

발간등록번호

11-1543000-000843-01

**양하의 뇌기능 개선효과 탐색 및
뇌기능 개선 기능성 제품 개발**

(The ameliorate effect of brain function of
Yangha (Zingiber mioga R.) and development of
functional food)

(주) 파낙스코리아

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “양하의 뇌기능 개선효과 탐색 및 뇌기능개선 기능성 제품개발에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2015년 3월 5일

주관연구기관명 : (주)파낙스코리아

주관연구책임자 : 김 태 우

세부연구책임자 : 김 태 우

연 구 원 : 정 지 민

연 구 원 : 박 정 우

연 구 원 : 이 수 정

협동연구기관명 : 경기대학교

협동연구책임자 : 김 애 정

협동연구기관명 : 호서대학교

협동연구책임자 : 우나리아

요 약 문

I. 제 목

양하의 뇌기능 개선효과 탐색 및 뇌기능개선 기능성 제품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 양하의 뇌기능개선 효과 규명
- 양하의 뇌기능 개선효과 활용 맞춤형 뇌기능개선 제품 개발
- 소비자 선호를 고려한 개발제품 품질특성 분석
- 개발제품 판매로 인한 기업체 수익 극대화
- 나고야 의정서 대비 우리나라 우수농산물 발굴 및 지적재산권 확보

III. 연구개발 내용 및 범위

- 양하의 뇌기능개선 효과 in vitro, in vivo test를 통한 규명
- 양하의 뇌기능개선 효과 규명을 활용한 음료 레시피 개발 및 시제품 개발
- 기능성 음료 및 기타 시제품의 물리적, 화학적, 미생물학적 특성규명

IV. 연구개발결과

- 양하의 뇌기능개선 효과 규명을 위한 in vitro, in vivo test
- 시제품에 대한 물리적, 화학적, 미생물학적 안전성 검증
- 양하의 뇌기능개선 효과 규명을 활용한 시제품 5종 20타입 개발
(음료, 환, 농축액, 분말, 캡슐)

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 성과명
양하의 뇌기능개선 효과 탐색 및 뇌기능개선 기능성 제품 개발
- 성과 활용계획
시제품 5종 10타입 중 어린이전용음료 2종(어린이홍삼이랑충명이, 어린이홍삼이랑썩썩이)
및 치매예방농축액 1종 (똑똑메모리파워)를 사업화 할 계획임.

SUMMARY

(영문요약문)

I . Title

Improvement effect research and functional product development in brain function of Yangha

II. The purpose and need for research and development

- Improvement effect identification in brain function of Yangha
- Utilization of brain function improvement effect of Yangha and Customized brain function product development of Yangha
- Development of product quality characterization considering consumer preferences
- Maximize revenue of company profit by the development product sales
- our country good agricultural excavation against Nagoya Protocol and securing intellectual property rights

III. Research contents and scope

- Improvement effect in brain function of Yangha, identifying through in vitro, in vivo test
- Safety checks of physical, chemical and microbiological characterization for prototype
- drink receipe development & prototype development which is utilized for identifying brain function improvement effect of Yangha and prototype of a drink recipe
- Functional prototype of beverages and other physical, chemical and microbiological characterization

IV. Study results of research

- In vitro, in vivo test for idenfitying of brain function improvement
- Safety checks of physical, chemical and microbiological characterization for prototype
- prototype 5 kind 20 type development for identifying Improvement effect in brain function of Yangha (Drink, Pill, extract, powder, capsule)

V. Research result and result utilization plan

- Result name
- Utilization of brain function improvement effect of Yangha and Customized brain function product development of Yangha
- Performance utilization plan
of prototype 5 Kinds 10 types - children's drink two kinds (children Red ginseng and understanding, Children red ginseng and Growing, dementia prevention extract 1 kind)

CONTENTS

(영 문 목 차)

Chapter 1 – Overview of R &D Projects

- Research and development purposes
 - * Investigation of Improvement effect in brain function of Yangha
 - * Utilization of brain function effect of Yangha, Customized brain function product development
 - * Quality Characteristics Analysis of Product development Considering Consumer preferences
 - * Maximizing corporate profits because of sales development of products
- Necessity for research and development
 - * Social needs due to the increase of degenerative brain diseases because of the aging society
 - * Customer request increase for Health function food of Natural material, consumer demand increases because of Side effects of Medicinal drug
 - * Korea Good Agricultural excavation & Securing intellectual property rights which is compared to Nagoya Protocol

Chapter 2 – Present condition of Domestic & international technology developments

- Korea : Component Analysis of Yangha
- England & USA : brain function improve effect of Yangha

Chapter 3 – Performing & Result of research and development

- * Theoretical and experimental approaches method, research contents, research result
- No.1 Collaboration organization : PANAXKOREA CO.,LTD
 - * Establishing optimum manufacturing techniques of Yangha related functional products
 - * Prototype manufacture of Yangha powder - 150mesh Pulverization
 - * Yangha concentrated extract & powder, pill product manufacture 90°C 5 hour

extraction 8 hour concentrate 45°C 8 hour dry

- * Prototype manufacture of Yangha extraction concentrate 90°C 5 hour extraction 80°C 8 hour 25 Brix extraction
- * Yangha drink manufacture 75°C 20 minute pasteurization after adding sweetening agents & functional materials after 90°C 5 hour extraction

- **No. 2 Collaboration organization: Kyonggi University**

- * Experiment through cell injury model which is related to exercise functions
- * PD cell model MPP + Toxic conditions setting
- * Utilizing Experiments of Cell that related to Cognitive function
- * ACH Activity assessment in AD cell model
- * Animal cognition model setting in AD cell model

- **No. 3 Collaboration organization : Hoseo University**

- * Yangha ingredient analysis by AOAC law
- * Yangha extract Characteristic analysis by DPPH alc ABTS radical elimination ability
- * Yangha drink ingredient Analysis CR-10, Minolta Utilization L value, a value, b value Measurement
- Consumer preference survey of Yangha - evaluation item 5 article base after inspection personnel training of 15 person

Chapter 4 -Goal achievement and contribution to relevant areas

* Annual Research objectives and evaluate achievement of objectives based on research and development, etc. The idea and the contribution of the technological advances in the technology for related fields

-No. 1 Collaboration organization : PANAXKOREA CO.,LTD

- 100% achievement for optimum extraction condition of functional material related of Yangha
- Yangha powder prototype manufacture 100% achieved
- Yangha extract powder prototype manufacture 100% achieved
- Yangha concentrate prototype manufacture 100% achieved
- Yangha extraction drink prototype manufacture 100% achieved
- Yangha mixed powder dementia capsule prototype 100% achieved

- No. 2 Collaboration organization : Kyonggi University
 - cognitive function protection effect & motion function for Yangha extract in cell model - 100% achieved
 - * dopaminergic neurons impairment protection by neurotoxic of Yangha extract - 100% achieved
 - * Brain function improving effect verification of material in animal models 100% achieved
 - SCI listed 1 case, the non-SCI announced 2 cases

- No. 3 Collaboration organization: Hoseo University
 - * Drink ingredient characterization analysis ,extract ingredient analysis, ingredient analysis of Yangha - 100% achieved
 - * publishment schedule in thesis - 1 case and of Submission- 1 case
 - degree (MA) emissions 2 people

Chapter 5 - R & D results and performance utilization plan

- Practically industrialization plan
 - Five kinds of products developed 10 types of children's drink - two kinds of children drink and one kinds of dementia prevention of products - 1 kind
- 3 kinds of products to maximize production after sales promotion
- Patent applications 3 case and patents registered 2 cases scheduled

Chapter 6 - International Science and Technology Information gathered from the research and development process

- Improvement effect in brain function of the Yangha thesis identified: the United Kingdom and the United States of 3 case

Chapter 7 - Research facilities & Equipments

- Evaporater With A-pump 1 unit Buying
- Microorganisms microscope one purchase
- Colony County 1set buying
- Electronic Scales 210g / 0.01g Purchase
- Scales for analysis of 210g / 0.1mg Purchase
- Clean Booth 1set Buying
- DISINTERGRATION TESTER 1set Buying
- A warm water bath 20L 1set Purchase

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요

-연구개발목적

- 양하의 뇌기능개선 효과 규명
- 양하의 뇌기능 개선효과 활용 맞춤형 뇌기능개선 제품 개발
- 소비자 선호를 고려한 개발제품 품질특성 분석
- 개발제품 판매로 인한 기업체 수익 극대화

-연구개발의 필요성

- 고령화시대로 인한 퇴행성 뇌질환 증가로 인한 사회적 요구
- 의학적 약품의 부작용으로 인한 천연소재 건강기능식품에 대한 소비자요구 증대
- 나고야 의정서 대비 우리나라 우수농산물 발굴 및 지적재산권 확보

제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 우리나라 : 양하의 성분분석
- 영국, 미국 : 양하의 뇌기능개선 효능

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

* 이론적, 실험적 접근방법, 연구내용, 연구결과를 기술

- 1세부기관 : (주)파낙스코리아

- 양하관련 기능성제품 제품 최적의 제조기술확립
- 양하분말 시제품 제조 150mesh 분쇄
- 양하추출분말 환제조 90℃ 5시간추출 80℃ 8시간농축 45℃ 8시간건조
- 양하 추출농축액의 시제품제조 90℃ 5시간추출 80℃ 8시간 25Brix 농축
- 양하음료 제조 90℃ 5시간추출 후 감미제 및 기능소재 첨가 후 75℃ 20분 살균

- 2세부기관 : 경기대학교

- 운동기능 관련 세포 손상모델을 통해 실험
- PD세포모델 MPP+ 독성 조건 설정
- 인지기능 관련 세포활용 실험
- AD세포모델에서 ACh활성평가
- AD세포모델에서 동물인지모델 설정

- 3세부기관 : 호서대학교

- AOAC법에 의한 양하성분 분석
- DPPH alc ABTS라디컬 소거능에 의한 양하농축액 특성분석
- 양하음료성분 분석 Cr-10, Minolta를 이용 L값, a값, b값측정
- 양하의 소비자 선호도 조사 15명검사요원 훈련 후 평가항목 5항기준 기호도 7점척도

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

* 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도 및 관련분야의 기술 발전에의 기여도 등을 기술

-1세부기관 : (주)파낙스코리아

- 양하관련 기능성소재 최적추출조건 확립 100%달성
- 양하분말 시제품 제작 100%달성
- 양하추출분말 환 시제품 제작 100%달성
- 향하농축액 시제품 제작 100% 달성
- 양하추출 음료 시제품 제작 100% 달성
- 양하분말 혼합 치매예방캡슐 시제품제작 100% 달성

-2세부기관 : 경기대학교

- 세포모델에서 양하 추출물의 운동기능 및 인지기능 보호 효능 평가 100%
- 양하 추출물의 신경독성에 의한 도파민성 신경세포 손상 보호 효과 100%
- 동물모델에서 소재의 뇌기능 개선 효과 검증 100%
- SCI등재1건, 비SCI 발표2건

-3세부기관 : 호서대학교

- 양하의 성분분석, 농축액성분 분석, 음료 성분특성분석 100%달성
- 논문게제 예정 1건 및 논문투고 중 1건
- 학위(석사)배출 2명

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

-실용화·산업화 계획

개발제품 5종 10타입 중 어린이음료2종 및 치매예방제품 1종 사업화 추진

-제품 3종 양산 후 매출 극대화방안 홍보 3건 실시예정

-특허출원 3건 및 특허등록 2건 예정

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

-양하의 뇌기능개선 효과 규명논문 영국, 미국 3건

제 7 장 연구시설·장비 현황

-Evaporater with A-pump 1대 구매

-미생물현미경 1대구매

-클로니카운티 1set구매

-전자저울 210g/0.01g 구매

-분석용저울 210g/0.1mg 구매

-크린부스 1set 구매

-붕해도시험기 1set 구매

-향온수조 20L 1set 구매

제 8 장 참고문헌

- AOAC (1990) Official methods of analysis. 15th ed. Association of official analytical chemicals, Washington DC. pp 8-35.
- Aoshima H, Tsunoue H, Koda H, Kiso Y (2004) Aging of whiskey increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. J Agric Food Chem 52 : 5240-5244
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181 : 1199-1200
- Choi JH (2012) World Processing in food industry trend. World Agriculture 143: 73-84.
- Choi JY (2012) A Study on Purchasing Characteristics and Consumer Satisfaction on Health Functional Beverage according to Food-related Lifestyle. MS Thesis Hansung University, Seoul.
- Choi SI, Lee YM, Heo TR (2003): Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity in vitro of traditional herbal medicine extracts. Kor J Biotechnol Bioeng 18 : 282-288.
- Choi SK, Suh YN (1993) Effects of basal media and growth regulators on plant regeneration and growth of plantlet. J Korean Soc Medical 1: 38-42.
- Chun YG, Chung HY (2011) Quality Properties of Fermented Gingers. Korean J Food Sci Technol 43(3): 249-254.
- Davis WB (1947) Determination of flavanones in citrus fruits. Anal Chem 19: 476-478.
- Folin O & Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J Biol Chem 12: 239-243.
- Hiroto I, Mori H, Kanto K, Hosaka S, Aiso S (1982) Carcinogenetic examination of inflorescence of *Zingiber mioga* Roscoe. Cancer Lett 15: 203-208
- Jang KC, Kim SC, Song EY, Kim KH, Kwon HM, Kang SH, Park KH, Jung YH (2003) Isolation and substances from the rhizome of *Zingiber mioga* Rosc. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 46: 246-250.
- Jeong SJ, Im SI, Jung BM (2005) Comparison of nutritional constituents of native Yangha (*Zingiber mioga*) in Yersu and Cheju area. Korean J Food Sci Technol 37:

713–716.

- Joo SY (2013) Antioxidant activities and quality characteristics *Sulgidduk* prepared with prunus yedoensis Matsunura Extract. Korean Food Cookery Sci 20(2): 115–122
- Jung YS, Park SJ, Park JH, Jhee KH, LE IS, Yang SA. Effects of Ethanol Extracts from Zingiber officinale Rosc., Curcuma longa L., and Curcuma aromatica Salisb. on Acetylcholinesterase and Antioxidant Activities as well as GABA Contents. J Korean Soc Food Sci Nutr 41(10):1395–1401, 2012
- Kim TS (1998) Natural plant of Korea. Seoul National University. Publishing Dep. Seoul, Korea. p 203.
- Lee HJ, Hyun EA, Yoon WJ, Kim BH, Rhee MH, Kang HK, Cho JY, Yoo ES (2006) In vitro anti-inflammatory and anti-oxidative effects of *Cinnamomum camphora* extracts. J Ethnopharmacol 103(2): 208–216.
- Lee HJ, Sul MS, Park JN, Kim JH, Song BS, Lee JW, Byun MW (2007) Evaluation of the Sensory Quality Characteristics during Storage and Mutagenicity of Gamma-irradiated Sujeonggwa Powder (Korean Traditional Cinnamon Beverage). Korea J Food Preserv 14(4): 408–413.
- Lee HS, Park YW (2003). Screening of antioxidant-like components extracts from broccoli. J. Env. Research, 8(1):33–47.
- Lee JW, Chon SU, Han SK, Choi DG, Ryu T (2007) Effects of antioxidant and flavor components of *Zingiber mioga* Rosc. Korean J Medicinal Crop Sci 15: 203–20.
- Lee TH, Mun JH, Kim IR (2001) Analysis of cinnamic acid and cinnamic aldehyde in the different layer of Cinnamomi Cortex. Kor. J. Herbology 16(2): 1–5
- Liu RH. (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention : mechanism of action. J. Nutr. 3479S–3485S.
- Masako A, Yoshio O, Yasushi U, Yasujiro M, Yoshimasa N, Toshihiko O (2006) A novel labdane-type trialdehyde from myoga(*Zingiber miora* Roscoe) that potently inhibit human platelet aggregation and human 5-lipoxygenase. Biosci Biotechnol Biochem 70: 2494–2500.
- Mello BCBS, Petrus JCC, Hubinger MD. (2010). Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. J Food Engin 96: 533–539.

- Miyosh N, Nakamura Y, Ueda Y, Abe M, Ozawa Y, Uchida K, Oswa T (2003) Dietary ginger constituents, galanals A and B, are potent apoptosis inducers in human T lymphoma Jurkat cells. *Cancer Lett* 199: 113–119.
- Park JJ, Lee JM, Jun WJ (2013). Radical scavenging and anti-obesity effects of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1908–1914.
- Park SS, Kim SI, Sim KH (2011) The quality characteristics and antioxidant activity *Sulgidduk* supplemented with ramie leaf powder. *Korean Food Cookery Sci* 27(6): 763–722.
- Rea R, Pellegrinia N, Proteggentea A, Pannalaa A, Yanga M, Evansa CR (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 1231–1237.
- Roberta R, Nicoletta P, Anna P, Ananth P, Min Y, Catherine RE (1996) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* 26 : 1231–1237.
- Shin JH, Lee SJ, Sung NJ (2002) Effects of *Zingiber mioga* root and *Zingiber officinale* on the lipid concentration in hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 679–684.
- Shin JH, Lee SJ, Sung NJ (2002) Effects of *Zingiber mioga*, *Zingiber mioga* Root and *Zingiber officinale* on the lipid Concentration in Hyperlipedemic Rats. *J Korean Soc Fodd Sci Nutr* 31(4): 679–684.
- Shon HS (2004) Drink · Tea industry. *Food industry* 180: 27–64.
- Swain T, Hillis WE, Oritega M (1959) Phenolic constituents of *Ptunus domestioa*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 10(1):63–68
- Yoon MS, Won KJ, Kim DY, Hwang DI, Yoon SW, Kim BK and Lee HM (2014) Skin effect and chemical composition of essential oil from *Artemisia montana*. *Natural Product of Communications*. 9. 1619–1622
- Zheng L, Cao Y, Liu S, Peng Z, Zhang S (2014) Neferine inhibits angiotensin II-induced rat aortic smooth muscle cell proliferation predominantly by downregulating fractalkine gene expression. *Experimental and therapeutic medicine*. 8. 1545–1550.

