

발 간 등 록 번 호

보안과제(), 일반과제(O) 과제번호 108062

11-1541000-001078-01

국산 향신료 성분을 이용한 식욕 억제 기전의 체중조절용
제품 개발 연구

(Developed dietary health supplements using domestic
agriculture products)

국산 향신료를 이용한 체중조절제품 개발 연구
(A study for developed dietary health supplements using domestic
spices)

경희대학교

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “국산 향신료 성분을 이용한 식욕 억제 기전의 체중조절용 제품 개발 연구”
과제의 보고서로 제출합니다.

2011 년 6 월 24 일

주관연구기관명 : 경희대학교

주관연구책임자 : 진 영 호

협동연구기관명 : 한국식품연구원

협동연구책임자 : 이 영 경

요 약 문

I. 제 목

국산 향신료 성분을 이용한 식욕 억제 기전의 체중조절용 제품 개발 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근의 소득 수준의 향상과 생활 습관의 변화에 동반되어 비만 인구가 급격하게 증가하고 있다. 비만은 단순한 체중만 증가시키는 것이 아니라 여러 가지 만성 질병의 발생과 밀접한 상호관계를 가지고 있어 고혈압, 당뇨병, 고지혈증 등의 질병 발생의 주된 원인이 되고 있다. 이러한 질병의 치료를 포함한 비만에 따른 직접비용(의료비)은 5400억~8,000억원에 이르며 조기사망에 의한 상실소득과 입원 및 외래 방문시간에 의한 상실소득 등 간접비용을 합할 경우 1조8000억원에 육박할 것으로 추산되고 있다. 특히 고지혈증, 고혈압, 심혈관 장애 등의 위험이 있는 40-50대의 장년층 및 유아기와 소년기에서의 체계적 예방과 치료 활동이 이루어지지 않고 있어 이들에 의한 의료비 지출 및 결근, 휴직 등의 업무 능력 저하로 인한 사회적 손실이 문제시 되고 있으며, 소아비만 환자의 급증 추세로 미루어 볼 때, 점차 그 손실은 증가할 것으로 사료된다. 본 연구에서는 적극적인 비만 문제 해결 방법의 일환으로 비만 발생의 기전을 이해하고, 이를 바탕으로 한 체중조절을 할 수 있는 약품 또는 식품 소재 개발을 목표로 한다. 이를 위하여 포만감을 전달하는 미주신경의 세포체를 자극할 수 있는 소재를 국산 향신료에서 검색하여 이를 바탕으로 체중조절효과를 가진 제제의 개발을 시도하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 마늘, 겨자, 계피, 고추 등의 국산향신료의 주성분 중 포만감을 전달하는 미주신경을 활성화 시키는 성분의 확인 한다.
2. 동일한 활성성분들을 이용하여 뇌의 고립로핵의 포만감 중추 세포에 신경전달물질인 GABA와 Glutamate를 방출시키는 필요한 용량을 결정.
3. 활성 성분을 포함한 향신료의 내용물이 실험동물의 체중조절에 미치는 영향을 측정.
4. 가장 좋은 효과를 보였던 향신료의 추출물이 식욕억제를 또는 대사 량의 증가 중 어느 쪽에 효과를 보였는지를 동물실험에서 확인.
5. 위의 두 가지 효과를 가진 성분을 적정 농도로 배합한 체중조절 보조 식품을 제조

IV. 연구개발결과

소재 효능 평가

갓, 깻잎, 겨자잎, 고춧가루, 대파, 마늘, 미나리, 부추, 산초, 생강, 쪽갓, 실파, 양파, 청양고

추, 파슬리, 풋고추 등 국내에서 생산되는 향신료 16종을 선별하여 세척 후, 50 °C에서 열풍건조하였고, 이것을 분말화하여 추출시료로 사용하였다. 시료의 종류가 너무 많아 capsaicin과 고추를 포함한 그룹과 그이외의 그룹으로 나누어 -50 mM로 전압이 고정된 (Voltage clamp) 미주신경에서 반응의 크기와 반응률을 확인하는 실험을 진행하였다. 먼저 고추류에서는 실험에 사용된 전부의 물 추출물들이 capsaicin보다 큰 효과를 보였으며 반응의 크기는 청양고추>고춧가루>파리고추>capsaicin의 순이었다. 이러한 결과와는 달리 반응률은 파리고추, 고춧가루 (100%)>청양고추 (64.7%)>capsaicin (43.5%)의 순서였다. 고추류 이외의 그룹에서는 반응은 (pA) 생강이 (236.7 ± 47.4)>겨자잎 (181 ± 96.2)>갓 (134.6 ± 59)>깻잎 (113.1 ± 30.6)>파슬리 (110.6 ± 29.3)>마늘 (107.20 ± 26.7)등의 순으로 효과가 있었다. 각 추출물의 반응성은 깻잎과 파슬리 (100%)>실파 (88.9%)>미나리와 쪽갓 (83.3%)>부추 (80%)>대파 (77.8%)>갓과 산초(75%)>생강(71.4%) 등의 순이었다. 겨자유의 주성분인 AITC에는 27.6%의 미주신경만이 반응하였다.

효능 평가 결과, 반응성과 반응의 크기에서 모두 좋은 효능이 있었던 파리고추 물추출물에 대한 용매별 분획수율은 ether 분획이 0.39 %, ethyl acetate 분획이 0.82 %, butanol 분획이 3.94 %, 잔사가 18.74 %로 조사되어 졌다. 파리고추의 유기용매에 의한 각 분획의 미주신경에 대한 반응을 확인은 분획의 수율이 낮아서 실험이 불가능했던 ethyl acetate 분획을 제외한 그룹만으로 실시하였다. 따라서 BuOH residue의 활성을 water extract와 직접 비교 하였으며 BuOH fraction이 물 추출물의 4.5배의 반응을 나타내었다. 따라서 파리고추의 활성성분은 BuOH층을 이용하여 추출 할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

고추류의 capsaicin 및 기타 성분 함량

3가지 고추류 물추출물의 capsaicin과 dihydro-capsaicin의 농도를 측정하였다. Capsaicin 함량은 파리 고추가 평균 3.89 mg%, 붉은 고추 12.94 mg%, 청양고추 66.55 mg%으로 나타났으며, dihydro-capsaicin은 각각 1.25, 3.06, 7.93 mg%으로 청양고추가 파리고추에 비해 capsaicin 함량은 평균 17.1배, dihydro-capsaicin은 6.3배 높은 것으로 나타났다. 고추 물 추출 건조물 중의 polyphenol 함량은 파리고추가 평균 4.34 %, 붉은 고추가 4.02. 청양고추가 4.19 %로 나타났다. 파리고추와 청양고추의 chlorophyll a가 각각 평균 함량 0.0029와 0.0023 %로 높은 반면, 붉은 고추의 추출물에는 chlorophyll b의 함량이 평균 0.0049 %로 높게 측정되었다. 또한, total chlorophyll함량은 파리고추, 붉은 고추, 청양고추가 각각 평균 0.0061, 0.0059, 0.0042 %로 나타났다.

Active ghrelin 분비 억제효과 확인-*in vivo* 연구-I

몸무게 150-200g 전후의 male SD rat을 사용하여, 동물실에서 자유로이 먹이와 물을 섭취하게하고 일주일 후에 아래와 같이 5군으로 나누고 각군을 7마리로 하여 실험을 실시한다. 실험동물을 경구 투여 12시간 전부터 절식시킨 후 후보 천연물 추출물과 대조군을 매일 쥐에게 300mg/Kg을 경구 투여한 후 1시간 후 혈액 0.5ml를 취하여 아래와 같이 전처리 후 혈중 active ghrelin의 량을 측정한다. 각 천연물의 경구투여에 의하여 혈중의 ghrelin의 농도에 변화가 있었다. 대조군의 ghrelin의 농도가 285.5 ± 47.06인 것에 비하여 파리고추, 파리고추와 인삼의 3대 1 혼합물, 생강에서 각각 20, 22. 16 %의 ghrelin의 농도 감소가 있었다. 하지만 겨자 잎에서는 어떠한 감소도 관찰 할 수 없었다. 따라서 천연물의 경구투여에 의한 효과는

파리고추와 인삼의 3대 1 혼합물 > 파리고추 > 생강의 순서로 효과가 있었다.

혈중 acylated / unacylated ghrelin분비 억제효과 확인-in vivo 연구-II

Acylated ghrelin은 군간의 유의적인 차이는 없으나, 평균 농도에서 unacylated ghrelin의 경우 보다 시료 투여에 의한 영향이 더 큰 것으로 나타났다. 대조군의 혈중 농도는 평균 1.47 ± 0.24 pg/ml인 반면, 파리고추 물추출물 투여군은 1.40 ± 0.32 , 파리고추와 인삼 물추출물 혼합 투여군은 1.30 ± 0.21 , 생강 물추출물 투여군은 1.31 ± 0.16 , 겨자잎 물추출물 투여군은 1.21 ± 0.30 pg/ml인 것으로 조사되었다. 이상의 결과에서 본 소재는 혈중 ghrelin 농도를 낮게 유지하여 공복감을 억제하기 위해서는 식사 전/ 공복상태의 섭취가 유리한 것으로 판단된다.

고지방 식이모델에 대한 효능 연구-in vivo 연구-III

C57BL/6 mouse(M)를 6주령짜리(17g 전후) 12마리를 1군으로 하여 정상식이군, 고지방식이군, 고지방식이+ 파리고추추출물 식이군, 고지방식이+ 파리고추·인삼 추출물(3:1)군, 고지방식이+ 생강추출물 식이군, 고지방식이+ 겨자잎 추출물 식이군의 6군에 대해 4주간 식이섭취량, cholesterol 함량, 혈중 active ghrelin 함량을 관찰하였다. 그러나, 공복시에는 active ghrelin 함량을 낮추는 효과가 있던 시료들이 고지방 식이와 함께 공급하였을 때, 식이 섭취량이 조절되지않은 결과를 반영하고 있다. 이는 고지방 식이의 경우, 식이에 포함된 지방이 소장내 cck 분비를 자극하여 포만감을 주므로 체중 증가 억제면이나 혈중 ghrelin 함량에 영향을 끼치지 못한 것으로 분석되었다.

제품 제조 및 저장성 평가

요구르트 제조

유산균 검색을 통하여 요구르트 제조시 curd 형성이 유리한 균주를 선발하여, 해당 균주를 이용한 요구르트 제조 base의 배합비 및 해당 기능성 시료의 혼합 추출물첨가가 기호 도에 미치는 영향을 조사하였다. 공시균주 및 상업균주 15종을 이용한 요구르트를 제조하였을 때, 안정제 없이 가장 점도가 큰 요구르트 제조 가능한 균주(ABT-B)를 선발하였다. ABT-B(60U) 균주를 전지우유와 탈지분유(4%)를 섞은 혼합유에 접종하여 24시간 발효 했을 때, 부드럽고 고운 curd를 형성하였다. 이렇게 제조된 plain 요구르트에 파리고추 추출물과 인삼 추출물을 고형분 함량 대비 3:1로 혼합한 혼합 추출물을 넣은 요구르트의 관능 평가를 실시하였다. 그 결과, 혼합물 0.1 %를 첨가한 요구르트의 기호성이 가장 우수하였다.

요구르트의 저장성 평가

2차년도의 레시피로 제작된 Curd 형 요구르트의 저장 중 pH 및 생균수 변화를 관찰하였다. 저장기간 중 7일까지는 생균수가 대조군의 경우 9.00×10^8 에서 1.08×10^{10} 까지 증가하였고, 시료 첨가군의 경우 1.48×10^{10} 까지 증가하였으나, 그 이후 점차 감소하여 저장 12주 후에는 대조군은 1.74×10^9 , 시료 첨가군은 6.68×10^8 까지 생균수가 감소하였다.

유산균 식품의 부패 지표라고 할 수 있는 pH는 12주간 3.82~4.01 유지하여 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

과우치형 음료의 개발

고추 특유의 매운 맛을 덜 느끼게 할 수 있는 음료 배합비 설정을 통해 고형분 함량이 비교적 높은 과우치 형 음료를 개발코자 하였다. 그리하여 최종적으로 파리 고추+ 인삼 추출물 베이스(고형분 함량 대비 1:3) 0.5%+ 현미 가루 녹차 0.5%+ 과당 2%+ 레몬 농축액 0.2% + 젤란검 0.01%+ 구연산 0.01%+ Vit C 0.005%이 조성비를 가진 과우치 음료를 제조하였다. 이 음료의 매운 맛 강도는 0.5 % 파리 고추+ 인삼 추출물 베이스로만 된 대조구의 경우 4.93 ± 0.9 이였으나, 개발된 과우치 음료의 경우 3.67 ± 1.1 매운 맛 강도가 줄었음을 확인하였다. 이 음료의 종합적 기호도는 종합적인 기호도는 대조구 2.93 ± 1.22 , 현미녹차 분말 음료 4.13 ± 1.25 로 나타났다.

과즙형 음료의 개발

고추 추출물의 함량을 최소화 하여 가볍게 마실 수 있는 과즙 음료를 개발코자 하였다. 그 결과, 최종적으로 석류농축액 2.5 %, 아로니아 농축액 0.5 %, 레몬농축액 0.1 5%, 사과 농축액 0.8 %, 적고추 농축액 0.1 %, 올리고당 1.2 %, polydextrose 1 %의 음료를 제조하였다. 여기에 인삼을 첨가할 경우 0.1 % 이하로 첨가하는 것이 색상 기호도가 좋은 것으로 나타났다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

제품 활용 계획

음료의 콘셉트에 부합하는 2012년 봄·여름 시즌에 생산 및 판매를 목표로 하고 있다. 과우치형 음료의 경우는 홈쇼핑 판매용 제품으로, 천연 과즙 음료의 경우는 350 ml PET 제품 또는 농축 형태로 제작하여 50 ml 병제품으로 편의점 및 대형마트 유통망을 통하여 시판할 계획으로 있다.

SUMMARY

I. Title

Develop dietary health supplements using domestic agriculture products

II. The purpose and necessity of research and development

Recent improvements in income levels has been accompanied by changes in lifestyle and obesity are increasing rapidly. Obesity is not only increase body weight but also cause several chronic diseases, for example hypertension, diabetes, hyper lipidemia. The direct medicare costs for treat obesity and its related disease reaches up to 540 billion won and the total cost further increase by including indirect costs. The goal of this research is to improve our knowledge for the underlying mechanism of the obesity and based on that develop new type weight control medications or material for supplementary foods.

III. The content of R & D

1. Among the of the domestically grown spices that include garlic, mustard, cinnamon, pepper, and spices screen main ingredients, which can activate vagus nerve.
2. Screen active ingredients that can increase neurotransmitter GABA and Glutamate at nucleus of solitary tract neurons in the brainstem.
3. In vivo, measure impact of active ingredient of spices on weight gain of the experimental animals.
4. Using the best of spice extracts test whether more effective for suppressing appetite or increasing metabolism.
5. Using identified ingredients of the spices formula develop supplementary food that have dietary effects.

IV. Results of the R & D.

Efficacy test of the ingredients

Using Sesame leaf, Mustard leaf, red pepper, onion, garlic, parsley, scallions, pepper, ginger, crown daisy, green onion, onion, Cheongyang pepper, parsley, green pepper, and spices we have tested efficacy. Green pepper and ginger have the most effectively evoked currents response in vagus nerve cells.

Capsaicin and other ingredients content in various type peppers

Using 3 different kinds peppers we evaluated capsaicin and dihydro-capsaicin

concentration. The average capsaicin content in green pepper, red pepper, and Cheongyang pepper were 3.89 mg%, 12.94 mg%, and 66.55 mg%, respectively. Mean while dihydro-capsaicin contents in green pepper, red pepper, and Cheongyang pepper were 1.25, 3.06, 7.93 mg%, respectively.

In vivo study for inhibitory effects for ghrelin secretion

Using male SD rat, we have tested 4 different kind of active ingredients effects for ghrelin secretion. The effect was larger green peppers and a mixture of ginseng > green pepper > ginger order.

Assessment of hypotonic for Manufacture product

- 1) Yogurt manufacture
- 2) Assessment of hypotonic for yogurt manufacture
- 3) Produce pouch type drink
- 4) PET bottle packages

V. Research results and Plans to take advantage of achievements

We have plan to produce one or two different kind of beverages until summer season of the 2012. Our plan is make one pouch type drink for TV home sale and the other one that contain fruit extracts and active ingredients in PET bottle packages. We want to sale PET type through discount store and super market.

CONTENTS

Chapter 1 Overview of Research Development projects

Chapter 2 Current Status of Technical developments at home and abroad

Chapter 3 Results and final products of the Research and Development

Chapter 4 The Achievement and the Contribution to related fields

Chapter 5 Accomplishment from the Research and Development and Future Plans to utilize the accomplishment

Chapter 6 Science and Technology information gathered for Research and Development

Chapter 7 References

목 차

- 제 1 장 연구개발과제의 개요
- 제 2 장 국내외 기술개발 현황
- 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과
- 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도
- 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획
- 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보
- 제 7 장 참고문헌

제 1 장. 연구개발과제의 개요

제1절. 연구개발의 목적

1. 국산 농산물중 체중조절 효과를 가진 소재 개발을 위한 기전 규명
2. 뇌와 감각신경의 포만감을 느끼는 수용체에 선택적으로 작용하여 식욕억제와 체중감소 작용을 나타내는 국산 향신료 성분을 이용 체중감소 효과 상품의 개발

제2절. 연구개발의 필요성

1. 연구개발대상 기술의 경제적·산업적 중요성 및 연구개발의 필요성

가. 경제적 측면

(1) 20세기에 들어와 진행된 산업화에 의한 소득 수준의 향상과 생활 습관의 변화로 인하여 과도한 영양분의 섭취와 육체적 운동의 부족에 의한 비만 인구의 급격한 증가는 미국을 중심으로 한 서구권의 국가에서 시작되었으나 우리나라를 비롯하여 급격한 경제성장을 이룩한 아시아의 국가로도 확대 되고 있음. 이로 인해 비만의 예방과 치료를 위하여 WHO를 주축으로 세계적으로 공통된 노력을 하고 있음에도 불구하고 오히려 비만인구가 점차 확대되는 추세임.

(2) 비만은 단순한 체중의 증가에 따른 관절에의 부담 등을 넘어서 여러 가지 만성 질병의 발생과 밀접한 상호관계를 가지고 있음. 고혈압, 당뇨병, 고지혈증 등의 지속적인 관리와 치료를 필요로 하는 질병 발생의 주된 원인이기도 하여 이러한 상관된 질병의 치료에는 많은 의료자원의 지속적인 사용을 필요로 함으로 인하여 개인적 및 사회적 의료비용의 증가하고 있음. 실제 우리나라에서 비만에 따른 직접비용(의료비)은 5400억~8,000억원에 이르며 조기사망에 의한 상실소득과 입원 및 외래 방문시간에 의한 상실소득 등 간접비용을 합할 경우 1조8000억원에 육박할 것으로 추산됨.

(3) 미국과 같이 심각한 비만 문제를 가지고 있는 나라에서는 비만을 예방 및 치료 가능한 질병의 개념에서 접근하여, 불포화 지방산의 섭취를 감소시키기 위한 식단의 변경, 고 칼로리 탄산음료의 섭취감소, 야채 및 곡물류 등의 다양한 영양분의 섭취를 위한 지속적인 교육 등의 식생활 개선을 위한 국가차원의 노력이 이뤄지고 있음. 뿐만 아니라 체중을 줄이기 위하여 병원 등에서의 상담과 치료에 사용한 비용을 의료비용으로 간주하여 세금 정산시 환급 등의 혜택을 주는 등 국가, 지방단체, 교육 기관 등이 일체가 되어 적극적이고 지속적인 노력을 기울이고 있음.

(4) 우리나라에서도 최근 비만에 대한 사회적, 개인적 관심이 증가되고 있으나 아직은 개인적으로 관리하여야 할 문제로서 인식되는 실정임. 그러나 개인적인 관리마저도 비교적 비만도가 높지 않은 젊은 여성층을 중심으로 한 미용적인 면에서의 접근이 많아 비만 예방 및 해결을 위한 사회적 지원과 역할은 거의 없는 열악한 상황에 처해 있음.

(5) 특히 고지혈증, 고혈압, 심혈관 장애 등의 위험이 있는 40-50대의 장년층 및 초등학교

이하의 사춘기 이전의 유소년기에서의 체계적 예방과 치료 활동이 이루어지지 않고 있어 이들에 의한 의료비 지출 및 결근, 휴직 등의 업무 능력 저하로 인한 사회적 손실이 문제시 되고 있으며, 소아비만 환자의 급증 추세로 미루어 볼 때, 점차 그 손실은 증가할 것으로 사료됨.

(6) 최근의 조사들에서 소아기에 과다한 체지방과 체중을 가진 경우 성장 후에도 비만체형을 유지하게 되는 경우가 높은 것이 지적 되고 있어 소아기에 적절한 체중을 유지하는 것이 매우 중요하다는 것이 주목을 받고 있으나 사회적인 면에서의 재정적인 지원은 물론 교육기관에서의 예방적인 교육도 체계적으로 실시되고 있지 않음. 적극적인 비만 문제 해결 방법의 일환으로 비만 발생의 기전을 이해하고, 이를 바탕으로 한 체중조절을 할 수 있는 약품 또는 식품 소재 개발을 위한 지원이 절실히 필요함.

나. 산업적 중요성

(1) 세계적으로, 개인의 생활 양식 (Lifestyle) 개선을 도모하는 의약품인 ‘라이프스타일 의약품’ 시장이 급성장하고 있음. 특히 그 중에서도 체중의 감소로 체중조절을 할 수 있는 비만치료제의 시장이 급격하게 확대되는 추세임.

(2) 체중조절 효과가 있다고 알려진 식약품의 미국 내 판매량은 2002년에 5조원을 넘어서는 규모여서 다국적 제약기업들을 중심으로 치열한 개발경쟁이 벌어지고 있음. 또한, 국내에서도 비만이 많은 성인병을 초래하는 주된 원인으로 인식되고 있어 이전에는 관심을 많이 가지지 않던 30-40의 중장년층으로 까지 체중 조절제에 대한 관심이 확대됨.

(3) 그러나, 국내에서는 다국적 제약회사의 자회사들이 외국의 본사에서 개발된 제품들을 수입 판매하여 시장을 선점하고 있으며, 국내에서의 비만과 체중조절 기전에 대한 신경생리학과 분자생물학적 기초연구와 이러한 연구들의 성과에 기반을 가진 자체 개발된 제품의 출현이 늦어지면서 이후 국내시장에서의 절대 우위를 외국의 다국적 기업들에게 빼앗길 가능성이 현실화 되고 있음. 따라서 국내 산업의 보호측면에서도 안전하고 효과가 있는 체중조절 소재의 개발은 필수적임.

다. 과학적 중요성

(1) 포만감을 느끼도록 신경계를 자극하는 peptide에 대한 수용체들은 중추 신경계에서는 전뇌의 hypothalamus와 연수의 고립로핵을 (nucleus tractus solitarius: NTS) 중심으로 분포함. 이러한 뇌의 포만감 수용체는 음식물이 소화 흡수된 후 간의 문맥을 통하여 혈중의 영양소의 농도가 상승되어 장관에서 분비되는 CCK, GLP등의 생리물질에 반응하여 음식물의 추가적인 섭취를 감소시킨다고 알려짐. 최근 동일한 수용체들이 중추신경계 이외에도 감각신경인 미주신경의 세포체와 그 axon에도 분포되어 있으며 또한 미주신경의 신경세포의 활성화도 밀접한 관계가 있다는 새로운 연구결과들이 발표되고 있음.

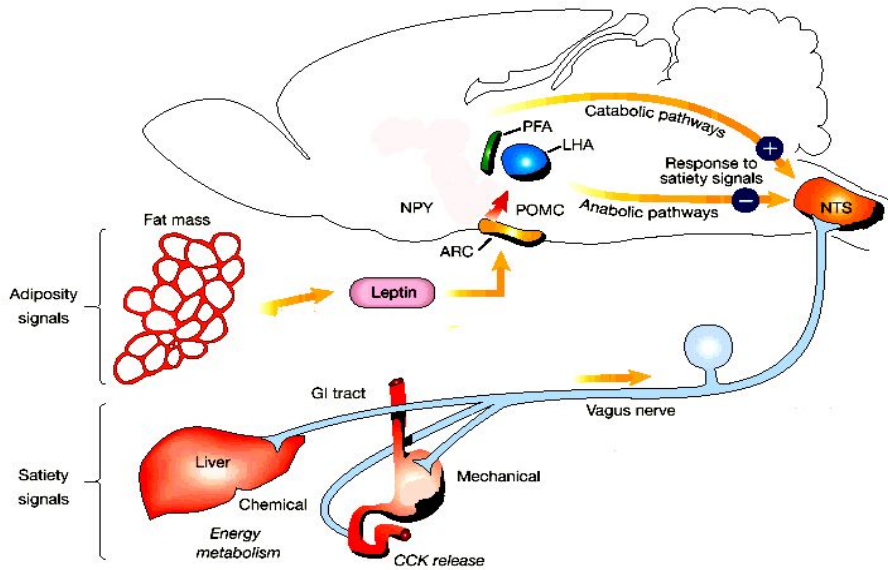


그림 1: Peptide성 수용체와 위 장관의 압력 수용체에서 미주신경 (vagus nerve)을 통하여 포만감을 뇌의 NTS로 전달하는 신호전달의 모식도.

(2) 최근의 지속적인 연구들에서 식후 소화기에서 분비된 peptide와 반응하는 중추의 포만감 수용체와는 전혀 다르게 음식물에 의한 장관의 팽창에 반응하여 포만감을 전달하는 압력수용체가 미주신경에 존재한다는 것이 밝혀 짐 (figure 1).

