가 니코틴에 의한 CA분비작용을 항진시킨다고 하였다(O'sullivan 및 Burgoyne, 1990). 이러한 결과는 NO가 콜린성 작동제에 의한 CA분비작용을 촉진시킬 수 있음을 암시한다. 다른 한편으로, 극히 일부 연구에서 NO가 부신의 CA분비조절에 있어서 역할을 하지 못한다고 제시하였다(Breslow 등, 1992; Breslow 등, 1993). 이들 결과를 보아, 본 연구에서 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 흰쥐부신수질 크롬친화세포에서 CA분비작용에 대한 직접적인 억제작용 외에 적어도 nNOS를 활성화시키는 작용을 가지고 있는 것으로 생각된다.

그림 64에서 묘기한 바와 같이, 결론적으로, 본 연구의 결과는 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA가 다같이 흰쥐의 적출 관류부신에서 콜린수용체 및 AT<sub>1</sub> 수용체 흥분뿐만 아니라 막탈분극에 의한 CA분비작용을 억제한다는 사실을 증명해준다. 이러한 솔잎 Fr.4-5분획과 LDTEA의 억제작용은 흰쥐 부신수질 크롬친화세포내로 나트륨 유입뿐만 아니라 칼슘유입과 세포질내의 칼슘저장고로 칼슘섭취를 다같이 차단함으로써 나타나며, 이는 nNOS의 활성화에 기인된 NO생산의 증가와 관련성이 있는 것으로 사료된다. 본 연구결과로 보아 솔잎 Fr.4-5분획 중의 성분이나 과 분리 정제한 성분인 LDTEA가 부신수질 크롬친화세포에서 CA분비를 억제함으로써 이어서 순환계의 CA농도감소로 인해서 적어도 항고혈압작용에 기여하는 것으로 생각된다.

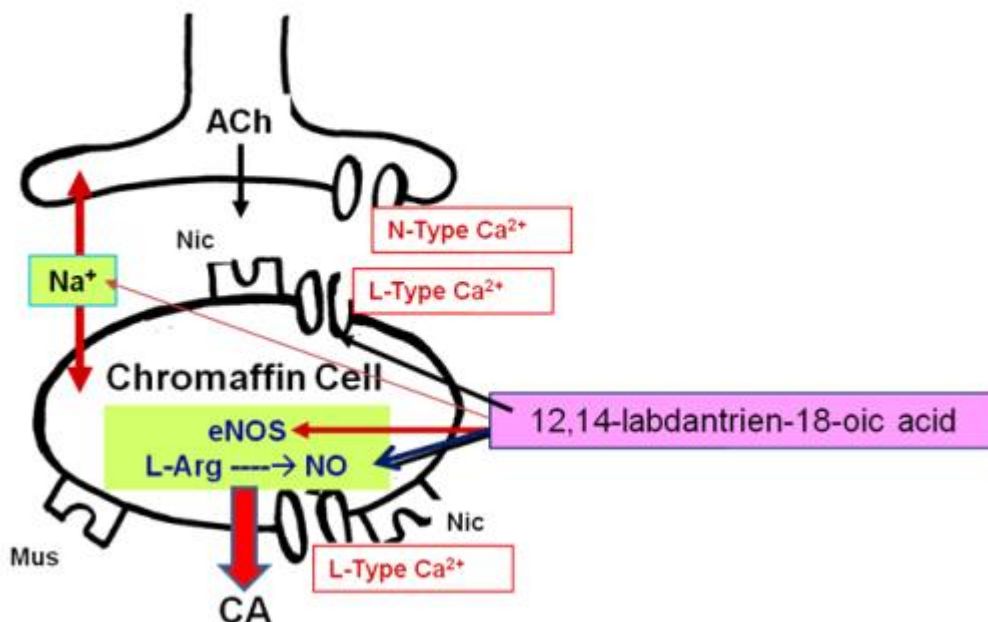


그림 64. 흰쥐 부신수질에서 LDTEA (12,14-Labdantrien-18-oic acid) 의 예측 작용점에 대한 모식도

## 2. 대장 카탈 사이질 세포(ICC)의 자발적 활동도에 대한 솔잎 추출물의 효과

이 연구에서 pine needle fraction 3는 대장 ICC에서 발생하는 자발적 향도잡이 전압에 대해 탈분극을 초래하였다. ICC는 평활근의 활동도를 조절하고 있는 세포인 바 F3의 작용은 ICC에 대한 작용을 통하여 대장 운동성을 조절할 수 있음을 시사한다. 위장관의 대표적 흥분 전달물질인 아세틸콜린과 substance P는 무스카린성 수용체와 neurokinin 수용체를 통하여 위장관 평활근의 막전압을 탈분극시켜 수축력을 증가시키는 반면 대표적 억제 전달물질인 NO와 VIP는 위장관 평활근의 막전압을 과분극시켜 수축력을 억제하고 있다 (Olsson and Holmgren, 2001; Sanders, 1998). 본 연구에서 자발적 향도잡이 전압에 대한 F3의 탈분극 작용은 무스카린성 M2와 M3 수용체 차단제에 의해서 억제되어 무스카린성 수용체를 통하여 이루어짐을 나타냈

다.

무스카린성 수용체에 의한 위장관 평활근의 탈분극은 비선택성 양이온 통로 활성화로 인해 발생된다 (Inoue and Chen, 1993). 또한 ICC의 항도잡이 전압 발생은 세포내 내형질 세망의  $Ca^{2+}$ 의 주기적인 분비와 이에 따른 비선택성 양이온 통로의 활성화가 연관되어 발생하는 것으로 되어 있다 (Ward *et al.*, 2002). 이 실험에서도 F3의 작용은 비선택성 양이온 통로 차단제인 fulfenamic acid 및 내형질 세망의  $Ca^{2+}$ -ATPase 차단제인 thapsigargin에 의해 차단되었다. 이러한 결과는 F3 작용이 비선택성 양이온 통로 및 세포내  $Ca^{2+}$ 의 분비와 밀접한 관계가 있음을 나타낸다.

결론적으로 pine needle fraction 3는 무스카린성 수용체를 통하여 대장 ICC에 대해 흥분성 작용을 통하여 대장 평활근의 수축을 조절할 수 있음을 나타내며, 특히 대장 운동 저하가 있는 경우 장 운동을 개선하는데 도움이 될 수 있는 성분으로 여겨진다.

### 3. LDTEA가 흰쥐 적출 가슴대동맥 평활근의 수축반응에 미치는 영향

본 연구결과는 LDTEA(100~300  $\mu$ M)가 흰쥐의 적출 가슴대동맥편에서 PE에 의한 혈관수축반응을 용량 의존적으로 이완작용을 나타낸다는 사실을 증명하였다. 앞에서 기술한 바와 같이 LDTEA가 흰쥐 적출 관류부신에서 콜린수용체 및 AT1 수용체 흥분뿐만 아니라 막탈분극에 의한 CA분비작용을 억제한다고 하였다. 이러한 LDTEA의 억제작용은 정상혈압 흰쥐 및 자연 발증 고혈압쥐의 부신수질 크롬친화세포내로 나트륨 유입뿐만 아니라 칼슘유입과 세포질내의 칼슘저장고로 칼슘섭취를 다같이 차단함으로써 나타나며, 이는 nNOS의 활성화에 기인된 NO 생산의 증가와 관련성이 있음을 증명하였다. 본 연구에서 NO 합성효소 억제제인 L-NAME는 LDTEA에 의한 이완작용을 유의하게 억제하였다. 이러한 결과는 LDTEA에 의한 흰쥐 적출동맥 평활근의 이완작용이 부분적으로 NO 및 내피와 관련이 있음을 암시한다. 또한 본 연구에서 CHAPS처리로 내피를 제거 시킨 상태에서 LDTEA는 PE나 고칼륨의 혈관수축에 대한 이완반응이 CHAPS 처리 전, 즉 대동맥의 내피가 존재한 상태에서와 비교하여 볼 때 현저하게 억제됨을 관찰할 수 있었다. 이 같은 사실은 LDTEA의 혈관 이완작용이 내피 의존성임을 알 수 있을 뿐만 아니라 NO와 관련성이 있음을 명확히 밝혀주는 증거임을 알 수 있다. 나아가 본 연구의 결과는 적포도주의 폴리페놀성분중의 하나인 resveratrol의 이전 *in vitro* 실험결과와 일치한다(Fitzpatrick 등, 1993; Naderali 등, 2001; El-Mowafy, 2002). 특히, El-Mowafy (2002)는 resveratrol이 양(sheep)의 관상동맥 평활근에서 막결합 guanylyl cyclase를 활성화시키며, 이는 내피 및 NO에 의존성임을 증명하였다.

일부 증거는 resveratrol에 의한 NO증가에 기인한 심장보호작용을 지지해준다(Flögel 등, 1999). 가령, NO공여제나 L-arginine과 같이 NO합성의 전구물질이 심근 허혈-재관류 손상을

경감시키는 것으로 알려져 있다(Hattori 등, 2002). 폴리페놀화합물인 phytoalexin (trans-3,4,5-trihydroxystilbene)이 resveratrol이며 이는 허혈-재관류 손상으로부터 심장을 보호한다고 보고되어 있으며(Hattori 등, 2002), 콩팥 및 심장을 포함한 일부 조직에서 구성 NO 생성을 향진시키는 것으로 알려졌다. 따라서 이 화합물은 다양한 생화학적 그리고 생리학적인 작용 즉 estrogen, 항혈소판 및 항염작용 등을 나타낸다(Hattori 등, 2002). 따라서 resveratrol은 허혈-재관류 손상으로부터 콩팥, 심장 및 뇌를 보호하는 것으로 알려져 있다(Ray 등, 1999; Hattori 등, 2002). 심혈관계에 대한 resveratrol의 보호작용은 부분적으로 NO-의존성 혈관이완 작용과 관련성이 있는 것으로 생각된다. 이러한 사실과 연계하여 보면, 본 연구에 사용한 EtOAc 분획 및 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>분획도 흰쥐 적출동맥 평활근에서 eNOS의 활성화에 기인된 NO생산의 증가와 관련된 혈관이완작용을 나타낸다는 결과로 보아 허혈-재관류 손상으로부터 콩팥, 심장 및 뇌를 보호하는 작용을 일으킬 수 있는 가능성을 충분히 가지고 있다고 설명할 수 있을 것 같다.

본 연구에서 LDTEA 존재 하에서 흰쥐 적출동맥 평활근에서 고칼륨의 수축반응을 정상 Krebs-Hansseleit액에서 현저히 억제하였다. 전압의존성 칼슘통로(VDCCs)는 세포외 칼슘농도가 증가되었을 때 혈장막의 탈분극에 의해서 활성화된다. 이러한 결과는 LDTEA가 칼슘길항 작용을 가지고 있을 가능성이 있으며, VDCCs를 통한 세포외 Ca<sup>2+</sup> 유입을 억제할 수 있음을 나타낸다.

일반적으로 고칼륨은 혈관 세포막을 탈분극시킴으로서 전압의존성 칼슘통로를 개방시켜 세포외 칼슘의 유입을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Bolton, 1979; Schwartz 및 Taira, 1983; Dube 등, 1985; 1988). 김 등(1989)은 CaCl<sub>2</sub> 및 고칼륨에 의한 혈관 평활근의 수축반응은 전압의존성 칼슘통로를 통해서 세포외 칼슘유입을 증가시킨다고 하였다. 이런 점에서 볼 때, 흰쥐 적출 대동맥편에서 LDTEA가 PE (아드레날린 α-수용체 작용제) 뿐만 아니라 고칼륨(막탈분극제)에 의한 혈관수축반응을 이완시킨 본 연구결과는 LDTEA의 혈관이완작용이 칼슘통로 차단 작용을 통해서 나타날 수 있음을 배제할 수 없을 것 같다.

이전의 연구에서 혈관평활근의 이완반응을 설명하는데 세가지 세포기전이 제기되었다. 즉, (1) 세포내로 세포외 칼슘유입차단 (Fleckenstein, 1977; Schwartz 및 Triggle, 1984), (2) 세포내 칼슘의 결합 및 포집 증가 (Watkins 및 Davidson, 1980; Imai 및 Kitagawa, 1981), (3) 세포내 저장칼슘의 유리억제(Imai 및 Kitagawa, 1981; Ito 등, 1980a, b) 등이 있다. 이와 대조적으로, 신경전달물질에 의한 혈관평활근의 수축작용은 다음 두 가지의 성분으로 구성되어 있다. 즉, 세포내부로부터 유리된 칼슘에 의한 수축과 칼슘유입과 관련된 강직성 수축반응이며(Bevan, 1982; Dube 등, 1988), 두 가지 모두가 세포내 칼슘증가를 나타낸다. 이러한 결과로 보면, LDTEA가 흰쥐 적출 대동맥편에서 평활근세포내로 세포외 칼슘유입을 차단함으로써 PE에 의

한 혈관평활근의 수축반응을 이완시킬 수 있다는 가능성을 배제할 수 없다.

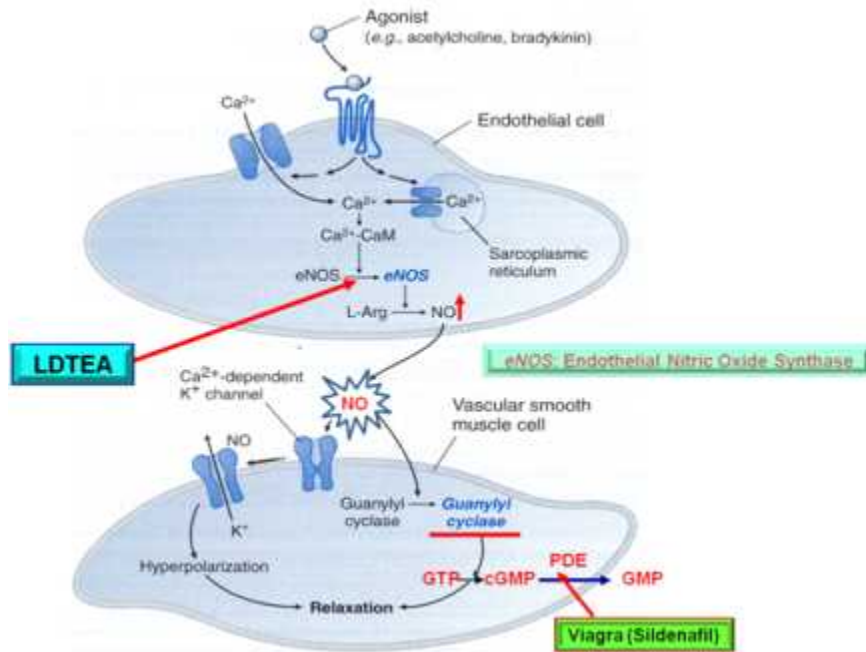
이와 같은 LDTEA의 혈관이완작용과 유사한 적포도주에 관한 여러 연구결과가 본 LDTEA의 연구결과를 뒷받침해주는 것으로 생각된다. 즉, 건강한 자원자에서 관상동맥혈류량-속도가 적포도주(1g/kg 에탄올) 음용 30분 후에 증가되었으나 동일한 양의 백포도주나 보드카를 음용한 후에는 증가되지 않았다고 하였다(Shimada 등, 1999). 남자에서 내피의존성 혈관이완작용도 상완동맥의 초음파 검사에 의해서 500ml 의 적포도주이나 알코올이 없는 적포도주를 한 번에 마신 후에 개선되었다(Hashimoto 등, 2001). 적포도주(7.7±1.2ml/kg/day)를 비교적 단기간(14일간) 섭취 시 남자에서 내피의존성 혈관이완작용의 현저한 개선효과와 관련성이 있었다(Stein 등, 1999). 더욱이, 21명의 사람에게 4주 동안 홍차를 하루에 5컵씩 규칙적으로 음용시 내피의존성 혈관이완작용에서 유의한 증가를 나타내었다(Hodgson 등, 2002). 또한 흰쥐에서 와인 폴리페놀, quercetin 또는 catechin이 풍부한 식품을 섭취시 대동맥 NO생산이 증가한다고 하였다(Benito 등, 2002). 고혈압 Wistar 흰쥐에서 알코올이 없는 포도껍질엑기스를 경구투여 시 수축기, 평균 및 확장기 동맥압이 현저히 감소하였다(Soares De Moura 등, 2002). 고콜레스테롤 토끼에게 12주 동안 resveratrol(3mg/kg/day), 적포도주 (4ml/kg/day), 또는 알코올제거 적포도 와인(4ml/kg/day)을 위내로 투여 시 내피기능이 개선되고, 혈장 endothelin-1 농도가 감소하고, NO농도가 현저히 증가되었다(Zou 등, 2003). 이와 같은 적포도주의 폴리페놀화합물의 결과와 본 LDTEA의 연구결과 간에 상당히 유사성이 존재함을 알 수 있다.

결론적으로 그림 65에서 보는 바와 같이, LDTEA는 흰쥐의 적출 대동맥편에서 PE나 고칼륨의 수축반응에 대해 이완작용을 나타내었으며, 이러한 LDTEA의 혈관이완작용은 혈관내피에서 eNOS의 활성화에 기인된 NO생산의 증가에 의해 나타나는 것으로 사료된다.

그림 65. 흰쥐 가슴대동맥 평활근에서 LDTEA의 예측 작용점에 대한 모식도

#### 4. LDTEA가 흰쥐의 혈압반응에 미치는 영향

LDTEA는 마취한 흰쥐에서 대퇴정맥내로 체중 kg당 0.1 mg을 주사 시 뚜렷한 지속성 혈압하강 반응을 나타내었다. 이 같은 결과는 술잎 추출물의 장기투여가 혈압하강을 일으킬 수 있음을 시사하고 있다는 점이다. 또한 교감신경말단에서 유리되는 신경전달 물질로서 혈압상승을 일으키는 노르에피네프린(NE)의 승압반응이 LDTEA를 마취 흰쥐의 대퇴정맥 내로 3 μ



g/kg/30 min 속도로 주입한 후에 뚜렷이 억제되는 본 연구의 결과는 LDTEA가 혈압하강 작용이 있음을 나타내는 증거이다.

일반적으로 어떤 약물이 혈관에 작용하여 흰쥐의 혈압을 하강시켰다면 그 약물은 결국 혈관을 확장시켰음을 뜻한다. 이러한 혈관확장기전은 혈관근에 직접 작용하여 나타나거나 혈관근의 긴장도를 유지하고 있는 교감신경이 직접 또는 반사성 경로를 통하여 그 tone의 감소를 일으켜 나타난다.

따라서 이상과 같이, 혈관에 작용하여 혈압하강작용을 일으킬 수 있는 생리현상을 기준으로 본 연구의 결과를 검토하여 보면, LDTEA의 혈압하강작용이 교감신경차단작용과 혈관내피에서 NO합성증가에 기인되는 혈관이완작용에 의해서 나타나는 것으로 생각된다. 그 이유는, 첫째, LDTEA은 정맥 내로 투여 시 즉각적인 혈압하강작용이 나타났다는 점, 둘째, LDTEA가 혈압상승을 아드레날린  $\alpha$ -수용체 작동제인 phenylephrine의 혈관수축반응을 억제하였다는 점, 셋째, 선택적으로 NO합성효소를 억제하는 L-NAME에 의해서 LDTEA의 혈관이완반응이 유의하게 감약되었다는 점, 그리고 넷째, LDTEA가 교감신경 아드레날린  $\alpha$ -수용체를 흥분시켜 혈압상승을 일으키는 norepinephrine의 혈압상승반응을 뚜렷이 억제하였다는 점 등을 들 수 있다. 이와 같은 결과로 추정해보면 LDTEA의 혈압하강작용이 교감신경 tone의 감소에 기인된 것으로 추정된다. 그러나, LDTEA의 혈압하강작용이 norepinephrine의 승압반응을 유의하게 억제한 점은 LDTEA의 혈압하강기전이 시냅스후 아드레날린  $\alpha_1$ -수용체 차단작용에 기인할 수 있음을 암시한다.

말초교감신경기능을 방해하는 약물 중에서  $\alpha$ -아드레날린수용체 차단제만이 epinephrine의 승압반응을 억제시킨다고 알려져 있다(Constantine 등, 1973). Epinephrine은 정상동물에 투여시  $\alpha$



수용체 작동제 작용이 우세하여 평균동맥압을 상승시킨다. 그러나,  $\alpha$ -수용체 차단제 존재 하에서 epinephrine의  $\beta_2$ 작동제 작용이 우세하여 동맥압의 하강이나 승압반응의 역전현상이 나타난다. 그러나 norepinephrine의 승압반응은 아드레날린  $\alpha$ -수용체에 의해서 억제되지만 역전되지 않으며(Freis 등, 1951), 그 이유는 norepinephrine은  $\beta_2$ 작동제 활성이 없기 때문이다(Ablad, 1975). 이와 같은 사실과 연계하여 보면, 본 연구에서 LDTEA의 혈압하강작용이 적어도 부분적으로 교감신경  $\alpha_1$ -수용체 차단작용에 기인할 수 있음을 암시한다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

#### 1. 1차년도: 100%

- 가. 여러 솔잎추출물을 제조하여 적출 관류부신수질에서 카테콜아민 분비에 대한 억제작용 검색
- 나. 약리작용의 효력에 따라서 유효성분추출을 위한 분획분리

#### 2. 2차년도: 100%

- 가. Methylene chloride와 ethylacetate 추출물을 분리하여 유효성분 분획분리
- 나. 솔잎추출물을 이용한 소화관 운동촉진작용 검색
- 다. Methylene chloride 추출물에서 Fr.4-5가 강력한 CA분비억제 확인
- 마. Fr.4-5가 강력한 CA분비작용 기전규명
- 라. Ethylacetate 추출물에서 강력한 CA분비억제 성분(Fr.2.7.1.9)분리하여 화학구조(12,14-labdantrien-18-oic acid) 규명

#### 3. 3차년도: 98%

- 가. 12,14-labdantrien-18-oic acid(LDTEA)의 CA분비억제작용 기전규명
- 나. 12,14-labdantrien-18-oic acid(LDTEA)의 혈관이완작용 기전규명
- 다. 12,14-labdantrien-18-oic acid(LDTEA)의 혈압하강작용 확인 및 기전규명
- 라. 솔잎관련 항고혈압작용 및 기전 정리완료
- 마. 연구결과에 대한 저널투고 준비 완료

### 2절 관련분야 기술발전 기여도

- 가. 기초의학적인 측면: 생활습관병, 즉 고혈압을 비롯한 심혈관질환의 치료에 있어서 솔잎추출물의 치료작용에 대한 새로운 작용기전을 제공할 것으로 기대된다.
- 나. 임상의학적인 측면: 생활습관병 특히, 고혈압, 심장질환 치료에서 솔잎의 임상적 응용에 대한 치료기전적인 측면에서 중요한 의학 정보를 제공할 것으로 사료된다.

다. 산업경제 측면: 새로운 작용기전을 가진 솔잎추출물의 보다 더 정제된 유효성분Fr.4-5와 12,14-labdantrien-18-oic acid(LDTEA)가 분리됨으로서 한국산 천연자원으로부터 새로운 항고혈압제의 개발이라는 측면에서 중요한 자료가 될 것으로 기대된다. 또한 이로 인해서 새로운 신약개발이 유도되어 최근 우리나라에서 매년 심각하게 증가하는 순환기계 질환치료에 획기적인 전기가 마련됨으로서 국민보건 향상에도 크게 기여 할 것으로 생각된다.

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### 1절 실용화 및 산업화 계획(기술실시 등)

1. 자원이 풍부한 한국산 솔잎자원으로부터 유효성분 추출의 대량생산 추진
2. 유효성분에 대한 신약개발차원의 보다 광범위한 기초연구추진
3. 제약산업과 공동연구추진

### 2절 교육·지도·홍보 등 기술확산 계획

1. 유효한 생리활성 및 약리작용을 홍보하여 솔잎시료로 건강음료제조 추진
2. 건강음료제조와 함께 판매확산을 위한 기업홍보추진 및 교육

### 3절 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획

1. 특허 : 규명된 솔잎의 약리작용을 기반으로 솔잎의 약효 특허 출원 준비
2. 논문:
  - SCI 투고 준비
    - 가. LDTEA의 CA분비억제작용 및 기전
    - 나. LDTEA의 혈관이완작용 및 기전
  - KCI 투고 준비
    - 가. 솔잎 Fr.2의 CA분비억제작용 및 기전
    - 나. 솔잎추출물의 CA분비억제작용 비교 연구

### 4절 추가연구, 타연구에 활용 계획

1. LDTEA의 대량 시료 확보 시 다양한 실험동물을 이용하여 약리작용 규명시도
2. 신약개발주도할 제약회사와 공동연구 추진 시도

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. Hsu 등(2005): 솔잎추출물이 superoxide를 제거하며 백혈구세포U937의 성장을 억제한다고 보고하였다.
2. Rohdewald (2002); Schafer 등(2005); Tourino 등(2005): 솔껍질 추출물은 약리적 항산화작용, 항증식효과 및 항염증작용을 나타낸다고 하였다.
3. Yen 등(2008): 솔잎 ethyl acetate 추출물(EAE-PN)이 염증부위에서 과도한 NO생산을 감소시키고, LDL산화에 대한 보호작용을 나타내며, 이와 같은 작용이 EAE-PN의 항죽상경화 및 항염증작용에 기여한다고 보고하였다.
4. Fitzpatrick 등(1998): 솔수피엑기스가 *in vitro*에서 산화질소(NO)생성을 촉진시켜 흰쥐 적출 대동맥편에서 adrenaline이나 noradrenaline의 혈관수축작용을 상쇄시킨다고 하였다.

## 제 7 장 연구시설·장비 현황

\* 도입·개발한 연구시설·장비 현황 및 국가과학기술종합정보시스템 장비 등록번호를 기술

연구시설·장비명	취득일자	연구시설·장비 활용용도	설치장소	국가과학기술지식정보시스템 등록번호
Luminescence Spectrometer (LS-45)	2013.07.15	혈행개선 및 항고혈압작용을 갖는 천연 성분에 대한 생리활성검색	자율신경약리학실	

## 제 8 장 참고문헌

- Ablad, B., Borg, K.O., Carlsson, E., Johnson, G., Malmfors, L., Regardh, C.G. A survey of the pharmacological properties of metoprolol in animals and man. *Acta Pharmacol Toxicol(Copenh)*. 36(5): 7-23 (1975).
- Amy, C., Kirshner, N.  $^{22}\text{Na}^+$  uptake and catecholamine secretion by primary cultures of adrenal medulla cells. *J Neurochem*. 39(1): 132-142 (1982).
- Andriambelason, E., Magnier, C., Haan-Archipoff, G., Lobstein, A., Anton, R., Beretz, A., Stoclet, J.C., Andriantsitohaina, R. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta. *J Nutr*. 128: 324-2333 (1998).
- Andriambelason, E., Stoclet, J.C., Andriantsitohaina, R. Mechanism of endothelial nitric oxide-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat thoracic aorta. *J Cardiovasc Pharmacol*. 33: 248-254 (1999).
- Andriambelason, E., Kleschyov, A.L., Muller, B., Beretz, A., Stoclet J.C., Andriantsitohaina, R. Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. *Br J Pharmacol*. 120: 1053-1058 (1997).
- Anton, A.H., Sayre, D.F. A study of the factors affecting the aluminum oxide trihydroxy indole procedure for the analysis of catecholamines. *J Pharmacol Exp Ther*. 138: 360-375 (1962).
- Benito, S., Lopez, D., Saiz, M.P., Buxaderas, S., Sanchez, J., Puig-Parellada, P., Mitjavila, M.T. A flavonoid-rich diet increases nitric oxide production in rat aorta. *Br J Pharmacol*. 135(4): 910-916 (2002).
- Bevan, J.A. Selective action of diltiazem on cerebral vascular smooth muscle in the rabbit: antagonism of extrinsic but not intrinsic maintained tone. *Am J Cardiol*. 46: 519-524 (1982).
- Bolton, T.M., Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev*. 3: 606-718 (1979).
- Bönisch, H., Graefe, K.H., Keller, B. Tetrodotoxin-sensitive and -resistant effects of veratridine on the noradrenergic neurone of the rat vas deferens. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 324(4): 264-270 (1983).

- Breslow, M.J., Tobin, J.R., Brecht, D.S., Ferris, C.D., Snyder, S.H., Traystman, R.J. Nitric oxide as a regulator of adrenal blood flow. *Am J Physiol.* 264(Heart Circ Physiol 33): H464-H469 (1993).
- Breslow, M.J., Tobin, J.R., Brecht, D.S., Ferris, C.D., Snyder, S.H., Traystman, R.J. Role of nitric oxide in adrenal medullary vasodilation during catecholamine secretion. *Eur J Pharmacol.* 210: 105-106 (1992).
- Burgoyne, R.D. Mechanism of secretion from adrenal chromaffin cells. *Biochem Biophys Acta.* 779: 201-216 (1984).
- Castelli, F., Trombetta, D., Tomaino, A., Bonina, F., Romeo, G., Uccella, N., Saija, A. Dipalmitoyl phosphatidyl choline/linoleic acid mixed unilamellar vesicles as model membranes for studies on novel free-radical scavengers. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 37(3): 135-141 (1997).
- Catterall, W.A., Coppersmith, J. Pharmacological properties of sodium channels in cultured rat heart cells. *Mol Pharmacol.* 20(3): 533-542 (1981).
- Ceña, V., Nicolas, G.P., Sanchez-Garcia, P., Kirpekar, S.M., Garcia, A.G. Pharmacological dissection of receptor-associated and voltage-sensitive ionic channels involved in catecholamine release. *neuroscience* 10(4): 1455-1462 (1983).
- Challiss, R.A.J., Jones, J.A., Owen, P.J., Boarder, M.R. Changes in inositol 1,4,5-trisphosphate and inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate mass accumulations in cultured adrenal chromaffin cells in response to bradykinin and histamine. *J Neurochem.* 56: 1083-1086 (1991).
- Cheek, T.R., O'Sullivan, A.J., Moreton, R.B., Berridge, M.J., Burgoyne, R.D. Spatial localization of the stimulus-induced rise in cytosolic Ca<sup>2+</sup> in bovine adrenal chromaffin cells: Distinct nicotinic and muscarinic patterns. *FEBS Lett.* 247: 429-434 (1989).
- Chen, C.K., Pace-Asciak, C.R. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen Pharmacol.* 27(2): 363-366 (1996).
- Cheong, H., Paudyal, D.P., Jun, J.Y., Yeum, C.H., Yoon, P.J., Park, C.G., Kim, M.Y., So, I., Kim, K.W., Choi, S. Effects of pine needle extract on pacemaker currents in interstitial cells of Cajal from the murine small intestine. *Mol Cells* 20(2): 235-240 (2005).



- Cheong, H.S., Lim, D.Y. Pine needle extracts inhibit contractile responses of the isolated rat aortic strips. *Natural Product Sciences* 16: 123-132 (2010).
- Chung, Y.J., Bae, M.W., Choung, M.I., Lee, J.S., Chung, K.S. Cytotoxic effect of the distilled pine-needle extracts on several cancer cell lines in vitro. *J Korean Soc FoodSci Nutr.* 31: 691-695 (2002).
- Constantine, J.W., Mcshane, W.K., Scriabine, A., Hess, H.J. Analysis of the hypotensive action of prazosin. In *Hypertension: Mechanisms and Management*, ed. by Onesti, G., Kim, K.E., Moyer, J.H., NewYork: Grune&StrattonInc. pp.429 (1973).
- Demrow, H.S., Slane, P.R. Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 91: 1182-1188 (1995).
- Diebolt, M., Bucher, B., Andriantsitohaina, R. Wine polyphenols decrease blood pressure, improve NO vasodilatation, and induce gene expression. *Hypertension* 38: 159-165 (2001).
- Dixon, Wr., Garcia, A.G., Kirkekar, S.M. Release of catecholamines and dopamine-beta-hydroxylase from the rat adrenal gland of the cat. *J Physiol.* 244: 805-824 (1975).
- Douglas, W.W. Stimulus-secretion coupling: The concept and clues from chromaffin and other cells. *Br J Pharmacol.* 34: 451-474 (1968).
- Dube, G.P., Baik, Y.H., Schwartz, A. Effects of novel calcium channel agonist dihydropyridine analogue, Bay K 9644, on pig coronary artery: Biphasic mechanical response and paradoxical potentiation of contraction by diltiazem and nimodipine. *J Cardiovasc Pharmacol.* 7: 377-389 (1985).
- Dube, G.P., Baik, Y.H., Van Breemen, C., Schwartz, A. Effects of isosorbide dinitrate and diltiazem on Ca<sup>2+</sup> flux and contraction in artery. *European J Pharmacol.* 145: 39-47 (1988).
- El-Mowafy, A.M. Resveratrol activates membrane-bound guanylyl cyclase in coronary arterial smooth muscle: a novel signaling mechanism in support of coronary protection. *Biochem Biophys Res Commun.* 291(5): 1218-1224 (2002).
- Fisher, S.K., Holz, R.W., Agranoff, B.W. Muscarinic receptors in chromaffin cell culture mediate enhanced phospholipid labeling but not catecholamine secretion. *J Neurochem.* 37: 491-487 (1981).

- Fitzpatrick, D.F., Bing, B., and Rohdewald, P., Endothelium-dependent vascular effects of Pycnogenol®. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 32, 509 - 515 (1998).
- Fitzpatrick, D. F., Fleming, R. C., Bing, B., Maggi D. A., and O'Malley, R., Isolation and characterization of endothelium-dependent vasorelaxing compounds from grape seeds. *J. Agric. Food. Chem.*, 48(12), 6384-6390 (2000).
- Fitzpatrick, D. F., Hirschfield, S. L., and Coffey, R. G., Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am. J. Physiol.*, 265, H77-78 (1993).
- Fitzpatrick, D. F., Hirschfield, S. L., Ricci, T., Jantzen, P., and Coffey, R. G., Endothelium-dependent vasorelaxation caused by diverse plant extracts. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 26(1), 9095 (1995).
- Fleckenstein, A., Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17, 149-166 (1977).
- Flesch, M., Schwarz, A., and Bolun, M., Effects of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries. *Am. J. Physiol.*, 275(4Pt2), H1183-H1190 (1998).
- Flögel, U., Decking, U. K., Gödecke, A., Schrader, J., Contribution of NO to ischemia-reperfusion injury in the saline-perfused heart: a study in endothelial NO synthase knockout mice. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 31(4), 827-836 (1999).
- Frankel, E. N., Waterhouse, A. L., and Kinsella, J. E., Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet*, 341, 1103-1104 (1993).
- Freis, E.E., Mackey, J.D., Oliver, W.F., The effect of "sympatholytic" drugs on the cardiovascular responses to epinephrine and norepinephrine in man. *Cir Res* 3:254 (1951).
- Gaziano JM, Buring JE, Breslow JL, Goldhaber SZ, Rosner B, VanDenburgh M, Willett W, Hennekens CH. Moderate alcohol intake, increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions, and decreased risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 329(25):1829-1834 (1993).
- Garcia, A. G., Sala, F., Reig, J. A., Viniegra, S., Frias, J., Fonteriz, R., and Gandia, L., Dihydropyridine Bay-K-8644 activates chromaffin cell calcium channels. *Nature*, 309, 69-71 (1984).
- German, J. B., and Walzem, R. L., The health benefits of wine. *Annu. Rev. Nutr.*, 20, 561-593 (2000).
- Goeger, D. E., and Riley, R. T., Interaction of cyclopiazonic acid with rat skeletal muscle

- sarcoplasmic reticulum vesicles. Effect on Ca<sup>2+</sup> binding and Ca<sup>2+</sup> permeability. *Biochem.Pharmacol.*,38,3995-4003(1989).
- Hano, T., Mizukoshi, M., Baba, A., Nakamura, N., Nishio, I. Angiotensin II subtype 1 receptor modulates epinephrine release from isolated rat adrenal gland. *Blood Press.* 5: S105-108 (1994).
- Hashimoto, M., Kim, S., Eto, M., Iijima, K., Ako, J., Yoshizumi, M., Akishita, M., Kondo, K., Itakura, H., Hosoda, K., Toba, K., Ouchi, Y. Effect of acute intake of red wine on flow-mediated vasodilatation of the brachial artery. *Am J Cardiol.* 88: 1457-1460 (2001).
- Hattori, R., Otani, H., Maulik, N., Das, D.K. Pharmacological preconditioning with resveratrol: role of nitric oxide. *Am J Physiol HeartCirc Physiol.* 282(6): H1988-1995 (2002).
- Hodgson, J.M., Puddey, I.B., Byrke, V., Beilin, L.J. Jordan N: Effects on blood pressure of drinking green and black tea. *J Hypert.* 17: 457-463 (1999).
- Hodgson, J.M., Puddey, I.B., Burke, V., Watts, G.F., Beilin, L.J. Regular ingestion of black tea improves brachial artery vasodilator function. *Clin Sci.(Lond)* 102(2): 195-201 (2002).
- Hsu, T.Y., Sheu, S.C., Liaw, E.T., Wang, T.C., Lin, C.C. Antioxidant activity and effect of *Pinus morrissonicola* Hay. on the survival of leukemia cell line U937. *Phytomedicine* 12: 663 - 669 (2005).
- Huang, Y., Chan, N.W.K., Lau, C.W., Yao, X.Q., Chan, F.L., Chen, Z.Y. Involvement of endothelium/nitric oxide in vasorelaxation induced by purified green tea (-) epicatechin. *Biochim Biophys Acta.* 1427: 322-328 (1999).
- Huang, Y., Zhang, A.Q., Lau, C.W., Chen, Z.Y. Vasorelaxant effect of purified green tea epicatechin derivatives in rat mes-enteric artery. *Life Sci.* 63: 275-283 (1998).
- Iino, M. Calcium-induced calcium release mechanism in guinea pig taenia caeci. *J Gen Physiol.* 94: 363-383 (1989).
- Imai, S., Kitagawa, T. A comparison of the differential effects of nitroglycerin, nifedipine, and papaverine on contractures induced in vascular and intestinal smooth muscle by potassium and lanthanum. *Jap J Pharmacol.* 31: 193-199 (1981).
- Inoue, R., Chen, S. Physiology of muscarinic receptor-operated nonselective cation channels in guinea-pig ileal smooth muscle. *EXS.* 66: 261 - 268 (1993).

- Ito, Y., Kitamura, K., Kuriyama, H. Actions of nitroglycerin on the membrane and mechanical properties of smooth muscles of the coronary artery of the pig. *Br J Pharmacol.* 70: 197-202 (1980a).
- Ito, Y., Kitamura, K., Kuriyama, H. Nitroglycerin and catecholamine actions on smooth muscle cells of canine coronary artery. *J Physiol(London).* 309: 171-183 (1980b).
- Kee, Y.W., Lim, D.Y. Influence of polyphenolic compounds isolated from *Rubus coreanum* on catecholamine release in the rat adrenal medulla. *Arch Pharm Res.* 30(10): 1240-1251 (2007).
- Kidokoro, Y., Ritchie, A.K. Chromaffin cell action potentials and their possible role in adrenaline secretion from rat adrenal medulla. *J Physiol.* 307: 199-216 (1980).
- Kilpatrick, D.L., Slepetis, R.J., Corcoran, J.J., Kirshner, N. Calcium uptake and catecholamine secretion by cultured bovine adrenal medulla cells. *J Neurochem.* 38: 427-435 (1982).
- Kilpatrick, D.L., Slepetis, R.J., Kirshner, N. Ion channels and membrane potential in stimulus-secretion coupling in adrenal medulla cells. *J Neurochem.* 36: 1245-1255 (1981).
- Kim, K.Y., Chung, H.J. Flavor compounds of pine sprout tea and pine needle tea. *J Agric Food Chem.* 48: 1269 - 1272 (2000).
- Kim, J.M., Park, K.O., Baik, Y.H. Effects of antiepileptic drugs on contractile responses of vascular smooth muscles. *Chonnam J Med Sci.* 2(1): 50-59 (1989).
- Knight, D.E., Kesteven, N.T. Evoked transient intracellular free Ca<sup>2+</sup> changes and secretion in isolated bovine adrenal medullary cells. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 218: 177-199 (1983).
- Leikert, J.F., Rathel, T.R., Wohlfart, P., Cheynier, V., Vollmar, A.M., Dirsch, V.M. Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide release from endothelial cells. *Circulation* 106: 1614-1617 (2002).
- Lim, D.Y. Comparison of Green Tea Extract and Epigallocatechin Gallate on Secretion of Catecholamines from the Rabbit Adrenal Medulla. *Arch.Pharm.Res.*,28(8),914-922(2005).
- Lim, D.Y., Hwang, D.H. Studies on secretion of catecholamines evoked by DMPP and McN-A-343 in the rat adrenal gland. *Korean J Pharmacol.* 27(1): 53-67 (1991).
- Lim, D.Y., Kim, C.D. Ahn, K.W. Influence of TMB-8 on secretion of catecholamines from the perfused rat adrenal glands. *Arch Pharm Res.* 15(2): 115-125 (1992).
- Lim, D.Y., Park, H.G., Lee, B.R. Green Tea Extract, not Epigallocatechin gallate Inhibits

- Catecholamine Release From the Rat Adrenal Medulla. *J Applied Pharmacol.* 11(1): 33-40 (2003).
- Lim, D.Y. PCRC inhibits catecholamine secretion from adrenal medulla of SHR. The 31<sup>st</sup> Annual Scientific Meeting of JSH 2008 Program and Abstracts pp.424 (2008).
- De Lorgeril, M., Salen, P., Martin, J.L., Mamelle, N., Monjaud, I., Touboul, P., Delaye, J. Effect of a mediterranean type of diet on the rate of cardiovascular complications in patients with coronary artery disease. Insights into the cardioprotective effect of certain nutriments. *J Am Coll Cardiol.* 28(5): 1103-1108 (1996).
- Marley, P.D., McLeod, J., Anderson, C., Thomson, K.A. Nerves containing nitric oxide synthase and their possible function in the control of catecholamine secretion in the bovine adrenal medulla. *J Auton Nerv Syst.* 54: 184-194 (1995).
- Mizutani, K., Ikeda, K., Kawai, Y., Yamori, Y. Extract of wine phenolics improves aortic biomechanical properties in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP). *J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo).* 45(1): 95-106 (1999).
- Naderali, E.K., Smith, S.L., Doyle, P.J., Williams, G. The mechanism of resveratrol-induced vasorelaxation differs in the mesenteric resistance arteries of lean and obese rats. *Clin Sci(Lond).* 100(1): 55-60 (2001).
- Nakazato, Y., Ohga, A., Oleshansky, M., Tomita, U., Yamada, Y. Voltage-independent catecholamine release mediated by the activation of muscarinic receptors in guinea-pig adrenal glands. *Br J Pharmacol.* 93: 101-109 (1988).
- Oka, M., Isosaki, M., Yanagihara, N. Isolated bovine adrenal medullary cells: studies on regulation of catecholamine synthesis and release, In Usdin, E., Kopin, I.J., Brachas, J. (Eds.). *Catecholamines: Basic and Clinical frontiers.* Pergamon Press, Oxford pp.70-72 (1979).
- Olsson, C., Holmgren, S. The control of gut motility. *Comp Biochem Physiol.* 128: 481-503 (2001).
- Oset-Gasque, M.J., Parramon, M., Hortelano, S., Bosca, L., Gonzalez, M.P. Nitric oxide implication in the control of neurosecretion by chromaffin cells. *J Neurochem.* 63: 1693-1700 (1994).
- O'Sullivan, A.J., Burgoyne, R.D. Cyclic GMP regulates nicotine-induced secretion from cultured bovine adrenal chromaffin cells: effects of 8-bromo-cyclic GMP, atrial natriuretic peptide, and nitroprusside (nitric oxide). *J Neurochem.* 54: 1805-1808 (1990).

- Pace-Asciak, C.R., Hahn, S.E., Diamandis, E.P., Soleas, G., Goldberg, D.M. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta.* 235: 207-219 (1995).
- Palacios, M., Knowles, R.G., Palmer, R.M., Moncada, S. Nitric oxide from L-arginine stimulates the soluble guanylate cyclase in adrenal glands. *Biochem Biophys Res Commun.* 165: 802-809 (1989).
- Palmer, R.M., Ashton, D.S., Moncada, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333: 664-666 (1988).
- Park, C.S., Kwon, C.J., Choi, M.A., Park, G.S., Choi, K.H. Antioxidative and nitrite scavenging activities of mugwort and pine needle extracts. *Korean J Food Pres.* 9: 248-252 (2002).
- Pérez-Vizcaíno, F., Ibarra, M., Cogolludo, A.L., Duarte, J., Zaragoza-Arnáez, F., Moreno, L., López-López, G., Tamargo, J. Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance and resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther.* 302(1): 66-72 (2002).
- Ray, P S., Maulik, G., Cordis, G.A., Bertelli, A.A., Bertelli, A., Das, D.K. The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury. *Free Radic Biol Med.* 27: 160-169 (1999).
- Renaud, S., de Lorgeril, M. Wine alcohol, platelet and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet.* 339: 1523-1526 (1992).
- Rodríguez-Pascual, F., Miras-Portugal, M.T., Torres, M. Effect of cyclic GMP-increasing agents nitric oxide and C-type natriuretic peptide on bovine chromaffin cell function: inhibitory role mediated by cyclic GMP-dependent protein kinase. *Mol Pharmacol.* 49: 1058-1070 (1996).
- Rohdewald, P. A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol®), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Intern J Clin Pharmacol Ther.* 40(4): 158 - 168 (2002).
- Rotondo, S., Rajtar, G., Manarinis, S. Effect of trans-resveratrol, a natural polyphenolic compound, on human polymorphonuclear leukocyte function. *Br J Pharmacol.* 123: 1691-1699 (1998).
- Sakuma, I., Stuehr, D.J., Gross, S.S., Nathan, C., Levi, R. Identification of arginine as a precursor

- of endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 85: 8664-8667 (1988).
- Sanders, K.M. G protein-coupled receptors in gastrointestinal physiology. IV. Neural regulation of gastrointestinal smooth muscle. *Am J Physiol*. 275: G1 - G7 (1998).
- Schäfer, A., Chovanová, Z., Muchová, J., Sumegová, K., Liptáková, A., Ďuračková, Z., Högger, P. Inhibition of COX-1 and COX-2 activity by plasma of human volunteers after ingestion of French maritime pine bark extract (Pycnogenol). *Biomed Pharmacother*. 60: 5 - 9 (2005).
- Schramm, M., Thomas, G., Towart, R., Franckowiak, G. Novel dihydropyridines with positive inotropic action through activation of Ca<sup>2+</sup> channels. *Nature* 303: 535-537 (1983).
- Schwartz, A., Taira, N. Calcium channel-blocking drugs: A novel intervention for the treatment of cardiac disease. *Circ Res*.(American Heart association Monograph) 52: 1-183 (1983).
- Schwartz, A., Triggle, D.J. Cellular action of calcium blocking drugs. *Ann Rev Med*. 35: 325-339 (1984).
- Schwarz, P.M., Rodriguez-Pascual, F., Koesling, D., Torres, M., Förstermann, U. Functional coupling of nitric oxide synthase and soluble guanylyl cyclase in controlling catecholamine secretion from bovine chromaffin cells. *Neuroscience* 82: 255-265 (1998).
- Seidler, N.W., Jona, I., Vegh, N., Martonosi, A. Cyclopiazonic acid is a specific inhibitor of the Ca<sup>2+</sup>-ATPase of sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem*. 264: 17816-17823 (1989).
- Shimada, K., Watanabe, H., Hosoda, K., Takeuchi, K., Yoshikawa, J. Effect of red wine on coronary flow-velocity reserve. *Lancet*. 354: 1002 (1999).
- Sihra, T.S., Scott, I.G., Nicholls, D.G. Ionophore A23187, verapamil, protonophores, and veratridine influence the release of gamma-aminobutyric acid from synaptosomes by modulation of the plasma membrane potential rather than the cytosolic calcium. *J Neurochem*. 43(6): 1624-1630 (1984).
- Soares De Moura, R., Costa Viana, F.S., Souza, M.A., Kovary, K., Guedes, D.C., Oliveira, E.P., Rubenich, L.M., Carvalho, L.C., Oliveira, R.M., Tano, T., Gusmao Correia, M.L. Antihypertensive, vasodilator and antioxidant effects of a vinifera grape skin extract. *J Pharm Pharmacol*. 54(11): 1515-1520 (2002).
- Sorimachi, M., Yoshida, K. Exocytotic release of catecholamines and

- dopamine= $\beta$ -hydroxylase from the perfused adrenal gland of the rabbit and cat. *Br J Pharmacol.* 65(1): 117-125 (1979).
- Stein, J.H., Keevil, J.G., Wiebe, D.A., Aeschlimann, S., Folts, J.D. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation* 100(10): 1050-1055 (1999).
- Suzuki, M., Muraki, K., Imaizumi, Y., Watanabe, M. Cyclopiazonic acid, an inhibitor of the sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -pump, reduces  $Ca^{2+}$ -dependent  $K^+$  currents in guinea-pig smooth muscle cells. *Br J Pharmacol.* 107: 134-140 (1992).
- Tallarida, R.J., Murray, R.B. Manual of pharmacologic calculation with computer programs. 2nd Ed. New York, Springer-Verlag, pp.132 (1987).
- Torres, M., Ceballos, G., Rubio, R. Possible role of nitric oxide in catecholamine secretion by chromaffin cells in the presence and absence of cultured endothelial cells. *J Neurochem.* 63: 988-996 (1994).
- Touriño, T., Selga, A., Jiménez, A., Juliá, L., Lozano, C., Lizárraga, D., Cascante, M., Torres, J.L. Procyanidin fractions from pine (*Pinus pinaster*) bark: radical scavenging power in solution, antioxidant activity in emulsion, and antiproliferative effect in melanoma cells. *J Agric Food Chem.* 53: 4728 - 4735 (2005).
- Uchiyama, Y., Morita, K., Kitayama, S., Suemitsu, T., Minami, N., Miyasako, T., Dohi, T. Possible involvement of nitric oxide in acetylcholine-induced increase of intracellular  $Ca^{2+}$  concentration and catecholamine release in bovine adrenal chromaffin cells. *Jpn J Pharmacol.* 65(1): 73-77 (1994).
- Uyama, Y., Imaizumi, Y., Watanabe, M. Effects of cyclopiazonic acid, a novel  $Ca^{2+}$ -ATPase inhibitor on contractile responses in skinned ileal smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 106, 208-214 (1992).
- Viveros, O.H. Mechanism of secretion of catecholamines from adrenal medulla, In handbook of physiology, Endocrinology, Vol VI. Sect 7. The adrenal gland. American physiological society, Washington DC. pp. 389-426 (1975).
- Wada, Y., Satoh, K., and Taira, N., Cardiovascular profile of Bay-K-8644, a presumed calcium channel activator in the dog. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 328, 382-387 (1985a).
- Wada, A., Takara, H., Izumi, F., Kobayashi, H., Yanagihara, N. Influx of  $^{22}Na$  through



- acetylcholine receptor-associated Na channels: relationship between  $^{22}\text{Na}$  influx,  $^{45}\text{Ca}$  influx and secretion of catecholamines in cultured bovine adrenal medullary cells. *Neuroscience* 15: 283–292 (1985b).
- Wakade, A. R., Wakade, T. D., Contribution of nicotinic and muscarinic receptors in the secretion of catecholamines evoked by endogenous and exogenous acetylcholine. *Neuroscience* 10: 973–978 (1983).
- Wallerath, T., Deckert, G., Ternes, T., Anderson, H., Li, H., Witte, K., Forstermann, U. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 106: 1652–1658 (2002).
- Ward, S.M., Ordog, T., Koh, S.D., Baker, S.A., Jun, J.Y., Amberg, G., Monaghan, K., Sanders, K.M. Pacemaking in interstitial cells of Cajal depends upon calcium handling by endoplasmic reticulum and mitochondria. *J Physiol.* 525: 355 - 361 (2002).
- Watkins, R.W., Davidson, I.W.F. Comparative effects of nitroprusside and nitroglycerin: Actions on phasic and tonic components of arterial smooth muscle contraction. *European J Pharmacol.* 62: 191–200 (1980).
- Yanagihara, N., Isosaki, M., Ohuchi, T., Oka, M. Muscarinic receptor-mediated increase in cyclic GMP level in isolated bovine adrenal medullary cells. *FEBS Lett.* 105: 296–298 (1979).
- Yen, G.C., Duh, P.D., Huang, D.W., Hsu, C.L., Fu, T.U.C. Protective effect of pine(*Pinus morrisonicola* Hay.) needle on LDL oxidation and its anti-inflammatory action by modulation of iNOS and COX-2 expression in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. *Food Chem Toxicol.* 46(1): 175–185 (2008).
- Yokoo, H., Shiraishi, S., Kobayashi, H., Yanagita, T., Yamamoto, R., Wada, A. Selective inhibition by riluzole of voltage-dependent sodium channels and catecholamine secretion in adrenal chromaffin cells. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 357(5): 526–531 (1998).
- Yokozawa, T., Oura, H., Sakanaka, S., Ishigaki, S., Kim, M. Depressor effect of tannin in green tea on rats with renal hypertension. *Biosci Biotech Biochem.* 58: 855–858 (1994).
- Zenebe, W., Pecháðová, O., Andriantsitohaina, R. Red wine polyphenols induce vasorelaxation by increased nitric oxide bioactivity. *Physiol Res.* 52: 425–432 (2003).

Zou, J.G., Wang, Z.R., Huang, Y.Z., Cao, K.J., Wu, J.M. Effect of red wine and wine polyphenol resveratrol on endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Mol Med.* 11:317-320 (2003).

## 2-1 세부과제

### 요 약 문

#### I. 제 목

1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성 질환개선 효과 규명

#### II. 연구개발의 목적 및 필요성(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성 질환개선 효과 규명

##### 가. 연구개발의 목적

솔잎추출물의 기능성에 기초하여 반응표면분석을 이용하여 솔잎추출물이 첨가된 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡 제품을 개발하고, 고지혈증, 비만 및 당뇨 동물모델과 고혈압 모델 인체중재연구를 통해 그 효능을 규명하여, 솔잎추출물을 포함한 기능성 떡류 가공식품 개발에 활용하고자 함

##### 나. 연구개발의 필요성

솔잎(Pinus densiflora sieb, et zucc)은 한방 또는 민간요법으로 동맥경화증, 고혈압, 당뇨병, 신경통 등의 노화 관련 질환 예방과 성인병 치료에 이용하여 왔음. 솔잎의 항산화 성분을 바탕으로 솔잎 추출물의 항균, 항암, 항산화, 항고혈압, 항당뇨, 항비만 및 지질강하 효과 등이 수행되었으며, 솔잎을 식품에 응용한 연구로는 솔잎분말을 첨가한 밀가루 반죽, 냉동쿠키, 케이크, 국수 등이 보고된 바 있으나, 대사증후군을 개선하는 식품을 개발하고 이의 복합적인 효능을 *in vitro* 기능성 뿐만 아니라 동물실험 및 임상연구를 통해 분석한 연구는 수행된 바 없음. 또한 대사증후군 개선에 효과를 나타낼 수 있는 항산화 영양소가 풍부한 솔잎추출액을 첨가한 한국인의 실정에 맞는 기능성 식품 개발은 미비한 실정임. 따라서, 본 연구에서 편리하게 휴대하면서 이용할 수 있고, 가격부담이 적은 대사증후군 개선 효능을 가진 기능성 떡을 개발하는 것은 새로운 건강기능식품 시장의 개척이라는 측면에서 효과적인 접근이 될 것임.

#### III. 연구개발 내용 및 범위(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성 질환개선 효과 규명

본 연구는 1차 년도에 반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡 제품을 개발하고 동물모델을 이용하여 개발된 기능성 떡제품의 대사성질환(고지혈증) 개선 효능을 검증하기 위하여 1) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 *in vitro* 기능성 분석, 2) 반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발, 3) 고지혈증 동물 모델을 이용하

여 기능성 떡의 지질개선 효능 검증을 수행하고, 2차 년도에 동물모델을 이용하여 1차년도에 개발된 기능성 떡 제품의 대사성질환(비만, 당뇨) 억제 효능을 검증하기 위하여 1) 비만 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 체중감소 및 지질개선 효능 검증, 2) 당뇨 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 대사증후군 억제 효능 검증을 수행하고, 3차 년도에 인체중재실험을 통해 솔잎착즙분말의 섭취가 혈압조절에 미치는 영향을 분석함.

#### 가. 1차 년도

##### (1) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 *in vitro* 기능성 분석

(가) 연구내용 : 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡 개발을 위한 기초연구로서 솔잎액과 솔잎발효액의 항산화, 항당뇨, 항고혈압 및 항유전독성을 평가함

(나) 연구항목 : 총 페놀함량, 항산화활성(DPPH 라디칼 소거활성, 총 항산화능, ORAC value, 세포내 ROS 소거능), 항당뇨활성( $\alpha$ -glucosidase 억제능), 항고혈압활성(ACE 저해능), 항유전독성(DNA 손상 보호능)

##### (2) 반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발

(가) 연구내용 : 반응표면분석을 통해 기능성 떡에 첨가되는 쌀가루, 당류 및 솔잎착즙액의 최적배합비를 개발하기 위해 항고혈압활성, 항산화활성, 항당뇨활성을 대표하는 ACE 저해능, ORAC value,  $\alpha$ -glucosidase 억제능을 측정하고 최적 혼합 조건을 선정한 후 개발된 기능성 떡의 기능성을 평가함

(나) 연구항목 : 반응표면분석을 통한 기능성 떡의 최적배합비 개발(쌀가루, 당류, 솔잎착즙액 혼합시료의 ACE 저해능, ORAC value,  $\alpha$ -glucosidase 억제능), 최적 혼합 조건 선정, 기능성 떡의 제조 및 효능 분석

##### (3) 고지혈증 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 지질개선 효능 검증

(가) 연구내용 : 실험동물에 4주간 고지방식이를 제공하여 고지혈증을 유도한 동물모델에서 고지혈증 유도군을 다시 고지혈증유도군, 일반설기떡(쌀가루 55.3%, 설탕 8.7%, 소금 0.6%)군, 솔잎설기떡(쌀가루 54.1%, 설탕 8.5%, 소금 0.6%, 솔잎착즙액3.1%)군으로 나누어 6주간 실험식이를 공급하고, 솔잎착즙액이 첨가된 기능성 떡(솔잎설기떡)의 섭취가 지질관련 대사에 미치는 영향을 분석함

(나) 연구항목 : 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율, 장기무게, 지방조직무게, 생화학적 지표(혈장 지질농도, 간독성 지표), 간조직 및 분변의 지질함량, 혈액 항산화 지표(혈장 총 항산화능, 적혈구내 항산화 효소활성(catalase, GSH-Px, SOD), 과산화지질 지표(conjugated diene(CD), 혈장 TBARS), 간조직의 항산화 및 과산화지질 지표(항산화 지표(catalase, GSH-Px, Cu,Zn-SOD, Mn-SOD), TBARS), 항유전독성(DNA 손상 보호능), 지질대사 관련 유전자 발현

#### 나. 2차 년도

##### (1) 비만 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 체중감소 및 지질개선 효능 검증

(가) 연구내용 : 실험동물에 4주간 고지방식이를 제공하여 비만을 유도한 동물모델에서 비만유도군을 다시 비만유도군, 설기떡 조성물(쌀가루 10.9%, 설탕 2.33%, 소금 0.16%)군, 솔잎설기떡 조성물(쌀가루 10.66%, 설탕 2.28%, 소금 0.16%, 솔잎 착즙액 6.1%)군으로 나누어 9주간 실험

식을 공급하고, 솔잎착즙액이 첨가된 기능성 떡(솔잎설기떡)의 섭취가 체중감소 및 지질관련 대사에 미치는 영향을 분석함

(나) 연구항목 : 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율, 체중변화, 장기무게, 지방조직무게, 지방조직의 지방세포크기, 혈장 및 간의 지질농도, 간독성지표, 혈장 adipocytokine, 혈액 및 간조직의 항산화지표(혈장 항산화 지표(ORAC value, 혈장 총 항산화능), 과산화지질지표(conjugated diene(CD), 혈장 TBARs), 적혈구내 항산화 효소활성(catalase, GSH-Px, SOD), 간조직의 항산화 지표(catalase, GSH-Px, Cu,Zn-SOD, Mn-SOD), 항유전독성(백혈구 DNA 손상도)

(2) 당뇨 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 대사증후군 억제 효능 검증

(가) 연구내용 : 실험동물에 streptozotocin과 nicotinamide를 투여하여 공복혈당 농도가 160 mg/dL 이상으로 당뇨가 유도된 동물모델을 당뇨군, 일반설기떡(쌀가루 55.3%, 설탕 8.7%, 소금 0.6%)군, 솔잎설기떡(쌀가루 54.1%, 설탕 8.5%, 소금 0.6%, 솔잎착즙액3.1%)군으로 나누어 10주간 실험식을 공급하고, 솔잎착즙액이 첨가된 기능성 떡(솔잎설기떡)의 섭취가 당뇨관련 대사에 미치는 영향을 분석함

(나) 연구항목 : 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율, 수분섭취량, 당대사 관련 측정 지표(공복혈당, OGTT, 혈장 insulin, adiponectin), 생화학적 지표(혈장지질농도, 간독성지표), 혈액 항산화 지표(혈장 항산화능 지표(ORAC value, 혈장 총 항산화능), 적혈구내 항산화 효소활성(catalase, GSH-Px, SOD), 지질과산화물지표(conjugated diene(CD), 혈장 TBARs), 간조직의 항산화 지표(catalase, GSH-Px, Cu,Zn-SOD, Mn-SOD), 신장조직의 항산화 지표(catalase, GSH-Px)

#### 다. 3차 년도

(1) 솔잎착즙분말의 섭취가 경계 혈압(고혈압 전단계) 대상자의 혈압, 지질 및 항산화체계에 미치는 영향

(가) 연구내용 : 고혈압 전단계(수축기혈압 120-139 mmHg, 이완기혈압 80-89 mmHg)에 있는 준건강인을 대상으로 기능성 솔잎착즙분말의 섭취에 따른 혈행, 혈압 및 콜레스테롤 관련 biomarker, 항산화 활성 지표, 항유전독성지표의 변화를 분석함으로써 솔잎착즙분말이 혈행 개선, 혈압 조절 및 지질대사 개선에 미치는 영향을 분석함. 인체중재실험은 무작위 배정법, 이중 맹검법, 위약-대조군 임상시험을 적용하여 29명의 연구대상자를 플라시보군 14명과 솔잎착즙분말섭취군 15명으로 나누어 8주간 영양중재를 실시함

(나) 연구항목 : 연구대상자 선정, 캡슐 제조, 대상자의 일반사항(신체적 특성) 조사, 식이섭취 조사, 생화학적 지표(혈장지질농도(총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤), 간독성지표(BUN, AST, ALT)), 혈행 관련 지표(aPTT), 레닌-안지오텐신계(RAAS) 지표(renin, angiotensin 1, aldosterone), 항염증관련 지표(hs-CRP, IL-6), 혈액응고 지표(PAI-1), 혈중 산화질소 조절 및 혈관수축 지표(ADMA, ET-1), 혈액 항산화지표(혈장 항산화능 지표(비타민 C, 혈장 총 항산화능), 적혈구내 항산화 효소활성(catalase, GSH-Px, SOD), 지질과산화물지표(conjugated diene(CD), 혈장 TBARs), 항유전독성(백혈구 DNA 손상도)

#### IV. 연구개발결과(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

##### 가. 1차 년도

(1) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 *in vitro* 기능성 분석

솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 총 페놀함량, 항산화활성, 항당뇨활성, 항고혈압활성, 항유전독성을 분석한 결과 솔잎발효착즙액보다 솔잎착즙액의 기능성이 높은 것으로 평가되었으며, 이를 바탕으로 기능성 떡에 첨가되는 솔잎의 형태는 솔잎착즙액으로 결정하였음.

(2) 반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발

기능성 떡의 최적배합비를 개발하기 위해 쌀가루(멥쌀가루), 소금, 설탕, 솔잎착즙액 18 가지 배합비의 ACE 저해능, ORAC value,  $\alpha$ -glucosidase 억제능을 측정하였고, ACE 저해능은 소금, 설탕, 솔잎착즙액이 각각 1.42%, 30.04%, 1.01%, ORAC value는 소금 1.72%, 설탕 33.98%, 솔잎착즙액 1.44%,  $\alpha$ -glucosidase 억제능은 소금1.50%, 설탕 21.38%, 착즙액 1.25%일 때 가장 높은 효과를 나타내는 것을 확인하였음. 최적배합조건의 통계결과를 바탕으로 솔잎설기떡 A(소금 : 설탕 : 솔잎착즙액=1.42 : 30.04 : 1.01)와 솔잎설기떡 B(소금 : 설탕 : 솔잎착즙액=1.5 : 21.38 : 1.44)를 2가지 조건을 선정하였고, 분석결과 ACE 저해능, ORAC value,  $\alpha$ -glucosidase 억제능을 고려한 솔잎착즙액이 첨가된 기능성 떡의 최적배합비로 솔잎설기떡 B를 선정하였음.

(3) 고지혈증 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 지질개선 효능 검증

고지방-고콜레스테롤 식이에 솔잎설기떡을 첨가한 결과 설기떡 섭취에 의해 증가한 체중증가량 및 간조직의 지질수준(중성지방, 총 콜레스테롤, 총 지질)을 감소시키는 효과를 나타내었음. 또한 분변 중성지방의 수준은 정상군과 고지혈증유도군 및 일반설기떡군 간에 유의적인 차이가 없었음에도 불구하고, 솔잎설기떡을 첨가한 그룹에서는 정상군보다 유의적으로 증가하였으며 이에 솔잎착즙액의 지질 배출 촉진효과를 확인하였음. 또한, 솔잎설기떡군에서 고지혈증 유도군보다 산화적 스트레스에 대한 DNA 손상 보호능이 유의적으로 높았음. 이상의 결과에서, 고지혈증을 유도한 흰쥐에서 솔잎설기떡의 섭취는 체중증가억제, 간조직의 지질수준 감소, 분변으로의 지질 배출 증가, DNA 손상 보호능을 나타내는 것으로 확인되었음.

나. 2차 년도

(1) 비만 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 체중감소 및 지질개선 효능 검증

고지방식으로 유도한 비만모델에서 솔잎설기떡 조성물의 섭취는 체중 감소 효과, 지방조직의 증가 및 지방세포 성장 감소효과를 나타냄으로써 비만을 개선시키는 것으로 나타났으며, 고지방 식이에 의해 유도된 DNA 손상을 억제시키는 항유전독성 효과를 나타내었음.

(2) 당뇨 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 대사증후군 억제 효능 검증

STZ-nicotinamide로 유도된 당뇨모델에서 솔잎설기떡 조성물을 섭취한 결과 솔잎설기떡 조성물의 공복혈당 저하 효과, 혈장 adiponectin 감소 효과, 당뇨에 의해 손상된 당대사를 회복 효능을 가지며, 당뇨유발로 증가된 중성지방과 지질과산화, 간독성의 상승을 억제하는 효과를 나타내었음.

다. 3차 년도

(1) 솔잎착즙분말의 섭취가 경계 혈압(고혈압 전단계) 대상자의 혈압, 지질 및 항산화체계에 미치는 영향

솔잎착즙분말 캡슐 섭취에 의해 혈중 지질수준 개선, 혈행 관련 지표인 aPTT 감소, 수축기 혈압 감소, 산화질소 조절과 혈관 수축에 영향을 미치는 ADMA와 ET-1의 감소, 혈전 분해 관련 지표인 PAI-1의 감소효과를 나타내었음. 또한, 솔잎착즙분말 캡슐 섭취는 적혈구 항산화 효소활성(SOD) 증가, 지질과산화 억제, 산화적 스트레스가 유도된 백혈구의 DNA 손상을 보호하는 효과를 나타내었음.

#### 라. 최종 결과

본 연구에서 개발된 솔잎착즙액이 첨가된 대사증후군 개선 효능을 가지는 기능성 떡과 솔잎 착즙분말은 동물모델연구 및 인체중재실험을 통해 고지혈증 개선, 혈중 지질개선, 지질과산화 억제, 비만예방, 혈당수준 감소, 혈압 감소, 혈중 산화질소 조절, 혈관 수축 및, 혈액 응고 조절에 효능을 가지는 것으로 나타났음. 이에 본 연구에서 개발된 대사증후군 개선 효능을 가진 기능성 떡은 새로운 기능성식품으로써 높은 이용가치를 가질 것으로 기대됨.

#### V. 연구성과 및 성과활용 계획(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

##### 1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성 질환개선 효과 규명

#### 가. 특허 성과

(1) 솔잎 착즙액을 유효성분으로 함유하는 대사증후군 개선 기능성 떡. 경남대학교 산학협력단, 한국, 출원번호: 10-2012-0101376, 출원연도: 2012

#### 나. 논문게재 성과

(1) 발효과정이 솔잎 착즙액의 항산화, alpha-glucosidase 및 angiotensin converting enzyme 저해 활성에 미치는 영향. 김소윤, 이현정, 박재희, 김래영, 정현숙, 박은주. 한국식품영양과학회지. 43(3): 325-334. 2013

(2) Optimization of Sulgidduk formula supplemented with pine needle (*Pinus densiflora* sieb, et zucc) juice using response surface methodology. Jae-Hee Park, So-Yun Kim, Hyun-Jeong Lee, Rae-Young Kim, Eunju Park. Food Science and biotechnology. 22(4): 1105-1111. 2013

(3) 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡의 가열조리에 따른 항산화 및 항유전독성 효능 검증. 이현정, 김소윤, 박재희, 김래영, 박은주. 한국식품조리과학회지. 29(5): 453-462. 2013

#### 다. 학술대회 발표 성과(보완할 것)

(1) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Kim RY, Park E. Effect of fermentation of pine needle juice on antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. *Oxygen Club of California for consideration at the World Congress of Alba*. p. 128, 20<sup>th</sup> June, 2012, Alba, Italy (Poster)

(2) Park JH, Kim SY, Lee HJ, Kim RY, Park E. Optimization of rice cake preparation added with pine needle (*Pinus Sylvestris*) juice by response surface methodology. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 419, 1<sup>st</sup> Nov, 2012, Jeju, Korea (Poster)

- (3) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Kim RY, Park E. Change of Antioxidative and Antigenotoxic Effects after Cooking Process of Sulgidduk Containing Pine Needle Juice. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 467, 1<sup>st</sup> Nov, 2012, Jeju, Korea (Poster)
- (4) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Park E. Effects of Sulgidduk Containing Pine Needle Juice on Lipid and Antioxidant Metabolism in Diet Induced Hyperlipidemic Rats. 2013 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology. p.163, 29<sup>th</sup> Aug, 2013, Cheonan, Korea(Poster)
- (5) Lee Y, Park JH, Park E. Sulgidduk Containing Pine Needle Juice Inhibit Fat Accumulation in High Fat-Cholesterol Diet Induced Obese Rats. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 408, 28<sup>th</sup>, Oct, 2014, Daejeon, Korea (Poster)
- (6) Choi MJ, Lee Y, Cheong HS, Park E. Effect of Pine Needle Extract on Blood Pressure, Lipid Profiles, and Antioxidant Status in Subjects with Prehypertension. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 408, 28<sup>th</sup>, Oct, 2014, Daejeon, Korea (Poster)



## SUMMARY

### 1. 1<sup>st</sup> year

#### (1) *In vitro* activity of pine needle juice and fermented-pine needle juice

① Object: The purpose of this study was to compare the total phenolic content (TPC), antioxidant activity [DPPH radical scavenging activity (RSA), total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP), oxygen radical absorbance capacity (ORAC), cellular antioxidant capacity (CAC)], antigenotoxic activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity in fresh pine needle juice (PNJ) and fermented pine needle juice (FPNJ).

② Results: The TPC was shown as  $17.3 \pm 0.2$  and  $4.6 \pm 0.0$  mg/g GAE in before and after fermentation, respectively. DPPH RSA, TRAP, and ORAC<sub>ROO·</sub> value in both PNJ and FPNJ increased in a dose-dependent manner and these activities was significantly higher in PNJ than FPNJ. The CAC against AAPH-induced oxidative stress in HepG2 cells was protected by PNJ and FPNJ. DNA damage of human leukocytes were examined using Comet assay. Pretreatments with PNJ and FPNJ produced significant reductions in oxidative DNA damage at the concentration of 50  $\mu$ g/mL.  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity was significantly higher in FPNJ than PNJ. The ACE inhibitory activities were about 87.1% and 60.0% in 1:1 diluted PNJ and FPNJ, respectively.

#### (2) Development of rice cake preparation added with pine needle juice with beneficial effect on the metabolic syndrome by response surface methodology

① Object: The purpose of this study was to develop functional *sulgidduk* using pine needle juice (PNJ) with physiological activity for patients with metabolic syndrome. The optimum formulation for mixing the ingredients [PNJ, sugar, and salt] based on rice flour relating to biomarkers for predicting the metabolic syndrome were achieved using response surface methodology.

② Results: The model for determining angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity was not significant and adequate. However, the optimum condition for its activity was suggested as follows according to statistics; 1.4% salt, 30.0% sugar, and 1.0% PNJ; formula A. The models used to determine the optimum oxygen radical absorbance capacity (ORAC) value and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity had satisfactory coefficients of  $R^2$  and were verified experimentally. This study was used a combined formula (1.5% salt, 21.4% sugar, and 1.4% PNJ; Formula B) for optimizing these activities according to statistics. To validate the optimized formula, the activities of formula A and B were compared with experimental values. Values for ACE inhibitor activity and ORAC were higher for formula B than for formula A. Therefore, this study suggests the suitability of formula B, a *sulgidduk* to which 1.4% PNJ, 21.4% sugar, and 1.5% salt were added, for optimizing the

physiological activity and points to the possibility that a healthy diet may be a target for the prevention or alleviation of the metabolic syndrome.

(3) Effects of *Sulgidduk* containing pine needle juice on lipid metabolism in high fat-diet induced hyperlipidemic rats

① Object: The purpose of this study was to examine the effects of *sulgidduk* added with pine needle juice on lipid and antioxidant metabolism in rat fed high fat-cholesterol diet (HFD). Twelve-week-old Sprague-Dawley male rats were separately fed a normal diet (ND) or HFD (4.75% lard, 0.5% cholesterol, 0.2% sodium cholate) for 4 weeks; then HFD group was treated with *sulgidduk* based diet (SD, rice flour 55.3%, sugar 8.7%, salt 0.6%) or *sulgidduk* added with pine needle juice diet (PSD, rice flour 54.1%, sugar 8.5%, salt 0.6%, PNJ 3.1%) for another 6 weeks.

② Results: Pine needle addition to *sulgidduk* significantly reduced hepatic triglyceride, total cholesterol and total lipid contents compared to *sulgidduk* diet. The activities of hepatic catalase and Mn-SOD were significantly higher in the PSD group than those in SD group.

## 2. 2<sup>nd</sup> year

(1) Weight reduction and lipid lowering effects of a component of rice cake (*Sulgidduk*) supplemented with pine needle juice in high fat-cholesterol diet-induced obese rat

① Object: The purpose of this study was to examine the anti-obesity effects of a component of rice cake added with pine needle juice in diet-induced obese rats. Five-week-old Sprague-Dawley male rats were separately fed a normal diet (ND) or high-fat diet (HFD; 15% lard) for 4 weeks; then HFD group was treated with a component of rice cake (*Sulgidduk*) based diet (SD; rice flour 10.9%, sugar 2.33%, salt 0.16%) or the component of rice cake (*Sulgidduk*) added with pine needle juice based diet (PSD; rice flour 10.66%, sugar 2.28%, salt 0.16%, pine needle juice 6.1%) for another 9 weeks.

② Results: The PSD group showed decreased body weight and food efficiency compared to HFD group or SD group. The supplementation of PSD resulted in a significant reduction of retro-peritoneal and abdominal fat mass compared to the SD group ( $p < 0.05$ ). The subcutaneous and epididymal adipocytes surface area of rats fed PSD was smaller than those in the HFD group by 48.2% and 17.9%, respectively. The PSD supplementation had a tendency to decrease plasma insulin levels compared to HFD and SD group. The increased activity of GPx by high-fat diet was recovered by SD or PSD supplementation to the level of ND group. The PSD supplementation clearly enhanced leukocytic DNA resistance to oxidative stress induced high-fat diet.

(2) Effect of a component of rice cake (*Sulgidduk*) supplemented with pine needle juice on metabolic syndrome in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rat

① Object: The purpose of this study was to examine the anti-diabetes effects of a component of rice cake added with pine needle juice in diet-induced obese rats. Five-week-old Sprague-Dawley male rats were separately fed a normal control (NC), or

streptozotocin–nicotinamide induced diabetic rat group(PC; streptozotocin 55 mg/kg, nicotinamide 110 mg/kg, i.p.) for 1 weeks; then PC group was treated with a component of rice cake (*Sulgidduk*) based diet (SD) or the component of rice cake (*Sulgidduk*) added with pine needle juice based diet (PSD) for another 6 weeks.

② Results: The supplementation of PSD resulted in a significant reduction of fasting blood glucose and plasma adiponectin compared to the PC group ( $p < 0.05$ ). The PSD supplementation had a tendency to decrease plasma triglyceride level compared to PC group. The PSD supplementation clearly reduced plasma AST and ALT level compared to SD group. The increased CD level and activity of liver catalase by *sulgidduk* diet were recovered by PSD supplementation to the level of ND group.

### 3. 3<sup>rd</sup> year

(1) Effect of pine needle extract powder on blood pressure, lipid profiles, and antioxidant status in subjects with prehypertension

① Object: This study was conducted in order to assess the effects of pine needle extract on blood pressure along with the lipid profiles and antioxidant status in subjects with prehypertension. The study was designed as a double–blind, placebo–controlled, randomized, parallel–group intervention study including twenty–nine healthy subjects with systolic BP between 120 and 139 mmHg. A 1–week run–in period was followed by an 8–week intervention period, during which subjects consumed capsules containing either 3.15 g/d of lyophilized pine needle extract (PNE) or a placebo.

② Results: After the intervention, systolic blood pressure decreased significantly in PNE treated group by 5.5 mmHg. PNE inhibited the generation of serum Asymmetric dimethylarginine (ADMA), a inhibitor nitric oxide (NO) synthase, plasma endothelin–1 (ET–1), a potent vasoconstrictor, Plasminogen activator inhibitor–1 (PAI–1), a endothelial plasminogen activator, and the activated partial thromboplastin time (aPTT). In addition, PNE supplementation reduced plasma level of total cholesterol and conjugated dienes, a marker for lipid peroxidation, while it increased the activity of total radical–trapping antioxidant parameter (TRAP) in plasma and superoxide dismutase (SOD) in erythrocyte.

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절 연구개발의 목적

### 1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성 질환개선 효과 규명

○ 솔잎추출물의 기능성에 기초하여 반응표면분석을 이용하여 솔잎추출물이 첨가된 대사성질환개선 효능을 가진 기능성 떡 제품을 개발하고, 고지혈증, 비만 및 당뇨 동물모델과 고혈압 모델 인체중재연구를 통해 그 효능을 규명하여, 솔잎추출물을 포함한 기능성 떡류 가공식품 개발에 활용하고자 함

## 2절 연구개발의 필요성

### 1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성 질환개선 효과 규명

○ 침엽수의 대표적인 소나무는 소나무과(Pinaceae)에 속하는 상록 교목으로 전국의 산지에 자생하며, 예로부터 잎, 솔방울, 꽃가루, 송진, 껍질 등 모든 부위가 구황식물로 이용되어왔음. 솔잎(Pinus densiflora sieb, et zucc)은 방부, 살균, 및 향기를 돋우는 효과뿐만 아니라 한방 또는 민간요법으로 솔잎차, 솔잎술, 솔잎즙이나 솔잎주스 그리고 솔잎송편을 만들어 동맥경화증, 고혈압, 당뇨병, 신경통 등의 노화 관련 질환 예방과 성인병 치료에 사용되는 등 약리적 효능을 가진 건강식품으로 이용하여 왔음.

○ 솔잎에는 식이섬유소, chlorophyll, carotene, terpenoids, quercetin과 kaempferol 등의 flavonoid류, tannin, alkaloids 화합물,  $\alpha$ -onienene,  $\beta$ -pinene 및 camphene 등의 정유성분과 다량의 phenolic compounds가 함유되어 있다고 보고되었음. 이러한 솔잎의 항산화 성분을 바탕으로 솔잎 추출물의 항균, 항암, 항산화, 항고혈압, 항당뇨, 항비만 및 지질강하 효과 등이 수행되었으며, 솔잎을 식품에 응용한 연구로는 솔잎분말을 첨가한 밀가루 반죽, 냉동쿠키, 케이크, 국수 등이 보고된 바 있음. 그러나 본 연구와 같이 대사증후군을 개선하는 식품을 개발하고 이의 복합적인 효능을 *in vitro* 기능성 뿐만 아니라 동물실험 및 인체중재실험을 통해 분석한 연구는 수행된 바 없음.

○ 대사증후군은 유전적인 인자와 비만, 육체적 비활동, 식이 섭취와 같은 환경적인 인자들에 의해 영향을 받는데 그 발생기전은 아직 뚜렷하지 않음. 최근 우리나라에서 급격한 생활양식의 변화로 연령대와는 관계없이 대사증후군에 대한 관심이 높아지고 있음. 특히 직장건강검진에서 대사증후군이 없었던 30대 직장인 4,779명을 대상으로 추적 관찰한 결과에 따르면 평균 2년 1개월 만에 14.8%(708명)가 새로운 대사증후군 환자로 진단되어 젊은층의 대사증후군 발생에 대한 대책이 필요함을 보여줌.

○ 대사증후군 집단에서 산화적 스트레스(oxidative stress)가 증가됨이 알려지고, 지방세포에서 산화적 스트레스 생성이 늘어나 대사증후군을 유발시키는 것으로 생각되어 대사증후군에 있어 항산화 영양소의 역할에 관한 연구가 수행되어 오고 있음. 항산화 영양소가 주목 받는 이유는 생체 물질의 산화손상을 억제하며, 이로 인한 노화, 동맥경화, 암 등의 질병으로부터 보호 효과를 가질 뿐만 아니라 세포의 증식 억제, 분화 및 세포 사멸 유도 등의 작용을 통해서 암을 비롯하여 여러 질환의 예방 효과를 나타내기 때문임. 그리고 미국 국민건강영양조사에 의하면 대사증후군 집단은 과일과 채소를 적게 섭취하여 정상 집단에 비해 항산화 영양소 섭취가 적은 것으로 보고하였음. 그러나 대부분의 연구들은 주로 국외에서 이루어진 연구들로 한국인 대사증후군을 대상으로 항산화 영양소에 초점을 맞춘 연구와 한국인의 실정에 맞는 기능성 식품 개발은 미비한 실정임. 따라서 본 연구에서 **솔잎추출액을 첨가한 대사증후군 개선 효능을 가진 기능성 떡을 개발하고** 이의 대사증후군 관련 기능성을 규명한 후, 대사증후군 개선에 도움을 주는 건강기능성 식품을 개발하고자 함.

○ 또한, 최근 식생활 및 경제 여건의 발달로 식품에 대한 인식이 변화되고 있으며, 맛과 영양을 제공한다는 식품의 1, 2차 적인 단순한 기능 외에 식품이 가지고 있는 다양한 생체 조절 기능에 대한 관심이 높아지고 있음. 국민들의 건강에 대한 관심 증가와 더불어 평균수명의 증가는 노인 인구의 증가를 의미하며, 그것은 각종 만성질환에 대한 관심의 증가를 의미함. 이에 따라 2000년 이후 기능성 식품 시장은 지속적으로 확대되고 있는 추세임. 기능성식품은 기존의 식품에 건강 강화 및 유지를 위해 식품 고유의 맛을 유지하면서, 기능성을 첨가할 수 있는 기술 발전과 새로운 기능성 원료개발로 인해 크게 확대되고 있음. 따라서, 본 연구에서 **편리하게 휴대하면서 이용할 수 있고, 가격부담이 적은 대사증후군 개선 효능을 가진 기능성 떡을 개발하는 것은 새로운 건강기능식품 시장의 개척이라는 측면에서 효과적인 접근이 될 것임.**

○ 반응표면분석이란 독립변수가 반응변수에 영향을 미칠 때 흥미영역에서 반응의 변화가 이루는 반응표면에 대한 통계적인 분석방법으로 어떤 흥미영역에서 첫 요인실험을 한 후 최적반응값을 나타낼 것으로 예상되는 처리조합 근방으로 이동하여 최종적인 반응표면식을 구하고 최적반응 조건을 찾는 방법임. 최근에는 제품개발, 공정개발, 품질관리 등의 분야에서 널리 활용되고 있음. 따라서 개발자 임의대로 혼합하여 기능성 떡을 개발하는 것이 아닌 생리활성 기능성과 우수한 향미가 부합된 기능성 떡을 개발하기 위해 통계적 기법의 반응표면분석을 활용하고자 함.

○ 따라서 본 연구는 솔잎추출물의 대사증후군 관련 biomarker에 대한 효능을 평가(*in vitro* 항산화, 항비만, 항당뇨, 항고혈압 활성 분석 기술)하고, 이를 바탕으로 반응표면분석을 통한 대사증후군 개선 효능을 가진 기능성 떡을 개발(반응표면분석을 통한 소재 배합, 대사증후군 개선 기능성(항비만, 항당뇨, 항고혈압) 분석 기술)한 후, 대사증후군 개선을 위해 가장 고려해야 할 영양중재 효과를 과학적으로 분석하고자 대사증후군 관련 질환인 고지혈증, 비만, 당뇨 동물모델과 고혈압 관련 임상연구모델(*in vivo* 연구기술)을 통한 종합적인 효능연구를 수행하고자 함.

### 3절 연구개발의 범위

#### 1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성질환 개선 효과 규명

○ 본 연구는 1차 년도에 반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡 제품을 개발하고 동물모델을 이용하여 개발된 기능성 떡제품의 대사성질환(고지혈증) 개선 효능을 검증하기 위하여 1) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 *in vitro* 기능성 분석, 2) 반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발, 3) 고지혈증 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 지질개선 효능 검증을 수행하고, 2차 년도에 동물모델을 이용하여 1차년도에 개발된 기능성 떡 제품의 대사성질환(비만, 당뇨) 억제 효능을 검증하기 위하여 1) 비만 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 체중감소 및 지질개선 효능 검증, 2) 당뇨 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 대사증후군 억제 효능 검증을 수행하고, 3차 년도에 인체중재실험을 통해 솔잎착즙분말의 섭취가 혈압조절에 미치는 영향을 분석함.

\* 연구개발의 목적, 필요성 및 범위 등을 기술

## 제 2 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 1절 연구내용

#### 1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성질환 개선 효과 규명

가. 1차 년도 : 반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡 제품을 개발하고 동물모델을 이용하여 개발된 기능성 떡제품의 대사성질환(고지혈증) 개선 효능을 검증함.

##### (1) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 *in vitro* 기능성 분석

(가) 연구내용 : 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡 개발을 위한 기초연구로서 솔잎액과 솔잎발효액의 항산화, 항당뇨, 항고혈압 및 항유전독성을 평가함

(나) 연구항목 : 총 페놀함량, 항산화활성(DPPH 라디칼 소거활성, 총 항산화능, ORAC value, 세포내 ROS 소거능), 항당뇨활성( $\alpha$ -glucosidase 억제능), 항고혈압활성(ACE 저해능), 항유전독성(DNA 손상 보호능)

##### (2) 반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발

(가) 연구내용 : 반응표면분석을 통해 기능성 떡에 첨가되는 쌀가루, 당류 및 솔잎착즙액의 최적배합비를 개발하기 위해 항고혈압활성, 항산화활성, 항당뇨활성을 대표하는 ACE 저해능, ORAC value,  $\alpha$ -glucosidase 억제능을 측정하고 최적 혼합 조건을 선정한 후 개발된 기능성 떡의 기능성을 평가함

(나) 연구항목 : 반응표면분석을 통한 기능성 떡의 최적배합비 개발(쌀가루, 당류, 솔잎착즙액 혼합시료의 ACE 저해능, ORAC value,  $\alpha$ -glucosidase 억제능), 최적 혼합 조건 선정, 기능성 떡의 제조 및 효능 분석

##### (3) 고지혈증 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 지질개선 효능 검증

(가) 연구내용 : 실험동물에 4주간 고지방식이를 제공하여 고지혈증을 유도한 동물모델에서 고지혈증 유도군을 다시 고지혈증유도군, 일반설기떡(쌀가루 55.3%, 설탕 8.7%, 소금 0.6%)군, 솔잎설기떡(쌀가루 54.1%, 설탕 8.5%, 소금 0.6%, 솔잎착즙액3.1%)군으로 나누어 6주간 실험식이를 공급하고, 솔잎착즙액이 첨가된 기능성 떡(솔잎설기떡)의 섭취가 지질관련 대사에 미치는 영향을 분석함

(나) 연구항목 : 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율, 장기무게, 지방조직무게, 생화학적 지표(혈장 지질농도, 간독성 지표), 간조직 및 분변의 지질함량, 혈액 항산화 지표(혈장 총 항산화능, 적혈구내 항산화 효소활성(catalase, GSH-Px, SOD), 과산화지질 지표(conjugated diene(CD), 혈장 TBARS), 간조직의 항산화 및 과산화지질 지표(항산화 지표(catalase, GSH-Px, Cu,Zn-SOD, Mn-SOD), TBARS), 항유전독성(DNA 손상 보호능), 지질대사 관련 유전자 발현

나. 2차 년도 : 동물모델을 이용하여 1차년도에 개발된 기능성 떡 제품의 대사성질환(비만, 당

노) 억제 효능을 검증함

(1) 비만 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 체중감소 및 지질개선 효능 검증

(가) 연구내용 : 실험동물에 4주간 고지방식이를 제공하여 비만을 유도한 동물모델에서 비만유도군을 다시 비만유도군, 설기떡 조성물(쌀가루 10.9%, 설탕 2.33%, 소금 0.16%)군, 솔잎설기떡 조성물(쌀가루 10.66%, 설탕 2.28%, 소금 0.16%, 솔잎 착즙액 6.1%)군으로 나누어 9주간 실험 식이를 공급하고, 솔잎착즙액이 첨가된 기능성 떡(솔잎설기떡)의 섭취가 체중감소 및 지질관련 대사에 미치는 영향을 분석함

(나) 연구항목 : 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율, 체중변화, 장기무게, 지방조직무게, 지방조직의 지방세포크기, 혈장 및 간의 지질농도, 간독성지표, 혈장 adipocytokine, 혈액 및 간조직의 항산화지표(혈장 항산화 지표(ORAC value, 혈장 총 항산화능), 과산화지질지표(conjugated diene(CD), 혈장 TBARs), 적혈구내 항산화 효소활성(catalase, GSH-Px, SOD), 간조직의 항산화 지표(catalase, GSH-Px, Cu,Zn-SOD, Mn-SOD), 항유전독성(백혈구 DNA 손상도)

(2) 당뇨 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 대사증후군 억제 효능 검증

(가) 연구내용 : 실험동물에 streptozotocin과 nicotinamide를 투여하여 공복혈당 농도가 160 mg/dL 이상으로 당뇨가 유도된 동물모델을 당뇨군, 일반설기떡(쌀가루 55.3%, 설탕 8.7%, 소금 0.6%)군, 솔잎설기떡(쌀가루 54.1%, 설탕 8.5%, 소금 0.6%, 솔잎착즙액3.1%)군으로 나누어 10주간 실험 식이를 공급하고, 솔잎착즙액이 첨가된 기능성 떡(솔잎설기떡)의 섭취가 당뇨관련 대사에 미치는 영향을 분석함

(나) 연구항목 : 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율, 수분섭취량, 당대사 관련 측정 지표(공복혈당, OGTT, 혈장 insulin, adiponectin), 생화학적 지표(혈장지질농도, 간독성지표), 혈액 항산화 지표(혈장 항산화능 지표(ORAC value, 혈장 총 항산화능), 적혈구내 항산화 효소활성(catalase, GSH-Px, SOD), 지질과산화물지표(conjugated diene(CD), 혈장 TBARs), 간조직의 항산화 지표(catalase, GSH-Px, Cu,Zn-SOD, Mn-SOD), 신장조직의 항산화 지표(catalase, GSH-Px)

다. 3차 년도 : 인체중재실험을 통해 솔잎착즙분말의 섭취가 혈압조절에 미치는 영향을 분석함

(1) 솔잎착즙분말의 섭취가 경계 혈압(고혈압 전단계) 대상자의 혈압, 지질 및 항산화체계에 미치는 영향

(가) 연구내용 : 고혈압 전단계(수축기혈압 120-139 mmHg, 이완기혈압 80-89 mmHg)에 있는 준건강인을 대상으로 기능성 솔잎착즙분말의 섭취에 따른 혈행, 혈압 및 콜레스테롤 관련 biomarker, 항산화 활성 지표, 항유전독성지표의 변화를 분석함으로써 솔잎착즙분말이 혈행 개선, 혈압 조절 및 지질대사 개선에 미치는 영향을 분석하고자 함. 인체중재실험은 무작위 배정법, 이중 맹검법, 위약-대조군 임상시험을 적용하여 29명의 연구대상자를 플라시보군 14명과 솔잎착즙분말섭취군 15명으로 나누어 8주간 영양중재를 실시함.

(나) 연구항목 : 연구대상자 선정, 캡슐 제조, 대상자의 일반사항(신체적 특성) 조사, 식이섭취 조사, 생화학적 지표(혈장지질농도(총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤), 간독성지표(BUN, AST, ALT)), 혈행 관련 지표(aPTT), 레닌-안지오텐신계(RAAS) 지표(renin, angiotensin 1, aldosterone), 항염증관련 지표(hs-CRP, IL-6), 혈액응고 지표(PAI-1),



혈중 산화질소 조절 및 혈관수축 지표(ADMA, ET-1), 혈액 항산화지표(혈장 항산화능 지표(비타민 C, 혈장 총 항산화능), 적혈구내 항산화 효소활성(catalase, GSH-Px, SOD), 지질과산화물지표(conjugated diene(CD), 혈장 TBARs), 항유전독성(백혈구 DNA 손상도)

## 2절 연구결과

### 1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성 질환개선 효과 규명

#### 가. 1차 년도

(1) 솔잎착즙액(pine needle juice, PNJ)과 솔잎발효착즙액(fermented pine needle juice, FPNJ)의 *in vitro* 기능성 분석

##### (가) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 총 페놀함량 비교

총 페놀함량 측정은 항산화 연구에 폭넓게 이용되는 방법으로, 천연에 존재하는 주요한 폴리페놀 화합물들은 라디칼 소거능과 강력한 항산화능을 포함한 생리활성을 가지는 것으로 보고되고 있다(1). 식물성분의 항산화 활성은 페놀성 화합물이 원인물질인 것으로 알려져 있어 gallic acid를 표준용액으로 하여 작성한 검정곡선으로부터 솔잎액과 솔잎발효액의 총 페놀 함량을 비교분석하였다. 그 결과, 총 페놀함량을 솔잎착즙액  $17.28 \pm 0.17$  mg GAE/g, 솔잎발효착즙액  $4.64 \pm 0.01$  mg GAE/g로 솔잎발효액이 솔잎발효착즙액보다 유의적으로 3.7 배 높은 총 페놀함량을 나타내었다(Table 1).

Table 1. Total polyphenol contents (TPC) of PNJ and FPNJ

	PNJ	FPNJ
TPC mg GAE/g	$17.28 \pm 0.17^*$	$4.64 \pm 0.01$

Values are means  $\pm$  SD. \* : Significantly different at  $p < 0.05$  by Student *t*-test.

##### (나) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 항산화활성 비교

###### ① DPPH 라디칼 소거능

DPPH assay는 빠르고 간단하게 식물이나 식품 추출물 또는 단일 화합물의 항산화능을 측정하기 위해 널리 사용되는 방법이다. DPPH는 항산화제와 만나면 매우 빠른 속도로 hydrogen radical의 전자를 받아들이면서 환원되어 안정한 화합물인 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine으로 비가역적으로 전환되며 짙은 보라색이 옅어지는 특징을 가진다(2). 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 DPPH 라디칼에 대한 소거능은 두 시료 모두 농도가 증가할수록 유의적으로 증가하였다(Fig. 1A). 그리고 동일농도에서 두 시료의 라디칼 소거능 비교 시에는 착즙액에서 소거능이 높게 나타났다. IC<sub>50</sub>을 계산한 결과 vitamin C가  $28.03 \pm 0.33$   $\mu$ g/mL인데 비하여 솔잎착즙액은  $2183 \pm 123.13$   $\mu$ g/mL, 솔잎발효착즙액은  $6427.06 \pm 796.71$   $\mu$ g/mL으로 솔잎착즙액이 솔잎발효착즙액보다 유의적으로( $P < 0.01$ ) 높은 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었다(Fig. 1B).

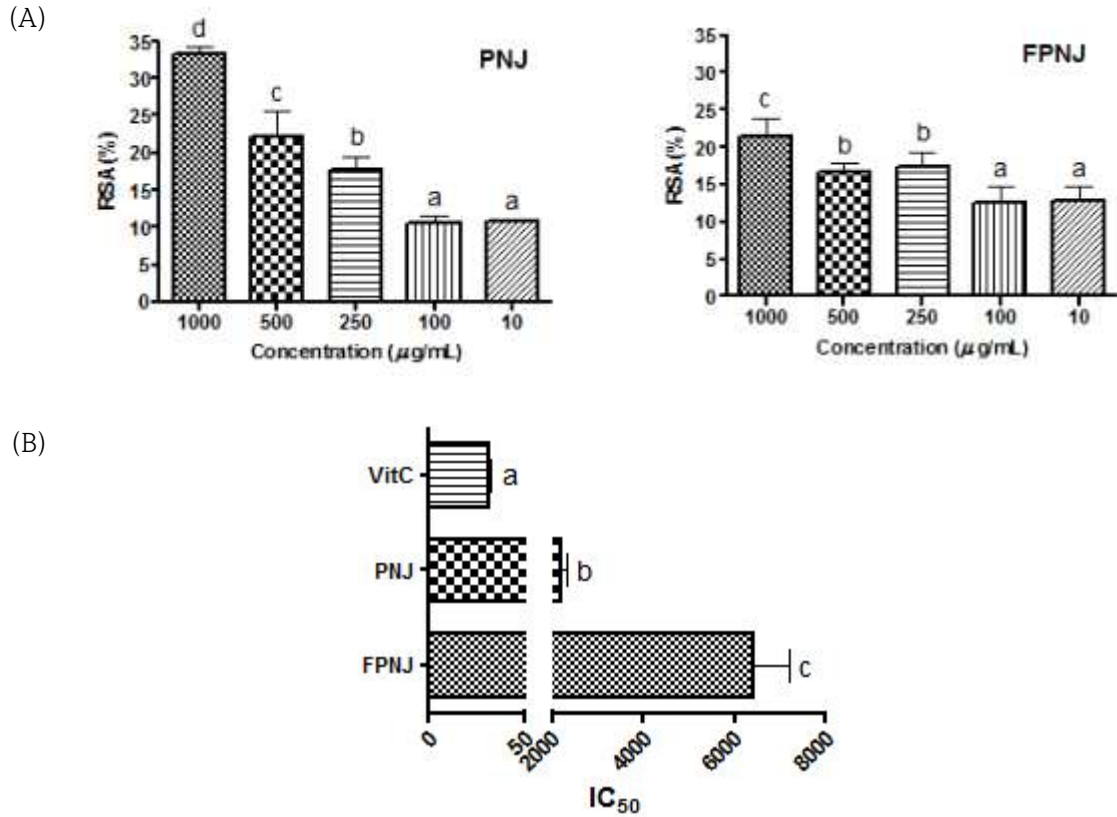


Fig 1. DPPH radical scavenging activity(RSA)(A) and IC<sub>50</sub>(B) of PNJ and FPNJ. Values are means ± SD. Values with different letters are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test.

② 총 항산화능(TRAP; Total radical trapping antioxidant potential)

2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphnate) 양이온(ABTS · +)에 대한 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 소거능을 TRAP을 통해 확인하였다. 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액 모두 농도의존적으로 항산화능이 유의적으로 증가하였으며, 동일한 농도에서 솔잎착즙액이 솔잎발효착즙액보다 높은 활성을 나타내었다(Fig 2).

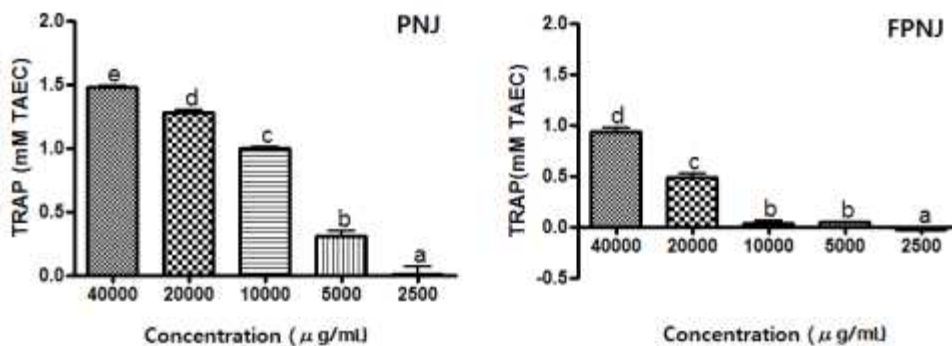


Fig 2. Total antioxidant capacity (TRAP) of PNJ and FPNJ. Values are means ± SD. Values with different letters are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test.

③ ORAC(Oxygen radical absorbance capacity) assay

ORAC assay는 항산화 성분의 자유라디칼 소거 능력, 즉 radical chain breaking antioxidant capacity를 측정하는 방법으로 산화물질에서 유도된 peroxy radical이 형광 probe와 반응하여 유도된 비형광생성물이 시간에 따라 감소하는 비율을 평가하여 항산화활성을 측정한다(3). 솔잎추출액과 솔잎발효추출액 모두 농도의존적으로 ORAC value가 유의적으로 증가하였으며, 동일한 농도에서 솔잎착즙액이 솔잎발효착즙액보다 높은 활성을 나타내었다(Fig 3).

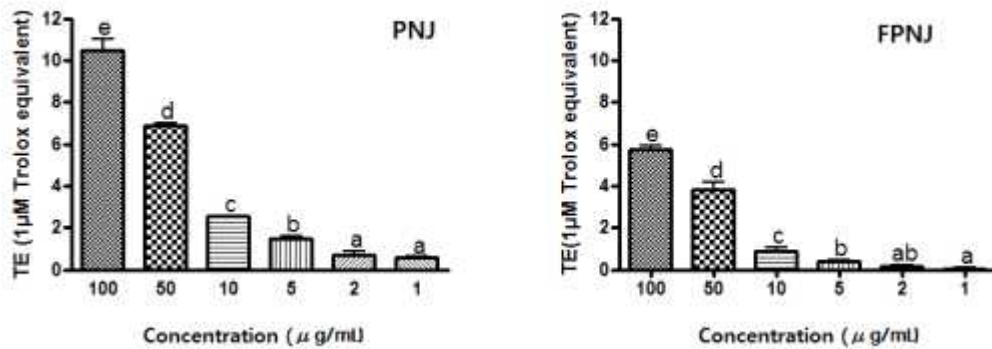


Fig 3. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of PNJ and FPNJ. Values are means  $\pm$  SD. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test.

④ 세포내 ROS 소거능(Cellular antioxidant capacity(CAC) assay)

HepG2 세포내 항산화능을 통해 솔잎추출액과 솔잎발효추출액의 항산화활성을 분석하기 위하여 AAPH로 유도된 산화적 스트레스에 대한 ROS 생성 억제 효능을 측정한 결과 양성대조군(AAPH 처리군)보다 솔잎추출액과 솔잎발효추출액 처리 후 AAPH를 처리하였을 때 ROS 생성이 유의적으로 억제되었으며, 두 그룹간의 차이는 나타나지 않았다(Fig 4).

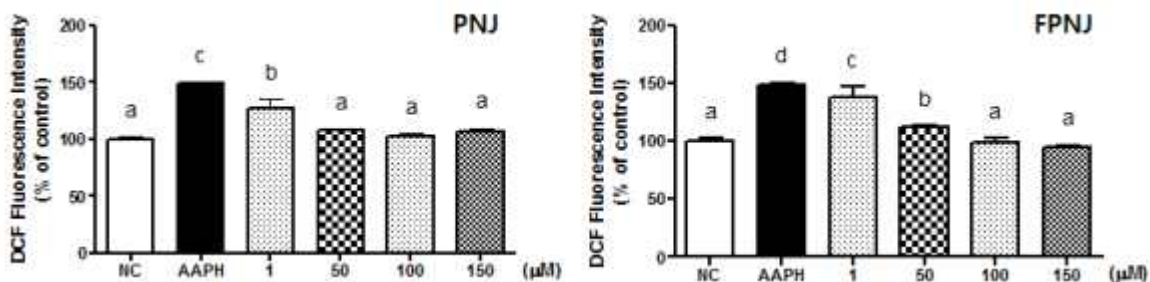


Fig 4. Cellular antioxidant capacity of PNJ and FPNJ. Values are means  $\pm$  SD. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test.

(다) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 항당뇨활성

다당류의 섭취는  $\alpha$ -amylase를 통해 이당류로 분해되고 분해된 이당류는  $\alpha$ -glucosidase에 의해 단당류로 분해되어 소장에 존재하는 용털을 통해 흡수되어 혈관으로 당을 이동시켜 준다

(4). 당뇨병 환자의 경우 이당류 분해효소인  $\alpha$ -glucosidase 활성을 억제시켜 분해되는 이당류의 양을 감소시킴으로 인해 급격한 혈당의 증가를 낮출 수 있다. 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 항당뇨활성을  $\alpha$ -glucosidase 억제능을 통해 분석하였을 때 희석비율이 낮을수록 높은  $\alpha$ -glucosidase 억제능을 나타내었다. 또한 1:1 희석비율에서 솔잎추출액보다 솔잎발효추출액에서 높은  $\alpha$ -glucosidase 억제능을 나타낸 반면, 희석비율을 증가시켰을 때(1:19, 1:39) 동일희석비율에서 솔잎착즙액이 솔잎발효착즙액보다 높은  $\alpha$ -glucosidase 억제능을 나타내었다(Fig 5).

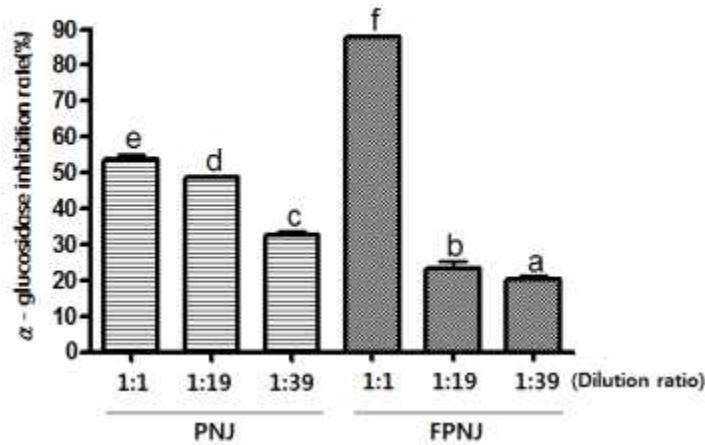


Fig 5. Alpha-glucosidase inhibitory activity of PNJ and FPNJ. Values are means  $\pm$  SD. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test.

(라) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 항고혈압활성

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해능을 통해 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 항고혈압활성을 분석하였을 때 희석비율이 낮을수록 높은 ACE 저해능을 나타내었다. 각각의 시료의 희석비율에 따라서는 희석비율이 낮은 시료에서 높은 ACE 저해능을 보였고, 1:1 희석비율에서 솔잎착즙액이 솔잎발효착즙액보다 다소 높은 ACE 저해능을 나타내었다(Fig 6).

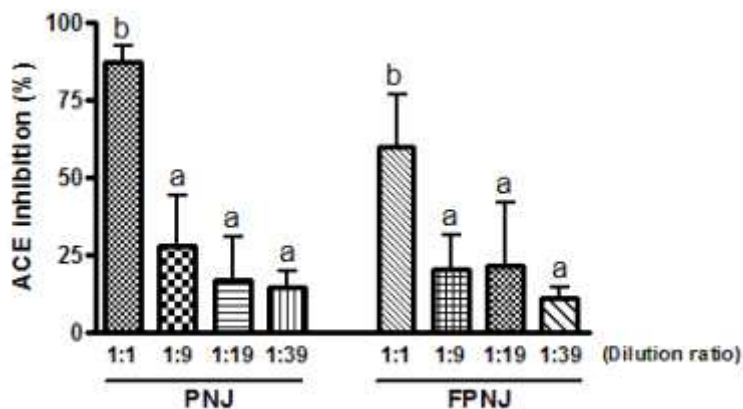


Fig 6. ACE inhibitory activity of PNJ and FPNJ. Values are means  $\pm$  SD. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test.

(마) 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 항유전독성능(DNA 손상 보호능)

Single-cell gel-electrophoresis(SCGE) assay로 잘 알려진 comet assay는 활성산소에 의한 산화적 스트레스 유발 시 세포내의 DNA 손상 정도를 직접적으로 확인할 수 있는 유용한 지표로 사용되고 있다(5,6). 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 유도된 산화적 스트레스에 대한 DNA 손상 보호능을 측정한 결과 솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액 모두 농도의존적인 DNA 손상보호능을 나타내었으며, 솔잎발효착즙액의 50 µg/mL에서 유의적으로 가장 높은 항유전독성을 나타내었다(Fig 7).

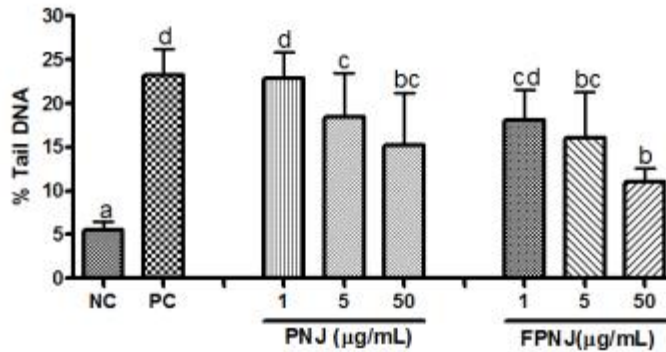


Fig 7. Antigenotoxic activity of PNJ and FPNJ on 200 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced DNA damage in human leukocytes. NC: negative control; PC: 200 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treated positive control. Values are means ± SE. Values with different letters are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test.

(바) 결론 및 제언

솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 총 페놀함량, 항산화활성, 항당뇨활성, 항고혈압활성, 항유전독성을 분석한 결과 솔잎발효착즙액보다 솔잎착즙액의 기능성이 높은 것으로 평가되었으며, 이를 바탕으로 기능성 떡에 첨가되는 솔잎의 형태는 솔잎착즙액으로 결정하였다.

(2) 반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발

(가) 반응표면분석을 통한 기능성 떡의 최적배합비 개발

기능성 떡의 최적배합비를 개발하기 위해 쌀가루(멥쌀가루) 100g에 소금, 설탕, 솔잎착즙액을 18 가지 비율로 혼합한 후, 각 시료를 열수추출하여 ACE 저해능, ORAC value, α-glucosidase 억제능을 측정하였다(Table 2).

Table 2. Experimental data on ACE inhibitory activity, ORAC value, and α-glucosidase inhibitory activity of rice cake with diverse addition amounts of PNJ based on central composite design for response surface analysis

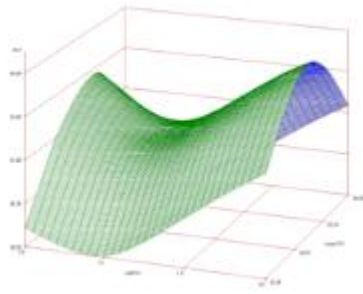
No.	Independent variables						Dependent variables		
	Code			Actual			ACE inhibitory activity(%)	ORAC ( $\mu$ M TE)	$\alpha$ -glucosidase inhibitory activity(%)
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Salt	Sugar	PNJ			
1	-1	-1	-1	1	25	0.75	42.97	2.53	65.96
2	+1	-1	-1	2	25	0.75	41.85	2.35	65.96
3	-1	+1	-1	1	35	0.75	43.03	2.72	57.18
4	+1	+1	-1	2	35	0.75	44.25	2.06	57.18
5	-1	-1	+1	1	25	1.25	45.11	3.12	80.23
6	+1	-1	+1	2	25	1.25	44.95	3.20	80.23
7	-1	+1	+1	1	35	1.25	45.06	3.39	72.68
8	+1	+1	+1	2	35	1.25	44.47	3.36	72.68
9	+2	0	0	2.5	30	1	43.83	3.02	69.06
10	-2	0	0	0.5	30	1	45.00	2.98	69.06
11	0	+2	0	1.5	40	1	37.47	3.27	74.53
12	0	-2	0	1.5	20	1	37.68	2.73	76.24
13	0	0	+2	1.5	30	1.5	38.11	3.82	80.17
14	0	0	-2	1.5	30	0.5	40.30	1.77	45.40
15	0	0	0	1.5	30	1	43.03	2.91	69.06
16	0	0	0	1.5	30	1	50.35	2.50	69.06
17	0	0	0	1.5	30	1	50.19	2.88	69.06
18	0	0	0	1.5	30	1	46.34	2.51	69.06

(나) 최적 혼합 조건 선정

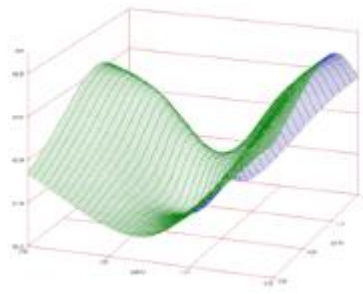
혼합조건에 따른 ACE 저해능, ORAC value,  $\alpha$ -glucosidase 억제능의 반응표면분석결과는 Fig.8에 제시하였으며, 각각의 최적 조건을 통계적으로 산출한 결과는 Table 3에 나타내었다. ACE 저해능은 소금, 설탕, 솔잎착즙액이 각각 1.42%, 30.04%, 1.01% 일 때 최고점을 나타내었다. 그러나 ORAC value와  $\alpha$ -glucosidase 억제능은 안장점을 나타내어 실험 범위 내에서 반응표면분석에 의해 제시된 최대의 ORAC value,  $\alpha$ -glucosidase 억제능을 가질 수 있는 재료의 혼합비율을 제시하였다:

ORAC value; 소금 1.72%, 설탕 33.98%, 솔잎착즙액 1.44% $\alpha$ -glucosidase 억제능; 소금1.50%, 설탕 21.38%, 착즙액 1.25%
----------------------------------------------------------------------------------------------------------

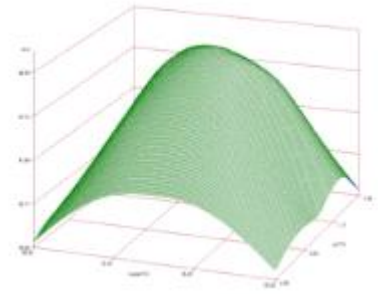
① ACE inhibitory activity



a) salt\*sugar

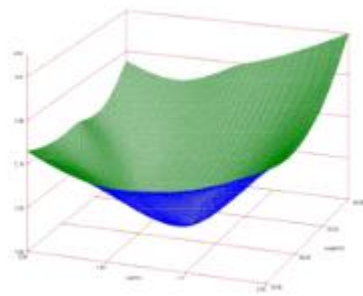


b) sugar\*pine needle

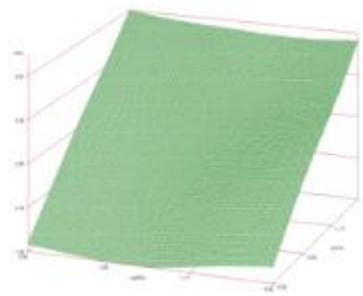


c) salt\*pine needle

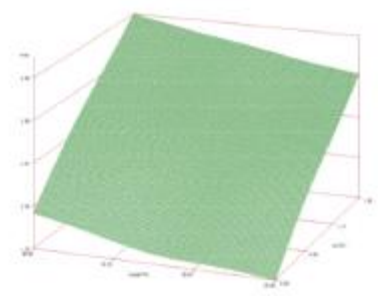
② ORAC value



a) salt\*sugar

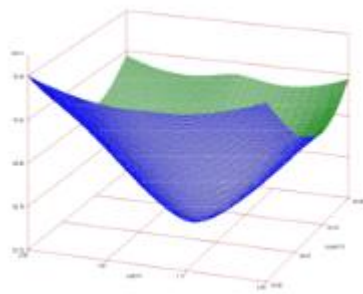


b) sugar\*pine needle

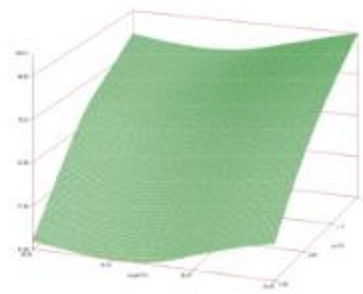


c) salt\*pine needle

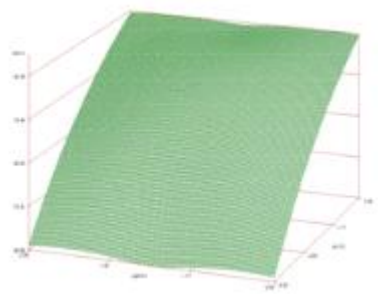
③  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity



a) salt\*sugar



b) sugar\*pine needle



c) salt\*pine needle

Fig 8. Response surface plot for ACE inhibitory activity, ORAC value, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of rice cake with addition of PNJ.

Table 3. Predicted levels of extraction condition for the maximum responses of variables by the ridge analysis in rice cake with addition of PNJ

Response	Independent variables			Maximum	Morphology
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>		
ACE inhibitory activity(%)	1.42	30.04	1.01	47.97	Maximum
ORAC( $\mu$ M TE)	1.72	33.98	1.44	3.86	Saddle point
$\alpha$ -glucosidase inhibitory activity(%)	1.50	21.38	1.25	83.64	Saddle point

(다) 기능성 떡의 제조 및 효능 분석

Table 3에 제시된 최적배합조건의 통계결과를 바탕으로 2가지 혼합 비율(%) (술잎설기떡 A, 소금 : 설탕 : 술잎착즙액=1.42 : 30.04 : 1.01, 술잎설기떡 B, 소금 : 설탕 : 술잎착즙액=1.5 : 21.38 : 1.44)을 선정하여 각각 기능성 떡을 제조한 후, ACE 저해능, ORAC value, α-glucosidase 억제능을 분석하였다(Table 4). ACE 저해능은 술잎설기떡 A와 B 모두 조리전 보다 조리후에 증가하였으며 두 그룹간에 차이는 없었다. ORAC value는 술잎설기떡 A의 경우 조리에 의한 유의적인 차이가 없었으며, 술잎설기떡 B는 조리후에 조리전보다 유의적으로 ORAC value가 감소하여 가열에 의한 변화를 나타내었다. 그러나, 조리후 ORAC value를 비교한 결과 가열에 의한 감소에도 불구하고 술잎설기떡 A보다 술잎설기떡 B에서 약 20% 높은 ORAC value를 나타내었다. 반면 술잎설기떡 A와 B 모두 α-glucosidase 억제능이 없는 것으로 나타났다. 앞에서 제시한 바와 같이 술잎착즙액은 1:1희석배수에서도 약 54%의 억제능을 나타내었으나 떡 제조 과정 중 희석됨으로써 활성이 나타나지 않은 것이라고 사료된다.

이상의 결과를 바탕으로 가열안정성과 ACE 저해능, ORAC value, α-glucosidase 억제능을 고려하여 술잎설기떡 B를 대사성질환 개선효능 분석을 위한 기능성 떡으로 선정하였다(Table 5).

Table 4. ACE inhibitory activity, ORAC value, α-glucosidase inhibitory activity of rice cakes according to addition amounts of materials(salt, sugar, and PNJ)

	Rice cake A <sup>1)</sup>		Rice cake B <sup>2)</sup>	
	uncooked	cooked	uncooked	cooked
ACE inhibitory activity(%)	20.48 ± 0.29	36.49 ± 0.19*	33.47 ± 13.22	33.95 ± 1.85
ORAC(μM TE)	0.72 ± 0.15	1.08 ± 0.27	1.75 ± 0.03	1.28 ± 0.14*
α-glucosidase inhibitory activity(%)	-	-	-	-

Values are means ± SD. \* : Significantly different at p<0.05 by Student t test. <sup>1)</sup>Rice cake A, Salt : Sugar : PNJ=1.42 : 30.04 : 1.01. <sup>2)</sup>Rice cake B, Salt : Sugar : PNJ=1.5 : 21.38 : 1.44

Table 5. Optimum conditions of rice cake with addition of PNJ

	Salt(%)	Sugar(%)	PNJ(%)
Optimum condition	1.5	21.38	1.44

(라) 결론 및 제언

기능성 떡의 최적배합비를 개발하기 위해 쌀가루(멥쌀가루), 소금, 설탕, 술잎착즙액 18 가지 배합비의 ACE 저해능, ORAC value, α-glucosidase 억제능을 측정하였고, ACE 저해능은 소금, 설탕, 술잎착즙액이 각각 1.42%, 30.04%, 1.01%, ORAC value는 소금 1.72%, 설탕 33.98%, 술잎착즙액 1.44%, α-glucosidase 억제능은 소금1.50%, 설탕 21.38%, 착즙액 1.25%일 때 가장 높은 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 최적배합조건의 통계결과를 바탕으로 술잎설기떡 A(소금 : 설탕 : 술잎착즙액=1.42 : 30.04 : 1.01)와 술잎설기떡 B(소금 : 설탕 : 술잎착즙액=1.5 : 21.38 : 1.44)를 2가지 조건을 선정하였고, 분석결과 ACE 저해능, ORAC value, α-glucosidase 억제능을 고려한 술잎착즙액이 첨가된 기능성 떡의 최적배합비로 술잎설기떡 B를 선정하였다.



따라서, 앞으로 동물모델과 임상연구를 통해 개발된 기능성 떡의 대사성질환 개선 효능을 평가하고자 한다.

(3) 고지혈증 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 지질개선 효능 검증

(가) 실험동물의 사육

11주령의 Sprague-Dawley(SD)계 수컷 흰쥐 28마리를 1주일간 Lab-chaw 식이(2018S Teklad global 18% protein rodent diet, USA)를 제공하면서 적응시킨 후 체중에 따라 난괴법에 의하여 정상군, 고지혈증유도군으로 나누어 4주간 고지혈증을 유도하였다. 그 후 정상군 (normal diet; ND), 고지혈증 유도군 (high fat-cholesterol diet; HFD), 일반설기떡군 (HFD+sulgidduk; SD), 솔잎설기떡군 (HFD+sulgidduk containing pine needle juice; PSD)으로 나누어, 일반설기떡 (쌀가루 55.3%, 설탕 8.7%, 소금 0.6%)과 솔잎설기떡 (쌀가루 54.1%, 설탕 8.5%, 소금 0.6%, 솔잎착즙액 3.1%)을 함유한 식이를 6주간 공급하였다(Table 6). 식이는 AIN-93M 식이를 기준을 제조하여 사육기간 동안 제공하였다(Table 7). 사육기간 동안 사육실의 온도는 20°C, 습도는 55%를 유지하였으며 명암은 12시간(08:00~20:00)을 주기로 자동 조절하였다.

Table 6. Experimental design

Group	Dietary Treatment			
	n	Adaptation period (1 week)	Obesity-inducing period (4 weeks)	Experimental period (6 weeks)
ND <sup>1)</sup>	7	pellet diet	Normal diet (AIN-93M based)	
HFD	7		High fat-cholesterol diet (HFD)	HFD diet
SD	7			HFD + sulgidduk diet
PSD	7			HFD + sulgidduk + pine needle juice

<sup>1)</sup>ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

Table 7. Composition of experimental diets (%)

Ingredient (g/kg)	ND <sup>1)</sup>	HFD	SD	PSD
Casein	18	18	13.8	13.77
Corn starch	50.5	50.5	3.9	0.37
Sucrose	10	10	10	10
Corn oil	10	4.75	3.91	3.83
Lard	0	4.75	4.75	4.75
Cholesterol	0	0.5	0.5	0.5
Cellulose	6.5	6.5	6.31	6.31
Vitamin mix <sup>2)</sup>	1	1	1	1
Mineral mix <sup>3)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Sodium cholate	0	0.2	0.2	0.2
BHT <sup>4)</sup>	0.001	0.001	0.001	0.001
Rice flour	0	0	55.34	54.07
Pine needle juice	0	0	0	3.11
Salt	0	0	0.61	0.6
Total weight (g)	100.0	100.2	100.8	102.9
Total energy (kcal)	384.5	384.5	378.7	376.9

<sup>1)</sup>ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. <sup>2)</sup>AIN-93 vitamin mixture. <sup>3)</sup>AIN-93M mineral mixture. <sup>4)</sup>Dibutylated hydroxytoluene.

(나) 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율, 장기무게 및 지방무게의 변화

① 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

고지혈증이 유도된 흰쥐에게 솔잎설기떡을 제공하였을 때 체중증가량과 식이섭취량, 그리고 식이효율의 변화를 Table 8에 제시하였다. 모든 그룹에서 식이섭취량은 유의적인 차이가 없었던데 반해, 체중증가량의 경우 일반설기떡과 솔잎설기떡을 제공한 그룹이 고지혈유도군에 비해 유의적으로 증가하였으나 솔잎설기떡군의 경우 일반설기떡군에 비해 유의적으로 체중증가량이 감소하였다.

Table 8. Body weight gain, food intake, and FER of hyperlipidemic rats

	ND	HFD	SD	PSD
Initial body weight (g)	382.7 ± 8.3 <sup>NS</sup>	392.7 ± 4.1	392.1 ± 5.2	392.1 ± 5.4
Final body weight (g)	405.7 ± 9.4 <sup>a</sup>	406.9 ± 5.3 <sup>a</sup>	464.1 ± 3.9 <sup>b</sup>	449.4 ± 6.8 <sup>b</sup>
Body weight gain (g/day)	0.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.1 ± 0.2 <sup>c</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>b</sup>
Food intake (g/day)	18.5 ± 0.2 <sup>NS</sup>	17.9 ± 0.2	18.2 ± 0.1	18.1 ± 0.3
FER (%) <sup>1)</sup>	3.5 ± 0.9 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.4 <sup>a</sup>	11.3 ± 0.8 <sup>c</sup>	9.0 ± 0.7 <sup>b</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. ND, AIN-93M

based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. <sup>1</sup>FER: food efficiency ratio=body weight gain (g/day)/food intake (g/day)x100

② 장기무게

고지방-고콜레스테롤을 급여한 흰쥐의 장기무게를 Table 9에 제시하였다. 간의 경우 정상군에 비해 고지혈증이 유도된 그룹의 무게가 유의적으로 증가하였으며 고지혈유도군에 비해 일반설기떡군과 솔잎설기떡군의 간 무게가 유의적으로 증가하였다. 심장과 신장의 경우 정상군과 고지혈유도군보다 일반설기떡군과 솔잎설기떡군의 무게가 유의적으로 증가하였으며 비장은 모든 그룹에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

Table 9. Relative organ weight of hyperlipidemic rats (mg/100 g body weight)

	ND	HFD	SD	PSD
Liver	10.5± 0.4 <sup>a</sup>	12.5 ± 0.5 <sup>b</sup>	15.3± 0.5 <sup>c</sup>	14.6 ± 0.8 <sup>c</sup>
Heart	1.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.2± 0.0 <sup>a</sup>	1.4 ± 1.4 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.0 <sup>b</sup>
Kidney	2.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.8± 0.1 <sup>ab</sup>	2.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>b</sup>
Spleen	0.6 ± 0.0 <sup>NS</sup>	0.7 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.1

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

③ 지방조직 무게

고지방-고콜레스테롤을 급여한 흰쥐의 피하지방, 신장주변지방, 복부지방, 부고환지방 그리고 갈색지방의 무게를 Table 10에 제시하였다. 피하지방, 신장주변지방, 복부지방, 부고환지방에서 일반설기떡과 솔잎 설기떡을 급여한 그룹의 지방 무게가 정상군과 고지혈유도군보다 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 한편 갈색지방은 모든 그룹에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

Table 10. Relative weight of adipose tissue of hyperlipidemic rats (mg/100 g body weight)

	ND	HFD	SD	PSD
Subcutaneous	2.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.9 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.9 ± 0.2 <sup>b</sup>
Retro-peritoneal	1.2 ± 0.1 <sup>ab</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.1 <sup>b</sup>
Abdominal	1.6± 0.3 <sup>ab</sup>	1.2± 0.1 <sup>a</sup>	2.0 ± 0.2 <sup>bc</sup>	2.5 ± 0.1 <sup>c</sup>
Epididymal	4.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	5.4 ± 0.5 <sup>b</sup>	5.9 ± 0.4 <sup>b</sup>
Brown adipose tissue	0.4± 0.0 <sup>NS</sup>	0.5 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.0

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. ND, AIN-93M

based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

(다) 생화학적 지표

① 혈장 지질농도 및 간독성 지표

고지방-고콜레스테롤 식이에 솔잎설기떡을 첨가한 식이가 흰쥐의 혈장 지질 개선에 미치는 영향을 Table 11에 나타내었다. 혈장 중성지방 농도는 모든 그룹에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나 총 콜레스테롤 함량의 경우 고지방-고콜레스테롤 식이에 의해 고지혈유도군, 일반설기떡군, 그리고 솔잎설기떡군 모두 증가하였으며 솔잎설기떡에 의한 개선효과는 나타나지 않았다. 또한 항 동맥경화의 지표인 혈장 HDL-콜레스테롤의 농도 역시 고지방-고콜레스테롤 식이에 의해 고지혈유도군, 일반설기떡군, 솔잎설기떡군 모두 감소하였으며 솔잎설기떡에 의한 개선효과는 나타나지 않았다. 한편 AST와 ALT는 모든 그룹에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

Table 11. Effect of *sulgidduk* containing pine needle juice on plasma lipid profiles, AST, and ALT of hyperlipidemic rats

	ND	HFD	SD	PSD
Triglycerides (mg/dL)	57.3 ± 2.6 <sup>NS</sup>	65.4 ± 4.7	59.6 ± 3.2	60.0 ± 5.0
Total cholesterol (mg/dL)	123.5 ± 4.5 <sup>a</sup>	163.3 ± 12.4 <sup>b</sup>	184.1 ± 8.9 <sup>b</sup>	176.6 ± 10.6 <sup>b</sup>
HDL-cholesterol (mg/dL)	67.1 ± 3.7 <sup>b</sup>	39.9 ± 3.9 <sup>a</sup>	38.1 ± 2.2 <sup>a</sup>	33.1 ± 3.8 <sup>a</sup>
HDL/Total-cholesterol(%)	54.7 ± 3.4 <sup>b</sup>	25.0 ± 2.7 <sup>a</sup>	21.2 ± 2.0 <sup>a</sup>	19.6 ± 3.1 <sup>a</sup>
AI <sup>1)</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.3 ± 0.5 <sup>b</sup>	4.0 ± 0.4 <sup>b</sup>	5.0 ± 1.0 <sup>b</sup>
AST (U/L)	57.1 ± 3.9 <sup>NS</sup>	60.3 ± 6.1	62.0 ± 8.2	53.6 ± 4.7
ALT (U/L)	45.7 ± 5.6 <sup>NS</sup>	69.0 ± 18.2	54.1 ± 6.7	52.4 ± 10.7

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. <sup>1)</sup>AI: Atherogenic index (Total cholesterol—HDL-cholesterol/HDL-cholesterol)

(라) 간조직 및 분변의 지질함량

① 간조직의 지질함량

간조직의 지질농도를 분석한 결과, 중성지방 농도는 정상군이 0.6 ± 0.1 mg/g, 고지혈유도군이 2.8 ± 0.1 mg/g, 일반설기떡군과 솔잎설기떡군이 각각 3.3 ± 0.2 mg/g, 2.9 ± 0.1 mg/g 으로 나타나 정상군에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이를 제공한 그룹의 간 조직 내 중성지방 농도가 유의적으로 증가하였으며 일반설기떡군의 경우 고지혈유도군보다 유의적으로 더 높은 중성지방 농도를 나타내었다 (Fig. 9). 반면, 솔잎설기떡의 경우 일반설기떡에 비해 중성지방 농도가 유의적으로 감소하는 것으로 나타났으나 고지혈유도군보다 유의적으로 중성지방농도를

낮추지는 못하였다. 콜레스테롤 농도는 정상군이  $0.7 \pm 0.0$  mg/g, 고지혈유도군이  $5.6 \pm 0.5$  mg/g, 일반설기떡군과 솔잎설기떡군이 각각  $7.0 \pm 0.4$  mg/g,  $5.5 \pm 0.3$  mg/g 으로 나타나 중성지방농도와 같은 결과를 나타내었다. 간 조직 내 총 지질함량 역시 일반대조군이  $8.1 \pm 1.1$  mg/g, 고지혈유도군이  $45.6 \pm 2.3$  mg/g, 일반설기떡군과 솔잎설기떡군이 각각  $56.9 \pm 2.8$  mg/g,  $46.3 \pm 2.8$  mg/g 으로 나타나 중성지방, 콜레스테롤과 같은 결과를 나타내었다. 이는 떡에 솔잎착즙액을 첨가함으로써 떡 섭취 시 더욱 증가될 수 있는 간 조직의 지질 수준을 낮춰 준 것으로 사료된다.

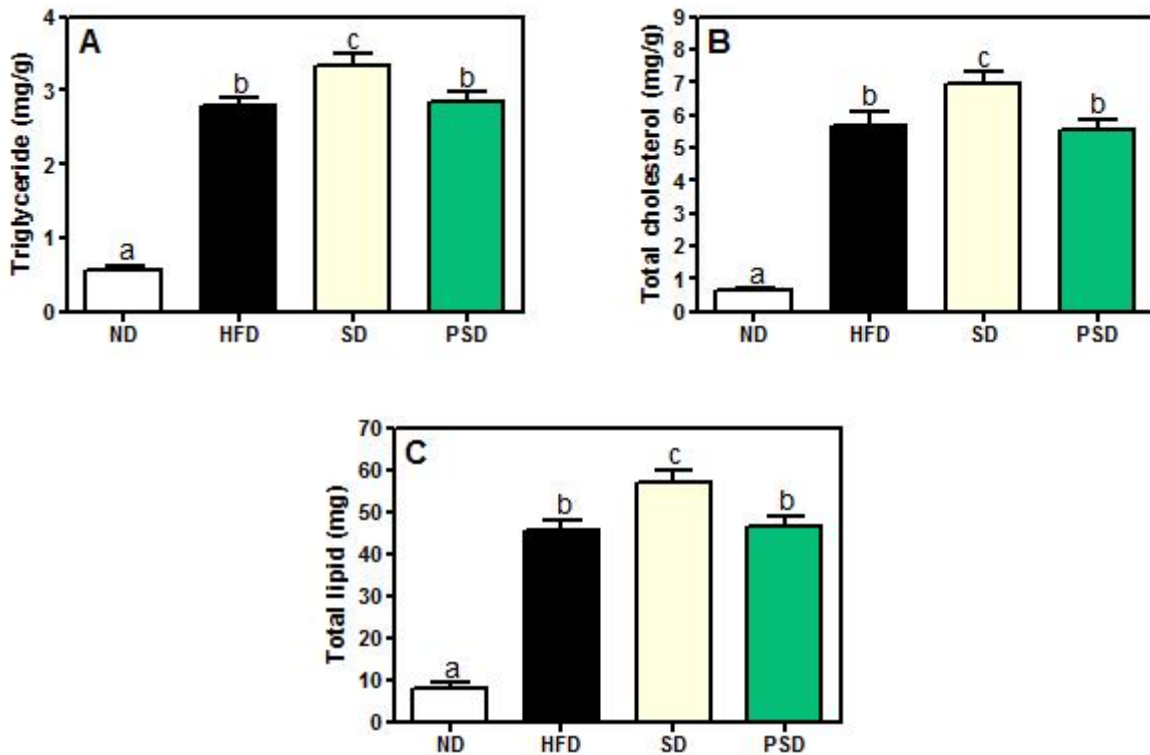


Fig. 9. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on triglyceride (A), total cholesterol (B), and total lipid (C) in liver of hyperlipidemic rats. ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Each bar represents the mean±S.E. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

## ② 분변의 지질함량

분변의 지질농도를 분석한 결과는 Table 12에 나타내었다. 중성지방 농도는 정상군이  $0.23 \pm 0.03$  mg/g, 고지혈유도군이  $0.26 \pm 0.1$  mg/g, 일반설기떡군과 솔잎설기떡군이 각각  $0.27 \pm 0.01$  mg/g,  $0.31 \pm 0.2$  mg/g 으로 나타나 고지방-고콜레스테롤 식이를 제공한 그룹에서 분변으로 중성지방 배설량이 증가하는 경향을 보였으며 솔잎설기떡군에서 중성지방 배설량이 더 증가하는 경향을 보였으나 유의적이지는 않았다. 분변 콜레스테롤 농도는 정상군이  $0.8 \pm 0.0$  mg/g, 고지혈유도군이  $1.8 \pm 0.1$  mg/g, 일반설기떡군이  $1.8 \pm 0.2$  mg/g, 솔잎설기떡군이  $1.6 \pm$

0.1 mg/g 으로 나타났으며 일반대조군에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이를 제공한 세 그룹에서 콜레스테롤 배설량이 증가하는 현상을 보였다. 이는 식이 중에 콜레스테롤 농도가 높기 때문에 흡수되지 않은 콜레스테롤이 분변 내에 함유되어 배설된 것으로 사료된다. 분변 내 총 지질 농도 역시 일반대조군에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이를 제공한 그룹에서 배설량이 유의적으로 증가하였으며, 고지혈증이 유도된 세 그룹간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

Table 12. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on fecal lipid profile of hyperlipidemic rats

	ND	HFD	SD	PSD
Triglyceride (mg/g)	0.23 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.1 <sup>ab</sup>	0.27 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.31 ± 0.2 <sup>b</sup>
Total cholesterol (mg/g)	0.8 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	1.8 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>b</sup>
Total lipid (mg)	17.2 ± 1.6 <sup>a</sup>	29.6 ± 1.4 <sup>b</sup>	26.6 ± 2.0 <sup>b</sup>	28.0 ± 1.9 <sup>b</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

(마) 혈액 및 간조직의 항산화 지표

① 혈액 항산화 지표 및 과산화지질 지표

고지방-고콜레스테롤을 급여한 흰쥐의 간 조직 중 라디칼 소거에 의한 항산화 활성 및 지질과산화물 함량을 측정된 결과는 Table 13과 같다. 혈장 ORAC수준을 측정된 결과 모든 그룹에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으며 적혈구 중 Catalase와 SOD 역시 모든 그룹에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 GSH-Px의 경우 일반설기떡군이 308.6 ± 17.1 U/g Hb 으로 다른 그룹에 비해 유의적으로 증가하였다. 혈장 내 지질 과산화물 농도를 분석한 결과 CD와 TBARs 모두 모든 그룹에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

Table 13. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on antioxidant status and lipid peroxidation in blood of hyperlipidemic rats

	Control	HFD	SD	PSD
ORAC <sup>1)</sup> value in plasma				
1 μM Trolox equivalent	627.3 ± 32.7 <sup>NS</sup>	551.0 ± 12.1	727.5 ± 99.1	635.4 ± 92.3
Erythrocyte enzyme activity				
Catalase (K/g Hb)	1112.3 ± 86.2 <sup>NS</sup>	1046.2 ± 222.9	925.7 ± 101.4	961.1 ± 187.3
SOD (U/g Hb)	4962.0 ± 194.0 <sup>NS</sup>	4618.6 ± 773.3	5585.5 ± 1436.9	6030.7 ± 2636.3
GSH-Px (U/g Hb)	257.7 ± 14.0 <sup>a</sup>	262.2 ± 6.1 <sup>a</sup>	308.6 ± 17.1 <sup>b</sup>	252.8 ± 9.7 <sup>a</sup>
Lipid peroxidation status in plasma				
CD (μM) <sup>2)</sup>	4.4 ± 0.3 <sup>NS</sup>	4.5 ± 0.3	4.1 ± 0.5	4.7 ± 0.3
TBARs (μM/mL) <sup>3)</sup>	8.0 ± 0.4 <sup>NS</sup>	9.1 ± 0.6	9.2 ± 0.3	9.4 ± 0.34

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. <sup>1)</sup>ORAC; oxygen radical absorbance capacity, <sup>2)</sup>CD; conjugated

dienes, <sup>3b</sup>TBARs; thiobarbituric acid reactive substance.

② 간조직의 항산화 지표 및 과산화지질 지표

간 조직의 생체 내 효소적 방어체계의 일종인 SOD, catalase 및 GSH-px의 활성 및 지질과산화물 농도를 측정된 결과는 Table 14과 같다. Catalase활성은 정상군에 비해 고지혈유도군의 항산화 효소활성이 유의적으로 증가하였으며 일반설기떡과 솔잎설기떡군의 경우 정상군과 유사한 활성을 나타내었다. GSH-Px의 경우 솔잎설기떡군이 34.7± 4.7 μM/min/mg protein 으로 다른 그룹보다 유의적으로 감소하였다. 한편 Mn-SOD의 경우 고지방-고콜레스테롤식을 급여한 세 그룹 모두 정상군에 비해 효소활성이 감소하였으나 솔잎설기떡군의 경우 고지혈유도군과 일반설기떡군보다 유의적으로 효소활성이 유의적으로 증가하였다. 그러나 Cu, Zn-SOD는 모든 그룹에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 간조직 내 지질과산화물 농도를 측정된 TBARs assay 결과는 고지방-고콜레스테롤식을 급여한 그룹이 정상군보다 높은 경향을 보였으나 유의적이지 않았다.

Table 14. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in liver of hyperlipidemic rats

	Control	HFD	SD	PSD
Antioxidant enzyme activity				
Catalase (mM/min/mg protein)	1.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.8 ± 0.6 <sup>b</sup>	2.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.0 ± 0.1 <sup>a</sup>
GSH-Px (μM/min/mg protein)	52.4 ± 5.2 <sup>b</sup>	56.9 ± 9.6 <sup>b</sup>	55.6 ± 4.0 <sup>b</sup>	34.7± 4.7 <sup>a</sup>
Cu,Zn-SOD (U/mg protein)	277.8 ± 70.0 <sup>NS</sup>	418.8 ± 141.5	254.9 ± 40.8	232.1 ± 49.7
Mn-SOD (U/mg protein)	0.23 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.16 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>b</sup>
Lipid peroxidation status in liver				
TBARs (μM/mg protein) <sup>1)</sup>	1.9 ± 0.2 <sup>NS</sup>	2.7 ± 0.6	2.1 ± 0.5	2.7± 0.5

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

(바) 솔잎설기떡의 항유전독성능(DNA 손상 보호능)

고지방-고콜레스테롤 식이에 솔잎설기떡을 첨가한 식이가 흰쥐의 DNA 손상 억제에 미치는 효과를 comet assay를 이용하여 분석하였다 (Fig. 10). 그 결과 정상군에 비해 고지혈유도군에서 DNA 손상정도가 증가하는 경향을 보였고, 솔잎설기떡군에서 고지혈유도군에 비하여 손상정도가 유의적으로 감소되는 효과가 있는 것으로 나타났다.

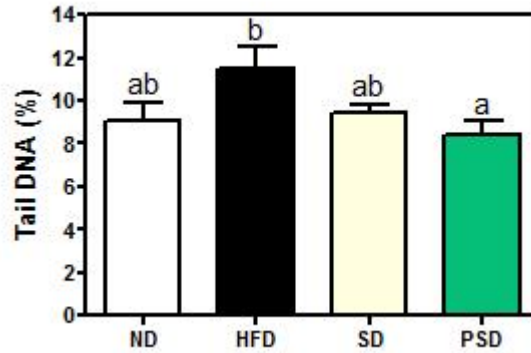


Fig. 10. Antigenotoxic effect of Sulgidduk containing pine needle juice on 200  $\mu$ M  $H_2O_2$ -induced DNA damage in leukocyte of hyperlipidemia rats. ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Each bar represents the mean $\pm$ S.E. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

(사) 솔잎설기떡의 지질대사 관련 유전자 발현

① LDL 대사관련 유전자 발현

LDL 대사 관련 유전자로 알려진 SCD1과 SREBP2의 유전자 발현에 대한 결과를 Fig. 11에 제시하였다. SCD1의 발현은 고지혈유도군에서 가장 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이를 나타내지는 못하였다. SREBP2의 발현은 일반설기떡군에서 가장 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이를 나타내지는 못하였다.

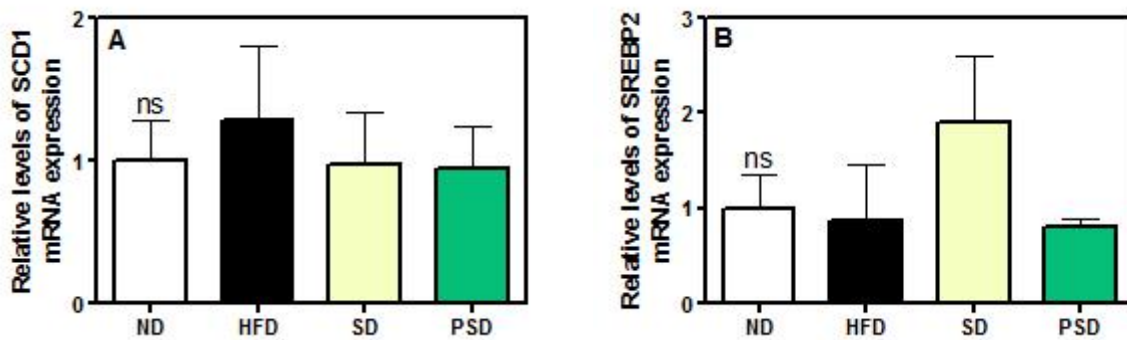


Fig. 11. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on hepatic mRNA levels of SCD1(A) and SREBP2(B) genes in hyperlipidemic rats. ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Each bar represents the mean $\pm$ S.E. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. NS: Not significant.

② HDL 대사관련 유전자 발현



LDL 대사 관련 유전자로 알려진 ApoA1과 LXR $\alpha$ 의 유전자 발현에 대한 결과를 Fig. 12에 제시하였다. 그 결과, ApoA1의 발현은 일반설기떡군에서 유의적으로 증가한 반면, LXR $\alpha$ 의 발현에서는 고지혈유도군에서 증가하는 경향을 나타내었지만 유의적이지는 않았다.

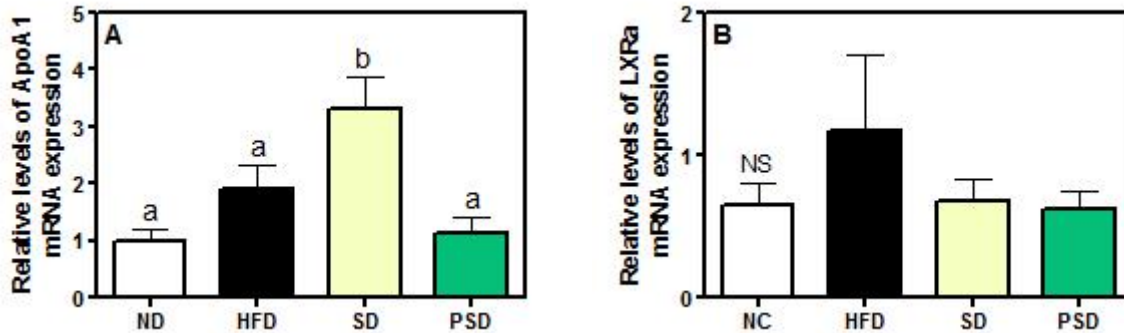


Fig. 12. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on hepatic mRNA levels of ApoA1(A) and LXR $\alpha$ (B) genes in hyperlipidemic rats. ND, AIN-93M based normal diet; HFD, high fat-cholesterol diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Each bar represents the mean $\pm$ S.E. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. NS: Not significant.

#### (아) 결론 및 제언

고지방-고콜레스테롤 식이에 솔잎설기떡을 첨가한 결과 설기떡 섭취에 의해 증가한 체중증가량 및 간조직의 지질수준(중성지방, 총 콜레스테롤, 총 지질)을 감소시키는 효과를 나타내었다. 또한 분변 중성지방의 수준은 정상군과 고지혈증유도군 및 일반설기떡군 간에 유의적인 차이가 없었음에도 불구하고, 솔잎설기떡을 첨가한 그룹에서는 정상군보다 유의적으로 증가하였으며 이에 솔잎착즙액의 지질 배출 촉진효과를 확인하였다. 또한, 솔잎설기떡군에서 고지혈증유도군 보다 산화적 스트레스에 대한 DNA 손상 보호능이 유의적으로 높았다. 이상의 결과에서, 고지혈증을 유도한 흰쥐에서 솔잎설기떡의 섭취는 체중증가억제, 간조직의 지질수준 감소, 분변으로의 지질 배출 증가, DNA 손상 보호능을 나타내는 것으로 확인되었다. 이에 본 연구에서 개발된 솔잎착즙액을 첨가한 솔잎설기떡은 항고지혈증을 나타내는 기능성 떡으로써 섭취시 대사증후군 개선에 도움을 줄 것으로 기대된다.

#### 나. 2차 년도

##### (1) 비만 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 체중감소 및 지질개선 효능 검증

##### (가) 실험동물의 사육

솔잎 설기떡 조성물의 비만 개선효과를 검증하기 위하여 5주령의 수컷 흰쥐(Sprague Dawley)를 대조군(ND, AIN-76 based diet;  $n=7$ )과 비만유도군(HFD, high-fat diet; 15% lard;  $n=24$ )으로 구분하여 4주간 고지방식이를 제공하여 비만을 유도하였다. 4주 후, 비만이 유도된

비만유도군(HFD)군을 각 8마리씩 비만유도군, 설기떡 조성물(쌀가루 10.9%, 설탕 2.33%, 소금 0.16%)군, 솔잎설기떡 조성물(쌀가루 10.66%, 설탕 2.28%, 소금 0.16%, 솔잎 착즙액 6.1%)군으로 나누어 9주간 실험식을 공급하였다(Table 15). 식이는 AIN-76 식이를 기준을 제조하여 사육기간 동안 제공하였다(Table 16). 사육기간 동안 사육실의 온도는 20°C, 습도는 55%를 유지하였으며 명암은 12시간(08:00~20:00)을 주기로 자동 조절하였다.

Table 15. Experimental design

Group	Dietary Treatment			
	n	Adaptation period (1 week)	Obesity-inducing period (4 weeks)	Experimental period (9 weeks)
ND <sup>1)</sup>	7	pellet diet	Normal diet (AIN 76 based)	
HFD	8		High-fat diet (HFD)	HFD diet
SD	8		HFD + sulgidduk diet	
PSD	8		+ 15% lard	HFD + sulgidduk + pine needle juice diet

<sup>1)</sup>ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

Table 16. Composition of the experimental diets (%)

Ingredient (%)	ND <sup>1)</sup>	HFD	SD	PSD
Basal composition				
Casein	20	20	19.17	18.92
Corn starch	15	10	0.13	0.03
Sucrose	50	40	40	40
Corn oil	5	5	4.8	4.6
Cellulose	5	5	4.9	4.9
Vitamin mix <sup>2)</sup>	1	1	1	1
Mineral mix <sup>3)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartarate	0.2	0.2	0.2	0.2
BHT <sup>4)</sup>	0.001	0.001	0.001	0.001
Experimental composition (induced obesity)				
Lard	0	15	15	15
Experimental composition ( <i>Sulgidduk</i> added with pine needle juice)				
Rice flour	0	0	10.9	10.66
Pine needle juice	0	0	0	0.78
Salt	0	0	0.16	0.16

<sup>1)</sup>ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. <sup>2)</sup>AIN-76 vitamin mixture. <sup>3)</sup>AIN-76 mineral mixture.

<sup>4</sup>Dibutylated hydroxytoluene.

(나) 솔잎설기떡 섭취에 의한 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율

실험동물의 체중변화는 Table 17과 Fig. 13에 제시하였다. 비만유도군(HFD)과 설기떡 조성물군(SD)의 체중은 대조군(ND)보다 각각 13.8%, 13.5% 유의적으로 증가한 반면, 솔잎설기떡 조성물군(PSD)은 비만유도군(HFD)보다 유의적인 체중감소 효과를 나타내었다.

실험동물의 식이섭취량, 에너지섭취량 및 식이효율은 Fig. 14에 제시하였다. 식이섭취량은 대조군(ND)보다 비만유도군(HFD)에서 유의적으로 감소하였고, 에너지섭취량은 대조군(ND)보다 비만유도군(HFD)에서 유의적으로 증가함으로써 고지방식이의 높은 에너지 밀도를 알 수 있었다. 한편, 설기떡 조성물군(SD)과 솔잎설기떡 조성물군(PSD)의 식이섭취량은 비만유도군(HFD)보다 유의적으로 높았으며, 에너지섭취량 또한 대조군(ND)과 비만유도군(HFD)보다 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과에도 불구하고 솔잎설기떡 조성물군(PSD)의 식이섭취효율은 비만유도군(HFD)보다 유의적으로 낮은 것으로 나타나 솔잎설기떡 조성물군(PSD)의 체중감소 효과를 뒷받침하고 있다.

Table 17. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on the body weight change

	Normal diet	High-fat diet		
	ND <sup>1)</sup>	HFD	SD	PSD
Initial body weight (g)	195.9 ± 5.9 <sup>ns</sup>	197.9 ± 9.5		
Final body weight (g)	385.7 ± 6.5 <sup>a</sup>	439.0 ± 10.3 <sup>b</sup>	437.9 ± 6.3 <sup>b</sup>	401.1 ± 3.5 <sup>a</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. <sup>1)</sup>ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

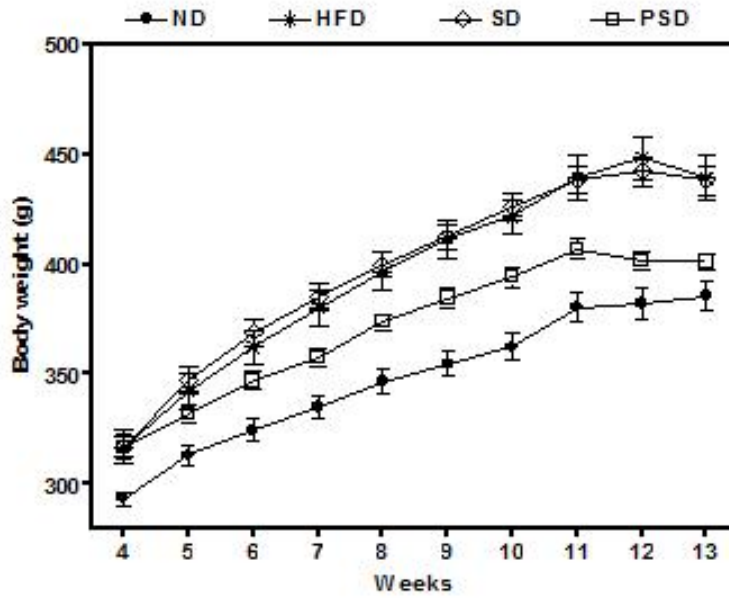


Fig. 13. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on the body weight gain per week. ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Values are the mean  $\pm$  SE.

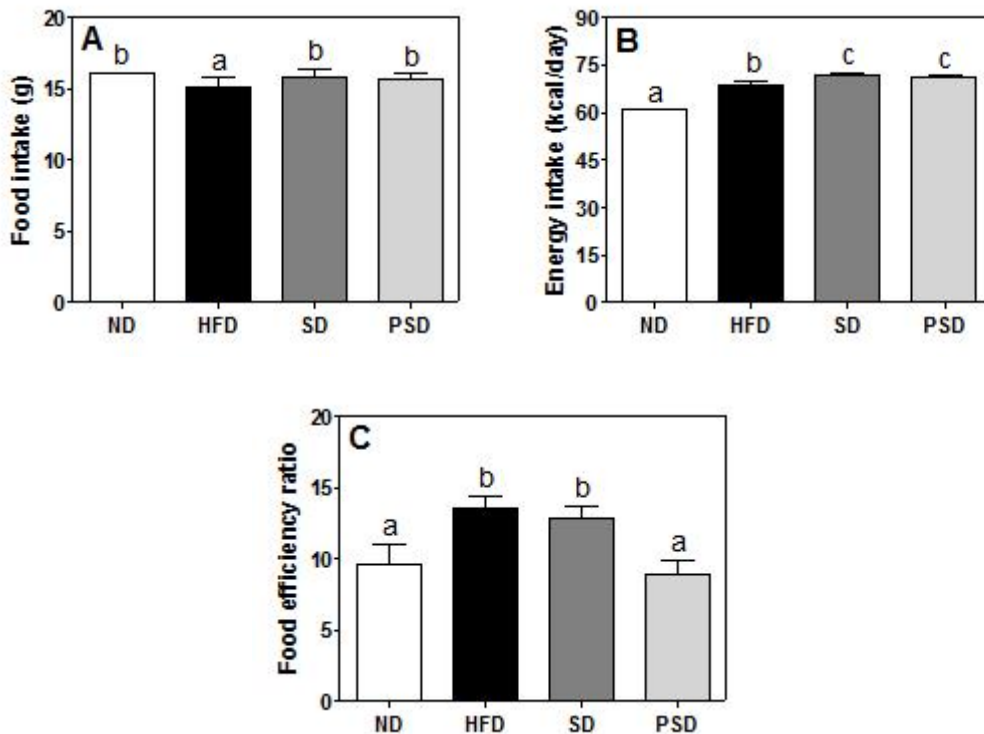


Fig. 14. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on food intake (A), energy intake (B), and food efficiency ratio (C). ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Each bar

represents the mean  $\pm$  SE. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

(다) 솔잎설기떡 섭취에 의한 장기무게의 변화

실험동물의 간, 심장, 신장, 비장의 상대적인 무게는 Table 18에 제시하였다. 간, 심장 및 비장의 체중에 대한 상대적인 무게는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 심장의 상대적인 무게는 고지방식이 섭취에 의해 대조군(ND)보다 비만유도군(HFD)에서 16.7% 유의적으로 증가하였으나, 솔잎설기떡 조성물의 섭취는 고지방식이 섭취로 인해 증가된 심장의 무게를 14.3% 유의적으로 감소시켰다.

Table 18. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on relative organ weight

	(g)	ND <sup>1)</sup>	HFD	SD	PSD
Liver		10.7 $\pm$ 0.3 <sup>ns</sup>	10.6 $\pm$ 0.5	11.2 $\pm$ 0.2	10.7 $\pm$ 0.3
Heart		1.2 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	1.4 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	1.3 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	1.2 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>
Kidney		2.6 $\pm$ 0.1 <sup>ns</sup>	2.7 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 0.1
Spleen		0.9 $\pm$ 0.1 <sup>ns</sup>	0.8 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.0

Values are the mean  $\pm$  S.E. Values with different superscript are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. <sup>1)</sup>ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

(라) 솔잎설기떡 섭취에 의한 지방조직무게 및 지방세포의 크기 변화

피하지방, 부고환지방, 신장주변지방 및 내장지방조직의 무게변화는 Fig.15에 제시하였다. 피하지방과 부고환 지방의 무게는 고지방식이 섭취에 의해 유의적으로 증가하였으며, 솔잎설기떡 조성물군(PSD)은 피하지방과 부고환지방의 무게가 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 신장주변지방과 내장지방의 무게는 고지방식이 섭취에 의해 증가하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 반면에 설기떡 조성물군(SD)은 신장주변지방과 내장지방 모두 대조군(ND)보다 유의적으로 증가하였으며, 솔잎설기떡 조성물군(PSD)은 설기떡 조성물군(SD)보다 유의적인 감소를 나타내어 솔잎설기떡 조성물의 지방축적 억제효과를 확인하였다.

이 결과를 토대로 피하지방조직과 부고환지방조직을 hematoxylin과 eosin으로 염색하여 지방조직을 형태학적으로 분석하고 지방세포의 면적을 구한 결과를 Fig. 16~Fig. 19에 제시하였다. 피하지방조직의 지방세포의 면적은 비만유도군(HFD)에서 대조군(ND)보다 83.9% 유의적으로 증가하였으며, 설기떡 조성물군(SD) 또한 대조군(ND)보다 51.5% 유의적으로 증가하였다. 반면에 솔잎설기떡 조성물군(PSD)은 비만유도군(HFD)보다 지방세포의 면적이 유의적으로 감소하여 대조군(ND) 수준을 나타내었다. 비만유도군(HFD)과 설기떡 조성물군(SD)의 부고환지방조직의 지방세포의 면적은 대조군(ND)보다 30.7%, 22.2% 유의적으로 높았으나, 솔잎설기떡 조성물군(PSD)은 비만유도군(HFD)보다 23.4% 감소하여 대조군(ND) 수준을 나타내었다.

① 지방조직의 무게 변화

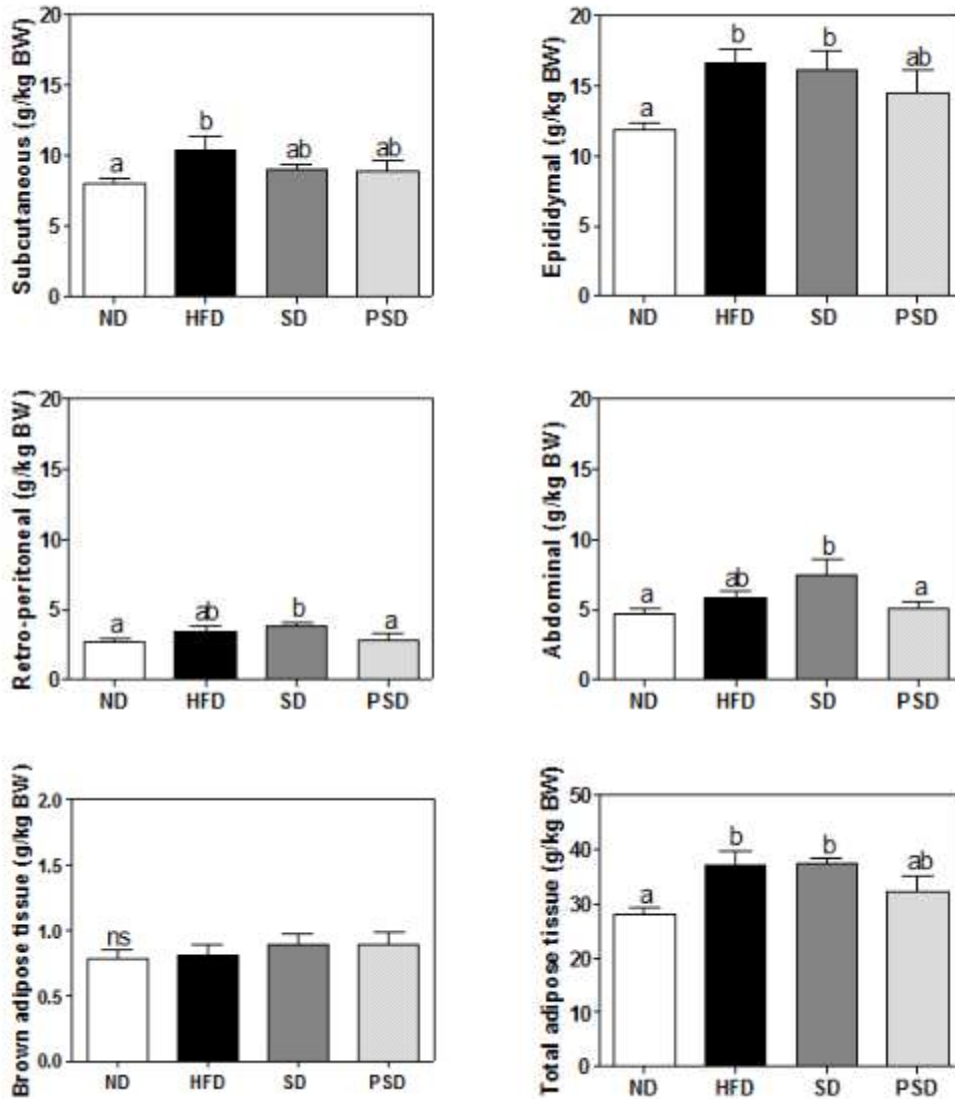


Fig. 15. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on adipose tissue weight. ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Each bar represents the mean  $\pm$  SE. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

② 피하지방조직(subcutaneous adipose tissue)의 지방세포크기의 변화

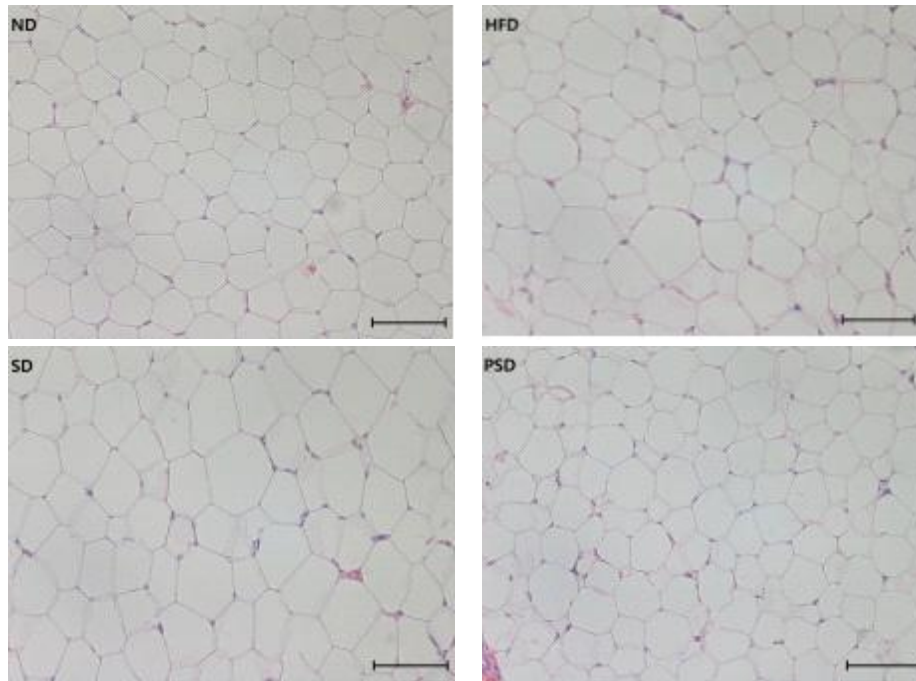


Fig. 16. Histological analysis of subcutaneous adipose tissue of rats fed the experimental diets for 9 weeks. ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. All sections were stained with hematoxylin and eosin; magnification,  $\times 100$ . Magnification bar = 100  $\mu\text{m}$ .

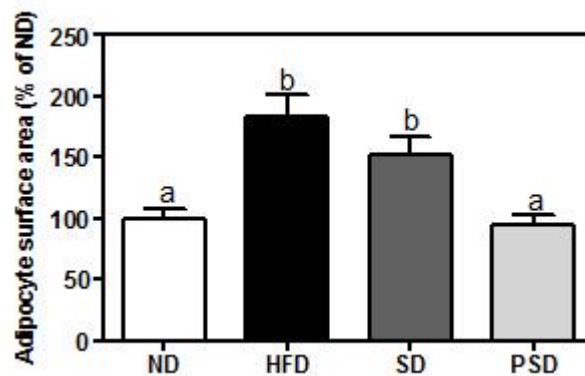


Fig. 17. Subcutaneous adipocytes surface area of obese rats fed the experimental diets for 9 weeks. ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Mean surface area for subcutaneous adipocytes was measured using Image J software. Each bar represents the mean  $\pm$  SE. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

③ 부고환지방조직(epididymal adipose tissue)의 지방세포크기의 변화

The average of epididymal adipocytes area was larger in rats fed high-fat diet and the

component of *Sulgidduk* based diet supplementation by 30.7% and 22.2%, respectively. On the other hand, the average of subcutaneous adipocytes area in rats fed the component of *Sulgidduk* containing pine needle juice was decreased by 23.4% compared to high-fat diet group.

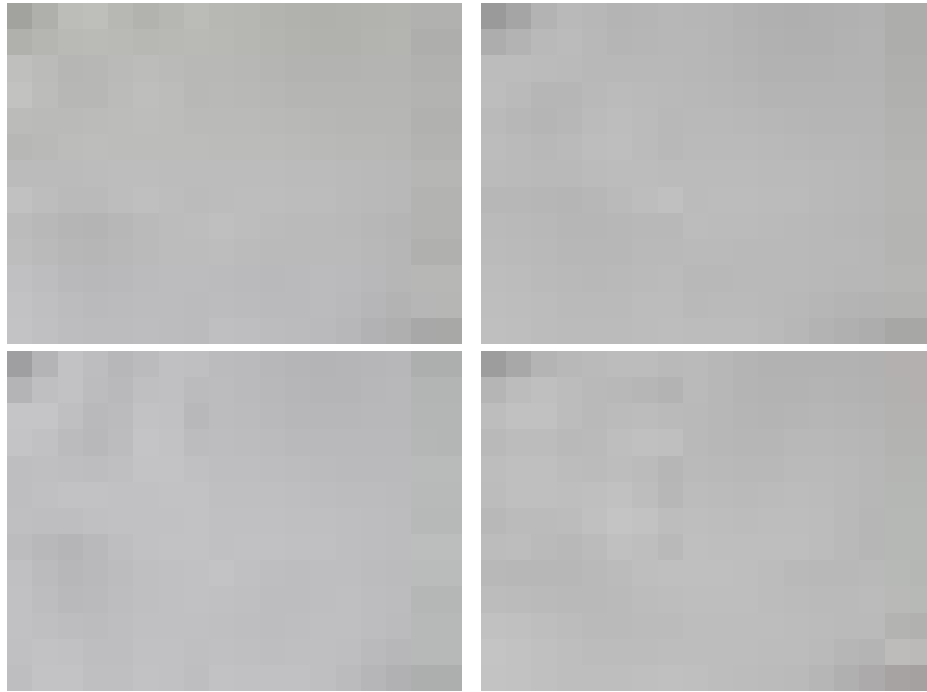


Fig. 18. Histological analysis of epididymal adipose tissue of rats fed the experimental diets for 9 weeks. ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. All sections were stained with hematoxylin and eosin; magnification,  $\times 100$ . Magnification bar = 100  $\mu\text{m}$ .

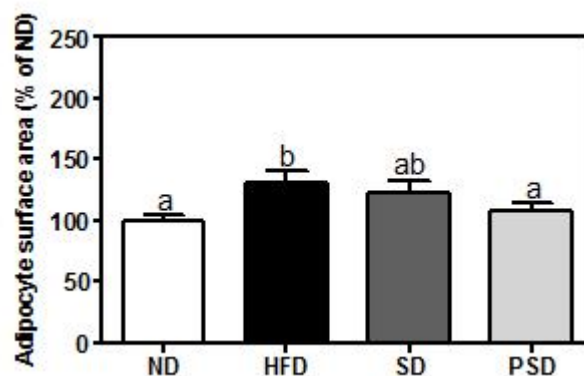


Fig. 19. Epididymal adipocytes surface area of obese rats fed the experimental diets for 9 weeks. ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Mean surface area for epididymal adipocytes was measured



using Image J software. Each bar represents the mean  $\pm$  SE. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

(마) 솔잎설기떡 섭취에 의한 혈장 및 간의 지질농도 변화

실험동물의 혈장과 간의 지질농도의 변화는 Table 19에 나타내었다. 혈장과 간의 지질농도의 변화는 그룹간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

Table 19. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on plasma and hepatic lipid profiles

	ND <sup>1)</sup>	HFD	SD	PSD
Lipid profiles in plasma				
Triglyceride (mg/dL)	64.5 $\pm$ 1.8 <sup>ns</sup>	67.4 $\pm$ 3.7	63.4 $\pm$ 2.2	60.1 $\pm$ 1.9
Total cholesterol (mg/dL)	157.9 $\pm$ 3.6 <sup>ns</sup>	161.0 $\pm$ 7.5	168.2 $\pm$ 3.9	162.1 $\pm$ 3.4
HDL-cholesterol (mg/dL)	37.1 $\pm$ 1.6 <sup>ns</sup>	31.9 $\pm$ 2.3	35.2 $\pm$ 1.3	35.2 $\pm$ 1.2
LDL-cholesterol (mg/dL)	107 $\pm$ 3.2 <sup>ns</sup>	107.5 $\pm$ 8.7	120.3 $\pm$ 3.0	114.8 $\pm$ 3.1
AI <sup>d)</sup>	3.3 $\pm$ 0.2 <sup>ns</sup>	3.8 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 0.1	3.6 $\pm$ 0.1
Lipid profiles in liver				
Total lipid (mg/g)	19.3 $\pm$ 1.5 <sup>ns</sup>	18.0 $\pm$ 1.3	19.0 $\pm$ 1.3	18.0 $\pm$ 1.2
Triglyceride (mg/dL)	0.56 $\pm$ 0.03 <sup>ns</sup>	0.60 $\pm$ 0.04	0.65 $\pm$ 0.08	0.56 $\pm$ 0.01
Total cholesterol (mg/dL)	0.62 $\pm$ 0.04 <sup>ns</sup>	0.68 $\pm$ 0.05	0.75 $\pm$ 0.10	0.63 $\pm$ 0.02

Values are the mean $\pm$ S.E. Values with different superscript are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. <sup>1)</sup>ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

(바) 솔잎설기떡 섭취에 의한 간독성 지표 변화

실험동물의 혈장 AST 및 ALT는 그룹간에 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 혈장 AST와 ALT의 범위는 각각 36.1-41.6 U/L, 36.4-44.0 U/L로 나타났다(Table 20). 이는 Sprague-Dawley 흰쥐의 AST 및 ALT 활성의 임상적 참고 기준치(AST: 39-262 U/L, ALT: 20-60 U/L)에 해당하는 수치이므로(7,8), 설기떡 조성물 및 솔잎설기떡 조성물이 실험동물에 간독성을 일으키지 않은 것을 확인하였다.

Table 20. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on AST and ALT levels in plasma

Group	ND <sup>1)</sup>	HFD	SD	PSD
AST(U/L)	40.4 $\pm$ 3.9 <sup>ns</sup>	39.0 $\pm$ 2.3	41.6 $\pm$ 1.5	36.1 $\pm$ 0.6
ALT(U/L)	44.0 $\pm$ 6.1 <sup>ns</sup>	42.3 $\pm$ 4.6	38.4 $\pm$ 3.4	36.4 $\pm$ 1.7

Values are the mean $\pm$ S.E. Values with different superscript are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. <sup>1)</sup>ND, AIN-76

based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

(사) 혈장 adipocytokine 지표 변화

혈장 insulin, adiponectin, leptin 및 resistin의 농도변화는 Table 21에 나타내었다. 혈장 insulin 농도는 그룹간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 혈장 adiponectin은 대조군(ND)보다 비만유도군(HFD)에서 유의적으로 감소하였으며, 설기떡 조성물과 솔잎설기떡 조성물의 섭취는 비만유도군(HFD)보다 adiponectin을 유의적으로 증가시키는 효과를 나타내었다. 혈장 resistin 또한 대조군(ND)보다 비만유도군(HFD)에서 유의적으로 감소하였으며, 대조군(ND)보다 솔잎설기떡 조성물군(PSD)에서 유의적으로 증가하였다. 반면에, 혈장 leptin은 대조군(ND)보다 비만유도군(HFD)과 설기떡 조성물군(SD)에서 유의적으로 증가하였으며, 솔잎설기떡 조성물군(PSD)은 비만유도군(HFD)보다 감소하는 경향을 나타내었으나, 통계적인 유의성은 나타내지 않았다.

Table 21. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on adipocytokine levels in plasma

Group	ND <sup>1)</sup>	HFD	SD	PSD
Insulin (µg/L)	0.68 ± 0.06 <sup>ns</sup>	0.73 ± 0.06	0.71 ± 0.09	0.74 ± 0.05
Adiponectin (µg/mL)	14.6 ± 1.0 <sup>c</sup>	7.8 ± 0.5 <sup>a</sup>	11.0 ± 1.1 <sup>b</sup>	13.2 ± 1.0 <sup>bc</sup>
Leptin (ng/mL)	1.3 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.5 <sup>b</sup>	2.4 ± 0.3 <sup>b</sup>	1.6 ± 0.2 <sup>ab</sup>
Resistin (ng/mL)	1.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>ab</sup>	1.3 ± 0.2 <sup>b</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. <sup>1)</sup>ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

(아) 혈액 및 간조직의 항산화지표

① 혈장 항산화 지표 및 과산화지질 지표

ORAC value, 총 항산화능(TRAP), 혈장의 지질과산화(CD, TBARS)의 결과는 Table 22에 제시하였다. 고지방식이 섭취에 따른 비만유도는 대조군보다 ORAC value를 감소시키고, 설기떡 조성물과 솔잎설기떡 조성물 섭취에 의해 증가하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 혈장 총 항산화능, 혈장의 지질과산화 지표(CD, TBARS)에는 그룹간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

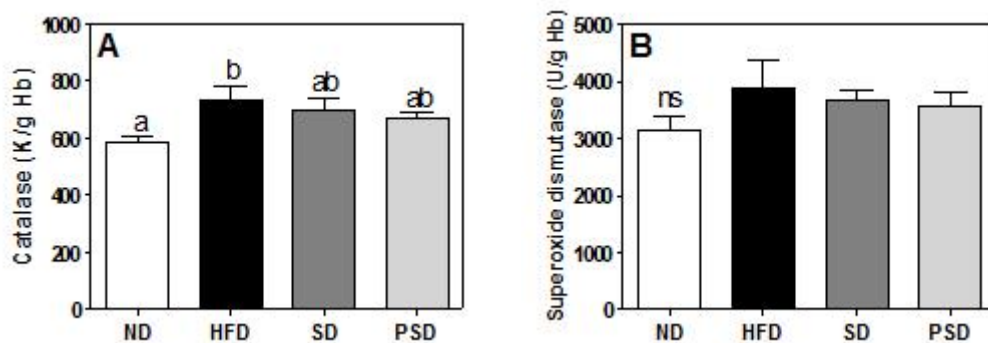
Table 22. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on antioxidant status and lipid peroxidation in plasma

	ND <sup>1)</sup>	HFD	SD	PSD
Antioxidant status in plasma				
ORAC <sup>2)</sup> (1 $\mu$ M TE <sup>3)</sup> )	271.7 $\pm$ 21.6 <sup>ns</sup>	246.6 $\pm$ 22.9	263.5 $\pm$ 19.3	276.3 $\pm$ 15.3
TRAP <sup>4)</sup> (mM)	1.2 $\pm$ 0.0 <sup>ns</sup>	1.1 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.0
Lipid peroxidation status in plasma				
CD <sup>5)</sup> ( $\mu$ M)	4.0 $\pm$ 0.3 <sup>ns</sup>	4.4 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.2
TBARS <sup>6)</sup> ( $\mu$ M)	54.0 $\pm$ 2.9 <sup>ns</sup>	52.2 $\pm$ 2.8	53.3 $\pm$ 2.7	51.8 $\pm$ 1.5

Values are the mean $\pm$ S.E. Values with different superscript are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. <sup>1)</sup>ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. <sup>2)</sup>ORAC: Oxygen radical absorbance capacity. <sup>3)</sup>TE: Trolox equivalent. <sup>4)</sup>TRAP: Total radical trapping capacity. <sup>5)</sup>CD: Conjugated diene. <sup>6)</sup>TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances.

## ② 적혈구 내 항산화 효소 활성

적혈구 내 항산화 효소 활성결과는 Fig. 20에 제시하였다. Catalase 활성은 대조군(ND)보다 비만유도군(HFD)에서 유의적으로 증가하였으며, 설기떡 조성물군(SD)과 솔잎설기떡 조성물군(PSD)은 비만유도군(HFD)보다 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성을 나타내지 않았다. SOD 활성은 비만유도군이 대조군보다 증가하고, 설기떡 조성물과 솔잎설기떡 조성물 섭취에 의해 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 나타내지 않았다. 고지방식이를 그룹간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. GSH-Px 활성은 대조군(ND)보다 비만유도군(HFD)에서 유의적으로 증가하였으며, 설기떡 조성물과 솔잎설기떡 조성물의 섭취에 의해 유의적으로 감소하는 효과를 나타내었다.



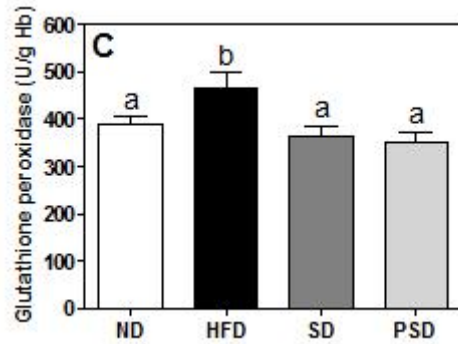


Fig. 20. Effect of component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on catalase (A), superoxide dismutase (B), and glutathione peroxidase (C) in erythrocyte. ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Each bar represents the mean  $\pm$  SE. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

### ③ 간조직의 항산화 지표

간의 항산화 효소 활성은 Table 23에 제시하였다. Catalase, Cu,Zn-SOD, GSH-Px의 활성은 그룹간에 유의성이 나타나지 않았다. Mn-SOD 활성은 대조군(ND)보다 비만유도군(HFD)에서 유의적으로 증가하였으며, 설기떡 조성물군(SD)과 솔잎설기떡 조성물군(PSD)은 비만유도군(HFD)보다 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성을 나타나지 않았다.

Table 23. Effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on hepatic antioxidant enzyme activities

	ND <sup>1)</sup>	HFD	SD	PSD
Catalase (mM/mg protein)	1.1 $\pm$ 0.2 <sup>ns</sup>	1.0 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.2
Cu, Zn-SOD (U/mg protein)	438.9 $\pm$ 143.9 <sup>ns</sup>	607.6 $\pm$ 260.5	702.6 $\pm$ 283.9	166.6 $\pm$ 32.65
Mn-SOD (U/mg protein)	77.1 $\pm$ 6.5 <sup>ns</sup>	83.1 $\pm$ 24.6	75.3 $\pm$ 23.8	76.8 $\pm$ 3.4
GSH-Px ( $\mu$ M/mg protein)	141 $\pm$ 26.6 <sup>ns</sup>	179.7 $\pm$ 33.5	156.1 $\pm$ 21.0	170.1 $\pm$ 38.9

Values are the mean  $\pm$  S.E. Values with different superscript are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. <sup>1)</sup>ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice.

### (자) 항유전독성능(DNA 손상도)

항유전독성은 Singh 등(25)의 alkaline comet assay 방법에 따라 측정하였다. Single-cell gel-electrophoresis(SCGE) assay로 잘 알려진 comet assay는 활성산소에 의한 산화적 스트레스 유발 시 세포내의 DNA 손상 정도를 직접적으로 확인할 수 있는 유용한 지표로 사용되고 있다. 백혈구의 DNA 손상도를 측정한 결과는 Fig. 21에 제시하였다. 대조군(ND)보다 비만유

도군(HFD)의 Tail DNA(%)가 3.1배 높게 나타나 고지방식으로 유도된 비만은 DNA 손상을 일으킴을 확인하였다. 또한, 솔잎설기떡 조성물군(PSD)은 비만유도군(HFD)보다 Tail DNA(%)가 44.1% 감소하는 매우 큰 효과를 나타내었다.

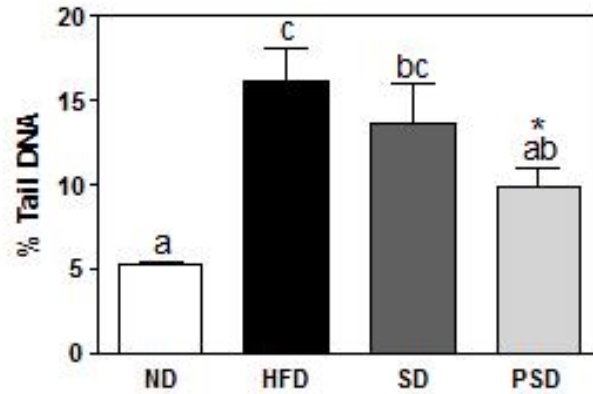


Fig. 21. Antigenotoxic effect of a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice on high-fat diet induced DNA damage in leukocytes. ND, AIN-76 based normal diet; HFD, high-fat diet; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk*; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice. Each bar represents the mean  $\pm$  SE. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. \* : Significant difference between HFD and PSD by Student *t*-test ( $p < 0.05$ ).

(차) 결론 및 제언

고지방식으로 유도한 비만모델에서 솔잎설기떡 조성물의 섭취는 체중 감소 효과, 지방조직의 증가 및 지방세포 성장 감소효과를 나타냄으로써 비만을 개선시키는 것으로 나타났으며, 고지방 식이에 의해 유도된 DNA 손상을 억제시키는 항유전독성 효과를 나타내었다. 따라서 솔잎 착즙액을 첨가함으로써 개발된 기능성 떡은 영양적인 가치를 증진시킬 뿐만 아니라 비만을 예방하고, 비만으로 인해 유도될 수 있는 2차적인 질병 예방에도 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

(2) 당뇨 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 체중감소 및 지질개선 효능 검증

(가) 실험동물의 사육

8주령의 Sprague-Dawley(SD)계 수컷 흰쥐 28마리를 1주일간 Lab-chow 식이(2018S Teklad global 18% protein rodent diet, USA)를 제공하면서 적응시킨 후 streptozotocin (STZ) 55 mg/kg을 0.01 M citric acid에 녹여 복강주사를 투여하고, 15분 후 nicotinamide 110 mg/kg을 증류수에 녹여 복강주사를 투여하였다. 1주일 후 미정맥에서 혈액을 채취하여 공복혈당 농도가 160 mg/dL 이상인 것으로 당뇨 유발을 확인한 후 체중에 따라 난피법으로 당뇨유도군(diabetic control, PC), 일반설기떡군(sulgidduk diet, SD), 솔잎설기떡군(sulgidduk containing pine needle juice, PSD)으로 나누었다(Table 24) 식이는 AIN-93G 식이를 기준을

제조하여 사육기간 동안 제공하였다(Table 25). 사육기간 동안 사육실의 온도는 20°C, 습도는 55%를 유지하였으며 명암은 12시간(08:00~20:00)을 주기로 자동 조절하였다.

Table 24. Experimental design

Group	Dietary Treatment				
	n	Adaptation period (1 week)	Type2 Diabetes mellitus -inducing period (1 week)	Experimental period (6 weeks)	
NC <sup>1)</sup>	7	pellet diet	-	normal diet (AIN-93G based)	
PC	7		streptozotocin 55 mg/kg + nicotinamide 110 mg/kg		sulgidduk diet
SD	7			sulgidduk diet + pine needle juice	
PSD	7				

<sup>1)</sup>NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group.

Table 25. Composition of experimental diet (%)

Ingredient (g/kg)	NC <sup>1)</sup>	PC	SD	PSD
Casein	20	20	16.48	16.32
Corn starch	53	53	11	11.96
Sucrose	10	10	10	9.69
Soybean oil	7	7	6.3	6.13
Cellulose	5	5	4.84	4.84
Vitamin mix <sup>2)</sup>	1	1	1	1
Mineral mix <sup>3)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5
Choline bitartarate	0.25	0.25	0.25	0.25
L-cystein	0.3	0.3	0.3	0.3
t-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014
BHT <sup>4)</sup>	0.001	0.001	0.001	0.001
Rice flour	0	0	46.39	45.33
Pine needle juice	0	0	0	5.9
salt	0	0	0.61	0.68
Total weight (g)	100.0	100.0	100.68	105.87
Total energy (kcal)	372.2	372.2	368.5	380.8

<sup>1)</sup>NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group. <sup>2)</sup>AIN-76 vitamin mixture. <sup>3)</sup>AIN-76 mineral mixture. <sup>4)</sup>Dibutylated hydroxytoluene.

(나) 체중증가량,식이섭취량 및 수분섭취량 변화

STZ-nicotinamide로 유도된 당뇨쥐의 체중변화, 식이섭취량 및 식이효율에 대한 솔잎설기떡

의 효과를 Table 26~29에 제시하였다.

① 체중 및 식이섭취량 변화

당뇨유도 후 0 주에 정상군(NC)보다 당뇨유발군(PC, SD, PSD)의 체중이 유의적으로 감소하였으며, 식이섭취 6주 동안 그룹간의 체중변화는 나타나지 않았다(Table 26). 식이섭취량은 정상군(NC)에 비해 당뇨유발군(PC, SD, PSD)에서 유의적으로 증가하였으며, 6주의 식이섭취 기간 동안 그룹간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Table 27). 이와 같은 결과를 바탕으로 체중증가량과 식이효율을 Table 28에 제시하였다. 정상군(NC)보다 당뇨유발군(PC, SD, PSD)에서 유의적으로 체중증가량이 감소하였으며, 식이효율은 유의적으로 감소하였다. 이와 같은 결과는 정상군에 비해 당뇨군에서 다식현상을 보고한 Kim(9) 등의 보고와 일치하는 것으로, 이는 인슐린이 결핍된 쥐에서 neuropeptide Y mRNA이 증가하고, 시상하부의 leptin 수용체의 작용이 저하됨으로써 식이섭취량이 현저히 증가하는데 기인한 결과로 사료된다(10).

Table 26. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on body weight change of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

Week	NC <sup>1)</sup>	PC	SD	PSD
0	328.4 ± 4.9 <sup>b</sup>	254.6 ± 17.0 <sup>a</sup>	255.9 ± 16.9 <sup>a</sup>	257.4 ± 17.4 <sup>a</sup>
1	356.9 ± 5.0 <sup>b</sup>	242.7 ± 11.6 <sup>a</sup>	227.9 ± 12.4 <sup>a</sup>	242.3 ± 11.7 <sup>a</sup>
2	377.5 ± 4.8 <sup>b</sup>	250.6 ± 10.7 <sup>a</sup>	247.4 ± 12.9 <sup>a</sup>	246.4 ± 11.4 <sup>a</sup>
3	393.1 ± 5.3 <sup>b</sup>	253.7 ± 10.4 <sup>a</sup>	245.1 ± 13.1 <sup>a</sup>	247.9 ± 9.9 <sup>a</sup>
4	408.2 ± 5.4 <sup>d</sup>	255.1 ± 10.3 <sup>a</sup>	246.2 ± 16.1 <sup>a</sup>	248.4 ± 8.3 <sup>a</sup>
5	417.1 ± 6.4 <sup>d</sup>	255.4 ± 7.8 <sup>a</sup>	249.1 ± 15.6 <sup>a</sup>	246.8 ± 9.9 <sup>a</sup>
6	423.5 ± 6.5 <sup>b</sup>	251.1 ± 8.7 <sup>a</sup>	254.9 ± 18.6 <sup>a</sup>	251.3 ± 9.1 <sup>a</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group.

Table 27. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on food intake change of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

Week	NC	PC	SD	PSD
1	19.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	26.6 ± 1.6 <sup>b</sup>	26.1 ± 1.0 <sup>b</sup>	27.8 ± 0.6 <sup>b</sup>
2	18.0 ± 0.7 <sup>a</sup>	27.0 ± 0.8 <sup>b</sup>	27.4 ± 0.4 <sup>b</sup>	27.2 ± 1.1 <sup>b</sup>
3	17.9 ± 0.9 <sup>a</sup>	29.3 ± 0.5 <sup>b</sup>	29.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	28.1 ± 1.2 <sup>b</sup>
4	17.9 ± 0.5 <sup>a</sup>	29.2 ± 0.6 <sup>b</sup>	29.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	28.6 ± 0.7 <sup>b</sup>
5	18.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	29.2 ± 0.4 <sup>b</sup>	29.8 ± 0.2 <sup>b</sup>	29.4 ± 0.3 <sup>b</sup>
6	17.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	28.6 ± 0.8 <sup>b</sup>	28.3 ± 0.7 <sup>b</sup>	28.5 ± 0.7 <sup>b</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NC, AIN-93G based normal diet

group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group.

Table 28. Body weight gain, food intake, and FER of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

	NC	PC	SD	PSD
Final body weight (g)	423.5 ± 6.5 <sup>b</sup>	251.1 ± 8.7 <sup>a</sup>	254.9 ± 18.6 <sup>a</sup>	251.3 ± 9.1 <sup>a</sup>
Body weight gain (g/day)	2.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	-0.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	-0.9 ± 0.7 <sup>a</sup>	-0.1 ± 0.2 <sup>a</sup>
Food intake (g/day)	19.3 ± 0.5 <sup>a</sup>	29.9 ± 0.6 <sup>b</sup>	30.2 ± 0.3 <sup>b</sup>	29.8 ± 0.7 <sup>b</sup>
FER (%) <sup>1)</sup>	11.4 ± 0.4 <sup>b</sup>	-0.3 ± 0.8 <sup>a</sup>	-0.5 ± 0.8 <sup>a</sup>	-0.4 ± 0.8 <sup>a</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group. <sup>1)</sup>FER: food efficiency ratio=body weight gain (g/day)/food intake (g/day)×100

② 수분섭취량 변화

STZ-nicotinamide로 유도된 당뇨쥐의 수분섭취량의 경우 식이섭취량과 마찬가지로 정상군에 비해 당뇨유도군(PC, SD, PSD)에서 유의적으로 높게 나타났다(Table 29). 이와 같은 결과는 STZ에 의해 유도된 당뇨쥐는 정상 쥐에 비해 수분섭취량이 4~7배 이상 증가한다고 한 Preton 등(11)의 보고와 일치하는 결과이다.

Table 29. Effect of *sulgidduk* containing pine needle juice on water intake change of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

Week	NC	PC	SD	PSD
1	50.4 ± 9.4 <sup>a</sup>	173.1 ± 4.4 <sup>b</sup>	181.3 ± 3.1 <sup>b</sup>	177.9 ± 3.1 <sup>b</sup>
2	58.7 ± 9.1 <sup>a</sup>	188.7 ± 8.8 <sup>b</sup>	216.7 ± 5.1 <sup>c</sup>	193.0 ± 10.8 <sup>bc</sup>
3	28.0 ± 5.0 <sup>a</sup>	186.0 ± 15.9 <sup>bc</sup>	220.0 ± 9.1 <sup>c</sup>	177.1 ± 17.0 <sup>b</sup>
4	31.4 ± 8.5 <sup>a</sup>	188.5 ± 14.7 <sup>bc</sup>	217.9 ± 10.4 <sup>c</sup>	171.1 ± 17.8 <sup>b</sup>
5	18.5 ± 3.3 <sup>a</sup>	168.5 ± 15.1 <sup>bc</sup>	204.5 ± 11.2 <sup>c</sup>	160.9 ± 17.2 <sup>b</sup>
6	19.3 ± 2.5 <sup>a</sup>	159.6 ± 16.9 <sup>bc</sup>	194.3 ± 12.5 <sup>c</sup>	149.1 ± 18.3 <sup>b</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group.

