

MONO1201317763

T000038289

발간등록번호

11-1541000-001759-01

한식의 세계화를 위한 연의 건강기능성 및
연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 홍보 콘텐츠 개발
(A preclinical study of lotus and development of individualized
program for healthy weight control and publicity contents
using lotus for globalization of Korean food)

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “한식의 세계화를 위한 연의 건강기능성 및 연 이용 맞춤형 건강한 체중 조절 프로그램 홍보 콘텐츠 개발”에 대한 최종보고서로 제출합니다.

2012년 12 월 29 일

인 하 대 학 교

연 구 진

주관연구기관명 : 인하대학교 산학협력단

주관연구책임자 : 장 경 자 (책임연구원)

세부연구책임자 : 장 경 자 (책임연구원)

연 구 원 : 차 원 (연 구 원)

연 구 원 : 진 정 희 (연 구 원)

연 구 원 : 배 귀 식 (연 구 원)

연 구 원 : 이 미 영 (연 구 원)

연 구 원 : 유 정 순 (연구보조원)

연 구 원 : 박 소 윤 (연구보조원)

연 구 원 : 김 소 영 (연구보조원)

연 구 원 : 이 윤 주 (연구보조원)

연 구 원 : 박 지 연 (연구보조원)

협동연구책임자 : 김 성 훈 (책임연구원)

연 구 원 : 차 오 슈 (연구보조원)

연 구 원 : 심 검 (연구보조원)

연 구 원 : 조 혜 정 (보 조 원)

연 구 원 : 오 민 지 (보 조 원)

연 구 원 : 정 선 희 (보 조 원)

요 약 문

<세부 과제 >

연구책임자: 인하대 장경자 교수

I. 제 목

연의 건강기능성 규명 전임상 실험과 연 이용 다이어트 한식 메뉴 발굴, 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 (가칭 K-diet) 및 세계화 홍보컨텐츠 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

한국 전통음식에서 많이 사용되는 식재료인 연을 사용한 한식 연 메뉴를 다이어트 식품으로 세계화를 위하여 항비만 및 항산화 건강증진효과를 전임상연구의 수행으로 규명하고 연을 이용한 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램(가칭 K-diet) 및 연 이용 다이어트 한식 메뉴와 홍보컨텐츠를 개발하고자 함

III. 연구개발 내용 및 범위

- 주로 식용으로 사용되는 연의 부위 중 전임상 연구가 필요한 연근과 연자육의 항비만 및 항산화 건강증진효과 기능성 규명
- 비만의 주요원인인 패스트푸드를 대체할 수 있는 연이용 다이어트 한식메뉴의 개발
- 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 개발
- 해외 중점 홍보 지역(미국, 중국, 일본, 베트남)에서 세계화를 위하여 책자, 인터넷, SNS 등을 활용한 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 (가칭 K-diet)과 다이어트 한식 연 메뉴의 홍보컨텐츠를 해당 언어로 개발

IV. 연구개발 결과

- 연근과 연자육 에탄올 추출물은 인간 지방세포의 분화를 억제하였고, 지방세포에 지방축적을 저해함

- 고지방식이로 사육한 흰쥐에 연근과 연자육 에탄올 추출물 공급은 체중증가를 유의적으로 낮추었고, 부고환지방과 후복막지방의 무게 및 크기를 감소시킴
- 연근과 연자육 에탄올 추출물 공급군은 고지방군에 비해 혈청 중성지방과 총 콜레스테롤 농도가 유의적으로 낮아 연근과 연자육의 지질 저하 효과를 확인함
- 고지방식이로 사육한 흰쥐에 연근 추출물 공급시 혈청 인슐린 농도와 렙틴 농도를 유의적으로 낮추었으며, 연자육 추출물 공급시 렙틴 농도를 낮추는 효과를 보임
- 연근과 연자육 에탄올 추출물은 *in vitro* 항산화 실험인 DPPH 라디칼 소거능, 환원력, 지질과산화 억제 작용, ORAC 분석을 통해 항산화 효과를 확인하였음
- 고지방식이로 사육한 흰쥐에 연근과 연자육 추출물 공급시 간의 지질과산화물의 축적이 저해되었고, 항산화 효소인 SOD 활성도가 상승하였으며 항산화물질인 GSH 함량도 고지방군에 비해 증가하였음
- 연 추출물의 단회투여 독성시험 결과 ICR mice에서 암수 모두 연근과 연자육 에탄올 추출물의 LD₅₀은 5,000 mg/kg 이상일 것임
- 본 연구실에서 등록된 특허기반 연 메뉴인 연잎해물과전 개발
<특허등록 제 10-1176435호> 연잎 추출물 및 타우린을 함유하는 대사성 질환 예방 및 치료 조성물
- 연을 이용한 패스트푸드 대체 다이어트 한식 메뉴인 연잎롤을 개발하고 다양한 기호를 반영한 맞춤형 연잎롤 제조방법과 연잎롤용 연잎 가공방법 정립
- 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 개발을 위해 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램을 개발하고 개발된 프로그램에 연을 이용한 다이어트 메뉴를 적용
- 한국 거주 외국인 유학생을 대상으로 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 시식회 및 품평회 개최
- 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램이 포함된 'K-diet Best Seller+' 한국어 책자 제작 (2013년 7월 출간 예정)
- 'K-diet Best Seller+'를 영어, 중국어, 일어, 베트남어로 번역하여 multimedia e-book 인 앱 형태로 제작 (2013년 출시 예정)
- 홈페이지 기능도 하면서 쉽게 update 가능한 facebook을 구축하여 전통 식재료인 연의 소개, 연의 건강증진 효과, 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 recipe, 건강한 체중조절 프로그램(K-diet Best seller+) 등을 소개하고 국제적인 다이어트 체험공유 및 자조모임 홈페이지로 활용

V. 연구성과 및 성과활용 계획

종 류	내 용
특허출원	국내특허출원 2건 (특허출원번호: 10-2012-0126789 특허출원번호: 10-2012-0137043)
논문	SCI 논문 2편 투고 SCI 초록 2편 게재 예정(2013년 4월)
학술발표	국내학술대회 2편, 국제학술대회 4편 발표
책자 발간	연을 이용한 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램의 내용이 포함된 한국어책자 발간 (2013년 7월 출간 예정)
Multimedia e-book 제작	영어, 중국어, 일어, 베트남어로 번역된 multimedia e-book을 앱 형태로 출시(2013년 예정)
SNS 구축	Facebook을 이용한 SNS는 기존 한식의 세계화 사이트와 유튜브 연계 통 해 전통 식재료로서의 연과 연 이용 다이어트 한식 메뉴의 지속적인 홍보 에 도움을 주고, K-diet시 체험공유 및 자조모임 결성에 도움

<협동 과제>

연구책임자 : 건국대 김성훈 교수

I. 제 목

연의 항비만 및 항산화 건강증진효과 규명 위한 건강기능(지표)성분 설정 및 원재료의 표준화

II. 연구개발의 목적

국내산 연자육과 연근의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 지방산과 식물성 스테롤의 성분 분석과 국내외 연자육과 연근에 함유되어 있는 플라보노이드와 알칼로이드의 함량을 비교 분석하여 표준화하기 위함이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

국내산 연근은 원재료 그대로의 생 연근을 사용하였고, 시흥의 연자육은 생 연자육을, 무안은 건조된 연자육을 사용하였다. 국외 (중국, 베트남, 태국)는 일본의 생 연근을 제외하고 모두 건조된 연자육과 연근을 사용하였다.

시흥의 연자육과 연근은 95% 에탄올로 추출하고, 그 에탄올 추출물을 다시 헥세인으로 추출하였다 (LS95EH, LR95EH). 이 헥세인 추출물은 헥세인/디에틸에테르와 헥세인/에틸아세테이트 용매를 순서대로 사용하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행하였고, 7 개의 분획을 얻었다. 에스터, 유리 지방산, 식물성 스테롤의 정성, 정량 분석에는 TLC와 GC-MS를 이용하였다.

여러 지역의 연자육과 연근에 함유되어 있는 플라보노이드와 알칼로이드를 분석하기 위해 각 지역의 연자육과 연근을 70% 에탄올로 추출하고 (LS70E, LR70E), 그 에탄올 추출물에서 지질을 추출해내기 위해 헥세인으로 다시 한번 추출하였다 (LS70EH, LR70EH). 헥세인으로 추출한 후 나머지 부분 (LS70ER, LR70ER)은 증류수에 녹여 원심분리 하였다. 그 후 상층액을 AB-8 macroporous resin column을 하여 H₂O, EtOH, NH₄OH 분획을 얻었다. 원심분리 하여 얻은 상층액과 EtOH 분획을 합친 부분 (Re-EtOH)과 NH₄OH 분획의 플라보노이드와 알칼로이드의 함량은 HPLC와 GC-MS를 이용하여 분석하였다.

에탄올 추출물과 헥세인 추출물, 그리고 헥세인 추출 후 나머지 부분은 항산화 활성 효과를 측정하기 위해 DPPH 라디칼 소거 활성 실험을 하였고, 총 페놀, 총 플라보노이드의 함량에 대해 분석하였다.

IV. 연구개발 결과

헥세인 추출물에는 연의 주된 지방산 성분으로 리놀레산, 팔미트산, 올레산, 베헨산, 리놀렌산, 아라키드산, 리그노세린산, 스테아르산이 있었다. 이러한 지방산과 스테롤은 LR95EH보다 LS95EH에 더 많았다. 대부분의 지방산은 LS95EH와 LR95EH에서 에스터의 형태로 존재하였는데, 이러한 지방산 중 가장 많은 비율을 차지하는 것은 리놀레산이었다. 유리 지방산과 에스터 형태로 존재하는 지방산을 통틀어 가장 많은 것 역시 리놀레산이었다. 하지만 유리 지방산 형태 중 가장 많은 지방산은 팔미트산이었다. 스테롤은 steryl ester 형태와 유리 스테롤 형태로 존재하는데, LS95EH에는 steryl ester 자체의 양은 많지 않았지만 steryl ester 형태의 스테롤 중 가장 많은 스테롤은 β -시토스테롤이었다. 유리 스테롤 형태 중에는 β -시토스테롤, 캄페스테롤, β -아미린이 있었는데, 그 중 가장 많은 스테롤도 β -시토스테롤이었다.

플라보노이드와 알칼로이드 샘플 중 6 개의 샘플은 항비만 효과에 대해 분석하기 위해 인간 지방세포 분화실험을 하였다. 그 결과 항비만 효과는 퀴서틴이 가장 좋은 효과를 보였고, 이소리엔시닌, 누시페린, O-노르누시페린, 이소퀴서틴, 카테킨 순으로 효과가 있었다. 카테킨과 이소퀴서틴, 누시페린, 이소리엔시닌은 LS70E와 LR70E에 존재하였고, 퀴서틴과 O-노르누시페린은 연잎에만 존재하였다. 따라서 연근과 연자육에 있는 성분 중에는 이소리엔시닌이 항비만 효과가 가장 높은 기능성분으로 확인되었다.

에탄올 추출물은 DPPH 라디칼 소거 활성 효과가 있었다. 플라보노이드의 경우, 베트남 LS70E에는 다른 지역보다 많은 hydroxybenzoic acid, 카테킨, 아스트라갈린, 루틴이 함유되어 있었고, 다른 지역의 샘플에는 없는 캄페롤이 소량 함유되어 있었다. 그리고 시흥 LR70E에도 다른 지역보다 많은 hydroxybenzoic acid, 카테킨, 루틴이 함유되어 있었다. 이소퀴서틴은 시흥과 무안 LR70E에서만 발견되었다. 알칼로이드의 경우는 시흥 LS70E에 더 많은 누시페린과 이소리엔시닌이 존재하였고, 태국의 LS70E에는 다른 지역보다 많은 다우리신이 함유되어 있었다. 대구 LR70E에는 누시페린과 네페린이 많았고, 일본 LR70E에는 다우리신과 이소리엔시닌이 많았다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

본 연구에서는 연자육과 연근의 에탄올 추출물에 있는 지방산과 식물성 스테롤의 정성적, 정량적 특성에 대해 분석하였다. 연에 함유되어 있는 플라보노이드와 알칼로이드의 농도는 지역별로 차이가 있었다. 연자육과 연근의 플라보노이드 성분인 hydroxybenzoic acid, 카테킨, 아스트라갈린, 루틴, 이소퀴서틴, 캄페롤의 농도는 HPLC로 측정하였고, 알칼로이드 성분인 누시페린, 다우리신, 이소리엔시닌 역시 HPLC로 그 농도를 측정하였다.

앞으로 연에 함유되어 있는 기능성분에 대한 조사와 연의 에탄올 추출물과 플라보노이드, 알칼로이드의 생체 내에서의 항비만, 항산화 효과에 대한 연구가 필요하다.

종 류	내 용
논문	SCI 1편 투고 SCI 초록 1편 게재 예정(2013년 4월)
학술발표	국제학술대회 3편 발표

SUMMARY

Part 1 : Inha University Chang, Kyung Ja

I. The title of study

A preclinical study of lotus and development of individualized program for healthy weight control and publicity contents using lotus for globalization of Korean food

II. The purpose of the study

To globalize Korean food using lotus, we conducted a preclinical study of lotus in regard to anti-obesity and antioxidant and developed a Korean menu and an individualized program for healthy weight control and publicity contents

III. The content and the scope of the study

- Study on anti-obesity and antioxidant effect of lotus (*in vitro* and *in vivo*)
- Development of a Korean menu for diet using lotus
- Development of an individualized program for healthy weight control
- Development of publicity contents such as book, internet, and SNS to globalize Korean food using lotus in USA, China, Japan, and Vietnam

IV. The result

- Lipid droplets produced during adipogenesis in human adipocyte were significantly decreased by treatment of lotus root and seed ethanol extract

- Lotus root and seed ethanol extract treatment resulted in significantly attenuated expression of adipogenic transcription factors such as PPAR γ and adipocyte marker genes such as GLUT4 and leptin in human adipocyte.
- Lotus root and seed ethanol extract lowered body weight gain, adipose tissue weight and size, serum triglyceride and total cholesterol level, and the level of serum insulin and adipokine such as leptin in rats fed high-fat diet
- Single oral administration of lotus root and seed ethanol extract may have no side toxic effect at the dose of 5000 mg/kg body weight for both female and male ICR mice and LD₅₀ value of those maybe over than 5000 mg/kg body weight
- We have developed 'Lotus leaf haemul pajeon (patent-based lotus menu)', 'Lotus dumpling', and 'Lotus seed ginseng rice porridge' etc.
- We have developed a Korean menu which we have named 'lotus leaf rice roll', and the lotus leaf processing method for the lotus leaf rice roll
- We developed individualized program for healthy weight control program with low calorie Korean food menu using lotus
- We held a low-calorie Korean menu tasting event using lotus for international students living in Korea
- We will publish a 'K-diet Best Seller+' book in Korean including a healthy weight control program with a low calorie Korean food menu using lotus
- We will manufacture an Application (type of 'multimedia e-book') in English, Chinese, Japanese, and Vietnamese
- We constructed a SNS using Facebook including a lotus review, effect of lotus, recipe of a low calorie Korean food menu using lotus, and a healthy weight control program

V. The outcome of the study and further plans

	Contents
Patent application	Korean Patent (2) Patent application No.: 10-2012-0126789 Patent application No.: 10-2012-0137043
Paper	SCI papers were submitted (2) SCI abstracts will be published (2)
Academic presentation	Presentation on International symposium (4) Presentation on domestic symposium (2)
Publishment of book	'K-diet Best Seller+' book in Korean including healthy weight control program with Korean food diet menu using lotus (Scheduled August in 2013)
Multimedia e-book	Application (Type of 'multimedia e-book') in English, Chinese, Japanese, and Vietnamese (Scheduled in 2013)
Conduction of SNS	Facebook including lotus review, effect of lotus, recipe of low calorie Korean food menu using lotus, and healthy weight control program

Part 2 : Konkuk University Kim, Sung Hoon

I. The title of study

Analysis of nutrient components and their anti-obesity and anti-oxidation effects in ethanol extract of lotus seeds and rhizomes from various areas.

II. The purpose of the study

The purpose of this study was to investigate both 1) the characterization of fatty acids and phytosterols from ethanol extract of Korean lotus seeds and rhizomes and 2) comparison of flavonoids and alkaloids contents in the lotus seeds and rhizomes from various areas.

III. The content and the scope of the study

The materials of lotus used raw seeds and rhizomes from Siheung, raw rhizomes from Muan, Daegu, and Haman, and dried seeds from Muan in Korea; dried seeds from Guangzhou and Hubei and dried rhizomes from Guangxi in China; dried seeds and rhizomes from Vietnam; raw rhizomes from Japan; dried seeds from Thailand.

The Siheung raw lotus seeds and rhizomes were extracted with 95% ethanol and then these ethanol extracts were extracted with hexane (LS95EH and LR95EH). These hexane extracts were subjected to silica gel column chromatography with hexane/diethyl ether followed by hexane/ethyl acetate to yield fractions 1-7. The quality and quantity of fatty acids and phytosterols in the esters and free fatty acids and phytosterols were determined by TLC and GC-MS in the form of trimethylsilyl ester or ether derivative.

Lotus seeds and rhizomes from various areas were extracted with 70% ethanol (LS70E or LR70E) and then lipids in the ethanol extract were isolated with hexane. The residue was suspended in distilled water and centrifuged. Then, the aqueous fraction was subjected to AB-8 macroporous resin column with H₂O, EtOH, and NH₄OH to yield 3 fractions. The contents of flavonoids and alkaloids in residue from centrifuge and EtOH fraction together and NH₄OH fraction were determined by HPLC and GC-MS.

Ethanol extract, hexane extract, and residue fraction from hexane extract were analyzed about DPPH radical scavenging activity, total phenolic and total flavonoid contents

IV. The result

In the hexane extract, linoleic acid, palmitic acid, oleic acid, behenic acid, linolenic acid, arachidic acid, lignoceric acid, and stearic acid were mainly contents of fatty acids in lotus oils. LS95EH contained more fatty acids and sterols than LR95EH. Most of fatty acids existed in the esters of LS95EH and LR95EH. Linoleic acid was more contents than other fatty acids in the total fatty acids and esters. However, palmitic acid was more contents than other fatty acids in the free fatty acids. The content of β -sitosterol in the steryl esters was higher than other sterols in LS95EH although there was a small amount of steryl ester contents. β -Sitosterol, campesterol, and β -amyirin were main free sterol contents in the lotus oils and the content of β -sitosterol was higher than the others.

Vietnam LS70E contained more hydroxybenzic acid, catechin, astragaline, and rutin than other areas. A few of kaempferol was contained in Vietnam LS70E only. On the other hand, Siheung LR70E contained more hydroxybenzic acid, catechin, and rutin than other areas. Isoquercitrin was just contained in Siheung and Muan LR70E. In the alkaloid's study, Siheung LS70E contained

more nuciferine and isoliensinine than other areas. Thailand LS70E contained more dauricine than other areas. About LR70E, Daegu Bong chon-lee's contained more nuciferine and neferine and Japanese contained more dauricine and isoliensinine.

The ethanol extract has capacity in the scavenging efficiency of DPPH radical and inhibitory effect on human adipocyte differentiation.

V. The outcome of the study and further plans

This study was performed to investigate both the qualitative and quantitative characterization of fatty acids and phytosterols in lotus seeds and rhizomes during the extracts of ethanol. The concentrations of flavonoids and alkaloids in lotus have geographical differences. The concentrations of hydroxybenzic acid, catechin, astragalin, rutin, isoquercitrin, and kaempherol as flavonoids contained in lotus seeds and rhizomes were measured by HPLC. The concentrations of nuciferine, dauricine, isoliensinine as alkaloids contained in lotus seeds and rhizomes were measured by HPLC as well.

The further study will be to investigate other bio-functional contents in the lotus and anti-obesity and anti-oxidant effects of ethanol extract, flavonoids, and alkaloids from lotus in *vivo*.

	Contents
Paper	SCI paper was submitted (1) SCI abstracts will be published (1)
Academic presentation	Presentation on International symposium (3)

CONTENTS

Chapter 1	Outline of the Study	21
Section 1	Objectives of the Research	21
Section 2	Needs of the Research	21
	1. Technology Aspect	22
	2. Industry and Economic Aspect	24
	3. Social and Cultural Aspect	27
Section 3	Research Scope	30
Chapter 2	Status of Technology Development at Home and Aboard.....	31
Section 1	Current Reserch Status at Domestic	31
Section 2	Current Research Status at Abroad	33
Chapter 3	Research Content and Results	35
Section 1	A preclinical study of lotus and development of individualized program for healthy weight control program and publicity contents using lotus for globalization of Korean food	35
	1. The study on anti-obesity effect of lotus	35
	2. The study on antioxidant effect of lotus	70
	3. Single oral dose toxicity test of lotus ethanol extract	84
	4. Development of low calorie Korean menu using lotus	89
	5. Development of individualized program for healthy weight control (K-diet) using lotus	110
	6. Low-calorie Korean menu tasting show using lotus for international students living in Korea	119
	7. Development of publicity contents such as book, internet, and SNS for globalization of Korean food	128

Section 2	Analysis and standardization of health functional ingredient of anti-obesity and anti-oxidation effect in lotus	131
1.	Survey on lotus land, lotus-related event and manufactures of Korea and part of China for preparation samples	131
2.	Preparation samples	170
3.	Analysis of health functional ingredient of antiobesity and antioxidant effect in lotus	171
4.	Comparison of health functional ingredient among domestic and abroad (China, Japan, Vietnam, Thailand) lotus	202
Chapter 4	Goal Achievement and Contribution to Related Industries	282
Section 1	Achievements of Goals	282
Section 2	Contribution to Related Industries	283
Chapter 5	Result of the Study and Application Plan	284
Section 1	Patent	284
Section 2	Paper	285
Section 3	Academic Presentation	286
Section 4	Other Application Plan	289
Chapter 6	International Science and Technology Information Gathered in the Process of the Study	290
Chapter 7	References	291
Appendix	296

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	21
제 1 절	연구개발의 목적	21
제 2 절	연구개발의 필요성	21
1.	기술적 측면	22
2.	경제 · 산업적 측면	24
3.	사회 · 문화적 측면	27
제 3 절	연구개발의 범위	30
제 2 장	국내외 기술개발 현황	31
제 1 절	국내 연구 현황	31
제 2 절	국외 연구 현황	33
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	35
제 1 절	세부 과제 연의 건강기능성 규명 전임상 실험과 연 이용 다이어트 한식 메뉴 발굴, 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 (가칭 K-diet) 및 세계화 홍보컨텐츠 개발	35
1.	연의 항비만 건강증진 효과 규명	35
2.	연의 항산화 건강증진 효과 규명	70
3.	연 추출물의 단회투여 독성시험	84
4.	연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 개발	89
5.	연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램(가칭 K-diet) 개발	110
6.	한국 거주 외국인 유학생을 대상으로 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 홍보 및 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 시식회 및 품평회	119
7.	해외 중점 홍보지역(미국, 중국, 일본, 베트남) 세계화를 위하여 책자, 인터넷, SNS 등을 활용한 홍보컨텐츠를 해당언어로 개발	128

제 2 절	협동 과제 연의 항비만 및 항산화 건강기능성 규명 위한 건강기능 (지표)성분 설정 및 원재료의 표준화	131
1.	시료준비를 위한 국내와 중국 일부 연 재배지, 관련 행사 및 제품 조사.....	131
2.	시료준비	170
3.	한식 식재료로 사용되는 연의 부위에서 항비만 및 항산화 건강증진 효과의 건강기능(지표)성분 설정	171
4.	국내와 해외(중국, 일본, 베트남, 태국 등) 연의 재배지역별, 부위별 원재료 표준화	202
제 4 장	목표 달성도 및 관련분야에의 기여도	282
제 1 절	목표 달성도	282
제 2 절	관련분야에의 기여도	283
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	284
제 1 절	특허	284
제 2 절	논문	285
제 3 절	학술 발표	286
제 4 절	기타	289
제 6 장	연구개발과 수집한 해외과학 기술정보	290
제 7 장	참고문헌	291
부 록	296

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 한식의 세계화를 위한 연의 건강기능성 및 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 홍보 콘텐츠 개발		
	(영문) A preclinical study of lotus and development of individualized program for healthy weight control and publicity contents using lotus for globalization of Korean food		
연구 기관	인하대학교 산학협력단	연 구 책 임 자	(소속) 인하대학교 식품영양학과
참여 기관	건국대학교 산학협력단		(성명) 장 경 자
연구 비	계	125,000,000 원	총 연구기간
		2011 년 12월 30 일부터 2012 년 12월 29 일까지 (12 개월)	
참여연구원	16명 (책임연구원: 2 명, 연구원: 4 명, 연구보조원: 7 명, 보조원: 3 명)		
<p>○ 연구개발 목표 및 내용</p> <p>한국 전통음식에서 많이 사용되는 식재료인 연을 사용한 한식 연 메뉴를 다이어트 식품으로 세계화를 위하여 항비만 및 항산화 건강증진효과의 건강기능(지표)성분의 설정 및 원재료 표준화와 전임상 실험을 통해 건강기능성을 규명하고 연을 이용한 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램(가칭 K-diet) 및 다이어트 한식 메뉴의 홍보컨텐츠를 개발하고자 함</p> <p>○ 연구결과</p> <ul style="list-style-type: none"> • 연의 부위 중 연근과 연자육의 효과적인 추출방법을 정립 • 연근과 연자육의 건강기능성분으로 isoliensinine candidate • 국내와 해외 연의 기능성분 및 항산화 효과 비교 • 연근과 연자육 에탄올 추출물은 인간 지방세포의 분화를 억제하였고, 지방세포에 지방축적을 저해하였음 • 고지방식으로 사육한 흰쥐에 연근과 연자육 에탄올 추출물 공급은 체중증가를 유의적으로 낮추었고, 부고환지방과 후복막지방의 무게 및 크기, 혈청 중성지방과 총 콜레스테롤농도를 낮추었음 • 고지방식으로 사육한 흰쥐에 연근 추출물 공급시 혈청 인슐린 농도와 렙틴 농도를 유의적으로 낮추었으며, 연자육 추출물 공급시 렙틴 농도를 낮추는 효과를 보임 • <i>in vitro</i> 항산화 실험인 DPPH 라디칼 소거능, 환원력, 지질과산화 억제작용, ORAC 분석을 통해 연근과 연자육 에탄올 추출물의 항산화 효과를 확인하였음 • 고지방식으로 사육한 흰쥐에 연근과 연자육 추출물 공급시 간의 지질과산화물 축적이 저해되었고, 항산화 효소인 SOD 활성도가 상승하였으며 항산화물질인 GSH 함량도 고지방군에 비해 증가하였음 • 연 추출물의 단회투여 독성시험 결과 연근과 연자육 에탄올 추출물은 ICR mice에서 암수 모두 LD₅₀은 5,000 mg/kg 이상일 것임 			

- 특허기반 연 메뉴인 연잎해물과전을 비롯하여 연자수삼죽, 연만두, 연떡볶이 등 연 이용 다이어트 메뉴 개발
- 비만의 주요원인인 패스트푸드를 대체할 수 있는 연 이용 다이어트 한식 메뉴인 연잎롤을 개발하고 다양한 기호를 반영한 맞춤형 연잎롤 제조방법과 연잎롤용 연잎 가공방법 정립
- 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 개발을 위해 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램을 개발하고 개발된 프로그램에 연을 이용한 다이어트 메뉴를 적용
- 한국 거주 외국인 유학생을 대상으로 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 시식회, 품평회 개최
- 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램이 포함된 'K-diet Best Seller+' 한국어 책자 제작 (2013년 7월 출간 예정)
- 'K-diet Best Seller+'를 영어, 중국어, 일어, 베트남어로 번역하여 multimedia e-book인 앱 형태로 제작 (2013년 출시 예정)
- 홈페이지 기능도 하면서 쉽게 update 가능한 Facebook을 구축하여 전통 식재료인 연의 소개, 연의 건강증진 효과, 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 recipe, 건강한 체중조절 프로그램 등(K-diet Best seller+) 등을 소개하고 국제적인 다이어트 체험공유 및 자조모임 홈페이지로 활용
- ○ 연구성과 및 성과활용 계획
 - '연자육 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환 예방 및 치료용 조성물' 특허 출원 (출원번호: 10-2012-0126789)
 - '연잎을 이용한 연잎롤 제조방법과 연잎롤용 연잎 가공방법' 특허 출원 (출원번호: 10-2012-0137043)
 - 3편의 SCI 초록 게재 예정 및 3편의 SCI 논문 투고
 - 국내외 국제 학술대회 발표 (국내 2, 국제 7)
 - 연을 이용한 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램의 내용이 포함된 한국어 책자 발간 (2013년 7월 출간 예정)
 - 영어, 중국어, 일어, 베트남어로 번역된 multimedia e-book을 앱 형태로 출시 (2013년)
 - Facebook을 이용한 SNS는 기존 한식의 세계화 사이트와 유튜브 연계 통해 전통 식재료로서의 연과 연 이용 다이어트 한식 메뉴의 지속적인 홍보에 도움을 주고, K-diet시 체험공유 및 자조모임 결성에도 도움을 줌
 - 개발된 메뉴는 결식아동과 독거노인을 돕는 사회적 기업인 '행복을 나누는 도시락'에 연잎롤과 연근샐러드 등을 판매할 예정이고, 산학협력 선도대학 (LINC) 인하대의 전담교수와 협력하여 제품화 및 상품화가 진행될 예정임

