최 종 보 고 서

(뒷면)

대장암세포사멸능이 우수한 한식의 기능성 소재 발굴 및 식단표준화

농림수산식품부

(앞면)

발간등록번호
11-1541000-001760-01

대장암세포사멸능이 우수한 한식의 기능성 소재 발굴 및 식단표준화

(Identification of functionalities of HANSIK with cytoprotective activities on Human colon cancer cell and Standardization of recipies)

농 림 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 "대장암세포사멸능이 우수한 한식의 기능성 소재 발굴 및 식단표준화"에 대한 최종보고서로 제출합니다.

2013 년 3 월 28 일

덕성여자대학교

연 구 진

연구기관명 : 덕성여자대학교
연구책임자 : 정 하 숙
책임연구원 : 한 혜 경
연 구 원 : 유 민 주
연 구 원 : 김 민 지
연 구 원 : 권 태 은
연 구 원 : 탁 상 숙

연구기관명 : 고려대학교 생명공학원
책임연구원 : 동 미 숙
연 구 원 : 최 지 윤

연구기관명 : (주)샘표식품
책임연구원 : 이 홍 란
연 구 원 : 고 효 정
연 구 원 : 전 은 주
연 구 원 : 정 유 미

연구기관명 : 한국생명공학연구원
책임연구원 : 강 종 순
연 구 원 : 이 창 우
연 구 원 : 이 명 열
연 구 원 : 조 익 준
연 구 원 : 신 정 휴
연 구 원 : 박 다 혜
연 구 원 : 윤 지 은
연 구 원 : 김 진 아

요 약 문

Ⅰ. 제 목

대장암세포사멸능이 우수한 한식의 기능성 소재 발굴 및 식단표준화

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 한식세계화를 위해서는 한식 식재료 중 건강기능성이 우수하고 안전한 국산 농산물을 발굴하고 품질특성을 연구하여 소재의 우수성을 과학적으로 증명하는 것이 필요함
2. 세계적으로 애용되는 비빔밥에 사용되는 중요한 식재료를 선별하여 대장암세포의 성장저해, 전이를 억제시키는 효능을 연구하고 생리활성 효능성분을 탐색이 필요함
3. 식생활의 현대화에 의한 간편화 추구 및 웰빙 지향형 생활패턴에 따라 식생활 체계가 변화하고 있어 여기에 부합하는 농산물의 소재화 및 제품화 요구가 절실함
4. 비빔밥에 첨가되는 발효장류의 기능성을 개선하고 활용성이 증대된 한식메뉴를 개발하고 조리법을 표준화시킴
5. 비빔밥에 사용되는 고품질 특수미 발굴로 한식의 우수성을 과학적으로 입증하며, 특수미 소비 증대를 통한 국가 경제 활성화 및 산업적 소재로 접목함으로써 농가 소득 증진을 추구함
6. 최근 우리 농산물을 이용한 고품질 고부가가치 한식재료에 대한 기대는 매우 높은 편이나, 현재 과학화되고 국제 수준에 적합한 연구 및 품질 고급화 기술개발은 미흡하므로, 항암효과가 우수한 비빔밥 재료의 선발 및 관능평가 수행에 의한 한식우수성 규명이 필요함
7. 한식 세계화를 위해 일관된 품목과 메시지로 추진하기 위해, 식품영양학 분야 전문가와 한식 전문 쉐프와 자문회의를 통하여 선정된 대표 한식이 대장암세포의 성장을 저해하는 기능적 특성을 규명함

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 한식 비빔밥 소재의 영양성분, 특수성분, 기능성 연구
2. 비빔밥 소재의 건강기능 유효성분 탐색 및 최적 분석조건 확립 기술 개발
3. 특수미 및 신규비빔밥의 대장암세포 성장저해, 전이억제 효능성분 분리
4. 질환동물 모델 활용 대장암세포 성장저해 연구
5. 국내외 일반인과 환우 대상 기호도, 관능검사 실시
6. 중국 북경대학교의 대학생 대상 기능성 한식의 조리법 교육
7. 기능성 비빔밥의 배합비율 설정 및 관능평가, 표준 조리법 실험
8. 연구결과물의 학술발표, 홍보, 교육, 특허출원

연 구 범 위	연구수행방법 (이론적 · 실험적 접근방법)	구체적인 내용
비빔밥 구성 재료의 성분분석	영양성분 분석	AOCA 분석법
비빔밥 구성 재료의 배합비율 설정 및 조리법 확립	객관적 평가, 주관적 평가	시료 최적비율 확립
비빔밥의 효능 연구, 기전 규명	세포실험, 동물실험	MTT, Western-blot, RT-PCR
기능성 비빔밥의 효능성분 규명	Column chromatography	효능성분 단리, 구조규명
기능성 비빔밥의 기호도 평가	일반인, 환우 대상 관능평가	설문지 작성
외국인 대상 기호도 평가	주관적 평가	아시아, 유럽, 아프리카 대학생
교육, 홍보, 논문발표	심포지움, 학술발표	학술대회 발표

Ⅳ. 연구개발결과

1. 한식 비빔밥 소재의 영양성분, 특수성분 비교분석 : 전통비빔밥, 신규비빔밥
2. 비빔밥 소재의 건강기능 유효성분 분리 및 최적 분석조건 확립
3. 신규비빔밥에 함유된 대장암세포 성장저해, 전이억제 효능성분 규명
4. 특수미와 신규비빔밥의 항암효능 규명 : 질환동물 모델
5. 국내외 일반인과 환우 대상 기호도 평가 : 맛, 색, 향, 질감, 영양, 효능 비교
6. 중국 북경대학교의 대학생 대상 기능성 한식의 조리법 교육
7. 기능성 비빔밥의 배합비율 설정 및 관능평가, 표준 조리법 확립
8. 연구결과물의 국내, 해외 학술발표, 홍보, 교육, 특허출원

Ⅴ. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 지식재산권 : 특허출원, 논문투고
2. 기술 확산 : 국내, 해외 학회발표를 통한 연구 홍보
3. 실용화 : 제품개발 및 산업체 기술이전
4. 추가연구 : 대장암 예방기전 연구, 임상프로토콜 개발, 임상실험

SUMMARY
(영문요약문)

This study was investigated the mechanisms underlying the cytotoxicity of the Bibimbap on human colon cancer cell line. Bibimbap was prepared with food materials with cytotoxic activities on human colon cancer cell lne, HT-29.

The anti-proliferative activity of sample extracts in HT-29 human colon cancer cell was identified through cancer cell viability, MTT, western blot, RT-PCR and animal test.

The compounds with cytotoxicity in HT-29 human colon cancer cell was characterized with silica gel column chromatographic isolation and spectral data.

In our study, new Bibimbap extracts with cytotoxicity and compounds, hyperoside and rutin were inhibited the growth of HT-29 human colon cancer cells in a dose-dependent manner.

Concomitant activation of the mitochondria-dependent apoptotic pathway occurred via modulation of Bax and Bcl-2 expression, resulting in activation of cleaved caspase-3 and caspase-8.

Keywords: HANSIK, Bibimbap, Human Colon Cancer Cell, HT-29, MTT, Apoptosis, Bcl-2 family, Caspases, Bax, Sensory evaluation, Animal test, Nude mouse

CONTENTS
(영 문 목 차)

Ⅰ. Title

Identification of functionalities of HANSIK with cytoprotective activities on human colon cancer cell and Standardization of recipies

Ⅱ. Purposes and needs of research development

1. Verify theNew Bibimbap with cytotoxic activity on human colon cancer cell
2. Identification of Large-scale cooking method, standardization and animal test
3. Development of high-value Bibimbap for globalization of HANSIK for patients with colon cancer

Ⅲ. Contents and scopes of research development

1. Sample extraction and fractonation
2. MTT assay of food materials of Bibimbap
3. Weatern-blot analysis of food materials of Bibimbap
4. RT-PCR analysis of food materials of Bibimbap
5. Animal test of Bibimbap and high-valued rice varieties
6. Isolation and structure elucidation of pure compounds
7. Sensory evaluation

Ⅳ. Results

1. Standardization of recipie and cooking method of New Bibimbap
2. Inhibition rate of food materials and new Bibimbap on human colon cancer cell
3. Western-blot analysis of New Bibimbap on BCl-2 family genes
4. Bcl-2/BAX ratio of New Bibimbap bt RT-PCR analysis
5. Animal testof New Bibimbapand high-valued rices
6. Sensory evaluation

Ⅴ. Research outcome and It's application plan

1. Intellectual property : Patent, Article
2. Spread of technology : Symposium, Conference presentation
3. Commercialization : Development of products
4. Application of additional research and related research

연구개발보고서 초록

<table>
<tr><td rowspan="2">과 제 명</td><td colspan="4">(국문) 대장암세포사멸능이 우수한 한식의 기능성 소재 발굴 및 식단표준화</td></tr>
<tr><td colspan="4">(영문) Identification of functionalities of HANSIK with cytoprotective activities on human colon cancer and Standardization of recipies</td></tr>
<tr><td>연 구 기 관</td><td colspan="2">덕성여자대학교</td><td rowspan="2">연 구 책 임 자</td><td>(소속) 덕성여자대학교</td></tr>
<tr><td>참 여 기 관</td><td colspan="2">고려대학교 생명공학원
(주)샘표식품
한국생명공학연구원</td><td>(성명) 정하숙</td></tr>
<tr><td>연 구 비</td><td>계</td><td>110,000,000원</td><td>총 연 구 기 간</td><td>2011. 12. 30 ~ 2012. 12. 29 (1 년)</td></tr>
<tr><td>참여연구원</td><td colspan="4">20 명 (연구책임자: 4 명, 책임연구원: 2 명, 연구원: 4 명, 연구보조원 10 명)</td></tr>
</table>

Ⅰ. 연구개발 목표

○ 한식세계화를 위한 한식 식재료 중 건강기능성이 우수하고 안전한 국산 농산물을 발굴하고 품질특성을 연구하여 소재의 우수성을 과학적으로 증명함

○ 한국의 대표적인 한식 메뉴로, 국내외에서 널리 애용되는 비빔밥에 사용되는 중요한 식재료를 선별하여 대장암세포의 성장저해 효능을 연구하고 생리활성 효능성분을 탐색함

○ 식생활의 현대화에 의한 간편화 추구 및 웰빙 지향형 생활패턴에 따라 식생활 체계가 변화하고 있어 여기에 부합하는 우수 농산물 발굴에 의한 소재화 및 제품화가 요구됨

○ 전통비빔밥 및 신규비빔밥에 첨가되는 발효장류의 기능성을 개선하고 활용성이 증대된 한식메뉴 개발, 조리법 표준화

○ 신규비빔밥에 사용되는 특수미 발굴로 한식의 우수성을 과학적으로 입증하며, 특수미 소비 증대를 통한 국가 경제 활성화 및 산업적 소재로 접목함으로써 농가 소득증진 추구함

○ 항암효과가 우수한 비빔밥 재료의 선발 및 관능평가 수행에 의한 한식우수성을 규명함

○ 한식 세계화를 위해 일관된 품목과 메시지로 추진하기 위해, 전문가와 한식 전문 쉐프와 자문회의를 통하여 선정된 대표 한식이 대장암세포 성장을 저해하는 기능적 특성 규명함

○ 유용 발효공법을 이용하여 한식에 첨가되는 발효 장류의 기능성을 개선하고 활용성이 증대된 한식의 메뉴개발 및 표준화에 기여함

○ 고품질 특수미를 기능성 비빔밥에 활용하므로 한식 소비 증대 및 우리 쌀의 소비를 증대시키고 국가 경제 기여 및 농가 소득 증진을 추구함

○ 항암효과가 우수한 한국의 전통 발효식품인 장류를 이용한 비빔밥의 주재료와 부재료의 관능평가를 통하여 한식의 우수성을 과학적으로 입증하여 한식의 국제화에 기여함

Ⅱ. 연구개발 내용

○ 전통비빔밥, 신규비빔밥 소재의 영양성분, 특수성분, 기능성 연구
○ 신규비빔밥 소재의 건강기능 유효성분 탐색 및 최적 분석조건 확립 기술 개발
○ 신규비빔밥 주재료인 특수미와 부재료의 대장암세포의 성장저해를 일으키는 생리활성 효능성분을 activity-guided fractionation and isolation 방법에 의해 분리
○ COSY, DEPT, HMQC, HMBC NMR spectroscopy에 의해 순수 화합물의 화학구조 규명
○ 특수미 및 조리품을 이용한 대장암세포 성장저해 효능성분 규명
○ 질환동물 모델 활용 동물실험에 의한 대장암세포 성장저해 기전 규명
○ 비빔밥에 사용되는 특수미, 부재료의 대장암세포 성장저해 효능을 MTT, Western-blot, RT-PCR 실험을 통해 과학적으로 입증함
○ 신규비빔밥의 효능에 관한 연구결과를 학교, 산업체에 홍보하고 교육
○ 비빔밥 첨가 재료의 기능성을 개선하고 활용성이 증대된 한식의 메뉴개발 및 표준화
○ 일반인과 환우 대상 관능검사 실시로 기능성 신규비빔밥의 미각 우수성 규명
○ 중국 북경대학교, 아시아, 아프리카 대학생 대상 기능성 비빔밥의 건강효능, 조리법 교육

Ⅲ. 연구결과

○ 전통, 신규비빔밥 소재의 영양성분, 특수성분 비교분석
○ 한식 분야 전문가와 한식 전문 쉐프와의 자문회의를 통하여 선정된 신규비빔밥의 대장암세포 성장 억제/저해특성 연구
○ 신규비빔밥 소재의 건강기능 유효성분, hyperoside, rutin 분리, 효능 규명
○ 비빔밥 주재료의 MTT, Western-blot, RT-PCR 실험에 의한 세포독성 연구로, 대장암세포 사멸능이 효능이 우수한 한식 재료 선발
○ 특수미와 신규비빔밥의 대장암 동물모델에서의 항암효능 규명
○ 중국인 대상 신규비빔밥 건강효능, 조리법 강의, 심포지움 개최
○ 아시아, 아프리카 여대생 대상 신규비빔밥 조리체험, 기호도 평가
○ 환우, 일반인 대상 항암식품 조리법 강의, 심포지움 발표
○ 통합의학 헬스케어 심포지움 참가, 건강 강의

Ⅳ. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 학회발표 : 2012년 한국약용작물학회 발표
○ 지식재산권 : 특허출원, 논문투고
○ 실용화 : 제품개발 및 산업체 기술이전
○ 추가연구 : 대장암 예방기전 연구, 임상 프로토콜 개발, 임상실험
○ 보도자료 제작 : 중국 북경대 심포지움, 2012 통합의학 헬스케어 심포지움
○ 교육, 홍보 : 환우, 일반인, 학생 대상 대국민 교육, 홍보 수행

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목표

○ 한식 중 비빔밥의 주재료인 쌀(일반미, 특수미)과 부재료의 대장암세포 성장저해 효능을 구명하고 생리활성 효능 성분을 탐색하고자 함

○ 비빔밥에 사용되는 중요한 식재료를 선별하여 대장암세포의 성장저해, 전이를 억제시키는 효능을 연구하고 생리활성 효능성분을 탐색하여 기능성 소재를 발굴함

○ 유용 발효공법을 이용하여 비빔밥에 첨가되는 발효 장류의 기능성을 개선하고 활용성이 증대된 비빔밥의 메뉴개발 및 표준화에 기여함

○ 개발된 신규비빔밥의 레시피와 표준화된 조리법을 산업적 소재로 접목함으로써 산업화 적용 연구를 확대 추구함

○ 한식 세계화를 위해 일관된 품목 및 메시지로 추진하기 위해, 전문가와 한식 전문 쉐프와 자문회의를 통하여 선정된 신규비빔밥이 대장암세포의 성장을 저해하는 기능적 특성을 규명함

○ 고품질 특수미를 활용한 신규비빔밥의 소비 증대 및 고품질 우리 쌀의 소비를 증대시키고 국가 경제 기여 및 농가 소득 증진을 추구하고자 함

○ 항암효과가 우수한 한국의 전통 발효식품인 장류를 이용한 비빔밥의 주재료와 부재료의 관능평가를 통하여 건강우수성을 확인하여 한식의 국제화에 기여함

○ 기능성 비빔밥의 건강우수성에 관해 과학적으로 규명하여 국내, 국제학회에 학술 발표하고 학교, 병원 및 산업체에 홍보함

○ 비빔밥에 첨가되는 발효장류의 기능성을 개선하고 활용성이 증대된 메뉴를 개발하고 조리법을 표준화시킴

○ 신규비빔밥에 사용되는 특수미 발굴로 한식의 우수성을 과학적으로 입증하며, 특수미 소비 증대를 통한 국가 경제 활성화 및 산업적 소재로 접목함으로써 농가 소득증진 추구함

○ 대장암세포 사멸효능이 우수한 전통비빔밥 재료의 선발 및 관능평가 수행에 의한 한식우수성을 규명함

○ 한식세계화를 위한 한식 식재료 중 건강기능성이 우수하고 안전한 국산 농산물을 발굴하고 품질특성을 연구하여 소재의 우수성을 과학적으로 증명함

○ 식생활의 현대화에 의한 간편화 추구 및 웰빙 지향형 생활패턴에 따라 식생활 체계가 변화하고 있어 여기에 부합하는 우수 농산물 발굴에 의한 소재화 및 제품화가 요구됨

제 2 절 연구개발의 필요성

1. 대장암 발병 원인과 치료

○ 대장암은 세계적으로 높은 발병률을 보이고, 국내에서도 식생활 습관의 변화로 동물성 지방, 당분 등의 과도한 칼로리 섭취나 알콜 섭취의 증가, 채소나 과일 섭취 부족의 서구화된 생활 식습관에 의하여 발병률이 매년 증가하는 추세에 있음

○ 하지만 대장암의 선별검사로 진단 시에 이미 병이 많이 진행 되어서 수술로 완치가 불가능한 경우가 많음

○ 현재 5-fluorouracil 등 여러 종류의 항암제가 대장암 치료를 위해 사용되고 있으나 효과가 좋지 않으며, 암세포 뿐 아니라 정상세포에도 독성을 나타내며 암세포에 대하여 내성을 형성함으로써 사용이 제한적임

○ 따라서 많은 연구자들이 자연에 존재하는 천연물에서 유래한 항암생리활성 물질을 찾아 독성과 부작용은 최소화하면서 효과적인 항암효과 물질을 개발하기 위한 연구가 전 세계적으로 활발히 진행되고 있음

○ 대장암은 서구에서 흔한 암 종이며 미국의 경우 대장암은 소화기암중에 가장 흔하며, 사망률도 2위를 차지할 정도로 매우 흔한 암으로, 우리나라에서도 생활식습관의 서구화로 대장암의 발생률이 급증하고 있음

○ 2010년에 발표된 한국 중앙 암 등록본부 자료에 의하면 2008년에 우리나라에서는 연 평균 178,816건의 암이 발생하였는데, 그 중 대장암은 남녀를 합쳐서 연 평균 22,623건 발생하여 전체 암 발생의 12.7%로 3위를 차지함

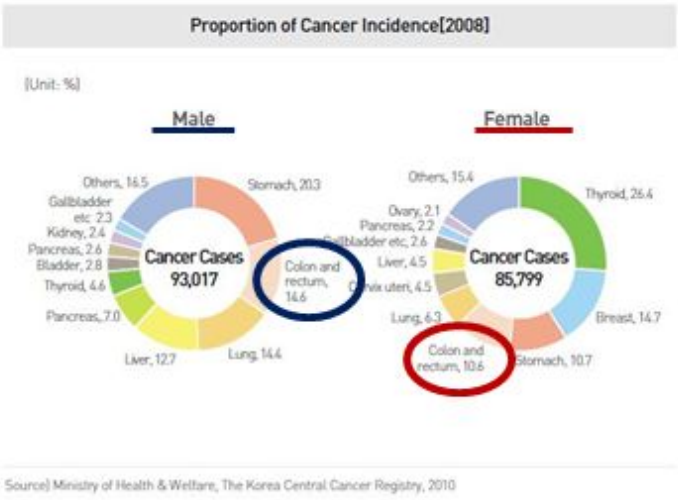
○ 대장암 발병 남녀의 성비는 1.49:1로 남자에게서 더 많이 발생하였으며, 발생 건수는 남자에게는 연 평균 13,536건 발생하여 남성의 암 중에서 2위를 차지하였고, 여자에게는 연 평균 9,087건 발생, 여성의 암 중에서 4위를 차지함<보건복지부 중앙암등록본부 2010년 12월 28일 발표 자료>

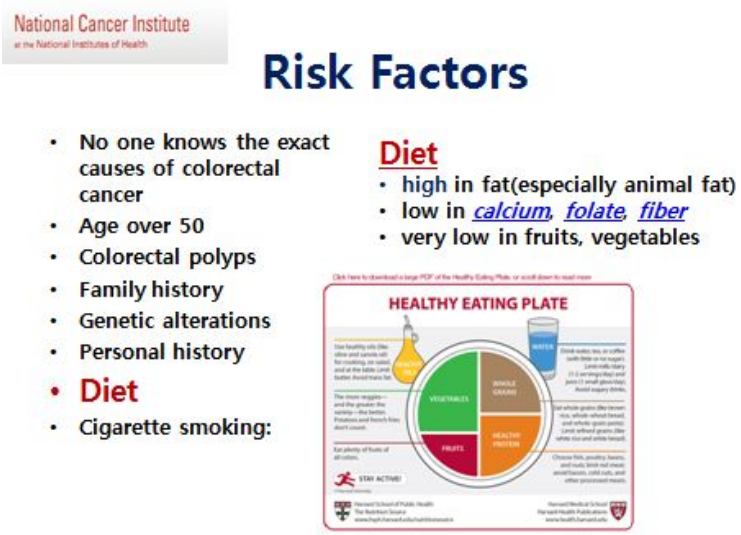
○ 대장암은 상피세포에서 시작되므로 식사요인이 암 발생에 중요한 역할을 하며, 국내 대장암 발병 증가도 한국인의 식이섭취 변화와 밀접한 관계가 있는 것으로 보고됨

○ 대장암을 비롯한 여러 암은 유전적 요인과 환경적 요인에 의해 발생되고 있으며 역학조사에 의하면 암 발생의 원인 중 75~80%는 식품 및 오염 등의 환경요인으로 알려져 있으며, 식사를 통해 발병을 감소시킬 수 있음

○ 세포사멸(apoptosis)은 암세포와 관련이 있으며, 세포 수축, chromatin 응축, apoptotic body 형성, DNA 절단 및 caspase로 알려진 cysteine protease의 활성화의 특징을 가지며, caspase 단백질이 활성화되면 DNase라는 단백질을 활성화하는데 이 단백질이 세포의 DNA를 절단함으로써 최종적으로 암세포는 죽음에 이르게 됨

Proportion of Cancer Incidence(2008)





○ 세포 내 신호전달 체계(Signal Transduction)를 세포 내부 경로는 세포 내 요인으로 세포자살이 시작되는 기작인데, DNA손상, 세포 주기 결함, 기타 세포 스트레스 등의 요인으로 p53 단백질이 작동하며, 세포는 이같이 세포 손상이 발생하면 세포자살을 가동하지만 반대로 세포자살을 억제함으로서 성장과 소멸을 유지함

○ p53이 세포자살을 활성화하는 인자(Activator)라면, Bcl-2는 세포자살을 억제하는 인자(Inhibitor)로 작용하는데, caspase가 활성화하기 위해서는 미토콘드리아에서 분비되는 사이토크롬 C가 필요한 데, Bcl-2는 미토콘드리아가 사이토크롬 C를 분비하지 못하도록 억제함으로써 caspase의 활성화를 저해함

2. 한식의 특징 및 기능성

○ 학술적인 의미에서 한식은, 전해 내려오는 조상 고유의 음식을 의미하며, 전통음식은 국산 농수산물을 주원료로 가공된 후 전승되어 고유의 맛, 향, 색을 내는 식품임(식품산업진흥법)

○ 한식은 한국 식문화의 대표성과 상징성을 지닌 음식으로 전통음식과 함께 현대적 가공식품(양념류 등)도 포함되며, 한식의 세계화는 "한식의 고유한 가치를 바탕으로 우리 식문화를 세계에 알려 한식이 세계적 음식으로 통용되는 것"으로, 한식의 수준을 현지화, 고급화하여 경쟁력과 가치를 높이는 과정 전체를 포함함

○ 최근 한식세계화와 관련하여 학술적 연구가 꾸준히 진행되고 있으며, 한식 기호도, 한식당 서비스 품질개선, 한식 표준 조리법, 한식메뉴 외국어 표기안 개발 및 한식 식단과 만성질환과의 관련성에 관한 연구가 수행됨

○ 2010년도 '임상실험을 통한 한식 우수성 구명' 수행연구를 통해 고혈압과 당뇨병을 모두 가진 환자에서 열량 제한이 없는 규칙적인 한식섭취는 혈압, 혈당 및 체중 등이 현저하게 감소하였고, 이는 치료약을 중지시킬 수 있다는 결과를 도출

○ 글로벌 시대를 맞이하여 세계관광시장이 지속적으로 성장하고 있으며 한국을 방한한 외국 관광객은 한식을 맛본 후, 한식에 대한 관심이 증대됨. 유의적으로 '매우 좋다'가 높은 비율로 나타남

○ 한식은 식물성과 동물성의 식품비율이 8:2의 황금비율로 다양성, 균형성, 절제성을 골고루 갖춘 음식으로 세계보건기구(WHO)에 의해 영양적으로 균형을 갖춘 모범식으로 선정되었으며, 이러한 한식의 특성은 세계 식품소비 트렌드와 잘 부합됨은 물론, 세계시장에서의 한식산업의 성장잠재력이 매우 크다는 것을 의미함

○ 한식 식재료에 함유된 항암성분으로는 β-carotene, Vitamin C, cysteine, dietary fiber, polyphenols, indol, peroxidase, protease inhibitor, 식물 sterol, Se, chlorophyll 등이 보고되었으며, 이 중 phenols 화합물은 항산화와 항염증작용을 나타내며, 한식 식재료에 많이 함유되어 있음

○ 외국인들이 한국식당을 이용한 후 한국음식에 대한 이미지가 좋아진 것으로 조사되었으며, 이는 한국에 대한 이미지에 긍정적인 영향을 미침

○ 한식세계화를 위해서는 외국인에게 선호도가 높은 식단을 개발하여, 현지화에 적합한 조리법을 개발하고, 건강우수성을 국제적인 수준에서 과학적으로 규명하는 것이 필요함

3. 한식 메뉴 비빔밥의 특징

○ 외국인들에게 가장 널리 알려진 비빔밥은 화려한 시각적 요인과 맛으로 인해 선호도 또한 가장 높으며, 농림부와 문화관광부의 '한국음식 베스트' 조사 설문에서 가장 인기 있는 음식으로 선정된 한국대표 음식임

○ 비빔밥의 우수성을 언론매체 등에서 진행하는 한시적 홍보에 그치는 방식이 아닌 객관적·과학적 근거 자료를 바탕으로 전세계에 널리 알림으로써 비빔밥에 대한 지속적인 관심과 명성을 얻는 방안 모색이 필요함

○ 비빔밥은 사용 재료에 따라 종류가 다양하며 주재료에 약 30여종의 농수축산물이 사용된다. 사람의 기호와 계절에 따라 다양한 재료의 배합을 통해 맛과 영양을 달리할 수 있기 때문에 영양·기능면에서도 우수하며, 또한 비빔밥 주재료인 나물류나 채소류 등에는 식이섬유소와 각종 기능성 성분이 함유되어 있음

○ 비빔밥에 주로 사용되는 식재료에는 항암성분이 높은 식품들이 다수 포함되어 있으므로 이러한 물질들이 각 종양발생 완화 및 억제기능이 있을 것으로 기대됨

○ KAL '비빔밥'은 한국음식의 기내식화의 성공하여 국제 기내식협회의 '머큐리상'(최고의 기내식상)을 수상함으로써 우리 음식을 널리 알리는데 기여함

○ 비빔밥은 주재료가 채소로서 건강지향적인 또는 채식주의(Vegetarian) 외국인이 선호함

○ 현재까지 비빔밥에 관한 연구는 조리법 표준화, 식단 연구, 관능 특성, 영양분석 및 페스트푸드화를 위한 조리과학 연구가 주를 이루고 있다. 즉 관능성과 기능성이 우수한 비빔밥이 임상의학적 측면에서 가지는 기능성을 검증한 연구는 미흡한 실정임

○ 한류열풍에 힘입어 성공한 한식당 중에 "대장금"은 돌솥비빔밥을 주 메뉴로 하여 한식 및 한국 문화까지 홍보하고 있으며, 비빔밥의 선호도가 높음

○ 이에 전문가 네트워크를 활용하여 비빔밥의 영양학적/기능적 특성을 파악하고, 비빔밥의 건강에 대한 우수성을 인체 수준에서 규명함으로써 비빔밥의 질병 예방 및 치료 효과를 과학적으로 검증하므로 한식으로서 비빔밥의 건강특성을 규명할 필요가 있음

○ 이에 비빔밥의 비임상 및 역학연구에서 도출될 연구결과와 전문가 네트워크를 활용하여 비빔밥의 영양학적/기능적 특성을 파악하고, 비빔밥의 항종양 효과를 인체 수준에서 규명함으로써 비빔밥의 질병 예방 및 치료 효과를 과학적으로 검증함과 동시에 한식세계화에 기여하고자 함