(다) 당대사 관련 지표



① 공복혈당

STZ-nicotinamide로 유도된 당뇨쥐의 공복혈당에 대한 솔잎설기떡의 효과는 Table 30과 Fig. 23에 제시하였다. 당뇨유도 후 0 주에 정상군은  $110 \pm 2.3$  mg/dL로 정상수준의 공복혈당을 나타낸 반면, 당뇨유도군(PC, SD, PSD)에서는 406~506 mg/dL의 혈당을 나타내었다(Table 30). 이는 STZ에 의한  $\beta$ -세포 파괴와 동시에 nicotinamide에 의한 insulin 내성작용에 기인한 것이다(12). 실험식이 투여기간 6주 후 그룹간의 편차를 명확하게 규명하기 위하여 꼬리정맥에서 채취한 혈액을 PBS에 1:1로 희석한 후 공복혈당을 측정한 결과 당뇨유도군( $770.0 \pm 77.6$  mg/dL)의 공복혈당은 정상군( $30.3 \pm 7.0$  mg/dL)보다 25.4배 증가하였으며, 솔잎설기떡 섭취군( $581.1 \pm 53.8$  mg/dL)은 당뇨유도군보다 24.5% 유의적으로 감소하였다(Fig. 22)

Table 30. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on blood glucose change of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

Week	NC	PC	SD	PSD
0	$110.0 \pm 2.3^a$	$417.1 \pm 61.7^b$	$506.3 \pm 56.2^b$	$406.4 \pm 55.5^b$
1	$108.4 \pm 3.2^a$	$559.7 \pm 29.5^b$	$499.0 \pm 65.5^b$	$495.0 \pm 34.7^b$
2	$103.3 \pm 2.8^a$	$584.0 \pm 11.2^b$	$523.0 \pm 48.2^b$	$555.6 \pm 21.3^b$
3	$107.0 \pm 2.2^a$	$569.9 \pm 17.3^c$	$493.7 \pm 22.3^b$	$549.7 \pm 22.2^c$
4	$100.3 \pm 3.9^a$	$581.6 \pm 13.3^c$	$462.1 \pm 47.3^b$	$574.7 \pm 9.5^c$
5	$105.7 \pm 1.5^a$	$552.7 \pm 10.4^b$	$523.1 \pm 39.2^b$	$527.9 \pm 28.1^b$
6	$121.3 \pm 6.5^a$	$588.3 \pm 11.7^b$	$592.3 \pm 4.3^b$	$570.0 \pm 21.1^b$

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test within group. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group.

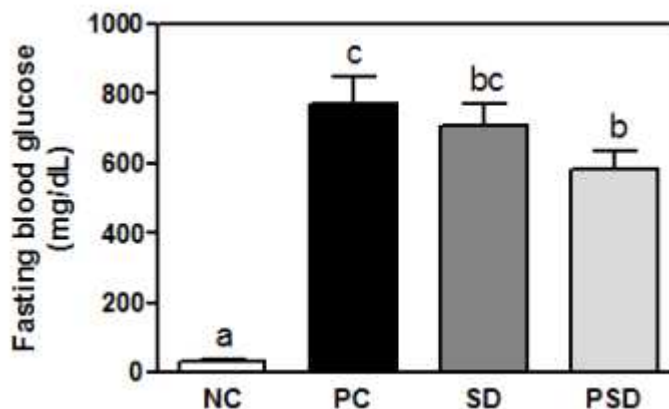


Fig. 22. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on fasting blood glucose of STZ-nicotinamide induced diabetic rats. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine

needle juice group. Each bar represents the mean±S.E. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

② 포도당 내인성

포도당 내인성은 2시간 OGTT를 통해 측정하였으며, 그 결과는 Fig 23에 제시하였다. 정상군의 혈당은  $238.0 \pm 160.5$  mg/dL이고, 당뇨유도군은  $655.1 \pm 106.2$  mg/dL으로 증가하였으며, 30분 이후로 시간에 따라 감소하였다. 그러나 당뇨유도군과 설기떡 및 솔잎설기떡군간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 또한 OGTT curve의 면적(AUC)을 산출한 결과 정상군보다 당뇨유도군의 AUC가 증가하였으나, 설기떡과 솔잎설기떡 섭취에 의한 효과는 나타나지 않았다.

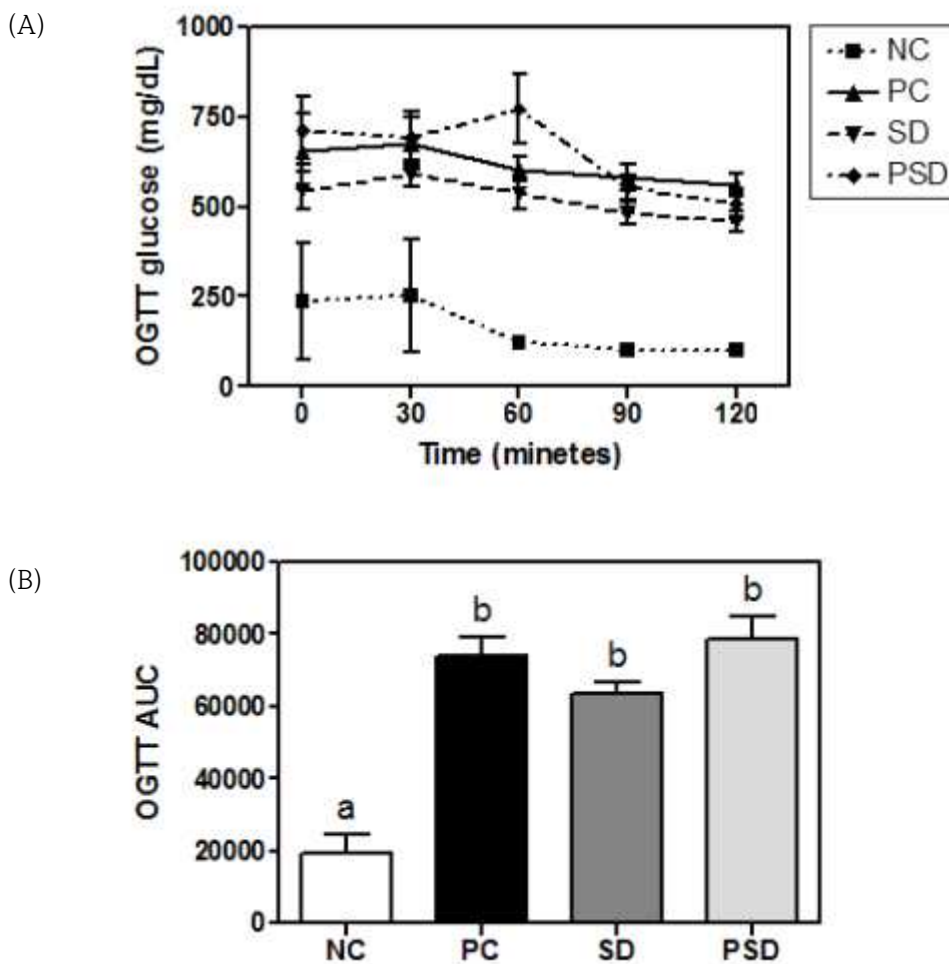


Fig. 23. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on OGTT(A) and AUCs(B) of STZ-nicotinamide induced diabetic rats. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group. Each bar represents the mean±S.E. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

③ 혈장 insulin, adiponectin

혈장 insulin과 adiponectin의 농도변화의 결과는 Table 31에 제시하였다. 혈장 insulin은 그룹간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 또한, 혈장 adiponectin은 정상군보다 당뇨유도군에서 24% 증가하고, 솔잎설기떡군이 당뇨유도군보다 50.0% 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다.

Table 31. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on insulin and adiponectin in plasma of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

	NC	PC	SD	PSD
Insulin (ug/mL)	0.29 ± 0.09 <sup>ns</sup>	0.28 ± 0.06	0.19 ± 0.03	0.37 ± 0.04
Adiponectin (ug/mL)	3.50 ± 1.80 <sup>ns</sup>	2.66 ± 0.97	2.84 ± 1.47	3.99 ± 1.34

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group.

(라) 생화학적지표

① 혈액 지질농도 및 간독성 지표

혈중 지질농도와 간독성 지표는 Table 32에 제시하였다. 중성지방은 정상군보다 당뇨유도군에서 유의적으로 증가하였으며, 설기떡과 솔잎설기떡 섭취에 의해 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 간독성 지표인 AST와 ALT는 정상군보다 설기떡군에서 유의적으로 증가하였으나, 솔잎설기떡군은 설기떡군보다 유의적으로 감소하였다.

Table 32. Effect of sulgidduk containing pine needle juice on plasma lipid profiles, AST, and ALT of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

	NC	PC	SD	PSD
Triglycerides (mg/dL)	63.6 ± 7.9 <sup>a</sup>	131.4 ± 30.7 <sup>b</sup>	88.4 ± 7.0 <sup>ab</sup>	96.0 ± 9.1 <sup>ab</sup>
Total cholesterol (mg/dL)	148.6± 4.7 <sup>ns</sup>	151.4 ± 8.2	152.8 ± 8.1	158.0 ± 12.4
HDL-cholesterol (mg/dL)	36.3 ± 2.5 <sup>ns</sup>	38.7 ± 2.8	40.6 ± 1.7	43.6 ± 2.9
HDL/Total-cholesterol(%)	24.4 ± 1.4 <sup>a</sup>	25.5 ± 1.0 <sup>ab</sup>	26.7 ± 0.8 <sup>ab</sup>	27.7 ± 0.5 <sup>b</sup>
AI <sup>1)</sup>	3.2 ± 0.2 <sup>b</sup>	3.0 ± 0.2 <sup>ab</sup>	2.8 ± 0.1 <sup>ab</sup>	2.6 ± 0.1 <sup>a</sup>
Glucose(mg/dL)	276.4 ± 31.1 <sup>a</sup>	424.9 ± 12.8 <sup>b</sup>	423.4± 9.8 <sup>b</sup>	424.0± 15.3 <sup>b</sup>
AST (U/L)	47.6 ± 6.1 <sup>a</sup>	47.3 ± 2.5 <sup>a</sup>	72.6 ± 15.5 <sup>b</sup>	35.0 ± 3.1 <sup>a</sup>
ALT (U/L)	54.0 ± 6.9 <sup>a</sup>	86.0 ± 10.0 <sup>a</sup>	131.4 ± 17.2 <sup>b</sup>	85.8 ± 8.8 <sup>a</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a

component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group. <sup>1</sup>AI: Atherogenic index (Total cholesterol—HDL-cholesterol/HDL-cholesterol)

(마) 혈액, 간조직 및 신장조직의 항산화지표

① 혈액 항산화 지표 및 과산화지질 지표

혈장 항산화능 지표(ORAC value, 혈장 총 항산화능), 적혈구내 항산화 효소활성(catalase, GSH-Px, SOD) 및 지질과산화물지표(conjugated diene(CD), 혈장 TBARs)는 Table 33에 제시하였다. 혈장 ORAC value와 총 항산화능은 그룹간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 적혈구 항산화 효소인 catalase와 SOD는 정상군보다 당뇨유도군에서 감소하고 설기떡군과 솔잎설기떡군에서 증가하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 한편 GSH-Px는 정상군보다 당뇨유도군에서 유의적으로 증가하였으며, 솔잎설기떡군은 당뇨유도군보다 14.5% 감소하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 혈장 지질과산화의 지표인 CD는 당뇨유도군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으나, 솔잎설기떡군은 설기떡군보다 유의적으로 22.8% 감소하였다.

Table 33. Effect of *sulgidduk* containing pine needle juice on antioxidant status and lipid peroxidation in blood of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

	NC	PC	SD	PSD
ORAC <sup>1)</sup> value in plasma				
1 μM Trolox equivalent	237.0 ± 22.7 <sup>NS</sup>	254.2 ± 18.5	203.5 ± 25.6	207.1 ± 12.7
TRAP	0.97 ± 0.03 <sup>NS</sup>	0.92 ± 0.04	0.93 ± 0.03	0.89 ± 0.05
Erythrocyte enzyme activity				
Catalase (K/g Hb)	436.0 ± 25.6 <sup>NS</sup>	397.8 ± 54.5	445.7 ± 23.6	471.1 ± 30.1
SOD (U/g Hb)	4289.9 ± 361.1 <sup>NS</sup>	3806.6 ± 224.1	3990.6 ± 379.7	4019.5 ± 289.8
GSH-Px (U/g Hb)	293.4 ± 11.8 <sup>a</sup>	405.2 ± 43.1 <sup>b</sup>	429.4 ± 34.0 <sup>b</sup>	346.4 ± 20.8 <sup>ab</sup>
Lipid peroxidation status in plasma				
CD (μM) <sup>2)</sup>	6.4 ± 0.2 <sup>ab</sup>	7.1 ± 0.4 <sup>ab</sup>	7.9 ± 0.9 <sup>b</sup>	6.1 ± 0.3 <sup>a</sup>
TBARs (μM/mL) <sup>3)</sup>	42.2 ± 1.2 <sup>b</sup>	34.7 ± 2.4 <sup>a</sup>	39.6 ± 1.3 <sup>ab</sup>	38.9 ± 3.3 <sup>ab</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at p<0.05 after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group. <sup>1</sup>ORAC: oxygen radical absorbance capacity. <sup>2</sup>CD: conjugated dienes. <sup>3</sup>TBARs: thiobarbituric acid reactive substance.

② 간조직의 항산화 지표

간조직의 항산화 지표는 Table 34에 제시하였다. catalase는 정상군보다 당뇨유도군에서 증가하였으며, 솔잎설기떡 섭취에 의해 유의적으로 감소하였다. Cu,Zn-SOD는 당뇨유도군에서 정상군보다 유의적으로 감소하였으며, 솔잎설기떡 섭취에 의해 증가하는 경향을 나타내었으나,

통계적인 유의성은 나타나지 않았다. GSH-Px와 Mn-SOD 활성은 그룹간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

Table 34. Effect of *sulgidduk* containing pine needle juice on antioxidant enzyme activities in liver of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

	NC	PC	SD	PSD
Catalase (mM/min/mg protein)	61.3 ± 3.4 <sup>a</sup>	84.0 ± 6.3 <sup>b</sup>	72.6 ± 10.1 <sup>ab</sup>	59.1 ± 6.2 <sup>a</sup>
GSH-Px (μM/min/mg protein)	1294.2 ± 106.2 <sup>ns</sup>	1362.8 ± 58.9	1376.1 ± 71.3	1329.6 ± 72.8
Cu,Zn-SOD (U/mg protein)	217.9 ± 44.5 <sup>b</sup>	126.7 ± 6.0 <sup>a</sup>	110.8 ± 14.6 <sup>a</sup>	146.9 ± 20.8 <sup>ab</sup>
Mn-SOD (U/mg protein)	81.3 ± 6.9 <sup>ns</sup>	75.6 ± 5.4	70.8 ± 7.0	89.7 ± 11.9

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test within group. NS: Not significant. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group.

### ③ 신장조직의 항산화 지표

신장조직의 항산화 지표는 Table 35에 제시하였다. catalase는 정상군보다 당뇨유도군에서 감소하였으며, 설기떡과 솔잎설기떡 섭취에 의해 증가하는 경향을 나타내었으나, 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. GSH-Px는 정상군보다 당뇨유도군에서 유의적으로 증가하였으나, 설기떡과 솔잎설기떡의 섭취에 의한 변화는 나타나지 않았다.

Table 35. Effect of *sulgidduk* containing pine needle juice on antioxidant enzyme activities in kidney of STZ-nicotinamide induced diabetic rats

	NC	PC	SD	PSD
Catalase (mM/min/mg protein)	1.9 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.1 <sup>ab</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>ab</sup>
GSH-Px (μM/min/mg protein)	472.1 ± 29.3 <sup>a</sup>	902.3 ± 52.5 <sup>b</sup>	1021.9 ± 169.5 <sup>b</sup>	918.5 ± 54.5 <sup>b</sup>

Values are the mean±S.E. Values with different superscript are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test within group. NC, AIN-93G based normal diet group; PC, STZ-nicotinamide induced diabetic group; SD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* group; PSD, HFD supplemented with a component of *Sulgidduk* containing pine needle juice group.

### (바) 결론 및 제언

STZ-nicotinamide로 유도된 당뇨모델에서 솔잎설기떡 조성물을 섭취한 결과 당뇨유도군보다 공복혈당이 24.5% 유의적으로 감소하여 솔잎설기떡의 혈당강하효과를 확인하였다. 또한, 당뇨유도에 의해 증가한 혈장 adiponectin을 50.0% 감소시키는 효과를 나타내어 당뇨에 의해 손상된 당대사를 회복하는 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 솔잎설기떡의 섭취에 의해 당뇨유발로 증가한 중성지방을 감소시키는 효과와 설기떡에서 나타난 AST 및 ALT의 상

승을 억제하는 효과를 나타내었다. 뿐만 아니라 설기떡에서 섭취에 의해 증가한 혈장 지질과산화 지표인 CD도 솔잎설기떡 섭취에 의해 유의적으로 감소하는 효과를 나타내었다. 당뇨유도에 의해 증가한 간 catalase 활성은 솔잎설기떡 섭취에 의해 정상수준으로 회복되는 효과를 나타내었다. 이러한 결과를 바탕으로 솔잎설기떡은 혈당수준 감소효과와 간조직에서의 항산화 활성 증가를 바탕으로 혈중 중성지방 증가와 지질과산화를 억제하는 것으로 사료되며, 본 연구에서 개발된 기능성 떡은 당뇨조절 뿐만 아니라 당뇨로 인한 비만과 같은 2차 질환 예방에도 기여할 것으로 사료된다.

### 다. 3차년도

(1) 솔잎착즙분말의 섭취가 경계 혈압(고혈압 전단계) 대상자의 혈압, 지질 및 항산화체계에 미치는 영향

#### (가) 연구 설계

본 연구는 경계 혈압(고혈압 전단계) 대상자에게 솔잎착즙분말캡슐을 섭취한 솔잎착즙분말섭취군, 위약캡슐을 섭취한 플라시보군의 혈압 개선, 지질 대사 개선 및 항산화 활성에 미치는 효과를 파악하기 위해 무작위 배정법, 이중 맹검법, 위약-대조군 임상시험을 실시하였다. 또한 과학적, 윤리적 연구 진행을 위해 ○○대학교 생명윤리위원회(Institutional Review Board; IRB)의 승인을 받았으며(승인번호 : 1040460-A-2014-004), 모든 대상자에게 연구방법 및 동의서에 관한 내용을 설명한 후, 본인의 자유의사에 따라 연구 참가 동의서를 문서로 받았다.

#### (나) 솔잎착즙분말 캡슐 제조

솔잎착즙분말의 재료가 되는 솔잎착즙액은 -50°C에서 예비 동결건조한 후 시료를 건조기에 두었고, -70~-85°C에서 진공 펌프를 가동하여 수분이 완전히 제거되고 상온이 될 때까지 유지하였다. 완성된 건조물은 믹서로 분쇄하여 준비하고, 플라시보군에 쓰일 위약은 밀가루에 식용색소(녹색과 적색)를 가한 후 믹서로 혼합하여 준비하였다. 각각의 분말은 1캡슐당 0.35 g씩 첨가하였으며, 1회분에 3개 캡슐(1.05 g)을 동봉하여 포장하였다. 따라서 대상자는 1회 1.05 g, 하루 3.15 g의 솔잎착즙분말을 섭취하며, 솔잎착즙액의 건조효율(26.7%)을 고려하면 솔잎착즙분말 하루 섭취량(3.15 g)은 솔잎착즙액 11.8 g에 해당하는 양을 섭취하였다.

#### (다) 연구대상자 선정 및 영양중재

고혈압 전단계 (수축기혈압 120-139 mmHg, 이완기혈압 80-89 mmHg) 대상자에서 기능성 솔잎착즙분말의 섭취가 혈행개선, 혈압조절 및 콜레스테롤 저하에 미치는 영향을 측정하기 위하여 실험시작 전 1주 동안 솔잎함유 식품과 혈압에 영향을 미칠 수 있는 건강기능식품 등의 섭취를 제한시키는 wash out 기간(고갈식이 기간)을 거쳐 무작위로 플라시보군과 솔잎착즙분말섭취군으로 나누어 8주간 영양중재를 실시하였다.

연구에 참여한 대상자들은 총 39명이었으나, 그 중 2명은 혈압이 고혈압 전단계보다 높아서 제외되어 플라시보군 18명, 솔잎착즙분말섭취군 19명으로 연구를 시작하였다. 연구 진행 중 각 그룹별 탈락자가 4명씩 발생하여, 플라시보군 14명, 솔잎착즙분말섭취군 15명으로 연구를 완료하였다(Fig. 24).

솔잎착즙분말캡슐과 플라시보캡슐은 연구 시작 일에 제공하고 식후에 충분한 물과 함께 1회에 3 캡슐씩 하루 3회 섭취하도록 복용지도하며, 매일 섭취내용을 기록할 수 있도록 섭취기록일지를 함께 동봉하여 배부하고 연구종료 시 섭취기록을 제출하도록 지도하였다. 또한 섭취기간동안 솔잎착즙분말캡슐 섭취 이전의 식사량을 유지하도록 지도하였다. 또한 8주간의 섭취기간동안 주 1회씩 전화 상담을 통해 순응도를 확인하고, 대상자가 지속적인 섭취를 할 수 있도록 지도하였다.

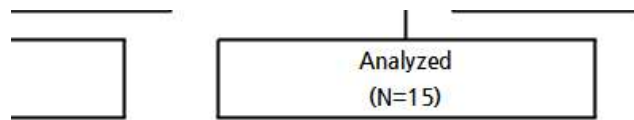


Fig. 24. Consort(Consolidated standards of reporting trials) flow diagram

(라) 대상자의 일반사항(신체적 특성)

대상자의 일반사항 및 체중, BMI, 혈압, 혈당의 결과를 비교해보았을 때(Table 36), 남녀 비율은 플라시보군 남자 11명, 여자 2명, 솔잎착즙분말섭취군 남자 11명, 여자 4명이었다. 대상자의 평균 연령은 플라시보군이  $40.7 \pm 9.5$ 세, 솔잎착즙분말섭취군이  $42.5 \pm 13.8$ 세였으며, 키는 플라시보군이  $170.5 \pm 7.2$  cm, 솔잎착즙분말섭취군이  $169.2 \pm 8.5$  cm로 유의적인 차이는 없었다. 또한 대상자들의 캡슐 섭취 전후 체중, 체질량지수, 혈당, 이완기 혈압의 변화에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 솔잎착즙분말섭취군에서 캡슐 섭취 전과 섭취 후에 수축기 혈압이  $138.5 \pm 3.9$  mmHg에서  $133.0 \pm 3.1$  mmHg로 유의적인 차이를 보였다. 이러한 결과를 바탕으로 솔잎 섭취가 수축기 혈압의 감소에 긍정적인 영향을 나타내는 것으로 사료된다.

Table 36. Characteristics of the subjects

	Placebo(n=14)		<i>p</i> -value <sup>4)</sup>	Pine needle(n=15)		<i>p</i> -value <sup>4)</sup>
	Baseline	Endpoint		Baseline	Endpoint	
Subjects(n)	14			15		
Sex (n)						
Male	12			11		
Female	2			4		
Age(years)	40.7 ± 9.5 <sup>2)ns3)</sup>			42.5 ± 13.8		
Height(cm)	170.5 ± 7.2 <sup>ns</sup>			169.2 ± 8.5		
Weight(kg)	77.1 ± 3.1	77.6 ± 3.1	0.214	78.7 ± 4.4	78.2 ± 4.4	0.254
BMI(kg/m <sup>2</sup> ) <sup>1)</sup>	26.1 ± 0.7	26.3 ± 0.7	0.251	27.2 ± 1.1	27.0 ± 1.0	0.256
SBP(mmHg)	135.9 ± 4.0	133.4 ± 3.8	0.084	138.5 ± 3.9	133.0 ± 3.1	0.024
DBP(mmHg)	91.3 ± 2.1	90.4 ± 2.4	0.685	90.0 ± 2.7	87.5 ± 2.3	0.306
FBS(mg/dL)	100.7 ± 5.0	108.5 ± 5.9	0.160	107.5 ± 6.8	110.9 ± 7.5	0.357

1)BMI; Body mass index, SBP; Systolic blood pressure, DBP; Diastolic blood pressure, FBS; Fasting blood sugar

2)Mean ± S.E.

3)ns: not significantly different at  $p < 0.05$  after Student's *t*-test within group

4)paired *t*-test

(마) 식이 섭취 조사

대상자의 캡슐 섭취 전과 후 식이섭취량을 24시간 회상법으로 조사를 실시하였을 때(Table 37), 플라시보군과 솔잎착즙분말섭취군 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 37. Daily nutrient intakes of the subjects



	Placebo(n=14)		<i>p</i> -value <sup>4)</sup>	Pine needle(n=15)		<i>p</i> -value <sup>4)</sup>
	Baseline	Endpoint		Baseline	Endpoint	
Energy nutrients						
Calorie(kcal)	1834.6 ± 181.6 <sup>1)</sup>	1677.5 ± 1124.0	0.396	1747.4 ± 228.7	1737.6 ± 128.7	0.972
Protein(g)	82.6 ± 10.5	72.4 ± 8.4	0.494	73.2 ± 10.3	77.4 ± 9.0	0.767
Fat(g)	57.2 ± 9.2	48.2 ± 6.9	0.494	52.5 ± 8.7	50.9 ± 5.8	0.859
Carbohydrate(g)	248.0 ± 23.7	22.71 ± 15.1	0.263	247.5 ± 38.6	231.4 ± 18.6	0.716
Minerals						
Calcium(mg)	484.0 ± 56.3	450.0 ± 79.1	0.759	469.5 ± 71.2	685.6 ± 108.6	0.133
Phosphorus(mg)	951.5 ± 73.4	990.7 ± 104.9	0.780	955.9 ± 127.4	1125.8 ± 147.0	0.422
Iron(mg)	13.5 ± 1.6	12.6 ± 1.1	0.603	11.5 ± 1.4	13.3 ± 1.8	0.429
Sodium(mg)	5141.8 ± 723.1	5050.4 ± 579.2	0.919	3885.1 ± 490.8	4341.5 ± 804.6	0.642
Pottasium(mg)	2290.4 ± 195.4	2866.6 ± 307.9	0.118	2170.5 ± 242.7	3183.4 ± 559.0	0.078
Zinc(mg)	7.9 ± 0.4	7.5 ± 0.6	0.604	7.7 ± 1.3	8.8 ± 1.0	0.509
Vitamins						
Vitamin A(μg RE)	987.5 ± 175.8	866.0 ± 110.8	0.538	844.2 ± 183.6	823.8 ± 142.0	0.929
Retinol(μg)	85.0 ± 19.5	118.6 ± 19.7	0.287	115.1 ± 30.1	152.4 ± 34.2	0.392
β-carotene(μg)	4800.6 ± 1079.1	3693.9 ± 683.1	0.425	4199.5 ± 892.8	4046.4 ± 703.8	0.895
Vitamin B <sub>1</sub> (mg)	1.4 ± 0.3	1.1 ± 0.1	0.257	5.3 ± 4.1	1.3 ± 0.1	0.345
Vitamin B <sub>2</sub> (mg)	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.1	0.563	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	0.584
Vitamin B <sub>6</sub> (mg)	2.2 ± 0.3	2.3 ± 0.3	0.959	1.9 ± 0.4	2.2 ± 0.4	0.648
Niacin(mg)	17.3 ± 2.4	16.8 ± 2.2	0.911	13.8 ± 2.4	19.4 ± 3.3	0.135
Vitamin C(mg)	77.7 ± 10.5	101.6 ± 15.2	0.265	73.2 ± 7.2	90.0 ± 12.2	0.108
Folate(μg)	212.7 ± 16.2	254.4 ± 30.4	0.230	194.8 ± 33.1	261.4 ± 37.6	0.156
Vitamin E(mg α-TE)	16.0 ± 2.9	15.7 ± 2.0	0.950	12.2 ± 2.0	13.4 ± 1.7	0.626

1)Mean ± S.E.

2)paired t-test

(바) 생화학적 지표

① 혈장 지질농도 및 간기능 지표

캡슐 섭취 전후에 대상자들의 지질 프로파일 및 간독성 분석을 실시하였다(Table 38). 혈중 지질의 경우, 솔잎착즙분말섭취군에서 TC가 183.9 ± 10.5 mg/dL에서 167.5 ± 8.4 mg/dL으로 유의적으로 감소하였다. 이는 솔잎추출물을 섭취한 쥐에서 혈중 콜레스테롤을 감소시킨다고 보고된 연구(13,14) 결과와 같이 본 연구에 사용된 솔잎착즙분말이 혈중 총콜레스테롤을 낮춘 것으로 보여진다. 일반적으로 많은 식물들의 주요 성분들 중 하나인 polyphenol류 성분들이 지질 대사에 관여하고, 그 중에서도 특히 콜레스테롤 대사에 관여하여 많은 연구에서 콜레스테롤 저하 효과를 밝혔다(15-18). 이러한 결과로 솔잎의 polyphenol 성분이 콜레스테롤 대사에 영향을 미쳐 솔잎착즙분말섭취군의 TC 수준이 낮아졌을 것으로 사료된다. HDL-C은 플라시보군이 45.5 ± 1.9 mg/dL에서 58.1 ± 3.0 mg/dL으로, 솔잎착즙분말섭취군이 43.0 ± 1.4 mg/dL에서 59.3 ± 1.8 mg/dL으로 유의적인 증가를 보였으며, LDL-C는 플라시보군이 100.7 ± 3.7 mg/dL에서 89.3 ± 3.5 mg/dL으로 솔잎착즙분말섭취군이 113.9 ± 7.8 mg/dL에서 80.4 ± 6.4 mg/dL으로 유의적인 감소를 나타내었다. 과제중 여성에서 L-카르니틴과 이소플라본 섭취가 체중 및 체지방 감소에 미치는 영향을 분석한 연구(19)에서도 플라시보군의 HDL-C이 유의적으로 증가

하는 결과를 보였다. 이는 무작위 배정법, 이중 맹검법, 위약-대조군 임상실험으로 인해 나타난 플라시보 효과로 사료된다. 그리고 플라시보군의 AST 수준이 유의적으로 증가하였으나, 정상 범위를 유지하고 있는 것을 볼 수 있었다.

Table 38. Effect of pine needle extract supplementation on plasma lipid profile and biochemical parameters

	Placebo(n=14)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>	Pine needle(n=15)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	Baseline	Endpoint		Baseline	Endpoint	
TG(mg/dL)	126.6 ± 7.5 <sup>1)</sup>	112.6 ± 7.5	0.100	134.0 ± 10.9	138.7 ± 16.8	0.676
TC(mg/dL)	171.4 ± 6.1	170.4 ± 6.4	0.839	183.9 ± 10.5	167.5 ± 8.4	0.031
HDL-C(mg/dL)	45.5 ± 1.9	58.1 ± 3.0	0.000	43.0 ± 1.4	59.3 ± 1.8	0.000
LDL-C(mg/dL)	100.7 ± 3.7	89.3 ± 3.5	0.003	113.9 ± 7.8	80.4 ± 6.4	0.000
BUN(mg/dL)	11.2 ± 0.7	9.6 ± 0.7	0.029	13.2 ± 1.1	9.9 ± 0.6	0.007
AST(U/L)	13.1 ± 2.0	16.1 ± 1.6	0.046	14.4 ± 1.8	16.1 ± 2.2	0.208
ALT(U/L)	27.6 ± 5.8	28.1 ± 5.6	0.734	26.1 ± 5.8	26.8 ± 5.9	0.530

TG; Triglyceride, TC; Total cholesterol, HDL-C; High density lipoprotein cholesterol, LDL-C; Low density lipoprotein cholesterol, BUN; Blood nitrogen urea, AST; Aspartate aminotransferase, ALT; Alanine aminotransferase,

1)Mean ± S.E.

2)paired t-test

(사) 혈행 관련 지표 분석 결과

혈행 관련 지표인 aPTT는 솔잎착즙분말섭취군에서 45.7 ± 2.5 sec에서 40.8 ± 0.9 sec으로 감소하였다(Fig. 25). 이는 Kim(20)의 연구에서 양파껍질의 섭취가 aPTT의 수준을 개선시킨다는 것과 동일한 결과를 보였다. 즉, polyphenol류가 함유되어 있는 양파껍질과 다양한 polyphenol류가 함유되어 있는 솔잎의 섭취가 혈행 개선에 긍정적인 결과를 보였다. 이로써, polyphenol류가 함유된 식품에서 혈행 개선 능력이 나타날 수 있음을 확인할 수 있었다.

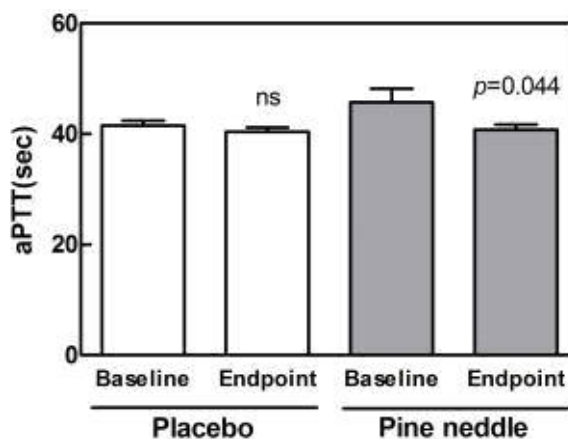


Fig. 25. Effect of pine needle extract supplementation on activated partial prothrombin time(aPTT). Bars are the mean ± S.E. Values with different letters are significantly

different at  $p < 0.05$  after paired t-test each group. ns: not significant.

(아) 레닌-안지오텐신계(RAAS) 지표 분석 결과

혈압 조절에서 중요한 작용을 하는 레닌-안지오텐신계 활성을 알아보기 위해 renin, angiotensin I (Ang I) 및 aldosterone은 Table 39에 나타내었다. 대상자의 renin, angiotensin I 및 aldosterone의 활성은 각 군의 캡슐 섭취 전후 유의적인 차이를 확인할 수 없었다. RAAS 체계는 혈압 조절에 관여하는 주요 시스템이지만 혈압은 RAAS 체계 외에도 여러가지 요인들에 의해 조절될 수 있으며, 조절 방법 또한 다양하다(21). 그러나, 솔잎착즙분말 섭취 시 레닌-안지오텐신계 지표에서 아무런 차이를 확인할 수 없었던 점을 보아 솔잎착즙분말 섭취는 RAAS 시스템을 이용한 혈압 조절이 아닌 다른 시스템을 이용하여 혈압 조절을 유지하는 것으로 사료된다.

Table 39. Effect of pine needle extract supplementation on plasma renin-angiotensin system activity

	Placebo(n=14)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>	Pine needle(n=15)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	Baseline	Endpoint		Baseline	Endpoint	
Renin(pg/mL)	12.7 ± 2.0 <sup>1)</sup>	10.6 ± 1.2	0.141	14.0 ± 1.2	15.6 ± 2.0	0.243
Angiotensin I (pg/mL)	8920.6 ± 495.3	9401.4 ± 478.4	0.402	9203.6 ± 435.2	10157.2 ± 380.8	0.074
Aldosterone(pg/mL)	101.6 ± 36.2	78.7 ± 19.0	0.267	60.6 ± 6.0	50.4 ± 5.0	0.197

1)Mean ± S.E.

2)paired t-test

(자) 항염증관련 지표

캡슐 섭취 전후 염증반응 정도를 확인하기 위해 항염증 지표인 위한 high sensitivity-C reactive protein(hs-CRP)와 interleukin-6(IL-6)을 분석해보았다(Table 40). 그러나 hs-CRP와 IL-6에서 플라시보군과 솔잎착즙분말섭취군 모두에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. CRP와 IL-6도 RAAS 시스템과 같이 혈압을 조절하는 요인 중 하나로 사용될 수 있다(21). 그러나 솔잎착즙분말 섭취와 상관없이 유의적인 차이를 보이지 않았기 때문에 솔잎착즙분말 섭취로 인한 혈압조절에 있어서는 직접적으로 작용 하지 않는 것으로 사료된다. 그러나 hsCRP의 수준이 유의적이지는 않으나 솔잎착즙분말 섭취 후 약 47%감소하는 경향을 보여, 고혈압 전단계의 대상자들의 혈압을 낮추는데 기여할 수 있는 가능성이 있을 것이라 생각된다.

Table 40. Effect of pine needle extract supplementation on plasma anti-inflammatory cytokine

	Placebo(n=14)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>	Pine needle(n=15)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	Baseline	Endpoint		Baseline	Endpoint	
hs-CRP(pg/mL)	13936.1 ± 3197.6 <sup>1)</sup>	11085.8 ± 2225.7	0.456	15399.4 ± 3645.9	7225.7 ± 2978.3	0.073
IL-6(ng/mL)	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.349	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.187

1)Mean ± S.E.

2)paired t-test

(차) 혈액응고 지표 분석 결과

혈전생성을 촉진하여 혈전분해를 지연시키는 plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)의 분석 결과는 Fig. 26에 나타내었다. 솔잎착즙분말섭취군에서 유의적으로 PAI-1의 수준이  $0.6 \pm 0.0$  pg/mL에서  $0.5 \pm 0.0$  pg/mL으로 감소하였으며, 솔잎을 섭취하지 않은 플라시보군은 유의적인 차이를 보이지 않았다. PAI-1의 결과는 복분자 추출물을 섭취하지 않은 고혈압 실험동물과 비교하여 복분자 추출물을 섭취한 고혈압 실험동물의 PAI-1 수준이 유의적으로 감소하는 결과를 보고한 Lee(22)의 연구와 유사한 결과를 보여주었다. cytokines, TNF- $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ ), TGF- $\beta$ (Transforming growth factor- $\beta$ ), Ang II (Angiotensin II) 등에 의해 발현이 증가되는 PAI-1(13,23)은 솔잎착즙분말 섭취 시 활성이 감소하였으나 항염증반응 (hs-CRP, IL-6)은 섭취 전후 아무런 차이를 보이지 않았기 때문에 솔잎착즙분말의 섭취가 염증반응에 대한 연관성보다는 Ang II의 대사에 긍정적인 영향을 주어 PAI-1의 농도를 감소시키는 것으로 사료된다. Skurk 등(24)의 연구에서 PAI-1의 농도 변화를 분석하기 위해 primary culture human adipocyte에 Ang II를 처리한 결과, Ang II를 처리한 농도 및 시간에 따라 PAI-1의 농도가 비례적으로 증가하였다. 또한 안지오텐신 II 수용체 차단제(Angiotensin II receptor blocker; ARB) 중 하나인 candesartan을 처리하였을 때, PAI-1의 농도가 반비례적으로 감소하여 Ang II에 따라 PAI-1 수준이 변화되었다. 이로써 PAI-1 농도에 Ang II의 영향이 크다는 것을 확인할 수 있었다.

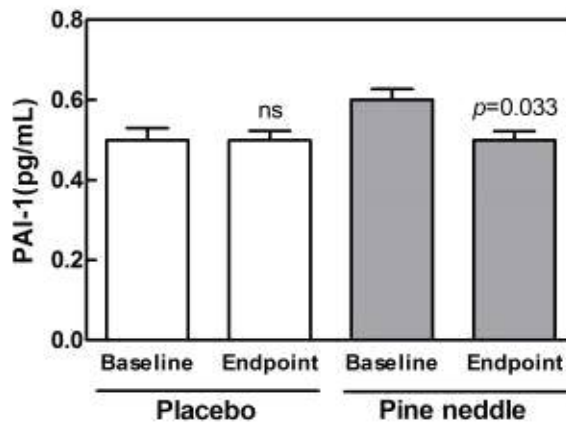


Fig. 26. Effect of pine needle extract supplementation on plasma thrombosis biomarkers. Bars are the mean  $\pm$  S.E. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  after paired t-test each group. ns: not significant. PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1.

(카) 혈중 산화질소 조절 및 혈관수축 지표 분석 결과

혈중 산화질소인 NO 생성을 조절하는 Asymmetric dimethyl arginine; ADMA은 플라시보군에서 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 솔잎착즙분말섭취군에서 ADMA는  $0.4 \pm 0.0$  pg/mL에서  $0.6 \pm 0.1$  pg/mL으로 감소하여 유의적인 차이를 보였다. 또한 섭취 전후 차이 값에서 유의적이지 않지만 솔잎착즙분말섭취군에서 ADMA의 수준이 증가하는 경향을 보였다(Table 41). 증가된 혈중 ADMA는 NO생성을 감소시켜 혈관 수축, 혈압 상승 및 산화적 스트레스를

유발하며, 높은 수준의 ADMA는 고혈압, 고지혈증 및 관상동맥 질환 등의 환자들에서 흔히 발생한다(25-27). 즉, 솔잎착즙분말의 섭취는 혈중 산화질소 생성을 조절하는 것과 더불어 혈관 수축을 방지하여 솔잎착즙분말섭취군의 수축기 혈압이 솔잎을 섭취하지 않은 플라시보군과 비교하여 유의적으로 낮아지는데 기여하였다. Kim(28)의 연구에서는 산모의 수축기 혈압과 ADMA 농도가 양의 상관관계를 나타내어 ADMA의 감소로 인하여 수축기 혈압이 감소하였고, 이는 본 연구와 동일한 결과를 보였다.

혈관수축을 유발하는 endothelin-1; ET-1(29)은 플라시보군에서는 유의적인 차이가 없었던 반면, 솔잎착즙분말섭취군에서 섭취 후 ET-1수준이  $6.6 \pm 0.5$  pg/mL에서  $4.6 \pm 0.4$  pg/mL로 유의적인 감소를 보였다. Lee 등(30)의 연구에서는 폴리페놀류가 함유되어 있는 복분자 추출물이 ET-1의 유전자 발현 수준을 감소시킴으로써 혈압을 감소에 도움이 되었을 것이라 예측하였다. 이로써 폴리페놀류가 ET-1 수준의 감소에도 긍정적인 영향을 미칠 것이라 생각된다. 앞의 결과를 종합해보았을 때, 솔잎의 섭취는 ADMA와 ET-1의 감소를 유도하고 이는 NO 생성을 증가시키며, 혈관 수축을 하도록 도움을 주어 최종적으로 혈압을 감소시키는데 기여하였을 것으로 사료된다.

Table 41. Effect of pine needle extract supplementation on plasma vasoactive biomarkers

	Placebo(n=14)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>	Pine needle(n=15)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	Baseline	Endpoint		Baseline	Endpoint	
AMDA(pg/mL)	$0.4 \pm 0.0$	$0.4 \pm 0.0$	0.406	$0.6 \pm 0.1$	$0.4 \pm 0.0$	0.001
ET-1(pg/mL)	$6.7 \pm 1.4$	$5.8 \pm 1.9$	0.383	$6.6 \pm 0.5$	$4.6 \pm 0.4$	0.000

1)Mean  $\pm$  S.E.

2)paired t-test

(타) 혈액 항산화지표

① 비타민C 함량, 총 항산화능 및 항산화 효소 활성

캡슐 섭취 전후의 혈액 내 비타민C 함량 및 항산화 효소 활성 분석 결과(Table 42), 혈액 내 비타민 농도는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 솔잎에 열처리가 되었을 때는 비타민C가 존재하지 않지만, 아무런 열처리가 되지 않은 솔잎에는  $26.1 \pm 0.83$  mg/g의 비타민C가 함유되어 있다는 연구가 보고되었다(31). 그러나 비타민C를 섭취한 후 혈액 내 비타민C를 시간별로 분석한 Levine(32)의 연구에서 섭취 24시간 후에는 섭취전과 동일한 수준을 나타내었다. 그러므로 캡슐 섭취 다음날 채혈을 한, 본 연구의 혈액 내 비타민C 함량은 섭취 전과 비교하여 변화가 없었던 것으로 사료된다. 그러나 총 항산화능은 플라시보군과 솔잎착즙분말섭취군 모두에서 유의적으로 증가하였다. 적혈구 항산화 효소 활성은 CAT와 GPx에서 유의적인 변화를 보이지 않았지만, SOD가 솔잎착즙분말섭취군에서 캡슐 섭취 전  $1754.1 \pm 101.4$  IU/g Hb에서 섭취 후  $1887.3 \pm 75.2$  IU/g Hb으로 항산화 활성이 유의적으로 증가하였다. 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡을 섭취한 실험동물의 항산화활성을 분석한 Kim(33)의 연구에서도 섭취 전후의 총 항산화능은 섭취에 따른 차이가 없어 본 연구와 같은 결과를 보였으며 SOD의 경우, 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡을 섭취하였음에도 유의적인 활성 차이를 보이지 않았다. 이는 본 연구와 동일한 재료인 솔잎착즙액을 제공하였지만, 제공된 양의 차이가 있기 때문에 다른 결과를 보인 것으로

사료된다.

Table 42. Effect of pine needle extract supplementation on plasma vitamin C, Total radical-trapping antioxidant potential(TRAP) and activities of erythrocyte antioxidant enzyme

	Placebo(n=14)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>	Pine needle(n=15)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	Baseline	Endpoint		Baseline	Endpoint	
Plasma						
Vit. C(mmol/L)	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.574	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.432
TRAP(mM)	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.039	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.001
Erythrocyte						
CAT(K/g Hb)	129.2 ± 7.6	116.8 ± 7.5	0.155	134.4 ± 6.7	124.7 ± 4.5	0.128
SOD(IU/g Hb)	1754.1 ± 101.4	1887.3 ± 75.2	0.198	1675.6 ± 93.8	2127.1 ± 56.3	0.000
GPx(IU/g Hb)	23.1 ± 2.2	15.9 ± 1.1	0.005	27.1 ± 2.1	22.2 ± 1.5	0.112

1)Mean ± S.E.

2)paired t-test

② 혈중 지질과산화물

혈중 지질 과산화물을 분석한 결과는 Table 43에 나타내었다. TBARs는 캡슐 섭취 전후에서 각 군 모두 유의적인 차이를 보이지 않은 반면, CD의 경우 솔잎착즙분말섭취군에서 5.3 ± 0.3 μM에서 4.0 ± 0.2 μM으로 섭취 후에 유의적으로 감소하였다. 즉, 솔잎의 섭취가 혈중 TC 수준을 감소시킬 뿐만 아니라 지질과산화에 긍정적인 영향을 미친다는 것을 확인할 수 있었다. Lee(34)의 연구는 콜레스테롤 제공과 함께 솔잎분말을 처리하였을 때 혈중 지질수준과 지질과산화를 억제하였다. 그러나 Kim(33)의 연구에서는 콜레스테롤을 섭취한 그룹들 중 솔잎분말을 제공한 실험동물에서 혈중 총 콜레스테롤과 지질과산화를 개선시키지 못했다.

Table 43. Effect of pine needle extract supplementation on plasma lipid peroxidation

	Placebo(n=14)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>	Pine needle(n=15)		<i>p</i> -value <sup>2)</sup>
	Baseline	Endpoint		Baseline	Endpoint	
CD(μM)	4.8 ± 0.2	4.7 ± 0.2	0.703	5.3 ± 0.3	4.0 ± 0.2	0.000
TBARs(μM)	3.9 ± 0.5	3.7 ± 0.5	0.691	2.8 ± 0.5	2.8 ± 0.7	1.000

1)Mean ± S.E.

2)paired t-test

(파) 항유전독성(백혈구 DNA 손상도)

캡슐 섭취 전후 백혈구의 DNA 손상도를 측정된 결과(Table 44, Fig. 27), 산화적 스트레스를 유도하지 않았을 때, 플라시보군의 Tail Length에서 189.0 ± 20.7 μm에서 290.8 ± 35.1 μm로 유의적인 증가를 보였으나 Head DNA, Tail DNA, Tail ExtentMoment에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 산화적 스트레스를 유도한 경우에는 플라시보군의 Tail ExtentMoment와 Tail Length 수준이 유의적으로 증가하는 것을 보여 DNA 손상정도 증가하

였음을 확인하였고, 솔잎착즙분말섭취군에서 Head DNA(%)가  $48.9 \pm 1.8$ 에서  $57.2 \pm 3.0$ 으로, Tail DNA(%)가  $51.1 \pm 1.8$ 에서  $42.8 \pm 3.0$ 으로 유의적으로 개선되어 DNA 손상 보호효과를 나타내었다. 이는 Lee(24) 등의 연구에서 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡의 DNA 손상 보호효과에서 산화적 스트레스 유도에도 불구하고 손상도가 유의적으로 감소하는 결과와 동일한 효과를 보였으며, 또한 비만을 유도한 실험동물 그룹에서 DNA 손상도를 측정한 Kim(33)의 연구에서도 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡을 섭취한 후 유의적으로 감소하여, 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

Table 44. Effect of pine needle extract supplementation on DNA damage of leukocyte

	Placebo(n=14)		p-value <sup>2)</sup>	Pine needle(n=15)		p-value <sup>2)</sup>
	Baseline	Endpoint		Baseline	Endpoint	
None treated DNA damage						
Head DNA(%)	$92.3 \pm 0.6$	$90.7 \pm 0.7$	0.105	$87.9 \pm 2.1$	$92.2 \pm 0.5$	0.051
Tail DNA(%)	$7.7 \pm 0.6$	$9.3 \pm 0.7$	0.105	$12.1 \pm 2.1$	$7.8 \pm 0.5$	0.051
Tail ExtentMoment( $\mu\text{m}$ )	$20.0 \pm 3.2$	$35.5 \pm 6.1$	0.056	$49.5 \pm 16.0$	$21.7 \pm 3.1$	0.088
TRAP(mM)	$1.0 \pm 0.1$	$1.1 \pm 0.1$	0.039	$1.0 \pm 0.1$	$1.1 \pm 0.1$	0.001
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> treated DNA damage						
Head DNA(%)	$52.1 \pm 2.2$	$46.9 \pm 2.5$	0.088	$48.9 \pm 1.8$	$57.2 \pm 3.0$	0.032
Tail DNA(%)	$47.9 \pm 2.2$	$53.1 \pm 2.5$	0.088	$51.1 \pm 1.8$	$42.8 \pm 3.0$	0.032
Tail ExtentMoment( $\mu\text{m}$ )	$330.7 \pm 29.1$	$423.5 \pm 33.3$	0.020	$346.3 \pm 28.9$	$284.0 \pm 30.9$	0.125
Tail Length	$598.0 \pm 37.4$	$694.6 \pm 32.6$	0.047	$641.8 \pm 34.7$	$563.0 \pm 32.5$	0.201

1)Mean  $\pm$  S.E.

2)paired t-test

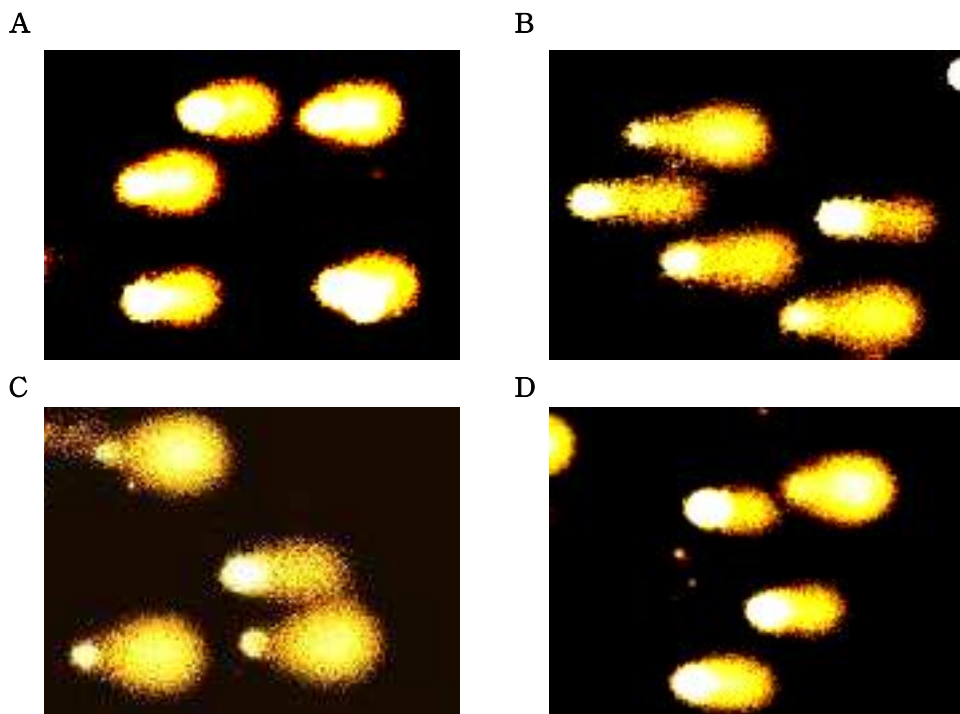


Fig. 27. Comet images of leukocyte treated 200 $\mu\text{M}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A; pre-intake of placebo capsule,

B; after-intake of placebo capsule C; pre-intake of pine needle extract capsule, D; after-intake of pine needle extract capsule.

(하) 결론 및 제언

솔잎착즙분말 캡슐 섭취에 의해 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 증가, HDL-콜레스테롤 감소의 혈중 지질수준 개선효과를 나타내었으며, 혈행 관련 지표인 aPTT가 감소하여 혈행개선 효과를 나타내었다. 또한, 솔잎착즙분말 캡슐 섭취 후 수축기 혈압이  $138.5 \pm 3.9$  mmHg에서  $133.0 \pm 3.1$  mmHg으로 감소되었으며, 산화질소 조절과 혈관 수축에 영향을 미치는 ADMA 및 ET-1의 감소와 혈전관련 지표인 PAI-1의 감소효과를 나타내었다. 또한, 솔잎착즙분말 캡슐 섭취는 적혈구 항산화 효소활성(SOD) 증가, 지질과산화 억제, 산화적 스트레스가 유도된 백혈구의 DNA 손상을 보호하는 효과를 나타내었음. 이상의 결과를 바탕으로, 솔잎착즙분말 섭취는 지질 수준 및 지질과산화를 개선시켰으며, 혈중 산화질소 조절, 혈관 수축, 혈액 응고 조절을 통해 혈압 감소에 영향을 준 것으로 보인다. 또한 적혈구 항산화 효소 활성화와 백혈구의 DNA 손상 보호 효과를 가져 기능성 식품으로써 이용 가능성이 높으므로, 솔잎착즙분말은 항고혈압 기능성 식품의 소재로써 우수한 효능을 가지는 것으로 사료된다.

\* 이론적, 실험적 접근방법, 연구내용, 연구결과를 기술



## 제 3 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

#### 1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성질환 개선 효과 규명

구분	연구목표	세부연구내용	달성도	
1차 년도	반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡 제품을 개발하고 동물모델을 이용하여 개발된 기능성 떡제품의 대사성질환(고지혈증) 개선 효능을 검증함	솔잎착즙액과 솔잎발효착즙액의 <i>in vitro</i> 기능성 분석	100	%
		반응표면분석을 이용하여 대사성질환 개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발	100	%
		고지혈증 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 지질개선 효능 검증	100	%
2차 년도	동물모델을 이용하여 1차년도에 개발된 기능성 떡 제품의 대사성질환(비만, 당뇨) 억제 효능을 검증함	비만 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 체중감소 및 지질개선 효능 검증	100	%
		당뇨 동물 모델을 이용하여 기능성 떡의 대사증후군 억제 효능 검증	100	%
3차 년도	인체중재실험을 통해 솔잎착즙분말의 섭취가 혈압조절에 미치는 영향을 분석함	솔잎착즙분말의 섭취가 경계 혈압(고혈압 전단계) 대상자의 혈압, 지질 및 항산화체계에 미치는 영향	100	%

### 2절 관련분야 기술발전 기여도

\* 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도 및 관련분야의 기술 발전에의 기여도 등을 기술

## 제 4 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### 1절 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획

#### 1. 제(2-1)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성 질환개선 효과 규명

##### 가. 특허 성과

(1) 솔잎 착즙액을 유효성분으로 함유하는 대사증후군 개선 기능성 떡. 경남대학교 산학협력단, 한국, 출원번호: 10-2012-0101376, 출원연도: 2012

##### 나. 논문게재 성과

(1) 김소윤, 이현정, 박재희, 김래영, 정현숙, 박은주. 발효과정이 솔잎 착즙액의 항산화, alpha-glucosidase 및 angiotensin converting enzyme 저해 활성에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지. 43(3): 325-334. 2013

(2) Jae-Hee Park, So-Yun Kim, Hyun-Jeong Lee, Rae-Young Kim, Eunju Park. Optimization of Sulgidduk formula supplemented with pine needle (*Pinus densiflora* sieb, et zucc) juice using response surface methodology. Food Science and biotechnology. 22(4): 1105-1111. 2013

(3) 이현정, 김소윤, 박재희, 김래영, 박은주. 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡의 가열조리에 따른 항산화 및 항유전독성 효능 검증. 한국식품조리과학회지. 29(5): 453-462. 2013

##### 다. 학술대회 발표 성과

(1) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Kim RY, Park E. Effect of fermentation of pine needle juice on antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. *Oxygen Club of California for consideration at the World Congress of Alba*. p. 128, 20<sup>th</sup> June, 2012, Alba, Italy (Poster)

(2) Park JH, Kim SY, Lee HJ, Kim RY, Park E. Optimization of rice cake preparation added with pine needle (*Pinus Sylvestris*) juice by response surface methodology. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 419, 1<sup>st</sup> Nov, 2012, Jeju, Korea (Poster)

(3) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Kim RY, Park E. Change of Antioxidative and Antigenotoxic Effects after Cooking Process of Sulgidduk Containing Pine Needle Juice. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 467, 1<sup>st</sup> Nov, 2012, Jeju, Korea (Poster)

(4) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Park E. Effects of Sulgidduk Containing Pine Needle Juice on Lipid and Antioxidant Metabolism in Diet Induced Hyperlipidemic Rats. 2013 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology. p.163, 29<sup>th</sup> Aug, 2013, Cheonan, Korea(Poster)

(5) Lee Y, Park JH, Park E. Sulgidduck Containing Pine Needle Juice Inhibit Fat Accumulation in High Fat-Cholesterol Diet Induced Obese Rats. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 408, 28<sup>th</sup>, Oct, 2014, Daejeon, Korea (Poster)

(6) Choi MJ, Lee Y, Cheong HS, Park E. Effect of Pine Needle Extract on Blood Pressure, Lipid Profiles, and Antioxidant Status in Subjects with Prehypertension. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 408, 28<sup>th</sup>, Oct, 2014, Daejeon, Korea (Poster)

(4)

## 제 5 장 참고문헌

1. Ferreres F, Gomes D, Valentano P, Goncalves R, Pio R, Chagas EA, Seabra RM, Andrade PB. 2009. Improved loquat(*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chem* 114: 1019-1027
2. Bondent V, Brand-Williams W, Bereset C. 1997. Kinetics and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical methods. *LWT-Technol* 30: 609-615
3. Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized method for determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and biological and food samples. *J Agric Food Chem* 53: 4290-4302
4. van de Laar, F. A., P. L. Lucassen, R. P. Akkermans, E. H. van de Lisdonk, G. E. Rutten, C. van Weel. 2005. Alpha-glucosidase inhibitors for patients with type 2 diabetes: results from a Cochrane systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 28: 154-163
5. Singh PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184-191
6. Ostling O, Johanson KJ. 1984. Microgel electrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 123: 291-298
7. Hasegawa K, Larson JL, White WJ, Clifford CB. 2001. Baseline data comparing CD(SD)IGS rats supplied from Charles River Japan, Charles River UK and Charles River USA. CD(SD)IGS study group, Yokohama, Japan. pp: 9-18
8. The Korean Society of Food Science and Nutrition. 2000. Handbook of experiments in food science and nutrition: Nutrition. Hyoil Press, Seoul, Korea pp: 655-676
9. Kim MH. 2007. Effects of *Salicornia herbacea* L. supplementation on blood glucose and lipid metabolites in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 40: 5-13
10. Malabu UH, Dryden S, McCarthy HD, Kilpatrick A, Williams G. 1994. Effects of chronic vanadate administration in the STZ-induced diabetic rats. The antihyperglycemic action of vanadate is attributable entirely to its suppression of feeding. *Diabetes* 43: 9-15
11. Preton AM, Tome J, Morales JJ, Milan L, Cuevas AA, Medina J, Santiago JA. 1991. Diabetic parameters 58 weeks after injection with streptozotocin in rats fed basal diet supplemented with fiber, mineral and vitamins. *Nutr Res* 11: 895-906
12. Pari L, Srinivasan S. 2010. Antihyperglycemic effect of diosmin on hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother* 64: 477-481
13. Satoh K, Kihara T, Ida Y, Sakagami H, Koyama N, Premanathan M, Arakaki R, Nakashima H, Komatsu N, Fujimaki M, Misawa Y, Hata N. 1999. Radical modulation activity of pine cone extracts of *Pinus elliotti* var. *Elliottii*. *Anticancer Res* 19: 357-364
14. Boger RH. 2003. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 59: 824-833
15. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tang-Phao O, Blaschke TF,

- Cooke JP. 1998. Asymmetric dimethyl arginine(ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 98: 1842-1847
16. Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimaki T, Laakso J, Laaksonen R. 2001. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 358: 2127-2128
  17. Kim YJ. Maternal plasma ADMA level, placenta eNOS and placenta antioxidant marker according to the presence or absence of uterine artery notch on color doppler in the third trimester pregnancies. ○○○ University. 2008
  18. Dhaun N, Goddard J, Kohan DE, Pollock DM, Schiffrin EL, Webb DJ. 2008. Role of endothelin-1 in clinical hypertension: 20 years on. *Hypertension* 52: 452-459
  19. Lee JH, Choi HR, Lee SJ, Lee MJ, Ko YJ, Kwon JW, Lee HK, Jeong JT, Lee TB. 2014. Blood pressure modulating effects of black raspberry extracts in vitro and in vivo. *Korean J Food Sci Technol* 46: 375-383
  20. Yun GY. A Study on the Function of the Pine Needle and Quality Characteristics of Rice Cake added with the Pine Needle Powder. Sejong University. 2009
  21. Webb RC. 1982 Increased vascular sensitivity to serotonin and methysergide in hypertension in rats. *Clin Sci* 63: 73-75
  22. Levine GN, Frei B, Koulouris SN, Gerhard MD, Keaney JF Jr, Vita JA. 1996. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 93(6): 1107-1113
  23. Lee E, Choi MY. 2000. Effects of pine needle on lipid composition and TBARS in rat fed high cholesterol. *Korean J food Sci Technol* 32: 1186-1190
  24. Lee HJ, Kim SY, Park JH, Kim RH, Park E. 2013. Changes in the Antioxidative and Antigenotoxic Effects After the Cooking Process of Sulgidduk Containing Pine Needle Juice. *Korea J Food Cookery Sci* 29(5): 453-462
  25. Boger RH. 2003. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 59: 824-833
  26. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tang-Phao O, Blaschke TF, Cooke JP. 1998. Asymmetric dimethyl arginine(ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 98: 1842-1847
  27. Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimaki T, Laakso J, Laaksonen R. 2001. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 358: 2127-2128
  28. Kim YJ. Maternal plasma ADMA level, placenta eNOS and placenta antioxidant marker according to the presence or absence of uterine artery notch on color doppler in the third trimester pregnancies. Ewha Womans University, 2008.
  29. Dhaun N, Goddard J, Kohan DE, Pollock DM, Schiffrin EL, Webb DJ. 2008. Role of endothelin-1 in clinical hypertension: 20 years on. *Hypertension* 52: 452-459
  30. Lee JH, Choi HR, Lee SJ, Lee MJ, Ko YJ, Kwon JW, Lee HK, Jeong JT, Lee TB. 2014. Blood pressure modulating effects of black raspberry extracts in vitro and in vivo. *Korean J Food Sci Technol* 46: 375-383

vivo. Korean J Food Sci Technol 46: 375-383

31. Yun GY. A Study on the Function of the Pine Needle and Quality Characteristics of Rice Cake added with the Pine Needle Powder. Sejong University, 2009.
32. Levine GN, Frei B, Koulouris SN, Gerhard MD, Keaney JF Jr, Vita JA. 1996. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. Circulation 93(6): 1107-1113
33. Aebi H. 1974. Catalase. In Methods of Enzymatic Analysis. Bergmeyer HU(editor). Academic Press, Inc., New York. 2: 673-684, 1974
34. Belcaro G, Cornelli U, Luzzi R, Cesarone MR, Dugall M, Feragalli B, Errichi S, Ippolito E, Grossi MG, Hosoi M, Cornelli M, Gizzi G. 2013. Pycnogenol® supplementation improves health risk factors in subjects with metabolic syndrome. Phytother Res 27: 1572-1578

## 2-2 세부과제

### 요 약 문

#### I. 제 목

1. 제(2-2)세부연구과제: 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

#### II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 제(2-2)세부연구과제 : 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

##### 가. 연구개발의 목적

###### (1) 1차 년도

: 전처리조건 및 사용한 제분기의 형태에 따른 쌀가루의 이화학적 특성 분석 및 이를 이용한 솔잎 첨가 떡 제조의 최적배합비 개발.

(가) 시판 설기떡 제조에 사용되는 쌀의 전처리 과정인 습식제분에 의한 쌀가루의 단점을 보완

(나) 습식제분된 쌀가루의 전처리로 저장 유통의 편이성과 안정성이 확보된 쌀가루의 제조

(다) 쌀가루의 이화학적 특성 분석을 통한 설기떡 제조에 적합한 쌀가루의 제조

(라) 제조된 쌀가루를 이용한 설기떡의 물리화학적 특성 분석 및 관능검사를 통한 설기떡 최적 배합비 규명

(마) 설기떡 제조의 최적배합비를 2핵심 1세부과제와의 공조로 예비실험 및 반응표면 분석을 통한 솔잎액 첨가 설기떡의 최적배합비 규명하고 관능검사를 통한 소비자의 수용도를 충족시킬 수 있는 솔잎 설기떡 제조

###### (2) 2차 년도

: 제조 공정개선을 위한 솔잎 및 당의 종류를 달리한 증편 제조를 위해 2part로 나누어 1step은 공정개선을 위한 증편 반죽의 품질특성을 규명, 2step은 솔잎 분말 첨가량을 달리한 증편 반죽의 품질특성을 규명.

(가) 시판 증편 제조에 적용되는 탁주를 이용한 발효과정(1,2,3차 동안의 4-5시간 발효)의 생략

(나) 발효과정의 생략을 통해 발생할 수 있는 증편 반죽의 물성개량

(다) 머랭 반죽의 활용에 따른 증편물성 개량

(라) Sucrose, Xylitol, Oligosaccharide 및 Dextrin의 활용에 따른 증편반죽의 물성 및 저장성 향상

(마) 증편의 물리화학적 특성을 분석 및 관능검사를 통한 최적 증편 배합비 규명

(바) 솔잎 분말의 사용에 따른 증편의 물리화학적 특성을 분석

(사) 솔잎 증편의 물리화학적 특성을 분석 및 관능검사를 통한 최적배합비 규명

###### (3) 3차 년도

: 솔잎 분말을 첨가한 기능성 제품의 개발 및 충전물의 개발에 따른 최적배합비 탐색을 위해 1차 년도에 개발한 쌀가루를 활용하여 1step에서는 솔잎분말을 첨가한 한국형 솔잎찐빵을 개발하고, 2step에서는 한국형 솔잎찐빵의 소로 사용할 충전물의 최적배합비를 반응표면분석을 통해 찾고자 함.

(가) 100% 쌀가루 찐빵제조를 위한 활성글루텐의 첨가 정도의 확립(파리노그래프 활용)에 따른 제조공정 확립.

(나) 쌀가루사용에 따른 찐빵반죽의 물성개량

(다) 함기포장에 따른 솔잎 쌀 찐빵의 저장성 검토

(라) 솔잎 분말의 첨가량에 따른 쌀 찐빵의 물리·화학적 특성 분석 및 관능검사를 통한 최적 배합비 규명

(마) 반응표면분석을 활용한 충전물(야채, 피자 및 불고기)의 최적배합비 규명

(바) 관능검사를 통한 충전물의 배합비 검증

## 나. 연구개발의 필요성

### (1) 1차 년도 연구개발의 필요성

(가) 습식제분된 원료 쌀에 부재료의 첨가로 기능적인 부분의 완성도를 높이거나, 쌀가루의 입도 차이에 따른 떡의 물리화학적 특성을 고려한 연구 등을 중심으로만 이루어지고 있음.

(나) 쌀을 이용한 가공식품 중 그 소비형태가 높은 설기떡의 제조과정 중 발생하는 경제적 부분 및 저장성, 유통성의 개선을 통해 시판 설기떡 제조공정의 단순화가 시급함.

(다) 기능성이 입증된 솔잎액을 첨가한 설기떡의 제조로 소비자의 수용도에 적합한 완성도 높은 솔잎 설기떡의 제조가 시급함.

(라) 설기떡 제조한 후 시판 설기떡과의 물리화학적 특성을 비교분석과 관능검사를 통한 최적의 설기떡 제조 배합비 규명이 필요함.

### (2) 2차 년도 연구개발의 필요성

(가) 우리나라의 전통적 제조 방법을 이용한 증편의 우수성은 인정하나, 떡류 가공품 중 공정 단계가 복잡한 증편의 공정개선, 증편의 재조시간 단축방안 모색 필요함.

(나) 시판 증편 제조에 적용되는 탁주를 이용한 발효과정(1,2,3차 동안의 4-5시간 발효)의 생략이 필요함.

(다) 증편반죽의 물성 및 저장성 향상을 위한 당류(Sucrose, Xylitol, Oligosaccharide 및 Dextrin)의 활용이 필요함.

(라) 증편의 물리화학적 특성 분석 및 관능검사를 통한 최적배합비 규명 필요성.

(마) 솔잎 증편의 물리화학적 특성 분석 및 관능검사를 통한 최적배합비 규명 필요성.

### (2) 3차 년도 연구개발의 필요성

(가) 쌀을 이용한 베이커리 제품의 경우 그 모양과 형태가 다양하게 개발되고 있으며, 그 소비관로 또한 다양하나 떡류의 경우 소비자 접근성이 미미함.

(나) 웰빙(well-bing)이라는 외식트렌드를 중심으로 떡의 퓨전화를 통해 베이커리제품과의 접목이 필요함.

(다) 한국형 찐빵은 둥근 형태로 반죽에 양념이나, 야채, 고기 등을 첨가시켜 발효 시키는 것이



특징으로 형태의 변화와 부재료의 사용, 다양한 첨가물의 사용이 시급

(라) 100% 쌀가루를 이용한 쌀 찌빵 제조를 위한 활성글루텐의 활용범위 확립이 시급

(마) 소비자의 수용도를 충족시킬 수 있는 쌀 찌빵 충전물의 최적배합비 확립 및 관능검사를 통한 검증이 필요함.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 제(2-2)세부연구과제: 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

본 연구는 1차 년도에 전처리조건 및 사용한 제분기의 형태에 따른 쌀가루의 이화학적 특성 분석 및 이를 이용한 솔잎 첨가 설기떡 제조의 최적배합비를 개발하였고, 2차 년도에 제조 공정개선을 위한 솔잎 및 당의 종류를 달리한 증편을 제조하였으며, 3차 년도에 떡의 푸진화를 통해 베이커리제품과의 접목을 위해 전통적인 방법을 이용한 100% 쌀가루 한국형 찌빵을 제조하였음.

#### 가. 1차 년도

##### (1) 설기떡 제조에 사용되는 쌀의 이화학적 특성분석

(가) 연구내용 : 시판 설기떡 제조에 사용되는 쌀의 전처리 과정인 습식제분에 의한 쌀가루의 단점을 보완

(나) 연구항목 : 쌀가루의 전처리 조건확립, 습식 제분된 쌀가루의 입도분포, 일반성분, 손상전분함량, 물결합력 분석

##### (2) 습식제분 쌀가루의 건조에 따른 이화학적 특성분석

(가) 연구내용 : 습식 제분된 쌀가루의 전처리로 저장 유통의 편이성과 안정성이 확보된 쌀가루의 제조

(나) 연구항목 : 입도분포, 일반성분, 손상전분함량, 물결합력 분석, RVA에 의한 호화특성분석, SEM 분석

##### (3) 설기떡 제조에 적합한 쌀가루의 분석

(가) 연구내용 : 쌀가루의 이화학적 특성 분석을 통한 설기떡 제조에 적합한 쌀가루의 제조

(나) 연구항목 : 입도분포, 일반성분, 손상전분함량, 물결합력 분석, RVA에 의한 호화특성분석, SEM 분석

##### (4) 물리화학적 특성 및 관능검사를 고려한 최적 설기떡 배합비 규명

(가) 연구내용 : 제조된 쌀가루를 이용한 설기떡의 물리화학적 특성을 분석 및 관능검사를 통한 최적 설기떡 배합비 규명

(나) 연구항목 : 쌀가루의 물리화학적 특성을 고려한 후 texture에 의한 설기떡의 물리적 특성 분석, 정량적모사분석, 기호도검사 및 차이식별검사를 통한 설기떡의 최적배합비 검증

##### (5) 반응표면분석을 이용하여 대사성질환개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발

(가) 연구내용 : 2핵심 1세부과제와의 공조로 예비실험 및 반응표면 분석을 통한 솔잎액 첨가 설기떡의 최적배합비를 구하고 관능검사를 통한 소비자의 수용도를 충족시킬 수 있는 솔잎 설기떡 제조

(나) 연구항목 : 반응표면 분석을 통해 얻은 최적배합비 기능성 떡의 제조 및 기능성 검증, 기호도검사를 통한 솔잎설기떡의 최적배합비 확립

#### 나. 2차 년도

(1) 부재료를 이용한 증편의 제조 및 물리화학적 특성 분석을 통한 물성 개량

(가) 연구내용 : 당의 종류(Sucrose, Xylitol, Oligosaccharide 및 Dextrin)를 달리 하여 제조한 증편의 반죽 특성 및 이화학적 특성 분석

(나) 연구항목 : pH, 거품안정성, 점도 측정, 반죽의 수분함량 및 비중측정, 증편의 비중, 비체적 및 대칭성, 수분활성도, 색도, 주관적 품질 평가, 외관 관찰, SEM 특성

(2) 부재료를 이용한 증편의 제조에 따른 저장성 측정

(가) 연구내용 : 당의 종류(Sucrose, Xylitol, Oligosaccharide 및 Dextrin)를 달리 하여 제조한 증편의 저장성 측정

(나) 연구항목 : 증편의 저장에 따른 미생물 측정, 저장기간별 texture특성 분석, 소비자 관능검사

(3) 솔잎 분말의 사용에 따른 증편의 품질 특성 및 최적배합비 규명

(가) 연구내용 : 솔잎 분말의 사용에 따른 증편의 반죽 특성, 이화학적 특성 분석, 화 특성 분석 및 관능적 특성 분석에 의한 배합비 도출

(나) 연구항목 : 솔잎 증편 반죽의 물성 개량, pH, 거품안정성, 점도 측정, 반죽의 수분함량 및 비중측정, 증편의 비중, 비체적 및 대칭성, 수분활성도, 색도, 주관적 품질 평가, 외관 관찰, SEM 특성, 솔잎 증편의 저장에 따른 미생물 측정, 효소를 이용한 호화도 및 노화도 측정, 저장기간별 texture특성 분석, 소비자 관능검사

#### 다. 3차 년도

(1) 100% 쌀가루를 이용한 쌀 가공품 개발을 위한 활성글루텐의 사용범위 제안.

(가) 연구내용 : 찜빵 반죽의 물성 개량을 위한 활성글루텐의 첨가비 설정을 파리노그래프를 활용하여 반죽물성확인 및 첨가%를 설정

(나) 연구항목 : 파리노그래프 특성

(2) 솔잎분말을 첨가한 기능성 쌀 가공품제품의 개발

(가) 연구내용 : 저장성 향상을 위해 솔잎분말을 첨가한 솔잎 쌀 찜빵의 저장특성을 확인함. 찜빵의 물리화학적 특성을 규명한 후 최종적으로 한국형 솔잎 쌀 찜빵의 최적배합비 규명.

(나) 연구항목 : 찜빵 반죽의 작업적성 평가, pH, 체적 및 비용적 측정, 주관적 품질평가, 색도 측정, 외관관찰, 솔잎 쌀 찜빵의 저장특성 분석(texture 분석, 수분활성 측정, 미생물 측정), 관능검사

(3) 솔잎 쌀 찌빵용 충전물의 개발에 따른 최적배합비 탐색

(가) 연구내용 : 찌빵의 다양성을 위해 반응표면분석을 통한 찌빵용 소(충전물)의 배합비를 제시하고 최종적으로 소비자 관능검사를 통한 소(충전물)의 최적배합비 규명

(나) 연구항목 : 중심합성계획, 반응표면분석, 소비자 관능검사

#### IV. 연구개발결과

##### 가. 1차 년도

(1) 설기떡 제조에 사용되는 쌀가루에 따른 이화학적 특성분석 및 최적조건의 쌀가루 제분방법 선정

제분공정을 간소화한 1<sup>st</sup>Roll과 시판 설기떡의 제조에 사용되는 2단계 제분(대조구) 후의 입도분 차이는 710  $\mu\text{m}$ 이상에서 대부분의 차이를 나타내는 것을 알 수 있었으며, 710  $\mu\text{m}$ 이상 쌀가루만 다시 제분하여 혼합한 Roll & ball은 대조구와 유사하거나 비해 비교적 작은 입도분포를 더 많이 가지는 것으로 나타났음. 일반성분 분석은 1단계의 제분만을 거친 1<sup>st</sup>Roll에서 단백질, 지방, 회분 함량이 높았고, 대조구와 Roll & ball은 유의적 차이를 나타내지 않았음. 색도는 비교적 작은 입자의 분포가 다른 쌀가루에 비해 높았던 Roll & ball에서 L값이 높았으며, 손상전분, 물결합력은 대조구와 Roll & ball에서 유의적 차이를 나타내지 않았음. RVA 호화특성은 대조구와 Roll & ball에서 차이를 나타내지 않았으며, 노화의 경향을 반영하는 setback값 또한 낮게 나타났음. 미세구조 관찰(SEM)에서는 대조구와 Roll & ball이 유사하여 쌀가루의 집합체로부터 전분입자들이 그 형태대로 파여 나간 것을 확인 할 수 있었음. Texture측정 결과 hardness는 1<sup>st</sup>Roll에서 386.58로 높게 나타났으며, 대조구와 Roll & ball은 각각 338.08, 327.91로 유의적으로 낮게 나타났음. 관능적 품질특성 중 정량적 묘사분석결과 대조구와 Roll & ball에서 각각 전반적 기호도(overall acceptability)가 11.13점과 10.94으로 높게 나타났으며, 대조구와 Roll & ball로 제조한 설기떡의 차이식별검사에서도 두 시료간 차이를 느끼지 못하거나 Roll & ball한 쌀가루로 제조한 설기떡이 우수하다고 평가하였음.

(2) 반응표면분석을 이용하여 대사성질환개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발

최적의 솔잎설기떡을 제조하기 위해서는 공정단계를 개선한 Roll & ball로 제조한 쌀가루(40% mb) 100 g에 소금 1.5 g, 설탕 21.38 g를 솔잎액(PNJ : pine needle juice) 1.44 g을 첨가시키는 조건이 설정되었음.

##### 나. 2차 년도

(1) 부재료를 이용한 증편의 제조 및 물리화학적 특성 분석을 통한 물성 개량

증편반죽의 비중은 OJP(*Jeungpyun* added with oligosaccharide)가 0.53로 가장 낮았으며, 다음으로 SJP(*Jeungpyun* added with sucrose), XJP(*Jeungpyun* added with xylitol), DJP(*Jeungpyun* added with dextrin)순으로 나타났다. pH는 OJP가 8.64로 가장 낮았고, 머랭 반죽의 거품안정성과 점도는 SJP에서 가장 높게 나타났음. OJP(*Jeungpyun* added with oligosaccharide)가 가장 높은 수분함량, 낮은 반죽무게, 높은 부피 및 비체적을 나타내었음. 색도 측정결과 L값은 SJP, XJP, OJP는 각각 53.52, 53.06, 53.10로 유의적 차이 없이 높게 나타났고, DJP는 52.46로 가장 낮게 나타났음. 주관적 품질 평가에서도 내·외적인 측정 항목 모두에

서 OJP가 높은 점수를 얻어 Total score 값이 51.80으로 가장 높게 나타났음. 저장동안의 수분 활성도는 모든 처리구에서 지속적으로 감소하였으며, OJP에서는 다른 처리구에 비해 저장 3일 까지 완만한 감소를 나타내는 경향이었음.

(3) 부재료를 이용한 증편의 제조에 따른 저장성

미생물 측정 결과 저장 후 3일부터 곰팡이가 생육하기 시작하였으며, 저장 7일째는 OJP가  $4.44 \times 10^6$  CFU/g으로 가장 낮게 나타났음. 저장동안 texture에 의한 물성측정결과 hardness와 springiness 모두에서 OJP가 가장 완만한 증가를 나타내었다. 관능검사 결과 전반적인 기호도에서 OJP가 7.90로 가장 높게 나타 높은 기호특성을 나타내었음.

(4) 솔잎 분말의 사용에 따른 증편의 품질 특성 및 최적배합비 규명

OJP(*Jeungpyun* added with oligosaccharide) 반죽에 솔잎분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가에 따른 비중의 차이는 없었으며, pH는 솔잎분말 첨가량의 증가에 따라 감소하였음. 솔잎분말 첨가량의 증가에 따라 반죽무게는 증가하였음. 솔잎분말 첨가량의 증가에 따라 L값은 감소하였고, 솔잎 1.5% 첨가에서 저장 3일까지 곰팡이의 생육은 없었으며, 저장 7일째에서 도  $6.81 \times 10^5$ 로 솔잎 무첨가 3일 수준 정도의 항곰팡이 효과를 나타내었음. Hardness는 대조구가 비교적 낮게 나타났고, 솔잎 첨가량이 증가할수록 높게 나타났음. 전반적인 기호도는 솔잎 첨가 1.0%에서 7.92로 다른 처리구에 비해 높게 나타나 전반적으로 기호도가 우수한 것을 알 수 있었음.

다. 3차 년도

(1) 100% 쌀가루를 이용한 쌀가공품 개발을 위한 활성글루텐의 사용범위 제안.

100% 쌀가루를 이용한 찜빵 제조를 위해 활성 글루텐의 사용범위를 과리노그래프로 확인한 결과 활성글루텐 첨가 %가 높아질수록 수분흡수율은 증가하였고, 반죽도달 시간(arrival time)은 활성글루텐 첨가량이 높아질수록 대조구에 가까워 졌다. 안정도(stability)는 대조구와 활성글루텐 12, 15%첨가에서 높게 나타났다. 따라서 100% 쌀가루를 이용한 찜빵의 제조시 유용한 활성글루텐의 첨가 %는 12-15% 정도임이 확인 되어 활성글루텐 최소사용인 12%가 적합함.

(2) 솔잎분말을 첨가한 기능성 쌀 가공품제품의 개발

반죽의 작업적성은 솔잎 분말 0.5, 1.0, 1.5% 첨가 %에 관계없이 유의적 차이를 나타내지 않았고, pH는 대조구 및 솔잎분말 첨가 반죽 모두가 각각 5.70, 5.76, 5.82, 5.87로 빵 반죽의 초기 pH는 5.7-5.9의 정상반죽임을 알 수 있다. 솔잎 쌀 찜빵의 체적은 대조구가 83.13으로 가장 크고 솔잎 분말의 첨가량이 증가할수록 유의적으로 감소하였으나, 비용적의 경우는 실험군 전체에서 유의적 차이를 나타내지 않았다. 쌀 찜빵의 주관적 품질평가의 내/외적 평가에서 대조구, 솔잎 분말 첨가 0.5, 1.0%까지 유의적 차이를 나타내지 않았다. 솔잎 쌀 찜빵의 7일간 저장 중 texture변화는 hardness와 springiness 모두에서 저장 3-4일 이후부터 변화를 나타내기 시작하였으며, 솔잎 분말 1.5% 첨가 쌀 찜빵에서 두드러지게 나타났다. 합기포장 후 20°C 조건에서 7일간 저장동안의 수분활성도는 저장 3-4일 이후 대조구에서 솔잎 분말 첨가군에 비해 낮은 수분활성도를 나타내었고, 항곰팡이 활성의 경우 솔잎 분말 1.0, 1.5%에서 높게 나타났다. 관능검사 결과 솔잎 분말 첨가 %가 높아질수록 외관(appearance)에 좋지 않은 영향을 미쳤으며,

솔잎 향은 솔잎 분말 첨가 %가 높은 1.5에서 11.03으로 높게 나타났다. 조직감에서 탄력성 또한 솔잎 분말 첨가 %가 높은 1.5에서 낮은 값을 나타내었고, 전반적인 기호도(overall acceptability)는 솔잎 첨가 1.0%에서 10.53로 다른 처리구에 비해 높게 나타나 기호도가 우수한 것을 알 수 있었다.

### (3) 솔잎 쌀 찌빵용 충전물의 개발에 따른 최적배합비 탐색

다양한 찌빵 충전물을 개발하기 위해 야채 충전물, 피자소스 충전물, 불고기 충전물의 최적배합비를 반응표면분석을 실시하였다. 첫 번째, 야채 충전물의 반응모형은 적합한 것으로 나왔으며, 전체적인 모형은 유의성을 나타내었다. 야채 충전물의 최적배합비는 찌빵 100 g에 대해 올리고당 19.07%, 소금 5.40%, 마요네즈는 21.84%로 설정되었고, 전반적인 기호도의 예측치보다 실제 제조하였을 때 향상된 전반적인 기호도를 보였다. 두 번째 피자소스 충전물의 반응모형은 적합하였으며, 전체 모형은 유의하였다. 피자소스 충전물의 최적배합비는 올리고당 23.40%, 소금 3.85%, 피자소스 33.41%로 설정되었으며, 이와 같은 배합비로 제조시 피자소스 충전물 전반적 기호도의 예측치는 8.9였고, 실측치도 8.98로 예상값이 재현이 되었다. 세 번째 불고기 소스 역시 적합한 반응 모형과 유의한 전체 모형을 나타내었으며, 이 때 최적배합비는 올리고당 14.45%, 소금 3.16%, 불고기소스 15.92%였다. 그리고 전반적인 기호도의 예측치는 7.18이었으나, 실제 제조하여 전반적 기호도 평가 시 8.6으로 향상되었음을 확인 할 수 있었다. 따라서 다양한 찌빵 충전물의 최적배합비 개발을 통해 제품의 다양성은 쌀빵 가공·산업화에 적극 이바지 할 수 있을 것이라 생각된다.

### 라. 최종 결과

쌀의 전처리과정인 습식제분에 의한 쌀가루의 단점을 보완하고 제분 단계를 간소화한 후 습식제분 된 쌀가루의 건조로 저장 유통의 편이성과 안정성을 가지는 쌀가루를 제조한 후 쌀을 이용한 떡제품 및 그 가공품에 적용하였다.

실험을 통해 제조된 쌀가루를 이용한 솔잎 설기떡의 제조로 소비자 관능검사 결과 수용도가 높은 설기 떡을 제조할 수 있었다. 또한 시판 떡류 중 가공공정이 복잡하고 많은 시간을 필요로 하는 증편의 제조공정을 계란 흰자 머랭 반죽을 활용하여 간소화 할 수 있는 공정방법을 확립하고, 증편의 제조 시 사용되는 첨가물 중 당류의 변화로 발생하는 제조 배합비 수정 및 저장성 향상을 확인하였다. 이를 바탕으로 향균, 방부 및 기호성의 향상을 위해 솔잎분말을 첨가한 증편을 제조한 후 물리화학적 특성을 분석하고 관능검사를 통한 최적의 솔잎증편 제조 배합비를 규명하였다.

100% 쌀가루를 이용한 쌀 가공품 개발을 위한 활성글루텐의 사용범위를 제안하였으며, 이를 이용한 한국형 솔잎 쌀 찌빵의 물리화학적 특성 및 저장성을 규명하고 관능검사를 통한 최적 배합비를 도출하였으며, 반응표면분석(RSM)을 활용하여 찌빵용 충전물을 개발하였다.

## V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 제(2-2)세부연구과제: 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발  
가. 기술이전

- (1) '쌀 찜빵 제조용 충전물의 제조 기술' 기술이전, 기술전수자: 창신대학 김래영, 기술이수자: (주)에다손, 이전년도: 2014
- (2) '쌀가루를 이용한 찜빵제조 기술' 기술이전, 기술전수자: 창신대학 김래영, 기술이수자: (주)에다손, 이전년도: 2014

나. 특허 성과

- (1) 솔잎 착즙액을 유효성분으로 함유하는 대사증후군 개선 기능성 떡. 경남대학교 산학협력단, 한국, 출원번호: 10-2012-0101376, 출원연도: 2012

다. 논문게재 성과

- (1) 발효과정이 솔잎 착즙액의 항산화, alpha-glucosidase 및 angiotensin converting enzyme 저해 활성에 미치는 영향. 김소윤, 이현정, 박재희, 김래영, 정현숙, 박은주. 한국식품영양과학회지. 43(3): 325-334. 2013
- (2) Optimization of Sulgidduk formula supplemented with pine needle (*Pinus densiflora* sieb, et zucc) juice using response surface methodology. Jae-Hee Park, So-Yun Kim, Hyun-Jeong Lee, Rae-Young Kim, Eunju Park. Food Science and biotechnology. 22(4): 1105-1111. 2013
- (3) 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡의 가열조리에 따른 항산화 및 항유전독성 효능 검증. 이현정, 김소윤, 박재희, 김래영, 박은주. 한국식품조리과학회지. 29(5): 453-462. 2013

라. 학술대회 발표 성과

- (1) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Kim RY, Park E. Effect of fermentation of pine needle juice on antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. *Oxygen Club of California for consideration at the World Congress of Alba*. p. 128, 20<sup>th</sup> June, 2012, Alba, Italy (Poster)
- (2) 김래영, 박재희, 박은주, 전순실. 쌀가루 제조조건에 따른 설기떡의 품질특성. 2012 한국식품영양학회 국제 심포지엄. p. 329, 2012년, 제주, 대한민국(Poster)
- (3) Park JH, Kim SY, Lee HJ, Kim RY, Park E. Optimization of rice cake preparation added with pine needle (*Pinus Sylvestris*) juice by response surface methodology. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 419, 1<sup>st</sup> Nov, 2012, Jeju, Korea (Poster)
- (4) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Kim RY, Park E. Change of Antioxidative and Antigenotoxic Effects after Cooking Process of Sulgidduk Containing Pine Needle Juice. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 467, 1<sup>st</sup> Nov, 2012, Jeju, Korea (Poster)

## SUMMARY

### 1. 1<sup>st</sup> year

(1) Physicochemical characteristics of rice flour used for preparation of *sulgidduk*

① Object: The purpose of this study was to compare particle distribution, damaged starch, water holding capacity, RVA, SEM, texture, and sensory evaluation in diverse rice flours

② Results: Physicochemical characteristics of control and roll&ball was not shown a significant. However, these group and 1<sup>st</sup> roll had a significant difference in particle distribution, damaged starch, water holding capacity, RVA, texture, and sensory evaluation. Therefore, this result suggest that roll&ball would be suitable for preparation of *sulgidduk*

(2) Development of rice cake preparation added with pine needle juice with beneficial effect on the metabolic syndrome by response surface methodology

① Object: The optimum formulation for mixing the ingredients [PNJ, sugar, and salt] based on rice flour prepared by roll&ball for satisfaction of consumer acceptability were achieved using response surface methodology.

② Results: This study suggests the suitability of *sulgidduk* to which 1.4% PNJ, 21.4% sugar, and 1.5% salt were added for optimizing the sensory evaluation

### 2. 2<sup>nd</sup> year

(1) Preparation of *Jeungpyun* used with diverse sugar types and improvement of texture through physicochemical characteristics analysis

① Object: The purpose of this study was to examine pH, form stability, viscosity, specific gravity, symmetry index, color, bread scoring in *Jeungpyun* prepared according to diverse ingredients.

② Results: The specific gravity of *Jeungpyun* dough was the lowest in *Jeungpyun* added with oligosaccharide (OJP), followed by *Jeungpyun* added with sucrose (SJP), *Jeungpyun* added with xylitol (DJP), and *Jeungpyun* added with dextrin (XJP). pH was the lowest in OJP, the form stability and viscosity of meringue batter was the highest in SJP. OJP was shown the highest moisture content, volume and specific volume and the lowest weight of dough. In color, L value was not shown a significant difference in SJP, XJP, and OJP and DJP was shown a significant difference compared with other group. OJP had a high score in bread scoring test. During storage day, water activity decreased in all sample and the water activity of OJP gently decreased compared to other group until 3 day.

(2) Storage improvement of *Jeungpyun* used with ingredients

① Object: The purpose of this study was to investigate storage day in *Jeungpyuns* prepared with diverse sugar types.

② Results: Mold grew at 3 days of storage in all sample. At 7 days of storage, OJP was the lowest mold as  $4.44 \times 10^6$  CFU/g in samples. In texture analysis, hardness and springiness was shown a gradual increase in OJP. Overall-acceptability was the highest in OJP (7.9).

(3) Quality characteristic of *Jeungpyun* prepared with pine needle

① Object: The purpose of this study was to develop a formula of *Jeungpyuns* prepared with pine needle through dough characteristic, physicochemical characteristic, and sensory evaluation.

② Results: Specific gravity was not shown in OJP dough according to added amount (0.5, 1.0, 1.5%) of pine needle powder. pH, L value decreased and dough weight increased as increase of added amount of pine needle powder. When 1.5% of pine needle powder was added to dough, mold did not grow until 3 days of storage and mold level of this sample at 7 days of storage was similar with *Jeungpyun* without pine needle powder at 3 days of storage. Therefore, this result could confirm antifungus effect of pine needle powder. Hardness increased as the amount of pine needle powder. However, in overall-acceptability, *Jeungpyun* prepared with 1% of pine needle powder was shown a high score compared to the others.

3. 3<sup>rd</sup> year

(1) Application of vital gluten for development of rice product using 100% of rice flour

① Object: The purpose of this study was to investigate the application of vital gluten in steamed bread using 100% of rice flour.

② Results: In farinograph, as increase of added amount of vital gluten, water absorption increased and arrival time closed to the control. Stability was a high in control and sample added 12%, and 15% of vital gluten. Therefore, this result suggest that the addition of 12% vital gluten could be appropriated when steamed bread was prepared with 100% rice flour.

(2) Development of functional rice product added with pine needle

① Object: The purpose of this study was to develop rice product prepared with pine needle and diverse filling by RSM.

② Results: Handling properties was not shown a significant difference in all samples. The range of pH was 5.7-5.9. The volume of steamed bread was the highest in control (steamed bread without pine needle powder) and the lowest in steamed bread with 1.5% pine needle powder. Bread scoring had not a significant difference in control, steamed bread with 0.5% and 1% pine needle powder. The change of texture for 7 days of storage was shown in hardness and springiness from 3-4 days of storage and its change was shown a remarkably in steamed bread with 1.5% pine needle powder. After 3-4 days of aerobic packaging, water activity of control was lower than steamed bread with pine needle powder. Antifungus activity was a high in steamed bread with 1.0% and 1.5% pine needle



powder. In sensory evaluation, appearance decreased by the addition of pine needle. Pine needle flavor was the highest in steamed bread with 1.5% pine needle powder. Springiness decreased in this sample. Overall-acceptability was higher in steamed bread with 1% pine needle powder (10.53).

(3) Development of optimal formula according to diverse filling of rice steamed bread with pine needle

① Object: The purpose of this study was to develop the optimal formula of diverse filling by RSM.

② Results: For the development of vegetable, pizza sauce, Bulgoggi sauce filling, respectively, the lack-of-fit statistic was not significant ( $p > 0.05$ ). The F-values of total model indicated that the models for determining overall acceptability was significant. The models could be used for predicting overall acceptability. Then the optimal formula of vegetable filling was 19.07% oligosaccharide, 5.40% salt, and 21.84% mayonnaise. Then the optimal formula of pizza sauce filling was 23.40% oligosaccharide, 3.85% salt, and 33.41% pizza sauce. Then the optimal formula of Bulgoggi sauce filling was 14.45% oligosaccharide, 3.16% salt, and 15.92% Bulgoggi sauce.

#### 4. Conclusion

This purpose of this study was to improve the quality of rice flour by wet milling, to reduce milling steps, and to apply this rice flour for development of rice product. Sulgidduk added with pine needle using with rice flour prepared in this study had a high quality to satisfy consumer acceptability. Generally, preparation step of *Jeungpyun* required time and effort was simplified by application meringue of egg white. The formulas of *Jeungpyun* was developed according to diverse kind of sugars and confirmed the improvement of storage. For the improvement of antifungus and taste, the optimal formula of *Jeungpyun* with pine needle powder by sensory evaluation was verified. This study suggested the range of vital gluten to be used in the making of 100% rice bread. The physicochemical characteristics and the improvement of storage in Korean style steamed bread with pine needle was verified and the optimal formula of it was developed by sensory evaluation. Using RSM, diverse filling of steamed bread was developed.

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절 연구개발의 목적

### 1. 제(2-2)세부연구과제: 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

쌀의 전처리과정인 습식제분에 의한 쌀가루의 단점을 보완하고 제분 단계를 간소화한 후 습식제분 된 쌀가루의 건조로 저장 유통의 편이성과 안정성을 가지는 쌀가루를 제조한 후 솔잎 분말 및 솔잎 착즙액의 기능성에 기초하여 기능성 떡제품의 개발을 목적으로 함. 즉, 1차 년도에는 솔잎 설기떡의 물리화학적 특성규명 및 소비자 관능검사를 통한 최적배합비를 제시하고, 2차 년도에는 떡 가공품 중 그 제조공정이 복잡하지만 가장 대중적인 증편의 제조공정을 계란 흰자 머랭 반죽을 활용하여 간소화 할 수 있는 공정방법을 확립하며, 증편의 제조 시 사용되는 첨가물 중 당류의 변화로 발생하는 제조 배합비 수정 및 저장성 향상을 시키고자 함. 3차 년도에는 100% 쌀가루를 이용한 쌀 가공품 개발을 위한 활성글루텐의 사용범위를 제안하고, 이를 이용한 한국형 솔잎 쌀 찜빵의 물리화학적 특성 및 저장성을 규명, 반응표면분석(RSM)을 활용하여 찜빵용 충전물을 개발하고자 함.

## 2절 연구개발의 필요성

### 1. 제(2-2)세부연구과제: 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

○ 우리나라의 쌀 소비 형태는 전체 쌀 생산량의 95%이상이 밥으로 소비되며 가공용으로는 주류를 포함해서 5% 내외에 머물고 있다. 따라서 밀가루와 같은 중간소재 형태인 쌀가루가 각 제품의 가공적성에 맞도록 개발되어 고품질의 다양한 쌀 가공식품이 소비자들에게 공급되어져야 하며, 쌀을 원료로 이용한 다양한 제품의 개발이 필요한 시점임.

○ 쌀 가공식품 중 가장 대표적인 떡은 대부분 쌀을 물에 불려 가공한 형태로 수침 후 roll mill로 제분하는 습식제분의 형태를 따르며, 설기떡의 경우 또한 roll mill로 1차 분쇄하여 수분과 소금을 넣어 2차 분쇄 한 다음 설탕을 혼합하여 체질하고 시루에 넣고 증기로 찌는 방식이다(7). Roll mill은 국내 쌀 가공업체에서 가장 흔히 사용하는 대표적인 습식제분기의 하나로 쌀 가공 시 열에 의한 손상이 적고, roll 간격을 다양하게 조절하여 제분의 정도를 달리 할 수 있으며, 구조상 높은 수분 함량의 곡류들도 제분이 가능하고, 수분함량을 변화 시켜 여러 가지 다양한 입도 및 낮은 손상전분 함량을 가진 가루를 만들 수 있는 장점을 가짐.

○ 우리나라는 식생활 변화에 의한 쌀소비량의 감소로 정부 주도하의 쌀소비 촉진을 위해 쌀 가공식품 활성화 대책을 발표한 바 있으며, 쌀가공품으로 쌀빵, 쌀국수, 시리얼, 쌀과자, 떡, 주류 등의 소비촉진을 위해 많은 노력을 기울이고 있다. 쌀 가공품의 소비형태 중 상당부분을 차지하는 떡류는 일차적으로 어떠한 방법으로 제조된 쌀가루를 사용하느냐에 따라 최종 품질이

좌우됨. 따라서 쌀의 전처리과정인 습식제분에 의한 쌀가루의 단점을 보완하고 제분 단계를 간소화한 후 습식제분된 쌀가루의 건조로 저장 유통의 편이성과 안정성을 가지는 쌀가루를 제조가 시급함.

○ 떡류 가공품 중 많은 연구자들에 의해 연구되는 백설기는 설기 떡 중 가장 먼저 만들어진 떡의 기본형으로 말 그대로 멥쌀가루에 물 또는 꿀물을 섞어 수분을 조절하고 체에 쳐서 공기를 고르게 혼입시킨 후 하얗게 쪄낸 떡으로 떡류를 상업화, 인스턴트화 하는데 가장유리 하며, 그런 이유로 여러 종류의 가능성이 첨가된 부재료를 이용한 가공식품으로의 연구 및 떡의 주재료가 되는 쌀의 제분방법 및 입자크기에 따른 백설기의 품질 특성에 관한 연구가 진행되고 있다. 그러나 최근까지의 연구는 습식제분된 원료 쌀에 부재료의 첨가로 기능적인 부분의 완성도를 높이거나, 쌀가루의 입도 차이에 따른 떡의 물리화학적 특성을 고려한 연구 등을 중심으로만 이루어지고 있는 실정임.

○ 증편은 각종 곡식을 가루 내어 이를 주재료 하여 다양한 형태로 발달되어온 우리나라 전통의 떡으로 쌀가루에 탁주를 넣어 발효시켜 만든 것으로 시큼한 술맛과 신맛, 단맛이 나며 떡으로서 유일하게 발효과정을 거치며 빵과 같은 폭신한 망상구조를 가지는 떡으로 기주떡, 술떡, 기지떡, 병거지떡 등 다양하게 불리고 있다 최근 그 재료는 곡류에 제한되지 않고 채소, 견과류, 과일류 등으로까지 확대되어 그 영양적 가치가 향상되고 있다.

○ 증편에 관한 연구는 이스트가 발효원, 발효온도, 발효시간, 증편의 팽화 등에 미치는 영향에 관한 연구, 막걸리 대신 생 이스트를 대체하여 대체비율에 따른 증편의 품질특성 및 향상에 관한 연구, 식이성 다당류와 대두 첨가에 의한 증편의 품질개선에 관한 연구, 현미와 보리가루를 대체한 증편의 품질특성에 관한 연구, 천년초 열매 분말 대체 증편의 품질 특성에 관한 연구 등이 있다. 이런 증편에 관한 여러 연구는 우리나라의 전통적 제조 방법을 이용한 증편의 우수성은 인정하나, 그 제조방법의 복잡성 즉, 탁주를 넣어 1차 발효 3-4시간, 가스빼기 후 2차발효 1시간, 3차 발효 1-2시간 등의 복잡한 과정을 보완할 필요가 있음. 또한 떡의 노화를 억제하기 위한 방법으로 기능성 당류의 활용이 필요한 실정임.

○ 쌀을 이용한 베이커리 제품의 경우 그 모양과 형태가 다양하게 개발되고 있으며, 그 소비관로 또한 다양하다. 그 중 소비자들이 쉽게 접근할 수 있는 부분은 프랜차이즈 과자점과 원도우 베이커리로 정의 될 수 있으며, 최근에는 웰빙(well-bing) 이라는 외식트렌드를 중심으로 '카페형 떡 전문점'들이 떡의 퓨전화를 통해 베이커리제품과의 접목이 이루어지고 있어 다양한 제품의 개발이 필요한 시점임.

○ 한국형 찰빵은 둥근 형태로 주로 반죽에 양념이나, 야채, 고기 등을 첨가시켜 발효 시키는 것이 특징으로 형태의 변화 부재료의 사용, 다양한 첨가물의 사용이 가능하며, 다른 베이커리 제품에 비해 gluten의존성이 낮아 100% 쌀가루를 활용한 제품의 제조에 적합함.

○ 따라서 본 연구는 전처리조건 및 사용한 제분기의 형태에 따른 쌀가루의 이화학적 특성(입도분포, 일반성분, 손상전분함량, 물결합력 분석, RVA에 의한 호화특성분석 및 SEM 분석)을

분석한 후 쌀 가공품에 적합한 쌀가루를 제조하고, 이를 바탕으로 설기떡 제조에 활용(물리적 특성분석 및 정량적묘사분석, 기호도검사, 차이식별검사)한 후 최적배합비를 검정 한다. 또한 떡 가공품 중 제조절차가 복잡하나 판매도 및 활용도가 높은 증편의 제조 절차를 간소화한 후 저장성 및 물성 개량을 위해 당의 종류(Sucrose, Xylitol, Oligosaccharide 및 Dextrin)를 달리 하여 제조한 증편의 반죽 특성(pH, 거품안정성, 점도 측정, 반죽의 수분함량 및 비중측정), 이화학적 특성 분석(증편의 비중, 비체적 및 대칭성, 수분활성도, 색도, 주관적 품질 평가, 외관 관찰, SEM 특성) 및 저장에 따른 변화(미생물 측정, texture에 의한 물성변화)를 살펴보고 최종적으로 관능검사를 통한 최적배합비를 제시 한다. 그리고 떡류 가공품과 베이커리제품과의 점목을 위해 100% 쌀가루를 활용한 솔잎 쌀 찌빵 제조를 위해 활성글루텐의 활용범위를 제시(과리노그래프)하고 이를 바탕으로 솔잎 첨가량을 달리한 찌빵의 제조 및 물리화학적 특성 분석을 통해 최적배합비를 제시한다. 또한 쌀 가공품의 다양화를 위한 충전물의 제조를 반응표면분석을 통해 제시 하고자 함.

### 3절 연구개발의 범위

#### 1. 제(2-2)세부연구과제: 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

○ 본 연구는 1차 년도에 전처리조건 및 사용한 제분기의 형태에 따른 쌀가루의 이화학적 특성 분석 및 이를 이용한 솔잎 첨가 설기떡 제조의 최적배합비를 개발하였고, 2차 년도에 제조 공정개선을 위한 솔잎 및 당의 종류를 달리한 증편을 제조하였으며, 3차 년도에 떡의 푸전화를 통해 베이커리제품과의 점목을 위해 전통적인 방법을 이용한 100% 쌀가루 한국형 찌빵을 제조한 후 쌀 가공품의 다양화를 위한 충전물의 제조를 반응표면분석을 통해 제시 하였다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1절 기술개발현황

쌀을 주식으로 하는 일본의 경우 쌀가루 산업 특징은 쌀가루 제조시 가공용도에 따른 제품 분류가 잘 이루어져있으며 제품의 종류에 따라 사용되는 일반적인 제분방법은 습식을 통한 stamp 방식, roll방식 및 충격방식 등을 이용한 제분방식을 사용한다.

일본은 우리나라와 유사한 쌀 문화권으로 1993년부터 니이가타현 식품연구소에서 밀가루의 대체식품 원료로 쌀가루를 이용할 수 있는 기술 개발 연구를 추진하였다. 그 결과 1996년 기술 개발에 성공하여 Rice World 21이라는 쌀가루 보급협회를 중심으로 쌀 식품 가공업이 자리 잡게 되면서 쌀가루의 사용량이 급격하게 증가하였다.

쌀가루 이용률은 전체 쌀 소비량의 14%를 상회하여 우리나라(1.3%)와 비교하면 10배 이상의 밀가루 대체 식품을 가공하여 소비하고 있어 쌀의 수입개방에 많은 대처를 하고 있는 실정이다.

일본은 품질이 우수한 쌀가루를 제조하기 위해 제균효소를 이용하여 곡립경도를 연화시킨 후 제분하는 효소이용 기술과 습식제분의 단점을 보완하기 위한 노력으로 반습식 등의 제분방법을 활용한 쌀가루의 개발에 많은 연구를 진행하고 있다.

우리나라의 경우 식생활 변화에 의한 쌀소비량의 감소로 정부 주도하의 쌀소비 촉진을 위해 쌀 가공식품 활성화 대책을 발표한 바 있으며, 쌀가공품으로 쌀빵, 쌀국수, 시리얼, 쌀과자, 떡, 주류 등의 소비촉진을 위해 많은 노력을 기울이고 있다

최근 떡류 가공품 중 많은 연구자들에 의해 연구되고 있으며, 특히 떡류를 상업화, 인스턴트화 하는데 많은 노력을 기울이고 있고 웰빙(well-bing)이라는 외식트렌드를 중심으로 ‘카페형 떡 전문점’들이 떡의 퓨전화를 통해 베이커리제품과의 접목을 하려는 시도가 이루어지고 있다.

### 2절 연구결과가 국내외 기술개발현황에 차지하는 위치

\* 국내·외 관련분야에 대한 기술개발현황과 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치 등을 기술

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 1절 연구내용

#### 1. 제(2-2)세부연구과제: 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

가. 1차 년도 : 전처리조건 및 사용한 제분기의 형태에 따른 쌀가루의 이화학적 특성 분석 및 이를 이용한 솔잎 첨가 떡 제조의 최적배합비 개발

(1) 설기떡 제조에 사용되는 쌀의 이화학적 특성분석

(가) 연구내용 : 시판 설기떡 제조에 사용되는 쌀의 전처리과정인 습식제분에 의한 쌀가루의 단점을 보완

(나) 연구항목 : 쌀가루의 전처리 조건확립, 습제분된 쌀가루의 입도분포, 일반성분, 손상전분함량, 물결합력 분석

(2) 습식제분 쌀가루의 건조에 따른 이화학적 특성분석

(가) 연구내용 : 습식제분된 쌀가루의 전처리로 저장 유통의 편이성과 안정성이 확보된 쌀가루의 제조

(나) 연구항목 : 입도분포, 일반성분, 손상전분함량, 물결합력 분석, RVA에 의한 호화특성분석, SEM 분석

(3) 설기떡 제조에 적합한 쌀가루의 분석

(가) 연구내용 : 쌀가루의 이화학적 특성 분석을 통한 설기떡 제조에 적합한 쌀가루의 제조

(나) 연구항목 : 입도분포, 일반성분, 손상전분함량, 물결합력 분석, RVA에 의한 호화특성분석, SEM 분석

(4) 물리화학적 특성 및 관능검사를 고려한 최적 설기떡 배합비 규명

(가) 연구내용 : 제조된 쌀가루를 이용한 설기떡의 물리화학적 특성을 분석 및 관능검사를 통한 최적 설기떡 배합비 규명

(나) 연구항목 : 쌀가루의 물리화학적 특성을 고려한 후 texture에 의한 설기떡의 물리적 특성 분석, 정량적묘사분석, 기호도검사 및 차이식별검사를 통한 설기떡의 최적배합비 검증

(5) 반응표면분석을 이용하여 대사성질환개선 효능을 가진 기능성 떡의 개발

(가) 연구내용 : 2핵심 1세부과제와의 공조로 예비실험 및 반응표면 분석을 통한 솔잎액 첨가 설기떡의 최적배합비를 구하고 관능검사를 통한 소비자의 수용도를 충족시킬 수 있는 솔잎설기떡 제조

(나) 연구항목 : 반응표면 분석을 통해 얻은 최적배합비 기능성 떡의 제조 및 기능성 검증, 기호도검사를 통한 솔잎설기떡의 최종배합비 확립

나. 2차 년도 : 제조 공정개선을 위한 솔잎 및 당의 종류를 달리한 증편의 제조를 위해 2 part 로 나누어 part 1에서는 공정개선을 위한 증편 반죽의 품질특성을 규명하고, part 2에서는 솔 잎 분말 첨가량을 달리한 증편 반죽의 품질특성을 규명하고자 하였음.

(1) 부재료를 이용한 증편의 제조 및 물리화학적 특성 분석을 통한 물성 개량

(가) 연구내용 : 당의 종류(Sucrose, Xylitol, Oligosaccharide 및 Dextrin)를 달리 하여 제조한 증편의 반죽 특성 및 이화학적 특성 분석

(나) 연구항목 : pH, 거품안정성, 점도 측정, 반죽의 수분함량 및 비중측정, 증편의 비중, 비체 적 및 대칭성, 수분활성도, 색도, 주관적 품질 평가, 외관 관찰, SEM 특성

(2) 부재료를 이용한 증편의 제조에 따른 저장성 측정

(가) 연구내용 : 당의 종류(Sucrose, Xylitol, Oligosaccharide 및 Dextrin)를 달리 하여 제조한 증편의 저장성 측정

(나) 연구항목 : 증편의 저장에 따른 미생물 측정, 저장기간별 texture특성 분석, 소비자 관능검 사

(3) 솔잎 분말의 사용에 따른 증편의 품질 특성 및 최적배합비 규명

(가) 연구내용 : 솔잎 분말의 사용에 따른 증편의 반죽 특성, 이화학적 특성 분석, 화 특성 분 석 및 관능적 특성 분석에 의한 배합비 도출

(나) 연구항목 : 솔잎 증편 반죽의 물성 개량, pH, 거품안정성, 점도 측정, 반죽의 수분함량 및 비중측정, 증편의 비중, 비체적 및 대칭성, 수분활성도, 색도, 주관적 품질 평가, 외관 관찰, SEM 특성, 솔잎 증편의 저장에 따른 미생물 측정, 효소를 이용한 호화도 및 노화도 측정, 저 장기간별 texture특성 분석, 소비자 관능검사

다. 3차 년도 : 쌀 찌빵 반죽의 물성개량과 저장성 향상을 위해 솔잎분말을 첨가한 솔잎 쌀 찌 빵의 저장특성을 확인하고, 찌빵의 물리화학적 특성을 규명한 후 최종적으로 한국형 솔잎 쌀 찌빵의 최적배합비를 규명하고자 하였음

(1) 솔잎분말을 첨가한 기능성 쌀 가공품제품의 개발 및 충전물의 개발에 따른 최적배합비 탐 색

(가) 연구내용 : 쌀 찌빵 반죽의 물성개량을 위해 활성글루텐의 사용범위를 제한하였으며, 저장 성 향상을 위해 솔잎분말을 첨가한 솔잎 쌀 찌빵의 저장특성을 확인함. 찌빵의 물리화학적 특 성을 규명한 후 최종적으로 한국형 솔잎 쌀 찌빵의 최적배합비 규명. 또한, 찌빵의 다양성을 위해 반응표면분석을 통한 찌빵용 소(충전물)의 배합비를 제시하고 최종적으로 소비자 관능검 사를 통한 소(충전물)의 최적배합비 규명

(나) 연구항목 : 과리노그래프 특성, 빵 반죽의 작업적성 평가, pH, 체적 및 비용적 측정, 주관 적 품질평가, 색도 측정, 외관관찰, texture 분석, 수분활성 측정, 미생물 측정, 관능검사

## 2절 연구결과

## 1. 제(2-2)세부연구과제: 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

### 가. 1차 년도 : 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

#### (1) 서론

떡은 오래 전부터 우리 민족과 함께 해온 우수한 우리 고유의 전통음식일 뿐만 아니라 건강식품이라는 점과 쌀의 소비를 촉진할 수 있다는 점에서 현대인의 기호와 식성에 부합하며, 가공식품으로 개발할 필요가 있는 식품이다(1). 떡은 재료의 배합에 있어 멥쌀과 찰쌀 외에 여러 가지 두류 및 잡곡, 견과류와 한약재, 향신료 등이 첨가되어 제조되므로 영양학적으로 우수 할 뿐 아니라 부재료의 첨가에 따라 다양한 떡의 제조가 가능하다(2).

각종 곡식을 가루 내어 이를 주재료로 찌서 만드는 떡은 우리 민족 고유의 별식으로, 다양한 형태로 발달되어 왔으며, 최근 그 재료는 곡류에 제한되지 않고 채소, 견과류, 과일류 등으로까지 확대되어 그 영양적 가치가 향상되고 있다. 떡의 제조는 방법에 따라 찌는 떡, 치는 떡, 지는 떡, 삶는 떡으로 분류된다(3).

이 중 찌는 떡은 멥쌀이나 찰쌀을 물에 담갔다가 가루로 만들어 시루에 안치고 나서 김을 올려 익히는 떡으로 시루떡이라고도 한다. 찌는 방법에 따라 설기떡과 쪄떡으로 구분하는데 설기떡은 쌀가루만으로 만든 백설기가 있고 여러 가지 부재료를 첨가하여 한 덩어리로 찌낸 설기떡으로는 콩시루떡, 무시루떡, 밤설기떡, 죽설기떡, 석탄병, 귀당병, 국화병, 삼산병 및 잡과병 등이 있다(4,5). 고물 등을 뿌려 찌는 쪄떡으로는 멥쌀로 하는 메시루떡과 찰쌀로 하는 찰시루떡으로 구분된다(6).

쌀 가공식품 중 가장 대표적인 떡은 대부분 쌀을 물에 불려 가공한 형태로 수침 후 roll mill로 제분하는 습식제분의 형태를 따르며, 설기떡의 경우 또한 roll mill로 1차 분쇄하여 수분과 소금을 넣어 2차 분쇄 한 다음 설탕을 혼합하여 체질하고 시루에 넣고 증기로 찌는 방식이다(7). Roll mill은 국내 쌀 가공업체에서 가장 흔히 사용하는 대표적인 습식제분기의 하나로 쌀 가공 시 열에 의한 손상이 적고, roll 간격을 다양하게 조절하여 제분의 정도를 달리 할 수 있으며, 구조상 높은 수분 함량의 곡류들도 제분이 가능하고, 수분함량을 변화 시켜 여러 가지 다양한 입도 및 낮은 손상전분 함량을 가진 가루를 만들 수 있는 장점을 가진다(8,9).

일반적인 제분 방법으로는 건식, 습식 및 반습식 제분방법 등을 사용하고 있으며, 건식제분의 경우 작고 균일한 입도분포를 나타내는 반면 제분과정 중 손상전분을 높게 하고 많은 열을 발생하여 전분의 호화 특성에 변화를 주어 쌀가공 식품에 바람직하지 못한 영향을 주는 단점을 가진다(10-12). 습식제분은 앞서 말한 바와 같이 건식제분에 비해 다양한 입도 및 낮은 손상전분 함량을 가진 가루를 만들 수 있으며(13) 반습식 제분은 제분과정 중 원료 쌀의 수침을 거치지 않고 수분을 분사면서 제분하는 방식으로 습식제분의 단점으로 대두되는 수침과정 중 생성되는 오페수 및 짧은 저장 유통기간을 개선하나 습식제분에 비해 다소 높은 손상전분을 가진다(14).

손상전분은 제분과정 중 전분이 기계적 손상을 받게 되면 생성되는 것으로 전분의 구조적인 형태, 낮은 tempering 수분함량, 분쇄압력, 제분기의 형태 및 속도 등에 따라서 좌우된다(15,16). 밀의 경우 제분을 통해 발생된 손상전분은 반죽 제조시 수분흡수력, 탄산가스 발생력, 반죽성, 최종 제품의 체적, 색깔 및 식에 좋지 않는 영향을 준다. 따라서 가공적성이 높은 쌀가



루의 제조를 위해서도 전분의 손상도 및 호화특성 등을 고려한 제분방법이 고려되어야 한다 (17).

일본의 쌀가루 산업 특징은 쌀가루 제조시 가공용도에 따른 제품분류가 잘 이루어져있으며 제품의 종류에 따라 사용되는 일반적인 제분방법은 습식을 통한 stamp 방식, roll방식 및 충격 방식 등을 이용한 제분방식이다(18,19). 일본은 우리나라와 유사한 쌀 문화권으로 1993년부터 니이가타현 식품연구소에서 밀가루의 대체식품 원료로 쌀가루를 이용할 수 있는 기술 개발 연구를 추진하였다. 그 결과 1996년 기술개발에 성공하여 Rice World 21이라는 쌀가루 보급협회를 중심으로 쌀 식품 가공업이 자리 잡게 되면서 쌀가루의 사용량이 급격하게 증가하였다. 쌀가루 이용률은 전체 쌀 소비량의 14%를 상회하여 우리나라(1.3%)와 비교하면 10배 이상의 밀가루 대체 식품을 가공하여 소비하고 있어 쌀의 수입개방에 많은 대처를 하고 있다(20). 또한 일본은 품질이 우수한 쌀가루를 제조하기 위해 제균효소를 이용하여 곡립경도를 연화시킨 후 제분하는 효소이용 기술과 습식제분의 단점을 보완하기 위한 노력으로 반습식 등의 제분방법을 활용한 쌀가루의 개발에 많은 연구를 진행하고 있다(14).

우리나라 또한 식생활 변화에 의한 쌀소비량의 감소로 정부 주도하의 쌀소비 촉진을 위해 쌀 가공식품 활성화 대책을 발표한 바 있으며(21), 쌀가공품으로 쌀빵, 쌀국수, 시리얼, 쌀과자, 떡, 주류 등의 소비촉진을 위해 많은 노력을 기울이고 있다(22). 쌀 가공품의 소비형태 중 상당부분을 차지하는 떡류는 일차적으로 어떠한 방법으로 제조된 쌀가루를 사용하느냐에 따라 최종 품질이 좌우된다(23).

최근 떡류 가공품 중 많은 연구자들에 의해 연구되는 백설기는 설기 떡 중 가장 먼저 만들어진 떡의 기본형으로 말 그대로 멥쌀가루에 물 또는 꿀물을 섞어 수분을 조절하고 체에 쳐서 공기를 고르게 혼입시킨 후 하얗게 썬 떡으로 떡류를 상업화, 인스턴트화 하는데 가장유리하며(24), 그런 이유로 여러 종류의 기능성이 첨가된 부재료를 이용한 가공식품으로의 연구 및 떡의 주재료가 되는 쌀의 제분방법 및 입자크기에 따른 백설기의 품질 특성에 관한 연구가 진행되고 있다(25). 그러나 최근까지의 연구는 습식제분된 원료 쌀에 부재료의 첨가로 기능적인 부분의 완성도를 높이거나, 쌀가루의 입도 차이에 따른 떡의 물리화학적 특성을 고려한 연구 등을 중심으로만 이루어지고 있는 실정이다.

미작 중심인 우리의 기호 풍토와 농경기반에서 20% 이상 되는 농민의 주요 소득원을 유지하고 쌀 생산량의 감소를 막기 위해 쌀을 이용한 각종 다양한 전통식품이 개발되어야 하고 생활의 편리화, 서구화에 부응하면서 쌀의 다각적인 활용과 소비패턴 변화에 적합한 실질적인 쌀 가공품의 개발이 필요 하다. 따라서 본 연구는 쌀을 이용한 가공식품 중 그 소비형태가 높은 설기떡의 제조과정 중 발생하는 경제적 부분 및 저장성, 유통성의 개선을 통해 시판 설기떡 제조공정을 단순화하고, 최종적으로는 그 기능성이 입증된 솔잎액을 첨가한 설기떡의 제조로 소비자의 수용도에 적합한 완성도 높은 솔잎설기떡을 제조하고자 하였다. 그 세부 목표는 다음과 같다.

시판 설기떡 제조에 사용되는 쌀의 전처리과정인 습식제분에 의한 쌀가루의 단점을 보완하고 제분 단계를 간소화한 후 습식제분 된 쌀가루의 건조로 저장 유통의 편이성과 안정성을 가지는 쌀가루를 제조한 후 이화학적 특성을 분석하여 설기떡 제조에 적합한 쌀가루를 제조하고자 하였다.

제조된 쌀가루로 설기떡을 제조한 후 시판 설기떡과의 물리화학적 특성을 분석하고 관능검사를 통한 최적의 설기떡 제조 배합비를 규명하고자 하였다.

설기떡 제조의 최적배합비를 2핵심 1세부과제와의 공조로 예비실험 및 반응표면 분석을 통한 솔잎액 첨가 설기떡의 최적배합비를 구하고 관능검사를 통한 소비자의 수용도를 충족시킬 수 있는 솔잎설기떡을 제조하고자 하였다.

## (2) 재료 및 방법

### (가) 실험재료

본 실험에 사용한 쌀은 국내에 시판되고 있는 2011년 수확한 충청 멥쌀(함안농업협동조합) 일반미(중간정도의 아밀로오스 : 24.3%), 설탕(제일제당), 소금(한주), 솔잎착즙액(바이오플랜)을 시중에서 구입하여 설기떡 제조에 사용하였다.

### (나) 쌀가루 및 설기떡의 제조

#### ① 쌀가루의 제조

쌀가루의 제조는 원료 쌀을 3회 수세한 후 쌀 무게의 3배 정도 물에 수침(9시간)하고, 물기를 제거한 후 설기떡의 제조를 위해 제분기에 적용하였다. 이때 사용한 제분기는 roll mill(Sam Jin Machine Co., Daegu, Korea)로 물기를 제거한 쌀을 roll(smooth roll) 간격 1.5 mm에서 1단계 제분 후 다시 roll 간격을 1 mm로 조정하여 2단계 제분한 쌀가루를 시판용 설기떡(대조구) 제조의 시료로 사용하였다(Fig. 1). 또한 습식제분의 공정을 간소화 하고 습식 한 쌀가루의 저장유통 단점을 보완 하기위해 기존 2단계 제분을 roll mill로 1단계만 제분한 후 원적외선 건조기(SLD-1400S, CILIC, Daegu, Korea)에서 최종수분함량이 14%±1이 되도록 쌀가루(1<sup>st</sup> Roll)를 건조 하였으며, 1단계 제분 후 건조된 쌀가루를 25-325 mesh로 분획하여 710 μm 이상의 비교적 큰 쌀가루만을 다시 ball mil(BUM-100S, INTECH Co., Gyeonggi-do, Seongnam, Korea)로 제분하여 다시 배합한 시료(Roll&ball) 즉, 시판용(대조구), 1<sup>st</sup> Roll 및 Roll & ball한 3가지 시료를 밀봉한 후 실험에 사용하였다.

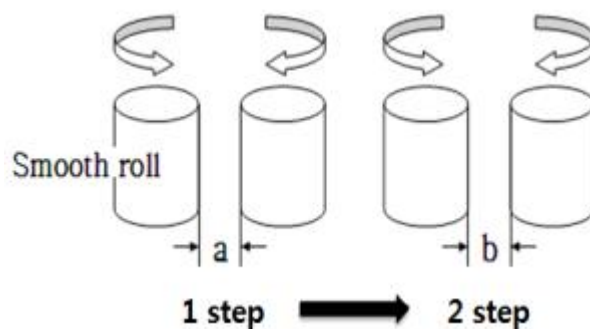


Fig. 1. 2 steps of roll milling. a = 1.5 mm, b = 1 mm.

② 설기떡의 제조

본 실험에 사용된 즉석 설기는 전자레인지(RE-C20SY, Samsung, Suwon, Korea)를 이용한 간편 조리 방법으로 (주)○○○으로부터 제공받은 설기떡용 찜기를 이용하여 제조하였다(Fig. 2). 즉, 습식제분하여 전처리를 통해 얻은 3가지 쌀가루(시판용(대조구), 1<sup>st</sup> Roll, Roll & ball)를 Table 1과 같은 조성으로 대조구의 경우 설기떡용 찜기에 바로 적용하였다. 또한 건조한 쌀가루 1<sup>st</sup> Roll와 Roll & ball은 vertical type mixer(N-50, Hobart, U.S.A)를 이용하여 1단 저속 47 rpm과 2단 중속 87 rpm에서 각각 2분, 5분 동안 수분을 투입하면서 수분함량이 40%가 되도록 혼합 한 후 실온에서 밀봉하여 수화를 돕고 나머지 재료인 소금, 설탕, 솔잎액은 수화된 쌀가루 중량의 각각 1.5%, 21.38%, 1.44%를 투입하여 20 mesh에 가볍게 내려 냉동저장한 후 설기떡용 찜기에 적용하였다(Fig. 3).

Table 1. Formula for preparation of *Sulgidduk*

(Unit : g)

Ingredients	Control	A	B
Rice flour <sup>1)</sup>	60	-	-
Rice flour <sup>2)</sup>	-	60	60
Sugar	21.38	21.38	21.38
Salt	1.5	1.5	1.5
PNJ	-	-	1.44
Water	40	40	40

<sup>1)</sup>Rice flour : Commercial rice flour(0% mb)

<sup>1)</sup>Rice flour : Laboratory rice flour(Roll & ball, 0%mb)

A : *Sulgidduk* made with Roll & ball rice flour

B : *Sulgidduk* made with Roll & ball rice flour with addition of PNJ

PNJ : Pine needle juice(70% mb)

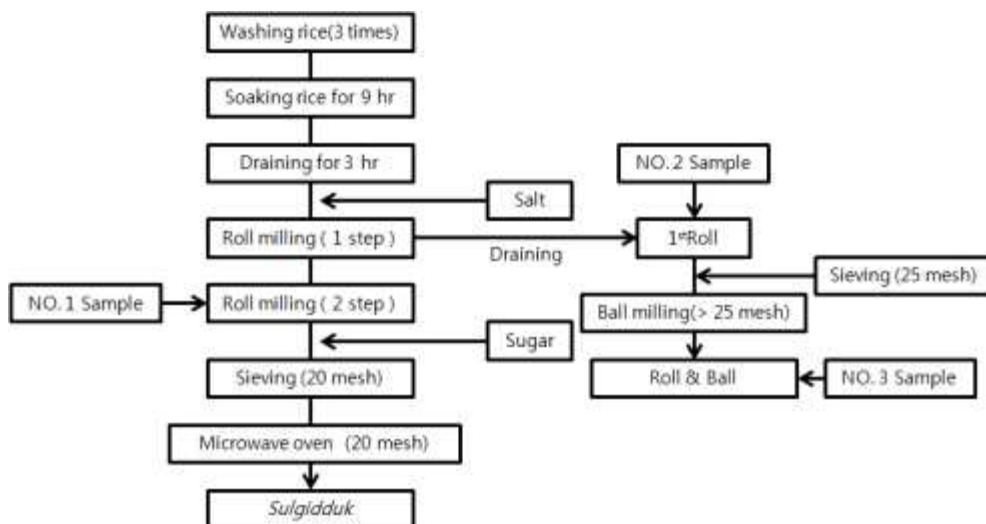


Fig. 2. Flow sheet of *Sulgidduk* making procedure.



Fig. 3. photograph of *Sulgidduk* making procedure.

③ 쌀가루의 이화학적 특성

㉞ 입도분포 측정 : 현미가루의 입도분포는 sieve shaker(HAVER EML 200 digital plus., Oelde, Germany)에 표준망체 25~325 mesh size(250~45 μm)를 이용하여 측정하였다. 즉, 쌀가루 100 g을 2.5 mm의 amplitude로 60초 간격으로 interval을 주어 2분간 체질 한 후 각 표준망체에 잔류한 쌀가루의 무게를 측정하여 입도분포를 나타내었다.

㉟ 쌀가루의 일반성분 분석 : 쌀가루의 단백질 함량은 근적외선 분광광도계(Near Infrared Spectrophotometer, NIR 6500, Foss, Denmark)를 이용하여 측정하였으며, 수분, 지방 및 회분은 AOAC 방법(26)에 준하여, 수분은 105℃ 상압가열건조법으로, 지방은 semi-soxhlet법, 회분은 건식 회화법을 이용하여 분석하였다.

㊱ 색도측정 : 쌀가루 및 설기떡의 색도 측정은 색도계(CM-3400d, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 L\*(명도), a\*(적색도), b\*(황색도)값으로 표현하였으며 각 시료 당 5회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다. 이 때 사용된 표준색판으로 백색판(L=96.88, a=-0.16, b=-0.29)을 사용하였다.

㊲ 손상전분 측정 : 전분손상도의 측정은 AACC method 76-30(27)에 준하였다. 즉, α-amylase(39.3 unit/mg solid, Sigma, Saint Louis, USA) 125,000 unit을 acetate buffer 450 mL에 녹인 용액 45 mL을 쌀가루 1 g(14% mb)에 가한 후 항온수조에서 30℃, 15 min간 방치한 후 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3 mL과 sodium tungstate 용액 2 mL을 첨가한 뒤 No. 4번 여과지로 여과하고 AACC method 80-60(28)에 따라 10 mL alk ferricyanide 용액을 넣고 boiling water bath에서 15분간 가열한 뒤 acetic acid-salt 용액 25 mL과 1 mL soluble starch-KI 용액을 넣고 발색시킨 후 0.1 N thiosulfate 용액으로 적정하였다. 0.1 N thiosulfate의 적정량을 AACC method 22-18(28)에 따라 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{Damaged starch \%} = 0.082 \times (\text{mg maltose} / 10 \text{ g})$$

㊳ 아밀로오스 함량 측정 : 아밀로오스 함량은 Juliano의 방법(27)으로 정량하였다. 즉 쌀가루 100 mg을 95% ethanol 1 mL와 1 N NaOH 9 mL에 완전히 분산시키고 10분간 항온수조에서 가열하여 식힌 후 100 mL로 희석시켰다. 이 중 5 mL을 취해 1.0 N acetic acid 1 mL로 중화시킨 후 요오드 용액(0.2% I<sub>2</sub>+2.0% KI) 2 mL를 넣어 발색시키고 100 mL로 정용하여 20분 후 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 아밀로오스 함량은 기준 시료인 potato amylose의 표준곡선으로 측정하였다.

㊴ 물결합력 : 쌀가루의 물결합력은 Medcalf와 Gilles 방법(29)을 이용하여 멬쌀가루 1 g(건량기준)과 증류수 40 mL를 혼합하여 1시간 동안 교반하고, 30분 동안 2,300×g로 원심분리 하여 상등액을 제거한 다

음 침전된 멧쌀가루의 무게를 측정하였으며, 이에 처음 쌀가루 무게를 뺀 후 다시 처음 쌀가루 무게로 나누어 100을 곱해 물결합력을 계산하였다.

㉔ RVA 특성(characteristics of rapid visco analyzer) : 쌀가루의 호화점도변화 특성은 신속점도측정기(Rapid Visco Analyzer, 3D, Newport Scientific Pty., Let., Narrabeen, Australia)를 이용하여 측정하였다. 쌀가루 3 g을 증류수 25 mL에 분산시키고 처음 1분 동안 50°C까지 가열 후 분당 12°C로 가열하여 95°C까지 상승시키고 95°C에서 2.5분 동안 유지하였다. 또한 50°C까지 분당 12°C로 냉각, 2분 동안은 50°C를 유지하면서 점도를 측정하였다. RVA의 특성 치는 호화개시온도(PT), 최고점도(P), trough에서 점도(T), 50°C에서 최종점도(F)와 이로부터 구한 total setback 점도(F-T), breakdown 점도(P-T)를 비교하였다.

㉕ 미세구조 관찰(scanning electron microscopy: SEM) : 쌀가루 입자의 형태관찰을 위하여 시료를 액체 질소에 냉각 시킨 후 알루미늄 표본 지지대 위에 얹고, JEOL 이온 도금기 (JFC-1100, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 약 150초 정도 금도금한 후 주사전자 현미경(Scanning electron microscopy, S-3500N, Hitachi)을 이용하여 가속전압 15 kV에서 3000배의 배율로 입자 형태를 관찰하였다.

㉖ Texture 측정 : 설기떡의 조직감은 texture analyzer(TA-XT2i, Stable Micro Systems, Godalming, England)에 100 mm compression plate를 장착하고 시료(4×4×4.5 cm)를 2회 연속적으로 침입시켰을 때 얻어지는 force-time curve로부터 견고성(hardness), 부서짐성(fracturability), 부착성(adhesiveness), 응집성(cohesiveness), 탄력성(springiness), 점착성(gumminess) 및 씹힘성(chewiness)을 측정하였으며, 분석 조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Operation condition of texture analyzer for *Sulgidduk*

Mode	Stickiness of bread dough
Option	TPA
Pre-test speed	2.0 mm/s
Test speed	1.0 mm/s
Post-test speed	1.0 mm/s
Distance	30%
Time	3sec
Trigger type	Auto - 10g
Probe	100 mm compression plate

㉗ 관능검사 : 설기떡은 정량적 묘사분석(Quantitative description analysis; QDA)검사(30)와 단순차이검사 실시하였으며, 정량적 묘사분석은 관능검사 실시 전 훈련된 패널요원 25명(○○대 호텔조리제빵과 10명, ○○대학교 식품영양학과 8명, 순천대학교 식품영양학과 7명)을 선정하여 논의 과정을 통해 검사에 필요한 용어를 마련하고 각 용어의 정의를 내리도록 하였다. 이 용어정의표의 사용목적은 패널 요원들이 평가할 때 지침이 되어 각 용어의 의미에 대한 혼동을 최소한으로 감소시키기 위함이었다. 패널요원 각각에게 시료를 제시하여 모든 시료가 동일

한 횟수로 평가될 수 있도록 하였다. 평가시간은 오후 3~5시 사이의 공복시간으로 하고 시료를 잘라 설기떡의 겉 표면과 내면을 패널요원이 잘 관찰할 수 있도록 흰 접시에 담아 제공하였으며, 하나의 시료를 먹고 나면 반드시 물로 입안을 헹군 뒤 다음 시료를 평가하도록 하였다. 이 때 사용된 관능특성들은 외관(appearance), 향(odor), 맛(taste), 조직감(texture) 등 4가지 항목이며, 15 cm 선척도(line scale)를 사용하였고 좌로부터 우로 이동하면서 특성의 강도가 증가하도록 선의 양쪽에 용어 한계를 표시하였다. 전반적인 기호도(overall acceptability)는 위 측정 4가지 항목의 조화되는 정도를 조사하여 평가하였다. 또한 단순차이검사는 시판용 쌀가루로 만든 설기떡과 실험을 통해 개발된 쌀가루를 이용하여 만든 설기떡 두 제품간의 품질차이 정도를 파악하기 위해 실시하였다.

㉔ 통계분석 : 실험을 통해 얻은 모든 결과 값들은 SPSS 프로그램(Statistical Package, SPSS Inc)의 분산분석(ANOVA)을 이용하여 통계처리하였고, 각 측정 평균값간의 유의성은  $P < 0.05$  수준으로 Duncan의 다중범위시험을 사용하여 검증하였다.

### (3) 결과 및 고찰

#### (가) 입도분포

설기떡 제조를 위해 제분한 쌀가루의 입도분포는 Table 1과 같다. 710  $\mu\text{m}$ 이상의 비교적 큰 입자는 1<sup>st</sup>Roll에서 32.24%로 가장 높게 나타났고 다음으로 대조구, Roll & ball 순으로 각각 5.53%, 2.04%로 낮게 나타났다. 700-250  $\mu\text{m}$ 에서는 대조구가 60.52%, Roll & ball이 58.59%, 1<sup>st</sup>Roll이 41.74%로 분획된 모든 구간에서 40% 이상으로 높게 나타났다. 250-150  $\mu\text{m}$ 는 Roll & ball이 20.75%로 가장 높고, 다음으로 대조구가 15.29%, 1<sup>st</sup>Roll이 11.21%로 낮게 나타났다. 150-45  $\mu\text{m}$ 는 대조구가 16.55%로 가장 높고 다음으로 Roll & ball, 1<sup>st</sup>Roll 순이었으나 유의적 차이를 나타내지는 않았다( $p < 0.05$ ). 45  $\mu\text{m}$  이하의 비교적 작은 입자는 Roll & ball가 4.96 %로 가장 높았고 대조구와 1<sup>st</sup>Roll는 각각 2.11, 2.30%로 유의적 차이를 나타내지 않았다( $p < 0.05$ ). 따라서 제분공정을 간소화한 1<sup>st</sup>Roll과 시판 설기떡의 제조에 사용되는 2단계 제분(대조구) 후의 입도분 차이는 710  $\mu\text{m}$ 이상에서 대부분의 차이를 나타내는 것을 알 수 있었으며, 710  $\mu\text{m}$ 이상 쌀가루만 다시 제분하여 혼합한 Roll & ball은 대조구에 비해 비교적 작은 입도분포를 많이 가지는 것으로 나타났다.

쌀가루의 입도분포는 사용한 제분기, 제분방법 등에 따라 달라져 쌀가루의 이화학적 특성변화를 나타내므로 사용 목적에 따른 적절한 전처리 및 제분조건이 마련되어야 한다(14,16). Choi 등(25)은 쌀가루의 제분 및 입자크기에 따른 백설기의 연구에서 180  $\mu\text{m}$  정도 크기의 습식제분한 쌀가루를 이용한 떡에서 기계적 조직감 및 관능적 특성이 우수하다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서도 대조구와 유사한 입도분포를 가지며 공정단계를 간소화 할 수 있는 Roll & ball에서 250  $\mu\text{m}$ 이상과 이하의 비율이 4:6로 비교적 작은 입도분포를 많이 가지는 Roll & ball이 향 후 설기떡의 제조 시 기계적, 관능적으로 우수한 설기떡을 제조 할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 3. The effect of processing methods on the particle size distribution of rice flours.

	Particle size ( $\mu\text{m}$ )	Processing methods		
		Control <sup>1)</sup>	1 <sup>st</sup> Roll	Roll & ball
Content (%)	>710	5.53±0.18 <sup>b</sup>	32.24±0.11 <sup>a</sup>	2.04±0.21 <sup>c</sup>
	710-250	60.52±0.67 <sup>a</sup>	41.74±0.76 <sup>c</sup>	58.59±0.53 <sup>b</sup>
	250-150	15.29±0.98 <sup>b</sup>	11.21±0.94 <sup>c</sup>	20.75±0.55 <sup>a</sup>
	150-45	16.55±0.57 <sup>a</sup>	12.51±0.97 <sup>b</sup>	13.66±0.57 <sup>b</sup>
	45>	2.11±0.11 <sup>b</sup>	2.30±0.21 <sup>b</sup>	4.96±0.40 <sup>a</sup>

Mean  $\pm$  SD (n=6).

<sup>1)</sup>Control : 2<sup>st</sup>Roll mill

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

(나) 쌀가루의 일반성분

쌀가루의 일반성분 분석결과를 Table 4에 나타내었다. 단백질의 경우 1<sup>st</sup>Roll에서 8.65%로 가장 높았고 대조구와 Roll & ball은 각각 8.26, 8.31%로 유의적 차이를 나타내지 않았다. 지방은 단백질에서와 같이 1<sup>st</sup>Roll에서 0.95%로 가장 높았고 대조구와 Roll & ball은 각각 0.83, 0.84%로 유의적 차이를 나타내지 않았다. 회분은 1<sup>st</sup>Roll, Roll & ball, 대조구 순으로 각각 0.48, 0.45, 0.43%로 감소하였으나 유의적인 큰 차이를 나타내지 않았다. 일반적인 쌀가루의 일반성분 변화는 제분과정 중 사용한 제분기, 원료쌀의 전처리조건 등에 의해 많은 변화를 보인다. 본 실험에서는 2단계의 제분을 거친 대조구와 roll mill 후 ball mill한 쌀가루에 비해 1단계 제분 과정을 거친 1<sup>st</sup>Roll에서 일반성분 함량이 높게 나타났는데 이는 Watson 등(31)의 보고에서와 같이 milling 정도가 높을수록 aleurone와 endosperm이 제거되어 단백질, 지방, 회분 함량이 감소하고, Weaver 등(32)의 귀리와 보리의 제분과정 중 압착과 분쇄 후 체를 통과하는 과정에서 많은 일반성분의 분리와 유실이 일어난다는 보고와 일치하며, Kennedy 등(33)의 제분 횟수 증가에 따라 Shuey 등(34)이 보고한 사용한 제분기에 따라서 단백질, 지방, 회분 및 아밀로오스 함량이 감소한다는 결과와도 일치한다.

Table 4. Proximate composition of rice flours

	Processing methods		
	Control <sup>1)</sup>	1 <sup>st</sup> Roll	Roll & ball
Protein(%)	8.26±0.20 <sup>b</sup>	8.65±0.10 <sup>a</sup>	8.31±0.13 <sup>b</sup>
Lipid(%)	0.83±0.01 <sup>b</sup>	0.95±0.01 <sup>a</sup>	0.84±0.01 <sup>b</sup>
Ash(%)	0.43±0.01 <sup>b</sup>	0.48±0.01 <sup>a</sup>	0.45±0.02 <sup>ab</sup>

Mean  $\pm$  SD (n=6).

<sup>1)</sup>Control : 2<sup>st</sup>Roll mill

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

(다) 색도측정

쌀가루의 색도 측정결과를 Table 5에 나타내었다. L값은 Roll & ball에서 73.86로 가장 높게 나타났으며, 다음으로 대조구가 73.52, 1<sup>st</sup>Roll이 72.93로 낮아졌다. Roll & ball에서 L값이 가장 높았던 것은 입도분포 측정의 결과와 같이 작인 입자의 분포가 다른 쌀가루에 비해 높았던 것에 기인한 것으로 생각된다(35). a값은 대조구가 -0.77로 가장 높고 Roll & ball, 1<sup>st</sup>Roll 순으로 낮아져 각각 -0.79, -0.80을 나타내었다. b값은 시료간 유의적 차이를 나타내지 않았다.

Table 5. Color values of rice flours with diverse processing methods

	Hunter color values <sup>1)</sup>		
	L	a	b
Control <sup>2)</sup>	73.52 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	-0.77 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.94 $\pm$ 0.05 <sup>NS3)</sup>
1 <sup>st</sup> Roll	72.93 $\pm$ 0.60 <sup>c</sup>	-0.80 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	3.03 $\pm$ 0.02
Roll & ball	73.86 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	-0.79 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	2.97 $\pm$ 0.05

Mean  $\pm$  SD (n=10).

<sup>1)</sup>L : measures lightness and varies from 100 for perfect white to zero black.

a : redness when plus, gray when zero and greenness when minus.

b : yellowness when plus, when zero, and blueness when minus.

<sup>2)</sup>Control : 2<sup>st</sup>Roll mill

<sup>3)</sup>NS: Not significant

Means with the same superscripts in each column are not significantly different (p<0.05).

(라) 손상전분 측정

쌀가루의 손상전분 함량을 Table 6에 나타내었다. 손상전분 함량은 1<sup>st</sup>Roll에서 9.34로 가장 낮았으며, 대조구, Roll & ball 순으로 각각 10.54, 10.86로 높게 나타났다. 일반적인 전분입자들은 제분과정 중 기계적 손상을 받게 되고(35) 손상을 받은 전분은 손상을 받지 않은 것에 비해 여러 가지 면에서 다른 특성을 가지는데, 밀가루의 경우에는 물흡수력, 탄산가스 발생력, 반죽성, 빵의 체적, 색깔 및 조직감 등이 영향을 받게 된다(36,37). 특히 수분 흡수력은 제빵 적성에 큰 영향을 미치는 인자로서 손상전분과 밀접한 관계를 가지며 적당한 손상전분은 수분흡수력을 증가시키고 전분 가수분해 효소의 작용기질로 사용 될 수 있으나 손상전분이 과도할 경우 반죽적성이 저하되고, 반죽의 호화 과정에서 공기와 반죽간의 계면이 불안정하여 굽기 단계에서 내부 gas cell의 밀착에 의해 제품 부피 감소 및 crumb 조직 등 제빵적성이 저하되는 것으로



알려져 있다(38). 또한 제분 횟수가 반복될수록 손상전분 함량도 증가한다(39).

Table 6. The effect of processing methods on the starch damage of rice flours

	Processing methods		
	Control <sup>1)</sup>	1 <sup>st</sup> Roll	Roll & ball
Starch damage (%)	10.54±0.89 <sup>ab</sup>	9.34±0.44 <sup>b</sup>	10.86±0.34 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n=6).

<sup>1)</sup>Control : 2<sup>st</sup>Roll mill

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

(마) 물결합력

쌀가루의 물결합력을 Table 7에 나타내었다. 물결합능력은 전분입자의 표면에 흡착되거나 내부로 침투되는 물의 양을 측정된 것으로 생전분의 수분 결합능력을 의미하는 값으로 습식제분을 통한 2단계의 제분과정을 거친 대조구와 Roll & ball에서 각각 106.18, 104.19%로 유의적으로 높게 나타났고, 1<sup>st</sup>Roll이 100.80%로 가장 낮게 나타났다. 물결합력은 쌀가루의 제조에 있어 중요한 인자로서 지나치게 높은 수분흡수율은 작업적성을 해치고 최종제품의 품질을 저하시키지만, 적당한 수분흡수율의 경우 노화지연 및 최종제품의 품질을 좋게 한다(40). 본 실험에서 대조구와 Roll & ball에서 물결합력이 높았던 것은 작은입도 분포 및 1<sup>st</sup>Roll에 비해 높은 손상전분 함량 때문으로 생각되며(41), 2단계의 제분과정을 거쳐 미세 제분되어 물분자와 접촉면적인 넓어 전분의 -OH-기와 물분자간에 수소결합이 쉽게 형성되기 때문으로 생각된다.

Table 7. Water binding capacity of rice flours with diverse processing methods

	Processing methods		
	Control <sup>1)</sup>	1 <sup>st</sup> Roll	Roll & ball
Water binding capacity (%)	106.18±1.61 <sup>a</sup>	100.80±0.98 <sup>b</sup>	104.19±1.07 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n=6).

<sup>1)</sup>Control : 2<sup>st</sup>Roll mill

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

(사) RVA 특성(characteristics of rapid visco analyzer)

쌀가루의 RVA(rapid visco analyzer)특성을 Table 8과 Fig. 4에 나타내었다. RVA는 전분을 함유한 식품을 heating, holding 그리고 cooling하여 paste 점도 변화로 식품의 가공특성을 예측 할 수 있는 실험방법이다. 전분입자는 내부구조가 치밀할수록 가열시 느리게 팽윤되며 높은 호화 개시 온도(pasting temp)를 가지는데, 호화 개시 온도(pasting temp)는 대조구에서 72.6 1℃로 낮게 나타났고 다음으로 Roll & ball이 73.74℃, 1<sup>st</sup>Roll이 74.24℃로 높게 나타났다. 대조구와 Roll & ball에서 1<sup>st</sup>Roll보다 낮은 호화 개시온도를 나타낸 것은 제분방법에 의해 작은 입

도분포를 가지기 때문이며, 이로 인해 표면적이 넓어져 쉽게 호화할 수 있었던 것으로 생각된다.

최고점도(peak viscosity)는 호화개시온도와 달리 1<sup>st</sup>Roll에서 346.33로 가장 높게 나타났는데 이는 입자크기와 높은 상관성을 가지며, 비교적 큰 입도분포를 나타내는 가루에서 높은 점도를 나타낸다(42).

최종점도(final viscosity)와 95℃ 유지점도는 최고점도와 같이 1<sup>st</sup>Roll에서 각각 321.25와 196.08로 높게 나타났고 대조구와 Roll & ball는 큰 차이를 나타내지 않았다.

Setback 점도는 전분분자 사이의 수소결합에 의해 형성된 gel에 의한 것으로 노화의 경향을 반영하는데, 전분 gel의 형성에서 amylose의 함량은 gel의 network형성에 중요한 물질이고 완전히 팽윤된 입자나 붕괴된 입자를 연결하는 역할을 함과 동시에 amylose의 함량이 증가할수록 전분 gel의 파괴 강도는 커진다. 따라서 setback점도가 높다는 것은 노화를 촉진할 수 있다는 것을 반증하는 것으로 1<sup>st</sup>Roll에서 125.17로 높게 나타났고 대조구와 Roll & ball는 각각 100.08와 103.5로 낮게 나타났다.

Breakdown(P-H)은 전분 paste가 전단에 대한 안정성을 나타내는 지표로 팽윤전분의 과열정도를 나타낸 것 대조구와 Roll & ball는 각각 80.08과 83.08로 1<sup>st</sup>Roll의 150.25보다 낮은 값을 나타내었다. 따라서 Roll & ball는 대조구와 유사한 호화특성으로 낮은 호화 개시 온도, 낮은 최고점을 나타내었으며, 노화의 경향을 반영하는 setback값 또한 낮게 나타났다.

Table 8. Pasting characteristics of rice flours with diverse processing methods

unit: RVU(Rapid viscosity unit)

Processing methods	Pasting Temp (°C)	Peak Viscosity (P)	Holding at 95°C (H)	Breakdown (P-H)	Final Viscosity (F)	Setback (F-P)
Control <sup>1)</sup>	72.61	240.5	160.42	80.08	260.5	100.08
1 <sup>st</sup> Roll	74.24	346.33	196.08	150.25	321.25	125.17
Roll & ball	73.74	254.33	171.25	83.08	274.75	103.5

Mean ± SD (n=5).

<sup>1)</sup>Control : 2<sup>st</sup>Roll mill

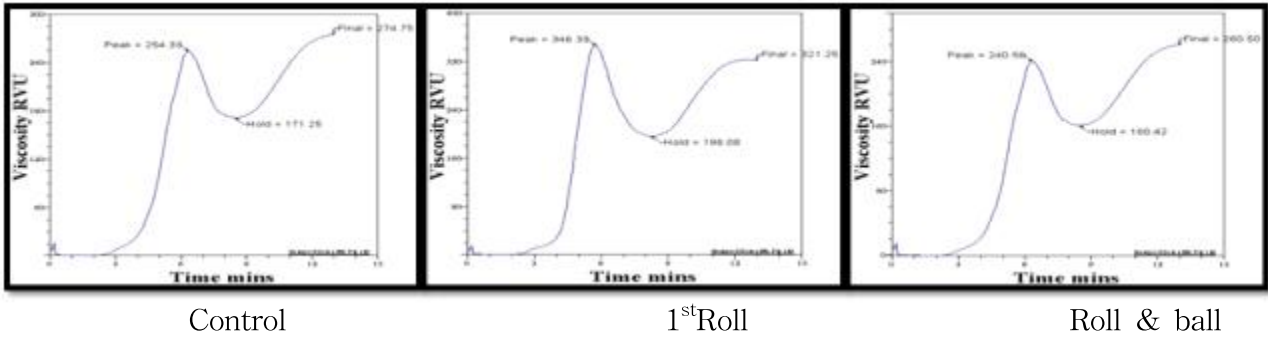


Fig. 4. RVA characteristics of roll milled rice flours with diverse processing methods.

(아) 미세구조 관찰(scanning electron microscopy: SEM)

제분에 의한 쌀가루의 미세구조 관찰(SEM) 결과를 Fig 5에 나타내었다. Fig. 4는 시판 설기떡의 제조에 사용되는 2단계 제분(대조구)과 제분공정을 간소화한 1<sup>st</sup>Roll, 710 μm 이상 쌀가루만 다시 제분하여 혼합한 Roll & ball의 미세구조로 대조구와 Roll & ball의 경우 쌀가루의 집합체로부터 전분입자들이 그 형태대로 파여 나간 것을 확인 할 수 있고, 1<sup>st</sup>Roll은 1단계 제분만을 거친 것으로 쌀가루의 집합체로부터 전분의 분리가 낮게 이루어진 것을 확인 할 수 있다. 이는 앞서 실험한 입도분포, 손상전분, 물결합력 등의 실험 결과에서와 같이 낮은 입도분포, 비교적 높은 손상전분, 높은 물결합력 등이 대조구와 Roll & ball에서 높았던 결과와 일치한다.

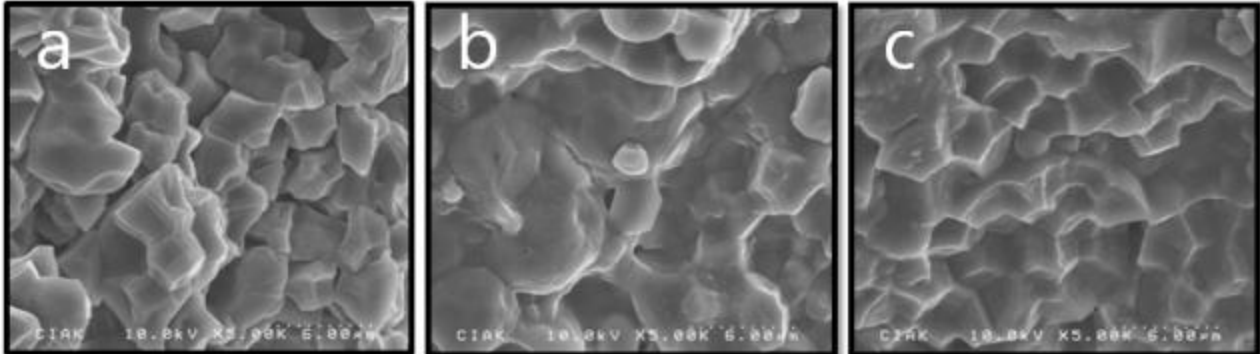


Fig. 5. Scanning electron microphoto graphs of rice flour with ball milling. a: Control, b: 1<sup>st</sup> Roll, c: Roll & ball(×3000).

(자) Texture

Table 9는 시판 설기떡의 제조에 사용되는 2단계 제분(대조구)과 제분공정을 간소화한 1<sup>st</sup>Roll, 710 μm 이상 쌀가루만 다시 제분하여 혼합한 Roll & ball에 의해 제조된 쌀가루를 이용하여 Table 1의 조성으로 제조한 설기떡의 texture 측정 결과이다. Hardness의 경우 비교적 큰 입자의 분포가 많은 1<sup>st</sup>Roll에서 386.58로 높게 나타났으며, 대조구와 Roll & ball는 각각 338.08, 327.91로 유의적으로 낮게 나타났다. Adhesiveness는 대조구와 1<sup>st</sup>Roll에서 각각 -32.05, -52.45로 높게 나타났다. Springiness는 대조구가 0.84로 높게 나타났고 다음으로 Roll & ball가 0.78, 1<sup>st</sup>Roll가 0.69로 낮아졌으며, Cohesiveness 또한 Springiness와 같이 대조구가 0.77로 높게 나타났고 다

음으로 Roll & ball가 0.70, 1<sup>st</sup>Roll가 0.68로 낮아졌다. Gumminess와 chewiness는 유의적 차이를 나타내지 않는다.

Table 9. Texture characteristics of *Sulgidduk*

	Hardness	Adhesiveness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
Control <sup>1)</sup>	338.08±8.26 <sup>b</sup>	-32.05±19.48 <sup>a</sup>	0.84±0.01 <sup>a</sup>	0.77±0.01 <sup>a</sup>	260.23±3.89 <sup>NS2)</sup>	215.17±1.33 <sup>NS</sup>
1 <sup>st</sup> Roll	386.58±5.07 <sup>a</sup>	-52.45±31.61 <sup>a</sup>	0.69±0.03 <sup>c</sup>	0.68±0.02 <sup>b</sup>	274.88±24.57	190.30±19.91
Roll & ball	327.91±15.72 <sup>b</sup>	-120.81±25.24 <sup>b</sup>	0.78±0.04 <sup>b</sup>	0.70±0.02 <sup>b</sup>	243.21±24.31	189.55±20.22

Mean ± SD (n=10).

<sup>1)</sup>Control : 2<sup>st</sup>Roll mill

<sup>2)</sup>NS: Not significant

Means with the same superscripts in each column are not significantly different (p<0.05).

#### (차) 정량적 묘사분석

설기떡의 관능적 품질을 정량적 묘사분석(QDA : quantitative descriptive analysis)을 통해 비교하였다(Table 10). 외관 평가에서 설기떡의 거친정도(graininess)는 작고 균일한 입도분포를 나타내는 대조구와 Roll & ball에서 각각 8.89와 8.95점으로 비교적 높게 나타났고, 큰 입자 분포를 많이 가지는 1<sup>st</sup> Roll에서 6.86점으로 낮게 나타났다. 또한 설기떡의 색(white color)은 Roll & ball에서 9.25점으로 다른 처리구에 비해 월등히 높은 점수를 나타내었다. 향(*Sulgidduk* odor)과 맛(moisture)은 설기떡 고유의 구수한 향으로 실험에 사용한 쌀가루 모두에서 유의적 차이를 나타내지 않았으며, 질감에서 부드러운 정도(softness)는 낮은 입도분포로 많은 물과 결합하여 부드러운 정도가 높을 것으로 예상되는 대조구와 Roll & ball에서 각각 11.03과 9.98으로 유의적으로 높게 나타났고 씹힘성(chewiness)는 유의적 차이를 나타내지 않았다. 이상의 결과를 토대로 평가된 전반적 기호도(overall acceptability)는 대조구와 Roll & ball에서 각각 11.13점과 10.94으로 비교적 높게 나타나 시판 설기떡의 제조에 사용되는 2단계 제분공정을 간소화하고 저장, 유통성에 유리한 Roll & ball한 쌀가루로 설기떡의 제조시 충분히 완성도 높은 설기 떡을 제조할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 10. QDA for sensory properties of *Sulgidduk*

Sensory properties		Control <sup>1)</sup>	1 <sup>st</sup> Roll	Roll & ball
Appearance	Graininess	8.89±1.81 <sup>a</sup>	6.86±2.16 <sup>b</sup>	8.95±0.98 <sup>a</sup>
	White color	6.45±2.32 <sup>NS2)</sup>	5.95±1.38	9.25±5.20
Odor	<i>Sulgidduk</i> oder	9.11±1.53 <sup>NS</sup>	11.05±3.55	9.50±3.91
Taste	Moisture	6.80±2.51 <sup>NS</sup>	6.94±1.97	6.88±1.54
Texture	Softness	11.03±1.63 <sup>a</sup>	6.11±1.55 <sup>b</sup>	9.98±1.01 <sup>a</sup>
	Chewiness	7.66±4.02 <sup>NS</sup>	9.20±3.78	8.26±4.38
Overall acceptability		11.13±2.94 <sup>a</sup>	6.30±1.73 <sup>b</sup>	10.94±1.23 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n=25).

<sup>1)</sup>Control : 2<sup>st</sup>Roll mill

<sup>2)</sup>NS: Not significant

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

#### (카) 단순차이검사

단순차이검사는 제분과정을 거친 쌀가루 각각의 이화학적 특성과 관능적 특성에서 유의적 차이를 보이지 않은 대조구와 Roll & ball한 쌀가루로 제조한 설기떡의 단순차이 식별검사로 각 관능검사 패널 요원들이 두 개의 시료가 동일한지 또는 다른지를 평가하는 것이다. 본 실험 결과 관능검사요원 25명 중 13명(52%)은 제시된 두 시료가 동일하다고 대답하였으며, 12명(48%)은 다르다고 대답하였다. 그러나 다르다고 표현한 12명은 두 가지 중 어느 것이 더 좋으냐는 질문에서 9명(75%)이 Roll & ball한 쌀가루로 제조한 설기떡이 우수하다고 평가 하였다.

#### (타) 솔잎설기떡의 관능적 특성평가

시판 설기떡 제조에 사용되는 쌀의 전처리과정인 습식제분에 의한 쌀가루의 단점을 보완하고, 제분 단계를 간소화한 쌀가루의 이화학적 특성을 분석한 후 설기떡 제조에 적용하였다. 또한 설기떡의 기계적조직감 및 관능검사를 통한 검증을 실시하였으며, 2핵심 1세부과제와의 공조로 in vitro의 예비실험을 통해 부재료로서 솔잎의 기능성을 확인한 후 반응표면분석을 통한 솔잎 착즙액 첨가 설기떡의 최적배합비를 찾고자 하였다.

Table 11은 예비 실험 및 반응표면분석을 통해 선정된 솔잎설기떡의 최종 배합비(Table 1)로 제조한 솔잎설기떡의 관능평가 결과로 외관(appearance), 질감(texture)에서는 대조구와 솔잎설기떡간 유의적 차이를 나타내지 않았다. 향(odor)과 맛(taste)에서는 대조구가 각각 6.38, 8.62점을 솔잎설기떡은 각각 9.93, 10.48로 유의적으로 높았고, 위의 모든 항목을 고려하여 평가한 전반적인 기호도(overall acceptability) 또한 솔잎설기떡이 11.43점으로 대조구 9.25점에 비해 높은 값을 나타내었다. 이상의 결과로 볼때 솔잎액첨가가 설기떡의 외관 및 질감에는 영향을 주지 않으나, 솔잎액의 기능적인 부분과 독특한 향으로 인해 향과 맛을 좋게 하여 종합적 기호도가 높게 나타난 것으로 사료된다. 따라서 본 실험결과 반응표면분석을 통해 얻어진 솔잎설기떡

의 최적배합비가 관능적인 평가결과 적합함을 알 수 있고, 최적의 솔잎설기떡을 제조하기 위해서는 Roll & ball로 제조한 쌀가루(40% mb) 100 g에 소금 1.5 g, 설탕 21.38 g를 솔잎액(PNJ : pine needle juice) 1.44 g을 첨가시키는 조건이 설정되었다.

Table 11. Sensory characteristics of the *Sulgidduk* and *Sulgidduk* added with pine needle juice

Sensory properties	Control <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Appearance	8.70±1.68	7.77±2.11
Odor	6.38±1.98*	9.93±1.74
Taste	8.62±1.83*	10.48±1.06
Texture	8.27±1.63	8.48±1.37
Overall acceptability	9.25±2.75*	11.43±1.81

Mean ± SD (n=25).

<sup>1)</sup>Control : 2<sup>st</sup>Roll mill

<sup>2)</sup>*Sulgidduk* made with Roll & ball rice flour with addition of PNJ(pine needle juice)

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

#### (4) 요약

본 연구는 쌀을 이용한 가공식품 중 그 소비형태가 높은 설기떡의 제조과정 중 발생하는 경제성 부분 및 저장성, 유통성의 개선을 통해 시판 설기떡 제조공정을 단순화하고, 최종적으로는 그 기능성이 입증된 솔잎액을 첨가한 설기떡의 제조로 소비자의 수용도에 적합한 완성도 높은 솔잎설기떡을 제조하고자 하였다.

체분공정을 간소화한 1<sup>st</sup>Roll과 시판 설기떡의 제조에 사용되는 2단계 체분(대조구) 후의 입도분 차이는 710 μm이상에서 대부분의 차이를 나타내는 것을 알 수 있었으며, 710 μm이상 쌀가루만 다시 체분하여 혼합한 Roll & ball은 대조구와 유사하거나 비해 비교적 작은 입도분포를 더 많이 가지는 것으로 나타났다.

일반성분 분석은 1단계의 체분만을 거친 1<sup>st</sup>Roll에서 단백질, 지방, 회분 함량이 높았고, 대조구와 Roll & ball은 유의적 차이를 나타내지 않았다. 색도는 비교적 작인 입자의 분포가 다른 쌀가루에 비해 높았던 Roll & ball에서 L값이 높았으며, 손상전분, 물결합력은 대조구와 Roll & ball에서 유의적 차이를 나타내지 않았다.

RVA 호화특성은 대조구와 Roll & ball에서 차이를 나타내지 않았으며, 노화의 경향을 반영하는 setback값 또한 낮게 나타났다. 미세구조 관찰(SEM)에서는 대조구와 Roll & ball이 유사하여 쌀가루의 집합체로부터 전분입자들이 그 형태대로 파여 나간 것을 확인 할 수 있었다. Texture측정 결과 hardness는 1<sup>st</sup>Roll에서 386.58로 높게 나타났으며, 대조구와 Roll & ball은 각각 338.08, 327.91로 유의적으로 낮게 나타났다.

관능적 품질특성 중 정량적 묘사분석결과 대조구와 Roll & ball에서 각각 전반적 기호도(overall acceptability)가 11.13점과 10.94으로 높게 나타났으며, 대조구와 Roll & ball로 제조한 설기떡의 차이식별검사에서도 두 시료간 차이를 느끼지 못하거나 Roll & ball한 쌀가루로 제조한 설기떡이

우수하다고 평가 하였다.

솔잎설기떡의 관능적 특성평가는 제분 단계를 간소화하여 제조한 Roll & ball 쌀가루를 2핵심 1세부과제의 반응표면분석결과에 적용하여 솔잎설기떡을 제조한 후 관능적 특성을 평가한 결과 대조구에 비해 우수한 소비자 수용도를 나타내었다.

따라서 본 실험결과 최적의 솔잎설기떡을 제조하기 위해서는 공정단계를 개선한 Roll & ball 로 제조한 쌀가루(40% mb) 100 g에 소금 1.5 g, 설탕 21.38 g를 솔잎액(PNJ : pine needle juice) 1.44 g을 첨가시키는 조건이 설정되었다.

나. 2차 년도 : 제조 공정개선을 위한 솔잎 및 당의 종류를 달리한 증편의 제조

### (1) 서론

떡은 보편성과 토착성을 지닌 한국 고유의 간식인 동시에 편이식으로서 시식(時食)과 관혼상제(冠婚喪祭) 등 상차림의 필수 음식으로 우리와 함께 하여 왔다(43). 또한 떡은 우리 고유의 전통음식일 뿐만 아니라 건강식품 이라는 점과 쌀의 소비를 촉진할 수 있다는 점에서 현대인의 기호와 식성에 부합하며, 가공식품으로 개발할 필요가 있는 식품이다(44). 떡은 재료의 배합에 있어 멥쌀과 찰쌀 외에 여러 가지 두류 및 잡곡, 견과류와 한약재, 향신료 등이 첨가되어 제조되므로 영양학적으로 우수 할 뿐 아니라 부재료의 첨가에 따라 다양한 떡의 제조가 가능하다(45).

각종 곡식을 가루 내어 이를 주재료로 찌서 만드는 떡은 우리 민족 고유의 별식으로, 다양한 형태로 발달되어 왔으며, 최근 그 재료는 곡류에 제한되지 않고 채소, 견과류, 과일류 등으로까지 확대되어 그 영양적 가치가 향상되고 있다. 떡의 제조는 방법에 따라 찌는 떡, 치는 떡, 지지는 떡, 삶는 떡으로 분류된다(46).

이 중 찌는 떡은 멥쌀이나 찰쌀을 물에 담갔다가 가루로 만들어 시루에 안치고 나서 김을 올려 익히는 떡으로 시루떡이라고도 한다. 찌는 방법에 따라 설기떡과 쪄떡으로 구분하는데 설기떡은 쌀가루만으로 만든 백설기가 있고 여러 가지 부재료를 첨가하여 한 덩어리로 쪄낸 설기떡으로는 콩시루떡, 무시루떡, 밤설기떡, 죽설기떡, 석탄병, 귀당병, 국화병, 삼산병 및 잡과병 등이 있다(47). 고물 등을 뿌려 찌는 쪄떡으로는 멥쌀로 하는 메시루떡과 찰쌀로 하는 찰시루떡으로 구분된다(48).

증편은 찌 떡의 일종으로 쌀가루에 탁주를 넣어 발효시켜 만든 것으로 시큼한 술맛과 신맛, 단맛이 나며 떡으로서 유일하게 발효과정을 거치며 빵과 같은 폭신한 망상구조를 가지는 것이 특징이다(49,50). 발효에 의해 pH가 4~5정도로 잡균이 성장하기 어려운 환경이어서 빨리 쉬지 않아 저장성이 우수한 여름 떡이며(51,52) 기주떡, 술떡, 기지떡, 병거지떡 등 다양하게 불리고 있다(53).

증편에 관한 연구로는 이스트가 발효원, 발효온도, 발효시간, 증편의 팽화 등에 미치는 영향에 관한 연구(54), 막걸리 대신 생 이스트를 대체하여 대체비율에 따른 증편의 품질특성 및 향상에 관한 연구(55), 식이성 다당류와 대두 첨가에 의한 증편의 품질개선에 관한 연구(56), 현미와 보리가루를 대체한 증편의 품질특성에 관한 연구(57), 천년초 열매 분말 대체 증편의 품질 특성에 관한 연구(58) 등이 있다. 이런 증편에 관한 여러 연구는 우리나라의 전통적 제조 방법을 이용한 증편의 우수성은 인정하나, 그 제조방법의 복잡성 즉, 탁주를 넣어 1차 발효 3-4시간, 가스빼기 후 2차발효 1시간, 3차 발효 1-2시간 등의 복잡한 과정을 보완하고

## 자 함에 있다.

또한 최근 연구들은 전통적인 방법을 이용한 증편제조에서의 장점 즉, 탁주의 생리활성물질, 발효과정 상의 낮은 pH에 의한 미생물 번식억제 등의 기능성 및 저장성 향상 유지 하면서 간편하게 제조할 수 있는 방법에 관하여도 연구되어 지고 있다.

따라서 본 연구에서는 전통적 방법을 이용하여 제조한 증편의 장점을 유지하면서 증편의 제조에 사용되는 시간을 최대한 단축시켜 제조공정을 단순화하고, 저장성을 향상 시키고자 하였다. 즉, 저장성 향상을 위해 솔잎 및 당류를 달리하여 제조하였으며, 탁주에 의해 발효과정 중 생성되는 증편의 해면상 구조를 대신할 방법으로 계란 흰자를 가공한 머랭을 증편제조에 적용하였다.

본 실험에 사용한 솔잎은 방부, 살균, 및 향기를 돋우는 효과뿐만 아니라 동맥경화증, 고혈압, 당뇨병, 신경통 등의 노화 관련 질환 예방과 같은 약리적 효능을 진다(59). 또한 실험에 사용한 기능성 당인 자일리톨은 petose-sugar alcohol이라 불리는 천연소제 감미료로 다른 당류에 비해 인체내 흡수가 적고 설탕의 1/2정도의 칼로리를 가지며, 설탕과 유사한 당도를 지니고 있어 여러 가공식품에 활용되고 있다. 최근에는 구강제품 외에 다이어트, 골다공증 제품 등의 활용범위가 확대 되고 있다. 올리고당은 설탕에 비해 칼로리가 적고 체내 장 기능을 활성화시키는 기능성 감미료로 비피더스균과 같은 몸에 유익한 균의 번식을 촉진하는 효과가 있고(60), 전분질 식품의 노화를 억제하는 특성을 가진다(61). 텍스트린 또한 전분질 식품의 노화 지연에 효과적이다(62).

시판 증편 제조에 사용되는 제조공정의 단점을 보완하고 저장 유통의 편이성과 안정성을 가지는 증편의 제조를 위해 기본 배합비에 계란 흰자 머랭을 반죽에 사용하였다. 또한 전분질 식품의 노화 및 기호도 상승을 위해 설탕 대체 자일리톨, 올리고당 및 텍스트린을 이용하여 증편을 제조한 후 물리화학적 특성을 분석하고 관능검사를 통한 최적의 증편 제조 배합비를 규명하고자 하였다. 이를 바탕으로 향균, 방부 및 기호성의 향상을 위해 솔잎분말을 첨가한 증편을 제조한 후 물리화학적 특성을 분석하고 관능검사를 통한 최적의 솔잎 증편 제조 배합비를 규명하고자 하였다.

(2) 1부 : 공정개선을 위한 증편 반죽의 품질특성

(가) 재료 및 방법

### ① 재료

증편 제조를 위한 재료로 쌀가루는 국내에 시판되고 있는 2012년 수확한 추청 멥쌀(함안농업협동조합) 일반미(중간정도의 아밀로오스 : 24.3%)를 3회 수세한 후 쌀 무게의 3배 정도 물에 수침(9시간)하고, 물기를 제거한 후 증편의 제조를 위해 제분기에 적용하였다. 이때 사용한 제분기는 roll mill(Sam Jin Machine Co., Daegu, Korea)로 물기를 제거한 쌀을 roll(smooth roll) 간격 1.5 mm에서 1단계 제분 후 다시 roll 간격을 1 mm로 조정하여 2단계 제분한 쌀가루를 증편 제조용 시료로 사용하였으며(Fig. 1), 당류는 분말형으로는 정백당(CJ제일제당주식회사), 텍스트린 및 자일리톨을, 액상형으로는 이소말토올리고당(CJ제일제당주식회사)을 사용하였고, 효모는 인스턴트 드라이이스트(Societe Industrielle Lesaffre, Paris, France), 우유(서울우유), 소금은 꽃소금(사조해표) 및 계란을 사용하였다.



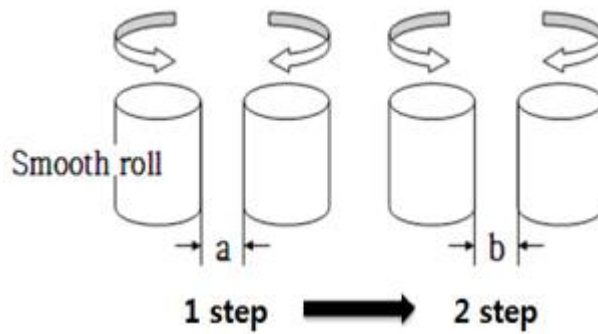


Fig. 6. 2 steps of roll milling. a = 1.5 mm, b = 1 mm.

## ② 증편의 제조

증편 재료 배합 및 제조 방법은 Table 12, Fig. 7과 같다. 즉, 계란 흰자를 vertical type mixer(N-50, Hobart, U.S.A)를 이용하여 1단 저속 47 rpm과 2단 중속 87 rpm에서 1분간 믹싱 후 분량의 당과 소금을 투입한 후 2단 중속 87 rpm에서 50초간 머랭을 제조하였다. 제조한 머랭의 1/2을 쌀가루와 이스트에 혼합하면서 물과 우유로 1차 반죽한 후 나머지 1/2의 머랭을 가볍게 혼합하여 증편용 틀에 담고 증편용 찜기는 인덕션레인지(Lihom-cuchen, Co, LTD. Seoul. Korea)을 이용하여 180℃에서 4분 220℃에서 3분 찜 후 전원을 끄고 1분간 뜸들인 후 1시간 실온에 방치 한 후 polyethylene film으로 밀봉하여 23±5℃의 실온에 저장하면서 이화학적 특성, 기계적 특성 및 관능검사를 실시하였다.

Table 12. Formula for preparation of *Jeungpyun*

Sample <sup>2)</sup>	Ingredient									
	Rice flour <sup>1)</sup>	Egg white	Milk	Water	Sugar <sup>3)</sup>				Salt	Instant dry yeast
					A	B	C	D		
SJP	100	60	10	10	60	-	-	-	2	2
XJP	100	60	10	10	-	60	-	-	2	2
OJP	100	60	10	10	-	-	60	-	2	2
DJP	100	60	10	10	-	-	-	60	2	2

<sup>1)</sup>Rice flour : 34.7%mb

<sup>2)</sup>SJP : *Jeungpyun* added with sucrose

XJP : *Jeungpyun* added with xylitol

OJP : *Jeungpyun* added with oligosaccharide

DJP *Jeungpyun* added with dextrin

<sup>3)</sup>A : Sucrose

B : Xylitol

C : Oligosaccharide

D : Dextrin

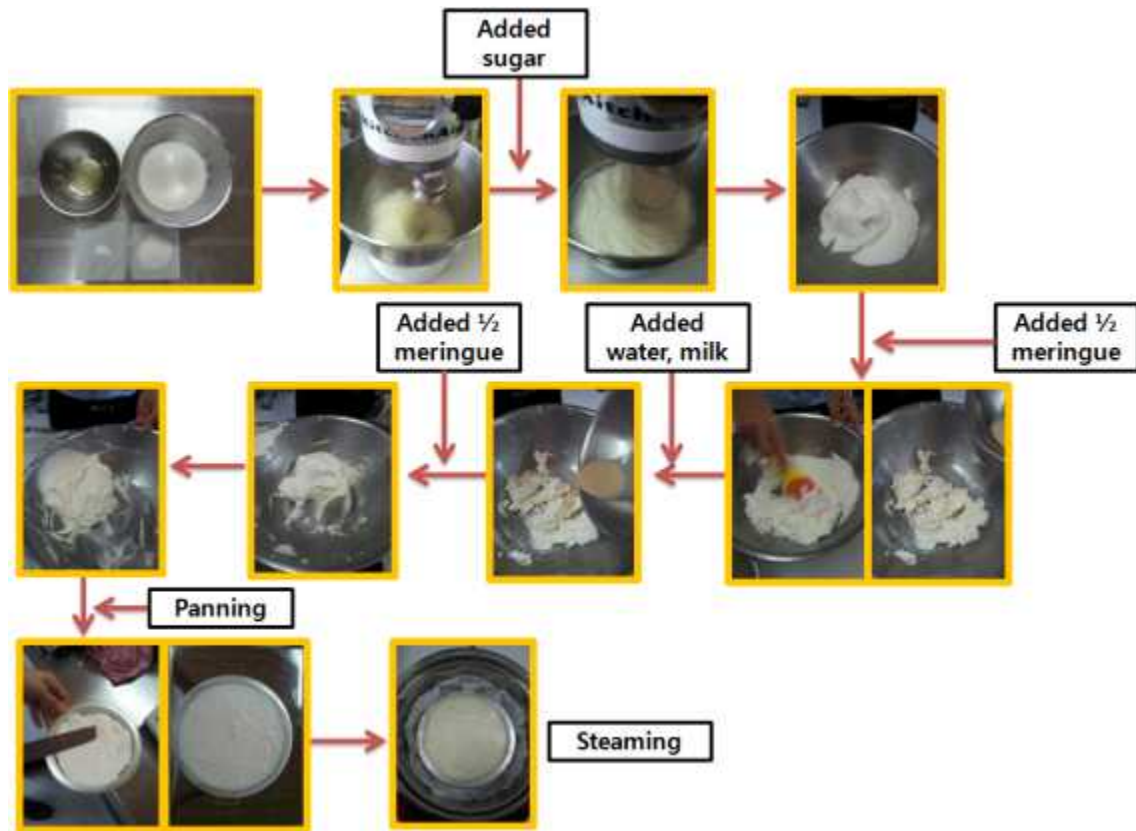


Fig. 7. Flow sheet of *Jeungpyun* making procedure.

(나) 실험방법

pH : 시료 1 g을 취해 증류수 10 mL에 잘 현탁 한 후 현탁액의 pH를 pH meter(915PDC, Istek, Seoul, Korea)로 측정하였다.

거품안정성(foam stability) 평가 와 점도 측정 : 달걀흰자 거품의 안정성과 점도 측정은 Mizkoshi()의 방법을 변형하여 다음과 같이 실시하였다. 즉, 계란 흰자에 sucrose, xylitol, oligosaccharide, dextrin을 혼합하여 만든 거품을 거름종이(Whatman No. 2)를 간 깔대기에 19 g씩 덜어 윗면을 마르지 않도록 plastic wrap을 씌우고 10 mL 메스실린더에 수직으로 세운 후에 총 8시간에 걸쳐 1시간 경과하 때마다 drip양을 기록하였다. 점도 측정은 거품 안정성 평가에서와 같은 방법으로 준비된 거품 500 mL을 비이커에 취하여 Brookfield 항온 수조(TC-500, Brookfield Eng. Labs., New York. USA)에서 25℃로 유지하면서 Brookfield digital viscometer(Model LV, Brookfield Eng. Labs., New York. USA)를 사용하여 spindle number 4를 이용하여 회전속도 6, 30 rpm에서 각각 6회 측정하였다.

수분 함량 측정 : 제조한 증편의 수분 함량은 증편의 중심부에서 증편 시료 1 g을 취하여 수분 측정기(FD-600, KETT Electric Laboratory, Japan)로 수분을 측정하였다.

증편반죽의 비중 : 반죽을 비중병에 넣어 정용한 증류수에 대한 반죽의 중량비로 반죽의 비중

을 계산하였다(63).

$$\text{비중(Specific gravity)} = \frac{\text{반죽을 담은 컵 무게} - \text{빈 컵 무게}}{\text{물을 담은 컵의 무게} - \text{빈 컵 무게}}$$

증편의 비체적 : 증편을 제조한 후, 30분 방냉한 다음 표면에 폴리에틸렌 필름을 밀착시킨 후 중량을 측정하였고 물치환법을 이용하여 부피를 측정하였으며, 비체적은 증편의 중량에 대한 증편의 부피비로 산출하였다(64).

증편의 대칭성 : 증편을 제조한 후, 30분 방냉한 다음 단면을 잘라 AACC method 10-91(65)에 따라 수정한 template를 이용하여 5곳의 증편 높이를 측정하여 따라 symmetry index를 계산하였다.

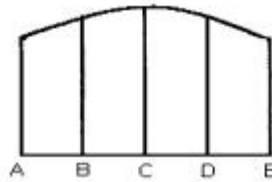


Fig. 8. The AACC method measuring template chart for *Jeungpyun*. Symmetry index :  $2C-B-C$

증편의 수분활성도 : 증편의 수분활성도는 수분활성측정기(Hygrokop BT-RS1, Rotronic AG, Zurich, Swiss)를 이용하여 3회 이상 측정 한 후, 그 평균값으로 나타내었다.

증편의 색도 측정 : 증편의 색도는 증편을 몰드에서 꺼낸 크기로 색차계 (Color JS801, Color Techno System Co., Japan)를 사용하여 명도(L\* -value, (100)lightness↔black(0)), 적색도(a\* -value, (+)redness↔greenness(-)), 황색도(b\* -value, (+)yellowness↔blueness(-)) 값을 3회 반복 측정하여 그 평균값으로 나타내었으며 이 때 사용된 표준 백판은 L값은 97.34, a값은 8.01, b값은 -1.58 이었다.

주관적 품질평가 : 주관적 품질평가(bread scoring)는 증편을 만든 사람이 이를 만든 후 주관적으로 평가하는 방법으로 외적인 특성(crust color, Swelling, symmetry)과 내적인 특성(tenderness, moistness, grain)으로 나누어 각각 10점 만점의 다음과 같은 척도를 사용하여 평가한다(66). 10점: 매우 우수한(excellent), 5점 = 그저 그렇다. 그러나 만족스럽지 못한(fair, but not acceptable), 1점 = 매우 열등한(poor). 또한, 각각 결과 값의 총합을 total score로 나타낸다(67).

외관 관찰 : 제품의 내부 단면 및 외관의 관찰은 디지털 카메라(D60. Nikon, Tokyo, Japan)를 사용하여 플래시를 사용하지 않고 촬영하였으며, 이 때 시료와 카메라의 간격은 일정하게 유지하였다.

증편의 미생물 측정 : 총 곰팡이 수의 측정을 AACC method 45-16(65)에 준하여 저장일수별로 다음과 같은 방법으로 실시하였다. PDA(potato dextrose agar) 배지를 만들어 멸균한 후 ethanol로 화염 멸균한 homogenizer에 시료 15 g을 넣고 멸균 희석수로 잘라 마쇄한 다음, 10배 희석법으로 희석하여 각 원액을 배지에 0.1 mL를 넣고 도말한다. 37°C의 incubator에서 48시간 배양한 후 colony수를 측정하였다.

증편의 texture 측정 : 증편의 texture는 3.0×3.0×1.0 cm 크기로 잘라 실온에서 1시간 냉장시킨 후 texture analyzer(TA-XT2, Stable Micro Systems Ltd., England)를 사용하여 시료를 2회 연속적으로 압착시켰을 때 얻어지는 force-time curve로부터 hardness, springiness를 측정 계산하여 나타낸다. 이 때 측정 조건은 Table 13과 같으며 각각의 시료에 대해 6회 반복 측정하여 평균치로 나타낸다.

Table 13. Operation condition of texture analyzer for measurement of *Jeungpyun*

Mode	Stickiness of bread dough
Option	TPA
Pre-test speed	2.0 mm/s
Test speed	1.0 mm/s
Post-test speed	5.0 mm/s
Distance	50%
Force	40g
Time	5sec
Trigger type	Auto - 40g
Accessory	25 mm plexiglass cylinder probe(P/25P)

관능검사 : 증편에 관한 정량적 묘사분석(Quantitative description analysis; QDA)검사는 묘사 분석에 앞서 훈련된 패널요원 20명(○○대학교 외식조리학과 재학생)을 선정하여 논의 과정을 통하여 검사에 필요한 용어를 마련하고 각 용어의 정의를 내리도록 한다. 이 용어정의표의 사용목적은 패널 요원들이 평가할 때 지침이 되어 각 용어의 의미에 대한 혼동을 최소한으로 감소시키기 위함이다. 패널요원 각각에게 시료를 제시하여 모든 시료가 동일한 횟수로 평가될 수 있도록 한다. 평가시간은 오후 3-5시 사이의 공복시간으로 하고 시료는 겉 표면과 내면을 패널요원이 잘 관찰할 수 있도록 흰 접시에 담아 제공하며, 하나의 시료를 먹고 나면 반드시 물로 입안을 헹군 뒤 다음 시료를 평가하도록 한다. 이 때 사용된 관능특성들은 외관(appearance), 향(odor), 맛(taste), 조직감(texture) 등 4가지 항목이며, 10 cm 선척도(line scale)를 사용하였고 좌로부터 우로 이동하면서 특성의 강도가 증가하도록 선의 양쪽에 용어 한계를 표시한다.

전반적인 기호도(overall acceptability)는 위 측정 4가지 항목의 조화되는 정도를 조사하여 평가한다.

통계분석 : 실험을 통해 얻은 모든 결과 값들은 SPSS 프로그램(Statistical Package, SPSS Inc)의 분산분석(ANOVA)을 이용하여 통계처리하고, 각 측정 평균값간의 유의성은  $P < 0.05$  수

준으로 Duncan의 다중범위시험을 사용하여 검증한다.

(다) 결과 및 고찰

① 반죽의 비중, pH, 거품안정성 및 점도

당의 종류별 증편반죽의 비중은 Table 14에 나타내었고 pH, 거품안정성 및 점도의 결과는 Fig. 9, 10, 11과 같다. 증편반죽의 비중은 달걀 거품의 형성정도를 말하며, 그 측정결과는 Table 3에 나타내었다. OJP(*Jeungpyun* added with oligosaccharide)의 비중이 0.53로 가장 낮았으며, 다음으로 SJP(*Jeungpyun* added with sucrose), XJP(*Jeungpyun* added with xylitol)가 각각 5.7로 유의적 차이를 나타내지 않았으며, DJP(*Jeungpyun* added with dextrin)에서 0.59로 가장 무겁게 나타났다. 반죽의 비중이 가벼우면 향후 최종제품의 부피는 상승하는 것으로 알려져 있으나, 반죽의 비중은 반죽의 안정도와도 정의 상관관계를 가진다.

Fig. 9는 증편반죽의 pH값을 나타낸 것으로 XJP의 pH가 8.96으로 가장 높고 다음으로 DJP, SJP, OJP 순으로 낮아져 각각 8.33, 8.71, 8.64로 나타나 올리고당 첨가에서 가장 낮은 pH값을 나타내었다. 전통적인 증편의 경우는 탁주에 의한 발효로 초기 pH는 5.5~6.5를 나타내고 증편 제조 후는 pH가 5.0~5.5의 값을 나타낸다. 이는 발효 중 탁주 내의 젖산균의 증식에 기인하며 이 유기산의 종류로는 lactic acid 와 succinic acid으로 알려져 있다. 그러나 본 실험에서 높은 pH를 나타낸 것은 증편제조 공정의 간소화(발효생략)를 위해 계란 흰자의 머랭으로 탁주 발효과정 중 생성되는 망상구조를 대신하고자 하여 높은 pH를 나타내며, 첨가한 당류에 의해 또한 높아진 것으로 사료 된다.

Fig. 10은 sucrose, xylitol, oligosaccharide 및 dextrin을 이용하여 제조한 머랭 반죽의 거품 안정성을 1시간 간격으로 8시간 동안 측정한 결과로 oligosaccharide의 경우 머랭 제조 직후부터 분리되기 시작하여 8시간동안 유출량이 급격하게 증가하였으며, XJP, DJP, SJP 순으로 안정성은 증가하였다. 따라서 반죽의 비중이 가장 낮았던 OJP에서 비교적 낮은 안전성을 나타내어 최종제품의 특성에 상이한 결과를 나타낼 것을 예측할 수 있으며, 비중이 비교적 낮고 거품 안정성이 높은 XJP와 SJP에서 증편이 제품화 될 때까지 기포(막 cell)를 지지하는데 기여하여 비교적 좋은 품질의 증편을 기대할 수 있을 것이다.

Fig. 11은 증편 반죽의 점도를 나타낸 것으로 SJP에서 비교적 높은 점도를 나타내었고, 다음으로 XJP, DJP 및 OJP 순으로 낮아졌다. 따라서 거품의 안정도가 높을수록 점도가 높게 나타나 점도와 거품안정도와는 직접적으로 연관되어 보인다.

Table 14. Specific gravity of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar

Properties	Processing methods			
	SJP	XJP	OJP	DJP
Specific gravity <i>Jeungpyun</i> batter	0.57±0.02 <sup>b</sup>	0.57±0.01 <sup>b</sup>	0.53±0.01 <sup>c</sup>	0.59±0.01 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n=6).

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

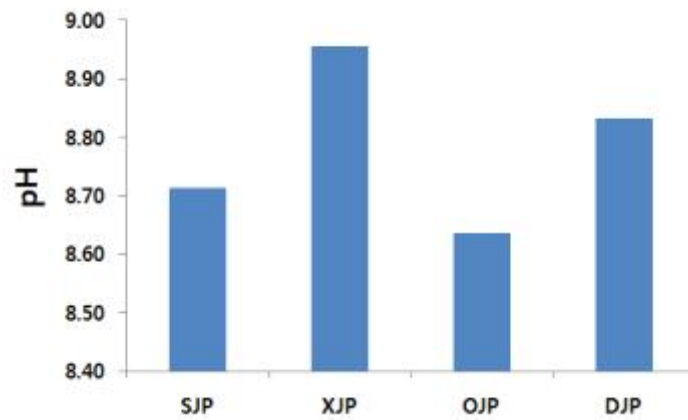


Fig. 9. pH values of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar. SJP : *Jeungpyun* added with sucrose, XJP : *Jeungpyun* added with xylitol, OJP : *Jeungpyun* added with oligosaccharide, DJP *Jeungpyun* added with dextrin

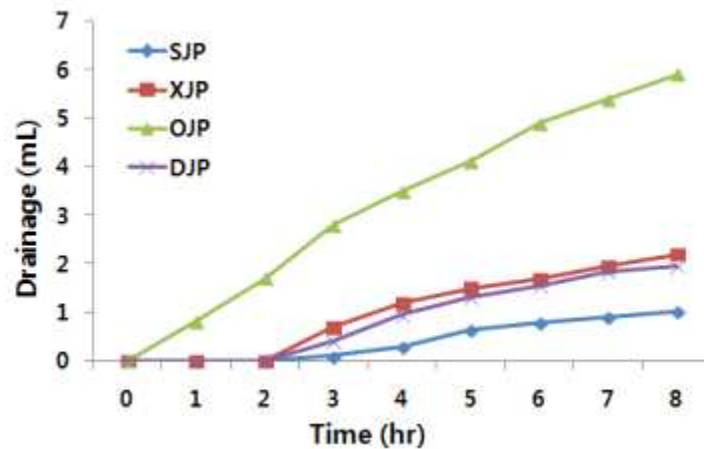


Fig. 10. Effects of diverse sugar on egg foam( $25\pm 1^\circ\text{C}$ ) stability. SJP : *Jeungpyun* added with sucrose, XJP : *Jeungpyun* added with xylitol, OJP : *Jeungpyun* added with oligosaccharide, DJP *Jeungpyun* added with dextrin

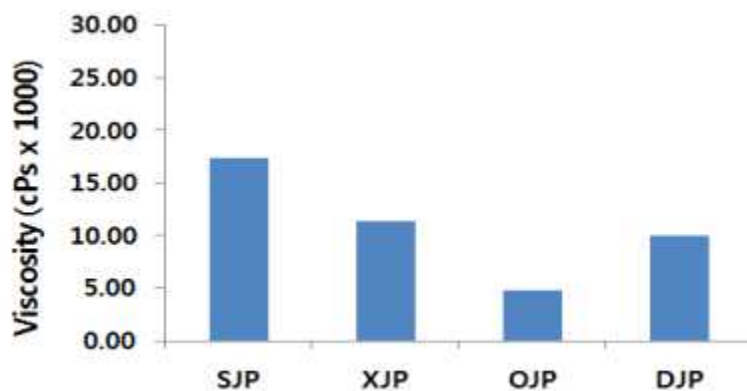


Fig. 11. Viscosity of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar. SJP : *Jeungpyun* added

with sucrose, XJP : *Jeungpyun* added with xylitol, OJP : *Jeungpyun* added with oligosaccharide, DJP *Jeungpyun* added with dextrin

② 증편의 수분함량, 무게, 부피, 비체적 및 대칭성

Table 15는 SJP, XJP, OJP 및 DJP를 이용하여 제조한 증편의 수분함량, 무게, 부피, 비체적 및 대칭성을 나타낸 결과로 수분함량(total moisture)은 OJP가 47.74% 가장 높았고, 다음으로 SJP, XJP 및 DJP순으로 낮게 나타나 DJP에서 44.82%에서 가장 낮았다. 증편의 무게(weight)는 비중이 가장 낮았던 OJP에서 47.33로 낮게 나타났고, 비중이 높고 및 거품안정도가 가장 낮았던 DJP에서 55.33로 높게 나타났다. 부피(volume) 또한 반죽의 비중, 거품안정도 및 낮은 무게를 나타낸 OJP에서 75.33로 높게 나타났으며, SJP와 XJP는 각각 73.00과 72.33로 유의적 차이를 나타내지 않았고 DJP에서 68.33로 낮게 나타났다. 비체적(Specific volume) 또한 OJP에서 1.59로 높게 나타났다. 대칭성(symmetry index)은 증편의 제조 동안 반죽의 비중, 거품안정도, 점성, 부피 및 비체적 등을 종합적으로 하여 최종제품의 균일하고 매끈한 모양을 나타내는 것을 반영한 것으로 DJP에서 0.10로 좌우 대칭이 균일하였으나, 무게가 무겁고, 부피가 낮아 찌는 과정 중 높은 볼륨감을 갖지 못하고 거품안정성이 낮아 증편이 제품화 될 때까지 기포(air cell)가 주저앉아 나타난 결과로 사료된다. 그러나 대칭성이 비교적 높은 XJP(0.80)와 SJP(0.70)는 낮은 비중과 높은 거품안정성으로 찌는 과정 중 높은 팽창력을 가져 나타난 결과로 사료된다.