제 1 장 연구개발과제의 개요

1 절. 연구개발의 목적

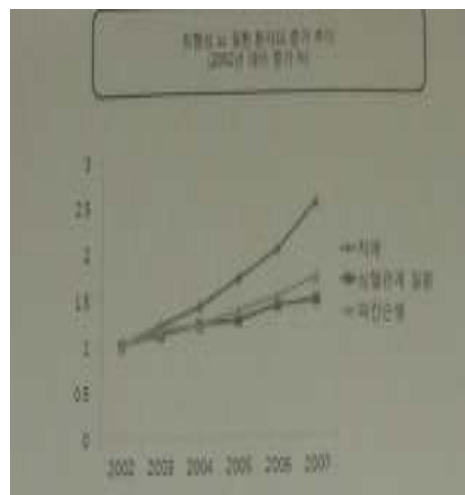
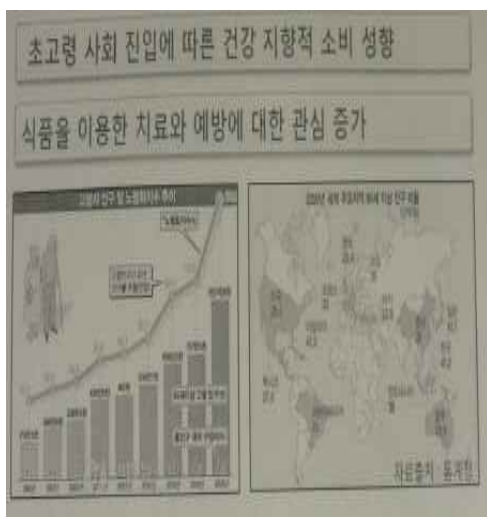
경제구조의 선진화 및 출산율 저하와 함께 의료기술 선진화와 함께 평균수명이 연장되면서 노인 인구가 급증하는 고령화 시대에 따라 인지기능 저하 및 퇴행성 뇌기능질환 발병률이 해마다 증가하고 있다. 이에 따른 의학적 치료제시장 또한 해마다 증가하고 있으나 의학적 치료제는 대부분 부작용을 동반 하므로 소비자들은 점점 천연소재를 활용한 건강기능 식품에 대한 요구가 높아지고 있다.

그리하여 본 연구팀은 우리나라 제주도 및 호남지방에서 주로 생산되는 양하 소재를 활용한 뇌기능 개선효과를 규명하고 뇌기능개선 기능성 식품을 개발 제조 사업화 하고자 하였다.

2 절. 연구개발의 필요성

1. 초고령 사회에 따른 경도 인지장애 및 퇴행성뇌질환 급증

가. 고령화사회에 따른 퇴행성 뇌질환으로 인한 파킨슨병, 알츠하이머, 치매, 헌팅턴 병의 증가
나. 노인성 신경계 질환 의료비 2010년 기준 13조 7,847억 규모 해마다 평균 19% 씩 증가
로 인한 재정적 부담 및 환자 개인의 정신적 불행은 물론 가정적, 사회적 문제로 대두됨



3. 일본 나고야 생물유전자원 제공국과 이용국의 공정한 이익분배 원칙의 “나고야의정서”에 따른 우리나라 우수농산물 발굴 및 국가유전자원 안보적인 문제의 중요

4. 양하 소재의 뇌기능개선, 진통, 건위, 거담, 심장병, 결막염, 종기 등의 유효성분 중 뇌기능 개선효과 규명의 필요성

5. 본 과제와 관련된 선행연구 사업화 필요

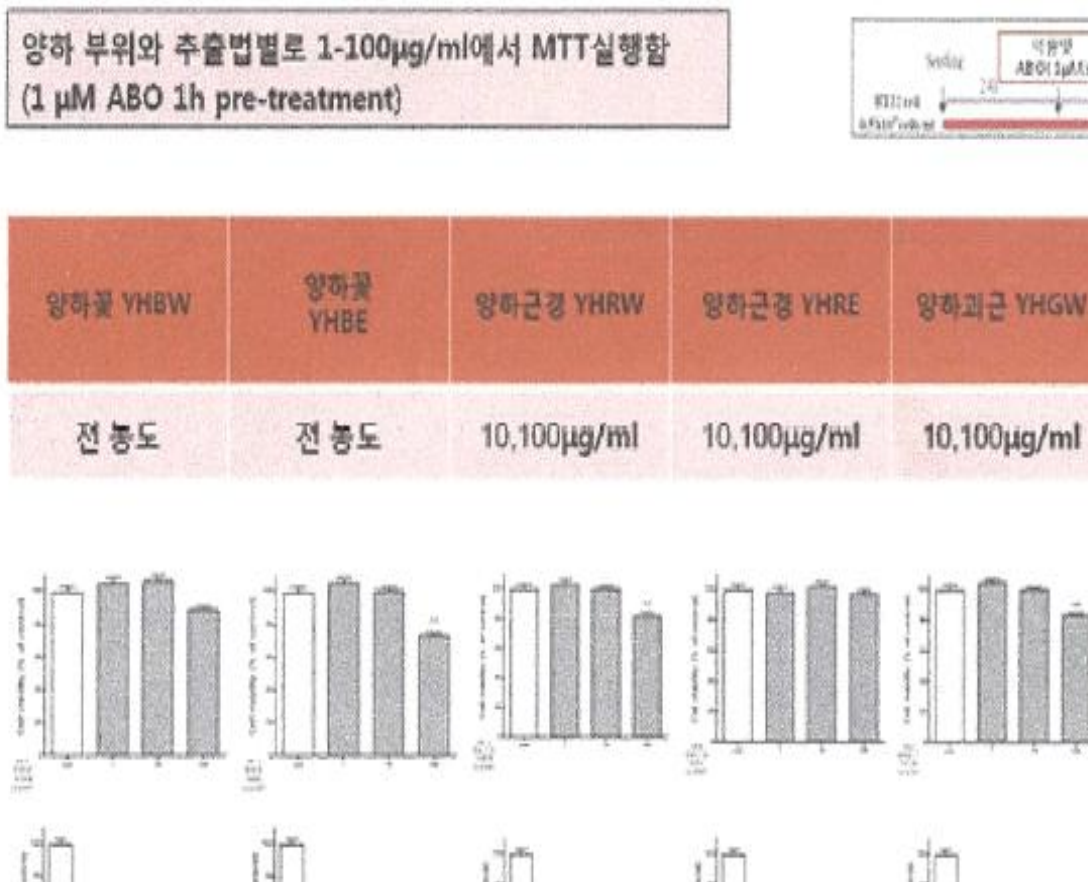
가. 생산 및 사업화 역량

(주)파낙스코리아는 1999년 창업 약15년 간 홍삼음료 및 건강기능식품 제조 회사로서, 2000년 서울대학교 T7M연구소와 가시오가피 공동연구, (주)바이오버드와 홍삼 어도토캡 연구, 2003년 동국대학교와 건강기능식품 연구 등을 진행 R&D 수행능력을 갖추

나. 양하꽃 추출물의 Acetylcholinesterase inhibition 선행연구 결과

양하꽃 YHBW	양하꽃 YHBE	양하근경 YHRW	양하근경 YHRE	양하괴근 YHGW	양하괴근 YHGE	은행엽
15.12	102.6	360	142.4	646.6	615.3	107.9

다. HT22세포에서 아밀로이드 -베타 올리고머 독성에 대한 보호효능 실험 결과



제 2 장 국내외 기술개발 현황

1 절. 본 연구관련 국내외 기술수준

가. 국내외 기술수준비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재기술수준		기술개발목표수준	비 고
		우리나라	본 연구팀		
양하를 활용한 분말, 환, 음료제조	대한민국	100	80	100	
양하의 뇌기능개선 효과규명	미국, 영국, 대한민국	100	80	100	
양하의 최적 추출조건 확립	대한민국	100	90	100	

나. 특허분석

대상국가	국내
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr)
검색기간	최근 10년 간
검색범위	청구범위, 발명의 명칭

다. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발 기술명	양하의 뇌기능 개선 효과 규명 및 이를 활용한 기능성 제품 개발	비고
Keyword	양하, 양애	
검색건수	1	
유효특허건수	1	
핵심 특허 및 관련성	특허명	양하에서 정제분리한 라브다 11-엔-15, 16-디알 화합물
	보유국	대한민국
	등록년도	2003
	관련성(5%)	10%
	유사점	양하의 향균, 항암활성화를 가지는 기능성분 분리
	차이점	양하 제품개발 특허가 아니며, 기능성분 또한 뇌기능 개선이 아닌 향균, 항암관련 기능성분 임

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

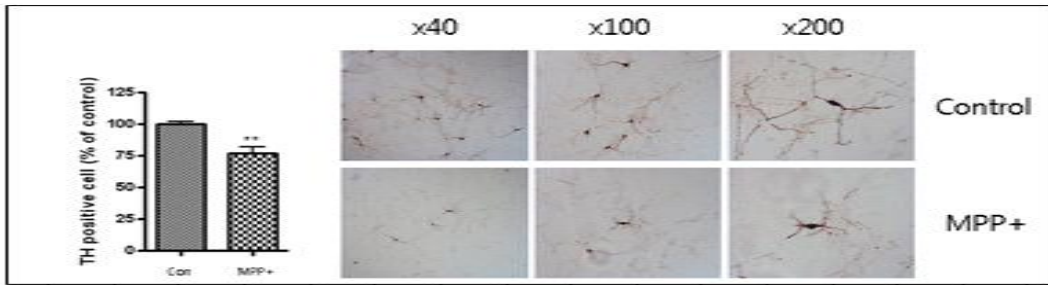
1 절. 양하의 뇌기능개선 효과 규명

1. 세포모델에서 양하 추출물의 운동기능 및 인지기능 보호 효능 평가

가. 운동기능 관련 세포 모델에서 양하 추출물의 보호 효능 평가

(1) 운동기능 관련 세포 손상 모델

<p>1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP)는 뇌의 흑색질 부분(SN)의 도파민 신경세포를 파괴함으로써 파킨슨병 증상을 유발하는 신경독성물질로서, 뇌신경교세포의 모노아민 산화효소 B(monoamine oxidase B; MAO B)에 의해 MPP+로 대사된다.</p> <p>대사된 MPP+는 도파민수송체에 의해 도파민 신경세포로 유입되고 미토콘드리아 전자전달계의 콤플렉스 1(complex I)을 교란시키며, 자유라디칼 세포사멸 관련 분자들의 발생을 촉진시킴으로써 세포 독성을 나타낸다.</p>	
<p>1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP)는 뇌의 흑색질 부분(SN)의 도파민 신경세포를 파괴함으로써 파킨슨병 증상을 유발하는 신경독성물질로서, 뇌신경교세포의 모노아민 산화효소 B(monoamine oxidase B; MAO B)에 의해 MPP+로 대사된다.</p> <p>대사된 MPP+는 도파민수송체에 의해 도파민 신경세포로 유입되고 미토콘드리아 전자전달계의 콤플렉스 1(complex I)을 교란시키며, 자유라디칼 세포사멸 관련 분자들의 발생을 촉진시킴으로써 세포 독성을 나타낸다.</p>	



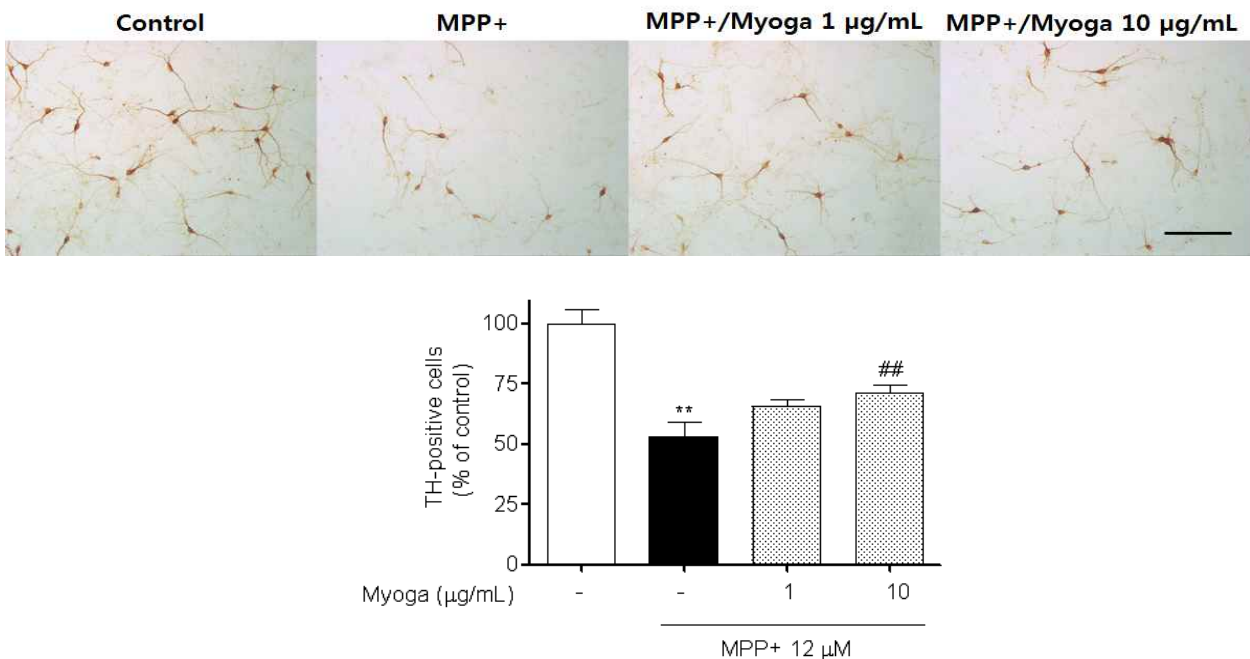
2. 양하 추출물의 신경독성에 의한 도파민성 신경세포 손상 보호 효과

(가) 실험방법

- ① 도파민성 세포 배양: Sprague-Dawley (SD) rat 14일(day of plug = day 0) 태아의 중뇌 조직을 박리하여 기계적으로 dissociation한 후 배양 및 증식 시킨 도파민성 세포에 독성 및 양하 수 추출물을 처리 하였다.
- ② 면역조직화학염색법: 도파민신경세포를 간접적으로 나타내는 타이로신 수산화효소(TH)의 일차 항체 및 이차 항체를 이용하여 염색 후 디아미노벤지딘(diaminobenzidine; DAB)으로 발색 하여 도파민신경세포의 손상 개선 정도를 확인하였다.

(나) 실험결과

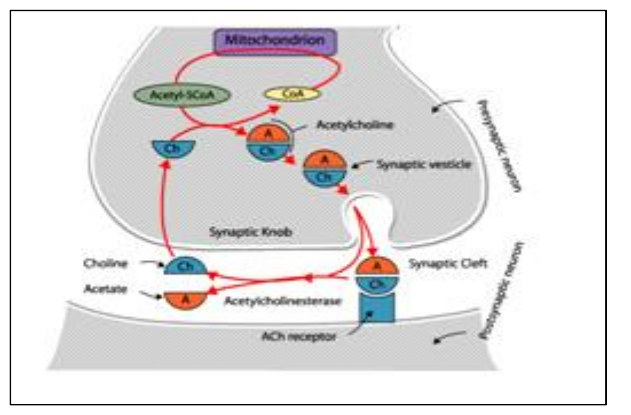
- ① 대조군 대비 MPP+ 독성군은 53.17 % 세포 생존율을 보였으며, 양하 전처리 군은 1 μ g/mL에서 65.85, 10 μ g/mL에서 71.29%의 세포 생존율을 나타내었다.



나. 인지기능 관련 세포 모델에서 양하 추출물의 보호 효능 평가

(1) 인지기능 관련 세포 모델

Acetylcholine (ACh)은 콜린성 신경계에 존재하는 신경전달물질로 중추신경계에서 감각의 인지 및 기억에 중요한 역할을 했다. ACh 량의 감소로 인하여 기억력 저하가 나타났다. 시냅스 말단에서 분비되어 receptor에 붙어서 작용을 하고 시냅스 후 뉴런에 있는 Acetylcholinesterase (AChE)에 의해서 분해되었다. Donepezil 같은 약물들은 AChE 작용 억제에 의해 ACh 량의 감소를 막아주어 치매에 효과를 보였다.



(2) 인지기능 관련 세포 손상 모델 설정

(가) 실험방법

① AChE inhibition assay: 설치류의 뇌 적출 및 buffer 이용하여 homogenation 후, enzyme source만 얻어냈다. 이에 Ellman's reagent를 이용하여, enzyme 내 AChE가 억제된 양을 측정하였다.

(나) 실험결과

① 양하 꽃봉우리의 인지 개선 효능 가능성 평가

㉠ 양하의 꽃봉우리 부분 조건별 추출물을 가지고 AChE inhibition assay 예비 실험 결과, 양하 꽃봉우리 100 μ g/mL 추출물에서 28.16 - 71.53%까지 활성을 보이는것을 확인하였다.

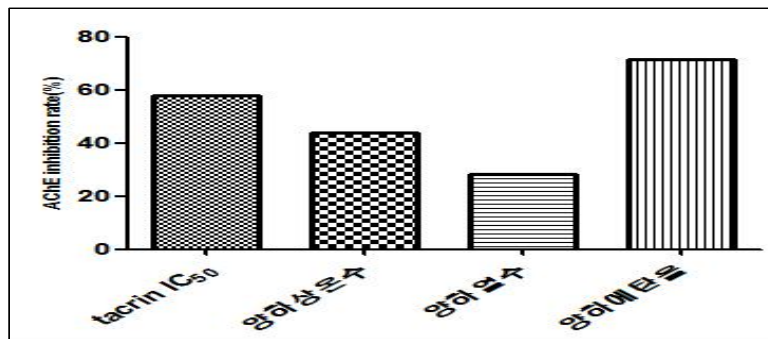


Fig. AChE inhibition assay를 통한 꽃봉우리의 수 추출물과 에탄올 추출물의 인지 개선 가능성 평가

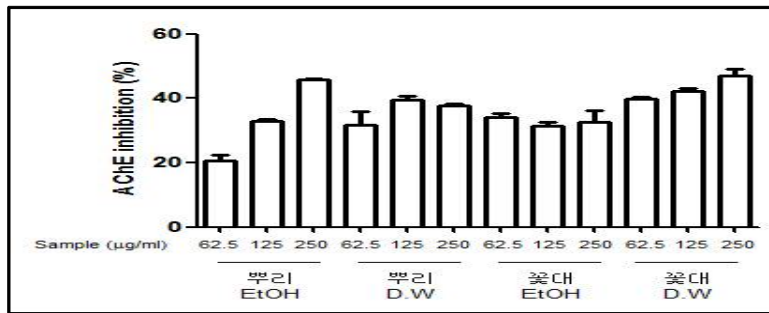
(3) 양하 추출물의 인지기능 관련 세포 실험 모델에서 보호효능 평가

(가) 실험방법

① AChE inhibition assay: 설치류의 뇌 적출 및 buffer 이용하여 homogenation 후, enzyme source만 얻어냈다. 이에 Ellman's reagent를 이용하여, enzyme 내 AChE가 억제된 양을 측정하였다.