4. 해외 한식당 분포 및 비빔밥 종류

○ 한식세계화에 의해 외국 내 한식당이 꾸준히 증가하고 있으며, 비빔밥이 주요 메뉴로 인기를 얻고 있음

가. 유럽지역 한식당과 비빔밥 종류

그리스	3	국,찌개,전골,구이,전,적류	비빔밥
네덜란드	12	구이,전,적류	비빔밥
덴마크	2	구이,전,적류	비빔밥
독일	130	구이,전,적류	비빔밥, 돌솥비빔밥
러시아	35	국,찌개,전골,구이,전,적류	비빔밥
벨기에	4	국,찌개,전골,구이,전,적류	비빔밥, 돌솥비빔밥
불가리아	1	밥류	비빔밥
스웨덴	6	밥류	비빔밥(닭, 야채, 쇠고기)
스위스	16	구이,전,적류	비빔밥,돌솥비빔밥
스페인	23	밥류	비빔밥,돌솥비빔밥
에스토니아	2	밥류	비빔밥
영국	69	구이,전,적류	비빔밥,돌솥비빔밥
우즈베키스탄	17	국,찌개,전골류	비빔밥
이탈리아	14	구이,전,적류	비빔밥,돌솥비빔밥
체코	16	구이,전,적류	비빔밥,돌솥비빔밥
카자흐스탄	12	국,찌개,전골	비빔밥
터키	7	구이,전적	비빔밥,돌솥비빔밥
폴란드	26	국,찌개,전골류	비빔밥
프랑스	99	구이,전,적류	비빔밥(돌솥, 육회)
핀란드	1	밥, 구이, 전	비빔밥
헝가리	4	구이,전,적류	비빔밥

나. 북중미지역 한식당과 비빔밥 종류

도미니카 공화국	3	국,찌개,전골류	비빔밥, 돌솥비빔밥
멕시코	25	국,찌개,전골류	비빔밥, 돌솥비빔밥
미국	1,300	구이,전,적류	비빔밥, 돌솥비빔밥, 산채비빔밥
캐나다	173	구이,전,적류	비빔밥,돌솥비빔밥, 낙지비빔밥
파나마	3	밥,구이,전,적류	비빔밥

다. 남미지역 한식당과 비빔밥 종류

볼리비아	3	구이,전,적류	비빔밥
브라질	58	구이,전,적류	비빔밥
아르헨티나	45	밥류,국,찌개류	비빔밥
칠레	7	국, 찌개, 전골	비빔밥,돌솥비빔밥
콜롬비아	4	국,찌개,전골,구이,전,적류	비빔밥

제 3 절 연구개발의 범위

○ 한식 비빔밥 소재의 영양성분, 특수성분, 기능성 연구를 통한 건강 우수성 규명
○ 전문가와 한식 전문 쉐프와의 자문회의를 통하여 선정된 대표 신규비빔밥의 대장암세포 성장 억제/저해특성 연구
○ 신규비빔밥 소재의 건강기능 유효성분 탐색 및 최적 분석조건 확립 기술 개발
○ 특수미 및 신규비빔밥을 이용한 대장암세포 성장저해, 전이억제 효능성분 규명
○ 동물실험에 의한 신규비빔밥의 대장암세포 성장저해, 전이억제 기전 규명
○ 일반인과 환우 대상 신규비빔밥 관능검사 실시로 기능성 한식의 미각 우수성 규명
○ 중국 북경대학교의 대학생 대상 신규비빔밥의 조리법 교육
○ 신규비빔밥의 배합비율 설정 및 관능평가, 표준 조리법 확립
○ 연구결과물의 학술발표, 홍보, 교육, 논문게재

연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
2012	○ 전통비빔밥 소재의 대장암세포 성장저해 효능 규명 ○ 전통비빔밥의 표준조리법 확립 ○ 신규비빔밥의 대장암세포 성장저해 소재 발굴 ○ 특수미의 대장암세포 성장저해 효능 평가 ○ 신규비빔밥 재료의 대장암세포 성장저해 기능성 평가 ○ 비빔밥재료의 효능성분 분리 ○ 효능성분의 화학구조 규명 ○ 발효 가공품 기능성 연구 및 배합비 개발 ○ 효능이 우수한 신규비빔밥의 관능평가 ○ 연구결과물의 학술발표, 홍보, 교육	-시료 확보 : 특수미, 부재료, 장류 -기능성 유용 소재 선발 및 기능 연구 -대장암 실험동물 유도 -세포주 및 세포 배양 : HT-29 -세포 증식 실험 -Fluorescence-activated cell sorting(FACS) analysis -단백질 발현 실험 : Western blot analysis -mRNA 발현 실험 : RT-PCR -Column chromatography -Spectral analysis : MS, NMR, IR -관능평가 : 기호도 평가 -신규비빔밥의 기본 배합비 설정 -외국인 학생 대상 조리법 교육 -환우 대상 신규비빔밥 조리법 교육 -국내 및 해외 심포지움 참가, 교육

제 2 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발 수행 내용

1. 실험재료

가. 재료 구입 : 대장암세포 사멸효능을 규명하기 위해 사용된 실험재료는 농협에서 유통되는 생산지 및 안전성이 검증된 신선한 재료를 구입하여 사용하였고, 양념류는 협동연구기관인 ㈜샘표에서 제공받아 사용하였다.

나. 시료 건조 : 실험에 사용된 모든 시료는 식품건조기를 사용하여, 모두 50~70℃에서 건조하였다. 재료 특성에 따라 건조시간을 조절하였으며, 시료의 수분 함량이 5~10% 될 때를 end point로 규정하였다. ㈜샘표에서 제공받은 양념류는 증발접시에 각각 20g씩 담아 80℃의 dry oven에서 건조하였다. 그리고 구입 시 건조된 콩류, 곡물류는 별도로 건조시키지 않고 실험에 사용하였다.

다. 추출 및 농축 : 재료의 추출은 건조된 시료 및 마른 시료, 10g을 70% Ethanol 수용액으로 80℃에서 1시간동안 추출하였고, 뜨거울 때 여과하여 남은 잔사를 동일한 조건에서 1회 및 2회 더 반복 추출하여 여과하였다. 여과하여 얻은 재료의 추출물은 회전식 감압농축기로 농축시켰다.

라. 세포실험 재료 : 농축한 재료의 건조는 동결건조기를 사용하여 건조시켰고(Table. 4), 따로 추출하지 않은 양념류와 일부 농축한 재료의 건조는 증발접시에 담아 80℃의 dry oven에서 건조시켰다. 본 실험에 사용한 시료 30g에 3차 증류수 300 ml를 첨가하여 90°C water bath에서 3시간 동안 열수 추출하였고, 이 과정을 3회 반복으로 시행하였다. 열수 추출액을 여과지(Whatman filter paper No.1, England)와 초원심분리기(Sorvall Instruments, USA)를 사용하여 여과하였다. 여과된 시료를 rotary vacuum evaporator(Eyela, Japan)로 감압농축한 후 -80°C에서 동결 건조(Operon, Korea)하여 분말시료를 얻은 후 3차 증류수에 녹여 여과시킨 후 실험재료로 사용하였다.

마. 비빔밥 제조

1) 흰쌀은 깨끗이 씻어 30분 정도 불린 다음 물기를 빼고 밥을 한다.
2) 콩나물은 끓는 물에 데친 다음 식은 다음 양념 한다.
3) 쌈추는 채를 썬 다음 양념 한다.
4) 양송이버섯, 새송이버섯, 표고버섯은 채를 썰어 볶는다.
5) 양배추와 적양배추는 채를 썬다.
6) 밥 위에 모든 재료를 돌려 담고 고추장을 얹어 비빈다.

바. 시료목록 : 전통비빔밥과 신규비빔밥에 사용된 국내산 재료는 다음과 같다.

도라지 *Platycodon grandiflorus*	달래 *Allium monanthum*	포상추 *Lactuca sativa*
당근 *Daucus carota*	애호박 *Cucurbita moschataDuchesne*	깻잎 *Perilla frutescens var. japonica;*
적치커리 *Cichorium intybus L. var. foliosum*	피망 *Capsicum annuum L. var. angulosum Mill*	오이 *Cucumis sativus*
상추 *Lactuca sativa*	미나리 *Oenanthe javanica*	양파 *Allium cepa*
마늘 *Scorodorpasum var. viviparum*	양상추 *Lactuca sativa var. capitata*	냉이 *Capsella bursapastoris*
콩나물 *Glycine max L. Merr*	적채 *Brassica oleracea var. capitata*	무 *Raphanus ativus*
파프리카 *Capsicum annuum*	시금치 *Spinacia oleracea*	양배추 *Brassica oleracea var. capitata L.*
쌈추 *Brassica rapa var. glabra*	연근 *Nelumbo nucifera*	씀바귀 *Ixeris dentata* Nakai
표고버섯 *Lentinula edodes*	양송이버섯 *Agaricus bisporos*	비름나물 *Amaranthus mangostanus L.*
더덕 *Codonopsis lanceolata*	돌나물 *Sedum sarmentosum*	남해초 *Spinacia oleracea*
무순 *Raphanus sativus*	적겨자 *Brassica nigra*	청경채 *Brassica campestris L. ssp. chinensis*
새송이버섯 *Pleurotus eryngii;*	느타리버섯 *Pleurotus ostreatus*	참송이버섯 *Lentinus edodes mutant*
홍고추 *Capsicum annuum L.*	생강 *Zingiber officinale*	쌈케일 *Brassica oleracea L. var. acephala*
머우잎 *Petasites japonicus S. et Z. Max*	치커리 *Cichorium intybus L. var. foliosum*	산취나물 *Aster scaber*
부추 *Allium tuberosum*	가지 *Solanum elongena*	적근대 *Beta vulgaris var. cicla*
곰취 *Ligularia fischeri(Ledeb) Turcz*	참취 *Aster scaber*	유채 *Brassica napus*

2. 대장암세포 성장억제 효능 실험

가. 세포주 및 세포배양 : Human colon cell인 HT-29 세포는 Korean Cell Line Bank(Seoul, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 분주 받은 세포주를 10% heat-inactivated FBS와 1% penicillin-streptomycin을 첨가한 RPMI 1640 배지를 사용하여 5% CO_2를 함유한 37℃ 배양기에서 키웠다. 2주 이상 계대 배양하여 배양 환경에 충분히 적응 시킨 후 세포밀도가 70~80% 정도 포화되면 0.05% trypsin-EDTA 용액을 사용하여 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 1차 antibody β-actin, Bcl-2, Bax, caspase-3, caspase-9와 2차 antibody anti-mouse IgG HRP-conjugated와 anti-rabbit IgG HRP-conjugated antibody는 Santa Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)에서 각각 구입하여 실험에 사용하였다.

나. MTT assay에 의한 세포 독성 측정 : 시료의 농도별 처리에 따른 HT-29 세포의 증식 정도는 3-(3,4-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) assay로 측정하였다. 먼저 HT-29 세포를 96 well plate에 1.5×10^4 cells/well의 밀도로 분주하여 24, 48, 72시간 배양한 후 시료의 최종 농도가 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml이 되도록 처리하여 24, 48, 72시간 동안 배양하였다. 배양 후 MTT 시약을 2.0 mg/ml 농도로 50 μl를 각 well에 첨가하여 4시간 더 배양한 후 배지를 제거하고 DMSO 150 μl를 각 well에 첨가하여 생성된 불용성의 formazan 결정을 용해시켜 ELISA reader(Bio-Rad, USA)로 570nm에서 흡광도(OD)를 측정하였다. 세포의 증식률은 시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타내었다.

다. Trypan blue에 의한 세포 독성 측정 : HT-29 세포를 24 well plate에 5×10^4 cells/well의 밀도로 분주하여 24, 48, 72시간 배양한 후 시료의 최종 농도가 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml이 되도록 처리하였다, 시료 처리 24, 48, 72시간 후, 배지를 제거하고 PBS로 세포단층을 씻어낸 후 Trypsin-EDTA를 처리한 후 원심분리(2,000 rpm, 10 min)하여 세포들을 모아서 Trypan blue dye(0.4%)로 염색하여 hematocytometer를 사용해서 염색이 된 세포와 염색이 되지 않은 세포를 모두 counting 한 후 총 세포의 수에서 살아있는 세포의 비로 계산하였다.

[Survival rate(%) = 염색되지 않은 세포 수 / 총 세포 수]

라. Western blot을 이용한 단백질 발현 분석 : Western blot analysis는 세포 사멸과 증식에 관련된 단백질의 발현을 알아보기 위해서 실시하였다. HT-29 대장암 세포를 최종농도 $2X10^6$ cells/well이 되도록 100 mm dish에 분주한 후, 시료를 농도별로 처리하여 24시간 동안 배양 후 샘플을 모았다. 샘플을 모을 때에는 차가운 PBS로 2번 washing하여 원심분리(2,000 rpm, 10 min)로 세포를 수거하였다. 각 농도별로 모아진 세포는 1.0 mM PMSF와 proteinase inhibitor를 첨가한 NP40 cell lysis buffer를 첨가하여 얼음에서 30분간 세포를 용해 한 후, 4°C, 13,000 rpm으로 30분간 원심분리 하여 상층액을 모아 시료로 준비하였다. 단백질 정량은 Bradford(Bio-Rad protein assay kit) 시약으로 실험하였으며, SDS-PAGE gel에 동량의 단백질을 loading하여 전기영동으로 분리한 후 단백질을 nitrocellulose membrane으로 transfer 하였다.

단백질이 옮겨진 membrane은 5% skim milk로 실온에서 1시간 동안 blocking한 후, 알아보고자 하는 1차 antibody를 처리하여, 4°C에서 하루 밤 동안 반응시킨 다음, TTBS buffer로 10분간 3번 세척하고, 2차 antibody를 처리하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 TTBS buffer로 10분간 3번 세척하고 enhanced chemiluminescence detection system(Amersham Phamacia, Bucks, UK)를 사용하여 대장암세포와 관련된 특정 단백질의 발현을 분석하였다.

마. RT-PCR

1) Total RNA 분리 : 시료가 암세포의 증식억제 및 사멸 유도 효과가 mRNA 수준에서도 영향을 미치는 지 알아보기 위하여 RT-PCR을 수행하였다. HT-29 세포를 10mm dish에 $2x10^6$cells/well의 양으로 분주하여 시료를 농도별로 처리하고 48시간 후 배지를 제거한 다음 scraper로 세포를 모아 Trizol reagent 1ml을 첨가하여 실온에서 3분간 방치하였다. 여기에 chloroform 200ul을 첨가하여 충분히 섞어준 후에 10분 동안 실온에서 방치하고 4℃, 12,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. Pellet을 세척하기 위하여 DEPC water로 희석한 75% ethanol 1ml를 첨가하여 4℃, 12,000 rpm에서 5분간 원심분리 한 후, 상층액을 제거하고 pellet을 충분히 건조시켰다. Pellet은 DEPC 처리된 증류수를 첨가하여 녹였다. 이것을 RNase-free dH_20 용액으로 1:100으로 희석하여 260nm에서 흡광도(Agilent, USA)를 측정하여 OD 260 ratio로 RNA의 purity를 알아보고 RNA 농도를 측정하였다.

2) cDNA 합성 : 정량한 RNA sample 양이 700ng이 되도록 tube에 준비하고 10mM dNTP mix, Random hexamers(50ng/ul)를 포함하여 총량이 10uL 되도록 DEPC-treated water를 첨가하였다.

이것을 65℃에서 5분간 배양을 하고, reaction buffer(10x RT buffer 2ul, 25mM $MgCl_2$ 4ul, 0.1M DTT 2ul, RNaseOUTTM 1ul) 9ul를 첨가하여 실온에서 2분간 배양하였다.

배양 후 superscriptTMII RT 1ul를 각각의 tube에 첨가하여 42℃에서 50분, 72℃에서 15 분간 배양을 하였다. RNaseH 1ul를 넣고 37℃에서 20분간 배양하고 -20℃에서 보관하며 시료로 사용하였다.

3) Polymerase chain reaction으로 DNA 증폭 : 준비된 시료 1uL에 PCR mixbuffer (10X PCR buffer 5ul, 25mM $MgCl_2$ 3ul, 10mM dNTP mix 1ul, Taq DNA polymerase 0.4ul) 9.4ul와 sense, antisense primer 각각 1ul, 멸균수를 혼합하여 RT-PCR (Bio-Rad, USA) cycle을 실행한 후에 ethidium bromide로 염색한 1% agarose gel로 전기영동을 실시하고, Gel Documentation System (Bio-Rad, USA)으로 밴드를 관찰하였다.

Primer sequences and RT-PCR program used for PCR amplification

Genes	Primers	Sequence	Cycle
β-actin	sense	5′-CCTCTATGCCAACACAGTGC-3′	94℃ 1min 60℃ 1min 35 72℃ 1min
	antisense	5′-ATACTCCTGCTTGCTGATCC-3′	
Bcl-2	sense	5′-CAGCTGCACCTGACG-3′	94℃ 1min 60℃ 1min 35 72℃ 1min
	antisense	5′-ATGCACCTACCCAGC-3′	
Bax	sense	5′-ATGGACGGGTCCGGGGAG-3′	94℃ 1min 58℃ 1min 35 72℃ 1min
	antisense	5′-TACGCCCATCTTCTTCCA-3′	

3. 동물실험

가. 실험 목적 : 본 실험에서는 인체유래 대장암세포(HT-29)의 nude mouse 이종이식 모델을 통해 SAMPLE 1, 2, 3, 4의 반복 경구 투여에 의한 항암 활성을 검증하고자 하였다.

나. 재료 및 방법 : 암세포는 인체유래 대장암 세포주 HT-29(colon cancer)를 사용하였다.

다. 암세포 배양 : 액체 질소 속에서 냉동보관 중이던 암세포를 thawing한 후 세포 배양을 실시하였다. 세포의 배양은 CO_2 incubator(Forma,USA) 내에서 온도 37 ℃와 CO_2 농도 5%로 맞춰서 적절한 기간 동안 배양하였다.

라. 시험동물 : BALB/C계통의 특정병원체 부재(SPF) 누드마우스(공급원:Nara Biotech Co.)

마. 암세포 이식 : 배양 최종일에 모든 대장암세포를 수거하여 계수하고 serum free media를 이용하여 세포 농도를 3×10^7 cells/ml로 조절 하였다. 이렇게 조절된 세포 배양액을 마우스당 0.3 ml(9×10^6 cells/mouse)씩 우측 견갑부와 흉벽 사이 액과 부위 피하에 주입하였다.

바. 시험물질

1) 명칭 : SAMPLE 1, 2, 3, 4
2) 외관 및 성상 : 옅은 황갈색, 검은색, 진한 갈색의 알갱이 및 결정성 분말
3) 보관조건 : 냉장보관
4) 공급자 : 덕성여자대학교 천연물 연구실

사. 대조물질

1) 명칭 : Doxorubicin hydrochloride
2) 외관 및 성상 : 선홍색의 입자성 분말
3) 제품번호 : D1515
4) 로트번호 : 031M1348V
5) 보관조건 : 냉장보관
6) 공급자 : SIGMA-ALDRICH®

아. 시료의 조제 : 동물실험에 사용된 한식시료들의 제조법은 다음과 같다.

주관 연구기관으로부터 시료를 공급받아 냉장고에 밀봉보관한 후, 시료의 최종상태를 외관으로 확인하여 원시료의 이상이 없음을 확인한 후 동물실험에 사용하였다.

시료 1(SAMPLE 1, 전통백미밥), 시료 2(SAMPLE 2, 흑미밥), 시료 3(SAMPLE 3, 기존 전통비빔밥), 시료 4(SAMPLE 4, 신규 기능성 비빔밥)을 각각 70% 에탄올로 3시간 동안 3회 열수추출한 후 환류냉각기를 사용하여 농축시킨 후, 동결건조 시켰다.

동결건조 후 분말로 제조된 한식시료 1, 2, 3, 4는 막자사발에 갈은 뒤 distilled water을 이용하여 SAMPLE 1, 2, 3 - 200 mg/ml, SAMPLE 4 - 50, 100 및 200 mg/ml의 농도로 용해 한 후 마우스에 10 ml/kg 액량으로 총 23회 매일 반복 경구투여하였다(투여 용량 : SAMPLE 1, 2, 3 - 2 g/kg, SAMPLE 4- 0.5, 1, 2 g/kg).

Doxorubicin.hcl은 Saline을 이용하여 0.2 mg/ml의 농도로 용해한 후 마우스에 10 ml/kg 액량으로 2일에 1회씩 반복 복강 투여하였다.

자. 관찰 및 검사항목

1) 일반증상 및 체중 변화 : 모든 동물에 대하여 투여 개시 및 시험기간 중 투여직전 일반 증상 관찰 및 체중 측정을 하였다.
2) 종양크기 변화 : 암세포 이식 후 다음 날 부터 23일째까지 총 8회 개체별로 verier caliper를 이용하여 3 방향을 측정한 후 length × width × height/2의 계산식으로 표현하였다.
3) 종양무게 측정 및 사진 촬영 : 투여 개시 후 23일째 CO_2 gas를 이용하여 치사시킨 뒤 종양을 분리하여 chemical balance에 무게를 측정하였으며, 사진 촬영 후 동일한 site로 cutting 하여 각각 포르말린과 액체 질소에 고정하였다.

차. 통계학적 검사 방법 : 모든 측정 항목들의 값은 t-TEST 통계법을 사용하여 실험 대조군과 약물 투여군을 비교하여 통계학적인 유의성을 검사하였다.

제 2 절 연구개발 수행 결과

1. 비빔밥 재료의 영양성분 분석

한국인들이 즐겨먹는 전통(기존)비빔밥과 재료의 기능성이 우수한 재료를 새로 배합하여 만든 신규비빔밥의 영양성분 분석결과는 [표]와 같다.

1) 에너지원의 비교

전통(기존)비빔밥 1인분에 해당하는 전체 칼로리는 약 612 Kcal이고, 신규비빔밥의 전체 칼로리는 약 502 Kcal로 전통(기존)비빔밥이 신규비빔밥에 비해 110 Kcal 높았다. 이는 전통(기존)비빔밥의 재료에 동물성 단백질인 쇠고기와 계란이 추가된 반면, 신규비빔밥은 단백질 식품이 첨가되지 않은 것에 주로 기인한다고 볼 수 있다.

전통(기존)비빔밥의 탄수화물 함량은 약 109g이고, 신규비빔밥의 탄수화물 함량은 약 96g으로 전통(기존)비빔밥이 신규비빔밥에 비해 13g 정도 더 많았다.

단백질 함량을 비교해보면, 전통(기존)비빔밥은 약 24g이고, 신규비빔밥은 약 13g으로 전통(기존)비빔밥이 신규비빔밥에 비해 단백질함량이 약 11g 더 많았다. 이는 역시 동물성 단백질인 쇠고기와 계란의 추가에 기인한다. 전통(기존)비빔밥의 지질 함량은 약 11g이고, 신규비빔밥은 약 7g으로 전통(기존)비빔밥이 4g 더 높았다.

비빔밥 1인분 분량의 에너지를 차지하는 3대 주요 열량영양소의 비율을 비교해보았다. 전통(기존)비빔밥은 탄수화물 : 단백질: 지방의 비율이 75.7% : 16.7% : 7.6% 이고, 신규비빔밥의 비율은 83% : 11.2% : 6%이었다.

신규비빔밥은 전체 칼로리 중 탄수화물이 차지하는 비율이 전통(기존)비빔밥에 비해 7.3%가 더 높았고, 단백질이 차지하는 비율은 5.5% 더 낮았다.

2) 무기질 함량 비교

무기질 함량에 있어서는 전통(기존)비빔밥이 신규비빔밥에 비해 칼슘은 약 55mg, 인은 약 123mg, 철분은 약 2.8g, 칼륨은 64mg, 나트륨은 62mg 더 높았다.

3) 비타민 함량 비교

비타민 함량을 비교해보면 전통(기존)비빔밥의 비타민A, B_1, B_2 ,B_6, C의 함량은 각각 617, 0.55, 0.81, 4.51, 24이고, 신규비빔밥의 비타민A, B_1, B_2, B_6, C의 함량은 각각 263, 0.46, 0.45, 3.99, 25.42이다. 비타민 함량에 있어서도 전통(기존)비빔밥이 신규비빔밥 보다 더 높았다.

4) 전통비빔밥과 신규비빔밥의 영양소 비교

전통(기존)비빔밥과 신규비빔밥의 전체적인 영양소함량을 비교 분석한 결과, 신규비빔밥은 전통(기존)비빔밥에 비해 건강에 유익하다고 생각되는 칼로리, 지질 및 나트륨 함량이 낮았지만, 필수영양소인 단백질, 비타민, 미네랄 등의 함량도 함께 낮은 것으로 나타났다. 향후 영양의 균형을 고려하여 단백질 식품을 추가한 레시피를 보완하는 것이 필요하다고 사료된다.

전통(기존)비빔밥의 영양성분 분석표

재료명(g)		에너지 kcal	수분 g	단백질 g	지질 g	탄수화물 g	총 섬유질 g	칼슘 mg	인 mg	철분 mg
백미	100	375	10.4	8.3	0.6	80.3	0	11	112	1.2
데친 콩나물	20	5.4	18.12	0.92	0.24	0.64	-	7.6	12	0.22
애호박	30	7.8	27.9	0.27	0.03	1.68	0.36	9	10.8	0.12
불린 고사리	20	5.2	18.4	0.64	0.06	0.88	1.02	3	8	0.28
무	30	6.3	28.1	0.3	0.03	13.8	0.36	7.8	11.4	0.69
데친 도라지	25	11	22.1	0.2	0.03	2.65	-	4.75	4.0	0.08
데친 시금치	25	5.75	22.9	0.85	0.03	0.95	[0.5]	12	11.8	0.55
생표고 버섯	25	4.5	22.7	0.5	0.08	1.53	2.08	1.5	7.0	0.15
쇠고기 (안심)	15	22.2	10.7	3.12	0.95	0.03	0	3.45	26.3	0.7
고추장	10	21.2	3.99	0.56	0	4.73	0.66	2.9	11.5	0.19
달걀 후라이	54	101	38.1	7.67	6.9	0.76	4.1	31	103	1.24
조선 간장	3.65	1.42	2.56	0.28	0	0.18	0	1.39	5.66	0
참기름	1.3	11.9	0	0	1.29	0	0	0.05	0.05	0
깨소금	0.1	0.59	0	0.02	0.06	0.01	0.02	1.22	0.64	0.02
들기름	0.67	6.16	0	0	0.67	0	0	0.44	0.19	0
올리브 오일	2.58	23.7	0	0	0	0	0	0.05	2.1	0
설탕	0.38	1.47	0	0	0	0.38	0	0	0	0
마늘	0.78	1.06	0.49	0.04	0	0.23	0.02	0.08	1.28	0.02
소금	034									
합 계		611.65	226.46	23.67	10.97	108.75	8.62	97.23	327.72	5.46

전통(기존)비빔밥의 영양성분 분석표

재료명(g)		칼륨 mg	나트륨 mg	레티놀 당량 RE	베타 캐로틴 μg	비타민 B_1 mg	비타민 B_2 mg	나이아신 mg	비타민C mg
백미	100	93	3	0	0	0.22	0.03	1.8	0
데친 콩나물	20	20.4	0.6	0	0	0.02	0.01	0.12	0
애호박	30	64.5	5.1	10.2	60.3	0.05	0	0.12	1.8
불린 고사리	20	37	1	1.4	8.2	0	0	0	0
무	30	77.1	12.9	0	0.3	0.03	0.08	0.15	4.5
데친 도라지	25	10	2.75	0	0	0	0.02	0.08	1.5
데친 시금치	25	76.5	2.75	62.3	374	0	0.03	0.08	10
생표고 버섯	25	45	1.25	0	0	0.02	0.06	1.0	0
쇠고기 (안심)	15	57.2	68.0	1.8	1.8	0	0.04	0.76	0
고추장	10	44.9	245.7	6.5	39.1	0.09	0.04	0	6
달걀 후라이	54	81.5	83.7	50.8	0	0.12	0.37	0.27	0
조선 간장	3.65	14.2	261.2	0	0	0	0	0	0
참기름	1.3	0	0.03	0.03	0.17	0	0.13	0.13	0
깨소금	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0
들기름	0.67	0.04	0.07	0	0	0	0	0	0
올리브	2.58	0.03	0.57	0	0	0	0	0	0
설탕	0.38	0.03	0	0	0	0	0	0	0
마늘	0.78	5.19	0.30	0	0	0	0	0	0.22
소금	0.34								
합 계		626.59	688.92	133.03	483.87	0.55	0.81	4.51	24.02

신규비빔밥의 영양성분 분석표

재료명(g)		에너지 kcal	수분 g	단백질 g	지질 g	탄수화물 g	총 섬유질 g	칼슘 mg	인 mg	철분 mg
콩나물 데친것	20	5.4	18.12	0.92	0.24	0.64	-	7.6	12.0	0.22
쌈추(생)	10	2.0	9.27	0.19	0.01	0.4	-	9.9	3.9	0.18
양송이 버섯	20	3.4	18.16	0.7	0.02	0.96	0.42	1.4	20.4	0.3
새송이 버섯	20	7.6	17.6	0.54	0	1.78	0.68	0.4	15.0	0.08
생표고 버섯	13	2.34	11.8	0.26	0.04	0.79	1.08	0.78	3.64	0.08
연근	20	14.0	16.04	0.42	0.02	3.28	0.48	4.4	13.4	0.18
양배추 (생)	10	1.80	9.45	0.06	0	0.46	0.15	0.15	0.17	0.04
적양배추(생)	10	3.7	8.82	0.2	0.01	0.89	0.35	0.47	0.3	0.05
백미	100	375	10.4	8.3	0.6	80.3	0	11.0	112	1.2
고추장	10	21.2	3.99	0.56	0	4.73	0.66	2.9	11.5	0.19
참기름	2	18.3	0	0	1.98	0	0.28	0.08	0.08	0
식용유	4	36.8	0	0	4.0	0	0.28	0.12	0.16	0
조선 간장	5	1.95	3.50	0.4	0	0.25	0	1.9	7.75	0
설탕	1	3.87	0	0	0	1.0	0	0	0	0
마늘	2	2.72	1.26	0.11	0	0.6	0.04	0.2	3.28	0.04
고추 가루	0.5	1.62	0.07	0.08	0.05	0.29	0.2	0.32	1.07	0.06
소금	0.15									
합 계		501.7	128.48	12.74	6.97	96.37	4.62	41.62	204.65	2.62

신규비빔밥의 영양성분 분석표

재료명(g)		칼륨 mg	나트륨 mg	레티놀당량 RE	베타캐로틴μg	비타민 B_1 mg	비타민 B_2 mg	나이아신 mg	비타민c mg
콩나물데친것	20	20.4	0.6	0	0	0.02	0.01	0.12	0
쌈추(생)	10	38.9	7.6	12.4	74.3	0.01	0.0	0.07	7.2
양송이버섯	20	107	1.6	0	0	0.01	0.11	0.8	0
새송이버섯	20	62.0	1.2	0	0	0.03	0.03	0.26	0
생표고버섯	13	23.4	0.65	0	0	0.01	0.03	0.52	0
연근	20	75.4	7.20	0	0	0.02	0	0.06	11.4
양배추(생)	10	17.9	0.2	1.3	7.8	0.02	0	0.03	0
적양배추(생)	10	35.6	0.5	0.1	0.7	0.03	0	0.06	0.1
백미	100	93	3	0	0	0.22	0.03	1.8	0
고추장	10	44.9	245.7	6.5	39.1	0.09	0.04	0	6
참기름	2	0	0.04	0.04	0.26	0	0.2	0.2	0
식용유	4	0.08	0.04	0	0	0	0	0	0
조선간장	5	19.5	357.9	0	0	0	0	0	0
설탕	1	0.03	0.02	0	0	0	0	0	0
마늘	2	13.3	0.6	0	0	0	0	0	0.56
고추가루	0.5	12	0.08	17.2	103.2	0	0	0.07	0.16
소금	0.15								
합 계		563.41	626.93	37.54	225.36	0.46	0.45	3.99	25.42

전통비빔밥과 신규비빔밥의 영양성분 비교표

구분	에너지 kcal	수분 g	단백질 g	지질 g	탄수화물 g	총섬유질 g	칼슘 mg	인 mg	철분 mg	칼륨 mg	나트륨 mg	레티놀당량 RE	베타캐로틴 μg	비타민 B_1 mg	비타민 B_2 mg	나이아신 mg	비타민 c mg
기존 비빔밥	611.7	226.5	23.7	11	108.8	8.6	97.2	327.7	5.5	626.6	688.9	133	483.9	0.6	0.8	4.5	24.0
신규 비빔밥	501.7	128.5	12.7	7.0	96.4	4.6	41.6	204.7	2.6	563.4	627.0	37.5	225.3	0.5	0.5	4.0	25.4

참고문헌: 식품분석표 8차 개정판 (농촌진흥청, 2012년)

2. Human Colon Cancer Cell(HT-29) 성장억제 효능 실험

가. MTT assay에 의한 대장암세포 증식에 미치는 영향

1) 시료의 효능 연구

비빔밥에 흔히 사용되는 국내산 재료의 HT-29 세포 증식에 미치는 영향을 확인하기 하여, MTT assay를 이용하여 시료추출물의 농도에 따른 대장암세포 증식 억제 정도를 측정하였다.

