

최 종
연구보고서

울금의 생리활성을 이용한 기능성 식품소재화 및
기능성 식품의 개발

Development of Functional Food and Food Material
from *Curcuma aromatic* S. with Its Physiological
Activities

주 관 연 구 기 관

전 남 대 학 교

농림수산식품자료실



0017687

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “울금의 생리활성을 이용한 기능성 식품소재화 및 기능성 식품의 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2009 년 4 월 24 일

주관연구기관명 : 전남대학교
주관연구책임자 : 정 희 종
세부연구책임자 : 전 우 진
협동연구기관명 : 순천대학교
협동연구책임자 : 현 규 환
연 구 원 : 강 성 구
참 여 기 업 : (주)우리술

요 약 문

I. 제 목

울금의 생리활성을 이용한 기능성 식품소재화 및 기능성 식품의 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

과거 식량난으로 주식으로만 제한적으로 이용해왔던 쌀이 과잉 생산되어지며 재고미가 매년 증가 추세에 있어 쌀의 이용성 향상이 중요한 과제로 대두되어지고 있는 실정이다. 이와 같이 과잉 생산되어 보관중인 재고 쌀을 이용한 쌀 가공식품의 개발은 쌀 가격의 안정은 물론 쌀의 부가가치 향상에 의한 쌀 생산농가의 소득증대에도 기여할 것이다.

우리의 전통 막걸리는 주로 쌀을 이용하여 많이 제조하여 왔으며 그 맛은 서민층을 중심으로 인정되어 왔으나 불로장생의 건강 지향성 주류가 대량 생산되면서 소비량이 크게 감소한데다 저장성이 양호하지 못한 것이 결정적인 단점이기 때문에 막걸리에 기능성을 강화하고 저장기간을 연장시킬 수 있는 기술개발이 이루어진다면 그 소비량을 크게 확대할 수 있을 것이다.

최근 건강에 대한 관심이 높아지면서 식품의 약리 기능성 물질 탐색에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 허브를 포함한 다양한 유용식물에 대한 관심이 어느 때보다도 높아져 있고, 유용식물을 이용한 신약 개발 및 농업 신소재로 천연물을 이용하려는 노력이 가속화되고 있다.

울금(*Curcuma long L.*)은 생강과에 속하는 다년생 식물로 구근을 건조하여 분말화한 것을 심황이라고도 부르며 향은 순한 단맛을 지니고 있고 뿌리는 노란색인데 커리와 머스커드의 주원료 중의 하나로서 착색료 및 향신료로 이용되고 있다. 착색성분은 curcumin(황색)으로 산성에서는 황색이 되고 알칼리성에서는 적색을 띤다. 따라서 울금과 같은 생약재에 함유된 약리적 기능성 성분들의 구명과 이들을 이용하여 막걸리의 기능성 및 저장성을 향상시키는 연구는 그 기대효과가 클 수밖에 없다.

따라서 본 과제에서는 전남 진도에서 대량 생산되고 있는 기능성 작물인울금의 *in vitro/in vivo* 알코올성 산화억제 및 비만억제 등의 생리활성을 검색하며, 울금을 이용하여 전통 탁주인 막걸리를 제조하고 품질 증진 및 저장성을 향상시킴으로써 전통탁주에 기능성을 부여함과 함께 우수한 맛과 저장성이 확보된 우리나라 최고의 기능성 쌀 탁주(울금 막걸리)를 개발하는데 최종적인 목표를 두고 있다. 이는 지역특산물의 고부가가치 창출뿐만 아니라 과잉 생산되고 있는 우리 쌀의 소비확대에도 기여할 것이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

최종목표를 달성하기 위해 다음과 같이 제 1, 2 세부과제 및 협동과제로 구성하였다.

- 1) 제 1 세부과제: 울금의 생리활성 검색, 식품소재화, 및 기능성 울금막걸리의 개발
 - 울금의 생리활성 검색 및 기능성 식품소재화 연구
 - 울금 및 기능성 울금 소재의 항산화 활성 검색
 - 울금 및 기능성 울금 소재의 항미생물 활성 검색
 - 울금 엑기스 및 울금 분말로의 소재화 탐색
 - 울금을 이용한 기능성 울금 막걸리의 개발 및 품질 특성 분석
 - 울금 막걸리의 미생물학적 발효 특성 구명, 최적 담금 비율 및 발효조건의 확립
 - 막걸리의 전통적 담금 방법의 해석 및 개선 방안 연구
 - 기능성 식품 소재별 울금 막걸리의 제조 및 발효조건과 알코올 수율 및 품질 특성과의 상관관계 구명
 - 제조된 기능성 울금 막걸리의 상품성 평가
 - 최적조건에서의 기능성 울금막걸리의 제조
 - 제조된 기능성 울금 막걸리의 기능성 분석
 - 울금 막걸리의 관능평가
 - 일반 막걸리와 울금 막걸리의 품질 특성 비교

- 2) 제 2 세부과제: 울금 및 울금소재의 *in vitro/in vivo* 기능성 및 안전성 평가
 - 울금 및 울금소재의 *in vitro* 알코올성 산화억제 및 비만억제 효능평가 연구
 - 알코올성 산화억제능 탐색을 위한 *in vitro* assay계의 확립
 - 비만억제능 탐색을 위한 *in vitro* assay계의 확립
 - 울금 및 울금소재 대상 transfected HepG2 cell 을 이용한 알코올성 산화억제능 검색
 - 울금 및 울금소재 대상 3T3-L1 cell 을 이용한 지방세포 분화유도능 검색
 - 울금 및 울금소재의 *in vivo* 알코올성 산화억제, 비만억제, 운동능력향상 효능평가
 - *In vivo* 알코올성 산화억제, 비만억제 및 운동능력향상 탐색용 assay계 확립
 - 동물모델을 이용한 알코올성 산화억제능 검색
 - 동물모델을 이용한 비만억제능 검색
 - Current Swimming Pool에서 쥐를 이용한 운동능력향상 검색
 - 울금소재 및 기능성 막걸리의 안정성 평가 연구
 - 5~6 주령 설치류를 사용하여 3단계 이상의 투여 용량으로 독성시험 실시
 - 동물모델에서의 면역학적 독성시험 실시

- 치사량 (LD₅₀) 측정 test 실시
- 울금함유 기능성 유효성분과 구조와의 상관성 연구
 - 유효성분과 구조와의 상관성 검토
 - 유효성분의 활성기작 규명

3) 협동과제: 울금, 울금소재, 울금막걸리의 이화학적 특성 분석

- 울금의 이화학적 특성 분석
 - 울금의 일반성분 및 특수성분 분석
 - 울금의 쓴맛성분의 특성 분석 및 제거기술 개발
 - 울금 색소성분의 특성 분석
- 울금의 생리활성물질의 분리, 정제 및 동정
 - 울금 생리활성성분의 용매추출
 - 활성획분의 용매분획
 - 활성물질의 기기분석에 의한 동정
- 기능성 울금 소재별 이화학적 특성 분석
 - 울금 소재별 이화학적 특성 분석
- 울금 막걸리의 특성 분석
 - 울금 막걸리의 주류학적 특성 분석

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1) 제 1 세부과제: 울금의 생리활성 검색, 식품소재화, 및 기능성 울금막걸리의 개발

울금의 일반성분은 수분이 82.03%, 조지방이 1.26%, 조단백질이 2.54%, 조섬유가 2.33%, 회분이 1.82% 각각 함유된 것으로 분석되었다. 울금을 물과 에탄올로 추출하고 항산화 효과를 평가하기 위하여 총 polyphenol의 함량 및 DPPH radical 소거능, superoxide anion radical 소거능을 검토하였고 울금의 항균활성을 확인하였다. 총 페놀 함량은 50% ethanol로 추출한 울금추출물이 4.96 mg/100 mL로 가장 높은 함량을 보였고 30% ethanol 울금추출물과 50% ethanol 울금추출물의 경우는 거의 비슷한 함량이었으나 물추출물에 비하면 더 높은 함량인 4.56 mg/100 mL와 5.23 mg/100 mL이 각각 함유된 것으로 분석되었다. 울금의 물추출물, 30% ethanol추출물, 50% ethanol추출물, 및 70% ethanol추출물에 대한 전자공여능력을 측정한 결과, 10 ppm의 낮은 농도의 울금추출물에서는 물추출물의 전자공여능력이 5.13%로 다른 ethanol추출물의 전자공여능력(9.01~14.29%)에 비하여 크게 낮은 것으로 나타났으나 울금추출물 첨가량을 100 ppm으로 높였을 때는 물추출물의 전자공여능력이 10.21%로 높아져서 다른 ethanol추출물의 전자공여능력(12.74~15.98%)와 거의 비슷한 정도의 전자공여능력을 갖는 것

으로 나타났다. 고농도에서 물추출물의 SOD 유사활성은 다른 ethanol추출물에 비하여 높은 활성을 갖는 것으로 나타났다. 울금엑기스의 항균활성은 *Salmonella typhimurium* KCTC 1925와 *Bacillus cereus* KCTC 1092에 대하여 대체적으로 높게 나타났다.

막걸리의 품질을 향상시키기 위하여 울금이 첨가된 막걸리를 개발하고자, 울금 분말 및 울금 추출물을 막걸리에 첨가하여 울금이 첨가된 막걸리를 제조한 후에 25°C에서 5일간 저장하며 발효 기간 동안 품질 특성 변화를 조사하였다. 또한 울금이 첨가된 막걸리의 최적 첨가 조건을 확립하기 위하여 울금의 첨가량 및 첨가시기를 확립하였다.

울금 분말이 첨가된 막걸리의 경우, 온도 변화는 울금 분말의 첨가량이나 첨가시기에 상관없이 모든 시료에서 발효 24시간 후에 최고치에 도달하였으나 이후 점차적으로 감소하는 경향을 보였다. pH 변화는 발효 24시간 후에 약간 감소하였으며 2단 담금 이후 증가하는 경향을 보였고 첨가시기에 따른 차이는 보이지 않았다. 대조구를 포함하여 울금 분말의 첨가량이 증가할수록 pH가 순차적으로 증가하였다. 알코올 생성량의 변화는 1단 담금 후 증가했으나 2단 담금 후 감소하였으며 이후 발효 종료 시까지 급격하게 증가하였다. 0.25% 울금 분말을 1단 담금 시 첨가하여 제조한 막걸리가 13.2%로 가장 높은 알코올 함량을 보였다. 환원당 함량의 변화는 1단 담금 후 감소하였으나 2단 담금 이후에 급격하게 증가하였고 발효 종료 시까지 감소하는 경향을 나타내었다. 효모수 변화는 모든 시료에서 발효 24시간 후에 크게 증가하였고 대조구를 포함하여 울금 분말 첨가량이 증가할수록 낮아지는 경향을 보였다. 관능평가에서 0.25%의 울금 분말을 1단 담금 시 첨가하여 제조한 막걸리의 색, 향, 맛 및 전체적인 기호도가 높은 평가를 받았다. 울금 추출물이 첨가된 막걸리의 경우, 온도 변화는 울금 추출물의 첨가량이나 첨가시기에 상관없이 모든 시료에서 발효 24시간 후에 최고치에 도달하였으나 이후 점차적으로 감소하는 경향을 보였다. pH 변화는 발효 24시간 후에 약간 감소하였으며 2단 담금 이후 증가하는 경향을 보였고 대조구를 포함하여 울금 추출물의 첨가량이 증가할수록 pH가 유의적으로 증가하였다. 알코올 생성량의 변화는 1단 담금 후 증가했으나 2단 담금 후 감소하였으며 이후 발효 종료 시까지 급격하게 증가하였다. 울금 추출물 2.50%를 1단 담금 시 첨가하여 제조한 막걸리가 14.8%로 가장 높은 알코올 함량을 나타내었다. 환원당 함량의 변화는 1단 담금 후 감소하였으나 2단 담금 이후에 급격하게 증가하였고 발효 종료 시까지 감소하는 경향을 나타내었다. 효모수 변화는 모든 시료에서 발효 24시간 후에 크게 증가하였고 대조구를 포함하여 울금 분말 첨가량이 증가할수록 낮아지는 경향을 보였다. 관능평가에서 2.50%의 울금 추출물을 1단 담금 시 첨가하여 제조한 막걸리의 색, 향, 맛 및 전체적인 기호도가 높은 평가를 받았다. 대조구(traditional *Makgeolli*)와 울금이 첨가된 막걸리(optimized *Makgeolli* added with turmeric)의 L*, a* 및 b* 값 모두 유의적 차이를 보였고 관능검사에서도 향, 청량감 및 전체적인 기호도 면에서 울금이 첨가된 막걸리가 높은 평가를 받았으며 울금을 첨가함으로써 강한 신맛과 단맛이 보완되었음을 평가받았다. 결론적으로, 울금 추출물 2.50%를 1단 담금 시 첨가하여 제조한 막걸리가 관능적으로 가장 우수하다고 생각된다. 이를 통해 울금은 막걸리의 관능적 품질을 높이기 위하여 식품의 첨가제로서 효과적으로 사용할 수 있으며 울금의 이용도를 증진할 수 있다.

최근 기능성 식품소재로서 소비자들에게 관심이 매우 높아지고 있는, 국내산 울금을 이용하여 개발한 울금주의 품질특성을 시판되는 전통탁주와 특성을 비교한 결과는 다음과 같다. 총당은 논산 “가야곡” 복분자 탁주가 4.89%로 복분자가 가장 높게 유의적인 차이를 나타냈으며 (p<0.05), 울금주를 포함한 그 외의 탁주들은 비슷한 0.21~0.91% 이내로 유사한 값을 나타내

었다. 환원당은 논산 “가야곡” 복분자 탁주가 가장 높았으며, 그 다음으로 울금이 0.74%로 다른 전통 탁주보다 높은 함량을 나타내었다($p < 0.05$). Brix 당도는 논산 “가야곡” 복분자 탁주의 Brix 당도가 8.90%로 가장 높았으며($p < 0.05$), 그 다음으로 개발한 울금주가 4.43%로 그 외의 다른 전통 탁주와 비슷한 당도를 나타내었다. pH는 포천 “일동” 검정콩 탁주와 개발한 울금주가 다소 높은 pH 4.53, 4.29였으며, 다른 시판 쌀 탁주(I, II)나 “가야곡” 복분자 탁주는 약간 낮은 pH 3.79~3.90 값을 나타내었다. 총산도는 pH와 반대의 경향으로 순천 “팔마” 쌀 탁주(II)가 가장 높은 수치를 나타내었으며($p < 0.05$), 포천 “일동” 검정콩 탁주가 가장 낮은 값을 나타내었다. 그리고 개발 울금주를 포함한 나머지의 탁주들은 총산도가 5.24~5.64% 범위의 비슷한 값으로 상호간 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 아미노산질소는 울금주가 906.17 mg%로 가장 높게 나타났으며, 논산 “가야곡” 복분자 탁주는 219.33 mg%로 가장 적게 나타났다($p < 0.05$). 점도는 논산 “가야곡” 복분자 탁주는 226.67 mPa·s로 가장 낮았으며, 탁주 중에 광주 “천하일품”(I)의 쌀 탁주가 880.00 mPa·s로 가장 높은 점도를 나타내었다($p < 0.05$). 명도는 개발 울금주의 경우가 전체 탁주 중에 41.87로 가장 밝았으며, 적색도는 논산 “가야곡” 복분자 탁주가 +2.92로 유일하게 높게 나왔으며, 특히 개발 울금주의 경우 -7.03으로 가장 낮게 나타났다. 황색도는 개발 울금주만 +15.89로 아주 높게 나타났으며, 나머지 시판 탁주의 경우 +0.21에서 +3.40으로 아주 낮게 나타났다. 갈변도는 논산 “가야곡” 복분자 탁주는 자체의 색이 어두워 0.97로 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로는 노란색을 띤 개발 울금주의 경우 0.85로 높았다. 고형물은 2.73에서 3.35의 범위에서 나타났으나, 논산 “가야곡” 복분자 탁주의 경우에만 8.83%를 가장 높은 값으로 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 유기산은 울금주가 가장 높은 1877.21 mg%이었으며, 그 다음으로는 광주 “천하일품” 쌀 탁주(I)로 1510.58 mg%였다. 유리당은 복분자 탁주가 4.31%로 가장 높았으며, 그 다음으로 순천 팔마 탁주(II)와 울금주가 각각 1.00, 0.77%로 다른 광주 “천하일품” 탁주 0.46%와 포천 “일품” 검정콩 탁주 0.47%보다 높은 함량을 나타내었다. 유리아미노산의 함량은 울금주는 672.23 mg%로 가장 높게 나타났으며, 다른 탁주에 비하여 1.82~3.13배 이상의 높은 함량을 나타냈다. 무기질의 함량은 논산 “가야곡” 복분자 탁주가 1204.5 $\mu\text{g}\%$ 로 가장 높았으며, 그 다음으로 순천 팔마 탁주(II)가 1030.6 $\mu\text{g}\%$ 로 많았다. 울금주의 휘발성분은 총 12가지의 휘발성 화합물들이 검출되었으며, 일반탁주와는 함량과 종류에서 다소 차이를 보였다. 울금주의 성분별로 면적비를 비교하면 ethanol이 82.26%로 가장 많은 비율을 차지하였으며, 다음으로는 cyclopropane이 8.43%, 1-butanol 4.22%, acetic acid가 1.40%, 1-propanol이 1.28% 및 acetaldehyde가 0.16%로 주요한 성분으로 나타났다.

본 연구의 결과로부터, 기능성 작물인 울금을 이용하여 막걸리를 제조함에 있어 최적조건을 확립하고, 이를 통해 제조된 울금막걸리의 품질적 우수성을 확인함으로써 산업적 측면에서 기능성 쌀 탁주의 개발 가능성을 높였으며 생산기술에 대한 기업으로의 적용이 가능케 되어 과잉 생산되고 있는 우리 쌀의 소비확대를 촉진함으로써 경제적 파급효과가 클 것으로 기대된다.

2) 제 2 세부과제: 울금 및 울금소재의 *in vitro/in vivo* 기능성 및 안전성 평가

본 연구에서는 진도에서 생육되는 울금을 대상으로 cell line 및 동물모델을 이용하여 다양한 생리활성을 확인하여 건강지향제품으로의 과학적 자료를 제공함에 초점을 두었다. 울금은 냉수(CLC), 열수(CLH), 80% EtOH(CLE), MeOH(CLM)에 의해 추출되었다. 알코올성 간 질환은 대표적 간 관련 질환 중 하나이다. 산화적 스트레스는 알코올 간 질환의 발생에서 중요한 역할을 한다. *In vitro*상에서 울금추출물의 알코올로 인한 간 손상에 대한 보호효과를 측정하

기 위하여 알코올분해효소인 CYP2E1이 transfect되어진 HepG2/2E1 세포를 이용하여 assay를 수행하였다. XTT assay를 통해서 본 실험의 시료농도를 ~50 µg/mL로 정하게 되었다. 울금 추출물의 간 보호 효과를 알아보기 위하여 세포에 200 mM의 에탄올을 처리한 후 4종의 울금 추출물을 처리하였다. 알코올만 처리한 군의 세포 생존율은 46%까지 감소하였으나, CLH의 경우 알코올에 대한 간의 산화적 손상으로부터 높은 보호효과가 있는 것으로 판명되었다. 또한 CLH의 처리는 알코올 처리군과 비교하여 유의적으로 세포내 ROS 형성을 감소시켰다. 알코올로 유도된 산화적 스트레스에 대한 시료의 기작을 검토하기 위하여 세포 내 효소계 및 비효소계 항산화 물질들의 변화를 측정하였다. 알코올 처리는 세포 내 glutathione(GSH) 함량 및 catalase(CAT), glutathione-s-transferase(GST)의 활성을 감소시켰다. 그러나 CLH를 함께 처리한 군은 알코올만 처리한 군과 비교하여 GSH 함량, CAT, GST 활성이 유의적으로 증가하였다. 높은 간보호효과를 나타낸 CLH를 대상으로 chloroform(CLH-C), ethyl acetate(CLH-E), water(CLH-W) 가지고 분획을 실시하였다. 분획물의 HepG2/2E1에서의 독성을 측정한 결과, 세 분획물이 100 µg/mL까지 독성을 보이지 않았다. 따라서 상기의 농도에서 각 분획물의 알코올성 산화적 손상에 대한 간 보호효과시험을 진행한 결과, CLH-C에서 높은 활성을 나타내었으며 간호보호효과를 보였다. CLH-C의 처리는 알코올 처리군과 비교시 세포내 ROS를 감소시킴으로써 알코올에 의해 손상된 세포 내의 항산화 방어기전을 향상시켰다. 이러한 결과를 토대로, CYP2E1을 발현시킨 HepG2 세포에서 울금 열수추출물은 알코올에 의해 유도되는 산화적 스트레스에 대한 간보호효과를 보유하고 있으며, 그 효능은 울금추출물에 의해 세포 내 과도하게 존재하는 ROS를 제거되어 항산화 방어기전이 안정화되는 것으로 추론된다.

상기의 결과를 토대로 8주 Swiss Wistar 웅성마우스를 대상으로 *in vivo* assay를 수행하였다. 알코올 투여는 혈청 GOT, GPT, ALP 및 LDH양의 급격한 상승을 초래함으로써 간 독성효과가 나타남을 알 수 있었다. 이러한 알코올성 간 독성은 울금 열수추출물 투여군에서는 효과적으로 개선되었다. 알코올 투여에 의한 마우스 간 GSH 농도와 catalase, SOD 및 GST 활성의 유의적 감소는 에탄올 섭취에 의한 자유 라디칼의 생산이 급격히 증가함에 의한 것으로 판단된다. 이와같이 생성된 자유 라디칼은 울금 열수추출물에 의해 효과적으로 제거함으로써 항산화 효소들이 정상적인 활성을 나타낼 수 있게 되는 것으로 추론된다. 울금 추출물의 지질과산화 억제효과도 알코올성 산화에 대한 간 손상의 방어기작에 기여하는 것으로 판단된다.

비만이란 인체 내에서 지방세포가 정상적인 양보다 과다하게 축적되어 고혈압, 심혈관계질환 및 제 2형 당뇨와 같은 신진대사의 장애를 일으키는 일종의 질환을 의미한다. 본 연구에서는 3T3-L1 지방세포에 울금을 처리하여 항비만 효과를 실험하였다. 3T3-L1 cell을 이용한 울금 추출물의 cytotoxicity를 검토한 결과 모든 추출물에서 30 µg/mL의 농도까지는 독성이 나타나지 않았다. 따라서 향후 실험을 위한 적정 농도는 20 µg/mL 까지 사용하기로 하였다. 9일간 분화시킨 3T3-L1 지방세포에서 지방축적에 미치는 울금 메탄올추출물의 효과를 알아보기 위해 Oil Red O 염색을 실시하였다. 그 결과 분화된 control과 비교하여 울금 메탄올추출물을 처리한 군에서 분화가 유의적으로 억제된 것을 보였다. 또한 지방축적의 생화학적 지표로 세포내의 TG량을 측정하였다. 그 결과 처리군에서 억제 효과가 나타났으며 20 µg/mL의 경우 control 군과 비교하여 15% 억제됨을 보였다. 울금 메탄올추출물이 분화된 지방세포의 지방 분해에 미치는 영향을 배지내 glycerol 함량을 측정함으로써 조사하였다. control 군과 비교하여 처리한 시료군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 울금 추출물의 *In vivo* 비만 억제 효과 측정 고지방식이에 따른 체중증가는 0.25 g/kg/day로 CLM을 경구투여 하였을 때 TG가 감소하고, HDL이

증가하며, 체중이 감소하는 결과를 나타내었다. 이상의 결과로부터, 위의 실험 결과로 울금 추출물이 *in vitro* and *in vivo* 상에서 항비만 효과를 나타내는 인자로 사용이 가능하다고 제안해 본다.

ICR 웅성마우스를 대상으로 流水 pool 운동계를 사용하여 울금의 *in vivo* 상에서 지구적 운동능력 향상효과를 검토하였다. 시료는 매일 투여하였으며 유속 7 L/min 의 운동강도하에서 운동을 시작시켜 유연한계치까지의 운동시간을 측정하였다. 그 결과 실험기간동안 운동능력향상능은 대조군과 비교하여 울금 열수추출물 투여군에서 향상되어짐을 알 수 있었다. 이로부터 울금 열수추출물의 투여가 운동능력향상에 긍정적 영향을 미치는 것으로 판명되었다. 과도한 운동은 인체 내 각종 활성산소종을 생산하게 된다. 이러한 활성산소종은 인체 내 여러 항산화계의 작용에 의해 소거되어지나 작용범위 이상의 자유 라디칼이 존재할 경우 이것은 운동능력을 저하시킬 수 있는 원인으로 작용할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 운동능력향상능이 확인된 울금 열수추출물 투여군을 대상으로 산화적 스트레스의 억제에 의한 운동능력향상 기작에 대하여 연구하였다. 그 결과 과도한 운동에 의해 간 내 비효소적 및 효소적 항산화물질의 활성감소가 초래되었으며, 이는 산화적 스트레스가 운동능력을 감소시키는데 적어도 일부분 기여를 하고 있는 것으로 추론할 수 있다. 이와 같이 유도된 세포 내 라디칼은 울금추출물에 의해 적절히 소거 또는 생산이 억제함으로써 운동능력이 향상되어 졌다.

울금 열수추출물(CLH)과 메탄올추출물(CLM)의 아만성 독성검사를 실시한 결과, ~1.0 g/kg/day까지의 양에서 두 군 모두 100%의 생존율을 나타냈다. 또한 대조군과 비교하여 ~1.0 g/kg/day까지의 추출물이 각각 투여된 군에서 몸무게에 있어 유의적 차이를 나타내지 않았으며 CLH 및 CLM 군 모두 식이섭취율이 대조군과 유사하였다. 혈액분석 결과들은 추출물이 어떠한 독성효과도 나타내지 않음을 암시하였다. 이상의 결과들로부터 CLH 및 CLM은 1.0 g/kg/day까지의 양에서 아만성 독성이 없음이 확인되었다.

본 연구의 결과로부터, 울금의 알코올성 산화억제 효과, 항비만 효과 및 운동능력향상 효과 등 다양한 기능성을 확인하였다. 이와같은 생리활성은 특히 산화적 스트레스로부터 울금의 보호효과에 기인하는 것 추론되어진다. 울금의 생리활성에 대한 과학적 근거제시는 향후 다양한 건강지향제품으로의 개발에 기초자료를 제시할 것이며, 또한 지역특산물의 부가가치향상에 기여할 것으로 사료된다.

3) 협동과제: 울금, 울금소재, 울금막걸리의 이화학적 특성 분석

울금의 부위별 일반성분, 무기질, 아미노산, 유리당, 유기산 및 curcumin 성분 등의 함량을 분석한 결과는 다음과 같다. 일반성분 중 수분은 줄기가 91.98%로 가장 높았으며, 그 다음 순으로는 뿌리가 89.04%, 잎이 83.35%로 나타났다. 조단백질은 뿌리가 1.72%로 가장 높았으며, 잎이 0.35%, 줄기가 0.29%를 보였다. 조지방은 줄기에서 0.65%, 조섬유는 잎에서 8.49%, 조회분은 잎에서 1.91%로 각각 높게 나타났다. 가용성무질소물은 잎에서 5.50%로 가장 높았으며, 뿌리가 3.91%, 줄기가 2.19%로 각각 나타났다. 무기성분 중 칼륨, 칼슘, 마그네슘 및 인 등이 높게 나타났으며, 크롬, 망간, 철, 아연 등은 미량으로 나타났다. 총 구성아미노산의 함량이 뿌리가 1,822.67 mg%로 가장 높게 나타났으며, 필수 아미노산의 함량도 뿌리에서 808.48 mg%로 가장 높게 나타났으며, 총 유리아미노산의 함량도 구성아미노산과 같이 뿌리가 가장 높게 나타났으나, 필수 아미노산의 함량은 잎이 10.94 mg%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 뿌리가 10.47 mg%, 줄기가 5.37 mg% 순으로 나타났다. 유리당은 fructose, glucose, sucrose 등 3개의 당이

확인되었고, 잎, 줄기 및 뿌리의 총 유리당이 206.87 mg%, 320.36 mg% 및 546.35 mg%로 각각 나타나 뿌리가 가장 높은 함유율을 보였다. 유기산은 잎과 줄기는 tartaric acid와 oxalic acid 2종이 확인되었으나 뿌리에서는 tartaric acid, oxalic acid, citric acid 및 glutaric acid 등 4종이 검출되었다. Curcumin 함량은 울금의 잎에서 0.28 mg%, 줄기가 0.39 mg%, 뿌리에서 108.80 mg%를 보여 뿌리에서 가장 높게 나타났다.

한편, 가을울금과 봄울금의 채취시기에 따른 일반성분, 아미노산, 유리당 및 환원당 및 비타민 C와 B₁, 유기산, 무기질, 색도, curcumin 및 쓴맛성분 등의 함량을 분석하였으며, 울금에 들어 있는 curcumin성분의 추출조건 확립 및 HPLC에 의한 최적 분석조건과 쓴맛성분 제거방법 등을 검토한 결과는 다음과 같다. 가을울금과 봄울금의 수분, 조회분, 조단백 및 조지방 함량은 채취시기가 늦을수록 증가하였고, 가용성무질소분 함량은 채취시기가 늦을수록 감소하는 경향을 보였다. 구성아미노산은 채취시기가 늦을수록 아미노산의 함량이 증가하다가 다음해인 1월말에는 약간 감소하였으며, 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율도 증가하였다. 유리아미노산의 경우는 주된 성분은 구성아미노산과 비슷하였으나, 채취시기가 늦을수록 아미노산의 함량은 계속 증가하였으며 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 감소하였다. 구성아미노산과 유리아미노산 모두 가을울금이 더 높은 함유량을 보였다. 울금의 유리당 중 fructose는 채취시기가 늦어질수록 점차 증가하였으나, glucose와 sucrose는 감소하였으며, 총 함량은 채취시기가 늦어질수록 점차 감소하는 경향을 보였다. 유리당과 환원당 모두 가을울금이 더 높은 함유량을 보였다. 비타민 C와 B₁은 채취시기가 늦어질수록 그 함량이 가을울금은 감소하였으나 봄울금은 증가하였으며, 비타민 C는 가을울금이 더 높았으나 B₁의 경우는 봄울금이 더 높게 나타나 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$). 또한 주요 유기산 중에 oxalic acid와 lactic acid는 채취시기가 늦어질수록 점차 증가하였으나 malic acid, malonic acid는 감소하는 경향을 보였으며, 유기산 총함량은 채취시기가 늦어질수록 점차 증가하다가 다음해인 1월에는 다소 감소하는 경향을 보였다. 무기질은 채취시기가 늦을수록 함량이 증가하다가 이듬해에는 다소 감소하는 경향을 보였다. 색소는 채취시기가 늦어질수록 L, a, b 값 모두 약간 증가하는 경향을 보였다. 향기성분은 전반적으로 두 시료가 비슷한 peak를 나타내고 있으나 울금에서 80종의 향기성분이 확인되어 강황의 64종의 향기성분에 비해 상대적으로 더 많은 향기성분이 확인 검출되었으며, 강황은 neocurcion이 총 면적비중 31.33%를 차지하여 다른 성분에 비하여 상대적으로 많은 부분을 차지하고 있으나, 울금의 경우는 1H-3a, 7-methanoazulene을 비롯하여 9개의 주요성분이 10.58%~2.15%로 분포되어 고르게 함유되어있는 것으로 나타났다. Curcumin의 함량은 가을울금의 경우, 10월부터 이듬해인 1월까지 크게 변화가 없는 것으로 나타났으나 봄울금은 가을울금과는 달리 채취시기가 늦어질수록 그 함량이 점차 증가하는 경향을 보였으며, 가을울금이 봄울금에 비하여 1.8~2.5 배 이상의 높은 함유량을 보였다. 쓴맛성분은 상온에서 추출할 경우 채취시기와 추출용매별로 크게 관능적 평점에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 울금보다는 강황의 쓴맛이 더 강한 것으로 나타나 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$). 울금에 들어 있는 curcumin성분의 추출조건 확립 및 HPLC에 의한 최적 분석조건과 쓴맛성분 제거방법 등을 검토한 결과, 메탄올에서 흡수파장은 424 nm 부근에서 최대흡광도를 보였으며, HPLC의 최적 분석조건은 UV 424 nm에서 Zorbax eclipse C₁₈ column을 사용하여 분석할 경우, 이동상은 75% MeOH, 유속 0.8 mL/min에서 가장 좋은 분리결과를 보였다. Curcumin 성분은 메탄올추출물이 가장 높은 함유량을 보였으며, 모든 시료구에서 상온 추출보다는 가열 추출이 더 높은 함유량을 보였다. 또한 메탄올과 에탄올추출물의 curcumin 함량은 물 추출물에 비하여 상온에

서 각각 14.8배, 14.2배 높았으며, 유기용매 가열추출은 2 가지 모두 상온보다 약 150 mg% 정도가 더 높게 나타났다. 또한 물과 메탄올추출물 모두 30분 이상에서는 크게 함량이 증가하지 않아 가열추출 시 60분 정도면 충분한 것으로 판단되었다. 가열처리에 따른 울금의 쓴맛성분의 변화는 물추출물의 경우는 80℃ 이상의 처리구에서 쓴맛이 현저하게 감소되는 것으로 확인되었다. 그러나 121℃ 처리구는 상온 처리구 보다는 쓴맛이 약했으나 100℃ 시료구보다 더 강한 쓴맛을 나타냈다. 에탄올의 경우는 상온과 70℃ 두 시료구에서 차이를 보이지 않았다.

울금의 항균활성에 영향을 주는 물질과 그 구조를 규명하기 위해 본 연구에서는 여러 가지 용매를 이용하여 분획한 분획물들의 항균활성 실험을 실시하였고, 이들 분획물 가운데 가장 높은 항균활성을 나타낸 분획물을 column chromatography와 TLC 등으로 단일 물질로 분리하여 NMR을 이용하여 항균활성에 영향을 주는 물질을 동정하였다. 울금 에탄올추출물 중의 항균성은 전반적으로 모든 분획물에서 측정 균주에 대해 항균성을 보이고 있으며, 특히 *V. parahaemolyticus*는 에틸아세테이트분획물에서 생육저지환이 비활성도로 비교하여 볼 때 13으로 가장 항균활성이 높게 나타났다. 울금 에탄올추출물의 항균활성 물질을 분리 동정하기 위하여 울금을 용매로 분획하여 각 분획물의 항균활성을 시험하였고, 이들 중 ethylacetate 추출물이 가장 항균활성을 높게 나타냈으며, silica gel column chromatograph와 TLC를 실시하여 얻은 compound I, II, III 및 IV를 NMR분석한 결과 compound I은 curcumin으로, compound II는 demethoxycurcumin으로, compound III는 bisdemethoxycurcumin으로 동정되었다. 그러나 compound IV의 경우 3종류의 curcumin과 일치 하지 않고 있으나 항균 활성을 보이는 것으로 보아 cucurmin이 일정 부분 혼합되어 있을 것으로 사료된다.

10℃, 20℃에서 12일 동안 저장하여 개발한 울금주와 시판 전통탁주의 주류학 품질특성을 비교한 결과는 다음과 같다. 울금주는 초기에는 pH 3.65였으나, 시간이 지날수록 높아져 저장 12일에는 10℃에서는 4.07, 20℃에서는 4.34로 점차 높아졌고, 전통 탁주의 경우에도 역시 0일에 pH 3.38이었으며 저장 12일에는, 10℃, 20℃에서 pH 4.14를 나타내었다. 총산도의 경우는 0일에 울금주 보다 전통 탁주가 0.33%로 높았고, 울금주의 경우 10℃와 20℃에서 6일까지는 점차 올라 갔으나 9일과 12일에는 비슷한 경향을 보였다. Brix 당도는 초기 4.10%에서 12일에는 저장온도 10℃와 20℃에서 모두 3.53%로 낮아졌으며, 전통탁주의 경우 저장온도 10℃에서 4.33%에서 점차 brix 당도가 낮아져 3.90%와 저장20℃의 경우에서 3일에 3.80%로 낮아졌으나, 점차 높아져 4.20%로 높아졌다. 유기산 함량은 20℃에서 12일로 갈수록 점차 증가하였으나, 10℃일때는 울금주가 6일에 1505.24 mg으로 가장 높았으나, 점차 감소하였다. 유리아미노산은 proline이 가장 높게 나타났으며 그 다음으로 histidine이 높게 나타났다. 또한 총 함량은 점차 증가하였으나 개발한 울금주의 경우 6일에 103.78 mg%로 가장 높은 함량을 나타냈으나 점차 감소하는 경향을 나타냈다. 각각의 시료는 10℃의 함량보다 20℃의 함량이 2.5배정도 높게 나타났다. 울금주 및 시판 전통탁주를 12일동안 10℃와 20℃에서 저장하여 3일 마다 측정된 일반 세균수는 10℃에서 보다 20℃의 경우가 2~2.5배 정도 더 많은 세균수를 나타내었으며 울금주보다 전통 탁주의 경우가 2~2.5배 더 많이 나타내었다. 그리고 전통 탁주는 0일에서 6일까지는 약간 증가하였으나 9일부터 급속도로 증가하였다. 초산균은 울금주 보다는 전통 탁주가 3~7배 정도 더 많이 나타났으며, 울금주는 10℃와 20℃의 차이가 9일을 제외하고 큰 차이가 없으나, 전통 탁주의 경우는 10℃보다 20℃가 2배정도 더 높게 나타났다. 유산균의 생균수는 전통 탁주가 울금주보다 0일에서 2배 많았으며, 전통 탁주의 경우는 6일까지는 완만하게 증가하였으나, 9일부터 급속도로 증가하여 0일보다 4~9배 증가하였다. 울금주의 경우는 9일까지 완만하

게 증가하였다가 12일째는 큰 변화를 보이지 않았다. 효모수는 전통 탁주가 울금주보다 2배 많았으며, 개발 울금주의 10℃는 12일까지 조금씩 증가하였으나, 20℃에서는 6일까지 약간 증가하였다가 9일에 급속도로 증가하였다가 12일에는 급속도로 감소하여 10℃보다 더 작은 효모수를 나타내었다. 전통 탁주의 경우는 6일까지 점차 증가하였다가 9일에 급속도로 증가하였고 12일에 점차 감소하는 경향을 보였다. 색도는 개발 울금주의 10℃의 경우는 큰 차이를 보이지 않았으나, 20℃의 경우에는 6일까지 34.80에서 31.71로 점차 감소하다가 다시 점차 증가하여 12일에는 0일과 비슷한 34.71을 나타내었다. 그리고 전통 탁주의 경우도 역시 10℃에서는 별 차이가 없었으나, 20℃에서 0일에 39.92에서 9일 33.80으로 점차 감소하였다가 12일에 36.37로 증가하였다.

본 연구의 결과로부터, 울금의 식품학적 특성을 규명함으로써 울금 및 울금소재 제품의 산업적 측면에서의 활용도를 향상시킬 것을 기대한다. 또한 울금을 원료로 하여 고품질의 기능성 울금막걸리를 개발함으로써 지역특산물의 부가가치를 증대시킴과 함께 국민보건향상 및 농산자원의 가공에 의한 효율적인 이용측면에서도 큰 의의를 가지며, 획득된 연구 결과를 바탕으로 한 과학적 사실들을 정책적으로 유인물 또는 책자로 발간하여 홍보함으로써 지역 특산 관광상품으로 개발이 가능할 것으로 사료된다.

SUMMARY

I. Title

Development of functional food and food material from *Curcuma longa* L. with its biological activities

II. Objectives and Significance

Curcuma longa L. is a perennial herb that cultivated in tropical regions of Asia, namely India and China. The rhizome of *Curcuma longa* L. (turmeric) has been extensively used as a spice and coloring agent in many foods, and also has digestive properties. The major component of *Curcuma longa* L. is the curcuminoids that include curcumin, demethoxycurcumin and bis-demethoxycurcumin. Curcumin from *Curcuma longa* L., with yellow color and is the major component of this plant, being responsible for the treatment of inflammation and other diseases. Recently, it has been also reported that curcumin acts as an antioxidant, anticancer agent, anti-inflammatory, antiviral, and antiphlogistic agent.

Makgeolli (Korean rice wine) is one of the representative traditional wine in Korea and is a precious cultural heritage for the nation. It is made with glutinous rice, nonglutinous rice, barley, and wheat flour. It is made by fermenting a mixture of boiled rice and water, and is about 6-8% alcohol content. Although *Makgeolli* is an alcoholic drink, it is good for human health. However, *Makgeolli* consumption as a favorite liquor for the general public has been reduced by changing of consumer's preference and their pro-Western lifestyle. At present, *Makgeolli* appears to be losing its competitiveness as a commercial product among the low level of general approvals, and being consumed by just a limited number of people from particular works of life or particular regions.

The purpose of the study was to optimize the making-conditions of *Makgeolli* with turmeric to improve the quality and the shelf life. Also, such bioactivities of tumeric as protection against alcoholic liver damage, anti-obesity, and performance-enhancing capacity were investigated. Furthermore, physicochemical properties of tumeric and *Makgeolli* with turmeric were studied along with its active compounds.

III. Research Summary

Makgeolli, a Korean traditional rice wine, is brewed using rice, barley, and wheat flour. The effectiveness of *Makgeolli* containing *Curcuma longa* L. (turmeric) to improve the quality during fermentation was investigated. For *Makgeolli* added with turmeric powder, the temperature change was not affected regardless of addition levels and time of turmeric powder. Temperature reached the highest point after 24-hour fermentation. The pH values

of all samples decreased after 24-hour fermentation, and then increased thereafter. The pH values were not significantly different with addition stages of turmeric powder and increased with increasing the addition level of turmeric powder. The change of ethanol content increased until 24-hour fermentation, but decreased after second brewing stage. The *Makgeolli* added with 0.25% of turmeric powder at the first brewing stage showed the highest ethanol content of 13.2%. The reducing sugar content of all samples decreased at the beginning of fermentation, but sharply increased after second brewing stage and then decreased thereafter. The yeasts of all samples greatly increased after 24-hour fermentation. The Hunter color L*, a* and b* values showed the significant difference between control *Makgeolli* (traditional *Makgeolli* without turmeric) and optimized *Makgeolli* added with turmeric. In sensory evaluation, the optimized *Makgeolli* added with turmeric extract had higher scores of flavor, taste and overall acceptability compared with control *Makgeolli*. The sour and sweet taste of control *Makgeolli* was reduced by addition of turmeric extract. In conclusion, *Makgeolli* added with 2.50% turmeric extract at the first brewing stage had positive effect on sensory qualities and to yield the high content of ethanol and to improve the flavor and taste. The results of this study suggest that turmeric could be effectively used as a natural additive to improve the sensory qualities and to increase the utilization of turmeric in *Makgeolli* and foods.

Oxidative stress has been implicated in the pathogenesis of alcoholic liver injury and the induction of cytochrome P4502E1 (CYP2E1) by ethanol appears to be one of the mechanisms through which ethanol generates the oxidative stress. This study was conducted to investigate the hepatoprotective effect of the extracts from *Curcuma longa* L. against alcohol-induced oxidative stress. The treatment of alcohol with 300 mM for 5 days reduced cell viability to 46%. *Curcuma longa* L. was extracted by cold water (CLC), hot water (CLH), 80% EtOH (CLE), and MeOH (CLM). When cytotoxicities of the extracts were determined, CLC and CLH showed no cytotoxicity up to 50 ug/mL, while CLE and CLM revealed the cytotoxicity from 50 ug/mL. Of four extracts, the highest protective activity against alcohol-induced oxidative stress in hepatoma cells was observed in CLH. The treatment of CLH also reduced the intracellular ROS compared to the alcohol-treated cells. CLH treatment along with alcohol showed that GSH content and catalase, SOD, GST activities increased as compared to the alcohol-treated cells. From these results, the hot water extract from *Curcuma longa* L. was confirmed to possess the hepatoprotective capability against the alcohol-induced oxidative stress in HepG2 cells expressing CYP2E1. Since CLH had the high hepatoprotective effect, it was further fractionated by partitioning with chloroform (CLH-C), ethyl acetate (CLH-E) and water (CLH-W). When cytotoxicities of the fractions were determined, three fractions showed no cytotoxicity up to 100 ug/mL. In this stage, CLH-C exhibited the relatively high hepatoprotective effect. Based upon these results, *Curcuma longa* L. possessed the hepatoprotective capability against the alcohol-induced oxidative stress, and their effects resulted from the stabilization of the intracellular antioxidant defense system. Hot-water extract from *Curcuma longa* L. also

showed the hepatoprotective effects against alcoholic-induced liver damage in the animal model. Taken together, *Curcuma longa* L. could protect the liver against alcohol-induced oxidative stress by improving antioxidant status *in vitro* and *in vivo*.

Obesity is a condition in which adipocytes accumulate a large amount of fat and become enlarged. It is a major risk factor for the development of many pathological conditions including hypertension, coronary heart disease, and type 2 diabetes. Therefore, many studies are focusing on the development of anti-obesitic agents. In our study, obesity-suppressing effect of *Curcuma longa* L. was investigated using 3T3-L1 adipocytes culture. Extracts of methanol and ethanol showed the significant α -amylase inhibitory effects. When cytotoxicities of ethanol-(CLE) and methanol-(CLM) extracts were determined, CLM showed no cytotoxicity up to 50 ug/mL, while CLE revealed the cytotoxicity from 50 ug/mL. Each extract was conducted to determine the cytotoxicity in 3T3-L1. In order to understand the anti-adipogenic effect of *Curcuma longa* L., the changes in the expression of several adipocytokines of 3T3-L1 cells by CLE and CLM were studied. Cells treated with CLM secreted 18% more glycerol than those with CLE. We also investigated the changes in adipogenic factors of 3T3-L1. In 3T3-L1 cells, both leptin and adipogenic factors (adiponectin, PPAR- γ) were reduced by the treatment of extracts from *Curcuma longa* L. Our data indicated that the treatment of *Curcuma longa* L. contained the anti-adipogenic effects on 3T3-L1 cells. *Curcuma longa* L. inhibited the expression of C/EBP α , peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) and fatty acid synthase (FAS). The effects of the *Curcuma longa* L. extracts (0.25 g/kg/day for 3 weeks) in mice were examined with established obesity (3 weeks high-fat diet). High-fat diet mice showed a relatively high weight gain compared to the mice fed a standard diet. Mice supplemented with methanolic extract of *Curcuma longa* L., commencing after 3 weeks of high fat diet, sustained a decrease in body weight. The treatment of *Curcuma longa* L. extract significantly increased high-density lipoprotein. Taken together, these results suggest that *Curcuma longa* L. may have an inhibitory role in obesity *in vitro* and *in vivo* and may be the useful source as a natural anti-obesity agent.

The present study designed to determine the effect of *Curcuma longa* L. extracts on endurance exercise capacity in male ICR mice. The *Curcuma longa* L. powder was extracted by hot-water (CLH) or methanol (CLM). Mice were separated into 4 groups: first two groups were given 10% tween 80 as a control; and the other groups were given either 1 g/kg/day of CLH or CLM. Longer swimming time until exhausted was exhibited in the mice administered with CLH or CLM than the control group. Both CLH and CLM groups significantly increased the NEFA level, compared to the control. In both, CLH group showed the higher level of NEFA than CLM group. Based upon these results, it was suggested that CLH possessed the more profound effect as a performance enhancer, by using lipid metabolism. To determine the effect of *Curcuma longa* L. extracts on antioxidative status in exhaustively-exercised male ICR mice, mice were separated into 3 groups: control group was given 10% tween 80; and the other groups were given either 1

g/kg/day of CLH or CLM. Mice were exercised after oral-administration and sacrificed. Liver was homogenized and deposited at -70°C until analysis. Activities of hepatic antioxidative enzymes such as CAT and GST and level of non-enzymatic antioxidant such as GSH in sample groups were relatively high when compared to the control group. These results suggest that *Curcuma longa* L. possesses the stimulatory effect on exercise endurance capacity by antioxidant capacity.

Studies of oral subchronic toxicity (2 weeks) with the methanol (CLM) and hot water (CLH) extracts of *Curcuma longa* L. were carried out in mice. Dosages of CLM and CLH extracts were 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 and 1.0 g/kg/day. The weight gains in CLM and CLH treated animals, respectively, showed no significant difference compared to the control group. Also, there was no difference in food intakes between each CLM and CLH group and the control group. Furthermore, survival rates of all groups indicated 100%. According to the hematochemical analysis, no damage was found in each treated group. Based upon these results, all CLM and CLH exhibited no toxicity up to 1.0 g/kg/day.

Changes in proximate composition, amino acid, free sugar, reducing sugar and vitamin contents of *Curcuma longa* L. (autumn woolgeom in Korean) and *Curcuma atomatica* Salib (spring woolgeom) were investigated according to picking time. Moisture, crude ash, crude protein, and crude lipid were increased and non nitrogen substances was decreased by extending the picking time. Contents and ratio of total amino acid to essential amino acids was increased by extending the picking time. Free amino acid was increased by extending the picking time. Ratio of essential amino acids to total amino acids was decreased. Fructose was gradually increased, and then glucose, sucrose and total free sugars were decreased by extending the picking time. Amino acid and sugar contents of *Curcuma longa* L. were higher than those of *Curcuma atomatica* Salib. In contents of vitamin C and B1, *Curcuma longa* L. was decreased and *Curcuma atomatica* Salib was increased by extending the picking time. Changes in organic acid, mineral, color, curcumin and bitter taste of *Curcuma longa* L. (autumn woolgeom in Korean) and *Curcuma atomatica* Salib (spring woolgeom) were investigated according to picking time. Oxalic acid and lactic acid were gradually increased, and then malic acid and malonic acid were decreased by extending the picking time. Total organic acid was increased by extending the picking time and then decreased after January of the coming year. Minerals were increased by extending the picking time and decreased slightly after the coming year. Hunter color index, L, a and b, was increased by extending the picking time. Contents of curcumin in spring woolgeom was slowly increased by extending the picking time and autumn woolgeom was 1.8~2.5 times higher than spring woolgeom. Intensity of bitter taste in two woolgeoms were not different by picking time and extracting solvents. Bitterness of spring woolgeom was strong as compared to autumn woolgeom.

Extracting and analytical conditions of curcumin, and removal of bitterness substance from *Curcuma longa* L. were investigated. Absorption maxima was shown to be 424 nm at methanol solvent. Optimal conditions for analysis of curcumin was Zorbax eclipse C18

column; mobile phase, 75% MeOH ; flow rate, 0.8 mL/min ; wave length, UV 424 nm. Curcumin component was analyzed to be the highest content in methanol extract. In all samples, extraction yield by heating was shown to be effective as compared to room temperature. Curcumin contents of methanol and ethanol extracts in extraction of room temperature were 14.4 and 14.2 times higher than that of water extract, respectively. Two hot solvent extracts has a high curcumin content being 150 mg% as compared to room temperature. Extracting time was an effective condition when it was extracted for 60 minutes for elevating the curcumin content of water and methanol extracts. Bitter substance (BS) was markedly decreased in water extract by heat treatment of above 80°C. BS was weak in 121°C treatment than in room temperature and it was however strong in 100°C treatment. RT and 70°C heat treatment were not different in BS intensity.

This study was carried out to assess the antioxidative activities of *Woolgeom* water and ethanol extracts such as analysis of total flavonoid and polyphenol content, DPPH free radical scavenging activity, antioxidant index, inhibitory effect of lipid peroxidation. Moreover antibacterial activity of some fractionates were investigated by paper disk - agar diffusion method. To confirm the antibacterial compounds from *Woolgeom* against food poisoning bacteria including *S. aureus*, *S. typhimurium* and *V. parahaemolyticus*, a potent antibacterial activity - having compound was isolated and identified by column chromatography, TLC and NMR method.

In fractionates, n-hexane fractionate was the highest AI followed by ethylacetate 1.77, n-butanol 1.03, chloroform 1.03 and water 1.02. Inhibitory effect of lipid peroxidation was shown to be the highest value in n-hexane fractionate, indicating that it's activity was however lower than BHT solution as positive control. All fractionates from ethanol extract of *Woolgeom* had an inhibitory effect on growth of food poisoning bacteria tested in this study. Of all fractionates, ethylacetate layer showed a potent antibacterial activity and was shown to be 13 mm against *V. parahaemolyticus* as size of clear zone on paper disk - plate culture.

Compound I, II and III, which had a potent antibacterial activity, were purified from ethylacetate fractionate of ethanol extract and identified as curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin by silica gel column chromatograph, TLC and NMR analysis. Compound IV was very different than the other compounds, but it showed a antibacterial activity, indicating that it may be slightly mixed with above three compounds isolated from *Woolgeom*.

Woolgeom is recently known to Korean consumer as functional food material. Quality properties of *Woolgeomju* developed in this study were investigated through analysis of some commercial *takju* (TJ) and *Woolgeomju*. Total sugar, reducing sugar and Brix index were the highest value in "Kayagok" *Bokbunja* TJ of Nonsan and The other TJs including *Woolgeomju* were similar in total sugar and Brix index. Contents of reducing sugar of *Woolgeomju* was 0.74% and found to be higher than that of the commercial TJs (p<0.05). pH value of *Woolgeomju* and "Ildong" black soybean TJ of Pocheon 4.53 and 4.29,

respectively. The others rice TJ (I,II) and *Bokbunja* TJ were in the range of pH 3.79~3.90. Total acidity was the highest value in "Palma" rice(II) TJ of Suncheon($p<0.05$) and black soybean TJ was the lowest value. The others TJs including *Woolgeomju* were in the range of 5.25~5.64% and then were not significantly different each other. Content of amino type nitrogen was found to be the highest value in *Woolgeomju* being 906.17 mg% and to be the lowest value in *Bokbunja* TJ being 219.33 mg% ($p<0.05$). Of traditional TJs, viscosity of *Bokbunja* TJ and "Cheonhwa" rice(I) TJ of Kwangju were the lowest value being 226.67 mPa · s and the highest being 880.00 mPa · s, respectively ($p<0.05$). Lightness (L) and yellowness (b) value of *Woolgeomju* were the highest value being 41.87 and 15.89, respectively and then redness (a) was found to be the lowest being -7.03. Browning index of *Bokbunja* TJ was the highest value being 0.97 expressed as absorbance at 420 nm, followed by yellowish *Woolgeomju* being 0.85. Soluble solid content of all TJs tested in this study were in the range of 2.73 to 3.35, and was the highest value in *Bokbunja* TJ being 8.83, which was significantly different as compared to the others TJs ($p<0.05$). Organic acid was the highest value in *Woolgeomju* being 1877.21 mg% followed by rice(I) TJ being 1,510.58 mg%. However, free sugar and mineral contents were the highest value in *Bokbunja* TJ followed by rice (II) TJ. Total free amino acids (TFA) of *Woolgeomju* was 126.84 mg% and was lower than that of the others TJs including rice (I) and rice (II). In particular, TFA of *Woolgeomju* was 1.5~2 times higher than that of *Bokbunja* TJ and "Ildong" black soybean TJ of Pocheon. Twelve volatile compounds were identified from *Woolgeomju*, and then were slightly different in contents and composition as compared to the others TJs tested by simultaneous steam distillation and extraction. Major compounds were ethanol 82.26% (peak area%) followed by cyclopropane 8.43%, 1-butanol 4.22%, acetic acid 1.40%, 1-propanol 1.28% and acetaldehyde 0.16%.

pH of *Woolgeomju* was 3.65 and was gradually increased to 4.07 at 10°C and 4.34 at 20°C during storage. The others TJ showed initial pH 3.38 and had pH 4.14 at 10 and 20°C after 12 days of storage. Initial total acidity of *Woolgeomju* was lower than that of traditional TJs being 0.03% (w/v) tested in this study and then gradually increased by 6 days at 10 and 20°C. Changes in acidity of all samples showed a similar pattern after 9~12 days. Initial Brix index of *Woolgeomju* showed 4.10% and decreased by 3.53% at 10 and 20°C after 12 days of storage. Traditional TJs had 4.33% Brix index at 10°C and decreased by 3.90%. Organic acid of *Woolgeomju* was gradually increased at 20°C during storage and was 1,505.24 mg% for 6 days. It was decreased after that. Major free amino acid was proline being 103.78 mg% for 6 days and slightly increased during storage. In total amino acid, all TJs stored at 20°C were 2.5-fold higher than TJs at 10 °C. Viable general and acetic acid bacteria of traditional TJs were 2~2.5 and 3~7 times higher than those of *Woolgeomju*, respectively. Viable lactic acid bacteria of traditional TJs were increased to 4~9 times by 12 days as compared to initial storage. Lactic bacteria of *Woolgeomju* was gradually increased by 9 days and was not changed after 12 days. Viable yeast cell number was elevated by 9 days at 20°C and rapidly decreased after that.

Lightness(L) of Hunter color difference index were not different at 10°C of storage. In *Woolgeomju*, L value was slightly decreased from 34.80 at initial storage to 31.71 after 6 days. Traditional TJs showed L value being 39.92 at 0 days and 33.80 at 9 days. In sensory evaluation, *Woolgeomju* showed a good score in taste, aroma, color and turbidity. *Woolgeomju* through assesment of overall-eating palatability was found to be an excellent properties of preservation at 10°C during 10 days of storage.

목 차

제 출 문	1
요약문(한글)	2
요약문(영어)	16
목 차(한글)	26
목 차(영어)	34
제 1 장 연구개발과제의 개요	37
제 1 절 연구개발의 목적	37
제 2 절 연구개발의 필요성	
제 1 항 기술적 측면	37
제 2 항 경제·산업적 측면	38
제 3 항 사회·문화적 측면	39
제 3 절 연구개발의 범위	41
제 1 항 울금의 생리활성 검색, 식품소재화, 및 기능성 울금막걸리의 개발	41
제 2 항 울금 및 울금소재의 <i>in vitro/in vivo</i> 기능성 및 안전성 평가	41
제 3 항 울금, 울금소재, 울금막걸리의 이화학적 특성 분석	42
제 2 장 국내외 기술개발 현황	44
제 1 절 해외의 연구 현황	44
제 2 절 국내의 연구 현황	45
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	47
제 1 절 울금의 생리활성 검색, 식품소재화, 및 기능성 울금막걸리의 개발	47
제 1 항 재료 및 방법	47
가. 재료	47
나. 실험방법	47
1) 울금의 특성분석	47
2) 울금의 항산화활성 측정	48
3) 울금엑기스의 제조 및 특성 분석	50
4) 울금분말의 제조 및 특성 분석	51
5) 울금엑기스의 항균활성	54

6) 울금막걸리의 제조 및 공정	55
7) 울금막걸리의 특성 측정	58
8) 울금막걸리와 일반막걸리의 품질특성	59
9) 울금막걸리의 관능평가	60
제 2 항 결과	60
가. 울금의 일반성분 함량	60
나. 울금분말(DPC, WPC, EPC)의 일반성분 함량	60
다. 울금, 울금엑기스, 및 울금분말의 총 페놀 함량	61
1) 울금의 총 페놀 함량	62
2) 울금엑기스의 총 페놀 함량	62
3) 울금분말의 총 페놀 함량	62
라. 울금의 전자공여작용	63
마. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성	65
바. 울금엑기스의 항균활성	66
사. 울금엑기스의 최소저해농도(MIC)	67
아. 품온의 변화	68
자. pH의 변화	70
차. 색도의 변화	71
카. 알코올 생성량의 변화	73
타. 환원당 함량의 변화	75
파. 효모수의 변화	76
하. 막걸리의 관능평가	78
거. 건강지향식품으로서의 울금막걸리 및 시제품 제작	80
너. 울금주와 시판 탁주의 품질 특성 비교	80
1) 총당 함량	80
2) 환원당 함량	81
3) Brix 당도	82
4) pH 및 총산도	83
5) 아미노산질소 함량	85
6) 점도	86
7) 색차계 색도	87
8) 갈변도	90
9) 고형물 함량	91
10) 유기산 함량	92
11) 유리당 함량	93
12) 유리아미노산 함량	94
13) 무기질 함량	96
14) 휘발성 알코올 함량	96
더. 개발울금주 및 전통탁주의 관능평가 변화	99

제 2 절	울금 및 울금소재의 <i>in vitro/in vivo</i> 기능성 및 안전성 평가	100
제 1 항	재료 및 방법	100
가.	재료	100
나.	실험방법	100
1)	시료의 추출 및 수율 측정	100
2)	총 플라보노이드 함량 측정	101
3)	지질과산화 억제능 측정	101
4)	ABTS 라디칼 소거활성 측정	102
5)	Alpha-amylase 억제능 측정	102
6)	울금추출물 대상 HepG2/2E1-CPR 세포에서의 cytotoxicity 검토	102
7)	울금추출물의 알코올성 산화억제능 검색	102
8)	울금 열수추출물의 농도별 산화억제능 검토	103
9)	울금 열수추출물의 <i>in vitro</i> 상에서의 산화적 스트레스 억제효과	103
10)	울금 열수추출물의 분리 획분별 <i>in vitro</i> 상에서의 산화적 스트레스 억제효과	104
11)	울금 및 울금소재의 <i>in vitro</i> 상에서의 비만 억제효과	105
12)	울금 메탄올추출물의 <i>in vitro</i> 상에서의 비만 억제효과	107
13)	울금 메탄올추출물의 분리 획분별 <i>in vitro</i> 상에서의 비만 억제효과	107
14)	<i>In vivo</i> 알코올성 산화억제능 측정계	109
15)	<i>In vivo</i> 비만억제능 측정계	112
16)	<i>In vivo</i> 운동능력향상능 측정계	114
17)	<i>In vivo</i> 상에서 울금추출물의 독성평가	117
18)	울금 지표성분 분석 및 유효성분 추정	117
제 2 항	결과	118
가.	울금추출물의 수율 및 생리활성 측정	118
1)	수율	118
2)	총 플라보노이드 함량	119
3)	지질과산화 억제능	119
4)	ABTS 라디칼 소거능	120
5)	Alpha-amylase 억제능	121
나.	울금추출물 대상 HepG2/2E1 세포계에서의 알코올성 산화억제 효과 측정	121
1)	울금추출물 대상 HepG2/2E1 세포에서의 cytotoxicity 검토	121
2)	울금추출물의 알코올성 산화억제능 검색	122
다.	울금 열수추출물의 농도별 산화억제능 검토	123
1)	울금 열수추출물의 농도별 산화억제능 검토	123
2)	울금 열수추출물의 HepG2/2E1 cell에서의 morphology 변화	123
라.	울금 열수추출물의 <i>in vitro</i> 상에서의 산화적스트레스 억제 효과 측정	124
1)	울금 열수추출물의 농도별 glutathione 함량 측정	124
2)	울금 열수추출물의 농도별 catalase 활성 측정	124
3)	울금 열수추출물의 농도별 glutathione-S-transferase 활성 측정	125
4)	울금 열수추출물의 농도별 superoxide dismutase 활성 측정	125

5) 울금 열수추출물의 ROS level에 대한 효과	126
마. 울금 열수추출물의 분리 획분별 알코올성 산화억제능검토	127
1) 울금 열수추출물의 분리 획분별 알코올성 산화억제능	127
2) 울금 열수추출물의 클로로포름 분획의 ROS level에 대한 효과	127
바. 울금 및 울금소재의 <i>in vitro</i> 상에서의 비만억제 효과 측정	128
1) 3T3-L1 cell을 이용한 울금추출물의 cytotoxicity 검토	128
2) <i>In vitro</i> 상에서의 지방분화 억제능 검색	128
3) 3T3-L1 cell에서 울금소재의 cytotoxicity 검토	129
4) 3T3-L1 cell에서 울금소재의 지방분화 억제능 검토	129
5) <i>In vitro</i> 상에서 울금소재의 항비만 기작 검토	130
사. 울금 메탄올추출물의 <i>in vitro</i> 상에서의 비만억제 효과 측정	131
1) Oil red O 염색 및 정량	131
2) Triglyceride 측정	132
3) Glucose uptake 측정	133
4) RT-PCR 측정	133
아. 울금 메탄올추출물의 에틸아세테이트 분획의 <i>in vitro</i> 상에서의 비만억제 효과 측정	134
1) Oil red O 염색 및 정량	134
2) Triglyceride 측정	135
3) Glucose uptake 측정	135
4) RT-PCR 측정	136
자. 울금 추출물의 <i>in vivo</i> 알코올성 산화 억제 효과 측정	137
1) 체중변화 및 장기무게	137
2) 알코올성 산화억제능 측정	139
3) 혈청 지질관련 인자들의 변화검토	141
4) 울금추출물의 항산화 효소에 미치는 영향	141
5) 울금추출물의 MDA 및 GSH 함량에 미치는 영향	143
6) Histological examination	146
차. 울금 추출물의 <i>in vivo</i> 비만억제 효과 측정	146
1) 항비만 활성 측정 마우스의 체중변화	146
2) 평균식이섭취량 및 식이효율	147
3) 혈청 지질관련 인자들의 변화검토	148
4) 항비만 기작 검토	150
카. 울금 추출물의 <i>in vivo</i> 운동능력향상능 측정	151
1) 체중변화	151
2) 평균식이섭취량 및 식이효율	151
3) 지구력 운동력 측정	152
4) 조직무게	153
5) Hematochemical analysis	154
6) 산화적 스트레스 관련 기작연구	154

타. 울금 추출물의 <i>in vivo</i> 독성평가	157
1) 울금열수추출물	157
2) 울금메탄올추출물	157
파. 울금 지표성분 분석 및 유효성분 추정	158
1) HPLC에 의한 분석	158
2) Curcumin 함량 계산	159
3) 유효성분 추정	159
제 3 절 울금, 울금소재, 울금막걸리의 이화학적 특성 분석	160
제 1 항 재료 및 방법	160
가. 재료	160
나. 실험방법	160
1) 일반성분분석	160
2) 무기질과 중금속 분석	160
3) 아미노산 분석	161
4) 유리당 및 환원당 분석	161
5) 비타민 C와 B ₁ 분석	162
6) 휘발성 유기산 분석	162
7) 색차계 색도 측정	163
8) 향기성분 분석	163
9) Curcumin 분석	163
10) 쓴맛성분 관능평가	164
11) 울금 용매추출물 제조	165
12) 울금 에탄올추출물의 용매분획	167
13) 항산화 활성 측정	168
14) 항균활성 측정	169
15) 울금의 생리활성 물질의 분리 및 동정	170
16) 미생물 균수 측정	173
17) 휘발성 알코올 분석	174
제 2 항 결과	175
가. 울금의 부위별 성분 함량	175
1) 울금의 부위별 일반성분 조성	175
2) 울금의 부위별 무기성분 함량	175
3) 울금의 부위별 아미노산 함량	177
4) 울금의 부위별 유리당 함량	179
5) 울금의 부위별 유기산 함량	179
6) 울금의 부위별 curcumin 함량	180
나. 울금 품종과 채취시기별 성분 함량	180
1) 일반성분 함량	180
2) 무기질과 중금속 함량	182

3) 아미노산 함량	184
4) 유리당 및 환원당 함량	191
5) 비타민 함량	193
6) 비휘발성 유기산 함량	193
7) 색도변화	195
8) 향기성분 함량	196
9) Curcumin 함량	201
다. 울금 추출방법에 따른 수율	206
라. 울금 에탄올추출물의 용매별 분획물 수율	206
마. 울금의 항산화 활성	207
바. 울금 에탄올추출물의 분획별 항산화 활성	210
사. 울금 에탄올추출물의 분획별 항균성	214
아. 울금주와 시판탁주의 품질특성 비교	223
제 4 .장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	239
제 5 .장 연구개발 결과의 활용 계획	242
제 6 .장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	245
제 7 .장 참고문헌	247
부 록	
1. 발표논문	252
2. 특허출원	275

TABLE OF CONTENTS

Cover Letter	1
Summary (Korean)	2
Summary (English)	16
Table of Contents (English)	26
Table of Contents (Korean)	34
Part I. Outline of Research and Development	37
Chapter 1. The Purpose of Research and Development	37
Chapter 2. The Need for Research and Development	37
Chapter 3. The Scope of Research and Development	41
Part II. State-Of-The-Art	44
Part III. Results of Research and Development	47
Chapter 1. Effect of <i>Curcuma longa</i> L. on the characteristics of <i>Makgeolli</i> during fermentation	47
1. Materials and Methods	47
1) Sample	47
2) Experimental Approach	47
2. Results	60
1) Content of Constituents in turmeric	60
2) Content of Constituents in turmeric powder	60
3) Content of total phenolics in turmeric, turmeric extract, turmeric powder	61
4) Eletron donating action of turmeric	63
5) Superoxide dismutase(SOD) analogous activities	65
6) Antimicrobial activities of turmeric extract	66
7) Minimum inhibitory concentration of turmeric extract	67
8) Change of pH	70
9) Change of color value	71
10) Change of ethanol content	73
11) Change of reducing sugar content	75
12) Change of yeast content	76

13) Sensory test of <i>Makgeolli</i>	99
Chapter 2. <i>In vitro</i> and <i>In vivo</i> Evaluation of Bioactives from <i>Curcuma longa</i> L.	100
1. Materials and Methods	100
1) Sample	100
2) Experimental Approach	100
2. Results	118
1) Yields and Bioactives	118
2) <i>In vitro</i> Hepatoprotective Effects of Various Extracts	121
3) <i>In vitro</i> Inhibitory of Various Extracts on oxidative stress	124
4) <i>In vitro</i> Inhibitory of Various Extracts on obesity	128
5) <i>In vitro</i> Inhibitory of Various Extracts on EEC	128
6) <i>In vivo</i> Hepatoprotective Effects of Various Extracts	137
7) <i>In vivo</i> Inhibitory of Various Extracts on obesity	146
8) <i>In vivo</i> Inhibitory of Various Extracts on EEC	151
9) Evaluation of CLH for safety	157
10) Evaluation of CLM for safety	157
Chapter 3. Physiological characteristics of <i>Curcuma longa</i> L., material from <i>Curcuma longa</i> L. and <i>Woolgeomju</i>	160
1. Materials and Methods	160
1) Sample	160
2) Experimental Approach	160
2. Results	175
1) Content of different parts of <i>Curcuma longa</i> L.	175
2) Changes in composition of in the <i>Curcuma longa</i> L. and <i>Curcuma</i> <i>atomatica</i> Salib according to picking time	180
3) Extraction yield by extraction methods and solvent from <i>Curcuma longa</i> L.	206
4) Yield of <i>Curcuma longa</i> L. ethanol extract and its solvent fraction from dried <i>Curcuma longa</i> L.	206
5) Antioxidative activity of the <i>Curcuma longa</i> L.	207
6) Scavenging effects of <i>Curcuma longa</i> L. ethanol extract fraction	210
7) Antimicrobial activities against several microorganisms of fractions from ethanol extract of <i>Curcuma longa</i> L.	214
8) Comparison of commercial <i>Takju</i> and <i>Woolgeomju</i> developed in this study	223
9) Storage stability evaluation of <i>Woolgeomju</i> by storage temperature	223
Part IV. Achievements and Contribution to Related-Field	239

Part V. Application Plan of Obtained Results	242
Part VI. Oversea Technical Information Collected during the Research	245
Part VII. References	247
APPENDIX	
1. Publications	252
2. Patents	275

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

본 과제에서는 전남 진도에서 대량 생산되고 있는 기능성 작물인 울금의 *in vitro/in vivo* 알코올성 산화억제 및 비만억제 등의 생리활성을 검색하며, 울금을 이용하여 전통 탁주인 막걸리를 제조하고 품질 증진 및 저장성을 향상시킴으로써 전통탁주에 기능성을 부여함과 함께 우수한 맛과 저장성이 확보된 우리나라 최고의 기능성 쌀 탁주(울금 막걸리)를 개발하는데 최종적인 목표를 두고 있다. 이는 지역특산물의 고부가가치 창출뿐만 아니라 과잉 생산되고 있는 우리 쌀의 소비확대에도 기여할 것이다.

제 2 절 연구개발의 필요성

제 1 항 기술적 측면

- 울금(*Curcuma long* L.)은 생강과에 속하는 다년생 식물로 구근을 건조하여 분말화한 것을 심황이라고도 부르며 향은 순한 단맛을 지니고 있고 뿌리는 노란색인데 커리와 머스커드의 주원료 중의 하나로서 착색료 및 향신료로 이용되고 있다. 착색성분은 curcumin(황색)으로 산성에서는 활색이 되고 알칼리성에서는 적색을 띤다. 따라서 울금과 같은 생약재에 함유된 약리적 기능성 성분들의 규명과 이들을 이용하여 막걸리의 기능성 및 저장성을 향상시키는 연구는 그 기대효과가 클 수밖에 없다.
- 과거 식량난으로 지금까지 주식으로만 제한적으로 이용해왔던 쌀이 과잉 생산되고 재고미가 매년 증가 추세에 있으며 특히 2005년 쌀 시장이 완전 개방될 경우 쌀을 이용한 대표적인 민속주인 막걸리의 품질개선은 필연적인 연구가 될 것이다.
- 발효기술의 개선에 의한 전통 막걸리의 맛을 증진시키고 생약재의 첨가 등에 의한 저장성 향상 등의 생산기술 개발 연구는 지속적으로 수행되어야 한다.
- 전통 막걸리의 상품화에 있어서 가장 큰 문제점은 유통기간의 한계성에 있으므로 이들을 장기간 유통시키고 저장하기 위해서는 천연식물체로부터 생리활성물질을 찾아 막걸리와 같은 가공식품의 저장성을 향상시키는 기술개발이 필요하다.
- 우리의 전통 막걸리는 주로 쌀을 이용하여 많이 제조하여 왔으며 그 맛은 서민층을 중심으로 인정되어 왔으나 불로장생의 건강 지향성 주류가 대량 생산되면서 소비량이 크게 감소한데다 저장성이 양호하지 못한 것이 결정적인 단점이기 때문에 막걸리에 기능성을 강화하고 저장기간을 연장시킬 수 있는 기술개발이 이루어진다면 그 소비량을 크게 확대할 수 있을 것이다.
- 현재 우리나라의 전통 막걸리 제조업체에서 가장 큰 문제점 및 취약성으로 나타난 기술적 애로사항으로
 - 자가누룩생산의 어려움 : 자연발효에 의한 경험제조로 생산비와 노동비가 큼, 시판 누룩사용으로 인한 저당화력, 이취 등의 제품특성 감소, 품질이 낮아 제품 차별화가 어렵다.

- 조미 및 제성기술 부족 : 맛의 현대화가 어려워 다양한 소비층 확보곤란, 지나친 신맛, 아미노산 취로 술맛의 기호도가 떨어지고 있다.
- 외국산 주류와 경쟁력이 있는 우리 술을 개발하기 위해서는 전통술의 제조기술을 발효 공학적으로 분석하여 제조공정상의 특징을 실증하고, 전통술의 향미생성 및 발효에 관여하는 우수한 미생물의 분리, 선발 및 응용 등을 통하여 전통의 맛과 향, 건강기능성 등을 강화시키면서 제조공정을 단순, 과학화하는 산업적 생산기술 연구의 필요성이 절실하다.

제 2 항 경제·산업적 측면

- 과일 생산되어 보관중인 재고 쌀을 이용한 쌀 가공식품의 개발에 의한 쌀 가격의 안정은 물론 쌀의 부가가치 향상에 의한 쌀 생산농가의 소득증대에도 기여할 것이다.
- 막걸리를 세계적인 쌀 약주로 개발함으로써 매년 지속적으로 증가하고 있는 외국산 양주의 수입을 제한할 수 있다.
- 건강에 관심이 많으므로 기능성 식품의 선호도가 높아 기능성 막걸리의 수요가 증가될 것이다.
- 울금의 기능성을 막걸리제조에 이용함으로써 울금 생산을 하고 있는 지역농민의 소득을 증대할 수 있다.
- 새로운 제품 제조기술을 관련업체에 양도하고 지도함으로써 국내·외 경쟁력 증진에 크게 기여할 수 있으리라 사료된다.
- 수입주류에 비하여 전통 민속주의 상대적 품질열위로 경쟁력이 위축된 실정이다.
- 전체시장규모 : 약 5조 3,470억원(2004)
- 주류수입액(2004) : 3억 6천만불
 - 위스키 수입은 1억 8,700만불로 세계 4위의 소비국
 - 포도주 소비분에 따라 수입도 크게 증가
- 선진외국에서는 전통문화의 관광자원화에 성공하여 UR의 파고에 관계없이 관광산업으로 발전하고 있음. 현재 세계는 WTO체제 출범이후 유례없는 기술경쟁시대에 있으면서도 우수한 전통문화는 커다란 상품으로 등장하고 있음. 우리의 전통주를 각 지방의 문화와 연계시켜 특색있게 개발하고 발전시킨다면 외화자원으로 뿐 아니라 좋은 술맛을 내기 위한 술 제조용 쌀 개발 등으로 고부가가치의 쌀 생산도 가능하여 안정된 영농기반도 마련할 수 있을 것이다.
- 산업차원에서 현대 미생물학과 양조학의 발전을 민속주 제조기술에 접목시켜 민속주 제조 기술 혁신과 품질개선으로 국제 경쟁력 제고가 요구된다.
- 최근 식생활 수준의 향상으로 술의 기호도의 다양화와 고급화가 요구되고 있고 외국주류에 대항하기 위하여 우리의 전통주를 각 지방의 문화와 함께 특색있게 개발하고 발전시킨다면 지역사회 발전은 물론, 농민에게 안정된 고부가가치 사업을 전수할 수 있다.

제 3 항 사회·문화적 측면

- 막걸리를 비롯한 몇 종류의 쌀 약주가 생산되었거나 생산되고 있으나 우리나라를 대표할만한 쌀 약주의 개발이 이루어지지 못해 수출 가능한 우리 술을 개발하여 민족의 자긍심을 고취시켜야 한다.
- 기능성 막걸리를 우리나라를 대표하는 쌀 민속약주로 개발하여 양주나 포도주를 마시는 현

재의 술 문화를 국산 술 마시는 문화로 바꾸어야 한다.

- 음주 문화가 저급 도수 술을 선호하므로 도수가 낮은 전통 약주가 상품성이 높다.
- 최근 국민들의 건강에 대한 관심도가 높아짐과 더불어 위생 및 식품의 기능성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있고 특히, 건강 증진에 도움이 되는 각종 생리 활성 물질을 함유한 기능성 가공 제품을 선호하는 추세를 비취볼 때 전통약주에도 다양한 기능성의 도입이 필요하다.
- 울금은 그 고유한 색깔과 정유성분 등의 항균성 물질에 의한 약리적 기능성이 알려져 있기 때문에 이를 이용한 기능성 막걸리를 제조하였을 경우 국내뿐만 아니라 국제적인 상품으로의 활용이 기대되며 한국전통주의 세계적 위상 확립에도 기여할 수 있으리라 사료된다.
- 우리나라의 전통술은 300여종이 알려지고 있으며 그중 약 150여종의 제조비법이 전수되고 있으나, 술의 종류만큼이나 각 지방의 전통적인 식문화는 다양하며 외래 관광객 여론 조사에서 향토음식이 가장 인상 깊었다는 응답이 42.0%나 나올 만큼 우리의 전통음식 문화는 우수하나 무차별적인 외래문화의 유입으로 음식 맛의 전국적 획일화 향이 심해지고 있다.
- 이제 전통문화는 문화의 전통으로만 그치는 것이 아니라 하나의 강력한 상품으로 등장하고 있으므로 각 지방마다 전통음식과 전통술을 체계화하고 과학화 한다면 민족 고유의 식문화의 전통을 이어받고 특색 있는 지방문화의 맥을 이어가는데 큰 역할을 할 수 있을 것이다.
- 전통 민속주의 발굴과 현대식 산업화를 위해 '91년부터 민속주 제조관련 행정규제 완화를 통한 전통문화의 보전과 전수를 적극적으로 농림부에서 추진하고 있으며 UR 이후 농가소득증대와 농산물의 부가가치 제고를 위해 '93년부터 농민단체에게는 주류제조 참여를 적극 지원하여 우리의 민속고유주의 복원을 시도하고 있다.
- 고혈압 등 순환기계 질환과 간장질환 등 성인병의 발생이 지속적으로 증가함에 따라서 이들을 예방 또는 치료하는데 효과가 있는 '기능성 식품'으로서 기능성 전통막걸리 등의 개발이 요구된다.
- 국민의 소득이 올라감에 따라서 주류의 수요가 다양해지고 특징적인 고급주류의 수요가 증가하는 추세에 있으므로 이에 부응하여 약초를 사용한 고급명주가 개발된다면 이를 소비할 수 있는 기반은 마련되어 있다고 생각된다.

제 3 절 연구개발의 범위

본 과제는 전남 진도에서 대량 생산되고 있는 기능성 작물인 울금의 *in vitro/in vivo* 알코올성 산화억제 및 비만억제 등의 생리활성을 검색하고 기능성 식품소재를 개발하고자 한다. 또한, 울금을 이용하여 고부가가치를 창출하고 과잉 생산되고 있는 우리 쌀의 소비확대와 전통 탁주인 막걸리의 기능성 등의 품질 증진 및 저장성을 향상시킴으로써 전통탁주에 기능성을 부여하고 우수한 맛과 저장성이 확보된 우리나라 최고의 기능성 쌀 탁주(울금 막걸리)의 개발을 최종목표로 하며 아래와 같은 연구 및 개발을 하고자 한다.