② 양하 뿌리 및 꽃봉우리의 추출 용매에 따른 농도의존성 보호 효능 평가

㉠ 양하의 부위별, 추출 용매별 효능 비교 실험에서 D.W로 추출한 꽃대에서 효능이 가장 우수하였고, EtOH로 추출한 뿌리에서도 우수한 효능을 보였다.



AChE inhibition (%)	뿌리 EtOH	뿌리 D.W	꽃대 EtOH	꽃대 D.W
62.5 µg/mL	20.54	31.77	34.19	39.81
125 µg/mL	32.89	39.60	31.27	42.28
500 µg/mL	45.65	37.60	32.51	47.05

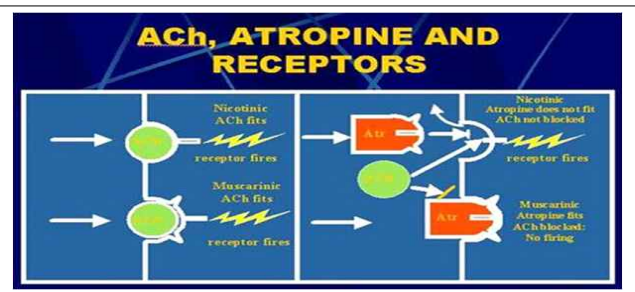
Fig. AChE inhibition assay를 통한 양하 뿌리 및 꽃봉우리의 추출 용매에 따른 농도의존성 보호 효능 평가

3. 동물모델에서 소재의 뇌기능 개선 효과 검증

가. 인지기능 관련 동물 모델에서 양하 추출물의 보호 효능 평가

(1) 인지기능 관련 동물 손상 모델

Scopolamine은 muscarinic receptor에 길항제 (antagonist)로 작용하여 acetylcholine (ACh) 과 수용체의 결합을 방해한다. 콜린성 신경계에 존재하는 신경전달물질로 중추신경계에서 감각의 인지와 기억에 중요한 역할을 하는 ACh의 전달량 감소로 인하여 기억과 인지의 장애를 일으킨다.



(2) 인지기능 관련 동물 손상 모델 설정

(가) 실험방법

① 인지기능 장애 동물모델에서 후보 소재의 보호 효능 검증: Scopolamine 유발 인지장애 동물모델 이용하였음. Scopolamine은 muscarinic receptor에 antagonist로 작용하여 ACh과 수용체의 결합을 방해함. 작용하는 ACh neurotransmitter 전달량의 감소로 인하여 기억과 인지의 장애를 일으킴. 실험동물은 생후 6주령 정도의 설치류 사용. 실험동물은 12시간 light/dark cycle의 조명과 함께 일정한 온도와 습도의 조건하에서 사육하며 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하고 7일 동안 환경에 적응시킴.

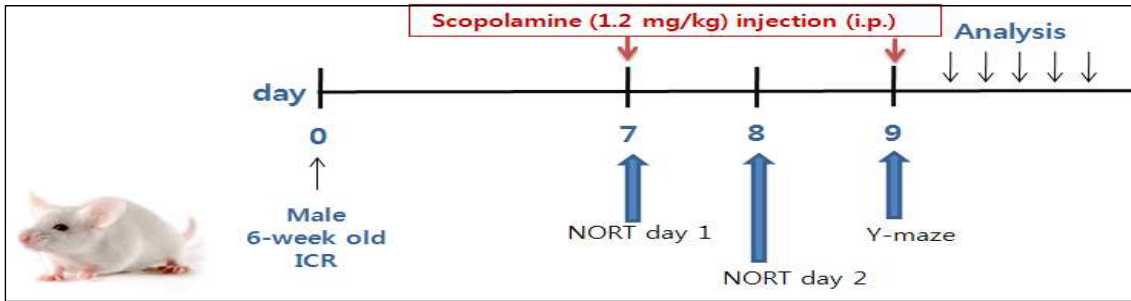


Fig. 양하의 인지 개선 효능 평가 전, 인지장애 동물모델 확립을 위한 실험 스케줄

② 물체인식실험(Novel object recognition test): object recognition test는 후보물질의 학습 및 기억력 개선 효과를 측정하기 위한 행동실험모델로서, 30X30X60 크기의 정사각형 박스에 두 가지 다른 물체를 배치시킨 후 training 과정에서 습득시킨 물체에 비해 새로운 물체를 탐색하는 시간이 증가되는 경향을 파악하여 결과를 도출하였다. 결과 값은 % memory index = (exploring time of novel object) / (total exploring time)로 하여 측정하였다.



Fig. 양하의 인지 개선 효능 평가를 물체인식실험 및 Y-자 미로형 실험 장비

③ Y-미로형 실험(Y-MAZE test):Y-maze test는 후보물질의 단기 기억 및 공간 기억력 개선 효과를 측정하기 위한 행동실험모델로서, Y자 형 통로에 실험 동물을 투입 후 실험 동물이 움직인 경로를 기록하여 spontaneous alternation을 구하였다.

(나) 실험결과

① NORT 실험을 이용한 Scopolamine 유발 인지장애 동물모델 조건 설정

② ICR중 male mice로 scopolamine 유발 인지 저하 모델을 NORT를 이용해 시험해 본 결과 scopolamine 1.2 mg/kg 단회 투여군에서 정상군 대비 통계적으로 유의한($p < 0.01$) 인지 저하를 나타냄을 확인함 ($n = 12/\text{group}$).

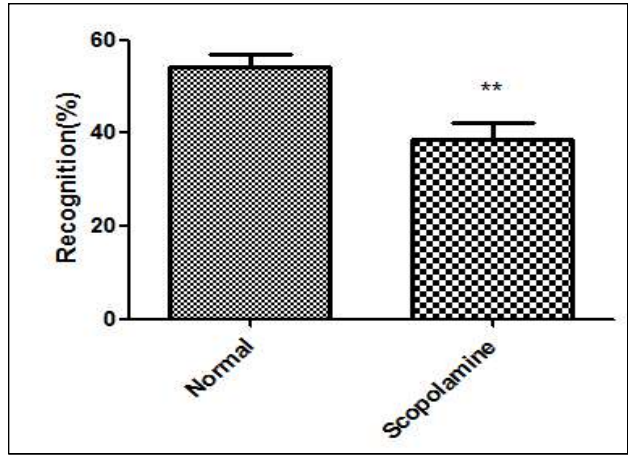


Fig. NORT 실험을 이용한 Scopolamine 유발 인지장애 동물모델 조건 설정

② Y- 미로형 실험을 이용한 Scopolamine 유발 인지장애 동물모델 조건 설정

㉞ ICR종 male mice로 scopolamine 유발 인지 저하 모델을 Y-maze를 이용해 확인해 본 결과 scopolamine 1.2 mg/kg 단회 투여군에서 정상군 대비 통계적으로 유의한($p < 0.001$) 인지 저하를 나타냄을 확인함 ($n = 12/\text{group}$).

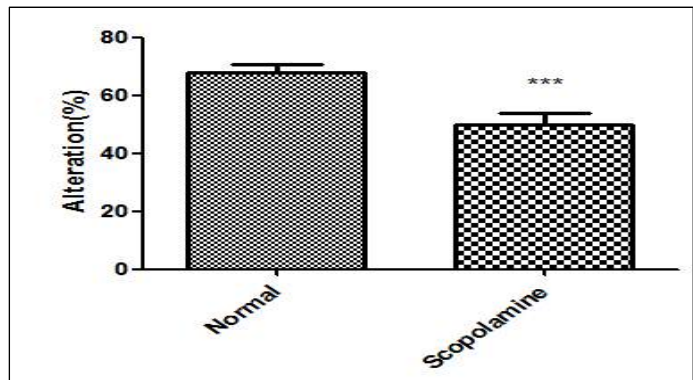


Fig. Y-자 미로형 실험을 이용한 Scopolamine 유발 인지장애 동물모델 조건 설정

(3) 양하 추출물의 신경독성에 의한 인지기능 장애 동물모델에서 보호 효과

(가) 실험방법

① 실험동물은 생후 6주령 정도의 설치류 사용. 실험동물은 12시간 light/dark cycle의 조명과 함께 일정한 온도와 습도의 조건하에서 사육하며 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하고 7일 동안 환경에 적응시킴. 양하 및 scopolamine을 30분 간격으로 투여 후, 30분 뒤 행동실험을 실시하였다.

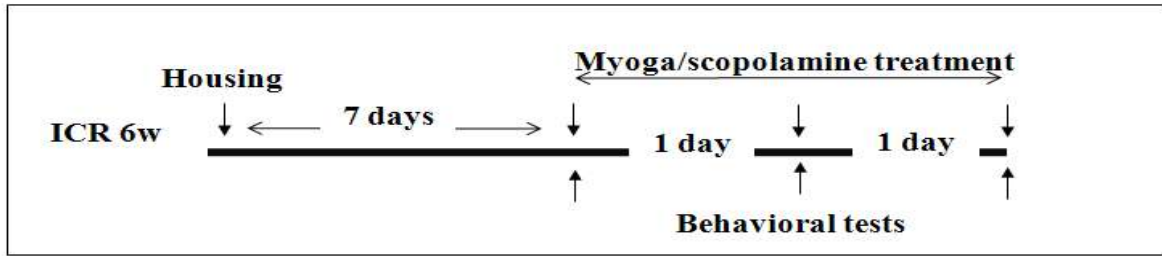


Fig. 양하의 인지 개선 효능 평가를 위한 실험 스케줄

② 물체인식실험 (Novel object recognition test): 후보물질의 학습 및 기억력 개선 효과를 측정하기 위한 행동실험모델로서, 30X30X60 크기의 정사각형 박스에 두 가지 다른 물체를 배치시킨 후 training 과정에서 습득시킨 물체에 비해 새로운 물체를 탐색하는 시간이 증가되는 경향을 파악하여 결과를 도출하였다. 결과 값은 % memory index = (exploring time of novel object) / (total exploring time)로 하여 측정하였다.



Fig. 양하의 인지 개선 효능 평가를 물체인식실험 및 Y-자 미로형 실험 장비

③ Y- 미로형 실험(Y-MAZE test): 후보물질의 단기 기억 및 공간 기억력 개선 효과를 측정하기 위한 행동실험모델로서, Y자 형 통로에 실험 동물을 투입 후 실험 동물이 움직인 경로를 기록하여 spontaneous alternation을 구하였다.

(나) 실험결과

① 양하 수 추출물과 양하 에탄올 추출물의 인지기능 장애 동물 모델에서 보호 효능 비교 평가

㉞ 물체인식실험 결과 대조군은 새로운 물체를 인식하는 비율이 64.57%였으나 독성군은 47.50%로 새로운 물체에 호기심이 떨어진 것을 확인 하였다. 양성대조군으로 사용된 도네페질 투여군은 59.61%, 양하 수 추출물 투여군은 65.43%, 양하 에탄올 추출물 투여군은 64.77%로 새로운 물체에 호기심을 나타냈으며, 양하 추출물에 의해 양성대조군 동등도 이상의 인지저하가 개선된 결과를 확인하였다.

㉟ Y-자 미로형 실험 결과 길을 인지하는 비율이 독성군은 44.47%로 낮아진 것을 확인 하였다. 양성대조군으로 사용된 도네페질 투여군은 56.80%, 양하 수 추출물 투여군은 59.26%, 양하 에탄올 추출물 투여군은 55.76%로 길을 인지하는 능력이 향상된 것을 보였다. 양하 추출물에 의해 양성대조군 동등도 이상의 인지저하가 개선된 결과를 확인하였다.

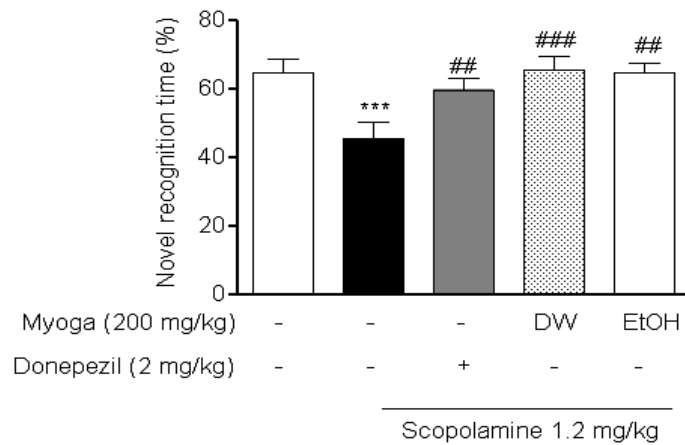
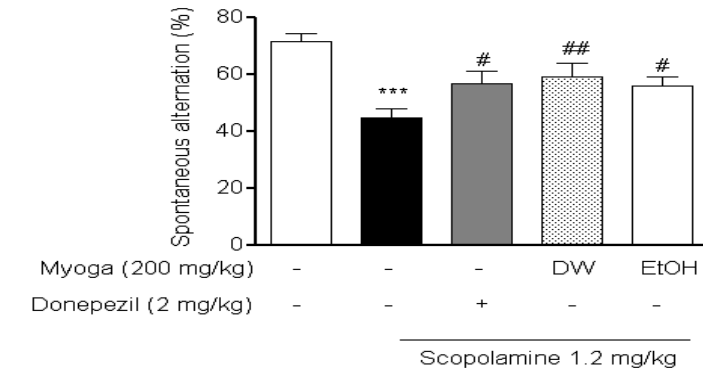
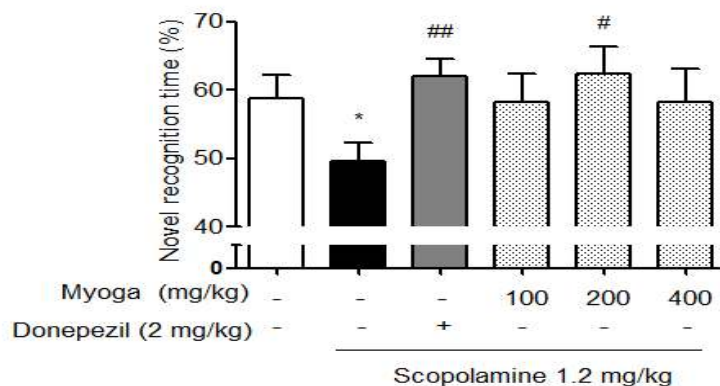


Fig. Y-자 미로형 실험을 통한 양하 수 추출물과 에탄올 추출물의 인지 개선 효능 비교 평가

② 양하 수 추출물의 인지기능 장애 동물 모델에서 농도의존성 보호 효능 평가

㉞ 물체인식실험 결과 대조군은 새로운 물체를 인식하는 비율이 58.73%였으나 독성군은 49.65 %로 새로운 물체에 호기심이 떨어진 것을 확인 하였다. 양성대조군으로 사용된 도네페질 투여군은 62.07%, 양하 수 추출물 100, 200, 400 mg/kg 투여군은 58.17, 62.41, 58.27%로 새로운 물체에 호기심을 나타냈으며, 양하 추출물에 의해 양성대조군 동등도의 인지저하가 개선된 결과를 확인하였다. 이번 실험에서 양하 200 mg/kg 투여군이 가장 좋은 인지 개선 효과를 나타내었다.

나. 양하 추출물의 인지 기능 개선 효능 기전 연구



(1) 인지기능 관련 인자: Nerve growth factor

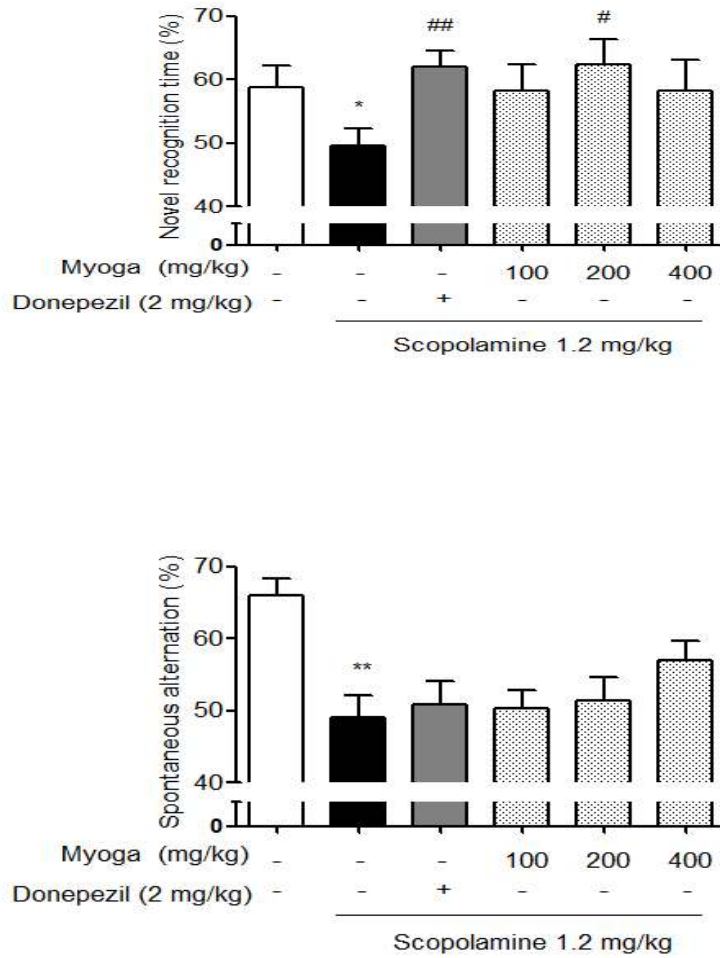


Fig. Y-자 미로형 실험을 통한 양하 수 추출물의 농도의존적 인지 개선 효능 비교 평가

Nerve growth factor(NGF)라 불리는 신경 성장인자 또는 신경세포 증식인자는 아미노산이 결합된 단백질의 일종으로 신경세포의 생존과 분화를 결정짓는 인자라 할 수 있다. 성체 신경계에서는 축삭돌기와 수상돌기의 성장과 방향성, 신경전달물질의 분비, 새로운 시냅스의 형성 및 가소성을 조절하는 역할을 담당한다. 노화로 인하여 신경세포가 퇴화되거나, 치매 등 퇴행성 뇌질환 환자에서 NGF 분비량이 감소한 것을 확인할 수 있으며, 인지 장애 관련 치료제 개발 타겟으로 이용된다.