Table 15. Moisture, weight, volume, specific volume and symmetry index of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar

Properties	Processing methods			
	SJP	XJP	OJP	DJP
<i>Jeungpyun</i> crumb				
Total moisture (%)	44.04±0.03 <sup>d</sup>	45.46±0.30 <sup>b</sup>	47.74±0.28 <sup>a</sup>	44.82±0.18 <sup>c</sup>
Weight (g)	53.33±1.15 <sup>b</sup>	51.00±1.00 <sup>c</sup>	47.33±0.58 <sup>d</sup>	55.33±0.58 <sup>a</sup>
Volume (mL)	73.00±1.00 <sup>b</sup>	72.33±0.58 <sup>b</sup>	75.33±0.58 <sup>a</sup>	68.33±0.58 <sup>c</sup>
Specific volume	1.32±0.01 <sup>c</sup>	1.42±0.04 <sup>b</sup>	1.59±0.03 <sup>a</sup>	1.28±0.04 <sup>c</sup>
Symmetry index	0.70±0.01 <sup>a</sup>	0.80±0.01 <sup>a</sup>	0.40±0.01 <sup>b</sup>	0.10±0.00 <sup>c</sup>

Mean ± SD (n=6).

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

③ 증편의 색도

Table 16은 SJP, XJP, OJP 및 DJP를 이용하여 제조한 증편의 색도측정 결과를 나타낸 것이다. L값은 SJP, XJP, OJP는 각각 53.52, 53.06, 53.10로 유의적 차이 없이 높게 나타났고, DJP는 52.46로 가장 낮게 나타났다. a값은 SJP가 -2.36, DJP가 -2.44로 유의적으로 높게 나타났

으며, 다음으로 OJP, XJP 순으로 낮게 나타났다. b값은 a값과 같이 SJP가 8.19, DJP가 8.18로 유의적으로 높게 나타났으며, 다음으로 OJP(7.89), XJP(7.34) 순으로 낮게 나타났다.

Table 16. Color value of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar

Sample (%)	Hunter's color value <sup>1)</sup>		
	L	a	b
SJP	53.52±0.74 <sup>a</sup>	-2.36±0.19 <sup>a</sup>	8.19±0.23 <sup>a</sup>
XJP	53.06±0.24 <sup>ab</sup>	-2.72±0.04 <sup>c</sup>	7.34±0.05 <sup>c</sup>
OJP	53.10±0.03 <sup>ab</sup>	-2.61±0.02 <sup>bc</sup>	7.89±0.02 <sup>b</sup>
DJP	52.46±0.06 <sup>b</sup>	-2.44±0.01 <sup>ab</sup>	8.18±0.05 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n=6).

Means with the same superscripts in each column are not significantly different (p<0.05).

<sup>1)</sup>L : measures lightness and varies from 100 for perfect white to zero black.

a : redness when plus, gray when zero and greenness when minus.

b : yellowness when plus, when zero, and blueness when minus.

#### ④ 주관적 품질평가

Table 17은 SJP, XJP, OJP 및 DJP를 이용하여 제조한 증편의 주관적 품질평가를 나타낸 것이다. 주관적 품질평가는 외적인 특성(external characteristics)으로 증편의 crust color, swelling 및 symmetry를 내적인 특성(internal characteristics)으로는 smoothness, moistness 및 grain으로 나누어 평가하였다. 외적인 특성 중 증편의 껍질색(crust color)은 XJP에서 가장 낮게 나타났는데 이는 낮은 볼륨 색이 짙어 crust 표면이 어두운 색을 띄었기 때문으로 사료이며, 상대적으로 높은 볼륨을 가진 OJP, SJP 및 XJP에서는 각각 9.38, 9.27 및 9.24점으로 유의적 차이 없이 높게 나타났다(p<0.05). 팽창성(swelling) 또한 볼륨이 낮았던 DJP에서 6.26로 낮은 값을 나타내었고, 상대적으로 높은 볼륨을 가진 OJP에서 7.75로 가장 높은 점수를 나타냈다. 내적인 특성으로 부드러움(smoothness) 또한 볼륨이 좋았던 OJP에서 9.35 높았고, 볼륨이 낮은 DJP가 6.92로 낮은 점수를 나타내었다. Moistness는 시료간 큰 차이를 나타내지는 않았으나 OJP가 8.65으로 높게 나타났고, SJP에서 가장 낮은 8.26점을 나타내었다. Grain은 볼륨 및 대칭성이 좋았던 OJP에서 9.25로 높은 값을 나타내었다. 또한 내·외적인 증편의 특성을 주관적으로 평가하여 각 항목점수 합(60점)을 total score로 나타내었을 때 OJP가 51.80, XJP가 49.11, SJP가 48.27, DJP가 44.38로 나타났다.



Table 17. Bread scores<sup>1)</sup> of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar

	External characteristics			Internal characteristics			Total score <sup>2)</sup>
	Crust color	Swelling	Symmetry	Smoothness	Moistness	Grain	
SJP	9.24 <sup>ab3)</sup>	7.10 <sup>c</sup>	7.23 <sup>b</sup>	9.27 <sup>a</sup>	8.26 <sup>c</sup>	7.17 <sup>c</sup>	48.27 <sup>c</sup>
XJP	9.11 <sup>b</sup>	7.32 <sup>b</sup>	7.32 <sup>b</sup>	9.03 <sup>b</sup>	8.39 <sup>bc</sup>	7.94 <sup>b</sup>	49.11 <sup>b</sup>
OJP	9.38 <sup>a</sup>	7.75 <sup>a</sup>	7.42 <sup>a</sup>	9.35 <sup>a</sup>	8.65 <sup>a</sup>	9.25 <sup>a</sup>	51.80 <sup>a</sup>
DJP	9.27 <sup>a</sup>	6.26 <sup>d</sup>	7.10 <sup>c</sup>	6.92 <sup>c</sup>	8.50 <sup>ab</sup>	6.33 <sup>d</sup>	44.38 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>10point scale with 10=excellent; 5=fair(but not acceptable); 1=poor.

Mean  $\pm$  SD (n=12). <sup>2)</sup>Total score = crust color+swelling+symmetry+smoothness+moistness+grain

<sup>3)</sup>Means with the same superscripts in each column are not significantly different (p<0.05).

⑤ 증편의 외관관찰



Fig. 12. Cross-sectional view of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar. SJP : *Jeungpyun* added with sucrose, XJP : *Jeungpyun* added with xylitol, OJP : *Jeungpyun* added with oligosaccharide, DJP *Jeungpyun* added with dextrin

⑥ 수분활성도

Fig. 13은 SJP, XJP, OJP 및 DJP를 이용하여 제조한 증편의 저장 3일 동안의 수분활성도를 나타낸 것으로 DJP에서 다른 처리구에 비해 저장 동안 0.99에서 0.956으로 수분활성도의 변화가 가장 완만하게 감소하였다. 그러나 비교적 거품안정도, 비중, 볼륨 등이 우수한 SJP에서 0.968에서 0.931로 저장 초기에서 1일 까지 급격하게 감소하다가 저장 3일에서 다른 처리구에 비해 가장 낮은 값을 나타내었다. 또한 XJP에서도 저장 1일 이후 급격하게 감소하였으며, OJP에서는 다른 처리구에 비해 저장 3일 까지 완만한 감소를 나타내는 경향이였다.

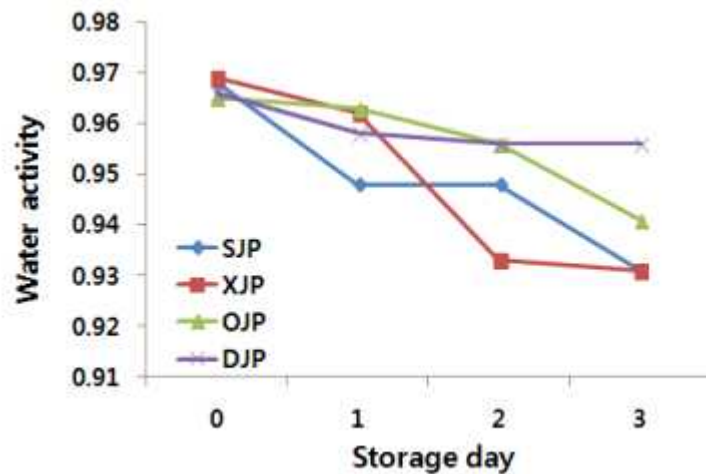


Fig. 13. Water activity of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar during 3day incubation at 25°C. SJP : *Jeungpyun* added with sucrose, XJP : *Jeungpyun* added with xylitol, OJP : *Jeungpyun* added with oligosaccharide, DJP *Jeungpyun* added with dextrin

⑦ 증편의 미생물 측정

Table 18은 SJP, XJP, OJP 및 DJP를 이용하여 제조한 증편을 7일간 저장하면서 총 곰팡이수의 변화를 살펴본 결과이다. SJP, XJP, OJP 및 DJP를 이용하여 제조한 증편의 수분함량은 40.04-44.82% 범위였으며, 저장일수별 생성된 총 곰팡이수는 3번 반복하여 평균값으로 하였다. 저장 후 3일부터 XJP를 제외한 나머지 시료 모두에서 곰팡이가 생육하기 시작하였으며, XJP는 저장 5일째부터 곰팡이 생육이 시작되면서 저장 7일째는 OJP가  $4.44 \times 10^6$  CFU/g으로 가장 낮게 나타났다. 따라서 증편의 항 곰팡이 효과는 sucrose의 사용에 비해 기능성 당인 xylitol, oligosaccharide의 사용이 적합하리라 생각된다.

Table 18. Total mold count of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar during 7day incubation at 25°C

Sample	Total mold count(CFU <sup>1</sup> /g)				
	0 day	1 day	3 day	5 day	7 day
SJP	-	-	$1.03 \times 10^6$	$3.12 \times 10^6$	$5.82 \times 10^6$
XJP	-	-	-	$3.56 \times 10^5$	$6.74 \times 10^5$
OJP	-	-	$2.34 \times 10^5$	$4.81 \times 10^5$	$4.44 \times 10^6$
DJP	-	-	$2.47 \times 10^5$	$2.37 \times 10^6$	$4.78 \times 10^6$

<sup>1</sup>CFU : Colony Forming Unit

⑧ Texture 측정

Fig. 14와 15는 SJP, XJP, OJP 및 DJP를 이용하여 제조한 증편의 저장 3일 동안의 texture 특성으로 texture analyzer로 2회 압착하여 얻은 시료의 각 항목별 기계적 측정치(hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, gumminess 및 chewiness) 중 hardness와 springiness의 결과 값이다. Hardness는 Fig. 14에서와 같이 DJP가 다른 처리구에 비해 2배이

상의 높은 값으로 저장 0 day에 371.51에서 저장 3일 째에 475.43으로 증가하였으며, OJP는 0 day에 127.51에서 저장 3일 째 155.22로 가장 완만한 증가를 나타내었다. Fig. 15는 저장동안의 springiness값으로 SJP, XJP, OJP 및 DJP 모두 큰 차이를 나타내지 않았으며, OJP에서 저장 0 day에 0.939에서 저장 3일 째 0.912로 감소폭이 가장 완만하였고, SJP와 DJP에서 각각 저장 0 day에 0.992, 0.907에서 저장 3일 째 0.844, 0.799로 감소폭이 높게 나타났다.

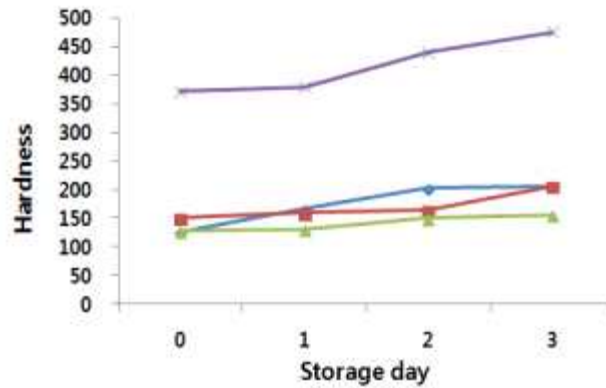


Fig. 14. Hardness of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar. SJP : -◆-, XJP : -■-, OJP : -▲-, DJP : -X-

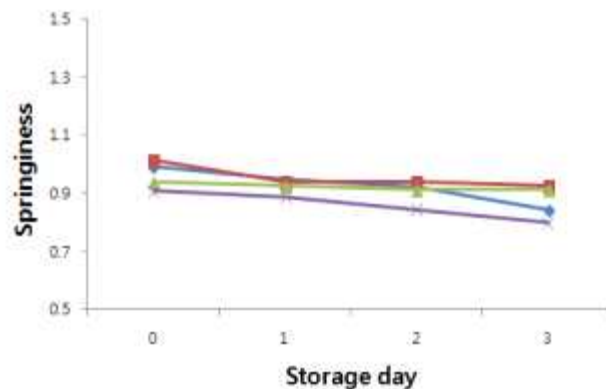


Fig. 15. Springiness of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar. SJP : -◆-, XJP : -■-, OJP : -▲-, DJP : -X-

### ⑨ 관능검사

SJP, XJP, OJP 및 DJP를 이용하여 제조한 증편의 관능적 특성을 비교하기 위해 정량적 묘사분석(QDA : quantitative descriptive analysis)에 의한 관능검사 결과를 Table 19에 나타내었다. 외관평가에서 껍질색(crust color)은 SJP, XJP, OJP 및 DJP 가 각각 8.80, 8.12, 8.72, 8.07점으로 유의적 차이를 나타내지 않았고, SJP와 OJP에서 각각 8.80, 8.72점으로 높게 나타났다. 내부색(crumb color) 또한 모든 시료에서 9점 이상으로 유의적 차이를 나타내지 않았다. Smoothness는 OJP에서 8.94 가장 높게 나타났고, DJP가 6.10로 가장 낮게 나타났다. Air cell size에서는 SJP, XJP 및 OJP가 8.66에서 8.37로 유의적으로 높게 나타났고, Air cell uniformity는 OJP가 8.23으로 가장 높게 나타나 균일한 내상을 가지는 것으로 나타났다.

증편 특유의 쌀향은 증편의 품질 향상을 위해 사용한 머랭에 의해 모든 처리구에서 3.51에서

3.07로 낮게 나타났다. 단맛은 sucrose의 사용시 7.66으로 비교적 다른처리구에 비해 높게 나타났으나, dextrin의 사용에서는 1.51로 단맛을 느끼지 못하는 것으로 나타났다.

조직감(texture)에 있어 촉촉함(moistness)은 SJP, XJP, OJP 및 DJP 처리구 모두에서 8.79-8.63로 유의적 차이를 나타내지 않았고, 경도(hardness)는 DJP에서 9.02로 가장 높았고 XJP와 OJP는 각각 4.63, 4.28로 유의적으로 낮게 나타났다. 탄성(springiness) 또한 낮은 정도 값을 나타낸 XJP와 OJP에서 7.53, 7.67로 높게 나타났다.

전반적인 기호도는 OJP가 7.90으로 가장 높게 나타났고, 다음으로 SJP, XJP, DJP 순으로 각각 6.08, 5.75, 4.65순으로 낮게 나타났다. 따라서 실험결과 oligosaccharide의 처리에서 전반적으로 기호도가 높게 나타났다.

Table 19. QDA for sensory properties of *Jeungpyun* with the addition of diverse sugar

Sensory properties		Processing methods			
		SJP	XJP	OJP	DJP
Appearance	Crust color	8.80±0.45 <sup>a</sup>	8.12±0.73 <sup>a</sup>	8.72±0.64 <sup>a</sup>	8.07±1.02 <sup>a</sup>
	Crumb color	9.27±1.08 <sup>a</sup>	9.28±0.58 <sup>a</sup>	9.03±1.98 <sup>a</sup>	9.07±1.71 <sup>a</sup>
	Smoothness	8.08±0.08 <sup>c</sup>	8.37±0.15 <sup>b</sup>	8.94±0.08 <sup>a</sup>	6.10±0.12 <sup>d</sup>
	Air cell size	8.37±0.17 <sup>a</sup>	8.44±0.10 <sup>a</sup>	8.66±0.05 <sup>a</sup>	4.77±1.05 <sup>b</sup>
	Air cell uniformity	7.60±0.08 <sup>b</sup>	7.39±0.15 <sup>c</sup>	8.23±0.07 <sup>a</sup>	3.99±0.12 <sup>d</sup>
Odor	Rice	3.37±0.22 <sup>ab</sup>	3.47±0.08 <sup>a</sup>	3.51±0.20 <sup>a</sup>	3.07±0.05 <sup>b</sup>
Taste	Sweetness	7.66±0.26 <sup>a</sup>	6.48±0.12 <sup>b</sup>	6.30±0.09 <sup>b</sup>	1.51±0.28 <sup>c</sup>
Texture	Moistness	8.71±0.22 <sup>a</sup>	8.63±0.53 <sup>a</sup>	8.79±0.35 <sup>a</sup>	8.66±1.94 <sup>a</sup>
	Hardness	6.53±0.38 <sup>b</sup>	4.63±0.43 <sup>c</sup>	4.28±0.22 <sup>c</sup>	9.02±0.43 <sup>a</sup>
	Springiness	6.28±0.22 <sup>b</sup>	7.53±0.43 <sup>a</sup>	7.67±0.37 <sup>a</sup>	4.65±1.23 <sup>c</sup>
Overall acceptability		6.08±1.68 <sup>ab</sup>	5.75±2.04 <sup>ab</sup>	7.90±0.93 <sup>a</sup>	4.65±1.23 <sup>c</sup>

Mean ± SD (n=15).

<sup>1)</sup>Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

## (라) 요약

시판 증편 제조에 사용되는 제조공정의 단점을 보완하고 저장 유통의 편이성과 안정성을 가지는 증편의 제조를 위해 기본 배합비에 계란 흰자 머랭을 반죽에 사용하여 물성 개량의 목적으로 설탕, 자일리톨, 올리고당 및 텍스트린을 이용하여 증편을 제조한 후 물리화학적 특성을 분석하고 관능검사를 통한 최적의 증편 제조 배합비를 규명하고자 하였다.

증편반죽의 비중은 OJP(*Jeungpyun* added with oligosaccharide)가 0.53로 가장 낮았으며, 다음으로 SJP(*Jeungpyun* added with sucrose), XJP(*Jeungpyun* added with xylitol), DJP(*Jeungpyun* added with dextrin)순으로 나타났다. pH는 OJP가 8.64로 가장 낮았고, 머랭 반죽의 거품안정성과 점도는 SJP에서 가장 높게 나타났다.

OJP(*Jeungpyun* added with oligosaccharide)가 가장 높은 수분함량, 낮은 반죽무게, 높은 부피 및 비체적을 나타내었다. 색도 측정결과 L값은 SJP, XJP, OJP는 각각 53.52, 53.06, 53.10로 유의적 차이 없이 높게 나타났고, DJP는 52.46로 가장 낮게 나타났다.

주관적 품질 평가에서도 내·외적인 측정 항목 모두에서 OJP가 높은 점수를 얻어 Total score 값이 51.80으로 가장 높게 나타났다. 저장동안의 수분활성도는 모든 처리구에서 지속적으로 감소하였으며, OJP에서는 다른 처리구에 비해 저장 3일 까지 완만한 감소를 나타내는 경향이였다.

미생물 측정 결과 저장 후 3일부터 곰팡이가 생육하기 시작하였으며, 저장 7일째는 OJP가  $4.44 \times 10^6$  CFU/g으로 가장 낮게 나타났다. 저장동안 texture에 의한 물성측정결과 hardness와 springiness 모두에서 OJP가 가장 완만한 증가를 나타내었다. 관능검사 결과 전반적인 기호도에서 OJP가 7.90로 가장 높게 나타 높은 기호특성을 나타내었다.

## (3) 2부 : 솔잎 분말 첨가량을 달리한 증편 반죽의 품질특성

: 향균, 방부 및 기호성의 향상을 위해 솔잎분말을 첨가한 증편을 제조한 후 물리화학적 특성을 분석하고 관능검사를 통한 최적의 솔잎증편 제조 배합비를 규명하고자 하였다.

## (가) 재료 및 방법

### ① 재료

솔잎 증편 제조를 위한 재료로 쌀가루는 국내에 시판되고 있는 2012년 수확한 추청 멥쌀(함안농업협동조합) 일반미(중간정도의 아밀로오스 : 24.3%)를 3회 수세한 후 쌀 무게의 3배 정도 물에 수침(9시간)하고, 물기를 제거한 후 증편의 제조를 위해 제분기에 적용하였다. 이때 사용한 제분기는 roll mill(Sam Jin Machine Co., Daegu, Korea)로 물기를 제거한 쌀을 roll(smooth roll) 간격 1.5 mm에서 1단계 제분 후 다시 roll 간격을 1 mm로 조정하여 2단계 제분한 쌀가루를 증편 제조용 시료로 사용하였으며, 자일리톨을, 솔잎분말, 효모는 인스턴트 드라이리스트(Societe Industrielle Lesaffre, Paris, France), 우유(서울우유), 소금은 꽃소금(사조해표) 및 계란을 사용하였다.

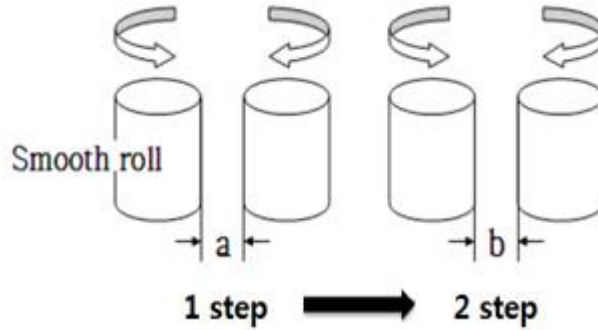


Fig. 16. 2 steps of roll milling. a = 1.5 mm, b = 1 mm.

② 증편의 제조

증편 재료 배합 및 제조 방법은 Table 20, Fig. 17과 같다. 즉, 계란 흰자를 vertical type mixer(N-50, Hobart, U.S.A)를 이용하여 1단 저속 47 rpm과 2단 중속 87 rpm에서 1분간 믹싱 후 분량의 당과 소금을 투입한 후 2단 중속 87 rpm에서 50초간 머랭을 제조하였다. 제조한 머랭의 1/2을 쌀가루와 이스트에 혼합하면서 물과 우유로 1차 반죽한 후 나머지 1/2의 머랭을 가볍게 혼합하여 증편용 틀에 담고 증편용 찜기는 인덕션레인지(Lihom-cuchen, Co, LTD. Seoul. Korea)을 이용하여 180℃에서 4분 220℃에서 3분 찜 후 전원을 끄고 1분간 뜸들인 후 1시간 실온에 방치 한 후 polyethylene film으로 밀봉하여 23±5℃의 실온에 저장하면서 이화학적 특성, 기계적 특성 및 관능검사를 실시하였다.

Table 20. Formula for preparation of *Jeungpyun* added with pine needle powder

Sample <sup>2)</sup>	Ingredient							
	Rice flour <sup>1)</sup>	Egg white	Milk	Water	xylitol	pine needle powder	Salt	Instant dry yeast
<i>Jeungpyun</i>	100	60	10	10	60	-	2	2
	100	60	10	10	60	0.5	2	2
	100	60	10	10	60	1.0	2	2
	100	60	10	10	60	1.5	2	2

<sup>1)</sup>Rice flour : 34.7%mb



총 소요 시간 30분; 기존 증편 제조 소요 시간 6 ~ 7 시간

Fig. 17. Flow sheet of *Jeungpyun* added with pine needle powder making procedure.

③ 실험방법

pH : 시료 1 g을 취해 증류수 10 mL에 잘 현탁 한 후 현탁액의 pH를 pH meter(915PDC, Istek, Seoul, Korea)로 측정하였다.

증편반죽의 비중 : 반죽을 비중병에 넣어 정용한 증류수에 대한 반죽의 중량비로 반죽의 비중을 계산하였다.

$$\text{비중(Specific gravity)} = \frac{\text{반죽을 담은 컵 무게} - \text{빈 컵 무게}}{\text{물을 담은 컵의 무게} - \text{빈 컵 무게}}$$

수분 함량 측정 : 제조한 증편의 수분 함량은 증편의 중심부에서 증편 시료 1 g을 취하여 수분 측정기(FD-600, KETT Electric Laboratory, Japan)로 수분을 측정하였다.

증편의 비체적 : 증편을 제조한 후, 30분 방냉한 다음 표면에 폴리에틸렌 필름을 밀착시킨 후 중량을 측정하였고 물치환법을 이용하여 부피를 측정하였으며, 비체적은 증편의 중량에 대한 증편의 부피비로 산출하였다.

증편의 대칭성 : 증편을 제조한 후, 30분 방냉한 다음 단면을 잘라 AACC method 10-91에 따라 수정한 template를 이용하여 5곳의 증편 높이를 측정하여 따라 symmetry index를 계산하였다.

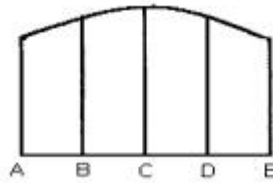


Fig. 17. The AACC method measuring template chart for *Jeungpyun*. Symmetry index :  
 $2C-B-C$

증편의 색도 측정 : 증편의 색도는 증편을 몰드에서 꺼낸 크기로 색차계 (Color JS801, Color Techno System Co., Japan)를 사용하여 명도(L\* -value, (100)lightness↔black(0)), 적색도(a\* -value, (+)redness↔greenness(-)), 황색도(b\* -value, (+)yellowness↔blueness(-)) 값을 3회 반복 측정하여 그 평균값으로 나타내었으며 이 때 사용된 표준 백판은 L값은 97.34, a값은 8.01, b값은 -1.58 이었다.

증편의 미생물 측정 : 총 곰팡이 수의 측정을 AACC method 45-16에 준하여 저장일수별로 다음과 같은 방법으로 실시하였다. PDA(potato dextrose agar) 배지를 만들어 멸균한 후 ethanol로 화염 멸균한 homogenizer에 시료 15 g을 넣고 멸균 희석수로 잘라 마쇄한 다음, 10배 희석법으로 희석하여 각 원액을 배지에 0.1 mL를 넣고 도말한다. 37°C의 incubater에서 48시간 배양한 후 colony수를 측정하였다.

외관 관찰 : 제품의 내부 단면 및 외관의 관찰은 디지털 카메라(D60. Nikon, Tokyo, Japan)를 사용하여 플래시를 사용하지 않고 촬영하였으며, 이 때 시료와 카메라의 간격은 일정하게 유지하였다.

증편의 texture 측정 : 증편의 texture는 3.0×3.0×1.0 cm 크기로 잘라 시료의 조직감은 구운 페이스트리를 실온에서 1시간 냉각시킨 후 일정한 크기(50×40×25 mm)로 잘라 texture analyzer(TA-XT2, Stable Micro Systems Ltd., England)를 사용하여 시료를 2회 연속적으로 압착시켰을 때 얻어지는 force-time curve로부터 hardness, springiness를 측정 계산하여 나타낸다.

관능검사 : 증편에 관한 정량적 묘사분석(Quantitative description analysis; QDA)검사는 묘사 분석에 앞서 훈련된 패널요원 20명(○○대학교 외식조리학과 재학생)을 선정하여 논의 과정을 통하여 검사에 필요한 용어를 마련하고 각 용어의 정의를 내리도록 한다. 이 용어정의표의 사용목적은 패널 요원들이 평가할 때 지침이 되어 각 용어의 의미에 대한 혼동을 최소한으로 감소시키기 위함이다. 패널요원 각각에게 시료를 제시하여 모든 시료가 동일한 횟수로 평가될 수 있도록 한다. 평가시간은 오후 3-5시 사이의 공복시간으로 하고 시료는 겉 표면과 내면을 패널요원이 잘 관찰할 수 있도록 흰 접시에 담아 제공하며, 하나의 시료를 먹고 나면 반드시 물로 입안을 헹군 뒤 다음 시료를 평가하도록 한다. 이 때 사용된 관능특성들은 외관(appearance), 향(odor), 맛(taste), 조직감(texture) 등 4가지 항목이며, 10 cm 선척도(line scale)를 사용하였고 좌로부터 우로 이동하면서 특성의 강도가 증가하도록 선의 양쪽에 용어 한계를 표시한다.



전반적인 기호도(overall acceptability)는 위 측정 4가지 항목의 조화되는 정도를 조사하여 평가한다.

통계분석 : 실험을 통해 얻은 모든 결과 값들은 SPSS 프로그램(Statistical Package, SPSS Inc)의 분산분석(ANOVA)을 이용하여 통계처리하고, 각 측정 평균값간의 유의성은  $P < 0.05$  수준으로 Duncan의 다중범위시험을 사용하여 검증한다.

#### (나) 결과 및 고찰

##### ① pH 측정

솔잎분말을 첨가한 증편반죽의 pH를 Fig. 18에 나타내었다. 솔잎 분말 첨가량이 증가할수록 pH값은 감소하여 대조구 8.64에서 솔잎분말 1.5%첨가 시 8.11로 감소하였다. 일반적인 탁주발효 증편의 경우 사용한 탁주에 의해 발효로 초기 pH는 5.5-6.5를 나타내고 증편 제조 후는 pH가 5.0-5.5의 값을 나타낸다. 이는 발효 중 탁주 내의 젖산균의 증식에 기인하며 이 유기산의 종류로는 lactic acid 와 succinic acid으로 알려져 있다. 본 실험에서 대조구에 비해 솔잎첨가로 pH가 낮아져 첨가한 당류에 의해 높아진 pH를 다소 낮출수 있었으며, 이는 향 후 저장 중의 미생물번식에도 상당한 영향을 미칠 것으로 사료 된다.

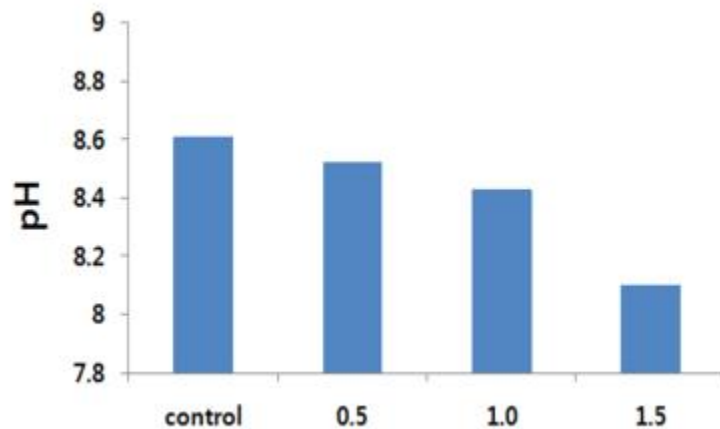


Fig. 18. pH values of *Jeungpyun* with the addition of diverse pine needle powder.

##### ② 솔잎첨가 증편반죽의 비중

솔잎첨가 반죽의 비중 측정결과를 Table 21에 나타내었다. 솔잎 1.5% 첨가에서 비중이 0.54로 높게 나타났고, 대조구 및 솔잎 0.5, 1.0% 처리에서는 유의적 차이를 나타내지 않았다. 일반적으로 반죽의 비중이 가벼우면 향후 최종제품의 부피는 상승하는 것으로 알려져 있어 솔잎분말 1.0% 까지는 반죽의 비중에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Table 21. Specific gravity of *Jeungpyun* with the addition of diverse pine needle powder.

Properties	Processing methods			
	Control	0.5	1.0	1.5
Specific gravity				
<i>Jeungpyun</i> batter	0.53±0.01 <sup>b</sup>	0.53±0.09 <sup>b</sup>	0.53±0.022 <sup>b</sup>	0.54±0.21 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n=6).

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

③ 솔잎첨가 증편의 수분함량, 무게, 부피, 비체적 및 대칭성

Table 22은 솔잎분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가한 증편의 수분함량, 무게, 부피, 비체적 및 대칭성을 나타낸 결과로 수분함량(total moisture) 및 증편의 무게(weight)는 솔잎분말 첨가 1.5%에서 각각 47.82%, 48.73 g 으로 가장 높게 나타났으며, Table 10의 결과인 비중 측정결과에서와 같이 대조구 및 솔잎 0.5, 1.0% 처리에서 유의적 차이 없이 낮게 나타났다. 부피(volume)는 낮은 비중을 나타낸 대조구 및 솔잎 0.5, 1.0% 처리에서 각각 76.33, 76.61, 76.01로 유의적 차이 없이 솔잎분말 첨가량이 높은 1.5%에 비해 낮게 나타났다. 또한 비체적(Specific volume)에서도 부피 및 반죽의 비중 결과를 반영하여 대조구 및 솔잎 0.5, 1.0% 처리에서 1.60, 1.61, 1.60으로 높게 나타났으며, 솔잎분말 첨가량이 높은 1.5%에는 1.56으로 유의적으로 높게 나타났다.

Table 22. Moisture, weight, volume and specific volume of *Jeungpyun* with the addition of diverse pine needle powder

Properties	Processing methods			
	Control	0.5	1.0	1.5
<i>Jeungpyun</i>				
Total moisture (%)	47.74±0.28 <sup>a</sup>	47.56±0.34 <sup>a</sup>	47.64±0.48 <sup>a</sup>	47.82±0.22 <sup>a</sup>
Weight (g)	47.33±0.58 <sup>b</sup>	47.51±0.38 <sup>b</sup>	47.42±0.24 <sup>b</sup>	48.73±0.28 <sup>a</sup>
Volume (mL)	76.33±0.58 <sup>a</sup>	76.61±0.41 <sup>a</sup>	76.01±0.12 <sup>a</sup>	75.33±0.21 <sup>b</sup>
Specific volume	1.60±0.03 <sup>a</sup>	1.61±0.24 <sup>a</sup>	1.60±0.10 <sup>a</sup>	1.56±0.02 <sup>b</sup>

Mean ± SD (n=6).

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

④ 솔잎첨가 증편의 색도

Table 23은 솔잎분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가한 증편의 색도측정 결과를 나타낸 것이다. L값은 대조구가 53.10으로 가장 높게 나타났고, 솔잎분말 첨가량이 증가할수록 각각 49.02, 44.67, 44.18로 유의적으로 높게 나타났고, a값은 대조구가 -2.61이었으며, 솔잎분말 첨가량이 증가할

수록 각각 -0.75, -0.37, -0.35로 높게 나타났다. b 값은 대조구가 7.89였으며 솔잎분말 첨가량이 증가할수록 각각 8.77, 9.59, 11.56으로 a값에서와 같이 높게 나타났다.

Table 23. Color value of *Jeungpyun* with the addition of diverse pine needle powder

Sample (%)	Hunter's color value <sup>3)</sup>		
	L	a	b
Control	53.10±0.03 <sup>a</sup>	-2.61±0.02 <sup>c</sup>	7.89±0.02 <sup>d</sup>
0.5	49.02±0.14 <sup>b</sup>	-0.75±0.02 <sup>b</sup>	8.77±0.04 <sup>c</sup>
1.0	44.67±0.10 <sup>c</sup>	-0.37±0.01 <sup>a</sup>	9.59±0.03 <sup>b</sup>
1.5	44.18±0.09 <sup>d</sup>	-0.35±0.03 <sup>a</sup>	11.56±0.00 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n=6).

Means with the same superscripts in each column are not significantly different (p<0.05).

⑤ 솔잎첨가 증편의 미생물 측정

Table 24는 솔잎분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가하여 제조한 증편을 7일간 저장하면서 총 곰팡이 수의 변화를 살펴본 결과이다. 저장 후 3일부터 솔잎분말 1.5% 첨가한 시료를 위한 나머지 시료 모두에서 곰팡이가 생육하기 시작하였으며, 솔잎분말 1.5% 첨가는 저장 5일째부터 곰팡이 생육이 시작되면서 저장 7일째 6.81×10<sup>5</sup>CFU/g으로 가장 낮게 나타났다. 또한 솔잎분말 1.0% 첨가 시에서도 저장 7일째 8.46×10<sup>5</sup>CFU/g으로 대조구 및 솔잎분말 0.5% 첨가 수준보다는 항 곰팡이 활성이 강한 것을 알 수 있었다.

Table 24. Total mold count of *Jeungpyun* with the addition of diverse pine needle powder during 7day incubation at 25°C

Sample	Total mold count(CFU1)/g				
	0 day	1 day	3 day	5 day	7 day
Control	-	-	2.34×10 <sup>5</sup>	4.81×10 <sup>5</sup>	4.44×10 <sup>6</sup>
0.5	-	-	2.20×10 <sup>5</sup>	4.92×10 <sup>5</sup>	5.14×10 <sup>6</sup>
1.0	-	-	1.58×10 <sup>5</sup>	5.04×10 <sup>5</sup>	8.46×10 <sup>5</sup>
1.5	-	-	-	2.74×10 <sup>5</sup>	6.81×10 <sup>5</sup>

1)CFU : Colony Forming Unit

⑥ 솔잎분말 첨가 증편의 외관관찰



Fig. 19. Cross-sectional view of *Jeungpyun* with the addition of diverse pine needle powder.

⑦ Texture 측정

Fig. 20은 솔잎분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가하여 제조한 증편의 저장 3일 동안의 texture 특성으로 texture analyzer로 2회 압착하여 얻은 시료의 각 항목별 기계적 측정치(hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, gumminess 및 chewiness) 중 hardness의 결과 값이다.

Hardness는 Fig. 20에서와 같이 모든 처리구에서 저장일이 증가할수록 증가하였으며, 대조구가 비교적 낮게 나타나 저장 0 day에 125.31이었고 저장 3일 째에 149.35로 증가하였다. 또한 솔잎분말 첨가량이 가장 높은 1.5%에서는 저장 3일 째에 153.77로 가장 높게 나타났으나 시료 간 큰 차이를 나타내지는 않았다.

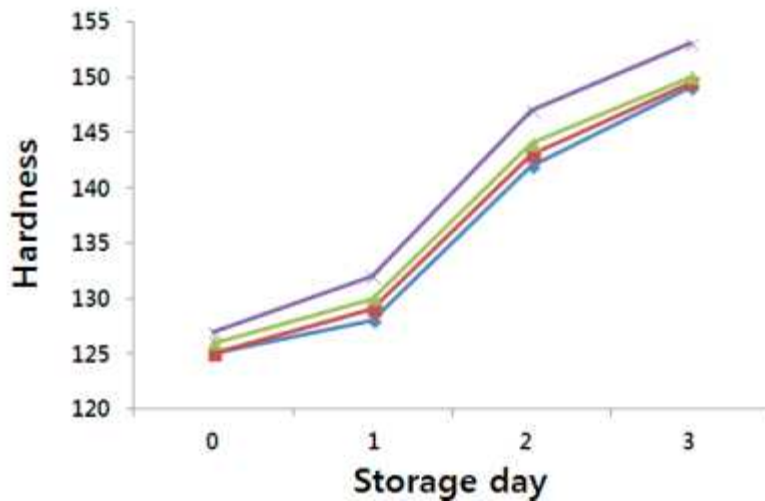


Fig. 20. Hardness of of *Jeungpyun* with the addition of diverse pine needle powder during 3day. Control : -◆-, 0.5 : -■-, 1.0 : -▲-, 1.5 : -X-

⑧ 관능검사

솔잎분말 첨가량을 달리하여 제조한 증편의 관능적 특성을 비교하기 위해 정량적 묘사분석(QDA : quantitative descriptive analysis)에 의한 관능검사 결과를 Table 25에 나타내었다. 외관평가에서 껍질색(crust color)은 대조구, 솔잎 0.5 및 1.0에서 각각 8.82, 8.74, 8.70으로 유의적 차이를 나타내지 않았으나 솔잎 1.5% 첨가에서는 6.52로 유의적으로 낮게 나타났다. 내부색(crumb color) 또한 대조구, 솔잎 0.5 및 1.0에서 각각 7.03점 이상으로 유의적 차이를 나타내

지 않았으나, 껍질색(crust color)에서의 결과와 같이 6.07로 가장 낮게 나타났다. Smoothness와 air cell size는 관능검사요원 모두에서 시료간 유의적 차이를 나타내지 않아 솔잎첨가에 따라 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

중편 특유의 쌀향은 대조구가 3.57, 솔잎 0.5%가 3.42, 1.0%가 3.42%, 1.5%가 3.01로 나타나 솔잎첨가량의 증가에 따라 쌀향 보다는 솔잎에 많은 영향을 받는 것으로 나타났다. 맛에서 단맛(sweetness)은 시료간 유의적 차이를 나타내지 않았다.

조직감(texture)에 있어 촉촉함(moistness)은 대조구 및 솔잎첨가 0.5, 1.0 및 1.5가 모두 7.76에서 7.84로 유의적 차이를 나타내지 않았으며, 경도(hardness)는 기계적 조직감 측정에서와 같이 솔잎 1.5% 첨가에서 7.67로 높게 나타났고, 대조구에서 가장 낮은 값을 나타내었다.

전반적인 기호도는 솔잎 첨가 1.0%에서 7.92로 다른 처리구에 비해 높게 나타나 전반적으로 기호도가 우수한 것을 알 수 있었다.

Table 25. QDA for sensory properties of *Jeungpyun* with the addition of diverse pine needle powder.

Sensory properties		Processing methods			
		Control	0.5	1.0	1.5
Appearance	Crust color	8.82±0.45 <sup>a</sup>	8.74±0.73 <sup>a</sup>	8.70±0.64 <sup>a</sup>	6.52±1.02 <sup>b</sup>
	Crumb color	7.27±1.08 <sup>a</sup>	7.28±0.58 <sup>a</sup>	7.03±1.98 <sup>a</sup>	6.07±1.71 <sup>b</sup>
	Smoothness	8.08±0.12 <sup>a</sup>	8.12±0.09 <sup>a</sup>	8.14±0.02 <sup>a</sup>	8.10±0.14 <sup>a</sup>
	Air cell size	7.37±0.03 <sup>a</sup>	7.44±0.12 <sup>a</sup>	7.66±0.15 <sup>a</sup>	7.77±1.21 <sup>a</sup>
Odor	Rice	3.57±0.22 <sup>a</sup>	3.42±0.04 <sup>ab</sup>	3.34±0.13 <sup>ab</sup>	3.01±0.15 <sup>b</sup>
Taste	Sweetness	7.66±0.26 <sup>a</sup>	7.48±0.12 <sup>a</sup>	7.52±0.09 <sup>a</sup>	7.51±0.28 <sup>a</sup>
Texture	Moistness	7.84±0.12 <sup>a</sup>	7.76±0.22 <sup>a</sup>	7.80±0.34 <sup>a</sup>	7.76±0.54 <sup>a</sup>
	Hardness	6.28±0.33 <sup>c</sup>	7.31±0.23 <sup>b</sup>	7.32±0.26 <sup>b</sup>	7.67±1.08 <sup>a</sup>
Overall acceptability		6.64±1.38 <sup>ab</sup>	6.75±1.04 <sup>ab</sup>	7.92±0.23 <sup>a</sup>	4.25±0.43 <sup>c</sup>

Mean ± SD (n=15).

<sup>1)</sup>Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

(다) 요약

OJP(*Jeungpyun* added with oligosaccharide) 반죽에 솔잎분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가에 따른 비중의 차이는 없었으며, pH는 솔잎분말 첨가량의 증가에 따라 감소하였다. 솔잎분말 첨가량의 증가에 따라 반죽무게는 증가하고, 높은 감소하였다. 솔잎분말 첨가량의 증가에 따라 L값은 감소하였고, 솔잎 1.5% 첨가에서 저장 3일까지 곰팡이의 생육은 없었으며, 저장 7일째에서도  $6.81 \times 10^5$ 로 솔잎 무첨가 3일 수준 정도의 향곰팡이 효과를 나타내었다. Hardness는 대조구가 비교적 낮게 나타났고, 솔잎 첨가량이 증가할수록 높게 나타났다. 전반적인 기호도는 솔잎

첨가 1.0%에서 7.92로 다른 처리구에 비해 높게 나타나 전반적으로 기호도가 우수한 것을 알 수 있었다.

다. 3차년도 : 솔잎분말을 첨가한 기능성 쌀 가공품제품의 개발 및 충전물의 개발에 따른 최적 배합비 탐색

#### (1) 서론

쌀(Oryza sativa L)은 전 세계에서 밀 다음으로 생산량이 많은 곡물이며, 우리나라에서는 오래 전부터 주식으로 이용되어 왔다. 현재 우리나라는 쌀 생산량에 비해 1인당 쌀 소비량은 1984년 130.1kg에서 해마다 감소하며 최근 10년간(2003년 - 2012년) 연평균 감소율은 2.2%를 기록하여 2013년 1인당 연간 쌀 소비량은 67.2kg으로 전년 69.8kg과 비교할 때 3.7% 감소하여 쌀 수급 불균형의 문제가 심각하다(68).

우리나라의 쌀 소비 형태는 전체 쌀 생산량의 95%이상이 밥으로 소비되며 가공용으로는 주류를 포함해서 5% 내외에 머물고 있다(69). 따라서 밀가루와 같은 중간소재 형태인 쌀가루가 각 제품의 가공적성에 맞도록 개발되어 고품질의 다양한 쌀 가공식품이 소비자들에게 공급되어야 하며, 쌀을 원료로 이용한 다양한 제품의 개발이 필요한 시점이다.

우리나라에서 쌀은 예로부터 귀한 음식으로 분류되어 쌀을 이용한 가공식품은 쌀 소비억제 정책으로 절기음식인 떡류를 제외하고는 거의 제한적으로 발전하여왔다. 현재 국내 쌀 가공제품은 쌀은 총 생산량의 3-4% 수준이며, 떡, 면류, 주류, 빵류, 제과류, 죽류, 음청류, 주류 기타 등이 있다. 이 중에서 가공밥류로 구분되는 레토르트, 통조림, 즉석밥, 냉동밥 시장이 급성장하고 있다(70,71).

쌀을 이용한 가공식품 중 가장 큰 비중을 차지하는 부분은 떡류, 면류 및 주류로 쌀 가공 식품산업의 70%를 차지하고 있으나, 최근 소비자들의 생활수준이 향상됨에 따라 기호성이 고급화되고 쌀의 기능성이 알려지면서 쌀을 이용한 가공식품 중 빵에 대한 관심 또한 증대되고 있다(72).

쌀을 이용하여 만든 기능성 제빵품의 경우 밀가루로 만든 것과는 달리 gliadin이나 glutenin 등 prolamin류의 단백질 함량이 적고, glutelin류의 단백질이 주종을 이루고 있기 때문에(73), 밀의 gluten과 같이 반죽의 망상구조를 형성하지 못해 쌀가루를 이용한 최종제품의 완성도가 떨어져 오히려 소비자로부터 외면 받는 경우가 많은 실정이다. 이러한 문제점을 보완하기 위해서 활성 글루텐, gum질, 계면활성제 등의 gluten 대체 재료들을 첨가하여 빵을 제조하는 방법이 연구되고 있으며(74), 제빵 시 곰팡이의  $\alpha$ -amylase를 첨가하여 빵의 부피를 증가시키는 방법도 보고되었다(75).

쌀을 이용한 베이커리 제품의 경우 그 모양과 형태가 다양하게 개발되고 있으며, 그 소비 관  
로 또한 다양하다. 그 중 소비자들이 쉽게 접근할 수 있는 부분은 프랜차이즈 과자점과 원도우  
베이커리로 정의 될 수 있으며, 최근에는 웰빙(well-bing) 이라는 외식트렌드를 중심으로 ‘카페  
형 떡 전문점’들이 떡의 퓨전화를 통해 베이커리제품과의 접목이 이루어지고 있다.

떡의 퓨전화는 전통 떡과 새롭게 개발된 떡 즉, 전통과 modern이 함께 공존하면서 고객 또한 외식 시장에서 반응이 빠른 젊은 신세대로 흘러가고 있는 추세이다(76). 즉, 최근 몇 년사이 동네 방앗간에서 쪄낸 잔치 떡처럼, 많은 양을 주문하거나 제법 큰 포장의 떡에서 작고 아름다우며 선물하기 좋은 떡으로 바뀌면서 이러한 변화는 가속화 되고 있다.

떡 제품의 소비 형태는 전통적인 형태의 크기와 포장방법에서 벗어나 날개포장, 다양한 고명 및 충전용소, 조각 케이크형태의 소포장 등으로 변화하고 있어 현 트렌드에 적합한 베이커리 제품과의 접목이 시급한 실정이다.

한국형 찰빵의 경우 소비자 수용도가 높고, 떡을 선호하는 소비자들의 공통적인 선입견인 쌀을 사용한 제품으로 완성도 높은 찰빵을 제조한다면 떡류산업과 베이커리 산업의 접목에 가장 적합한 품목이다. 특히 한국형 찰빵은 둥근 형태로 주로 반죽에 앙금이나, 야채, 고기 등을 첨가시켜 발효 시키는 것이 특징으로 형태의 변화 부재료의 사용, 다양한 첨가물의 사용이 가능하며, 다른 베이커리 제품에 비해 gluten의존성이 낮아 100% 쌀가루를 활용한 제품의 제조에 적합하다(77).

한국형 찰빵은 높은 단백질 함량의 밀가루로 만든 빵 반죽은 찜기(steamer)내에서나, 찜기에서 꺼내는 즉시 주저 앉거나 빵 표면에 주름이 생기는 현상이 자주 발생하게 되어 빵의 부피는 감소하고 거칠은 조직감과 열린 빵 속결을 초래하여 부적합한 것으로 알려져 있다(78).

따라서 본 연구에서는 떡의 푸전화를 통해 베이커리제품과의 접목을 위해 전통적인 방법을 이용한 100% 쌀가루 한국형 찰빵을 제조하고자 하였다. 이때 발생할 수 있는 쌀 찰빵 반죽의 물성개량을 위해 활성글루텐의 사용범위를 제한하였으며, 저장성 향상을 위해 솔잎분말을 첨가한 솔잎 찰빵의 저장특성을 확인하고, 찰빵의 물리화학적 특성을 규명한 후 최종적으로 한국형 솔잎 찰빵의 최적배합비를 규명하고자 하였다. 또한, 찰빵의 다양성을 위해 반응표면 분석을 통한 찰빵용 소(충전물)의 배합비를 제시하고 최종적으로 소비자 관능검사를 통한 소(충전물)의 최적배합비를 규명하고자 하였다.

## (2) 1부 : 솔잎분말을 첨가한 기능성 쌀 가공식품의 개발

### (가) 재료 및 방법

#### ① 재료

한국형 솔잎 찰빵의 제조를 위한 재료로 쌀가루는 1차년도 연구결과에 의해 생산한 쌀가루를 사용하였으며, 당류는 분말형으로는 정백당(CJ제일제당주식회사), 효모는 인스턴트 드라이리스트(Societe Industrielle Lesaffre, Paris, France), 우유(서울우유), 소금은 꽃소금(사조해표), 쇼트닝(오뚜기), 활성글루텐(신광식품), 베이킹파우더(제니코) 및 솔잎분말(○○대학교)을 사용하였다.

#### ② 한국형 솔잎 찰빵의 제조

솔잎 찰빵의 제조에 앞서 활성 글루텐의 첨가비율 설정을 위해 예비 실험을 실시한 후 찰빵제조에 적용하였다. 이때 찰빵제조에 사용한 재료 배합 및 제조 방법은 Table 26, Fig. 21에 나타내었다. 즉, 쇼트닝을 제외한 모든 재료를 vertical type mixer(N-50, Hobart, U.S.A)에 투입 후 1단 저속 47 rpm과 2단 중속 87 rpm에서 각각 3분, 2분간 믹싱한 후 쇼트닝을 투입하고, 저속 1분, 중속 7분간 반죽하였다. 최종 반죽온도는  $27\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 를 유지하도록 하였으며, 1차 발효는 온도  $30^{\circ}\text{C}$ , 상대습도 85%인 발효기(Dae-Young Machinery Co., Korea) 조건에서 30분간 발효시켰다. 발효된 반죽은 40 g씩 분할·둥글리기 하여 유산지를 깔고 팬닝한 후 20분

간 2차 발효를 실시하였다. 2차 발효가 완료된 시료는 찜용 틀에 담고 찜기는 인덕션레인지 (Lihom-cuchen, Co, LTD. Seoul. Korea)을 이용하여 180℃에서 6분 220℃에서 4분 찜 후 전원을 끄고 2분간 뜸들인 후 실온에서 1시간 방냉 한 다음 polyethylen bag(thickness 0.02 mm)에 보관하면서 이화학적 특성, 기계적 특성 및 관능검사를 실시하였다.

Table 26. Formula for preparation of steamed bread

Ingredient	Bakers's (%)	Sample <sup>2)</sup>			
		Control	A	B	C
Rice flour <sup>1)</sup>	100	300	300	300	300
Sugar	7	21	21	21	21
Salt	1	3	3	3	3
Dry yeast	2.5	7.5	7.5	7.5	7.5
Baking powder	1	3	3	3	3
Active gluten	12	36	36	36	36
Shortening	3	9	9	9	9
Water	60	180	180	180	180
Pine needle powder	variable	-	0.5	1	1.5

<sup>1)</sup>Rice flour : 14%mb

<sup>2)</sup>A : Added with 0.5% pine needle powder

B : Added with 1.0% pine needle powder

C : Added with 1.5% pine needle powder



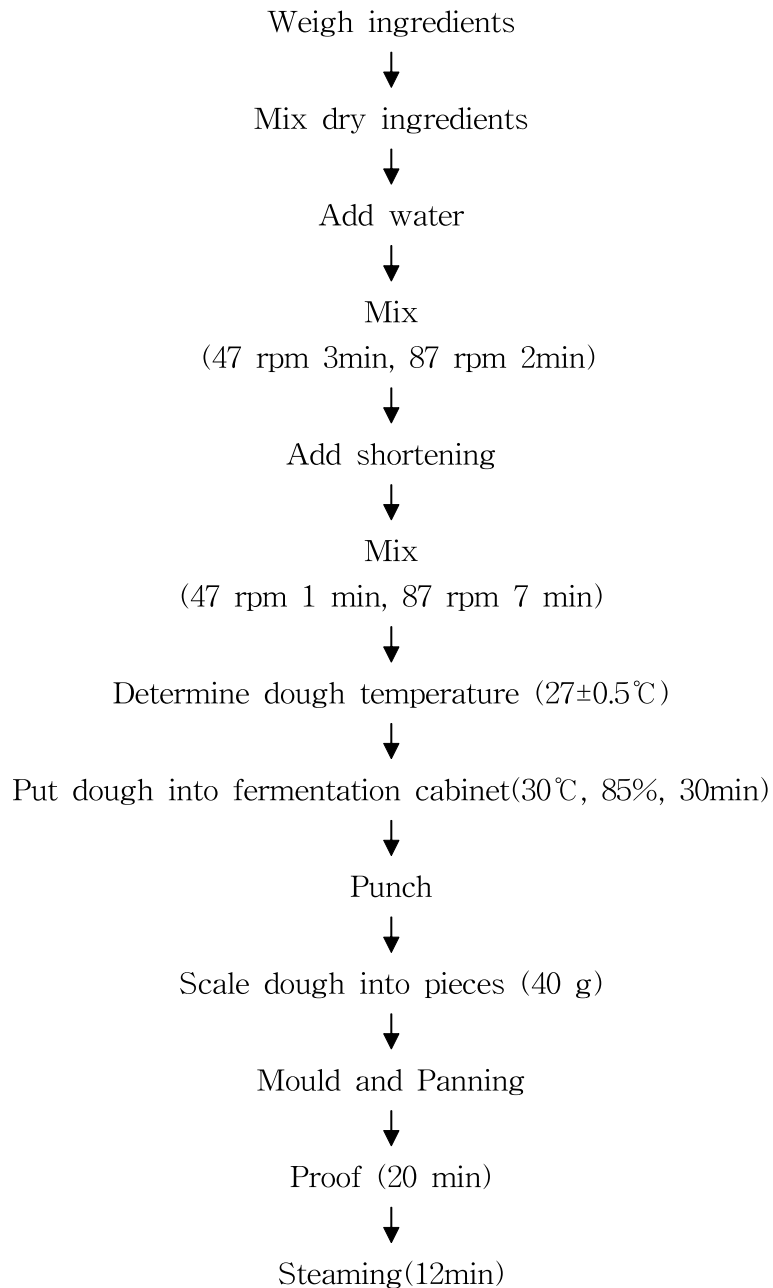


Fig. 21. Flow sheet of steamed bread making procedure.

### ③ 실험방법

파리노그래프 특성 : 솔잎 쌀 찌빵의 제조에 앞서 활성 글루텐의 첨가비율 설정을 위해 파리노그래프 특성을 측정하였다. 대조구는 일반적인 찌빵의 제조에 사용되는 강력분과 박력분을 1:1로 혼합하여 사용하였으며, 비교군은 쌀가루를 이용한 반죽으로 1차년도에 개발한 쌀가루를 사용하였고 활성글루텐의 비율을 3, 6, 9, 12 및 15%로 적용하였다. 이때 반죽의 수분 흡수율 및 물성은 farinograph(810108, Brabender, Germany)로 AACC 54-21 방법(65)에 따라 farinograph mixing bowl을  $30^{\circ}\text{C} \pm 0.2$ 로 조정하고, 가루의 수분함량을 14%기준으로 쌀가루 300 g을 사용하여 curve의 중심선이 500 B.U.(brabender unit)에 도달하도록 물( $30^{\circ}\text{C}$ )을 첨가하였다. Farinograph에서 수분흡수율(water absorption)은 반죽을 일정한 굳기에 도달시키기 위해 첨가

된 물의 양이며, 반죽도착시간(arrival time)은 커브의 윗부분이 500 B.U.에 도달하는 시간, 반죽형성시간(development time)은 반죽의 점조도(consistency)가 최고점에 도달할 때까지의 시간을 나타낸다. 반죽의 안정도(stability)는 커브의 윗부분이 500 B.U.에 도달했을 때부터 떠날 때까지의 시간으로 표시하였다. 반죽의 약화도(weakness)는 반죽형성시간 후부터 시작하여 12분 후의 커브 중심의 하강 정도를 500 B.U.선으로부터의 거리(B.U.)로 표시하였다.

빵 반죽의 작업적성 평가(Handling property) : Table 1의 배합으로 반죽이 완료된 시료의 주관적 작업적성 평가는 5점법을 사용하여 점수화 하였다(79). 즉, 5점: 반죽이 신장성과 탄력성을 가지며 작업적성이 매우 좋음, 4점: 손에 약간의 기름을 발랐을 때 어려움 없이 작업할 수 있음, 3점: 손에 기름을 바른 후 작업시 약간의 어려움이 있음, 2점: 손에 기름을 바른 후 작업시 약간의 어려움이 있어 약간의 덧가루를 요함, 1점: 손에 기름을 바른 후 작업시 어려움이 있어 덧가루를 요하며 일정한 형태를 만들기 어려움으로 평가하였다.

pH : 시료 10 g을 취해 증류수 90 mL에 잘 현탁 한 후 현탁액의 pH를 pH meter(915PDC, Istek, Seoul, Korea)로 측정하였다.

한국형 솔잎 쌀 찌빵의 포장 : 제조된 찌빵을 냉각하여 20×15 cm로 제단 한 PAPE(polyamide/polyethylene) 봉지에 넣은 다음, 함기포장으로 별도의 기체치환 없이 열접착 밀봉한 후 찌빵의 품질측정에 사용하였다.

쌀 찌빵의 체적 및 비용적 측정 : 빵의 체적은 조를 사용한 종자치환법(seed displacement)(80)으로 3회 반복 측정하였으며, 빵의 g당 mL수(빵의 체적)로 비용적(specific loaf volume)을 계산하였다(81).

주관적 품질평가 : 주관적 품질평가(bread scoring)는 쌀 찌빵을 만든 사람이 이를 만든 후 주관적으로 평가하는 방법으로 외적인 특성(crust color, Swelling, symmetry)과 내적인 특성(tenderness, moistness, grain)으로 나누어 각각 10점 만점의 다음과 같은 척도를 사용하여 평가한다(82). 10점: 매우 우수한(excellent), 5점 = 그저 그렇다. 그러나 만족스럽지 못한(fair, but not acceptable), 1점 = 매우 열등한(poor). 또한, 각각 결과 값의 총합을 total score로 나타낸다(83).

Color 측정 : 제조한 솔잎 쌀 찌빵의 색도는 증편을 몰드에서 꺼낸 크기로 색차계 (Color JS801, Color Techno System Co., Japan)를 사용하여 명도(L\*-value, (100)lightness↔black(0)), 적색도(a\*-value, (+)redness↔greenness(-)), 황색도(b\*-value, (+)yellowness↔blueness(-)) 값을 3회 반복 측정하여 그 평균값으로 나타내었으며 이 때 사용된 표준 백판은 L값은 97.34, a값은 8.01, b값은 -1.58 이었다.

외관 관찰 : 제품의 내부 단면 및 외관의 관찰은 디지털 카메라(D60. Nikon, Tokyo, Japan)를 사용하여 플래시를 사용하지 않고 촬영하였으며, 이 때 시료와 카메라의 간격은 일정하게 유지하였다.

Texture 분석 : 쌀 찜빵의 texture는 3.0×3.0×1.0 cm 크기로 잘라 실온에서 1시간 냉각시킨 후 texture analyzer(TA-XT2, Stable Micro Systems Ltd., England)를 사용하여 시료를 2회 연속적으로 압착시켰을 때 얻어지는 force-time curve로부터 hardness, springiness를 측정 계산하여 나타낸다. 이 때 측정 조건은 Table 27과 같으며 각각의 시료에 대해 6회 반복 측정하여 평균치로 나타낸다.

Table 27. Operation condition of texture analyzer for measurement of steamed bread

Mode	Stickiness of bread dough
Option	TPA
Pre-test speed	2.0 mm/s
Test speed	1.0 mm/s
Post-test speed	5.0 mm/s
Distance	50%
Force	40g
Time	5sec
Trigger type	Auto - 40g
Accessory	25 mm plexiglass cylinder probe(P/25P)

수분활성 측정 : 함기포장한 쌀 찜빵은 20℃의 조건에서 7일간 저장하면서 빵조직 내의 수분활성도를 수분활성도 측정기(Humidat IC-3/2, NovasinaAG, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. 중량손실은 저장된 찜빵의 무게를 측정하여 초기 중량과의 차이를 구하고, 그 차이를 초기 중량으로 나누어 백분율로 표현하였다.

미생물 측정 : 총 곰팡이 수의 측정을 AACC method 45-16(65)에 준하여 저장일수별로 다음과 같은 방법으로 실시하였다. PDA(potato dextrose agar) 배지를 만들어 멸균한 후 ethanol로 화염 멸균한 homogenizer에 시료 15 g을 넣고 멸균 희석수로 잘라 마쇄한 다음, 10배 희석법으로 희석하여 각 원액을 배지에 0.1 mL를 넣고 도말한다. 37℃의 incubator에서 48시간 배양한 후 colony수를 측정하였다.

관능검사 : 쌀 찜빵에 관한 정량적 묘사분석(Quantitative description analysis; QDA)검사는 묘사분석에 앞서 훈련된 패널요원 20명(○○대학교 외식조리학과 재학생)을 선정하여 논의 과정을 통하여 검사에 필요한 용어를 마련하고 각 용어의 정의를 내리도록 한다. 이 용어정의표의 사용목적은 패널 요원들이 평가할 때 지침이 되어 각 용어의 의미에 대한 혼동을 최소한으로 감소시키기 위함이다. 패널요원 각각에게 시료를 제시하여 모든 시료가 동일한 횟수로 평가될 수 있도록 한다. 평가시간은 오후 3-5시 사이의 공복시간으로 하고 시료는 겉 표면과 내면을 패널요원이 잘 관찰할 수 있도록 흰 접시에 담아 제공하며, 하나의 시료를 먹고 나면 반드시 물로 입안을 헹군 뒤 다음 시료를 평가하도록 한다. 이 때 사용된 관능특성들은 외관

(appearance), 향(odor), 맛(taste), 조직감(texture) 등 4가지 항목이며, 15 cm 선척도(line scale)를 사용하였고 좌로부터 우로 이동하면서 특성의 강도가 증가하도록 선의 양쪽에 용어 한계를 표시하였다.

전반적인 기호도(overall acceptability)는 위 측정 4가지 항목의 조화되는 정도를 조사하여 평가하였다.

통계분석 : 실험을 통해 얻은 모든 결과 값들은 SPSS 프로그램(Statistical Package, SPSS Inc)의 분산분석(ANOVA)을 이용하여 통계처리하고, 각 측정 평균값간의 유의성은  $P < 0.05$  수준으로 Duncan의 다중범위시험을 사용하여 검증한다.

## (나) 결과 및 고찰

### ① 파리노그래프 특성

활성글루텐 첨가량을 달리한 한국형 쌀 찰빵 제조 반죽의 파리노그래프 특성을 Table 28과 Fig. 22에 나타내었다. 대조구 반죽의 수분흡수율은 68.4%로 활성글루텐을 첨가한 쌀 반죽에 비해 높게 나타났으며, 활성글루텐 첨가 %가 높아질수록 수분흡수율은 증가하였고 활성글루텐 12, 15%의 경우 차이를 나타내지 않았다. 수분흡수율은 제빵품의 생산에 있어서 중요한 인자로 흡수율이 높은 경우 생산량이 증가되며, 빵의 노화를 지연시켜 수분 흡수율의 증가는 바람직한 현상으로 볼 수 있다(131-132).

반죽도달 시간(arrival time)은 대조구가 1.2분으로 가장 짧고, 활성글루텐 3% 첨가에서 1.9분으로 높게 나타났고 첨가량이 높아질수록 대조구에 가까워지는 것을 알 수 있었다. 반죽형성 시간은 대조구가 2.7분이었으며, 활성글루텐 첨가에서 높게 나타나 대조구보다 현저히 오래 요구되는 것으로 나타났다. 이는 쌀가루에 첨가한 글루텐이 반죽을 형성하는데 오랜 시간이 요구된 결과로 반죽의 물성은 밀단백질 성분 이외에도 반죽의 pH, 효소, 밀가루의 전분입자, 손상전분함량, 반죽의 교반시간 및 물의 양 등 여러 인자가 관여한다(136-137). 더구나 반죽의 물성은 가루가 빵으로 되는 과정의 각 단계에서도 변화가 일어나고, 혼합 후 휴식(relaxation)기간에서도 가루성분의 수화나 물의 재분산(redistribution)이 일어나기도 하므로(138-139), 이들 모든 요인을 복합적으로 관련지어 제빵성에 미치는 영향을 생각해 봐야 할 것으로 보인다.

안정도(stability)는 반죽이 500 BU에 도달하는 기간부터 떠날 때까지의 시간으로 반죽의 힘이나 강도를 나타내는 것으로 반죽의 힘이 강하면 높은 안정도를 갖고 약하면 안정도가 낮다(140). 대조구와 활성글루텐 12, 15%첨가에서 25분 이상에서 안정성을 나타내었다. 일반적으로 반죽의 안정도가 클수록 그만큼 반죽시간이 길어지므로 혼합이 충분하고 글루텐이 잘 형성되어 빵의 부피가 좋아지는 것으로 알려져 있다(141).

반죽 약화도(weakness)는 대조구가 40 BU였고, 낮은 활성글루텐 첨가에서 75-65로 높게 나타나 약화도가 커져 글루텐 구조력이 저하되는 것을 알 수 있었다. 따라서 100% 쌀가루를 이용한 찰빵의 제조시 유용한 활성글루텐의 첨가 %는 12-15% 정도임이 확인 되었다. 즉, 100% 쌀가루를 이용한 찰빵 제조 특성상 최소한의 활성글루텐 사용이 적합하며, 향 후 쌀 찰빵의 제조에 활성글루텐 12% 첨가가 적당하리라 사료된다.

Table 28. Farinogram characteristics of steamed bread dough

	Sample					
	Control <sup>1)</sup>	A <sup>2)3)</sup>	B	C	D	E
Water absorption (%)	68.4	63.0	63.3	63.7	64.8	64.8
Arrival time (min)	1.2	1.9	1.7	1.5	1.3	1.3
Development time (min)	2.7	5.3	10.5	10.6	14.4	13.8
Stability (min)	25.0 ↑	18.4	20.0	20.7	25.0 ↑	25.0 ↑
Weakness (BU)	40.0	70.0	75.0	65.0	60.0	60.0

<sup>1)</sup>Control : 100% wheat steamed bread dough

<sup>2)</sup>A-E :100% Rice steamed bread dough

<sup>3)</sup>A : 100% Rice added with 3% active gluten

B : 100% Rice added with 6% active gluten

C : 100% Rice added with 9% active gluten

D : 100% Rice added with 12% active gluten

E : 100% Rice added with 15% active gluten

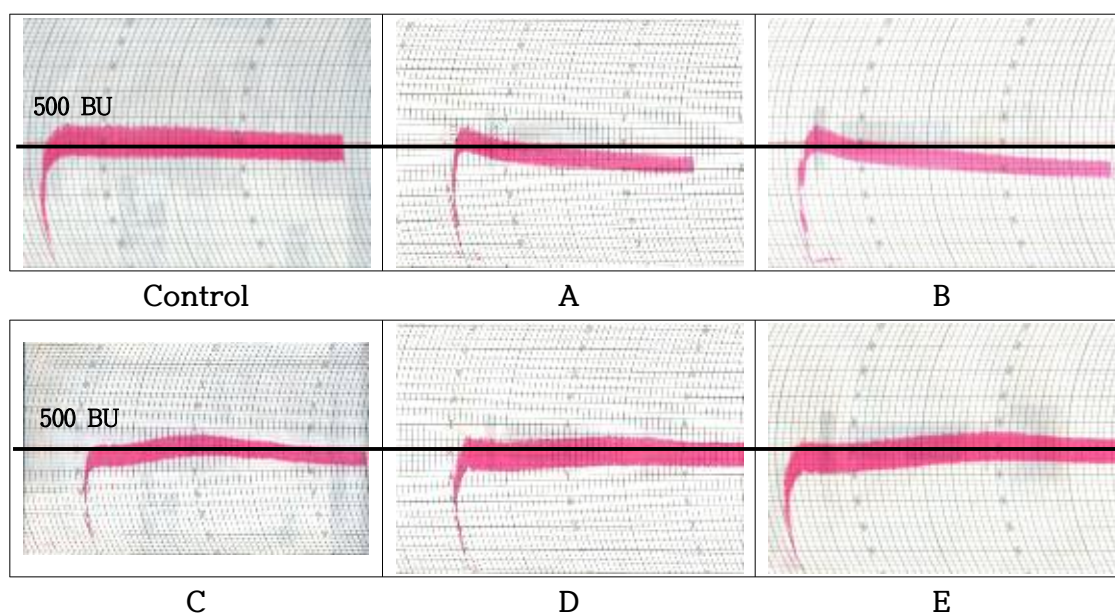


Fig. 22. Farinogram characteristics of steamed bread dough. Control : 100% wheat steamed bread dough, A : 100% Rice added with 3% active gluten, B : 100% Rice added with 6% active gluten, C : 100% Rice added with 9% active gluten, D : 100% Rice added with 12% active gluten, E : 100% Rice added with 15% active gluten

② 반죽의 작업적성 평가(Handling property) 및 pH 측정

Table 26의 배합으로 반죽이 완료된 시료의 주관적 작업적성 평가는 5점법을 사용하였으며, 찰빵 반죽의 pH값을 Table 29에 나타내었다. 대조구의 경우 Table 28과 Fig. 22의 결과를 바탕으로 100% 쌀가루에 활성글루텐 12%첨가구이며, 비교군의 경우 대조구 반죽에 솔잎분말 0.5, 1.0, 1.5%로 첨가하여 제조한 쌀 찰빵으로 대조구 4.78로 높게 나타났으나 솔잎분말 0.5, 1.0, 1.5% 첨가 %에 관계없이 유의적 차이를 나타내지 않았다. 이는 솔잎분말의 첨가량이 낮아 반죽의 작업적성에 큰 영향을 나타내지 않은 것으로 사료된다. 그러나 솔잎분말의 첨가 정도는 2차 년도실험결과를 볼 때 저장성 및 관능적 특성에는 많은 영향을 줄 것으로 판단된다.

대조구의 초기반죽 pH는 5.70이었으며, 솔잎분말의 첨가 %가 높아질수록 각각 5.76, 5.82, 5.87로 나타났다. 일반적인 빵 반죽의 초기 pH는 5.7-5.9이며, 반죽시간 과다의 경우 pH가 5.0, 정상반죽의 경우는 5.7정도로 나타난다. 또한 반죽시간이 부족한 경우는 6.0이상을 나타내는 것으로 알려져 있다(84). 본 실험에서 대조구 및 솔잎 분말 첨가 반죽 모두가 5.76-5.87로 정상적인 반죽임을 알 수 있다.

Table 29. Handling Properties and pH of steamed bread dough with the addition of diverse pine needle powder

	Sample			
	Control <sup>2)</sup>	0.5	1.0	1.5
Dough handling property <sup>1)</sup>	4.78±0.01 <sup>NS</sup>	4.75±0.02	4.77±0.02	4.75±0.02
pH	5.70±0.01 <sup>d</sup>	5.76±0.02 <sup>c</sup>	5.82±0.01 <sup>b</sup>	5.87±0.01 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n=6).

NS : Not significant

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

<sup>1)</sup>5 point scale with 5=very good, 4=good, 3=fair, 2=poor, 1=very poor.

<sup>2)</sup>Control : 100% Rice steamed bread dough.

③ 쌀 찰빵의 체적, 비용적 및 주관적 품질평가

솔잎 쌀 찰빵의 체적, 비용적 및 주관적 품질평가를 Table 30에 나타내었다. 쌀 찰빵의 체적은 대조구가 83.13으로 가장 크고 솔잎 분말의 첨가량이 증가할수록 82.23에서 78.77로 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 그러나 비용적의 경우는 실험군 전체에서 2.30-2.12로 유의적 차이를 나타내지 않았다(p<0.05). 쌀 찰빵의 주관적인 평가인 Bread score(10 point scale)결과는 외적인 특성으로 빵의 crust color, swelling 및 symmetry을 내적인 특성으로 tenderness, moistness 및 grain으로 나누어 나타내었다. 찰빵의 crust color는 겉면이 매끈하게 잘 부풀어 전체적으로 균일한 색을 나타 낼 때 우수한 것으로 판단할 수 있는데, 빵 반죽은 발효시간 동안 얇은 글루텐막 내에 CO<sub>2</sub>가스를 생성하면서 반죽이 팽창하게 되며, 적정 발효 상태는 사용한 가루, 이스트 사용량, 온도, 배합재료, 산화정도 등과 같은 인자들의 상호작용으로 서로 균

형을 이룰 때를 가능하다(85). 본 실험에서 대조구가 9.25로 가장 높게 나타났고, 솔잎 분말 첨가 %가 높아 질수록 감소하여 솔잎 분말 1.5% 첨가 시 7.83으로 가장 낮게 나타났다. Swelling의 경우는 최종 제품의 부푸는 정도를 나타낸 것으로 대조구, 솔잎 분말 첨가 0.5, 1.0%에서 각각 9.25-9.13으로 유의적 차이를 나타내지 않았고, 솔잎 분말 1.5% 첨가에서 7.25로 가장 낮은 값을 나타내었다. 대칭성(symmetry) 또한 대조구가 9.72로 가장 높고 솔잎 분말 0.5, 1.0% 첨가에서는 9.50, 9.49로 유의적 차이를 나타내지 않았다. 이는 swelling의 결과를 그대로 반영한 것으로 보습과 팽창 정도가 고른 대조구와 솔잎 분말 0.5, 1.0% 첨가에서 좋은 결과를 나타낸 것으로 생각된다.

쪄빵의 내적인 특성 중 tenderness와 grain은 쪄빵의 부피에 많은 영향을 받는데, 부피가 큰 것은 발효과정 중 CO<sub>2</sub> 가스의 포집 능력이 좋아 찌는 과정 중 온도 상승에 따라 기포내부에 압력을 형성하여 반죽내 기포벽이 팽창하면서 체적이 증가하며 부피는 커지게 된다(86). 따라서 부피가 크고 swelling 및 symmetry가 양호한 대조구, 솔잎 분말 첨가 0.5, 1.0%에서 tenderness와 grain이 높은 값을 나타내었다. 그러나 솔잎 분말 첨가 1.5%에서는 부피가 작아 낮은 tenderness 점수로 조직감이 단단하고 air cell은 작고 조밀하여 grain 또한 낮은 점수를 나타내었다. Moistness에서는 시료간 유의적 차이를 나타내지 않았다.

쪄빵의 내·외적인 특성을 주관적으로 평가하여 각 항목점수 합(60점)을 나타낸 total score에서 대조구가 53.70으로 가장 높고 다음으로 솔잎 분말 첨가 0.5, 1.0%에서 각각 53.12, 53.01, 마지막으로 솔잎 분말 첨가 1.5%에서 가장 낮은 47.67점을 나타내었다.

Table 30. Loaf volume, specific loaf volume and bread score of steamed bread with the addition of diverse pine needle powder

Sample	Loaf volume (mL)	Specific loaf volume (mL/g)	Bread score					Total score <sup>1)</sup>	
			crust color	Swelling	symmetry	tenderness	moistness		grain
Control <sup>2)</sup>	83.13 <sup>a</sup>	2.30 <sup>NS</sup>	9.25 <sup>a</sup>	9.25 <sup>a</sup>	9.72 <sup>a</sup>	9.48 <sup>c</sup>	7.25 <sup>NS</sup>	8.75 <sup>a</sup>	53.70 <sup>a</sup>
0.5	82.23 <sup>a</sup>	2.27	8.96 <sup>b</sup>	9.15 <sup>a</sup>	9.50 <sup>b</sup>	9.53 <sup>b</sup>	7.24	8.73 <sup>a</sup>	53.12 <sup>b</sup>
1.0	80.05 <sup>b</sup>	2.21	8.87 <sup>c</sup>	9.13 <sup>a</sup>	9.49 <sup>b</sup>	7.52 <sup>bc</sup>	7.26	8.73 <sup>a</sup>	53.01 <sup>b</sup>
1.5	78.77 <sup>c</sup>	2.12	7.83 <sup>d</sup>	7.52 <sup>b</sup>	8.22 <sup>c</sup>	5.60 <sup>a</sup>	7.25	7.25 <sup>b</sup>	47.67 <sup>c</sup>

Mean ± SD (n=12).

10point scale with 10=excellent; 5=fair(but not acceptable); 1=poor.

<sup>1)</sup>Total score = crust color+Swelling+symmetry+tenderness+moistness+grain

NS : Not significant

Means with the same superscripts in each column are not significantly different (p<0.05).

<sup>2)</sup>Control : 100% Rice steamed bread

④ 색도 측정

Table 31은 솔잎분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가한 쌀 찜빵의 색도측정 결과를 나타낸 것이다. L 값은 대조구가 56.24으로 가장 높게 나타났고, 솔잎분말 첨가량이 증가할수록 각각 47.32, 45.27, 41.79로 유의적으로 낮게 나타났고, a값은 대조구가 -3.08이었으며, 솔잎분말 첨가량이 증가할수록 각각 -0.57, -0.41, -0.38로 높게 나타났다. b 값은 대조구가 8.76이었으며 솔잎분말 첨가량이 증가할수록 각각 10.22, 12.16, 12.16으로 a값에서와 같이 높게 나타났다.

Table 31. Color value of steamed bread with the addition of diverse pine needle powder

Sample (%)	Hunter's color value <sup>1)</sup>		
	L	a	b
Control	56.24±0.07 <sup>a</sup>	-3.08±0.14 <sup>c</sup>	8.76±0.06 <sup>d</sup>
0.5	47.32±0.11 <sup>b</sup>	-0.57±0.06 <sup>b</sup>	9.42±0.12 <sup>c</sup>
1.0	45.27±0.06 <sup>c</sup>	-0.41±0.02 <sup>a</sup>	10.22±0.08 <sup>b</sup>
1.5	41.79±0.05 <sup>d</sup>	-0.38±0.09 <sup>a</sup>	12.16±0.04 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n=6).

Control : 100% Rice steamed bread

Means with the same superscripts in each column are not significantly different (p<0.05).

<sup>1)</sup>L : measures lightness and varies from 100 for perfect white to zero black.

a : redness when plus, gray when zero and greenness when minus.

b : yellowness when plus, when zero, and blueness when minus.

### ⑤ 외관 관찰

제품의 내부 단면 및 외관의 관찰은 디지털 카메라(D60, Nikon, Tokyo, Japan)를 사용하여 플래시를 사용하지 않고 촬영한 결과를 Fig. 23에 나타내었다.

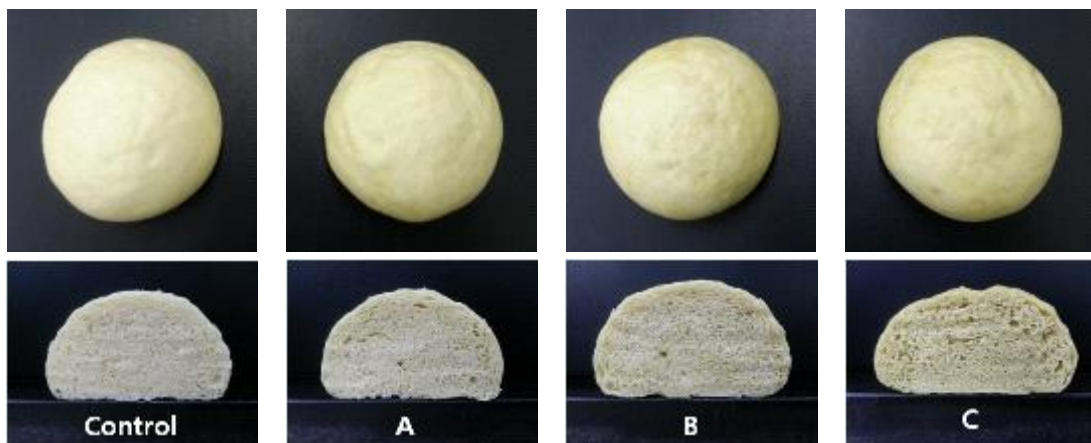


Fig. 23. Cross-sectional view of steamed bread with the addition of diverse pine needle powder. Control: 100% Rice steamed bread, A: Added with 0.5% pine needle powder, B:



Added with 1.0% pine needle powder, C: Added with 1.5% pine needle powder

⑥ 솔잎 쌀 찐빵의 저장 중 품질평가(Texture, 수분활성 및 미생물측정)

Texture 분석 : Fig. 24와 25는 솔잎 분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가한 쌀 찐빵의 함기포장 후 20℃ 조건에서 저장 7일 동안의 texture 특성을 texture analyzer로 2회 압착하여 얻은 시료의 각 항목별 기계적 측정치(hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, gumminess 및 chewiness) 중 hardness와 springiness의 결과 값이다. Hardness는 Fig. 24에서와 같이 모든 실험구에서 저장 3-4일까지는 큰 차이가 없었으나 4일 이후 급격하게 증가하는 것을 알 수 있었으며, 대조구가 저장 7일 동안 증가폭이 180.51에서 247.43으로 가장 낮았고, 솔잎 분말 1.5% 첨가 쌀 찐빵이 187.34에서 281.64로 가장 높게 나타났다.

Fig. 25은 저장 7일 동안의 springiness 변화 값으로 저장 초기인 1-2일에서는 큰 차이를 보이지 않다가 저장 3일 이후 급격하게 낮아지는 것을 알 수 있었다. 특히 솔잎 분말 1.5% 첨가 쌀 찐빵의 경우 저장 3일까지는 다른 처리구와 큰 차이를 나타내지 않다가 이후 급격하게 하락하여 저장 7일에는 저장 초기에 비해 두 배 가까운 차이를 나타내었다.

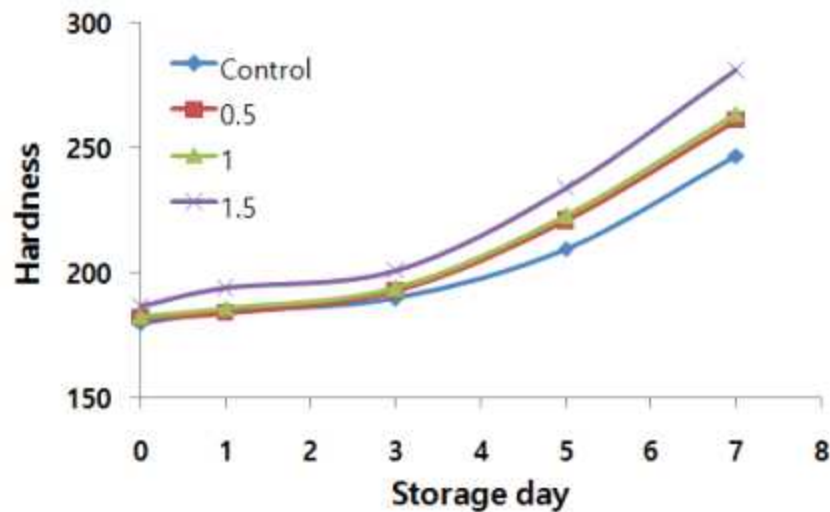


Fig. 24. Hardness of steamed bread with the addition of diverse pine needle powder.

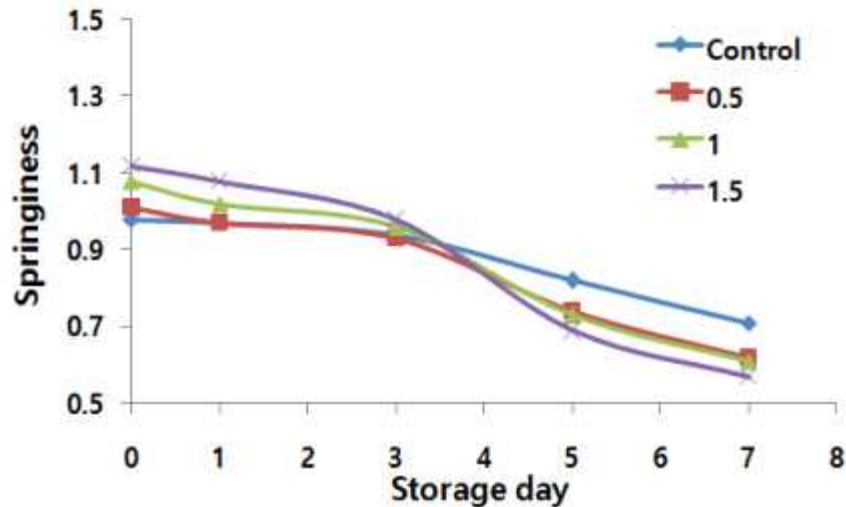


Fig. 25. Springiness of steamed bread with the addition of diverse pine needle powder.

수분활성 측정 : Fig. 26은 합기포장 후 20°C 조건에서 7일간 저장하면서 솔잎 쌀 찌빵조직 내의 수분활성도를 측정된 결과이다. 수분활성도는 제품의 저장성에 영향을 미칠 수 있는 인자 중의 하나이다. 저장초기 실험군 모두에서 0.96 정도로 유의적 차이를 나타내지 않았으나 저장 3-4일 이후 대조구에서 솔잎 분말 첨가군에 비해 낮은 수분활성도를 나타내었다.

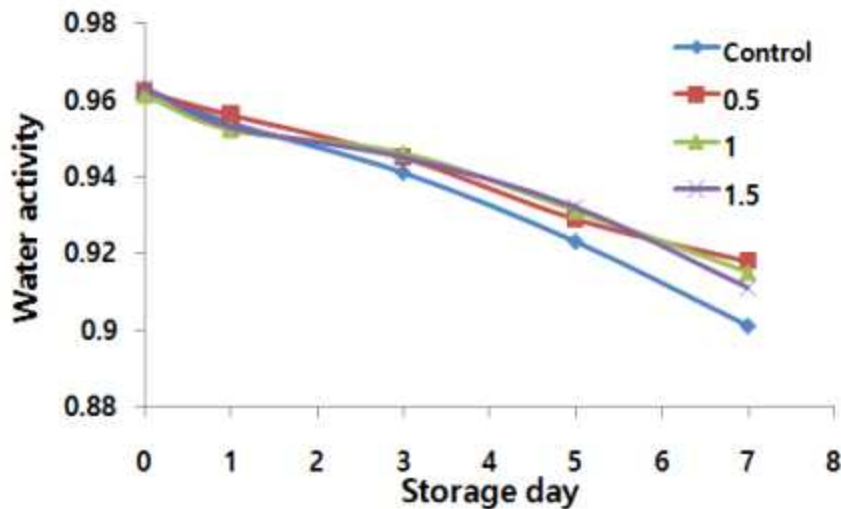


Fig. 26. Water activity of steamed bread with the addition of diverse pine needle powder.

미생물 측정 : Table 32는 솔잎 분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가한 쌀 찌빵의 7일간 저장하면서 총 곰팡이수의 변화를 살펴본 결과이다. 솔잎 쌀 찌빵의 저장일수별 생성된 총 곰팡이 수는 3번 반복하여 평균값으로 하였다. 저장 후 3일부터 솔잎 분말 1.5% 첨가 찌빵을 제외한 나머지 시료 모두에서 곰팡이가 생육하기 시작하였으며, 솔잎 분말 1.5% 첨가 찌빵의 경우 저장 5일째부터 곰팡이의 생육이 시작되어 저장 7일째  $6.22 \times 10^5$  CFU/g으로 가장 낮게 나타났다. 또한 솔잎 분말 1.0% 첨가의 경우 저장 5일에 각각  $4.81 \times 10^5$  CFU/g, 저장 7일째  $3.13 \times 10^6$  CFU/g으로 대조구나 솔잎분말 0.5% 첨가 찌빵보다는 강한 향곰팡이 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

Table 32. Total mold count of steamed bread with the addition of diverse pine needle powder during 7day incubation at 25°C

Sample	Total mold count(CFU <sup>1)</sup> /g)				
	0 day	1 day	3 day	5 day	7 day
Control	-	-	1.13×10 <sup>6</sup>	3.42×10 <sup>6</sup>	5.76×10 <sup>6</sup>
0.5	-	-	3.07×10 <sup>5</sup>	2.32×10 <sup>6</sup>	4.76×10 <sup>6</sup>
1.0	-	-	2.34×10 <sup>5</sup>	4.81×10 <sup>5</sup>	3.13×10 <sup>6</sup>
1.5	-	-	-	2.79×10 <sup>5</sup>	6.22×10 <sup>5</sup>

<sup>1)</sup>CFU : Colony Forming Unit

Control : 100% Rice steamed bread

### ⑦ 관능검사

솔잎 분말 0.5, 1.0 및 1.5% 첨가한 쌀 찜빵의 관능적 특성을 비교하기 위해 정량적 묘사분석(QDA : quantitative descriptive analysis)에 의한 관능검사 결과를 Table 33에 나타내었다. 외관평가에서 껍질색(crust color)은 대조구가 10.27, 솔잎 1.0%첨가 10.03으로 높게 나타났으며, 솔잎 1.5% 첨가에서 8.68로 유의적으로 낮게 나타났다. 그러나 내부색(crumb color)의 경우는 실험군 전체에서 8.07-8.80으로 유의적 차이를 나타내지 않았으며, Smoothness와 air cell size는 반대 경향으로 부드러운 결면을 가진 대조구, 솔잎 0.5, 1.0% 첨가에서 좋은 결과를 보인 반면, air cell size는 솔잎 분말 첨가 %가 높아 질수록 낮은 값을 나타내었다. Air cell uniformity 또한 air cell size와 같은 경향으로 솔잎 1.5% 첨가 수준에서 3.79로 낮게 나타났다.

솔잎 쌀 찜빵 특유의 솔잎 향은 대조구가 2.29, 솔잎 0.5%가 5.43, 솔잎 1.0%가 7.67, 솔잎 1.5%가 11.03으로 솔잎첨가량의 증가에 따라 쌀향 보다는 솔잎에 많은 영향을 받는 것으로 나타났다. 맛에서 단맛(sweetness)은 시료간 유의적 차이를 나타내지 않았다.

조직감(texture)에 있어 촉촉함(moistness)은 시료간 유의적 차이를 나타내지 않았으며, 탄력성(springiness)은 대조구가 11.00, 솔잎 0.5, 1.0%첨가가 각각 9.71, 9.50으로 높게 나타난 반면 솔잎 1.5% 첨가에서는 3.10으로 아주 낮은 값을 나타내었다.

위 측정 4가지 항목인 외관(appearance), 향(odor), 맛(taste), 조직감(texture)을 토대로 한 전반적인 기호도(overall acceptability)는 솔잎 첨가 1.0%에서 10.53로 다른 처리구에 비해 높게 나타나 전반적으로 기호도가 우수한 것을 알 수 있었다.

Table 33. QDA for sensory properties of steamed bread with the addition of diverse pine needle powder

Sensory properties		Sample			
		Control <sup>1)</sup>	0.5	1.0	1.5
Appearance	Crust color	10.27 <sup>a</sup>	9.28 <sup>a</sup>	10.03 <sup>a</sup>	8.68 <sup>b</sup>
	Crumb color	8.80 <sup>NS</sup>	8.12	8.72	8.07
	Smoothness	12.60 <sup>a</sup>	9.07 <sup>bc</sup>	11.87 <sup>ab</sup>	5.40 <sup>c</sup>
	Air cell size	6.18 <sup>c</sup>	11.35 <sup>ab</sup>	10.16 <sup>bc</sup>	12.32 <sup>a</sup>
	Air cell uniformity	13.41 <sup>a</sup>	7.78 <sup>c</sup>	10.40 <sup>b</sup>	3.79 <sup>d</sup>
Odor	Pine needle flavor	2.29 <sup>d</sup>	5.43 <sup>c</sup>	7.67 <sup>b</sup>	11.03 <sup>a</sup>
Taste	Sweetness	8.95 <sup>NS</sup>	8.82	8.88	8.90
Texture	Moistness	10.85 <sup>NS</sup>	11.16	11.20	11.22
	Springiness	11.00 <sup>a</sup>	9.71 <sup>b</sup>	9.50 <sup>b</sup>	3.10 <sup>c</sup>
Overall acceptability		9.75 <sup>a</sup>	9.82 <sup>a</sup>	10.53 <sup>a</sup>	3.99 <sup>b</sup>

Mean ± SD (n=20).

<sup>1)</sup>Control : 100% Rice steamed bread

Means with the same superscripts in each row are not significantly different (p<0.05).

(다) 요약

100% 쌀가루를 이용한 찜빵 제조를 위해 활성 글루텐의 사용범위를 파리노그래프로 확인한 결과 찜빵의 제조시 유용한 활성글루텐의 첨가 %는 12-15% 정도임이 확인 되어 활성글루텐 최소사용인 12%가 적합하리라 사료된다.

반죽의 작업적성은 솔잎 분말 0.5, 1.0, 1.5% 첨가 %에 관계없이 유의적 차이를 나타내지 않았고, pH는 대조구 및 솔잎 분말 첨가 반죽 모두가 각각 5.70, 5.76, 5.82, 5.87로 빵 반죽의 초기 pH는 5.7-5.9의 정상반죽임을 알 수 있다.

솔잎 쌀 찜빵의 체적은 대조구가 83.13으로 가장 크고 솔잎 분말의 첨가량이 증가할수록 유의적으로 감소하였으나, 비용적의 경우는 실험군 전체에서 유의적 차이를 나타내지 않았다. 쌀 찜빵의 주관적 품질평가의 내/외적 평가에서 대조구, 솔잎 분말 첨가 0.5, 1.0%까지 유의적 차이를 나타내지 않았다.

솔잎 쌀 찜빵의 7일간 저장 중 texture변화는 hardness와 springiness 모두에서 저장 3-4일 이후부터 변화를 나타내기 시작하였으며, 솔잎 분말 1.5% 첨가 쌀 찜빵에서 두드러지게 나타났다.

함기포장 후 20℃ 조건에서 7일간 저장동안의 수분활성도는 저장 3-4일 이후 대조구에서 솔잎 분말 첨가군에 비해 낮은 수분활성도를 나타내었고, 항공팽이 활성의 경우 솔잎 분말 1.0,

1.5%에서 높게 나타났다.

관능검사 결과 솔잎 분말 첨가 %가 높아질수록 외관(appearance)에 좋지 않은 영향을 미쳤으며, 솔잎 향은 솔잎 분말 첨가 %가 높은 1.5에서 11.03으로 높게 나타났다. 조직감에서 탄력성 또한 솔잎 분말 첨가 %가 높은 1.5에서 낮은 값을 나타내었고, 전반적인 기호도(overall acceptability)는 솔잎 첨가 1.0%에서 10.53로 다른 처리구에 비해 높게 나타나 기호도가 우수한 것을 알 수 있었다.

(3) 2부 : 반응표면분석(Response Surface Methodology:RSM)을 이용한 찜빵용 충전물의 개발에 따른 최적배합비 탐색

: 솔잎 쌀 찜빵의 다양성을 위해 반응표면분석(RSM)을 통한 찜빵용 소(충전물)의 배합비를 제시하고 최종적으로 소비자 관능검사를 통한 소(충전물)의 최적배합비를 규명하고자 하였다.

(가) 실험 재료 및 방법

#### ① 재료

솔잎 쌀 찜빵용 소(충전물)의 제조를 위한 재료로 감자분말(은진물산), 마요제즈(오뚜기), 소금(한주), 올리고당(백설), 피자소스(오뚜기), 불고기소스(청정원), 양파, 브로콜리, 소고기, 당근을 지역 대형유통 마트에서 구매하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 감자분말은 감자분말 86.2%, 유청분말 8.1%, 유당 4.2%, 정제염 1.5%, 텍스트린 7.25%, 백설탕 2%가 포함된 분말을 사용하였다.

#### ② 솔잎 쌀 찜빵용 소(충전물)의 제조

솔잎 쌀 찜빵용 소(충전물)의 제조 공정은 Fig. 27, 28, 29와 같다. 즉, Vegetables patty의 경우 mash Potato에 동량의 물을 넣고 Fig. 27과 같이 믹싱하면서 마요네즈를 첨가하여 부드러운 상태가 되게 한다. 첨가된 야채의 경우 뜨거운 물에 데친 후 식혀 브로콜리(mash Potato 반죽 중량의 22%), 양파(20%), 당근(10%) 등을 첨가하여 균일하게 혼합한 후 냉장(20분) 휴지하고 충전제로 사용할 형태에 따라 성형한다. Pizza patty의 경우 또한 Vegetables patty와 같은 방법으로 믹싱하고 Pizza sauce를 이용하여 부드러운 상태가 되게 한 후 치즈를 첨가하여 냉장 휴지 후 성형한다. Bulgogi patty는 불고기 소스를 이용하여 위의 방법으로 부드럽게 한 후 다진 쇠고기를 볶아 혼합한 후 냉장 휴지 후 성형한다.



Fig. 27. photograph of vegetables patty making procedure.



Fig. 28. photograph of pizza patty making procedure.



Fig. 29. photograph of bulgogi patty making procedure.

### ③ 실험설계

실험설계는 반응표면분석법(RSM: response surface methodology)을 이용하여 중심합성계획법(CCD: central composite design)으로 설계하였다. 독립변수(independent variables)는 올리고당(X1), 소금(X2), 마요네즈/피자소스/불고기소스(X3)를 3개의 요인으로 하고 종속변수(response variables)는 전반적인 기호도로 하였다. 여러 번의 예비실험을 통하여 각 요인에 대한 최소 및 최대의 범위를 각각 올리고당은 4.5~31.5%, 소금은 0.7~9.2%, 마요네즈는 3.2~36.8%로 결정하였으며 -1.68, -1.0, 1, 1.68의 5단계로 부호화하여 구간을 설정하였다.

#### (나) 야채 충전물의 최적배합비 확립

##### ① 반응표면분석(RSM)의 혼합비율에 따른 전반적 기호도

반응표면분석을 위해 올리고당, 소금, 마요네즈의 혼합비율에 따라 전반적인기호도를 측정하였고, 그 결과는 Table 34와 같다.

Table 34. Response of dependent variables to reaction conditions for independent variables

No	Independent variables			Response variable
	Oligosaccharide (%)	Salt (%)	Mayonnaise (%)	Overall -acceptability
1	18	5	20	7.93
2	10	7.5	10	6.01
3	18	5	3.1821	5.89
4	4.5457	5	20	6.88
5	31.4543	5	20	7.01
6	18	5	20	7.49
7	18	9.20448	20	7.25
8	18	5	36.8179	6.25
9	26	7.5	30	6.22
10	18	5	20	8.09
11	10	7.5	30	7.22
12	26	2.5	30	6.89
13	18	5	20	7.99
14	10	2.5	10	6.33
15	26	7.5	10	6.02
16	10	2.5	30	6.41
17	18	0.79552	20	6.37
18	26	2.5	10	6.01
19	18	5	20	8.09
20	18	5	20	7.92

중심 합성계획에 의해 실험을 실시하여 얻은 전반적인 기호도 결과 값(Table 34)을 이용하여 반응표면회귀분석을 실시하였다. 상수항, 마요네즈( $X_3$ ), 올리고당( $X_1$ ) $\times$ 올리고당( $X_1$ ), 소금( $X_2$ ) $\times$ 소금( $X_2$ )마요네즈( $X_3$ ) $\times$ 마요네즈( $X_3$ )의 계수는 유의한 항으로 나타나났다(Table 2). 그리고 올리고당( $X_1$ ), 소금( $X_2$ ), 마요네즈( $X_3$ )의 quadratic 영향 또한 모두 유의적으로 나타났고, 각 변수들 간의 상호작용은 전반적인 기호도에 영향을 주지 않았다(Table 36). 적합 결여 검증(lack of fit test)에서는 0.05보다 큰 값을 나타내어 설계된 반응모형이 완전한 것으로 나타났으나(Table 37), 결정계수( $R^2$ )는 0.901이 었으며, 전체적인 모형(total regression)이 유의적인 것으로 나타나( $P < 0.05$ )



가정된 반응 모형이 적합한 것으로 판단되었다.

Table 35. Estimated coefficients of the fitted quadratic polynomial equation for different responses based on *t*-statistic

	Overall acceptability	
	Coefficient	p-value
Intercept	7.92286	0.000
X1)	-0.04477	0.639
X2	0.09592	0.325
X3	0.21787	0.040
X1X1	-0.37369	0.002
X2X2	-0.42142	0.001
X3X3	-0.68305	0.000
X1X2	-0.14375	0.262
X1X3	-0.02625	0.833
X2X3	0.05625	0.652

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>, Oligosaccharide; X<sub>2</sub>, Salt; X<sub>3</sub>, Mayonnaise

Table 36. Analysis of variance of the regression parameters of the predicted response surface quadratic models

Regression		DF	Sum of square	F-value
Overall acceptability	Linear	3	0.8013	2.28
	Quadratic	3	9.6447	27.46*
	Cross product	3	0.1961	0.56
	Total model	9	10.6422	10.10*

Table 37. Analysis of variance for the predicted response surface quadratic models

Residual		DF	Sum of square	Mean square	F-value
Overall acceptability	Lack of fit	5	0.9232	0.18464	3.73
	Pure error	5	0.2477	0.04954	
	Total error	10	1.1709	0.11709	

Table 35의 결과를 바탕으로 반응모형 방정식을 작성하면 Table 38와 같다. 마요네즈 혼합 충전물의 전반적인 기호도를 가장 높일 수 있는 세 가지 물질의 혼합 최적 조건을 반응표면 분석법을 이용하여 도출하였으며, 전반적인 기호도에서 올리고당, 소금, 마요네즈의 혼합 효과는 Fig. 30.과 같다.

Table 38. Polynominal equations calculated by RSM program for sauce with addition of oligosaccharide, salt, and mayonnaise

Response	Polynomial equation	R <sup>2</sup> <sup>1)</sup>	Significance
Overall acceptability	$Y = 7.92286 - 0.04477X_1 + 0.09592X_2 + 0.21787X_3 - 0.37369X_1^2 - 0.42142X_2^2 - 0.68305X_3^2$	0.901	0.001 <sup>**2)</sup>

<sup>1)</sup>R<sup>2</sup>=Coefficient of determination

<sup>2)\*\*</sup> Significant at  $P < 0.01$

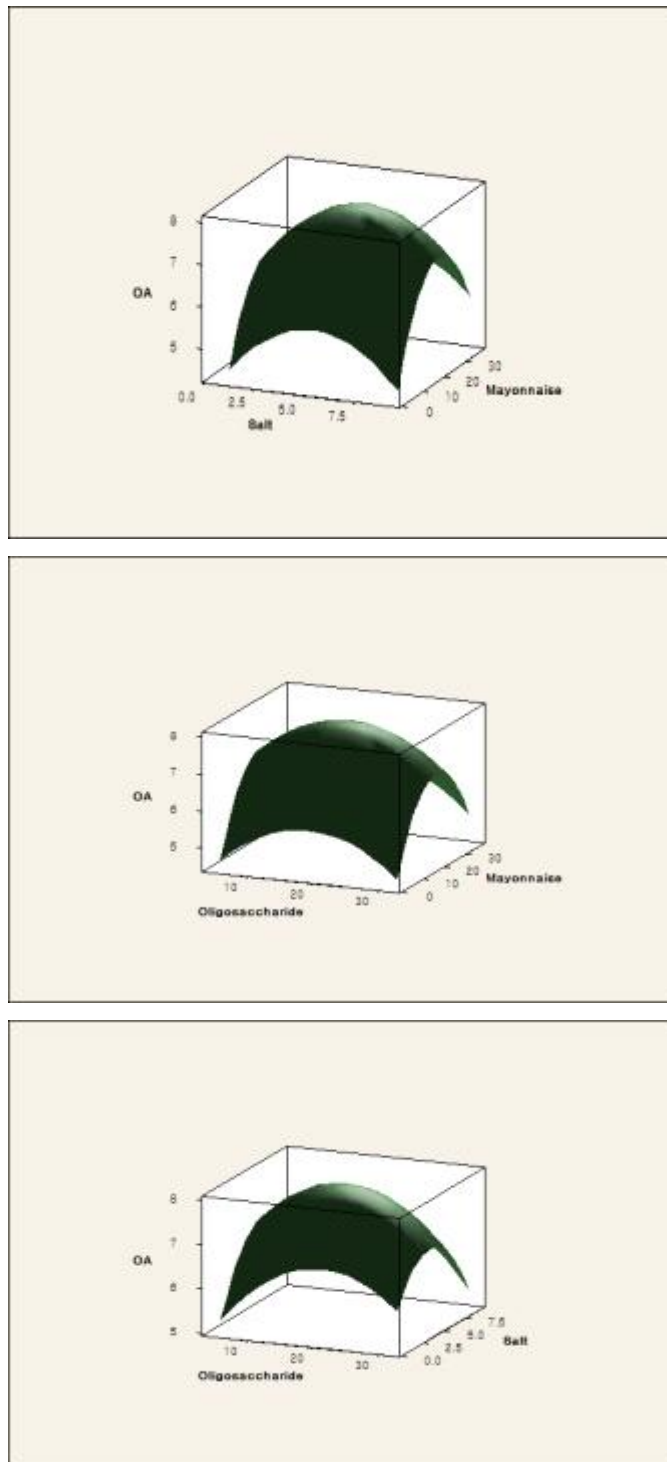


Fig. 30. Response surface for overall acceptability of mayonnaise sauce

② 반응표면분석에 의한 최적배합비

반응표면분석에 의한 올리고당, 소금, 마요네즈 혼합 충전물의 최적배합비는 Table 39에 제시하였다. 최적배합비에 따른 전반적 기호도의 예측값은 8.02 였으나 실제 혼합충전물을 제조하여 최종적으로 평가하였을 때는 8.41로 예측값보다 높은 값을 보여 상품화 가능성을 제시하는 결과로 사료된다.

Table 39. Optimum condition of a sauce mixed with oligosaccharide, salt, and mayonnaise

	Oligosaccharide	Salt	Mayonnaise
Optimum condition	19.07%	5.40%	21.84%

Table 40. Comparing between predicted and observed values of response variables at the given condition within the range of optimum mixture conditions

Response variable	Experimental value	Predicted value
Overall-acceptability	8.41 ± 0.13	8.02

(다) 피자 충전물의 최적배합비 확립

① 반응표면분석(RSM)의 혼합비율에 따른 전반적 기호도

반응표면분석을 위해 올리고당, 소금, 피자소스의 혼합비율에 따라 전반적인기호도를 측정하였고, 그 결과는 Table 41과 같다.

Table 41. Response of dependent variables to reaction conditions for independent variables

No	Independent variables			Response variable
	Oligosaccharide (%)	Salt (%)	Pizza sauce (%)	Overall -acceptability
1	10	10	2.5	30
2	20	20	7.5	20
3	15	15	5	25
4	15	15	5	25
5	15	15	5	25
6	6.591	6.591	5	25
7	15	15	5	25
8	15	15	5	16.591
9	15	15	5	33.409
10	10	10	2.5	20
11	15	15	9.20448	25
12	20	20	2.5	20
13	23.409	23.409	5	25
14	20	20	2.5	30
15	10	10	7.5	30
16	15	15	5	25
17	10	10	7.5	20
18	15	15	5	25
19	20	20	7.5	30
20	15	15	0.79552	25

중심 합성계획에 의해 실험을 실시하여 얻은 전반적인 기호도 결과 값(Table 41)을 이용하여 반응표면회귀분석을 실시하였다. 상수항, 소금( $X_2$ ), 피자소스( $X_3$ )의 계수만 유의한 항으로 나타났다(Table 42). 그리고 올리고당( $X_1$ ), 소금( $X_2$ ), 마요네즈( $X_3$ )의 1차항은 유의적으로 나타났고, 2차항과 각 변수들간의 상호작용은 전반적인 기호도에 영향을 주지 않았다(Table 43). 적합 결여 검증(lack of fit test)의 P값은 0.937로 설계된 반응모형이 완전한 것으로 나타났으며(Table 44), 결정 계수( $R^2$ )는 0.776이었으며, 전체적인 모형(total regression)도 유의한 것으로 나타났다.

Table 42. Estimated coefficients of the fitted quadratic polynomial equation for different responses based on *t*-statistic

	Overall acceptability	
	Coefficient	p-value
Intercept	6.24520	0.000
$X_1$ <sup>1)</sup>	0.18226	0.278
$X_2$	-0.48946	0.012
$X_3$	0.60249	0.004
$X_1X_1$	0.15545	0.338
$X_2X_2$	-0.16982	0.298
$X_3X_3$	-0.04961	0.755
$X_1X_2$	0.15250	0.479
$X_1X_3$	0.25750	0.243
$X_2X_3$	-0.45000	0.055

<sup>1)</sup> $X_1$ , Oligosaccharide;  $X_2$ , Salt;  $X_3$ , Mayonnaise

Table 43. Analysis of variance of the regression parameters of the predicted response surface quadratic models

Regression	DF	Sum of square	F-value
Overall acceptability			
Linear	3	8.6828	3.84*
Quadratic	3	0.8820	0.85
Cross product	3	2.3365	2.26
Total model	9	11.9014	3.84*

Table 44. Analysis of variance for the predicted response surface quadratic models

Residual		DF	Sum of square	Mean square	F-value
Overall acceptability	Lack of fit	5	0.9778	0.1956	0.40
	Pure error	5	2.4665	0.4933	
	Total error	10	3.4443	0.3444	

Table 42의 결과를 바탕으로 반응모형 방정식을 작성하면 Table 45와 같다. 피자 혼합 충전물의 전반적인 기호도를 가장 높일 수 있는 세가지 물질의 혼합 최적 조건을 반응표면 분석법을 이용하여 도출하였으며, 전반적인 기호도에서 올리고당, 소금, 피자소스의 혼합 효과는 Fig. 31과 같다.

Table 45. Polynominal equations calculated by RSM program for sauce with addition of oligosaccharide, salt, and pizza sauce

Response	Polynomial equation	R <sup>2</sup> <sup>1)</sup>	Significance
Overall acceptability	Y=6.2452-0.48946X <sub>2</sub> +0.60249X <sub>3</sub>	0.776	0.024 <sup>**2)</sup>

<sup>1)</sup>R<sup>2</sup>=Coefficient of determination

<sup>2)\*\*</sup> Significant at  $P<0.01$

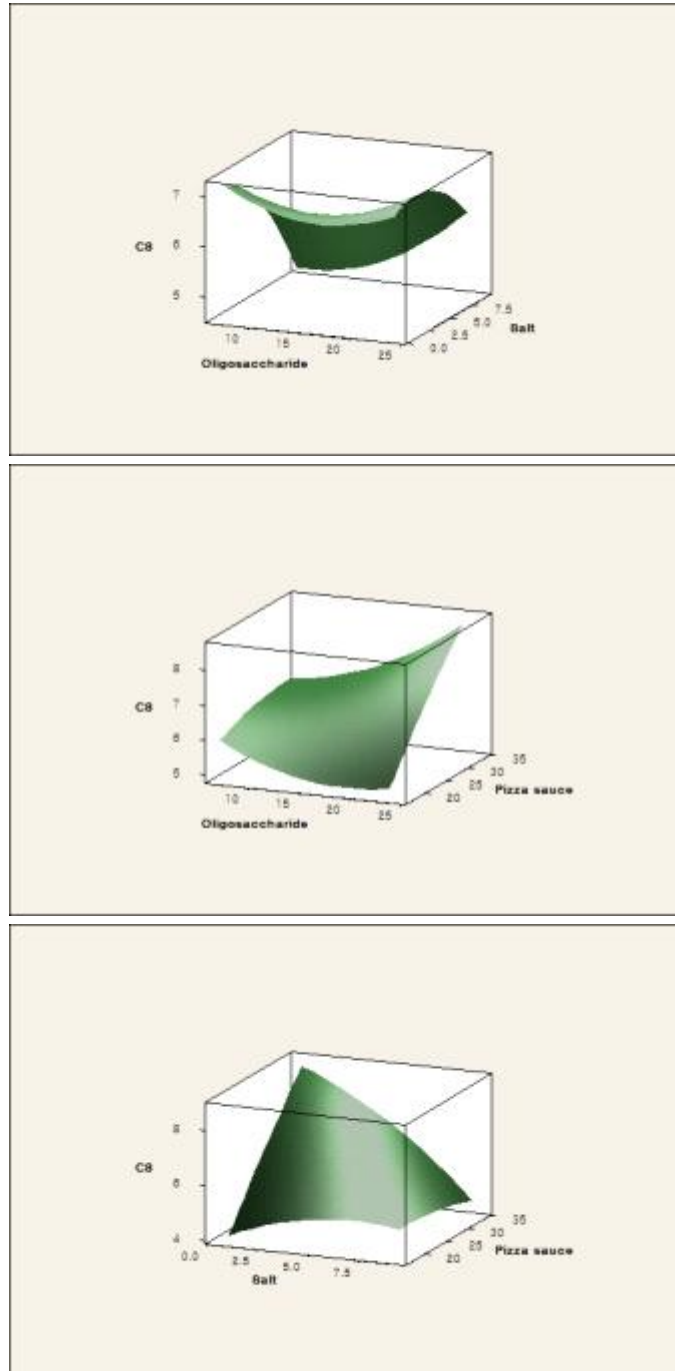


Fig. 31. Response surface for overall acceptability of pizza sauce



② 반응표면분석에 의한 최적배합비

혼합물계획법에 의한 올리고당, 소금, 피자소스 혼합 충전물의 최적배합비는 Table 46에 제시하였다. 통계에서 제안한 전반적인 기호도와 최적배합비에 따라 피자 혼합 충전물을 제조한 후 전반적인 기호도를 비교하였을 때 유의성이 보이지 않고, 우수한 기호도를 나타내었다.

Table 46. Optimum condition of a sauce mixed with oligosaccharide, salt, and pizza sauce

	Oligosaccharide	Salt	Pizza sauce
Optimum condition	16.98%	0.80%	33.41%

Table 47. Comparing between predicted and observed values of response variables at the given condition within the range of optimum mixture conditions

Response variable	Experimental value	Predicted value
Overall-acceptability	8.9±0.1	8.9

(라) 불고기 충전물의 최적배합비 확립

① 반응표면분석의 혼합비율에 따른 전반적 기호도

반응표면분석을 위해 올리고당, 소금, 불고기 소스의 혼합비율에 따라 전반적인 기호도를 측정하였고, 그 결과는 Table 48과 같다.

Table48. Response of dependent variables to reaction conditions for independent variables

No	Independent variables			Response variable
	Oligosaccharide (%)	Salt (%)	Bulgogi sauce (%)	Overall -acceptability
1	23.409	3	15	5.46
2	10	4	10	5.78
3	20	2	20	6.24
4	15	4.68179	15	7.12
5	15	3	23.409	6.01
6	15	3	15	7.25
7	15	3	15	7.61
8	10	4	20	6.35
9	10	2	20	6.91
10	15	3	15	7.03
11	15	3	6.591	5.89
12	6.591	3	15	5.88
13	10	2	10	6.32
14	15	3	15	6.98
15	15	1.31821	15	6.35
16	15	3	15	7.09
17	20	4	10	6.25
18	20	4	20	5.87
19	20	2	10	5.12
20	15	3	15	7.12

중심 합성계획에 의해 실험을 실시하여 얻은 전반적인 기호도 결과 값(Table 48)을 이용하여 반응표면회귀분석을 실시하였다. 상수항, 올리고당( $X_1$ ), 올리고당( $X_1$ )×올리고당( $X_1$ ), 불고기 소스( $X_3$ )×고기 소스( $X_3$ )의 계수는 유의한 항으로 나타나났다(Table 49). 그리고 올리고당( $X_1$ ), 소금

(X<sub>2</sub>), 마요네즈(X<sub>3</sub>)의 2차항은 유의적으로 나타났고, 1차항과 각 변수들간의 교차작용은 전반적인 기호도에 영향을 주지 않았다(Table 50). 적합 결여 검증(lack of fit test)의 P값은 0.154로 설계된 반응모형이 완전한 것으로 나타났으며(Table 51), 결정계수(R<sup>2</sup>)는 0.888이었으나, 전체적인 모형(total regression)이 유의적인 것으로 나타났다.

Table 49. Estimated coefficients of the fitted quadratic polynomial equation for different responses based on *t*-statistic

	Overall acceptability	
	Coefficient	p-value
Intercept	7.17835	0.000
X <sub>1</sub> <sup>1)</sup>	-0.18938	0.048
X <sub>2</sub>	0.06993	0.425
X <sub>3</sub>	0.15390	0.097
X <sub>1</sub> X <sub>1</sub>	-0.52309	0.000
X <sub>2</sub> X <sub>2</sub>	-0.14655	0.104
X <sub>3</sub> X <sub>3</sub>	-0.42409	0.000
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.23250	0.060
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-0.05250	0.643
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	-0.19000	0.114

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>, Oligosaccharide; X<sub>2</sub>, Salt; X<sub>3</sub>, Mayonnaise

Table 50. Analysis of variance of the regression parameters of the predicted response surface quadratic models

Regression	DF	Sum of square	F-value
Overall acceptability Linear	3	0.8801	3.04
Quadratic	3	6.0137	20.76*
Cross product	3	0.7433	2.57
Total model	9	7.6370	8.79*

Table 51. Analysis of variance for the predicted response surface quadratic models

Residual	DF	Sum of square	Mean square	F-value
Overall acceptability Lack of fit	5	0.7014	0.14028	0.154
Pure error	5	0.2640	0.05280	
Total error	10	8.6025		

Table 49의 결과를 바탕으로 반응모형 방정식을 작성하면 Table 52와 같다. 불고기 혼합 충전물의 전반적인 기호도를 가장 높일 수 있는 세 가지 물질의 혼합 최적 조건을 반응표면 분석법을 이용하여 도출하였으며, 전반적인 기호도에서 올리고당, 소금, 불고기소스의 혼합 효과는 Fig. 32와 같다.

Table 52. Polynominal equations calculated by RSM program for sauce with addition of oligosaccharide, salt, and bulgogi sauce

Response	Polynomial equation		R <sup>2</sup> <sup>1)</sup>	Significance
Overall acceptability	Y=7.17835-0.18938X <sub>1</sub> - 0.52309X <sub>2</sub> <sup>2</sup> 0.42409X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-	0.888	0.001 <sup>**2)</sup>

<sup>1)</sup>R<sup>2</sup>=Coefficient of determination

<sup>2)\*\*</sup> Significant at  $P < 0.01$

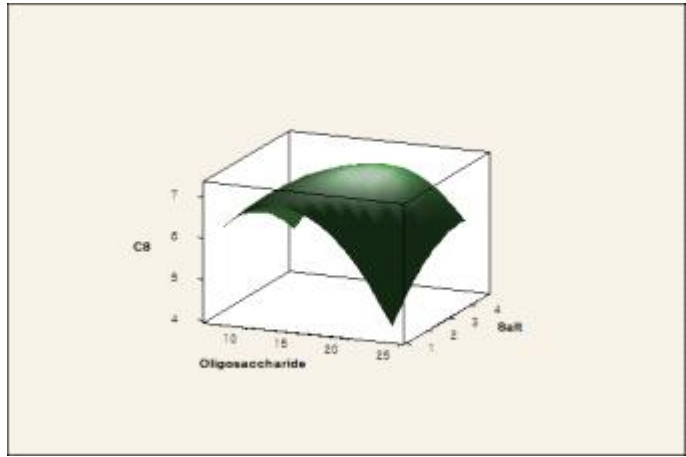
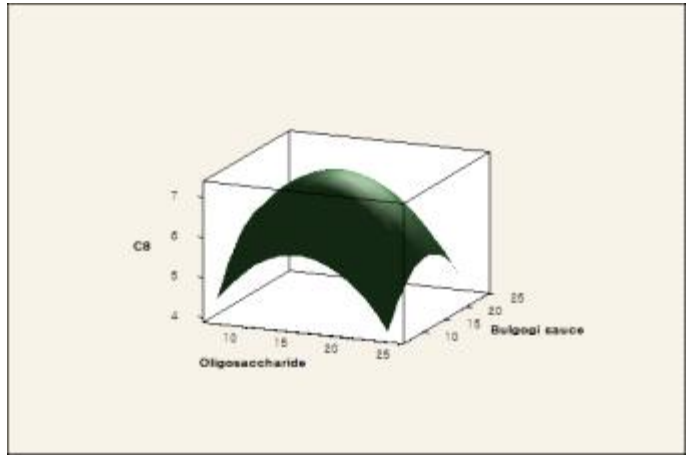
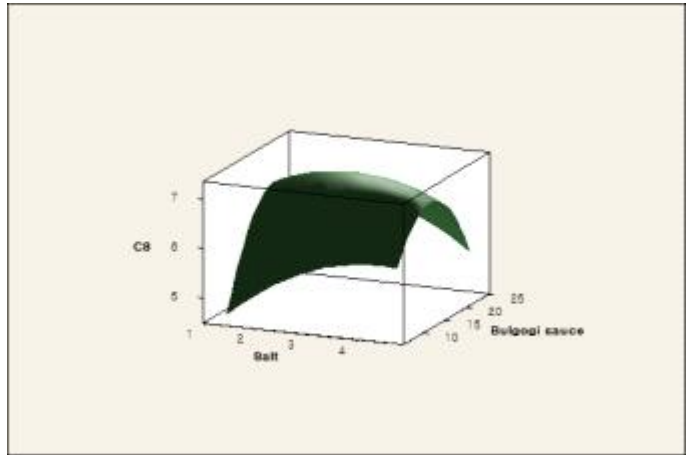


Fig. 32. Response surface for overall acceptability of Bulgoki sauce

② 반응표면분석에 의한 최적배합비

혼합물계획법에 의한 올리고당, 소금, 불고기소스 혼합 충전물의 최적배합비는 Table 53에 제시하였다. 통계 분석에서 도출된 최적배합비에 따라 불고기소스 혼합 충전물 제조시 예측한 전반적 기호도는 7.18이었으나, 실제 제조 후 전반적 기호도 평가 시에는 8.6으로 향상되어 불고기소스 혼합 충전물의 상품화 가능성을 나타내는 결과로 사료된다.

Table 53. Optimum condition of a sauce mixed with oligosaccharide, salt, and Bulgogi sauce

	Oligosaccharide	Salt	Bulgogi sauce
Optimum condition	14.45%	3.16%	15.92%

Table 54. Comparing between predicted and observed values of response variables at the given condition within the range of optimum mixture conditions

Response variable	Experimental value	Predicted value
Overall-acceptability	8.6±0.7	7.18

(마) 요약

다양한 찜빵 충전물을 개발하기 위해 야채 충전물, 피자소스 충전물, 불고기 충전물의 최적 배합비를 반응표면분석을 실시하였다. 첫 번째, 야채 충전물의 반응모형은 적합한 것으로 나왔으며, 전체적인 모형은 유의성을 나타내었다. 야채 충전물의 최적배합비는 찜빵 100 g에 대해 올리고당 19.07%, 소금 5.40%, 마요네즈는 21.84%로 설정되었고, 전반적인 기호도의 예측치보다 실제 제조하였을 때 향상된 전반적인 기호도를 보였다. 두 번째 피자소스 충전물의 반응모형은 적합하였으며, 전체 모형은 유의하였다. 피자소스 충전물의 최적배합비는 올리고당 23.40%, 소금 3.85%, 피자소스 33.41%로 설정되었으며, 이와 같은 배합비로 제조시 피자소스 충전물 전반적 기호도의 예측치는 8.9였고, 실측치도 8.98로 예상값이 재현이 되었다. 세 번째 불고기 소스 역시 적합한 반응 모형과 유의한 전체 모형을 나타내었으며, 이 때 최적배합비는 올리고당 14.45%, 소금 3.16%, 불고기소스 15.92%였다. 그리고 전반적인 기호도의 예측치는 7.18이었으나, 실제 제조하여 전반적 기호도 평가 시 8.6으로 향상되었음을 확인 할 수 있었다. 따라서 다양한 찜빵 충전물의 최적배합비 개발을 통해 제품의 다양성은 찜빵 가공·산업화에 적극 이바지 할 수 있을 것이라 생각된다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

#### 1. 제(2-2)세부연구과제: 기능성 떡 제품의 대사성질환 개선 효과 규명

구분	연구목표	세부연구내용	달성도	
1차 년도	전처리조건 및 사용한 제분기의 형태에 따른 쌀가루의 이화학적 특성 분석 및 이를 이용한 솔잎 첨가 떡 제조의 최적배합비 개발	○ 습식제분된 쌀가루의 전처리로 저장 유통의 편이성과 안정성이 확보된 쌀가루의 제조	100	%
		○ 쌀가루의 이화학적 특성 분석을 통한 설기떡 제조에 적합한 쌀가루의 제조	100	%
		○ 제조된 쌀가루를 이용한 설기떡의 물리화학적 특성을 분석 및 관능검사를 통한 최적 설기떡 배합비 규명	100	%
		○ 솔잎액 첨가 설기떡의 최적배합비 규명	100	%
2차 년도	제조 공정개선을 위한 솔잎 및 당의 종류를 달리한 증편의 제조 - 공정개선을 위한 증편 반죽의 품질특성을 규명 - 솔잎 분말 첨가량을 달리한 증편 반죽의 품질특성 규명	○ 증편 반죽의 물성 개량 및 전통적 증편에 가장 유사한 증편의 개발(공정개선) ○ 증편의 재조시간 단축방안 모색	100	%
		○ 당의 종류(Sucrose, Xylitol, Oligosaccharide 및 Dextrin)를 달리 하여 제조한 증편의 반죽 특성 및 이화학적 특성 분석	100	%
		○ 당의 종류(Sucrose, Xylitol, Oligosaccharide 및 Dextrin)를 달리 하여 제조한 증편의 노화 특성 분석 및 관능적 특성 분석에 의한 배합비 도출	100	%
		○ 솔잎 분말의 사용에 따른 증편의 반죽 특성, 이화학적 특성 분석, 화특성 분석 및 관능적 특성 분석에 의한 배합비 도출	100	%

3차 년도	솔잎 분말을 첨가한 기능성 제품의 개발 및 충전물의 개발에 따른 최적 배합비 탐색 - 솔잎 분말을 첨가한 기능성 제품의 개발 - 반응표면 분석을 활용한 충전물의 최적배합비 탐색	○ 100% 쌀가루 찌빵제조를 위한 활성글루텐의 첨가 정도의 확립(파리노그래프 활용)에 따른 제조공정 확립.	100	%
		○ 솔잎 분말의 첨가량에 따른 찌빵의 물성 개량 및 제조한 찌빵의 반죽 특성 및 이화학적 특성 분석	100	%
		○ 함기포장을 통한 솔잎 쌀 찌빵의 저장특성 분석 ○ 솔잎 쌀 찌빵의 물리화학적 특성 분석 및 관능검사를 통한 최적 배합비 규명	100	%
		○ 소비자의 수용도를 충족시킬 수 있는 솔잎 쌀 찌빵 충전물(야채, 피자 및 불고기)의 반응표면분석을 활용한 최적배합비 확립 및 관능검사를 통한 검증	100	%



## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### 1절 실용화 및 산업화 계획(기술실시 등)

#### 활용방안

- 관련 식품업체에 기술전수에 의한 산업화.
- 쌀 가공식품의 다양화로 지역 관광 상품화 및 명품화를 통한 지역경제 발전.
- 제품개발의 전단계에 전문기관 지원체제.
- 개발된 제품의 테스트 및 피드백으로 활용.
- 쌀 가공제품용 쌀가루의 제조로의 다양한 상품에 활용을 통한 침체된 외식산업의 활성화.
- 쌀 및 쌀가공품(떡류, 베이커리류)의 새로운 소비 활로 개척.
- 쌀 가공제품용 쌀가루의 제조 및 떡류 개발을 위한 일련의 연구방법을 습득한 전문 인력의 배출.
- 영세농가의 소득증대와 일자리 창출에 활용.
- 생산자 단체를 통한 자원개발을 위한 전문인력 배출.
- 떡류가공 제품의 개발 확보를 통한 산업화.
  - 떡류의 물성개량 및 포장법의 개선으로 저장성 향상.
  - 냉동 유통을 통한 안정성 확보.
  - 기능성 부재료를 이용한 식품(가공식품, low glycemic index Food)개발
- 떡류가공품의 국내외 판매망과 수요처 확보로 최적 마케팅 전략 구축을 통한 기업화.
  - 합리적이고 전문적인 마케팅 전략으로 안정적인 판매망과 새로운 해외시장 개척.
- 1·2차년도 연구결과 솔잎이 첨가된 증편과 찌방의 미생물 실험, 수분활성 측정, pH 변화 측정 및 저장동안의 떡의 노화(굳어짐 현상)정도를 분석하였고, 솔잎의 첨가는 떡의 안정성에 도움이 되는 것으로 확인되었음. 일반 제품이 판매되기 위해 냉동/냉장 보관에 미생물 실험, 수분활성 측정, pH 변화 측정 및 저장동안의 떡의 노화(굳어짐 현상)정도에 대한 분석에 대해서는 (주)에다손과 협의하여 문제점을 해결할 계획임.
  - 실험실 수준에서 냉동/냉장 보관에 따른 변화 분석
  - 실제 매장에 비치된 냉동/냉장고에서 변화 분석

### 2절 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획

#### 1. 제(2-2)세부연구과제: 쌀가루 제조의 최적화와 기능성 떡제품의 개발

##### 가. 기술이전

- (1) ‘쌀 찌방 제조용 충전물의 제조 기술’ 기술이전, 기술전수자: 창신대학 김래영, 기술이수자: (주)에다손, 이전년도: 2014

(2) '쌀가루를 이용한 찜빵제조 기술' 기술이전, 기술전수자: 창신대학 김래영, 기술이수자: (주) 예다손, 이전년도: 2014

나. 특허 성과

(1) 솔잎 착즙액을 유효성분으로 함유하는 대사증후군 개선 기능성 떡. 경남대학교 산학협력단, 한국, 출원번호: 10-2012-0101376, 출원연도: 2012

다. 논문게재 성과

(1) 발효과정이 솔잎 착즙액의 항산화, alpha-glucosidase 및 angiotensin converting enzyme 저해 활성에 미치는 영향. 김소윤, 이현정, 박재희, 김래영, 정현숙, 박은주. 한국식품영양과학회지. 43(3): 325-334. 2013

(2) Optimization of Sulgidduk formula supplemented with pine needle (*Pinus densiflora* sieb, et zucc) juice using response surface methodology. Jae-Hee Park, So-Yun Kim, Hyun-Jeong Lee, Rae-Young Kim, Eunju Park. Food Science and biotechnology. 22(4): 1105-1111. 2013

(3) 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡의 가열조리에 따른 항산화 및 항유전독성 효능 검증. 이현정, 김소윤, 박재희, 김래영, 박은주. 한국식품조리과학회지. 29(5): 453-462. 2013

라. 학술대회 발표 성과

(1) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Kim RY, Park E. Effect of fermentation of pine needle juice on antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. *Oxygen Club of California for consideration at the World Congress of Alba*. p. 128, 20<sup>th</sup> June, 2012, Alba, Italy (Poster)

(2) 김래영, 박재희, 박은주, 전순실. 쌀가루 제조조건에 따른 설기떡의 품질특성. 2012 한국식품영양학회 국제 심포지엄. p. 329, 2012년, 제주, 대한민국(Poster)

(3) Park JH, Kim SY, Lee HJ, Kim RY, Park E. Optimization of rice cake preparation added with pine needle (*Pinus Sylvestris*) juice by response surface methodology. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 419, 1<sup>st</sup> Nov, 2012, Jeju, Korea (Poster)

(4) Kim SY, Lee HJ, Park JH, Kim RY, Park E. Change of Antioxidative and Antigenotoxic Effects after Cooking Process of Sulgidduk Containing Pine Needle Juice. *The Korean Society of Food Science and Nutrition*. p. 467, 1<sup>st</sup> Nov, 2012, Jeju, Korea (Poster)

## 제 6 장 참고문헌

1. 강인희, 조후종, 이춘자, 이효지, 조신호, 김혜영, 김종채 2000. 한국음식대관. 한림, 서울 p102.
2. Lee HG, Lee EM, Cha GH. 2005. Sensory and mechanical characteristics of shinsunchosulgi by different ratio of ingredient. Korean J Food Cookery Sci 21: 422-432.
3. Hong HJ, Choi JH, Yang JA, Kim GY, Rhee SJ. 1999. Quality characteristics of seolgiddeok added with green tea powder. Korean J Food Cookery Sci 15: 224-230.
4. Mang HY, Lee HG. 1988. Abibliographical study of dock(Korean rice cake). Korean J Dietary Culture 3: 153-162.
5. 윤숙자. 2001. 한국의 떡·한과·음청류. 지구문화사, 서울, p9-11.
6. 한복려. 1999. 쉽게 맛있게 아름답게 만드는 떡. (사)궁중음식연구원, p24-27.
7. Park JY, Ryu GH. 2006. Effect of steaming pressure and time and storage period on quality characteristics of baeksulgi. Korean J Food Preserv 13: 174-179.
8. Jun HI, Yang EJ, Kim YS, Song GS. 2008. Effect of dry and wet millings on physicochemical properties of black rice flours. J Korean Soc Food Sci Nutr 37: 900-907.
9. Kim HY, Lee BY, Choi JK, Han SS. 1999. Milling and rice flour properties of soaking in water time on moisture content of rice. Korean J Postharvest Sci Technol 6: 71-75.
10. Chiang PY, Yeh AI. 2002. Effect of soaking on wet-milling of rice. J Cereal Sci 35: 85-94.
11. Meuser F, Klingler RW, Niediek EK. 1979. Characterization of mechanically modified starch. Starch 30: 376-381.
12. Park YK, Seog HM, Nam YJ, Shin DH. 1988. Physicochemical properties of diverse milled rice flours. Korean J Food Sci Technol 20: 504-510.
13. Kim RY, Kim CS, Kim HI. 2009. Physicochemical properties of non-waxy rice flour affected by grinding methods and steeping times. J Korean Soc Food Sci Nutr 38: 1076-1083.
14. 이상엽. 2002. 반습식 쌀가루의 개발에 관한 연구. 중앙대학교, 석사학위 논문.
15. Kum JS. 1998. Effects of amylose content on quality of rice bread. Korean J Food Sci Technol 30: 590-595.
16. Kang MY, Koh HJ, Han JY. 2000. Comparison of some characteristics relevant to rice bread made from eight varieties of endosperm mutants between brown and milled rice. Korean J Food Sci Technol 32: 82-89.
17. Mendes FP, Brilhante S, Suzuki H, Tada M, Webb BD. 1985. Cooperative test on amylograph of milled rice flour pasting viscosity and starch gelatinization temperature. Starch 37: 40-58.
18. Nishita KD, Bean MM. 1979. Physicochemical properties of rice in relation to rice bread. Cereal Chem 56: 185-189.
19. Arisaka M, Nakamura K, Yoshii Y. 1992. Properties of rice flour prepared by different

- milling methods. *Denpun Kagaku* 39: 155-169.
20. Kum JS. 2001. Globalism and commercialization of Korean traditional rice products. *Food Industry and Nutrition* 6: 11-22.
  21. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. The strategies for promoting of rice processed foods. Press Release. 2008.11.25.
  22. Shin MS. 2009. Rice-processed food. *Food Sci Industry* 42:2-18.
  23. Cho JH, Koh BK. 2003. A survey on the rice-based processed food consumption of the housewives at Daegu. *Korean J Soc Food Sci* 19: 38-45.
  24. Kang IH, Cho HJ, Lee CJ. 2000. Korea food coronation. Hollym Publishing Co, Seoul. p11-13.
  25. Choi BK, Kum JS, Lee HY, Park JD. 2005. Quality characteristics of rice cake(backsulki) according to milling type and particle size. *Korean J Food Preserv* 12: 230-234.
  26. AOAC. 1996. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
  27. Juliano BO. 1971. A simplified assay for milled-rice amylose. *Cereal Science Today* 16: 334-339.
  28. AACC. 1992. Approved Methods of the AACC. 8th ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA.
  29. Medcalf F, Gilles KA. 1965. Wheat starches. I. Comparison of physicochemical properties. *Cereal Chem* 42: 558-568.
  30. Kim KO, Kim SS, Sung RK, Lee YC. 2000. Sensory evaluation method and application. ShinKwang press pp. 208-210.
  31. Watson CA, Dikeman E, Stermer RA. 1975. A note on surface lipid content and scanning electron microscopy of milled rice as related to degree of milling. *Cereal Chem* 52: 742-747.
  32. Weaver CM, Chen PH, Rynearson SL. 1981. Effect of milling on trace element and protein content of oats and barley. *Cereal Chem* 58: 120-124.
  33. Kennedy BM, Schelstraete M, Delrosario AR. 1974. Chemical, physical and nutritional properties of high-protein flours and residual kernel from the overmilling of uncoated milled rice. I. Milling procedure and protein, fat ash, amylose and starch content. *Cereal Chem* 51: 435-447.
  34. Shuey WC, Gilles KA. 1973. Milling evaluation of hard red spring wheats. V. relation of wheat protein, wheat ash, bran pentose, flour pentose, and starch on bran to milling results. *Cereal Chem* 50: 37-43.
  35. Joo OS, Jung YM. 2001. Effect of attrition milling in wheat flour on starch damaged of dough and bread baking properties. *Korean J Postharvest Sci Technol* 8: 434-441.
  36. Evers AD, Stevens DJ. 1986. Starch damage. In : *Cereal Science and Technology*. (Pomeranz Y Ed) Am Assoc of Cereal Chem St Paul USA 7: 321-334.
  37. Dodd NJH. 1971. Damaged starch determination in wheat flour in relation to dough water absorption. *Starch* 23: 23-37.

38. Zeleznak KJ, Hosney KC. 1986. The role of water in the retrogradation of wheat starch gels and bread crumb. *Cereal Chem* 63: 407-411.
39. Nishita KD, Bean MM. 1982. Grinding Methods : Their Impact on Rice Flour Properties. *Cereal Chem* 59:46-49.
40. Pomeranz Y. 1988. *Wheat: Chemistry and Technology*. 3rd ed. Vol II. p 127, 165-166.
41. Kim SK, Bang JB. 1996. Physicochemical properties of rice affected by steeping condition. *Korean J Food Sci. Technol.* 28: 1026-1032.
42. Lee MK, Kim JO, Shin MS. 2004. Properties of nonwaxy rice flours with different soaking time and particle sizes. *Korean J Food Sci Tech* 36: 268-275.
43. Lee JS. 1998. Study on universty student's consumption pattern and preference of korean rice cake. *Korean J Food Cookery Sci.*, 14(2):133-139.
44. 강인희, 조후중, 이춘자, 이효지, 조신희, 김혜영, 김종채 2000. *한국음식대관*. 한림, 서울 p102.
45. Lee HG, Lee EM, Cha GH. 2005. Sensory and mechanical characteristics of shinsunchosulgi by different ratio of ingredient. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 422-432.
46. Hong HJ, Choi JH, Yang JA, Kim GY, Rhee SJ. 1999. Quality characteristics of seolgiddeok added with green tea powder. *Korean J Food Cookery Sci* 15: 224-230.
47. Mang HY, Lee HG. 1988. Abibliographical study of dock(Korean rice cake). *Korean J Dietary Culture* 3: 153-162. 윤숙자. 2001. *한국의 떡·한과·음청류*. 지구문화사, 서울, p9-11.
48. 한복려. 1999. 쉽게 맛있게 아름답게 만드는 떡. (사)공중음식연구원, p24-27.
49. Choi SE, Lee JM. 1993. Standardization for the preparation of traditional jeungpyun. *Korean J Food Sci Technol* 25(6):655-665.
50. Yoon SJ. 2003. Quality characteristics of jeungpyun with differentratios of makkulli leaven to water. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 19(1):11-16.
51. Lee EA, Woo KJ. 2001. Quality characteristics of jeungpyun according to the type and amount of the oligosaccharide added. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 17(5):431-440.
52. Jang JS, Park YS. 2008. Quality characteristics of jeungpyun prepared with milk. *J East Asian Soc Dietary Life* 18(3):311-321.
53. Park YS, Choi BS. 1994. Studied on the amounts of water addition in jeungpyun dough. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 10(4):334-338.
54. Kang MY, Choi HC. 1993. Studies on the standardization of fermentation and preparation methods for steamed rice bread (1)-Effect of diverse Fermentation Factors on the Expansion Characteristics of Steamed Rice Bread. *한국농촌생활과학회지*, 5(1):13-22.
55. Yoon SJ. 2005. Characteristics of quality in jeungpyun with different amount of raw yeast. *Korean J. Food Cookery Sci.*, 21(4):399-405.
56. Han YS. 2004. Study on the improvement of quality in Jeungpyun supplemented with dietary polysaccharides and soybean. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.*, 20(6):699-670.
57. Park MJ. 2007. Quality Characteristics of Jeungpyun with Brown Rice and Barley Flour. *Korean J. Food Cookery Sci.*, 23(5):720-730.
58. Cho EJ, Kim MJ, Choi WS. 2007. Quality Properties of Jeungpyun with Added

- Withprickly pear Powder. J. East Asian Dietary Life, 17(6):903-910.
59. Choi HY. 2009. Antioxidant activity and quality characteristics of pine needle cookies. J Korean Soc Food Sci Nutr 38: 1414-1421.
60. An YG, Park JW, Son GO, Sin DH, Chung YC, Kim JG. 2005. Designer Food. Kwangmoonkag, Seoul, Korea. p103-104.
61. Choi CR, Shin MS. 1996. Effects of sugars on the retrogradation of rice flour gels. Korean J Food Sci Technol 28: 904-909.
62. Choi SS, Danielewska-Nikiel B, Ohdan K, Kojima I, Kuriki T. 2009. Safety evaluation of highly-branched cyclic dextrin and a 1,4-alpha glucan branching enzyme from *Bacillus stearothermophilus*. Regul Toxicol Pharmacol 55(3):281-290.
63. Park MJ. 1999. Physicochemical and sensory characteristics of functional Jeungpyun with dietary fibers and self-life studies. PhD Dissertation. ○○○ University, Seoul, Korea. p 32.
64. Moon HJ, Chang HG, Mok CK. 1999. Selection of lactic starter for the improvement of Jeung-pyun manufacturing process Korean J. Food Sci. Technol. 31(5):1241-1246.
65. AACC. 1992. Official Method of the AACC. 8th ed., *American Association of cereal chemists*, St. Paul, M.N.
66. Pyler EJ. 1988. Physical and chemical test methods. Chapter 21. In Baking Science and Technology. 3rd ed. Vol II. Sosland Co Marriam, KS. p 903-907.
67. Lee SY, Kim CS. 2001. Effects of added yam powders on the quality characteristics of yeast leavened pan breads made from Imported wheat flour and worean wheat flour. Korean Soc Food Sci Nutr 30: 56-63.
68. 농림부. 20013. 농림통계연보, 농림업주요통계.
69. Cho JH, Koh BK. 2003. A survey on the rice-based processed food consumption of the housewives at Daegu. Korean J Soc Food Sci 19: 38-45.
70. Kee HJ, Lee ST, Park YK. 2000. Preparation and quality characteristics of korean wheat noddles made of brown glutinous rice flour with and without aroma. Korean J. Food Sci Technol 32: 799-805.
71. Kim HY, Lee BY, You HS, Ham SS. 2000. Aptitude of made with rice, *D. batatas*, *P. cocos* and wheat composite flours. J Korean Soc Ind Food Technol 4: 29-40.
72. Kim JN, Shin WS. 2009. Physical and sensory properties of chiffon cake made with rice flour. Korean J Food Sci Technol 41:69-76.
73. Kang MY, Choi YH, Choi HC. 1997. Effect of gums, fats and active glutens adding on processing and quality of milled rice bread. Korean J Food Sci Technol 29: 700-704.
74. Kang MY, Choi YH, Choi HC. 1997. Effect of gums, fats and active glutens adding on processing and quality of milled rice bread. Korean J Food Sci Technol 29: 700-704.
75. Lee MH, Chang HG, Lee YT. 2008. Effects of enzymes and emulsifiers on the loaf volume and crumb hardness of rice breads. J Korean Soc Food Sci Nutr 37: 761-766.
76. Park GY, Jeon HJ, Han MJ. 2006. The effects of customers' preference variables on the level of satisfaction with the menu at rice cake cafe. The Korean Journal of Culinary

Resarch 12: 1-16.

77. Kim CS, Hwang CM, Song YS, Kim HI. 2001. Commercial wheat flour quality and bread making conditions for Korean-style steamed bread. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1120-1128.

78. Rubenthaler GL, Pomeranz Y, Huang ML. 1992. Steamed bread. IV. Negative steamer-spring og strong flours. *Cereal Chem* 69: 334-337.

79. Lai CS, Davis AB, Hosney RC. 1989. Production of Whole Wheat Bread with Good Loaf Volume. *Cereal Chem* 66: 224-227.

80. Rhee C, Bae SH, Yang HC. 1982. Studies on bread-baking properties of naked barley flour and naked barley-wheat flour blends; I. Variations of loaf volume of naked barley bread and mixed naked barley-wheat bread prepared by lactic acid method. *Korean J Food Sci Technol* 14: 370-374.

81. Kim SJ, Kim DW. 2006. Effect of ascorbic acid and cysteine for quality characteristics of rice bread. *Korean J Food Preserv* 13: 450-456.

82. Pylar EJ. 1988. Physical and chemical test methods. Chapter 21. In *Baking Science and Technology*. 3rd ed. Vol II. Sosland Co Marriam, KS. p 903-907.

83. Lee SY, Kim CS. 2001. Effects of added yam powders on the quality characteristics of yeast leavened pan breads made from Imported wheat flour and worean wheat flour. *Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 56-63.

84. Choi DM, Chung SK, Lee DS. 2007. Effects of fermentation pine needle extract on the quality of plain bread. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 616-621.

85. Pylar EJ. 1988. Physical chemistry and colloidal system, Chapt 6. *Baking Science and Technology*. 3<sup>rd</sup> ed., Sosland Pub. Co., Merriam, KS, p.262.

86. Bean MM, Elliston Hoop EA, Nishita KD. 1983. Rice flour treatment for cake making applications. *Cereal Cham* 60: 445-449

## 3-1 세부과제

### SUMMARY

#### 1차년도

#### **1. Antioixdative activity and quality characteristics of rice cupcakes prepared with pine needle powder and extract**

- To develop the tailor made rice flour products for consumers with increasing functionality of pine needles, rice cupcakes were prepared with adding different contents of pine needle powder (PP) and extract (PE, by pressing pine needle).
  - The antioxidative activities of rice cupcakes with PP and PE were higher than those of the control and were significantly different with adding pine needle type (PP or PE).
  - The specific volume of rice cupcakes increased with adding PP and PE, except for 10 g PP added cupcake. Textural properties were also significantly different with pine needle types and contents. On the sensory preference test data, the scores of the teens, the twenties, and the thirties were higher in PP added rice cupcakes (3 and 5 g added), but those in the forties, the fifties, and above the sixties were higher in PE added rice cupcakes (3 g added).
  - From these above results, the PP addition improved the processing quality of rice cupcakes (under 10 g added), but reduced unique flavor of pine needle. It was suggested that rice products added with pine needle would be developed to consider consumer's age, type of pine needle and its content.

#### **2. Antioxidative Activity and Quality Characteristics of Rice Madeleine Added with Pine Needle Powder and Extract**

- To develop health functional gluten-free rice madeleines added with pine needle, rice flours were prepared by adding different contents (0.6, 1.2, and 1.8% on rice flour basis) of freeze-dried pine needle powder (PP) and extract (PE, by pressing pine needles).
  - The antioxidative activities of rice madeleines added with PP and PE were higher than



those of the control and were significantly different from each other.

- The specific volume of rice madeleines added with PE was higher than that added with PP. Lightness and yellowness decreased with increasing PP or PE content, whereas redness showed the reverse trend.
- Textural properties were also significantly different according to pine needle type and content. Hardness values of rice madeleines added with 1.2 and 1.8% PP or 1.2% PE were reduced compared to that of control. Hardness values increased while other textural properties decreased during storage. In the sensory test, color, flavor, and taste scores increased with increasing PP or PE contents, whereas flavor and overall quality scores were highest in rice madeleine added with 1.2% PP.
- Based on these results, pine needle powder addition improved antioxidative activities and overall quality.

## 2차년도

### 1. Microstructure and Physicochemical Properties of Non-waxy Rice Starch Gels Added with Cross-linked Resistant Starch

- Effects of resistant starch on gel formation and structure rice starch gel were investigated to improve the dietary fiber content and textural properties of RS added rice products. The starch gels made by Nampyeong rice starch added cross-linked resistant rice starch with different rice varieties (Nampyeong, Goamy, and Hangangchall) and different concentrations (0, 10, 20, and 30%).
  - Amylose contents of three varieties rice starch was 1.71%, 22.47%, 33.39%(respectively). RS contents of all RS4 using AOAC method were 46.91%, 54.54%, and 66.01% in Hangangchall, Nampyeong and Goamy respectively.
  - X-ray diffraction patterns of three kinds of RS4 were showed V-type pattern. Peak, trough, cold, and breakdown viscosities of the rice starch gel added with RS4 were showed similar result that decreased with the increase of resistant starch. Thermal properties of Nampyeong rice starch added with different RS4 and RS contents by DSC were showed that the  $\Delta H$  has the decline trend with increase of the resistant starch content.

- Resistant starch contents of Nampyeong rice starch gels added with the RS4 using Goamy has the highest RS content and the RS4 using Hangangchall has the lowest RS content whether it is 10%, 20% or 30% in concentrations of RS4. The rice starch gels increased resistant starch level showed higher L and b values.
- In texture properties of Nampyeong rice starch gels, added 20% cross-linked resistant gels showed the highest hardness and gumminess but added 30% cross-linked resistant gels showed the highest cohesiveness and springiness. Scanning electron microscope image of starch gel matrix showed that added resistant starch has good effect on the structure of gel.
- The rice starch gels added with RS4 were treated by alcohol dehydration and observed by optical microscope and scanning electron microscope, it found that the resistant starch will not be gelatinized by heating.

### 3차년도

#### 1. Improvement of quality of traditional rice cake (Garaetteok) added with stabilized rice bran and resistant starch mixture

- This study was conducted to develop the functional high fiber, low calorie rice cake added with stabilized rice bran (SRB) and resistant starch (RS4), and to determine the optimum mixing ratio of SRB and RS4.
  - In preparation of rice cake (Garaetteok), the three independent variables selected for the RSM experiment were X, SRB (%), X, RS4 (%) and X, moisture contents(%) of rice flour mixtures while the dependent variables (response variables) were color, viscosity textural properties and sensory evaluation. Each variable was coded at three levels, -1, 0 and +1, and was un-coded at three levels.
  - The moisture contents of stabilized rice bran (SRB), white rice flour, brown rice flour, and resistant starch (RS4) were 4.45, 9.97, 11.26, and 11.17%, respectively. The lightness (L) values of Garaetteok decreased with increasing SRB contents. While L value increased with increasing RS4 contents.
  - The hardness of Garaetteok increased with increasing RS4 addition, whereas decreased with increasing SRB addition. Therefore increasing RS4 could extend the storage period. Increasing RS4 lever of Garaetteok in certainly gave the effects of inhibiting total cell

number, while increasing SRB of Garaetteok increasing total cell number, RS4 affected to inhibit the growth of total cell number during storage of Garaetteok, but SRB showed reverse trends. Because it is well known that rice bran has high nutrients and high water absorptain power to help growth of microorganism.

- A rotatable central composite design was used for treatment arrangement. In the analysis of variance for the Garaetteok prepared by RSM, significant interactions were observed between independent variables (experimental factors) ( $p < 0.05$ ), textural properties like hardness, and chewiness ( $p < 0.05$ ). In the result of preference tests of Garaetteok, the overall eating of Garaetteok had highest score in the the mixing ratio of SRB (7.5%), RS4 (7.5%), Water (45%). Among independent variables, concentration of SRB had the most effects on physical properties.
- The optimum conditions for best Garaetteok selected by extracting intersectional areas of the contour maps that commonly overlapped all characteristics were SRB (A), 7.49915%, RS4 (B) 7.5043% and Water (C) 45.0004%.

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절 연구개발의 목적

대사기능개선용 기능성 소재 및 고품질 기능성 쌀 가공제품 개발로 현미와 쌀 저항전분 및 솔잎액 (추출액 및 발효액) 혼합물의 제조, 기능성 평가 및 고품질 대사기능개선 쌀가공제품 개발 및 대사기능소재 및 식품의 기능성 평가하고자 한다.

## 2절 연구개발의 필요성

쌀 가공 제품의 원료인 쌀은 주성분이 전분으로 체내에서 소화되어 대부분 에너지로 전환되기 되므로 소비자들은 비만의 원인 식품으로 생각하고 있음

본 3 세부과제 참여 교수들은 비만억제 쌀 개발에 공동 참여한 연구자로 구성되어 있으며 지속적으로 쌀가루개발 및 다양한 쌀 가공제품개발을 하고 있음 쌀과 지역특산물을 기능성 소재로 개발하여 쌀 전분으로 저항전분 개발과 천연 원료를 이용한 기능성 및 가공용 소재 개발을 하여 원료처리에서 성분 분석과 제품 개발 및 생산까지 전반적인 공정을 통제할 수 있는 실험실임

특히 쌀 가공제품 개발에는 국제적인 기술을 갖고 있는 연구실로 원료소재 개발부터 제품개발, 산업화 공정 및 소비자 평가까지 가능한 연구실과 만성대사성 질환에 대한 임상실험을 진행한 연구실로 in vitro 및 in vivo 실험이 가능함

**신말식 교수 연구실** : 혈당 조절 능력이 있는 소재 개발과 고품질 쌀 가공제품의 레시피 확립 및 소비자 평가, 산업화공정

**허영란 교수 연구실** : 대사기능 개선 소재 및 쌀 가공 제품의 in vitro, in vivo 실험 진행, 동물실험에서 인체실험까지 수행

지금까지 개발된 쌀 가공제품의 종류에 기능성 소재 활용은 일부 제품 이외에는 적용하기 어려움

### ● 국내의 쌀 가공제품 종류

생산품목		분류기준
대분류	소분류	
떡면류	즉석 떡면류	즉석으로 조리가 가능한 떡국떡, 떡볶이떡, 국수, 라면 등의 즉석 식품
	떡면류	떡류, 국수, 생면 등
	전통떡류	인절미, 절편 등 전통떡
쌀과자	쌀과자	비스킷, 건빵, 스낵 등의 쌀과자
	한과류	쌀강정, 유과 등의 전통 한과류 제품
	쌀튀밥	쌀을 단순 퍼핑한 상태의 쌀과자
	누룽지	누룽지 및 누룽지 형태의 과자
쌀가루	생 미분	쌀을 건식으로 단순 분쇄한 쌀가루 제품
	알파미분	알파미분, 활곡, 익스트루더 미분, 볶음 쌀가루 등의 제품으로 쌀의

		성분이 호화된 형태의 쌀가루
	습식미분	침지공정 등의 공정과정을 거쳐 습식으로 분쇄한 쌀가루 제품
주류	탁약주	탁주와 약주 제품
	소주	소주제품
	맥주	맥주제품
	청주	청주제품
조미식품	엿류	엿 및 조청류 제품
	장류	고추장, 된장, 간장 제품
	식초	식초제품
기타	죽류	죽류제품
	식혜	식혜류 식품
	스낵 부원료	스낵류 과자 부원료
	꼬치류	꼬치에 끼운 쌀 제품
	선식류	미숫가루 등 선식제품
	쌀음료	쌀음료 제품
	쌀빵	빵 류 제품
	가공쌀밥	무균화 포장쌀밥, 레토르트 포장쌀밥, 냉동쌀밥, 건조쌀밥, 컵라이스
쌀라면	라면류	

자료 : 한국쌀가공식품협회, 2009. 3

위의 제품 중 떡에 사용되고 있는 대사기능 개선 가능소재로는 아래 표와 같이 다양한 소재를 사용하고 있으나 최근에 시판되고 있는 제분회사의 쌀가루로 만든 제품 중에는 특별한 기능성을 목적으로 사용하는 경우는 드물고 천연색소나 노화를 억제하는 목적으로 사용하여 왔다.

쌀 베이커리제품으로는 제과와 제빵이 있는데 활성글루텐이나 개량제, 변성전분 등을 첨가하고 있으므로 기본 배합에 있어서 건강지향적인 부분이 감소하고 있으며 쌀면은 호화면이나 사출면으로 이런 제품에 기능성 소재를 첨가하면 압력과 열분해 등의 과정을 거치면서 제 기능을 가질 수 없기 때문에 공정상 기능성을 부여한 제품의 품질을 유지하기에는 매우 어려움

떡 종류	떡의 종류	기사용 첨가소재
치는 떡	인절미, 흰떡, 떡볶이떡, 절편, 개피떡	쭈, 수리취, 모싯잎, 송기, 고치떡
찌는 떡	설기떡, 증편, 두텁떡, 편, 찰편, 혼돈병, 석탄병, 약식, 구름떡, 백설고, 망개떡, 개떡, 구선왕도고, 복령조화고	쭈, 복령, 구기자, 녹두, 노란콩, 한약재(산약, 연육, 검은, 백복령, 울무, 맥아, 백변두, 능인 시상), 석이버섯, 승검초, 느티, 도토리, 고구마
지지는 떡	화전, 주악, 부꾸미, 빙자	찰수수, 메밀, 녹두, 토란, 차조기잎,
빚는 떡	경단, 송편, 단자,	모싯잎, 쭈, 감, 호박,

자료: 한국의 떡과 과즙/강인희

● 대사기능 개선 알려진 식품소재

대사기능(혈당저하)이 알려진 소재	기능
건강 기능성 원료	탄수화물이 지방으로 합성되는 것을 억제 식약청
건강기능성 원료	식후 혈당상승 억제 식약청
건강 기능성 원료	체지방감소 식약청
솔잎 착즙액	α-glucosidase 활성억제효과 기능성 쌀 개발 보고서
누에분말	혈당조절 식약청
빵잎	혈당조절 식약청
	α-glucosidase 활성억제효과 기능성 쌀 개발 보고서
구기자	구기자 약떡 혈당조절 동의보감
녹차와 녹차추출물	에너지소비 증가와 체중감소
양파추출액	α-glucosidase 활성억제효과 기능성 쌀 개발 보고서
포도씨 추출물	알파-글루코시다아제의 작용을 저해 엔바이오테크 특허
꾸지뽕잎과 열매	혈당억제(쥐실험)
피니톨(콩, 솔잎)	인슐린 저항성 개선
사과의 고점도펙틴	pH3-4, 체온에서 고점도를 나타냄(구아검이나 차전자피는 pH9에서 최고점도)
저항전분(resistant starch)	혈당조절기능(소정에서 소화 안 됨) 지방세포의 수축 지방산화를 증가 근육을 증가 콜레스테롤을 낮춤 대장암 억제 효과  resistantstarch.com

최근 우리나라에도 급격한 경제성장과 더불어 암을 제외한 심장질환, 중풍, 고혈압, 당뇨병, 고지혈증 및 비만 등과 같은 만성질환으로 인한 사망률이 전체의 50% 이상을 차지하면서 사회문제로 대두

비만은 모든 질병의 원인이며 당뇨병의 경우 당뇨병으로의 사망률은 낮으나 당뇨병에 의한 사망의 원인으로 심혈관 질환이 대두되고 있으며 일상생활을 유지하는데 어려움과 다른 합병증 발병의 원인이 되고 있음

비만과 제2형 당뇨병이 꾸준히 증가하고 있으며 특히 우리나라의 경우 2003년 400만명(전인구의 8.3%)에서 2020년 620만명으로 전인구의 10%를 크게 상회할 것으로 보이므로 철저한 예방이 요구됨

일상적인 식생활에서 중요한 에너지원이지만 과량 섭취시 대사질환이나 대사증후군의 원인이 될 수 있는 당질의 섭취의 주요 식품에 혈당조절 기능성 물질을 첨가하여 일반 식품으로 건강기능식품이 보급된다면 소비자뿐만 아니라 생산자도 판매를 촉진할 수 있는 계기 마련이 가능하므로 적극적인 개발이 필요함

### 3절 연구개발의 범위

연구목표	대사기능개선용 기능성 소재 및 고품질 기능성 쌀 가공제품 개발
연구범위	현미와 쌀 저항전분 및 솔잎액 (추출액 및 발효액) 혼합물의 제조, 기능성 평가 및 고품질 대사 기능개선 쌀가공제품 개발 및 대사기능소재 및 식품의 기능성 평가

#### 1. 1차년도

**연구목표:** 대사기능 개선 기능성 소재 및 쌀가루 개발

● 대사기능 개선 기능성 소재 개발

- 현미와 유색미 쌀가루 특성 비교

현미, 백미는 물론 색소를 함유한 유색미의 대사기능 개선 효과 확인

- 지역 특산 자원 중 솔잎액 혼합물로 사용할 소재 검토

솔잎액 혼합물의 대사기능개선 평가 및 관능적 특성

지역 특산물 중 가공용으로 사용할 수 있는 소재로 잎, 열매, 뿌리, 줄기로 구분

- 저항전분의 제조조건 확립

쌀로부터 전분과 단백질을 분리

쌀 전분: 물리, 효소 및 화학적 방법으로 저항전분 제조

저항전분(RS3, RS4) 대량 생산 공정 확립

● 다목적용 쌀가루의 가공적성 평가

습식제분 및 습건식제분 쌀가루 제조

쌀가루 가공특성 평가

#### 2. 2차 년도

**연구목표:** 쌀 저항전분첨가 쌀 가공제품 개발 및 임상 실험

● 쌀 저항전분 강화 쌀 가공제품 개발

- 쌀 저항전분 제조

- 현미와 백미 쌀가루 종류별 특성

- 현미가루 및 쌀 저항전분 첨가 쌀가루 가공특성

- 현미가루 및 쌀저항전분 첨가 쌀가루 가공제품 품질 평가

#### 3. 3차 년도

**연구목표:** 솔잎액 혼합물 첨가 기능성 쌀 가공제품 개발

● 대사기능 쌀 가공제품 개발

- 솔잎추출액과 그 혼합물 제조 및 첨가 조건 확립

- 솔잎액 혼합물 첨가 쌀 가공제품 개발

- 소비자 대상에 따른 쌀 가공제품 종류별 품질 평가

- 쌀 가공제품별 최적 레시피 확립

- 쌀 가공제품의 저장, 유통 중 품질 평가

## 제 2 장 연구개발수행 내용 및 결과

### <1차년도>

#### 1절 연구방법

##### 1. 재료

유색미와 백미는 농촌진흥청 국립식량과학원 벼 맥류부(익산)에서 육종 개발한 품종을 이용하여 도정하여 사용하였다. 전라남도 곡성군에서 적송으로부터 채취한 솔잎을 압착하여 제조한 솔잎생즙(0.4 L/kg pine needle)과 솔잎을 동결건조하여 분쇄한 솔잎분말을 ○○○(광주)으로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

##### 2. 방법

###### 가. 대사기능개선용 기능성 소재 및 고품질 기능성 쌀 가공제품 개발

###### (1) 쌀 종류에 따른 일반성분 및 기능성 평가

###### (가) 일반성분 분석

일반성분은 AACC 방법을 사용하여 분석하였고, 수분(Method 44-15A), 단백질(Method 46-11A), 회분(Method 08-01)과 지방질(Method 30-10)함량을 분석하였다(AACC 2000).

###### (나) 이화학적 특성

물결합능력은 Medcalf MD와 Gilles KA 방법(1965)에 의해 측정하였고 80°C에서 팽윤력과 용해도는 Schoch TJ(1964) 방법에 의해 측정하였다. 80°C 항온수조에서 가열된 전분액은 얼음물에 담갔다가 원심분리(10,950 × g, 30 min)하였다.

###### (2) 솔잎분말과 추출물을 첨가한 쌀 컵케이크의 항산화성과 품질 특성

###### (가) 쌀가루의 제조

쌀가루는 Shin M 등(2007)과 Park SJ 등(2012)의 방법으로 처리하였다. 한아름 백미를 낱알 형태로 3회 수세하여 상온(18±3°C)에서 6시간 수침한 후 저온(15±3°C)에서 풍건하였다. 건조된 쌀알의 수분함량이 약 12% 정도 되었을 때 120 mesh 체가 내장된 제분기(풍진기계/대화정밀)로 제분하여 4°C의 저온고에 보관하면서 사용하였다.

###### (나) 컵케이크의 제조

쌀 컵케이크는 Table 1과 같은 배합비율로 실험실에서 쌀가루에 맞게 수정된 레시피로 솔잎분말과 생즙을 첨가하여 제조하였다. 쌀가루 75 g에 솔잎 분말(pine needle powder:PP)과 솔잎 생즙(pine needle extract: PE)을 3, 5, 10 g 씩 각각 첨가하여 컵케이크를 제조하였다. 먼저 깨끗한 불에 달걀을 풀고, 설탕과 소금을 함께 넣은 후 끓는 물에서 달걀, 설탕, 소금을 함께 저



어주면서 온도가 43℃ 될 때까지 증탕하였다. 반죽기(800-J, Spar Food Machinery MFG, Co., Ltd, Taiwan)에 증탕한 재료를 넣고 고속으로 4분, 저속으로 15초 저어 거품을 올렸다. 쌀가루를 첨가해 혼합한 다음 식용유와 정종을 넣고 혼합하여 비중을 0.38로 맞추고 원형 틀에 34 g 씩 담았다. 180/150℃로 예열된 오븐에서 15분 동안 구운 후 냉각하였다. 완성된 쌀 컵케이크는 실온에서 1시간 방냉 후 기계적 검사 및 관능평가를 실시하였다.

**Table 1. Ingredients of rice cupcake prepared with pine needle powder (PP) and extract (PE)**

	weight (g) per one batch		
Rice flour		75	
Pine needle powder	3	5	10
Pine needle extract	3	5	10
Sugar		75	
Whole egg		150	
Salt		1	
Rice wine		15	
Rice bran oil		15	

#### (다) 솔잎 첨가 쌀 컵케이크의 품질 평가

##### ① 컵케이크의 형태적 관찰

구워진 쌀 컵케이크의 외형적인 특성은 실온에서 1시간 냉각 한 다음 컵케이크의 전체 모양과 단면을 디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 찍어 비교하였다.

##### ② 쌀 컵케이크의 무게, 부피 및 비체적

쌀 컵케이크의 중량은 구운 후 1시간 동안 냉각시킨 후 측정하였으며, 부피는 종자치환법(AACC Method 72-10)으로 측정하였다. 먼저 컵케이크가 들어갈 수 있는 상자를 만든 후 여기에 좁쌀을 채우고 그 좁쌀을 메스플라스틱에 옮겨 부피를 재었다(a). 동일한 상자에 컵케이크를 넣은 후 남은 공간에 좁쌀을 채우고 컵케이크를 꺼낸 후 팬에 남은 좁쌀을 측정하였다(b). 이 때 컵케이크의 부피(mL)는 a-b (a: 좁쌀만 채운 팬의 부피, b: 컵케이크를 채우고 상자에 남은 좁쌀의 부피)로 구하였으며 컵케이크의 비체적은 무게에 대한 부피의 비로 나타내었다.

##### ③ 쌀 컵케이크의 색도 측정

제조한 쌀 컵케이크 단면을 색도계(SpectraMagic™ NX, Konica Minolta, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, ±a(redness/greenness)값 및 ±b(yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정 후 평균값을 이용하였다. 기기는 L=96.55, a=0.07, b=1.90 인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였다.

##### ④ 쌀 컵케이크의 텍스처 측정

쌀 컵케이크의 텍스처 측정은 구워낸 컵케이크를 실온에서 1시간 냉각 시킨 후 crumb 부분을 1×1×1 cm<sup>3</sup> 크기로 잘라 모양을 유지하고 수분이 증발되지 않도록 보관하면서 텍스처 측정

기(Texture Analyzer, TA-XT Plus, England)로 반복 압축시험 하였다. 기기의 조건으로 probe는 실린더 모양( $\Phi$  20 mm)을 사용하였고 변형율은 75%를 주었으며 두 번 압축시험 후 힘과 시간으로 그려진 TPA(texture profile analysis) 곡선으로부터 텍스처 측정치를 계산하였다. 각 조건마다 컵케이크 시료를 10회 이상 반복 측정하였으며 TPA로부터 경도(hardness), 응집성(cohesiveness), 탄성(springiness), 부착성(adhesiveness), 씹힘성(chewiness), 회복력(resilience)의 특성치를 평균과 표준편차로 비교하였다.

#### ⑤ 저장기간에 따른 컵케이크 품질측정

솔잎을 첨가한 쌀 컵케이크를 polyethylene bag에 넣어 암실에서 실온 23°C으로 4일간 저장하면서 1일과 4일의 색도와 텍스처를 측정하였다. 실험 측정 바로 전에 시료를 1×1×1 cm<sup>3</sup> 크기로 잘라 랩으로 포장하여 저장기간에 따른 텍스처와 색도를 위와 같은 방법으로 측정하였다.

#### ⑥ 솔잎 첨가 쌀 컵케이크의 연령별 선호도 평가

솔잎을 첨가한 식품에 대한 선호도는 연령에 따라 차이를 보이므로 쌀 컵케이크에 솔잎분말과 솔잎생즙을 첨가한 경우 연령별 기호도 평가를 위해 일반 소비자를 대상으로 선호도 평가를 실시하였다. 소비자의 연령을 10대, 20-30대, 40-50대, 60대 이상으로 분류하여, 10대 15명, 20-30대 23명, 40-50대 14명, 60대 이상 8명으로 총 60명을 대상으로 조사하였다. 쌀 컵케이크 시료는 실온에서 1시간 냉장시킨 후 뚜껑이 있는 일회용 플라스틱 용기에 1/2씩 담아 제공하였다. 평가항목은 외관(appearance), 색(color), 솔잎 향(flavor), 맛(taste), 질감(texture), 전반적인 기호도(overall preference)로 6가지 특성에 대해 이루어졌고, 평가척도는 5점 척도(1=매우 싫어한다, 2=싫어한다, 3=보통이다, 4=좋아한다, 5=매우 좋아한다)를 사용하였다.

#### ⑦ 솔잎 컵케이크의 추출물 제조

동결 건조한 컵케이크를 분쇄하여 100 mesh 체를 통과시켰고, 유지를 제거하기 위해 시료 20 g(건량)에 에테르 200 mL을 넣어 20°C에서 100 rpm으로 1시간 교반 후 진공여과 하였다(filter paper Whatman No 6). 진공여과 후 잔여물은 70°C의 건조오븐에서 overnight 시켰으며, 이 시료 10 g(건량)에 80% 에탄올 40 mL을 넣어 10분 간격으로 1시간 저어 준 후 상등액을 취하였다. 잔여물에 20 mL의 80% 에탄올을 넣어 3번 반복한 다음 추출한 여과액을 모아 45°C에서 회전식 농축기(rotary evaporator Hahn Shin, HS-2000N, China)로 농축시켜 10 mL로 정용하였다. 추출물은 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

#### ⑧ 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Jin YI 등(2010)의 방법을 수정하여 측정하였다. 추출한 시료 1 mL에 증류수 4 mL을 넣고 0.3 mL의 5% NaNO<sub>2</sub>를 혼합한 후 진탕하여 5분간 반응시켰다. 여기에 10% AlCl<sub>3</sub> 0.3 mL와 1M NaOH 2 mL를 넣어 혼합한 후 증류수 2.4 mL을 넣어 진탕한 후 510 nm에서 분광광도계(UV-Vis spectrophotometer, Optizen pop, Mecasys Co.,Ltd, Korea)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin(Sigma Chemical Co.)을 표준물질로 사용하여 0.1%로 희석하여 흡광도를 측정한 후 추출물 mL 중의 g quercetin으로 환산하여 표기하였다.

### ⑨ 총 페놀함량

총 페놀 함량(total phenolic content)은 Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 이용한 비색법에 준하여 분석하였다(Jin YI 등 2010). 시료액 100  $\mu$ L에 900  $\mu$ L의 증류수와 Folin-Ciocalteu's reagent 100  $\mu$ L을 가한 후 5분간 방치하고 7% sodium carbonate( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 100  $\mu$ L를 가하여 암소에서 1시간 반응시킨 후 UV-Vis spectrophotometer로 716 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 사용하여 표준곡선을 작성 한 후 총 페놀 함량은 추출물 mL 중의 g gallic acid(g GAE/mL)로 나타내었다. Gallic acid를 이용하여 시료와 같은 방법으로 표준곡선식을 작성하였고, 표준곡선식은  $Y = 52.063x - 0.0033$ 로 상관도( $R^2=0.9998$ )가 매우 높았다. 이 때 x는 100 mL 당 gallic acid g이고 Y는 716 nm의 흡광도 값이다.

### ⑩ DPPH radical 소거능

솔잎 첨가 컵케이크의 항산화 활성은 DPPH(1,1'-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거능을 측정하였다. 80% 에탄올로 추출한 시료 0.6 mL에 80% 에탄올 1.3 mL을 넣은 후 2 mM DPPH 용액 2.1 mL을 가하여 암실에서 30분간 반응시켰다. 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 DPPH의 전자공여능(electron donating ability, EDA)은 다음과 같은 식으로 계산하였으며 이 때 A는 517 nm에서 시료의 흡광도, B는 517 nm에서 대조군의 흡광도이었다.

$$\text{EDA} (\%) = (1 - A/B) \times 100$$

### (3) 솔잎분말과 생즙을 첨가한 쌀 마들렌의 항산화성과 품질 특성

#### (가) 쌀가루의 제조

쌀가루는 Shin 등(19)과 Park 등(23)의 방법으로 처리하였다. 보람찬 백미를 낱알 형태로 3회 수세하여 상온( $18 \pm 3^\circ\text{C}$ )에서 6시간 수침한 후 저온( $15 \pm 3^\circ\text{C}$ )에서 풍건하였다. 건조된 쌀알의 수분 함량이 약 12% 정도 되었을 때 120 mesh 체가 내장된 제분기(풍진기계, 광주, 한국)로 제분하여  $4^\circ\text{C}$ 의 저온고에 보관하면서 사용하였다.

#### (나) 솔잎 첨가 쌀 마들렌의 제조

쌀 마들렌 배합비는 실험실에서 쌀가루에 맞게 조절하여 정하였으며 쌀가루 167 g, 달걀 170 g, 마가린 116 g, 설탕 50 g, 슈가파우더 33 g, 베이킹파우더 4.5 g과 솔잎분말(pine needle powder: PP)과 솔잎생즙(pine needle extract: PE)은 각각 1, 3, 5 g을 사용하여 쌀가루 대비 0.6, 1.2, 1.8%(w/w)를 첨가하여 제조하였다. 깨끗한 볼에 달걀을 풀고 설탕을 녹였다. 쌀가루와 슈가파우더, 베이킹파우더, 솔잎분말은 함께 체질하여 반죽기(800-J, Spar Food Machinery MFG Co. Ltd., Taichung City, Taiwan)에 가루를 넣고 중속으로 2분간 저어 혼합하였다. 중탕한 마가린을 반죽에 혼합 후 중속으로 1분간 저어 매끄러운 상태의 반죽을 만들었다. 솔잎생즙 첨가 마들렌의 제조 시 달걀에 설탕을 혼합한 후 생즙을 첨가하여 섞어 주었으며 같은 방법으로 제조하였다. 완성된 반죽은 실온에서 30분 휴지 시간을 두고 마들렌 틀에 25 g씩 담아  $180/150^\circ\text{C}$ 로 예열된 오븐에서 19분 동안 구운 후 냉각하였다. 완성된 쌀 마들렌은 실온에서 1시간 방냉 후 기계적 검사 및 관능평가를 실시하였다.

#### (다) 솔잎 첨가 쌀 마들렌의 품질 평가

마들렌의 형태적 관찰: 구워진 쌀 컵케이크의 외형적인 특성은 실온에서 1시간 냉각한 다음 마들렌의 전체 외관 모양과 단면, 뒷면을 디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 찍어 관찰하였다.

### ① 쌀 마들렌의 무게, 부피 및 비체적

쌀 마들렌의 중량은 구운 후 1시간 냉각시킨 후에 측정하였으며, 부피는 종자치환법으로 측정하였다. 마들렌이 들어갈 수 있는 상자에 좁쌀을 채우고 좁쌀을 메스플라스크에 옮겨 부피를 재었다(a). 동일한 상자에 마들렌을 넣은 후 남은 공간에 좁쌀을 채우고 마들렌을 꺼낸 후 남은 좁쌀을 측정하였다(b). 마들렌의 부피(mL)는  $a-b$ (a: 좁쌀만 채운 상자의 부피, b: 마들렌을 채우고 상자에 남은 좁쌀의 부피)로 구하였으며 마들렌의 비체적은 무게에 대한 부피의 비로 나타내었다.

### ② 쌀 마들렌의 색도 측정

제조한 쌀 마들렌을 0, 1, 4일 실온 암실에서 저장하면서 단면을 색도계(SpectraMagicTMNX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, a(redness)값 및 b(yellowness)값을 3회 반복 측정 후 평균값을 이용하였다. 기기는 L=96.55, a=0.07, b=1.90인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였다.

### ③ 텍스처 측정

텍스처 측정은 실온에서 1시간 냉각시킨 마들렌의 crumb 부분을  $1 \times 1 \times 1$  cm<sup>3</sup> 크기로 잘라 모양을 유지하고 수분이 증발되지 않도록 0, 1, 4일 실온의 암실에서 보관하면서 텍스처 측정기(Texture Analyzer, TA-XT Plus, Surrey, UK)로 반복 압축시험 하였다. 기기의 probe는 실린더 모양( $\Phi$  20 mm)을 사용하였고 변형률은 75%를 주었으며 두 번 압축시험 후 힘과 시간으로 그려진 TPA(texture profile analysis) 곡선으로부터 텍스처 측정치를 계산하였다. 각 조건마다 마들렌 시료를 10회 이상 반복 측정하였으며 TPA로부터 경도(hardness), 응집성(cohesiveness), 탄성(springiness), 부착성(adhesiveness), 씹힘성(chewiness), 회복력(resilience)의 특성치를 평균과 표준편차로 비교하였다.

### ④ 쌀 마들렌의 관능평가

쌀 마들렌의 관능평가는 차이 조사와 전반적인 품질에 대한 기호 조사를 9점 채점법으로 실시하였다. 각 평가항목에 대한 차이 조사는 훈련된 ○○대학교 식품영양학과 대학원생 10명을 평가원으로 9점은 대단히 강하다, 1점은 대단히 약하다로 평가하였으며 반복 측정하였다. 차이 조사는 외관(표면색, 내부색, 기공균일성, 부피), 냄새(이취, 솔잎향), 맛(고소한 맛, 솔잎 맛), 텍스처(경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 거칠음)였으며, 기호도는 전반적인 품질을 평가하였다.

### (다) 솔잎첨가 쌀 마들렌의 항산화 활성 측정

솔잎분말과 솔잎생즙을 첨가한 쌀 마들렌을 제조한 후 항산화 활성의 차이를 확인하여 제조 과정 중의 항산화 활성의 변화를 알아보았다.

### ① 추출물의 제조

제조된 마들렌을  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 급속냉동 시키고 동결건조 하여 분쇄한 다음 100 mesh 체를 통과시켜 분말을 제조하였다. 마들렌의 유지를 제거하기 위해 시료 20 g(건량)에 에테르 200 mL를 넣어  $20^{\circ}\text{C}$ 에서 100 rpm으로 1시간 교반 후 Büchner funnel을 사용하여 진공여과 하였다 (filter paper Whatman No 6, Whatman International Ltd., Maidstone, UK). 진공여과 후 잔여물은  $70^{\circ}\text{C}$ 의 건조 오븐에서 overnight 시켰으며, 이 시료 10 g(건량)에 80% 에탄올 40 mL를 넣어 10분 간격으로 저어 1시간 추출하여 상등액을 따르고 잔여물에 20 mL 80% 에탄올을 넣어 3번 반복한 다음 추출한 여과액을 모아  $45^{\circ}\text{C}$ 에서 회전식 농축기(rotary evaporator, SB-1100, Eyela Co. Ltd., Shanghai, China)로 농축시켜 10 mL로 정용하였다. 추출물은 냉장보관 하면서 실험에 사용하였다.

## ② 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Jin 등의 방법을 수정하여 측정하였다. 추출한 시료 1 mL에 증류수 4 mL를 넣고 0.3 mL의 5%  $\text{NaNO}_2$ 를 혼합한 후 진탕하여 5분간 반응시켰다. 여기에 10%  $\text{AlCl}_3$  0.3 mL와 1 M  $\text{NaOH}$  2 mL를 넣어 혼합한 후 증류수 2.4 mL를 넣어 진탕한 후 510 nm에서 분광광도계(UV-Vis spectrophotometer, Optizen pop, Mecasys Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

총 플라보노이드 함량은 0.1% quercetin(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 표준물질로 사용하여 흡광도를 측정한 후 추출물 mL 중의 g quercetin으로 환산하여 표기하였다.

## ③ 총 페놀성 화합물 함량

총 페놀성 화합물 함량(total phenolic content)은 Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 이용한 비색법에 준하여 분석하였다(26). 시료액 100  $\mu\text{L}$ 에 900  $\mu\text{L}$ 의 증류수와 Folin-Ciocalteu's reagent 100  $\mu\text{L}$ 를 가한 후 5분간 방치하고 7%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  100  $\mu\text{L}$ 를 가하여 암소에서 1시간 반응시킨 후 UV-vis spectrophotometer로 716 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 사용하여 표준곡선을 작성한 후 총 페놀 함량은 추출물 mL 중의 g gallic acid(g GAE/mL)로 나타내었다. Gallic acid를 이용하여 시료와 같은 방법으로 표준곡선식을 작성하였고, 표준곡선식은  $Y=52.063x-0.0033$ 으로 상관계수( $R^2=0.9999$ )가 매우 높았다. 이때 x는 100 mL당 gallic acid g 이고 Y는 716 nm의 흡광도 값이다.

## ④ DPPH radical 소거능

술잎 첨가 컵케이크의 항산화활성은 DPPH(1,1'-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거능을 측정하였다. 80% 에탄올로 추출한 시료 0.6 mL에 80% 에탄올 1.3 mL를 넣은 후 2 mM DPPH 용액 2.1 mL를 가하여 암실에서 30분간 반응시켰다. 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였고 DPPH의 전자공여능(electron donating ability, EDA)은 다음과 같은 식으로 계산하였으며 이때 A는 517 nm에서 시료의 흡광도, B는 517 nm에서 대조군의 흡광도였다.

$$\text{EDA} (\%) = (1 - A) \times 100B$$

## (라) 통계처리

모든 결과는 3번 이상 반복 측정하였으며 평균과 표준편차로 나타내었다. SPSS software package(version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 ANOVA에 의해 분산분석을 실시하였고, P<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

## 2절 연구결과

### 1. 대사기능개선용 기능성 소재 및 고품질 기능성 쌀 가공제품 개발

#### 가. 쌀 종류별 일반성분과 기능성 성분

##### (1) 유색미

##### (가) 일반성분

Table 2. General compositional analysis of rice flours and pine needles powder

Rice flour Samples	Moisture (%)	Crude protein (%)	Ash (%)	Crude lipid (%)
MR <sup>1)</sup>	10.28±0.06 <sup>c2)</sup>	5.97 ± 0.08 <sup>d</sup>	0.38±0.06 <sup>e</sup>	0.27±0.00 <sup>d</sup>
BRR	9.64±0.10 <sup>e</sup>	6.80 ± 0.17 <sup>c</sup>	1.25±0.06 <sup>c</sup>	2.34±0.11 <sup>bc</sup>
WBR	10.02±0.08 <sup>cd</sup>	8.82 ± 0.20 <sup>a</sup>	1.37±0.10 <sup>b</sup>	2.75±0.01 <sup>bc</sup>
GBR	8.20±0.19 <sup>f</sup>	6.67 ± 0.10 <sup>c</sup>	1.04±0.07 <sup>d</sup>	2.20±0.04 <sup>c</sup>
BLR	9.84±0.20 <sup>de</sup>	8.26 ± 0.11 <sup>b</sup>	1.36±0.07 <sup>bc</sup>	3.06±0.19 <sup>b</sup>
GBR	12.22±0.34 <sup>b</sup>	8.38 ± 0.14 <sup>b</sup>	1.28±0.02 <sup>bc</sup>	3.06±0.08 <sup>b</sup>
PP	13.09±0.07 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.07 <sup>e</sup>	3.30±0.01 <sup>a</sup>	8.28±1.02 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> MR, BRR, WBR, GBR, BLR, GBR and PP mean milled rice flour, brown rice flour, waxy brown rice flour, germinated brown rice flour, black rice flour, germinated black rice flour, pine needle powder, respectively.

<sup>2)</sup> Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05

유색미 쌀가루와 솔잎분말의 일반성분은 Table 2와 같다. 수분함량은 8.20~ 13.09% 범위로 나타났으며 발아현미의 수분함량이 8.20%로 가장 낮았고, 솔잎분말의 수분함량이 13.09%로 가장 높은 값을 보였다. 쌀가루로 베이커리제품을 제조할 때 쌀가루의 흡수력이 매우 중요하며 흡수된 수분은 전분의 호화와 제품의 보수력을 결정하기 때문에 제품 품질에 중요한 인자이다 (Jung SH, 2012). 회분함량은 솔잎분말이 3.30%로 가장 높았고, 백미가 0.38%로 가장 낮았다. 현미와 흑미는 1.04~1.37%로 Choi SW(2008)의 연구 보고와 유사한 결과였다.

단백질 함량은 찰현미가 8.82%로 가장 많았고, 흑미, 발아흑미 순이었다. 조지질 함량은 쌀 품종 간에 유의적인 차이가 남을 확인하였다. 이와 같이 쌀 종류에 따라 일반성분의 차이가 남을 확인하였다.

(나) 이화학적 특성

Table 3. water binding capacity analysis of rice flours and pine needles powder

sample	water binding capacity (%)
MR <sup>1)</sup>	130.57 ± 02.14 <sup>bc2)</sup>
BRR	134.35 ± 2.83 <sup>ab</sup>
WBR	125.58 ± 2.27 <sup>d</sup>
GBR	127.73 ± 1.78 <sup>cd</sup>
BLR	135.02 ± 1.30 <sup>ab</sup>
GBR	135.55 ± 4.44 <sup>a</sup>
PP	60.38 ± 2.09 <sup>e</sup>

<sup>1)</sup> MR, BRR, WBR, GBR, BLR, GBR and PP mean milled rice flour, brown rice flour, waxy brown rice flour, germinated brown rice flour, black rice flour, germinated black rice flour, pine needle powder, respectively.

<sup>2)</sup> Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05

물결합 능력은 발아흑미가 135.44%로 가장 높았으며, 현미와 흑미, 백미, 발아현미, 찰현미, 솔잎분말 순이었다. 물 결합능력은 일반적으로 전분의 손상도가 높을수록 물 결합능력이 높아지는 것으로 알려져 있다(Choi 등 2001).

(다) 항산화 활성

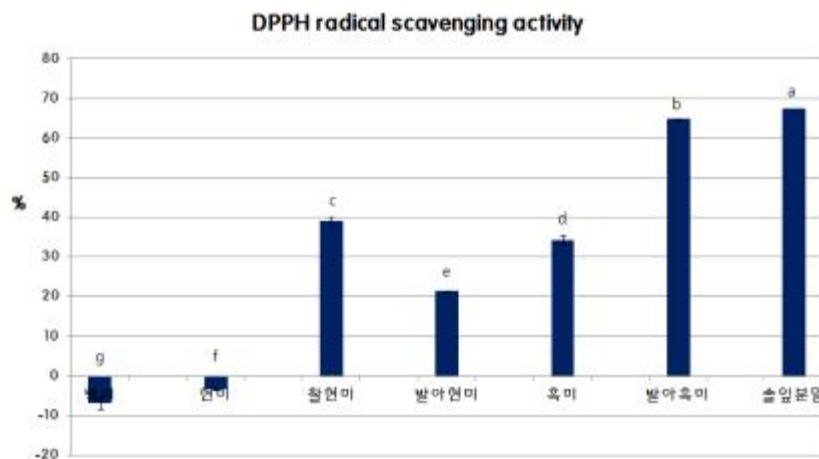


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities of colored rice and pine needles extracts.

생체 내의 자유라디칼은 반응성이 강하여 여러 생체물질과 쉽게 화학반응을 일으켜 노화나

DNA변성을 일으킨다고 알려져 있다. 본 연구에서는 종류별 유색미와 솔잎분말의 80% 에탄올 추출물에 대한 항산화 활성으로 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 솔잎분말의 활성은 현미(39.24%)와 발아흑미(64.82%)보다 높은 67.5%로 나타났으며, 백미와 비교시 현미와 흑미가 항산화 활성이 높은 것으로 나타났다. 이는 선행연구 Kong et al.,(2008)에서 흑미의 메탄올 추출물이 백미의 메탄올 추출물보다 DPPH radical을 이용한 측정에서 높은 활성을 나타낸 것과 유사하였다.

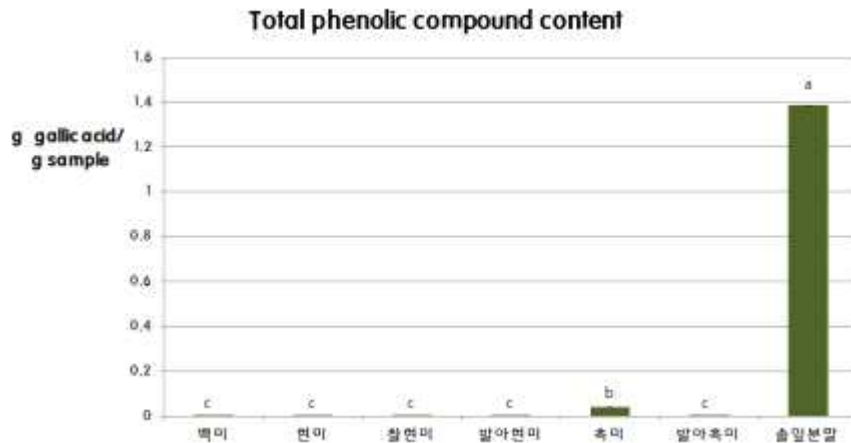


Fig. 2. Comparison of total phenolic compound levels in seven different samples.

총 페놀함량은 Fig 2에 나타내었다. 시료 7가지 중에서 솔잎분말이 가장 많은 페놀 함량을 나타냈다. 솔잎은 천연항산화 소재로 비타민 C의 원료로 사용되었으며 클로로필은 고약을 만들어 피부병에, 솔잎차는 신경통, 관절염, 동맥경화 치료에 사용되어 왔다. 솔잎의 성분에는 아스코르브산, 카로틴, 비타민 K, 플라보노이드, 안토시아닌, 탄닌, 퀴닌산(quinic acid), 쉬킴산(shikimic acid), 정유와 수지 등이 포함되며 pinene, terpinene, cymene 및 limonene 등 다양한 테르펜화합물이 포함되어 있는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2006)

솔잎의 phenol 화합물은 발암과 노화를 예방한다는 기능성 연구가 보고되어 있고(Kwhak et al., 2002), Moon (1993)은 솔잎 추출물의 항암효과를 보고하였는데, 이는 솔잎 분말의 높은 페놀함량에 기인된 것으로 생각된다.



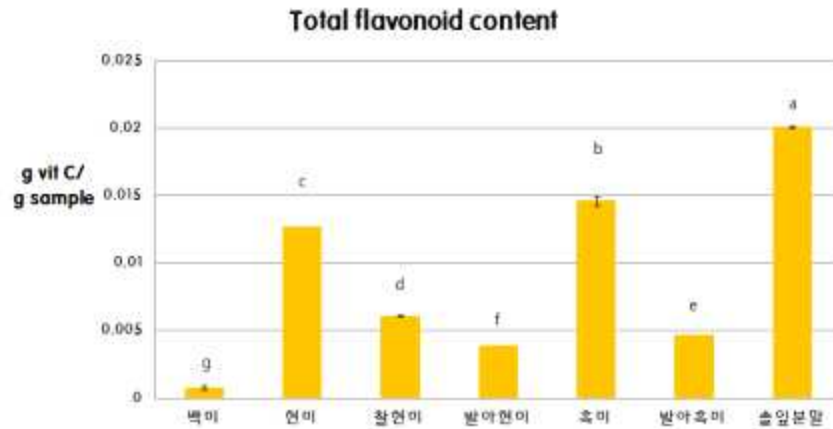


Fig. 3. Total flavonoid contents of colored rice and pine needles extracts.