제 1 항 울금의 생리활성 검색, 식품소재화, 및 기능성 울금막걸리의 개발

- 울금의 생리활성 검색 및 기능성 식품소재화 연구
 - 울금 및 기능성 울금 소재의 항산화 활성 검색

- 울금 및 기능성 울금 소재의 항미생물 활성 검색
- 울금 엑기스 및 울금 분말로의 소재화 탐색
- 울금을 이용한 기능성 울금 막걸리의 개발 및 품질 특성 분석
 - 울금 막걸리의 미생물학적 발효 특성 구명, 최적 담금 비율 및 발효조건의 확립
 - 막걸리의 전통적 담금 방법의 해석 및 개선 방안 연구
 - 기능성 식품 소재별 울금 막걸리의 제조 및 발효조건과 알코올 수율 및 품질 특성과의 상관관계 구명
- 제조된 기능성 울금 막걸리의 상품성 평가
 - 최적조건에서의 기능성 울금 막걸리의 제조
 - 제조된 기능성 울금 막걸리의 기능성 분석
 - 울금 막걸리의 관능평가
 - 일반 막걸리와 울금 막걸리의 품질 특성 비교

제 2 항 울금 및 울금소재의 *in vitro/in vivo* 기능성 및 안전성 평가

- 울금 및 울금소재의 *in vitro* 알코올성 산화억제 및 비만억제 효능평가 연구
 - 알코올성 산화억제능 탐색을 위한 *in vitro* assay계의 확립
 - 비만억제능 탐색을 위한 *in vitro* assay계의 확립
 - 울금 및 울금소재 대상 transfected HepG2 cell 을 이용한 알코올성 산화억제능 검색
 - 울금 및 울금소재 대상 3T3-L1 cell 을 이용한 지방세포 분화유도능 검색
- 울금 및 울금소재의 *in vivo* 알코올성 산화억제, 비만억제, 운동능력향상 효능평가
 - *In vivo* 알코올성 산화억제, 비만억제 및 운동능력향상 탐색용 assay계 확립
 - 동물모델을 이용한 알코올성 산화억제능 검색
 - 동물모델을 이용한 비만억제능 검색
 - Current Swimming Pool에서 쥐를 이용한 운동능력향상 검색
- 울금소재 및 기능성 막걸리의 안정성 평가 연구
 - 5~6 주령 설치류를 사용하여 3단계 이상의 투여 용량으로 독성시험 실시
 - 동물모델에서의 면역학적 독성시험 실시
 - 치사량(LD₅₀) 측정 test 실시
- 울금함유 기능성 유효성분과 구조와의 상관성 연구
 - 유효성분과 구조와의 상관성 검토
 - 유효성분의 활성기작 규명

제 3 항 협동과제 울금, 울금소재, 울금 막걸리의 이화학적 특성 분석

- 울금의 이화학적 특성 분석
 - 울금의 일반성분 및 특수성분 분석
 - 울금의 쓴맛성분의 특성 분석 및 제거기술 개발
 - 울금 색소성분의 특성 분석
- 울금의 생리활성물질의 분리, 정제 및 동정
 - 울금 생리활성성분의 용매추출
 - 활성획분의 용매분획
 - 활성물질의 기기분석에 의한 동정
- 기능성 울금 소재별 이화학적 특성 분석
 - 울금 소재별 이화학적 특성 분석
- 울금 막걸리의 특성 분석
 - 울금 막걸리의 주류학적 특성 분석

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 해외의 연구 현황

- 쌀을 주정생산을 위한 원료로 사용하는 경우는 있으나 소위 쌀을 주원료로 한 약주, 즉 rice wine 등은 아직 상품화된 바 없다.
- 전통민속주에 대한 외국의 연구사례는 아직 보고된 바 없으나 우리와 비슷한 곡주 술문화권인 일본 청주의 양조기술 연구사례는 Biotechnology의 최신 기법을 이용하여 균주를 각 주류별로 용도에 맞게 개량하고 대량 보급 체계를 확립하여 각 주류업체에서 요구하는 미생물을 정부지원협회에서 대량 보급하고 있으며 특히 알콜발효 효모에 대하여 수율을 높이기 위하여 내알콜성 및 유용물질 생산 균주를 개발실용화 하였으며, 이들 균주를 이용한 고농도도 담금법의 실용화로 경제적인 생산체계를 산업화 기술로 개발하고 유통성 연장과 풍미의 하락방지를 위하여 U.F공법을 이용한 생주를 생산하여 일본 청주의 국제화를 위하여 제품에 기능성을 부여하여 세계인의 기호 패턴에 맞는 생산 기술 개발 연구가 활성화 되어 진행 중이다.
- 중국에서는 죽순을 침출시켜 제조한 ‘죽엽청주’등 고품질의 침출주가 제조되어 세계적인 명주로 평가되고 있으나 이들의 조성 및 제법 등은 잘 알려져 있지 않았다.
- 구미제국에서는 커피, 카카오, 페퍼민트 등 향이나 맛이 독특한 소재를 고농도의 알코올에 추출시킨 리큐르제품이 제조되어 칵테일 및 여성용 알콜음료로 폭넓게 소비되고 있는 바 이들의 제조에는 향과 맛이 안정화에 대한 기술이 노하우로 알려져 있다.
- 과학적으로 성인병의 예방, 치료 등에 생리적 효과가 입증된 소재를 함유한 식품 즉 기능성 식품(functional food) 또는 Medical food 등을 개발하기 위한 연구가 일본, 독일, 미국 등지에서 매우 활발하게 이루어져 있는데 특히 유효성분의 효능입증, 대사경로, 안정성 확인 등에 많은 노력이 행해지고 있다.

제 2 절 국내의 연구 현황

- 막걸리 등의 쌀 약주는 저장성이 극히 약하고 탁도 등에 의한 술 색깔이 고급화되지 못하고 있어서 이에 대한 집중적인 연구가 절실하게 요구되고 있다.
- 국내 전통주에 관한 연구는 주로 단편적이며 체계적이지 못하고 부분적으로 이루어지고 있다[누룩에서 분리된 황국균 (이상선 외 3인; 1996); 제주 토속 약주의 제조 특성(고정삼외 3인; 1993); 한국 재래식 누룩 중의 곰팡이의 분리 및 동정(조갑연, 이철우; 1997) 등].
- 쌀 도정 정도에 따른 가공 식품의 가공 특성에 관한 연구는 거의 없고, 도정도별 취반 특성(최홍식 외 3인; 1978)과 도정도에 따른 쌀의 수화와 이화학적 특성(김경애; 전은례; 1996)에 관한 것뿐이다.
- 탁주의 살균에 관한 연구로는 “탁주의 저온 살균 조건(이철호 외 3인; 1991)”가 있으며, 일반 약주의 살균에 관한 연구로는 “가열 살균 약주의 향기성분(강미영 외 4인; 1999)”, “고전장펄스를 이용한 약주의 살균(김수연 등 3인; 1999a, b)”, “membrane filtration에 의한 약주 저장성 증진(강미영 외 3인; 1998)” 등이 있다.

- 현재까지 기능성 쌀약주의 개발이 시도된 바 없다.
- 농촌진흥청에서는 전통누룩에서 3종류 이상의 우수 누룩균을 선발 배양하여 밀에 액체 균 사체 접종법을 적용, 기계화 압출성형공법으로 제공하는 고품질의 전통주용 개량누룩 개발에 성공 특허출원(제 96-61286호, '96. 12)하였다. 본 개량누룩의 특징은 재래누룩보다 당화 효소력이 4배가량 높고 누룩 제조기간도 20일 이상 단축하였고 또한 재래누룩은 여름철에 술덧의 산패, 감패가 잘되어 주질의 기옥이 심하나 개발된 개량 누룩은 실패율이 거의 없고 품질이 균일하고 술덧의 맛과 향이 뛰어나 현재 산업적 대량생산 체계를 위하여 기술이전 하였다.
- 일부 전통 약용 약주 및 가향 약주에 대해서는 명인들을 중심으로 그 제조방법이 전해져 내려오고 있으나 이들의 품질수준이 현대인의 기호에 부합할 것인지는 속단할 수 없다.
- 성인병의 예방 또는 치료에 효과를 나타낼 수 있는 기능성 식품의 제조에 대해서는 산업계 및 학계에서 이제 연구를 시작한 단계에 있다.
- 우리 식문화의 보전 차원에서 전통주에 대한 역사적, 문화적 고찰에 의한 우리술의 우수성이 점차 규명되면서 술문화 보전차원에서 우리술 양조법의 재현, 전통 누룩중의 미생물상 분포, 탁주발효중 주요의 성분변화, 효소역가, 효모의 동태 및 향기성분 분석과 최근 탁주의 보존성 향상을 위한 열처리 기술개발에 대한 연구가 조금씩 보고되었을 뿐이고 우리술 제조기술의 특성과 우리 옛술의 우수성, 발효 양조기술 특성 및 다양성에 대한 과학적이고 체계적인 연구가 거의 이루어지지 않은 상태이다.
- 국내에 약 10개 업체에서 생산되어지고 있는 술잎주의 경우는 술잎 첨가량이 극히 적고 저장기간이 짧은 문제점을 지니고 있으며 그 제조에 있어 원료가 다양하여 정확한 성분조성 및 규격기준이 전무한 상태이고 제조간 기능성 향상 관련 기술개발 내용이 미흡한 상태이다.
- 우리 전통 민속주의 제조방법은 문헌보다 구전으로 내려와 정통제조방법이 계수화, 정량화된 양조방법이 없으며, 그 제조기술은 자연 발효적인 누룩을 원료로 하여 제품의 균일성 및 저장성이 결여되어 있어 우선 제품 생산공정의 확립과 과학화로 기존의 맛과 향을 유지하기 위한 노력이 필요하며 술맛과 향에 직접 영향을 미치는 누룩의 관여 역할과 누룩 미생물의 발효 최적조건을 구명하고 누룩제조 방법 개선을 통한 기계화에 의한 고품질의 대량생산과 전통주의 고품질화 및 저장성, 기능성이 부가된 제품개발이 필요하나 현재 이런 분야에 대한 연구는 대단히 미흡한 실정이다. 이런 관점에서 전통 가향 약용주의 고품질화를 위하여서는 전통술의 주질을 좌우하는 누룩제조 방법의 개선과 산업화를 위한 효율적이고 과학화 생력화 고품질의 발효공정을 개발함으로써 우리 민속술의 세계화를 위해서 과학적이고 체계적인 실용화 산업적 고품질 양조기술의 연구가 선행되어야 한다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 울금의 생리활성 검색, 식품소재화, 및 기능성 울금막걸리의 개발

제 1 항 재료 및 방법

가. 재 료

본 실험에 사용한 울금(*Curcuma longa* L.)은 전남 진도군 임회면에서 수확한 2005년도 산을 직접 구입하여 본 연구실의 -20°C 냉동고에 저장하면서 냉장온도에서 해동 시킨 후 일정량을 취하여 실험에 사용하였다. 울금 엑기스 제조에 용매로 사용한 물은 일반 수도물을 일단 끓였다가 식힌 후에 사용하였고 95% 주정은 전남 장성 소재의 (주)보해양조에서 구입하여 사용하였다. 입국과 주모, 물엿은 우리주조에서 공급받았으며 울금 막걸리에 사용한 물은 일반 수도물을 일단 끓였다가 식힌 후에 사용하였다. 고두밥은 2007년도 산 '서해메뚜기' 쌀을 사용하여 제조하였고 밀가루는 중력분을 사용하였다.

나. 실험 방법

1) 울금의 특성 분석

가) 일반성분 함량

울금의 일반성분 함량 분석은 AOAC방법에 준하여 측정하였는데 수분은 상압가열 건조법으로, 단백질은 micro kjeldahl법으로, 조지방은 soxhlet추출법으로, 회분은 직접 회화법으로, 조섬유는 AOAC방법으로 각각 측정하였다.

나) 총 페놀 함량

울금, 울금엑기스, 및 울금분말의 총 페놀화합물 함량은 Folin-Denis 방법(AOAC, 1984)을 이용하여 측정하였다. 울금과 울금분말 0.1 g, 또는 울금엑기스 0.2 mL를 75% methanol 용액 20 mL로 3회 반복하여 추출한 다음 여과(Whatman No. 2)후 추출액은 혼합하여 40°C 에서 감압농축하고 다시 75% methanol 용액 20 mL로 회수하여 분석시료로 사용하였다. 제조한 시료 추출용액 1 mL에 증류수 5 mL와 10% Folin-Ciocalteu's phenol 시약 2 mL를 넣고 3분 동안 방치한 후 7.5% Na_2CO_3 용액 2 mL를 가하고 증류수로 희석하여 20 mL로 정용한 후 실온에서 1시간 동안 방치하였다. 방치후 UV-VIS spectrophotometer(UV-1201, Shimazu, Japan)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하여 표준물질 chlorogenic acid를 사용하여 동일한 방법으로 측정하여 작성된 표준곡선으로부터 총 페놀함량으로 환산하였다.

2) 울금의 항산화활성 측정

가) 전자공여작용

울금의 물추출물, 30% ethanol추출물, 50% ethanol추출물, 및 70% ethanol추출물에 대

한 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)는 Blois(1959)의 방법을 변형한 강 등의 방법에 따라 울금추출물에 대한 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 울금추출물의 환원력을 측정하였다. 즉 울금추출물 0.2 mL에 4×10^{-4} M DPPH용액(99.9% EtOH에 용해) 0.8 mL, 0.1 M phosphate buffer(pH 6.5) 2.0 mL와 99.9% EtOH 2.0 mL를 가하여 총액의 부피가 5.0 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 10분 방치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 울금추출물의 첨가 전·후의 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{EDA}(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A : 울금추출물 첨가구의 흡광도

B : 울금추출물 무첨가구의 흡광도

나) Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

울금 추출물에 대한 SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund의 방법을 변형한 Kim 등의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉, 울금 추출물을 감압농축한 tris-HCL buffer(50 mM tris [hydroxymethyl] amino-methane+10mM EDTA, pH 8.5)를 이용하여 pH 8.5로 조절된 시료액을 만들었다. 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris [hydroxymethyl] amino-methane+10 mM EDTA, pH 8.5) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료 첨가 및 무첨가군간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성}(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A : 울금 추출물 첨가구의 흡광도

B : 울금 추출물 무첨가구의 흡광도

단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

다) 아질산염 소거작용

울금 추출물에 대한 아질산염 소거효과(nitrite-scavenging effect)는 Gray 등의 방법으로 측정하였다. 즉 1 mM 아질산나트륨 용액 1 mL에 울금 추출물 2 mL를 가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2) 및 0.2 N 구연산 완충용액(pH 3.0, 4.2 및 pH 6.0)을 7 mL 가하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 달리하여 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 반응액을 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산 5 mL, Griess 시약(acetic acid에 1% sulfanylic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것으로 사용직전에 조제) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 실온에서 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다. 그리고 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거능은 추출액 첨가전·후의 아질산염 백분율로 표기하였다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{(A-C)}{B} \right) \times 100$$

N : 아질산염 소거율

A : 1 mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

B : 1 mM NaNO₂ 용액에 시료대신 증류수를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

C : 시료 추출물 자체의 흡광도

3) 울금엑기스의 제조 및 특성 분석

울금엑기스를 제조하기 위해 먼저 냉동된 시료를 12시간 냉장 온도에서 해동하고 일정량의 울금을 마쇄하였다. 마쇄된 울금에 추출용매로 물, 물로 희석한 30%, 50%, 70% 주정농도인 총 4가지의 다른 용매로 80℃의 수욕 상태에서 적정시간동안 추출하였다. 울금추출물은 4겹의 cheese cloth에 여과하고 여과된 액을 원심분리(4℃, 3,000×g, 30 min)하여 다시 Buchner funnel에 filter paper(Whatman No. 2)를 얹어 상등액을 여과하였다. 이 여과액을 울금 시료양의 2배가 될 때까지 45℃에서 감압 농축하여 울금엑기스를 제조하였다(Fig. 1-1). 제조된 울금엑기스는 vial에 나누어 담아 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

가) 일반성분 함량

울금 엑기스의 일반성분 함량 분석은 AOAC방법에 준하여 울금에서와 동일한 방법으로 분석하였다.

나) 총 페놀함량

울금 엑기스의 총 페놀화합물 함량은 Folin-Denis 방법으로 울금에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

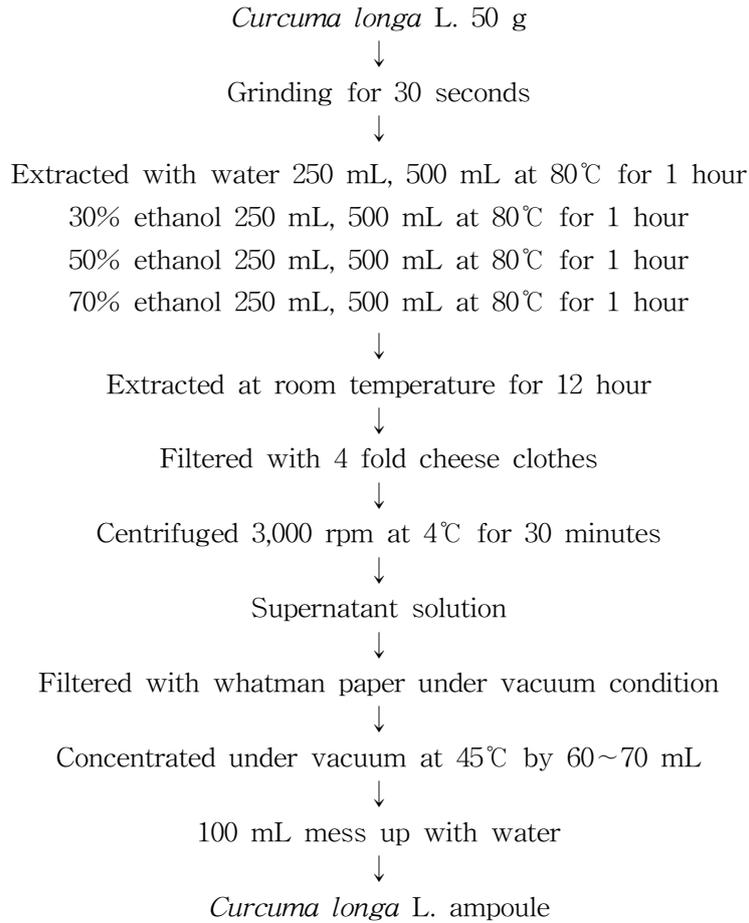


Fig. 1-1. Procedure for preparing the extracts of *Curcuma longa* L.

4) 울금분말의 제조 및 특성 분석

가) 울금건조분말

울금 분말을 제조하기 위해 생울금 뿌리를 물로 깨끗이 세척하여 1~1.5 mm 로 얇게 썬 후 시료 내 유용성분의 손상을 막기 위해 2 겹의 거즈를 깐 채반 위에 얹어 50°C 열풍 건조기에서 24시간 건조시켰다. 건조된 울금 조각을 분쇄기(Hand Blender)로 분쇄하면서 100 mesh 체로 입자를 고르게 하여 입자 크기가 100 mesh 이하인 것만 실험에 사용하였다. 제조된 울금 건조 분말(Dried Powder of *Curcuma longa* L., DPC)은 para film으로 밀봉하여 -20°C에 냉동보관하면서 실험에 사용하였다(Fig. 1-2).

나) 울금 물추출물분말

울금 물추출분말을 제조하기 위해 먼저 냉동된 울금시료 일정량을 취하여 12시간 냉장 온도에서 해동한 다음 마쇄하였다. 마쇄된 울금(g)에 10배에 해당하는 물(mL)을 섞고, 환류 냉각 추출 장치를 이용하여 80°C에서 60분 동안 추출하였다. 추출물은 다시 실온에서 12시간 추출하여 4겹의 cheese cloth에 여과하고 여과된 액을 원심분리(4°C, 3,000 rpm, 30 min)한 후, 얻어진 상등액을 여과(No. 2, Whatman)하였다. 여액을 freezer에서 -40°C까지 급속 냉동시킨

후 동결건조기(EYELA, freeze dryer, FDU-540)에서 48시간 동안 건조하여 80 mesh체로 입자를 고르게 하여 울금 물추출분말(Water extractd Powder of *Curcuma longa* L., WPC)을 제조하였다. 제조된 울금 물추출분말은 para film으로 밀봉하여 -20℃에 냉동 보관하면서 사용하였다(Fig. 1-2).

다) 울금 에탄올추출물분말

울금 에탄올추출분말 제조는 울금 물추출분말의 제조 과정과 같으나 추출 용매로 50% 에탄올을 사용하였고, 동결건조 전에 여액에 포함된 주정을 없애기 위해 cooling aspirator(EYELA COOL ACE CA-111)를 장착한 vacuum evaporator(EYELATYPE N-N)를 사용하여 35℃에서 감압 농축하여 울금 에탄올추출분말(Ethanol extracted Powder of *Curcuma longa*, L., EPC)을 제조하였다(Fig. 1-2).

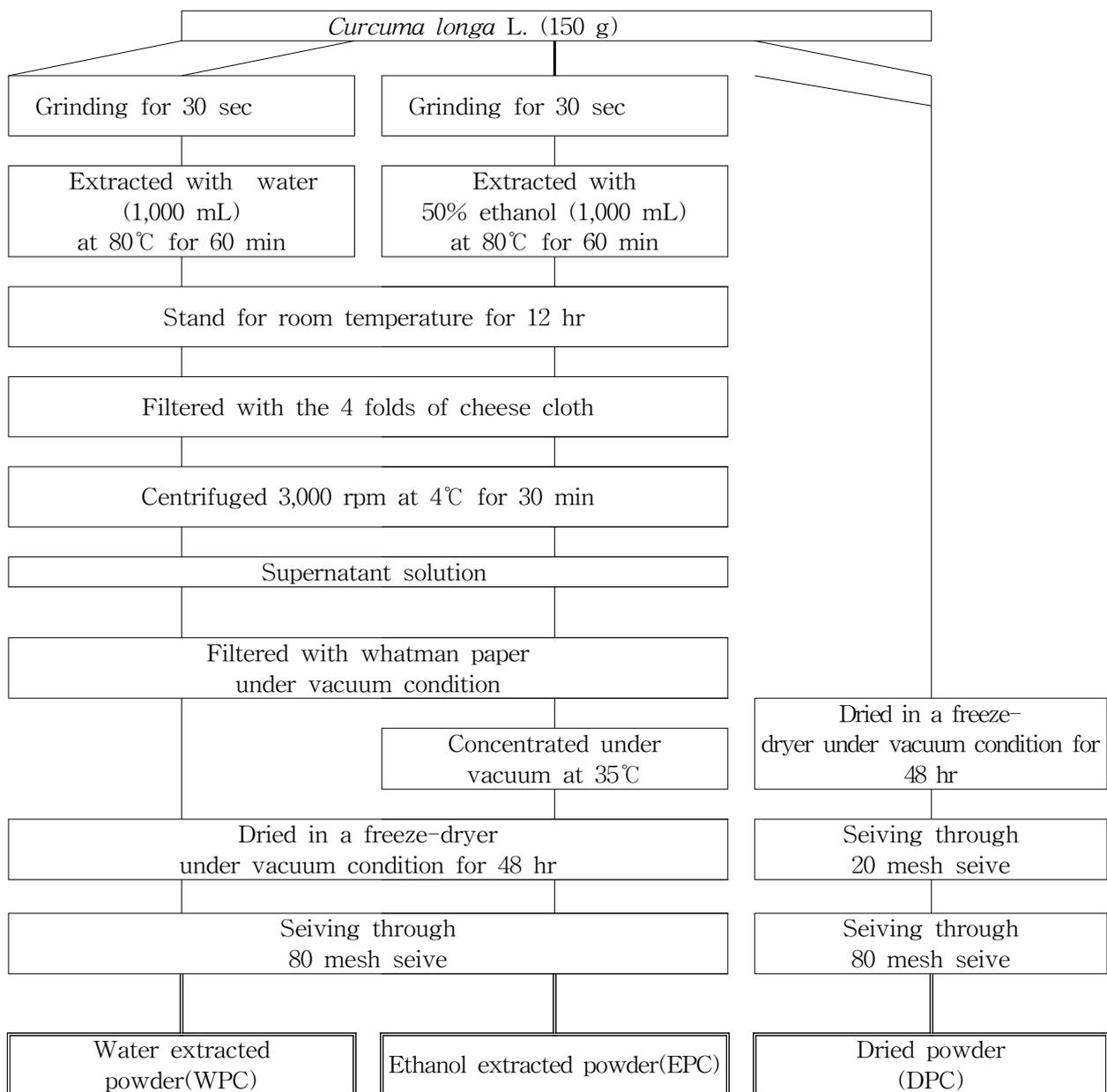


Fig.1-2. Procedure for preparing the powders of *Curcuma longa* L.

라) 일반성분 함량

울금분말(DPC, WPC, EPC)의 일반성분 함량은 울금에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

마) 총 페놀 함량

울금분말(DPC, WPC, EPC)의 총 페놀화합물 함량은 Folin-Denis 방법으로 울금에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

5) 울금엑기스의 항균활성

가) 사용균주 및 배지

울금엑기스에 대한 항균 활성을 검색하기 위해 사용된 균주는 저온에서도 성장이 가능하며 열처리 공정에서 생존할 수 있어 식품의 가공 및 저장 중에 식중독 발생에 관여하는 *Listeria monocytogenes* KCTC 3569였다. 그리고 현재 연구 보고된 바 있는 울금엑기스에 있어서 항균성을 보인 *Bacillus cereus*와 *E. coli* 균주를 통하여 울금엑기스에서의 *Listeria monocytogenes* KCTC 3569와 항균성 정도를 비교하였다. 배지로는 *Listeria monocytogenes* KCTC 3569는 brain heart infusion broth를 *Bacillus cereus*는 nutrient broth, *E. coli*는 tryptic soy broth를 사용하였고, Agar 배지는 agar powder를 1.8% 첨가하여 4℃에서 selective agar slant에서 보관하며 1개월마다 계대배양하여 항세균 활성 assay에 이용하였다.

나) 항균활성 검색

울금엑기스에 대한 항균활성을 검색하기 위해 paper disc(Ø 8mm, Whatman)법을 사용하였다. 우선, 사면배지 상태의 각각의 균주를 1백금이씩 취하여 5 mL의 액체배지에 넣은 후 37℃에서 24시간 배양한 후 새로운 액체배지에 옮기고 24시간 동안 배양하여 접종 균액으로 사용하였다. 항균활성 측정에 사용할 접종액의 균 농도는 접종균액 1 mL씩을 취하여 0.1% peptone water로 희석하여 균수가 약 10^4 CFU/mL 되도록 하였다. 희석된 균액 0.1 mL를 취하여 petridish에 넣고 BHI, NB, TSA 배지를 미리 멸균하여 응고되기 직전에 15 mL 정도 분주하여 좌우로 잘 혼합한 후 응고시켰다. 울금엑기스는 멸균된 paper disc에 30 mg/disc을 loading시키고 추출용매는 완전히 증발시킨 다음 미리 *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *E. coli*를 접종하여 만들어 놓은 agar배지 위에 놓아 밀착시키고 0.85% 생리식염수로 울금엑기스를 paper disc 주위에 확산 시켰다. 이것을 *Bacillus cereus*는 30℃ 나머지 균은 37℃에서 24시간 동안 배양시킨 다음 disc 주위의 clear zone(mm)의 크기를 측정하여 항균활성을 나타냈다. 대조구로는 용매에 benzoic acid를 녹여서 paper disc당 0.5 mg을 loading했고 용매자체에 의한 항균활성을 확인하고자 물, 30%, 50%, 70% 에탄올도 각각 paper disc에 loading시킨 후 같은 방법으로 항균활성을 측정하였다.

다) 최소저해농도(Minimum Inhibition Concentration, MIC) 측정

울금엑기스의 MIC 측정은 항세균 활성 측정에서 이용한 paper disc법을 이용하였다. 우선 전 배양한 접종균들을 pour-plate method를 이용하여 접종한 후 각 울금엑기스를 농도별로 paper disc에 loading시킨 후 용매를 증발시켜 건조시킨 paper disc를 배지 표면 위에 올려 놓고 0.85% 생리 식염수로 확산시켜 *Bacillus cereus*는 30℃, 나머지 균주들은 37℃에서 24시

간동안 배양하여 paper disc 주변에 clear zone(mm)이 생성되는 최저 농도를 MIC로 결정하였다.

6) 울금막걸리의 제조 및 공정

가) 입국 제조

백미 120 g을 취한 후, 찬물에 세척한다. 3시간 정도 찬물에 침지한 후 채반에 건져 1시간 정도 물기를 제거한다. 증자한 후 45℃로 냉각시키고, *Aspergillus kawachii*를 접종한다. 30℃에서 배양하여 입국을 제조한다.

나) 주모 제조

입국 120 g, 건조효모 0.12 g, 젖산 0.06 g을 유리항아리에 넣고 물 120 mL와 잘 혼합하여 cheese cloth로 입구를 덮은 후 25℃의 incubator에 넣고 72시간 동안 발효시켜 주모를 제조한다.

다) 울금막걸리의 제조 공정

밑술에 입국, 증미 및 물을 한꺼번에 투입하면 발효경과가 좋지 않으므로 1단, 2단, 3단으로 나누어 담금하여 서서히 발효시키면 밑술의 안전을 도모하고 술덧의 알코올 도수를 높일 수 있기에 막걸리 제조 시 일어나는 발효를 본 연구에서는 세 단계로 구분하였다. 일 단계는 1단 담금(입국, 주모, 물 사용)한 후, 24시간 배양하여 알코올 발효를 위한 효모의 증식과 당화의 촉진, 품온의 균일화, 효모증식에 필요한 산소의 공급, 당분, 텍스트린 축적에 의한 조용(무湧) 방지, 국이 분비하는 각종 효소 및 산의 침출, 국 자체의 용해 당화, 안전한 상태에서의 다량의 효모 증식, 국에 존재하는 산의 작용으로 유해세균의 번식 방지 등을 위해 발효하는 과정이다. 일 단계 발효가 끝나면 2단 담금을 실시하는데 이 과정을 본 사입이라고 부른다. 이 과정에는 고두밥, 밀가루, 물 등을 첨가한다. 2단 담금은 원료로 사용하는 백미를 세미, 3시간가량 침지, 1시간가량 물빼기를 한 후 증자하고 실온으로 냉각시켜 사용한다. 재현성을 높이고 실험상의 오차를 최대한 줄이고자 침지시간 등을 정확히 하였다. 일반적으로 술을 담기 위하여 일반 밥과 다른 술밥(고두밥)을 만들어서 사용하는 것으로 알려져 있다. 고두밥은 일반적인 밥보다 수분이 적는데 낮은 수분 농도에서 많은 여러 종류의 균들이 잘 자라기 때문에 전통 술 제조에서 고두밥을 사용하는 것으로 나타났다. 40분 쯤 후 20~30분 정도 뜸을 들여 쌀의 중량이 원래 쌀의 35~42% 증가되는 정도로 한다. 냉각한 고두밥과 밀가루, 물을 넣고 잘 섞어준다. 3일 후, 3단 담금 시 전분당을 첨가한다. 4겹의 cheese cloth로 2번 여과한 후 실험에 이용하였다(울금 분말은 각각 0.0%, 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1.00%를 첨가하였다).

(1) 1단 담금에 울금 분말 첨가

(가) 1단 담금

우리주조에서 가져온 입국 400 g, 주모 80 g, 물 1000 mL를 잘 혼합하여 각각에 울금 분말 0.0%(0.0 g), 0.25%(3.7 g), 0.50%(7.4 g), 0.75%(11.1 g), 1.00%(14.8 g)을 혼합한다. 총 5개의 울금 분말 첨가 비율이 다른 1단 담금액이 생긴다. 항아리에 넣고 입구를 cheese cloth로 덮은 후 25℃의 incubator에서 24시간 동안 발효시킨다.

(나) 2단 담금

발효 종료 시점이 되면 미리 쌀을 플라스틱 용기에 취하여 2회 세척한 후, 3시간 정도 찬물에 침지한 후 채반에 건져 1시간 정도 물기를 제거한다. 입국 제조와 동일한 방법으로 증자하여 고두밥을 제조하여 둔다. 제조된 고두밥을 완전히 냉각시킨 후 24시간 동안 발효시켜 제조한 1단 담금액에 각각 고두밥 480 g, 밀가루 960 g, 물 1350 mL를 항아리에 넣고 잘 혼합한다. 잘 혼합한 다음 항아리의 입구를 cheese cloth로 덮어 25℃의 incubator에서 72시간 동안 발효시킨다. 이 때 하루에 두 번 저어준다.

(다) 3단 담금

제조된 각 2단 담금액에 전분당 109 g씩을 잘 혼합하여 항아리에 넣고 입구를 cheese cloth로 덮은 후 25℃의 incubator에서 24시간 동안 발효시킨다.

(2) 2단 담금에 울금 분말 첨가

(가) 1단 담금

우리주조에서 가져온 입국 400 g, 주모 80 g, 물 1000 mL를 5개의 항아리에 각각 넣고 잘 혼합한다. 입구를 cheese cloth로 덮은 후 25℃의 incubator에서 24시간 동안 발효시킨다.

(나) 2단 담금

발효 종료 시점이 되면 미리 쌀을 플라스틱 용기에 취하여 2회 세척한 후, 3시간 정도 찬물에 침지한 후 채반에 건져 1시간 정도 물기를 제거한다. 입국 제조와 동일한 방법으로 증자하여 고두밥을 제조하여 둔다. 제조된 고두밥을 완전히 냉각시킨 후 24시간 동안 발효시켜 제조한 1단 담금액에 각각 고두밥 480 g, 밀가루 960 g, 물 1350 mL를 항아리에 넣는다. 5개의 항아리에 각각 울금 분말을 0.0%(0.0 g), 0.25%(6.9 g), 0.50%(13.9 g), 0.75%(20.8 g), 1.00%(27.8 g) 넣고 잘 혼합한 다음 항아리의 입구를 cheese cloth로 덮어 25℃의 incubator에서 72시간 동안 발효시킨다. 이 때 하루에 두 번 저어준다.

(다) 3단 담금

제조된 각 2단 담금액에 전분당 109 g씩을 잘 혼합하여 항아리에 넣고 입구를 cheese cloth로 덮은 후 25℃의 incubator에서 24시간 동안 발효시킨다.

(3) 3단 담금에 울금 분말 첨가

(가) 1단 담금

우리주조에서 가져온 입국 400 g, 주모 80 g, 물 1000 mL를 5개의 항아리에 각각 넣고 잘 혼합한다. 입구를 cheese cloth로 덮은 후 25℃의 incubator에서 24시간 동안 발효시킨다.

(나) 2단 담금

발효 종료 시점이 되면 미리 쌀을 플라스틱 용기에 취하여 2회 세척한 후, 3시간 정도 찬물에 침지한 후 채반에 건져 1시간 정도 물기를 제거한다. 입국 제조와 동일한 방법으로 증자하여 고두밥을 제조하여 둔다. 제조된 고두밥을 완전히 냉각시킨 후 24시간 동안 발효시켜 제조한 1단 담금액에 각각 고두밥 480 g, 밀가루 960 g, 물 1350 mL를 항아리에 넣고 잘 혼합한 다음 항아리의 입구를 cheese cloth로 덮어 25℃의 incubator에서 72시간 동안 발효시킨다. 이 때 하루에 두 번 저어준다.

(다) 3단 담금

제조된 2단 담금액에 각각 울금 분말 0.0%(0 g), 0.25%(7.2 g), 0.50%(14.4 g), 0.75%(21.6 g), 1.00%(28.8 g)과 전분당 109 g 씩을 잘 혼합하여 항아리에 넣고 입구를 cheese

cloth로 덮은 후 25℃의 incubator에서 24시간 동안 발효시킨다.

7) 울금막걸리의 특성 측정

가) 울금막걸리의 온도 측정

온도는 온도계(-10℃~150℃, 극동계기)를 직접 술덧 중에 장착하여 24시간 간격으로 측정하였다.

나) 울금막걸리의 pH 측정

술덧의 pH는 울금 막걸리를 4겹의 cheese cloth로 2회 여과한 후 pH meter(Orion model 520A, U.S.A)로 측정하였다.

다) 울금막걸리의 색도 측정

울금 분말의 첨가비율을 달리하여 제조한 울금 막걸리의 저장기간 중의 색도 변화를 Color & Color Spectrophotometer(3500d, Minolta Co., LTD, Japan)를 사용하여 Hunter color value, 즉 명도(lightness, L), 적색도(redness, a), 황색도(yellowness, b)로 나타내었고 사용된 표준 백색판의 L, a, b값은 각각 90.2, 1.3, 3.2였다. 3회 이상 반복 측정하였다.

라) 울금막걸리의 알코올 측정

울금 막걸리를 4겹의 cheese cloth로 2회 여과한 후 술덧 100 mL를 메스실린더로 취해 원심분리 통에 옮긴 후 메스실린더를 증류수 50 mL씩 2회 씻은 세척액을 더해 원심 분리(4℃, 3,000 rpm, 30min)한다. 상등액을 둥근 바닥 플라스크에 옮기고 냉각기를 연결하여 증류하고 증류액이 70 mL 이상이 되면 물을 가하여 100 mL로 만든 후 수은구부로 된 주정계를 이용, 값을 읽고 온도를 측정한 후 Gay-Lussak의 주정환산표로 주정분을 결정하였다.

마) 울금막걸리의 환원당 함량 측정

울금 분말을 0%, 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1.00% 첨가한 막걸리에 대한 환원당 함량의 측정은 DNS method를 이용하였다. 즉, 울금 막걸리를 4겹의 cheese cloth로 2번 여과한 후 100 μ L를 취해 증류수 9.9 mL로 100배 희석한 다음 여액 1 mL에 DNS(dinitrosalicylic acid) 시약 3 mL를 혼합하여 water bath에서 정확히 5분 끓인 후 찬물로 바로 냉각한다. 증류수를 가하여 총액의 부피가 25 mL가 되도록 하고 UV-VIS Spectrophotometer(UV-9100, Human Inc., Korea)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하고 표준물질 glucose를 사용하여 동일한 방법으로 측정하여 작성된 표준곡선으로 환원당 함량을 환산하였다.

바) 울금막걸리의 효모수의 측정

효모 생균수는 울금 막걸리를 4겹의 cheese cloth로 2회 여과한 후 시료 1 mL를 취하여 0.1% peptone water로 10배씩 10^{-4} ~ 10^{-8} 로 희석한 다음 PDA(potato dextrose agar, Difco) 배지에 희석액을 도말하여 28℃ 배양기에서 48시간 배양하여 발생한 colony를 세었다. Colony 수는 30~300 개가 되도록 세었고 희석배수를 곱하여 1 mL 중의 미생물수로 하였다. 3회 반복 측정하여 평균하였다.

8) 울금막걸리와 일반막걸리의 품질특성

본 연구에 사용된 시료는 본 연구에서 개발된 울금탁주와 시판되고 있는 일반 탁주 4종을 시중에서 제조 당일 구입하여 사용하였다. 이때 일반 시판 탁주 4종은 생산 지역과 사용 재료를 고려하여 쌀을 주원료로만 사용한 광주시의 “청화탁주”와 전남의 “팔마탁주”, 복분자를 첨가한 포천의 “일동탁주”, 검은콩을 첨가한 논산의 “가야곡 탁주”를 선발하였다. 각 시료에 대하여 총당, 환원당, 당도, 아미노산질소, pH 및 적정산도, 점도색도, 갈변도, 유기산, 유리당, 유리아미노산, 무기질, 고형물 등을 측정하였다.

9) 울금막걸리의 관능평가

울금주와 시판탁주의 관능검사는 전남대학교 식품공학과 대학원 학생들 중에서 맛과 향에 대한 차이 식별 능력이 뛰어난 10명을 관능검사요원으로 하고 5단계 평점법으로 각 항목(막걸리의 맛, 향기, 색깔, 전체 기호도 등)에 대해 점수를 부여한 후 분산분석과 Duncan 다중검정을 통하여 해석하였다. 평가는 가장 좋다는 5점, 가장 나쁘다는 1점으로 하여 채점하고 점수가 높을수록 기호도가 있는 것으로 하였다.

제 2 항 결 과

가. 울금의 일반성분 함량

울금의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1-1과 같이 수분이 82.03%, 조지방이 1.26%, 조단백질이 2.54%, 조섬유가 2.33%, 회분이 1.82% 각각 함유된 것으로 분석되었다.

Table. 1-1. Proximate composition of *Curcuma longa* L.

Component	Amount (%)
Moisture	82.03±2.11
Crude lipid	1.26±0.03
Crude protein	2.54±0.05
Crude fiber	2.33±1.08
Ash	1.82±0.07

나. 울금분말(DPC, WPC, EPC)의 일반성분 함량

울금건조분말(Dried Powder of *Curcuma longa*, L., DPC), 울금 물추출물분말(Water extracted Powder of *Curcuma longa*, L., WPC), 및 울금 주정추출물분말(Ethanol extracted Powder of *Curcuma longa*, L., EPC)의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1-2와 같이 수분이 7.14~7.87%, 조지방이 0.61~1.19%, 조단백질이 1.20~1.51%, 조섬유가 3.19~11.24%, 회분이 1.34~2.97% 각각 함유된 것으로 분석되었다.

채소의 건조 정도는 5~10%의 수분함수량이 되도록 하는 것이 표준으로 되어있는데 분말식품의 경우 아무리 건조가 잘 되었다하더라도 저장조건에 따라 품질이 달라지며, 대기 중의 수분을 흡습하여 건조식품의 품질에 영향을 주게 된다. 흡습은 식품의 종류와 성분 구성,

모양, 크기 등에 따라 달라지며, 또한 같은 식품일지라도 저장 상대 습도와 온도, 가공형태에 따라 서로 달라진다.

Table 1-2. Proximate composition of the powders of *Curcuma longa*, L.

	DPC ¹⁾	WPC	EPC
Moisture	7.64±0.14 ^a	7.87±0.21 ^a	7.14±0.23 ^a
Crude protein	1.51±0.27 ^a	1.20±0.25 ^a	1.28±0.23 ^a
Crude lipid	0.88±0.18 ^a	0.61±0.10 ^a	1.19±0.15 ^b
Crude fiber	11.24±0.33 ^a	3.19±0.35 ^b	4.16±0.41 ^b
Ash	2.97±0.30 ^a	1.34±0.29 ^b	1.91±0.22 ^b

(unit: %)

¹⁾ DPC: the powder prepared from the dried *Curcuma longa*, L.

WPC: the powder prepared from the extract of *Curcuma longa*, L. with water.

EPC: the powder prepared from the extract of *Curcuma longa*, L. with 50% ethanol.

^{a~b} Means with the same superscript in a row are not significantly different at p<0.05.

Data were presented as mean±standard deviation.

다. 울금, 울금엑기스, 및 울금분말의 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 식품 유래의 기능성물질의 대표적인 성분중의 하나로서 플라보노이드, 프로시아니딘, 탄닌, 안토시아닌 및 페놀산과 같은 페놀성분이 있다. 이들 폴리페놀은 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가진 방향족 화합물이며 항암, 항염증 및 항혈전 작용을 지니고 있는 항산화성 생리활성 물질이다.

1) 울금의 총 페놀 함량

울금의 총 페놀 함량을 분석한 결과는 Table 1-3과 같이 3.01 mg/100 mL가 함유된 것으로 분석되었다.

Table 1-3. Total phenolic content of *Curcuma longa* L.

Component	Amount (mg/100 mL)
Root of <i>Curcuma longa</i> L.	3.01±0.05

2) 울금엑기스의 총 페놀 함량

울금엑기스의 총 페놀 함량을 분석한 결과는 Table 1-4와 같다. 총 페놀 함량은 50% ethanol로 추출한 울금추출물이 4.96 mg/100 mL로 가장 높은 함량을 보였고 30% ethanol 울금추출물과 50% ethanol 울금추출물의 경우는 거의 비슷한 함량이었으나 물추출물에 비하면 더 높은 함량인 4.56 mg/100 mL와 5.23 mg/100 mL이 각각 함유된 것으로 분석되었다. 이 같은 울금의 총 폴리페놀 함량은 구기자나 결명자 등 다른 생약제의 총 폴리페놀 함량에 비하여 다소 낮은 함량인 것으로 나타났다.

Table 1-4. Total phenolic content in the extract of *Curcuma longa* L.

Component	Amount (mg/100 mL)
Water extract of <i>Curcuma longa</i> L.	3.02±0.03 ^a
30% ethanol extract of <i>Curcuma longa</i> L.	4.56±0.01 ^b
50% ethanol extract of <i>Curcuma longa</i> L.	4.96±0.01 ^b
70% ethanol extract of <i>Curcuma longa</i> L.	5.23±0.44 ^b

^{a~b} Means with the same superscript in a column are not significantly different at p<0.05.

Data were presented as mean±standard deviation.

3) 울금분말의 총 페놀 함량

울금건조분말(Dried Powder of *Curcuma longa*, L., DPC), 울금 물추출물분말(Water extracted Powder of *Curcuma longa*, L., WPC), 및 울금 주정추출물분말(Ethanol extracted Powder of *Curcuma longa*, L., EPC)의 총 페놀 함량을 분석한 결과는 Table 1-5와 같다. 총 페놀 함량은 울금주정추출분말이 5.47 mg/100 mL로 가장 높은 함량을 보였고 그 다음으로 울금건조분말이 4.90 mg/100 mL의 함유량을 보였으며, 울금물추출분말이 가장 낮은 함량인 3.03 mg/100 mL의 총 페놀 함량을 나타냈다.

Table 1-5. Total phenolic content in the powder of *Curcuma longa* L.

Component	Amount (mg/100 mL)
Dried Powder of <i>Curcuma longa</i> , L.	4.90±0.02 ^b
Water extracted powder of <i>Curcuma longa</i> L.	3.04±0.03 ^a
Ethanol extracted powder of <i>Curcuma longa</i> L.	5.47±0.03 ^b

^{a~b} Means with the same superscript in a column are not significantly different at p<0.05.

Data were presented as mean±standard deviation.

라. 울금의 전자공여작용

산소는 에너지획득 반응의 말단에 관여하여 superoxide를 생성하며 이렇게 생성된 superoxide는 식품중의 지질산화와 생체의 산화적 장애를 초래하는데, 항산화 물질은 superoxide 생성과정에서 oxidative free radical과 전자를 공여하여 oxidative free radical을 소거·분해하는 항산화 작용을 함으로써 전자공여능은 항산화력의 척도로 이용된다.

전자공여능 측정은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거법으로 측정하는데 DPPH는 분자 내 radical을 함유하여 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만들고 있어 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때의 DPPH의 고유의 청남색이 열리는 특성이 있고 이 색차를 비색 정량하여 전자공여능력을 측정하였다.

울금의 물추출물, 30% ethanol추출물, 50% ethanol추출물, 및 70% ethanol추출물에 대한 전자공여능력을 측정한 결과는 Fig. 1-3에 나타낸 바와 같다. 10 ppm의 낮은 농도의 울금추출물에서는 물추출물의 전자공여능력이 5.13%로 다른 ethanol추출물의 전자공여능력(9.01~14.29%)에 비하여 크게 낮은 것으로 나타났으나 울금추출물 첨가량을 100 ppm으로 높였을 때는 물추출물의 전자공여능력이 10.21%로 높아져서 다른 ethanol추출물의 전자공여능력(12.74~

15.98%)과 거의 비슷한 정도의 전자공여능력을 갖는 것으로 나타났다.

울금의 전자공여능력은 10~1,000 ppm의 울금추출물 농도에서는 50% ethanol추출물에서 모두 가장 높은 전자공여능력을 보였으나 10,000 ppm의 울금추출물의 농도에서는 30% ethanol추출물이 39.98%의 가장 높은 전자공여능력이 있는 것으로 나타났다. 이와 같은 울금추출물의 전자공여능력은 대조구인 BHT와 비교할 때 1,000 ppm과 10,000 ppm에서는 가장 높은 50% ethanol추출물과 30% ethanol추출물의 전자공여능력이 18.54%와 39.98%로 BHT의 57.27%와 97.17%에 비하여 크게 낮았으나 10 ppm과 100 ppm에서는 가장 높은 50% ethanol추출물의 전자공여능력이 14.29%와 15.98%로 BHT의 4.65%와 8.26%에 비하여 오히려 더 높은 것으로 나타났다.

일반적으로 폴리페놀 함량이 높을수록 전자공여능력도 높아지는 것으로 알려져 있는데 본 실험에서도 전자공여능력과 폴리페놀 함량이 일치하는 결과로 나타났고 다만 일부 시료에서는 일치하지 않는 것으로 나타났는데 이는 전자공여능력에 영향을 미치는 폴리페놀 이외의 다른 성분이 추출되어 영향을 미친 것으로 사료된다.

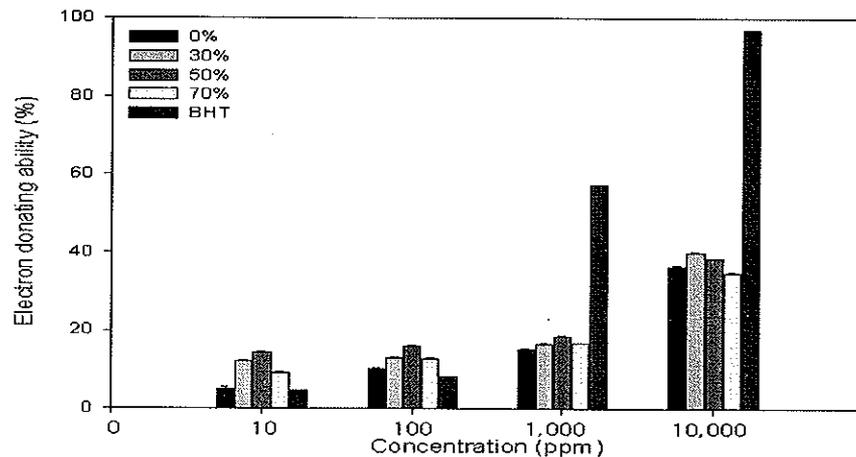


Fig. 1-3. Electron donating abilities of the extracts of *Curcuma longa* L. with various solvents.

마. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

울금의 물추출물, 30% ethanol추출물, 50% ethanol추출물, 및 70% ethanol추출물에 대한 SOD 유사활성을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 10 ppm의 낮은 농도의 울금추출물에서는 30% ethanol추출물의 SOD 유사활성이 1.85%로 물추출물과 다른 ethanol추출물의 SOD 유사활성(7.41%~15.64%)에 비하여 크게 낮은 것으로 나타났으나 울금추출물 첨가량을 100 ppm으로 높였을 때는 물추출물의 SOD 유사활성이 32.72%로 높아져서 다른 ethanol추출물의 SOD 유사활성(25.10~27.16%)에 비하여 가장 높은 SOD 유사활성을 갖는 것으로 나타났다. 이 같은 울금추출물의 SOD 유사활성이 다른 ethanol추출물의 SOD 유사활성보다 더 높은 경향은 울금추출물 첨가량이 1,000 ppm~10,000 ppm에서도 동일하게 나타났다. 하지만 10~10,000 ppm

의 모든 농도에서, 울금추출물의 SOD 유사활성은 비타민 C의 SOD 유사활성에 비하여 크게 낮은 SOD 유사활성을 보였다.

Superoxide dismutase는 생체 내의 superoxide radical($O_2^{\cdot-}$)을 정상상태의 산소로 환원시켜 주는 천연 항산화제로서 세포 내 활성산소를 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이었다. SOD 유사활성물질은 활성산소의 시발물질로, superoxide anion의 저해물질로는 생체 내 SOD라는 효소가 있지만 이의 일종으로 SOD와 작용기작은 다르지만 인체 내에서의 역할이 유사하여 통상적으로 SOD 유사활성물질이라 부른다. 따라서 비타민 C가 다량 함유된 과일과 채소류가 SOD 유사활성이 높게 나타는 것은 비타민 C 그 자체가 높은 SOD 유사활성을 나타내기 때문이다.

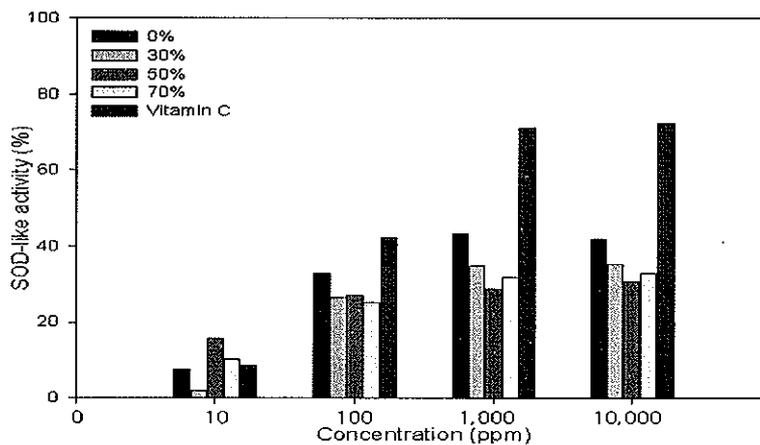


Fig. 1-4. Superoxide dismutase (SOD)-like activities of the extracts of *Curcuma longa* L. with various solvents.

바. 울금엑기스의 항균활성

울금의 물추출물, 30% ethanol추출물, 50% ethanol추출물, 및 70% ethanol추출물의 식중독 원인세균, 젖산균 및 효모에 대한 항균 활성을 측정 한 결과는 Table 1-6과 같다. *Salmonella typhimurium* KCTC 1925, *Staphylococcus aureus* KCTC 13566, *Lactobacillus plantarum* KCTC 1048, *Bacillus cereus* KCTC 1092를 제외한 나머지 균주에 대해서는 모두 항균활성이 거의 나타나지 않았는데 이는 울금 중에는 유기산 등의 항균활성성분의 함량이 낮거나 본 실험에서의 추출방법으로는 항균활성성분이 효과적으로 추출되지 못한 것으로 사료되었다. 울금엑기스의 항균활성은 *Salmonella typhimurium* KCTC 1925와 *Bacillus cereus* KCTC 1092에 대하여 가장 높게 나타났으며 특히 70% ethanol추출물에서 가장 높은 활성을 보였다. 그러나 *Listeria monocytogens* KCTC 3569, *C. albicans* KCTC 1940, 및 *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 1552에 대해서는 모든 추출물에서 전혀 항균활성이 나타나지 않았고 *Lactobacillus plantarum* KCTC 1048의 경우는 30% ethanol추출물에서만 아주 약한 활성이 나타났다. *Staphylococcus aureus* KCTC 13566와 *Shigella dysenteriae* KCTC 2915의 경우는 50% ethanol추출물에서의 항균활성이 70% ethanol추출물에서의 항균활성보다 더 강하게 나타나는 특이한 결과를 보였다.

Table 1-6. Antimicrobial activities of the extracts of *Curcuma longa* L. with various solvents.

Microorganisms	Inhibitory zone(mm)				
	0 ¹⁾	30	50	70	BA ²⁾
<i>Bacillus cereus</i> KCTC 1092	9.5±1.2	10.5±1.1	11.5±0.7	12.0±0.4	19.0±0.3
<i>Lactobacillus plantarum</i> KCTC 1048	NI ³⁾	9.5±1.2	NI	NI	13.5±0.5
<i>Listeria monocytogens</i> KCTC 3569	NI	NI	NI	NI	13.0±0.6
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 13566	8.5±0.1	8.5±0.1	13.5±1.1	12.0±0.3	17.5±0.5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 43888	8.75±0.3	8.5±0.3	8.5±0.4	8.5±0.8	14.0±0.2
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1925	10.5±0.9	11.5±1.1	14.0±0.7	14.5±1.2	15.5±0.4
<i>Shigella dysenteriae</i> KCTC 2915	8.5±1.7	8.5±0.5	9.0±0.9	8.5±1.1	12.5±0.4
<i>Candida albicans</i> KCTC 1940	NI	NI	NI	NI	16.0±0.2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCTC 1552	NI	NI	NI	NI	18.5±0.4

¹⁾ 0 : Extract of *Curcuma longa* L. was extracted by water.

30 : Extract of *Curcuma longa* L. was extracted by 30% ethanol.

50 : Extract of *Curcuma longa* L. was extracted by 50% ethanol.

70 : Extract of *Curcuma longa* L. was extracted by 70% ethanol.

²⁾ Benzoic acid.

³⁾ No inhibition.

사. 울금엑기스의 최소저해농도(MIC)

울금의 물추출물, 30% ethanol추출물, 50% ethanol추출물, 및 70% ethanol추출물에 대한 최소저해농도(MIC)를 측정한 결과는 Table 1-7과 같다. MIC는 *Salmonella typhimurium* KCTC 1925에 대하여 70% ethanol추출물의 경우 15.0 mg/disc로 가장 낮았고 그 다음으로 *Bacillus cereus* KCTC 1092에 대하여 70% ethanol추출물이 20.0 mg/disc로 낮은 MIC를 나타냈다. *Staphylococcus aureus* KCTC 13566의 경우 50% ethanol추출물에서의 MIC가 70% ethanol추출물에서의 MIC보다 더 낮았다. *Listeria monocytogens* KCTC 3569, *C. albicans* KCTC 1940, 및 *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 1552에 대해서는 모든 추출물에서 항균활성이 나타나지 않았으며 MIC는 측정할 수 없었다.

Table 1-7. Minimum inhibitory concentration of the extracts of *Curcuma longa* L. with various solvents.

Microorganisms	MIC(mg/disc)				
	0 ¹⁾	30	50	70	BA ²⁾
<i>Bacillus cereus</i> KCTC 1092	30.0±2.0	20.0±1.5	20.0±1.5	20.0±1.5	10.0±1.0
<i>Lactobacillus plantarum</i> KCTC 1048	ND ³⁾	30.0±1.5	ND	ND	20.0±1.5
<i>Listeria monocytogens</i> KCTC 3569	ND	ND	ND	ND	20.0±1.5
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 13566	40.0±2.5	40.0±2.0	20.0±1.0	25.0±1.5	15.0±1.0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 43888	45.0±3.5	45.0±1.5	45.0±3.0	45.0±2.5	20.0±2.0
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1925	30.0±2.5	25.0±1.0	20.0±1.5	15.0±0.5	10.0±1.5
<i>Shigella dysenteriae</i> KCTC 2915	35.0±2.0	35.0±1.0	30.0±1.5	25.0±2.5	30.0±1.5
<i>Candida albicans</i> KCTC 1940	ND	ND	ND	ND	15.0±1.0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCTC 1552	ND	ND	ND	ND	10.0±0.5

¹⁾ 0 : Extract of *Curcuma longa* L. was extracted by water.

30 : Extract of *Curcuma longa* L. was extracted by 30% ethanol.

50 : Extract of *Curcuma longa* L. was extracted by 50% ethanol.

70 : Extract of *Curcuma longa* L. was extracted by 70% ethanol.

²⁾ Benzoic acid.

³⁾ Not determined.

아. 품온의 변화

본 연구에서 관찰한 mash의 온도는 효모의 발효과정을 원활하게 하기 위한 것으로 30℃ 이상에 도달하면 이상발효가 일어나는 것으로 확인하였다. 따라서 mash의 온도를 30℃ 이하로 유지하는 것이 중요한 것으로 인식되었다.

본 연구에서는 2단 사입 후 품온이 올라가기 시작하여 거의 29℃까지 되었으나 점차 온도가 내려가 4일 이후부터 품온이 저하한 것은 알코올 발효 작용이 대체로 종료되는 기간으로 해석된다. 세 가지 모두 유사한 품온 변화를 나타냈으며 담금 24시간 전후로 당화반응이 활발하게 진행되었기 때문에 발효 기간 중 담금 24시간 이후의 품온이 가장 높은 것으로 나타났다(Fig. 1-5).

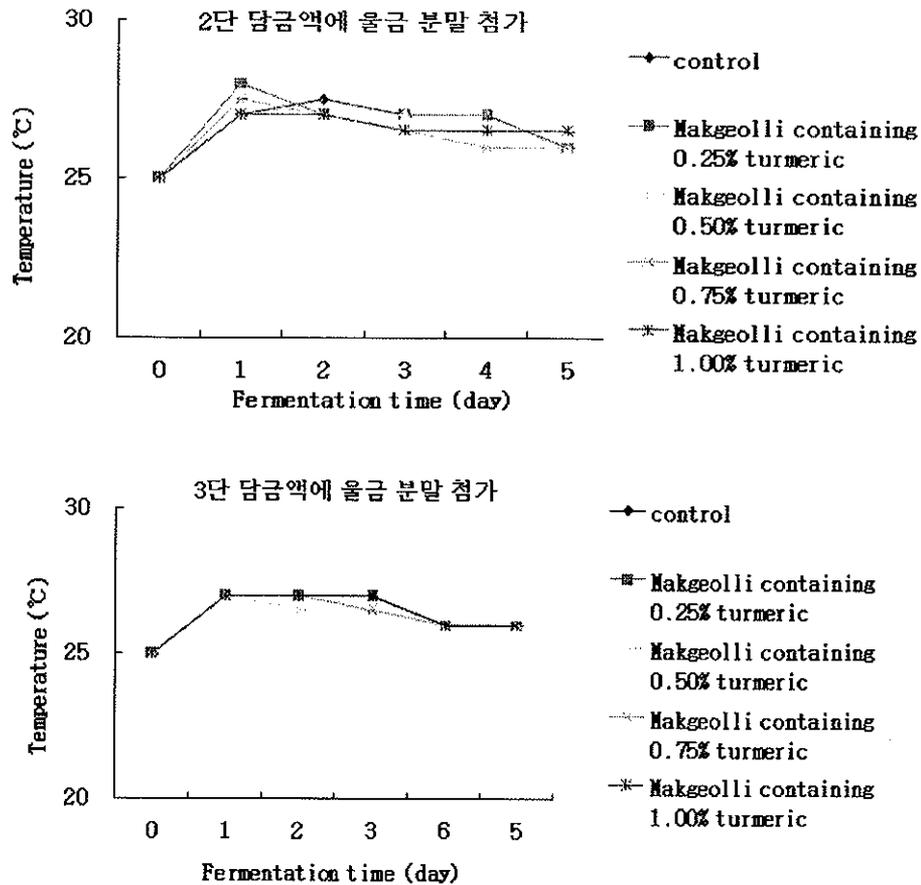


Fig. 1-5. Changes in temperature with different addition levels of tumeric powder at the first brewing stage during fermentation at 25°C for 5 days.

자. pH의 변화

pH의 변화는 발효 진행 상황을 파악하는데 중요한 요인이다. 일반적으로 알코올 발효는 mash가 산성 또는 미산성인 경우에 알코올 생성 능력이 좋은 것으로 알려져 있다. 그러나 mash의 액성이 염기경향으로 갈수록 알코올 함량의 생성은 감소하고 그 대신 초산과 글리세롤의 생성이 일어나게 되고 또한 잡균의 오염이 생긴다. 따라서 알코올 발효만을 유지하기 위해서는 mash의 액성 조절이 중요하다.

본 연구에서 분석한 결과에 의하면 제 1단 담금 초기에는 pH가 3.20정도이었으나 2단 담금 직후에는 pH 4.10 이상으로 pH가 증가하고 담금 말기에는 3.60으로 발효가 진행되면서 pH가 조금씩 감소하는 경향을 나타내었다. 보통 막걸리 발효 pH가 4.0~4.6 범위로 본 연구는 유사한 pH를 나타냈고 보통 1단 담금 후 2시간이 경과했을 때 pH가 3.2 정도가 되면 정상발효를 하는 것으로 알려져 있다(Fig. 1-6).

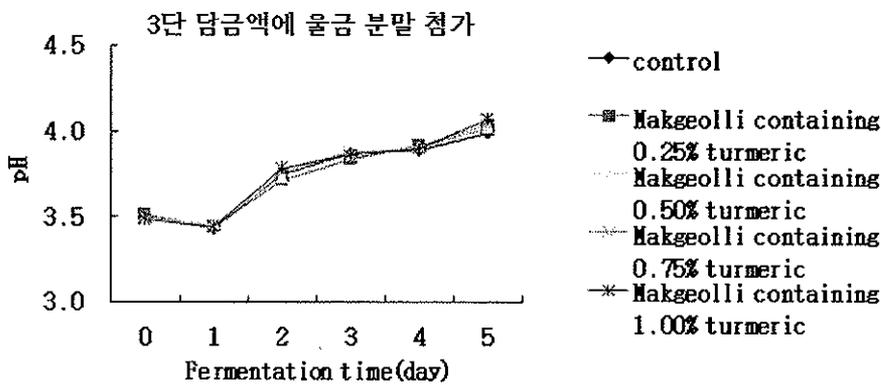
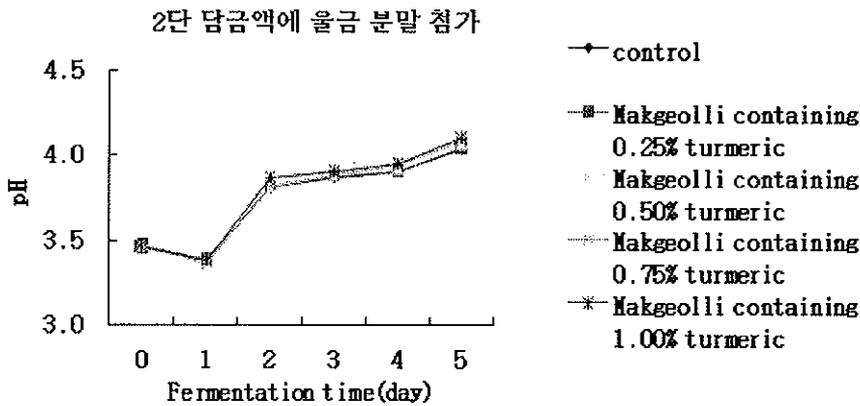
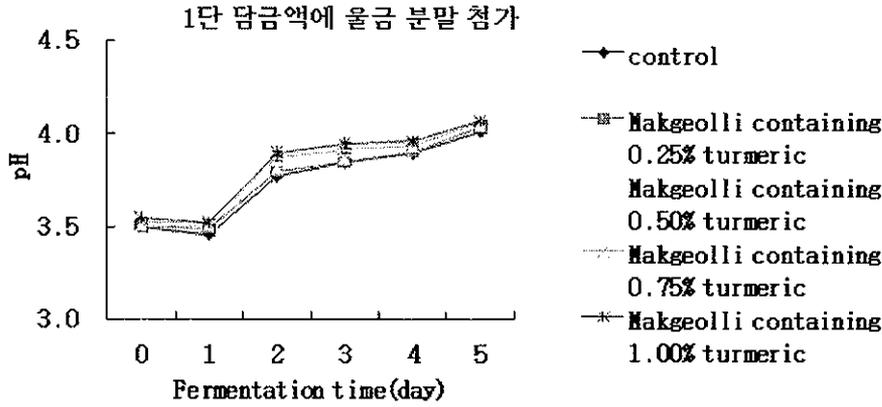


Fig. 1-6. Changes in pH with different addition levels of turmeric powder at the first brewing stage during fermentation at 25°C for 5 days.

차. 색도의 변화

Table 1-8에서와 같이 명도인 L 값은 울금 분말 첨가량이 많아질수록 유의적으로 낮아졌다. 적색도인 a 값과 황색도인 b 값 또한 울금 분말 첨가 비율이 증가함에 따라 유의적으로 감소하였다. 울금 막걸리 2단 담금 후부터 발효 종료 시점까지는 명도(lightness, L), 적색도(redness, a), 황색도(yellowness, b) 모두 증가되는 경향을 보였다.

Table 1-8. Color value with different addition levels of tumeric powder for 5 days.

1단 담금에 울금 분말 첨가	color value	storage time (days)					
		0	1	2	3	4	5
0.00%	L	55.32	23.14	2.67	5.56	6.27	8.21
	a	0.74	10.91	5.58	9.97	10.79	10.85
	b	16.73	35.02	4.40	9.28	10.50	13.81
0.25%	L	55.60	19.13	2.84	5.72	7.13	5.08
	a	0.59	11.81	5.97	10.15	10.56	10.09
	b	14.36	30.46	4.63	9.59	11.98	8.55
0.50%	L	56.24	21.68	2.78	5.70	6.23	4.62
	a	0.69	10.97	5.87	10.14	10.23	9.71
	b	14.39	33.40	4.52	9.57	10.43	7.78
0.75%	L	56.29	21.17	2.81	5.52	5.96	3.42
	a	0.68	11.21	5.92	10.02	10.46	7.85
	b	14.22	32.87	4.67	9.21	9.96	5.66
1.00%	L	54.54	23.10	2.89	6.19	7.01	3.11
	a	0.47	10.42	5.94	10.40	10.53	7.60
	b	14.90	34.60	4.80	10.39	11.71	5.13

2단 담금에 울금 분말 첨가	color value	storage time (days)					
		0	1	2	3	4	5
0.00%	L	51.08	22.45	3.27	3.13	4.71	5.29
	a	0.52	9.87	6.31	6.36	9.80	10.43
	b	18.03	33.97	5.42	5.19	7.92	8.90
0.25%	L	53.76	22.69	2.33	2.19	3.50	4.14
	a	0.59	9.91	5.07	5.19	7.86	8.67
	b	15.38	34.29	3.80	3.59	5.81	6.92
0.50%	L	53.63	21.66	1.76	1.98	3.33	3.58
	a	0.55	10.34	4.25	4.89	7.26	7.55
	b	15.81	33.30	2.86	3.22	5.52	5.99
0.75%	L	52.94	21.83	0.99	1.29	2.41	3.14
	a	0.51	10.37	2.76	3.55	5.80	7.05
	b	16.32	33.33	1.54	2.03	3.90	5.22
1.00%	L	52.84	25.98	0.88	1.09	2.17	2.78
	a	0.54	8.53	2.48	3.02	5.37	6.70
	b	16.35	36.17	1.35	1.70	3.51	4.62

3단 담금에 올금 분말 첨가	color value	storage time (days)					
		0	1	2	3	4	5
0.00%	L	55.32	23.14	2.67	5.56	6.27	8.21
	a	0.74	10.91	5.58	9.97	10.79	10.85
	b	16.73	35.02	4.40	9.28	10.50	13.81
0.25%	L	55.60	19.13	2.84	5.72	7.13	5.08
	a	0.59	11.81	5.97	10.15	10.56	10.09
	b	14.36	30.46	4.63	9.59	11.98	8.55
0.50%	L	56.24	21.68	2.78	5.70	6.23	4.62
	a	0.69	10.97	5.87	10.14	10.23	9.71
	b	14.39	33.40	4.52	9.57	10.43	7.78
0.75%	L	56.29	21.17	2.81	5.52	5.96	3.42
	a	0.68	11.21	5.92	10.02	10.46	7.85
	b	14.22	32.87	4.67	9.21	9.96	5.66
1.00%	L	54.54	23.10	2.89	6.19	7.01	3.11
	a	0.47	10.42	5.94	10.40	10.53	7.60
	b	14.90	34.60	4.80	10.39	11.71	5.13

카. 알코올 생성량의 변화

막걸리 제조시 일어나는 발효는 본 연구에서 두 단계로 구분하여 검토하였다. 제 1단계는 1단 담금을 하고 물료를 1일 배양한 후 mash의 이화학적, 생물학적 상태를 확인한 후 제 2단 담금 즉 제 2차 발효를 실시하였다. 제 2단계 발효는 1단 담금 후 2일, 3일, 4일, 5일째 되는 날 제 1단계 발효와 같이 이화학적, 생물학적 상태를 검토하였다. 우선 경시적인 알코올 함량의 변화를 검토하였다.

발효과정 중 알코올 함량은 다음과 발효 24시간 후 급격 증가하다 2단 담금시 급격히 감소하고 발효가 끝나는 5일까지 증가한다. 발효 기간동안의 알코올 생성에는 담금 3~5일 사이에 가장 많은 알코올 발효가 일어났으며, 담금 후 누룩 중의 amylase 작용으로 전분질이 당화되면서 효모에 의한 알코올 발효로 일정기간까지 탁주 술덧 중의 에탄올 함량은 상승되었다 (Fig.1-7).

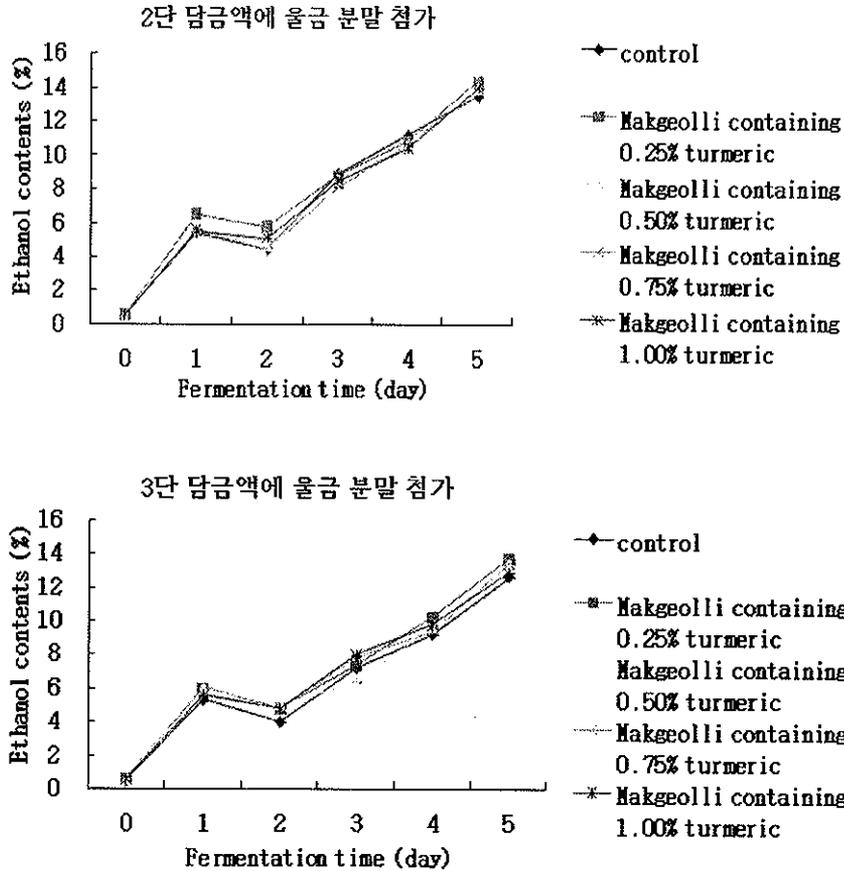


Fig. 1-7. Changes in ethanol content with different addition levels of turmeric powder during fermentation for 5 days.

다. 환원당 함량의 변화

막걸리의 발효 형식은 보통 1차 발효 후 mash에 함유된 성분은 전분, 전분분해물, 소당류와 이당류, 단당류 등인데 이 과정에서 당 함량의 분해가 조금씩 증가한다. 그것은 액화와 당화가 진행 중이기 때문이다. 그러나 2차 발효가 진행되면서 전분양은 감소하고 환원당(reducing sugar)을 비롯한 소당류, 이당류 등의 분획 비율이 증가하게 되는 경향을 보이게 된다. 막걸리의 발효 과정에서 환원당의 변화는 아래와 같다. 모든 시료의 환원당은 2단 담금 후 급격히 증가하고 이후 발효 기간 동안에는 누룩에 의한 당의 생성량보다 효모가 소비하는 양이 많아져 환원당 함량이 감소하였다. 이것은 발효 24시간 이후 고온발효에 의해 알코올 함량이 증가하면서 알코올 내성을 갖는 효모가 감소하고 이에 따라 효모 사멸율이 증가하여 환원당을 이용할 수 있는 효모가 감소하였고 생성된 알코올과 유기산이 결합하여 ester 등과 같은 향미 물질을 생성함으로써 술덧의 pH가 상승하고, pH의 상승에 따라 당화효소의 활성이 증가하면서 효모가 소비하는 환원당과 누룩이 생산하는 환원당이 균형을 이루었기 때문으로 생각된다. 알코올 생산량이 급격히 많아지면서 환원당의 함량이 낮아진 것으로 생각된다. 저장 기간 중 환원당 함량의 증가는 glucoamylase의 활성과 관련이 있다(Fig. 1-8).

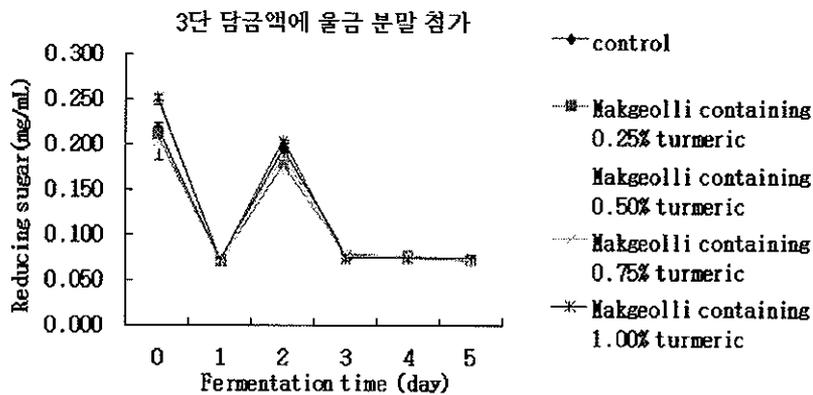
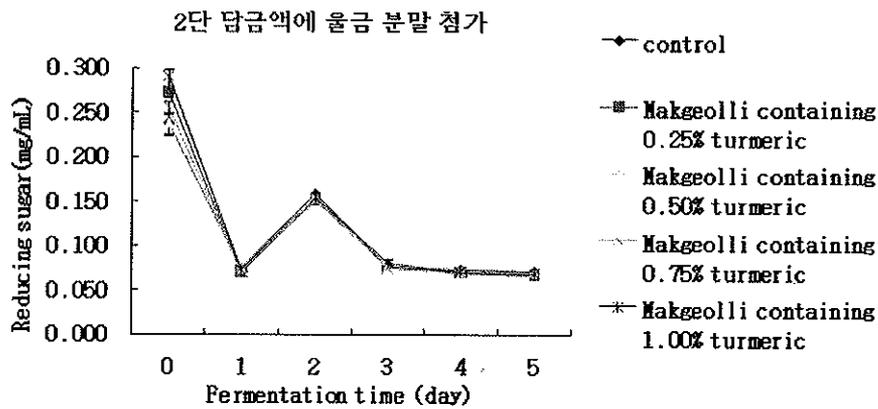
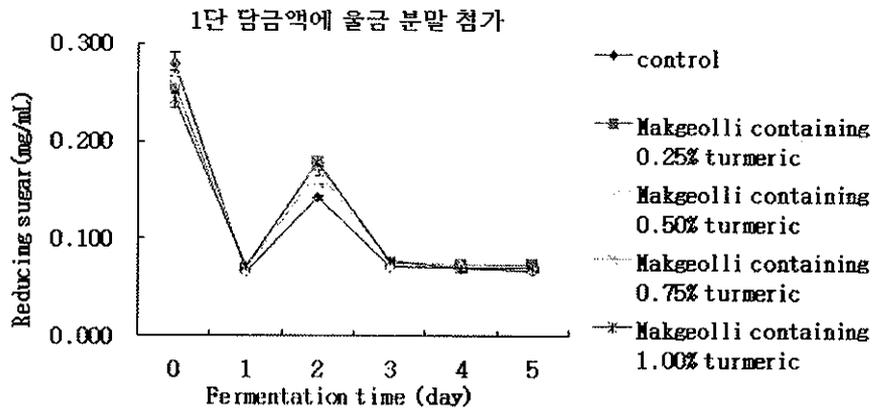


Fig. 1-8. Changes in ethanol content with different addition levels of tumeric powder during fermentation for 5 days.

과. 효모수의 변화

효소 제제를 첨가하지 않은 상태에서의 효모의 증식은 알코올 발효에 매우 중요하다. 효모는 1단 담금 시 혼입하여 증식을 꾀하는데 증식정도에 따라 발효정도가 달라진다. 본 연구에서 울금 분말의 첨가량에 따른 효모의 증식정도를 보면 전체적으로 모두 효모의 수가 증가하는 것으로 나타났다.

Fig. 1-9에서 보듯이 효모 균체수 변화를 보면, 각 시료간의 큰 차이는 없었으며, $0.8 \sim 1.1 \times 10^5$ CFU/mL로 거의 유사했고, 담금 24시간 후에는 모두 효모수가 증가하였다. 특히 발효 24시간 동안에 효모의 증식이 크게 높게 나타났고 발효 5일째까지 비슷한 증식양상을 나타내었다.

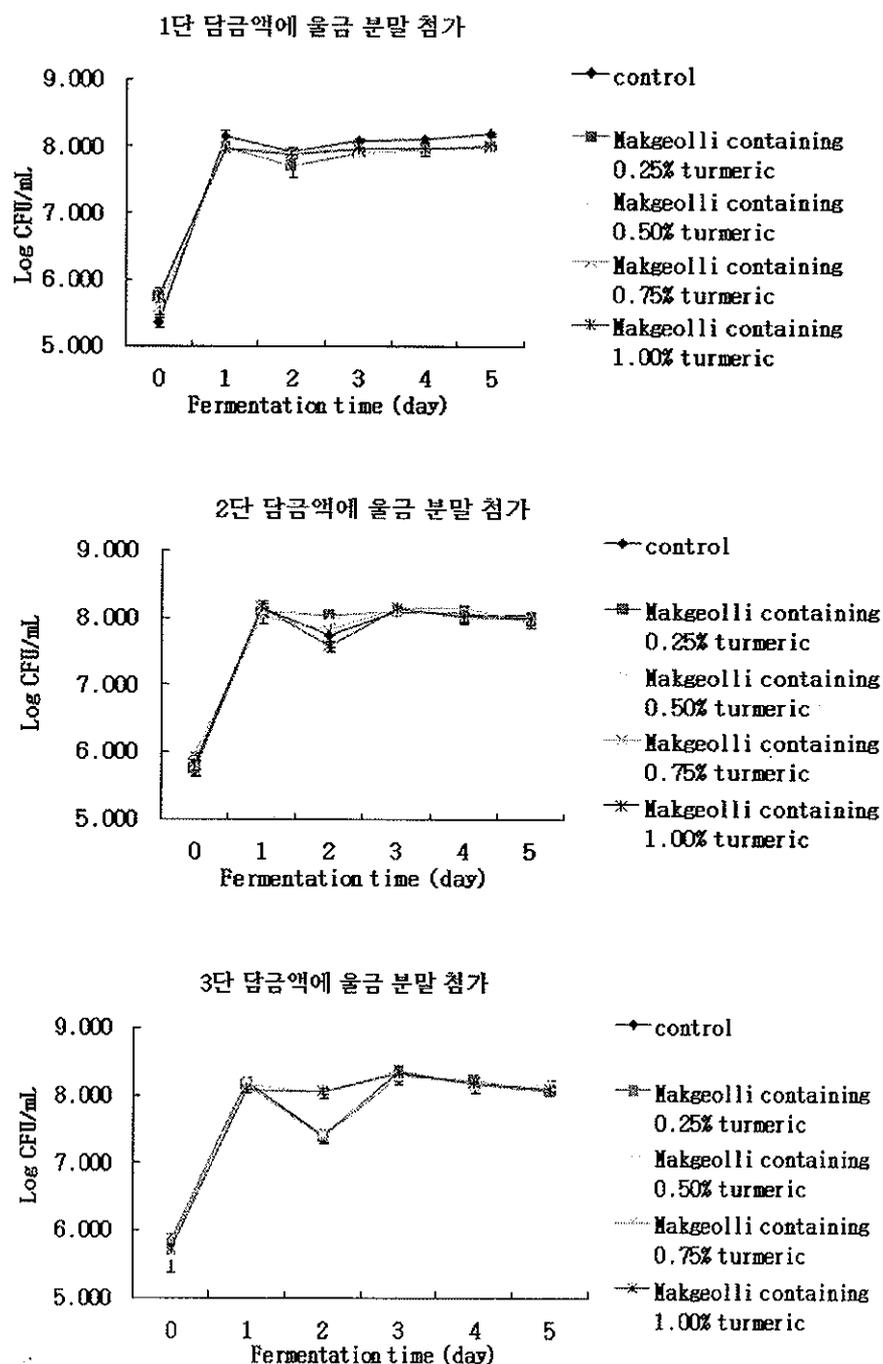


Fig. 1-9. Changes in yeast counts with different addition levels of tumeric powder during fermentation for 5 days.