각각의 열수추출물을 0, 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1,000 ㎍/ml 농도로 24시간과 72시간 처리하였을 때 느타리버섯과 적채가 50ug/ml에서 유의적으로 대장암세포 성장이 감소하였으며 대장암세포 증식 억제에 뛰어난 효과를 보였다.

비빔밥에 사용되는 한식재료의 대장암 세포주에 미치는 영향(24 hr)

Concentration (ug/mL) / Samples	Cell viability(%) - 24hr							
	0	50	100	200	400	600	800	1000
느타리버섯	100	71*	77*	74*	74*	76*	78	72*
오이	100	118	107	114	109	124	126	123
고사리	100	102	99	113	99	117	108	140
마늘	100	108	109	106	106	109	100	99
적채	100	63*	61*	74*	57*	64*	60*	64*
애호박	100	119	107	99	99	104	111	114

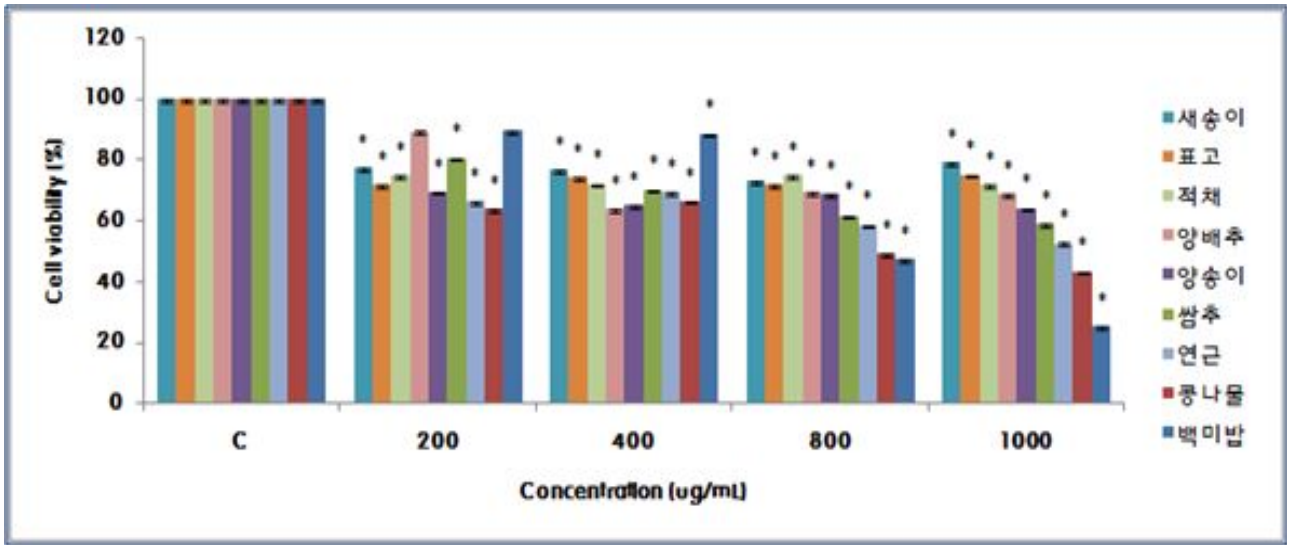
비빔밥에 사용되는 한식재료의 대장암 세포주에 미치는 영향(24 hr)

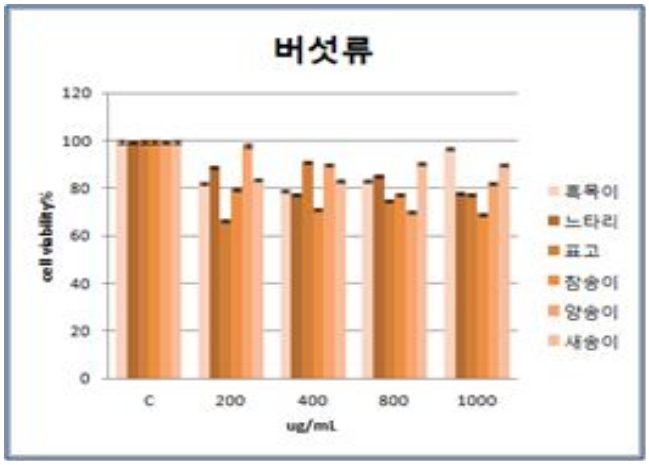
Concentration (ug/mL) / Samples	Cell viability(%) - 24hr				
	0	200	400	800	1000
무우	100	95	104	120	124
도라지	100	103	107	103	106
연근	100	106	106	95	93
양배추	100	95	89	88	82*
콩나물	100	55	55*	50*	56*
달래	100	69	79	105	96
잣	100	108	96	86	94
참송이버섯	100	128	98	122	99
양송이버섯	100	70	62*	72	76
표고버섯	100	60*	57*	61*	64
느타리버섯	100	79	60	83	72
흑목이버섯	100	78	84	73	86
새송이버섯	100	72	73	70	99

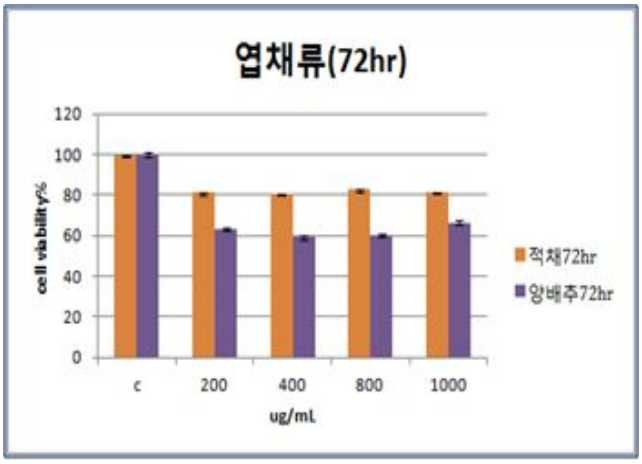
비빔밥에 사용되는 한식재료의 대장암 세포주에 미치는 영향(72 hr)

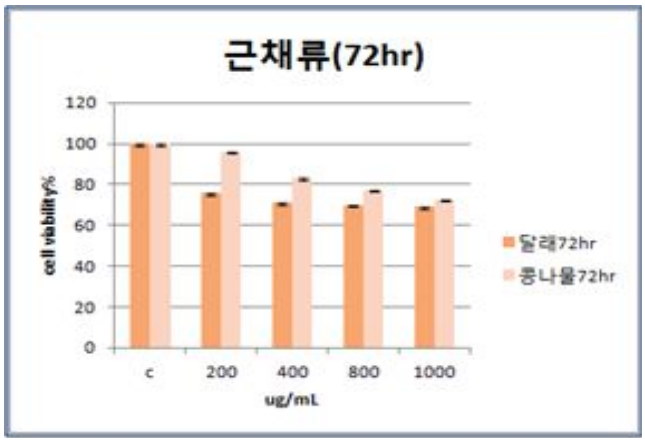
Concentration (ug/mL) / Samples	Cell viability(%) - 72hr				
	0	200	400	800	1000
느타리버섯	100	186	163	167	130
흑목이버섯	100	92	108	120	131
양송이버섯	100	70*	65*	69*	64*
참송이버섯	100	77*	78*	84	85
표고버섯	100	72*	74*	72*	75*
새송이버섯	100	77*	77*	73*	79*
연근	100	66*	70*	59*	53*
오이	100	97	104	98	100
콩나물	100	64*	67*	49*	44*
마늘	100	91	88	85	80*
애호박	100	86*	71	80	82
고사리	100	95	92	72	85
양배추	100	89	64*	70*	69*
적채	100	75*	72*	75*	72*
양상추	100	84*	85*	86*	82*
포상추	100	89	86*	88	95
쌈추	100	81*	70*	62*	59*
배추	100	110	110	88	87
시금치	100	84*	79*	100	102
더덕	100	99	103	113	112
홍피망	100	102	104	104	113
가지	100	99	97	102	104
고추	100	103	106	118	111
미나리	100	93	95	95	89
생강	100	81*	57*	15*	20*
파프리카(주황)	100	94	95	98	103
당근	100	100	97	93	96
파프리키(빨강)	100	109	104	96	102
흑미밥	100	106	106	80	60*
다시마	100	106	103	100	95
파래	100	100	101	92	67
달래	100	76*	71*	70*	69*

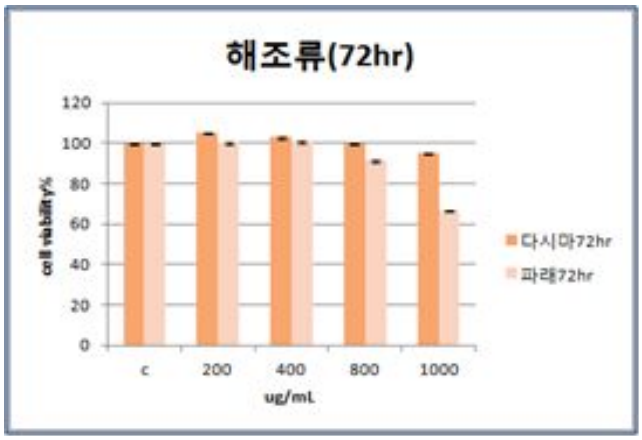
전통비빔밥에 주로 사용되는 국내산 한식재료의 추출물을 0, 200, 400, 800, 1000 ㎍/ml의 농도로 72시간 동안 HT-29 세포에 처리했을 때 양송이버섯, 참송이버섯, 표고버섯, 새송이버섯, 연근, 콩나물, 양배추, 적채, 양상추, 쌈추, 생강, 백미밥, 달래 등이 대장암세포의 증식 억제 효과를 보였다. 특히, 연근, 콩나물, 쌈추, 생강, 백미밥의 경우 200 ㎍/ml에서 각각 34, 36, 19, 19, 10%의 HT-29 세포성장이 억제되었고, 농도에 따라 유의적으로 억제되어 1000 ㎍/ml 농도에서는 각각 47, 56, 41, 80, 74%가 억제되었다.

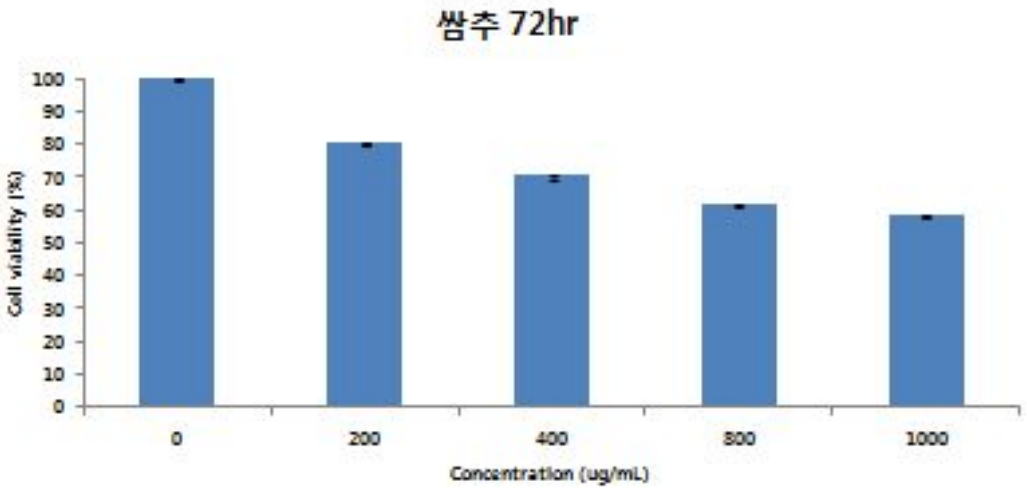




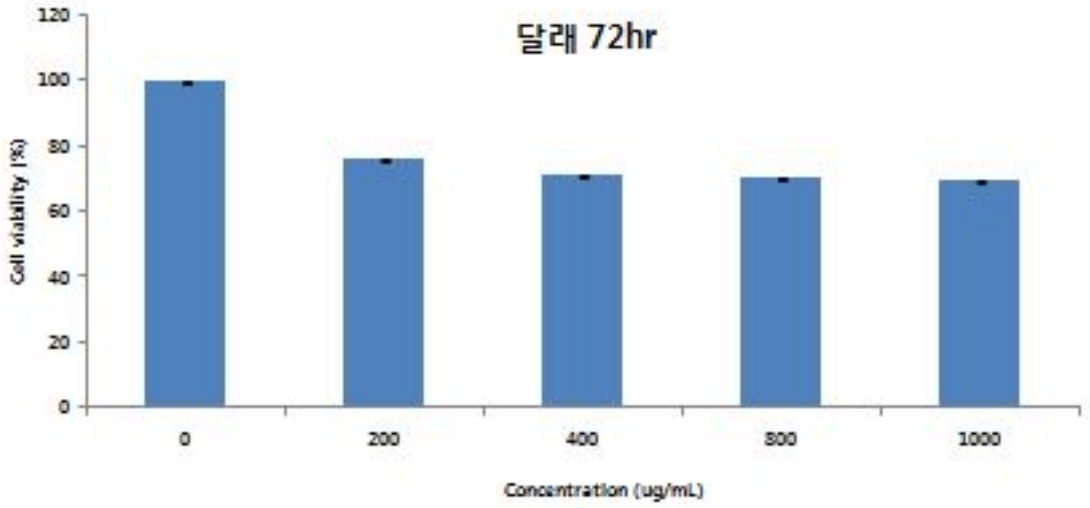




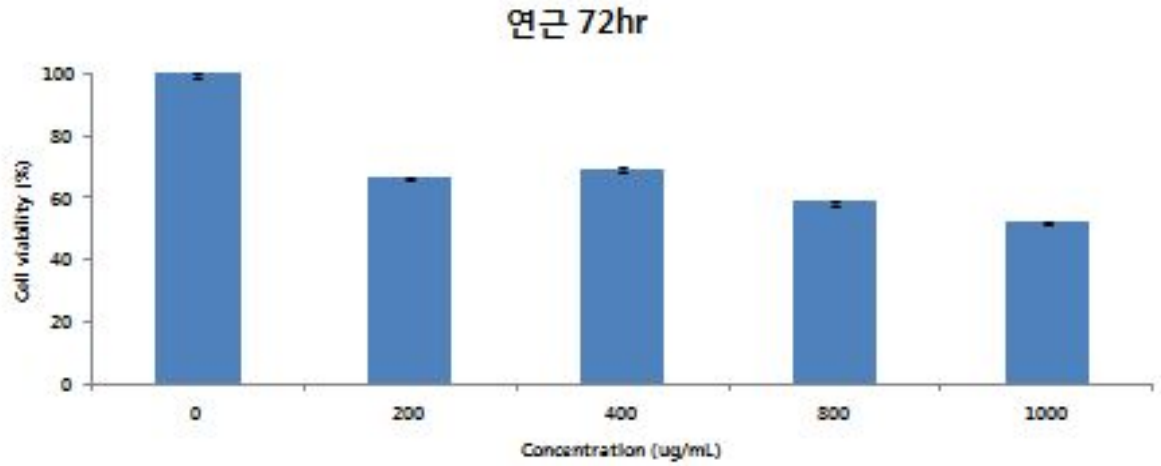




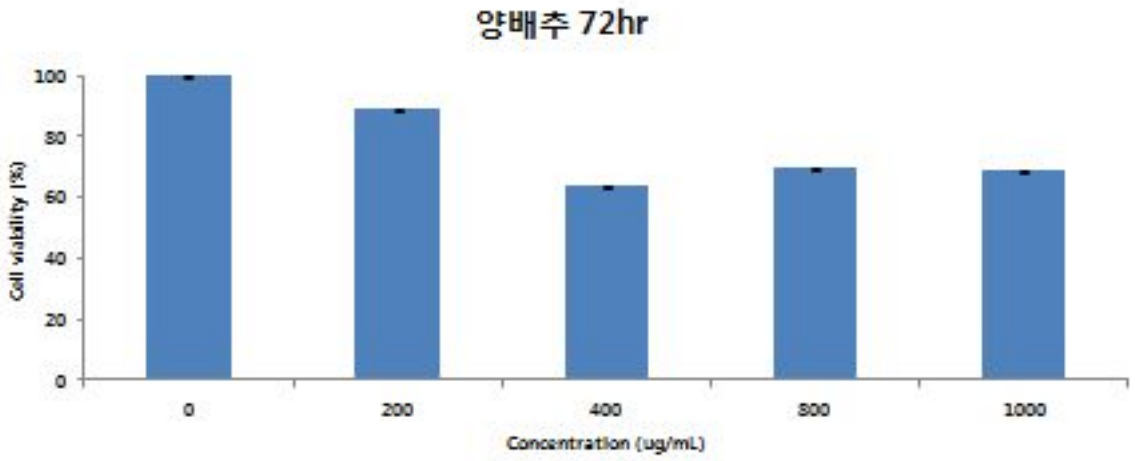
농도 (ug/mL)	0	200	400	800	1,000
Cell viability (%)	100.0	80.7	70.4	61.9	58.8



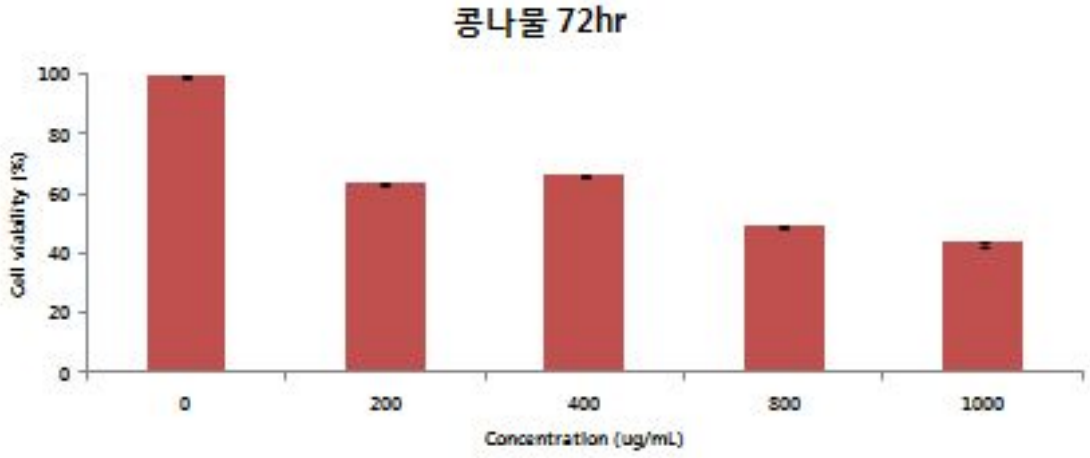
농도 (ug/mL)	0	200	400	800	1,000
Cell viability (%)	100.0	75.8	71.2	70.1	69.2



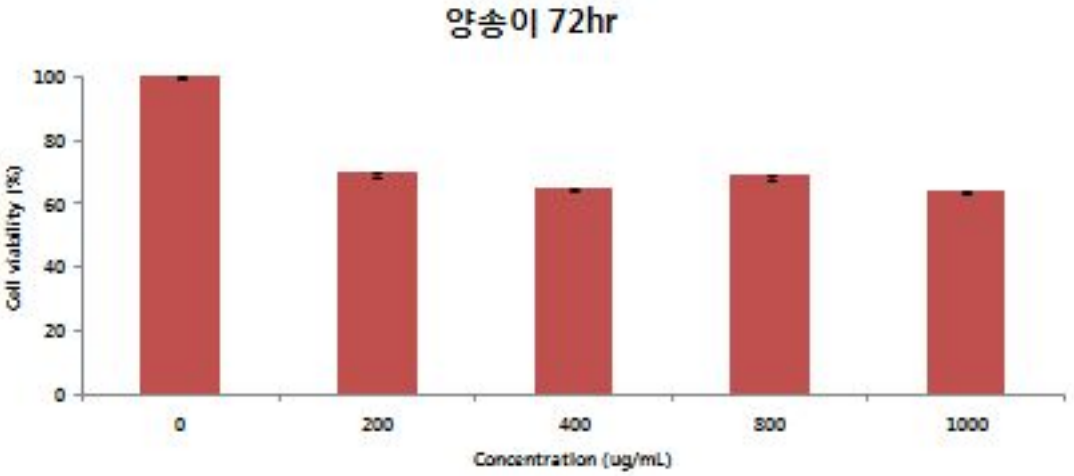
농도 (ug/mL)	0	200	400	800	1,000
Cell viability (%)	100.0	66.5	69.6	58.7	52.7



농도 (ug/mL)	0	200	400	800	1,000
Cell viability (%)	100.0	89.3	63.8	69.6	68.6



농도 (ug/mL)	0	200	400	800	1,000
Cell viability (%)	100.0	64.1	66.6	49.5	43.5



농도 (ug/mL)	0	200	400	800	1,000
Cell viability (%)	100.0	69.6	65.3	68.7	64.3

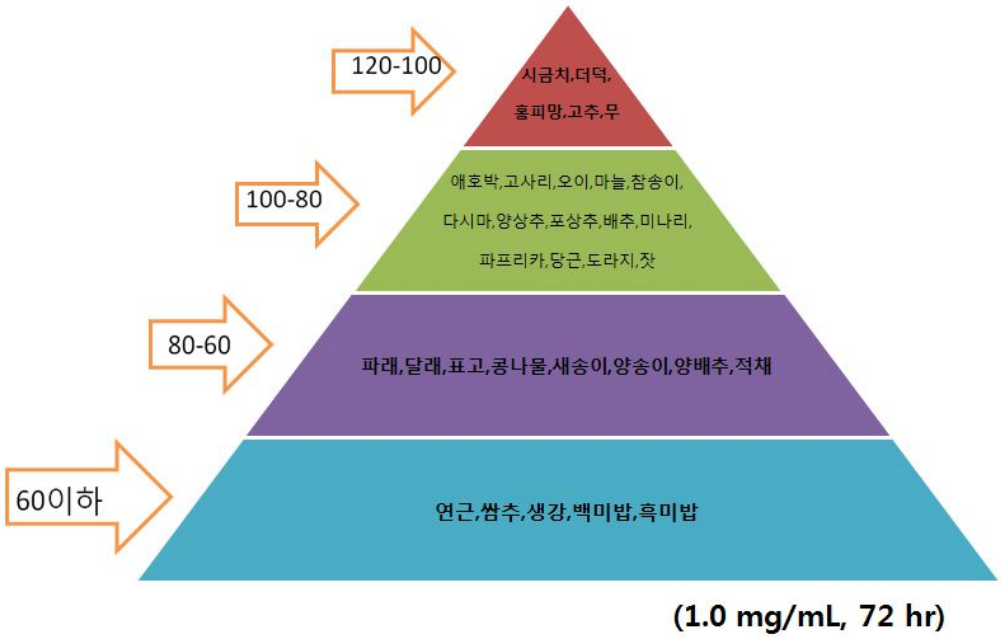
나. 신규비빔밥 개발 : 대장암세포 성장저해 효능이 우수한 한식재료 선발

전통비빔밥에 활용되는 한식재료들의 대장암세포 사멸효능 자료를 기본으로. MTT assay 실험 결과를 근거로 대장암세포 성장억제 효능군을 구분하여 작성하였다.

HT-29 cell viability를 60% 이하, 60-80%, 80-100%로 구분하여, 시료 추출물의 효능에 따라 피라미드 구조로 구분하였다. 활성이 구분된 재료 중 대장암세포 성장억제 효능이 80% 이하인 식재료들을 모아 신규비빔밥을 제조하였다. 본 실험에서 신규 비빔밥에 들어가는 재료로 흰쌀, 콩나물, 쌈추, 양송이버섯, 새송이버섯, 표고버섯, 연근, 양배추, 적양배추를 선발하였다.

선발된 시료를 이용하여 기존의 전통비빔밥 조리법과 동일하게 시료를 제조한 후 실험재료로 사용하였다.

MTT assay는 미토콘드리아의 탈수소효소작용에 의해 노란색의 수용성 기질인 MTT가 불용성의 보라색 formazan으로 환원되는 원리를 이용한 방법이다. MTT formazan의 흡광도는 570nm의 파장에서 최대가 되며, 이 파장에서 측정된 흡광도는 살아있고, 대사가 왕성한 세포의 농도를 반영한다. 따라서 비빔밥이 대장암 세포인 HT-29 세포의 증식에 미치는 영향을 MTT assay로 농도에 따른 대장암세포 성장억제 정도를 측정하였다. 먼저, 전통 비빔밥을 0, 1, 5, 10, 15 mg/mL 농도로 처리하였을 대장암 세포의 성장에 영향을 미치지 않았다. 이와 달리, 신규 비빔밥을 0, 1, 5, 10, 15, 20mg/mL 농도로 24, 48, 72시간 동안 처리하였을 때, 시료의 농도와 시간이 증가할수록 HT-29 세포 사멸이 증가하였다. 특히 신규 백미비빔밥은 10mg/mL (24h)에서 54%, 신규 흑미비빔밥에서는 5mg/mL (24h)에서 46%가 억제되었다. 시간 변화에 따른 대장암세포의 50% 생존율인 IC_{50}를 살펴본 결과 신규 백미비빔밥은 9.3, 7.7, 8.5mg/ml, 신규 흑미비빔밥은 7.4, 6.5, 6.7mg/ml의 IC_{50}를 나타내었다. 그리고 이러한 결과를 보아 비빔밥 시료 농도가 증가할수록 대장암세포가 농도의존적으로 일정하게 사멸하는 것이 확인되었으며 대장암세포 증식억제 효과가 증가하였다.