(3) 장관의 압력 수용체는 섭취된 음식물에 의하여 위장과 십이지장이 팽창되면 즉시 미주신경에 활동전위를 발생시키며 자율신경 중추인 연수의 NTS를 통하여 추가적인 음식물의 섭취를 즉시 중단시키는 효과를 나타내는 역할을 수행함. 또한 섭취된 식품의 영양가에 상관없이 음식물에 의한 장관의 팽창 정도에 비례하여 식욕 저해 작용을 하는 압력 수용체는 미주신경의 peptide 포만감 수용체와 동일한 세포체에 공존하고 있기 때문에 같이 자극하면 음식물의 섭취감소에 상승효과를 일으키므로 효과적인 식욕억제 또는 포만감 야기의 역할을 수행할 수 있음.

(4) 미주신경은 다른 감각 신경들과 유사하게 활동전위의 전도속도가 빠른 A-type 와 상대적으로 늦은 C-type로 구성되어 있는데, 이중 C-type는 식품중의 매운 맛을 내는 고추의 주성분인 capsaicin에 반응하는 TRPV1 수용체가 존재함.

(5) 최근의 본 연구자의 연구실에서는 TRPV1 수용체를 가진 신경세포가 마늘, 겨자 등의 주성분에 반응하는 TRPA1 수용체를 가지고 있다는 것을 밝힘. 이러한 미주신경은 연수의 NTS에서 비만억제 활동을 담당하는 POMC 신경세포 등에 흥분성 신경전달 물질을 방출하는 시냅스를 통하여 연결되어 있음은 알려졌으나, peptide 수용체와 장의 팽창에 반응하는 압력 수용체를 가진 미주신경 중 TRPV1 과 TRPA1 수용체를 가진 신경세포의 비율과 비만억제 작용을 가진 POMC신경 세포의 활성화에 어떻게 관여 하는 정확한 작용 기전에 대해서는

규명된 바 없음.

(6) 본 연구에서는 평상시 섭취되고 있는 식품들 중 포만감과 식욕의 조절에 관여하는 미주신경과 함께 연수 고립로핵의 신경세포 흥분성 조절에 관여하는 TRP 수용체들에 작용하는 고추, 마늘, 겨자 등에서 발견되는 성분들의 수용체에 대한 작용기전을 밝히고, 효과가 명확한 향신료를 가공하여 체중감소를 가져 올수 있는 실제적인 소재를 개발하는데 그 목표가 있음.

제3절. 연구개발의 범위

1. 국산 향신료 중 포만감을 전달하는 미주신경과 뇌의 포만감 중추에 작용하여 식욕 억제를 유도하는 성분의 screening.
2. 향신료 중 유효 성분을 포함한 체중 조절 작용 소재 개발.
3. 체중조절 작용을 가진 기능성 음료 및 tea등의 제품개발.

제 2 장. 국내외 기술 개발 현황

제1절. 세계적 수준 및 연구 현황

1. 현재 까지 가장 많이 이용되고 있는 비만에 대한 대처 방법은 개인의 인내력에 의존하는 방법으로, 섭취한 열량보다 소모하는 열량을 늘리는 방법으로 식사량을 줄이고 운동량을 늘리는 방법임.

2. 그러나, 이러한 방법은 일시적으로 체중의 감소를 가져올 순 있으나 체중의 감소와 운동량의 증가에 의하여 유발되는 공복감 등으로 오히려 식욕이 증가하여 감소된 체중을 장시간 유지하는데 성공하는 경우는 매우 낮고, 다이어트의 Yo-Yo 현상이라는 악순환을 지속시키게 됨. 또한 이 방법은 성장에 필요한 다양한 영양소의 지속적인 공급이 필요한 청소년 층이나 당뇨병환자 등에서는 사용하기 힘들다는 현실적인 문제점들이 지적되고 있음.

3. 최근 유전적으로 비만 형질을 가진 mouse에서 (ob/ob mouse) 지방의 대사를 활성화시키고 먹이의 섭취량을 줄이는 내인성 peptide인 leptin이 발견됨으로 인하여 분자생물학적인 연구를 기반으로 한 획기적으로 다른 형태의 치료방법이 개발되기 시작함. 이 후, 계속된 연구들에서 식욕을 증진 시키는 생리적인 물질로 neuropeptide Y, melanin-concentrating hormone (MCH), ghrelin, 반대로 식욕을 억제하는 물질로 cholecystokinin (CCK), glucagon-like peptide (GLP), Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART)등이 발견됨. 또한 이러한 식욕 및 대사조절 작용을 가진 물질들의 수용체가 뇌의 hypothalamus, 연수의 nucleus tractus solitarius (NTS) 미주신경의 세포체인 nodose ganglion 세포 등에서 확인 된 바 있음.

4. 이러한 생리물질들의 발견은 비만치료에 있어서 환경적인 요소만을 고려해 왔던 지금까지와는 달리 유전적인 요소 및 뇌의 포만감 수용체의 역할의 중요성을 인식하게 하는 계기가 됨. 이러한 연구 결과들을 바탕으로 비만의 치료 및 체중조절을 위하여 식이요법 이외의 여러 가지 다양한 약물들의 개발이 시도 되었으나 그 각각이 가진 고유의 문제점들이 발견되어 임상적인 이용에는 제약이 따르고 있음. 그러나 부작용을 감수하고도 복용을 원하는 막대한 수요로 인하여 참여한 회사들에 많은 이익을 주고 있으며, 아래에 구체적으로 열거된 경우 이외에도 다국적 기업인 사노피, 머크, 화이자, 브리스톨 마이어스 등이 전력을 다하여 체중을 줄일 수 있는 약품을 개발하고 있는 것으로 알려짐.

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
와이어쓰	비만약인 펜-펜(fen-phen)	실제적으로 체중조절 효과가 있어 초기에 매우 성공적 제재였으나 장기복용에서 심장판막 이상을 일으켜서 회사는 이상이 발생한 환자들과의 소송을 끝내기 위하여 총 210억 달러 이상의 비용을 지출하는 대 실패작으로 끝이 남
로슈	지방 흡수를 저해제 (제니칼)	장내에 가스가 과다하게 발생하고 변에 기름이 많이 포함되어 불편감을 유발하는 부작용으로 제한적으로 사용되나 이제까지 개발된 다른 약품에 비하여 상대적으로 부작용이 작고 사용에 제한이 작아서 가장 많이 이용되고 있으며 2004년 기준으로 4500억의 매출을 기록하고 있다.
애보트	음식 섭취를 억제하는 작용	고용량에서는 혈압을 상승시킬 수 있으나 저용량에서는 부작용이 크게 감소됨으로 임상적으로 많이 이용되고 있다. 판매량은 약 3000억원에 이르고 있다.

제2절. 국내 수준 및 연구 현황

1. 국내에서도 체중조절 작용을 가진 식품 및 제재의 시장성에 착안하여 연구와 제품개발이 진행되고 있음.

2. 먼저 동의보감에서 체중을 줄여주는 것으로 알려진 녹차를 이용하는 방법이 전남농업기술원을 중심으로 연구되고 있으며, 그 이외에도 뇌의 시상하부의 대사조절에 관여하는 것으로 알려진 신경세포의 수용체에 작용하는 기능성을 가진 외국의 제재들을 국내에서 복제 판매 하려하는 국내 제약회사 등의 노력이 이루어지고 있음. 그러나, 비만의 원인이 되는 생리물질, 뇌의 포만감 수용체, 포만감을 전달하는 말초신경의 작용 등의 외국의 제약회사들에 의한 것 같은 체계적이고 과학적인 개발과 연구에 의한 성공적인 소재의 개발은 아직 이루어지고 있지 않은 실정임.

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
전남농업기술원	<p>녹차 잎 성분 중 비만예방 효과가 있다고 알려진 가바(GABA) 성분 극대화 기술 개발</p>	<p>개발된 기술을 농가에 이전할 경우 가능성이 부각되어 일반 차잎으로 생산한 녹차 제품(6,000~9,000천원/10a)보다 새로 개발된 제품은 약 20~30%의 소득증대 효과가 기대되고 있다.</p>
대원제약	<p>대뇌 시상하부의 식이중추와 신경말초에 이중으로 작용하여 식욕을 억제시키는 가능성을 가진 식욕억제제로 미국약전 규격품인 사노렉을 제제로서 상품화 시킴</p>	<p>연간 매출 40억원대 이상의 매출을 기대하고 있으나 원천 기술이나 특허 등을 전혀 가지지 못하여 국내에 파급효과는 미미하다.</p>

제 3 장. 연구 개발 수행 내용 및 결과

제1절. 시료의 조제 (1세부)

1. 물추출물의 제조

고추류 3종 (파리고추, 붉은고추, 청양고추)을 포함한 16종류의 국내에서 생산되는 향신료를 시중에서 구입하여 세척 후, 50 °C에서 열풍건조하였고, 이것을 분말화하여 추출시료로 사용하였다. 분말을 각각 100 g씩 취해 증류수 4 L에 넣은 후 환류냉각기를 이용, 100°C에서 90분간 추출하였고, 추출 후 상온에서 방냉한 뒤, What No.1 여과지를 이용 감압여과하였다. 각각의 잔사는 증류수 1 L와 섞은 후 마찬가지로 100°C에서 90분간 추출한 뒤 What No.1 여과지를 이용 감압여과하였다. 2회에 걸친 추출과정에서 얻어진 여액을 모아 동결건조를 하여 얻은 고형분을 총괄연구기관인 경희대에서 효능평가를 실시하였다.

표 1은 실험에 사용된 향신료의 종류와 물추출물의 수율을 표기한 것이다.

표 1. Yields of water extract on 100 °C from 16 kinds of spices.

Item	Species	%
갓	<i>Brassica juncea</i> var. <i>juncea</i>	37.6 ± 0.8
깻잎	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>japonica</i>	27.3 ± 1.1
겨자잎	<i>Brassica juncea</i>	37.0 ± 1.5
고춧가루	<i>Capsicum annuum</i>	43.7 ± 0.9
대파	<i>Allium fistulosum</i>	40.2 ± 1.2
마늘	<i>Allium scorodorpasum</i> var. <i>viviparum</i> Regel	63.5 ± 1.8
미나리	<i>Oenanthe javanica</i>	17.2 ± 0.3
부추	<i>Allium tuberosum</i>	32.8 ± 0.8
산초	<i>Zanthoxylum piperitum</i> De Candolle	13.0 ± 1.1
생강	<i>Zingiber officinale</i>	19.5 ± 0.4
쑥갓	<i>Chrysanthemum coronarium</i> var. <i>spatiosum</i>	33.3 ± 1.2
실파	<i>Allium fistulosum</i>	47.1 ± 1.4
양파	<i>Allium cepa</i>	71.3 ± 3.1
청양고추	<i>Capsicum annuum</i> (<i>chungyang-kochu</i>)	41.9 ± 2.2
파슬리	<i>Petroselinum crispum</i>	36.4 ± 1.3
풋고추	<i>Capsicum annuum</i> (<i>Kwari-kochu</i>)	37.1 ± 1.7

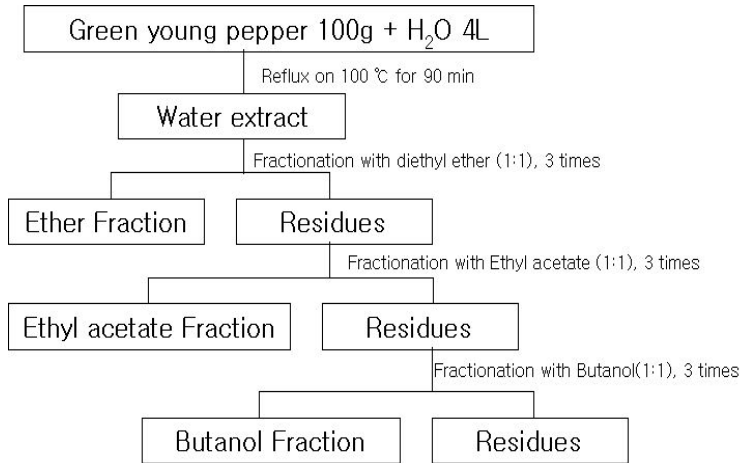
16가지의 추출물 시료 중, 100 °C에서 추출함으로 인해 유효성분의 열분해가 의심되는 ally 계열의 화합물이 함유된 마늘과 양파의 경우 별도로 4 °C에서 24시간 추출하는 냉침 추출로 시료를 얻어 기능성 평가 재료로 사용하였다. (표 2)

표 2. Yields of water extract on 4 °C from 16 kinds of spices.

Item	Species	%
마늘	<i>Allium scorodorpasum</i> var. <i>viviparum</i> Regel	54.1 ± 2.3
양파	<i>Allium cepa</i>	60.8 ± 4.3

2. 파리고추의 극성별 용매분획물의 제조

물추출물을 이용한 결과, 변별력 있는 유효 시료로 평가된 파리 고추의 유효 성분을 검색 하기 위하여 극성별 용매분획을 실시하였다. 물추출물로부터 diethyl ether, ethyl acetate, butanol 분획과 분획 후 잔사를 얻는 방법 scheme 1과 같다.



Scheme 1. Fractionation method by solvent polarity

분획에 의한 수율은 그림 2와 같다. 파리고추 물추출물에 대한 용매별 분획수율은 ether 분획이 0.39 %, ethyl acetate 분획이 0.82 %, butanol 분획이 3.94 %, 잔사가 18.74 %로 조사되어 졌다. 분리된 분획물은 총괄연구기관의 효능평가에 사용되었다.

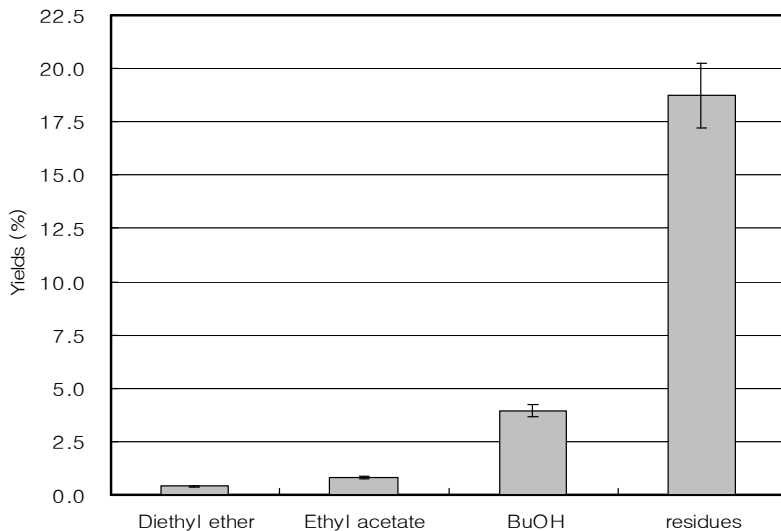


그림 2. Yields of green young pepper fraction by different polarity solvents

3. Butanol 분획 중의 물질분리

파리 고추는 capsaicin 함량이 청양고추나 붉은 고추에 비해 적음에도 중추신경으로 연결되는 전기적인 자극이 강하게 지속되는 것으로 효능평가 결과에서 나타났다. 이러한 자극은 파리

고추의 butanol 분획에서 크게 나타났으며, capsaicin receptor와는 다른 채널에 의한 반응이 관찰된 바, silicagel column chromatography를 이용한 butanol 분획물 중의 성분 분리를 시도하였다.

먼저 효능 평가상에서 차이를 보이는 3종의 고추류 butanol 분획의 차이를 확인하기 위하여 파리고추, 붉은 고추, 청양고추에 대한 물추출물로부터 butanol 분획물을 분리하였다. 각각의 butanol 분획 수율은 파리고추 평균 9.43 %, 붉은 고추 10.71 %, 청양고추 9.74 %로 나타났다. (그림 3)

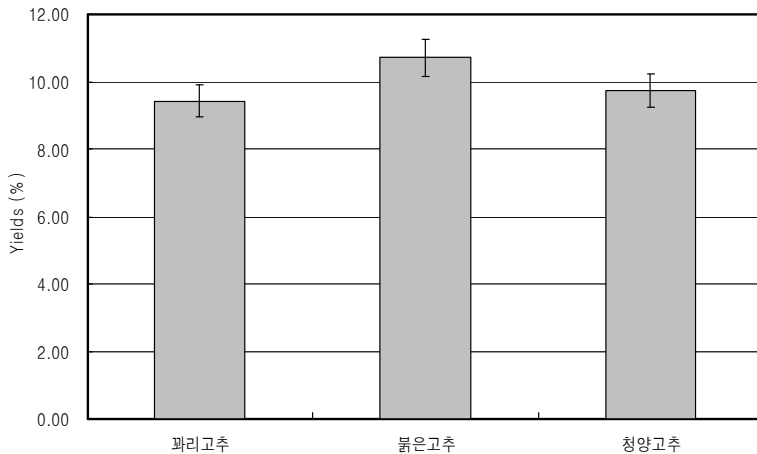


Fig 3. Yields of butanol fraction from 3 kinds of pepper

파리고추, 붉은 고추, 청양고추 butanol 분획물을 각각 50 mg씩 취하여 메탄올 1 mL에 녹인 후 silica gel 60 F254 plate에 6 µL씩 spot을 찍었다. 전개용매는 ethyl acetate, hexane, chloroform, methanol을 여러 비율로하여 분리능이 가장 좋았던 조성을 chloroform : methanol=6:4 비율로 하여 사용하였다. 전개 후 UV lamp (254 nm)와 5 % 황산용액으로 발색 시킨 것을 관찰한 결과를 Fig 3에 나타내었다. 3가지 추출물을 같은 양으로 TLC plate에 점적한 것을 고려했을 때, 명암으로 알수 있는 농도의 차이는 있으나, 붉은 고추의 색소 물질로 추정되는 물질을 제외하고는 3가지 고추 butanol 분획물의 물질 경향이 유사하게 나타나 효능평가에서 파리고추가 보여 준 반응을 설명할 수 있는 구분되는 물질은 발견 할 수 없었다.

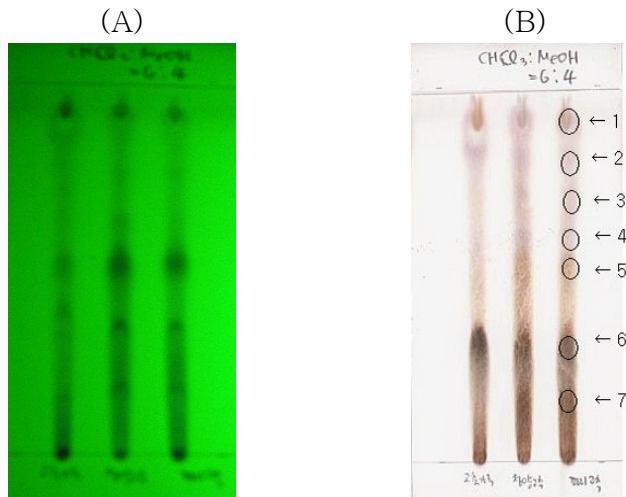


그림 4. TLC analysis for butanol fraction from 3 kinds of pepper. (A: at 254 nm, B: by 5 % sulfuric acid / 1st. line Red pepper, 2nd. Green pepper (Chungyang), 3rd. Green young pepper(Kwari))

그림 4에 나타난 고추의 butanol 분획물은 TLC 상의 Rf value에 따라 7가지 세부 분획물을 분리할 수 있었으며, 각각의 Rf value는 Table 3에 나타난 바와 같다.

표 3. Rf value of each spot from butanol fraction of peppers.

No.	Rf value
1	0.91
2	0.77
3	0.68
4	0.57
5	0.51
6	0.29
7	0.15

각각의 spot을 분리하기 위해, 파리고추 butanol 분획물을 메탄올에 녹여 silica gel 60으로 충전된 column(1.9 X 18.8 cm)을 통해 Rf range에 따른 물질 분리를 하였으며, 그 수율을 구하였다 (표 4).

표 4. Silica gel column chromatography for butanol fraction of green young pepper.

No.	Rf range	Yields (%)
1	0.97~0.74	20.89 ± 2.51
2	0.78~0.73	20.25 ± 1.69
3	0.71~0.43	9.49 ± 0.83
4	0.30	6.01 ± 0.72
5	0.15	12.72 ± 0.76

이 후 각각의 range에서 분리된 세부 분획물은 효능평가를 실시하여 유효 분획을 확인하였다.

제2절 고추류의 capsaicin 함량 분석 및 비교 (2세부)

1. 물추출물의 성분 비교

16종의 국내산 향신료에 효능 평가를 실시한 결과, 파리고추, 붉은 고추, 청양고추 등 3종의 고추류가 중추신경의 포만중추에 전기적 자극을 전달하는 효과가 큰 것으로 나타난 바, 이에 대한 유효 성분 조사를 통해 3가지 고추의 특성을 비교하였다.

가. Polyphenol 함량 측정

파리고추, 붉은고추, 청양고추 분말을 환류냉각기를 이용 100℃에서 90분간 물추출하였다. 추출 후 상온에서 방냉한 뒤 Whatman No.1 여과지로 감압여과하였다. 그 여액을 동결건조한 시료를 각각 0.3 g을 취하여 30 mL의 증류수에 넣은 후 test tube에 100 μL씩 취하였다. 그 뒤에 증류수 6mL와 Folin 용액 0.5 mL를 가한 뒤 voltexing 하여 8분간 방치하였다. 그 뒤에 15% Na₂CO₃ 용액 2mL와 증류수 1.4 mL를 순서대로 가한 뒤 voltexing 하여 2시간 방치하였다. spectrophometer기기를 이용, 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선은 tannic acid를 이용하여 작성하였다.

그림 5에 나타낸 것과 같이 각각의 고추 물 추출 건조물 중의 polyphenol 함량은 파리고추가 평균 4.34 %, 붉은 고추가 4.02. 청양고추가 4.19 %로 나타났다. 효능평가 중인 시료에서는 각 고추의 종류 간에 polyphenol 함량이 유의적인 차이가 있는 것으로 나타나고 있다. 그러나, 고추 종류에 따른 함량이 차이가 있다고 말하기 위해서는 지역별, 수확시기별의 조사가 뒤따른 후에야 가능할 것으로 사료된다.

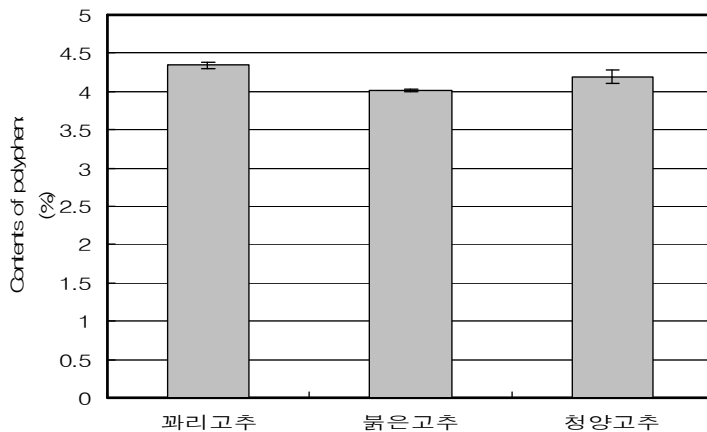


그림 5. The contents of polyphenol in the 3 kinds of pepper extracts.

나. Chlorophyll 함량 측정

파리고추, 붉은고추, 청양고추 물 추출물을 동결건조한 시료를 각각 0.3 g을 취하여 30 mL의 증류수에 넣고 test tube에 2 mL씩 취하여 acetone 6 mL를 가하고 voltexing 후 syringe filter로 여과한 것을 spectrophotometer기기를 이용하여 645 nm와 663 nm에서 흡광도를 측정하여 chlorophyll a와 b, total chlorophyll 함량을 구하였다.

파리고추와 청양고추의 chlorophyll a가 각각 평균 함량 0.0029와 0.0023 %로 높은 반면,

붉은 고추의 추출물에는 chlorophyll b의 함량이 평균 0.0049 %로 높게 측정되었다. 또한, total chlorophyll함량은 파리고추, 붉은 고추, 청양고추가 각각 평균 0.0061, 0.0059, 0.0042 %로 나와 효능평가 중인 시료에서는 청양고추가 유의적으로 낮은 함량을 보였으나, 이 역시 고추 간의 개체 차이로 확정하기 위해서는 단발성 시료 채취가 아닌 장기간의 관찰이 뒤따라야 한다 (그림 6).

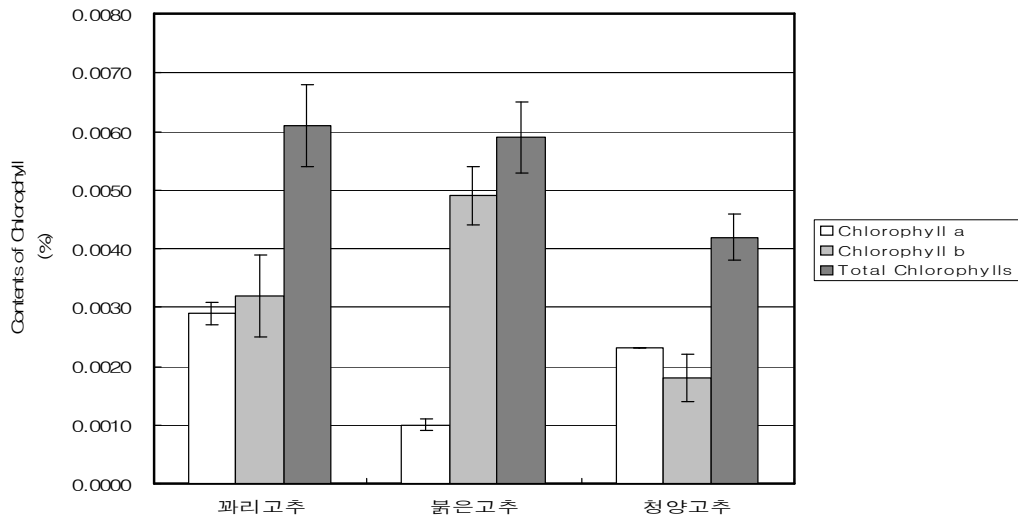


그림 6. The contents of chlorophyll a, b, and total chlorophyll in the 3 kinds of pepper extracts

다. Capsaicin 함량 측정

25 g의 물추출물 분말 시료에 200 ml 에탄올을 가하여 500 ml boiling flask에서 glass beads를 넣고 5시간동안 환류냉각 추출을 한다. 이 추출 시료를 차갑게 한 후, 0.45 µl syringe filter에 여과하여 HPLC 분석을 통해 capsaicin과 dihydro-capsaicin 함량을 측정한다.