Nature Reviews | Neuroscience

(2) 양하 추출물의 NGF 분비량 조절 효과

(가) 실험방법

① Fetal hippocampal astrocyte를 배양해 NGF 생성량 측정: SD 계 rat 생후 1일의 해마 조직을 박리하여 기계적으로 dissociation한 후 배양 및 증식 시킨 astrocyte에 양하 수 추출물을 24시간 처리한 후, NGF 생성량을 측정하였다.

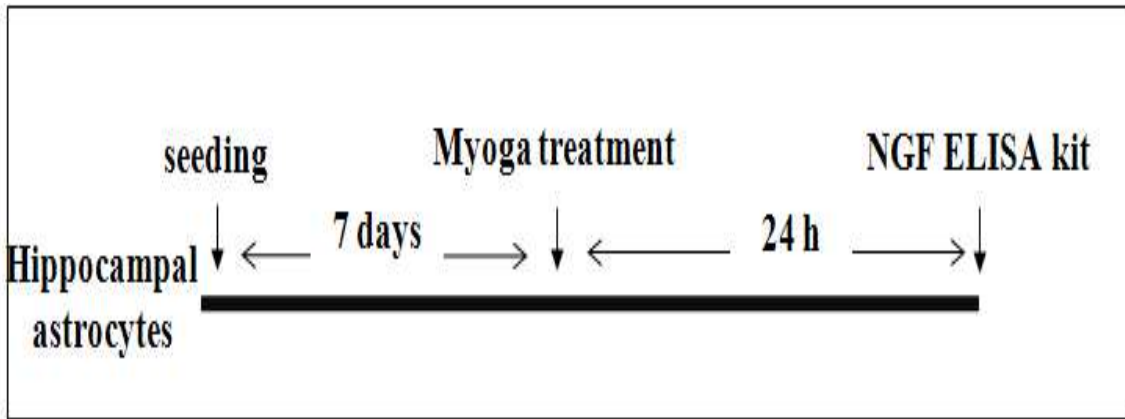


Fig. 양하의 NGF 생성량 조절 효능 평가를 위한 실험 스케줄

② 설치류 hippocampus에서 NGF 연관 synaptic activity 관련 단백질 발현량 측정: 실험동물

은 생후 6주령 정도의 설치류 사용. 실험동물은 12시간 light/dark cycle의 조명과 함께 일정한 온도와 습도의 조건하에서 사육하며 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하고 7일 동안 환경에 적응시킴. 양하 3주간 투여한 후 해마조직(hippocampus)를 적출하여 시냅스 형성 및 가소성(synaptic activity)를 확인할 수 있는 항체 2종(pre-synaptic activity; synaptophysin, post-synaptic activity; PSD95)를 이용하여 단백질 발현량을 측정하였다.

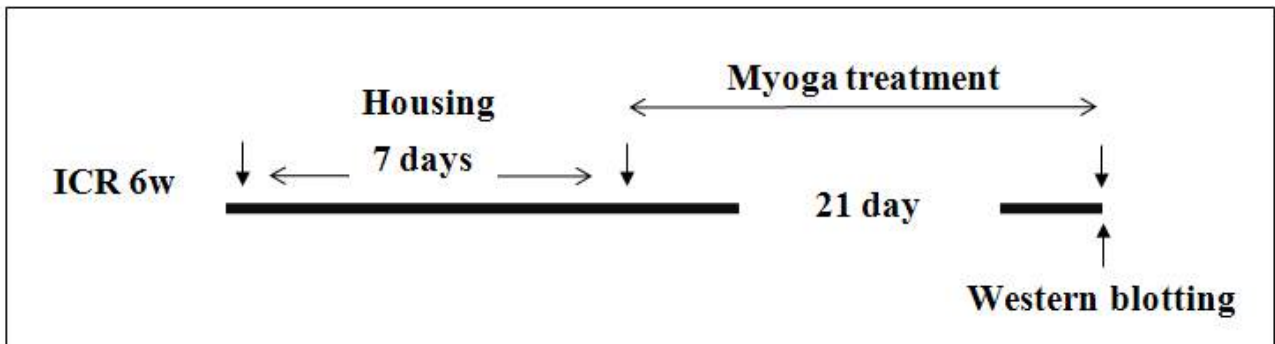


Fig. 양하의 NGF 연관 시냅스가소성 향상 효능 평가를 위한 실험 스케줄

(나) 실험결과

① 양하 수 추출물 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 을 24시간 처리한 후 NGF 생성량을 측정한 결과, 대조군 대비 각 135.37, 149.31, 139.68%로 증가한 것을 확인하였다.

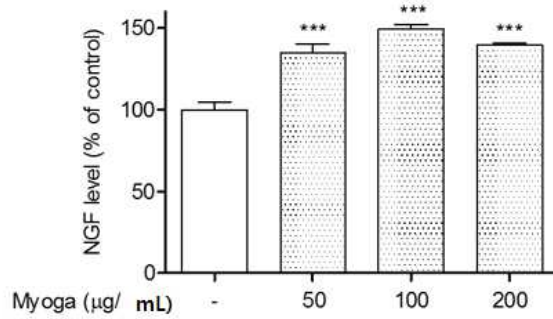


Fig. 양하의 NGF 생성 분비량 증가 효능

② 양하 수 추출물을 200, 400 mg/kg로 3주간 투여한 결과, pre-synaptic activity는 146.38, 187.99% 증가한 것을 확인하였음. Post-synaptic activity 또한 161.32, 195.80%로 증가하였으며, 양하 추출물 투여에 의하여 synapse 생성 또는 가소성이 향상된 것을 알 수 있었다.

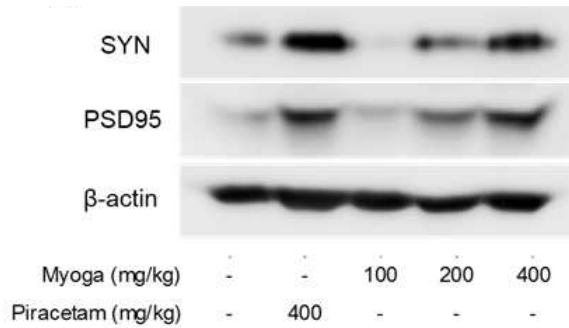
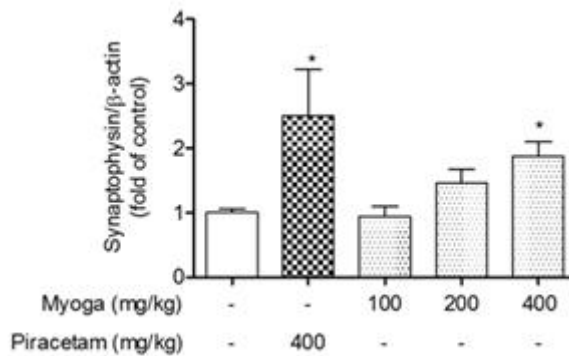


Fig. 양하의 pre-, post-synaptic activity 관련 단백질 발현 이미지



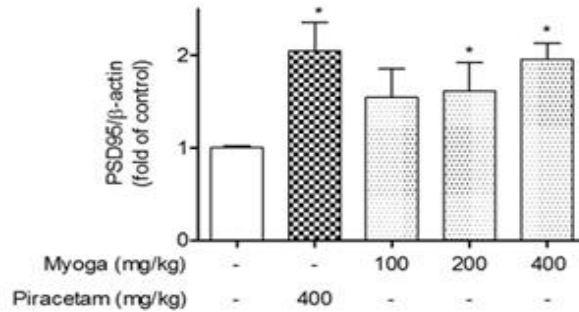


Fig. 양하의 post-synaptic activity 향상 효능

4. 양하의 뇌기능 개선효과 요약

가. 운동기능 장애 세포모델에서 양하의 신경세포 보호 효능을 평가함

(1) Rat primary mesencephalic culture system에서 도파민성 신경세포를 배양시키고, MPP+ 신경독성을 이용하여 운동기능 관련 세포 손상 모델을 제작하였다.

(2) 본 모델에 양하 수 추출물을 처리하여, 신경독성으로 인한 세포 손상이 억제되는 결과를 확인하였다.

나. 인지기능 장애 세포모델에서 양하의 아세틸콜린 분해 효소 억제 효능을 평가함

(1) 최종추출법이 정해지지 않은 상태에서 동물실험이 진행된 이유

- 양하의 Mioganal 성분은 물추출보다 주정추출시 유효성분농도가 높았으나 본과제에서는 mioganal외에 양하가 가지고 있는 전체 유효성분을 필요로 하였고 주정추출을 할경우 물추출보다 주정추출이 생산비용이 과다발생하여서 물추출을 선택하게되었다.

- 1차년도 인지기능 연관 세포모델 실험(아세틸콜린 분해 효소 억제능 실험) 결과와 양하의 뿌리와 꽃대의 수(물) 추출물과 주정(에탄올)추출물의 저 농도부터 고농도 까지 효능을 비교한 실험에서 꽃대 물 추출물의 효능이 가장 높았으며, 2차년도 2종 인지기능 동물실험(신기물체인식실험, Y-자 미로형실험)에서 양하 수(물) 추출물과 주정(에탄올) 추출물을 비교 평가한 결과, 양하 수(물) 추출물과 주정(에탄올) 추출물 간, 통계적 차이는 없으나 양하 물 추출물이 더 나은 경향을 나타내어 양하 물 추출물로 추가적으로 세부실험을 실시하였다. 결국 물추출법이 여러 가지 실험에서 우수하게 측정되어 동물실험에서 물추출법을 적용한것이기에 동물실험의 재실험은 필요하지 않습니다.

(2) 양하 뿌리의 에탄올 추출물과 수 추출물의 아세틸콜린 분해 효소 억제 효능 비교 시 에탄올 추출물에서 뛰어난 억제 효과를 확인하였다.

(3) 양하 꽃대의 에탄올 추출물과 수 추출물의 아세틸콜린 분해 효소 억제 효능 비교 시 수 추출물에서 뛰어난 억제 효과를 확인하였다.

(4) 양하 뿌리 에탄올 추출물과 양하 꽃대 수 추출물의 저농도부터 고농도 까지 효능 비교 시 꽃대 수 추출물의 효능이 높게 나타나 동물모델에서 검증 후 추가 실험을 진행하였다.

다. 인지기능 장애 동물모델에서 양하 수 추출물과 유기용매 추출물의 인지기능 개선 효능을 평가함

(1) ICR 계 수컷 설치류에서 scopolamine 독성을 이용한 인지 장애 모델을 2 종 행동실험을 통해 설정하였다.

- (2) 1차년도 인지기능 연관 세포모델 실험 결과, 양하 뿌리 에탄올 추출물과 양하 꽃대 수 추출물의 저농도부터 고농도 까지 효능 비교 시 꽃대 수 추출물의 효능이 높았으며, 따라서 이를 동물모델에서 비교 평가하였다.
- (3) ICR 계 수컷 설치류에서 scopolamine 독성을 이용한 인지 장애 모델 만든 후, 양하 추출물 설치류에서 scopolamine 독성을 이용한 인지 장애 모델 만든 후, 양하 추출물을 투여하여 2 중 행동실험을 통해 효능을 평가하였다.
- (4) 양하 수 추출물과 에탄올 추출물 모두 양성대조군인 도네페질 동등 이상의 인지기능 개선 효과를 갖는 것을 확인하였다.
- (5) 본 실험에서 양하 수 추출물과 에탄올 추출물 간, 통계적 차이는 없으나 양하 수 추출물이 나은 경향을 나타내어 양하 수 추출물을 활용하여 용량 의존 평가를 실시하였다.

다. 인지기능 장애 동물모델에서 양하 수 추출물 인지기능 개선효능을 용량 의존적으로 평가함

- (1) ICR 계 수컷 설치류에서 scopolamine 독성을 이용한 인지 장애 모델 만든 후, 양하 추출물을 투여하여 2 중 행동실험을 통해 효능을 평가하였다.
- (2) 양하 수 추출물의 용량의존적인 인지 개선 효능은 실험마다 달랐으나, 양하 추출물의 효능이 있음을 검증 하였다.

라. 양하의 인지기능 향상 효능 기전 연구를 수행함

- (1) SD 계 1일자 설치류 해마에서 얻은 astrocyte를 배양해 양하 처리 전/후의 NGF 양을 측정 한 결과, 양하 처리에 의하여 신경성장인자 분비량이 증가한 것을 확인하였다.
- (2) ICR계 수컷 설치류에 양하 수 추출물을 3주간 투여한 후 얻은 해마조직에 synaptic activity 활성화 인자를 반응시킨 결과, pre-synapse와 post-synapse가 모두 활성화 된 것을 확인하였다.

마. 본 연구과제를 통한 모델 설정 및 양성 대조군 활용 결과를 SCI 국제 학술지인 Neurotoxicology에 투고하여 게재하였다. 또한, 파킨슨병 모델 설정 중 함께 진행한 타 약제의 결과를 국내 학진등재지인 대한본초학회지에 게재하였다. 2차년도 도출된 양하 수추출물의 인지 향상 효능 결과는 SCI 국제 학술지인 Phytotherapy Research에 투고 준비중에 있다.

5. 연구성과 활용실적

가. 성과

경기대학교	구분		논문		기타(학술발표)
			SCI(E)	비SCI	
경기대학교	1차 년도	목표	0	1	0
		달성	0	0	2
	2차 년도	목표	1	1	0
		달성	1	2	2

(1)SCI(E) 논문 1편

제목: Donepezil inhibits the amyloid-beta oligomer-induced microglial activation in vitro and in vivo.

NeuroToxicology 40 (2014) 23–32

Contents lists available at ScienceDirect

NeuroToxicology



Donepezil inhibits the amyloid-beta oligomer-induced microglial activation *in vitro* and *in vivo*



Hyo Geun Kim ^{a,1}, Minho Moon ^{b,1,2}, Jin Gyu Choi ^a, Gunhyuk Park ^c,
Ae-Jung Kim ^d, Jinyoung Hur ^{e,3}, Kyung-Tae Lee ^c, Myung Sook Oh ^{a,2,4,*}

^aDepartment of Oriental Pharmaceutical Science, College of Pharmacy, Kyung Hee University, 26 Kyunghedae-ro, Dongdaemun-gu, Seoul 130-701, Republic of Korea
^bDepartment of Pharmacology, School of Medicine, Kyung Hee University, 26 Kyunghedae-ro, Dongdaemun-gu, Seoul 130-701, Republic of Korea
^cDepartment of Life and Neuropharmacological Science and Kyung Hee East-West Pharmaceutical Research Institute, Kyung Hee University, 26 Kyunghedae-ro, Dongdaemun-gu, Seoul 130-701, Republic of Korea
^dThe Graduate School of Alternative Medicine, Kyunggi University, 71 Chungjeong-ro-2-ga, Seodae-mun-gu, Seoul 120-837, Republic of Korea
^eDepartment of Brain Korea 21 Project Center, School of Medicine, Kyung Hee University, 26 Kyunghedae-ro, Dongdaemun-gu, Seoul 130-701, Republic of Korea

ARTICLE INFO

Article history:
Received 7 June 2013
Accepted 23 October 2013
Available online 1 November 2013

Keywords:
Donepezil
Amyloid-beta oligomer
Alzheimer's disease
Microglia
Inflammation

ABSTRACT

Recent studies on Alzheimer's disease (AD) have focused on soluble oligomeric forms of amyloid-beta (A β oligomer, A β O) that are directly associated with AD-related pathologies, such as cognitive decline, neurodegeneration, and neuroinflammation. Donepezil is a well-known anti-dementia agent that increases acetylcholine levels through inhibition of acetylcholinesterase. However, a growing body of experimental and clinical studies indicates that donepezil may also provide neuroprotective and disease-modifying effects in AD. Additionally, donepezil has recently been demonstrated to have anti-inflammatory effects against lipopolysaccharides and tau pathology. However, it remains unknown whether donepezil has anti-inflammatory effects against A β O in cultured microglial cells and the brain in animals. Further, the effects of donepezil against A β O-mediated neuronal death, astrogliosis, and memory impairment have also not yet been investigated. Thus, in the present study, we examined the anti-inflammatory effect of donepezil against A β O and its neuroinflammatory mechanisms. Donepezil significantly attenuated the release of inflammatory mediators (prostaglandin E₂, interleukin-1 beta, tumor necrosis factor- α , and nitric oxide) from microglia. Donepezil also decreased A β O-induced up-regulation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 protein and phosphorylation of p38 mitogen-activated protein kinase as well as translocation of nuclear factor-kappa B. We next showed that donepezil suppresses activated microglia-mediated toxicity in primary hippocampal cells using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay. In intrahippocampal A β O-injected mice, donepezil significantly inhibited microgliosis and astrogliosis. Furthermore, behavioral tests revealed that donepezil (2 mg/kg/day, 5 days, *p* < .05) significantly ameliorated A β O-induced memory impairment. These results suggest that donepezil directly inhibits microglial activation induced by A β O through blocking MAPK and NF- κ B signaling and, in part, contributing to the amelioration of neurodegeneration and memory impairment.

© 2013 Elsevier Inc. All rights reserved.

donepezil treatment suppresses astroglial activation in a tauopathy mouse model (Yoshiyama et al., 2010). To date, there has been no report on the effects of donepezil on the A β O-mediated activation of astrocytes. Thus, to evaluate whether donepezil influenced astrogliosis *in vivo*, we assessed GFAP, a specific marker for astrocytes, by immunostaining in the hippocampal region of mouse brains. A β O_{1–42}-injected hippocampi showed a significant increase in the number of GFAP-positive cells. In donepezil-administered mice, GFAP-positive immunoreactivity was decreased significantly (Fig. 5). These results indicate that cognitive

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgments

This work was carried out with the support of "IPET(112105-02-1-HD040)" Korea institute of planning & evaluation for technology in food, agriculture, forestry and fisheries, Republic of Korea. The authors thank Soohyun Kwak (Newton South High School, MA, USA) for drawing the illustration.

(2) 학진등재지 논문 2편

: MPTP로 유도된 Parkinson's disease 동물 모델에서 항염증효과를 통한 측백엽의 도파민신경 보호 효과

게재학회: 대한본초학회지. 29 (2014) 27-33

大韓本草學會誌 제29권 제3호(2014년 5월)
Kor. J. Herbology 2014 ; 29(3) : 27-33

ISSN 1229-1765(Print), ISSN 2288-7199(Online)
http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2014.29.3.27.