하. 막걸리의 관능평가

막걸리의 맛과 향기, 색깔 등은 막걸리의 상품적 가치를 결정하는 중요한 요인이다. 막걸리의 관능적 평가는 보통 막걸리 맛, 텁텁한 맛의 존재여부, 상쾌함과 입속에서의 감각 등 종합적인 평가로 품질이 결정된다. 실제 관능검사 후 나타난 결과로는 울금 분말 0.50% 첨가하여 제조한 막걸리의 맛이 control보다 1.1배, 향기는 1.2배, 색깔은 1.25배 좋은 것으로 나타났으며 전체 기호도도 1.13배 더 좋은 것으로 나타났다. 가장 좋은 품질을 보인 것은 울금 분말을 0.5% 첨가한 처리구였고 가장 낮은 품질을 보인 것은 울금 분말을 1.00% 첨가한 처리구였다. 울금 분말의 첨가량이 가장 적은 0.25%를 첨가한 처리구는 대조구와 비슷한 품질을 보였다. 울금 분말 첨가량이 0.75%인 경우에는, 그 이하인 경우(첨가량 0.50% 제외) 보다 관능적 품질이 우수하지만, 그 이상 첨가량을 증가시켜도 관능적 품질간에는 큰 차이가 없는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 울금이 막걸리 발효 중 형성되는 초산의 생성을 억제하여 신맛에 의한 기호도 감소를 지연시킬 수 있음을 시사하는 것이다. 이상으로 울금의 처리는 막걸리의 유통 중 품질을 유지시킴을 추정할 수 있었다(Fig. 1-10).

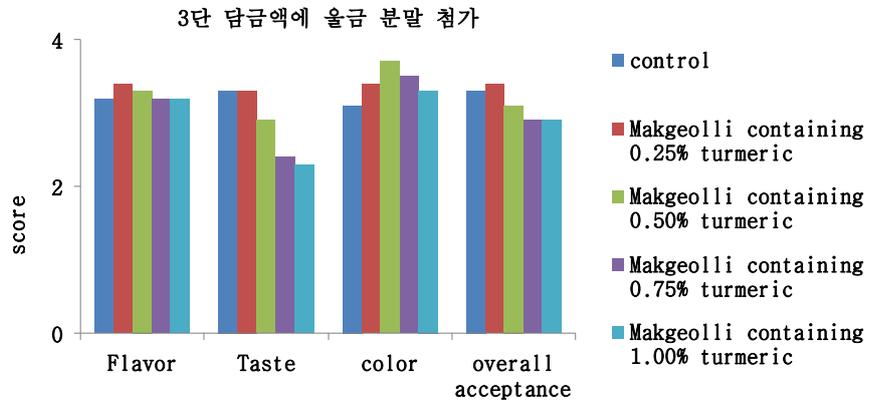
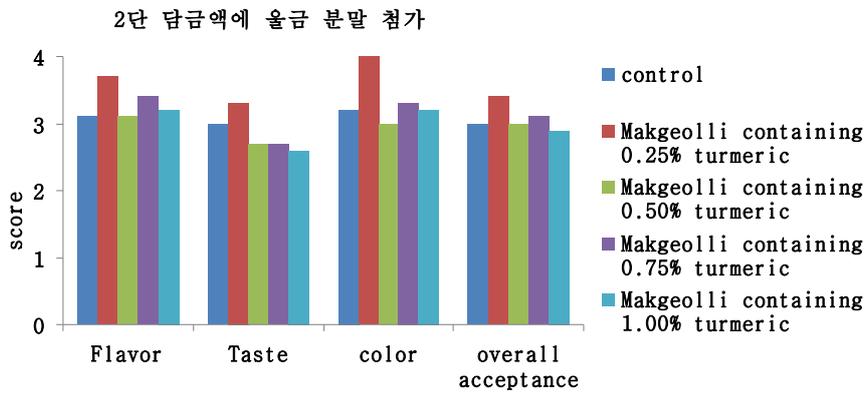
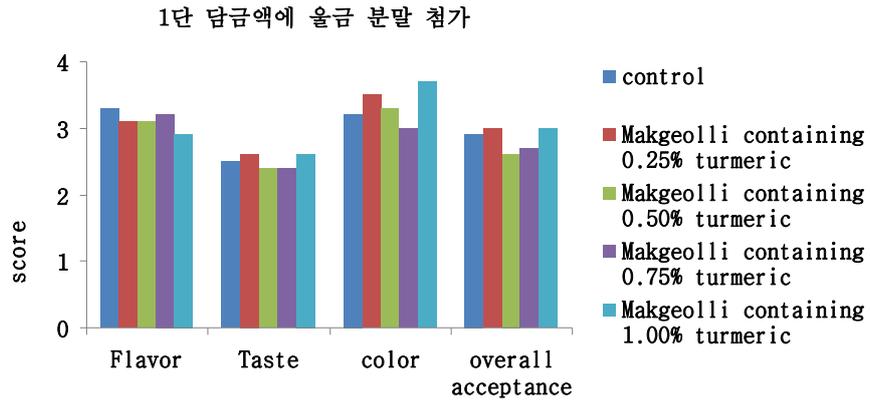


Fig. 1-10. Sensory evaluation with different addition levels of tumeric powder.

거. 건강지향식품으로서의 울금막걸리 및 시제품 제작

울금막걸리의 품질특성을 토대로 울금을 첨가하여 울금막걸리, 울금엑기스를 개발하였다(Fig. 1-11).



Fig. 1-11. 울금막걸리 시제품

너. 울금주와 시판 탁주의 품질 특성 비교

1) 총당 함량

최근 기능성 식품소재로서 소비자들에게 관심이 매우 높아지고 있는, 국내산 울금을 이용하여 개발한 울금주의 품질특성을 시판되는 전통탁주와 비교하고자 총당을 분석한 결과는 Fig. 1-12와 같다. 총당은 환원당과 마찬가지로 탁주의 점조성과 맛에 영향을 미치는 성분으로, 그 함량은 논산 “가야곡” 복분자 탁주가 4.89%로 복분자가 가장 높게 유의적인 차이를 나타냈으며($p < 0.05$), 울금주를 포함한 그 외의 탁주들은 비슷한 0.21~0.91% 이내로 유사한 값을 나타내었다.

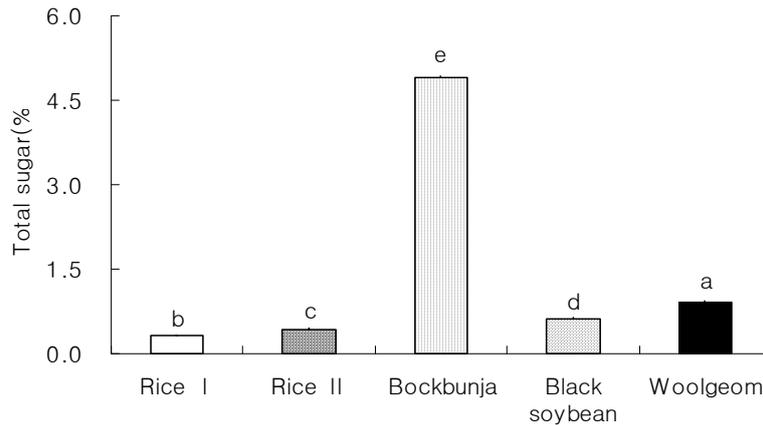


Fig. 1-12. Comparison of total sugar contents of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

□ Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
 □ *Bockbunja*, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
 ■ *Woolgeom*, Kwangju "*Woolgeomju*" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

2) 환원당 함량

본 연구에서 개발한 울금주와 시판 전통탁주의 환원당의 함량은 Fig. 1-13과 같다. 그 결과 논산 "가야곡" 복분자 탁주가 가장 높았으며, 그 다음으로 울금이 0.74%로 다른 전통 탁주보다 높은 함량을 나타내었다($p < 0.05$). 이는 비환원당이 발효균에 의한 발효원으로 사용되어 환원당으로 전환되었다고 보인다. 특히 복분자 탁주의 경우 총당의 함량이 높은 것으로 보아, 이로 인하여 더불어 환원당의 함량도 높게 나타난 것으로 보인다.

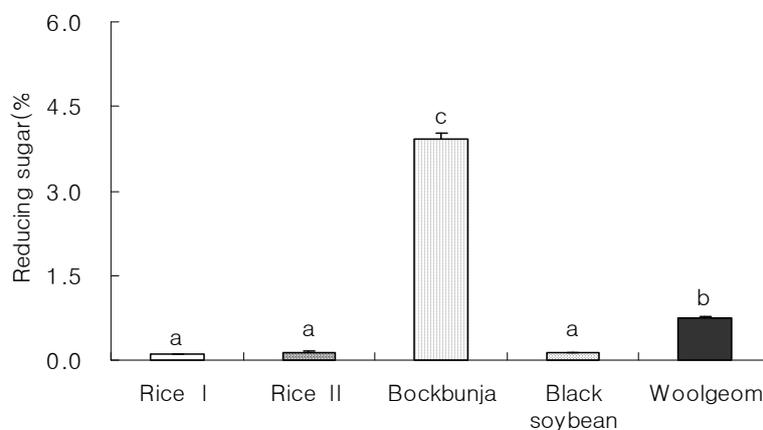


Fig. 1-13. Comparison of reducing sugar contents of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

- Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
- Bockbunja, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
- Woolgeom, Kwangju "Woolgeomju" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

3) Brix 당도

본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주의 brix 당도를 측정한 결과는 Fig. 1-14와 같다. 그 결과 논산 "가야곡" 복분자 탁주의 brix 당도가 8.90%로 가장 높았으며(p<0.05), 이는 앞의 총당과 환원당 함량에서 마찬가지로 복분자 자체의 당 함량이 많아 울금주나 다른 탁주에 비해 높게 나타났다. 그 다음으로 개발한 울금주가 4.43%로 그 외의 다른 전통 탁주와 비슷한 당도를 나타내었다.

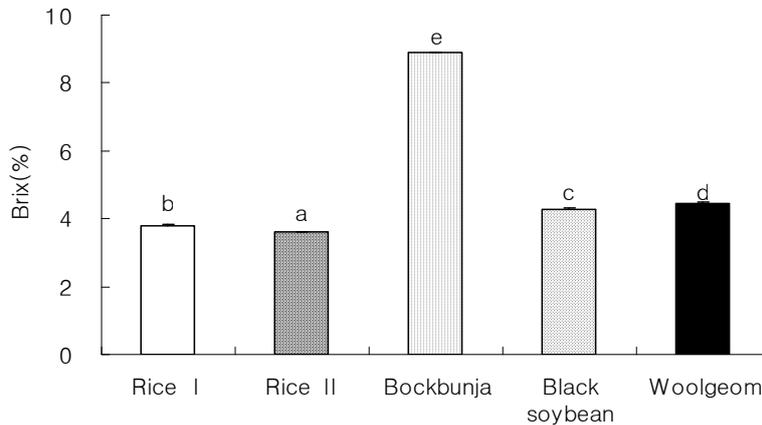


Fig. 1-14. Comparison of brix index contents of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

- Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
- Bockbunja, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
- Woolgeom, Kwangju "Woolgeomju" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

4) pH 및 총산도

가) pH

본 연구에서 개발한 울금주와 시판 전통탁주의 pH와 총산 함량은 탁주의 발효과정 중 품질특성 변화를 예측할 수 있는 중요한 요인이며, 알코올 생성과정에서 복합적으로 생성되므로 전통 탁주의 발효도를 짐작할 수 있는 중요한 지표성분으로 이용된다. 본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 탁주의 pH를 측정한 결과는 Fig. 1-15와 같다. 그 결과 전체 분석 시료들에서 큰 차이는 없었지만, 포천 "일동" 검정콩 탁주와 개발한 울금주가 다소 높은 pH 4.53, 4.29 였

으며, 다른 시판 쌀 탁주(I, II)나 “가야곡” 복분자 탁주는 약간 낮은 pH 3.79~3.90 값을 나타내었다.

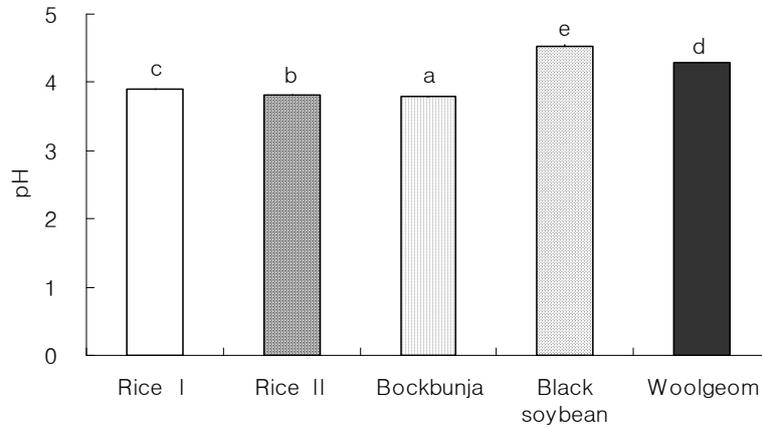


Fig. 1-15. Comparison of pH value of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

- Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
- *Bockbunja*, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
- *Woolgeom*, Kwangju "*Woolgeomju*" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

나) 총산도

본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 탁주의 총산도를 측정된 결과는 Fig. 1-16과 같다. 총산도는 pH와 반대의 경향으로 순천 “팔마” 쌀 탁주(II)가 가장 높은 수치를 나타내었으며 ($p < 0.05$), 포천 “일동” 검정콩 탁주가 가장 낮은 값을 나타내었다. 그리고 개발 울금주를 포함한 나머지의 탁주들은 총산도가 5.24~5.64% 범위의 비슷한 값으로 상호간 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나 순천 “팔마” 쌀 탁주(II)의 경우, pH 값은 낮지 않은데, 총산도가 높은 것은 다른 탁주들에 비하여 pH 감소를 억제하는 저분자 유기산과 유리아미노산 등에 의한 완충작용(buffer action) 효과가 있기 때문으로 유추되지만 구체적인 것은 차후 더욱 조사할 필요가 있을 것으로 판단된다.

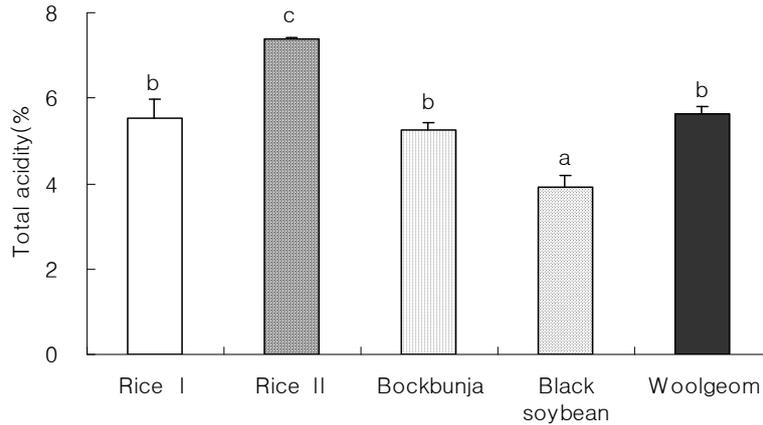


Fig. 1-16. Comparison of total acidity of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

□ Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
 □ *Bockbunja*, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
 ■ *Woolgeom*, Kwangju "Woolgeomju" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

5) 아미노산질소 함량

우리나라 전통주의 주원료인 쌀 및 누룩과 각종 부원료 등에 함유되어 있는 단백질은 미생물이 생산하는 acid protease나 peptidase의 효소작용으로 유리아미노산과 같은 아미노산 질소로 분해되어 전통탁주의 감칠맛에 영향을 주게 된다. 본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주의 아미노산질소 함량을 측정된 결과는 Fig. 1-17과 같다. 그 결과 울금주는 906.17 mg%로 가장 높게 나타났으며, 논산 "가야곡" 복분자 탁주는 219.33 mg%로 가장 적게 나타났다($p < 0.05$).

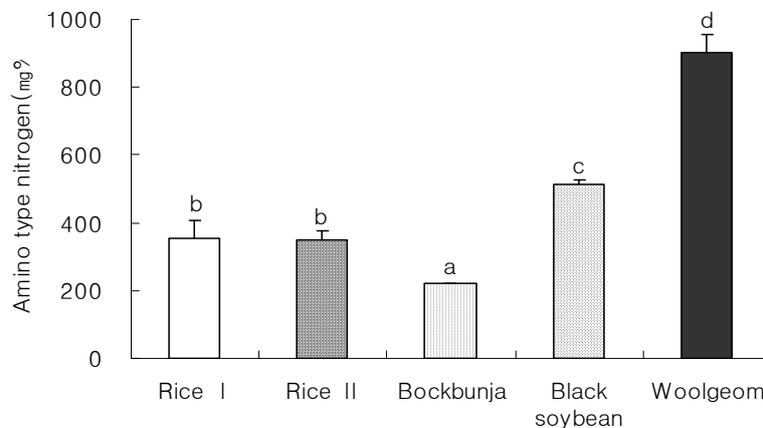


Fig. 1-17. Comparison of amino type nitrogen contents of some commercial *Takju* and

Woolgeomju developed in this study.

- Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
- *Bockbunja*, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
- *Woolgeom*, Kwangju "*Woolgeomju*" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

6) 점도

본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주의 점도를 측정된 결과는 Fig. 1-18과 같다. 탁주는 전통 누룩에 함유된 자연효모 등의 발효균을 통한 쌀의 알코올 발효과정을 거쳐서 제조되는 전통 민속곡주로서 증류주와 과일주와는 차별화된 기호적 특성에서 적절한 점도를 유지시킬 필요가 있다. 논산 "가야곡" 복분자 탁주는 226.67 mPa·s로 가장 점도가 낮았으며, 탁주 중에 광주 "천하일품"(I)의 쌀 탁주가 880.00 mPa·s로 가장 높은 점도를 나타내었다 ($p < 0.05$). 이와 같은 차이는 발효 원료의 종류나 조성 비율 및 발효특성에 따라 달라지는 것으로 판단된다.

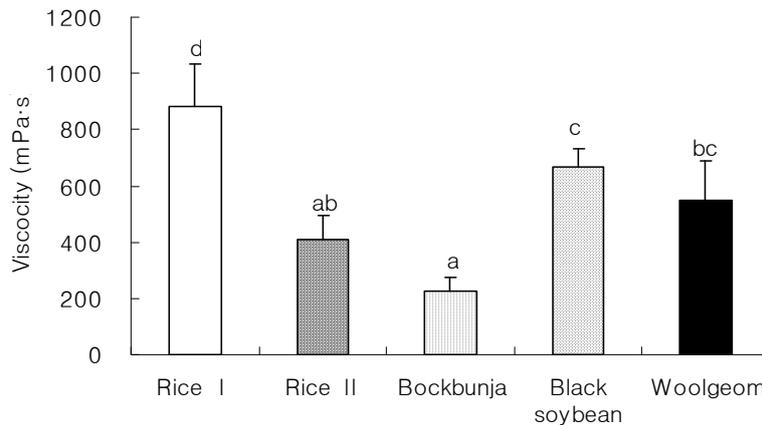


Fig. 1-18. Comparison of viscosity of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

- Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
- *Bockbunja*, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
- *Woolgeom*, Kwangju "*Woolgeomju*" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

7) 색차계 색도

가) 명도

본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주의 색차계 색도의 명도(L, lightness)를 측정된 결과는 Fig. 1-19와 같다. 명도는 개발 울금주의 경우가 전체 탁주 중에 41.87 로 가장 밝

았으며, 그 다음으로는 시판 쌀 탁주(I, II)가 39.19~42.23 범위로 높았다. 특히 논산 “가야곡” 복분자 탁주와 포천 “일동” 검정콩 탁주의 경우는 각각 26.43, 27.75 로 어두웠는데, 이는 각 유색식물체의 천연색소와 재료의 특성 및 발효과정의 차이에 따른 것으로 판단된다.

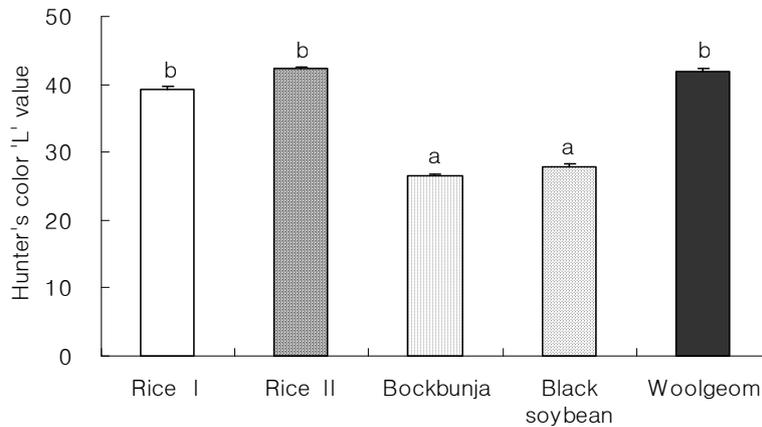


Fig. 1-19. Comparison of Hunter's color 'L' value of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

- Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
- *Bockbunja*, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
- *Woolgeom*, Kwangju "Woolgeomju" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

나) 적색도

적색도(a, redness)를 측정 결과는 Fig. 1-20과 같다. 적색도는 논산 “가야곡” 복분자 탁주는 +2.92으로 유일하게 높게 나왔으며, 나머지 탁주는 -1.11에서 -7.03으로 아주 낮게 나타났다. 특히 개발 울금주의 경우 -7.03으로 가장 낮게 나타났다.

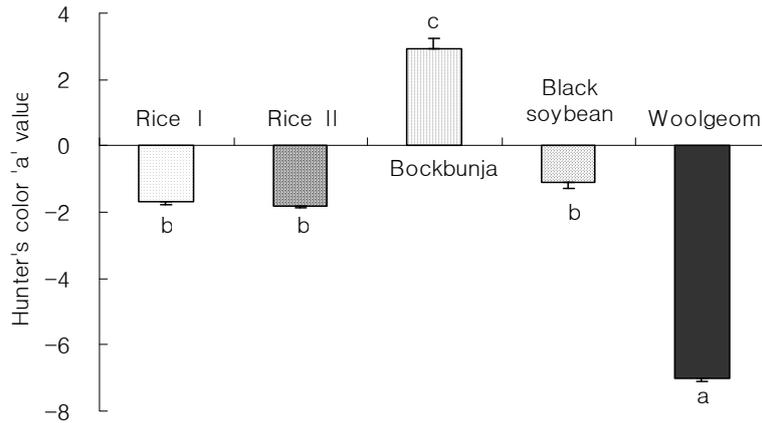


Fig. 1-20. Comparison of Hunter's color 'a' value of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

□ Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
 □ *Bockbunja*, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
 ■ *Woolgeom*, Kwangju "*Woolgeomju*" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

다) 황색도

황색도(b, yellowness)를 측정 한 결과는 Fig. 1-21과 같다. 황색도는 개발 울금주만 +15.89로 아주 높게 나타났으며, 나머지 시판 탁주의 경우 +0.21에서 +3.40으로 아주 낮게 나타났다. 이는 울금에 함유되어 있는 curcumin의 노란색으로 인하여 나타난 것으로 보인다.

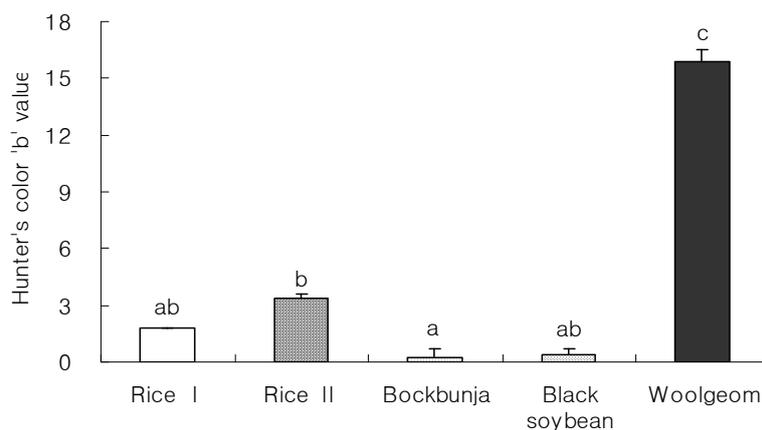


Fig. 1-21. Comparison of Hunter's color 'b' value of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

□ Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
 □ *Bockbunja*, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
 ■ *Woolgeom*, Kwangju "*Woolgeomju*" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

8) 갈변도

본 연구에서 개발한 울금주는 탁주에 울금을 첨가하여 전통적인 발효방법으로 개발한 울금주로서 시판되는 전통탁주와 갈변도를 비교한 결과는 Fig. 1-22와 같다. 논산 “가야곡” 복분자 탁주는 자체의 색이 어두워 0.97로 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로는 노란색을 띤 개발 울금주의 경우 0.85로 높았다. 반면에 쌀탁주 중 광주 “천하일품” 쌀 탁주(I)과 순천 “팔마” 쌀 탁주(II)은 각각 0.23과 0.16으로 낮게 나타내었다. 복분자는 자체의 anthocyanin으로 인하여 높은 값을 나타내었는데, 그 흡광도 파장은 500~535 nm 부근이나, 갈변도 흡광도 파장인 420 nm에서도 복분자 추출물이 2.03의 값을 나타내어 측정이 가능하다는 것을 알 수 있었다. 또한 curcumin의 흡광도 파장은 424 nm로 갈변도 흡광도 파장인 420 nm와 유사하여 개발 울금주의 값이 높게 나타났다.

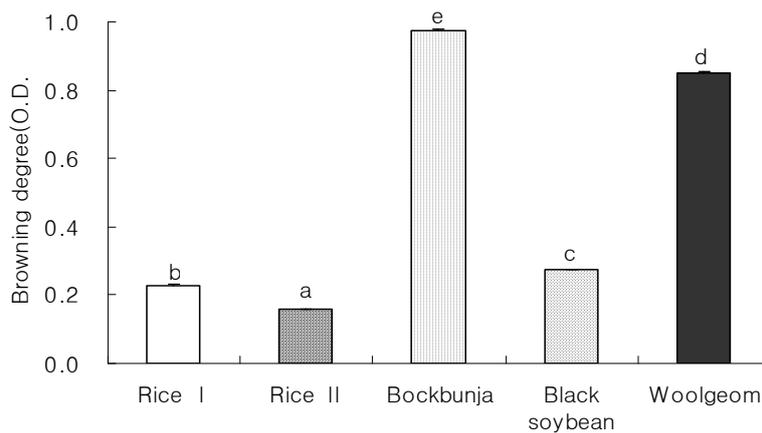


Fig. 1-22. Comparison of browning degree of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

□ Rice (I), Kwangju “Cheonhwa” TJ ; □ Rice (II), Suncheon “Palma” TJ

□ *Bockbunja*, Nonsan “Kayagok” TJ ; □ Black soybean ; Pocheon “Ildong” TJ

■ *Woolgeom*, Kwangju “*Woolgeomju*” TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

9) 고형물 함량

본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주의 고형물을 측정된 결과는 Fig. 1-23과 같다. 대체적으로 고형물은 2.73에서 3.35의 범위에서 나타났으나, 논산 “가야곡” 복분자 탁주의 경우에만 8.83%를 가장 높은 값으로 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

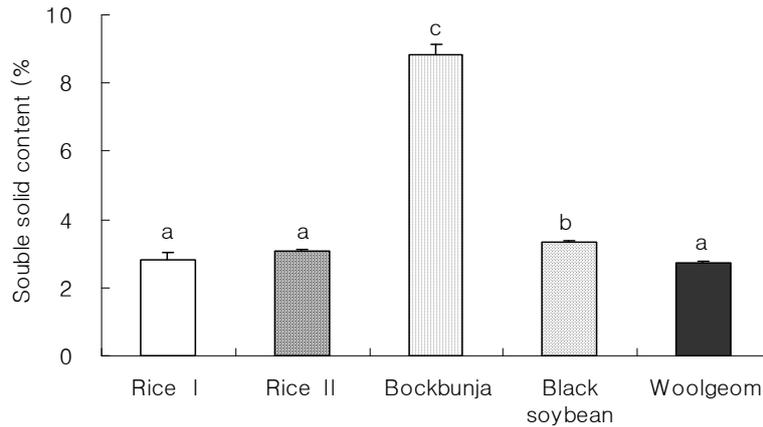


Fig. 1-23. Comparison of soluble solid contents of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

- Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; □ Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
 □ *Bockbunja*, Nonsan "Kayagok" TJ ; □ Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
 ■ *Woolgeom*, Kwangju "Woolgeomju" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

10) 유기산 함량

본 연구에서 개발한 울금주와 시판 전통탁주의 유기산은 탁주의 발효·숙성과정 및 저장중의 품질특성을 평가할 수 있는 항목으로 본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 탁주의 유기산 함량을 측정된 결과는 Table 1-9와 같다. 그 결과 본 연구에서 개발한 울금주는 glutaric, malic, lactic, citric, succinic acid의 순으로 함량이 높았다. 특히 본 연구에서 개발한 울금주의 총 유기산 함량이 가장 높은 1,877.21 mg%이었으며, 그 다음으로는 광주 "천하일품" 쌀 탁주 (I)로 1,510.58 mg%였다. 그러나 포천 "일동" 검정콩 탁주는 가장 낮은 548.21 mg%였다.

Table 1-9. Comparison of organic acid contents of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study (unit : mg%)

Organic acids	Rice I	Rice II	<i>Bockbunja</i>	Black soybean	<i>Woolgeom</i>
Oxalic acid	-	-	-	-	-
Tartaric acid	-	-	-	-	-
Malic acid	224.71±11.10 ^a	284.82±21.31 ^b	305.39±8.98 ^b	-	222.23±8.74 ^a
Malonic acid	-	-	-	141.66±13.21 ^a	-
Lactic acid	284.03±12.82 ^c	-	92.93±7.14 ^a	160.74±40.34 ^b	168.00±14.90 ^b
Acetic acid	68.34±7.46 ^a	93.99±19.02 ^b	-	-	67.05±116.13 ^a
Citric acid	107.54±29.53 ^b	112.51±9.34 ^{bc}	125.57±8.19 ^{bc}	54.02±0.24 ^a	143.61±21.40 ^c
Succinic acid	49.60±36.90 ^a	137.68±19.81 ^a	308.35±175.78 ^b	51.93±4.86 ^a	132.93±20.77 ^a
Glutaric acid	776.35±80.03 ^c	394.44±21.91 ^b	151.62±7.47 ^a	172.27±14.33 ^a	1143.40±62.92 ^a
Total	1,510.58±136.99 ^c	1,023.43±61.50 ^b	983.87±153.07 ^b	548.21±114.67 ^a	1,877.21±104.40 ^d

Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
Bockbunja, Nonsan "Kayagok" TJ ; Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
Woolgeom, Kwangju "Woolgeomju" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

11) 유리당 함량

본 연구에서 개발한 울금주와 시판 전통탁주의 유리당의 함량은 Table 1-10과 같다. 그 결과 유리당은 앞의 총당(Fig. 1-12)과 환원당(Fig. 1-13) 함량에서 유사한 경향으로 복분자 탁주가 4.31%로 가장 높았으며, 그 다음으로 순천 "팔마 탁주(II)"와 "울금주"가 각각 1.00, 0.77%로 다른 광주 "천하일품" 탁주 0.46%와 포천 "일품" 검정콩 탁주 0.47%보다 높은 함량을 나타내었다. 그 주요 구성당으로는 glucose, maltose를 포함하여 xylose, arabinose, ribose가 검출되었다.

Table 1-10. Comparison of free sugar contents of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study (unit : mg%)

Free sugars	Rice I	Rice II	<i>Bockbunja</i>	Black soybean	<i>Woolgeom</i>
Ribose	-	-	803.70±30.12 ^a	-	-
Xylose	28.33±26.47 ^a	-	-	-	141.80±6.43 ^b
Arabinose	-	35.45±11.19 ^a	-	-	-
Fructose	-	-	-	-	-
Glucose	91.13±5.77 ^a	969.37±373.86 ^b	4332.71±12.72 ^a	128.32±15.30 ^a	627.64±106.49 ^b
Galactose	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-
Maltose	338.16±1.01 ^a	-	-	338.21±1.08 ^a	-
Total	457.63±21.72 ^a	1004.83±385.05 ^b	5136.41±17.40 ^c	466.53±16.38 ^{ab}	769.45±100.05 ^{ab}

Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; Rice (II), Suncheon "Palma" TJ
Bockbunja, Nonsan "Kayagok" TJ ; Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
Woolgeom, Kwangju "Woolgeomju" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05

12) 유리아미노산 함량

우리나라 전통곡주의 단백질 급원으로부터 자연유래 누룩 발효미생물이 생산하는 단백질 분해효소의 촉매작용으로 생성되는 유리아미노산의 함량은 전통탁주의 감칠맛에 영향을 주는 지표 맛 성분으로 발효도 평가에 주요한 요소이다. 본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주의 유리아미노산의 함량을 측정한 결과는 Table 1-11과 같다. 그 결과 본 연구에서 개발한 울금주는 126.83 mg%로 쌀 막걸리(Rice I, II)보다는 함량이 적었으나, 논산 "가야곡" 복분자 탁주와 포천 "일품" 검정콩 탁주보다 1.5~2배 이상 높은 함량을 나타내었다.

Table 1-11. Comparison of free amino acid contents of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study (unit : mg%)

Amino acids	Rice I	Rice II	<i>Bockbunja</i>	Black soybean	<i>Woolgeom</i>
Aspartic acid	0.81±0.08	24.60±0.21	1.88±0.08	2.89±0.02	9.70±0.38
Threonine	2.78±0.21	3.17±0.08	0.05±0.04	0.32±0.07	0.65±0.11
Serine	24.10±1.22	34.15±0.64	1.30±0.08	4.17±0.58	7.97±0.01
Glutamic acid	3.22±0.21	30.31±0.66	6.18±0.25	8.06±0.21	18.00±1.29
Proline	19.31±0.17	12.72±0.62	30.37±0.42	15.75±0.61	7.34±0.09
Glycine	14.06±0.28	18.13±0.45	1.65±0.14	1.39±0.42	6.86±0.40
Alanine	41.72±1.12	29.63±0.41	9.17±0.34	10.60±1.23	14.98±0.39
Cystine	2.64±0.84	5.06±0.68	0.27±0.06	1.20±0.69	1.32±0.44
Valine	13.14±0.34	21.01±0.53	0.96±0.11	3.36±0.53	6.14±0.04
Methionine	6.25±0.13	63221±4.40	0.09±0.01	1.91±0.22	2.13±0.19
Isoleucine	7.81.30±0.03	10.64±0.14	0.40±0.07	1.63±0.21	2.56±0.17
Leucine	26.43±0.68	28.92±0.01	1.60±0.21	8.84±0.62	8.80±0.74
Tyrosine	0.85±0.05	4.33±0.08	1.78±0.06	2.78±0.11	5.02±0.37
Phenylalanine	19.61±0.74	20.78±0.05	1.34±0.15	5.29±0.41	6.73±0.29
Histidine	45.21±0.31	20.95±0.28	7.01±0.61	21.58±1.35	18.31±1.18
Lysine	15.42±0.27	13.52±0.40	1.53±0.10	4.06±0.30	9.24±2.90
Arginine	0.07±0.03	0.28±0.01	0.23±0.02	0.62±0.00	1.08±0.13
Total	240.90.41±7.10	284.57±0.44	65.78±1.86	94.44±7.53	126.83±3.20

Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; Rice (II), Sunchon "Palma" TJ
Bockbunja, Nonsan "Kayagok" TJ ; Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
Woolgeom, Kwangju "Woolgeomju" TJ.

Data values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

13) 무기질 함량

본 연구에서 개발한 울금주와 시판 전통탁주의 무기질의 함량은 Table 1-12과 같다. 그 결과 논산 "가야곡" 복분자 탁주가 1204.5 µg%로 가장 높았으며, 그 다음으로 순천 팔마 탁주(II)가 1030.6 µg%로 많았다. 광주 "천하일품"탁주 및 울금주는 각각 986.6, 946.8 µg%였다. 특히 검정콩 탁주는 Na 함량이 매우 낮은 특징이 있었다.

Table 1-12. Comparison of mineral contents of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study (unit : $\mu\text{g}\%$)

Minerals	Rice I	Rice II	<i>Bockbunja</i>	Black soybean	<i>Woolgeom</i>
Na	830.7	857.5	993.7	19.64	714.1
Mg	15.1	16.9	18.3	47.7	12.5
Ca	12.4	29.0	15.8	6.4	9.7
K	26.7	44.5	67.8	52.7	59.1
Mn	0.7	0.4	0.2	0.3	1.0
Fe	1.2	0.9	0.8	4.4	2.6
Zn	0.5	0.7	1.1	0.6	2.4
Cu	0.7	0.5	1.3	1.1	3.4
Al	32.9	10.1	12.7	28.0	12.8
P	29.0	27.8	58.8	64.6	73.9
Total	949.9	988.3	1170.5	225.4	891.5

Rice (I), Kwangju "*Cheonhwa*" TJ ; Rice (II), Suncheon "*Palma*" TJ
 Bockbunja, Nonsan "*Kayagok*" TJ ; Black soybean ; Pocheon "*Ildong*" TJ
 Woolgeom, Kwangju "*Woolgeomju*" TJ.

14) 휘발성 알코올 함량

본 연구에서 개발한 울금주와 시판 전통탁주의 휘발성분의 함량은 Table 1-13과 Fig. 1-24와 같다. 그 결과 본 연구에서 개발한 울금주의 휘발성분은 총 12가지의 휘발성 화합물들이 검출되었으며, 함량과 종류에서 일반탁주와는 다소 차이를 보였다. 울금주의 성분별로 면적비를 비교하면 ethanol이 82.26%로 가장 많은 비율을 차지하였으며, 다음으로는 cyclopropane이 8.43%, 1-butanol 4.22%, acetic acid가 1.40%, 1-propanol이 1.28% 및 acetaldehyde가 0.16%로 주요한 성분으로 나타났다.

Table 1-13. Comparison of volatile compounds of some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study (area%)

Volatile compounds	Rice I	Rice II	<i>Bockbunja</i>	Black soybean	<i>Woolgeom</i>
3,3-Dimethyl-2-phenyl-2-(1-Oxo-1,2,3,4-tetrahydronaphth-	-	-	2.58	-	-
Methane	-	-	-	4.87	-
Carbamic acid	10.22	13.08	-	-	-
Cyclopropane	-	-	-	-	8.43
Acetaldehyde	0.17	0.23	0.30	0.31	0.16
Acetic acid	1.07	0.84	1.25	1.15	1.40
Ethanol	81.93	81.35	92.22	89.48	83.26
1-Propanol	1.05	0.88	0.77	0.72	1.28
1-Butanol(I)	0.52	0.16	0.10	0.33	0.19
Isoamyl alcohol	-	-	2.33	-	0.06
1-Butanol(II)	4.52	3.23	0.10	2.89	4.22
Acetic acid	0.12	-	-	0.09	0.28
Benzene ethanol	0.43	0.26	0.23	0.24	0.32
1,2-Benzene dicarboxylic acid	0.14	-	-	-	0.19
Diethyl phthalate	0.25	-	0.22	0.25	-
1,2-Benzene dicarboxylic acid	-	0.13	-	-	0.40
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Rice (I), Kwangju "Cheonhwa" TJ ; Rice (II), Sunchon "Palma" TJ
Bockbunja, Nonsan "Kayagok" TJ ; Black soybean ; Pocheon "Ildong" TJ
Woolgeom, Kwangju "Woolgeomju" TJ.

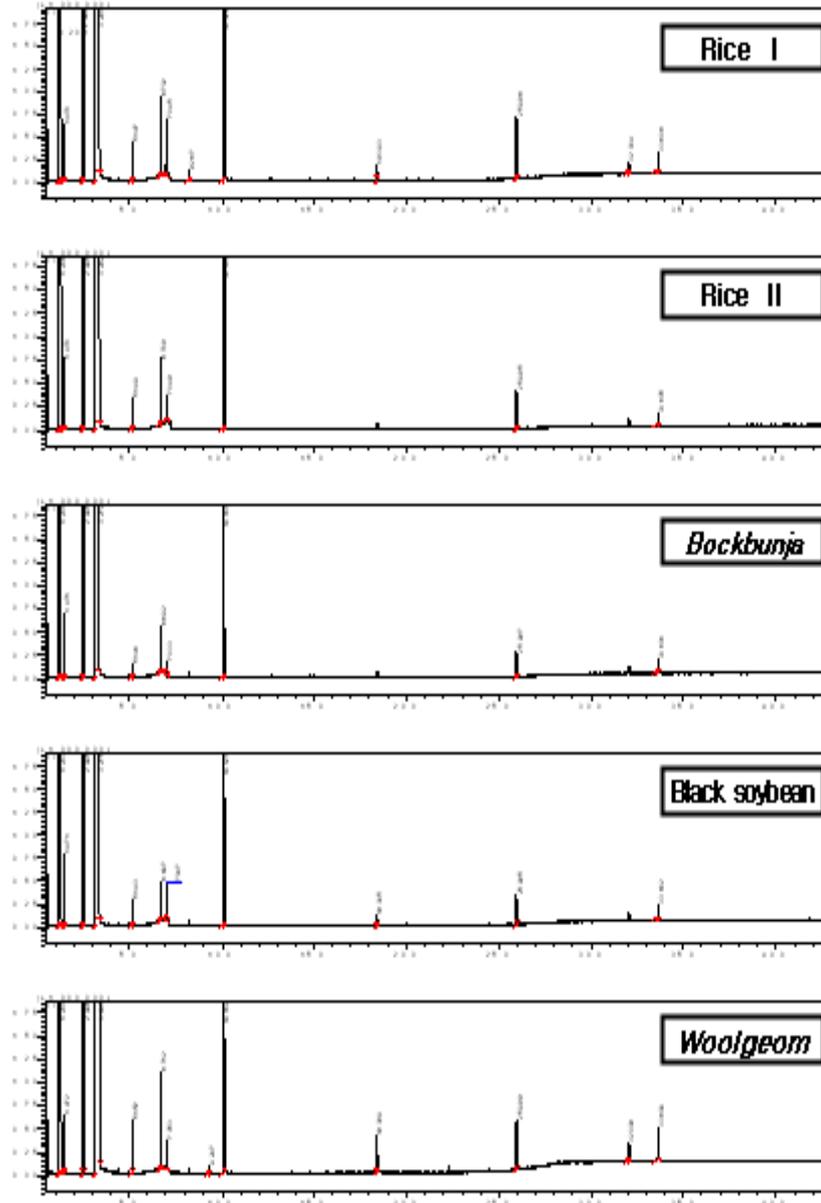


Fig. 1-24. GC-Mass total ion chromatogram of flavor components in some commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study.

Rice (I), Kwangju "*Cheonhwa*" TJ ; Rice (II), Suncheon "*Palma*" TJ
Bockbunja, Nonsan "*Kayagok*" TJ ; Black soybean ; Pocheon "*Ildong*" TJ
Woolgeom, Kwangju "*Woolgeomju*" TJ.

더. 개발 울금주 및 전통 탁주의 관능평가 변화

개발 울금주 및 전통 탁주를 10°C에 저장하면서 저장 0일차와 10일차에 맛과 향, 색, 질감, 혼탁도 및 종합적 기호도 등을 5점 기호 척도법으로 실시한 결과는 Fig. 1-25와 같다. 전체적인 기호도 면에서는 울금주가 전통 탁주보다 더 높게 나타났으며, 맛, 향, 색, 질감 및 혼탁도에서 모두 울금주가 더 높게 나타났으며, 그 중에서 0일 경우가 혼탁도와 향에서 3.8과 4.2로 가장 높게 나타났다. 이상의 결과로 보면 10일 동안 저장한 울금주는 색, 맛, 질감, 전체적

인 기호도에서 각각 4.3, 3.9, 3.9, 3.9를 나타내어 10일이 지난 후의 맛과 색 질감의 변화가 크게 나타나지 않았으나 전통 탁주의 경우 10일 지났을 경우에는 색, 맛, 질감에서 큰 변화가 있다는 것을 알 수 있었다.

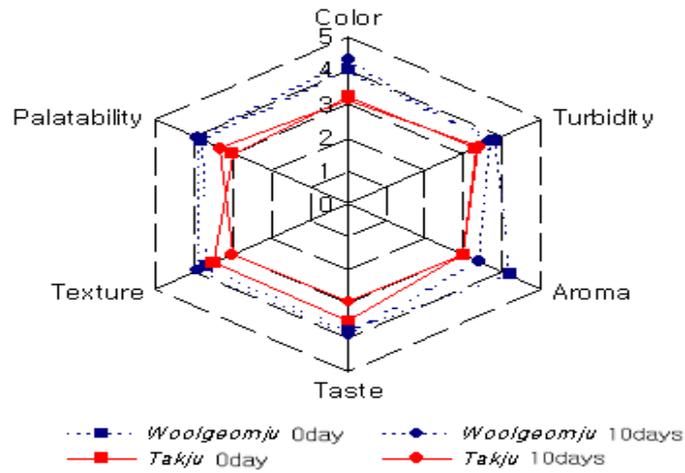


Fig. 1-25. Changes in sensory evaluation of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10°C and 20°C.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

제 2 절 울금 및 울금소재의 *in vitro/in vivo* 기능성 및 안전성 평가

제 1 항 재료 및 방법

가. 재 료

본 실험에 사용된 울금(*Curcuma longa* L.)은 전남 진도군 임회면에서 수확한 2005년 도산을 직접 구입하여 본 연구실의 -20℃ 냉동고에 저장하면서 냉장온도에서 해동 시킨 후 일 정량을 취하여 실험에 사용하였다. Hanks balanced salt solution (HBSS), Dex, IBMX, Insulin, NBT (nitro blue tetrazolium), DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydraxyl), XTT는 Sigma (St. Louis, MO) 사로부터 구입하였다. 한편 streptomycin, amphotericin B, fetal bovine serum (FBS), MEM medium, DMEM medium은 Gibco (Grand Island, NY)사로부터 구입하여 사용하였다.

본 실험에 사용된 HepG2/2E1-CPR 세포주는 연세대학교 의과대학 미생물학 실험실로 부터 분양받아 사용하였으며 계대배양시 G418을 첨가하여 B형 간염바이러스의 형질을 상실한 세포는 고사되어 제외되도록 하였다. 또한 3T3-L1 비만 세포주는 전남대학교 의과대학 병리학 실험실로부터 분양받아 사용하였다.

나. 실험 방법

1) 시료의 추출 및 수율 측정

생울금을 건조하여 마쇄한 후, 수집한 분말시료 50 g을 추출용기에 넣고 시료 중량 20 배(1 L)의 냉수로 stirring 또는 증류수, 80% ethanol 및 methanol 각각의 용매로 250 ℃에서 3 시간 동안 환류냉각하면서 추출하였다(Fig. 2-1). 추출한 용액은 여과지(Whatman No. 6)를 사 용하여 여과하고, vaccum rotary evaporator로 감압농축한 후 완전동결 건조하여 건조물의 무 계를 측정하고 데시케이터에 보관하면서 실험에 사용하였다.

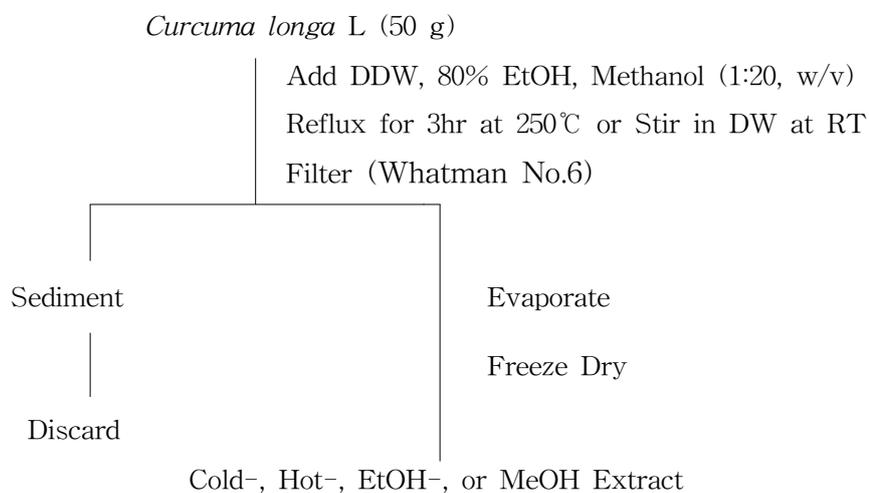


Fig. 2-1. Extraction scheme

2) 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등의 colorimetric 방법으로 측정하였다. 울금의 각 추출물들을 실험에 사용하였다. 울금 추출 시료용액 1 mL에 증류수 4 mL을 첨가한 후 5% NaNO₂ 0.3 mL을 넣고 5분간 혼합하고, 그 혼합한 용액에 10% AlCl₃ 0.3 mL을 넣고 6분간 반응시킨 후, 1M NaOH 2 mL과 증류수 2.4 mL을 넣어 다시 혼합한 다음 510 nm에서 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 catechin hydrate를 이용하여 작성된 표준곡선을 이용하여 검량선을 작성하여 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

3) 지질과산화 억제능 측정

Lin의 방법을 변형하여 측정하였다. 울금의 각 추출물들을 실험에 사용하였다. Linoleic acid 0.1 mL과 Tween 80 0.2 mL, 증류수 19.7 mL을 혼합하여 Linoleic acid emulsion을 제조하였다. Linoleic acid emulsion 1 mL에 0.01% FeSO₄ 0.2 mL, 0.56 mM H₂O₂ 0.2 mL, 시료 0.4 mL을 가볍게 섞어주고 37°C에서 14시간 배양 하였다. 0.4% BHT 0.2 mL, 4% TCA 0.2 mL, 0.8% TBA 2 mL을 첨가하고 잘 혼합한 후 100°C에서 15분간 끓여주었다. Cooling 한 후 3,000rpm으로 20분간 원심분리 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)와 potassium persulfate를 혼합하여 암소에 두면 ABTS^{•+}가 생성되는데 추출물의 항산화물질과 반응하여 양이온이 소거됨으로써 특유의 청록색이 탈색되며 이의 흡광도를 측정하여 항산화능력을 측정할 수 있다. 7 mM ABTS 용액과 100 mM 황산칼륨(potassium persulfate)을 혼합하여 암소에서 약 24시간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도가 1.0~1.2가 되도록 희석하였다. 울금의 각 추출물들을 실험에 사용하였다. 시료 0.01 mL에 ABTS 희석액을 0.39 mL 첨가하여 2초간 vortex 한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5) Alpha-amylase 억제능 측정

각각 추출물을 대상으로 0.7 U의 α-amylase 효소액 50 μL에 넣고 혼합하여 37 °C에서 20분간 반응시킨 후, 100 μL의 기질용액을 넣고 30분간 반응시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 alpha-amylase 소화효소 저해율을 측정하였다. 추출물에 대한 양성 대조군으로 acarbose를 사용하였다.

6) 울금 추출물 대상 HepG2/2E1 세포에서의 cytotoxicity 검토

Cytochrome P4502E1(CYP2E1)이 과다발현되는 human hepatocyte cell line인 HepG2-2E1 cell은 일반 간암세포 및 정상 간세포주에서 degradation 되는 효소인 CYP2E1을 보다 효과적으로 발현되도록 transfection 시켜 만든 stable cell line으로 본 연구에 사용되었다.

본 실험에서 알코올성 산화억제능을 측정하기에 앞서 냉수, 열수, 에탄올 및 메탄올 추출물의 cytotoxicity test를 HepG2/2E1 세포를 대상으로 검토하였다.

7) 울금 추출물의 알코올성 산화억제능 검색

상기의 세포독성결과를 바탕으로 안전성이 확인된 농도범위인 0.05-0.001 mg/mL에서 각 추출물의 산화억제능을 측정하였다. 24 well plate에 HepG2/2E1 세포를 5×10^4 cells/well로 seeding하여 20시간 후에 각 추출물을 첨가하고 다시 1시간 후에 200 mM의 알코올을 처리하여 24시간 배양하고, 이를 3일 동안 3반복 한 후 XTT test를 실시하여 흡광도 450 nm에서 측정하여 알코올성 산화억제능을 검색하였다.

8) 울금 열수추출물의 농도별 산화억제능 검토

상기 실험에서 높은 효과를 보인 열수추출물을 대상으로 안전성이 확보된 0.05-0.01 mg/mL에서 알코올성 산화억제능 및 독성을 LDH test를 통하여 확인하였다. 24 well plate에 HepG2/2E1 세포를 5×10^4 cells/well로 seeding하여 20시간 후에 각 추출물을 첨가하고 다시 1시간 후에 200 mM의 알코올을 처리하여 24시간 배양하고 배양액과 세포 모두를 대상으로 LDH 를 측정하였다.

9) 울금 열수추출물의 *in vitro* 상에서의 산화적 스트레스 억제효과

가) 울금 열수추출물의 농도별 glutathione 함량 측정

알코올 산화능 억제에 탁월한 효과를 보인 울금 열수추출물을 대상으로 total glutathione(GSH) test를 실시하였다. 10 cm plate에 세포를 배양하여 알코올 및 각 추출물을 처리하고 24시간 후 수집하여 total GSH 함량을 측정하였다. GSH는 신체 내에서 가장 풍부하게 존재하며 세포내 발생하는 산화적 스트레스에 대한 대표적인 방어 시스템으로, 알코올 유도 라디칼로 발생된 과산화수소를 제거한다. 알코올을 처리하였을 경우, 과발현된 CYP2E1 및 그 밖의 다른 원인으로 발생하게 된 활성산소들은 세포내 GSH에 의해 scavenging된다고 알려져 있다.

나) 울금 열수추출물의 농도별 catalase 활성 측정

알코올 처리시 발생하는 OH⁻로 인해 발생하는 H₂O₂는 GSH 뿐만 아니라 세포내 catalase에 의해서도 조절되므로 울금 열수추출물을 대상으로 catalase activity를 측정하였다. 10 cm plate에 배양한 세포에 200 mM의 알코올과 각 농도의 울금열수추출물을 첨가하여 24시간 후 세포를 수집하여 catalase activity를 측정하였다.

다) 울금 열수추출물의 농도별 GST 활성 측정

Glutathione-S-transferase(GST) 역시 외부 chemical에 대한 detoxication을 담당하는 효소의 하나로 상기 항산화실험과 동일한 조건에서 실시되었다.

라) 울금 열수추출물의 농도별 superoxide dismutase 활성 측정

Superoxide dismutase는 대표적인 세포내 방어시스템으로 울금 열수추출물을 대상으로 다양한 농도에서 activity를 측정하였다.

마) 울금 열수추출물의 ROS level에 대한 효과

울금 추출물(0.025 mg/mL)을 대상으로 DCFH-DA probe로 confocal image를 얻었다.

DCF-DA는 세포막을 통해 확산되며 세포내 esterase에 의해 효소적으로 가수분해되어 비형광성 DCF-H가 되는데, reactive oxygen species(ROS)가 존재할 경우에는 매우 빠르게 매우 높은 형광을 띤 DCF로 산화된다. 이런 DCF의 형광세기는 ROS 생성 지표로 사용되고 있다. Cell 용 two chamber flask에 1×10^4 cell을 24시간 배양하여 가장 높은 알코올 산화억제능을 보인 0.025 mg/mL의 열수추출물을 첨가하고 2시간 경과 후 100 mM 알코올을 처리하였다. 알코올 첨가 1시간 후 배양액을 제거하고 세포를 고정하여 confocal image를 촬영하였다.

10) 울금 열수추출물의 분리 획분별 *in vitro* 상에서의 산화적 스트레스 억제효과

가) 울금 열수추출물의 분리 획분별 알코올성 산화억제능

울금 시료의 열수 추출물을 대상으로 n-hexane, ethylacetate, chloroform 및 물의 4가지 용매를 사용하여 용매별 분리를 실시하였다.

나) 울금 열수추출물의 클로로포름 분획의 ROS level에 대한 효과

Intercellular ROS level은 형광물질인 2',7'-dichlorofluorescein diacetate(DCFH-DA)를 사용하여 측정하였다. 활성산소류인 O_2^- , H_2O_2 , OH 등에 의해 2',7'-dichlorofluorescein(DCFH)이 2',7'-dichlorofluorescein (DCF)로 산화되는 원리를 이용하였다. 울금 열수추출물의 클로로포름 분획을 전처리한 24 well plate에 세포 생존률에 영향을 미치지 않는 농도의 H_2O_2 를 2시간 처리한 뒤 DCFHDA 시약과 함께 30분간 배양한다. 배양 종료 후 485 nm 여기파장 및 585 nm의 방출파장에서 마이크로플레이트 형광측정기를 사용하여 DCF 형성을 측정하였다.

11) 울금 및 울금소재의 *in vitro* 상에서의 비만 억제효과

가) 3T3-L1 cell을 이용한 울금 추출물의 cytotoxicity 검토

울금 추출물을 농도별로 비만세포주인 3T3-L1 세포에 처리한 후 24시간 경과 후 XTT 시약을 처리한 후 다시 2시간 배양하고 450 nm에서 흡광도를 측정하여 수행하였다.

나) *In vitro* 상에서의 지방분화 억제능 검색

3T3-L1 세포는 mouse fibroblast인 3T3 세포에서 유래된 세포주로서 적절한 조건하에서 배양하면 adipocyte로 분화하는 성질을 가지고 있으며, 분화시 단백질들의 분비가 촉진되는 등 그 생물학적 특성이 잘 밝혀져 있어 지방세포의 대사과정은 물론 지방축적과 지방세포의 분화과정을 연구하는 모델로 많이 사용되고 있다. 따라서, 분화 촉진 인자들에 의해 분화된 3T3-L1 세포는 세포 내 지방이 축적되는 등 지방세포로서의 형태를 나타나게 된다.

세포 내 지방구 생성을 확인하기 위해, 지방적(lipid droplets)의 지방에 특이적으로 반응하는 Oil Red O 염색법을 수행하여 축적 중인 지방을 분석하였다. 3T3-L1 세포배양 중 각각 3, 6, 9일에 배양액 성분을 완전히 제거하기 위하여 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.0)로 2번 세정하고 0.6%의 Oil Red O 용액을 준비한 후 약 2시간 동안 염색하고, PBS로 3번 세정한 후 isopropanol 1.5 mL을 넣어 oil red를 용출시켜 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

다) 3T3-L1 cell에서 울금소재의 cytotoxicity 검토

울금의 주요 기능성 성분은 curcumin이다(Fig. 2-2). Curcumin은 노란색 색소로 향신료 및 색소 첨가제로 식품, 특히 카레 등에 널리 이용되고 있다. 지금까지 알려진 curcumin의

생리활성을 살펴보면 염증유발 단백질(interleukin-8)의 생성을 억제시켜 항염증 효과가 있다고 알려져 있을 뿐만 아니라 항암활성, 항산화 활성, 항균활성 및 혈압상승 억제효과 등이 있다고 보고되어 있다.

본 연구에서는 울금 추출물의 항비만능을 확인한 바 활성의 본체로 추정되는 curcumin을 대상으로 *in vitro*상에서 비만억제기작을 탐구하고자 하였다. 이를 위하여 3T3-L1 cell에서 curcumin의 안전범위를 확인하기 위하여 cytotoxicity test를 행하였다.

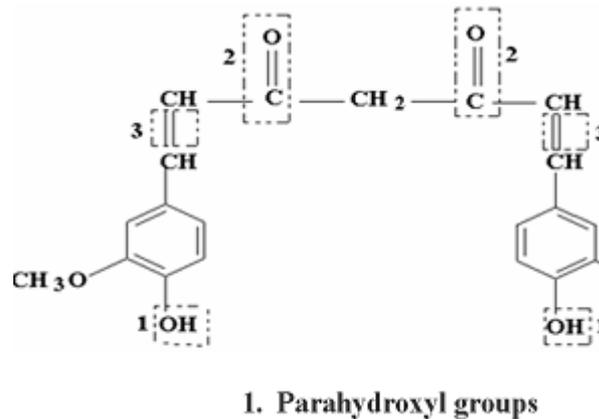


Fig. 2-2. Structure of curcumin.

라) 3T3-L1 cell에서 울금소재의 지방분화 억제능 검토

Curcumin의 *in vitro*상에서의 지방축적 억제도를 Oil red O assay법으로 측정하였다. 다양한 농도의 curcumin을 처리하고 9일 동안 지방분화를 유도한 후 0.5% Oil red O-isopropyl alcohol solution을 cell에 가하여 지방 droplet을 염색시켜 정량적으로 억제능을 계산한다.

마) *In vitro* 상에서 울금소재의 항비만 기작 검토

Curcumin의 비만억제효과에 대한 기작을 검토하기 위하여 3T3-L1 cell에서의 PPAR- γ , adiponectin, leptin 등의 biomarker에 대한 발현도를 확인하였다. PPAR- γ 는 ligand에 의해 활성화는 nuclear hormone receptor superfamily에 속하며 RXR(retinoid X receptor)- α 와 heterodimer를 이루어 표적 유전자의 프로모터를 인지하고 표적유전자의 발현을 조절한다. 표적 유전자로는 지방조직 특히 유전자로 밝혀진 aP2(fatty acid binding protein), leptin, C/EBP α 등이 있다. Leptin은 지방세포에서 분비되는 호르몬으로 식욕조절, 에너지 조절을 비롯하여 조절작용, 생식작용에 영향을 미친다. 음식 섭취시, leptin양이 증가하여 식욕이 억제되고, 절식 시에는 leptin양이 감소하여 식욕이 왕성하게 된다. 이러한 leptin은 체지방량과 밀접한 상관관계가 있으며 혈액 내 leptin의 농도를 유지하지 못할 때 에는 비만과 같은 질병이 유발된다. Adiponectin은 혈액 내 가장 풍부한 지방세포 호르몬으로 포도당과 지질대사를 향상시킴으로써 인슐린에 대한 반응성을 높여 당뇨 억제 기능을 한다.

12) 울금 메탄올추출물의 *in vitro* 상에서의 비만 억제효과

가) Oil red O 염색 및 정량

9일간 분화시킨 3T3-L1 지방세포에서 지방축적(lipid accumulation)에 미치는 울금 메탄올추출물의 효과를 알아보기 위해 Negrel 과 Dani의 방법에 따라 Oil Red O 염색을 실시하였다. 울금 메탄올추출물을 96시간 처리한 세포를 phosphate buffer saline(PBS)으로 세척한 다음 10% formaldehyde로 10분간 고정시켰다. 증류수로 세척하고 Oil Red O 염색용액으로 20분간 염색한 후 증류수로 세척한 다음 세포내 지방 축적을 관찰하였으며 ELISA reader (Molecular Devices, USA)를 사용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

나) Glucose uptake

분화된 3T3-L1 세포로 유입되어 지방 합성에 이용될 수 있는 glucose의 양을 측정하기 위해 2-NBDG를 이용하였다. 먼저 배지를 50 mM HEPES와 지방산이 포함되지 않은 우태혈청 알부민(essentially fatty acid free bovine serum albumin)을 함유한 신선한 DMEM에서 2-NBDG 농도를 동등하게 유지하고 울금 메탄올추출물을 처리하였다. 6시간 배양 후 세포내로 유입된 2-NBDG를 측정하기 위해 세포를 37°C에서 HEPES-buffered Kreb 용액(KR-H:NaCl 137 mM, CaCl₂·2H₂O 1.85 mM, MgSO₄·7H₂O 1.3 mM, KCl 4.8 mM, HEPES 50 mM)으로 세 번 세척하고 cell lysis buffer를 이용하여 세포 용출액을 수집하였다. 1,600 rpm에서 20분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 fluorescent를 측정하였다.

다) Glycerol release

처리시약이 분화된 지방세포의 지방 분해에 미치는 영향은 McGowan 등의 방법에 따라 배지내 glycerol 함량을 측정함으로써 조사하였다. 방출된 glycerol은 ATP의 존재 하에서 glycerol kinase에 의해 glycerol-1-phosphate로 전환되며 이는 glycerol phosphate oxidase에 의해 dihydroxyacetone phosphate와 hydrogen peroxide (H₂O₂)로 산화된다. 생성된 H₂O₂는 4-aminoantipyrine과 sodium N-ethyl-N-(3-sulfopropyl) m-anisidine 존재하에서 peroxidase에 의해 자주색을 띠는 quinoneimine로 전환된다. 따라서 생성된 quinoneimine에 의해 540 nm에서 흡광도의 증가는 배지 내에서 glycerol 농도 증가를 나타낸다. Glycerol 함량은 free glycerol을 표준시약으로 사용한 표준곡선을 작성함으로써 측정하였다.

라) Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

울금 메탄올추출물 처리에 따른 3종류의 lipid lipase(HSL; hormone sensitive lipase, LPL; lipoprotein lipase, ATGL; adipocyte triglyceride lipase)발현을 RT-PCR로 확인하였다. 울금 메탄올추출물을 6-well plate에서 9일간 분화시킨 3T3-L1 세포에 24, 48, 72, 96시간 처리한 후 0.25% trypsin-EDTA로 세포를 수집하여 RNeasy extraction kit로 제조사의 manual에 따라 total RNA를 추출하였다. cDNA의 합성을 위해 1 ug의 total RNA에 200 unit의 MLV-RT reverse transcriptase와 500 ng oligo-dT primer를 첨가하여 42°C에서 60분간 수행하였다. Real-Time PCR은 DyNAmoTMHS SYBR Green qPCR kit(Finnzymes, Finland)를 사용하여 시행하였다. 각각의 cDNA 1 μ l, forward primer(10 pmol/ μ l) 1 μ l, DyNAmoTMHS SYBR Green qPCR kit(Finnzymes, Finland) Premix(X2) 용액 10 μ l, 증류수 7 μ l를 혼합한 후 PTC-200 Peltier Thermal Cycle(MJ Reserch)를 사용하여 각각의 유전자 조건에 맞는 PCR

을 시행하였다. PCR을 위한 혼합액 최종농도는 2 ul의 cDNA, 1.25 unit의 Taq DNA polymerase, 0.2 mM dNTP, 10x reaction buffer, 1.5 mM MgCl₂, 10 pmol primers이 되도록 하였고 95°C에서 10분간 hot start 한 후 94°C에서 30초간, 55°C에서 1분, 72°C에서 30초간 35 cycling 으로 PCR을 수행한 후 마지막으로 72°C에서 10분간 polishing step을 거쳐 PCR product를 얻었다. Melting Curve 분석은 65°C에서 95°C사이에서 하였다. PCR 산물은 5 ul PCR product를 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 EtBr로 20분간 염색한 후 UV에서 band를 확인하여 NIH Image analyser로 발현량을 비교 분석하였다. 이때 GAPDH mRNA의 발현량을 기준으로 하여 백분율로 나타내었다. 각 primer는 Bioneer사(Korea)나 Geno Tech사(Korea)로부터 제작 구입한 것을 사용하였다.

13) 울금 메탄올추출물의 에틸아세테이트 분획의 *in vitro* 상에서의 비만 억제효과

울금 메탄올추출물의 에틸아세테이트 분획물의 *in vitro* 상에서의 비만 억제효과는 상기에 제시한 Oil red O 염색 및 정량, glucose uptake, glycerol release, RT-PCR 방법을 이용하여 측정하였다.

14) *In vivo* 알코올성 산화억제능 측정

8주 Swiss Wistar 웅성마우스를 일주일간 사육환경에 적응시킨 후 1군(일반식이 대조군), 2군(에탄올투여 대조군), 3군(에탄올 및 0.25 g/kg/day 저농도 울금 열수추출물 투여군) 및 4군(에탄올 및 1 g/kg/day 고농도 울금 열수추출물 투여군)으로 Table 2-1과 같이 분류하였다. 저농도 및 고농도 울금 열수추출물을 각 용량으로 각 군에 1주간 경구투여 하였다. 사육실의 온도는 23 ± 3°C, 상대습도 55 ± 15%, 환기횟수 10-20회/hr, 조명 cycle은 12시간 간격으로 하였으며 조도는 150-300 Lux로 조절하였고, 물과 식이는 자유급여하였다.

Table 2-1. *In vivo* design for alcohol-induced oxidative stress

1 군	일반식이군	대조군 (Saline)
2 군	에탄올 투여군	에탄올투여(50:50(w:w))
3 군	에탄올 투여 + 저농도 울금 열수추출물	에탄올 (50:50(w:w)) 및 0.25 g/kg/day 울금 열수추출물 (Saline)
4 군	에탄올 투여 + 고농도울금열수추출물	에탄올 (50:50(w:w)) 및 1 g/kg/day 울금 열수추출물 (Saline)

가) 체중변화 및 장기무게

일주간 실시되는 실험에서 사용된 모든 동물에 대하여 시험개시일부터 부검일까지 체중을 측정하였다. 시험 종료시 대조군 및 투여군의 모든 생존동물을 부검하였다. 장기의 중량은 습중량을 측정하였다.

나) 알코올성 산화억제능 측정

일주간 경구투여한 후 쥐를 치하사하여 채취한 혈액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리

한 후 혈청을 취득하여 울금 열수추출물의 알코올 투여에 의한 혈청 transeaminase(GOT), alanine transeaminase(GPT), alkaline phosphatase(ALP) 및 lactate dehydrogenase(LDH) 활성 상승에 대한 억제효과를 검토하였다.

다) 혈청 지질관련 인자들의 변화검토

일주간 경구투여한 후 쥐를 치하사하여 채취한 혈액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 혈청을 취득하여 울금 열수추출물의 알코올 투여에 의한 혈청 triglyceride(TG), total Cholesterol(T-CHO), high-density lipoprotein(HDL), low-density lipoprotein(LDL)과 같은 혈 중 생화학지표물질들을 측정하였다.

라) 울금 추출물의 항산화 효소에 미치는 영향

만성적 알코올 섭취시 그 분해과정은 cytochrome P450 효소, 특히 2E1이 주도적 역할을 하는 microsomal ethanol oxidizing system(MEOS)에의 의존도가 높다. 이 경우 필연적으로 superoxide anion radical, hydroxyl radical, hydroxy ethyl radical 등의 활성산소종을 생산하게 된다(Fig. 2-3). 이러한 활성산소종의 대부분은 간 내 존재하는 antioxidant (GSH 등) 또는 antioxidant enzyme (SOD 등)에 의해 소거되지만 잔존할 경우 간 손상의 주요 원인물질로 작용하기 때문에 인체 내 잔존도를 낮추는 것이 매우 중요하다.

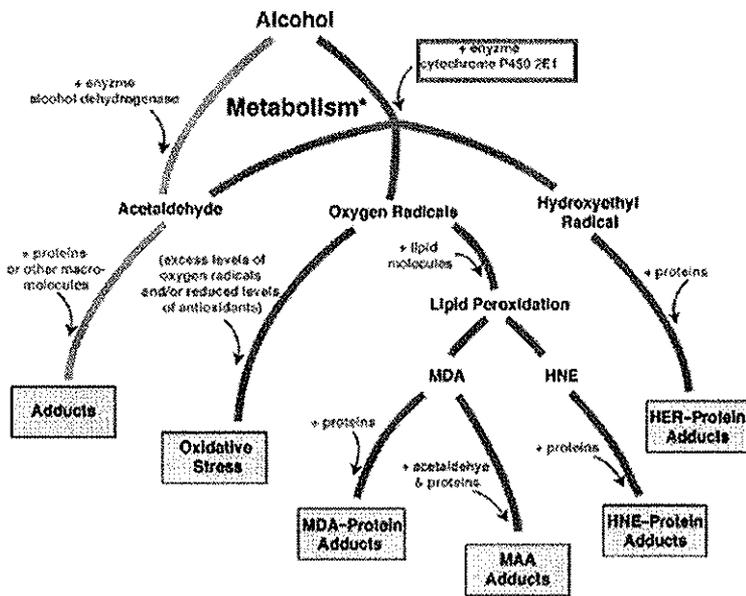


Fig. 2-3. Harmful byproducts resulting from alcohol metabolism.

본 연구에서는 마우스를 대상으로 알코올 처리 시 발생하는 산화적 손상에 대하여 울금 열수추출물에 의한 세포내 항산화 효소들의 변화를 확인하기 위하여 간에서의 CAT, SOD, GST 활성을 측정하였다.

마) 울금 추출물의 GSH 및 MDA 함량에 미치는 영향

(1) GSH 함량 측정

만성적 알코올 섭취는 간세포 손상을 야기시킨다. GSH는 생명체에 존재하는 주요 비단백 thiol로서 인체의 산화적 손상에 대한 방어체계에서 중요한 역할을 담당하며, 외부의 산화적 세포손상에 대한 방어작용을 나타내는 효소의 기질로 사용되며 세포내 지질과산화물과 이물질 제거, 아미노산 수송 및 저장 등 다양한 세포기능을 수행하는 중요한 물질이다. GSH 함량은 Tietze 의 방법으로 측정하였다.

(2) MDA 함량 측정

지질과산화는 체내 산화적 손상으로 인한 free radicals 생성의 증가 및 항산화 방어 능력의 감소로 인해 일어난다. 에탄올에 의해 유도된 지질과산화능은 간에서의 MDA양으로 측정되어진다. 지질과산화는 활성산소종들에 의해 매개된 기작으로서 여러 동물 및 인체실험들을 통하여 다양한 종류의 간 손상을 일으키는 것으로 알려져 왔다. 말론디알데히드(MDA)는 지질과산화 과정 중 생성되는 대표적 활성 알데히드이다. 지질과산화 정도는 malondealdehyde의 양을 thiobarbituric acid (TBA)로 비색정량 하는 방법을 이용하여 측정하였다.

바) Histological examination

각 군간의 간조직의 1/4을 24시간동안 10% 포르말린액에 고정하고, 3~5 μm 두께로 파라핀 조직절편을 제작한 후 hematoxylin & eosin 용액을 이용하여 간 조직의 형태학적 변화를 평가하였다. 대조군(1군), 에탄올 처리군(2군), 에탄올 + 저농도 울금 열수추출물 처리군(3군) 및 에탄올 + 고농도 울금 열수추출물 처리군(4군)의 조직학적 특성이 hematoxylin & eosin 방법에 의하여 검토되었다.

15) *In vivo* 비만억제능 측정

가) 마우스의 비만유도 및 울금메탄올추출물의 투여

10주 ICR 웅성마우스를 일주일간 사육환경에 적응시킨 후 1군(일반식이 대조군), 2군(고지방식이 대조군), 3군(고지방식이 및 0.25 g/kg/day 저농도울금메탄올추출물) 및 4군(고지방식이 및 1 g/kg/day 고농도울금메탄올추출물)으로 표 1과 같이 분류하였다.(Table 2-2) 2, 3, 4 군의 고지방식이 조성은 Table 2-3와 같다. 저농도 및 고농도 울금메탄올추출물(이하 CLM)을 각 용량으로 각 군에 3주간 경구투여 하였다.

Table 2-2. *In vivo* design for anti-obesity assay

1 군	일반식이군	일반식이 및 0 g/kg/day 울금메탄올추출물
2 군	고지방식이군	고지방식이 및 0 g/kg/day 울금메탄올추출물
3 군	고지방식이 + 저농도 울금메탄올추출물	고지방식이 및 0.25 g/kg/day 울금메탄올추출물
4 군	고지방식이 + 고농도 울금 메탄올추출물	고지방식이 및 1 g/kg/day 울금메탄올추출물

Table 2-3. Composition of high-fat diet

High fat ingredient	g/kg	kcal %
Casein	200	800
sucrose	172.8	691.2
Dextrose	100	400
Corn starch	72.8	291.2
Cellulose	50	0
soybean oil	25	225
Lard	177.5	1597.5
Mineral mix	45	0
Vitamin mix	10	40
L-cystine	3	12
Choline bitartrate	2	0
Cholesterol	4.3	0
	gram%	kcal%
Protein	23.3	19.7
Carbohydrate	40.3	34.1
Fat	23.6	45.9

Table 2-4. Feed consumption and Feeding efficiency ratio

Group	Number of mouse	Feed consumption	Feeding efficiency ratio
1군	10	5.89 ± 0.25	4.67 ± 0.37
2군	10	5.44 ± 0.53	7.19 ± 0.70 *
3군	10	3.93 ± 0.26 **	6.70 ± 0.77
4군	10	4.03 ± 0.15 [#]	9.07 ± 0.45 *

나) 마우스의 체중변화

실험동물의 몸무게는 경구투여 시작일과 경구투여 마지막일에 측정 하였다. 몸무게 증감(Weight gain; g)은 경구투여 마지막일에 측정한 몸무게에서 시작일의 몸무게를 제외하여 환산하였다.

다) 평균식이섭취량 및 식이효율

평균 식이 섭취량 및 식이효율(feeding efficiency ratio : FER)을 표 2-4에 나타냈다. 상기 식이효율은 하기의 식에 따라 계산하였다. 식이효율(%)= 체중증가량(g)/평균식이섭취량(g)×100

라) 혈청 중성지방 측정

3주간 경구투여한 후 쥐를 치하사하여 채취한 혈액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리

한 후 혈청을 취득하여 혈청 triglyceride(TG)를 측정하였다.

마) 마우스의 실험기간동안 혈청 총콜레스테롤, 고밀도지질단백질 및 저밀도지질단백질 측정

3주간 경구투여한 후 쥐를 치하사하여 채취한 혈액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 혈청을 취득하여 혈청 triglyceride (TG), total Cholesterol (T-CHO), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL)과 같은 혈중 생화학지표물질을 측정하였다.

바) 항비만 기작 검토

울금 추출물의 비만억제효과에 대한 기작을 검토하기 위하여 쥐 비만세포에서의 PPAR- γ 등의 biomarker에 대한 발현도를 확인하였다. PPAR- γ 는 ligand에 의해 활성화는 nuclear hormone receptor superfamily에 속하며 RXR(retinoid X receptor)- α 와 heterodimer를 이루어 표적 유전자의 프로모터를 인지하고 표적유전자의 발현을 조절한다. 표적 유전자로는 지방조직 특히 유전자로 밝혀진 aP2(fatty acid binding protein), leptin, C/EBP α 등이 있다.

16) *In vivo* 운동능력향상능 측정

가) 실험동물

3주 ICR 웅성마우스를 일주일간 사육환경에 적응시킨 후 1군(비운동대조군), 2군(운동대조군), 3군(울금 열수추출물+운동) 및 4군(울금 메탄올추출물+운동)으로 Table 2-5와 같이 나누었다. 시료는 매일 투여하였으며 매 3일마다 7 L/min의 유속에서 운동시키고 운동시간을 기록하였다. 체중과 식이섭취량은 매일 측정하였다.

Table 2-5. *In vivo* design for endurance exercise capacity

1 군	비운동대조군	일반식이 및 0 g/kg/day (10% Tween 80)
2 군	운동대조군	일반식이 및 0 g/kg/day (10% Tween 80)
3 군	울금 열수추출물 + 운동	일반식이 및 1g/kg/day 울금 열수추출물 (10% Tween 80)
4 군	울금 메탄올추출물 + 운동	일반식이 및 1g/kg/day 울금 메탄올추출물 (10% Tween 80)

나) 유속 pool 운동장치

운동능력향상효과를 검토하기 위하여 流水 pool 운동계를 사용하였다(Fig. 2-4). 이 pool은 acryl로 제작되었으며(90×45×45cm) 운동능력 측정 시에는 높이 35 cm까지 물을 채운 후 수온을 34°C로 유지시켰다. 운동부하는 물 표면의 유속으로 조절하였으며 표면유속은 전압 조절기가 연결되어있는 pump와 water flowmeter(type F45500, Blue white Co, Westminster, CA, USA)를 이용하여 물을 순환시키면서 7 L/min로 유지하면서 마우스의 지구적 유영운동능력을 측정하였다.

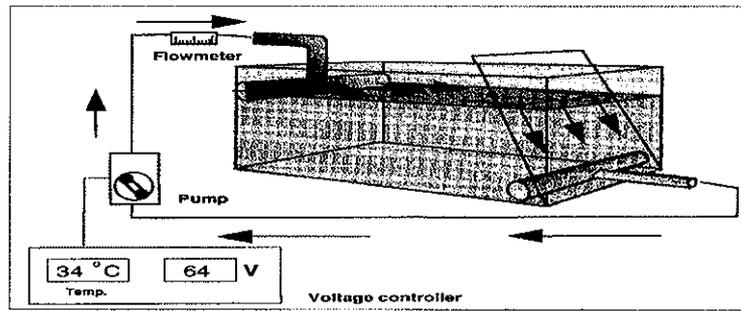


Fig. 2-4. 항피로 효과를 측정하기 위한 마우스용 지구력 측정 장치(流水 pool 운동 장치)

다) 운동능력향상능 측정 방법

본 실험 시작하기 1주간의 예비사육기간중 유속 7 L/min의 운동강도하에서 2번의 수영 운동시간을 측정 후 평균 수영시간이 같도록 대조군/시료 투여군을 나누었다. 마우스는 항피로 운동실험 12시간 전부터 금식시키고, 피로 운동 시행 2시간 전 시료(1 g/kg/day)를 경구투여한다. 모든 수영운동능력 측정시각은 오후 1시부터 5시까지 실시하며, 수영운동시간은 최대 신체적 한계치까지의 수영시간을 측정하였다. 또한 수영운동시간의 한계치는 마우스가 더 이상 수영을 못하는 시점까지로 정하며, 이는 마우스가 물속에 빠져 7초가 경과할 때까지 물 표면으로 올라오지 못하는 상태를 육안으로 확인하여, 수영시작 후 이 시점까지를 수영운동시간으로 설정하여 항피로 활성을 측정하였다.