표 5. Analytical condition on HPLC

- UV detector set at 280 nm wavelength
- Operating conditions
: Temp. 20~25 °C
: Flow rate 1.5 ml/min.
- Column : Stainless, C18, 150 X 4.6 mm id, packed with 5 µl particle size
- Mobile phase
: [Acetonitril (400 ml) - H ₂ O (600 ml)] + 1 % acetic acid (v/v)

앞서 언급한 바와 같이 위·장관에 있는 capsaicin receptor는 고추류와 같은 식품 중의 capsaicin과 결합하여 중추신경계의 포만중추를 자극하는 대표적인 성분으로 알려져 있

다. Capsaicin 함량은 파리 고추가 평균 3.89 mg%, 붉은 고추 12.94 mg%, 청양고추 66.55 mg%으로 나타났으며, dihydro-capsaicin은 각각 1.25, 3.06, 7.93 mg%으로 청양고추가 파리고추에 비해 capsaicin 함량은 평균 17.1배 dihydro-capsaicin은 6.3배 높은 것으로 나타났다.

표 6. The contents of capsaicin and dihydro-capsaicin in the 3 kinds of pepper extracts

	mg (%)	
	capsaicin	dihydro-capsaicin
파리고추	3.89 ± 0.45	1.25 ± 0.12
붉은고추	12.94 ± 1.11	3.06 ± 0.25
청양고추	66.55 ± 2.73	7.93 ± 0.81

라. Butanol 분획의 capsaicin 함량

파리고추 중의 유효 분획물로 평가된 butanol 분획 중의 capsaicin 함량을 측정하여 다른 2종의 고추(붉은 고추, 청양고추) butanol 분획과 비교하였다. Fig 14.에 butanol 분획 중의 capsaicin과 dihydrocapsaicin의 함량 측정 결과를 나타내었다. Butanol 분획 100g 당 capsaicin의 함량은 청양고추가 가장 많은 평균 57.7 mg이었고, 파리고추와 붉은 고추는 각각 1.8과 2.6 mg이었다. 또한 청양고추, 파리고추, 붉은고추 중의 dihydrocapsaicin의 함량을 측정한 결과, 각각 6.4, 0.5, 1.9 mg이었다. 물추출물의 총분획으로부터 capsaicin이 butanol 분획으로 옮겨 갔음을 확인할 수 있었다.

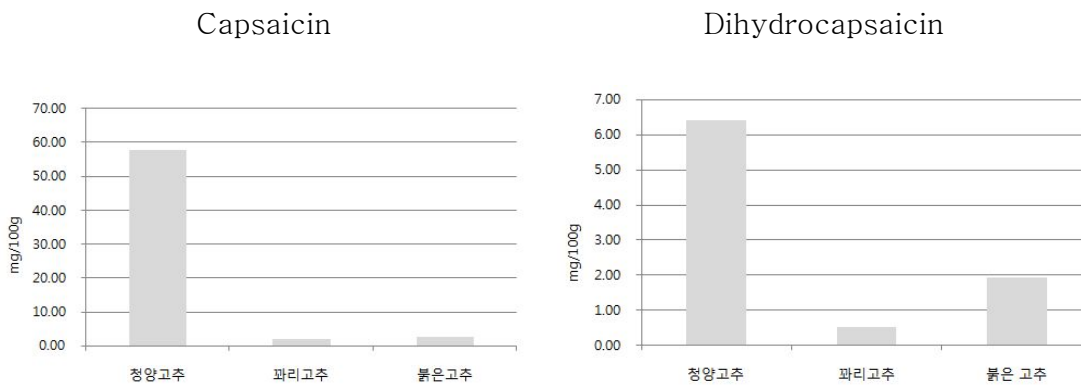


그림 7. The concentration of capsaicin and dihydro-capsaicin in extracts by butanol from 3 kind of peppers.

제3절 소재화를 위한 W₁/O/W₂ 모델의 제작 (2세부)

총괄기관의 *in vitro* 효능 평가 결과, 파리 고추 추출물은 인삼 추출물과 synerge 효과를 일으키는 비율이 있음을 밝혔다. 파리고추와 인삼 추출물의 비율을 유지하는 소재 개발을 위해서, 또 독특한 냄새와 맛 때문에 제품화에 제한점으로 작용하는 향신료의 특성

을 고려하여 microcapsule 소재 개발에 관해 연구하였다. 아직 파리 고추 중의 유효성분에 대한 열변성 가능성이 평가되지 않은 시점에서 우선적으로 emulsion을 만들어 extrusion 법을 적용한 소재 모델을 만들었다.

1. W₁/O emulsion의 조성

모델 제조에 쓰인 파리고추는 물추출물을 30 °bx로 농축하여 사용하였으며, 인삼 추출물은 시중에서 판매하는 농축액(조사포닌함량 100mg%)을 구입하여 30 °bx로 희석하여 사용하였다. Core material 중의 시료 비율은 효능평가 결과에 따라, 파리고추 물추출물 (3) : 인삼 추출물 (1)의 비율로 사용하였다.

가. W₁/O의 적정비율 설정

W₁/O의 비율을 결정하기 위해 C.M과 oil(대두유)의 비율에 따른 emulsion 형성을 관찰하였다. emulsion 형성을 위해 대두유에는 유화제로 tween-60을 0.5 % 첨가하였다. 각각의 시료를 준비하여 12,000 rpm에서 1분간 homogination하여 emulsion을 만들어, emulsion의 점도 및 현미경 상을 통한 입자 형성을 관찰하였다. W₁과 O의 비율은 Table 7과 같다.

본 연구의 모델 설계를 위한 다양한 사전 연구 결과, 인삼 추출물의 함유가 emulsion 형성에 큰 영향을 미치는 것으로 관찰했으며, W₁/O에서 물추출물 시료를 포집하기 위한 포집체로는 alginate 보다 chitosan이 효율적으로 평가되어, W₁에 해당하는 core material (이하 C.M)의 조성엔 1 % chitosan 용액이 포함되었다.

표 7. Ratio of W₁/O

Test No.	Ratio (%)		
	W ₁		O
	1% chitosan solution	extracts	
1	1	0	100
2	1	2	98
3	1	4	96
4	1	6	94
5	1	8	92
6	1	10	90

그림 8에 나타낸 바와 같이 oil의 함량이 증가할수록 점차 점도가 증가하는 것을 알 수 있었다. 그러나, C.M의 함량이 6 % 이상이 되는 4번 이후의 시료부터는 homogination 후, 30분을 유지하지 못하고, 물층이 생성되는 등 유화 안정도가 크게 저하되었다.

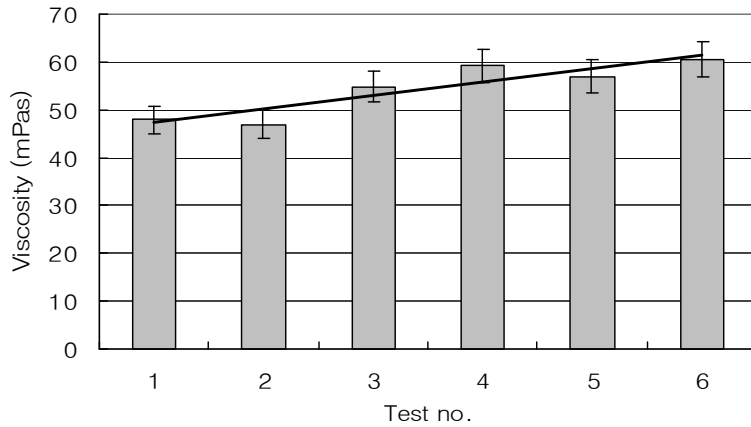


그림 8.. Viscosity of emulsion in various W₁/O ratio

현미경 관찰을 통해 조사한 emulsion 중의 W₁ 입자의 크기와 그 상(像)을 표 8과 그림 9에 나타내었다. 육안으로 관찰한 유화안정도의 결과와 마찬가지로, 시료가 6 % 이상이 들어간 4번 이후의 시료에서는 입자의 크기도 크고 불균일 했으며, 현미경 상으로도 일시적으로 섞여 있는 100 μm 이상의 수분 입자도 쉽게 발견할 수 있었다. 본 관찰의 결과, 입자의 크기도 평균 22.2 μm였으며, 균일한 입도와 분명한 emulsion 형성을 보인 시료 4 %와 oil 95 %의 비율이 적당한 것으로 조사되어 졌다.

표 8. Particle size in various W₁/O ratio

Test no.	Particle size (μm)
1	-
2	22.2 ± 12.2
3	14.5 ± 6.1
4	50.2 ± 49.2
5	57.8 ± 33.1
6	63.1 ± 60.4

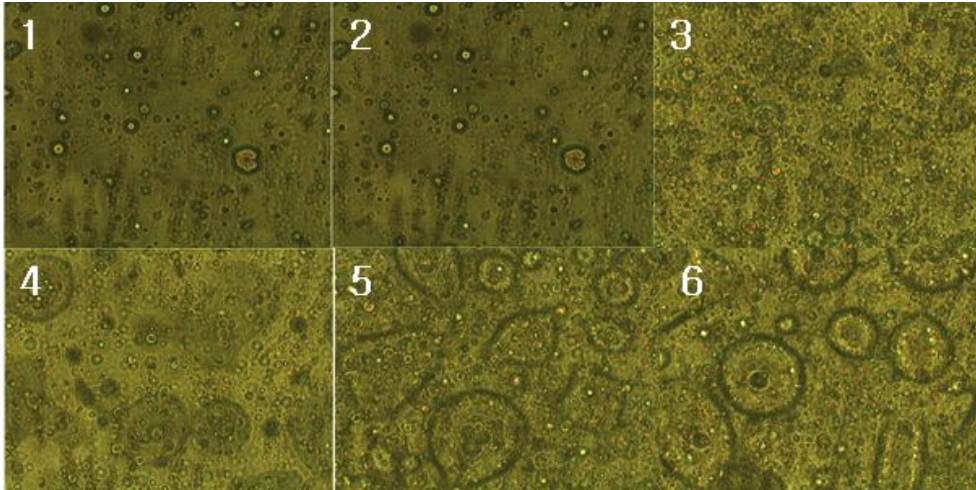


그림 9. Microphotograph of emulsion in various W_1/O ratio (X 400)

나. W_1/O 의 유화제 결정

적합한 유화제를 선택하기 위해 HLB 지수 14 이상의 식품첨가물에 사용빈도가 높은 친유성 유화제 4종을 선발하여 적절한 수준의 HLB를 지니는 유화제를 선정하고자하였다. 실험에 사용된 유화제의 HLB는 표 9에 나타내었다.

표 9. HLB value of 4 kinds of emulsifiers.

No	The kinds of emulsifier	HLB Value
1	Tween-20	16.7
2	Tween-60	14.9
3	Tween-80	15
4	F-160	16

4종류의 유화제로 만들어진 각각의 emulsion의 물리적 점도를 측정된 결과를 그림 10에 나타내었다. Tween-20, 60, 80과 F-160에 의해 형성된 emulsion의 점도는 53~63 mPas 사이로, 유의적인 차이는 없었다.

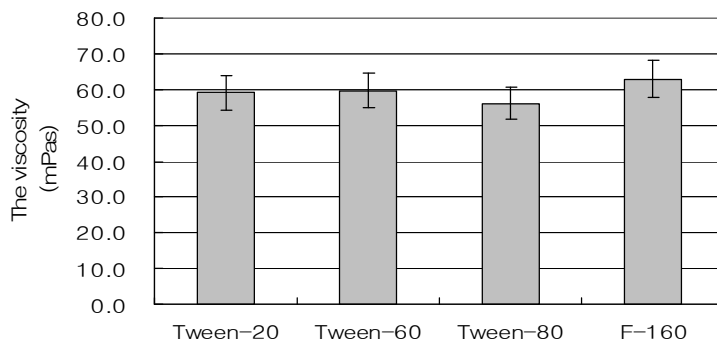


그림 10. The viscosity of W_1/O emulsion by different kinds of emulsifier.

그러나, 현미경을 통해 관찰한 입자의 크기는 표 10과 그림 11에 나타난 바와 같이 차이가 있었다. tween-20과 -80을 첨가한 emulsion의 경우, 입자의 크기는 평균 60.4와 60.2 μm 로 입자의 크기도 클뿐더러 입자의 균일도도 크게 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. 반면, Tween-60과 F-160을 유화제로 사용한 emulsion의 경우, 입자의 크기는 각각 36.0과 24.0 μm 으로 통계상 유의적인 차이는 없으나, 특히 F-160을 사용한 경우의 입자가 대체로 작고 고른 경향을 나타냈다. 작고 고른 입자의 크기는 성공적인 emulsion형성의 정도를 알 수 있게 할 뿐더러 이후, W1/O/W2 형태 emulsion을 만들어 micro-encapsulation 모델을 제작할 때 최종 입자의 크기에 까지 영향을 미치게 되므로 유화제의 종류는 F-160으로 정하였다.

표 10. The particle size of W1/O emulsion by different kinds of emulsifier.

The Kinds of emulsifier	Particle size (μm)
Tween-20	60.4 \pm 108.7
Tween-60	36.0 \pm 25.0
Tween-80	60.2 \pm 58.4
F-160	24.0 \pm 25.7

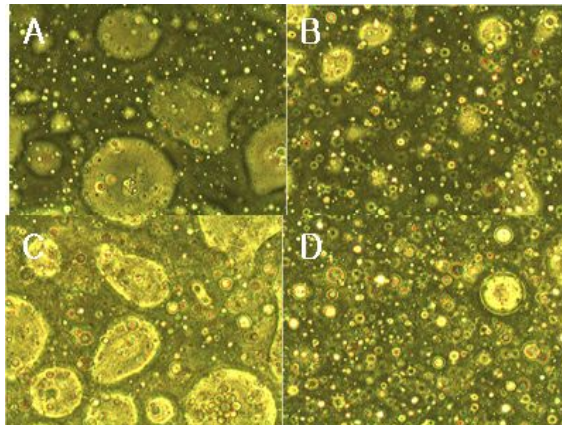


그림 11. The microphotograph of W1/O emulsion by different kinds of emulsifier. (A:Tween-20, B:Tween-60, C:Tween-80, D:F-160), (X 400)

다. 유화제 함량 결정

F-160의 적정 첨가 농도를 결정하고자 0~1%의 F-160을 첨가하여 W1 phase와 Oil phase를 12,000rpm에서 균질화 시켜 형성된 emulsion을 관찰하였다. Emulsion의 점도에는 유의적인 차이가 없었다 (그림 12).

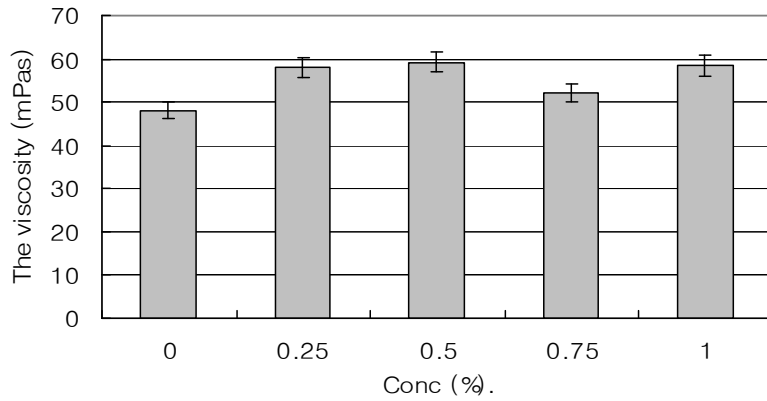


그림 12. The viscosity of W1/O emulsion with emulsifier F1-160 added by various concentration.

표 11에서의 입자의 평균 크기는 18.7~28.7로 유의적인 차이는 없었으나, 그림 13에서 보여지는 것처럼 입자 균일도 유지를 위한 최소한의 F-160 첨가 농도는 0.50 % 이상이어야 함을 알 수 있었다.

표 11. The particle size of W1/O emulsion with emulsifier F1-160 added by various concentration.

The contents of emulsifier (%)	Particle size (μm)
0	-
0.25	28.7 ± 38.7
0.50	24.3 ± 10.9
0.75	18.7 ± 7.0
1.00	23.4 ± 6.2

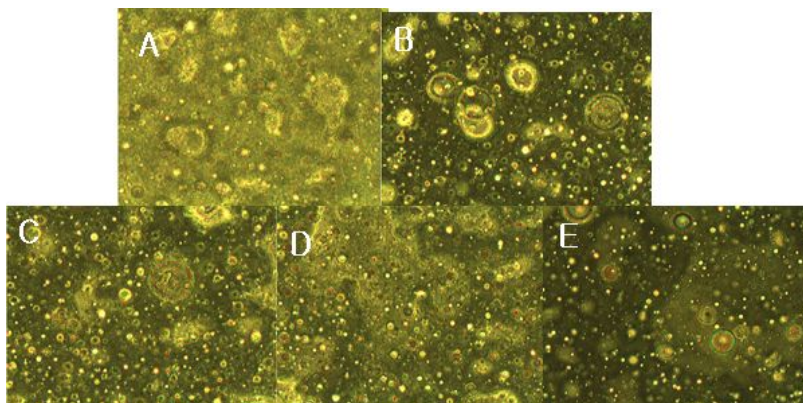


그림 13. The microphotograph of W1/O emulsion with F-160 added by different concentration. (A: 0%, B: 0.25 %, C: 0.5 %, D: 0.75 %, E: 1.0 %), (X 400)

2. W₁/O/W₂ 의 비율 결정 (2세부)

앞의 연구에서 우선적으로 수용성 성분인 인삼과 고추 물추출물의 유효 성분을 캡슐안에 보존시키기위해 키토산을 포집체로 한 W₁/O emulsion을 만든바 있다. 다시 이 emulsion을 포장할 W₂ 매체로 1 % alginate 용액을 사용하였고, Table 12와 같은 비율로 만들어진 W₁/O/W₂ emulsion은 spray gun (T-160, Iwaki, Japan)로 emulsion 중량의 10배에 해당하는 1 % CaCl₂ 용액에 분무하여 결정을 얻었다.

표 12. The ratio of W₁/O/W₂

No	Ratio (%)	
	W ₁ /O	W ₂ (alginate)
1	0	100
2	5	95
3	10	90
4	15	85
5	20	80
6	25	75

표 12.는 Alginate wall(W₂)의 비율에 비해 W₁/O의 비율이 증가할수록 점차 CaCl₂ 용액에 main core material 성분인 capsaicin이 증가하는 양상을 보이고 있다. 그러나 그 유출되는 정도는 W₂에 대한 W₁/O의 함유율이 20 %가 될 때까지는 평균 0.43~0.77 mg%로 큰 차이가 없었지만 W₁/O의 함유율이 25 %에서는 2.43 mg%로 크게 증가하여 alginate 용액으로 고정시킬수 있는 W₁/O의 함유율은 20 %가 한계임을 관찰할 수 있었다.

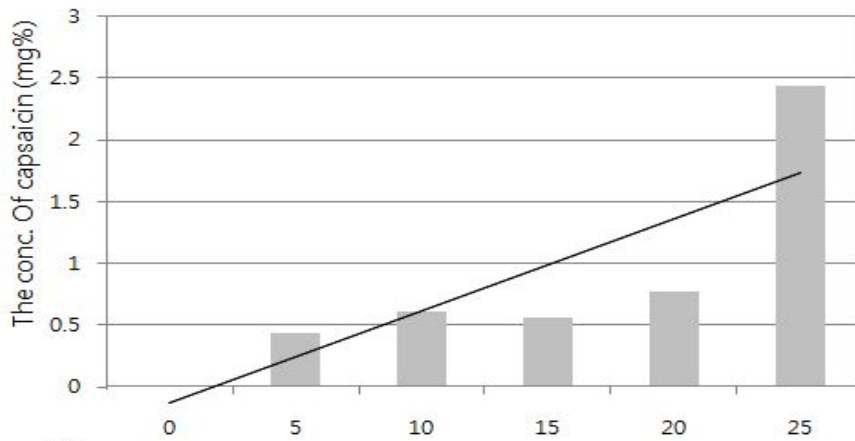


그림 14. The concentration of effluxed capsaicin from W₁/O/W₂ emulsion to CaCl₂ solution.

그림 15는 W₁/O와 W₂의 비율에 따라 결정을 만든 후 동결건조하여 얻은 model의 100g

당 건조 수율을 구한 것이다.

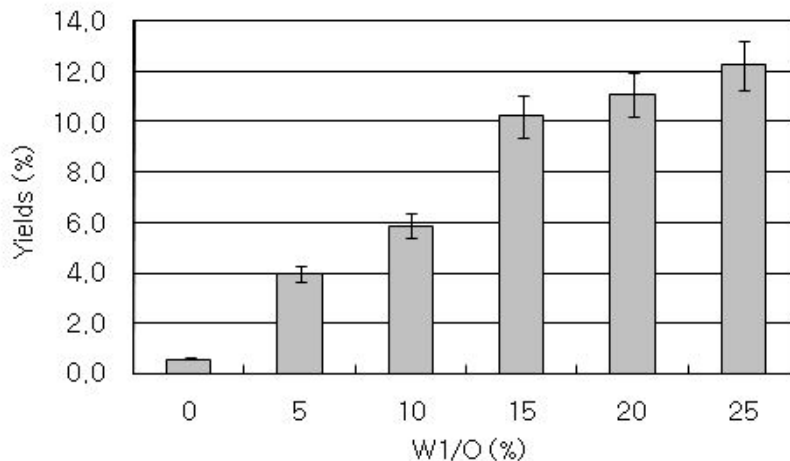


그림 15. The weight of dried W1/O/W2 model

최종 W1/O/W2 emulsion의 조성은 표 13과 같다.

표 13. The final composition of W1/O/W2 emulsion

Item		Ratio (%)
W1	30 °bx Green Young Pepper ex.	0.6
	30 °bx Ginseng ex.	0.2
	1 % Chitosan solution	0.2
O	Soybean oil	18.9
	Emulsifier (F-160)	0.1
W2	1 % Alginate solution	80

Alginate를 final wall material로 하는 이 모델은 Ca용액에 분무하여 alginate 구조를 더욱 견고하게 하여 건조 후 결정의 형태를 가지게 된다. 이 모델의 장점은 열에 불안정한 물질까지 포집할 수 있을뿐더러 oil phase가 포함되어 있어 soybean oil대신 orange oil이나 olive oil 같은 기능성 oil이나 필수지방산 함유율이 높은 지방도 포함시킬 수 있을뿐더러 비타민 E등의 지용성 성분도 첨가하는 것이 가능하다는 것이다.

한단계 공정을 더 추가해 본 결정을 hexan을 이용, oil phase를 제거하게 되면 그림 16과 같은 탈지 분말을 얻을 수 있다. 그림 17은 탈지 분말의 표면을 전자현미경(SEM)으로 촬영한 것이다. 이 탈지 분말 중의 조사포닌 함량과 capsaicin 함량을 비교한 결과는 표 14와 같다. 인삼 중의 사포닌 농도를 측정하는 조사포닌 함량의 측정 결과, 평균 4.3 %의 조사포닌이 탈지 분말 중에 포함되어 있었고, capsaicin의 함량은 1.64 mg%를 함유하고 있었다. 첨가된 파리 고추추출물의 양과 capsaicin 함량을 고려 했을 때, 75 % 이상의 고형분을 포집한 분말을 만들 수 있었다.

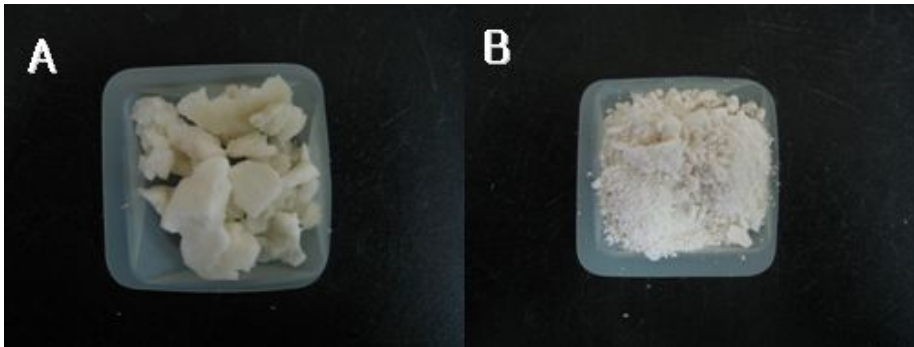


그림 16. The (A) dried alginate crystal and (B) its defatted powder

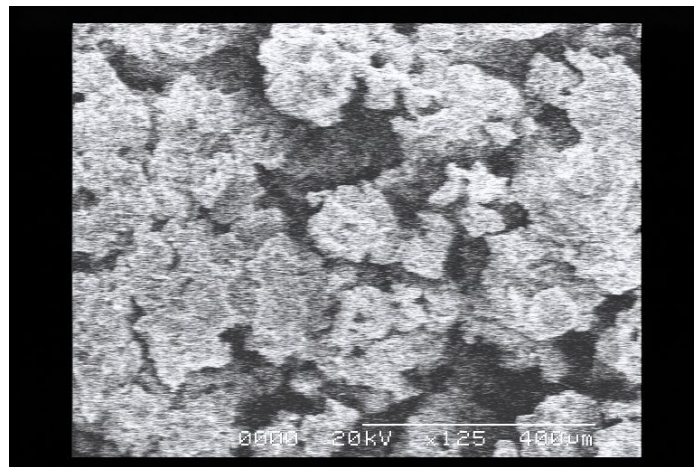


그림 17. The electron microscopic feature of defatted alginate powder.

표 14. The contents of crude saponin and capsaicin in defatted alginate powder.