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

한국 전통음식에서 많이 사용되는 식재료인 연을 사용한 한식 연 메뉴를 다이어트 식품으로 세계화를 위하여 항비만 및 항산화 건강증진효과의 건강기능(지표)성분의 설정 및 원재료 표준화와 전임상 실험을 통해 건강기능성을 규명하고 연을 이용한 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램(가칭 K-diet) 및 다이어트 한식 메뉴의 홍보컨텐츠를 개발하고자 함

제 2 절 연구개발의 필요성



1. 기술적 측면

- 한국의 전통음식 식재료 중의 하나인 연(*Nelumbo nucifera*)은 연못이나 깊은 논에서 재배되는 수련과 연속의 다년생 초본 식물로 연근, 연잎, 연자(육), 연꽃 등은 식용, 약용 및 관상용으로 쓰여지고 있음



Fig. 1-1 연의 부위별 이용 형태

- 연은 제초제와 농약을 사용하지 않고 재배할 수 있는 환경친화적 작물이고 수질정화 능력도 우수해 저탄소 녹색성장에도 기여할 **에코(Eco) 푸드**임
- 한방에서 연은 비(脾)와 신(腎)의 기능을 보강하며 설사, 두통, 어지럼증, 토혈이나 코피 등 출혈증, 산후어혈 치료, 야뇨증, 해독작용에 쓰였고, 동의보감, 본초강목 등에서 각종 출혈성 질환, 빈혈, 소화기 계통의 질환에 매우 좋은 것으로 기록되어 있음
- 연근의 주성분은 탄수화물로 식이섬유소가 풍부하여 장내의 활동을 촉진시키고 체내 콜레스테롤 수치 저하, 상처부위 수렴시켜 지혈, 혈관벽 강화 효과 있음. 또한 칼륨의 함량이 높아 고혈압에 도움을 주고, 복합단백질인 뮤신은 위벽보호, 해독작용 등을 하며 최근 **항산화, 항비만, 당뇨병성 신증, 항 동맥경화, 항 스트레스, 뇌기능 개선 등의 다양한 기능성 효과가 국내외에서 보고되고 있음**
- 연은 모든 음식에 궁합이 맞고 곡류, 육류, 어류, 산채류, 음료류 등 함께 조리되는 모든

재료의 특성을 살려주면서 맛은 한층 순하고 부드럽게 하고 영양을 극대화하는 역할을 하므로 음식의 재료뿐 아니라 천연조미료, 건강기능성 식품으로 개발가능성이 무궁무진함

- 연은 성분이나 효능에서 우수한 것으로 알려져 있으나 이를 과학적으로 입증할 전임상 실험 등의 체계적인 연구 자료가 미흡하고 생산 지역에 따라 성분 편차가 있을 가능성이 높으므로 대외 공신력 있는 데이터 확보를 위해서는 건강기능(지표)성분의 설정, 원재료의 표준화가 시급함
- 유엔(UN)은 21세기 새로운 보건 정책 목표로 심혈관질환, 암 등 만성질환을 설정하였고, 2005년 세계보건기구(WHO)는 ‘만성질환 글로벌 보고서’에서 “심장병, 뇌졸중, 암, 당뇨병 등 만성질환으로 한 해 3500만명이 죽어가고 있다”며 “이는 전체 사망자의 60%에 해당한다”고 밝힘



Fig. 1-2 만성질환 관련 신문 보도 (2011. 9. 16. 조선일보)

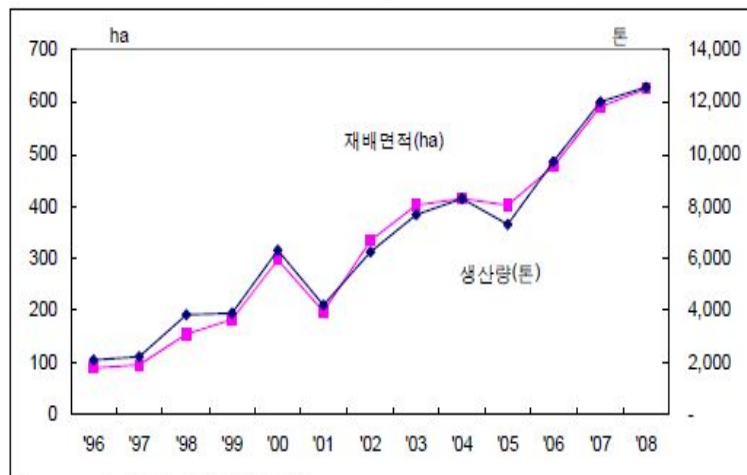
- 현재 세계 약 10억명이 과체중 또는 비만인 상태이고, 랜싯 보고서에 의하면 1억명 수준인 미국 비만 인구도 20년 뒤에는 6500만명 더 늘어나 미국 인구의 절반을 웃돌 것이라 예상하였으며, 런던에서 열린 랜싯 보고서 발표회에서 호주의 스윈번 교수는 “1970년대 이후 비만이 급증한 것은 언제나 쉽게 구할 수 있는 이미 조리된 식품과 패스트푸드가 주요인”이라고 지적함
- 우리나라도 소득수준의 향상과 식생활 습관의 서구화로 비만인구가 급증하고 있어 1995년 국민영양 건강조사 자료에 의하면 BMI 25이상의 비만인구가 14.8%로 서구 선진국에 비해 낮았으나 1998년, 2001년, 2005년, 2009년의 국민건강영양조사에 의하면 19세 이상의 성인의 비만은 26.0%, 29.2%, 31.3%, 31.3로 증가함
- 세계적으로 웰빙, 건강식에 대한 관심이 높아지면서 저열량식인 한식이 부각되고 있어 한

식세계화를 위한 사회적 분위기가 조성되고 있고, 2004년 세계보건기구(WHO)에서는 한식을 영양적으로 균형 잡힌 모범식으로 선정하였음

- 2010년 ‘한식과 비만 관련 대사질환에 관한 연구’에 의하면 한식이 서양식에 비해 비만관련 대사질환에 우수한 효과가 입증되었고, 영국 파이낸셜 타임스지도 ‘가공음식으로 인하여 비만이 증가하는 현대 사회에서 한국 음식은 적절한 영양적 균형을 보여주는 모범적인 사례’로 소개함

2. 경제 · 산업적 측면

- 연은 크게 백련과 홍련으로 나뉘는데 한국에서 전라남도 무안, 보성, 함평은 백련을, 경상북도 대구, 함안, 고령, 상주 등은 홍련으로 집중되고 있고, 연 재배면적은 2008년 기준 625ha로 2001년 197ha보다 약 3.2배 늘어났고 현재 우리나라 연 시장 규모는 400억원대로 추정됨



자료: '08년 채소류 생산실적(농림부)

Fig. 1-3 국내 연 재배면적과 생산량 추이

- 연꽃의 관상가치로 인해 전라도의 무안, 보성, 김제, 전주, 경기도의 강화, 남양주, 시흥, 충청도의 부여에서 연꽃축제가 열리고 있고, 반찬용, 가루, 음료 등의 단순 가공품부터 차, 막걸리, 국수, 두부 같은 가공식품 등으로도 활용가치가 높아 다양한 가공식품들이 개발되고 있는 추세임



Fig. 1-4 국내에서 생산되고 있는 연 부위별 가공식품








연 부위	음식 종류
연근	<ul style="list-style-type: none"> • 주식류 (밥, 죽, 면류, 국류)  • 부식류 (김치, 반찬류)  • 후식류 (떡, 빵, 음료류) 
연잎	<ul style="list-style-type: none"> • 주식류 (밥, 죽, 면류, 국류)  • 부식류 (김치, 반찬류)  • 후식류 (떡, 빵, 음료류) 
연자	<ul style="list-style-type: none"> • 주식류 (밥류) • 후식류 (장식용) 
연꽃	<ul style="list-style-type: none"> • 후식류 (음료류) 

Fig. 1-5 연 이용 한식 메뉴

- 연잎, 연근 등은 밥, 죽, 면 등 주식부터 조림, 전, 튀김, 김치에 이르기까지 다양하게 이용되고 있고, 지역별 연꽃 축제시 진행되는 연 요리 경연대회를 통해 그 범위는 확대되고 있는 실정임
- **중국**에서는 1999년 무한 채전구에서 연을 주요 농산업으로 규정하면서부터 연 재배지에 대해 통합적으로 관리하고 있고, 연 제품만을 전문적으로 취급하는 “연화호 그룹”을 설립하였으며 2001년 연근재배를 중점 산업화 농산품으로 분산해 주변지역 재배면적이 빠르게 확대되고 있음
- **남부지방을 중심으로 연근, 연잎, 연자(육)를 이용한 요리가 폭넓게 발달되어 있으나** 가공 제품은 연근을 이용한 1차 가공 절임류가 대부분이며, 통조림으로 제조하여 판매하는 제품이 주류임. 연잎, 연꽃에 대한 활용성은 아직 초기단계 수준이며 약용 성분을 충분하게 이용하지 못해 가공공장의 규모가 작으며, 수공업 위주로 기계화 정도가 낮은 수준임.
- 중국의 연 수출은 연근과 연자(육)가 대부분이며 미국, 일본, 캐나다, 싱가포르, 태국, 네덜란드, 한국 등으로 하고 있음. 최근 한국산 연근 kg당 가격은 1,900원 수준으로 중국산 1,300원보다 높아 중국산의 국내 수입량은 증가할 것으로 보임
- **일본**은 1970년대부터 국가 정책사업인 쌀 대체작목으로 연 재배를 유도하였으나 농가인구의 고령화와 연근의 소비부진, 가공연근의 수입 증가로 연 재배면적은 매년 감소추세에 있음(1990년 5,860ha --> 2008년 4,010ha).
- 일본의 연 소비 형태를 보면 일상적 소비는 많지 않지만, **연근을 먹으면 여러 개의 구멍을 통해 앞날을 볼 수 있는 지혜의 눈을 갖는다고 하여 ‘오세치 요리’(설날에 먹는 특별 음식인 ‘국물이 없이 만든 것으로 찬합에다 오세치 요리를 차곡차곡 쌓아놓고 끼니때마다 혹은 손님을 접대할 때마다 꺼내 먹는 요리)로 가장 많이 소비되고 있음.** 가공품으로는 절임용 반찬과 면, 차, 분말, 칩, 절임 형태 등으로 가공하여 판매되고 있음
- 현재까지 연근을 이용한 산업이 대부분이며, 일부 연자(육)와 연잎을 이용한 차 생산에만 치중하고 있을 뿐 연의 기능성 실험 등은 체계적으로 이루어지지 않고 있는 실정임
- 최근 연꽃을 국화로 지정한 **베트남**은 WTO 가입 등으로 국제화가 급진전되고 있으며 매우 빠른 경제 발전 속도로 아시아 최빈국에서 신흥 유망시장의 대표주자로 급부상하고 있음. 30대 이하 인구비중이 60% 이상으로 젊은 소비시장을 형성하고 신흥 부유층 부상과 도시 지역 소득향상에 따른 소비패턴의 고급화가 매우 빠른 속도로 진행되고 있음.
- 빵 한 조각에도 햇빛이 들어 있고 예수님과 부처님은 한 형제라고 설파한 베트남의 승려이자 불교계의 정신적 지도자인 틱낫한 스님은 어린 시절 연근과 연밥으로 배고픔을 달랬

으며, 베트남 어린아이들은 연밥이나 연근을 설탕에 버무린 과자를 즐겨 먹고, 수프를 비롯하여 **연밥과 연근을 재료로 하는 요리도 수십여 가지에 달함**

- 현재 한국과의 활발한 경제협력으로 많은 한국기업이 진출하여 있고 베트남 여성들도 한국에 많이 들어와 있으며 한국과의 교류가 가장 활발한 나라 중 하나로 한식이 진출할 수 있는 가능성이 큰 나라임

나라	음식	가공식품
중국		
일본		
베트남		

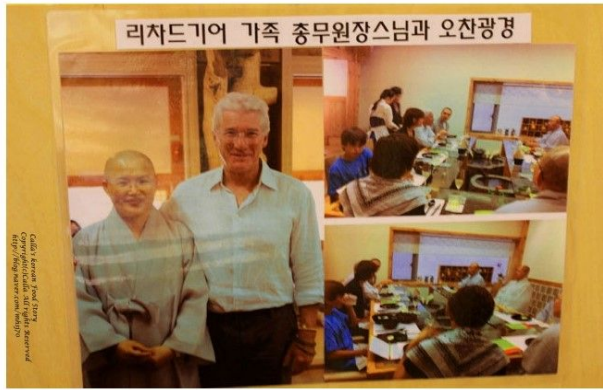
Fig. 1-6 중국, 일본, 베트남의 연 이용 음식과 가공식품

3. 사회·문화적 측면

- 최근 **미국과 유럽** 등지에서는 확산되고 있는 선불교와 명상의 영향으로 사찰음식에 대한 관심이 높아지고 있으며 ‘웰빙’, ‘로하스’, ‘채식’ 같은 단어들이 건강 키워드로 떠오르면서 많은 외국인들이 이미 한국을 찾아 사찰음식의 매력에 빠지고 있음.
- 종교적 이념을 넘어 건강식으로서 **소울푸드(Soul food)**이자 **슬로우푸드(slow food)**로 각광받고 있어 일반인들도 가까이 하고 싶어하는 전통식단으로 자리잡았으며, 믿을 수 있는 **건강한 먹을거리를 찾는 현대를 살아가는 외국인들의 니즈(needs)**에도 맞춤
- 미국 내 소비트렌드로 확산되고 있는 **건강장수(staying alive)**현상과 **다운에이징(down aging)**현상은 단순한 삶의 길이가 아닌 삶의 질에 포커스를 맞추는 경향으로 변하여 육체적인 건강과 정신적인 건강을 유지하면서 장수를 추구하는 경향이 뚜렷해짐

- 건강한 패스트푸드로서 연잎밥은 이미 (주)산사애를 통해 영국으로 수출을 성공한 사례처럼 불고기와 김치, 비빔밥으로 한정되고 있는 한식을 다양화하는 노력이 요구됨

사찰음식에 매료된 리차드 기어
 미술랭(레스토랑 평가서·별 셋이 최고등급)★★★ 요리사 ‘바르보’의 사찰음식 예찬



프랑스인의 오감을 사로잡은 사찰음식
 산사애 연잎밥 영국 시작으로 세계시장 공략



- 한식의 세계화를 위해서는 한국음식이 건강식이라는 단순한 논리로만 접근해서는 안되고, 노-후(know-who)를 바탕으로 건강식의 메시지를 실을 수 있는 음식을 발굴하여 음식자체를 커뮤니케이션의 대상으로 만들고 세계의 외식시장에 홍보 판매하는 프로세스가 마련되어야 함
- 한식을 세계의 외식시장에서 커뮤니케이션의 대상으로 만들기 위해서는 음식자체가 국제적인 언어가 되어야 하는데, 조리방식, 제공방식, 양념 정도 등을 국제적인 코드에 가깝도록 만들어 한식이라는 커뮤니케이션의 대상에 거부 반응을 줄여야 함

- 한국음식=건강식=세계화 라는 등식으로 정착하기는 한계가 있으므로 **다이어트 음식**이라는 메시지를 담아 국제적인 언어로 세계의 외식시장에 내놓아서 **한식을 차별화하고 비만의 원인이 되는 패스트푸드를 대체하는 한식 전통 메뉴를 발굴하여 홍보할 수 있음**
- 중국, 일본, 베트남 등은 농경문화를 바탕으로 하는 음식문화와 역사적 배경, 정서적인 부분에 있어 한국과 비슷한 점이 많고, 미국과 유럽 등은 한국 전통 사찰음식의 건강 식재료로 연에 관해 모두 우호적인 정서를 갖고 있으므로, **한식의 전통과 다이어트 음식**이라는 기능적 우수성을 부각시키면서 세계인의 기호를 충족시켜 주고 한국의 문화와 정신이 담긴 현대적 감각의 한식 메뉴를 개발하여 표준화한다면 훌륭한 한식 세계화가 되리라 사료됨
- 한식 세계화는 대상이 외국인이고, 한식 전통성 유지와 세계인의 입맛에 맞는 변형이라는 과제를 동시에 가지고 있으므로 다문화주의(multiculturalism)적 관점에서 한국 전통문화와 새로운 음식문화의 접목을 통해 한식을 세계화해야 함
- 한식에 대해 알리는 것은 한식을 전파하는 현지인에 대한 교육이나 홍보가 선행되어야 하는데 **현재 국내에서 유학중인 외국 유학생은 20대 이상 젊은 층이 대부분이라 교육이나 홍보시 그 효과가 크고 본국으로 돌아갈 경우 파급효과도 클 수 있으므로 이들을 대상으로 연 이용 다이어트 한식 메뉴 요구도와 관능평가, 연 이용 다이어트 한식 메뉴 홍보 및 품평회 등의 개최는 한식의 현지화에 저비용·고효율적인 홍보효과를 기대할 수 있음**
- 이에 본 연구에서는 현대사회의 화두인 비만과 관련하여 여러 가지 가능성이 우수한 한국 전통 식재료 중 하나인 연을 사찰음식의 건강성과 연결하여, 다이어트에 이용하기 좋고, 외국인의 기호에도 맞는 음식을 발굴하고, 이를 **다이어트 연 음식을 이용한 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램(가칭 K-diet, 최근 K-pop이 세계적으로 젊은 층에서 인기인 것에 착안해서)과 함께 포장하여 홍보컨텐츠를 마련하고자 함**
- 본 연구에서 수행하는 연의 항비만 및 항산화효과 규명 인체적용 시험 결과를 국제학술발표로 알리는 동시에 연 이용 메뉴의 우수성과 건강식을 홍보하는 과학적인 근거로 활용하면서 스토리텔링, 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램(가칭 K-diet)을 결합하여 책자, 인터넷, SNS 등의 다양한 홍보컨텐츠를 만들고 해외 중점 홍보지역(미국, 중국, 일본, 베트남)의 해당 언어로 번역하여 세계화하고자 함

제 3 절 연구개발의 범위

연의 건강기능성 규명 전임상 실험과 연 이용 다이어트 한식 메뉴 발굴, 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 (가칭 K-diet) 및 세계화 홍보컨텐츠 개발 (세부과제)

- 주로 식용으로 사용되는 연의 부위 중 전임상 연구가 필요한 연근과 연자육의 항비만 및 항산화 건강증진효과 기능성 규명
- 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 발굴을 위한 한국 거주 외국 유학생 대상 포커스 그룹 요구도 조사 및 관능평가 등 실시
- 비만의 주요원인인 패스트푸드를 대체할 수 있는 연이용 다이어트 메뉴의 개발 및 발굴
- 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 개발
- 해외 중점 홍보지역(미국, 중국, 일본, 베트남)에서 세계화를 위하여 책자, 인터넷, SNS 등을 활용한 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램과 다이어트 한식 연 메뉴의 홍보컨텐츠를 해당 언어로 개발

연의 항비만 및 항산화 건강기능성 규명 위한 건강기능(지표)성분 설정 및 원재료의 표준화 (협동과제)

- 주로 식용으로 사용되는 연의 부위에서 항비만 및 항산화 건강증진 효과의 건강기능(지표)성분 설정
- 국내와 해외(중국, 일본, 베트남, 태국 등) 연의 재배지역별, 부위별 원재료 표준화

제 2 장 국내외 연구 현황

제 1 절 국내 연구 현황

종 류	연구 내용
연 근	연근은 과당으로 유도된 고혈압 흰쥐의 사구체 여과율을 개선 (Park <i>et al.</i> , 2005)
	연근 추출물은 SD rat의 국소 뇌혈류량을 증가시켰고, 혈압 강하 작용을 보임 (Park <i>et al.</i> , 2005)
	연근 추출물은 고지방 식이의 흰쥐에 있어 혈청 지질 profile을 개선시키는데 효과가 있음 (Park <i>et al.</i> , 2005)
	조릿대, 연근과 연잎에 인슐린 민감성 물질이 함유되어 인슐린 작용을 향상시킴 (<i>in vitro</i> 실험) (Ko <i>et al.</i> , 2006)
	연근 에탄올 추출물은 <i>in vitro</i> 에서 HMG-CoA reductase 활성을 농도 의존적으로 저하시킴, <i>in vivo</i> 에서 고콜레스테롤 혈증 및 지방간의 예방과 치료에 효과 보임 (Lee <i>et al.</i> , 2006)
	연근 추출물은 <i>in vitro</i> 항산화 실험에서 항산화 활성을 나타내는 생리활성 성분이 존재함 (Lee <i>et al.</i> , 2007)
	고지방식이를 먹인 쥐에게 타우린과 함께 공급한 연근 추출물은 항산화와 간기능 보호효과를 보임 (Du <i>et al.</i> , 2010) 본 연구책임자
	연근 추출물을 함유하는 대사성 질환 예방 및 치료용 조성물(2010년, 본 연구책임자 특허 출원, 출원번호 10-2010-0015502)
연 잎	고지혈증 감응성이 높은 Bio F1B hamster에서 연잎 추출물의 지질 저하작용을 검토한 결과 혈청과 간 조직에서의 콜레스테롤 수치 저하 및 동맥 내 지방축적 감소 효과 보임 (Kim <i>et al.</i> , 2005)
	연잎에서 DPPH radical 소거능을 가진 페놀성 화합물 분리함 (Park <i>et al.</i> , 2007)
	연잎 추출물 당뇨예방 및 치료 효능을 갖는 약화조성분 제조 (2008년, 목포대, 출원번호 10-2008-0019675)
	건조한 연잎을 분석한 결과 탄수화물 63.8%, 단백질 16.9%, 지질 1.0%, 조회분 9.3%였고, 칼슘의 함량이 녹차에 비해 20 배 이상 높음. 총 페놀 함량과 free radical 소거능 측정, 추출 수율로 볼 때 70% 에탄올 추출물이 가장 우수함 (Lee <i>et al.</i> , 2008)
	연잎 추출물은 매우 높은 항산화 효과가 있으며 세포 내 산화적 DNA 손상을 효

	과적으로 억제함 (Kim and Park, 2010)
	연잎에서 정제한 식이섬유의 항비만효과를 임상 시험한 결과 정상성인 연구에서는 항비만 효과가 보였으나 비만성인연구에서는 체지방량, 체지방률 등 비만지표의 유의한 감소 없었음(목포대 보고서, 2010)
	고지방식이를 먹인 쥐에게 타우린과 함께 공급한 연잎 추출물은 항비만 효과와 혈중지질 저하 효과 보임 (Du <i>et al.</i> , 2010)
	고지방식이와 병행 섭취한 연잎 추출물은 흰쥐의 혈청 및 간조직 지질 함량을 낮추는 효과 있음 (Lee and Lee, 2011)
	연잎 추출물 및 타우린을 함유하는 대사성 질환 예방 및 치료용 조성물 (2012년, 본 연구책임자 특허 등록, 등록번호 10-1176435)
	연잎은 DNCB 유도에 의한 아토피성 피부염 유발 NC/Nga mice 실험계에서 아토피피부염 개선 작용 뚜렷하고, skin severity에서 조직학적 개선작용을 나타내고 가려움증 개선(Karki <i>et al.</i> , 2012)
연꽃	백련 중 ‘가람’, ‘백화건련’, ‘승달’의 꽃과 잎의 열수추출물은 8종의 균에 항균작용이 있음 (Park <i>et al.</i> , 2008)
	연꽃 추출물은 활성산소종인 glucose oxidase로 손상된 배망 C6 Glioma 세포에 항산화 효과 있음 (Oh, 2010)
연자(육)	연자육 에탄올 추출물은 간 보호 효과 및 free radical 소거능 있음 (Sohn <i>et al.</i> , 2003)

제 2 절 국외 연구 현황

종 류	연구 내용
연근	Streptozotocin 유도 당뇨쥐에 연근 추출물 투여시 혈당 감소, 당내성 향상, 주입된 인슐린의 활성 강화시킴(Mukherjee et al., 1997)
	연근에서 다양한 추출물의 항산화효과를 비교한 결과 추출용매는 추출수율, 페놀함량, 항산화능력에 영향을 미침 (Yang et al., 2007)
	다양한 식물의 항산화 효과 중 연근이 가장 좋았고, 연근 추출물에서 항산화 효능이 있는 tryptophan을 분리함 (Jiang et al., 2010)
	Polyphenol이 풍부한 연근 추출물을 db/db mice에게 공급시 간의 중성지방 침착 개선 (Tsuruta et al., 2011)
	연근에서 추출된 L2f-2와 L2f-3, LB2는 항균효과와 면역조절 활성을 가지고 있어 HIV-1 약 개발이나 치료에 응용될 수 있음(Jiang et al., 2010)
연잎	연잎의 methanol 추출물은 ROS-유도 cytotoxicity에 대한 농도의존적 보호효과 있음 (Wu et al, 2003)
	고지방식으로 유도한 mice에게 연잎 추출물의 공급은 지방과 탄수화물의 흡수를 저해하고 지방대사와 에너지 소비를 상승시켜 항비만 효과 보임(Ono et al, 2006)
	연잎 열수 추출물은 급성 및 만성 stress model에서 생화학적, 조직학적, 생리학, 면역적 문제를 적응시키는 능력을 가짐 (Kulkarni and Juvekar, 2008)
	연잎의 flavonoid 중 Qc-3-Glc과 Qc-3-Gln은 rat lens aldose reductase 저해 효과를 가졌고, 연잎의 flavonoid는 당뇨 합병증과 산화적 스트레스 관련 질병들에 치료 및 보호 효과를 가짐 (Jung et al., 2008)
	연잎의 메탄올 추출물에서 6개의 flavonoid, quercetin, rutin, quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside, quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside, quercetin 3-O-β-D-glucuronide, quercetin 3-O-α-
	고지방식으로 고지혈증, 고콜레스테롤혈증, 지방간이 유도된 햄스터에게 flavonoid가 풍부한 연잎추출물의 공급은 지질저해제인 silymarin과 simvastatin이라는 약을 먹었을 때 만큼 혈청 지질수준과 간 손상을 저하시킴 (Huang et al, 2009)
	연잎에서 분리한 7가지 flavonoid는 강력한 DPPH 소거능, LDL oxidation 저해능을 가짐 (Lin et al, 2009)
	연잎 추출물은 LDL oxidation과 혈청 지질을 저하시키고 cardiovascular 보호 효과를 가짐 (Lee et al, 2009)

	<p>연잎 추출물은 alloxan 유도 당뇨쥐에서 혈당과 혈청지질 감소 효과 보임 (Zhou <i>et al.</i>, 2009)</p>
	<p>고지방 식이로 유도한 비만 C57BL/6 mice에게 flavonoid가 풍부한 연잎 추출물의 공급은 fatty acid synthase(FAS), glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase의 활성을 감소시키고, 간에서 AMP-activated protein kinase의 phosphorylation을 증가시켜 항비만 효과를 보임 (Wu <i>et al.</i>, 2010)</p>
	<p>연잎과 보리의 메탄올, 에탄올 추출물의 항산화 효과를 비교한 결과 연잎 메탄올 추출물이 다른 것에 비해 phenol 함량, 플라보노이드 함량, 항산화 활성이 가장 높았음 (Choe <i>et al.</i>, 2010)</p>
	<p>연잎 추출물의 alkaloid 성분은 3T3-L1 preadipocyte 세포의 증식을 저해하고, 농도의존적으로 세포의 사멸을 증가시킴, 고지방식이로 유도한 비만 SD 쥐의 몸무게, 지방조직 무게, 지질농도도 저하시킴(Bin <i>et al.</i>, 2011)</p>
	<p>연잎 추출물과 추출성분 중 catechin은 농도의존적으로 인슐린 분비를 강화시킴 (Huang <i>et al.</i>, 2011)</p>
	<p>Flavonoid가 풍부한 연잎 추출물은 유방암의 <i>in vitro</i>와 <i>in vivo</i> 실험에서 모두 항종양 효과(Yang <i>et al.</i>, 2011)</p>
	<p>연잎 추출물은 isoproterenol로 유도한 myocardial infaction 쥐에서 cardioprotective effect 가짐 (Subashini <i>et al.</i>,2012)</p>
연자(육)	<p>연자육의 항산화 효과와 human lymphocytes에서 DNA 손상에 대한 보호효과 있음 (Yen <i>et al.</i>, 2005)</p>
	<p>연자육 추출물은 과도하게 증가한 nitric oxide를 제거하는 작용을 함 (Yen <i>et al.</i>, 2006)</p>
	<p>연자육 추출물은 <i>in vitro</i> 와 <i>in vivo</i> 실험에서 모두 항산화 효과를 보임 (Rai <i>et al.</i>, 2006)</p>
	<p>연자로부터 분리한 neferine은 공복혈당, 인슐린, TG, TNF-α를 감소시켜 인슐린 민감도를 강화시킴 (Pan <i>et al.</i>, 2009)</p>
	<p>Streptozotocin으로 유도된 당뇨쥐에서 연자육의 무기성분은 혈당강하 효과 보임 (Mani <i>et al.</i>, 2010)</p>
연꽃	<p>연꽃에 있는 alkaloids, phenols and flavonoid는 항산화, 항균활성 보임 (Venkatesh and Dorai, 2011)</p>

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연의 건강기능성 규명 전임상 실험과 연 이용 다이어트 한식 메뉴 발굴, 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 (가칭 K-diet) 및 세계화 홍보컨텐츠 개발 (제 1 세부)

1. 연의 항비만 건강증진 효과 규명

가. 연구 방법

(1) *in vitro* (생체의 실험)

연의 지방세포 분화에 대한 억제효과를 확인하기 위하여 인간 지방전구세포 (human preadipocyte)를 지방세포 (adipocyte)로 분화유도하면서 연근과 연자육 에탄올 추출물, 연근과 연자육으로부터 분리한 기능성분들을 농도별로 처리하여 지방세포 분화 억제 효과를 비교하였다. 연근과 연자육은 경기도 시흥에서 구입하였으며, 각 추출물과 분리된 기능성분은 협동과제 측으로부터 공급받았다.