총 플라보노이드 함량은 솔잎분말, 흑미, 현미, 찰현미, 발아흑미, 발아현미, 백미순으로 나타났으며, 솔잎분말이 가장 높은 플라보노이드 함량을 나타냈다. 흑미가 현미보다 플라보노이드 함량이 높게 나타나 쌀 종류에 따른 차이를 확인할 수 있었으며, 이는 흑미가 현미보다 플라보노이드 함량이 더 우수하였다는 Baik et al., 2011의 보고와 유사하였다. 선행 연구에 따르면 플라보노이드는 활성산소와 nitric oxide 제거력에 있어 복합적인 특성(Jovanovic et al., 1998)이 있는 것으로 보고되었는데 흑미의 rice bran층에 존재하는 높은 플라보노이드 함량이 이와 같은 작용을 할 것으로 생각하였다. 최근 연구에 의하면 흑미는 다량의 anthocyanin계 색소를 함유하고 있으며 그 중 cyaniding-3-glucoside와 peonidin-3-glucoside는 주된 구성 성분으로 peroxy radical과 hydroxyl radical에 의해 발생하는 DNA 손상을 저해하고 low-density lipoprotein의 산화를 억제하는 것으로 알려져 있다(Hu et al., 2003)

## (2) 저항전분의 제조조건의 확립

### (가) 저항전분(RS3)의 식이섬유 함량

여러 형태의 RS 중 가열조건에서 가장 안정한 구조인 RS3는 가열-냉각 과정을 반복할 때 전분의 재결정화과정인 노화에 의해서 형성된다. RS 함량을 분석한 결과 처리방법과 쌀 품종에 따라 RS 함량에 차이를 보였다. 호평 4가 7.70%로 가장 높은 함량을 보였고, 호평 3이 3.62%로 낮은 함량을 보였다. 농진청의 자료에 의하면 호평의 아밀로오스 함량은 17.8%, 일미는 18.5%로 알려져 있다. 두 품종간 아밀로오스 함량은 거의 비슷한 수준이지만, 아밀로오스 사슬의 길이와 같은 특성의 차이에 따라 RS함량에 차이를 보인 것으로 생각되었다. RS 함량을 증가시키기 위해 비교적 높은 함량을 보였던 2, 4의 처리방법을 보완하여 추후 연구가 더 이루어져야 될 것으로 사료되었다.

RS3는 현재 식품의 조리나 가공에 사용되는 화학적인 방법으로 제조된 변성전분이 안전성 문제로 사용에 제한을 받고 있는 것과는 달리 RS3는 물리적 처리의해 생성된 것으로 오래 전부터 식품 중 일부 성분으로 함유되어 섭취해 왔으므로 인체에 대한 안전성을 확인할 필요가 없다(Kim JO and Shin MS. 2003). 최근 우리나라의 각종 만성 퇴행성질환이 증가하고 있으며 그 중에서도 특히 당뇨병과 비만이 급격히 증가하고 있는 추세이므로 이에 대한 저항전분의 기능성을 검토해볼 수 있을 것으로 사료된다.

Table 4. RS level of rice starch prepared with different processing

Sample	Total fiber content(%)
IM <sup>1)</sup> 1	5.80±0.08 <sup>abcd2)</sup>
IM 2	7.62±1.77 <sup>ab</sup>
IM 3	4.07±0.07 <sup>de</sup>
IM 4	6.42±0.76 <sup>abc</sup>
IM 5	5.55±0.23 <sup>bcde</sup>
HP 1	5.1±0.24 <sup>cde</sup>
HP 2	4.66±0.11 <sup>cde</sup>
HP 3	3.62±0.13 <sup>e</sup>
HP 4	7.70±1.83 <sup>a</sup>
HP 5	6.18±0.21 <sup>abc</sup>

1) IM, HP mean ilmi and hopyeong rice cultivar, respectively.

2) Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05

#### 나. 솔잎분말과 추출물을 첨가한 쌀 컵케이크의 항산화성과 품질 특성

##### (1) 쌀 컵케이크의 무게, 부피 및 비체적

솔잎분말과 추출물을 각 3 g, 5 g, 10 g으로 첨가량을 달리한 쌀 컵케이크의 무게, 부피 및 비체적 측정결과는 Table 5와 같다. 쌀 컵케이크의 무게는 솔잎분말과 추출물의 첨가량이 증가할수록 높아지는 경향을 보였고, 솔잎분말 10 g과 솔잎추출물 5 g, 10 g 첨가군이 가장 높았다. 부피는 대조군에 비해 솔잎분말과 추출물을 첨가하였을 때 증가하였으며 솔잎분말 첨가군 중에서는 5 g 첨가군이 97.5±3.54 mL로 가장 높은 값을 나타냈다. 솔잎분말 10 g을 첨가하였을 때는 부피가 오히려 감소하는 결과를 보였다. 이같은 부피, 비체적의 감소현상은 꾸지뽕잎 (Lee et al., 2011), 매생이 분말(Lee et al., 2007), 흑마늘 분말(Lee et al., 2009), 검은콩 분말 (Jeong & Yoo, 2010), 감태 분말(Lee & Heo, 2010), 야콘 분말(Lee & Son, 2011)을 첨가한 스펀지 케이크에서도 보고된 바 있다. 이는 솔잎분말의 첨가량이 증가할수록 물 결합능력이 증가하고 솔잎분말 10 g을 첨가하였을 때 물 결합능력이 으로 가장 높은 값을 나타낸 것으로 보아 물 결합능력이 제품의 부피 및 비체적에 영향을 주는 것으로 사료된다.

Table 5. Specific gravity of batters and weight, volume and specific volume of rice cup cake prepared from PP and PE

Rice flour Samples	Rice cup cake	
	Cake batter Specific gravity of batter (g/mL)	weight (g)      Volume (mL)      Specific volume (mL/g)
C	0.38	27.9±0.45 <sup>b2)</sup> 77.5±3.54 <sup>c</sup> 2.77±0.13 <sup>c</sup>
PP <sup>1)</sup> 3	0.38	28.03±0.16 <sup>b</sup> 87.5±3.54 <sup>b</sup> 3.12±0.13 <sup>b</sup>
PP 5	0.38	28.02±0.21 <sup>b</sup> 97.5±3.54 <sup>a</sup> 3.47±0.10 <sup>a</sup>
PP 10	0.38	28.4±0.26 <sup>a</sup> 62.5±3.54 <sup>d</sup> 2.20±0.13 <sup>d</sup>
PE 3	0.38	27.98±0.25 <sup>b</sup> 97.5±3.54 <sup>a</sup> 3.49±0.13 <sup>a</sup>
PE 5	0.38	28.51±0.12 <sup>a</sup> 100.0±0.0 <sup>a</sup> 3.51±0.01 <sup>a</sup>
PE 10	0.38	28.64±0.27 <sup>a</sup> 102.5±3.54 <sup>a</sup> 3.58±0.14 <sup>a</sup>

1) PP and PE mean Pine needle powder and Pine needle extract, respectively

2) Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05

## (2) 컵케이크 형태관찰

쌀 컵케이크의 전체 모양과 컵케이크 가운데 부분의 단면을 비교 관찰한 결과로 기공의 균일한 정도를 보여준다. 솔잎분말을 첨가하여 제조한 경우 내부 기공이 균일하였으나, 10 g을 첨가하였을 때 부피가 감소하는 것을 육안으로 확인하였다. 솔잎추출물을 첨가한 컵케이크의 경우 촉촉한 느낌이 증가하였고, 부피도 증가하였다. 외관상 컵케이크의 색은 분말 첨가군이 비교적 솔잎의 녹색을 잘 유지하고 있었고, 부피는 추출물 첨가군과 분말 5 g 첨가군에서 높게 나타나 솔잎분말과 추출물의 차이를 확연하게 알 수 있었다.

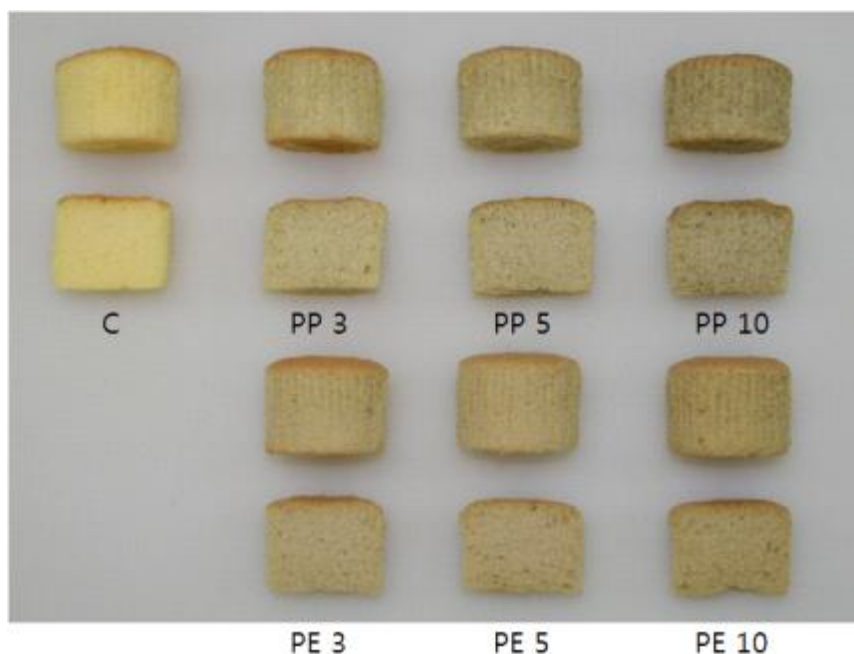


Fig. 4. Whole and cross section of baked rice cup cakes prepared from PP and PE.

### (3) 솔잎분말과 추출물 첨가에 따른 쌀 컵케이크의 색도

쌀 컵케이크의 crumb 부분의 색도는 표 6과 같이 Hunter L, a, b value로 나타내었다. 쌀가루는 포도당 등의 환원당과 단백질을 함유하므로 열처리에 의해 마이야르(Mailard) 갈변현상이 일어나기도 하고 일부는 쌀가루 자체에 함유된 지방질이나 색소에 의해서도 유통저장 과정 중 변색되는 바람직하지 않은 과정이 일어나 쌀가루의 가공적성을 변화시킬 수 있다(Kim과 Shin 2007). L값은 명도(Lightness),  $\pm a$ 값은 적색도/녹색도(redness/greenness),  $\pm b$  값은 황색도/청색도(yellowness/blueness)를 의미하는데 첨가량에 따라 차이를 보였다.

L값은 대조군이 가장 높았고, 솔잎 분말과 추출물을 첨가할수록 유의성 있게 감소하였다. 이는 솔잎분말과 추출을 첨가 국수(Jeon JR et al.,2005), 솔잎분말 첨가 쿠키(Jung HA et al., 2009), 꾸지뽕잎을 첨가한 스펀지케이크(LEE JH et al., 2011), 등의 연구에서 솔잎과 부재료의 첨가에 따라 L값이 감소한 선행연구와 유사한 결과를 보였다.

적색도를 나타내는 a값의 경우는 첨가량이 증가할수록 증가하는 경향이 나타났고, 솔잎분말을 첨가한 컵케이크보다 추출물을 첨가한 컵케이크의 적색도가 더 높게 나타났는데 이는 형태 관찰에서도 관찰되었고, 솔잎 자체의 색소 영향에 의한 것으로 사료된다. 저장기간에 따라서는 저장일수가 길어짐에 따라 솔잎분말은 적색도가 증가하는 경향으로 녹색이 약간 약해짐을 볼 수 있었으며, 추출물 첨가군은 감소하였다. 저장기간에 따른 a값의 증가는 솔잎컵케이크의 색이 열린 것을 뜻하며, 이는 Kwhak 등(2002)의 결과와 유사하였다. b값은 솔잎분말의 첨가량이 많을수록 감소하는 경향을 보였고, 추출물 첨가량이 증가할수록 증가하는 결과를 보여, 솔잎 추출물의 첨가량이 증가함에 따라 황색이 진하게 나타남을 알 수 있었다.

Table 6. Hunter L, a, b values of rice cup cake prepared with different amount of PP and PE during storage at 23°C

Baked rice cup cake Samples	L			a			b		
	0 day	1 day	4 day	0 day	1 day	4 day	0 day	1 day	4 day
	C	<sup>b</sup> 75.46 ±0.15 <sup>a</sup> <sub>1)</sub>	<sup>a</sup> 76.44 ±0.44 <sup>a</sup>	<sup>a</sup> 76.64 ±0.28 <sup>a</sup>	<sup>a</sup> -0.40 ±0.02 <sup>g</sup>	<sup>c</sup> -0.59 ±0.02 <sup>g</sup>	<sup>b</sup> -0.46 ±0.01 <sup>g</sup>	28.35± 0.35 <sup>a</sup>	27.85± 1.07 <sup>a</sup>
PP 3	<sup>c</sup> 68.67 ±0.35 <sup>b</sup>	<sup>a</sup> 73.27 ±0.08 <sup>b</sup>	<sup>b</sup> 70.58 ±0.08 <sup>b</sup>	<sup>a</sup> 0.31± 0.02 <sup>f</sup>	<sup>b</sup> 0.18± 0.03 <sup>f</sup>	<sup>a</sup> 0.28± 0.02 <sup>f</sup>	<sup>a</sup> 22.92 ±0.05 <sup>b</sup>	<sup>b</sup> 22.20 ±0.07 <sup>c</sup>	<sup>a</sup> 22.89 ±0.05 <sup>c</sup>
PP 5	<sup>b</sup> 68.15 ±0.09 <sup>b</sup> <sub>c</sub>	<sup>a</sup> 68.68 ±0.05 <sup>e</sup>	<sup>c</sup> 67.32 ±0.13 <sup>c</sup>	<sup>b</sup> 0.79± 0.02 <sup>e</sup>	<sup>b</sup> 0.78± 0.03 <sup>e</sup>	<sup>a</sup> 0.90± 0.03 <sup>e</sup>	<sup>b</sup> 22.33 ±0.17 <sup>d</sup>	<sup>c</sup> 20.62 ±0.04 <sup>e</sup>	<sup>a</sup> 23.08 ±0.56 <sup>c</sup>
PP 10	<sup>b</sup> 63.23 ±0.70 <sup>e</sup>	<sup>a</sup> 67.26 ±0.11 <sup>f</sup>	<sup>c</sup> 60.60 ±0.77 <sup>f</sup>	<sup>b</sup> 1.26± 0.09 <sup>d</sup>	<sup>b</sup> 1.19± 0.0 <sup>d</sup>	<sup>a</sup> 1.62± 0.03 <sup>c</sup>	<sup>a</sup> 21.75 ±0.34 <sup>e</sup>	<sup>b</sup> 20.66 ±0.20 <sup>e</sup>	<sup>a</sup> 21.56 ±0.46 <sup>d</sup>
PE 3	<sup>b</sup> 67.72 ±0.27 <sup>c</sup>	<sup>a</sup> 69.86 ±0.06 <sup>c</sup>	<sup>c</sup> 66.95 ±0.54 <sup>c</sup>	<sup>a</sup> 2.01± 0.07 <sup>c</sup>	<sup>c</sup> 1.42± 0.02 <sup>c</sup>	<sup>b</sup> 1.55± 0.04 <sup>d</sup>	<sup>a</sup> 22.94 ±0.26 <sup>c</sup>	<sup>b</sup> 21.21 ±0.24 <sup>d</sup>	<sup>a</sup> 22.93 ±0.10 <sup>c</sup>
PE 5	<sup>b</sup> 65.49 ±0.39 <sup>d</sup>	<sup>a</sup> 69.35 ±0.3 <sup>d</sup>	<sup>b</sup> 65.19 ±0.59 <sup>d</sup>	<sup>a</sup> 2.53± 0.03 <sup>b</sup>	<sup>b</sup> 1.96± 0.06 <sup>b</sup>	<sup>c</sup> 1.87± 0.00 <sup>b</sup>	<sup>a</sup> 23.00 ±0.14 <sup>c</sup>	<sup>b</sup> 22.51 ±0.27 <sup>c</sup>	<sup>ab</sup> 22.93 ±0.23 <sup>c</sup>
PE 10	<sup>b</sup> 65.11 ±0.14 <sup>d</sup>	<sup>a</sup> 69.14 ±0.09 <sup>d</sup>	<sup>c</sup> 63.07 ±0.10 <sup>e</sup>	<sup>a</sup> 2.80± 0.07 <sup>a</sup>	<sup>b</sup> 2.60± 0.02 <sup>a</sup>	<sup>c</sup> 2.15± 0.10 <sup>a</sup>	<sup>a</sup> 25.69 ±0.09 <sup>b</sup>	<sup>b</sup> 24.54 ±0.01 <sup>b</sup>	<sup>b</sup> 24.28 ±0.42 <sup>b</sup>

Data represents mean±SD.

<sup>1)</sup>a-g Different superscripts with a same column(PP and PE amount) are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

<sup>2)</sup>a-c Different superscripts with a same row(storage day) are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

#### (4) 저장기간에 따른 텍스처의 변화

솔잎분말과 추출물의 양을 달리하여 제조한 후 저장일수를 다르게 하여 텍스처를 측정된 결과는 Fig. 5에 나타났다. 경도, 탄성, 응집성, 씹힘성, 회복력에서 유의적인 차이를 보였다 (p<0.05). 솔잎 컵케이크의 경도는 분말 첨가군이 추출물 첨가군보다 높은 값을 보였고, 솔잎분말 첨가량이 많을수록 높게 평가되었다. 이는 Jung(2009)등의 솔잎가루를 첨가한 쿠키의 Texture가 단단하게 보고된 것과, Lee 등의 솔잎가루를 첨가한 상자병의 경도가 증가한 것과 유사한 결과였다. 추출물을 첨가하여 만든 컵케이크의 경도가 낮은 것은 Table 1에서 나타난 결과와 같이 부피가 크고, 분말에 비해 수분이 존재함으로써 더 촉촉하기 때문으로 생각되었다. 저장 1일에서는 분말 첨가량이 증가할수록 증가하였으며 저장 4일에는 솔잎첨가량이 많은 군이 경도가 감소하는 경향을 보였다.

탄력성은 첨가물의 함량이 증가할수록 증가하는 경향을 보였는데 이와 한(2002)와의 솔잎가루를 첨가한 솔설기 연구와 심 등의 솔잎증편 연구에서 솔잎의 첨가량이 증가할수록 탄력성이 낮아진 것과 반대의 경향이며, 김 등의 상자병 연구와는 같은 결과였다. 응집성은 전반적으로

비슷한 경향이었고, 솔잎분말 10g 첨가한 컵케이크의 응집성이 상대적으로 낮은 결과를 보였다( $p < 0.05$ ). 씹힘성은 4일 저장하였을 때 확연히 증가하였으며, 솔잎분말 10 g 첨가군이 유의적으로 낮았다. 김 등의 상자병 연구에서는 도토리가루의 첨가량이 증가할수록 씹힘성이 증가하였는데, 솔잎 추출물을 첨가한 군에서는 이러한 경향이 유사하게 나타났으나 솔잎분말의 첨가량에 따른 씹힘성의 증가는 뚜렷한 경향을 보이지 않았다. 저항성도 솔잎분말 10g 첨가군에서 가장 낮은 수치를 보였다.

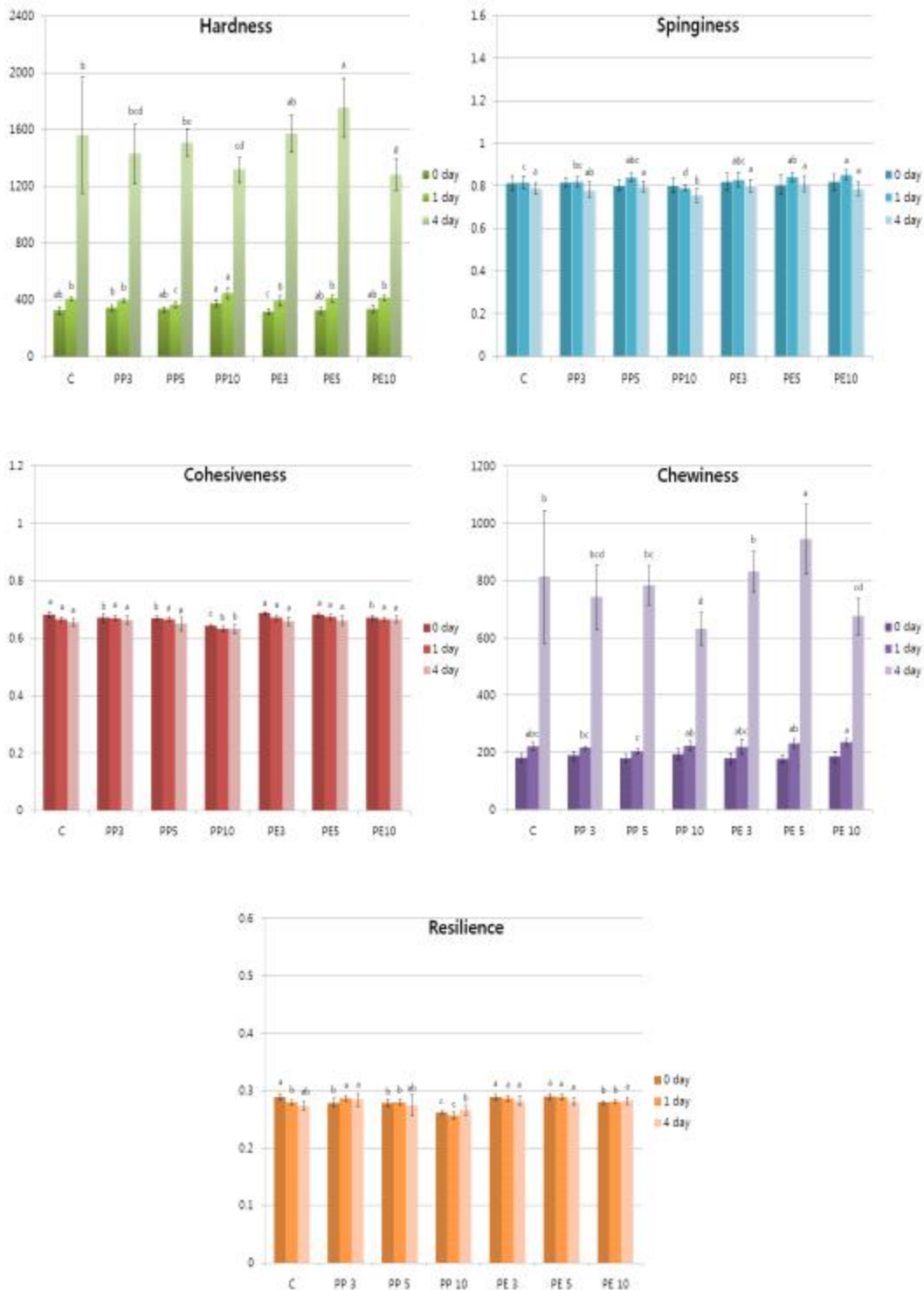


Fig. 5. Texture of the rice cup cake prepared with different amount of PP and PE during storage at 23 °C for 4 days.

### (5) 기호도 조사

연령별 솔잎분말과 추출물을 첨가한 쌀 컵케이크에 대한 기호도 조사는 Table 6에 나타냈다. 10대와 20~30대에서는 솔잎분말 3g, 5g 첨가군이 가장 기호도 평가에서 높은 점수를 보였고, 40~50대, 60대에서는 솔잎추출물 3g 군이 가장 높았다. 10, 20, 30대에서는 상대적으로 솔잎향이 적은 제품을 선호하였고, 연령대가 높아질수록 솔잎 특유의 상쾌한 향을 좋아하는 경향을 보였다. 이러한 결과로 솔잎제품에 대한 연령대별 선호도가 다름을 확인할 수 있었다.

Table 7. Acceptance of rice cup cake added with PP and PE

Age	C		PP 3		PP 5		PP 10		PE 3		PE 5		PE 10	
	taste	overall Quality	taste	overall Quality	taste	overall Quality	taste	overall Quality	taste	overall Quality	taste	overall Quality	taste	overall Quality
10	3.00± 1.20 <sup>bc</sup>	3.07± 1.22 <sup>bc</sup>	3.27± 0.96 <sup>b</sup>	3.27± 1.10 <sup>bc</sup>	4.20± 0.86 <sup>a</sup>	4.20± 0.68 <sup>a</sup>	3.27± 1.16 <sup>b</sup>	3.53± 1.19 <sup>ab</sup>	2.80± 1.26 <sup>bc</sup>	3.07± 1.28 <sup>bc</sup>	2.20± 0.94 <sup>cd</sup>	2.53± .99 <sup>cd</sup>	1.73± 1.28 <sup>d</sup>	1.87± 1.19 <sup>d</sup>
20~30	3.30± 1.02 <sup>ab</sup>	3.43± 0.79 <sup>ab</sup>	3.65± 0.88 <sup>a</sup>	3.78± 1.09 <sup>a</sup>	3.48± 0.95 <sup>ab</sup>	3.52± 0.85 <sup>ab</sup>	3.00± 0.95 <sup>b</sup>	3.13± 1.10 <sup>b</sup>	2.35± 1.19 <sup>c</sup>	2.96± 1.11 <sup>bc</sup>	2.22± 1.09 <sup>c</sup>	2.39± 1.03 <sup>c</sup>	1.76± 0.92 <sup>c</sup>	1.83± 0.78 <sup>d</sup>
40~50	3.64± 1.01 <sup>ab</sup>	3.64± 1.08	3.36± 1.08 <sup>ab</sup>	3.21± 0.97	3.43± .02 <sup>ab</sup>	3.64± .08	3.50± 1.09 <sup>ab</sup>	3.50± 1.02	4.00± 1.30 <sup>a</sup>	3.71± 1.14	2.86± 1.41 <sup>bc</sup>	3.14± 1.10	2.29± 1.20 <sup>c</sup>	2.64± 1.22
60	3.13± 1.36 <sup>ab</sup>	3.00± 0.93 <sup>ab</sup>	3.25± 1.28 <sup>ab</sup>	3.00± 0.93 <sup>ab</sup>	4.00± 0.53 <sup>a</sup>	4.00± 0.53 <sup>a</sup>	4.38± 0.74 <sup>a</sup>	4.25± 1.04 <sup>a</sup>	3.88± 1.25 <sup>a</sup>	4.13± 1.13 <sup>a</sup>	3.00± 1.69 <sup>ab</sup>	3.13± 1.64 <sup>ab</sup>	2.25± 1.58 <sup>b</sup>	2.25± 1.58 <sup>b</sup>

### (6) 항산화 활성

솔잎분말과 추출물을 첨가한 쌀 컵케이크 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Fig 6에 제시하였다. 솔잎 추출물보다 솔잎 분말을 첨가한 쌀 컵케이크의 플라보노이드 함량이 유의적으로 높은 경향을 보였고, 추출물을 첨가하여 제조한 쌀 컵케이크의 경우 첨가량이 증가할수록 플라보노이드 함량이 증가하였다. 이는 제품의 형태관찰 및 색도의 결과에서 솔잎의 녹색을 잘 유지하고 있었던 솔잎분말의 제품의 항산화 능력이 추출물보다 우수한 것으로 생각되었다.

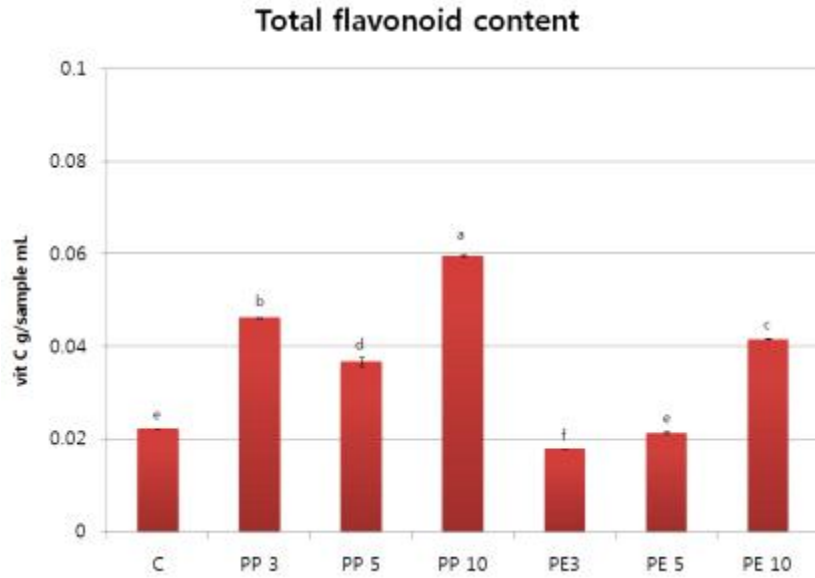


Fig. 6. Total flavonoid contents of rice cup cake prepared with PP and PE.

총 페놀함량은 솔잎분말 10g 첨가한 컵 케이크가 가장 높았으며 PP5, PE10, PE5, PE3, PP3, C 순이었다. 솔잎분말을 첨가한 컵케이크의 경우 첨가량이 증가할수록 총 페놀함량도 뚜렷하게 증가하는 경향을 보였으나, 추출물을 첨가한 컵케이크에서는 첨가량에 따른 함량의 증가가 미미하였다.

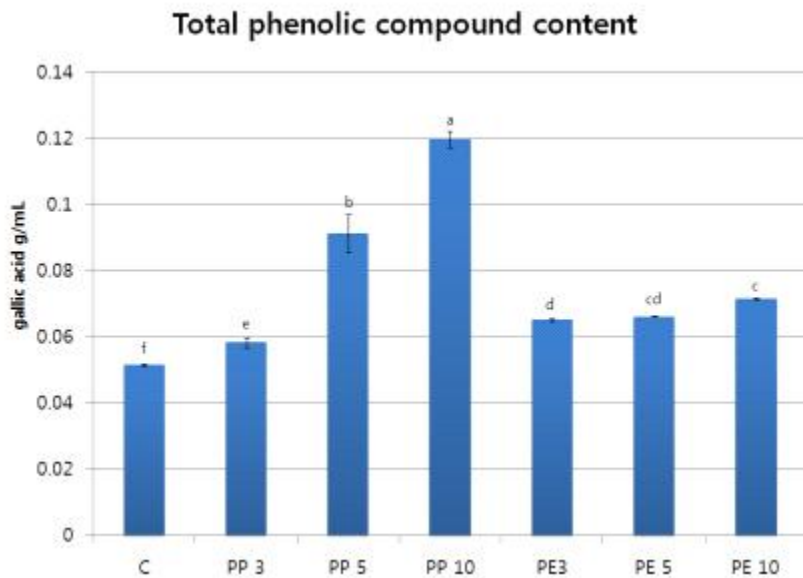


Fig 7. Total phenolic compound of rice cup cake prepared with PP and PE

다. 솔잎분말과 생즙을 첨가한 쌀 마들렌의 항산화성과 품질 특성

(1) 쌀마들렌의 형태관찰



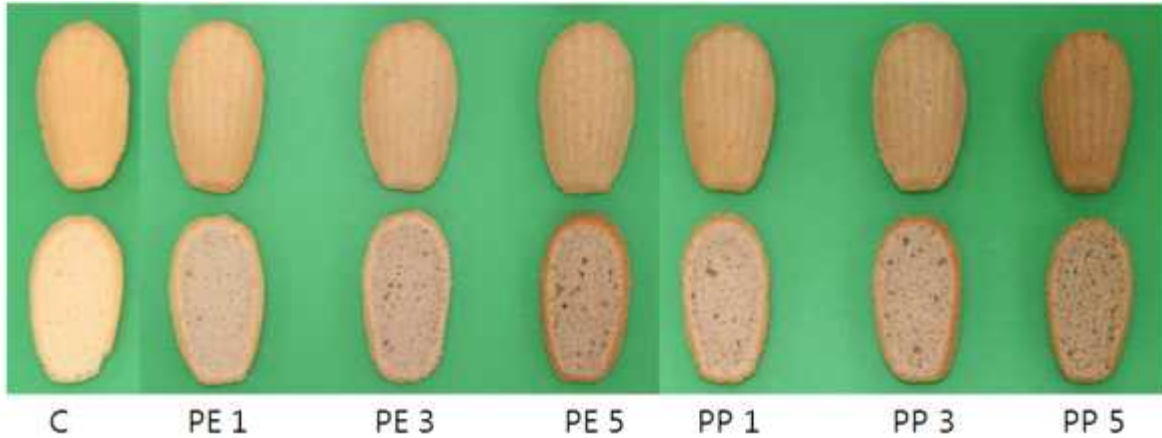


Fig. 8. Whole and cross section of baked rice madeleine prepared from PP and PE with different contents.

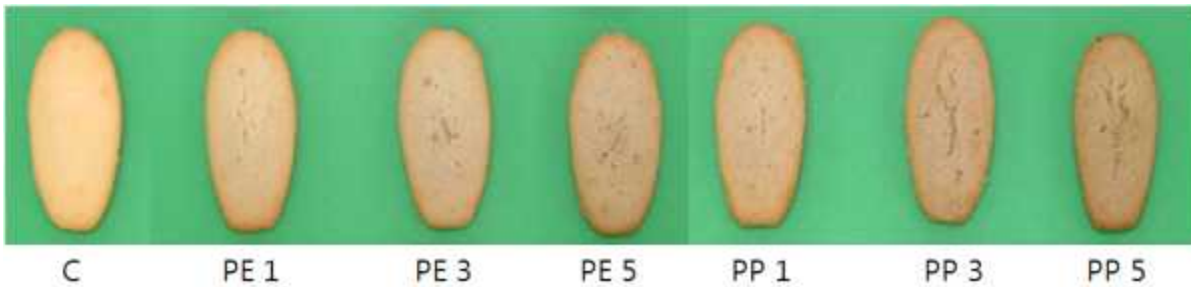


Fig. 9. The back of baked rice madeleine prepared from PP and PE with different contents.

쌀 마들렌의 전체모양과 단면, 뒷면은 Fig 8과 Fig 9에 제시하였다. 쌀 컵케이크와 비슷한 경향으로 솔잎분말을 첨가한 마들렌의 색이 더 녹색을 띄고 있었고, 기공의 균일성도 좋게 나타났으며, 솔잎추출물을 첨가한 마들렌의 솔잎 향이 상대적으로 강한 것을 확인하였다. 반죽형 제품인 마들렌은 거품형 제품인 쌀 컵케이크에 비해 솔잎의 첨가량을 1g, 3g, 5g으로 제조하였는데, 컵케이크의 경우 달걀거품을 이용한 제품이기 때문에 첨가량이 상대적으로 많아도 수용 가능한 것으로 생각되었다.

쌀 마들렌의 뒷면을 관찰한 결과 솔잎분말의 첨가량이 많아질수록 갈라짐이 증가하는 경향을 보였다. 상대적으로 추출물을 첨가한 마들렌의 뒷면은 분말 첨가군보다 갈라짐이 적었는데 이는 추출물 자체가 액상으로 되어있기 때문에 분말 첨가에 의한 수분부족 현상이 덜 한 것으로 생각되었다. 솔잎분말의 첨가량이 증가할수록 물 결합능력이 증가하기 때문에 제품 제조시에 물결합능력을 고려한 수분의 첨가가 필요할 것으로 생각되었고, 제품의 종류에 따라 일반적으로 선호하는 솔잎분말과 추출물의 첨가량이 달라질 수 있음을 확인하였다.

## (2) 쌀 마들렌의 무게, 부피 및 비체적

쌀 마들렌의 무게는 유의적인 차이를 보이지 않았고, 부피는 컵케이크와 마찬가지로 추출물을 첨가한 마들렌의 부피가 C 보다 높게 나타났으며 PP5 샘플의 부피가 가장 낮은 결과를 보여 분말의 첨가량이 많아질수록 부피가 감소하는 결과를 보였다. 비체적 또한 같은 결과를 보였다.

Table 8. Weight and volume of rice madeleine prepared from PP and PE with different contents

Rice flour Samples	Weight(g)	Volume(mL)	Specific Volume(mL/g)
C	23.88±0.17	51.67±2.89 <sup>ab</sup>	2.16±0.11 <sup>ab</sup>
PP 1	24.06±0.04	48.33±2.89 <sup>bc</sup>	2.01±0.12 <sup>b</sup>
PP 3	24.07±0.24	43.33±2.89 <sup>cd</sup>	1.79±0.14 <sup>c</sup>
PP 5	24.03±0.20	41.67±2.89 <sup>d</sup>	1.73±0.12 <sup>c</sup>
PE 1	24.03±0.16	56.67±2.89 <sup>a</sup>	2.35±0.14 <sup>a</sup>
PE 3	24.03±0.08	56.67±2.89 <sup>a</sup>	2.36±0.11 <sup>a</sup>
PE 5	23.88±0.13	56.67±2.89 <sup>a</sup>	2.36±0.12 <sup>a</sup>

### (3) 쌀 마들렌의 색도

L값은 컵케이크의 결과와 마찬가지로 대조군이 가장 높았고, 솔잎 분말과 추출물을 첨가할수록 유의성 있게 감소하였다. 솔잎추출물 1g과 5g을 첨가한 마들렌의 L값이 대조군 다음으로 높은 값을 나타냈다. 이는 컵케이크의 결과와 같은 경향으로 솔잎분말보다는 솔잎 추출물을 첨가하여 제품을 제조하였을 때 상대적으로 밝은 색을 띠는 것을 확인하였다. 적색도를 나타내는 a값의 경우는 추출물 첨가량이 더 높은 경향을 보였으나 뚜렷한 경향을 나타내지 않았다. b값은 일반적으로 솔잎분말의 첨가량이 많을수록 증가하는 경향을 보였고, 추출물 첨가량에 따른 뚜렷한 결과를 보이지 않았다.

Table 9. Hunter's color values of madeleine prepared from PP and PE with different contents

	L			a			b		
	0 day	1 day	4 day	0 day	1 day	4 day	0 day	1 day	4 day
C	68.32± 0.12 <sup>a1)</sup>	70.86± 0.04 <sup>a</sup>	60.66± 0.28 <sup>a</sup>	3.55± 0.03 <sup>f</sup>	2.76± 0.01 <sup>c</sup>	4.18± 0.04 <sup>a</sup>	27.44± 0.09 <sup>a</sup>	28.49± 0.01 <sup>a</sup>	26.83± 0.58 <sup>a</sup>
PP 1	56.21± 0.11 <sup>d</sup>	58.44± 0.38 <sup>c</sup>	52.25± 0.20 <sup>d</sup>	3.94± 0.02 <sup>d</sup>	3.07± 0.09 <sup>b</sup>	3.62± 0.05 <sup>cd</sup>	20.83± 0.08 <sup>f</sup>	21.61± 0.09 <sup>d</sup>	20.84± 0.14 <sup>e</sup>
PP 3	56.42± 0.30 <sup>d</sup>	56.88± 0.79 <sup>d</sup>	48.52± 0.01 <sup>e</sup>	4.09± 0.09 <sup>c</sup>	3.21± 0.17 <sup>ab</sup>	3.73± 0.05 <sup>c</sup>	23.13± 0.23 <sup>c</sup>	23.02± 0.42 <sup>c</sup>	21.75± 0.11 <sup>cd</sup>
PP 5	54.58± 0.14 <sup>e</sup>	54.12± 0.12 <sup>e</sup>	43.83± 0.23 <sup>f</sup>	3.76± 0.09 <sup>e</sup>	3.22± 0.02 <sup>ab</sup>	3.51± 0.08 <sup>d</sup>	25.5±0. 28 <sup>b</sup>	25.59± 0.27 <sup>b</sup>	22.77± 0.20 <sup>b</sup>
PE 1	63.63± 0.74 <sup>b</sup>	63.29± 0.20 <sup>b</sup>	61.16± 0.71 <sup>a</sup>	3.68± 0.06 <sup>e</sup>	2.73± 0.09 <sup>c</sup>	3.54± 0.09 <sup>d</sup>	22.53± 0.15 <sup>d</sup>	22.93± 0.41 <sup>c</sup>	22.02± 0.27 <sup>c</sup>
PE 3	59.37± 0.16 <sup>c</sup>	54.71± 0.60 <sup>e</sup>	54.39± 0.20 <sup>c</sup>	4.25± 0.03 <sup>b</sup>	3.28± 0.08 <sup>ab</sup>	3.75± 0.04 <sup>bc</sup>	21.37± 0.13 <sup>e</sup>	20.35± 0.16 <sup>e</sup>	21.21± 0.12 <sup>de</sup>
PE 5	52.49± 0.09 <sup>f</sup>	55.11± 0.23 <sup>e</sup>	56.03± 0.83 <sup>b</sup>	4.67± 0.05 <sup>a</sup>	3.27± 0.17 <sup>a</sup>	3.87± 0.13 <sup>b</sup>	22.36± 0.14 <sup>d</sup>	21.43± 0.53 <sup>d</sup>	23.06± 0.86 <sup>b</sup>

Data represents mean±SD.

<sup>1)</sup>a-g Different superscripts with a same column(PP and PE amount) are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

#### (4) 쌀 마들렌의 저장기간에 따른 텍스처 특성

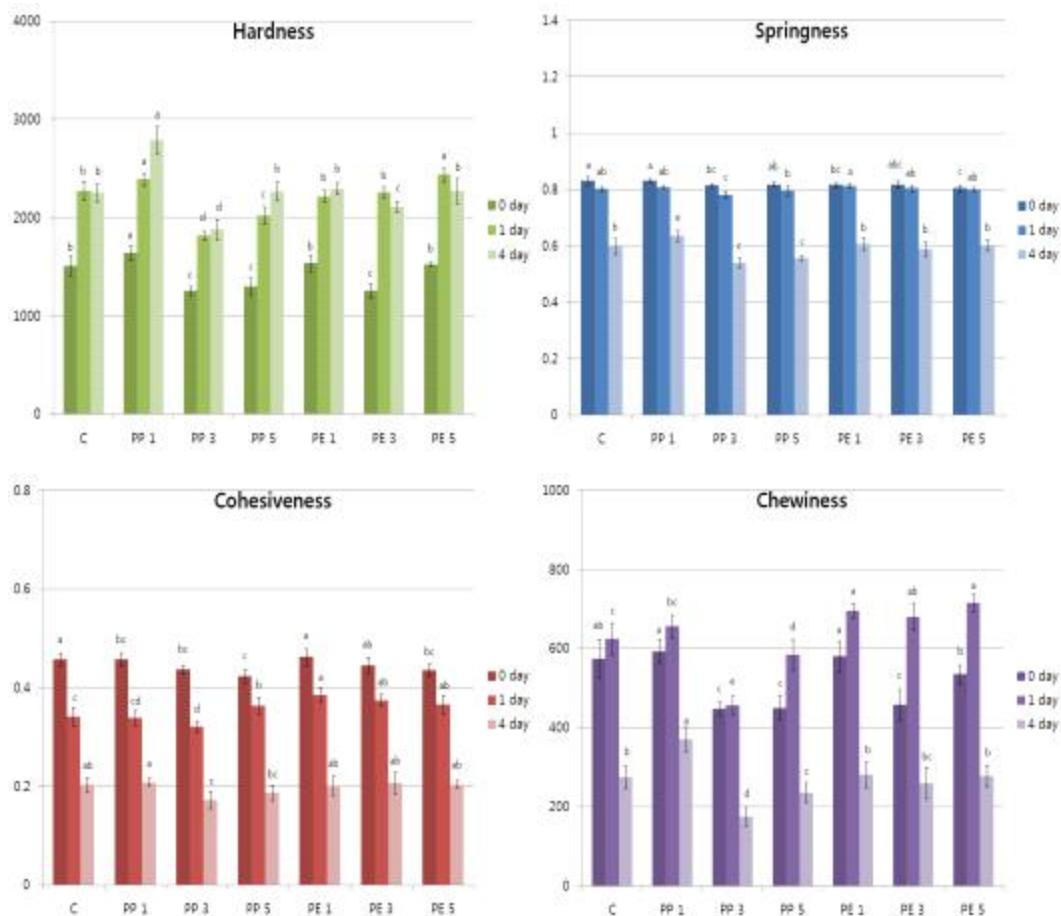




Fig. 10. Texture of the rice madeleine prepared with different amount of PP and PE during storage at 23 °C for 4 days.

솔잎분말과 추출물의 양을 달리하여 제조한 후 저장일수를 다르게 하여 텍스처를 측정된 결과는 Fig 10에 나타냈다. 경도, 탄성, 응집성, 씹힘성, 회복력에서 유의적인 차이를 보였다 ( $p < 0.05$ ). 솔잎 마들렌의 경도는 첨가량에 따른 일정한 경향을 보이지 않았다. 솔잎분말을 1g 첨가한 마들렌의 저장 1일과 4일의 경도에서 가장 높은 값을 보여 1g을 첨가하였을 때 제품이 단단해지는 것으로 생각되었다. 탄력성도 마찬가지로 분말 1g 첨가군이 전반적으로 높은 값을 보였고, 저장 4일 째에는 분말 3g과 5g을 첨가한 마들렌의 탄력성이 가장 낮았다. 응집성은 탄력성의 결과와 거의 유사하였고, 씹힘성은 분말 3g 첨가 마들렌이 가장 낮은 값을 보였다. 컵케이크 제품의 경우 저장 4일의 씹힘성이 확연하게 증가한 것에 반해 마들렌은 씹힘성이 감소하였고 마들렌의 저항성이 크게 감소하는 결과를 보였다. 이는 제품제조에 사용된 재료의 특성으로 설명될 수 있을 것으로 보인다.

본 연구를 통해 솔잎분말과 추출물을 첨가한 제품의 항산화 활성이 대조군에 비해 우수함을 알 수 있었고 기호도 조사를 통하여 솔잎에 대한 기호도가 낮은 연령대(10, 20~30대)에서는 솔잎의 향미가 적게 나는 솔잎분말 3g과 5g 첨가군을 선호하였고, 높은 연령대(40~50대, 60대 이상)에서는 솔잎의 향이 나는 솔잎추출물 3g 첨가 컵케이크의 선호도가 높게 나타났다. 외관과 기공의 균일성, 색에서는 솔잎분말을 첨가한 군이, 솔잎 향에서는 추출물을 첨가한 군이 높은 점수를 나타내었고, 솔잎분말 첨가 제품의 기능성이 우수하다는 연구결과로 제품 제조시 솔잎분말과 솔잎추출물을 제품의 제조 과정 중 다른 단계에 첨가함으로써 기능성과 외관, 솔잎 향을 만족시킬 수 있을 것으로 생각되었고, 추후 연구가 이루어져야 할 것으로 사료되었다.

## <2차년도>

### 1절 연구내용

## 1. 재료

시료인 쌀은 전라남도 곡성군에 위치한 농업회사법인(주) 미실란에서 2011년 수확하여 도정한 삼광벼 품종인 유기농 백미(9분도)와 유기농 메현미로 5 kg씩 구입하여 사용하였다. 쌀겨는 전라남도 고흥군에 소재한 정미소에서 도정하여 백미를 만드는 과정 중 발생된 유기농 쌀겨를 구입하여 실험에 사용하였다. 총 식이섬유 함량은 TDF kit를 Sigma-Aldrich Chemical(Co, St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 항산화 실험에 사용한 Folin & Ciocalteu's reagent 는 Wako Pure(Chemical Industries, Ltd, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)과 gallic acid는 Sigma-Aldrich Chemical(Co., St. Louis MO, USA)에서 구입하였으며, L(+)-Ascorbic acid(Vitamin C)는 Junsei(Chemical Co, Ltd, Japan)에서 구입하였다. 가래떡 제조에 사용한 부재료로 소금(해표)을 시중에서 구입하여 사용하였다.

## 2. 방법

### 가. 쌀가루의 제조

쌀가루는 Shin MS 등(2007)과 Park SJ 등(2012)의 방법으로 처리하였다. 멥쌀인 삼광벼 품종의 백미와 현미를 낱알 형태로 3회 수세하여 상온(18±3℃)에서 6-10시간 수침한 후 저온(15±3℃)에서 풍건하였다. 건조된 쌀알의 수분함량이 약 12% 정도 되었을 때 120 mesh 체가 내장된 제분기(풍진기계/ 대화정밀, 서울, 한국)로 제분하여 백미쌀가루(white rice flour; WRF)와 현미쌀가루(brown rice flour; BRF)를 제조하였고 4℃의 저온고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 나. 쌀겨 안정화

쌀겨는 10 mesh 체를 이용하여 왕겨를 제거하였고, 분리된 쌀겨는 35 mesh 체를 이용하여 2번 체질하여 쌀눈과 불순물을 분리하였다. 쌀눈을 제거한 쌀겨를 안정화시키기 위해 팬에 1-1.5cm 두께로 펼친 다음 120℃/120℃의 오븐에서 10분간 처리 하였고, 바로 냉동실에 5분간 냉각시켜 안정화시켰다. 안정화시킨 쌀겨는 분쇄기(DA 282-2, (주)대성 아트론, 한국)로 분쇄하고 100 mesh(<150µm) 체를 통과시켜 쌀겨 분말을 제조하였으며, 냉동실에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 다. 쌀가루와 쌀겨의 일반 성분 분석

멥쌀인 삼광벼 백미로 제조한 쌀가루(WRF), 현미로 제조한 쌀가루(BRF)와 쌀겨의 일반성분은 AOAC(2000)방법으로 분석하였다. 수분함량은 105℃ 오븐을 이용한 상압가열법, 단백질량은 미량 켈달법, 조지질은 에테르를 용매로 사용한 속시렛법으로 측정하였다. 조회분은 550℃ 전기로를 이용한 직접 회화법으로 측정하였다.

### 라. 쌀가루와 쌀겨의 총 식이섬유 함량 분석

총 식이섬유 함량은 AOAC 방법(2000)에 따라 dietary fiber assay kit(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 측정하였다. 분말시료 1.0 g(건물당)에 50 mL의 phosphate buffer(pH 6.0)와 마그네슘바를 600 mL의 톨비커에 넣고, heat stable  $\alpha$ -amylase(Cat No. A3306, Sigma Chemical Co., USA) 0.1 mL를 넣어 끓는 수조(100°C)에서 교반과 함께 20분간 반응시켰다. 반응 후 바로 실온으로 냉각시켰으며, 0.275 M NaOH 완충용액으로 pH 7.5±0.2로 적정하였다. phosphate buffer에 용해한 protease 0.1 mL을 넣고 60°C 항온 진탕기에서 100 rpm 으로 35분간 반응시켰다. 상온에서 식힌 후 0.325 M HCl로 pH 4.0-4.6으로 적정하여 amyloglucosidase 0.1 mL을 가하고 60°C에서 35분간 반응시켰다. 반응을 멈추기 위해 95% 알코올을 비커에 있는 용액의 4배만큼 첨가하여 상온에서 1시간 놓아두었다. Acid washed celite 0.7 g을 넣어 dry oven(105±5°C)에서 항량에 도달한 유리 crucible로 감압여과하였다. 잔여물을 78% 에탄올, 95% 에탄올과 아세톤으로 단계적으로 씻고 남은 불용성 잔사를 105°C 오븐에서 overnight 건조시켜 무게를 측정하여 식이섬유 함량(%)을 계산하였다. 반복 측정된 crucible 중 하나는 550°C 전기로로 직접 회화법으로 회분량을 측정하였고, 다른 하나는 미량 켈달법으로 단백질 함량을 정량하였다. 총 식이섬유 함량은 다음식과 같이 계산하였다.

$$\text{TDF (\%)} = \{(\text{R sample} - \text{P sample} - \text{A sample} - \text{B}) / \text{SW}(1.0 \text{ g, db})\} \times 100$$

R= Average residue weight (mg)

P= Average protein weight (mg)

A= Average ash weight (mg)

B= R blank- P blank- A blank

SW= Average sample weight (mg)

#### 마. 쌀가루와 쌀겨의 구성아미노산 분석

백미, 현미 쌀가루와 쌀겨 분말에 6 N HCL 1 mL을 가한 다음 질소가스를 주입하여 밀봉한 후 110°C 오븐에서 22시간 가수분해 시키고 방냉하였다. 탈 이온수를 사용하여 50 mL로 정용한 후 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과하여 희석한 후 HPLC로 분리, 정량하였다. 분석조건은 Table 1에 나타내었으며 다음과 같은 식에 의해서 계산하였다.

Table 1. Operating conditions using amino acid analyzer for analysis of amino acid compositions of WRF, BRF and SRB

Item	Conditions
Instrument	Sykam Automatic Amino acid Analyzer S-433H
Column	Cation separation column LCA K06/Na 4.6×150 mm (Sykam)
Column temperature	Gradient 57~74°C 0.45 mL/min, gradient buffer A→B buffer A
Buffer flow rate	Na citrate 14.7 g, citric acid 5 g, methoxy ethanol 80 mL, hydrochloric acid 37% 11 mL buffer B
Buffer pH range	Na citrate 19.6 g, boric Acid 4 g pH 3.45~10.85
Injection volume	50 µL
Derivatization reagent	Ninhydrin reagent
Derivatization reagent flow rate	0.25 mL/min
Wavelength	440 nm and 570 nm

$$\text{Amino acid (mg\%)} = \frac{\text{sample area}}{\text{standard area}} \times \text{STD amount (mg)} \times \frac{1}{S} \times 100 \times V$$

S: Weight of sample (mg)

V: Dilution factor

#### 바. 쌀가루와 쌀겨의 무기질 분석

백미, 현미쌀가루와 쌀겨분말을 정밀저울에서( $10^{-4}$  g) 약 0.1 g씩 칭량하여 테프론 용기에 넣고 산 분해를 위해 질산원액 14 mL와 과산화수소 원액 3 mL을 첨가하여 유기물을 분해하였고, 포집액으로 5% 질산 7 mL을 첨가하였다. 흑연블럭에서 220°C로 4 시간 동안 가열하여 산 분해 후 상온에서 하루 동안 방냉시켰고, 50 mL 팔콘 튜브에 산 분해된 시료를 옮겨 담은 후 3차 증류수로 40 mL 표선을 맞추었다. 각 시료 30분 원심 분리 및 vortexing 후 농도가 균질하도록 하루 동안 방치하여 ICP-MS를 이용하여 무기질을 측정하였다. 증류수를 blank로 사용

하였고, 표준시약 5, 10, 50과 100 ppb 농도로 측정하여 검량선을 확인 후 시료를 ppb농도 범위로 희석하여 분석하였다. 측정된 값에 희석배수를 곱하여 각 시료에 들어있는 개별원소들의 농도를 계산 하였다. 무기질 조성은 유도결합플라즈마질량분석기인 ICP/MS-LC(Nexion 300X Model, Perkin Elmer, Canada)로 분석하였으며, 분석한 무기질은 Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu, Mn, Na, Cr, Co, Se, Cd, Pb, Mo, As, Hg로 16종류의 무기질을 분석하였으며, 분석조건은 Table 2와 같았다.

#### 사. 쌀가루와 쌀겨의 색도

제조한 쌀가루와 쌀겨 분말의 색도는 색도계(SpectraMagic™ NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, ±a(redness/greenness)값 및 ±b(yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정한 후 평균값을 이용하였다. 기기는 L=96.81, a=-0.08, b=-0.14 인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하고, 색차(ΔE)는 백색판을 기준으로 다음의 식으로 계산하였다.

$$\Delta E = \Delta L + \Delta a^2 + \Delta b^2$$

#### 아. 주사전사현미경을 이용한 쌀가루 입자의 형태 관찰

쌀가루와 쌀겨의 표면 형태 관찰을 위해 데시케이터에서 수분을 조절하고 아세톤으로 깨끗하게 닦은 stub에 이중 테이프를 잘라 붙이고 여기에 쌀가루와 쌀겨 분말을 얇게 펴서 도말한 다음 금/백금으로 전도성을 갖게 하여 도금하여 만들었다. 주사전자 현미경(Scanning Electron Microscope, SEM, JEOL, JSM-7500F+EDS, Japan)을 사용하여 가속 전압 15 kV, Phototimes 85 sec 조건에서 350배, 1000배의 배율로 관찰하였다.

#### 자. X-선 회절도 분석

시료의 X-선 회절도에 의한 결정형과 결정강도는 X-선 회절기(D/Max-1200, Rigaku Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 쌀가루와 쌀겨분말의 결정강도를 측정하였다. 기기조건은 target, Cu-Kα; filter, Ni; full scale range, 3000 cps; scanning speed, 8°/min; voltage, 40 kV; current, 20 mA로 회절각도(2θ) 40°~5°까지 회절시켜 비교하였다.

#### 차. 이화학적 특성 측정

##### (1) 물 결합능력

쌀가루와 쌀겨의 물결합능력은 Medcalf와 Gilles(1965)의 방법에 따라 실시하였다. 50 mL 원심 분리관에 시료 0.5 g(건량 기준)과 증류수 20 mL을 가한 후 마그네틱바(Φ 3.2 ×13 mm)를 넣어서 교반기를 이용하여 실온에서 1시간 동안 분산시킨 뒤, 5000 rpm (2,730 ×g)에서 30분간 원심분리(원심분리기, Hanil Science Industrial Co., Ltd, Supra 22K Seoul, Korea) 하였다. 원심 분리관을 1분간 거꾸로 세워 상정액을 제거하고 침전된 무게를 측정하여 처음 시료와의 중



량비로부터 계산하였다.

$$\text{물 결합능력 (\%)} = \frac{\text{침전된 시료의 무게(g)} - \text{처음 시료의 무게(g)}}{\text{처음 시료의 무게(g)}} \times 100$$

## (2) 팽윤력과 용해도

팽윤력과 용해도는 Schoch의 방법(1964)을 이용하여 80℃에서 측정하였다. 50 mL 원심 분리관에 시료 0.5 g(건량기준)에 증류수 20 mL과 마그네틱 바를 넣어 분산 시킨 후, 80℃를 유지하면서 20분간 교반기를 이용하여 저어준 뒤 빨리 얼음에 냉각시켰다. 이 원심 분리관을 5000 rpm (2,730 ×g)에서 30분간 원심 분리하였다. 미리 항량하여 건조시킨 용기에 상징액을 부어 105℃ 드라이 오븐에서 항량된 건조 무게로 다음의 식을 이용하여 용해도를 계산하였다.

$$\text{용해도(\%)} = \frac{\text{상징액 건조 무게(g)}}{\text{시료의 무게(g)}} \times 100$$

팽윤력은 원심분리 후 침전된 쌀가루의 무게와 계산된 용해도(%)를 이용하여 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{팽윤력(g/g)} = \frac{\text{침전된 쌀가루의 무게(g)}}{\text{시료의 무게(g)} \times (100 - \% \text{용해도})} \times 100$$

## 카. 신속점도 측정기에 의한 호화 특성 측정

제조된 쌀가루와 쌀겨의 가열에 따른 호화특성은 신속점도 측정기(RVA, Rapid Visco Analyzer, model 3D, Newport Scientific Pty, Ltd, Warriwood, Australia)를 이용하여 측정하였다. 시료 3 g(수분함량 12% 기준)을 RVA용 canister에 담고 증류수 25 mL을 가하여 0~1분간은 50℃, 1.0~4.45분은 50~95℃까지 상승, 4.45~7.15분은 95℃로 유지, 7.15~11.06분은 50℃까지 냉각, 11.06~12.30분은 50℃를 유지하면서 점도를 측정하였다. 신속 점도계의 측정치는 초기 호화개시온도(initial pasting temperature), 최고점도(peak viscosity, P), trough viscosity(T), 50℃에서의 냉각점도(cold viscosity, C)를 나타냈고, total setback(C-T)과 breakdown(P-T) viscosity를 계산하였다.

## 타. 백미, 현미 쌀가루와 쌀겨분말 첨가 가래떡의 품질 및 항산화성 측정

### (1) 가래떡의 제조

가래떡 제조에 사용된 쌀가루는 삼광 백미 쌀가루와 백미 쌀가루에 현미 쌀가루를 30% 첨가한 쌀가루, 백미 쌀가루에 쌀겨를 10, 20, 30% 첨가한 5 종류의 쌀가루(WRF, BRF30, SRB10, SRB20, SRB30)로 Table 2와 같이 배합하였다. 배합비는 혼합쌀가루 500 g(건물기준)에 대하여 소금물(소금 4 g, 물 450 mL)을 사용하여 제조하였다. 가래떡의 제조과정은 Fig. 1과 같다. 먼저 쌀가루를 체질한 후 소금과 물을 혼합하여 소금과 물이 쌀가루에 충분히 스며들도록 10분 방치하였다가 다시 체에 내렸다. 이 쌀가루를 물 3 L를 넣은 찜기에서 수증기가 올라오기 시작한 다음부터 35분간 찌고 5분간 뜸을 들였다. 현미 쌀가루와 쌀겨(건물 기준)를 첨가한 쌀가루는 소금물을 넣고 위와 같은 방법으로 제조하였다. 열원은 도시가스 LNG(2.0±0.5 kPa)로 가스레인지의 화력은 강중약 3단계로 조절되는데 이 중 화력 조절기를 강으로 사용하였다.

찜 반죽은 만능녹즙기(gold DO-1004, (주)동아오스카, 서울, 한국)로 직경 1.5 cm 분쇄노즐을 이용하여 3회 압출시켰으며 제조된 가래떡을 4 L의 찬물에 20초간 냉각하여 실온에서 30분 냉각시켰다. 이 중 일부는 외관형태 측정과 색도, 텍스처 측정에 사용하였고, 나머지는 OPP플지로 포장하여 polyethylene bag에 넣어 23°C 실온으로 1일간 저장하면서 각각 색도와 텍스처 특성, 관능적 특성을 측정하였다.

Table 2. Formula for *Garaedduk* preparation from white rice flour mixtures with brown rice flour and stabilized rice bran flour

Sample	Ingredients				
	White rice flour	Brown rice flour	Stabilized rice bran	Salt	Water
	(g)	(g)	(g)	(g)	(mL)
WRF	500	-	-	4	450
BRF30	350	150	-	4	450
SRB10	450	-	50	4	450
SRB20	400	-	100	4	450
SRB30	350	-	150	4	450

WRF, BRF and SRB mean white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran, respectively.

BRF30 means the ratio of BRF versus WRF was 30:70.

SRB10, SRB20 and SRB30 mean white rice flour mixtures with different adding stabilized

rice brans(10, 20 and 30%) respectively

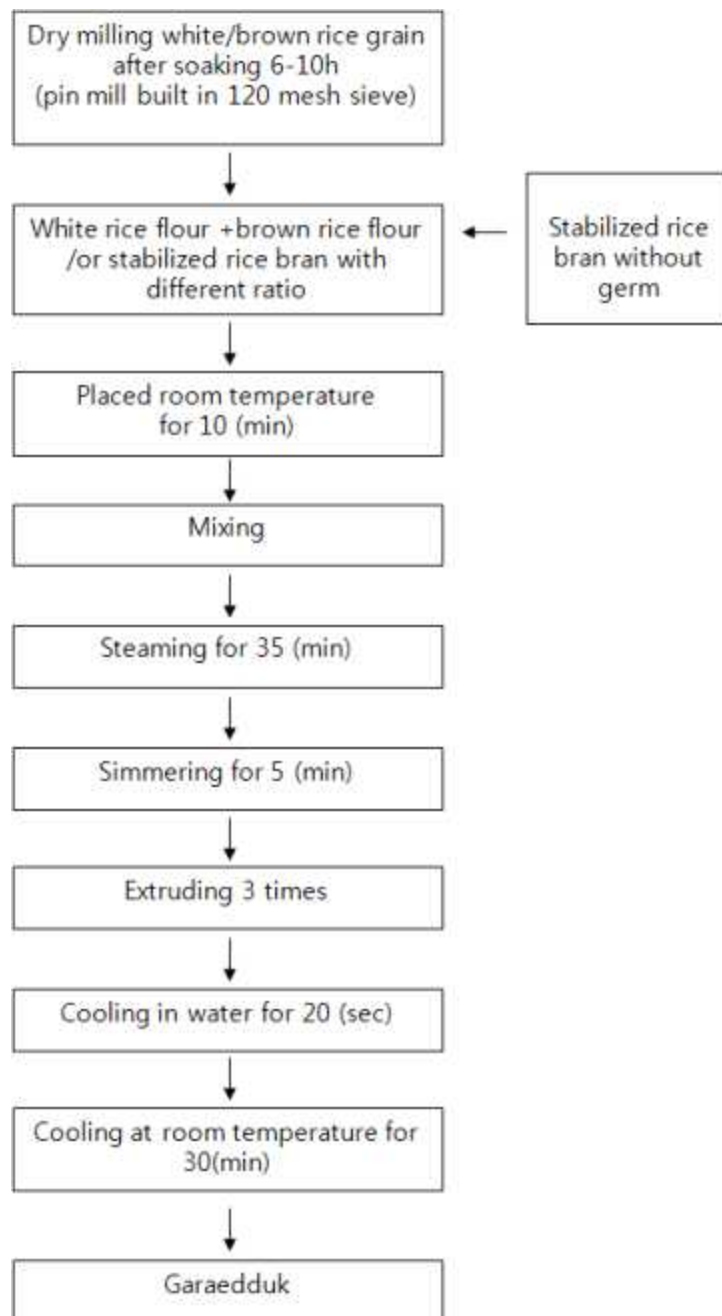


Fig. 1. Flow diagram for making *Garaedduk* prepared from white rice flour mixtures with

brown rice flour and stabilized rice bran flour.

## (2) 가래떡의 형태적 관찰

제조된 가래떡의 외형적인 특성은 실온에서 30분 냉각한 다음 10 cm 길이로 절단하여 디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 가래떡의 전체모양을 관찰하였다.

## (3) 가래떡의 색도 측정

가래떡의 색도는 가래떡을  $\Phi 1.5 \times 1.5$  cm로 잘라 색도계(SpectraMagic<sup>TM</sup> NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값,  $\pm a$ (redness/greenness)값 및 b(yellowness/blueness)값을 5회 반복 측정한 후 평균값을 이용하였다. 기기는 L=96.81,  $\pm a = -0.08$ ,  $b = -0.14$  인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였다.

## (4) 저장기간에 따른 가래떡의 텍스처 측정

가래떡의 텍스처 측정은 가래떡을 뽑아 실온에서 30분간 냉각 시킨 후  $1.5 \times 1.5$  cm 크기로 잘라 모양을 유지하고 수분이 증발되지 않도록 보관하면서 텍스처 측정기(Texture Analyzer, TA-XT Plus, England)를 이용하여 반복 압축시험을 실시하였다. 기기의 조건으로 probe는 실린더 모양( $\Phi 20$  mm)을 사용하였고 변형율은 75%를 주었으며 두 번 압축시험 후 힘과 시간으로 그려진 TPA(texture profile analysis) 곡선으로부터 텍스처 측정치를 계산하였다. TPA로부터 경도(hardness), 응집성(cohesiveness), 탄성(springiness), 부착성(adhesiveness), 씹힘성(chewiness), 회복력(resilience)의 특성치를 평균과 표준편차로 비교하였다.

## (5) 가래떡의 관능평가

백미 쌀가루에 현미쌀가루와 안정화 쌀겨를 첨가한 혼합쌀가루로 제조한 가래떡에 대한 관능평가는 특성치에 따른 차이조사와 전반적인 품질에 대한 기호조사를 9점 채점법으로 실시하였다. 각 평가항목에 대한 차이 조사는 9점은 대단히 강하다, 1점은 대단히 약하다로 평가하였고 기호도 조사는 9점 가장 좋다에서 1점 가장 나쁘다로 하였다.

훈련된 ○○대학교 식품영양학과 대학원생 10명을 평가원으로 차이조사와 기호도 조사를 반복 수행하였다. 차이조사의 항목은 외관(색깔, 표면의 매끄러운 정도), 냄새(이취, 고소한 향), 맛(고소한 맛, 짙은 맛), 텍스처(경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 거칠음)들이었으며, 기호도 조사로 전반적인 품질을 평가하였다.

## (6) 가래떡의 항산화성 측정

가래떡 제조 전 백미와 현미쌀가루, 쌀겨분말을 첨가비율에 따라 혼합한 혼합 쌀가루의 항산화 활성과 가래떡 제조 후 항산화활성의 차이를 확인하여 제조과정 중의 항산화활성의 변화를 알아보고자 다음과 같은 실험을 실시하였다.

### (가) 추출물의 제조

제조한 가래떡은 동결건조기(Freeze dryer, FD 5505, Vision, Korea)로 건조하여 분쇄기(DA 282-2, (주)대성 아트론, 한국)로 분쇄하고 100 mesh 체를 통과시켜 시료로 사용하였다. 시료 10 g(건물기준)에 80% 에탄올 50 mL을 넣어 10분 간격으로 저어서 1시간 동안 추출한 후 상등액을 취하였다. 잔여물에 50 mL의 80% 에탄올을 넣어 위와 같은 방법을 2번 반복한 다음 Büchner funnel을 이용하여 진공여과 하였다(filter paper Whatman No 2). 추출한 여과액을 모아 45°C에서 회전식 농축기(rotary evaporator Hahn Shin, HS-2000N, China)로 농축시켜 10 mL로 정용하였다. 추출물은 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

### (나) 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Jin 등(2010)의 방법을 수정하여 측정하였다. 추출한 시료 1 mL에 증류수 4 mL을 넣고 0.3 mL의 5% NaNO<sub>2</sub>를 혼합한 후 진탕하여 5분간 반응시켰다. 여기에 10% AlCl<sub>3</sub> 0.3 mL와 1 M NaOH 2 mL를 넣어 혼합하였고 여기에 증류수 2.4 mL을 넣어 진탕한 후 510 nm에서 분광광도계(UV-Vis spectrophotometer, Optizen pop, Mecasys Co., Ltd, Korea)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin(Sigma Chemical Co)을 표준물질로 0.1%로 희석하여 흡광도를 측정한 후 추출물 mL 중의 g quercetin으로 환산하여 표기하였다.

### (다) 총 페놀성 화합물 함량

총 페놀성 화합물 함량(total phenolic compounds content)은 Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 이용한 비색법에 준하여 분석하였다(Jin 등 2010). 추출물 100 µL에 900 µL의 증류수와 Folin-Ciocalteu's reagent 100 µL을 가한 후 5분간 방치하고 7% sodium carbonate(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 100 µL를 가하여 암소에서 1시간 반응시킨 후 UV-Vis spectrophotometer로 716 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 사용하여 표준곡선을 작성하였고, Fig. 4에 나타내었다. 표준곡선식은  $y=52.063x-0.0033$ 으로 결정계수( $R^2=0.9998$ )가 매우 높았고, 이 때 x는 100 mL 당 gallic acid g이며, y는 716nm에서의 흡광도이다.

### (라) DPPH radical 소거능

가래떡의 항산화 활성은 DPPH(1,1'-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거능을 측정하였다. 80% 에탄올로 추출한 시료 0.6 mL에 80% 에탄올 1.3 mL을 넣은 후 2 mM DPPH 용액 2.1 mL을 가하여 암실에서 30분간 반응시켰다. 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 DPPH의 전자공여능(electron donating ability, EDA)은 다음과 같은 식으로 계산하였다. 이 때 A는 517 nm에서 시료의 흡광도, B는 517 nm에서 대조군의 흡광도이다. 대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

$$\text{EDA} (\%) = (1-A/B) \times 100$$

## (7) 통계처리

본 연구의 모든 결과는 3번 이상 반복 측정하여 구하였으며 평균과 표준편차로 나타내었다. SPSS(version 12.0)를 사용하여 ANOVA에 의한 분산분석을 실시하였고,  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

### 3. RS4를 이용한 쌀 전분 겔의 품질 특성

#### 가. RS4의 제조

전분과 증류수를 1:1의 비율로 혼합한 후에 water bath에서 50°C, 12시간을 가열한다. 멸균 병에 있는 sample을 비커로 옮기고 45°C의 water bath에서 반응시킨다. 10% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(무수)를 첨가하고, STMP, STTP(12%)를 첨가한 후 30분마다 한번씩 저어주며 반응시키는 작업을 3시간 동안 진행한다. 반응시킨 전분을 1N NaOH로 pH 11.5~12로 맞춰주고, water bath에서 45°C, 3시간동안 계속 섞어준 후 3시간 후에 pH 7로 중화시킨다. 원심분리기를 이용하여 5000rpm에서 10분 동안 돌리는 작업을 5~6회 반복하고, 깨끗이 씻은 전분을 저온에 건조시킨 다음 분쇄기로 분쇄하여 100 mesh 체로 통과시킨다.

#### 나. RS4의 수율 측정

RS4의 수율은 AOAC 방법(2000)에 따라 dietary fiber assay kit(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 측정하였다. 분말시료 1.0 g(건물당)에 50 mL의 phosphate buffer(pH 6.0)와 마그네틱바를 600 mL의 톨비커에 넣고, heat stable  $\alpha$ -amylase(Cat No. A3306, Sigma Chemical Co., USA) 0.1 mL를 넣어 끓는 수조(100°C)에서 교반과 함께 20분간 반응시켰다. 반응 후 바로 실온으로 냉각시켰으며, 0.275 M NaOH 완충용액으로 pH 7.5±0.2로 적정하였다. phosphate buffer에 용해한 protease 0.1 mL을 넣고 60°C 항온 진탕기에서 100 rpm 으로 35분간 반응시켰다. 상온에서 식힌 후 0.325 M HCl로 pH 4.0-4.6으로 적정하여 amyloglucosidase 0.1 mL을 가하고 60°C에서 35분간 반응시켰다. 반응을 멈추기 위해 95% 알코올을 비커에 있는 용액의 4배만큼 첨가하여 상온에서 1시간 놓아두었다. Acid washed celite 0.7 g을 넣어 dry oven(105±5°C)에서 항량에 도달한 유리 crucible로 감압여과하였다. 잔여물을 78% 에탄올, 95% 에탄올과 아세톤으로 단계적으로 씻고 남은 불용성 잔사를 105°C 오븐에서 overnight 건조시켜 무게를 측정하여 RS4 수율을 계산하였다.

#### 다. RS4를 첨가한 겔의 제조

10% 전분 겔의 제조는 다음과 같았다. 납평전분 건량 5g을 기준으로 RS4를 각각 10, 20, 30% 비율로 첨가하여 10% 전분 겔을 제조하였다. 분말과 증류수를 섞어 마그네틱바를 이용하여 30초간 분산시킨 후, 끓는 물에서 30분 동안 중탕하여 전분 호화액을 만들었다. 뜨거운 상태의 호화액을 유리판 위에 올린 둥근 스테인레스 스틸 관(Φ 1.8 × 1.5 cm)에 기포가 생기지 않도록 부은 다음 다른 유리판으로 살짝 덮어 실온에서 냉각 시킨다. 제조된 겔은 살짝 밀어 판을 제거한 후 실험에 사용하였다.

#### 라. 전분 겔의 형태적 특성 관찰

전분 겔의 모양은 디지털 카메라(Canon, Tokyo, Japan)로 촬영하여 겔의 외관상 형태를 관찰하였다.

#### 마. 전분 겔의 색도 측정

2-타-(3)과 동일한 실험방법으로 측정하였다.

#### (6) 전분 겔의 텍스처 측정

2-타-(4)와 동일한 실험방법으로 전분 겔의 텍스처를 측정하였고, 측정 시의 조건은 Table 3와 같았다.

Table 3. Measurement conditions for textural properties of rice starch gels with different RS4 using texture analyser

Item	Conditions
Instrument	Texture Analyzer (TA-ST plus)
Test type	TPA (two bite compression test)
Probe type	cylinder ( $\Phi$ 20 mm)
Sample size	( $\Phi$ 1.8 X 1.5 cm)
Deformation	90%
Pre-test speed	1.0 mm/sec
Post-test speed	1.0 mm/sec

### 4. 보리순, 고구마, 저항전분 분말을 첨가한 가래떡의 제조 및 품질 특성

#### 가. 보리순, 고구마, 저항전분 분말을 첨가한 가래떡의 제조

보리순과 고구마, 저항전분 분말을 첨가하여 제조한 가래떡의 제조 방법은 2-타-(1)의 가래떡 제조 방법과 동일하였다.

#### 나. 가래떡의 색도 측정

2-타-(4)와 동일한 실험방법으로 측정하였다.

#### 다. 가래떡의 관능 평가

가래떡에 대한 관능평가는 9점 채점법에 의하여 실시하였다. 각 평가 항목에 대한 관능적 특성 조사는 9점은 대단히 강하다, 1점 대단히 약하다로 평가하였고, 기호도 조사는 9점 가장 좋다에서 1점 가장 나쁘다로 평가하였다. 훈련된 식품영양학과 대학원생을 평가원으로 반복실험을 하여 10가지 특성치에 대하여 관능적 특성을 실시하였다. 관능적 특성은 외관의 색깔과 표면 매끈함, 냄새의 이취와 고소한 향, 고소한 맛, 텍스처의 경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 거칠음과 전반적 품질에 대하여 조사하였다.

## 5. 발효 슬릿 액을 첨가한 찰빵의 제조 및 품질 특성

### 가. 발효 슬릿 액을 첨가한 찰빵의 제조

발효 슬릿 액을 첨가한 찰빵의 제조는 다음 Fig. 2와 같았다.

먼저 멥쌀과 설탕, 소금, 이스트를 섞어 반죽을 한 후 30-35℃, 습도 60%에서 1차 발효를 시켰다. 이후 밀단백질과 트랜스글루타미네이즈, 베이킹 파우더, 알긴산과 쌀눈유를 첨가한 후 다시 반죽한 후에 성형하여 2차 발효를 실시하였다. 발효 시킨 찰빵을 100℃에서 15분간 찌서 제조하였다.

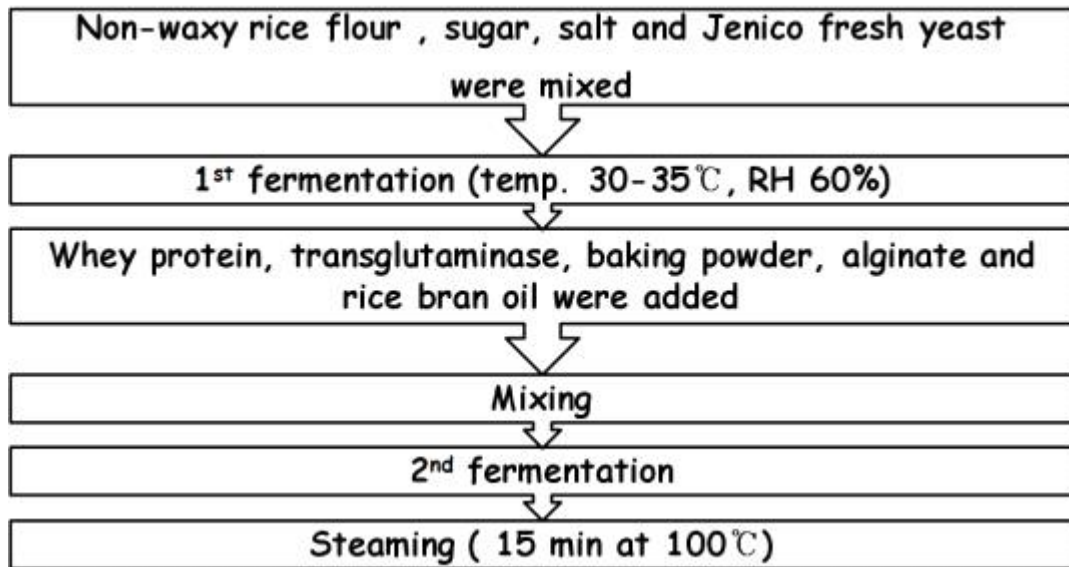


Fig. 2. Preparation procedure for gluten-free steamed rice bread.

### 나. 제조 조건에 따른 찰빵의 형태적 특성 관찰

제조 조건에 따른 찰빵의 모양은 디지털 카메라(Canon, Tokyo, Japan)로 촬영하여 외관상 형태를 관찰하였다.

### 다. 통계처리

본 연구의 모든 결과는 3번 이상 반복 측정하여 구하였으며 평균과 표준편차로 나타내었다. SPSS(version 12.0)를 사용하여 ANOVA에 의한 분산분석을 실시하였고,  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

## 2절 연구결과

### 1. 반건식제분 쌀가루와 안정화쌀겨분말로 제조한 가래떡의 품질과 항산화성

#### 가. 백미, 현미쌀가루와 안정화쌀겨의 특성

##### (1) 일반성분 및 총 식이섬유 함량

백미, 현미, 안정화쌀겨의 일반성분과 총 식이섬유 함량은 Table 4와 같다. 삼광벼 백미 쌀가루(white rice flour, WRF)와 현미 쌀가루(brown rice flour, BRF)의 수분함량은 각각 10.28%



와 9.64%였으며 쌀겨(stabilized rice bran, SRB)의 수분함량은 3.66%로 백미쌀가루, 현미쌀가루보다 낮았다( $p < 0.05$ ). 일반쌀겨의 수분함량을 10.50%로 보고한 Choi 등(2010)의 연구결과와 차이를 나타냈다. 이는 Thanonkaew 등(2012)의 연구에서  $150 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 10분간 로스팅 처리한 쌀겨의 수분함량을 2.13%로 나타난 결과처럼 쌀겨를 사용하기 전에 안정화하기 위한 방법에 따라 다른 것으로 생각되었다. 조회분 함량은 백미 쌀가루 0.31%, 현미 쌀가루 1.25%, 쌀겨 11.35%로 쌀겨에 회분이 다량 함유된 것을 확인하였다. 조 단백질 함량은 쌀겨가 16.26%로 가장 높고, 현미 6.80%, 백미 5.97% 순이었다. 조지질은 쌀겨가 19.84%로 가장 높은 값을 보였으며 현미 2.11%, 백미가 0.27%로 가장 낮았다. 현미의 지질함량은 Yun (2007)의 연구에서 현미의 지방함량을 2.27%로 보고한 결과와 비슷한 결과였다. 현미가 백미에 비하여 도정으로 인한 영양분의 손실이 없어 식물성 섬유질을 비롯하여 지방, 단백질 등 영양소가 풍부하여 몸에 좋다고 보고하였다(Kim 등 2001). 쌀겨의 구성성분으로 단백질 12~16%, 지질 16~22%로 보고한 Nicolsi 등(1994)의 연구와 유사한 결과였다. 식이섬유는 인체 내 소화효소에 의하여 소화되지 않는 다당류와 lignin으로 소화되지 않는 다당류에는 고분자 다당류인 cellulose, hemicellulose pectin질, gum질, mucilage 등으로 알려져 있다(Lee와 Lee 1987). 총 식이섬유 함량은 쌀겨 > 현미 > 백미 순으로 나타났으며 쌀겨가 45.28%로 일반 쌀가루의 3% 이하에 비해 매우 높은 값을 보였다. Delahate 등(2005)과 Choi 등(2009)의 연구에 의하면 쌀겨의 식이섬유 함량이 27%, 28.60%로 본 실험결과인 45.28% 보다 낮게 보고하였다. 이는 쌀겨 분말의 안정화 과정에서 체를 이용하여 쌀눈을 제거하여 기존의 쌀눈이 함유된 쌀겨의 식이섬유함량과 비교하여 높은 식이섬유 함량을 나타낸 것으로 생각되었다.

**Table 4. Compositional analysis of white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran**

Sample	Moisture (%)	Ash (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Total dietary fiber (%)
WRF <sup>1)</sup>	10.28±0.06 <sup>a2)</sup>	0.31±0.01 <sup>c</sup>	5.97±0.08 <sup>c</sup>	0.27±0.00 <sup>c</sup>	2.49±0.22 <sup>c</sup>
BRF	9.64±0.10 <sup>b</sup>	1.25±0.06 <sup>b</sup>	6.80±0.17 <sup>b</sup>	2.11±0.10 <sup>b</sup>	4.15±0.10 <sup>b</sup>
SRB	3.66±0.04 <sup>c</sup>	11.35±0.01 <sup>a</sup>	16.26±0.48 <sup>a</sup>	19.84±0.16 <sup>a</sup>	45.28±1.03 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> WRF, BRF and SRB mean white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran, respectively.

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

## (2) 구성 아미노산

**Table 5. Amino acid composition and contents of white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran**  
(Unit : mg/100 g)

Samples		WRF <sup>1)</sup>	BRF	SRB
Essential amino acid	Valine	294.4±4.6 <sup>c2)</sup>	333.8±1.8 <sup>b</sup>	777.7±5.1 <sup>a</sup>
	Leucine	439.0±1.2 <sup>c</sup>	484.4±6.8 <sup>b</sup>	1044.2±7.1 <sup>a</sup>
	Methionine	92.3±0.7 <sup>b</sup>	100.2±4.5 <sup>b</sup>	172.8±12.2 <sup>a</sup>
	Threonine	185.4±0.3 <sup>c</sup>	224.0±5.1 <sup>b</sup>	605.2±10.0 <sup>a</sup>
	Lysine	190.6±1.2 <sup>c</sup>	248.7±1.7 <sup>b</sup>	799.0±8.5 <sup>a</sup>
	Phenylalanine	269.3±7.5 <sup>c</sup>	292.5±0.6 <sup>b</sup>	648.0±0.6 <sup>a</sup>
	Histidine	145.3±5.6 <sup>c</sup>	173.4±2.5 <sup>b</sup>	598.9±6.7 <sup>a</sup>
Non-essential amino acid	Isoleucine	208.6±1.6 <sup>c</sup>	230.2±1.4 <sup>b</sup>	496.8±4.0 <sup>a</sup>
	Aspartic acid	486.3±4.0 <sup>c2)</sup>	566.6±5.5 <sup>b</sup>	1426.1±6.0 <sup>a</sup>
	Serine	276.4±1.1 <sup>c</sup>	315.9±2.6 <sup>b</sup>	713.1±10.3 <sup>a</sup>
	Glutamic acid	989.6±7.2 <sup>c</sup>	1065.5±9.0 <sup>b</sup>	1959.8±10.6 <sup>a</sup>
	Arginine	405.7±7.6 <sup>c</sup>	483.3±4.9 <sup>b</sup>	1060.2±5.3 <sup>a</sup>
	Tyrosine	39.2±10.7 <sup>b</sup>	54.8±0.1 <sup>b</sup>	236.7±11.4 <sup>a</sup>
	Proline	250.7±27.6 <sup>b</sup>	280.1±17.7 <sup>b</sup>	664.9±16.4 <sup>a</sup>
	Glycine	248.2±3.7 <sup>c</sup>	299.4±0.3 <sup>b</sup>	845.0±5.4 <sup>a</sup>
	Alanine	303.1±3.8 <sup>c</sup>	355.0±1.0 <sup>b</sup>	964.6±2.9 <sup>a</sup>
	Cystine	24.5±0.4 <sup>c</sup>	30.0±0.1 <sup>b</sup>	126.6±1.6 <sup>a</sup>
Total		4848.6±11.1 <sup>c</sup>	5541.3±8.5 <sup>b</sup>	13139.5±49.5 <sup>a</sup>

1) WRF, BRF and SRB mean white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran, respectively.

2)a-c Values with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

백미, 현미쌀가루, 쌀겨에 함유된 단백질의 구성 아미노산을 아미노산 분석기를 이용하여 분석한 결과는 Table 5와 같았다. 쌀겨에는 18종의 아미노산이 골고루 함유되어 있었고, 각 아미노산의 함량이 백미, 현미 쌀가루와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05). 아미노산 중에는 산성 아미노산인 글루탐산과 아스파르트산이 백미, 현미, 쌀겨에 가장 많이 포함되어 있었고, 필수아미노산 중에서는 루신 함량이 가장 높았다. 쌀겨에는 루신 함량이 백미, 현미쌀가루에 비해 1044.19 mg/100 g으로 2배 이상 높았으며, 리신 779.00 mg/100 g, 발린 777.65 mg/100 g, 페닐알라닌 648.04 mg/100 g 등 순으로 필수아미노산을 함유하고 있었다. Faccin 등(2009)의 연구에서 쌀겨에는 8개의 모든 필수아미노산이 함유되어 있고, 글루탐산과 아스파르트산이 단백질의 주요 아미노산이라고 보고한 결과와 유사하였다. 대부분의 아미노산은 맛을 유도해내는 물질로 이 중 glutamic acid는 감칠맛을 내고 aspartic acid는 신맛을 내는 것으로 알려져 있다.

### (3) 무기질

Table 6은 백미, 현미쌀가루와 쌀겨에 대하여 16종의 무기질을 분석한 결과이다. 쌀의 무기질은 품종과 기후 및 토양조건, 도정정도 등에 의해 구성 물질과 함량이 달라진다고 알려져 있다. Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu, Mn, Na, Cr, Co, Cd, Pb, Mo, As, Hg, Se이 검출되었으며, 쌀겨 분말의 무기질 함량이 백미쌀가루(WRF)와 현미쌀가루(BRF)보다 유의적으로 높게 나타나(p<0.05) 쌀겨에 무기질이 다량 함유되어 있는 것을 확인하였다. 백미, 현미쌀가루와 쌀겨에서 Mg, K, Ca이 높은 함량을 보였다. Jung (2003)의 국내 백미의 As, Cd, Cu, Pb 및 Zn에 대한 연구결과와 유사한 결과를 보였으며, 농산물 중금속 관리기준치 이하로 안전한 수준임을 확인

하였다(식약청 2012).

**Table 6. Mineral contents of white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran**

	Mineral	WRF <sup>1)</sup>	BRF	SRB
ppm	Mg	601±77 <sup>b2)</sup>	3185±110 <sup>b</sup>	35614±1805.66 <sup>a</sup>
	K	2169±87 <sup>c</sup>	4790±75 <sup>b</sup>	14430±45 <sup>a</sup>
	Ca	89±4 <sup>c</sup>	127±0 <sup>b</sup>	706±2.68 <sup>a</sup>
	Cr	67±13 <sup>b</sup>	70±1 <sup>b</sup>	305±1.58 <sup>a</sup>
	Fe	33±18 <sup>b</sup>	36±4 <sup>b</sup>	478±22.06 <sup>a</sup>
ppb	Na	12252±1392 <sup>b</sup>	11462±229 <sup>b</sup>	172008±1675 <sup>a</sup>
	Co	180±6 <sup>b</sup>	136±11 <sup>b</sup>	1352±23 <sup>a</sup>
	Cu	3600±413 <sup>c</sup>	5612±481 <sup>b</sup>	11248±786 <sup>a</sup>
	Zn	11072±1120 <sup>c</sup>	17798±1032 <sup>b</sup>	65502±25 <sup>a</sup>
	Se	41±1 <sup>b</sup>	15±2 <sup>c</sup>	64±6 <sup>a</sup>
	As	254±31 <sup>b</sup>	204±0 <sup>b</sup>	866±127 <sup>a</sup>
	Mo	1592±130 <sup>a</sup>	1058±68 <sup>b</sup>	1408±11 <sup>a</sup>
	Cd	38±3	44±6	46±3
	Pb	182±14 <sup>b</sup>	138±2.83 <sup>c</sup>	686±104 <sup>a</sup>
	Mn	24616±2761 <sup>c</sup>	65222±2837 <sup>b</sup>	435160±19148 <sup>a</sup>
	Hg	118±7 <sup>a</sup>	45±1 <sup>b</sup>	18±3 <sup>b</sup>

1) WRF, BRF and SRB mean rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran respectively.

2) Values with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

#### (4) 색도

쌀가루와 쌀겨의 색도는 Table 7과 같이 Hunter Lab value로 명도(Lightness)를 나타내는 L 값, 적색도/녹색도(redness/greenness)를 나타내는 ±a값, 황색도/청색도(yellowness/blueness)를 나타내는 ±b값으로 표시하였다. 쌀가루의 색도는 품종, 도정도, 처리조건, 제분방법과 쌀가루 입도 크기 분포에 의해 색도 차이를 보인다. WRF의 L, a, b값은 91.54, -0.16, 7.13으로 측정되었고 BRF는 87.65, 0.66, 9.89로, SRB는 68.43, 4.15, 24.91로 측정되었다. 명도인 L값은 WRF가 91.54로 가장 높게 나타났고, BRF, SRB순으로 SRB가 낮은 L값을 나타냈다. a값은 백미 -0.16에서 현미와 쌀겨는 각각 0.66과 4.15로 적색도가 증가하였고 b값도 현미와 쌀겨에서 황색도의 증가를 보였다. 이는 쌀 낱알의 분쇄과정에 생성된 쌀겨층 때문에 WRF보다 L값은 낮고 a값과 b값은 높은 것으로 생각되었다. 이러한 결과는 기존연구 Yun (2007)의 결과에서와 같이 현미 쌀가루가 백미 쌀가루보다 L 값이 낮고, a 값과 b 값이 높다는 결과와 일치하였고, ΔE값이 쌀겨가 38.09로 WRF 8.98과 BRF 13.60보다 높아 분말의 색이 진함을 확인하였다. 색도 측정 결과 현미와 쌀겨의 첨가가 가래떡 제조 시 제품의 색, 외관 및 품질에 영향을 줄 것으로 생각되었다.

**Table 7. Hunter L, a, b values of white rice flour, brown rice flour and stabilized**

## rice bran

Samples <sup>1)</sup>	L	a	b	△E
WRF	91.54±0.06 <sup>a2)</sup>	-0.16±0.05 <sup>c</sup>	7.13±0.10 <sup>c</sup>	8.98±0.11 <sup>c</sup>
BRF	87.65±0.09 <sup>b</sup>	0.66±0.03 <sup>b</sup>	9.89±0.08 <sup>b</sup>	13.60±0.11 <sup>b</sup>
SRB	68.43±0.06 <sup>c</sup>	4.15±0.03 <sup>a</sup>	24.91±0.20 <sup>a</sup>	38.09±0.10 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> WRF, BRF and SRB mean white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran respectively.

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

### (5) 주사전자 현미경을 이용한 쌀가루, 쌀겨 입자의 형태

주사전자 현미경으로 관찰한 백미 쌀가루와 현미 쌀가루, 쌀겨의 입자 형태는 Fig. 3과 같다. 백미쌀가루(WRF)는 배유세포들이 뭉쳐 있는 덩어리 상태로 다각형 입자 형태를 보였고, 입자 표면이 단단하고 매끄러우며 불규칙한 파편상태로 분쇄된 것을 확인하였다. 쌀 전분은 세포내에서 복합전분립으로 존재하다가 전분입자가 분리되어 나오면서 다면체로 보인다고 하였다 (Lee와 Shin 2006). 백미 쌀가루 입자표면에 작은 전분 입자들이 존재하는 것을 확인하였고, 현미 쌀가루(BRF)와 쌀겨(SRB)는 표면이 거칠고 작은 입자들이 다량 붙어 있는 것을 관찰할 수 있었다. 현미 쌀가루보다 쌀겨의 표면에 있는 작은 입자들이 더 불규칙하고 거친 형태를 보였으며 이는 현미 쌀가루와 쌀겨에 존재하는 식이섬유 등의 물질에 의한 것으로 생각되었다.

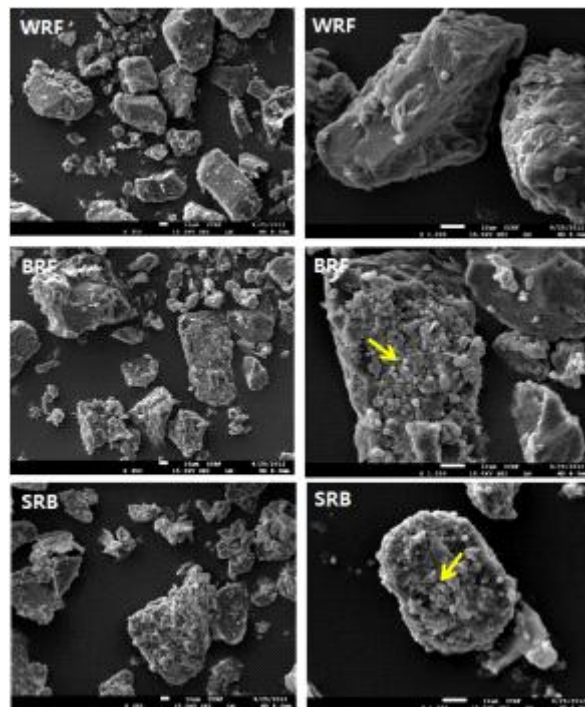


Fig. 3. Scanning electron microphotographs of white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran. The magnification was used ×350 (left) and ×1000(right).

## (6) X-선 회절도

백미, 현미 쌀가루와 쌀겨 분말의 X-선 회절도를 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. X선 회절도는 일반적으로 전분입자의 결정형태와 결정화도를 비교하는데 이용하는 방법으로 전분은 부분적 결정성 고분자로 결정성 부분으로 인하여 X-선 회절도에서 피크를 보인다. 전분의 결정형은 A, B, C형으로 구분하며, 곡류 전분은 대부분 A형의 결정형, 바나나, 감자와 고 아밀로오스 옥수수전분은 B형의 결정형을 가진다고 알려져 있다(Kulp와 Lorenz 1981). 전분은 충분한 물이 있을 때 호화되면 무정형으로 바뀌나 아밀로오스와 지질 복합체가 형성되면  $2\theta=20^\circ$ 에서 피크를 나타내는 V형이 되고, 생전분의 결정형과 관계없이 호화된 전분이 노화되면 B형으로 회절각도  $2\theta=16.7^\circ$ 에 강한 단일피크가 형성된다(Juliano 1985). WRF와 BRF의 회절 양상은 회절각도  $2\theta=15.2^\circ, 17\sim 18^\circ, 23.15^\circ$ 에서 강한피크를 보여 전형적인 A형을 나타냈으며, 백미와 현미 쌀가루간의 결정형에는 큰 차이가 없었다. 백미쌀가루가 현미쌀가루에 비해  $2\theta=15.2^\circ, 17\sim 18^\circ, 23.15^\circ$ 에서 약간 높은 강도를 보이고 날카로운 양상을 보였다. 특히 회절각도( $2\theta$ )  $22.8^\circ$  부근에서 현미에 비해 더 높은 값을 보였다는 기존의 연구와 유사한 결과를 보였다(Yun 2007). 쌀겨는  $2\theta=21.5^\circ$ 에서 피크가 나타났다.

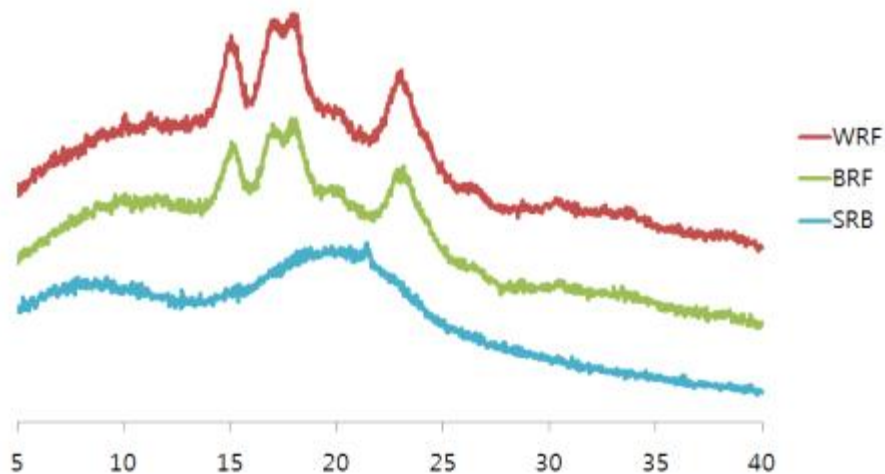


Fig. 4. X-ray diffraction patterns of WRF, BRF and SRB.

WRF: White rice flour

BRF: Brown rice flour

SRB: Stabilized rice bran

## (7) 이화학적 특성

### (가) 물 결합능력

백미, 현미 쌀가루와 쌀겨의 물 결합능력, 팽윤력과 용해도는 Table 8에 나타났다. 물 결합능력은 백미 쌀가루, 현미 쌀가루, 쌀겨가 각각 130.57, 134.35와 171.91%로 쌀겨가 높은 물 결합능력을 보였다. 쌀겨분말의 높은 물 결합능력은 식이섬유의 보수력에 의한 것으로 사료되었다. 일반적으로 물 결합능력은 생전분의 수분결합능력을 나타내는 지표로서 이때 결합되는 물은 전분입자에 침투되거나, 전분입자의 표면에 흡착된다고 보고되어 있으며, 전분입자의 내부 치

밀도가 낮은 것은 수분흡수가 크다고 하였다(Halick과 Kelly 1959). 전분의 물 결합능력은 전분의 손상도가 높을수록 높아지는 것으로 알려져 있다(Choi 등 2001). 물 결합능력은 분말을 구성하는 입자의 크기와 물질의 친화적 성질 및 친수성 탄수화물 함량과 물 흡수력에 영향을 받기 때문에 가공에 중요하지만 구성 전분 함량차이나 입자크기차이로 인하므로 다른 성질을 함께 비교해야 할 것으로 생각되었다(Park 등 2011).

#### (나) 팽윤력과 용해도

Table 8은 80°C에서 두 종류의 쌀가루와 안정화쌀겨의 팽윤력과 용해도를 나타낸 것으로 쌀겨의 80°C에서 용해도는 25.84%로 높은 용해도를 보였으며 그 다음 현미 7.49%, 백미 쌀가루 4.82% 순으로 나타났다. 팽윤력은 백미 쌀가루가 7.58 g/g으로 높은 값을 나타내었다. 쌀가루의 팽윤력은 전분입자가 가열에 의해 팽윤되면서 수분흡수가 증가하기 때문에 나타나며 쌀가루에 포함된 단백질이나 조지질이 팽윤력의 증가를 억제하고 전분함량도 팽윤력에 영향을 줄 수 있다(Yun 2007). 현미 쌀가루와 안정화쌀겨는 백미와 비교하여 상대적인 전분함량이 낮고, 식이섬유, 단백질의 영향으로 팽윤이 억제되어 백미보다 낮은 팽윤력인 6.85 g/g, 4.89 g/g를 나타낸 것으로 생각되었다.

**Table 8. Water binding capacities, solubilities and swelling powers of rice flours and stabilized rice bran**

Sample	Water binding capacity (%)	Solubility at 80°C (%)	Swelling power at 80°C (g/g)
WRF <sup>1)</sup>	130.57±0.21 <sup>b2)</sup>	4.82±0.27 <sup>c</sup>	7.58±0.14 <sup>a</sup>
BRF	134.35±2.83 <sup>b</sup>	7.49±0.19 <sup>b</sup>	6.85±0.13 <sup>b</sup>
SRB	175.83±1.26 <sup>a</sup>	25.84±0.23 <sup>a</sup>	4.89±0.05 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup> WRF, BRF and SRB mean white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran respectively.

<sup>2)</sup> Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

#### (8) 신속 점도 측정기에 의한 호화 특성

신속점도 측정기에 의한 백미 쌀가루, 현미 쌀가루, 쌀겨의 호화개시온도와 peak, trough, cold viscosity와 breakdown 및 total setback viscosity 값은 Table 9에 제시하였다. 백미 쌀가루(WRF)와 현미 쌀가루(BRF)의 호화 개시온도는 차이를 보이지 않았으나 Kim 등(2004)이 현미 쌀가루의 도정도에 따른 호화개시온도 측정결과 도정도가 증가할수록 호화가 빨리된다고 하여 현미의 호화개시온도는 백미보다 높다고 보고하였다. WRF의 최고점도(P)와 최저점도(T)는 각각 2750.50 cP와 1907.50 cP로 나타났다. BRF의 경우 각각 2159.50 cP와 1300 cP로 백미

쌀가루보다 낮은 점도를 나타내었다. 또한 RVA 점도 변화 측정 시 최고 점도(P)와 최소점도(T)의 차이로써 전분입자가 열에 의해 붕괴되는 정도와 호화액의 안정성을 나타내는 breakdown viscosity(P-T)값은 WRF에서 843 cP로 BRF의 859.50 cP보다 낮았으나 유의적이지 않았다. 냉각 후 점도가 상승하는 정도를 나타내는 setback viscosity(C-T) 값은 냉각 과정 중 점도차로 쌀가루 호화액의 전분에 대한 노화안정성을 간접적으로 보여주는데 WRF 1225 cP, BRF 1278 cP로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 호화양상은 전분입자의 팽윤정도, 팽윤된 입자의 열 및 전단력에 의한 안정성, 입자의 크기와 모양, 입자들의 배열과 결합력, 아밀로오스와 아밀로펙틴의 구성비 및 구조차이 등에 의해 결정되는 것으로 보고되었다(Yun 2007).

**Table 9. Pasting characteristics of rice flours and stabilized rice bran**

Samples <sup>1)</sup>	Initial pasting temperature(°C)	Viscosity (cP)				
		Peak (P)	Trough (T)	Cold Visc (C)	Breakdown (P-T)	Setback (C-T)
WRF	71.0±0.1 <sup>a</sup>	2750.5±147.8 <sup>a</sup>	1907.5±88.4 <sup>a</sup>	3132.5±70.0 <sup>a</sup>	843.00±59.4 <sup>a</sup>	1225.0±18.4 <sup>a</sup>
BRF	71.8±1.0 <sup>a</sup>	2159.5±9.2 <sup>b</sup>	1300.0±29.7 <sup>b</sup>	2578.5±2.1 <sup>b</sup>	859.50±20.5 <sup>a</sup>	1278.5±27.6 <sup>a</sup>
SRB	ND	ND	ND	ND	ND	ND

<sup>1)</sup> WRF, BRF and SRB mean white rice flour, brown rice flour and stabilized rice bran respectively.

<sup>2)</sup> Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

ND non detected.

## 나. 백미와 현미, 쌀겨첨가 가래떡의 품질 및 항산화성

### (1) 가래떡의 형태

백미 쌀가루에 30% 현미 쌀가루를 첨가한 혼합쌀가루와 백미쌀가루에 쌀겨 분말을 10%, 20%, 30%(SRB10, SRB20, SRB30) 첨가하여 제조한 혼합쌀가루로 제조한 가래떡의 전체모양을 Fig. 5에 나타내었다. 쌀겨분말의 첨가비율이 증가함에 따라 WRF에 비해 가래떡 표면이 갈라지는 현상이 나타났는데 이는 쌀겨분말이 물의 흡수와 holding 하는 능력이 크기 때문으로 사료되었다. 쌀겨의 첨가량이 증가함에 따라 반죽제조에 필요한 수분함량이 상대적으로 증가하나 제한된 수분함량으로 인해 표면이 갈라진 것으로 생각되었다. 수분보유 능력은 품종, 도정 정도, 손상전분 함량 등 여러 가지 조건에 따라 달라진다. 쌀겨 분말의 첨가량이 증가됨에 따라서 가래떡 색의 갈색화가 높아졌으며 제조된 가래떡의 경도가 감소하는 것을 확인하였다. 현

미, 쌀겨의 첨가비율에 따라 가래떡의 색과 외관상 형태에 영향을 미치는 것을 확인하였다.



Fig. 5. Whole shape of Garaedduk with different ratio of white rice flour (WRF), brown rice flour (BRF) and stabilized rice bran (SRB).

BRF30 means the ratio of BRF versus WRF was 30:70.

SRB10, SRB20, SRB30 mean rice bran and white rice flour mixtures(10:90, 20:80 and 30:70) respectively.

## (2) 가래떡의 색도

WRF와 BRF, SRB를 첨가하여 제조한 가래떡의 0일, 1일 색도는 Table 10과 같다. 명도를 나타내는 L값은 WRF가 77.48로 가장 높았으며 BRF, SRB10, SRB20, SRB30로 만든 가래떡이 각각 76.45, 67.57, 63.20, 59.70으로 WRF > BRF > SRB10 > SRB20 > SRB30 순이었다. 적색도 a값과 황색도 b값은 쌀겨를 첨가한 가래떡이 백미와 현미 쌀가루로 제조한 가래떡보다 높은 값을 나타내는 경향을 보였다. 백미쌀가루로 만든 가래떡은 낮은 값, 즉 밝은 색을 보였으며 쌀겨의 첨가에 따라 가래떡의 색상이 진해진 것을 알 수 있었다. 이는 현미쌀가루와 안정화 쌀겨분말의 조성차이에 의한 것으로 생각되었다. 현미쌀가루첨가 가래떡은 쌀겨첨가 가래떡과 비교하여 색상이 밝고 백미 가래떡과 거의 비슷한 색을 보였다. 쌀가루의 색도 중에서 명도와 황색도는 소비자의 선호도에 영향을 주므로(Lee와 Shin 2006) 명도가 높고 황색도가 낮은 것이 바람직하다고 생각된다.

Table 10. Hunter L, a, b values of Garaedduk prepared from white rice flour mixtures with brown rice flour and stabilized rice bran

Sample	L		a		b	
	0 day	1 day	0 day	1 day	0 day	1 day
WRF	77.48±0.24 <sup>a1)</sup>	76.18±0.24 <sup>a</sup>	-1.00±0.01 <sup>e</sup>	-1.13±0.01 <sup>e</sup>	12.36±0.04 <sup>e</sup>	11.71±0.01 <sup>e</sup>
BRF30	76.45±0.17 <sup>b</sup>	75.76±0.13 <sup>b</sup>	-0.34±0.03 <sup>d</sup>	-0.45±0.00 <sup>d</sup>	14.72±0.10 <sup>d</sup>	15.14±0.15 <sup>d</sup>
SRB10	67.57±0.51 <sup>c</sup>	67.61±0.26 <sup>c</sup>	3.41±0.02 <sup>c</sup>	3.34±0.05 <sup>c</sup>	22.65±0.21 <sup>c</sup>	22.59±0.18 <sup>c</sup>
SRB20	63.20±0.21 <sup>d</sup>	62.78±0.12 <sup>d</sup>	4.63±0.03 <sup>b</sup>	4.77±0.02 <sup>b</sup>	24.23±0.12 <sup>b</sup>	24.62±0.02 <sup>b</sup>
SRB30	59.70±0.13 <sup>e</sup>	60.53±0.27 <sup>e</sup>	5.74±0.10 <sup>a</sup>	5.63±0.01 <sup>a</sup>	24.83±0.10 <sup>a</sup>	25.31±0.07 <sup>a</sup>

Data represents mean±SD.

<sup>1)</sup>a-e Values with different superscripts in the same column are significantly different at



p<0.05.

### (3) 저장기간에 따른 텍스처 특성

백미 쌀가루(WRF)에 현미 쌀가루(BRF), 쌀겨(SRB)의 첨가비율을 달리하여 가래떡을 제조한 후 0일, 1일 동안 23°C에서 저장하여 가래떡을 1.5 cm 로 잘라 텍스처 측정기(Texture Analyzer, TA-XT plus England)를 이용하여 측정하였으며 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 텍스처를 측정한 결과 쌀가루의 특성에 따라 경도(hardness), 응집성(cohesiveness), 탄성(springiness), 부착성(adhesiveness), 씹힘성(chewiness), 회복력(resilience)은 유의적인 차이를 보였으며(P<0.05), 저장1일의 탄성과 응집성은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 가래떡의 경도(Hardness)는 저장 0일 쌀겨 첨가군이 현미 첨가군보다 낮은 값을 보였고, 쌀겨 첨가량이 많을수록 경도가 낮아졌으며, 저장 1일째 모든 시료에서 크게 증가하였다. 쌀겨의 첨가량이 많을수록 증가폭이 적게 나타났다. 이것은 전분 식품의 경도가 저장 과정 중 증가되는 원인은 노화에 의해 이루어지기 때문에 본 연구에서 쌀겨의 첨가량이 증가할수록 노화가 뚜렷하게 억제되는 것을 확인하였다. 이러한 현상은 쌀겨에 함유되어 있는 식이섬유의 보수력으로 인해 수분의 이동을 억제하고 전분분자끼리의 결정형성을 방해한 것으로 생각되었다. 이러한 현상은 사과박 식이섬유분말을 첨가한 가래떡연구(Park 등2011), 멥쌀비율에 따른 발아현미 가래떡의 품질특성(Shin 등 2010)과 부추가루 설기떡(Bae와 Hong 2007), 브로콜리 분말 설기떡(Cho 2009), 토마토 분말(Lee 등 2008), 두릅가루 설기떡(Kang 2009)에서 첨가량이 증가할수록 낮아진 결과와 일치하였다. 반면에 찹가루를 첨가한 설기떡(Gu와 Lee 2001), 어린보릿가루 설기떡(Park 등 2008), 도라지 분말 설기떡(Hwang과 Kim 2007), 차수수가루 설기떡Chae와 Hong 2006)에서도 가루첨가가 증가할수록 경도가 높아졌다고 보고하였다.

부착성(Adehesiveness)은 백미가래떡이 저장 0일, 1일에서 각각 -1773.91 g 와 -728.63g로 가장 높았고 쌀겨첨가 가래떡이 유의적으로 감소하는 경향을 보였다(P<0.05). 저장 1일째는 백미와 현미가래떡의 부착성이 높았으며 쌀겨를 첨가한 가래떡은 첨가비율에 관계없이 백미, 현미보다 낮은 값을 나타내었다. 탄력성(Springiness)은 백미와 현미첨가 가래떡이 높은 값을 보였으며 쌀겨 첨가 가래떡이 낮은 값을 나타냈으나, 첨가비율의 증가에 따른 뚜렷한 경향은 보이지 않았다. 씹힘성(Chewiness)과 회복력(Resilience)은 WRF> BRF30> SRB10> SRB20,30순이었으며, 저장 1일째에도 같은 경향을 보였다.

쌀겨분말의 첨가로 경도, 탄력성, 씹힘성, 회복력이 낮아지는 결과를 보여 가래떡의 노화정도를 억제할 수 있을 것이라고 생각하였고, 더 부드러운 텍스처를 갖게 될 것으로 생각하였다.

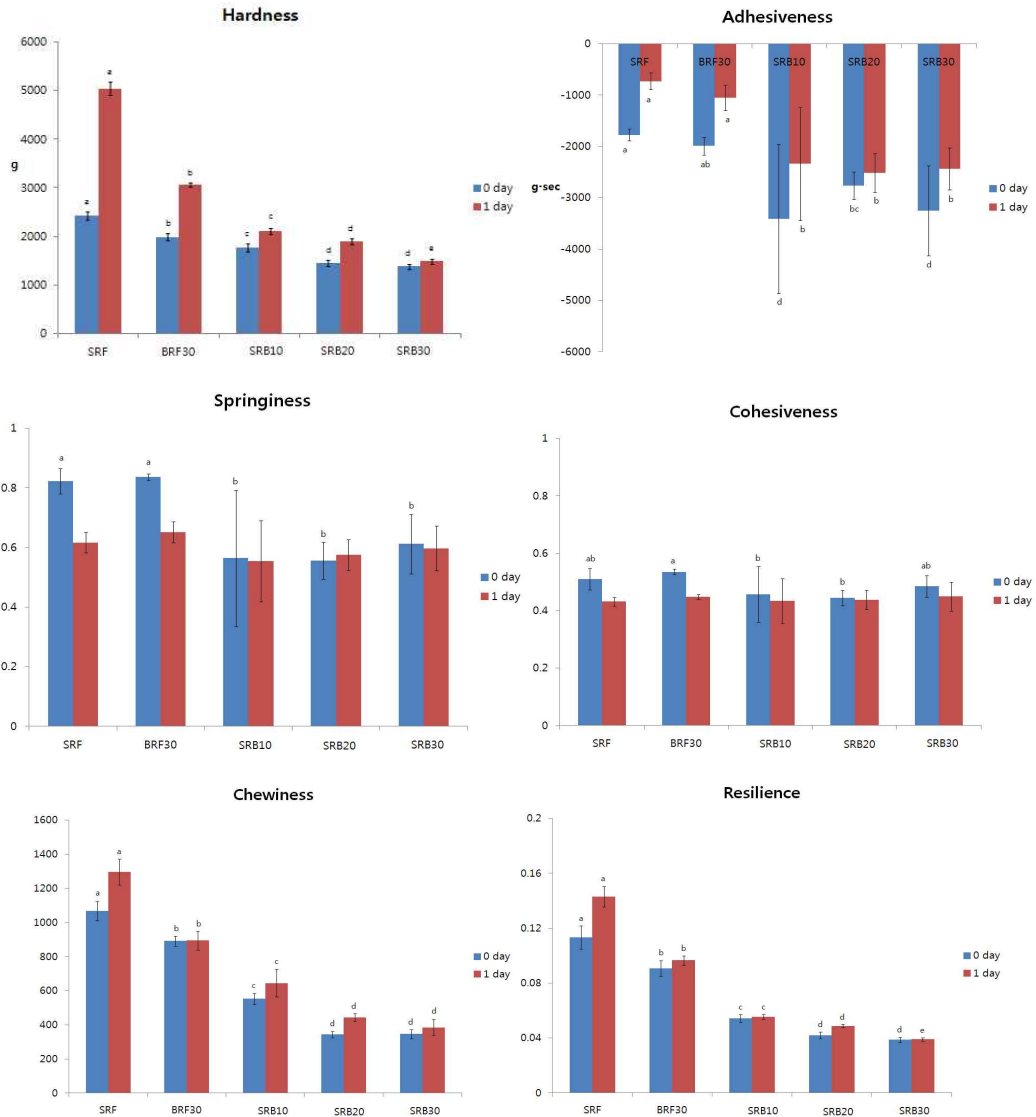


Fig. 6. Textural properties of BRF and SRB added Garaedduk prepared with different ratio during storage at 23°C for 1 day.

#### (4) 가래떡의 관능적 특성

현미쌀가루와 쌀겨를 첨가하여 제조한 가래떡의 외관(색깔, 표면의 매끄러운 정도), 냄새(이취, 고소한 향), 맛(고소한 맛, 뚝은 맛), 텍스처(경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 거칠음)의 결과는 Table 11-12와 같다. 백미 쌀가루(WRF)와 현미쌀가루 30%첨가 가래떡 표면이 가장 매끄러웠으며, 쌀겨의 첨가에 따라 표면의 매끄러움성이 감소하고 이취, 고소한 향, 쓴맛이 증가하는 경향을 보였다. 저장1일의 관능평가 결과도 저장 0일과 비슷한 경향을 보였다. 관능평가항목 중 텍스처에 해당하는 경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 거칠음성과 전반적인 품질에 대한 결과는 Table 9에 제시하였다. 현미와 쌀겨를 첨가한 가래떡의 경도가 낮게 평가되었고, 저장 0일과 1일 모두 전반적인 품질이 높게 나타났다. 쌀겨의 첨가비율이 증가함에 따라 부착성과 촉촉함, 거칠음성이 증가하는 경향을 나타냈다. Choi와 Lee (2010)의 볶음 쌀겨를 첨가한 가래떡 연구와 Choi (2009)의 생미강을 첨가한 가래떡 연구에서 쌀겨의 첨가량이 늘어날수록 거친 정도가 증가하였다는 결과와 비슷하였고, 쌀겨의 입자가 더 거칠기 때문으로 생각되었다. 쌀겨의 첨가

비율증가에 따른 떫은맛의 증가는 쌀겨에 포함되어 있는 폴리페놀 성분에 의한 것으로 생각되었고, 쌀겨의 첨가량이 증가할수록 영양성 및 저장기간을 연장시킬 수 있고, 고소한 향과 고소한 맛이 증가되지만 거친 질감을 나타내고 외관상 좋지 않게 되어 관능적으로 낮게 평가된 것으로 판단되었다.

**Table 11. Sensory evaluation data for different test of Garaedduk prepared from WRF mixtures with BRF and SRB**

Sample	Color		Smooth of surface		Off-flavor		Delicate flavor		Delicate taste		Bitter taste	
	0 day	1 day	0 day	1 day	0 day	1 day	0 day	1 day	0 day	1 day	0 day	1 day
WRF	2.2±0 .4 <sup>e1)</sup>	2.8±1 .0 <sup>d</sup>	6.7±0 .8 <sup>a</sup>	5.3±0 .8 <sup>ab</sup>	2.0±0 .6 <sup>b</sup>	4.5±0 .6 <sup>ab</sup>	4.0±0 .9 <sup>b</sup>	3.5±0 .8 <sup>c</sup>	5.8±1 .0	4.5±1 .2 <sup>b</sup>	1.3±0 .5 <sup>c</sup>	1.8±1 .0 <sup>b</sup>
BRF30	3.0±0 .0 <sup>d</sup>	4.0±0 .9 <sup>c</sup>	6.2±1 .0 <sup>a</sup>	6.0±0 .9 <sup>a</sup>	2.2±0 .4 <sup>b</sup>	2.2±0 .8 <sup>c</sup>	4.5±0 .6 <sup>b</sup>	4.5±0 .8 <sup>b</sup>	6.5±0 .6	5.3±0 .8 <sup>ab</sup>	1.8±0 .8 <sup>c</sup>	1.8±1 .0 <sup>b</sup>
SRB10	5.0±0 .6 <sup>c</sup>	5.2±0 .8 <sup>b</sup>	5.8±0 .4 <sup>ab</sup>	5.5±0 .6 <sup>ab</sup>	2.3±0 .8 <sup>b</sup>	3.7±0 .8 <sup>b</sup>	5.5±0 .8 <sup>a</sup>	5.3±0 .5 <sup>ab</sup>	5.5±0 .8	5.8±0 .8 <sup>a</sup>	3.7±0 .8 <sup>b</sup>	2.7±0 .8 <sup>b</sup>
SRB20	5.8±0 .8 <sup>b</sup>	5.8±1 .0 <sup>b</sup>	5.0±0 .9 <sup>bc</sup>	5.0±0 .9 <sup>ab</sup>	3.8±0 .4 <sup>a</sup>	4.2±1 .0 <sup>ab</sup>	5.7±0 .8 <sup>a</sup>	5.8±1 .0 <sup>a</sup>	5.7±0 .5	6.2±1 .0 <sup>a</sup>	4.5±0 .8 <sup>ab</sup>	4.0±0 .9 <sup>a</sup>
SRB30	6.83± 0.8 <sup>a</sup>	7.0±0 .6 <sup>a</sup>	4.7±0 .5 <sup>c</sup>	4.5±0 .8 <sup>b</sup>	3.8±0 .8 <sup>a</sup>	4.8±1 .0 <sup>a</sup>	5.8±1 .0 <sup>a</sup>	5.5±0 .8 <sup>ab</sup>	5.2±1 .0	5.2±0 .8 <sup>ab</sup>	5.3±0 .8 <sup>a</sup>	4.8±1 .0 <sup>a</sup>

**Table 12. Sensory evaluation data for texture of Garaedduk prepared from WRF mixtures with BRF and SRB**

Sample	Hardness		Adhesiveness		Springiness		Moistness		Roughness		Overall quality	
	0 day	1 day	0 day	1 day	0 day	1 day	0 day	1 day	0 day	1 day	0 day	1 day
WRF	5.3± 0.8 <sup>a1)</sup>	7.0± 0.6 <sup>a</sup>	4.0± 0.6 <sup>c</sup>	3.7± 0.8 <sup>d</sup>	6.3± 0.8 <sup>a</sup>	6.3± 0.8 <sup>a</sup>	6.2± 0.8	4.0± 0.9 <sup>c</sup>	3.2± 0.8 <sup>c</sup>	3.2± 0.8 <sup>b</sup>	6.5± 0.6 <sup>a</sup>	5.2± 0.8 <sup>c</sup>
BRF30	5.2± 0.8 <sup>a</sup>	6.2± 0.8 <sup>a</sup>	4.0± 0.6 <sup>c</sup>	4.0± 0.6 <sup>d</sup>	6.3± 0.8 <sup>a</sup>	6.3± 0.5 <sup>a</sup>	6.0± 0.9	4.8± 0.8 <sup>bc</sup>	3.5± 0.8 <sup>c</sup>	3.2± 1.0 <sup>b</sup>	6.8± 0.8 <sup>a</sup>	6.8± 1.0 <sup>a</sup>
SRB10	4.2± 0.8 <sup>b</sup>	5.0± 0.9 <sup>b</sup>	5.0± 0.6 <sup>b</sup>	5.2± 0.8 <sup>c</sup>	5.7± 0.8 <sup>a</sup>	5.2± 0.8 <sup>b</sup>	6.0± 0.9	5.5± 0.6 <sup>ab</sup>	3.3± 0.8 <sup>c</sup>	3.8± 0.8 <sup>b</sup>	6.7± 0.5 <sup>a</sup>	6.3± 0.5 <sup>ab</sup>
SRB20	4.0± 0.9 <sup>b</sup>	4.0± 0.9 <sup>c</sup>	6.0± 0.6 <sup>a</sup>	6.0± 0.0 <sup>b</sup>	4.7± 0.8 <sup>b</sup>	4.5± 0.8 <sup>bc</sup>	6.7± 0.8	5.8± 0.8 <sup>a</sup>	4.2± 1.0 <sup>ab</sup>	5.0± 0.9 <sup>a</sup>	5.2± 0.8 <sup>b</sup>	5.5± 0.6 <sup>bc</sup>
SRB30	3.0± 0.9 <sup>c</sup>	3.5± 0.8 <sup>c</sup>	6.5± 0.8 <sup>a</sup>	6.8± 0.4 <sup>a</sup>	4.0± 0.6 <sup>b</sup>	4.2± 0.8 <sup>c</sup>	6.7± 0.8	6.0± 0.6 <sup>a</sup>	4.7± 0.8 <sup>a</sup>	6.0± 0.9 <sup>a</sup>	4.3± 0.8 <sup>c</sup>	4.8± 0.8 <sup>c</sup>

BRF30 means the ratio of BRF versus WRF was 30:70.

SRB10, SRB20, SRB30 mean rice bran and white rice flour mixtures(10:90, 20:80 and 30:70) respectively.

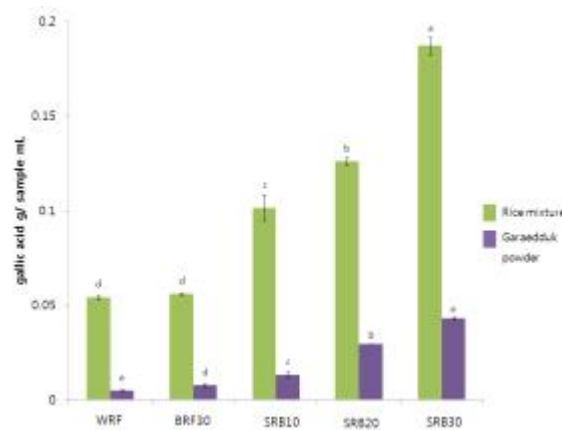
<sup>1)</sup> Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

### (5) 가래떡의 항산화성

현미쌀가루와 쌀겨를 혼합한 혼합쌀가루와, 이를 이용하여 가래떡을 제조한 후 동결건조한 분말(WRFGP, BRFGP, SRB10GP, SRB20GP, SRB30GP)을 80% 에탄올로 추출한 후 총 페놀 함량, 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거능(%)을 측정한 결과를 Fig. 7-9에 각각 제시하였

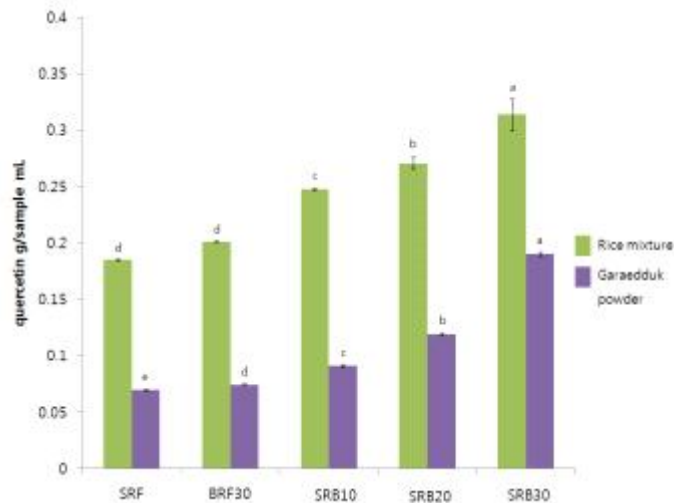
다. 현미쌀가루보다 쌀겨를 첨가한 쌀가루의 총 페놀함량이 높아 유의적인 차이를 보였고 ( $p < 0.05$ ), 첨가량이 증가할수록 페놀함량이 증가하였다. 가래떡분말의 총 페놀함량은 혼합쌀가루와 비교하여 페놀함량이 감소하였고, 감소비율은 WRF 90.7%, BRF 86.2%, SRB10 86.9%, SRB20 76.5%, SRB30 77.0%로 나타났다. WRF와 비교하여 현미쌀가루와 쌀겨분말의 첨가가 감소비율이 감소하는 결과를 보였고, 쌀겨분말을 첨가한 가래떡의 페놀함량이 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 페놀 화합물은 가용성 식물류에서 널리 분포하는 것으로 항산화능을 포함한 다양한 생물학적 효능을 나타낸다고 하였으며, 이들의 효능은 주로 산화환원력에 의한 것이라고 하였다(Shin 등 2011).

총 플라보노이드 함량은 SRB30이 0.31 gallic acid g/mL로 높게 나타났고, WRF가 0.19 gallic acid g/mL로 가장 낮았으며 BRF 0.20 gallic acid g/mL로 나타났다. 가래떡 추출물에서는 SRB30GP가 0.19 gallic acid g/mL로 가장 높게 나타났으며 가래떡 제조 후 플라보노이드 함량이 감소하는 것을 확인하였다. 혼합쌀가루와 가래떡 제조 후 플라보노이드 함량의 감소비율은 WRF 62.1%, BRF30 62.9%, SRB10 63.1%, SRB20 55.9%, SRB30 39.3%로 쌀겨 30% 첨가하여 제조한 가래떡의 감소비율이 가장 적게 나타났다. DPPH 라디칼 소거능은 총 페놀과 플라보노이드와 비슷한 경향으로 SRB첨가 군이 유의적으로 높은 소거능을 보였다( $p < 0.05$ ). BRF30과 SRB10에서 RB10의 항산화 능력이 높은 것으로 보아 상대적으로 적은 양의 미강을 첨가하여 현미의 항산화 능력보다 우수한 기능성을 나타내는 가래떡의 제조가 가능함을 확인하였다. 미강 연구에 관하여 항산화 능력(Jeon 등 2010, Lai 등 2009)과 티로시나아제 저해활성(Jeon 등 2010) 효과 등 여러 기능성이 보고되어 있는데, 미강을 첨가하여 제조한 가래떡에서도 총 플라보노이드함량, 총 페놀 화합물함량이 대조군에 비해 높은 것으로 나타났다. 이를 통해 미강을 첨가하여 제조한 가래떡의 기능성이 있는 것으로 생각되었으나, 제품제조 과정 중 감소한 것으로 생각되었다.



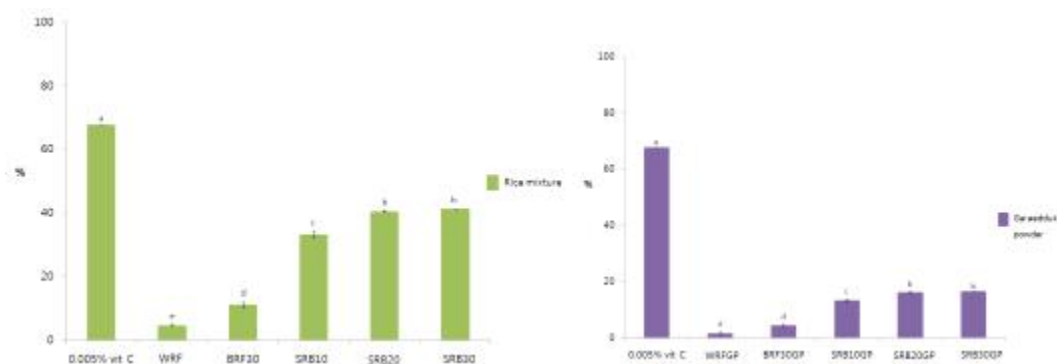
**Fig. 7. Total phenolic compounds content of rice mixture and Garaedduk powder.**

Values are represented mean±SD, the different index letters are statistically significantly different( $p < 0.05$ ).



**Fig. 8. Total flavonoid content of rice mixture and Garaedduk powder.**

Values are represented mean±SD, the different index letters are statistically significantly different(p<0.05).



**Fig. 9. DPPH radical scavenging activity of rice mixture and Garaedduk powder prepared with different ratio compared using control as 0.005% Vitamin C.**

Values are represented mean±SD, the different index letters are statistically significantly different(p<0.05).

## 2. RS4를 이용한 쌀 전분 겔의 품질 특성

### 가. RS4의 수분함량과 수율

한강찰과 남평, 고아미 전분으로 제조한 RS4의 수분함량과 RS4 수율은 다음 Table 13과 같았다. 각각의 RS4의 수분함량은 한강찰은 9.68%, 남평은 10.65%, 고아미는 10.15% 등으로 나타났다. 여러 연구에서 RS 함량은 분석방법, 저항전분의 제조조건이나 형태, 사용한 효소의 종류, 처리 조건 등에 따라 다르다고 보고하였다(Yang, 2008). 여러 가지 방법으로 저항전분을 분석했을 때, 곡류 중에 쌀은 특히 가장 많은 차이를 보인다(Sambucetti와 Zuleta, 1996). AOAC 방법으로 측정된 쌀 전분의 저항전분 수율은 한강찰은 46.91%, 남평은 46.51%, 고아미는 61.01%로 유의적인 차이를 보였다.

Table 13. Moisture content and RS contents of resistant starch prepared from rice varieties

	Moisture content (%)	RS4 contents (%)
Hangangchall	9.68±0.06 <sup>c</sup>	46.91±1.10 <sup>b</sup>
Nampyeong	10.65±0.05 <sup>a</sup>	46.51±1.23 <sup>b</sup>
Goamy	10.15±0.02 <sup>b</sup>	61.01±0.36 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

나. 전분 겔의 형태적 특성 관찰

전분 겔의 형태적 특성은 다음 Fig. 8과 같았다. 남평 전분만을 이용하여 제조한 겔(C)은 겔의 형태는 나타냈지만 겔의 모양을 유지하기 힘들었고, 오랜 시간 두면 퍼지는 성질을 보였다. RS4를 10% 첨가하면 첨가하지 않은 겔에 비하여 더욱 겔의 모양을 나타내었고, 유지가 오래 되었다. 특히 고아미 RS4를 첨가한 겔이 다른 겔에 비하여 온전한 모양을 나타내고, 단단한 특성을 보였다. 20%와 30%의 RS4를 첨가하면 10%에 비하여 더욱 온전한 겔의 모양을 나타내었고, 단단한 형태를 유지함을 확인할 수 있었다.

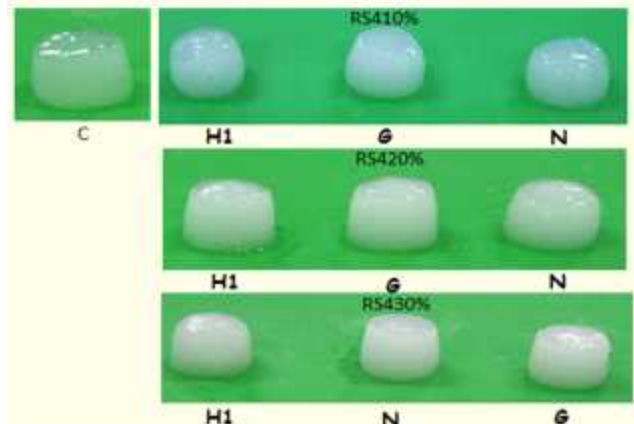


Fig. 10. Whole shape of rice starch gel with different rice varieties and different concentrations.

다. 전분 겔의 색도 측정

RS4를 첨가한 녹두 전분의 색도는 Table 14와 같았다. 색도의 L값은 명도(lightness), ±a값은 적색도/녹색도(redness/greenness), ±b값은 황색도/청색도(yellowness/blueness)를 의미하며 분리된 전분의 L, a와 b값은 모두 차이를 보여 유의적이었다. RS4를 첨가할수록 명도 값과 b값은 증가하는 양상을 보였다. 색차를 나타내는 ΔE 값은 백색판을 기준으로 할 때의 색 차이로(Park SJ 등 2011), 30%를 첨가하였을 때 가장 색 차이가 작게 나타났음을 확인할 수 있었다. 또한 남평 전분만으로 만든 겔에 비하여 L값과 b값, ΔE 값이 유의적인 차이를 보였다.

Table 14. Hunter's color values of RS4 added rice starch gels with different rice

varieties

C	Hunter L a b value			
	L	a	b	ΔE
	38.93±1.35I	-0.87±0.09B	-5.66±0.35I	59.97±1.35A
한강1호10%	44.01±0.63cH	-0.86±0.07aAB	-5.00±0.27bG	55.09±0.63aB
남평10%	46.97±1.06bG	-0.96±0.09bD	-5.21±0.16cH	52.16±1.06bC
고아미10%	47.88±0.87aG	-0.87±0.05aBC	-4.77±0.10aF	51.21±0.87cC
한강1호20%	52.85±0.76cF	-0.96±0.08bD	-4.30±0.25cE	46.06±0.76aD
남평20%	56.89±0.90bD	-0.93±0.05abCD	-3.95±0.13bD	43.47±1.20cF
고아미20%	55.43±1.20aE	-0.88±0.03aBC	-3.79±0.05aD	42.02±0.90bE
한강1호30%	60.41±2.06cC	-0.90±0.08bBC	-3.60±0.25cC	38.62±2.07aG
남평30%	62.70±1.97bB	-0.90±0.03bBC	-3.32±0.23bB	37.97±1.07aG
고아미30%	66.51±1.45aA	-0.81±0.04aA	-2.70±0.14aA	32.47±1.46bH

<sup>A-I</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

Significantly different between the gels with different rice varieties \*:  $p < 0.05$ ).

C: Control, H1: rice starch gel added Hangangchall RS4

N: rice starch gel added Nampyeong RS4, G: rice starch gel added Goamy RS4

라. 전분 겔의 텍스처 측정

RS4를 첨가한 쌀 전분 겔의 처리 조건에 따른 텍스처를 측정한 결과는 Table 15에 제시하였고, 겔은 처리 조건에 따라서 경도(hardness)와 부착성(adhesiveness), 탄성(springiness), 응집성(cohesiveness), 검성(gumminess), 씹힘성(chewiness)의 유의적인 차이가 존재하였다. 반고형상 식품을 삼킬 수 있는 상태까지 압축 파괴하는 것에 필요한 에너지인 검성은 RS4를 첨가하지 않은 경우 가장 높게 나타났고, RS4 첨가 함량이 커질수록 작아지는 특성을 나타냈다. 전분 겔의 텍스처는 가열 중에 용출되어 나오는 아밀로오스 함량과 분자량에 영향을 받고, 아밀로오스와 아밀로펙틴의 비율, 지방질, 단백질 등이 전분 겔의 물성을 변화시킬 수 있다고 하였다(Lee SK & Shin MS 1996). RS4를 첨가하면 경도는 낮아지고, 부착성은 증가하며, 검성과 씹힘성이 작아지는 패턴을 보였다.

Table 15. Texture characteristics of RS4 added rice starch gels with different rice varieties

	Hardness	Adhesiveness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness	Resilience
Control	260.54±15.6 2A	-74.06±14.28A	0.80±0.04A	0.38±0.01B	98.60±5.32A	79.12±7.86A	0.03±0.00A
한강1호RS4 10%겔	207.58±11.6 3B	-139.21±11.60cE	0.62±0.07bC	0.36±0.04B	74.84±7.88B	46.31±8.49c BC	0.02±0.00
남평RS4 10%겔	203.34±11.7 1BC	-93.20±10.36aB	0.76±0.03aAB	0.37±0.02B	76.00±4.34B	57.74±5.50a B	0.02±0.00
고아미RS4 10%겔	206.90±16.2 9B	-123.25±13.38bC DE	0.72±0.04aB	0.36±0.06B	75.21±12.30B	54.41±11.13 abB	0.02±0.00
한강1호RS4	186.81±25.2	-105.51±5.03aBC	0.75±0.03aAB	0.40±0.02AB	75.66±10.58B	57.25±9.87a	0.02±0.00

20%겔	2CD					B	
남평RS4	182.04±22.0	-127.97±28.69ab	0.65±0.07bC	0.41±0.10AB	74.30±19.38B	48.70±14.52	0.02±0.00
20%겔	3D	DE				BC	
고아미RS4	174.10±14.0	-137.21±19.56bE	0.75±0.06aAB	0.38±0.05B	66.97±10.71B	50.29±11.12	0.02±0.00
20%겔	3DE				CD	BC	
한강1호RS4	159.58±11.1	-94.31±7.30aB	0.78±0.04aAB	0.45±0.01aA	71.83±6.51aB	55.78±6.02a	0.02±0.00
30%겔	9aEF				C	B	
남평RS4	143.77±3.58	-113.42±6.56bCD	0.76±0.03abA	0.42±0.02abAB	60.50±3.11bD	46.01±3.42b	0.02±0.00
30%겔	bF		B			BC	
고아미RS4	151.61±13.7	-124.72±12.72bD	0.72±0.06bB	0.38±0.07bB	57.57±11.53b	41.71±11.00	0.02±0.00
30%겔	0abF	E			D	bC	

<sup>A-I</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

Significantly different between the gels with different rice varieties \*:  $p<0.05$ ).

C: Control, H1: rice starch gel added Hangangchall RS4

N: rice starch gel added Nampyeong RS4, G: rice starch gel added Goamy RS4

### 3. 보리순, 고구마, 저항전분 분말을 첨가한 가래떡의 제조 및 품질 특성

#### 가. 가래떡의 형태적 특성

보리순과 고구마 분말, 저항전분 분말을 각각 첨가하여 제조한 가래떡의 형태적 특성은 Fig. 11-13과 같았다.

보리순 분말을 첨가하면 보리순 첨가량이 늘어날수록 수분이 부족하여 표면 갈라짐이 증가하는 양상을 보였고, 이는 저항전분을 첨가하는 경우도 유사하게 나타났다. 하지만 고구마분말을 첨가하는 경우 1-3% 내에서는 분말의 양이 증가할수록 가래떡의 끈기와 표면 매끄러움이 증가하는 양상을 보여, 고구마 분말의 첨가가 가래떡의 형태적 특성에 긍정적인 영향을 미침을 알 수 있었다.

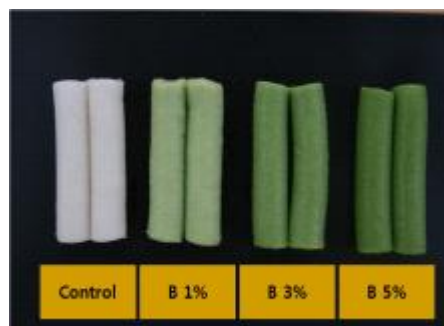


Fig. 11. Garaedduk was added with different ratios of biomaterials based on rice flour, young barley leaf powder(1,3,and 5%).



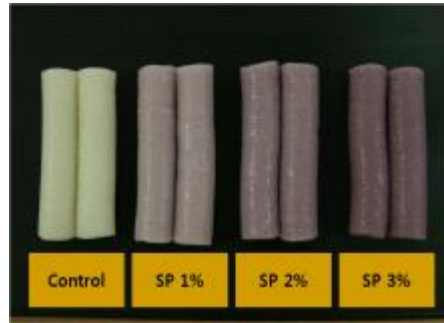


Fig. 12. Garaedduk was added with different ratios of biomaterials based on rice flour, purple sweet potato flour (1,2,and 3%).

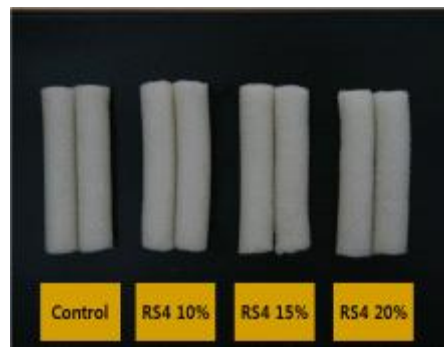


Fig. 13. Garaedduk was added with different ratios of biomaterials based on rice flour, resistant starch RS4 (10,15,and 20%).

#### 나. 가래떡의 색도

가래떡의 색도는 Hunter Lab value로 나타내어 Table 16-18으로 각각 나타내었다. 명도(Lightness)를 나타내는 L값, 적색도/녹색도(redness/greenness)를 나타내는 ±a값, 황색도/청색도(yellowness/blueness)를 나타내는 ±b값으로 표시하였다.

보리순을 첨가한 가래떡의 색도는 Table 16으로, 명도 L값은 보리순 첨가량이 늘어날수록 감소하였고, a값과 b값은 증가하였다. 백색판과의 색차를 나타내는 ΔE 값도 보리순 첨가량이 늘어날수록 증가하는 양상을 보였다.

Table 16. Hunter L, a, b and ΔE values of Garaedduk prepared from different flour mix proportioning with young barely leaves

	L	a	b	ΔE
Control	77.80±0.02 <sup>a</sup>	-1.43±0.04 <sup>a</sup>	9.59±0.02 <sup>d</sup>	21.41±0.02 <sup>d</sup>
B 1%	64.66±0.39 <sup>b</sup>	-8.59±0.05 <sup>b</sup>	28.40±0.22 <sup>c</sup>	43.84±0.23 <sup>c</sup>
B 3%	55.61±0.08 <sup>c</sup>	-10.54±0.04 <sup>d</sup>	32.10±0.14 <sup>a</sup>	53.37±0.07 <sup>b</sup>
B 5%	49.89±0.21 <sup>d</sup>	-10.04±0.10 <sup>c</sup>	30.91±0.35 <sup>b</sup>	57.16±0.15 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

자색 고구마 분말을 첨가하여 제조한 가래떡의 색도는 Table 17과 같았다. 자색 고구마가 첨가되지 않았을 때보다 a 값과 ΔE 값은 증가하였으며, 명도 L값과 b 값은 유의적으로 감소하였다.

**Table 17. Hunter L, a, b and  $\Delta E$  values of Garaedduk prepared from different flour mix proportioning with sweet potatoes**

	L	a	b	$\Delta E$
Control	77.80±0.02 <sup>a</sup>	-1.43±0.04 <sup>d</sup>	9.59±0.02 <sup>a</sup>	21.41±0.02 <sup>d</sup>
SP 1%	63.49±0.33 <sup>b</sup>	6.58±0.09 <sup>c</sup>	1.43±0.20 <sup>b</sup>	34.02±0.31 <sup>c</sup>
SP 2%	56.80±0.31 <sup>c</sup>	9.94±0.05 <sup>b</sup>	0.23±0.03 <sup>c</sup>	41.25±0.31 <sup>b</sup>
SP 3%	50.64±0.34 <sup>d</sup>	12.29±0.11 <sup>a</sup>	-1.48±0.03 <sup>d</sup>	47.82±0.34 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

RS4를 첨가한 가래떡의 색도는 Table 18과 같았다. RS4를 첨가하면 유의적으로 명도 L값이 증가하여 RS4를 첨가하는 경우 색이 더 밝아짐을 알 수 있었고, b값과  $\Delta E$  값은 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다.

**Table 18. Hunter L, a, b and  $\Delta E$  values of Garaedduk prepared from different flour mix proportioning with RS4**

	L	a	b	$\Delta E$
Control	77.80±0.02 <sup>d</sup>	-1.43±0.04	9.59±0.02 <sup>a</sup>	21.41±0.02 <sup>a</sup>
RS4 10%	78.18±0.19 <sup>c</sup>	-1.33±0.01	9.04±0.03 <sup>c</sup>	20.82±0.17 <sup>b</sup>
RS4 15%	78.68±0.09 <sup>b</sup>	-1.31±0.07	9.18±0.05 <sup>b</sup>	20.44±0.09 <sup>c</sup>
RS4 20%	79.34±0.11 <sup>a</sup>	-1.39±0.08	9.20±0.05 <sup>b</sup>	19.87±0.11 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup> Values are represented mean±SD, and with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

#### 다. 가래떡의 관능평가

보리순과 고구마, 저항전분을 첨가한 가래떡의 관능평가 결과는 Table 19-21과 같았다. 차이조사의 항목은 외관(색깔, 표면의 매끄러운 정도), 냄새(이취, 고소한 향), 맛(고소한 맛, 뽀은 맛), 텍스처(경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 거칠음)들이었으며, 기호도 조사로 전반적인 품질을 평가하였다.

보리순을 첨가한 가래떡은 색과 표면 매끄러움, 변향, 보리순향, 부착성, 종합적인 맛에서 각각 유의적인 차이를 보였다. 평가자들은 보리순 분말이 더 많이 첨가될수록 변향과 보리순향이 증가한다고 느꼈고, 입 안에서의 부착성이 커진다고 판단하였다. 또한 평가자들은 보리순 분말이 3% 첨가된 가래떡의 맛을 가장 높게 평가하였는데 이는 보리순이 많아지면서 나타나는 특유의 맛이 식미를 감하기 때문으로 보였다.

**Table 19. Sensory evaluation data for different test of Garaedduk prepared from white rice flours mixtures with young barely leaves**

Appearance		Flavor		Taste		Texture			overall quality
Color	smooth	Off-	Delicate	Delicat	Hardnes	Adhesiv	Sprin	Moist	

		of Surface	flavor	flavor	e taste	s	eness	giness	ness	ness	
C	1.67±0	4.67±	2.50±0	1.50±0	5.00±	5.50±	4.83±	5.76±	5.17±	5.17±	5.17±
	.52 <sup>d</sup>	1.21 <sup>c</sup>	.55 <sup>b</sup>	.55 <sup>d</sup>	0.63	0.84	0.75 <sup>c</sup>	0.82	1.17	0.98	0.75 <sup>c</sup>
B1%	4.50±0	5.00±	2.33±0	3.67±0	5.17±	4.50±	5.50±	5.17±	5.67±	4.33±	6.17±
	.84 <sup>c</sup>	0.89 <sup>bc</sup>	.52 <sup>b</sup>	.82 <sup>c</sup>	0.98	0.84	0.84 <sup>bc</sup>	0.75	0.82	0.82	0.41 <sup>bc</sup>
B3%	6.33±0	6.17±	3.67±0	5.33±0	6.00±	4.33±	6.17±	5.00±	6.17±	4.17±	7.50±
	.52 <sup>b</sup>	0.98 <sup>ab</sup>	.82 <sup>a</sup>	.82 <sup>b</sup>	1.10	0.82	0.41 <sup>b</sup>	1.26	0.98	0.98	0.55 <sup>b</sup>
B5%	7.50±0	6.67±	3.33±0	6.33±0	5.67±	4.00±	7.17±	4.83±	6.50±	4.83±	5.67±
	.55 <sup>a</sup>	1.03 <sup>a</sup>	.82 <sup>a</sup>	.52 <sup>a</sup>	1.37	1.79	0.41 <sup>a</sup>	1.17	1.05	0.98	0.52 <sup>a</sup>

고구마 분말을 첨가하여 제조한 가래떡의 관능평가 결과는 색과 표면 부드러움, 고소한 향, 경도와 탄력성, 종합적인 맛에서 차이를 나타내었다. 평가자들은 고구마 분말이 증가할수록 고소한 맛과 고소한향이 증가한다고 평가하였으며, 경도는 낮아진다고 느꼈다. 또한 분말이 더 첨가될수록 탄력성이 증가하고, 전반적인 맛이 더 좋아진다고 평가하였다.

Table 20. Sensory evaluation data for different test of Garaedduk prepared from white rice flours mixtures with sweet potatoes

	Appearance		Flavor		Taste	Texture					overall quality
	Color	smooth of Surface	Off-flavor	Delicate flavor	Delicate taste	Hardness	Adhesiveness	Springiness	Moistness	roughness	
C	1.83±0	3.83±	2.50±0	4.67±1	5.00±0	5.67±	5.83±	5.50±	4.83±	0.45	5.50±
	.41 <sup>d</sup>	1.17 <sup>b</sup>	.55	.03 <sup>b</sup>	.63 <sup>c</sup>	0.82 <sup>a</sup>	1.47	0.55 <sup>c</sup>	0.75	±1.0	0.55 <sup>c</sup>
SP1%	3.83±0	5.83±	2.17±0	5.17±1	5.67±1	5.50±	5.17±	6.00±	5.17±	4.17	6.33±
	.75 <sup>c</sup>	1.72 <sup>a</sup>	.41	.17 <sup>ab</sup>	.03 <sup>bc</sup>	0.55 <sup>a</sup>	0.98	0.63 <sup>bc</sup>	0.75	±0.7	0.52 <sup>b</sup>
SP2%	5.00±0	5.17±	2.33±0	6.00±0	6.33±0	4.67±	5.50±	6.33±	5.33±	4.00	6.67±
	.63 <sup>b</sup>	0.75 <sup>ab</sup>	.52	.89 <sup>a</sup>	.82 <sup>ab</sup>	0.52 <sup>b</sup>	0.84	0.52 <sup>ab</sup>	0.82	±0.8	0.52 <sup>b</sup>
SP3%	6.50±0	6.50±	2.33±0	6.17±0	7.00±0	4.17±0	5.17±	6.83±	5.67±	3.83	7.67±
	.84 <sup>a</sup>	1.38 <sup>a</sup>	.52	.75 <sup>a</sup>	.89 <sup>a</sup>	.75 <sup>b</sup>	0.98	0.75 <sup>a</sup>	0.82	±1.1	0.52 <sup>a</sup>

저항전분을 첨가한 가래떡의 관능평가 결과 모든 항목에서 유의적인 차이를 보였다. 평가자들은 RS 15% 첨가한 가래떡의 전체적인 맛을 가장 높게 평가하였고, 탄력성과 고소한 맛에서 높은 점수를 주었다. 경도는 저항전분 함량이 증가할수록 높게 느끼는 경향이 있었다.

Table 21. Sensory evaluation data for different test of Garaedduk prepared from white rice flours mixtures with RS4

	Appearance		Flavor		Taste	Texture					overall quality
	Color	smooth of Surface	Off-flavor	Freshly cut grass	Delicate taste	Hardness	Adhesiveness	Springiness	Moistness	roughness	
C	2.83±0	4.50±	2.33±0	5.17±0	5.17±	5.50±	5.83±	5.50±	5.67±	4.00±	5.33±
	.41 <sup>a</sup>	1.05 <sup>a</sup>	.52 <sup>c</sup>	.41 <sup>a</sup>	0.41 <sup>b</sup>	0.84 <sup>b</sup>	0.75 <sup>ab</sup>	0.55 <sup>b</sup>	0.82 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	0.82 <sup>b</sup>
RS10%	2.33±0	5.12±	2.83±0	4.83±1	5.83±	6.00±	5.33±	6.33±	6.50±	4.17±	6.17±
	.52 <sup>b</sup>	0.41 <sup>a</sup>	.41 <sup>bc</sup>	.17 <sup>a</sup>	1.17 <sup>ab</sup>	0.98 <sup>ab</sup>	0.52 <sup>ab</sup>	0.52 <sup>ab</sup>	0.55 <sup>a</sup>	0.41 <sup>a</sup>	0.75 <sup>b</sup>
RS15	2.00±0	4.50±	3.50±0	6.00±0	6.17±	6.25±	5.00±	7.00±	6.33±	4.33±	7.60±

%	.00 <sup>b</sup>	1.38 <sup>a</sup>	.55 <sup>ab</sup>	.82 <sup>a</sup>	1.00 <sup>a</sup>	0.98 <sup>ab</sup>	0.90 <sup>b</sup>	0.89 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>	0.82 <sup>a</sup>	0.55 <sup>a</sup>
RS20	2.17±0	4.17±	3.83±1	5.33±0	5.83±	6.80±	6.25±	6.40±	6.50±	3.80±	5.83±
%	.41 <sup>b</sup>	1.83 <sup>a</sup>	.00 <sup>a</sup>	.82 <sup>a</sup>	0.82 <sup>ab</sup>	0.45 <sup>a</sup>	0.96 <sup>a</sup>	0.89 <sup>ab</sup>	0.58 <sup>a</sup>	0.84 <sup>a</sup>	0.98 <sup>b</sup>

#### 4. 발효 슬릿 액을 첨가한 찜빵의 제조 및 품질 특성

##### 가. 제조 조건에 따른 형태적 특성

##### (1) 단백질 종류에 따른 찜빵의 형태적 특성

단백질 종류에 따른 찜빵의 형태적 특성은 Fig. 14와 같았다. 밀단백질과 녹두 단백질을 첨가한 경우가 찜빵의 부풀기 정도가 가장 좋았으며, 기공도 균일하게 형성되었다. 쌀 단백질을 첨가하여 찜빵을 제조하면 기공이 조밀하게 형성되고 떡과 같은 텍스처 특성을 느끼게 하였다. 콩 단백질을 첨가하면 부푸는 정도가 가장 작게 나타났다. 하지만 찜빵을 잘 부풀게 하기 위해서는 밀 단백질이나 녹두 단백질을 사용하는 것이 적합할 것으로 생각되었다.



Fig. 14. Cross section of gluten-free steamed rice bread made from non-waxy rice flour with different proteins (0.5%).

##### (2) 2차 발효 시간에 따른 찜빵의 형태적 특성

2차 발효 시간과 단백질 양에 따른 찜빵의 형태적 특성은 Fig. 15와 같았다. 단백질 함량이 증가할수록 찜빵의 크기는 증가하였으며, 2차 발효 시간과 관계없이 찜빵의 크기는 거의 일정한 것으로 보였다. 2차 발효 시간은 30분 이상이 되면 그 크기에 큰 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 조윤희 등(1994)도 발효시간의 변화는 수분함량과 부피에 영향을 주지 못했다는 연구 결과가 존재한다. 이를 통하여 이스트가 활성화되는 필요한 시간이 충분히 제공되면 부피에 더 이상 영향을 주지 않음을 추측해볼 수 있었다.



Fig. 15. Whole shape of gluten-free steamed rice bread made from non-waxy rice flour with different whey protein mix proportioning and 2nd fermentation conditions.

### (3) 발효 술잎 액을 첨가한 찰빵의 형태적 특성 및 색도

발효 술잎 액의 첨가 유무와 단백질 양, 기름의 첨가 시점에 따른 찰빵의 형태적 특성 및 색도를 평가하였다. 찰빵의 제조 조건은 Table 22와 같았다. 단백질 1% 첨가 찰빵과, 1.5%, 2% 첨가 찰빵, P 1%, P 1.5%, P 2%와 발효 술잎 액을 0.3% 첨가한 PN 1%, PN 1.5%, PN 2%, 기름을 1차 발효 전에 첨가한 PB 1%와 2차 발효 전에 첨가한 PBO 1%를 각각 확인하였다.

Table 22. Formulas and fermentation time for making steamed rice bread

Steamed rice bread	Non-waxy rice flour (g)	Water (g)	Salt (g)	Sugar (g)	Fresh yeast (%)	Whey Protein (%)	Transglutaminase (%)	Baking powder (%)	Alginate (%)	Pine needle extract (%)
P 1%	90	55	0.8	6	1	1	0.2	-	0.1	-
P 1.5%	90	55	0.8	6	1	1.5	0.2	-	0.1	-
P 2%	90	55	0.8	6	1	2	0.2	-	0.1	-
PN 1%	90	55	0.8	6	1	1	0.2	-	0.1	0.3
PN 1.5%	90	55	0.8	6	1	1.5	0.2	-	0.1	0.3
PN 2%	90	55	0.8	6	1	2	0.2	-	0.1	0.3
PB 1%	90	55	0.8	6	1	1	0.2	1	0.1	-
PBO 1%	90	55	0.8	6	1	1	0.2	1	0.1	-

P1%: contained 1% whey protein

P1.5% : contained 1.5% whey protein

P2%: contained 2% whey protein

PN 1-2%: contained 0.3% pine needle extract and 1-2% whey protein

PB 1%: contained 1% baking powder

PBO 1%: contained 1% baking powder and oil

각각의 찌빵의 형태적 특성은 Fig. 16과 같았다. 단백질 함량을 더 많이 첨가하면 할수록 찌빵의 부풀기가 증가하였다. 또한 발효 솔잎액을 첨가하면 찌빵의 부풀기에는 큰 영향을 미치지 않으면서 맛과 냄새에 있어서 긍정적인 영향을 미침을 알 수 있었다. 밀 단백질을 사용하면 2차 발효 후 찌는 과정에서 황 냄새가 나게 되어 식미가 다소 저하되는데 발효 솔잎액을 첨가하면 이러한 냄새를 제거하여 식미를 올리는 특성이 있었다. 기름의 첨가 시기는 찌빵의 부피에 영향을 미쳤다. 1차 발효 전에 첨가한 PB 1%보다, 2차 발효 전에 첨가하여 반죽한 PBO 1%가 더 부피가 컸고, 균일한 기공이 형성되었다.

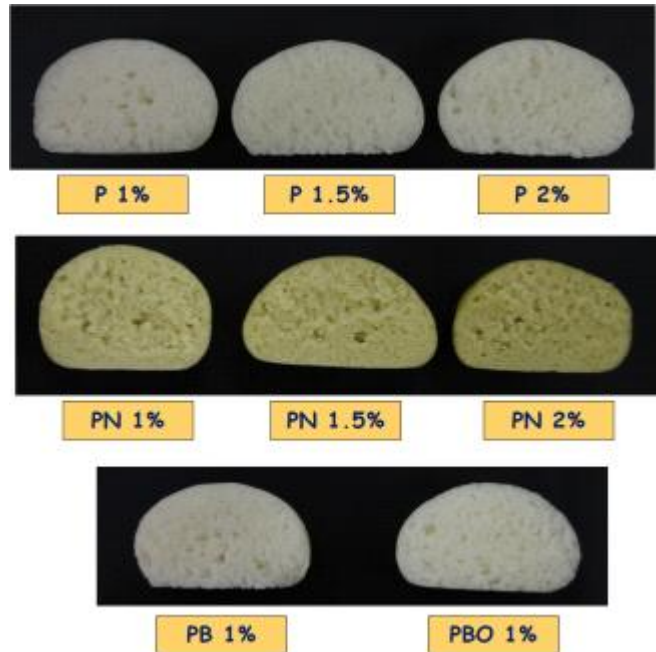


Fig. 16. Cross section of gluten-free steamed rice bread made from non-waxy rice flour with different ingredient proportioning.

찌빵의 색도는 Table 23과 같았다. 단백질 첨가량이 증가할수록 명도 L 값은 높게 나타나는 경향을 보였고, a와 b값은 크게 영향이 없음을 알 수 있었다. 기름의 첨가 시점에 따른 색도의 차이는 유의적인 차이가 나타났다. 1차 발효 전에 기름을 첨가한 PB 1%가 2차 발효 전에 기름을 첨가한 PBO 1%에 비하여 명도 L 값과 a값이 크게 나타났고, b 값은 작게 나타났으며, 색차에서도 PBO 1%가 더 크게 나타나 기름의 첨가 시점이 찌빵의 색에 영향을 줄 수 있음을 알 수 있었다.

Table 23. Hunter L, a, b and  $\Delta E$  values of gluten-free steamed rice bread from different flour mix proportioning

	L	a	b	$\Delta E$
P 1%	79.58 $\pm$ 0.21 <sup>a1)</sup>	-1.13 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	8.29 $\pm$ 0.16 <sup>e</sup>	0.43 $\pm$ 0.17 <sup>e</sup>
P 1.5%	78.62 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	-1.07 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	8.60 $\pm$ 0.08 <sup>de</sup>	0.64 $\pm$ 0.50 <sup>e</sup>
P 2%	78.66 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>	-1.22 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	8.94 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>	0.80 $\pm$ 0.20 <sup>e</sup>
PN 1%	73.40 $\pm$ 0.43 <sup>e</sup>	-1.36 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	14.57 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	8.50 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>
PN 1.5%	71.62 $\pm$ 0.06 <sup>f</sup>	-1.26 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	16.57 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	11.17 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
PN 2%	74.27 $\pm$ 0.46 <sup>d</sup>	-1.21 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	13.09 $\pm$ 0.34 <sup>c</sup>	6.83 $\pm$ 0.53 <sup>c</sup>

PB 1%	78.61 ± 0.18 <sup>b</sup>	-1.27 ± 0.03 <sup>c</sup>	8.32 ± 0.16 <sup>e</sup>	0.63 ± 0.17 <sup>e</sup>
PBO 1%	77.35 ± 0.51 <sup>c</sup>	-1.70 ± 0.02 <sup>e</sup>	8.80 ± 0.31 <sup>d</sup>	2.02 ± 0.46 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$

## <3차년도>

### 1절 연구방법

#### 1. 재료

본 실험에서는 ○○ 농업 연구 서비스 센터에서 한국 국내 육종인 유기농 현미 호평벼를 40 kg씩 구입하여 재료로 사용하였다. 총 식이섬유 함량 실험에 TDF kit를 Sigma-Aldrich Chemical(Co, St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 항산화 실험에 사용한 Folin & Ciocalteu's reagent는 Wako Pure(Chemical Industries, Ltd, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 가래떡 제조에 사용한 부재료로 소금(해표)을 시중에서 구입하여 사용하였다.

#### 2. 방법

가. SRB, WRF, BRF, RS4, SRB과 RS4를 다른 비율에 따라 혼합한 혼합물의 물리 화학적 특성

##### (1) 현미 도정

실험실 도정 기계(MC-90A, Toyo Co., Ltd, Japan)를 이용하여 호평현미를 백미로 도정하였다.(Fig. 1) 도정 과정 중 부산물인 배아를 포함한 쌀겨는 체를 사용하여 분리하였다.

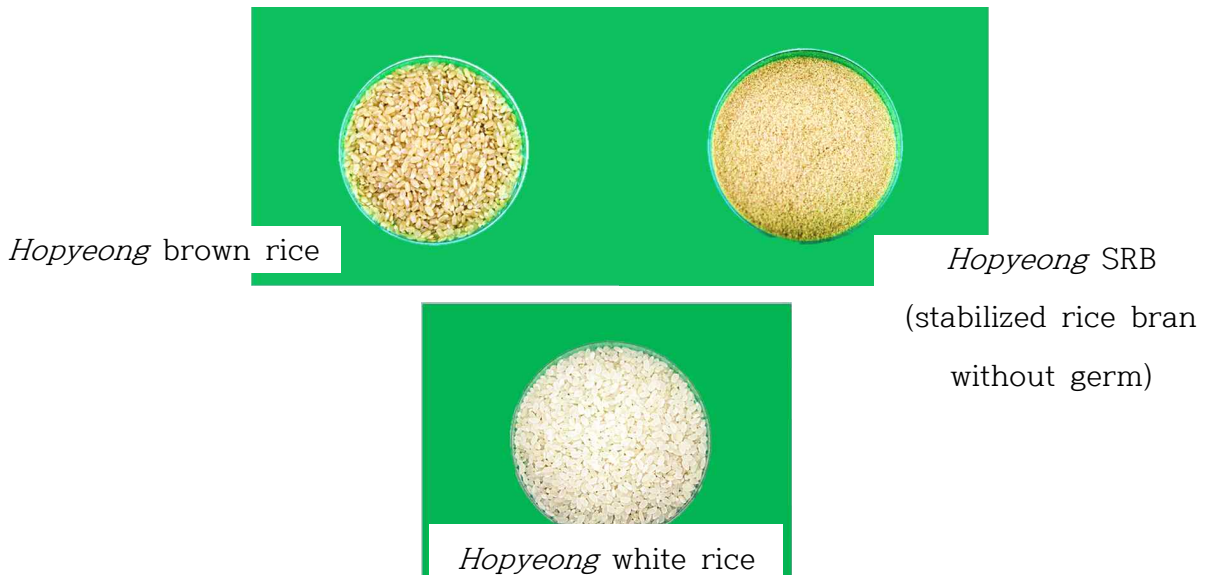


Fig. 1. The shape of the experimental materials

## (2) 쌀겨 안정화처리

쌀겨는 35 mesh 체로 2번 체질하여 쌀눈과 불순물을 분리하였다. 쌀눈을 제거한 쌀겨를 안정화시키기 위해 팬에 1-1.5cm 두께로 펼친 다음 120°C/120°C의 오븐에서 10분간 처리 하였고, 바로 냉동실에 20분간 냉각시켜 안정화시켰다. 안정화시킨 쌀겨는 분쇄기(DA 282-2, (주)대성아트론, 한국)로 분쇄하고 120 mesh(<125µm) 체를 통과시켜 쌀겨 분말을 제조하였으며, 냉동실에 보관하면서 실험에 사용하였다.(Fig. 1)

## (3) 쌀 전분의 분리

쌀 전분은 백미인 호평벼를 알칼리 침지법(Kim과 Shin, 1992)에 의하여 분리 제조하였다. 쌀을 수세한 다음 쌀알이 충분히 잠길 정도의 물을 가한 후 4시간 동안 수침시키고 물을 제거한 다음 0.2% sodium hydroxide(w/v) 용액에 1시간 동안 침지하였다. Blender(DA 282-2, Daesung Artlon, Seoul, Korea)를 이용해 마쇄한 후 100 mesh(<150 µm)와 270 mesh(<53 µm) 체를 차례로 통과시켰다. 얻어진 침전물의 노란층이 사라질 때까지 0.2% NaOH 용액으로 반복하여 씻어 원심분리(3,000× g, 10 min)한 후, 1 N HCl 용액을 사용하여 pH 7.0으로 중화시켰다. 염을 제거하기 위해 증류수를 이용하여 씻고 원심분리한 후, 얻어진 남평 쌀 전분은 실온에서 풍건한 후 분쇄하고 120 mesh 체에 통과시켜 쌀 전분 시료로 사용하였다.

## (4) 쌀 전분을 이용한 저항전분의 제조

호병백미쌀 전분으로 가교결합에 의한 RS4 저항전분의 제조는 Shin(2004)의 방법을 이용하여 제조하였다. 멸균병에 쌀 전분 50 g(건량기준)과 증류수 50 mL을 1:1 (w/v)의 비율로 넣고 50°C의 항온수조에서 80 rpm의 속도로 12시간 동안 어닐링(annealing) 처리 하였다. 어닐링한 전분 slurry를 비커로 옮긴 후, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(5.00 g, 10%, starch basis, 전분기준)를 stirring하면서 첨가하였다. 혼합된 후에 가교결합제인 STMP(5.994g, 전분기준)와 STPP(0.006 g, 전분기준)를 99:1의 비율로 총 6 g을 첨가하였다. 이 혼합물에 1.0 N NaOH용액 22.5 mL를 첨가하면서 반응액의 pH를 pH 11.5로 맞춘 후, 45°C의 수조에서 3시간 동안 stirring과 함께 가교결합 반응을 시켰다. 반응이 끝난 후 1 M HCl 용액을 사용하여 pH 7.0으로 중화시켰고, 전분과 반응이 되지 않은 가교결합제와 염을 제거하기 위하여 증류수로 원심분리기(Supra 22K, Hanil Science Industrial CO., Ltd. Korea)를 이용하여(5000 rpm, 10 min) 4번 이상 씻은 후 상온에서 건조하였다. 건조된 시료는 분쇄기를 이용하여 분쇄한 후 100 mesh 체를 통과시켜 사용하였다.

## (5) 쌀가루의 제조

쌀가루는 Shin MS 등(2007)과 Park SJ 등(2012)의 방법으로 처리하였다. 멥쌀인 삼광벼 품종의 백미와 현미를 낱알 형태로 3회 수세하여 상온(18±3°C)에서 6시간 수침한 후 저온(15±3°C)에서 풍건하였다. 건조된 쌀알의 수분함량이 약 12% 정도 되었을 때 120 mesh 체가 내장된 체분기(풍진기계/ 대화정밀, 서울, 한국)로 제분하여 백미쌀가루(white rice flour; WRF)와 현미쌀가루(brown rice flour; BRF)를 제조하였고 4°C의 저온고에 보관하면서 실험에 사용하였



다.

**(6) 습식 쌀가루의 제조**

쌀가루는 Shin MS 등(2007)과 Park SJ 등(2012)의 방법으로 처리하였다. 멥쌀인 삼광벼 품종의 백미 낱알 형태로 3회 수세하여 상온(18±3℃)에서 6시간 수침하였다. 30분 동안 물기를 제거한 후 방앗간 기계를 이용하여 쌀가루를 제조하였다.

**(7) 실험 디자인**

가래떡의 최적 비율을 산출하기 위하여 실험 디자인은 Design Expert 9(State-Easy Co., Minneapolis, Minnesota, USA) 프로그램을 사용하였으며 반응표면 실험계획법(Response surface design)의 중심 합성계획법(CCD: Central composite design)에 따라 실험을 설계하였다(박성현, 2006). 설계방법은 Table. 1과 같다. 독립변수로는 절편의 품질에 영향을 미치는 요인을 기준으로 하여 쌀겨분말, 저항전분 분말, 수분함량 3개의 요인으로 설정하였다. 예비 실험을 통하여 각 요인의 최소 및 최대 범위를 쌀겨분말과 저항전분은 각각 0~15 %, 수분함량 42~48%으로 정하였다.(Table. 2) 각 요인들의 반응을 살펴보기 위하여 perturbation plot, contour plot, response surface plot을 이용하였다. 반응표면분석의 실험설계 방법 중 하나인 중심합성계획법은 요인점(factorial point), 축점(axial points) 및 중심점(center points) 등 세 가지 실험점으로 구성되며 이 사이에는 모델설정 및 적합결여 검증에 위한 반복점이 존재한다(Park &Jang 2007). 이에 따라 각 요인의 설정된 범위를 입력하여 10개의 실험점이 형성되었고 반복설정을 통해 2개의 반복점이 선택되었다. 완성된 실험 디자인의 재료 혼합비율은 Table 1과 같다. 종속변수로는 이화학적 특성인 수분, 기계적 특성인 색도, 조직감(경도, 탄력성, 씹힘성, 검성, 응집성) 그리고 관능검사(색상, 향미, 맛, 촉촉함, 부드러움, 씹힘성, 전반적인 기호도)로 설정하였다. 모든 실험 순서는 구획에 따른 오차를 없애기 위하여 무작위로 실행하였다(Seo 2006).

**Table 1. Independent variations and their actual values use central composite design (Unit: %)**

Variables	Symbol	Coded-Variables +1		
		-1	0	+1
Rice bran (without germ) powder (%)	x	0	7.5	15
Cross-linked resistant starch powder (%)	x <sub>2</sub>	0	7.5	15

Total water content (%)	x	42	45	48
-------------------------	---	----	----	----

Table 2. Independent variations and their coded values use central composite design

RUN	$x_1$ : Rice bran (without germ) powder (% , flour basis )	$x_2$ : Cross-linked resistant starch powder (%)	$x_3$ : Total water content
1	-1 (0)	-1 (0)	+1 (42)
2	+1 (15)	-1 (0)	+1 (42)
3	-1 (0)	+1 (15)	+1 (42)
4	+1 (15)	+1 (15)	+1 (42)
5	-1 (0)	-1 (0)	-1 (48)
6	+1 (15)	-1 (0)	-1 (48)
7	-1 (0)	+1 (15)	-1 (48)
8	+1 (15)	+1 (15)	-1 (48)
9	0 (7.5)	0 (7.5)	0 (45)
10	0 (7.5)	0 (7.5)	0 (45)

(Unit: %)

(8) SRB 및 RS4 첨가한 쌀가루의 제조 및 특성

(가) 총 식이섬유 함량 분석

총 식이섬유 함량 분석은 AOAC(2000) 방법에 따라 실시하였다. Tall beaker(600 mL)에 시료 1 g(건량기준)과 40 mL의 phosphate buffer(pH 6.0)를 넣고 교반기를 이용하여 잘 섞은 후, 끓는 수조에서 0.1 mL heat stable α-amylase를 가한 후 20분 동안 반응 시켰다. 반응 완료 후 실온에서 냉각한 후, 0.275 N sodium hydroxide를 이용하여 pH 7.5±0.2로 적정하였다. 0.1 mL의 50 mg/mL protease 용액을 가하고 60°C의 수조에서 35분간 반응시킨 후 상온에서 냉각시켜, 0.325 M HCl을 이용하여 pH 4.0~4.6으로 적정하였다. 여기에 0.1 mL amyloglucosidase를 가하고 60°C의 water bath에서 35분간 반응시킨 후, 효소반응을 멈추게 하기 위해서 용액의 4배 만큼의 95% ethanol을 가하였다. 1시간 동안 방치한 다음 celite를 넣고 미리 항량해 둔 필터가 있는 유리 crucible을 이용하여 감압여과한 후 78% 에탄올, 95% 에탄올 및 아세톤 순으로 씻은 다음 유리 crucible을 dry oven(105±5°C)에서 하룻밤 건조시켰다. Crucible의 잔여물을 무게를 측정 후 회분과 단백질 함량을 빼고, 아래의 계산식을 이용하여 식이섬유 함량을 구했다.

$$\text{총 식이섬유 함량 (\%TDF)} = [(R-P-A-B)/SW] \times 100$$

TDF = Total Dietary Fiber

R = Crucible의 잔여물 평균 무게(mg)

P = Crucible의 잔여물 단백질 평균 무게(mg)

A = Crucible의 잔여물 회분 평균 무게(mg)

B = R<sub>BLANK</sub> - P<sub>BLANK</sub> - A<sub>BLANK</sub>

SW = 샘플의 평균 무게(mg)

#### (나) 가래떡용 SRB 및 RS4를 첨가한 쌀가루 혼합가루의 제조

가래떡용 SRB 및 RS4를 첨가한 쌀가루 혼합가루의 배합비는 실험 계획법에 따라서 제조하였다. 배합비는 Table 3에 제시되었다.

**Table 3. Experimental design for *Garaetteok* added with SRB and RS by response surface methodology**

Sample No.	Factor			Rice flour (g)	Salt (g)	Required amount of water added (g)
	Rice bran (g)	Resistant starch (g)	Water (%)			
1	0	0		400		52
2	60	0		340		66.76
3	0	60	42	340	2.8	62.72
4	60	60		280		77.48
5	0	0		400		76
6	60	0		340		90.76
7	0	60	48	340	2.8	86.72
8	60	60		280		101.48
9	30	30		340		89.84
10	30	30	45	340	2.8	89.84

#### (다) 쌀가루와 쌀겨의 일반 성분 분석

호병벼 백미로 제조한 쌀가루(WRF), 현미로 제조한 쌀가루(BRF)와 쌀겨의 일반 성분은 AOAC(2000)방법으로 분석하였다. 수분함량은 105°C 오븐을 이용한 상압가열법, 단백질함량은 미량 켈달법, 조지질은 에테르를 용매로 사용한 속실팩법으로 측정하였다. 조회분은 550°C 전기로를 이용한 직접 회화법으로 측정하였다.

#### (라) 쌀가루와 쌀겨의 구성아미노산 분석

백미, 현미 쌀가루와 쌀겨 분말에 6 N HCL 1 mL을 가한 다음 질소가스를 주입하여 밀봉한 후 110°C 오븐에서 22시간 가수분해 시키고 방냉하였다. 탈 이온수를 사용하여 50 mL로 정용 한 후 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과하여 희석한 후 HPLC로 분리, 정량하였다. 다음과 같은 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Amino acid (mg\%)} = \frac{\text{sample area}}{\text{standard area}} \times \text{STD amount (mg)} \times \frac{1}{S} \times 100 \times V$$

S: Weight of sample (mg)

V: Dilution factor

#### (마) 쌀가루와 쌀겨의 지방산과 무기질 분석

백미, 현미쌀가루와 쌀겨분말을 정밀저울에서( $10^{-4}$  g) 약 0.1 g씩 칭량하여 테프론 용기에 넣고 산 분해를 위해 질산원액 14 mL와 과산화수소 원액 3 mL을 첨가하여 유기물을 분해하였고, 포집액으로 5% 질산 7 mL을 첨가하였다. 흑연블럭에서 220°C로 4 시간 동안 가열하여 산 분해 후 상온에서 하루 동안 방냉시켰고, 50 mL 팔콘 튜브에 산 분해된 시료를 옮겨 담은 후 3차 증류수로 40 mL 표선을 맞추었다. 각 시료를 30분 동안 원심 분리 및 vortexing 후 농도가 균질하도록 하루 동안 방치하여 ICP-MS를 이용하여 무기질을 측정하였다. 증류수를 blank로 사용하였고, 표준시약 5, 10, 50과 100 ppb 농도로 측정하여 검량선을 확인한 후 시료를 ppb농도 범위로 희석하여 분석하였다. 측정된 값에 희석배수를 곱하여 각 시료에 들어있는 개별원소들의 농도를 계산 하였다. 무기질 조성은 유도결합플라즈마질량분석기인 ICP/MS-LC(Nexion 300X Model, Perkin Elmer, Canada)로 분석하였으며, 분석한 무기질은 Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu, Mn, Na, Cr, Co, Se, Cd, Pb, Mo, As, Hg로 16종류의 무기질을 분석하였다.

#### (바) 물결합능력

쌀가루와 쌀겨의 물결합능력은 Medcalf와 Gilles(1965)의 방법에 따라 실시하였다. 50 mL 원심 분리관에 시료 0.5 g(건량 기준)과 증류수 20 mL을 가한 후 마그네틱 바(Φ 3.2 ×13 mm)를 넣은 후 교반기를 이용하여 실온에서 1시간 동안 분산시킨 뒤, 5000 rpm (2,730 ×g)에서 30분간 원심분리(원심분리기, Hanil Science Industrial Co., Ltd, Supra 22K Seoul, Korea) 하였다. 원심 분리관을 1분간 거꾸로 세워 상징액을 제거하고 침전된 무게를 측정하여 처음 시료와의 중량비로부터 계산하였다.

$$\text{물 결합능력 (\%)} = \frac{\text{침전된 시료의 무게(g)} - \text{처음 시료의 무게(g)}}{\text{처음 시료의 무게(g)}} \times 100$$

#### (사) 팽윤력과 용해도

팽윤력과 용해도는 Schoch의 방법(1964)을 이용하여 80℃에서 측정하였다. 50 mL 원심 분리관에 시료 0.5 g(건량기준)에 증류수 20 mL과 마그네틱 바를 넣어 분산시킨 후, 80℃를 유지하면서 20분간 교반기를 이용하여 저어준 뒤 얼음을 이용하여 냉각시켰다. 이 원심 분리관을 5000 rpm (2,730 ×g)에서 30분간 원심 분리하였다. 미리 항량하여 건조시킨 용기에 상징액을 부어 105℃ 드라이 오븐에서 항량된 건조 무게로 다음의 식을 이용하여 용해도를 계산하였다.

$$\text{용해도(\%)} = \frac{\text{상징액 건조 무게(g)}}{\text{시료의 무게(g)}} \times 100$$

팽윤력은 원심분리 후 침전된 쌀가루의 무게와 계산된 용해도(%)를 이용하여 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{팽윤력(g/g)} = \frac{\text{침전된 쌀가루의 무게(g)}}{\text{시료의 무게(g)} \times (100 - \% \text{용해도})} \times 100$$

### (아) 쌀가루와 쌀겨의 색도

제조한 쌀가루와 쌀겨 분말의 색도는 색도계(SpectraMagic™ NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, ±a(redness/greenness)값 및 ±b(yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정 후 평균값을 이용하였다. 기기는 L=96.81, a=-0.08, b=-0.14 인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하고, 색차(ΔE)는 백색판을 기준으로 다음의 식으로 계산하였다.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

### (자) 신속점도 측정기에 의한 호화 특성 측정

제조된 쌀가루와 쌀겨의 가열에 따른 호화특성은 신속점도 측정기(RVA, Rapid Visco Analyzer, model 3D, Newport Scientific Pty, Ltd, Warriwood, Australia)를 이용하여 측정하였다. 시료 3 g(수분함량 12% 기준)을 RVA용 canister에 담고 증류수 25 mL을 가하여 0~1분간은 50℃, 1.0~4.45분은 50~95℃까지 상승, 4.45~7.15분은 95℃로 유지, 7.15~11.06분은 50℃까지 냉각, 11.06~12.30분은 50℃를 유지하면서 점도를 측정하였다. 신속 점도계의 측정치는 초기호화개시온도(initial pasting temperature), 최고점도(peak viscosity, P), trough viscosity(T), 50℃에서의 냉각점도(cold viscosity, C)를 나타냈고, total setback(C-T)과 breakdown(P-T) viscosity를 계산하였다.

## 나. 가래떡의 품질 개선을 위한 RSM에 SRB 및 RS4의 첨가 비율 최적화

### (1) 가래떡의 제조

가래떡 제조에 사용된 쌀가루는 호평 백미 쌀가루와 백미 쌀가루에 쌀겨, 저항전분을 실험설계에서 설정된 10가지의 배합비를 이용해 제조하였다. 가래떡의 제조과정은 Fig. 2와 같다. 먼저 쌀가루를 체질한 후 소금과 물을 혼합하여 소금과 물이 쌀가루에 충분히 스며들도록 10분 방치하였다가 다시 체에 내렸다. 이 쌀가루를 물 3 L를 넣은 찜기에서 수증기가 올라오기 시작한 다음부터 35분간 찌고 5분간 뜸을 들였다. 현미 쌀가루와 쌀겨(건물 기준)를 첨가한 쌀가루는 소금물을 넣고 위와 같은 방법으로 제조하였다. 열원은 인덕션을 이용하였고, 화력은 10단계로 조절하여 사용하였다.

찜 반죽은 만능죽찌기(gold DO-1004, (주)동아오스카, 서울, 한국)로 직경 1.5 cm 분쇄노즐을 이용하여 3회 압출시켰으며 제조된 가래떡을 4 L의 찬물에 20 초간 냉

각하여 실온에서 30분 냉각시켰다. 이 중 일부는 외관형태 측정과 색도, 텍스처 측정에 사용하였고, 나머지는 OPP롤지로 포장하여 polyethylene bag에 넣어 23℃ 실온으로 1, 2일간 저장하면서 각각 색도와 텍스처 특성, 관능적 특성을 측정하였다.

## (2) 가래떡의 형태학적 관찰

제조된 가래떡의 외형적인 특성은 실온에서 30분 냉각한 다음 5 cm 길이로 절단하여 디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 가래떡의 전체모양을 관찰하였다.

## (3) 수분함량

제조된 가래떡의 수분함량은 0, 1, 2일 동안 저장하면서 AOAC (Perera A, et al., 2010) 방법을 사용하여 측정하였다.

## (4) 식이섬유 함량 분석

제조된 10가지의 가래떡은 78% 알코올을 사용하여 탈수시킨 후 AOAC(2000) 방법에 따라 식이섬유 함량 실험을 실시하였다.

## (5) 색도

제조된 10가지의 가래떡은 0, 1, 2일 동안 저장동안에 색깔의 변화가 8.7.3에 방법에 따라 3회 측정하였다. 가래떡의 색도는 가래떡을  $\Phi 1.5 \times 1.5$  cm로 잘라 색도계 (SpectraMagic<sup>TM</sup> NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값,  $\pm a$ (redness/greenness)값 및 b(yellowness/blueness)값을 5회 반복 측정한 후 평균값을 이용하였다. 기기는 L=96.81,  $\pm a=-0.08$ , b=-0.14 인 표준 백색판 (standard white plate)으로 보정하여 사용하였다.

## (6) 저장기간에 따른 가래떡의 텍스처 측정

가래떡의 텍스처 측정은 가래떡을 뽑아 실온에서 30분간 냉각 시킨 후 1.5×1.5 cm 크기로 잘라 모양을 유지하고 수분이 증발되지 않도록 보관하면서 텍스처 측정기(Texture Analyzer, TA-XT Plus, England)를 이용하여 반복 압축시험을 실시하였다. 기기의 조건으로 probe는 실린더 모양( $\Phi$  20 mm)을 사용하였고 변형율은 75%를 주었으며 두 번 압축시험 후 힘과 시간으로 그려진 TPA(texture profile



analysis) 곡선으로부터 텍스처 측정치를 계산하였다. TPA로부터 경도 (hardness), 응집성(cohesiveness), 탄성(springiness), 부착성(adhesiveness), 씹힘성(chewiness), 회복력(resilience)의 특성치를 평균과 표준편차로 비교하였다.

#### (7) 주사전사현미경을 이용한 가래떡 단면 형태 관찰

10까지 가래떡 동결 건조한 샘플은 면도칼로 이용하여 슬라이스하여 단면 구조 형태 관찰을 위해 데시케이터에서 수분을 조절하고 아세톤으로 깨끗하게 닦은 stub에 이중 테이프를 잘라 붙이고 여기에 슬라이스한 가래떡은 도말한 다음 금/백금으로 전도성을 갖게 하여 도금하여 만들었다. 주사전사 현미경(Scanning Electron Microscope, SEM, JEOL, JSM-7500F+EDS, Japan)을 사용하여 가속 전압 15 kV, Phototimes 85 sec 조건에서 450배, 1000배의 배율로 관찰하였다.

#### (8) X-선 회절도 분석

10까지 가래떡의 X-선 회절도에 의한 결정형과 결정강도는 X-선 회절기(D/Max-1200, Rigaku Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 가래떡 분말의 결정강도를 측정하였다. 기기조건은 target, Cu-K $\alpha$ ; filter, Ni; full scale range, 3000 cps; scanning speed, 8°/min; voltage, 40 kV; current, 20 mA로 회절각도(2 $\theta$ ) 40°~5°까지 회절시켜 비교하였다.

#### (9) 가래떡 저장 중 미생물 개수

가래떡 25 g 씩 무균적으로 취하여 멸균된 peptone water (Difco, USA) 0.85% NaCl 함유한 225 mL 식염수와 함께 멸균시료백(Nasco International, USA)에 넣어 stomacher (ElmaxSH-II M, Tokyo, Japan)를 이용하여 2분간 균질화한 것을 시험원액으로 하고 각 실험은 2회 반복 실험하였다. 자리의 멸균백에 담아 균질기로 이용하여 2분 동안 교반하였다. 십진법을 이용하여 시 제조 기구 및 설비의 표면은 10 × 10 Cm의 면적을 Swab kit (3M e-swab, China)를 사용하여 swabbing 하였다. 배지는 37도에서 24-48 h동안 배양 하였다. 제조 종사자의 위생 상태를 확인하기 위해 손과 장갑에 대해서 멸균시료백에 peptone water 50 mL를 붓고 작업자의 손을 넣어 손뚝, 손바닥, 손가락 사이를 20초간 깨끗이 씻었다.

#### (10) 기계적인 관능평가와 기호도 평가

10까지 가래떡에 대한 관능평가는 특성치에 따른 차이조사와 전반적인 품질에 대

한 기호조사를 9점 채점법으로 실시하였다. 각 평가항목에 대한 차이 조사는 9점은 대단히 강하다, 1점은 대단히 약하다로 평가하였고 기호도 조사는 9점 가장 좋다에서 1점 가장 나쁘다로 하였다.

훈련된 ○○대학교 식품영양학과 대학원생 25명을 평가원으로 차이조사와 기호도 조사를 반복 수행하였다. 차이조사의 항목은 외관(색깔, 표면의 매끄러운 정도), 냄새(이취, 고소한 향), 맛(고소한 맛, 뽀은 맛), 텍스처(경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 거칠음)들이었으며, 기호도 조사로 전반적인 품질을 평가하였다.

## (11) 통계분석

### (가) 가래떡의 관능 최적화

가래떡의 품질 최적화 분석은 Design Expert 9(State-Ease Co., Minneapolis, Minnesota, USA) 프로그램을 이용하여 통계 분석을 실시하였으며 Response surface 중에서 Central composite design에 의하여 설계된 10가지 가래떡의 배합비율에 따라 시료를 제조하여 실험하였다. 가래떡의 최적화는 Design Expert 9 프로그램으로 Canonical 모형의 수치 최적화(numerical optimization)와 모형적 최적화(graphical optimization)를 통하여 연자육 분말과 반죽시간을 선정하였고, 지점 예측(point prediction)을 통해 최적점을 선정하였다. 실험에서 설정한 3가지 독립변수의 각각의 종속 변수로 작용하는 수분, 색도, 조직감, 관능적 특성에 미치는 영향을 보도록 하였으며 변수들 간의 관계를 알아보기 위하여 프로그램에서 Perturbation plot과 Response surface 3D plot을 이용하였다. 수치 최적화는 Canonical model을 기준으로 하는 모델의 계수에 독립변수인 연자육 분말, 반죽시간의 범위 내에서 반응변수이면서 유의적으로 나온 관능검사의 색상, 향미, 맛, 촉촉한 정도, 부드러운 정도, 씹힘성, 전반적인 기호도 항목을 목표범위 최대(maximum)로 설정하였다. 수치 최적화를 통해 제시된 최적점 중 다음의 식에 기준하여 적합도(desirability)를 구하고 가장 높은 적합도를 나타내는 최적점을 채택하였다.

또한 모형적 최적화는 각 반응변수에 대한 최소(minimum) 또는 최대(maximum) 제한점을 설정하여 입력할 때 가능한 범위에서 그래프가 중복되는 부분으로 채택하였다.

$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_n)^{\frac{1}{n}} = \left( \prod_{i=1}^n d_i \right)^{\frac{1}{n}}$$

D = overall desirability

d = desirability

n = The number of response

### (나) 최적화된 가래떡의 품질 특성

최적화 배합으로 제조한 가래떡의 품질특성 결과는 SAS / STAT (software, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA ) 프로그램을 이용하여 통계 처리하였다. ANOVA test를 실시하여 5% 수준에서 각 시료 간에 유의성을 검증하였다.

## 2절 연구결과

### 1. SRB, WRF, BRF, RS4, SRB과 RS4를 다른 비율에 따라 혼합한 혼합물의 물리 화학적 특성

#### 가. SRB, RS4 와 쌀가루특성

##### (1) 일반 성분 과 식이 섬유 분석

백미, 현미, 안정화쌀겨의 일반성분과 총 식이섬유 함량은 Table 4와 같다. 호평벼 백미 쌀가루(white rice flour, WRF)와 현미 쌀가루(brown rice flour, BRF)의 수분함량은 각각 9.97%와 11.26%였으며 쌀겨(stabilized rice bran, SRB)와 저항전분 수분함량은 각각 4.45% 11.17%로 쌀겨가 제일 낮았다( $p < 0.05$ ). 일반쌀겨의 수분함량을 10.50%로 보고한 Choi 등(2010)의 연구결과와 차이를 나타냈다. 이는 Thanonkaew 등(2012)의 연구에서  $150 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 10분간 로스팅 처리한 쌀겨의 수분함량을 2.13%로 나타난 결과처럼 쌀겨를 사용하기 전에 안정화하기 위한 방법에 따라 다른 것으로 생각되었다. 조회분 함량은 백미 쌀가루 0.24%, 현미 쌀가루 1.16%, 쌀겨 11.21%로 쌀겨에 회분이 다량 함유된 것을 확인하였다. 조 단백질 함량은 쌀겨가 12.98%로 가장 높고, 현미 6.75%, 백미 5.98% 순이었다. 조지질은 쌀겨가 16.53%로 가장 높은 값을 보였으며 현미 2.04%, 백미가 0.26%로 가장 낮았다. 현미의 지질함량은 Yun (2007)의 연구에서 현미의 지방함량을 2.27%로 보고한 결과와 비슷한 결과였다. 현미가 백미에 비하여 도정으로 인한 영양분의 손실이 없어 식물성 섬유질을 비롯하여 지방, 단백질 등 영양소가 풍부하여 몸에 좋다고 보고하였다 (Kim 등 2001). 쌀겨의 구성성분으로 단백질 12~16%, 지질 16~22%로 보고한 Nicolosi 등(1994)의 연구와 유사한 결과였다. 식이섬유는 인체 내 소화효소에 의하여

소화되지 않는 다당류와 lignin으로 소화되지 않는 다당류에는 고분자 다당류인 cellulose, hemicellulose pectin질, gum질, mucilage 등으로 알려져 있다(Lee와 Lee 1987). 총 식이섬유 함량은 저항전분 >쌀겨> 현미> 백미 순으로 나타났으며 저항전분이 54.70% , 쌀겨 47.53%으로 일반 쌀가루의 3% 이하에 비해 매우 높은 값을 보였다. Delahate 등(2005)과 Choi 등(2009)의 연구에 의하면 쌀겨의 식이섬유 함량이 27%, 28.60%로 본 실험결과인 47.53% 보다 낮게 보고하였다. 이는 쌀겨 분말의 안정화 과정에서 체를 이용하여 쌀눈을 제거하여 기존의 쌀눈이 함유된 쌀겨의 식이섬유함량과 비교하여 높은 식이섬유 함량을 나타낸 것으로 생각되었다.

**Table 4. Compositional analysis and total dietary fiber content of SRB, RS , BRF, and WRF**

Sample	Moisture content (%)	Ash content (%)	Crude protein content (%)	Crude lipid content (%)	Total dietary fiber (%)
SRB <sup>2)</sup>	4.45±0.01 <sup>d1)</sup>	11.21±0.01 <sup>a</sup>	12.98±0.01 <sup>a</sup>	16.53±0.01 <sup>a</sup>	47.53±0.03 <sup>b</sup>
RS <sub>4</sub>	11.17±0.01 <sup>b</sup>	ND <sup>3)</sup>	ND	ND	54.70±0.08 <sup>a</sup>
BRF	11.26±0.01 <sup>a</sup>	1.16±0.01 <sup>b</sup>	6.75±0.04 <sup>b</sup>	2.04±0.01 <sup>b</sup>	4.78±0.02 <sup>c</sup>
WRF	9.97±0.01 <sup>c</sup>	0.24±0.01 <sup>c</sup>	5.98±0.01 <sup>c</sup>	0.26±0.01 <sup>c</sup>	1.13±0.04 <sup>d</sup>

Each value represents mean±SD.