	In 100 g
Crude saponin (%)	4.3 ± 0.9
Capsaicin (mg)	1.64 ± 0.25

제4절 미주신경의 포만감을 전달하는 신경에 대한 고추와 겨자의 주성분의 흥분효과 확인 (1세부)

1차년의 연구결과에서 국산 향신료의 추출물이 미주신경과 미주신경의 신호입력을 받는 고립로핵 신경세포의 presynaptic 말단에서 흥분성 신경전달 물질인 glutamate의 방출에 우수한 효과가 있었다. 그중에서도 뛰어난 효과를 가진 것이 확인된 파리고추의 주성분인 capsaicin과 겨자 잎의 주성분인 allyl isothiocyanate (AITC)가 미주신경 세포중 포만감을 직접 전달하는 신경 세포에 대하여 흥분성 효과가 있는지 알아보는 실험을 진행하였

다. 이를 위하여 본 실험에서는 미주신경 세포 중에서 위와 십이지장의 기계적 팽창과 영양분의 흡수에 의한 포만감의 전달에 관여하는 세포를 식후 포만감을 전달하는 인체 내에서 생성되는 물질인 cholecystikinin (CCK)을 이용하여 확인하고 이에 흥분성 효과를 가지는지를 확인하는 실험을 먼저 천연물들의 주성분인 capasicin과 AITC를 사용하여 확인하였다.

그림 18에서 AITC에 대한 미주신경세포의 반응의 여부와 AITC 농도에 따른 반응의 크기를 조사하였다. 0.05, 0.1, 0.2 mM의 AITC에 대하여 농도의존적인 inward current반응이 기록되었으며 TRPA1 수용체의 선택적 길항제인 HC-030031 (10 μ M)에 의하여 0.2 mM AITC 반응이 저해되었다 (그림 18C).

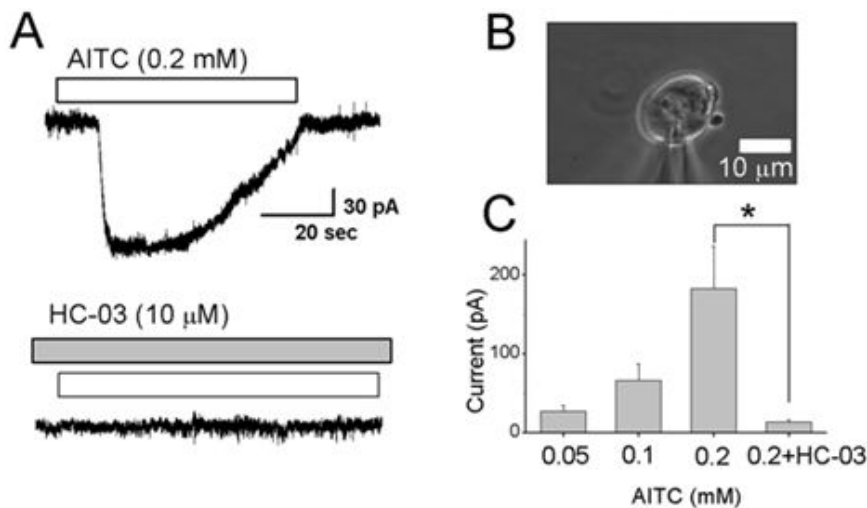


그림 18. Allyl isothiocyanate (AITC) evoked inward currents in acutely isolated nodose ganglion neurons.

A. 0.2 mM AITC evoked slowly developing inward currents and 10 mM HC-030031 (HC-03) almost completely blocked AITC induced current. Both traces were recorded from same cell at $V_H = -50$ mV. B. A representative isolated NG neurons used for recording. C. AITC increased the inward currents in a concentration dependent manner. 10 mM HC-03 significantly attenuated 0.2 mM AITC-evoked currents ($p=0.028$). Data points represent the peak current mean \pm SEM for 4-27 different neurons.

Capsaicin과 AITC에 반응하는 미주신경의 반응비율을 확인하기 위하여 그림 19에서는 동일한 미주신경의 세포체에 AITC (0.2 mM)와 capsaicin (200 nM)을 반복하여 처리하였다. 그림 19 D의 원그래프에 통합하여 나타낸 것과 같이 23%의 신경세포가 AITC와 capsaicin의 양쪽에 모두 반응하였고 27%는 capsaicin에만 15%는 AITC에만 반응하였다. 35%의 신경세포는 양쪽 어디에도 반응하지 않았다. 흥미로운 사실은 동일한 방법으로 두 가지의 시약을 처리하였음에도 반응이 나타나는데 까지 걸리는 시간이 (latency) AITC에서 유의성 있게 길었다 (그림 19 C). 이러한 latency의 차이는 AITC와 capsaicin이 반응

하는 수용체의 특징에서 기여하는 것으로 생각된다.

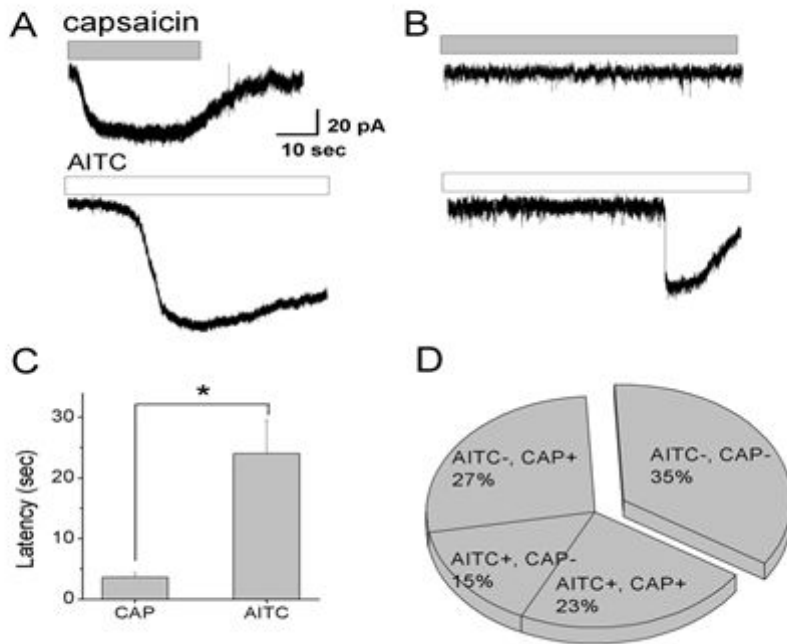


Figure 19. AITC evoked inward currents in either capsaicin-sensitive or -insensitive nodose ganglion neurons.

AITC (0.2 mM) and capsaicin (200 nM) were tested on acutely isolated neurons. A. Traces taken from a representative neuron which responded to both agonists. B. Traces illustrate that some of the nodose ganglion neurons sensitive to AITC alone, but not to capsaicin. C. The latency of capsaicin and AITC responses was 3.7 ± 0.7 (n = 26) and 24.2 ± 5.5 sec (n = 16), respectively. D. A schematic summary of results represent distribution of AITC-sensitive neurons in capsaicin-sensitive (CAP+) or -insensitive (CAP-) group neurons. All cells recorded at $V_H = -50$ mV.

Cholecystokinin (CCK)에 반응하여 흥분성의 전류를 발생하는 미주신경이 식후 위, 십이지장에서의 기계적 포만감뿐만 아니라 영양분의 흡수에 의한 포만감의 전달에도 관여하며 한다는 것이 최근 알려졌다. 따라서 본 실험에서는 CCK를 이용하여 포만감전달에 직접 관여하는 미주신경을 확인하고 동일한 신경세포에 파리고추의 주성분인 capsaicin과 겨자의 주성분인 AITC의 반응성을 조사하였다. 실험 결과 예상하지 못했던 결과가 나왔다. 모든 CCK에 반응하는 미주신경 세포는 전부 capsaicin에 반응 하였다. 또한 CCK에 반응하는 신경세포 중 27%는 AITC에도 반응하였다 (그림 20 C). 이러한 결과와는 달리 CCK에 반응하지 않은 세포들은(n=32) AITC와 capsaicin에 대한 반응성에 따라서 4 개의 그룹으로 나누어 졌다. 16%의 신경세포들은 두 가지 모두에 반응하였고 31 % (AITC에반응) 와 16 % (capsaicin에 반응)는 오직 한가지의 시료에만 반응하였다. 나머지 37%는 어디에도 반응하지 않았다.

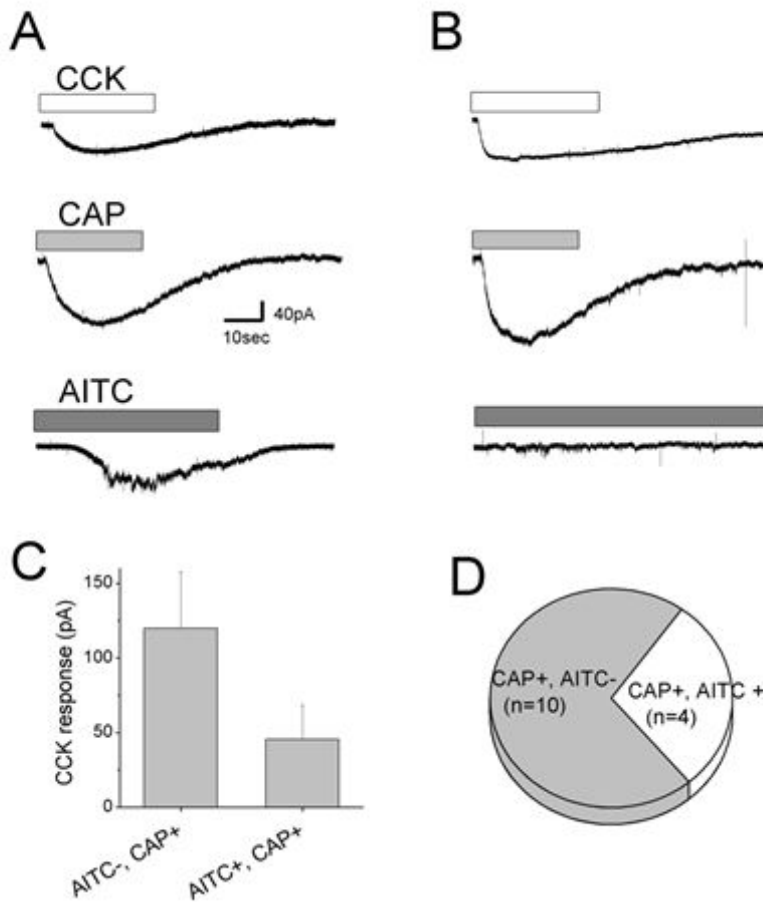


그림 20. Cholecystikin (CCK) evoked currents on either side of the AITC-sensitive and -insensitive neurons.

A. Representative traces taken from same neuron that was sensitive to cholecystikin (30 nM), capsaicin (CAP, 200 nM), and AITC (0.2 mM). B. Cholecystikin-evoked currents recorded from AITC-insensitive and capsaicin-sensitive neuron.

All the traces in the A and B recorded at the same condition ($V_H = -50mV$). C. The graph shows the amplitude of cholecystikin-evoked responses from AITC-insensitive and capsaicin-sensitive group (AITC-, CAP+) neurons and capsaicin, and AITC both sensitive group neurons (AITC+, CAP+). Data points represent the peak current mean \pm SEM. D. A schematic summary of results represent distribution of AITC and capsaicin-sensitive neurons in cholecystikin-sensitive group neurons. The numbers in the parenthesis represent number of the neurons in each group.

이상의 결과에서 포만감을 전달하는 미주신경의 활성을 증가시키는 데는 파리고추의 주성분인 capsaicin과 겨자 잎의 주성분인 AITC가 모두 효과가 있거나 capsaicin에 반응하는 세포가 반응율이 훨씬 더 뛰어남을 알 수 있었다.

제5절 포만감을 전달하는 미주 신경세포에 미치는 향신료들의 반응성의 연구 및 우수한 효과를 보인 향신료의 물추출물의 장기보존에 의한 활성변화 연구 (1세부)

1. 포만감을 전달하는 미주 신경세포에 미치는 향신료들의 반응성

미주신경은 식후 포만감을 발생시키는 위장, 십이지장 등의 장기 이외에도 심장, 간, 폐 등의 내부 장기로부터의 정보를 연수의 고립로핵 (NTS)으로 전달하는 역할을 수행한다. 이러한 이유로 인하여 1차 연도에서 수행한 미주 신경세포체인 nodose ganglion을 분리하여 이용한 실험은 본 실험의 목적에 부합한 위, 십이지장 등의 장기에서의 포만감을 전달하는 신경세포 이외에도 폐, 심장 등에서 호흡, 혈압 등의 신호를 전달하는 기능을 수행하는 신경세포의 일부가 혼재되어 있을 가능성이 있었다. CCK에 반응하는 미주신경 세포들이 소화기계에 연결되어 있으며 포만감을 전달한다는 것은 이미 알려져 있다는 것을 이용하여 본 실험에서는 Nodose ganglion cell에 천연향신료의 효과를 실험하기에 앞서 포만감을 전달하는 신경세포만을 선택적으로 구별하기 위해 positive control로 CCK를 사용하였다. 이때 CCK의 농도는 50nM 이었다. G.P(파리고추), Mustard(겨자잎), Ginger (생강), AITC와 CCK를 동일한 미주신경에 반복해서 처리 후 반응을 측정하였다. 전체 25개의 test된 cell 중에서 CCK에 반응하는 cell은 44%이며 반응하지 나머지 56%는 반응하지 않았다 (Table 15). G.P(60%)는 반응 하는 비율과 반응의 크기에서 가장 높았다. 생강과 겨자잎의 활성은 유사하게 나타났다. CCK-sensitive에 반응하는 세포에서 (n = 11) AITC (8.7 ± 4.1), 파리고추 (120.4 ± 50.4), 생강 (12.2 ± 4.5), 겨자잎 (20.337 ± 12.882 pA)의 반응을 나타내었다 (그림 20).

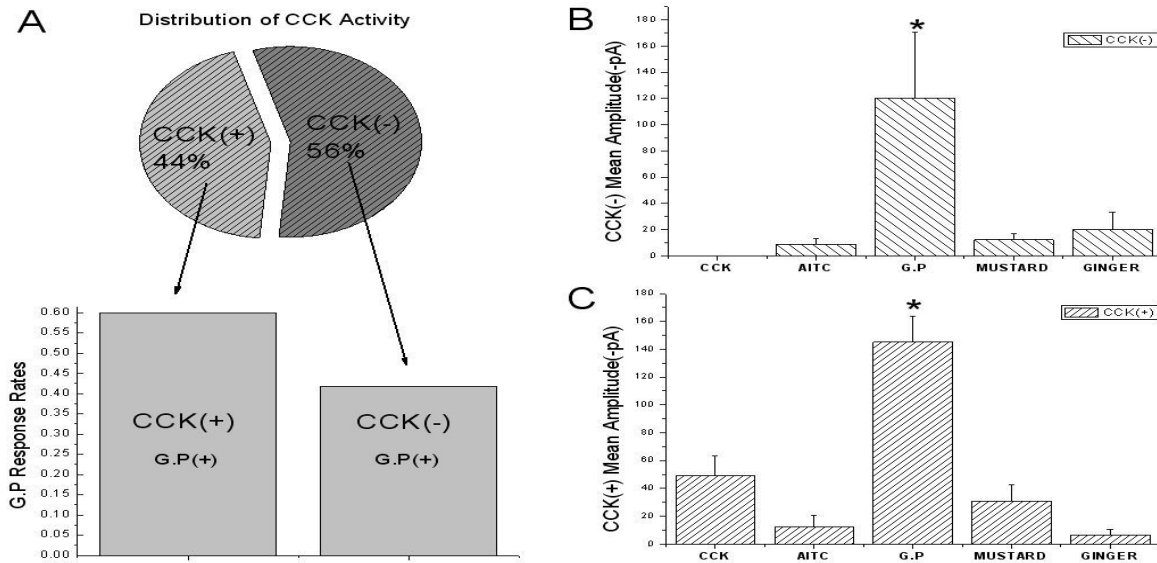
통계적으로 CCK에 반응하는 cell이나 반응하지 않는 cell 모두에서 G.P(푼고추)만이 모든 물질과 통계적으로 유의한 결과가 나왔다. 이상의 결과에서 푼고추가 다른 향신료의 추출물들에 비하여 CCK로 확인 할 수 있는 포만감을 전달하는 미주신경 세포에서의 반응이 가장 높은 것을 알 수 있었다. 따라서 G.P(파리고추)가 포만감의 발생과 전달하는 미주신경에 직접적으로 반응하는 것으로 생각되며 포만감유발에 의한 음식물의 섭취량감소를 목적으로 하는 체중조절작용을 가진 기능식품의 개발에 의미 있는 소재로서의 사용될 가치가 큰 것을 알수있다.

CCK에 반응하는 cell 중에서 파리고추와 다른 물질과의 통계적 유의성은 다음과 같다. CCK와는 $p=0.011$, AITC와는 $p<0.001$ mustard(겨자잎)와는 $p=0.004$, C.P (산초)와는 $p<0.001$, ginger (생강)와는 $p=0.0012$ 이었다. 다른 물질들끼리는 유의한 결과가 나타나지 않았다.

표 15. Distribution ratios for CCK, AITC, G.P, Mustard, Ginger on visceral NG neurons.

	CCK positive (n = 11)	CCK negative (n = 14)
AITC	5	4

G.P.	9	5
mustard	3	6
ginger	3	6



ㄱ

림 20. G.P(Green Pepper: 0.1.g/10ml) evoked inward currents either CCK-sensitive or -insensitive NG neurons.

CCK (50nM), AITC (200 μ M) and Pungent(0.1.g/10ml) were tested on acutely isolated NG neurons. All of the data were carried out in nystatin perforated patch ($V_H = -50mV$). A. CCK-sensitive(44%) or -insensitive(56%) distribution ratio on NG CELLS. 11 cells responded CCK and among the rest 9 cells responded G.P. 14 CELLS did not respond to CCK and 5 of these reacted to G.P. G.P Reactivities of CCK-sensitive type cells were higher than CCK-insensitive type under G.P-positive condition. B. CCK-sensitive mean amplitude 11 cells responded each of the agonists.. G.P Significantly increased induced currents under all condition. C. CCK-insensitive mean amplitude of CCK, AITC, G.P, GINGER MUSTARD(49.222 ± 14.041 , 12.608 ± 7.732 , 145.189 ± 18.379 , 30.83 ± 11.985 6.541 ± 3.915 pA, respectively) G.P Significantly increased induced currents.

2. 우수한 효과를 보인 향신료의 물추출물의 장기보존에 의한 활성변화 연구

제품화를 위한 기초자료의 확보를 위해 장기보존에서의 효능의 안정성확보를 위한 장기보존 후 효능을 테스트하는 실험을 실시하였다. 먼저 겨자유 (AITC)를 표준물질로 파리고추, 겨자 잎, 생강 등의 물추출물의 동결건조물에 의하여 발생하는 반응을 측정 후 동일 시료를 10 $^{\circ}$ C, 차광 상태에서 6개월간 보존 후의 반응과 비교하였다. 반응은 아래의 표16과 같은 결과를 얻었다. AITC

를 대조군으로 한 경우 파리고추의 경우 활성의 변화가 없었으나, 겨자 잎은 87.6%, 생강의 경우 78%의 활성의 감소가 나타났다. 따라서 제품의 제조시 파리고추가 가장 활성을 잘 유지 할 수 있으며 겨자잎, 생강 등을 소재로 사용할 필요가 있는 경우 제품을 저온보관하거나 단시간에 소모해야 하는 형태로 하는 것이 필요하다는 것을 알 수 있었다.

표 16-파리고추, 겨자잎, 생강의 6개월간 보존에 의한 활성의 변화를 측정한 표

시료	보존전의 신선한 소재 (pA)	6개월 보관후 (pA)
AITC (200 μM)	29.4 ± 6.41	34.3 ± 12.04
겨자잎	181.0 ± 74.36	26.9 ± 6.81
생강	132.8 ± 47.36	35.0 ± 14.15
파리고추 (G.P.)	125.8 ± 41.32	153.3 ± 47.32

제6절. 향신료들의 경구투여에 의한 식욕촉진 물질인 Ghrelin 분비 억제효과 *in vivo* 연구. (2세부)

1. Active ghrelin 분비 억제효과 확인-in vivo 연구-I

CCK에 반응하여 미주신경을 흥분시키는 향신료들의 추출물의 효능을 동물 모델에서 검증 하였다. Ghrelin은 공복 시 위와 십이지장 등에서 분비되는 8개의 아미노산으로 구성된 peptide로서 뇌의 대사조절중추에 작용하여 식욕을 촉진한다. 반대로 포만감을 느끼는 경우에는 Ghrelin의 분비량이 즉시 감소한다. 따라서 지금까지의 미주신경에서 좋은 효과를 나타내었던 천연향신료가 경구투여에서 혈중 Ghrelin의 감소시켜 식욕을 억제 할 수 있는지를 동물실험에서 조사하였다.

모든 동물은 몸무게 150-200g 전후의 male SD rat을 사용한다. 동물실에서 자유로이 먹이와 물을 섭취하게하고 일주일 후에 아래와 같이 5군으로 나누고 각군을 7마리로 하여 실험을 실시한다. 실험동물을 경구 투여 12시간 전부터 절식시킨 후 후보 천연물 추출물과 대조군을 매일 쥐에게 300mg/Kg을 경구 투여한 후 1시간 후 혈액 0.5ml를 취하여 Rat/mouse ghrelin (active) ELISA kit (Millipore co. MA., USA)을 이용하여 Ghrelin의 량을 측정하였다.

샘플그룹의 동물의 평균체중은 아래와 같다 (mean ± SD of the mean).

1. 비교군: (Control) [174 ± 5.6g, n = 7]
2. 파리고추 물 추출 그룹: (G.P.) [173 ± 5.6g, n = 7]
3. 파리고추 물추출물 + 인삼농축액 (3: 1)의그룹: (GP+Ginseng) [172 ± 5.3g, n = 7]

4. 생강 추출액 그룹: (Ginger) [$170 \pm 5.8g$, $n = 7$]
5. 겨자 추출액 그룹: (Mustard) [$169 \pm 6.2g$, $n = 7$]

그림 21의 그래프에서 나타낸 것같이 각 천연물의 경구투여에 의하여 혈중의 Ghrelin의 농도에 변화가 있었다. 대조군의 Ghrelin의 농도가 285.5 ± 47.06 인 것에 비하여 파리고추, 파리고추와 인삼의 3대 1 혼합물, 생강에서 각각 20, 22.16 %의 Ghrelin의 농도 감소가 있었다. 하지만 겨자 앞에서는 어떠한 감소도 관찰 할 수 없었다. 따라서 천연물의 경구투여에 의한 효과는 파리고추와 인삼의 3대 1 혼합물 > 파리고추 > 생강의 순서로 효과 가있었다.

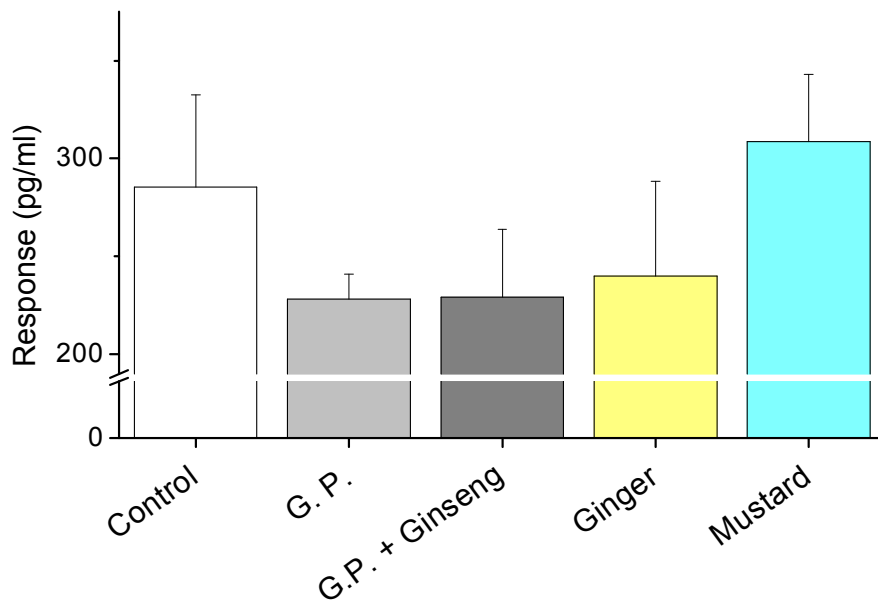


그림 21. Extracts of the Spices effects on blood gherlin concentration.

Serum ghrelin concentration was measured 1hour after oral administration of the natural spices. Ghrelin concentration in Control, G.P., G.P. + ginseng, ginger, and mustard treated groups was 285.5 ± 47.1 , 228 ± 12.7 , 221.1 ± 33.1 , 239.9 ± 14 , and 308.5 ± 34.6 , respectively. All the data represented mean \pm SEM of the mean.

2. 고지방 식이모델에 대한 효능 연구-in vivo 연구-II

비만에 미치는 효과를 보기 쉬운 동물모델인 C57BL/6 mouse (M)를 6주령짜리(17g 전후) 12마리를 1군으로 하여 정상식이군, 고지방식이군, 고지방식이+파리고추추출물 식이군, 고지방식이+파리고추·인삼 추출물(3:1)군, 고지방식이+생강추출물 식이군, 고지방식이+겨자

잎 추출물 식이군의 6군을 준비하였다. 고지방 식이는 일반 사료에 10% corn oil을 첨가하여 제작하였으며, 시료 추출물 투여군은 고지방 식이 사료에 추출물 고형분 0.3%를 첨가하여 실험동물들이 자유롭게 먹으로 수 있도록 하였다. 4주간의 사육기간을 두어 자유롭게 식수와 사료를 먹을 수 있도록 하였으며, 매주, 식이섭취량과 체중 증가율을 관찰하였고, 2주에 한번 안와 채혈을 통해 혈액을 채취하여 혈중 cholesterol 농도 변화와 혈중 ghrelin농도에 미치는 영향을 관찰하였다.

실험동물로부터 혈액을 취해 원심분리 tube에 항응고제 없이 넣은 후, ghrelin 분해를 막기 위해 Pefabloc 을 최종 농도 1 mg/ml 되도록 첨가하고 가볍게 섞어준다. 이 시료를 상온에서 30분간 방치하여 혈액 응고를 유도하고, 응고된 혈액을 2,000~3,000 xg, 15분동안 4 °C에서 원심분리한다. 분리된 상등액 (serum)을 별도의 tube에 취한 후, HCl로 최종 농도가 0.05N이 되도록 산성화 시킨 것을 분석을 위한 시료로 사용하였다.