MTT assay에 의한 비빔밥 재료의 대장암세포 억제효능(%) 피라미드(72 hr)

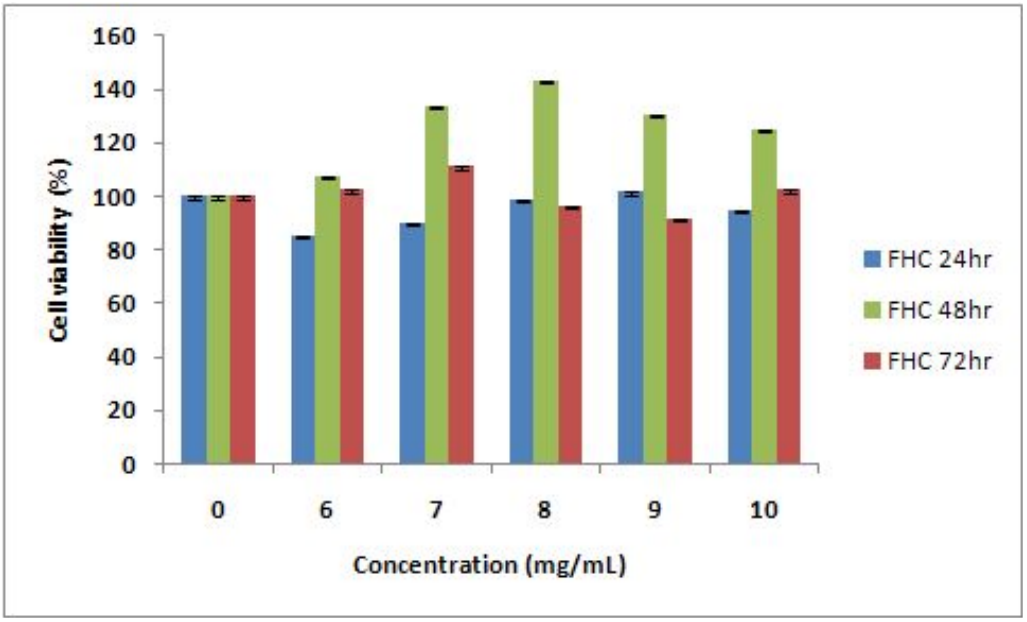
다. FHC(Colon cell) 정상 세포 독성 분석

신규로 제조된 기능성비빔밥이 대장암세포 사멸에 미치는 영향을 확인하기 위해서는 실험 이전에 정상세포인 FHC 세포를 이용하여 비빔밥 자체의 독성을 확인하는 것이 필요하다. 정상세포에 대한 연구결과를 근거로 앞으로 수행될 신규비빔밥의 최적농도를 정하는 것을 목적으로 FHC 세포의 독성 분석을 수행하였다.

FHC 세포에 비빔밥을 0, 6, 7, 8, 9, 10mg/mL의 농도로 처리하여 24, 48, 72시간 배양한 뒤 MTT assay를 수행하였다. 그 결과 각각의 농도와 모든 배양 시간 조건에서 FHC 세포가 증식 되었으며 FHC 세포의 사멸에는 영향을 주지 않은 것으로 확인되었다. 따라서 본 실험에 사용된 비빔밥은 0-10mg/mL의 농도에는 독성이 없을 것으로 판단되어, 시료를 0-10mg/mL 농도에서 본 실험을 수행하였다.

백미 신규비빔밥의 대장암세포 성장억제 효능

Concentration (mg/mL)	Cell viability(%)					
	0	6	7	8	9	10
24 hr	100	85	90	99	102	95
48 hr	100	107	114	122	110	115
72 hr	100	102	101	97	92	102

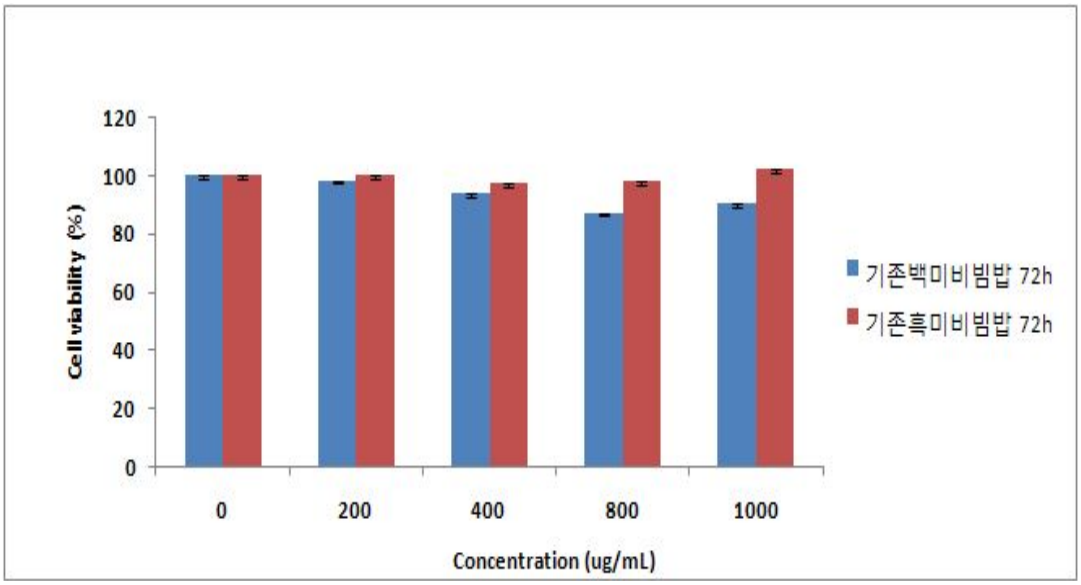


Effects of *Bibimbap II* on FHC cell viability by MTT assay

FHC cells were plated in 96well plate at density of $1x10^4$ cells/well with DMEM/F12 supplemented with 10% HS. One day later cells were treated with *Bibimbap II* in medium containing 0, 6, 7, 8, 9, 10mg/mL and then were incubated for 24, 48, 72 hr. Cell viablity were examined by the MTT assay($\rho<0.05$).

전통비빔밥의 대장암세포 성장억제 효능

Concentration (ug/mL)	Cell viability(%) - 72 hr				
	0	1	5	10	15
백미 전통비빔밥	100	98	94	87	90
흑미 전통비빔밥	100	100	97	98	102

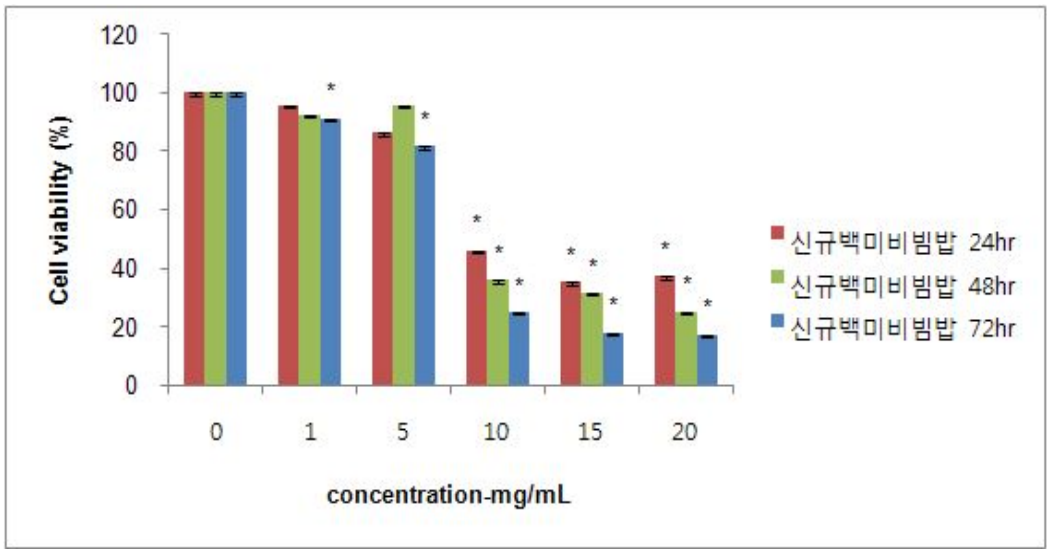


Effects of *Bibimbap 1* on HT-29 cells viability by MTT assay

HT-29 cells were plated in 96 well plate at density of $1x10^4$ cells/well with RPMI-1640 supplemented with 10% FBS. One day later cells were treated with *Bibimbap II* in medium containing 0, 200, 400, 800, 1000ug/mL and then were incubated for 72 hr. Cell viablity were examined by the MTT assay($\rho<0.05$).

신규 백미비빔밥의 대장암세포 성장억제 효능

Concentration (mg/mL)	Cell viability(%)					
	0	1	5	10	15	20
24 hr	100	96	86	46*	35*	37*
48 hr	100	93	96	36*	32*	25*
72 hr	100	91*	82*	25*	18*	17*

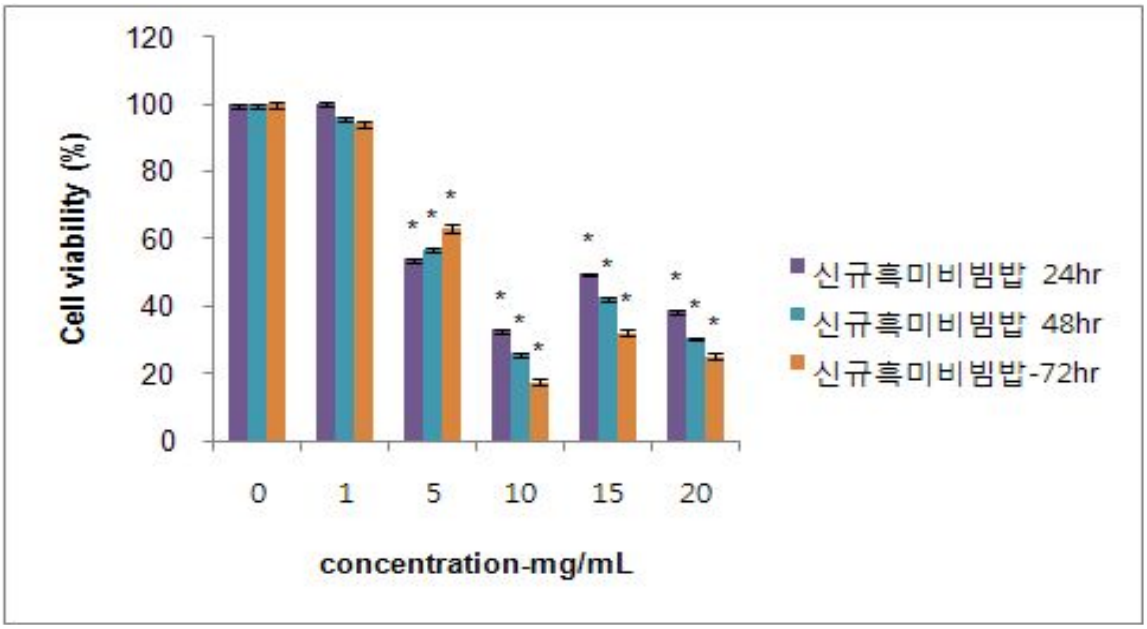


Effects of *Bibimbap II* on HT-29 cells viability by MTT assay

HT-29 cells were plated in 96 well plate at density of $1x10^4$ cells/well with RPMI-1640 supplemented with 10% FBS. One day later cells were treated with *Bibimbap II* in medium containing 0, 1, 5, 10, 15, 20mg/mL and then were incubated for 24, 48, 72 hr. Cell viablity were examined by the MTT assay($\rho<0.05$).

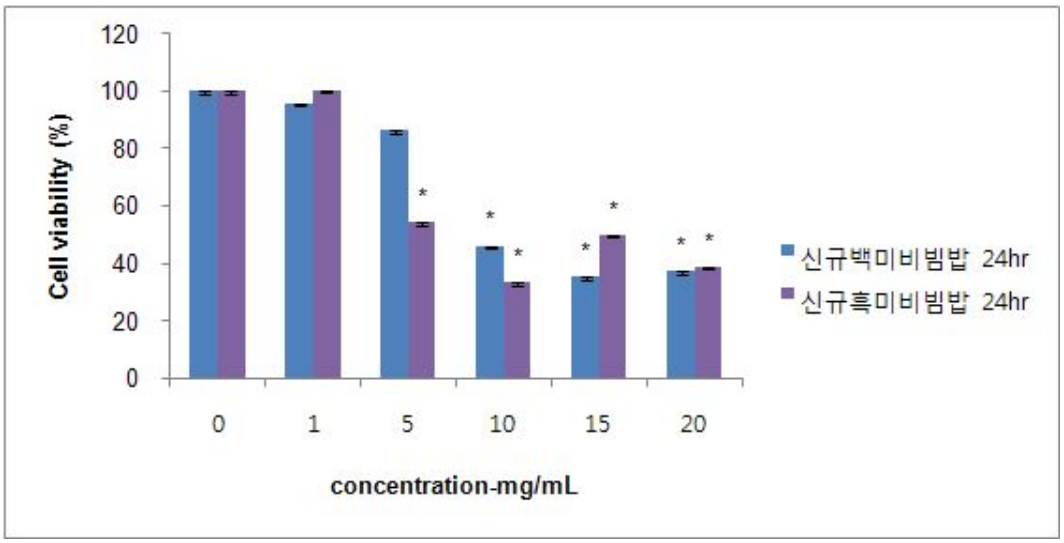
신규 흑미비빔밥의 대장암세포 성장억제 효능

Concentration (mg/mL)	Cell viability(%)					
	0	1	5	10	15	20
24 hr	100	100	54	33	50	39
48 hr	100	96	57	26	43	31
72 hr	100	94	63	18	32	25

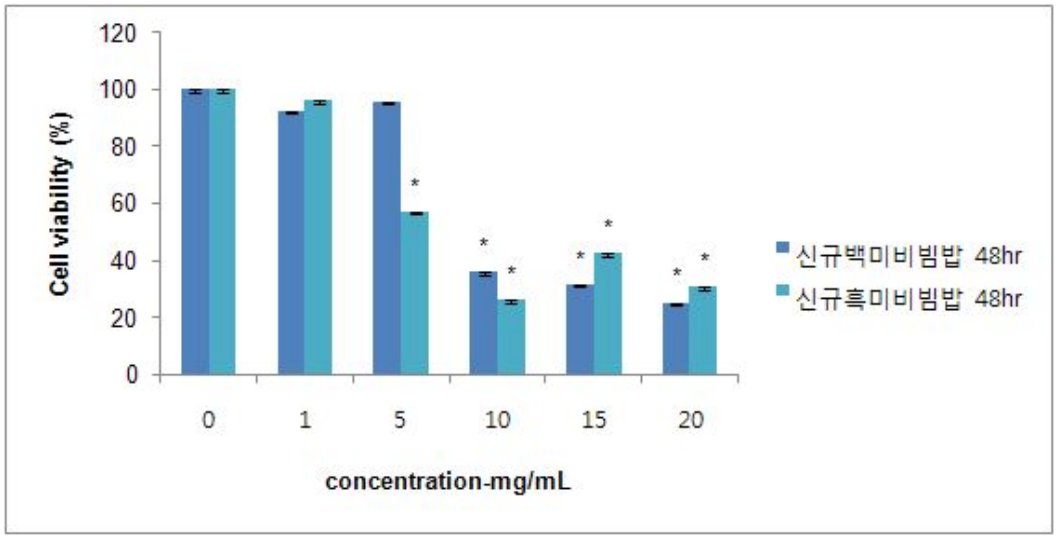


Effects of *Bibimbap II* on HT-29 cells viability by MTT assay

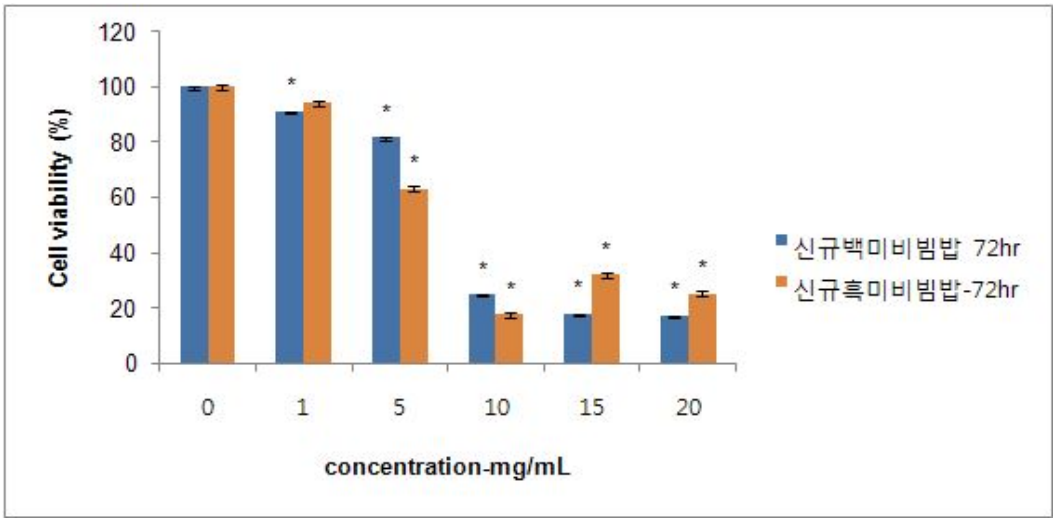
HT-29 cells were plated in 96 well plate at density of $1x10^4$ cells/well with RPMI-1640 supplemented with 10% FBS. One day later cells were treated with *Bibimbap II* in medium containing 0, 1, 5, 10, 15, 20mg/mL and then were incubated for 24, 48, 72 hr. Cell viablity were examined by the MTT assay($\rho<0.05$).



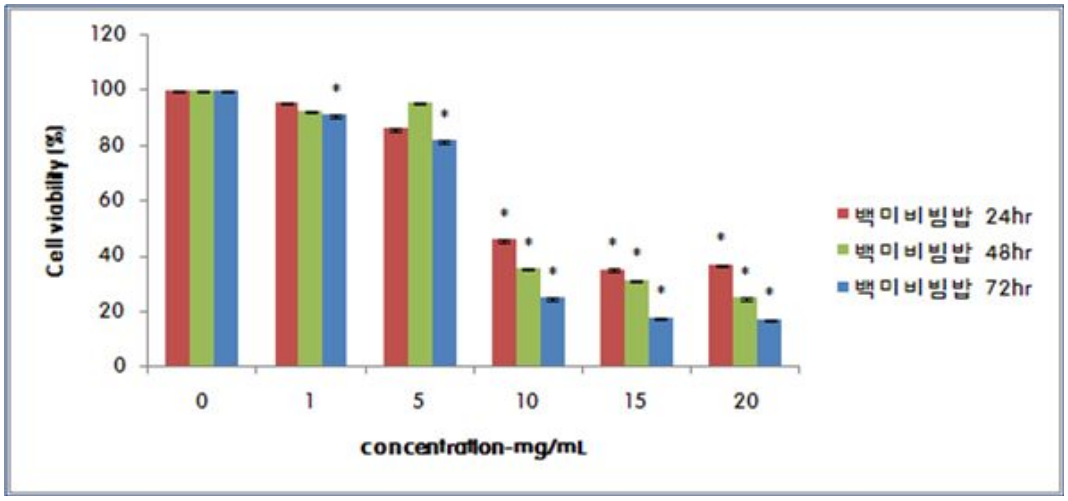
Effects of *Bibimbap II* on HT-29 cells viability by MTT assay(24 hr)



Effects of *Bibimbap II* on HT-29 cells viability by MTT assay(48 hr)



Effects of *Bibimbap II* on HT-29 cells viability by MTT assay(72 hr)



Effects of *Bibimbap I* on HT-29 cells viability by MTT assay(24, 48, 72 hr)

라. 단백질 발현 실험(western blot analysis)

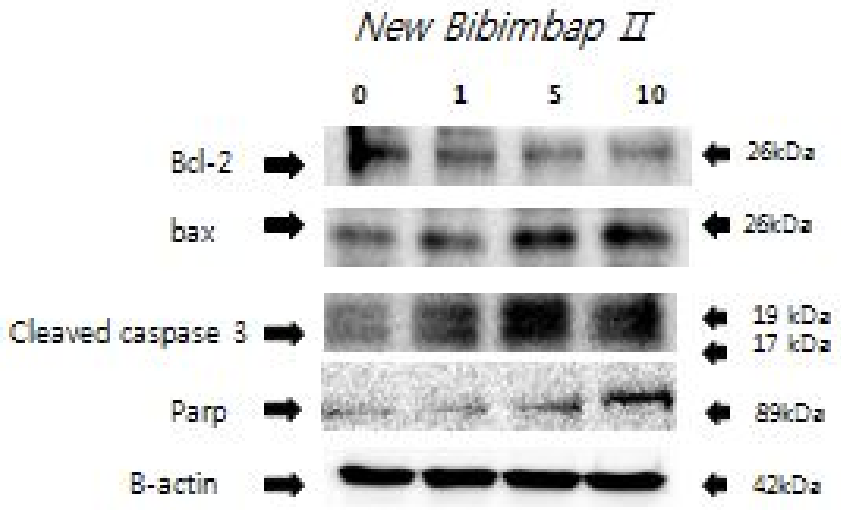
신규 백미비빔밥을 HT-29 대장암세포에 처리 시 대장암세포 사멸이 유도되었으므로, apoptosis를 조절하는 유전자인 Bcl-2와 Bax 유전자의 발현 정도를 관찰하여, HT-29 대장암세포와 apoptosis의 관련된 이들 유전자의 역할을 알아보고자 하였다.

Bcl-2 family 단백질은 미토콘드리아의 막 투과성과 cytochrome c의 방출을 제어하여 세포사멸을 조절하는 것으로 알려져 있다. Bcl-2 family 단백질은 기능과 아미노산 서열의 유사성에 따라 Bcl-2는 anti-apoptotic 단백질, Bax는 대표적인 pro-apoptotic 단백질로 나뉘어 진다. 이들 단백질인 Anti-apoptotic 단백질과 pro-apoptotic 단백질은 서로 dimer의 형태로 존재하여 균형을 유지하고 있지만, 이러한 균형이 깨어지게 되면 미토콘드리아의 막 투과성을 증가시키고, cytochrome c의 방출을 증가시킴으로서 caspase, endonuclease 등의 활성화를 통하여 세포사멸을 유도하는 것으로 알려져 있다.

따라서 대장암세포에 신규로 제조된 비빔밥을 처리 시 세포사멸의 중요한 조절인사인 Bcl-2 family 단백질에 미치는 영향을 western blot을 통해 확인하였다. 실험 결과, anti-apoptotic Bcl-2 family 단백질인 Bcl-2 단백질 발현은 선향 추출물 처리 농도가 증가할수록 감소한 반면, pro-apoptotic Bcl-2 family 단백질인 Bax 단백질dml 발현은 증가하였다.

앞선 결과에서 HT-29 대장암 세포에 신규 백미비빔밥을 처리 시 bcl-2 family를 통한 세포사멸이 유도를 확인하였으므로 이번 실험에서는 caspase의 활성에 미치는 영향을 조사하였다. Caspases는 cysteine aspartic acid proteases로 cell repair 효소들을 분해시키고 세포 내 단백질의 분절을 유도하여 세포사멸을 유도한다. 즉, caspases는 세포내에서 불활성화된 proenzyme의 형태로 존재하다가 Bcl-2 family와 같은 세포사멸 신호에 의해 미토콘드리아로부터 방출된 cytochrome c에 의하여 활성화된 protease로 전환되어 직접 또는 간접적으로 caspases 분해에 관여한다. Caspases는 initiator caspase와 effector caspase로 구분되며, caspase-9는 initiator caspase로 미토콘드리아 막의 투과성이 증가되어 세포질로 방출된 cytochrome c에 의해 활성화되고, cytochrome c의 방출은 Bcl-2 family 단백질의 변화에 의해 증가된다. 활성화된 caspase-9는 caspase의 최하위 단계인 effector caspase에 속하는 caspase-3을 활성화하고, 활성화된 effector caspase은 apoptosis의 형태학적 특징에 관여하는 PARP 등의 단백질을 분해하여 세포사멸을 유도한다.

본 연구에서는 HT-29 세포에서 세포사멸을 유도한 비빔밥 추출물이 caspase의 활성에 미치는 영향을 조사하기 위해 caspase 활성 형태인 cleaved caspase들의 단백질 수준을 관찰하였다. 그 결과, 비빔밥 추출물 처리에 의한 cleaved caspase-8, -3이 활성화하여 세포사멸을 유도한 것을 확인하여 caspases 활성이 비빔밥 추출물에 의한 세포사멸 과정에 중요한 조절인자로 작용하였음을 확인하였다.



Dose-dependent effect of *New Bibimbap II* on the protein expression levels of Bcl-2, Bax, and cleaved caspases in HT-29 cells.

Cells were incubated for 48h at 37℃ with the 0, 1, 5, 10mg/mL of *New Bibimbap II*. Equal protein of the total lysates were analyzed by gradient 10% SDS-PAGE. The reduction of β-actin, Bcl-2 and Bax were detected by Western Blot analysis.

마. mRNA 발현실험(RT-PCR)

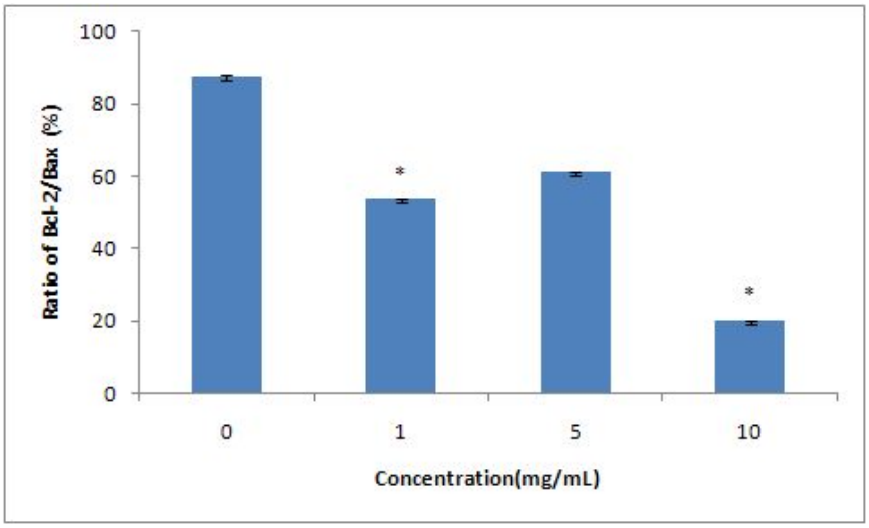
선행된 실험에서 HT-29 대장암 세포에 신규 백미비빔밥을 0, 1, 5, 10mg/ml로 48시간 처리하여 대조군과 비교하였을 때 처리농도가 증가할수록 유의적으로 세포의 증식이 감소되고 사멸은 증가되는 것을 확인하였다.

이러한 실험결과를 근거로 신규 백미비빔밥이 HT-29 대장암 세포의 mRNA 발현에 미치는 영향을 관찰하기 위해 세포사멸과 관련된 유전자를 이용하여 실험하였다.

세포사멸을 억제하는 유전자인 Bcl-2와 사멸을 유도하는 유전자인 Bax를 통해 대조군인 B-actin과 비교 분석하였다. Apoptosis 조절에 가장 대표적인 유전자인 Bcl-2 family 속하는 Bcl-2 유전자는 apoptosis 유발을 억제하는 anti-apoptotic member이며 Bax는 apoptosis를 촉진하는 인자로 알려져 있다.

실험결과 HT-29 대장암 세포에 신규 백미비빔밥을 처리 시 결과 apoptosis를 유도하는 Bax도 시료 농도 증가에 따라 발현 정도가 증가하였다. 이와 반대로 apoptosis를 억제하는 Bcl-2는 농도 의존적으로 감소하였다. 이어서 세포 사멸의 지표로 사용되고 있는 Bcl-2/Bax의 비율을 구한 결과 대조군에 비해 50% 이하로 낮아졌으며 신규 백미비빔밥의 농도 의존적으로 유의성을 가지고 감소하는 것이 관찰되었다.

실험결과 신규 백미비빔밥을 HT-29 대장암 세포에 처리하였을 때 Bcl-2의 mRNA발현은 신규 백미비빔밥의 처리 농도 의존적으로 감소하였고, Bax의 발현은 증가하였다.



The effects of *New Bibimbap II* on Bcl-2/Bax ratio(%) in HT-29 cells

The values are mean±SD of three independent experiments. Bars with different alphabet letters are significantly different at $p<0.05$.

바. 연근에서 효능 화합물의 분리

1) 시료 : 실험에 사용된 재료는 식품건조기를 사용하여 70℃에서 시료특성에 따라 시간을 조절하여 건조하였다.

2) 시약 : Column chromatography의 packing material은 Kieselgel 60 (70-230 mesh, Art. 7734, 230-400 mesh, Art. 9385, Merck, Germany)와 Sephadex LH-20 (Bead size 25-100 μm, Pharmacia, Sweden)을 사용하였다. Thin layer chromatography용 plate는 precoated silica gel 60 F_{254} plate(layer thickness 0.25 mm, 20x20 cm, Art. 5715, Merck)와 precoated RP-18 F254 S plate (layer thickness, 0.25 mm, 20x20 cm, Art. 15423, Merck)를 사용하였으며, 발색시약으로는 10% H_2SO_4 및 $FeCl_3$를 사용하였다. 추출, 분획 및 column chromatography용 시약은 특급 및 EP급 용매를 사용하였다.