<sup>1)</sup><sup>a-d</sup>Superscript in the same column with different letters are significantly different( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.<sup>2)</sup>SRB: Stabilized rice bran

RS<sub>4</sub>: Resistant starch

BRF: Brown rice flours

WRF: White rice flours

<sup>3)</sup>ND means not detected

## (2) 물 결합능력

백미, 현미 쌀가루, 쌀겨, 저항전분, RSM-2, RSM-3, RSM-5, RSM-4의 물 결합능력은 Table 5에 나타냈다. 물 결합능력은 각각 176.76, 134.24, 170.49, 111.19, 172.90, 169.06, 158.15, 163.58%로 백미쌀가루와 쌀겨가 높은 물 결합능력을 보였다. 쌀겨분말의 높은 물 결합능력은 식이섬유의 보수력에 의한 것으로 사료되었다. 일반적으로 물 결합능력은 생전분의 수분결합능력을 나타내는 지표로서 이때 결합되는 물은 전분입자에 침투되거나, 전분입자의 표면에 흡착된다고 보고되어 있으며,

전분입자의 내부 치밀도가 낮은 것은 수분흡수가 크다고 하였다(Halick과 Kelly 1959). 전분의 물 결합능력은 전분의 손상도가 높을수록 높아지는 것으로 알려져 있다(Choi 등 2001). 물 결합능력은 분말을 구성하는 입자의 크기와 물질의 친화적 성질 및 친수성 탄수화물 함량과 물 흡수력에 영향을 받기 때문에 가공에 중요하지만 구성 전분 함량차이나 입자크기차이로 인하므로 다른 성질을 함께 비교해야 할 것으로 생각되었다(Park 등 2011).

### (3) 팽윤력과 용해도

Table 5는 80°C에서 샘플의 팽윤력과 용해도를 나타낸 것으로 쌀겨의 80°C에서 용해도는 29.32%로 높은 용해도를 보였으며 그 다음 RSM-2 6.61%, RSM-3, 6.60%, 현미 6.28%, RSM-5 6.04%, RSM-4 5.69%, 저항전분 0.53% 순으로 나타났다. 팽윤력은 백미 쌀가루가 6.69 g/g으로 높은 값을 나타내었다. 쌀가루의 팽윤력은 전분입자가 가열에 의해 팽윤되면서 수분흡수가 증가하기 때문에 나타나며 쌀가루에 포함된 단백질이나 조지질이 팽윤력의 증가를 억제하고 전분함량도 팽윤력에 영향을 줄 수 있다(Yun 2007). 현미 쌀가루와 안정화쌀겨는 백미와 비교하여 상대적으로 전분함량이 낮고, 식이섬유, 단백질의 영향으로 팽윤이 억제되어 백미보다 낮은 팽윤력을 나타낸 것으로 생각되었다.

Table 5. Water binding swelling power, and solubility at 80°C of rice flours, SRB, RS<sub>4</sub>, and rice flour mixtures

Sample	Swelling power at 80°C (%)	Solubility at 80°C (%)	Water binding capacity (%)
SRB	3.64 0.21	29.32±0.00 <sup>a</sup>	170.49±0.04 <sup>b</sup>
RS <sub>4</sub>	3.48±0.08 <sup>h</sup>	0.53±0.00 <sup>f</sup>	111.19±0.11 <sup>e</sup>
BRF	6.12±0.08 <sup>e</sup>	6.28±0.00 <sup>c</sup>	134.24±0.06 <sup>d</sup>
WRF	6.96±0.05 <sup>c</sup>	4.65±0.00 <sup>e</sup>	176.76±1.71 <sup>a</sup>
RSM-2	8.53±0.05 <sup>a</sup>	6.61±0.07 <sup>b</sup>	172.90±0.00 <sup>ab</sup>
RSM-3	4.88±0.08 <sup>f</sup>	6.60±0.06 <sup>b</sup>	169.06±0.03 <sup>bc</sup>
RSM-4	8.46±0.13 <sup>b</sup>	5.69±0.02 <sup>d</sup>	158.15±0.03 <sup>c</sup>
RSM-5	6.76±0.08 <sup>d</sup>	6.04±0.56 <sup>c</sup>	163.58±0.03 <sup>c</sup>

Each value represents mean±SD.

<sup>1) a-h</sup>Superscript in the same column with different letters are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

SRB            Stabilized rice bran  
 RS<sub>4</sub>            Resistant starch  
 BRF            Brown rice flour

WRF	White rice flour
RSM-2	SRB15%+white rice flour 85%
RSM-3	RS 15%+white rice flour 85%
RSM-4	SRB15%+RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 70%
RSM-5	SRB7.5%+RS <sub>4</sub> 7.5%+white rice flour 85%

#### (4) 색도

쌀가루와 쌀겨의 색도는 Table 6과 같이 Hunter Lab value로 명도(Lightness)를 나타내는 L값, 적색도/녹색도(redness/greenness)를 나타내는 ±a값, 황색도/청색도(yellowness/blueness)를 나타내는 ±b값으로 표시하였다. 쌀가루의 색도는 품종, 도정도, 처리조건, 제분방법과 쌀가루 입도 크기 분포에 의해 색도 차이를 보인다. 저항전분은 제일 높은 명도를 가지고 쌀겨는 제일 낮은 명도를 보였다.

명도인 L값은 저항전분이 96.56로 가장 높게 나타났고, a값, b값은 쌀겨 제일 높게 나왔다. 색도 측정 결과 현미와 쌀겨의 첨가가 가래떡 제조 시 제품의 색, 외관 및 품질에 영향을 줄 것으로 생각되었다. 이에 따라 저항전분 첨가한 샘플은 값은 쌀겨 첨가한 샘플 보다 높고 a 값은 낮고 b값은 높았다.

#### (5) 신속 점도 측정기에 의한 호화 특성

신속점도 측정기에 의한 쌀가루와 쌀겨의 호화양상은 호화개시온도와 peak, trough, cold viscosity와 breakdown 및 total setback viscosity 값은 Table 6에 제시하였다. 현미 쌀가루(BRF), RSM-2, RSM-3, RSM-5의 호화 개시온도는 차이를 보이지 않았다.

WRF의 최고점도(P)와 최저점도(T)는 각각 3034.50 cP와 1611.50 cP로 나타났다. BRF의 경우 각각 2486.00 cP와 1333.00 cP로 백미 쌀가루보다 낮은 점도를 나타내었다. 또한 RVA 점도 변화 측정 시 최고 점도(P)와 최소점도(T)의 차이로써 전분 입자가 열에 의해 붕괴되는 정도와 호화액의 안정성을 나타내는 breakdown viscosity(P-T)값은 WRF에서 1423.00 cP로 제일 높게 보였다.

Table 6. Pasting characteristics of White rice flours added with different cross-linked resistant starch (RS<sub>4</sub>), stabilized rice bran contents by Rapid Visco Analyzer

sampl e	Initial pasting temperatur e (°C)	Viscosity (cP)				
		Peak (P)	Trough (T)	Cold Visc (C)	Breakdown (P-T)	Setback (C-T)
WRF	71.83± 0.11 <sup>c</sup>	3034.50±6.3	1611.50±2.	2807.50±2	1423.00±4.24	1196.00±0.00
BRF	72.53± 0.11 <sup>b</sup>	2486.00±2.8	1333.00±4.	2864.50±3	1153.00±	1531.50±
RSM- 2	72.55± 0.00 <sup>b</sup>	1934.00±2.8	1030.00±8.	2123.00±	942.00±	1093.00±
RSM- 3	72.53± 0.04 <sup>b</sup>	2265.00±5.6	1431.50±0.	2591.00±	825.00±	1159.50±
RSM- 4	89.55± 0.07 <sup>a</sup>	1263.50±10.	694.50±3.5	1635.00±	580.00±	940.50±
RSM- 5	73.00± 0.64 <sup>b</sup>	2075.50±	1181.50±6.	2304.50±	913.50±	1115.50±
SRB	N.D	17.50±0.71	13.00±0.00	16.00± 0.00	4.50± 0.71	3.00± 0.00
RS <sub>4</sub>	N.D	16.50±0.71	12.50±0.71	16.00± 0.00	4.00± 0.00	3.00± 0.00

WRF: white rice flour  
 BRF: brown rice flour  
 RSM-2 SRB15%+white rice flour 85%  
 RSM-3 RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85%  
 RSM-4 SRB15%+RS 15%+white rice flour 70%  
 RSM-5 SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85%  
 SRB: Stabilized rice bran  
 RS<sub>4</sub>: resistant starch

Each value represents mean±SD.

<sup>1)</sup><sub>a-f</sub> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

## (6) 구성 아미노산

백미, 현미쌀가루, 쌀겨에 함유된 단백질의 구성 아미노산을 아미노산 분석기를 이용하여 분석한 결과는 Table 7과 같았다. 쌀겨에는 15종의 아미노산이 골고루 함유되어 있었고, 각 아미노산의 함량이 백미, 현미 쌀가루와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05). 아미노산 중에는 산성 아미노산인 글루탐산과 아스파르트산이 백미, 현미, 쌀겨에 가장 많이 포함되어 있었고, 필수아미노산 중에서는 루신 함량이 가장 높았다.

Table 7. Amino acids content of white rice flour, brown rice flour, rice bran. (Unit: mg/100g)

		WRF <sup>1)</sup>	BRF	SRB
Essential amino acid	Threonine	274.66 ± 3.47 <sup>c2)</sup> 3)	296.61 ± 2.20 <sup>bI</sup>	755.90 ± 3.27 <sup>aJ</sup>
	Valine	369.14 ± 4.24 <sup>cG</sup>	424.39 ± 3.86 <sup>bF</sup>	896.95 ± 2.39 <sup>aF</sup>
	Methionine	129.00 ± 0.46 <sup>cQ</sup>	133.14 ± 3.82 <sup>bP</sup>	193.82 ± 1.23 <sup>aS</sup>
	Isoleucine	239.78 ± 2.05 <sup>cJ</sup>	284.36 ± 0.42 <sup>bJ</sup>	503.50 ± 3.42 <sup>aP</sup>
	Leucine	513.51 ± 2.17 <sup>cB</sup>	568.35 ± 0.22 <sup>bB</sup>	1023.34 ± 2.59 <sup>aD</sup>
	Phenylalanine	256.04 ± 0.60 <sup>cI</sup>	285.31 ± 0.00 <sup>bJ</sup>	519.20 ± 2.17 <sup>aO</sup>
	Histidine	161.59 ± 1.49 <sup>cO</sup>	193.42 ± 3.45 <sup>bM</sup>	530.60 ± 0.33 <sup>aN</sup>
	Lysine	194.99 ± 2.98 <sup>cL</sup>	249.58 ± 0.33 <sup>bK</sup>	661.34 ± 0.92 <sup>aK</sup>
Non-essential amino acid	Tyrosine	174.80 ± 0.76 <sup>cM</sup>	192.28 ± 0.81 <sup>bMN</sup>	264.04 ± 3.94 <sup>aR</sup>
	Serine	216.06 ± 3.93 <sup>cK</sup>	242.28 ± 1.20 <sup>bL</sup>	557.60 ± 3.65 <sup>aM</sup>
	Glutamic acid	397.68 ± 2.61 <sup>cE</sup>	409.44 ± 0.35 <sup>bH</sup>	915.41 ± 1.03 <sup>aE</sup>
	Proline	169.54 ± 3.13 <sup>cN</sup>	186.06 ± 2.34 <sup>bN</sup>	633.54 ± 2.44 <sup>aL</sup>
	Glycine	471.58 ± 4.06 <sup>cC</sup>	572.60 ± 1.20 <sup>bB</sup>	1419.42 ± 0.33 <sup>aB</sup>
	Alanine	472.80 ± 0.37 <sup>cC</sup>	536.44 ± 0.67 <sup>bC</sup>	1394.02 ± 2.22 <sup>aC</sup>
	Aspartic acid	384.04 ± 1.08 <sup>cF</sup>	416.85 ± 1.60 <sup>bG</sup>	803.88 ± 3.51 <sup>aH</sup>
	Arginine	367.96 ± 2.53 <sup>cG</sup>	466.96 ± 3.17 <sup>bE</sup>	850.84 ± 0.34 <sup>aG</sup>
protein nutritive value	Methionine +Cysteine	153.50 ± 0.46 <sup>cP</sup>	163.14 ± 3.82 <sup>bO</sup>	320.42 ± 1.23 <sup>aQ</sup>
	Phenylalanine +Tyrosine	430.84 ± 0.15 <sup>cD</sup>	477.60 ± 0.81 <sup>bD</sup>	783.24 ± 1.78 <sup>aI</sup>
Total		4793.17 ± 1.48 <sup>cA</sup>	5458.07 ± 11.32 <sup>bA</sup>	11923.40 ± 9.44 <sup>aA</sup>

Each value represents mean ± SD.

<sup>1)</sup>WRF: White rice flour

BRF: Brown rice flour

SRB: Stabilized rice bran

<sup>2)</sup><sup>a-c</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup><sup>A-S</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test within the same sample variety with different amino acid



(7) 지방산

지방산은 크게 포화지방산과 불포화지방산으로 분류할 수 있다. 쌀눈과 쌀겨는 포화지방산함량이 제일 많고, 그 다음에 단일포화지방산과 다가 포화지방산이었다. 백미과 현미 쌀가루는 단일 불포화지방산은 제일 많았고 그 다음에 포화지방산과 다가 불포화 지방산이었다. 선행연구결과는 이와 다른 경향을 보였으며, 불포화지방산은 많이 섭취하면 CHD, 심장질환과 혈중 콜레스테롤 위험지수를 감소시킬 수 있다. 그래서 SRB 및 RG는 건강식품 제조 좋은 소스로 판단 할 수 있다.

Table 8. Fatty acid composition of white rice flour, brown rice flour, rice bran  
(Unit : g/100g total fatty acids)

Fatty acid	RG <sup>1)</sup>	SRB	WRF	BRF
Lauric acid (C12:0)	0.21±0.02 <sup>a2) 3)</sup>	0.26±0.02 <sup>aKL</sup>	0.29±0.21 <sup>aMN</sup>	0.28±0.03 <sup>aN</sup>
Myristic acid (C14:0)	1.48±0.05 <sup>cIJ</sup>	1.70±0.06 <sup>aI</sup>	1.58±0.05 <sup>bJ</sup>	1.58±0.03 <sup>bK</sup>
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.23±0.05 <sup>bL</sup>	0.22±0.02 <sup>bKL</sup>	0.18±0.04 <sup>bNO</sup>	0.33±0.05 <sup>aN</sup>
Palmitic acid (C16:0)	24.47±0.21 <sup>dF</sup>	25.69±0.25 <sup>cD</sup>	27.75±0.13 <sup>bC</sup>	26.91±0.07 <sup>aD</sup>
Heptadecanoic acid (C17:0)	0.20±0.02 <sup>abL</sup>	0.19±0.03 <sup>abL</sup>	0.17±0.02 <sup>bNOP</sup>	0.26±0.05 <sup>aN</sup>
Stearic acid (C18:0)	4.44±7.95 <sup>cG</sup>	4.30±8.30 <sup>cF</sup>	9.72±9.20 <sup>aG</sup>	6.59±8.79 <sup>bG</sup>
Arachidic acid (C20:0)	1.64±0.17 <sup>aI</sup>	1.73±0.12 <sup>aI</sup>	0.81±0.04 <sup>cL</sup>	1.51±0.02 <sup>bK</sup>
Behenic acid (C22:0)	0.60±0.06 <sup>bK</sup>	0.46±0.05 <sup>cJK</sup>	0.35±0.05 <sup>dM</sup>	0.73±0.03 <sup>aM</sup>
Tricosanoic acid (C23:0)	0.17±0.05 <sup>aL</sup>	0.12±0.02 <sup>bL</sup>	0.02±0.01 <sup>cP</sup>	0.07±0.01 <sup>bcO</sup>
Lignoceric acid (C24:0)	1.39±0.15 <sup>bJ</sup>	2.06±0.43 <sup>aH</sup>	1.40±0.15 <sup>bK</sup>	2.01±0.04 <sup>aJ</sup>
Saturated	34.83±0.10 <sup>dB</sup>	36.73±0.21 <sup>cA</sup>	42.28±0.14 <sup>aA</sup>	40.26±0.19 <sup>bA</sup>
Palmitoleic acid (C16:1)	0.52±0.06 <sup>aK</sup>	0.52±0.03 <sup>aJ</sup>	0.24±0.05 <sup>cMNO</sup>	0.36±0.03 <sup>bN</sup>
Elaidic acid (C18:1n9t)	1.57±0.20 <sup>cIJ</sup>	1.52±0.11 <sup>cI</sup>	5.20±0.09 <sup>aH</sup>	3.67±0.05 <sup>bH</sup>
Oleic acid (C18:1n9c)	31.86±0.17 <sup>bC</sup>	33.08±0.12 <sup>aB</sup>	25.48±0.14 <sup>dE</sup>	28.44±0.08 <sup>cC</sup>
cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	1.45±0.08 <sup>bIJ</sup>	1.56±0.03 <sup>aI</sup>	0.65±0.03 <sup>dL</sup>	1.23±0.04 <sup>cL</sup>
Erucic acid (C22:1n9)	0.13±0.01 <sup>aL</sup>	0.07±0.02 <sup>bcL</sup>	0.05±0.00 <sup>cL</sup>	0.09±0.02 <sup>bO</sup>
Nervonic acid (C24:1)	0.13±0.02 <sup>aL</sup>	0.09±0.03 <sup>bL</sup>	0.04±0.01 <sup>cP</sup>	0.08±0.02 <sup>bO</sup>
Monounsaturated	35.66±0.18 <sup>bA</sup>	36.84±0.23 <sup>aA</sup>	31.66±0.20 <sup>dB</sup>	33.87±0.20 <sup>cB</sup>
Linoleic acid (C18:2n6c)	26.17±0.15 <sup>aE</sup>	23.84±0.10 <sup>bE</sup>	23.77±0.04 <sup>bF</sup>	23.27±0.02 <sup>cF</sup>
cis-11,14-Eicosadienoicacid (C20:2)	0.09±0.01 <sup>aL</sup>	0.10±0.01 <sup>aL</sup>	0.08±0.03 <sup>aOP</sup>	0.03±0.02 <sup>bO</sup>
Linolenic acid (C18:3n3)	3.24±0.05 <sup>aH</sup>	2.49±0.04 <sup>cG</sup>	2.21±0.00 <sup>dI</sup>	2.56±0.02 <sup>bI</sup>
Polyunsaturated	29.51±0.13 <sup>aD</sup>	26.44±0.14 <sup>bC</sup>	26.06±0.06 <sup>cD</sup>	25.87±0.01 <sup>cE</sup>

Each value represents mean±SD

<sup>1)</sup>RG: rice germ, WRF: white rice flours, BRF: brown rice flours, SRB: Stabilized rice bran

<sup>2)</sup><sup>a-c</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup><sup>A-P</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test within the same sample variety with different fatty acid

(8) 무기질

Table 9는 백미, 현미쌀가루와 쌀겨에 대하여 16종의 무기질을 분석한 결과이다. 쌀의 무기질은 품종과 기후 및 토양조건, 도정정도 등에 의해 구성 물질과 함량이 달라진다고 알려져 있다. Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu, Mn, Na, Cr, Co, Cd, Pb, Mo, As, Hg, Se등이 검출되었으며, 쌀겨분말의 무기질 함량이 백미쌀가루(WRF)와 현미쌀가루(BRF)보다 유의적으로 높게 나타나( $p<0.05$ ) 쌀겨에 무기질이 다량 함유되어 있는 것을 확인하였다. 백미, 현미쌀가루와 쌀겨에서 Mg, K, Ca이 높은 함량을 보였다. Jung (2003)의 국내 백미의 As Cd, Cu, Pb 및 Zn에 대한 연구결과와 유사한 결과를 보였으며, 농산물 중금속 관리기준치 이하로 안전한 수준임을 확인하였다(식약청 2012).

Table 9. Mineral contents of white rice bran, brown rice bran and stabilized rice bran unit : ppm

Sample			
Name	WRF <sup>1)</sup>	BRF	SRB
Element			
Cu	3.52 0.48 <sup>b2) 3)</sup>	2.37±0.11 <sup>bA</sup>	15.68±2.22 <sup>aG</sup>
Co	0.01±0.00 <sup>bI</sup>	0.01±0.00 <sup>bB</sup>	0.07±0.00 <sup>aG</sup>
As	0.21±0.02 <sup>cI</sup>	0.34±0.01 <sup>bC</sup>	1.95±0.01 <sup>aG</sup>
Cd	0.01±0.00 <sup>aI</sup>	0.01±0.00 <sup>aD</sup>	0.02±0.00 <sup>aG</sup>
Pb	0.40±0.21 <sup>bI</sup>	0.14±0.08 <sup>bD</sup>	1.80±0.13 <sup>aG</sup>
Se	0.03±0.04 <sup>bI</sup>	0.04±0.03 <sup>bD</sup>	0.14±0.05 <sup>aG</sup>
Mo	0.59±0.03 <sup>bI</sup>	0.54±0.01 <sup>bDE</sup>	0.28±0.01 <sup>aG</sup>
Cr	0.29±0.04 <sup>bI</sup>	0.27±0.03 <sup>bE</sup>	1.30±0.05 <sup>aG</sup>
Fe(56)	6.99±2.42 <sup>bH</sup>	12.18±0.57 <sup>bE</sup>	118.28±1.30 <sup>aE</sup>
Mn	10.50±0.03 <sup>cG</sup>	23.06±0.05 <sup>bE</sup>	158.44±2.23 <sup>aD</sup>
Zn	19.43±0.10 <sup>cD</sup>	23.20±0.30 <sup>bE</sup>	60.85±1.25 <sup>aF</sup>
Ca	54.37±1.06 <sup>cC</sup>	97.80±2.27 <sup>bE</sup>	663.60±1.68 <sup>aC</sup>
K	1026.67±4.93 <sup>cA</sup>	2655.67±28.31 <sup>bE</sup>	21035.67±64.38 <sup>aA</sup>
Mg	335.10±1.11 <sup>cB</sup>	1177.67±5.03 <sup>bE</sup>	11066.00±57.17 <sup>aB</sup>
Na	16.27±0.25 <sup>cE</sup>	24.40±1.15 <sup>bE</sup>	150.37±1.65 <sup>aDE</sup>
Hg	0.00±0.00 <sup>bI</sup>	0.00±0.00 <sup>bE</sup>	0.27±0.07 <sup>aG</sup>

Each value represents mean±SD.

<sup>1)</sup>WRF: White rice flour

BRF: Brown rice flour

SRB: Stabilized rice bran

<sup>2)a-d</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

<sup>3)A-I</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test within the same sample variety with different Mineral contents

## 2.. 가래떡의 품질 개선을 위한 RSM에 SRB 및 RS4의 첨가 비율 최적화

### 가. 가래떡의 특성

#### (1) 가래떡의 형태 관찰

백미 쌀가루에 쌀겨만 첨가하여 제조한 혼합쌀가루로 제조한 가래떡의 전체모양을 Fig. 2에 나타내었다. 쌀겨분말의 첨가비율이 증가함에 따라 WRF에 비해 가래떡 표면이 갈라지는 현상이 나타났는데 이는 쌀겨분말이 물의 흡수와 holding 하는 능력이 크기 때문으로 사료되었다. 쌀겨의 첨가량이 증가함에 따라 반죽제조에 필요한 수분함량이 상대적으로 증가하나 제한된 수분함량으로 인해 표면이 갈라진 것으로 생각되었다. 수분보유 능력은 품종, 도정정도, 손상전분 함량 등 여러 가지 조건에 따라 달라진다. 쌀겨 분말의 첨가량이 증가됨에 따라서 가래떡 색의 갈색화가 높아졌으며 제조된 가래떡의 경도가 감소하는 것을 확인하였다. 현미, 쌀겨의 첨가비율에 따라 가래떡의 색과 외관상 형태에 영향을 미치는 것을 확인하였다.

수분함량이 높은 샘플은 표면 더 매끄럽다는 것은 샘플 2,6, 4,8을 통해서 확인 할 수 있다. 쌀겨분말의 첨가량이 증가됨에 따라서 가래떡 색의 갈색화가 높아졌으며 제조된 가래떡의 경도가 감소하는 것을 확인할 수 있습니다.

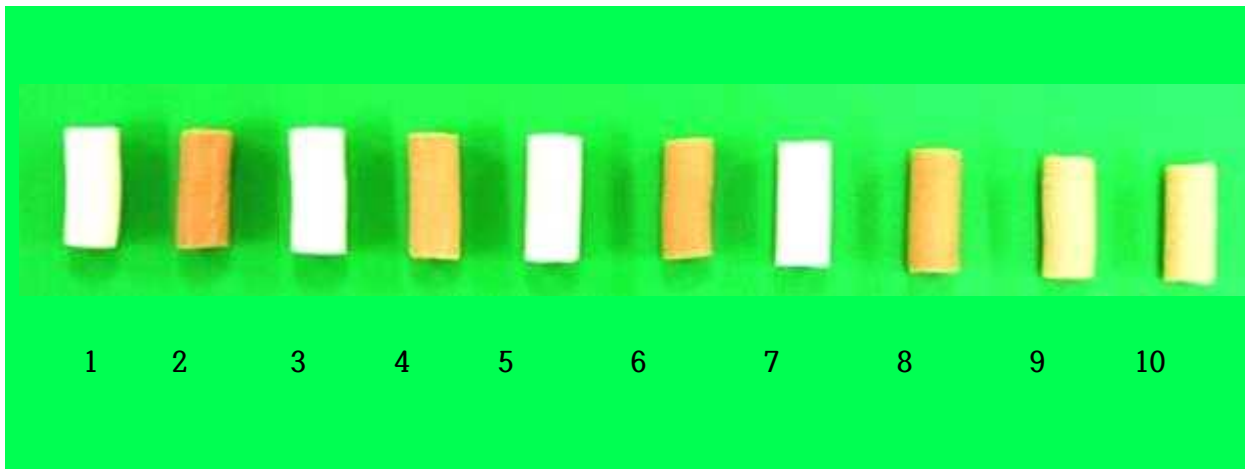


Fig.2. Whole shape of *Garaetteok* with different ratio of white rice flours, stabilized rice bran, cross-linked resistant starch (RS) by Response surface methodology experimental design.

#### (2) 가래떡 수분함량

가래떡 제조 후에 23도에 저장중하면서 수분함량의 변화를 살펴보면 저장기간이 증가할수록 수분함량은 감소되고, 흰떡의 경우는 감소폭이 제일 크고 쌀겨 첨가한 샘플은 수분함량 감소폭이 낮다는 것을 볼 수 있다.

Table 10. Moisture content *Garaetteok* prepared using White rice flours, stabilized rice bran, cross-linked resistant starch (RS<sub>4</sub>) by Response surface methodology experimental design.

Response surface methodology experimental design	Moisture content (%)		
	0 Day	1 Day	2 Day
	1 <sup>1)</sup>	50.80±0.10 <sup>e 2) 3)</sup>	48.25±0.08 <sup>h B</sup>
2	50.65±0.08 <sup>f A</sup>	49.27±0.05 <sup>e B</sup>	49.04±0.05 <sup>d C</sup>
3	49.50±0.11 <sup>h A</sup>	48.40±0.09 <sup>g B</sup>	48.24±0.06 <sup>f C</sup>
4	49.83±0.03 <sup>g A</sup>	49.01±0.02 <sup>f B</sup>	48.91±0.02 <sup>e B</sup>
5	52.32±0.01 <sup>a A</sup>	50.99±0.19 <sup>c B</sup>	47.94±0.14 <sup>g C</sup>
6	52.33±0.15 <sup>a A</sup>	51.99±0.07 <sup>a B</sup>	51.07±0.21 <sup>a C</sup>
7	51.71±0.05 <sup>d A</sup>	50.41±0.00 <sup>d B</sup>	49.82±0.20 <sup>c C</sup>
8	51.93±0.02 <sup>c A</sup>	50.99±0.00 <sup>c B</sup>	49.95±0.03 <sup>b B</sup>
9	52.03±0.04 <sup>b A</sup>	51.94±0.05 <sup>b B</sup>	51.04±0.05 <sup>a C</sup>
10	52.07±0.14 <sup>b A</sup>	51.89±0.15 <sup>b B</sup>	51.05±0.15 <sup>a C</sup>

Each value represents mean±SD.

1 <sub>1)</sub> White rice flour 100% (42%)	6 SRB15%+white rice flour 85% (48%)
2 SRB15%+white rice flour 85% (42%)	7 RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 85% (48%)
3 RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 85% (42%)	8 SRB15%+RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 70% (48%)
4 SRB15%+RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 70% (42%)	9 SRB7.5%+RS <sub>4</sub> 7.5%+white rice flour 85% (45%)
5 White rice flour 100% (48%)	10 SRB7.5%+RS <sub>4</sub> 7.5%+white rice flour 85% (45%)

<sup>2)a-h</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

<sup>3)A-H</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test within the same sample variety with different stored day

### (3) Total dietary fiber contents of *Garaetteok*

가래떡 제조 전후의 식이섬유함량은 거의 변화가 없다는 것을 확인 할 수 있었다. 가래떡과 분말의 식이섬유함량은 쌀겨를 첨가한 것이 가장 높게 나타났으며 4번과 8번 레시피로 제조된 가래떡에서 가장 높은 식이섬유함량을 보였다.

Table 11. Dietary fiber contents of *Garaetteok* prepared using White rice flours, stabilized rice bran, cross-linked resistant starch (RS<sub>4</sub>) by Response surface methodology experimental design.

Response surface methodology experimental design	Dietary fiber contents (%)	
	A <sup>1)</sup>	B
1 <sup>1)</sup>	1.11±0.03 <sup>f3)</sup>	1.11±0.04 <sup>f</sup>
2	8.05±0.10 <sup>e</sup>	7.88±0.04 <sup>e</sup>
3	9.12±0.12 <sup>c</sup>	9.08±0.03 <sup>c</sup>
4	16.07±0.01 <sup>a</sup>	15.88±0.02 <sup>a</sup>
5	1.18±0.03 <sup>f</sup>	1.03±0.01 <sup>f</sup>
6	8.11±0.01 <sup>e</sup>	8.06±0.02 <sup>e</sup>
7	9.20±0.05 <sup>b</sup>	9.10±0.01 <sup>b</sup>
8	16.09±0.01 <sup>a</sup>	15.84±0.01 <sup>a</sup>
9	8.63±0.04 <sup>d</sup>	8.44±0.01 <sup>d</sup>
10	8.63±0.01 <sup>d</sup>	8.35±0.03 <sup>d</sup>

Each value represents mean±SD.

- |                                                   |                                                      |
|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 1 <sup>1)</sup> White rice flour 100%             | 6 SRB15%+white rice flour 85%                        |
| 2 SRB15%+white rice flour 85%                     | 7 RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 85%           |
| 3 RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 85%        | 8 SRB15%+RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 70%    |
| 4 SRB15%+RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 70% | 9 SRB7.5%+RS <sub>4</sub> 7.5%+white rice flour 85%  |
| 5 White rice flour 100%                           | 10 SRB7.5%+RS <sub>4</sub> 7.5%+white rice flour 85% |

<sup>2)</sup>A: Dietary fiber contents of WRF added RS<sub>4</sub>, SRB

B: Dietary fiber contents of 10 kinds of *Garaetteok*

<sup>3)</sup><sup>a-f</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

#### (4) X-선 회절도

제조한 가래떡을 알코올 탈수한 분말의 X-선 회절도를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. X선 회절도는 일반적으로 전분입자의 결정형태와 결정화도를 비교하는데 이용하는 방법으로

전분은 부분적 결정성 고분자로 결정성 부분으로 인하여 X-선 회절도에서 피크를 보인다. 전분의 결정형은 A, B, C형으로 구분하며, 곡류 전분은 대부분 A형의 결정형, 바나나, 감자와 고 아밀로오스 옥수수전분은 B형의 결정형을 가진다고 알려져 있다(Kulp와 Lorenz 1981). 전분은 충분한 물이 있을 때 호화되면 무정형으로 바뀌나 아밀로오스와 지질 복합체가 형성되면  $2\theta=20^\circ$ 에서 피크를 나타내는 V형이 되고, 생전분의 결정형과 관계없이 호화된 전분이 노화되면 B형으로 회절각도  $2\theta=16.7^\circ$ 에 강한 단일피크가 형성된다(Juliano 1985). 모든 샘플의 회절 양상은 회절각도  $2\theta=13.1^\circ$  와  $20^\circ$ 에서 강한피크를 보여 전형적인 A형을 나타냈으며 모든 샘플은 큰 차이가 없었다.

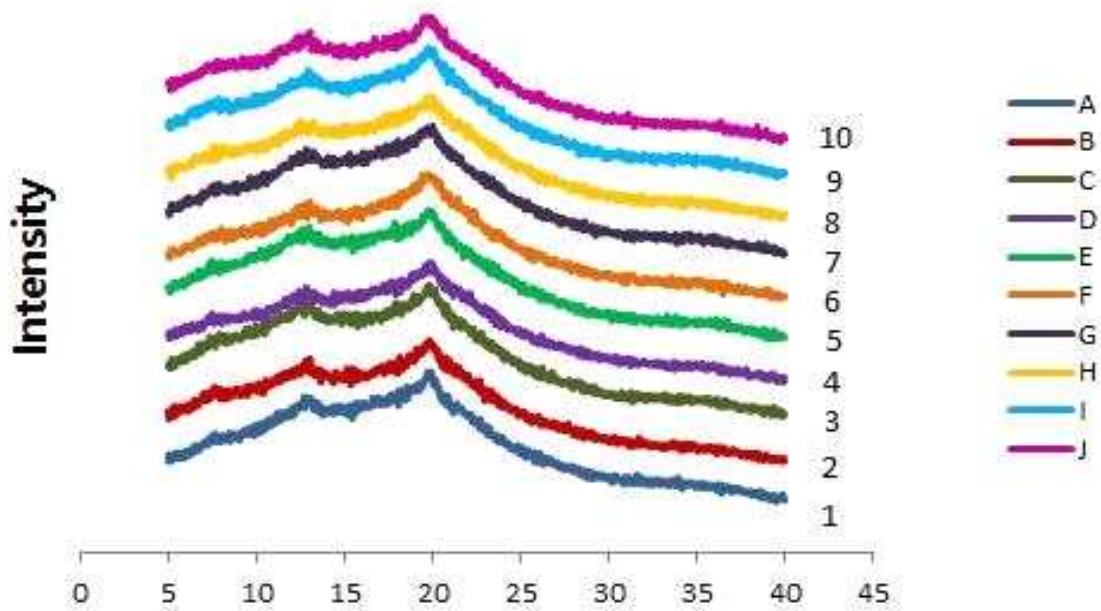


Fig. 3. X-ray diffraction patterns of *Garaetteok* dehydrated by alcohol at diverse conditions by response surface methodology

- A White rice flour 100%
- B SRB15%+white rice flour 85%
- C RS 15%+white rice flour 85%
- D SRB15%+RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 70%
- E White rice flour 100%

- F SRB15%+white rice flour 85%
- G RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85%
- H SRB15%+RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 70%
- I SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85%
- J SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85%

**(5) Microbial change of *Garaetteok* during storage**

가래떡의 저장 기간 중의 미생물 수의 변화는 가래떡을 제조한 후에 3일 동안 23도에 저장하면서 미생물 시험을 진행하였다(Table 12). 가래떡 제조 한 후 모든 샘플에서 미생물은 발견되지 않았고, 이는 가래떡 제조 시 높은 온도로 처리하기 때문이다. 4, 9, 10번 샘플은 하루저장한 후에 미생물을 발견되었다.

미생물 수는 저항전분 첨가량에 따라 억제되는 결과를 확인할 수 있었고, 반면에 쌀겨첨가량을 증가시키면 저장 중에 미생물 수가 증가하는 것을 확인할 수 있다. 이는 쌀겨자체에 영양성분이 많고 수분보수력이 높아서 쌀겨가 가래떡에 첨가되는 경우 미생물이 성장하기 좋은 환경을 만들기 때문으로 사료된다.

같은 배합비였을 때 수분함량이 다른 샘플의 경우에는 수분이 많을수록 미생물이 많이 성장하는 것을 볼 수 있었다. 이에 따라서 저항전분이 미생물 성장을 억제할 수 있음을 확인하였다.

**Table 12. Total cell number counts of *Garaetteok* prepared from the RS<sub>4</sub>, SRB, WRF**

(Unit: CFU/g)

Response surface methodology	Storage period (days)			
	0 day	1 day	2 day	3 day
experimental design				
1 )	ND	4.7×10 <sup>3d2)</sup>	4.1×10 <sup>5d</sup>	5.7×10 <sup>5e</sup>
2	ND	9.0×10 <sup>3b</sup>	8.1×10 <sup>5b</sup>	3.5×10 <sup>6c</sup>
3	ND	1.6×10 <sup>2g</sup>	3.0×10 <sup>3i</sup>	3.5×10 <sup>4i</sup>
4	ND	ND	9.6×10 <sup>3g</sup>	2.6×10 <sup>5f</sup>

5	ND	$5.3 \times 10^c$	$5.6 \times 10^{5c}$	$4.9 \times 10^{6b}$
6	ND	$4.2 \times 10^{4a}$	$4.2 \times 10^{6a}$	$1.1 \times 10^{7a}$
7	ND	$2.0 \times 10^{2f}$	$3.4 \times 10^{4e}$	$7.0 \times 10^{5g}$
8	ND	$7.6 \times 10^{2e}$	$1.1 \times 10^{4f}$	$9.7 \times 10^{5d}$
9	ND	ND	$6.9 \times 10^{3h}$	$5.5 \times 10^{4h}$
10	ND	ND	$7.1 \times 10^{3h}$	$5.7 \times 10^{4h}$

Each value represents mean $\pm$ SD.

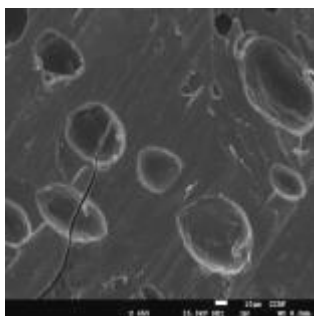
- |                                                         |                                                            |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| 1) White rice flour 100% (42%)                          | 6 SRB15%+white rice flour 85% (48%)                        |
| 2 SRB15%+white rice flour 85% (42%)                     | 7 RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 85% (48%)           |
| 3 RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 85% (42%)        | 8 SRB15%+RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 70% (48%)    |
| 4 SRB15%+RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 70% (42%) | 9 SRB7.5%+RS <sub>4</sub> 7.5%+white rice flour 85% (45%)  |
| 5 White rice flour 100% (48%)                           | 10 SRB7.5%+RS <sub>4</sub> 7.5%+white rice flour 85% (45%) |

ND: Not Detected

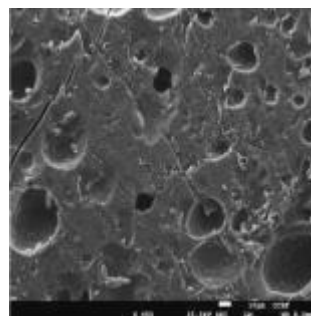
<sup>2)</sup><sub>a-i</sub> Values with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

#### (6) 주사전자 현미경을 이용한 쌀가루, 쌀겨 입자의 형태

주사전자 현미경으로 관찰한 가래떡 단면사진은 Fig. 4와 같았다. 저항전분을 첨가한 가래떡은 다른 것 보다 확실히 구조가 형성되어 있고, 쌀겨 첨가한 가래떡 내부구조는 덩어리를 형성하는 것으로 보이는데, 이것은 쌀겨입자가 쌀가루 입자를 감싸는 형태로 생각된다. 쌀겨, 저항전분을 함께 첨가한 가래떡 샘플에서는 뚜렷한 구조형성을 확인할 수 있었다. 이에 따라 저항전분은 가래떡 구조 형성 도움을 줄 수 있었다.



1 White rice flour 100%  
×450



2 SRB15%+ white rice flour 85%  
×450



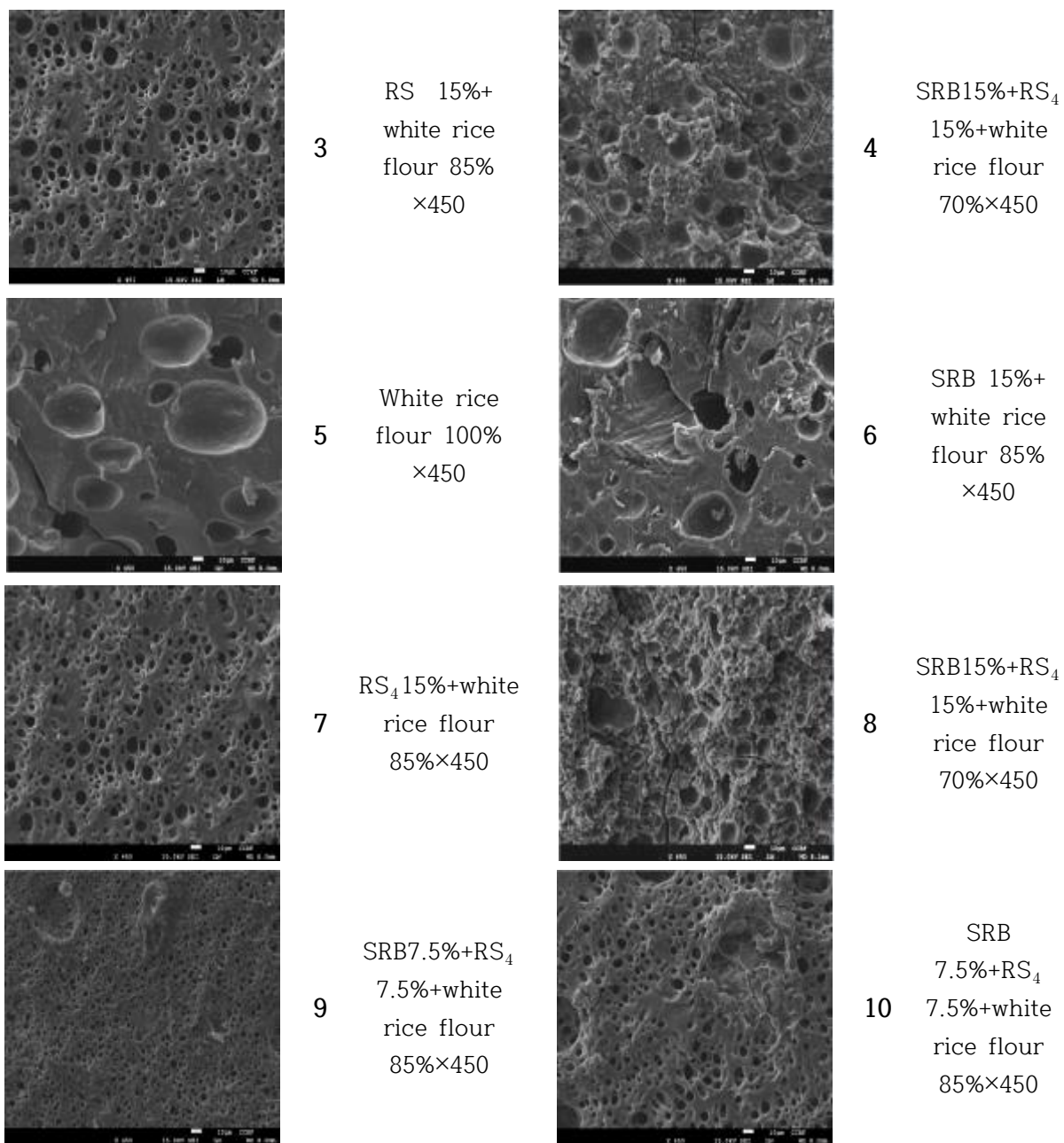


Fig. 4. Scanning electron microphotographs *Garaetteok*

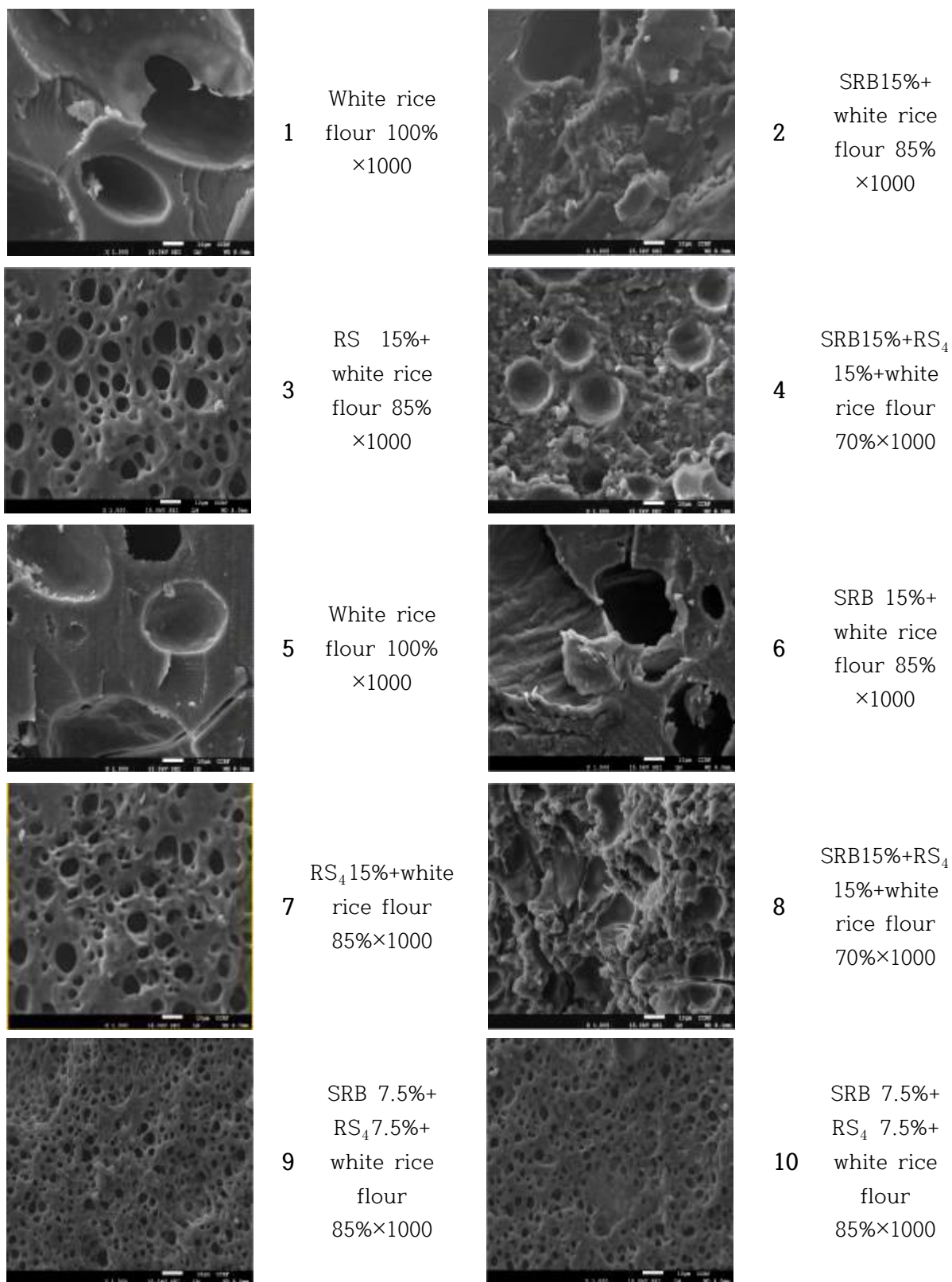


Fig. 5. Scanning electron microphotographs *Garaetteok*

## (7) 저장중인 가래떡의 색도

가래떡 저장중의 색도(L, a, b, E) 측정 결과는 Table 13-15와 같으며 각각 L62.25-85.47, -1.59-6, 8.04-26.33, 14.80-44.11로 나타났다. 가래떡을 1일 저장 시엔, L값, a, b,  $\Delta E$  값은 각각 62.14-86.38, 1.76-6.04, 7.36-24.93, 13.85-44.07이었고, 2일 저장 시에는 63.21-86.87, 1.69-5.50, 7.51-24.90, 13.33-42.42 였다. 3 가지 변인이 색도에 미치는 영향을 살펴본 회귀식은 Table 20-22에 제시하였다. 명도(L), 황색도(a), 적색도(b)는 3 가지 변인이 서로 교호 작용하는 Quadratic model이 선정되었다.

저장 0, 1, 2일 동안의 가래떡의 명도를 의미하는 L값은 p-value가 각각0.023, 0.0087, 0.0052로 5, 1, 1% 이내에서 유의적인 것으로 나타났으며, R2 값은 각각 0.9675, 0.9675, 0.9675 로 모델에 적합성이 매우 높게 인정되었다. 회귀식에서 명도에 가장 큰 영향을 주는 요인은 쌀겨분말(A)이 가장 큰 영향을 주는 요인이었으며, perturbation plot과 response surface plot을 보면 쌀겨 분말(A)이 증가할수록 명도가 감소하였다.

적색도를 의미하는 a값은 p-value 각각 <0.0001, 0.0024, 0.0007로 0.1% 이내로 유의적인 것으로 나타났으며, R2 값은 1.000, 0.9930, 0.9998로 모델에 대한 적합성이 매우 높게 인정되었다. 회귀식에서 적색도에 가장 큰 영향을 주는 요인은 쌀겨 분말(A)이었으며, perturbation plot과 response surface plot을 보면 쌀겨 분말(A)이 증가할수록 적색도가 증가하였다.

황색도를 의미하는 b값은 p-value가 각각 0.0021, 0.0005, 0.0021로 1, 0.1% 이내로 유의적이며, R2 값은 각각 0.9999, 0.9760, 0.9994로 모델에 대한 적합성이 매우 높게 인정되었다. 회귀식에서 황색도에 가장 큰 영향을 주는 요인은 쌀겨분말 분말(A)이었으며, perturbation plot과 response surface plot을 보면 쌀겨 분말(A)이 증가할수록 황색도도 함께 증가하였다.

Table 13. Color (L, a, b,  $\Delta E$ ) value of *Garaetteok* added with rice bran powder, resistant starch at diverse conditions and diverse

Sample No.	Color values									$\Delta E$		
	L *			a *			b *			0 Day	1 Day	2 Day
	0 Day	1 Day	2 Day	0 Day	1 Day	2 Day	0 Day	1 Day	2 Day	0 Day	1 Day	2 Day
1 )	80.92 <sup>c</sup>	80.57 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	80.75 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	-1.20 $\pm$ 0.02 <sup>f</sup>	-1.44 $\pm$ 0.01 <sup>g</sup>	-1.45 $\pm$ 0.02 <sup>g</sup>	9.37 $\pm$ 0.05 <sup>f</sup>	8.30 $\pm$ 0.01 <sup>g</sup>	8.58 $\pm$ 0.13 <sup>g</sup>	18.71 $\pm$ 0.00 <sup>e</sup>	18.52 $\pm$ 0.02 <sup>g</sup>	18.50 $\pm$ 0.09 <sup>g</sup>
2 )	62.25 $\pm$ 0.17 <sup>i</sup>	62.14 $\pm$ 0.01 <sup>i</sup>	63.21 $\pm$ 0.02 <sup>i</sup>	6.00 $\pm$ 0.03 <sup>aA</sup>	6.04 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	5.50 $\pm$ 0.07 <sup>aB</sup>	26.33 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	26.11 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	24.90 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	44.11 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	44.07 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	42.42 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
3 )	85.47 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	86.38 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	86.87 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	-0.91 $\pm$ 0.03 <sup>ef</sup>	-0.93 $\pm$ 0.05 <sup>e</sup>	-1.11 $\pm$ 0.02 <sup>f</sup>	9.09 $\pm$ 0.02 <sup>f</sup>	8.70 $\pm$ 0.11 <sup>f</sup>	8.45 $\pm$ 0.08 <sup>g</sup>	14.80 $\pm$ 0.01 <sup>g</sup>	13.85 $\pm$ 0.07 <sup>i</sup>	13.33 $\pm$ 0.06 <sup>i</sup>
4 )	65.52 $\pm$ 0.07 <sup>f</sup>	66.23 $\pm$ 0.00 <sup>f</sup>	66.85 $\pm$ 0.01 <sup>f</sup>	5.47 $\pm$ 0.07 <sup>bA</sup>	5.20 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	5.37 $\pm$ 0.06 <sup>bA</sup>	25.48 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	24.05 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	24.34 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	40.97 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	39.50 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>	39.22 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>
5 )	77.24 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>	76.93 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	77.64 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>	-1.59 $\pm$ 0.03 <sup>g</sup>	-1.76 $\pm$ 0.02 <sup>h</sup>	-1.69 $\pm$ 0.05 <sup>h</sup>	8.04 $\pm$ 0.06 <sup>g</sup>	7.36 $\pm$ 0.05 <sup>h</sup>	7.51 $\pm$ 0.19 <sup>h</sup>	21.43 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	21.48 $\pm$ 0.02 <sup>f</sup>	20.88 $\pm$ 0.03 <sup>f</sup>
6 )	64.12 $\pm$ 0.03 <sup>g</sup>	63.50 $\pm$ 0.04 <sup>h</sup>	63.36 $\pm$ 0.03 <sup>h</sup>	5.06 $\pm$ 0.37 <sup>c</sup>	5.45 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	5.34 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	24.65 $\pm$ 0.32 <sup>c</sup>	24.92 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	24.71 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	41.31 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>	42.21 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	42.18 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>
7 )	84.29 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	83.33 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	84.47 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	-0.83 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	-1.06 $\pm$ 0.07 <sup>f</sup>	-0.99 $\pm$ 0.08 <sup>e</sup>	9.20 $\pm$ 0.07 <sup>f</sup>	9.00 $\pm$ 0.04 <sup>e</sup>	8.99 $\pm$ 0.06 <sup>f</sup>	15.79 $\pm$ 0.04 <sup>f</sup>	15.53 $\pm$ 0.02 <sup>h</sup>	15.53 $\pm$ 0.02 <sup>h</sup>
8 )	63.47 $\pm$ 0.03 <sup>h</sup>	64.42 $\pm$ 0.06 <sup>g</sup>	64.69 $\pm$ 0.06 <sup>g</sup>	5.13 $\pm$ 0.39 <sup>c</sup>	5.53 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	5.16 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	23.59 $\pm$ 1.45 <sup>d</sup>	24.93 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	24.08 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	41.42 $\pm$ 0.91 <sup>b</sup>	41.50 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	40.72 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>
9 )	67.25 $\pm$ 0.04 <sup>e</sup>	69.44 $\pm$ 0.02 <sup>e</sup>	67.61 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	3.78 $\pm$ 0.07 <sup>dA</sup>	3.71 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	3.64 $\pm$ 0.03 <sup>dB</sup>	22.72 $\pm$ 0.11 <sup>e</sup>	22.87 $\pm$ 0.20 <sup>d</sup>	22.67 $\pm$ 0.11 <sup>e</sup>	37.72 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	36.11 $\pm$ 0.15 <sup>e</sup>	37.39 $\pm$ 0.06 <sup>e</sup>
10 )	67.28 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	69.44 $\pm$ 0.02 <sup>e</sup>	67.61 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	3.78 $\pm$ 0.07 <sup>dA</sup>	3.71 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	3.64 $\pm$ 0.03 <sup>dB</sup>	22.67 $\pm$ 0.04 <sup>e</sup>	22.87 $\pm$ 0.20 <sup>d</sup>	22.67 $\pm$ 0.11 <sup>e</sup>	37.67 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	36.11 $\pm$ 0.15 <sup>e</sup>	37.39 $\pm$ 0.06 <sup>e</sup>

Each value represents mean $\pm$ SD.

1) 1: white rice flour 100% with 42% Moisture. 2: SRB15%+white rice flour 85% with 42% Moisture. 3: RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85% with 42% Moisture. 4: SRB15% + RS<sub>4</sub> 15% +white rice flour 70% with 42% Moisture. 5: white rice flour 100% with 48% Moisture. 6: SRB15%+white rice flour 85% with 82% Moisture. 7: RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85% with 48% Moisture. 8: SRB15%+RS<sub>4</sub>15%+white

rice flour 70% with 48% Moisture. 9:SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture. 10:SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture.

<sup>2)</sup><sub>a-c</sub> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. L\*, ±a\*, ±b\*, and ΔE mean lightness, redness / greenness, yellowness / blueness, and color difference, respectively.

<sup>3)</sup> -<sup>c</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test within the same sample variety with different stored day

**Table 14. Analysis of predicted model equation for color value of *Garaetteok* prepared with stabilized rice bran (SRB), resistant starch (RS<sub>4</sub>) stored for 0 day**

Response	Model	Mean± S.D	R	F-value	Prob>F	Polynomial equation
L*	Quadrati c	71.78±1.61	0.9975	41.502	0.0237	$L=+67.25-9.07*X_1^{1)}+1.78*X_2 -0.63*X_3-1.12*X_1* X_2 +0.58*X_1*X_3-0.18*X_2 *X_3+5.64*X_1^2$
a*	Quadrati c	2.47±0.03	1.000	9.79	<0.0001	$a=+3.78+3.27*X_1+0.07*X_2-0.20*X_3-0.19*X_1 *B-0.12*X_1*X_3+0.13*X_2*X_3-1.64*X_1^2$
b*	Quadrati c	18.11±0.41	0.9994	80.93	0.0021	$b=+22.70+8.04*X_1-0.13*X_2 -0.60*X_3-0.35*X_1* X_2 -0.29*X_1*X_3+0.15*X_2*X_3-5.73*X_1^2$

$\Delta E$	Quadrati c	31.39±1.25	0.9976	20.46	0.0083	$\Delta E = +37.70 + 12.14 * X_1 - 1.57 * X_2 + 0.17 * X_3 + 0.82 * X_1 * X_2 - 0.76 * X_1 * X_3 + 0.19 * X_2 * X_3 - 7.88 * X_1^2$
------------	---------------	------------	--------	-------	--------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub> is Stabilized rice bran X<sub>2</sub> is cross-linked resistant starch X<sub>3</sub> is Moisture content and L\*, a\*, b\*, ΔE are intensity score of the attributes.

R<sup>2</sup> is coefficient of determination

*p* < 0.001

**Table 15. Analysis of predicted model equation for color value of *Garaetteok* prepared with stabilized rice bran (SRB), resistant starch (RS<sub>4</sub>) stored for 1 day**

Response	Model	Mean ± S.D	R <sup>2</sup>	F-value	Prob>F	Polynomial equation
L*	Quadrati c	72.24±0.94	0.9975	13.65	0.0087	$L = +69.44 - 8.87 * X_1^{1)} + 2.15 * X_2 - 0.89 * X_3 - 0.90 * X_1 * X_2 + 0.78 * X_1 * X_3 - 0.32 * X_2 * X_3 + 3.50 * X_1^2$
a*	Quadrati c	2.44±0.18	0.993	23.16	0.0024	$a = +3.71 + 3.43 * X_1 + 0.057 * X_2 - 0.088 * X_3 - 0.24 * X_1 * B + 0.022 * X_1 * X_3 + 0.14 * X_2 * X_3 - 1.59 * X_1^2$
b*	Quadrati	17.91±0.21	0.9999	42.36	0.0005	$b = +22.87 + 8.33 * X_1 - 2.500E-003 * X_2 - 0.12 * X_3$

	c					$-0.51*X_1*X_2 + 0.042*X_1*X_3 + 0.41*X_2*X_3 - 6.20*X_1^2$
$\Delta E$	Quadrati c	$30.89 \pm 1.29$	0.9975	12.87	0.0088	$\Delta E = +36.11 + 12.14*X_1 - 1.99*X_2 + 0.60*X_3 + 0.67*X_1*X_2 - 0.56*X_1*X_3 + 0.32*X_2*X_3 - 6.53*X_1^2$

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub> is Stabilized rice bran X<sub>2</sub> is cross-linked resistant starch X<sub>3</sub> is Moisture content and L\*, a\*, b\*, ΔE are intensity score of the attributes.

R<sup>2</sup> is coefficient of determination

*p* < 0.001

**Table 16. Analysis of predicted model equation for color value of *Garaetteok* prepared with stabilized rice bran (SRB), resistant starch (RS<sub>4</sub>) stored for 2 day**

Response	Model	Mean ± S.D	R <sup>2</sup>	F-value	Prob>F	Polynomial equation
L*	Quadrati c	$72.31 \pm 0.75$	0.9975	90.03	0.0052	$L = +67.61 - 8.95*X_1^{1)} + 2.24*X_2 - 0.94*X_3 - 1.00*X_1*X_2 + 0.44*X_1*X_3 - 0.20*X_2*X_3 + 5.87*X_1^2$
a*	Quadrati c	$2.34 \pm 0.099$	0.9998	51.54	0.0007	$a = +3.64 + 3.33*X_1 + 0.092*X_2 - 0.061*X_3 - 0.17*X_1*B - 0.031*X_1*X_3 + 0.039*X_2*X_3 - 1.62*X_1^2$

<b>b *</b>	Quadrati c	17.69±0.42	0.9994	70.35	0.0021	$b = +22.67 + 8.06 * X_1 + 0.019 * X_2 - 0.12 * X_3 - 0.32 * X_1 * X_2 + 0.010 * X_1 * X_3 + 0.19 * X_2 * X_3 - 6.23 * X_1^2$
<b>ΔE</b>	Quadrati c	30.76±0.48	0.9976	12.00	00012	$\Delta E = +37.39 + 12.04 * X_1 - 1.90 * X_2 + 0.73 * X_3 + 0.73 * X_1 * X_2 - 0.42 * X_1 * X_3 + 0.19 * X_2 * X_3 - 8.29 * X_1^2$

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub> is Stabilized rice bran X<sub>2</sub> is cross-linked resistant starch X<sub>3</sub> is Moisture content and L\*, a\*, b\*, ΔE are intensity score of the attributes.

R<sup>2</sup> is coefficient of determination

*p* < 0.001



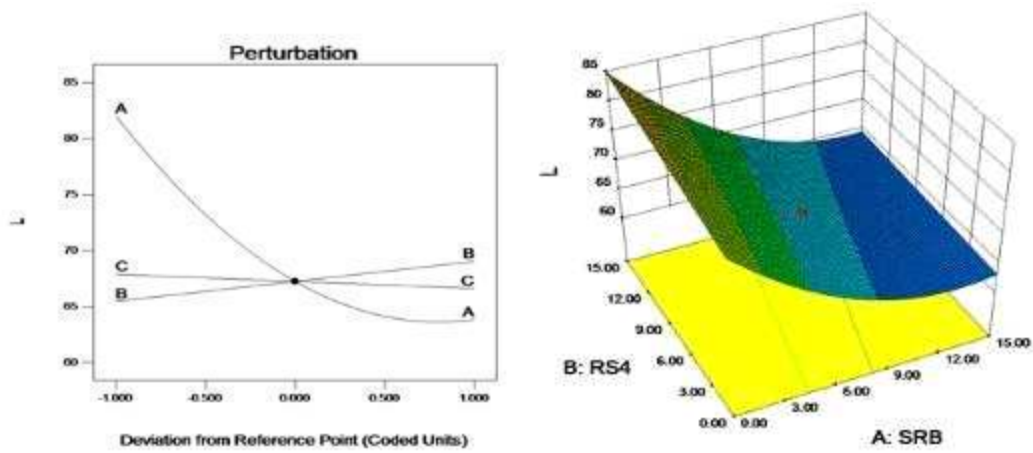


Fig. 6. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on  $L^*$  of *Garaetteok*

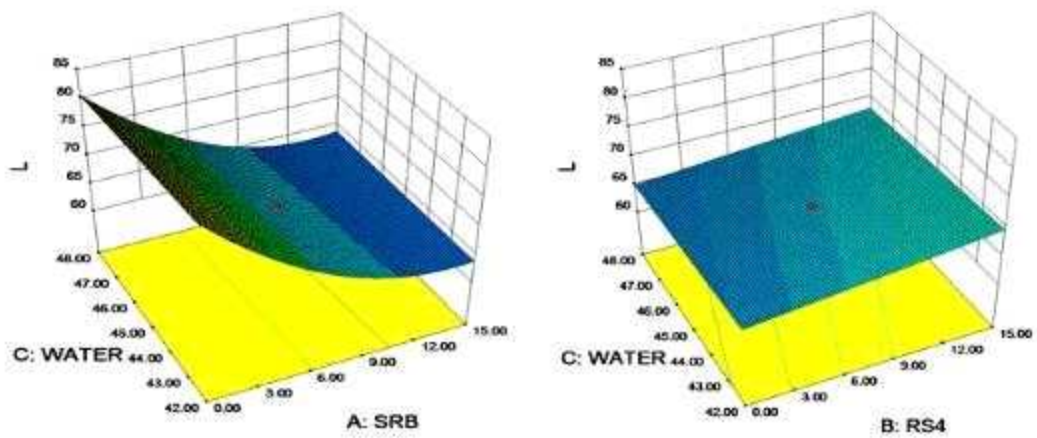


Fig. 7. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C),  $RS_4$  (B) and Water (C) on  $L^*$  of *Garaetteok*

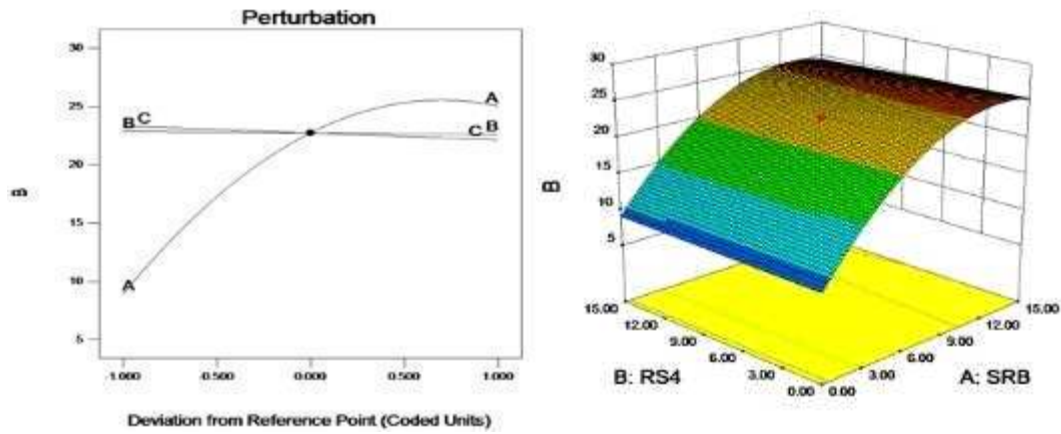


Fig. 8. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on  $b^*$  of *Garaetteok*

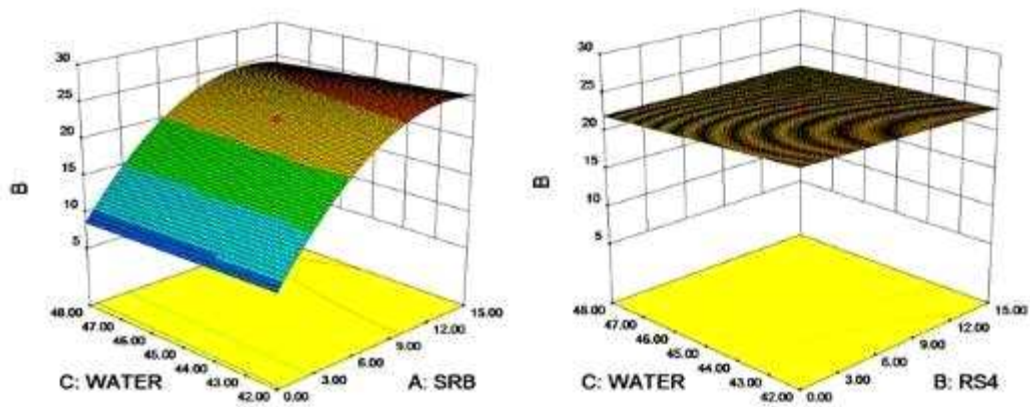


Fig. 9. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C),  $RS_4$  (B) and Water (C) on  $b^*$  of *Garaetteok*

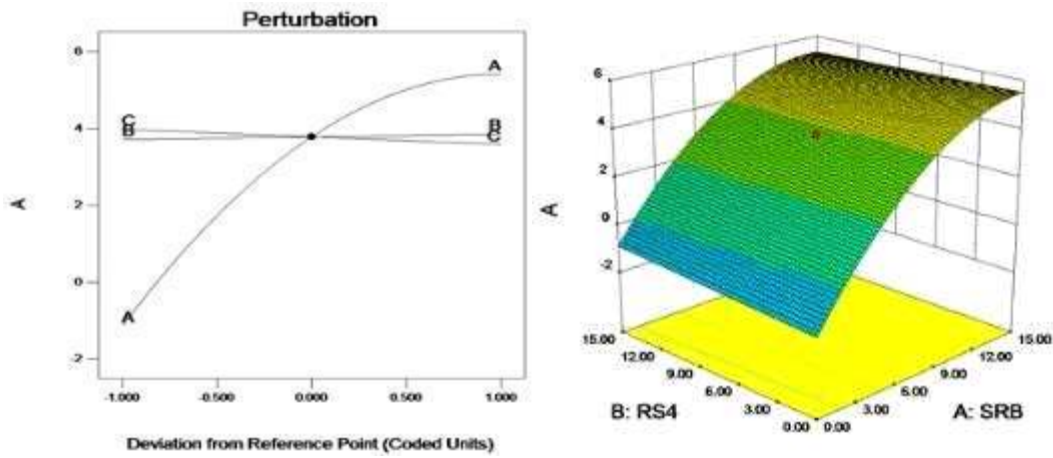


Fig. 10. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on  $a^*$  of *Garaetteok*

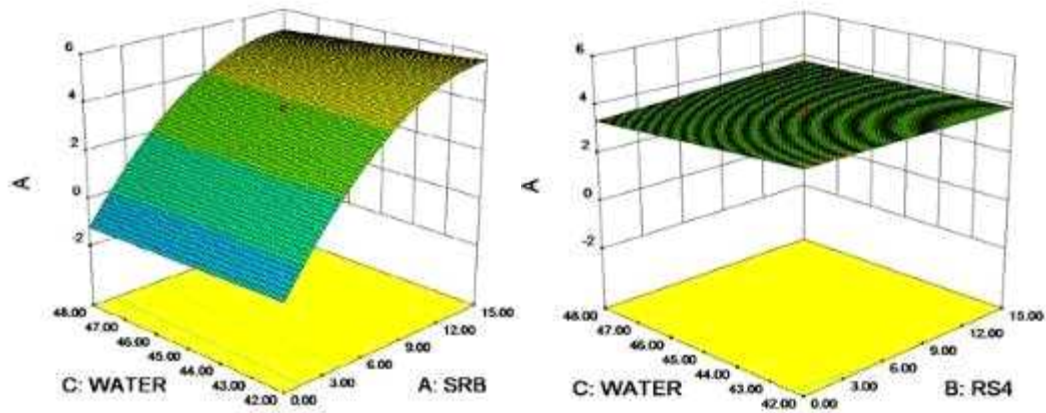


Fig. 11. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C),  $RS_4$  (B) and Water (C) on  $a^*$  of *Garaetteok*

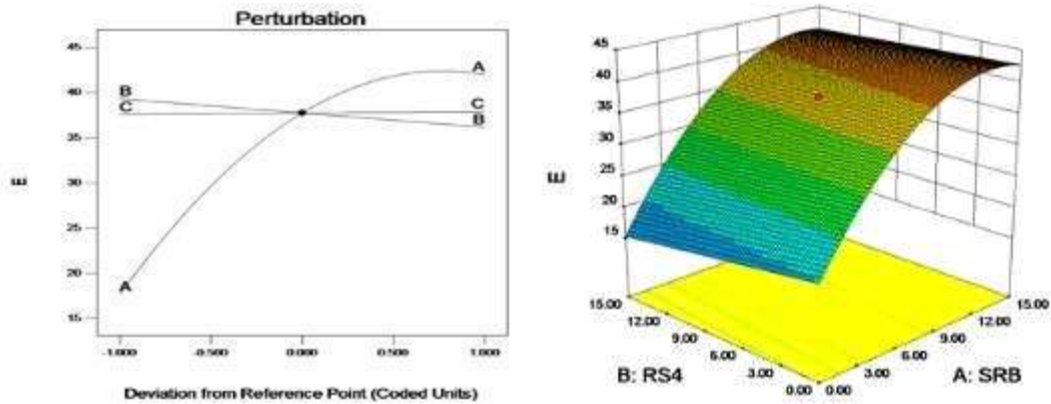


Fig. 12. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on  $\Delta E$  of *Garaetteok*

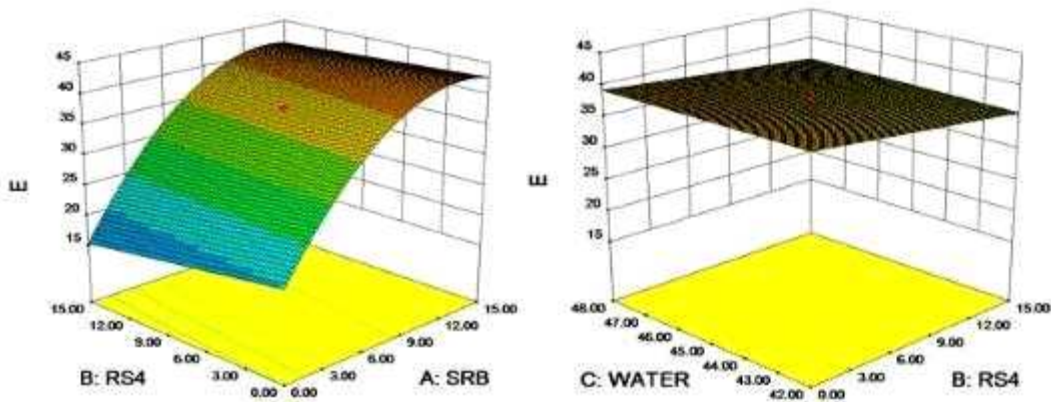


Fig. 13. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C),  $RS_4$  (B) and Water (C) on  $\Delta E$  of *Garaetteok* prepared

#### (8) 저장 중 가래떡의 텍스처 변화

반응표면 분석법에 의해 제조한 10개의 가래떡 저장중의 조직감은 경도 (Hardness), 부착성 (Adhesiveness), 탄력성 (Springness), 씹힘성 (Chewiness), 검성

(Gumminess), 응집성(Cohesiveness) 6가지 항목을 측정 하였다. 각 항목의 측정 결과 값은 Table 17-19과 같으며, 이에 대한 회귀식은 Table 20-23에 제시하였다.

### 경도(Hardness)

0, 1, 2일 동안 저장한 가래떡의 경도는 999.54-2963.58, 1467.13-5132.76, 3105.57-9845.06 의 범위를 나타냈으며 3 가지 변인 서로 교호 작용하는 Quadratic model 이 선정되었다. p-value 는 각각 0.0386 ( 0 day ), 0.0186 ( 1 day ), 0.0076 ( 2 day ) 로 유의성을 나타내었고, R2(결정계수)값은 각각 0.9888 ( 0 day ), 0.9946 ( 1day ), 0.9978 ( 2day ) 으로 모델의 적합성이 인정되었다. 회귀식을 통해 쌀겨 분말(A)이 경도에 가장 큰 영향을 주는 것으로 나타났다.

perturbation plot과 반응표면곡선을 보면 쌀겨 분말(A)의 첨가량이 증가할수록 경도가 감소하였고, 저항전분 분말 (B)이 증가할수록 경도가 증가하는 경향을 보였다. 수분함량이 높은 샘플은 경도 낮다.1,2일 동안 저장한 경우에는 쌀겨, 저항전분 첨가한 샘플의 경도는 모두 흰떡 보다 낮다.

### 부착성(Adhesiveness)

0, 1, 2일 동안 저장한 가래떡의 부착성은 각각 -1722.75~-232.18, -25.70~700.11, -1.06~-143.88의 범위를 나타냈으며 3 요인이 교호 작용하는 Quadratic model이 선정되었다. p-value는 각각 0.001 ( 0 day ), 0.0841( 1 day ), 0.9380 ( 2 day ) 로 유의성을 나타내었고, R2 값은 0.7213 ( 0 day ), 0.9752 ( 1 day ), 0.4517 ( 2 day ) 으로 모델의 적합성이 인정되었으며, 쌀겨 분말(A)이 부착성에 가장 큰 영향을 주는 것으로 나타났다. perturbation plot과 반응표면곡선을 보면 쌀겨 분말(A)의 첨가량이 증가할수록 부착성이 증가하였다.

### 탄력성(Springness)

0, 1, 2일 동안 저장한 가래떡의 탄력성은0.69-0.92, 0.80-0.93, 0.79-0.91의 범위를 나타냈으며 각각 요인들이 교호 작용하는 Quadratic model이 선정되었다 p-value는 각각 0.0138 ( 0 day ), 0.4004 ( 1 day ), 0.0299 ( 2 day ).로 유의성을 나타내었고, R2 값은 0.9960 ( 0 day ), 0.8640 ( 1 day ), 0.9914 ( 2 day ) 으로 모델의 적합성이 인정되었다. perturbation plot과 반응표면곡선을 보면 쌀겨 분말(A)의 첨가량이 증가할수록 탄력성은 감소하는 경향을 보였다.

### 씹힘성(Chewiness)

0, 1, 2일 동안 저장한 가래떡의 씹힘성은 각각 922.10-2572.81, 1957.50-12192.18, 4105.17-19203.50 의 범위를 나타냈으며 각각 요인들이 교호 작용하는 Quadratic model이 선정되었다. p-value는 각각 0.0666( 0 day ), 0.0024 ( 1 day ), 0.1972 ( 2 day ) 로 각 샘플 군 간에 차이가 있으나 씹힘성에 가장 큰 영향을 준 요인은 연자육 분말(A)으로 Perturbation plot과 반응표면곡선을 보면 쌀겨 분말(A)의 첨가량이 증가할수록 씹힘성이 감소하였다.

### **회복력 (Resilience)**

0, 1, 2일 동안 저장한 가래떡의 회복력은 0.22-0.42, 0.31-0.51, 0.27-0.46의 범위를 나타냈으며 각각 요인들이 교호 작용하는 Quadratic model이 선정되었다. p-value 는 각각 0.0437 ( 0 day ), 0.0354 ( 1 day ), 0.0585 ( 2 day ) 로 각 샘플 군 간에 차이가 유의적인 보였으나 회복력에 가장 큰 영향을 주는 요인은 쌀겨 분말(A)로 Perturbation plot과 반응표면곡선을 보면 쌀겨 분말(A)의 첨가량이 증가할수록 회복력이 감소하였다.

Table 17. Textural properties of *Garaetteok* added with different SRB and RS<sub>4</sub> contents stored for 0 day

Sample No.	Hardness	Adhesiveness	Springiness	Chewiness	Resilience
1 <sup>1)</sup>	2177.48 3.33 <sup>c2)</sup>	-1104.66±39.01 <sup>e</sup>	0.92±0.00 <sup>a</sup>	1991.95±6.46 <sup>b</sup>	0.41±0.01 <sup>a</sup>
2	1377.25±13.78 <sup>d</sup>	-379.07±5.40 <sup>b</sup>	0.78±0.01 <sup>d</sup>	1244.70±65.07 <sup>d</sup>	0.25±0.03 <sup>cde</sup>
3	3163.52±22.14 <sup>b</sup>	-775.22±32.10 <sup>d</sup>	0.82±0.00 <sup>c</sup>	2572.81±30.74 <sup>a</sup>	0.36±0.00 <sup>b</sup>
4	2963.58±43.82 <sup>a</sup>	-232.18±45.03 <sup>a</sup>	0.69±0.02 <sup>e</sup>	2022.13±90.83 <sup>b</sup>	0.24±0.01 <sup>de</sup>
5	1106.55±16.14 <sup>i</sup>	-1203.07±78.53 <sup>bc</sup>	0.91±0.02 <sup>a</sup>	1098.91±13.24 <sup>f</sup>	0.35±0.01 <sup>b</sup>
6	999.54±44.11 <sup>h</sup>	-1106.16±63.81 <sup>e</sup>	0.88±0.01 <sup>ab</sup>	922.10±21.14 <sup>e</sup>	0.22±0.00 <sup>e</sup>
7	2387.31±0.93 <sup>e</sup>	-1722.75±8.75 <sup>f</sup>	0.86±0.00 <sup>b</sup>	1574.65±24.18 <sup>c</sup>	0.42±0.00 <sup>a</sup>
8	2197.99±24.93 <sup>f</sup>	-480.46±28.05 <sup>c</sup>	0.80±0.03 <sup>dc</sup>	1248.61±16.68 <sup>d</sup>	0.26±0.00 <sup>dc</sup>
9	1471.85±4.65 <sup>g</sup>	-1058.36±33.76 <sup>e</sup>	0.91±0.02 <sup>a</sup>	1344.42±56.63 <sup>d</sup>	0.27±0.00 <sup>c</sup>
10	1471.89±4.50 <sup>g</sup>	-1058.20±33.00 <sup>e</sup>	0.91±0.02 <sup>a</sup>	1344.42±56.63 <sup>d</sup>	0.27±0.00 <sup>c</sup>

1)	white rice flours100% with 42% Moisture	6	SRB15%+white rice flour 85% with 48% Moisture
2	SRB15%+white rice flour 85% with 42% Moisture	7	RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 85% with 48% Moisture
3	RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 85% with 42% Moisture	8	SRB15%+RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 70% with 48% Moisture
4	SRB15%+RS <sub>4</sub> 15%+white rice flour 70% with 42% Moisture	9	SRB7.5%+RS <sub>4</sub> 7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture
5	white rice flour 100% with 48% Moisture	10	SRB7.5%+RS <sub>4</sub> 7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture

Each value represents mean±SD.

<sup>2)a-i</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple

range test.

Table 18. Textural properties of *Garaetteok* added with different SRB and RS<sub>4</sub> contents stored for 1 day

Sample No.	Hardness	Adhesiveness	Springiness	Chewiness	Resilience
1 <sup>1)</sup>	6453.06 20.29 <sup>b2)</sup>	-226.04±0.54 <sup>c</sup>	0.88±0.04 <sup>bcd</sup>	9539.71±682.24 <sup>b</sup>	0.50±0.00
2	3825.89±0.70 <sup>f</sup>	-195.64±32.53 <sup>c</sup>	0.85±0.01 <sup>cde</sup>	3605.38±103.36 <sup>e</sup>	0.36±0.03
3	5132.76±12.16 <sup>a</sup>	-40.03±47.11 <sup>a</sup>	0.91±0.01 <sup>abc</sup>	12192.18±219.43 <sup>a</sup>	0.43±0.01
4	4490.42±0.23 <sup>c</sup>	-25.70±24.77 <sup>a</sup>	0.84±0.01 <sup>be</sup>	5578.36±62.58 <sup>c</sup>	0.31±0.02
5	4843.39±32.95 <sup>g</sup>	-700.11±78.50 <sup>e</sup>	0.93±0.02 <sup>a</sup>	3595.95±112.85 <sup>e</sup>	0.51±0.00
6	1467.13±58.41 <sup>i</sup>	-296.47±49.59 <sup>d</sup>	0.80±0.03 <sup>e</sup>	1957.50±44.06 <sup>g</sup>	0.33±0.01
7	4217.43±4.96 <sup>d</sup>	-104.69±5.10 <sup>ab</sup>	0.91±0.01 <sup>ab</sup>	5950.34±36.00 <sup>c</sup>	0.48±0.00
8	3731.13±4.72 <sup>e</sup>	-52.95±23.63 <sup>a</sup>	0.86±0.00 <sup>bde</sup>	4348.14±4.47 <sup>d</sup>	0.38±0.00
9	2523.72±5.03 <sup>h</sup>	-167.72±42.03 <sup>bc</sup>	0.88±0.02 <sup>bcd</sup>	2976.68±83.93 <sup>f</sup>	0.39±0.00
10	2523.69±5.00 <sup>h</sup>	-167.72±42.03 <sup>bc</sup>	0.88±0.02 <sup>bcd</sup>	2976.68±83.93 <sup>f</sup>	0.39±0.00

<sup>1)</sup> white rice flours 100% with 42% Moisture

2 SRB15%+white rice flour 85% with 42% Moisture

3 RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85% with 42% Moisture

4 SRB15%+RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 70% with 42% Moisture

6 SRB15%+white rice flour 85% with 48% Moisture

7 RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85% with 48% Moisture

8 SRB15%+RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 70% with 48% Moisture

9 SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture



5 white rice flour 100% with 48% Moisture

10 SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture

Each value represents mean±SD.

<sup>2)a-i</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 19. Textural properties of *Garaetteok* added with different SRB and RS<sub>4</sub> contents stored for 2 day

Sample No.	Hardness	Adhesiveness	Springiness	Chewiness	Resilience
1 <sup>)</sup>	9845.06 8.67 <sup>a 2)</sup>	-22.14±2.28 <sup>a</sup>	0.91±0.04 <sup>a</sup>	19203.50±761.67 <sup>a</sup>	0.46±0.01 <sup>a</sup>
2	4892.38±30.04 <sup>e</sup>	-1.42±0.13 <sup>a</sup>	0.84±0.01 <sup>bc</sup>	8076.45±115.28 <sup>e</sup>	0.34±0.01 <sup>c</sup>
3	5705.93±2.32 <sup>b</sup>	-3.94±3.17 <sup>a</sup>	0.91±0.01 <sup>a</sup>	18065.39±80.35 <sup>b</sup>	0.43±0.00 <sup>b</sup>
4	4979.98±228.10 <sup>c</sup>	-1.06±0.00 <sup>a</sup>	0.90±0.01 <sup>a</sup>	9724.80±0.01 <sup>d</sup>	0.27±0.01 <sup>e</sup>
5	7599.09±74.82 <sup>h</sup>	-143.88±50.98 <sup>b</sup>	0.86±0.03 <sup>bc</sup>	5853.85±236.68 <sup>g</sup>	0.44±0.01 <sup>ab</sup>
6	3105.57±26.67 <sup>i</sup>	-98.21±23.19 <sup>b</sup>	0.79±0.02 <sup>c</sup>	4105.17±120.40 <sup>h</sup>	0.32±0.01 <sup>d</sup>
7	5457.14±17.73 <sup>d</sup>	-17.51±16.38 <sup>a</sup>	0.91±0.02 <sup>a</sup>	11497.35±69.04 <sup>c</sup>	0.45±0.01 <sup>a</sup>
8	4347.21±1.94 <sup>f</sup>	-1.95±0.10 <sup>a</sup>	0.87±0.02 <sup>ab</sup>	7157.65±59.87 <sup>f</sup>	0.36±0.01 <sup>c</sup>
9	3183.96±22.14 <sup>g</sup>	-133.82±0.87 <sup>b</sup>	0.87±0.01 <sup>ab</sup>	5678.05±133.73 <sup>g</sup>	0.36±0.01 <sup>c</sup>
10	3183.96±22.14 <sup>g</sup>	-133.80±0.80 <sup>b</sup>	0.87±0.01 <sup>ab</sup>	5678.05±133.73 <sup>g</sup>	0.36±0.01 <sup>c</sup>

Each value represents mean±SD.

- 1) <sub>1</sub> white rice flours 100% with 42% Moisture  
 2 SRB15%+white rice flour 85% with 42% Moisture  
 3 RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85% with 42% Moisture  
 4 SRB15%+RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 70% with 42% Moisture  
 5 white rice flour 100% with 48% Moisture  
 6 SRB15%+white rice flour 85% with 48% Moisture  
 7 RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85% with 48% Moisture  
 8 SRB15%+RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 70% with 48% Moisture  
 9 SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture  
 10 SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture

<sup>2)</sup><sub>a-i</sub> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

**Table 20. Analysis of predicted model equation for textural properties of *Garaetteok* prepared with stabilized rice bran (SRB), resistant starch (RS<sub>4</sub>) stored for 0 day**

Response	Model	Mean± S.D	R <sup>2</sup> )	F-value	Prob>F	Polynomial equation
Hardness	Quadratic	1931.79±170.64	0.9888	25.23	0.0386	Hardness=+1472.37-162.06*X <sub>1</sub> <sup>1)</sup> +631.45*X <sub>2</sub> -373.80*X <sub>3</sub> +574.28*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +64.74*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +87.97*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> -11.65*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
Adhesiveness	Quadratic	-84.21±506.98	0.7213	9.79	<0.0001	Adhesiveness=-1058.28+238.4787*X <sub>1</sub> -14.70625*X <sub>2</sub> -165.1638*C+270.3337*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +207.8538*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> -78.67875*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> -133.7888*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
Springiness	Quadratic	0.848±0.01	0.9960	71.94	0.0138	Springiness=+0.91-0.045*X <sub>1</sub> -0.04*X <sub>2</sub> +0.03*X <sub>3</sub> -0.0775*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> -0.0025*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> 0.0225*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.0075*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
Chewiness	Quadratic	1506.47±161.45	0.9805	14.36	0.0666	Chewiness=+1344.42-187.5975*X <sub>1</sub> +307.5675*X <sub>2</sub> -410.915*X <sub>3</sub>

	c					+202.5625*X <sup>2</sup> -31.5825*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +136.885*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> -32.005*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
<b>Resilience</b>	Quadrati c	0.305±0.02	0.9873	21.22	0.0437	Resilience=+0.27-0.07125*X <sub>1</sub> +0.00625*X <sub>2</sub> -0.00125*X <sub>3</sub> +0.04 375*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +0.00125*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> -0.00125*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.02125*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>

<sup>1</sup>X<sub>1</sub> is Stabilized rice bran X<sub>2</sub> is cross-linked resistant starch X<sub>3</sub> is Moisture content and Hardness, Adhesiveness, Springiness, Chewiness, Resilience are intensity score of the attributes.

<sup>2</sup>R<sup>2</sup> is coefficient of determination

*p*<0.001

**Table 21. Analysis of predicted model equation for textural properties of *Garaetteok* prepared with stabilized rice bran (SRB), resistant starch (RS<sub>4</sub>) stored for 1 day**

Response	Model	Mean± S.D	R <sup>2</sup> <sup>2)</sup>	F-value	Prob>F	Polynomial equation
<b>Hardness</b>	Quadrati c	3920.86±226.28	0.9946	53.04	0.0186	Hardness=+2523.70-891.51*X <sub>1</sub> <sup>1)</sup> +122.78*X <sub>2</sub> -705.38*X <sub>3</sub> +1746.45*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +609.35*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> -74.12*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +286.73*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
<b>Adhesiveness</b>	Quadrati c	-130.62±83.96	0.9752	11.25	0.0841	Adhesiveness=+167.72+62.51*X <sub>1</sub> +149.36*X <sub>2</sub> -83.35*C-372.9 2*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> -46.00*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +51.33*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +60.37*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>

<b>Springiness</b>	Quadratic	0.87±0.030	0.8640	1.82	0.4004	Springiness=+0.88-0.035*X <sub>1</sub> -0.04*X <sub>2</sub> +0.03*X <sub>3</sub> -0.0775*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> -0.0025*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> -0.0225*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.0075*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
<b>Chewiness</b>	Quadratic	5272.09±178.94	0.9993	14.36	0.0024	Chewiness=+2976.68-1973.60*X <sub>1</sub> +1171.31*X <sub>2</sub> -1882.96*X <sub>3</sub> + 2869.27*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> -80.41*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +1163.44*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +14.95*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
<b>Resilience</b>	Quadratic	0.41±0.015	0.9898	27.63	0.0354	Resilience=+0.39-0.068*X <sub>1</sub> -0.013*X <sub>2</sub> +0.013*X <sub>3</sub> +0.023*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +0. 0013*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> -0.00125*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.017*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub> is Stabilized rice bran X<sub>2</sub> is cross-linked resistant starch X<sub>3</sub> is Moisture content and Hardness, Adhesiveness, Springiness, Chewiness, Resilience are intensity score of the attributes.

<sup>2)</sup>R<sup>2</sup> is coefficient of determination

*p*<0.001

**Table 22. Analysis of predicted model equation for textural properties of *Garaetteok* prepared with stabilized rice bran (SRB), resistant starch (RS<sub>4</sub>) stored for 2 day**

Response	Model	Mean± S.D	R <sup>22)</sup>	F-value	Prob>F	Polynomial equation
<b>Hardness</b>	Quadratic	5230.03±210.78	0.9978	131.64	0.0076	Hardness=+3183.96-1410.26*X <sub>1</sub> <sup>1)</sup> -618.98*X <sub>2</sub> -614.29* X <sub>3</sub> +255 7.59*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +951.29*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +9.40*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +393.90*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>

<b>Adhesiveness</b>	Quadratic	-1380.39±3.09	0.4517	0.24	0.9380	Adhesiveness= - 6756.91+10.60*X <sub>1</sub> +30.15*X <sub>2</sub> -29.12*X <sub>3</sub> +6720.65*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> -5.99*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +4.70*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +25.51*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
<b>Springiness</b>	Quadratic	0.87±0.030	0.9914	32.76	0.0299	Springiness=+0.87-0.024*X <sub>1</sub> +0.024*X <sub>2</sub> -0.016*X <sub>3</sub> +3.750*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +0.011*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> - 3.750*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +8.750*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
<b>Chewiness</b>	Quadratic	8859.83±4.87	0.9451	4.92	0.1792	Chewiness=+5678.05-3999.75*X <sub>1</sub> +345.53*X <sub>2</sub> -4112.27*X <sub>3</sub> + 3977.22*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> -780.82*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +867.16*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +217.97*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>
<b>Resilience</b>	Quadratic	0.38±0.017	0.9829	16.46	0.0585	Resilience=+0.36-0.061*X <sub>1</sub> -6.25*X <sub>2</sub> +8.750*X <sub>3</sub> +0.024*X <sub>1</sub> <sup>2</sup> -1. 250*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +8.750*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.019*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub> is Stabilized rice bran X<sub>2</sub> is cross-linked resistant starch X<sub>3</sub> is Moisture content and Hardness, Adhesiveness, Springiness, Chewiness, Resilience are intensity score of the attributes.

<sup>2)</sup>R<sup>2</sup> is coefficient of determination

*p*<0.001

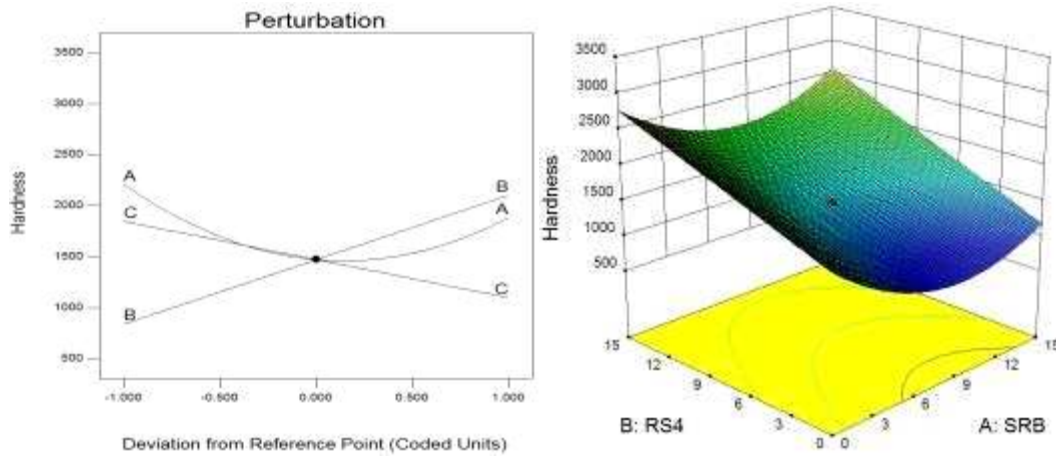


Fig. 14. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on hardness of *Garaetteok* stored 0 day

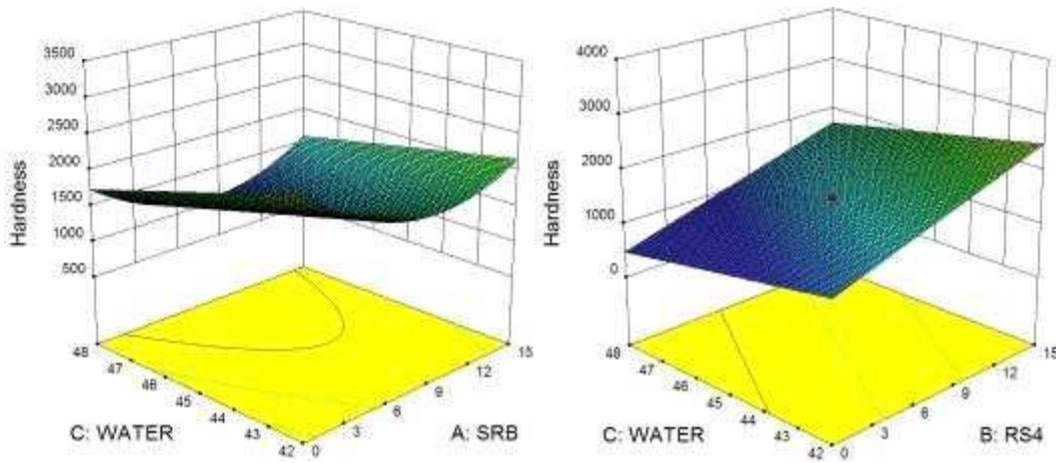


Fig. 15. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on hardness of *Garaetteok* stored 0 day

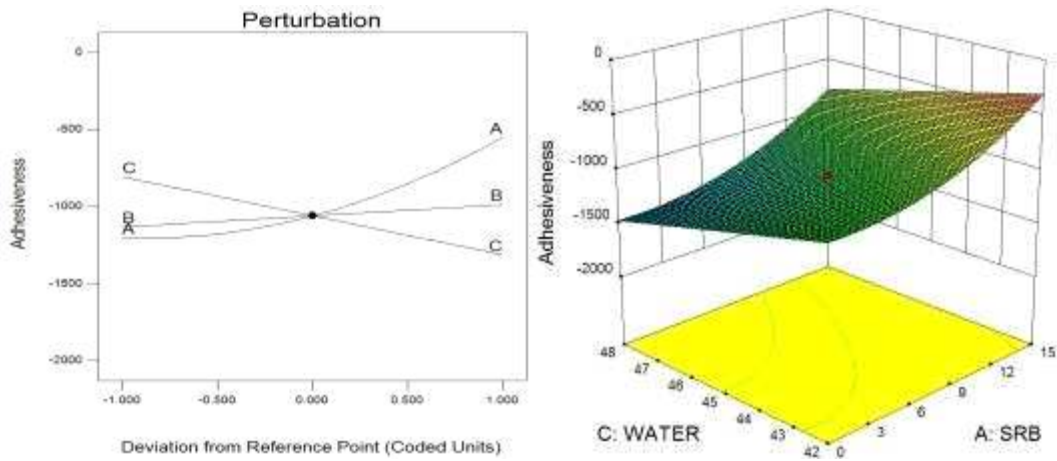


Fig. 16. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on adhesiveness of *Garaetteok* stored 0 day

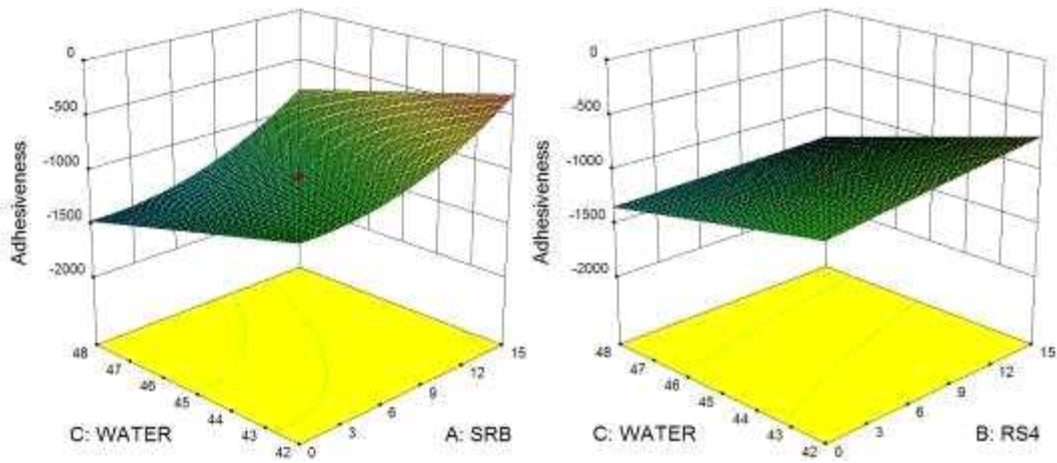


Fig. 17. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C),  $RS_4$  (B) and Water (C) on adhesiveness of *Garaetteok* stored 0 day

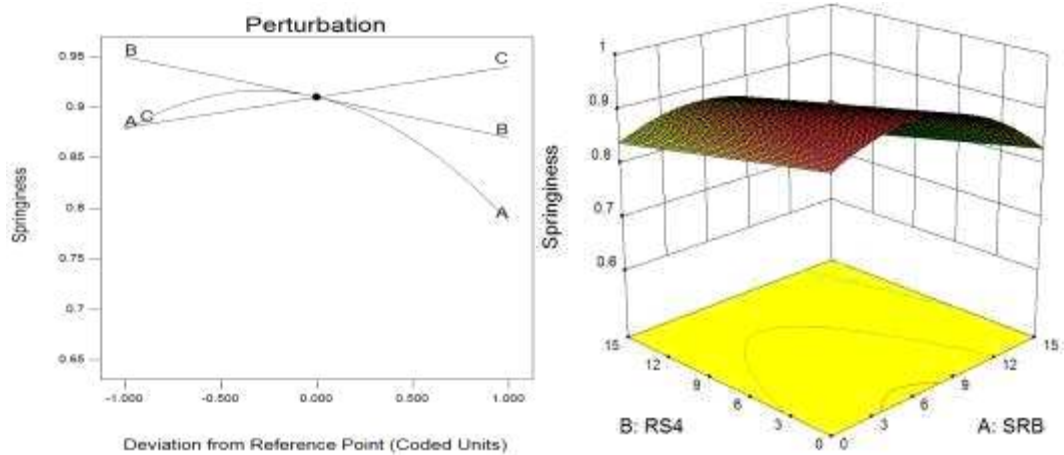


Fig. 18. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on springiness of *Garaetteok* stored 0 day

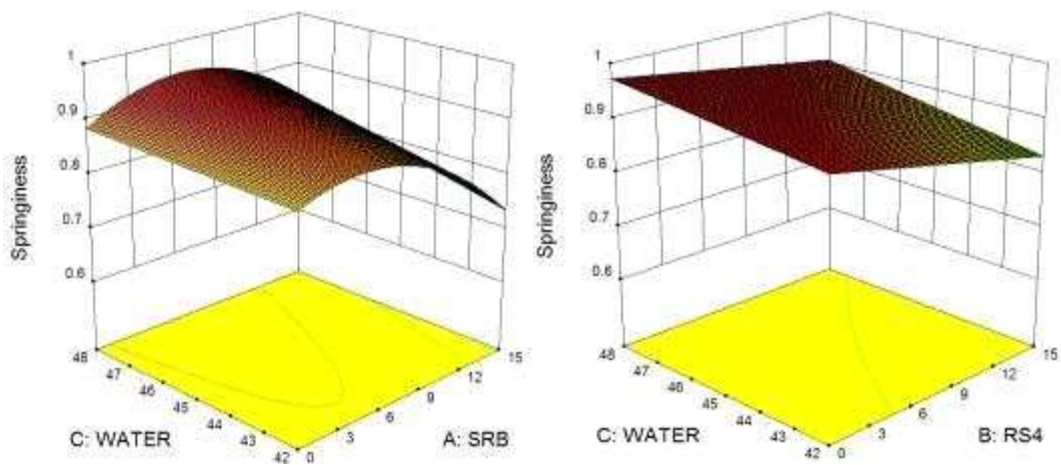


Fig. 19. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C),  $RS_4$  (B) and Water (C) on springiness of *Garaetteok* stored 0 day



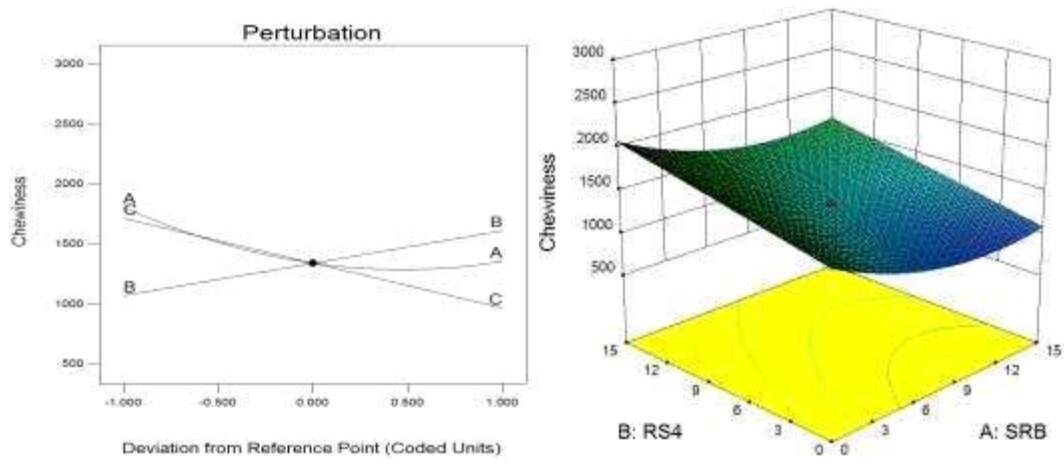


Fig. 20. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on chewiness of *Garaetteok* stored 0 day

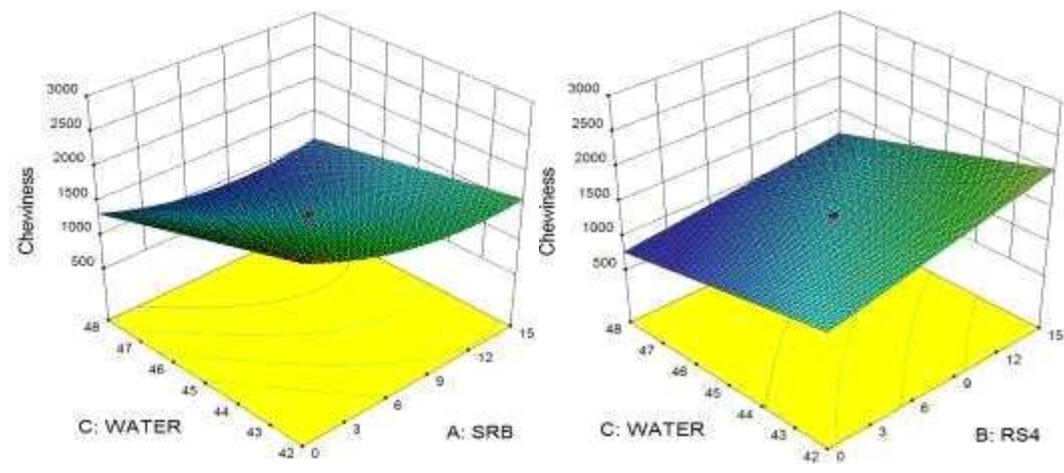


Fig. 21. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on chewiness of *Garaetteok* stored 0 day

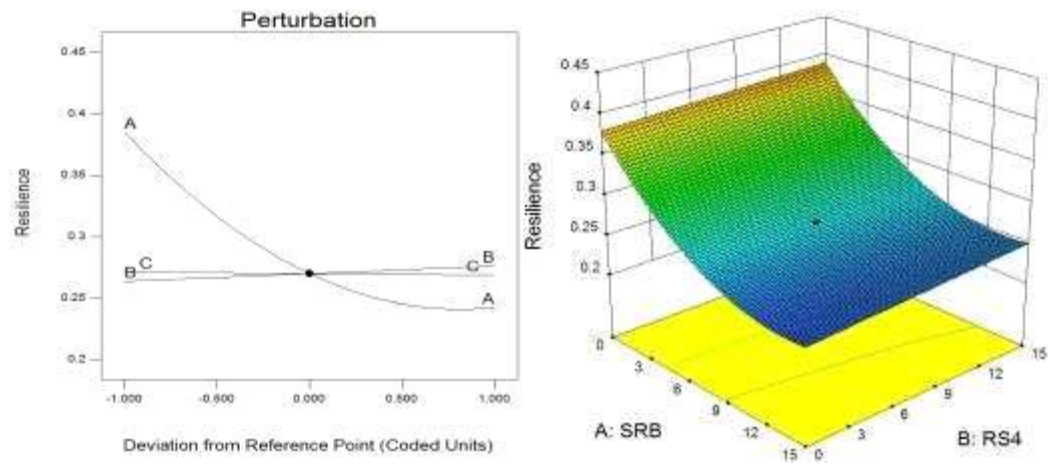


Fig. 22. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on resilience of *Garaetteok* stored 0 day

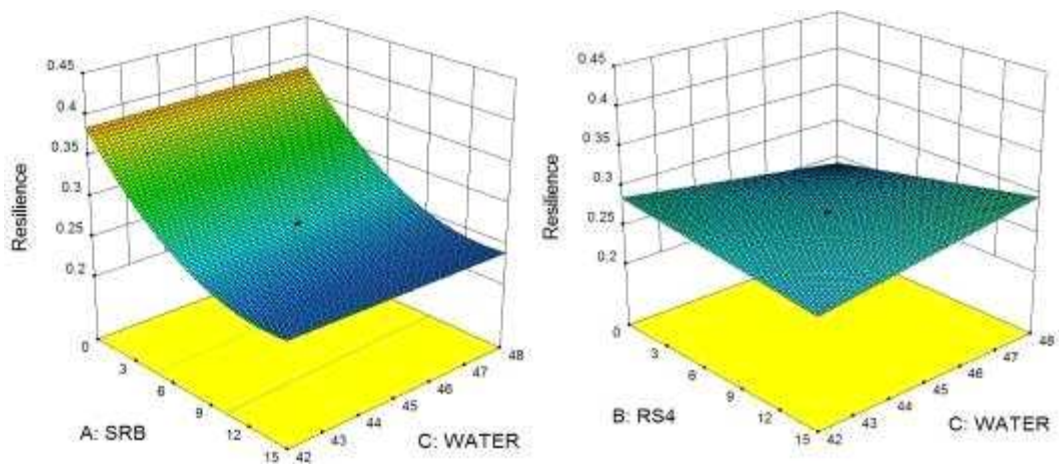


Fig. 23. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on resilience of *Garaetteok* stored 0 day

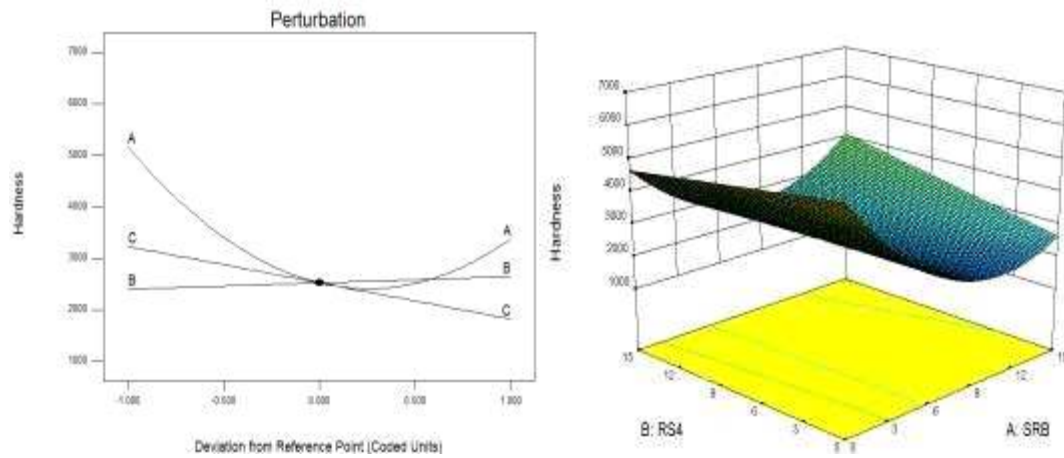


Fig. 24. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on hardness of *Garaetteok* stored 1 day

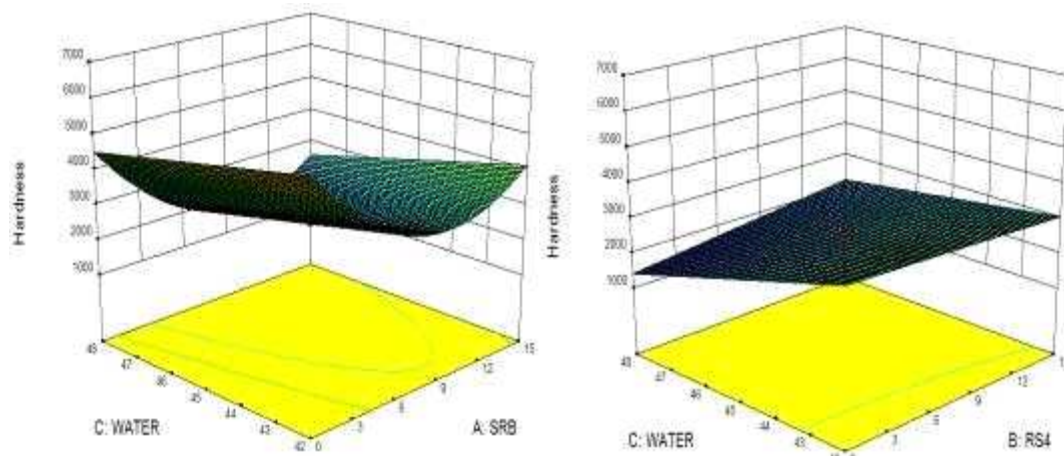


Fig. 25. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on hardness of *Garaetteok* stored 1 day

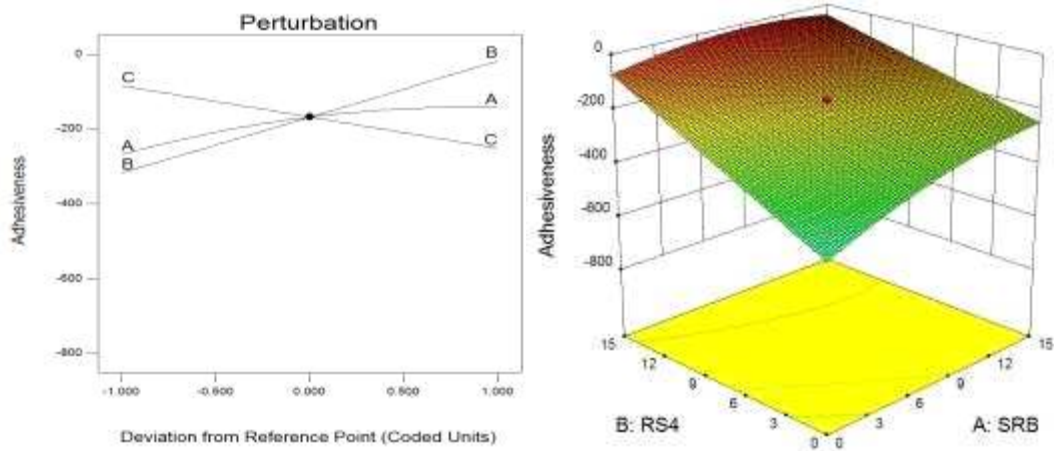


Fig. 26. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on adhesiveness of *Garaetteok* stored 1 day

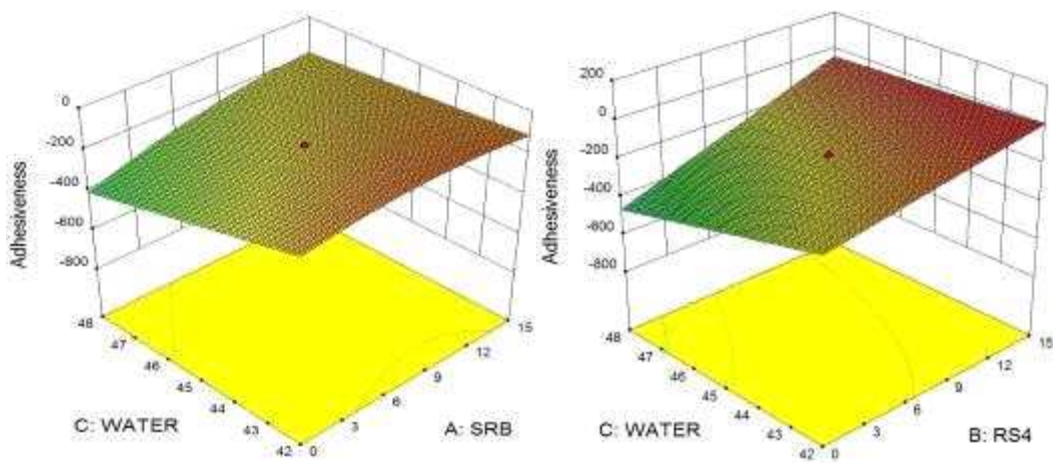


Fig. 27. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on adhesiveness of *Garaetteok* stored 1 day

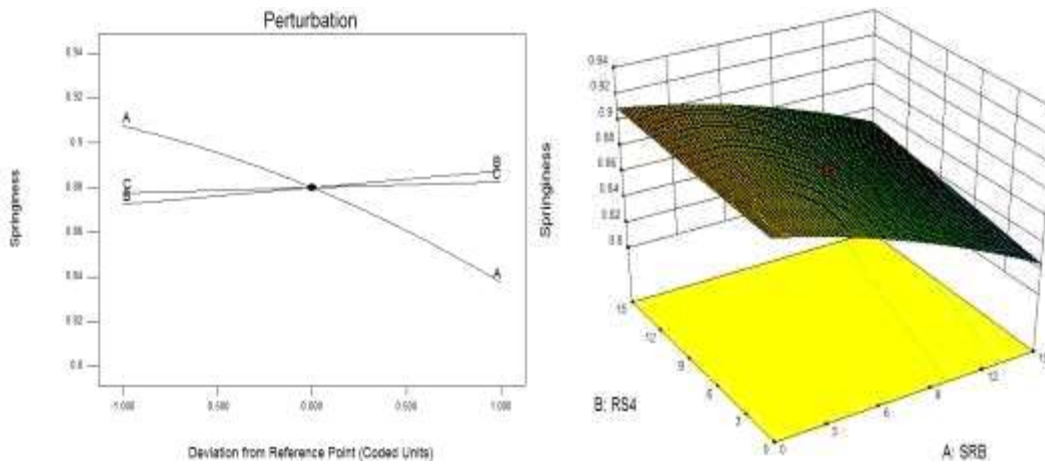


Fig. 28. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on springiness of *Garaetteok* stored 1 day

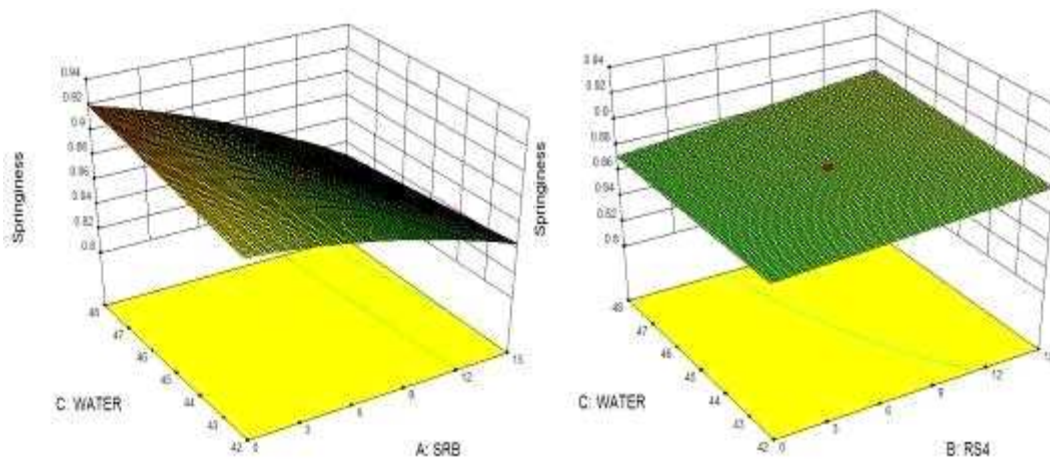


Fig. 29. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C),  $RS_4$  (B) and Water (C) on springiness of *Garaetteok* stored 1 day

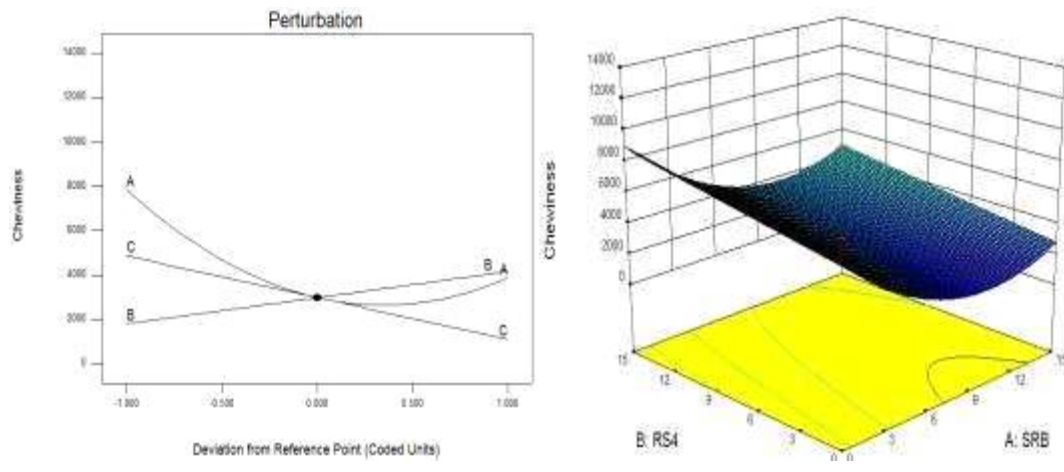


Fig. 30. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on chewiness of *Garaetteok* stored 1 day

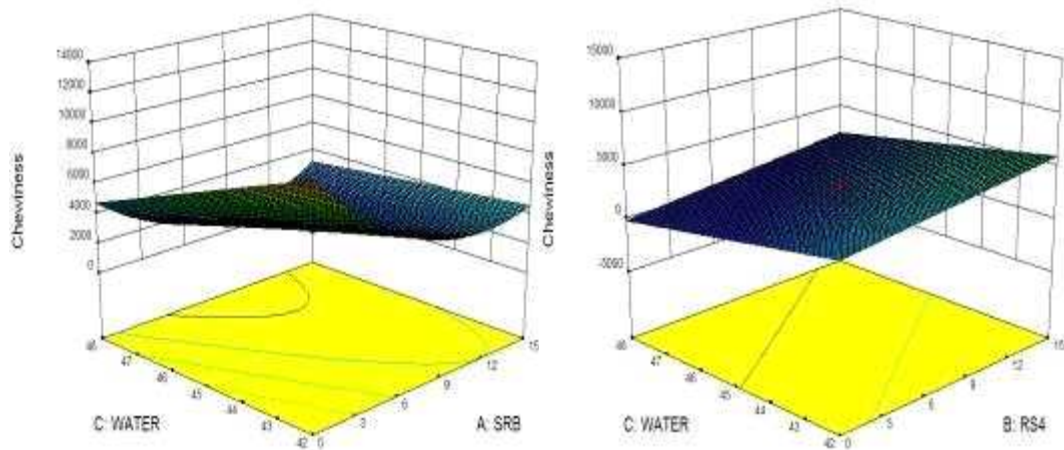


Fig. 31. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on chewiness of *Garaetteok* stored 1 day

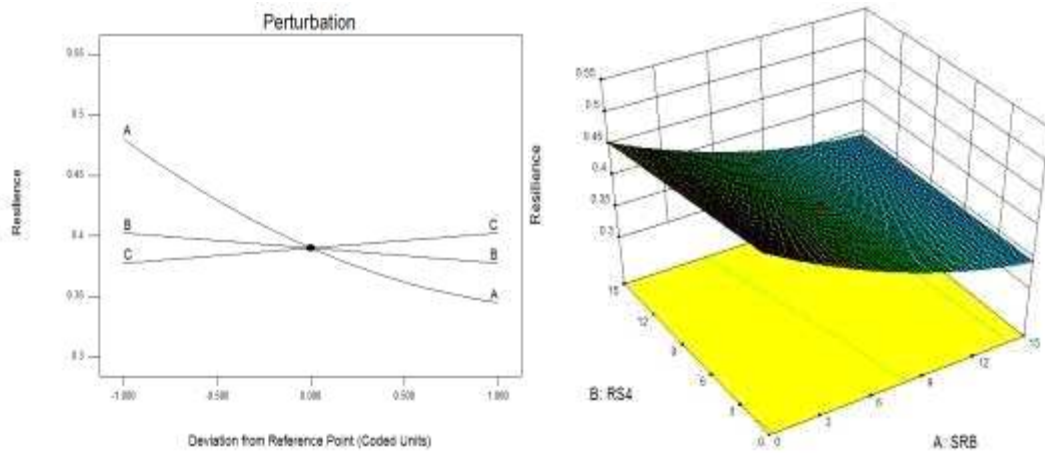


Fig. 32. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on resilience of *Garaetteok* stored 1 day

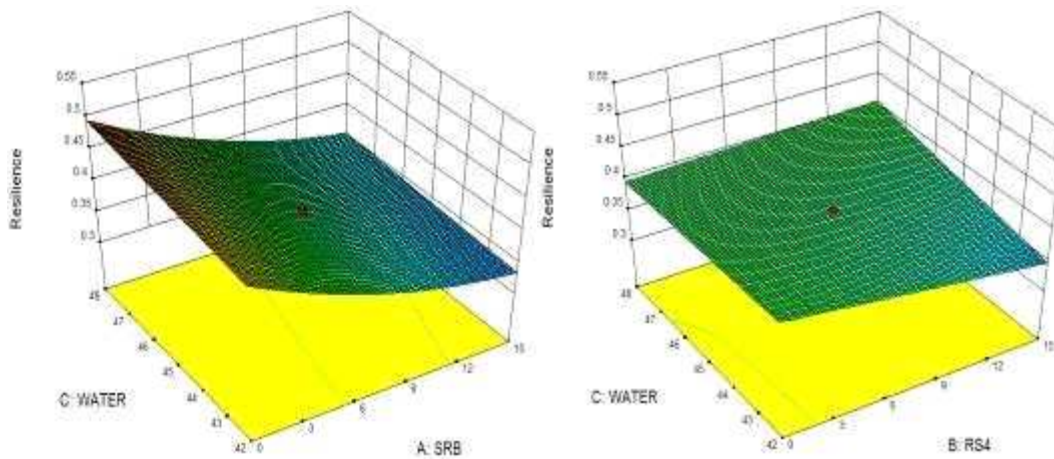


Fig. 33. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on resilience of *Garaetteok* stored 1 day

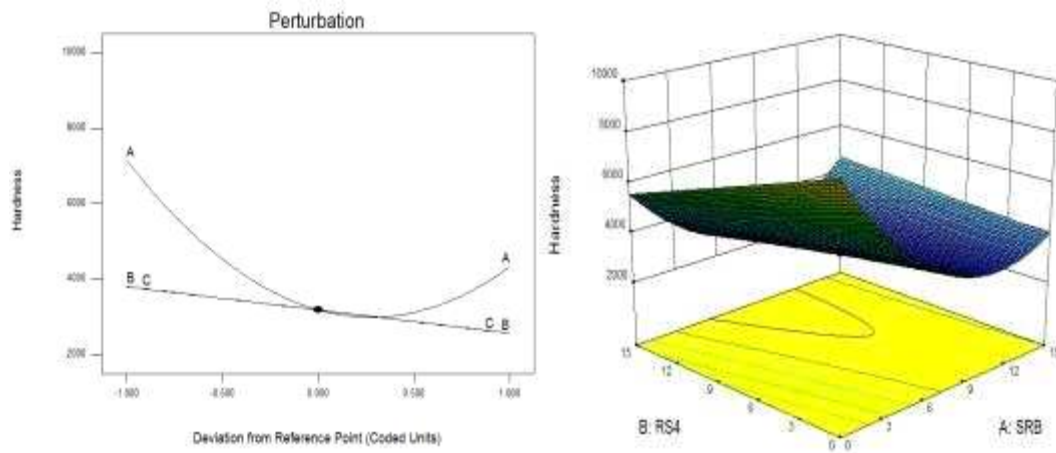


Fig. 34. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on hardness of *Garaetteok* stored 2 day

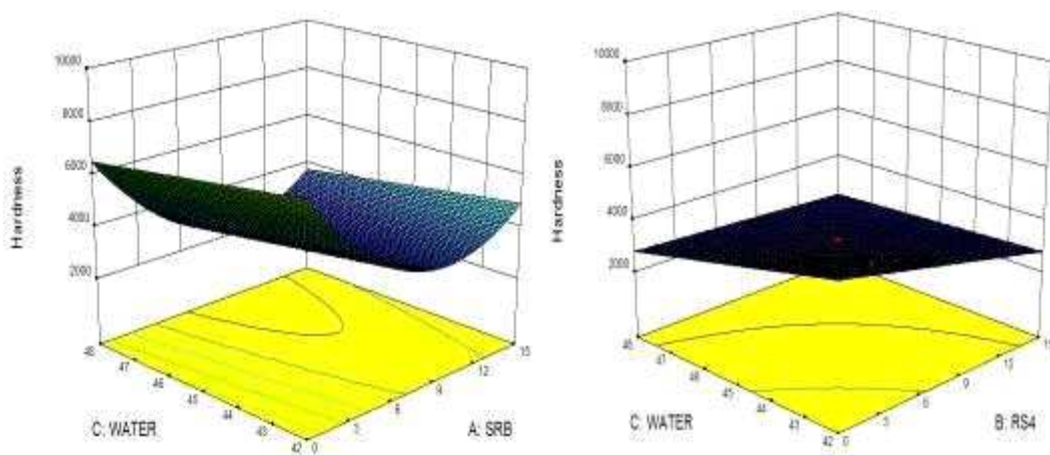


Fig. 35. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on hardness of *Garaetteok* stored 2 day



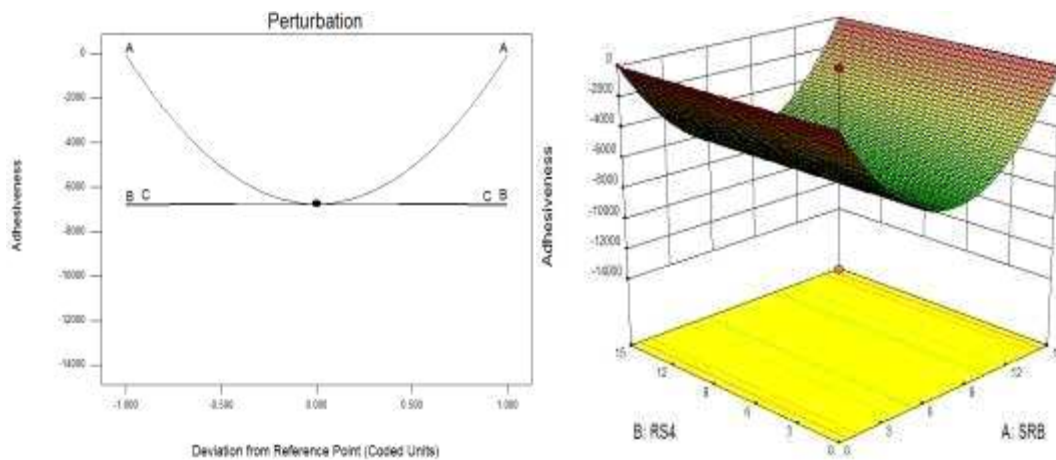


Fig. 36. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on adhesiveness of *Garaetteok* stored 2 day

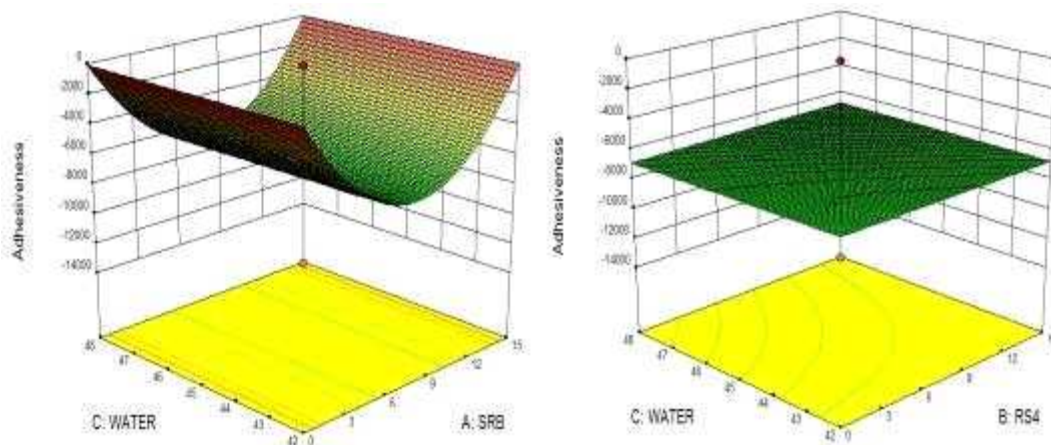


Fig. 37. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on adhesiveness of *Garaetteok* stored 2 day

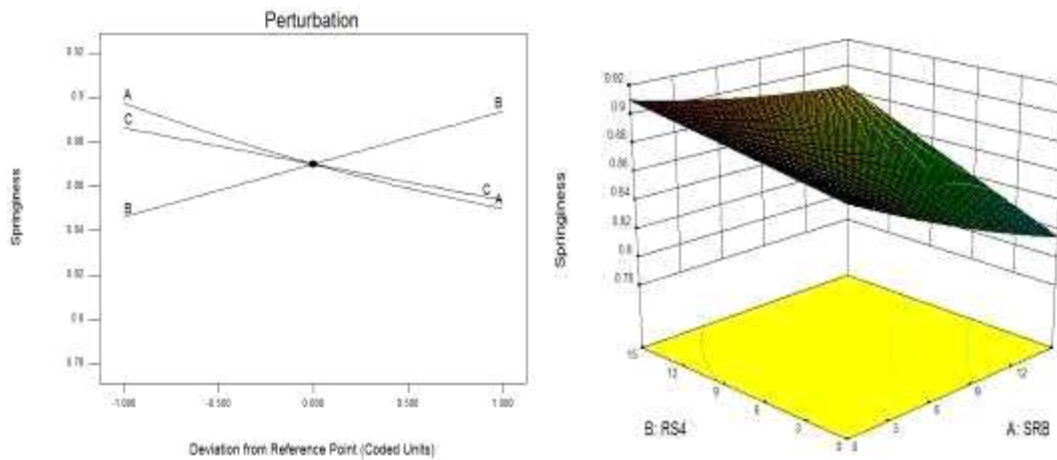


Fig. 38. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on springiness of *Garaetteok* stored 2 day

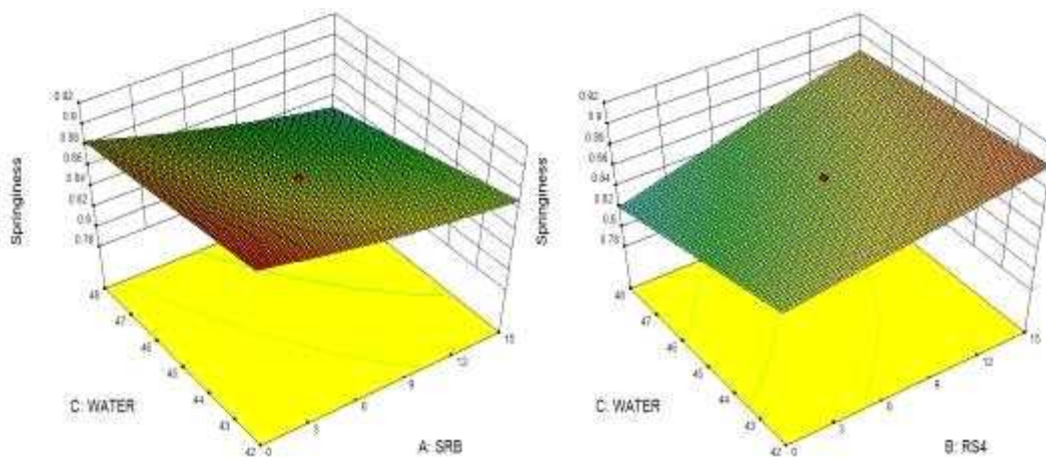


Fig. 39. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on springiness of *Garaetteok* stored 2 day

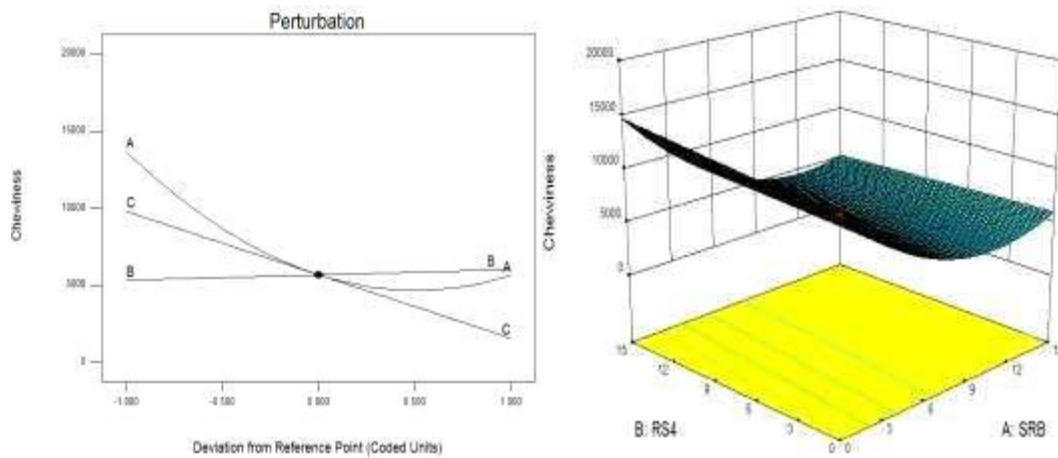


Fig 40. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on chewiness of *Garaetteok* stored 2 day

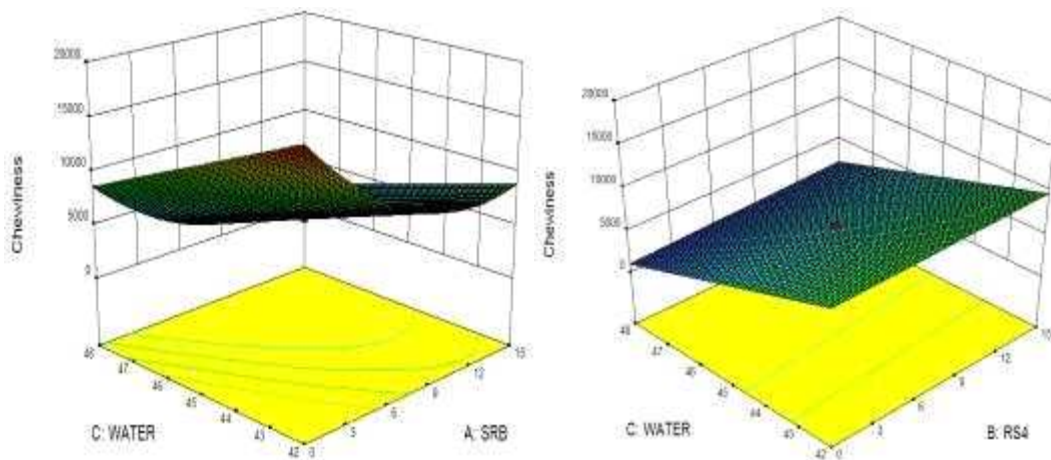


Fig 41. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on chewiness of *Garaetteok* stored 2 day

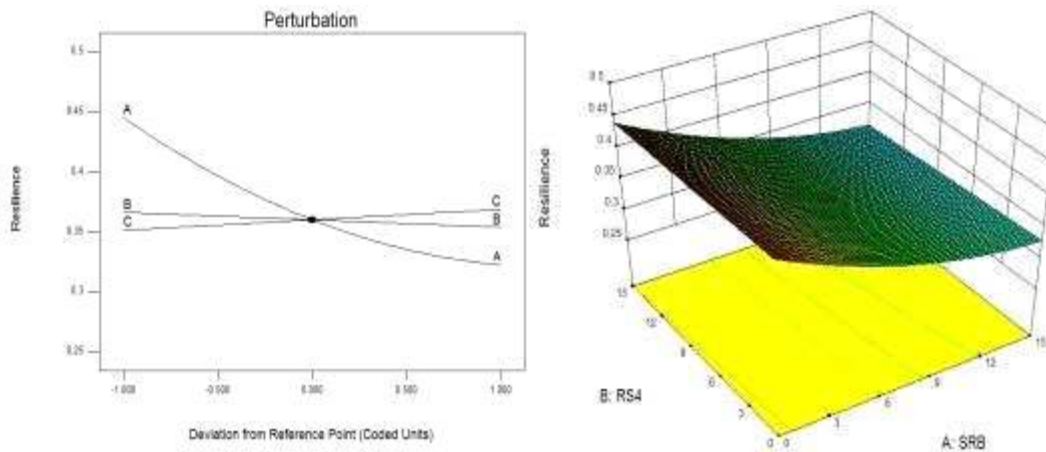


Fig 42. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on resilience of *Garaetteok* stored 2 day

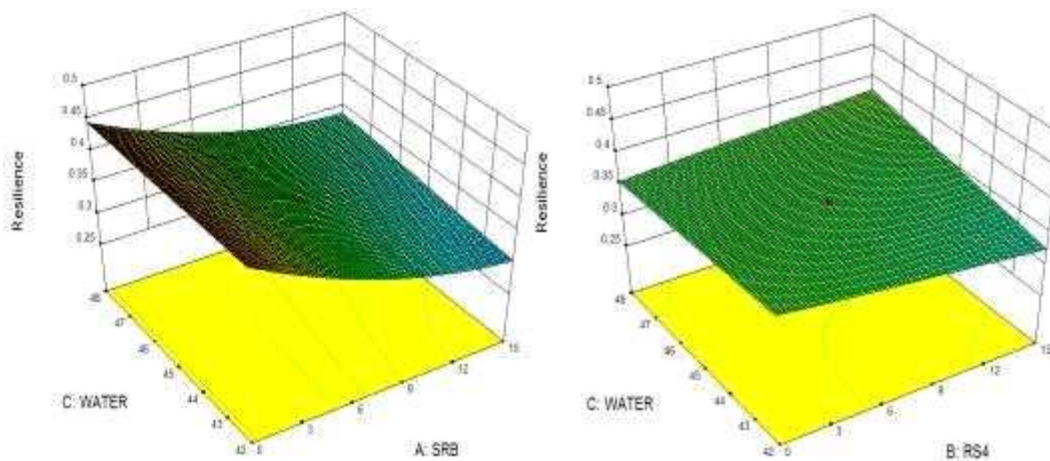


Fig. 43. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C)  $RS_4$  (B) and Water (C) on resilience of *Garaetteok* stored 2 day

#### (10) 가래떡 관능 평가

관능검사는 식품과 물질의 품질특성이 시각, 후각, 미각, 촉각 및 청각으로 감지되는 반

응을 측정하고 그 결과를 분석 내지 해석하는 과학적인 평가 방법이라 할 수 있다(김광옥 2005). 따라서 본 연구는 제조한 각 10개의 가래떡을 대한 관능적 특성(색상, 향미, 맛, 촉촉한 정도, 부드러운 정도, 씹힘성, 전반적인 기호도)을 9점 척도법으로 평가하였다. 관능 검사의 평균 점수와 회귀식값은 각각 표에 제시하였다.

표면색, 매끈함, 이취, 뽀은맛, 짠맛, 고소한맛, 경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 씹힘성, 거칩성, 전반적인 품질특성은 각각 6.36-7.41, 5.14-7.77, 5.85-7.43, 4.21-8.08, 4.07-5.80, 5.07-6.79, 4.71-6.93, 4.85-6.64, 4.93-5.77, 4.79-6.29, 4.64-6.85, 5.29-7.23, 5.36-7.27의 범위에 나타났으면 모든 항목은 3 가지 변인 서로 교호 작용하는 Quadratic model 이 선정되었다.

면색, 매끄함, 이취, 뽀은맛, 짠맛, 고소한맛, 경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 씹힘성, 거칩성, 전반적인 품질특성의 p-value 는 각각 ( $p<0.05$ ), smoothness ( $p<0.05$ ), off-flavor ( $p<0.05$ ), astringency ( $p<0.05$ ), salty ( $p<0.05$ ), delicate taste ( $p<0.05$ ), hardness ( $p<0.05$ ), adhesiveness ( $p<0.01$ ), springiness ( $p<0.05$ ), roughness ( $p<0.001$ ), overall quality ( $p<0.01$ ). 로 나타내었고, R2(결정계수)값은 각각 0.9952, 0.9968, 0.9901, 0.9879, 0.9968, 0.9962, 0.9908, 0.9993, 0.9943, 0.9669, 0.9209, 1.0000, 0.9988 으로 모델의 적합성이 인정되었다.

저항전분첨가량이 증가할수록 표면색에 대한 기호도가 감소하며 이취와 고소한 맛에 대한 점수는 낮게 나온 것을 확인 할 수 있다. perturbation plot 결과를 보면 쌀겨첨가량이 최종 가래떡에 미치는 영향이 제일 큰 것으로 볼 수 있다. 쌀겨 첨가량이 증가할수록 경도와 탄력성에 대한 기호도는 낮게 평가되었으며, 기호도 평가 항목에 대한 perturbation plot 통해 쌀겨 첨가량은 최종 제품에 대한 영향이 가장 높은 것으로 나타났다. 전반적인 평가는 9.10 번 샘플은 가장 높은 점수를 받았다. perturbation plot과 회귀식을 보면, 쌀겨 첨가량과 저항전분함량이 최종 가래떡에 미치는 영향이 제일 큰 것으로 나타났다.

**Table 23. Preference tests of *Garaetteok* prepared with rice bran powder and resistant starch**

Samp le	Surface color	Smoothness	Off- flavor	Astringency	Salty	Delicate taste	Hardness	Adhesiveness	Springiness	Moistness	Chewiness	Roughness	Overall quality
1 <sup>1)</sup>	6.62±0.77 <sup>a</sup>	7.77±0.73 <sup>a</sup>	5.85±0.69 <sup>c</sup>	7.31±0.48 <sup>b</sup>	5.77±0.73 <sup>a</sup>	5.15±0.55 <sup>c</sup>	6.08±0.86 <sup>b</sup>	4.85±0.21 <sup>d</sup>	5.31±0.75 <sup>ab</sup>	5.92±0.95 <sup>ab</sup>	6.08±1.04 <sup>ab</sup>	7.23±0.93 <sup>a</sup>	6.54±1.05 <sup>cb</sup>
2	7.14±0.99 <sup>a</sup>	5.14±0.64 <sup>cd</sup>	7.36±0.11 <sup>a</sup>	4.43±0.49 <sup>fe</sup>	4.86±0.35 <sub>ab</sub>	6.57±0.82 <sup>a</sup>	4.71±0.70 <sup>d</sup>	6.14±0.99 <sup>abc</sup>	4.93±0.26 <sup>b</sup>	6.29±0.80 <sup>a</sup>	4.64±0.97 <sup>d</sup>	5.64±0.48 <sup>cd</sup>	6.07±0.59 <sup>cd</sup>
3	6.57±0.22 <sup>a</sup>	5.93±0.92 <sup>cb</sup>	5.93±0.73 <sup>bc</sup>	5.21±0.80 <sup>d</sup>	5.21±0.89 <sup>a</sup>	5.07±0.92 <sup>c</sup>	5.79±0.80 <sup>cb</sup>	5.86±0.03 <sup>abc</sup>	5.21±0.97 <sup>ab</sup>	5.71±0.61 <sup>ab</sup>	5.79±0.43 <sup>cb</sup>	6.36±0.84 <sup>b</sup>	5.36±0.93 <sup>d</sup>
4	7.07±1.07 <sup>a</sup>	6.14±1.10 <sup>b</sup>	6.71±0.99 <sup>ab</sup>	5.07±0.38 <sup>cd</sup>	5.43±0.85 <sup>a</sup>	6.21±0.12 <sup>ab</sup>	6.07±0.73 <sup>b</sup>	6.07±0.92 <sup>abc</sup>	5.00±0.96 <sup>ab</sup>	6.14±0.53 <sup>a</sup>	5.57±0.76 <sup>cb</sup>	5.86±0.66 <sup>dcb</sup>	6.64±0.28 <sup>ca</sup>
5	6.62±0.51 <sup>a</sup>	7.69±0.95 <sup>a</sup>	6.08±0.50 <sup>bc</sup>	8.08±0.95 <sup>a</sup>	5.31±3.04 <sup>a</sup>	5.62±0.77 <sup>bc</sup>	6.38±0.12 <sup>ab</sup>	6.46±0.66 <sup>ab</sup>	5.77±0.24 <sup>a</sup>	6.00±0.91 <sup>a</sup>	6.85±0.28 <sup>a</sup>	7.08±0.64 <sup>a</sup>	6.92±0.38 <sup>ab</sup>
6	7.07±1.21 <sup>a</sup>	4.57±1.09 <sup>d</sup>	7.43±0.02 <sup>a</sup>	4.21±0.70 <sup>f</sup>	4.07±0.62 <sup>b</sup>	6.79±0.19 <sup>a</sup>	6.14±0.77 <sup>b</sup>	6.64±0.93 <sup>a</sup>	5.14±0.77 <sup>ab</sup>	6.29±0.99 <sup>a</sup>	4.71±0.27 <sup>d</sup>	5.29±0.73 <sup>d</sup>	6.21±0.97 <sup>cb</sup>
7	6.36±0.01 <sup>a</sup>	5.86±0.77 <sup>cb</sup>	6.00±0.78 <sup>bc</sup>	5.29±0.61 <sup>d</sup>	5.29±0.61 <sup>a</sup>	5.14±0.77 <sup>c</sup>	5.21±0.05 <sup>cd</sup>	6.07±0.73 <sup>abc</sup>	5.57±1.09 <sup>ab</sup>	5.29±0.83 <sup>cd</sup>	5.00±0.24 <sup>cd</sup>	6.29±0.73 <sup>b</sup>	5.93±1.00 <sup>cb</sup>
8	7.00±0.47 <sup>a</sup>	6.07±1.69 <sup>b</sup>	6.79±0.80 <sup>ab</sup>	5.29±0.54 <sup>cd</sup>	5.43±0.02 <sup>a</sup>	5.71±0.83 <sup>bc</sup>	6.07±0.73 <sup>b</sup>	5.29±0.91 <sup>cd</sup>	5.29±0.83 <sup>ab</sup>	4.79±0.97 <sup>d</sup>	5.71±0.07 <sup>cb</sup>	5.57±0.76 <sup>cd</sup>	6.86±0.77 <sup>ab</sup>
9	7.40±0.52 <sup>a</sup>	5.30±0.67 <sup>cd</sup>	6.10±0.57 <sup>bc</sup>	5.90±0.57 <sup>c</sup>	5.80±0.48 <sup>a</sup>	6.20±0.03 <sup>ab</sup>	6.90±0.10 <sup>a</sup>	5.90±0.88 <sup>bc</sup>	5.00±0.67 <sup>ab</sup>	5.10±0.74 <sup>d</sup>	5.10±0.74 <sup>cd</sup>	6.10±0.88 <sup>cb</sup>	7.20±0.63 <sup>a</sup>
10	7.41±0.30 <sup>a</sup>	5.33±0.68 <sup>b</sup>	6.33±0.82 <sup>bc</sup>	5.90±0.85 <sup>c</sup>	5.80±0.10 <sup>a</sup>	6.20±0.01 <sup>ab</sup>	6.93±0.16 <sup>a</sup>	5.90±0.29 <sup>bc</sup>	5.10±0.44 <sup>ab</sup>	5.17±0.76 <sup>d</sup>	5.20±0.60 <sup>cd</sup>	6.01±0.09 <sup>cb</sup>	7.27±0.96 <sup>a</sup>

1) 1 white rice flour 100% with 48% Moisture      4 SRB15%+RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 70% with 48% Moisture      7 RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85% with 42% Moisture  
2 SRB15%+white rice flour 85% with 48% Moisture      5 white rice flour 100% with 42% Moisture      8 SRB15%+RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 70% with 42% Moisture  
3 RS<sub>4</sub>15%+white rice flour 85% with 48% Moisture      6 SRB15%+white rice flour 85% with 42% Moisture      9 SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture  
Each value represents mean±SD.      10 SRB7.5%+RS<sub>4</sub>7.5%+white rice flour 85% with 45% Moisture

2)<sup>a-i</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's

multiple range test.

**Table 24. Analysis of predicted model equation for Preference tests of *Garaetteok* prepared with rice bran powder and resistant starch**

Response )	Model	Mean± S.D	R <sup>2</sup>	F-value	Prob>F	Polynomial equation <sup>1)</sup>
Surface color	Quadrati c	6.92±0.05	0.9952	58.77	0.0168 *	Surface color=+7.40+0.27*X <sub>1</sub> <sup>1)</sup> -0.056*X <sub>2</sub> +0.045*X <sub>3</sub> +0.020*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> -0.0089*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.027*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> -0.59*X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
Smoothness	Quadrati c	5.98±0.12	0.9968	89.24	0.0111 *	Smoothness= +5.32-0.66*X <sub>1</sub> -0.5*X <sub>2</sub> +0.099*X <sub>3</sub> +0.77*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.062*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> -0.0063 *X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> +0.83 *X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
Off-flavor	Quadrati c	6.46±0.12	0.9901	28.64	0.0342 *	Off-flavor= +6.22+0.55*X <sub>1</sub> -0.16*X <sub>2</sub> -0.056*X <sub>3</sub> -0.16*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.02*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.02*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> +0.3*X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
Astringency	Quadrati c	5.67±0.28	0.9879	23.32	0.0417 *	Astringency = +5.90-0.86*X <sub>1</sub> -0.40*X <sub>2</sub> -0.11*X <sub>3</sub> +0.82*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.11*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.034*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> -0.29 *X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
Salty	Quadrati c	5.30±0.06	0.9968	87.96	0.0113 *	Salty = +5.80-0.22*X <sub>1</sub> +0.17*X <sub>2</sub> +0.15*X <sub>3</sub> +0.31*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.049*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> -0.16*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> -0.63*X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
Delicate taste	Quadrati c	5.87±0.08	0.9962	74.43	0.0133 *	Delicate taste = +6.20+0.54*X <sub>1</sub> -0.25*X <sub>2</sub> -0.031*X <sub>3</sub> -0.11*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.10*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.14*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> -0.42 *X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
Hardness	Quadrati c	6.03±0.14	0.9908	30.85	0.0317 *	Hardness= +6.92-0.058*X <sub>1</sub> -0.022*X <sub>2</sub> -0.15*X <sub>3</sub> +0.34*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> -0.21*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.29*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> -1.11*X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
Adhesiveness	Quadrati c	5.92±0.029	0.9993	24.02	0.0024 **	Adhesiveness= +5.90+0.11*X <sub>1</sub> -0.10*X <sub>2</sub> -0.19*X <sub>3</sub> -0.26*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.26*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.34*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> +0.022*X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
Springiness	Quadrati c	5.22±0.044	0.9943	49.49	0.0199 *	Springiness= +5.00-0.19*X <sub>1</sub> -0.01*X <sub>2</sub> -0.16*X <sub>3</sub> +0.063*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.040*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.004*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> -0.28*X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
Moistness	Quadrati c	5.66±0.21	0.9669	8.34	0.1113	Moistness= +5.10+0.072*X <sub>1</sub> -0.32*X <sub>2</sub> +0.21*X <sub>3</sub> -0.090*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.13*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.23*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> -0.7*X <sub>1</sub> <sup>2</sup>

<b>Chewiness</b>	Quadratic	5.46±0.41	0.9209	3.33	0.2506	Chewiness= +5.10-0.38*X <sub>1</sub> -0.026*X <sub>2</sub> -0.025*X <sub>3</sub> +0.51*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> -0.029*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> +0.19*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> +0.44* X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
<b>roughness</b>	Quadratic	6.15±0.03	1.0000	3.40	<0.0001 ***	roughness= +6.10-0.57*X <sub>1</sub> -0.15*X <sub>2</sub> +0.11*X <sub>3</sub> +0.27*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.052*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> -0.019*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> -0.29*X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
<b>Overall quality</b>	Quadratic	6.50±0.044	0.9988	2.62	0.0041**	Overall quality= +7.23+0.13*X <sub>1</sub> -0.12*X <sub>2</sub> -0.16*X <sub>3</sub> +0.42*X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> +0.075*X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> -0.032*X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> -0.92*X <sub>1</sub> <sup>2</sup>

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>is Stabilized rice bran X<sub>2</sub> is cross-linked resistant starch X<sub>3</sub> is Moisture content

R<sup>2</sup>is coefficient of determination

\*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$



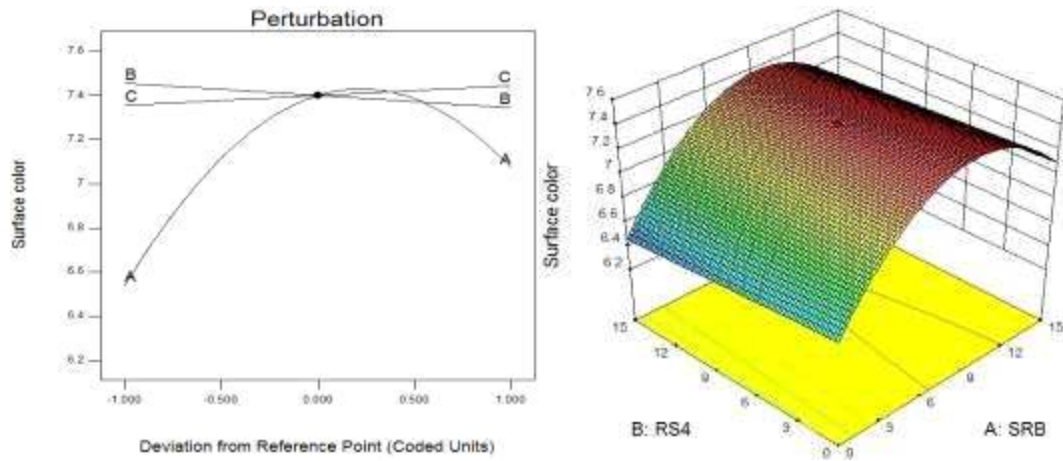


Fig. 44. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on surface color of *Garaetteok*

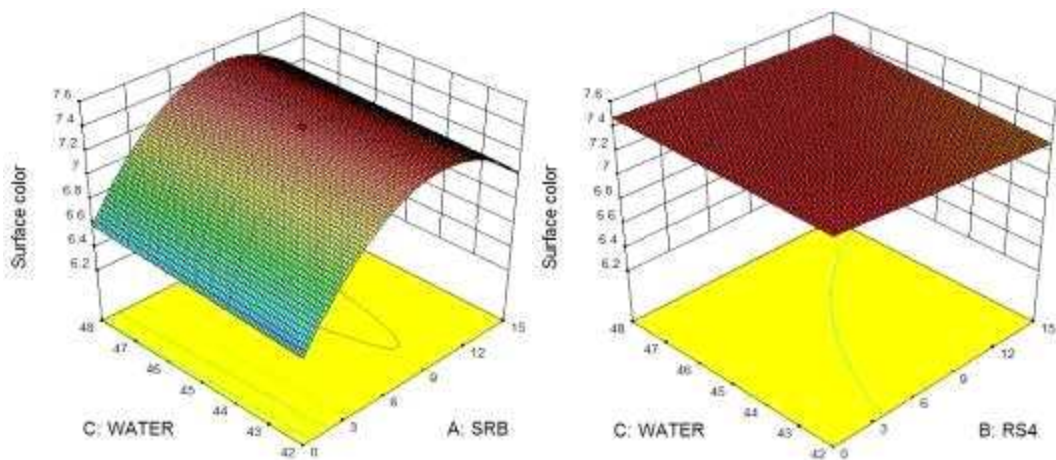


Fig. 45. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C),  $RS_4$  (B) and Water (C) on surface color of *Garaetteok*

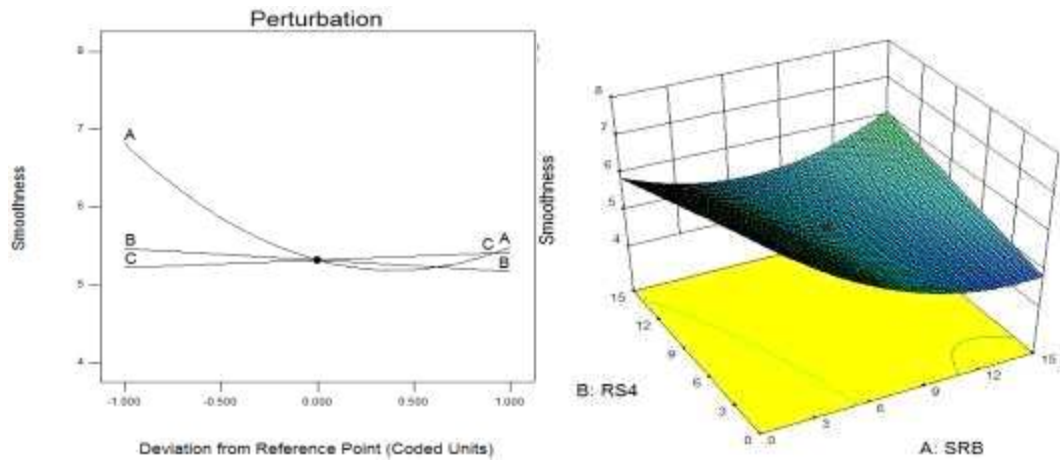


Fig. 46. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on smoothness of *Garaetteok*

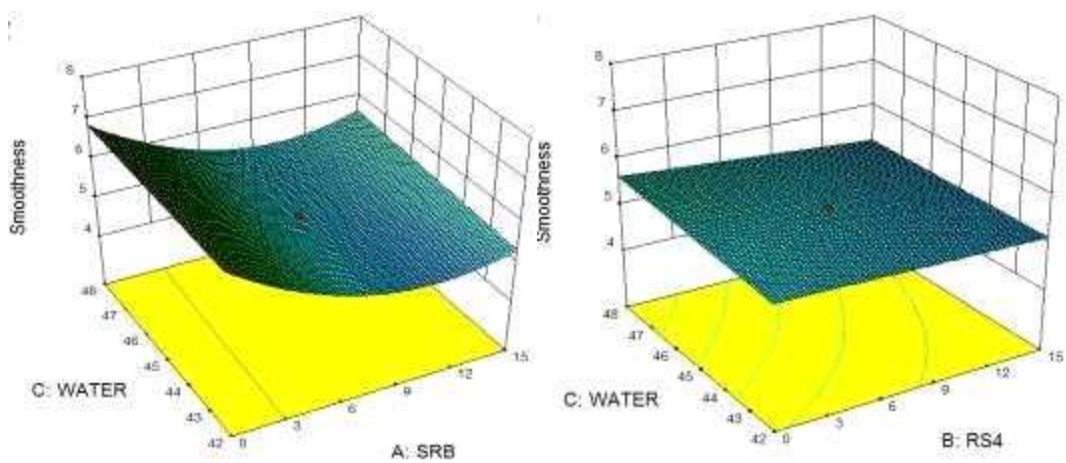


Fig. 47. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on smoothness of *Garaetteok*

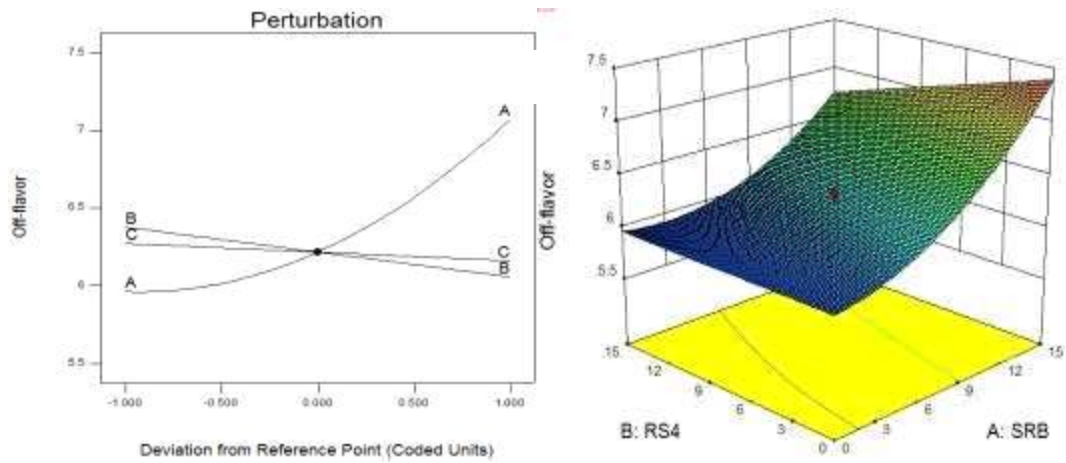


Fig. 48. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on off-flavor of *Garaetteok*

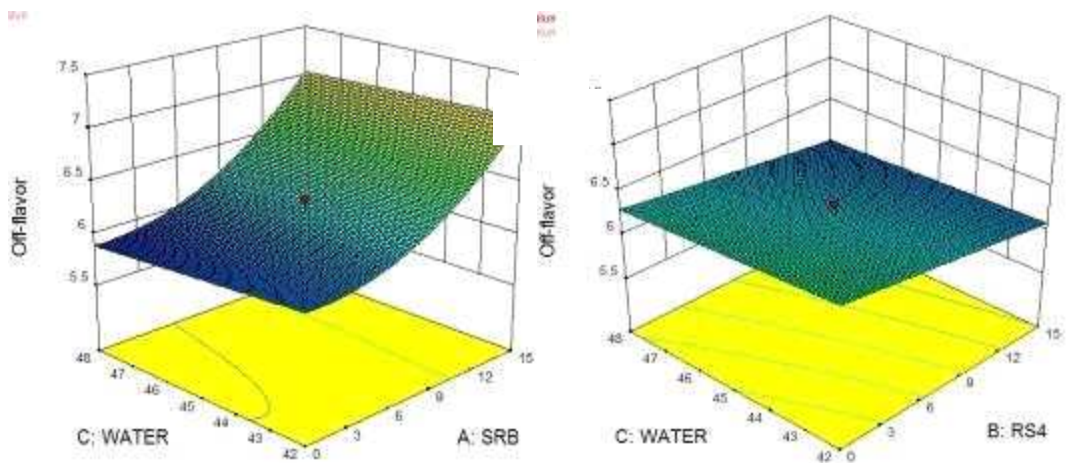


Fig. 49. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on off-flavor of *Garaetteok*

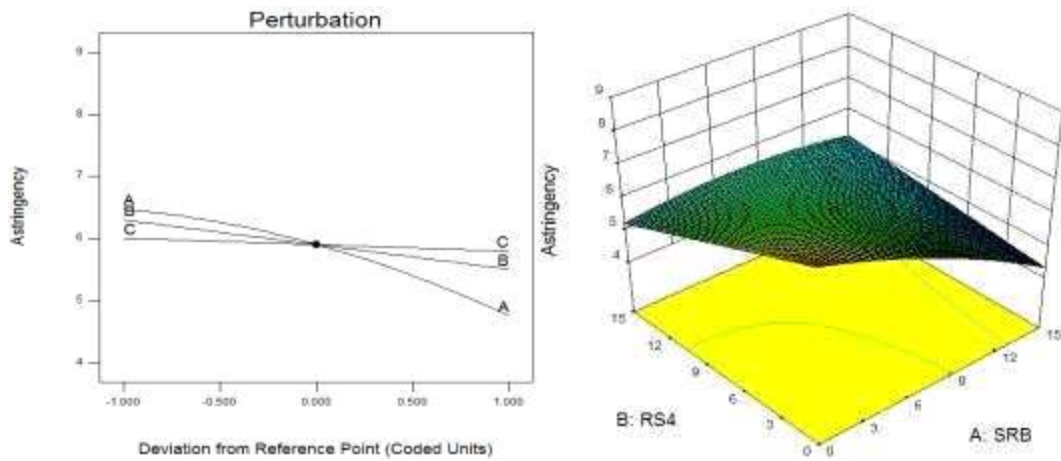


Fig. 50. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on astringency of *Garaetteok*

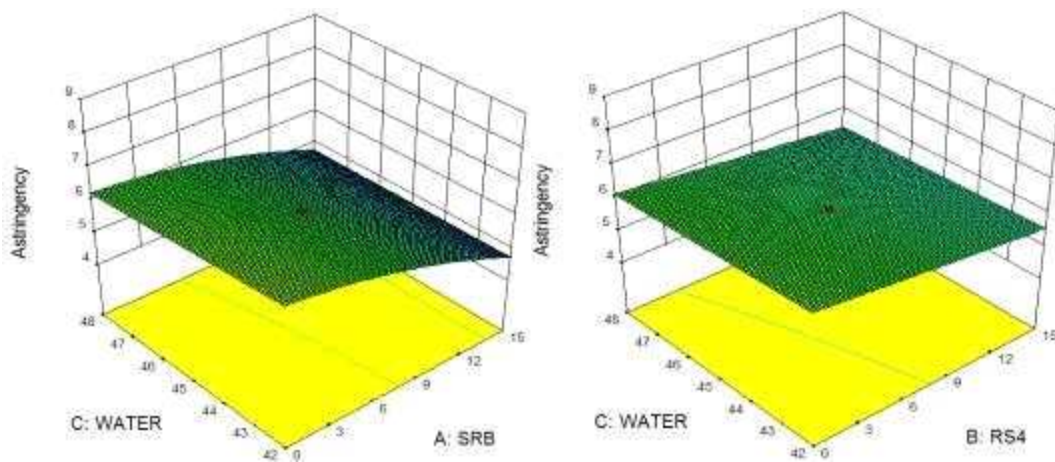


Fig. 51. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on astringency of *Garaetteok*

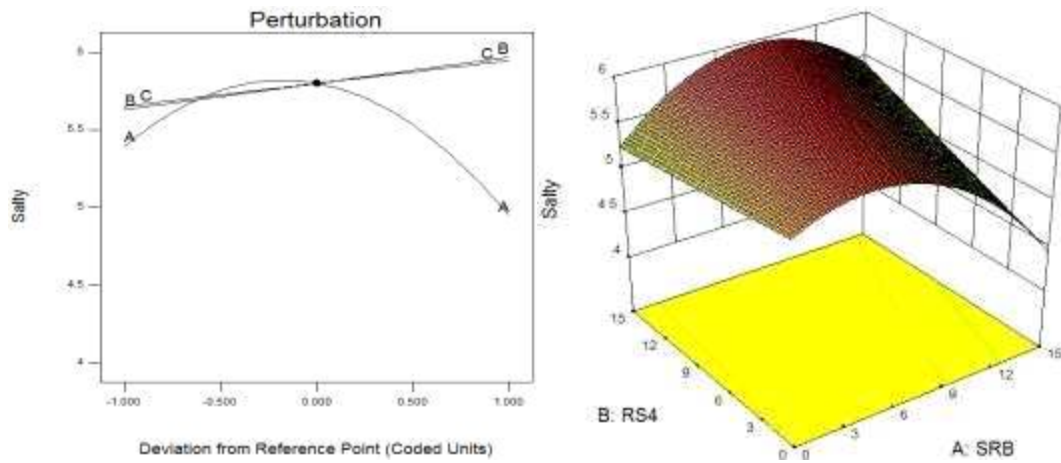


Fig. 52. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on satly of *Garaetteok*

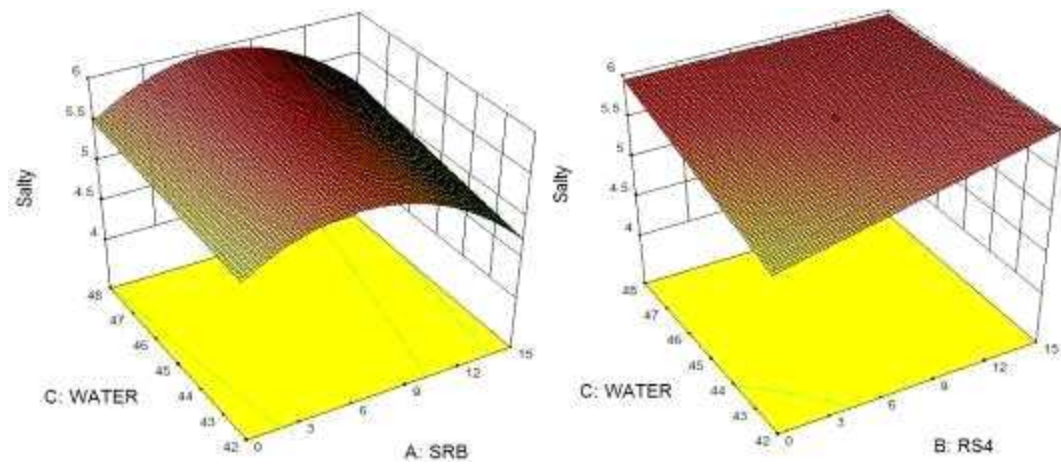


Fig. 53. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on satly of *Garaetteok*

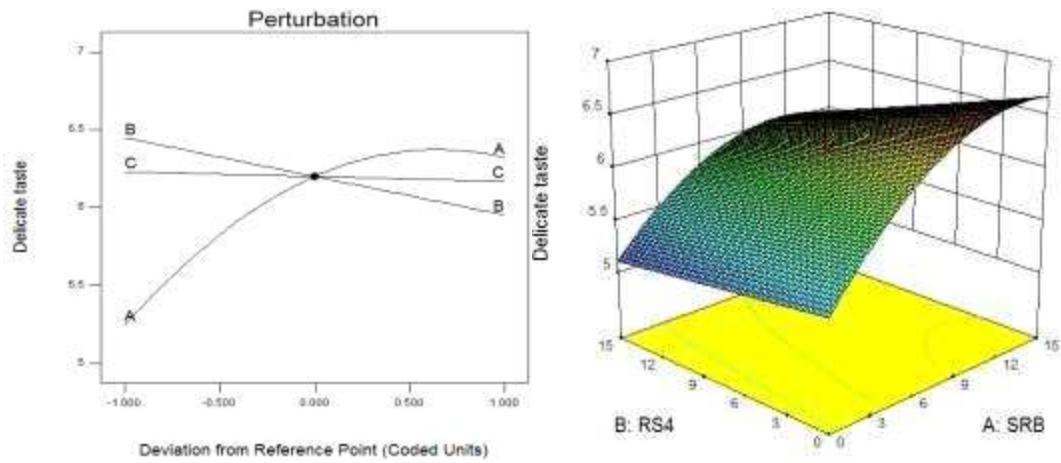


Fig. 54. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on delicate taste of *Garaetteok*

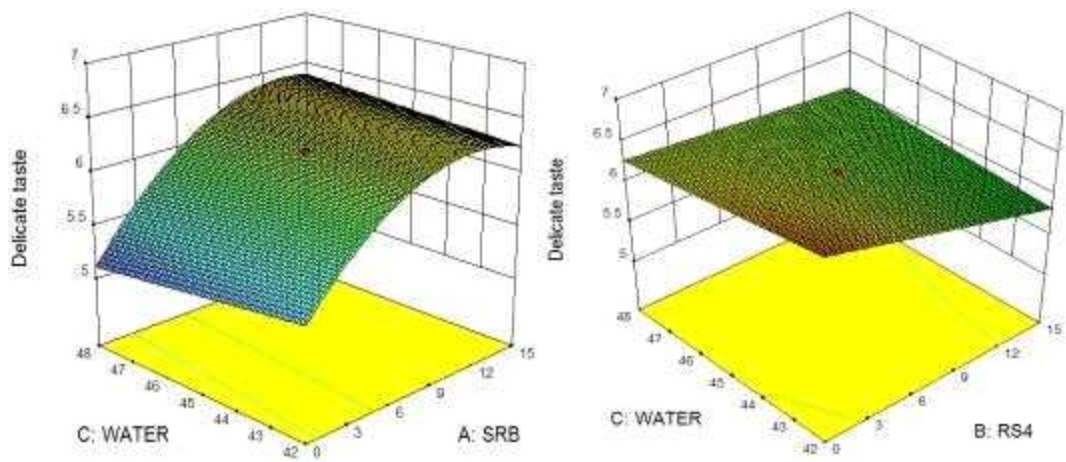


Fig. 55. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS4 (B) and Water (C) on delicate taste of *Garaetteok*

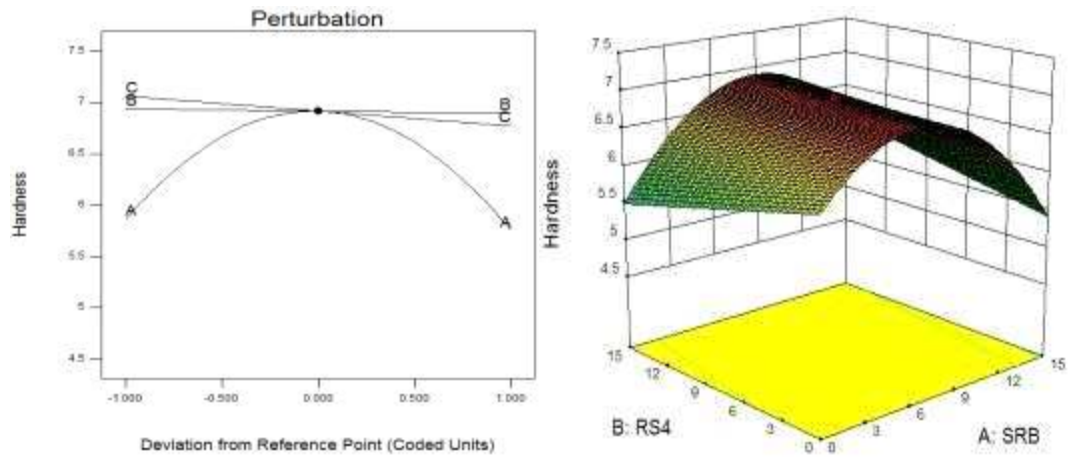


Fig. 56. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on hardness taste of *Garaetteok*

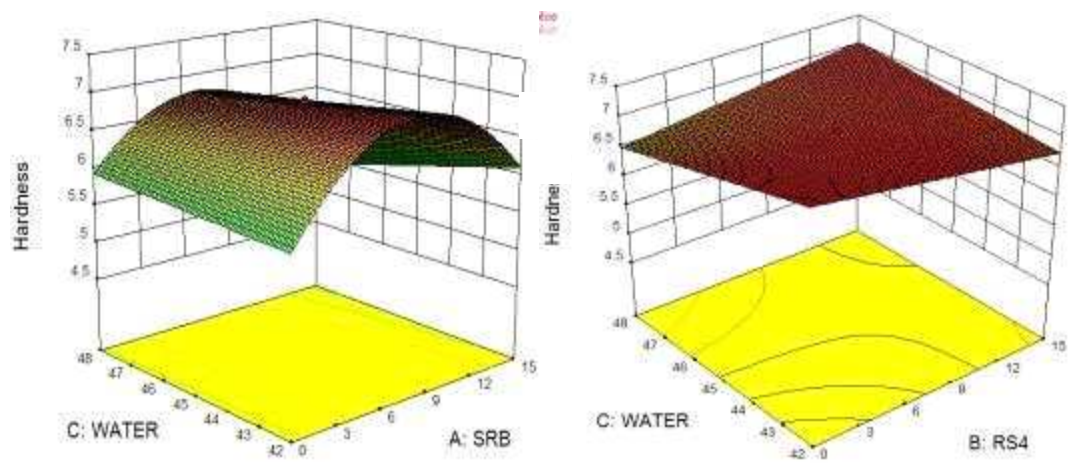


Fig. 57. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on hardness of *Garaetteok*

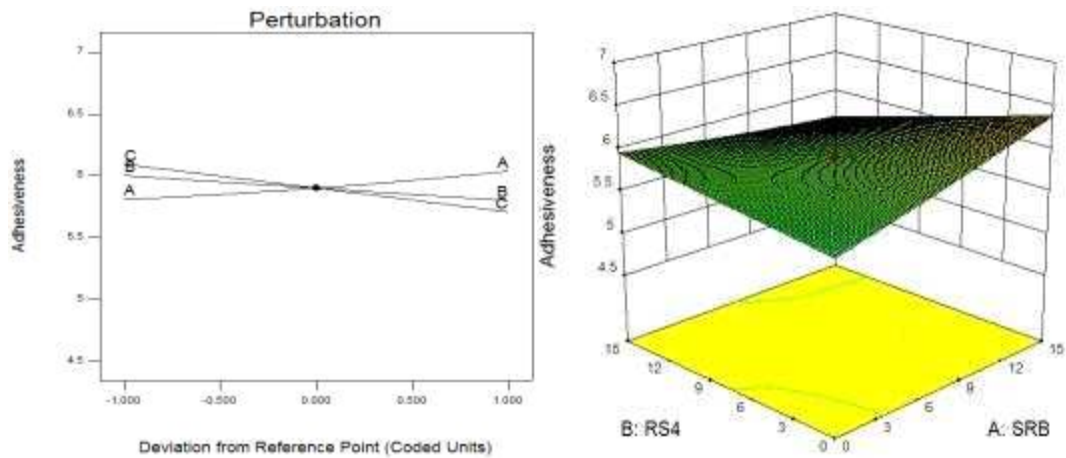


Fig. 58. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on adhesiveness of *Garaetteok*

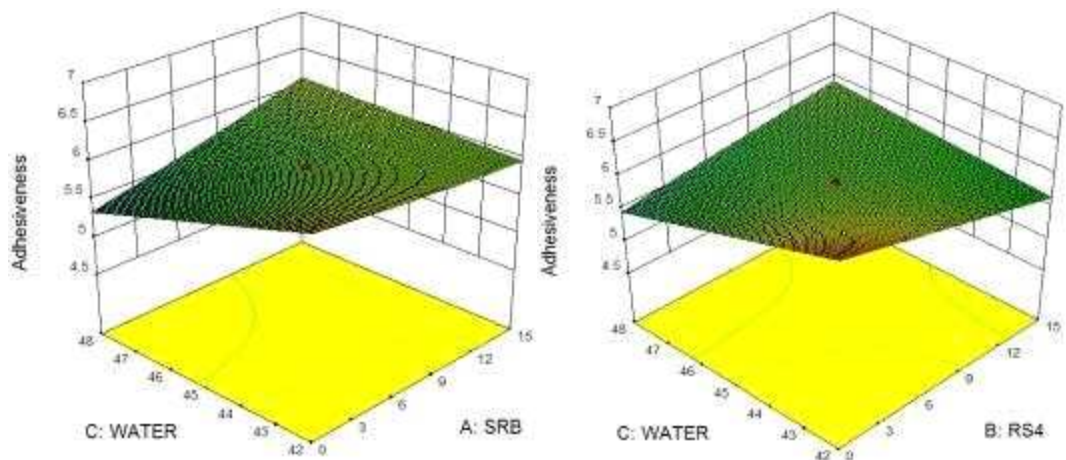


Fig. 59. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on adhesiveness of *Garaetteok*



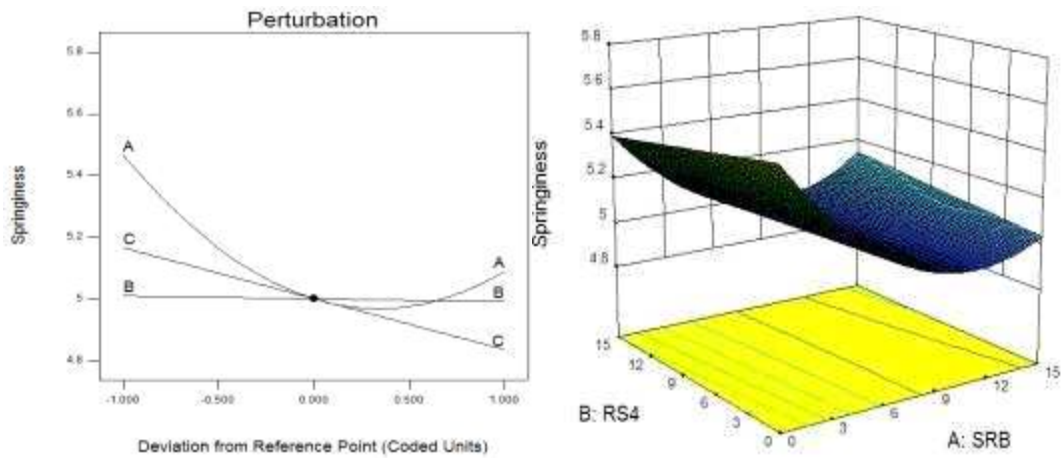


Fig. 60. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on springiness of *Garaetteok*

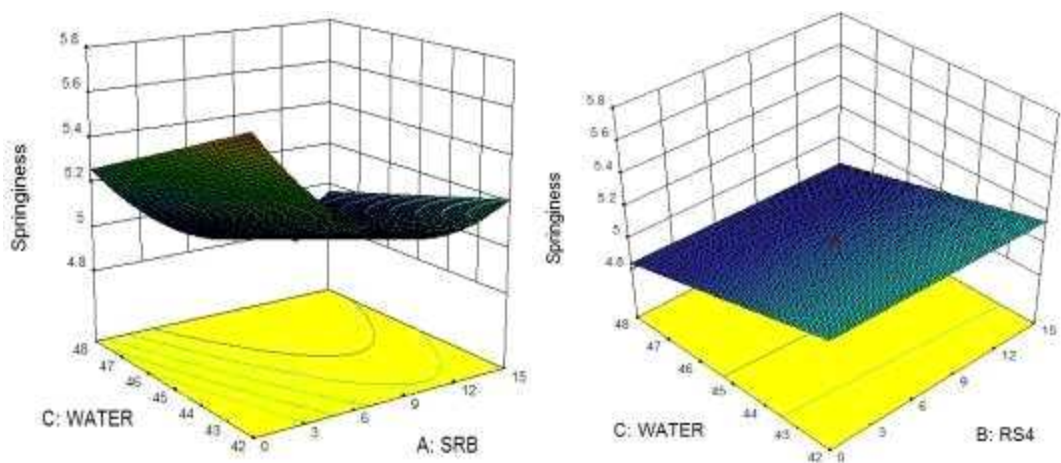


Fig. 61. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on springiness of *Garaetteok*

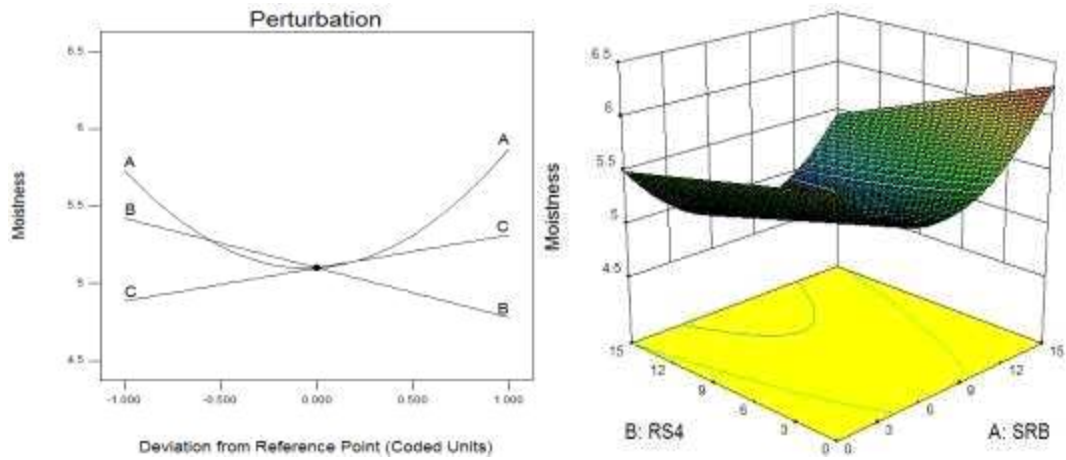


Fig. 62. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on moistness of *Garaetteok*

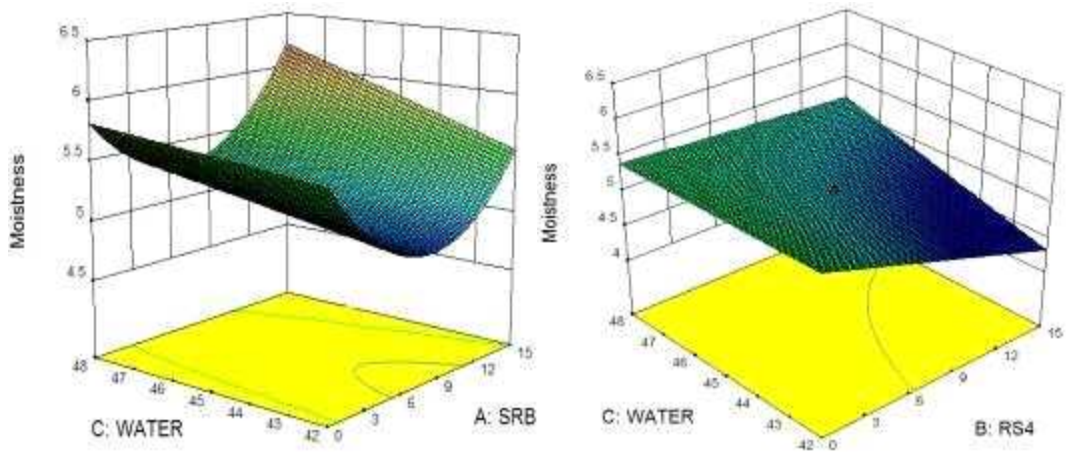


Fig. 63. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on moistness of *Garaetteok*

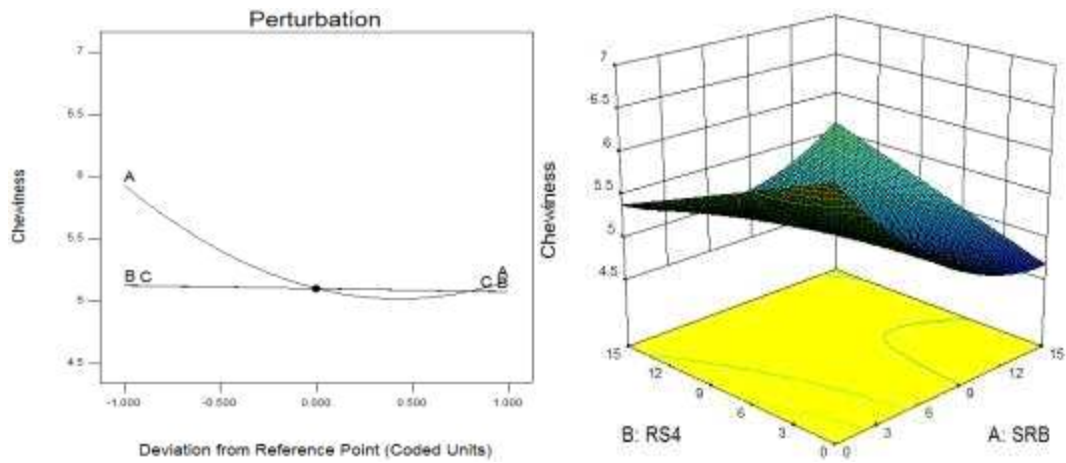


Fig. 64. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on chewiness of *Garaetteok*

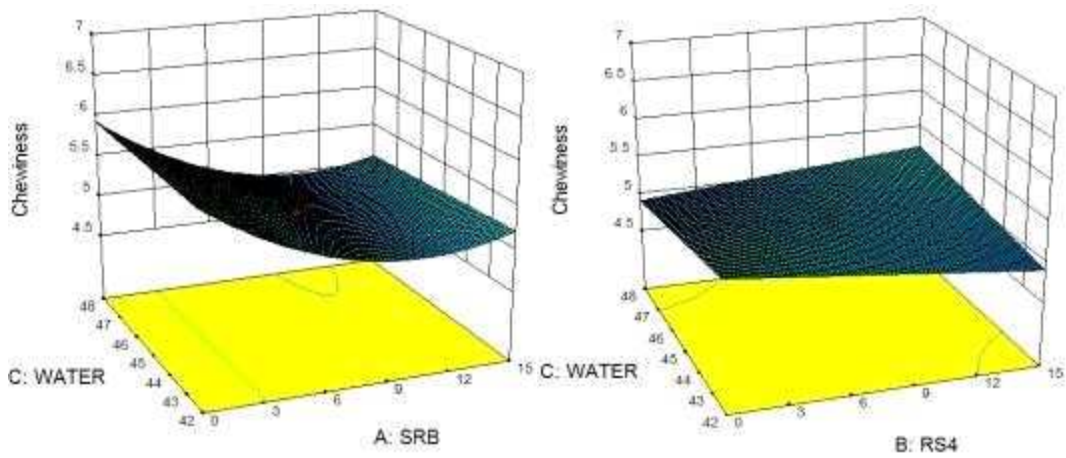


Fig. 65. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on chewiness of *Garaetteok*

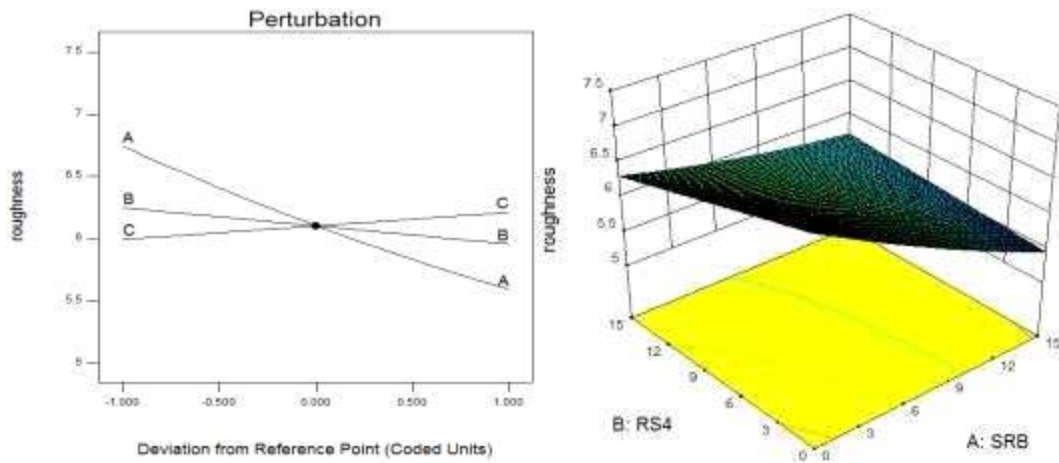


Fig. 66. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on roughness of *Garaetteok*

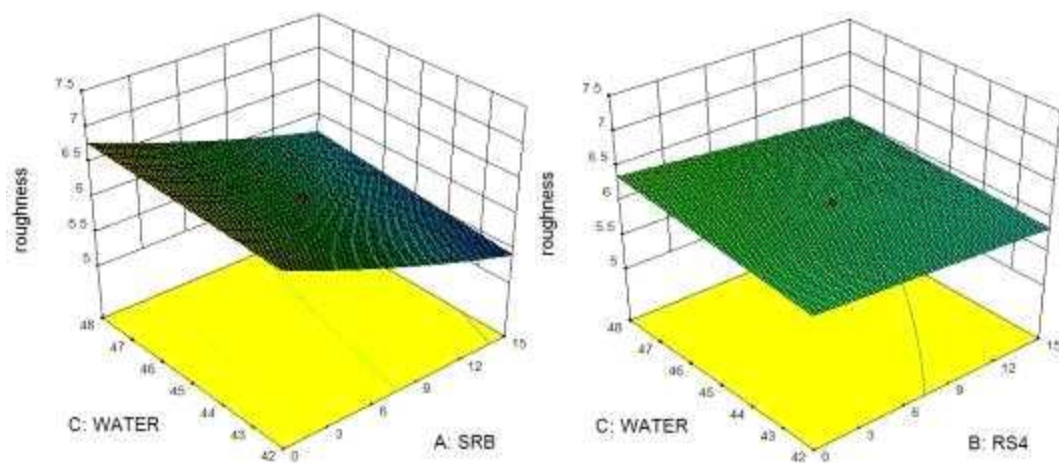


Fig. 67. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on roughness of *Garaetteok*

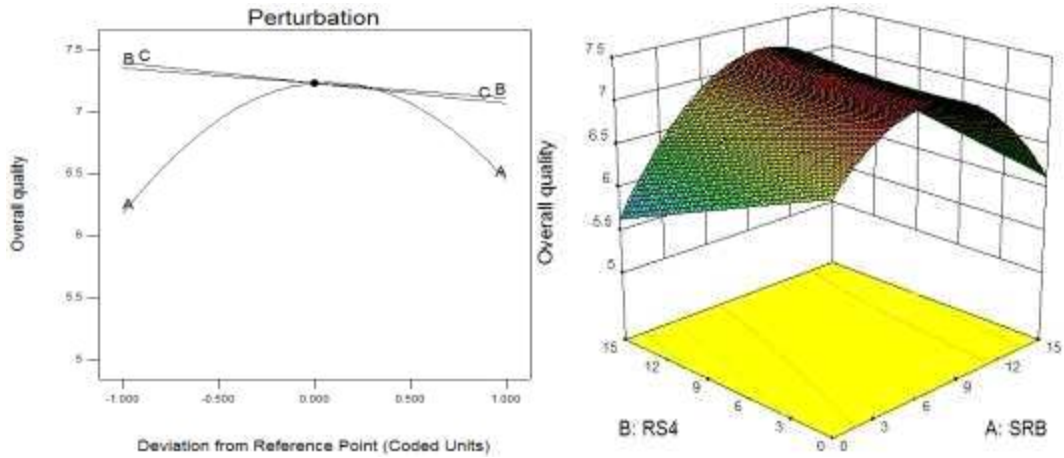


Fig. 68. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and RS (B) on overall quality of *Garaetteok*

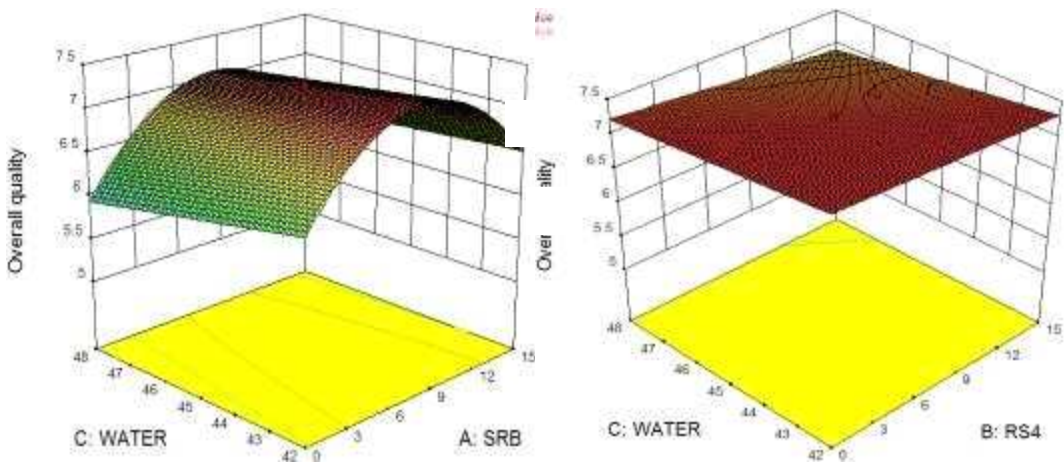


Fig. 69. Perturbation plot and response surface plot for the effect of SRB (A) and Water (C), RS<sub>4</sub> (B) and Water (C) on overall quality of *Garaetteok*

### (11) 가래떡 배합비의 최적화

쌀겨분말과 저항전분을 첨가한 가래떡의 제조조건 최적화는 3 개의 요인인 쌀겨분말, 저항전분, 수분함량 안에서 관능평가 항목 중에서 유의적인 결과를 나타낸 색, 맛, 촉촉함, 질감, 전반적인 기호도를 maximize로 설정하여 canonical model의 수치 최적화(numerical optimization), 지점 예측(point prediction)을 통해서 최고의 desirability를 나타낸 최적점을 선택하여 도출하였다.