라) 운동성 산화 스트레스 관련 기작연구

과도한 운동은 인체 내 각종 활성산소종을 생산하게 된다. 이러한 활성산소종은 인체 내 여러 항산화계의 작용에 의해 소거되어지나 작용범위 이상의 자유 라디칼이 존재할 경우 이것은 운동능력을 저하시킬 수 있는 원인으로 작용할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 운동능력향상능이 확인된 울금 열수추출물 투여군을 대상으로 지구적 운동 후 sacrifice시켜 간을 적출하고 catalase, SOD 및 GST 등의 항산화 효소활성을 측정함으로써 산화적 스트레스의 억제에 의한 운동능력향상 기작에 대하여 연구하였다.

(1) Catalase

카탈라제 활성은 Aebi 등의 spectrophotometric method 로 분석하였다. 96 well plate 를 준비하고, 조직액 10 μ L에 20 mM H_2O_2 용액 290 μ L를 첨가 하여 microplate reader의 kinetic method를 이용하여 3분간 240 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 카탈라아제 효소의 활성은 U/mg protein으로 환산하였다.

(2) SOD (Superoxide Dismutase)

Superoxide Dismutase 활성은 Ukeda 등의 spectrophotometric method로 분석하였다. 96 well plate를 준비하고, sample과 blank 2 각 well에 sample 20 μ L 씩 분주하고 blank1과 blank 3 각 well에 ddH₂O 20 μ L 씩 분주한다. 위의 모든 well에 WST-1 용액 (1-(4-indophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)- 2H-tetrazolium, monosodium

salt)를 200 μL 씩 분주한 뒤, blank 2와 3에 buffer 20 μL 씩 분주하고 sample과 blank 1에 xanthine oxidase 용액을 20 μL 씩 첨가하여 plate mix한 후, 37°C 에서 20분 반응시키고 450 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 『superoxide anion radical inhibition rate (%) = $\{[(A_{\text{blank } 1} - A_{\text{blank } 3}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank } 2})] / (A_{\text{blank } 1} - A_{\text{blank } 3})\} \times 100$ 』의 계산식을 활용하여 %로 계산하고, SOD 효소활성은 상용화된 SOD 를 0, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 U/mL 농도로 작성된 표준곡선을 작성하여 U/mg protein으로 환산하였다.

(3) Glutathione-S-Transferase (GST)

GST 활성은 Habig 등의 spectrophotometric method 로 분석하였다. 96 well plate를 준비하고, Dulbecco's Phosphate Buffered Saline 196 μL 와 200 mM reduced glutathione 2 μL , 100 mM CDNB 용액 2 μL 을 혼합한 기질액을 준비하였다. 조직액 20 μL 에 기질액 180 μL 를 첨가하여 5분간 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. GST 효소활성은 U/mg protein으로 계산하였다.

17) *In vivo* 상에서 울금 추출물의 독성평가

가) 실험동물의 사육

30 g 전·후의 총 40마리의 수컷 mouse를 구입한 후 일주일간 조명시간을 아침 7시부터 저녁 7시까지 12시간으로, 실내온도 및 습도는 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, $55 \pm 15\%$ 로 조절된 사육실에 사육하였다. 실험동물은 7일간 본 사육환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 사료는 고품사료(삼양사료), 급수는 수돗물을 사용하였으며 사료와 급수는 제한하지 않았다.

나) 투여용량 및 투여방법

울금열수추출물, 울금메탄올추출물 0, 50, 100, 250, 500, 1,000 mg/kg/day를 corn oil에 녹여 21일간 매일 경구투여 하였다.

다) 일반증상관찰 및 생존율

실험기간동안 1일 1회씩 일반증상 및 사망의 유무에 관하여 관찰·기록하였고, 생존율은 실험완료 후 각 군에서 사망한 개체수를 생존한 개체수로 나누어 백분율로 환산하였다.

18) 울금 지표성분 분석 및 유효성분 추정

가) HPLC 에 의한 분석

Curcumin의 HPLC의 최적 분석조건을 검토하기 위하여 표준품으로 Wako사의 curcumin을 사용하여 280 nm에서 분석조건을 검토하였다. Curcumin 분석은 시료에 메탄올 100 mL을 넣고 1시간 초음파추출 후 여과하여 시료용액으로 사용하였다. 전처리를 거친 시료는 HPLC를 이용하여 분석하였다. HPLC 분석조건은 다음과 같다.

Table 2-6. HPLC condition

Item	Condition
Instrument	Spectra Physics 4000, USA
Column	Cosmosil C ₁₈
Mobile phase	CH ₃ CN:H ₂ O
Flow rate	1.0 mL/min
Oven temp	30°C

나) Curcumin 함량 계산

동결건조된 시료 0.3 g에 CH₃OH 100 mL을 넣고 60분 동안 초음파 추출 후 시료로 사용하였다. 표준 시료로는 Wako 사의 curcumin을 이용하여 분석하였으며 curcumin 함량 (mg/g)은 다음 계산식에 의해 계산하였다.

$$\frac{\text{standard 농도} \times \text{sample area (mAbs*s)}}{\text{시료농도} \times \text{standard area (mAbs*s)}}$$

제 2 항 결 과

가. 울금추출물의 수율 및 생리활성 측정

1) 울금 추출물의 수율

울금을 대상으로 냉수, 열수, 80% ethanol 및 methanol 용매별 추출물의 수율을 확인한 결과 열수 추출물에서 가장 높았으며(18.7%), 에탄올 추출물(12.5%), 열수 추출물(10.5%), 메탄올 추출물(9.9%)의 순이었다(Table 2-7). 추출수율이 갖는 의미는 아무리 천연추출물의 기능성이 높게 인정된다 하더라도 추출 수율이 낮으면 경제성이 없기 때문이며 이러한 관점에서 현재 국내에서 산업적으로 생산 사용되는 탈지미강 추출물의 추출 수율이 7-10%인 것으로 보아 본 실험에 사용된 울금은 추출 수율면에서 활용 가능성이 있는 소재로 사료된다.

Table 2-7. Yields of various extracts

Extract	Cold Extract	Hot Extract	EtOH Extract	MeOH Extract
Yield (%)	10.5±0.9	18.7±0.6	12.5±0.04	9.9±0.04

2) 총 플라보노이드 함량

각 추출물의 총 플라보노이드는 메탄올 추출물이 가장 많은 양을 함유하고 있었으며 냉수 및 열수 추출물에서는 상대적으로 적은 양이 검출되었다(Fig. 2-5).

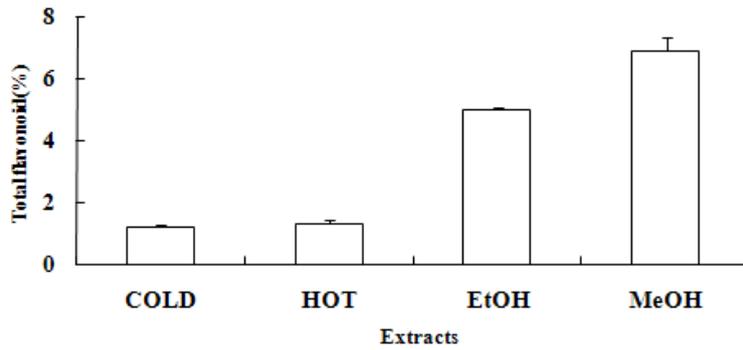


Fig. 2-5. Flavonoid levels of various extracts from *Curcuma longa* L.

3) 지질과산화 억제능

울금 추출물을 대상으로 Fe^{2+} 나 thiocyanate에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 억제활성을 TBA(thiobarbituric acid)로 발색시켜 측정한다. 결과 에탄올 및 메탄올 추출물에서 높은 지질과산화 억제능을 보였다(Fig. 2-6).

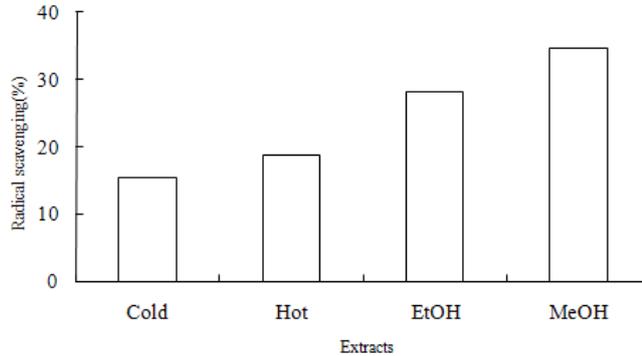
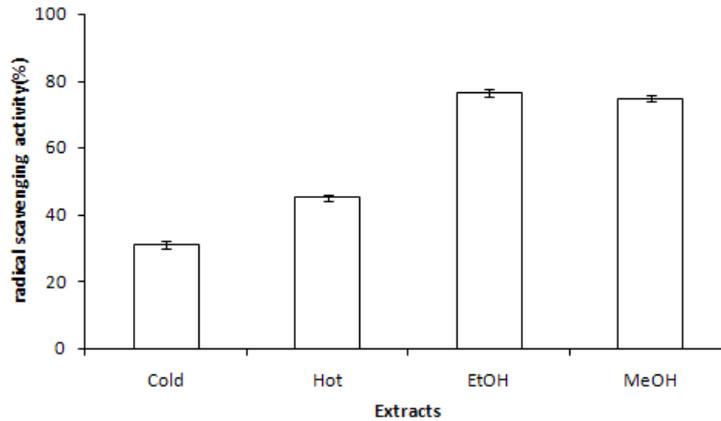


Fig. 2-6. Lipid peroxidation inhibitory activities of various extracts from *Curcuma longa* L.

4) ABTS 라디칼 소거능

ABTS는 비교적 안정한 free radical로서 DPPH 방법과 함께 항산화활성을 검색하는데 많이 이용되고 있다. 또한, lipophilic 또는 hydrophilic 항산화물질의 측정에 적용 가능한 방법으로 이 방법에 의한 항산화활성은 ABTS 라디칼을 억제하거나 소거하는 것에 의해 이루어진다. 울금의 ABTS 라디칼 소거활성은 Fig. 2-7과 같았다.



2-7. ABTS radical scavenging activities of various extracts from *Curcuma longa* L.

5) Alpha-amylase 억제능

소장에서 음식물 중의 전분은 α -amylase에 의하여 포도당과 같은 단당으로 분해되어 흡수된다. 따라서 소장의 α -amylase를 저해함으로써 포도당의 흡수를 지연시켜 비만, 당뇨 등을 예방할 수 있다. 근래에 α -amylase 저해제에 대한 관심이 높아지면서 천연물에서 그 저해제를 찾고자 하는 연구가 많이 진행되고 있다. 그 결과 양성대조군인 acarbose는 32%의 저해율을 보이는데, 에탄올 및 메탄올 용매를 사용한 울금 추출물의 경우 32% 이상의 저해율을 보였다(Fig. 2-4). 이는 천연물에서 기원한 α -amylase 저해제로써 활용가능성이 있음을 제시한 결과이다.

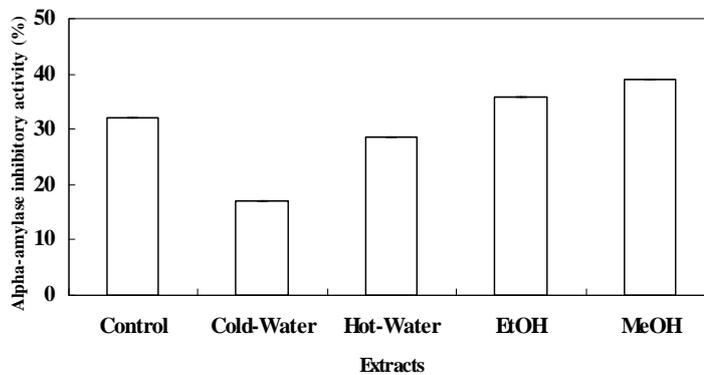


Fig. 2-8. Alpha-amylase inhibitory activities of various extracts from *Curcuma longa* L.

나. 울금 추출물 대상 HepG2/2E1 세포계에서의 알코올성 산화 억제 효과 측정

1) 울금 추출물 대상 HepG2/2E1 세포에서의 cytotoxicity 검토

각 추출물을 final 0.1-0.001 mg/mL의 농도로 알코올 산화억제능실험이 진행되는 기간과 동일한 5일간 배양한 결과 0.1 mg/mL에서는 각 획분이 모두 독성을 나타내어 cell viability가 60% 이하였으나 0.01-0.001 mg/mL의 농도에서는 거의 세포독성을 보이지 않았으며, 특히 열수와 냉수 추출물의 경우, 0.05 mg/mL에서도 세포독성을 보이지 않았다(Fig. 2-9).

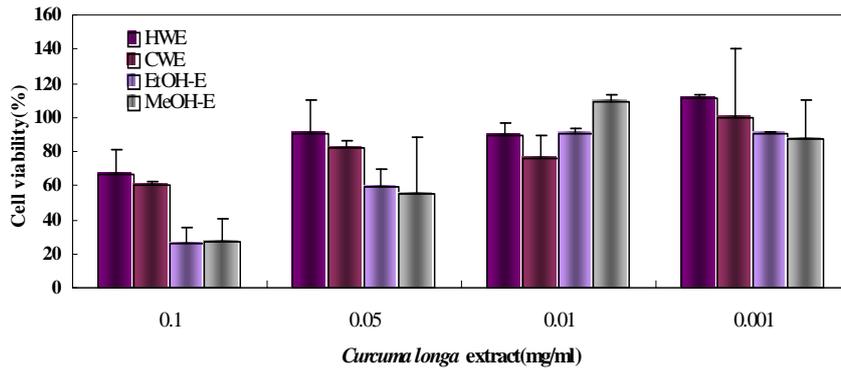


Fig. 2-9. Cytotoxicity of *Curcuma longa* L. extracts in HepG2/2E1 cell for 5-day incubation. HWE(hot water extract), CWE(cold water extract), EtOH-E (ethanol extract), and MeOH-E(Methanol extract).

2) 울금 추출물의 알코올성 산화억제능 검색

상기의 독성테스트를 바탕으로 안전성이 확인된 농도범위인 0.05-0.001 mg/mL에서 각 추출물의 산화억제능을 측정하였다. 그 결과 0.025 mg/mL에서 열수추출물이 가장 높은 산화억제능을 나타내었다(Fig. 2-10).

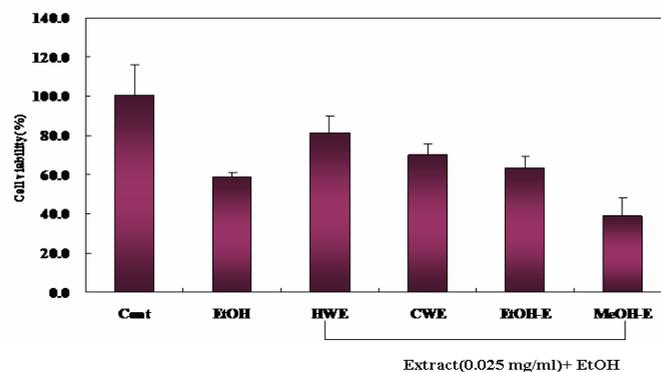


Fig. 2-10. Protective effect of hot water extract on cell viability against CYP2E1-mediated damage for 5-day incubation.

다. 울금 열수추출물의 농도별 산화억제능 검토

1) 울금 열수추출물의 농도별 산화억제능 검토

0.01-0.05 mg/mL의 농도에서 알코올을 첨가하지 않은 control군에서 세포독성은 나타나지 않았으며 산화억제능은 0.01-0.025 mg/mL에서 가장 효과적으로 나타났다 (Fig. 2-11).

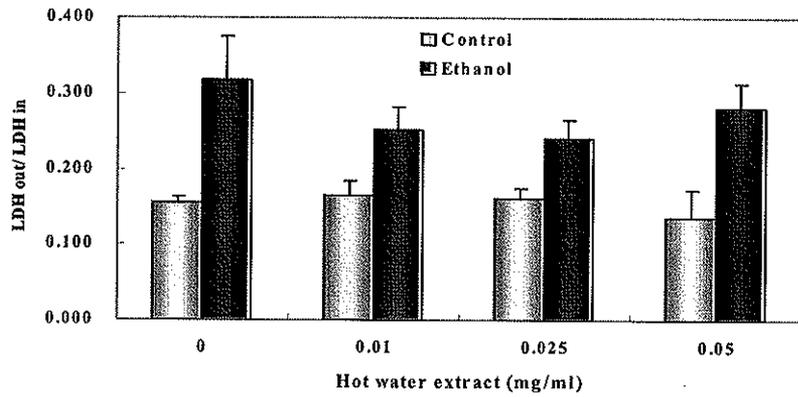


Fig. 2-11. LDH leakage against CYP2E1-mediated damage.

2) 울금 열수추출물의 HepG2/2E1 cell에서의 morphology 변화

현미경 하에서 울금 열수추출물(0.025 mg/mL)의 morphology 변화를 관찰하였다. Fig. 2-12에서 보는 바와 같이, 에탄올만이 처리된 HepG2 2E1군에서는 많은 세포들이 detach되었으며 상당히 부풀어 있는 상태였다. 그러나 울금 열수추출물 처리시 상기의 변화들이 유의적으로 감소됨을 알 수 있었다.

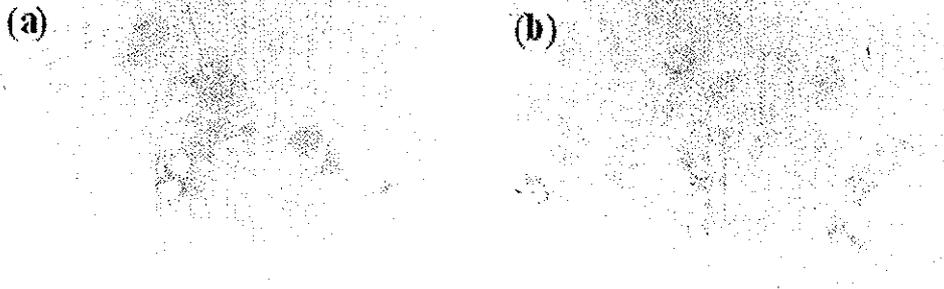


Fig. 2-12. Morphology of HepG2/2E1 cells treated with hot water extract from *Curcuma longa* L.

라. 울금 열수추출물의 In vitro 상에서의 산화적 스트레스 억제 효과 측정

1) 울금 열수추출물의 농도별 glutathione 함량 측정

본 실험에서, 알코올을 처리한 세포에서의 GSH양은 유의적으로 낮아졌으며, 울금 열수추출물처리군에서는 농도유의적으로 GSH양이 증가함으로써 울금열수추출물의 항산화능을 확인할 수 있었다(Fig. 2-13). 본 결과로 앞서 진행된 알코올 산화억제능이 울금의 항산화능에 의한 것으로 예측되었다.

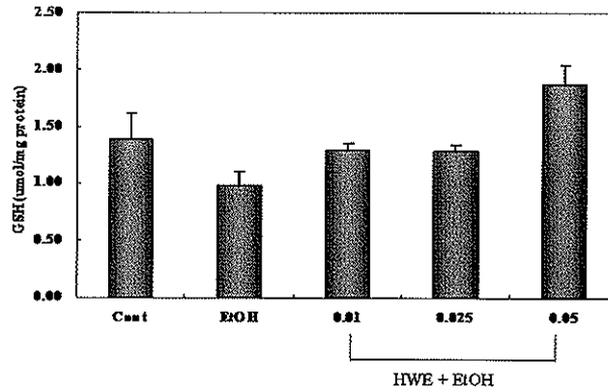


Fig. 2-13. Effect of hot water extract on total GSH content.

2) 울금 열수추출물의 농도별 catalase 활성 측정

상기의 total GSH의 결과와 같이, 알코올 첨가군의 catalase activity는 유의적으로 감소하였으며, 울금 열수추출물의 catalase activity는 control군과 유사하거나 dramatic 하게 증가함으로써, 울금 열수추출물의 항산화능을 증명하였다(Fig. 2-14). 특히 0.05 mg/mL의 열수추출물 첨가시 세포내 catalase activity가 control군 이상으로 dramatically 향상됨으로써 앞서 진행된 GSH 테스트와 일치하는 결과를 확인하였다.

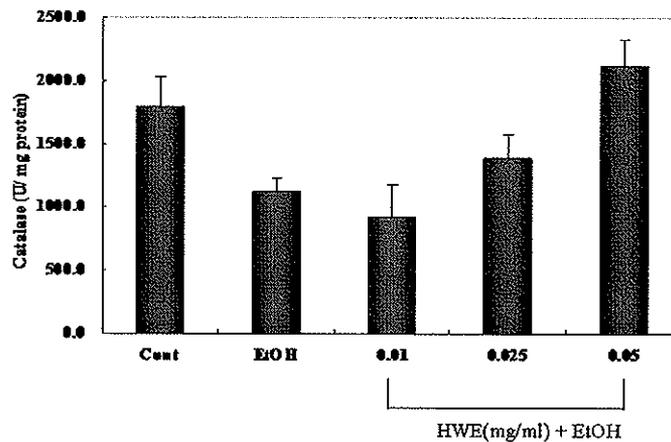


Fig. 2-14. Effect of hot water extract on catalase activity.

3) 울금 열수추출물의 농도별 glutathione-S-transferase 활성 측정

200 mM ethanol을 24시간 처리했을 때 control 군에 비하여 낮아지는 경향을 보였으며, 0.025 및 0.05 mg/mL 추출물 농도에서 control과 동일하거나 향상되는 결과를 보였다(Fig. 2-15).

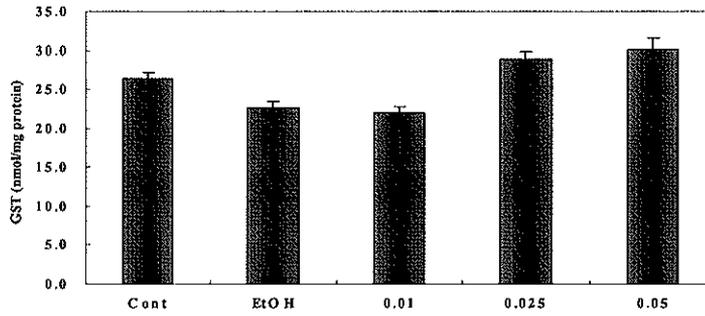


Fig. 2-15. Effect of hot water extract on glutathione-S-transferase activity.

4) 울금 열수추출물의 농도별 superoxide dismutase 활성 측정

알코올 처리군에서의 superoxide dismutase의 활성은 유의적으로 저하되지 않았으나, 0.05 mg/mL 추출물 처리군에서 다소 향상됨을 보였다(Fig. 2-16).

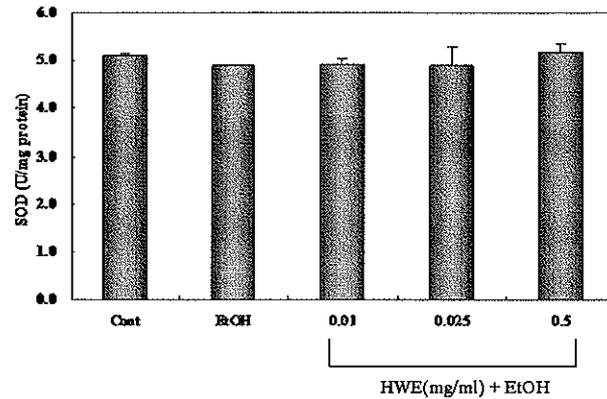
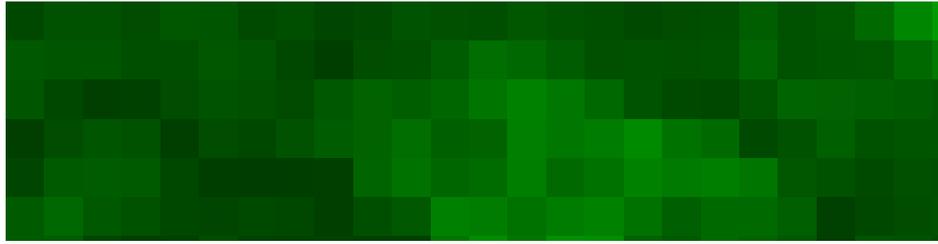


Fig. 2-16. Effect of hot water extract on superoxide dismutase activity.

5) 울금 열수추출물의 ROS level에 대한 효과

Control에 비해 알코올 처리군은 매우 높은 형광발광을 보였으며, 0.025 mg/mL 열수추출물 처리군은 ROS의 발생이 dramatic하게 낮아짐을 확인하였다(Fig. 2-17). 알코올로 야기되는 세포독성은 ROS 생성 증가에 의한 것이라고 알려져 있으며, 이러한 ROS 생성의 증가는 알코올 유도 CYP2E1에 의한 간손상의 주요 경로이다. 그러므로 울금 추출물은 이러한 알코올 유도 CYP2E1에 의해 발생되는 ROS를 억제한다고 생각되며, 이는 상기 실험에서 확인된 항산화효소계의 상승과도 일치한다고 볼 수 있다.



Control Ethanol (100 mM) Hot water extract

Fig. 2-17. Decreased ROS production by hot water extract (0.025 mg/mL conc.). (Confocal image, x 200)

마. 울금 열수추출물의 분리 획분별 알코올성 산화억제능 검토

1) 울금 열수추출물의 분리 획분별 알코올성 산화억제능

그 결과 chloroform 층에서 높은 알코올 산화억제능을 나타내었다 (Fig. 2-18).

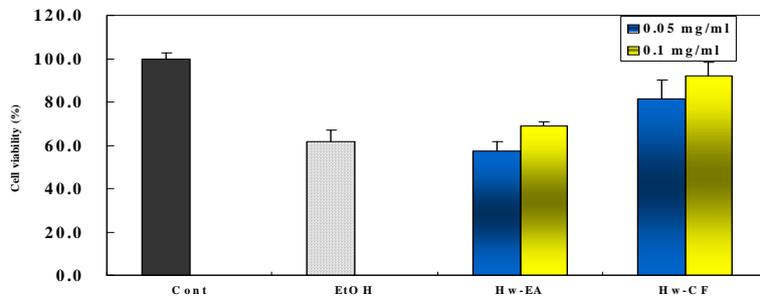


Fig. 2-18. Protective effect by HW-EA (Ethylacetate Solubles) and HW-CF (Chloroform Solubles) from partitioning fractionation against alcohol-induced damages.

2) 울금 열수추출물의 클로로포름 분획의 ROS level에 대한 효과

Intercellular ROS level을 측정한 결과 CLH-C를 전처리함에 따라 intercellular ROS level이 낮게 나타났으며, 이는 CLH-C가 세포내의 ROS 형성에 영향을 주어 그 양을 감소시킴을 확인하여 주는 것이다(Fig. 2-19).

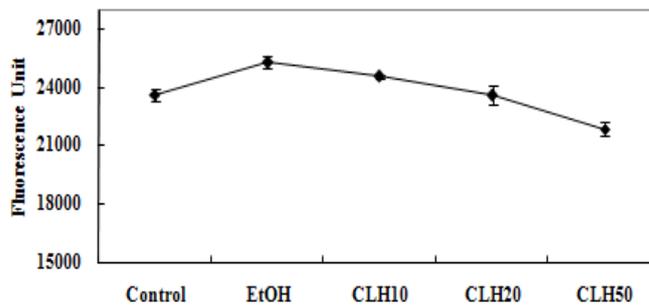


Fig. 2-19. Decreased ROS production by hot water extract (0.025 mg/mL conc.).

바. 울금 및 울금소재의 *In vitro* 상에서의 비만 억제 효과 측정

1) 3T3-L1 cell을 이용한 울금 추출물의 cytotoxicity 검토

모든 추출물에서 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도까지는 독성이 나타나지 않았으며, 세포의 현미경적 관찰에도 대조군에 비해 큰 차이를 발견하지 못했다. 냉수 및 열수의 경우 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서부터 약 80% 정도 성장이 억제됨을 알 수 있었다. 따라서 향후 실험을 위한 적정 농도는 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 사용하기로 하였다.

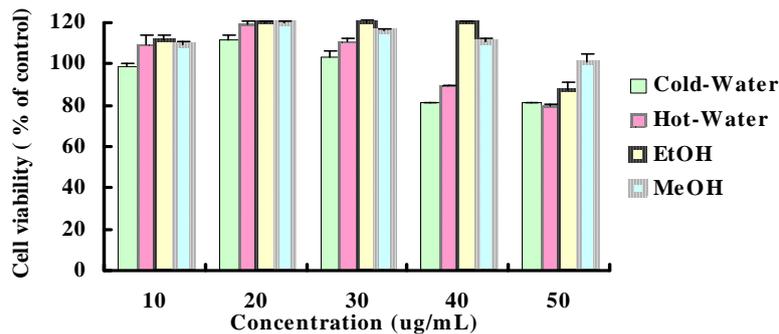


Fig. 2-20. Cytotoxicities of *Curcuma longa* L. extracts in 3T3-L1 cells.

2) *In vitro* 상에서의 지방분화 억제능 검색

그 결과 메탄올 추출물에서 대조군 대비 유의적으로 지방분화가 억제됨을 알 수 있었다(Fig. 2-21). 그러나 열수 및 냉수 추출물에서는 비만억제효과가 거의 없는 것으로 나타났다.

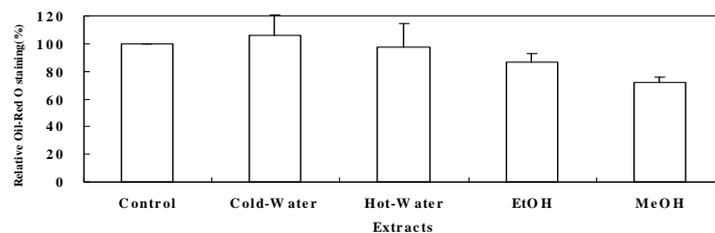


Fig. 2-21. Anti-obesity activities of *Curcuma longa* L. extracts in 3T3-L1 cells.

3) 3T3-L1 cell에서 울금소재의 cytotoxicity 검토

그 결과, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리한 세포군에서는 대조군과 비교하여 cell viability에서 유의적 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2-22). 그러나 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 처리하였을 때는 15% 이상의 cell death가 발생함을 관찰하였다. 따라서 curcumin은 3T3-L1 cell에서는 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도까지가 안전역임을 확인 할 수 있었다.

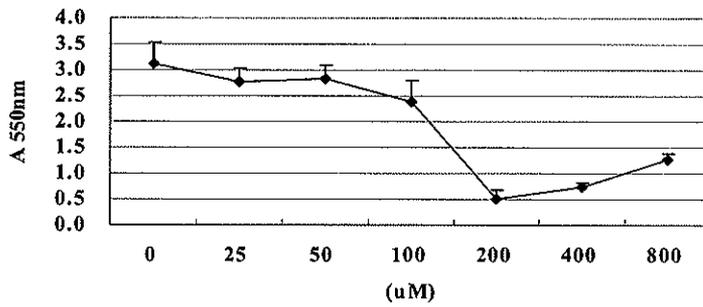


Fig. 2-22. Cytotoxicity of curcumin on 3T3-L1 cells.

4) 3T3-L1 cell에서 울금소재의 지방분화 억제능 검토

Curcumin의 농도를 1, 10, 25, 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 각각 처리한 후 지방분화 억제도를 검토한 결과, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 대조구와 비교하여 억제효과를 나타내지 않았다(Fig. 2-23). 그러나 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도부터는 지방 축적도가 급격히 감소됨을 알 수 있었다. 따라서 curcumin은 항비만 효과가 탁월한 소재임을 확인하였다.

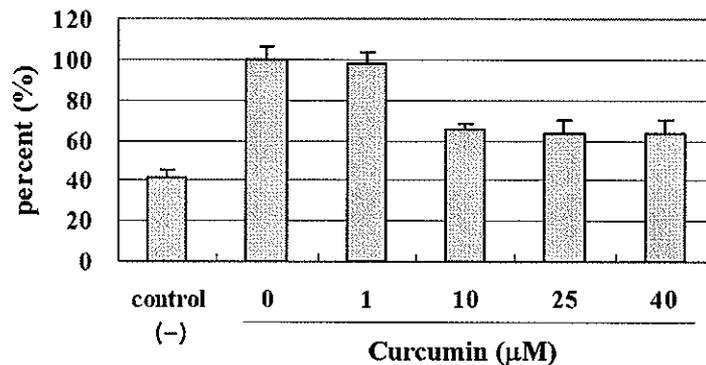


Fig. 2-23. Anti-obesity activities of curcumin in 3T3-L1 cells.

5) *In vitro* 상에서 울금소재의 항비만 기작 검토

그림 19에서 보는 바와 같이, 25 μM 의 시료 처리 후 3일 동안 분화시킨 cell에서는 PPAR- γ 및 adiponectin의 발현이 억제됨을 알 수 있었다. 그러나 저농도(1, 10 μM)의 curcumin에서는 비만관련 호르몬들의 변화가 나타나지 않았다.

Curcumin의 late-stage에서의 비만억제 기작 관여 여부를 확인하기 위하여 상기에 기술된 동일 농도의 curcumin을 3T3-L1 cell에 처리하고 9일간 지방분화를 유도하였다. Early-stage에서의 효과와 유사하게 1 및 10 μM curcumin 처리시 PPAR- γ , adiponectin, leptin의 발현에 어떠한 영향도 미치지 않았다(Fig. 2-24, 2-25). 그러나 25 μM 의 curcumin이

처리된 cell에서는 PPAR- γ 와 adiponectin의 발현이 확연히 감소됨을 알 수 있었다.

두 결과를 종합하면, early- 및 post-differentiation stage에서 leptin을 제외한 비만관련 인자들이 25 μ M curcumin 처리에 의하여 유의적으로 감소되었다. 이러한 결과로부터, 3T3-L1 cell에서 curcumin의 항비만 효과는 early-differentiation stage에서의 PPAR- γ 및 adiponectin의 발현을 억제함으로써 나타나는 것으로 추정할 수 있다.

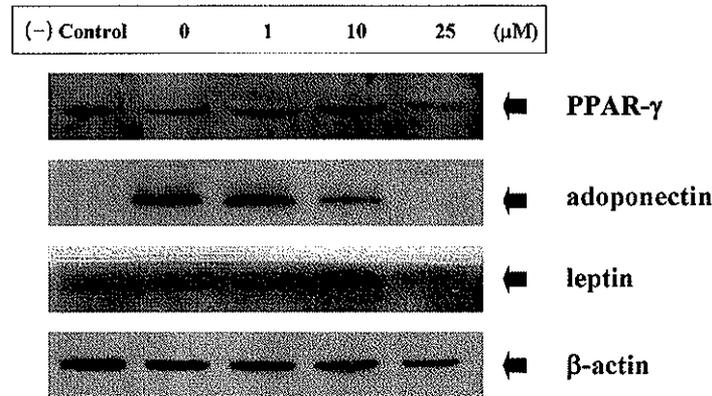


Fig. 2-24. Expression of PPAR- γ , adiponectin and leptin in 3T3-L1 cells after 3 day differentiation.

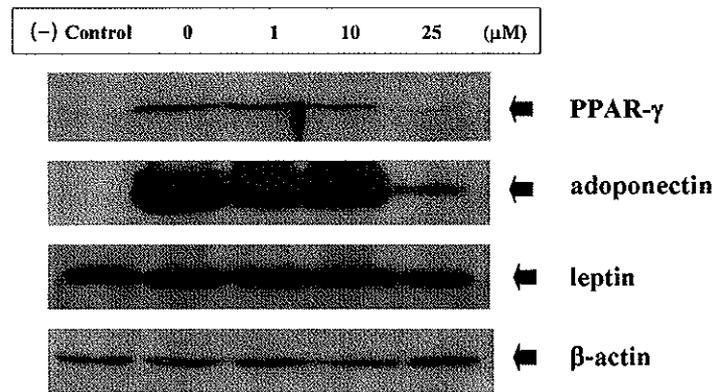


Fig. 2-25. Expression of PPAR- γ , adiponectin and leptin in 3T3-L1 cells after 9 day differentiation.

사. 울금 메탄올추출물의 *In vitro* 상에서의 비만 억제 효과 측정

1) Oil red O 염색 및 정량

9일간 분화시킨 3T3-L1 지방세포에서 지방축적(lipid accumulation)에 미치는 울금 메탄올추출물의 효과를 알아보기 위해 Oil Red O 염색을 실시하였다. 그 결과 분화된 control(B)과 비교하여 울금 메탄올추출물을 15, 20 μ g/mL 처리한 군에서 지방세포의 분화가 유의적으로 억제된 것을 보였다. 지방축적의 경우 72시간 울금메탄올 처리군이 유의적으로 감소하는 것을 보였다(Fig. 2-26, 27).

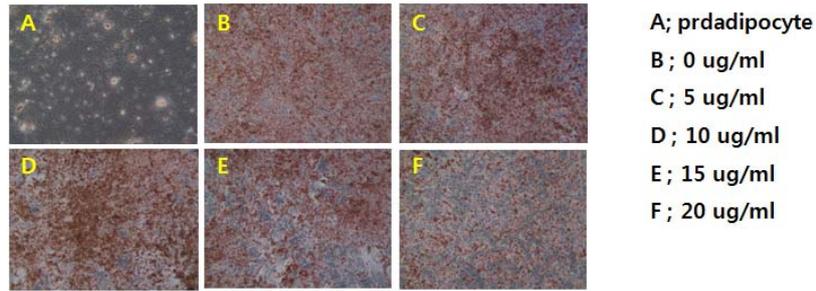


Fig. 2-26. Oil red O staining in 3T3-L1 adipocytes

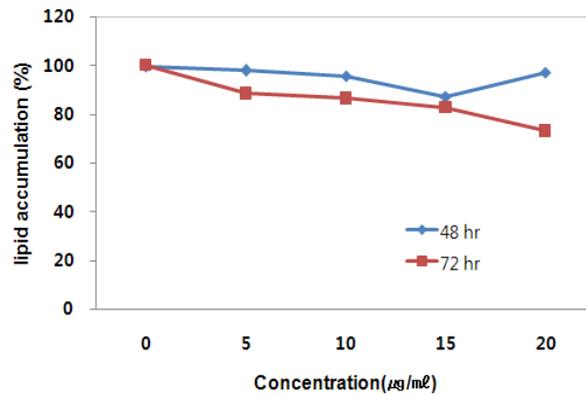


Fig. 2-27. Lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes

2) Triglyceride 측정

9일간 분화시킨 3T3-L1 지방세포에서 지방축적(lipid accumulation)의 생화학적 지표로 세포내의 TG량을 측정하였다. 그 15, 20 $\mu\text{g/ml}$ 울금메탄올추출물을 처리한 군에서 억제 효과가 나타났으며 20 $\mu\text{g/ml}$ 의 경우 control 군과 비교하여 15% 억제됨을 보였다.

3) Glucose uptake 측정

분화된 3T3-L1 세포로 유입되어 지방 합성에 이용될 수 있는 glucose의 양을 측정하였다. 그 결과 울금메탄올추출물을 15, 20 $\mu\text{g/ml}$ 처리한 군에서 유의적으로 glucose 함량이 감소하였음을 보여주었다(Fig. 2-28).

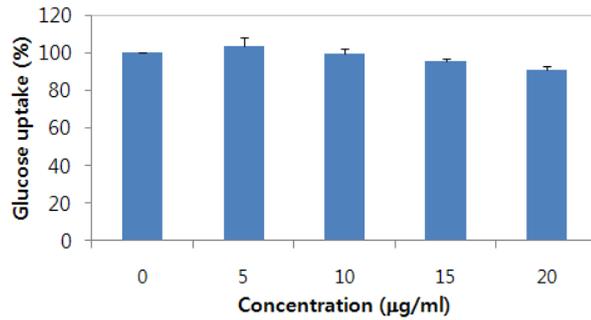


Fig. 2-28. Glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes

4) Glycerol release 측정

울금 메탄올추출물이 분화된 지방세포의 지방 분해에 미치는 영향을 배지내 glycerol 함량을 측정함으로써 조사하였다. control 군과 비교하여 48, 72시간 처리한 시료군에서 유의적인 증가를 나타내었다(Fig. 2-29).

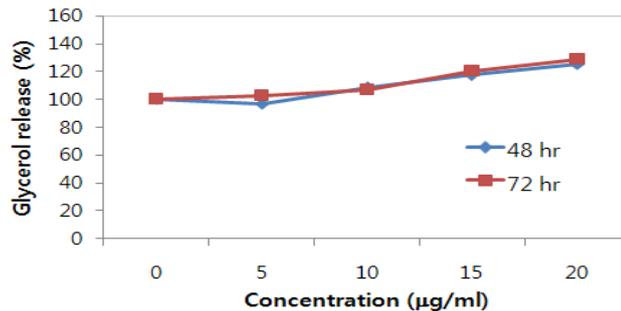


Fig. 2-29. Glycerol release in 3T3-L1 adipocytes

5) Real-Time Polymerase Chain Reaction(RT-PCR) 측정

울금 메탄올추출물 처리에 따른 3종류의 lipid lipase(HSL; hormone sensitive lipase, LPL; lipoprotein lipase, ATGL; adipocyte triglyceride lipase)발현을 RT-PCR로 확인하였다. 그 결과 control 군과 비교하여 HSL과 ATGL에서 유의적인 증가를 보였으며 LPL은 크게 발현되지 않았다(Fig. 2-30).

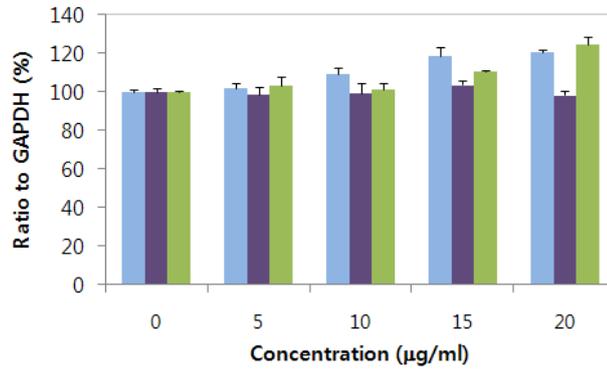


Fig. 2-30. RT-PCR determination in 3T3-L1 adipocytes

아. 울금 메탄올추출물의 분획 에틸아세테이트에서 In vitro 상에서의 비만 억제 효과 측정

1) Oil red O 염색 및 정량

9일간 분화시킨 3T3-L1 지방세포에서 지방축적(lipid accumulation)에 미치는 울금 메탄올추출물의 분획 에틸아세테이트에서의 효과를 알아보기 위해 Oil Red O 염색을 실시하였다. 그 결과 분화된 control(B)과 비교하여 울금 메탄올추출물의 분획 에틸아세테이트에서 15, 20 µg/mL 처리한 군에서 지방세포의 분화가 유의적으로 억제된 것을 보였다. 지방축적의 경우 72시간 처리군이 유의적으로 감소하는 것을 보였다(Fig. 2-31).

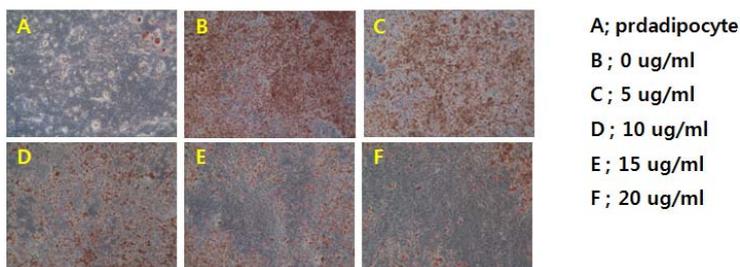


Fig. 2-31. Oil red O staining in 3T3-L1 adipocytes

2) Triglyceride 측정

9일간 분화시킨 3T3-L1 지방세포에서 지방축적(lipid accumulation)의 생화학적 지표로 세포내의 TG량을 측정하였다. 그 15, 20 µg/mL 울금 메탄올추출물의 분획 에틸아세테이트를 처리한 군에서 억제 효과가 나타났으며 20 µg/mL의 경우 control 군과 비교하여 32% 억제됨을 보였다(Fig. 2-32).

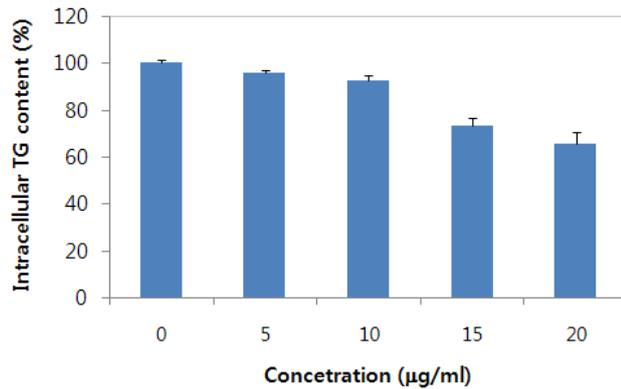


Fig. 2-32. TG content in 3T3-L1 adipocytes

3) Glucose uptake 측정

분화된 3T3-L1 세포로 유입되어 지방 합성에 이용될 수 있는 glucose의 양을 측정하였다. 그 결과 울금 메탄올추출물의 분획 에틸아세테이트를 15, 20 µg/mL 처리한 군에서 유의적으로 glucose 함량이 감소하였음을 보여주었다(Fig. 2-33).

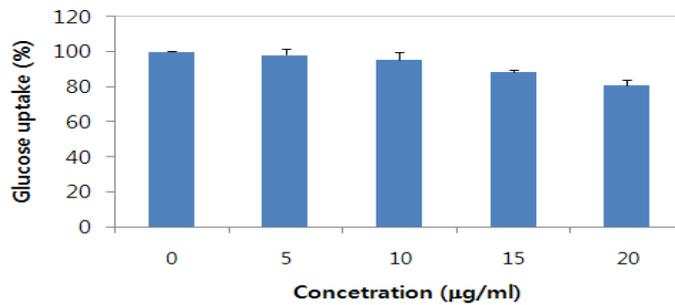


Fig. 2-33. Glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes

4) Glycerol release 측정

울금 메탄올추출물의 분획 에틸아세테이트가 분화된 지방세포의 지방 분해에 미치는 영향을 배지내 glycerol 함량을 측정함으로써 조사하였다. 위 실험(아-3)) 결과 glucose uptake가 20%감소되는 것을 보였는데 glycerol release가 50% 증가하는 것으로 보아 지방세포의 지방분해(lipolysis)가 많이 된 것으로 여겨진다(Fig. 2-34).

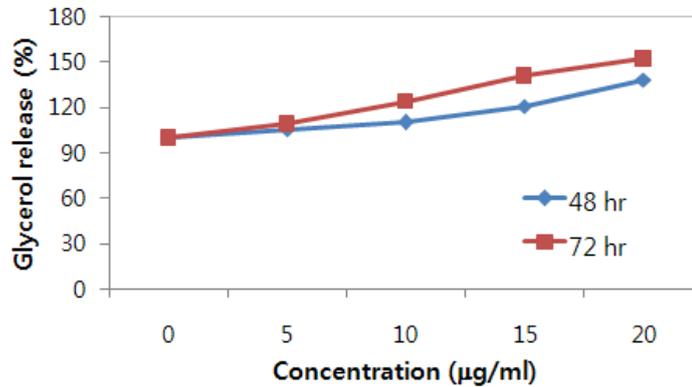


Fig. 2-34. Glycerol release in 3T3-L1 adipocytes

5) Real-Time Polymerase Chain Reaction(RT-PCR) 측정

울금 메탄올추출물의 분획 에틸아세테이트 처리에 따른 3종류의 lipid lipase(HSL; hormone sensitive lipase, LPL; lipoprotein lipase, ATGL; adipocyte triglyceride lipase)발현을 RT-PCR로 확인하였다. 그 결과 control 군과 비교하여 HSL과 ATGL에서 유의적인 증가를 보였으며 LPL은 크게 발현되지 않았다(Fig. 2-35).

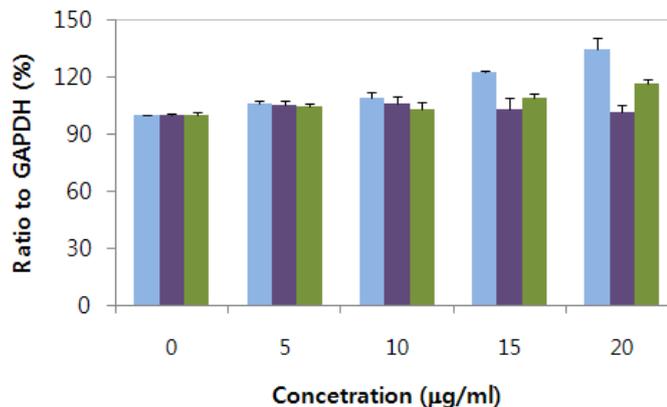


Fig. 2-35. RT-PCR determination in 3T3-L1 adipocytes

자. 울금 추출물의 *In vivo* 알코올성 산화 억제 효과 측정

1) 체중변화 및 장기무게

Fig. 2-36는 체중증가량을 나타낸 것이다. 정상군과 알코올 투여군 사이에 체중증가량 차이는 나타나지 않았다. 또한 실험기간동안 섭취식이량을 측정하고, 식이효율을 총 체중증감(g) 대비 총 식이섭취량(g)으로 나누어 백분율로 계산한 결과, 식이섭취량 및 식이효율도에 있어서도 각 군간의 유의적 차이는 나타나지 않았다(Table 2-8). 따라서 향후 각 군간의 생리활성능 차이는 식이의 양적차이에 기인하지 않음을 알 수 있다.

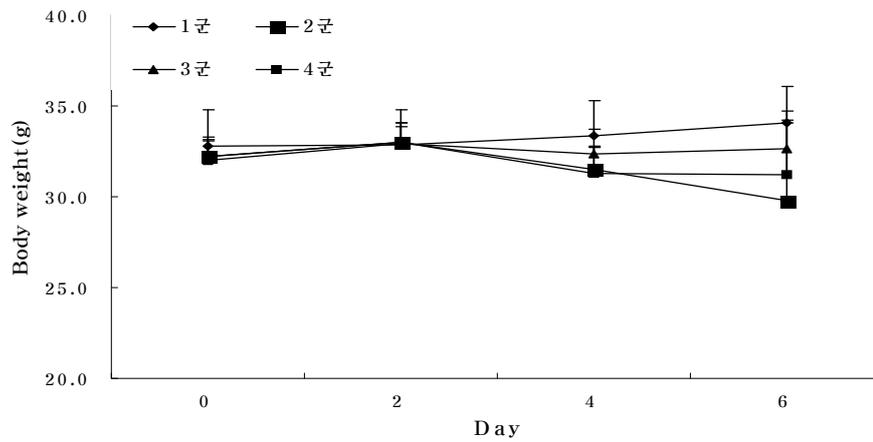


Fig. 2-36. Changes in body weights of experimental mice.

Table 2-8. Changes in food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental mice

Group	Food Intake (g)	FER (g/g)
1 군	46.87 ± 2.98	0.060
2 군	42.38 ± 4.34	0.056
3 군	44.53 ± 3.91	0.050
4 군	43.45 ± 3.17	0.059

Table 2-9은 각 군별 기관의 중량을 나타낸 표이다. 각 군별 간장의 절대무게의 경우, 알코올 투여군에서 대조군과 비교하여 증가함을 알 수 있다. 이는 염증성 반응에 의한 것으로 사료된다. 또한 심장무게는 알코올 투여군에서 타 군에 비해 유의적으로 감소되었음을 확인하였다.

Table 2-9. Various organ weights in experimental mice

Group	Liver	Kidney	Lung	Sperm	Heart	Spleen
1	1.492 ± 0.16	0.489 ± 0.08	0.230 ± 0.06	0.229 ± 0.02	0.176 ± 0.02	0.094 ± 0.02
2	1.709 ± 0.10*	0.481 ± 0.09	0.182 ± 0.02	0.193 ± 0.02*	0.142 ± 0.02*	0.075 ± 0.03
3	1.436 ± 0.13	0.461 ± 0.06	0.194 ± 0.04	0.198 ± 0.03	0.154 ± 0.01	0.084 ± 0.02
4	1.348 ± 0.21	0.528 ± 0.05	0.192 ± 0.01	0.193 ± 0.04	0.156 ± 0.01	0.085 ± 0.02

2) 알코올성 산화억제능 측정

Fig. 2-37은 아만성 알코올 투여에 대한 울금 열수추출물의 혈청 GOT 및 GPT활성변화를 나타낸 것이다. 대조군과 비교하여 알코올 투여시 GOT와 GPT 활성이 급격히 증가되어진다. 그러나 울금 열수추출물을 함께 투여할 경우 그 활성도가 유의적으로 감소됨을 알 수 있다. 울금 추출물의 농도에 따른 활성차이는 나타내지 않았다.

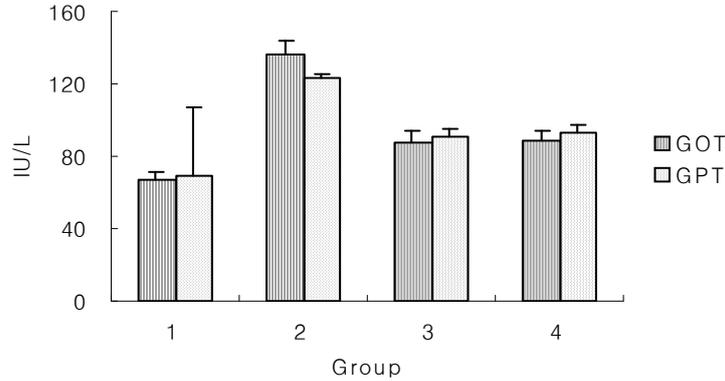


Fig. 2-37. Activities of GOT and GPT in experimental mice.

상기의 결과와 유사하게 울금 열수추출물을 투여할 경우 알코올에 의한 ALP 및 LDH 양의 급격한 상승이 상당히 완화됨을 확인할 수 있었다(Figs. 2-38, 39).

이상의 결과로부터 아만성 알코올 투여는 혈청 GOT, GPT, ALP 및 LDH양의 급격한 상승을 초래함을 확인하였는데, 이로써 간 독성효과가 나타남을 알 수 있었다. 이러한 알코올성 간 독성은 울금 열수추출물 투여군에서는 효과적으로 개선되었다. 따라서 울금 열수추출물의 알코올에 의한 산화적 손상에 대한 간 보호 활성을 *in vivo*상에서 확인할 수 있었다. 한편, 울금 열수추출물의 농도별 투여군의 경우 GOT, GPT, LDH 및 ALP 활성에서 유의적인 차이를 발견할 수 없었다.

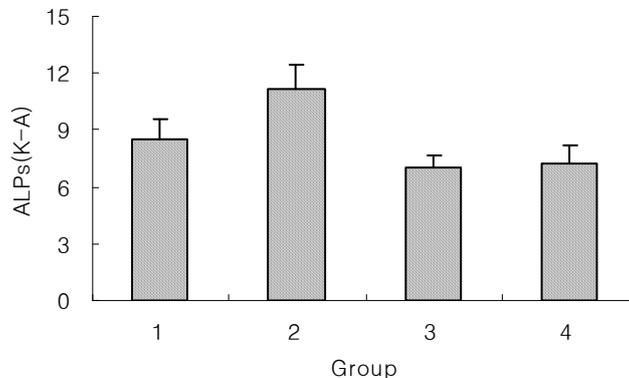


Fig. 2-38. Activity of alkaline phosphatase in experimental mice.

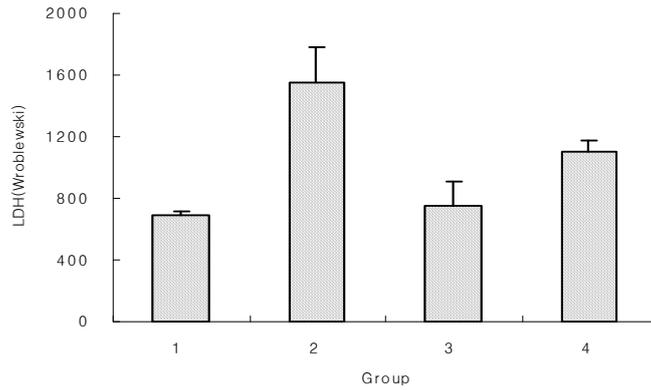


Fig. 2-39. Activity of lactate dehydrogenase in experimental mice.

3) 혈청 지질관련 인자들의 변화검토

알코올 투여시 혈청 중성지질양이 급격히 증가되었다(Fig. 2-40). 그러나 알코올과 함께 울금 열수추출물을 투여하였을 때에는 그 증가도가 상당히 완화됨을 알 수 있다. 그러나 울금 열수추출물의 알코올에 의한 중성지질의 증가억제효과는 농도 의존적으로 나타나지 않음을 확인하였다.

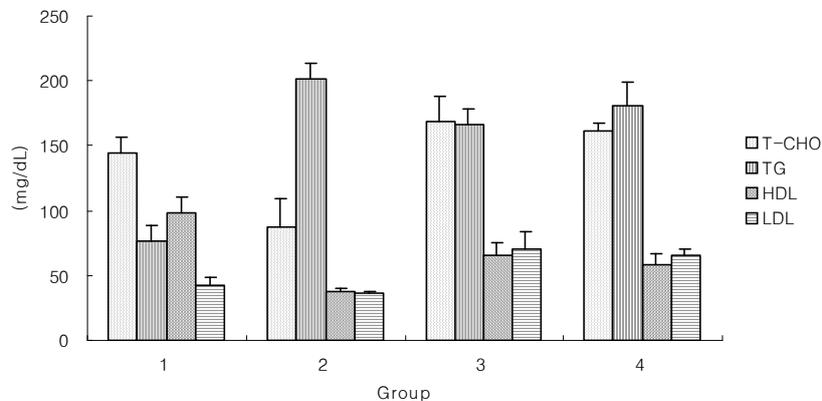


Fig. 2-40. Changes of lipid profile in experimental mice.

4) 울금 추출물의 항산화 효소에 미치는 영향

(1) Catalase 활성측정

Catalase는 cytochrome계를 보유하고 있는 모든 호기성 세포에 널리 분포되어 있는 효소로서 특히 간에 가장 많이 함유되어 있다. 이 효소는 과산화수소수를 물과 산소로 분해시키는 역할을 담당하고 있다. 에탄올 투여시 catalase 활성은 급격히 감소되어 진다(Fig. 2-41). 이는 에탄올에 의해 유도된 세포 내 라디칼에 의하여 효소활성이 억제되어지거나 또는 효소활성

능 이상의 라디칼 과생산에 기인되는 것으로 추측된다. 알코올성 산화유도시 간 에서의 울금 열수추출물의 catalase 활성 향상효과가 있는 것으로 확인되었으나 농도에 따른 유의적 차이는 나타나지 않았다.

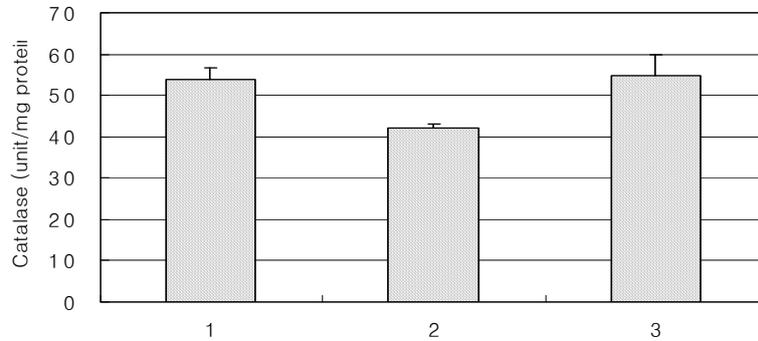


Fig. 2-41. Catalase activities in mouse liver.

(2) SOD 활성측정

SOD는 반응성이 높으며 독성을 유발하는 라디칼인 superoxide anion radical을 과산화 수소수로 dismutation 시키는 역할을 담당하는 매우 효과적인 항산화 효소이다. 본 실험에서 SOD 활성은 에탄올 투여시 유의적으로 감소되었다(Fig. 2-42). 그러나 울금 열수추출물을 함께 투여할 경우 대조군 보다는 낮으나 효소활성이 상당히 높아짐을 알 수 있다. 반면 울금 추출물의 SOD 활성화에 있어 농도의존적 상승효과는 보여주지 않았다.

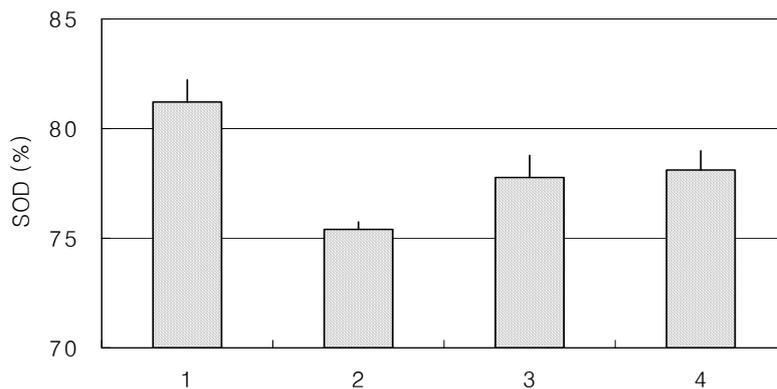


Fig. 2-42. SOD activities in mouse liver.

(3) GST 활성측정

간의 세포질 및 소포체에 존재하는 수용성 단백질인 GST는 외인성 물질 및 그 활성 대사물들을 해독하는 역할을 한다. 또한, 과산화수소를 비롯한 활성 대사물들을 제거함으로써 산화적 손상과 세포막의 지질과산화로부터 세포를 보호한다. Fig. 2-43에서 보는 바와같이

에탄올 투여군에 비해 울금 열수추출물을 함께 투여한 군에서는 GST 효소활성이 유의적으로 증가하였다. 또한 울금 추출물을 고농도로 투여시 저농도의 경우에 비해 GST 효소활성을 보다 상승시키는 효과가 확인되었다.

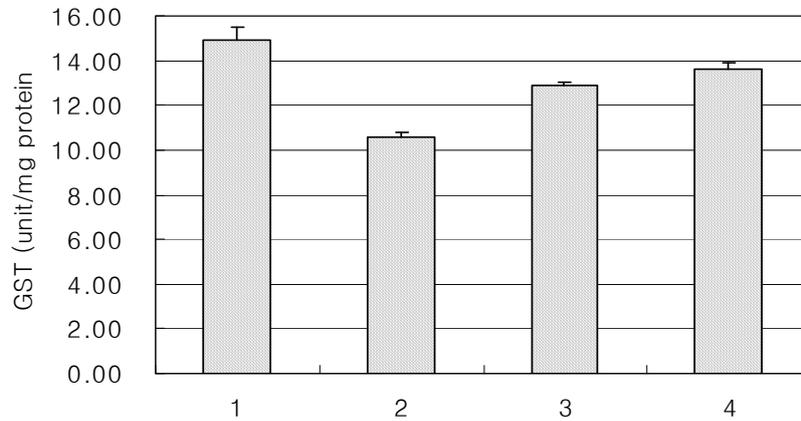


Fig. 2-43. GST activities in mouse liver.

이상의 결과들로부터 마우스에 에탄올 투여할 때 간 catalase, SOD 및 GST 활성의 유의적 감소는 에탄올 섭취에 의한 자유 라디칼의 생산이 급격히 증가함에 의한 것으로 생각된다. 울금 열수추출물은 이렇게 생성된 자유 라디칼을 제거함으로써 항산화 효소들이 효과적인 활성을 나타낼 수 있게 하는 것으로 추론된다.

5) 울금 추출물의 MDA 및 GSH 함량에 미치는 영향

(1) GSH 함량

만성적 알코올 섭취는 간세포 손상을 야기시킨다. GSH는 생명체에 존재하는 주요 비단백 thiol로서 인체의 산화적 손상에 대한 방어체계에서 중요한 역할을 담당한다. 과산화물을 환원시키는 다양한 효소과정에서 각종 효소들과 함께 세포 내외적으로 주요한 역할을 하는 비효소계 항산화제인 GSH는 redox 반응 및 해독작용을 통하여 정상 세포들의 구조 및 기능을 유지시켜준다.

본 실험에서, 에탄올 투여군에서는 정상식이군에 비하여 간에서의 GSH 함량이 약 32% 정도 감소되었다(Fig. 2-44). 그러나 에탄올과 함께 울금 열수추출물을 섭취 시켰을 때는 대조군과 유사한 GSH 함량을 나타내었다. 이로부터 울금 열수추출물이 항산화 활성성분을 함유하고 있음을 추측할 수 있다.

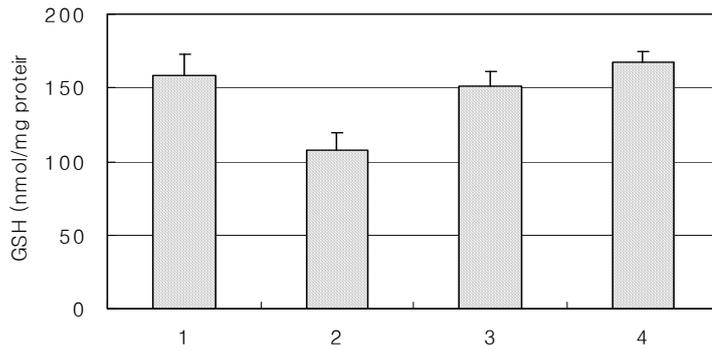


Fig. 2-44. GSH levels in mouse liver.

(3) MDA 함량

에탄올에 의해 유도된 지질과산화능은 간에서의 MDA 양으로 측정되어진다. 지질과산화는 활성산소종들에 의해 매개된 기작으로서 여러 동물 및 인체실험들을 통하여 다양한 종류의 간 손상을 일으키는 것으로 알려져 왔다. 말론디알데히드(MDA)는 지질과산화 과정 중 생성되는 대표적 활성 알데히드이다.

대조군과 비교시 에탄올 투여군에서는 간 MDA 함량이 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 에탄올과 함께 울금 열수추출물을 투여할 시, 간 MDA 함량이 급격히 감소함으로써 에탄올에 의해 유도된 지질과산화 과정이 울금 추출물에 의해 효과적으로 억제됨을 확인할 수 있었다(Fig. 2-45). 울금 추출물의 농도에 따른 지질과산화 억제효과를 확인한 결과 농도가 증가함에 따라 지질과산화능이 억제됨을 알 수 있었다.

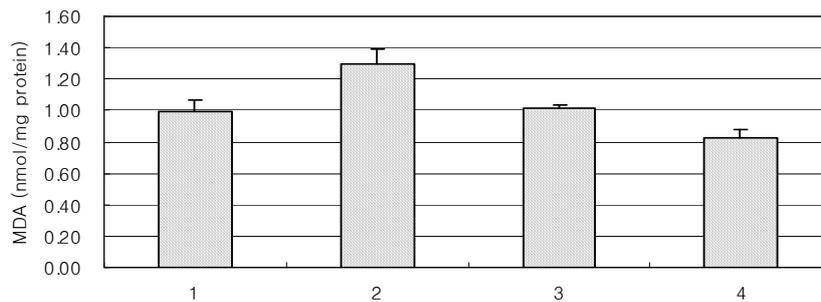


Fig. 2-45. MDA levels in mouse liver.

6) Histological examination

대조군(1군), 에탄올 처리군(2군), 에탄올 + 저농도 울금 열수추출물 처리군(3군) 및 에탄올 + 고농도 울금 열수추출물 처리군(4군)의 조직학적 특성이 hematoxylin & eosin 방법에 의하여 검토되었다. Fig. 2-46에서와 같이, 대조군에서는 정상적인 간 조직 형태를 나타내고 있다. 그러나 에탄올 처리군에서는 염증반응이 일어난 것으로 판단된다. 이러한 간 조직 손상은

울금 열수추출물의 투여에 의하여 현저하게 억제되어짐을 알 수 있다.



Fig. 2-46. Histological examination of liver section in experimental mice.

차. 울금 추출물의 In vivo 비만 억제 효과 측정

1) 항비만 활성 측정 마우스의 체중변화

실험기간동안 1군과 비교하여 2군은 고지방식이 6 일째부터 통계적으로 유의한 증가를 보였으며($p < 0.05$), 3군과 4군은 통계적으로 유의한 증가를 나타내지 않았다. 제 2군과 비교하여 제 3군은 통계적으로 유의한 변화를 나타내었다($p < 0.05$). 따라서 고지방식이에 따른 체중증가는 0.25 g/kg/day로 CLM을 경구투여 하였을 때 체중증가가 억제되어 항비만효과를 나타내는 것으로 사료된다(Fig. 2-47).

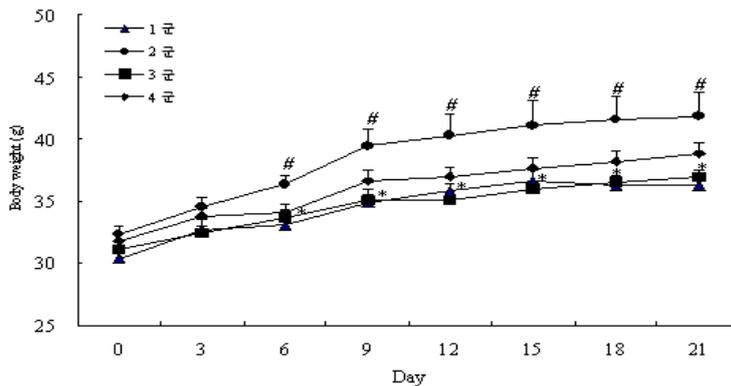


Fig. 2-47. Changes in body weights of experimental mice.

2) 평균식이섭취량 및 식이효율

각 실험군의 개체수는 10마리이며 평균식이섭취량은 실험기간동안 섭취식이량을 측정하여 평가하였고, 식이효율은 총 체중증감(g)을 총식이섭취량(g)으로 나누어 백분율로 계산하였다. 평균식이섭취량에서는 대조군과 비교하여 2군, 3군 및 4군이 통계적 유의성을 나타내지 않았으며 각 군간 유의적 차이도 없었다(Table 2-10). 이는 CLM의 0.25 및 1g/kg/day의 경구투여가 평균식이섭취량에 영향을 일으키지 않음을 의미하는 것이다.

식이효율에서는 대조군과 비교하여 고지방식이 섭취군이 유의적으로 증가된 경향을 나타내었다. 그러나 올금 추출물의 투여시 그 효율은 정상식이군과 유사한 결과를 나타내었다. 올금 메탄올 추출물의 농도에 따른 식이효율의 차이는 없었다.

이상의 결과로부터 향후 각 군간의 항비만 활성능의 차이는 식이의 양적차이에 기인하지 않음을 알 수 있다.

Table 2-10. Changes in food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental mice

	Number (n)	Food Intake (g)	FER (%)
1 군	10	5.89 ± 0.25	4.67 ± 0.37
2 군	10	5.44 ± 0.53	7.19 ± 0.70*
3 군	10	5.93 ± 0.26	4.70 ± 0.77
4 군	10	5.63 ± 0.15	4.07 ± 0.45

* $P < 0.05$

3) 혈청 지질 관련 인자들의 변화 검토

(1) 중성지질

실험기간동안 1주에 1회씩 마우스꼬리에서 혈청을 분리하여 각 군간 중성지질 (triacylglycerol)량을 비교 평가하였다. 혈청 중성지질량은 1주째에는 대조군과 비교하여 고지방식이 유도군 및 올금 추출물을 함께 투여한 군 모두에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2-48). 그러나 2주째에는 고지방식이 유도군이 대조군에 비하여 혈중 중성지질의 급속한 증가가 관찰되었다. 올금 메탄올추출물 투여군에서는 혈중 중성지질량의 증가가 일어나지 않았으며, 특히 고농도 투여군에서는 대조군에 비해 그 양이 오히려 감소하였다. 따라서 올금 메탄올추출물의 혈중 중성지질 억제효과는 농도의존적으로 일어남을 확인하였다. 3주째에는 대조군과 비교하여 고지방식이 유도군 및 저농도 올금 메탄올추출물 투여군에서 혈중 중성지질이 통계적으로 유의하게 증가하였다. 고지방식이 유도군과 비교하여 고농도 올금 추출물 투여군에서 유의적으로 감소된 중성지질량을 확인하였으나, 고지방식이 유도군 대비 저농도 올금추출물 투여군에서는 어떠한 유의성을 나타내지 않았다. 저농도 올금 메탄올추출물 투여군과 고농도군 비교시 혈중 중성지질의 급격한 감소가 고농도군에서 관찰되었다. 이 결과로 올금 메탄올추출물의 경구투여에 의해 고지방식이로 유도된 혈청 중성지질량이 감소됨을 확인하였으며, 그 억제능에 있어 저농도(0.25 g/kg/day)보다는 고농도(1 g/kg/day)에서 효과적임을 알 수 있었다.

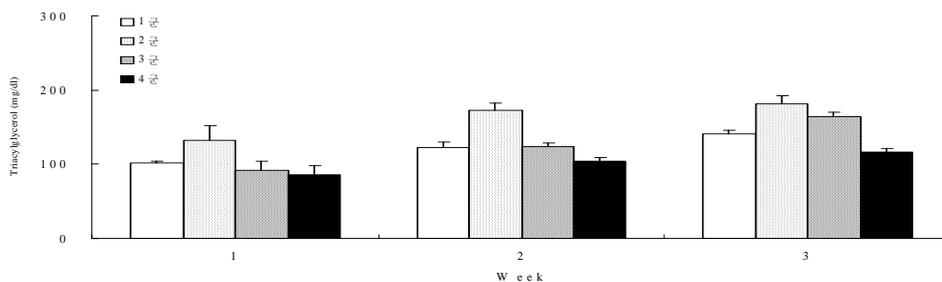


Fig. 2-48. Levels of serum triglyceride in experimental mice.

(2) 총콜레스테롤, 고밀도지단백 콜레스테롤 및 저밀도지단백 콜레스테롤

실험기간동안 1주에 각 1회 마우스꼬리에서 혈청을 분리하여 각 군간 총 콜레스테롤(total cholesterol)량 측정하고, 2주 및 3주에 각 1회 고밀도지단백(high-density lipoprotein)과 저밀도지단백(low-density lipoprotein) 콜레스테롤양을 측정하여 각 군간 비교 평가를 실시하였다.

혈청 총콜레스테롤량은 1주째 대조군과 비교하여 2, 3, 4군 모두 혈청 총콜레스테롤이 유의적으로 증가하였다(Fig. 2-49). 2주째에도 대조군과 비교하여 세 군 모두 혈청 총콜레스테롤이 통계적으로 유의하게 증가하였으나, 3주째에는 저농도 및 고농도 울금 메탄올추출물 투여군의 경우, 고지방식이 유도군에 비해 콜레스테롤양에서 유의적인 감소를 나타내었다.

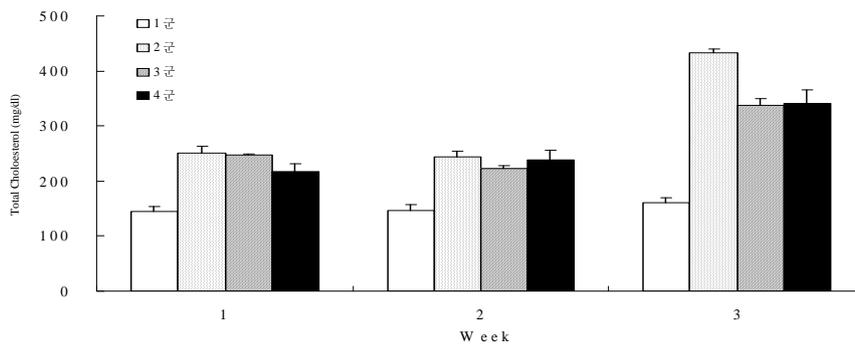


Fig. 2-49. Levels of serum total cholesterol in experimental mice.

실험기간동안 2주와 3주에 각 1회 마우스꼬리 혈청을 분리하여 각 군간 혈청 고밀도지단백 콜레스테롤과 저밀도지단백 콜레스테롤 양을 비교 한 결과, 혈청 고밀도지단백 콜레스테롤양은 2주째 대조군과 비교하여 고지방식이 유도군에서는 유의적 증가가 나타나지 않았으나 저농도 및 고농도 울금 메탄올추출물을 투여할 경우, 대조군에 비해 그 양이 증가함을 알 수 있었다. 울금 추출물 농도에 따른 고밀도지단백 콜레스테롤양의 유의적 차이는 관찰되지 않았다. 3주째에도 2주째와 유사한 결과를 나타내었다. 이러한 결과로부터 울금 메탄올추출물은 고밀도지단백 콜레스테롤을 증가시키는 효과를 가지고 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 2-50).

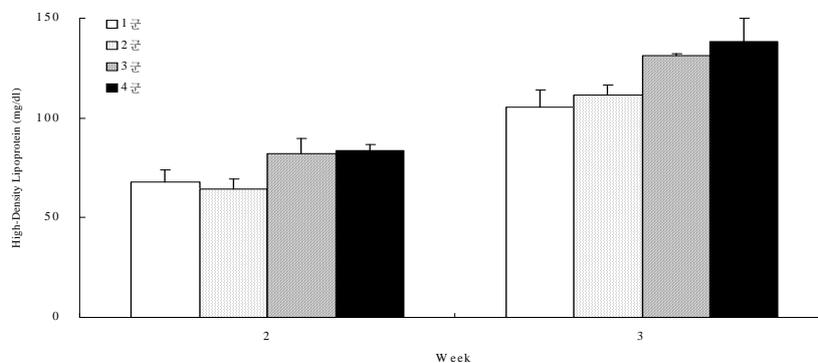


Fig. 2-50. Levels of serum high-density lipoprotein cholesterol in experimental mice.

혈청 저밀도지단백 콜레스테롤양은 2주째 및 3주째에 대조군과 비교하여 고지방식이 유도군에서 급격히 증가하였다(Fig. 2-51). 그러나 울금 메탄올추출물 투여로 인해 그 증가도가 감소됨을 알 수 있었다.

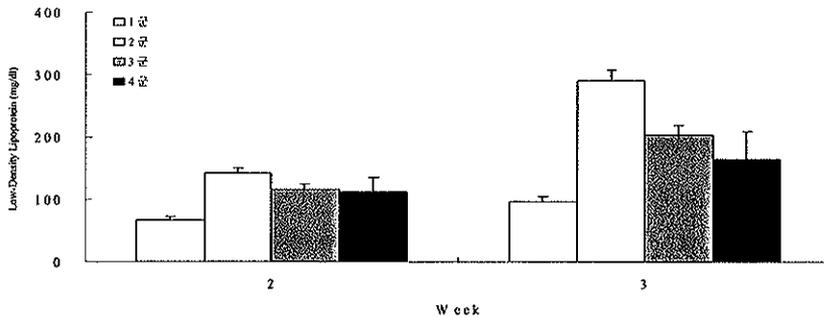


Fig. 2-51. Levels of serum low-density lipoprotein cholesterol in experimental mice.

각 군간 혈청 총콜레스테롤 및 저밀도- 및 고밀도-지단백질 콜레스테롤양을 비교한 결과, 고지방식으로 유도된 총콜레스테롤 및 저밀도 콜레스테롤의 증가는 울금 메탄올추출물에 의해 억제되어지며 이와 동시에 고밀도지단백 콜레스테롤은 증가되어짐을 알 수 있었다.

4) 항비만 기작 검토

그림 2-52에서 보는 바와 같이, 대조군에 비해 고지방식이 유도군에서는 PPAR- γ 의 발현이 증가되었으나 울금 메탄올추출물을 함께 처리하였을 때는 그 발현도가 낮아짐을 알 수 있었다. 또한 울금 추출물의 경우 농도의 증가에 따라 PPAR- γ 의 발현이 상대적으로 많이 억제되었다. 이상의 결과로부터, 동물모델에서 울금 메탄올추출물의 항비만 효과는 PPAR- γ 의 발현을 억제함으로써 나타나는 것으로 추정할 수 있다.

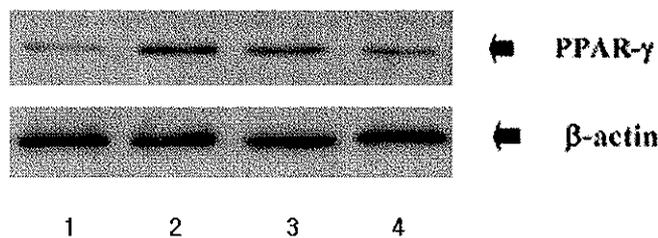


Fig. 2-52. Expression of PPAR- γ in adipocytes of experimental mice.

카. 울금 추출물의 *In vivo* 운동능력향상능 측정

1) 체중변화

실험기간동안 대조군과 비교하여 모든 군에서 통계적으로 유의한 증가 혹은 감소를 나

타내지 않았다. 따라서 운동으로 인한 무리한 체력감소 등은 없었던 것으로 사료된다(Fig. 2-53). 또한 향후 각 군간 운동능력향상능의 차이는 체중에서 기인되지 않았음을 제시한다.

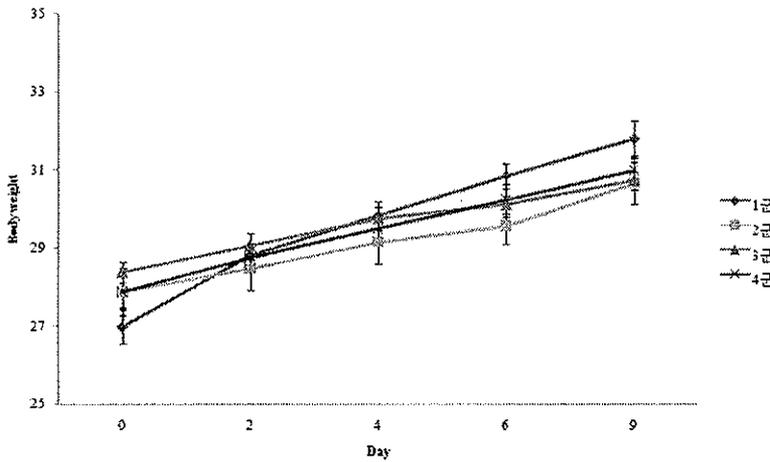


Fig. 2-53. Changes in body weights of experimental mice.

2) 평균식이섭취량 및 식이효율

각 실험군의 개체수는 5마리이며 평균식이섭취량은 실험기간동안 섭취식이량을 측정하여 평가하였고, 식이효율은 총 체중증감(g)을 총식이섭취량(g)으로 나누어 백분율로 계산하였다. 평균식이섭취량에서는 대조군과 비교하여 모든 군에서 유의적 차이를 나타나지 않았다(Fig. 2-54). 또한 식이효율에서도 각 군간 변화를 찾아볼 수 없었다.