3) 추출 및 농축 : 재료의 추출은 건조된 시료 10g을 70% Ethanol 수용액으로 80℃에서 1시간동안 추출하였고, 뜨거울 때 여과하여 남은 잔사를 동일한 조건에서 1회 및 2회 더 반복 추출하여 여과하였다. 여과하여 얻은 재료의 추출물은 회전식 감압농축기로 농축시켰다.

4) 화합물의 분리 : 연근 추출 분획물 중 EtOAc soluble fraction(12g)을 MeOH에 용해시킨 후 시료 2배량의 silica gel에 현탁시킨 후, 농축, 건조시켜 곱게 갈아 체에 걸러서 컬럼 분리용 시료를 제조하였다. 화합물의 분리를 위해 open column chromatography를 수행하였다. 먼저 silica gel을 충진제로 사용하여 column chromatography를 수행하였다. Column은 직경 5㎝, 높이 100㎝인 것을 사용하였으며 컬럼에 $CHCl_3$을 넣어 shaking한 silica gel을 40㎝ 높이로 충진하여 packing하고 파우더 형태로 만든 시료를 4㎝ 높이로 loading하였다. 고무망치를 이용하여 column내의 기포를 완전히 제거한 후, $CHCl_3$:MeOH 용매의 비율을 100:0 에서부터 100:1, 98:2, 95:5, 92:8로 순차적으로 극성을 높여주며 용출하였고, 각 분획물의 elution 속도는 200㎖/hr의 속도로 균일하게 용출하였다. 용출된 분획물을 TLC plate에 전개시켜서 $CHCl_3$:MeOH=80:1에서 유사한 TLC pattern을 보인 subfraction(2.75g)을 re-column chromatography(2.5x50cm)를 수행하였다. 이때 사용된 용출용매는 $CHCl_3$:MeOH(100:0~70:10)이었으며 $CHCl_3$:MeOH 비율이 90:1에서 유사한 TLC pattern을 보인 subfraction을 합하여 감압 농축한 농축물(1.22g)을 얻었다. 이어서 세분획물에 대해 다시 column chromatography(1x50cm)를 수행하여, TLC pattern이 동일한 fraction에서 단일 화합물을 분리하였다.

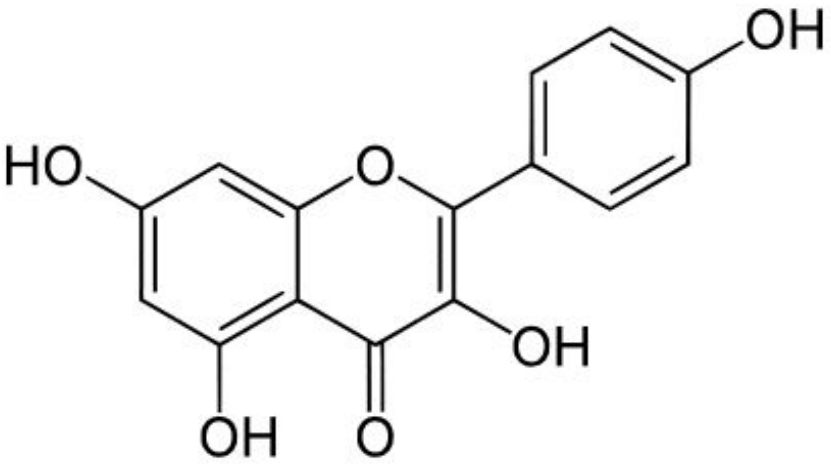
5) 화합물의 화학구조 규명

① Compound 1 : Compound 1은 연근에서 분리된 미황색 분말로 $FeCl_3$와 Mg-HCl test에서 양성 반응을 보이고, 특징적인 UV 파장(269, 347 nm)으로부터 3번 탄소에 치환기가 있는 플라보노이드임을 알 수 있었다. ^{1}H-NMR spectrum의 A-ring의 두 개의 aromatic protons(δ 6.15, 6.32), B-ring의 네 개의 A_2B_2 aromatic system protons(δ 6.91, 7.73)들로부터 Kaempferol 구조를 갖는 플라보노이드임을 알 수 있었다.

▪ Spectral data of Compound 1

^{1}H-NMR (300 MHz, CD_3OD) : 7.73(2H, *d*, *J*=8.0 Hz, H-2',6'), 6.91(2H, *d*, *J*=8.0 Hz, H-3',5'), 6.32(1H, *d*, *J*=1.2 Hz, H-8), 6.15(1H, *d*, *J*=1.2 Hz, H-6)

^{13}C-NMR (75 MHz, CD_3OD) : 159.1(C-2), 136.1(C-3), 179.4(C-4), 163.1(C-5), 99.7(C-6), 165.7(C-7), 94.7(C-8), 158.4(C-9), 105.8(C-10), 122.5(C-1'), 131.9(C-2',6'), 116.4(C-3',5'), 161.4(C-4')



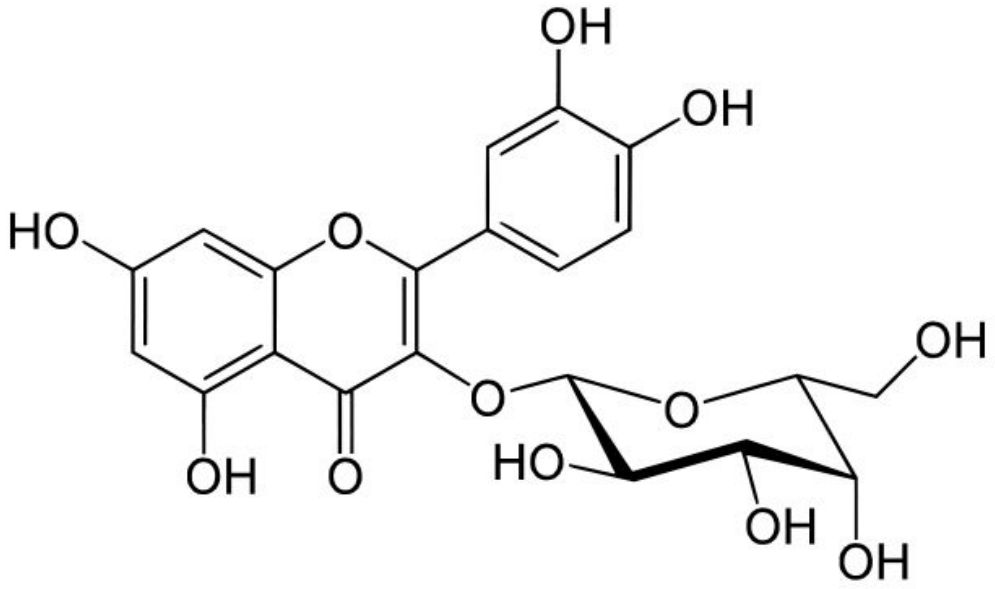
Chemical structure of compound 1

② Compound 2 : Compound 2는 연근에서 분리된 미황색 분말로 $FeCl_3$ test에서 양성반응을 보이며, UV spectrum 결과, flavonoid 화합물임을 예상하였으며, ^{1}H-NMR에서 δ 6.22와 δ 6.43 ppm에 flavonoid A ring의 H-6, H-8에 기인하는 2개의 doublet peaks(J=1.9 Hz)가 나타났고, δ 6.82, δ 7.56 및 δ 7.66 ppm에 나타난 3,4-disubstituted flavonoid B ring의 특징적인 peaks들이 확인되었고, δ 5.36에서 당의 anomeric peak가 확인되며, 문헌과 비교하여 Hyperoside(Quercetin-7-O-β-D-galactopyranoside)로 확인하였다.

▪ Spectral data of Compound 2

^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6) : δ 8.27(1H, *s*, 5-OH), 7.66(1H, *dd*, *J*=2.1, 8.4 Hz, H-6'), 7.56(1H, *d*, *J*=2.1 Hz, H-2'), 6.82(1H, *d*, *J*=8.4 Hz), 6.43(1H, *d*, *J*=1.9 Hz, H-8), 6.22(1H, *d*, *J*=1.9 Hz, H-6), 5.36(1H, *d*, *J*=7.6 Hz, anomeric proton)

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 181.4(C-4), 164.4(C-2), 162.4(C-7), 161.0(C-5), 160.1(C-3), 156.6(C-9), 150.2(C-4'), 145.2(C-3'), 121.2(C-1'), 119.1(C-6'), 116.1(C-5'), 113.2(C-2'), 105.1(C-10), 103.1(C-3), 99.1(C-8), 97.7(Gal-1"), 77.0(Gal-5"), 76.7(Gal-2"), 76.1(Galc-3"), 70.1(Gal4"), 60.4(Gal-6")



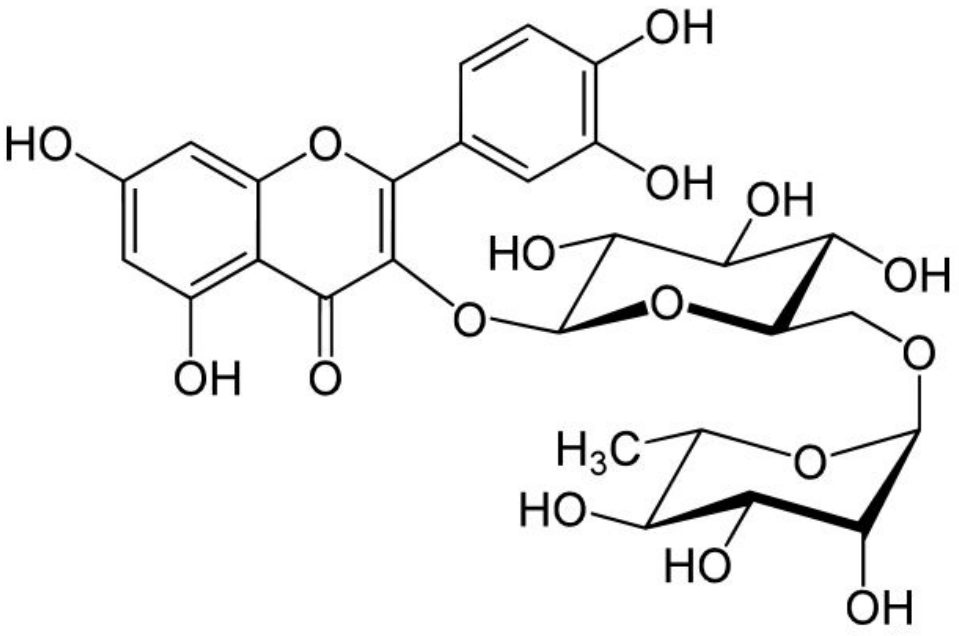
Chemical structure of compound 2

③ Compound 3 : Compound 3은 연근에서 분리된 미황색 분말로 $FeCl_3$와 Aniline hydrogen phthalate test에서 양성반응을 보이며, UV spectrum 결과, flavonoid 화합물임을 예상하였으며, ^{1}H-NMR에서 δ 6.18과 δ 6.40 ppm에 flavonoid A ring의 H-6, H-8에 기인하는 2개의 doublet peaks(J=2.1 Hz)가 나타났고, δ 6.88, δ 7.54 및 δ 7.67 ppm에 나타난 3,4-disubstituted flavonoid B ring의 특징적인 peaks들이 확인되었고, δ 5.31 ppm에서 anomeric proton이 확인되었다. ^{13}C-NMR은 quercetin의 spectrum과 비교해 볼 때 Compound **3**의 경우, C-3에서 2.5 ppm high-field shift 이동되는 것으로 보아 C-7에 당이 결합함을 추정하였고, FAB-MS fragmentation peak를 확인한 결과 1분자의 glucose와 rhamnose가 결합되어 있음을 확인하였고, 문헌과 비교하여 Rutin으로 확인하였다.

▪ Spectral data of Compound 3

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) : 7.67(1H, *d*, *J*=2.1 Hz, H-2′), 7.54(1H, *dd*, *J*=2.1, 8.4 Hz, H-6′), 6.88(1H, *d*, *J*=8.4 Hz, H-5′), 6.40(1H, *d*, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.18(1H, *d*, *J*=1.8 Hz, H-6), 5.31(1H, *d*, *J*=7.6 Hz, anomeric proton), 0.92(3H, *d*, *J*=5.5 Hz, Rham-6)

^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 75 MHz) : 177.24(C-4), 163.97(C-7), 161.09(C-9), 156.50(C-5), 156.30(C-2), 148.29(C-4′), 144.63(C-3′), 133.16(C-3), 121.48(C-6′), 121.05(C-1′), 116.15(C-5′), 115.11(C-2′), 103.83(C-10), 101.04(C-Glc″), 100.63(C-Rham-‴), 98.58(C-6), 93.49(C-8), 76.30(Rham-5″), 75.77(Glc-5″), 73.95(Glc-2″), 71.70(Rham-4‴), 70.43(Rham-3‴), 70.25(Rham-2‴), 69.86(Glc-4″), 68.14(Rham-5‴), 66.89(Glc-6″), 17.63(Rham-6‴)



Chemical structure of compound 3

6) 화합물의 대장암세포 성장저해 효능 실험

① **세포주 및 세포배양 :** Human colon cell인 HT-29 세포는 Korean Cell Line Bank(Seoul, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 분양 받은 세포주를 10% heat-inactivate FBS와 1% penicillin streptomycin을 첨가한 RPMI-1640 배지를 사용하여 5% CO_2를 함유한 37℃ 배양기에서 키웠다. 2주 이상 계대 배양하여 배양 환경에 충분히 적응시킨 후 세포 밀도가 70-80% 정도 포화되면 0.05% trypsin-EDTA 용액을 사용하여 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

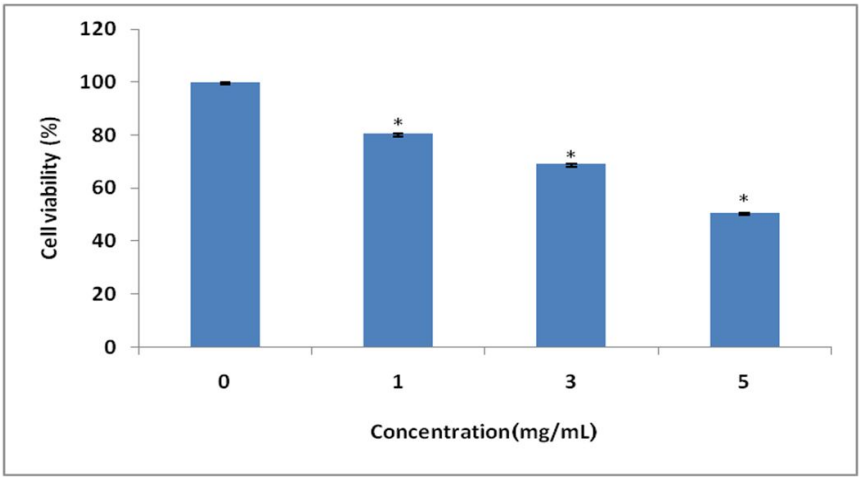
② **세포 증식 실험(MTT Assay) : 연근** 추출물과 Kaempferol, Hyperoside, Rutin 화합물의 농도별 대장암 세포(HT-29) 증식억제 효과는 3-(3,4-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetra zolium bromide(MTT) assay로 측정하였다. HT-29 세포를 96well plate에 $1x10^4$ cells/well의 밀도로 분주하여 24시간 배양한 후, 최종 농도가 연근은 0, 1, 3, 5 mg/mL 그리고 Hyperoside, Rutin, Keamperol는 0, 25, 50, 100, 200 uM이 되도록 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 MTT 시약을 2mg/mL 농도로 50 uL를 각 well에 첨가하여 2시간 더 배양한 후 배지를 제거하고 DMSO를 150 uL씩 첨가하여 생성된 불용성의 formazan 결정을 용해시켜 ELISA reader (Bio-Rad, USA) 로 570nm에서 흡광도(OD)를 측정하였다. 세포의 증식률은 시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타내었다.

③ **단백질 발현 실험(western blot analysis) :** Western blot analysis는 세포사멸과 증식에 관련된 단백질의 발현을 알아보기 위하여 실시하였다. HT-29 세포를 10mm dish에 $2x10^6$ cells/well의 양으로 분주하고 시료를 농도별로 처리하여 24시간 동안 배양한 후 샘플을 모았다. 샘플을 모을 때에는 10mm dish를 차가운 PBS로 2번 washing하여 원심분리(2000 rpm, 10 min)로 cell down하여 cell pellet만 남긴 후, 모아진 세포는 protein extraction을 $5x10^6$ 당 400ul씩 첨가하여 4℃에서 20분 동안 배양시키고 4℃, 12,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 후 상층액을 모아 시료로 준비하였다. 단백질의 정량은 Bradford (Bio-Rad protein assay kit) 시약으로 하였으며, SDS-PAGE gel에 동량의 단백질을 loading하여 3시간 동안 단백질을 분리한 후, nitrocellulose membrane에 옮겼다. 단백질이 옮겨진 membrane은 3% skim milk/tTBS(1.5M Nacl, 100mM Tris base, PH 7.4)로 실온에서 1시간 blocking한 후, 알아보고자 하는 1차 antibody(Cleaved caspase-3, Cleaved caspase-8, Bcl-2, Bax, β-actin),를 4℃에서 overnight으로 반응시켰다. 그리고 TTBS로 세척한 후 다시 goat anti-rabbit IgG-HRP(Santa Cruz Biotechnology,Inc. USA), goat anti-mouse IgG-HRP(Santa Cruz Biotechnology, Inc. USA)으로 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후, TTBS로 세척하고 enhanced chemiluminescence detection system (Amersham Pharmacia, Bucks, UK)를 사용하여 특정 단백질의 발현을 분석하였다.

7) 통계처리 : 본 연구의 실험 결과는 SPSS 12.0 프로그램을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차로 계산하고 ANOVA 분석 후 p=0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 처리군간의 유의성을 검증하였다.

8) 실험결과

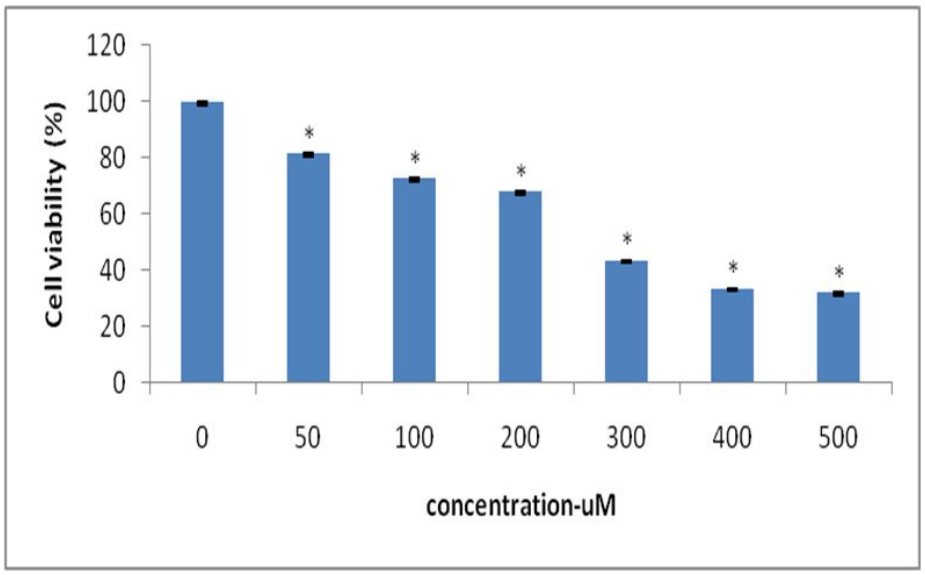
① 대장암 세포(HT-29) 증식 억제 효과 : MTT assay는 미토콘드리아의 탈수소효소작용에 의해 노란색의 수용성 기질인 MTT가 불용성의 보라색 formazan으로 환원되는 원리를 이용한 방법이다. MTT formazan의 흡광도는 570nm의 파장에서 최대가 되며, 이 파장에서 측정된 흡광도는 살아있고, 대사가 왕성한 세포의 농도를 반영한다. 따라서 연근이 대장암 세포인 HT-29 세포의 증식에 미치는 영향을 MTT assay로 농도에 따른 세포성장 억제 정도를 측정하였다. 먼저, 연근은 0, 1, 3, 5mg/mL 이 되도록 처리하여 24시간 동안 처리하였을 때, 세포의 사멸농도가 각각 0, 20, 31, 50%로, 시료의 농도가 증가할 수록 HT-29세포 사멸이 증가하였다. 연근 추출물 농도 1mg/ml에서 유의적으로 감소하였고, 5mg/mL 농도에서 암세포의 50% 생존율인 IC_{50}를 살펴본 결과 5mg/mL의 IC_{50}를 나타내었다. 그리고 이러한 결과를 보아 시료 농도가 증가할수록 일정하게 사멸하는 것이 확인되었으며 대장암 세포 증식억제 효과가 더욱 높아지는 것으로 추정할 수 있다.



Effects of *Nelumbo nucifera* on HT-29 cells viability by MTT assay

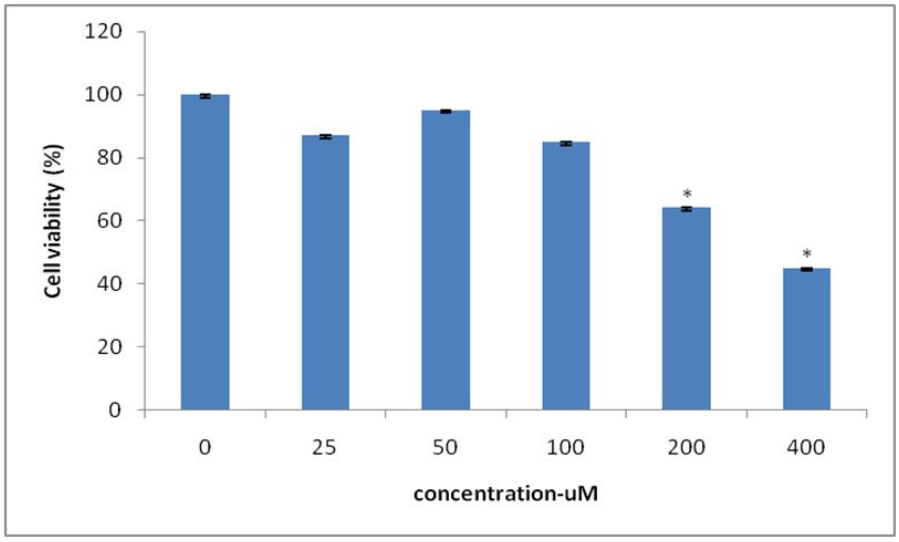
HT-29 cells were plated in 96 well plate at density of $1x10^4$ cells/well with RPMI-1640 supplemented with 10% FBS. One day later cells were treated with *Nelumbo nucifera* in medium containing 0, 1, 3, 5mg/mL and then were incubated for 24. Cell viablity were examined by the MTT assay($p<0.05$).

② **HT-29 세포 증식 억제 효과 : 연근의** 주요 flavonoid인 Kaempferol, Hyperoside, Rutin의 대장암 세포인 HT-29 세포의 증식에 미치는 영향을 MTT assay로 농도에 따른 세포성장 억제 정도를 측정하였다. 각각 최종 농도가 0, 25, 50, 100, 200uM/mL이 되도록 처리하여 24시간 동안 처리하였을 때 Hyperoside는 50uM, Rutin은 100uM 농도에서부터 HT-29 세포증식이 유의적으로 감소하였고, Hyperoside가 대장암세포 증식 억제효과가 높았다.



Effects of Hyperoside on HT-29 cells viability by MTT assay

HT-29 cells were plated in 96 well plate at density of $1x10^4$ cells/well with RPMI-1640 supplemented with 10% FBS. One day later cells were treated with hyperoside in medium containing 0, 25, 50, 100, 200uM and then were incubated for 24. Cell viablity were examined by the MTT assay($p<0.05$).

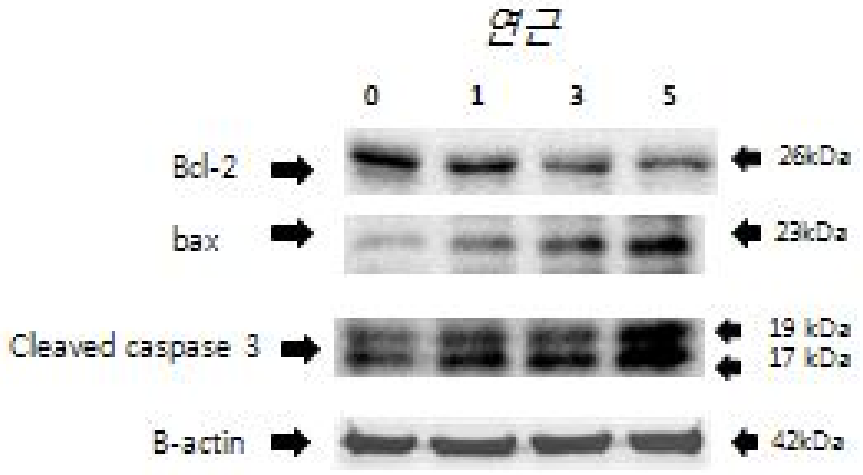


Effects of Rutin on HT-29 cells viability by MTT assay

HT-29 cells were plated in 96 well plate at density of $1x10^4$ cells/well with RPMI-1640 supplemented with 10% FBS. One day later cells were treated with rutin in medium containing 0, 25, 50, 100, 200uM and then were incubated for 24. Cell viablity were examined by the MTT assay($p<0.05$).

③ **HT-29에서 Apoptosis 관련 단백질 발현 :** HT-29 대장암 세포에 연근 추출물과 주요 flavonoid인 Hyperoside, Rutin을 처리 시 세포 사멸이 유도되는 결과를 바탕으로 실제 apoptosis가 일어나기 위해 중요한 인자인 caspase의 발현 및 활성을 western blot을 통해 살펴보았다. Caspase는 cystein protease로 cell repair 효소들을 분해시키고 여러 가지 apoptotic 단백질을 활성화 시켜 apoptosis를 일으키는 것으로 알려져 있으며, 실험 결과, 활성화된 claeved caspase-8, caspase-3이 연근 추출물 처리 농도에 따라 발현 정도가 증가하는 것을 확인하였다.

④ **HT-29에서 Bcl-2와 Bax 단백질 발현에 미치는 영향 :** 앞선 결과에서 HT-29 대장암 세포에서 세포사멸을 현저히 유도되었으므로, 연근 추출물이 세포사멸의 중요한 조절인자인 Bcl-2 family 단백질 수준에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. Apoptosis 조절에 가장 대표적인 단백질인 Bcl-2 family 속하는 Bcl-2 단백질은 apoptosis 유발을 억제하는 anti-apoptotic member인데 연근 추출물의 농도가 증가할수록 발현 정도가 감소하였고, 반면 pro-apoptotic Bcl-2 family 단백질인 Bax 단백질 수준은 시료의 농도가 증가할수록 발현 정도가 증가하였다



Dose-dependent effect of *Nelumbo nucifera* on the protein expression levels of Bax, Bcl-2, cleaved caspase-3 and cleaved caspase-8 in HT-29 cells

Cells were incubated for 24h at 37℃ with the 0, 1, 3, 5mg/mL of *Nelumbo nucifera*. Equal protein of the total lysates were analyzed by gradient 10% SDS-PAGE. The reduction of cleaved caspase-3 and cleaved caspase-8 were detected by Western Blot analysis.

3. 동물실험 결과 : 비빔밥 재료 매일 반복 경구투여에 의한 항암약효 평가

가. 일반증상 및 체중변화

HT-29 이식 nude mouse에 SAMPLE 1, 2, 3(2.0g/kg body weight), SAMPLE 4(0.5, 1.0, 2.0g/kg body weight) 용량으로 매일반복 경구 투여 시 독성 정도를 알아보기 위해 투여기간 동안 동물의 일반증상 및 체중 변화를 관찰하였다. 그 결과 SAMPLE 1, 2, 3, 4 투여군 모두에서 시험 기간 동안 특이한 일반 증상은 없었으며, 최종일 결과를 보면 용매 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 체중 감소는 관찰되지 않았다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군에서는 1수의 사망 동물 및 30.0%($p<0.001$)의 통계적으로 유의한 체중 감소가 있었다.