이들의 contour map을 중첩하여 모두 만족시켜 주는 범위를 최적 조건으로 선정하였고, 나온 선들의 교집합을 각각의 독립변수의 최적의 조건으로 선정하였다.

이상의 예측된 최적 조건을 검증하기 위하여 최적 조건 범위내의 중간점 즉, SRB (A), 7.49915%, RS (B) 7.5043% and Water (C) 45.0004% (Fig. 70) 최적점으로 설정하였다.

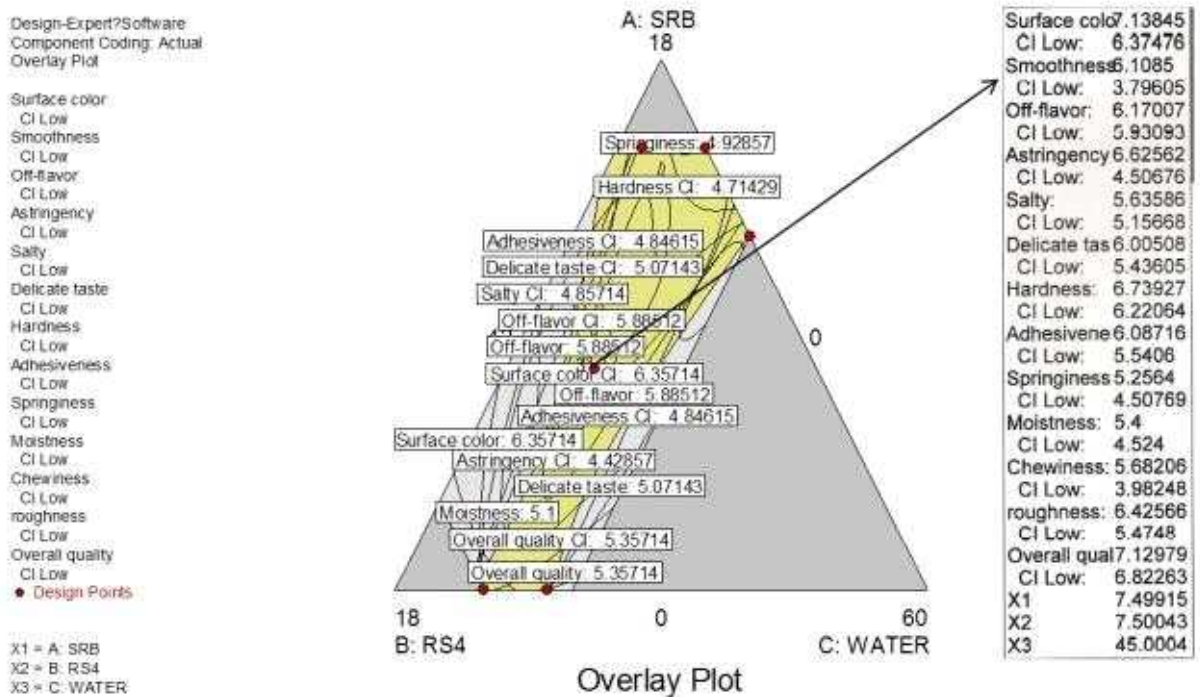


Fig. 70. Overlay plot of optimization *Garaetteok* added with SRB and RS

### 제 3 장 목표달성도 및 관련분야의 기여도

#### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

연구개발 목표	연구개발내용 및 대외 기여도	달성도 (%)
□ 3핵심 : 대사기능소재 및 쌀 가공제품 개발		
○ 물리화학적처리 병행 쌀 저항전분 제조	<p>대사기능개선 기능성 소재검토(현미, 유색미, 솔잎액)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 쌀가루의 제조</li> <li>• 일반성분, 이화학적 특성, 항산화 활성</li> </ul> <p>저항전분의 제조조건</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 저항전분(RS3)의 제조</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 식이섬유 함량</li> </ul> <p>대사기능이 우수한 솔잎액 혼합물 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 솔잎액, 분말 첨가량 실험</li> <li>• 쌀컵케이크, 쌀 마들렌 제조</li> <li>• 색도, 부피, 무게, 비체적, TA, 기호도조사, 제품의 항산화성 평가</li> </ul> <p>※ 본연구를 통해 솔잎을 첨가한 마들렌 논문1편과 저항전분을 첨가한 SCI논문으로 대사기능관련 식품 연구에 기여함</p>	100
○ 솔잎액 혼합물 이용 대사기능 개선 소재 개발	<p>현미 가루 및 미강분말의 안정화 및 이화학, 가공특성 실험</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 쌀가루의 제조</li> <li>• 일반성분, 이화학적 특성, 항산화 활성</li> <li>• 쌀겨의 안정화</li> <li>• 가래떡의 제조</li> <li>• 색도, TA, 기호도조사, 제품의 항산화성 평가</li> </ul> <p>쌀 저항전분의 제조 및 품질특성</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 저항전분의 제조</li> <li>• 일반성분, 이화학적 특성</li> <li>• 겔 제조, 호화특성</li> <li>• 색도, TA</li> </ul> <p>대사기능 소재를 이용한 쌀 가공제품 개발 및 품질평가(gluten free 쌀전빵, 가래떡)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 대사기능 소재를 이용한 쌀 가공제품 레시피 개발</li> <li>• 발효솔잎 쌀전빵</li> <li>• 오색 가래떡</li> </ul> <p>※ 본 연구 결과를 통해 글루텐 프리 제품 논문 1편과 저항전분을 이용한 논문 1편, 미강원료에 대한 특허 3건을 출원하여 대사기능 관련 식품 연구에 기여함</p>	100

○ 대사기능개선 쌀 가공 제품 개발	<u>대사기능소재 및 쌀 가공제품</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 가래떡의 품질평가</li> <li>• 2 차년 첨가량을 기준으로 레시피 확립</li> <li>• 가래떡 저장기간별 품질특성</li> <li>• 저장실험(미생물)</li> <li>• 관능평가</li> <li>• 최적 레시피 확립 RSM 통계분석</li> </ul> <p>※ 본 연구 결과를 통해 미강 안정화 분말을 이용한 가래떡 제조와 관련한 노하우를 기술이전 하였으며 논문 1편, 기타 교육등을 통해 대사기능 관련 식품 연구에 기여함</p>	100
------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----



## 제 4 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### ○ 논문성과

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분	impact factor
		주저자	교신저자	공동저자					
2012	솔잎분말과 추출물을 첨가한 쌀 컵케이크의 항산화성과 품질특성	김원지		신말식	한국식품 조리과학 회	28(5)	국내	비SCI	
2013	Properties of rice flour and jeolpyun added with cross-link ed resistant starch	신말식		신말식	Food Science and Biotechn ology	게재예정		SCI	1.223
2013	Improveme nt of the Quality of Gluten-free Rice Pound Cake Using Extruded Rice Flour	Sohee Jeong	Malshick Shin	Wie-Soo Kang	Food Sci. Biotechn ol	22(1)	국내	SCIE	
2013	Effects of Cross-link ed Resistant Rice Starch on the Quality of Korean Traditional Rice Cake	Chuansh un Ren	Malshick Shin		Food Sci. Biotechn ol	22(3)	국내	SCIE	
2014	솔잎분말과 생즙을 첨 가한 쌀 마 들렌의 항 산화성과 품질 특성	김원지		신말식	한국식품 영양과학 회지	43(3)	국내	SCIE	

### ○ 특허성과

출원된 특허의 경우				
출원연도	특허명	출원인	출원국	출원번호
2013	미강 안정화 방법	전남대학교산학협력단외1인	대한민국	10-2013-0053578
2013	안정화된 쌀겨와 쌀눈이용한 기능성 식품조성물과 그 제조방법	전남대학교산학협력단외1인	대한민국	10-2013-0053579
2013	안정화된 쌀겨와 쌀눈이용한 화장료 조성물과 그 제조방법	전남대학교산학협력단외1인	대한민국	10-2013-0053580

○ 인력양성 현황

연도	지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
		박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
2013	1		1				1			1
2014	1		1				1			1
2015	1		1				1			1

○ 홍보(신문, 방송, 저널 등)

연차	연도	홍보유형	매체명	제목	일시
1	2012	TV 방송	MBC 출발 모닝와이드	MBC 출발 모닝와이드 (5361회3부)	2012.09.07
1	2012	TV 방송	mbc생방송 오늘아침	(1587회) 힐링!건강주치의	2012.09.19

○ 산업기술인력 양성 성과

프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
gluten-free 쌀 가공제품 교육	gluten-free 쌀 베이커리 제품에 대한 홍보 및 셀리악 질병에 대한 교육	전남대 식품영양학과	4	8	110

gluten-free 식품제조를 위한 핵심 가공기술	Celiac disease and Gluten-free rice flour products substituted for wheat flour	서울 킨텍스 제2전시장 한국산업식품공학회	1	1	100
life care 소재 개발 전문인력 양성교육	Celiac disease and Gluten-free rice flour products	한국여성과학기술지원센터 호남제주권역사업단(전남대)	2	8	30
장애인들의 서비스 산업 취업 교육	gluten free 베이커리 제품 시연 및 교육	한국식품조리과학회(백석예술대)	1	4	10
여성과학기술인 연구발표회	Celiac disease and Gluten-free rice flour products	한국여성과학기술지원센터 호남제주권역사업단(남부대)	1	1	100
농업마이스터 가공교육	쌀 가공제품에 대한 교육및 실습	전남 농업마이스터대학 전남농업기술원	1	6	30
생활문화 양정 과정 교육	쌀의 우수성 이론교육 및 쌀 제품 실습 2가지 진행	전남대 식품영양학과	1	3	30
한글날 금안권역 행사	쌀을 이용한 쌀 절편 체험 및 교육	나주시 금안권역	1	4	50
여성과학인 자녀와 함께 교감놀이	쌀의 기본 이론 교육과 아이와 함께 하는 쌀 브라우니 케이크 만들기	전남대 식품영양학과	1	3	60
농식품 라이프 케어	쌀의 기본 이론 교육과 쌀의 가공법 및 활용법 교육	전남대 식품영양학과	1	6	20
학생 4-H 양성 교육	쌀의 이론 교육과 쌀을 이용한 실습 교육	나주시 식품가공장	2	6	60

米사랑 키즈 쿠키 스교실	쌀을 이용한 꼬치요리 만들기 학부모 및 어린이 교육	전남대 식품영양학과	1	4	60
남구청“안전체험 행사”	안전식품 기본교육 및 쌀 쿠키 만들기교육	광주 남구청	1	6	100

○ 학회 포스터

⊙ 2012 한국식품과학회 포스터

김원지, 오송민, 신말식 (Quality properties of rice flours with different contents of pine needle powder and extract)

⊙ 2012 조리과학회 포스터

김원지, 김지명, 신말식 (Antioxidative activity and Quality characteristics Garaedduk prepared with brown rice flour and stabilized rice bran)

⊙ 2013 여성과학기술인 연구발표회

김지명, 이승현, 윤희라, 신말식(입자크기를 달리한 쌀가루의 이화학적 특성과 컵 케이크의 제조) - 우수포스터상

⊙ 2013 한국식품과학회 포스터

김지명, 노준희, 우맹영, 신말식 (Quality Characteristics of Steamed Rice Bread Using Different Flour Mix Proportioning and Fermentation Conditions)

⊙ 2013 한국식품과학회 포스터

노준희, 김지명, 장재인, 신말식 ( Effects of Adding Biomaterials with High Dietary Fiber to Garadduck on its Quality and Physical Properties)

⊙ 2013 한국식품과학회 포스터

우맹영, 김지명, 노준희, 신말식 ( Quality Properties of Rice Starch Gels Added with Cross-linked Rice Resistant Starch)

⊙ 2014 한국식품과학회 포스터

장재인, 김지명, 신말식(Improvement of quality of traditional rice cake added with stabilized rice bran and resistant starch mixture by semi milling)

⊙ 2014 한국식품영양과학회 포스터

장재인, 신말식(Improvement of quality of traditional rice cake added with stabilized rice bran and resistant starch mixture by semi milling)

## 제 5 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### ● 일본의 쌀 가공산업 현황

- 일본의 전체 쌀 생산량의 약 15%가 가공용으로 소비하고 있으며 전 세계적 추세와 더불어 일본에서의 쌀 소비량도 지속적으로 감소되고 있고, 2000년 이후 전체 쌀 가공식품 생산량은 정체되어 있으나, 주식용쌀과 별도로 가공용 쌀시장이 형성되어 있고, 최근 미세 쌀가루 등 다양한 제품에 응용가능한 미분기술의 발달로 점차 수요가 증가하고 있는 추세임
- 일본의 업체들은 미세한 쌀 분쇄법을 개발하여 양질의 쌀가루를 제조할 수 있는 능력을 보유하고, 제조공정의 매뉴얼화, 프로그램화를 통하여 제조하고 있으며 미세한 쌀 분쇄기술은 쌀가루제품 보급에 기여할 것으로 기대
- 국제 밀가루 가격의 급등과 함께 일본의 밀가루 가격도 동반상승하여 쌀가루에 대한 관심 증가, 과거 쌀과자, 경단을 만드는 정도에 사용되었던 쌀가루의 용도를 밀가루를 대체할 수 있는 빵, 케이크, 면류, 일반 스낵류 등으로 확대하고 있음
- 일본의 음식 체인점과 편의점에서는 쌀 빵을 판매하고 있으며, 100% 쌀가루로 만든 면을 출시하였고, 주류 제조회사들이 발효 쌀을 이용해 기초 화장품을 만들어 인기를 얻고 있음
- 일본의 쌀 가공식품이 발달하게 된 것은 정부의 지원이 큰 비중을 차지하고 있으며 쌀의 수급조정, 비축운영 드을 통해 유통의 합리화를 위해 쌀 관리시스템을 구축, 쌀가루 소비를 촉진하기 위해 2009년 6월에 쌀가루 관련 설비투자과 생산을 지원하는 제도를 도입
- 일본의 쌀 가격도 1994년 60kg들이 23,506엔을 정점으로 2007년 14,635엔으로 크게 떨어져 쌀 가공식품이 확대되는데 기여, 쌀가루를 이용한 새로운 가공제품과 가정에서 간편하게 만들 수 있는 편의식 메뉴를 점진적으로 보급하는 등 다양한 노력을 기울이고 있음
- 식품시장의 한 트렌드인 'Free-from'현상은 일반적으로 기피하는 식품으로서 밀, 글루텐, 옥수수, 유제품, 감자, 땅콩, 유전자변형식품 등이 거론되고 있으며 미국의 시장조사회사 Packaged Facts가 발행한 '글루텐 프리식품 시장의 세계적 현황과 발전'(The Gluten-Free Food and Beverage Market: Trends and Developments Worldwide-2)에 의하면 2008년 세계 Gluten-Free(GF) 시장규모는 15억6천만\$로서 지난 4년간 연평균 28%성장되었고, 2012년에는 26억\$로 예상하였음.
- 코트라에 따르면 미국인의 1%가 글루텐으로 소아지방변증(Celiac disease)을 앓고 있으며, 90%가 음식 알레르기를 보유하고 있으며, 글루텐 프리 식품 시장은 올해 100억 달러 고지를 넘어선 뒤, 2016년까지 156억 달러로 48% 성장할 것으로 전망됨. (헤럴드 경제, 2014.08.13. 김성훈)
- 시장조사업체 NPD그룹이 지난달 실시한 설문조사에 따르면 식사를 할 때 글루텐을 피한다는 응답자 비율은 전체의 29.4%로 4년 전 25.5%에 비해 3.9%포인트 늘었고, 글루텐 프리 시장은 지난해 230억달러 규모로 성장, 4년 새 2배 이상 불어나며 그 인기를 증명함.
- 미국 식품의약국(FDA)이 지난 2007년부터 글루텐 함량이 20ppm 미만이면 글루텐 프리로 표기할 수 있도록 규정 완화를 추진하면서 업계의 글루텐 프리에 대한 관심이 높아짐.

- 세계 최대 식품 업체중 하나인 제네럴밀스는 글루텐 프리라고 표시한 상품을 600개 이상 출시했고, 그중 대표적인 시리얼 상품인 ‘첵스(Cheex)’는 2008년 출시 후 매년 판매 신장을 거듭하고 있음.
- 유기농 및 친환경 식품 전문회사인 하인 셀레셜 역시 최근 글루텐 프리 치킨 너겟, 소스, 허브 차 등 100개의 신상품을 내놓는 등 글루텐 프리 식품이 계속해서 증가하는 추세임.
- 최근 미국내 글루텐 프리 시장이 현대인의 건강한 삶과 다이어트에 대한 요구로 글루텐 프리 식품 시장은 105억 달러 규모로 성장할 전망이다.(LA중앙일보, 2014.08.05, 이성연)
- 시장 조사기관 민텔(Mintel)에 따르면 지난해 글루텐 프리 식품 시장은 빵, 과자가 25억 달러, 유제품 22억 달러, 음료수가 19억 달러가 판매된 것으로 조사됨.
- 미국의 셀리악병으로 진단된 환자는 4~6만 명, 미진단 환자는 150~300만 명에 이른다. 예상보다 훨씬 많은 만성소화 장애나 글루텐 과민증으로 고통 받는 사람들이 능동적으로 GF 식품을 찾고 있으며 일반 소비자도 GF 식습관이 건강하다고 믿는 사람이 늘고 있고 ‘건강/자연식품 마케터는 GF마케터로 전환되는 추세’라고 보고 있음.
- 국외의 경우 웰빙과 건강을 추구하는 소비자의 요구와 맞물려 글루텐 프리 시장이 형성되어 있으며, 특히 글루텐 프리 식품 소비자는 35%가 건강을 위해 27%가 다이어트를 위해 21%가 탄수화물 섭취를 줄이기 위한 목적이다. 또한 글루텐에 과민 반응을 보이는 가족이 있는 소비자는 15%에 달하고 있음.

## 제 6 장 참고문헌

- Sievert, D. and Pomeranz, Y.: Enzyme-resistant starch I.: Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. *Cereal Chem.* 68:342-347(1989)
- 문세훈: 옥수수 저항전분의 개발, ○○대학교 박사학위 논문(2001)
- 정소희: 글루텐 무첨가 쌀 파운드 케이크 품질개선에 압출성형쌀가루 효과(2012)
- Kim JO, Kim WS, Shin MS. 1997. A comparative study on retrogradation of rice starch gels by DSC, X-ray and alpha-amylase methods. *Starch* 49: 71-75
- Kim MJ, Ahn JH, Choi KH, Lee YH, Woo GJ, Hong EK, Chung YS. Effects of pine needle extract oil on blood glucose and serum insulin levels in db/db mice. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 35: 321-327, 2006
- Moon, J.J. (1993) Studies on antitumor effects of pine needle, *pinus densiflora sieb et Zucc.* Master thesis. ○○○ University of Korea
- Hu C, Zawistowski J, Ling W, Kitts DD. 2003. Black rice (*Oryza sativa* L. indica) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model system. *J. Agric. Food Chem.* 51: 5271-5277
- Javanovic S, Steenken S, Simic M, Hara Y. 1998. Antioxidant properties of flavonoids: Reduction potentials and electron-transfer reactions of flavonoid radicals. In: *Flavonoids on health and disease.* Rice-Evans C, Packer L, eds. Dekker, NY, USA. pp. 137-161
- Kong SH, Choi YM, Lee S, Lee JS. 2008. Antioxidant compounds and antioxidant activities of the methanolic extracts from milling fractions of black rice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 815-819
- Kim JO and Shin MS. 2003. Effects of RS3 type resistant starch prepared from nonwaxy rice starch on the properties of Injuli. *Korean J. SOC, Food. Cookery SCI.* vol. 19, No 1
- Choi CR, Kim JO, Lee SK, Shin MS. properties of fraction from waxy rice flour classified with particle size. *Food Sci. Biotechnol.* 10:54-58 (2001)
- Jeon JR, Kim HH, Park GS. 2005. Quality Characteristic of Noodles Prepared with Pine needle powder and extract during storage. *Korean J. SOC. FOOD COOKERY SCI.* 21(5): 685
- Jung, H.A.(2009) Sensory quality characteristics of cookies prepared with pine needle powder. *Korean J. Food preserv.,* 16. 506-511
- Lee, H.G and Kim, H.J.(2000) Sensory and mechanical characteristic of sang-ja-byung by different ingredient. *Korean J. Soc. Food. Sci.,* 16. 342-351
- Lee, H.G and Han, J.y. (2002) Sensory and textural characteristics of solsulgi using varied levels of pine leave powders and different types of sweeteners. *Korean J. SOC. FOOD COOKERY SCI.,* 18, 164-172
- Song JY, Shin M. 2007. Effects of soaking and particle sizes on the properties of rice

flour and gluten-free rice bread. *Food Sci Biotechnol* 16: 759-764

- Halick JV, Kelly VJ 1959. Gelatinization and pasting characteristics of rice varieties as related to cooking behavior. *Cereal Chem* 36: 91-96
- Shin MS, Kim WS 2007. The properties of Rice Flours Prepared by Dry- and Wet-Milling of Soaked Glutinous and Normal Grains
- Yoon HH, Park YM, Kim MH 2012. Quality characteristics of Sulgidduck added with purple sweet potato. *Korean J. SOC. FOOD COOKERY SCI.* 18(1). 54-56
- 심영현, 유창희, 차경희 : 솔잎을 첨가한 증편의 관능적, 이화학적 품질 특성, 서울여대 자연과학대학 논문집, 제 12집, 2000
- 강인희. 한국의 맛. 대한교과서주식회사. p11. 서울. (1967)
- 식품의약품안전청. [www.kfda.go.kr](http://www.kfda.go.kr) (2012)
- AACC Approved AACC Method 10th ed. American Association of Cereal Chemists St. Paul, MN. (2000)
- AOAC. Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC, USA (2000)
- Anil Kumar, S. Khatoon, D.S. Prabhakar, A.G. Gopala Krishna. Effect of cooking of rice bran on the quality of extracted oil. *J. of Food Lipids*, 13 (4):341 - 353 (2006)
- Bae YJ, Hong JS. The quality characteristics of sulgidduk with added with buchu powder during storage. *J. East Asian Soc. Dietary Life* 17(6): 827-833 (2007)
- Baixauli R., A. Salvador, S. Martinez-Cervera, S.M. Fiszman. Distinctive sensory features introduced by resistant starch in baked products. *Food Sci. and Technol.*, 41:1927 - 1933 (2008)
- Boca Raton, Florida S.S. Cho, P. Samuel (Eds.). *Fiber Ingredients Food Applications and Health Benefits* 305 - 321 (2009)
- Buttriss and Stokes, J.L. Buttriss, C.S. Stokes. Dietary fibre and health: An overview British Nutrition Foundation, *Nutrition Bulletin*, 33: 186 - 200 (2008)
- B. Burton. Symposium: Dietary composition and obesity: Do we need to look beyond dietary fat *Journal of Nutrition*, 130 (25): 272 - 274 (2000)
- Caballero, M. Gómez, C.M. Rosell. Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzyme combination. *J. Food Eng.* 81:42-53 (2007)
- L. Cara, P. Borel, M. Armand, H. Lafont, G. Lesgards, D. Lairon. Milling and processing of wheat and other cereals affect their capacity to inhibit pancreatic lipase in vitro *Journal of Food Science*, 57:466 - 469 (1992)
- Carrol, Functional properties and applications of estabilized rice bran in bakery products. *Food Technology*. Abril: 74-76 (1990)
- Chae KY, Hong JS. Quality characteristics of sulgidduk with different amount of waxy sorghum flour. *Korean J. Food Cookery Sci.* 22(3): 363-369 (2006)
- D. Charalampopoulos, R. Wang, S.S. Pandiella, C. Webb Application of cereals and cereal components in functional foods: A review *International Journal of Food*



Microbiology, 79: 131 - 141 (2002)

- M.H. Chen, C.J. Bergman. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and  $\gamma$ -oryzanol contents Journal of Food Composition and Analysis, 18(2-3):139 - 151 (2005)
- Cho KR. Quality characteristics of seolgidduk added with broccoli powder. Korean J. Food Nutr. 22(2): 229-237 (2009)
- Cho MK, Lee WJ. Preparation of high-fibre bread with barely flour. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 702-706 (1996)
- Cho YH, Woo KJ, Hong SY. The studies of Jeung-pyun preparation. Korean J. SOC. Food SCI. 10(4):322-328 (1994)
- Choi CR. The properties of rice flours and Garaedduk with resistant starches. Ph D. Thesis Graduate school of ○○○ University (2002)
- Choi CR, Kim JO, Lee SK, Shin MS. Properties of fraction from waxy rice flour classified with particle size. Food Sci. Biotechnol. 10: 54-58 (2001)
- Choi EH. Quality characteristics of *Garaedduk* with raw rice bran. Korean J. Culinary Res. 15(1): 94-104 (2009)
- Choi EH, Lee JH. Quality characteristics of *Garaedduk* with roasted rice bran. Korean J. Culinary Res. 16(5): 277-286 (2010)
- Choi HI, Lee BK, Kin SJ. Study on the nutritional compounds of non-fermented rice bran and fermented rice bran. Korean J. Food Nutr. 23(1): 1-7 (2010)
- Choi YS, Choi JH, Han DJ, Kin HY, Lee MA, Kim HW, Jenong JY, Kim CJ. Characteristics of low-fat meat emulsion systems with pork fat replaced by vegetable oils and rice bran fiber. Meat Sci. 82: 266-271 (2009)
- Y.S. Choi, J.H. Choi, D.J. Han, H.Y. Kim, M.A. Lee, E.S. Lee et al. Effects of rice bran fiber on quality of low-fat tteokgalbi Food Science and Biotechnology, 17 (5): 959 - 964 (2009)
- Y.S. Choi, J.Y. Jeong, J.H. Choi, D.J. Han, H.Y. Kim, M.A. Lee et al. Effects of containing dietary fiber extracted from rice bran on quality characteristics of emulsion-type sausages Korean Journal of Food Science Animal Resource, 28(1):14 - 20 (2008)
- Chun shun, Ren. Properties of Rice Flour and Jeolpyn Addedd with Cross-linked Resistant Starch. Mater thesis Grsduate school of ○○○ University (2011)
- Ciclitira, M.W. Johnson, D.H. Dewar, H.J. Ellis. The pathogenesis of celiac disease Molecular Aspects of Medicine, 26:421 - 4585. (2005)
- J. Cummings Cancer of the large bowel H. Trowell, D. Burkitt, K. Heaton (Eds.), Dietary fibre, fibre depleted foods and diseases, Academic Press, London 161 - 184 (1985)
- Delahate EP, Jumenez P, Perez E. Effect of enrichment with high content dietary fiber stabilized rice bran flour on chemical and functional properties of storage frozen pizzas.

- J. Food Eng. 68: 1-7 (2005)
- Dimitra M. Lebesi E-mail the corresponding author, Constantina Tzia. Use of endoxylanase treated cereal brans for development of dietary fiber enriched cakes.
  - Dreher, 1987 M.L. Dreher. Handbook of dietary fibre: An applied approach
  - Faccin GL, Vieira LN, Miotto LA. Chemical, sensorial and rheological properties of a new organic rice bran beverage. Rice Sci. 16(3): 226-234 (2009)
  - J.D. Fagan, T.R. Gormley. Effect of sous-vide cooking, with freezing, on selected quality parameters of seven fish species in a range of sauce European Food Research and Technology, 220: 299 - 304 (2005)
  - Gu SY, Lee HG. The sensory and textural characteristics of chicksulgi. Korean J. Food Cookery Sci. 17(5): 523-532 (2001)
  - Gropper, S. S., Smith, J. L., & Groff, J. L. Advanced nutrition and human metabolism (4th ed.). Belmont, CA: Wadsworth. (2005)
  - Halick JV, Kelly VJ. Gelatinization and pasting characteristics of rice varieties as related to cooking behavior. Cereal Chem. 36: 91-96 (1959)
  - Hu G, Huang S, Chen H, Wang F. Binding of four heavy metals to hemicelluloses from rice bran. Food Res. Int. 43(1): 203-206 (2010)
  - Hwang SJ, Kim JW. Effects of roots powder of balloonflowers on general composition and quality characteristics of sulgidduk. Korean J. Food Culture 22(1): 77-82 (2007)
  - T. Itani, M. Tamaki, E. Arai, T. Horino. Distribution of amylose, nitrogen, and minerals in rice kernels with diverse characters Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 5326 - 5332 (2002)
  - Jin YI, Hong SY, Kim SJ, Ok HC, Lee YJ, Na, JH, Yoon YH, Jeong JC, Lee SA. Comparison of antioxidant activity and amino acid components of mungbean cultivars grown in highland area in Korea. Korean J. Environ. Agr. 29: 381-387 (2010)
  - Jeon SB, Jeon JA, Jeong BG. Anti-oxidative activities and tyrosinase inhibition ability of rice bran ethanol extract. Korean J. Cosm. Soc. 16(2): 602-606 (2010)
  - Juliano BO. Polysaccharide, proteins and lipid In: Rice Chemistry and Technology, Juliano BO (ed.), AACC, MN, USA (1985)
  - Jung MC, Background levels and daily intake of As, Cd, Cu, Pb and Zn in white rice produced in Korea. Econ. Environ. Geol., 36(5): 357-363 (2003)
  - Kahlon TS, Chow FI, Sayre RN, Betschart AA. Cholesterol-lowering in hamsters fed rice bran at diverse levels, defatted rice bran and rice bran oil. J. Nutr 122(3): 513-519 (1992)
  - T.S. Kahlon. Rice bran: Production, composition, functionality and foods applications, physiological benefits, (2009)
  - Kang YS, Cho TO, Hong JS. Quality characteristics of sulgidduk containing added *Aralia elata* leaf powder. Korean J. Food Cookery Sci. 25(5): 593-599 (2009)
  - Kim BR, Choi YS, Lee SY. Study on breadmaking quality with mixture of

- buckwheat-wheat flour. J. Korean Soc. Food Nutr. 29: 241-249 (2000)
- Kim SL, Son YK, Rok J, Hur HS. Effect of germination condition and drying methods on physicochemical properties of sprouted brown rice. Korean J. Crop Sci. 46(3): 221-228 (2001)
  - Kim SR, Ahn JY, Ha TY. diverse properties and phenolic acid contents of rice and rice brans with different milling fractions. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 930-936 (2004)
  - Kim, Won ji. Improvement of Quality and antioxidative activity of *Garaedduk* prepared with stabilized rice bran and rice flours by mixture by semi - dry milling. Mater thesis Grsduate school of ○○○ University (2013)
  - P. Khuwijitjaru, P. Nualchan, S. Adachi. Foaming and emulsifying properties of rice bran extracts obtained by subcritical water treatment ○○○ University Science and Technology Journal, 1 (1): 7 - 12 (2007)
  - Kulp K, Lorenz K. Heat-moisture treatment of starches I. Physicochemical properties. Cereal Chem. 58: 46-52 (1981)
  - Lai P, Li KY, Lu S, Chen HH. Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from *Japonica* rice bran. Food Chem. 117: 538-544 (2009)
  - Lee JS, Cho MS, Hong JS. Quality characteristics of sulgidduk containing added tomato powder. Korean J. Food Cookery Sci. 24(3): 375-381 (2008)
  - Lee KS, Lee SR. Determination of dietary fiber content in some fruit and vegetables. Korean J. Food Sci. Technol. 19(4): 317-323 (1987)
  - Lee MK, Shin MS. Characteristics of rice flours prepared by moisture-heat treatment. Korean J. Food Cookery Sci. 22(2): 147-157 (2006)
  - Lee SK, Shin MS. Sensory and instrumental characteristics of corn and mung bean starch gels with additives. Korean J. Soc. Food Sci. 12(2):193-199 (1996)
  - Nicolsi RJ, Rogers EJ, Ausman LM, Ortheferm FT. Rice bran oil and its health benefits. Science and Technology, New York, 2: 422-437 (1994)
  - Marcel Dekker, New York Effect of enrichment with high content dietary fiber stabilized rice bran flour on chemical and functional properties of storage frozen pizzas. (1987)
  - Mann JI, Cumming JH. Possible implications for health of the different definitions of dietary fibre. Nutr. Metab. Cardiovas Dis. 19(3): 226-229 (2009)
  - Medcalf DF, Gilles KA. Wheat starches I. Comparison of physicochemical properties. Cereal Chem 42: 558-568 (1965)
  - Odes HS, Lazovski H, Madar SZ. Double-bind trial of a high dietary fiber, mixed grain cereal in patients with chronic constipation and hyperlipidemia. Nutr. Res. 13(9): 979-985 (1993)
  - Park HY, Kim BW, Jang MS. The effect of added barley sprout powder on the quality and preservation of sulgidduk. Korean J. Food Cookery Sci. 24(4): 487-493 (2008)
  - Park SJ, Kim JM, Kim JE, Jeong SH, Park KH, Shin MS. Characteristics of sweet potato powders from eight Korean varieties. Korean J. Food Cookery Sci. 27(2): 19-29

(2011)

- Park SJ, Ha KY, Shin MS. Properties and qualities of rice flours and gluten-free cupcakes made with higher yield rice varieties in Korea. *Food Sci. Biotechnol.* 21(2): 365–372 (2012)
- Park SJ, Kim JM, Kim JE, Jeong SH, Park KH, Shin MS. Characteristics of sweet potato powders from eight Korean varieties. *Korean J. Food Cookery Sci.* 27(2):19–29 (2011)
- Park YK, Kim HS, Park HY, Han GJ, Kim MH. Retarded retrogradation effect of *Garaetteok* with apple pumace dietary fiber powder. *Korean J. Food Culture* 26(4): 400–408 (2011)
- Prabhu A.V., Tambe S.P., Gandhi N.N., Sawant S.B., Joshi J.B.. Rice bran lipase: extraction, activity, and stability *Biotechnology Progress*, 15(6):1083 - 1089 (1999)
- Ramezanzadeh F.M., Rao R.M., Prinyawiwatkul W., Marshall W.E., Windhauser M. Effects of microwave heat, packaging, and storage temperature on fatty acid and proximate compositions in rice bran *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (2: 464 - 467 (2000)
- Sambucetti ME, Zuleta A. Resistant starch in dietary fiber values measured by the AOAC method in different cereals. *Cereal Chem.* 73:79–761 (1996)
- Sajilata M.G., Singhal R.S., Kulkarni P.R.. Resistant starch - A review *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5: 1 - 17 (2006)
- Schoch TJ. Whole starches and modified starches. In: *Methods on Carbohydrate Chemistry Vol. II* pp 106–108. Whistler RL. (ed). Academic Press. NY, USA (1964)
- Shin DS, Park HY, Han GJ, Kin MH, Quality characteristics of Garaetteok with different ratio of non-glutinous germinated brown rice flour. *Korean J. Food Cookery Sci.* 26(6): 853–859 (2010)
- Shin MS, Gang DO, An YH. Rice bread and the preparation of rice bread and thereof. *Korean Patent 0742572* (2007)
- Shin SH, Jung NJ. Variation of antioxidant and anticancer activities of hull and bran extracts in different colored rices. *Korean J. Breed. Sci.* 43(4): 218–224 (2011)
- Tanaka K, Hayatsu T, Negishi T, Hayatsu H. Inhibition of Nnitrosation of secondary amines in vitro by tea extracts and catechins. *Mutat Res*, 412:91 - 8 (1998)
- Thanonkaew A, Wongyai S, McClements DJ, Decker EA. Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on mechanical extraction yield, quality, and antioxidant properties of cold-pressed rice bran oil (*Oryza sativa* L.). *Food Sci. Technol.* 48: 231–236 (2012)
- Watchararuji K., GotoM., Sasaki M., Shotipruk A. Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal *Bioresource Technology*, 99 (14): 6207 - 6213 (2008)
- We GJ, Lee I, Cho YS, Yoon MR, Shin MS, Ko SH. Development of rice flour-based

puffing snack for early childhood. Korean J. Food Eng. 14(4): 322-327 (2010)

- Yang Z. Properties of retrograded RS3 prepared from diverse rice starches. Master thesis ○○○ University (2008)
- Yun HR. Properties of milled, brown and germinated brown rice flours and preparation of poundcake using them. MS. Thesis. Graduate School of ○○○ University. (2007)
- Yue P., Waring S.. Resistant starch in food applications Cereal Foods World, 43(9):690 - 695 (1998)

## 3-2 세부과제

### 요 약 문

I. 제 목: 인체적용실험을 통한 기능성 쌀 가공제품의 혈당대사연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

본 연구에서는 대사기능개선 쌀 가공용품개발을 위하여 in vitro 및 in vivo study를 통한 쌀 가공용품 소재의 기능성을 평가하고, 이를 동물실험을 통하여 검증하며, 최종 개발된 기능성 쌀가공 제품을 인체적용실험을 통하여 기능성을 검증하고자 하였음

III. 연구개발 내용 및 범위(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

본 연구는 3차년도 과제로 계획되었으며, 연도별 연구 내용 및 범위는 다음과 같음.

1차년도에는 최종 목표 달성을 위한 가장 기초적인 과정으로 적용 가능성이 있는 소재 발굴하고자 하였으며, 이를 위해 In vitro model을 통한 당대사 관련 기능성 평가 방법 확립, In vivo model 을 통한 지질대사 관련 기능성 평가 방법 확립, In vivo/vitro model을 통한 기능성 평가결과의 동물실험 적용조건 도출 및 개발된 인체적용시험을 위한 적용 범위 도출 기초 조사를 실시하였음.

2차년도에는 발굴된 소재의 적용가능성 검토를 위한 과정으로 1차년도에서 발굴된 소재(미강 및 솔잎)을 정상 및 질환 동물모델을 이용하여 혈당대사 개선 기능성을 평가하였음. 이를 위해 대사장애 유발을 위하여 고지방, 고당질 식이를 활용하였음. 본 연구과제가 쌀가공제품임에 동물실험모델에 쌀을 기초로한 식이적용모델을 도입하였음. 또한 발굴된 소재의 적용형태 및 제품개발에 적용가능성을 평가하였음.

3차년도에는 고지방/고당 식이유발대사 장애가 아닌 식이로 유도한 비유도성간질환동물모델을 사용하여 발굴된 소재의 기능성을 평가하였고, 발굴된 소재를 적용한 쌀가공제품을 이용하여 인체적용시험을 실시하여 그 효과를 판정하였음.

IV. 연구개발결과(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

본 연구에서는 혈당대사장애 개선 기능성 소재로 1차로 솔잎과 미강이 발굴되었으며, 최종적으로 미강을 소재로 선택하였음. 미강은 소재 자체로 고지방식이 및 고당 식이로 유도되는 혈당대사, 즉 공복시 혈당 및 인슐린저항성 개선효과를 확인하였음. 또한 비알콜성간질환에서 나타나는 혈당대사의 개선 효과도 확인 하였음. 그러나 동물실험에서 확인된 미강의 식이 혹은 제품 첨가 범위를 식품에 적용할 경우, 미강 고유의 특성으로 인하여 쌀가공제품의 수용도를 저해하였음. 이에 미강과 유사효과를 가진 것으로 파악된 RS를 병용하여 적용하였으며, 이 경우 쌀가공제품의 수용도는 높일 수 있었으나 식후 혈당대사 개선 효과는 유의하게 크지는 않았음.

V. 연구성과 및 성과활용 계획(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

본 연구과제를 통하여 미강이 식후 혈당 대사 및 관련 탄수화물 대사를 가지고 있음이 입증된 바, 이를 활용한 후속연구가 필요함. 미강 자체가 가지는 고유의 특성으로 인하여 가공제품 소재로 직접 사용할 경우 적용 한계가 예측되는 바, 미강 자체가 아닌 미강을 개발한 2차 소재(예를 들어 미강에 풍부한 식이섬유의 추출 혹은 활용한 제품 개발 등) 등의 후속연구 발굴에 활용할 것임. 일부 그 기능성이 인정된 RS에 대한 추가 연구에 본 연구결과를 기초자료로 활용할 것임.

## SUMMARY

The aim of this study is to investigate the functional materials for rice product with improving effect of metabolic disorder, especially blood glucose control. First, we choose the pine needle and rice bran as functional materials by in vivo and/or in vitro experimental models. However, we used mainly rice bran as functional materials for Rice bran. Rice bran, a by-product obtained during polishing of un-milled rice, contains a large quantity of essential nutrients such as minerals, vitamins, amino acids, antioxidants and large amount of fiber. In this study, we investigated the effect of stabilized rice bran addition as food materials on high fat, high sugar diet, well known to induce metabolic disorder, especially carbohydrate related disorder. Also we used mice model of atherogenic diet induced nonalcoholic steatosis, because it is known that nonalcoholic steatosis is associated with insulin resistance. The result from animal studies follows, bran could be considered functional additive material and in the manufacture of anti-obesity products, and 40% rice bran addition would be the physiologically effective level. Animal feeding diets containing 20% rice bran were improved insulin resistance and insulin secretion by decreasing triglyceride in liver. Stabilized rice bran extract may have improving effects of insulin resistance in mice model of atherogenic diet induced nonalcoholic steatosis. Also in human study, rice product (rice cake) containing 20% of rice bran or combination of rice bran and resistant starch showed improving postprandial glycemic control, although the effect is small. These results suggest that thus, rice bran has a positive effect on glycemic control. Also combined rice bran and resistant starch may be more beneficial effects for controlling glucose response than RS or RB alone. These results could be expected to be utilized as basis for human study and development of food products added with rice bran.

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절 연구개발의 목적

대사기능개선 쌀 가공용품개발을 위하여 in vitro 및 in vivo study를 통한 쌀 가공용품 소재의 기능성을 평가하고, 이를 동물실험을 통하여 검증하며, 최종 개발된 기능성 쌀가공 제품을 인체적용실험을 통하여 기능성을 검증하고자 함.

## 2절 연구개발의 필요성

구분	연구 필요성
1차 년도	본 연구 최종 목표 달성을 위한 가장 기초적인 과정으로 적용 가능성이 있는 소재 발굴 -In vitro model을 통한 당대사 관련 기능성 평가 방법 확립 -In vivo model 을 통한 지질대사 관련 기능성 평가 방법 확립 -In vivo/vitro model을 통한 기능성 평가결과의 동물실험 적용조건 도출 -개발된 인체적용시험을 위한 적용 범위 도출 기초 조사
2차 년도	발굴된 소재의 적용가능성 검토를 위한 기초과정-정상 및 질환 동물모델을 통한 기능성 평가 -In vivo model system을 이용한 기능성 쌀 가공제품 소재 및 개발 제품의 기능성 검증-정상 model -In vivo model system을 이용한 기능성 쌀 가공제품 소재 및 개발제품의 기능성 검증-질병 model -동물실험을 통해 얻어진 결과의 인체적용시험을 위한 적용 조건 도출
3차 년도	발굴된 기능성 소재의 적용 범위 연구 및 개발된 기능성 쌀 가공제품의 인체적용시험을 통한 기능성 평가 -천연소재 혹은 추출적용 시의 효과 범위 평가 -발굴 소재 적용한 쌀 가공제품의 인체적용시험을 통한 기능성 평가



### 3절 연구개발의 범위

#### 1차년도

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<p>쌀 가공제품 개발을 위한 대사개선 기능성 소재(조성물)의 탄수화물/지질 대사 기능성 검증</p> <p>-in vitro/,in vivo model</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 기능성 소재 검색 및 채택</li> <li>◦ in vitro에서 탄수화물/지질 분해효소 저해능 평가</li> <li>◦ positive control로 acarbose와 orlistate 사용</li> <li>◦ 정상 동물 model 이용하여 탄수화물/지질 흡수 저해 평가</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 기능성 소재로 솔잎 분말, 솔잎 착즙액 및 솔잎 추출물 채택</li> <li>◦ glucosidase 및 lipase activity 저해 효과 분석</li> <li>◦ ICR mice를 이용하여 선택된 소재의 경구당부하 반응을 통한 탄수화물 및 지질 흡수 저해 효과 분석</li> </ul>
<p>쌀 가공제품 개발을 위한 대사개선 기능성 소재(조성물)의 항당뇨 활성: in vitro model</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 세포: HIT cell: 췌장 베타세포</li> <li>◦ 5% FBS 세포 배지에 배양후 선택된 소재 처리 전 고지방/고당 stress 유도</li> <li>◦ 선택된 소재의 고탄수화물 스트레스에 대한 췌장 베타세포 보호 활성</li> <li>◦ 선택된 소재의 용매별 추출물의 고지방스트레스에 의한 췌장 beta 세포의 세포 사멸작용 차단효과</li> <li>◦ 선택된 소재의 발효처리 물에 대한 PA에 의한 췌장 beta 세포의 ER stress 및 세포 사멸단백질 발현 작용 변화 조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 솔잎 추출물의 palmitic acid에 의한 췌장세포 사멸 차단작용: Cell viability &amp; Western immunoblotting</li> <li>◦ 솔잎 추출물: 전체 extracts, water fraction, Et-OH 추출물에 대한 췌장 베타세포 보호효과: MTT assay</li> <li>◦ 고탄수화물/고포화지방산(PA)에 의한 췌장 beta 세포 사멸에 대한 솔잎 추출물의 방어 효과: MTT assay</li> <li>◦ 췌장 beta 세포의 세포사멸 관련 단백질 발현(PERK, IRE-1 alpha, ATF-4, caspase, Bcl-2, Bax, CHOP, Grp78 등) 변화 조사: western immunoblotting</li> </ul>
<p>개발된 기능성 쌀가공제품의 인체적용시험을 위한 적용 범위 도출 기초 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 건강한 성인 대상 경구당부하검사 반응성검사</li> <li>◦ 가족력, 내당능장애 시에 반응성 차이 비교</li> <li>◦ 인체적용시험 대상자 선정시 선발 조건 도출</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 탄수화물 공급 형태 별 경구당부하 검사반응성:표준시험물(포도당용액 vs. 백미밥)</li> <li>◦ 대상자의 가족력, 내당능장애 유무에 따른 경구당부하검사반응성 비교: OGTT curve pattern, AUC, GI</li> </ul>

2차년도

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<p>소재 적용 개발식품 또는 조성물의 기능성 평가</p>	<p>◦ 대사기능 개선 기능성 소재 조성물(솔잎분말, 저항전분, 미강)의 탄수화물 대사기능 개선 효과 평가(in vivo)</p>	<p>◦ 솔잎분말 첨가 지질 섭취 후 혈중 중성지방 측정 : OFTT, IAUC 분석                      ◦ 저항전분(RS)첨가 백미 섭취 후 혈당 측정 : 경구 당부하 검사, IAUC 분석                      ◦ 미강(Rice bran)첨가 백미 섭취 후 혈당 측정 : 경구 당부하 검사, IAUC 분석</p>
<p>동물실험을 통한 쌀 가공제품 기능성 소재의 대사기능 개선 효과 평가 (적용소재: 미강, 흑미 미강 추가)</p>	<p>◦ High fat diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 미강 및 미강추출물의 개선효과 평가                      ◦ 백미와 미강 첨가 정상식이 및 고지방식이 유도 탄수화물 대사장애에 대한 미강의 개선효과 평가                      ◦ High sucrose diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 미강의 개선효과 평가                      ◦ 흑미 미강의 기능성 평가(추가)</p>	<p>◦ 실험동물로 4주령의 수컷 C57BL/6 mice를 이용함                      ◦ high fat diet, high sucrose diet, Atherogenic diet에 미강과 미강추출물을 첨가한 식이 급여 또는 경구투여를 통해 탄수화물 대사장애 및 비알코올성간질환 개선 효과를 조사                      ◦ 각 식이에 의한 체중변화, 지방조직 무게 변화 조사                      ◦ 탄수화물대사장애 개선 효과 분석                      : OGTT(oral glucose tolerance test), IAUC, 공복혈당, 혈청 인슐린 농도 측정, 인슐린저항성 분석, 혈청 leptin 농도 측정</p>

3차년도

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<p>동물실험을 통한 쌀 가공제품 기능성 소재의 대사기능 개선 효과 평가 (적용소재: 미강, 흑미, 미강 추가)</p>	<p>°Atherogenic diet 유도 비알코올성간질환에 대한 미강추출물의 개선효과 평가                      ° High fat diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 미강추출물의 개선효과 평가                      ° High fat diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 미강추출물과 저항전분 병용적용이 고지방식이 유도 탄수화물 대사장애에 대한 개선효과 평가                      ° 기능성소재 적용 쌀가공 제품의 유도 탄수화물 대사장애 개선효과 평가</p>	<p>° 실험동물로 4주령의 수컷 C57BL/6 mice를 이용함                      ° high fat diet, high sucrose diet, Atherogenic diet에 미강과 미강추출물을 첨가한 식이 급여 또는 경구투여를 통해 탄수화물 대사장애 및 비알코올성간질환 개선 효과를 조사                      ° 각 식이에 의한 체중변화, 지방조직 무게 변화 조사                      ° 탄수화물대사장애 개선 효과 분석                      : OGTT(oral glucose tolerance test), IAUC, 공복혈당, 혈청 인슐린 농도 측정, 인슐린저항성 분석, 혈청 leptin 농도 측정                      ° 비알코올성간질환 개선 효과 분석                      : 간 무게, 총 콜레스테롤, 중성지방, 유리지방산, 혈청 ALT 농도 측정, OGTT 및 pyruvate challenge test                      ° 지방간,감염, 간 섬유화 정도 분석 : hematoxylin-eosin (H&amp;E), Azan, and Sirius red staining                      ° 기능성소재 적용 쌀가공 제품의 유도 탄수화물 대사장애 개선효과 평가: OGTT, GI, GL 평가</p>

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1절 기술개발현황

#### 1. 국내외 관련분야 환경 및 기술개발 현황

- 우리나라 국민 연간 1인당 쌀 소비량은 1970년 134.8kg을 정점으로 지속적으로 감소하고 있으며 2011년에는 71.2kg으로 절반가량 감소하였고, 이러한 감소 현상은 지속될 것으로 예측됨.
- 복부비만, 고지혈증, 고혈압 및 당대사 이상 중 3가지 이상의 증상을 동반하는 대사증후군의 유병률은 31.9%으로 점차 증가하고 있으며 이의 예방과 관리에 대한 국가적 관심이 고조되고 있음.
- 쌀의 주요구성 성분 특성 상 쌀 가공제품은 고탄수화물 식품으로, 비만, 당뇨 및 혈당대사 장애를 비롯한 대사증후군 소견을 가진 경우 섭취에 주의를 기울여야 할 식품으로 인식되고 있음.
- 우리나라의 1인당 하루 당류 섭취량은 41.5g(2010)이며, 최근 지속적으로 증가추세에 있음. 최근 식품의약품안전처에서는 당류의 과잉섭취에 따른 위험성에 대한 대국민 홍보사업을 강화하고 있음.
- 다양한 기능성 소재, 특히 당대사 개선 기능성 소재를 활용한 기능성 쌀 가공제품(떡)의 개발은 건강식품으로서의 인식 전환과 쌀 소비의 저변 확대가 요구되고 있음
- 최근 국내 대기업에서 ‘식후 혈당 조절에 도움을 줄 수 있는 밥’이라는 국내 최초의 기능성 식품을 개발하여 출시하였으며, 이 제품의 경우 난소화성 말토덱스트린을 적용하였음.
- KFDA에서 기능성 원료로 인증 받은 식이섬유는 총 14건이 있으며, 이 중 미강과 유사한 경우는 옥수수겨 1건임(표1)

표1. 유사 개별인정 기능성 원료(식이섬유) 현황(KFDA: 2013. 10월)

구분	기능성분 함량	기능성 내용	일일섭취량
곡류 3건			
보리	식이섬유 500 mg/g 이상 함유	배변활동 원활	보리식이섬유로서 20~25 g
밀	식이섬유 700 mg/g 이상 함유	식후혈당상승억제	밀식이섬유로서 6~12 g
		배변활동 원활	밀식이섬유로서 36 g
귀리	식이섬유 200 mg/g 이상 함유	콜레스테롤 개선	귀리식이섬유로서 3 g 이상
		식후혈당상승억제	귀리식이섬유로서 0.8~8 g
겨 1건			
옥수수겨	식이섬유 800 mg/g 이상 함유	콜레스테롤 개선, 식후혈당상승억제	옥수수겨식이섬유로서 10 g
기타 9건			
호로과종자	식이섬유 450 mg/g 이상 함유	식후혈당상승억제	호로과종자식이섬유로서 12~50 g
차전자피	식이섬유 790 mg/g 이상 함유	콜레스테롤 개선	차전자피식이섬유로서 7 g 이상
		배변활동 원활	차전자피식이섬유로서 5~25 g

이눌린/ 치커리추출물	식이섬유 800 mg/g 이상 함유	콜레스테롤 개선	이눌린으로서 9~10 g
		식후혈당상승억제	이눌린으로서 9~10 g
		배변활동 원활	이눌린으로서 8~20 g
목이버섯	식이섬유 450 mg/g 이상 함유	배변활동 원활	목이버섯식이섬유로서 12 g
대두식이섬유	식이섬유 600 mg/g 이상 함유	콜레스테롤 개선	대두식이섬유로서 20~25 g
		식후혈당상승억제	대두식이섬유로서 10~25 g
		배변활동 원활	대두식이섬유로서 20~60 g
글루코만난 (곤약,곤약만난)	식이섬유 690 mg/g 이상 함유	콜레스테롤 개선	글루코만난으로서 4~17 g
		배변활동 원활	글루코만난으로서 4~17 g
폴리텍스트로스	식이섬유 650 mg/g 이상 함유	배변활동 원활	폴리텍스트로스로서 7~12 g
아라비아검 (아카시아검)	식이섬유 800 mg/g 이상 함유	배변활동 원활	아라비아검으로서 25 g
난소화성말토덱스트린	식이섬유 850 mg/g 이상 함유	식후혈당상승억제	난소화성말토덱스트린으로서 14~29 g
		배변활동 원활	난소화성말토덱스트린으로서 3~29 g
구아검/구아검가 수분해물	식이섬유 660 mg/g 이상 함유	콜레스테롤 개선	구아검 또는 이의 가수분해물로서 15~27 g
		식후혈당상승억제	구아검 또는 이의 가수분해물로서 15~27 g
		배변활동 원활	구아검 또는 이의 가수분해물로서 5~27 g

\* 개별인증예시

<b>미강</b>	<b>식이섬유 450 mg/g 이상 함유</b>	<b>식후혈당상승억제에 도움을 줄 수 있음</b>	<b>미강식이섬유로서 20 g 이상</b>
-----------	----------------------------	-----------------------------	-------------------------

## 2절 연구결과가 국내외 기술개발현황에 차지하는 위치

- 본 연구에서 기능성 쌀가공제품 개발에 적용할 주요 소재로 발굴한 미강의 기능성에 대한 학문적 근거를 제시함.
- 미강의 기능성은 식이유도대사질환 즉, 고지방과 고혈당 유도 대사장애 및 비알콜성 간질환의 대사장애 개선 효과가 있음을 확인함.
- 미강의 쌀 가공제품에 적용 시 애로 사항 및 기능성 적용 범위를 제시 함.
- 당 대사 작용 인체적용 시험을 위한 기초 조건을 제시함. 즉 당내성 장애자가 최적의 반응을 관찰할 수 있는 대상자임.
- 도정 시 생성되는 부산물의 활용 방안을 제시함

# 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

## 1절 연구내용

1차년도: 대사기능 개선 기능성 소재(조성물)의 기능성 평가 및 동물실험 적용조건 도출(기초연구)	
수 행 내 용	I. In vitro 및 vivo 실험을 통한 솔잎의 대사조절 기능성 평가 II. 솔잎 추출물의 고혈당, 고지방스트레스에 대한 췌장세포 보호 효과 III. 기능성 쌀 가공제품의 인체적용시험을 위한 조건 도출 기초연구
2차년도: 대사기능 개선 기능성 소재(조성물)의 동물실험을 통한 기능성 평가 및 인체적용도출연구	
수 행 내 용	I. 소재 적용 개발식품 또는 조성물의 기능성 평가 1. 대사기능 개선 기능성 소재 조성물(솔잎분말, 저항전분, 미강)의 탄수화물 대사기능 개선효과 평가(in vivo) 1) 솔잎분말의 식후 혈중 중성지방 대사기능 개선 효과(in vivo) 2) 저항전분(RS)의 식후 혈당 대사기능 개선 효과(in vivo) 3) 미강(Rice bran)의 식후 혈당 대사기능 개선 효과(in vivo) II. 동물실험을 통한 대사기능 개선 효과 평가(적용소재: 미강) 1. High Fat Diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 개선 효과 평가 1) 미강 첨가 고지방식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가 2) 미강추출물의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가 2. 백미를 기초로 한 미강 첨가 식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가 1) 백미를 기초로 한 미강 첨가 정상식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가 2) 백미를 기초로 한 미강 첨가 고지방식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가 3. High Sucrose Diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 개선 효과 평가 4. 흑미 미강의 기능성 평가
3차년도: 대사기능개선 기능성 쌀가공제품 개발 소재의 동물실험을 통한 기능성 평가 및 인체적용 시험	
수 행 내 용	I. 소재 적용 개발식품 또는 조성물의 기능성 평가 1. 질환모델(비알코올성간질환)을 통한 대사장애 개선(항산화/항염증) 효과 평가 (2차년도에 이어 3차년도에 지속) 2. 미강 추출물(70%에탄올)의 High fat diett 유도 당질대사 대사장애에 대한 개선 효과 평가 3. 두 가지 기능성 소재 후보(RS, 미강) 병용의 high fat diet 유도 당질 대사장애에 대한 개선 효과 평가(시너지효과) II. 인체적용시험을 통한 쌀가공제품의 당질대사 개선효과 평가 1. 발굴된 소재 적용 쌀 가공제품의 인체적용시험을 통한 기능성 평가

## 2절 연구결과

### 3-2과제: 인체적용실험을 통한 기능성 쌀가공 제품의 혈당대사연구

1차년도: 대사기능 개선 기능성 소재(조성물)의 기능성 평가 및 동물실험 적용조건 도출(기초연구)	
수행 내용	I. In vitro 및 vivo 실험을 통한 솔잎의 대사조절 기능성 평가 II. 솔잎 추출물의 고혈당, 고지방스트레스에 대한 췌장세포 보호 효과 III. 기능성 쌀 가공제품의 인체적용시험을 위한 조건 도출 기초연구

#### I. In vitro 및 vivo 실험을 통한 솔잎의 대사조절 기능성 평가

##### 1. 연구배경

- 주성분이 전분으로 구성된 쌀은 탄수화물 다량 함유 식품으로, 한국인 식사에서 주 에너지 공급원으로 역할을 담당하고 있으며, 최근 떡을 비롯하여 제과제품 등 다양한 형태로 개발된 이용되고 있음. 그러나 쌀 제품은 구성 성분 특성 상, 당노와 같은 탄수화물 대사장애를 가진 경우 섭취에 주의가 요구되며, 최근 개발된 쌀 가공제품의 경우 설탕과 액상과당을 비롯한 다양한 단맛 제공하는 첨가물이 함유된 제품의 이용성에 제한이 있음
- 당노나 당내성과 같이 당대사 조절 장애가 있는 경우는 특히 식품 섭취 급격한 혈당 상승과 이에 대한 인슐린의 과도한 작용으로 저혈당이 반복되는 롤링현상에 노출되지 않도록 하는 것이 중요함. 따라서 쌀 가공제품의 기능성은 당대사 문제 개선이 우선되어야 하며, 당대사 개선문제는 섭취 후 급격한 혈당 상승 저하 및 에너지 함량의 저하 유도를 목표로 접근되어야 할 것임. 다양한 기능성 소재를 활용하여 상기 당대사 개선 기능성 쌀 가공제품을 개발 할 수 있는바, 우선 첨가할 수 있는 기능성 소재의 탄수화물의 분해 및 흡수 저해 기능성에 대한 검증이 필요함.
- α-glucosidase는 소장 brush-border membrane에 존재하는 소화효소로서 이당류나 다당류 형태의 탄수화물이 소화 흡수되기 위하여 단당류로 가수분해하는 역할을 하며, α-glucosidase에 대한 저해는 포도당의 흡수를 억제시켜, 식후 혈당상승을 감소시킬 수 있으므로, 첨가 소재 당대사 개선 기능성은 α-glucosidase의 억제능(in vitro)과 섭취 후 혈당 반응(in vivo) 평가를 통하여 일차 검증할 수 있을 것임, 본 연구에서는 상기 제시한 실험방법의 타당성을 기능성 소재 후보물질에 적용하여 적합한 기능성 소재를 선별하고, 이를 토대로 동물시험 적용조건을 도출을 위한 기초자료를 확보하고자 함. 아울러 동일 소재의 지질대사 개선 기능성을 평가하여 대사증후군 개선 기능성에 대한 기초자료를 확보하고자 함.

##### 2. 연구방법

###### 1) 솔잎 추출물 준비

기능성 쌀 가공제품 개발 소재 중의 하나인 솔잎의 대사 개선 기능성을 평가를 위해 솔잎 분말의 80% 에탄올 추출물을 사용하였다. 솔잎 분말 50g을 500mL의 80% 에탄올을 넣고, 실온상태에서 3회 추출하였으며, 이를 Whatman No.1 여과지를 사용하여 여과한 후 감압 농축하여 얻어진 추출물 5,67g(수율 11.3%)을 50ml로 정용하여 기능성 평가 재료로 사용하였다.

###### 2) 실험동물

실험동물 ICR mice (4주령, 수컷)을 주)중앙실험동물(Seoul, Korea)에서 구입하여 2주일간

일반식으로 적응시킨 후 온도와 습도를 조절한 방에서 12 시간 간격으로 주야를 반복하여 일주일간 적응시켰다. 먹이와 음용수는 자유롭게 공급하였다. 일주일간 적응기간이 지난 후 건강한 동물들을 본 실험에서 사용하였다.

3) in vitro 실험을 통한 솔잎 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 활성 저해 효과 측정

솔잎 80%Et-OH추출물을 농도별로 희석하여(50  $\mu$ L)  $\alpha$ -glucosidase (50  $\mu$ L, 0.5 U/mL)와 0.2 M potassium phosphate buffer (pH 6.8, 50  $\mu$ L)에 넣고 혼합한 후 37°C에서 15분 동안 반응시켰다. 3 mM 4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG) (100  $\mu$ L)를 가하여 37°C에서 10분간 반응 시킨 후 0.1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (750  $\mu$ L)를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 405 nm에서 흡광도를 측정하여 효소반응으로 생성된 p-nitrophenol (pNP)의 함량을 정량하여 각 추출물을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 효소활성을 계산하였다. 양성대조구로는 acarbose를 사용하였다.

4) in vivo 실험을 통한 솔잎의 탄수화물 분해 및 흡수 저해 효과 측정

12시간 절식 시킨 4주령의 웅성 정상인 ICR mouse를 측정에 이용하였다. 실험동물은 대조군과 실험군으로 구분하였으며, 대조군은 soluble starch(1g/kg)를 경구 투여한 후 30, 60, 90, 120분에 꼬리정맥에서 채혈하여 식후혈당반응(postprandial glycemia)을 측정하였고, 실험군은 soluble starch(1g/kg)와 검증소재(예, 솔잎분말)을 다양한 농도(500, 1000 mg/kg)을 경구투여한 후, 대조군과 동일한 방법으로 식후혈당반응을 측정하였다. 대조군과 실험군에서 얻어진 식후혈당반응 결과를 이용하여 식후혈당반응면적(Area under the curve, AUC)를 산출하여 비교하였다. 또한 acarbose를 양성대조구로 사용하여 그 효과를 비교하였다.

5) 백미와 메현미 및 찰현미의 혼합이 혈당대사 반응에 미치는 영향 측정

백미에 메현미와 찰현미를 배합하였을 때의 경구혈당반응을 비교하였다. 12시간 절식 시킨 4주령의 웅성 정상인 ICR mouse를 측정에 이용하였다. 측정 시료는 백미와 메현미 및 찰현미를 각각 1:1로 혼합하였으며, 마우스 당 혼합 시료를 1g/kg씩 경구 투여한 후 공복, 30, 60, 90, 120분에 꼬리정맥에서 채혈하여 식후혈당반응(postprandial glycemia)을 측정하여 비교하였다.

6) 메현미와 찰현미에 솔잎 분말과 솔잎 착즙액의 첨가가 혈당대사 반응에 미치는 영향

솔잎 분말과 솔잎 착즙액의 혈당대사 반응 개선 가능성을 비교분석하였다. 사전 실험 결과 메현미와 찰현미의 혈당반응이 차이가 있었으므로, 솔잎 분말과 솔잎 착즙액의 효과를 메현미와 찰현미에 각각 적용하여 비교하였다. 솔잎 분말과 솔잎 착즙액의 혼합 비율은 개발된 솔잎 첨가 쌀 가공품의 관능검사결과를 반영하여 설정하였으며, 첨가비율은 솔잎 분말 3.3%, 솔잎 착즙액 2%를 적용하였다. 얻어진 결과는 각각 메현미와 찰현미만을 섭취했을 때를 기준으로 솔잎 분말과 솔잎 착즙액 첨가에 따른 반응비율로 나타내었다.

7) in vitro 실험을 통한 솔잎 추출물의 lipase 활성 저해 효과 측정

pancreatic lipase 저해활성 측정은 Kim 등(2007)의 방법을 변형하여 실시하였다. Enzyme buffer (10 mM MOPS, 1 mM EDTA, pH 6.8) 30  $\mu$ L를 Tris buffer (100 mM Tris-HCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, pH 7.0) 850  $\mu$ L에 첨가하고, porcine pancreatic lipase를 0.0003g 넣어 용해하였다. Sample을 100  $\mu$ L 첨가한 후, 37°C에서 15분간 shaking incubation 하였다. Sample은 DMSO 용해하여 최종 농도가 3%가 되도록 한 후 다양한 농도로 희석하여 사용하였다. 기질 용액은 p-nitrophenyl butyrate (p-NPB)을 10 mM이 되게 DMF에 용해하여 사용하였다. 기질액 20  $\mu$ L 첨가하여 37°C에서 15분간 shaking incubation 시킨 후 Spectrophotometer 400nm에서 흡광도를 측정하였다. (p-NPB가 p-nitrophenol로 가수분해된 정도). Pancreatin lipase 저해 활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

8) in vivo 실험을 통한 솔잎 추출물의 지질 분해 및 흡수 저해 효과 측정

12 시간 동안 절식시킨 4주령 ICR mice(체중 35~40 g)에 지방 현탁액을 0.35~0.5 ml



(10mL/kg,BW) 경구투여 하였다. 지방 현탁액은 corn oil(6 ml), cholic acid(80mg), cholesteryl oleate(2 g), saline solution(6ml) 으로 구성되어 있으며 실험군의 경우 솔잎 추출물(100, 200 mg/kg)을 첨가하였다. 지방현탁액을 투여하기 전과 투여 후 1, 2, 3, 4 시간 쯤에 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 간이 혈중 지질농도 측정기(리피드프로, (주)인포피아, 대한민국)를 사용하여 중성지방 농도를 측정하였다. 대조군과 실험군에서 얻어진 식후 중성지방 농도 결과를 이용하여 식후중성지방반응면적(Area under the curve, AUC)를 산출하여 비교하였으며, orlistat를 양성대조구로 사용하였다.

### 3. 주요 연구결과

#### 1) in vitro 실험을 통한 솔잎 추출물의 탄수화물 대사기능 개선효과

##### (1) in vitro $\alpha$ -glucosidase 활성 검사를 통한 탄수화물 대사개선 기능평가의 적합성 - 양성대조물질인 acarbose의 $\alpha$ -glucosidase 활성저해 효과(in vitro)

$\alpha$ -glucosidase는 소장의 brush-border membrane에 존재하는 소화효소로서 이당류나 다당류 형태의 탄수화물을 단당류로 가수분해하여 소화 흡수를 용이하게 역할을 한다.  $\alpha$ -glucosidase 활성 저해는 탄수화물의 단당류로의 분해를 늦추고 흡수를 억제 시켜 급격한 식후 혈당 증가를 감소시킬 수 있다. 이에 vitro 실험 model을 통하여 대사기능 개선 기능성 쌀 가공제품 개발 소재의  $\alpha$ -glucosidase 활성 억제능을 측정하였다. 먼저 당뇨병자의 혈당 조절제로서 사용되고 있는 acarbose를 이용하여 방법의 타당성을 검증하였으며 그 결과는 Fig. 1.A,와 같다. Acarbose 농도가 높아질수록  $\alpha$ -glucosidase 활성은 감소하였다. 즉 acarbose 농도가 높아질수록  $\alpha$ -glucosidase 활성 저해도가 증가하였다(Fig.1.A). 이러한 결과는 대사기능 개선 쌀 가공식품 개발 소재의 당대사기능 스크리닝법으로 본 연구에서 사용하고자 하는  $\alpha$ -glucosidase 활성 저해도 측정법이 적합함을 시사한다. 한편 Acarbose 농도에 따른  $\alpha$ -glucosidase의 활성 저해 정도의 용량반응곡선(dose-response curve)을 도출하였으며, 이로부터 산출한 IC50은 3.45mg/mL로 추정되었다(Fig.1.B).

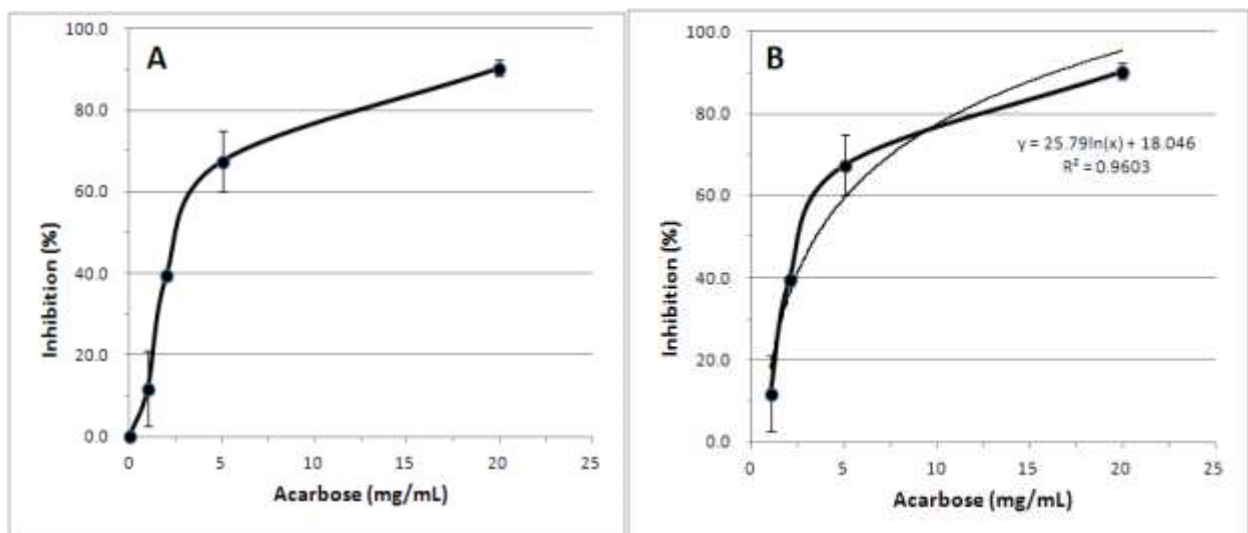


Fig. 1.  $\alpha$ -glucosidase activity inhibitory effect of acarbos

(2) 솔잎 80% Et-OH 추출물의 α-glucosidase 활성 저해 효과(in vitro)

기능성 쌀가공 제품 개발의 소재 중의 하나인 솔잎의 80% Et-OH 추출물(PNE 80% Et-OH extract)의 농도에 따른 α-glucosidase 활성저해 효과를 상기 방법으로 측정된 결과는 Fig. 2. 와 같다. PNE 80% Et-OH extract 농도가 증가할수록 α-glucosidase의 활성이 감소하였다. 즉 α-glucosidase 활성 저해도가 증가하였다(Fig.2.A). PNE Et-OH extract 농도와 α-glucosidase의 활성 저해정도의 용량반응곡선(dose-response curve)을 도출하여 산출한 IC50 은 0.03 uL/mL로 추정되었다(Fig.2.B).

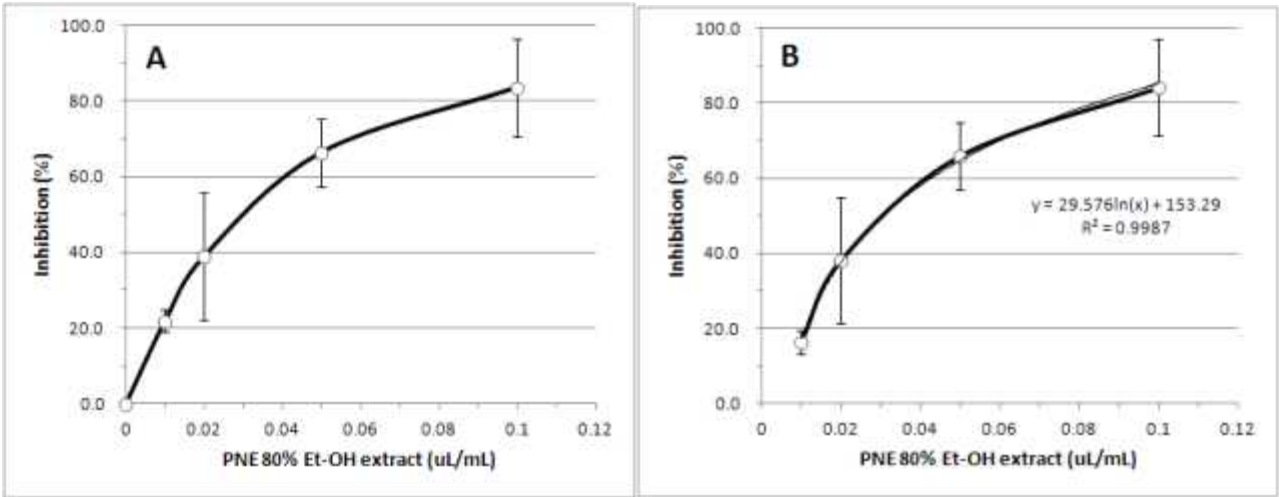


Fig. 2. α-glucosidase activity inhibitory effect of PNE 80% Et-OH extract

1) in vivo 실험을 통한 솔잎의 탄수화물 대사기능 개선효과

(1) 경구혈당반응검사를 통한 탄수화물 대사 개선 기능 평가 방법의 적합성

- 양성대조물질인 acarbose의 경구 혈당반응 검사를 통한 식후혈당개선 효과(in vivo)

당뇨환자의 혈당 조절제로서 사용되고 있는 acarbose를 이용하여 탄수화물의 분해 및 흡수 저해능을 측정하여 방법의 타당성을 검증하였으며 그 결과는 Fig. 3.A,B와 같다. 공복 시 혈당 농도는 양군 사이에 유의한 차이가 없었다. 전분을 경구투여한 대조군의 경우 섭취 후 30분에 최고의 혈당 농도를 보였고, 이후 60분과 90분까지 점진적으로 감소하여, 섭취 120분 후에는 정상 혈당 농도를 나타내는 전형적인 혈당반응 패턴을 나타내었다. 실험군의 경우 대조군과 동량의 전분과 함께 acarbose (5mg/kg.BW)를 경구 투여한 실험군의 혈당 반응은 섭취 후 30분, 60분, 90분 및 120분 모두 대조군에 비하여 낮은 혈당 농도를 나타내었고, 모든 측정 시점에서 정상 혈당 수준을 나타내었다. 한편 혈당반응면적을 산출한 결과는 Fig.3B와 같으며, acarbose 투여군이 비투여군에 비하여 유의하게 낮았다(Fig.3.B). 이러한 결과는 당뇨인의 혈당대사 개선제로 사용되고 있는 acarbose의 효과가 반영되어 나타난 것임을 알 수 있다. 따라서 대사기능 개선 쌀 가공식품 개발 소재의 당대사 개선기능 스크리닝법으로 본 연구에서 사용하고자 하는 경구혈당반응을 통한 탄수화물의 분해 및 흡수 저해도 측정법이 적합한 방법임을 시사한다.

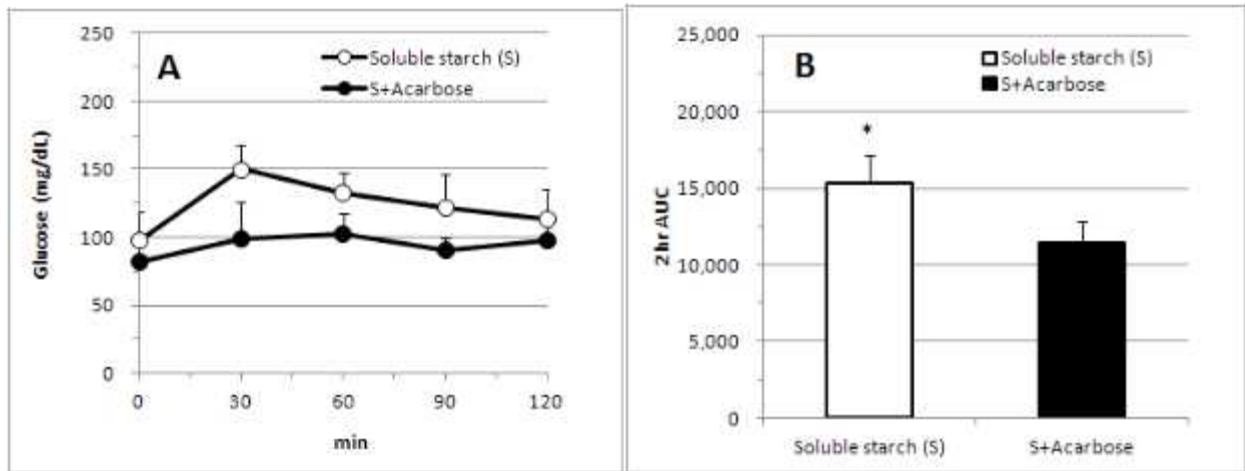


Fig. 3. the response of acarbose on blood glucose level by oral glucose tolerance test treated with starch 1g/kg,BW with/without acarbose 5mg/kg,BW.

(2) 솔잎분말의 경구혈당반응 검사에 따른 식후 혈당반응

쌀 가공제품에 솔잎 분말 자체를 첨가하였을 때, 자체가 가진 고유의 색과 향미로 첨가 소재의 특성을 바로 나타낼 수 있다. 이에 우선 솔잎 분말 자체의 탄수화물 대사 개선 기능성에 대하여 평가하였다. 정상 ICR mice를 대상으로 soluble starch를 1g/kg,BW 섭취 시킨 대조군과, 대조군과 동량의 탄수화물과 함께 솔잎분말을 500mg/kg,BW과 1000mg/kg,BW 섭취시킨 실험군의 혈당반응은 Table 1 및 Fig.4.A,B와 같다. 공복 시 혈당 농도는 대조군과 실험군 사이에 유의한 차이가 없었으며, 섭취 후 30분, 60분, 90분 및 120분 후 혈당 농도 또한 대조군과 실험군 사이에 유의한 차이가 없었다. 혈당반응면적 또한 유의한 차이가 없었다. 이러한 결과는 솔잎 분말 자체로 섭취시킨 바, 탄수화물 대사 개선 기능성 성분의 노출량이 적은 때문으로 생각되며, in vitro 실험에서 사용한 80% Et-OH 추출물을 사용하여 검증할 필요가 있음을 시사한다.

Table 1. Response of oral glucose tolerance test by Pine Needle Powder concentration

	0min	30min	60min	90min	120min
Soluble starch(1g/kg,BW)	104.3±19.0	151.2±17.4	136.7±14.2	126.1±24.8	115.0±21.8
S+PNP(500 mg/kg,BW)	108.8±22.3	159.3±19.3	149.5±22.5	128.0±12.3	111.0±18.1
S+PNP(1000 mg/kg,BW)	108.3±18.9	145.0±6.6	154.8±2.5	133.8±7.1	105.0±10.7

PNP, Pine Needle Powder

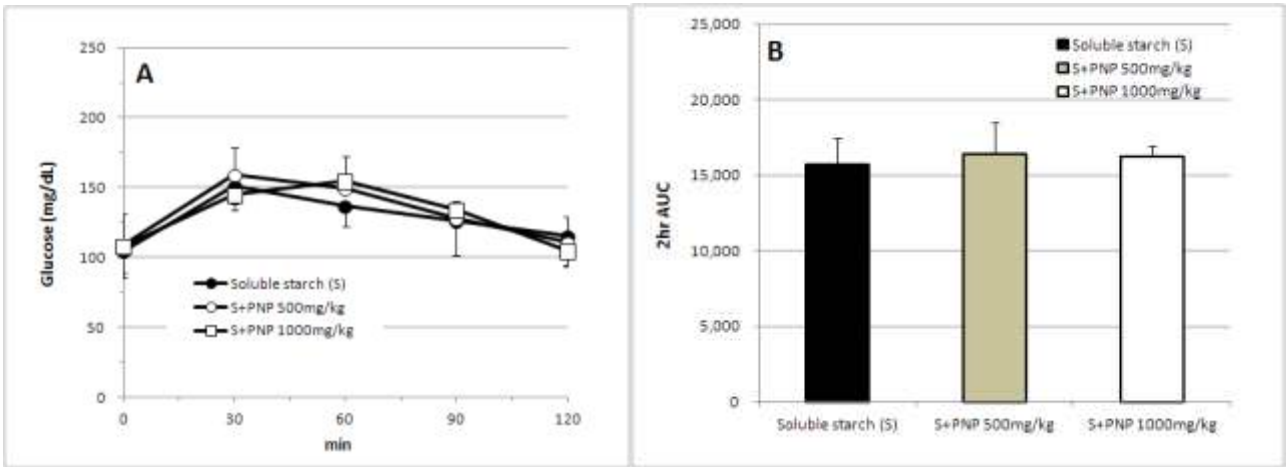


Fig. 4. the response of pine needle powder(PNP) on blood glucose level by oral glucose tolerance test treated with starch 1g/kg,BW with/without PNP 500~1000mg/kg,BW

(3) 백미에 메현미와 찰현미의 혼합이 혈당대사 반응에 미치는 영향

백미를 주재료로 한 가공제품에 일반적으로 현미를 배합하여 기능성을 부여하고 있다. 이에 백미에 메현미와 찰현미를 배합하였을 때의 경구혈당반응을 비교하였으며, 그 결과는 Fig. 5와 같다. 백미와 메현미 및 찰현미를 각각 1:1로 혼합하여 섭취한 결과 섭취 30분과 60분 후에는 메현미를 섞은 경우가 찰현미를 혼합한 경우 혈당 농도가 높았으며, 90분 및 120분 후에는 두 비교군 사이에 차이가 없었다. 혈당반응면적의 경우 찰현미를 혼합경우가 메현미를 혼합한 경우 보다 15% 정도 낮았다.

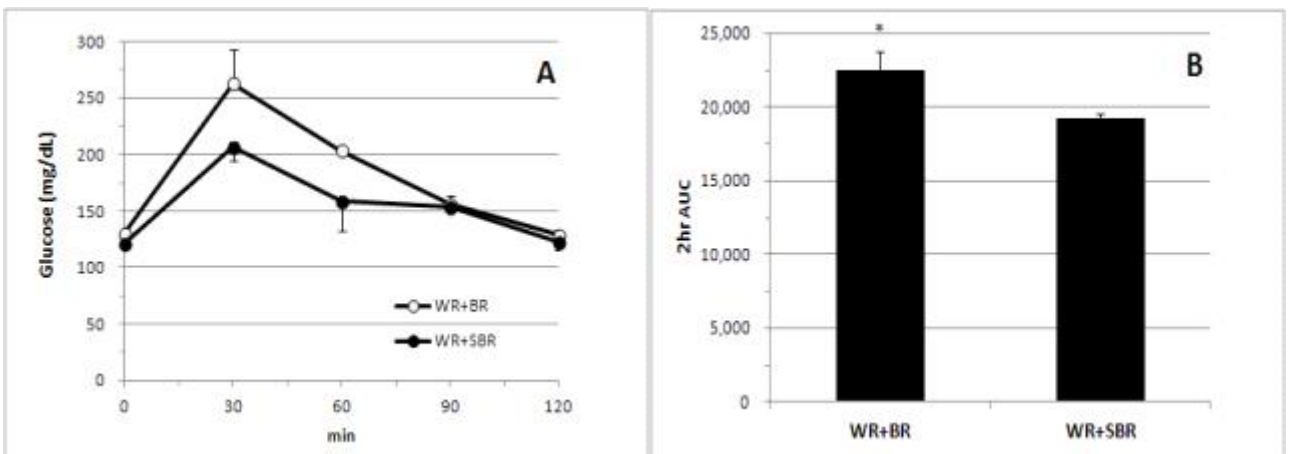


Fig 5. The effect of white rice mixed with brown rice or sticky brown rice on blood glucose level by oral glucose tolerance test.

WR: white rice, BR: brown rice, SBR: sticky brown rice, mixed ratio 1:1.

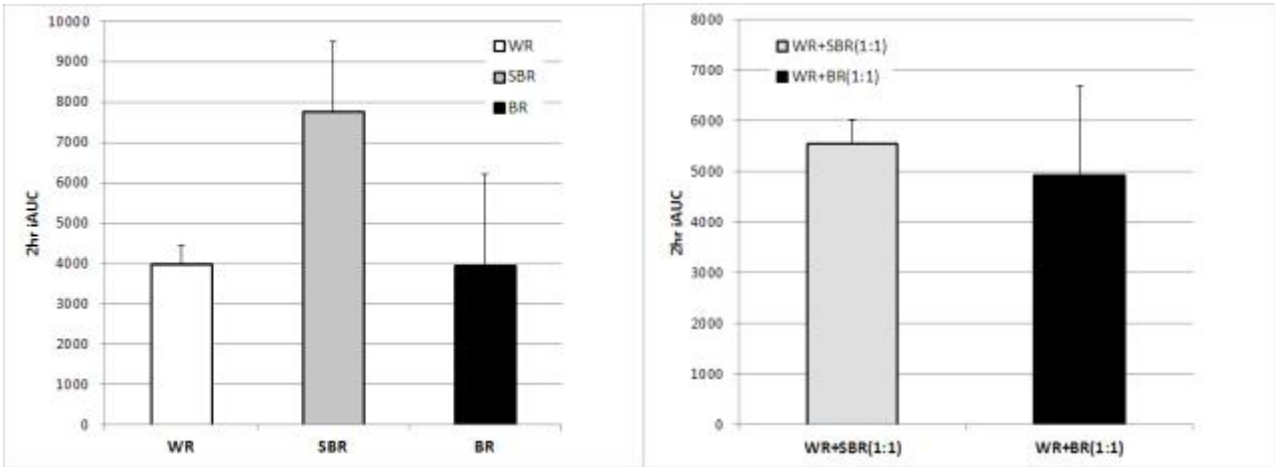


Fig 6. The effect of white rice mixed with brown rice or sticky brown rice on blood glucose level by oral glucose tolerance test.

WR: white rice, BR: brown rice, SBR: sticky brown rice, mixed ratio 1:1.

백미와 메현미의 식후 당반응에는 유의한 차이 없음. 찰현미의 경우 백미보다 식후 당반응이 높았다. 전분 중 아밀로우즈와 아밀로펙틴의 비율의 영향력이 도정여부 영향력 보다 더 크다는 점을 시사한다. 백미에 찰현미와 메현미를 1:1(50%) 혼합 경우 메현미를 혼합한 경우가 혈당 반응에 더 긍정적임을 알 수 있다. 또한 RS4의 식후 혈당 개선에 긍정적인 효과를 보임을 알 수 있었다.

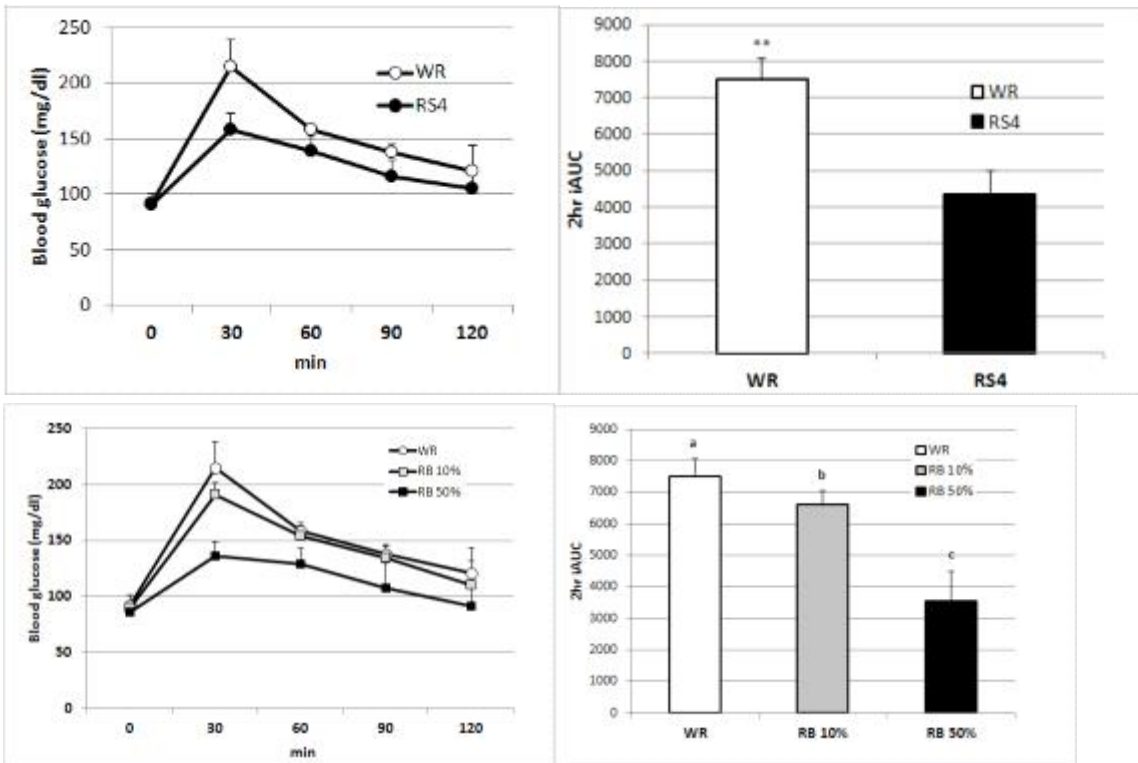


Fig 6. The effect of white rice with/and RS and RB on blood glucose level by oral glucose tolerance test.

WR: white rice, RS: resistant starch, RB: rice bran

(4) 메현미와 찰현미에 솔잎 분말과 솔잎 착즙액의 첨가가 혈당대사 반응에 미치는 영향

메현미와 찰현미에 솔잎 분말과 솔잎 착즙액을 혼합하였을 때의 혈당반응검사 결과는 그림 6과 같다.

메현미와 찰현미 각각에 솔잎 분말은 3.3%와 솔잎 착즙액은 2%를 혼합하였으며, 이 혼합 비율은 솔잎 첨가 쌀 가공품의 관능검사 결과를 반영하여 설정하였다. 메현미와 찰현미만을 섭취했을 때를 기준으로 솔잎 분말과 솔잎 착즙액을 혼합하였을 때의 반응비율로 나타내었다. 메현미만을 섭취했을 때에 비하여 솔잎 분말을 섞은 경우의 혈당반응면적은 72.0%, 솔잎 착즙액을 섞은 경우의 혈당반응면적은 73.2%로 감소하였다(Fig 6.A) 찰현미의 경우 찰현미만을 섭취했을 때에 비하여 솔잎 분말을 섞은 경우의 혈당반응면적은 91%, 솔잎 착즙액을 섞은 경우의 혈당반응면적은 66.8%로 감소하였다(Fig 6.B).

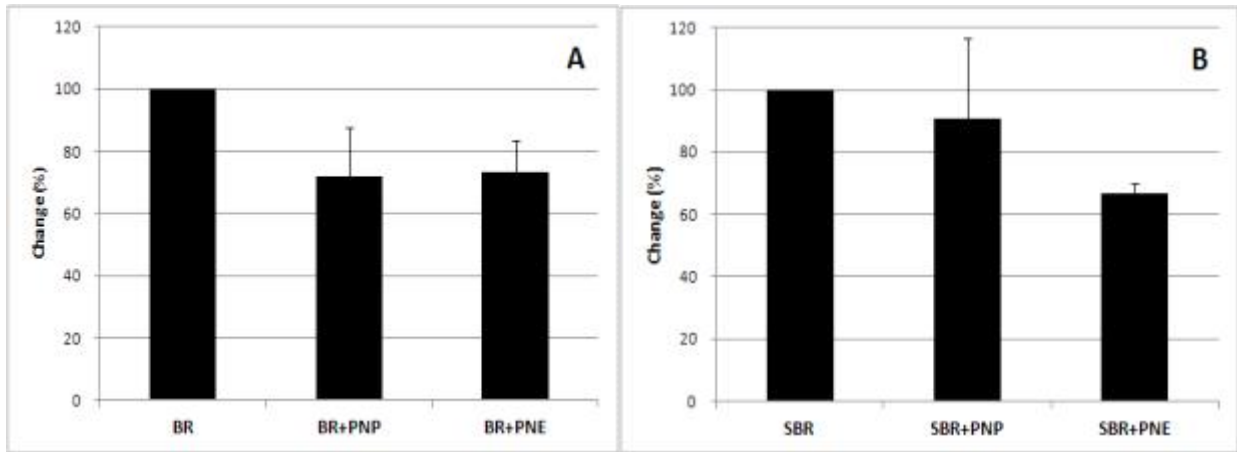


Fig 6. The effect of brown rice and sticky brown rice mixed with pine needle powder or pine needle extract on blood glucose level by oral glucose tolerance test.

BR: brown rice, SBR: sticky brown rice, PNP: pine needle powder, PNE: pine needle extract

## 2) in vitro 실험을 통한 솔잎 추출물의 지질 대사기능 개선효과

### (1) in vitro lipase 활성 검사를 통한 지질개사 대사개선 기능평가의 적합성

- 양성대조물질인 orlistat의 lipase 활성저해 효과(in vitro)

식사로 섭취한 지질은 lipase에 의해 분해되어 흡수된다. Lipase 활성 저해는 지질의 분해를 늦추고 흡수를 억제 시켜 식후 높은 혈중 지질 농도에 노출되는 것을 억제할 수 있다. 이에 vitro 실험 model을 통하여 대사기능 개선 기능성 쌀 가공제품 개발 소재의 lipase 활성 억제능을 측정하였다. 먼저 지질분해 저해제로 사용되고 있는 orlistat를 이용하여 방법의 타당성을 검증하였으며 그 결과는 Fig. 7.A,와 같다. Orlistat 농도가 높아질수록 lipase 활성은 감소하였다. 즉 orlistat 농도가 높아질수록 lipase 활성 저해도가 증가하였다(Fig.7.A). 이러한 결과는 대사기능 개선 쌀 가공식품 개발 소재의 지질대사 저해 기능 스크리닝법으로 본 연구에서 사용하고자 하는 lipase 활성 저해도 측정법이 적합함을 시사한다. 한편 Orlistat 농도에 따른 lipase 활성 저해정도의 용량반응곡선(dose-response curve)을 도출하였으며, 이로부터 산출한 IC<sub>50</sub>은 17ug/mL로 추정되었다(Fig.7.B).

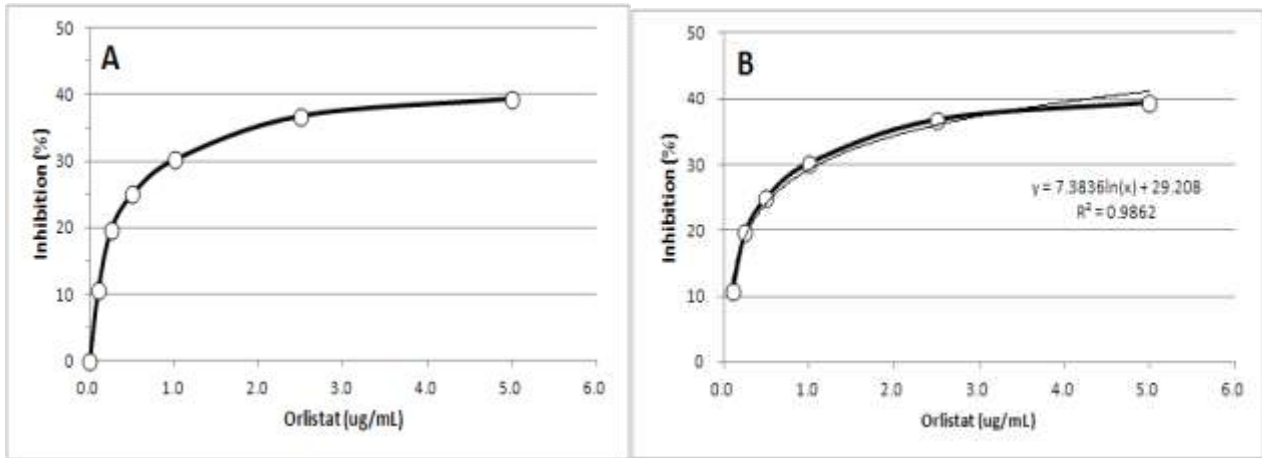


Fig. 7. lipase activity inhibitory effect of orlistat

2) 솔잎 80% Et-OH 추출물의 lipase 활성 저해 효과(in vitro)

기능성 쌀가공 제품 개발의 소재 중의 하나인 솔잎의 80% Et-OH 추출물(PNE 80% Et-OH extract)의 농도에 따른 lipase 활성저해 효과를 상기 방법으로 측정한 결과는 Fig. 8.과 같다. PNE 80% Et-OH extract 농도가 증가할수록 lipase의 활성이 감소하였다. 즉 lipase 활성 저해도가 증가하였다(Fig.8.A). PNE Et-OH extract 농도와 lipase의 활성 저해정도의 용량반응곡선(dose-response curve)을 도출하여 산출한 IC<sub>50</sub>은 180uL/mL로 추정되었다(Fig.8.B).

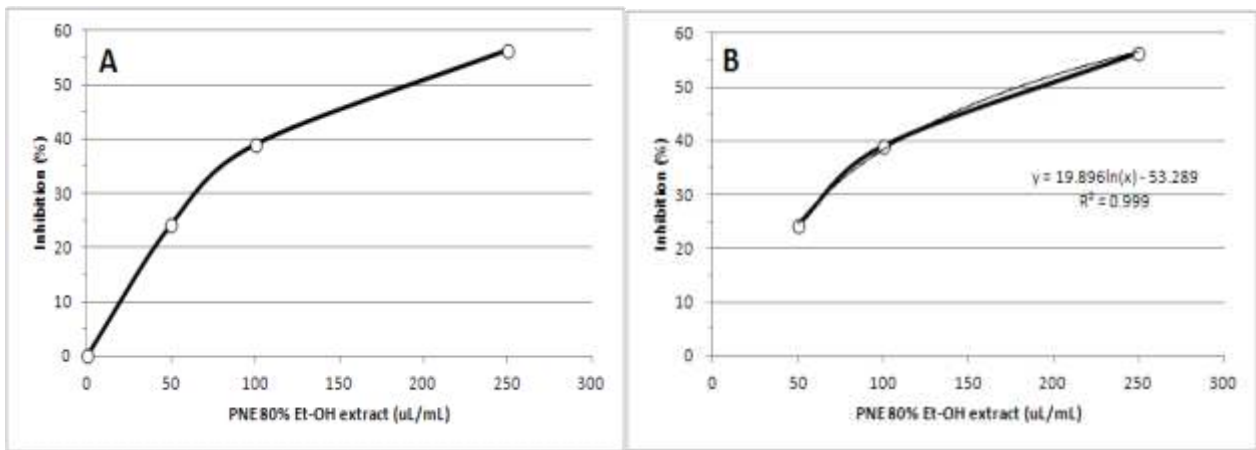


Fig. 8. lipase activity inhibitory effect of PNE 80% Et-OH extract

3) 솔잎 분말 추출물의 식후 지질 농도에 미치는 영향

정상의 ICR mice를 대상으로 lipid 시험액을 10mL/kg,BW 섭취 시킨 대조군과, 대조군과 동량의 지질과 함께 솔잎 추출물을 100-300mg/kg,BW과 1000mg/kg,BW 섭취시킨 실험군의 식후 지질농도반응은 Fig.9.와 같다. 공복 시 중성지방 농도는 대조군과 실험군 사이에 유의한 차이가 없었으며, 섭취 후 4시간 후 혈액 중 중성지방 농도 또한 비교군 사이에 유의한 차이가 없었다. 그러나 섭취 2시간 후에는 대조군의 농도가 혈 중 중성 지방 농도가 가장 높았다. 섭취 후 4시간 동안의 혈중 중성지방 반응면적은 솔잎 추출물 300mg/kg,BW 처리군에서 유의하게 감소하였으며, 100mg/kg,BW와 200mg/kg,BW 처리군은 감소하는 경향이었으나 양군 사이

에 유의한 차이는 없었다.

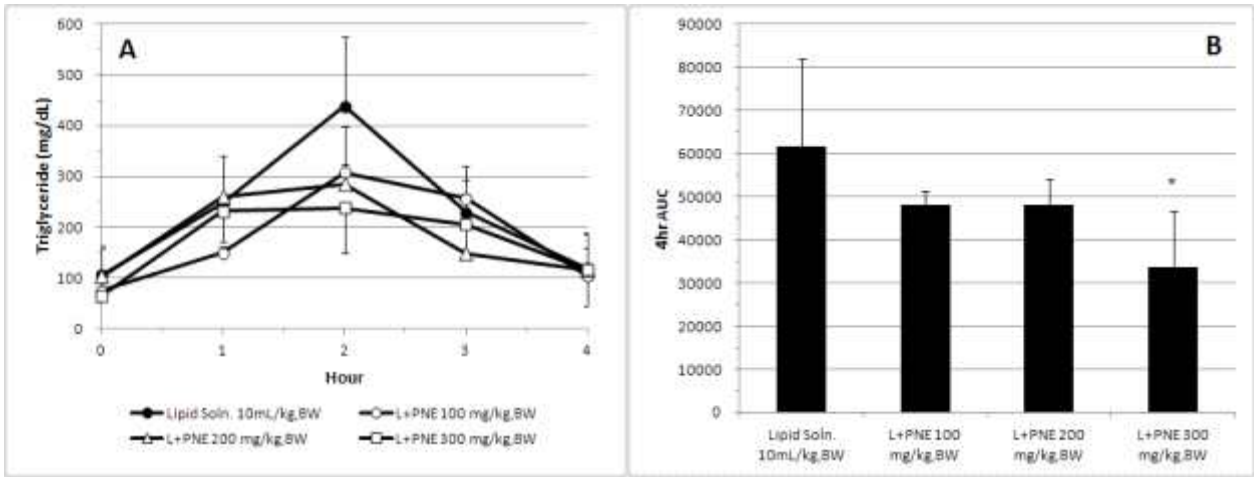


Fig. 9. the response of pine needle extract(PNE) on blood triglyceride level by oral lipid tolerance test treated with lipid 10 ml/kg,BW with/without PNE 100~300 mg/kg,BW

이상의 결과로부터 다음과 같은 결론이 도출되었다. 즉 기능성 쌀 가공 제품 개발의 탄수화물 및 지질 대사 개선 기능성 검증 방법으로 양성 대조물질인 acarbose와 orlistat를 사용하여 평가한 결과 식후 혈당 반응 개선 기능성 검증 방법으로 in vitro 방법으로 glucosidase 활성저해도를 측정방법과 in vivo 방법으로 mice를 이용하여 혈당 반응 검사로 평가하는 것이 적합하다는 점이 도출되었다. 상기 방법으로 기능성 쌀제품 개발 소재 중의 하나인 솔잎의 당대사 및 지질대사 개선 가능성이 제시되었다. 솔잎의 기능성은 형태에 따라 차이가 있는 바, 분말보다는 추출물 형태가 식후 당대사(postprandial glycemia) 및 지질대사(postprandial triglyceridemia) 개선 가능성이 크게 나타났다. 또한 솔잎 생즙이 분말 형태보다 식후 혈당 반응 개선 효과가 크게 나타났다. 또한 백미에 메현미보다 찰현미를 혼합하는 것이 식후 당대사에 효과적이었으며, 메현미는 솔잎분말과 솔잎 생즙의 혼합 모두 식후 혈당반응 개선에 효과적이었던 반면 찰현미의 경우 솔잎 생즙의 혼합이 보다 식후 혈당반응 개선에 보다 더 효과적이었다.



## II. 솔잎 추출물의 고혈당, 고지방스트레스에 대한 췌장세포 보호 효과

### 1) 연구 배경

- 당뇨병은 주로 인슐린을 분비하는 췌장세포의 beta 세포가 세포이상이 생겨 일어나는 질병이다. 주요한 원인으로는 췌장세포의 beta 세포가 포화지방산 또는 고포도당에 노출이 되어 세포 사멸이 유도됨으로서 일어나는 것으로 알려져 있음.
- 최근 췌장세포에서 ER stress의 발현이 당뇨병 발병에 중간 매개체로서 작용이 된다는 보고가 있음. ER stress 관련단백질은 PERK, IRE-1 alpha, ATF-4등의 다양한 단백질이 관여하며 ER stress 관련 세포 사멸에는 Grp 78 및 CHOP등의 발현이 관련되어 있으며, 췌장세포 사멸 (apoptosis)에는 PERK, PARP, Bcl-2, Bax, caspase 등의 단백질 발현이 관여하는 것으로 알려져 있음.
- 기능성 쌀 가공제품의 소재 중의 하나인 솔잎 추출물의 당대사 조절 기능성뿐만 아니라 당대사 조절의 주요 조절 기관인 췌장세포의 사멸 보호 효과에 대한 기능성 검증을 통하여 단순당과 포화지방 섭취 문제를 가지고 있는 현대인에 당대사 질환 개선에 보다 근원적인 기작 연구 수반이 필요함.

### 2) 연구 방법

- ① HIT-cell 세포 배양: ATCC로부터 췌장 beta 세포인 HIT cell을 구입하여 배양하였다. 이들 세포들은 5%를 함유한 Dulbecco's modified Eagle's 배지(Life Technologies, Grand Island, NY)에 배양하였다. 이들 세포들이 70% confluence되었을 때 세포성장을 정지시키기 위해 무혈청 배지에서 이들을 배양하여 세포의 성장을 동기화 시켜서 실험에 이용하였다.
- ② MTT 측정: HIT cell를 96-well plate에  $1 \times 10^5$  cells/mL의 농도로 100  $\mu$ L씩 분주하여 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 미생물 발효차 샘플을 먼저 처리하였다. 그리고 30분 후에 25 mM 포도당 또는 palmitic acid 를 처리하여 48시간 배양하였다. 반응 후 well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 제거하고 DMSO 100  $\mu$ L 첨가하여 ELISA reader (Model 680, BioRad, Hercules, CA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구 세포수를 100%로 하여 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.
- ③ Western immunoblotting: 배지를 제거한 세포를 PBS로 2번씩 세척한 후, 각기 150  $\mu$ L의 lysis buffer (10 $\times$  PBS, 1% NP-40, 20% SDS, 0.5 M EDTA, 0.01 M PMSF, 10 mg/ml Leupeptin, 1 mg/ml pepstatin A)를 처리하여 균질화를 시켰다. 균질화된 세포를 tube에 옮긴 후, 15,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 새로운 tube에 저장하였다. Bradford 단백질 정량법(1976)을 이용하여 각각 60  $\mu$ g의 sample들을 8% SDS-PAGE 전기영동을 시킨 후, polyvinylidene difluoride membrane에 transfer하였다. Membrane은 5% skim milk에 1시간 동안 차단을 시켰고, 각각의 항체를 1% skim milk에 1,000배 희석하여 4°C에서 18시간 이상 배양하였다. 그 후, membrane을 0.1% Tween-20/1 $\times$  TBS에 10분 간격으로 3번 세척 하였고, membrane을 1% skim milk에 5,000배 희석된 horseradish-peroxidase labeled 2차 항체에 1시간 동안 배양한 후, 3번 세척을 거쳐서 Enhanced Chemiluminescent (ECL) 시약을 1분간 처리한 다음 X-ray 필름에 30초간 노출시켜 현상하였다.
- ④ 통계처리: 실험 결과의 통계적 처리는 Student's t test 및 Analysis of Variance (ANOVA)로 하였으며, P-value < 0.05을 유의한 차이의 한계로 하였고, 실험결과의 표현은 means  $\pm$  S.D 로 하였다.

### 3) 연구 결과

#### ① 솔잎 추출물의 고지혈증 (포화지방산)에 의한 췌장세포 사멸 차단효과

솔잎 추출물 자체에 대한 효과를 먼저 살펴보았다. 실험 결과 1:10에서는 현저한 췌장 beta 세포 증식을 촉진하는 것을 확인하였다. 이에 반해 나머지 농도인 1: 100, 1: 1000 및 1: 10000에서는 대조군과 유의한 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 1). 솔잎 추출물 H<sub>2</sub>O 용매 분획의 효능을 검증하였다. 실험 결과 25, 100 ug/ml에서는 대조군과 유의성 있는 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 2). 이에 반해 500 ug/ml에서는 췌장 beta 세포 증식을 억제하는 것으로 나타났다 (그림 2). 다음으로 솔잎 추출물 Et-OH 용매 분획의 효능을 검증하였다. 실험 결과 25, 100 ug/ml에서는 대조군과 유의성 있는 차이는 인정이 되지 않았다. 이에 반해 500 ug/ml에서는 췌장 beta 세포의 증식을 촉진하는 것으로 나타났다 (그림 3). 따라서 본 실험에서는 솔잎 추출물 25 및 100 ug/ml을 사용하였다.

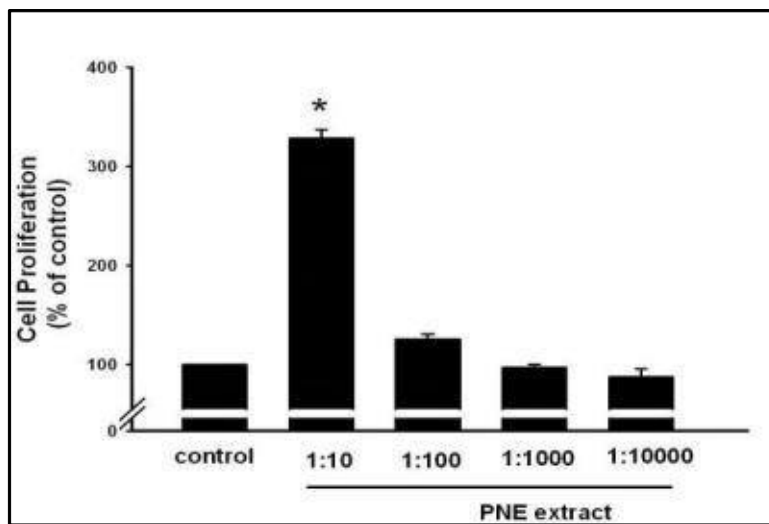


그림 1. 췌장 베타세포에서 솔잎 추출물의 농도에 따른 세포 성장에 미치는 효과

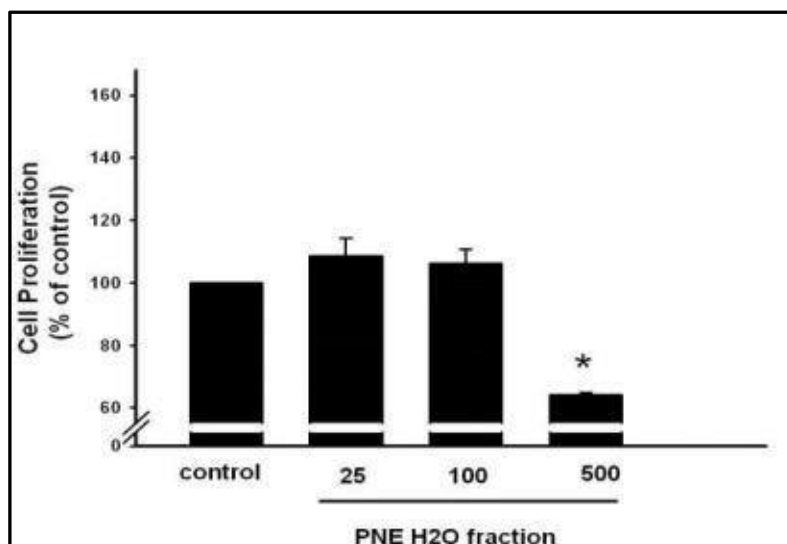


그림 2. 췌장 베타세포에서 솔잎 H<sub>2</sub>O 추출물의 농도에 따른 세포 성장에 미치는 효과

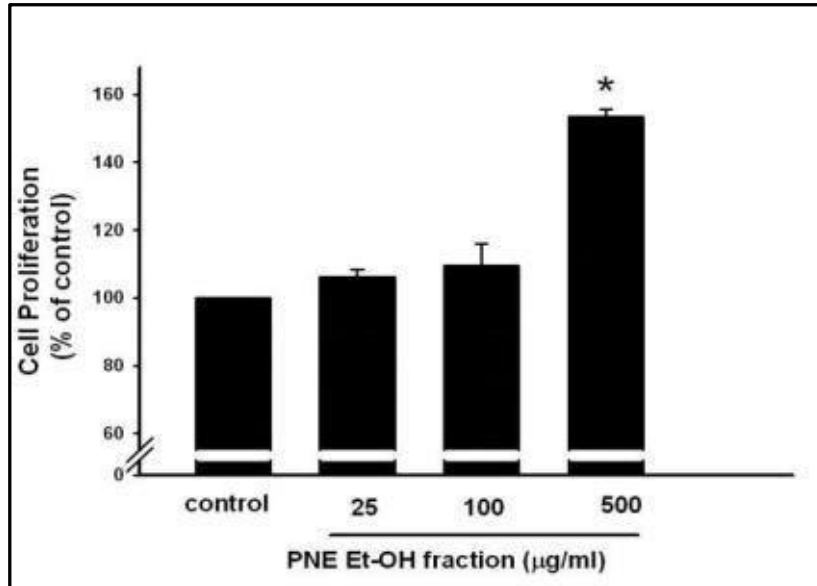


그림 3. 췌장 베타세포에서 솔잎 Et-OH 추출물의 농도에 따른 세포 성장에 미치는 효과

Palmitic acid 처리 시 췌장 베타 세포는 세포 사멸을 유도하였다 (그림 5). 이러한 palmitic acid 처리에 의한 세포 사멸은 솔잎 추출물 1:100에서는 차단을 하였으나 1: 1000 및 1: 10000에서는 차단효과가 인정되지 않았다 (그림 5).

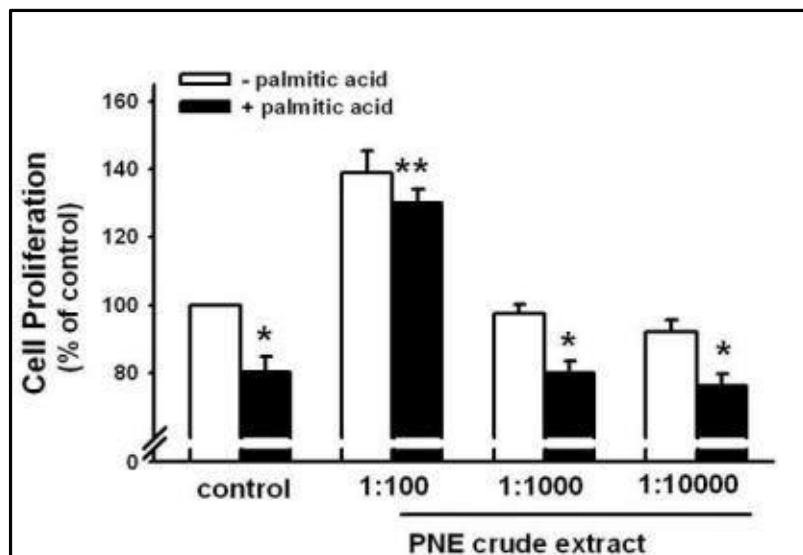


그림 4. 췌장 베타세포에서 palmitic acid에 의한 세포 사멸에 대한 솔잎 crude 추출물의 차단 효과

다음으로 솔잎 H<sub>2</sub>O 추출물 분획 및 Et-OH 추출물 분획의 palmitic acid의 차단효과를 알아보았다. palmitic acid 처리에 의한 세포 사멸은 솔잎 H<sub>2</sub>O 추출물 25 µg/ml 및 100 µg/ml에서는 차단효과가 인정이 되었다 (그림 5).

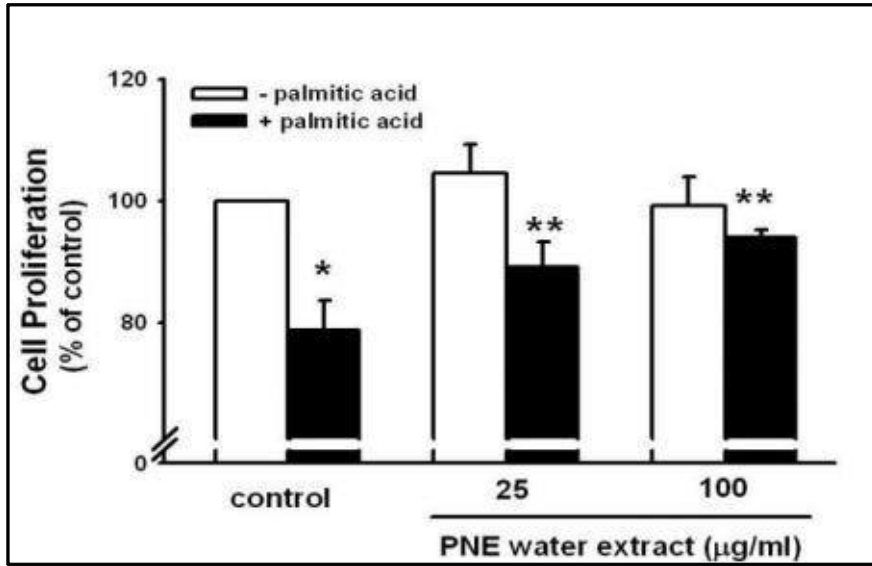


그림 5. 쥐장 베타세포에서 palmitic acid에 의한 세포 사멸에 대한 솔잎 H2O 추출물의 차단 효과

세포 사멸에 관련되는 단백질 발현을 알아보았다. Palmitic acid 처리 시 ER stress 관련 단백질인 PERK, IRE-1 alpha, ATF-4의 인산화 발현이 증가하였다. ER stress 관련 세포 사멸 단백질인 Grp78 및 CHOP 발현 역시 증가하였다 (그림 6). palmitic acid 처리에 의한 ER stress 관련 단백질 발현 증가는 솔잎 H2O 추출물 25 ug/ml 및 100 ug/ml에서 차단효과가 인정이 되었다 (그림 6). 세포 사멸에 관련되는 단백질 발현을 조사하였다. 실험결과 palmitic acid 처리 시 미토콘드리아 손상 지표인 cytochrome C 및 세포 사멸 촉진 단백질인 Bax의 발현은 증가하였다 (그림 7). 이에 반해 palmitic acid 처리 시 Bcl-2 의 발현은 감소하였다. 아울러 세포 사멸 실행자인 caspase-3 및 PARP의 활성화도 palmitic acid 처리 시 증가하는 것으로 나타났다 (그림 7). Palmitic acid 처리에 의한 세포 사멸 단백질 발현 증가는 솔잎 H2O 추출물 25 ug/ml 및 100 ug/ml에서 차단효과가 인정이 되었다 (그림 7).

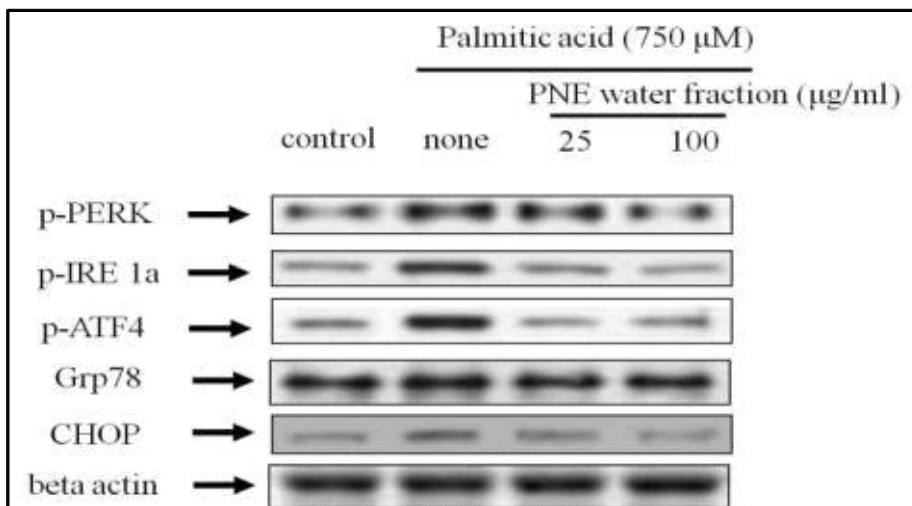


그림 6. 쥐장 베타세포에서 palmitic acid에 의한 세포 사멸에 대한 솔잎 H2O 추출물의 ER stress 관련 단백질 발현 차단 효과

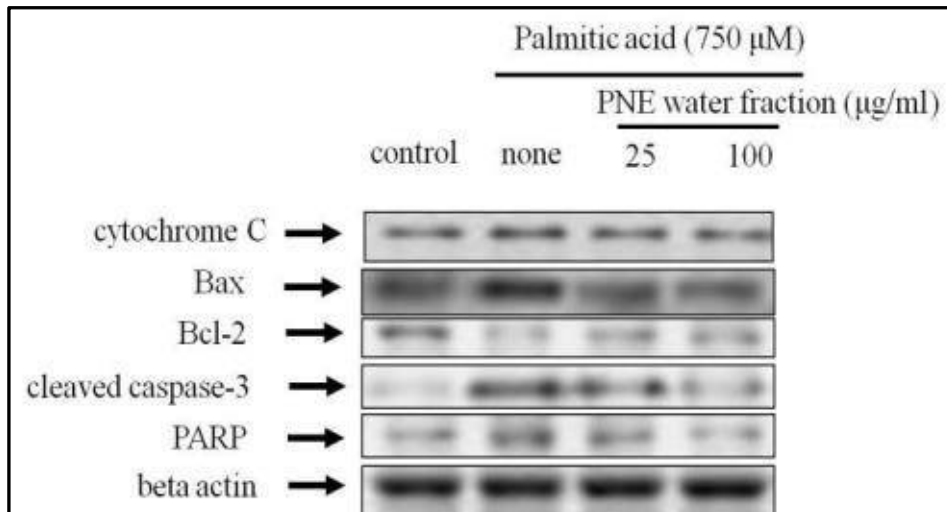


그림 7. 췌장 베타세포에서 palmitic acid에 의한 세포 사멸 단백질 발현에 대한 솔잎 H<sub>2</sub>O 추출물의 차단 효과

다음으로 솔잎 Et-OH 추출물 분획의 palmitic acid의 차단효과를 알아보았다. palmitic acid 처리에 의한 세포 사멸은 솔잎 Et-OH 추출물 25 ug/ml 및 100 ug/ml에서 차단효과가 인정이 되었다 (그림 8).

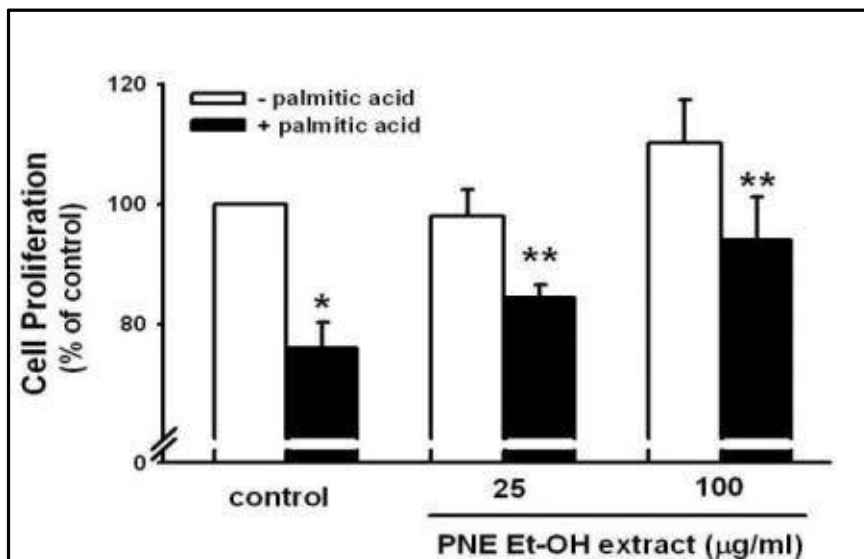


그림 8. 췌장 베타세포에서 palmitic acid에 의한 세포 사멸에 대한 솔잎 Et-OH 추출물의 차단 효과

세포 사멸에 관련되는 단백질 발현을 알아보았다. palmitic acid 처리에 의한 ER stress 관련 단백질 발현 증가는 솔잎 Et-OH 추출물 25 ug/ml 및 100 ug/ml에서 차단효과가 인정이 되었다 (그림 9). 세포 사멸에 관련되는 단백질 발현에서도 역시 palmitic acid 처리에 의한 세포 사멸 단백질 발현 증가는 솔잎 Et-OH 추출물 25 ug/ml 및 100 ug/ml에서 차단효과가 인정이 되었다 (그림 10).

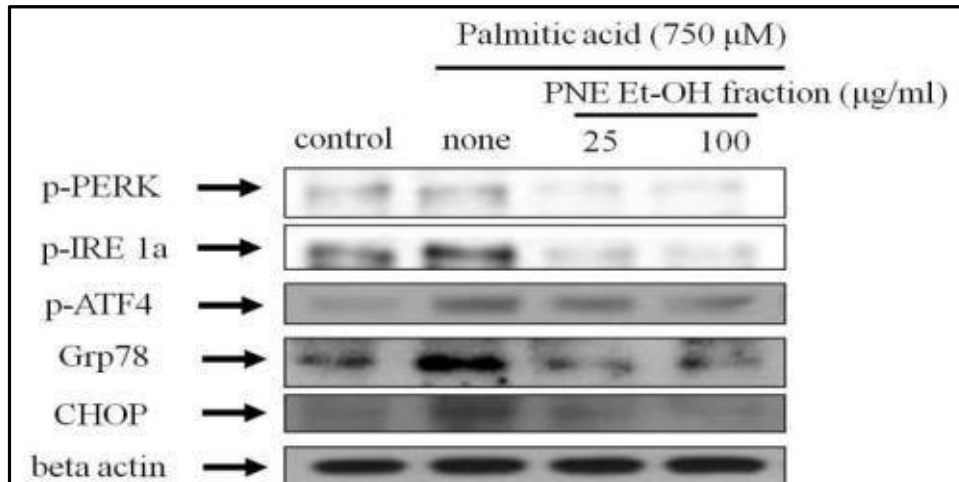


그림 9. 췌장 베타세포에서 palmitic acid에 의한 세포 사멸에 대한 솔잎 Et-OH 추출물의 ER stress 관련 단백질 발현 차단 효과

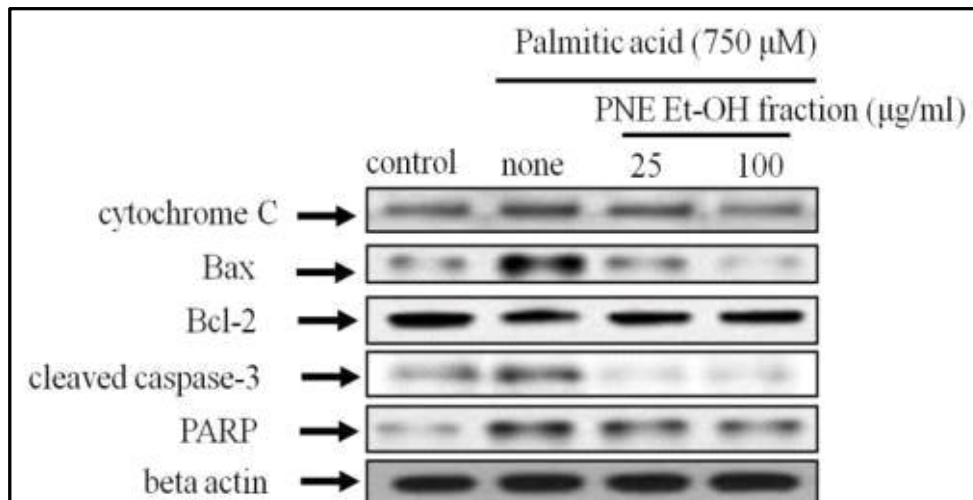


그림 10. 췌장 베타세포에서 palmitic acid에 의한 세포 사멸에 대한 솔잎 Et-OH 추출물의 세포 사멸 관련 단백질 발현 차단 효과

② 솔잎 추출물의 고혈당증 (고포도당)에 의한 췌장세포 사멸 차단효과

다음으로 고포도당에 대한 효과를 알아보았다. 고포도당 (30 mM) 처리 시 췌장 베타 세포는 세포 사멸을 유도하였다 (그림 11). 솔잎 H<sub>2</sub>O 추출물 분획 및 Et-OH 추출물 분획의 고포도당의 세포사멸 차단효과를 알아보았다. 고포도당에 의한 세포 사멸은 솔잎 H<sub>2</sub>O 추출물 25 μg/ml 및 100 μg/ml에서 차단효과가 인정이 되었다 (그림 11). 솔잎 Et-OH 추출물 25 μg/ml 및 100 μg/ml에서 차단효과가 인정이 되었다 (그림 11).

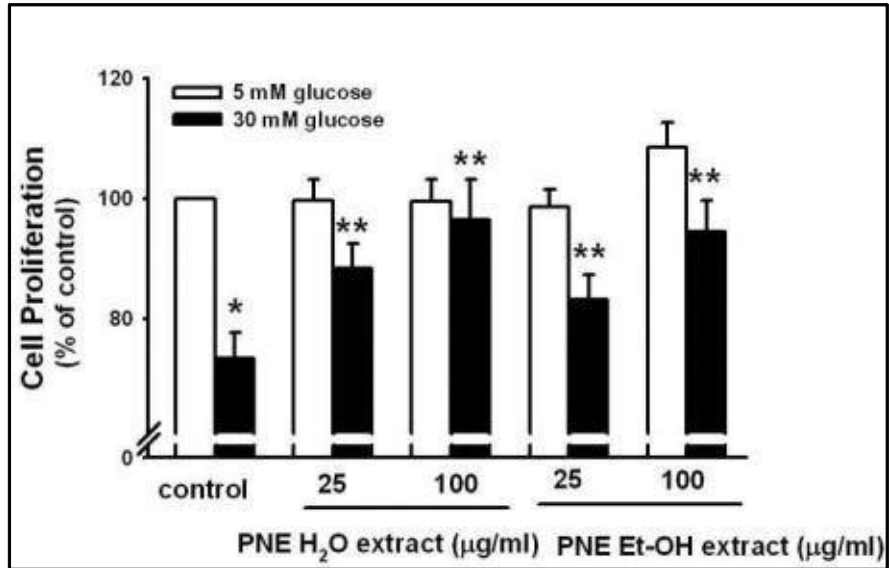


그림 11. 췌장 베타세포에서 고평도당에 의한 세포 사멸에 대한 솔잎 H<sub>2</sub>O 및 Et-OH 추출물의 차단 효과

세포 사멸에 관련되는 단백질 발현을 알아보았다. 고평도당 처리 시 세포 사멸 관련단백질 발현은 증가하는 것으로 나타났다 (그림 12, 그림 13). 이러한 작용은 솔잎 H<sub>2</sub>O 추출물 25 µg/ml 및 100 µg/ml에서 차단효과가 인정이 되었다 (그림 12). 솔잎 Et-OH 추출물 25 µg/ml 및 100 µg/ml에서도 고평도당에 의한 세포 사멸 관련 단백질 차단효과가 인정이 되었다 (그림 13).

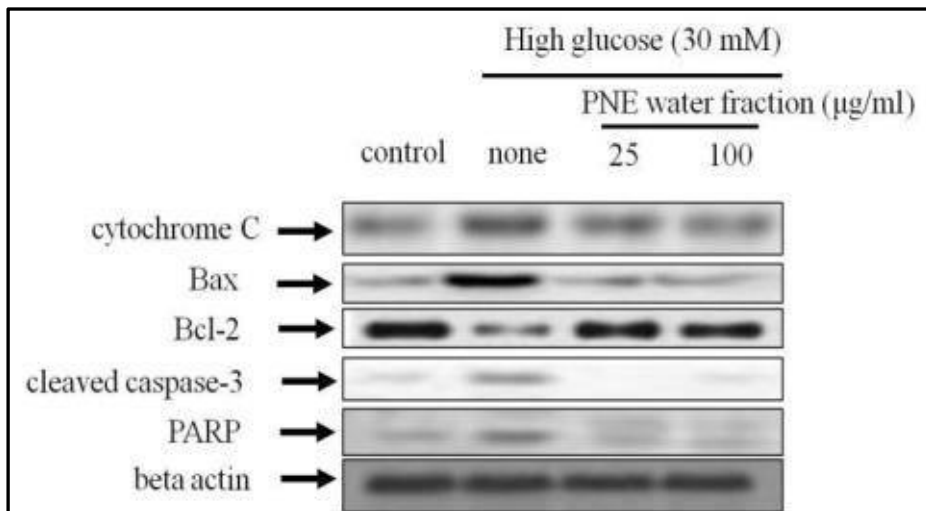


그림 12. 췌장 베타세포에서 고평도당에 의한 세포 사멸 단백질 발현에 대한 솔잎 H<sub>2</sub>O 추출물의 차단 효과

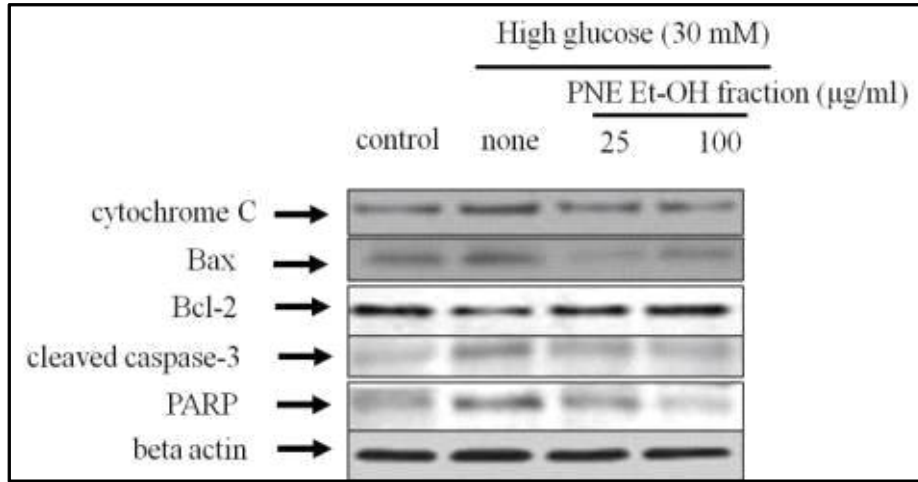


그림 13. 췌장 베타세포에서 고평도당에 의한 세포 사멸 단백질 발현에 대한 술잎 Et-OH 추출물의 차단 효과



### III. 기능성 쌀 가공제품의 인체적용시험을 위한 조건 도출 기초연구

#### 1. 연구배경

- 기능성 쌀 가공제품의 주요 구성 영양소는 탄수화물이며, 이에 탄수화물 대사 문제를 가지고 있는 경우가 주요 소비자가 될 것임.
- 당대사 이상자를 대상으로 개발된 식품의 경우 당내성 검사(oral glucose tolerance test, OGTT)를 통한 혈당지수(glycemic index, GI)와 혈당부하지수(glycemic load, GL) 개념을 도입하여 기능성을 제시하고 있음. 상기 지표를 통한 검증 결과의 제시가 소비자에게 개발된 쌀 가공제품의 기능성을 인식시키는데 도움이 될 것임.
- 표준당내성 검사의 표준물질로 당내성검사용 물질로 보통 포도당(75g/100mL)의 용액이 사용되고 있음. 식품의 GI의 경우 식품의 구성(식이섬유소, 지방 함량 및 조성의 치밀도) 등에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있음.
- 경구당부하검사 반응은 대상자의 특성 특히, 내당능장애(impaired glucose tolerance) 여부에 따라 반응 양상에 차이가 있을 것으로 추측됨. 내당능장애는 평상시 공복 시 혈당은 정상이나 식후 2시간 후에도 정상혈당으로 회복되지 못하고 고혈당을 보이는 경우임. 따라서 대상자 선별 및 실험군과 대조군 선정 시 고려해야 할 사항에 대한 기초분석이 필요함.

#### 2. 연구대상자 및 방법

본 연구실의 기초자료를 이용하여 기능성 쌀 가공제품의 당대사 개선 기능성에 대한 인체적용시험을 위한 대상자 선정 범위 및 조건 도출을 위한 기초 분석(pilot study)을 실시하였다.

1) 연구 대상자: 무작위로 모집한 건강한 20-30세의 여대생을 대상으로 하였다. 설문조사자료를 통하여 당뇨병에 대한 가족력이 있는 경우와 당뇨병의 가족력이 없는 대상으로 구분하였다. 이때 당뇨병의 가족력은 부계 및 모계 2대(조부모)까지로 한정하였으며, 병원으로부터 진단을 받은 경우로 한정하였다. 또한 연구대상자의 내당능장애 여부는 표준 OGTT용 포도당 용액을 사용하여 혈당 반응 검사를 하여 섭취 후 2시간 후 혈당 농도가 140mg/dL 이상을 보인 경우로 정의 하였다.

2) 연구 조건: OGTT용 포도당 용액(75g/100ml, 디아졸, 태준제약)을 사용하였으며, 식품은 시중에서 판매되고 있는 즉석밥(햇반, CJ)을 탄수화물 함량 75g 해당하는 량(230g)을 사용하였다. 섭취량의 차이에 다른 오차를 최소화하기 위하여 수분을 제공하여 총 섭취량이 일치하도록 조정하였다. 사용한 포도당 용액과 백미밥의 구성은 Table1과 같다.

Table 1. Condition of carbohydrate type taken

	Glucose solution	Food (boild rice)
Meal vol.	150	230
Water vol.	80	
Total vol.	230	230
Available carbohydrate(g)	75	75

3) 연구방법: 실험 대상자들은 12시간 동안 절식하도록 하였으며, 실험 당일 공복상태로 간이 혈당측정기로 혈당을 검사한 후 75g의 당질이 함유되어 있는 Glucose solution을 10분에 걸쳐 섭취하도록 하였다. 섭취 후 15, 30, 60, 90, 120분에 각각 손끝에서 채혈하여 간이혈당계 (accucheck, 로슈(주), 스위스)로 혈당을 측정하였다. 공복 및 2시간 동안 얻어진 혈당치를 이용하여 혈당반응곡선을 작성한 후 Area under the curve (AUC)를 산출하였다. 식품의 경우도 포도당액과 동일한 방법으로 측정하였으며, 포도당액과 식품 섭취 시기 사이에 일주일의 시간 차를 두었으며, 이 시기에는 평상시와 동일한 생활을 유지하도록 하였다.

4) 통계처리: 얻어진 모든 자료는 통계프로그램인 SPSS 12.0을 이용하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 비교군간 평균의 차이는 student t-test로 분석하였다.

### 3. 연구결과 개요

#### 1) 연구대상자의 특징

연구대상자는 가족력과 내당능장애자의 분포는 Table 1과 같다. 대상자 중 당뇨 가족력을 가진 경우는 10명이었으며, 이중 50%(5명)가 내당능장애를 나타내었다. 한편 당뇨 가족력이 없는 경우는 20명이었으며 이중 25%(5명)가 내당능장애를 나타내었다.

**Table 1. Distribution of subjects with DM family history and/or impaired glucose tolerance**

		DM family history		Total
		No	Yes	
Impaired glucose tolerance	No	15	5	20
	Yes	5	5	10
	Total	20	10	30

DM: diabetes mellitues

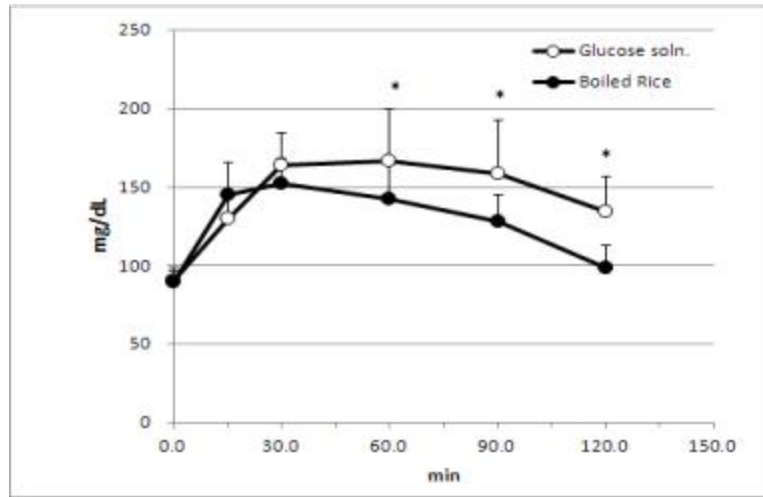
#### 2) 탄수화물 공급 형태에 따른 혈당 농도

포도당 용액과 백미밥의 형태로 탄수화물 75g을 섭취하였을 때의 혈당반응은 Table 2 및 Fig.1과 같다. 대상자들의 공복 시의 혈당 농도는 양 측정 시 유의한 차이가 없었다. 탄수화물 75g을 포도당 용액과 밥의 형태로 섭취 15분 후 및 30분 후에는 양군의 혈당 농도에 유의한 차이가 없었으나 60분 후, 90분 후 및 120분 후에는 포도당 용액 형태로 섭취한 경우가 밥의 형태로 섭취한 경우보다 유의하게 혈당 농도가 높게 나타났다. 포도당 용액 형태로 섭취한 경우 2시간 후의 혈당 농도는 134.7±22.3mg/dL로 정상 범위로 회복하지 못하였다.

**Table 2. Response of oral glucose tolerance test by carbohydrate type taken**

	0min	15min	30min	60min	90min	120min
Glucose Soln.	90.4±8.0	129.9±13.7	164.1±20.8	166.3±33.4*	159.0±33.9*	134.7±22.3*
Boiled Rice	89.8±6.7	145.2±20.8	152.0±16.5	142.6±21.8	127.9±17.0	98.1±15.0

(n=30, 75g carbohydrate), \*: p<0.05



**Fig.1. Response of oral glucose tolerance test by carbohydrate type taken (n=30, 75g carbohydrate), \*: p<0.05**

### 3) 탄수화물 공급 형태에 따른 혈당반응면적 (Area under the curve)

포도당 용액과 백미밥의 형태로 탄수화물 75g을 섭취하였을 때의 혈당반응면적은 Table 3 및 Fig. 2와 같다. 2시간 동안의 AUC(Area under the curve)는 포도당 형태로 섭취한 경우가 백미밥 형태로 섭취한 경우보다 유의하게 높았다. 시간별 반응으로 볼 때 포도당 형태로 섭취한 경우 백미밥 형태로 섭취한 경우에 비하여 15분 이후부터 지속적으로 반응면적이 점차 크게 나타났으며, 2시간 동안의 혈당반응면적 차이는 90-120분 사이의 반응면적 차이에서 기인하였다.

**Table 3. Accumulative area under the curve by carbohydrate type taken**

	0-15min	15-30min	30-60min	60-90min	90-120min	2hour AUC
Glucose Soln.	1654.4 ±148.4	2184.0 ±268.9	4956.1 ±706.3	4592.4 ±814.6	5998.8 ±2423.5*	17802.1 ±1989.9*
Boiled Rice	1768.2 ±218.9	2238.9 ±280.8	4421.4 ±534.0	4057.2 ±540.6	3403.4 ±495.2	16142.3 ±1997.0

(n=30, 75g carbohydrate), \*: p<0.05

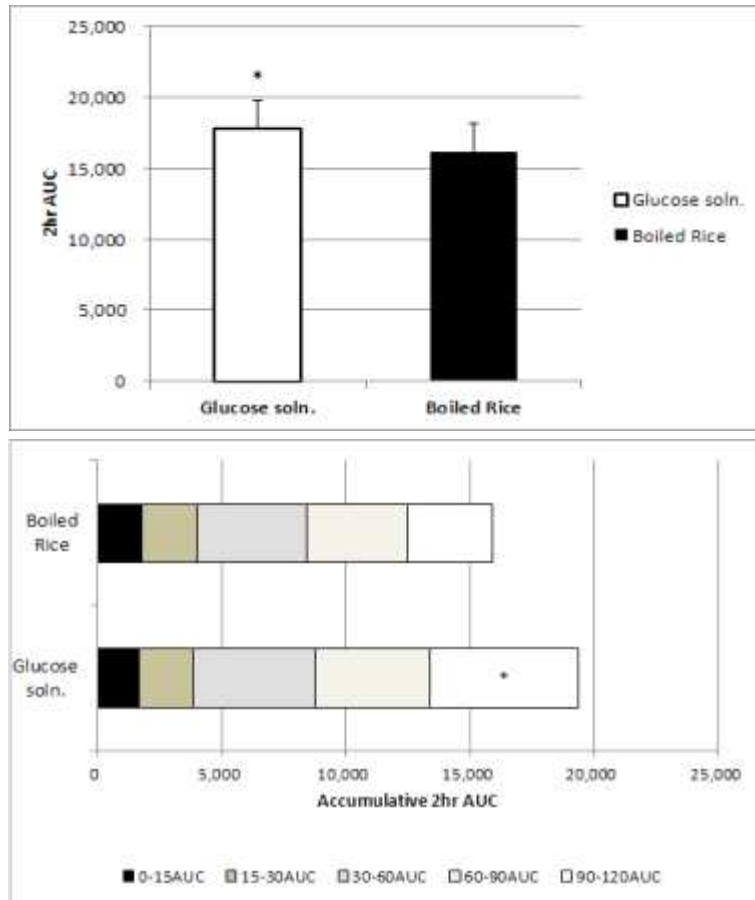
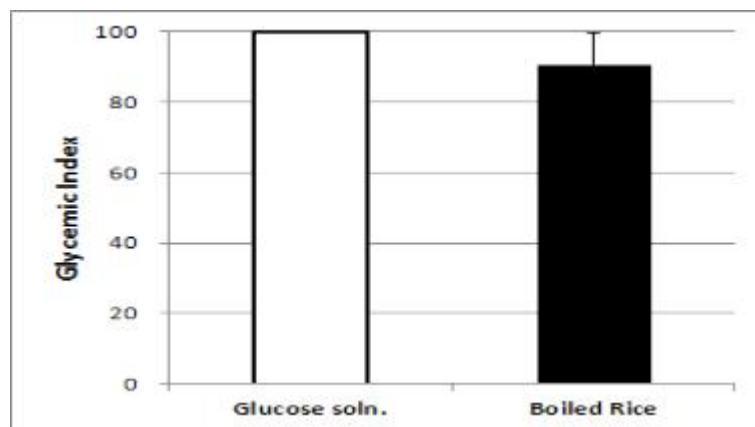


Fig.2. Accumulative area under the curve by carbohydrate type taken (n=30, 75g carbohydrate), \*: p<0.05

4) 탄수화물 공급 형태에 따른 혈당지수(glycemic index)

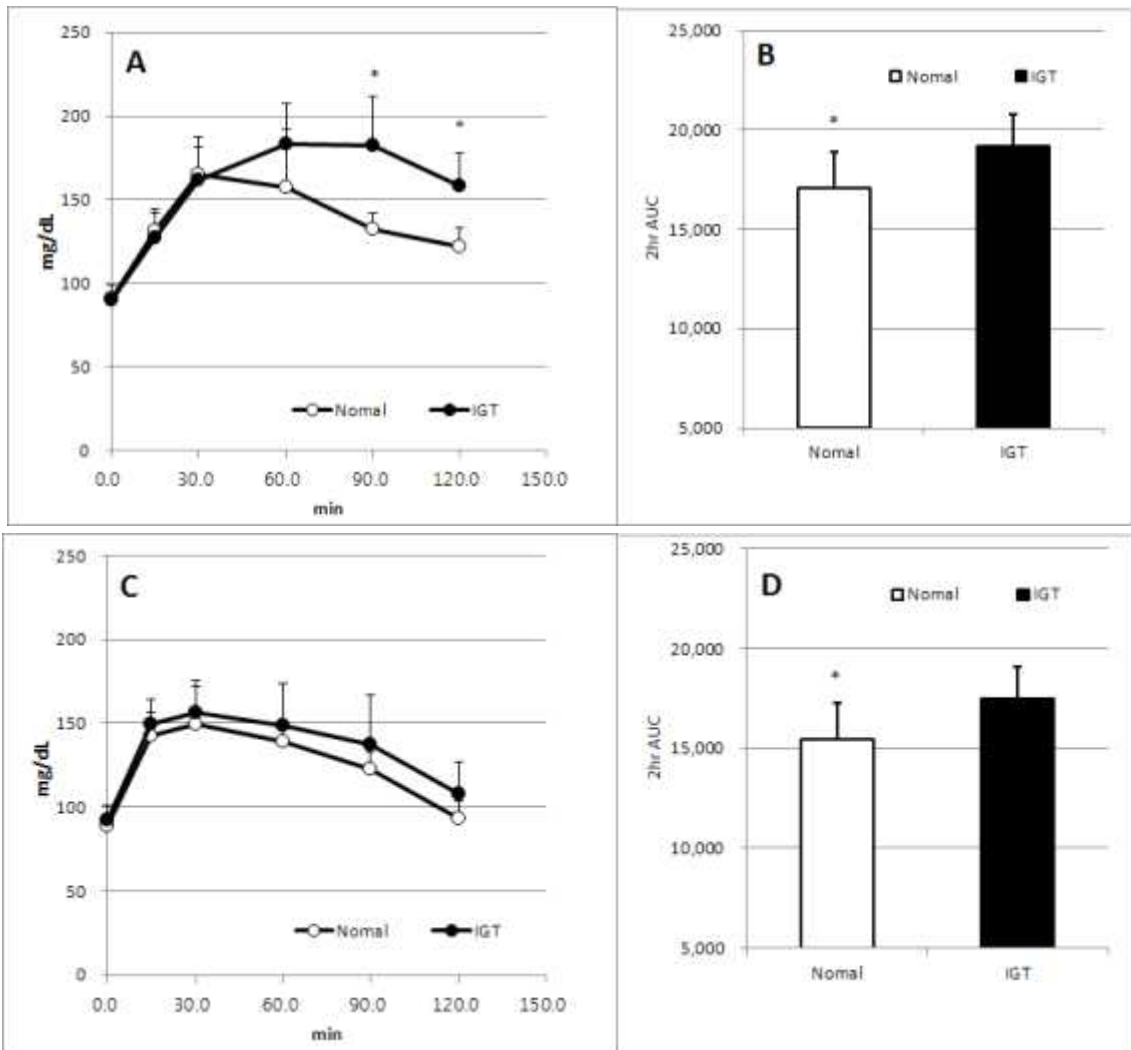
포도당 용액과 백미밥의 형태로 탄수화물 75g을 섭취하였을 때의 혈당지수를 포도당 용액 형태로 섭취했을 때를 기준으로 비교한 결과는 Fig. 3과 같다. 포도당형태로 섭취했을 때와 비교하여 백미밥 형태로 섭취했을 시의 GI는 90.7±8.7%이었다.



**Fig.3. Glycemic index by carbohydrate type taken**

5) 내당능장애(impaired glucose tolerance, IGT) 여부에 따른 혈당 반응

공복 시 혈당 농도는 정상이나 경구당부하검사 2시간 후에도 혈당이 정상 농도로 회복하지 못하고 140mg/dL 이상을 보인 경우를 내당능장애로 분류하였다. 대상자중 내당능장애를 보이는 경우는 10명이었으며, 정상인 경우와 경구당부반응을 비교한 결과는 Fig. 4와 같다. 내당능장애의 경우 포도당 용액 형태로 탄수화물(75g)공급 15분 30분까지는 혈당농도가 거의 유사하였고, 60분 후부터 점차 증가하는 경향을 보이기 시작하였으며, 90분 후 및 2시간후에는 혈당 농도가 유의하게 높았다(Fig 4.A). 2시간동안 혈당 반응을 산출한 혈당반응면적 또한 내당능장애자가 유의하게 높았다(Fig.4.B). 한편 백미밥 형태로 탄수화물(75g)을 공급한 경우, 내당능 장애자의 혈당 농도는 공급 30분 후부터 정상인보다 높은 경향을 보였으며, 이러한 경향은 공급 후 2시간까지 지속되었다. 각 혈당 측정 시간대별 혈당 농도는 정상인과 내당능장애자 사이에 유의한 차이가 없었다. 그러나 2시간 동안의 혈당반응을 산출한 혈당반응면적은 정상인에 비하여 내당능장애자가 유의하게 높았다.



**Fig 4. Response of glucose tolerance test by carbohydrate type taken and with/without IGT subject. IGT: impaired glucose tolerance, A, B: glucose solution, C, D: boiled rice**

6) 당뇨병 가족력 여부에 따른 혈당 반응

현재 대사성질환이 없는 건강한 상태이나 부계 및 모계에 당뇨병 가족력 유무에 따른 당부하검사 반응결과는 Fig 4.와 같다. 탄수화물을 포도당 용액 형태로 탄수화물(75g)공급할 경우는 가족력이 있는 경우 가족력이 없는 경우에 비하여 당부하 2시간 후 혈당 농도가 높은 경향이였으나 통계적 유의성은 없었으며(Fig.4.A), 혈당반응면적도 유의한 차이가 없었다(Fig. 4.B). 백미밥의 형태로 탄수화물(75g)을 공급할 경우는 가족력 유무에 따라 혈당반응 및 혈당반응면적에 유의한 차이가 없었다(Fig.4.C,D)

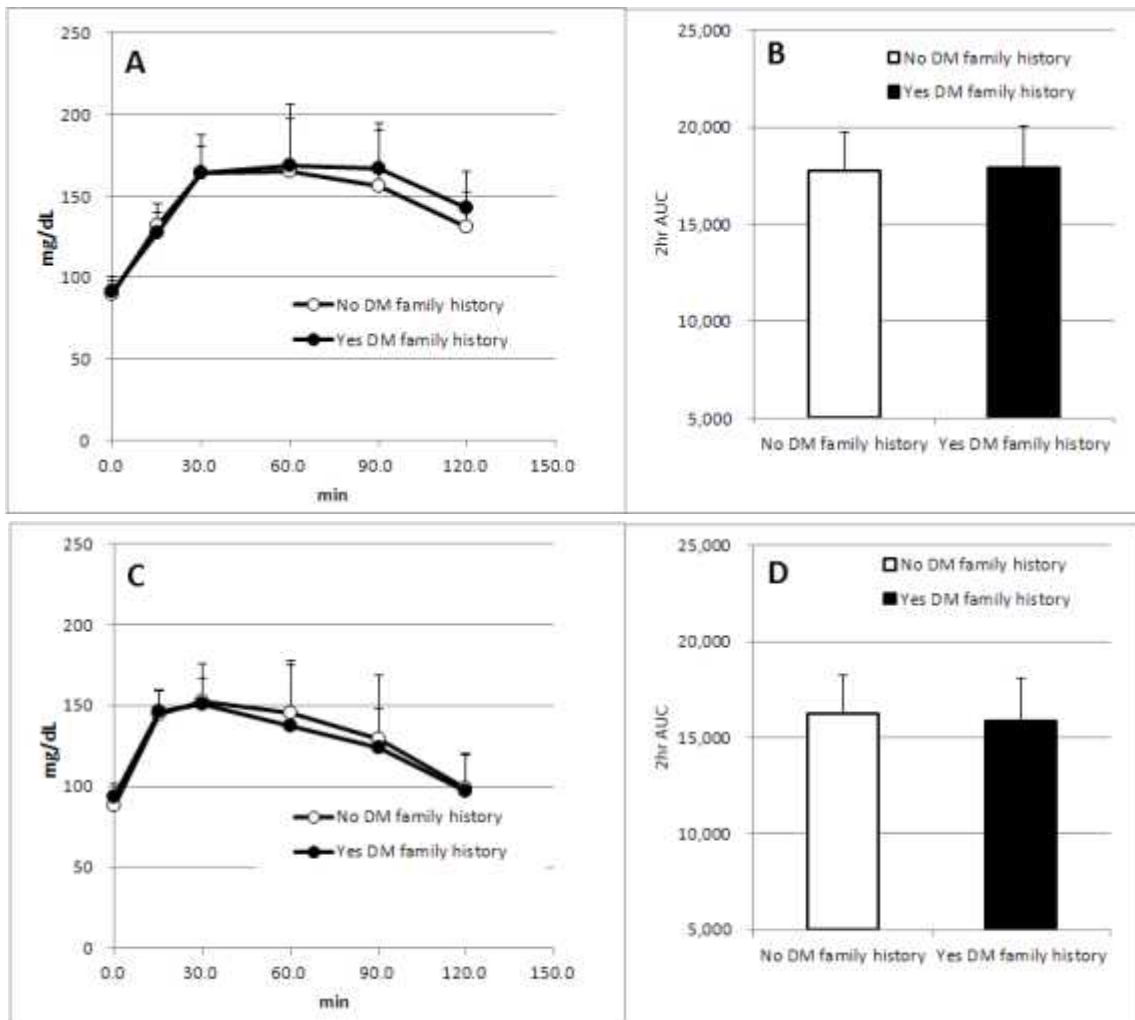


Fig 5. Response of glucose tolerance test by carbohydrate type taken and DM family history.

DM: diabetes mellitus, A, B: glucose solution, C, D: boiled rice

이상의 결과로 볼 때 기능성 쌀 가공식품을 개발하고 개발된 식품의 당대사 개선 기능성 검증을 위해서는 제공되는 탄수화물의 형태에 따라 동일인일지라도 유의한 반응차이가 있음을 나타내었다. 또한 내당능장애 여부에 따라 당부하검사 반응에 유의한 차이가 있음을 보여주었다. 내당능장애여부는 당뇨 가족력 유무와 관련이 있는 것으로 나타났다. 따라서 혈당대사 개선 기능성 쌀 가공식품의 인체적용시험을 위한 대상자 선별에는 대상자의 내당능반응 검사를

기초로 선별해야 함을 시사한다. 또한 대상자 선별 1차 스크리닝 시 당노가족력 여부를 확인할 필요가 있음을 시사한다. 또한 공급하는 탄수화물 형태에 따라 당부하검사 결과 및 GI 산출에 영향을 미칠 수 있으므로 이에 대한 고려가 필요함을 시사한다. 이에 기능성 쌀 가공식품의 혈당반응 개선효과 검증을 위한 당내성검사 및 GI 도출을 위해서는 포도당 용액 형태가 아닌 식품의 형태로 비교기준을 정해야 한다는 점을 시사한다.

3-2과제: 인체적용실험을 통한 기능성 쌀 가공제품의 혈당대사연구

2차년도: 대사기능 개선 기능성 소재 동물실험을 통한 기능성 평가	
수 행 내 용	<p><b>I. 소재 적용 개발식품 또는 조성물의 기능성 평가</b></p> <p>1. 대사기능 개선 기능성 소재 조성물(솔잎분말, 저항전분, 미강)의 탄수화물 대사기능 개선효과 평가(in vivo)</p> <p>1) 솔잎분말의 식후 혈중 중성지방 대사기능 개선 효과(in vivo)</p> <p>2) 저항전분(RS)의 식후 혈당 대사기능 개선 효과(in vivo)</p> <p>3) 미강(Rice bran)의 식후 혈당 대사기능 개선 효과(in vivo)</p> <p><b>II. 동물실험을 통한 대사기능 개선 효과 평가(적용소재: 미강)</b></p> <p>1. High Fat Diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 개선 효과 평가</p> <p>1) 미강 첨가 고지방식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가</p> <p>2) 미강추출물의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가</p> <p>2. 백미를 기초로 한 미강 첨가 식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가</p> <p>1) 백미를 기초로 한 미강 첨가 정상식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가</p> <p>2) 백미를 기초로 한 미강 첨가 고지방식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가</p> <p>3. High Sucrose Diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 개선 효과 평가</p> <p>4. 질환모델(비알코올성간질환)을 통한 대사장애 개선(항산화/항염증) 효과 평가</p> <p>5. 흑미 미강의 기능성 평가</p> <p><b>III 인체시험적용 시험을 통한 기능성 평가</b></p> <p>1. 인체적용시험 조건도출 및 적용가능성 타진</p>

**I. 소재 적용 개발식품 또는 조성물의 기능성 평가**

1. 대사기능 개선 기능성 소재 조성물(솔잎분말, 저항전분, 미강)의 탄수화물 대사기능 개선효과 평가(in vivo)

○ 연구배경

- 복부비만, 고지혈증, 고혈압 및 당대사 이상 중 3가지 이상의 증상을 동반하는 대사증후군의 유병률이 증가하고 있으며, 이의 예방과 관리에 대한 국가적 관심이 고조되고 있다. 따라서, 당대사 장애의 예방 또는 개선 효과를 가진 소재의 개발을 위해 in vitro/in vivo model을 이용하여 기능성 검증 연구를 하였음.

- in vitro에서 탄수화물/지질 분해효소 저해능 평가로 glucosidase 및 lipase activity 저해 효과를 분석하며, 그의 positive control로 acarbose와 orlistate를 사용함. in vivo 실험으로는 ICR mice를 이용하여 선택된 소재의 경부 당 부하 검사를 통해 탄수화물 및 지질 흡수 저해 효과(Acute response)를 분석하였음.

1) 솔잎분말의 식후 혈중 중성지방 대사기능 개선 효과 (in vivo)

가. 연구방법



12 시간 동안 절식시킨 8주령의 수컷 ICR mice에 지방 현탁액(Oil-emulsion)을 12mL/kg, BW 경구투여 하였다. 지방 현탁액은 corn oil(6 ml), cholic acid(80mg), cholesteryl oleate(2 g), saline solution(6ml) 으로 구성되어 있으며 실험군의 경우 솔잎 추출물(100, 200, 300 mg/kg)을 첨가하였다. 지방현탁액을 투여하기 전과 투여 후 1, 2, 3, 4 시간 췌에 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 간이 혈중 지질농도 측정기(리피드프로, (주)인포피아, 대한민국)를 사용하여 중성지방 농도를 측정하였다. 대조군과 실험군에서 얻어진 식후 중성지방 농도 결과를 이용하여 식후중성지방반응면적(Area under the curve, AUC)를 산출하여 비교하였으며, orlistat를 양성대조구로 사용하였다(Fig. 1)

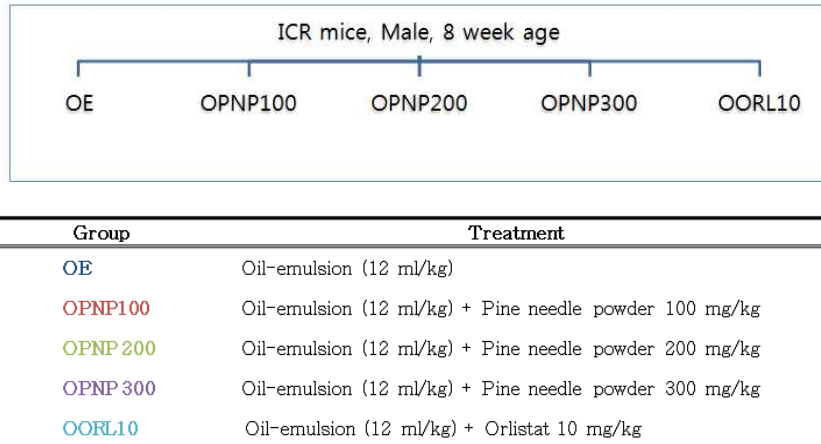


Fig. 1. Experimental groups and Orally administration dose

#### 나. 연구결과

식후 지질농도반응은 Fig. 2와 같다. 공복 시 중성지방 농도는 대조군과 실험군 사이에 유의한 차이가 없었으며, 섭취 후 4시간 후 혈액 중 중성지방 농도 또한 비교군 사이에 유의한 차이가 없었다. 그러나 섭취 1시간 후에는 대조군의 혈중 중성지방 농도가 가장 높았으며 솔잎 분말 100, 200, 300 mg/kg BW 실험군에서 혈중 중성지방 농도가 유의하게 감소하였다. 섭취 2시간 이후부터 혈중 중성지방 농도는 실험군에서 감소하는 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다(Fig. 2).

섭취 후 4시간 동안의 혈중 중성지방 반응면적은 솔잎분말 100mg/kg BW 실험군에서 유의하게 감소하였으며, 200mg/kg, BW와 300mg/kg, BW 처리군은 감소하는 경향이었으나 유의한 차이는 없었다(Fig. 3).

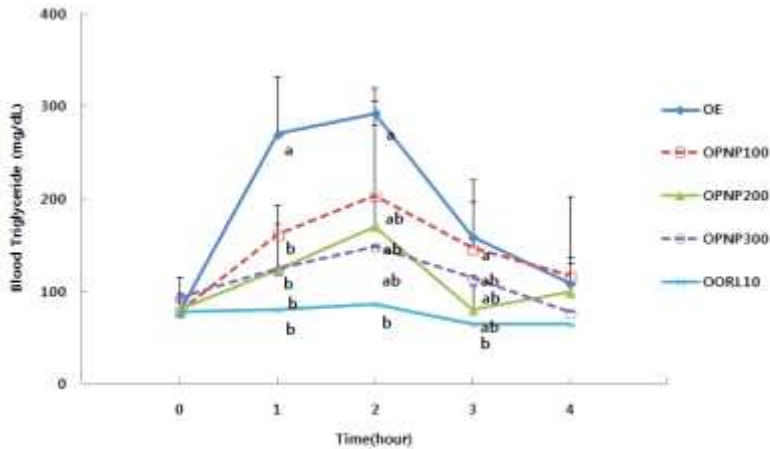


Fig 2. Effects of Pine needle powder on mice blood triglyceride levels after oral administration of a oil-emulsion

- 1) Group abbreviation: OE; Oil-emulsion (12 ml/kg), OPNP100; Oil-emulsion (12 ml/kg) + Pine needle powder 100 mg/kg, OPNP200; Oil-emulsion (12 ml/kg) + Pine needle powder 200 mg/kg, OPNP300; Oil-emulsion (12 ml/kg) + Pine needle powder 300 mg/kg, OORL10 Oil-emulsion (12 ml/kg) + Orlistat 10 mg/kg
- 2) Significantly different between five experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test.

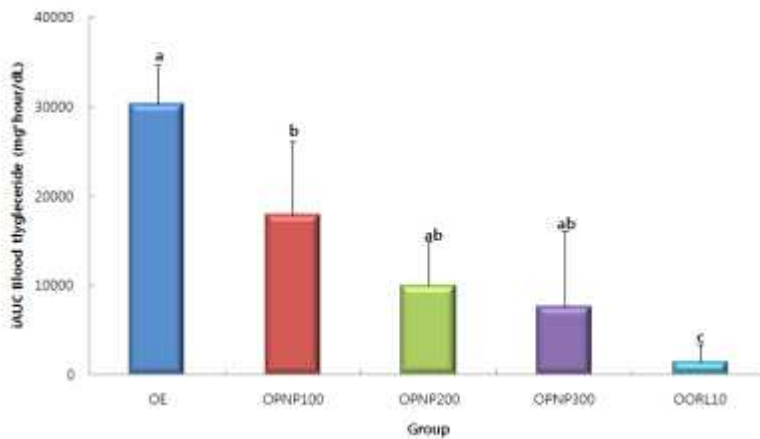


Fig 3. Effects of Pine needle powder on mice iAUC blood triglyceride levels after oral administration of a oil-emulsion

- 1) Group abbreviation: OE; Oil-emulsion (12 ml/kg), OPNP100; Oil-emulsion (12 ml/kg) + Pine needle powder 100 mg/kg, OPNP200; Oil-emulsion (12 ml/kg) + Pine needle powder 200 mg/kg, OPNP300; Oil-emulsion (12 ml/kg) + Pine needle powder 300 mg/kg, OORL10 Oil-emulsion (12 ml/kg) + Orlistat 10 mg/kg
- 2) Significantly different between five experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test.

이상의 결과로부터 지질 대사 개선 기능성 검증 방법으로 양성 대조물질인 orlistat를 사용하여 평가한 결과 in vivo 식후 지질농도 반응 개선 기능성 검증 방법으로 mice를 이용하여 혈중 중성지방 반응 검사로 평가하는 것이 적합하다는 점이 도출되었다. 상기 방법으로 기능성 쌀 가공제품 개발소재 중의 하나인 솔잎의 지질대사 개선 가능성이 제시되었다.

## 2) 저항전분(RS)의 식후 혈당 대사기능 개선 효과(in vivo)

### 가. 연구방법

12시간 절식 시킨 8주령의 수컷 ICR mice를 측정에 이용하였다. 실험동물은 대조군과 실험군으로 구분하였으며, 대조군은 백미(WR; white rice, 1g/kg BW)를 경구 투여한 후 30, 60, 90, 120분에 꼬리정맥에서 채혈하여 식후혈당반응(postprandial glycemia)을 측정하였고, 실험군은 백미와 저항전분(RS)을 10%, 50% 첨가하여 경구투여한 후 대조군과 동일한 방법으로 식후혈당반응을 측정하였다. 대조군과 실험군에서 얻어진 식후혈당반응 결과를 이용하여 식후혈당반응면적(Area under the curve, AUC)를 산출하여 비교하였다.

### 나. 연구결과

식후혈당반응면적은 Fig. 1과 같다. 대조군과 RS10%첨가 실험군 사이에는 유의한 차이가 없었다. 그러나 RS 50%첨가 실험군의 식후혈당반응면적은 유의하게 감소하였다.

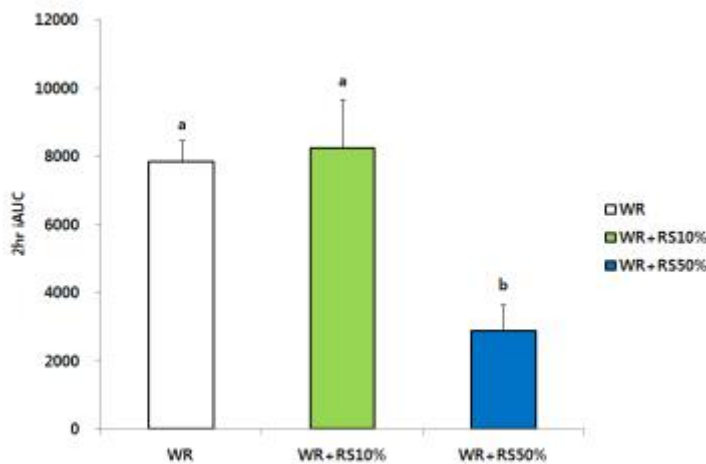


Fig. 1. Effect of Resistance starch(RS) on increamental area under the curve(IAUC)

Significantly different between five experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test.

WR; white rice, RS; resistance starch

## 3) 미강(Rice bran)의 식후 혈당 대사기능 개선 효과(in vivo)

### 가. 연구방법

12시간 절식 시킨 8주령의 수컷 ICR mice를 측정에 이용하였다. 실험동물은 대조군과 실험군으로 구분하였으며, 대조군은 백미(WR; white rice, 1g/kg BW)를 경구 투여한 후 30, 60, 90, 120분에 꼬리정맥에서 채혈하여 식후혈당반응(postprandial glycemia)을 측정하였고, 실험군은 백미와 미강(RB)을 10%, 50% 첨가하여 경구투여한 후 대조군과 동일한 방법으로 식후혈당반응을 측정하였다. 대조군과 실험군에서 얻어진 식후혈당반응 결과를 이용하여 식후혈당반응면적(Area under the curve, AUC)를 산출하여 비교하였다.

나. 연구결과

식후혈당반응면적은 Fig. 1과 같다. 대조군에 비해 RB10, 50%첨가 실험군의 식후혈당반응면적이 유의하게 감소하였다. 그리고 RB50%첨가 실험군에서 RB의 농도가 높아질수록 식후혈당반응면적이 유의하게 감소하였다.

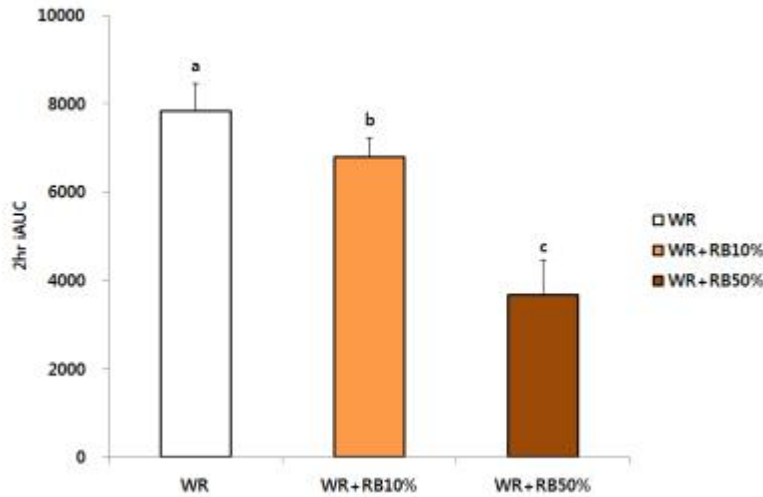


Fig. 1. Effect of Rice bran(RB) on incremental area under the curve(IAUC) Significantly different between five experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test.

WR; white rice, RB; rice bran

이상의 결과로부터 기능성 쌀 제품 개발 소재인 저항전분과 미강의 당대사 개선 가능성이 제시되었다.

II. 동물실험을 통한 대사기능 개선 효과 평가 (적용소재: 미강)

1. High Fat Diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 개선 효과 평가

1) 미강 첨가 고지방식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가

(1) 연구배경

고지방 식생활 환경에 노출되어 있는 현대인에게 있어 기능성 떡 가공품의 효과 여부를 파악하고자 45% high fat diet에 노출시킨 C57BL/6 마우스에 기능성소재(미강20-40%)를 첨가한 식이를 (준)질환동물 모델에 적용하여 당대사 및 연관 대사에 미치는 생리적 효과를 분석하고자 함.

(2) 연구방법

가. 미강의 준비

1차년도 3-1과제에서 개발한 방법, 고온 및 냉각 처리과정을 통하여 안정화(특히 출원중) 시킨 미강(rice bran)을 확보하여 제반 실험에 사용함.

나. 실험동물 및 사육

실험동물은 4주령의 평균체중  $15.5 \pm 0.9$  g인 C57BL/6 mice 수컷을 (주)Uni Faith(서울, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 동물 사육실의 온도 및 습도는  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $50 \pm 5\%$  내외로 설정하였으며, lighting cycle은 12시간 주기로 하였다. 식이와 물은 자유섭취 시켰다. 실험동물은 1주일간 사육하여 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

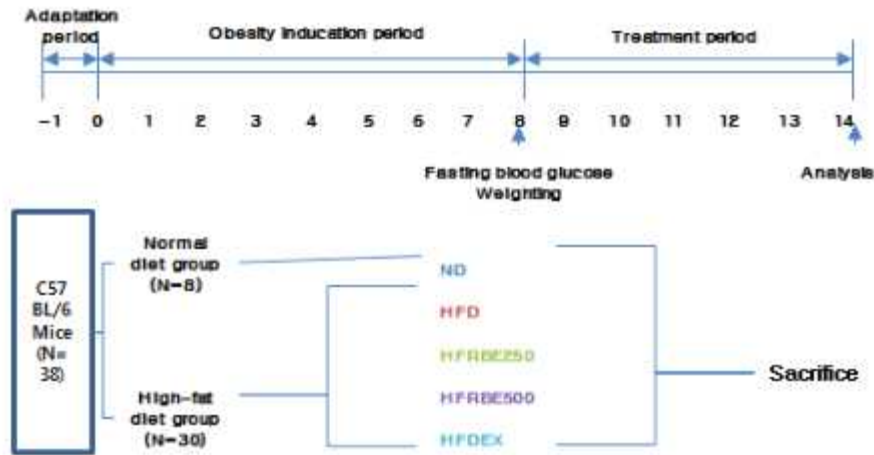


Fig 1. Design of the experimental scheme

다. 대조식이 및 실험식이

고지방식은 에너지의 45%가 지방으로부터 제공될 수 있도록 제공된 high fat diet를 이용하며, AIN-93G 식이조성에 근거한 미국 research diet사의 구성 비율을 적용함. 고지방식에 대한 실험식은 고지방 식이 중 탄수화물의 일부(20% 및 40%)를 미강으로 대체함

라. 당대사개선 기능성 지표

- ㄱ. fasting 및 postprandial glycemia 측정: 공복 시 및 식후 2시간 동안의 당대사 반응 측정
- ㄴ. 당대사 관련 호르몬 및 지질 profile 측정: 인슐린, 렙틴, 그렐린 및 아디포카인, 중성지방 및 유
- ㄷ. 체중, 체지방량 및 식이섭취량 측정 및 식이효율 분석

마. 통계처리

얻어진 모든 자료는 통계프로그램인 SPSS 18.0을 이용하여 평균±표준편차로 나타내며, 비교군 간 평균의 차이는 student t-test로 분석함.

(3) 연구결과

가. 미강 첨가식이 급여가 체중에 미치는 효과

고지방식을 급여한 HFD군과 식이에 미강을 20%, 40% 첨가한 HFRB20, HFRB40군으로 나누어 7주 동안 식이를 제공하였다. 실험기간 동안 체중 변화는 fig 2.과 같다. HFRB40군은 실험식이 5주 후부터 HFD군보다 체중이 유의하게 감소하기 시작하였으며, 실험 종료 시까지 동일한 양상이 지속되었다. 미강 20% 첨가식이 급여군은 효과를 나타내지 않았지만, 미강 40% 첨가식이 급여군에서 효과를 확인하였다.

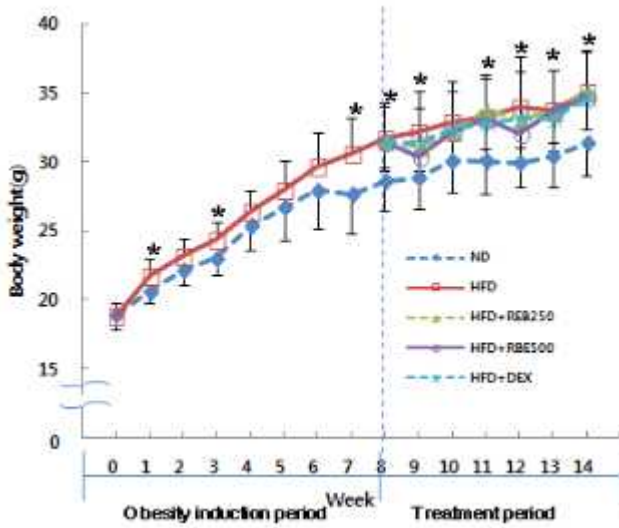


Fig 2. Body weight change of the C57BL/6 mice fed experimental diets during experimental period.

나. 미강 첨가식이 급여가 지방조직 무게에 미치는 영향

실험 후 지방조직 무게 및 내장지방의 무게는 Table 1 및 Fig 3와 같다. 후복강 지방, 부고환 지방, 피하지방과 총 지방 조직량은 ND군에 비해 HFD군이 유의하게 높았다. 미강 20% 첨가식이 급여군은 HFD군과 비교하여 지방 조직량 감소에 효과를 나타내지 않았지만, 미강 40% 첨가식이 급여군에서 효과를 확인하였다.

Table 1. Effect of rice bran on diverse adipose tissue weight in C57BL/6 mice.

	ND	HFD	HFRB20	HFRB40	HFCL20
Perirenal fat pad weight(g)	0.36±0.10***	0.86±0.20 <sup>a</sup>	0.88±0.25 <sup>a</sup>	0.54±0.19 <sup>b</sup>	0.56±0.15 <sup>b</sup>
Epididymal fat pad weight(g)	1.05±0.15***	2.01±0.26 <sup>a</sup>	1.96±0.33 <sup>a</sup>	1.50±0.36 <sup>b</sup>	1.13±0.28 <sup>b</sup>
Subcutaneous fat pad weight(g)	1.80±0.43*	3.19±0.88 <sup>a</sup>	3.55±0.57 <sup>a</sup>	2.30±0.66 <sup>b</sup>	2.12±0.42 <sup>b</sup>
Total fat pad weight(g)	3.21±0.65***	6.06±1.17 <sup>a</sup>	6.40±1.07 <sup>a</sup>	4.33±1.17 <sup>b</sup>	4.11±0.82 <sup>b</sup>
Total fat pad weight/Body weight(g)	0.10±0.02*	0.16±0.03 <sup>a</sup>	0.17±0.03 <sup>a</sup>	0.13±0.03 <sup>b</sup>	0.12±0.02 <sup>b</sup>

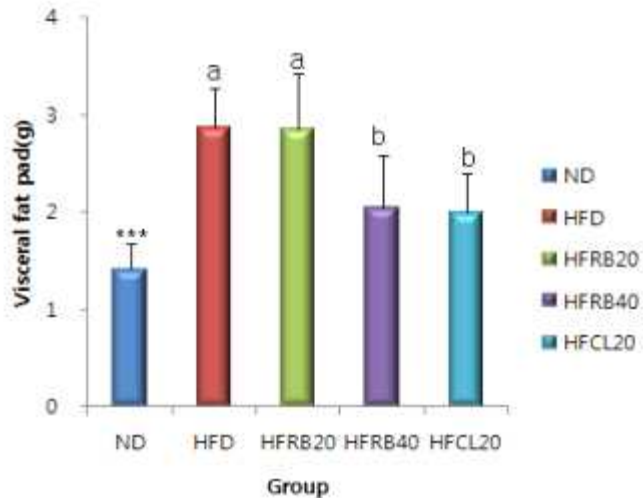


Fig 3. Effect of rice bran on visceral fat pad weight in C57BL/6 mice.

다. 미강 첨가식이 급여가 당대사에 미치는 영향

경구 당 부하 검사 결과는 Fig 4, Fig 5와 같다. HFD군이 ND군에 비해 전체적으로 높은 혈당농도를

보였다. 이는 인슐린 저항성에 의해 HFD군에서 인슐린의 작용을 충분히 받지 못한 것으로 생각된다.

경구 당 부하 검사 결과를 바탕으로 혈중 농도-시간반응곡선하면적인 iAUC(Incremental area under the curve)를 살펴본 결과, HFRB40군이 HFD군보다 혈당이 낮은 경향을 보아 인슐린

저항성이 감소되었음을 생각할 수 있다.

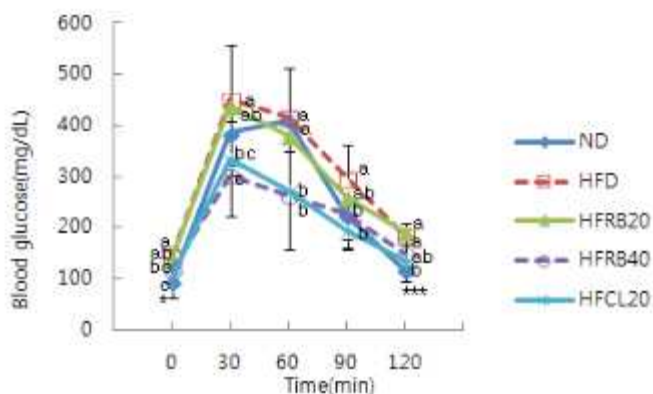


Fig 4. Effect of rice bran on blood glucose response to the oral glucose tolerance test (OGTT) in the C57BL/6 mice fed different diets for 7 wks.

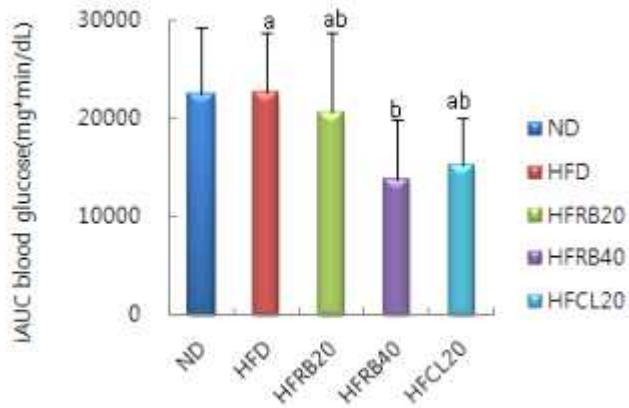


Fig 5. Effect of rice bran on iAUC of blood glucose concentration in obese mice fed different diets for 7 wks.

공복혈당 결과는 Fig 6와 같다. 공복혈당은 HFD군이 ND군에 비해 유의하게 높았으며, HFRB40군은 HFD군과 유의한 차이를 보이며 낮았다. 이는 HFRB40군이 HFD군에 비해 체중이 감소하였으며, 이러한 결과가 혈당저하에 영향을 주었을 것으로 생각된다.

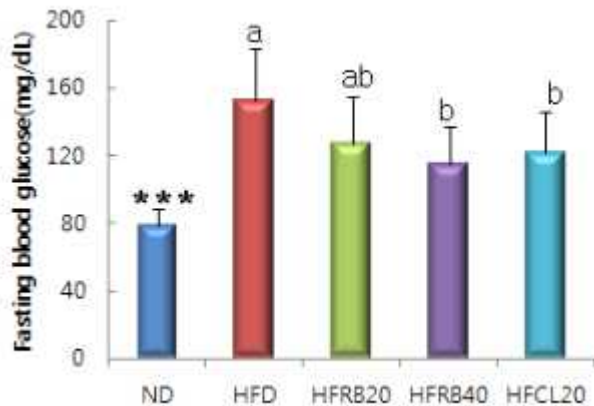


Fig 6. Fasting blood glucose concentrations in the C57BL/6 mice.

혈청 인슐린 농도 결과는 Fig 7과 같다. 혈청 인슐린 농도는 ND군과 HFD군 및 실험군 모두 유의한 차이가 없었다.

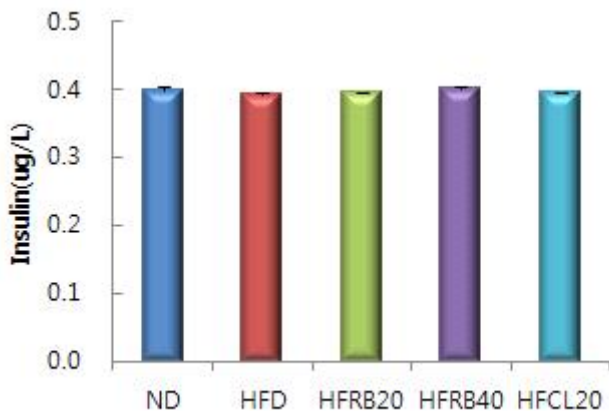




Fig 7. Effect of rice bran on insulin concentration in C57BL/6 mice.

인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR의 결과는 Fig 8과 같다. HOMA-IR은 HFD군이 ND군에 비해 유의하게 높았으며, HFRB20군과 HFRB40군은 HFD군과 유의한 차이를 보이며 낮았다.

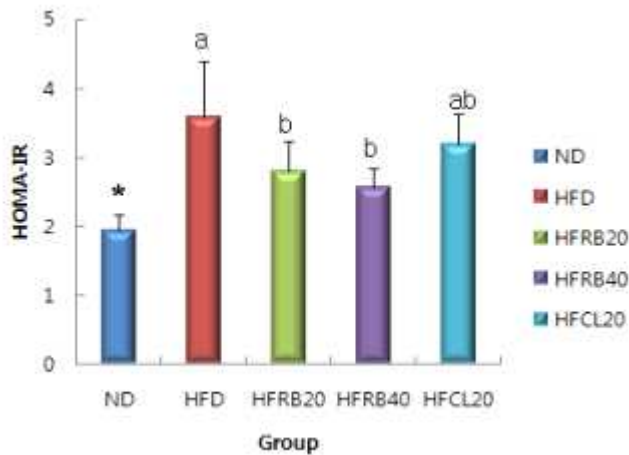


Fig 8. Effect of rice bran on HOMA-IR in C57BL/6 mice.

Leptin 농도 결과는 Fig 9과 같다. Leptin은 체중 및 체지방량과 상관관계가 높으며, 고지방 식이에 의해서 leptin 농도가 증가한다는 연구결과들이 보고되어 왔다.

HFD군이 ND군에 비하여 Leptin 농도가 유의하게 높았으며, 이러한 결과는 비만이 leptin 저항성을 유발한다는 보고와 일치한다. 미강 첨가식을 급여한 군은 HFD군과 비교하였을 때 Leptin 농도가 유의적으로 낮았다.

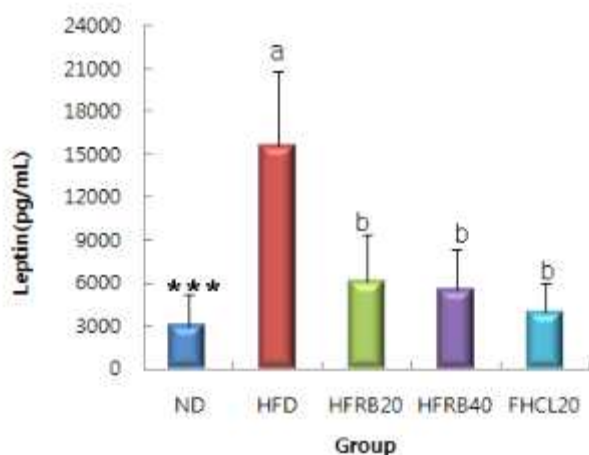


Fig 9 Effect of rice bran on leptin level in C57BL/6 mice.

2) 미강추출물의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가

(1) 연구배경

고지방 식생활 환경에 노출되어 있는 현대인에게 있어 기능성 떡가공품의 효과 여부를 파악하고자 45% high fat diet에 노출시킨 C57BL/6 마우스에 미강추출물을 경구투여하여 (준)질환 동물 모델의 당대사 및 연관 대사에 미치는 생리적 효과를 분석하고자 함.

(2) 연구방법

가. 미강 추출물 준비

미강 추출물은 미강 분말 100 g에 70% ethanol 800 ml을 첨가하여 9시간 40분 동안 80°C 환류추출하여 여과지로 잔유물을 제거하였다. 상정액은 회전진공농축기를 사용하여 32°C에서 감압농축한 후, -80°C에서 동결 건조하여 미강 추출 분말(수율 14.10±0.36%)을 얻었다. 미강 추출 분말은 빛을 차단하여 -80°C 냉동고에 보관하였다.