Table 2-11. Changes in food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental mice

	Food Intake (g)	FER (%)
1 군	6.47 ± 1.02	7.55 ± 0.57
2 군	5.44 ± 1.16	7.17 ± 0.54
3 군	5.95 ± 1.20	7.61 ± 0.42
4 군	6.17 ± 1.34	7.42 ± 0.34

3) 지구력 운동력 측정

울금 열수추출물(3 군) 및 메탄올추출물(4 군)을 9일간 마우스에 경구투여(1 g/kg/day)한 후 무산소성역치 이하의 운동강도인 유속 7 L/min 의 운동강도하에서 운동을 시작시켜 유영한계치까지의 운동시간을 측정하였다. 그 결과 Fig. 2-54에 나타난 바와 같이 실험기간동안 운동능력향상능은 대조군과 비교하여 울금 열수추출물 투여군에서 향상되어짐을 알 수 있었다. 이로부터 울금 열수추출물의 투여가 운동능력향상에 유의한 영향을 미친다고 말할 수 있다. 한편, 울금 메탄올추출물 투여군의 경우, 대조군에 비해 운동능력 향상이 있었으나 열수추출물 투여군에 비하여 그 효과가 낮았다.

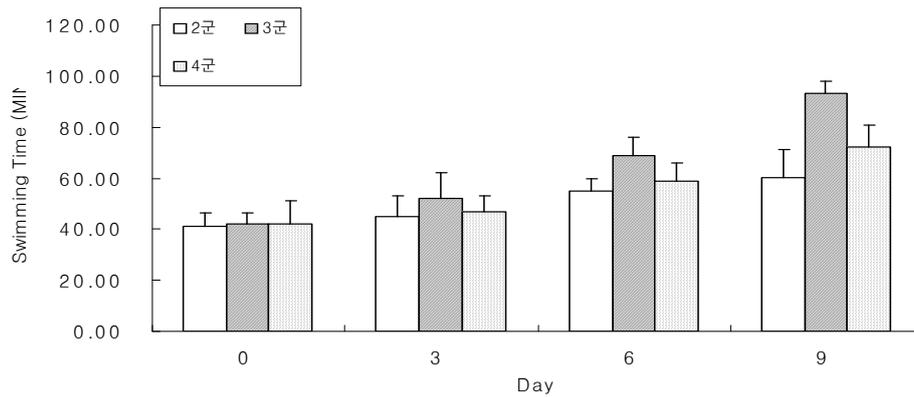


Fig. 2-54. Endurance exercise capacities in experimental mice.

4) 조직무게

실험 후 마우스를 해부하여 간, 비장, 신장, 정소, 폐, 심장, 대퇴부 내전근건 그리고 비복근의 무게를 군별로 비교하였다(Table 2-12). 그 결과 대조군 대비 모든 군에서 유의적 차이가 나타나지 않았다.

Table 2-12. Organ weights in experimental mice

	1군	2군	3군군	4군군
간	1.789 ± 0.052	1.649 ± 0.072	1.794 ± 0.025	1.624 ± 0.051
비장	0.105 ± 0.007	0.090 ± 0.005	0.103 ± 0.008	0.105 ± 0.009
신장	0.588 ± 0.015	0.493 ± 0.035	0.568 ± 0.022	0.575 ± 0.057
정소	0.210 ± 0.010	0.214 ± 0.017	0.202 ± 0.012	0.216 ± 0.007
폐	0.204 ± 0.011	0.188 ± 0.019	0.185 ± 0.004	0.181 ± 0.003
심장	0.164 ± 0.005	0.179 ± 0.024	0.152 ± 0.003	0.167 ± 0.014
대퇴부	0.292 ± 0.017	0.279 ± 0.008	0.303 ± 0.008	0.312 ± 0.012
비복근	0.136 ± 0.013	0.164 ± 0.018	0.148 ± 0.014	0.175 ± 0.012

5) Hematochemical analysis

실험 후 해부를 통해 얻어진 혈액에서 혈청을 분리하여 GOT, GPT, LDH 및 ALP를 측정하였다(Table 2-13). 그 결과 모든 군에서는 통계적 유의차를 보이지 않았다. 이로부터 울금 추출물에 의한 독성효과는 없는 것으로 판단된다.

Table 2-13. Organ weights in experimental mice

	GOT(Karmen)	GPT(Karmen)	LDH (Wrohlewski)	ALP(K-A)
1군	124.61±2.74 ^a	47.69±1.81 ^a	934.69±24.55 ^a	10.14±0.40 ^a
2군	129.74±1.81 ^a	43.45±2.45 ^a	1043.31±37.21 ^a	9.96±0.31 ^a
3군	135.77±9.07 ^a	55.64±5.54 ^a	1087.08±75.77 ^a	10.75±0.34 ^a
4군	116.35±3.35 ^a	42.37±1.56 ^a	890.59±7.70 ^a	13.41±2.36 ^a

또한, 각 군간 혈청 중성지질(triacylglycerol), 혈청콜레스테롤(t-cholesterol), 고밀도지단백 콜레스테롤(HDL-cholesterol) 및 저밀도지단백 콜레스테롤(LDL-cholesterol) 양을 비교한 결과 모든 군에서 유의적 차이를 보이지 않았다(Table 2-14).

Table 2-14. Lipid profiles in experimental mice

	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	TG (mg/dl)	T-CHOL (mg/ml)
1군	78.95±20.90 ^a	57.98±11.57 ^a	291.61±6.06 ^a	183.19±8.34 ^a
2군	100.95±4.30 ^a	37.03±6.73 ^a	305.91±7.55 ^a	197.16±7.64 ^a
3군	88.57±4.27 ^a	55.04±7.41 ^a	316.79±16.52 ^a	201.38±9.70 ^a
4군	91.19±10.66 ^a	67.59±13.89 ^a	288.69±9.40 ^a	210.94±9.85 ^a

6) 산화적 스트레스 관련 기작연구

(1) Catalase 활성측정

운동과정에서 발생하는 OH⁻로 인해 생산되는 H₂O₂는 GSH 뿐만 아니라 세포내 catalase에 의해서도 조절되어 진다. 그러나 과도한 라디칼의 생산은 catalase활성을 억제할 수 있다. 과도한 유산소 운동시 catalase 활성은 급격히 감소되어 진다(Fig. 2-55). 그러나 운동능력향상능이 확인된 울금 열수추출물의 섭취 시 catalase 활성은 감소되어지지 않았다. 이는 과도한 운동에 의해 유도된 세포 내 라디칼을 울금 추출물이 적절히 소거 또는 생산을 억제함으로써 기인되는 현상으로 추측된다.

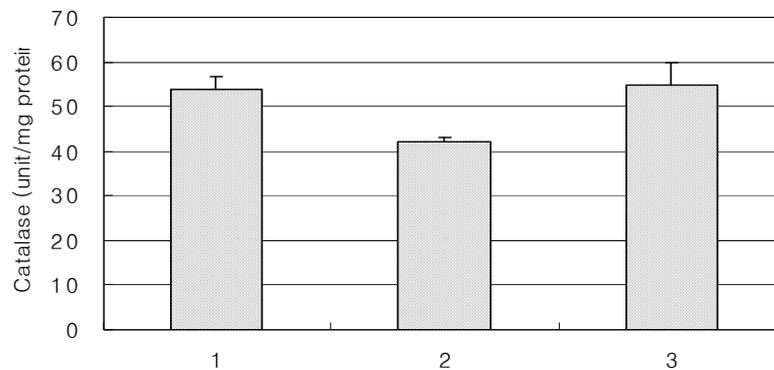


Fig. 2-55. Catalase activities in mouse liver.

(2) SOD 활성측정

SOD는 반응성이 높으며 독성을 유발하는 라디칼인 superoxide anion radical을 과산화수소수로 dismutation 시키는 역할을 담당하는 매우 효과적인 항산화 효소이다. 이러한 대표적인 세포내 산화적 손상에 대한 방어시스템 중 하나인 superoxide dismutase activity를 울금의 열수추출물 처리군을 대상으로 측정한 결과 비운동 대조군과 비교하여 운동군 및 시료 처리군에서 SOD 활성은 유의적으로 차이를 보이지 않았다(Fig. 2-56)

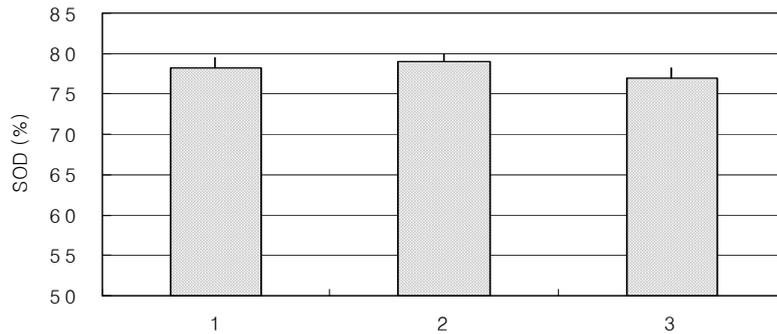


Fig. 2-56. SOD activities in mouse liver.

(3) GST 활성측정

GST는 수용성 단백질로서 간의 세포질 및 소포체에 존재하며 외인성 물질 및 그 활성 대사물들을 해독하는 중요한 효소이다. 지구적 운동시 비운동군에 비하여 효소 활성이 급격히 낮아지는 경향을 보였으나, 울금 열수추출물을 처리한 군에서는 운동군에 비하여 유의적으로 향상되는 결과를 보였다(Fig. 2-57). 또한 비운동군과 비교시 시료처리군의 GST 효소활성은 유사하게 나타났다.

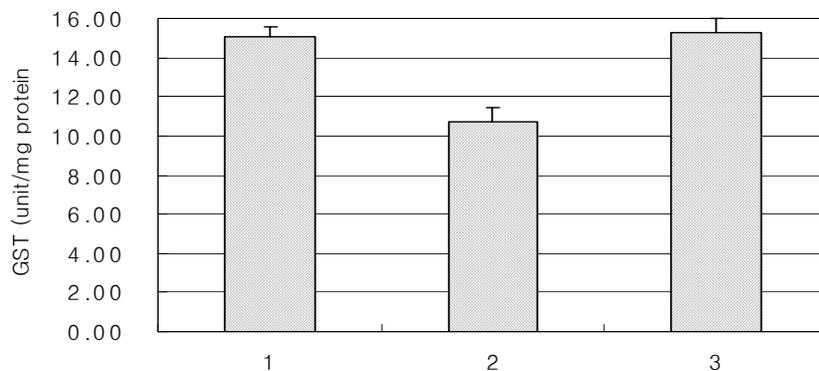


Fig. 2-57. GST activities in mouse liver.

이상의 결과들로부터 산화적 스트레스의 억제에 운동능력향상에 적어도 일부분 기여를

하고 있는 것으로 추론할 수 있다.

다. 울금추출물의 *in vivo* 독성평가

1) 울금 열수추출물의 *in vivo* 독성평가

울금 열수추출물의 독성을 평가한 마우스의 몸무게 변화는 초기몸무게(initial Wt(g))와 최종 몸무게(final Wt(g)), 체중증가(weight gain(g)) 부분에서 각군의 차이가 없었다. 또한 생존율은 모두 100%를 보여주어 울금 열수추출물 1000 mg/kg/day 까지 독성이 나타나지 않는 안전한 용량범위임을 확인할 수 있었다(Table 2-15).

Table 2-15. Survival rates of experimental mice(CLH)

Dose (mg/kg, day)	No.of Mouse	InitialBody Wt(g)	FinalBody Wt(g)	Weight gain(g)	Survival Rate(%)
0	5	23.58±0.33	30.02±0.80	6.44±0.51	100
50	5	24.32±0.58	29.12±2.21	4.8±0.47	100
100	5	24.32±0.54	28.78±0.97	4.46±0.46	100
250	5	25.58±0.43	30.64±0.41	5.06±0.08	100
500	5	23.94±0.06	28.34±0.51	4.4±0.46	100
1000	5	26.02±0.21	31.1±0.65	5.08±0.46	100

2) 울금 메탄올추출물의 *in vivo* 독성평가

울금 메탄올추출물의 독성을 평가한 마우스의 몸무게 변화는 초기몸무게(initial Wt(g))와 최종 몸무게(final Wt(g)), 체중증가(weight gain(g)) 부분에서 각 군의 차이가 없었다. 또한 생존율은 모두 100%를 보여주어 울금 메탄올추출물은 1000 mg/kg/day 까지 독성이 나타나지 않는 안전한 용량범위임을 확인할 수 있었다(Table 2-16).

Table 2-16. Survival rates of experimental mice(CLM)

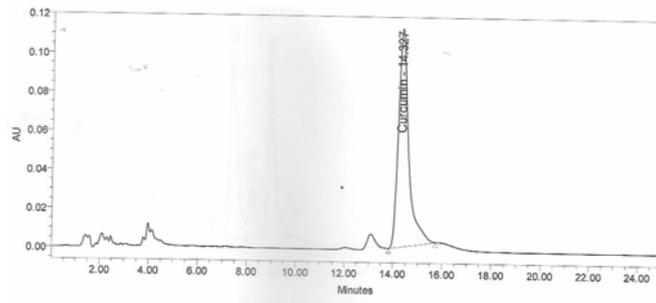
Dose (mg/kg, day)	No.of Mouse	InitialBody Wt(g)	FinalBody Wt(g)	Weight gain(g)	Survival Rate(%)
0	5	28.72±0.79	32.76±0.92	4.04±0.28	100
50	5	27.52±0.85	33.20±1.26	5.68±0.45	100
100	5	28.90±0.79	33.56±0.96	4.66±0.26	100
250	5	30.26±0.53	35.26±0.56	5.00±0.15	100
500	5	29.04±0.65	34.04±0.72	5.00±0.19	100
1000	5	28.54±0.63	34.60±0.76	6.06±0.38	100

파. 울금 지표성분 분석 및 유효성분 추정

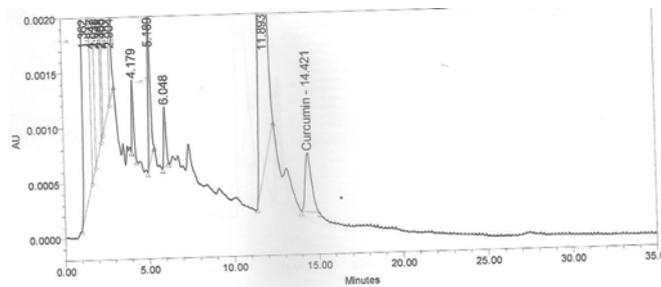
1) HPLC에 의한 분석

울금에 함유된 curcumin을 HPLC를 이용하여 정량 분석하였다. 분석한 chromatogram은 Fig. 2-58 와 같다.

Curcumin



CLH



CLM

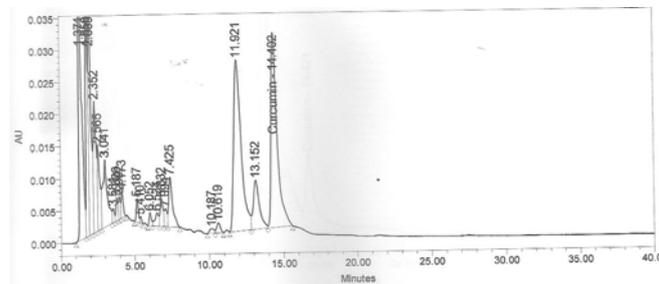


Fig. 2-58. Curcumin determination by HPLC

2) Curcumin 함량 계산

CLH는 Curcumin으로서 0.0766 mg/g이 함유되어 있었으며, CLM는 Curcumin으로서 계산으로 24.7490 mg/g이 함유되어 있었다.

3) 유효성분 추정

위의 결과로 보아 CLH는 커큐민이 아닌 다른 성분이 생리활성으로 작용하는 것으로 보이며, CLM의 경우는 커큐민의 성분으로 생리활성 작용을 나타내는 것 같다.

제 3 절 울금, 울금소재, 울금막걸리의 이화학적 특성 분석

제 1 항 재료 및 방법

가. 재 료

본 연구의 성분 분석에 사용된 가을울금(울금, *Curcuma longa* L.)과 봄울금(강황, *Curcuma atomatica* Salib)은 전남 진도군 농장에서 2006년 10월 24일(A시료), 11월 24일(B시료), 12월 24일(C시료), 2007년 1월 24일(D시료) 등 1개월 간격으로 4회에 걸쳐 각각 종실을 채취하였고, 냉동보관(-40℃) 하면서 시료로 사용하였다.

나. 실험방법

1) 일반성분 분석

수분은 105℃ 건조법, 회분은 550℃ 직접회화법, 조단백은 micro-kjeldahl법, 조지방은 soxhlet 추출법, 조섬유는 henneberg-stohmann개량법에 의하여 분석하였고, 탄수화물은 100에서 조지방, 조단백, 회분, 조섬유 등을 뺀 값으로 하였다.

2) 무기질과 중금속 분석

시료 3 g를 550℃로 12시간 회화하고 습식분해법으로 분해하여 탈 이온 증류수로 정용하고 검액으로 하였다. 즉 마쇄한 시료 1 g에 진한 질산 10 mL를 가하여 처음에는 낮은 온도로 가열하고 점차 고온으로 가열하면서 분해하였다. 분해액이 백색 투명하게 되면 냉각시키고 분해액에 증류수를 가하고 100 mL로 정용 후 여과하여 여액을 분석시료로 하였다. 각 무기성분의 정량은 유도결합플라스마 분광광도기(ICP, Inductively Coupled Plasma, 3300DV, PerkinElmer Optima, USA) 이용하여 분석하였으며, 분석 조건은 다음과 같다. 가스유속은 plasma 15 L/min, auxiliary 0.5 L/min, nebulizer 0.8 L/min이었으며, RF power 1,300 watts, 유속 1.0 mL/min, speed 18.48 rpm, sample flow rate 1.0 mL/min, sample flush time 30 sec, sample flush rate 4.0 mL/min, delay time 30 sec로 분석하였다.

3) 아미노산 분석

가) 구성아미노산 분석

구성아미노산의 분석은 시료 1 g을 ampoule에 넣고 6 N HCl 용액 15 mL를 가한 후 110℃에서 24시간 가수분해 시켜서 얻은 여액을 원심분리하고, 상등액을 50℃에서 농축하여 염산과 물을 완전히 증발시킨 후, 구연산나트륨 완충용액(pH 2.2)을 사용하여 5 mL로 정용한 다음 0.22 µm membrane filter로 여과한 후 아미노산자동분석기(S433, Sykam Co., Germany)를 사용하여 다음과 같은 조건으로 분석하였다. Cation separation column (LCAK60/Na, 4.6×150 mm)를 사용하였고 0.2 N Na-citrate buffer 용액(pH 3.45, 10.85)의 유속은 0.45 mL/min, ninhydrin 용액의 유속은 0.25 mL/min, column 온도는 50~80℃, 반응온도는 131℃로 하였고, 분석시간은 68 min으로 하였다.

나) 유리아미노산 분석

유리 아미노산은 시료 10 g를 칭량하여 homogenizer로 마쇄하고 유리당을 추출한 후, 0.45 μm membrane filter로 여과하여 얻은 여액 10 mL에 sulfosalicylic acid 25 mg을 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리(15,000 rpm, 30분)하여 단백질을 제거하고, 상등액을 0.22 μm membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 분석시료로 사용하였다. 아미노산자동분석기의 조건은 구성아미노산 분석조건과 같다.

4) 유리당 및 환원당 분석

유리당 및 환원당 분석은 시료 5 g를 증류수로 50 mL 정용하여 30°C 수욕조에서 30분 동안 진탕한 후 15,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다. 상등액을 Sepak-C₁₈을 사용하여 정제시킨 후 0.45 μm membrane filter로 여과한 여액 20 μL 를 HPLC(Spectra Physics 4000, USA)로 분석하였다. 사용한 컬럼은 carbohydrate analysis column(300×3.9 mm, Waters, USA), 용매는 82% acetonitrile, 이동속도는 2 mL/min, 검출기는 RI, 시료주입량은 20 μL 이었다. 유리당 표준시료는 Sigma사(St. Louis, USA) 사용하였다. 환원당은 시료 5 g를 homogenizer로 마쇄하여 침출, 여과시키고 정용하여 Somogyi변법으로 정량하였다.

5) 비타민 C와 B₁ 분석

비타민 C는 시료 일정량을 정확히 달아, 동량의 10% 메타 인산용액을 가하여 10분간 현탁시킨 후 적당량의 5% 메타인산용액을 넣어 균질화하였다. 균질화된 시료를 100 mL 메스플라스크에 옮기고 소량의 5% 메타인산용액으로 100 mL로 정용하였다. 이 후 원심분리(3,000 rpm, 10~15/min)를 행하여 상등액을 취하고 5% 메타 인산용액으로 적당히 희석하여 시험용액으로 하여 HPLC로 분석하였다. 사용한 컬럼은 NH₂ column (4.6×250 mm, USA)이었고 검출기는 UV(254 nm), 이동상 용액은 acetonitrile 50 mM KH₂PO₄ (40:60% V/V), 이동속도는 1.0 mL/min, 컬럼오븐 온도는 40°C, 표준시약은 ascorbic acid, 시료주입량은 20 μL 이었다. 비타민 B₁ 분석은 시료 일정량을 달아 소량의 물을 가해 균질기로 미세하게 분쇄하고 물을 가해 수욕 중(70~80°C)에서 잘 혼합하여 20분간 추출한 후, 이 추출액을 시험용액으로 하여 HPLC로 분석하였다. 즉, 여과한 여액 20 μL 를 HPLC(Spectra Physics 4000, USA)로 분석하였다. 사용한 컬럼은 μ -Bondapak C₁₈(4.6×75 mm, USA), 용매는 0.1% phosphoric acid가 첨가된 10 mM hexane sulfonate : MeOH(74:26, v/v), 이동속도는 1.0 mL/min, 검출기는 UV 254 nm, 시료 주입량은 20 μL 이었다.

6) 비휘발성 유기산 분석

비휘발성 유기산 분석은 시료 5 g를 증류수로 50 mL 정용하여 30°C 수욕조에서 30분 동안 진탕한 후 3,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다. 원심분리한 상등액을 취하여 15,000 rpm으로 30분간 원심분리 하였다. 상등액을 Sepak-C₁₈을 사용하여 정제시킨 후 0.45 μm membrane filter로 여과한 여액 20 μL 를 HPLC (Spectra Physics 4000, USA)로 분석하였다. 사용한 컬럼은 μ -Bondapak C₁₈(3.9 mm×30, Waters, USA), 용매는 0.1 M ammonium dihydrogenphosphate+phosphoric acid (pH 2.5), 이동속도는 1 mL/min, 오븐 온도는 40°C, 검출기는 UV 210 nm, 시료주입량은 20 μL 이었다.

7) 색차계 색도 측정

색의 측정은 표준백판(L=97.75, a=-0.49, b=1.96)으로 보정된 색도계(Hunter Color, SP-80, USA)를 사용하여 측정하였다. 시료 절단면의 중심부위를 3반복으로 Hunter 색체계인 L, a 및 b값을 측정하였다.

8) 향기성분 분석

향기성분은 울금과 강황을 각각 수증기증류법 측정하였다. 즉, 수증기증류법에 의한 포집은 각 시료 50 g를 수기에 넣고 증류수를 가한 후 수증기증류를 하여 그 유액에 diethyl ether를 넣어 잘 교반하고 분획이 확실하게 되도록 하루 동안 냉장고에 방치한 후 diethyl ether를 회수하고 10 mL로 정용한 다음 무수 Na₂SO₄로 탈수하여 주입시료로 사용하였다. 향기성분의 분석은 GC-MS(Shimadzu GSMS-QP 2010 Plus, Japan)를 사용하여 분석하였다. 이때 column은 HP-INNOWAX(crosslinked polyethylene glycol, 30 m×0.25 mm×0.25 μm film thickness)를 사용하였고, oven 온도는 40℃에서 5분간 머무른 후 150℃까지 분당 5℃로 승온시키고 2분간 머무르게 한 후 다시 250℃ 까지 분당 10℃로 승온시키고 5분 동안 머무르게 하였으며, injector 온도는 260℃하였다. 또 carrier gas는 He을 분당 1.12 mL로 흐르게 하여 30초 후에 split mode로 전환 되는 splitless mode를 이용하였고 split ratio는 30:1로 하였다. Mass spectrometry의 ion source 온도는 200℃, interface 온도는 260℃로 하고, EI⁺ mode에 ion energy는 70 eV 이었으며, 향기성분 확인 및 정량 실험은 TRIO-1 Lab. base data system 과 NIST/NBS library를 이용하였다.

9) Curcumin(색소성분) 분석

가) Curcumin 성분 추출

추출용매로는 물, 메탄올 및 에탄올 등 3가지 용매를 사용하여 상온과 가열을 하여 curcumin 성분을 추출하여 함량을 비교하였다. 즉, 상온 시료구는 용매별로 상온에서 균질기를 사용하여 마쇄한 후 그대로 상온에서 2시간 동안 교반하여 추출하였고, 열처리 시료구 중 열수 추출물은 증류수 200 mL에 시료 10 g를 첨가하여 100℃에서 2시간 동안 환류냉각 추출하였고, 메탄올추출물과 에탄올 추출물은 메탄올과 에탄올을 각각 100 mL씩 시료 5 g에 첨가하여 70℃ 온도에서 2시간 동안 환류냉각 추출하였다. 모든 추출물은 12,000 rpm으로 1시간 원심분리한 후 membrane filter (0.45 μm)로 여과하여 시료용액으로 사용하였다.

나) UV spectrum

Sigma 사의 curcumin 표준품을 순수 메탄올에 녹여 spectrophotometer (Jasco, Model V570, Japan)를 사용하여 UV spectrum을 측정하였다.

다) HPLC에 의한 curcumin 분석

Curcumin의 HPLC의 최적 분석조건을 검토하기 위하여 표준품으로 Sigma 사의 curcumin을 사용하여 UV spectrum에서 최대의 흡수파장을 보인 424 nm에서 최적 분석조건을 검토하였다. 즉, column은 Zorbax eclipse C₁₈, 유속은 0.8 mL/min의 조건에서 이동상인 MeOH 농도를 50 %에서부터 100 %까지 농도를 달리하면서 최적 분석조건을 검토하고, 이후 curcumin 분석방법으로 사용하였다.

Curcumin 분석은 시료 5 g에 에탄올 100 mL을 첨가하여 70℃ 온도에서 2시간 동안 환류냉각 추출한 후 12,000 rpm으로 10분간 원심분리하고, membrane filter(0.45 µm)로 여과하여 시료용액으로 사용하였다. 전처리를 거친 시료는 HPLC(Spectra Physics 4000, USA)를 이용하여 분석하였다. HPLC 분석조건은 다음과 같다. 사용한 컬럼은 Zorbax Eclipse C₁₈(Ø 6 mm×150 cm×5 µm, Agilent, USA), 용매는 75% MeOH, 이동속도는 0.8 mL/min, 검출기는 UV 424 nm, 시료주입량은 20 µL이었다. Sigma사의 curcumin을 표준품으로 사용하였다.

10) 쓴맛성분 관능평가

가) 쓴맛성분 추출

추출용매에 의한 쓴맛성분의 추출정도를 확인하기 위하여 마쇄된 생울금 10 g에 물과 에탄올 등 2종의 용매를 상온에서 각각 500 mL씩 첨가하여 3회 추출한 후 여과하고 여액을 모두 모아 감압농축기로 농축하여 물과 에탄올로 각각 100 mL로 정용한 후 쓴맛성분 추출시료로 사용하였다.

나) 추출물의 가열처리

물과 에탄올추출물에 대해서 가열처리 후 쓴맛성분의 변화를 관찰하기 위하여 물추출물은 상온, 50℃, 80℃, 100℃ 및 121℃에서 각각 1시간씩 가열처리하였으며, 에탄올추출물은 상온과 70℃에서 물추출물과 똑같이 처리하여 쓴맛성분 추출시료로 사용하였다.

다) 쓴맛성분의 관능검사

쓴맛성분은 관능평가로 측정하였다. 즉, 추출 및 가열처리된 시료를 1 mL씩을 취하여 추출용매 100 mL에 각각 녹인 후 순천대학교 학생 및 대학원생 10명에게 음용하게 하여 관능으로 쓴맛성분 추출정도를 5단계평가로 실시하였다. 즉, 쓴맛이 매우 강하다 5점, 강하다 4점, 보통이다 3점, 약하다 2점, 거의 없다 1점으로 관능평가를 실시하였다.

11) 울금 용매추출물 제조

시료의 추출은 Fig. 3-1과 같이 실시하였다. 환류 물추출물(Reflux extraction-Water, RW)과 환류 에탄올추출물(Reflux extraction-Ethanol, RE)은 환류 냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 시료 당 10배에 해당되는 양의 증류수 및 70% 에탄올을 넣고 80℃와 60℃의 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출하였다. 가압열수 추출물(Pressure heating extraction-Water, PW)은 시료의 30배 분량의 증류수를 넣고 압력추출기로 110℃, 1.5 기압 하에서 3시간 동안 추출하였다. 모아진 추출액은 filter paper(Whatman No. 2)로 거른 다음, rotatory vacuum evaporator (Eyela 400 series, Japan)로 감압농축 후 사용하였다. 각 추출물의 동결 건조 및 용매 분획된 시료는 10 mg/mL로 희석하여 polyphenol, flavonoid와 DPPH radical 소거 활성, 지질과산화 억제효과 등의 측정하기 위한 시료액으로 사용하였다.

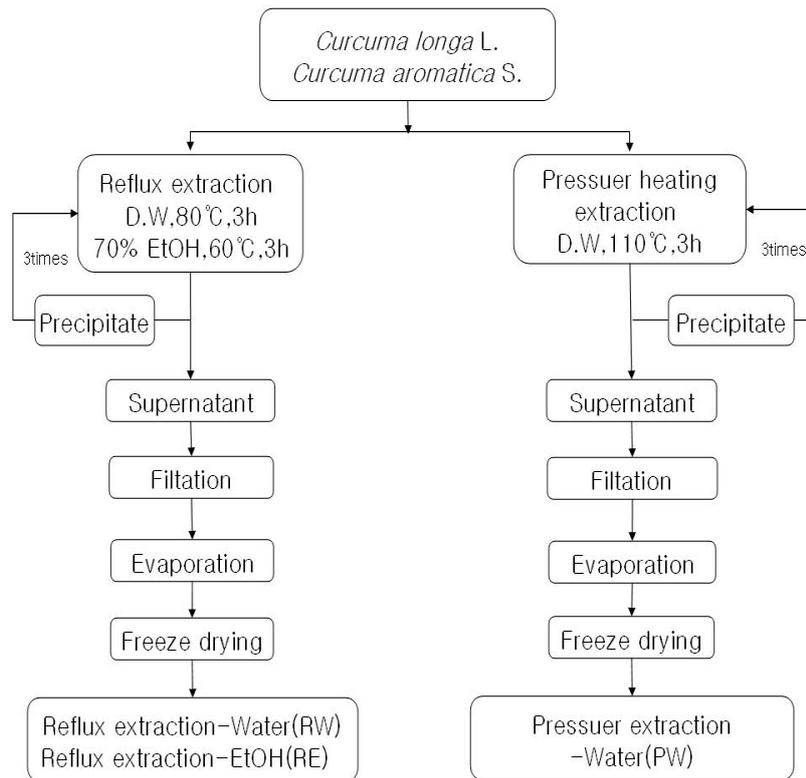


Fig. 3-1. Extraction procedure of the *Curcuma longa* L..

12) 울금 에탄올추출물의 용매분획

울금 에탄올(80%) 추출물을 Fig. 3-2와 같이 separating funnel에 의한 용매별 분획으로 n-hexane, chloroform, ethylacetate, n-butanol 및 water로 연속 추출한 후 각 분획물을 rotary vacuum evaporator로 감압·농축한 다음 동결 건조시켜 추출수율을 계산하고 생리활성 물질의 측정용 시료로 사용하였다.

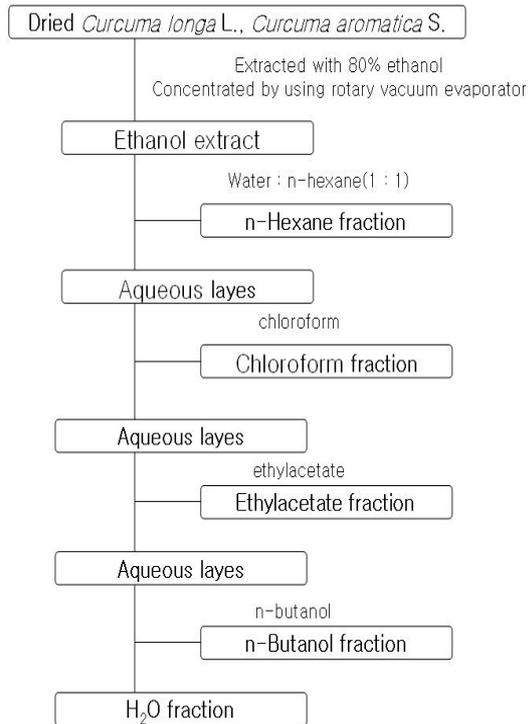


Fig. 3-2. Procedure for extraction and fractionation of *Curcuma longa* L. by various solvents.

13) 항산화 활성 측정

가) 총 polyphenol 측정

총 polyphenol 측정은 시료를 10 mg/mL 농도로 증류수에 녹인 다음 Folin-ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 첨가한 후, 교반 혼합하여 3분간 실온에서 방치한 다음, NaCO₃ 포화 용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수를 1.4 mL 가하고 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. 표준곡선은 tannic acid를 10 mg/mL 농도로 증류수에 녹이고 최종농도가 0, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL 용액이 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다.

나) 총 flavonoid 측정

총 플라보노이드 측정은 분획물 400 µL에 90% diethylene glycol 4 mL를 첨가하고, 다시 1 N NaOH 40 µL 을 넣은 다음 37°C water bath에서 1시간 동안 incubation한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 rutin(Sigma Co., USA)을 이용하여 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. 표준곡선은 rutin을 10 mg/mL 농도로 증류수에 녹이고 최종농도가 0, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL 용액이 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

다) DPPH free radical 소거 활성 측정

시료의 DPPH radical 소거 활성 측정은 dimethyl sulfoxide(DMSO) 100 µL를 대조군의

로 하고, DMSO에 녹여 희석한 시료 100 μ L에 200 μ M DPPH 1,900 μ L를 가한 후, 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도의 감소 정도를 측정하여 저해율(inhibition rate, %)을 구하였다

라) 지질과산화 억제효과 측정

지질과산화 억제효능(thiobarbituric acid value, TBA value)의 측정은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 에탄올을 4:1로 혼합한 용액에 linoleic acid를 0.03 M이 되도록 첨가하였다. 이 지질 용액 2.5 mL에 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0) 2.4 mL 및 0.1% 분획물 0.1 mL씩 첨가하여 반응액을 조제한 후 반응액 2.0 mL에 35% trichloroacetic acid(TCA) 1.0 mL와 0.75% thiobarbituric acid(TBA) 2.0 mL을 가한 다음 vortex mixer로 진탕하여 95°C 수욕 상에서 40 분간 반응하였다. 이 반응액을 실온까지 냉각시켜 glacial acetic acid 1.0 mL, chloroform 2.0 mL를 가하고 진탕시킨 후 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하여 532 nm에서 상정액의 흡광도를 측정하였다. TBA값은 분획물 첨가구의 흡광도와 대조군의 흡광도로부터 산출하였다.

마) 항산화지수 측정

항산화지수(antioxidant index, AI)는 Rancimat(Metrohm model 679, Herisan, Switzerland)을 이용하여 측정하였다. 각 분획물에 포함된 용매를 완전히 제거한 후 각 분획물의 함량이 600 ppm이 되도록 soybean oil(Sigma Co., USA)를 이용하여 시료 추출물과 유지가 잘 혼합되도록 하였다. Rancimat의 측정 조건은 시료 3.0 g을 반응용기에 취하고 증류수 70 mL를 측정용기에 넣은 후 110°C에서 air flow rate 20 L/h로 하여 산화안정성을 비교하였다. 항산화지수(antioxidant index, AI)는 분획물을 첨가한 실험군의 유도시간을 분획물을 첨가하지 않은 대조군의 유도시간으로 나눈 값을 구하였고, 모든 측정치는 3회 반복 실험하여 얻은 값의 평균치로 표시하였다. 기존의 상업용 항산화제인 BHT를 유지에 대해 첨가하여 양성 대조군으로 비교 실험하였다.

14) 항균 활성 측정

가) 사용균주 및 배지

본 연구에 항균 활성 측정을 위해서 사용하는 균주는 *Staphylococcus aureus* KCCM 11764, *Salmonella typhimurium* KCTC 2208, *Vibrio parahaemolyticus* KCCM 41664, *Escherichia coli* KCCM 11569를 사용하였으며, nutrient broth(NB, Difco, USA)와 nutrient agar(NA, Difco, USA)배지를 사용하여 121°C에서 15분간 가압 멸균하여 사용하였다.

나) 액체 배양법

사면 배양하여 보관중인 시험균주를 액체 배지에 여러 번 계대배양 하면서 사용하였다. 식용식물 추출물의 최소저해농도(MIC, minimum inhibitory concentration)는 각 공시 균주의 slant에서 배양된 균주 1 백금이를 취하여 100 mL NB에 접종, 37°C에서 24시간 동안 배양시키고, 28 mL 추출물을 NB에 500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000 ppm 농도단위로 첨가한 후, 균 배양액 3.5 mL를 취해 접종하여 37°C shaking incubator(SI-600R, Jeio Tech, Korea)에서 배양하였다. 4시간 간격으로 24시간 동안 식용식물 추출물을 첨가한 농도별 항균효과는 미생물의 생육정도를 spectrophotometer(650 nm)로 흡광도를 측정하였으며, 식용식물 추출물을 배지에 넣

지 않고 균을 접종한 대조구를 blank로 사용하였다. 이와 같은 실험 결과를 이용하여 공시균주에 대한 식용식품 추출물의 생육억제효과를 확인하기 위하여 생육저해 농도곡선을 작성하였다.

다) 울금 추출물의 항균활성 측정

울금 추출물의 항균성 검색에 사용한 균주는 slant에 배양된 각 균주 1백금이를 취하여 10 mL broth의 균생육 배지에 접종하고, 37°C에서 18~24시간씩 3회 계대배양하여 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 각각의 생육배지로 멸균된 기층용 배지를 petri dish에 15 mL씩 분주하여 응고시키고, 중층용 배지를 각각 5 mL씩 시험관에 분주하여 멸균한 후, 45°C 수욕상에서 보관하면서 각종 시험균액(멸균식염수로 균현탁액을 만들어 균 농도를 660 nm에서 흡광도가 0.3이 되게 한 균현탁액) 0.1 mL를 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 후 기층용 배지위에 분주한 뒤 고르게 응고시켜 2중의 균점종 평판배지를 만들었다. 울금 추출물을 멸균된 filter paper disc(Toyo Seisakusho, 8 mm)에 80 µL씩 흡수시킨 후, 추출용매를 감압 건조기에서 완전히 날려 보내고 시험용 평판배지 표면에 놓아 밀착시킨 다음, 냉장고(4°C)에서 1시간 동안 방치한 후, 37°C incubator에서 24~48시간 동안 배양한 다음 disc주변의 clear zone 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다

15) 울금의 생리활성 물질의 분리 및 동정

가) 생리활성(항균성) 물질의 분리

에탄올추출물을 용매 계통분획하여 얻은 각 분획물들의 항균활성을 측정 비교한 후, 활성이 강한 에틸아세테이트 분획물로부터 유효성분을 검색할 목적으로 silica gel(ø 3 cm×35 cm, 70~230 mesh, Merck) column chromatography을 행하고 다시 여러 개의 subfraction으로 나눈 후, 각 subfraction에 대하여 항균활성을 비교하면서 항균성 물질을 순수 분리하였다. 즉, 유리 column(ø 3 cm×50 cm)에 시료의 약 10배의 활성화된 silica gel(70~230 mesh, Merck)을 클로로포름으로 slurry로 만들어 충전한 후, 시료를 CHCl₃-MeOH 용매계로 메탄올 농도를 0, 20, 40, 60, 80, 100% 까지 단계적으로 증가시키면서 용출하였다. 유속은 1.0 mL/min로 하였고 fraction collector를 사용하여 분획당 10 mL씩 분취하였다. 이들 분획물들을 TLC상에 전개하여 비슷한 R_f치를 보이는 fraction들을 합하여 총 8개의 fraction으로 분리하였다. 이와 같이 얻은 각 분획물들을 감압농축하고 paper disc 방법에 따라 항균성을 측정하여 항균활성이 확인된 분획물 compound I, II, III, IV를 얻었다(Fig 3-3).

나) NMR 분석과 동정

울금추출물과 curcumin 표준물질(curcumin, demethoxycurcumin, bis curcumin demethoxycurcumin)의 구조 동정 ¹H-NMR(Bruker, Germany, Avance 400, 400 MHz)을 이용하여 분석하였다. 표준물질과 추출물을 각각 NMR 용매인 메탄올(MeOH-D₃)에 용해시킨 후 상온에서 ¹H-NMR분석을 하였으며, ppm 단위로 화학적 이동치(chemical shift)를 기록하였다.

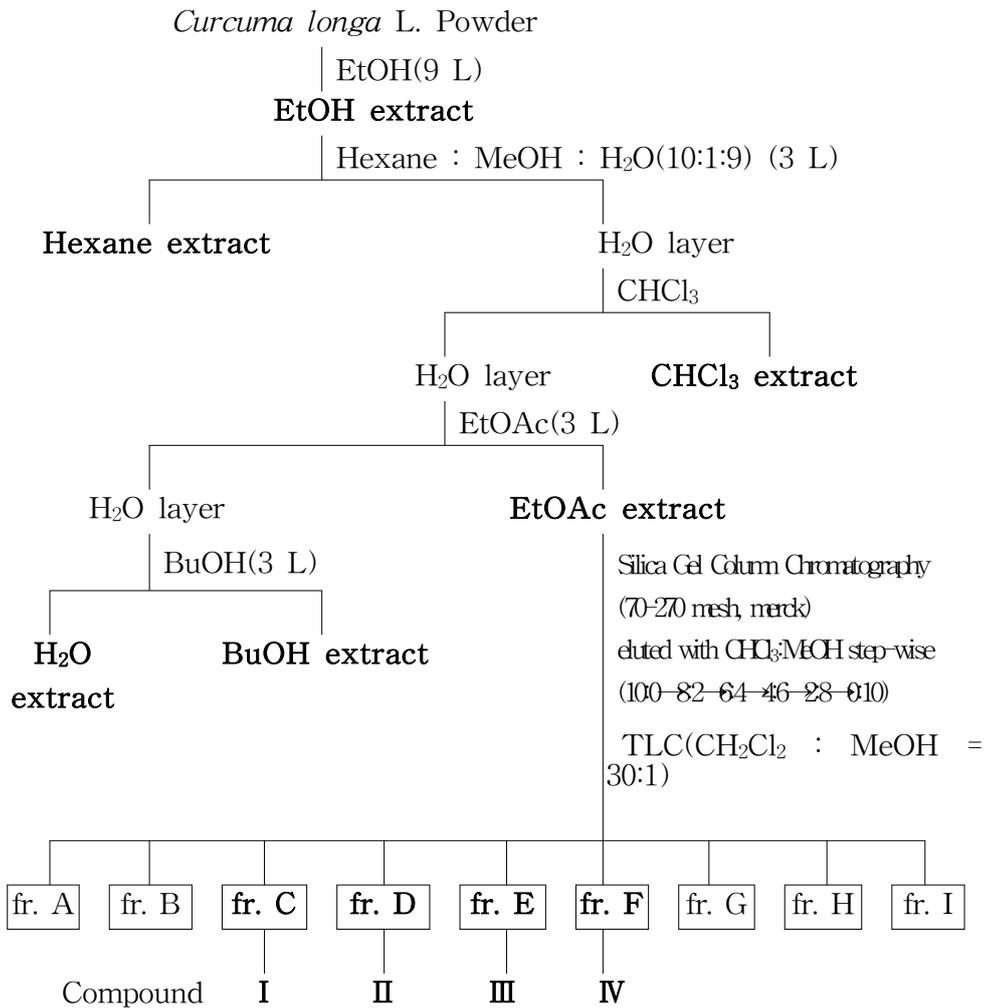


Fig. 3-3. Purification procedure of antimicrobial substance from *Curcuma longa* L. powder.

16) 미생물 균수 측정

가) 일반세균수 측정

일반세균의 생균수 검색을 위하여 개발 울금주 및 전통 탁주를 각각 10°C와 20°C에서 12일 동안 저장하여 3일마다 1 mL을 취한 후, plate count agar(PCA, Difco, USA)배지를 사용하여 121°C에서 15분간 가압 멸균한 배지 20 mL을 petri dish에 가한 후, 응고시켰다. 여기에 각 시료 1 mL을 멸균수를 이용하여 10⁵까지 희석하고 50 µL를 취해 도말봉을 사용하여 도말한 후, 37°C incubator에서 24시간 배양하여 생균수를 측정하였다.

나) 초산균수 측정

초산균의 생균수 검색을 위하여 개발 울금주 및 전통 탁주를 각각 10°C와 20°C에서 12일 동안 저장하여 3일마다 1 mL을 취한 후, YPM agar배지를 사용하였다. YPM agar배지는

증류수 1 L에 glucose 2 g, yeast extract 0.5 g, peptone 5 g, KH_2PO_4 0.8 g, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.35 g, agar 15 g으로 제조하였다. 그 후, 121°C에서 15분간 가압 멸균한 배지 20 mL을 petri dish에 가한 후, 응고시켜, 각 시료 1 mL을 멸균수를 이용하여 10^5 까지 희석하고 50 μL 를 취해 도말봉을 사용하여 도말한 후, 37°C incubator에서 24시간 배양하여 생균수를 측정하였다.

다) 유산균수 측정

유산균의 생균수 검색을 위하여 개발 울금주 및 전통 탁주를 각각 10°C와 20°C에서 12일 동안 저장하여 3일마다 1 mL을 취한 후, MRS agar(Difco, USA)배지를 사용하여 121°C에서 15분간 가압 멸균한 배지 20 mL을 petri dish에 가한 후, 응고시켰다. 여기에 각 시료 1 mL을 멸균수를 이용하여 10^5 까지 희석하고 50 μL 를 취해 도말봉을 사용하여 도말한 후, 37°C incubator에서 24시간 배양하여 생균수를 측정하였다.

라) 효모수 측정

효모수 검색을 위하여 개발 울금주 및 전통 탁주를 각각 10°C와 20°C에서 12일 동안 저장하여 3일마다 1 mL을 취한 후, YPD agar(Difco, USA)배지를 사용하여 121°C에서 15분간 가압 멸균한 배지 20 mL을 petri dish에 가한 후, 응고시켰다. 여기에 각 시료 1 mL을 멸균수를 이용하여 10^5 까지 희석하고 50 μL 를 취해 도말봉을 사용하여 도말한 후, 37°C incubator에서 24시간 배양하여 생균수를 측정하였다.

17) 휘발성 알코올 분석

휘발성 알코올 분석은 시료 10 mL를 20 mL vial에 넣어 고무마개와 알루미늄 뚜껑으로 밀폐시킨 후, Headspace Autoinjector(Techma-HT-3)에서 70°C에서 50분 동안 평형화시킨, 기체 1 mL를 GC-MS(Shimadzu GSMS-QP 2010 Plus, Japan)에 주입하여 분석하였다. 이때 column은 HP-INNOWAX(crosslinked polyethylene glycol, 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm film thickness)를 사용하였고, oven 온도는 35°C에서 2분간 머무른 후 800°C까지 분당 4°C로 승온시키고 1분간 머무르게 한 후 다시 190°C 까지 분당 8°C로 승온시키고 15분 동안 머무르게 하였으며, injector 온도는 250°C하였다. 또 carrier gas는 He를 분당 3.0 mL로 흐르게 하여 30초 후에 split mode로 전환 되는 splitless mode를 이용하였고 split ratio는 80:1로 하였다. Mass spectrometry의 ion source 온도는 200°C, interface 온도는 250°C로 하고, EI⁺ mode에 ion energy는 70 eV 이었으며, 휘발성분 확인 은 NIST/NBS library를 이용하였다.

제 2 항 결 과

가. 울금의 부위별 성분 함량

1) 울금의 부위별 일반성분 조성

울금의 부위별 일반성분을 분석하기 위하여 잎, 줄기 및 뿌리로 구분하여 분석한 결과는 Table 3-1과 같다. 일반성분 중 수분은 줄기가 91.98%로 가장 높았으며, 그 다음 순으로는 뿌리가 89.04%, 잎이 83.35%로 나타났다. 조단백질은 뿌리가 1.72%로 가장 높았으며, 잎이

0.35%, 줄기가 0.29%를 보였다. 조지방은 줄기에서 0.65%, 조섬유는 잎에서 8.49%, 조회분은 잎에서 1.91%로 각각 높게 나타났다. 가용성무질소물은 잎에서 5.50%로 가장 높았으며, 뿌리가 3.91%, 줄기가 2.19%로 각각 나타났다.

Table 3-1. Proximate composition of different parts of *Curcuma longa* L.

Composition	(unit : %, wet basis)		
	Leaf	Stem	Root
Moisture	83.35	91.98	89.04
Crude protein	0.35	0.29	1.72
Crude fat	0.40	0.65	0.25
Crude fiber	8.49	4.45	3.37
Crude ash	1.91	0.44	1.71
Soluble nitrogen substance	5.50	2.19	3.91

2) 울금의 부위별 무기성분 함량

울금의 부위별 무기성분 함량을 분석한 결과는 Table 3-2와 같다. 부위별 무기성분 중 칼륨, 칼슘, 마그네슘 및 인 등이 높게 나타났으며, 크롬, 망간, 철, 아연 등은 미량으로 나타났다. 잎과 뿌리에서 칼륨이 각각 55.41 mg%와 309.91 mg%, 잎과 줄기에서 칼슘이 각각 145.13 mg%와 23.00 mg%, 잎과 줄기에서 마그네슘이 75.23 mg%와 28.18 mg%, 잎과 뿌리에서 인이 72.30 mg%와 54.72 mg%로 높은 함량을 보였다. 망간은 잎에서 12.7 mg%로 줄기와 뿌리에 비해서 높게 나타난 반면에 크롬, 철, 코발트, 니켈 및 아연 등은 미량으로 나타났다.

Table 3-2. The contents of mineral elements in *Curcuma longa* L.

Minerals	(unit : mg%, wet basis)		
	Leaf	Stem	Root
K	559.41	85.23	309.91
Ca	145.13	23.00	11.47
Mg	75.23	28.18	20.18
Cr	0.26	0.01	-
Mn	12.78	1.36	0.93
Fe	1.60	-	0.46
Co	-	-	0.04
Ni	0.02	-	0.02
Zn	0.22	0.24	0.12
Sr	0.32	0.10	0.04
As	0.22	0.02	-
P	72.30	45.95	54.72

3) 울금의 부위별 아미노산 함량

가) 구성아미노산 함량

아미노산은 단백질 식품의 품질을 결정하는 인자로서 울금의 부위별 구성아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 3-3과 같으며, aspartic acid 외 16종의 아미노산이 확인되었다. 잎

의 경우, 총 구성 아미노산이 307.19 mg% 함유되어 있으며, 주요 구성아미노산은 aspartic acid, glutamic acid, leucine 및 alanine으로 각각 63.14 mg%, 58.16 mg%, 24.65 mg%, 19.17 mg%의 함량을 나타냈다. 줄기의 경우는 총 구성 아미노산이 276.89 mg% 함유되어 있으며, 주요 구성아미노산은 glutamic acid, aspartic acid, leucine, lysine, serine 및 alanine으로 각각 39.12 mg%, 27.76 mg%, 27.12 mg%, 19.39 mg%, 19.30 mg% 및 18.39 mg%의 함량을 나타냈다. 뿌리의 경우는 총 구성 아미노산이 1,822.67 mg% 함유되어 있으며, 주요 구성아미노산은 glutamic acid, aspartic acid, leucine, threonine, serine, lysine 및 alanine으로 각각 285.48 mg%, 178.45 mg%, 163.99 mg%, 162.33 mg%, 113.25 mg%, 113.02 mg% 및 111.91 mg%의 함량을 나타냈다. 이상의 결과를 부위별로 비교해보면, 총 구성 아미노산의 함량이 뿌리가 1,822.67 mg%로 가장 높게 나타났으며, 필수 아미노산의 함량도 뿌리에서 808.48 mg%로 가장 높게 나타났다.

Table 3-3. The contents of total amino acids of *Curcuma longa* L.

Amino acids	(unit : mg%, wet basis)		
	Leaf	Stem	Root
Aspartic Acid	63.14	27.76	178.45
Threonine	2.43	6.63	162.33
Serine	15.48	19.30	113.25
Glutamic acid	58.16	39.12	285.48
Proline	11.20	14.29	64.59
Glycine	14.61	16.44	96.77
Alanine	19.17	18.39	111.91
Cystine	0.00	0.00	0.00
Valine	17.21	17.72	104.72
Methionine	3.73	3.97	23.82
Isoleucine	13.44	14.56	87.33
Leucine	24.65	27.12	163.99
Tyrosine	9.04	9.68	62.21
Phenylalanine	13.99	16.70	104.02
Histidine	8.65	9.39	49.25
Lysine	17.21	19.39	113.02
Arginine	15.09	16.44	101.53
TAA	307.19	276.89	1,822.67
EAA	103.31	115.51	808.48
EAA/TAA(%)	33.63	41.71	44.35

TAA : total amino acid.

EAA : essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys).

나) 유리아미노산 함량

울금의 부위별 유리아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 3-4와 같으며, 구성아미노산과는 다르게 잎은 aspartic acid 외 14종, 줄기와 뿌리는 15종의 아미노산이 각각 확인되었다. 잎의 경우, 총 유리 아미노산이 25.34 mg% 함유되어 있으며, 주요 유리아미노산은 threonine,

aspartic acid, alanine 및 valine으로 각각 7.17 mg%, 5.28 mg%, 3.69 mg%, 2.92 mg% 및 1.29 mg%의 함량을 나타냈다. 줄기의 경우는 총 유리아미노산이 14.99 mg% 함유되어 있으며, 주요 유리아미노산은 threonine, glutamic acid, aspartic acid, alanine 및 phenylalanine으로 각각 3.61 mg%, 2.42 mg%, 1.52 mg%, 1.43 mg% 및 1.31 mg%의 함량을 나타냈다. 뿌리의 경우는 총 유리아미노산이 34.737 mg%로 가장 많이 함유되어 있으며, 주요 유리아미노산은 threonine, glutamic acid, alanine, aspartic acid, phenylalanine 및 serine 으로 각각 8.16 mg%, 7.13 mg%, 3.38 mg%, 2.89 mg%, 2.71 mg%, 2.13 mg%의 함량을 나타냈다. 이상의 결과를 부위별로 비교해보면, 총 유리아미노산의 함량도 구성아미노산과 같이 뿌리가 가장 높게 나타났으나, 필수 아미노산의 함량은 잎이 10.94 mg%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 뿌리가 10.47 mg%, 줄기가 5.37 mg% 순으로 나타났다.

Table 3-4. The contents of free amino acids of *Curcuma longa* L.

(unit : mg%, wet basis)

Amino acids	Leaf	Stem	Root
Aspartic Acid	5.28	3.61	8.16
Threonine	7.17	1.52	2.89
Serine	-	1.43	3.38
Glutamic acid	2.92	2.42	7.13
Proline	-	-	-
Glycine	0.91	0.18	0.82
Alanine	3.69	1.20	2.02
Cystine	-	--	-
Valine	1.10	0.72	1.34
Methionine	0.23	0.05	0.09
Isoleucine	0.41	0.25	0.36
Leucine	0.55	0.29	0.64
Tyrosine	0.31	0.10	0.63
Phenylalanine	0.12	0.50	1.55
Histidine	0.77	1.31	2.71
Lysine	0.59	0.73	0.89
Arginine	1.29	0.68	2.13
TAA	25.34	14.99	34.73
EAA	10.94	5.37	10.47
EAA/TAA(%)	43.17	35.82	30.14

TAA : total amino acid.

EAA : essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys).

4) 울금의 부위별 유리당의 함량

울금의 부위별 유리당 함량을 분석한 결과는 Table 3-5와 같다. 주요 유리당은 fructose, glucose, sucrose 등 3개의 당이 확인되었고, 잎, 줄기 및 뿌리의 총 유리당이 206.87 mg%, 320.36 mg% 및 546.35 mg%로 각각 나타나 뿌리가 가장 높은 함유율을 보였다. 과당은 잎이 24.70 mg%, 줄기가 52.80 mg%, 뿌리가 50.98 mg%를 보여 줄기에서 가장 높았으며, 잎, 줄기 및 뿌리에서 포도당이 각각 12.52 mg%, 43.67 mg%, 45.03 mg%, sucrose는 각각 169.65 mg%, 223.89 mg%, 450.34 mg%를 보여 뿌리에서 가장 높은 함유율을 보였다.

Table 3-5. Contents of free sugars of *Curcuma longa* L.

(unit : mg%, wet basis)			
Sugars	Leaf	Stem	Root
Fructose	24.70	52.80	50.98
Glucose	12.52	43.67	45.03
Sucrose	169.65	223.89	450.34
Total	206.87	320.36	546.35

5) 울금의 부위별 유기산 함량

울금의 부위별 유기산 함량을 분석한 결과는 Table 3-6과 같다. 부위 중위 주요 유기산은 잎과 줄기는 tartaric acid와 oxalic acid 2종이 확인되었으나 뿌리에서는 tartaric acid, oxalic acid, citric acid 및 glutaric acid 등 4종이 검출되었다.

Table 3-6. Contents of organic acids of *Curcuma longa* L.

(unit : mg%, wet basis)			
Organic acid	Leaf	Stem	Root
Tartaric acid	33.57	1,325.36	56.71
Oxalic acid	555.65	155.79	139.26
Citric acid	-	-	170.10
Glutaric acid	-	-	159.99
Total	589.22	1,481.15	526.06

6) 울금의 부위별 curcumin 함량

울금의 부위별 curcumin 함량을 분석한 결과는 Fig. 3-4과 같다. 울금의 잎에서 0.28 mg%, 줄기가 0.39 mg%, 뿌리에서 108.80 mg%를 보여 뿌리에서 가장 높았으며, 잎과 줄기에서는 그 럼이 미량이 검출되었다.

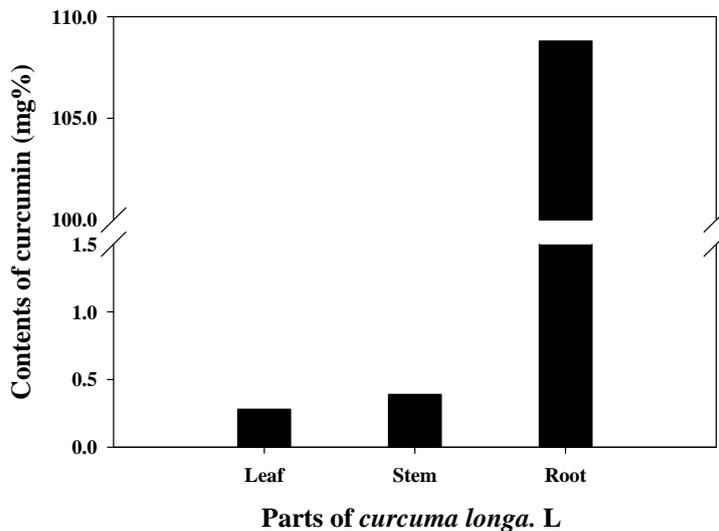


Fig. 3-4. Contents of curcumin of *Curcuma longa* L.

나. 울금 품종과 채취시기별 성분 함량

1) 일반성분 함량

채취시기에 따른 가을울금과 봄울금의 일반성분 분석 결과는 Table 3-7과 같다. 수분 함량은 가을울금의 경우, A시료는 82.80%, B시료는 83.47%, C시료는 88.50%, D시료는 84.49%로 나타났으며, 봄울금의 경우에는 A시료는 76.38%, B시료는 78.65%, C시료는 83.31%, D시료는 81.88%로 나타났다. 이상의 결과로 보면 가을울금과 봄울금 모두 10월에서 12월까지의 채취 시기가 늦어질수록 수분함량은 점차 증가하다가 이듬해인 1월에는 약간 감소하는 경향을 보였으며, 가을울금이 봄울금에 비해 전반적으로 높은 수분함량을 보였다. 조회분의 함량은 가을울금의 경우, A시료는 1.19%, B시료는 1.68%, C시료는 1.85% 그리고 D시료는 1.83%로 나타났으며, 봄울금의 경우에는 A시료는 0.87%, B시료는 0.99%, C시료는 1.57% 및 D시료는 1.72%로 나타났다. 가을울금과 봄울금 모두 채취 시기가 늦어질수록 점차 증가하는 경향을 보였다. 조단백 함량은 가을울금의 경우, A시료는 1.64%, B시료는 1.87%, C시료는 2.27%, D시료는 2.37%로 나타났으며, 봄울금의 경우에는 A시료는 1.54%, B시료는 1.74%, C시료는 1.93% 및 D시료는 1.86%로 나타났다. 이상의 결과로 보면 가을울금과 봄울금 모두 10월에서 12월까지의 채취 시기가 늦어질수록 조단백 함량은 점차 증가하다가 이듬해인 1월에는 약간 감소하는 경향을 보였으며, 가을울금이 봄울금에 비해 전반적으로 높은 함량을 보였다. 조지방 함량은 가을울금의 경우, A시료는 1.04%, B시료는 1.13%, C시료는 1.19%, D시료는 1.25%로 나타났으며, 봄울금의 경우에는 A시료는 0.85%, B시료는 0.97%, C시료는 1.07%, D시료는 1.09%로 나타났다. 가을울금과 봄울금 모두 채취 시기가 늦어질수록 조지방 함량은 점차 증가하는 경향을 보였으나 그 차이는 미미하였다. 조섬유 함량은 가을울금의 경우, A시료는 2.57%, B시료는 2.55%, C시료는 2.13%, D시료는 1.81%로 나타났다. 봄울금의 경우에는 A시료는 2.25%, B시료는 2.36%, C시료는 1.90%, D시료는 1.71%로 나타났다. 가을울금과 봄울금 모두 11월까지의 조섬유 함량이 약간 증가하다가 12월에서부터는 다소 감소하는 것으로 나타났다. 봄울금보다 가을울금이 약간 높은 함유량을 보였다. 가용성무질소물 함량은 가을울금의 경우, A시료는 10.79%, B시료는 9.36%, C시료는 4.15%, D시료는 8.53%로 나타났다. 봄울금의 경우에는 A시료는 18.12%, B시료는 15.44%, C시료는 9.67%, D시료는 11.58%로 나타났다. 가을울금과 봄울금 모두 10월에서 12월까지의 채취 시기가 늦어질수록 가용성무질소물 함량은 다른 성분과는 반대로 점차 감소하다가 이듬해인 1월에는 약간 증가하는 경향을 보였으며, 봄울금이 가을울금에 비해 전반적으로 약간 높은 함량을 보여 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$).

Table 3-7. Proximate composition of in the *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib according to picking time (unit : %, wet basis)

Composition	Samples ¹⁾							
	<i>Curcuma longa</i> L.				<i>Curcuma atomatica</i> Salib			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Moisture	82.80±1.12 ^d	83.47±1.15 ^c	88.50±0.95 ^a	84.49±1.10 ^b	76.38±1.11 ^d	78.65±1.05 ^c	83.31±1.18 ^a	81.88±1.29 ^b
Crude protein	1.64±0.21 ^b	1.87±0.27 ^{ab}	2.27±0.25 ^a	2.37±0.59 ^a	1.54±0.27 ^b	1.74±0.20 ^{ab}	1.93±0.37 ^a	1.86±0.41 ^a
Crude fat	1.04±0.07 ^a	1.13±0.08 ^a	1.19±0.24 ^a	1.25±0.29 ^a	0.85±0.15 ^a	0.97±0.29 ^a	1.07±0.18 ^a	1.09±0.25 ^a
Crude fiber	2.57±0.25 ^a	2.55±0.46 ^a	2.13±0.21 ^b	1.81±0.22 ^b	2.25±0.28 ^a	2.36±0.32 ^a	1.90±0.34 ^b	1.71±0.43 ^b
Crude ash	1.19±0.12 ^a	1.68±0.27 ^a	1.85±0.72 ^a	1.83±0.29 ^a	0.87±0.21 ^c	0.99±0.13 ^b	1.57±0.42 ^{ab}	1.72±0.29 ^a
Soluble nitrogen	10.79±0.81 ^a	9.36±0.79 ^b	4.15±0.73 ^d	8.53±1.19 ^c	18.12±1.09 ^a	15.44±1.32 ^b	9.67±1.03 ^d	11.58±1.30 ^c

¹⁾A: Sampled on October 24, 2006.

B: Sampled on November 24, 2006.

C: Sampled on December 24, 2006.

D: Sampled on January 24, 2007.

^{a-d)}Mean±SD (n=3) with different superscripts within a row are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

2) 무기질과 중금속 함량

두 종류의 가을울금과 봄울금을 채취 시기별로 주요 무기질 함량을 ICP를 이용하여 분석한 결과는 Table 3-8과 같다. P의 함량은 가을울금에서 C시료가 127.82 mg%, 봄울금에서는 D시료가 107.83 mg%로 가장 높았고, 두 종류 모두에서 A시료구에서 65.70 mg%, 81.88 mg%로 가장 낮게 나타났으며 전반적으로 봄울금이 가을울금보다 높은 함유량을 보였다. Ca의 함량은 두 종류 모두 D시료구에서 24.36 mg%, 21.63 mg%로 가장 높게 나타났으며, A시료구에서 8.82 mg%, 12.63 mg%로 가장 낮은 함유량을 보였다. K의 함량은 가을울금에서 C시료가 633.69 mg%, 봄울금에서 B시료구가 643.76 mg%로 가장 높았고, 가장 낮은 시료구는 가을울금에서 A시료구가 582.47 mg%, 가을울금 D시료구가 472.38 mg%로 각각 나타났으나 그 차이는 미미하였다. Na의 함량은 가을울금의 경우, A시료구 19.52 mg%에서 채취 시기가 늦어질수록 점차 감소하여 C시료구에서 6.96 mg%로 가장 낮은 함유량을 보였으나 이듬해인 D시료구에서는 54.56 mg%로 증가하여 가장 높은 함유량을 보였다. Mg의 함량은 가을울금에서 D시료구가 56.09 mg%, 봄울금에서 A시료구가 54.53 mg%로 가장 높았으며, 가장 낮은 시료구는 가을울금에서 A시료 29.01 mg%, 봄울금에서 B시료구 26.59 mg%로 나타났다. 이상의 결과를 보면, 채취시기에 따라 대부분의 주요 무기질의 함량은 차이가 뚜렷하였으며, 가을울금의 경우 채취시기가 늦을수록 P, Ca, K 함유량은 증가하는 경향을 보였으나 이듬해인 D시료구에서는 다소 감소하는 경향을 보였다. 그 외 Mn, Fe, Cu, Zn, Sr, Al 등의 무기물 등은 시료에 따라서 극미량이 검출되었으나 채취시기별로의 차이는 유의성이 없었다. 또한 Cr, Cd 및 Hg 등의 중금속은 검출되지 않았으며, Pb와 As는 채취시기별로 불규칙하게 흔적정도 극미량이 검출되었다.

Table 3-8. The contents of mineral elements in *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib according to picking time (mg%)

Mineral	Samples ¹⁾							
	<i>Curcuma longa</i> L.				<i>Curcuma atomatica</i> Salib			
	A	B	C	D	A	B	C	D
P	65.70±0.77 ^d	90.22±1.01 ^b	127.82±1.30 ^a	84.45±1.18 ^c	81.88±1.38 ^d	85.44±1.42 ^c	90.22±1.20 ^b	107.83±1.20 ^a
Ca	8.82±0.72 ^d	11.73±0.86 ^c	30.60±1.36 ^a	24.36±1.27 ^b	12.63±1.09 ^c	14.12±1.04 ^b	14.45±0.86 ^b	21.63±1.19 ^a
K	582.47±1.06 ^c	586.57±1.41 ^b	633.69±1.78 ^a	632.24±1.90 ^a	491.57±1.46 ^b	643.76±1.88 ^a	481.40±1.64 ^c	472.38±1.66 ^d
Na	19.52±0.60 ^b	18.73±0.86 ^b	6.96±0.81 ^c	54.56±1.31 ^a	41.68±1.04 ^b	21.59±1.41 ^d	31.70±1.43 ^c	49.21±1.21 ^a
Mg	29.01±1.58 ^d	50.20±1.02 ^b	40.26±1.04 ^c	56.09±1.00 ^a	54.53±1.27 ^a	26.59±1.26 ^d	32.19±1.08 ^c	40.34±1.19 ^b
Mn	0.02±0.01 ^c	0.40±0.06 ^a	0.05±0.01 ^c	0.14±0.02 ^b	17.59±1.38 ^a	0.16±0.03 ^b	-	1.05±0.03 ^b
Fe	- ²⁾	-	-	0.19±0.02 ^a	-	-	-	-
Cu	-	0.14±0.01 ^a	0.07±0.01 ^b	-	0.56±0.07 ^a	0.09±0.02 ^b	0.01±0.01 ^b	0.04±0.01 ^b
Zn	-	6.70±0.80 ^a	-	0.85±0.07 ^b	-	-	-	0.41±0.07 ^a
Sr	0.03±0.01 ^b	0.10±0.02 ^a	0.12±0.02 ^a	-	0.42±0.03 ^a	0.07±0.02 ^b	0.08±0.01 ^b	0.16±0.03 ^c
Al	-	2.28±0.08 ^a	-	1.30±0.19 ^b	73.30±1.21 ^a	14.10±0.52 ^b	8.55±0.14 ^b	9.43±0.69 ^b
Cr	-	-	-	-	-	-	-	-
Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb	-	-	-	-	-	-	-	-
As	-	-	-	-	-	-	-	-
Hg	-	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾Samples shown in Table 3-7.

²⁾Not detected.

^{a-d)}Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

3) 아미노산 함량

가) 구성아미노산 함량

채취시기에 따른 가을울금과 봄울금의 구성아미노산 함량을 아미노산자동분석기를 사용하여 측정한 결과는 Table 3-9, 3-10과 같으며, aspartic acid 외 16종의 아미노산이 확인되었다. 가을울금의 경우, 총 구성아미노산이 A시료구는 1,591.51 mg%, B시료구는 1,753.07 mg%, C시료구는 2,081.24 mg%, D시료구는 1,957.32 mg%가 각각 함유되어 있으며, 주요 구성아미노산은 aspartic acid, serine, glutamic acid, valine, leucine로 A시료구는 각각 448.15 mg%, 114.65 mg%, 219.42 mg%, 109.27 mg%, 144.30 mg%, B시료구는 각각 467.33 mg%, 113.57 mg%, 244.55 mg%, 110.61 mg%, 144.94 mg%, C시료구는 각각 504.41 mg%, 118.35 mg%, 277.71 mg%, 123.44 mg%, 182.67 mg%, D시료구는 각각 479.04 mg%, 112.37 mg%, 278.55 mg%, 111.72 mg%, 159.20 mg%의 함량을 나타냈다. 이상의 결과로 보면, 전반적으로 채취시기가 12월인 C시료구까지는 아미노산의 함량이 증가하다가 다음해인 1월말 채취한 D시료구에서는 약간 감소하는 경향으로 나타났다. 또한 구성아미노산의 총 함량에서 8종의 필수아미노산이 고루 포함되어 있으며, 필수아미노산이 차지하는 비율도 역시 A시료구 32.80%, B시료구 34.50%, C시료구 37.40%, D시료구 35.14%로 채취시기가 12월까지의 증가하다가 다음해인 1월말에는 약간 감소하는 경향으로 나타났다. 봄울금의 경우, 총 구성아미노산이 A시료구는

1,549.00 mg%, B시료구는 1,605.68 mg%, C시료구는 1,776.35 mg%, D시료구는 1,722.74 mg% 함유되어 있으며, 주요 구성아미노산은 aspartic acid, glutamic acid, valine, leucine으로 A시료구는 각각 399.52 mg%, 221.34 mg%, 116.75 mg%, 131.61 mg%, B시료구는 각각 404.34 mg%, 233.27 mg%, 124.59 mg%, 135.54 mg%, C시료구는 각각 413.70 mg%, 256.51 mg%, 132.41 mg%, 145.59 mg%, D시료구는 각각 408.11 mg%, 231.64 mg%, 134.15 mg%, 143.87 mg%의 함량을 나타냈다. 이상의 결과로 보면, 가을울금과 마찬가지로 C시료구까지는 아미노산의 함량이 증가하다가 D시료구에서는 약간 감소하는 경향으로 나타났다. 또한 구성아미노산의 총 함량에서 8종의 필수아미노산이 고루 포함되어 있으며, 필수아미노산이 차지하는 비율도 역시 A시료구 35.62%, B시료구 35.34%, C시료구 36.42%, D시료구 36.84%로 채취시기가 12월까지는 증가하다가 다음해인 1월말에는 약간 감소하는 경향으로 나타났다.

Table 3-9. Contents of total amino acids of *Curcuma longa* L. according to picking time (unit : mg%, wet basis)

Amino acids	Samples ¹⁾			
	A	B	C	D
Aspartic acid	448.15±2.35 ^d	467.33±1.85 ^c	504.41±1.72 ^a	479.04±1.35 ^b
Threonine	77.51±2.17 ^c	79.56±1.27 ^b	82.41±1.06 ^a	80.63±0.96 ^{ab}
Serine	114.65±2.26 ^b	113.57±1.17 ^{bc}	118.35±1.44 ^a	112.37±1.16 ^c
Glutamic acid	219.42±1.73 ^c	244.55±1.80 ^b	277.71±1.82 ^a	278.55±0.91 ^a
Proline	53.67±1.11 ^b	54.31±1.75 ^b	58.17±1.40 ^a	58.47±1.20 ^a
Glycine	90.50±1.31 ^d	91.66±1.44 ^c	102.59±1.00 ^a	100.50±1.05 ^b
Alanine	93.51±1.08 ^b	96.95±1.68 ^a	97.69±1.14 ^a	92.35±1.21 ^c
Cystine	- ²⁾	-	-	-
Valine	109.27±1.05 ^c	110.61±1.71 ^b	123.44±1.00 ^a	111.72±1.05 ^b
Methionine	26.35±1.05 ^b	27.73±1.16 ^a	25.58±1.12 ^c	21.55±1.26 ^d
Isoleucine	96.00±1.15 ^b	96.28±0.84 ^b	99.59±1.40 ^a	88.45±1.46 ^c
Leucine	144.30±2.09 ^c	144.94±1.54 ^c	182.67±1.51 ^a	159.20±1.49 ^b
Tyrosine	24.09±0.62 ^d	27.52±1.11 ^c	46.42±1.08 ^b	59.64±0.95 ^a
Phenylalanine	23.72±1.22 ^d	57.81±1.24 ^c	112.96±1.64 ^a	99.30±1.67 ^b
Histidine	15.77±1.21 ^d	30.57±1.36 ^c	53.55±1.16 ^a	44.54±2.15 ^b
Lysine	29.17±1.01 ^d	57.38±1.12 ^c	98.29±1.17 ^a	82.43±1.16 ^b
Arginine	25.43±1.49 ^d	52.32±1.30 ^c	97.41±1.09 ^a	88.57±0.88 ^b
TAA ³⁾	1,591.51	1,753.07	2,081.24	1,957.32
EAA ⁴⁾	522.08	604.88	778.50	687.83
EAA/TAA(%) ⁵⁾	32.80	34.50	37.40	35.14

¹⁾Samples shown in Table 3-7.

²⁾Not detected.

³⁾TAA, total amino acid.

⁴⁾EAA, essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys).

⁵⁾EAA/TAA, essential amino acid/total amino acid.

^{a-d)}Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 3-10. Contents of total amino acids of *Curcuma atomatica* Salib according to picking time (Unit : mg%, wet basis)

Amino acids	Samples ¹⁾			
	A	B	C	D
Aspartic acid	399.52±1.95 ^d	404.34±1.71 ^c	413.70±0.80 ^a	408.11±1.96 ^b
Threonine	53.63±1.13 ^c	52.60±1.23 ^c	71.44±0.94 ^b	78.77±1.43 ^a
Serine	95.35±0.83 ^b	96.27±1.21 ^b	115.46±1.35 ^a	114.46±1.58 ^a
Glutamic acid	221.34±1.28 ^d	233.27±1.82 ^b	256.51±1.49 ^a	231.64±1.70 ^c
Proline	50.50±1.33 ^c	52.62±1.06 ^{bc}	55.53±1.35 ^a	53.28±1.76 ^{ab}
Glycine	75.41±0.73 ^d	88.59±1.09 ^c	99.65±1.20 ^a	94.27±1.37 ^b
Alanine	83.63±1.13 ^d	90.65±1.02 ^c	103.34±1.09 ^a	99.38±1.45 ^b
Cystine	- ²⁾	-	-	-
Valine	116.75±1.22 ^d	124.59±1.24 ^c	132.41±1.15 ^b	134.15±1.17 ^a
Methionine	22.81±1.21 ^d	25.58±1.35 ^c	31.75±1.19 ^a	29.60±1.20 ^b
Isoleucine	72.57±1.04 ^c	73.61±1.02 ^b	86.38±0.82 ^a	86.35±1.01 ^a
Leucine	131.61±1.18 ^c	135.54±1.24 ^b	145.59±0.97 ^a	143.87±1.45 ^a
Tyrosine	51.26±1.02 ^c	51.77±1.53 ^c	56.58±1.52 ^a	54.43±0.73 ^b
Phenylalanine	88.11±1.63 ^b	81.44±1.26 ^c	99.54±1.47 ^a	89.34±1.19 ^b
Histidine	22.80±1.19 ^c	29.59±1.08 ^{ab}	30.59±1.05 ^a	29.20±1.54 ^b
Lysine	43.44±1.22 ^b	44.45±1.97 ^b	49.27±1.70 ^a	43.39±1.13 ^b
Arginine	20.25±1.31 ^c	20.76±1.84 ^c	28.62±0.97 ^b	32.51±0.77 ^a
TAA ³⁾	1,549.00	1,605.68	1,776.35	1,722.74
EAA ⁴⁾	551.73	567.41	646.97	634.67
EAA/TAA(% ⁵⁾	35.62	35.34	36.42	36.84

¹⁾Samples shown in Table 3-7.

²⁾Not detected.

³⁾TAA, total amino acid.

⁴⁾EAA, essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys).

⁵⁾EAA/TAA, essential amino acid/total amino acid.

^{a-d)}Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

나) 유리아미노산 함량

채취시기에 따른 가을울금과 봄울금의 유리아미노산 함량을 아미노산분석기를 하여 측정한 결과는 Table 3-11와 3-12에 나타내었으며, 구성아미노산과 같이 aspartic acid 외 16종의 아미노산이 확인되었다. 가을울금의 경우, 총 유리아미노산이 A시료구는 72.22 mg%, B시료구는 112.00 mg%, C시료구는 113.78 mg%, D시료구는 118.80 mg% 함유되어 있으며, 주요 구성아미노산은 aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid로 A시료구는 각각 15.28 mg%, 19.37 mg%, 15.61 mg%, 6.10 mg%, B시료구는 각각 28.58 mg%, 25.67 mg%, 21.89 mg%, 18.53 mg%, C시료구는 각각 32.42 mg%, 23.57 mg%, 18.78 mg%, 18.88 mg%, D시료구는 각각 33.63 mg%, 25.28 mg%, 19.25 mg%, 19.20 mg% 함량을 나타냈다. 이와 같은 결과로 볼 때, 전반적으로 채취시기가 늦을수록 유리아미노산의 함량이 증가되는 경향을 보였다. 또한 유리아미노산의 총 함량에서 methionine을 제외한 7종의 필수아미노산이 고루 포함되어 있으며, 필수아미노산이 차지하는 비율은 A시료구 40.27%, B시료구 32.95%, C시료구 31.34%, D시료구 31.69%로 채취시기가 늦을수록 약간 감소하는 경향으로 나타났다. 봄울금의 경우, 총 유리아미노산이 A시료구는 46.53 mg%, B시료구는 58.70 mg%, C시료구는 61.95 mg%, D시료구는

64.45 mg% 함유되어 있으며, 주요 구성아미노산은 aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid로 A시료구는 각각 8.64 mg%, 16.23 mg%, 4.74 mg%, 6.70 mg%, B시료구는 각각 8.89 mg%, 19.28 mg%, 6.90 mg%, 11.56 mg%, C시료구는 각각 9.47 mg%, 19.31 mg%, 6.88 mg%, 11.55 mg%, D시료구는 각각 11.70 mg%, 19.62 mg%, 7.54 mg%, 11.67 mg% 함량을 나타냈다. 채취시기가 늦어질수록 유리아미노산의 함량이 증가하는 경향으로 나타났으며 methionine을 제외한 7종의 필수아미노산이 고루 포함되어 있는 것으로 나타났다. 필수아미노산이 차지하는 비율은 A시료구 47.19%, B시료구 45.55%, C시료구 43.27%, D시료구 42.38%로 채취시기가 늦어질수록 약간 감소하는 경향으로 나타났으나 가을울금보다는 다소 높은 비율을 보여 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$).