위와 같은 방법으로 분리된 serum은 Rat/mouse ghrelin (active) ELISA kit (Millipore co. MA., USA)을 이용하여 active ghreline을 분석하였다.

실험식이를 공급한 첫 2주동안 실험동물의 사료 섭취량은 대조군은 매일 평균 2.22 g, 고지방식이군은 2.09 g, 고지방식이+파리고추추출물 식이군은 2.43 g, 고지방식이+파리고추·인삼 추출물(3:1)군 2.54 g, 고지방식이+생강추출물 식이군 2.70 g, 고지방식이+겨자잎 추출물 식이군 2.53 g 섭취하였다. 고지방 식이 자체는 평균 식이 섭취량이 대조군에 비해 감소하는 추세를 보였으나, 추출물을 함유한 고지방 식이 섭취군은 오히려 정상식이를 공급한 대조군에 비해 최고 21.6 % 식이 섭취가 증가하는 효과가 있었다. 포만감을 증대시켜 식이 섭취량을 줄이고자 하는 본 연구의 목표와는 다른 실험 결과였으나, 본 실험이 목표로 하는 효과를 위해선 소재의 섭취 형태나 시기가 결과에 영향을 미칠 수 있음을 예상케 하였다. 또한 식이 섭취량의 군간 차이는 실험 식이 공급 4주 시점에선 유의적인 차이가 없었다.

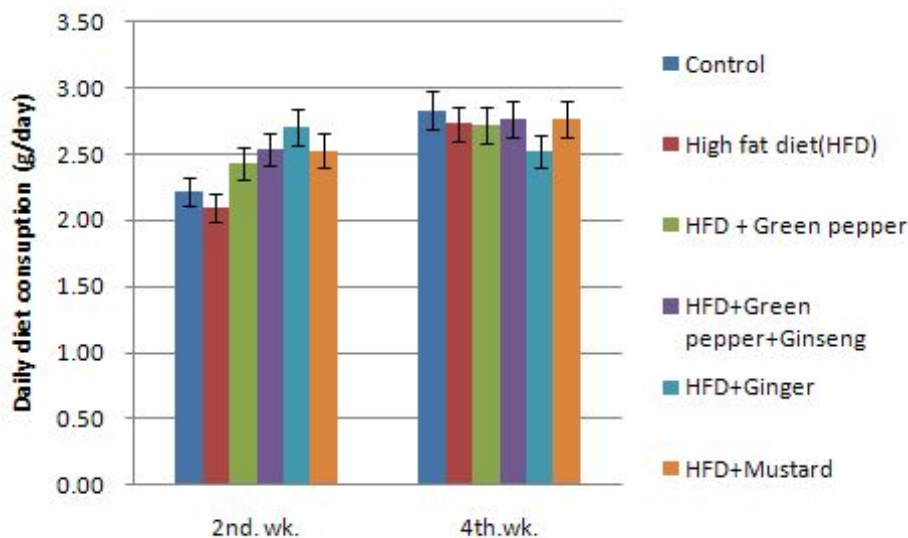


그림 22. Feeding amounts of C57BL/6 mouse group with high fat diet and spices for a day.

4주간의 관찰결과 처음 17 g 전후 였던 실험동물군의 평균 체중은 점차 증가하여 4주후, 대조군의 체중은 평균 24.09 g, 고지방식이군은 25.09 g, 고지방식이+파리고추추출물 식이군은 25.30g, 고지방식이+파리고추·인삼 추출물(3:1)군은 26.49 g, 고지방식이+생강추출물 식이군은 27.87 g, 고지방식이+겨자잎 추출물 식이군은 25.71 g으로 나타났다.

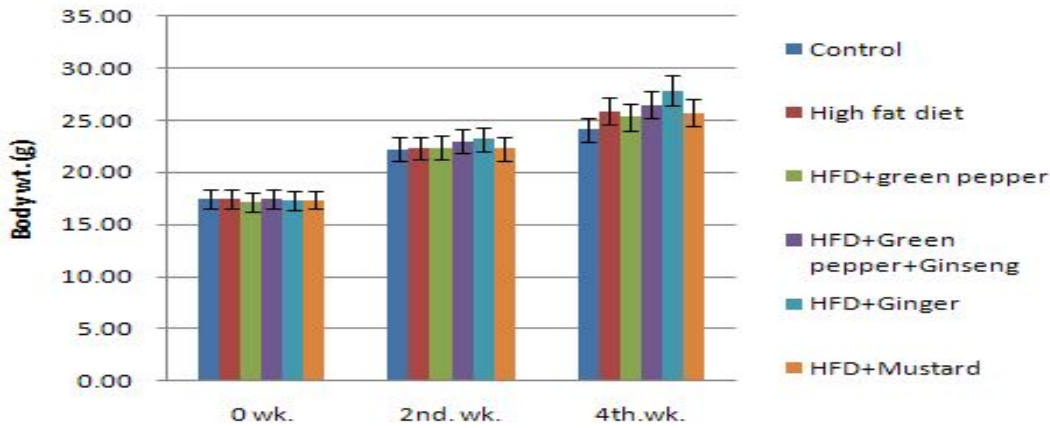


그림 23. The change of body weight in C57BL/6 mouse group with high fat diet and spices for a month.

식이 섭취량의 조절이 안됨으로 혈중 cholesterol에 미치는 영향 또한 정상食이를 섭취한 대조군이 나 고지방 식이를 섭취한 실험군에 비해 고지방식이와 시료 추출물을 함께 공급한 실험군이 혈중 수치가 높게 나타났다. 그러나 2주보다 4주에서 이러한 격차가 감소하는 것으로 나타났다.

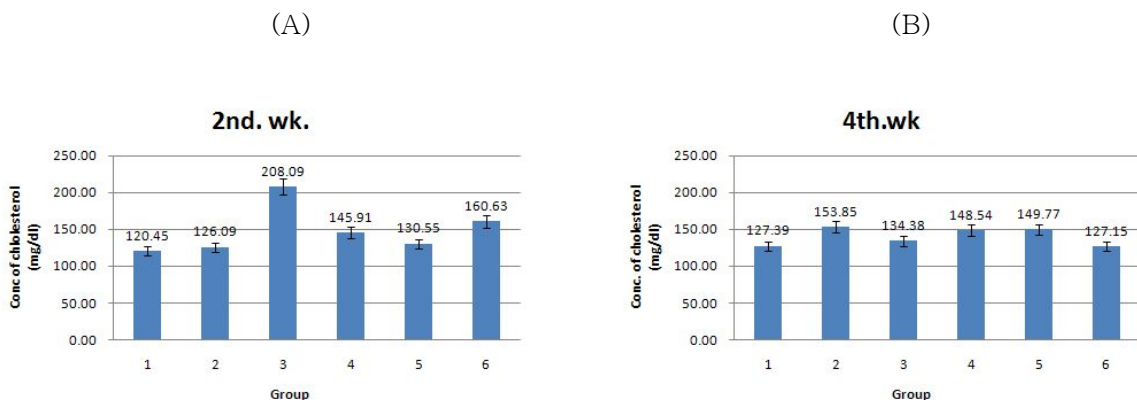


그림 24. The total cholesterol level in C57BL/6 mouse group with high fat diet and spices for a month.(1-Control / 2-High fat diet / 3-HF+Pepper / 4-HF+Pepper3+ginseng1 / 5-HF+Mustard leaf / 6-HF+Ginger)

혈중 active ghrelin의 함량 역시, 식이 섭취량이 조절 되지않은 결과를 반영하고 있다. 고지방 식이의 경우, 식이에 포함된 지방이 소장내 cck 분비를 자극하여 포만감을 주므로 체중 증가 억제면이나 혈중 ghrelin 함량에 영향을 끼치지 못한 것으로 분석되었다.

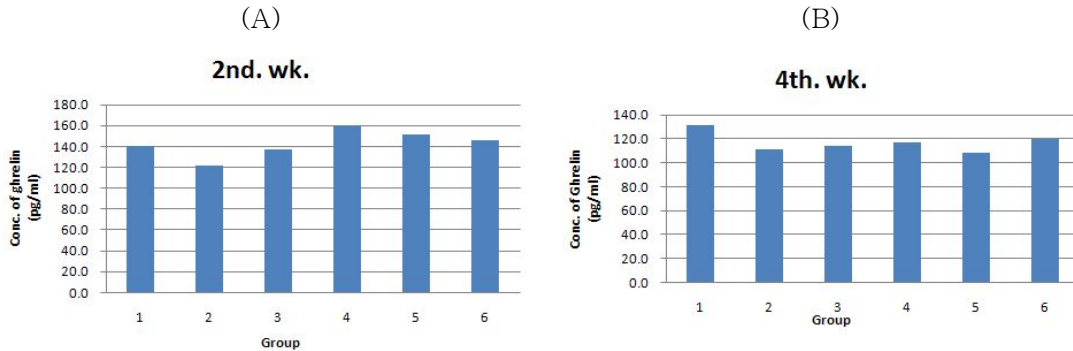


그림 25. The active ghrelin level in C57BL/6 mouse group with high fat diet and spices for a month.(1-Control / 2-High fat diet / 3-HF+Pepper / 4-HF+Pepper+ginseng / 5-HF+Mustard leaf / 6-HF+Ginger)

3. 혈중 acylated / unacylated ghrelin분비 억제효과 확인-in vivo 연구-II

앞서 실행된 동물 실험의 유효성을 확인하고 증감 되는 ghrelin의 형태를 세분화하여 조사하고자하였다. 1군은 통계적으로 분석이 가능한 최소 마리수인12마리를 1군으로 하였으며, 혈중 ghreline의 2가지 형태인 acylated type과 unacylated type 모두를 조사하였다.

실험의 과정은 아래와 같다. 모든 동물은 몸무게 200g 전후의 8주령 male SD rat을 사용한다. 동물실에서 자유로이 먹이와 물을 섭취하게하고 일주일 후에 아래와 같이 5군으로 나누고 각 군을 12마리로 하여 실험을 실시한다. 실험동물을 경구 투여 12시간 전부터 절식시킨 후 후보 천연물 추출물과 대조군을 매일 쥐에게 300mg/Kg을 경구 투여한 후 1시간 후 혈액 0.5ml를 취하여 아래와 같이 전처리 후 혈중 ghrelin(acylated/unacylated)의 량을 측정한다.

샘플그룹의 동물의 평균체중은 아래와 같다 (mean ± SD of the mean).

1. 비교군: (Control) [198.8 ± 8.2g, n = 12]
2. 파리고추 물 추출 그룹: (G.P.) [200.6 ± 5.4g, n = 12]
3. 파리고추 물추출물 + 인삼농축액 (3: 1)의그룹: (GP+Ginseng) [200.3 ± 10.9g, n = 12]
4. 생강 추출액 그룹: (Ginger) [200.8 ± 5.7g, n = 12]
5. 겨자 추출액 그룹: (Mustard) [198.8 ± 7.4g, n = 12]

Unacylated ghrelin 측정방법은 아래와 같다.

10 μl EDTA가 든 eppendorff tube 준비하여 혈액을 0.5 ml 취하고 30분 방치 후, 시료는

3,500rpm, 4°C에서 10분간 원심분리한다. 여기서 상등액을 분리하여 혈액 분석시 사용되는 EIA buffer로 10배 희석하여 사용하였다. Unacylated ghrelin의 측정은 SPI bio社에서 판매되는 rat unacylated ghrelin enzyme immunoassay kit(cat. no. A05118-96 wells)를 사용하여 측정하였다.

분석 결과, 대조군과 시료 투여군 사이에 유의적인 차이는 없었으나, 대체로 시료 투여군의 혈중 unacylated ghrelin은 대조군에 비해 평균 농도가 약간 낮은 것으로 나타났다. 각각의 투여군의 unacylated ghrelin혈중 농도는 대조군의 경우 1.66 ± 0.17 pg/ml인 반면, 파리고추 물추출물 투여군은 1.58 ± 0.28 , 파리고추와 인삼 물추출물 혼합 투여군은 1.56 ± 0.11 , 생강 물추출물 투여군은 1.50 ± 0.14 , 겨자잎 물추출물 투여군은 1.47 ± 0.29 pg/ml인 것으로 조사되었다.

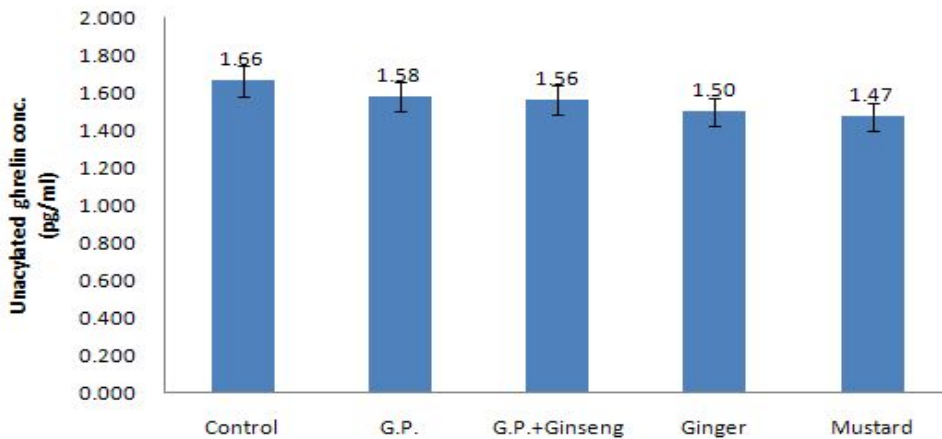


그림 26. 향신료 추출물을 공급한 SD rat의 혈중 unacylated ghrelin의 농도

Acylated ghrelin 측정방법은 아래와 같다.

EDTA와 p-PHMB(최종 농도 1mM되게 준비)가 든 eppendorff tube 준비하여 혈액 0.5 ml를 잘 섞어 30분간 방치한다. 시료는 3,500rpm, 4°C에서 10분간 원심분리한다. 상등액을 취하여 1N HCl을 100 ul/ml 씩 분리된 plasma에 즉시 첨가하고 다시 3,500rpm, 4°C에서 10분간 원심분리한다. 여기서 얻어진 상등액을 분석을 위한 시료로 사용하며 분석시 사용되는 EIA buffer에 5배 희석하여 측정한다. Acylated ghrelin의 측정은 SPI bio社에서 판매되는 rat acylated ghrelin enzyme immunoassay kit(cat. no. A05117-96 wells)를 사용하여 측정하였다.

분석 결과, acylated ghrelin은 군간의 유의적인 차이는 없으나, 평균 농도에서 unacylated ghrelin의 경우 보다 시료 투여에 의한 영향이 더 큰 것으로 나타났다. 대조군의 혈중 농도는 평균 1.47 ± 0.24 pg/ml인 반면, 파리고추 물추출물 투여군은 1.40 ± 0.32 , 파리고추와 인삼 물추출물 혼합 투여군은 1.30 ± 0.21 , 생강 물추출물 투여군은 1.31 ± 0.16 , 겨자잎 물추출물 투여군은 1.21 ± 0.30 pg/ml인 것으로 조사되었다.

이상의 결과에서 본 소재는 혈중 ghrelin 농도를 낮게 유지하여 공복감을 억제하기 위해서는 식사 전/ 공복상태의 섭취가 유리한 것으로 판단된다.

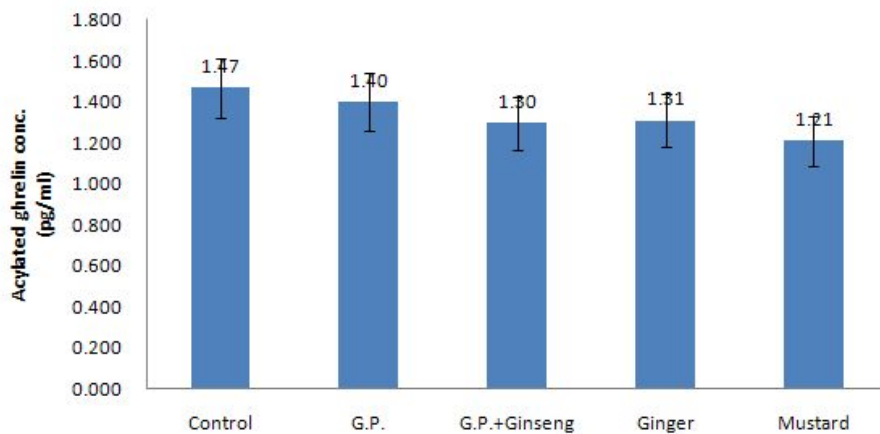


그림 27. 향신료 추출물을 공급한 SD rat의 혈중 acylated ghrelin의 농도

제7절 요구르트 및 음료 제품 개발 (2세부 및 업체)

1. 요구르트 개발

가. 시장제품의 물성 정보 수집

본 연구의 요구르트 개발 중점은 2가지로 하였다. 첫째는 안정제 등 우유와 유산균 이외의 첨가물이 첨가되지 않은 ‘natural’ 컨셉의 농후한 질감의 요구르트를 개발하는 것과, 둘째로는 본 연구 결과 선정된 기능성 추출물을 요구르트에 첨가하여 첨가농도에 따른 특성 조사 및 일반인에 대한 관능 검사 결과를 관찰하여 적정 첨가 농도를 결정하는 것이다.

1차년도의 in vitro test를 통해 파리고추추출물이 인삼 추출물의 혼합으로 포만감 중추 감각에 상승효과를 가져오는 비율이 고형분 대비 3:1임을 확인한 바 있다. 이를 이용한 제품화를 위해 업체는 comfort type의 대표적 기능성 식품 중 하나인 유산균 발효 제품(요구르트)의 개발을 원하였으며, 특히 다양한 요구르트 형태 중에서 스틱형태의 농후 발효유 형태를 개발하고자 하였다.

우유와는 다른 요구르트의 농후한 질감은 유산균이 생산하는 젖산 등의 유기산이 우유 중의 대표 단백질인 카제인과 반응하여 응고함으로써 sol 구조를 형성하는 것에서 온다. 그러나 만들어진 요구르트의 유청과 유장이 분리되는 것을 막기 위해 시판되는 농후한 질감의 요구르트(curd type 이상의 점도)에는 표 17에서 확인할 수 있는 바와 같이 젤라틴, 펙틴, 검류, 펙틴 등의 안정제를 사용하고 있다. 그러나 이러한 제품 성격은 소비자의 ‘무첨가’ 선호 경향에 반하는 것인 한편, 일부 국가 (네덜란드, 프랑스 등)에서는 안정제 사용을 금지하고 있어, 본 연구에서는 안정제와 같은 우유 이외의 첨가제 없이 점도가 높은 농후 발효유를 개발하여 본 연구의 기능성 추출물을 혼합할 수 있는 요구르트를 개발하고자 하였다.

표 17. The ingredients of marketing 'curd type yogurt'

Type	Brand	Ingredients
Curd type	떠먹는 불가리스 (남양유업)	원유 75.26%, 탈지분유, 혼합탈지분유, 시럽, 합성착향료, 포도당, NYSY4(변성전분, 젤라틴, 포도당, 구아검, 젤라틴, 혼합제재(젤라틴, 변성전분, 유화제), 아카시 아 식이섬유, 소재추출물, 피쉬콜라겐, 피노틴, 유산균
Concentrate d curd type	짜먹는 이오플레인 (남양유업)	원유 74.75%, 혼합탈지분유, 플레인시럽 15% (정백당, 변성전분, 펙틴, 로커스트 콩검, 합성착색료), 정백당, 분리유당백질분말, 카제이나트륨, NYSY4(변성전분, 젤라틴, 포도당, 구아검), 젤라틴 혼합제재(젤라틴, 변성전분, 유화제), 펙틴, 크림치즈분말, 우롱차추출물, 유산균, L-테아닌, 산화 야연

먼저 시장에서 쉽게 구할 수 있는 요구르트를 drink type, curd type, concentrated curd type 3종으로 나누어 pH와 점도를 확인하였다 (그림 44). 시판되는 요구르트의 pH는 4.1~4.3정도였으며, 점도는 drink type의 경우 6.4~12.3 cP, curd type은 66.4 cP, concentrated curd type은 449.0 cP로 조사되었다 (표 18). 이 수치를 기준으로 하여 플레인 요구르트를 제조하고, 그 다음으로 기능성 성분이 첨가된 요구르트에 응용하고자 하였다.



Fig 44. The marketing yoghurt sample.

Table 18. The pH and viscosity of various marketing yoghurt.

		pH	Viscosity (cP)
Drink type	라씨	4.1	6.4

	도마슈노	4.2	12.3
	유기농	4.2	7.2
	불가리스 20	4.3	7.7
Curd type	떠먹는 불가리스	4.2	69.4
Concentrated curd type	짜요짜요 (짜먹는 이오폐레인)	4.3	449.0

나. 균주의 선발

미생물의 세포벽 외부의 다당체 성분의 총칭이 exopolysaccharide는 면역 활성화 등의 기능성 작용에 대한 대상이 되기도 하지만, 물성, 조직, 질감 등에 영향을 미치는, 유제품에 있어선 관능 요소와 밀접한 관련을 갖는 성분이기도 하다. 그러므로, 한국식품연구원에서 보관 중인 식품 또는 사람 유래의 유산균주 5종 14가지 및 상업균주 1종을 대상으로 요구르트 제조 후 물성 변화를 비교 하였다.

탈지 우유 500 ml을 media boottle에 담아 100 °C에서 15분간 살균 한 후, 방냉하여 충분히 시킨 후, Lactobacillus 3종의 경우, MRS broth에서 배양한 균 배양액을, Bifidobacteria 2종의 경우는 Reinforced clostridial medium에서 배양한 균액을 준비된 우유에 1 % (v/v)의 비율로 접종하였다. 균액이 접종된 우유는 잘 교반해준 후, 37°C incubator에서 24시간과 48시간 동안 보관하며 적정 균주 선발을 위한 물성 변화를 관찰 하였다.

표 18에는 균주 접종에 의한 pH를 관찰한 것이다. 상업균주 ABT-B(60U), *Lac. acidophilus* KFRI 340, 341, 695, *Lac. bulgaricus* KFRI 345, *Bif. thermophilium* KFRI 748을 접종한 발효유의 pH가 48 hrs내에 4.3이하로 저하되었다. 그 중, ABT-B(60U), *Lac. acidophilus* KFRI 341, *Lac. bulgaricus* KFRI 345의 경우엔 24시간 내에 pH가 3.6~3.9까지 낮아지는 것을 확인할 수 있었다.

만들어진 이 들 요구르트의 점도는 표 19에 나타내었다. 발효 24시간 후에는 평균적인 점도가 ABT-B(60U) 70.5 cP, *Lac. acidophilus* KFRI 341는 57.8 cP, KFRI 150은 34.2 cP 순으로 나타났으며, 48시간 후의 평균 점도는 *Bif. thermophilium* KFRI 748이 88.8 cP, ABT-B(60U) 79.0 cP, *Lac. acidophilus* KFRI 341는 48.5 cP로 나타났다. ABT-B(60U)의 경우, 조사 대상 균주 중 가장 빠른 시간 내에 첨가물의 도움 없이 시판되는 curd type 요구르트에 준하는 점도에 도달하였으며, *Bif. thermophilium* KFRI 748의 경우, 48시간 발효로 시판 curd type 요구르트에 준하는 점도를 나타내었다.

Table 18. The pH of yoghurt fermented by various lactic acid bacteria

Species	pH		
	No.	24 hrs	48 hrs
	Blank	6.58	6.55
Commercial mix	ABT-B(60U)	3.79	3.61
<i>Lac. casei</i>	KFRI 228	6.39	5.90
<i>Lac. acidophilus</i>	KFRI 150	4.58	4.45
	KFRI 162	6.18	5.85
	KFRI 217	5.08	5.22
	KFRI 340	6.08	4.09
	KFRI 341	3.63	3.44
	KFRI 393	6.30	6.17
	KFRI 695	5.58	4.29
<i>Lac. bulgaricus</i>	KFRI 344	6.38	3.87
	KFRI 345	3.89	4.10
	KFRI 425	6.31	3.59
	KFRI 673	5.73	5.94
<i>Bif. breve</i>	KFRI 744	5.73	4.64
<i>Bif. thermophilium</i>	KFRI 748	5.02	4.24

☞ 19. The viscosity of yoghurt fermented by various lactic acid bacteria.

Species	Viscosity (cP)		
	No.	24 hrs	48 hrs
	Blank	1.8	1.4
Commercial mix	ABT-B(60U)	70.5	79.0
<i>Lac. casei</i>	KFRI 228	1.3	1.5
<i>Lac. acidophilus</i>	KFRI 150	34.2	48.0
	KFRI 162	2.6	1.3
	KFRI 217	3.8	1.3
	KFRI 340	1.3	37.7
	KFRI 341	57.8	48.5
	KFRI 393	1.6	1.3
	KFRI 695	1.4	1.6
<i>Lac. bulgaricus</i>	KFRI 344	9.5	2.5
	KFRI 345	1.2	23.3
	KFRI 425	31.9	40.9
	KFRI 673	1.2	2.0
<i>Bif. breve</i>	KFRI 744	1.3	16.2
<i>Bif. thermophilium</i>	KFRI 748	11.6	88.8

다. 요구르트 배합비 설정

ABT-B(60U)와 *Bif. thermophilium* KFRI 748를 이용한 요구르트를 제조하고자 하였으며, 요구르트 발효 시, 전지 우유와 탈지 우유를 사용하였을 때의 점도 비교와 함께 여기에 탈지 분유를 첨가하였을 때, 각기 다른 두 균주에 의해 만들어진 요구르트의 pH와 점도에 미치는 영향을 관찰하였다.

전지우유와 탈지우유를 1 L media bottle에 800 ml씩 담고, 각각에 탈지분유를 0, 2, 4, 6, 8 %(w/v)씩 첨가하여 잘 녹여준 후, 100 °C에서 15분간 살균하였다. 방냉하여 식힌 시료에 MRS broth에서 배양한 균액 1%를 접종하여 24시간 후의 pH와 점도 변화를 관찰하였다.