나. 실험동물 및 사육

실험동물은 4주령의 평균체중 15.5±0.9 g인 C57BL/6 mice 수컷을 (주)Uni Faith(서울, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 동물 사육실의 온도 및 습도는 23±1°C, 50±5% 내외로 설정하였으며, lighting cycle은 12시간 주기로 하였다. 식이와 물은 자유섭취 시켰다. 실험동물은 1주일간 사육하여 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

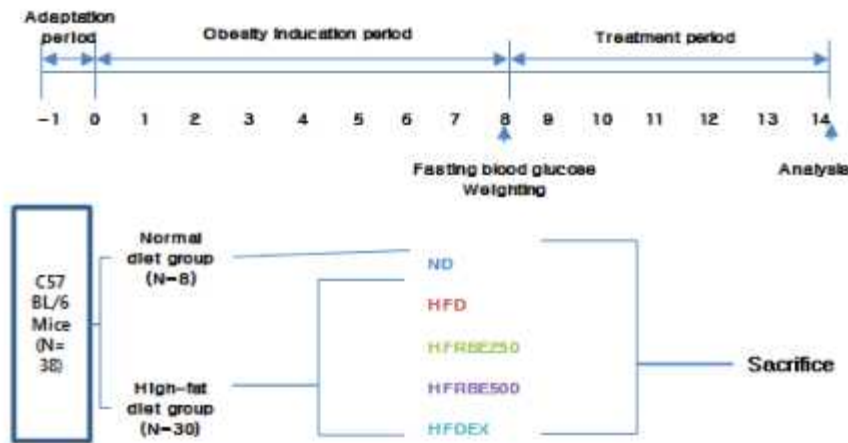


Fig 1. Design of the experimental scheme

다. 대조식이 및 실험식이

고지방식은 에너지의 45%가 지방으로부터 제공될 수 있도록 제공된 high fat diet를 이용하며, AIN-93G 식이조성에 근거한 미국 research diet사의 구성 비율을 적용함. 실험군은 고지방식이과 미강추출물(250, 500 mg/kg BW)을 경구투여하여 제공하였다. 양성대조군으로는 dexamethasone (1 mg/kg BW)을 경구투여하였다.

라. 당대사개선 기능성 지표

- ㄱ. fasting 및 postprandial glycemia 측정: 공복 시 및 식후 2시간 동안의 당대사 반응 측정
- ㄴ. 당대사 관련 호르몬 및 지질 profile 측정: 인슐린, 렙틴, 그렐린 및 아디포카인, 중성지방 및 유
- ㄷ. 체중, 체지방량 및 식이섭취량 측정 및 식이효율 분석

마. 통계처리

얻어진 모든 자료는 통계프로그램인 SPSS 18.0을 이용하여 평균±표준편차로 나타내며, 비교군간 평균의 차이는 student t-test로 분석함.

(3) 연구결과

가. 미강 추출물의 경구투여가 체중에 미치는 효과

고지방식이를 급여한 HFD군과 미강추출물을 경구투여한 군으로 나누어 6주 동안 실험하였다. 실험기간 중 체중 변화는 Fig 2과 같다. HFD군과 비교하여 HFRBE500군이 실험 2주와 5주째 체중감소 경향을 나타내었으나 실험 종료 시까지 HFD군과 유의한 차이가 없었다.

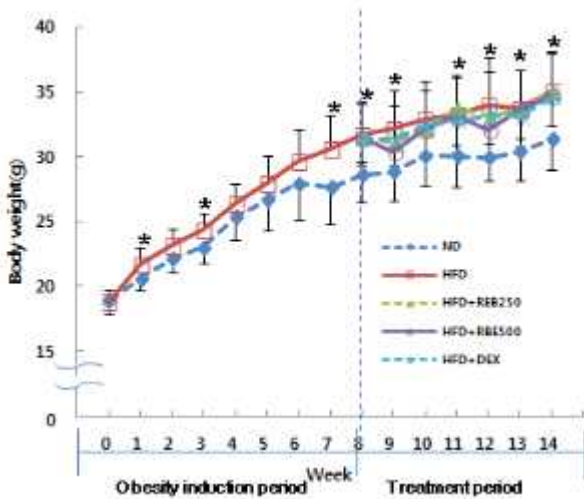


Fig 2. Body weight change of the C57BL/6 mice fed experimental diets during experimental period.

나. 미강 추출물의 경구투여가 지방조직 무게에 미치는 영향

실험군의 지방조직 무게는 Table 1과 같다. 후복강 지방, 부고환 지방, 피하지방과 총 지방조직량은 ND군에 비해 HFD군이 유의하게 높았으나, 미강 경구투여군과 HFD군과 유의한 차이가 없었다.

Table. 1 Effect of rice bran extract on diverse adipose tissue weight in C57BL/6 mice.

	ND	HFD	HFRBE250	HFRBE500	HFDEX
Perirenal fat pad weight(g)	0.52±0.21*	0.87±0.27	0.89±0.12	0.83±0.12	0.86±0.11
Epididymal fat pad weight(g)	1.15±0.28*	1.78±0.48	1.87±0.34	1.83±0.27	1.80±0.27
Subcutaneous fat pad weight(g)	1.80±0.67*	2.92±0.73	2.26±0.50	2.63±0.54	3.23±0.23
Total fat pad weight(g)	3.47±1.17*	5.58±1.40	5.52±0.91	5.30±0.90	5.89±0.47
Total fat pad weight/Body weight(g)	0.11±0.03*	0.15±0.02	0.16±0.02	0.15±0.02	0.17±0.01

다. 미강 추출물의 경구투여가 당대사에 미치는 영향

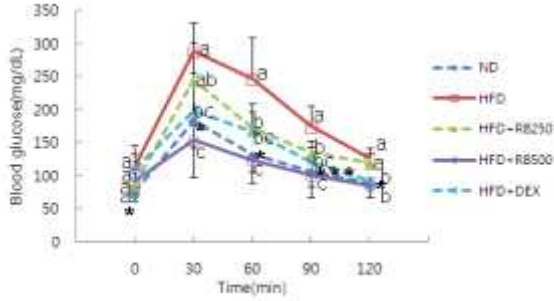


Fig 3. Effect of rice bran extract on blood glucose response to the oral glucose tolerance test (OGTT) in the C57BL/6 mice.

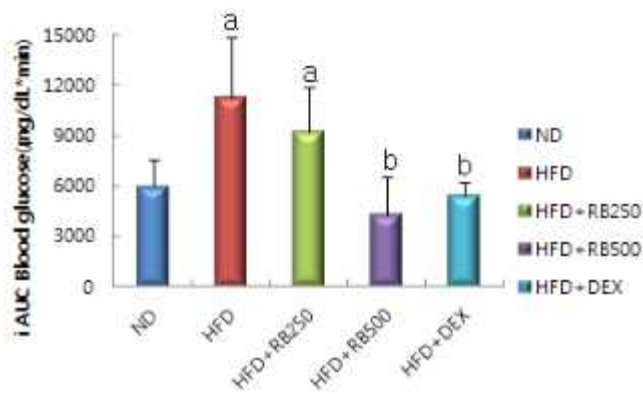


Fig 4. Effect of rice bran extract on iAUC of blood glucose concentration in C57BL/6 mice.

경구 당 부하 검사 결과는 Fig 3, Fig 4과 같다. HFD군이 ND군과 비교하여 전체적으로 높은 혈당 농도를 보였다. 이는 인슐린 저항성에 의해 HFD군에서 인슐린의 작용을 충분히 받지 못한 것으로 생각된다.

경구 당 부하 검사 결과를 바탕으로 혈중 농도-시간반응곡선하면적인 iAUC(Incremental area under the curve)를 살펴본 결과, HFD군이 ND군 보다 유의적으로 높았다. 미강추출물을 500mg/kg B.W로 경구투여한 군이 HFD군보다 혈당이 유의적으로 낮은 경향을 보여 인슐린 저항성이 감소되었음을 생각할 수 있다.

공복혈당 결과는 Fig 5와 같다. 공복혈당은 HFD군이 ND군에 비해 유의하게 높았으며, 미강추출물 경구투여군과 HFD군은 유의적 차이가 없었다.

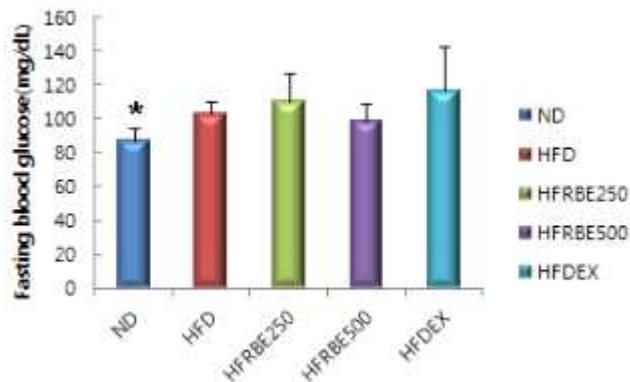


Fig 5. Fasting blood glucose concentrations in the C57BL/6 mice.

혈청 인슐린 농도 결과는 Fig 6와 같다. 혈청 인슐린 농도는 ND군과 HFD군 및 실험군 모두 유의한 차이가 없었다.

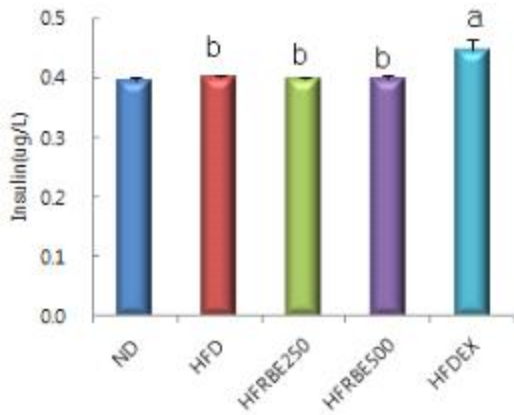


Fig 6. Effect of rice bran extract on insulin concentration in C57BL/6 mice.

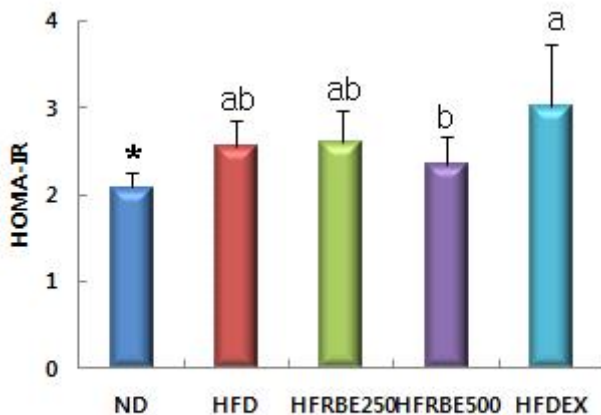


Fig 7. Effect of rice bran extract on HOMA-IR in C57BL/6 mice.

인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR의 결과는 Fig 7과 같다. HOMA-IR은 HFD군이 ND군에 비해 유의하게 높았으며, HFD군과 실험군간의 유의적 차이는 없었다.

## 2. 백미를 기초로 한 미강 첨가 식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가

### 1) 백미를 기초로 한 미강 첨가 정상식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가

#### (1) 연구배경

고지방 식생활 환경에 노출되어 있는 현대인에게 있어 기능성 떡 가공품의 효과 여부를 파악하고자 고지방식이에 노출시킨 (준)질환 동물 모델을 적용하고자 한다.

고지방식이에 노출시킨 C57BL/6 mice와 동 식이에 기능성소재(미강)를 첨가한 식이를 (준)질

환 동물 모델에 적용하여 당대사 및 연관 대사에 미치는 생리적 효과를 분석하고자 한다.

## (2) 연구방법

### 가. 미강의 준비

1차년도 3-1과제에서 개발한 방법, 고온 및 냉각 처리과정을 통하여 안정화(특히 출원중) 시킨 미강(rice bran)을 확보하여 실험에 사용하였다.

### 나. 실험동물

실험동물 4주령 수컷의 C57BL/6 mice를 주)라운바이오(Korea)로부터 구입하여 2주일간 일반 식이로 적응시켰다. 온도와 습도를 조절한 방에서 12 시간 간격으로 주야를 반복하여 적응시킨 후 본 실험에서 사용하였다. 식이 및 음용수는 무한 제공하며 실험기간은 11주로 실험동물의 상태를 보며 종말점을 조정하였다(Fig. 1)

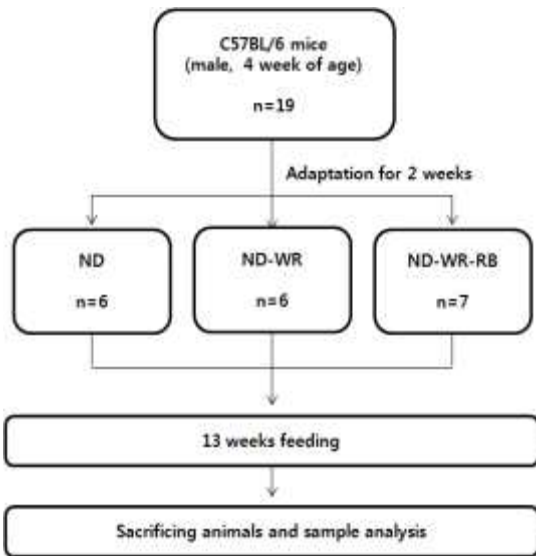


Fig. 1. Design of the experimental scheme

ND; mice fed normal diet

ND-WR; mice fed the normal diet containing 40% White rice

ND-WR-RB; mice fed the normal diet containing 32% White rice and 8% Rice bran

### 다. 대조식이 및 실험식이

정상식이(ND; normal diet)는 미국 research diet사의 AIN-93G 식이를 이용하였다. 이 식이조성에 근거하여 탄수화물에 해당하는 식이구성 성분인 corn starch를 백미로 대체하여 실험식이(ND-WR; normal diet containing 40% White rice)를 구성하였다. 또 다른 실험식이(ND-WR-RB; normal diet containing 32% White rice and 8% Rice bran)는 ND-WR 식이 중 백미의 20%에 해당하는 양의 미강을 첨가하여 구성하였다(Table 1).

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients (g)	ND	ND-WR	ND-WR-RB
Casein	200	200	200
L-Cystine	3	3	3
<b>Corn Starch</b>	<b>397</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>White Rice</b>	<b>0</b>	<b>397</b>	<b>317.6</b>
<b>Rice Bran</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>79.4</b>
Maltodextrin	132	132	132
Sucrose	100	100	100
Cellulose	50	50	50
Soybean Oil	70	70	70
Mineral Mix S10022G	35	35	35
Vitamin Mix V10037	10	10	10
Choline Bitartrate	2.5	2.5	2.5
Total weight	999.5	999.5	999.5

ND; mice fed normal diet

ND-WR; mice fed the normal diet containing 40% White rice

ND-WR-RB; mice fed the normal diet containing 32% White rice and 8% Rice bran

라. 당대사개선 기능성 지표

- ㄱ. 공복혈당 및 OGTT : 12시간 공복 혈당 및 식후 2시간 동안의 당대사 반응 측정
- ㄴ. 당대사 관련 호르몬 및 지질 profile 측정: 인슐린, 렙틴, 그렐린 및 아디포카인, 중성지방 및 유리지방산 측정
- ㄷ. 체중, 체지방량 및 식이섭취량 측정 및 식이효율 분석

마. 통계처리

얻어진 모든 자료는 통계프로그램인 SPSS 18.0을 이용하여 평균±표준오차로 나타내며, 비교군간 평균의 차이는 student t-test로 분석하였다.

(3) 연구결과

가. 미강 첨가식이 급여가 체중에 미치는 영향

실험기간 동안 ND군, ND-WR군, ND-WR-RB군의 체중 변화는 Fig. 2와 같다. 실험 초기부터 실험 종료 시까지 ND-WR군과 ND-WR-RB군의 체중에서는 유의한 차이가 없었다.

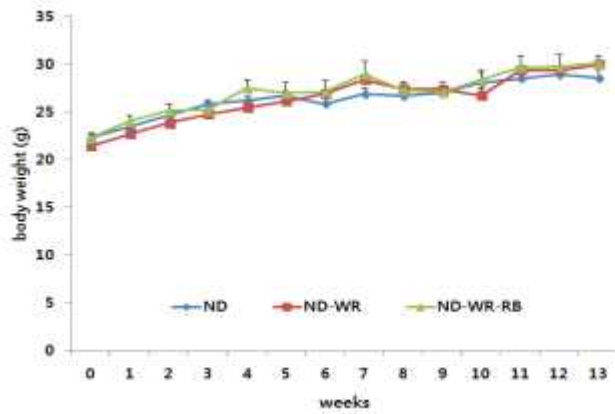


Fig. 2. Body weight changes of the C57BL/6 mice fed the experimental diets during experimental period (11 weeks)

Values are mean  $\pm$  S.E

ND; mice fed normal diet

ND-WR; mice fed the normal diet containing 40% White rice

ND-WR-RB; mice fed the normal diet containing 32% White rice and 8% Rice bran

나. 미강 첨가식이 급여가 지방 조직 무게에 미치는 영향

간 조직과 각 지방 조직의 무게는 Table 2와 같다. 각 지방 조직의 무게는 ND군에 비해 ND-WR군에서 높은 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다. ND-WR군과 ND-WR-RB군 간의 각 지방조직의 무게는 ND-WR-RB군에서 낮은 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다.

Table 2. Effect of Rice bran on diverse adipose tissue weights in C57BL/6 mice



Weight (g)	ND	ND-WR	ND-WR-RB
Epididymal fat pad	0.62±0.16	0.75±0.08	0.71±0.09
Peirenal fat pad	0.20±0.07	0.24±0.04	0.24±0.04
Subcutaneous fat pad	0.85±0.27	0.91±0.25	1.73±0.23
Total fat pad	1.67±0.50	1.90±0.25	1.73±0.23
Total fat pad weight /Body weight	0.05±0.01	0.07±0.01	0.06±0.01

Values are mean ± S.E

ND; mice fed normal diet

ND-WR; mice fed the normal diet containing 40% White rice

ND-WR-RB; mice fed the normal diet containing 32% White rice and 8% Rice bran

다. 미강 첨가식이 급여가 당 대사에 미치는 영향

ㄱ. 경구 당부하 검사

경구 당부하 검사 결과는 Fig. 3과 같다. ND군과 ND-WR군 간의 혈당 수치는 거의 비슷하여 유의한 차이가 없었으며 경구투여 120분 후 ND-WR군이 ND군에 비해 정상혈당으로 돌아오는 시간이 느린 것으로 나타났다. 한편, 전체적으로 ND-WR군과 ND-WR-RB군 간의 혈당에서는 유의한 차이가 없었다 (Fig. 3.A).

경구 당부하 검사 결과를 바탕으로 혈중 농도-시간반응 곡선하면적인 IAUC(incremental area under the curve)를 살펴본 결과 ND군과 ND-WR군 간에는 유의한 차이가 없었으며 ND-WR군과 ND-WR-RB군 사이에도 유의한 차이가 없었다(Fig 2.B).

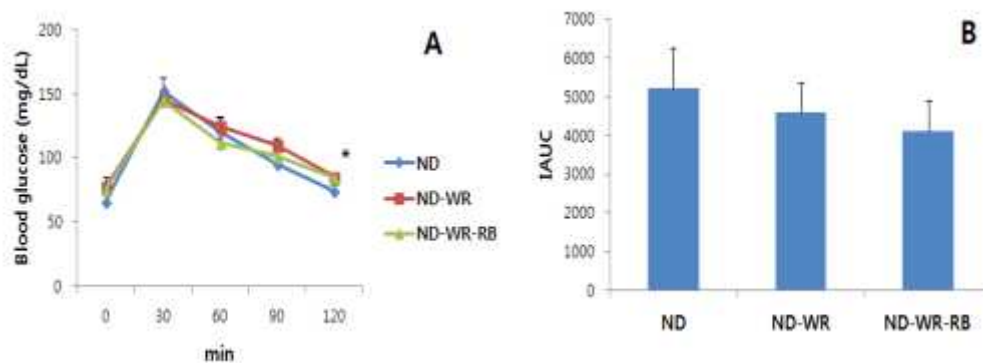


Fig. 3. Blood glucose concentration and area under the curve after the experimental diets feeding for 12 weeks.

Values are mean ± S.E

Significantly different between the ND and the ND-WR by t-test (\*; p<0.05)

ND; mice fed normal diet

ND-WR; mice fed the normal diet containing 40% White rice

ND-WR-RB; mice fed the normal diet containing 32% White rice and 8% Rice bran

ㄴ. 공복혈당

실험 종료 시 공복혈당은 Fig. 4와 같다. ND군의 공복혈당은 86.33±14.24 mg/dL이고 ND-WR군은 90.00±11.26 mg/dL로 ND-WR군에서 높은 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다. ND-WR-RB군의 공복혈당은 84.71±8.03 mg/dL로 ND-WR군에 비해 낮은 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다.

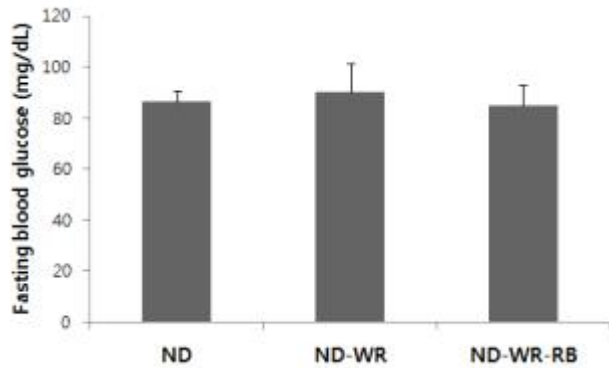


Fig. 4. Effect of Rice bran on fasting blood glucose concentration

Values are mean  $\pm$  S.E

ND; mice fed normal diet

ND-WR; mice fed the normal diet containing 40% White rice

ND-WR-RB; mice fed the normal diet containing 32% White rice and 8% Rice bran

## 2) 백미를 기초로 한 미강 첨가 고지방식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가

### (1) 연구배경

- 고지방 식생활 환경에 노출되어 있는 현대인에게 있어 기능성 떡 가공품의 효과 여부를 파악하고자 고지방식이에 노출시킨 (준)질환 동물 모델을 적용하고자 한다.
- 고지방식이에 노출시킨 C57BL/6 mice와 동 식이에 기능성소재(미강)를 첨가한 식이를 (준)질환 동물 모델에 적용하여 당대사 및 연관 대사에 미치는 생리적 효과를 분석하고자 한다.

### (2) 연구방법

#### 가. 미강의 준비

1차년도 3-1과제에서 개발한 방법, 고온 및 냉각 처리과정을 통하여 안정화(특히 출원중) 시킨 미강(rice bran)을 확보하여 실험에 사용하였다.

#### 나. 실험동물

실험동물 4주령 수컷의 C57BL/6 mice를 (주)라운바이오(Korea)로부터 구입하여 2주일간 일반 식이로 적응시켰다. 온도와 습도를 조절한 방에서 12 시간 간격으로 주야를 반복하여 적응시킨 후 본 실험에서 사용하였다. 식이 및 음용수는 무한 제공하며 실험기간은 11주로 실험동물의 상태를 보며 종말점을 조정하였다(Fig. 1)

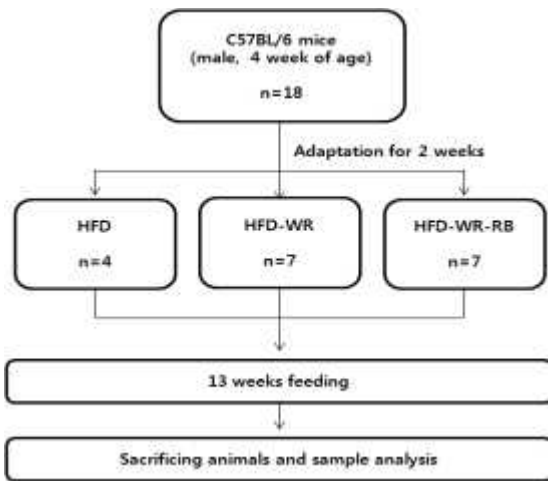


Fig. 1. Design of the experimental scheme

HFD; mice fed the high fat diet

HFD-WR; mice fed the high fat diet containing 9% White rice

HFD-WR-RB; mice fed the high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran

다. 대조식이 및 실험식이

고지방식이(HFD; high fat diet)는 미국 research diet사의 D12451 식이를 변형하여 이용하였다. 이 식이조성에 근거하여 탄수화물에 해당하는 식이구성 성분인 corn starch를 백미로 대체하여 실험식이(HFD-WR; high fat diet containing 9% White rice)를 구성하였다. 또 다른 실험식이(HFD-WR-RB; high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran)는 HFD-WR 식이 중 백미의 20%에 해당하는 양의 미강을 첨가하여 구성하였다(Table 1).

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients (g)	HFD	HFD-WR	HFD-WR-RB
Casein	200	200	200
L-Cystine	3	3	3
<b>Corn Starch</b>	<b>72.8</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>White Rice</b>	<b>0</b>	<b>72.8</b>	<b>58.24</b>
<b>Rice Bran</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>14.56</b>
Maltodextrin	132	132	132
Sucrose	100	100	100
Cellulose	50	50	50
Soybean Oil	25	25	25
Lard	177.5	177.5	177.5
Mineral Mix S10026	10	10	10
DiCalcium Phosphate	13	13	13
Calcium Carbonate	5.5	5.5	5.5
Potassium Citrate	16.5	16.5	16.5
Vitamin Mix V10001	10	10	10
Choline Bitartrate	2	2	2
Total weight	817.3	817.3	817.3

HFD; mice fed the high fat diet

HFD-WR; mice fed the high fat diet containing 9% White rice

HFD-WR-RB; mice fed the high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran

라. 당대사개선 기능성 지표

ㄱ. 공복혈당 및 OGTT : 12시간 공복 혈당 및 식후 2시간 동안의 당대사 반응 측정

ㄴ. 당대사 관련 호르몬 및 지질 profile 측정: 인슐린, 렙틴, 그렐린 및 아디포카인, 중성지방 및 유리지방산 측정

ㄷ. 체중, 체지방량 및 식이섭취량 측정 및 식이효율 분석

마. 통계처리: 얻어진 모든 자료는 통계프로그램인 SPSS 18.0을 이용하여 평균±표준오차로 나타내며, 비교군간 평균의 차이는 student t-test로 분석함.

### (3) 연구결과

가. 미강 첨가식이 급여가 체중에 미치는 영향

실험기간 동안 HFD군, HFD-WR군, HFD-WR-RB군의 체중 변화는 Fig. 2와 같다. 실험 초기부터 실험 종료 시까지 HFD군과 HFD-WR군은 유의적인 차이가 없었다. 식이 급여 9주, 10주 후에 HFD-WR군과 HFD-WR-RB군의 체중이 유의한 차이를 나타냈다. 실험 종료 시 HFD-WR군의 체중은  $36.40 \pm 1.11$  g으로 증가하였으며 HFD-WR-RB군의 체중은  $32.89 \pm 0.77$  g으로 HFD-WR군에 비하여 유의하게 감소하였다. 이러한 결과는 13주 동안 7% 백미, 2% 미강을 첨가한 고지방식이 급여군에서 9% 백미를 첨가한 고지방식이 급여군보다 체중 감량 효과가 나타난 바, 본 연구보다 더 장기간 동안 미강의 급여가 있다면 더 많은 체중 감량 효과를 기대 할 수 있을 것으로 생각된다.

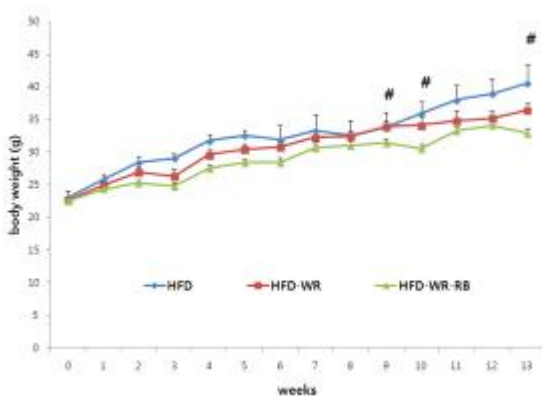


Fig. 2. Body weight changes of the C57BL/6 mice fed the experimental diets during experimental period (13 weeks).

Values are mean  $\pm$  S.E

Significantly different between the HFD-WR and the HFD-WR-RB by t-test (#;  $p < 0.05$ )

HFD; mice fed the high fat diet

HFD-WR; mice fed the high fat diet containing 9% White rice

HFD-WR-RB; mice fed the high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran

나. 미강 첨가식이 급여가 지방 조직 무게에 미치는 영향

각 지방 조직의 무게는 Table 2와 같다. 본 연구에서는 복부 지방조직의 대표적인 white adipose tissue인 후복강 지방조직(perirenal adipose tissue)과 부고환 지방조직(epididymal adipose tissue) 및 피하 지방조직(subcutaneous adipose tissue)을 분리하였다. HFD군과 HFD-WR군의 부고환 지방조직과 후복강 지방조직 및 피하 지방조직 무게에서는 유의한 차이가 없었다. HFD-WR군과 HFD-WR\_RB군의 부고환 지방조직의 무게에서는 유의한 차이가 없었다. HFD-WR군의 후복강 지방조직의 무게는  $0.62 \pm 0.06$  g, HFD-WR\_RB군은  $0.38 \pm 0.05$  g으로 HFD-WR\_RB군에서 유의적으로 낮았다. 피하 지방조직과 총 지방 조직도 후복강 지방조직과 동일하게 HFD-WR군에 비해 HFD-WR\_RB군에서 유의적으로 낮았다. 총 지방 조직량을 체중에 대한 상대중량으로 나타내었을 때 HFD군이  $0.14 \pm 0.02$ 으로 가장 많았으나 HFD-WR군( $0.13 \pm 0.01$ )과 유의한 차이는 없었으며 HFD-WR\_RB군은  $0.09 \pm 0.01$ 로 HFD-WR군에 비해 유의적으로 낮았다. 고지방식이군과 9% 백미를 첨가한 고지방식이 급여군 간의 지방조직 무게 차이는 유의하게 나타나지 않았으나 7% 백미, 2% 미강을 첨가한 고지방식이 급여군에서 9% 백미를 첨가한 고지방식이 급여군보다 지방조직 무게가 유의하게 낮음을 알 수 있었으며 이는 체중 감량 효과의 양상과 유사하였다.

Table 2. Effect of Rice bran on diverse adipose tissue weights in C57BL/6 mice

Weight (g)	HFD	HFD-WR	HFD-WR-RB
Epididymal fat pad	$2.04 \pm 0.20$	$1.55 \pm 0.14$	$1.22 \pm 0.05$
Peirenal fat pad	$0.85 \pm 0.14$	$0.62 \pm 0.06$	$0.38 \pm 0.05^{\#}$
Subcutaneous fat pad	$2.91 \pm 0.56$	$2.44 \pm 0.20$	$1.33 \pm 0.15^{\#}$
Total fat pad	$5.80 \pm 0.89$	$4.61 \pm 0.39$	$2.93 \pm 0.25^{\#}$
Total fat pad weight /Body weight	$0.14 \pm 0.02$	$0.13 \pm 0.01$	$0.09 \pm 0.01^{\#}$

Values are mean  $\pm$  S.E

Significantly different between the HFD-WR and the HFD-WR-RB by t-test (#;  $p < 0.05$ )

HFD; mice fed the high fat diet

HFD-WR; mice fed the high fat diet containing 9% White rice

HFD-WR-RB; mice fed the high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran

다. 미강 첨가식이 급여가 당 대사에 미치는 영향

ㄱ. 경구 당부하 검사

경구 당부하 검사 결과는 Fig. 3과 같다. HFD군이 전체적으로 높은 혈당 농도를 보였으며 경구투여 120분 후 HFD군은 혈당이 HFD-WR군과 HFD-WR\_RB군에 비해 정상혈당으로 돌아오는 시간이 느렸다. HFD군이 HFD-WR군에 비해 30분에서 혈당이 유의적으로 높았으며 이는 인슐린 저항성에 의해 HFD군에서 인슐린의 작용을 충분히 받지 못한 것으로 생각되며 HFD-WR\_RB군이 HFD-WR군보다 30분, 60분에서 혈당이 유의적으로 낮아 인슐린저항성이 감소되었음을 생각할 수 있다(Fig 2.A).

경구 당부하 검사 결과를 바탕으로 혈중 농도-시간반응 곡선하면적인 AUC(area under the curve)를 살펴본 결과 HFD군과 HFD-WR군 간에는 유의한 차이가 없었으며 HFD-WR군에 비해 HFD-WR\_RB군

이 유의적으로 낮았다(Fig 2.B). 이러한 결과는 9% 백미를 첨가한 고지방식이 급여군에 비해 7% 백미, 2% 미강을 첨가한 고지방식이 급여군에서 혈당 조절이 잘 이루어지고 있는 것으로 생각된다.

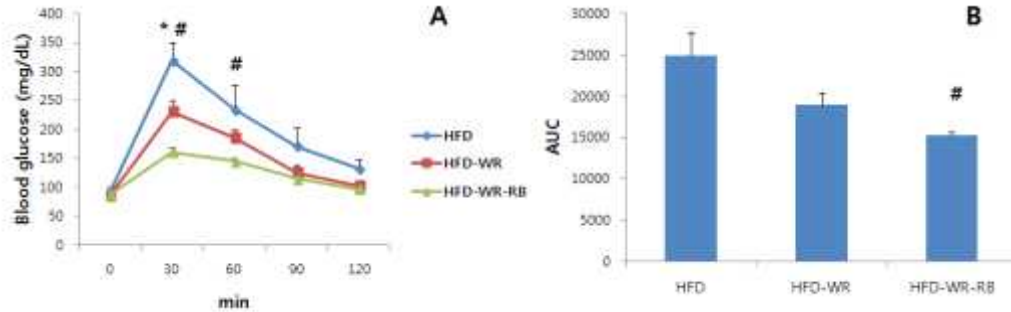


Fig. 3. Blood glucose concentration and area under the curve after the experimental diets feeding for 12 weeks.

Values are mean  $\pm$  S.E

Significantly different between the HFD and the HFD-WR by t-test (\*;  $p < 0.05$ )

Significantly different between the HFD-WR and the HFD-WR-RB by t-test (#;  $p < 0.05$ )

HFD; mice fed the high fat diet

HFD-WR; mice fed the high fat diet containing 9% White rice

HFD-WR-RB; mice fed the high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran

#### ㄴ. 공복혈당

실험 종료 시 공복혈당은 Fig. 4와 같다. HFD군의 공복혈당은  $88.25 \pm 14.65$  mg/dL이고 HFD-WR군은  $102.33 \pm 12.05$  mg/dL로 HFD-WR군에서 높은 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다. HFD-WR-RB군의 공복혈당은  $78.50 \pm 6.49$  mg/dL로 HFD-WR군에 비해 유의하게 낮았다.

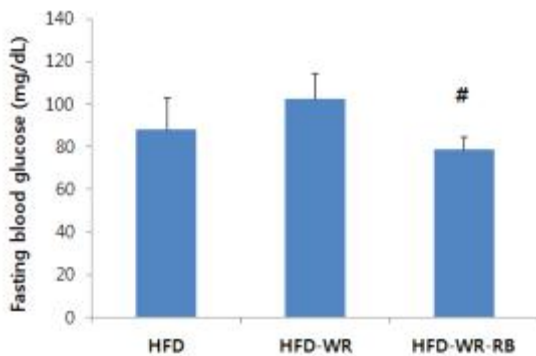


Fig. 4. Effect of Rice bran on fasting blood glucose concentration in C57BL/6 mice

Values are mean  $\pm$  S.E

Significantly different between the HFD-WR and the HFD-WR-RB by t-test (#;  $p < 0.05$ )

HFD; mice fed the high fat diet

HFD-WR; mice fed the high fat diet containing 9% White rice

HFD-WR-RB; mice fed the high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran

ㄷ. 혈청 인슐린 농도

혈청 인슐린 농도의 변화 양상은 Fig. 5와 같다. HFD군은  $0.41 \pm 0.00 \mu\text{U/L}$ , HFD-WR군은  $0.41 \pm 0.00 \mu\text{U/L}$ 로 유의한 차이가 없었다. HFD-WR-RB군은  $0.40 \pm 0.00 \mu\text{U/L}$ 로 HFD-WR군과 유의한 차이가 없었다.

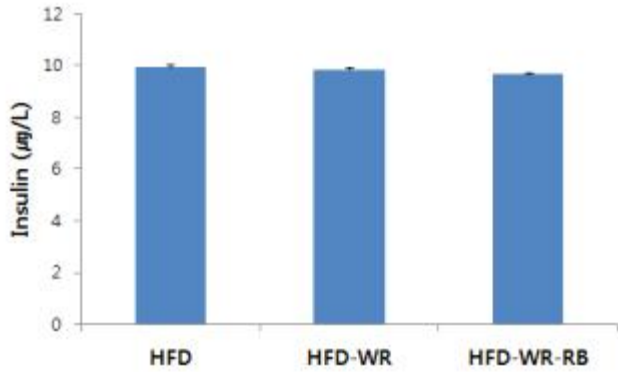


Fig. 5. Effect of Rice bran on insulin concentration in C57BL/6 mice

Values are mean  $\pm$  S.E

HFD; mice fed the high fat diet

HFD-WR; mice fed the high fat diet containing 9% White rice

HFD-WR-RB; mice fed the high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran

ㄹ. 인슐린 저항성

HFD군의 HOMA-IR은  $2.43 \pm 0.81$ 로 HFD-WR군  $2.61 \pm 0.23$ 과 유의한 차이가 없었다. HFD-WR-RB군의 HOMA-IR은  $1.79 \pm 0.12$ 로 HFD-WR군에 비해 유의하게 낮았다(Fig. 6).

9% 백미를 첨가한 고지방식이 급여군에 비해 7% 백미, 2% 미강을 첨가한 고지방식이 급여군에서 혈청 인슐린 농도에서는 유의한 차이가 없었으나 공복혈당과 인슐린 저항성은 유의하게 낮았다. 이러한 결과는 미강이 공복 혈당 및 인슐린 저항성 개선에 큰 영향을 미쳤을 것으로 생각된다.

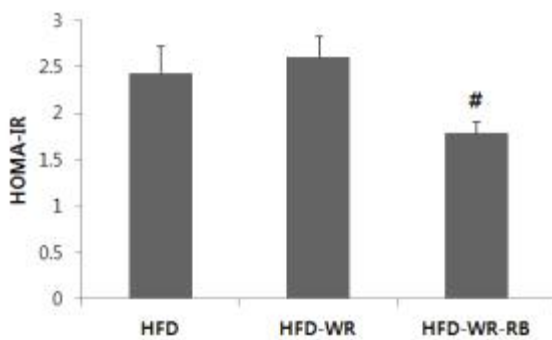


Fig. 6. Effect of Rice bran on HOMA-IR in C57BL/6 mice

Values are mean  $\pm$  S.E

Significantly different between the HFD-WR and the HFD-WR-RB by t-test (#;  $p < 0.05$ )  
 HFD; mice fed the high fat diet  
 HFD-WR; mice fed the high fat diet containing 9% White rice  
 HFD-WR-RB; mice fed the high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran  
 $\text{HOMA-IR} = [\text{공복인슐린 } (\mu\text{U/mL}) \times \text{공복혈당 } (\text{mmol/L})] / 22.5$

라. 미강 첨가식이 급여가 혈청 leptin 농도에 미치는 영향

Leptin은 지방조직에서 발현되는 adipokine의 한 종류로 비만과 밀접한 관련이 있으며, 비만은 당뇨병과 밀접한 연관이 있기 때문에 leptin 농도는 인슐린 저항성과 관계가 있을 것으로 생각된다. 본 연구결과 leptin의 농도는 fig. 7과 같다. HFD군에서  $6133.03 \pm 2398.38$  pg/mL으로 HFD-WR군  $4051 \pm 786.99$  pg/mL에 비해 높은 경향을 나타내었으나 유의한 차이는 없었다. HFD-WR-RB군은  $1895.90 \pm 605.66$  pg/mL로 HFD-WR군에 비해 유의하게 낮았다. 본 연구에서 9% 백미를 첨가한 고지방식이 급여군과 7% 백미와 2% 미강을 첨가한 고지방식이 급여군 간의 leptin 농도에서는 7% 백미와 2% 미강을 첨가한 고지방식이 급여군에서 유의하게 낮았다. 이는 미강이 체지방량의 감소에 영향을 미쳤고 이에 따라 체지방에서 분비되는 leptin의 농도도 감소하였을 것으로 생각된다. 감소된 leptin 농도는 인슐린저항성을 감소시켜 혈당조절을 개선시켰을 것으로 생각된다.

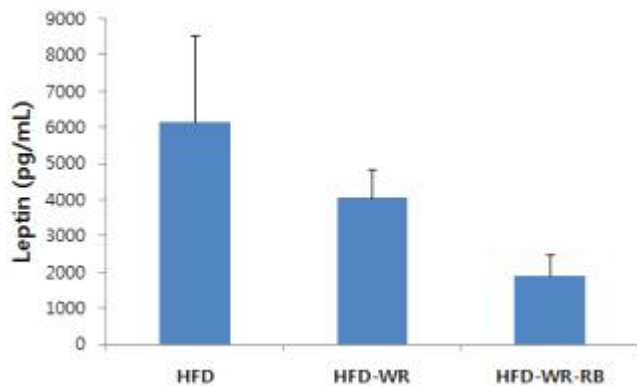


Fig. 7. Effect of Rice bran on serum leptin in C57BL/6 mice

Values are mean  $\pm$  S.E

Significantly different between the HFD-WR and the HFD-WR-RB by t-test (#;  $p < 0.05$ )

HFD; mice fed the high fat diet

HFD-WR; mice fed the high fat diet containing 9% White rice

HFD-WR-RB; mice fed the high fat diet containing 7% White rice and 2% Rice bran

### 3. High Sucrose Diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 개선 효과 평가



(1) 연구배경

- 고당 식생활 환경에 노출되어 있는 현대인에게 있어 기능성 떡 가공품의 효과 여부를 파악하고자 high sucrose diet에 노출시킨 (준)질환 동물 모델을 적용하고자 한다.
- High sucrose diet에 노출시킨 C57BL/6 mice와 동 식이에 기능성소재(미강)를 첨가한 식이를 (준)질환 동물 모델에 적용하여 당대사 및 연관 대사에 미치는 생리적 효과를 분석하고자 한다.

(2) 연구방법

가. 미강의 준비

1차년도 3-1과제에서 개발한 방법, 고온 및 냉각 처리과정을 통하여 안정화(특히 출원중) 시킨 미강(rice bran)을 확보하여 실험에 사용하였다.

나. 실험동물

실험동물 4주령 수컷의 C57BL/6 mice를 주)라운바이오(Korea)로부터 구입하여 1주일간 일반식으로 적응시켰다. 온도와 습도를 조절한 방에서 12 시간 간격으로 주야를 반복하여 적응시킨 후 본 실험에서 사용하였다. 식이 및 음용수는 무한 제공하며 실험기간은 11주로 실험동물의 상태를 보며 종말점을 조정하였다(Fig. 1)

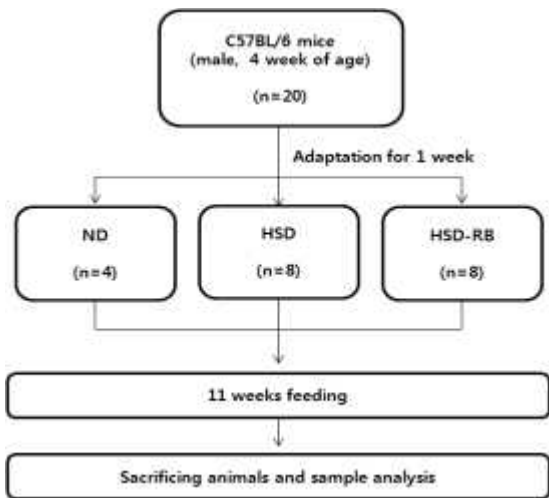


Fig. 1. Design of the experimental scheme

ND; mice fed normal diet

HSD; mice fed the high sucrose diet

HSD-RB; mice fed the high sucrose diet containing 20% Rice bran

다. 대조식이 및 실험식이

고당식은 실험식의 탄수화물 중 대부분이 설탕으로 구성된 high sucrose diet를 이용하며, AIN-76식이조성에 근거한 미국 research diet사의 구성 비율을 적용하였다. 고당식에 대한 실험식은 고당식 중 탄수화물의 일부(20%)를 미강으로 대체하여 동물실험식이 전문제조사에 주문하여 제조하였다(Table 1).

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients (g)	HSD	HSD-RB
Casein	228	184.2
DL-Methionine	2	1.6
Maltodextrin 10	170	170
Corn starch	0	0
Sucrose	835	668
Soybean Oil	25	20
Coconut oil	40	32
<b>Rice bran</b>	<b>0</b>	<b>260</b>
Mineral Mix S10001	40	40
Sodium Bicarbonate	10.5	10.5
Potassium Citrate	4	4
Vitamin Mix V10001	10	10
Choline Bitartrate	2	2
FD&C Blue Dye #1	0.1	0.1
Total weight	1366.6	1366.6

ND; mice fed normal diet

HSD; mice fed the high sucrose diet

HSD-RB; mice fed the high sucrose diet containing 20% Rice bran

라. 당대사개선 기능성 지표

- ㄱ. 공복혈당 및 OGTT : 12시간 공복 혈당 및 식후 2시간 동안의 당대사 반응 측정
- ㄴ. 당대사 관련 호르몬 및 지질 profile 측정: 인슐린, 렙틴, 그렐린 및 아디포카인, 중성지방 및 유리지방산 측정
- ㄷ. 체중, 체지방량 및 식이섭취량 측정 및 식이효율 분석

마. 통계처리: 얻어진 모든 자료는 통계프로그램인 SPSS 12.0을 이용하여 평균±표준편차로 나타내며, 비교군간 평균의 차이는 student t-test로 분석함.

### (3) 연구결과

가. 미강 첨가식이 급여가 체중에 미치는 영향

실험기간 동안 ND군, HSD군, HSD-RB군의 체중 변화는 Fig. 2와 같다. 실험 초기부터 실험 종료 시까지 HSD군과 HSD-RB군의 체중에서는 유의한 차이가 없었다.

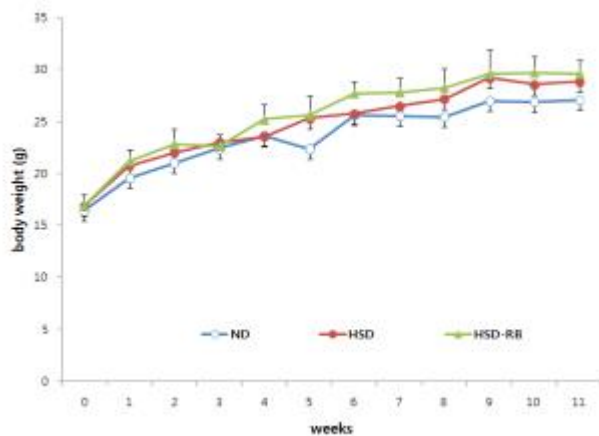


Fig. 2. Body weight changes of the C57BL/6 mice fed the experimental diets during experimental period (11 weeks).

Values are mean  $\pm$  S.E

ND; mice fed the normal diet

HSD; mice fed the high sucrose diet

HSD-RB; mice fed the high sucrose diet containing 20% Rice bran

나. 미강 첨가식이 급여가 간 조직과 지방 조직 무게에 미치는 영향

간 조직과 각 지방 조직의 무게는 Table 2와 같다. 간 조직은 ND군에 비해 HSD군에서 유의적으로 높았다. 그러나 HSD군과 HSD-RB군 간의 유의한 차이는 없었다. 각 지방 조직의 무게는 ND군에 비해 HSD군에서 높은 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다. HSD군과 HSD-RB군 간의 각 지방조직의 무게는 유의한 차이가 없었다.

Table 2. Effect of Rice bran on liver and diverse adipose tissue weights in C57BL/6 mice

Weight (g)	ND	HSD	HSD-RB
Liver	0.86 $\pm$ 0.06	1.00 $\pm$ 0.12*	0.99 $\pm$ 0.06
Epididymal fat pad	0.64 $\pm$ 0.06	0.69 $\pm$ 0.15	0.76 $\pm$ 0.15
Peirenal fat pad	0.15 $\pm$ 0.05	0.19 $\pm$ 0.11	0.20 $\pm$ 0.09
Subcutaneous fat pad	0.53 $\pm$ 0.25	0.67 $\pm$ 0.25	0.64 $\pm$ 0.27
Total fat pad	1.31 $\pm$ 0.36	1.55 $\pm$ 0.05	1.61 $\pm$ 0.48
Total fat pad weight /Body weight	0.05 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01

Values are mean  $\pm$  S.E

Significantly different between the ND and the HSD by t-test (\*;  $p < 0.05$ )

ND; mice fed the normal diet

HSD; mice fed the high sucrose diet

HSD-RB; mice fed the high sucrose diet containing 20% Rice bran

다. 미강 첨가식이 급여가 공복 혈당 변화에 미치는 영향

공복 시 혈당변화는 Fig. 3과 같다. 실험 시작 시 ND군의 공복혈당은  $80.25 \pm 14.08$  mg/dL이 HSD군은  $84.86 \pm 14.97$  mg/dL로 두 군간의 유의한 차이는 없었다. HSD-RB군은  $83.53 \pm 11.04$  mg/dL로 HSD군과 유의한 차이는 없었다. 그러나 7주째부터 HSD군에서 ND군에 비해 혈당이 유의한 차이를 보이며 높아지기 시작하였다. 최종 공복혈당에서는 HSD군이  $107.50 \pm 12.76$  mg/dL이고 HSD-RB군은  $79.67 \pm 10.15$  mg/dL로 미강 첨가 식이군에서 유의하게 낮았다.

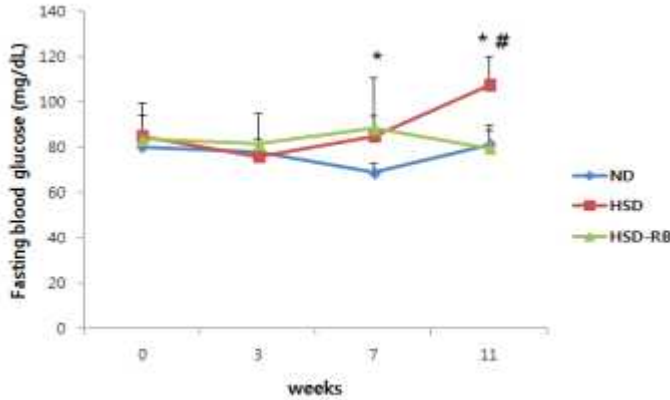


Fig. 3. Effect of Rice Bran on changes of fasting blood glucose in C57BL/6 mice

Values are mean  $\pm$  S.E

Significantly different between the ND and the HSD by t-test (\*;  $p < 0.05$ )

Significantly different between the HSD and the HSD-RB by t-test (#;  $p < 0.05$ )

ND; mice fed the normal diet

HSD; mice fed the high sucrose diet

HSD-RB; mice fed the high sucrose diet containing 20% Rice bran

라. 미강 첨가식이 급여가 혈청 인슐린 농도에 미치는 영향

혈청 인슐린 농도는 Fig. 4와 같다. ND군은  $0.40 \pm 0.00$   $\mu$ U/L, HSD군은  $0.41 \pm 0.01$   $\mu$ U/L로 유의한 차이가 없었다. HSD-RB군은  $0.41 \pm 0.01$   $\mu$ U/L로 HSD군과 유의한 차이가 없었다.

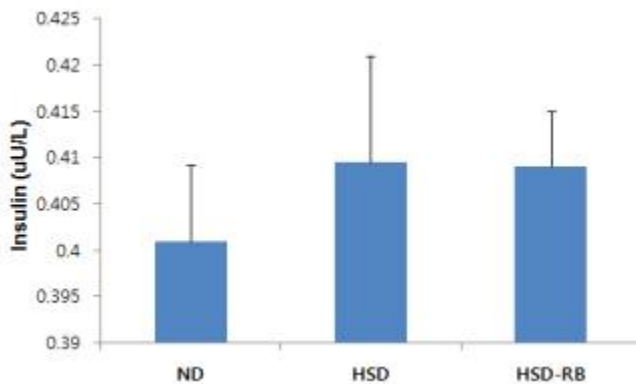


Fig. 4. Effect of Rice Bran on serum insulin concentration

in C57BL/6 mice

Values are mean  $\pm$  S.E

ND; mice fed the normal diet

HSD; mice fed the high sucrose diet

HSD-RB; mice fed the high sucrose diet containing 20% Rice bran

마. 미강 첨가식이 급여가 인슐린 저항성에 미치는 영향

ND군의 HOMA-IR은  $1.99 \pm 0.08$ 이고 HSD군은  $2.34 \pm 0.51$ 로 두 군 간에 유의한 차이가 있었다. HSD-RB군의 HOMA-IR은  $1.83 \pm 0.27$ 로 HSD군에 비해 유의하게 낮았다(Fig. 5).

고 sucrose 식이 급여군과 20% 미강을 첨가한 고지방식이군의 혈청 인슐린 농도는 유의한 차이가 없었으나 공복혈당과 인슐린 저항성은 유의하게 낮았다. 이러한 결과는 미강이 공복 혈당 및 인슐린 저항성 개선에 큰 영향을 미쳤을 것으로 생각된다.

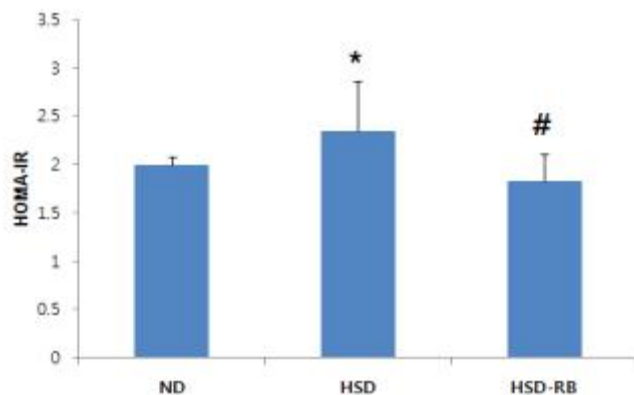


Fig. 5. Effect of Rice bran on HOMA-IR in C57BL/6 mice

Values are mean  $\pm$  S.E

Significantly different between the ND and the HSD by t-test (\*;  $p < 0.05$ )

Significantly different between the HSD and the HSD-RB by t-test (#;  $p < 0.05$ )

ND; mice fed the normal diet

HSD; mice fed the high sucrose diet

HSD-RB; mice fed the high sucrose diet containing 20% Rice bran

$HOMA-IR = [\text{공복인슐린 } (\mu\text{U/mL}) \times \text{공복혈당 (mmol/L)}] / 22.5$

#### 4. 흑미 미강의 기능성에 대한 연구배경

##### 1) 연구배경

- 흑미는 검정약쌀이라 불리며 시판되고 있는데 우리나라에서는 진도군 지산면에서 처음 재배가 되어 점차 재배지역이 확산되고 있으며 그 생산량도 늘고 있고, 그뿐만 아니라 최근에는 개량종의 개발도 활발해지고 있음

○ 흑미는 백미에 비하여 기능성이 우수하다는 보고가 있음. 본 연구 결과 백미 미강의 기능성이 확인된 바, 백미보다 우수한 기능성을 갖는 흑미 미강의 기능성 또한 우수할 것으로 예측되나 흑미 미강을 이용한 기능성 식품의 경우는 미미한 실정에 있음.

## 2) 연구 방법

### ① 당부하검사 (Glucose Tolerance Test)

마우스는 검사 전 16시간동안 절식시켰다. 다음 날, 마우스는 체중을 측정하고, 칼날로 미정맥을 미세하게 절단한 후, 혈당계를 이용하여 절식상태의 혈당을 측정하였다. 생리식염수에 녹인 포도당은 마우스 kg 무게 당 1~2g의 양(1~2g/kg)을 복강투여하고, 투여 후 30분, 60분, 90분, 120분에 각각 혈액을 채취하여 혈당을 측정하였다. 시간별로 측정된 수치를 그래프화 하였다.

### ② 인슐린부하검사 (Insulin Tolerance Test)

오후 2~5시에 체중을 측정하고, 칼날로 미정맥을 미세하게 절단한 후, 혈당계를 이용하여 혈당을 측정하였다. 0.9% NaCl 용액 0.1ml에 녹인 인슐린을 몸무게에 맞추어 복강투여(0.75g/kg)하고, 투여 후 30분, 60분, 90분, 120분에 각각 혈액을 채취하여 혈당을 측정하였다. 시간별로 측정된 수치를 그래프화 하였다.

### ③ 혈액화학치 측정

혈액지표분석을 위한 혈액채취는 12시간 절식 후 실시하였다. Ethyl Ether로 마취시킨 후 복대정맥에서 혈액을 채취한후 상온에서 약 1시간 정치시켰다. 그 후 혈액을 고속 냉장원심분리기 (Mega 17R, Hanil, Korea)로 3,000rpm 20분간 원심분리하여 혈청을 분석에 사용하였다. 혈중 포도당(Glucose), 총 콜레스테롤(TC), 중성지방(TG), 저밀도지단백(LDL-cholesterol), ALT, AST를 시판 시약(Sentron GmbH, Dresden, Germany)을 구입하여 생화학분석기(METROLAB 1600DR, USA)를 이용하여 측정하였다.

### ④ Western immunoblotting

해당 조직을 각기 150  $\mu$ l의 lysis buffer (10 $\times$  PBS, 1% NP-40, 20% SDS, 0.5 M EDTA, 0.01 M PMSF, 10 mg/ml Leupeptin, 1 mg/ml pepstatin A)를 처리하여 균질화를 시켰다. 균질화된 샘플을 tube에 옮긴 후, 15,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 새로운 tube에 저장하였다. Bradford 단백질 정량법(1976)을 이용하여 각각 60  $\mu$ g의 sample들을 8% SDS-PAGE 전기영동을 시킨 후, polyvinylidene difluoride membrane에 transfer하였다. Membrane은 5% skim milk에 1시간 동안 차단을 시켰고, 각각의 항체를 1% skim milk에 1,000배 희석하여 4 $^{\circ}$ C에서 18시간 이상 배양하였다. 그 후, membrane을 0.1% Tween-20/1 $\times$  TBS에 10분 간격으로 3번 세척 하였고, membrane을 1% skim milk에 5,000배 희석된 horseradish-peroxidase labeled 2차 항체에 1시간 동안 배양한 후, 3번 세척을 거쳐서 Enhanced Chemiluminoscent (ECL) 시약을 1분간 처리한 다음 X-ray 필름에 30초간 노출시켜 현상하였다.

### ⑤ 통계처리

실험 결과의 통계적 처리는 Student's t test 및 Analysis of Variance (ANOVA)로 하였으며, P-value < 0.05을 유의한 차이의 한계로 하였고, 실험결과의 표현은 means  $\pm$  S.D 로 하였다.

## 3) 연구 결과

### ① 솔잎 추출물의 고지방 식이에 의한 지방, 간, 근육의 지질 대사 개선 효과

▶ 고지방 식이 군에서 지방의 지질 대사 단백질의 발현을 조사하였다. 먼저 백색 지방을 채취하여 실험한 결과 고지방 식이군에서 지방 합성 효소인 ACC의 탈인산화가 일어났으며 지방

합성 효소인 Fatty acid synthase (FAS) 의 발현이 증가하였다. 이는 고지방 식이군에서 백색 지방에서 지방 합성이 많이 증가되고 있음을 시사해주고 있다. 이에 반해 고지방 식이군에서 beta-oxidation에 관련되는 단백질인 ACOX 및 HADHA의 발현이 감소하는 것으로 나타났다 (그림 5-1 ). 이러한 작용은 솔잎 추출물(700 mg/kg)을 처리하였을 때 회복되는 것으로 나타났다.

▶ 다음으로 갈색 지방에서 이들 단백질 발현 변화를 조사하였다. 이들 부분에서도 일부 지방 합성 효소인 FAS 증가 현상 및 beta 산화 관련 단백질인 HADHA 감소 현상은 솔잎 추출물 처리시에 회복되는 것을 확인하였다 (그림 5-2)

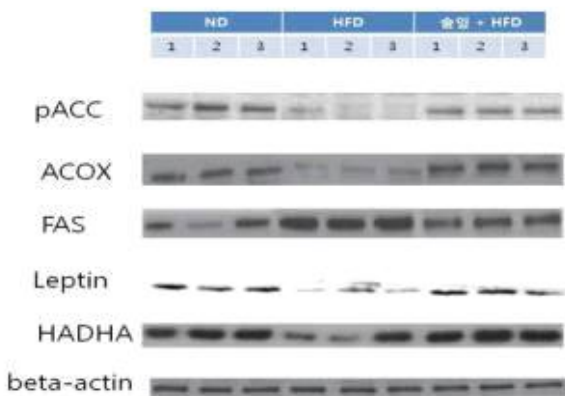


그림 5-1. 솔잎 추출물의 고지방 식이에 대한 백색 지방의 지질 대사 관련 단백질 발현 차단 효과.

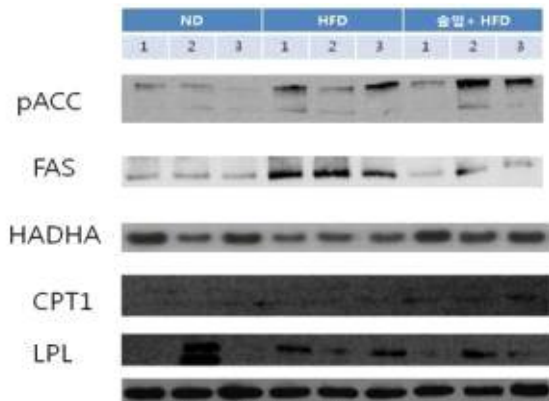


그림 5-2. 솔잎 추출물의 고지방 식이에 대한 갈색 지방의 지질 대사 관련 단백질 발현 차단 효과.

▶ 간장에서 지질 관련 단백질 발현 변화를 조사하였다. 이들 부분에서는 효과가 인정이 되지 않았다 (그림 5-3).

▶ 근육에서 지질 관련 단백질 발현 변화를 조사하였다. 이들 부분에서는 효과가 인정이 되지 않았다 (그림 5-4).

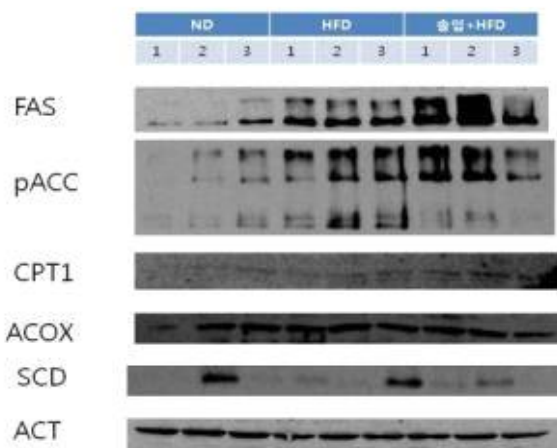


그림 5-3. 솔잎 추출물의 고지방 식이에 대한 간의 지질 대사 관련 단백질 발현 차단효과.

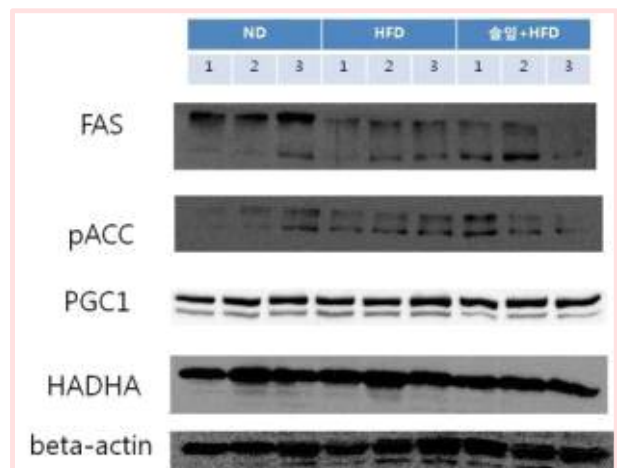


그림 5-4. 솔잎 추출물의 고지방 식이에 대한 근육의 지질 대사 관련 단백질 발현 차단효과.

② 흑미 미강 추출물의 지질 개선 효과

▶ 고지방 식이 군에서 흑미 미강 추출물의 효능을 검사하였다. 먼저 고지방 식이군에서 insulin 수치를 시간별로 측정된 결과 흑미 미강 300 mpk군에서 약간의 효과가 인정이 되는 것으로 나타났다 (그림 5-5). 이는 2형 당뇨병으로 쓰이고 있는 sitagliptin의 효과보다 큰 것으로 나타났다.

▶ 공복 시 인슐린 수치를 측정된 결과 흑미 미강 추출물 300 mpk 처리 시 sitagliptin 과 비슷한 효과를 보이는 것으로 나타났다 (그림 5-6).

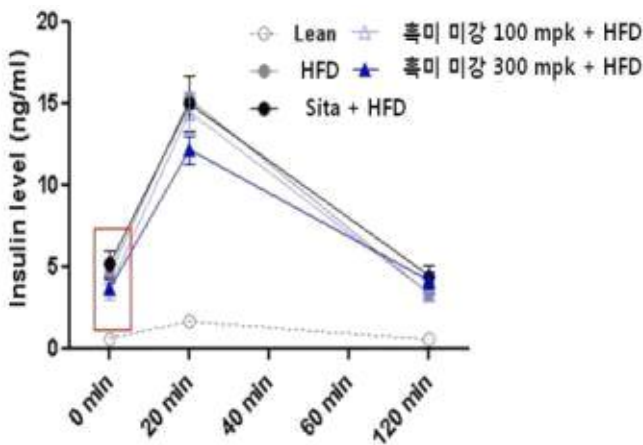


그림 5-5. 인슐린 tolerance test 결과

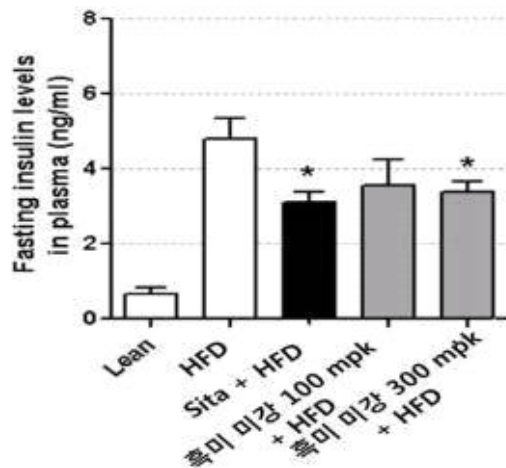


그림 5-6. 흑미 미강 추출물의 공복후 인슐린 수치 효과

▶ 혈당 혈중곡선하 면적 (AUC)를 측정된 결과 흑미 미강 추출물 300 mpk 처리 시 sitagliptin의 효과와 비슷한 효능을 보였다 (그림 5-7). 이는 흑미 미강 추출물에 혈당을 억제 시키는 물질이 있다는 것을 시사해 주고 있다.

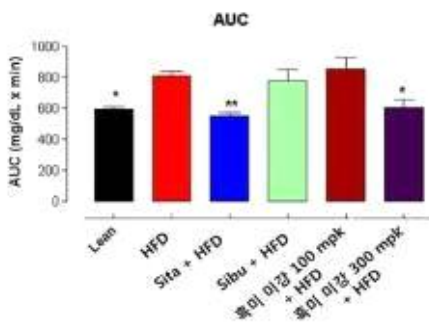


그림 5-7. 고지방 식이에 대한 흑미 미강 추출물의 혈당 혈중곡선하 면적 효과.



▶ 고지방 식이에 대한 체중 감소효과를 살펴보았다. 실험 결과 비만 치료제인 sibutramine을 처리하였을 때 체중은 감소하는 것으로 나타났다. 이에 대해 흑미 미강 추출물 300 mpk의 경우는 sibutramine에는 못하지만 고지방 식이군에 비해서는 유의성 있는 감소 현상을 볼 수 있었다 (그림 5-8). 실제로 체중대비 지방의 무게를 측정한 결과에서도 같은 현상을 볼 수 있었다 (그림 5-9).

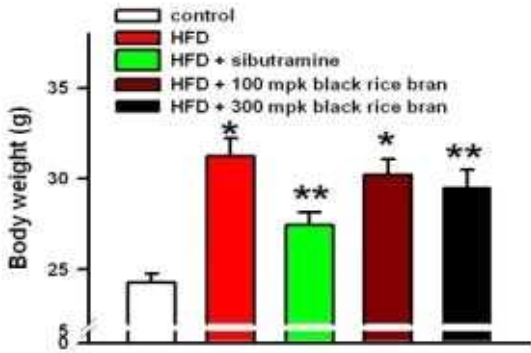


그림 5-8. 고지방 식이에 대한 흑미 추출물의 체중 감소 효과

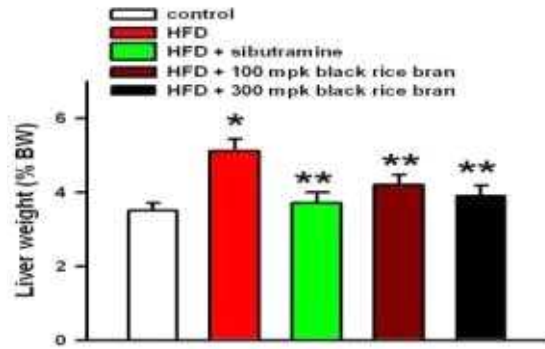


그림 5-9. 고지방 식이에 대한 흑미 추출물의 체중대비 간 무게 효과

▶ 흑미 미강 추출물의 혈중 지질 개선에 대한 효과를 조사하였다. 실험 결과 고지방 식이에 의해 증가되었던 혈청 cholesterol, 혈청 triglyceride, 및 LDL의 경우 흑미 미강 추출물에 의해 차단되는 것으로 나타났다 (그림 5-10-13).

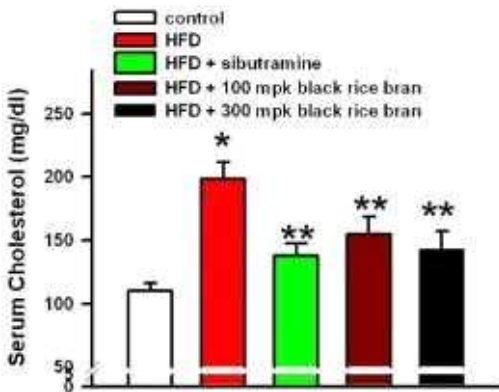


그림 5-10. 고지방 식이에 대한 흑미 추출물의 혈청 cholesterol 수치 변화

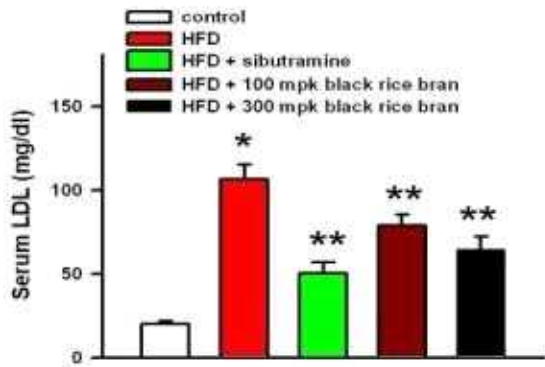


그림 5-11. 고지방 식이에 대한 흑미 추출물의 혈청 LDL 수치 변화

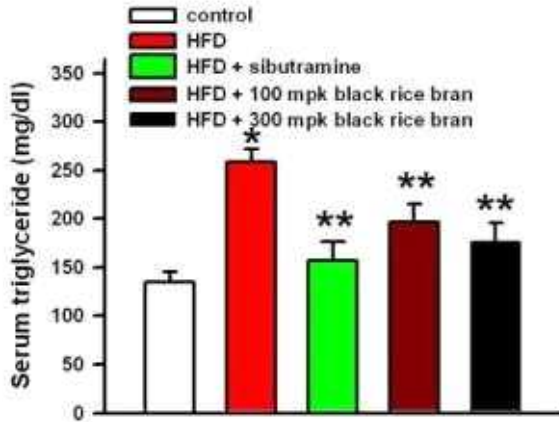


그림 5-13. 고지방 식이에 대한 흑미 추출물의 혈청 triglyceride 수치 변화

### 1. 대상 인체적용시험 조건도출

최종 개발된 대사개선 기능성 쌀 가공제품의 인체 적용 시험을 위한 준건강인 대상 기초 실험 조건을 확립하고자 하여, 당 내성 장애를 가진 준 건강인을 대상으로 대사개선 기능성 쌀 가공제품을 적용하여 3차년도 인체시험 적용을 위한 기초자료를 얻고자 한다.

실험 대상자들은 12시간 동안 절식하도록 하며, 실험 당일 공복상태로 간이 혈당측정기로 혈당을 검사한 후 50g의 당질이 함유되어 있는 Glucose solution을 10분에 걸쳐 섭취하도록 한다. 섭취 후 30, 60, 90, 120분에 각각 손끝에서 채혈하여 간이 혈당계(accucheck, 로슈(주), 스위스)로 혈당을 측정한다. 공복 및 2시간 동안 얻어진 혈당치를 이용하여 혈당반응곡선을 작성한 후 Area under the curve (AUC)를 산출한다. 이를 통해 각 대상자들의 혈당의 기본값을 알아본다. 이 실험은 크로스오버(cross-over) 기법을 이용한다. Glucose solution 경구 당부하 검사(OGTT) 일주일 후에 대조군과 실험군으로 무작위로 나눈 후 식품을 섭취하여 Glucose solution과 동일한 방법으로 혈당을 측정한다. 1주간의 휴식기 동안에는 평상시와 동일한 생활을 유지하도록 한다. 그 다음 일주일 후에는 대조군과 실험군을 맞바꾸어 식품을 섭취한 후 혈당을 측정하여 결과를 산출하였다.

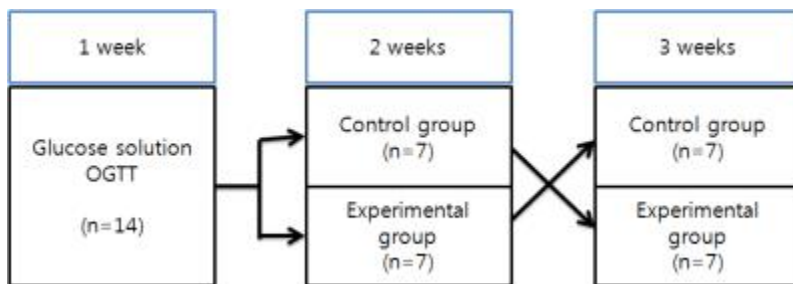


Fig. 1. Design of the experimental scheme

본 연구에서 적용하고자 하는 쌀가공 제품이 떡, 특히 가래떡을 기반으로 하는 바, 가래떡의 1회 섭취 분량 및 탄수화물 함량, 대상자의 수용성 등을 검토하였다. 한국인영양섭취기준에 따르면 떡의 1인 1회 섭취량은 130g에 해당하였다. 젊은 여자 성인 여성에게 1인 1회 섭취량을 적용해 본 결과 섭취 분량이 많다는 의견이었다. 백미떡 기준 1회 섭취분량 당 탄수화물 함량

은 50g 내외였다. 경구당부하검사 시 노출되는 당 함량은 75g을 사용하는 것이 보편적이거나 연구 대상자의 수용성이 적어 50g을 사용하기로 결정 하였다. 50g 포도당을 사용한 당부하 검사에서 의미있는 결과를 얻었음.

### 3-2과제: 인체적용실험을 통한 기능성 쌀가공 제품의 혈당대사연구

3차년도: 대사기능개선 기능성 쌀가공제품 개발 소재의 동물실험을 통한 기능성 평가 및 인체적용 시험	
수행내용	<p>I. 소재 적용 개발식품 또는 조성물의 기능성 평가</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 질환모델(비알코올성간질환)을 통한 대사장애 개선(항산화/항염증) 효과 평가 (2차년도에 이어 3차년도에 지속)</li> <li>2. 미강 추출물(70%에탄올)의 High fat diet 유도 당질대사 대사장애에 대한 개선 효과 평가</li> <li>3. 두 가지 기능성 소재 후보(RS, 미강) 병용의 high fat diet 유도 당질 대사장애에 대한 개선 효과 평가(시너지효과)</li> </ol> <p>III. 인체적용시험을 통한 쌀가공제품의 당질대사 개선효과 평가</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 발굴된 소재 적용 쌀 가공제품의 인체적용시험을 통한 기능성 평가</li> </ol>

#### 1. 질환모델(비알코올성간질환)을 통한 대사장애 개선(항산화/항염증) 효과 평가

##### (1) 연구배경

○ 고지방, 고콜레스테롤 식생활 환경에 노출되어 있는 현대인에게 있어 기능성 떡 가공품의 효과 여부를 파악하고자 고지방, 고콜레스테롤 식이인 Atherogenic diet에 노출시킨 (준)질환 동물 모델을 적용하고자 한다.

○ Atherogenic diet에 노출시킨 C57BL/6 mice와 동 식이에 기능성소재(미강)를 첨가한 식이를 (준)질환 동물 모델에 적용하여 간 질환 및 연관 대사에 미치는 생리적 효과를 분석하고자 한다.

##### (2) 연구방법

###### 가. 미강의 준비

1차년도 3-1과제에서 개발한 방법, 고온 및 냉각 처리과정을 통하여 안정화(특히 출원중) 시킨 미강(rice bran)을 확보하여 실험에 사용하였다.

###### 나. 미강추출물 준비

미강추출물은 미강 중량의 8배의 70% 에탄올을 가하여 환류추출기를 이용하여 82℃에서 9시간 40분 추출한 후 추출물을 여과하였다. 여과액을 농축기를 이용하여 38℃에서 감압농축한 후, 동결건조하여 미강추출물로 사용하였으며, 완성된 미강추출물의 수율은 14.08%였다.

###### 다. 실험 설계

본 연구에 사용된 실험동물은 4주령의 수컷 C57BL/6 mice 이며, 국내 (주)라온바이오사 (RaonBio, Yongin, Korea)를 통해 구입하였다. 실험기간 동안 온도 22±2℃, 습도 50±5% 그리고 12시간 간격으로 명암을 자동 조절하여 일정한 환경조건에서 사육하였다. 실험동물은 2주 동안 적응 후, 정상대조군으로 정상식이(AIN-93G)를 섭취한 ND군 (n=8), 비알코올성간질환

대조군으로 atherogenic diet를 섭취한 Ath군 (n=7), 실험군으로 atherogenic diet (Ath diet)에 5% 미강추출물 (rice bran extract, RBE) 함유 식이를 섭취한 Ath-RBE군 (n=8)으로 무작위 배정하여 8주 동안 급여하였다(Fig. 1). 정상식이(AIN-93G)는 Research Diet사에서 구입하였고, Ath diet는 Table 1과 같은 식이조성으로 (주)유니페이스사 (Uni Faith, Seoul, Korea)를 통하여 제조하였다. Ath-RBE 식이는 Table 1과 같은 식이조성으로 (주)라온바이오사 (RaonBio, Yongin, Korea)를 통해 제조하였다. 모든 식이는 4°C에서 냉장 보관하면서 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안 식이와 음용수는 충분히 공급하여 자유롭게 섭취하도록 하였다. 본 연구의 동물실험은 ○○대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받았고 그 규정에 따라 실행하였다(CNU IACUC-YB-2013-53).

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식 후 Zoletil과 Rompun을 이용하여 마취시킨 후 심장에서 혈액을 채취하였다. 채혈 즉시 각 지방조직과 간을 적출하여 생리식염수로 세척 후 무게를 측정하였다. 채취된 혈액은 원심분리기(MICRO 17R, Hanil Science Industrial, Incheon, Korea)로 1,000×g, 4°C에서 15분간 원심분리 후 혈청을 분리하였다. 혈청 및 간 조직은 분석 전까지 -80°C에서 보관하였다.

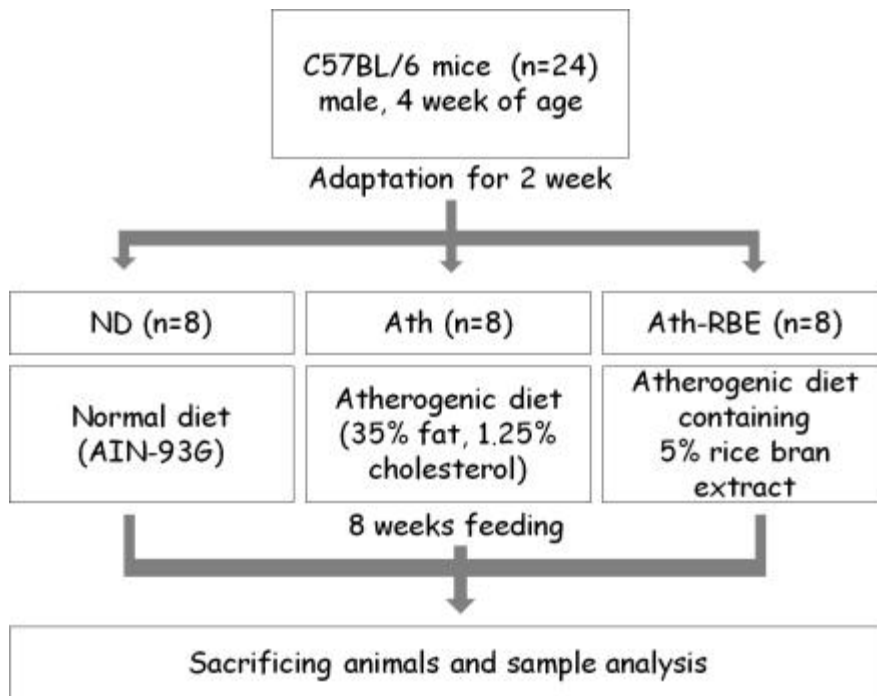


Fig. 1. Design of the experimental scheme

ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredient (g)	ND	Ath	Ath-RBE
Casein	200.0	200	200
L-Cystine	3	2	2
Corn starch	397.5	118.5	118.5
Maltodextrin	132	50	50

Sucrose	100.0	140	140
Cellulose	50.0	50	50
Soy bean oil	70.0		
Pork lard	-	350	350
Cholesterol	-	12.5	12.5
Mineral Mix	35	60	60
Vitamin Mix V10001	10	10	10
Choline Cl	2.5	2	2
Na Cholate	5	5	5
Rice bran extract (RBE)		-	53
Total	1000	1000	1053

Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

### 라. 간 조직의 병리조직학적 관찰

실험동물 해부 직후 적출한 간 조직의 일부를 취하여 10% 포르말린 용액에 고정하였다. (주) 레퍼런스바이오랩 (Reference Biolabs, Seoul, Korea)을 통해 Hematoxylin & eosin (H&E) 염색한 간 조직을 광학현미경 하에서 간세포내 지방축적, 간세포의 공포성 변성 및 염증 정도를 비교하여 평가하였다. 각 항목에 대한 평가기준은 Table 2와 같다.

Table 2. Grade of the histopathological lesions of NAFLD

Histological features	Definition	Score
Steatosis	<5%	0
	5~33%	1
	33~66%	2
	>66%	3
Inflammation	No foci	0
	1~2 foci/X100	1
	2~4 foci/X100	2
	>4 foci/X100	3
Ballooning degeneration	None	0
	Few (1~2 cells/X200)	1
	Many (3~5 cells/X200)	2
	Very many (>5 cells/X200)	3

### (3) 결과

#### 가. 미강추출물 첨가식이 급여가 체중에 미치는 영향

실험기간 동안 체중변화는 Fig. 2와 Table 3과 같다. 실험초기에는 그룹 간에 유의한 차이가

없었다. 그러나 Ath군은 간질환을 유도하는 Atherogenic diet를 섭취하였을 때 그룹 간에 체중이 유의하게 낮았다. 반면에 미강추출물 첨가식을 섭취한 Ath-RBE군과 정상식을 섭취한 ND군은 그룹 간에 체중 증가량이 유의하게 높았다.

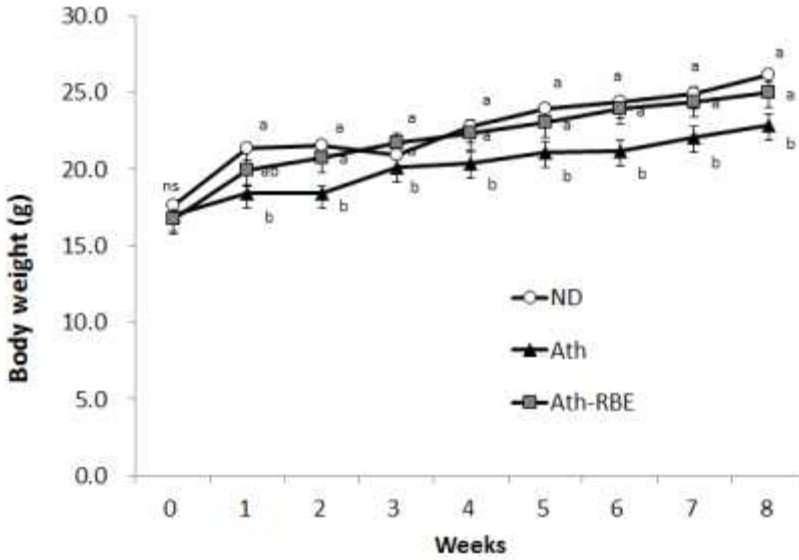


Fig 2. Effect of rice bran extract on body weight in C57BL/6 mice

Values are expressed as mean ± SE. <sup>abc</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

Table 3. Effect of rice bran extract on body weight gain and food intake in C57BL/6 mice

	ND	Ath	Ath-RBE
Body weight (g)			
Initial weight	17.61 ± 0.35 <sup>a</sup>	16.96 ± 0.39 <sup>a</sup>	16.77 ± 0.53 <sup>a</sup>
Final weight	26.18 ± 0.26 <sup>a</sup>	22.86 ± 0.72 <sup>b</sup>	24.99 ± 0.70 <sup>ab</sup>
Body weight gain (g/week)	1.07 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.03 ± 0.08 <sup>a</sup>

Values are expressed as mean ± SE. <sup>abc</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

나. 미강추출물 첨가식이 급여가 장기무게와 지방조직 무게에 미치는 영향

각 장기조직 무게와 지방조직의 무게는 Table 4와 같다. 그룹 간에 심장의 무게는 Ath군에서 유의하게 낮았다. Atherogenic diet를 섭취한 Ath군이 정상식을 섭취한 ND군에 비해 유의하게 감소하였고, Ath-RBE군은 ND군과 유의한 차이가 없었다. 비장의 무게는 Ath군은 ND군에 비해 유의하게 증가하였다. 그리고 Ath-RBE군은 Ath군에 비해 유의하게 감소하였다.

부고환 지방조직과 신주위 지방조직의 무게는 ND군이 유의하게 높았고 나머지 세 군은 유의한 차이가 없었다(Table 4).

Table 4. Effect of rice bran extract on organ weights and adipose tissue weight in C57BL/6 mice

	ND	Ath	Ath-RBE
Heart	0.12±0.00 <sup>a</sup>	0.10±0.00 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>
Kidney	0.32±0.01 <sup>a</sup>	0.27±0.01 <sup>c</sup>	0.30±0.01 <sup>b</sup>
Spleen	0.05±0.00 <sup>c</sup>	0.11±0.01 <sup>a</sup>	0.07±0.01 <sup>b</sup>
Epididymal fat tissue	0.81±0.05 <sup>a</sup>	0.38±0.03 <sup>b</sup>	0.46±0.03 <sup>b</sup>
Perirenal fat tissue	0.33±0.02 <sup>a</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>	0.13±0.02 <sup>b</sup>

Values are expressed as mean ± SE. <sup>ab</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract; Ath-ORZ, atherogenic diet containing 2%  $\gamma$ -oryzanol

다. 미강추출물 첨가식이 급여가 간 조직 무게에 미치는 영향

간 조직 무게의 결과는 Fig. 3과 같다. 간 조직의 무게는 ND군에서 가장 낮았다. Ath군의 간 조직 무게는 ND군에 비해 유의하게 증가하였고(Fig. 3 A) 진한 선홍빛을 띠는 ND군의 간 조직에 비해 Ath군의 간 조직은 색이 연하고 크기가 비대해졌다(Fig. 3 B). 미강추출물을 섭취한 Ath-RBE군은 ND군보다 간 조직의 무게가 유의하게 증가하였으나, Ath군에 비해 유의하게 감소하였다.

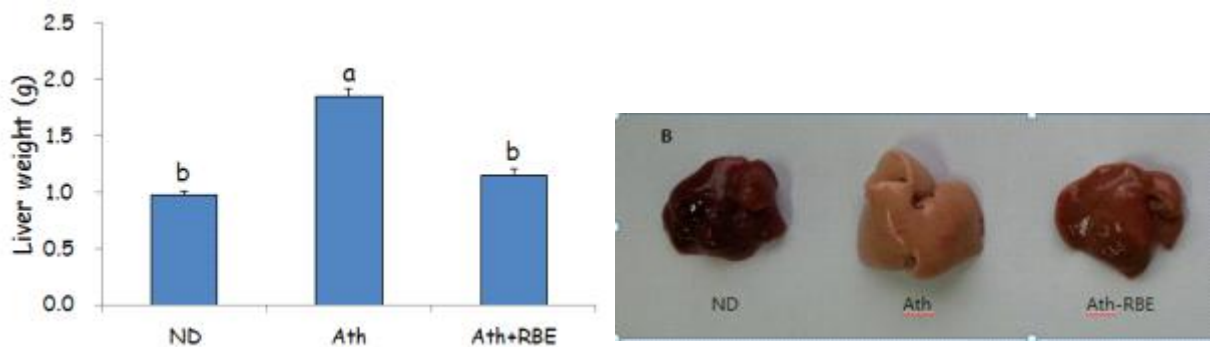


Fig 3. Effect of rice bran extract on liver weight in C57BL/6 mice

Values are expressed as mean ± SE. <sup>abcd</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

라. 미강추출물 첨가식이 급여가 공복혈당에 미치는 영향

공복 시 혈당은 Table 5와 같다. 실험 시작 시 공복혈당은 그룹 간에 유의한 차이가 없었다. 실험식이 섭취 4주째에는 ND군과 Ath군의 Ath-RBE군에 비하여 유의하게 낮았다. 실험 8주후에는 Ath군이 다른 군에 비해 가장 높았고, Ath-RBE군은 Ath군보다는 낮았지만 ND군보다는 높았다..

Table 5. Effect of rice bran extract on fasting blood glucose in C57BL/6 mice

	ND	Ath	Ath-RBE
Fasting blood glucose (mg/dL)			
Before (0 week)	75.25±6.86	75.00±7.41	75.50±4.50
4 weeks	78.50±4.40 <sup>b</sup>	85.00±4.51 <sup>b</sup>	129.25±4.50 <sup>a</sup>
8 weeks	97.75±7.97 <sup>c</sup>	146.13±8.33 <sup>a</sup>	125.63±8.30 <sup>b</sup>

Values are expressed as mean ± SE. <sup>ab</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

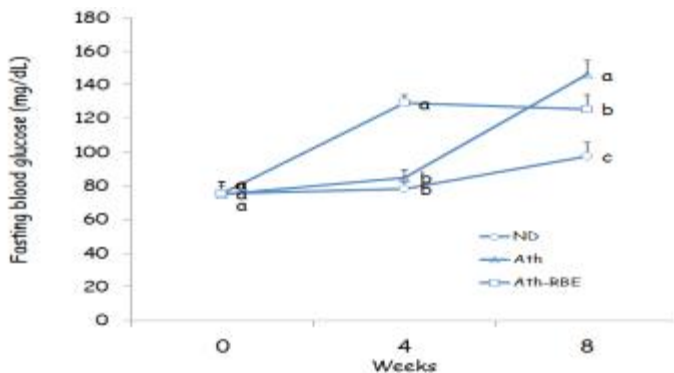


Fig 3. Effect of rice bran extract on fasting blood glucose level in C57BL/6 mice

Values are expressed as mean ± SE. <sup>abcd</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

마. 미강추출물 첨가식이 급여가 혈청 인슐린과 ALT에 미치는 영향

혈청 인슐린 농도는 Fig 4와 같다. ND군과 Ath군, Ath-RBE군과 유의한 차이가 없었다. Ath-RBE군의 혈청 인슐린 농도는 ND군에 비해 유의하게 감소하였다. 그러나 Ath군과 Ath-RBE군 사이에 유의한 차이는 없었다. 혈청 ALT 농도는 Fig 5와 같다. Ath 군에서는 다른 그룹에 비해 유의하게 높은 혈청 ALT 농도를 나타내었다. 미강추출물을 섭취한 Ath-RBE군의 혈청 ALT 농도는 Ath 군보다 유의하게 감소하였다.



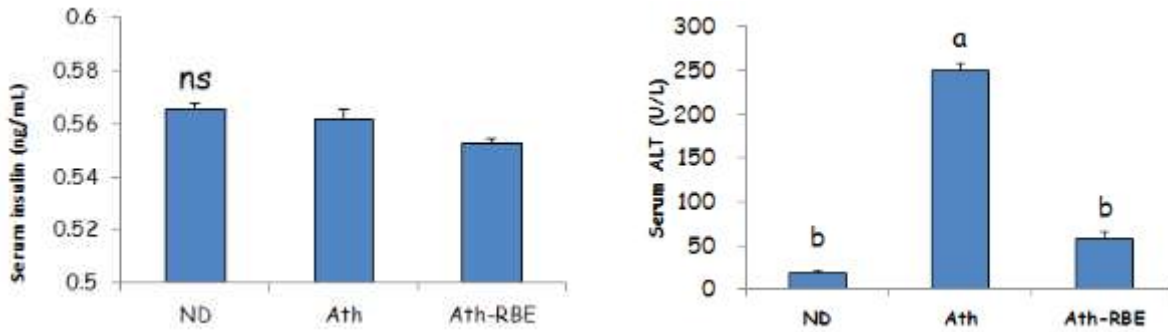


Fig 4. Effect of rice bran extract on serum insulin concentration in C57BL/6 mice

Values are expressed as mean  $\pm$  SE. <sup>ab</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

사. 미강추출물 첨가식이 급여가 혈청 아디포넥틴 및 렙틴 농도에 미치는 영향

혈청 아디포넥틴의 농도는 Fig 6과 같다. ND군의 혈청 아디포넥틴은 다른 그룹보다 유의하게 높았으며, 나머지 세 그룹 사이에 유의한 차이는 없었다. 한편 렙틴의 경우도 ND군이 가장 높았으며, Ath군과 Ath-RBE군 사이에는 유의한 차이가 없었다.

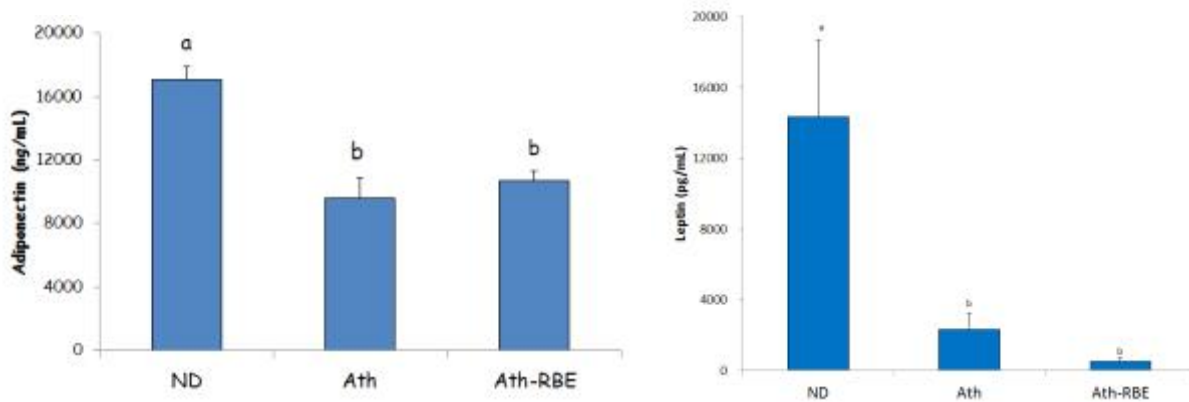
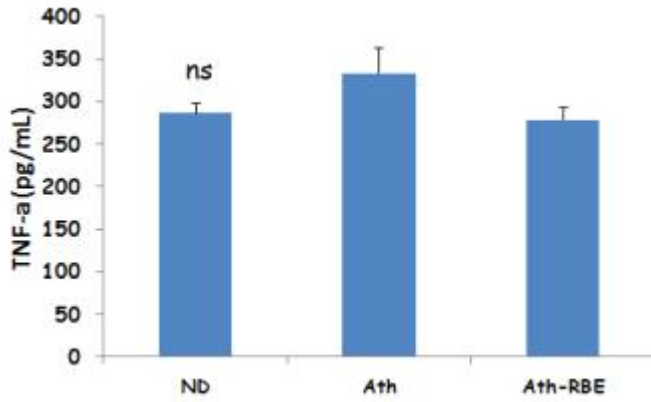


Fig 6. Effect of rice bran extract on serum adiponectin concentration in C57BL/6 mice

Values are expressed as mean  $\pm$  SE. <sup>ab</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

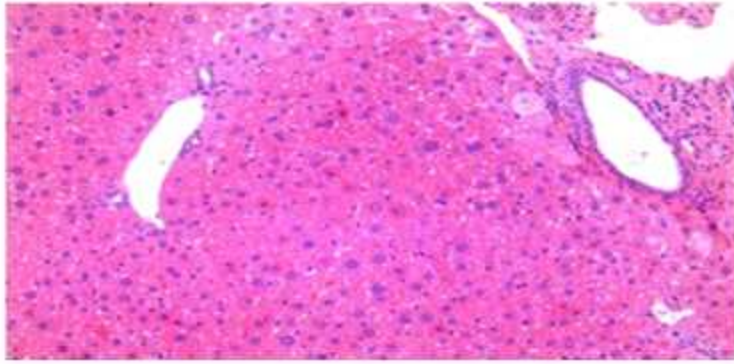


아. 미강추출물 첨가식이 급여의 간 조직병리학적 평가

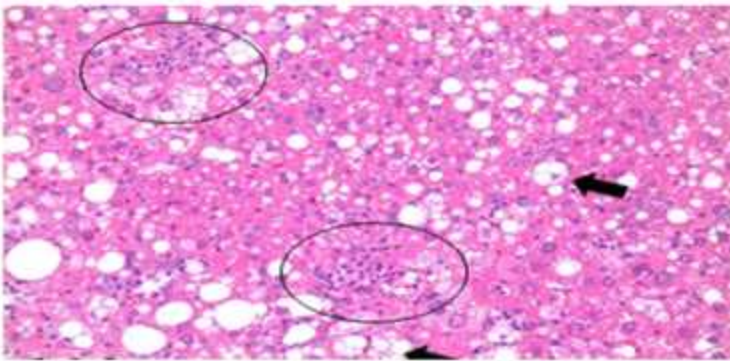
간세포 내 지방침착과 간세포의 공포변성 및 염증정도를 평가한 결과는 Table 6, Fig 7과 같다. ND군에서는 간세포 내 지방침착, 간세포변성 및 염증이 관찰되지 않았다. 반면에 Ath군과 Ath-ORZ군에서는 ND군에 비해 심한 간세포 내 지방침착과 공포변성 및 염증정도를 보였다. Ath-RBE군은 Ath군과 비교하였을 때 지방침착 부분에서는 크게 개선효과가 있다고 평가하기는 어려우나, 간세포의 변성과 염증부분에서 Ath군에 비해 Ath-RBE군에서 상당히 완화된 결과를 보였다.

Table 6. Individual scores for each lesion in the livers

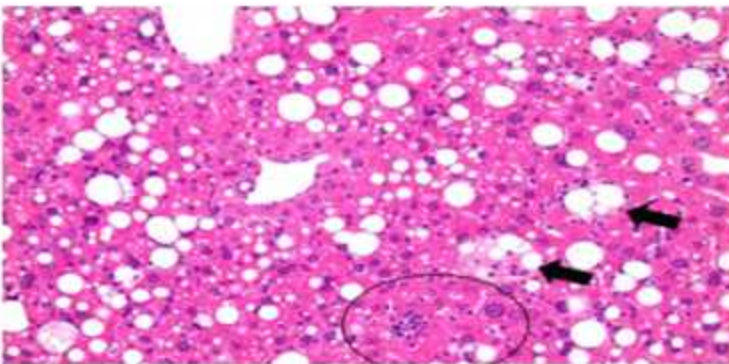
Histopathology	Steatosis	Ballooning degeneration	Inflammation
ND 1	0	0	0
ND 2	0	0	0
ND 3	0	0	0
Mean±S.D.	0.0±0.00	0.0±0.00	0.0±0.00
Ath 3	3	3	3
Ath 4	3	3	3
Ath 6	3	3	3
Mean±S.D.	3.0±0.00	3.0±0.00	3.0±0.00
Ath-RBE 1	1	0	1
Ath-RBE 2	3	2	2
Ath-RBE 3	3	2	2
Mean±S.D.	2.7±0.58	1.7±0.53	2.0±1.00
Ath-ORZ 1	3	3	3
Ath-ORZ 2	3	3	3
Ath-ORZ 3	3	3	3
Mean±S.D.	3.0±0.00	3.0±0.00	3.0±0.00



ND



Ath



Ath-RBE

Fig 7. Histopathology of the livers. Note the clear cytoplasmic vacuoles representing fat droplet deposition in the hepatocytes, multifocal inflammation (circles), and hepatocytes with ballooning degeneration(arrows). H&E. Mag.=X200 for all.

자. 미강추출물 첨가식이 급여가 간의 Nitrate/nitrite 및 MDA 농도에 미치는 영향

간의 Nitrate/nitrite 농도는 Fig 8과 같다. Ath 군은 ND군에 비해 유의하게 증가하였다. 그리고 미강추출물을 섭취한 Ath-RBE군은 Ath 에 비해 유의하게 감소하였으며, Ath-RBE군과 ND군 사이에 유의한 차이는 없었다. 간의 MDA농도는 ND군에 비하여 Ath군에서 유의하게 낮았으며, Ath-RBE군은 Ath군보다 유의하게 높았다.

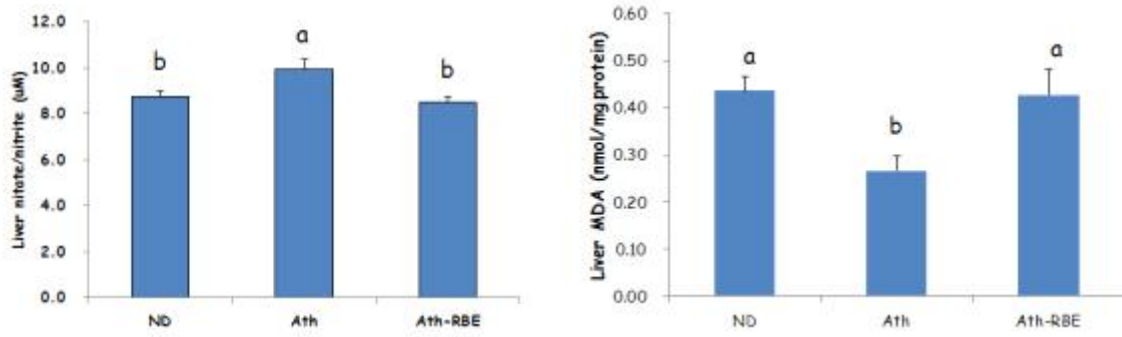


Fig 8. Effect of rice bran extract on liver nitrate/nitrite concentration in C57BL/6 mice  
 Values are expressed as mean  $\pm$  SE. <sup>ab</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; Ath, atherogenic diet; Ath-RBE, atherogenic diet containing 5% rice bran extract

이러한 결과는 미강 추출물이 식이유도 비알콜성 간질환 동물 모델의 간기능을 개선시키면, 식 후 혈당 및 혈당대사를 개선시킬 수 있음을 시사하였다.

## 2. 미강 추출물의 당질대사 개선 효과

### 1. 실험재료

실험에 사용된 시료는 전라남도 고흥군에 소재한 정미소에서 쌀 도정 중 발생된 유기농 미강을 구하여 쌀눈의 일부를 제거하고 안정화 시킨 것을 ○○대학교 식품영양과학부 탄수화물 소재 연구실로부터 제공받아 사용하였다.

### 2. 미강 에탄올 추출물

시료의 추출물은 미강 분말 100 g에 70% ethanol 800 ml을 첨가하여 9시간 40분 동안 80℃ 환류 추출하여 여과지로 잔유물을 제거하였다. 여과액은 회전 진공 농축기를 사용하여 32℃에서 감압농축한 후, -80℃에서 동결 건조하여 미강 추출 분말(수율 14.10±0.36%)을 얻었다. 미강 추출 분말은 빛을 차단하여 -80℃ 냉동고에 보관하였다.

$$\text{수율(\%)} = (\text{추출 분말의 무게(g)}/\text{처음의 시료 분말 무게(g)}) * 100$$

### 3. 실험동물의 사육 및 식이

#### 가. 실험 설계

실험동물은 1주일간 사육하여 환경에 적응시킨 후 정상 식이군(ND, n=8)과 45% 고지방 식이군(HFD, n=24)으로 나누었다. ND군은 정상 식이를 급여하였고, HFD군은 45% 고지방 식이를 급여하여 6주간 비만을 유도하였다. 비만의 유도여부는 ND군과 HFD군과의 체중 차이와 공복 혈당을 측정하여 확인하였다.

HFD군을 대조군인 HFD(n=8)군과 미강 에탄올 추출물 투여군으로 나누었으며, 미강 에탄올 추출물은 0.2% DMSO가 포함된 PBS로 희석한 후 sonicator를 이용하여 최대한 용해하여 동물실험에 사용하였다. 고지방식이 대조군(PBS), 미강 에탄올 추출물 투여군(250 mg/kg B.W./day, 500 mg/kg B.W./day)은 각각 8마리씩 체중과 공복혈당이 유의한 차이가 나타나지 않도록 각 그룹에 배정하였고, 1일 1회 일정한 시간에 zonde를 이용하여 0.2cc씩 4주간 경구투여 하였다.

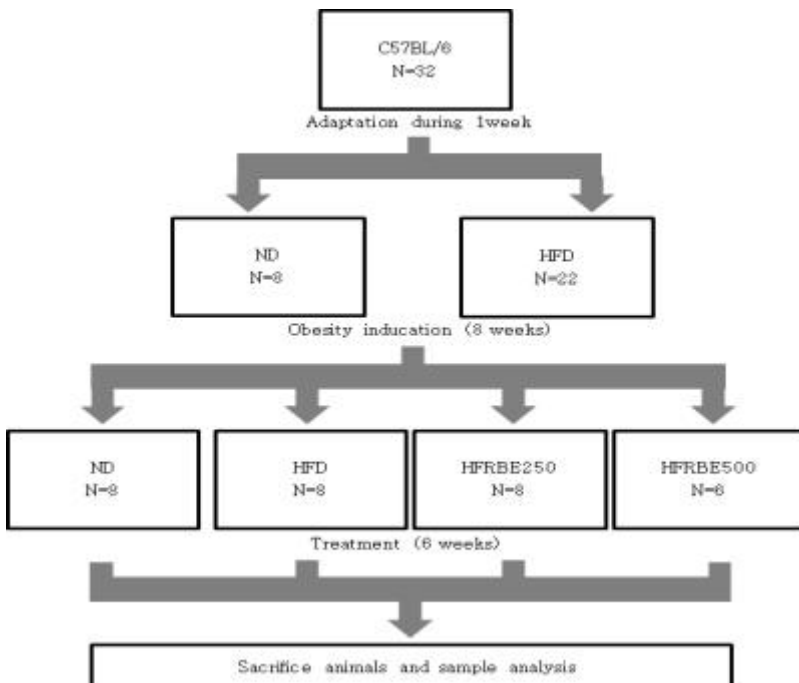


Fig . Design of the experimental scheme

ND : Normal diet (N=8)

HFD : High fat diet (N=8)

HFRBE250 : High fat diet+rice bran extract 250mg/kg B.W (N=8)

HFRBE500 : High fat diet+rice bran extract 500mg/kg B.W (N=6)

#### 나. 실험 식이

실험 식이는 정상 식이(#D10012G, Research diets, New Brunswick, NJ, USA)와 45% 고지방식이(#12451, Research diets, New Brunswick, NJ, USA)를 사용하였다.

#### 다. 실험동물의 사육

실험동물은 4주령의 평균체중  $15.5 \pm 0.9$  g인 C57BL/6 mice 수컷을 Raon Bio[용인, 한국]에서 구입하여 사용하였다. 동물 사육실의 온도 및 습도는  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $50 \pm 5\%$  내외로 설정하였으며, lighting cycle은 12시간 주기로 하였다. 식이와 물은 자유섭취 시켰다.본 동물실험은 ○○대학교 동물실험윤리위원회의 심의를 받아 ○○대학교 식품영양과학부 동물실험실에서 시행하였다 [CNU IACUC-YB-2013-3].

#### 라. 식이섭취량, 체중 증가량 및 식이 효율 측정

모든 실험동물의 식이는 자유급여 방법으로 공급하였다. 실험 기간 동안 식이는 3일에 한 번 공급하였으며 섭취량을 측정하여 1일 식이 섭취량을 산출하였다. 체중은 1주일에 1회 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio : FER)은 실험 식이 공급 시작일 부터 희생 일까지를 총 실험기간으로 하여 실험기간동안의 체중 증가량을 실험기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 산출하였다.

$$\text{FER} = \text{weight gain (g/7 wks)} / \text{food intake (g/7 wks)} * 100$$

### 4. 분석 시료 채취

#### 가. 혈액 채취

고압증기멸균기를 이용해  $121^\circ\text{C}$ 에서 15분간 멸균한 도구를 사용하여 시료를 채취하였다. 실험기간이 종료된 실험동물은 희생 전 12시간 절식시킨 후 복강 내에 마취제를 주입하여 마취하였으며, 개복 후 심장에서 혈액을 채취하였다. 마취제는 zoletil과 rompun을 2:1로 섞은 용액을 PBS에 1:10으로 희석하여 사용하였다. 채취한 혈액은 eppendorf tube에 넣어 ice box에 정치시킨 후 원심분리기 (MICRO 17R, (주)한일과학산업, Korea)로  $1000 \times g$ ,  $4^\circ\text{C}$ 에서 15분간 원심분리 후 혈청을 분리하였으며 분석 전까지  $-80^\circ\text{C}$  냉동고에 보관하였다.

#### 나. 지방 조직 및 장기 채취

채혈 즉시 각 지방 조직(신장 지방, 후복강 지방, 피하지방)과 간, 신장, 췌장 등의 장기를 적출하여 0.9% 생리식염수를 이용해 세척 후 무게를 측정하였다. 장기 및 지방조직은  $-80^\circ\text{C}$  냉동고에 보관하였다.

### 5. 생화학적 분석

#### 가. 혈당농도측정 및 경구당부하 검사

실험 7주 후 경구당부하 검사를 실시하였다. 12시간 절식시킨 후 꼬리정맥에서 채혈하여 혈

당 측정계(Glucocard 01, Arkray, Kyoto, JAPAN)를 이용하여 공복 시 혈당 농도를 측정 후, 포도당 용액(glucose 2 g/kg B.W)을 zonde를 사용하여 경구투여 하고 30, 60, 90, 120분 후에 꼬리 정맥으로부터 채혈하여 혈당 농도를 측정하였다. 혈당 반응 면적(Incremental area under the curve,  $\Delta$ iAUC)은 Wolever 등의 방법으로 계산하였다.

나. 혈청 insulin 농도 측정

혈청 insulin 농도는 mouse insulin 측정 kit를 사용하여 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA) 방법으로 측정하였다. 시료 10  $\mu$ l를 microplate의 well에 넣고 conjugate를 75  $\mu$ l를 넣었다. Microplate를 2시간 동안 실온에서 780 rpm으로 shaking하면서 incubation하였다. Well을 비우고, 1회 세척 시 wash buffer 350  $\mu$ l를 사용하여 6회 wash한 후 substrate TMB 100  $\mu$ l를 각 well에 넣고 15분 동안 실온에서 780 rpm으로 shaking 하면서 incubation하였다. 각 well에 stop solution 100  $\mu$ l를 넣고 약하게 shaking 한 후, ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 분석값을 측정하였다. 각각의 calibrator를 측정하여 얻어진 calibrator curve를 이용하여 결과값을 계산하였다.

4. 통계 처리

모든 통계분석은 SPSS version 21 (International Business Machines, Armonk, NY, USA)을 이용하였으며, 모든 실험 결과는 평균  $\pm$  표준오차(mean  $\pm$  SEM)로 표시하였다. ND군과 HFD군의 평균의 차이는 독립표본 t-test를 이용하여 검증하였고, HFD군과 미강 추출물을 먹인 군인 HFRBE250, HFRBE500군은 one-way ANOVA를 실시한 후, 사후 검정 방법으로는 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검증하였다. 모든 경우의 유의적 수준은  $P < 0.05$ 를 적용하였다.

결과

가. 미강 추출물이 체중과 식이효율에 미치는 영향

실험기간 동안 체중변화는 Fig 1과 같다. 실험초기에는 그룹 간에 유의한 차이가 없었다. 실험 7주부터 HF군과 ND군 사이에 체중이 유의하게 차이를 보이기 시작하였으며, 이에 비만이 유도된 것으로 확인하여 실험 8주부터는 미강추출물 제공량에 따라 HF250 및 HF500군으로 실험군을 분리하였으며, 나머지 한군은 HF군으로 미강추출물없이 계속하여 고지방식을 공급하였다. 실험 종료시까지 HF군은 ND군에 비하여 체중이 유의하게 높았다. 미강추출물 제공군은 시간이 지남에 따라 체중이 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다.

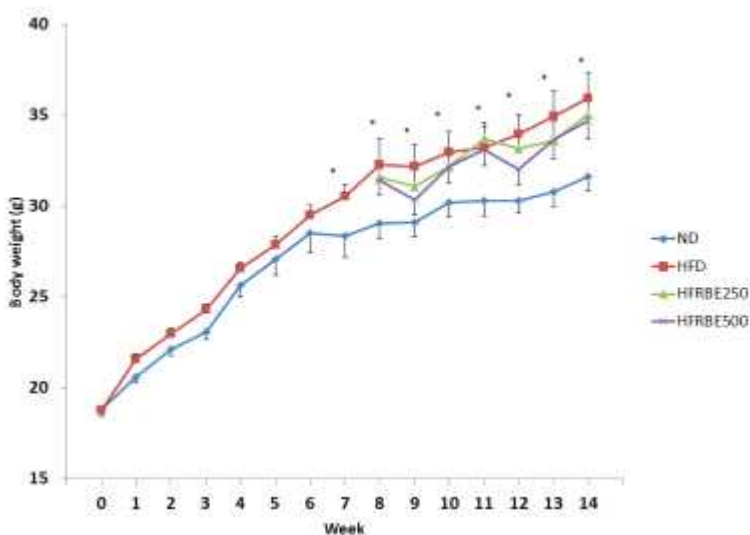


Fig 1. Change in the body weight of high fat diet-induced obese mice by rice bran extract.

1) Group abbreviation : ND; mice fed with the normal diet, HFD; mice fed with the high fat diet, HFRBE250 mice fed with the high fat diet+rice bran extract 250 mg/kg BW, HFRBE500 mice fed with the high fat diet+rice bran extract 500 mg/kg BW.

2) Significant difference between the ND and the HFD by t-test (\*; P < 0.05).

한편 식이 섭취량과 식이효율은 HFD군이 ND군에 사이에 유의한 차이가 없었으나, 에너지 섭취량은 HFD군이 유의하게 높았다.

Table 1. Change in the body weight and food intake of high fat diet-induced obese mice by rice bran extract

	ND <sup>1)</sup>	HFD	HFRBE250	HFRBE500
Body weight				
Initial weight (g)	29.08±0.84	32.29±1.22*	31.61±0.97	31.43±0.84
Final weight (g)	31.65±0.82	35.94±1.69*	35.08±1.06	34.70±0.93
Body weight gain (g/week)	2.58±0.43	3.66±0.60	3.48±0.67	3.28±1.09
Food intake				
Food intake (g/6wks)	126.00±3.60	115.80±3.87	107.10±2.71	112.20±3.52
Energy intake (kcal/6wks)	491.40±14.03	544.26±18.20*	503.37±12.74	527.34±16.52
Food efficiency ratio	2.04±0.34	3.16±0.52	3.71±0.49	3.51±0.95

1) Group abbreviation Group abbreviation : ND; mice fed with the normal diet, HFD; mice fed with the high fat diet, HFRBE250; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 250 mg/kg BW, HFRB500; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 500 mg/kg BW.

2) Values are mean±S.E.

3) Significant difference between the ND and the HFD by t-test (\*; P < 0.05, \*\*\*; P < 0.001).

4) Values with different small letters within a row represent significant difference between three experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test (P < 0.05).

#### 나. 미강추출물이 지방조직 및 장기 무게에 미치는 영향

각 장기조직 및 지방조직 무게에 미치는 영향은 Table 2 및 Table 3과 같다. 심장, 신장, 비장 및 고환의 무게는 ND군과 HFD군 사이에 유의한 차이가 없었으며, 미강추출물 급여에 따라 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 간의 경우 ND군에 비하여 HFD군이 유의하게 높았다. 한편 HFRD250군은 HFD군에 비하여 간의 무게가 유의하게 낮은 결과를 보였고 HFRB500군과는 차이를 보이지 않았다. 지방조직의 경우 ND군에 비하여 HFD군이 부고환 지방조직, 신 주위 지방조직 및 총지방조직량과 체중 중 지방이 차지하는 비율 모두 유의하게 높았다. 그러나 미강 추출물 급여에 따라 유의한 변화는 없었다.



Table 2. Change in the weight of heart, kidney, liver, spleen and testis of high fat diet-induced obese mice by rice bran extract

	ND1)	HFD	HFRB250	HFRB500
Heart (g)	0.14±0.00	0.14±0.00	0.14±0.00	0.14±0.00
Kidney (g)	0.38±0.02	0.42±0.02*	0.40±0.01	0.41±0.01
Liver (g)	0.92±0.02	0.97±0.06 <sup>a</sup>	0.91±0.04 <sup>b</sup>	0.96±0.03 <sup>a</sup>
Spleen (g)	0.05±0.00	0.06±0.01*	0.06±0.00	0.05±0.00
Testis (g)	0.18±0.00	0.19±0.01	0.19±0.01	0.19±0.00

1) Group abbreviation Group abbreviation : ND; mice fed with the normal diet, HFD; mice fed with the high fat diet, HFRBE250; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 250 mg/kg BW, HFRB500; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 500 mg/kg BW.

2) Values are mean±S.E.

3) Significant difference between the ND and the HFD by t-test (\*; P < 0.05, \*\*\*; P < 0.001).

4) Values with different small letters within a row represent significant difference between three experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test (P < 0.05).

Table 3. Effect of stabilized rice bran and resistant starch on organ weights and adipose tissue weight in C57BL/6 mice

	ND <sup>1)</sup>	HFD	HFRBE250	HFRBE500
Perirenal fat pad weight (g)	0.58±0.09	0.87±0.09*	0.89±0.04	0.83±0.05
Epididymal fat pad weight (g)	1.20±0.11	1.75±0.16 <sup>ab</sup>	1.87±0.12 <sup>a</sup>	1.83±0.11 <sup>a</sup>
Subcutaneous fat pad weight (g)	1.82±0.23	2.89±0.24*	2.76±0.18	2.63±0.22
Total fat pad weight (g)	3.60±0.40	5.50±0.46*	5.52±0.32	5.30±0.37
Total fat pad weight/ Body weight	0.11±0.01	0.15±0.01*	0.16±0.01	0.15±0.01

1) Group abbreviation Group abbreviation : ND; mice fed with the normal diet, HFD; mice fed with the high fat diet, HFRBE250; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 250 mg/kg BW, HFRB500; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 500 mg/kg BW.

2) Values are mean±S.E.

3) Significant difference between the ND and the HFD by t-test (\*; P < 0.05).

4) Values with different small letters within a row represent significant difference between three experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test (P < 0.05).

다. 미강추출물이 혈당 및 혈당 대사에 미치는 영향

실험 종료 후 공복시 혈당과 인슐린 농도는 Fig. 2와 같다. 혈당 및 인슐린 농도는 ND와 HFD군 사이에 유의한 차이가 없었으며, 미강추출물 급여에 따라서도 유의한 차이가 없었다. 이에 HOMA-IR도 4군 상이에 뚜렷한 변화를 보이지 않았다.

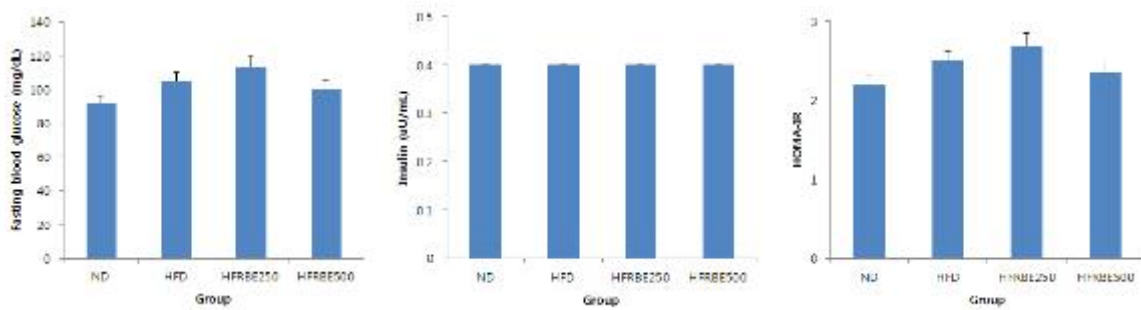


Fig. 2. Fasting blood glucose and insulin levels and HOMA-IR

Values are expressed as mean  $\pm$  SE. <sup>abcd</sup> Mean values are not significantly different between groups.

1) Group abbreviation : ND; mice fed with the normal diet, HFD; mice fed with the high fat diet, HFRBE250; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 250 mg/kg BW, HFRBE500; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 500 mg/kg BW.

실험 종료 시, 경구당부하검사 결과의 경우, HFD군은 ND군에 비하여 공복, 포도당 투여 30분, 60분, 90분 및 120분 후 모든 시점에서 혈당 농도가 유의하게 높았다. 한편 미강추출물 투여 후 혈당 반응의 경우 HFD군에 비하여 HFRBE250 및 HFRBE500군이 혈당 측정 모든 시점에서 HFD군에 비하여 혈당 농도가 낮았고, HFRBE500의 경우 ND군에 가까운 농도를 보였다. 이를 혈당반응면적으로 산출하여 비교한 결과, HFRBE250군은 HFD군과 유의한 차이를 보이지 않았으며, HFRBE500군만이 유의하게 낮았다.

이상의 결과들은 미강 추출물의 경우 본 연구에서 사용한 에탄올(70%) 추출물 250mg/kg 및 500mg/kg 의 투여는 체중 및 체지방 조직량에 유의한 영향을 기치지 않으며, 공복시 혈당 농도 및 혈당 대사에도 유의한 영향을 미치지 않음을 시사한다.

보다도 낮은 결과를 나타내었다. 혈당의 경우 공복시 혈당은 유의한 차이가 없었으나 포도당 투여30분 후 혈당 농도에서 HFD군이 유의하게 높았고, 다른 군에서는 차이를 보이지 않았다. 한편 IAUC면적도 ND군에 비하여 HFD군이 유의하게 높았다. 한편, 미강추출물 급여에 따라서는 유의한 차이를 보이지 않았다.

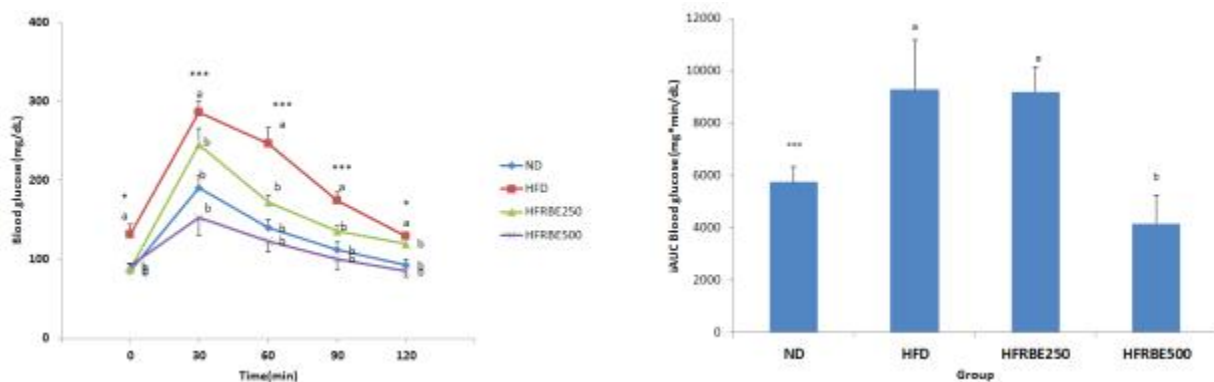


Fig 3. Change in the blood glucose and incremental area under the curve of high fat diet-induced obese mice by rice bran extract

1) Group abbreviation : ND; mice fed with the normal diet, HFD; mice fed with the high fat diet, HFRBE250; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 250 mg/kg BW, HFRBE500; mice fed with the high fat diet+rice bran extract 500 mg/kg BW.

2) Significant difference between the ND and the HFD by t-test (\*;  $P < 0.05$ , \*\*\*;  $P < 0.001$ ).

3) Values with different small letters within a row represent significant difference between

three experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ).

### 3. 미강과 저항전분 첨가 고지방식이의 탄수화물 대사장애 개선 효과 평가

#### (1) 연구배경

- 고지방 식생활 환경에 노출되어 있는 현대인에게 있어 기능성 떡 가공품의 효과 여부를 파악하고자 고지방식에 노출시킨 (준)질환 동물 모델을 적용하고자 한다.
- 고지방식에 노출시킨 C57BL/6 mice와 동 식이에 기능성소재(미강과 저항전분)를 첨가한 식이를 (준)질환 동물 모델에 적용하여 당대사 및 연관 대사에 미치는 생리적 효과를 분석하고자 한다.

#### (2) 연구방법

##### 가. 미강과 저항전분의 준비

1차년도 3-1과제에서 개발한 방법, 고온 및 냉각 처리과정을 통하여 안정화(특히 출원중) 시킨 미강(rice bran)을 확보하여 실험에 사용하였다.

##### 나. 실험 설계

본 연구에 사용된 실험동물은 4주령의 수컷 C57BL/6 mice 이며, 국내 (주)오리엔트바이오사 (Orient, Seongnam, Korea)를 통해 구입하였다. 실험기간 동안 온도  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 습도  $50\pm 5\%$  그리고 12시간 간격으로 명암을 자동 조절하여 일정한 환경조건에서 사육하였다. 실험동물은 2주 동안 적응 후, 고지방식이군 (HF,  $n=8$ ), 고지방식에 안정화미강을 첨가한 식이 급여군 (HF-RB,  $n=8$ ), 고지방식에 저항전분을 첨가한 식이 급여군 (HF-RS,  $n=8$ ), 고지방식에 안정화미강과 저항전분을 첨가한 식이 급여군 (HF-RB-RS,  $n=8$ )으로 나누어 12주 동안 급여하였다(Fig. 1).

실험식은 45% 고지방 식이 (D12451, Research diets)를 사용하였다. 고지방 식이조성에 근거하여 탄수화물에 해당하는 식이구성 성분인 corn starch를 안정화미강 또는 저항전분으로 대체하여 실험식을 구성하였다(Table 1). 결과적으로 식이에 첨가된 미강 또는 저항전분은 식이의 8.5 %였다. 실험식은 Table 1과 같은 식이조성으로 (주)유니페이스사 (Uni Faith, Seoul, Korea)를 통해 제조하였다. 모든 식이는  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 냉장 보관하면서 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안 식이와 음용수는 충분히 공급하여 자유롭게 섭취하도록 하였다. 본 연구의 동물 실험은 ○○대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받았고 그 규정에 따라 실행하였다 (CNU IACUC-YB-2014-19).

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식 후 Zoletil과 Rompun을 이용하여 마취시킨 후 심장에서 혈액을 채취하였다. 채혈 즉시 각 지방조직과 간을 적출하여 생리식염수로 세척 후 무게를 측정하였다. 채취된 혈액은 원심분리기(MICRO 17R, Hanil Science Industrial, Incheon, Korea)로  $1,000\times g$ ,  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 원심분리 후 혈청을 분리하였다. 혈청 및 간 조직은 분석 전까지  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

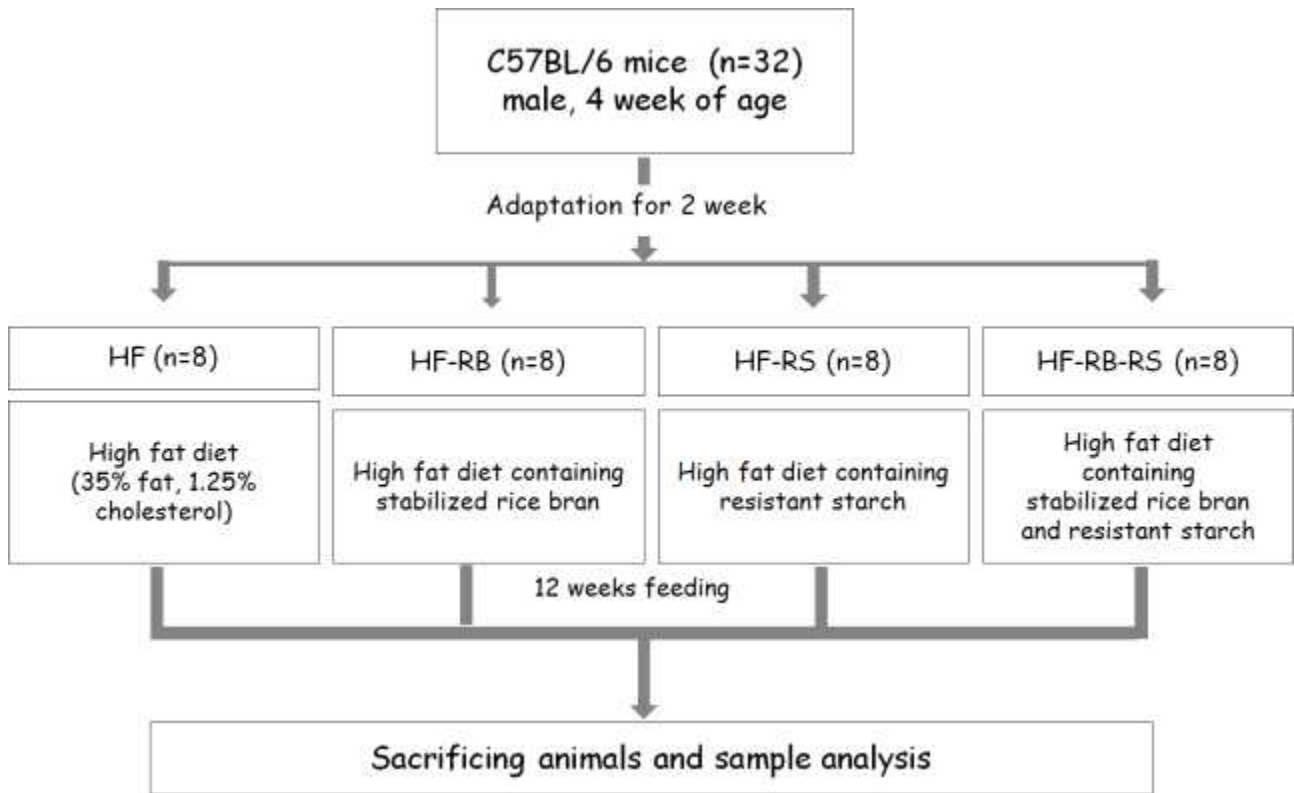


Fig. 1. Design of the experimental scheme

HF, high fat diet; HF-RB, high fat diet containing stabilized rice bran; HF-RS, high fat diet containing resistant starch; HF-RB-RS, high fat diet containing stabilized rice bran and resistant starch

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredient (g)	HF	HF-RB	HF-RS	HF-RB-RS
Casein	200	200	200	200
L-Cystine	3	3	3	3
Corn starch	72.8	0	0	0
Stabilized rice bran (RB)	0	72.8	0	36.4
Resistant starch (RS)	0	0	72.8	36.4
Maltodextrin	100	100	100	100
Sucrose	172.8	172.8	172.8	172.8
Cellulose	50	50	50	50
Soybean Oil	25	25	25	25
Lard	177.5	177.5	177.5	177.5
Mineral Mix S10026	10	10	10	10
DicCalcium Carbonate	13	13	13	13
Cacium Carbonate	5.5	5.5	5.5	5.5
Potassium Citrate	16.5	16.5	16.5	16.5
Vitamin Mix V10001	10	10	10	10
Choline Bitartrate	2	2	2	2
Total	858.1	858.1	858.1	858.1

HF, high fat diet; HF-RB, high fat diet containing stabilized rice bran; HF-RS, high fat diet containing resistant starch; HF-RB-RS, high fat diet containing stabilized rice bran and resistant starch

(3) 결과

가. 미강과 저항전분 첨가식이 급여가 체중과 식이효율에 미치는 영향

실험기간 동안 체중변화는 Table 2와 같다. 실험초기에는 그룹 간에 유의한 차이가 없었다. 실험종료 시 HF-RB군은 HF군과 유의한 차이는 없었다. 한편, HF-RS군과 HF-RB-RS군의 체중은 HF군보다 유의하게 증가하였다. 12주 동안 식이섭취량은 HF군과 HF-RB군, HF-RS군 사이에서도 유의한 차이는 없었으며, HF-RB-RS군이 다른 군에 비해 유의하게 높은 결과를 보였으나 HF군과 유의한 차이는 없었다.

Table 2. Effect of stabilized rice bran and resistant starch on body weight gain and food intake in C57BL/6 mice

	HF	HF-RB	HF-RS	HF-RB-RS
Body weight				
Initial weight (g)	19.66 ± 0.39	19.40 ± 0.36	19.76 ± 0.40	19.36 ± 0.30
Final weight (g)	40.04 ± 0.80 <sup>b</sup>	40.75 ± 1.46 <sup>b</sup>	45.50 ± 0.77 <sup>a</sup>	44.38 ± 1.20 <sup>a</sup>
Body weight gain (g/week)	1.70 ± 0.06 <sup>b</sup>	1.78 ± 0.13 <sup>b</sup>	2.15 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.08 ± 0.09 <sup>a</sup>
Food intake (g/week)	16.33 ± 0.62 <sup>b</sup>	17.50 ± 0.63 <sup>b</sup>	23.20 ± 0.48 <sup>a</sup>	18.09 ± 0.44 <sup>ab</sup>
Food efficiency (%)	10.52 ± 0.48 <sup>ab</sup>	10.71 ± 0.81 <sup>ab</sup>	9.26 ± 0.35 <sup>b</sup>	11.65 ± 0.68 <sup>a</sup>

Values are expressed as mean ± SE. <sup>abc</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; HF, high fat diet; HF-RB, high fat diet containing stabilized rice bran; HF-RS, high fat diet containing resistant starch; HF-RB-RS, high fat diet containing stabilized rice bran and resistant starch

나. 미강과 저항전분 첨가식이 급여가 장기조직과 지방조직 무게에 미치는 영향

각 장기조직 무게와 지방조직 무게는 Table 3과 같다. 심장, 신장, 비장 조직의 무게의 경우 HF군은 HF-RS군에 비해 유의하게 낮았으며, HF군과 HF-RB군, HF-RB-RS군 사이에 유의한 차이는 없었다. 간 조직의 무게는 HF군과 HF-RB군 사이에서 유의한 차이가 없었으나, HF군에 비해 HF-RS군과 HF-RB-RS군의 간조직 무게는 유의하게 증가하였다.

부고환 지방조직의 무게는 HF군과 HF-RB군 사이에 유의한 차이는 없었다. HF-RS군과 HF-RB-RS군의 부고환 지방조직 무게는 HF군보다 유의하게 증가하였다. 신주위 지방조직의 무게는 HF군과 HF-RB군 사이에 유의한 차이는 없었다. HF-RS군의 신주위 지방조직 무게는 HF군보다 유의하게 증가하였고, HF-RB-RS군과 HF군 사이에 유의한 차이는 없었다. 결과적으로 8.5%의 미강 또는 저항전분이 첨가된 식이의 섭취는 지방조직 무게 감소에 영향을 주지 않았다. 미강 또는 저항전분의 첨가량을 더 증가시킨 식이를 이용한 실험이 요구된다.

Table 3. Effect of stabilized rice bran and resistant starch on organ weights and adipose tissue weight in C57BL/6 mice

	HF	HF-RB	HF-RS	HF-RB_RS
Heart (g)	0.11 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.12 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.00 <sup>b</sup>
Kidney (g)	0.30 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.33 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.01 <sup>ab</sup>
Spleen (g)	0.07 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.07 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.07 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.07 ± 0.00 <sup>a</sup>
Liver (g)	1.11 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.22 ± 0.12 <sup>ab</sup>	1.61 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.38 ± 0.09 <sup>ab</sup>
Epididymal fat tissue (g)	2.28 ± 0.07 <sup>b</sup>	2.35 ± 0.09 <sup>b</sup>	2.58 ± 0.11 <sup>a</sup>	2.58 ± 0.08 <sup>a</sup>
Perirenal fat tissue (g)	1.19 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.19 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.40 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.30 ± 0.07 <sup>ab</sup>
Total fat pad (g)	3.54 ± 0.14 <sup>b</sup>	3.48 ± 0.11 <sup>b</sup>	3.98 ± 0.19 <sup>a</sup>	3.80 ± 0.15 <sup>a</sup>

Values are expressed as mean ± SE. <sup>abcd</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; HF, high fat diet; HF-RB, high fat diet containing stabilized rice bran; HF-RS, high fat diet containing resistant starch; HF-RB-RS, high fat diet containing stabilized rice bran and resistant starch

다. 미강과 저항전분 첨가식이 급여가 혈당에 미치는 영향

경구당부하검사 결과 혈당 반응은 Fig 2와 같다.

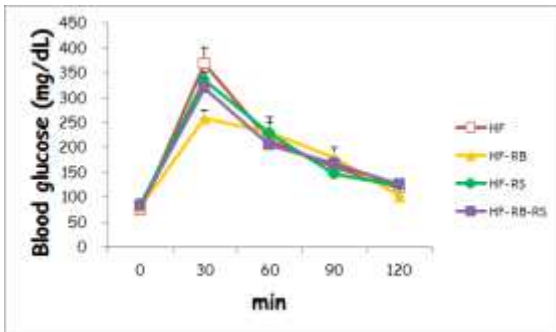
실험식이 섭취 전 (0주째)에는 경구당부하검사 결과 그룹 간에 유의한 차이가 없었다. 그리고 혈당반응곡선면적(AUC)에서도 그룹 간에 유의한 차이가 없었다(Fig 2 A).

실험식이 섭취 4주째에는 공복 시 혈당의 경우, HF-RB군과 HF-RS군의 공복 시 혈당은 HF군과 유의한 차이가 없었으나 HF-RB-RS군은 HF군에 비해 유의하게 감소하였다. 포도당 용액 섭취 후 30분에는 그룹 간에 유의한 차이가 없었으나 그 이후에는 그룹간에 차이를 보이기 시작하였다. HF군에 비해 HF-RB군과 HF-RS군은 포도당 용액 섭취 60분까지 유의한 차이가 없었으나 그 이후로는 HF군에 비해 유의하게 감소하였다. HF-RB-RS군은 포도당 용액 섭취 60분부터 HF군에 비해 유의하게 감소하였다. 이를 AUC값으로 나타낸 결과에서 HF군에 비해 HF-RB-RS군의 AUC 값이 유의하게 감소하였다(Fig 2 C).

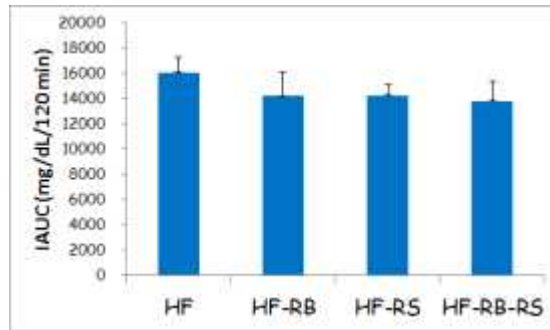
실험식이 섭취 12주째에는 공복 시 혈당이 HF군에 비해 HF-RS군의 공복 시 혈당이 유의하게 증가하였으며, HF군과 HF-RB, HF-RS군 사이에 유의한 차이는 없었다. 포도당 용액 섭취 30분부터는 HF군과 HF-RB, HF-RS군 사이에는 유의한 차이가 없었다. 그러나 HF-RB-RS군의 혈당 반응은 HF군에 비해 유의하게 감소하는 결과를 나타내었고, AUC 값을 나타낸 결과에서도 동일한 결과를 나타내어 실험식이 섭취 4주째의 결과와 비슷한 양상을 나타냈다(Fig 2 B, D). HOMA-IR은 HF-RB-RS군이 가장 낮은 경향을 나타내었고, 반대로 HOMA-b cell은 HF-RB-RS군이 가장 높은 경향을 나타내었다(Fig.3.). 결과적으로 미강 또는 저항전분을 각각 따로 섭취한 것보다 미강과 저항전분이 혼합된 식이를 섭취하였을 때 혈당반응 조절에 더 유

용할 것으로 생각된다.

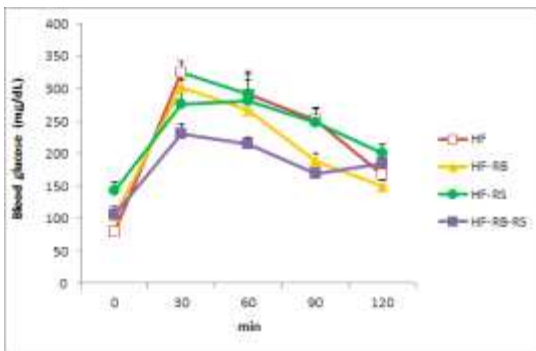
A.



C.



B.



D.

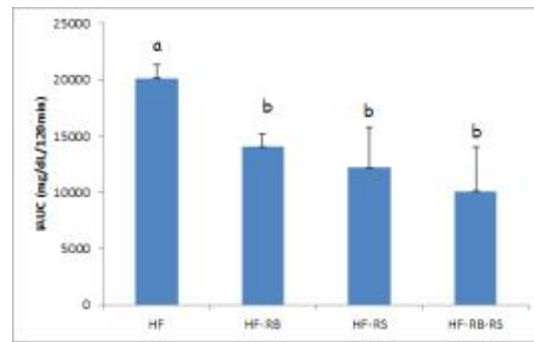


Fig. 2. Blood glucose concentration and area under the curve after the experimental diets feeding for 0 (A, C), and 12 weeks (B, D).

Values are expressed as mean  $\pm$  SE. <sup>abcd</sup> Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. HF, high fat diet; HF-RB, high fat diet containing stabilized rice bran; HF-RS, high fat diet containing resistant starch; HF-RB-RS, high fat diet containing stabilized rice bran and resistant starch

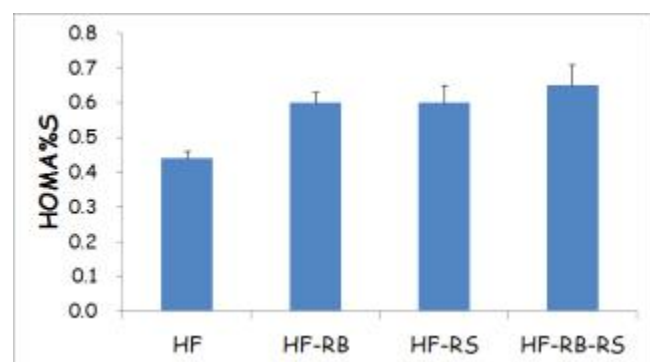
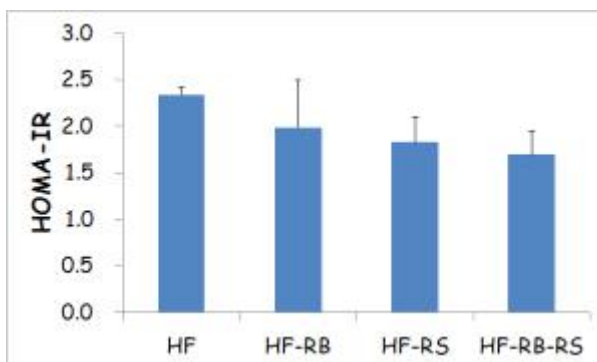


Fig. 3. HOMA-IR and HOMA-b cell at 12 weeks.

Values are expressed as mean  $\pm$  SE. HF, high fat diet; HF-RB, high fat diet containing stabilized rice bran; HF-RS, high fat diet containing resistant starch; HF-RB-RS, high fat diet containing stabilized rice bran and resistant starch



#### 4. 인체시험적용 시험을 통한 기능성 평가

##### 1. 대상 인체적용시험 도출 조건 적용

쌀 가공제품, 가래떡의 인체적용 도출 조건 검토 결과 50g 정도의 탄수화물을 함유한 양이 적정한 것으로 나타난바, 본 연구에서는 백미떡 기준 1회 섭취분량은 105g, 미강 20%를 첨가한 떡의 경우 130g을 적용하였다. 한편 미강 함량이 20%로 당초 계획보다 적게 첨가하게 되어 관능성에는 영향을 비교적 덜 기치며, 식이섬유소 첨가 효과가 있는 RS(RS4)를 첨가한 2차 실험 시료를 검토하여 적용하였다.

##### 1. 실험식 구성 및 대상자

본 실험에서는 사용한 대조군은(Control)는 백미를 이용하여 제조한 가래떡을 사용하였으며, 실험군은 미강 20%를 함유한 가래떡을 제조하여 사용하였다. 실험가래떡 제조에 사용된 미강은 본 연구과제 2세부 과제에서 특허를 획득한 방법으로 제조된 제품을 공급받아 사용하였으며, 실험에 사용된 가래떡은 본 과제 협력기관의 협조를 통하여 동일한 설비에서 제조하였다. 실험 가래떡 제조에 사용된 미강의 첨가 비율은 동물 실험에서 입증된 바, 최소 첨가 범위가 30%이었으나, 관능검사 결과 30%의 수용도가 극히 낮아 20%를 함유한 제품을 1차 제조하였다. 이후 관능적으로 수용도를 높이며, 흡수속도를 낮출 수 있는 RS를 첨가한 제품을 개발하여 적용하였으며, 각각의 조성은 table 1과 같다. 본 실험에서 사용한 쌀 제품의 섭취량은 사전 조사 결과 75g의 유용탄수화물을 함유한 분량의 경우, 1회 섭취량으로는 과다하다는 평가가 있어 50g의 유용 탄수화물 함유 분량으로 설정하였다. 저탄수화물 식품의 GI 측정 시, 1회 섭취분량이 과다할 경우, 유용탄수화물의 양을 낮게 적용하여 사용할 수 있다고 알려져 있다. 또한 대조군과 실험군간의 섭취분량이 갖는 영향을 최소화하기 위하여 수분을 공급하여 총 섭취분량은 동일하도록 조절하였다.

Table 1. Composition of experimental rice product

	Control	Experimental
Rice product (g)	105	130
Water (g)	95	70
Total (g)	200	200
Available carbohydrate(g)	50	50

##### 2. 실험 대상자

실험 대상자는 평균연령은 39.1±12.3세이고 최소 20세에서 최고 56세의 범위에 있었으며, 모두 여성이었다. 이들 대상자의 평균 체중은 61.3±7.8kg, 평균 신장은 161.1±6.8cm이었다. 대상자의 평균 BMI는 23.7±3.7 kg/m<sup>2</sup>이었다. 아시아인의 비만 판정기준을 적용할 때, 정상인 경우는 7명, 과체중인 경우는 3명, 비만인 경우는 2명이었다. 연구 대상자 모두 당뇨나 혈압 이상과 같은 대사성 이상이 없는 정상인이었다.

Table 2. General characteristics of subjects

subject	Gender	Age (yr)	Height (cm)	Weight (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
s1	F	47	153.3	56.3	24.0

s2	F	19	159.5	73.7	29.0
s3	F	47	169.0	62.0	21.7
s4	F	20	158.9	49.5	19.6
s5	F	39	163.3	59.3	22.2
s6	F	42	158.0	57.0	22.8
s7	F	48	170.5	65.7	22.6
s8	F	47	154.7	77.0	32.2
s9	F	56	150.0	56.0	24.9
s10	F	34	170.0	57.0	19.7
s11	F	47	160.2	63.5	24.7
s12	F	23	166.3	58.6	21.2
Avg±SD		39.1 ±12.3	161.1 ±6.8	61.3 ±7.8	23.7 ±3.7

### 3. 실험 절차

실험 대상자들은 12시간 동안 절식하도록 하였으며, 실험 당일 공복상태로 간이 혈당측정계로 혈당을 검사한 후 50g의 당질이 함유되어 있는 떡을 10분에 걸쳐 섭취하였다. 섭취 후 30, 60, 90, 120분에 각각 손끝에서 채혈하여 간이혈당계(accurcheck, 로슈(주), 스위스)로 혈당을 측정하였다. 이때 공복 및 2시간 이후에는 추가 분석을 위하여 전주정맥에서 5ml의 전혈을 취하였으며, 취한 즉시 원침하여 혈청분리한 후 -70℃에 보관하였다.

공복 및 2시간 동안 얻어진 혈당치를 이용하여 혈당반응곡선을 작성한 후 Area under the curve (AUC)를 산출하였다. 대조떡 및 실험떡으로부터 얻어진 AUC를 바탕으로 혈당지수(Glycemic index, GI)를 산출하였으며, 1회 섭취분량(130g)을 적용하여 당부하지수(glycemic load, GL)를 산출하였다. 이때 1회 섭취 분량은 한국영양섭취기준에서 제시한 양을 적용하였다.

### 4. 에너지 및 에너지 영양소 섭취량 조사

24시간 회상법(24 hour recall method)으로 평소 음식 섭취량을 조사하였으며, 조사된 자료를 토대로 CAN-pro 프로그램을 이용하여 에너지 및 에너지 영양소 (탄수화물, 지방, 단백질) 섭취량을 조사하였다. 이를 통하여 교차시험 진행 동안 에너지 및 에너지 급원 영양소 섭취 비율의 차이가 있는지 확인하였다.

연구대상자의 교차시험 중 평균 에너지 섭취량과 에너지 영양소 섭취량은 Table 3과 같았다. 에너지 및 에너지 영양소 섭취량은 에너지의 경우 1325.5 ± 393.5 kcal/d 및 1459.3 ± 343.3 kcal/d로 평상시와 거의 유사하였다. 에너지 영양소인, 탄수화물, 단백질, 지방 섭취량의 에너지 비율 역시 교차 시험 중 통계적으로 유의성 있는 변화는 없었다.

Table 3. Energy and energy yielding nutrients intake

	1st	2nd
Energy(kcal)	1325.7 ± 393.5	1459.3 ± 343.3
Carbohydrate(g)	205.5 ± 57.9	223.7 ± 72.5
Fat(g)	35.3 ± 20.4	43.0 ± 15.5
Protein(g)	48.9 ± 18.2	44.4 ± 9.6
Fiber(g)	13.9 ± 4.9	13.3 ± 4.1
Carbohydrate(%)	62	61.3
Fat(%)	24	25.5
Protein(%)	14.8	13.2

Values are not significantly different between 1st and 2nd periods

5. 통계처리

얻어진 모든 자료는 통계프로그램인 SPSS 12.0을 이용하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 비교군간 평균의 차이는 paired t-test 및 일분산분석(one way ANOVA)로 분석하였다. ANOVA의 경우 Tukey's test로 사후검정하였다.

결 과

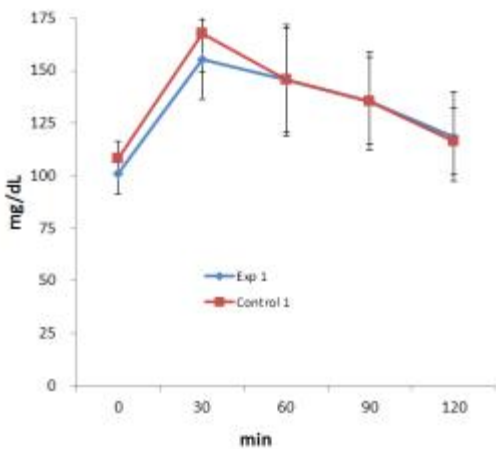
1. 혈당 반응 곡선

백미 가래떡(Control 1)과 미강가래떡(Exp 1) 섭취 시의 혈당 반응 곡선 및 반응면적은 Figure 1-A, B와 같다. 각각 30분에 최고의 혈당을 나타내었으며, 이후 점차 감소하였다. 섭취 후 60분부터 2시간까지 점차 감소하였으며, 대조군 1과 실험군 1 사이에 차이가 없이 거의 유사한 반응 양상을 나타내었다. 대조군 2와 실험군 2에 대한 반응의 경우, 역시 섭취 후 30분에 가장 높은 혈당 수치를 나타내었다. 그러나 실험군 1과는 달리 60분 및 90분까지 비슷한 혈당 농도를 유지하였고, 이후 120분에 감소하는 경향을 보였다. 2시간 동안의 AUC(Area under the curve)를 계산한 결과, 실험군 1과 실험군 2 모두 각각의 대조군 보다 낮은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. 대조군과 비교한 각 실험군의 시간대별 혈당 반응은 실험군 1의 경우 30분과 60분 등 비교적 섭취 초기에 크게 나타났으며, 실험군 2는 30분, 60분, 90분 및 120분 조사된 전 기간에 걸쳐 반응면적이 크게 나타났다(Fig 2-E, F)

Table 1. Blood glucose response by control 1 and experimental sample 1

	0 min	30 min	60 min	90 min	120min
Exp 1	100.8 ± 9.6	155.4 ±19.0	145.9 ±24.6	135.6 ±20.8	118.6 ±21.4
Control 1	108.4 ± 8.0	167.6 ±18.4	145.5 ±26.5	135.6 ±23.6	116.3 ±15.9

A.



B.

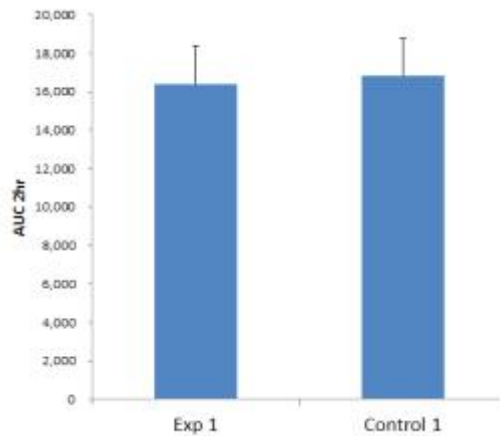
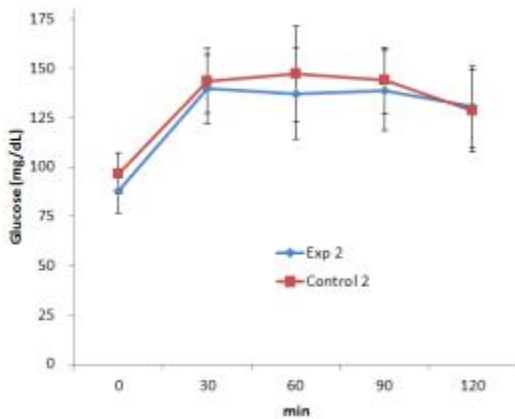


Fig 1. Blood glucose response curve of experimental rice product

Table 2. Blood glucose response by control 2 and experimental sample 2

	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Exp 2	87.9 ± 10.4	139.7 ± 16.4	137.1 ± 24.0	139.0 ± 16.9	130.6 ± 20.9
Control 2	96.6 ± 11.2	143.8 ± 17.4	147.3 ± 22.9	144.0 ± 20.4	128.4 ± 20.5

C.



D.

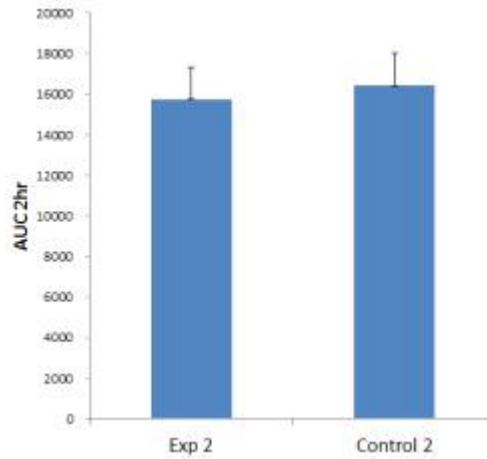


Fig 2. Blood glucose response curve of experimental rice product 2

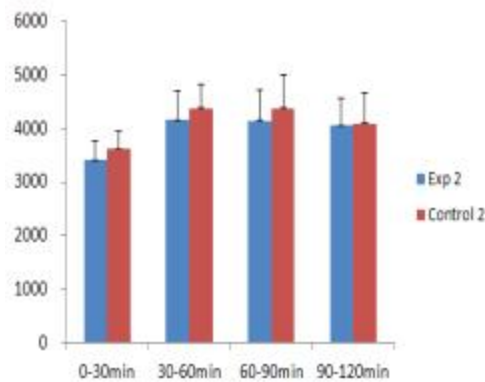
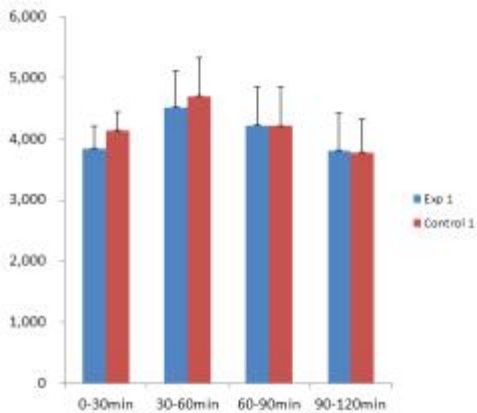


Fig. 3. blood glucose response according to time

### 3. 혈당지수 및 당부하지수

대조군과 각 실험군의 GI와 GL의 값은 Table 4 및 Fig 4와 같다. 실험군 1과 실험군 2 모두 대조군을 기준으로 하여 볼 때,  $98.2 \pm 8.4$ 와  $96.4 \pm 10.3$ 으로 약간 낮은 값으로 산출되었으나 큰 표준편차를 고려해 볼 때 일상에 적용하기에는 무리가 있는 것으로 판단되었다. 한편 1회 섭취 분량을 한국인 영양섭취기준에서 제시하고 있는 130g을 적용하여 산출하였을 때, 대조군은 61.9였고, 실험군 1과 실험군은 각각  $49.1 \pm 4.2$ 과  $48.2 \pm 5.1$ 로 나타났다. 실험군 1과 실험군 2가 대조군에 비하여 낮은 경향을 보이긴 하였으나 일반적인 GL의 분류범주에 비교하면 고혈당부하식품군에 속하였다.

Table4. Glycemic index(GI) and Glycemic load(GL)of experimental rice products

	GI (%)	GL (%)
Control	100	61.9
Exp 1	98.2 ± 8.4	49.1± 4.2
EXP 2	96.4 ± 10.3	48.2 ± 5.1

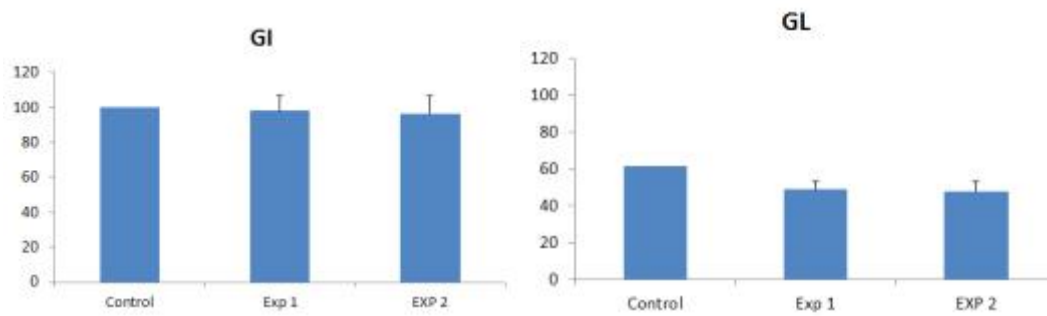


Fig. 4. GI and GL of experimental rice products

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

목 표	연구개발 수행내용	자체평가 및 달 성 도(%)
대사기능 개선 기능성 소재 조성물(술잎분말, 저항전분, 미강)의 탄수화물 대사기능 개선 효과 평가(in vivo)	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 술잎분말의 식후 혈중 중성지방 대사기능 개선 효과(in vivo) : 경구지방내성검사, IAUC 분석</li> <li>◦ 저항전분(RS)의 식후 혈당 대사기능 개선 효과(in vivo) : IAUC 분석</li> <li>◦ 미강(Rice bran)의 식후 혈당 대사기능 개선 효과(in vivo) : 경구 당부하 검사, IAUC 분석</li> </ul>	술잎분말, 저항전분, 미강의 acute 당 또는 지질대사 개선 효과 가능성이 확인된 바, 향후 기능성 쌀 가공품과 기능성 식품 개발에 기초자료로 이용될 수 있을 것으로 판단됨 (100%)
동물실험을 통한 쌀 가공제품 기능성 소재의 대사기능 개선 효과 평가 (적용소재: 미강)	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ High fat diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 미강 및 미강추출물의 개선효과 분석 :</li> <li>◦ 백미와 미강 첨가 정상식이 및 고지방식이 유도 탄수화물 대사장애에 대한 미강의 개선효과 분석 :</li> <li>◦ High sucrose diet 유도 탄수화물 대사장애에 대한 미강의 개선효과 분석 : --&gt; OGTT, IAUC, 공복혈당, 혈청 인슐린 농도, 인슐린저항성 분석, 혈청 leptin 농도 측정</li> <li>◦ Atherogenic diet 유도 비알코올성간질환에 대한 미강 추출물의 개선효과 분석 : --&gt;간 무게, 총 콜레스테롤, 중성지방, 유리지방산, 혈청 ALT 농도 측정, OGTT 및 pyruvate challenge test, 지방간,감염, 간 섬유화 정도 분석 - hematoxylin-eosin, Azan, and Sirius red staining</li> <li>◦ 흑미 미강의 기능성 평가(추가) -&gt; OGTT, IAUC, 공복혈당, 혈청 인슐린 농도, 인슐린저항성 분석, 혈청 leptin 농도 측정</li> <li>◦ 미강과 RS의 병용효과가 있으므로 관능성이 좋지 않은 미강과의 병용적용효과 확인평가</li> </ul>	미강의 탄수화물 대사장애 개선 효과(체중, 지방조직무게, 공복혈당, 인슐린저항성, 혈중 랩틴 농도 감소 등)가 확인된 바, 기능성 쌀 가공제품의 소재로 적합한 것으로 판단 됨. 흑미 미강 또한 탄수화물 대사장애 개선 효과를 가진 소재로 판단되었음. 발굴된 소재의 시너지 효과도 확인함. 발굴소재의 주요 효과 성분은 식이섬유소 성분으로 추정됨. 추출물 형태는 당대사개선 기능이 현저하게 저하되는 것으로 파악됨. (100%)
인체시험적용을 통한 쌀 가공제품 기능성 소재의 기능성 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 기능성 소재인 미강적용 쌀가공 제품의 당질대사개선 효과 판정</li> <li>◦OGTT, IAUC, 공복혈당 등 측정</li> </ul>	미강을 적용한 기능성쌀 가공식품의 인체적용시험을 통한 효과 판정에 적합한 섭취 분량 및 적용범위 및 발굴된 소재적용 쌀가공제품의 혈당대사개선 기능성을 확인함 (100%)

## 2절 관련분야 기술발전 기여도

분야	발전기여도
대사기능 개선 기능성 소재 개발:	솔잎분말, 저항전분, 미강의 acute 당 또는 지질 대사 개선효과 가능성이 확인된 바, 향후 기능성 쌀 가공품과 기능성 식품 개발에 기초자료 제공에 기여함
동물실험을 통한 기능성 소재의 기능성 평가: 개발된 쌀 가공제품의 기능성 평가법 확인 및 적용 기능성 소재의 대사기능 개선 효과 평가 (적용소재: 미강)	미강의 탄수화물 대사장애 개선 효과(체중, 지방 조직무게, 공복혈당, 인슐린저항성, 혈중 렙틴 농도 감소 등)가 확인된 바, 기능성 쌀 가공제품의 소재로 적합한 것으로 판단 됨. 후미 미강 또한 탄수화물 대사장애 개선 효과를 가진 소재로 판단되었음. 발굴된 소재의 시너지 효과도 확인함. 향후 쌀가공제품 개발에 필요한 기초지식을 제공함
인체시험적용 조건 기능성 소재 적용 쌀 가공제품의 기능성 평가	미강을 적용한 기능성쌀 가공식품의 인체적용시험을 통한 효과 판정에 적합한 섭취 분량 및 적용범위 및 발굴된 소재적용 쌀가공제품의 혈당대사개선 가능성을 확인함으로써 향후 인체적용시험에 대한 기초지식을 제공함

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### 1절 실용화 및 산업화 계획(기술실시 등)

- 미강 소재를 떡 이외의 다른 쌀 가공식품에의 적용성 검토
- 본 연구에서 RS4와 병용이 관능성 개선에 도움을 주었으므로 병용 효과를 적용한 기능성 식품의 개발 검토

### 2절 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획

- 비알콜성간질환에 미치는 영향에 대한 연구 결과 -SCIE 급 투고
- Stabilized Rice Bran Extract Improves Insulin Resistance in Mice Model of Atherogenic Diet Induced Nonalcoholic Steatosis. Nutr Res Practice 2015 (투고예정 SCI급)
- RS의 식후혈당개선 효과-KCI급 투고
- 미강의 식후혈당개선 효과 -KCI급 투고
- 미강과 RS 병용의 대사기능개선이 미치는 영향 -KCI급 투고
- The Combined Effects of Rice Bran and Resistant Starch on Postprandial Glycemic Response in C57BL/6 Mice Fed High Fat Diet. Korean J Food Cookery Sci 2015 (투고 예정, 비SCI급)
- Effect of Rice Bran with Rice-based High fat Diet on Blood Glucose and Insulin resistance in C57BL/6 Mice. J Korean Soc Food Sci Nutr 2015 (투고예정 비SCI급)
- The Hypoglycemic Effects of Rice Bran Extract in C57BL/6 Mice Fed with High Fat Diet. J Nutr Health 2015 (투고예정, 비SCI급)

### 3절 추가연구, 타연구에 활용 계획

- 미강 자체가 아닌 미강 함유소로서의 건강기능성에 관한 연구-개별인정형 기능성소재로서의 연구과제 지원 및 발굴 예정



## 4-1 세부과제

### 요 약 문

I. 제 목 : 기능성 떡제품 브랜드화 및 해외시장진출방안

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1) 연구개발 목적

- 과학적인 기능성 떡개발 지원을 통한 시장내 안정적인 진입을 위한 마케팅전략 수립방안 수립
- 고품질 기능성 떡제품 브랜드화를 추진하기 위한 소비자조사를 통한 세분시장 개척
- 다양한 기능성 떡제품의 개발과 품질개선을 통해 쉽게 만들어 먹을 수 있는 제품개발을 통한 글로벌화 추진

2) 연구개발의 필요성

- 떡은 제품 다양화에 대한 노력 부족하고 소규모 방앗간 위주의 공급으로 낮은 가격 경쟁력 등으로 인해 적극적 산업화에 대한 대처가 늦었음
- 최근 건강소비에 대한 관심이 높음에 따라 기능성 떡제품 개발로 다양한 연령층에 적합한 떡제품 개발 필요
  - 그 동안 떡제품은 비교적 연령층이 높은 소비자들을 중심으로 선호현상이 높았으나 최근에는 떡제품이 카페, 레스토랑 등에서 간식으로 대응되는 등 소비의 폭이 넓어지고 있음
  - 따라서 떡제품의 칼로리를 낮추고, 혈행개선의 효과를 증대시켜 떡이 건강제품이라는 차별적인 포지셔닝을 통해 다양한 연령층 군의 소비확대가 필요함
- 기능성 떡 소비촉진을 위한 전국적 브랜드화 및 인지도 향상의 필요
- 떡산업의 활성화를 통한 고용창출로 지역경제 활성화 필요
- 기능성 떡산업의 해외진출을 통한 국제화 필요
  - 한류문화에 힘입어 전통떡에 기능을 부여하여 우리떡의 우수성을 알리고, 전통문화와 접목한 문화를 전파하는 매개체로서 떡산업을 활용할 필요 있음

III. 연구개발 내용 및 범위

○ 1차년도

- 떡산업의 전반적인 현황분석 및 문제점 도출 분석지원
  - . 떡산업 관련 국내외 동향 분석
  - . 지역 떡산업의 현안 분석
  - . 사업 추진 전략방향 수립(사업단, 기업체, 외부협력기관 등)

- 관련 전문가 네트워킹
  - . 기업체 협의회 구성 및 운영, 정례화
  - . 전문가 초청 간담회 개최 지원
  - . 기업체와의 기술 및 정보제공 공유

- 시제품의 소비자 반응 평가 및 적합성 평가
  - . 세분시장 개발 및 적합한 떡제품 개발 지원

○ 2차년도

- 개발된 기능성 떡 신제품의 소비자 선호도 조사
  - . 고급화 및 다양화된 세분시장 개발(인구통계적, 사용자 계층(편익추구, 건강추구), 시장별 등)을 위한 소비자 선호도 조사
  - . 각 세분시장에 적합한 기능성 떡신상품 개발 제안
  - . 소비자 맞춤형 기능성 떡제품 개발 제안
- 개발된 기능성 떡제품의 국내 유통망 구축 지원
  - . 프랜차이즈 개설(직영점, 가맹점 개설 등)

○ 3차년도

- 해외시장 진출을 위한 마케팅지원
  - . 해외 시장조사 및 분석지원
  - . 해외시장개척
  - . 외국인 대상 개발된 기능성 떡제품 선호도 조사

IV. 연구개발결과

1. 1차년도 연구결과

- 기업체 협의회 구성 및 운영, 정례화

구분	협의구성	협의회 추진내용
기업체 협의회	주)예다손 고문 세부과제4 책임교수 한국생산성본부 브랜드전문위원 (사)한국식품개발정보연구원 대표	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 협의회 운영</li> <li>. 사업추진방향성 정립</li> <li>. 분기별 사업추진 성과점검</li> <li>. 사업추진 자문 및 제안</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 회의 정례화</li> <li>. 분기별 회의 개최 진행</li> <li>. 수시로 협의사안에 대한 회의합</li> </ul>

전문가 초청 간담회 개최 지원

○ 한국식품정보연구원의 전문가를 초빙하여 기능성식품동향에 대한 의견수렴

- 일시 : 2012년 10월23일
- 초청 전문가 : 김영명박사(전 식품연구원 센터장)
- 장소 : 조선대학교 경상대 7층 세미나 1실

참여기업과의 기술 및 정보제공

○ 국내외 기술동향 및 최신 정보 등을 관련 기업체에 제공함

- 수시로 시장환경변화에 대한 정보를 파악하여 상호 공유함
- 특히 해외시장조사를 통한 현지 소비자에 대한 떡의 이해와 대응방안 등을 수시 협의함

소비자조사를 통한 선호도 높은 떡제안과 마케팅전략수립

○ 예다손의 마케팅 전략을 주요 부문별 핵심 키워드를 중심으로 전략의 방향성을 제시함

- 제품전략

- . 제품의 다양성 제고 : 특히 소매용 떡 제품의 다양성 확보가 필요(가맹점 매출의 저조가 제품다양성 부족의 원인이기도 하므로, 제품다양성 제고를 위해서는 신제품 개발 뿐 만 아니라, 점포당 매출액 제고 방안이 필요)
- . 신세대 소비자계층 선호 제품 개발
- . 유아와 노인 소비층을 겨냥한 기능성 및 친환경성 떡 개발
- . 선물용 떡의 다양화 (예: 30-100만원대의 맞춤형 최고급 떡 개발)
- . 예다손의 차별적인 맛 이미지 지속적으로 보존 · 발전

- 가격전략

- . 소비자가 느끼는 고가격 이미지를 약화시키는 전략 추진(예: 일반적인 제품의 가격 인하를 통해서 전체적인 가격이 비싸지 않다는 이미지를 줄 수 있음)
- . 단순히 숫자적인 가격인하보다는 소비자의 감성적인 가격부담을 낮추는 전략추진이 필요(예:

판매원의 서비스의 질 제고, 포장의 고급화, 떡에 스토리텔링 접목 등)

- 가맹점 및 물류 전략

- . 점포는 소규모 점포를 지양하고, 최상급 상권에 입점을 원칙으로 하도록 함
- : 고객의 절반 정도가 점포를 우연히 발견하고, 예다손을 알거나 방문하게 됨
- . 효율적 물류가 가능하기 위해서는 전국적으로 산발적 점포개설보다는 일정한 전략지역에서의 집중적인 점포개설 추진이 필요
- . 본사 및 공장의 원거리로 인한 불리함을 극복하기 위한 소비지 물류거점 확충 필요하며, 거점 가맹점의 필요한 원재료 및 제품 공급 허브화 추진

- 프로모션 전략

- . 중소기업의 여건을 감안하여 대규모 광고 홍보전략 추진보다는 입소문 마케팅, 체험마케팅, 블로거마케팅 등 다양한 홍보수단

## 2. 2차년도 연구결과

### □ 개발된 기능성 떡 신제품의 소비자 선호도 조사

- 고급화 및 다양화된 세분시장 개발(인구통계적, 사용자 계층(편익추구, 건강추구), 시장별 등)을 위한 소비자 선호도 조사

- 소비자 조사 및 시식회 평가자료 분석결과

- . 맛에 대한 평가는 매우 좋은(likert 5점) 평균 4.7점으로 나타남
- . 소비자들이 생각하는 개선 점은 건강식품이라는 인식이 될수 있도록 해야함
- . 현재 떡제품만을 시식했을때도 직접적인 인지가 어려움
- . 건강식품으로 칼로리를 가급적 낮게 해야한다는 점과 가격을 너무 비싸지 않게 책정해야 한다는 의견이 많음
- . 전반적으로 개발된 떡에 대한 맛(4.5점), 모양(4.8점), 색깔(4.5점) 등에서 매우 우수한 평가

### □ 각 세분시장에 적합한 기능성 떡신상품 개발 제안

- Segmentaion : 건강을 고려하는 중산층과 젊은 층
- Targeting : 30대-40대/20대
- Positioning : 기존 떡 브랜드와 차별화된 웰빙컨셉과 고품질제품으로 포지셔닝 제안

### □ 개발된 기능성 떡제품의 국내 유통망 구축 지원 및 제안

- 소비자조사를 통한 소비자 니즈파악 제품출시와 브랜드화 방안 제시

- 목표시장에 적합한 유통망을 구축하는 것이 바람직할 것임

- 기능성 신제품의 포지셔닝에 적합한 소비자타겟별 유통망이 필요

### 3. 3차년도 연구결과

□ 중국소비자 대상 개발된 기능성떡 시식을 통한 관능 및 선호도조사

#### ○ 조사의 목적

- (주)에다손에서 개발한 떡제품의 중국 시장진출을 위한 현지 시장조사를 통한 수출 및 진출 가능성 타진
- 현지 상해 KOTRA와 연계를 통한 유통업체 면담으로 수출에 필요한 사항들에 대한 숙지 및 준비
- 개발떡제품에 대한 현지 소비자조사 실시로 향후 수출제품에 반영
- 중국 현지의 떡관련 판매처 방문

#### ○ 조사의 개요

- 조사기간: 2014.7.4(금) ~ 7.10(수)/6박7일
- 조사국가 및 방문기관 :
  - . 중국 상해 KOTRA 방문
  - . 현지 식품유통업체 上海柏桂商貿有限公司 등 총7개 업체방문 협의
  - . 상해 대형업체 등 방문

#### ○ 조사분석결과

- 현재 중국 소비자의 한국식품에 대한 선호현상은 높으나 현지 시장에서의 떡산업은 주로 교민들을 대상으로 한 떡시장이 주류를 이루고 있어 떡산업의 한계가 있음
- 특히 중국현지에서의 유통업체 및 중국 소비자 대상의 조사를 심층 분석한 결과, 중국 소비자의 건강에 대한 관심은 고조되고 있으나 편리성을 강조하고 있어 “아이시루”와 같이 과정이 복잡한 식품은 꺼리고 있어 중국 식생활문화에 대한 이해가 필요함
- 따라서 현지점에서의 중국시장 진출은 적절치 않다고 판단되며 향후 중국 진출 시에 필요한 전략적 시사점을 다음과 같이 적시함

### V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 기존의 프랜차이즈 유통방식에 의한 매출증대 증대 목표를 수정하여 다양한 다중 채널 유통방식의 채용제안

- . 기존의 80여개에 이르는 프랜차이즈 가맹점수를 축소하여 대규모화 하고 직영점 방식을 확대 (시장 경쟁가열 및 소비자 카페 선호 현상 대응)
  - . 다양한 유통업태인 마트, 편의점, 백화점, 홈쇼핑 등으로 다변화, 고급유통업태인 백화점 등은 기능성 제품 매출에 집중
  - . 새로운 친환경, 기능성 신시장 창출로서 어린이 학생 급식시장 확대 및 국방부 생일케익 시장개발이 전략적으로 이루어져야함
- 해외 수출 가속화 및 기능성 제품 비중 확대 강화
  - . 일본, 미국, 중국, 호주 등 전방위 수출 네트워크 구축 및 수출선적 유통 루트 개발
  - . 해외시장, 특히 일본시장에서의 기능성 떡 제품 선호에 따른 기능성제품 시장개발 가속
  - . 해외의 다양한 시장특성에 맞는 떡종류 및 유통방식을 개발 활용
- 최근 소비자 선호도, 취향에 맞는 제품 및 유통 방식을 개발해서 경쟁제품과 차별화 필요
  - . 고객의 편의성 증시에 따른 편의점 체인과의 계약매출과 순간(10, 30초)짜는 방식의 제품개발 (웰찌 찜떡)
  - . 소비자 선호도에 크게 영향을 미치는 용기 및 포장개발을 위한 디자인 팀 구축을 통해 고급화 신제품 개발
  - . 떡류 연계상품 개발을 위한 세트상품개발 및 전통 퓨전음료(동치미 수 등) 개발

# SUMMARY

I. Title : Branding Method of Functional Korean Rice Cake Products and Their Overseas Market Expansion

II. Purpose and need of Research & Development

1. Purpose of research & development

- To establish marketing strategies for stabilization in the market by supporting the development of scientific and functional Korean rice cake
- To develop segmented markets through consumer research in order to conduct the brandization of high quality functional rice cake products
- To propel globalization of rice cake products through developing diverse functional rice cake products and improving their quality

2. Need of research & development

- Rice cake have fallen behind in industrialization process due to the lack of efforts for product diversification, low price competitiveness because of production by small scale mills.
- Along with the growing interest in healthy consumption, it is necessary to develop diverse functional rice cake products geared for different age groups.
  - Unlike the popularity for rice cake by relatively old age group in the past, recently rice cake products are consumed for snacks at cafes, restaurants, etc., increasing consumption. Lowering calories and differentiated positioning as a healthy food product are needed to further expand consumption to diverse age groups.
- Need of nationwide brandization and recognition enhancement to activate consumption of functional rice cake
- Need to boost regional economy by creating jobs through activation of rice cake industry
- Need to globalizing functional rice cake industry through overseas expansion
  - Need to spread the outstanding quality of our functional rice cake backed by the Korean wave, and to use the rice cake industry as the medium of further spreading our culture.

III. Contents and Scope of Research & Development

1. 1st Year

- Support for analyzing general status and issues of Korean rice cake industry
  - . Analysis of current trend of Korean rice cake and related industries
  - . Analysis of current issues of regional Korean rice cake industry
  - . Establishment of strategic directions of the project (the project team, firms, external collaborating organizations, etc.)
- Networking with experts in the field
  - . Organization and operation of collaboration committees with companies
  - . Support for meetings with experts
  - . Sharing technology and information with companies
- Assessment of consumer response to sample products and fitness (questionnaires, FGI)
  - . Development of segmented markets and support for appropriate product development

## 2. 2nd Year

- Survey with consumers on their preferences for newly developed functional rice cake products
  - . Consumer preference research to develop upgraded and diversified segmented markets (by demographic, consumer group (convenience-seeking, health-seeking, etc), market characteristics, etc.)
  - . Suggestion of developing new functional rice cake products for each segmented market
  - . Suggestion of developing customized functional rice cake products
- Support for establishing domestic supply chains for developed functional rice cake
  - . Opening Franchise (Opening corporate-owned stores, franchised stores, etc.)

## 3. 3rd Year

- Marketing support for overseas market expansion
  - . Support for research and analysis of international markets
  - . Exploring international markets
  - . Preference survey on functional rice cake developed for foreigners

## IV. Results of Research & Development

### 1. Results of the 1st-year Research

Organizing and Operating Industry Collaboration Team



		Activities of Collaboration Team
Industry Collaboration Team	Advisor of Yedason Professor in charge of Task No. 4 Brand expert member at Korea Productivity Center CEO of Korea Food Development Information Research Center	- Operation of the team . Setting up product direction . Reviewing quarterly outcomes . Advising and suggesting project activities - Regular meeting . Meeting at every quarter . Frequent meetings on a need basis

Support for a Meeting with Expert Guest

Collecting opinions on the current trend of functional food by inviting an expert from the Korea Food Information Research Center

- Date : October 23, 2012

- Guest Speaker : Dr. Young Myung Kim (Former Director of Food Research Center)

- Place : Seminar Room 1 in Business School Building at Chosun University

Sharing Technology and Information with Participating Companies

Providing the domestic and international technology trend and the latest information for related companies

- Frequently acquiring and sharing the information of changes in market environment

- Frequent meetings to understand and handle the overseas consumers especially through international market research

Suggesting Highly Preferred Rice Cake Products by Consumer Research and Establishing Marketing Strategies

Suggesting directions for Yedason marketing strategies based on the core keywords by major sector

- Product strategies

. Enhancing product diversity: Need to secure rice products especially for retail stores

. Developing the products preferred by new generation consumer group

. Developing functional and eco-friendly rice cake aiming at young children and aged consumers

. Diversify gift rice cake (for example, development of customized high quality rice cake at 300 to 1000 thousand dollars)

. Maintaining and continuously developing the differentiated taste and image of Yedason

- Price strategies
  - . Promoting the strategy that weakens the high price image perceived by consumers (For example, lowering the price of ordinary products can create image of lower overall price.)
  - . Pursuing a strategy for lowering the emotional price burden of the customers, rather than simply lowering the price itself (for example, the enhanced service quality of a salesclerk, upgraded packaging, storytelling about rice cake products, etc.).
- Strategies for franchised stores and supply chains
  - . Stores should enter the high-end marketing areas, avoiding small ones:  
Half of customers found a store by chance, recognizing or visiting Yedason.
  - . For an efficient supply chain system stores should be concentrated in strategic areas, rather than wide spread nationwide.
  - . In order to overcome the disadvantage of long distance between the head office and the factory, supply chain centers in the consumption areas should be secured to work as the supply hub for necessary raw materials and products.
- Promotion strategies
  - . Use of diverse promotion methods, such as word-of-mouth marketing, experience marketing, blogger marketing, etc, rather than a large-scale advertisement in consideration of the unfavorable condition of the small-and-medium sized companies

## 2. Results of the 2nd-year Research

### Consumer Preference Research on Newly Developed Functional Rice Cake Products

- Consumer preference research to develop upgraded and diversified segmented markets (by demographic, consumer group (convenience-seeking, health-seeking, etc), market characteristics, etc.)
  - Results of the analyses of consumer research and sampling evaluation data
    - . Taste evaluation showed a very high average score of 4.7 on a 5-point Likert scale.
    - . Consumers suggested improvement on the healthy food image and perception.
    - . Currently, simple sampling is not effective for product recognition.
    - . Also suggested by the consumers were lowering the calories as much as possible as a healthy food and pricing the products not too high.
    - . Overall evaluation on the developed rice products was very high in terms of taste (4.5points), shape (4.8), color (4.5점).

- Proposal for the development of new functional rice cake product for each segmented market
  - Segmentation : middle class young group with health consciousness
  - Targeting : 30's-40's/20's
  - Positioning : Proposal for positioning of high quality products with well-being concept differentiated with existing brands
  
- Support and suggestion of setting up domestic supply chain system for developed functional rice cake products
  
- Suggestion of developing products through needs assessment with consumers and turning them into brands
  - Setting up a supply chain system fitting for the target market will be desirable.
  - Need of a supply chain system fitting for positing of new functional product

### 3. Results of the 1st-year Research

- Preference survey on the functional rice cake developed for Chinese consumers
  
- Purpose of Research
  - To test the possibility of export and market expansion of rice cake developed by Yedason through local market research
  - To research on and prepare necessary conditions for export by interviewing local supply chains assisted by KOTRA in Shanghai
  - To conduct local consumer research on developed rice products for future export
  - To visit local stores dealing with rice cake products
  
- Outline of Research
  - Research Period: 7 Days (July 4th (Fri), 2014. ~ July 10th (Wed), 2014
  - Participating Country and Organizations:
    - . KOTRA in Shanghai, China (visited)
    - . 7 food supply chains in Shanghai (visited & consulted)
    - . Large firms in Shanghai, China (visited)
  
- Results of Research
  - Although Chinese consumers showed high preference for Korean food, the rice cake industry in China was mostly for Koreans in the area, revealing the limitation of the industry.

- An in-depth analysis of surveys with domestic supply chains and consumers in China showed that despite their growing interest in health, Chinese consumers stress convenience, avoiding the kind of food that requires complicate process such as "Ishiroo". The results imply for the importance of understanding the Chinese eating culture.
- Therefore, entering Chinese market at this point does not seem right, and the following implications are strategically suggested for future expansion into the market.

## V. Implications and Application Plans of the Results

- Implication for adopting diverse multi-channel supply chain mechanism, revising the goals for sales increase based on the existing franchise method
  - . Reducing the current number of more than 80 franchised stores by turning them into large stores and expanding the corporate owned store system (dealing with increased market competition and cafe preferences)
  - . Diversifying the supply channels, including marts, convenience stores, department store, home shopping channels, etc; upgraded channels such as department stores should concentrate on functional product sales.
  - . To create new eco-friendly and functional markets school cafeterias for children should be expanded and the birthday cake market for the department of defense should be strategically developed.
- Increasing export and expanding the ratio of functional products
  - . Expanding export network to Japan, America, China, Australia, and other countries and developing supply chain route for export shopping
  - . Further developing overseas markets for functional rice cake products, especially in Japan
  - . Developing the kinds of rice cake geared to diverse overseas market characteristics and the supply chain mechanism
- Need to be differentiated from competitors by developing products and supply channel systems in line with recent trend of consumer preferences and tastes
  - . To emphasize convenience for customers, convenience stores should be utilized and products that can be made by instant steaming (for 10 or 30 seconds) should be developed (steaming rice cake).
  - . Need to develop new high quality products through organizing a design team for container and wrap development, which greatly affect consumer preference
  - . Need to develop rice cake set and fusion drinks using traditional beverage for the development of rice cake related products

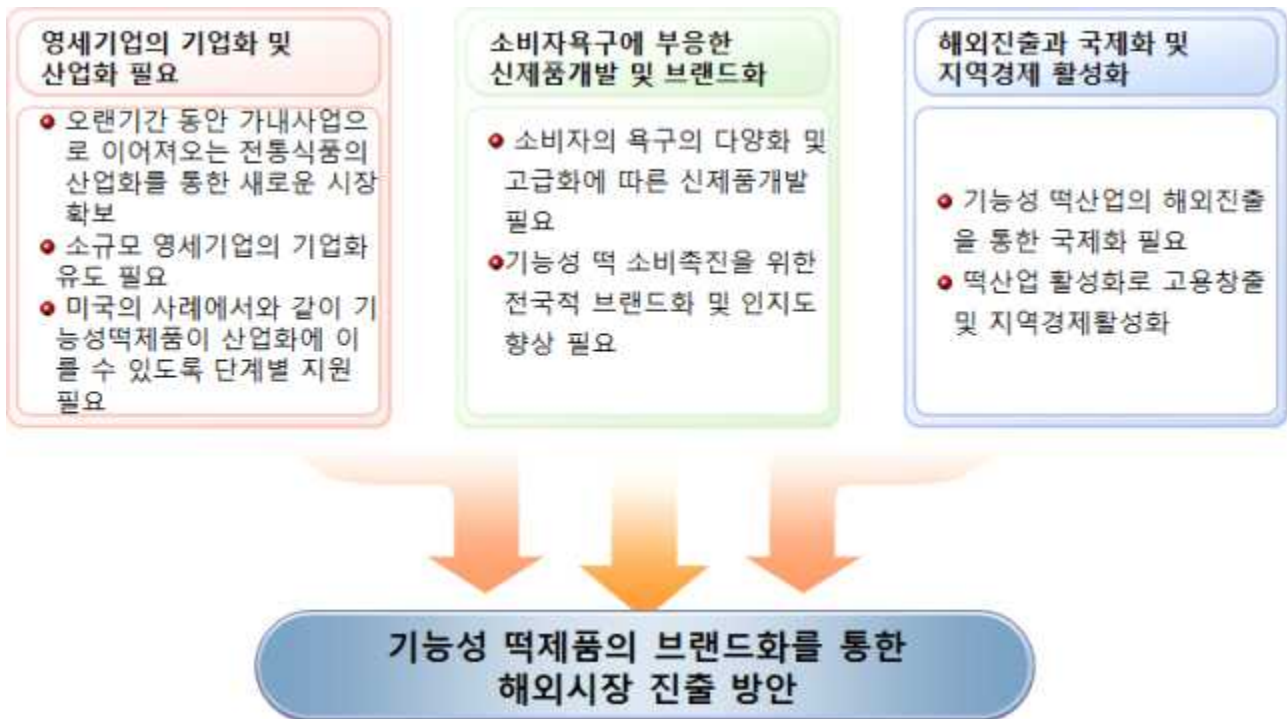
# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절 연구개발의 목적

- 과학적인 기능성 떡개발 지원을 통한 시장내 안정적인 진입을 위한 마케팅전략 수립방안 수립
- 고품질 기능성 떡제품 브랜드화를 추진하기 위한 소비자조사를 통한 세분시장 개척
- 다양한 기능성 떡제품의 개발과 품질개선을 통해 쉽게 만들어 먹을 수 있는 제품개발을 통한 글로벌화 추진



## 2절 연구개발의 필요성



- 떡은 제품 다양화에 대한 노력 부족하고 소규모 방앗간 위주의 공급으로 낮은 가격 경쟁력 등으로 인해 적극적 산업화에 대한 대처가 늦었음
- 기능성 떡제품의 개발이 단순히 전통식품차원에서 다루어지는 것을 넘어 산업화하는데 주력해야 할 것으로 판단됨. 미국의 에너지드링크, 소프트드링크 등의 사례에서도 건강과 접목한 기능성식품을 산업화하여 성공하였듯이 기능성 떡제품의 개발이 향후 산업화에 이를 수 있도록 하는 단계별 지원이 필요함
- 최근 건강소비에 대한 관심이 높음에 따라 기능성 떡제품 개발로 다양한 연령층에 적합한 떡제품 개발 필요
  - 그 동안 떡제품은 비교적 연령층이 높은 소비자들을 중심으로 선호현상이 높았으나 최근에는 떡제품이 카페, 레스토랑 등에서 간식으로 대용되는 등 소비의 폭이 넓어지고 있음
  - 따라서 떡제품의 칼로리를 낮추고, 혈행개선의 효과를 증대시켜 떡이 건강제품이라는 차별적인 포지셔닝을 통해 다양한 연령층 군의 소비확대가 필요함

<떡류를 포함한 디저트류의 열량과 식품성분 비교>

(섭취량, 100g당)

종류	열량(kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)
꿀떡	215	47.4	3.3	0.4
백설기	234	51.9	3.5	0.8
인절미	217	44.8	4.9	1.7
증편	177	37.8	3.9	0.9
쇼콜렛	505	59.6	3.9	34.2
치즈케익	321	25.5	5.5	22.5
파운드케익	404	46.7	5.6	22.8
쇼코칩쿠키	514	64.7	5.0	27.5
치즈샌드	490	58.8	89	24.4

자료 : 식품성분표, 농촌진흥청, 2006.