(가) Human preadipocyte 배양

인간 지방전구세포 (Cell Applications Inc., San Diego, CA, USA)를 지방전구세포 배양 배지 (preadipocyte growth medium) (Cell Applications Inc., San Diego, CA, USA)를 이용하여 6-well plates에 세포를 2 ml (1.8×10^5 cell/well in 2ml of medium) 씩 분주하여 confluent 상태가 될 때까지 37°C, 95% 산소, 5% 이산화탄소가 공급되는 세포배양기에서 배양하였다. 배양된 지방전구 세포는 분화를 위해 지방세포 분화 배지 (adipocyte differentiation medium)(Cell Applications Inc., San Diego, CA, USA)로 바꾸어 2주 동안 배양하였다. 지방세포로 분화유도 하면서 연근 추출물 (0, 25, 50, 100, 200 µg/ml), 연자육 추출물 (0, 25, 50, 100 µg/ml)과 연근과 연자육으로부터 분리한 성분들(0, 1, 5, 25, 125, 625 µM/ml)을 농도별로 처리하여 지방세포 분화 억제효과를 확인하였다.

(나) Oil red O 염색

분화가 완료된 지방세포에 Oil red O 염색을 통해 지방 축적의 여부를 확인하였다. 세포 배양액을 버리고 10 % formaldehyde 용액으로 1시간 동안 고정시킨 후, oil Red O

(Sigma, St. Louis, MO, USA)가 있는 60% isopropanol 용액으로 20분 동안 염색하였다. 염색된 세포는 세포질내 붉은색 과립이 있는 세포를 분화된 지방세포로 간주하고, 현미경 (Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰 후 사진 촬영하였다. 또한, 염색된 Oil Red O 를 isopropanol 용액으로 녹여내어 Emax microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용해서 500 nm에서 optical density (OD)를 측정하였다. 결과는 대조군을 100으로 하여 처리군 OD 값의 백분율로 나타내었다.

(다) RNA 분리와 reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

연 추출물의 지방 형성 관련 유전자 발현 억제효과 확인하기 위하여 연 추출물을 농도 별로 처리한 분화된 지방세포에서 RT-PCR방법 (TAKARA cDNA 합성 키트)을 사용해서 지방 형성 관련 유전자 발현정도를 비교하였다. 연 추출물을 농도별로 처리한 분화된 지방 세포를 trizol (Invitrogene, Carlsbad, CA, USA)시약을 이용해 총 RNA를 추출하였다. 추출된 총 RNA는 random 9mers 를 사용해서 첫 번째 가닥 cDNA를 역전사했고 (95 °C for 5 분, 42 °C for 60 분, 72 °C for 10 분), cDNA는 유전자 특이적 프라이머를 사용해서 PCR (28 cycles for ppar- γ at 95 °C for 45 s, 55 °C for 45s, and 72 °C for 45 s, 35 cycle for leptin at 95 °C for 45 s, 59 °C for 45 s, and 72 °C for 45 s, 35 cycle for GLUT4 at 95 °C for 45 s, 62 °C for 45 s, and 72°C for 45 s)로 PPAR- γ , Leptin, GLUT4 유전자를 증폭했다. 증폭된 1 μ g의 cDNA를 Table 1-1에 기재된 프라이머 (primers)를 이용하여 PCR 반응시킨 후 1.5% 아가로스 겔 (agarose gel)에 전기영동하였다. 염색은 ethidium bromide로 하였으며 Bio-Rad universal hood II (Bio-Rad Laboratories, Segrate, Italy)에서 확인하였다.

Table 1-1 Sequences for primers set by RT-PCR

Gene name	Primer Sequences	
	Forward	Backward
PPAR- γ	TCGGTTTCAGAAATGCCTTG	AGGTCAGCGGACTCTGGATT
Leptin	CGCAGTCAGTCTCCTCCAAA	GGTTCTCCAGGTCGTTGGAT
GLUT4	TGGCTGAGCTGAAGGATGAG	CCAACAACACCGAGACCAAG
β -actin	TCATGAGGTAGTCAGTCAGG	CTTCTACAATGAGCTGCGTG

(라) Adipokines 측정

아디포카인 (Adipokine)은 지방세포에서 분비되는 cytokine이란 뜻으로 인슐린 감수성에 영향을 미치며, 지질대사, 면역기능, 염증반응 등 대사질환과 밀접한 관련이 있고, adiponectin, leptin, IL-6, IL-8 등이 여기에 속한다. 지방세포에서 분비한 아디포카인의 농도를 측정하기 위하여 배양액을 수거하여 아디포카인의 농도를 측정하였다.

분화시킨 지방세포 (1.8×10^5 cell/well in 2ml of medium)를 6-well plate에 serum free media로 연 추출물을 공급하며 일주일간 배양한 후 배양액을 수거하여 adiponectin, leptin, IL-6와 IL-8을 측정하였다. 또한 비만은 만성염증 상태이므로 IL-1 β 를 첨가하여 염증상태를 유발하며 연 추출물을 공급한 후 분비된 adiponectin, leptin, IL-6와 IL-8 농도를 측정하였다.

Adiponectin과 leptin은 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) kit (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하였다. 측정 하루 전, 희석한 capture antibody를 96 well에 100 μ l씩 넣고 다음 날 washing buffer로 3회 세척하였다. Reagent diluent를 300 μ l씩 넣고 1시간 blocking 시킨 후 3회 세척하였다. Sample을 100 μ l씩 넣고 2시간 반응 시키고 3회 세척 후 detection antibody를 각 well당 100 μ l씩 넣었다. 상온에서 2시간 반응시킨 후 3 회 세척한다. Streptavidin-HRP working solution을 100 μ l씩 넣은 후 상온에서 20 분 동안 반응시키고 3 회 세척하였다. 100 μ l씩의 substrate solution을 넣고 빛을 피해서 상온에서 20 분 동안 발색시킨 후 stop solution 50 μ l로 발색을 중지시켜 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. Standard를 단계적으로 희석하여 측정한 흡광도로 표준 곡선을 만들었으며 adiponectin은 ng/mL로, leptin은 pg/mL로 나타내었다.

IL-6와 IL-8은 ELISA kit (BD Biosciences, San Diego, CA, USA)를 이용하였다. 측정 하루 전, 희석한 capture antibody를 96 well에 100 μ l씩 넣고 4 $^{\circ}$ C에서 보관 후 다음 날 washing buffer로 3 회 세척하였다. Assay diluent를 300 μ l씩 넣고 1시간 blocking 시킨 후 3 회 세척하였다. Sample을 100 μ l씩 넣고 2시간 반응 시키고 3회 세척 후 detection antibody를 각 well당 100 μ l씩 넣었다. 상온에서 1 시간 반응시킨 후 3 회 세척하였다. 100 μ l씩의 substrate solution을 넣고 빛을 피해서 상온에서 20 분 동안 발색시킨 후 stop solution 50 μ l로 발색을 중지시켜 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. Standard를 단계적으로 희석하여 측정한 흡광도로 표준 곡선을 만들었으며 IL-6와 IL-8은 pg/mL로 나타내었다.

(2) *in vivo* (생체내 실험)

(가) 실험동물 및 식이

실험동물은 Sprague-Dawley 수컷 쥐 (4 주령)를 구입 (코아텍, 한국)하여 1주일간 적응시킨 후 난괴법 (randomized block design)으로 정상군 (10 마리), 고지방군 (20 마리)으로 나누어 사육 하였다. 7주 후 고지방군은 다시 난괴법 (randomized block design)으로 고지방군 (10 마리)과 연근군 (10마리) 또는 연자육군 (10 마리)으로 나누어 7주간 더 사육하였다. 연근군은 연근 에탄올 추출물을 각 체중 당 1200 mg/kg 체중의 수준으로, 연자육군은 연자육 에탄올 추출물을 각 체중 당 400 mg/kg 체중의 수준으로 매일 경구 투여하였고, 정상군과 고지방 식이군은 동량의 식염수를 경구 투여하였다. 연근과 연자육 추출물은 경기도 시흥에서 구입한 연근과 연자육을 사용하여 협동과제 측으로부터 공급받았다.

실험에 사용된 식이는 AIN-93 (Reeves *et al.* 2003)에 기준하여 조제하였으며, 고지방 식이는 총 열량의 약 45%가 지방으로 공급되도록 lard를 기본식이에 추가로 첨가하였으며 상세한 조성비는 Table 1-2와 같다. 실험 기간 중 물과 식이는 자유로이 섭취시켰으며, 사육실 온도는 22 ± 2 °C, 습도는 55 ± 5 %, 명암은 12 시간 주기로 자동 조절하였다. 체중은 1주일에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였고, 식이섭취량과 물 섭취량은 1 주일에 2 회 측정하였다.

Table 1-2 Composition of experimental diet

Component	Normal diet (g)	High fat diet (g)
Casein	200.0	200.0
Corn starch	447.486	155.036
Sucrose	50.0	50.0
Dextrose	132.0	132.0
Cellulose	50.0	50.0
Vitamin mixture ¹	10.0	10.0
Mineral mixture ²	35.0	35.0
Soybean oil	70.0	25.0
Lard	—	175.0
L-cystine	3.0	3.0
Choline Bitartrate	2.5	2.5
TBHQ	0.014	0.014

¹AIN-93 vitamin mixture

²AIN-93 mineral mixture

(나) 실험동물의 처리 및 시료 수집

실험동물은 12시간 절식시키고 에테르로 마취한 후 심장 채혈하였다. 혈액은 상온에서 1 시간 방치 후 3000 rpm에서 20 분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 -70°C 에 보관하면서 분석에 이용하였다. 채혈이 끝난 후 간, 비장, 지방조직 (부고환지방, 후복막지방)을 조심스럽게 적출하여 중량을 측정하였다. 부고환 지방의 일부는 현미경 촬영을 위하여 10 % formaldehyde 용액에 담가 보관하였고, 나머지 간은 액체질소로 급속냉동 시킨 후 -70°C 에 보관하였다.

(라) 혈청 지질, 인슐린과 adipokines 측정

혈청 중성지방, 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 농도는 혈액 자동분석기 (BPC BioSed srl, Rome, Italy)에 해당 kit (Asan Pharm CO., Gyeonggi, Korea)를 이용하여 분석하였고, LDL-콜레스테롤 농도는 Friedewald et al (1972)의 공식 [혈청 LDL-콜레스테롤 = 혈청 총 콜레스테롤 - {혈청 HDL-콜레스테롤 + (혈청 중성지방 / 5)}]을 이용하여 계산하였다.

혈청 adiponectin은 Rat Single Plex Adiponectin 96 Well Plate Assay용 MILLIPLEX map kit (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA)를 사용하였고, 혈청 Insulin, leptin은 Rat Serum Adipokine 96 Well Plate Assay용 MILLIPLEX map kit (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA)를 사용하여 luminex100 (MiraiBio, Inc., Alameda, CA, USA)으로 측정하였다. Standard를 단계적으로 희석하여 측정한 흡광도로 표준 곡선을 만들었으며 insulin은 pg/mL로, adiponectin은 $\mu\text{g/mL}$ 로, leptin은 ng/mL로 나타내었다.

(마) 지방세포 촬영

실험동물 희생시 부고환 지방을 적출하여 10 % formalin 용액에 보관하였다. 부고환 지방은 파라핀 블록을 제작, 박리하여 절편을 만들고 hematoxylin and eosin (H&E)으로 염색한 후 광학현미경으로 촬영하였다.

(바) 통계분석

통계분석은 SPSS (ver. 17.0, Statistical Package for Social Science, Chicago, IL, USA)를 이용하였으며 $\text{mean} \pm \text{SEM}$ (standard error of mean)으로 나타내었다. 각 군의 결과값에 대해 $p < 0.05$ 의 유의수준에서 one-way ANOVA 를 실시한 후 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치 간의 유의성을 검정하였다.

나. 연구 결과

SCI paper I

Lotus (*Nelumbo nucifera*) root ethanol extract inhibits preadipocyte differentiation and suppresses body fat accumulation in rats fed high-fat diet

(1) *in vitro* (생체의 실험) 결과

(가) 연근 추출물의 지방분화 억제 효과

지방세포 분화 억제효과를 확인하기 위하여 중성지방만을 붉은색으로 염색하는 oil red O 염색법을 이용하였다. 중성지방은 1분자의 글리세롤에 3분자의 지방산이 에스테르 결합한 것으로 음식물로 섭취하는 지방의 95% 이상이 중성지방이며 저장지방의 경우 중성지방의 형태로 저장된다. 분화된 지방세포에 연근 추출물을 0, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$ 로 처리한 후 생성된 중성지방을 Oil Red O 시약으로 염색한 결과 대조군에 비해 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 유의적으로 감소하였으며 현미경 관찰에서도 동일한 결과를 확인할 수 있었다.

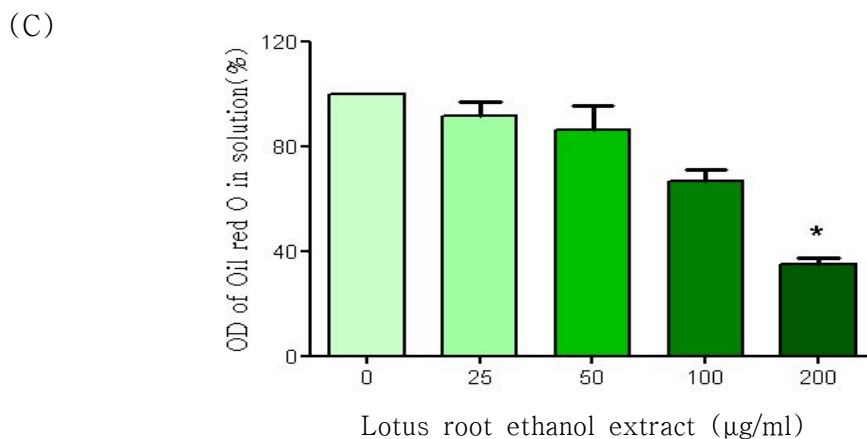
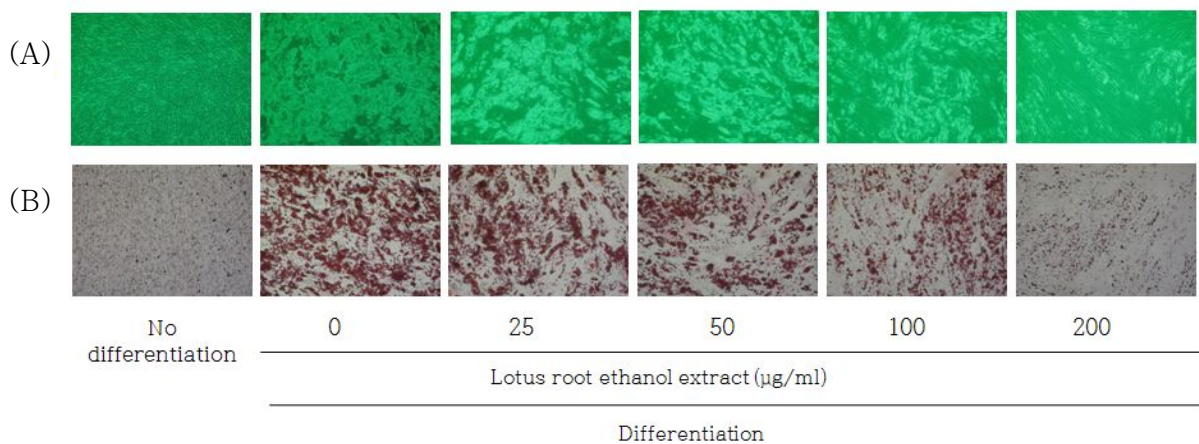


Fig. 1-1 Effect of LREE on human adipocyte differentiation. (A) Microscopic image of differentiated adipocytes before Oil red O staining (B) Microscopic image of differentiated adipocytes after Oil red O staining (C) Optical absorbance at 500 nm of the dye retained in adipocytes. Three independent experiments were performed. Values are expressed as SEM *: $p < 0.05$ versus no treatment with LREE

(나) Adipogenesis의 핵심전사인자와 최종마커에 대한 연근 추출물의 효과

Adipogenesis의 최종마커 (terminal marker)인 leptin, glucose transporter 4(GLUT4)의 발현은 핵심전사인자 (central transcription factor)인 peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ)에 의해 조절된다.

분화가 진행되면서 증가되었던 PPAR- γ 의 mRNA 발현은 연근 추출물의 처리에 의해 유의적으로 감소하였고, 최종마커인 leptin과 GLUT4의 mRNA 발현도 같은 양상을 보여 연근 추출물은 지방세포 형성을 저해하는 것으로 사료된다.

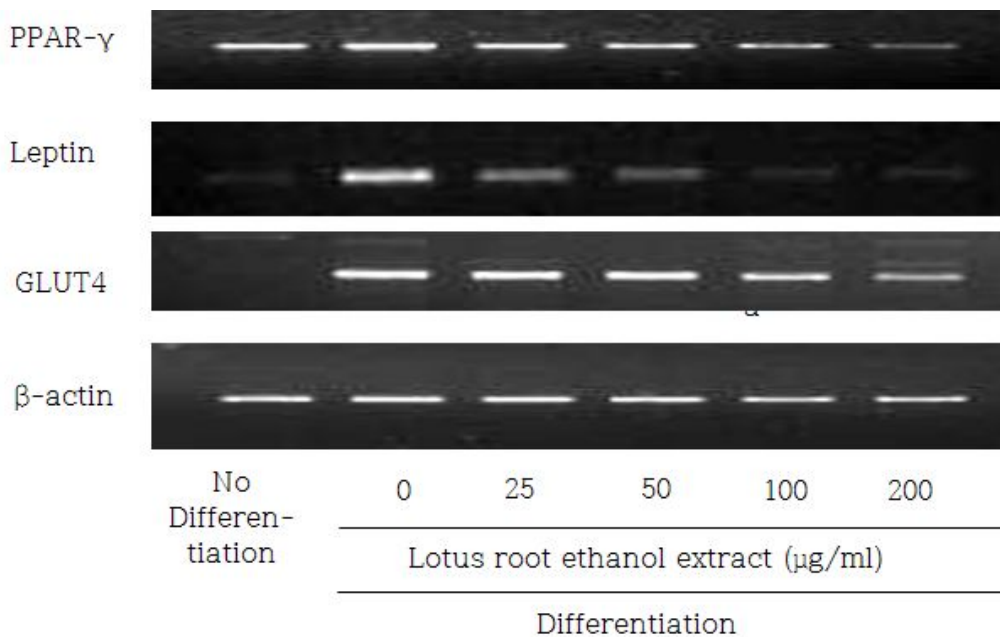


Fig. 1-2 Effect of lotus root ethanol extract on mRNA expression of PPAR- γ , leptin, and GLUT4 in human adipocyte. The cells were prepared for semi-quantitative RT-PCR. The data shown are representative of three independent experiments and similar results were obtained from all three.

(다) 분화된 지방세포에서 adipokines 발현에 대한 연근 추출물의 효과

지방세포에서 adipokines의 발현에 대한 연근 추출물의 영향을 조사하였다. 분화된 지방세포에 연근 추출물을 농도별로 공급하며 배양한 후 7일째에 배양액을 취하여 adipokines (adiponectin, leptin, IL-6, and IL-8)의 발현을 측정하여 결과를 Table 1-3과 Fig. 1-3에 나타내었다.

연근 추출물 첨가시 대조군에 비해 adiponectin의 분비는 유의적으로 증가하였고, leptin은 200 µg/ml 연근 추출물 첨가시 유의적으로 감소하였다. 염증의 지표로 많이 사용되고 있는 IL-6와 IL-8의 경우 농도의존적으로 연근 추출물 첨가시 감소하는 결과를 보였다.

비만은 만성적인 염증상태이므로 분화된 지방세포의 배지에 IL-1β를 1 ng/ml씩 넣어서 염증을 유발한 후 일주일간 배양하여 adipokines의 분비 정도를 확인해보았다 (Table 1-4, Fig. 1-4). 연근 추출물 첨가시 대조군에 비해 leptin과 IL-8은 100 µg/ml 이상 연근 추출물 첨가시 유의적으로 감소하였고, IL-6는 100 µg/ml에서 유의적으로 감소하였다.

Adiponectin은 당, 지질 및 심혈관계를 조절하고 근육과 간에서 지방과 당을 감소시켜서 인슐린 저항성을 감소시키는데 (Yamauchi *et al.*, 2001) 분화된 지방세포에 연근 추출물 공급은 adiponectin의 분비를 증가시켰고, 비만에서 증가되는 leptin의 분비는 감소시켰다. 또한 염증의 지표로 알려진 IL-6와 IL-8의 경우 연근 추출물 공급시 감소한 것으로 보아 지방세포에서 연근 추출물 공급은 비만관련 아디포카인들의 분비에 긍정적인 영향을 주는 것으로 사료된다.

Table 1–3 Effect of LREE on the production of adipokines release in adipocytes

Concentration of LREE ($\mu\text{g/ml}$)	0	50	100	200
Adiponectin(ng/ml)	82.80 \pm 0.70	128.32 \pm 1.66*	143.33 \pm 3.09*	143.24 \pm 2.55*
Leptin(pg/ml)	1670.33 \pm 39.07	1719.00 \pm 4.00	1466.33 \pm 8.39	354.99 \pm 20.64*
IL-6(pg/ml)	320.23 \pm 2.08	193.32 \pm 7.27*	115.81 \pm 8.81*	18.53 \pm 3.15*
IL-8(pg/ml)	229.11 \pm 0.98	86.76 \pm 1.67*	54.95 \pm 0.97*	28.71 \pm 0.91*

Values are expressed as mean \pm SEM

*: $p < 0.05$ versus no treatment with LREE of differentiated adipocytes.

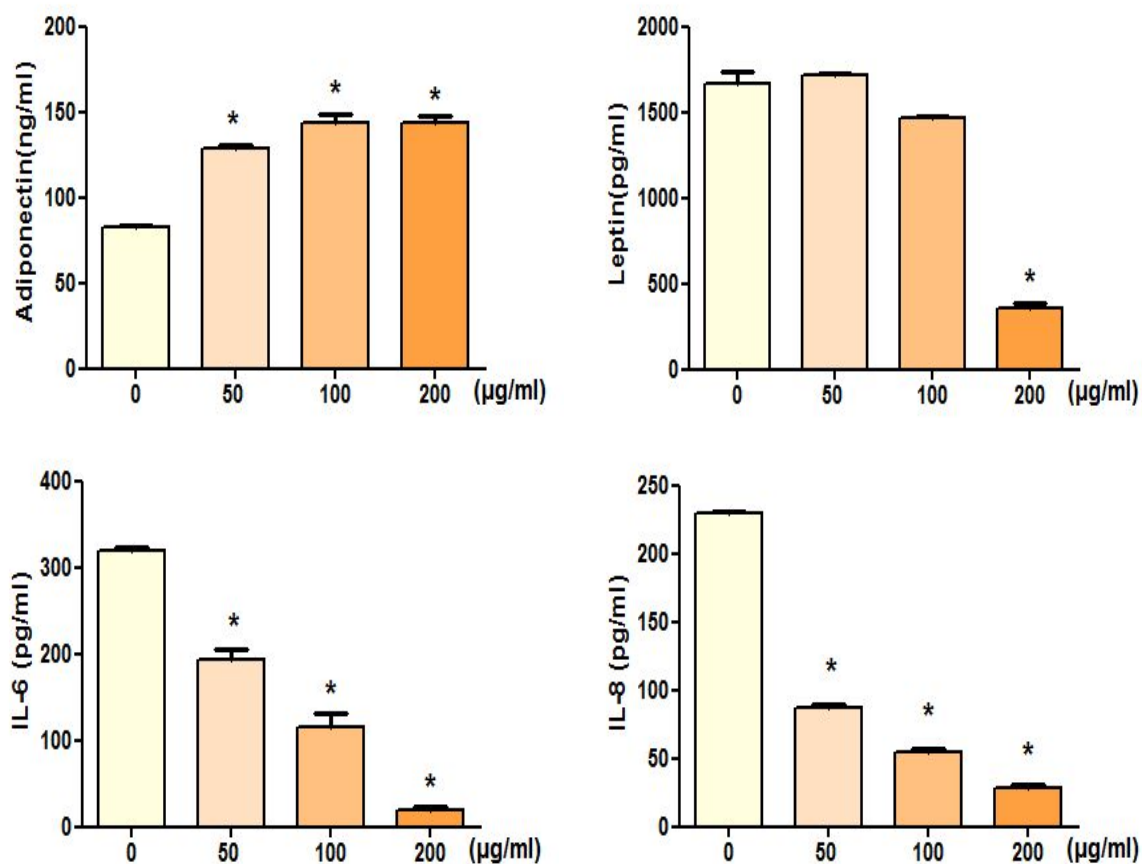


Fig. 1–3 Effect of LREE on the production of adipokines release in adipocytes. The production level of adipokines such as adiponectin, leptin, IL-6, and IL-8 was measured by ELISA. Three independent experiments were performed. Values are expressed as mean \pm SEM. *: $p < 0.05$ versus no treatment with LREE of differentiated adipocytes.

Table 1-4 Effect of LREE on the production of adipokines in IL-1 β -stimulated adipocytes.

Concentration of LREE ($\mu\text{g/ml}$)	0	50	100	200
Adiponectin (ng/ml)	229.32 \pm 22.06	310.73 \pm 9.74	290.64 \pm 10.34	295.82 \pm 7.43
Leptin (pg/ml)	7630.64 \pm 225.23	8517.79 \pm 40.48	3429.83 \pm 48.01	5580.08 \pm 297.520.64*
IL-6 (pg/ml)	6454.34 \pm 77.79	6630.70 \pm 11.24	1854.24 \pm 93.76*	4452.54 \pm 82.19
IL-8 (pg/ml)	31382.00 \pm 219.31	22848.34 \pm 444.12*	5941.01 \pm 37.65	14767.34 \pm 135.62

Values are expressed as mean \pm SEM

*: $p < 0.05$ versus no treatment with LREE of differentiated adipocytes.