그림 29에 나타난 바와 같이 0~8 %의 탈지분유를 첨가한 요구르트의 pH는 전지분유의 경우 3.6~4.3으로 탈지분유 첨가량 증가와 함께 비례적으로 높아지는 경향을 보였으며, 탈지우유에 탈지분유를 첨가한 경우는 첨가량과 관계없이 발효 후의 pH가 4.0~4.1로 유의적인 변화가 없었다.

점도는 발효 전에는 전지우유와 탈지우유가 유의적인 차이가 없었으나, 발효 후에는 전지우유를 첨가한 발효의 점도가 더욱 큰 것으로 나타났다. 전지우유를 base로 사용한 경우, 탈지분유 첨가량이 0 %일 때는 평균 점도가 188.0 cP, 2 %일 때는 339.5 cP, 4 %일 때는 699.5 cP, 6 %일 때는 620.0 cP, 8 %일 때는 661 cP로, 4 %이상의 탈지분유를 첨가한 경우에는 시판되는 요구르트 중 가장 점도가 높은 짜먹는 요구르트의 449.0 cP 이상의 점도를 얻을 수 있었다. 그러나 4 %대 이후 부터는 탈지분유 첨가에 의한 요구르트 점도의 급격한 증가는 찾아 볼 수 없었다. 탈지우유를 base로 한 경우는 탈지분유를 첨가하지 않은 대조군의 점도가 31.9 cP였으나 탈지분유 첨가 이후, 요구르트의 점도는 점차 증가하여 8 %를 첨가한 경우엔 248.0 cP까지 증가한 것을 확인할 수 있었다. 이는 일반 curd type의 떠먹는 요구르트의 점도보다는 상회하는 점도이다 (그림 30).

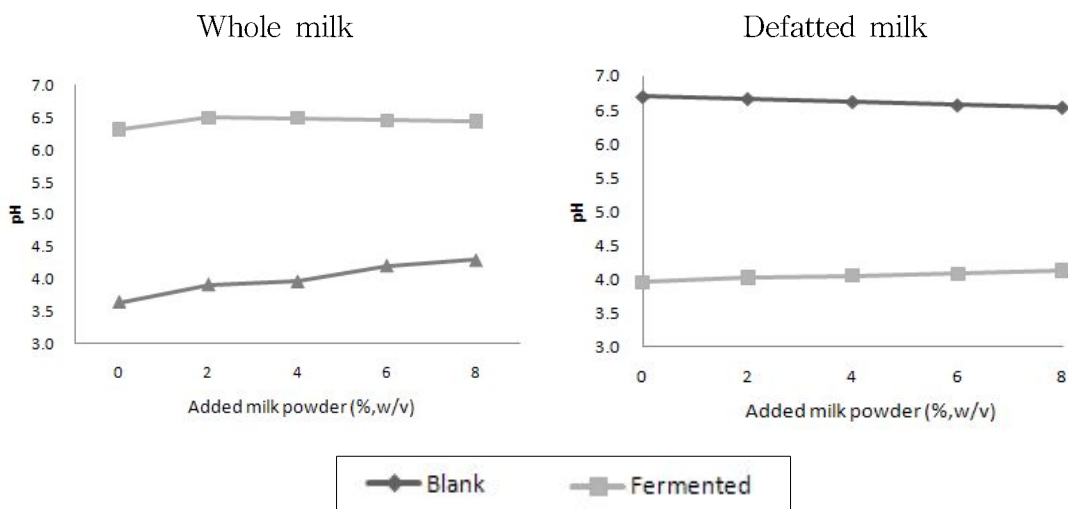


그림 29. The pH of yoghurt fermented by ABT-B(60U) for 24 hrs adding defatted milk powder.

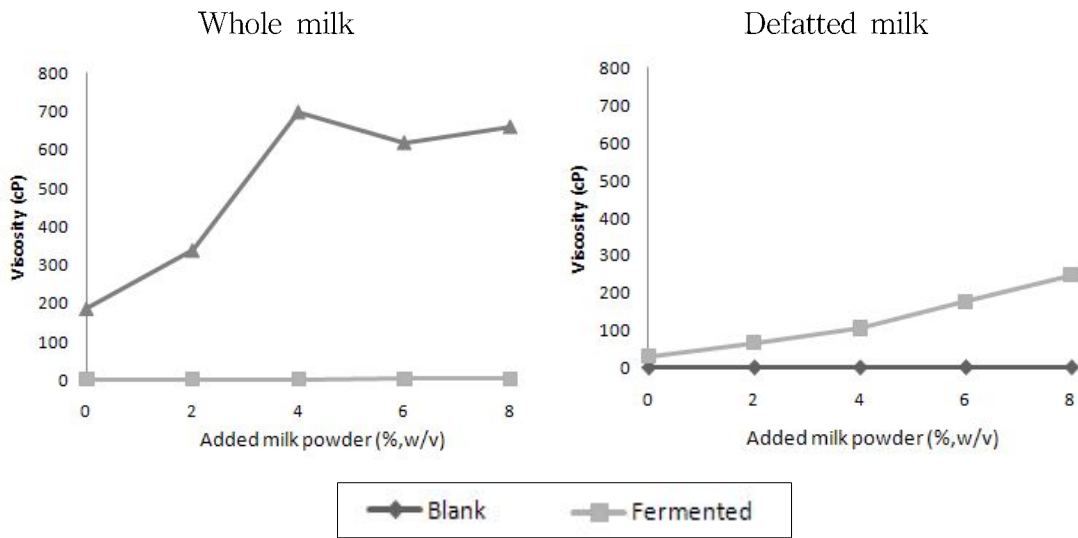


그림 30. The viscosity of yoghurt fermented by ABT-B(60U) for 24 hrs adding defatted milk powder

위와 같은 방법으로 만든 살균 요구르트 base에 RCM에서 배양한 *Bif. thermophilum* KFRI 748 균액 1%를 접종하여 48시간 후의 pH와 점도 변화를 관찰하였다.

그림 31에 나타난 바와 같이 0~8 %의 탈지분유를 첨가한 요구르트의 pH는 전지분유의 경우 4.2~4.3, 탈지우유에 탈지분유를 첨가한 경우는 4.3~4.4로 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

48시간 발효 후의 점도는 ABT-B(60U)과 마찬가지로 전지우유를 첨가한 발효유의 점도가 더욱 큰 것으로 나타났다. 전지우유를 base로 사용한 요구르트의 경우, 탈지분유 첨가량이 0 %일 때는 평균 점도가 139.0 cP, 2 %일 때는 279.5 cP, 4 %일 때는 326.0 cP, 6 %일 때는 535.5 cP, 8 %일 때는 640.5 cP로, 탈지분유 첨가량의 증가와 함께 요구르트의 점도가 증가하는 것을 확인하였다. 또, 6 %이상의 탈지분유를 첨가한 경우에는 시판되는 짜먹는 요구르트보다 높은 점도를 얻을 수 있었다. 탈지우유를 base로 한 경우는 탈지 분유를 첨가하지 않은 대조군의 점도가 27.35 cP였으나 탈지분유 첨가 이후, 요구르트의 점도는 점차 증가하여 8 %를 첨가한 경우엔 250.5 cP까지 증가하여 일반 curd type의 떠먹는 요구르트 보다 높은 점도를 확인할 수 있었다 (그림 32).

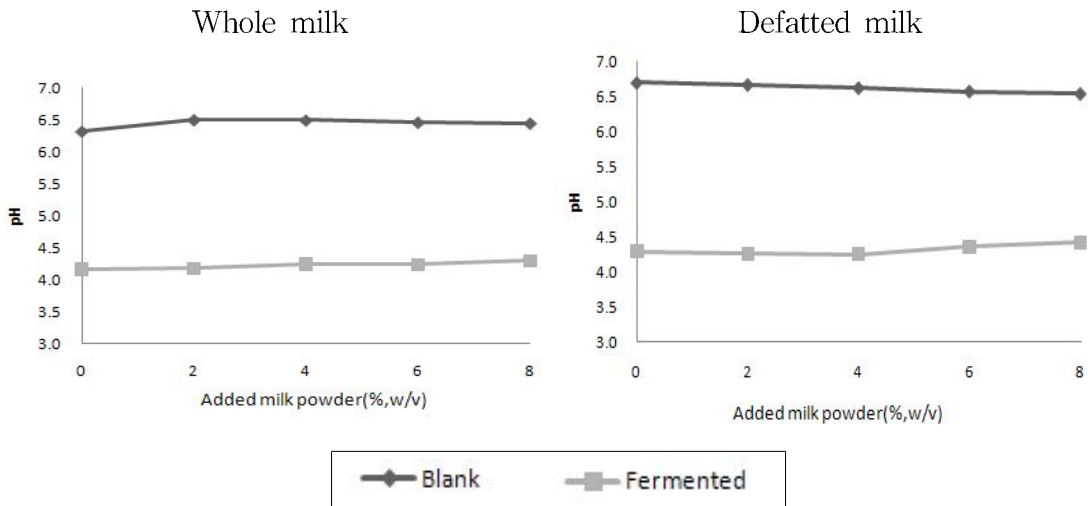


그림 31. The pH of yoghurt fermented by *Bif. thermophilium* (KFRI 748) for 48 hrs adding defatted milk powder.

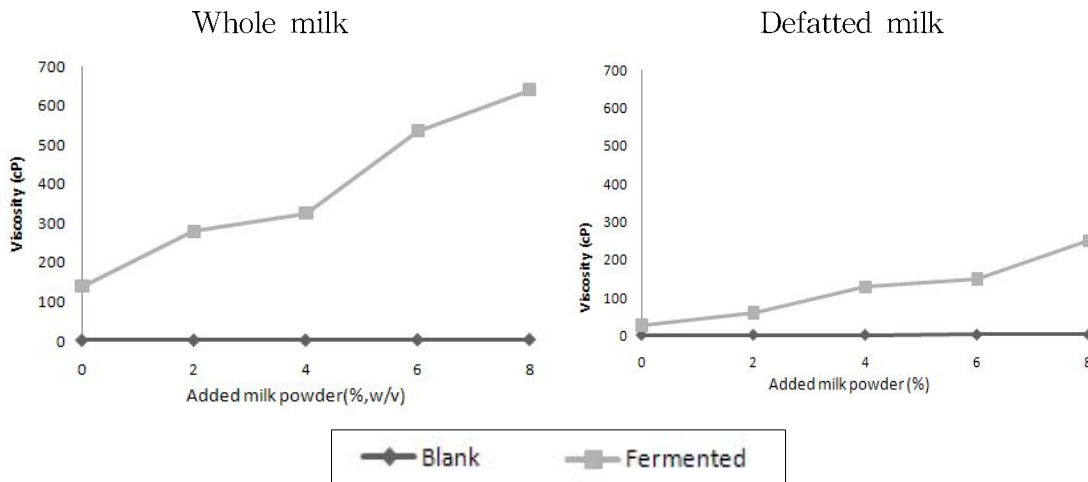


그림 32. The viscosity of yoghurt fermented by *Bif. thermophilium* (KFRI 748) for 48 hrs adding defatted milk powder

앞선 두 가지 균주 ABT-B(60U)과 *Bif. thermophilium* KFRI 748을 각각 24시간과 48 시간동안 배양하여 만든 요구르트에서 탈지분유를 전지우유에 넣은 경우가 탈지우유에 넣은 경우 보다 점도 상승 면에서 유리한 것을 확인하였다. 그러나, 두 가지 균주에 의해 각각 만들어진 요구르트는 물성 면에서 육안 적으로도 그림 33에 보이는 것처럼 차이가 있었다. ABT-B(60U)로 만들어진 요구르트는 부드럽고 고운 형태의 curd가 생겨 식감면에서도 우수하였으나, *Bif. thermophilium* KFRI 748로 만들어진 요구르트는 굳어있고 단단한 덩어리에 의한 덩어리가 생겨 질감이 거칠다는 단점이 있었다. 그러므로 본 연구의 기능성 농축액을 함유한 요구르트를 만들기 위해서는 전지우유에 4 % 탈지분유를 첨가하

고, ABT-B(60U)균주를 접종하여 24시간 발효시킨 요구르트를 이용하기로 하였다.

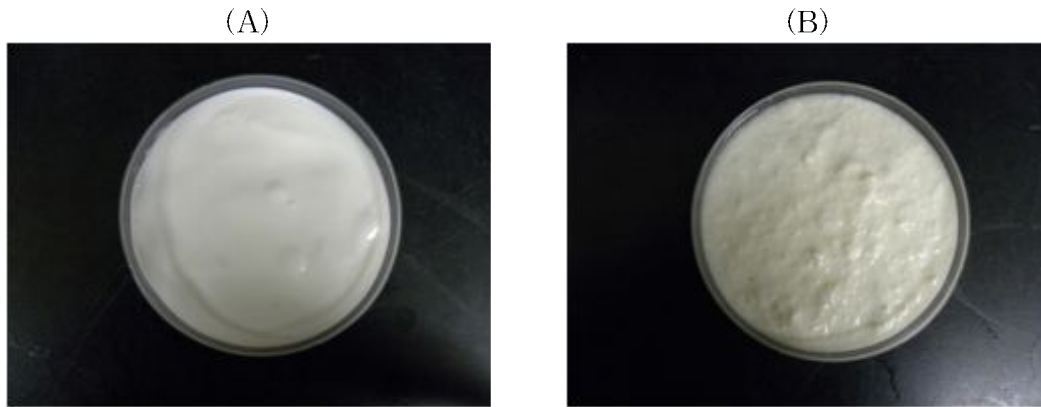


그림 33. The yoghurt fermented by ABT-B(60U) for 24 hrs.(A) and *Bif. thermophilium* (KFRI 748) for 48 hrs.(B)

라. 농축액을 첨가한 요구르트에 대한 기호도 조사

파리고추 추출물과 인삼 추출물을 고형분 함량 대비 3:1로 혼합한 혼합 추출물을 넣은 요구르트를 만들려고 한다. 농도 결정 실험에 앞선 사전 연구에서 혼합 추출물은 1%(w/v) 이상을 첨가했을 때는 쓴 맛이 너무 강하여 기호도가 현저히 떨어졌으므로, 조사 대상 농도의 범위는 추출물 1% 이내 함유 농도에서 하고자 하였다. 또한 관능검사에 영향을 미치는 요인으로는 인삼의 쓴 맛이 가장 크게 나타나, 관능검사에 이를 반영하여 색상, 쓴 맛, 매운 맛에 초점을 두어 기호도 조사를 하고자 한다. 기호도 조사는 20~30대 사이의 남녀 30명을 대상으로 이루어졌다.

Pyrex bottle에 진지우유 800 ml, 탈지분유 32 g, 프락토올리고당 48 g을 넣고, 혼합 농축물 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 %를 각각 첨가하여 잘 교반한 후, 100°C, 15분간 살균과정을 거친다. 준비된 base에 ABT-B(60U)를 배양한 MRS broth (1.7×10^{11} cfu/ml) 1%(v/v)을 접종하여 24시간동안 37°C incubator에서 배양한다. 만들어진 요구르트는 4°C로 냉각하여 관능검사를 실시하는 한편, pH, 산도, 균수, 색도, 점도 등 물리·화학적 특성을 조사하였다.

혼합 추출물 첨가에 따른 pH 및 산도, 균수에는 유의적인 영향이 없었다. (Fig 34, 35). 혼합 추출물을 0~0.8% 첨가하여 만들어진 요구르트는 pH가 3.9~4.0이었으며, 산도는 1.31~1.57로 첨가량이 증가함에 따라 점차 증가하는 경향은 있었으나 유의적이지는 않았다. 또한 BL agar plate에서 계수한 균수는 $2.8 \sim 10.5 \times 10^{10}$ 이었으나 유의적인 수준의 변화는 없었다.

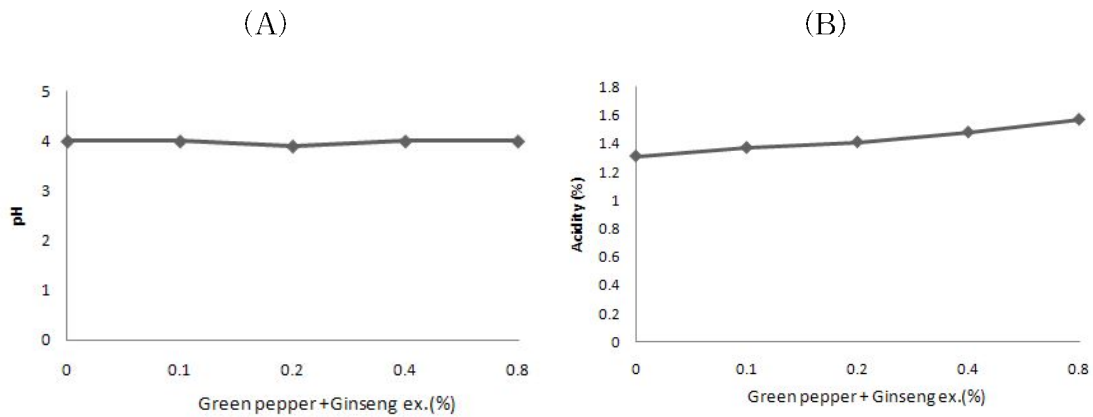


그림 34. The pH and acidity of yogurts with each concentrats of green pepper and ginseng extracts.

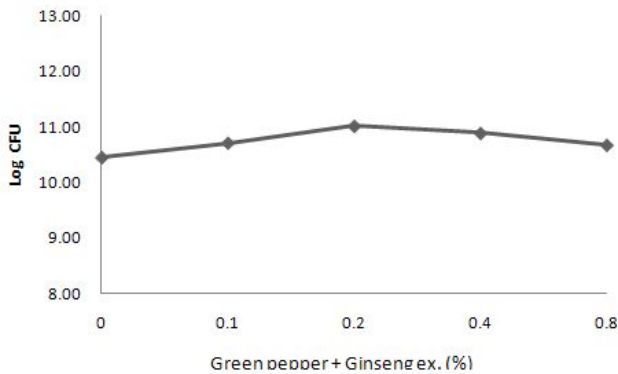


그림 35. The viable cell counts in yogurts with each concentrats of green pepper and ginseng extracts.

그림 36은 혼합 추출물 0~0.8 % 를 첨가한 요구르트의 성상을 보여주는 것이다. Hunter LAB의 색차계를 이용하여 색상 변화를 LAB value로 측정한 값을 fig 10에 나타내었다. 혼합 추출물의 첨가량이 증가할수록 갈색이 조금씩 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, LAB value에서도 밝기의 증감을 나타내는 L값이 첨가량의 증가와 함께 11.53에서 0.79로 감소하여 요구르트의 밝기가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 red에서 green까지의 색도 변화를 보여주는 a 값은 10에서 1.37로 감소하였고, yellow에서 blue까지의 색도 변화를 보여주는 B값은 19.13에서 1.37로 변한 것을 확인할 수 있었다. 이로써 혼합 추출물의 첨가에 의한 색상 변화는 육안으로 뿐 아니라 기기적인 측정 수치로도 확인할 수 있었다.

그림 36. The yogurts with each concentrats of green pepper and ginseng extracts. (A-control, B-0.1% concentrats of green pepper and ginseng extracts, C-0.2%, D-0.4%, E-0.8%)

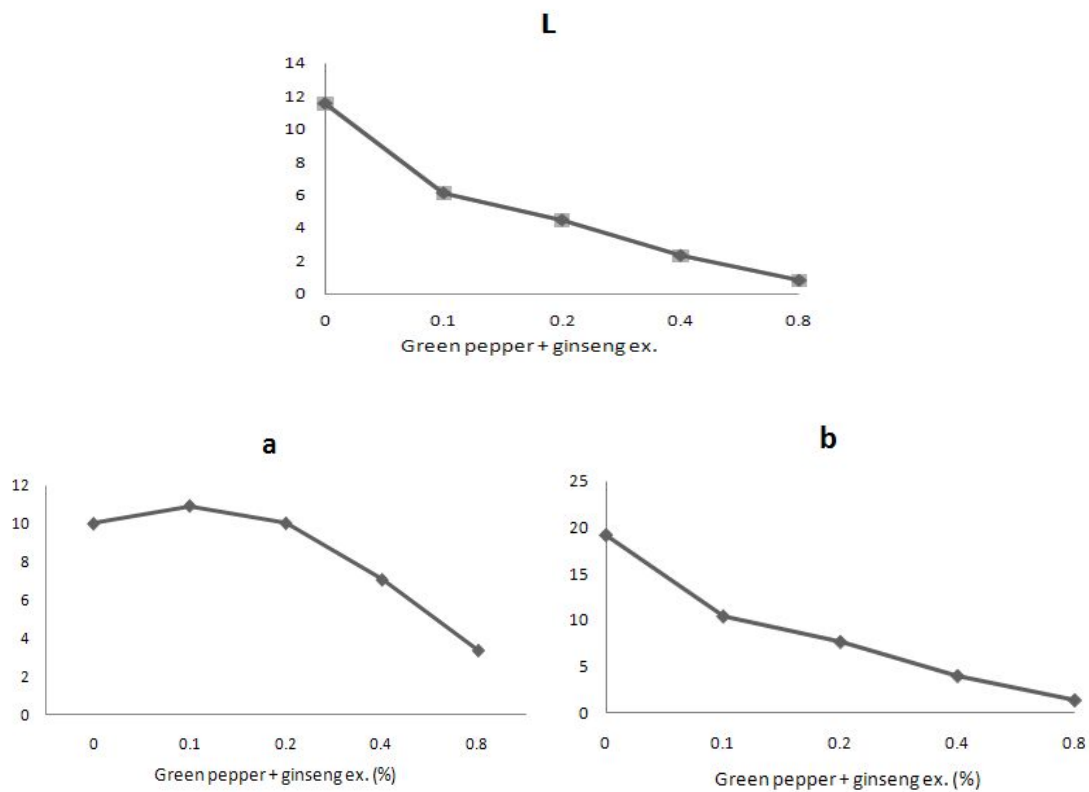
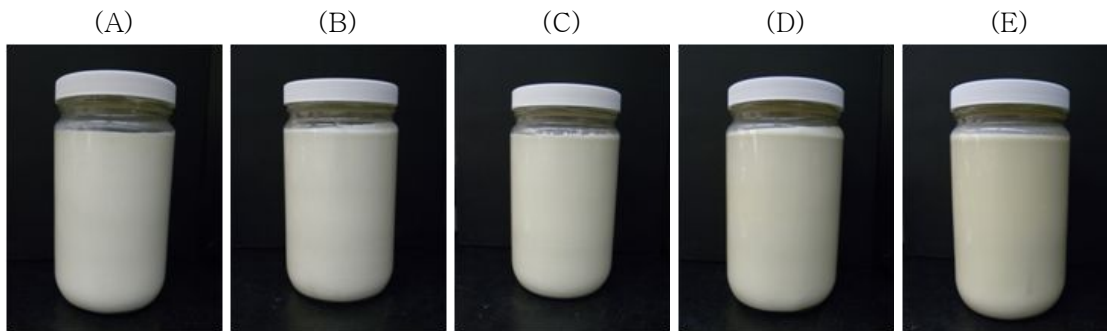


그림 37. The Lab value of yogurts with each concentrats of green pepper and ginseng extracts.

관능검사를 통해 만들어진 요구르트에 대한 기호도를 측정하기에 앞서 각각의 시료를 에 대한 변별력을 확인코자 색상, 쓴 맛, 매운 맛, 신 맛에 대한 강도를 질문하였으며 그 결과는 table 4에 나타내었다. 색상은 추출물 무첨가군에서 최대 농도 0.8 %첨가한 것까지 농도별로 진하기를 구분하였으며, 쓴 맛과 매운 맛은 첨가량에 따라 진하기를 구분하였으나 유의적으로 첨가물에 대한 해당 맛의 세기를 인식하는 수준은 0.4 %이상의 첨가일 때 인 것으로 나타났다. 첨가물에 의한 신맛 인지에 미치는 영향은 없는 것으로 나타났다 (표 20).

표 20. The sensory intensity value of yogurts with each concentrats of green pepper and ginseng extracts.

Extracts conc.	Score for intensity			
	Color	Bitterness	Hot spicy	Sour
Control	3.8 ± 1.1 ¹⁾	3.2 ± 1.7	2.7 ± 1.6	6.5 ± 1.7
0.1	5.0 ± 1.0* ²⁾	4.0 ± 1.9	3.4 ± 1.6	6.3 ± 1.2
0.2	5.7 ± 0.7*	4.5 ± 1.7	3.8 ± 1.9	6.1 ± 1.7
0.4	6.9 ± 1.0*	5.5 ± 2.0*	5.0 ± 2.0*	6.2 ± 1.4
0.8	7.9 ± 0.9*	6.4 ± 1.7*	6.3 ± 1.8*	6.2 ± 2.0

(1=Very weak, 5=moderate, 9=Very strong)

1) Mean ± S.D

2) *, Values are significant at p<0.05

혼합 추출물 첨가별 요구르트의 기호도 조사 결과는 table 5에 나타내었다. 9점 척도법으로 조사하여 0점인 ‘매우 싫다’에서 5점인 ‘보통이다’, 9점인 ‘매우 좋다’까지로 해당 요구르트에 대한 본인의 기호를 숫자화하여 표현하도록 하였다. 색상에대한 기호도는 추출물의 함량이 증가하면서 선호하는 정도가 감소하는 경향을 보였으며, 특히 0.4 %이상의 추출물을 함유한 요구르트는 plain 상태의 요구르트에 비해 분명한 기호도의 차이를 보였다. 쓴 맛과 매운 맛에 의한 요구르트의 맛 선호도도 농도 의존적으로 감소하였으며, plain 요구르트대비 유의적인 차이를 보이는 수준은 0.2 %이상의 첨가 상태였고, 0.4%이상에선 평균적으로 약간 싫은 맛으로 인식하였다. 모든 관능적 요인을 반영한 종합적 기호도에서 plain 대비 유의적인 차이를 보이는 수준은 0.4 %이상이었으며, 이 농도 이상의 첨가에서 전체적으로 싫은 맛으로 인지한다는 결과를 보여줬다 (표 21).

표 21. The sensory preference value of yogurts with each concentrats of green pepper and ginseng extracts.