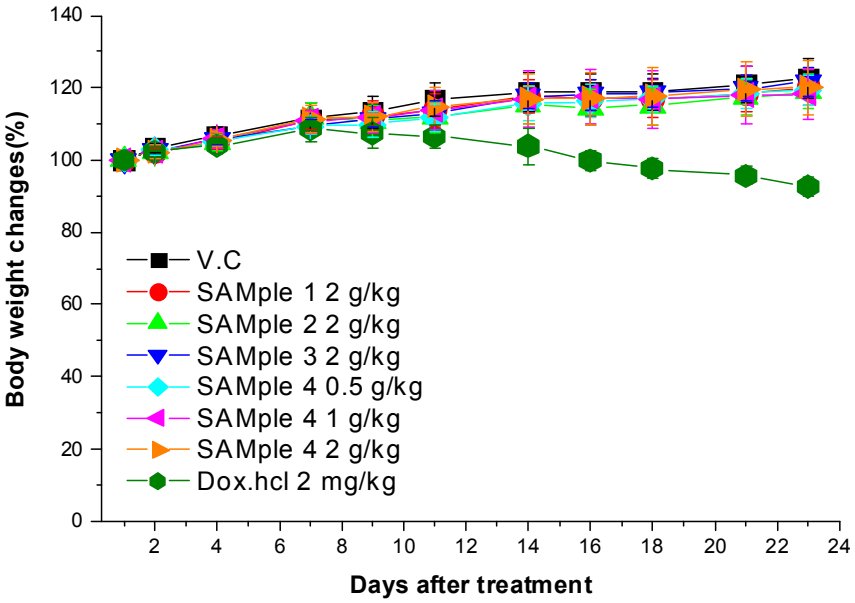
한식 시료처리에 의한 Nude mouse의 일반증상

Group (n=10)	Doses (g/kg, body weight)	Clinical finding
Vehicle Control (Distilled Water)	0	No abnormality detected
SAMPLE 1 백미밥	2.0	No abnormality detected
SAMPLE 2 흑미밥	2.0	No abnormality detected
SAMPLE 3 기존비빔밥	0.5	No abnormality detected
SAMPLE 4 신규비빔밥	1.5	No abnormality detected
	2.0	No abnormality detected
Doxorubicin.Hcl	2.0 mg/kg	Emaciation, Death

SAMPLE 1, 2, 3, 4 매일반복 경구 투여에 의한 nude mouse의 체중변화(%)

Group (n=10)	Doses (g/kg)	Days after treatment										
		day 1 (0904)	2 (0905)	4 (0907)	7 (0910)	9 (0912)	11 (0914)	14 (0917)	16 (0919)	18 (0921)	21 (0924)	23 (0926)
실험 대조군 (D.W)	**0**	100.0 ±0.0	103.4 ±1.3	106.6 ±2.7	111.5 ±4.4	113.3 ±4.4	116.8 ±4.6	118.8 ±5.3	118.8 ±4.9	118.9 ±4.9	120.9 ±5.0	122.6 ±5.6
SAMPLE 1	**2**	100.0 ±0.0	102.2 ±1.3	104.7 ±1.6	111.0 ±2.7	112.2 ±4.3	113.8 ±4.5	117.6 ±4.8	117.0 ±5.1	117.0 ±5.3	118.3 ±5.0	120.1 ±5.1
SAMPLE 2	**2**	100.0 ±0.0	102.1 ±1.6	105.0 ±2.6	111.8 ±4.1	110.8 ±4.5	111.9 ±4.4	115.2 ±5.2	114.6 ±4.9	115.0 ±5.2	117.4 ±4.8	119.0 ±4.8
SAMPLE 3	**2**	100.0 ±0.0	102.7 ±1.3	105.8 ±1.8	109.4 ±2.0	111.3 ±2.1	112.9 ±3.3	117.7 ±3.6	118.1 ±4.3	118.6 ±4.0	119.9 ±3.7	121.6 ±3.8
SAMPLE 4	**0.5**	100.0 ±0.0	102.8 ±1.6	105.0 ±1.7	109.3 ±2.3	109.8 ±3.5	111.8 ±3.7	115.7 ±4.8	116.2 ±4.6	117.0 ±3.6	118.4 ±4.1	119.3 ±4.3
	1	100.0 ±0.0	102.2 ±1.9	105.8 ±2.6	110.8 ±3.2	111.8 ±4.2	113.8 ±5.3	116.9 ±7.6	117.5 ±7.5	116.8 ±7.9	117.9 ±7.9	118.3 ±7.0
	2	100.0 ±0.0	102.2 ±1.9	105.5 ±1.9	111.4 ±3.8	111.9 ±4.0	114.8 ±5.3	116.9 ±7.0	117.1 ±7.3	117.6 ±7.8	119.5 ±7.6	120.2 ±7.6
Dox.hcl	**2 mpk**	100.0 ±0.0	102.3 ±1.5	104.1 ±2.6 *	108.5 ±3.3	107.5 ±4.1 **	106.6 ±3.2 ***	103.8 ±5.0 ***	99.9 ±2.7 ***	97.6 ±2.8 ***	95.7 ±2.6 ***	92.6 ±2.7 (n=9) ***

Significant figures(t-TEST) : *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 (vs Vehicle Control)



Changes of Body weight after treatment with HANSIK 1, 2, 3 and 4

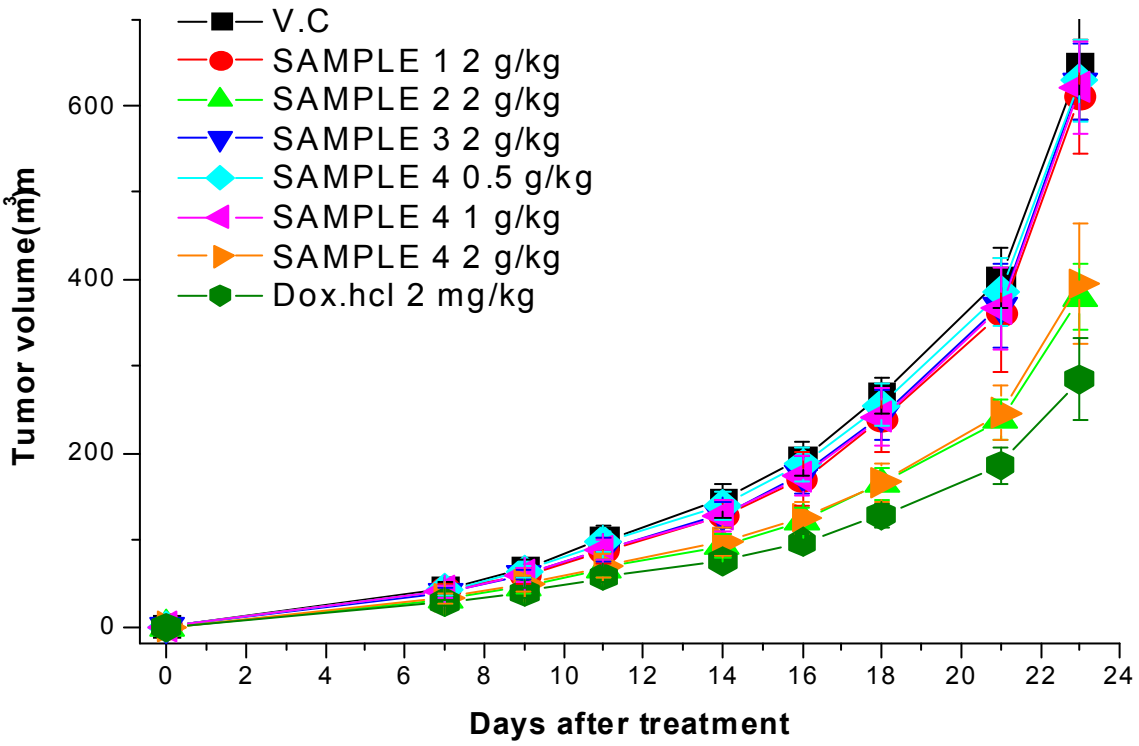
나. 종양크기 변화

최종일(day 23) 결과를 보면 용매 대조군과 비교하여 SAMPLE 1, 2, 3 - 2 g/kg 투여군에서 각각 5.6%, 41.2%(p<0.001), 3.0%, SAMPLE 4 - 0.5, 1, 2 g/kg 투여군에서 각각 2.7%, 4.0%, 38.9%(p<0.001)의 종양성장 억제 효과가 관찰 되었다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군 에서는 55.9%(p<0.001)의 종양성장 억제 효과가 있었다.

종양크기 변화 및 최종일 종양무게

Group (n=10)	Doses (g/kg)	Tumor volume(mm^3)									Tumor weight(mg)
		0 (0903)	7 (0910)	9 (0912)	11 (0914)	14 (0917)	16 (0919)	18 (0921)	21 (0924)	23 (0926)	23 (0926)
실험 대조군 (D.W)	**0**	0.0 ±0.0	43.6 ±8.2	67.4 ±10.1	100.8 ±14.6	145.9 ±19.8	194.0 ±20.5	266.4 ±20.1	402.3 ±34.7	646.7 ±63.2	2970.6 ±608.4
SAMPLE 1	**2**	0.0 ±0.0	42.0 ±7.0 **3.6%** †	59.3 ±9.2 **12.0%**	87.5 ±14.3 **13.1%**	127.3 ±20.0 **12.8%**	170.3 ±31.8 **12.2%**	238.7 ±37.6 **10.4%**	360.2 ±65.3 **10.5%**	610.5 ±65.9 **5.6%**	2707.6 ±354.5 **8.9%**
SAMPLE 2	**2**	0.0 ±0.0	32.7 ±4.6 ** **25.1%**	45.4 ±6.3 *** **32.7%**	67.0 ±10.7 *** **33.6%**	93.5 ±13.5 *** **35.9%**	122.1 ±15.7 *** **37.1%**	164.7 ±19.2 *** **38.2%**	238.4 ±23.6 *** **40.7%**	380.4 ±38.9 *** **41.2%**	1758.7 ±336.0 *** **40.8%**
SAMPLE 3	**2**	0.0 ±0.0	39.6 ±5.0 **9.2%**	59.9 ±6.6 **11.1%**	89.3 ±13.3 **11.3%**	129.5 ±15.7 **11.3%**	175.2 ±21.0 **9.7%**	244.6 ±29.1 **8.2%**	369.5 ±48.8 **8.1%**	627.3 ±44.5 **3.0%**	2873.2 ±489.6 **3.3%**
SAMPLE 4	**0.5**	0.0 ±0.0	42.4 ±5.4 **2.7%**	64.0 ±7.3 **5.1%**	98.1 ±10.7 **2.7%**	140.0 ±15.6 **4.1%**	187.0 ±19.2 **3.6%**	255.3 ±23.6 **4.2%**	386.0 ±40.1 **4.0%**	629.5 ±47.3 **2.7%**	2858.1 ±462.6 **3.8%**
	1	0.0 ±0.0	40.8 ±6.5 **6.5%**	60.2 ±7.4 **10.7%**	88.6 ±11.3 **12.1%**	128.5 ±18.3 **11.9%**	173.7 ±23.6 **10.5%**	241.9 ±32.4 **9.2%**	366.7 ±46.7 **8.8%**	621.1 ±52.7 **4.0%**	2790.8 ±371.4 **6.1%**
	2	0.0 ±0.0	33.6 ±5.8 ** **22.9%**	49.0 ±8.9 *** **27.3%**	69.7 ±13.8 *** **30.9%**	97.6 ±16.2 *** **33.1%**	126.1 ±18.0 *** **35.0%**	166.3 ±22.5 *** **37.6%**	246.6 ±31.8 *** **38.7%**	394.9 ±69.1 *** **38.9%**	1858.6 ±367.4 *** **37.4%**
Dox.hcl	**2 mpk**	0.0 ±0.0	28.6 ±3.3 *** **34.4%**	39.5 ±4.7 *** **41.4%**	58.0 ±6.8 *** **42.5%**	76.1 ±8.6 *** **47.8%**	98.1 ±10.3 *** **49.5%**	128.7 ±13.5 *** **51.7%**	186.3 ±20.5 *** **53.7%**	285.1 ±47.0 *** **55.9%**	1390.6 ±363.5 *** **53.2%**

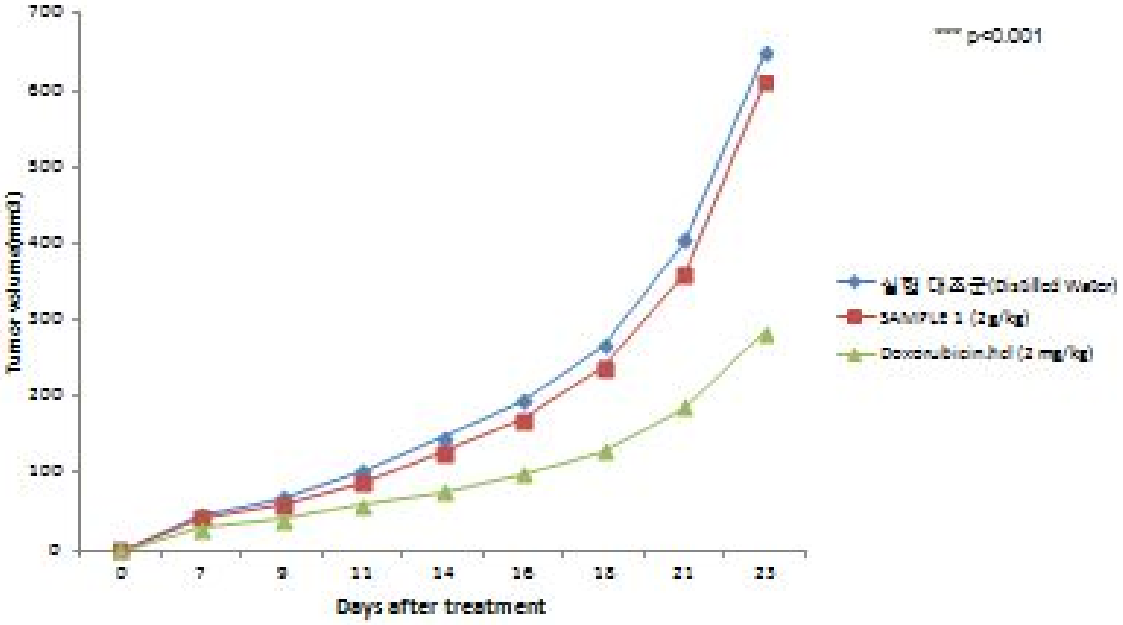
Significant figures (t-TEST) : **p<0.01, ***p<0.001 (vs Vehicle Control), † : IR(Inhibition Rate)



Changes of Tumor volume after treatment with HANSIK 1, 2, 3 and 4

1) 실험대조군과 백미밥 투여군의 종양크기 변화

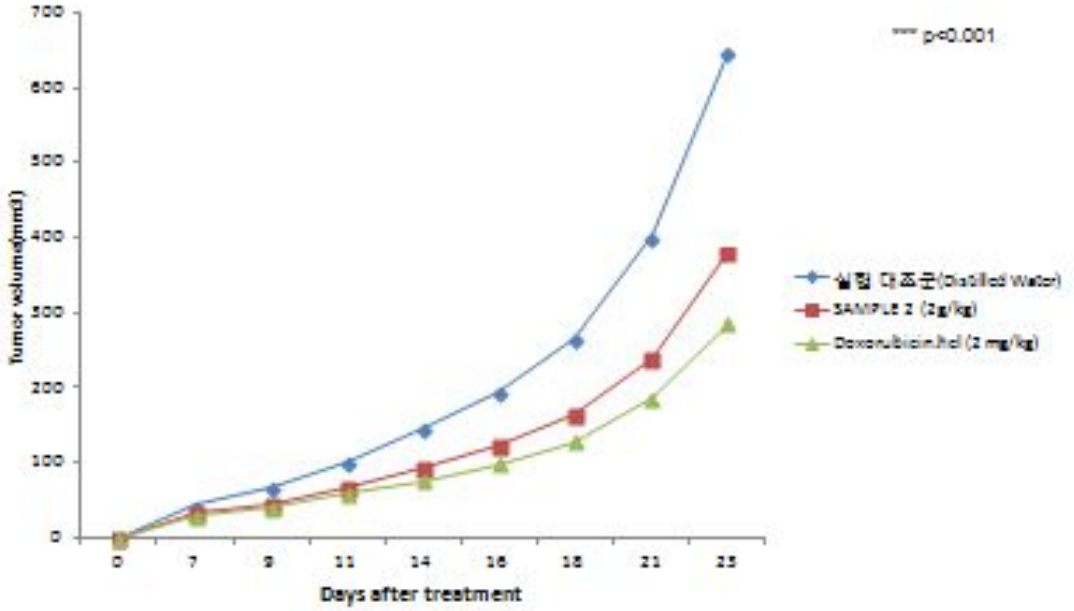
최종일(day 23) 결과를 보면 용매 대조군과 비교하여 SAMPLE 1 투여군에서 5.6%의 종양성장 억제 효과가 관찰되었다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군 에서는 55.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 확인되었다.



Changes of Tumor volume after treatment with Control and HANSIK 1

2) 실험대조군과 흑미밥 투여군의 종양크기 변화

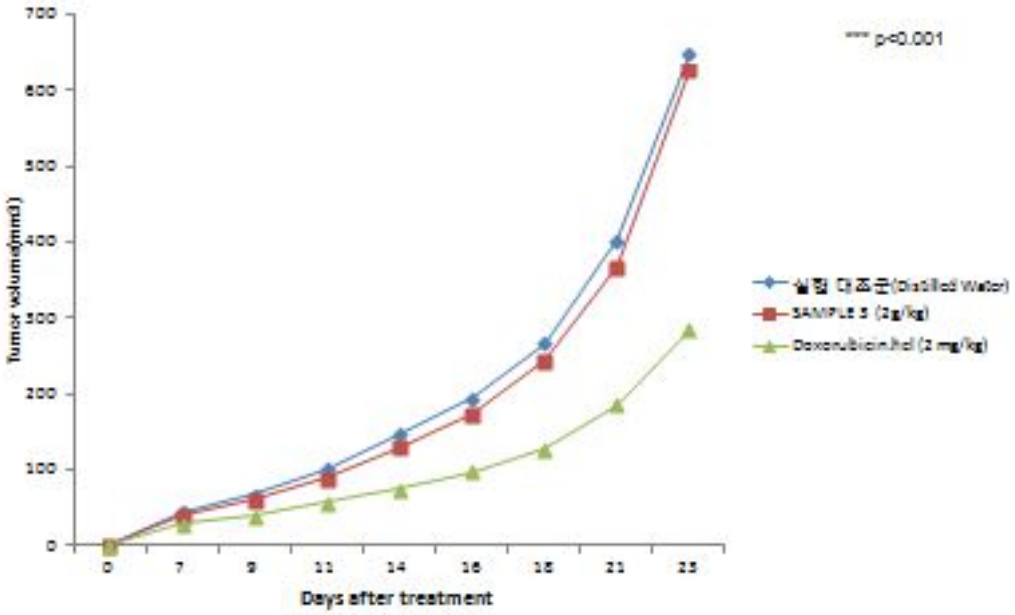
실험 최종일(day 23) 결과를 보면 용매 대조군과 비교하여 SAMPLE 2 투여군에서 41.2%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 관찰되었다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군에서는 55.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 확인되었다.



Changes of Tumor volume after treatment with Control and HANSIK 2

3) 실험대조군과 전통비빔밥 투여군의 종양크기 변화

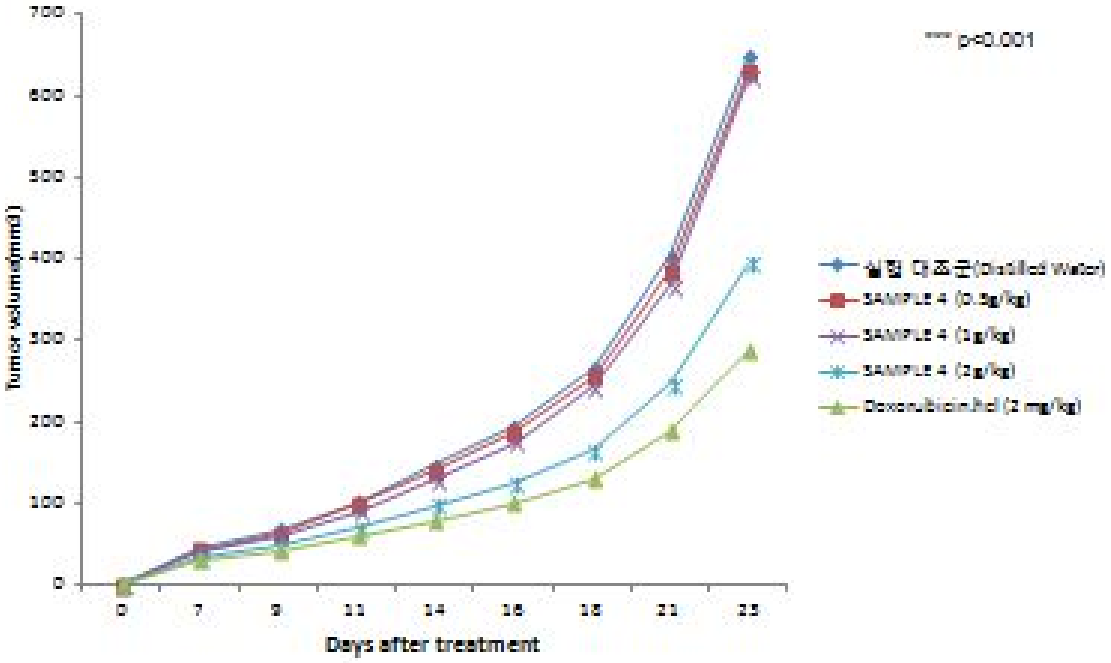
실험 최종일(day 23) 결과를 보면 용매 대조군과 비교하여 SAMPLE 3 투여군에서 3.0%의 종양성장 억제 효과가 관찰되었다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군 에서는 55.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 확인되었다.



Changes of Tumor volume after treatment with Control and HANSIK 3

4) 실험대조군과 기능성 비빔밥(신규 비빔밥)의 종양크기 변화

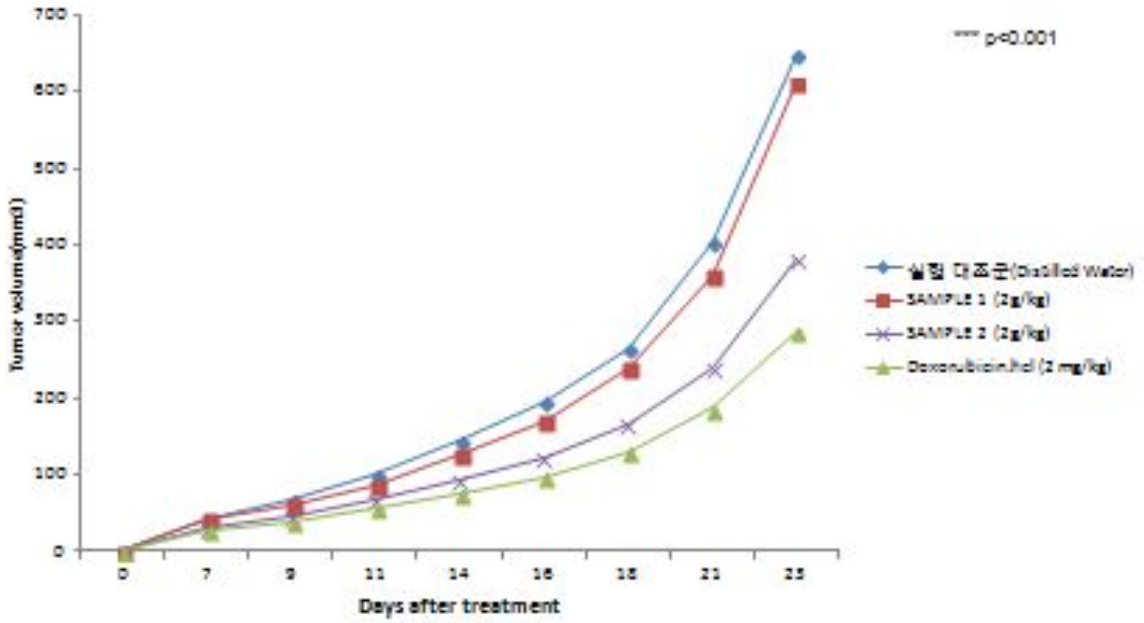
실험 최종일(day 23) 결과를 보면 용매 대조군과 비교하여 SAMPLE 4 - 0.5, 1, 2 g/kg 투여군에서 각각 2.7%, 4.0%, 38.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 관찰되었다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군 에서는 55.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 확인되었다.



Changes of Tumor volume after treatment with Control and HANSIK 4

5) 실험대조군과 백미밥, 흑미밥의 종양크기 변화

실험 최종일(day 23) 결과를 보면 용매 대조군과 비교하여 SAMPLE 3 - 2.0 g/kg 투여군에서 3.0%, SAMPLE 4 - 2.0 g/kg 투여군에서 38.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 관찰되었다. 실험결과를 통해, 신규 비빔밥의 대장암세포 억제효능이 기존의 전통비빔밥과 비교해서 35.9% 상승되는 것으로 확인되었다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군 에서는 55.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 확인되었다.

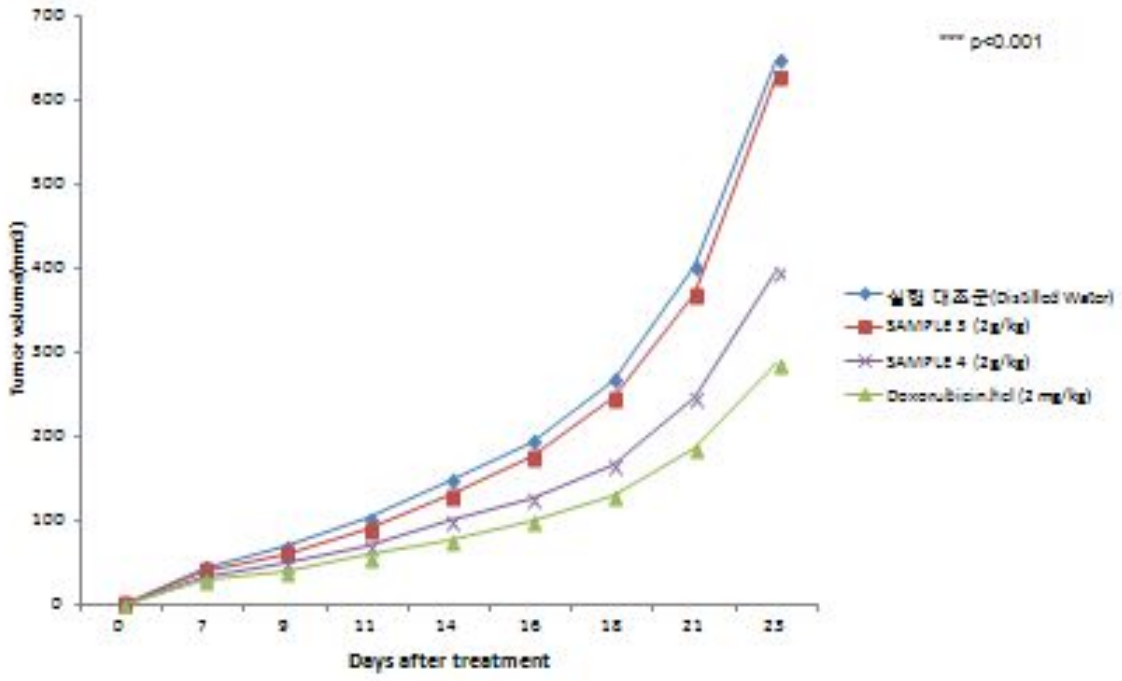


Changes of Tumor volume after treatment with HANSIK 1 and 2

6) 실험대조군과 기존 비빔밥(전통 비빔밥)과 신규 비빔밥(기능성 비빔밥)의 종양크기 변화

최종일(day 23) 결과를 보면 용매 대조군과 비교하여 SAMPLE 3 - 2.0 g/kg 투여군에서 3.0%, SAMPLE 4 - 2.0 g/kg 투여군에서 38.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 관찰되었다.

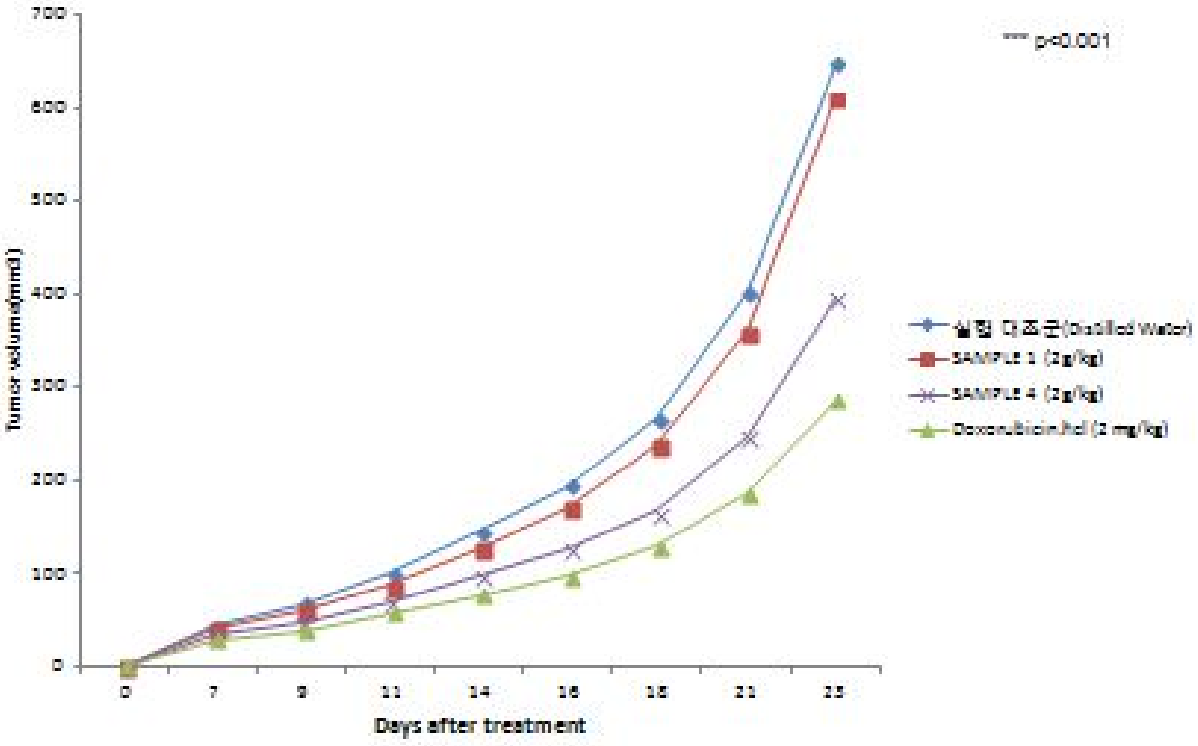
이를 통해 대장암세포 사멸능이 우수한 한식재료를 활용한 기능성 비빔밥의 건강효능이 우수함을 확인할 수 있었다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군에서는 55.9%($p<0.001$)의 종양장 억제 효과가 확인되었다.