MPTP로 유도된 Parkinson's disease 동물 모델에서
항염증효과를 통한 측백엽의 도파민신경보호 효과

박건혁^{1#}, 김효근², 주미선², 김애정³, 오명숙^{1,2*}

1 : 경희대학교 일반대학원 나노의약생명과학과, 2 : 경희대학교 약학대학 한약학과, 3 : 경기대학교 대체의학대학원

Thuja orientalis leaves extract protects dopaminergic neurons against MPTP-induced neurotoxicity via inhibiting inflammatory action

Gunhyuk Park^{1#}, Hyo Geun Kim², Mi Sun Ju², Ae-Jung Kim³, Myung Sook Oh^{1,2*}

1 : Department of Life and Nanopharmaceutical Science, Graduates school, Kyung Hee University,

2 : Department of Oriental Pharmaceutical Science, College of Pharmacy Kyung Hee University,

3 : The Graduate School of Alternative Medicine, Kyunggi University

ABSTRACT

Objectives : The aim of this study was to investigate the protective effect of extract of *Thuja orientalis* leaves (TOFE) against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced neurotoxicity by inhibition of inflammation in *in vitro* and *in vivo* models of Parkinson's disease (PD).

의 활성을 억제하였다.

본 연구에서는 TOFE를 이용하여 태아중뇌세포에서 LPS 및 MPP⁺에 대한 세포 보호 효과를 확인하였으며, 동물모델에서 면역조직화학을 통해 흑색질 주변 신경아교세포 및 소교세포의 활성화에 미치는 영향을 알아보았다. TOFE 전처리에 의해 NO의 과생성이 유의성 있게 억제되었을 뿐만 아니라 iNOS, Cox-2, 활성화된 미세아교세포가 억제되었다. 또한 MPTP 동물모델에서 도파민세포 또한 유의성 있게 보호되었으며, 뇌의 염증과 관련이 있는 미세아교세포 및 성상교세포

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림수산식품기술기획평가원 "IPET(112105-02-1-HD040)" 에 의해 이루어진 것임

References

: 한국산 양하(꽃봉오리와 지하경)의 인지 기능 개선 효과
게재학회: 한국식품영양과학회지 43(10) (2014) 1519-1526

한국산 양하(꽃봉오리와 지하경)의 인지 기능 개선 효과

조교희¹ · 오명숙² · 김효근² · 이선희³ · 정건섭⁴ · 김애정¹

¹경기대학교 대체의학대학원, ²경희대학교 나노의약생명과학과
³신한대학교 식품영양학과, ⁴연세대학교 생명과학기술학부

Effects of Korean *Zingiber mioga* R. (Flower Buds and Rhizome) Extract on Memory

Kyo-Hee Cho¹, Myung-Sook Oh², Hyo-Geun Kim³, Sun-Hee Lee³,
Kun-Sub Chung⁴, and Ae-Jung Kim¹

¹Department of Alternative Medicine, Kyonggi University

²Department of Life and Nanopharmaceutical Science, Kyung Hee University

³Department of Food and Nutrition, Shinhan University

⁴Division of Biological Science and Technology, Yonsei University

ABSTRACT This study investigated the biological activities and effects of Korean *Zingiber mioga* R. (flower buds and rhizome) on memory. The general composition, minerals, anti-oxidative activities, and AChE inhibitory effects were analyzed, and NORT (Novel object recognition test) and Y-Maze test *in vivo* were performed. The general contents (moisture, crude fat, crude protein, and crude ash, wet basis) of ZB (flower buds) were 91.96%, 0.15%, 1.99%, and

감사의 글

본 연구는 IPET 고부가가치식품기술개발사업의 지원으로
수행된 연구임(112105-02-2-HD040).

(3) 학술대회 포스터 4편 (투고예정 SCI급 논문 1편)SCI(E) 논문

투고 예정지: Phytotherapy Research

투고 예정 논문제목: *Zingiber mioga* extract has memory enhancing effect
through regulation of nerve growth factor

예정 인원수: 4~5

제목1: 양하(*Zingiber mioga* R) 추출물의 항산화활성 및 아세틸콜린에스터라제 저해활성효과 (2013)

우나리아1), 조교희2), 이경석2), 김효근3), 오명숙3), 김애정2)*

1)호서대학교 바이오산업학부 식품공학과 2)경기대학교 대체의학대학원 3)경희대학교 약학대학 본초학교실

최근 노인인구 증가에 따른 노인성 질환이 사회적 문제로 대두되고 있는 실정이고, 이에 따라 노인성 질환의 개선을 위한 연구의 중요성이 강조되고 있다. 그 가운데 치매는 그 원인이 아직 구체적으로 밝혀져 있지 않아서, 근본적인 치료방안이 마련되어 있지 못한 실정이다. 게다가 현재 사용되고 있는 치매 치료제의 경우는 부작용이 심해서 천연 식물자원을 활용한 치료제 개발에 대한 연구가 절실히 요구되고 있다.

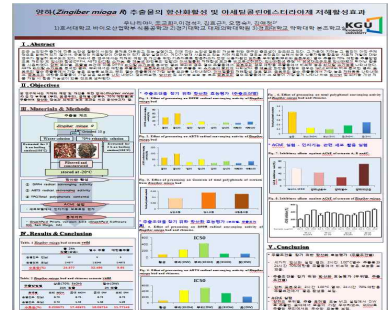
따라서 본 연구에서는 치매의 예방 및 개선을 위한 기초자료로 활용하고자 천연 식물자원인 양하를 부위별로(뿌리와 꽃봉우리) 열수 추출과 70% 에탄올 추출방법으로 처리한 후 항산화 활성(DPPH, ABTS 라디칼 소거능, 총 페놀성 화합물의 함량)과 아세틸콜린 저해활성 효과를 비교분석하였다. 항산화활성 측정 시 양성대조군으로 항산화력이 뛰어난 황금을 사용하였다. 양하 부위별, 추출별 조건에 따른 DPPH 라디칼 소거능을 분석한 결과 뿌리의 경우 열수 추출물에서, 꽃봉우리 경우 에탄올 추출물에서 비교적 높은 라디칼 소거능을 나타내었다. ABTS 라디칼 소거능을 분석한 결과, 뿌리에서는 에탄올 추출물이, 꽃봉우리에서는 열수 추출물의 소거능이 좋았게 나타났다. 총 페놀성 화합물 함량의 경우는 tanic acid와 비교 분석한 결과, 꽃봉우리 열수 추출물에서 가장 높은 효능을 보였고, 뿌리 열수 추출물에서 가장 낮은 효과를 나타내었다. 아세틸콜린 저해활성 검토 결과, 꽃봉우리 열수 추출물에서 가장 높은 저해율을 나타내었고, 꽃봉우리 에탄올 추출물이 가장 낮은 효과를 나타내었다. 정리해보면, 항산화 및 뇌기능 보호 등 모두 꽃봉우리 열수 추출물에서 그 효능이 가장 좋게 나타나 차후 항산화 및 뇌기능 개선 제품 개발 시 활용 가능성이 있을 것으로 생각된다. **[본연구는 IPET(112105-02-1-HD040)에 의해 수행되었습니다.]**

학술대회명
염증과 영양

발표장소
밀레니움서울힐튼호텔
개최기간

2013.11.08 ~ 2013.11.08

학술대회발표논문집명
한국영양학회 추계학술대회



제목2: 양하(*Zinger Mioga* Rosc.) 꽃 봉우리 분말을 첨가한 기능성 강화 곡물다식의 제조 및 품질평가 (2013)

우나리아1), 조교희2), 김민정2), 김지연2), 김혜연2), 이경석2), 김애정2)*

1)호서대학교 바이오산업학부 식품공학과 2)경기대학교 대체의학대학원

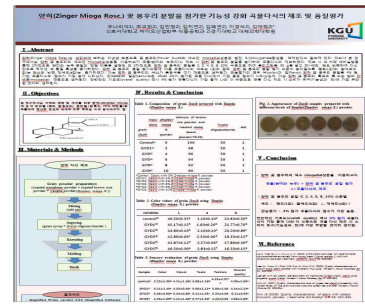
양하(*Zinger Mioga* Rosc.)는 생강과에 속하는 다년생 초본으로 꽃 봉우리(flower buds)의 색소인 miogadial성분은 혈전, 5-lipoxygenase활성을 억제한다고 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 양하 꽃 봉우리의 색소인 miogadial성분을 이용하고자 곡물(현미와 녹두)다식 제조 시 양하 꽃 봉우리 분말을 첨가하여 곡물다식의 제조하였다. 제조 시 수 차례 예비 실험을 통해 1차적으로 현미와 녹두 분말의 적정 비율을 설정한 후 2차적으로 양하 꽃 봉우리 분말을 0, 2, 4, 6, 8, 10% 수준으로 하여 올리고당을 50 g을 넣고 30~40회 정도 반죽하여 다식판으로 찍어낸 후 품질 특성을 평가하였다. 양하 꽃 봉우리 분말 첨가수준에 따른 곡물다식의 색도는 L값의 경우, 양하 꽃 봉우리 분말 첨가 수준이 높아질수록 명도(L값)와 황색도(b값)는 감소한 반면, 적색도(a값)는 증가하였다. 이는 양하 꽃 봉우리의 색소가 붉은색을 띠기 때문으로 생각된다. 관능평가의 경우 색(color)과 향(flavor) 양하 꽃 봉우리 분말을 4% 첨가한 곡물다식의 점수가 가장 높게 나타났다. 맛(taste)과 질감(texture)은 2%와 4%가 첨가된 곡물 다식에서 가장 좋은 점수가 나타났는데 이는 양하 꽃 봉우리 특유의 특 쓰는 향과 맛 성분(miogadial) 때문으로 생각된다. 전반적인 기호도(overall quality) 역시 4% 첨가 곡물다식이 가장 좋게 나와 이 수준으로 곡물 다식 제조 시 소비자 욕구(기능성과 맛)에 가장 부합할 것이라 생각된다. **[본연구는 IPET(112105-02-1-HD040)에 의해 수행되었습니다.]**

학술대회명
염증과 영양

발표장소
밀레니움서울힐튼호텔
개최기간

2013.11.08 ~ 2013.11.08

학술대회발표논문집명
한국영양학회 추계학술대회



제목1: Physicochemical Activities and Quality Characteristics Modified Cinnamon Punch Prepared with *Yangha* Bud(*Zingiber Miogar* R) (2014)

Ae-Jung Kim*, Ji-Yeon Kim, Su-Jung Lee, Nariyah Woo

Dept. of Alternative Medicine Kyonggi Univ., Dept. of Food and Nutrition Bucheon Univ., Dept. of Food Science and Technology Hoseo Univ.

This study was performed to investigate the quality and physicochemical properties of modified cinnamon punch prepared with ginger, raw *Yangha* flower buds(*Zingiber Mioga* R), and cinnamon and sugar. Modified cinnamon punch was prepared by raw *Yangha* flower buds instead of ginger, the levels were at 0, 25, 50, 75, and 100% of raw *Yangha* flower buds. Antioxidative activities were measured by scavenging activities of DPPH radicals, ABTS radicals, , , No, and acechylcholinesterase inhibitory effect . For analyzing quality characteristics, proximate composition, color, pH, and sensory evaluations were measured. As the using content of *Yangha* buds was increased, L-value significantly decreased while a-value and b-value were increased, respectively($p<0.05$). In the sensory evaluations, the samples containing 50% and 75% *Yangha* flower buds obtained better results in attitude. From these results, we suggest that *Yangha* flower buds is a good ingredient for increasing the consumer acceptability and functionality of cinnamon punch.

학술대회명

건강가정기본법 제정 10주년, 과제와 전망

발표장소

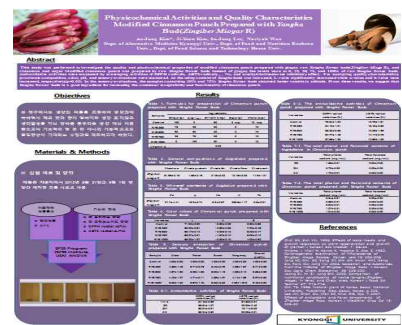
숙명여대 백주년 기념관

개최기간

2014.04.26 ~ 2014.04.26

학술대회발표논문집명

건강가정기본법 제정 10주년 기념 2014 통합학술대회



제목2: Antioxidant Activities and Quality Characteristics *Sulgidduk* Prepared with *Yangha* Buds(*Zingiber Miogar* R) (2014)

Hyun-Joo Lee, Myung-Ryun Han, Ae-Jung Kim

Dept. of Alternative Medicine, Kyonggi Univ., Dept. of Food & Nutrition, Hyejeon Univ.

This study was performed to investigate the antioxidative properties of *Yangha* Buds(*Zingiber Mioga* R) and quality characteristics of a Korean steamed-rice cake, *Sulgidduk* prepared with *Yangha* Buds juice. Antioxidative activities were measured by scavenging activities of DPPH radicals, ABTS radicals, total phenol content and total flavonoid content in *Yangha* Buds(water extract and juice). *Sulgidduk* was prepared by adding *Yangha* buds at 0, 1, 2, 3, and 4% of the juice. For analyzing quality characteristics, proximate composition, color, texture profiles, and sensory evaluations were measured. As the adding content of *Yangha* buds juice was increased, L-value significantly decreased while a-value and b-value were increased, respectively($p<0.05$). For the texture profiles, the control group had a higher score for hardness as compared to the case groups added with *Yangha* buds juice. Springiness, chewiness and adhesiveness were not significantly different among the groups. In the sensory evaluations, the samples containing 3% *Yangha* buds juice obtained better results in attitude. From these results, we suggest that *Yangha* buds is a good ingredient for increasing the consumer acceptability and functionality of *Sulgidduk*.

학술대회명

건강가정기본법 제정 10주, 과제와 전망

발표장소

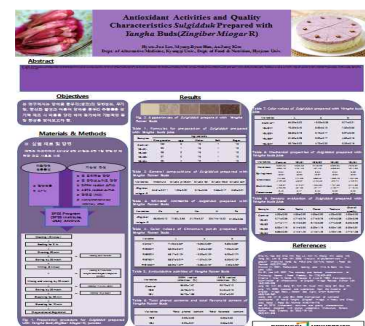
숙명여대 백주년기념관

개최기간

2014.04.26 ~ 2014.04.26

학술대회발표논문집명

건강가정기본법 제정 10주년 기념 2014 통합학술대회



2 절. 양하의 성분 및 양하음료 특성 분석 수행내용

1. 양하의 성분 분석

가. 양하의 일반성분 분석

양하 시료의 일반성분은 AOAC법에 의해 분석하였다. 수분은 105℃ 상압가열건조법, 조지방은 soxhlet추출법, 회분함량은 550℃ 회화법으로 분석하였다. 단백질 함량은 질소 분석기 (Vario Max C/N, Elementar Co, Hanau, Germany)로 분석하였으며 분석된 질소 함량에 단백질 계수 6.25를 곱해서 단백질함량으로 표기하였다.

나. 양하의 미량성분

양하 시료의 미량성분 (칼슘, 인, 마그네슘의 함량)은 ICP(Inductively Coupled Plasma: Lactam 8440 Plasmalac, Horiba Scientific., Longjumeau Cedex, France)를 이용하여 측정하였다.

2. 양하 농축액의 특성 분석

가. DPPH 라디칼 소거능

Blois의 방법을 변형하여, 시료 100 μ L에 1 mM DPPH 용액을 가하여 실온, 암실에서 30분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자 공여 능력은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 표현하였 이때 대조용 시료로는 L-Ascorbic acid(0.1 mg/mL)를 사용하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균값으로 계산하였다.

나. ABTS 라디칼 소거능

ABTS 7.4 mM과 potassium persulphate 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 이용액을 732 nm에서 흡광도 값이 0.7 ± 0.030 (mean \pm SE)가 되도록 1 X PBS로 희석하였다. 희석된 ABTS용액 950 μ L에 추출물 시료 50 μ L를 가하여 흡광도의 변화를 측정하였다. ABTS에 의한 총 항산화력은 시료첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 표현하였다.

3. 양하 음료의 성분 분석

가. 양하 추출 농축액을 이용한 음료(수정과) 제조

양하 (꽃대)를 이용한 음료수로 수정과를 제조하였다. 우선 생강, 양하 (꽃대), 계피는 각각 무게의 10배에 해당하는 물을 넣고 오쿠(OC-100NB, (주)오쿠, KOREA) 약차 기능을 이용하여 2시간 30분간 달여 각각 추출액을 만든다. 체에 거른 후 제조 과정 중 줄어든 양만큼

수분을 보충하여 농축액의 총양이 원재료의 10배에 해당하도록 준비하였다. 즉 생강 100 g에 1 L의 물을 넣고 약차 기능을 이용하여 추출액을 만든 다음 그 양이 1 L가 되도록 생수를 넣어 준비한다. 양하꽃대와 계피도 위와 같은 방법으로 제조하여 추출액을 준비한다. 계피 추출액과 흑설탕의 양은 고정하고 양하와 생강 추출액을 다음의 표와 같은 비율로 배합하여 수정과를 제조하였다

4. 양하 추출 농축액을 이용한 음료(수정과)의 성분 분석

가. 양하 추출 농축액을 이용한 음료(수정과)의 색도

(1) 양하 (꽃대)를 이용한 수정과 시료의 색도 측정은 색도계(Color Reader Cr-10, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 L값(lightness), a값(+redness), b값(+yellow ness)으로 나타내었다. 사용된 표준 백색판(standard plate)은 L=97.26, a=0.07, b=+1.86이었으며 각 실험은 3회 반복하여 얻은 값을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다.

(2) 양하 추출 농축액을 이용한 음료(수정과)의 pH

양하 (꽃대)를 이용한 수정과 시료의 pH값은 pH 측정기(Lab 870, Schott Instruments, Mainz, Germany)를 이용하여 3회 반복 측정한 후 평균값으로 나타내었다.

5. 양하 음료의 특성 분석

가. 양하 추출농축액을 이용한 음료 (수정과)의 항산화 활성 비교

(1) DPPH 라디칼 소거능

Blois의 방법을 변형하여, 시료 100 μ L에 1 mM DPPH 용액을 가하여 실온, 암실에서 30 분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자 공여 능력은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 표현하였 이때 대조용 시료로는 L-Ascorbic acid(0.1 mg/mL)를 사용하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균값으로 계산하였다.

(2) ABTS 라디칼 소거능

ABTS 7.4 mM과 potassium persulphate 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 이용액을 732 nm에서 흡광도 값이 0.7 ± 0.030 (mean \pm SE)가 되도록 1 X PBS로 희석하였다. 희석된 ABTS용액 950 μ L에 추출물 시료 50 μ L를 가하여 흡광도의 변화를 측정하였다. ABTS에 의한 총 항산화력은 시료첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 표현하였다.