Table 3-11. Contents of free amino acids of *Curcuma longa* L. according to picking time (unit : mg%, wet basis)

Amino acids	Samples ¹⁾			
	A	B	C	D
Aspartic acid	15.28±0.87 ^c	28.58±1.30 ^b	32.42±1.21 ^a	33.63±1.21 ^a
Threonine	19.37±1.16 ^c	25.67±1.43 ^a	23.57±1.06 ^b	25.28±1.12 ^a
Serine	15.61±1.16 ^c	21.89±1.02 ^a	18.78±1.15 ^b	19.25±0.85 ^b
Glutamic acid	6.10±0.51 ^b	18.53±1.05 ^a	18.88±1.27 ^a	19.20±1.26 ^a
Proline	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Glycine	0.74±0.06 ^b	0.77±0.08 ^b	0.75±0.11 ^b	0.87±0.13 ^a
Alanine	3.59±0.32 ^c	3.18±0.18 ^c	4.11±0.14 ^b	4.53±0.43 ^a
Cystine	- ²⁾	-	-	-
Valine	2.02±0.17 ^b	1.67±0.21 ^c	2.73±0.18 ^a	2.76±0.24 ^a
Methionine	0.00±0.00 ^b	0.33±0.05 ^a	0.44±0.10 ^a	0.47±0.13 ^a
Isoleucine	1.28±0.11 ^b	1.78±0.20 ^a	1.02±0.07 ^c	1.34±0.25 ^b
Leucine	1.59±0.20 ^a	1.48±0.20 ^b	1.52±0.15 ^{ab}	1.44±0.20 ^b
Tyrosine	1.13±0.13 ^c	1.37±0.15 ^b	1.42±0.09 ^{ab}	1.48±0.10 ^a
Phenylalanine	1.58±0.31 ^b	1.94±0.19 ^a	2.06±0.09 ^a	2.16±0.17 ^a
Histidine	2.23±0.17 ^c	2.44±0.22 ^b	2.69±0.27 ^a	2.64±0.19 ^a
Lysine	1.34±0.23 ^a	1.60±0.12 ^a	1.64±0.31 ^a	1.58±0.35 ^a
Arginine	0.35±0.06 ^c	0.75±0.09 ^c	1.75±0.18 ^b	2.17±0.21 ^a
TAA ³⁾	72.22	112.00	113.78	118.80
EAA ⁴⁾	29.41	36.92	35.67	37.67
EAA/TAA(%) ⁵⁾	40.72	32.95	31.34	31.69

¹⁾Samples shown in Table 3-7.

²⁾Not detected.

³⁾TAA, total amino acid.

⁴⁾EAA, essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys).

⁵⁾EAA/TAA, essential amino acid/total amino acid.

^{a-d)}Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 3-12. Contents of free amino acids of *Curcuma atomatica* Salib according to picking time (unit : mg%, wet basis)

Amino acids	Samples ¹⁾			
	A	B	C	D
Aspartic acid	8.64±0.49 ^b	8.89±0.71 ^b	9.47±0.52 ^b	11.70±0.80 ^a
Threonine	16.23±1.17 ^b	19.28±0.83 ^a	19.31±1.22 ^a	19.62±1.00 ^a
Serine	4.74±0.24 ^b	6.90±0.79 ^a	6.88±0.73 ^a	7.54±0.55 ^a
Glutamic acid	6.70±0.53 ^b	11.56±0.89 ^a	11.55±0.72 ^a	11.67±1.00 ^a
Proline	- ²⁾	-	-	-
Glycine	0.52±0.12 ^a	0.50±0.15 ^a	0.58±0.10 ^a	0.50±0.13 ^a
Alanine	2.48±0.36 ^c	2.50±0.44 ^c	4.87±0.28 ^a	4.06±0.16 ^b
Cystine	0.00±0.00	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00	0.00±0.00
Valine	0.76±0.20 ^a	0.80±0.22 ^a	0.88±0.11 ^a	0.94±0.12 ^a
Methionine	0.00±0.00	0.00±0.00	0.12±0.03 ^a	0.15±0.04 ^a
Isoleucine	0.09±0.03 ^b	0.48±0.13 ^a	0.45±0.10 ^a	0.44±0.10 ^a
Leucine	0.44±0.06 ^b	0.87±0.11 ^a	0.75±0.17 ^a	0.84±0.07 ^a
Tyrosine	1.13±0.11 ^a	1.15±0.16 ^a	1.20±0.24 ^a	0.98±0.10 ^a
Phenylalanine	0.94±0.09 ^a	0.93±0.18 ^a	1.12±0.23 ^a	1.15±0.16 ^a
Histidine	2.40±0.29 ^a	2.67±0.28 ^a	2.68±0.27 ^a	2.59±0.45 ^a
Lysine	1.11±0.14 ^a	1.69±0.21 ^a	1.52±0.44 ^a	1.59±0.37 ^a
Arginine	0.35±0.06 ^a	0.39±0.10 ^a	0.58±0.12 ^a	0.63±0.20 ^a
TAA ³⁾	46.53	58.70	61.95	64.45
EAA ⁴⁾	21.97	26.72	26.82	27.32
EAA/TAA(% ⁵⁾)	47.19	45.55	43.27	42.38

¹⁾Samples shown in Table 3-7.

²⁾Not detected.

³⁾TAA, total amino acid.

⁴⁾EAA, essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys).

⁵⁾EAA/TAA, essential amino acid/total amino acid.

^{a-d)}Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

4) 유리당 및 환원당의 함량

울금에 함유된 주요 유리당은 fructose, glucose 및 sucrose 등 3개의 당이 확인되었고, 2 품종의 채취시기별 유리당과 환원당의 함량변화는 Fig. 3-5와 같다. 가을울금의 경우, 총 유리당이 A시료구는 1,020.63 mg%, B시료구는 1,048.01 mg%, C시료구는 978.54 mg%, D시료구는 758.71 mg% 함유되어 있으며, 주요 유리당인 fructose, glucose, sucrose의 함유량을 보면 A시료구가 각각 19.23 mg%, 80.11 mg%, 921.29 mg%, B시료구는 각각 55.32 mg%, 70.56 mg%, 922.13 mg%, C시료구는 각각 59.44 mg%, 62.32 mg%, 856.78 mg%, D시료구는 각각 56.80 mg%, 34.32 mg%, 667.59 mg% 함량을 보였으며, 환원당은 A시료구가 8.95%, B시료구가 15.70%, C시료구가 20.53%, D시료구 11.53%의 함량을 보였다. Fructose는 채취시기가 늦어질수록 점차 증가하였으나 glucose와 sucrose는 감소하는 경향을 보였으며, 유리당 총 함량은 채취시기가 늦어질수록 점차 감소하였다. 반면 환원당은 채취시기가 12월까지의 증가하다가 다음해인 1월말에는 다소 감소하는 경향을 보였다.

봄울금의 경우, 총 유리당이 A시료구는 703.71 mg%, B시료구는 594.87 mg%, C시료구는 501.98 mg%, D시료구는 477.59 mg%이 각각 함유되어 있으며, 주요 유리당인 fructose,

glucose, sucrose는 A시료구가 각각 19.45 mg%, 99.67 mg%, 584.59 mg%, B시료구는 각각 64.33 mg%, 93.21 mg%, 437.33 mg%, C시료구는 각각 66.95 mg%, 68.52 mg%, 366.51 mg%, D시료구는 72.56 mg%, 48.36 mg%, 356.67 mg% 함량을 보였으며, 환원당은 A시료구가 10.20%, B시료구가 12.27 mg%, C시료구가 12.56 mg%, D시료구는 8.42 mg%의 함량을 보였다. 이와 같은 결과는 울금과 마찬가지로 채취시기가 늦어질수록 fructose는 점차 증가하였으나 glucose와 sucrose는 감소하는 경향을 보였으며, 유리당 총합량은 채취시기가 늦어질수록 점차 감소하였으며, 환원당은 채취시기가 12월까지의 증가하다가 다음해인 1월말에는 다소 감소하는 경향을 보였다.

가을울금과 봄울금을 비교해 보면 유리당의 경우 가을울금이 1.4~1.9배 정도 더 높은 함유량을 보였고, 환원당도 A시료를 제외하고는 가을울금이 1.3~1.6배 정도 함량이 더 높게 나타나 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$).

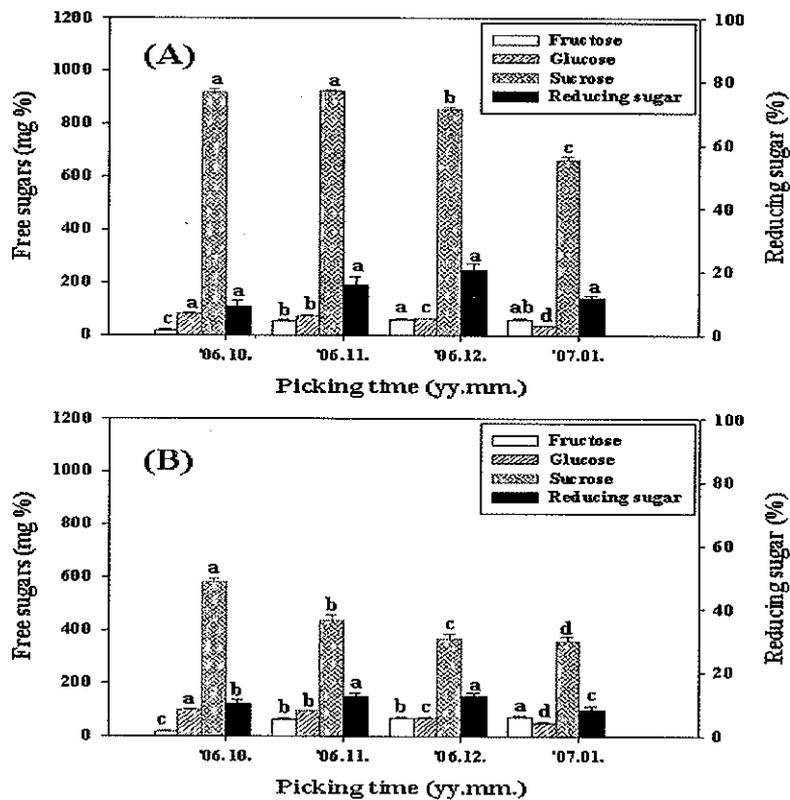


Fig 3-5. Contents of free sugars and reducing sugar of *Curcuma longa* L.(A) and *Curcuma atomatica* Salib(B) according to picking time.

^{a-d}Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 비타민 함량

채취시기에 따른 가을울금과 봄울금에 함유된 비타민을 분석한 결과는 Table 3-13과 같다. 가을울금의 경우, A시료구는 비타민 C와 B₁이 각각 101.27 mg%, 9.27 mg%, B시료구는 114.59 mg%, 4.41 mg%, C시료구는 301.65 mg%, 3.50 mg%, D시료구는 132.01 mg%, 2.88 mg%로 나타났다. 이상의 결과로 보면, 비타민 C는 12월까지는 증가하다가 1월 시료구에서는 크게 감소하였으나 B₁의 경우는 채취시기가 늦어질수록 점차 감소하는 경향을 보였다. 봄울금의 경우, A시료구는 비타민 C와 B₁이 각각 97.28 mg%, 16.25 mg%, B시료구는 123.40 mg%, 18.72 mg%, C시료구는 217.41 mg%, 22.72 mg%, D시료구는 211.03 mg%, 21.74 mg%로 나타났다. 봄울금은 가을울금과는 달리 비타민 C와 B₁ 모두 채취시기가 늦어질수록 점차 증가하는 경향을 보였다. 비타민 C는 가을울금이 더 높았으나 B₁의 경우는 봄울금이 더 높게 나타나 유의적인 차이를 보였으며, 특히 D시료구는 7배 이상 더 높았다(p<0.05).

Table 3-13. Contents of vitamins of *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib according to picking time (unit : mg%, wet basis)

	Samples ¹⁾							
	<i>Curcuma longa</i> L.				<i>Curcuma atomatica</i> Salib			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Vt. C	101.27±26 ^d	114.59±20 ^e	301.65±33 ^f	132.01±1.7 ^b	97.28±1.98 ^d	123.40±1.1 ^e	217.41±1.7 ^f	211.03±1.6 ^b
Vt. B ₁	9.27±0.87 ^a	4.41±0.64 ^b	3.50±0.53 ^c	2.88±0.77 ^d	16.25±1.0 ^e	18.72±0.9 ^b	22.72±1.61 ^a	21.74±0.78 ^c

1) Samples shown in Table 3-7.

a-d) Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

6) 비휘발성 유기산 함량

가을울금과 봄울금에 함유된 주요 유기산은 oxalic acid, malic acid, malonic acid, lactic acid 등 4종의 유기산이 확인되었고, 채취시기별 함량변화는 Table 3-14와 같다. 가을울금의 경우, 총 유기산이 A시료구는 826.11 mg%, B시료구는 893.12 mg%, C시료구는 1,027.56 mg%, D시료구는 973.88 mg%가 각각 함유되어 있으며, 유기산 종류별로는 oxalic acid, malic acid, malonic acid, lactic acid가 A시료구는 각각 266.97 mg%, 175.50 mg%, 217.74 mg%, 265.90 mg%, B시료구는 각각 279.56 mg%, 227.31 mg%, 156.20 mg%, 320.05 mg%, C시료구는 각각 346.44 mg%, 152.38 mg%, 178.71 mg%, 350.11 mg%, D시료구는 각각 298.49 mg%, 134.44 mg%, 212.65 mg%, 328.29 mg% 함량을 나타냈다. 이상의 결과로 보면, oxalic acid와 lactic acid는 채취시기가 늦어질수록 점차 증가하였으나, malic acid, malonic acid는 감소하는 경향을 보였으며, 유기산 총 함량은 채취시기가 늦어질수록 점차 증가하다가 다음해인 1월에는 다소 감소하는 경향을 보였다.

봄울금의 경우, 총 유기산이 A시료구는 754.61 mg%, B시료구는 764.39 mg%, C시료구는 874.58 mg%, D시료구는 711.97 mg%가 각각 함유되어 있으며, 유기산 종류별로는 oxalic acid, malic acid, lactic acid가 A시료구는 각각 266.20 mg%, 263.15 mg%, 225.41 mg%, B시료구는 각각 283.53 mg%, 209.38 mg%, 271.48 mg%, C시료구는 각각 341.32 mg%, 177.85 mg%, 355.41 mg%, D시료구는 각각 263.61 mg%, 166.99 mg%, 282.37 mg% 함량을 나타냈다. 이상

의 결과로 보면, 강황에서는 울금과는 달리 malonic acid가 검출되지 않았으며 oxalic acid와 lactic acid는 울금과 같이 채취시기가 늦어질수록 점차 증가하였으나 malic acid는 감소하는 경향을 보였다. 유기산 총 함량은 채취시기가 늦어질수록 점차 증가하다가 다음해인 1월에는 다소 감소하는 경향을 보였으며, 가을울금이 봄울금에 비하여 약 1.2배 정도로 함량이 높게 나타나 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$).

Table 3-14. Contents of organic acids of *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib according to picking time (mg%)

Organic acids	Samples ¹⁾							
	<i>Curcuma longa</i> L.				<i>Curcuma atomatica</i> Salib			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Oxalic acid	266.97±1.13 ^d	279.56±1.74 ^c	346.44±1.04 ^a	298.49±1.00 ^b	266.20±0.99 ^c	283.53±0.85 ^b	341.32±0.98 ^a	263.61±1.19 ^d
Malic acid	175.50±1.21 ^b	227.31±0.87 ^a	152.38±1.03 ^c	134.44±1.04 ^d	263.15±0.99 ^a	209.38±0.94 ^b	177.85±0.30 ^c	166.99±0.80 ^d
Malonic acid	217.74±1.21 ^a	156.20±1.15 ^d	178.71±1.02 ^c	212.65±0.83 ^b	- ²⁾	-	-	-
Lactic acid	265.90±1.50 ^d	320.05±1.97 ^c	350.11±0.99 ^a	328.29±1.21 ^b	225.26±0.97 ^d	271.48±0.86 ^c	355.41±1.07 ^a	282.37±0.97 ^b
Total	826.11	893.12	1,027.64	973.88	754.61	764.39	874.58	711.97

¹⁾Samples shown in Table 3-7.

²⁾Not detected.

^{a-d)}Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

7) 색도변화

채취시기에 따른 가을울금과 봄울금의 색도를 측정된 결과는 Table 3-6와 같다. 가을울금의 경우, 명도를 나타내는 L값은 A시료구에서 62.26, B시료구가 62.75, C시료구가 64.23, D시료구가 56.60 값을 나타냈으며, 적색도를 나타내는 a값은 A시료구에서 10.30, B시료구가 13.46, C시료구가 20.52, D시료구가 8.63값을 보였다. 황색도를 나타내는 b값은 A시료구에서 62.36, B시료구가 69.58, C시료구가 75.49, D시료구가 63.11 값을 나타냈다. 이상의 결과로 보면 10월부터 12월까지는 L, a, b 값 모두 약간 증가하다가 이듬해인 1월에는 다소 감소하는 경향을 보였다.

봄울금의 경우, 명도를 나타내는 L값은 A시료구에서 66.65, B시료구가 67.50, C시료구가 69.42, D시료구가 65.52 값을 나타냈다. 적색도를 나타내는 a값은 A시료구에서 +2.72, B시료구가 4.07, C시료구가 3.82, D시료구가 2.91 값을 나타냈다. 황색도를 나타내는 b값은 A시료구에서 55.54, B시료구가 61.56, C시료구가 57.10, D시료구가 58.65값을 나타냈다. 이상의 결과로 보면 L값은 10월부터 12월까지는 약간 증가하다가 이듬해인 1월에는 다소 감소하는 경향을 보였으며, a와 b는 11월까지의 증가하나 그 이후인 12월 시료구 부터는 약간 감소하는 경향을 보였다.

가을울금과 봄울금을 비교해 보면 명도(L)는 봄울금이 더 높았으나 적색도(a)는 가을울금이 5배정도 현저하게 더 높았고 황색도(b)도 가을울금이 더 높게 나타나 전반적으로 가을울금이 붉은색을 띄고 있는 것으로 나타났다.

Table 3-15. Hunter's value of *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib according to picking time

Hunter's value	Samples ¹⁾							
	<i>Curcuma longa</i> L.				<i>Curcuma atomatica</i> Salib			
	A	B	C	D	A	B	C	D
L	62.26±1.12 ^c	62.75±0.85 ^b	64.23±1.08 ^a	56.60±0.97 ^d	66.65±0.86 ^c	67.50±1.26 ^b	69.42±0.89 ^a	65.52±1.23 ^d
a	10.30±1.07 ^c	13.46±1.06 ^b	20.52±0.90 ^a	8.63±0.94 ^d	2.72±0.57 ^b	4.07±0.12 ^a	3.82±0.47 ^a	2.91±0.32 ^b
b	62.36±1.10 ^d	69.58±1.06 ^b	75.49±1.30 ^a	63.11±1.02 ^c	55.54±1.30 ^d	61.56±0.86 ^a	57.10±0.97 ^c	58.65±1.44 ^b

¹⁾Samples shown in Table 3-7.

²⁾Not detected.

^{a-d)}Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

8) 향기성분 함량

울금과 강황을 수증기증류법으로 추출한 향기성분을 GC-Mass로 분석한 결과는 Table 3-16과 같고, GC-Mass total ion chromatogram은 Fig. 3-3과 같다. 또한 GC-Mass에 의해서 분석된 울금과 강황의 향기성분 중 주요 성분의 peak mass spectrum은 Fig. 3-4와 같다. 강황의 경우를 살펴보면, 검출된 총 64종의 향기성분 중 주요 성분으로는 neocurdion이 31.33%를 차지하여 가장 높은 함량을 보였으며, 다음으로는 curdion이 10.67%, dihydrocarveol isomer 가 10.57%, isopulegol이 7.4%, leden oxide가 5.34%, β -fenchyl alcohol이 3.30%, 2-heptanol이 3.01%, diisobutyl benzene-1,2-dicarboxylate가 2.79%, 3,7-cyclodecadien이 2.22%, α -tumerone 이 1.84% 순으로 나타났다. 울금의 경우를 살펴보면, 검출된 총 80종의 향기성분 중 주요 성분으로는 1H-3a,7-methanoazulene이 10.58%를 차지하여 가장 높은 함량을 보였으며, 다음으로는 neocurdion이 9.66%, limonen-10-yl acetate가 9.05%, alleoaromadendrene이 8.87%, 3,7-cyclodecadien-1-one이 7.72%, isopulegol이 5.64%, curcimol이 3.60%, ar-curcumene이 3.36%, curcumene이 3.33%, zingiberenol이 2.15% 등의 순으로 나타나 강황하고는 다소 다른 경향을 보였다. 이상의 결과에서 보면, 수증기증류법에 의해 확인되지 않은 peak를 제외한 향기성분을 비교해보면, 전반적으로 두 시료가 비슷한 peak를 나타내고 있으나 울금에서 80종의 향기성분이 확인되어 강황의 64종의 향기성분에 비해 상대적으로 더 많은 향기성분이 확인 검출되었으며, 강황은 neocurdion이 총 면적비중 31.33%를 차지하여 다른 성분에 비하여 상대적으로 많은 부분을 차지하고 있으나, 울금의 경우는 1H-3a, 7-methanoazulene을 비롯하여 9개의 주요성분이 10.58%~2.15%로 분포되어 고르게 함유되어있는 것으로 나타났다.

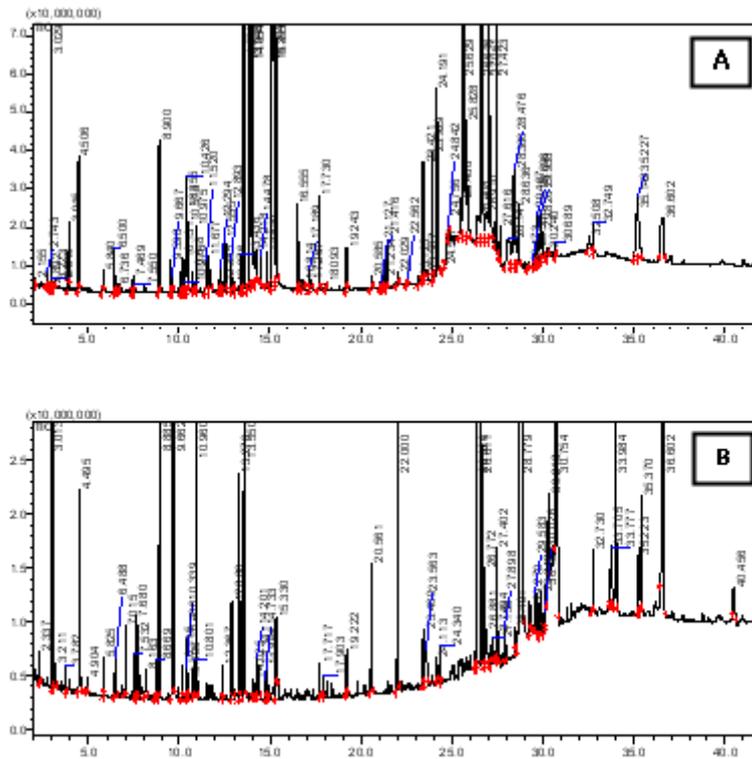


Fig. 3-6. GC-Mass total ion chromatogram of flavor components in *Curcuma longa* L.(A) and *Curcuma atomatica* Salib(B) by steam distillation.

Table 3-16. Contents of volatile flavor components from *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib by steam distillation (unit : area %)

Peak No.	RT (min)	Compound name	<i>Curcuma aromatica</i> Salib	<i>Curcuma longa</i> L.
1	2.337	1-Butanol	0.11	-
2	2.746	2-Heptanone	-	0.09
3	2.892	di-Limonene	-	0.04
4	2.940	iso-Amyl alcohol	-	0.06
5	3.013	iso-Pulegol	7.4	5.64
6	3.211	Nonanene	0.13	0.09
7	3.945	α -Terpinolene	-	0.47
8	4.495	2-Heptanol	0.86	1.10
9	4.904	Formaide	0.06	-
10	5.825	2-Nonanone	0.16	-
11	6.488	2-Octanol	0.19	0.35
12	6.736	Heptanoic acid	-	0.06
13	7.015	cis-Linalool oxide	0.72	0.13
14	7.469	δ -Elemene	-	0.17
15	7.532	trans-Sabinene hydrate	0.20	-
16	7.550	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol	-	0.08
17	8.669	Camphor	0.19	-
18	8.885	2-Heptanol	3.14	-
19	8.918	2-Nonanone	-	1.51
20	9.579	1,3-Cyclohexadiene	-	0.36
21	9.662	Dihydrocarveol isomer	10.57	-
22	10.115	Methyl 4(E)-Hexenyl Ether	0.16	-
23	10.131	3-Cyclopentyl-1-propanol	-	0.35
24	10.271	α -Bergamotene	-	0.10
25	10.339	Methyl 4(E)-Hexenyl Ether	0.15	0.78
26	10.414	β -Elemene	0.33	1.19
27	10.506	trans-Caryphyllene	0.08	0.73
28	10.811	2-Undecanone	0.20	0.18
29	10.990	3-Cyclohexen-1-ol	1.45	0.63

Table 3-16. Continued

Peak No.	RT (min)	Compound name	<i>Curcuma aromatica</i>	<i>Curcuma longa</i>
			Salib	L.
30	11.520	2-Hydroxydecane	-	0.29
31	11.677	γ -Elemene	-	0.41
32	12.295	β -Sesquiphellandrene	-	0.22
33	12.379	α -Humulene	0.18	0.08
34	12.555	1,6,10-Dodecatriene	-	0.53
35	12.893	α -Terponeol	0.55	0.42
36	13.436	Germacrene-D	1.37	0.40
37	13.550	β -Fenchyl alcohol	3.30	3.46
38	13.946	1H-3a,7-Methanoazulene	-	10.58
39	14.025	β -Bisabolene	0.10	4.09
40	14.201	2-Pentadecanol	0.21	0.45
41	14.341	Ethanone	0.17	0.25
42	14.733	Linalool z -pyranic oxide	0.14	-
43	14.849	1-Cycloheptene	0.20	0.41
44	15.204	Alleoaromadendrene	-	8.87
45	15.330	Curcumene	0.41	3.33
46	17.189	4,5-Heptadien-2-one	-	0.24
47	16.555	1,5-Cyclodecadiene	-	0.98
48	16.814	1,4-Methanobenzocyclodecene	-	0.12
49	17.717	Benzenemethanol	0.19	0.09
50	17.903	2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol	0.11	1.08
51	18.093	cis-Carveol	-	0.05
52	19.222	Butylated hydroxytoluene	0.25	0.48
53	20.561	Caryophyllene oxide	0.96	0.19
54	21.234	β -Santalene	-	0.16
55	22.001	Carbamic acid	3.22	0.18
56	23.421	β -Elemenone	-	1.49
57	23.429	Germacrone	0.35	0.15
58	23.568	5,9-Dimethyldeca-5,8-diene-2-one	0.36	0.21
59	23.962	Sesquisabinene hydrate	-	1.52
60	24.224	Zingiberenol	0.21	2.15
61	24.340	Aristolene epoxide	0.23	-
62	24.756	α -Tumerone	-	0.81

Table 3-16. Continued

Peak No.	RT (min)	Compound name	<i>Curcuma aromatica</i> Salib	<i>Curcuma longa</i> L.
63	25.488	1,5-Heptadien-4-one	-	0.50
64	25.629	Limonen-10-yl acetate	-	9.05
65	26.408	α -Tumerone	1.84	0.72
66	26.612	3,7-Cyclodecadien-1-one	2.22	7.72
67	26.772	β -Eudesmol	0.67	-
68	26.910	1H-Indene	0.25	0.82
69	27.155	Curcumol	0.16	3.60
70	27.402	β -Tumerone	0.69	-
71	27.423	α -Curcumene	-	3.36
72	27.494	Spathulenol	0.17	-
73	27.617	1,5-Heptan-4-ol	-	0.41
74	27.898	1H-Pyrazole	0.18	-
75	28.192	Longiborneol	-	1.24
76	28.380	Cedren-13-ol	-	1.46
77	28.476	Cyclopentanecarboxylic acid	-	1.28
78	28.636	p-Cymene	0.13	1.09
79	28.779	Neocurdione	31.33	9.66
80	29.279	Nerolidol-epoxyacetate	0.18	0.11
81	29.583	β -Selinene	0.21	0.26
82	29.696	Bicyclo[3.3.1]non-2-en-9-ol	-	0.73
83	29.826	Isocurcumenol	0.27	0.48
84	29.938	4,2,8-Ethanylylidene-2H-1-benzopyran	0.12	0.66
85	30.240	9-Oxtadecynoic acid	0.22	0.55
86	30.248	Cyclohexane	1.16	0.24
87	30.754	Curdione	10.67	0.67
88	32.508	Diepicedrene-1-oxide	-	0.55
89	33.760	3,7-Cyclodecadien-1-one	0.43	-
90	33.777	2,5-Furandione	0.70	-
91	33.985	Diisobutyl benzene-1,2-dicarboxylate	2.79	-
92	35.142	1,3,5-Triethylbenzene	-	0.86
93	35.288	Aristolen	0.49	2.41
94	35.447	1,4-Dimethyloctadiene-1,5	1.07	-
95	36.602	Ledene oxide	5.34	1.51
Total			99.9	99.93

9) Curcumin 함량

가) UV-visible spectrum

Curcumin 표준품을 순수 메탄올에 녹여 자외선광도계로 190~900 nm에서 scanning한 흡광 spectrum은 Fig. 3-7과 같다. 메탄올에서 흡수파장은 424 nm 부근에서 최대흡광도를 보였으며, 203 nm와 261 nm에서도 약한 흡광도를 보였다.

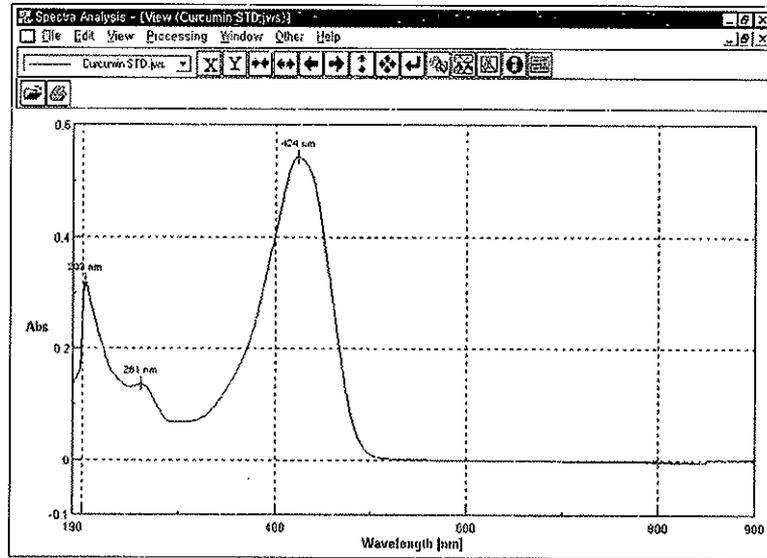


Fig. 3-7. UV-visible spectrum of curcumin substance.

나) Curcumin 최적 분석조건 확립

올금에 함유된 curcumin을 HPLC를 이용하여 정량 분석하기 위하여 제반 분석조건을 검토한 결과, curcumin의 최대흡수파장인 UV 424 nm에서 Zorbax eclipse C₁₈ column을 사용하여 분석할 경우, 이동상은 75% MeOH, 유속 0.8 mL/min에서 가장 좋은 분리 결과를 얻었으며, 동일한 조건으로 분석한 chromatogram은 Fig. 3-8과 같다.

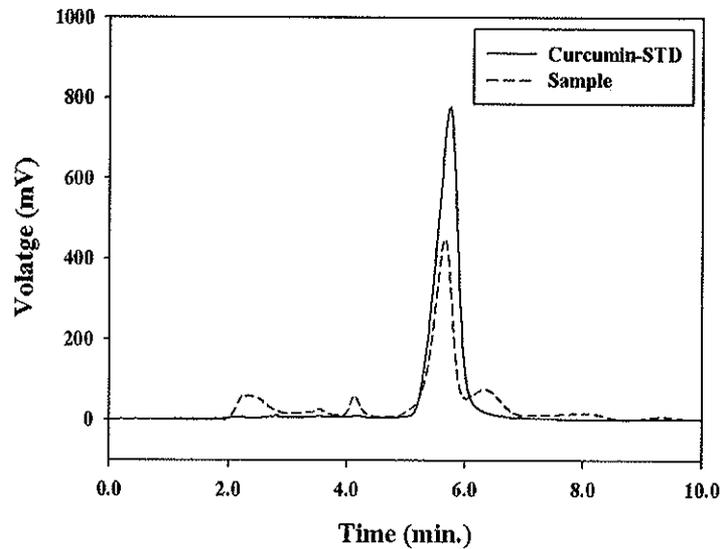


Fig. 3-8. HPLC chromatogram of curcumin substance at 424 nm.

다) 추출용매와 온도의 영향

울금의 대표적인 유효성분 중의 하나인 curcumin의 성분 추출방법을 확립하여 울금 가공식품 등을 개발하는데 보다 쉽게 이용하기 위하여 추출용매의 제반 영향을 알아보았다. 추출용매로는 물, 메탄올 및 에탄올로 구분하고 추출온도 조건을 상온과 용매별 비점(b.p)에서 각각 추출한 결과는 Fig. 3-9와 같다. 물추출물의 경우 상온추출은 20.82 mg%, 가열추출(100℃/2시간)은 44.08 mg%로 가열추출이 2배 이상 높은 추출율을 보였다. 메탄올과 에탄올추출물의 경우는 상온에서 각각 308.38 mg%, 295.27 mg%, 가열(70℃/2시간)에서 각각 457.59 mg%, 449.61 mg%로 물추출물과 같이 가열추출이 1.5배 이상 높은 추출율을 보였다. 이상의 결과로 보면 메탄올과 에탄올추출물의 curcumin 함량은 물추출물에 비하여 상온에서 각각 14.8배, 14.2배 높았으며, 유기용매 가열추출은 2 가지 모두 상온보다 약 150 mg% 정도가 더 높게 나타났다.

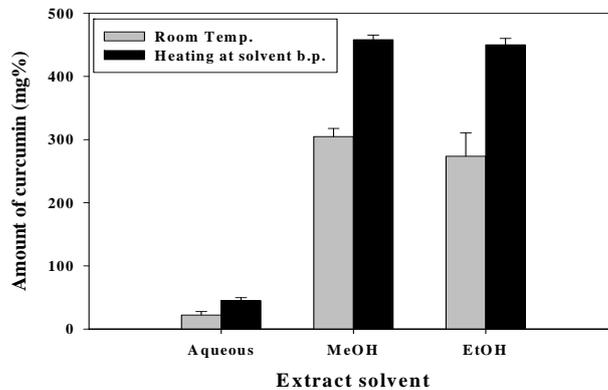


Fig. 3-9. Contents of curcumin components from *Curcuma longa* L. by extract methods.

All values are expressed as Mean±SD of triplicate determinations.

라) 추출시간의 영향

울금으로부터 curcumin을 추출할 때 물과 메탄올추출물의 각 비점(b.p)에서 추출시간이 미치는 영향을 알아보기 위해서 추출시간을 30분, 60분, 120분 및 180분간 처리한 후 curcumin함량을 측정된 결과는 Fig. 3-10과 같다. 물과 메탄올추출물 모두 30분 이상에서는 크게 함량이 증가하지 않아 가열추출 시 60분 정도면 충분한 것으로 판단되었다.

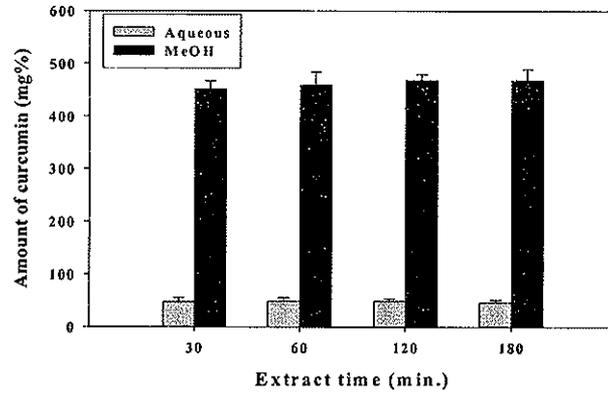


Fig. 3-10. Contents of curcumin components from *Curcuma longa* L. by extract time. All values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.

마) 채취시기별 curcumin 함량

채취시기에 따른 가을울금과 봄울금에 함유된 curcumin을 분석한 결과는 Fig. 3-11과 같다. 가을울금의 경우, curcumin의 함량은 A시료구는 475.58 mg%, B시료구는 481.00 mg%, C시료구는 491.40 mg%, D시료구는 482.90 mg%로 나타났다. 이상의 결과로 보면, curcumin의 함량은 10월부터 이듬해인 1월까지 크게 변화가 없는 것으로 나타났다. 봄울금의 경우, curcumin의 함량은 A시료구는 186.27 mg%, B시료구는 221.20 mg%, C시료구는 241.78 mg%, D시료구는 256.07 mg%로 나타났다. 가을울금과는 달리 채취시기가 늦어질수록 그 함량이 점차 증가하는 경향을 보였으나 그 증가량이 크지는 않는 것으로 나타났다. 가을울금이 강황에 비하여 1.8~2.5 배 이상의 높은 함유량으로 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$).

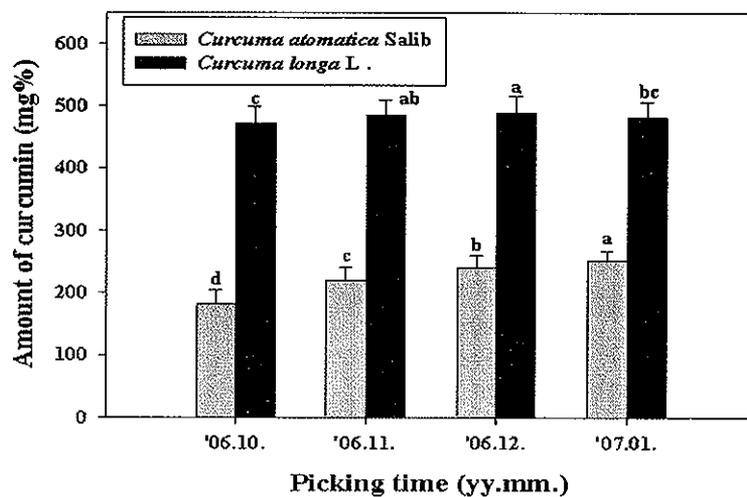


Fig. 3-11. Contents of curcumin of *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib according to picking time.

^{a-d)} Mean±SD(n=3) with different superscripts within a row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

10) 가열처리에 따른 쓴맛성분의 변화

최근 울금은 건강보조식품, 생활 가공식품 및 기능성 식품 등으로 이용이 확산되어 지고 있으나 이들 가공식품을 음용하는데 저해요인이 되고 있는 쓴맛을 완화하는 방법의 일환으로 용매별로 가열처리 온도를 달리하여 쓴맛 잔유 정도를 조사한 결과는 Fig. 3-12와 같다. 에탄올의 경우는 상온과 70℃에서 각각 1시간씩 가열처리한 후 관능검사를 실시하여 비교한 결과, 상온과 70℃ 두 시료구에서 차이를 보이지 않았다. 물추출물의 경우는 상온, 50℃, 80℃, 100℃ 및 121℃에서 각각 1시간씩 가열처리한 후 관능검사를 실시한 결과, 80℃ 이상의 처리구에서 쓴맛이 현저하게 감소되는 것으로 확인되었으나 121℃ 처리구는 상온 처리구보다 쓴맛이 약했으나 100℃ 시료구보다 더 강한 쓴맛을 나타냈는데 이는 100℃ 이상의 고온에서는 전분호화와 다른 성분변화 등의 영향으로 추정된다. 이와 같은 결과로 볼 때 울금을 이용한 기능성 가공식품 개발 시 일반적인 살균온도와 발효공정 등을 통해서 어느 정도 해결될 것으로 판단된다. 그러나 향후 울금 특유의 쓴맛성분의 규명과 쓴맛과 냄새제거 방법을 더 다양하게 연구하여 소비자의 음용 거부반응을 해소함과 동시에 음용 시에는 울금의 약리작용에 따른 기대도 효과적으로 얻을 수 있게 하여 울금의 대중화를 이룰 수 있도록 하는 방법이 개발되어야 할 것으로 사료된다. 한편, 감귤류에 존재하는 쓴맛성분들(naringin, limonen, nomilin 등)은 감귤류의 가공제품의 질을 낮추는 바람직하지 못한 요인으로 작용하므로 흡착법, 효소이용 및 희석법 등을 이용하여 이들 성분을 제거하는 방법들이 개발되어져 있다.

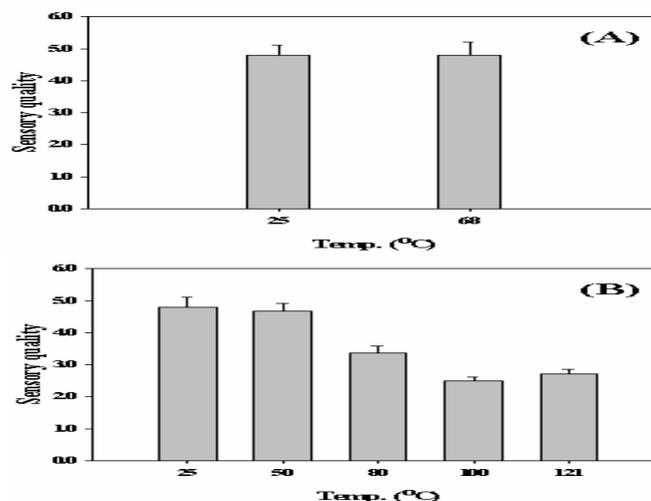


Fig. 3-12. Sensory score of bitter substance of ethanol extract (A) and water extract (B) of *Curcuma longa* L. by heating temperature.

All values are expressed as Mean±SD of triplicate determinations.

다. 울금의 추출방법에 따른 수율

울금에탄올 추출물의 생리활성물질의 탐색 및 이용 가능성을 검토하기 위하여 환류 물추출물(RW)과 환류 에탄올추출물(RE), 그리고 가압열수추출물(PW)로 나누어 분석한 추출수율은 Table 3-17과 같다. 시료 100 g 당 추출수율은 PW에서 49.13 g로 추출수율이 가장 높았으며, RW 35.69 g, RE 30.38 g 순으로 추출수율을 나타내어 울금의 추출방법은 가압열수추출방법을 이용한 PW의 추출수율이 가장 높은 것으로 분석 되었다.

Table 3-17. Extraction yield by extraction methods and solvent from *Curcuma longa* L.

Extraction methods	Yield (g/100 g)
RW	35.69
RE	30.38
PW	49.13

RW : Reflux extraction water

RE : Reflux extraction 70%-ethanol

PW : Pressure heating extraction water

라. 울금 에탄올추출물의 용매별 분획물 수율

울금 에탄올추출물의 항산화 효과를 검토하기 위해 냉동건조 하여 마쇄한 시료를 에탄올로 추출한 후 동결건조 하여 얻은 울금 추출물의 추출수율은 30.38% 이었다. 이를 용매별로 분획한 후 에탄올 추출물에 대한 추출수율을 측정한 결과는 Table 3-18과 같다. 80% 에탄올 추출물의 용매별 분획물의 추출수율을 보면 water 분획이 11.87%로 가장 많았으며, n-hexane 5.34%, n-butanol 3.96%, ethylacetate 3.87% 순이었다.

Table 3-18. Yield of *Curcuma longa* L. ethanol extract and its solvent fraction from dried *Curcuma longa* L.

Solvents	Fraction yield	
	Yield(g/100 g)	Ratio(%)
Ethanol extract	30.38	100.00
n-Hexane	5.34	17.57
Chloroform	1.51	4.98
Ethylacetate	3.87	9.58
n-Butanol	3.96	13.05
Water	11.87	39.06

마. 울금의 항산화 활성

1) 울금의 추출방법에 따른 항산화 활성

가) 총 flavonoid 함량

울금 추출방법에 의한 총 flavonoid 함량을 측정한 결과는 Fig. 3-13과 같다. 각 추출물의 flavonoid 함량은 RE에서 759 mg%로 가장 많이 함유되어 있었으며, PW 375 mg%, RW 188 mg%로 측정되어 추출방법에 따른 flavonoid 함량에 유의적인 차이를 나타내었다.

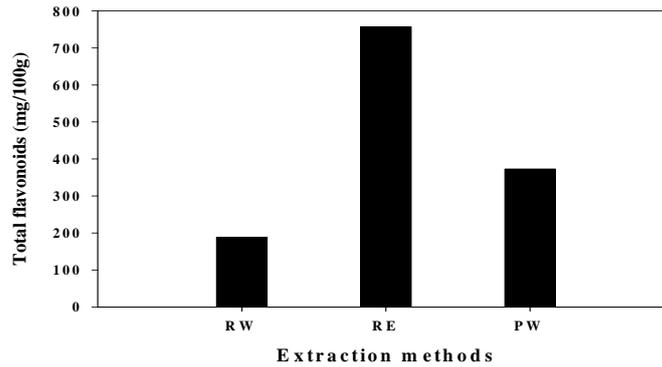


Fig. 3-13. Contents of total flavonoid compounds by extraction methods and solvents of *Curcuma longa* L. extract.

RW : Reflux extraction water

RE : Reflux extraction 70%-ethanol

PW : Pressure heating extraction water

나) 총 polyphenol 함량

울금 추출방법에 의한 총 polyphenol 함량을 측정한 결과는 Fig. 3-14와 같다. 각 추출물의 polyphenol 함량은 RE에서 453 mg%로 가장 많이 함유되어 있었으며, PW 384 mg%, RW 227 mg%로 측정되어 flavonoid와 마찬가지로 추출방법에 따른 polyphenol 함량에 유의적인 차이를 나타내었다.

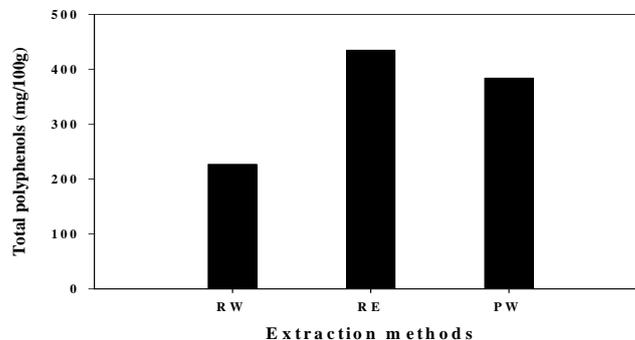


Fig. 3-14. Contents of total phenolic compounds by extraction methods and solvents of *Curcuma longa* L. extract.

RW : Reflux extraction water

RE : Reflux extraction 70%-ethanol

PW : Pressure heating extraction water

다) DPPH free radical 소거 활성

울금 추출방법에 의한 DPPH radical 소거 활성을 측정한 결과는 Fig. 3-15와 같다. 각 추출물 100 µg/mL의 농도에서 BHT의 46.23%와 비교 해보면, RE가 26.31%로 가장 높은 전자 공여능을 나타냈으며, PW가 19.82%, RW가 13.21% 순으로 나타내었다.

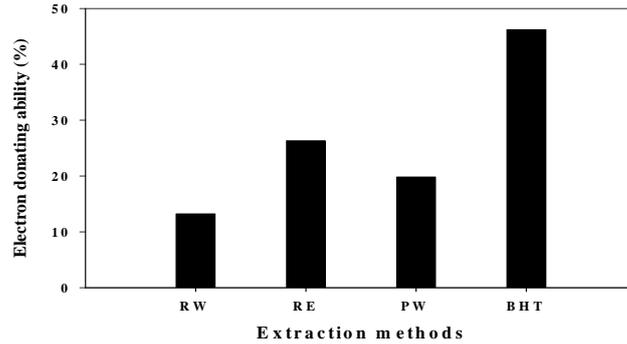


Fig. 3-15. Electron donating ability of *Curcuma longa* L. extract by extraction methods and solvents.

RW : Reflux extraction water

RE : Reflux extraction 70%-ethanol

PW : Pressure heating extraction water

라) 항산화지수

지질 산패도를 알아보기 위하여 Rancimat로 측정된 각 추출물의 항산화지수는 Fig. 3-16과 같다. 항산화지수는 RE추출물이 1.45로 가장 높게 나타났고, RW가 1.05, PW가 1.06로 시료를 첨가하지 않은 대조군의 항산화지수 1.00보다 조금 높은 활성을 나타냈다. 특히 RE추출물은 기존 합성 항산화제인 BHT의 1.91보다는 적지만나 상당히 높은 값을 보였다. 모든 추출물에서 대조군 보다 높은 항산화 활성을 나타낸 것은 울금이 항산화활성을 나타내는 물질인 polyphenol과 flavonoid를 다량 함유하고 있기 때문인 것으로 사료된다.

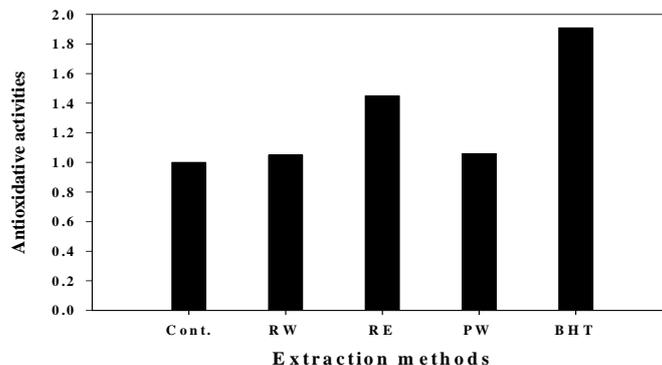


Fig. 3-16. Antioxidative activities of *Curcuma longa* L. extract by extraction methods and solvents on soybean oil.

RW : Reflux extraction water

RE : Reflux extraction 70%-ethanol

PW : Pressure heating extraction water

Induction period(IP) of oil was determined by Rancimate's test at 110°C

Antioxidant index(AI) was expressed as IP of oil containing various fraction/IP of soybean oil

마) 지질과산화 억제효과

울금 추출방법에 의한 지질과산화 억제작용을 측정된 결과는 Fig. 3-17과 같다. 각 추

출물의 지질과산화 억제율은 RE가 30.93%로 가장 높고 RW가 21.72%, PW가 19.82% 순으로 나타났다. RE 추출물은 양성대조군으로 사용한 BHT(29.43%)의 지질산화 억제율과 비슷한 결과를 보였다.

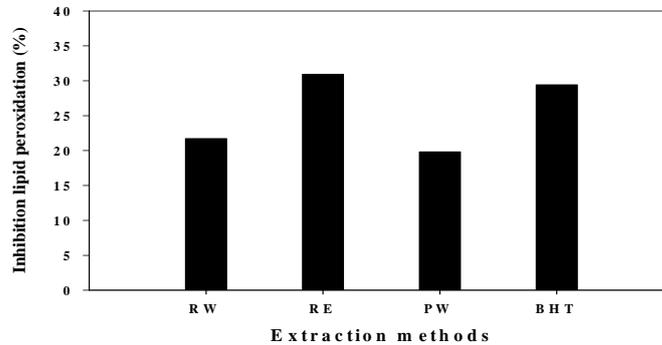


Fig. 3-17. Inhibitory rates of *Curcuma longa* L. extract by extraction methods and solvents on lipid peroxidation.

RW : Reflux extraction water

RE : Reflux extraction 70%-ethanol

PW : Pressure heating extraction water

바. 울금 에탄올추출물의 분획별 항산화 활성

1) DPPH free radical 소거작용

울금 에탄올추출물 분획물의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 3-18과 같다. 본 연구 결과, 울금 에탄올추출물이 항산화 물질로 알려진 flavonoid와 polyphenol을 다량 함유하고 있으므로 항산화력이 있을 것으로 추정하고 DPPH radical 소거능을 측정하였다. DPPH radical 소거활성은 n-hexane, ethylacetate, n-butanol, chloroform, water 분획물 순으로 나타났다. n-hexane 분획물의 DPPH radical 소거활성이 47.62%로 가장 강한 항산화 활성을 나타내었는데, 양성대조군인 합성항산화제 BHT의 46.23%와 유사한 전자공여능을 나타냈다. 이와 같이 n-hexane 분획물의 전자공여능이 높은 것은 울금에 함유하고 있는 항산화물질이 n-hexane 분획물에 잘 용해되는 것으로 추정된다.

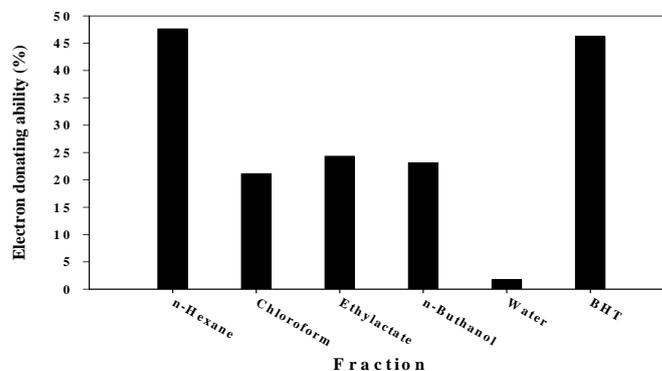


Fig. 3-18. Scavenging effects of *Curcuma longa* L. ethanol extract fraction on DPPH radical.

2) 항산화지수

울금 에탄올추출물 분획물의 지질 산패도를 알아보기 위하여 Rancimat로 측정된 항산화 지수는 Fig. 3-19와 같다. 항산화 지수는 DPPH radical 소거작용에서 나타난 결과와 마찬가지로 n-hexane 분획물이 1.85로 가장 높았고 ethylacetate 분획물이 1.77, n-butanol 분획물이 1.03, chloroform 분획물이 1.03 및 water 분획물이 1.02로 시료를 첨가하지 않은 대조군의 항산화 지수 1.00보다 높은 활성을 나타냈다. 특히 n-hexane 분획물의 활성이 가장 높아 기존 합성 항산화제인 BHT와 유사한 수치를 나타냈다. 본 실험에서 울금에탄올 추출물의 모든 분획물에서 대조군 보다 높은 항산화 활성을 나타냈다. 이와 같은 결과는 울금 에탄올 추출물에 항산화 활성을 나타내는 물질인 polyphenol과 flavonoid를 다량 함유하고 있기 때문인 것으로 판단된다.

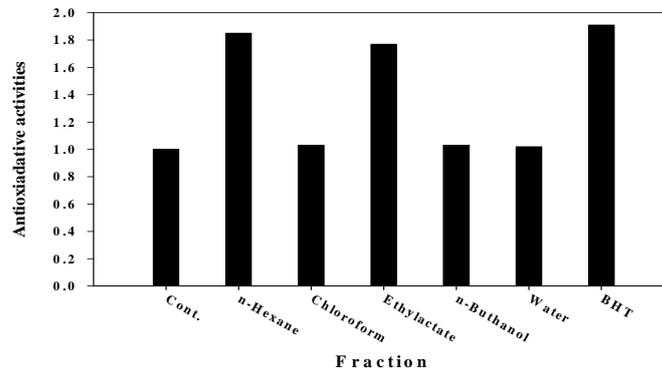


Fig. 3-19. Antioxidative activities of *Curcuma longa* L. ethanol extract fractions on soybean oil.

3) 지질과산화 억제작용

울금 에탄올추출물 분획물의 지질과산화 억제작용을 측정한 결과는 Fig. 3-20과 같다. 각 분획물의 지질과산화 억제율은 n-hexane 분획물이 38.11%, chloroform 분획물이 27.35%, n-butanol 분획물이 23.70%, ethylacetate 분획물이 18.70%, water 분획물이 8.39%순으로 DPPH radical 소거활성과 Rancimat로 측정된 항산화지수와 동일하게 n-hexane 분획물에서 지질과산화 억제율이 가장 높게 나타났으며, 양성 대조군으로 사용한 BHT의 지질과산화 억제율 보다 는 낮게 나타났다.

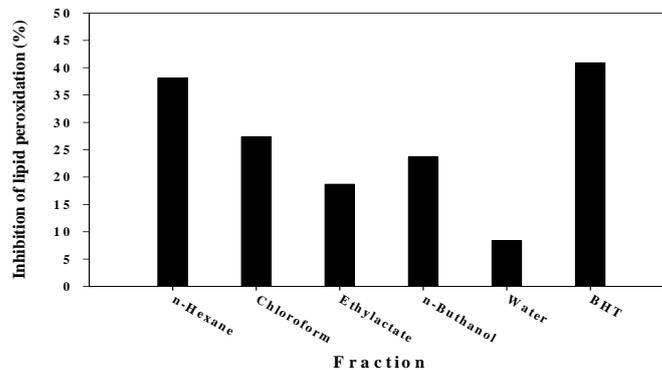


Fig. 3-20. Inhibitory rates of *Curcuma longa* L. ethanol extract fraction on lipid

peroxidation.

사. 울금 에탄올추출물의 분획별 항균성

울금 에탄올추출물 중의 항균성 물질을 분리할 목적으로 용매 계통분획하여 얻은 hexan, chloroform, 에틸아세테이트, 부탄올(수포화) 및 물 분획물의 항균활성을 disc plate method에 의한 생육저지환을 측정하여 *Sta. aureus*, *Sal. typhimurium* 및 *V. parahaemolyticus* 등 3균주에 대한 억제효과를 검색한 결과는 Table 3-19와 Fig. 3-21과 같다. 전반적으로 모든 분획물에서 측정 균주에 대해 항균성을 보이고 있으며, 특히 *V. parahaemolyticus*는 에틸아세테이트분획물에서 생육저지환이 비활성도로 비교하여 볼 때 13으로 가장 항균활성이 높게 나타났다. 이상의 결과로 볼 때 울금 에탄올추출물 중의 항균성 물질은 특정용매에만 용해되지 않고 일부 다른 용매에도 용해되는 성분으로서 한 가지 성분이라기보다는 여러 가지 성분이 서로 복합적으로 작용을 하고 있는 것을 알 수 있으며, 울금 에탄올추출물의 항균활성 물질이 에틸아세테이트 분획물로 많이 이행되었음을 알 수 있었다.

Table 3-19. Antimicrobial activities against several microorganisms of fractions from ethanol extract of *Curcuma longa* L.

Strains	Clear zone on plate(mm) ^{a)}				
	n-Hexane extract	Chloroform extract	Ethylacetate extract	Butanol extract	Water extract
<i>Sta. aureus</i>	10	11	12	10	11
<i>Sal. typhimurium</i>	11	11.5	12	9	11
<i>V. parahaemolyticus</i>	12	11.5	13	10	12

a), Diameter ; b), No inhibitory zone was formed.

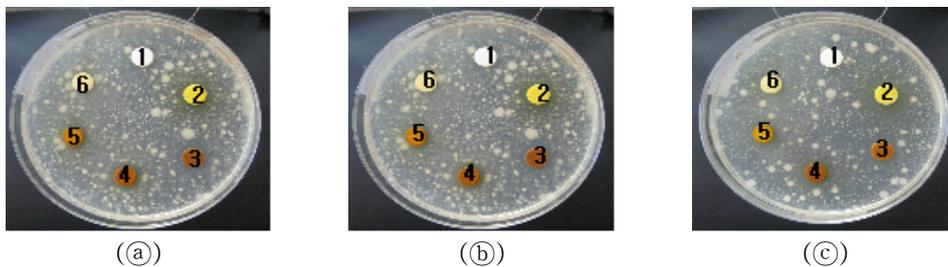


Fig. 3-21. Inhibitory effect of extract of *Curcuma longa* on the growth of *Sal. typhimurium*(a), *Sta. aureus*(b) and *V. parahaemolyticus*(c).

1 ; EtOH extract, 2 ; Water extract, 3 ; Hexane extract, 4 ; Chloroform extract, 5 ; Ethyl acetate extract, 6 ; Butanol extract

1) 항균활성 물질의 분리 및 동정

가) 항균활성 물질의 분리

가장 항균활성을 나타낸 ethylacetate extract로부터 silica gel column chromatograph를 실시하여 이들을 TLC상에 전개하여 비슷한 Rf치를 보이는 fraction들을 합하여 8개의 화합물로 분리하였다. 각 fraction들의 항균활성을 실시한 결과는 Table 3-20과 Fig. 3-22에서 보는 바와 같이 분획물 중에서 C, D, E 및 F에서 항균력이 확인되었으며, 그 외 다른 분획물에서는 항균활성을 거의 나타내지 않았다. 따라서 이들 4 분획물이 울금의 항균활성에 관여하는 물질로 사료된다.

Table 3-20. Antimicrobial activities against *Escherichia coli* of the fraction of the ethylacetate extract fractionated by the silica gel column chromatography

Fraction No.	Clear zone on plate(mm) ^{a)}
A	- ^{b)}
B	-
C(Compound I)	10
D(Compound II)	11
E(Compound III)	12
F(Compound IV)	12
G	-
H	-
I	-

a), Diameter; b), No inhibitory zone was formed.



Fig. 3-22. Antimicrobial activities of compounds isolated from ethylacetate extract of *Curcuma longa* L. on the growth of *E. coli*.

나) 항균활성 물질의 NMR분석과 동정

(1) Curcumin

Fig. 3-23은 curcumin 표준물질에 대한 ^1H NMR 데이터이다. 이 결과에서 6.7~7.3 ppm에서 curcumin의 벤젠 고리의 수소, 6.6 과 7.6 ppm에서 엘틸렌의 수소, 그리고 3.9 ppm에서 메틸 그룹의 수소를 모두 확인 할 수 있었다.

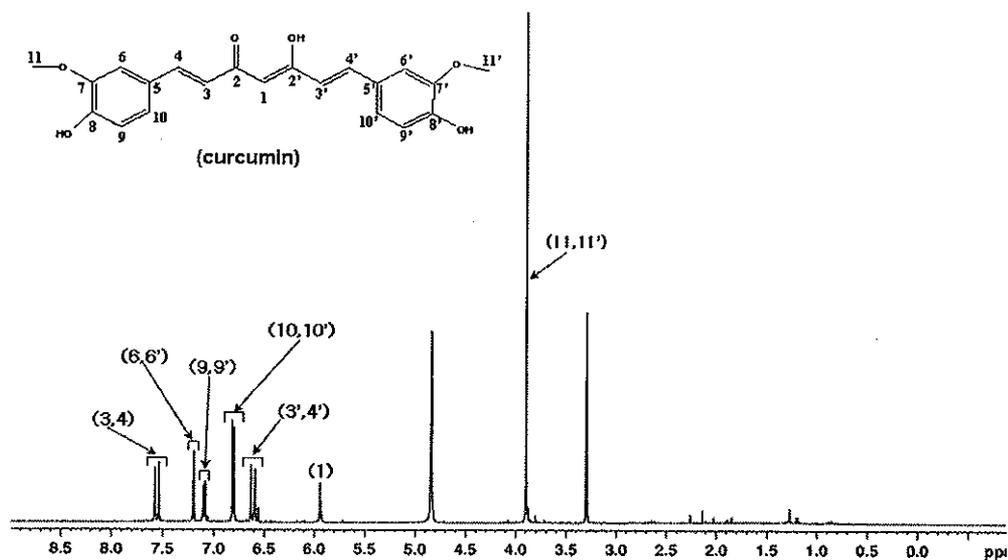


Fig. 3-23. ^1H NMR spectrum of curcumin(standard).

(2) Demethoxycurcumin

Fig. 3-24는 curcumin의 유도체인 demethoxycurcumin 표준물질에 대한 ^1H NMR 데이터이다. 이 결과 역시 curcumin의 ^1H NMR 데이터와 비슷한 특성 peak를 보이고 있으나 curcumin의 2개의 methyl group 중 하나가 -OH기로 치환되면서 특성 peak의 위치가 조금 변화되고 있다. 6.7~7.5 ppm에서 demethoxycurcumin의 benzene 고리의 수소, 6.8 과 7.6 ppm에서 엘틸렌의 수소, 그리고 3.9 ppm에서 methyl group의 수소를 모두 확인 할 수 있었다.

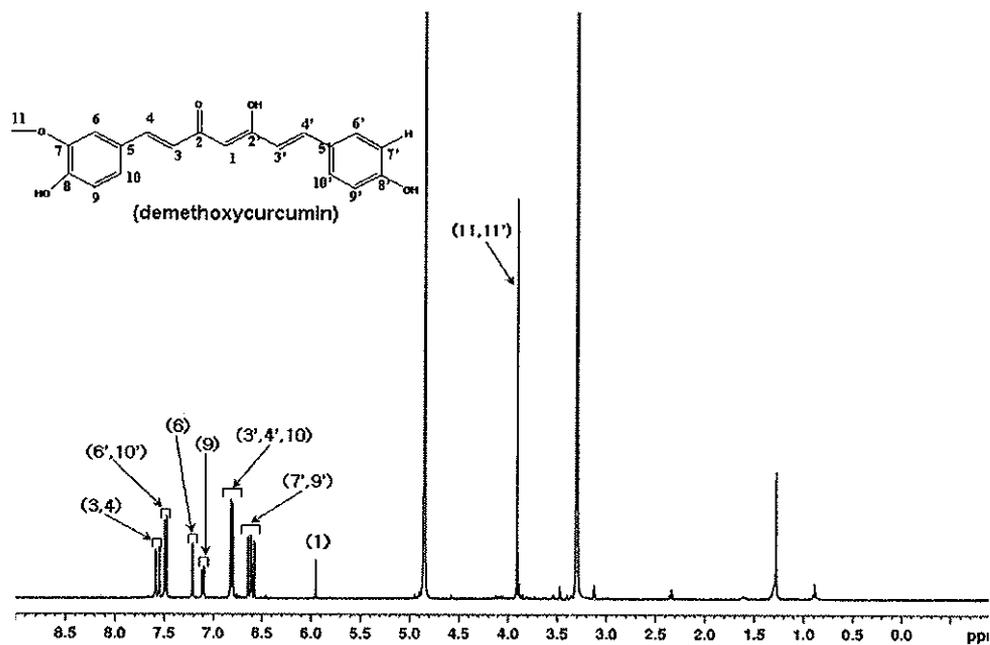


Fig. 3-24. ^1H NMR spectrum of demethoxycurcumin(standard).

(3) *bisdemethoxycurcumin*

Fig. 3-24는 curcumin의 유도체인 *bisdemethoxycurcumin* 표준물질에 대한 ^1H NMR 데이터이다. 이 결과 역시 curcumin의 ^1H NMR 데이터와 비슷한 특성 peak를 보이고 있으나 curcumin의 2개의 메틸그룹이 하이드록실기로 치환되면서 특성 peak의 위치가 조금 변화되고 있다. 6.7~7.5 ppm에서 demethoxycurcumin의 benzene 고리의 수소, 6.6 과 7.6 ppm에서 Ethylene의 수소, 그리고 curcumin과 demethoxycurcumin에서 나타나는 3.9 ppm의 methyl group의 수소는 나타나지 않고 있다.

Fig. 3-25. ^1H NMR spectrum of *bisdemethoxycurcumin*(standard)

(4) Compound I

Fig. 3-26은 curcumin 과 울금 추출물 중 compound I (분획물 C)에 대한 ^1H NMR 결과이다. Fig. 3-26 (B)의 compound I에 대한 결과에서 볼 수 있듯이 3.9 ppm과 6.6~7.6 ppm에서 나타나는 특성 peak가 Fig. 3-26 (A)의 표준물질 curcumin ^1H NMR 데이터와 정확하게 일치하고 있음을 확인하였다. 이 결과로 볼 때 울금에서 추출된 추출물 compound I은 curcumin으로 사료된다. 또한 Fig. 3-26 (B)에서 0.0~3.8 ppm에서 나타나는 특성 peak는 전형적인 oligosaccharide에서 나타나는 수소의 peak로 compound I에는 추출과정에서 소량의 oligosaccharide이 제거되지 않고 추출물 속에 존재하고 있음을 나타낸다.

Fig. 3-26. ^1H NMR spectra of curcumin (standard, (A)), and extract C(B).

(5) Compound II

Fig. 3-27은 demethoxycurcumin과 울금 추출물 중 Compound II(분획물 D)에 대한 ^1H NMR 결과이다. Fig. 3-27(B)의 compound II에 대한 결과에서 볼 수 있듯이 3.9 ppm과 6.6~7.6 ppm에서 나타나는 특성 peak가 Fig. 3-27(A)의 표준물질 demethoxycurcumin ^1H NMR 데이터와 정확하게 일치하고 있음을 확인 하였다 이 결과 울금에서 추출된 compound II는 demethoxycurcumin으로 사료된다. 또한 Fig. 3-27(B)에서 0.0~3.8 ppm에서 나타나는 특성 peak는 전형적인 oligosaccharide에서 나타나는 수소의 peak로 추출물 D에는 추출과정에서 소량의 oligosaccharide이 제거되지 않고 추출물 속에 존재하고 있음을 나타낸다.

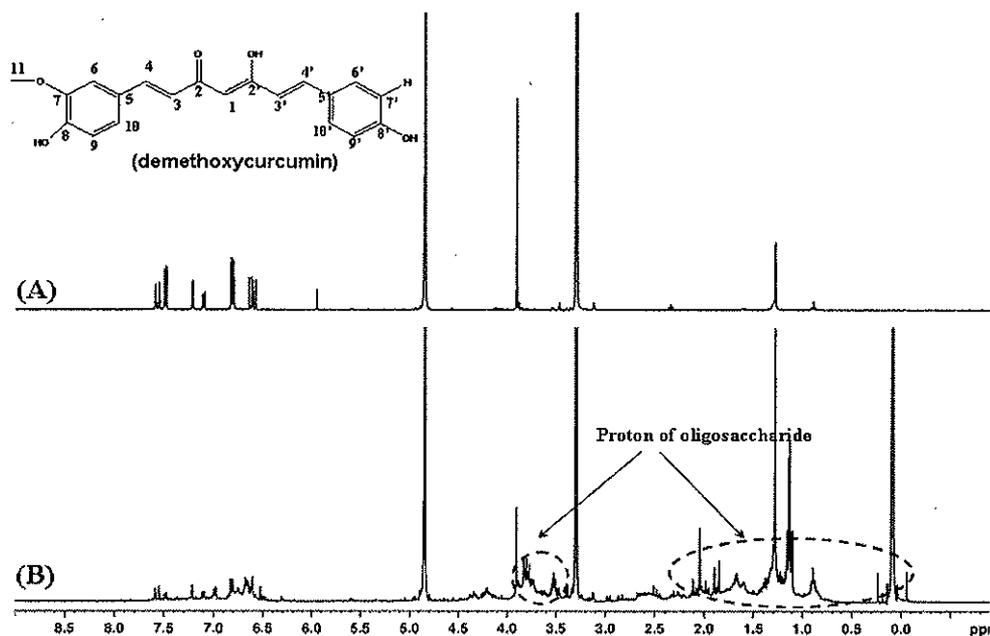


Fig. 3-27. ^1H NMR spectra of demethoxycurcumin (standard, (A)), and extract D(B).

(6) Compound III

Fig. 3-28은 bisdemethoxycurcumin과 울금 추출물 중 compound III(분획물 E)에 대한 ^1H NMR 결과이다. Fig. 3-28(B)의 compound III에 대한 결과에서 볼 수 있듯이 6.6~7.6 ppm에서 나타나는 특성 peak가 Fig. 3-28(A)의 표준물질 bisdemethoxycurcumin ^1H NMR 데이터와 정확하게 일치하고 있음을 확인 하였다. 이 결과 울금에서 추출된 compound III는 bisdemethoxycurcumin으로 사료된다. 또한 Fig. 3-28(B)에서 0.0~3.8 ppm에서 나타나는 특성 peak는 전형적인 oligosaccharide에서 나타나는 수소의 peak로 compound III에는 추출과정에서 소량의 oligosaccharide이 제거되지 않고 추출물 속에 존재하고 있음을 나타낸다.

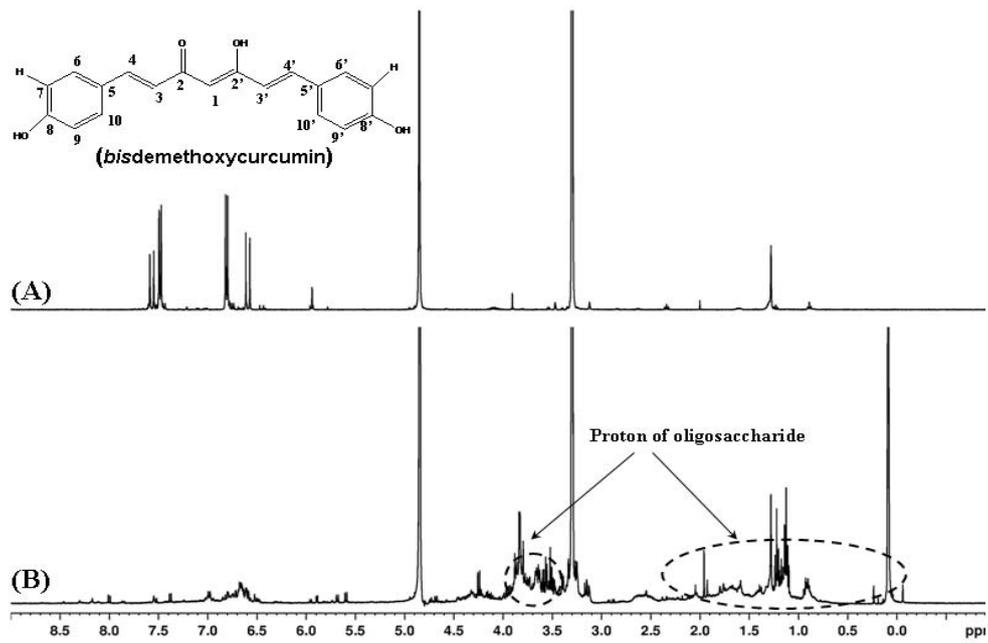


Fig. 3-28. ¹H NMR spectra of *bisdemethoxycurcumin* (standard, (A)), and extract E(B).

(7) Compound IV

Fig. 3-29는 compound IV(분획물 F)의 ¹H NMR 결과이다. Compound IV의 경우 앞서 보인 curcumin, methoxycurcumin, *bisdemethoxycurcumin*의 특성 peak를 확인 할 수 없었으며, 단지 oligosaccharide에서 나타나는 특성 peak만이 확인되었으나, 항균특성을 보이는 것으로 보아 약간의 curcumin 성분이 포함되어 있는 것으로 사료된다.

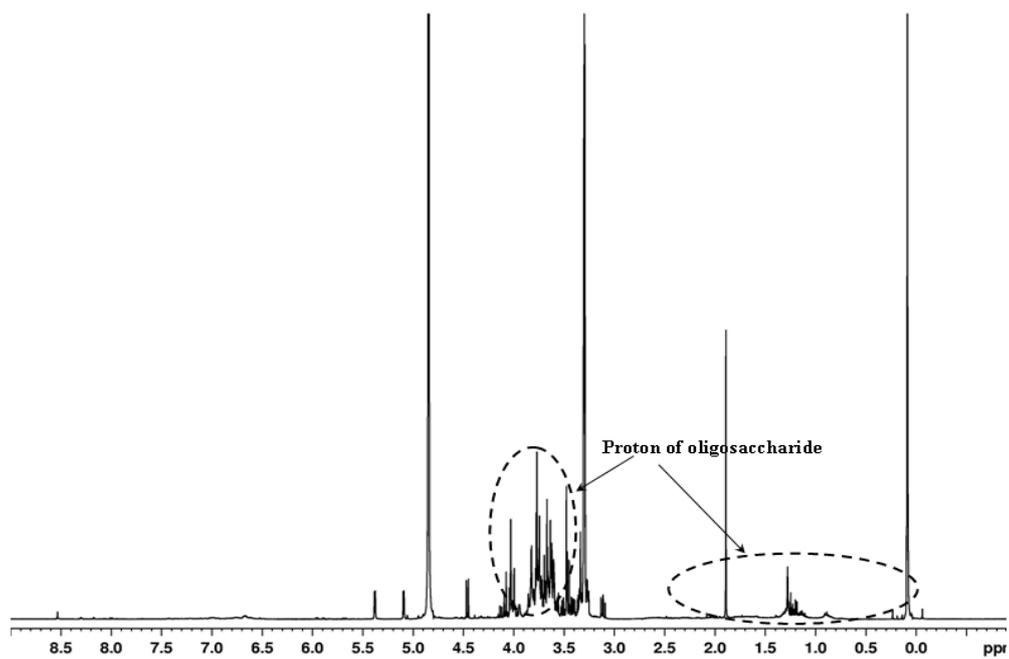


Fig. 3-29. ^1H NMR spectrum of extract F.

(8) 표준물질과 분획물의 비교

Fig. 3-30는 표준물질은 curcumin, methoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, 그리고 추출물에 대한 ^1H NMR 결과이다. 앞서 언급한 것처럼 추출물 C~F는 모두 항균 활성을 보였으며, ^1H NMR 구조분석 결과 분획물 C, D, E는 각각 curcumin, methoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin임을 확인 할 수 있었다. 이 결과로 울금에서 유효성분을 효과적으로 분리됨을 확인 할 수 있었다. 아울러 분획물 F의 경우 3종류의 curcumin과 일치 하지 않고 있으나 항균 활성을 보이는 것으로 보아 curcumin이 일정 부분 혼합되어 있을 것으로 사료된다.

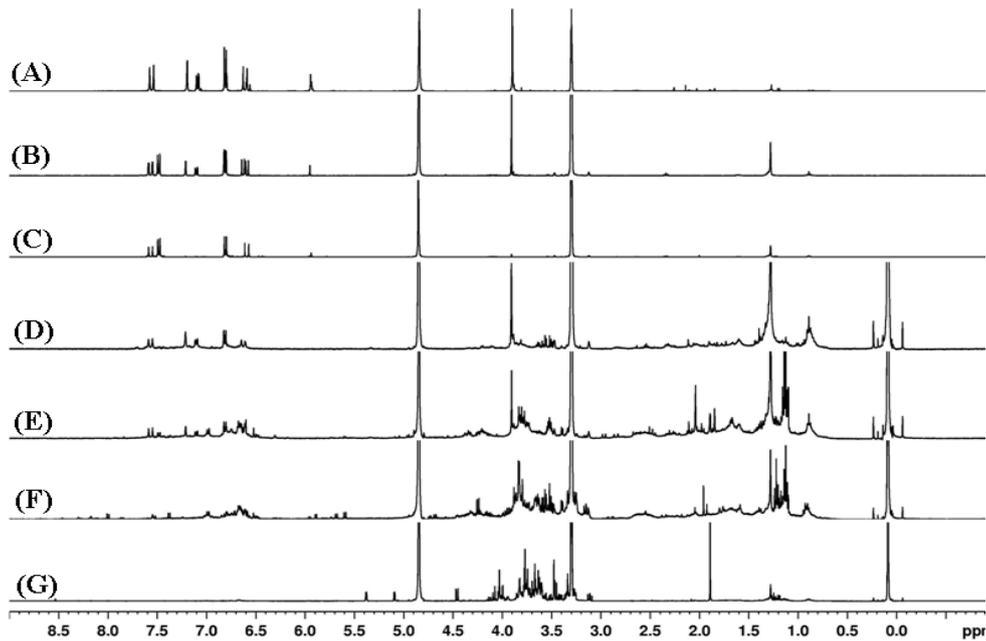


Fig. 3-30. ^1H NMR spectra of curcumin(A), methoxycurcumin(B), bisdemethoxycurcumin(C), compound I (D), compound II(E), compound III(F), and compound IV(G).

아. 울금주 막걸리의 온도별 저장성 평가

1) 개발 울금주 와 시판 전통탁주의 pH 및 총산도 변화

탁주의 pH와 총산도의 변화는 탁주의 발효과정 중 발생하는 오염정도를 파악할 수 있는 중요한 요인이며, 알코올 생성과정에서 복합적으로 생성되므로 탁주의 발효정도를 짐작할 수 있는 중요한 지표성분으로 이용된다. 개발한 울금주 및 시판 전통탁주를 12일 동안 10°C와 20°C에서 저장하여 3일 마다 pH와 총산도의 측정 결과는 Fig, 3-31, Fig. 3-32와 같다. 개발한 울금주는 저장 0일에 pH 3.65였으나, 저장 기간이 갈수록 높아져 10°C에서는 4.07을 나타내었

고, 20℃에서는 4.34로 점차 높아졌고, 전통 탁주의 경우에도 역시 점차 높아져 저장 0일에 pH 3.38이었으나 저장 12일에는 10℃와 20℃에서 각각 pH 4.14를 나타내었다. 총산도의 경우는 0일에 개발한 울금주 보다 전통 탁주가 0.33%로 높았고 개발한 울금주의 경우 10℃와 20℃에서 6일까지는 점차 증가하였으나 9일과 12일에는 비슷한 경향을 보였다. 반면에 전통 탁주는 10℃에서는 3일과 6일에서 0.41%로 비슷하였으나 점차 감소하는 경향을 보였으나, 20℃에서는 갈수록 증가하여 12일에는 0.67%로 가장 높게 나타났다.

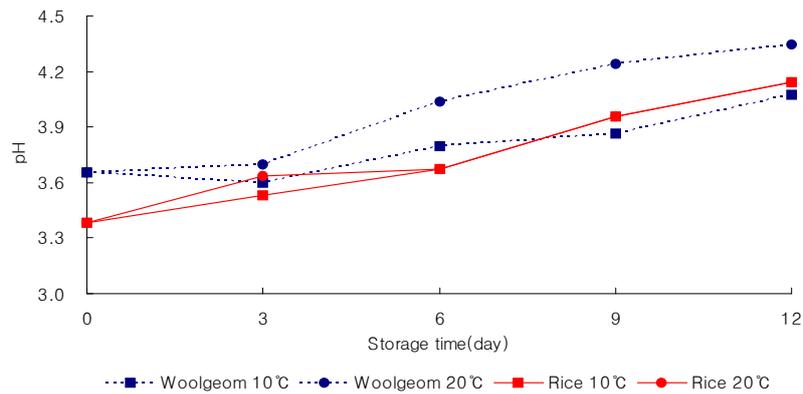


Fig. 3-31. Changes in pH of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study for 12 days of storage at 10℃ and 20℃.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

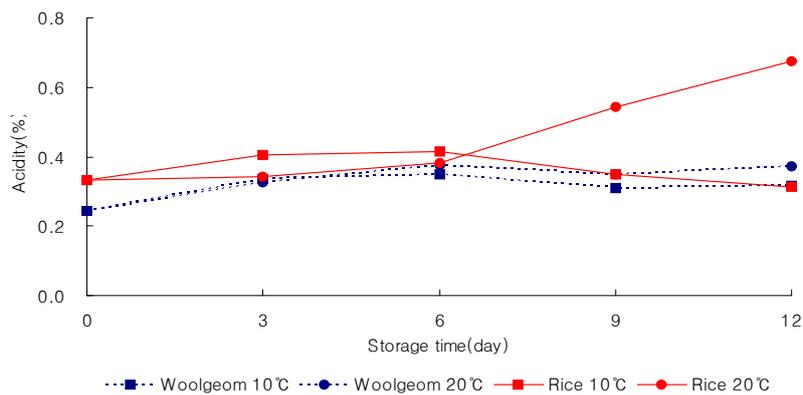


Fig. 3-32. Changes in total acidity of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10℃ and 20℃.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

2) 개발 울금주 및 전통 탁주의 Brix 변화

본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주의 brix 당도의 변화를 12일 동안 10℃와 20℃에서 저장하여 3일 마다 측정 결과는 Fig. 3-33과 같다. 그 결과 개발 울금주의 경우 시간이 지속될수록 brix 당도는 4.10%에서 갈수록 낮아져 12일에는 저장온도 10℃와 20℃에서 모두 3.53%로 낮아졌으며, 전통탁주의 경우 저장온도 10℃에서 4.33%에서 점차 brix 당도가 낮아져 3.90%와 저장20℃의 경우에서 3일에 3.80%로 낮아졌으나, 점차 높아져 4.20%로 높아졌다.