Changes of Tumor volume after treatment with HANSIK 3 and 4(2.0 g/kg)

7) 실험대조군과 백미밥, 기능성 비빔밥의 종양크기 변화

최종일(day 23) 결과를 보면 용매 대조군과 비교하여 SAMPLE 1 - 2.0 g/kg 투여군에서 5.6%, SAMPLE 4 - 2.0 g/kg 투여군에서 38.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 관찰되었다. 이러한 결과는 한식 중 대표적인 비빔밥을 활용해서 대장암세포 성장억제 효과를 기대할 수 있었다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군 에서는 55.9%($p<0.001$)의 종양성장 억제 효과가 있었다.



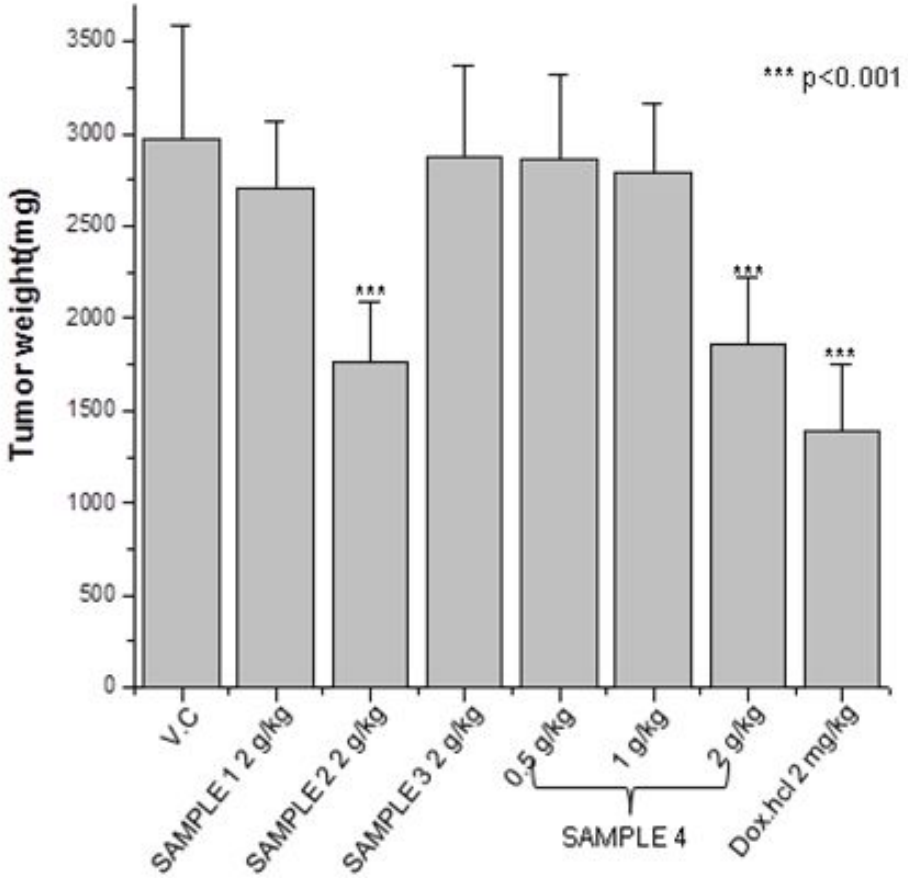
Changes of Tumor volume after treatment with HANSIK 2 and 4(2.0 mg/kg)

다. 실험 최종일 종양무게

한식시료를 투여한 후 23일째 HT-29 tumor를 절제하여 그 무게를 측정하였다. 실험 결과 용매 대조군과 비교하여 SAMPLE 1, 2, 3 - 2 g/kg 투여군에서 각각 8.9%, 40.8%($p<0.001$), 3.3%, SAMPLE 4 - 0.5, 1, 2 g/kg 투여군에서 각각 3.8%, 6.1%, 37.4%($p<0.001$)의 종양 무게 감소가 나타났다. 양성대조물질(Doxorubicin.hcl) 투여군에서는 53.2%($p<0.001$)의 종양무게 감소가 확인되었다.

실험 최종일 한식 투여 후의 종양크기 변화 및 최종일 종양무게

Group (n=10)	Doses (g/kg)	Tumor volume(mm^3)									Tumor weight(mg)
		0 (0903)	7 (0910)	9 (0912)	11 (0914)	14 (0917)	16 (0919)	18 (0921)	21 (0924)	23 (0926)	23 (0926)
실험 대조군 (D.W)	**0**	0.0 ±0.0	43.6 ±8.2	67.4 ±10.1	100.8 ±14.6	145.9 ±19.8	194.0 ±20.5	266.4 ±20.1	402.3 ±34.7	646.7 ±63.2	2970.6 ±608.4
SAMPLE 1	**2**	0.0 ±0.0	42.0 ±7.0	59.3 ±9.2	87.5 ±14.3	127.3 ±20.0	170.3 ±31.8	238.7 ±37.6	360.2 ±65.3	610.5 ±65.9	2707.6 ±354.5
			3.6% +	**12.0%**	**13.1%**	**12.8%**	**12.2%**	**10.4%**	**10.5%**	**5.6%**	**8.9%**
SAMPLE 2	**2**	0.0 ±0.0	32.7 ±4.6 **	45.4 ±6.3 ***	67.0 ±10.7 ***	93.5 ±13.5 ***	122.1 ±15.7 ***	164.7 ±19.2 ***	238.4 ±23.6 ***	380.4 ±38.9 ***	1758.7 ±336.0 ***
			25.1%	**32.7%**	**33.6%**	**35.9%**	**37.1%**	**38.2%**	**40.7%**	**41.2%**	**40.8%**
SAMPLE 3	**2**	0.0 ±0.0	39.6 ±5.0	59.9 ±6.6	89.3 ±13.3	129.5 ±15.7	175.2 ±21.0	244.6 ±29.1	369.5 ±48.8	627.3 ±44.5	2873.2 ±489.6
			9.2%	**11.1%**	**11.3%**	**11.3%**	**9.7%**	**8.2%**	**8.1%**	**3.0%**	**3.3%**
SAMPLE 4	**0.5**	0.0 ±0.0	42.4 ±5.4	64.0 ±7.3	98.1 ±10.7	140.0 ±15.6	187.0 ±19.2	255.3 ±23.6	386.0 ±40.1	629.5 ±47.3	2858.1 ±462.6
			2.7%	**5.1%**	**2.7%**	**4.1%**	**3.6%**	**4.2%**	**4.0%**	**2.7%**	**3.8%**
	1	0.0 ±0.0	40.8 ±6.5	60.2 ±7.4	88.6 ±11.3	128.5 ±18.3	173.7 ±23.6	241.9 ±32.4	366.7 ±46.7	621.1 ±52.7	2790.8 ±371.4
			6.5%	**10.7%**	**12.1%**	**11.9%**	**10.5%**	**9.2%**	**8.8%**	**4.0%**	**6.1%**
	2	0.0 ±0.0	33.6 ±5.8 **	49.0 ±8.9 ***	69.7 ±13.8 ***	97.6 ±16.2 ***	126.1 ±18.0 ***	166.3 ±22.5 ***	246.6 ±31.8 ***	394.9 ±69.1 ***	1858.6 ±367.4 ***
			22.9%	**27.3%**	**30.9%**	**33.1%**	**35.0%**	**37.6%**	**38.7%**	**38.9%**	**37.4%**
Dox.hcl	**2 mpk**	0.0 ±0.0	28.6 ±3.3 ***	39.5 ±4.7 ***	58.0 ±6.8 ***	76.1 ±8.6 ***	98.1 ±10.3 ***	128.7 ±13.5 ***	186.3 ±20.5 ***	285.1 ±47.0 ***	1390.6 ±363.5 ***
			34.4%	**41.4%**	**42.5%**	**47.8%**	**49.5%**	**51.7%**	**53.7%**	**55.9%**	**53.2%**

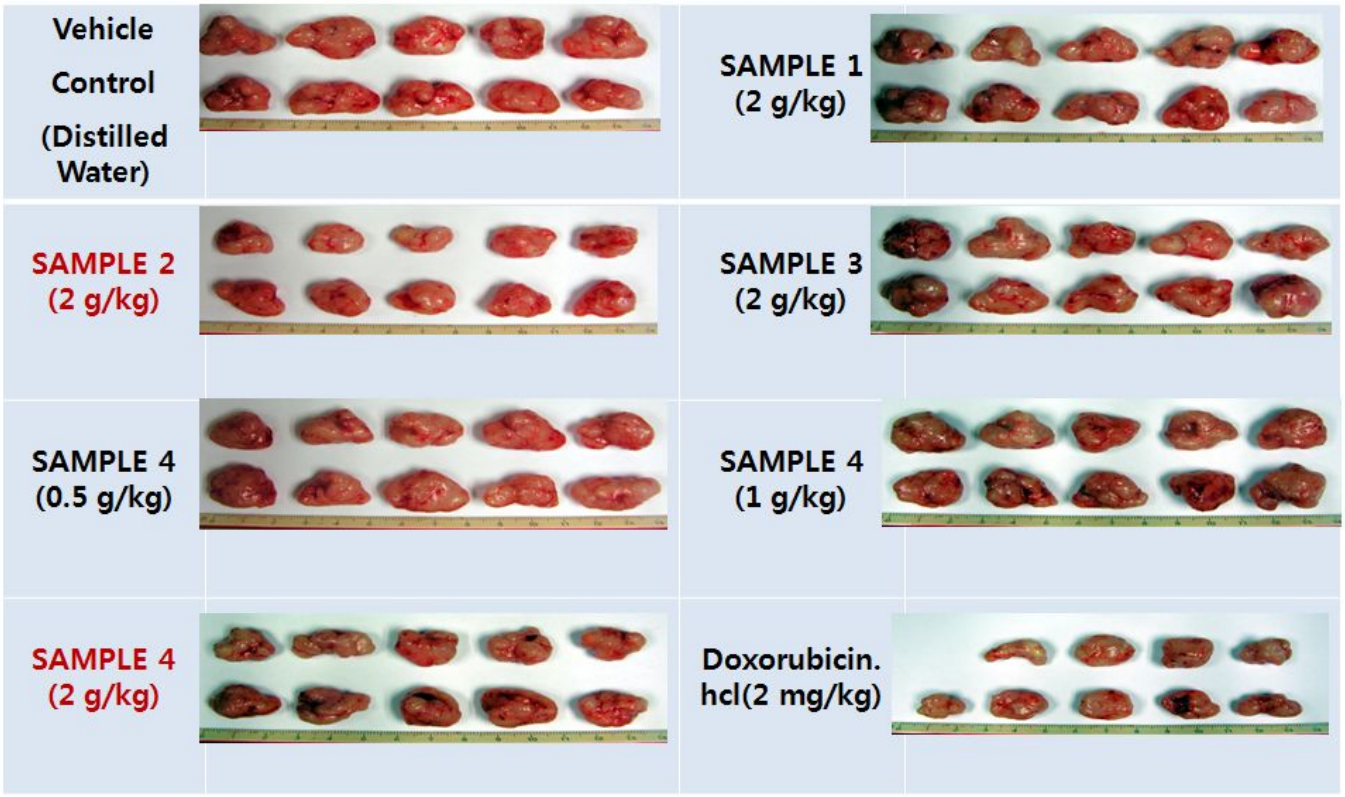


Tumor weight of the last days after treatment with HANSIK 1, 2, 3 and 4

라. 최종일 한식시료별 종양 형태

한식시료를 투여 한 후 실험 최종일인 23일째 HT-29 tumor의 형태를 관찰한 결과, 종양의 크기와 무게가 감소된 흑미밥인 Sample 2와 기능성 비빔밥인 Sample 4(2.0 g/kg) 투여군의 종양 형태는 대조군과 비교하여 큰 변화가 없는 것으로 확인되었다.

반면에 대장암세포 성장저해 효능이 적은 백미밥인 Sample 1과 기존 비빔밥 투여군인 Sample 3의 종양의 색과 모양은 모두 변형되어 있는 것으로 확인되었다.



Type of Tumor after treatment with HANSIK 1, 2, 3 and 4

4. 국내외 교육지도 및 홍보

1. 외국인 대상 교육지도

대상 : 공동연구팀 연구원 대상
장소 : (주)샘표식품
기간 : 2012. 1. 15
참여 연구원 : 연구책임자, 주관기관 및 공동연구기관 참여연구원
내용 : 한식세계화사업 [한식 우수성,기능성 연구] 연구수행 내용 발표 및 교육

2. 외국인 여대생 대상 기호도 평가

대상 : 이화여자대학교 언어 교육원 재학 중인 외국인 학생들
장소 : (주)샘표 지미원
기간 : 2012년 2월 15일 - 2월 17일 (총 3일)
참여 연구원 : 정하숙, 이홍란, 탁상숙, 권태은, 고효정, 전은주, 정유미
내용 : 이화여자대학교 언어 교육원에 재학 중인 외국인 여학생 90여명을 대상으로 한국 음식과 문화를 알리고, 직접 체험을 통하여 이해를 증진시킴. 또한 요리 체험 및 시식 후 관능검사를 통해 외국인들이 생각하는 한국 음식의 장점, 보완점 등을 확인하였고 한국 음식의 세계화를 위한 자료 획득

외국인과 샘표가 함께 하는
Wonderful Korean Cuisine

プルコギ
-材料: 牛肉 500g, しいたけ 2個, 玉ねぎ 1/2個, 長ネギ 1/2個 , にんじん 30g.
調味料:センピョ醸造醤油 501s 大さじ5 砂糖 大さじ2 梨 大さじ2 みじん切りにしたニンニク 大さじ2 ゴマ油 大さじ2 ごま 大さじ1 コショウ 小さじ1/2

-作り方-
1. プルコギ調味料を全て混ぜ準備する。
2. 牛肉の血を取り除き、一口サイズの大きさに切り、1の調味料に寝かせておく。
3. 玉ねぎ、長ネギ、にんじんを細く切る。
4. 2に3の野菜を入れ混ぜる。
5. 温まったフライパンに牛肉を入れ炒めて煮る。.

ビビンバ
-材料: ご飯900g(一人180g) かぼちゃ 1/2個 ほうれん草 200g もやし 200g わらび 150gたまご 5個

ほうれん草、もやし調味料: ごま油 大さじ2 塩 小さじ1/2 ごま 大さじ1 みじん切りにしたニンニク

わらび調味料: 朝鮮醤油小さじ1 えごま 大さじ1 みじん切りしたニンニク 大さじ1

センピョ国産米コチュジャン(1人大さじ1ぐらい)、こま油(1人小さじ1/2ぐらい)、ポンターナー ぶどう種油、塩、コショウ..

1. かぼちゃを半月模様にスライスする。..
2. ほうれん草ともやしは、それぞれ茹でた後調味料をそれぞれ分けて味付けをする。
3. フライパンにぶどう種油を注ぎ、かぼちゃを炒め塩、コショウで味付けをする。
4. フライパンにわらびを入れ炒める。その後わらび調味料を入れて、炒めたら仕上げをする。
5. たまごはフライにする。
6. ご飯の上にそれぞれのナムル、たまごフライを乗っけてコチュジャンをお好みに味に合わせ入れ、こま油を注ぐ。

샘표
60년 발효명가

외국인과 샘표가 함께 하는
Wonderful Korean Cuisine

烤牛肉

准备材料：牛肉500g、香菇2个、洋葱1/2个、大葱1/2个、胡萝卜30g.
调味料：泉牌酿造酱油501S、白糖2大勺、梨汁2大勺、蒜泥2大勺、香油2大勺、芝麻盐1大勺、胡椒粉1/2小勺。
烹饪方法
1. 将调味料放在一起搅匀。
2. 将牛肉去血水，切成适当的大小腌制在调味料里。
3. 将洋葱、大葱、胡萝卜切成丝。
4. 2），3）放在一起搅匀。
5. 将腌制好的肉倒入预热的锅里炒熟即可。

拌饭

-准备材料：米饭900g（1人份 180g）、小南瓜1/2个、菠菜200g、绿豆芽200g、蕨菜150g。
*菠菜、绿豆芽调料：香油2大勺、泉牌花盐1/2小勺、芝麻盐1大勺、蒜泥1大勺。
*蕨菜调料：泉牌朝鲜酱油1小勺、白苏油1大勺、蒜泥1小勺、水2大勺。
*泉牌优选太阳草辣椒酱（1人1大勺）、香油（1人1/2小勺）、泉牌葡萄籽油、泉牌花盐、胡椒。
烹饪方法：
1. 将小南瓜切成半月形状。
2. 用热水焯菠菜和绿豆芽，倒入调料个一半。
3. 在锅里倒入泉牌葡萄籽油预热之后，放入小南瓜、盐、胡椒。
4. 放入蕨菜稍炒之后倒入蕨菜调料。
5. 煎鸡蛋。
6. 最后在饭上面放入各种菜，煎鸡蛋、辣椒酱和香油即可。

샘표
60년 발효명가

이대 언어교육원, 한식체험

대상 : 이화여자대학교 언어 교육원 재학 중인 외국인 학생들
장소 : (주)샘표 지미원
기간 : 2012년 2월 15일 - 2월 17일 (총 3일)

***비빔밥**

-재료: 밥 700g, 애호박 1/2개, 당근 100g, 시금치 200g, 숙주 200g, 고사리 150g, 달걀 5개, 시금치, 숙주양념, 고사리양념, 태양초 쌀고추장, 포도씨유, 소금요정 꽃소금, 후추, 참기름

-만드는 법

1. 애호박은 반달 모양으로 슬라이스하고 당근은 채썬다.
2. 시금치와 숙주는 각각 데친 후 양념을 반반 나누어 양념한다.
3. 팬에 포도씨유를 두르고 애호박, 당근 순으로 볶다가 소금, 후추 간한다.
4. 팬에 고사리를 넣고 볶다가 고사리 양념을 넣고 볶아 마무리한다.
5. 달걀은 후라이한다.
6. 밥 위에 각각의 나물을 올리고 달걀, 고추장을 기호에 맞춰 담고 참기름을 뿌린다.

설문지

1. 귀하의 인적 사항을 표시하여 주십시오.

1) 남 ① 나이 (　　) ② 국적 (　　)　2) 여 ① 나이 (　　) ② 국적(　　)

2. 귀하가 생각하는 한국을 대표하는 음식은 무엇이라 생각하십니까?

① 잡채 ② 비빔밥 ③ 불고기 ④ 김치 ⑤ 기타(　　)

3. 조리 실습을 통하여 느낀 비빔밥의 특징은 무엇이라 생각하십니까?

① 색 ② 건강 ③ 맛 ④ 재료의 다양성 ⑤ 기타(　　)

4. 비빔밥이 건강 면에서 어디에 좋다고 생각하십니까? (중복체크 가능)

① 변비 ② 암 ③ 당뇨 ④ 다이어트 ⑤ 기타 (　　)

5. 조리 실습을 통하여 비빔밥의 보완해야 할 점은 무엇이라 생각하십니까?

① 조리법 ② 재료 종류 ③ 맛 ④ 재료 식감 ⑤ 기타 (　　)

6. 귀하가 비빔밥을 만든다면 더 추가하고 싶은 부분은 무엇입니까? (중복체크 가능)

① 육류 (　　) ② 채소류(　　) ③ 향신료(　　)

④ 소스 (　　) ⑤ 기타 (　　)

7. 귀하가 비빔밥을 만든다면 빼고 싶은 재료는 무엇입니까? (중복체크 가능)

① 애호박 ② 당근 ③ 시금치 ④ 숙주 ⑤ 고사리 6) 마늘 7) 달걀 8) 고추장 9) 참기름

8. 오늘 만든 비빔밥의 1회 분량이 한끼 식사로써 적당하다고 생각하십니까?

① 너무 많다 ② 많다 ③ 적당하다 ④ 부족하다 ⑤ 많이 부족하다

9. 오늘 만든 비빔밥의 전체적인 맛이 어떠하셨습니까?

① 너무 맛있다 ② 맛있다 ③ 보통이다 ④ 맛없다 ⑤ 너무 맛없다

10. 오늘 수업 중 어떤 부분이 좋았습니까?

① 산업체 방문 ② 한국문화 체험 ③ 한국음식 이해 증가

④ 조리 실습 체험 ⑤ 기타 (　　)

설문에 참여하여 주셔서 감사합니다.

Questionnaires

1. 1) male ① age ( ) ② nationality ( ) 2) female ① age ( ) ② nationality ( )

2. What is a Korean food which represents Korean cuisine in your perspective?

① Japchae ② Bibimbop ③ Bulgogi ④ Kimchi ⑤ others( )

3 Through leanring and making Bibimbap, what are some of your personal thoughts on the uniqueness of bibimbap?

① color ② health ③ taste ④ variety of using ingredients ⑤ others( )

4. What is the most beneficial helathy point of Bibimbop in your point of view? (double check)

① constipation ② cancer ③ diabetes ④ diet ⑤ others ( )

5. Are there any areas of making bibimbap which you would change?

If yes, what would that be?

① recipe ② differentiation of ingredients ③ taste ④ texture of ingredients ⑤ others( )

6. IF you were to make your own Bibimbap, would you make additions? If so, more of what?

① meat ( ) ② vegetables ( ) ③ spices ( ) ④ sauces ( ) ⑤ others ( )

7. Do you have any ingredients which you would take out of Bibimbap? If yes, which one?

① summer squash ② carrot ③ spinach ④ mung bean sprouts ⑤ bracken

(Korean wild mountain plan) 6) garlic 7) egg 8) gochujang 9) sesame oil

8. Do you think Bibimbop which you made today is satisfying for a meal in terms of quantity?

① too much ② slightly over ③ good amount ④ short ⑤ short a lot

9. How do you like the Bibimbop which you made today in terms of taste?

① very good ② good ③ ok ④ poor ⑤ very poor

10. What is a good point of today's class?

① visiting industry corporate visit ② experiencing Korean culture ③ Adding better understanding of Korean cuisine ④ cooking experience ⑤ others( )

Thank you very much for participating survey.

외국인 여대생 대상 비빔밥 기호도 평가 결과

국가	국적	남(%)	여(%)	전체(%)	x^2
1. 참여국가	한국	0(0)	2(3)	2(2.8)	19.077*
	일본	2(40.0)	48(71.6)	50(69.4)	
	중국	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	대만	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	태국	0(0)	5(7.5)	5(6.9)	
	프랑스	1(20.0)	0(0)	1(1.4)	
	미국	2(40.0)	6(9.0)	8(11.1)	
	캐나다	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	노르웨이	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	홍콩	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	호주	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	영국	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
2. 귀하가 생각하는 한국을 대표하는 음식은?	비빔밥	2(40.0)	19(28.4)	21(29.2)	6.629
	불고기	1(20.0)	1(1.5)	2(2.8)	
	김치	2(40.0)	45(67.2)	47(65.3)	
	기타	0(0)	2(3.0)	2(2.8)	
3. 조리실습을 통하여 느낀 비빔밥의 특징은 무엇인가?	색	1(20.0)	8(11.9)	9(12.5)	16.015
	건강	0(0)	8(11.9)	8(11.1)	
	맛	2(40.0)	15(22.4)	17(23.6)	
	재료의 다양성	1(20.0)	27(40.3)	28(38.9)	
	기타	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	색+건강	0(0)	2(3.0)	2(2.8)	
	건강+재료의 다양성	0(0)	2(3.0)	2(2.8)	
	색+재료의 다양성	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	건강+맛	0(0)	2(3.0)	2(2.8)	
	맛+재료의 다양성	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	색+건강+재료의 다양성	1(20.0)	0(0)	1(1.4)	
4. 비빔밥이 건강면에서 어디에 좋다고 생각하십니까?	변비	3(60.0)	30(48.4)	33(49.3)	5.786
	당뇨	0(0)	22(35.5)	4(6.0)	
	다이어트	0(0)	3(4.8)	22(32.8)	
	기타	1(20.0)	3(4.8)	3(4.5)	
	변비+다이어트	0(0)	1(1.6)	4(6.0)	
	모두	62(100)	67(100)	1(1.5)	
5. 조리실습을 통하여 비빔밥의 보완해야 할 점은 무엇인가?	조리법	0(0)	14(24.1)	14(23.0)	3.836
	재료종류	0(0)	17(29.3)	17(27.9)	
	맛	1(33.3)	12(20.7)	13(21.3)	
	재료식감	1(33.3)	7(12.1)	8(13.1)	
	기타	1(33.3)	7(12.1)	8(13.1)	
	재료종류+맛	0(0)	1(1.7)	1(1.6)	
6. 귀하가 비빔밥을 만든다면 더 추가하고 싶은 재료는 무엇인가?	육류	1(25.0)	17(29.8)	18(29.5)	6.768
	채소류	1(25.0)	19(33.3)	20(32.8)	
	향신료	0(0)	3(5.3)	3(4.9)	
	소스	0(0)	3(5.3)	3(4.9)	
	기타	0(0)	4(7.0)	4(6.6)	
	채소+소스	0(0)	2(3.5)	2(3.3)	
	육류+채소	2(50.0)	5(8.8)	7(11.5)	

	육류+소스	0(0)	2(3.5)	2(3.3)	
	육류+향신료	0(0)	1(1.8)	1(1.6)	
	육류+채소+소스	0(0)	1(1.8)	1(1.6)	
7. 귀하가 비빔밥을 만든다면 빼고 싶은 재료는 무엇인가?	애호박	1(50.0)	12(30.0)	13(31.0)	5.109
	당근	0(0)	2(5.0)	2(4.8)	
	시금치	0(0)	1(2.5)	1(2.4)	
	숙주	0(0)	3(7.5)	3(7.1)	
	고사리	0(0)	8(20.0)	8(19.0)	
	마늘	1(50.0)	3(7.5)	4(9.5)	
	달걀	0(0)	2(5.0)	2(4.8)	
	고추장	0(0)	4(10.0)	4(9.5)	
	애호박+달걀	0(0)	2(5.0)	2(4.8)	
	고사리+달걀	0(0)	1(2.5)	1(2.4)	
	애호박+시금치+고사리	0(0)	1(2.5)	1(2.4)	
	시금치+고사리	0(0)	1(2.5)	1(2.4)	
8. 오늘 만든 비빔밥의 1회 분량이 한끼 식사로써 적당하다고 생각하는가?	너무 많다	2(50.0)	2(3.0)	4(5.6)	16.106*
	많다	0(0)	17(25.4)	17(23.9)	
	적당하다	2(50.0)	47(70.1)	49(69.0)	
	많이 부족하다	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
9. 오늘 만든 비빔밥의 전체적인 맛이 어떠한가?	너무 맛있다	2(40.0)	26(38.8)	28(38.9)	0.120
	맛있다	2(40.0)	31(46.3)	33(45.8)	
	보통이다	1(20.0)	10(14.9)	11(15.3)	
10. 오늘 수업 중 어떤 부분이 가장 좋았는가?	한국문화 체험	2(40.0)	21(31.3)	23(31.9)	1.538
	한국음식 이해 증가	0(0)	5(7.5)	5(6.9)	
	조리실습체험	3(60.0)	30(44.8)	33(45.8)	
	기타	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	산업체방문 +조리실습체험	0(0)	2(3.0)	2(2.8)	
	산업체방문 +한국문화체험 +조리실습체험	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	한국문화체험 +조리실습체험	0(0)	4(6.0)	4(5.6)	
	산업체방문 +한국음식이해증가	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	한국음식이해증가 +조리실습체험	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	
	조리실습체험+기타	0(0)	1(1.5)	1(1.4)	

3. 해외 홍보 : 중국 북경대학교, 한식 심포지움 개최

대상 : 중국 북경대학교 재학생
장소 : 중국 북경대학교 교내
기간 : 2012년 5월 10일 - 5월 14일 (총 5일)
참여 연구원 : (주)샘표식품 연구원
내용 : 한식의 기능성과 우수성을 알리기 위한 연구의 일환으로 지난해(2011년) 수행된 연구 기반을 근거로 한국음식의 선호도가 높은 중국인을 대상으로 연구에 착수함. 중국 북경대학교에 재학 중인 대학생을 대상으로 한식의 기능성과 우수성에 관한 교육, 홍보를 수행함.