Extracts conc. (%)	Score for acetability				
	Color	Bitterness	Hot spicy	Sour	Total
Control	7.3 ± 1.4 ¹⁾	7.0 ± 1.4	6.8 ± 1.5	5.6 ± 2.2	6.3 ± 2.1
0.1	6.7 ± 1.3	6.2 ± 1.2	6.1 ± 1.3	5.4 ± 1.4	6.3 ± 1.5
0.2	6.1 ± 1.5	5.6 ± 1.2*	5.3 ± 1.4*	5.1 ± 1.2	5.4 ± 1.5
0.4	5.1 ± 1.6* ²⁾	4.3 ± 1.4*	4.5 ± 1.6*	5.1 ± 1.3	4.3 ± 1.5*
0.8	4.1 ± 1.3*	4.0 ± 1.6*	4.5 ± 1.7*	4.5 ± 1.6	3.8 ± 1.3*

(1=Very bad, 5=moderate, 9=Very good)

1) Mean ± S.D

2) *, Values are significant at p<0.05

본 요구르트의 연구 결과는 아직 추출물이 기능성을 나타낼 수 있는 섭취량이 확인되기 이전에 단순 혼합을 통해 만들어진 것이므로, 실험 농도보다 더 많은 양의 농도가 포함되어야 유효한 경우에는 고추의 매운 맛보다 더 기호도에 영향을 미치는 인삼의 쓴 맛을 masking 하기 위한 방법이 개발되어야 할 것이다.

마. 요구르트의 저장성 평가

(1) 유산균 생균수 측정

제조일 호상 요구르트의 생균수는 배양물 0.5 mL에 0.9% saline용액 4.5 mL을 혼합하여 10배 희석법으로 희석하였고, 이후 저장 기간에 따른 대조구, 실험구 호상 요구르트 역시 요구르트 0.5 mL에 0.9% saline용액 4.5 mL을 혼합하여 10배 희석법으로 희석하였다. 각각의 희석액은 1mL씩 horse blood를 첨가한 BL agar plate에 접종하여 평판측정법으로 생균수를 3회 반복 측정하였다. 각각의 plate는 37°C 인큐베이터에서 40시간 배양 후 형성된 colony 수를 계측하고 그 colony에 희석배수를 곱하여 시료 mL당 CFU(Colony Forming Unit)로 나타내었다.

저장기간 중 7일까지는 생균수가 대조군의 경우 9.00×10^8 에서 1.08×10^{10} 까지 증가하였고, 시료 첨가군의 경우 1.48×10^{10} 까지 증가하였으나, 그 이후 점차 감소하여 저장 12주 후에는 대조군은 1.74×10^9 , 시료 첨가군은 6.68×10^8 까지 생균수가 감소하였다.

표 22. The change of viable cell counts in yoghurt for 12 weeks

(CFU/mL)

Period	Control	Sample
0 day	6.64×10^9	6.95×10^8
1 day	1.03×10^9	4.61×10^9
3 day	7.96×10^9	1.25×10^{10}
7 day	1.08×10^{10}	1.48×10^{10}
14 day	1.69×10^8	3.98×10^8
21 day	3.52×10^8	1.14×10^8
28 day	1.23×10^8	9.6×10^7
8 week	3.34×10^9	9.6×10^7
12 week	1.74×10^9	6.68×10^8

(2) pH

배양물 또는 호상 요구르트 5g에 증류수를 가하여 50mL로 정용한 용액을 시료로 사용하였다. pH는 ph meter(pH 209, Hanna instruments, Italy)를 이용하여 측정하였다. 저장기간 12주 동안 샘플을 처리하지 않은 호상요구르트와 샘플처리한 호상요구르트의 pH변화는 제조일 기준으로 제조일과 저장 0일 사이에 산성화 된 후 저장기간이 길어짐에 따른 변화는 나타내지 않았다 (그림 38).

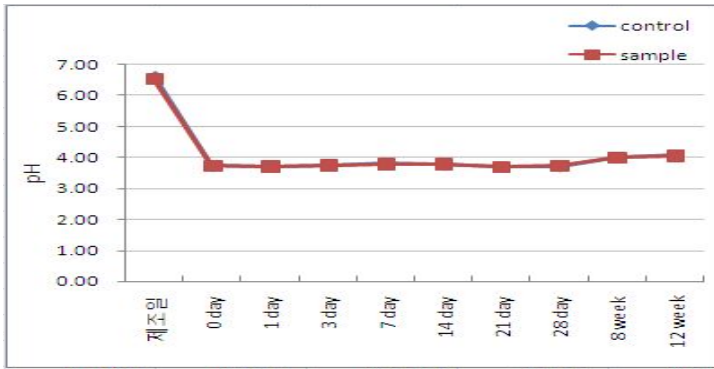


그림 38. The change of pH in yoghurt for 12 weeks

(3) 적정산도

배양물 또는 호상 요구르트 10g에 증류수 25mL을 가하여 혼합한 용액을 시료로 사용하였다. 각 시료에 0.1N NaOH 용액을 가하여 pH 8.4에 도달할 때까지 소요된 양으로부터 산출하여 젖산함량으로 표시하였다.

샘플을 처리하지 않은 호상요구르트와 샘플처리한 호상요구르트의 적정산도는 제조일을 기준으로 제조일과 저장 0일에 산도가 급격히 증가하였다. 이후 저장기간동안 샘플을 처리하지 않은 호상요구르트는 0.5257~0.5845%내의 산도를 나타내었고, 샘플처리를 한 호상요구르트에서는 0.5554~0.6260%내의 산도를 나타냄으로써 호상요구르트에 샘플을 처리함으로써 산도가 샘플처리하지 않은 호상 요구르트보다 낮아짐을 확인할 수 있었다.

2.. 음료 제조

가. 파우치형 음료의 개발

(1). 배합비 설정 및 기호도 조사

파리 고추 물추출물과 인삼 물추출물을 고형분 함량 기준 1:3으로 섞은 베이스를 이용한 음료 개발을 시도하였다. 이 음료 개발의 초점은 업체에서 생산하기 편한 파우치 형 제품을 개발하는 것으로, 그를 위해 진한 농도감을 주는 것과 맵고 쓴 혼합물 베이스의 단점을 마스킹할 수 있는 혼합 재료를 선별하는데 두었다.

1단계. 기본 베이스(파리고추추출물+인삼추출물) 농도별 특성 평가

파리 고추 물추출물과 인삼 물추출물을 고형분 함량 기준 1:3으로 섞은 기본 베이스의 희석 농도를 조사한 결과 고형분 함량 0.5 % 를 초과하는 희석액의 경우 매운 맛에 의한 심한 거부감을 보였다. 이 후 기본 베이스의 농도는 고형분 함량 0.5%를 기준으로 첨가물을 찾고자하였다.

기본 베이스 농도 (고형분 함량 기준)	pH	당도(%)	특징
0.5%	4.52	0.8	약한 매운맛과 인삼 맛을 느끼나 전체적으로 맛이 평범하고 특징이 없음
1.0%	4.39	1.4	매운맛을 느낌
5.0%	4.29	5.3	매운맛이 강함
10.0%	4.28	13.2	매운맛이 매우 강함

2단계. 과즙 및 한약재 추출물의 혼합

기본 베이스에 감귤, 사과, 대추, 당귀, 천궁, 녹차 추출물 및 현미분말녹차를 혼합하여 혼합시 그 특징을 확인하고자 하였다. 일반 과즙의 경우, 농도를 높일 경우, 상큼함은 있으나 기본 베이스와의 부조화가 두드러졌고, 매운 맛의 마스킹 효과가 떨어졌다, 한약재 추출물의 경우, 한약재의 맛과 향이 강해 기본 베이스의 특성을 가리는 효과가 있어서 부적절하였다. 그러나, 현미가루를 포함한 녹차 분말의 경우, 구수한 맛과 말차의 수렴미가 기본 베이스와 조화를 이뤘으며, 첨가물 중 가장 매운 맛에 대한 거부감을 줄일 수 있는 소재임을 확인하였다. 첨가농도는 기본 베이스 0.5%에 현미녹차 분말 0.5% 포함하는 것이 유리하였다.

혼합비율	pH	당도(%)	특징
기본베이스 0.5%+감귤 1.0%	3.92	2.3	밍밍하며 매운 맛이 거슬림.
기본베이스 0.5%+감귤 2.0%	3.6	3.6	상큼한 맛이 남으며 매운맛이 감소함
기본베이스 0.5%+감귤 4.0%	3.18	5.4	매운맛은 감소하나 상큼함에 전체적인 맛이 감소함
기본베이스 0.5%+사과 2.0%	3.83	3.8	맛의 개성이 없고 평범함
기본베이스 0.5%+대추 0.5%	4.24	1.7	맛이 순화되는 듯하며 다른 한약재에 비해 색이 진함
기본베이스 0.5%+대추 1.0%	4.22	2.2	인삼맛이 다소 묻히며 먹기 편하며 색이 진함
기본베이스 0.5%+대추 2.0%	4.18	3.4	대추맛이 너무 강하며 색이 진함
기본베이스 0.5%+당귀 0.5%	4.32	1.6	맛이 순화되지 못하며 침전물이 거의 없음
기본베이스 0.5%+당귀 1.0%	4.32	2.2	한약재 맛이 강하며 침전물이 다소 많음
기본베이스 0.5%+당귀 2.0%	4.34	3.6	당귀맛과 인삼 맛이 강하게 느껴지며 침전물이 많으며 색이 확연히 진함

기본베이스 0.5%+천궁 0.5%	4.33	1.6	인삼쓴맛이 구수함에 가려지며 침전물이 거의 없음
기본베이스 0.5%+ 천궁 1.0%	4.36	2.1	천궁맛이 강하게 남으며 침전물이 남음
기본베이스 0.5%+ 천궁 2.0%	4.39	3.6	인삼쓴맛과 함께 천궁맛이 강하게 남음
기본베이스 0.5%+ 녹차 0.5%	4.63	1.4	매운맛이 강하게 느껴짐
기본베이스 0.5%+ 녹차 1.0%	4.53	1.8	매운 맛이 강함
기본 베이스 0.5% + 현미분말녹차 0.5%	4.59	1.0	다른 첨가물에 비해 녹차맛이 매운맛을 순화하며 무난함.
기본 베이스 0.5% + 현미분말녹차 0.25%	4.47	0.9	전반적으로 평범하며 매운맛이 강함
기본 베이스 1.0% + 현미분말녹차 0.5%	4.63	1.4	매운맛이 강하게 느껴짐
기본 베이스 1.0% + 현미분말녹차 1.0%	4.53	1.8	매운 맛이 강함

- 고과당과 산미 조절제의 첨가 결정

단맛의 기호성을 부여하기 위해 고과당을 2~3% 첨가하였고, 여기에 어울리는 산미 조절제를 농도별로 첨가하여 가장 조화도가 높은 것으로 평가되는 첨가물을 조사하였다. 그 결과 레몬 농축액, 아스코르브산, 구연산 중 음료의 조화도와 매운맛 저감화에 기여하는 첨가물은 구연산으로 확인되었다.

	pH	당도(%)	기타
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 2%+레몬농축액 0.2%	4.58	3.7	달며 매운맛이 약감 남고 레몬맛은 거의 나지 않음
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 3%+레몬농축액 0.2%	4.55	4.7	2%보다 달며 다소 질림, 레몬맛이 거의 나지 않음
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 2%+Vit C 0.2%	3.77	3.3	새콤함이 어울리지 않으며 다소 느끼함
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 3%+Vit C 0.2%	3.74	4.7	과당 2% 첨가보다 다소 다나 조화롭지 못하며 매운맛이 더 남음
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 2%+구연산 0.2%	3.17	3.4	Vit C 첨가 음료보다 더 신맛이 강하며 매운맛이 느껴지지 않음
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 3%+구연산0.2%	3.14	4.5	2% 첨가 음료와 비슷하며 매운맛이 느껴지지 않음.

-구연산 첨가농도 결정

산미 조절제로 선택된 구연산의 첨가는 0.02%이하가 바람직한 것으로 확인되었다.

	pH	당도(%)	기타
--	----	-------	----

베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5%+과당 2% +구연산 0.01%	4.48	3.7	신맛이 거의 느껴지지 않음
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5%+과당 2% +구연산 0.02%	4.22	3.6	산뜻함이 있음
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5%+과당 2% +구연산 0.05%	3.63	4.0	신맛이 강함
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5%+과당 2% +구연산 0.1%	3.46	3.8	신맛이 강하게 느껴짐

- 안정제의 혼합 농도 결정

현미녹차 분말을 이용한 음료의 제조는 시간이 경과하면 침전물이 형성되므로 침전을 최소화하는 한편, 기호성에도 긍정적인 영향을 갖는 안정제를 찾고자하였다. 상업적으로 많이 이용되는 젤란검과 카라기닌검을 대상으로 한 조사 결과, 젤란검 0.01%를 첨가하였을 때, 전반적인 맛의 조화도가 가장 높다는 의견을 보였다.

	pH	당도(%)	기타
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 2%+구연산 0.01% +젤란검0.01%	4.3	3.7	색이 진함, 맛이 조화로움
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 2%+구연산 0.01% +젤란검0.005%	4.3	3.3	맛은 순하나 침전물(가루)가 생김
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 2%+구연산 0.01% +카라기닌검0.05%	4.5	3.1	침전물이 거의 없으며 맛이 평범함
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 2%+구연산 0.01% +카라기닌검0.1%	4.5	3.6	성상이 거칠며 색이 진함,부드러운 맛
베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5% +과당 2%+구연산 0.01% +젤란검0.0025%+ 카라기닌검0.025%	4.4	3.0	침전물이 거의 없으며 맛이 조화롭지 못함

- 최종 관능 평가

이상의 음료 조성을 위한 기초자료 조사 테스트를 토대로 음료 조성을 만들었으며, 인삼과 고추 추출물 만을 포함한 기본 베이스와 비교 관능을 실시하였다. 조사 대상자는 20~40대 남·녀 30명을 대상으로 하여 각각의 음료에 대한 강도와 기호도를 평가하였다. 아래의 표 23은 관능평가에 사용된 음료의 조성을 표시한 것이다.

표 23. The composition of pouch type beverage

	조성
--	----

대조구	기본베이스(인삼+고추=0.5%)만 첨가
현미녹차 분말 함유 음료	기본베이스 0.5%+현미 가루 녹차0.5%+과당 2%+레몬 농축액 0.2%+젤란검 0.01%+구연산 0.01%+Vit C 0.005%

강도 평가

기호도 조사에 앞서 각각의 재료를 혼합한 음료를 마실 때 느껴지는 단맛, 쓴맛, 매운맛, 신맛 강도를 평가하였다. 기본 베이스의 함량은 동일함에도 평균적으로 현미녹차 분말 음료의 형태에서 매운 맛과 쓴 맛을 덜 느낀다고 응답하였다 (표 24).

표 24. The intensity score of each flavor for pouch type beverage

	쓴맛	매운맛	신맛	단맛
대조구	4.73±1.16	4.93±0.96	2.40±1.12	2.67±1.50
현미녹차 분말 함유 음료	3.87±1.36	3.67±1.11	3.07±1.53	3.93±1.10

기호도 평가

대조구와 현미녹차 분말 함유 음료의 기호도를 조사한 결과, 제시된 음료는 대조구에 비해 매운 맛, 신맛, 단맛에 대한 선호도 증가에 따라 종합적인 기호도가 유의적으로 좋은 것으로 평가되어 졌다 (표 25).

표 25. The preference score of each flavor for pouch type beverage

	쓴맛	매운맛	신맛	단맛	종합적인 기호도
대조군	4.00±1.31	2.67±1.05	3.67±1.50	3.00±1.25	2.93±1.22
현미녹차 분말 함유 음료	3.80±1.01	3.80±1.15	4.20±0.94	4.20±1.08	4.13±1.25

(2). 대량 생산 공정 설계

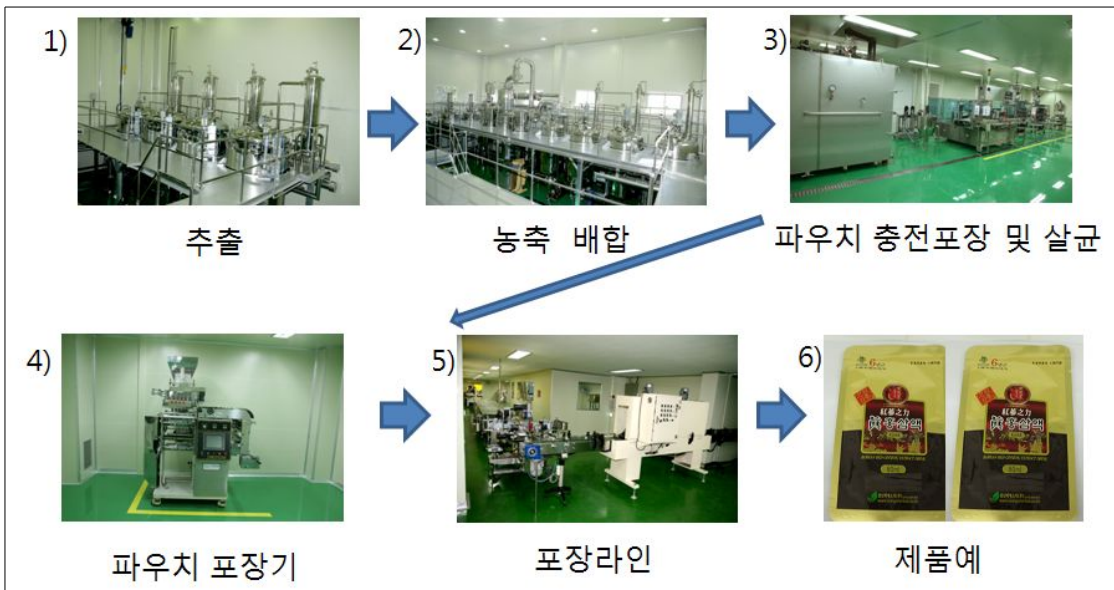
파우치 제품은 기존에 업체에서 보유한 생산 라인을 최대한 활용할 수 있는 제품 형태 이다. 1차 시제품 제조는 기존 라인을 이용한 생산시 해결해야할 부분을 조사하였다.

1차 설계 추출 → 농축 → 배합 → 파우치 충전 → 살균 → 포장 → 제품

기존 라인만을 이용할 경우, 녹차 분말이 기본 배합에 들어가는 제품의 특성상 저장 중 침강 지수가 높아지는 것을 확인하였으므로 이를 최소화하기 위해 균질화 공정 추가가 요구됨. / 폴리빅스트로즈 첨가 시 배합 형태 조정 필요..

2차 설계

추출 → 농축 → 배합 → [균질화] → 파우치 충전 → 살균 → 포장 → 제품



최종 라인의 생산능력은 60,000포/일(8시간)으로 확인되었다.

(3) 파리 고추-인삼 파우치 음료의 저장성 평가

녹차 분말을 이용한 음료의 경우, 저장 기간 동안 녹차분말에 함유된 chlorophyll 성분이 산화되어 갈변될 가능성이 있으므로 품질 관리를 위해 이에 대한 관찰을 중심으로 저장성 평가를 실시하였다.

본 실험에서는 파리고추 농축액 및 인삼농축액을 첨가한 음료를 제조하여 각기 다른 두 온도 15℃, 37℃에서 저장하며 저장기간에 따른 음료의 품질변화를 관찰하였다. 각 추출물은 고형분 함량 기준 0.5%를 기준으로 하여 파리고추농축액, 인삼농축액을 첨가하였고 현미가루녹차(동서식품), 과당, 레몬농축액, 젤란검, 구연산 및 비타민 C를 첨가하여 총량은 물로 정량하여 stir로 혼합하였다. 이후 mixer를 이용하여 1분간 균질화 후 95℃에서 30초간 가열 살균하였다. 살균 후 즉시 80mL씩 파우치에 담은 후 sealing하여 차가운 물에서 급냉각 시킨 후 각각 15℃, 37℃에 저장하며 저장 기간에 따라 한 팩씩 개봉하여 품질특성을 실험하였다. 본 실험에서는 저장 온도를 15, 37℃로 설정한 후 6 개월동안 저장 0주부터 2주 간격으로 미생물, pH 및 색도를 측정하였다.

(가) pH

저장온도별 저장 기간에 따른 음료의 pH변화는 ph meter(pH 209, Hanna instruments)를 이용하여 측정하였다. 각 음료는 2mL 씩 튜브에 담은 후 실온에서 3회 반복 측정하였다. 15°C에서 저장한 인삼음료와 37°C에서 저장한 인삼음료 모두 제조일의 pH값을 기준으로 저장 4주차까지는 점차 산성화되는 경향을 보이다 10주차까지는 안정화상태를 보였다. 이후 12주차부터 실험 종결주까지는 다시 pH가 상승하는 경향을 보임으로써 저장 온도에 따른 pH의 차이는 미약하게 나타났고 pH의 안정화는 저장 10주차까지 유지됨을 확인할 수 있었다 (그림 39).

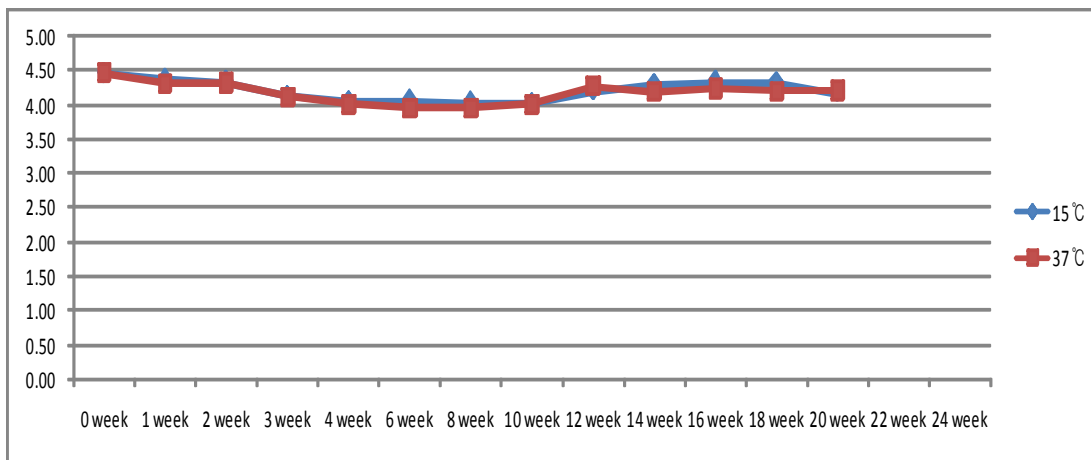


그림 39. The change of pH in pouch type beverage for 22 weeks storage

(나) 색도

저장온도별 저장 기간에 따른 음료의 색도 변화는 색차계(pH 209, Hanna instruments, Italy)를 사용하였다. 각 음료는 석영셀에 담아 명도를 나타내는 L값, 적색도를 나타내는 a값, 황색도를 나타내는 b값으로 나타내었으며 3회 반복 측정하였다. 이때 표준백판의 L값은 100, a값은 0, b값은 0이었다 (그림 40).

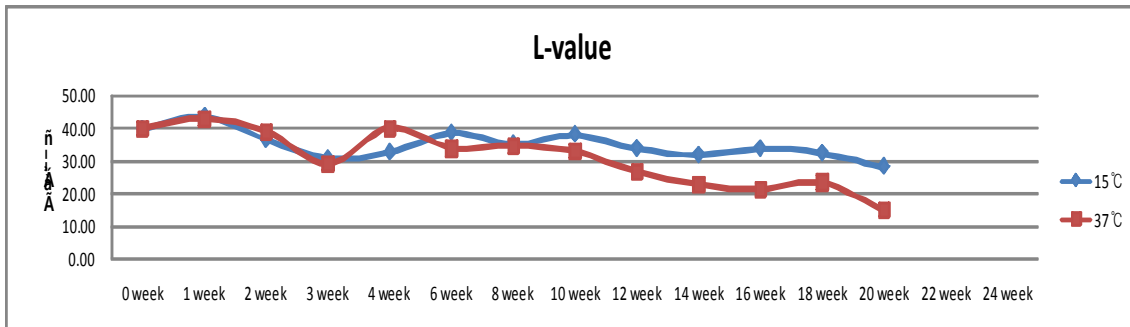
인삼음료의 색도는 저장 기간이 길어짐에 따라 저장 온도에 영향을 받음을 확인할 수 있었다. 명도를 나타내는 L값의 경우 제조일에 측정한 값을 기준으로 점차 어두워지는 경향을 보였다. 저장 4주차부터 음료의 저장 온도에 따른 명도의 변화가 확연히 나타났으며, 상온보다 낮은 15°C에 저장한 음료는 12주차부터 명도가 완만하게 측정되었으나 상온보다 높은 37°C에서 저장한 음료의 경우 4주차 이후부터 불규칙하게 떨어지며 어두워지는 현상이 나타났다 (그림 40).

적색도를 나타내는 a값의 경우 제조일에 측정한 값을 기준으로 15°C에 저장한 음료의 경우 큰 변화없이 일정한 경향을 나타내었으나 37°C에서 저장한 음료의 경우 저장 2주차, 8주차, 20주차를 기점으로 적색도가 점차 증가하다 15°C에 저장한 음료의 적색도와 비슷해지는 경향을 나타내었다. 저장 4주차 이후부터 육안상으로는 침전물이 생성되기 시작하였으며, 15°C에 저장한 음료의 경우 저장 종결시점까지 탁한 녹색색을 띄었으며, 37°C에 저장한 음료의 경우 저장 종결시점까지 붉은갈색을 띄었다. 사진상으로는 차이가 나타나지

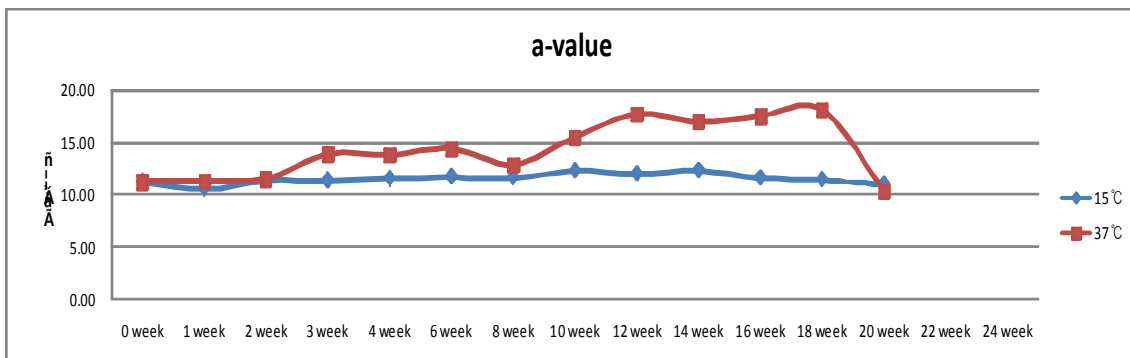
않았다 (그림 40).