(3) Total polyphenol 함량

Folin-Denis 변법에 의하여, 추출물 500 μ L을 취하여 Folin-Dines reagent 시약 50 μ L을 가한 뒤 3분간 방치한 후, 10%(w/v) Na_2CO_3 용액 500 μ L를 가하여 1시간 동안 정치한

후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선을 바탕으로 tannic acid로 환산하여 나타내었다.

(4) Total flavonoid 함

Mello 등의 변형한 방법에 따라, 추출물 20 μ L에 EtOH 80 μ L을 혼합하고 2% AlCl₃·6H₂O 100 μ L을 가하여 37°C에서 5분간 반응 후 430 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 rutin을 이용하여 작성한 표준곡선을 바탕으로 rutin으로 환산하여 나타내었다.

나. 양하 추출농축액을 이용한 음료 (수정과)의 관능평가 및 소비자 선호도 검사

(1) 관능평가

양하(꽃대)를 이용한 수정과 시료의 관능검사는 15명의 검사요원들을 대상으로 실험목적 및 평가항목들에 대하여 설명을 하였고 훈련과정을 거친 다음 관능평가를 실시하였다. 시료는 1회용 종이컵에 담아 제공하였다. 평가항목은 색(color), 향(flavor), 단맛(sweetness), 자극적인 맛(pungency), 전반적인 기호도(overall preference)로 정하였으며, 기호도가 높을수록 높은 점수를 주는 7점 척도법을 사용하였다.

(2) 소비자 선호도 평가

개발된 수정과를 20~30대 소비자 50명을 대상으로 하여 소비자 관능 평가를 실시하였다. 평가 대상자들에게 연구의 목적과 평가항목들에 대하여 사전 설명을 한 후, 시료는 1회용 종이컵에 담아 실시하였다. 평가항목은 색(color), 향(flavor), 단맛(sweetness), 자극적인 맛(pungency), 전반적인 기호도(overall preference)로 정하였으며, 기호도가 높을수록 높은 점수를 주는 7점 척도법을 사용하였다. 개발된 시제품 양하 수정과와 시중에 판매되고 있는 E사제품과 P사제품을 비교군으로 함께 제공하였다.

Table * . Formulas of cinnamon punch prepared with *Yangha* flower buds

Samples	Ingredients(g)			
	Ginger extract	YFB extract	Cinnamon extract	Black Sugar
YFB0	100	0	50	15
YFB25	75	25	50	15
YFB50	50	50	50	15
YFB75	25	75	50	15
YFB100	0	100	50	15

YFB : *Yangha* flower buds.

YFB0: ginger 100 : *Yangha* flower buds 0

YFB25: ginger 75 : *Yangha* flower buds 25

YFB50: ginger 50 : *Yangha* flower buds 50

YFB75: ginger 25 : *Yangha* flower buds 75

YFB100: ginger 0 : *Yangha* flower buds 100

다. 양하를 이용한 설기떡 비교

(1) 양하를 이용한 설기떡의 색 비교

비교양하 (꽃대)를 이용한 설기떡 시료의 색도 측정은 색도계(Color Reader Cr-10, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 L값(lightness), a값(+redness), b값(+yellow ness)으로 나타내었다. 사용된 표준 백색판(standard plate)은 L=97.26, a=0.07, b=+1.86이었으며 각 실험은 3회 반복하여 얻은 값을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다.

(2) 양하를 이용한 설기떡의 물성 비교

양하 (꽃대)를 이용한 설기떡 제품의 색도를 비교하기 위하여 색도계(Spectro Colorimeter Model JS-555, Japan)를 사용하여 각각 L, a, b값을 3회 반복 측정한다. 또한 제품의 물성은 computer system과 printer가 연결한 Texture analyser(TA.XT2 analyser, England)로 TPA(Texture Profile Analysis) test를 실시하여 측정하며 TPA(Texture Profile Analysis)방법을 통하여 각 시료의 경도(hardness), 탄력성(springiness), 씹힘성(chewiness), 겹성(gumminess), 응집성(cohesiveness) 등을 각각 3회 반복 측정한다.

(3) 양하를 이용한 설기떡의 관능평가

제품에 대한 관능검사는 호서대학교 대학원 식품영양학과 학생 15명을 관능검사요원으로 선발하여 예비 실험을 통해 반복 훈련 후 실행한다. 관능검사 실시 시간은 오전 11시와 오후 3시에 행하고 머리위에 형광등이 설치되고, 칸막이가 있는 검사대에서 제품의 색, 맛, 향, 조직감,

전체적인 기호도에 대하여 2회 반복 실시한다. 검사방법은 7점 기호척도법(hedonic scale)에 의하여 1점은 아주 나쁘다, 7점은 아주 좋다고 평가한다. 한 개의 시료를 평가한 후에는 반드시 20℃의 물로 입안을 헹군 후 다시 다음 시료를 평가하도록 한다.

라. 양하 농축액의 동맥경화 억제 효과

(1) 양하 농축액이 혈관평활근세포의 생존율에 미치는 효과

RASMCs(혈관평활근세포)를 10%의 우태아 혈청(fetal bovine serum)이 포함된 DMEM 배지를 이용하여 배양하였다. 혈관평활근세포를 96 well microtiter plate에 각 well 당 세포 수 $5 \times 10^3/100 \mu\text{l/well}$ 이 되도록 주입하여 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 부착시켰다.

양하 농축액을 0.01~10 mg/ml 농도로 각 well에 100 μl 처리하여 24시간 동안 배양시켰다. Ez-cytox를 각 well 당 10 μl 처리한 후 배양기에서 30분간 반응시켰다. ELISA plate reader(Synerge2, BioTek, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도 측정 후, 백분율로 환산하여 양하 농축액 혈관평활근세포 생존율에 대한 결과를 확보하였다.

(2) 양하 농축액이 혈관평활근세포의 증식에 미치는 효과

혈관평활근세포 세포를 96 well microtiter plate에 각 well 당 세포수 $2 \times 10^3/100 \mu\text{l/well}$ 이 되도록 주입하여 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 부착시켰다. 양하 농축액을 0.001~1 mg/ml 농도로 각 well에 100 μl 씩 처리하여 48시간 동안 배양시켰다. Ez-cytox를 각 well 당 10 μl 처리한 후 배양기에서 30분간 반응시켰다. 음성 대조군은 양하 농축액을 이용하지 않은 것이고, 양성 대조군은 PDGF (platelet-derived growth factor, 10 ng/ml)를 이용한 것이다. ELISA plate reader(Synerge2, BioTek, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도 측정 후, 백분율로 환산하여 양하 농축액의 혈관평활근세포 증식에 대한 결과를 확보하였다.

3 절. 양하의 성분 및 양하 제품 특성 연구결과

1. 양하의 성분 분석결과

가. 양하의 일반성분 분석

양하의 일반성분 분석결과는 다음의 표와 같다. 수분함량의 측정결과, 양하(근경)은 94.61%이었고, 양하(꽃대)는 91.96%이었다. 조단백질과 조지방의 경우는 양하(근경)과 양하(꽃대)간의 차이는 거의 없었다. 탄수화물은 양하(꽃대)가 10.16% 측정된것에 비하여, 양하(근경)은 2.56%로 낮은 경향을 보였다.

선행 연구들에 의하면, 여수산 양하꽃대의 분석결과와 비교해 보면, 수분 함량은 비슷한 수준이었으나, 조지방, 탄수화물, 조회분의 함량은 낮은 수준이었고, 조단백질은 약 3 배 정도 높은 함유량을 나타내었다. 양하와 양하근경의 일반성분을 비교한 결과, 양하와 양하근경의 조지방 함량은 0.6, 3.0%, 조단백질 함량은 0.6, 3.0%로 보고되었다.

Table *. The contents of General Compositions of *Yangha* flower Roots and Buds
(g/100 g, wet weight)

	Moisture	Crude protein	Crude fat	Carbohydrate	Crude ash
<i>Yangha</i> flower Roots	94.61±0.31	1.99±0.23	0.15±0.05	2.56±0.17	0.69±0.01
<i>Yangha</i> flower Buds	91.96±0.15	1.99±0.16	0.15±0.32	10.16±0.38	11.9±1.01

나. 양하(꽃대)의 미량성분

양하 시료의 미량성분 (칼슘, 인, 마그네슘의 함량)은 ICP를 이용한 분석한 결과는 다음 표와 같다. 칼슘의 함량은 근경시료에서 58.90mg%로 꽃대의 31.70mg%의 약 2배로 분석되었다. 양하 근경과 꽃대의 무기질 함량은 칼륨이 234.74, 258.6 mg%로 가장 많이 함유한 것으로 분석되었다. 양하는 칼륨의 좋은 급원 식품이 될 수 있는 자원이 될 것으로 생각된다.

Table *. The contents of Mineral Compositions of *Yangha* flower Roots and Buds
(g/100 g, wet weight)

	<i>Yangha</i> flower Roots	<i>Yangha</i> flower Buds
Calcium (Ca)	58.90±0.12	31.7±4.41
Phosphorus(P)	17.50±2.56	15.2±0.74
Sodium (Na)	21.73±3.27	8.20±0.57
Potassium(K)	234.74±10.22	258.6±1.17
Iron (Fe)	31.90±3.56	0.50±0.01

다. Mioganal의 함량분석결과

Mioganal의 함량을 뚜렷히 분석하여 밝힐수 없는 이유는 다음과 같습니다. 양하의 Mioganal 성분은 밝혀진지 얼마 되지 않은 새로운 향기 성분으로서 성분을 밝힌 논문은 일본의 Abe, M박사의 논문인 Mioganal, a Novel Pungent Principle in Myoga (*Zingiber mioga* Roscoe) and a Quantitative Evaluation of Its Pungency가 전부임. 일본의 Abe, M 박사에게 성분을 수 차례 요구 해보았으나 답장이 없었음. 표준품 판매회사인 sigma-aldrich, wako chemical 등 국내 판매처에서도 구입 할 수 없는 실정임, 또한 GC/MS분석을 시도했으며, Library등록되지 않은 unknown 파크 중 있을 것으로 추측됨.

라. 양하 농축액의 특성 분석 (양하 추출농축액의 항산화 활성)

(1) DPPH 라디칼 소거능

항산화물질의 전자공여능을 측정할 때는 DPPH법이 편리하다고 알려져 있으나, 색소가 함유된 추출물의 경우 DPPH법의 적용에는 많은 경험이 요구되고 있다. 각 추출물에서 이러한 라디칼

을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다.

양하(꽃대)의 추출물과 착즙액의 DPPH 라디칼 소거능을 비교해 본 결과, 착즙액이 55.70%로 측정되었다.

Table *. DPPH radical inhibition of *Yangha* buds water extract and *Yangha* buds juice

	DPPH radical inhibition(%)
YBE	45.78 ± 2.74 ^a
YBJ	55.70 ± 1.88 ^b

YBE : *Yangha* buds water extract

YBJ : *Yangha* buds juice

Means with different letters in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

(2) ABTS 라디칼 소거능

ABTS cation radical 소거능은 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)와 potassium persulfate와의 반응으로 ABTS cation radical이 생성되면 특유의 색인 청록색을 띠게 되고, 시료를 첨가함에 따라 연한 녹색으로 decolorization되는 것을 측정하는 방법이며, hydrogen donating antioxidant와 chain breaking antioxidant 모두를 측정 할 수 있다. ABTS 라디칼 소거능은 라디칼을 생성하는 ABTS 존재 시 hydrogen peroxide와 metmyoglobin의 활성을 토대로 보다 빠른 항산화 반응을 일으켜 myoglobin radical을 감소시키는 기전이라고 할 수 있다.

양하(꽃대)의 추출물과 착즙액의 ABTS 라디칼 소거능은 24.04%로 각각의 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

Table *. ABTS radical inhibition of *Yangha* buds water extract and *Yangha* buds juice

	ABTS radical inhibition(%)
YBE	24.04 ± 0.19 ^{NS}
YBJ	24.57 ± 0.39

(3) Total polyphenol 함량

페놀성 물질은 2차 대사산물의 하나로 식물체에 널리 분포되어 있으며, 다양한 구조와분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지므로 단백질 및 거대분자들과 쉽게 결합하여 항암 및 항산화 활성과 같은 다양한 생리활성을 나타낸다. 따라서 식물이 함유하고 있는 페놀

화합물의 양은 항산화력의 간접적인 지표가 된다.

양하추출액과 양하 착즙액의 총페놀 함량은 0.33mg/g으로 측정되었다.

Table *. Total phenol content of *Yangha* buds water extract and *Yangha* buds juice

Total phenol content (mg TAE/g)	
YBE	0.33±0.02 ^{NS}
YBJ	0.32±0.01

(4) Total flavonoid 함량

Flavonoid는 항산화, 항암, 항균 등 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있어서 생약재를 포함한 각종 식물 대상 연구에서 그 함량이 중요하게 다뤄지고 있다.

Total flavonoid content의 경우, 양하추출액과 양하 착즙액의 총 플라보노이드 함량이 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

Table *. Total flavonoid content of *Yangha* buds water extract and *Yangha* buds juice

Total phenol content (mg TAE/g)	
YBE	0.05±0.00 ^{NS}
YBJ	0.06±0.00

2. 양하 음료의 성분 분석

가. 양하 추출 농축액을 이용한 음료(수정과) 제조

양하(꽃대)를 이용한 음료수로써 개발시, 정과를 생강 첨가 비율에 대하여 25, 50, 75, 100%로 대체하여 제조하였다. 생강을 첨가한 수정과의 매운맛과 진한색을 개선하여, 수정과의 대중화를 모색하고자 하였다.

나. 양하 추출 농축액을 이용한 음료(수정과)의 성분 분석

양하 추출 농축액을 이용한 음료(수정과)의 색도

양하(꽃대)를 이용한 수정과의 색도 측정 결과, 명도(L)값과 황색도(b)값은 양하 (꽃대)의 첨가량이 증가할수록 유의적으로 감소한 반면 적색도(a)값은 첨가량이 증가할수록 유의적으로 증가되었다. 즉 명도(L)값은 대조군이 71.30인데 비하여, 양하 (꽃대)를 첨가한 경우 68.37~68.17로 첨가물 양이 증가할수록 명도값이 유의적으로 낮아지는 경향을 관찰하였다. 또한 적색도(a)값도 대조군이 -3.63인데 비하여, 첨가량이 증가할수록 -2.63~-0.80으로 증가하는 경향을 보였다.

즉, 양하 (꽃대)의 첨가량이 수정과에 영향을 미치는 요인임을 확인할 수 있었다.

Table *. Color values of Cinnamon punch prepared with *Yangha* flower Buds

Samples	L	a	b
Control	71.30±0.62 ^a	-3.63±0.06 ^d	5.80±0.66 ^a
YFB25	68.17±0.12 ^b	-2.63±0.06 ^c	7.20±0.46 ^b
YFB50	68.23±0.61 ^b	-2.00±0.10 ^b	6.20±0.17 ^b
YFB75	68.33±1.07 ^b	-1.97±0.12 ^b	6.03±0.12 ^b
YFB100	68.37±0.31 ^b	-0.80±0.10 ^a	4.30±0.50 ^c

다. 양하 추출 농축액을 이용한 음료(수정과)의 pH

양하 (꽃대) 첨가 수준에 따른 수정과와 pH값의 측정결과, 양하 (꽃대) 가 첨가되지 않은 대조군이 5.70로 가장 높게 나왔으며, 양하 (꽃대)만을 첨가한 수정과 값이 4.69로 첨가량의 증가함에 따라 유의적으로 pH가 감소하는 경향을 보였다.

주스의 맛과 기호도를 높이기 위해서는 당과 산의 비가 중요하다. 본 연구개발에 의한 양하 (꽃대) 의 수정과의 산도는 과일주스의 산도와는 다른 경향이 있겠지만, 향후 양하 산지의 출하시기나 품종에 따른 당과 산의 비율의 체계적인 연구를 통하여 소비자가 선호하는 품질 표준화가 더욱 필요하겠다.

Table *. pH of Cinnamon punch prepared with *Yangha* flower Buds

Samples	pH
Control	5.70±0.02 ^a
YFB25	5.51±0.01 ^b
YFB50	5.30±0.01 ^c
YFB75	5.05±0.03 ^d
YFB100	4.69±0.00 ^e

4. 양하 음료의 특성 분석

가. 양하 추출농축액을 이용한 음료(수정과)의 항산화 활성 비교

(1)DPPH 라디칼 소거능

양하(꽃대) 첨가비율에 따른 수정과의 DPPH 소거능 측정된 결과, 무첨가군이 대조군이 79.84%인데 비하여, 양하(꽃대)를 첨가할수록 84.13~87.77%로 증가하는 경향을 관찰할 수 있었다.

두충, 목단피, 백작약, 복분자를 n-hexane, chloroform, ethyl acetate 용매로 분획하여 전자공여능 측정결과 ethyl acetate 분획물이 1,000 μg/mL에서 95.0% 이상의 활성을 나타낸

결과와 비교해 볼 때, 천연복합물의 추출물보다는 낮았으나, 수정과 음료수로써 양하(꽃대)를 첨가한 본 개발품의 DPPH 라디칼 소거능은 높은 경향임을 확인할 수 있었다.

Table *. DPPH radical inhibition of Cinnamon punch prepared with *Yangha* flower Buds

Samples	DPPH radical inhibition (%)
Control	79.84 ± 1.22 ^{1)b2)}
YFB25	84.13 ± 1.31 ^a
YFB50	85.23 ± 3.55 ^a
YFB75	87.66 ± 1.46 ^a
YFB100	87.77 ± 1.29 ^a
Vit. C	19.81 ± 0.45 ^e

(2) ABTS 라디칼 소거능

ABTS radical inhibition 효과를 비교한 결과, 75% 이상 양하(꽃대)를 첨가한 수정과 시료가 대조군에 비하여 14.17~15.43%로 측정되었다.

일반적으로 식품의 항산화제로 사용되는 vitamin C는 조리 과정 중에 그 기능이 소실되는 반면 양하(꽃대) 항산화 기능 보유한 물질은 파괴되지 않아 우수한 항산화 활성을 나타내는 것으로 생각되었다. 양하(꽃대)의 항산화 활성은 열처리를 거치는 가공방법에도 높은 항산화 활성을 유지하므로 기능성 식품 소재로서의 이용 가능성이 높음을 확인하였다.