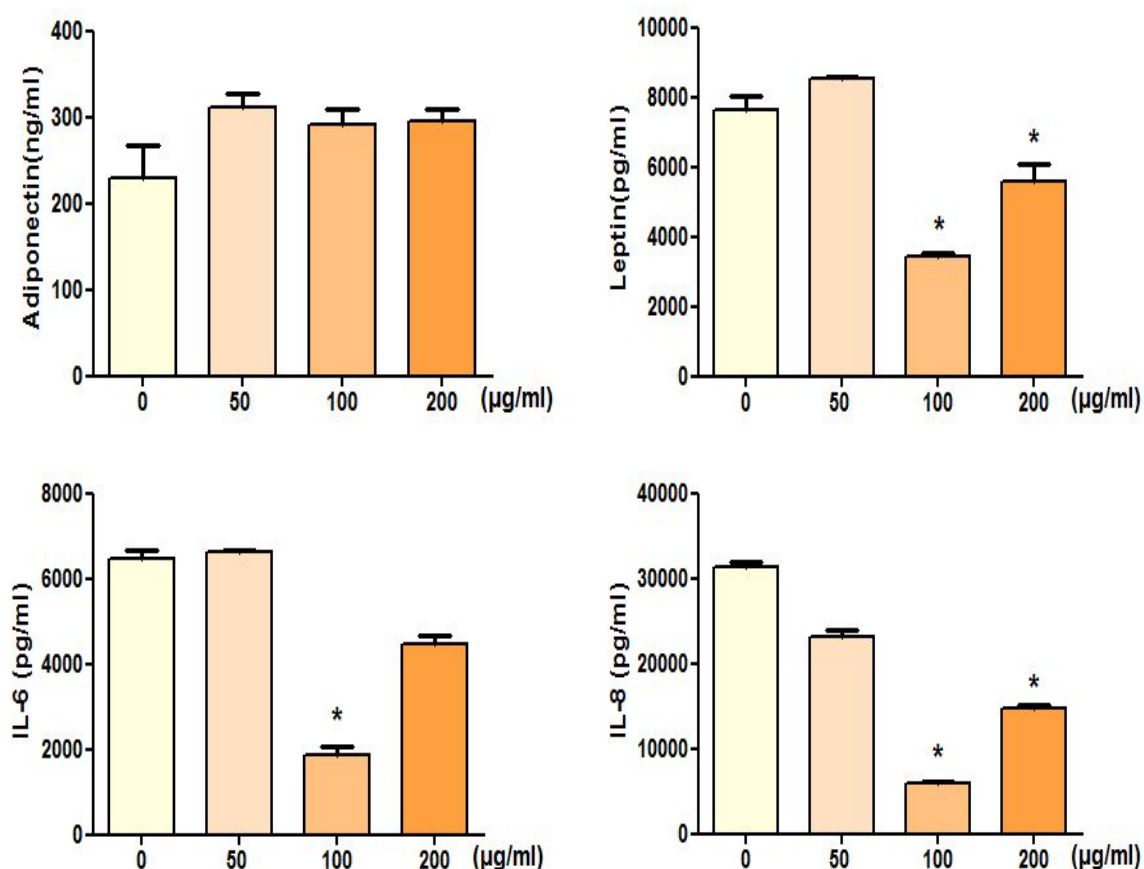


Fig. 1-4 Effect of LREE on the production of adipokines in IL-1 β -stimulated adipocytes. The production level of adipokines such as adiponectin, leptin, IL-6, and IL-8 was measured by ELISA. Three independent experiments were performed. Values are expressed as mean \pm SEM. *: $p < 0.05$ versus no treatment with LREE of IL-1 β -stimulated adipocytes.

(2) *in vivo* (생체내 실험) 결과

(가) 체중증가량, 식이섭취량, 물 섭취량 및 식이효율

고지방식으로 사육하면서 연근 추출물을 공급하였을 경우 실험동물의 체중 증가, 식이섭취량, 물 섭취량 및 식이효율에 미치는 영향을 Table 1-5에 나타내었다. 7주 후 고지방군은 다시 난피법으로 그룹을 나누었으므로 7주 이후의 결과를 표로 나타내었다. 체중증가량은 고지방군이 정상군에 비해 유의적으로 높았으며 연근 추출물을 공급하였을 경우 정상군 수준으로 낮은 것을 볼 수 있었다. 식이섭취량은 고지방군과 연근군이 정상군에 비해 유의적으로 낮았지만 섭취 칼로리로 환산해보면 군별로 유의적인 차이가 없었다. 식이효율을 살펴보면 고지방군이 정상군에 비해 유의적으로 높았으며 연근군은 고지방군에 비해 유의적으로 낮았다.

Table 1-5 Effect of LREE on body weight gain, diet intake, water intake and FER in rats fed a high-fat diet (7-14 week)

Dietary group	N	HF	HFR
Body weight gain (g/day)	1.23±0.13 ^a	1.91±0.13 ^b	1.22±0.09 ^a
Food intake (g/day)	16.05±0.38 ^a	12.54±0.53 ^b	12.13±0.19 ^b
Food intake (cal/day)	66.34±1.61	59.94±2.51	57.97±0.92
Water intake (g/day)	21.36±0.44	22.68±0.82	22.82±0.75
FER	0.08±0.01 ^a	0.15±0.01 ^c	0.10±0.01 ^b

Values are expressed as mean±SEM

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFR : High fat diet + LREE group

FER : daily weight gain / daily dietary intake

(나) 장기무게 및 지방조직의 무게

실험동물의 장기무게 및 지방조직의 무게에 미치는 영향은 Table 1-6, Fig 1-5와 같다. 간, 비장과 신장의 무게는 정상군, 고지방군, 연근군 간의 유의적인 차이가 없었다. 지방조직의 경우 부고환지방과 후복막지방 모두 고지방군이 정상군 보다 유의적으로 증가하였으나 연근 추출물 공급시 유의적으로 감소하였다. 비만은 high weight보다는 high fat을 의미하는데 고지방식이군에서 유의하게 증가한 지방조직의 무게가 연근추출물 공급으로 인하여 감소한 것으로 보아 연근 추출물은 체지방을 감소시키는데 도움을 주리라 사료된다.

Table 1–6 Effect of LREE on relative organs weights in rats fed a high–fat diet

Dietary group	N	HF	HFR
Liver (g/100g BW)	2.11±0.04	2.00±0.04	1.98±0.03
Spleen (g/100g BW)	0.18±0.01	0.18±0.01	0.18±0.01
Kidney (g/100g BW)	0.61±0.02	0.57±0.01	0.57±0.01
Epididymal fat tissue (g/100g BW)	1.10±0.05 ^a	1.64±0.09 ^c	1.46±0.08 ^a
Retroperitoneal fat tissue (g/100g BW)	0.98±0.09 ^a	1.63±0.13 ^b	1.37±0.14 ^a

Values are expressed as mean±SEM

Values with different superscript are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

BW : body weight,

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFR : High fat diet + LREE group

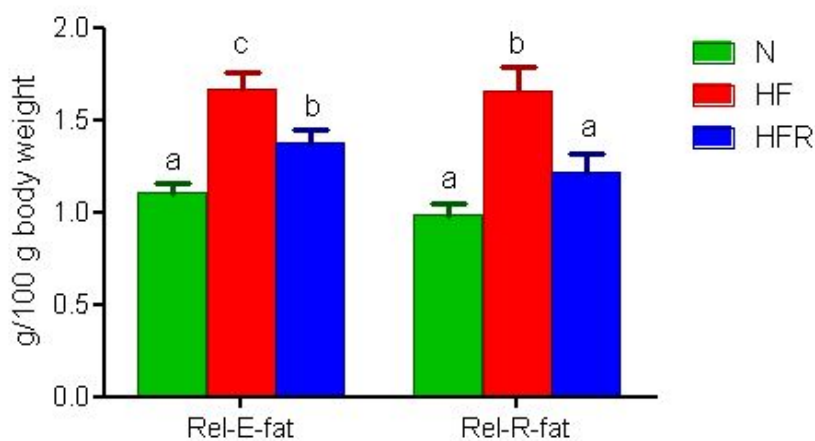


Fig. 1–5 Effect of LREE on adipose tissues weights in rats fed a high–fat diet. Values are expressed as mean±SEM, Values with different superscript are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test, N : Normal diet group, HF : High fat diet group, HFR : High fat diet + LREE, Rel–E–fat : relative epididymal fat tissue, Rel–R–fat : relative retroperitoneal fat tissue

(다) 혈청 지질 농도

고지방식으로 사육하면서 연근 추출물을 공급하였을 경우 실험동물의 혈청 지질농도 차이를 살펴본 결과는 다음과 같다 (Table 1-7, Fig. 1-6). 중성지방과 총 콜레스테롤의 경우 고지방군이 정상군에 비해 유의적으로 증가하였으나 연근 추출물 공급시 정상군 수준으로 낮아진 것으로 보아 연근 추출물의 지질 저하 효과를 확인할 수 있었다.

Table 1-7 Effect of LREE on serum lipid profiles in rats fed a high-fat diet

Dietary group	N	HF	HFR
Triglyceride (mg/dl)	39.07±1.39 ^a	51.31±3.13 ^b	34.24±1.92 ^a
Total cholesterol (mg/dl)	84.21±3.76 ^a	93.68±2.52 ^b	83.45±1.13 ^a
LDL-cholesterol (mg/dl)	41.62±3.05 ^a	52.32±1.98 ^b	47.98±1.32 ^b
HDL-cholesterol (mg/dl)	31.83±1.66	30.75±1.54	29.50±0.89

Values are expressed as mean±SEM

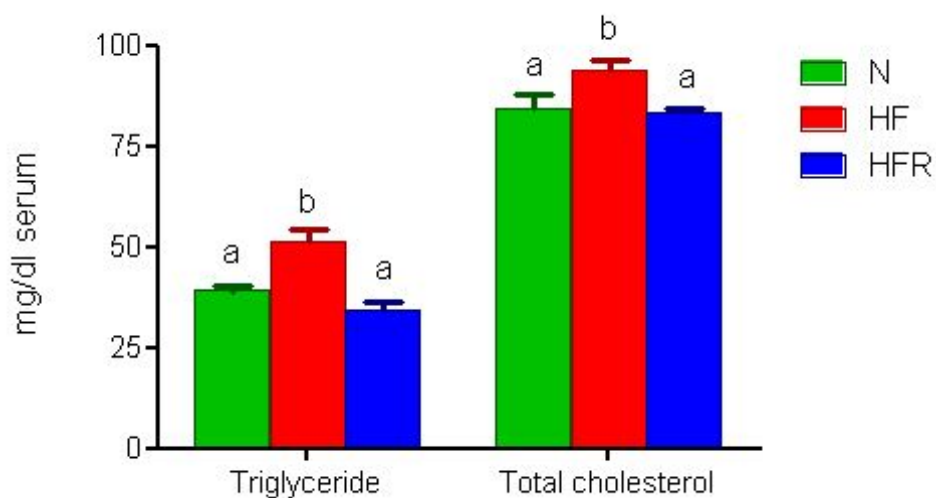
Values with different superscript within the row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFR : High fat diet + LREE group

(A)



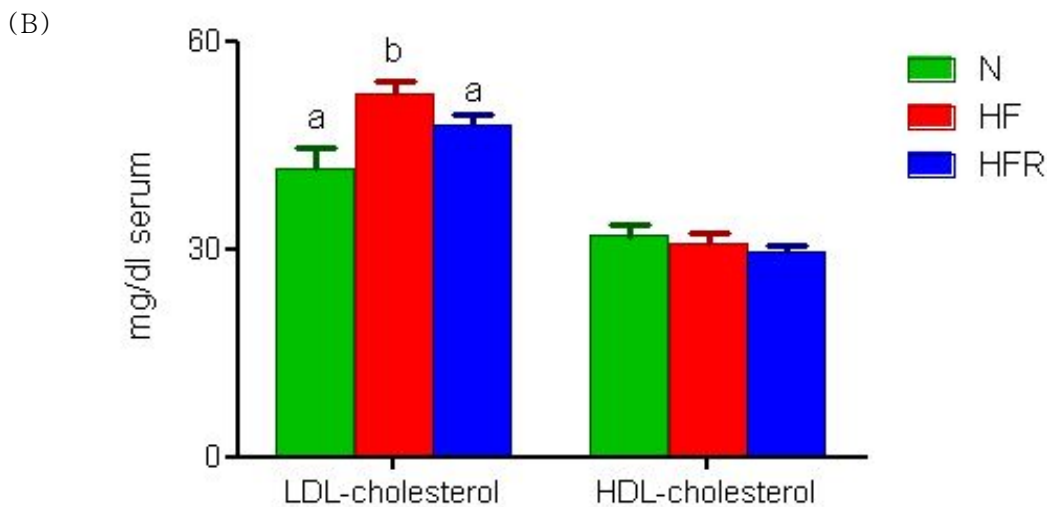


Fig. 1-6 Effect of LREE on serum lipid profiles in rats fed a high-fat diet. (A) Triglyceride and total cholesterol (B) LDL-cholesterol and HDL-cholesterol, Values are expressed as mean±SEM, Values with different superscript are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test, N : Normal diet group, HF : High fat diet group, HFR : High fat diet + LREE group

(라) 혈청 adipokines 농도

고지방식으로 사육하면서 연근 추출물을 공급하였을 경우 실험동물의 혈청 인슐린과 adipokines 중 adiponectin과 leptin 농도 차이를 살펴본 결과는 다음과 같다 (Table 1-8, Fig. 1-7). 인슐린의 경우 연근 추출물 공급시 유의적으로 감소한 결과를 보였고, adiponectin의 경우 연근군이 정상군에 비해 유의적으로 낮은 농도를 보였다. Leptin의 경우 고지방군이 정상군에 비해 유의적으로 증가하였으나 연근 추출물 공급시 정상군 수준으로 낮아졌다.

Leptin은 음식섭취와 에너지 소모를 조절하는 기능을 갖고 있으며 렙틴 분비는 지방세포에서 중성지방의 저장량과 관련이 있으므로 (Staiger and Haring, 2005), 연근 추출물 공급시 낮아진 leptin 분비는 지방조직의 무게와 혈중 중성지방의 저하와 더불어 연근 추출물의 항비만 효과를 보이는 것으로 사료된다.

Table 1–8 Effect of LREE on serum insulin and adipokines levels in rats fed a high–fat diet

Dietary group	N	HF	HFR
Insulin (pg/ml)	728.60±127.82 ^a	952.31±87.37 ^a	432.33±44.63 ^b
Adiponectin (µg/ml)	51.24±4.64 ^a	42.33±2.68 ^{ab}	35.34±2.53 ^b
Leptin (ng/ml)	3.18±0.27 ^a	4.81±0.35 ^b	3.20±0.21 ^a

Values are expressed as mean±SEM

Values with different superscript within the row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFR : High fat diet + LREE group

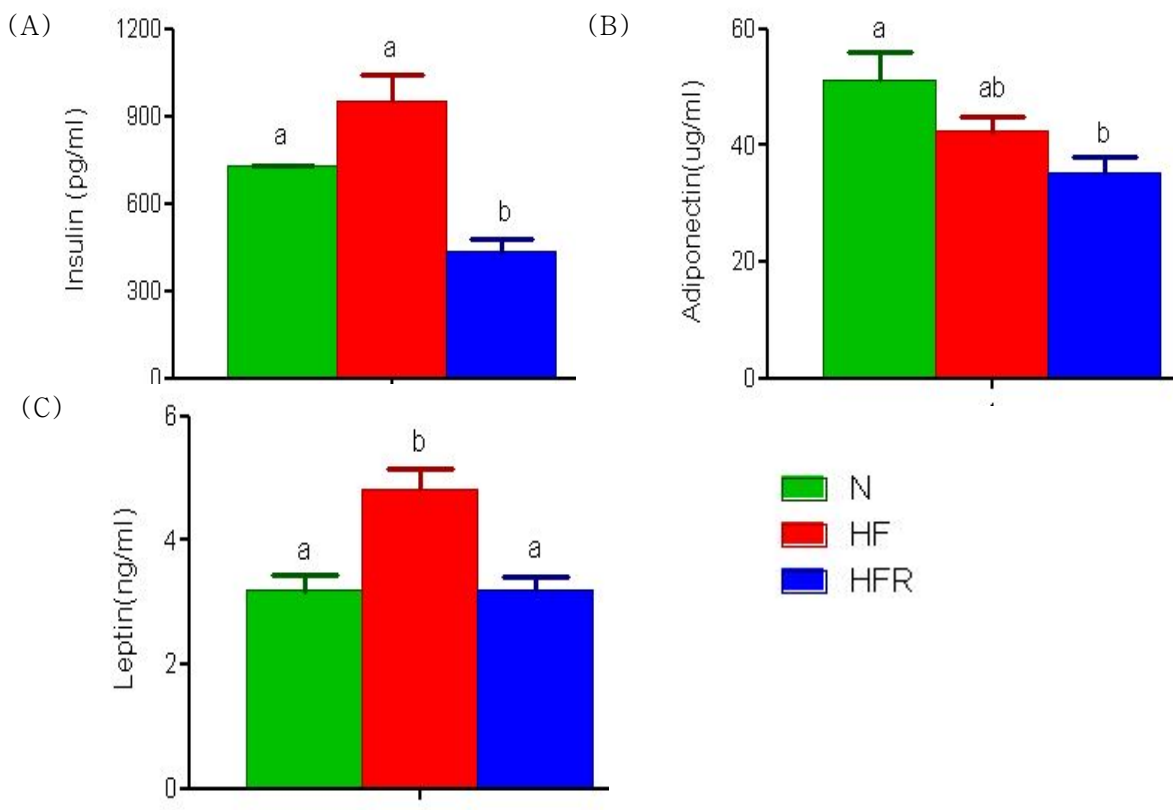


Fig. 1–7 Effect of LREE on serum insulin and adipokines levels in rats fed a high–fat diet. (A) Insulin (B) Adiponectin (C) Leptin, Values are expressed as mean±SEM, Values with different superscript are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test, N : Normal diet group, HF : High fat diet group, HFR : High fat diet + LREE

(마) 지방세포 사진

고지방식으로 사육하면서 연근 추출물을 공급하였을 경우 실험동물의 부고환 지방 세포를 광학현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다 (Fig. 1-8). 고지방군의 지방세포는 정상에 비해 세포도 크고 일정하지 않은 양상을 보이고 있으나, 연근 추출물 공급시 정상식이군의 지방세포처럼 크기도 작아지고 모양도 고른 것을 볼 수 있었다. 고지방식이 섭취는 지방조직의 중량 증가와 함께 지방세포의 크기도 증가시켰는데, 연근 추출물의 공급은 지방조직의 중량 저하와 더불어 지방세포의 크기도 감소시키는 것으로 나타나 비만 치료에 효과적일 것으로 사료된다.

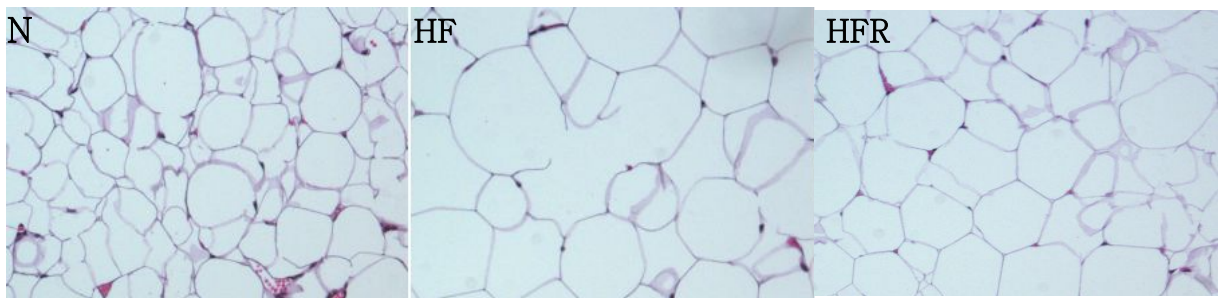


Fig 1-8 Light micrography of epididymal adipocytes in rats fed a high-fat diet. Representative pictures of hematoxylin and eosin-stained sections of epididymal adipocytes from rats fed a normal diet(N) or high fat diet + LREE (HFS) show smaller size of adipocytes than those of rats fed a high-fat diet (HF) (100 × magnification)

SCI paper II

Antiobesity and hypolipidemic effects of lotus (*Nelumbo nucifera*) seed ethanol extract in human preadipocyte and rats fed high-fat diet

(1) *in vitro* (생체의 실험) 결과

(가) 연자육 에탄올 추출물의 지방분화 억제 효과

지방세포 분화 억제효과를 확인하기 위하여 중성지방만을 붉은색으로 염색하는 oil red O 염색법을 이용하였다. 분화된 지방세포에 연자육 추출물을 0, 25, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ 로 처리한 후 생성된 중성지방을 oil red O 시약으로 염색한 결과 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 유의적으로 감소하였으며 현미경 관찰에서도 동일한 결과를 확인하였다 (Fig. 1-9).

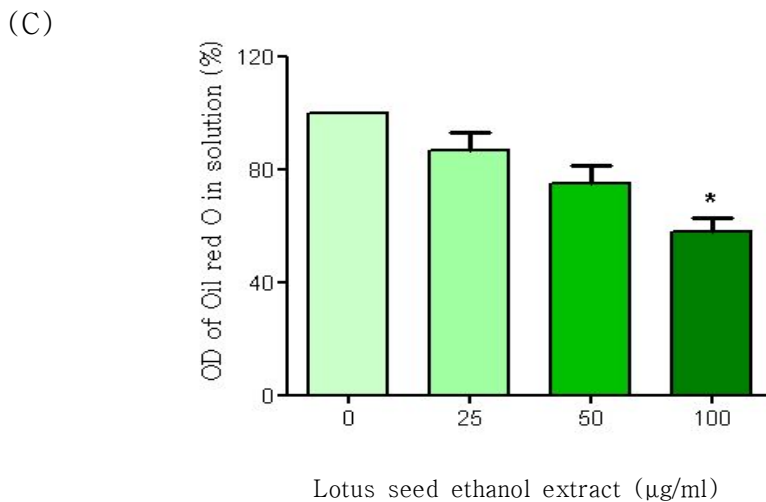
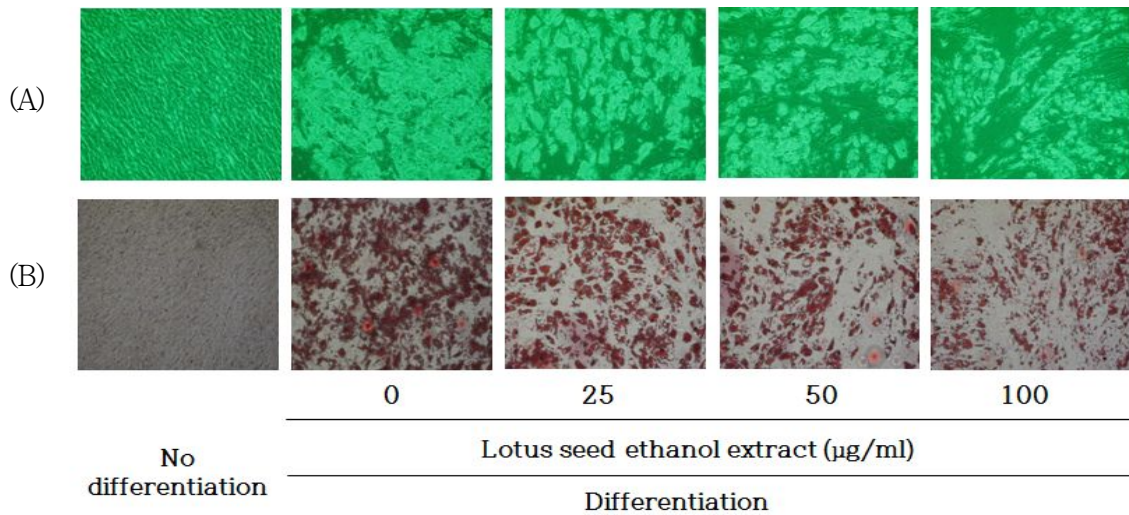


Fig. 1-9 Effect of LSEE on human adipocyte differentiation. (A) Microscopic image of differentiated adipocytes before Oil red O staining (B) Microscopic image of differentiated adipocytes after Oil red O staining (C) Optical absorbance at 500 nm of the dye retained in adipocytes. Three independent experiments were performed. Values are expressed as SEM *: $p < 0.05$ versus no treatment with LSEE

(나) Adipogenesis의 핵심전사인자와 최종마커에 대한 연근 추출물의 효과

Adipogenesis의 최종마커 (terminal marker)인 leptin, glucose transporter 4(GLUT4)의 발현은 핵심전사인자 (central transcription factor)인 peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ)에 의해 조절된다.

분화가 진행되면서 증가되었던 PPAR- γ 의 mRNA 발현은 연근 추출물의 처리에 의해 유의적으로 감소하였고(Fig 1-10), 최종마커인 leptin과 GLUT4의 mRNA 발현도 같은 양상을 보여 연근 추출물은 지방세포 형성을 저해하는 것으로 사료된다.

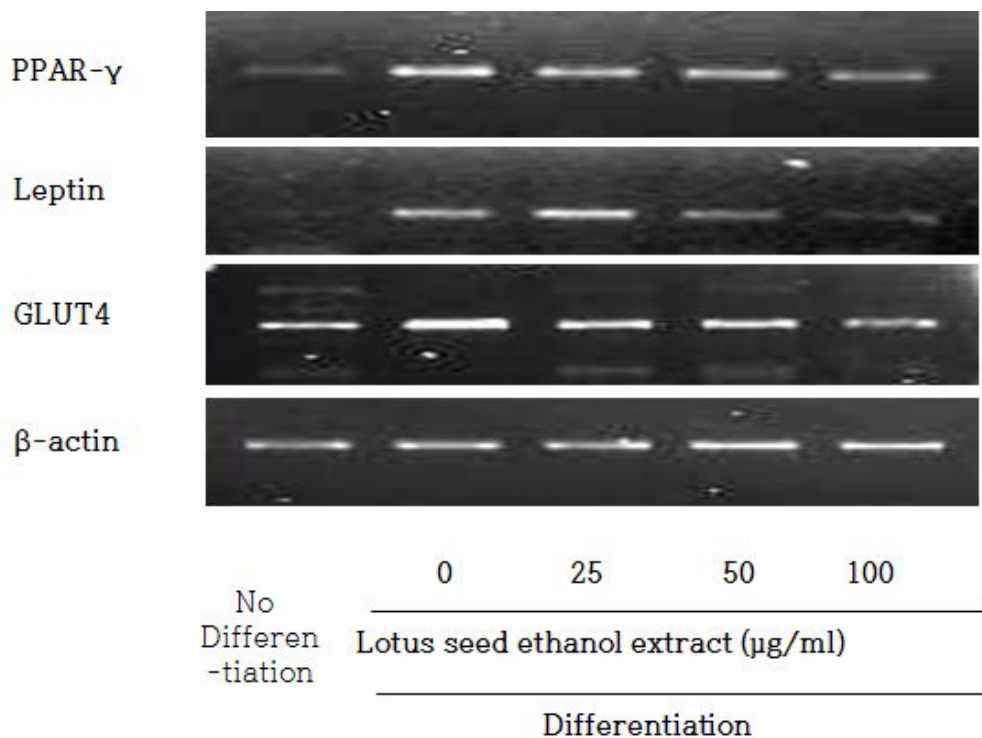


Fig. 1-10 Effect of LSEE on mRNA expression of PPAR- γ , leptin, and GLUT4 in human adipocyte. The cells were prepared for semi-quantitative RT-PCR. The data shown are representative of three independent experiments and similar results were obtained from all three.

(다) 분화된 지방세포에서 adipokines 발현에 대한 연자육 추출물의 효과

지방세포에서 adipokines의 발현에 대한 연자육 추출물의 영향을 조사하였다. 분화된 지방세포에 연자육 추출물을 농도별로 공급하며 배양한 후 7일째에 배양액을 취하여 adipokines (adiponectin, leptin, IL-6, and IL-8)의 발현을 측정된 결과를 Table 1-9 와 Fig. 1-11에 나타내었다.

연자육 추출물 첨가시 대조군에 비해 adiponectin의 분비는 100 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서 유의적으로 감소하였고, leptin은 200 $\mu\text{g/ml}$ 연자육 추출물 첨가시 유의적으로 감소하였다. 염증의 지표로 많이 사용되고 있는 IL-6와 IL-8의 경우 농도의존적으로 연자육 추출물 첨가시 감소하는 결과를 보였다.

비만은 만성적인 염증상태이므로 분화된 지방세포의 배지에 IL-1 β 를 1 ng/ml씩 넣어서 염증을 유발한 후 일주일간 배양하여 adipokines의 분비 정도를 확인해보았다 (Table 1-10, Fig. 1-12). 연자육 추출물 첨가시 대조군에 비해 adiponectin의 경우 100 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서 유의적으로 증가하였고, leptin은 유의적으로 감소하였다. IL-6는 200 $\mu\text{g/ml}$ 에서 유의적으로 감소하였고, IL-8은 100 $\mu\text{g/ml}$ 이상 연자육 추출물 첨가시 유의적으로 감소하였다. 그러므로, 분화된 지방세포에 연자육 추출물 공급은 염증이 증가하는 leptin, IL-6과 IL-8의 분비를 효과적으로 감소시키는 것으로 보아 지방세포에서 연자육 추출물 공급은 비만관련 adipokine들의 분비에 긍정적인 영향을 주는 것으로 보이나 adiponectin의 경우 IL-1 β 의 처리 유무에 따른 상반된 결과가 나타나므로 추후 mRNA 발현 등의 추가 연구가 요구된다.

Table 1–9 Effect of LSEE on the production of adipokines in adipocytes

Concentration of LSEE ($\mu\text{g/ml}$)	0	50	100	200
Adiponectin (ng/ml)	359.72 \pm 4.29	324.74 \pm 9.09	231.02 \pm 13.16*	235.51 \pm 3.43*
Leptin (pg/ml)	1859.23 \pm 52.67	2103.02 \pm 136.42	1926.43 \pm 12.65	922.41 \pm 6.85*
IL–6 (pg/ml)	258.82 \pm 27.83	126.51 \pm 4.51*	58.24 \pm 0.58*	11.90 \pm 0.43*
IL–8 (pg/ml)	2517.21 \pm 27.02	767.54 \pm 33.59*	231.92 \pm 10.53*	85.74 \pm 3.16*

Values are expressed as mean \pm SEM

*: $p < 0.05$ versus no treatment with LSEE of differentiated adipocytes.