황색도를 나타내는 b값의 경우 제조일에 측정된 값을 기준으로 두 저장 온도 모두 1주 이후 급격히 황색도가 떨어지기 시작하여 37℃에 저장한 음료가 15℃에 저장한 음료보다 더 큰폭으로 황색도가 변화하는 경향을 나타내었다. 그러나 사진 및 육안상으로는 15℃에 저장한 음료의 황색도가 37℃에 저장한 음료의 황색도 보다 높아보였다 (그림 40).

(a)



(b)



(c)

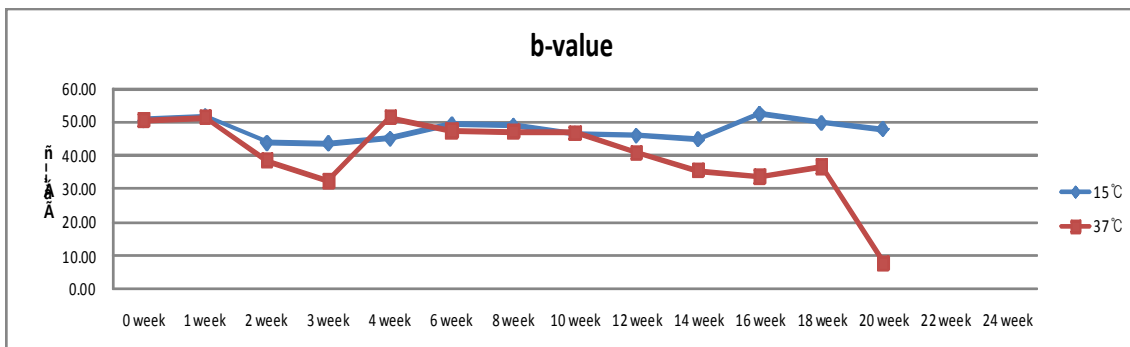


그림 40. The change of L, a, b value in pouch type beverage for 22 weeks storage

Period	15°C	37°C
--------	------	------

저장상태		
4 week		
12 week		
20 week		

(다) 미생물 증식 monitoring

본 실험에서는 건조필름배지(3M)를 이용하여 저장온도별 저장 기간에 따른 음료의 총균수, 대장균구(E-coli), 효모 및 곰팡이를 측정하였다. 각 음료는 멸균된 85% saline에 단계별로 희석하여 1mL 씩 건조필름배지에 3회 반복 접종한 후 37°C에서 총균수와 대장균구는 24시간, 효모 및 곰팡이균은 72시간 배양 하여 균수를 카운팅하였다. 저장 기간동안 총균수, E-coli 대장균, 효모 및 곰팡이균은 관찰되지 않았다.

나. 적고추 추출물 함유 과즙 음료의 개발

유명인들의 다이어트 비법으로 일반인에게 알려진 ‘레몬 디톡스 다이어트 드링크’는 적색 고추의 일종인 카오펜퍼의 분말을 이용한 음료의 형태이다. 고추의 매운맛 성분이 가진

긍정적 기능(체열상승에 의한 신진대사 증가)을 다이어트에 결부시킨 음료로, 이 음료로 인해 스페인산 카오페퍼, 니라시럽 등이 수입되어 있다. 그러나, 이 제품들은 국내산 제품으로 대체될 수 있는 소재일뿐더러 제법에 의하면 카오페퍼의 경우, 고춧가루 건조 분말을 사용하고 있어 음료로 제조시 침전 발생, 이에 끼는 등의 이물감 발생 등 그대로 제품 개발에 적용하기에는 어려움이 있는 바, 이를 응용한 음료의 개발을 하고자하였다.

우선 음료 개발을 위해 먼저 고려한 사항은 여성층을 겨냥한 음료이므로 음료의 적고추의 이미지를 살려줄 색상과 기능성을 갖춘 과즙농축액의 선택과 농도 결정, 그리고, 혀에서 매운 맛을 적게 느끼게 되는 최고 농도였다. 앞서 개발한 파우치의 음료의 경우, 녹차 분말의 특성으로 인해 매운 맛이 마스킹 되는 효과가 있었으나, 투명한 과즙음료의 경우, 마스킹이 어려우므로, 매운 맛을 느끼지않으나, 고추 추출물함유를 느낄 수 있는 농도의 결정이 신중히 검토되어 졌다.

본 음료 제조는 2·30대 여성 10명을 대상으로 하였으며, 선호도 조사 방식이 아닌 제시된 시료의 묘사 분석을 통해 음료 개발을 위한 소비자의 평가와 음료 컨셉에 맞는 부재료 선택의견을 수렴하고자하였다.

1단계. 적색 계열의 천연 과즙 농축액 선택.

- 석류 농축액, 아로니아 농축액, 적포도 농축액, 매실 농축액 등에 대한 희석시 색상 선호도를 2·30대 여성 패널을 상대로 조사한 결과, 농축과정 중 갈변이 발생한 농축액의 경우, 상한 과일의 이미지를 떠올린 반면, 석류 농축액(스페인산, Sungshin BST.수입)과 아로니아 농축액(폴란드산, Sungshin BST.수입)의 경우, 선명한 붉은 빛으로 인해 시각적인 선호도가 가장 좋게 나타났다. 특히 두 과즙은 혼합 사용시 색상과 맛에서 더 좋은 평가를 받았으며, 그 농도는 석류농축액 2.5%와 아로니아 농축액 0.5 % 였다.



그림 41. 0.1 % 고추 추출물 희석액(좌)과 2.5 % 천연 과즙 희석액(우)

2단계. 레몬농축액과 올리고당의 비율

- 산도 조절을 위해 일반적으로는 구연산을 많이 사용하나 식품 첨가물의 경우 구연산은 나트륨염을 많이 사용하여 나트륨 섭취에 일조하게 될 가능성도 있을뿐더러 과즙 혼합이라는 컨셉 유지를 위해 레몬 농축액(Lazy사, USA. 5배 농축)을 사용하였다. 또한 당의 경우, 변비가 많은 여성층의 장 건강에 유익한 올리고당을 선택하였다.

- Base : 석류농축액 2.5 %, 아로니아 농축액 0.5 %

혼합비율	Base + 레몬농축액 0.35% +올리고당 0.8%	Base + 레몬농축액 0.25% +올리고당 0.8%	Base + 레몬농축액 0.15% +올리고당 1.2%	Base + 레몬농축액 0.15% +올리고당 1.2%
평가	신맛이 강함.	신맛이 강함.	무난한 당과 산맛을 나타내나 맛이 단조로움 .일부 신맛의 증가를 요구하기도 함.	단맛이 강하고 멍멍함.

- 맛의 단조로움을 줄이고 가벼운 청량감을 부여하기 위해 사과 농축액(72 °bx) 0.8%를 포함하는 것으로 보정.

3단계. 적고추 농축액의 혼입 농도 결정

- 국내산 적색 고춧가루를 고춧가루 100 g을 증류수 4 L로 100℃에서 90분간 환류냉각 추출하였고, 추출 후 상온에서 방냉한 뒤, What No.1 여과지를 이용 감압여과하였다. 2회에 걸친 추출과정에서 얻어진 여액을 rotary evaporator에서 농축시켜 36.4 °bx의 농축액을 음료 제조에 이용하였다.

- Base : 석류농축액 2.5 %, 아로니아 농축액 0.5 %, 레몬농축액 0.15 %, 사과 농축액 0.8 %, 올리고당 1.2 %

- 적고추 추출 농축액을 0.01~0.4%까지 첨가하여 매운 맛에 대한 강도와 기호성에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과, 0.15 % 이상의 첨가 농도에서는 매운 맛에 대한 감지를 호소하였고, 0.05 % 이하의 농도에서는 고추가 들어 있다는 것을 쉽게 인지하지 못하였다. 그러나, 0.1 %를 첨가한 음료의 경우는 마실 당시에 혀에서 매운 맛을 인지하는 패널은 없었으나, 마신 뒤 목넘김의 칼칼함으로 고추 함유를 느낄 수 있다고 하였다. 본 음료 제조의 최종 형태는 180 ml의 작은 유리 주스병의 형태이므로, 많이 마셔도 매운 맛에 대한 큰 부담이 없는 농도를 설정하여야 하므로 0.1%의 첨가가 적당하였다.

4단계. 폴리텍스트로 첨가 농도의 결정

- 현대인에게 부족하기 쉬운 식이섬유를 음료를 통해 보충하여 ‘다이어트’ 관련 이미지를 부각하고자 폴리텍스트로즈를 농도별로 첨가하여 문제 요인을 찾아내고, 적정농도를 설정하였다.

- Base : 석류농축액 2.5 %, 아로니아 농축액 0.5 %, 레몬농축액 0.15%, 사과 농축액 0.8 %, 적고추 농축액 0.1 %, 올리고당 1.2 %

- 성인 하루 식이섬유 섭취 권장량은 20~25 g이고, 이는 사과 10~12.5개 분량에 해당하는 양이다. 그러나 현대인의 생활패턴은 이러한 양을 충족시키기에 충분치 않으므로 폴리텍스트로즈 첨가를 통해 식이섬유 섭취를 할 수 있는 음료를 개발코자 첨가 할 수 있는 최고 농도를 설정하였다. 0.5 % 첨가를 시작으로 폴리텍스트로즈 첨가를 증가시켰을 때, 첨가량이 많아 질수록 음료의 느낌이 점차 무거워져, 희석과즙 음료가 갖는 산뜻함이 떨어

진다는 단점이 발생하였다. 1 % 첨가가 제품의 장점을 유지할 수 있는 수준의 최적 폴리텍스트로즈 첨가량인 것으로 확인되어 졌다. 최종 제품의 pH는 3.62 였다.



그림 42. 적고추 추출물을 첨가한 과즙희석 음료

5단계. 인삼 농축액의 포함 농도 결정

- 인삼 농축액을 주로 판매하는 업체의 특성을 고려해 인삼농축액의 기본 레시피와는 별도로 참여기업인 성신BST에서 생산되는 인삼농축액의 첨가를 고려하였다.
- Base : 석류농축액 2.5 %, 아로니아 농축액 0.5 %, 레몬농축액 0.1 5%, 사과 농축액 0.8 %, 적고추 농축액 0.1 %, 올리고당 1.2 %, 폴리텍스트로즈 1 %
- 앞서 초기 희석과즙의 선택에서 농축액이 갈색인 경우, 음료의 색상에 부정적인 영향을 미친다는 것을 확인한 바 있으므로, 인삼 농축액 첨가시 음료의 색과 맛에 부정적 영향을 주는 최고 농도를 확인코자 하였다. 그 결과, 인삼 농축액의 첨가는 진한 와인 빛의 음료는 갈변된 포도주스 색으로 변질시키는 역할이 있었고, 맛 역시 텅텅해진다는 평가를 받았다. 인삼 농축액을 첨가하는 것은 권장되지 않으나, 선택적으로 첨가할 경우, 0.02 % 이하의 농도가 바람직한 것으로 나타났다.

이상 본 연구 과제를 통해 아래 그림의 제품 3종을 개발하였다.

Curd형 요구르트 (스틱형 제품화 예정)	매운 맛 저감화 음료 (파우치 제품)	과즙희석음료
		

그림 43. 제품 개발 사례 3종

제 4 장. 목표 달성도 및 관련 분야의 기여도

(1차년도)

구분	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1 차 연 도	1세부: 국산 향신료들에 의한 포만감을 전달하는 신경세포에 대한 활성화 작용의 조사	○ 미주신경의 흥분성을 일으키는 성분의 확인	100	국내에서 생산된 향신료 중 포만감의 전달에 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려진 transient receptor potential (TRP) 수용체에 작용하는 성분을 가진 16종류의 향신료를 고추의 주성분 capsaicin과 겨자의 주성분 allyl isothiocyanate (AITC)를 비교물질로 각 향신료의 물추출물로 미주신경의 세포체를 흥분시키는 (탈분극) 작용의 크기와 test한 세포에 대하여 반응을 일으키는 확률이 가장 뛰어난 파리고추의 유기 용매에 의한 성분 분획별 효과확인 후 인삼에 의한 효능의 증가의 가능성 여부에 대한 연구 수행.
		○ 뇌의 포만감 중추에 대한 효과의 확인	100	미주신경으로 부터의 포만감 신호와 식후 포만감을 일으키는 내인성 호르몬에 반응하는 뇌의 포만감 중추인 고립로핵의 신경세포에 대하여 고추의 주성분인 capsaicin과 겨자유래의 주성분인 AITC의 효과를 측정. 고립로핵의 신경세포에서 흥분성 신경전달 물질인 glutamate의 방출량의 증가 여부 측정.
	2세부:체중조절소재의 유효 분획물 분리 및 배합물의 효능 평가	○ 각 향신료의 조건별 추출물 제조	100	국내에서 생산되는 향신료 10여종을 선별하여 물추출물을 만들어 주관기관의 Screening test에 공급하였으며, 선발된 시료 (고추류)에 대한 물추출물의 극성별 용매 분획을 제조 및 저온에서의 마늘 추출물을 제조하여 주관기관의 효능평가에 제공하였음.
		○ 최적 분획물의 농도 측정	100	Screening test로 선별된 고추류의 물추출물 및 극성별 용매 분획물로부터 포만중추에 작용하는 것으로 알려진 capsaicin과

				<p>dihydro-capsaicin의 농도를 측정하였으며, 이를 토대로 인삼과 혼합시 electric response에 있어 synergy 효과를 기대할 수 있는 농도 설정의 기준을 제시하는데 성공하였음.</p>
--	--	--	--	---

(2차년도)

구분	세부 과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
2차년도	1세부 :체중조절소재의 유효성분이 내인성 포만감 유도 물질의 효능에 미치는 영향평가	○ Ion channel과 second message 수준에서 효과 물질의 체중조절 기전 규명	100	○ 포만감 수용체에 작용하는 생체내 내인성 peptide Cholecystokinin (CCK)에 의한 포만감 전달활성화를 미주신경에서 확인하고 CCK에 반응하는 신경세포에 대한 천연물의 주성분인 capsaicin과 AITC의 흥분성 결과를 확인하고 논문을 작성하여 SCI 저널에 투고하여 심사중임.
		○ TRPA1 수용체에 작용하는 향신료를 이용한 체중조절제의 연구	100	○ 미주신경에서 우수한 효과를 보였던 파리고추 이외에 TRPA1 수용체에 반응하는 성분을 포함한 생강, 겨자잎 등의 추출물이 포만감의 발생과 전달에 관여하는 것이 CCK로 확인된 미부신경의 흥분성 증가를 상호 비교 연구후 특허를 출원하였음.
	2세부 :체중조절소재의 유효분획물 분리 및 배합물의 효능 평가	○ 각 향신료별로 활성성분의 체중감소 효과를 실험 동물을 이용한 in vivo 연구에서 구체적으로 평가	80	○ In vivo에서의 우수한 효과를 보였던 천연물의 추출물이 동물의 식욕의 증가를 촉진하는 물질인 ghrelin 분비를 억제하는 효과를 각각의 천연물별로 비교 실험하여 파라고추 또는 파리고추와 인삼의 혼합물이 가장 좋은 효과를 나타냄을 확인하였다. In vivo에서 필요한 많은 수의 동물을 사용하는 것에 따른 비용의 증가로 용량별 효과의 확인까지는 2차년도에서 완료하지는 못했다.
		○ 포만중추 자극 소재를 이용한 요구르트 제품의 개발	100	○ 유산균 검색을 통하여 요구르트 제조시 curd 형성이 유리한 균주를 선발하였으며 해당 균주를 이용한 요구르트 제조 base 배합비 및 해당 기능성 시료의 혼합 추출물 첨가가 기호도에 미치는 영향을 성공적으로 조사하였음.
	참여기업 :소재의 상업적 생산에 필요한 기반연구	○ 소재이용 시제품 개발	100	○ 여러 가지 형태의 제품 개발을 위해서 효능이 확인된 향신료가 첨가된 유제품의 대량 제조 가능성 확인 및 맛의 평가를 시행중이다. 활성성분이 포함된 건강보조 음료의 시제품 제조 및 맛의 평가를 시행중이다.

(3차년도)

구분	세부 과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
3차년도	1세부 :향신료의 재료로부터 일차적으로 제조된 제품군의 맛의 평가	○ 활성성분을 함유한 체중 조절제 원료제조	100	○ 각 향신료 중에서 가장 좋은 효과를 보인 파리고추의 추출물에서 파리고추 특유의 매운 맛과 풋냄새를 줄이기 위하여 파리고추의 함량을 감소시키고도 동일한 효과를 얻을수 있게 인삼 농축액과 혼합하는 연구를 통하여 파리고추와 인삼액의 배합비율을 3:1로 혼합했을 때 좋은 효과를 보인다는 것을 밝혀내어서 원재료의 혼합비율을 결정하였다.
		○ 소재의 안정성 평가	100	○ 이번 연구에 사용된 소재는 식품으로 사용되고 있는 향신료를 사용하여 안전성에 대한 우려가 거의 없으나 장기간의 보존에 의한 활성의 변화 여부를 확인하기 위하여 6개월간 10°C에서 보존 후에도 파리고추의 활성은 변화가 없음을 확인하였다.
	2 세부 :활성성분 고함유 체중조절제 원료 제조	○ 시제품의 효능 평가	100	○ 동물실험을 통해 각각의 시료의 경구투여 후에 공복시 위와 12지장에서 분비되는 식욕 촉진 물질인 ghelin의 분비가 억제되는 것을 확인함.
	2 세부와 참여기업 공동으로 수행: 시제품의 제조	○ 시제품의 제조 및 제품 개발	80 (3차년 연구기간 종료후에도 지속적으로 진행예정)	○ 효과가 확인된 천연 향신료중 파리고추를 원재료로 인삼, 녹차성분으로 향미를 조절한 파우치형의 음료를 개발하여 참여기업과 공동으로 대량생산을 위한 시제품의 제조중임. ○ 미국에서 젊은 여배우들을 중심으로 급격히 보급되고 있는 고춧가루 혼합물을 이용한 음료를 상업화시키기 위해 여러 가지종류의 국산 고춧가루와, 과일 추출액 혼합액 등을 사용하여 다양한 테스트 제품을 만들어서 상미 테스트 등을 참여기업과 공동으로 수행중임.

제 5 장. 연구개발 성과 및 성과 활용 계획

1. 본연구과제의 지원으로 국산 향신료 중에서 포만감을 전달하는 미주신경에 활성을 가진 향신료로서 우수한 활성을 나타내는 것이 확인된 파리고추, 고춧가루 등을 이용한 체중조절 효과를 가진 건강음료 2종을 참여업체인 성신비에스티를 통하여 시제품의 제조중이며 이를 TV의 통신판매를 통하여 판매할 예정이다. 구체적으로 음료의 컨셉에 부합하는 2012년 봄-여름 시즌에 생산 및 판매를 목표로 하고 있다. 파우치형 음료의 경우는 홈쇼핑 판매용 제품으로, 천연 과즙 음료의 경우는 350 ml PET 제품 또는 농축 형태로 제작하여 50 ml 병제품으로 편의점 및 대형마트 유통망을 통하여 시판할 계획으로 있다

이러한 상품화는

- 1) 마황의 에페드린 등 위험한 소재를 포함한 체중감소 보조제를 대체할 수 있는 안전한 보조식품의 개발을 가능하게 하고.
 - 2) 국산 향신료로 만든 체중조절제를 도입함으로써 인하여 감비차, 가르니시아 캄보지아 등 수입산 항비만 소재를 수입 대체 효과와 국산 농산물의 새로운 판로를 개척함으로써 농가소득의 증가에 도움이 되며
 - 3) 이미 식용으로 사용되고 있는 소재를 사용함으로써 인하여 체중감소 효과를 가진 차, 건강음료, 뿐만 아니라 간식 등의 기능성 식품의 개발에도 기여할 것으로 예상된다.
2. 지금까지의 많은 체중조절을 위한 기능성 식품들이 부작용의 우려가 있는 기전들을 통하여 체중감소를 시도하였으나 본 과제에서 지금까지 시도된바 없는 포만감을 촉진시키는 기전에 의한 체중조절이 가능하게 하는 기능을 가진 건강음료의 개발이 가능하게 한 것에 초점을 두어 약사신문, 또는 일간지 등을 홍보예정임. 또한 미국에서의 Society for Neuroscience meeting에서 (2008년) 연구결과를 발표하였다.
 3. 이미 두건의 특허를 출원 하였으며, 한편의 SCI논문, 한편의 SCIE 논문을 발표하였다. 추가로 또 한편의 특허 출원과 국내 논문 한편의 발표를 예정하고 있다.
 4. 이번 연구에서 위장 관에서의 포만감이 myelination이 일어나 있지 않은 미주신경 만을 통하여 전달되고 myelination이 일어나 있는 (무초섬유) 미주신경은 포만감의 발생과 전달에 관여하지 않는다는 것을 확인하였다. 추후 연구에서 위장 관에서 발생하는 구토 유발신호의 전달이 포만감을 전달하는 신호와 어떤 차이를 가지고 전달되는지를 확인하는 추가 실험을 실시하고 있다.
 5. 다양한 제품화 개발에 연계될 수 있는 연구를 위하여 본 연구과제에서 확립한 포만감을 전달하는 미주신경을 이용한 포만감 발생물질의 검색기술을 한국식품연구원에서 수행중인 “정신건강증진 식품연구사업”에 제공하여 비만억제효과를 가진 천연물의 검색에 사용하여 보다 다양한 제품개발에 조력할 예정이다.

6. 고추의 추출용매별 신경전달효과는 2012년 부터의 제품개발과정에서 포만감 유도 효과 및 음료의 맛의 향상을 위하여 고추의 추출물 분획을 활용할 계획임.

제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 과학기술적인 정보: 최근의 논문들에서 매운맛을 가진 고추를 경구투여 하면 체중이 줄어든다는 것을 보고하거나, 이에 관계된 작용기전을 연구하는 논문들이 나오고 있으나, 일부의 논문들에서는 고추가 체중감소 효과가 없다는 것을 주장하는 논문들도 동시에 발표되고 있다.

고추의 체중감소 효과를 발표한 논문들은 서로 다른 작용들을 그 작용기전으로 하는 논문들을 발표했는데 크게 나누면

- 1) 체온의 증가와 대사량의 증가 기전:

Journal of Biological Chemistry. 2008; 283 (31): 21418

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2007 Jan;292(1):R77-85.

- 2) 지방을 저장하는 adipose cell의 생성억제 기전:

Circ Res. 2007 Apr 13;100(7):1063-70.

- 3) 교감신경의 작용에 의한 식욕저하

Br J Nutr. 1999 Aug;82(2):115-23.

그러나 이러한 다수의 발표들에도 불구하고 capsaicin이 포만감을 전달하는 미주신경을 직접 자극하여 포만감을 발생시켜 식욕을 감소시킬 수 있다는 내용은 이번연구에서 내용을 바탕으로 발표된 우리논문이 처음이다 (Brain Res. 2011 Apr 6;1383:36-42.).

2. 최근에는 세계적으로 저명한 의학 저널인 Lancet에서도 자극성을 가진 향신료들이 체중감소 효과를 가지고 있으며 (Lancet. 2001 Aug 4;358(9279):348-9), 기존에 연구가 집중된 capsaicin을 주성분으로 함유한 고추류 이외에도, 마늘 등도 효과가 있다는 review를 게재하는 정도로 세계적인 주목을 끌고 있다.
3. 최근에는 web site에서도 쉽게 구추의 주성분인 capsaicin이 체중조절작용이 있으며 공복감을 차단해 준다는 내용들을 게재하고 있을 정도로 보편화 되기 시작했다. (<http://www.brighthub.com/health/diet-nutrition/articles/45023.aspx>)
4. 이러한 상황 속에서도 미국에서 캘리포니아의 할리우드지역의 젊은 여배우들을 중심으로 체중을 줄이기 위해서 고춧가루를 레몬즙, apple cider vinegar 등과 혼합한 음료를 자체적으로 만들어 복용하는 경향이 급격히 확산되고 있다.

제 7 장. 참고문헌

Mahmmoud YA. Capsaicin stimulates uncoupled ATP hydrolysis by the sarcoplasmic reticulum calcium pump. *J Biol Chem.* 2008 Aug 1;283(31):21418-26.

Diepvens K, Westerterp KR, Westerterp-Plantenga MS. Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007 Jan;292(1):R77-85.

Yoshioka M, St-Pierre S, Drapeau V, Dionne I, Doucet E, Suzuki M, Tremblay A. Effects of red pepper on appetite and energy intake. *Br J Nutr.* 1999 Aug;82(2):115-23.

Zhang LL et al., Activation of transient receptor potential vanilloid type-1 channel prevents adipogenesis and obesity. *Circ Res.* 2007 Apr 13;100(7):1063-70.

Wahlqvist ML, Wattanapenpaiboon N. Hot foods--unexpected help with energy balance? *Lancet.* 2001 Aug 4;358(9279):348-9.

Choi MJ, Jin Z, Park YS, Rhee YK, Jin YH. Transient receptor potential (TRP) A1 activated currents in TRPV1 and cholecystokinin-sensitive cranial visceral afferent neurons. *Brain Res.* 2011 Apr 6;1383:36-42.

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 국산 향신료 성분을 이용한 식욕 억제 기전의 체중조절용 제품 개발 연구의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 국산 향신료 성분을 이용한 식욕 억제 기전의 체중조절용 제품 개발 연구의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.