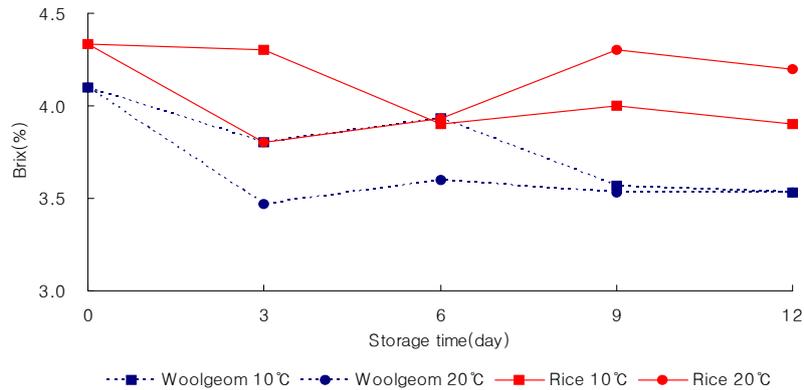


Fig. 3-33. Changes in brix index of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10℃ and 20℃.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

3) 개발 울금주 및 전통 탁주의 유기산 변화

본 연구에서 개발한 울금주와 시판 전통탁주의 유기산은 탁주의 발효·숙성과정 및 저장중의 품질특성을 평가할 수 있는 항목으로 본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 탁주의 유기산 함량을 측정한 결과는 Table 3-21, Table 3-22, Table 3-23, Table 3-24와 같다. 그 결과 본 연구에서 개발한 울금주와 전통탁주는 malic, malonic, acetic, succinic acid의 함량이 높게 나타났으며, 특히 본 연구에서 개발한 울금주와 전통 탁주의 유기산 함량은 20℃에서 12일로 갈수록 점차 증가하였으나, 10℃에서는 개발한 울금주가 6일에 1,505.24 mg으로 가장 높았으나, 점차 감소하였다. 그리고 전통 탁주는 9일에 총 함량이 1,789.16 mg으로 가장 높았으나, 12일에 1,121.31 mg으로 낮아졌다. Lactic acid의 경우는 전통 탁주의 경우 3일에 대체적으로 감소하였다가 점차 증가하였으며, 개발한 울금주의 경우 점차 증가하였다.

Table 3-21. Changes in organic acid of *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10°C (unit : mg%)

Organic acids	Storage time(day)				
	0	3	6	9	12
Oxalic acid	16.63±0.17	17.85±0.20	19.02±5.16	25.94±0.71	27.88±0.79
Tartaric acid	77.03±0.20	77.67±0.11	88.08±1.14	48.02±1.84	47.99±8.22
Malic acid	350.71±11.54	244.70±41.33	334.41±45.64	335.18±84.94	290.21±20.49
Malonic acid	266.73±22.37	272.23±42.70	301.77±68.33	380.03±24.03	370.44±20.14
Lactic acid	40.99±20.93	56.47±7.91	91.79±14.34	90.62±3.84	64.61±24.46
Acetic acid	136.19±51.32	126.70±60.63	186.65±31.62	262.78±47.18	230.27±44.08
Citric acid	48.40±0.00	166.54±30.02	150.67±2.02	16.67±3.76	36.47±2.47
Succinic acid	46.99±0.00	29.12±0.68	331.85±0.42	339.63±54.58	314.85±26.39
Total	983.65±64.33	991.30±292.48	1504.24±233.96	1498.87±0.71	1382.72±59.18

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

Table 3-22. Changes in organic acid of *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 20°C (unit : mg%)

Organic acids	Storage time(day)				
	0	3	6	9	12
Oxalic acid	16.63±0.17	25.96±0.69	-	-	-
Tartaric acid	77.03±0.20	60.27±4.99	303.05±63.65	419.61±46.80	487.48±10.10
Malic acid	350.71±11.54	360.82±23.60	365.89±26.76	543.87±53.01	591.67±33.45
Malonic acid	266.73±22.37	357.81±24.86	464.72±0.47	465.26±81.88	564.47±40.46
Lactic acid	40.99±20.93	74.87±28.28	74.60±11.15	45.90±34.60	61.42±22.90
Acetic acid	136.19±51.32	217.13±44.20	321.30±0.34	279.62±63.10	286.73±36.73
Citric acid	48.40±0.00	20.46±6.58	154.58±72.20	32.79±3.53	133.46±84.81
Succinic acid	46.99±0.00	340.26±10.00	329.85±49.01	160.39±0.00	26.63±8.40
Total	983.65±64.33	1457.58±61.48	2013.98±47.23	1947.44±386.12	2151.85±148.74

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

Table 3-23. Changes in organic acid of commercial *Takju* during for 12 days of storage at 10°C (unit : mg%)

Organic acids	Storage time(day)				
	0	3	6	9	12
Oxalic acid	23.53±0.55	13.56±0.16	21.07±8.48	26.12±1.16	28.38±1.50
Tartaric acid	190.86±22.22	179.12±25.74	191.58±3.72	188.88±4.357	88.32±1.39
Malic acid	267.91±20.02	260.25±15.73	321.15±58.26	362.05±3.91	357.28±7.62
Malonic acid	224.27 ±24.84	278.04±46.97	282.97±76.29	334.76±0.90	198.72±197.82
Lactic acid	162.00±49.35	80.93±40.55	87.42±20.60	115.06±20.66	84.21±9.69
Acetic acid	97.00±74.53	128.15±12.79	166.05±30.68	169.90±3.27	163.68±5.16
Citric acid	272.40±120.92	191.16±7.25	240.54±28.63	188.59±76.18	28.87±1.37
Succinic acid	21.09±0.00	338.86±7.93	413.66±51.37	403.79±3.33	171.84±26.77
Total	1259.06±48.37	1470.08±77.18	1724.45±203.63	1789.16±97.74	1121.31±174.08

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

Table 3-24. Changes in organic acid of commercial *Takju* during for 12 days of storage at 20°C (unit : mg%)

Organic acids	Storage time(day)				
	0	3	6	9	12
Oxalic acid	23.53±0.55	23.39±3.15	26.43±1.42	32.83±6.21	157.57±0.00
Tartaric acid	190.86±10.11	195.88±0.00	75.02±27.29	86.93±8.54	83.73±4.24
Malic acid	267.91±20.02	337.94±34.88	415.63±8.47	524.96±2.34	2001.82±0.00
Malonic acid	224.27±24.84	278.94±49.12	454.92±3.54	598.34±2.98	787.36±11.53
Lactic acid	162.00±49.35	94.60±62.35	111.65±22.21	123.75±12.44	177.44±11.61
Acetic acid	97.00±74.53	99.24±91.19	289.02±20.99	412.92±38.51	570.36±38.37
Citric acid	272.40±120.92	260.45±46.23	165.90±18.13	183.50±23.29	263.09±32.12
Succinic acid	21.09±2.43	424.03±85.23	510.93±85.42	1767.21±325.02	2835.16±45.02
Total	1259.06±48.37	1714.47±240.69	2049.50±93.55	3730.44±85.76	6876.53±54.22

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

4) 개발 울금주 및 전통 탁주의 유리아미노산 변화

우리나라 전통곡주의 단백질 급원으로부터 자연유래 누룩 발효미생물이 생산하는 단백질 분해효소의 촉매작용으로 생성되는 유리아미노산의 함량은 전통탁주의 감칠맛에 영향을 주는 지표 맛 성분으로 발효도 평가에 주요한 요소이다. 본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주의 유리아미노산의 함량을 측정한 결과는 Table 3-25, Table 3-26, Table 3-27, Table 3-28 과 같다. 그 결과 본 연구에서 개발한 울금주와 전통 탁주의 함량은 그리고 proline이 가장 높게 나타났으며 그 다음으로 histidine이 높게 나타났다. 또한 총 함량은 점차 증가하였으나 개발한 울금주의 경우 6일에 103.78 mg%로 가장 높은 함량을 나타냈으나 점차 감소하는 경향을 나타냈다. 각각의 시료는 10℃의 함량보다 20℃의 함량이 2.5배정도 높게 나타났다.

Table 3-25. Changes in free amino acid of *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10℃ (unit : mg%)

Amino acids	Storage time(day)				
	0	3	6	9	12
Aspartic acid	2.61±0.08	2.85±0.07	3.66±0.25	4.52±0.01	5.58±0.01
Threonine	4.16±0.10	4.11±0.20	4.90±0.03	6.21±1.01	5.14±0.20
Serine	3.10±0.22	3.46±0.35	4.31±0.27	4.14±0.65	5.97±0.08
Glutamic acid	8.00±0.10	8.50±0.23	10.84±0.33	12.76±0.32	14.25±0.05
Proline	17.56±2.31	18.22±1.06	15.92±2.05	14.19±0.14	8.90±0.11
Glycine	2.05±0.01	2.27±0.09	2.77±0.07	1.84±2.14	3.79±0.14
Alanine	5.23±0.03	5.99±0.10	9.48±1.16	8.50±0.07	10.21±0.60
Cystine	1.15±0.06	1.47±0.17	1.21±0.44	1.69±0.42	2.28±0.08
Valine	1.62±0.00	2.30±0.01	1.52±0.15	3.34±0.10	4.12±0.24
Methionine	0.60±0.01	0.60±0.01	0.45±0.05	1.12±0.02	1.45±0.02
Isoleucine	1.04±0.02	1.18±0.06	1.53±0.16	1.70±0.07	2.10±0.01
Leucine	4.36±0.02	4.63±0.07	6.01±0.35	6.70±0.19	7.85±0.05
Tyrosine	4.03±0.02	4.38±0.08	5.31±0.22	3.60±0.28	1.22±0.08
Phenylalanine	3.13±0.15	3.67±0.10	4.23±0.02	5.00±0.34	5.81±0.01
Histidine	11.39±0.59	11.53±0.33	13.68±0.62	12.05±0.24	10.92±0.17
Lysine	4.73±0.01	4.94±0.12	6.32±0.41	6.39±0.08	7.23±0.05
Arginine	9.64±0.07	9.92±0.24	12.02±0.88	8.60±0.22	2.04±0.12
Total	84.40±3.39	90.00±2.55	103.78±4.87	102.34±3.62	98.86±1.45

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

Table 3-26. Changes in free amino acid of *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage 20°C (unit : mg%)

Amino acids	Storage time(day)				
	0	3	6	9	12
Aspartic acid	2.61±0.08	3.83±0.18	8.01±0.89	13.36±0.83	16.72±0.64
Threonine	4.16±0.11	3.91±0.42	6.35±0.67	9.47±2.03	7.61±0.58
Serine	3.10±0.22	5.26±0.14	44.95±3.44	8.90±0.26	8.90±0.18
Glutamic acid	8.00±0.10	11.96±0.24	3.96±0.98	2.90±0.25	3.42±0.50
Proline	17.56±2.31	16.98±1.10	15.20±1.53	22.05±0.78	23.78±2.60
Glycine	2.05±0.01	2.92±0.04	5.22±0.61	9.75±0.68	13.95±1.29
Alanine	5.23±0.04	8.08±0.04	15.13±1.78	27.48±2.52	33.83±3.68
Cystine	1.15±0.06	2.04±0.45	3.24±0.48	9.26±1.03	21.94±3.84
Valine	1.62±0.00	3.24±0.01	6.52±0.65	14.55±1.35	20.22±1.34
Methionine	0.60±0.01	0.96±0.05	2.24±0.12	3.93±0.33	5.71±0.06
Isoleucine	1.04±0.02	1.58±0.07	3.68±0.45	9.51±0.96	14.84±0.15
Leucine	4.36±0.02	6.43±0.12	11.89±1.28	19.91±1.97	26.91±0.25
Tyrosine	4.03±0.02	4.56±0.05	0.91±0.27	0.42±0.02	0.32±0.09
Phenylalanine	3.13±0.15	4.80±0.01	8.38±0.72	12.35±1.15	15.95±0.03
Histidine	11.39±0.59	12.97±0.06	21.77±2.36	23.35±2.22	16.01±1.17
Lysine	4.73±0.01	6.26±0.12	11.17±1.14	11.75±1.05	25.40±4.41
Arginine	9.64±0.07	10.29±0.43	0.69±0.57	0.46±0.04	0.87±0.61
Total	84.40±3.39	106.10±3.22	169.40±67.96	199.39±16.94	256.35±8.78

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

Table 3-27. Changes in free amino acid of commercial *Takju* during for 12 days of storage at 10°C (unit : mg%)

Amino acid	Storage time(day)				
	0	3	6	9	12
Aspartic acid	1.14±0.06	0.53±0.23	0.94±0.04	1.73±0.13	1.62±0.00
Threonine	4.19±0.93	2.49±2.53	4.30±0.37	6.44±0.01	5.79±0.04
Serine	4.07±0.41	2.93±0.67	5.60±0.61	8.10±1.08	7.33±0.16
Glutamic acid	6.02±0.01	5.10±1.43	5.13±0.29	7.31±0.58	7.46±0.11
Proline	73.11±3.04	97.88±30.78	80.20±6.54	102.02±13.47	81.91±1.04
Glycine	1.51±0.25	1.03±0.14	1.41±0.00	1.77±0.11	1.63±0.15
Alanine	5.95±0.74	2.00±1.07	3.28±0.01	4.10±0.33	4.31±0.83
Cystine	1.69±0.61	2.32±0.34	2.34±0.58	2.131±0.13	2.46±1.17
Valine	1.63±0.46	1.06±0.79	1.83±0.30	3.59±1.20	2.62±0.10
Methionine	0.45±0.02	0.78±0.03	0.25±0.10	0.66±0.02	0.73±0.06
Isoleucine	0.70±0.20	0.35±0.18	0.48±0.28	1.13±0.09	1.24±0.05
Leucine	1.97±0.39	1.11±0.11	1.75±0.17	4.80±0.38	4.75±0.09
Tyrosine	1.86±0.09	2.14±0.07	2.59±0.29	3.40±0.31	3.43±0.09
Phenylalanine	2.68±0.26	2.57±0.20	3.40±0.25	4.03±0.45	4.33±0.50
Histidine	11.99±0.63	10.10±0.378	11.60±0.76	14.52±0.87	10.65±0.87
Lysine	1.49±0.09	0.87±0.02	1.65±0.12	2.86±0.19	2.75±0.01
Arginine	4.12±0.03	3.69±0.02	5.54±0.30	8.48±0.61	7.59±0.02
Total	124.55±7.60	128.99±50.61	132.31±10.90	177.07±19.08	150.63±4.78

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

Table 3-28. Changes in free amino acid of commercial *Takju* for 12 days of storage at 20°C
(unit : mg%)

Amino acid	Storage time(day)				
	0	3	6	9	12
Aspartic acid	1.14±0.06	0.82±0.45	2.76±0.49	3.54±0.20	1.10±0.04
Threonine	4.19±0.93	4.38±0.05	6.55±1.19	14.48±4.05	25.89±0.02
Serine	4.07±0.43	5.37±0.06	10.89±1.05	13.90±2.19	16.68±0.32
Glutamic acid	6.03±0.00	5.57±0.25	11.82±1.31	4.57±0.05	3.60±0.08
Proline	73.11±3.04	77.81±6.31	76.85±4.57	32.63±0.31	40.99±3.48
Glycine	1.51±0.25	1.37±0.06	1.86±0.47	3.46±0.92	8.86±0.00
Alanine	5.95±0.74	3.88±0.20	6.96±1.57	19.19±0.87	47.91±2.04
Cystine	1.70±0.61	2.05±0.47	1.91±0.27	4.62±0.15	16.02±1.82
Valine	1.63±0.46	2.51±1.11	3.73±1.00	8.62±0.33	21.18±0.30
Methionine	0.45±0.02	0.38±0.09	1.31±0.19	3.02±0.32	6.54±0.38
Isoleucine	0.70±0.20	0.79±0.09	1.82±0.17	5.90±0.23	1.716±0.18
Leucine	1.97±0.39	3.43±0.26	7.35±0.83	16.05±0.37	20.64±18.80
Tyrosine	1.86±0.09	2.85±0.04	3.80±1.01	0.75±0.02	0.71±0.09
Phenylalanine	2.68±0.26	3.80±0.07	6.25±0.92	11.12±0.04	21.82±0.23
Histidine	11.99±0.63	12.421±0.07	12.54±2.00	27.70±1.74	47.25±0.31
Lysine	1.50±0.09	2.16±0.02	4.86±0.67	11.24±0.06	24.44±0.24
Arginine	4.12±0.03	6.48±0.00	5.62±0.99	0.39±0.10	0.49±0.06
Total	124.55±7.60	136.10±5.60	166.88±17.24	181.12±5.63	321.28±18.02

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at p<0.05.

5) 생균수 변화

가) 일반세균수 변화

본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주를 12일 동안 10℃와 20℃에서 저장하면서 3일 마다 측정된 일반세균수의 결과는 Fig. 3-34와 같다. 개발한 울금주 및 시판 전통 탁주에서 갈수록 증가하였으며, 10℃에서 보다 20℃의 경우가 2~2.5배 정도 더 많은 세균수를 나타내었다. 또한 개발 울금주 보다 전통 탁주의 경우가 2~2.5배 더 많이 나타났다. 그리고 전통 탁주는 0일에서 6일까지는 약간 증가하였으나 9일부터 급속도로 증가하였다.

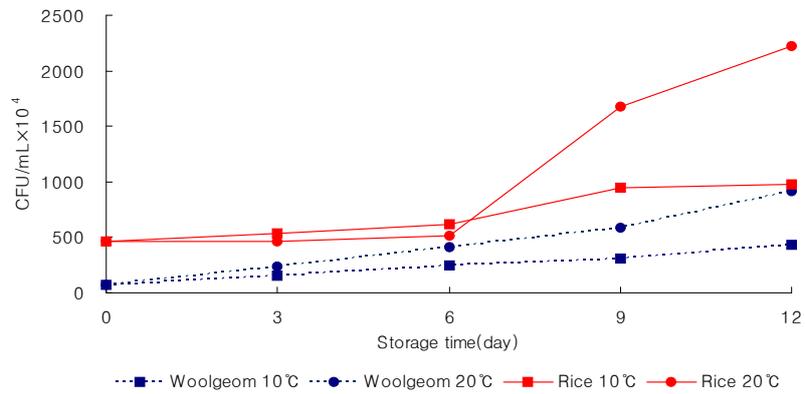


Fig. 3-34. Changes in general bacteria of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10℃ and 20℃.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

나) 초산균수 변화

초산균의 생균수 검색을 위하여 개발 울금주 및 전통 탁주를 각각 10℃와 20℃에서 12일 동안 저장하여 3일마다 초산균수를 측정된 결과는 Fig. 3-35와 같다. 개발 울금주와 전통 탁주는 0일에서는 전통탁주가 2배정도 더 많은 초산균을 나타내었으며, 각 시료에서 6일까지는 약간 증가하였으나 9일에 급속도로 증가하였고 12일에 점차 감소하는 경향을 보였다. 그리고 개발 울금주 보다는 전통 탁주가 3~7배 정도 더 많이 나타났으며 개발 울금주는 10℃와 20℃의 차이가 9일을 제외하고 큰 차이가 없으나 전통 탁주의 경우는 10℃보다 20℃가 2배정도 더 높게 나타났다.

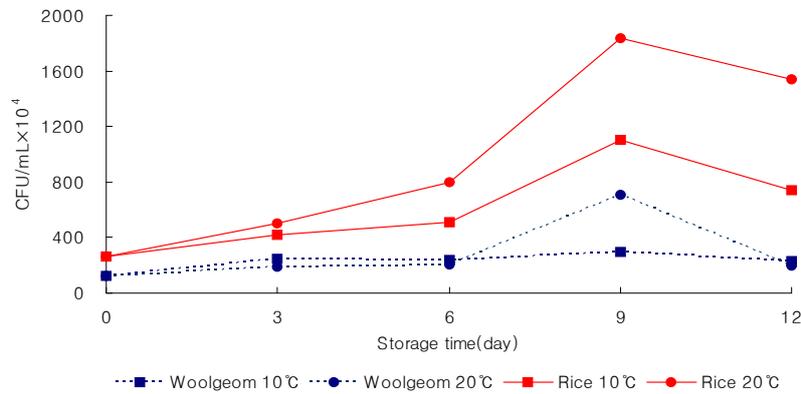


Fig. 3-35. Changes in acetic acid bacteria of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10°C and 20°C.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

다) 유산균수 변화

유산균의 생균수 검색을 위하여 개발 울금주 및 전통 탁주를 각각 10℃와 20℃에서 12일 동안 저장하여 3일마다 유산균을 측정된 결과는 Fig. 3-36와 같다. 전통 탁주가 울금주보다 0일에서 2배 많았으며 전통 탁주의 경우는 6일까지는 완만하게 증가하였으나, 9일부터 급속도로 증가하여 0일보다 4~9배 증가하였다. 개발 울금주의 경우는 9일까지 완만하게 증가하였다가 12일째는 큰 변화를 보이지 않았다.

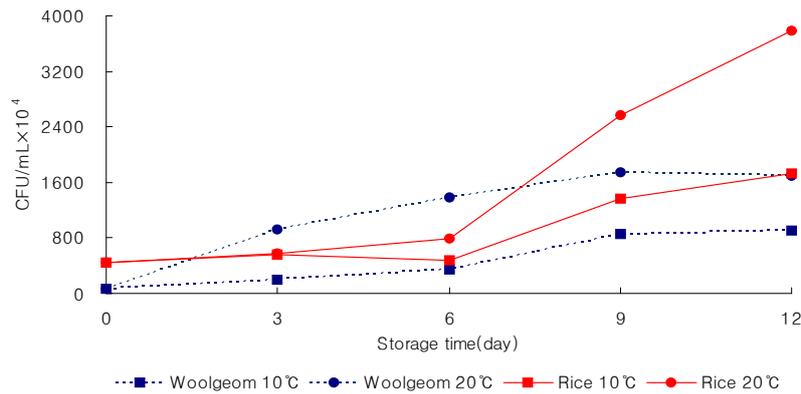


Fig. 3-36. Changes in lactic acid bacteria of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10°C and 20°C.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

라) 효모수 변화

효모수 검색을 위하여 개발 울금주 및 전통 탁주를 각각 10℃와 20℃에서 12일 동안 저장하여 3일마다 효모수를 측정된 결과는 Fig. 3-37과 같다. 전통 탁주가 개발 울금주보다 2배 많았으며, 개발 울금주의 10℃는 12일까지 조금씩 증가하였으나, 20℃에서는 6일까지 약간 증가하였다가 9일에 급속도로 증가하였으며, 그 후 12일에는 급속도로 감소하여 10℃보다 더 작은 효모수를 나타내었다. 전통 탁주의 경우는 6일까지 점차 증가하였다가 9일에 급속도로 증가하였고 12일에 점차 감소하는 경향을 보였다.

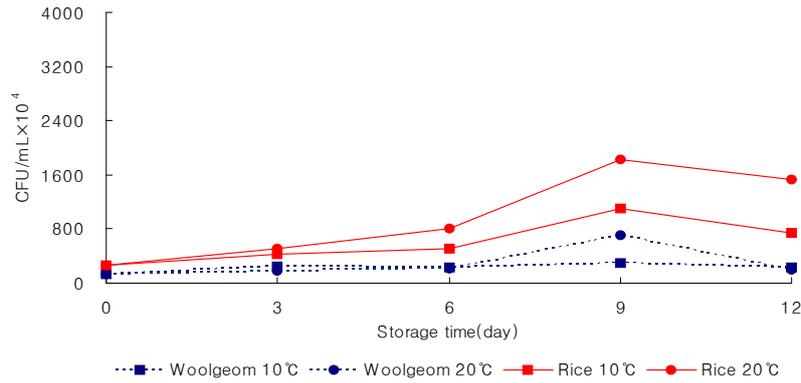


Fig. 3-37. Changes in yeast of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10°C and 20°C.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

6) 개발 울금주 및 전통 탁주의 색도 변화

본 연구에서 개발한 울금주 및 시판 전통탁주의 색도는 12일 동안 10°C와 20°C에서 저장하여 3일 마다 측정하였다. 색차계 색도 중에 명도(L, lightness)의 측정 결과는 Fig. 3-38과 같다. 개발 울금주의 10°C의 경우는 큰 차이를 보이지 않았으나, 20°C의 경우에는 6일까지 34.80에서 31.71로 점차 감소하다가 다시 점차 증가하여 12일에는 0일과 비슷한 34.71을 나타내었다. 그리고 전통 탁주의 경우도 역시 10°C에서는 별 차이가 없었으나, 20°C에서 0일에 39.92에서 9일 33.80으로 점차 감소하였다가 12일에 36.37로 증가하였다. 적색도 a(redness)값의 측정 결과는 Fig. 3-39와 같다. 개발한 울금주와 시판 전통 탁주의 경우는 9일까지 약간 증가하는 경향을 보였으나 12일에 감소하는 경향을 보였다. 특히 개발 울금주 20°C의 경우 0일 -2.50에서 9일 -1.03으로 가장 많이 증가하였다가 12일에 -2.21로 가장 크게 감소하는 경향을 보였다. 황색도 b(yellowness)값의 측정 결과는 Fig. 3-40과 같다. 개발 울금주의 경우는 10°C에서 0일 4.81에서 12일 3.91로 점차 시간이 지날수록 감소하는 경향을 보였으나, 반면, 전통 탁주의 경우는 갈수록 증가하는 경향을 보여 0일에는 3.01이었으나 12일에는 10°C에서 3.85와 20°C에서 4.70을 나타내었다.

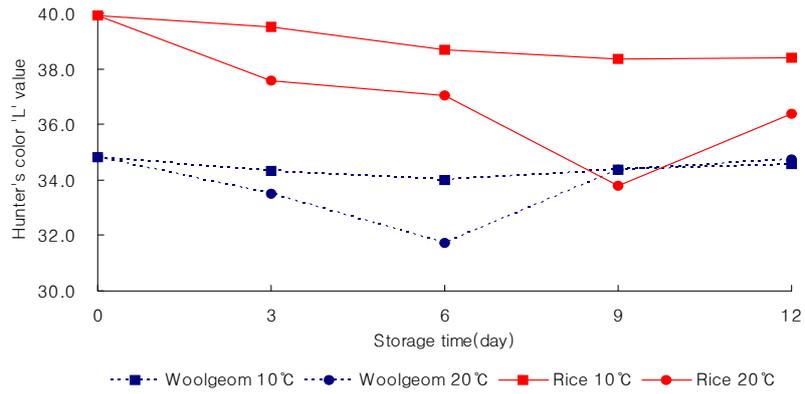


Fig. 3-38. Changes in Hunter's color 'L' value of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10°C and 20°C.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

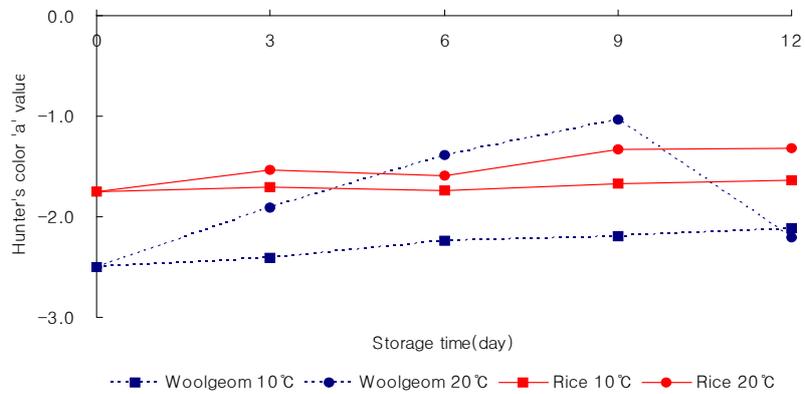


Fig. 3-39. Changes in Hunter's color 'a' value of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10°C and 20°C.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

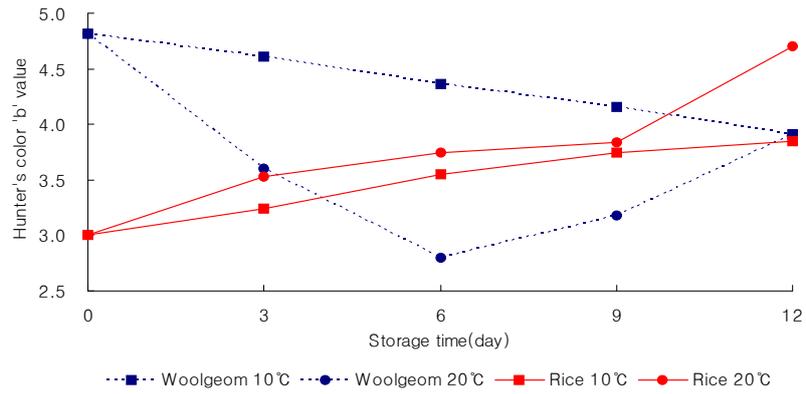


Fig. 3-40. Changes in Hunter's color 'b' value of commercial *Takju* and *Woolgeomju* developed in this study during for 12 days of storage at 10°C and 20°C.

Data values are mean±standard deviation of duplicate determinations.

Mean with different superscripts within same row are significantly different at $p < 0.05$.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 연구개발 착안점 및 달성도

1. 연구계획서의 착안점

구 분	평가의 착안점 및 척도	
	착 안 사 항	척 도 (점수)
1차년도 (2006)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울금의 생리활성 검색 및 기능성 식품소재화 연구 ○ 울금 및 울금소재의 <i>in vitro</i> 기능성 평가 ○ 울금의 이화학적 특성 분석 및 생리활성물질 동정 	40 35 25
2차년도 (2007)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울금을 이용한 기능성 울금 막걸리의 개발 및 품질 특성 분석 ○ 울금 및 울금소재의 <i>in vivo</i> 기능성 평가 ○ 기능성 울금소재별 이화학적 특성 분석 	40 35 25
3차년도 (2008)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 울금막걸리의 생산 및 제조된 기능성 울금막걸리의 상품성 평가 ○ 안정성 평가 및 기능성 유효성분과 구조와의 상관성 규명 ○ 울금 막걸리의 특성 분석 	40 35 25
최종평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울금의 생리활성 검색, 식품소재화, 및 기능성 울금막걸리의 개발 ○ 울금, 울금소재, 울금 막걸리의 <i>in vitro/in vivo</i> 효능 검색 및 안정성 평가 ○ 울금, 울금소재, 울금막걸리의 이화학적 특성 분석 및 생리활성물질의 동정 	40 35 25

2. 연구시행후의 달성도

구 분	평가의 착안점 및 척도	
	착 안 사 항	달성도 (점수)
1차년도 (2006)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울금의 생리활성 검색 및 기능성 식품소재화 연구 ○ 울금 및 울금소재의 <i>in vitro</i> 기능성 평가 ○ 울금의 이화학적 특성 분석 및 생리활성물질 동정 	<p>100</p> <p>100</p> <p>100</p>
2차년도 (2007)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울금을 이용한 기능성 울금 막걸리의 개발 및 품질 특성 분석 ○ 울금 및 울금소재의 <i>in vivo</i> 기능성 평가 ○ 기능성 울금소재별 이화학적 특성 분석 	<p>100</p> <p>100</p> <p>100</p>
3차년도 (2008)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 울금막걸리의 생산 및 제조된 기능성 울금막걸리의 상품성 평가 ○ 안정성 평가 및 기능성 유효성분과 구조와의 상관성 규명 ○ 울금 막걸리의 특성 분석 	<p>100</p> <p>100</p> <p>100</p>
최종평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울금의 생리활성 검색, 식품소재화, 및 기능성 울금막걸리의 개발 ○ 울금, 울금소재, 울금 막걸리의 <i>in vitro/in vivo</i> 효능 검색 및 안정성 평가 ○ 울금, 울금소재, 울금막걸리의 이화학적 특성 분석 및 생리활성물질의 동정 	<p>100</p> <p>100</p> <p>100</p>

제 2 절 관련분야의 기술발전예의 기여도

울금은 카레에 향신료, 단무지의 착색제 및 구전되는 건강식품으로써 이용되어 왔던 작물로 영양학적 우수성을 보유한 것으로 여겨져왔다. 현재에는 울금의 기능적인 측면에서 관심이 증가되고 있다. 예로부터 울금은 간장염, 담석증, 황달, 소화기 및 심혈관계에 대한 작용, 혈중 지질 강하, 항종양, 항균작용 등에 대한 약리효과가 알려져 왔으나 과학적인 연구가 부족하여 보다 향상된 상품화, 부가가치화가 요원한 상태이다.

1. 본 연구를 통해서 개발된 기술을 이용하여 현재 참여기업인 (주) 우리술에서 생산된 울금 막걸리 및 분말, 엑기스가 일본에 수출되어 질 예정이다(독점공급계약서 체결).
2. 울금의 색소성분, 항산화성분, 저장에 따른 품질특성 등의 약리적, 관능적 기능성분들에 의한 막걸리의 기능성 및 저장성 향상에 도움이 됨.
3. 울금의 기능성을 밝히고 논문 및 특허출원하여 우리 농산물의 우수성과 소비진작에 도움을 줬으며 울금의 기능성을 통하여 국민건강에도 많은 공헌을 하였음.
4. 울금막걸리 제조의 재료인 울금을 지역 특산화 함으로써 울금의 가격을 안정시키고 계약 재배에 의한 소비를 안정적으로 확보해 줌으로써 울금재배를 안정화 시켜주는 효과를 갖게 함
5. FTA를 통하여 미국, 유럽, 일본, 중국하고의 교역이 늘어날 것이며 우리 고유의 작물이나 가공성, 기능성을 발굴, 양산화하는데 많은 노력을 기울였으며 체계적인 data base를 작성하는데 도움이 됐음.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1. 연구개발결과

울금의 생리활성을 이용한 기능성 식품소재화 및 기능성 식품의 개발로 인해 참여업체인 (주) 우리술은 기능성을 바탕으로 울금막걸리를 포함한 울금분말, 울금 엑기스 등을 일본에 수출하기로 독점공급계약을 체결하였다. 또한 현재 업체는 철저한 품질관리와 위생관리로 제품 향상에 힘쓸 것이며, 향후 지자체와 공동으로 마케팅이나 심층 제품화 사업에 집중할 것이다.

가. 학술발표

- 1) 박정진, 전우진, 정희중, 황권택, 이정민, 김경미 Effect of *Curcuma longa* L. Extracts in differentiation of 3T3-L1 Cells 2006 Annual Meeting and International Symposium
- 2) 박정진, 전우진, 정희중, 이유현, 조홍연 *In vitro* Hepatoprotective Effects of *Curcuma longa* L. Extracts against Alcohol-Induced Oxidative Stress 2006년도 한국영양학회 추계학술대회
- 3) 이은영, 정희중, 윤혜미, 하나, 이광우 기능성 울금소재의 이화학적 특성 및 생리활성 2007 한국식품과학회 학술대회
- 4) 박정진, 전우진, 정희중, 황권택, 이정민, 김경미 *Curcuma longa* L. reduces the expression of Adipocytokines of 3T3-L1 Cells 2007 Annual Meeting and International Symposium
- 5) 유양희, 전우진, 정희중, 강성구, 김경미, 이정민, 황권택, 박정진 Effect of *Curcuma longa* L. on the Inhibition of Adipogenesis in 3T3-L1 Cells 2007년도 한국영양학회 추계학술대회
- 6) 유양희, 전우진, 정희중, 강성구, 김경미, 이정민, 황권택, 이미소, 박정진 Comparison of Subchronic Toxicities of *Curcuma longa* L. and Fermented *Curcuma longa* L. *in vivo* 2007년도 한국영양학회 추계학술대회
- 7) 박정진, 전우진, 정희중, 이유현, 이정민, 황권택 Effect of *Curcuma longa* L. on alcoholic liver damage *in vitro* IFT Annual Meeting
- 8) 박정진, 전우진, 정희중, 강성구, 이유현, 유양희 Protective effect of *Curcuma longa* ethanol extract on Alcohol-induced CYP2E1 liver damage Bioscience, Biotechnology, Biochemistry
- 9) 하나, 정희중, 이은영 울금 첨가가 막걸리의 발효 및 품질에 미치는 영향 2008 한국식품과학회 학술대회
- 10) 박정진, 전우진, 정희중, 강성구, 이정민, 황권택, 김경미, 유양희, 이규옥 *In vivo* effects of extract from *Curcuma longa* L. in relation to reduced body weight and improved serum lipid profile 2008 한국식품과학회 학술대회
- 11) 박정진, 전우진, 정희중, 강성구, 이정민, 황권택, 김경미, 유양희, 김진영 *Curcuma longa* L. reduces oxidative stress induced by alcohol *in vitro* 2008 한국식품과학회 학술대회
- 12) 박정진, 전우진, 정희중, 강성구, 이정민, 황권택, 김경미, 유양희, 이미소 Effect of

Curcuma longa L. extracts on exercise endurance capacity in mice 2008 한국식품과학회 학술대회

- 13) 박정진, 전우진, 정희중, 강성구, 이정민, 황권택, 김경미, 유양희, 김진영
Hepatoprotective potentials of *Curcuma longa* L. against alcohol-induced oxidative stress *in vitro* 2008 한국식품영양과학회 학술대회
- 14) 박정진, 전우진, 정희중, 강성구, 이정민, 황권택, 김경미, 유양희, 이미소
Exercise-enhancing effect of *Curcuma longa* L. extracts in relation to antioxidant capacity 2008 한국식품저장유통학회 학술대회

나. 논문게제 및 투고

- 1) 강성구 Changes in organic acid, mineral, color, curcumin and bitter substance of *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib according to picking time. Korean J Food Preserv. 14(6): 633-638(2007)
- 2) 강성구 Changes in proximate composition, free amino acid, free sugar and vitamin of *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib according to picking time. Korean J Food Preserv. 14(6): 624-632(2007)
- 3) 강성구, 현규환 Optimization of curcumin extraction and removal of bitter substance from *Curcuma longa* L. Korean J Food Preserv 14(6): 722-726(2007)

다. 특허출원

- 특허출원번호 10-2009-0032713 전우진, 정희중, 박정진, 유양희 체중증가의 방지 및 혈중 중성지방의 감소를 위한 울금 메탄올 추출물을 함유하는 식이조성물 2009.04.15

2. 활용계획

- 울금막걸리의 저장에 따른 품질 특성을 활용하여 쌀막걸리의 유통기간연장 등 저장성 향상에 활용코자 함.
- 알콜산화억제, 비만억제 등의 생리활성이 우수한 울금을 이용함으로써 향후 많은 이용성을 높일 수 있을 것이며 업체에 적합한 새로운 제형의 개발에 활용코자 함.
- 본 연구에서 수행되는 식품소재 및 가공식품의 개발 이외에도 성인병 환자용 등 다양한 형태의 식품 및 기능성 제재의 개발 및 적용에 활용코자 함.
- 울금막걸리 제조의 재료인 울금을 지역 특산화 함으로써 울금의 가격을 안정시키고 계약재배에 의한 소비를 안정적으로 확보해 줌으로써 울금재배를 안정화 시키주는 효과를 갖게 함.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 해외의 경우 쌀을 주정생산을 위한 원료로 사용하는 경우는 있으나 소위 쌀을 주원료로 한 약주, 즉 rice wine 등은 아직 상품화된 바 없다.
2. 전통민속주에 대한 외국의 연구사례는 아직 보고된 바 없으나 우리와 비슷한 곡주 술문화권인 일본 청주의 양조기술 연구사례는 Biotechnology의 최신 기법을 이용하여 균주를 각 주류별로 용도에 맞게 개량하고 대량 보급 체계를 확립하여 각 주류업체에서 요구하는 미생물을 정부지원협회에서 대량 보급하고 있으며 특히 알콜발효 효모에 대하여 수율을 높이기 위하여 내알콜성 및 유용물질 생산 균주를 개발실용화 하였으며, 이들 균주를 이용한 고농도도 담금법의 실용화로 경제적인 생산체계를 산업화 기술로 개발하고 유통성 연장과 풍미의 하락방지를 위하여 U.F공법을 이용한 생주를 생산하여 일본 청주의 국제화를 위하여 제품에 기능성을 부여하여 세계인의 기호 패턴에 맞는 생산 기술 개발 연구가 활성화 되어 진행 중이다.
3. 중국에서는 죽순을 침출시켜 제조한 ‘죽엽청주’등 고품질의 침출주가 제조되어 세계적인 명주로 평가되고 있으나 이들의 조성 및 제법 등은 잘 알려져 있지 않았다.
4. 구미제국에서는 커피, 카카오, 페퍼민트 등 향이나 맛이 독특한 소재를 고농도의 알코올에 추출시킨 리큐르제품이 제조되어 칵테일 및 여성용 알콜음료로 폭넓게 소비되고 있는 바 이들의 제조에는 향과 맛이 안정화에 대한 기술이 노하우로 알려져 있다.
5. 과학적으로 성인병의 예방, 치료 등에 생리적 효과가 입증된 소재를 함유한 식품 즉 기능성 식품(functional food) 또는 Medical food등을 개발하기 위한 연구가 일본, 독일, 미국 등지에서 매우 활발하게 이루어져 있는데 특히 유효성분의 효능입증, 대사경로, 안정성 확인 등에 많은 노력이 행해지고 있다.
6. 천연물의 항산화기능과 알콜산화, 비만억제 등과는 밀접한 관계를 가지고 있으며 많은 실험들이 이와 같은 맥락에서 연구를 수행하였다. 외국에서 많이 연구되었지만 우리주위에서도 쉽게 찾아볼수 있는 물질들로써 대나무추출물, 민들레추출물, 녹차추출물 등에서도 강력한 항산화 기능과 함께 알콜산화, 비만억제 활성화에 대한 연구 보고들이 속속 올라왔다.

제 7 장 참고문헌

1. Cho, S.S., Song, H.S. and Kim, B.H. (1997) Transactions: the dyeability properties of some yellow natural dyes. (Part 2) extracted from turmeric. J. Korean Soc. Clothing Textiles, 21, 1051-1059.
2. Purseglove, J.W., Brown, E.G., Green, C.L. and Robbins, S.R.J. (1981) Spices. Longman Inc., New York, NY, USA. p. 100-286.
3. Jeong, S.H., Chang, K.S. and Kim, Y.J. (2004) Optimization of curcumin extraction from turmeric (*Curcuma longa* L.) using supercritical fluid CO₂. Food Eng. Prog., 8, 47-52.
4. Paolo, S. and Ester, S. (2000) Review on some of indian traditional medicine with antioxidant activity. J. Ethnopharmacol., 71, 23-43.
5. Chatterjee, S., Padwal Desai, S.R. and Thomas, P. (1999) Effect of γ -irradiation on the antioxidant activity of turmeric(*Curcuma longa* L.) extracts. Food Res. Int., 32, 487-490.
6. Prriyadarsini, K.I. (1997) Free radical reactions of curcumin in membrane models. Free Radical Biol. Med., 23, 838-843.
7. Govindarajan, V.S. (1980) Tumeric-chemistry, technology, and quality. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 12, 199-201.
8. Osman, A. and Musa, S. (2002) Effects of turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. J. Microbiol. Biotechnol., 19, 473-480.
9. Jayaprakasha, G.K., Jagan, M., Rao, L. and Sakariah, K.K. (2005) Chemistry and biological activities of *C. longa*. Trends in Food Sci. Technol., 16, 533-548.
10. Ryu, G.Y., No, K.H., Ryu, S.R and Yang, H.S. (2005) Study of separation and analysis method an effective component form UIGeum(*Curcuma longa*) and a contained curcumin as product of national and partially region cultures. Appl. Chem., 9, 57-60.
11. Kang, S.W., Kim, J.H., Park, E.J. and Yoon, K.R. (1998) Antioxidative property of turmeric(*Curcuma longa*) ethanol extract. Korea J. Food Sci. Technol., 30, 266-271.
12. Ryu, S.R., Han, K.J. and Jang, H.D. (2005) Separation and purification of effectiveness components from UIGeum(*Curcuma longa*) and the test study of anticancer effects that use its. Appl. Chem.. 9, 69-72.
13. Ammon, H.P.T. and Wahl, M.A. (1991) Pharmacology of *Curcumin longa*. Planta Medica., 57, 1-7.
14. Marklund, S. and Marklund, G. (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem., 47, 469-474.
15. Kim, S.R., Ha, T.Y., Song, H.N., Kim, Y.S. and Park, Y.K. (2005) Comparison of nutritional composition and antioxidative activity for Kabocha squash and pumpkin. Korea J. Food Sci. Technol., 37, 171-177.
16. Sung, H.K., Cho, S.H. and Ahn, K.S. (1999) Study on the effects of curcumin on angiogenic inhibition mechanism. Korean J. Oriental Med.Pathol., 13, 66-78.

17. Choi, S.W., Yang, J.S., Lee, H.S., Kim, D.S., Bai, D.H. and Yu, J.H. (2003) Characterization of squalene synthase inhibitor isolated from *Curcuma longa*. Korea J. Food Sci. Technol., 35, 297-301.
18. Lee, S.G., Cho, K.H., Lee, W.C., Kim, Y.S., Bai, H.S., Lee, K.S. and Koo, B.H. (1990) Effects of cefotaxime on the hepatic and renal function of *Curcuma rhizoma* in rabbits. Kyung Hee Univ. Med. Cont., 6, 188-201.
19. Taka, H. (1988) The characterization and application of *Curcuma longa* L. extracts. New Food Ind., 40, 7-15.
20. Palmer, J. and List, D.M. (1973) Determination of organic acids in foods by liquid chromatography. J. Agric. Chem., 21, 903-906.
21. Woo, S.J., Ryoo, S.S. (1983) Preparation methods for atomic absorption and spectrophotometry of food samples. Korea J. Food Sci. Technol., 15, 225-231.
22. Park, K.N., Park, L.Y., Kim, D.G., Park, G.S. and Lee, S.H. (2007) Effect of turmeric(*Curcuma aromatica* Salab.) on shelf life of tofu. Korean J. Food Preserv., 14, 136-141.
23. Chi, H.J. and Kim, H.S. (1983) Curcumin content of cultivated tumeric in Korea. Kor. J. Pharmacog., 14, 67-69.
24. Jeong, S.H., Chang, K.S., and Kim, Y.J. (2004) Optimization of curcumin extraction from turmeric (*Curcuma longa* L.) using supercritical fluid CO₂. Food Eng. Prog., 8, 47-52.
25. AOAC (1990) Official methods analysis 13th ed. Association of official analytical chemists Washington D.C. USA. p 125-132.
26. Ohara, I. and Ariyoshi, S. (1979) Comparison of protein precipitants for the determination of free amino acid in plasma. Agric. Biol. Chem., 43, 1473-1476.
27. Wilson, A.M., Work, T.M., Bushway, A.A. and Bushway R.J. (1981) HPLC determination of fructose, glucose and sucrose in potatoes. J. Food Sci., 46, 300-306.
28. Korea Food and Drug Administration. (2003) *Test Method in General 1*. Food Code (separate volume)
29. Govindarajan, V.S. (1980) Tumeric-chemistry, technology, and quality, CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 12, 199-201.
30. Kim, Y.D. and Kim, K.J. (2004) Physicochemical and sensory properties of yuzu(*Citrus junos*) treated with enzyme complex for removing bitter substance. Korea J. Food Preser., 11, 38-41.
31. Kim, Y.D. and Kim, K.J. (2004) Optimmm condition for emoving bitter substance of yuzu(*Citrus junos*) by enzyme treatment. Korea J. Food Preservation, 11, 53-56.
32. Rhyu, M.R., Kim, E.Y., Bae, I.Y. and Park, Y.K. (2002) Contents of naringin, hesperidin and neohesperidin in premature Korean citrus fruits. Korean J. Food Sci. Technol., 34, 132-135.
33. Kwon, D.J. and Choi, S.Y. (2007) The Effect of Deodeok Contents on the Quality of Deodeok Wine. Korean J. Food Preserv., 14, 414-418
34. Song, H.I. and Shin, J.H. (1998) Fermentation Engineering. Jigu Publishing Co., Seoul, Korea,

35. A.O.A.C. (1984) Official Method of Analysis. 15th ed., Association of official Analytical Chemists, Arlington, VA p.152-162
36. Somogyi, M. (1972) Notes on sugar determination. J. Biol. Chem., 195, 19-23
37. Chai, S.K., Kang, K.S., Ma, S.J., Bang, K.W. and Oh, M.H. (2000) Food Analysis. Gigu Publishing Co., Seoul, Korea, p567-568
38. Lee, M.K., Lee, S.W. and Yoon, T.H. (1994) Quality Assessment of Yakju Brewed with Conventional Nuruk. Korean J. Food Nutr, 23, 78-89
39. Yoo, J.H., Cha, J.Y., Jeong, Y.K., Chung, K.T. and Cho, Y.S. (2004) Antioxidative effects of pine (*Pine densiflora*) needle extracts. J. Life Sci., 14, 863-867
40. Lee, Y.S., Joo, E.Y. and N.W. (2005) Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. Korean J. Food Preserv., 12, 750-79
41. Barene, A.L. (1975) Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J. Am. Oil. Chem. Soc., 52, 59-63
42. Ito, N., Fukushima, S. and Kasebawa, A. (1983) Carcinogenicity of BHA in F344 rats. J. Natl. Cancer Inst., 70, 343-352
43. Chan, K.M., Decker, E.A. and Means, W.J. (1993) Extraction and activity of camosine a naturally occurring antioxidant in beef muscle. J. Food Sci., 58, 1-4
44. Rhee, K.S., Ziprin, Y.A. and Rhee, K.C. (1981) Antioxidant activity of methanolic extracts of various oilseed protein ingredients. J. Food Sci., 46, 75-77
45. Nakatani, N. and Inatani, R. (1984) Two antioxidative diterpenes from rosemary and a revised structure for rosmanol. Agric. Biol. Chem., 48, 2081-2083
46. Su, J.D., Osawa, T. and Namiki, M. (1987) Antioxidative flavonoids isolated from *Osbeskia chinensis* L. Agric. Biol. Chem., 51, 2801-2085
47. Pratt, D.E. and Birac, P.M. (1979) Source of antioxidant activity of Soybeans and soy products. J. Food Sci., 44, 1720-1722
48. Hayes, R.E., Book Walter, G.N. and Bagley, E.B. (1977) Antioxidant activity of soybean flour and derivatives—a review. J. Food. Sci., 42, 1527-1532
49. Hammerschmidt, P.A. and Pratt, D.E. (1978) Phenolic antioxidants of dried soybeans. J. Food Sci, 43, 556-559
50. Thosiya M, Junko I, Akiko J and Nobuji N. (1992) Antioxidative curcuminoids from Rhizomes of *Curcuma Xanthorrhiza*, Phytochemistry, 31, 3645-3647
51. Geoffrey N.R., (1998) Amitabh Chandra and Muraleedharan, Novel Bioactivities of *Curcuma longa* Constituents, J. Natural Products, 61, 542-545
52. Negi, P. S., Jayaprakasha, G.K., Jagan Mohan Rao, L. and Sakariah, K. K., Antibacterial Activity of Turmeric Oil : A Byproduct from Curcumin, J. Agric. Food Chem. 47, 4297-4300
53. Andrew, M.A., Matthew, S.M. and Ram, S.M., (2000) Isolation of Curcumin from Turmeric, J. Chem. Ed., 77, 359-360
54. Russell, L.R., (1988) High Performance Liquid Chromatographic Separation and Spectral Characterization of the Pigments in Turmeric and Annatto, J. Food Sci., 53, 1823-1826

55. Shin, S.Y., Suh, S.H., Cho, W.D., Lee, H.K. and Hwang, H.J., (2003) Analysis of Volatile Components in Korean Rice Wine by the Addition of Yulmoo. *J. Korean Soc Food Sci. Nurt.*, 32, 1206-1213
56. Ju, J.C., Shin, J.H., Lee, S.J., Cho, H.S. and Sung, N.J., (2006) Antioxidative Activity of Hot Water Extracts from Medicinal Plants. *J. Korean Soc Food Sci. Nurt.*, 35, 7-14

부 록

1. 발표논문

울금 품종과 채취시기별 유기산, 무기질, 색도, Curcumin 및 쓴맛의 변화

강성구[†]
순천대학교 식품공학과

Changes in Organic acid, Mineral, Color, Curcumin and Bitter Substance of *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib According to Picking Time

Seong-Koo Kang[†]

Department of Food Science and Technology, Sunchon National University, Suncheon 540-742, Korea

Abstract

Changes in organic acid, mineral, color, curcumin and bitter taste of *Curcuma longa* L. (autumn woolgeom in Korean) and *Curcuma atomatica* Salib (spring woolgeom) were investigated according to picking time. Oxalic and lactic acid were gradually increased, and then malic acid and malonic acid were decreased by extending the picking time. Total organic acid was increased by extending the picking time and then decreased after January of the coming year. Minerals were increased by extending the picking time and decreased slightly after the coming year. Hunter color index, L, a and b, was increased by extending the picking time. Contents of curcumin in spring woolgeom was slowly increased by extending the picking time and autumn woolgeom was 1.8~2.5 times higher than spring woolgeom. Intensity of bitter taste in two woolgeoms were not different by picking time and extracting solvents. Bitterness of spring woolgeom was strong as compared to autumn woolgeom.

Key words : *Curcuma longa* L., *Curcuma atomatica* Salib, woolgeom, organic acid, mineral, color, curcumin

서 론

울금(*Curcuma longa* L.)은 생강과(*Zingiberaceae*)의 울금속(*Curcuma*)에 속하는 다년생 식물로서 인도를 중심으로 한 열대, 아열대지역의 고온 다습한 곳에 주로 분포하고 우리나라에서도 일부 재배하고 있으며, 뿌리를 주로 식용, 약용, 천연 염료로 사용하고 있다(1). 울금의 종류로는 크게 30~70 여종이 알려지고 있으며, 대부분 외관상 형태는 비슷하나 재배되는 지역적 기후와 토질에 따라 울금의 향과 성분이 다소 차이가 있는 것으로 알려져 있다(2,3). 울금은 일차적인 뿌리줄기로 구성되어 있는데 이들 모양은 달걀모양, 타원형, 서양배 모양이라 구근 혹은 둥근 tumeric이라고 명명된다(4). 울금은 구근 모양새와 향과 성분에서 뚜렷하게 차이를 보이는데, 식용으로 가능한 울금은 가을울금

(*Curcuma longa* L.)과 봄울금(*Curcuma atomatica* Salib) 등이 알려져 있으나 이들의 식품학적 성분이 비교된 연구는 찾아보기 어렵다. 울금의 뿌리, 줄기의 성분은 항산화와 세포보호 역할을 수행하는데 주성분은 curcumin과 그것의 유사물로서 알려져 있다(5). 또한 울금은 식품계에서 뿐만 아니라 생체계에서도 강한 항산화활성을 가지며, 최근에는 생체계에서의 항산화활성은 몇몇 괴산화 관련 질환을 방어하는 것으로 주목을 받아왔다(6).

울금에 관한 연구로는 울금의 활성성분인 curcumin은 콜레스테롤 수치를 감소시키며 발암 물질을 억제시키는 항암성, 항돌연변이성, 항종양성 등의 약학적으로 유용한 성분을 가지고 있고 간을 보호하는 기능을 가지며, 담즙분비를 촉진시키고 *in vivo*에서 뿐만 아니라 *in vitro*에서도 혈소판응집을 저지하는 것이 보고되어 있고(7-10), 그 외 항산화(11), 항암(12), 항염증(13), 항바이러스(14), 혈중지질강화 작용과 소염 작용(15), 암세포 증식과 관련한 혈관신생 억제 작용(16), 콜레스테롤의 생합성에 관여하는

[†]Corresponding author. E-mail : ksk@sunchon.ac.kr,
Phone : 82-61-750-5413, Fax : 82-61-750-5418

연구노트

울금의 가공적성 증진을 위한 Curcumin 추출 최적화 및 쓴맛 성분 완화

강성구·현규환^{1*}

순천대학교 식품공학과, ¹순천대학교 자원식물개발학과

Optimization of Curcumin Extraction and Removal of Bitter Substance from *Curcuma longa* L.

Seong-Koo Kang and Kyu-Hwan Hyun^{1*}

Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

¹Department of Resource Plant, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

Abstract

Extracting and analytical conditions of curcumin, and removal of bitterness substance from *Curcuma longa* L. were investigated. Absorption maxima was shown to be 424 nm at methanol solvent. Optimal conditions for analysis of curcumin was Zorbax eclipse C₁₈ column ; mobile phase, 75% MeOH ; flow rate, 0.8 mL/min ; wave length, UV 424 nm. Curcumin component was analyzed to be the highest content in methanol extract. In all samples, extraction yield by heating was shown to be effective as compared to room temperature. Curcumin contents of methanol and ethanol extracts in extraction of room temperature were 14.4 and 14.2 times higher than that of water extract, respectively. Two hot solvent extracts has a high curcumin content being 150 mg% as compared to room temperature. Extracting time was an effective condition when it was extracted for 60 minutes for elevating the curcumin content of water and methanol extracts. Bitter substance (BS) was markedly decreased in water extract by heat treatment of above 80°C. BS was weak in 121°C treatment than in room temperature and it was however strong in 100°C treatment. RF and 70°C heat treatment were not different in BS intensity.

Key words : *Curcuma longa* L., curcumin extraction, removal of bitter substance

서 론

울금(*Curcuma longa* L.)은 생강과(*Zingiberaceae*)의 울금속(*Curcuma*)에 속하는 다년생 식물로서 한약재, 향신료 및 식용으로 이용되고 있다(1). 최근 울금의 뿌리, 줄기의 성분은 항산화와 세포보호 역할을 수행하는데 주 성분은 curcumin과 그것의 유사물로서 알려져 있다(2). 또한 울금은 식품계에서 뿐만 아니라 생체계에서도 강한 항산화활성을 가지며, 최근에는 생체계에서의 항산화활성은 몇몇 과산화 관련 질환을 방어하는 것으로 주목을 받아왔다(3). 또한 최근 들어 울금이 각광 받는 이유는 약용, 식용, 천연염료, 농민의 쌀 대체 작목으로, 각 종 건강기능식품의 원료로

사용되고 있고, 한약재 자원의 부가가치가 높은 신약개발이나 식품산업에 매우 중요한 자원이 되고 있어 고부가가치 소득창출이 기대된다. 따라서 국내 자생 울금에 대해서 식품학적인 면에서 체계적인 연구의 필요성이 요구되고 있다.

한편, 울금에 관한 연구로는 울금의 활성성분인 curcumin은 콜레스테롤 수치를 감소시키며 발암 물질을 억제시키는 항암성, 항돌연변이성, 항종양성 등의 약학적으로 유용한 성분을 가지고 있고 간을 보호하는 기능을 가지며, 담즙분비를 촉진시키고 *in vivo*에서 뿐만아니라 *in vitro*에서도 혈소판응집을 저지하는 것이 보고되어 있고(4-7), 그 외 항산화(8), 항암(9), 항염증(10), 항바이러스(11), 혈중지질강화작용과 소염 작용(12), 암세포 증식과 관련한 혈관신생 억제작용(13), 콜레스테롤의 생합성에 관여하는 squalene synthase억제 작용(14) 및 간에 축적된 cholesterol 수치를

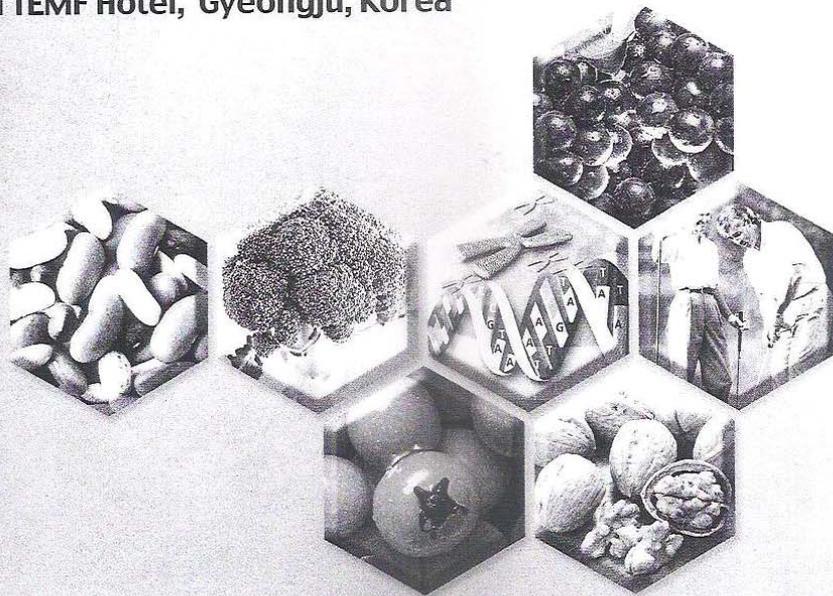
*Corresponding author. E-mail : juyajuya@sunchon.ac.kr,
Phone : 82-61-750-3285, Fax : 82-61-750-3208

2006 International Symposium and Annual Meeting of
the Korean Society of Food Science and Nutrition

Nutraceuticals and Functional Food for Healthy Aging

October 18 ~ 20, 2006

Gyeongju TEMF Hotel, Gyeongju, Korea



Sponsored by

Korea Research Foundation
The Korean Federation of Science and Technology Societies
California Walnut Commission
American Soybean Association-International Marketing/Korea
Korea Nokjup Association
Newtree Industry Co., Ltd.
CJ Corp.
Nongshim Co., Ltd.
WiniaMando Co., Ltd.
Changnyeong-gun
RIS of Changnyeong Onion & Soy Products Industry

Hosted by

KFN The Korean Society of Food Science and Nutrition
KDA Korea Food & Drug Administration

National University, ²Department of Food & Nutrition, Nambu University, ³Department of Biofood Technology, Korea Bio Polytechnic, ⁴Department of Food and Biotechnology, Korea University, ⁵Department of Food and Nutrition, Chonnam National University

The hepatoprotectant from black rice was isolated by the sequential procedures with acidified methanolic extraction and HPLC. The isolated compound from black rice was identified as cyanidin 3-glucoside (C3G). Cell viability in the presence of acidified methanolic extract or C3G was determined. Up to the concentration of 100 µg/mL, crude and purified anthocyanins exhibited no cytotoxic effect compared to the control. At the high concentration (200 µg/mL) of acidified methanolic extract from black rice, the cell viability was approximately 94%. On the other hand, a relatively high increase in cell cytotoxicity was observed in C3G (81% in cell viability). The hepatoprotective effects of C3G were investigated in HepG2 cells. Under an increase in the production of reactive oxygen species (ROS) by gramoxone, cell viability was drastically decreased by 42%. However, in the presence of C3G, no hepatocytic damage by oxidative stress was observed in HepG2 cells. The C3G was determined to manifest a stronger scavenging effect (91%) on superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) than did any of the natural and synthetic antioxidants, indicating C3G as an effective $O_2^{\cdot-}$ scavenger. Results suggest that C3G from black rice possesses hepatoprotective effects in vitro, which may be, at least in part, due to scavenging $O_2^{\cdot-}$.

P10-211

Effect of *Curcuma longa* L. extracts in differentiation of 3T3-L1 cells

Jeongjin Park^{1*}, Kwontack Hwang², Jeongmin Lee², Kyungmi Kim³, Heejong Chung⁴ and Woojin Jun¹. ¹Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, ²Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, ³Dept. of Biofood Technology, Ganggyeong Biopolytechnic College, ⁴Dept. of Food Science and Technology, Chonnam National University

Obesity is a condition in which adipocytes accumulate a large amount of fat and become enlarged. It is a major risk factor for the development of many pathological conditions including hypertension, coronary heart disease, and type 2 diabetes. Therefore, many studies are focusing on the development of anti-obesitic agents. In our study, obesity-suppressing effect of *Curcuma longa* L. was investigated using 3T3-L1 adipocytes culture. *Curcuma longa* L. was extracted using cold water, hot water, methanol, and 80% ethanol. Extracts of methanol and ethanol showed the significant α -amylase inhibitory effects. Each extract was conducted to determine the cytotoxicity in 3T3-L1. The non-toxic concentration of each extract was chosen for the subsequent experiments. Cells were fixed and stained with Oil Red-O to assess lipid accumulation. After 10 days differ-

entiation, *Curcuma longa* L. extract showed the inhibition on lipid accumulation in 3T3-L1 cells under Oil Red-O staining. These results suggest that extracts of *Curcuma longa* L. may have an inhibitory role on the early stage of 3T3-L1 cell differentiation and may be useful source as a natural anti-obesity agent.

P10-212

Stimulatory Effects of Ferulic Acid from *Pseudosasa Japonica* Leaves in Exercise Performance

Yanghee You^{1*}, Kwontack Hwang², Jeongmin Lee², Kyungmi Kim³, and Woojin Jun¹.

¹Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, ²Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, ³Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College

The present study is aimed to investigate the effects of ferulic acid derived from *Pseudosasa Japonica* leaves in endurance exercise capacity (EEC). Our previous data showed that the ethylacetate subfraction of *Pseudosasa Japonica* leaves possessed high phenolic levels and potent antioxidant activities. Therefore, further purification was carried out and the active compound was identified as ferulic acid. The ferulic acid possessed antioxidant activities such as DPPH radical scavenging activity ($IC_{50} = 8.8 \mu\text{g/mL}$). To determine the safety ranges of ferulic acid for the *in vivo* test, several dosages of ferulic acid (50, 100, 250, 500 and 1000 mg/kg/day) were administered for one month. The sub-chronic toxicity was observed in the mice administered 500 and 1000 mg/kg/day of ferulic acid. For the investigation of the effects of EEC, 25, 50, 100 mg/kg/day of ferulic acid were orally administered and the total swimming time until exhaustion was measured. Longer swimming time was exhibited in the mice administered 25 and 50 mg/kg/day than the control group of mice. A significant anti-fatigue effect was also found in ferulic acid administered group in 2-day consecutive exhaustion exercise. These results suggest that ferulic acid derived from *Pseudosasa Japonica* leaves possessed the stimulatory effects of EEC and anti-fatigue.

P10-213

동백잎과 차잎 추출물에 있어서의 항산화활성 및 암세포독성도 비교

이숙영^{1*}, 이현화², 권수정¹, 주홍일³, 나주련⁴, 김성준⁵, 박 열⁶. ¹조선대 단백질소재연구소, ²조선대 생물학과, ³조선대 화학공학과, ⁴경희대 한방기공학과, ⁵조선대 생명공학과, ⁶조선대 친환경농수산연구소

동백나무(*Camellia japonica* L.)는 전남지역이 전국 분포면적의 약 70% 이상을 차지하는 특산식물로서, 자원으로서 높은 가치가 있음에도 불구하고 유용하게 개발되지 못한 측면이 있다. 현재까지 동백속 식물에 대한 연구는 purine base인 caffeine, theobromine, theophylline 등의 약효성분과 saponin glycoside, flavonoid, tannin 등에 대해 주로 행해져왔지만, 생



2006년도 한국영양학회 추계학술대회 및 정기총회

“한국인의 비만 실태와 관리 대책”

<http://www.kns.or.kr>

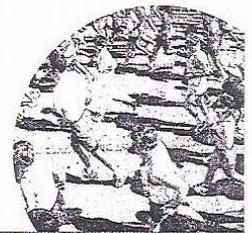
◎ 일자 : 2006년 10월 27일(금)

◎ 장소 : 한국과학기술회관 대강당

주 최 사단법인 한국영양학회

후 원 한국과학기술단체총연합회

협 찬 한국냉장주식회사
한국암웨이주식회사



THE KOREAN NUTRITION SOCIETY

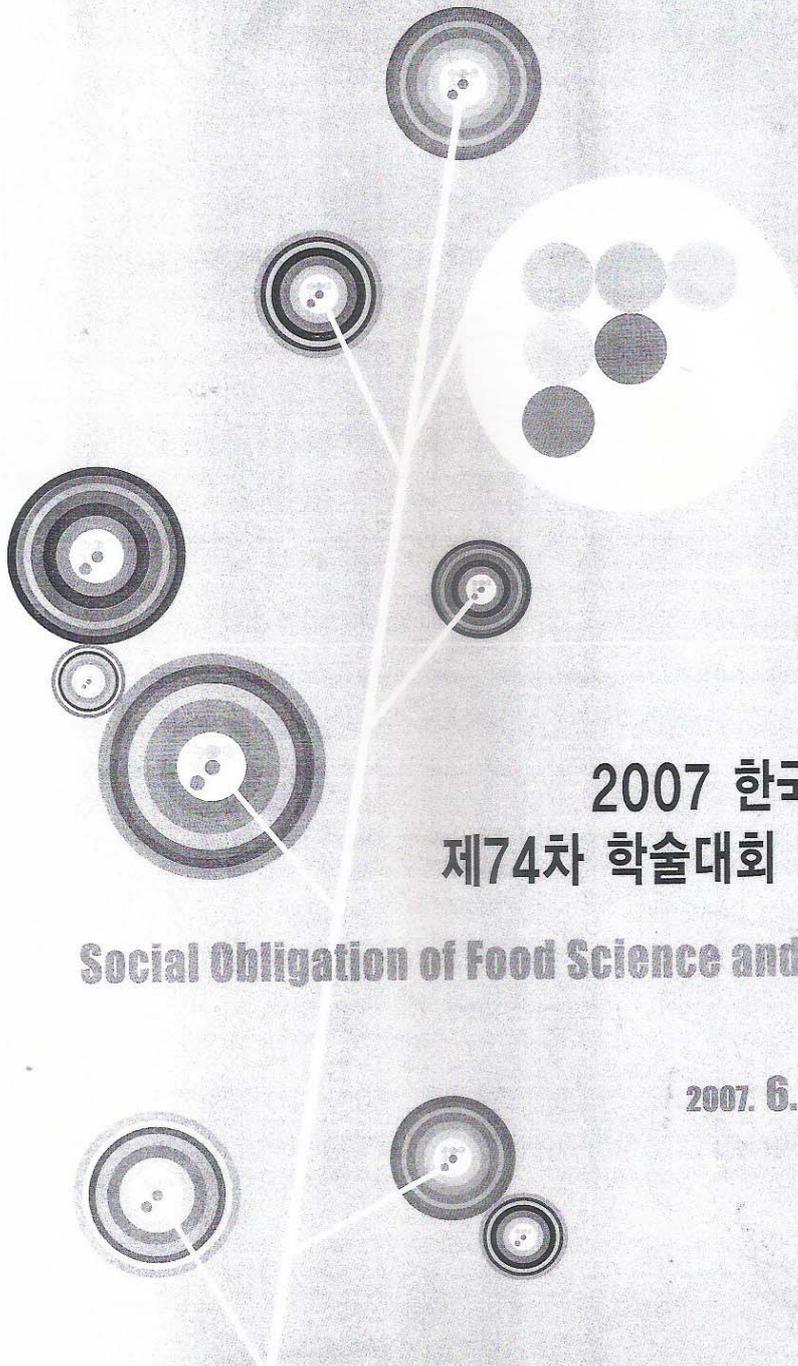
[P3-23]

***In vitro* Hepatoprotective Effects of *Curcuma longa* L. Extracts against Alcohol-Induced Oxidative Stress**

Yoo-Hyun Lee¹, Jeongjin Park², Heejong Chung³, Honyon Cho⁴, Woojin Jun². ¹The Institute of Natural Science, Korea University, ²Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, ³Dept. of Food Science and Technology, Chonnam National University, ⁴Dept. of Food and Biotechnology, Korea University.

Oxidative stress has been implicated in the pathogenesis of alcoholic liver injury and the induction of cytochrome P4502E1 (CYP2E1) by ethanol appears to be one of the main mechanisms through which ethanol generates such oxidative stress. We assessed the effects of *Curcuma longa* L., an important tropical spice primarily valued for the antioxidant property, on alcohol-induced toxicity mediated CYP2E1 using CYP2E1 transfected HepG2 cells. Cells were exposed for five days to 200 mM ethanol and various *Curcuma longa* L. extracts; hot water-, cold water-, ethanol-, and methanol-extracts. The cytotoxicities of *Curcuma longa* L. extracts were tested using MTT and LDH tests. Hot water extract (25 ug/mL) significantly attenuated cell death induced by CYP2E1 up to 50%. The hot water extract of *Curcuma longa* L. exerted a hepatoprotective effects on ethanol-induced oxidative stress by maintenance of the GSH content and a decreased generation of reactive oxygen species. The antioxidant capacities were measured by the activities of superoxide dismutase, catalase and glutathione-S-transferase. Based upon these results, the hot water extract from *Curcuma longa* L. is confirmed to possess the hepatoprotective capability against the alcohol-induced oxidative stress in HepG2 cells expressing CYP2E1.

... 139]



2007 한국식품과학회
제74차 학술대회 및 정기총회

Social Obligation of Food Science and Technology

2007. 6. 20 수 - 22 금
부산 BEXCO



2007 Gold Sponsor

주최  한국식품과학회

후원  식품의약품안전청

 한국과학기술단체 총연합회

 한국식품진흥재단

 한국식품공업협회

 농심

기능성 올금추출액의 이화학적 특성 및 생리활성

이은영*, 윤혜미, 하나, 이광우, 정희중 전남대학교 식품공학과

올금추출액과 분말을 기능성 식품첨가 소재로 개발하여 이화학적 특성 및 생리활성을 분석하였다. 50°C에서 20시간 열풍건조한 올금분말의 색도는 70.62(L), 7.77(a), 71.48(b)이었고 수율은 26%였다. 주정 함량을 0%, 30%, 50%, 70%로 달리하여 80°C에서 3시간 추출한 올금추출액의 특성을 분석한 결과 고형분 추출 수율은 CE-4가 96.21%로 가장 높았고 당도는 CE-1이 7.63° Brix로 가장 높았다. CE-1, CE-2, CE-3, CE-4의 pH는 각각 6.36, 6.14, 5.90, 5.54이었고 색도는 CE-1이 L값 18.60 a값 24.40 b값 31.41로 가장 높았다. 올금추출액과 분말의 총 페놀화합물 함량을 측정 한 결과 CE-1, CE-2, CE-3, CE-4는 각각 3.02 mg/mL, 2.96 mg/mL, 2.96 mg/mL, 5.43 mg/mL이었고 올금분말은 2.90 mg/mL였다. 올금추출액의 전자공여능은 1,000 ppm에서는 CE-3이 18.54%로 10,000 ppm에서는 CE-2가 39.98%로 가장 높았으며 올금추출액 10 ppm, 100 ppm에서는 BHT보다 더 높은 활성을 나타냈다. 아질산염 소거능은 10 ppm에서는 CE-3이 100 ppm, 1,000 ppm, 10,000 ppm에서는 CE-1이 높았고, 올금추출액 10ppm에서는 vitamin C보다 더 높은 활성을 나타냈다.

Plantago Asiatica Essential Oil Has Hypocholesterolemic Effects in vivo by Suppressing HMG-CoA Reductase Expression

Mi Ja Chung* and Sung-Joon Lee Division of Food Science and College of Life Sciences, Institute of Biomedical Sciences and Food Safety, Korea University, Kyoung Heon Kim Division of Food Science and College of Life Sciences, Korea University, Kuen-Woo Park Division of Life and Biotechnology, College of Life Sciences, Korea University

We previously have shown that *Plantago asiatica* essential oil (PAEO) may have hypocholesterolemic effects in vitro. The major component of PAEO was linalool monoterpene. Here we demonstrate that the oral administration of PAEO in C57BL/6 mice reduced plasma cholesterol levels by similar mechanism suggested in vitro studies. The PAEO feeding for 3 weeks significantly reduced plasma total cholesterol and triglyceride concentrations in mice by 29% and 46%, respectively. The mRNA (+58%, $p < 0.05$), but not protein levels of the LDL receptor were significantly higher, whereas both mRNA and protein levels of HMG-CoA reductase were significantly lower (-46% and -11%, respectively, $p < 0.05$) in the liver of PAEO-fed mice than of control mice. The CYP7A1 expression was also slightly but significantly increased in PAEO fed mouse livers. Thus, PAEO may have hypocholesterolemic effects by mainly altering the expression of the HMG-CoA reductase expression in the liver. Reduction of the LDL receptor and increased the CYP7A1 expression may be additional mechanisms to lower plasma cholesterol levels. Reduced triglycerides may provide additional cardiovascular protective benefits.

Screening of Tropical Medicinal Plants for Anti-melanogenesis Activity

Ji-Hoon Yoon and Yumi Cho* Dept. of Biotechnology, Yonsei University, Jae-Seok Shim Dept. of Biomaterials Science & Engineering, Yonsei University, Jae-Kwan Hwang Dept. of Biotechnology and Dept. of Biomaterials Science & Engineering, Yonsei University

Various dermatologic disorders are related to the accumulation of excessive levels of epidermal melanin pigments such as melasma, freckles, senile lentiginos, and sites of actinic damage. The search of natural plant extracts able to modulate melanin biosynthesis is of great interests for cosmetic and medicinal purposes. In this study, we investigated melan-a murine melanocyte cell-based screening for effective and safe natural skin whitening agent. The methanol extracts of tropical medicinal plants were assessed in vitro inhibitory effects of melanogenesis, tyrosinase activities and determined cell viabilities for their cutaneous toxicity. Through the screening procedures, we found that 7 plant extracts at the concentration of 10 g/mL have significant anti-melanogenesis activity without cytotoxicity in melan-a cell lines. These plant extracts might be useful for new skin-whitening agents and will be studied in order to isolate and identify novel compounds.

Antioxidative and Hypocholesterolemic Activity of Plantago asiatica Essential Oil in HepG2 Cells

Mi Ja Chung* and Sung-Joon Lee Division of Food Science and College of Life Sciences, Institute of Biomedical Sciences and Food Safety, Korea University, Kyoung Heon Kim Division of Food Science and College of Life Sciences, Korea University, Kuen-Woo Park Division of Life and Biotechnology, College of Life Sciences, Korea University

Asian plantain (*Plantago asiatica*) is a traditional medicinal plant in Northeastern Asia and *Plantago asiatica* essential oil (PAEO) may contain various bioactive compounds with antioxidant and hypocholesterolemic effects. However, the compositions and hypocholesterolemic effects of PAEO have not been investigated. We measured the composition of PAEO by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and examined the protective effects on LDL oxidation and cholesterol metabolism gene expressions in HepG2 cells. The PAEO was mostly composed of oxygenated monoterpenes, with linalool as the major component (82.5%, w/w). Incubation of 0-200 mg/mL PAEO with HepG2 cells for 24 h resulted in no significant toxicity. Incubation with 0.2 mg/mL of PAEO altered the expression of low density lipoprotein (LDL) receptor (+83%, $p < 0.05$) and HMG-CoA reductase (-37%, $p < 0.05$). The PAEO has strong antioxidative activity thus LDL oxidation was markedly inhibited by PAEO treatments. These suggest that PAEO may have hypocholesterolemic effects by multiple mechanisms; enhanced plasma LDL uptake, reduced cellular cholesterol biosynthesis, and inhibition of LDL oxidation.

 α -Lipoic acid가 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231 cell에서 세포 증식 및 사멸 관련 단백질 발현에 미치는 영향

나미희*, 김우경 단국대학교 자연과학대학 자연과학부 식품영양학전공

산화적 스트레스는 암 발생의 원인을 제공하고 있다. acid는 glutathione peroxidase 활성을 증가시키고, 산화적 스트레스를 감소시키는 작용으로 인해 진행된 암 환자에서 효과가 있었다는 보고가 있어 본 연구에서는 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231 cell을 이용하여 Alpha-lipoic acid가 세포 사멸과 증식에 관련된 단백질 발현에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 세포 증식에 미치는 영향을 알아보기 위해 MIT assay를 실시한 결과 Alpha-lipoic acid처리 48시간 이후에 증식이 억제되는 것이 확인하였다. 세포 증식과 사멸 관련 단백질 발현을 Western blot을 이용하여 살펴본데 신호 전달 단백질인 ErbB2, ErbB3의 단백질 발현이 감소되었다. ErbB receptor의 신호 전달 단백질인 Akt 역시 Alpha-lipoic acid의 첨가 농도가 증가함에 따라 발현이 감소되는 것을 볼 수 있었다. p-Akt로 인산화를 측정 한 결과 Alpha-lipoic acid의 첨가 농도가 증가할수록 Akt의 인산화가 감소하였다. 사멸을 유도하는 단백질인 Bax의 발현은 Alpha-lipoic acid의 첨가 농도가 증가함에 따라 발현이 증가 되었고, 반면 사멸을 억제하는 단백질인 Bcl-2의 단백질 발현은 발현이 감소되는 것으로 Alpha-lipoic acid의 세포사멸 유도를 확인할 수 있었다. 이로써 Alpha-lipoic acid는 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231 cell에서 세포의 증식은 억제하고 사멸을 유도하는 물질로 사료된다.