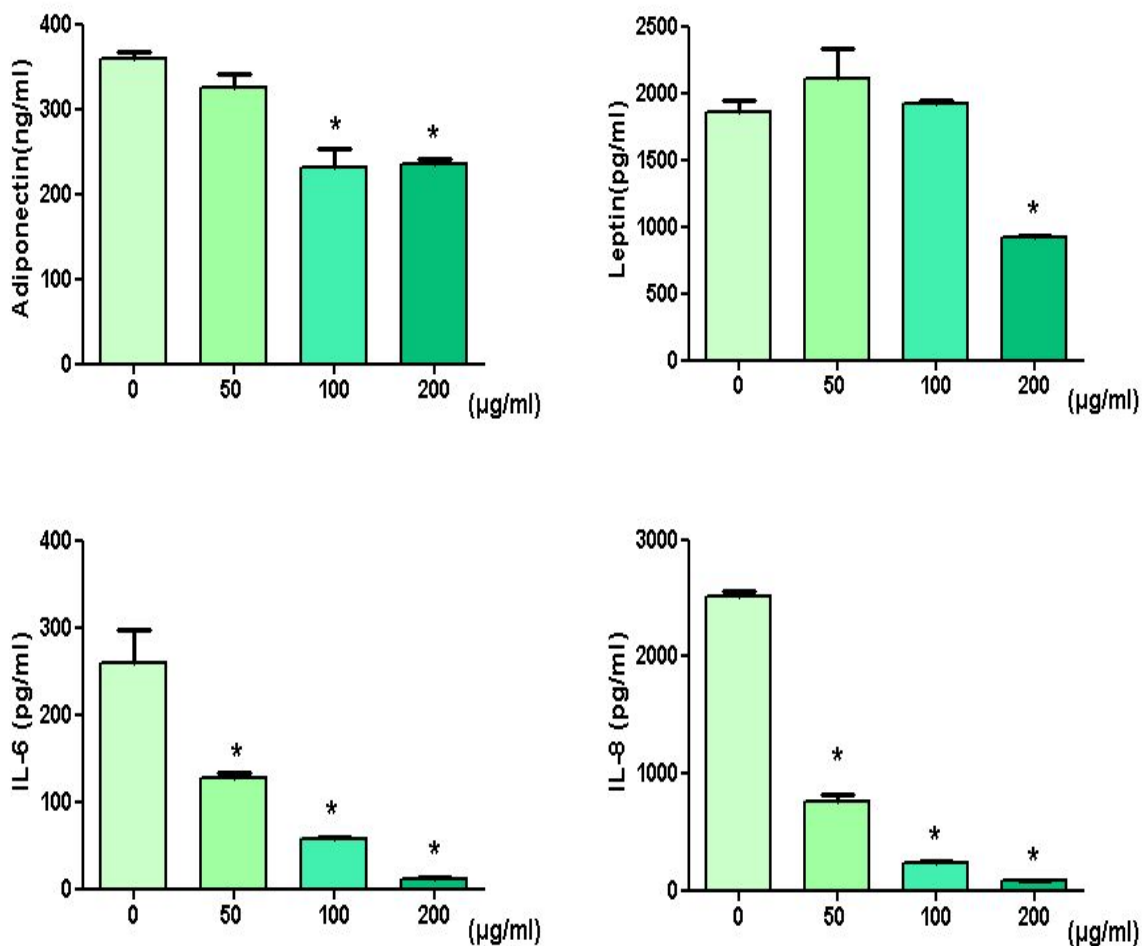


Fig. 1–11 Effect of LSEE on the production of adipokines in adipocytes. The production level of adipokines such as adiponectin, leptin, IL–6, and IL–8 was measured by ELISA. Three independent experiments were performed. Values are expressed as mean \pm SEM. *: $p < 0.05$ versus no treatment with LSEE of differentiated adipocytes.

Table 1-10 Effect of LSEE on the production of adipokines in IL-1 β -stimulated adipocytes

Concentration of LSEE ($\mu\text{g/ml}$)	0	50	100	200
Adiponectin (ng/ml)	269.92 \pm 8.45	340.00 \pm 2.52	391.71 \pm 6.92*	518.33 \pm 7.17*
Leptin (pg/ml)	5032.18 \pm 423.50	4602.42 \pm 23.18	2821.43 \pm 51.22*	1261.26 \pm 17.17*
IL-6 (pg/ml)	9780.24 \pm 155.71	11944.21 \pm 940.22	9821.43 \pm 51.95	5783.28 \pm 351.054*
IL-8 (pg/ml)	95407.23 \pm 1876.21	79471.26 \pm 898.72*	53578.41 \pm 867.61*	32759.08 \pm 555.62*

Values are expressed as mean \pm SEM

*: p < 0.05 versus no treatment with LSEE of differentiated adipocytes.

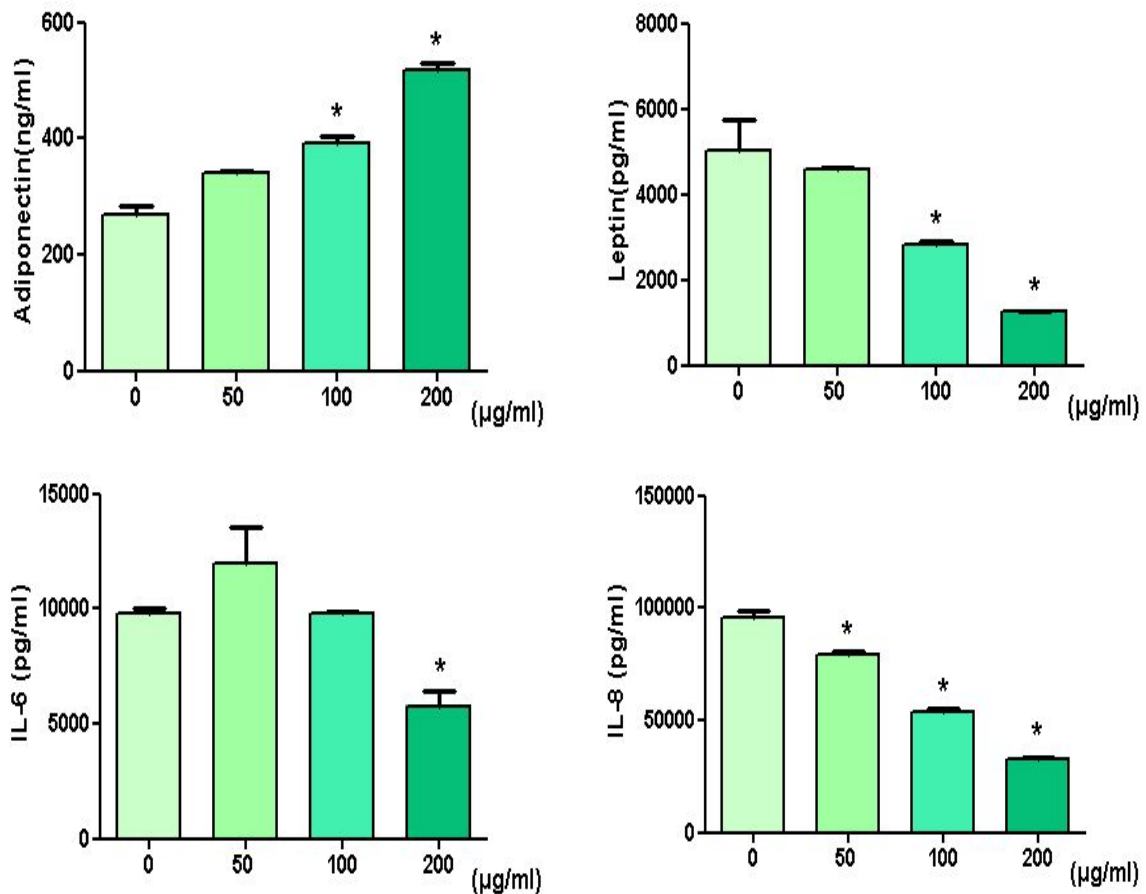


Fig. 1-12 Effect of LSEE on the production of adipokines in IL-1 β -stimulated adipocytes. The production level of adipokines such as adiponectin, leptin, IL-6, and IL-8 was measured by ELISA. Three independent experiments were performed. Values are expressed as mean \pm SEM. *: p < 0.05 versus no treatment with LSEE of IL-1 β -stimulated adipocytes.

(2) *in vivo* (생체내 실험) 결과

(가) 체중, 식이섭취량, 물 섭취량 및 식이효율

고지방식으로 사육하면서 연자육 에탄올 추출물을 공급하였을 경우 실험동물의 체중, 식이섭취량, 물 섭취량 및 식이효율에 미치는 영향은 Table 1-11과 같다. 7주 후 고지방군은 다시 난괴법으로 그룹을 나누었으므로 7주 이후의 결과를 표로 나타내었다. 체중증가량은 고지방군이 정상군에 비해 유의적으로 높았으며 연자육 추출물을 공급하였을 경우 고지방군보다 유의적으로 낮은 것을 볼 수 있었다. 식이섭취량은 고지방군과 연근군이 정상군에 비해 유의적으로 낮았지만 섭취 칼로리로 환산해보면 군별로 유의적인 차이가 없었다. 식이효율을 살펴보면 고지방군과 연자육군이 정상군에 비해 유의적으로 높았다.

Table 1-11 Effect of LSEE on body weight gain, diet intake, water intake and FER in rats fed a high-fat diet (7-14 week)

Dietary group	N	HF	HFS
Body weight gain (g/day)	1.23±0.13 ^a	1.91±0.13 ^b	1.51±0.13 ^a
Food intake (g/day)	16.05±0.38 ^a	12.54±0.53 ^b	13.31±0.43 ^b
Food intake (cal/day)	66.34±1.61	59.94±2.51	63.60±2.04
Water intake (g/day)	21.36±0.44	22.68±0.82	21.80±0.82
FER	0.08±0.01 ^a	0.15±0.01 ^b	0.12±0.01 ^b

Values are expressed as mean±SEM

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFR : High fat diet + LSEE group

FER : daily weight gain / daily dietary intake

(나) 장기무게 및 지방조직의 무게

고지방식으로 사육하면서 연자육 추출물을 공급하였을 경우 실험동물의 장기무게 및 지방조직의 무게에 미치는 영향은 Table 1-12, Fig. 1-13와 같다. 간, 비장과 신장의 무게는 정상군, 고지방군, 연자육군 간의 유의적인 차이가 없었다. 지방조직의 경우 부고환지방과 후복막지방 모두 고지방군이 정상군 보다 유의적으로 증가하였으나 연자육 추출물 공급시 유의적으로 감소하였다. 비만은 high weight보다는 high fat을 의미하는데 고지방식이군에서 유의하게 증가한 지방조직의 무게가 연자육추출물 공급으로 인하여 감소한 것으로 보아 연자육 추출물은 체지방을 감소시키는데 도움을 주리라 사료된다.

Table 1-12 Effect of LSEE on relative organs weights in rats fed a high-fat diet

Dietary group	N	HF	HFS
Liver (g/100g BW)	2.11±0.04	2.00±0.04	2.05±0.04
Spleen (g/100g BW)	0.18±0.01	0.18±0.01	0.19±0.01
Kidney (g/100g BW)	0.61±0.02	0.57±0.01	0.58±0.01
Epididymal fat tissue (g/100g BW)	1.10±0.05 ^a	1.64±0.09 ^c	1.38±0.06 ^b
Retroperitoneal fat tissue (g/100g BW)	0.98±0.09 ^a	1.63±0.13 ^c	1.35±0.06 ^b

Values are expressed as mean±SEM

Values with different superscript within the row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

BW : body weight

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFS : High fat diet + LSEE group

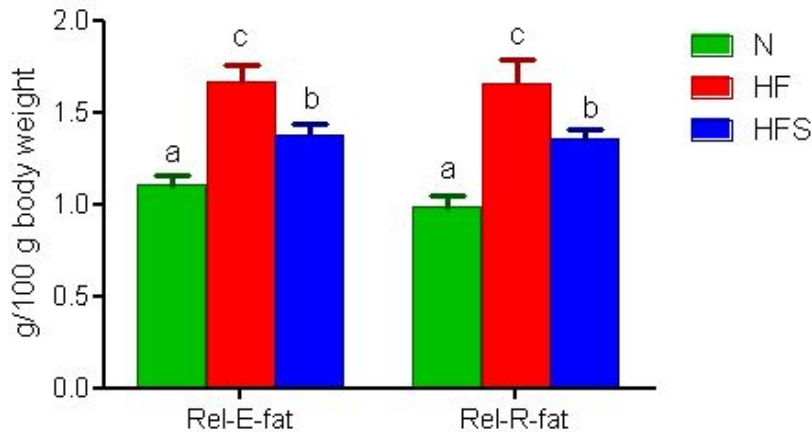


Fig. 1-13 Effect of LREE on adipose tissues weights in rats fed a high-fat diet. Values are expressed as mean±SEM, Values with different superscript are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test, N : Normal diet group, HF : High fat diet group, HFS : High fat diet + LSEE group

(다) 혈청 지질 농도

실험동물의 혈청 지질농도 차이를 살펴본 결과는 다음과 같다 (Table 1-13, Fig 1-14). 중성지방과 총 콜레스테롤의 경우 고지방군이 정상군에 비해 유의적으로 증가하였으나 연자육 추출물 공급시 중성지방은 정상식이군 수준으로 낮아졌고, 총 콜레스테롤은 낮아지는 경향을 보였다. 중성지방과 총 콜레스테롤은 고지방식이 공급시 증가하는 경향이 있고 중성지방과 총 콜레스테롤은 대사증후군과도 밀접한 관련이 있으므로 연자육 추출물의 공급은 고지방식이로 증가하는 고지혈증을 저하시키는데 효과적일 것으로 사료된다.

Table 1-13 Effect of LSEE on serum lipid profiles in rats fed a high-fat diet

Dietary group	N	HF	HFS
Triglyceride (mg/dl)	39.07±1.39 ^a	51.31±3.13 ^b	31.27±1.78 ^a
Total-cholesterol (mg/dl)	84.21±3.76 ^a	93.68±2.52 ^b	85.50±2.35 ^{ab}
LDL-cholesterol (mg/dl)	41.62±3.05 ^a	52.32±1.98 ^b	50.52±2.26 ^b
HDL-cholesterol (mg/dl)	31.83±1.66	30.75±1.54	30.50±1.62

Values are expressed as mean±SEM

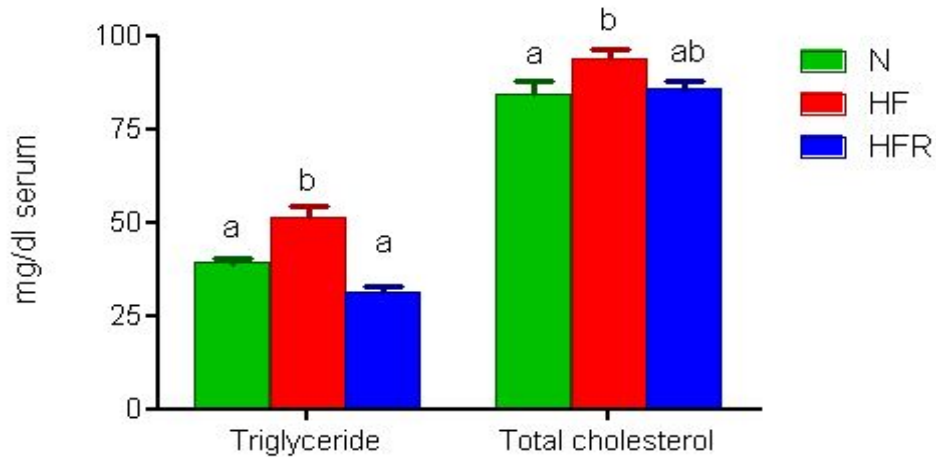
Values with different superscript within the row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFS : High fat diet + LSEE group

(A)



(B)

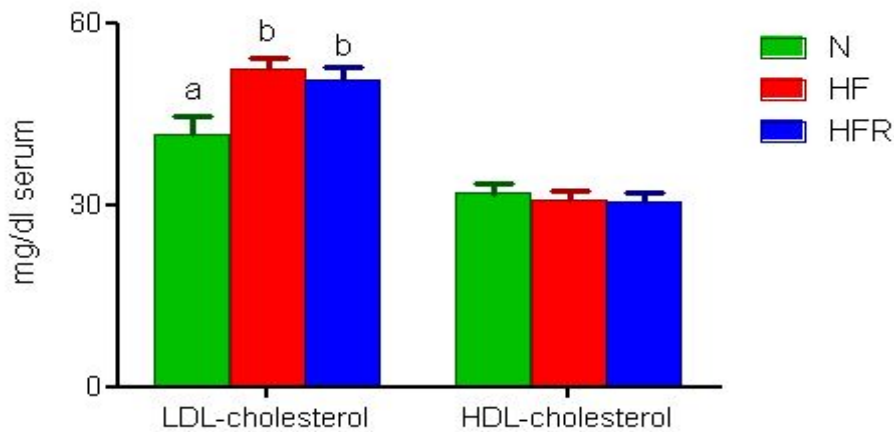


Fig. 1-14 Effect of LSEE on serum lipid profiles in rats fed a high-fat diet. (A) Triglyceride and total cholesterol (B) LDL-cholesterol and HDL-cholesterol, Values are expressed as mean \pm SEM, Values with different superscript are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test, N : Normal diet group, HF : High fat diet group, HFS : High fat diet + LSEE group

(라) 혈청 adipokines 농도

고지방식이로 사육하면서 연자육 추출물을 공급하였을 경우 실험동물의 혈청 인슐린과 adipokines 중 adiponectin과 leptin 농도 차이를 살펴본 결과는 다음과 같다 (Table 1-14, Fig 1-15). 인슐린의 경우 군별로 유의적인 차이를 보이지 않았고, adiponectin의 경우 고지방식이를 먹이면서 연자육 추출물을 공급한 군이 정상식이군에 비해 유의적으로 낮은 농도를 보였다. Leptin의 경우 고지방식이군이 정상식이군에 비해 유의적으로 증가하였으나 연자육 추출물 공급시 정상식이군 수준으로 낮아졌다.

Table 1–14 Effect of LSEE on serum insulin and adipokines level in rats fed a high–fat diet

Dietary group	N	HF	HFS
Insulin (pg/ml)	728.60±127.82	952.31±87.37	808.00±108.50
Adiponectin (µg/ml)	51.24±4.64 ^a	42.33±2.68 ^{ab}	35.68±3.94 ^b
Leptin (ng/ml)	3.18±0.27 ^a	4.81±0.35 ^b	3.13±0.34 ^a

Values are expressed as mean±SEM

Values with different superscript within the row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFS : High fat diet + LSEE group

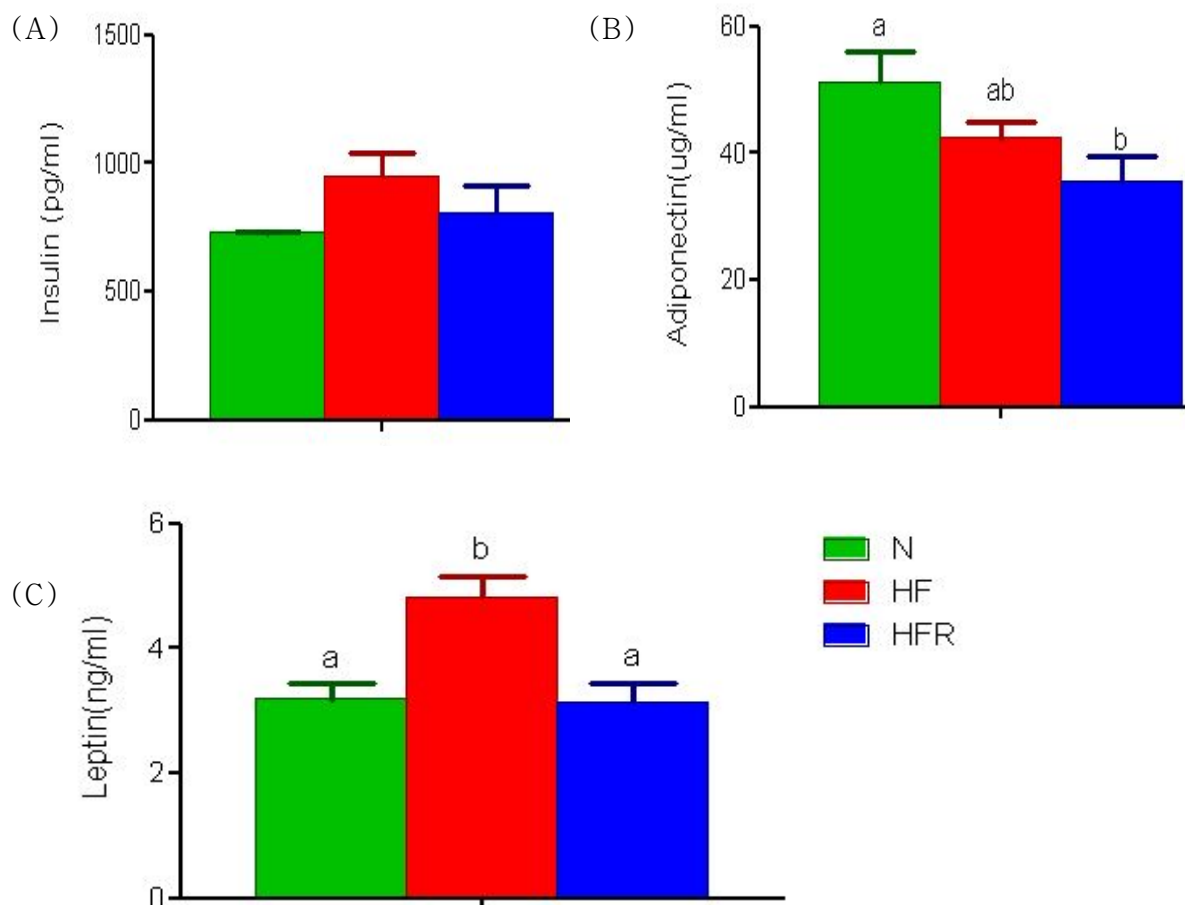


Fig. 1–15 Effect of LSEE on serum insulin and adipokines in rats fed a high–fat diet. (A) Insulin (B) Adiponectin (C) Leptin, Values are expressed as mean±SEM, Values with different superscript are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test, N : Normal diet group, HF : High fat diet group, HFR : High fat diet + LSEE group

(마) 지방세포 사진

고지방식으로 사육하면서 연자육 추출물을 공급하였을 경우 실험동물의 부고환 지방 세포를 광학현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다 (Fig. 1-16). 고지방군의 지방세포는 정상에 비해 세포도 크고 일정하지 않은 양상을 보이고 있으나, 연자육 추출물 공급시 크기도 작아지고 모양도 고른 것을 볼 수 있었다. 고지방식이 섭취는 지방조직의 중량 증가와 함께 지방세포의 크기도 증가시켰는데, 연자육 추출물의 공급은 지방조직의 중량 저하와 더불어 지방세포의 크기도 감소시키는 것으로 나타나 비만 치료에 효과적일 것으로 사료된다.

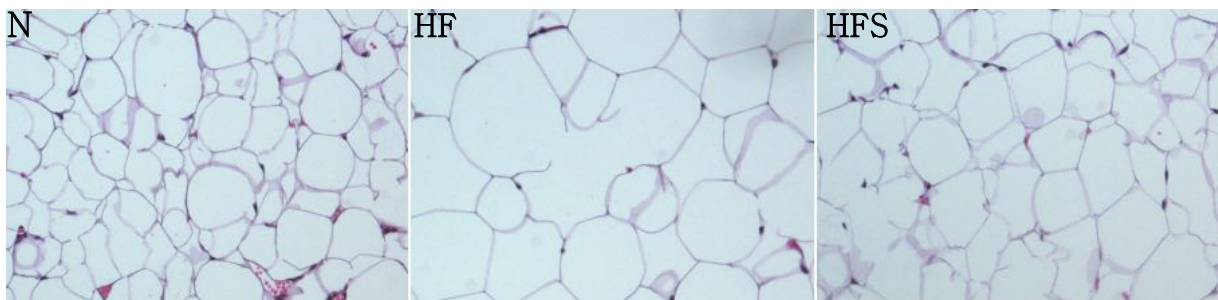


Fig 1-16 Light micrography of epididymal adipocytes in rats fed a high-fat diet. Representative pictures of hematoxylin and eosin-stained sections of epididymal adipocytes from rats fed a normal diet(N) or high fat diet + LSEE (HFS) show smaller size of adipocytes than those of rats fed a high-fat diet (HF) (100 × magnification)

Paper III

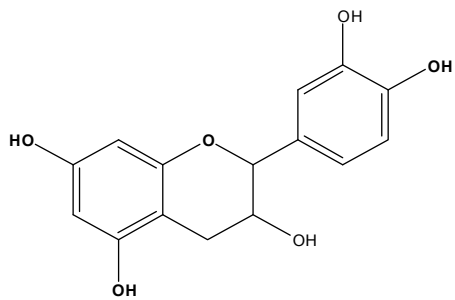
Antiobesity effects of various compounds isolated from lotus (*Nelumbo Nucifera*) root and seed ethanol extract on lipid accumulation in human preadipocyte

(1) 연근과 연자육 추출물로부터 분리된 성분의 지방생성 억제효과

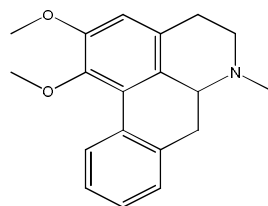
연근과 연자육 추출물로부터 분리된 catechin, nuciferine, isoquercetin, isoliensinine 성분의 구조식은 Fig. 1-17과 같다. 연근과 연자육 추출물에서 분리된 성분들의 지방생성 억제효과를 측정하기 위하여 인간지방전구세포를 지방세포로 분화하며 분리된 성분들을 첨가하였다. Catechin, nuciferine과 isoquercetin의 농도는 5, 25, 125, 625 $\mu\text{M/ml}$ 로 나누었고, 625 $\mu\text{M/ml}$ 에서 세포가 사멸한 isoliensinine의 농도는 1, 5, 25, 125 $\mu\text{M/ml}$ 로 나누어 실험하였다 (Table 1-15, Fig. 1-18~21)

Catechin의 경우 125 $\mu\text{M/ml}$ 이상에서 농도의존적으로 지방생성을 억제하였고, nuciferine은 25 $\mu\text{M/ml}$ 이상에서 농도의존적으로 지방생성을 억제하였다. Isoquercetin은 625 $\mu\text{M/ml}$ 의 농도 공급시에만 유의적으로 지방생성이 억제되었고 Isolienisnine의 경우 25 $\mu\text{M/ml}$ 이상에서 농도의존적으로 지방생성이 억제되었다.

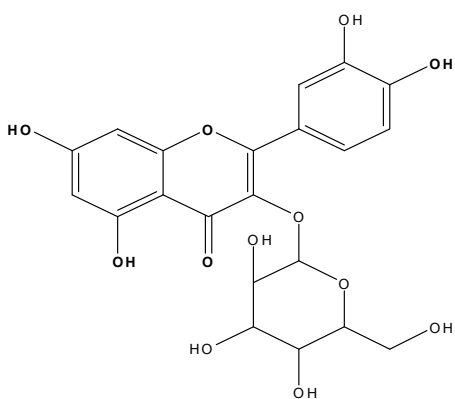
모든 종류의 성분을 25 $\mu\text{M/ml}$ 와 125 $\mu\text{M/ml}$ 의 동일한 농도에서 OD를 비교하여 그래프로 나타낸 결과 (Fig. 1-22) 시료를 처리하지 않는 대조군에 비해 **isoliensinine > nuciferine > isoquercetin > catechin** 순으로 지방생성 억제효과가 뛰어났다.