Table *. ABTS radical inhibition of Cinnamon punch prepared with *Yangha* flower Buds

Samples	ABTS radical inhibition (%)
Control	12.26 ± 1.56 ^b
YFB25	12.76 ± 1.81 ^b
YFB50	12.69 ± 1.39 ^b
YFB75	14.17 ± 0.79 ^a
YFB100	15.43 ± 2.50 ^a
Vit. C	17.15 ± 0.59 ^c

(3) Total polyphenol 함량

양하(꽃대) 첨가비율에 따른 수정과의 total phenol content 측정결과, 양하(꽃대) 첨가비율이 증가할수록 유의적으로 증가되었다. 대조군의 total phenol content는 0.84 mg/mL인데 비하여, 양하(꽃대)의 첨가량이 증가할수록, 0.89~1.07 mg/mL로 증가하였다.

울금과 인도산 강황에서 각각 약 98.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 과 85.7 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 높은 폴리페놀 함량을 나타냈으며, 국산 울금과 생강의 경우 42.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 39.7 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 인 연구결과와 비교해 볼 때, 양하(꽃대) 수정과는 낮은 결과를 나타내었다.

Table *. The total phenol contents of Cinnamon punch prepared with

Yangha flower Buds

Samples	Total phenol content (mg/mL)
Control	0.84 \pm 0.01 ^e
YFB25	0.89 \pm 0.01 ^e
YFB50	0.92 \pm 0.01 ^c
YFB75	1.04 \pm 0.01 ^a
YFB100	1.07 \pm 0.02 ^b

(4) Total flavonoid 함량

Flavonoid는 항산화, 항암, 항균 등 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있어서 생약재를 포함한 각종 식물 대상 연구에서 그 함량이 중요하게 다뤄지고 있다.

Total flavonoid content의 경우는 양하(꽃대) 첨가비율에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

5. 양하 추출농축액을 이용한 음료 (수정과)의 관능평가 및 소비자 선호도 검사

가. 관능평가

양하(꽃대) 첨가 수준을 다르게 한 수정과의 관능평가를 실시한 결과는 다음과 같다. 개발된 양하(꽃대)의 수정과 음료는 묘사분석 훈련과정을 통해 도출된 음료의 용어와 묘사 분석특성을 도출하여 실시하였다.

색, 향, 단맛, 향이 강한 매운맛을 비롯한 전체적인 기호도는 양하(꽃대)를 50%비율로 생강과 대체한 YFB50 시료에서 가장 우수하게 나타났다. 색의 경우는 관능평가 결과 4.11~5.57로 평가되었지만, 시료간의 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 향 항목은 YFB50 시료에서 가장 높은 점수로 평가되었으나, 25~75%대체한 시료간의 유의적인 차이를 나타내지는 않았다. 향이 자극적인 맛은 각 시료간의 유의적인 차이를 보이지는 않았다. 따라서 전반적인 기호도 평가에서는 대조군에 비해서 양하(꽃대)를 첨가한 경우가 모든 시료에서 유의적인 차이 없이 좋은 평가를 받았으며, YFB50 시료에서 가장 높은 점수로 선호도가 높음이 평가되었다.

Table *. Sensory evaluation of cinnamon punch prepared with *Yangha* flower buds

Samples	Color	Flavor	Sweetness	Pungency	Overall quality
Control	4.11±0.10 ^{NS}	4.30±0.22 ^b	4220±0.11 ^c	4.41±0.54 ^{NS}	4.10±0.10 ^b
YFB25	4.86±1.46 ^{NS}	5.71±0.76 ^a	5.43±0.79 ^a	4.86±1.57 ^{NS}	4.71±0.95 ^a
YFB50	5.57±1.90 ^{NS}	6.29±1.50 ^a	6.00±1.15 ^a	5.86±2.12 ^{NS}	6.86±0.69 ^a
YFB75	4.43±1.27 ^{NS}	5.71±0.11 ^b	5.86±1.07 ^c	4.14±1.86 ^{NS}	5.57±0.53 ^a
YFB100	5.00±1.00 ^{NS}	5.57±1.40 ^a	589±0.82 ^b	4.29±1.61 ^{NS}	5.43±0.53 ^a

나. 소비자 선호도 평가

개발된 양하 시제품(YFB 50)과 E사, P사 제품과 비교하여 소비자 선호도 평가를 실시한 결과는 다음 표와 같다. 색상의 항목에서 E사 제품이 가장높게 평가되었고, P사 제품, YFB 50의 순이었다. 시판되고 있는 제품에 대한 일반 소비자들의 색상 선호도가 높았다. 향미 항목에서는 YFB 50와 시판되고 있는 E사제품이 유의적인 차이 없이 가장 높게 평가되었다. YFB 50는 단맛과 매운맛은 다른 시판 제품에 비하여 낮게 나타났다. 전체적인 기호도는 시판 P사 제품에 비하여 낮았으나, 시판 E사제품과 유사한 결과를 보였다.

Table *. Preference evaluation of cinnamon punch prepared with *Yangha* flower buds

Samples	Color	Flavor	Sweetness	Pungency	Overall quality
YFB 50	4.58±1.37 ^c	4.32±1.46 ^a	4.30±1.64 ^b	3.46±1.42 ^b	4.22±1.45 ^b
E	8.22±1.26 ^a	4.40±1.09 ^a	4.66±1.30 ^a	3.64±1.47 ^a	4.30±1.39 ^b
P	5.06±1.35 ^b	4.26±1.34 ^b	4.76±1.61 ^a	3.40±1.46 ^b	4.56±1.57 ^a

6. 양하를 이용한 설기떡 제품 개발 및 품질특성 비교

가. 양하를 이용한 설기떡 제조

체에 내린일정 분량의 쌀가루에 대하여 밋 양하(꽃대)가루를 1, 2, 3, 4% 대체하여 양하 설기떡을 제조하고, 제품의 품질 특성을 비교하였다.



Control YBPS1 YBPS2 YBPS3 YBPS4

Control : *Sulgidduk* prepared with 0% *Yangha* buds powder
 YBPS1 : *Sulgidduk* prepared with 1% *Yangha* buds powder
 YBPS2 : *Sulgidduk* prepared with 2% *Yangha* buds powder
 YBPS3 : *Sulgidduk* prepared with 3% *Yangha* buds powder
 YBPS4 : *Sulgidduk* prepared with 4% *Yangha* buds powder

나. 양하를 이용한 설기떡의 색도 비교

양하 (꽃대)를 이용한 설기떡 시료의 색도 측정은 색도계로 측정한 결과는 다음과 같다. 명도값(L)은 양하(꽃대) 분말 첨가량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 즉, 양하 (꽃대) 분말에 의해 색이 진해져서, 명도값이 낮아졌다. 이와 관련하여, 적색값(a)이 증가하여, 양하(꽃대) 분말이 설기떡의 색상에 영향을 미침을 확인할 수 있었다.

Table *. Color values of *Yangha Sulgidduk*

	L	a	b
Control	84.93±0.32 ^a	-2.30±0.26 ^e	9.77±0.21 ^a
YBPS1	73.23±0.40 ^b	0.90±0.10 ^d	7.20±0.00 ^b
YBPS2	52.30±0.26 ^e	2.10±0.17 ^c	5.97±0.25 ^c
YBPS3	61.50±0.98 ^d	3.00±0.17 ^b	4.63±0.15 ^d
YBPS4	52.76±0.32 ^e	4.70±0.20 ^a	3.23±0.15 ^e

다. 양하를 이용한 설기떡의 물성 비교

양하 (꽃대)를 이용한 설기떡 제품의 경도(hardness)을 비교한 결과, 양하 (꽃대) 분말 첨가량이 증가할수록 경도값이 증가되었다. 씹힘성(chewiness), 검성(gumminess)도 증가되는 유의적으로 증가하였으나, 탄력성(springiness), 응집성(cohesiveness)은, 첨가량에 영향을 받지 않았다.

Table *. Textual analysis of *Yangha Sulgidduk*

Variables	Control	YBPS1	YBPS2	YBPS3	YBPS4
Hardness	2505.33. ±202.10 ^c	2585.58 ±161.76 ^c	2740.90 ±91.49 ^c	3509.63 ±268.63 ^b	4946.07 ±217.69 ^a
Springiness	0.64 ±0.04 ^{NS}	0.64 ±0.05	0.63 ±0.07	0.64 ±0.04	0.60 ±0.04
Chewiness	744.08 ±109.58 ^c	777.60 ±58.81 ^c	800.52 ±123.38 ^c	1208.70 ±92.74 ^b	1494.50 ±159.94 ^a
Gumminess	1150.97 ±103.96 ^c	1219.27 ±81.86 ^c	1263.85 ±91.77 ^c	1767.68 ±138.71 ^b	2474.08 ±118.43 ^a
Cohesiveness	0.46 ±0.01 ^{NS}	0.47 ±0.01	0.46 ±0.02	0.50 ±0.02	0.50 ±0.01

라. 양하를 이용한 설기떡의 관능평가

양하를 이용한 설기떡 제품의 색은 양하 분말은 3, 4% 첨가할수록 선호도가 높게 평가되었다. 또한 맛, 향, 물성의 항목은 양하분말의 첨가량이 증가될수록, 선호점수가 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며, 3% 첨가한 경우, 가장 높은 점수로 평가되었다. 전체적인 기호도도 양하 분말을 첨가한 경우가 무첨가인 대조군에 비하여 유의적으로 높은 선호도로써 평가되었으며, 3%첨가한 설기떡 제품이 가장 높게 평가되었다.

Table *. Sensory evaluation of *Yangha Sulgidduk*

Variables	Control	YBPS1	YBPS2	YBPS3 ⁴⁾	YBPS4 ⁵⁾
Color	4.00±0.00 ^{b6)}	3.71±0.95 ^b	4.71±1.11 ^b	6.00±1.15 ^a	5.86±0.90 ^a
Taste	4.00±0.00 ^c	4.71±0.76 ^{bc}	5.14±0.69 ^b	6.14±0.90 ^a	4.14±1.46 ^{bc}
Flavor	4.00±0.00 ^c	4.71±0.76 ^{bc}	5.14±0.69 ^{ab}	6.00±1.15 ^a	4.14±1.46 ^{bc}
Texture	4.00±0.00 ^{NS}	4.57±0.98 ^{NS}	4.71±0.95 ^{NS}	5.00±1.63 ^{NS}	4.43±1.90 ^{NS}
Overall quality	4.00±0.00 ^c	4.29±0.95 ^{bc}	5.29±0.95 ^{ab}	6.00±0.81 ^a	4.71±1.38 ^{bc}

7. 양하 열수추출물의 동맥경화 억제 효과

가. 양하 열수추출물이 혈관평활근세포의 생존율에 미치는 효과

양하 열수추출물의 세포독성에 관한 실험은 혈관평활근세포의 생존율로 비교하였다.

양하 열수추출물을 0.0001~1.00 mg/mg 농도까지는 세포 생존율이 높아 세포독성으로부터

안정함을 관찰할 수 있었다. 반면, 양하 열수추출물을 10 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 농도에서 세포 생존율이 50%이하로 급격히 감소하는 경향이였다.

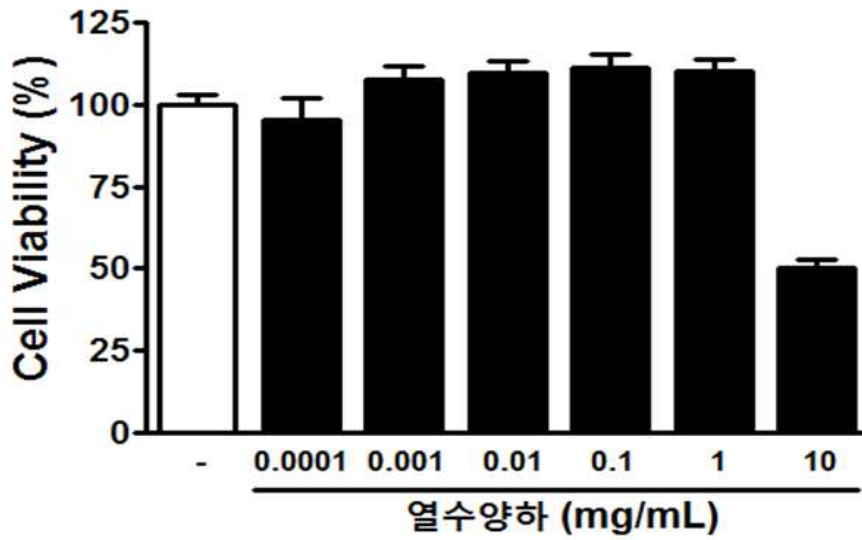


Fig. * Effects of Yangha Extract on cell viability

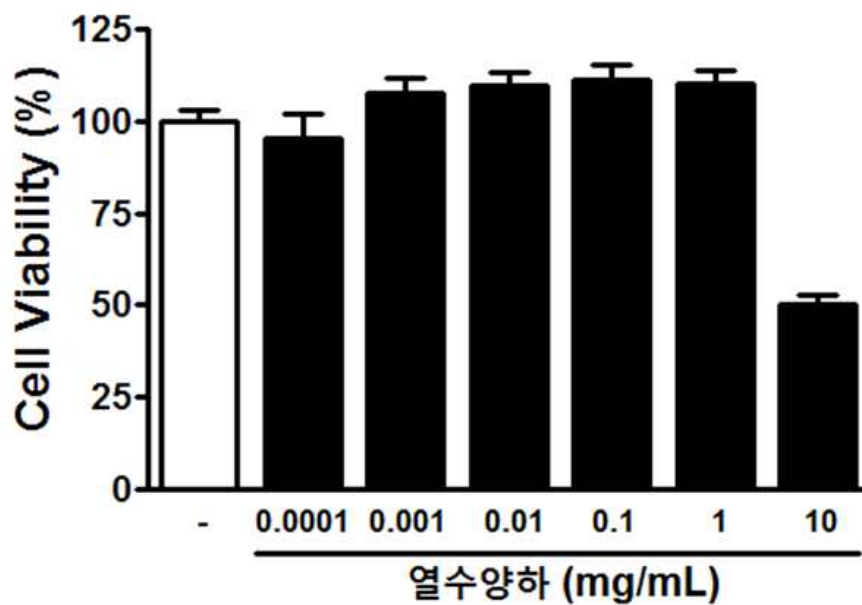


Fig. * Effects of Yangha Extract on cell viability

3 절. 양하의 레시피개발 및 시제품 제작

가. 양하원료 수급안정방안

양하를 제배하는 농가(전남지방)와 사전계약재배를 하고 양하원료는 10월경 일시적으로 출하됨으로 냉동보관을 할 예정입니다.

나. 최적의 가공공정확립

- 양하의 낮은 수율을 극복하기 위하여 한방포제법으로 활용 (팽화법, 초자법)

다. 레시피 개발 5종 20타입

(1) 양하 꽃봉우리 분말 2타입

① 양하 꽃봉우리분말 15%, 홍삼분말 4%, 오미자분말 10%, 상업분말 6%, 맥문동분말 10%, 진피분말 5%, 곡류혼합 48.5%, 글루코사민 0.5%, 해조칼슘 0.5%, 비타민스 0.5%를 100mesh 분쇄 혼합

② 양하 꽃봉우리분말 20%, 홍삼분말 4%, 오미자분말 20%, 백수오분말 20%, 상업분말 6%, 맥문동분말 20%, 진피분말 10%를 100mesh 분쇄 혼합

(2) 양하 꽃봉우리 환 2타입

① 양하 꽃봉우리분말 15%, 홍삼분말 4%, 오미자분말 10%, 상업분말 6%, 맥문동분말 10%, 진피분말 5%, 야채혼합분말 48.5%, 글루코사민 0.5%, 해조칼슘 0.5%, 비타민스 0.5%를 100mesh 분쇄 혼합 후 오자대환 크기로 제환

② 양하 꽃봉우리분말 20%, 홍삼분말 4%, 오미자분말 20%, 백수오분말 20%, 상업분말 6%, 맥문동분말 20%, 진피분말 10%를 100mesh 분쇄 혼합 후 오자대환 크기로 제환

(3) 양하 꽃봉우리 농축 어린이홍삼 뇌기능개선 제품 4타입

① 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g, 고형분60%이상, 6년근(국산))0.5%, 한방혼합추출액(우술, 천궁, 백출, 맥아, 숙지, 산약, 산수유, 목단피, 생지황, 백복령, 택사, 차전자피, 두충, 속단), 40%, 양하농축액 40%, 매실농축액, 은행추출물, 글루코사민, 칼슘, 비타민A, 비타민D, 비타민K, 비타민B6

② 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g, 고형분60%이상, 6년근(국산))0.5%, 한방혼합추출액(우술, 천궁, 백출, 맥아, 숙지, 산약, 산수유, 목단피, 생지황, 백복령, 택사, 차전자피, 두충, 속단), 50%, 양하농축액 30%, 매실농축액, 은행추출물, 글루코사민, 칼슘, 비타민A, 비타민D, 비타민K, 비타민B6

③ 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g, 고형분60%이상, 6년근(국산))0.5%, 한방혼합추출액(원지, 석창포, 국화, 천궁, 백출, 맥아, 숙지, 산약, 산수유, 목단피, 생지황, 백복령, 택사, 차전자피) 40%, 양하농축액 40%, 매실농축액, 은행추출물, 글루코사민, 칼슘, 비타민A, 비타민D, 비타민K, 비타민B6

④ 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g, 고형분60%이상, 6년근(국산))0.5%, 한방혼합추출액(원지, 석창포, 국화, 천궁, 백출, 맥아, 숙지, 산약, 산수유, 목단피, 생지황, 백복령, 택사, 차전자피), 50%, 양하농축액 30%, 매실농축액, 은행추출물, 글루코사민, 칼슘, 비타민A, 비타민D, 비타민K, 비타민B6

(4) 양하 꽃봉우리 추출 어린이 홍삼음료 8타입

①홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,석창포,백작,국화,호두)80%,양하추출액5%,적포도농축액7%,화이바줄,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스

②홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,석창포,백작,국화,호두)80%,양하추출액5%,사과농축액7%,화이바줄,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스

③홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,석창포,백작,국화,호두)80%,양하추출액5%,오렌지농축액7%,화이바줄,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스

④홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,석창포,백작,국화,호두)80%,양하추출액5%,오렌지농축액7%,화이바줄,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스

⑤홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,구기자,두충,속단,우슬)80%,양하추출액5%,적포도농축액7%,화이바줄,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스