자소 및 자소를 첨가한 등치미의 항산화, 항균성

장철민*, 신미경, 김진희, 김혜림, 이종화 안동대학교 식품생명공학과

자소는 꿀풀과(Labiata)에 속하는 들깨와 유사한 일년생 초본식물로서, 알코올분해능, 항산화 및 항암효과를 나타내는 물질이 있다고 알려져 있다. 본 연구에서는 자소의 추출 용매별 항산화 효과와 항균효과를 검토하였다. 또한 자소를 식품에 적용하고자, 자소를 첨가하여 만든 등치미의 발효 경과 시간에 따른 발효 패턴을 조사하고, 자소로부터 추출되어 유래된 항산화, 항균효과를 측정하였다. 먼저 6가지의 유기 용매를 이용하여 자소 자체를 추출 농축한 시료에 대한 항산화 활성 측정은 DPPH법과 TBA법에 의한 방법으로 측정하였고, 항균 활성의 측정은 Tryptic Soy Agar 배지를 이용한 Paper Disc법으로 측정하였다. 그 결과 추출용매는 Chloroform과 Diethyl ether은 Gram(+)균에 항균력을 나타내었고, Petroleum ether와 chloroform은 Gram(-)에 항균성을 나타내었다. 또한 등치미에 적용하기 위한 예비실험으로, 10°C에서 시간 경과 별 물에 의한 침출액의 항균성과 항산화성을 조사하였다. 자소의 물 침출액은 시간 경과 1일째부터 나오기 시작하여 11일째부터 활성이 큰 것으로 나타났다. 자소 첨가 등치미는 발효 5-7일째 급격히 산생성이 증가하며, 9-11일 정도에서 가장 알맞은 산도와 높은 관능점수를 나타내었다. 발효액 중의 항균, 항산화 효과를 측정 한 결과 자소 첨가한 등치미는 발효 8일에서 부터 15일 사이에 항균, 항산화 능력이 뛰어난 것으로 나타났다.

Standardization and Anticancer Effects of Dongchimi

Sun-Hyun Lee* and Kun-Young Park *Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University*

This study was conducted to standardize the manufacturing process of dongchimi and physicochemical characteristics and anticancer effect of standardized dongchimi was evaluated. To standardize dongchimi, the preparation methods, kinds and concentrations of ingredients were determined by the surveys of literatures obtained from cooking books and scientific papers. The standardized ingredient ratio of dongchimi was 64.6 of radish, 2.4 of table salt, 2.3 of green onion, 1.2 of fermented green pepper, 3.2 of pear, 3.1 of salt, 0.5 of garlic, 0.5 of ginger and the final salt concentration of 2.4% in the proportion to 100 of water. pH were decreased rapidly at the beginning of the fermentation and slowly decreased later. *Lactobacillus* sp. and *Leuconostoc* sp. were increased rapidly first 2 weeks during fermentation and then slowly increased later. The juice and methanol extract of dongchimi inhibited the survival or growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells and HT-29 human colon carcinoma cells in MTT assay. Especially optimally ripened dongchimi showed strongest inhibitory effect than dongchimi.

Antioxidant Activity of Hydroxyflavone Glycosides and Their Aglycones in Citrus Fruits

Hyun-Mi Jeong*, Gyo-Nam Kim and Hae-Dong Jang *Department of Food and Nutrition, Hannam University*

This study is about antioxidant capacity of hydroxyflavone glycoside in the citrus fruit. It is investigated using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. Three different oxygen species were used: AAPH (2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride), a peroxy radical generator; Cu^{2+} - H_2O_2 , mainly a hydroxyl radical generator; and Cu^{2+} alone. In the measurement of ORAC_{ROO} in which AAPH was used as a peroxy radical generator, antioxidant capacity was dose-dependent from 1 nM to 500 nM. Glycosides carrying neohesperidose or rutinose showed higher antioxidant activity than their aglycones. ORACOH of hydroxyflavones and their aglycones was also dose-dependent from 100 nM to 500 nM. The presence of saccharide on hydroxyflavone glycoside resulted in higher antioxidant capacity than its aglycone. The cytotoxic effect of hydroxyflavone glycoside was determined by tetrazolium dye staining (MTT) assay. Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of hydroxyflavone glycosides and their aglycones in cellular antioxidant capacity (CAC) assay using HepG2 hepatocarcinoma cell increased concentration-dependently.

감초 및 분획 추출물들의 항산화 물질 함량과 항산화 활성 차이 이지연*, 엄석현, 조동하 강원대학교 BT특성화학부대학

감초는 한방의 대표적 약제로서 방제의 약 70% 이상이 첨가되어 오고 있으며, 맛은 달고 평하며 쓴맛을 제거하고 모든 약을 화합시키는 성질이 있으며, 또한 과자류, 음료, 조미료, 담배의 향 등에서도 이용되고 있다. 본 실험은 감초 잎에 함유한 항산화 물질 함량과 그 추출물들의 항산화 활성차이를 알아보기 위해 80% ethanol 추출물 및 n-hexane, ethyl acetate, n-BuOH 및 H_2O 로써 순차적으로 용매 분획하여 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 및 DPPH 라니칸 소거 활성을 측정하였다. 실험결과 해당화 분획물들의 총폴리페놀 함량은 ethyl acetate layer > n-hexane layer > n-BuOH layer > H_2O layer 순으로 나타났고, 총폴리페놀 함량은 ethyl acetate layer > n-BuOH layer > n-hexane layer > H_2O layer 순으로 나타났다. 특히, 분획물들 중에서 ethyl acetate 계층이 항산화 활성도 높았을 뿐만 아니라 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량이 각각 28.66 mg/g과 23.10 mg/g으로 나타났다. 따라서 항산화 물질 함량이 높고 항산화 활성이 높은 ethyl acetate 계층을 이용하여 의약품이나 식품첨가제로 유용하게 사용할 수 있으리라고 사료된다.

Effects of Red Ginseng Extract Addition on Storage Characteristics and Antioxidant Activities of Soybean Curd

Jung-Suk Lee *Geumsan Agricultural Development and Technology Center*, Gyo-Nam Kim* and Hae-Dong Jang *Department of Food and Nutrition, Hannam University*

In relation to making soybean curd added with red ginseng extract, this research investigated the effects of added red ginseng amount on the quality, storage characteristics, and antioxidant activities of soybean curd. As a result of measuring pH, turbidity, and total microbial counts, while storing the soybean curd at 15°C, there was no change at the early stage of storage. However, turbidity and total microbial counts extended the shelf-life, due to pH decline, and delay of aerobic microorganism's proliferation in the soybean curd with addition of red ginseng. Especially, the soybean curd with 2% of red ginseng extract demonstrated the highest antibacterial attributes. Such changes took place from the second day of storage in the case of pH, and from the sixth day in the case of turbidity, and total microbial counts. Concerning the anti-oxidant activities of soybean curd using ORAC assay, the antioxidant activities showed a tendency of significant increase in the ORAC_{COO} assay. In ORACOH assay, the pro-oxidant activity was exhibited in the soybean curd added with red ginseng extract, except for general soybean curd.

Effects of Ferulic Acid from *Pseudosasa Japonica* Leaves on Antioxidant System by Exhaustive Swimming Exercises in Mice

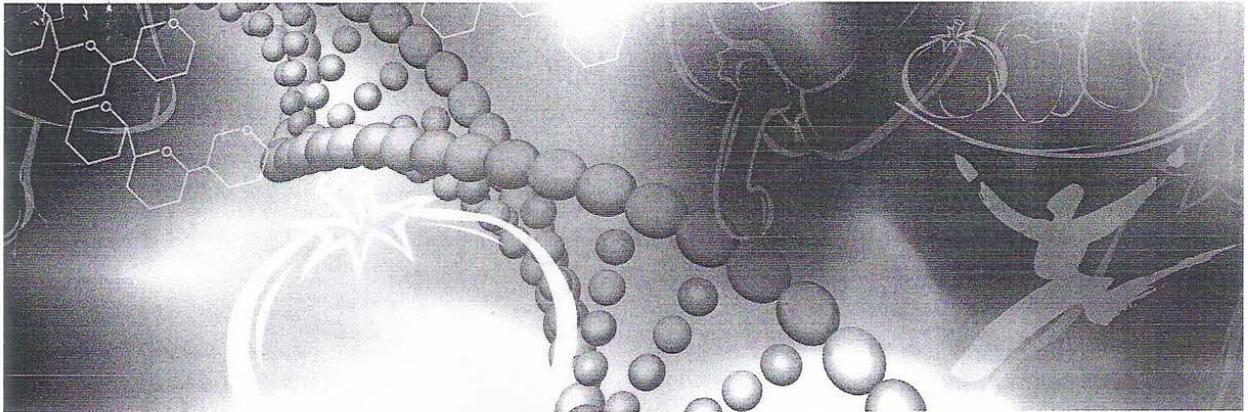
Yanghee You* *Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University*, Kwontack Hwang and Jeongmin Lee *Dept. of Food and Nutrition, Nambu University*, Kyungmi Kim *Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College*, Woojin Jun *Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University*

Ferulic acid isolated from *Pseudosasa Japonica* Leaves revealed the potent antioxidant activities and showed the stimulatory effects on endurance exercise capacity after the single administration in the previous study. To determine the changes in hepatic antioxidant system with the single administration of ferulic acid, followed by the exhaustive swimming exercise, we evaluated the hepatic antioxidant status such as superoxide dismutase (SOD), catalase, GST (glutathione-S-transferase), reduced glutathione (GSH), and malondialdehyde (MDA). After the single administration, approximately a 1.7-fold increase in swimming time was observed in the ferulic acid-administered mouse group with 50 mg/kg/day compared to the control group. Our finding revealed that the oral administration with the ferulic acid elevated activities of SOD and the level of GSH, while it decreased the MDA level. These results suggested that antioxidative activities of ferulic acid against exhaustive exercise-induced oxidative stress might be correlated with increasing the scavenging of superoxide anion radicals, inhibiting the lipid peroxidation and enhancing the antioxidative defenses by GSH.

Curcuma longa L. Reduces the Expression of Adipocytokines of 3T3-L1 Cells

Jeongjin Park* *Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University*, Kwontack Hwang and Jeongmin Lee *Dept. of Food and Nutrition, Nambu University*, Kyungmi Kim *Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College*, Heejeong Chung *Dept. of Science and Technology, Chonnam National University*, Woojin Jun *Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University*

Curcuma longa L. has a wide range of pharmacological effects, yet a little study has been done with its obesity-related efficacy. When cytotoxicities of ethanol-(CLE) and methanol-(CLM) extracts were determined, CLM showed no cytotoxicity up to 50 ug/mL, while CLE revealed the cytotoxicity from 50 ug/mL. In order to understand the anti-adipogenic effect of *Curcuma longa* L., we studied the changes in the expression of several adipocytokines of 3T3-L1 cells by CLE and CLM. We measured the change of glycerol in the medium of 3T3-L1 cells treated with 20 ug/mL concentration of CLE or CLM. Cells treated with CLM secreted 18% more glycerol than those with CLE. We also investigated the changes in adipogenic factors of 3T3-L1. In 3T3-L1 cells, both leptin and adipogenic factors (adiponectin, PPAR- γ) were reduced by the treatment of extracts from *Curcuma longa* L. Our data indicated that the treatment of *Curcuma longa* L. contained the anti-adipogenic effects on 3T3-L1 cells. These results suggest that the extracts of *Curcuma longa* L. may have an inhibitory role in obesity *in vitro* and may be the useful source as a natural anti-obesity agent.



2007 International Symposium and Annual Meeting
**Metabolic Syndrome and
Functional Foods**

October 17-19, 2007
Carnival Hall, Muju Resort, Korea

Gold Sponsor
The Youlchon Foundation
 栗村財團 (Nongshim Group)

Sponsored by
The Korean Federation of Science and Technology Societies
Korea Food & Drug Administration
Korea Research Foundation
CJ Cheiljedang Co.
US Potato Board
Sejeon Co., Ltd.
Sempio Foods Co.
Amway Korea Ltd.
Korea Ginseng Corp.
American Soybean Association-IM
Jeju Seaweed Industry Development Agency
RIS of Changnyeong Onion & Soy Products Industry
Clinical Trial Center for Functional Foods, Chonbuk Natl Univ Hospital

KFN The Korean Society of Food Science and Nutrition

GPx activities. These results suggest a role of oxidative stress in CCl₄ hepatotoxicity. On the other hand, pretreatment with CA showed the significant protective effect against CCl₄-induced hepatotoxicity and oxidative stress as stimulated hepatic enzyme activities and GSH level in rats.

P8-189

Effect of *Curcuma longa* L. on the Inhibition of Adipogenesis in 3T3-L1 Cells

Jeongin Park^{1*}, Yanghee You¹, Kwontack Hwang², Jeongmin Lee³, Kyungmi Kim⁴, Seongkoo Kang⁵, Heejeong Chung⁶, and Woojin Jun¹. ¹Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, ²Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, ³Dept. of Medical Nutrition, Kyunghee University, ⁴Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College, ⁵Reserch Instrument Center, Suncheon National University, ⁶Dept. of Food Science and Technology, Chonnam National University

Obesity is a major risk factor associated with the development of various diseases including hypertension, coronary heart diseases, and type 2 diabetes. Therefore, many studies are focusing on the development of anti-obesity agents. Previous research suggested that decreased preadipocyte differentiation and proliferation were mechanisms to reduce obesity. In the present study, the effects of *Curcuma longa* L. fractions on the inhibition of lipid accumulation and differentiation in 3T3-L1 preadipocytes were investigated. *Curcuma longa* L. fractions inhibited 3T3-L1 differentiation into adipocytes in a dose-dependent manner. Moreover, the accumulation of intracellular triglyceride was decreased by the treatment of *Curcuma longa* L. fractions. Also, *Curcuma longa* L. fractions inhibited the expression of C/EBP α , peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α), and fatty acid synthase (FAS). Taken together, these results suggest that the extracts of *Curcuma longa* L. may have an inhibitory role in obesity *in vitro* and may be the useful source as a natural anti-obesity agent.

P8-190

Purification and Characterization of Antioxidative Peptide from Korean Elk Meat protein by Enzymatic Hydrolysis

Eun-Kyung Kim^{1*}, Seung-Jae Lee², Ji-Sook Han¹, Sang-Ho Moon³, Byong-Tae Jeon³, and Pyo-Jam Park². ¹Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Korea, ²Department of Biotechnology, Konkuk University, Chungju, Korea, ³Korean Nokyong Research Center, Konkuk University, Chungju, Korea

To prepare antioxidative peptide from Korean elk meat protein hydrolysate (APKEMPH), we employed six proteinase such as pepsin, trypsin, papain, α -chymotrypsin, Alcalase and Neutrase for enzymatic hydrolysis, and the antioxidative activities of their hydrolysates were investigated using free radical scavenging assay by electron spin resonance spin-trapping technique. Among hydrolysates, papain hydrolysate having the highest antioxidant activity, further separated into four groups using ultrafiltration membranes and purified consecutive chromatographic methods. Finally, we obtain two amino acid and the amino acid sequence were identified as Met-Gln-Ile-Phe-Val-Lys-Thr-Leu-Thr-Gly, Asp-Leu-Ser-Asp-Gly-Glu-Gln-Gly-Val-Leu, respectively. Antioxidative peptide from Korean elk meat efficiently quenched hydroxyl radical, and the IC₅₀ values were 44.77 μ g/ml, 64.54 μ g/ml, respectively. Furthermore, the ability of APKEMPH to inhibit the cell death due to H₂O₂ induced oxidative damage was analyzed by measuring mobilization of cytochrom C and fragmentation of nucleus on neuronal cells.

P8-191

생약제 추출물의 아토피 완화 효과

이경진^{1*}, 양희진¹, 조수목², 전혜경², 박기문¹. ¹성균관대학교 식품생명공학과, ²농촌자원개발연구소

아토피 피부염은 대표적인 피부염으로서 소양증, 가려움, 각질형성, 홍반 등을 동반하며 현대인의 삶의 질에 큰 영향을 미치고 있다. 이것은 항원이 mast cell과 결합한 IgE에 반응하게 되면 즉시 degranulation이 일어나면서 histamine과 β -hexosaminidase가 분비되어 가려움이 유발되며, gene expression으로 TNF- α , IL-6, IL-8 등이 합성, 분비되어 아토피 증상이 나타난다고 보고되어 있다. 이러한 반응은 분비된 cytokine에 의해 더욱 촉진되므로 위의 반응을 억제하는 것은 제발의 경우에 큰 의의를 가지고 있다. 본 연구에서는 생약제 혼합물 추출액을 사용하여 cytokine의 분비 억제에 의한 아토피 피부염 완화의 효과를 확인하고자 하였다. 이를 확인하기 위하여 Human mast cell line 1을 사용하여 degranulation 측정과 cytokine의 정량은 sandwich ELISA로 확인하였으며, RT-PCR로 mRNA의 발현을 확인하였다. 결과로, β -hexosaminidase의 분비가 대조군에 비해 50~90%의 수준으로 감소하였으며, 이는 같은 과립 내에 존재하는 히스타민의 분비 또한 감소한다는 것을 의미한다. TNF- α , IL-6, IL-8의 분비량은 대조군에 비하여 70~95%의 수준으로 감소하였으며, cytokine의 mRNA 발현 또한 현저히 감소하는 것을 RT-PCR을 통하여 확인할 수 있었다.

P8-192

Free Radical Scavenging Effect of Enzymatic Extracts from Oyster Using an ESR Spectroscopy

Eun-Kyung Kim^{1*}, Yun-Ha Lee¹, Seung-Jae Lee¹, Jae-Young Je², Chang-Bum Ahn², and Pyo-Jam Park¹. ¹Department of Biotechnology, Konkuk University, Chungju, Korea, ²Department of Food Science and Aqualife Medicine, Chonam National University, Korea

Oyster was observed proteolytic extracts by Flavourzyme, Neutrase, Protamex, Alcalase, PP-trypsin [trypsin from porcine pancreas], papain, pepsin, α -chymotrypsin and BP-trypsin [trypsin from bovine pancreas] had scavenging activities 49.68%, 50.80%, 36.89%, 49.01%, 58.97%, 48.05%, 91.41%, 76.21% and 72.07% at 2.0 mg/ml on DPPH radical. The DPPH radical scavenging activity of pepsin from oyster was the highest, and the IC₅₀ value was 499.89 μ g/ml. It was observed that the hydroxyl radical scavenging activities of hydrolysate by Flavourzyme, Neutrase, Protamex, Alcalase, PP-trypsin, papain, pepsin, α -chymotrypsin and BP-trypsin from oyster were 43.88%, 32.15%, 30.94%, 30.94%, 27.34%, 62.96%, 27.92%, 37.17% and 36.94% at 1.0 mg/ml. The hydroxyl radical scavenging activity of papain from oyster was the highest, and the IC₅₀ value was 768.27 μ g/ml. The extracts by Flavourzyme, Neutrase, Protamex, Alcalase, PP-trypsin, papain, pepsin, α -chymotrypsin and BP-trypsin had scavenging activity 67.80%, 65.48%, 69.41%, 72.34%, 75.43%, 70.63%, 62.75%, 79.15% and 76.83% at 1.0 mg/ml on alkyl radical, respectively. The alkyl radical scavenging activity of PP-trypsin from oyster was the highest, and the IC₅₀ value was 374.61 μ g/ml. In addition, the ability of the hydrolysates to inhibit the oxidative damage of DNA was assessed by measuring the conversion of supercoiled pBR322 plasmid DNA to the open circular form. The enzymatic extracts could protected hydroxyl radical-induced DNA damage. These results indicate that enzymatic extracts of oyster shows potent antioxidant activity.

P8-193

김치에서 분리된 균주의 항염증 효과

김주령^{*}, 박선정, 차성관, 한국식품연구원

이전 실험에서 김치로부터 효소생성 활성능 및 slime 형성능을

이용하여 약 200개의 균주를 분리하여 이들의 다양한 기능성 조사하였다. 염증 관련 실험을 수행하였다. 본 실험에서는 LPS (Lipopolysaccharide)에 의해 유도시킨 대식세포에서의 김치 균주의 항염증 효과를 관찰하였다. 75종의 김치에서 약 200여 개의 균주를 분리하였고, 이 실험을 위해 slime 형성 정도가 우수한 균주 20종을 다시 선발 하였다. 선발된 균주는 10% sucrose가 첨가된 Plate count agar 배지에 배양했으며, 자란 균주는 PBS에 현탁시킨 후 멸균처리하여 사용하였다. 사용된 세포주는 생쥐 대식세포주인 RAW 264.7을 사용하였고 염증 매개인자들의 발생을 위해 LPS(100ng/ml)를 처리하였다. 염증 매개체의 하나인 NO 생성능을 ELISA reader를 이용해 측정했으며, 이의 생산 효소인 iNOS의 발현 정도는 western blot 방법을 이용해 측정하였다. 그 결과, 몇몇의 균주에서 NO의 생산이 현저하게 감소되었으며, iNOS의 발현정도가 저해되는 것을 볼 수 있었다. 이것은 김치에서 분리된 균주가 항염증 효과를 가지는 것을 알려 주고 있으며, 이러한 작용은 염증 매개인자의 분비를 억제함으로써 나타나는 것으로 보인다.

P8-194

Investigations of Antioxidative Properties of Enzymatic Extracts from Mussel (*Mytilus Coruscus*)

Eun-Kyung Kim^{1*}, Jin-U Hwang¹, Seung-Jae Lee¹, Jae-Young Je², Chang-Bum Ahn², and Pyo-Jam Park¹. ¹Department of Biotechnology Konkuk University Chungju, Korea, ²Department of Food Science and Aqualife Medicine, Chonnam National University, Korea

Free radical scavenging activity and DNA-protective effect of enzymatic extracts from *Mytilus Coruscus* were estimated for scavenging activity of DPPH, hydroxyl and alkyl radical using an electron spin resonance spectrometer, and for protective effect of DNA against hydrogen peroxide-induced oxidative damage using plasmid DNA. For the research, *Mytilus Coruscus* was hydrolyzed by nine proteinases such as Flavourzyme, Neutrase, Protamex, Alcalase, PP-trypsin [trypsin from porcine pancreas], papain, pepsin, α -chymotrypsin and BP-trypsin [trypsin from bovine pancreas]. Enzymatic extracts of *Mytilus Coruscus* effectively reduced all of the radical intensities. DPPH radical scavenging activity of PP-trypsin extracts had the highest scavenging activity and the IC₅₀ value was 162.49 μ g/ml. The hydroxyl radical scavenging activity of BP-trypsin from *Mytilus Coruscus* was the highest and the IC₅₀ value was 532.44 μ g/ml. The alkyl radical scavenging activity of PP-trypsin from *Mytilus Coruscus* was the highest and the IC₅₀ value was 496.76 μ g/ml. All of the radical scavenging activities increased in a dose dependant manner. In addition, the BP-trypsin extracts of *Mytilus Coruscus* showed protective effect on H₂O₂-induced DNA damage. These results indicate that enzymatic extracts of *Mytilus Coruscus* possess antioxidant activity.

P8-195

In vitro Hepatoprotective Effects of *Taraxacum platycarpum* Extracts against Alcohol-Induced Oxidative Stress

Jinyoung Kim^{1*}, Jeongjin Park², Yanghee You³, Kwontack Hwang³, Jeongmin Lee⁴, Kyungmi Kim⁵, and Woojin Jun². ¹School of Education, Chonnam National University, ²Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, ³Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, ⁴Dept. of Medical Nutrition, Kyunghee University, ⁵Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College

This study was conducted to investigate the hepatoprotective effect of the extracts from dandelion (*Taraxacum platycarpum* H.) root against alcohol-induced oxidative stress. Root of dandelion was extracted by cold water (TPC), hot water (TPH), 80% EtOH (TPE), and MeOH (TPM). The yield of each extract was 20.7%, 25.8%, 19.2%, and 17.1%, respectively. The TPE ex-

hibited the highest total flavonoids (3.28% as catechin equivalents) and polyphenol (4.79% as gallic acid equivalents) levels. The antioxidant capacities were measured by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical- and superoxide anion radical-scavenging activities, and TBARS generation inhibitory activity. According to the DPPH assay, 80% EtOH extract showed the highest efficiency of free radical-scavenger activity among the extracts. When cytotoxicities of the extracts were determined, TPH showed no cytotoxicity up to 750 μ g/mL, while TPC revealed the cytotoxicity from 750 μ g/mL. No cytotoxicities up to 1,000 μ g/mL were found in other extracts. The hepatoprotective effects of TPC and TPH extracts were identified on HepG2 cell expressing CYP2E1 when treated with 200 mM EtOH. Based upon these results, cold and hot water extracts from *Taraxacum platycarpum* H. were confirmed to possess the hepatoprotective capability against the alcohol-induced oxidative stress in HepG2 cells expressing CYP2E1.

P8-196

Comparison of Subchronic Toxicities of *Curcuma longa* L. and Fermented *Curcuma longa* L. in vivo

Miso Lee^{1*}, Jeongjin Park², Yanghee You³, Kwontack Hwang³, Jeongmin Lee⁴, Kyungmi Kim⁵, Seongkoo Kang⁶, Heejeong Chung⁷, and Woojin Jun². ¹School of Education, Chonnam National University, ²Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, ³Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, ⁴Dept. of Medical Nutrition, Kyunghee University, ⁵Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College, ⁶Research Instrument Center, Suncheon National University, ⁷Dept. of Food Science Technology, Chonnam National University

Curcuma longa L. is a native plant of southern Asia and is cultivated extensively throughout the warmer parts of the world. It has been used for centuries in Asian countries as medicines and foods. In this study, studies of oral subchronic toxicity (2 weeks) with the methanol (CLM) and hot water (CLH) extracts of *Curcuma longa* L. were carried out in mice. Also, fermented *Curcuma longa* L. (FCL) powder was administered to rats. Dosages of CLM and CLH extracts were 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 and 1.0 g/kg/day, while dosages of FCL powder were 0.03, 0.1, 0.3 and 1 g/kg/day. The weight gains in CLM, CLH and FCL treated animals, respectively, showed no significant difference compared to the control group. Also, there was no difference in food intakes between each CLM, CLH and FCL group and the control group. Furthermore, survival rates of all groups indicated 100%. According to the hematochemical analysis, no damage was found in each treated group. Based upon these results, all CLM, CLH and FCL exhibited no toxicity up to 1 g/kg/day.

P8-197

Effects on osteogenesis by the water soluble factor of fermented food

Yuna Youn^{1*}, Minseon Koo², Nari Lee², and Soonyoung Choi¹. ¹Division of Biological Science, Sookmyung Women's University, ²Korea Food Research Institute

Bone remodeling is a normal process that involves the resorption of bone by osteoclasts and the synthesis of bone matrix by osteoblasts. Under normal conditions, bone resorption and formation are tightly coupled to each other. In this experiment, we focused on the balancing of bone remodeling by the water soluble factor of *Doenjang* (Korean fermented soypaste). Especially, the water soluble factor of *Doenjang* markedly increased the differentiation of primary bone marrow mononuclear cells into mature osteoclasts, as revealed by increased tartrate resistant acid phosphatase (TRAP)-positive multinucleated

**2007 IFT Annual Meeting
Scientific Program**

**BOOK OF
ABSTRACTS**

(Abstracts as of June 4, 2007, complete list
available at www.am-fe.ift.org)

*Abstracts of Papers Presented
Chicago, Illinois, U.S.A.
July 27-Aug. 1, 2007*

Copyright © 2007
Institute of Food Technologists
525 W. Van Buren Street, Suite 1000
Chicago, Illinois 60607

ISSN: 1082-1236

Rg, -Rh₁, -Rh₂, etc.), which were then analyzed using HPLC. The total ginsenoside contents of roasted samples ranged from 1,444 to 1,987 mg% (d.b.) depending on the roasting condition. The roasting temperature was more influential than roasting time in changing the ginsenosides during roasting ($p < 0.05$). The determination coefficients (R^2) of the regression equation for individual ginsenosides were high in the order of -Rb₁ (0.9320), -Rh₁ (0.9110), -Re (0.7747), -Rg₂, etc. The optimal roasting condition for maximizing both ginsenoside-Rg₂ (31.75 mg%) and -Rh₂ (19.24 mg%), that are known to have anticancer activities, was predicted to be approximately 238°C for 17 min. The results provide the possibility of developing new functional materials for further processing of red ginseng rootlets.

190-13

Omega 3: quality control and ageing monitoring with an electronic nose

M. Manach, V. Schmitt, J. Mifsud, Alpha MOS Inc., Hanover, MD; M. Bonnefille, Alpha MOS, Toulouse, France, Email: bonnefille@alpha-mos.com.

Omega 3 are increasingly used in the food & beverage industry. However, this ingredient can bring an undesirable odor / aroma to the final product. Consequently, it is of utmost importance for both omega manufacturers and users to monitor the organoleptic features of this additive. Usually, food ingredients are evaluated by human sensory panels, which can be unpleasant and time-consuming. Recently an electronic nose based on ultra fast Gas Chromatography, The Heracles, has been used to assess Omega 3 sensory quality and to perform ageing studies. Various samples of Omega 3 powder were both assessed by sensory panel and Heracles electronic Nose at 2 different times: $t = 0$ (freshly produced) and $t = 2$ months under various storage conditions (air or nitrogen). The scoring scale ranked between values 1 and 2. After building a calibration curve with the Heracles, the model showed a good correlation with sensory panel scores (correlation coefficient > 99%) and allowed to predict unknown powders scores. The Heracles electronic nose can bring the ability to screen a large number of samples to check their quality. Thus companies can reduce time and costs of analysis chain process, and significantly improve the product quality consistency.

190-14

Effect of Curcuma longa L. on alcoholic liver damage in vitro

Y. Lee, Yonsei University, Seoul, Republic of Korea; J. Park, H. Chung, W. Jun, Chonnam National University, Gwangju, Republic of Korea; K. Hwang, J. Lee, Nambu University, Gwangju, Republic of Korea, Email: wjunn@chonnam.ac.kr.

Chronic ethanol consumption enhances oxidative stress in liver, and the role of oxidative stress has been considered as one of the key mechanisms responsible for the alcoholic liver injury. Ethanol-induced cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) appears to be correlated with the generation of oxidative stress and the formation of reactive metabolites. In the present study, we investigated the hepatoprotective effects of *Curcuma longa* L. on alcohol-induced toxicity using CYP2E1 transfected HepG2 cells. Cells treated with various *C. longa* L. extracts (hot water-, cold water-, ethanol-, and methanol-extracts) were exposed for five days to 200 mM ethanol. Then, MTT and LDH tests were performed to determine the cytotoxicities of *C. longa* L. extracts. The treatment of cells with hot water extract (25 μ g/mL) significantly decreased the cell death induced by CYP2E1 up to 50%. The attenuated ethanol toxicity of hot water extract might be due to its antioxidative potential. Compared to the cells exposed to ethanol only, the elevated GSH content and antioxidative enzyme activities (catalase and glutathione-S-transferase) were observed in cells treated with hot water extract. Based upon these results, the hot water extract from *C. longa* L. was confirmed to possess the hepatoprotective potential against the alcohol-induced oxidative stress in HepG2 cells expressing CYP2E1 by inhibiting the generation of reactive oxygen species.

190-15

Passionfruit's peel flour (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) characterization and use on controlling serum cholesterol

A. Ramos, M. Diniz, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campina Grande -PB, Brazil; A. Saboa Srur, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brazil, Email: ale.tramos@bol.com.br.

Passionfruit deserves attention due to its excellent juice. To obtain it, industry uses only the pulp, which represents 30% of the fruit, while the peels and seeds are thrown away. The aim of this study was to transform peels into flour and test its consumption in patients with high cholesterol levels. Peels were washed, dried and transformed into flour. Determinations have shown that 100g of this flour contained 7.07g of most, 4.25g of minerals, 6.95g of proteins, 12.02g of carbohydrates, 36.8g of insoluble fiber, and 21.53g of soluble fiber (21.0g of pectin). In response of supposed pectin benefits on cholesterol and glucose reduction, a pilot study was done to prove such effect on LDL cholesterol reduction in human. The group was formed of 15 women and 2 men, aged between 30 and 60 years old and presenting high cholesterol levels (≥ 200 mg/dl). They were treated daily with 30g of passionfruit's peel flour during 30 days. The cholesterol's level varied between 200 and 314mg/dl. After 30 days of treatment with the flour, it was observed a statistically significant reduction ($p < 0.05$) of the cholesterol levels. This reduction occurred in 82.3% of the evaluated patients and varied between 1mg/dl and 59mg/dl. The difference between the medium cholesterol value and the levels after 30 days experience was 19.52mg/dl (approximately 8.96%). Results suggest that the passionfruit's peel flour, rich in pectin, can be used in human feeding, with many foods or as raw material for other products intending to reduce cholesterol levels.

190-16

Functional properties of camel milk rennet-whey proteins

L. Laleye, B. Jobe, O. Sipahioğlu, A. Abu Shelaibi, United Arab Emirates University, Al-Ain, United Arab Emirates, Email: laleye@uaeu.ac.ae.

There is little scientific data on the functional properties of camel milk whey proteins. Camel and cow milk whey were separated from casein by the addition of rennet enzyme and coagulated at 37°C for 3 hours. The whey was concentrated using vacuum evaporator followed by drying in a vacuum oven for 24 hours at 70°C. The heat stability was performed on the camel and cow milk whey using the Differential Scanning Calorimeter. The thermal denaturation of dried cow and camel whey proteins results revealed that unlike the case in cow whey, the denaturation peak appeared at a much higher temperature 200°C compared to 150°C for cow whey. This shift in the denaturation peak indicated that camel whey was more heat stable than cow whey. Emulsifying properties of cow and camel whey proteins were measured at pH 5 and 7 in the presence of 15% sunflower oil. At pH 7, in which whey protein is soluble, a stable emulsion was formed by both cow and camel whey and the mean diameters of oil droplets were 1.64 and 1.3 micrometer for cow and camel, respectively. The difference of 0.34 μ m suggests a relative improvement of emulsifying properties of camel whey. At pH 5, the mean diameter of the oil droplet size distribution increased more than two folds (2.84 μ m) for camel whey protein stabilized emulsion. The increase in the oil droplet size distribution was accompanied by poor emulsion properties as indicated by the quick separation of the two phases. The low stability of the emulsion at lower pH is due to the aggregation of the protein molecules suggesting lower solubility at pH 5. These functional properties along with others as revealed by camel milk whey proteins will be useful in food formulation and their use as functional ingredients by the food industry.

190-17

Phenolic and antioxidant analysis of extracts from flesh of bitter melon (*Momordica charantia*) fruit at different maturation stages for potential nutraceutical benefits

R. Horax, N. Hettiarachchy, S. Rayaprolu, P. Chen, University of Arkansas, Fayetteville, AR; L. Grant, Pennsylvania State University, University Park, PA; M. Jalaluddin, University of Arkansas, Pine Bluff, AR, Email: horax@uark.edu.

Recent interest in phenolic acids stems from their potential protective role, through ingestion of fruits and vegetables, against oxidative damage diseases (coronary heart disease, stroke and cancers). This is because plant phenolic compounds can serve as natural antioxidants which help to destroy free radicals. Bitter melon (*Momordica charantia*) is an exotic fruit used mainly throughout Asia for food and medicinal purposes. Such medicinal benefits can be made possible through its phenolic compounds. For these reasons phenolics compounds and antioxidants are important for assessing nutraceutical benefits. The objective of this study is to extract the flesh of bitter melon fruit harvested at three different maturation stages (immature, mature, and ripe), using ethanol and water solvent systems and determine total phenolics, phenolic acid constituents and their antioxidant activities. Phenolics of bitter melon fruit flesh were extracted using 0, 20, 40, 60, 80 or 95% of ethanol. The extracts were analyzed for total phenolics, phenolic acid constituents, and antioxidant activities of their ethanolic extract using Folin-Ciocalteu method, HPLC, and free radical scavenging activity by 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), respectively. Total phenolics assessment demonstrated 80 and 95% of ethanol to be the optimal solvent level to extract phenolics (7.2-7.5 and 6.8-7.2 mg/100 g, respectively). The main phenolic acid constituents in ripe, mature and immature bitter melon samples were found to be gentisic, catechin and gallic phenolic acids. DPPH analysis for antioxidant activity demonstrated the extracts as slow rate free radical scavenging agents. Bitter melon extracts from 80% and 95% of ethanol also demonstrated the best scavenging activities of free radicals (52.3-64.4 and 48.1-68.9 μ g extract/g DPPH, respectively). Bitter melon phenolic extracts are potential natural antioxidant substance sources with nutraceutical benefits to inhibit free radicals and prevent diseases caused by oxidative damage.

190-18

Synergistic and isomeric effects of conjugated linoleic acid on body ash

M. Terk, G. Park, S. Rhee, Y. Park, Y. Park, University of Massachusetts Amherst, Amherst, MA, Email: mterk@foodsci.umass.edu.

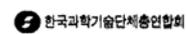
Approximately 200 million people worldwide, including 25 million in the United States, suffer from osteoporosis. The pathophysiology of osteoporosis suggests that prevention through dietary intervention can be one of the most important actions. Diet can also be a successful alternative for minimizing bone loss and the need for osteoporosis related drug therapy. Conjugated linoleic acid (CLA) is the collective term used to describe positional and geometric isomers of linoleic acid with two conjugated double bonds. CLA has been shown to be biologically active in many systems, yet CLA's effect on bone mass is not clearly established. Previously, we observed the synergistic effects of CLA and calcium on bone mass. The purpose of this study is to investigate CLA's isomeric effect and synergy with dietary calcium on bone mass. Four-week-old male ICR mice in 8 groups ($n=9$), were fed diets with either a high (1.0%) or normal (0.5%) calcium level. Each calcium level was supplemented with 0.5% CLA mixed isomer, 0.2% c9,t11 isomer, 0.2% t10,c12 isomer, or no CLA (control) for 28 days. Body ash, reflective of bone mass, was determined by incineration at 600°C for 8 hours. The analysis showed the dietary calcium levels had no effect on body ash, yet the CLA mixed isomer treatment significantly increased total body ash (3.8% \pm 0.1) compared to control (3.6% \pm 0.1). Specifically, the CLA isomer responsible for the increased accumulation of body ash was the t10,c12 isomer, which displayed a significantly higher amount of ash (3.6% \pm 0.1).

2008 | Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology

2008 한국식품과학회
학술대회 및 정기총회

Kimdaejeung Convention Center, Gwangju, Korea
2008. 6. 18 (Wed.) ~ 20 (Fri.)

**Wellness Foods:
Science and Innovations**



P14 -069

Optimization of the Preparation of Black Soybean Porridge using Response Surface Methodology

Hye Won Kim*, Hyun Jae Rha, Ho Young Jung, Seul Lee, Jeong Bin Min and Hyeon Gyu Lee Hanyang University

Soybean porridge is being consumed for a long time in Asia because of its high nutritional value. However, the short shelf life of soybean porridge can limit the application in food industry. Thus, the aims of this study were 1) to determine optimum conditions for the preparation of black soybean porridge using response surface methodology (RSM), and 2) to evaluate their syneresis as a function of storage time in comparison with rice porridge. RSM was used to investigate the effects of independent variables, namely the ratio of black soybean to rice (X1), and boiling time (X2) on optimization of syneresis (Y). The regression equation generated for the response (Y) was determined as follows; Y = 3.01 - 152.45X2 + 0.03X1^2 + 3.01X2. The optimum conditions for the preparation of black soybean porridge were obtained at the [black soybean proportion, X1] of 48.68%, and [boiling time, X2] of 25.78 min. As the black soybean proportion increased, the syneresis of porridge significantly increased (p<0.05). The syneresis as a function of storage time (up to 96 h) of the black soybean porridge prepared by optimum condition and rice porridge exhibited 23.45% and 13.98%, respectively.

P14 -070

올금 첨가가 막걸리의 발효 및 품질에 미치는 영향

하나*, 이은영, 정희중 전남대학교 식품공학과

막걸리는 낮은 알코올 함량과 높은 당도로 인해 쉽게 부패되며 제조 후 유통기한이 짧은 단점이 있다. 본 연구는 높은 항산화 및 향균 효과를 가진 올금에 다량 함유된 'curcumin'을 막걸리 제조에 이용하기 위해 80°C 물에서 24시간 올금양을 달리하여 추출하고 올금 추출물을 막걸리 제조 시 첨가하여 올금 첨가 및 첨가시기가 막걸리 발효에 미치는 영향에 대해 조사하였다. pH는 대조군보다 높았으며 생균수는 0.8-1.1 log CFU/mL 수준으로 유의적 차이가 없었다. L, a, b 값은 올금 첨가량이 많아질수록 유의적으로 감소하였고, 2단 담금 이후에는 색도가 증가되는 경향을 보였다. 알코올 함량은 2.5% 추출물 첨가군이 최고 14.8%를 나타냈다. 관능 평가에서 2.5% 추출물 첨가군이 높은 기호도를 나타냈으며 2.5% 첨가군 중, 2단 담금 시 첨가한 처리구가 색과 전체적 기호도에서 높은 기호도를 보였다. 이를 통하여 올금이 막걸리 발효 중 형성되는 초산의 생성을 억제하여 신맛을 감소시킨 것으로 사료되어 올금의 첨가가 막걸리의 유통 중 품질을 유지할 것으로 보인다. 이러한 기초적 결과는 올금 막걸리의 품질 평가에 유용한 자료로 활용될 수 있으리라 기대된다.

P14 -071

Optimization of Calcium Pectinate Gel Beads Produced using Internal Gelation for Sustained-Release of Catechin

Ji-Soo Lee*, Eek-Joo Kim, Joo Young Yoon and Yoo Jin Lee Hanyang University, Donghwa Chung Kangnung National University, Hyeon Gyu Lee Hanyang University

Catechin was encapsulated using calcium pectinate by the internal gelation. The objectives of this study were to prepare and evaluate optimized calcium pectinate gel beads entrapping catechin. Response surface methodology was used for optimization of the sustained catechin delivery with the concentration of pectin (X1) and the ratio of catechin to pectin (X2) and calcium carbonate to pectin (X3) as the independent variables. The percent of catechin released after 2 hr in SIF (Y) was chosen as dependent variable. The regression equation generated for the response (Y) was determined as follows: Y = 167.61 + 1.49X1 - 1.12X2 - 2.62X3 + 0.12 X1X2 + 0.22X1X3 + 0.04X2X3 - 3.46X1^2 - 0.01X2^2. The optimization model predicted a 80.82% release with X1, X2, and X3 levels of 2.86%, 28.92%, and 32.79%, respectively. The observed response (78.83%) was in close agreement with the predicted value of the optimized formulation. About 80% of the entrapped catechin was released from the optimized beads into SIF after 3 h incubation. In contrast about 65% of catechin was released into SGF over the same time period.

P14 -072

건조방법이 다른 동충하초쌀의 특성 및 이로 제조한 죽의 관능적 특성

이승현*, 김민영, 김재숙, 신달식 전남대학교 식품영양학과

면역성과 항당뇨 효능이 확인된 기능성 쌀인 동충하초쌀로 진동식품인 죽을 개발하기 위해 발아현미 동충하초쌀의 형태 및 이화학적 특성과 백미와 현미, 참쌀에 첨가하여 제조한 죽의 관능적 특성을 비교하였다. 동충하초쌀은 발아현미를 가압 증자하여 무균으로 처리한 다음 동충하초를 배양하고 열풍건조와 동결건조로 건조시켜 제조한 것을 사용하였다. 수분 흡수력은 동결건조쌀이 열풍건조쌀에 비해 높은 값을 보였고 1시간 30분이 지난 후에는 95%를 넘는 높은 수분흡수력을 보였고 겔보기 아밀로오스 함량은 동결건조쌀은 5.53±0.45, 열풍건조쌀은 2.14±0.42%로 유의적인 차이를 보였다. 일반 백미에 동충하초쌀을 각각 20, 30, 40%씩 첨가한 죽에 대한 관능평가를 실시한 결과, 구수한 냄새는 열풍건조 쌀이 높게 평가되었고, 죽의 색깔, 죽의 농도, 밥알의 풀림 정도와 부드러운 정도, 전반적인 품질은 동충하초쌀의 첨가량이 적을수록 선호도가 높았다. 현미에 동충하초쌀의 첨가율을 달리하여 만든 죽의 관능평가 결과 열풍건조 동충하초쌀 20%를 첨가한 경우 전반적인 품질이 가장 좋았던 반면, 동결건조 동충하초쌀 40% 첨가한 경우는 가장 품질이 낮게 평가되었다. 현미참쌀과 참쌀에 동충하초쌀을 30%씩 각각 첨가한 죽은 전반적으로 참쌀과 첨가한 죽에서 모두 높은 선호도를 보였으며 전반적인 품질에서는 열풍건조 동충하초쌀을 첨가하였을 때 높은 값을 나타냈다.

P14 -073

Optimization of Oryzanol-Loaded Calcium Pectinate Microparticles for Sustained-Release of Oryzanol Using Response Surface Methodology

Hyeon Gyu Lee*, Jong Soo Kim, Ji-Soo Lee, Sun-Ah Park, Min Ji Yoon and Go Eun Lee Hanyang University

Oryzanol (OZ) has received much attention with multiple health-promoting functions; however, its application in food systems has been limited because of its instability at high temperature and poor water-solubility. These impediments to OZ application can be effectively overcome by physically entrapping OZ molecules within a biopolymeric carrier. The coating preparation conditions for the OZ-entrapped calcium pectinate microcapsules coated with chitosan were optimized for the sustained-release of OZ using response surface methodology. The quadratic regression models were highly significant in describing the relationships between the microcapsule preparation conditions, including chitosan concentration (X1) and hardening time (X2), and the OZ release behaviors into intestinal (SIF) fluids. The values of X1 and X2, optimized for the minimal OZ release, were found to be 1.48% and 69.94 min, respectively. Experimental results obtained for the optimum formulation agreed well with the predictions, indicating the usefulness of this approach. The microcapsule prepared according to the optimized conditions released about 40% of the entrapped OZ was released into SIF after 24 h incubation.

P14 -074

Reduction Strategy of 3-MCPD in Hydrolyzed Vegetable Protein (HVP) Soy Sauce

Hyeon Gyu Lee* Hanyang University, Yong Il Chung, Byung Jo Lee and Yu Weon Lee Sempio Food Company, Ji-Soo Lee Hanyang University

3-Monochloropropnae-1,2-diol (3-MCPD) produced during the acid hydrolysis of soybean products has been known to possess multiple toxicities. In order to investigate the effects of various manufacturing conditions of hydrolyzed vegetable protein (HVP) soy sauce on the 3-MCPD contents, the various HVP soy sauces were prepared under the different manufacturing conditions, such as pH and temperature of alkaline treatment, retention time and retention temperature. 3-MCPD derivatives with heptafluorobutylimidazole (HFBI) were determined by GC/MS and showed below 0.010 µg/g, which was sensitive with good recovery rate. 3-MCPD contents decreased as pH and temperature of alkaline treatment, and time and temperature of retention process following alkaline treatment increased. Alkaline treatment at pH 10.0-10.5 and retention process for 72 hr effectively reduced the 3-MCPD contents of HVP soy sauces. This result suggests that the manufacturing process, especially alkaline treatment and retention process of HVP soy sauce has a good effect for removing 3-MCPD and also for improving quality of the HVP soy sauce.

Protective Effects of *Lindera obtusiloba blume* Treatment on Tert-butyl Hydroperoxide-induced Oxidative Hepatotoxicity and Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Chung-Oui Hong*, Hyung-Sun Lee, Dong-Chul Shin, Su-Jung Kim, Mi-Hyun Nam, Hyun-A Lee and Kwang-Won Lee *Division of food Bioscience & Technology, College of Life Science and Biotechnology, Korea University*

The *Lindera obtusiloba blume* (LO), a native plant in Korea, has been traditionally used as a popular folk medicine. The aim of this study was to evaluate the protective effects of LO extract (LOE) on the tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative hepatotoxicity and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. The study of liver protection showed that pretreatment with LOE (500 or 2000 mg/kg) by gavage to SD rats for 7 days before a single dose of t-BHP (0.2 mmole/kg i.p.) significantly lowered the serum levels of the hepatic enzyme markers, aspartate aminotransferase (ALT) and alanine aminotransferase (AST) and reduced the indicators of oxidative stress in the liver, such as lipid peroxidation. To determine the anti-diabetic effects of LO extracts, diabetes were experimentally induced by STZ (60 mg/kg i.p.) dissolved in citrate buffer (pH 4.3) and treatment of LOE were carried out for 5 weeks by gavage. In the STZ-diabetic group treated with LOE (500 or 1000 mg/kg), glucose tolerance increased, while the blood glucose levels, AST and ALT levels decreased. As a result, it concludes that LOE has a protective effects against t-BHP induced hepatotoxicity as well as STZ-induced diabetes.

Stimulatory Effects of Ethylacetate Fraction from *Pseudosasa japonica* Leaves on Endurance Exercise Capacity by Enhancing Antioxidant Activities in Mice

Yanghee You* and Jeongjin Park *Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Kwontack Hwang Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, Jeongmin Lee Dept. of Medical Nutrition and Clinical Research Institute, Kyunghee University, Kyungmi Kim Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College, Kyungtaek Oh Jeollanamdo Regional Innovation Agency, Woojin Jun Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University*

In the previous study, 80% ethanol extract (PJE) and its ethylacetate subfractions (PJE-E) from *Pseudosasa japonica* leaves showed the phenolic compound-rich properties and the potent antioxidant activities. The PJE exhibited the stimulatory effect on endurance swimming capacity after long term administration. In the present study, we evaluated the PJE-E on the endurance swimming capacity with the long term administration (50 mg/kg/day) and hepatocantioxidative status using enzymatic and non-enzymatic assays. Compared to the control group, a 1.8-fold increase in swimming time was observed in the mouse group administered a PJE-E after 18 days. The blood lactate level was not significantly different in PJE-E mouse group. The oral administered group with the PJE-E elevated the activities of CAT, SOD, GST, GPx and GR, while the levels of GSH and MDA were statistically no difference. Based upon these results, it was suggested that PJE-E from *Pseudosasa japonica* leaves possessed the stimulatory effects of endurance swimming capacity and anti-fatigue. The swimming capacity of PJE-E might be correlated with an increase in the enzymatic antioxidant potentials in mice.

In vivo Effects of Extract from *Curcuma longa* L. in Relation to Reduced Body Weight and Improved Serum Lipid Profile

Jeongjin Park*, Yanghee You and Gyuok Lee *Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Kwontack Hwang Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, Jeongmin Lee Dept. of Medical Nutrition and Clinical Research Institute, Kyunghee University, Kyungmi Kim Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College, Seongkoo Kang Research Instrument Center, Suncheon National University, Heejeong Chung Dept. of Science and Technology, Chonnam National University, Woojin Jun Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University*

Obesity is a major risk factor associated with the development of various disease including hypertension and type 2 diabetes. Therefore, many studies are focusing on the development of anti-obesitic agents. In the present study, the effects of *Curcuma longa* L. extracts on the reduction of body weight and the improvement of serum lipid profile in obesity-induced mice were investigated. We examined the effects of the *Curcuma longa* L. extracts (0.25 g/kg/day) in mice with established obesity (3 weeks high-fat diet). High-fat diet mice showed a relatively high weight gain compared to the mice fed a standard diet. Mice supplemented with methanolic extract of *Curcuma longa* L., commencing after 3 weeks of high fat diet, sustained a decrease in body weight. The treatment of *Curcuma longa* L. extract significantly increased high-density lipoprotein. Taken together, these results suggest that *Curcuma longa* L. may have an inhibitory role in obesity in vivo and may be the useful source as a natural anti-obesity agent.

Effects of *Taraxacum officinale* on Liver Damage Mediated by Alcohol in vitro

Sunam You*, Somi Yi, Jeongjin Park and Yanghee You *Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Kwontack Hwang Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, Jeongmin Lee Dept. of Medical Nutrition and Clinical Research Institute, Kyunghee University, Kyungmi Kim Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College, Woojin Jun Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University*

This study was conducted to investigate the effects of hot water extract (TOH) from the root of dandelion (*Taraxacum officinale*) on hepatic antioxidative system in ethanol-induced HepG2/2E1 cells. The TOH exhibited no cytotoxicities up to 1,000 µg/mL and hepatoprotective effects against alcohol-induced oxidative stress. Therefore, the further study was performed with TOH. The cells were divided into 4 groups : i) control (NC), ii) 300 mM EtOH (EC), iii) 300 mM EtOH pretreated with 100 µg/mL of TOH (EHL), and iv) 300 mM EtOH pretreated with 500 µg/mL of TOH (EHH). The activities of CAT, GST, GSH, GR and GPx in the ethanol alone treated group were significantly lower than those of the control group. However, ethanol plus TOH group stimulated the hepatic enzyme activities and GSH level. The level of MDA was markedly decreased in the TOH pre-treated group. Our findings suggest that TOH might be considered as a useful agent in the prevention of liver damage induced by oxidative stress.

Curcuma longa L. Reduces Oxidative Stress Induced by Alcohol in vitro

Jinyoung Kim* *School of Education, Chonnam National University, Jeongjin Park and Yanghee You Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Kwontack Hwang Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, Jeongmin Lee Dept. of Medical Nutrition and Clinical Research Institute, Kyunghee University, Kyungmi Kim Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College, Seongkoo Kang Research Instrument Center, Suncheon National University, Heejeong Chung Dept. of Science and Technology, Chonnam National University, Woojin Jun Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University*

This study was conducted to investigate the hepatoprotective effect of the extracts from *Curcuma longa* L. against alcohol-induced oxidative stress. The PMA and ethanol toxicities were examined on HepG2 2E1 cells. No cytotoxicities of PMA were found up to 15 n mole with the treatment of 5 days. The treatment of alcohol with 300 mM for 5 days reduced cell viability to 46%. *Curcuma longa* L. was extracted by cold water (CLC), hot water (CLH), 80% EtOH (CLE), and MeOH (CLM). When cytotoxicities of the extracts were determined, CLC and CLH showed no cytotoxicity up to 50 µg/mL, while CLE and CLM revealed the cytotoxicity from 50 µg/mL. Of four extracts, the highest protective activity against alcohol-induced oxidative stress in hepatoma cells was observed in CLH. The treatment of CLH also reduced the intracellular ROS compared to the alcohol-treated cells. CLH treatment along with alcohol showed that GSH content and catalase, SOD, GST activities increased as compared to the alcohol-treated cells. Based upon these results, was confirmed to possess the hepatoprotective capability against the alcohol-induced oxidative stress in HepG2 cells expressing CYP2E1.

The Effect of Pycnogenol on Lipolysis in Differentiated 3T3-L1 Adipocytes

Eunjeong Kim* *Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, Jeongmin Lee Dept. of Medical Nutrition and Clinical Research Institute, Kyunghee University, Woojin Jun Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Chang-Soo Park Dept. of pathology, Chonnam Medical College, Chonnam National University, Kwon-Tack Hwang Dept. of Food and Nutrition, Nambu University*

Pycnogenol (PYC), a standardized extracts from the bark of the French maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) has a wide range of pharmacological effects. The previous study showed the inhibitory effects of PYC on differentiation of 3T3-L1 cells at the cellular and molecular levels. In the present study, we investigated the influence of PYC on the lipolytic effect of 3T3-L1 cells at post-differentiation. In the oil-red O staining assay, differentiated 3T3-L1 cells were treated with the various range of PYC from 10 µg/mL to 100 µg/mL in concentrations. The PYC inhibited the cytoplasmic lipid accumulation by 77.9±0.1%. Glycerol level released to cultured medium was significantly increased by 124.7±0.5% (PYC 50 µg/mL), 131.1±0.5% (PYC 70 µg/mL) and 126.4±1.3% (PYC 100 µg/mL) at 48 h, suggesting that PYC might influence on degradation of triacylglycerol (TAG) in mature adipocytes. The glucose uptake level was also examined, depending on the concentrations of PYC. These results suggest that PYC stimulates lipolysis in differentiated 3T3-L1 adipocytes.

Physico-chemical Effects of Enzymatically Hydrolyzed Products Obtained Glycated Proteins of Rice, Soy, Whey and Wheat

Yung-sun Ryu*, Kwang-won Lee and Hyung-joo Seo college of Life Sciences and Biotechnology, Division of Food bioscience and technology and Food biochemistry and Toxicology Lab., Korea University

The heat-induced reaction of amino groups of amino acids, peptides, and proteins with carbonyl groups of reducing sugars such as glucose results in the concurrent formation of so-called Maillard browning products. The combined effect of glycated cereal protein isolates on the release of compounds exhibiting in vitro angiotensin-converting enzyme(ACE) inhibitory, antioxidant activities, anti-aging activity was investigated. Model systems consisting of protein isolate and glucose were heated at 120°C for 30 min, 120°C for 45 min. Glycation was followed by digestion with Pronase E and ultrafiltration. The anti-hypertensive activity was measured as the ability to inhibit the activity of angiotensin I-converting enzyme involved in hypertension regulation. The Oxygen Radical Absorbance assay was used to measure the peroxyl radical scavenging capacity of the products. The anti-aging activities were used to measure elastase inhibition and tyrosinase inhibition. Advanced products of the reaction enhanced the antioxidant properties of gluten hydrolysates and decreased the overall ACE inhibitory activity.

Effects of *Curcuma longa* L. Extracts on Exercise Endurance Capacity in Mice

Miso Lee* School of Education, Chonnam national University, Jeongjin Park and Yanghee You Dept. of food Nutrition, Chonnam National University, Kwontack Hwang Dept. of Food Nutrition, Nambu University, Jeongmin Lee Dept. of Medical Nutrition and Clinical Research Institute, Kyunghee University, Kyungmi Kim Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College, Seongkoo Kang Research Instrument Center, Suncheon National University, Hecjong Chung Dept. of Food Science Technology, Chonnam National University, Woojin Jun Dept. of food Nutrition, Chonnam National University

Curcuma longa L. is a native plant of southern Asia and is cultivated extensively throughout the warmer parts of the world. It has been used for centuries in Asian countries as medicines and foods. The present study designed to determine the effect of *Curcuma longa* L. extracts on endurance exercise capacity in male ICR mice aged 5 wk. The *Curcuma longa* L. powder was extracted by hot-water (CLH) or methanol (CLM). Mice were separated into 4 groups: first two groups were given 10% tween 80 as a control; and the other groups were given either 1 g/kg/day of CLH or CLM. Longer swimming time until exhausted was exhibited in the mice administered with CLH or CLM than the control group. Both CLH and CLM groups significantly increased the NEFA level, compared to the control. In both, CLH group showed the higher level of NEFA than CLH group. The CLH group revealed the relatively high anti-fatigue activity

In vivo Hepatoprotective Effects of Fermented Tumeric (*Curcuma longa* L.) Powder in Rats Treated with CCl₄

Haemi Sung*, Yanghee You and Jeongjin Park Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Miso Lee and Jinyoung Kim School of Education, Chonnam National University, Yongjae Kim Dept. of Korea INS pharmaceutical Research Institute, Kyunghee Jung Dept. of Jeonnam Biotechnology Research Center, Kyungtaek Oh Dept. of Jeollanamdo Regional Innovation, Woojin Jun Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University

A fermented tumeric (*Curcuma longa* L. : FCL) powder is a useful food material with a higher medical potential and a better taste than unfermented tumeric. In the present study, the hepatoprotective effects of FCL powder were studied using CCl₄-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. The rats were divided into four groups: NC (control), CC (1.25 mL/kg of CCl₄), FCL (1.25 mL/kg of CCl₄ plus 0.03 g/kg of FCL powder), and FCH (1.25 mL/kg of CCl₄ plus 0.3 g/kg of FCL powder). A single oral dose of CCl₄ at 1.25 mL/kg showed the significant hepatotoxicity, as evidenced by a dramatic elevation in the serum GOT, GPT, LDH, and ALP activities and an increased incidence and severity of histopathological hepatic lesions in rats. In addition, CCl₄ treatment exhibited a significant elevation in MDA level, and a drastic decrease in the concentration of GSH and the activities of CAT, SOD, GST, and GPx, which suggested a role of oxidative stress in CCl₄ hepatotoxicity. However, pretreatment with FCL powder showed a significant hepatoprotective effects against CCl₄-induced hepatotoxicity and oxidative stress as stimulated by the enzyme activities and GSH level in rats.

Lactobacillus plantarum YS 712를 이용한 대두발효액이 염증성 장 질환의 면역조절 기능에 미치는 영향

이성애*, 김희영, 김준학, 홍성길, 이주연, 황성주 (주)이룸, 오세종 전남대 동물자원학부, 박동준 한국식품연구원 생물소재연구팀

콩은 아미노산 조성면에서 우수한 식물성 단백질 공급원이며, 다양한 기능성을 소유하고 있어 콩에 대한 관심이 높아져 가고 있다. 하지만, 콩은 특유의 비린내와 낮은 소화율을 가지고 있어 이를 해결하기 위한 방법 중 하나로 유산균을 이용한 발효 방법이 알려지고 있다. 따라서, 본 연구에서는 신규 유산균주인 *Lactobacillus plantarum* YS-712를 이용한 대두발효액을 제조하여, 장관면역에 미치는 영향을 알아보도록 하였다. Balb/c mouse에 DSS를 5일간 처리하여 대장염증을 유발시킨 후, 대두발효액을 섭취시켜 장관 내 IgA 분비량, 배변량을 측정하였다. 측정 결과, 신규 유산균을 이용한 대두발효액은 대조군에 비해서 대장내 IgA 생성량을 증가시켰으며, 섭취 기간이 늘어날수록 IgA 생성량이 증가하는 것으로 나타났다. 또한, 배변량도 대조군에 비해서 대두발효액을 섭취한 군이 증가하는 것으로 관찰되었다. 따라서, 신규 유산균주를 이용한 대두발효액은 장관면역에 영향을 미치는 것으로 나타나, 염증성 장질환에 유용한 영향을 미칠 것으로 판단되며, 차후 대두발효액의 면역조절 기능에 대한 기전 연구가 수행되어야 할 것이다.

산마늘 추출물이 사람주 간암 세포 HepG2의 세포사멸에 미치는 영향

이은숙*, 김진희 덕성여자대학교 식품영양학과

산마늘(*Allium victorialis* var. *palatiphyllum*)은 한국의 지리산, 오대산, 울릉도 등지의 높은 산지에서 발견되는 백합(Liliaceae)과의 식물이다. 대부분의 알 발병은 암세포의 발생 항산화 체계의 불균형에 의한 DNA, 세포 조적 손상에 의해 발생되어진다. 본 연구는 사람주 간암세포(HepG2)의 사멸에 산마늘의 부위별(잎, 뿌리, 줄기, 꽃)이 미치는 영향을 연구하였다. 산마늘은 일반 분석법에 준하여 건조된 산마늘의 잎, 줄기 뿌리부분을 80% EtOH 열탕 추출, 농축하여 EtOH extract를 얻었다. 이 EtOH extract를 다시 CHCl₃, EtOAc, *n*-BuOH을 이용하여 순차적으로 분획, 농축하였다. cell viability를 알기 위해 MTT Assay 결과 산마늘 부위중 잎이 가장 효과를 보였으며, 잎 fraction 중에서는 Butanol과 Chloroform중에서 cell viability가 가장 낮았다. 이를 바탕으로 산마늘의 잎 fraction만을 가지고 ROS Assay를 한 결과 24시간과 48시간 후에서 잎의 butanol과 Chloroform중에서 ROS 증가 효과를 보였다. 이로써 산마늘 잎의 butanol과 chloroform중이 ROS의 증가를 통해 간 암세포의 사멸을 가장 많이 일으키는 것으로 생각되어지며 이를 자세히 관찰해 보기 위해 세포의 형태를 관찰해 보는 DAPI staining과 세포의 증식과 사멸을 구별해 보는 Hoechst/PI staining을 해 봄으로서 ROS와 같은 결과를 관찰해 볼 수 있었다.

Rhum undulatum Inhibits Atherosclerosis by Regulating Inflammatory Responses in High Fat Fed Rabbits

Sunghye Park*, Jiyun Ahn, Suna Kim, Jaeho Park and Taeyoul Ha Korea Food Research Institute

To understand the molecular mechanisms underlying alterations the physiologic status of atherosclerosis by *Rhum undulatum* supplement, we examined the expressions of inflammatory genes and pathologic morphology on aorta in hypercholesterolemic rabbit. Male rabbits were fed a normal diet, a high-cholesterol diet (HC), or a HC diet containing 1% extract of *Rhum undulatum* (RHU) for 8 weeks. RHU resulted slight decrease in body weight but no significant changes in total cholesterol and triglyceride compared with the HC group. The expressions of genes involved in inflammatory responses such as P-selectin, vascular adhesion molecule-1, intercellular adhesion molecule-1 and monocyte chemoattractin protein-1 were significantly reduced in the RHU group. The expressions of inflammatory proteins, COX-2 and CD36, were significantly decreased by *Rhum undulatum* treatment. Moreover, RHU group showed decrease of the maximum plaque thickness, artery stenosis and the proportion of the intimal circumference. Our data suggest that *Rhum undulatum* may have great potential as a novel anti-atherosclerosis agent in that both inhibition of inflammatory responses and acceleration of atherosclerotic lesions.

2008 International Symposium and Annual Meeting
Chronic Disease and LOHAS Foods

October 13 - 15, 2008
Ramada Plaza Jeju Hotel, Jeju Island, Korea

Sponsored by

The Korean Federation of Science and Technology Societies
Korea Food & Drug Administration
Korea Food Research Institute
Center for Food & Nutrition Safety Control for Children
Korea Ginseng Corp.
Nongshim Co., Ltd.
Pulmuone Holdings Co., Ltd.
Regional Innovation Center for Food Industrial Technology, Mokpo Nat'l Univ.
Boseong-Gun
Center for Changnyeong Onion Bioindustry
Korea Atomic Energy Research Institute
Program for Functional Foods Using Oriental Herbs, Wonkwang Univ.
Institute of Sunchang Fermented Soybean Products
Jeju Seaweed Industry Development Agency
Jeju Biodiversity Research Institute, HiDI
Marine & Environmental Research Institute, CNU
Amway Korea Ltd.

KFN The Korean Society of Food Science and Nutrition

Oxidative stress has been implicated in the pathogenesis of alcoholic liver injury, and the induction of cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) by ethanol appears to be one of the mechanisms through which ethanol generates the oxidative stress. This study was conducted to investigate the hepatoprotective effect of hot water extract (TOH) from the root of *Taraxacum officinale* against alcohol-induced oxidative stress in mice. The mice were divided into 4 groups: i) NC; saline, ii) EC; 5 g/kg b.w. of EtOH, iii) TOH-L; 5 g/kg b.w. of EtOH with 0.25 g/kg b.w. of TOH, and iv) TOH-H; 5 g/kg b.w. of EtOH with 1 g/kg b.w. of TOH. Four groups were orally administered for 8 days. The EC group was shown the high levels of oxidative damages, revealing the significant elevation of hepatic MDA concentration with the drastic reductions of GSH level and CAT, GST, GR, and GPx activities, which indicating a role of oxidative stress in EtOH hepatotoxicity. However, TOH-H group revealed a significant protective effect against EtOH-induced hepatotoxicity and oxidative stress. A decrease in the hepatic MDA level confirmed that the treatment with TOH could effectively protect against the hepatic lipid peroxidation induced by EtOH. Also, the antioxidative status was improved by the supplementation of TOH as evidenced by the elevation of GSH level and antioxidant enzyme activities. These results suggest that TOH might be considered as a useful agent in the prevention of liver damage induced by oxidative stress.

P8-280

Comparisons of Physicochemical Characteristics of Fruits from *Rubus coreanus* Miq. by Cultivar and Cultivation Area
Somi Yi¹, Jeongjin Park¹, Yanghee You¹, Kwontack Hwang², Jeongmin Lee³, Kyungmi Kim⁴ and Woojin Jun¹. ¹Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, ²Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, ³Dept. of Medical Nutrition, Kyunghee University, ⁴Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College

Rubus coreanus Miq. (*Bokbunja*) is a wild berry belonging to Rosaceae genus, of which application areas have been expanded due to many health effects. *Bokbunja* fruit is high in carbohydrates and dietary fibers. It also contains various phenolic compounds and flavonoids. To compare varietal and areal differences in physicochemical properties, 3 kinds of *Bokbunja* fruits were collected in 3 different areas: B-1, domestic origin; B-2, foreign origin; and B-3, foreign origin. B-1 exhibited 10.9 Brix, which was higher than B-3. The pH's of 3 *Bokbunja* fruits ranged from 3.1~3.5. A relatively high value of lightness was found in B-1, with the significantly high value of redness. The B-1 contained the high levels of Ca, Mg, Na and P. Also, B-1 possessed the comparable range of phenolic compounds and flavonoids with the high free radical scavenging potentials.

P8-281

Hepatoprotective potentials of *Curcuma longa* L. against alcohol-induced oxidative stress *in vitro*
Jinyoung Kim¹, Jeongjin Park², Yanghee You², Kwontack Hwang³, Jeongmin Lee⁴, Kyungmi Kim⁵, Seongkoo Kang⁶, Heejong Chung⁷, Yoohyun Lee⁸ and Woojin Jun¹. ¹School of Education, Chonnam National University, ²Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, ³Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, ⁴Dept. of Medical Nutrition, Kyunghee University, ⁵Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College, ⁶Research Instrument Center, Suncheon National University, ⁷Dept. of Science and Technology, Chonnam National University, ⁸Dept. of Food and Nutrition, Suwon University

Alcoholic liver disease is a major medical complication of drink-

ing alcohol. Oxidative stress plays an important role in the development of alcohol liver disease. The present study was carried to evaluate the *in vitro* effect of *Curcuma longa* L. (CL) on autoxidation and lipid peroxidation by alcohol-induced oxidative stress. The CL was extracted by hot water (CLH) and 80% EtOH (CLE). The CLE exhibited slightly higher free radical scavenging activities and lipid peroxidation inhibitory potential than CLH. However, CLH showed the high hepatoprotective activity against oxidative stress induced by alcohol compared to CLE. The CLH treatment along with alcohol resulted in the elevations of GR and GPx activities compared to the alcohol-treated cells. Since CLH had the high hepatoprotective effect, it was further fractionated by partitioning with chloroform (CLH-C), ethyl acetate (CLH-E) and water (CLH-W). When cytotoxicities of the fractions were determined, three fractions showed no cytotoxicity up to 100 ug/mL. In this stage, CLH-C exhibited the relatively high hepatoprotective effect although CLH-E had the highest radical scavenging activity. Based upon these results, *Curcuma longa* L. possessed the hepatoprotective capability against the alcohol-induced oxidative stress, and their effects resulted from the stabilization of the intracellular antioxidant defense system.

P8-282

***In-vitro* Hepatoprotective Effects of Fermented Tumeric (*Curcuma longa* L.) Extracts against Alcohol-Induced Oxidative Stress**

Heami Sung^{1*}, Jeongjin Park¹, Yanghee You¹, Kwontack Hwang², Jeongmin Lee³, Kyungmi Kim⁴, Yongjae Kim⁵, Yoohyun Lee⁶ and Woojin Jun¹. ¹Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, ²Dept. of Food and Nutrition, Nambu University, ³Dept. of Medical Nutrition, Kyunghee University, ⁴Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College, ⁵Korea INS Pharmaceutical Company, ⁶Dept. of Food and Nutrition, Suwon University

This study was conducted to investigate the hepatoprotective effects of the extracts from fermented Tumeric against alcohol-induced oxidative stress. Fermented Tumeric was extracted by cold water (FTH), hot water (FTH), 80% EtOH (FTE), and MeOH (FTM). The yield of each extract was 17.4%, 23.8%, 10.0%, and 6.4%, respectively. The FTM exhibited the highest total polyphenol (6.4% as gallic acid equivalents) and flavonoids (3.5% as catechin equivalents) levels. The antioxidant capacities were measured by the DPPH radical- and superoxide anion radical-scavenging activities, and TBARS generation inhibitory activity. According to the DPPH assay, FTM showed the highest efficiency of free radical-scavenger activity among the extracts. When cytotoxicities of the extracts were determined, FTE showed no cytotoxicity up to 1,000 ug/mL. On the other hand FTH revealed the cytotoxicity from 1,000 ug/mL, FTE from 200 ug/mL, and FTM from 100 ug/mL. The hepatoprotective effects of extracts were examined on HepG2 cell expressing CYP2E1 when treated with alcohol. Obtained results suggest that cold water extract from *Curcuma longa* L. was confirmed to possess the hepatoprotective capability against the alcohol-induced oxidative stress in HepG2 cells expressing CYP2E1.

P8-283

Effect of *Helianthus tuberosus* on Anti-Obesity in C57BL/6J mice

Bo-Ram Choi¹, Youn-Soo Cha. Department of Food Science & Human Nutrition, Chonbuk National University

The aim of study was to evaluate the anti-obesity effect of *Helianthus tuberosus*(HT) in C57BL/6J mice. Forty male

2008년 정기총회 및 학술대회

주제 : 친환경 농산 발효식품의 발전 방향

주최/주관 : (사)한국식품저장유통학회, 전통식품첨단화인력양성사업단(NURI)

후 원 : 한국과학기술단체총연합회, 한국학술진흥재단, 보매양조(주), 옥반식품
목포대학교 식품산업지역혁신센터, 조선대학교 기초과학연구원

OLO, POP, and POO. As the weight ratio of pine nut oil decreased, the content of Σ SUFA (total unsaturated fatty acid) decreased. Inevitably, a reduction in tocopherol and phytosterol were observed in the products. After the reaction, the contents of tocopherols (α -tocopherol, γ -tocopherol) and phytosterols (campesterol, stigmaterol, β -sitosterol) decreased. Comparison with the physical blends, the physical properties of the interesterified products altered and showed lower solid fat contents, slip melting points, different melting and crystallization behaviors. The results showed that SMP of each product (after interesterification) was lowered in the range of 32.0-39.5°C. Also, the results from differential scanning calorimetry (DSC) showed that SFC decreased after interesterification. The present study suggested that the desirable solid fat could be produced from Pn and Ps with various weight ratios.

P5-18

Exercise-Enhancing Effect of *Curcuma longa* L. Extracts in Relation to Antioxidant Capacity

Miso Lee*, Jeongjin Park¹, Yanghee You¹, Kwontack Hwang², Jeongmin Lee³, Kyungmi Kim⁴,
Seongkoo Kang⁵, Heejong Chung⁶, and Woojin Jun¹

School of Education, Chonnam National University,

¹Dept. of Food & Nutrition, Chonnam National University,

²Dept. of Food & Nutrition, Nambu University,

³Dept. of Medical Nutrition, Kyunghee University,

⁴Dept. of Biofood Technology, Korea Biopolytechnic College,

⁵Research Instrument Center, Sunchon National University,

⁶Dept. of Food Science & Technology, Chonnam National University

Curcuma longa L. is a native plant of southern Asia and is cultivated extensively throughout the warmer parts of the world. It has been used for centuries as medicines and foods. The present study was designed to determine the effect of *Curcuma longa* L. extracts on antioxidative status in exhaustively-exercised male ICR mice aged 5 wk. The *Curcuma longa* L. was extracted by hot-water (CLH) or methanol (CLM). Mice were separated into 3 groups: control group was given 10% tween 80; and the other groups were given either 1 g/kg/day of CLH or CLM. Mice were exercised after single oral-administration and sacrificed. Liver was homogenized and deposited at -70°C until analysis. Activities of hepatic antioxidative enzymes such as CAT, GST, GR and GPx and level of non-enzymatic antioxidant such as GSH in sample groups were relatively high when compared to the control group. Also, MDA level was low in sample groups. Based upon these results, it is suggested that both CLH and CLM possess the stimulatory effect on exercise endurance capacity by antioxidant capacity.

2. 특 허 출 원

관인생략
출원번호통지서

출원일자 2009.04.15
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(7419)
출원번호 10-2009-0032713 (접수번호 1-1-2009-0226885-26)
출원인명칭 전남대학교산학협력단(2-2004-036577-5)
대리인성명 황이남(9-1998-000610-1)
발명자성명 전우진 정희중 박정진 유양희
발명의명칭 체중증가의 방지 및 혈중 중성지방의 감소를 위한 울금 메탄올 추출물을 함유하는 식이조성물

특 허 청 장

- 출원번호통지서 출원 이후 심사진행 상황 등을 확인하실 때에는 출원번호가 필요하오니 출원번호통지서는 출원절차가 종료될 때까지 보관하시기 바랍니다.
- 2-가. 특허 및 실용신안 출원은 심사청구 후 평균 16개월에 1차 심사처리가 이루어지고, 상표 및 디자인은 출원 후 평균 10개월에 1차 심사처리가 이루어집니다.
 - 2-나. 특허 및 실용신안은 특허청 홈페이지(<http://www.kipo.go.kr> 이하 "홈페이지"라 함)내 "특허로(은라인전자출원)" 사이트 "나의출원등록조회"에서 1차 심사처리 1개월 전에 1차 심사결과통지 예정시기를 확인할 수 있으며, 동 사이트 코너인 "통지서비스신청"에서 1차 심사결과통지 예정시기 알림 서비스를 신청하시면 1차 심사처리 약 1개월 전에 해당 출원 건의 1차 심사결과통지 예정시기를 SMS 또는 E-mail 서비스로 제공 받을 수 있습니다.(단 홈페이지 회원에 한하여 통지서비스 신청 가능)
 - 2-다. 상표 및 디자인은 특허청 홈페이지(공지사항)에 류별 1차 심사결과통지 예정시기를 매월 게시하고 있으며, 특허정보검색서비스 시스템(<http://www.kipris.or.kr>)을 통해 개별 출원건에 대한 1차 심사결과통지 예정시기를 알려드립니다. 또한, 출원시 1차 심사결과통지 예정시기 알림 서비스를 신청하시면, SMS 또는 E-mail 서비스로 제공해 드립니다.

※ 상기 1차 심사결과통지 예정시기는 사정에 의해 다소 늦거나 빨라 질 수 있습니다.
2-라. 1차 심사결과통지시(심사관이 특허결정의 등본을 송달하기 전 또는 심사관이 최초로 거절이유를 통지한 후 출원인이 그 거절이유를 받기 전 중 빠른 때)까지 귀하께서는 특허출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 명세서 또는 도면을 보정할 수 있습니다.
- 심사청구 특허출원은 출원일로부터 5년 이내에 특허법시행규칙 별지 제24호서식에 의거 심사청구를 하지 않으면 그 출원은 출원취하된 것으로 간주하여 처리됨을 알려드립니다.
- 우선심사 특허출원 또는 디자인등록출원에 대해 조기에 심사받기를 원하시면 우선심사제도를 이용하실 수 있습니다.
- 주소 등 변경신고 출원인의 주소 등을 변경하고자 하는 경우에는 특허법 시행규칙 별지 제4호의 2서식에 의한 출원인 정보변경(경정) 신고서를 제출하여야 합니다.
- 산업재산권 표시, 광고요령 특허 등 산업재산권을 출원 중에 있는 경우에는 해당 산업재산이 출원상태임을 다음과 같이 표시하여야 하며, 이를 위반할 경우 특허법 제224조 및 제227조에 의거 처벌 받게 됩니다.
예) 특허출원 10-2001-0000001, 실용신안등록출원 20-2001-0000001, 디자인등록출원 30-2001-0000001, 상표등록출원 40-2001-0000001
- 미성년자 미성년자인 출원인이 만20세에 도달하는 경우 출원인의 부모 등 법정대리인의 대리권은 소멸하게 되므로, 출원인은 직접 또는 대리인을 새로이 선임하여 특허에 관한 절차를 밟을 수 있습니다.
- 문의처 기타 문의사항이 있으시면 특허고객 콜센터(1544-8080)에 문의하시거나 특허청 홈페이지(www.kipo.go.kr)를 참고하시기 바랍니다.
- 특허청 주소 302-701 대전광역시 서구 선사로 139 정부대전청사 4동
특허청 서울사무소 주소 135-911 서울특별시 강남구 역삼동 647-9 한국지식센터
FAX) 대전 : 042-472-7140, 서울 : 02-566-8454

독점공급계약서

주식회사 우리술(이하 “갑”이라 칭한다.)와 주식회사 해신(이하 “을”이라 칭한다.)은 상호 신의성실 원칙에 입각하여 “갑”, “을” 간에 아래와 같이 독점공급계약을 체결한다.

제1조 【목적】

본 계약은 “갑”이 “을”에게 제2조에 정하는 물품을 독점 공급하고 “을”은 일본전지역을 안정적으로 확장시키고 공동의 번영을 위해 상부상조의 바탕으로 상호이익을 도모함을 목적으로 한다.

제2조 【독점 계약 사항】

1. 울금타길리를 포함한 “갑”이 생산하는 모든 제품을 “을”이 일본에서 판매할 수 있도록 권리를 부여한다.
2. 전 품목의 동상 사용권(일본에 한함.)
3. “을”이 일본에서 상표등록절차를 희망할 때 “갑”은 그에 준하는 서류를 갖추어 준다.
4. 일본 상표권의 권리는 “을”에게 있다.

제3조 【판매지역】

“을”의 판매지역은 일본전지역으로 한다.

제4조 【인도가격 및 판매가격】

1. 인도가격 “갑”과 “을”협이 협의한 가격으로서 별도의 견적서에 기록한다.
2. 판매가격은 “갑”과 “을” 상호협의 국내유통망 형성을 위한 최선의 가격으로 한다.

제5조 【발주조건 및 품질관리 기준】

1. 최소 발주량- “을”은 1달에 3,000박스 X 12개월= 연간 36,000박스를 최소로 하여 발주한다.
2. 생산시설의 완비- “갑”은 국제품질시스템의 시설을 완비하여야 한다.
3. 위생관리와 품질관리- 철저한 품질관리와 위생관리를 하여야한다.
3. 하자발생- “갑”이 공급한 상품 중 제5조 2항과 3항의 하자로 인하여 국제품질기준에 위배가 되었을 때에는 “갑”은 그 책임을 지고 “을” 요청에 따라 변상 또는 교환조치를 즉시 행한다.

제6조 【계약기간 및 종료】

업사의 각종 비밀을 준수하고 이를 제3자에게 누설하여서는 아니 된다.

제8조 【기 타】

이 계약에 명시되지 않은 사항은 일반 상관례에 준한다. 본 계약을 후일에 증하기 위하여 본 계약서 2통을 작성하고 각자 서명 날인하여 1통씩 보관한다.

제9조 【재판 관할권】

분쟁 발생시 재판 관할권은 “을” 의 관할지역으로 한다.

제10조 【특약사항】

최초계약 성립일- “갑” 은 모든 시설이 완료된 후 “을” 에게 통보하여 승인한 날로 한다.

위와 같은 합의하고 이를 증명하기 위하여 기명날인 후 “갑” 과 “을” 은 계약서 2통을 작성하여, 각각 서명날인 후, 각 1통씩을 보관한다.

2009년 04월 20일

갑 주 소 : 410-81-68472
회 사 명 : (주)우리솔 박현순
대 표 자 : 광주광역시 광산구 남산동 733-6
연 락 처 : 제 조 주 류



을 주 소 : 神奈川県横浜市神奈川区神奈川2-11-2
회 사 명 : 株式会社 海 神
대 표 자 : 代表取締役 孫 香 蘭
연 락 처 : TEL 045-451-2657