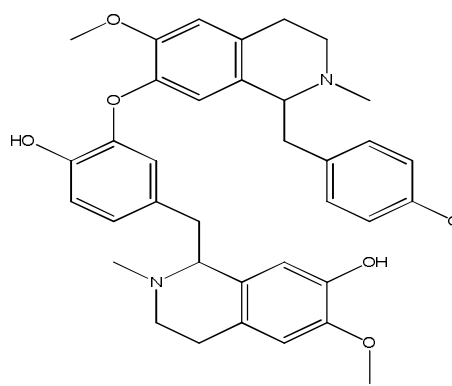
Catechin



Nuciferine



Isoquercitrin



Isoliensinine

Fig. 1-17 Structure of compounds isolated from lotus root and seed

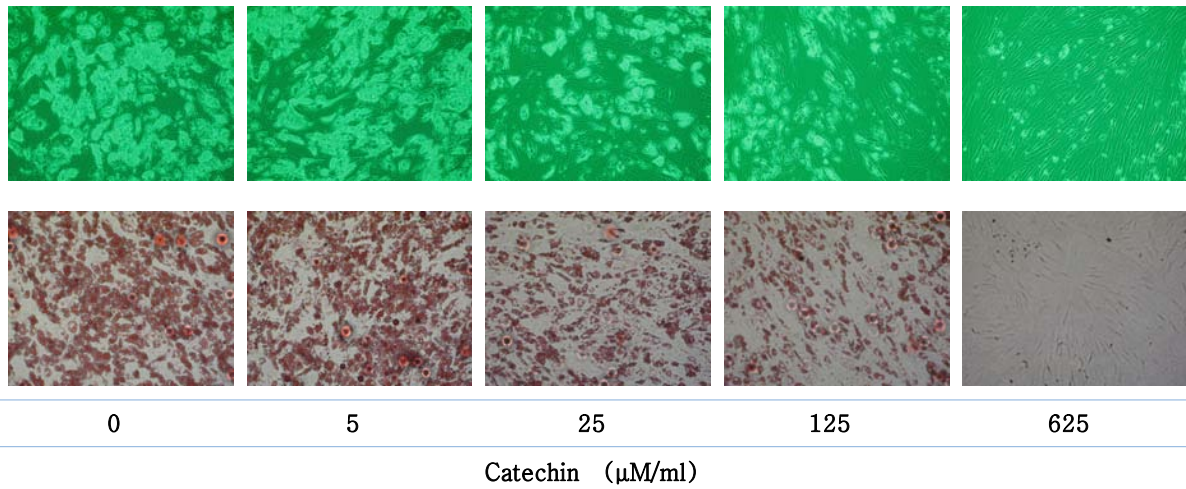
Table 1–15 Effect of compounds from lotus leaf extract on human adipocyte differentiation

Compounds	OD of Oil red O solution (%) in various concentration					
	0	1 μ M/ml	5 μ M/ml	25 μ M/ml	125 μ M/ml	625 μ M/ml
Catechin	100	–	91.71 \pm 1.16	92.90 \pm 2.08	59.65 \pm 1.65*	18.10 \pm 0.89*
Nuciferine	100	–	94.58 \pm 4.55	78.62 \pm 2.26*	44.46 \pm 2.73*	26.01 \pm 0.86*
Isoquercetin	100	–	84.98 \pm 2.79	89.70 \pm 2.06	76.90 \pm 3.52	31.84 \pm 2.40*
Isoliensinine	100	95.99 \pm 2.15	80.32 \pm 3.49	41.20 \pm 1.62*	38.78 \pm 1.25*	–

Values are expressed as mean \pm SEM

*: p < 0.05 versus no treatment with compounds from lotus root and seed

(A)



(B)

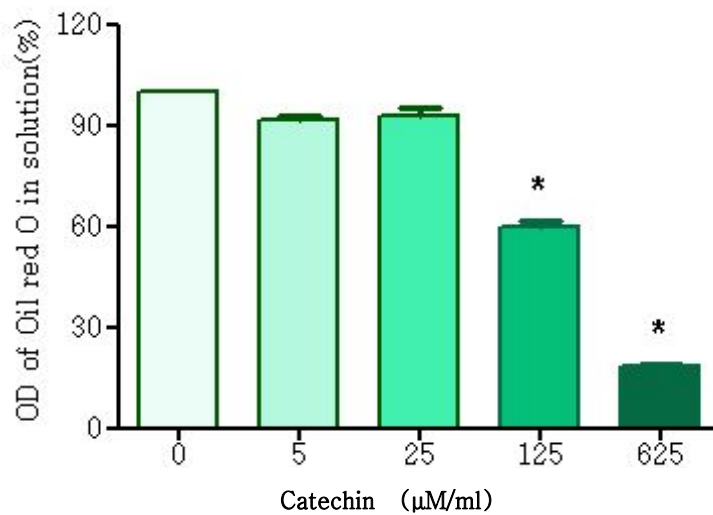
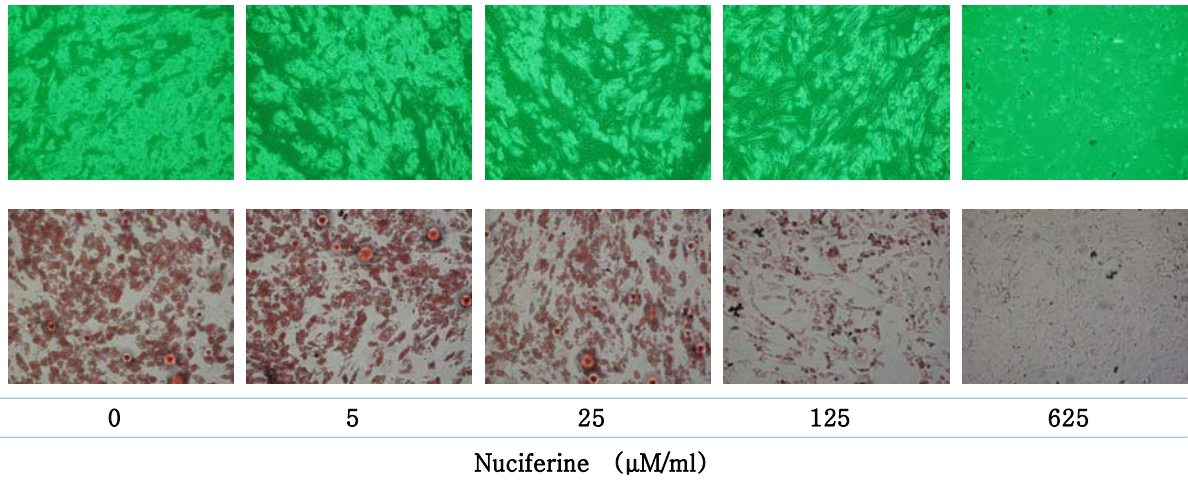


Fig. 1-18 Effect of catechin on human adipocyte differentiation. (A) Microscopic image of differentiated adipocytes before (top row) and after (bottom row) oil red O staining (B) Optical density (%) at 500 nm of the dye retained in adipocytes. Values are expressed as SEM *: $p < 0.05$ versus no treatment with catechin

(A)



(B)

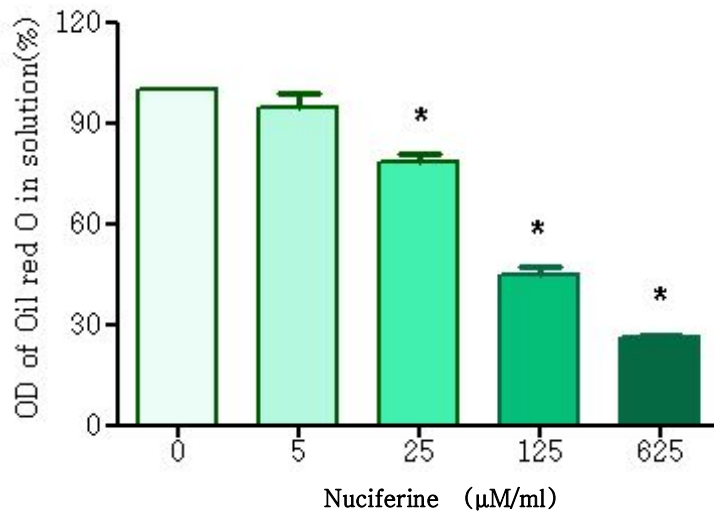
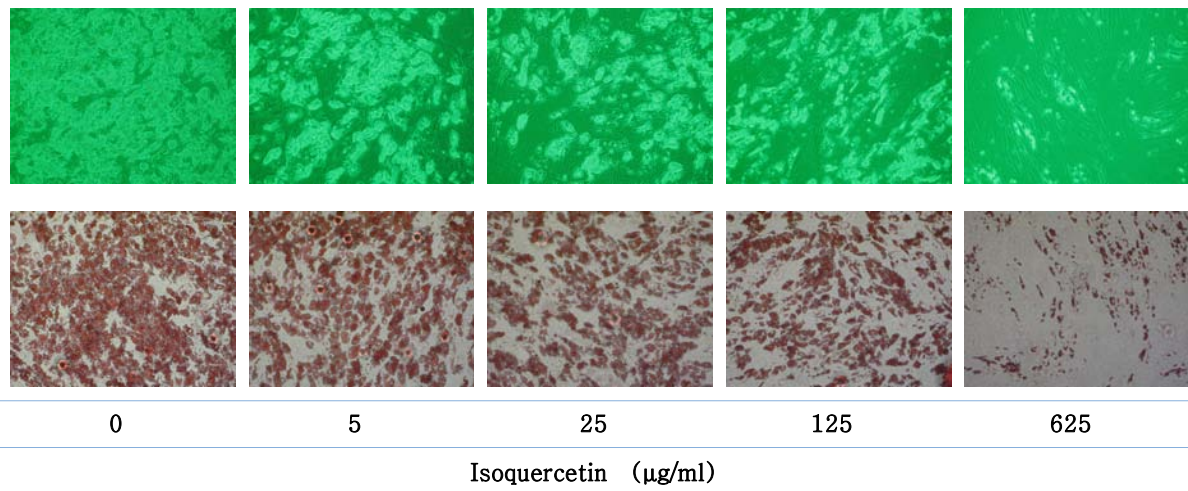


Fig. 1-19 Effect of nuciferine on human adipocyte differentiation. (A) Microscopic image of differentiated adipocytes before (top row) and after (bottom row) oil red O staining (B) Optical density (%) at 500 nm of the dye retained in adipocytes. Values are expressed as SEM *: $p < 0.05$ versus no treatment with nuciferine

(A)



(b)

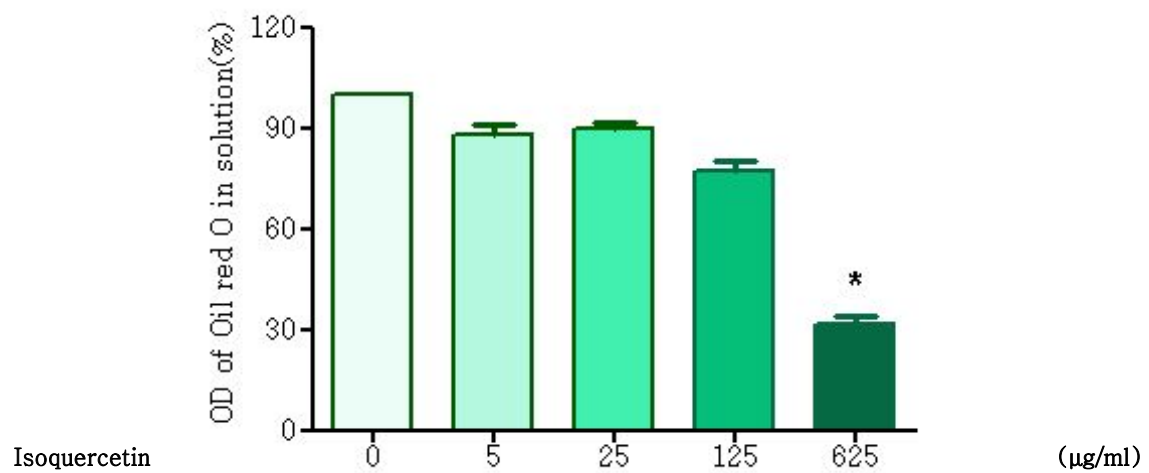
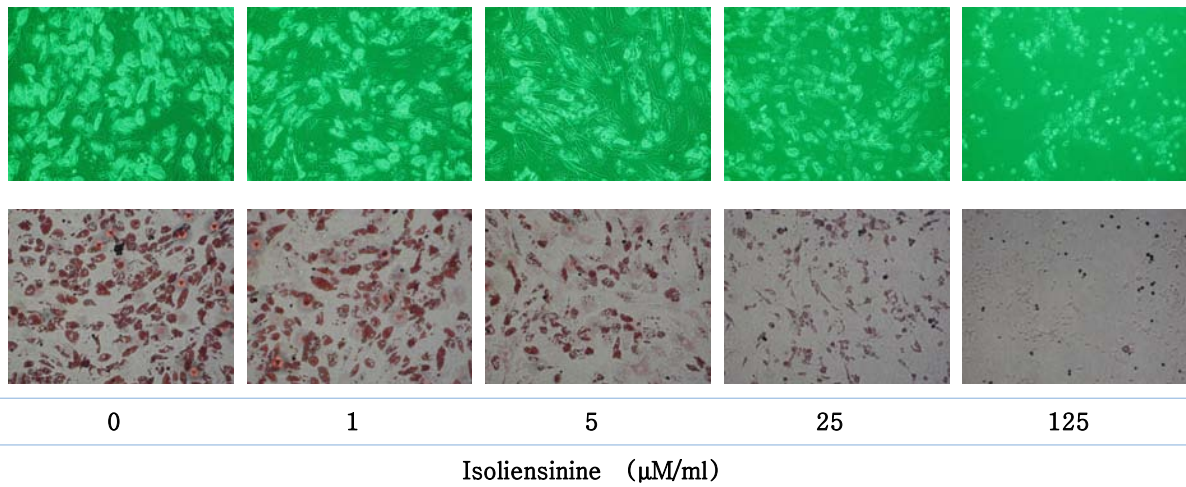


Fig. 1–20 Effect of isoquercetin on human adipocyte differentiation. (A) Microscopic image of differentiated adipocytes before (top row) and after (bottom row) oil red O staining (B) Optical density (%) at 500 nm of the dye retained in adipocytes. Values are expressed as SEM *: $p < 0.05$ versus no treatment with isoquercetin

(A)



(B)

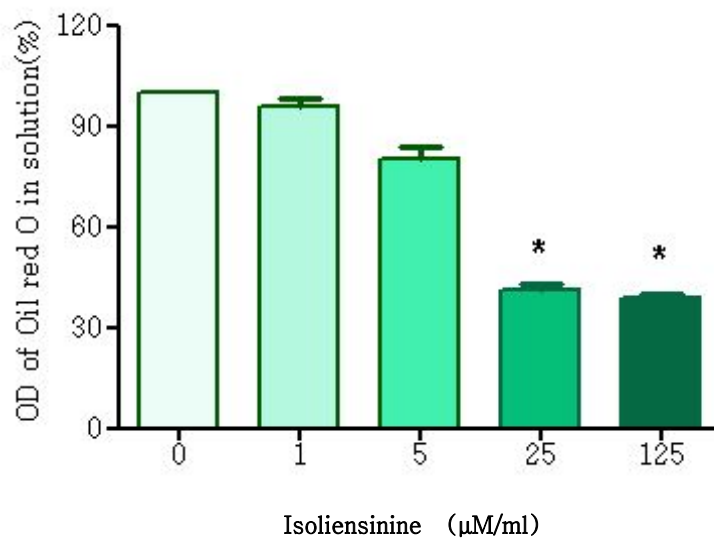


Fig. 1-21 Effect of isoliensinine on human adipocyte differentiation. (A) Microscopic image of differentiated adipocytes before (top row) and after (bottom row) oil red O staining (B) Optical density (%) at 500 nm of the dye retained in adipocytes. Values are expressed as SEM *: $p < 0.05$ versus no treatment with isoliensinine

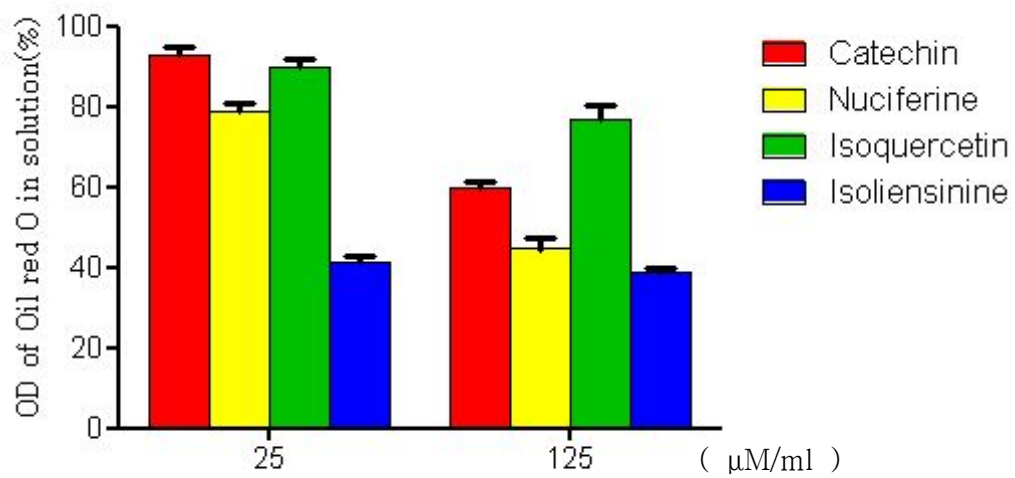


Fig. 1-22 Effect of compounds from lotus root and seed extract on human adipocyte differentiation. Values are optical density (%) at 500 nm of the dye retained in adipocytes. Values are expressed as SEM

2. 연의 항산화 건강증진 효과 규명

가. 연구 방법

(1) 시료 준비

연의 항산화 건강증진 효과를 확인하고자 경기도 시흥에서 구입한 연근과 연자육을 연근 에탄올 추출물 (LREE)과 연자육 에탄올 추출물 (LSEE) 형태로 협동과제 측으로부터 공급받아 실험에 이용하였다. 상세한 추출방법은 협동과제의 연구내용에 기술하였다.

(2) *in vitro* (생체외 실험)

(가) DPPH 라디칼 소거능

자유 라디칼의 소거 활성은 Lin *et al.*의 방법으로 부터 수정된 DPPH 라디칼을 이용하여 측정하였다 (Lin *et al.*, 2009a). 먼저 DPPH의 메탄올 용액 (100 μ M, 5 mL)을 여러 농도의 샘플과 반응 시킨 후 (0–2.0 mg/mL, 0.6 mL) 이 혼합물을 빛이 없는 곳에서 30 분간 보관하였다. 흡광도는 Cary 300 UV–Vis spectrophotometer (Agilent Technologies, USA)를 이용하여 517 nm에서 측정하였고, 검정용액으로 DPPH가 없는 메탄올을 사용하였다. 선형회귀분석에 의해 얻어진 EC_{50} 값으로 항산화물질의 활성을 표시하였다.

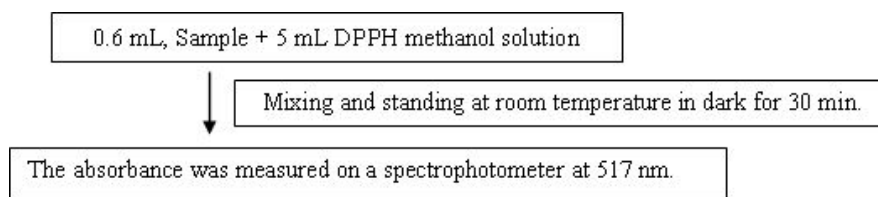


Fig. 2-1 DPPH radical decoloration assay process

- 검정 실험: DPPH가 없는 메탄올
- DPPH 억제 비율 = $[1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100\%$

A_i : 샘플과 DPPH 반응물의 흡광도, A_j : 샘플의 메탄올 용액의 흡광도

A_c : DPPH 메탄올 용액의 흡광도

(나) 환원력 측정

연근과 연자육 에탄올 추출물의 환원력을 측정하고자 Oyaizu의 방법 (Oyaizu, 1986)을 이용하여 환원력을 측정하였다. 시료를 각각 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 mg/ml 농도별로 조제한 시료 0.1 ml에 0.2 M 인산 완충액 (pH 6.6) 0.25 ml와 1% potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) 0.25 ml를 넣은 다음, 50 °C에서 20 분간 반응시켰다. 0.25 ml의 10 % trichloroacetic acid를 첨가하고 650 g, 10 분간의 원심분리를 통하여 얻어진 상층액 0.3 ml에 증류수 0.3 ml와 0.1 %의 $FeCl_3$ 0.06 ml를 넣어서 발색반응을 유도시킨 다음 UV-visible spectrophotometer (Hewlett packard, Wilmington, DE, USA)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

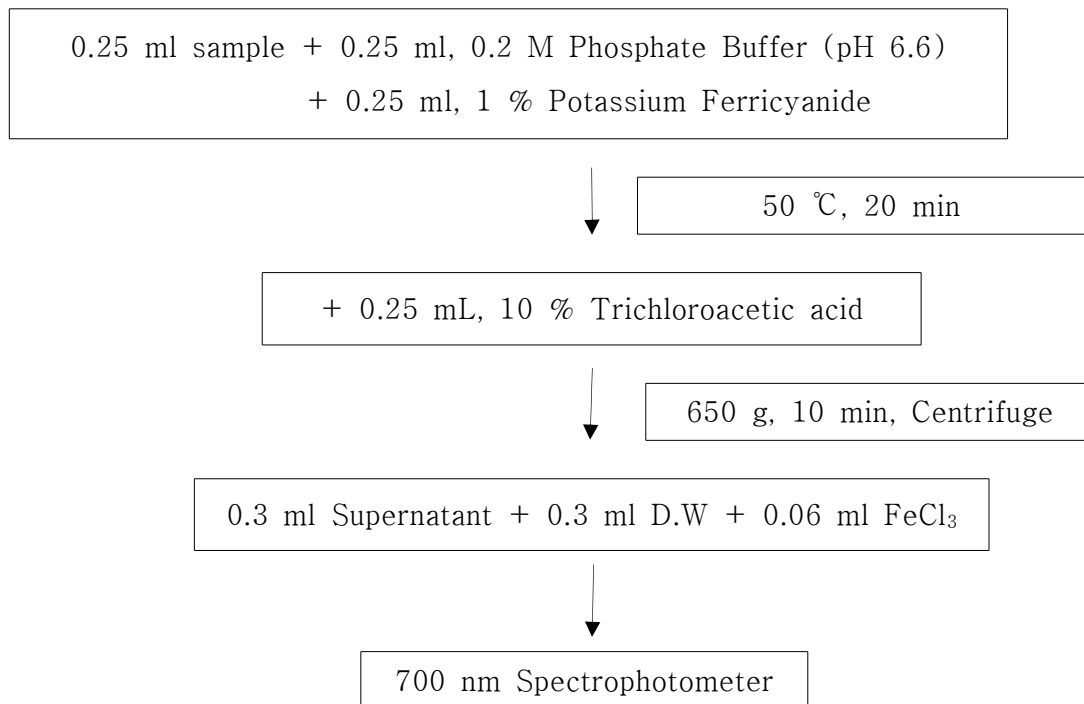


Fig. 2-2 Reducing power assay process

(다) 지질과산화 억제 효과

지질과산화 억제 효과는 Mitsuda 등의 방법 (Mitsuda *et al.*, 1966)을 수정한 것으로 측정하였다. 시료가 첨가된 linoleic acid emulsion을 자동산화시키고 Fe^{2+} 로 과산화를 유도시킨 후, 지질과산화물을 TBA로 발색시켜 과산화 정도를 측정하였다. Linoleic acid emulsion의 제조는 200 μ L linoleic acid (2.5 % in 99.9 % ethanol), 400 μ L sodium phosphate buffer (pH 7.0, 50 mM), 200 μ L D.W와 DMSO를 사용하여 4 mg/ml로 희석시킨 연근과 연자육 에탄올 추출물을 200 μ L를 혼합한 후 40 $^{\circ}$ C 암소에서 6일간 자동산화를 시켰다. 제조한 emulsion에 0.1M iron sulfate ($FeSO_4 \cdot H_2O$) 8 μ L를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C, shaking incubator에서 2 시간 동안 과산화 반응을 유발시켰다. 처리된 emulsion 800 μ L를 4 $^{\circ}$ C에서 10 분동안 tempering 시키고 400 μ L의 TBA reagent를 가한 다음 잘 혼합하여 95 $^{\circ}$ C, water bath에서 15 분간 발색시킨 후 얼음물에서 10 분간 냉각시켰다. 냉각된 emulsion에 1.12 ml의 n-butanol을 가하고 잘 혼합하여 250 g로 20 분 동안 원심분리 시킨 후 n-butanol 층을 취하여 Powerwave X microplate spectrophotometer (Biotek instruments Inc., Winooski, USA)로 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비타민 C를 표준물질로 하여 지질과산화 억제 효과 정도를 비교하였다.

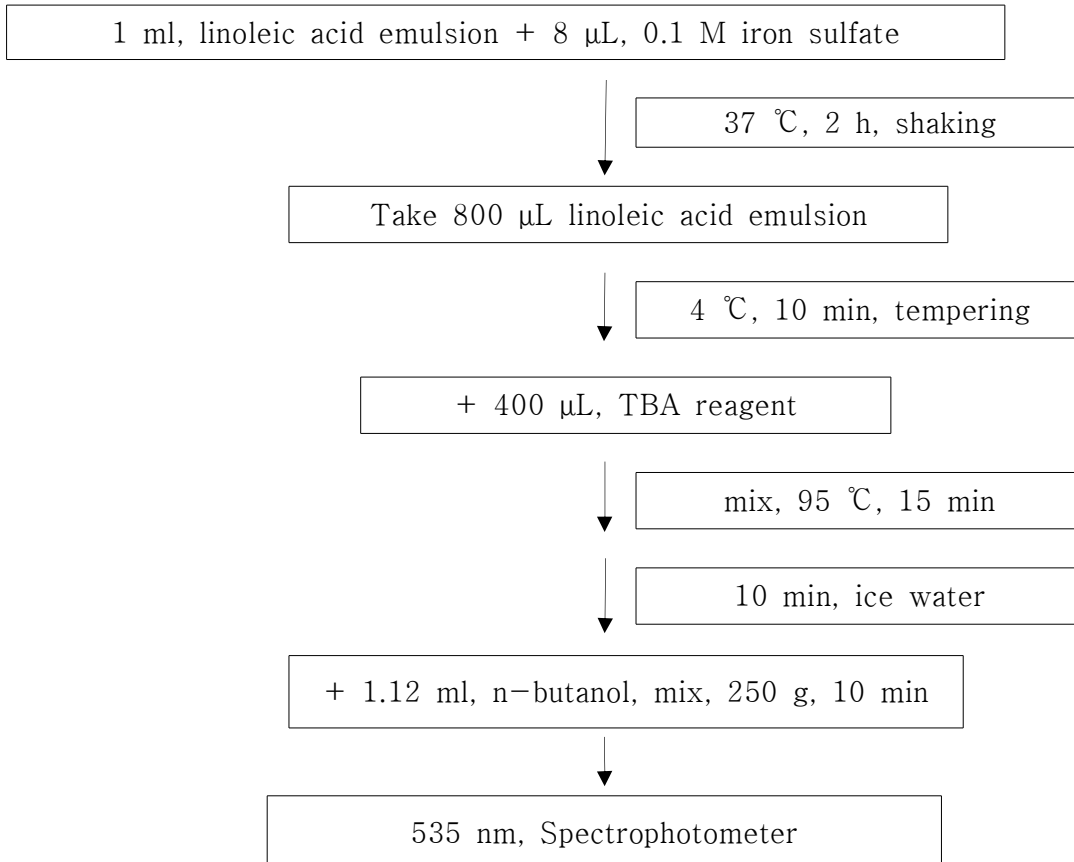


Fig. 2-3 Lipid peroxidation inhibition assay process

(라) ORAC assay

OxiSelect™ ORAC Assay Kit (Cell Biolabs, Inc., San Diego, CA, USA)를 사용하여 oxygen radical antioxidant capacity를 측정하였다. 시료는 연자육과 연근 추출물을 0.025g 사용하였고 D.W(1:2 w/v)을 0.05ml 넣어 4℃, 10,000×g로 10분간 원심분리 하였다. 상층액을 분리한 후 남은 plup을 D.W로 세척하여 plup을 제외한 액체를 상층액에 첨가하고 모은 상층액은 assay diluent로 10 배 희석하여 사용하였다. 남은 plup은 각각의 무게를 재서 acetone (1:4 w/v)과 잘 섞은 후 실온에서 30-60 분 방치하고 12,000 ×g로 10 분간 원심 분리한 후 상층액을 분리하여 assay diluent로 10배 희석하여 사용하였다. 5 mM antioxidant standards 10 µl과 assay diluent 혹은 50 % acetone을 240 µl 첨가하여 0.2 mM로 희석하여 사용하였다. 96-well microtiter plate에 농도별로 희석한 antioxidant standards와 samples을 25µl씩 넣은 후 각 well에 150 µL fluorescein solution을 첨가하였다. 잘 섞어 plate를 37℃에서 30분간 반응시키고 각 well에 25 µl free radical initiator solution을 첨가하였다. 피펫팅으로 잘 섞어주고 fluorescent microplate reader (LS 55 Luminescence Spectrometer, Perkin Elmer Inc., USA)를 사용하여 480 nm excitation wavelength and 520 nm emission wavelength 로 37 °C에서 1 시간 동안 2-5 분 간격으로 측정하고 ORAC value를 µmol TE/g 단위로 나타내었다.