- 기능성 떡 소비촉진을 위한 전국적 브랜드화 및 인지도 향상의 필요
- 떡산업의 활성화를 통한 고용창출로 지역경제 활성화 필요
- 기능성 떡산업의 해외진출을 통한 국제화 필요
  - 한류문화에 힘입어 전통떡에 기능을 부여하여 우리떡의 우수성을 알리고, 전통문화와 접목한 문화를 전파하는 매개체로서 떡산업을 활용할 필요있음

### 3절 연구개발의 범위

□ 연구범위 및 수행방법

연차	연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	추진내용 요약
1차년도	과학적인 기능성 떡제품 개발 지원	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 떡산업의 전반적인 현황분석 및 문제점 도출 분석지원</li> <li>- 관련 전문가 네트워킹</li> <li>- 기능성 떡 시제품 개발을 위한 TFT팀 구성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. 떡산업 관련 국내외 동향 분석</li> <li>. 지역 떡산업의 현안 분석</li> <li>. 사업 추진 전략방향 수립(사업단, 기업체, 외부협력기관 등)</li> <li>. 기업체 협의회 구성 및 운영, 정례화</li> <li>. 전문가 초청 간담회 개최 지원</li> <li>. 선도기업과의 기술 및 정보제공 MOU체결</li> <li>. 시제품의 소비자 반응 평가 및 적합성 평가(설문조사, FGI)</li> <li>. 기능성 떡제품에 대한 시장성 평가 (제품이미지, 시장능력과의 적합성, 가격 경쟁력, 상업화 기간, 생산능력의 적합성 생산의 용이성, 노동력의 가용성 등)</li> <li>. 세분시장 개발 및 적합한 떡제품 개발 지원</li> </ul>
2차년도	개발된 기능성 떡제품 소비자조사	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 설문조사 실시</li> <li>- 개발 신제품 시식회</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 개발 제품에 대한 소비자설문조사 실시</li> <li>. 대상 : 소비자 138명 조사실시</li> <li>. 기간 : 2013년 8월5일-9일</li> <li>. 조사방법</li> <li>: 일반소비자 대상 개별방문 조사</li> <li>개발된 떡제품 시식후 설문조사 응답</li> <li>. 조사내용</li> <li>인구통계적특성, 떡제품 구매에 대한 일반적 현황, 기존 떡제품과 비교한 맛, 모양, 색깔 등, 향후 구매의도 등</li> <li>- 개발 신제품 시식회</li> <li>. 실시일자 : 7월 26일</li> <li>. 실시 장소 : ○○대학교 본관</li> <li>. 제품 군</li> <li>: 솔잎분말 첨가 증편</li> <li>고구마라이스케이크 등 5종</li> </ul>
	유통망 구축지원	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 소비자조사를 통한 소비자 니즈 파악 제품출시와 브랜드화 방안 제시</li> <li>- 제품의 시장출시 전략제안</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기존제품과의 차별화된 브랜드전략 제안</li> <li>. 개발 신제품과 기존제품과의 브랜드 차별화 필요제시</li> <li>. 신제품에 적합한 컨셉개발과 목표타겟, 포지셔닝 등 시장세분화 전략필요 제안</li> </ul>
3차년도	해외진출을 위한 전략 수립	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 개발 시제품의 소비자 반응 평가</li> <li>- 개발 된 기능성 떡제품의 세분 시장 개발을 위한 소비자 조사</li> <li>- 해외 시장조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 개발된 신제품 소비자 반응평가 조사</li> <li>- 조사결과를 토대로 한 세분시장 개발</li> <li>- 외국인 대상 기능성떡 제품 선호도 조사</li> </ul>



## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1절 기술개발현황

- 최근 식품산업 소비 트렌드가 ‘웰빙’과 ‘전통’으로 이동하고, 슬로푸드에 대한 관심이 높아지며 국내외 떡 소비가 늘고 있음
- 떡은 대표적 슬로푸드이자 전통과 문화를 담고 있는 로컬푸드로 최근의 웰빙 트렌드 속에서 새롭게 주목받기 시작함(RDA Interrobang, 32호)
- 특히 떡류 프랜차이즈를 중심으로 케이크보다 화려하고, 햄버거 보다 빠른, 현대화된 떡이 출시되어 높은 인기를 끌고 있음
- 국내유통 한계를 극복하고 우리 떡의 세계화를 위한 기초기반 기술 개발이 필요
- 현재 유효기간이 1일에 불과한 떡류의 소비확대를 위한 저장성 향상 기술 개발을 강화되고 있음
- 최근에는 굳지않은 떡개발로 저장성을 높이는 기술이 개발되어 떡의 유통기한 확보로 상품화가 촉진되고 있음
- 또한 관련 산업에의 연구사업들은 주로 기술개발 등에 초점을 두고 있어 개발된 기능성 떡 제품이 시장출시를 통한 마케팅 측면이 이루어지지 않아 단순히 기술개발 측면에 그치고 있음
- 대량생산을 위한 자동화기기 개발 및 80%에 해당되는 소규모가공업체를 위한 자동화기기 개발이 필요
- 기능성 떡 생산 기술개발이 참여기업의 기술이전으로 이어지고 제품생산을 통한 시장확보가 구체화된 전략이 수립되어야 할 것으로 판단됨
- 이로써 본연구의 혈행개선 기능성 떡 개발로 신시장 확보와 산업화의 효과가 기대되며, 지역생산품의 명품화 및 브랜드화로 해외진출까지도 시도할 수 있을 것으로 전망됨

## 2절 연구결과가 국내외 기술개발현황에 차지하는 위치

“해당사항 없음”

# 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

## 1절 연구내용

### 1. 1년차 연구목표 및 연구내용

목표 : 과학적인 기능성 떡제품 개발 지원

세부 연구내용

- 떡산업의 전반적인 현황분석 및 문제점 도출 분석지원
  - . 떡산업 관련 국내외 동향 분석
  - . 지역 떡산업의 현안 분석
  - . 사업 추진 전략방향 수립(사업단, 기업체, 외부협력기관 등)
- 관련 전문가 네트워크
  - . 기업체 협의회 구성 및 운영, 정례화
  - . 전문가 초청 간담회 개최 지원
  - . 기업체와의 기술 및 정보제공 공유
- 기능성 떡 시제품 개발을 위한 TFT팀 구성
  - . 시제품의 소비자 반응 평가 및 적합성 평가(설문조사, FGI)
  - . 기능성 떡제품에 대한 시장성 평가  
(제품이미지, 시장능력과의 적합성, 가격 경쟁력, 상업화 기간, 생산능력의 적합성 생산의 용이성, 노동력의 가용성 등)
  - . 세분시장 개발 및 적합한 떡제품 개발 지원

### 2. 2년차 연구목표 및 연구내용

목표 : 고품질 기능성 떡제품의 브랜드화

세부 연구내용

- 개발된 기능성 떡 신제품의 소비자 선호도 조사
  - . 고급화 및 다양화된 세분시장 개발(인구통계적, 사용자 계층(편익추구, 건강추구), 시장별 등)을 위한 소비자 선호도 조사
    - . 각 세분시장에 적합한 기능성 떡신상품 개발 제안
    - . 소비자 맞춤형 기능성 떡제품 개발 제안
- 개발된 기능성 떡제품의 국내 유통망 구축 지원

. 프랜차이즈 개설(직영점, 가맹점 개설 등)

### 3. 3년차 연구목표 및 연구내용

목표 : 기능성떡 제품의 차별적 포지셔닝을 위한 해외 시장 개척지원

세부 연구내용

- 해외시장 진출을 위한 마케팅지원

. 해외 시장조사 및 분석지원

. 해외시장개척

. 외국인 대상 개발된 기능성 떡제품 선호도 조사

## 2절 연구결과

### 1. 1차년도 연구결과

#### (1) 관련 전문가 네트워킹

기업체 협의회 구성 및 운영, 정례화

구분	협의구성	협의회 추진내용
기업체 협의회	주)에다손 고문 세부과제4 책임교수 한국생산성본부 브랜드전문위원 (사)한국식품개발정보연구원 대표	- 협의회 운영 . 사업추진방향성 정립 . 분기별 사업추진 성과점검 . 사업추진 자문 및 제안  - 회의 정례화 . 분기별 회의 개최 진행 . 수시로 협의사안에 대한 회의합

전문가 초청 간담회 개최 지원

한국식품정보연구원의 전문가를 초빙하여 기능성식품동향에 대한 의견수렴

- 일시 : 2012년 10월23일
- 초청 전문가 : 김영명박사(전 식품연구원 센터장)
- 장소 : ○○대학교 경상대 7층 세미나 1실

참여기업과의 기술 및 정보제공

국내외 기술동향 및 최신 정보 등을 관련 기업체에 제공함

- 수시로 시장환경변화에 대한 정보를 파악하여 상호 공유함
- 특히 해외시장조사를 통한 현지 소비자에 대한 떡의 이해와 대응방안 등을 수시 협의함

(2) 소비자조사를 통한 선호도 높은 떡제안과 마케팅 전략수립

□ 주)○○○ 수도권진출을 위한 시장조사를 통한 마케팅 전략수립(간략 제시함)

## 주)에디슨 떡 프랜차이즈 마케팅 활성화 전략 수립

2012. 7.

### 제 례

- I. 기업 수행 개요
- II. 내외부 환경 및 시장 조사
- III. 소비자 설문 조사 분석
- IV. SWOT 분석 및 마케팅 전략 방향
- V. 마케팅 믹스 전략

### 1. 기업 추진 배경

**1. 기업 수행 개요**

- 소득수준향상에 따른 소비자의 식생활 패턴 인식 변화환경에 대응하여 경쟁력 있는 떡 프랜차이즈 경영시스템 구축을 위한 체계적/효율적 마케팅 전략 수립 필요성이 제기됨
- 광주 지역 경쟁성과 부합될 수 있는 에디슨 떡 포지셔닝을 통하여 마케팅 성과를 극대화 하기 위한

에디슨 떡 프랜차이즈 경영 현황

거시적 현황	미시적 현황
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 외식산업의 프랜차이즈화가 지속되고 있으며, 업체간 경쟁도 점점 격화되고 있음</li> <li>• 떡 프랜차이즈 산업은 제품, 피자, 치킨 등 경쟁 프랜차이즈와 비해서 프랜차이즈화가 매우 뒤처져 있으며, 제품 라이프사이클상 성장초기단계에 진입 또는 직전 단계에 불과 있음</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 에디슨은 초기 매우 급속한 프랜차이즈 가맹점 증가를 실현하여, 급성장하는 실적을 거둔 반면,</li> <li>• 가맹점 수익구조의 불투명, 생산, 유통, 마케팅의 효율적 추진에 문제점이 노출</li> <li>• 그러나, 제품력은 국내 최고수준으로 인정받고 있음</li> </ul>

시장 지향적(소비자 및 가맹점) 마케팅 전략 수립의 필요성

- 본격 성장단계 진입을 앞두고 있는 떡 프랜차이즈 시장에서 소비자 및 가맹점의 입장에서 시장성을 평가하고 효율적으로 포지셔닝하기 위한 마케팅 전략의 수립을 통하여 보다 경쟁력 있는 떡 프랜차이즈 경영시스템 구축
- 기본적으로 에디슨의 강점을 중심으로 시장(소비자와 가맹점)이 원하고 필요로 하는 부분을 선제적으로 제시하는 마케팅 전략을 수립함으로써, 떡 프랜차이즈 시장의 리더기업으로 올라설 수 있는 기반을 구축함

### 1. 기업 추진 개요

**1. 기업 수행 개요**

- 에디슨 마케팅 전략 수립 컨설팅의 성공적인 수행을 위해 아래와 같은 체계적인 수행 절차로 진행함
- 금번 컨설팅은 Phase 3 마케팅전략 수립 부분까지 해당되며, 2단계 컨설팅은 이번 1단계에 수립된 마케팅전략을 기반으로 하여 떡 프랜차이즈 관리시스템 구축 및 에디슨 조직 구축 컨설팅과 에디슨의 중장기 발전 전략 컨설팅을 추진함

1단계: 마케팅 전략 수립      2단계: 프랜차이즈 관리시스템 및 중장기 발전전략

Pre Phase	Phase 1	Phase 2	Phase 3	Phase 4	Phase 5
기반조성	실용 현황 조사	시장 조사 및 분석	마케팅전략	조직 구축 컨설팅	중장기 발전 전략

<ul style="list-style-type: none"> <li>과제 배경 이해</li> <li>과제 명확화</li> <li>과제 구체화 및 TFT 구성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>회부 환경 조사</li> <li>내부 환경 조사</li> <li>소비자 트렌드 조사</li> <li>Key Man Interview</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>제품, 유통 조사</li> <li>경쟁업체 조사</li> <li>가맹점 인터뷰</li> <li>소비자 조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>전략방향 선명 SWOT 분석</li> <li>STP 전략 수립</li> <li>4P Mix 전략</li> <li>떡 프랜차이즈 관리 시스템 구축</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>조직 구축 지도</li> <li>인사조직 효율적 강화 사업평가 도입</li> <li>중장기 비전 및 경쟁력 확보 수립</li> <li>부분별 전략 수립</li> <li>연도별 사업계획 수립</li> </ul>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

프로젝트 진행
  추가 추진 과업

### 1. 외부환경조사 및 분석

II. 내·외부 환경 및 시장 조사

● 예디슨의 외부 마케팅 환경 요소를 분석하여 직접적 영향을 미치는 5개 영역에 대해 전략적 시사점을 도출

<p><b>1 소비자권 변화</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 삼성전사 영향으로 불매, 디자인, 색상 등 소비자 영향</li> <li>• 양 보다는 질 중심의 소비 형태 증가</li> <li>• 핵가족화의 증가로 가솔용, 외식, 소포장 제품이 증가함</li> </ul>	<p><b>전략 시사점</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 국민생활 태반은 경기적으로 질 중심의 품질(안전성) 보증 제품의 구매 의향이 증가하고 있음</li> <li>• 핵 프랜차이즈의 증가로 인한 가격경쟁 심화 지속될 전망</li> <li>• 정보화 및 유통시스템 개선에 힘입어 프랜차이즈 산업의 참가 개선될 전망</li> </ul>
<p><b>2 정부규제 완화</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 프랜차이즈 생산 및 영업과 관련된 각종에 대한 영업규제, 개설규제, 입지규제, 조세규제, 금융규제 등이 완화되고, 제도업에 대한 규제조치가 철폐됨</li> </ul>	
<p><b>3 경쟁 및 정보화의 진전</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 유통시장의 개방으로 외국업체의 국내진출 급격히 증가</li> <li>• 정보화의 진전은 수·발주업무나 거래처 관리, 재고관리 및 주문처리 등의 효율성을 높여준다 기여</li> </ul>	
<p><b>4 인명기법 증가</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 외식관련 프랜차이즈 산업에 대한 대기업 또는 중견기업의 진출이 지속되고 있음</li> <li>• 핵 프랜차이즈 산업도 비준 등 대기업계열과 중소기업의 기업 진출이 늘어남</li> </ul>	
<p><b>5 가격경쟁 심화</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 기존 체재관련업체와 핵 프랜차이즈의 증가는 필연적으로 가격경쟁을 유발함으로써, 프랜차이즈 핵 경쟁의 가격경쟁이 심화되고 있음</li> </ul>	

### 2. 내부환경, 역량 조사 및 분석

II. 내·외부 환경 및 시장 조사

● 예디슨의 내부 환경 요소를 분석하여 직접적인 영향을 미치는 전략 시사점을 도출함

<p><b>1 매출현황</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 그동안 가맹점의 급속한 증가에 힘입어 매출규모가 크게 늘어났으나, 최근 가맹점 영업부진으로 인하여 본사 매출도 정체상태에 있음</li> </ul>	<p><b>전략 시사점</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 가맹점 매출부진 해결을 통한 본사 영업 활성의 필요</li> <li>• 가맹점 매출활성화를 위한 가맹점 교육 및 지원시스템 개선 필요</li> <li>• 제품생산원가를 인하여서 생긴 여력으로 적극적인 마케팅 추진</li> <li>• 기존 가맹점의 경영능력 개선과 신규 가맹점의 경쟁력 제고 방안 필요</li> </ul>
<p><b>2 R&amp;D, 생산, 유통 현황</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 지속적인 제품개발로 경쟁사와 차별화를 지속하고 있으며, 나주공장의 신설로 생산능력이 기존의 2배 이상으로 크게 늘어났으며, 생산원가를 크게 낮출 수 있게 되었음</li> <li>• 생산재활도 및 이차재 활용으로 확대</li> <li>• 전국적인 유통시스템의 부족으로 인한 비정상적인 수요에 대한 대응이 미흡</li> </ul>	
<p><b>3 가맹점 현황</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 그동안 가맹점을 크게 늘려 왔으나, 가맹점 입지 및 규모, 가맹점 경영자의 능력이 미흡한 가맹점의 판매실적 부진이 문제점으로 노출되고 있음</li> </ul>	
<p><b>4 가맹점 관리</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 가맹점 관리 시스템의 미흡으로 인한 가맹점 교육, 서비스항 해결 등에 있어 미흡한 점이 노출됨</li> <li>• 특히 가맹점 매출증대를 위한 전략개발 및 업무 교육이 시급한 실정</li> </ul>	

### 3. 제품 시장 조사 및 분석

II. 내·외부 환경 및 시장 조사

● 예디슨과 경쟁업체의 제품 판매 현황을 조사하여 마케팅 전략에 활용하고자 함

구분	주요 내용	비고
행사용 목	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 행사용 목 판매실적은 예디슨 가맹점의 수익에 결정적 변수로 작용하고 있으며, 광주지역은 행사용 목 판매비율이 높은 편이며, 나머지 지역은 광주지역에 비해서 낮은 편</li> <li>○ 경쟁 목 프랜차이즈업체에 비해서는 중간 정도의 가격경쟁력을 가지고 있으며, 품질경쟁력은 상위에 위치함</li> <li>○ 재래시장에 비해서는 가격경쟁력은 낮으나, 품질경쟁력에서 불려져 앞서고 있음</li> </ul>	가맹점 경영자의 영업능력이 중요
소재용 목	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 예디슨 목 품질의 높은 평가에도 불구하고, 소규모 가맹점의 경우는 판매대량의 다양성과 양이 충분하지 않아 소비자들에게 어필하지 못하고 있음</li> <li>○ 경쟁 목 프랜차이즈도 가맹점의 영세성으로 인한 소비자 만족도 향상에 어려움을 겪고 있음</li> </ul>	가맹점 입지 및 규모가 중요
기타	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 목 판매의 판매 중 음료를 판매하는 예디슨의 경우 커피전문점에 비해 약 50% 수준 이하로 판매하고 있음</li> </ul>	실질적인 효과가 미흡

### 4. 경쟁사 및 목 프랜차이즈 시장 조사

II. 내·외부 환경 및 시장 조사

● 예디슨 경쟁사 및 목 프랜차이즈 시장 환경을 조사하여 예디슨 마케팅 전략 시사점을 도출하고자 함

구분	주요 내용	시사점
빛은	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 삼림식품 계열회사로 직을 비롯해 알케미크, 알 베이커리 등 30여종의 다양한 제품을 판매하고 있으며, 10개의 직장을 운영 중</li> <li>- 자사의 고체코를 활용하여 소비추세를 분석하여 각 지역별 중앙집중식 주황시스템(Central Kitchen)을 설립해 점포에 신속한 배송이 이루어지도록 함</li> <li>- 현재 매출의 40%를 차지하고 있는 산물류 제품을 확대하는 등 수익증대방안을 통해 2011년까지 매출 20억원, 매장 170개 확보 계획 추진</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 소비자 니즈 중심의 다양한 목 개발 필요</li> <li>• 가맹점 관리 및 유통의 경쟁력 확보 위해 가맹원 확대 전략 추진 필요. 또는 일부 중점지역을 선정하여 집중적인 네트워크 구축</li> </ul>
빛은의 하루	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 목 가맹점 사업을 가장 먼저 시작했으며, 기존 일반 목 직 형태로 약 160개의 가맹점을 운영하고 있음</li> <li>- 목 카페 콘셉트로 2개(서울)를 신종점, 중구점을 운영하면서, 행사를 시도 중임</li> <li>- 브랜드에 워진 제품역상, 디자인, 신제품개발 부진으로 2009년 매출률 5% 기록하여, 브랜드 붕괴, 맛, 색상, 디자인, 제품대카지의 대폭적인 리뉴얼을 단행함</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 목 카페 등 목 판매형태의 컨셉트는 지역 여건에 맞게 추진할 필요가 있음. 목 실용적인 매장 구성보다는 상권 환경에 적합한 매장 구성이 필요</li> </ul>
기타	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 굿데이, 모닝메이크, 시루엔, 막시오, 김시루 등 중소 목 프랜차이즈 업체들이 있으나, 이들은 10개 정도 이하의 가맹점을 운영하고 있음</li> <li>- 목 가맹사업의 부진 이유는 목의 유통상의 한계 때문임</li> <li>- 시루엔 목 제품의 처장성 평가 설문조사에서 응답자의 76.6%가 보통 이하로 평가해 처장성 문제가 심각한 것으로 조사됨(한국식품연구원 조사결과)</li> <li>- 소비자 니즈를 충족하는 다양한 제품개발이 부진한 것도 목 프랜차이즈 사업이 활성화되지 못하는 이유임</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 다양하고 상품성 있는 제품 개발과 1주일 이상 보존 가능한 목 제품 관리 개발 필요</li> </ul>

## 5. 가맹점 인터뷰

II. 내·외부 환경 및 시장 조사

● 에디슨 가맹점 경영자를 심층 인터뷰를 시행하여 전략 시사점을 도출하고자 함

구분	주요 사항	주요 시사점
가맹점 경영 부문	<ul style="list-style-type: none"> <li>가맹점 개설 후 BEP 회수 달성하는데 걸리는 기간이 너무 장기간 소요 (평균적으로 약 1년 이상)</li> <li>지리적 입지조건보다는 가맹점 경영자의 능력이 가맹점 영업실적에 더 중요한 영향을 미침                             <ul style="list-style-type: none"> <li>-정사용 적 영입능력</li> <li>-가맹점 영업장 관리</li> <li>-판매용 적 생산 및 확장 관리</li> <li>-고객관리</li> </ul> </li> <li>매의 특성상 당일 생산-당일 판매로 인한 인력 및 재고관리에 해외사장이 크며, 이로 인해 영업부진 가맹점도입수속 전업체통의 인력성이 문제점으로 노출됨</li> <li>매의 특성상 복 캐라는 기대보다 영입에 도움을 주지 못하고 있음</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>가맹점 경영자 교육 시스템 강화 필요</li> <li>가맹점 선정 시 가맹점의 대형화, 입지 선정 기준의 강화, 경영자 능력 심사 강화 필요</li> </ul>

## 5. 가맹점 인터뷰

II. 내·외부 환경 및 시장 조사

● 에디슨 가맹점 경영자를 심층 인터뷰를 시행하여 전략 시사점을 도출하고자 하였음

구분	주요 사항	주요 시사점
본사에 대한 기대	<ul style="list-style-type: none"> <li>매 원자재 공급 시스템은 문제 없으나, 포장박스 등 부자재 공급 시스템 및 비용 부담을 본사에서 지원하기를 기대</li> <li>체계적/지속적인 홍보, 마케팅 지원 프로그램 필요</li> <li>전화 및 온라인 주문 시스템 등 고객관리시스템의 정비를 통한 지역별 가맹점의 판매증대 지원 필요</li> <li>소비자의 선호 경향(예: 단 음식 선호)에 적합한 제품 개발 및 공급을 늘릴 필요 있음</li> <li>본사와 가맹점 간의 원활한 커뮤니케이션 시스템 구축</li> <li>정기적인 교육 실시 증대 및 가맹점의 맞춤형/개별교육 확대</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>가맹점과 본사와의 커뮤니케이션 통로 강화 필요</li> <li>가맹점 비용절감 방안의 지속적 개발 필요</li> <li>고객관리시스템의 강화 필요</li> <li>가맹점 니즈 교육 시스템 개발 및 운영</li> </ul>

## 6. 핵심 내부관계자 인터뷰

II. 내·외부 환경 및 시장 조사

● 에디슨 본사 CEO, 마케팅/가맹점 담당자를 심층 인터뷰를 시행하여 전략 시사점을 도출하고자 하였음

구분	주요 사항	주요 시사점
본사에 대한 기대	<ul style="list-style-type: none"> <li>매 원자재 공급 시스템은 문제 없으나, 포장박스 등 부자재 공급 시스템 및 비용 부담을 본사에서 지원하기를 기대</li> <li>체계적/지속적인 홍보, 마케팅 지원 프로그램 필요</li> <li>전화 및 온라인 주문 시스템 등 고객관리시스템의 정비를 통한 지역별 가맹점의 판매증대 지원 필요</li> <li>소비자의 선호 경향(예: 단 음식 선호)에 적합한 제품 개발 및 공급을 늘릴 필요 있음</li> <li>본사와 가맹점 간의 원활한 커뮤니케이션 시스템 구축</li> <li>정기적인 교육 실시 증대 및 가맹점의 맞춤형/개별교육 확대</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>가맹점과 본사와의 커뮤니케이션 통로 강화 필요</li> <li>가맹점 비용절감 방안의 지속적 개발 필요</li> <li>고객관리시스템의 강화 필요</li> <li>가맹점 니즈 교육 시스템 개발 및 운영</li> </ul>

## 1. 조사 개요

III. 소비자 설문조사 분석

● 에디슨 맥 마케팅 전략 수립을 위하여 수도권과 광주지역 맥 구매자를 대상으로 소비자 설문조사를 실시함

조사 집단	▶ 집단 정의 20세 이상 60세 미만 남자, 여자
조사대상	▶ 집단 정의 맥 구매 경험자
조사지역 및 표본 수	▶ 조사지역 : 수도권 20명, 광주 10명 ▶ 총 응답 표본 : 300명 ▶ 연령대 별 해당 지역 인구비를 적용하여 비례할당 적용함
조사 방법	▶ 집단별 개별 면접(face-to-face) 방식 ▶ 조선대학교 경영학과 4학년 학생
조사 기간	▶ 2012년 6월 1일 ~ 2012년 6월 15일



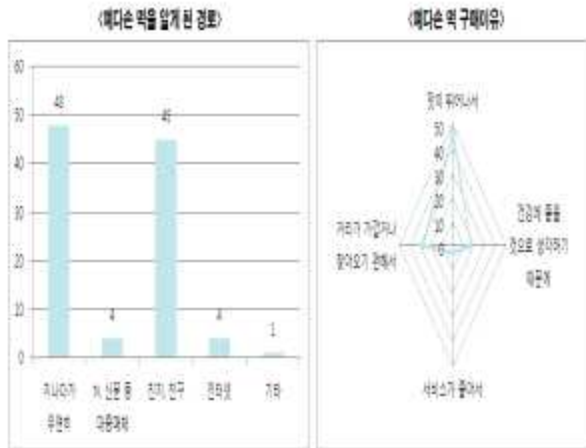
### 3. 설문조사 분석(광주지역)

Ⅱ 소비자 설문조사 분석

#### ● 예다손 인지경로와 구매이유 분석

예다손 떡을 구매하게 된 경로: '지나다가 우연히' 가장 높게 나타남

예다손 떡 구매이유: 맛이 뛰어나



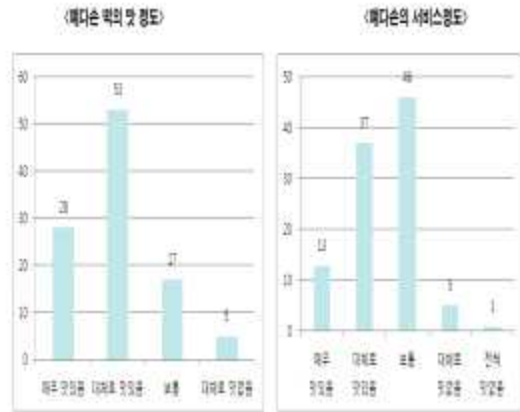
### 3. 설문조사 분석

Ⅱ 소비자 설문조사 분석

#### ● 예다손 떡의 맛과 서비스 정도

예다손 떡의 맛 정도: 대체로 맛있다는 응답이 가장 높음

예다손 서비스 정도: 보통

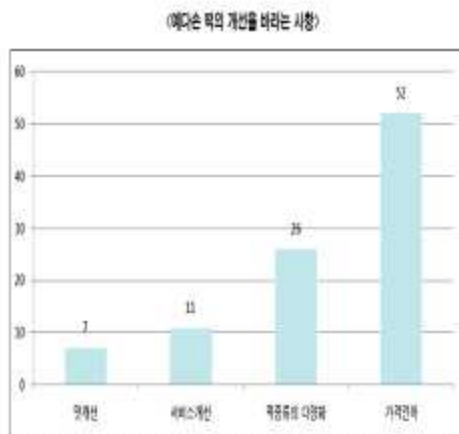


### 3. 설문조사 분석

Ⅱ 소비자 설문조사 분석

#### ● 예다손 떡의 개선에 대한 희망사항

예다손 떡의 개선 요구사항: 가격인하가 가장 높게 나타났으며, 다음으로 떡 종류의 다양화로 나타남



### 1. SWOT 분석 및 전략 추진 방향

Ⅱ SWOT 분석 및 마케팅전략방향

#### ● 떡 산업, 소비자, 예다손 및 예다손 경쟁자 분석을 통하여 예다손의 마케팅 전략의 방향성을 도출함

강점 (Strength)	약점 (Weakness)	전략 추진 방향
<ul style="list-style-type: none"> <li>뛰어난 맛과 전통</li> <li>전통떡에서 축적된 떡 생산 노하우와 높은 인지도</li> <li>최신 생산시스템 구축으로 생산원가의 대폭 절감</li> <li>다양한 정책지원 수혜를 통한 기반 정비 - 선학관련 네트워크</li> <li>전국적인 자영업 네트워크 구축</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>자영업 경쟁력 확보로 인한 매출 부진</li> <li>화제성/자영업권리 전문인력의 부족</li> <li>지원력 부족과 자영업 수지구도 취약으로 인한 적극적인 광고 홍보활동 어려움</li> <li>낮은 브랜드 인지도</li> </ul>	<ol style="list-style-type: none"> <li><b>SO 전략 방향</b> - 보유역량(맛)을 바탕으로 핵심소비자층(젊은) 공략</li> <li><b>WO 전략 방향</b> - 자영업 경쟁력 제고를 위한 전략 추진으로 매출증대 및 가점점 확대</li> <li><b>ST 전략 방향</b> - 제품차별화로 경쟁업체에 대응 및 소비자 니즈 충족</li> <li><b>WT 전략 방향</b> - 가점점 관리 및 홍보 강화로 입점 권리 확보 확보</li> </ol>
<ul style="list-style-type: none"> <li>소득증대, 건강, 웰빙, 쌀 가공식품 선호 등 떡 수요의 지속적 증대</li> <li>쌀 소비 촉진을 위한 정부의 떡 산업 활성화 노력 및 정책지원</li> <li>프랜차이즈 가점점 창업 수요의 지속적 증대</li> <li>소비자의 브랜드에 의식업체 선호 증대</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>떡 산업의 경쟁 격화(대량 떡 가격의 반신, 프랜차이즈 떡 업체 신규진입 증가 등)</li> <li>떡 대량분류/제과품, 피자점 등의 시장지배력 지속</li> <li>떡에 대한 소비자 인식 분편(주방이 아니라 간식으로 인식)</li> <li>떡 가점점의 고형화 증가(임차료, 인건비 등)</li> </ul>	



## 2. 가격 전략 - 가격인하 및 조정 검토

- 가격인하는 일시적 효과에 그치고, 장기적으로는 회사의 영업이익 감소, 소비자 이미지 및 브랜드자산에 부정적인 영향을 초래할 수 있으나, 다음과 같은 특별한 경우에는 가격경쟁이 큰 효과를 나타낼 수 있음

1. 시장가격이 지나치게 높을 때 소비자 가격이 높을수록 제품의 본질적 가치보다 가격이 더 높을 것을 알함
  - 현재 예다손의 가격이 최근 두 배 가까이 상승한 시점에서 경쟁업체 중 가장 높은 편이지만, 어떤 만큼 믿어 주어야 하고 생각하므로 가격이 지나치게 높다고 보는 이유를, 다만, 대체품인 병에 대해서 비싸다고 느낄 수 있는 점을 감안하여 가격 조정이 가능함
2. 특별한 요인에 변화가 올 때
  - 예다손의 차별적 경쟁력은 맛이라고 볼 수 있는데, 다른 경쟁업체에 대해서 아직은 맛의 우위를 지키고 있다고 볼 수 있음. 다만, 점차 맛의 수준이 평균화될 것을 가점한다면, 상대적으로 업계 평균 가격으로 조정이 가능하다고 판단됨
3. 상품의 유행기가 될 때
  - 동년매출과 브랜드 가치의 제하력이 포장, 맛에서 약간의 저하를 보일 수도 있으나 최근에는 동년매출도 연매출과도 포인트를 소비가 눈높이해 줄(주고 있음) 역시 맛은 약간의 차이, 즉 약이 투입되면 과사용으로 보려는 시각자가 아니라 일반대로 볼 수 있다면, 소비자의 선택기준에서 가격이 매우 중요함. 따라서 경쟁력 있는 가격수준으로 조정이 바람직함
4. 규모의 경제가 작동할 때
  - 예다손 본사의 입장에서는 규모의 경제, 가맹점 입장에서 한계이익을 확대 단위당 이익 증가를 늘기 때문에 가격인하로 인한 재분배도 필요성이 있음

- 위에서 4가지 조건 중에 딱의 본질적 가치에 대한 가격수준은 좀 더 검토가 필요하지만, 나머지 3가지 요소는 가격인하 조건에 부합하는 것으로 볼 수 있음

## 2. 가격 전략 - 가격인하 및 조정 검토

※ McKinzi 조사결과 (미국 S&P 1500 기업)

가격 1% 인하 → 영업이익 8% 감소  
 가격 5% 인하 → 영업이익 19% 감소

일반적으로 가격 인하효과는 단기적/미미하며, 오히려 영업이익감소 및 다른 부작용 초래

※ 가격 인하의 부정적 효과

- 고객만족도 저하: (저준급 상사로 인하여) 한 물건에 대한 만족도가 낮아짐. 다만, 그 물건의 적정가격을 알고 있는 고객은 예외
- 가치사슬 붕괴: 원가절감을 위해 공급자 가격인하 요구 → 품질저하 초래 → 본원적 경쟁력 상실 위험
- 조직 구성원 위기의식 약화: 가격 인하로 인한 일시적 매출 증대로 기업경쟁력 증대 노력 소홀히 함

예다손의 가격인하는 가격경쟁을 통한 시장점유율 확대보다는 소비자가 받아들일 수 있는 적정 가격으로 환원 의미가 큼

## 2. 가격 전략 - 가격인하 및 조정 검토

- 매출 부진의 원인은 가격 이외에 여러 요소가 복합적일 가능성이 있음
- 가격조정-인하만으로는 매출증가효과가 예다손 기대치에 미달할 수 있음. 따라서 가격인하와 동시에 복합적인 대응책 실행 필요

영업부진원인	해상할 수 있는 문제 요소	예다손의 경우	해결방안
가격	- 경쟁업체 대비 고가 - 본음료 가치 대비 고가 - 대체재 대비 고가	경쟁업체 대비 고가	가격 조정/인하
제품	- 품질(맛, 신선도) - 다양성, 신제품 부족 - 소비자 니즈, 트렌드 변화에 민감 (다이어트 건강식, 보존성 등)	제품 다양성 및 소비자 니즈 반영한 신제품 개발 부진	소비자 트렌드 신제품 개발
패के팅/홍보	- 소비자 인지도 낮음 - 홍보 수단 다양화 - 시장 세분화와 맞춤형	공주 이외 지역 인지도 낮음	본사 주도 가맹점과 협력하여 홍보전략 추진
가맹점 문제	- 위치선정 부적절 - 갈수록 문제 - 매장 구성 문제 - 홍보, 마케팅 문제	가맹점 관리체계 미흡	- 가맹점 관리 체계화 - 매출증대 및 수익개선 방안 수립
시장	- 특수서비스의 구조적 문제 (소비자가 먹 전운점과 동년 매출/전통음식과 가격 못 맞음)	동년 매출 차별화 요소 약화/괴벽	- 차별화 요소 개발 (제품 서비스 개선)

## 2. 가격 전략 - 가격인하 및 조정 검토

- 의 가격인하는 경쟁업체 수준 또는 약한 높은 수준으로 조정 가능함
- 다만, 판매부진의 원인이 될 수 있는 다른 요인에 대한 대응책을 동시에 추진해야만 함

가격인하 Only

단기적 효과에 그치고 이익감소한 초래할 수 있음

가격인하 + 다양한 경쟁력 회복 전략

예다손의 장기/본질적 경쟁력 확보

- 가격인하는 한번 단행하면, 되돌리기 어려운 점을 감안하여, 판매성과에 영향을 주는 나머지 요소와 대응방안에 대한 종합적/동시적 검토를 한 뒤에 가격 인하/조정이 필요함
- 다만, 가격인하의 시급성을 고려하여, 가격인하 실행을 먼저하고, 나머지 대응책은 시간을 갖고 추진할 수 있음

## (2) 동경식품박람회 홍보브로서 제작지원

○ (주) 예다손 동경국제식품전시회 참가 일문카달로그 제작지원

- 지원 목적 : (주)예다손 전시회 참가를 위한 제품 및 기업소개 홍보

- 전시회 일정 : 2012년 3월 6일 - 3월 10일

## 2. 2차년도 연구결과

### □ 개발된 기능성 떡 신제품의 소비자 선호도 조사

○ 고급화 및 다양화된 세분시장 개발(인구통계적, 사용자 계층(편익추구, 건강추구), 시장별 등)을 위한 소비자 선호도 조사

- 개발 제품에 대한 소비자설문조사 실시

. 대상 : 일반 소비자 138명 조사실시

. 기간 : 2013년 8월5일-9일

. 조사방법 : 일반소비자 대상 개별방문 조사

개발된 떡제품 시식후 설문조사 응답

. 조사내용

인구통계적특성, 떡제품 구매에 대한 일반적 현황, 기존 떡제품과 비교한 맛, 모양, 색깔 등, 향후 구매의도 등

- 개발 신제품 시식회

. 실시일자 : 7월 26일

. 실시 장소 : 조선대학교 본관

. 시식 후 자료 수집 : 58개

. 제품 군 : 솔잎분말 첨가 증편, 고구마라이스케이크 등 5종

- 소비자 조사 및 시식회 평가자료 분석결과

조사항목	분석결과
떡 구매장소	-떡 전문점 42%, 동네떡집 35%, 할인마트 23% 순 -연령별로는 40-50대 동네떡집, 10-30대 할인마트 이용비중이 높음. 떡전문점은 30대가 높게 나타남
구매빈도	-월1회 구매 37%, 월2-3회 20%, 주1회 5%, 주2회 이상 6% -연령별로는 40-50대, 30대, 20대 순으로 구매빈도가 높게 나타남
회당 떡 구매금액	-5천-1만원 구매고객이 44%로 가장 많으며, 3천원 이하가 31%, 1만원 이상은 25%
구매목적	-일반적인 간식용 68%로 가장 많고, 식사대용, 행사용, 선물용 등의 순으로 나타남 -연령별 특징을 보면 30대가 선물용 구매목적 비중이 타 연령대보다 상대적으로 높게 나타남 -선물용은 떡전문점을 이용한 비중이 높게 나타남
인지경로	- 우연히 지나가다가 알게 된 경우가 49%, 주변사람(친구,친지)을 통해서 47%, 기타(광고 및 인터넷 등)
시식 떡 소비자평가	- 맛에 대한 평가는 매우 좋은(likert 5점) 평균 4.7점으로 나타남 -소비자들이 생각하는 개선 점은 건강식품이라는 인식이 될수 있도록 해야함 -현재 떡제품만을 시식했을때도 직접적인 인지가 어려움 - 건강식품으로 칼로리를 가급적 낮게 해야한다는 점과 가격을 너무 비싸지 않게 책정해야 한다는 의견이 많음 -전반적으로 개발된 떡에 대한 맛(4.5점), 모양(4.8점), 색깔(4.5점) 등에서 매우 우수한 평가
향후 구매의도	- 향후 구매의도는 꼭 구매할 것이라는 응답이 4.3점으로 매우 높게 나타남

□ 각 세분시장에 적합한 기능성 떡신상품 개발 제안

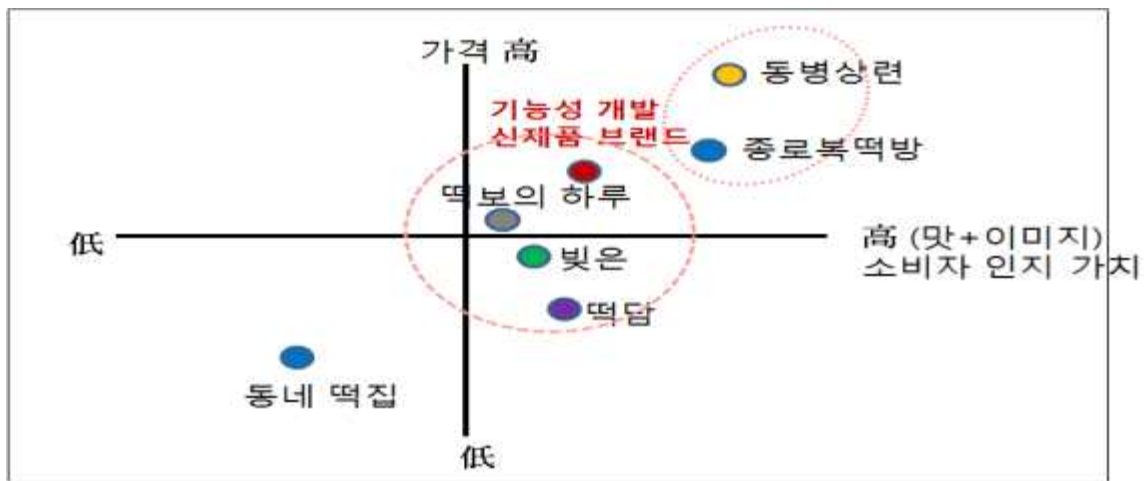
- Segmentation : 건강을 고려하는 중산층과 젊은 층

- Targeting : 30대-40대/20대

- Positioning : 기존 떡 브랜드와 차별화된 웰빙컨셉과 고품질제품으로 포지셔닝 제안

	시장1	시장2	시장3
제품1			
제품2	기존시장 소비자	젊은층	중산층
제품3			

제품전문화



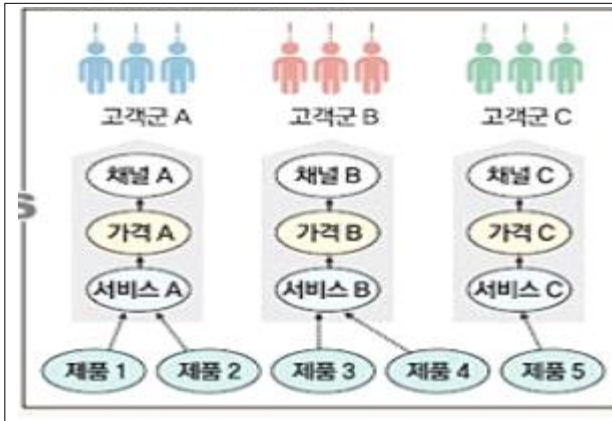
- 브랜드 마케팅 실행 전략인 4P's Mix와 IMC 전략에 대한 개념적 구조를 통하여 일관성을 유지
- Target 선정은 고품질 웰빙건강식품을 구입할 수 있는 중산층 및 젊은 층으로 구분 선정함



□ 개발된 기능성 떡제품의 국내 유통망 구축 지원 및 제안

○ 소비자조사를 통한 소비자 니즈 파악 제품출시와 브랜드화 방안 제시

- 제품의 시장출시 전략제안



- 목표시장에 적합한 유통망을 구축하는 것이 바람직할 것임
  - 기능성 신제품의 포지셔닝에 적합한 소비자타겟별 유통망이 필요함
- 예시) 젊은층 소비자군 : 커피숍 및 떡카페 등의 유통망 구축이 필요  
제과점과의 제휴를 통해 떡제품 출시
- 중산층 30-40대 : 떡 전문점 및 직장 등을 대상으로 한 온라인 광고 집중 필요

### 3. 3차년도 연구결과

1) 중국소비자 대상 개발된 기능성떡 시식을 통한 관능 및 선호도조사

#### 가. 조사의 목적

○ 목적

- (주)에다손에서 개발한 떡제품의 중국 시장진출을 위한 현지 시장조사를 통한 수출 및 진출 가능성 타진
- 현지 상해 KOTRA와 연계를 통한 유통업체 면담으로 수출에 필요한 사항들에 대한 숙지 및 준비
- 개발떡제품에 대한 현지 소비자조사 실시로 향후 수출제품에 반영
- 중국 현지의 떡관련 판매처 방문

#### 나. 조사의 개요

○ 조사기간: 2014.7.4(금) ~ 7.10(수)/6박7일

○ 조사국가 및 방문기관 : 중국 상해

- 중국 상해 KOTRA 방문
- 현지 식품유통업체 上海柏桂商貿有限公司 등 총7개 업체방문 협의

- 상해 대형업체 등 방문

○ 전문인력 및 현지 조사인력 활용

- 방광수(조선대학교 박사과정/중국어 통역 및 조사)
- 현지조사인력 활용 4명

다. 중국 시장개척을 위한 주요 활동내용

일자	세부활동 내용	비고
2014.7.4(금)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- KOTRA 방문 : 상해 식품시장 동향 및 수출관련 동향 파악</li> <li>- 식품 유통업체 1개 업체 협의 업체명 : 上海柏桂商贸有限公司 (ShangHai Bestgole Trading Co.,Ltd.) 전화번호 : 86-135-6448-2008 면담자 : 莫毅대표</li> </ul>	상해KOTRA/ ○○○관장 ○○○과장
2014.7.5(토)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 상해 식품 유통업체 방문 협의 : 2개 업체 업체명 : 上海绿膳国际贸易有限公司 (Shanghai Green Viands International Trading Co., Ltd.) 전화번호 : 86-136-6144-8895 면담자 : Ms. avery yang 마케팅 총매니저</li> <li>- 업체명 : 上海凯禄马商贸有限公司 (ShangHai Karma Trading Co.,Ltd.) 면담자 : 고창준 사장 전화번호 : 86-186-1660-4633</li> </ul>	
2014.7.6(일)	- 무산김 소비자 선호조사 실시	
2014.7.7(월)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 상해 식품유통업체 방문 협의 : 2개업체 업체명 : 上海韩今贸易有限公司 (ShangHai HanKing Trading Co.,Ltd.) 면담자 : Ms. 유미정(마케팅 총 매니저) 전화번호 : 86-182-2130-6543</li> <li>- 업체명 : 上海晟英食品有限公司 (ShangHai ShengYing Food Co.,Ltd.) 면담자 : 장영희 사장 전화번호 : 86-131-6613-3313</li> </ul>	
2014.7.8(화)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 예다손 떡 소비자 선호조사 실시</li> <li>- 상해지역 진출국내업체 면담</li> </ul>	

일자	세부활동 내용	비고
2014.7.9(수)	- 상해 식품 유통업체 방문 협의 : 2개업체 . 업체명 : 上海香唯食品销售有限公司 (Shanghai Xiangwei Food Sales Co., Ltd.) 면담자 : 藍茲賢대표 전화번호 : 021-6102-3987/ 86-159-0098-8308 . 업체명 : 上海动创实业有限公司 (ShangHai M.C.F Trading Co. Ltd) 면담자 : 邓晶晶 사장 전화번호 : 021-5265-2633/86-186-1637-2359	

라. 중국 가공식품 현황 및 유통구조 현황조사

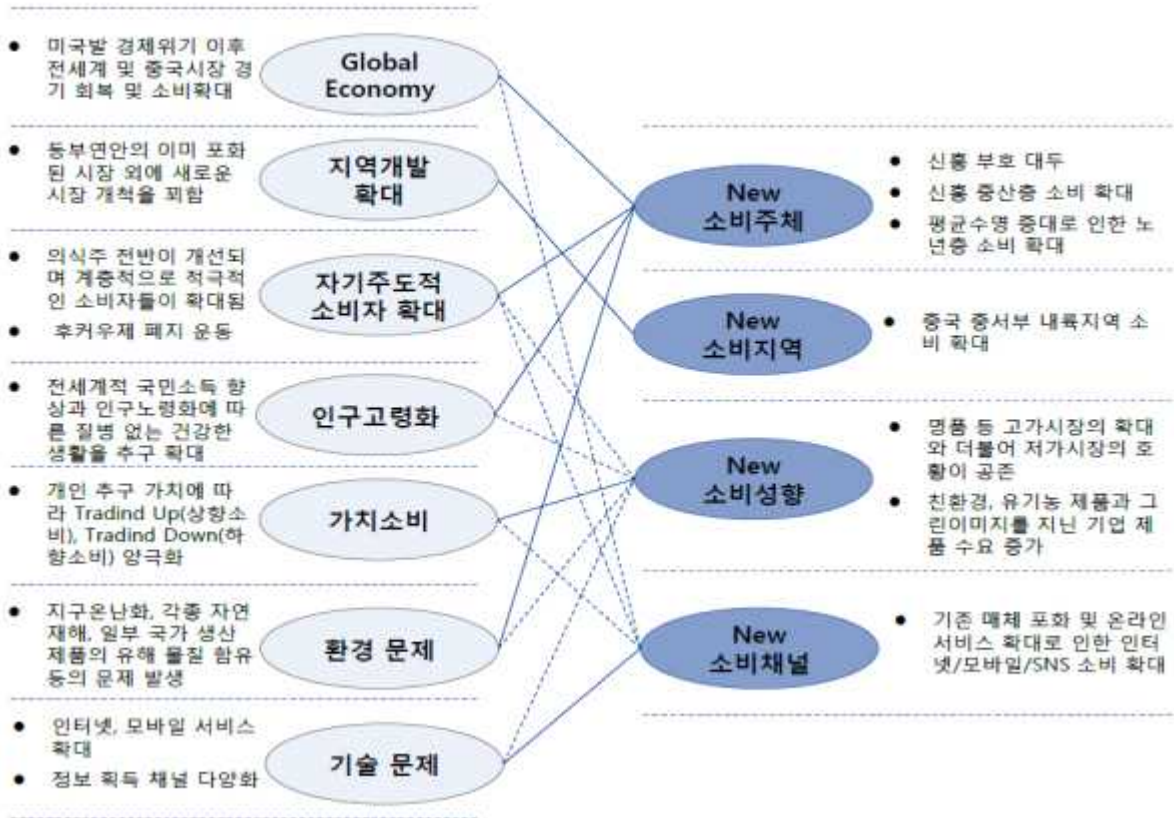
중국 가공식품 시장 동향

- 중국의 여러 정책·경제·사회/문화·기술적 환경변화를 통해 나타나는 중국의 소비특징은 소비주체, 소비지역, 소비채널이 대두되고 있다는 점임
  - 정부의 중산층 확대정책 및 급속한 경제성장에서 유래되는 민간소비 확대는 중국의 신흥중산층, 신흥부자 파이를 키웠음
  - 또한 인구통계학적으로 실버세대가 확대됨에 따라 이에 대한 뉴시니어 소비가 증대될 전망이다
  - 기존 발달한 동부연안선 도시들 외에 신흥도시 개발이 확대됨에 따라 신흥도시에서의 소비가 확대되고 있음
  - 전 세계에 나타나는 소비양극화 시장과 같이 초고가 시장과 저가시장이 공존함
  - 또한 각종 자연재해나 건강에 대한 관심이 확대되며 그린소비, 녹색저탄소 소비가 확대되고 있음
  - 이외에 글로벌 소비트렌드와의 동조화현상 및 인터넷의 대중화로 온라인 등의 새로운 채널이 급속히 확대되는 추이를 보임



경제·사회·문화적 요인

New 소비 특징



○ 새로운 소비주체 대두

- 중국 중산층, 2016년까지 162% 증가

- . 베이징의 전형적인 중산층 A씨, H&M에서 옷을 사고, IKEA로 이동 해 의자하나를 산후, Carrefour를 들러 식료품을 사고, 집에 돌아가는 길 Starbucks에 들러 카라멜마끼아또를 마 십
- . 내수시장의 구매력과 규모를 좌우하는 핵심소비주체는 중산층임. 중국시장 내에서 중산층 인구의 성장률이 가장 높음
- . 최근 중국의 도시서민들이 소득증가로 중산층으로 편입됨에 따라 이들 소매패턴은 생필품 구매수준에서 컴퓨터, 자동차 등과 같은 내구 재 구매로 이동하고 있음
- . 맥킨지세계경제연구소(Mckinsey Global Institute, MGI)는 “Tapping China’s luxury-goods market“보고서에서 연간소득 10만~20만 위안인 중상위 계층이 새로운 소비층으로 부상하고 있다고 언급
- . 2010년 중국 중산층이 Luxury Market 소비의 12%를 차지할 것이고, 향후 2015년 부유층이 주 소비층을 형성하는 가운데 중상위계층 또한 2015년 22%로주요 구매력을 가진 소비주도 층으로 부상할 것이라 전망했음



- 중국의 미래소비를 주도할 소비자 가운데, 젊은층이 부상하고 있음
  - 중국 명품시장 및 와인시장에서 20~35세의 젊은 소비층이 눈에 띈
  - 이들은 고수입에 안정적인 서구생활과 식습관을 가진 대표적인 이른바 ‘바링허우’, 주링허우’
  - 마오쩌둥 전 국가주석 집권시 ‘1가구 1자녀’ 산아제한정책으로 조부모 4명, 부모 2명의 소득과 소비가 한 자녀에게만 집중하는 4-2-1구조가 정착되며 1980년대 바링허우와 1990년대 주링허우가 등장
  - 이들은 기성세대와는 판이한 가치관과 생활방식과 함께 소비 세력으로 부상하며 중국사회의 관심을 집중시킴
  - 부모 의존형 소비패턴을 보이며, 외국브랜드, 고가품에 익숙하며, 이전세대에 비해 가격에 개의치 않는 소비행태를 나타냄
  - 형제자매가 없거나 적기 때문에 많은 사람들의 관심 속에서 성장했으며, 맞춤형상품과 서비스로 특별대우 받는 것을 좋아함
  - ‘상향소비(TradingUp)’의 주체이기도 한 이들은 주로 ‘버는대로 다 쓰고’, ‘부모의 경제력으로’ 고급물건을 소비해 전 세계 의류, 미용, 전자제품 등 업계의 ‘큰손’으로 대접받기도 함
  - 또한 새로운 것을 빨리 받아들이고, 앞서 나가는 인기 아이템 소비를 선호하며 제품의 과시적인 효과, 상징성을 중시함
  - 현재 중국의 경우 자동차 구매연령이 점점 낮아지고 있음
  - 중국 자동차공업협회에 따르면 2006년 자동차 구매자 평균 연령은 32세였으나, 최근들어 18세~25세의 자동차 구매자가 급증했음
  - 최근 바링허우, 주링허우의 낭비습관과 3D(Dirty, Difficult, Dangerous)업종 기피 성향에 따른 고학력 실업자 증가 등은 중국경제사회의 골칫거리임
- . 하지만 향후 중국의 미래를 짊어질 이들이 소비구조에 미치는 잠재력 및 영향력은 엄청남

#### □. 가공식품시장 규모

- 통계에 따르면 2013년 중국의 가공식품 판매액은 59,497억 위안으로 전년 대비 14.4% 증가하며, 수익 총액은 3,105.3억 위안으로 전년 대비 14.1% 성장

<중국 가공식품 연간 매출액·수익액 현황>

(단위 : US\$ 천, %)

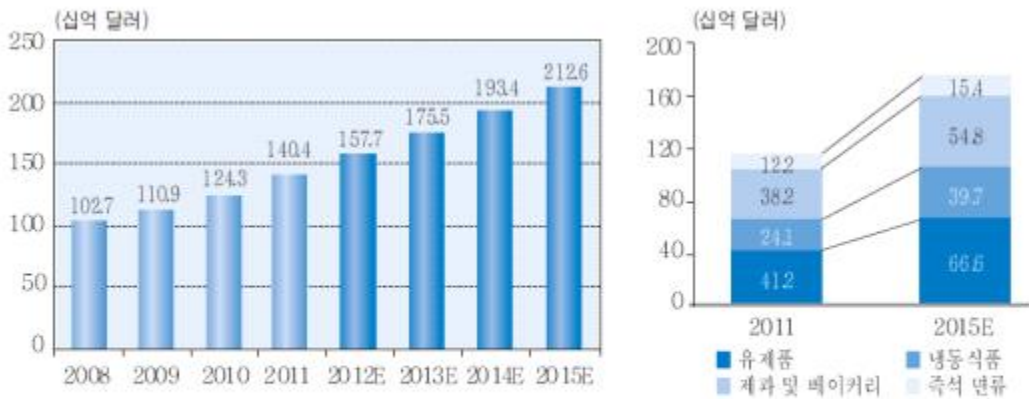
구분	2011		2012		2013	
	매출액	증가율	매출액	증가율	매출액	증가율
매출액 및 성장률	4,3896	33.2	5,1342	20.3	5,9497	14.1

- 랴오닝성은 중국 농산품 가공 및 농산품 수출의 대성(大省)으로 도약을 시도하고 있으며, 2015년까지 일정규모 이상의 농산품 가공기업 영업수익은 1.5억 위안, 규모 이상 농산품 가공업 부가가치는 5,000억 위안에 달할 전망이다

□ 중국 가공식품시장 전망

- 수요 증대 예상 요인

<중국 가공식품 수요 및 전망>



자료 : Agriculture and Agri-Food Canada, *Packaged Food Sales in China 2012*, 원자료는 Euromonitor (2011).

주 : 가공식품 수요 전망에서 진한 청색 부분은 추정치.

- 한국식품의 중국시장 내 위상 : 기대에 미흡 성장잠재력은 풍부

- 현재 중국 내수 식품시장에서 한국식품이 차지하는 비중은 미미한 수준으로 나타났지만 일부 품목에서 로컬 및 글로벌 식품 제조업에 대비 경쟁우위 및 성장잠재력 내포
  - . 배타성이 강한 식품의 특성상 내수 식품시장은 로컬 기업들의 비중과 경쟁력이 높은 시장
  - . 중국기업들이 안고 있는 고질적인 식품안전 문제로 인해 글로벌 기업들에 기회제공
  - . 글로벌 기업들이 선점한 일부 프리미엄식품시장과 현지인의 입맛과 가격 경쟁력을 내세운 중국기업들에 둘러싸인 시장 환경에서, 한국식품이 경쟁우위를 점하기는 쉽지 않은 게 사실
- 중국 소비자들이 생각하는 한국 식품의 강점은 식품안전, 맛, 그리고 세련된 제품 디자인으로 조사

- . 특히 식품 구매시 안전을 최우선적으로 고려하는 최근의 중국 식품소비 경향은 일부 세부 품목별로 한국 식품이 경쟁력을 가질 수 있는 가장 중요한 요인으로 평가
- . 중국 내 식품안전 불량 등 사고가 빈번히 발생하여 식품안전 관리 인식이 강화되고 건강한 웰빙식품에 대한 수요가 많아짐

- 타오바오(淘寶), 티엔마오(天貓), 징동왕(京東網), 이하오디엔(1號店) 등 대형 인터넷쇼핑몰에서 수입식품 취급을 늘렸으며, 판매가 활발하게 이루어지고 있음

□ 수입규제 · 관세율 및 유통구조

i) 수입규제제도

○ 중문라벨 필수

- 2011년 4월 발표한 ‘수입포장식품 라벨 관리 시스템 운영에 관한 공고(關於運行進口預包裝食品標籤管理系統公告)’에 따르면 수입되는 모든 포장식품은 중국어 라벨을 부착해야 함
- 라벨은 원산지과 중국 내 대리상 명칭, 주소, 연락처 등을 기재해야 함
- 중문라벨은 보통 수입대행사를 통해 신청함

○ 검역규정

- ‘식품 안전법’에 따르면 수입산 식품, 식품 첨가제 및 식품 관련 제품은 중국 식품 안전 국가표준에 부합 해야함
- 우선 수출입 검험검역기관의 검역에 합격한 뒤 통관 증명서류를 발급받고 이를 세관에 제출해 통관수속을 마쳐야함

ii) 통관필요서류

- 통관 시 중문라벨 등록서, 계약서, 수입위탁서, 검역신청위탁서, 상업송장, 포장명세서, 원산지증명서 또는 자유판매허가증, B/L, 성분리스트 등 서류 필요

iii) 관세율

○ 관세율(HS Code : 210690기준)

- 가공식품 수입관세는 20%, 부가가치세는 17%임

iv) 주요 유통채널

- 대형마트, 수입식품 전문점, 홈쇼핑 등 다양한 유통채널 활용 가능

- 인터넷 사용의 보편화, 전자상거래 유통망 확대와 서비스 발달로 온라인 소비자 수 급증
- 최근 견과류, 과자, 음료 등 유통기간이 길고 배송이 편리한 제품의 온라인 유통이 활발함

□ 한국제품에 대한 현지 인지도 및 선호 브랜드 현황

- 한국 가공식품의 대중국 수출에서 가장 높은 비중을 차지하는 세부품목은 ‘과자 및 베이커리’로 2012년 수출 규모는 전체 가공식품 수출의 14.5%인 8,700만 달러이며, 다음으로 ‘커피 및 차’, ‘식품첨가물’ 순으로 나타났음
- 중국 내수 식품시장에서 우리 식품은 프리미엄 식품시장을 장악하고 있는 글로벌 식품기업들과 현지인의 입맛과 가격 경쟁력을 내세운 중국 식품기업들 사이에 둘러싸여 있음

<한국식품의 중국 수입식품 시장 내 비중변화>



자료 : 무역협회(2013)

- 이러한 환경에서 우리 식품이 경쟁우위를 점하기는 쉽지 않지만, 일부 세부 품목별로 우리 식품은 로컬 및 글로벌 식품제조업체와 비교하여 경쟁 우위를 갖고 있는 것으로 나타났으며, 향후 성장 잠재력도 풍부한 것으로 분석되었음
- 중국 소비자들이 생각하는 한국 식품의 강점은 식품안전, 맛, 그리고 세련된 제품 디자인으로 조사되었는데, 특히 식품구매 시 안전을 최우선적으로 고려하는 최근 중국 소비자의 식품 소비경향은 일부 세부 품목별로 한국식품이 경쟁력을 가질 수 있는 가장 중요한 요인으로 평가되고 있음
- 한국 식품은 유제품, 과자 및 베이커리, 면류, 인삼가공식품, 일부 음료제품 등에서 경쟁력이 있는 것으로 나타난 반면, 영유아 식품을 비롯하여 과채가공품, 소스 및 장류, 그리고 주류 등은 아직까지 중국 내 교민 위주의 시장에 머물러 있는 것으로 분석됨

□ 선호 브랜드

- 농심 라면, 오리온 초코파이 등이 한국 브랜드의 대표적 성공사례(한국 야쿠르트 등 빙과

류는 동절기가 긴 계절적 요인으로 실패)

< 현지 소비자 선호하는 한국 식품 >

제품명	업체명	이미지	가격	성공요인
빙그레 바나나우유	빙그레		9위안/200ml	바나나와 우유를 결합한 제품으로 중국에서 큰 인기몰이를 하는 대표적인 한국 식품이며, 길거리의 편의점까지 진출해 광범위하게 유통 중
처음처럼	롯데주류		15.8위안/360ml	현지 한국 교민 및 재중동포(○○족), 한국식당을 기반으로 유통망을 형성하고, 그 범위를 넓혀가고 있음
포도봉봉	해태음료		4위안/238ml	포도맛 음료를 즐기는 동시에 씹어먹는 재미까지 느낄 수 있는 제품으로 소비자들의 호기심을 자극
맥심	동서식품		80위안/12g×100개	맛이 좋고 수입제품 대비 가격이 낮게 책정돼 있어 주머니가 가벼운 중국 소비자들의 호평을 얻음. 중국에서 대형 슈퍼마켓이 및 한국 식품 판매점등에서 쉽게 볼 수 있는 한국 상품
신라면	농심		4.5위안/120g	가장 큰 경쟁력인 매운맛을 현지화 과정에서 변형시키지 않고 밀고 나가 매운맛을 선호하는 현지 소비자를 사로잡음
해찬들고추장	CJ제일제당		15위안/500g	현지 교민 밀집지역을 중심으로 분포되어 있는 마트·한국식당 및 교민 수요를 바탕으로 유통을 확장 중

□ 중국 소비자 및 구매 패턴의 변화

- 서구의 현대적 소비방식과 사고방식에 익숙한 중국의 신세대들이 성장하면 서 개성을 우선시하는 사회적 분위기가 날로 확산되고 있음
- 특히, 중국에서 가장 주목하는 소비자층인 ‘빠링허우(80后)’세대의 구매성향은 단순히 제품의 특징이나 제품이 주는 편익에만 구매 성향이 좌우되지 않고, 자기 자신만의 감성을 자극하여 마음을 움직일 수 있는 제품 등에 관심을 가지고 있음
- 또한 개혁개방 이후 ‘선부론(先富論)’에 따라 시장경제체제가 점차 뿌리를 내 리면서, 사회적으로 집단주의 대신 개인주의적 사고방식과 행동방식이 주류를 이루게 되었음
- 현재 중국 소비시장은 비약적으로 성장 중이며 고령화와 1자녀 정책 등에 따른 인구 구조의 변화와 상류층과 중산층의 소비 여력의 상승에 따른 소비 패턴의 변화가 두드러진 특징이라 할 수 있음

1) 인터넷 시장의 성장과 웨이보(微博)의 등장

- 2011년 12월 말까지 인터넷 이용자 수는 전년 동기대비 5580만 명 증가한 5억 1300만명에

도달했으며, 트위터가 금지된 중국에서는 최대 포털사이트 SINA(新浪)가 제공하는 ‘웨이보(微博)’ 서비스가 최근 폭발적인 인기를 얻고 있음

- 이러한, 인터넷 쇼핑의 편리성과 신뢰도의 향상은 온라인 소비층을 확대시켰고, 정보화 인프라의 확산은 중국의 소비에도 많은 영향을 미치고 있음
- 정보의 전파와 획득속도가 빨라지면서 구매하고자 하는 제품의 상세한 정보는 물론 사용자들의 평가도 한 눈에 볼 수 있게 되었음
- 또한, 자신이 구매한 제품에 대한 평가와 사진까지 실시간으로 인터넷을 통해 공개하면서 제품에 대한 투명도가 높아졌으며, ‘웨이보(微博)’ 검색을 통해 최신 제품의 가격정보와 평가를 확인하는 사람들이 늘어나고 있음
- 비록 ‘웨이보(微博)’의 사용자가 20, 30대 젊은 층에 집중되어 있지만, 빠른 확산 속도를 볼 때 중국에서도 사이버 영역의 마케팅을 소홀히 할 수 없는 시대가 다가오고 있음

## 2) 건강과 친환경을 지향하는 웰빙족의 등장

- ‘멜라민 분유 사건’, ‘폐기물 기름 사건’ 등 식품 안전에 대한 불신, 질병에 대한 불안감과 건강에 대한 관심의 증가는 디탄주(低碳族), 러휘주(樂活族)라는 새로운 개념의 웰빙족을 등장시키는 계기가 되었음
- 현재 중국시장에서 ‘웰빙’을 정확하게 대체하는 단어는 없지만, 무공해, 친환경을 뜻하는 튀썬(綠色)와 환경 보호 및 에너지 절약을 뜻하는 ‘환바오(环保)’ 등의 단어가 웰빙의 개념을 대체하고 있으며 각종 상품들의 이름 앞에 덧붙여져 사용되고 있음
- 과거에 비해 중국 소비자들의 소득이 증가하고 소비 선택의 폭이 넓어지면서 점차 기본적인 욕구 충족보다 소비재의 질을 중시하는 추세이며, 이들은 식품 소비 외에도 중국의 빠른 경제 발전에 수반되는 환경오염 속에 ‘무사 건 강한 삶’을 유지하는 것에 관심이 집중되는 것을 볼 수 있음

## 3) 명품 소비의 증가

- 세계사치품협회의 2011년 공식보고서에 따르면 2011년 3월 초까지 중국 사치품시장 소비규모의 총액은 107억 달러에 달하였음
- 이는 전 세계 사치품 시장규모의 4분의 1에 해당하는 금액으로 일본에 이은 세계 2위의 사치품 대국임

- 현재 중국의 명품 소비는 제품의 기능적인 욕구보다 제품의 상징적인 가치를 추구하면서 자신의 개성과 사회적인 신분을 나타내고자 하는 '과시적 소비' 성향이 증가하고 있음
- 또한, 일부 상위 부유층에 국한되었던 '명품 소비'가 신규 중산층에게도 급속히 확산되면서 사치품의 소비 규모와 수요가 급증하고 있음
- 현재 중국의 명품 소비자의 평균 연령은 서구에 비해 10세 이상 낮으며, 특히 '빠링허우(80后)세대'의 명품 구매가 크게 늘어나면서 점차 저연령화 양상을 나타내고 있음
- 과거에는 '신분 과시'가 주요 목적이었다면, 최근에는 '자기만족'을 위한 명품 구매가 늘어나는 추세로 명품 소비 연령에 따라 구매 동기도 달라지고 있음

#### 4) 소비시장의 우면파워

- 한동안 중국에서 유행하였던 용어가 '그녀의 경제(她經濟)'라는 말이 있을 정도로 여성이 소비의 주력으로 등장하였음
- 이들은 고학력, 고소득, 고직위, 이른바 '3고(高)' 특징을 가진 독신여성들로 대부분 자기성취욕이 높으며 자신에 대해 아낌없는 투자를 하는 경향을 지니고 있음
- 특히, 보석, 화장품, 부동산, 자동차 등의 분야에서 이들의 구매결정권이 커지고 있으며, 소비대상 역시 고품질·고가화 되는 성향을 보이고 있음
- 최근 들어 여성만을 대상으로 하는 시장이 생겨나면서 시장별로 아이টে이 세분화되고 있음
- 또한, 중국의 새로운 소비채널로 부상한 온라인 쇼핑의 경우도 20대 여성들이 주력 소비층으로 부상하였으며, 구매 분야는 화장품, 의류, 아동용품 등 제품구매에서 보험, 여행 등 서비스 상품 구매까지 확대되고 있음

#### 5) 실버마켓(銀發經濟)의 등장

- 2010년 제6차 중국인구총조사 결과에 의하면 60세 이상 노인인구가 전체 인구의 13.3%(약 1.78억명)으로 고령층이 빠르게 증가하고 있으며, 2030년과 2050년에는 중국 노인 인구가 각각 2억4800만명, 4억3700만 명에 달해 전체 인구의 31.2%에 이를 것으로 추정됨
- 고령인구가 급격히 증가하면서 양로산업에 대한 잠재 소비자층은 크게 증가하였고, 사회의 관심이 높아지면서 노인층이 신규 소비층으로 부상하고 있음
- 현재, 노인층이나 노인층 부양을 책임지고 있는 중년층의 소득수준을 볼 때, 선진국형의 분



격적인 실버시장이 열렸다고 보기는 어려운 상황임

- 하지만 건강식품, 보건, 레저, 관광, 금융, 부동산, 지역서비스, 노인교육 등의 분야에서 실버 산업의 시장규모가 7-8천억 위안대로 추정되고 있어 잠재력은 크다고 할 수 있음
- 또한, 양로산업의 발전은 기존 양로시설에서 탈피하여 의료, 보호, 영양, 문화가 함께 어우러진 건강한 삶을 중시하는 새로운 방향으로 전환될 가능성이 매우 큼

□ 제품 트렌드

- 중국 국민소득 증가, 생활수준 향상으로 고품질의 식품을 선호함
- 최근 중국내 식품관련 안전사고가 잇따르자, '안전성'은 최근 중국 소비자들의 주요 구매결정 요인으로 부상
- 웰빙 열풍이 불면서 소비자들이 건강식품에 대한 수요 증가

마. 관능조사 자료의 분석결과

□ 조사의 방법

- 개발된 떡의 관능평가 및 구매의향을 조사하기 위해 사전 관능평가지를 준비
- 중국 상해시에서 일반 소비자를 대상으로 개발떡 시제품의 시식을 하고 난 후 현장에서 직접 관능평가지를 작성하게 한 후 회수함
- 사람들이 많이 모이는 학원가를 중심으로 가정주부와 회사원을 중심으로 조사를 실시하였으며, 파견된 중국 유학생 1명과 현지 아르바이트 4명을 활용하여 일반 소비자들을 대상으로 직접 해당 학원 및 직장 등을 방문하여 면대면 조사를 실시함
- 최종 121부를 조사 수집함
- 중국 상해시내의 식품 유통업체 방문을 통한 전문가 의견 수렴도 병행



□ 자료의 일반적 특성

- 조사된 자료의 일반적 특성을 살펴본 결과, 총 121명의 자료 중 여자가 69명(57.0%)로 남자 52명(43.0%)보다 좀 더 많이 조사되었음을 나타냄
- 연령의 분포는 20대가 38명(31.4%), 30대 58명(47.9%), 40대가 13명(10.7%), 50대 이상이 12명(9.9%)으로 나타나 30대가 많은 분포를 나타냄
- 직업의 분포는 회사원이 가장 많은 47명(38.8%)으로 나타났으며, 다음으로 기타직업군이 21명(17.4%), 학생이 13명(10.7%), 물류업에 종사한다는 응답이 13명(10.7%)의 순으로 나타났

<자료의 일반적 특성>

구분		빈도(121명)	비율(100%)
성별	남자	52	43.0
	여자	69	57.0
연령	20대	38	31.4
	30대	58	47.9
	40대	13	10.7
	50대이상	12	9.9
직업	자유직업	7	5.8
	대학생	13	10.7
	교사	9	7.4
	회사원	47	38.8
	은퇴	8	6.6
	운전	1	0.8
	물류	13	10.7
	기타	21	17.4
	공무원	2	1.7

□ 관능조사 분석 결과

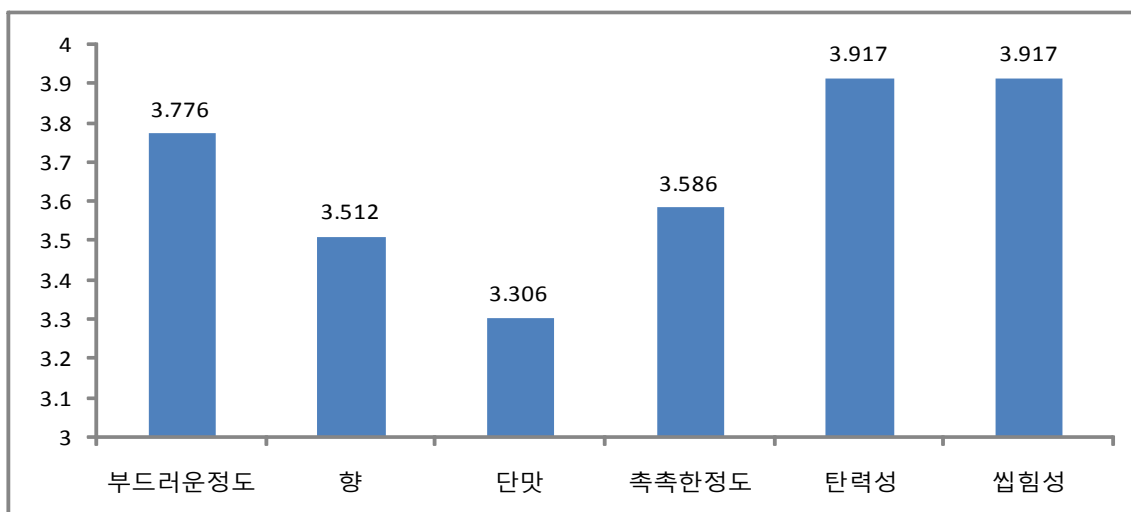
1) 시식 떡의 관능평가 및 선호, 구매의향에 대한 빈도분석 결과

(1) 시식 떡의 관능평가

- 시식 떡의 전반적인 관능평가를 실시 한 결과 다음과 같이 나타남

- 시식 떡의 부드러운 정도는 대체로 부드럽다는 응답이 가장 높은 60명(49.6%)로 나타났으며, 전반적으로 81명(67.0%)이 시식 떡의 부드러움을 느끼고 있었음을 알 수 있음. 그러나 대체로 부드럽지 않다는 응답도 6명(5.0%)으로 나타나 시식 떡이 량이 소량임에 따라 질감의 정도를 깊이있게 판단하지 못하였을 수도 있어 이 같은 응답이 나온 것으로 판단됨
- 시식 떡의 향에 대한 인지는 대체로 향이 강하다는 응답이 52명(43.0%)으로 높게 나타났으며, 대체로 약하다는 응답과 매우 약하다는 응답이 16명(13.3%)으로 나타나 일부 소비자들이 중국 식품의 강한 향에 익숙하기 때문에 상대적으로 시식 떡의 향을 약하게 느낀 것으로 봄
- 단맛의 평가는 보통이라는 응답이 가장 높은 59명(48.8%)으로 나타나 일반적인 수준의 단맛으로 평가되고 있음
- 촉촉한 정도의 평가는 대체로 긍정적인 촉촉하다는 응답이 73명인 58.7%로 나타나 시식 떡에 대한 수분의 함유량 등이 적정함을 알 수 있음
- 탄력성의 평가는 대체적으로 보통이상인 많은 분포를 차지하고 있어 시식 떡의 탄력성이 매우 좋은 반응이 있음을 알 수 있음. 좀 더 구체적으로 보통이 28명(23.1%), 대체로 탄력성이 좋다는 응답이 63명(52.1%), 매우 좋다는 응답이 26명(21.5%)로 나타남
- 씹힘성의 평가는 전반적으로 긍정적인 응답이 92명(76.0%)으로 나타나 전반적인 질감측면에서는 양호하다는 것을 알 수 있음. 좀 더 구체적으로 살펴보면 매우약하다는 응답이 2명, 대체로 약하다는 응답이 4명으로 나타났으나 보통이 23명, 대체로 씹힘이 좋다는 응답이 65명(53.7%), 매우 좋다는 응답이 27명(22.3%)으로 나타났음

<시식 떡에 대한 관능평가 평균>



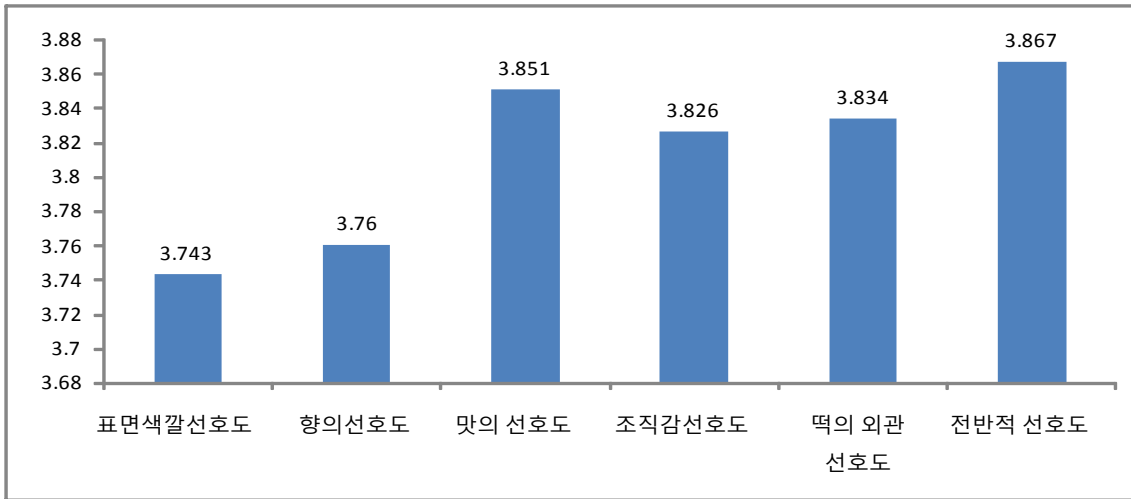
<시식 떡의 관능평가>

구분		빈도(121명)	비율(100%)	평균
부드러운 정도	전혀 부드럽지 않음	2	1.7	3.776
	대체로 부드럽지 않음	4	3.3	
	보통	34	28.1	
	대체로 부드러움	60	49.6	
	매우 부드러움	21	17.4	
향	매우 약함	2	1.7	3.512
	대체로 약함	14	11.6	
	보통	39	32.2	
	대체로 강함	52	43.0	
	매우 강함	14	11.6	
단맛	전혀 달지 않음	6	5.0	3.306
	대체로 달지 않음	8	6.6	
	보통	59	48.8	
	대체로 단맛	39	32.2	
	매우 단맛	9	7.4	
촉촉한 정도	전혀 촉촉하지 않음	-	-	3.586
	대체로 촉촉하지 않음	14	11.6	
	보통	36	29.8	
	대체로 촉촉함	57	47.1	
	매우 촉촉함	14	11.6	
탄력성	매우 약함	-	-	3.917
	대체로 약함	4	3.3	
	보통	28	23.1	
	대체로 강함	63	52.1	
	매우 강함	26	21.5	
씹힘성	매우 약함	2	1.7	3.917
	대체로 약함	4	3.3	
	보통	23	19.0	
	대체로 강함	65	53.7	
	매우 강함	27	22.3	

(2) 시식 떡의 관능항목별 선호정도

- 시식 떡의 관능항목별 선호정도를 살펴보기 위해 빈도분석을 실시 한 결과 다음과 같이 나타남
- 먼저 표면색깔에 대한 선호도는 대체적으로 좋다라는 응답과 매우 좋다라는 응답이 81명 (67.9%)으로 나타나 긍정적인 반응을 보이고 있음
- 시식 떡에 대한 향의 선호도와 맛의 선호도도 대체로 긍정적인 선호도를 보이고 있어 중국 소비자를 대상으로 한 떡제품 개발시에는 현재의 시식 떡의 맛과 향의 수준으로 개발하는 것이 적절할 것으로 판단됨
- 조직감 선호도는 대체로 좋다는 응답이 62명(51.2%), 매우 좋다는 응답이 24명(19.8%)으로 나타나 시식 떡의 씹는 식감이 양호함을 알 수 있음
- 떡의 외관 선호도와 전반적인 선호도 역시 모두 긍정적인 응답이 50% 이상을 상회하고 있음

어 시식 떡에 대한 전반적인 선호현상이 높음을 나타냄  
 <관능항목별 평균 분포도>



<시식 떡의 관능항목별 선호정도>

구분		빈도(121명)	비율(100%)	평균
표면색깔선호도	매우 나쁨	1	0.8	3.743
	대체로 나쁨	8	6.6	
	보통	31	25.6	
	대체로 좋음	62	51.2	
	매우 좋음	19	15.7	
향의선호도	매우 나쁨	-	-	3.760
	대체로 나쁨	5	4.1	
	보통	37	30.6	
	대체로 좋음	61	50.4	
	매우 좋음	18	14.9	
맛의 선호도	매우 나쁨	1	0.8	3.851
	대체로 나쁨	7	5.8	
	보통	31	25.6	
	대체로 좋음	52	43.0	
	매우 좋음	30	24.8	
조직감선호도	매우 나쁨	1	0.8	3.826
	대체로 나쁨	8	6.6	
	보통	26	21.5	
	대체로 좋음	62	51.2	
	매우 좋음	24	19.8	
떡의 외관 선호도	매우 나쁨	3	2.5	3.834
	대체로 나쁨	5	4.1	
	보통	27	22.3	
	대체로 좋음	60	49.6	
	매우 좋음	26	21.5	
전반적 선호도	매우 나쁨	1	0.8	3.867
	대체로 나쁨	5	4.1	
	보통	30	24.8	
	대체로 좋음	58	47.9	
	매우 좋음	27	22.3	

(3) 시식 떡의 자국 시중 떡과의 비교와 청결성 인식정도

- 시식 떡의 자국 시중 떡과의 비교와 청결성 인식정도를 분석 한 결과 자국의 떡과 비교하여 시식 한 떡의 상대적 비교를 조사한 결과, 시식한 떡이 훨씬 더 좋다고 응답한 것이 77명(63.6%)으로 나타나 매우 긍정적인 반응을 보임. 반면에 시중에 판매하는 떡이 더 좋다는 부정적인 응답도 16명(13.2%)으로 나타났으며, 비슷하다고 생각한다는 응답도 28명(23.1%)으로 나타나 향후 진출 시에는 좀 더 심층적인 조사가 이루어져 이에 대한 전략적 방안의 도출이 필요함
- 시식 떡의 위생정도는 대체로 긍정적인 응답이 높게 나타났음. 이는 시식 떡의 포장상태가 시식을 위한 소량의 질소포장으로 이루어져 이를 판단하기에는 다소 무리가 있음
- 시식 떡의 새로운 정도에 대한 생각은 비교적 새롭게 인식하고 있음을 알 수 있음. 다만 비교적 새롭지 않다고 응답한 소비자도 5명 정도 있으나 이는 향후 진출 시에는 완제품 출시와 더불어 적극적인 마케팅전략의 수행으로 충분히 해결할 수 있는 부분이라고 판단됨

<시식 떡의 자국 시중 떡과의 비교와 청결성 인식정도>

구분	빈도(121명)	비율(100%)	평균	
시중과 비교한 시식 떡의 선호정도	시중에서 판매된 떡이 더 좋다고 생각한 정도	16	13.2	2.512
	비슷하다고 생각한 정도	28	23.1	
	오늘 먹어본 떡이 훨씬 더 좋다고 생각한 정도	77	63.6	
시식 떡의 위생정도	매우 나쁨	-	-	4.289
	대체로 나쁨	3	2.5	
	보통	16	13.2	
	대체로 좋음	45	37.2	
	매우 좋음	57	47.1	
시식 떡의 새로운 정도	매우 나쁨	4	3.3	4.049
	대체로 나쁨	1	0.8	
	보통	18	14.9	
	대체로 좋음	60	49.6	
	매우 좋음	38	31.4	

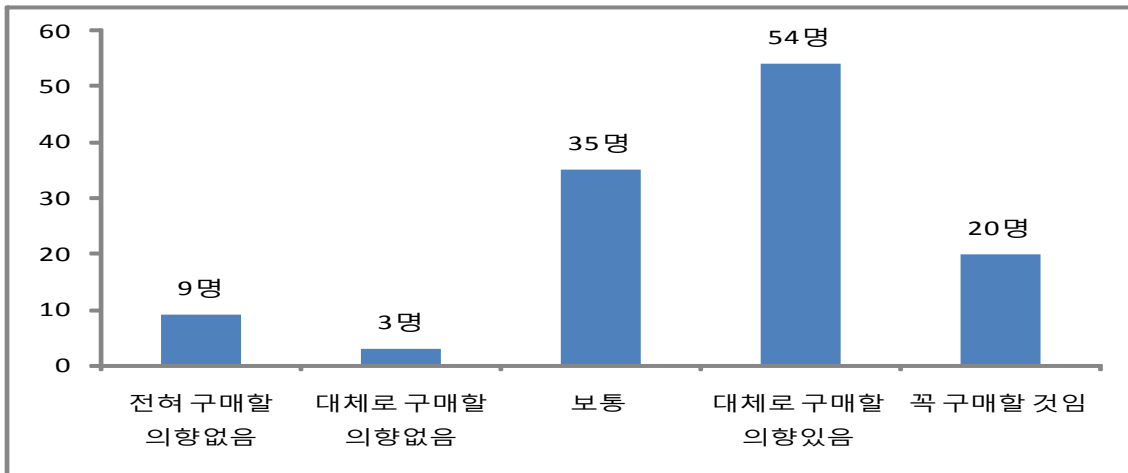
(5) 시식 떡의 향후 구매의향

- 시식 떡의 향후 구매의향을 분석한 결과 대체로 구매할 것이라는 응답과 꼭 구매할 것이라는 긍정적인 응답이 74명(61.1%)으로 높은 응답을 보임

<시식 떡의 향후 구매의향>

구분		빈도(121명)	비율(100%)
구매의향	전혀 구매할 의향없음	9	7.4
	대체로 구매할 의향없음	3	2.5
	보통	35	28.9
	대체로 구매할 의향있음	54	44.6
	꼭 구매할 것임	20	16.5
합계		121	100

<시식 떡에 대한 향후 구매의사>

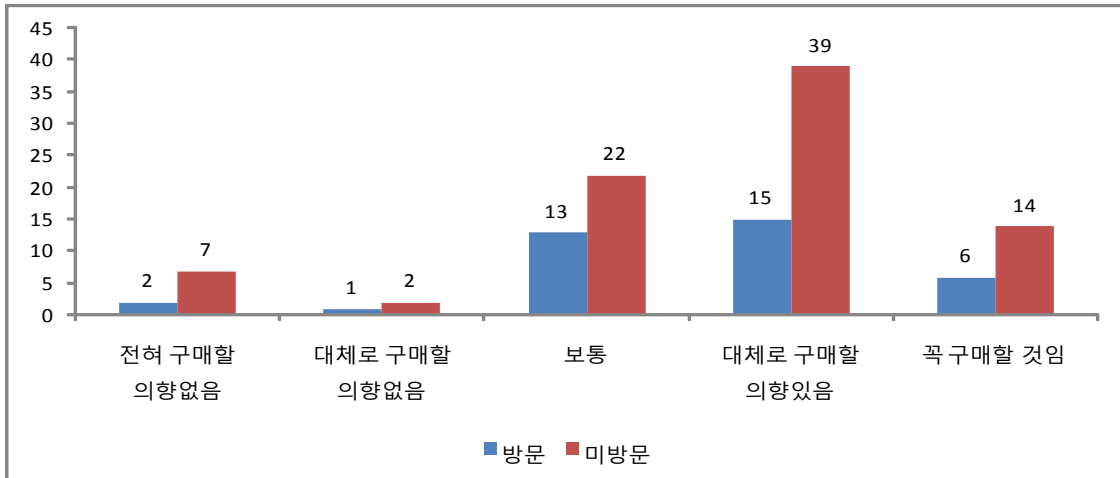


(6) 한국방문 여부와 구매의향정도

- 중국 조사대상 소비자의 한국방문에 대한 경험과 횟수를 파악하여 한국에 대한 높은 관심과 인식으로 인해 시식 떡에 대한 선호도가 일정부분 긍정적으로 형성될 수 있어 이에 대한 분석을 실시함
- 한국을 방문했다는 응답자와 방문하지 않은 응답자 간의 구매의향에 대한 차이는 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았음(Chi-Square Tests 1.219, p>.05)
- 분석결과 한국방문여부와 상관없이 대체로 구매할 것이라는 응답이 가장 높은 54명으로 나타남

<한국방문 여부와 구매의향정도에 대한 교차분석 결과>

구분		구매의향					합계
		전혀 구매할 의향없음	혀할 대체로 구매할 의향없음	보통	대체로 구매할 의향있음	꼭 구매할 것임	
한국방문 여부	방문	2명 1.7%	1명 0.8%	13명 10.7%	15명 12.4%	6명 5.0%	37명 30.6%
	미방문	7명 5.8%	2명 1.7%	22명 18.2%	39명 32.2%	14명 11.6%	84명 69.4%
합계		9명 7.4	3명 2.5	35명 28.9	54명 44.6	20명 16.5	121명 100
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)		
1.219		4			0.87		

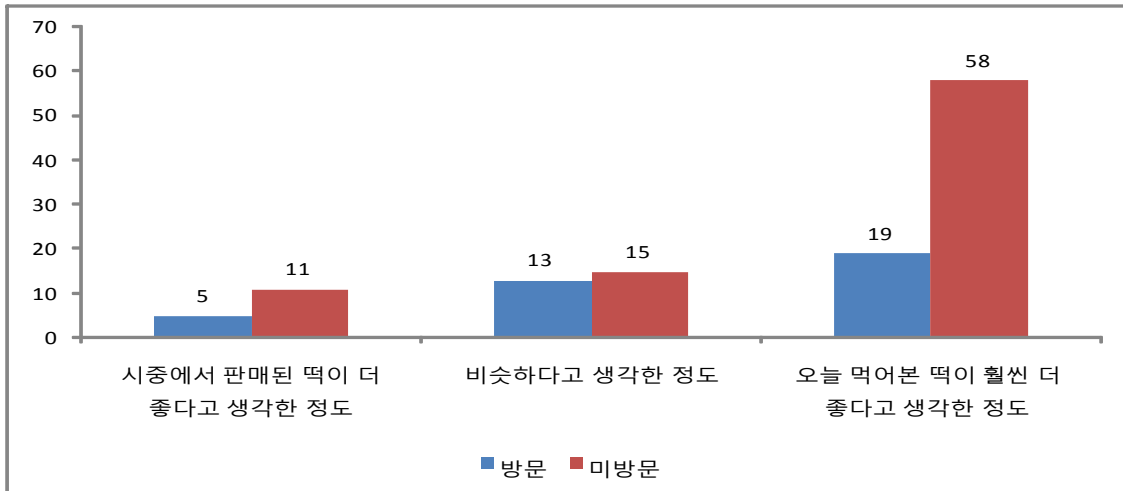


(7) 시중과 비교한 시식 떡에 대한 생각과 한국방문 여부

<시중과 비교한 시식 떡에 대한 생각과 한국방문 여부>

구분		시중과 비교한 시식 떡			합계
		시중에서 판매된 떡이 더 좋다고 생각한 정도	비슷하다고 생각한 정도	오늘 먹어본 떡이 훨씬 더 좋다고 생각한 정도	
한국방문 여부	방문	5명 4.1%	13명 10.7%	19명 15.7%	37명 30.6%
	미방문	11명 9.1%	15명 12.4%	58명 47.9%	84명 69.4%
합계		16명 13.2%	28명 23.1%	76명 63.6%	121명 100%
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)
7.289		3			0.06





○ 시중과 비교한 시식 떡에 대한 생각과 한국방문 여부를 분석한 결과, 한국방문경험에 따른 평가가 통계적으로 차이가 없음을 나타냄((Chi-Square Tests 7.289, p>.05)

- 시식 한 떡이 시중의 떡보다 더 좋다는 응답이 가장 높게 나타나 맛과 질감, 향 등의 전반적인 시식 떡에 대해서는 긍정적인 반응이었음을 알 수 있음

(8) 시식떡 품의 관능항목이 전반적인 선호도 및 구매의향에 미치는 영향

○ 시식떡 품의 관능항목이 전반적인 선호도 및 구매의향에 미치는 영향을 검증하고 전반적 선호도의 매개효과를 검증하기 위해 단계별 회귀분석을 실시한 결과 다음과 같이 나타남

- 먼저 1단계에서는 전반적인 선호도를 종속변수로 한 관능항목을 독립변수로 한 다중회귀분석을 실시한 결과 부드러운 정도( $\beta=.145, t=1.855, p<.1$ )와 향( $\beta=.410, t=5.174, p<.001$ ), 씹힘성( $\beta=.326, t=3.642, p<.01$ )이 전반적 선호도에 긍정적 영향을 미치는 것으로 나타났음

<시식 떡 제품의 관능항목이 전반적인 떡 선호도에 영향을 미치는 영향에 있어 전반적 선호도의 매개효과 분석 1단계>

독립변수 \ 종속변수	전반적인 시식떡의 선호도		
	비표준화된 $\beta$ 값	표준화된 $\beta$ 값	t값
부드러운정도	.146	.145	1.855*
향	.378	.410	5.174***
단맛	.036	.038	.506
촉촉한정도	.114	.115	1.268
탄력성	-.114	-.103	-1.139
씹힘성	.328	.326	3.642**
R <sup>2</sup>	.507		
Adj.R <sup>2</sup>	.481		
F값	19.534***		

+ : p<.1, \*\* : p<.01, \*\*\* : p<.001

- 2단계에서는 향후 구매의향을 종속변수로 한 관능항목을 독립변수로 한 다중회귀분석을 실시한 결과 향( $\beta=.407, t=4.067, p<.001$ )과 씹힘성( $\beta=.260, t=2.294, p<.05$ )이 구매의향에 긍정적 영향을 미치는 것으로 나타났음
- 3단계에서는 관능항목과 전반적 선호도를 독립변수로 하고 구매의향을 종속변수로 하여 다중 회귀분석을 실시한 결과 향은 2단계와 마찬가지로 유의한 영향을 미치는 것으로 나타났으나 씹힘성은 유의한 영향이 나타나지 않은 것으로 나타나 씹힘성은 제품의 전반적인 선호도를 매개해서 구매의향에 영향을 미치고 있는 것으로 나타남

<전반적 선호도의 매개효과 경로>



<시식 떡 제품의 관능항목이 전반적인 떡 선호도에 영향을 미치는 영향에 있어 전반적 선호도의 매개효과 분석 2단계-3단계>

독립변수 \ 종속변수	향후 구매의향			향후 구매의향		
	비표준화된 $\beta$ 값	표준화된 $\beta$ 값	t값	비표준화된 $\beta$ 값	표준화된 $\beta$ 값	t값
부드러운정도	-.010	-.008	-.080	-.057	-.046	-.486
향	.466	.407	4.067***	.343	.299	2.739**
단맛	-.099	-.085	-.894	-.110	-.095	-1.017
촉촉한정도	-.195	-.159	-1.379	-.232	-.189	-1.661
탄력성	.085	.063	.547	.122	.090	.793
씹힘성	.323	.260	2.294*	.216	.174	1.480
전반적 선호도	-	-	-	.326	.263	2.262*
R <sup>2</sup>	.213			.247		
Adj.R <sup>2</sup>	.171			.200		
F값	5.136***			5.292***		

○ 시식 떡 제품의 관능항목이 향후 구매의향에 영향을 미치는 회귀분석결과, 표면색깔 선호도와 향의 선호도, 맛 선호도가 향후 구매의향에 긍정적 영향을 미치는 것으로 나타나 제품의 색깔과 향, 맛에 대한 품질향상에 노력을 기울여야 할 것임

<시식 떡 제품의 관능항목이 향후 구매의향에 영향을 미치는 회귀분석결과>

독립변수	종속변수	구매의향		
	비표준화된 β값	표준화된 β값	t값	
표면색깔 선호도	.355	.285	2.487*	
향의 선호도	.289	.210	1.815*	
맛의 선호도	.306	.263	2.089*	
조직감 선호도	-.012	-.010	-.088	
떡의 외관	-.121	-.105	-1.014	
전반적 선호도	-.006	-.005	-.044	
R <sup>2</sup>	.348			
Adj.R <sup>2</sup>	.313			
F값	10.126***			

+ : p<.1, \* : p<.05

2) 성별에 따른 시식 떡의 관능평가 및 선호, 구매의향에 대한 교차분석결과

(1) 성별에 따른 시식 떡의 관능항목 평가

- 성별에 따른 시식 떡의 부드러운 정도를 평가한 결과 대체적으로 남자와 여자모두 대체로 부드럽다는 응답이 높게 나타남
- 성별간의 통계적으로 부드러운 정도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 2.580, p>0.05)

<성별에 따른 시식 떡의 부드러운 정도에 대한 교차분석 결과>

		부드러운 정도					합계
		전부 부드럽 않음	혀 드럽지 않음	대 부드럽 지 않음	보통	대 체로 부드러움	
성별	남자	0	2명	15명	24명	11명	52명
		0	1.7%	12.4%	19.8%	9.1%	43.0%
	여자	2명	2명	19명	36명	10명	69명
		1.7%	1.7%	15.7%	29.8%	8.3%	57.0%
합계		2명	4명	34명	60명	21명	121명
		1.7%	3.3%	28.1%	49.6%	17.4%	100%
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)		
2.580		4			0.630		

- 성별에 따른 시식 떡의 향을 평가한 결과 대체적으로 남자와 여자모두 대체로 향이 강하다는 응답이 높게 나타남
- 성별간의 통계적으로 향에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 4.345,  $p>0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 향에 대한 교차분석 결과>

구분		향					합계
		매우 약함	대체로 약함	보통	대체로 강함	매우 강함	
성별	남자	0	4명	15명	26명	7명	52명
		0	3.3%	12.4%	21.5%	5.8%	43.0%
	여자	2명	10명	24명	26명	7명	69명
		1.7	8.3%	19.8%	21.5%	5.8%	57.0%
합계		2명	14명	39명	52명	14명	121명
		1.7	11.6%	32.2%	43.0%	11.6%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
4.345			4		0.361		

- 성별에 따른 시식 떡의 단맛을 평가한 결과 대체적으로 여자보다는 남자가 더 단맛이라는 응답이 높게 나타남
- 성별간의 통계적으로 향에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 4.744,  $p>0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 단맛에 대한 교차분석 결과>

구분		단맛					합계
		전달지않음	희대체로 전달지않음	보통	대체로 단맛	매우 단맛	
성별	남자	3명	3명	21명	22명	3명	52명
		2.5%	2.5%	17.4%	18.2%	2.5%	43.0%
	여자	3명	5명	38명	17명	6명	69명
		2.5%	4.1%	31.4%	14.0%	5.0%	57.0%
합계		6명	8명	59명	39명	9명	121명
		5.0%	6.6%	48.8%	32.2%	7.4%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
4.744			4		0.314		

- 성별에 따른 시식 떡의 촉촉한 정도를 평가한 결과 대체적으로 남자와 여자 모두 촉촉한 정도가 높은 것으로 응답함

- 성별간의 통계적으로 촉촉한 정도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 2.757,  $p>0.05$ )

. 특히 남자의 경우 매우 촉촉하다는 응답이 8명으로 여자의 6명보다 높게 나타남

<성별에 따른 시식 떡의 촉촉한 정도에 대한 교차분석 결과>

구분		촉촉한 정도				합계
		대 체 로 촉촉하지않음	보통	대 체 로 촉촉함	매우 촉촉함	
성별	남자	4명	17명	23명	8명	52명
		3.3%	14.0%	19.0%	6.6%	43.0%
	여자	10명	19명	34명	6명	69명
		8.3%	15.7%	28.1%	5.0%	57.0%
합계		14명	36명	57명	14명	121명
		11.6%	29.8%	47.1%	11.6%	100%
Chi-Square Tests		df		Asymp. Sig. (2-sided)		
2.757		3		0.430		

○ 성별에 따른 시식 떡의 탄력성 정도를 평가한 결과 대체적으로 남자와 여자 모두 촉촉한 정도가 높은 것으로 응답함

- 성별간의 통계적으로 탄력성 정도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 5.740,  $p>0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 탄력성에 대한 교차분석 결과>

구분		탄력성				합계
		대체로 약함	보통	대체로 강함	매우 강함	
성별	남자	1명	7명	31명	13명	52명
		0.8%	5.8%	25.6%	10.7%	43.0%
	여자	3명	21명	32명	13명	69명
		2.5%	17.4%	26.4%	10.7%	57.0%
합계		4명	28명	63명	26명	121명
		3.3%	23.1%	52.1%	21.5%	100%
Chi-Square Tests		df		Asymp. Sig. (2-sided)		
5.740		3		0.124		

○ 성별에 따른 시식 떡의 씹힘성을 평가한 결과 남자보다는 여자의 경우가 더 씹힘성이 좋다

는 응답이 51명으로 나타남. 그러나 전반적으로 씹힘성이 긍정적인 응답을 나타내고 있음

- 성별간의 통계적으로 씹힘성 정도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 5.789,  $p>0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 씹힘성에 대한 교차분석 결과>

구분		씹힘성					합계
		매우 약함	대 체 로 약함	보통	대 체 로 강함	매우 강함	
성별	남자	2명	1명	8명	26명	15명	52명
		1.7%	0.8%	6.6%	21.5%	12.4%	43.0%
	여자	0	3명	15명	39명	12명	69명
		0	2.5%	12.4%	32.2%	9.9%	57.0%
합계		2명	4명	23명	65명	27명	121명
		1.7%	3.3%	19.0%	53.7%	22.3%	100%
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)		
5.789		3			0.215		

(2) 성별에 따른 시식 떡의 선호도 평가

- 성별에 따른 시식 떡의 표면색깔 선호도를 평가한 결과 남자와 여자 모두 대체로 좋아한다는 응답이 높게 나타남
- 성별간의 통계적으로 시식 떡의 표면색깔 선호도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 2.324,  $p>0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 표면색깔 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		표면색깔 선호도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
성별	남자	1명	4명	11명	28명	8명	52명
		0.8%	3.3%	9.1%	23.1%	6.6%	43.0%
	여자	0	4명	20명	34명	11명	69명
		0	3.3%	16.5%	28.1%	9.1%	57.0%
합계		1명	8명	31명	62명	19명	121명
		0.8%	6.6%	25.6%	51.2%	15.7%	100%
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)		
2.324		3			0.676		

- 성별에 따른 시식 떡의 향 선호도를 평가한 결과 남자와 여자 모두 대체로 좋아한다는 응답이 높게 나타남
- 성별간의 통계적으로 시식 떡의 향 선호도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 1.671,  $p>0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 향의 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		향의 선호도				합계
		대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
성별	남자	1명	17명	25명	9명	52명
		0.8%	14.0%	20.7%	7.4%	43.0%
	여자	4명	20명	36명	9명	69명
		3.3%	16.5%	29.8%	7.4%	57.0%
합계		5명	37명	61명	18명	121명
		4.1%	30.6%	50.4%	14.9%	100%
Chi-Square Tests		df		Asymp. Sig. (2-sided)		
1.671		3		0.643		

- 성별에 따른 시식 떡의 맛 선호도를 평가한 결과 남자와 여자 모두 대체로 좋아한다는 응답이 높게 나타남
- 성별간의 통계적으로 시식 떡의 맛 선호도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 4.620,  $p>0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 맛의 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		맛의 선호도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
성별	남자	0	1명	14명	21명	16명	52명
		0	0.8%	11.6%	17.4%	13.2%	43.0%
	여자	1명	6명	17명	31명	14명	69명
		0.8%	5.0%	14.0%	25.6%	11.6%	57.0%
합계		1명	7명	31명	52명	30명	121명
		0.8%	5.8%	25.6%	43.0%	24.8%	100%
Chi-Square Tests		df		Asymp. Sig. (2-sided)			
4.620		4		0.328			

- 성별에 따른 시식 떡의 조직감 선호도를 평가한 결과 남자보다는 여자의 경우가 더 높은 조직감에 대한 선호현상을 보이고 있는 것으로 나타남
- 성별간의 통계적으로 시식 떡의 조직감 선호도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 7.418,  $p>0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 조직감 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		조직감 선호도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
성별	남자	1명	1명	9명	27명	14명	52명
		0.8%	0.8%	7.4%	22.3%	11.6%	43.0%
	여자	0	7명	17명	35명	10명	69명
		0	5.8%	14.0%	28.9%	8.3%	57.0%
합계		1명	8명	26명	62명	24명	121명
		0.8%	6.6%	21.5%	51.2%	19.8%	100%
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)		
7.418		4			0.115		

- 성별에 따른 시식 떡의 외관 선호도를 평가한 결과 남자보다는 여자의 경우가 더 높은 외관에 대한 선호현상을 보이고 있는 것으로 나타남
- 성별간의 통계적으로 시식 떡의 외관 선호도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 3.155,  $p>0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 외관 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		떡의 외관 선호도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
성별	남자	1명	1명	15명	24명	11명	52명
		0.8%	0.8%	12.4%	19.8%	9.1%	43.0%
	여자	2명	4명	12명	36명	15명	69명
		1.7%	3.3%	9.9%	29.8%	12.4%	57.0%
합계		3명	5명	27명	60명	26명	121명
		2.5%	4.1%	22.3%	49.6%	21.5%	100%
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)		
3.155		4			0.532		



- 성별에 따른 시식 떡의 전반적 선호도를 평가한 결과 남자와 여자 모두 전반적으로 긍정적인 높은 선호현상을 보이고 있는 것으로 나타남
- 성별간의 통계적으로 시식 떡의 전반적 선호도에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 5.355,  $p > 0.05$ )

<성별에 따른 시식 떡의 전반적 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		전반적 선호도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
성별	남자	1명	2명	11명	22명	16명	52명
		0.8%	1.7%	9.1%	18.2%	13.2%	43.0%
	여자	0	3명	19명	36명	11명	69명
		0	2.5%	15.7%	29.8%	9.1%	57.0%
합계		1명	5명	30명	58명	27명	121명
		0.8%	4.1%	24.8%	47.9%	22.3%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
5.355			4		0.252		

(3) 성별에 따른 시식 떡의 위생 및 새로움 정도의 평가

- 성별에 따른 시식 떡의 위생을 평가한 결과 남자보다는 여자의 경우가 더 높은 위생에 대한 청결성이 높다고 인식하고 있음

<성별에 따른 시식 떡의 위생에 대한 교차분석 결과>

합계		시식 떡 위생에 대한 생각정도				합계	
		대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음		
성별	남자	2명	7명	20명	23명	52명	
		1.7%	5.8%	16.5%	19.0%	43.0%	
	여자	1명	9명	25명	34명	69명	
		0.8%	7.4%	20.7%	28.1%	57.0%	
합계		3명	16명	45명	57명	121명	
		2.5%	13.2%	37.2%	47.1%	100%	
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
0.890			3		0.827		

- 이는 중국 소비자들의 자국생산 음식에 대한 불신이 높다는 것을 알 수 있으며, 위생과 청결에 대한 인식이 높아지고 있음을 알 수 있음

- 성별간의 통계적으로 시식 떡의 위생에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 0.890, p>0.05)
- 성별에 따른 시식 떡의 새로움 정도를 인식하는지에 대한 항목을 분석한 결과 남자보다는 여자의 경우가 더 높게 새롭다고 인식하고 있음
- 성별간의 통계적으로 시식 떡의 위생에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음(Chi-Square Tests 4.952, p>0.05)

<성별에 따른 시식 떡의 새로움 정도에 대한 교차분석 결과>

구분		시식 떡 새롭다고 느낀 정도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
성별	남자	2명	1명	4명	28명	17명	52명
		1.7%	0.8%	3.3%	23.1%	14.0%	43.0%
성별	여자	2명	0	14명	32명	21명	69명
		1.7%	0.0	11.6%	26.4%	17.4%	57.0%
합계		4명	1명	18명	60명	38명	121명
		3.3%	0.8%	14.9%	49.6%	31.4%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
4.952			4		0.292		

(4) 성별에 따른 구매의향

- 성별에 따른 시식 떡의 향후 구매의향을 분석한 결과 남자보다는 여자의 경우가 더 높은 구매의향을 나타냄

<성별에 따른 시식 떡의 향후 구매의향에 대한 교차분석 결과>

구분		향후 한국 떡 구매 의향				합계	
		전혀 구매할 의향없음	대체로 구매할 의향없음	보통	대체로 구매할 의향있음		꼭 구매할 의향있음
성별	남자	2명	1명	17명	23명	9명	52명
		1.7%	0.8%	14.0%	19.0%	7.4%	43.0%
성별	여자	7명	2명	18명	31명	11명	69명
		5.8%	1.7%	14.9%	25.6%	9.1%	57.0%
합계		9명	3명	35명	54명	20명	121명
		7.4%	2.5%	28.9%	44.6%	16.5%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
2.179			4		0.703		

- 향후 중국 진출 시 주요 구매 타겟 군을 여성을 대상으로 한 마케팅전략과 시장세분화에 대한 필요성이 있음을 나타냄

- 성별간의 통계적으로 시식 떡의 향후 구매의향에 대한 유의한 차이는 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 2.179,  $p>0.05$ )

### 3) 연령에 따른 시식 떡의 관능평가 및 선호, 구매의향에 대한 교차분석결과

#### (1) 연령에 따른 시식 떡의 관능항목 평가

- 연령에 따른 시식 떡의 부드러운 정도를 인식하는지에 대한 항목을 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 대체로 부드럽다고 응답한 것으로 나타남
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 부드러운 정도에 대한 유의한 차이가 나타남(Chi-Square Tests 23.442,  $p<0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 부드러운 정도에 대한 교차분석 결과>

구분		부드러운 정도					합계
		전부 부드럽지 않음	혀 대 체 로 부드럽지 않음	보통	대 체 로 부드러움	매 부드러움	
연령	20대	2명	2명	18명	14명	2명	38명
		1.7%	1.7%	14.9%	11.6%	1.7%	31.4%
	30대	0	1명	12명	30명	15명	58명
		0	0.8%	9.9%	24.8%	12.4%	47.9%
	40대	0	1명	3명	8명	1명	13명
		0	0.8%	2.5%	6.6%	0.8%	10.7%
50대이상	0	0	1명	8명	3명	12명	
	0	0	0.8%	6.6%	2.5%	9.9%	
합계		2명	4명	34명	60명	21명	121명
		1.7%	3.3%	28.1%	49.6%	17.4%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
23.442			12		0.024		

- 연령에 따른 시식 떡의 향에 대한 인지정도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 대체로 향이 강하다는 응답이 높게 나타남
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 향에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음(Chi-Square Tests 10.840,  $p>0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 향에 대한 교차분석 결과>

구분		향					합계
		매우 약함	대체로 약함	보통	대체로 강함	매우 강함	
연령	20대	0	5명	16명	14명	3명	38명
		0	4.1%	13.2%	11.6%	2.5%	31.4%
	30대	1명	6명	19명	24명	8명	58명
		0.8%	5.0%	15.7%	19.8%	6.6%	47.9%
	40대	1명	2명	3명	6명	1명	13명
		0.8%	1.7%	2.5%	5.0%	0.8%	10.7%
50대이상	0	1명	1명	8명	2명	12명	
	0	0.8%	0.8%	6.6%	1.7%	9.9%	
합계		2명	14명	39명	52명	14명	121명
		1.7%	11.6%	32.2%	43.0%	11.6%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
10.840			12		0.542		

- 연령에 따른 시식 떡의 단맛에 대한 인지정도를 분석한 결과 보통과 대체적으로 달다는 응답이 많은 분포를 나타냄
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 단맛에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음(Chi-Square Tests 19.278,  $p>0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 단맛 정도에 대한 교차분석 결과>

구분		단맛					합계
		전달지않음	허달지않음	대체로 보통	대체로 단맛	매우 단맛	
연령	20대	2명	1명	25명	8명	2명	38명
		1.7%	0.8%	20.7%	6.6%	1.7%	31.4%
	30대	3명	4명	27명	19명	5명	58명
		2.5%	3.3%	22.3%	15.7%	4.1%	47.9%
	40대	1명	3명	4명	5명	0	13명
		0.8%	2.5%	3.3%	4.1%	0.0	10.7%
50대이상	0	0	3명	7명	2명	12명	
	0	0	2.5%	5.8%	1.7%	9.9%	
합계		6명	8명	59명	39명	9명	121명
		5.0%	6.6%	48.8%	32.2%	7.4%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
19.278			12		0.082		

- 연령에 따른 시식 떡의 촉촉한 정도에 대한 인지정도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 보통 이상으로 촉촉하다는 응답을 보임
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 촉촉한 정도에 대한 유의한 차이가 나타남(Chi-Square Tests 16.356,  $p<0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 촉촉한 정도에 대한 교차분석 결과>

구분		촉촉한 정도				합계
		대체로 촉촉하지 않음	보통	대체로 촉촉함	매우 촉촉함	
연령	20대	4	18	14	2	38
		3.31	14.88	11.57	1.65	31.40
	30대	8	13	27	10	58
		6.6	10.7	22.3	8.3	47.9
	40대	2	4	7	0	13
		1.7	3.3	5.8	0	10.7
	50대이상	0	1	9	2	12
		0	0.8	7.4	1.7	9.9
합계		14	36	57	14	121
		11.6	29.8	47.1	11.6	100
Chi-Square Tests		df		Asymp. Sig. (2-sided)		
16.356		9		0.059		

- 연령에 따른 시식 떡의 탄력성 정도에 대한 인지정도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 보통이상으로 탄력성이 있는 것으로 응답함
- 특히 30대에 높은 탄력성 정도에 대한 인지를 보이고 있음
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 탄력성 정도에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 15.290, p>0.05)

<연령에 따른 시식 떡의 탄력성 정도에 대한 교차분석 결과>

구분		탄력성				합계
		대체로 약함	보통	대체로 강함	매우 강함	
연령	20대	3명	14명	15명	6명	38명
		2.5%	11.6%	12.4%	5.0%	31.4%
	30대	1명	12명	29명	16명	58명
		0.8%	9.9%	24.0%	13.2	47.9%
	40대	0	1명	10명	2명	13명
		0	0.8%	8.3%	1.7	10.7%
	50대이상	0	1명	9명	2명	12명
		0	0.8%	7.4%	1.7	9.9
합계		4명	28명	63명	26명	121명
		3.3%	23.1%	52.1%	21.5%	100
Chi-Square Tests		df		Asymp. Sig. (2-sided)		
15.290		9		0.083		

- 연령에 따른 시식 떡의 씹힘성 정도에 대한 인지정도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 보통이상으로 씹히는 질감이 있음을 보임

<연령에 따른 시식 떡의 씹힘성 정도에 대한 교차분석 결과>

구분		씹힘성					합계
		매우 약함	대체로 약함	보통	대체로 강함	매우 강함	
연령	20대	0	2명	12명	17명	7명	38명
		0	1.7%	9.9%	14.0%	5.8%	31.4%
	30대	2명	1명	9명	33명	13명	58명
		1.7%	0.8%	7.4%	27.3%	10.7%	47.9%
	40대	0	1명	1명	7명	4명	13명
		0	0.8%	0.8%	5.8%	3.3%	10.7%
50대이상	0	0	1명	8명	3명	12명	
	0	0	0.8%	6.6%	2.5%	9.9%	
합계		2명	4명	23명	65명	27명	121명
		1.7%	3.3%	19.0%	53.7%	22.3%	100%
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)		
11.099		12			0.520		

- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 씹힘성 정도에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 11.099,  $p > 0.05$ )

(2) 연령에 따른 시식 떡의 선호도 평가

- 연령에 따른 시식 떡의 표면색깔 선호도에 대한 인지정도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 표면색깔 선호도가 높은 응답을 보임

<연령에 따른 시식 떡의 표면색깔 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		표면색깔 선호도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
연령	20대	0	1명	17명	15명	5명	38명
		0	0.8%	14.0%	12.4%	4.1%	31.4%
	30대	1명	5명	10명	33명	9명	58명
		0.8%	4.1%	8.3%	27.3%	7.4%	47.9%
	40대	0	2명	3명	8명	0	13명
		0	1.7%	2.5%	6.6%	0.0	10.7%
50대이상	0	0	1명	6명	5명	12명	
	0	0	0.8%	5.0%	4.1%	9.9%	
합계		1명	8명	31명	62명	19명	121명
		0.8%	6.6%	25.6%	51.2%	15.7%	100%
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)		
22.112		12			0.036		

- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 표면색깔 선호도에 대한 유의한 차이가 나타남(Chi-Square Tests 22.112,  $p < 0.05$ )
- 연령에 따른 시식 떡의 향에 대한 선호도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 대체적으로 좋다는 응답이 높게 나타났으나 특히 30대에서는 보통이 20명으로 나타나 이들의 향에 대한 선호도가 다소 다른 연령층과 다소 차이가 있음을 알 수 있음, 이에 따라 제품의 시장세분화의 필요성이 있음

<연령에 따른 시식 떡의 향 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		향의 선호도				합계
		대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
연령	20대	3명	11명	18명	6명	38명
		2.5%	9.1%	14.9%	5.0%	31.4%
	30대	1명	20명	29명	8명	58명
		0.8%	16.5%	24.0%	6.6%	47.9%
	40대	1명	5명	6명	1명	13명
		0.8%	4.1%	5.0%	0.8%	10.7%
	50대이상	0	1명	8명	3명	12명
		0	0.8%	6.6%	2.5%	9.9%
합계		5명	37명	61명	18명	121명
		4.1%	30.6%	50.4%	14.9%	100%
Chi-Square Tests		df		Asymp. Sig. (2-sided)		
7.630		9		0.571		

- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 향 선호도에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 7.630,  $p > 0.05$ )
- 연령에 따른 시식 떡의 맛 선호도에 대한 인지정도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 맛 선호도가 높은 응답을 보임
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 맛 선호도에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 11.303,  $p > 0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 맛 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		맛의 선호도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
연령	20대	1명	4명	12명	16명	5명	38명
		0.8%	3.3%	9.9%	13.2%	4.1%	31.4 %
	30대	0	2명	14명	25명	17명	58명
		0	1.7%	11.6%	20.7%	14.0%	47.9%
	40대	0	1명	4명	4명	4명	13명
		0	0.8%	3.3%	3.3%	3.3%	10.7%
50대이상	0	0	1명	7명	4명	12명	
	0	0	0.8%	5.8%	3.3%	9.9%	
합계		1명	7명	31명	52명	30명	121명
		0.8%	5.8%	25.6%	43.0%	24.8%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
11.303			12		0.503		

- 연령에 따른 시식 떡의 조직감 선호도에 대한 인지정도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 조직감에 대한 선호도가 높은 응답을 보임
- 특히 20대에서 보통이라는 응답이 14명으로 다른 연령층에 비해 다소 높게 나타나 연령에 따른 식감의 차이를 두는 것도 제품개발 시 고려되어야 할 것임
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 조직감에 대한 선호도에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 14.858,  $p > 0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 조직감 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		조직감 선호도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
연령	20대	0	3명	14명	14명	7명	38명
		0	2.5%	11.6%	11.6%	5.8%	31.4%
	30대	1명	4명	7명	36명	10명	58명
		0.8%	3.3%	5.8%	29.8%	8.3%	47.9%
	40대	0	1명	4명	5명	3명	13명
		0	0.8%	3.3%	4.1%	2.5%	10.7%
50대이상	0	0	1명	7명	4명	12명	
	0	0	0.8%	5.8%	3.3%	9.9%	
합계		1명	8명	26명	62명	24명	121명
		0.8%	6.6%	21.5%	51.2%	19.8%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
14.858			12		0.249		



- 연령에 따른 시식 떡의 외관 선호도에 대한 인지정도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 외관 선호도가 높은 응답을 보임, 반면에 보통이라는 응답도 20대와 30대에서 상당부분 높게 나타나 차별적인 제품의 외관형태를 개발해야 할 것으로 판단됨
- 다만 이번 시식 떡제품의 경우 질소포장의 한계로 인해 샘플제품으로 만들어진 관계로 이 같은 결과의 한계점이 있다는 점은 고려되어야 함
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 외관 선호도에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 10.854,  $p>0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 외관에 대한 교차분석 결과>

구분		떡의 외관					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
연령	20대	1명	1명	11명	20명	5명	38명
		0.8%	0.8%	9.1%	16.5%	4.1%	31.4%
	30대	1명	3명	13명	27명	14명	58명
		0.8%	2.5%	10.7%	22.3%	11.6%	47.9
	40대	1명	1명	3명	6명	2명	13명
		0.8%	0.8%	2.5%	5.0%	1.7%	10.7%
	50대이상	0	0	0	7명	5명	12명
		0	0	0	5.8%	4.1%	9.9%
합계		3명	5명	27명	60명	26명	121명
		2.5%	4.1%	22.3%	49.6%	21.5%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
10.854			12		0.541		

- 연령에 따른 시식 떡의 전반적 선호도를 분석한 결과 전반적으로 전 연령층에서 전반적인 선호도가 높은 응답을 보임
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 전반적인 선호도에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음 (Chi-Square Tests 15.892,  $p>0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 전반적 선호도에 대한 교차분석 결과>

구분		전반적 선호도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
연령	20대	0	1명	13명	19명	5명	38명
		0	0.8	10.7	15.7	4.1	31.4
	30대	0	3명	13명	26명	16명	58명
		0	2.5	10.7	21.5	13.2	47.9
	40대	1명	1명	3명	6명	2명	13명
		0.8%	0.8%	2.5%	5.0%	1.7%	10.7%
	50대이상	0	0	1명	7명	4명	12명
		0	0	0.8%	5.8%	3.3%	9.9%
합계		1명	5명	30명	58명	27명	121명
		0.8%	4.1%	24.8%	47.9%	22.3%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
15.892			12		0.196		

(3) 연령에 따른 시식 떡의 위생 및 새로움 정도의 평가

- 연령에 따른 시식 떡의 위생정도를 분석한 결과 전 연령층에서 비교적 위생정도를 높게 인식하고 있음을 나타냄
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 위생정도에 대한 유의한 차이가 나타남(Chi-Square Tests 16.834,  $p < 0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 위생정도에 대한 교차분석 결과>

구분		시식떡 위생정도				합계
		대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
연령	20대	1명	9명	10명	18명	38명
		0.8%	7.4%	8.3%	14.9%	31.4%
	30대	2명	3명	22명	31명	58명
		1.7	2.5%	18.2%	25.6%	47.9%
	40대	0	3명	4명	6명	13명
		0	2.5%	3.3%	5.0%	10.7%
	50대 이상	0	1명	9명	2명	12명
		0	0.8%	7.4%	1.7%	9.9%
합계		3명	16명	45명	57명	121명
		2.5%	13.2%	37.2%	47.1%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)	
16.834			9		0.051	

- 연령에 따른 시식 떡의 새로움에 대한 인식을 분석한 결과 비교적 전 연령층에서 시식 떡 제품을 새롭게 인식하고 있는 것으로 나타남
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 새로움에 대한 유의한 차이가 나타나지 않음(Chi-Square Tests 16.365,  $p>0.05$ )

<연령에 따른 시식 떡의 새로움에 대한 교차분석 결과>

구분		시식 떡이 새롭다고 생각한 정도					합계
		매우 나쁨	대체로 나쁨	보통	대체로 좋음	매우 좋음	
연령	20대	1명	1명	11명	15명	10명	38명
		0.8%	0.8%	9.1%	12.4%	8.3%	31.4%
	30대	2명	0	4명	29명	23명	58명
		1.7%	0	3.3%	24.0%	19.0%	47.9%
	40대	1명	0	2명	7명	3명	13명
		0.8%	0	1.7%	5.8%	2.5%	10.7%
50대이상	0	0	1명	9명	2명	12명	
	0	0	0.8%	7.4%	1.7%	9.9%	
합계		4명	1명	18명	60명	38명	121명
		3.3%	0.8%	14.9%	49.6%	31.4%	100%
Chi-Square Tests		df			Asymp. Sig. (2-sided)		
16.365		12			1.960		

(4) 연령에 따른 구매의향

- 연령에 따른 시식 떡의 향후 구매의향을 분석한 결과 전반적으로 20대에서는 보통이라는 응답이 가장 높게 나타났으며, 30대에서는 향후 구매할 의향이 대체적으로 높다는 응답이 가장 높게 나타남
- 비교적 보통이상의 구매의향정도를 보이고 있어 긍정적 응답을 나타냄
- 연령 간의 통계적으로 시식 떡의 향후 구매의향에 대한 유의한 차이가 나타남(Chi-Square Tests 26.761,  $p<0.01$ )

<연령에 따른 시식 떡의 향후 구매의향에 대한 교차분석 결과>

구분		구매 의향정도					합계
		전혀 구매할 의향없음	대체로 구매할 의향없음	보통	대체로 구매할 의향있음	꼭 구매할 의향있음	
연령	20대	1명	2명	17명	10명	8명	38명
		0.8%	1.7%	14.0%	8.3%	6.6%	31.4%
	30대	6명	0	16명	25명	11명	58명
		5.0%	0	13.2%	20.7%	9.1%	47.9%
	40대	1명	1명	2명	8명	1명	13명
		0.8%	0.8%	1.7%	6.6%	0.8%	10.7%
50대이 상	1명	0	0	11명	0	12명	
	0.8%	0	0	9.1%	0	9.9%	
합계		9명	3명	35명	54명	20명	121명
		7.4%	2.5%	28.9%	44.6%	16.5%	100%
Chi-Square Tests			df		Asymp. Sig. (2-sided)		
26.761			12		0.008		

바. 조사결과의 시사점

- 현재 중국 소비자의 한국식품에 대한 선호현상은 높으나 현지 시장에서의 떡산업은 주로 교민들을 대상으로 한 떡시장이 주류를 이루고 있어 떡산업의 한계가 있음
- 특히 중국현지에서의 유통업체 및 중국 소비자 대상의 조사를 심층 분석한 결과, 중국 소비자의 건강에 대한 관심은 고조되고 있으나 편리성을 강조하고 있어 “아이시루”와 같이 과정이 복잡한 식품은 꺼리고 있어 중국 식생활문화에 대한 이해가 필요함
- 따라서 현지점에서의 중국시장 진출은 적절치 않다고 판단되며 향후 중국 진출 시에 필요한 전략적 시사점을 다음과 같이 적시함

- 중국 내수 식품시장에서 우리 식품은 프리미엄 식품시장을 장악하고 있는 글로벌 식품기업들과 현지인의 입맛과 가격 경쟁력을 내세운 중국 식품기업들 사이에 둘러싸여 있음
- 이러한 환경에서 개발된 떡제품이 경쟁우위를 점하기는 쉽지 않지만, 중국 소비자들이 식품 구매 시 안전을 최우선적으로 고려하는 식품 소비경향은 일부 세부 품목별로 개발된 떡제품이 경쟁력을 가질 수 있는 가장 중요한 요인으로 평가되고 있어 이 부분에 대한 고려가 필요함

- 향후 진출시 중국 소득수준 향상에 따라 다양한 소비트렌드 변화가 예상되는 만큼, 이를 활용한 새로운 전략 마련이 필요
  - 소득수준·성별 및 연령대 별 니즈를 파악하여 타깃시장에 맞는 제품·서비스에 대한 새로운 전략 모색 필요
    - 중국 부유층 소비자들의 개성추구 및 럭셔리 제품에 대한 기호변화에 맞는 브랜드 구축 전략 수립이 필요
    - 신세대 여성 소비자의 소비과워 증가에 따라 화장품, 액세서리 등 여성을 타깃으로 한 시장확대 전략 모색
  - 제품·서비스에 대해 신속하고 접근이 용이한 온라인 유통채널 개척 필요
    - 중국은 최근 몇 년 사이 인터넷 사용자수가 늘어나고 온라인 쇼핑을 즐기는 소비자가 증가하고 있으므로, 이들을 겨냥한 새로운 온라인·모바일 유통채널 개발 전략이 필요
  - 웰빙에 대한 중국 소비자의 인식변화에 맞는 차별화·고품질 전략 필요
    - 건강·친환경 등 웰빙에 대한 중국 소비자들의 기대 증가를 겨냥한 차별화된 고품질 웰빙 시장 공략 모색
- 대도시보다 중형도시를 마케팅 타깃으로 삼는 것도 중요한 요소라고 판단됨. 이는 해외 브랜드에 익숙한 대도시급 도시(베이징, 상하이, 광저우 등)보다는 한국 및 관련 제품 이미지가 훨씬 우호적인 중형도시급(다롄, 칭다오, 톈진 등) 도시에서 마케팅 역량을 집중할 것을 제안함
  - 특히 시안(西安)이나 안칭(鹽城)과 같은 한국 제조업 기반이 잘 정착된 중형도시급의 소비시장에서 한국 소비재의 진입이 여타 도시들에 비해 수월할 것으로 내다봄
- 최근의 우리 식품에 대한 인기가 중의 시장 환경 특수성(예를 들어, 식품안전문제 등)에 따른 반짝 특수가 아닌 지속성을 갖기 위해서는 현안 해결과 같은 단기적인 대응뿐 아니라 중국 내수시장 공략에 대한 종합적인 전략 수립이 필요
  - 종합적인 내수시장 진출 전략을 마련하기 위해서는 기본적으로 개발된 떡제품의 전략적 목표(소비자층, 지역 등)를 선정하고 분석하는 것이 필요하지만, 이에 선행하여 중국의 정책 및 거시환경 변화에 대한 시나리오별 대응도 반드시 다루어져야 할 것으로 판단됨

<관능조사지(중국어)>

## 中國消費者對韓國年糕的喜好度調查

這份問卷是調查您對韓國年糕的意見. 請您在最接近您想法的號碼上用 ○選擇.

<input type="checkbox"/> 性別：		<input type="checkbox"/> 年齡：	
<input type="checkbox"/> 居住地區：		<input type="checkbox"/> 職業：	

1. 下面請您品嚐一下我們提供的韓國年糕以後, 然後請您在最接近您想法的號碼上用 ○選擇.

1. 柔嫩的程度

	非常硬		一般		非常嫩
	1	2	3	4	5

區分	非常弱	薄弱	一般	強	非常強
2. 香味	①	②	③	④	⑤
3. 甜度	①	②	③	④	⑤
4. 潤度(水分)	①	②	③	④	⑤
5. 彈性	①	②	③	④	⑤
6. 筋道感	①	②	③	④	⑤
7. 表面顏色的喜好程度	①	②	③	④	⑤
8. 清香的喜好程度	①	②	③	④	⑤
9. 口味的喜好程度	①	②	③	④	⑤
10. 質感的喜好程度	①	②	③	④	⑤
11. 年糕的外觀	①	②	③	④	⑤
12. 總的來說您的的喜好程度	①	②	③	④	⑤

2. 與市場上的年糕相比, 您對今天所品嚐的韓國年糕的評價是?( )

- ① 市場上的年糕更好      ② 兩個年糕是一樣的      ③ 今天品嚐的年糕更好

3. 今天品嚐的年糕：

看起來很不衛生		一般		看起來很衛生
1	2	3	4	5

完全沒有新意		一般		完全有新意
1	2	3	4	5

4. 您來過韓國嗎?

- ① 有(如果有一共幾次: \_\_\_\_\_)      ② 沒有( )

5. 在周圍有賣今天您所品嚐的韓國年糕, 您的購買意圖是?( )

完全不會購買		一般		一定會購買
1	2	3	4	5

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

연차	연구수행목표	추진내용 요약	달성도(%)
1차년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 떡산업의 전반적인 현황분석 및 문제점 도출 분석지원</li> <li>- 관련 전문가 네트워킹</li> <li>- 기능성 떡 시제품 개발을 위한 TFT팀 구성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. 떡산업 관련 국내외 동향 분석</li> <li>. 지역 떡산업의 현안 분석</li> <li>. 사업 추진 전략방향 수립(사업단, 기업체, 외부협력기관 등)</li> <li>. 기업체 협의회 구성 및 운영, 정례화</li> <li>. 전문가 초청 간담회 개최 지원</li> <li>. 선도기업과의 기술 및 정보제공 MOU체결</li> <li>시제품의 소비자 반응 평가 및 적합성 평가(설문조사, FGI)</li> <li>. 기능성 떡제품에 대한 시장성 평가 (제품이미지, 시장능력과의 적합성, 가격 경쟁력, 상업화 기간, 생산능력의 적합성 생산의 용이성, 노동력의 가용성 등)</li> <li>. 세분시장 개발 및 적합한 떡제품 개발 지원</li> </ul>	100%
2차년도	개발된 기능성 떡 신제품의 소비자 선호도 조사	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 개발 제품에 대한 소비자설문조사 실시</li> <li>. 대상 : 소비자 138명 조사실시</li> <li>. 기간 : 2013년 8월5일-9일</li> <li>. 조사방법</li> <li>: 일반소비자 대상 개별방문 조사</li> <li>개발된 떡제품 시식후 설문조사 응답</li> <li>. 조사내용</li> <li>인구통계적특성, 떡제품 구매에 대한 일반적 현황, 기존 떡제품과 비교한 맛, 모양, 색깔 등, 향후 구매의도 등</li> <li>- 개발 신제품 시식회</li> <li>. 실시일자 : 7월 26일</li> <li>. 실시 장소 : ○○대학교 본관</li> <li>. 제품 군</li> <li>: 솔잎분말 첨가 증편</li> <li>고구마라이스케이크 등 5종</li> </ul>	100%
	개발된 기능성 떡제품의 국내 유통망 구축 지원	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기존제품과의 차별화된 브랜드전략 제안</li> <li>. 개발 신제품과 기존제품과의 브랜드 차별화 필요제시</li> <li>. 신제품에 적합한 컨셉개발과 목표타겟, 포지셔닝 등 시장세분화 전략필요 제안</li> </ul>	100%
3차년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 개발 시제품의 소비자 반응 평가</li> <li>○ 개발 된 기능성 떡제품의 세분 시장 개발을 위한 소비자 조사</li> <li>○ 해외 시장조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 개발된 신제품 소비자 반응평가 조사</li> <li>- 조사결과를 토대로 한 세분시장 개발</li> <li>- 외국인 대상 기능성떡 제품 선호도 조사</li> </ul>	100%

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### 1절 실용화 및 산업화 계획(기술실시 등)

- 기존의 프랜차이즈 유통방식에 의한 매출증대 증대 목표를 수정하여 다양한 다중 채널 유통방식의 채용제안
  
- . 기존의 80여개에 이르는 프랜차이즈 가맹점수를 축소하여 대규모화 하고 직영점 방식을 확대 (시장 경쟁가열 및 소비자 카페 선호 현상 대응)
- . 다양한 유통업태인 마트, 편의점, 백화점, 홈쇼핑 등으로 다변화, 고급유통업태인 백화점 등은 기능성 제품 매출에 집중
- . 새로운 친환경, 기능성 신시장 창출로서 어린이 학생 급식시장 확대 및 국방부 생일케익 시장개발이 전략적으로 이루어져야함
  
- 해외 수출 가속화 및 기능성 제품 비중 확대 강화
- . 일본, 미국, 중국, 호주 등 전방위 수출 네트워크 구축 및 수출선적 유통 루트 개발
- . 해외시장, 특히 일본시장에서의 기능성 떡 제품 선호에 따른 기능성제품 시장개발 가속
- . 해외의 다양한 시장특성에 맞는 떡종류 및 유통방식을 개발
  
- 최근 소비자 선호도, 취향에 맞는 제품 및 유통 방식을 개발해서 경쟁제품과 차별화 필요
- . 고객의 편의성 중시에 따른 편의점 체인과의 계약매출과 순간(10, 30초)짜는 방식의 제품개발 (웰찌 찜떡)
- . 소비자 선호도에 크게 영향을 미치는 용기 및 포장개발을 위한 디자인 팀 구축을 통해 고급화 신제품 개발
- . 떡류 연계상품 개발을 위한 세트상품개발 및 전통 퓨전음료(동치미 수 등) 개발
  
- 1. 브랜드의 고급화 전략
- 1) 단계적 마케팅 전략을 통해 브랜드의 고급화 확립



마케팅 구분		목적	내용
1단계	Pre Marketing	시장조사 및 브랜드 구축작업	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 제품 &amp; 회사 홍보, 광고</li> <li>• 판로확보 (국내 &amp; 해외)</li> <li>• 브랜드 &amp; 제품 스토리 개발</li> <li>• 기능성 개별인증 확보</li> <li>• 관련 논문 발표 체험</li> <li>• 행사 프로모션</li> </ul>
2단계	Main Marketing	국내 및 해외시장 진출	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 식품 &amp; 건강 박람회 참가</li> <li>• 제품 세미나 개최</li> <li>• 유통망 통한 샘플링 프로모션</li> <li>• 브랜드 &amp; 제품 홍보, 광고</li> </ul>
3단계	Post Marketing	사업 안정화 및 제품 개선	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 소비자 Feed Back Monitoring</li> <li>• 소비자 만족도 설문조사</li> <li>• 지속적인 제품개선 작업</li> <li>• 지속적인 원가 개선 작업</li> <li>• 안정적인 수익구조 확보 (유통사 우대)</li> <li>• 신규 제품 개발환경 확보</li> </ul>

## 2. 새로운 제품의 시장 진입 및 마케팅 전략

년도	구분	추진계획
2015	브랜드 구축	제품 인지도 확보 및 브랜드 구축작업 2014년부터 홍보 시작 (개발 진행 사항 및 시장진입일정 등)
	전시회 참가	국내외 전시회 참가 - 국내 : 농수산물박람회, 국제건강산업박람회 등 - 국외 : VITAFOODS, FOODEX, FOOD ASIA
2016	공급·유통 채널 확보를 통한 판로 개척	중소기업청의 해외 마케팅 지원사업, 해외규격 인증사업 등을 활용한 판로 확보 당사 보유의 해외 네트워크를 활용한 해외 파트너 확보
	판매 전략	천연 착즙액/발효액 제품이라는 점을 강조하여 당사의 강점을 부각한 판매전략 기술 (품질의 우수성) 제품의 과학적 DATA를 확보하여 동일 발효제품 대비 경쟁력 확보
2017년 이후	2015년 활동 계속 연계	전문세미나 개최를 통한 제품 우수성 제시 신문 및 방송을 통한 홍보 활동 진행
	On/Off 홍보 활동	

## 제 6 장   참고문헌

RDA 인테러뱅크(2011), “정성으로 빚어 넉넉함으로 나누는 우리 떡 이야기,” 농촌진흥청, 32호.

## 4-2세부과제

### 요 약 문

I. 제 목 : 기능성 떡제품의 활성화를 위한 저장용기 및 포장 디자인개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

1. 연구개발 목적 : 저장용기 디자인화를 위한 기업체 및 소비자 조사를 통해 다양한 저장용기와 포장디자인 개발

2. 연구 필요성

1) 제품의 품질을 유지, 향상시키기 위한 디자인 패키징 기술의 필요성이 증가되고 있으며 소비자를 배려한 패키지와 연결성의 중요성이 증대 됨. 또한 패키징 기술을 장벽이나 환경규제 수단으로 활용할 가능성이 높아짐.

2) 실제 소비자의 제품구매 선택 요인중 디자인(52%)이 가장 높은 요인으로 확인됨.

3) 디자인산업은 다른 산업에 비해 투자규모(비용 : 1/20, 기간 : 1/4)대비 회수기간이 짧고 매출증대(4배) 효과가 큰 것으로 나타남.

4) 대기업들은 패키지의 중요성을 인식하고 투자하여 성공하지만 중소기업은 포장디자인의 인식이 매우 낮은 편이나 일부 중소기업에서는 패키지의 중요성을 인식하고 투자하여 높은 성과를 나타남.

5) 패키지 디자인 제품개발을 지원할 필요가 있으며, 제휴나 공동개발에 있어서 체계적인 협력 프로세스를 제시하고 엄격한 평가가 이루어져 효율성과 효과성을 높여야 함.

6) 본 연구개발은 패키지 디자인의 활용을 높이기 위해 다양한 측면의 사전조사, 선호도 조사, 정합성 조사를 병행하여 패키지 디자인을 통한 경쟁력을 확보해야함.

(1) 전통식품의 산업화를 통해 새로운 시장 확보 및 영세기업의 기업화 유도가 필요.

(2) 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 기능성 떡제품 개발로 다양한 연령층에 적합한 떡산업 개발이 필요함

(3) 전통식품인 떡의 소비 촉진을 위해 전국적 브랜드화, 인지도 향상 및 해외진출을 통한 국제화가 필요

(4) 떡 산업의 활성화로 인한 고용창출을 통해 지역경제의 활성화 필요

III. 연구개발 내용 및 범위(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

1. 저장용기 개발 및 디자인화 준비

가. 최적의 저장용기 개발을 위한 기업체 및 소비자 조사

나. 전문가 세미나 개최를 통한 자문그룹 네트워크 구성

다. 해외 우수사례 조사를 통한 벤치마킹

2. 저장용기 유형별로 UD 7원칙과 3부칙에 기초한 기본형 디자인 초안 개발

가. 소재별 저장용기 개발

나. 다양한 저장용기 개발을 통한 떡의 노화방지 실험

다. 디자인 자문그룹 구성을 통한 저장용기

3. 포장디자인 및 제품로고 개발

가. 해외 우수사례 조사를 통한 벤치마케팅

나. 기능성 떡제품의 노화방지를 기반으로 한 차별화된 포장디자인 개발과 디자인 출원

다. 브랜드 차별화를 위한 제품 로고 개발

라. 개발된 포장 디자인의 현장적용을 통한 검증

1) 개발된 포장디자인 매뉴얼을 인력양성교육 및 재교육에 사용하여 보완하여 적합성 검증

IV. 연구개발결과(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

1. (주)에다손 인테리어 디자인 개발

가. ‘샵 인 카페’의 동선을 고려한 평면도 및 인테리어 디자인 개발

나. 글로벌 떡 카페 컨셉을 접목한 사인 디자인 시스템 개발

다. 매장 내부 조명 및 가구디자인 변경을 위한 인테리어 재질 및 활용 요소 개발

2. BI 및 매뉴얼 개발

가. (주)에다손 BI 기본편 및 응용편 매뉴얼 개발

나. 디자인 매뉴얼 활용을 위한 CD FILE 제작

3. (주)에다손 브랜드 디자인 개발

가. 에다손 브랜드 리뉴얼 디자인 개발

나. 신규 브랜드 적용 사례 개발

4. 용기 및 포장 디자인 개발

가. 기능성 떡 용기 가래떡 디자인 개발

나. 기능성 떡 라이스컵 케익 포장 디자인 개발

다. 기능성 떡 쌀찐빵 포장 디자인 개발

라. 음료 용기 디자인 개발

5. 수출용 세트 디자인 개발

가. 포장(지) 디자인 및 쇼핑백

나. 떡 포장 디자인 개발

다. 브랜드로고 및 브로슈어 디자인

6. 전통 떡 캐릭터, 엠블렘 및 인증마크 디자인 개발

7. 기능성 떡 패키지 및 파우치 디자인 개발

V. 연구성과 및 성과활용 계획(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

1. 전통쌀 포장디자인 개발

- 2013 광주 국제 디자인비엔날레 출품 8건

2. 쓰레기봉투 포장 디자인 개발

- 2013 광주 국제 디자인비엔날레 출품 8건

3. 디자인 등록

가. 디자인 등록 : 9건

나. 디자인 출원 : 5건

# SUMMARY

I. Title : Development of Storage Package and Wrap Design for Product Activation of Functional Korean Rice Cake

II. Purpose and need of Research & Development

1. Purpose of research & development: development of diverse storage packages and wrap designs through surveys with companies and consumers for

2. Need for research & development

- 1) Growing need for design packaging technology in order to maintain and improve product quality; increased importance of packages for consumers; and increased probabilities of using packaging technology as a barrier or environment regulation method
- 2) Design as the greatest factor for product selection among actual customers (52%)
- 3) Compared to other industries, design industry has a shorter return period over investment size (expense : 1/20, period : 1/4) and greater sales increase effect (4 times).
- 4) Although large companies understand the importance of packaging and make successful investment in packaging, whereas small-and-medium sized firms don't, some small-and-medium sized firms have realized and shown great success in packaging investment.
- 5) With the need to support the development of package design products, systematic collaboration processes should be suggested for joint venture or development and strict evaluation should be conducted for high efficiency and effectiveness.
- 6) Current research and development needs to secure competitiveness based on package design by conducting diverse studies, namely, pre-questionnaire, preference survey, compatibility test, which can increase the utility of package design.

(1) Need to secure new markets and industrialize small and poor companies through industrialization of traditional food

(2) Need to develop rice cake industry by developing functional rice cake products geared for diverse age groups with increased interested in health

(3) Need of national brandization for greater recognition of traditional rice cake to encourage the consumption along with globalization through overseas expansion

(4) Need to boost regional economy by creating jobs through activation of rice cake

industry

### III. Contents and Scope of Research & Development

1. Developing storage packages and preparing for package designing
  - . Surveys with experts, firms, and consumers to develop optimal storage packages
  - . Network formation through expert seminars
  - . Benchmarking success cases abroad
  
2. Developing preliminary design protocol based on UD 7 rules 3 sub-rules by storage package type
  - . Development of storage packages by material
  - . Testing the anti aging effect of diverse storage packages on rice cake
  - . Organization of advisory group for storage packages
  
3. Developing wrap design and product logo
  - . Benchmarking success cases abroad
  - . Development of differentiated wrap design for functional rice products based on anti-aging and application for a design patent
  - . Development of product logo for brand differentiation
  - . Testing developed wrap design through field tests
    - 1) Fitness test and improvement of the developed wrap design manuals by using it for human resources development training and retraining

### IV. Results of Research & Development

1. Development of the interior design of Yedason Ltd.
  - . Development of floor map and interior designs for 'Shop in Cafe'
  - . Development of design system incorporating the idea of global rice cake cafe
  - . Development of interior materials to change lighting and furniture design of stores
  
2. Development of BI and manual
  - . Development of Yedason BI basic and application Manual
  - . Making of CD File for the use of design manual
  
3. Design development for Yedason brand
  - . Development of renewal design for Yedason brand
  - . Case development of new brand application

4. Development of package and wrap designs
  - . Development of package design for functional long-strip rice cake
  - . Development of wrap design for functional rice cup cake
  - . Development of wrap design for functional fat bread cake
  - . Development of package design for beverage
  
5. Development of set design for export
  - . Wrapping paper and shopping bag design
  - . Development of rice cake wrap design
  - . Brand logo and brochure design
  
6. Designing characters, emblem, and certification mark for traditional rice cake
  
7. Development of package and pouch designs for functional rice cake
  
8. Three year Research Outcome
  - 1) 1st-year Research & Development
    - Goal : Support for developing scientific and functional Korean rice cake products and designing storage packages
  
    - Outcome
      - Support for analyzing general status and issues of Korean rice cake industry
        - . Analysis of current trend of Korean rice cake and related industries
        - . Analysis of current issues of regional Korean rice cake industry
        - . Establishment of strategic directions of the project (the project team, firms, external collaborating organizations, etc.)
      - Networking with experts in the field
        - . Organization and operation of collaboration committees with companies
        - . Support for meetings with experts
        - . Signing MOU with leading companies on sharing technology and information
      - Organizing a TFT team to develop sample products of functional Korean rice cake
        - . Assessment of consumer response to sample products and fitness (questionnaires, FGI)
        - . Assessment of the marketability of functional Korean rice cake products (product image, marketability, price competitiveness, period of commercialization, productivity, facility of production, usability of labor, etc.)
        - . Development of segmented markets and support for appropriate product development



- Developing storage packages and preparing for package designing
  - . Surveys with experts, firms, and consumers to develop eco-friendly and optimal storage packages
  - . Survey of preferences for developed storage packages
  - . Network formation through expert seminars
  - . Benchmarking success cases abroad

## 2) 2nd-year Research & Development

Goal : Brandization of high quality functional Korean rice cake products and development of product wrap design

Outcome

- Development design concept of new functional rice products
- Support for development of CI & BI of functional rice products
  - . Establishment of differentiating strategies for brand image
  - . Support for development of application manual
- Developing functional Korean rice products as cultural and tourism products
  - . Development of wrap design for customized functional rice products
- Developing preliminary design protocol by storage package type
  - . Development of storage packages by material and by size
  - . Organization of advisory group for storage packages

## 3) 3rd-year Research & Development

Goal : Developing functional Korean rice products wrap design and wrap technique for entering overseas market

Outcome

- Developing wrap design and product logo
  - . Development of wrap design by material, product, size, and use type
  - . Survey of preferences for developed wrap designs
  - . Benchmarking success cases abroad
  - . Development of differentiated wrap design for functional rice products based on anti-aging and application for a design patent

- . Development of product logo for brand differentiation
- Developing wrap technique
  - . Standardization of functional rice product wrap design and its application to products
  - . Survey with consumers and companies on preferences for wrap products
  - . Development of value-added wrap design
  - . Development of wrap design by segmented market
  - . Application for a wrap design patent
  - . Development of wrap design by foreign market
- Testing developed wrap design through field tests
  - . Testing developed wrap design for fitness
  - . Research on actual use by companies and making necessary improvement

## V. Implications and Application Plans of the Results

1. Development of wrap design for traditional rice
  - Eight entries at 2013 Gwangju International Biennale
2. Development of wrap design for garbage bags
  - Eight entries at 2013 Gwangju International Biennale
3. Design registration
  - Design registration : 9 design items

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 1절 연구개발의 목적

저장용기 디자인화를 위한 기업체 및 소비자 조사를 통해 다양한 저장용기와 포장디자인 개발

### 2절 연구개발의 필요성

#### 1) 국내외 현황

##### □ 기능성제품의 국내외 동향

- 기능성식품의 국내 시장동향은 도입단계인 2004년부터 236개소에서 283개소로 약 20% 증가하였으며, 이들 업체가 생산하는 품목수도 약 47% 증가하였음. 이 같은 증가비율은 타 품목에 비해 2배정도의 증가세를 나타내고 있어 기능성 식품에 대한 관심이 높아가는 것을 보여주고 있음
- 현재 기능성 식품의 세계시장은 800억 달러 규모로, 미국이 3000만 달러로 세계 최대의 시장이고 그 뒤를 일본 2000만, 유럽 1500만임. 또 미국은 에너지드링크, 소프트드링크, 유제품이 가장 큰 비중을 차지하고, 일본 국민은 연간 평균 160달러를 기능성 식품에 소비함. 유럽에서는 영국과 스페인이 가장 큰 기능성 식품 시장임. 또한 인도와 중국은 최근 부상하는 시장임
- 2009년 국가별 기능성 신제품 출시숫자를 보면 미국이 1300종으로 최대이고 그 다음을 중국, 일본, 영국이 잇고 있음. 이는 전해에 비해 40%나 증가한 것임

##### □ 환경변화에 따른 디자인 패키지의 중요성과 연구개발의 필요성

- 패키지디자인의 도입은 최근의 고령화, 평등화 사회로 진전됨에 따라 인간공학과 패키지의 사용성을 중심으로 글로벌 시대를 구현하는 혁신의 매개체로 활용되고 있음
- 소비자 라이프 스타일의 급격한 변화와 함께 제품의 양적인 측면에서 질적인 측면으로 소비형태가 바뀌고 있음. 이는 제품의 포장이 소비자 중심으로 변화하면서 편리성과 함께 제품의 품질을 유지, 향상시키기 위한 다양한 패키징 기술의 필요성이 증가하고 있음
- 시장 환경이 점차 글로벌 시장으로 확장되면서 내수시장 방어 및 해외시장 개척을 위한 제품의 포장에 대한 관심이 높아지고 있음. 또한 선진국들이 그동안 꾸준히 패키징 기술개발에 많은 노력을 기울여오고 있어 패키징 기술을 기술 장벽이나 환경규제 수단으로 활용할 가능성이 높아지고 있음(김

홍석, 2006)

- 특히 패키징 분야에서의 유니버설디자인 개념의 도입은 소비자를 배려한 패키지와 연결성이 고부가가치의 핵심요소가 됨으로써 모든 산업분야에서 그 중요성이 지속적으로 증대되고 있으며 국내 패키징 산업분야의 변화가 절실하게 요구되고 있음
- 실제 디자인은 소비자의 제품구매 선택요인 중 가장 중요성이 높은 속성요인이 되고 있음(디자인 : 52%, 품질 : 22%, 가격 : 14.1%)(한경, 99. 110; FKI, 2007.11)
- 디자인산업은 다른 산업과 비교하여 높은 파급효과를 보이고 있는데 투자규모대비 회수기간이 짧고 매출증대 효과가 큼. 관련조사(삼성경제연구소, 2007; 전경련, 2007 등)에 의하면 일반기술개발과 비교하여 투자비용은 1/20, 투자회수기간은 1/4정도에 그치고, 매출효과는 4배 이상이며 투자대비 매출액 증대는 19배에서 59배에 이르는 수치를 보이고 있음
- 최근 국내 대기업들은 패키지의 중요성을 인식하여 대규모 투자를 하고 일정 성과를 거두고 있으나 중소기업의 경우 아직도 포장디자인에 대한 인식이 제한적이며 이에 대한 투자도 매우 낮은 수준임
- 하지만 중소기업 중에서도 혁신적인 중소기업은 소비자 중심의 제품/서비스 개발을 기업의 핵심전략으로 하여 브랜드와 마케팅 경쟁력을 구축하는 적극적인 시도를 하고 있음
- 중소기업의 자체 패키지디자인 개발 비중은 20%에 그치고 있으며, 일부 디자인 전문회사와 연계하여 개발을 진행하고 있으나 체계적인 전략적 제휴관계를 구축하지 못하고 디자인 전문회사 자체가 영세성을 벗어나지 못하고 있음
- 이 같은 문제를 해결하기 위해서는 모든 관련업체에서 활용 가능한 패키지 디자인 제품개발을 지원할 필요가 있음. 또한 디자인 전문회사와의 제휴나 공동개발에 있어서도 체계적인 협력 프로세스가 제시되고 이를 상시적인 협력관계화하며 개발성과에 대한 엄격한 평가가 이루어져 효율성과 효과성을 높여야 함
- 따라서 본 연구개발은 관련 기업체의 패키지 디자인 중심 제품/서비스 개발과 최근 중요성이 더해가는 패키지 디자인의 활용을 높이기 위해 다양한 측면에서의 사전조사 및 선호도 조사, 적합성 조사를 병행하여 차별적인 패키지디자인을 통한 기업 경쟁력 및 국가경쟁력이 확보될 수 있도록 할 것임

## 2) 문제점과 전망

- 그 동안 관련 산업에의 연구 사업들은 주로 기술개발 등에 초점을 두고 있어 개발된 기능성 떡제품이 시장출시를 통한 마케팅 측면이 이루어지지 않아 단순히 기술개발 측면에 그치고 있음
- 또한 저장용기 및 포장디자인 개발이 주로 저장용기를 제작하는데 그치고 있어 포장 및 패키지 디자인에 대한 시각적 요소가 중요한 소비자 의사결정에 영향을 미치고 있어 이를 개발하여야 함
- 기능성 떡 생산 기술개발이 참여기업의 기술이전으로 이어지고 제품생산을 통한 시장확보가 구체화된 전략이 수립되어야 할 것으로 판단됨
- 이로써 본연구의 혈행개선 기능성 떡 개발로 신시장 확보와 산업화의 효과가 기대되며, 지역생산품의 명품화 및 브랜드화로 해외진출까지도 시도할 수 있을 것으로 전망됨
- 패키지 디자인 우수사례개발을 통한 중소기업의 활용 측면
  - 국내의 선도적인 대기업들은 세계 일류화 상품개발 전략과 같이 디자인 경영을 핵심전략으로 추진하여 가시적인 성과가 축적되고 있음. 국내 중소기업의 경우 전반적인 디자인에 대한 인식부족과 예산과 투자의 부족, 전문 디자이너의 미보유 또는 디자이너의 자질과 능력의 미흡 등 열악한 상황에서 대기업과 격차는 벌어지고 중국과 같은 후발 추격국가와의 기술격차도 감소하는 추세를 보이고 있음
  - 국내 중소기업은 제한된 디자인 정보수집 능력을 가지고 있으며, 간헐적이며 일회적인 국내외 전시회 참여정도로 최신 디자인 정보를 구득하고 있어, 이들 정보를 가지고서는 실제 디자인 개선이나 개발에 이르는 임계치(Critical Mass)에 이르기 불가능한 실정임

### 3) 연구수행의 필요성

- 오랜 기간 동안 가내사업으로 이어져오는 전통식품의 산업화를 통한 새로운 시장확보를 통한 소규모 영세기업의 기업화 유도 필요
- 기능성 떡제품의 개발이 단순히 전통식품차원에서 다루어지는 것을 넘어 산업화하는데 주력해야 할 것으로 판단됨. 미국의 에너지드링크, 소프트드링크 등의 사례에서도 건강과 접목한 기능성식품을 산업화하여 성공하였듯이 기능성 떡제품의 개발이 향후 산업화에 이를 수 있도록 하는 단계별 지원이 필요함
- 최근 건강소비에 대한 관심이 높음에 따라 기능성 떡제품 개발로 다양한 연령층에 적합한 떡산업 개발 필요
- 기능성 떡 소비촉진을 위한 전국적 브랜드화 및 인지도 향상의 필요

- 떡산업의 활성화를 통한 고용창출로 지역경제 활성화 필요
- 기능성 떡산업의 해외진출을 통한 국제화 필요

### 3절 연구개발의 범위 및 내용

1. 저장용기 개발 및 디자인화 준비
  - 가. 최적의 저장용기 개발을 위한 기업체 및 소비자 조사
  - 나. 전문가 세미나 개최를 통한 자문그룹 네트워크 구성
  - 다. 해외 우수사례 조사를 통한 벤치마킹
2. 저장용기 유형별로 UD 7원칙과 3부칙에 기초한 기본형 디자인 초안 개발
  - 가. 소재별 저장용기 개발
  - 나. 다양한 저장용기 개발을 통한 떡의 노화방지 실험
  - 다. 디자인 자문그룹 구성을 통한 저장용기
3. 포장디자인 및 제품로고 개발
  - 가. 해외 우수사례 조사를 통한 벤치마케팅
  - 나. 기능성 떡제품의 노화방지를 기반으로 한 차별화된 포장디자인 개발과 디자인 출원
  - 다. 브랜드 차별화를 위한 제품 로고 개발
  - 라. 개발된 포장 디자인의 현장적용을 통한 검증
    - 1) 개발된 포장디자인 매뉴얼을 인력양성교육 및 재교육에 사용하여 보완하여 적합성 검증

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1절 기술개발현황

#### 1) 해외시장 현황분석

##### □ 일본 패키지디자인 산업동향

일본의 포장용기는 종이판지제품이 42.2%를 점하고 있으며, 다음이 플라스틱 제품으로 25.1%를 점하고 있음

<일본의 포장자재 용기산업 실태>

(억엔, %)

자재용기별	총출하금액	점유율	비고
소계	56,809.8		
종이판지 제품	23,947	42.2	감소추세
플라스틱제품	14,250	25.1	증가추세
금속제품	10,913	19.2	
유리제품	1,662	2.9	
목재제품	1,840	3.2	
기타제품	4,196	7.4	증가추세

자료 : 니혼사, 일본의 포장산업 마케팅정보. 한국포장연구소, 일본의 포장산업동향

##### □ 제품유형별 포장디자인 현황

- 식품 용기포장은 식품의 오염이나 형태붕괴를 막는 ‘내용물 보호’가 주목적이었지만 고도 경제성장기 이후의 ‘대량생산’, ‘대량유통’, ‘대량 폐기’가 진행되어 운반 시의 충격으로부터의 보호나, 품질보존 등 요구되는 기능이 고도화되고 있음
- 용기포장은 상품의 인상을 결정하는 중요한 포인트이기 때문에 보호와 보존기능과 함께 사람의 눈길을 끄는 디자인으로 판촉기능까지 하고 있음
- 최근 수년간 PET병, 용기시장이 증가되었으며, 유리가 가장 많이 감소, 품목에 따라 다르지만, 음료나 조미료는 유리에서 PET병 용기로 전환되고 있는 것이 주요인임(후지경제사, 식품용기 포장시장의 현상과 장래성, 2008)
- 식품 용기포장에 대해서는 원료가격 상승에 대한 비용삭감, 차별화, 저출산 고령화나 라이프스타일의 다양화에 대응하고 품질유지 등의 기능성 향상, 편한 개봉 등의 편리성 향상과 같은 다양한 요구

를 받고 있음

- 과자류는 상품 라이프사이클 단축화에 대응한 용기포장 및 생산라인 구축, 플라스틱 용기포장 형태가 많은 조미료나 간편 조리식품 등에서는 환경대책, 면류를 중심으로 한 과잉포장, 냉동식품에서는 안전성을 과제로 들 수 있음

<떡 선물셀 디자인1>	<떡 선물셀 디자인2>	<떡 선물셀 디자인3>	<떡 선물셀 디자인4>
			

<떡 선물셀 디자인5>	<떡 선물셀 디자인6>	<떡 패키지디자인과 진열>	<미쓰코시백화점내 떡점포>
			

## □ 유럽 포장디자인 현황

- 서구 유럽의 포장재료별 시장규모는 미국과 마찬가지로 판지시장이 최대로 2007년 4.7조엔으로 전체 29%를 차지하고 있음
- 유럽의 포장재료의 시장구성 비율은 미국과 거의 같은 경향을 나타냄
  - . 10년간 구성비율이 증가한 것은 식품, 헬스케어, 화장품, 기타소비 제품이며, 미국에서는 기타 소비제품의 시장구성 비율에 변화는 볼 수 없음
- 유럽의 포장요도에서 구성비율이 감소하는 것은 공업용, 벌크가 -4포인트로 대폭 감소, 음료가 -1%로 감소전망됨



<유럽의 기능성식품 포장디자인 우수사례>

Cryovac Multi-Seal™ Package	First Juice	Lays Potato Chips
		
<p>개폐가 쉽고 반복적인 밀폐가 가능하게 디자인함</p>	<p>유아용 저당쥬스로 유아입의 형태와 크기에 맞춘 안전적이고 경제적인 일회용용기</p>	<p>상부 수평의 레이저 절개선 기술로 한번에 일직선으로 끝까지 개봉할 수 있음</p>

□ 미국 포장디자인 현황

- 식품포장의 수요증가와 음료수송용 접음상자 사용을 배경으로 골판지 및 판지의 수요는 소매업 중심으로 확대되고 있음
- 건조식품이나 비식품용 접음상자나 종이봉지는 연포장 스탠딩 파우치로 대체제는 사례가 증가하여 그 수요량은 감소경향
- 경포장에서 연포장으로의 전환이 있으며, 스탠딩파우치나 지퍼, 스파우트가 붙은 재밀봉선이 있는 필름제 파우치는 그 수요량이 증가경향
- 전자렌지 조리가 가능한 필름 파우치는 랩필름과 함께 편의성이 뛰어난 호평을 받고 있으며 알루미늄은 고성장 지속

편리성 및 소형포장에 대한 요구가 증대되고 있음

- 또한 포장재의 재활용 등의 환경보호와 안전하고 신선한 식품의 선호, 포장재의 안전성에 대한 요구 등 소비자의 건강에 대한 관심이 증대되고 있어 포장기능의 고도화와 이를 위한 기술혁신 요구됨
- 따라서 앞으로는 모든 용기형태에서 경량화의 지속적인 추구하고 비용절감, 유니버설 디자인 등에 의한 고령화 대책, 형태나 디자인, 외장을 중심으로 한 차별화, 세대구성에 적합한 사이즈나 타입의 다양성 확충, 전자레인지 조리 등 간편성을 추구해야 할 것임

2절 연구결과가 국내외 기술개발현황에 차지하는 위치

\* 국내·외 관련분야에 대한 기술개발현황과 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치 등을 기술

- 또한 포장재의 재활용 등의 환경보호와 안전하고 신선한 식품의 선호, 포장재의 안전성에 대한 요구 등 소비자의 건강에 대한 관심이 증대되고 있어 포장기능의 고도화와 이를 위한 기술혁신 요구됨
- 따라서 앞으로는 모든 용기형태에서 경량화의 지속적인 추구하고 비용절감, 유니버설 디자인 등에 의한 고령화 대책, 형태나 디자인, 외장을 중심으로 한 차별화, 세대구성에 적합한 사이즈나 타입의 다양성 확충, 전자레인지 조리 등 간편성을 추구해야 할 것임

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 1절 연구내용

#### 1) 1년차 세부 연구내용

□ 목표 : 과학적인 기능성 떡 제품 개발지원 및 저장용기 디자인화

□ 세부 연구내용

- 떡 산업의 전반적인 현황분석 및 문제점 도출 분석지원
  - . 떡 산업 관련 국내외 동향 분석
  - . 지역 떡 산업의 현안분석
  - . 사업 추진 전략방향 수립(사업단, 기업체, 외부협력기관 등)
- 관련 전문가 네트워킹
  - . 기업체 협의회 구성 및 운영, 정례화
  - . 전문가 초청 간담회 개최 지원
  - . 선도기업과의 기술 및 정보제공 MOU체결
- 기능성 떡 시제품 개발을 위한 TFT팀 구성
  - . 시제품의 소비자 반응 평가 및 적합성 평가(설문조사, FGI)
  - . 기능성 떡 제품에 대한 시장성 평가  
(제품이미지, 시장능력과의 적합성, 가격 경쟁력, 상업화 기간, 생산능력 적합성 생산 용이성, 노동력의 가용성 등)
  - . 세분시장 개발 및 적합한 떡 제품 개발지원
- 저장용기 개발 및 디자인화 준비
  - . 친환경 및 최적의 저장용기 개발을 위한 전문가 및 기업체, 소비자 조사
  - . 개발된 저장용기 선호도 조사
  - . 전문가 세미나 개최를 통한 자문그룹 네트워크 구성
  - . 해외 우수사례 조사를 통한 벤치마킹

#### 2) 2년차 세부 연구내용

□ 목표 : 고품질 기능성 떡 제품의 브랜드화 및 포장디자인 개발

□ 세부 연구내용

□ 목표 : 고품질 기능성 떡 제품의 브랜드화 및 포장디자인 개발

□ 세부 연구내용

- 기능성 떡 신제품 디자인컨셉 개발
- 기능성 떡 제품의 CI 및 BI 개발지원
  - . 브랜드 이미지 차별화 전략 수립
  - . 응용매뉴얼 개발지원
- 기능성 떡 제품의 문화상품화 및 관광상품화 개발
  - . 소비자 맞춤형 기능성 떡 제품 포장디자인 개발
- 저장용기 유형별로 기본형 디자인 초안 개발
  - . 소재별, 용량별 저장용기 개발
  - . 디자인 자문그룹 구성을 통한 저장용기

### 3) 3년차 세부 연구내용

□ 목표 : 해외시장 진출을 위한 기능성 떡 포장디자인 개발 및 포장기법 개발

□ 세부 연구내용

- 포장디자인 및 제품로고 개발
  - . 소재별, 제품별, 용량별, 사용 유형별 포장디자인 개발
  - . 개발된 포장디자인 선호도 조사
  - . 해외 우수사례 조사를 통한 벤치마케팅
  - . 기능성 떡 제품의 노화방지를 기반으로 한 차별화된 포장디자인 개발과 디자인 출원
  - . 브랜드 차별화를 위한 제품 로고 개발
- 포장기법 개발
  - . 기능성 떡 제품 포장 구조 표준화 및 상품화 적용
  - . 포장제품의 소비자 및 기업체 선호도 연구
  - . 고부가가치 포장디자인 개발
  - . 세분시장별 포장디자인 개발
  - . 포장디자인 출원
  - . 해외 수출국별 포장디자인 개발

- 개발된 포장디자인의 현장적용을 통한 검증
- . 개발된 포장디자인 적합성 검증
- . 기업체 활용도 조사 및 개선사항 보완

## 2절 연구결과

### 1) 1차년도 연구결과

#### □ (주)에다손 인테리어디자인 : 12건

- ‘샵 인 카페’의 동선을 고려한 평면도 및 인테리어디자인 개발.

12평 평면 천장도	19평 평면 천장도	28평 평면 천장도

- 글로벌 떡카페 컨셉을 접목한 사인디자인 시스템 개발.

떡카페컨셉 시안: 내부전경	세부 사인디자인1	세부 사인디자인2

- 매장 내부 조명 및 가구디자인(인테리어 재질 및 활용 요소 개발)



□ BI 및 매뉴얼개발 : 54건(항목)

(주)에다손 BI 매뉴얼(기본편 및 응용편) 개발.

분	개발항목		비고
브랜드디자인 및 B.I시스템 (21종)	기본형 (6종)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 브랜드 심볼 및 로고(국문형, 영문형)</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 브랜드 슬로건</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 시그니처 : 가로조합, 세로조합, 시그니처 블럭</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유형별 상품명 로고(20종 이상)</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 브랜드 컬러 : 메인 컬러, 서브 컬러</li> </ul>	
	응용형 (15종)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 전용 패턴 : 메인 1종, 서브 2종</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 서식류 : 명함, 봉투, 메모지, 초청장 등</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 사인류 : 매장 사인, 현판, 배너 등</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 차량류 : 탑차, 미니버스 등</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유니폼류 : 종업원(남 / 여)</li> </ul>			
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 프로모션류 : 티셔츠, 모자, 열쇠고리 등</li> </ul>		
패키지디자인 (23종)	아이시루	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 단위포장 및 세트</li> </ul>	
	일반 떡	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1종</li> </ul>	
	떡 케익	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2종</li> </ul>	
	선물세트	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 마음담은 / 설렘세트 / 운수좋은 / 행운담은</li> </ul>	
	한과 / 화과자	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 만주세트 / 만주 화과자 혼합세트 / 화과자</li> </ul>	
	쿠키	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2종</li> </ul>	
	이벤트용 세트	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 어버이날, 답례 떡, 돌, 수능</li> </ul>	
	음료 쇼핑백	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 커피 / 녹차 / 홍차</li> <li>• 2종</li> </ul>	
브랜드디자인 및 B.I시스템 (21종)	기본형 (6종)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 브랜드 심볼 및 로고(국문형, 영문형)</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 브랜드 슬로건</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 시그니처 : 가로조합, 세로조합, 시그니처 블럭</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유형별 상품명 로고(20종 이상)</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 브랜드 컬러 : 메인 컬러, 서브 컬러</li> </ul>	
	응용형 (15종)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 전용 패턴 : 메인 1종, 서브 2종</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 서식류 : 명함, 봉투, 메모지, 초청장 등</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 사인류 : 매장 사인, 현판, 배너 등</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 차량류 : 탑차, 미니버스 등</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유니폼류 : 종업원(남 / 여)</li> </ul>			
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 프로모션류 : 티셔츠, 모자, 열쇠고리 등</li> </ul>		

분	개 발 항 목		비 고
패키지디자인 (23종)	아이시루	• 단위포장 및 세트	
	일반 떡	• 1종	
	떡 케익	• 2종	
	선물세트	• 마음담은 / 설렘세트 / 운수좋은 / 행운담은	
	한과 / 화과자	• 만주세트 / 만주 화과자 혼합세트 / 화과자	
	쿠 키	• 2종	
	이벤트용 세트	• 어버이날, 답례 떡, 돌, 수능	
	음 료	• 커피 / 녹차 / 홍차	
	쇼핑백	• 2종	
매장사인 및 인테리어디자인 (10종)	Sign : 유형별 사인물 디자인		
	Basic Design Plan		
	Interior	• General Arrangement(A, B Type)	
		• Shopfront(A, B Type)	
		• Elevations(A, B Type)	
	Furniture	• Product Table	
		• Gift Table	
• Fresh Bread Rack			
• Typical Perimeter			
Lighting			
Material & Application			
종합 매뉴얼 제작		B.I시스템, 패키지디자인, 인테리어디자인	

○ 디자인 매뉴얼 활용을 위한 CD FILE 제작.

BI매뉴얼 북 표지	CD
	



□ 예다손 브랜드디자인 개발(16건)

○ 예다손 브랜드 리뉴얼 디자인 개발(8건)

브랜드리뉴얼디자인1	브랜드리뉴얼디자인2	브랜드리뉴얼디자인3	브랜드리뉴얼디자인4





브랜드리뉴얼디자인5	브랜드리뉴얼디자인6	브랜드리뉴얼디자인7	브랜드리뉴얼디자인8

○ 신규 브랜드 적용 사례 개발(8건)

브랜드적용사례개발1	브랜드적용사례개발2	브랜드적용사례개발3	브랜드적용사례개발4

브랜드적용사례개발5	브랜드적용사례개발6	브랜드적용사례개발7	브랜드적용사례개발8

□ 용기기본안 디자인개발(10건)

떡트레이 용기디자인1	떡트레이 용기디자인2	떡트레이 용기디자인3	떡트레이 용기디자인4
			

수정과 용기디자인	식혜 용기디자인	커피 용기디자인
		

음료수 용기디자인1-3


□ 포장디자인개발(48건/ 디자인개발자료 24개만 표본으로 제시함)

돌잔치용 포장디자인	떡설기 포장디자인	떡케익 포장디자인1	떡케익포장디자인2
			

마음담은 선물세트	만주세트	수능떡세트	어버이날선물세트
			

쇼핑백디자인1	쇼핑백디자인2	아이시루 포장디자인1	아이시루 포장디자인2
			

운수좋은날 선물세트	쿠키 포장디자인	설렘 선물세트	화과자 포장디자인
			

## 2) 2차년도 연구결과

### □ 기능성 떡 용기디자인/가래떡(4건)

가래떡 디자인-1	가래떡 디자인-2	가래떡 디자인-3	가래떡 디자인-4
			



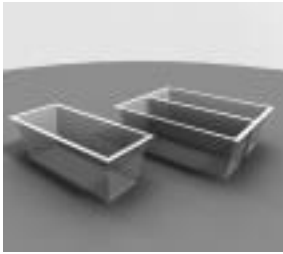

□ 기능성 떡 포장디자인/라이스컵케익(11건)

고구마 라이스컵케익	단호박 라이스컵케익-1	단호박 라이스컵케익-2	단호박 라이스컵케익-3
			
딸기단호박 라이스컵케익	라이스찜 케익	망고 라이스컵케익	솔잎 컵케익
			
솔잎분말 첨가 증편	증편	증편 샌드위치	
			

□ 기능성 떡 포장디자인/쌀찜빵(4건)

쌀찜빵-1	쌀찜빵-2	쌀찜빵-3	쌀찜빵-4
			

□ 용기디자인(8건)

녹차 용기	라이스케익 용기-1	가래떡 용기	라이스케익 용기-2
			

식혜캔-1	식혜캔-2	선물세트용기	식혜용기
			

□ 수출용 포장디자인(8건)

수출용 떡케익	수출용 쿠키-1	수출용 쿠키-2	수출용 화과자
			

수출용 선물세트-1	수출용 선물세트-2	수출용 선물세트-3	
			

□ 수출용 지기구조 디자인(8건)



□ 수출용 포장지디자인(3건)

포장지디자인-1	포장지디자인-2	포장지디자인-3
		

□ 예다손 포장디자인 지원 개발(14건)

<p>만주떡</p> 	<p>선물세트-1</p> 	<p>선물세트-2</p> 	<p>수능떡</p> 
<p>식혜종이팩-1</p> 	<p>식혜종이팩-2</p> 	<p>아이스루세트</p> 	<p>어린이떡</p> 

이벤트떡	이벤트용 떡케익-1	이벤트용 떡케익-2	추석선물세트-1
			
추석선물세트-2	화과자		
			

3) 3차년도 연구결과

□ 수출용세트 포장디자인 및 쇼핑백(4건)

수출용세트-1	수출용세트-2	수출용세트-3	수출용 쇼핑백
			

□ 수출용 떡 포장디자인(8건)




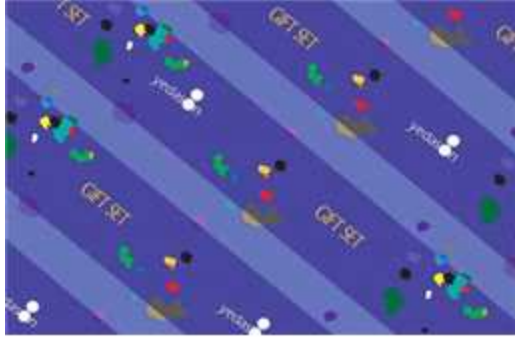


수출용 포장디자인-1	수출용 포장디자인-2	수출용 포장디자인-3	수출용 포장디자인-4
			

수출용 포장디자인-5	수출용 포장디자인-6	수출용 용기라벨-1	수출용 용기라벨-2
			

□ 수출용 브랜드로고 디자인(6건)



□ 수출용 포장지 디자인(4건)

수출용 포장지-1	수출용 포장지-2
	
수출용 포장지-3	수출용 포장지-4
	

□ 수출용 브로슈어 디자인(3건)

수출용 브로슈어-1	수출용 브로슈어-2	수출용 브로슈어-3
		

□ 전통떡 캐릭터디자인(15건)

캐릭터디자인-1	캐릭터디자인-2
<p data-bbox="188 1339 373 1435">YEDASON TRADITIONAL CHARACTER</p>  <p data-bbox="226 1662 746 1684">jeogori namgi bapgat seuneo hwangjip</p>	<p data-bbox="820 1301 1168 1361">YEDASON TRADITIONAL CHARACTER</p>  

□ 명품떡 엠블렘 및 인증마크디자인(4건)

엠블럼디자인-1	엠블럼디자인-2	인증마크디자인-1	인증마크디자인-2

□ 기능성 떡 패키지디자인(5건)

솔증편 세트	솔찐빵 세트	호박설기 세트
솔밭호 증편	솔밭호 찐빵	

□ 기능성 떡 파우치디자인(4건)

단호박 파우치	설기 파우치	솔잎분말 파우치	증편 파우치

□ 프리미엄 떡 프리미엄 로고 디자인(6건)



□ 예다손 브랜드로고 디자인(8건)



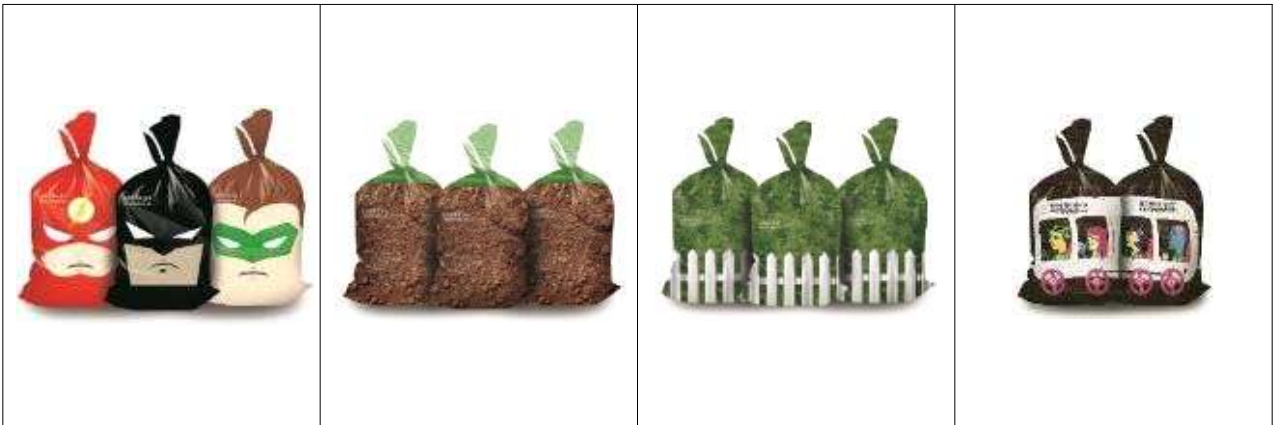
□ 예다손 브랜드 및 포장디자인 지원 개발(21건)

시루떡디자인	인절미디자인	호박설기디자인	꿀송편디자인
			
가래떡디자인	백설기디자인	포장테이프디자인	
			
선물세트-1	선물세트-2	선물세트-3	선물세트-4
			
용기라벨-1	용기라벨-2	떡 패턴	
			

□ 전통쌀 포장디자인개발/2013광주국제디자인비엔날레 출품(8건)



□ 쓰레기봉투 포장디자인/2013광주국제디자인비엔날레 출품(8건)




#### 4) 디자인등록

구분	출원일	등록일	발명의 명칭	출원인	출원등록번호	산업재산권종류	출원등록구분	
1차 년도	1	2012. 10.17	2012. 12.05	라벨	조선대학교 산학협력단	30-0672084	디자인	등록
	2	2012. 10.17	2012. 12.26	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-0674749	디자인	등록
	3	2012. 10.17	2012. 12.26	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-0674757	디자인	등록
	4	2012. 10.17	2012. 12.26	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-0674776	디자인	등록
	5	2012. 10.17	2012. 12.26	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-0674781	디자인	등록
2차 년도	6	2013. 09.30	2014. 02.21	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-0731646	디자인	등록
	7	2013. 09.30	2014. 02.21	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-0731650	디자인	등록
	8	2013. 09.30	2014. 02.21	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-0731654	디자인	등록
	9	2013. 09.30	2014. 02.21	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-0731669	디자인	등록
3차 년도	10	2014. 10.27	-	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-2014 -0051249	디자인	출원
	11	2014. 10.27	-	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-2014 -0051250	디자인	출원
	12	2014. 10.27	-	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-2014 -0051252	디자인	출원
	13	2014. 10.27	-	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-2014 -0051253	디자인	출원
	14	2014. 10.27	-	포장용케이스	조선대학교 산학협력단	30-2014 -0051255	디자인	출원



□ 증빙자료

1	2
 <p>디자인등록증 CERTIFICATE OF DESIGN REGISTRATION</p> <p>등록번호: 30-0672984 호 출원번호: 2012-048812 호</p> <p>출원일: 2012. 02월 17일 등록일: 2012년 12월 28일</p> <p>출원인: 유.영.기 등 6명 출원인 주소: 서울특별시 강남구 삼성동 삼성동 303호 402호</p> <p>디자인의 대상이 되는 물건: (SAMPLE THAT IS THE OBJECT OF THE DESIGN) 모양용 케이스</p> <p>디자인권자: OWNER OF THE DESIGN RIGHT 조선대학교디자인학부(200171-040000) 광주광역시 동구 서석동 325 조선대학교 내</p> <p>출처의 IDENTIFIER: IDENTIFIER 인상문(301218-1*****) 광주광역시 동구 동신동 남영동문서체로 301동 402호</p> <p>위의 창작은 「디자인보호법」에 의하여 디자인등록원부에 등록되었음을 증명합니다. (THIS IS TO CERTIFY THAT THE DESIGN IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)</p> <p>2012년 12월 28일</p> <p>특허청 KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE</p>	 <p>디자인등록증 CERTIFICATE OF DESIGN REGISTRATION</p> <p>등록번호: 30-0674749 호 출원번호: 2012-048808 호</p> <p>출원일: 2012년 02월 17일 등록일: 2012년 12월 28일</p> <p>출원인: 유.영.기 등 6명 출원인 주소: 서울특별시 강남구 삼성동 삼성동 303호 402호</p> <p>디자인의 대상이 되는 물건: (SAMPLE THAT IS THE OBJECT OF THE DESIGN) 모양용 케이스</p> <p>디자인권자: OWNER OF THE DESIGN RIGHT 조선대학교디자인학부(200171-040000) 광주광역시 동구 서석동 325 조선대학교 내</p> <p>출처의 IDENTIFIER: IDENTIFIER 인상문(301218-1*****) 광주광역시 동구 동신동 남영동문서체로 301동 402호</p> <p>위의 창작은 「디자인보호법」에 의하여 디자인등록원부에 등록되었음을 증명합니다. (THIS IS TO CERTIFY THAT THE DESIGN IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)</p> <p>2012년 12월 28일</p> <p>특허청 KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE</p>

3	4
 <p>디자인등록증 CERTIFICATE OF DESIGN REGISTRATION</p> <p>등록번호: 30-0674707 호 출원번호: 2012-048812 호</p> <p>출원일: 2012년 02월 17일 등록일: 2012년 12월 28일</p> <p>출원인: 유.영.기 등 6명 출원인 주소: 서울특별시 강남구 삼성동 삼성동 303호 402호</p> <p>디자인의 대상이 되는 물건: (SAMPLE THAT IS THE OBJECT OF THE DESIGN) 모양용 케이스</p> <p>디자인권자: OWNER OF THE DESIGN RIGHT 조선대학교디자인학부(200171-040000) 광주광역시 동구 서석동 325 조선대학교 내</p> <p>출처의 IDENTIFIER: IDENTIFIER 인상문(301218-1*****) 광주광역시 동구 동신동 남영동문서체로 301동 402호</p> <p>위의 창작은 「디자인보호법」에 의하여 디자인등록원부에 등록되었음을 증명합니다. (THIS IS TO CERTIFY THAT THE DESIGN IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)</p> <p>2012년 12월 28일</p> <p>특허청 KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE</p>	 <p>디자인등록증 CERTIFICATE OF DESIGN REGISTRATION</p> <p>등록번호: 30-0674776 호 출원번호: 2012-048812 호</p> <p>출원일: 2012년 02월 17일 등록일: 2012년 12월 28일</p> <p>출원인: 유.영.기 등 6명 출원인 주소: 서울특별시 강남구 삼성동 삼성동 303호 402호</p> <p>디자인의 대상이 되는 물건: (SAMPLE THAT IS THE OBJECT OF THE DESIGN) 모양용 케이스</p> <p>디자인권자: OWNER OF THE DESIGN RIGHT 조선대학교디자인학부(200171-040000) 광주광역시 동구 서석동 325 조선대학교 내</p> <p>출처의 IDENTIFIER: IDENTIFIER 인상문(301218-1*****) 광주광역시 동구 동신동 남영동문서체로 301동 402호</p> <p>위의 창작은 「디자인보호법」에 의하여 디자인등록원부에 등록되었음을 증명합니다. (THIS IS TO CERTIFY THAT THE DESIGN IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)</p> <p>2012년 12월 28일</p> <p>특허청 KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE</p>

5



6



7



8





출원번호통지서 Page 1 of 1

**국민생각  
출원번호통지서**

출원 일자 2014.10.27  
특기사항 국가안전(무)  
출원 번호 제2014-0051291(접수번호 1-1-2014-102300-11)  
출원인명칭 조선대학교산학협력단(2014-0051291-3)  
대표인성명 김동원(9-2089-002304-4)

**특허청장**

<<안내>>

1. 귀하의 출원은 해당 출원 단계로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 대한 수수료는 접수일로부터 다음달까지 통행료 납입명세서에 해당, 납부지연으로 인하여 과태료 부과 또는 관행료 납부하여야 합니다. \* 납부기한은 2014.11.25(수)입니다.
3. 국외의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (출원번호도 정보변경(연락처, 변경신고서)를 제출하여야 하며 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다. \* 특허청(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스(민원포털) > 특허청 서비스안내 > 특허청 서비스 > 민원서비스
4. 특허(출원)심판절차(출원)의 명세서 또는 도면의 변경이 필요한 경우, 특허출원 의원 또는 의관서 제출기간 이내에 출원서의 최종로 첨부한 명세서 또는 도면(제거된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다).
5. 의적으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허출원심장)나 PCT로 제도 (과제)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 의해서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 의적으로 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다. \* 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 특허출원 PCT제도안내
- \* 우선권 인정기간 : 특허 출원일로부터 12개월, 상호 인정기간 6개월 이내
- \* 국제특허심판회의 관할권을 기점으로 PCT로 제도 우선권 인정할 시, 관할권이 인정되었는지, 우선권인정 14개월 이내에 국제특허심판회의(한국특허출원서(PCT/ISA)를 제출하거나 PCT로 제도 우선권 인정여부를 통지하여야 합니다).
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 이경로 상담하여야 하며, 이를 위반할 경우 관건법정에 따라 처벌을 받을 수 있습니다. \* 특허출원 10-2014-0000000, 신고특허출원 40-2014-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 통행료 안내서를 참조하시기 바랍니다.

2014.10.27

<http://www.kipo.go.kr>

PDF created with pdfFactory Pro for version [www.pdffactory.com](http://www.pdffactory.com)

출원번호통지서 Page 1 of 1

**국민생각  
출원번호통지서**

출원 일자 2014.10.27  
특기사항 국가안전(무)  
출원 번호 제2014-0051291(접수번호 1-1-2014-102300-70)  
출원인명칭 조선대학교산학협력단(2014-0051291-3)  
대표인성명 김동원(9-2089-002304-4)

**특허청장**

<<안내>>

1. 귀하의 출원은 해당 출원 단계로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 대한 수수료는 접수일로부터 다음달까지 통행료 납입명세서에 해당, 납부지연으로 인하여 과태료 부과 또는 관행료 납부하여야 합니다. \* 납부기한은 2014.11.25(수)입니다.
3. 국외의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (출원번호도 정보변경(연락처, 변경신고서)를 제출하여야 하며 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다. \* 특허청(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스(민원포털) > 특허청 서비스안내 > 특허청 서비스 > 민원서비스
4. 특허(출원)심판절차(출원)의 명세서 또는 도면의 변경이 필요한 경우, 특허출원 의원 또는 의관서 제출기간 이내에 출원서의 최종로 첨부한 명세서 또는 도면(제거된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다).
5. 의적으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허출원심장)나 PCT로 제도 (과제)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 의해서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 의적으로 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다. \* 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 특허출원 PCT제도안내
- \* 우선권 인정기간 : 특허 출원일로부터 12개월, 상호 인정기간 6개월 이내
- \* 국제특허심판회의 관할권을 기점으로 PCT로 제도 우선권 인정할 시, 관할권이 인정되었는지, 우선권인정 14개월 이내에 국제특허심판회의(한국특허출원서(PCT/ISA)를 제출하거나 PCT로 제도 우선권 인정여부를 통지하여야 합니다).
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 이경로 상담하여야 하며, 이를 위반할 경우 관건법정에 따라 처벌을 받을 수 있습니다. \* 특허출원 10-2014-0000000, 신고특허출원 40-2014-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 통행료 안내서를 참조하시기 바랍니다.

2014.10.27

<http://www.kipo.go.kr>

PDF created with pdfFactory Pro for version [www.pdffactory.com](http://www.pdffactory.com)

출원번호통지서 Page 1 of 1

**국민생각  
출원번호통지서**

출원 일자 2014.10.27  
특기사항 국가안전(무)  
출원 번호 제2014-0051292(접수번호 1-1-2014-102300-69)  
출원인명칭 조선대학교산학협력단(2014-0051291-3)  
대표인성명 김동원(9-2089-002304-4)

**특허청장**

<<안내>>

1. 귀하의 출원은 해당 출원 단계로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 대한 수수료는 접수일로부터 다음달까지 통행료 납입명세서에 해당, 납부지연으로 인하여 과태료 부과 또는 관행료 납부하여야 합니다. \* 납부기한은 2014.11.25(수)입니다.
3. 국외의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (출원번호도 정보변경(연락처, 변경신고서)를 제출하여야 하며 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다. \* 특허청(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스(민원포털) > 특허청 서비스안내 > 특허청 서비스 > 민원서비스
4. 특허(출원)심판절차(출원)의 명세서 또는 도면의 변경이 필요한 경우, 특허출원 의원 또는 의관서 제출기간 이내에 출원서의 최종로 첨부한 명세서 또는 도면(제거된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다).
5. 의적으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허출원심장)나 PCT로 제도 (과제)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 의해서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 의적으로 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다. \* 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 특허출원 PCT제도안내
- \* 우선권 인정기간 : 특허 출원일로부터 12개월, 상호 인정기간 6개월 이내
- \* 국제특허심판회의 관할권을 기점으로 PCT로 제도 우선권 인정할 시, 관할권이 인정되었는지, 우선권인정 14개월 이내에 국제특허심판회의(한국특허출원서(PCT/ISA)를 제출하거나 PCT로 제도 우선권 인정여부를 통지하여야 합니다).
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 이경로 상담하여야 하며, 이를 위반할 경우 관건법정에 따라 처벌을 받을 수 있습니다. \* 특허출원 10-2014-0000000, 신고특허출원 40-2014-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 통행료 안내서를 참조하시기 바랍니다.

2014.10.27

<http://www.kipo.go.kr>

PDF created with pdfFactory Pro for version [www.pdffactory.com](http://www.pdffactory.com)

경인생략  
출원번호통지서

출 원 일 자 2014.10.27  
책 기 사 항 고지신(주)  
출 원 번 호 KR-2014-0051255 (출원번호 1-1-2014-0025154-07)  
출 원 인 명 칭 조선대학교산학협력단(2005-01790-3)  
대 리 인 명 칭 김성현(9-2009-002704-6)

특 허 청 장

※ 안내 ※

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황과 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 2달 넘지 않고 통보된 납입일수준에 해당, 납부지번호 등을 기재하여 기각은 무효로 또는 문헌에 납부하여야 합니다.  
\* 납부지번호 : KR31(가령구인) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (출원번호도 포함하여) (명칭), 통보신고서를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.  
\* 책자 ID(paper) : 책자 ID(출원번호) + 책자로 기재하여 발신 가능 사서
4. 특허(실용신안)출원권 출원권 명세서 또는 도면의 변경이 필요한 경우, 특허출원 이전 또는 의결서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 내에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)를 반드시 제도 (상표)를 이용할 수 있습니다. 국내 출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내 출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.  
\* 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 특허담당부서 T:02-4999-1131  
\* 외국인 출원 가능 : 특허 출원신청서 2장 첨부, 모든 디자인은 사본을 국내  
\* 외국특허출원권 인정받을 것으로 우선시하며 우선순위를 증명 시, 출원권이 인정될 때까지, 우선일로부터 6개월 이내에 외국특허청에 출원(출원번호 KR-2014-0051255)을 제출하거나 우선시하여 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 위하여 실시하고자 하는 경우에는 어떠한 값도 부여하여, 이를 위한 할 경우 관련청에 해당 자료를 알릴 수 있습니다.  
\* 책자번호 : KR-2014-0051255, 신고번호출원 : KR-2014-0051255
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 통보된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

경인생략  
출원번호통지서

출 원 일 자 2014.10.27  
책 기 사 항 고지신(주)  
출 원 번 호 KR-2014-0051255 (출원번호 1-1-2014-0025154-07)  
출 원 인 명 칭 조선대학교산학협력단(2005-01790-3)  
대 리 인 명 칭 김성현(9-2009-002704-6)

특 허 청 장

※ 안내 ※

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황과 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 2달 넘지 않고 통보된 납입일수준에 해당, 납부지번호 등을 기재하여 기각은 무효로 또는 문헌에 납부하여야 합니다.  
\* 납부지번호 : KR31(가령구인) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (출원번호도 포함하여) (명칭), 통보신고서를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.  
\* 책자 ID(paper) : 책자 ID(출원번호) + 책자로 기재하여 발신 가능 사서
4. 특허(실용신안)출원권 출원권 명세서 또는 도면의 변경이 필요한 경우, 특허출원 이전 또는 의결서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 내에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)를 반드시 제도 (상표)를 이용할 수 있습니다. 국내 출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내 출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.  
\* 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 특허담당부서 T:02-4999-1131  
\* 외국인 출원 가능 : 특허 출원신청서 2장 첨부, 모든 디자인은 사본을 국내  
\* 외국특허출원권 인정받을 것으로 우선시하며 우선순위를 증명 시, 출원권이 인정될 때까지, 우선일로부터 6개월 이내에 외국특허청에 출원(출원번호 KR-2014-0051255)을 제출하거나 우선시하여 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 위하여 실시하고자 하는 경우에는 어떠한 값도 부여하여, 이를 위한 할 경우 관련청에 해당 자료를 알릴 수 있습니다.  
\* 책자번호 : KR-2014-0051255, 신고번호출원 : KR-2014-0051255
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 통보된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절 연도별 연구개발목표의 달성도

#### 가. 연도별 목표(정량적 제시)

목 표		연구개발 수행내용	달성도(%)
1차 년도	소비자 조사를 통한 선호도 높은 떡 기본 저장용기 디자인선호도 조사	○ 매장 인테리어디자인 개발 ○ BI 및 메뉴얼 개발	150
	브랜드화 기본전략 수립 및 용기 기본안 개발	○ 브랜드디자인 개발 ○ 떡 용기디자인 개발	100
	해외시장 현황분석 및 포장디자인개발	○ 해외시장 현황분석 ○ 기능성 포장디자인 개발	200
2차 년도	고품질 기능성 떡제품 BI 개발	○ 기능성 떡 브랜드디자인 개발 ○ 활용메뉴얼 개발	100
	기능성 떡 저장용기 디자인 개발	○ 기능성 떡 용기디자인 개발 ○ 기능성 떡 용기데코레이션	100
	기능성 떡 제품의 다양한 포장디자인 개발	○ 기능성 떡 포장디자인 개발 ○ ○○○ 포장디자인 지원	150
3차 년도	수출용 기능성 떡 브랜드디자인 개발	○ 떡제품 브랜드디자인 개발 ○ 떡제품 브랜드 활용메뉴얼 개발	100
	수출용 기능성 떡 포장디자인 개발	○ 떡제품 포장디자인개발 ○ 떡제품 용기디자인개발	150

#### 나. 연차별 연구성과 목표

(단위 : 건수)

구분		(예시)특허		(예시)신품종				(예시) 유전자원 등록	(예시)논문		기타
		출원	등록	품종 명칭등록	품종생산 수입판매 신고	품종보호			SCI	비SCI	
						출원	등록				
1차 년도	목표	5	5								
	달성	5	5								
2차 년도	목표	4	4								
	달성	4	4								
3차 년도	목표	5	5								
	달성	5									
계	목표	14	14								
	달성	14	10								

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 생활습관병 개선 기능성 가공제품 개발 및 산업화의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 생활습관병 개선 기능성 가공제품 개발 및 산업화의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.