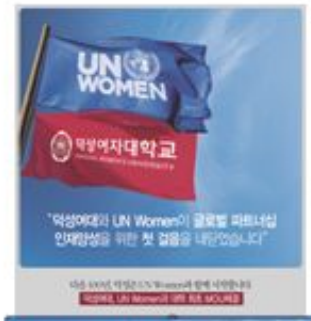
4. 국내 심포지움 참가, 발표

주제 : 통합의학 헬스케어 엑스포
장소 : 일산 킨텍스
기간 : 2012. 8. 30 ~ 9. 1
참여 연구원 : 정하숙, 탁상숙, 권태은
내용 : 암 재발을 막기 위한 항암 식이요법 및 한식을 이용한 건강조리법

5. UN-WOMEN 세계대회 참가

아시아, 아프리카 대학생 대상 비빔밥 소개, 한식조리 체험

UN-WOMEN 세계대회 참가



2012. 8. 10 – 8. 13, 덕성여대

-차세대 글로벌 여성인재양성 프로그램 개발, 운영
-여성 리더 (UN 사무총장, UN Women 총재, 재계, 정계, 학계 여성 리더), 대학생 참여(아시아-아프리카)

세계대회, 한식 체험프로그램 운영

6. 대장항문 전문병원(송도병원) 조리종사원 대상 신규비빔밥 기호도 평가

서울송도병원 관능평가 보건복지부 공식 지정 대장항문 전문병원

연령, 인원	20-50대, 11명
조리경험에 의한 비빔밥 특징	재료의 다양성, 건강, 맛
비빔밥의 건강효능	변비, 암, 당뇨
추가하고픈 재료	육류
삭제하고픈 재료	양배추, 참기름
관능평가	맛있다, 보통이다

보건복지부 공식 지정 대장항문 전문병원인 서울송도병원 영양팀의 조리전문가에 의한 기능성 비빔밥의 관능평가 결과, 참가한 11명의 평가원 중 9명이 대장암세포 사멸능이 우수한 기능성 비빔밥이 관능적으로 우수한 맛을 나타내었으며, 참가자 중 2명은 보통으로 표시하였으며, 특히 기능성 비빔밥에서 육류가 추가될 것을 희망하였다.

제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야에 대한 기여도

구분	연구논문	학술발표	지식재산권	기술이전 /제품화	기타	계	달성도(%)
1년차 2012		2			3	5	100
2년차 2013	2	2			2	6	.

○ 학회발표 : 2012년 한국약용작물학회 발표(2건)
○ 지식재산권 : 특허출원
○ 교육, 홍보 : 환우, 일반인, 학생 대상 대국민 교육, 홍보 수행
○ 한국의 전통비빔밥 및 효능이 우수한 신규비빔밥의 관능평가를 통하여 한식의 우수성을 확인하여 한식의 세계화에 기여
○ 신규비빔밥의 건강우수성에 관해 과학적으로 규명하여 국내, 국제학회에 학술 발표하고 학교, 병원 및 산업체에 홍보
○ 특수미 함유 한식의 건강우수성 구명을 통한 한식 신뢰도 증가
○ 한식 우수성 구명에 의한 국내산 농산물의 소비촉진과 해외수출 증대
○ 신규비빔밥의 대장암 예방 및 치료효과에 대한 과학적인 검증자료 제시
○ 신규비빔밥의 우수성 규명에 의한 국가 식생활 개선 자료로 활용 및 농어민 소득 증대
○ 한식 신규비빔밥 우수성 규명에 의한 학교, 병원급식 활용 및 산업화에 기여
○ 신규비빔밥의 기능성 소재 발굴 및 소재화로 우리 농산물의 부가가치 향상

제 4 장 연구결과의 활용계획

1. 정책활용

○ 한식에서 활용되는 발효품의 기준 마련과 완제품 가공 방법을 표준화하고 국내 판매 및 수출전략에 활용
○ 지역이나 재배방법 등에 따라 한식 밥용의 기준을 가지고 평가하였을 때 품질 및 효능이 다르므로 가공 목적에 따른 원료 곡류의 차별화하여 생산할 수 있도록 건의(영농활용)
○ 고부가가치 특수미의 대장암세포 성장저해 효능 비교 기술개발
○ 기능성 한식 재료 발굴 및 동물실험을 통한 대사기전 연구
○ 연구결과를 토대로 향후 건강기능 식단이나 건강기능성 식품, 건강기능 한식 등으로의 개발을 위한 추가적인 연구가 필요함
○ 대장암세포 성장저해 효능이 우수한 한식 식단을 병원급식에 활용하도록 건의(정책제안)
○ 본 연구의 결과를 이용, 다양한 한식 식단을 발굴하여 한식의 소비 증대(정성적 연구 활용)
○ 대장암세포 사멸효능과 맛이 우수한 기능성 비빔밥 발굴로, 관련 산업의 발전을 유도하고 경쟁력이 있는 한식 제품의 산업화를 위한 제품 개발에 활용
○ 기능성 쌀 및 한식의 기능성 부재료 발굴로, 국산 식품 관련 산업 발전 유도 및 경쟁력이 있는 한식 제품을 개발해서 세계시장에 수출 증대(정성적 연구 활용)
○ 발효제품으로부터 기능성 소재를 생산할 수 있는 기초자료를 조성함으로서, 부가가치가 큰 한식산업의 기반을 구축(정성적 연구 활용)
○ 대장암세포저해 한식의 표준 조리법 및 건강효능 연구
○ 신규 기능성 비빔밥 용도의 식재료 기준을 설정하여. 효능이 다른 원료 곡류를 차별화하여 생산할 수 있도록 정책제안
○ 기능성 비빔밥재료 생산농가 소득제고를 견인하는 비빔밥산업 세계화 육성정책에 활용
○ 기능성 비빔밥 산업 인프라 선진화, 관련 기업의 매출 극대화 및 지역산업 경쟁력 강화

2. 언론홍보 및 대국민교육

○ 특수미 종류별 기능성이 다르므로 한식 원료 곡류를 차별화하여 생산하고 소비할 수 있도록 교육 수행

○ 대장암세포 성장저해 효능이 우수한 한식 식단을 병원급식에 활용하도록 홍보 및 교육

○ 우리나라에서 점차적으로 증가되고 있는 대장암의 발병원인 및 한식을 통한 발병감소에 관해 홍보 및 교육

○ 한식에서 활용되는 발효품의 기준 마련과 완제품 가공 방법을 표준화하고 국내 판매 및 수출전략에 활용토록 홍보

○ 한식 섭취로 타 암종의 발병을 저하시킬 수 있는 연구자료 홍보

○ 식습관의 서구화로 발병률이 지속적으로 증가되고 있는 대장암의 원인 및 예방/치료 개선에 기능성 비빔밥이 도움을 줄 수 있음을 과학적 데이터를 통해 전국민에게 교육 홍보

○ 환우 및 보호자를 대상으로 기능성 비빔밥의 효능과 표준조리법을 교육하여 대장암 질환개선 및 예방에 활용

○ 본 연구결과는 대장암 예방/치료개선 관련 신소재 DB 구축, 대장암 효능기전 연구자료 확보와 기능성식품 임상지원센터와 연계하여 임상데이터를 구축하는데 응용

○ 기능성 비빔밥에 활용되는 발효품의 배합비율 및 가공방법을 표준화하고 국내 판매 및 수출전략에 활용토록 홍보

○ 기능성 비빔밥이 만성질병에 미치는 영향 평가로, 생산자와 소비자에게 올바른 식품 선택을 위한 정보 제공, 학교급식, 단체급식, 병원급식에 활용

제 5 장 연구과정에서 수집한 해외 과학기술정보

○ 문화관광부, 농림수산식품부의 외국인 대상 설문조사 결과, 해외 한국 음식점에서 가장 환영받는 음식은 김치, 비빔밥, 한정식, 불고기, 삼겹살 등으로 조사됨

○ 한식을 즐기는 외국인들은 불고기, 갈비구이, 비빔밥을 좋아하며, 특히 한식세계화가 가능한 음식으로는 비빔밥을 꼽음

○ 기업별로 한식 관련 상품이 해외에 진출해 있음

제품명	내용
종가집 김치	· '87 국내 최초로 진공포장 김치 개발 · 기존 OEM방식에서 탈피하여 자사브랜드로 수출함으로써 브랜드 파워와 해외 고객 로열티 확보 · 현재 13종(포장별 100종)의 김치생산, 고급김치, 기능성김치 등 개발
(주)CJ 햇반	· 고품질과 간편성으로 상품화된 밥 시장 창출 · 상온 장기보관으로 가치와 편리성 부여 · 현지인 입맛에 맞춘 제품 개발, 포장, 광고 등으로 해외시장 진출
(주)CJ 다시다	· '02년 중국 칭다오 현지공장 설립 후 매년 중국시장에서 50% 성장
우리음식이야기 '냉동덮밥'	· 간편하게 즐길 수 있는 냉동덮밥 개발 · 15가지 다양한 제품과 독특한 용기 및 천연조미료 사용으로 해외시장에서 호평 · 해외 박람회를 마케팅 장으로 활용(164만 달러 수출계약 체결)
KAL '비빔밥'	· 한국음식의 기내식화의 성공 · 국제 기내식협회의 '머큐리상'(최고의 기내식상)을 수상함으로써 우리 음식을 널리 알리는데 기여 · 주재료가 채소로서 건강지향적인 또는 채식주의(Vegetarian) 외국인 선호
농심 라면류	· '05. 6월 농심 로스앤젤레스(LA)공장을 설립하였으며 신라면, 너구리, 육개장, 사발면 등을 생산, 연간 생산 능력은 2억 개에 이름 · 과거 교포가 주 소비층이었으나 점차 아시아, 미국인등 소비층이 확대 · 90년대 중반 진출한 중국 상해(上海) 청도(青島) 등 현지 공장을 통해 중국 시장 공략에도 적극적이며 향후 중남미까지 시장을 확대할 계획
오리온 '초코파이'	· 중국, 러시아, 베트남 등 해외 시장 판매액 중 초코파이의 비중은 50%로 2005년 기준 국내 매출액(850억 원)보다 많은 900억 원 선 판매, 초코파이의 연간 판매량은 약 9억 개에 이름('05기준) · '97 설립된 북경(北京) 공장을 통해 중국 파이시장의 절반가량을 차지하고 있으며 러시아 모스크바 공장은 연간 5000만 달러, 베트남 공장은 연간 4000만 달러 규모의 생산 능력을 갖춤
두산 '경월그린소주'	· 초기 일본 진출 시('96) 소주시장의 협소 및 주류문화 차이로 어려움을 겪었으나 고급스럽고 깔끔한 맛을 갖춘 고가정책으로 승부 · 2002 한일 월드컵과 한류영향으로 현재 일본소주시장의 10%점유

○ 2011년 식품·외식 산업의 시장 규모는 133조 원

- 그 중 외식업의 비중이 68조 원을 차지함
- 10년 전인 2001년 대비 2배 가까이 성장
- 그러나 식문화가 유사한 일본의 식품시장 규모는 한화로 약 470조원으로 한국의 약 7배를 넘음
- 따라서 한국 식품산업도 계속해서 성장 가능성이 높음

○ 2012년 글로벌 선도 기업(Global 2000 Leading Companies)에 일본과 중국은 각각 9개사의 식품회사가 선정되었으나 한국은 2개사로 그침

- 향후 식품산업의 발전을 위해 기업의 글로벌 역량 강화와 정부의 지속적인 성장노력 필요

○ 현재 한국내의 일반 음식점업 중 한식 음식점업이 차지하는 비중이 매우 높으며 중식, 일식, 서양식 음식점의 10배 이상의 매출을 유지하고 있음

○ 글로벌 시대를 맞이하여 세계관광시장이 지속적으로 성장하고 있으며 한국을 방한한 외국 관광객은 한식을 맛본 후, 한식에 대한 관심의 증대

○ 외국인을 대상으로 한국 및 한국음식에 대한 이미지 조사

- 대부분 한국 및 한국음식에 대해 긍정적 이미지를 갖고 있음
- 미국인이 중국이나 일본인에 비해 유의적으로 '매우 좋다'가 높은 비율로 나타남

○ 외국인들이 한국식당을 이용한 후 한국음식에 대한 이미지가 좋아진 것으로 조사되었으며, 이는 한국에 대한 이미지에 긍정적인 영향을 미침

○ 세계적으로 건강식에 대한 관심이 높아지면서 유기농산물, 무공해식품, 자연식이 지속적인 인기를 끌고 있으며, 건강식을 추구하는 미국, 유럽 등에서 아시안 민족음식의 인지도와 선호도가 높아지는 추세임

○ 사회 인구학적 현상인 고령화, 소자녀화, 디지털화, 글로벌화의 요인들에 의해 소비시장의 변화는 지속적이며, 세계관광시장의 지속적 성장추세와 더불어 한류열풍의 계기로 한식세계화를 통한 식품산업의 시장 확대와 관련 부분의 산업적 발전의 촉진 가능성 및 국가의 이미지 제고에 긍정적 역할을 기대할 수 있음

○ 국내의 외식업소들의 포화상태로 인해 외식업체들의 해외시장개척은 가속도

- 특히 한식업체가 주축이 되어 해외에 진출하기 위해 많은 노력 중이며, 주요 진출지역은 미국, 일본, 동남아, 이탈리라, 프랑스 등의 유럽까지 진출 중에 있음

○ 국내 외식기업의 해외시장 진출은 1990년대 후반부터 진행되어 왔음

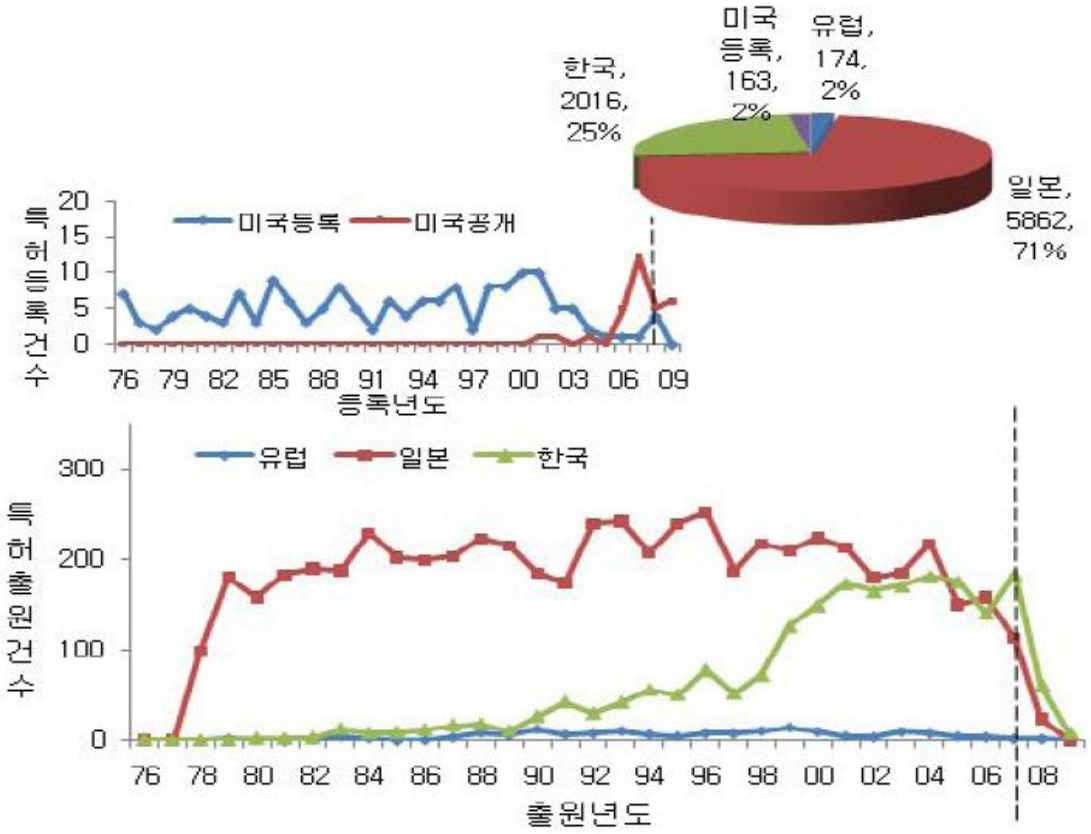
- 2010년 말 기준 해외 진출 외식업체 점포수는 991개였으며, 2005년 221개의 외식업체보다 770개 증가하였음
- 국내 외식기업의 해외시장 진출은 계속 증가추세를 보이며 2015년 경에는 3000개 이상의 해외매장 예측

○ 해외 진출한 외식업체 점포수는 1000개에 이르나, 실제 영업 중인 업체는 56개에 불과함

- 그 중 한국 식당은 30개 업체이며 총 170개의 점포수에 한함
- 대부분의 해외진출 한식당들은 교포를 중심으로 운영되고 있음

○ 한국, 미국, 일본, 유럽 특허에 기재된 식품 중 한식과 대응되는 식품을 포함하여 분석할 경우, 한식 분야와 관련된 특허 중 일본 71%, 한국 25%, 미국등록 2%, 유럽 2%의 출원점유율을 보여 일본과 한국이 다출원국으로 나타남

○ 일본은 1970년대 후반부터 연간 180건 정도의 특허 출원을 유지하고 있으며, 한국은 1990년대 후반 출원이 급증하기 시작하여 2000년 이후 연간 약 170건 정도의 특허 출원을 유지하고 있음



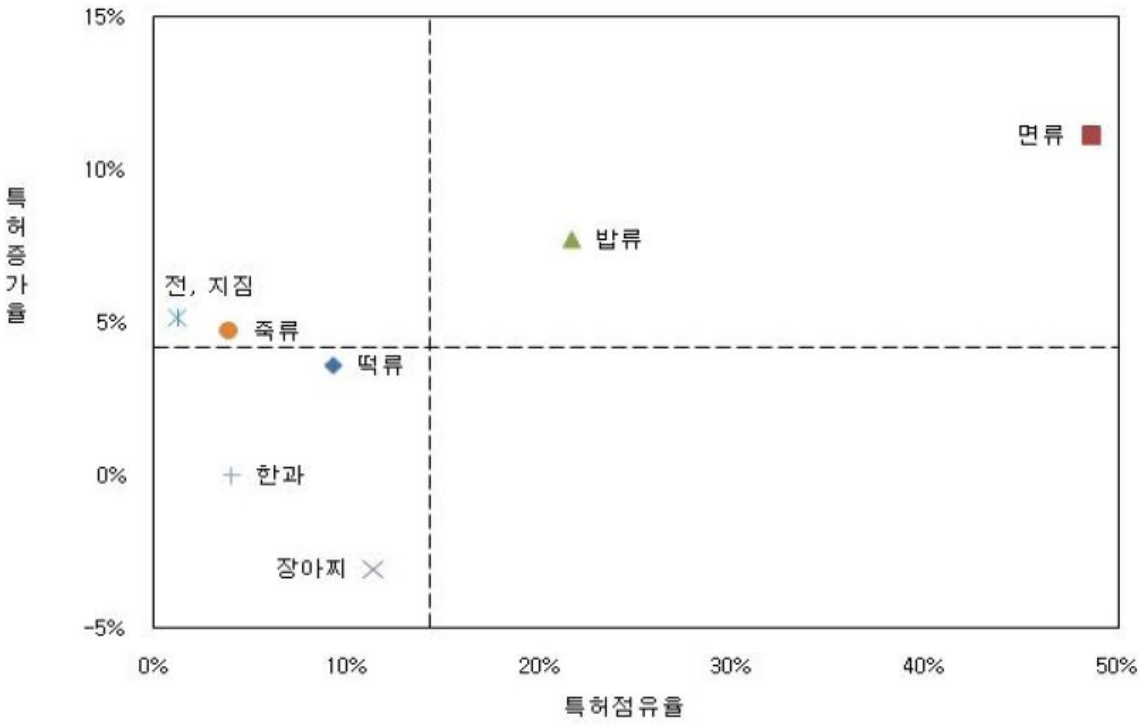
한식 분야의 전세계 출원(등록) 건수 추이

[분석구간: 한국, 일본, 유럽특허 ~2007.12(출원연도), 미국특허 ~2008.12 (등록연도)]

자료: 연구기획시 특허동향조사 "한식 세계화/전통식품 산업화" 특허청, 2009

○ 한식 분야의 특허 포트폴리오를 분석한 결과는 아래와 같음

- 밥류와 면류는 특허 점유율과 증가율이 모두 평균값 이상으로 나타나 지속적으로 특허 출원이 활발한 분야임
- 죽류, 전 및 지짐류는 평균값보다 낮은 특허 점유율과 높은 증가율로 최근 특허출원이 활발한 분야임
- 떡류와 한과, 장아찌는 특허 점유율과 증가율이 모두 평균값 보다 낮아 초창기 도입 기술 분야임



한식 분야의 특허점유율 및 증가율에 따른 포트폴리오

[분석구간: 한국, 일본, 유럽특허 ~2008(출원연도)

X축: 100%/기술분야 개수, Y축: 분석구간 연평균 증가율의 기하평균값]

자료: 연구기획 시 특허동향조사 “한식 세계화/전통식품 산업화” 특허청, 2009

○ 곡류 가공식 분야는 면류 특허가 56%로 높은 점유율을 나타내었음

- 밥류 특허는 25%, 떡류 10%, 한과류 5%, 죽류 4% 순으로 점유율을 보임
- 과채류는 장아찌, 전 및 지짐 순으로 출원점유율을 나타냄

○ 한식 분야의 Key Player로는 곡류가공식품 및 과채류 분야 모두 일본 출원인의 출원건수가 많았음

- 곡류가공식품 중 밥류의 Key Player로 한국은 김기옥(9건), 씨제이 제일제당(8건), 대상 주식회사(7건) 순이었고, 일본은 AJINOMOTO CO(68건), SUZUKI KISAKU(47건), HOUSE FOODS CORP(36건)순이었음
- 곡류가공식품 중 죽류의 Key Player로 한국은 씨제이 제일제당(9건), 김기옥(8건), 두산개발주식회사(6건) 순이었고, 일본은 QP CORP(20건), ISHIDA YUKIO(7건), AJINOMOTO CO(6건) 순이었음
- 곡류가공식품 중 떡류의 Key Player로 한국은 김기옥(10건), 기우원(9건), 한국식품연구원(5건) 순이었고, 일본은 ECHIGO SEIKA CO(19건), NAKAI KK(8건) 순이었음
- 곡류가공식품 중 면류의 Key Player로 한국은 농심(20건), 씨제이제일제당(15건), 네스텍(13건) 순이었고, 일본은 NISSHIN FLOUR MILLING CO(130건), NISSIN FOOD PROD CO(94건), NIPPON FLOUR MILLS CO(67건) 순이었음
- 곡류가공식품 중 한과의 Key Player로 한국은 김주형(12건), 한국식품연구원(8건), 농심(5건) 순이었고, 일본은 KAMEDA SEIKA KK(20건), SANKO KK(9건), EZAKI GLICO CO(7건) 순이었음
- 과채류 중 장아찌의 Key Player로 한국은 조순호(5건), 한국식품연구원(4건), 광양청매실농원(3건) 순이었고, 일본은 NAKANO VINEGAR CO (13건), MORINAGA CO(9건), FUTAGAMI TANEAKE(8건) 순이었음

○ 기술의 가치성 및 신규성, 기술의 확보성, 진입장벽 분석, 기술의 혁신성, 트랜드 부합도 평가를 통해 우선순위를 평가한 결과, 밥류, 장아찌, 죽류, 한과, 전 및 지짐, 면류, 떡류 순으로 우선순위가 나타남

○ 한식 분야에 있어서 한국 이외에 일본을 중심으로 외국에 한식과 유사한 제조방법 및 원리를 갖는 식품들이 다수 존재하며 이미 특허로 보호받고 있는 것으로 나타났음

○ 따라서 한식의 표준화 및 개량화를 통한 특허의 필요성이 강조되고 있음

참고문헌

1. Lee KH, Yu CS, Kim HC, Kim JR, Kim YM, Kim JS, Kim JC (2004) Outcome of curative resection in patients with completly obstructing colorectal cancer. J. Kor. Surg. Soc. 66: 199-204.
2. Kim WS, Lee RA, Hwang DY, Hong YJ, Hong SI (2004) Histoculture drug response assay in colorectal cancer specimen. J. Kor. Surg. Soc. 66:109-115.
3. Maroun JA, Anthony LB, Blais N, Burkes R, Downden SD, Dranitsaris G, Samson B, Shah A, Thirlwell MP, Vincent MD, Wong R (2007) Prevention and management of chemotherapy-induced diarrhea in patients with colorectal cancer: A consensus statement by the canadian working group on chemotherapy-induced diarrhea. Curr. Oncol. 14(1): 13-20
4. de Gramount A, Figer A, Seymour M, Homerin M, Hmissi A, Cassidy J, Boni C, Cortes-Funes H, Cervantes A, Freyer G, Papamichael D, Le Bail N, Louvet C, Hendler D, de Braud F, Wilson C, Morvan F, Bonetti A (2000) Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. J. Clin. Oncol. 18: 2938-2947.
5. Hou CW, Jeng KC, Chen YS (2010) Enhancement of fermentation process in Pu-Erh tea by tea-leaf extract. J. Food Sci. 75: 44-48.
6. Han HK, Choi SS, Chung HS (2010) Effects of Camellia sinensis L. on Blood glucose and cholesterol levels of normal and streptozotocin induced diabetic male rats. J. Kor. Tea Soc. 16(2): 118-123.
7. Han SK, Song YS, Lee JS, Bang JK, Suh SJ, Cho JY, Moon JH, Park KH (2010) Changes of the chemical constitiuents and antioxidant activity during microbial-fermented tea (Camellia sinensis L.) processing. J. Kor. Food Sci. Technol. 42: 21-26.
8. Yang CS, Maliakal P, Meng X (2002) Inhibition of carcinogenesis by tea. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 42: 25-54.
9. Wang ZY, Huang MT, Lou YR, Xie JG, Reuhl KR, Newmark HL, Ho CT, Yang CS, Conney AH (1994) Inhibitory effects of black tea, green tea, decaffeinated black tea, and decaffeinated in 7, 12-dimethylben(a)anthracene-initiated SKH-1 mice. Cancer Res. 54: 3428-3435.
10. Reed J (1994) Bcl-2 and regulation of programmed cell death. J. Cell Biol. 124: 1-6.
11. Donovan M, Cotter TG (2004) Control of mitochondrial integrity by Bcl-2 family members and caspase-independent cell death. Biochim. Biophys. Acta. 1644: 133-147.
12. Rosse T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, Jansen B, Borner C (1998) Bcl-2 prolongs cell survival after Bax-induced release of cytochrome c. Nature

391: 496-499.
13. Allen RT, Cluck MW, Agrawal DK (1998) Mechanisms controlling cellular suicide: role of Bcl-2 and caspases. Cell Mol. Life Sci. 54: 427-445.
14. Vegran F, Boidot R, Oudin C, Riedinger JM, Lizard-Nacol S (2005) Implication of alternative splice transcripts of caspase-3 and survivin in chemoresistence. Bull. Cancer 92: 219-226.
15. Cory S, Huang DC, Adams JM (2003) The Bcl-2 family: Roles in cell survival and oncogenesis. Oncogene 22: 8590-8607.
16. Debatin KM (2004) Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. Cancer Immunol. Immun. 53: 153-159.
17. Woo WS. Study on Natural Products Chemistry, Seoul National University Press, 2001
18. Chung HS, Woo WS, Lim SJ (1994) Dentalactone, A sesquiterpene lactone from *Ixeris dentata*. Phytochemistry, 35(6), 1583-1584.
19. Chung HS (2001) Isolation of new bioactive phytochemicals from natural products, Food Ind. Nutr., 6(2), 53-59
20. Chung HS and Shin JC (2007) Characterization of antioxidant alkaloids and phenolic acids from anthocyanin-pigmented rice (Oryza sativa cv. Heugjinjubyeo). Food Chem 104, 1670-1677
21. 김행란, 한국음식의 상품화, 국제화(SERI)보고서, 2003
22. 농림수산식품부, 한식산업화·세계화 추진전략(안), 2009
23. 농림수산식품부, 한식재단, 유럽, 북중미, 남미 지역 2011 해외 한식당 현황조사, 2012
24. 농민신문, 한식세계화 매운 양념류 수출 파란불. 2009
25. 농민신문, 고추장·된장·인삼 '국제식품규격' 등록. 2009
26. 생명공학정책연구센터, BT기술동향보고서 "건강기능식품 연구 및 기술개발 동향", 2012
27. 신애숙(2000) , 부산의 전통 · 향토음식의 현황 고찰. 한국조리학회지, 6(2): 67-78.
28. 특허청, 연구기획 시 특허동향조사 "기능성 농식품", 2009
29. 특허청, 연구기획 시 특허동향조사 "저탄소 녹색성장기술", 2009
30. 특허청, 연구기획 시 특허동향조사 "한식 세계화/전통식품 산업화", 2009
31. 특허청, 한국의 특허동향 2000~2008년, 2009
32. 특허청, 한국의 특허동향 2000~2010년, 2011
33. 하은애, 일본인의 한국음식 선호도에 따른 편의식품의 개발방안에 관한 탐색적 연구, 세종대학교 석사학위논문. p.32-37, 2004
34. 한국외식정보, FTA대비 한식세계화 정책 방향 최종보고서, 2007
35. 한국외식연감, 한국외식정보, 2009
36. 한식재단, 세계화를 위한 마케팅 전략 보고서, 2009