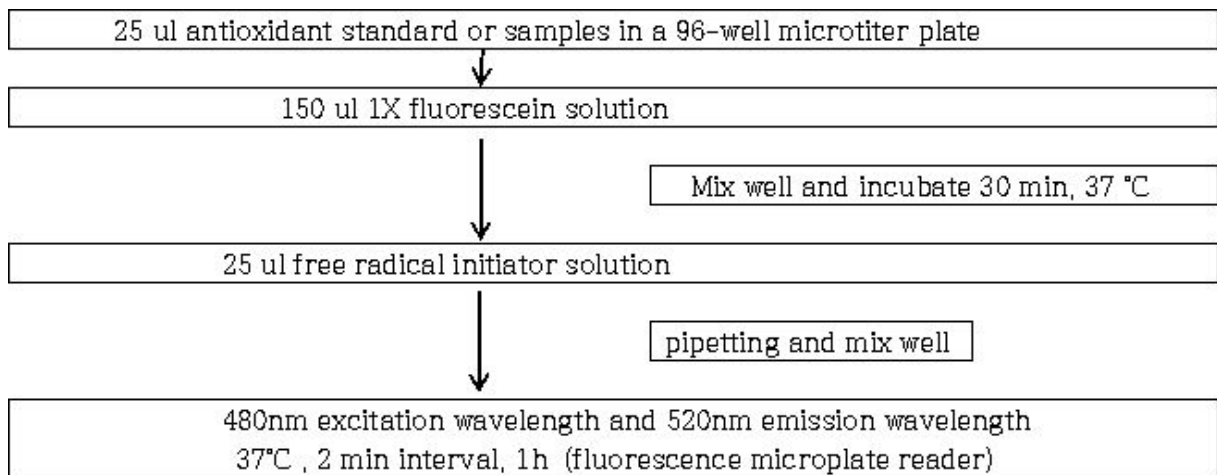


Fig. 2-4 ORAC assay process

(3) *in vivo* (생체내 실험)

(가) 실험동물 및 식이

실험동물은 Sprague-Dawley 수컷 쥐 (4 주령)를 구입 (코아텍, 한국)하여 1 주일간 적응시킨 후 난괴법 (randomized block design)으로 정상군(10 마리), 고지방군 (20 마리)으로 나누어 사육 하였다. 7 주 후 고지방군은 다시 난괴법 (randomized block design)으로 고지방군 (10 마리)과 연근군 (10 마리), 연자육군 (10 마리)으로 나누어 7 주간 더 사육하였다. 연근군은 연근 에탄올 추출물을 각 체중 당 1200 mg/kg 체중의 수준으로, 연자육군은 연자육 에탄올 추출물을 각 체중 당 400 mg/kg 체중의 수준으로 매일 경구 투여 하였고, 정상군과 고지방군은 동량의 식염수를 경구 투여하였다. 실험에 사용된 식이는 AIN-93에 기준하여 조제하였으며, 조성비는 Table 2-1과 같다. 실험 기간 중 물과 식이는 자유로이 섭취시켰으며, 사육실 온도는 22 ± 2 °C, 습도는 55 ± 5 %, 명암은 12 시간 주기로 자동 조절하였다.

Table 2-1 Composition of experimental diet

Component	Normal diet (g)	High fat diet (g)
Casein	200.0	200.0
Corn starch	447.486	155.036
Sucrose	50.0	50.0
Dextrose	132.0	132.0
Cellulose	50.0	50.0
Vitamin mixture ¹	10.0	10.0
Mineral mixture ²	35.0	35.0
Soybean oil	70.0	25.0
Lard	—	175.0
L-cystine	3.0	3.0
Choline Bitartrate	2.5	2.5
TBHQ	0.014	0.014
Total	1000	857.6

¹AIN-93 vitamin mixture

²AIN-93 mineral mixture

(나) 실험동물의 처리 및 시료 수집

실험동물은 12 시간 절식시키고 에테르로 마취한 후 심장 채혈하였다. 혈액은 상온에서 1시간 방치 후 3000 rpm에서 20 분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 분석에 이용하였다. 채혈이 끝난 후 간을 조심스럽게 적출하여 간의 일부를 액체질소로 급속냉동 시킨 후 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

(다) 간 균질액 만들기와 cytosol 분리

약 3 g의 간을 잘게 다져서 6 ml의 ice-cold homogenizing media (154 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA buffer, pH 7.4)와 섞어 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에서 homogenizer로 균질화한 다음, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $1,000\times\text{g}$ 에서 10 분간 원심분리 하였다. 조심해서 상층액을 분리하여 일부는 TBARS 측정을 위해 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였고 나머지 상층액은 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10,000\times\text{g}$ 에서 20 분간 원심분리 하였다. 다시 상층액을 모아 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $100,000\times\text{g}$ 에서 60 분간 초고속 원심분리 하여 cytosol 분리 후 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

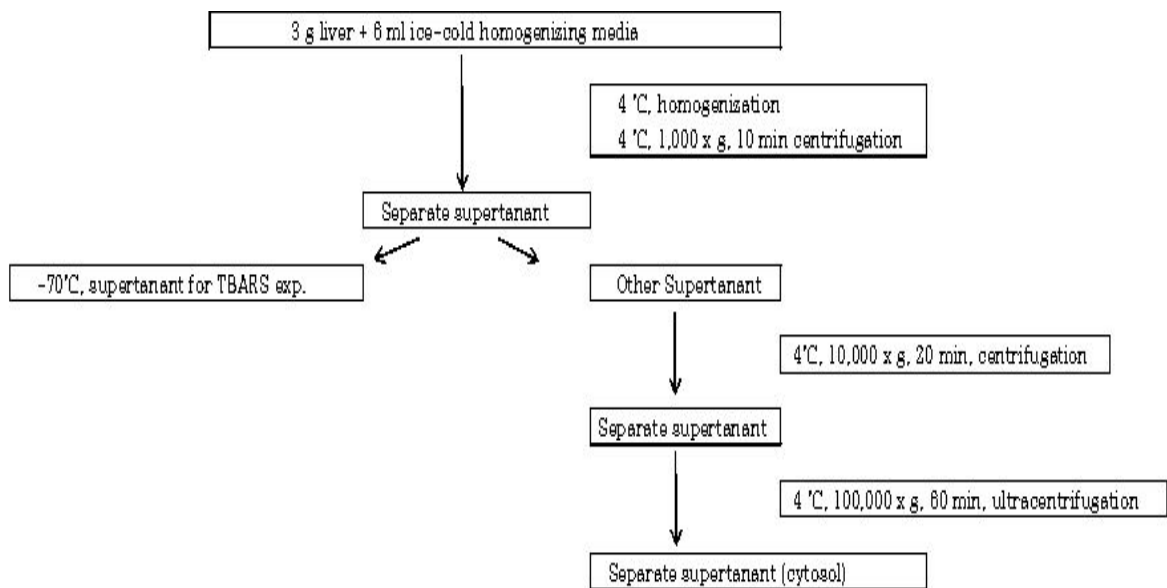


Fig. 2-5 Isolation of liver homogenate and cytosol

(라) 지질과산화물 함량 측정

지질과산화에 의한 간 조직의 손상을 알아보기 위해 thiobarbituric acid (TBA) 측정법으로 간에 함유되어 있는 지질과산화물의 함량을 정량하였다. TBA 측정법은 각종 생체막의 과산화반응 결과 생성되는 free malondialdehyde (MDA)를 TBA와 반응시켜 생성물을 발색시키고 흡광도를 측정하는 방법이다. 1.15 % KCl buffer를 사용하여 10 %로 희석시킨 0.5 ml 간 균질액에 3 mL의 1 % phosphoric acid와 1 mL의 TBA reagent를 가하여 잘 혼합한 후 95 °C water bath에서 45 분간 진탕 가온하였다. 암실에서 5 분간 얼음물에 냉각시킨 후 4 mL의 n-butanol을 가하고 잘 섞은 후 2000 rpm에서 15 분간 원심분리 하였다. TBA와 반응한 물질이 추출된 n-butanol층을 취하여 UV-visible spectrophotometer (Hewlett packard, Wilmington, DE, USA)로 535nm에서 흡광도를 측정하여 농도를 계산하였다. 표준물질로 1,1,3,3-tetramethoxypropane을 사용하였고 단위는 nM/mg protein으로 표시하였다.

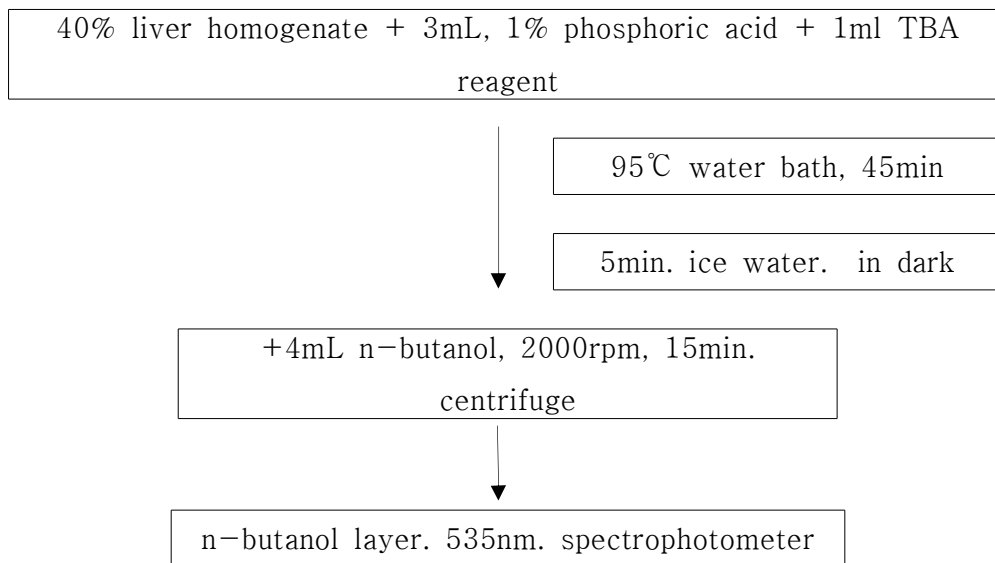


Fig. 2-6 TBARS contents assay process

(마) 항산화 효소 활성 측정

① Superoxide dismutase (SOD) 활성도

OxiSelect™ Superoxide Dismutase Activity Assay Kit (Cell Biolabs, Inc., San Diego, CA, USA)를 사용하여 SOD 활성도를 측정하였다. Sample과 blank, standard를 10ul씩 96-well microtiter plate에 넣고 각 well에 5ul xanthine solution, 5ul chromagen solution, 10ul 10X SOD assay buffer, 60ul DW를 첨가하였다. 잘 섞은 후 각 well에 10ul 1X xanthine oxidase solution을 첨가하였다. 잘 섞어 37°C에서 1시간 반응시키고 Emax microplate reader기 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 490nm에서 흡광도를 측정한 후 SOD 활성 (inhibition %)으로 나타내었다.

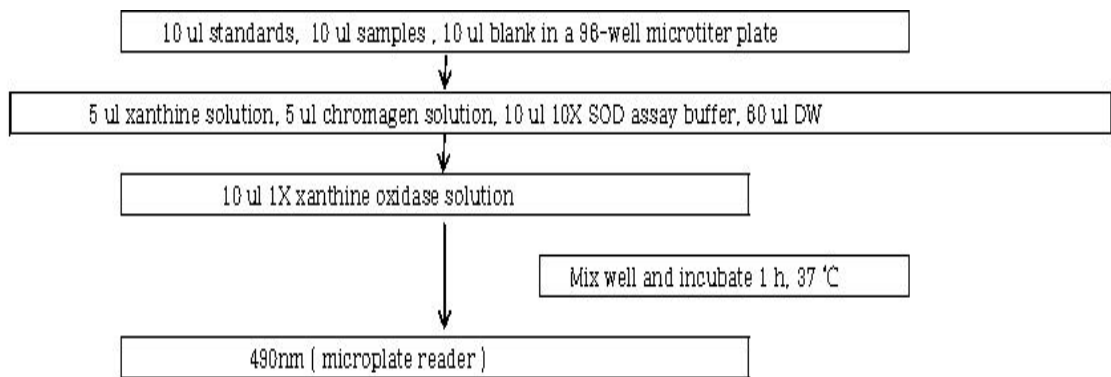


Fig. 2-7 SOD activity assay process

② Glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성도

Glutathione peroxidase (GSH-Px)는 체내에 존재하는 셀레늄을 함유한 유리기제거효소로 과산화수소 및 지질과산화물을 환원시켜 해당 알코올이나 물을 만들어 세포막 지질과산화물을 방지하는데 중요한 역할을 한다. GSH-Px는 환원형 glutathione인 GSH를 산화시켜 GSSG를 생성하고 glutathione reductase가 산화형 glutathione (GSSG)를 다시 환원시켜 GSH로 전환시키는 작용을 한다. 연근과 연자육 에탄올 추출물을 투여한 실험동물의 간 cytosol 내 GSH-Px 활성 정도를 알아보기 위해 cummen-hydroperoxide 첨가 시 glutathione peroxidase 작용에 의해 생성된 GSSG가 과량의 glutathione reductase와 일정량의 NADPH 존재하에 다시 환원되는 속도를 측정하였다. Stock solution은 0.25mM GSH, 0.12 mM NADPH, 1 unit/ml glutathione reductase이 되도록 각각 50 mM Tris buffer (50 mM Tris-aminoethan, 0.1 mM EDTA)에 녹여 이 세 가지 용액을 섞어 pH 7.6이 되도록 제조하였다. 100 μL의 샘플을 1.55 mL의 stock solution에 희석하였고 혼합액을 cuvette에 넣어 37 °C에서 5분 간 가온하였다. 혼합액에 50 μL의 cummen-hydroperoxide

를 가하고 UV-visible spectrophotometer (Hewlett packard, Wilmington, DE, USA)로 340 nm에서 1분간 흡광도 감소를 측정하여 $\mu\text{M NADPH}/\text{min}/\text{mg protein}$ 로 나타내었다.

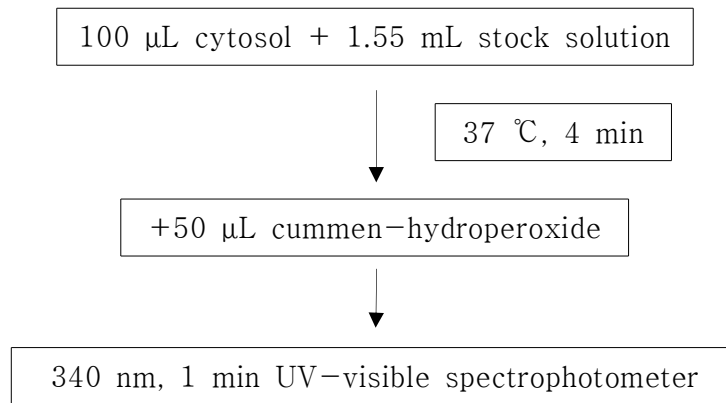


Fig. 2-8 GSH-Px activity assay process

(바) 항산화 물질 측정

Glutathione (GSH)는 산화적 세포 손상에 대한 방어작용을 하는 효소의 기질 역할을 하며 세포내 지질과산화물과 이물질 제거, 아미노산 수송 및 저장 등 다양한 역할을 하는 중요한 물질이다. 연근, 연자육 에탄올 추출물을 공급한 실험동물의 조직 내 항산화 물질인 GSH 농도를 측정하였다 (Ellman, 1959). 조직 균질액 100 μl 에 0.1 ml 0.2 M Tris buffer (pH 8)와 4 ml MeOH를 혼합한 후 0.01 M의 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) 용액 100 μl 을 가하여 혼합하였다. 그 후 상온에서 15 분간 방치한 후 3000 rpm에 30 분간 원심분리 하여 상등액을 취해 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 조직 균질액의 단백질 함량은 Lowry 방법 (Lowry *et al.*, 1951)으로 측정하였고 mM/mg protein를 단위로 농도를 계산하였다.

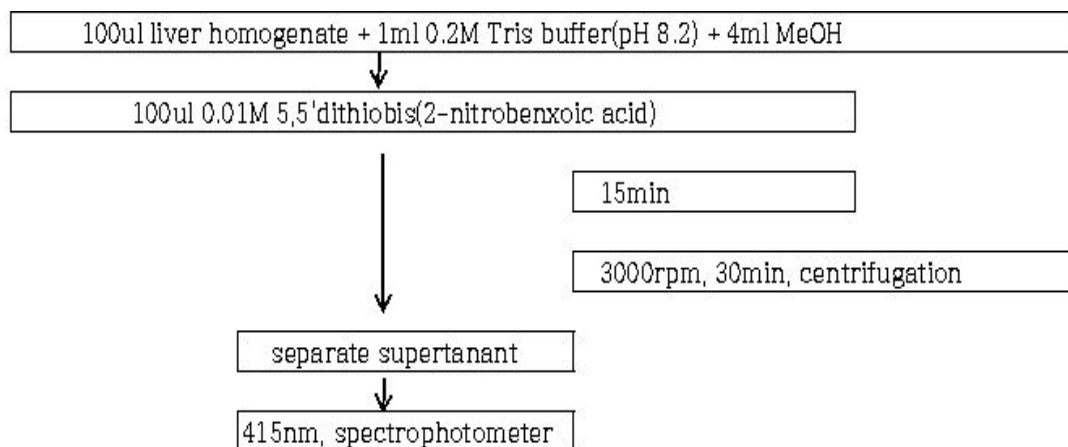


Fig. 2-9 GSH assay process

나. 연구 결과

(1) *in vitro* (생체의 실험)

(가) DPPH 라디칼 소거능

연근과 연자육 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 확인한 결과 비타민 C보다는 낮지만 연근의 DPPH 라디칼 소거능이 연자육 에탄올 추출물에 비해 높은 것을 확인할 수 있었다.

Table 2-2 DPPH free radical scavenging activity of LREE and LSEE

Sample	DPPH scavenging activity EC ₅₀ (μg/mL)
LREE	69.74±4.32
LSEE	224.46±1.51
Vitamin C	5.79±0.11

Values are expressed as mean±SEM

(나) 환원력 측정

연근과 연자육 에탄올 추출물의 환원력을 살펴본 결과 연자육과 연근 추출물 모두 농도의존적으로 매우 우수한 환원력을 보이고 있었고, 연자육보다 연근이 더 우수한 환원력을 보이고 있었다 (Table 2-3)

Table 2-3 Reducing power of LREE and LSEE

Sample (mg/ml)	Reducing power (absorbance at 620nm)					
	0	0.125	0.25	0.5	1	2
LREE	0.34±0.01	0.52±0.01	0.65±0.01	0.94±0.01	1.35±0.01	2.21±0.02
LSEE	0.34±0.01	0.39±0.01	0.43±0.01	0.51±0.01	0.69±0.01	1.11±0.02

Values are expressed as mean±SEM

(다) 지질과산화 억제작용

지질과산화 억제 작용을 통해 항산화 활성도를 확인한 결과 연자육이 연근보다 지질과산화 억제작용이 큰 것으로 나타났다 (Table 2-4).

Table 2-4 Antioxidative effects of LREE and LSEE on Fe⁺-induced linoleate peroxidation

Sample	Absorbance at 4 mg/ml
LREE	0.353±0.01
LSEE	0.243±0.01

(라) ORAC assay

연근과 연자육 에탄올 추출물의 항산화 활성을 살펴보고자 AAPH에 의한 peroxy radical의 생성과 소멸에 따른 fluorescent의 감소율을 ORAC assay에 의해 측정된 결과는 Table 2-5와 같다. 연근 에탄올 추출물의 경우 47.68 이었고, 연자육 에탄올 추출물의 경우 29.48 이었다. 타 연구 결과 (Cho *et al.*, 2007)의 국산 감자 (6.3)나 양파 (6.8)와 비교해 볼 때 항산화력이 높은 것을 알 수 있었다.

Table 2-5 ORAC value of LREE and LSEE

Sample	ORAC value (μmol TE/g)
LREE	47.68
LSEE	29.48

(2) *in vivo* (생체내 실험)

(가) 체중증가량, 식이섭취량, 물 섭취량 및 식이효율

고지방식으로 사육하면서 연근과 연자육 추출물을 공급하였을 경우 실험동물의 체중 증가, 식이섭취량, 물 섭취량 및 식이효율에 미치는 영향은 Table 1-5와 1-11의 결과에 나타내었다.

(나) 지질과산화물 함량 측정

연근과 연자육 추출물이 고지방식이를 먹은 쥐의 지질과산화물 함량에 미치는 영향은 Table 2-6과 같다. 고지방식이 섭취가 지질과산화물 함량을 증가시키는 것은 잘 알려져 있다. 본 실험에서도 고지방군이 정상군에 비해 급격하게 상승되어 있는 것을 볼 수 있었고, 연근과 연자육 에탄올 추출물 공급시 지질과산화물 함량이 유의적으로 감소한 것으로 보아 연근과 연자육 에탄올 추출물은 지질과산화 작용으로 인한 여러 만성질환의 예방 및 치료에 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

Table 2-6 Effects of LREE and LSEE on hepatic TBARS content in rats fed high-fat diets

Dietary group	N	HF	HFR	HFS
TBARS content (nM/mg protein)	125.00±51.55 ^a	355.44±71.26 ^b	240.29±71.01 ^c	202.49±92.25 ^a

Values are expressed as mean±SEM
 N : Normal diet group
 HF : High fat diet group
 HFR : High fat diet + LREE group
 HFS : High fat diet + LSEE group

(다) 항산화 효소 활성

① SOD 활성도

연근과 연자육 에탄올 추출물이 oxygen free radical 대사에 관여하는 혈청내 SOD 항산화 효소 활성도에 미치는 영향을 Table 2-7에 나타내었다. 정상군과 고지방군 간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 연근군의 경우 고지방군에 비해 유의적으로 SOD 활성도가 높은 것을 볼 수 있었고, 연자육군의 경우 유의적이지는 않지만 높은 경향을 보였다.

Table 2-7 Effect of LREE and LSEE on serum SOD activity in rats fed high-fat diet

Dietary group	N	HF	HFR	HFS
SOD activity (Inhibition rate (%))	35.84±5.34 ^a	35.88±3.58 ^a	41.89±2.73 ^b	38.29±4.27 ^{ab}

Values are expressed as mean±SEM

$$\text{Inhibition rate (\%)} = (\text{OD}_{\text{blank}} - \text{OD}_{\text{sample}}) / (\text{OD}_{\text{blank}}) \times 100$$

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFR : High fat diet + LREE group

HFS : High fat diet + LSEE group

② GPx 활성도

연근과 연자육 에탄올 추출물이 항산화 효소계인 GPx 활성에 미치는 영향을 간 조직의 cytosol에서 측정하여 나타내었다 (Table 2-8). 각 군들 간 유의적인 차이는 보이지 않았지만 연근군과 연자육군의 경우 고지방군에 비해 GPx 활성도가 높은 경향을 보였다. 간의 지질과산화물 함량과 혈청 SOD 활성도의 결과와 함께 종합해 볼 때 연근과 연자육 에탄올 추출물은 고지방식이 섭취로 인한 체내 과산화물 생성을 저하시키고 항산화계 효소 활성을 높이는 것으로 사료된다.

Table 2-8 Effect of LREE and LSEE on cytosolic GPx activity in rats fed high-fat diet

Dietary group	N	HF	HFR	HFS
GPx activity ($\mu\text{M NADPH}/\text{min}/\text{mg protein}$)	0.11±0.09	0.13±0.06	0.24±0.03	0.35±0.12

Values are expressed as mean±SEM

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFR : High fat diet + LREE group

HFS : High fat diet + LSEE group

(라) GSH 함량

연근과 연자육 추출물이 고지방식이를 먹은 쥐의 GSH 함량에 미치는 영향은 Table 2-9와 같다. 고지방식이 섭취로 인하여 GSH 함량은 유의적으로 감소하였으나 연근과 연자육 추출물 공급으로 정상군의 함량에 근접하도록 증가되었다. 고지방식으로 인한 GSH 함량의 감소기전에 대해서는 아직 확실하지 않으나 여러 연구결과와 (Kim *et al.*, 2008, Jung and Park, 2010) 본 실험의 지질과산화물 함량 결과와 함께 살펴보면 고지방군의 경우 고지방식으로 유발된 지질과산화물이 GSH와 반응하여 산화됨으로써 GSH농도가 감소한 것으로 사료되며 연근이나 연자육 추출물의 공급에 의한 지질과산화물의 감소로 GSH 함량이 증가된 것으로 사료된다.

Table 2-9 Effect of LREE and LSEE on hepatic GSH content in rats fed high-fat diet

Dietary group	N	HF	HFR	HFS
GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)	101.51 \pm 6.36 ^a	82.07 \pm 8.99 ^b	98.66 \pm 5.88 ^a	95.08 \pm 11.48 ^a

Values are expressed as mean \pm SEM

N : Normal diet group

HF : High fat diet group

HFR : High fat diet + LREE group

HFS : High fat diet + LSEE group

3. 연 추출물의 단회투여 독성시험

가. 연구 방법

(1) 실험동물

실험동물은 ICR mouse 수컷과 암컷 쥐(12주령)를 분양(경희대 동물실험실)받아 1주일 간 적응시킨 후 난괴법(randomized block design)으로 4마리씩 분리하였다. 식이는 고형 사료를 공급하였고, 실험 기간 중 물과 식이는 자유로이 섭취시켰으며, 사육실 온도는 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도는 $55\pm 5\%$, 명암은 12시간 주기로 자동 조절하였다. 체중은 1주일에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였다.

(2) 추출물 제조

연근(시흥) 에탄올(95%) 추출물과 연자육(시흥) 에탄올(70%) 추출물을 협동과제 측으로부터 공급받았다.

(3) 단회투여 독성시험 설정

투여 용량은 2,000 mg/kg과 5,000 mg/kg으로 나누어 살펴보았다. 2,000 mg/kg은 시험물질이 식용으로 사용되기 때문에 저독성이라 판단되어 식품의약품안전청 의약품의 독성시험기준에 의거 시험물질의 독성이 극히 약하여 중독량을 구하기 어려운 경우 기술적으로 투여할 수 있는 한계량이고, 5,000 mg/kg은 미국 환경보호청(US environmental protection agency)에서 무해 물질 분류 기준이므로 두 군으로 나누어 살펴보았다. 추출물의 임상적용을 고려하여 경구로 투여하였으며 투여 부피는 20ml/kg 이었다.

(4) 체중 및 일반증상 관찰

체중은 투여 직전, 투여 후 7일, 14일에 측정하였다. 일반증상의 변화, 중독증상의 발현, 사망 동물의 유무 등을 관찰하였는데, 투여 당일에는 투여 후 6시간까지 매 시간, 투여 후 1일부터 14일까지는 1일 1회 이상 관찰하였다.

(5) 부검소견의 관찰

투여 후 14일에 생존한 모든 마우스를 ether로 마취시킨 후 치사시켜 외관 및 내부 장기의 이상 유무를 육안으로 관찰하였다.

Table 3-4 Abnormal clinical signs in male and female ICR mice orally treated with lotus seed ethanol extract

Sex	Dose (mg/kg)	Number of mice	Hours after treatment						Days after treatment																
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
Male	0	4	0 ¹	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2000	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5000	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2000	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5000	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

¹Number of animals with abnormal clinical signs

(3) 체중변화

실험기간동안 연근 에탄올 추출물 투여군과 연자육 에탄올 추출물 투여군 모두 투여 용량에 따른 군별로 유의적인 체중의 차이를 보이지 않았다(Table 3-5, 3-6).