⑥홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,구기자,두충,속단,우슬)80%,양하추출액5%,사과농축액7%,화이바줄,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스

⑦홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,구기자,두충,속단,우슬)80%,양하추출액5%,오렌지농축액7%,화이바줄,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스

⑧홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,구기자,두충,속단,우슬)80%,양하추출액5%,오렌지농축액7%,화이바줄,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스

(5)양하 꽃봉우리 뇌기능개선 치매예방 하드캡슐 4타입

①양하분말 50%,홍삼분말 4%,오미자분말 8%,감잎 9%,태극삼 9%,황기6%,영지 8.85%,대두이소플라본,아연,비타민A,비타민K,비타민D

②양하분말 40%,홍삼분말 4%,오미자분말 18%,감잎 9%,태극삼 14%,황기6%,영지 8.85%,대두이소플라본,아연,비타민A,비타민K,비타민D

③양하분말 30%,홍삼분말 4%,오미자분말 28%,감잎 19%,태극삼 19%,황기6%,영지 8.85%,대두이소플라본,아연,비타민A,비타민K,비타민D

④양하분말 20%,홍삼분말 4%,오미자분말 28%,감잎 19%,태극삼 19%,황기16%,영지 8.85%,대두이소플라본,아연,비타민A,비타민K,비타민D

나. 레시피 개발에 따른 시제품제작 5종 20타입

(1) 양하 꽃봉우리 분말 2타입 제조방법

① 양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 후 150mesh 분쇄하여 양하분분말 15%, 홍삼분말 4%, 오미자분말 10%, 상업분말 6%, 맥문동분말 10%, 진피분말 5%, 곡류혼합 48.5%, 글루코사민 0.5%, 해조칼슘 0.5%, 비타민스 0.5%를 100mesh 분쇄 혼합 후 100g PE용기 포장 및 라벨부착

② 양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 후 150mesh 분쇄하여 양하분분말 20%, 홍삼분말 4%, 오미자분말 20%, 백수오분말 20%, 상업분말 6%, 맥문동분말 20%, 진피분말 10%를 100mesh 분쇄 혼합 후 100g PE용기 포장 및 라벨부착

(2) 양하 꽃봉우리 환 2타입

① 양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 후 150mesh 분쇄하여 양하 꽃봉우리분말 15%, 홍삼분말 4%, 오미자분말 10%, 상업분말 6%, 맥문동분말 10%, 진피분말 5%, 야채혼합분말 48.5%, 글루코사민 0.5%, 해조칼슘 0.5%, 비타민스 0.5%를 100mesh 분쇄 혼합 후 오자대환 크기로 제환하여 120g PE용기 포장 및 라벨부착

② 양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 후 150mesh 분쇄하여 양하분분말 20%, 홍삼분말 4%, 오미자분말 20%, 백수오분말 20%, 상업분말 6%, 맥문동분말 20%, 진피분말 10%를 100mesh 분쇄 혼합 후 오자대환 크기로 제환하여 120g PE용기 포장 및 라벨부착

(3) 양하 꽃봉우리 농축 어린이홍삼 뇌기능개선 제품 4타입

① 양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출 후 80℃ 8시간 가온감압 농축(25Brix) 한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g, 고형분60%이상, 6년근(국산))0.5%, 한방혼합추출액(우술, 천궁, 백출, 맥아, 숙지, 산약, 산수유, 목단피, 생지황, 백복령, 택사, 차전자피, 두충, 속단), 40%, 양하농축액 40%, 매실농축액, 은행추출물, 글루코사민, 칼슘, 비타민A, 비타민D, 비타민K, 비타민B6를 혼합 후 75℃ 20분 살균 하여 230g 유리병 용기포장 및 라벨부착

② 양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출 후 80℃ 8시간 가온감압 농축(25Brix) 한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g, 고형분60%이상, 6년근(국산))0.5%, 한방혼합추출액(우술, 천궁, 백출, 맥아, 숙지, 산약, 산수유, 목단피, 생지황, 백복령, 택사, 차전자피, 두충, 속단), 50%, 양하농축액 30%, 매실농축액, 은행추출물, 글루코사민, 칼슘, 비타민A, 비타민D, 비타민K, 비타민B6혼합 후 75℃ 20분 살균 하여 230g 유리병 용기포장 및 라벨부착

③ 양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출 후 80℃ 8시간 가온감압 농축(25Brix) 한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g, 고형분60%이상, 6년근(국산))0.5%, 한방혼합추출액(원지, 석창포, 국화, 천궁, 백출, 맥아, 숙지, 산약, 산수유, 목단피, 생지황, 백복령, 택사, 차전자피) 40%, 양하농축액 40%, 매실농축액, 은행추출물, 글루코사민, 칼슘, 비타민A, 비타민D, 비타민K, 비타민B6혼합 후 75℃ 20분 살균 하여 230g 유리병 용기포장 및 라벨부착

④양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출 후 80℃ 8시간 가온감압 농축(25Brix) 한 결과물에홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(원지,석창포,국화,천궁,백출,맥아,숙지,산약,산수유,목단피,생지황,백복령,택사,차전자피),50%,양하농축액 30%,매실농축액,은행추출물,글루코사민,칼슘,비타민A,비타민D,비타민K,비타민B6혼합 후 75℃ 20분 살균 하여 230g 유리병 용기포장 및 라벨부착

(4)양하 꽃봉우리 추출 어린이 홍삼음료 8타입

①양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,석창포,백작,국화,호두)80%,양하추출액5%,적포도농축액7%,화이버즐,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스를 혼합 후 75℃ 20분 살균하여 40ml레토르트파우치 포장 후 1박스 30포 포장

②양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,석창포,백작,국화,호두)80%,양하추출액5%,사과농축액7%,화이버즐,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스를 혼합 후 75℃ 20분 살균하여 40ml레토르트파우치 포장 후 1박스 30포 포장

③양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,석창포,백작,국화,호두)80%,양하추출액5%,오렌지농축액7%,화이버즐,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스를 혼합 후 75℃ 20분 살균하여 40ml레토르트파우치 포장 후 1박스 30포 포장

④양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,석창포,백작,국화,호두)80%,양하추출액5%,오렌지농축액7%,화이버즐,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스를 혼합 후 75℃ 20분 살균하여 40ml레토르트파우치 포장 후 1박스 30포 포장

⑤양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,원지,구기자,두충,속단,우슬)80%,양하추출액5%,적포도농축액7%,화이버즐,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스를 혼합 후 75℃ 20분 살균하여 40ml레토르트파우치 포장 후 1박스 30포 포장

⑥양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,구기자,두충,속단,우슬)80%,양하추출액5%,사과농축액7%,화이버즐,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스를 혼합 후 75℃ 20분 살균하여 40ml레토르트파우치 포장 후 1박스 30포 포장

⑦양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,구기자,두충,속단,우슬)80%,양하추출액5%,오렌지농축액7%,화이버즐,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스를 혼합 후 75℃ 20분 살균하여 40ml레토르트파우치 포장 후 1박스 30포 포장

⑧양하 꽃봉우리 90℃ 5시간 추출한 결과물에 홍삼농축액(홍삼사포닌70mg/g,고형분60%이상,6년근(국산))0.5%,한방혼합추출액(황기,당귀,백복령,백출,용안육,구기자,산조인,구기자,두충,속단,우슬)80%,양하추출액5%,오렌지농축액7%,화이버줄,검믹스,니코틴산아미드,비타민믹스를 혼합 후 75℃ 20분 살균하여 40ml레토르트파우치 포장 후 1박스 30포 포장

(5)양하 꽃봉우리 뇌기능개선 치매예방 하드캡슐 4타입

①양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 후 150mesh 분쇄 후 양하분말 50%,홍삼분말 4%,오미자분말 8%,감잎 9%,태극삼 9%,황기6%,영지 8.85%,대두이소플라본,아연,비타민A,비타민K,비타민D 혼합하여 500mg 단위로 하드캡슐 충전 후 PE용기에 120캡슐 포장 및 라벨부착

②양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 후 150mesh 분쇄 후 양하분말 40%,홍삼분말 4%,오미자분말 18%,감잎 9%,태극삼 14%,황기6%,영지 8.85%,대두이소플라본,아연,비타민A,비타민K,비타민D 혼합하여 500mg 단위로 하드캡슐 충전 후 PE용기에 120캡슐 포장 및 라벨부착

③양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 후 150mesh 분쇄 후 양하분말 30%,홍삼분말 4%,오미자분말 28%,감잎 19%,태극삼 19%,황기6%,영지 8.85%,대두이소플라본,아연,비타민A,비타민K,비타민D 혼합하여 500mg 단위로 하드캡슐 충전 후 PE용기에 120캡슐 포장 및 라벨부착

④양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 후 150mesh 분쇄 후 양하분말 20%,홍삼분말 4%,오미자분말 28%,감잎 19%,태극삼 19%,황기16%,영지 8.85%,대두이소플라본,아연,비타민A,비타민K,비타민D 혼합하여 500mg 단위로 하드캡슐 충전 후 PE용기에 120캡슐 포장 및 라벨부착

다. 시제품 사진

	
<p>양하 분말제품(100g)</p>	<p>양하 환제품(120g)</p>
	
<p>양하농축 어린이제품1타입(230g)</p>	<p>양하농축 어린이제품2타입(230g)</p>
	
<p>양하추출 어린이음료1타입4종</p>	<p>양하추출 어린이음료2타입4종</p>
	
<p>양하추출 어린이음료 박스</p>	<p>양하하드캡슐 4타입</p>

제 4 장 목표달성도 및 관련분야 기여도

1 절. 연구개발 달성도 및 기여도

가. 1세부기관 : (주)파낙스코리아 연구 목표 및 달성도

1세부기관 : (주)파낙스코리아 연구목표	달성도	연구수행내용
(1) 양하분말 제품제조기술	100%	- 양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 - 150mesh 분쇄
(2) 양하추출분말 환제조	100%	- 90℃ 5시간추출 80℃ 8시간농축 - 45℃ 8시간건조
(3) 양하 추출농축액의 시제품제조	100%	- 양하 90℃ 5시간추출 80℃ 8시간 - 25Brix 농축
(4) 양하음료 시제품제조	100%	- 90℃ 5시간추출 - 기능소재 첨가 후 75℃ 20분 살균
(5) 양하 치매예방 캡슐 시제품제조	계획목표 외 수행	- 양하꽃봉우리 50℃ 13시간 열풍건조 - 150mesh 분쇄 - 기능성 소재 혼합 500mg 캡슐포장
(6) 특허출원 및 등록 3건	150%	- 출원번호 10-2014-85975 - 출원번호 10-2014-85974 - 출원번호 10-2014-90989

나. 2세부기관 : 경기대학교 연구 목표 및 달성도

2세부기관 : 경기대학교 연구목표	달성도	연구수행내용
(1) 양하 추출물에 대한 세포모델 in vitro 운동 및 인지기능 검증	100%	- 운동기능 관련 세포 손상모델 실험 - PD세포모델 MPP+독성 조건 설정 - 인지기능 관련 세포활용 실험 - AD세포모델에서 ACh활성평가 - AD세포모델에서 동물인지모델 설정
(2) 양하 추출물에 대한 동물모델 in vivo 운동 및 인지기능 검증	100%	- 운동기능 관련 세포 동물모델을 통해 실험 - 운동기능 관련 동물 손상모델을 통해 실험 - Behavioral test: 신기물체탐색시험, Y자 미로 형 시험 - 인지능력 장애모델에서 조직학적 또는 분자생물학적 평가 - 면역조직염색법, 웨스턴 블랏법등을 통한 뇌 기능 개선 평가
(3) 논문게제 성과	100%	- SCI 1건 - 비SCI 2건 - 기타학술발표 2건

다. 3세부기관 : 호서대학교 연구 목표 및 달성도

3세부기관 : 호서대학교 연구목표	달성도	연구수행내용
(1) 양하의 성분 분석	100%	- 양하(꽃대)의 일반성분 분석 - 양하(꽃대)의 미량성분 분석
(2) 양하 농축액의 특성 분석	100%	- 양하 추출농축액의 항산화 활성
(3) 양하 음료의 성분 분석	100%	- 양하 추출농축액을 이용한 음료의 품질특성 (색도, pH)
(4) 양하 음료의 특성 분석	100%	- 양하 추출농축액을 이용한 음료 (수정과)의 항산화 활성 비교 - 양하 추출농축액을 이용한 음료 (수정과)의 관능평가 및 소비자 선호도 조사
(5) 양하를 이용한 설기떡 제품 개발 및 품질 특성 비교	계획 목표 외 수행	- 양하를 이용한 설기떡의 색도, 물성 비교 - 양하를 이용한 설기떡의 관능평가
(6) 양하 농축액의 세포독성	계획 목표 외 수행	- 양하 열수추출물이 혈관평활근세포의 생존율에 미치는 효과 - 양하 열수추출물이 혈관평활근세포의 증식에 미치는 효과
(7) 논문게재 성과	게재예정 1편 논문 투고중 1편	- 한국식생활문화학회지 게재 예정 저자 : 김애정, 이현주 제목: 양하꽃 봉우리의 항산화 활성 및 설기떡 제조 - 한국산학기술학회 논문 투고 저자 : 우나리아, 김미란, 김애정 제목 : 양하꽃대를 이용한 수정과 제조 및 항산화 활성
(8) 학위(석사) 배출	2명	- 경기대학교 대체의학대학원 김미란 경기대학교 대체의학대학원 이현주

라. 관련분야의 기술발전 기여도

(1) 생강의 강한 매운맛이나 계피 특유의 향을 개선하여 수정과와 같은 전통음료의 기호성을 향상시킬 수 있을 것으로 예상된다. 또한 양하꽃대는 매운 맛과 향이 생강 보다 약하지만 다양한 생리활성을 지니고 있어, 기호적인 면뿐만 아니라 생리활성, 제품 품질이 향상된다.

(2) 양하를 첨가한 다양한 식품의 개발 일환으로 과제 계획에 추가로 설기떡을 제조하였으며, 전통 식품의 응용이 가능함으로 확인하였다. 또한 양하 농축액에 대한 세포독성관련 실험을 한 결과, 혈관형활근세포의 증식에 영향을 미쳤으며, 이를 통하여, 생활습관병의 예방 식이요법에도 적용할 수 있다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1 절. 시제품 실용화 계획

가. 당초목표인 제품화로 이루어 지지 못한 향후 조치계획

- 당초 연구목표인 양하의 뇌기능개선 기능성제품개발 (환,분말,음료,농축액제품) 을 목표로 하였으나 실험결과 양하의 수율이 10%이내라서 양하의 뇌기능개선의 건강기능식품을 제조함에 있어 경제적으로 높은생산원가 때문에 양하100%를 투입해서제품화 할 수가 없었다.

- 그래서 양하이외에 다른 한방천연소재를 함유한 혼합소재로 어린이음료 1종과 뇌기능개선 치매예방제품 1종을 개발을 진행하게 되었습니다.

나. 개발제품 제품 5종 중 3종 실용화 계획

단위: 천원

제품분류	제품명	예상 판매가격	예상 거래처	예상 매출액		
				15년	16년	17년
어린이음료	어린이양하홍삼이랑썩썩이포도맛	29	쿠팡, 티몬, 위메프, 롯데마트, 편의점	5,000	7,000	10,000
	어린이양하홍삼이랑썩썩이사과맛	29	쿠팡, 티몬, 위메프, 롯데마트, 편의점	5,000	7,000	10,000
	어린이양하홍삼이랑썩썩이딸기맛	29	쿠팡, 티몬, 위메프, 롯데마트, 편의점	5,000	7,000	10,000
	어린이양하홍삼이랑썩썩이오렌지맛	29	쿠팡, 티몬, 위메프, 롯데마트, 편의점	5,000	7,000	10,000
	어린이양하홍삼이랑총명이포도맛	29	쿠팡, 티몬, 위메프, 롯데마트, 편의점	5,000	7,000	10,000
	어린이양하홍삼이랑총명이사과맛	29	쿠팡, 티몬, 위메프, 롯데마트, 편의점	5,000	7,000	10,000
	어린이양하홍삼이랑총명이딸기맛	29	쿠팡, 티몬, 위메프, 롯데마트, 편의점	5,000	7,000	10,000
	어린이양하홍삼이랑총명이오렌지맛	29	쿠팡, 티몬, 위메프, 롯데마트, 편의점	5,000	7,000	10,000
치매예방제품	깜빡깜빡메모리파워 50% 타입	90	롯데, CJ, NS 홈쇼핑, 자사헬스쇼핑몰	10,000	15,000	30,000
	깜빡깜빡메모리파워 30% 타입	90	롯데, CJ, NS 홈쇼핑, 자사헬스쇼핑몰	10,000	15,000	30,000
				60,000	86,000	140,000
합계						286,000

다. 양하의 소비자인식부족에 대한 해결방안

소비자가 선호하고 잘 알려진 천연한방소재를 함유한, 천연한방혼합소재로 어린이음료 1종과 뇌기능개선 치매예방제품 1종을 개발을 진행하게 되었습니다.

라. 기능성을 밝히기 위한 개별인정의 어려움

기능성을 밝히기 위해서는 개별인정이 필요하나, 개별인정이 어려운이유는 동물실험 으로 지표물질의 효능검증을 해야하고 인체실험으로 뇌기능개선의 효능검증을 하여야하며 이에대한 비용이 과다발생(약 5억~7억)함으로 중소기업의 경제적인사정으로는 현실적으로 어려움이 있습니다.

마. 지식재산권 확보계획

항목	건수	진행정도
특허출원	3	달성
특허등록	3	예정
홍보 및 전시	4	제품출시 시기에 실행

제 6 장 연구개발 과정에서 수집한 해외 과학기술정보

개발기술명	관련기술 최고보유국	기술내용
세계 생산 국	일본, 영동남아 일부지역	향신료 식품으로 사용됨
양하의 뇌기능개선 효과규명	미국, 영국	양하의 뇌기능개선 효과규명

제 7 장 연구시설 장비현황

설비번호	설비명	수량	비고	보관위치	사진
1	Colony Counter	1		미생물실	
2	미생물 현미경	1		미생물실	
3	Clean 부스	1		연구실	
4	전자저울	3	210g/0.01g	미생물실	
5	분석용전자저울	1	210g/0.1g	연구실	
6	봉해도시험기	1		연구실	
7	항온수조	2		연구실	
8	Evaporater with A-pump	1		연구실	

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치사업(해당사업 표기)의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치사업(해당사업 표기)의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.