Table 3-5 Body weight of male and female ICR mice orally treated with lotus root ethanol extract

Sex	Dose (mg/kg)	Number of mice	Days after treatment		
			Day 0	Day 7	Day 14
Male	0	4	37.70±1.14 ¹	39.77±0.93	41.50±1.04
	2000	4	37.60±1.48	39.60±1.35	40.70±1.21
	5000	4	38.17±1.39	40.10±0.95	41.67±0.62
Female	0	4	30.70±1.44	31.10±1.46	31.95±1.47
	2000	4	30.93±1.34	31.55±1.17	32.58±1.06
	5000	4	31.15±1.37	31.40±1.37	32.48±1.19

¹Values are mean±SEM

Table 3-6 Body weight of male and female ICR mice orally treated with lotus seed ethanol extract

Sex	Dose (mg/kg)	Number of mice	Days after treatment		
			Day 0	Day 7	Day 14
Male	0	4	37.70±1.14 ¹	39.77±0.93	41.50±1.04
	2000	4	38.27±1.69	40.13±1.74	42.50±1.97
	5000	4	38.40±1.91	40.63±2.19	42.1±1.76
Female	0	4	30.70±1.44	31.10±1.46	31.95±1.47
	2000	4	31.28±1.15	31.87±1.43	32.50±1.81
	5000	4	31.13±1.06	31.63±1.01	32.18±1.07

¹Values are mean±SEM

4. 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 발굴

가. 메뉴발굴을 위한 국내·외 연 이용 가공식품 및 음식재료 조사

(1) 연근 이용 가공식품 및 음식재료

							
제품명	연근가루	연근티백	연반연근차	연근가루	연근차골드	연근환	연근국수
제조회사	(주)연반			정우당			서신국수
원산지	전남 무안			경북			경기 시흥
							
제품명	백련지 연근간장	산야초 효소	연근다시마 청국환	천연조미료 맛샘	백련근 분말차	연근된장	연근스낵
제조회사	황토골된장마을				하늘백련		
원산지	전남 무안				전남 무안		
							
제품명	연근참 콘플레이크	우리연근	연냉면 비빔장양념	연돼지갈비 양념	연근함박 스테이크	연돈까스	참사랑남은 연김
제조회사	예그린식품						
원산지	경기 시흥						
							
제품명	연근가루	연근차	연냉면	연근과자	연떡국떡	좋은연 연고기만두	좋은연 연김치만두
제조회사	좋은연식품						
원산지	강화 선원사						

							
제품명	산사애 연김치	백년지기 연근	통연근	백년지기 연근차	약초건강쿠키 연근쿠키	무안 연근소금	굿나잇
제조회사	산사애	백년지기농장			세하앤	청수식품	천호식품
원산지	국내산	전남 해남			국내산	전남 무안	국내산
							
제품명	일미 연근조림	High quality lotus root infant milk powder	Pure natural candy lotus root powder	Lotus root powder	Renkon soba	Dried Lotus Root Slices	EDEN lotus root tea
제조회사	(주)일미 농수산	Shantou-Honfamous Co., Ltd	Shantou-Honfamous Co., Ltd	TINTANG	Goldmine	Mitoku	EDEN organic
원산지	국내산	중국			일본		

(2) 연잎 이용 가공식품 및 음식재료

							
제품명	연잎가루	연잎차	연잎밥	연뽕소금	연소면	연갈국수	연커피
제조회사	좋은연식품						
원산지	강화 선원사						
							
제품명	연잎 분말차	삼각티백 연잎차	무안 연잎쌈밥	무안백련 빨간양파즙	무안 연 식혜	백련 재래식 된장	백련 재래식 고추장
제조회사	다연					하늘백련	
원산지	전남 무안					전남 무안	

							
제품명	연잎가루	연반 연잎차	초자연적 성분과 향기 연잎차	연반 연잎밥	맑고 향기로운 백년지기 연잎차	연잎국수	연잎소금
제조회사	(주)연반				백년지기농장		청수식품
원산지	전남 무안				전남 해남		전남 무안
							
제품명	냉동 백련잎	백련차	백련냉면	연잎조리용 쌀국수	연잎 갈아 만든 고추장 굴비	연잎 청란젓	연잎 조개젓
제조회사	아산연마을				우주수산유통		
원산지	충남 아산				국내산 충남		

							
제품명	연잎이 녹아 든 생수제비	백련미	한우 소머리곰탕 (연잎넣은)	한우설령탕 (연잎넣은)	숨쉬는 연잎밥	숨쉬는 연잎차	바비조아 씻어 나온 아라미 연잎쌀
제조회사	웰리치		(주)우리가		함양상림 연영농조합		바비조아
원산지	전남 무안		경북 함양		경남 함양		국내산
							
제품명	연잎수육	연잎송편	녹차연잎 찌빵	연잎 이동구이	연잎돼지 왕구이	연잎즉석 떡국	lotus leaf diet pills
제조회사	연잎사랑		웰빙녹차 연잎양만두	장원축산		연잎사랑 연꽃사랑	American formulators
원산지	경남 거제		국내산	함양		공주	미국

(3) 연자육 이용 가공식품 및 음식재료

							
제품명	키토산 연자육	연자말차	볶은 연자육 가루	연자육	크리스피롤 12곡	Wahaha Mixed Congee with Longan and Lotus Nuts	Dried lotus seeds
제조회사	경산키토산 연근농장	(주)연반	정우당	(주)백장생	PEI TNEN FOOD CO.	Wahaha	Hunan Oriture Co., Ltd
원산지	경산	무안	베트남		대만	중국	

(4) 연꽃 이용 가공식품 및 음식재료

							
제품명	연다원 백련차	연꽃차	연향차	하연 연꽃백련 생막걸리	The Lotus Tra sen	Small lotus tea bag	Green tea orange & lotus flower
제조회사	금산 고려홍삼	내음	(주)명설차	신평양조장	OCHAO	Hoang Long tea Co., Ltd	TWININGS
원산지	금산	서천	순천	당진	베트남		영국

나. 한국 거주 해외 유학생 학생들을 대상으로 다이어트 메뉴 및 책자의 요구도 조사

(1) 연구 방법

특정 주제에 대해 자신의 느낌이나 믿음을 자세히 표현하거나 자유롭게 이야기하도록 유도하는 **포커스 그룹 인터뷰**를 이용하여 심층 면접하였다

(가) 조사대상

인하대학교에 유학하고 있는 중국 학생들 6명을 대상으로 약 1시간 동안 포커스 그룹 인터뷰(Focus group interview, FGI)를 실시하였으며 참여자들에게 자발적으로 인터뷰에 참여한다는 서면 동의서를 받았다 (부록 1).

(나) 조사내용

주제	세부내용
다이어트에 대한 일반적 의견	다이어트란 무엇일까요?
다이어트 경험, 특히 음식을 이용한 다이어트 경험	다이어트 해 본 적 있으세요? 언제, 어떻게?
다이어트를 위한 메뉴의 식재료 요구도	다이어트 메뉴의 재료에는 어떤 것이 적당하다고 생각하세요?
다이어트를 위한 메뉴의 형태 요구도	다이어트를 위한 메뉴는 어떤 형태가 적당하다고 생각하세요?
한식과 다이어트에 관하여	한식 중에는 어떤 음식을 좋아하세요?
	한식이 다이어트에 좋다고 생각하세요? 왜?
다이어트 관련 책자에 관하여	중국의 인기 있는 다이어트 프로그램의 종류에는 어떤 것이 있나요?
	어떠한 다이어트 책을 원하나요??

(다) 조사 및 분석방법

FGI는 조용하고 편안한 장소에서 다과를 준비하여 진행하였고 정확성과 신뢰성을 기하기 위해 응답자의 동의를 얻어 보조 진행자가 녹음하면서 기록을 병행하였다. 진행자는 FGI의 목적을 설명하고 각 주제별로 질문을 하였고, 질문에 대한 응답은 모든 대상자가 한번 이상을 답하여 한쪽으로 치우치지 않도록 하였다. 또한, 응답자들이 제약을 받지 않고 자유롭게 이야기할 수 있도록 하였고 인터뷰 중 대상자가 어려움이나 부담감을 갖고 있는 것은 없는지 물어보고, 인터뷰 후에도 인터뷰를 하면서 느낀 점에 대해서 얘기하는 기회를 가졌다. 진행자와 보조 진행자는 참여자들의 응답 내용을 반복적으로 청취하면서 설문항목에 따라 분류 후 내용을 정리 분석하였다.

(2) 연구 결과

(가) 대상자의 일반사항

포커스그룹 인터뷰에 참여한 대상자의 일반사항은 Table 4-1과 같다.

Table 4-1 Socio-demographic characteristics of the subjects

Variables	1	2	3	4	5	6
Gender	female	female	female	female	female	male
Age	22	24	25	21	23	26
The length of residence in Korea(Year)	1	4	4.5	0.5	3.5	5

(나) 인터뷰 내용

① 다이어트에 대한 일반적인 생각

▷ 다이어트에 대해 어떻게 생각하세요?

- 다이어트란 건강하게 살을 빼는 것이며 예뻐지려고 하는 것
- 점차 관심이 많아지고 있음
- 올바른 다이어트 방법으로 해야할 것 같음

② 다이어트 경험

▷ 다이어트 해 본 적 있으세요? 언제, 어떻게?

- 방학동안 저녁, 야식 안먹고 5 kg 감량, 한달 후 다시 3kg 증가
- 한달반동안 점심 한끼만 먹고 5 kg 감량, 다시 원래대로 체중 증가
- 고등학교 때 한달동안 밥은 먹지 않고 건강기능식품(단백질 보충제, 비타민, 미네랄), 과일, 새우 등만 측량하며 섭취하여 3 kg 감량 → 맛있는 음식 먹고 싶어서 중단함
- 원푸드(사과) 다이어트로 피부 안 좋아지고 운동하면 금방 피로해짐

③ 다이어트를 위한 메뉴의 식재료 요구도

▷ 다이어트 메뉴의 재료에는 어떤 것이 적당하다고 생각하세요?

- 토마토를 포함한 각종 채소들
- 생선, 치즈
- 커피, 우유, 차
- 다이어트에 나쁜 음식들은 라면, 과자, 탄산음료, 술, 치킨, 케이크, 삼겹살, 빵, 초콜릿, 햄버거 등 패스트푸드, 아이스크림 등이라고 생각함

④ 다이어트를 위한 메뉴의 형태 요구도

▷ 다이어트를 위한 메뉴는 어떤 형태가 적당하다고 생각하세요?

- 중국에서는 죽을 많이 먹음. 저녁에 쌀죽을 비롯한 옥수수죽, 곡류죽, 호박죽, 고구마죽 등을 즐겨 섭취함
- **죽에 기능성 성분이 들어가도 좋겠음**
- 죽은 맛있지만 금방 배가 고프다는 단점이 있고 중국에서는 항상 설탕을 많이 넣어서 안좋음
- 밥보다는 만두도 좋을 듯함
- 중국에서는 중국 의사가 병을 치료하기 위해 만두 안에 약이나 좋은 음식을 넣어 만들었다고 하는데 **만두 속에 비만에 좋은 음식을 넣어서 만들면 좋을 듯함**
- 한국 음식 중 **떡볶이 좋아함**. 중국에도 비슷한 음식있는데 야채, 떡국떡, 소금, 후추, 간장 등을 넣고 기름에 볶아 먹음(떡볶음)
- 야채가 다이어트에는 좋을 듯 하나 자주 먹기가 어려우므로 야채를 손쉽게 맛있게 먹을 수 있는 방법이 있으면 좋겠음

- **고기와 야채를 함께 쉽게 먹을 수 있는 방법**이 있으면 좋겠음

⑤ 한식과 다이어트

▷ 한식 중 어떤 음식을 좋아하세요?

- 순두부 찌개, 삼겹살, 잡채, 순대, 김밥, 계란말이 등

▷ 다이어트시 한식 섭취는 어떻게 생각하세요?

- 중국 음식은 대부분 기름에 볶는 것이라 중국음식보다는 다이어트에 좋을 것 같음
- **한식이라는 이미지**가 중국 음식에 비해 다이어트에 좋다고 생각함

▷ 한식 메뉴 중 다이어트에 적당한 메뉴로 추천하고 싶은 것은?

- **김밥류가 맛도 있고 편리하고, 영양소가 골고루 들어 있음**
- 김치는 맛있으나 김치에 따라 맛 차이가 많이 남
- 김치찌개도 음식점 마다 맛이 다름

⑥ 다이어트 관련 책자에 관한 요구도

▷ 중국의 인기 있는 다이어트 프로그램의 종류에는 어떤 것이 있나요?

- 죽 다이어트, 사과 다이어트, 바나나 다이어트 등 원푸드 다이어트
- 음식 대신 건강기능식품 많이 먹음
- 비타민제, 칼슘, 식이섬유 보충제 등 먹음

▷ 어떠한 다이어트 책을 원하나요??

- 전문가가 쓴 다이어트 책이면 좋겠음, 시중에 너무 비전문가가 쓴 책이 많음
- 1주일 식단표 (재료가 구입 편리한 메뉴로)가 들어 있으면 좋겠음
- **요리 방법(동영상) 포함**
- 열량 조절 방법, 영양소에 대한 정보, 음식별 궁합 정보, **성별/연령대별/계절별 적합한 메뉴**, 운동과 함께 조합된 메뉴, 운동 및 식사 조절의 전반적인 스케줄
- **음식 사진 많이 첨부**
- 겉표지(연한색, 예쁘게, 따로 무늬가 있지는 않음)
- 일상 생활에서 적용 가능한 장기간의 다이어트를 위한 방법

(다) 현장 사진

포커스 인터뷰 모습



다. 한국 전통음식에서 많이 사용되는 식재료인 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 발굴 및 선정

(1) 후보 메뉴를 선정함

- 건강한 패스트푸드로서 연잎밥이 이미 (주)산사애를 통해 영국으로 수출을 성공한 사례처럼 불고기와 김치, 비빔밥으로 한정되고 있는 한식을 다양화하는 노력이 요구됨에 따라 비만의 원인이 되는 패스트푸드를 대체하는 한식 전통 메뉴를 발굴하고자 하였음
- 포커스 인터뷰를 통하여 요구된 사항들 (기능성 죽, 만두, 떡볶이, 김밥류, 고기와 야채를 함께 먹을 수 있는 방법 등)을 반영하였음

연자죽	연자수삼죽	연잎만두, 연근만두
		
연잎 잡채	연잎 해물파전	연근 불고기꼬치
		
연잎 만두, 연잎왕만두	다양한 연잎롤	연근 닭꼬치
		

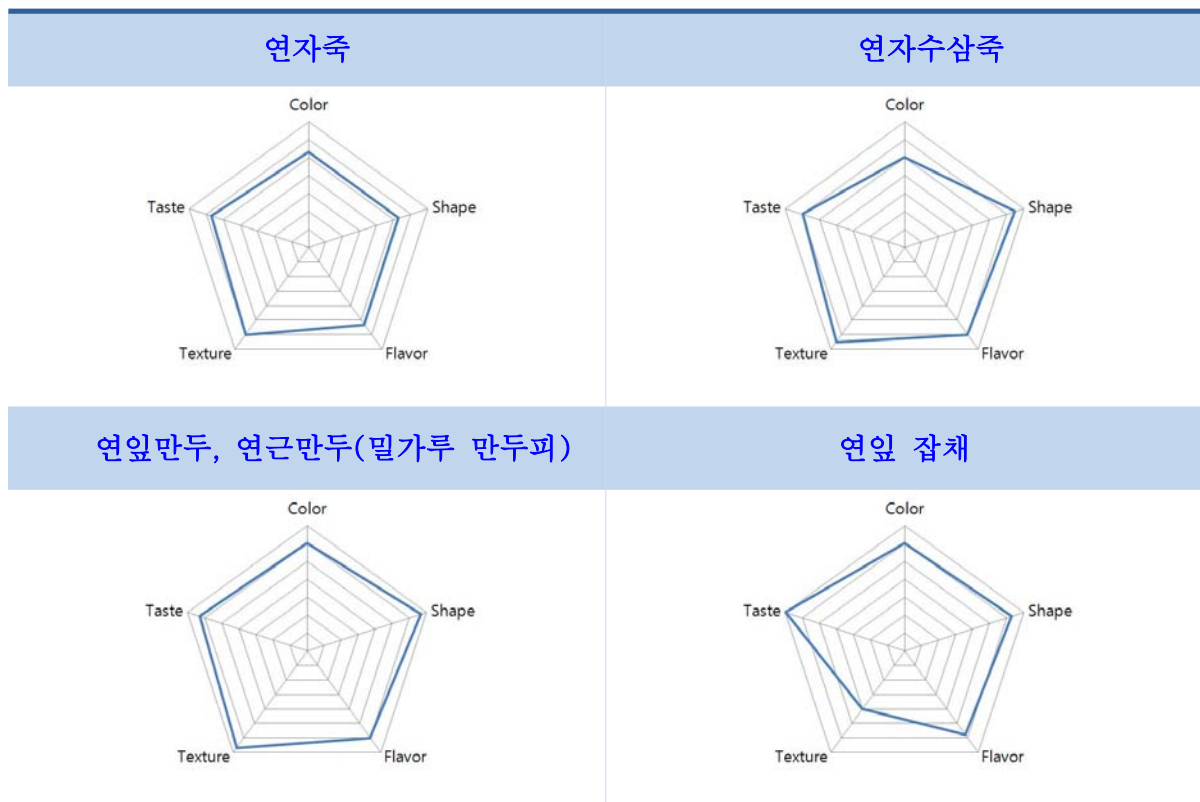


(2) 관능검사

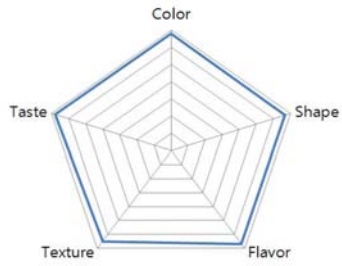
(가) 연구 방법

- 후보 메뉴의 관능검사를 위해 훈련된 인하대학교 식품영양학과 대학원생을 대상으로 맛, 냄새, 색, 질감, 맛의 기호도를 조사하였다. 각 항목은 7점 likert 척도법 (1 매우 불만족, 2 불만족, 3 약간 불만족, 4 보통, 5 약간 만족, 6 만족, 7 매우 불만족)을 이용하여 평가하였다 (부록 2).

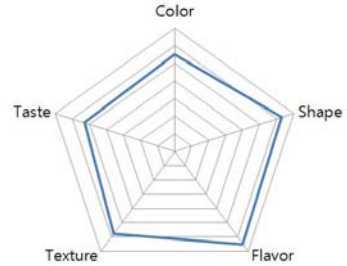
(나) 연구 결과



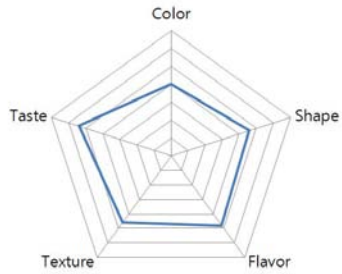
연잎 해물파전



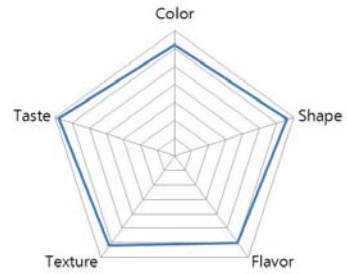
연근 불고기꼬치



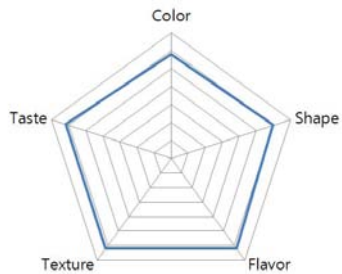
연잎 만두 (연잎 만두피)



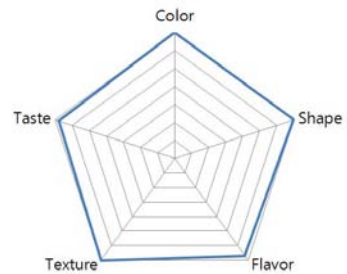
맞춤형 연잎롤



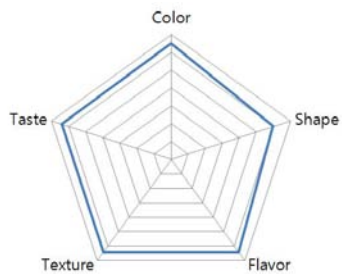
연근 닭꼬치



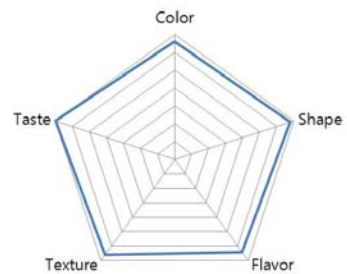
연근 샐러드



연잎오곡밥



연 떡볶이



(3) 메뉴의 선정

12개의 메뉴 중 관능평가의 결과값이 낮은 연자죽, 연잎잡채, 연근 불고기 꼬치, 연잎 만두피로 만든 연잎만두를 제외하고 총 8종의 메뉴를 선정함

연자수삼죽 Lotus seed ginseng rice porridge	스토리텔링
--------------------------------------------------	--------------



비만에 좋은 연자육과 면역능력 증강에 좋은 수삼을 함께 넣어 죽을 쑤어 다이어트를 하려는 사람이나 노인들에게 좋은 음식

Recipe	영양성분
---------------	-------------

▷ 쌀가루 2C, 연자육가루 1/2C, 수삼가루 4Ts, 연자육 30g, 소금 1Ts, 물 12C

1. 쌀가루와 연자육가루는 물에 풀기
2. 냄비에 물을 붓고 끓으면 1의 풀어 놓은 것을 넣고 푹 끓이기
3. 2의 죽이 끓어오르면 불을 낮추고 수삼가루를 넣어 멍근히 끓이기
4. 연자육은 물에 담가 충분히 불려 삶은 후 죽 위에 띄워내기

(4~5 인분)

* Per serving size...200g

Nutrition Facts		
	Amount Per Serving	%Daily Value
Calories	214.1 kcal	10%
Carbohydrates	42.22g	10%
Protein	7.33g	16%
Fat	1.43g	2%
Dietary Fiber	2.85g	11%
Vitamin A	194.8mg	30%
Vitamin C	25.6mg	25%

연근 샐러드
Lotus root salad

스토리텔링



다이어트에 꼭 필요한 채소 섭취를 증가시키기 위하여 빨강, 노랑, 초록의 화려한 천연색소의 색깔과 연근의 아삭거림이 어우러져 오감을 만족시킬 수 있는 메뉴

Recipe

영양성분

- ▷ 연근 1개, 양상추 1통, 겨자잎 5장, 치자 가루, 비트 약간, 식초 2Ts
- ▷ 소스 : 간장 3Ts, 식초 3Ts, 올리브오일 1Ts, 맛술 1Ts, 참기름 1Ts, 흰후추, 와사비 1Ts

1. 연근의 껍질을 벗겨 얇게 썰어 식초 넣은 끓는 물에 1분간 데치기
2. 연근을 치자가루와 비트를 이용하여 노랑색과 붉은색으로 물 들이기
3. 양상추와 겨자잎 깨끗이 씻어 뜯어주기
4. 소스를 잘 섞기
5. 양상추와 겨자잎과 2의 연근을 조화있게 담고 소스 끼얹기

(5-6인분)

* Per serving size...50g

Nutrition Facts

	Amount Per Serving	%Daily Value
Calories	25.71kcal	8%
Carbohydrates	5.8 g	2%
Protein	0.8g	2%
Fat	0 g	0%
Dietary Fiber	0.8 g	2%
Vitamin C	21.4 mg	28%

연 만두 Lotus leaf and root dumpling	스토리텔링
---------------------------------------------	--------------



만두속에 연잎과 연근을 다져 넣어 아삭거리는 질감을 높이고 연잎가루와 연근가루를 만두피에 섞어 다이어트에 도움이 될 수 있도록 만든 만두

Recipe	영양성분
---------------	-------------

- ▷ 만두피 : 밀가루 200 g, 연잎가루 2Ts
- ▷ 만두속 : 돈육 다진 것 150g, 두부 150g, 연근 200g, 소금1ts, 연잎 50g
- ▷ 고기양념장 : 다진파 2Ts, 마늘 1Ts, 소금 1ts, 설탕 1ts, 깨소금 2Ts, 후추 1ts, 참기름 1Ts, 간장 1ts

1. 연잎가루를 섞어 밀가루 반죽을 만든 후 만두피 만들기
2. 곱게 다진 고기에 양념하여 맛을 낸 후 으깬 두부, 다진 연근(소금에 절였다가 수분 제거한 것), 연잎 다진 것을 고루 섞어 소 만들기
3. 만두 빚기
4. 김이 오른 찜통에 젖은 면보를 깔고 만두 넣고 찌기

(3~4인분)

* Per serving size...200g

Nutrition Facts		
	Amount Per Serving	%Daily Value
Calories	212.2 kcal	10%
Carbohydrates	23.88 g	6%
Protein	13.47 g	30%
Fat	7.62 g	13%
Dietary Fiber	2.54 g	10%
Vitamin C	54.9 mg	55%
Calcium	85.8 mg	13%

연잎오곡롤 Lotus leaf five grains roll	스토리텔링
--------------------------------------	-------



비타민과 미네랄이 풍부한 오곡밥을 질기지 않은 어린 연잎에 싸서 섭취할 수 있도록 만든 메뉴,
 <연잎을 이용한 연잎롤 제조방법 및 연잎롤용 연잎 가공방법>
 특허출원번호 :10-2012-0126789

Recipe	영양성분
--------	------

- ▷ 찹쌀 2컵, 팥 50g, 울타리콩 50g, 찰기장 50g, 찰수수 50g, 차조 50g, 밤 5개, 대추 5개 소금 1/2Ts,
- ▷ 밥물 : 물 3C, 소금 1/2Ts
- ▷ 당근 1개, 단무지 10 개, 청, 홍파프리카 1개, 계란 2개, 소금 약간, 식용유 약간 연잎 10장 (50g)

1. 삶은 잡곡과 찹쌀을 넣어 오곡밥 짓기
2. 연잎을 소금물에 살짝 데치기
3. 계란은 두툼하게 지단 부치기
4. 당근, 청·홍 파프리카는 얇게 채썰기
5. 김발위에 연잎을 깔고 오곡밥을 펼쳐 놓고 계란, 당근, 청·홍 파프리카 넣고 김밥을 말 듯이 둥글게 말거나 다양한 모양으로 말아주기

(10 줄)

* Per serving size...200g

Nutrition Facts		
	Amount Per Serving	%Daily Value
Calories	498.1 kcal	24%
Carbohydrates	66.8 g	17%
Protein	18.7 g	42%
Fat	14.7 g	23%
Dietary Fiber	4.83 g	20%
Phosphorus	326.2 mg	47%
Potassium	578.8 mg	17%

맞춤형 연잎롤
Customized lotus leaf rice roll

스토리텔링



생애주기형 맞춤형으로 다양한 김밥 재료를 이용하되 김 대신 어린 연잎에 싸서 섭취할 수 있도록 만든 메뉴,
<연잎을 이용한 연잎롤 제조방법 및 연잎롤용 연잎 가공방법>
특허출원번호 :10-2012-0126789

Recipe

영양성분

▷쌀 600 g, 소금 1/2Ts, 참기름
▷김밥소 - 오이1개, 당근1/2개, 단무지1/2개, 연근1/2개 연잎10장, 달걀5개, 참치살 100g, 치즈5장, 마요네즈50g, 후추

1. 쌀을 씻어 불린 후 밥 지어 소금과 참기름으로 맛내기
2. 오이, 당근, 단무지 김밥용으로 썰기
3. 연근은 김 길이로 채를 썰어 식초물에 데쳐낸 후 냄비에 물1컵, 간장2Ts, 흑설탕2Ts 청주2Ts에 졸여주기
4. 달걀은 황백으로 나누어 지단 부치기
5. 참치는 기름을 제거하고 잘게 찢어 마요네즈에 버무린다.
6. 준비된 재료를 이용하여 김밥 말아주기

(10 줄)

* Per serving size...200g

Nutrition Facts

	Amount Per Serving	%Daily Value
Calories	400.0 kcal	19%
Carbohydrates	73.21 g	18%
Protein	10.53 g	23%
Fat	13.41 g	19%
Dietary Fiber	2.20 g	9%
Vitamin C	54.9 mg	55%
Phosphorus	209.8 mg	27%

연잎해물파전 Lotus leaf hamul pajeon	스토리텔링
------------------------------------------	--------------



[특허등록 제 10-1176435호 연잎 추출물 및 타우린을 함유하는 대사성 질환 예방 및 치료 조성물]에 근거하여 타우린이 풍부한 해산물과 연잎을 함께 넣어 맛과 영양뿐 아니라 생리활성 기능이 우수한 메뉴

Recipe	영양성분
---------------	-------------

- ▷ 연잎 3장, 부침가루 2C, 쪽파 간 것 200g, 굴 50g, 조갯살 50g, 오징어 1/2마리, 풋고추 1개, 홍고추 1개, 식용유 50ml, 산적꼬치 3개
- ▷ 해물 양념장 : 다진 파 1ts, 마늘 1/2Ts, 깨소금 1ts, 후추 1ts, 참기름 1ts

1. 연잎을 잘게 썰어 물 1/2컵을 넣어 갈기
2. 오징어, 굴, 조갯살은 손질하여 해물양념장에 채우고, 풋고추와 홍고추는 길쭉하게 채 썰기
3. 갈아 놓은 연잎을 넣어 부침가루와 물 1과 1/2C 넣어 반죽하기
4. 파는 꼬치에 꿰어 밀가루 입히기
5. 4의 파에 부침가루 반죽 입히고, 손질한 해산물 얹어 부치기
6. 달걀 노른자와 풋고추와 홍고추로 장식하기

(3 장)

* Per serving size...50g

Nutrition Facts		
	Amount Per Serving	%Daily Value
Calories	221.7 kcal	11 %
Carbohydrates	20.9 g	5%
Protein	16.31 g	36%
Fat	7.91 g	14%
Dietary Fiber	1.88 g	6%
Vitamin A	115.6 mg	18%
Iron	59.8 mg	7%

연 떡볶이
Lotus topokki

스토리텔링



한국인과 외국인 모두 좋아하는 떡볶이를
항비만 효과가 뛰어난 연잎을 넣어 만든
떡을 이용하고 아삭거리는 질감을 더하기
위하여 연근을 함께 넣어 만든 메뉴

Recipe

영양성분

- ▷ 연잎을 넣어 만든 떡 (연잎 20%) 500g,
연근 200g, 양파 1/2개, 어묵 180 g, 당
근 80g, 대파 1/2뿌리
- ▷ 고추장 소스 : 고추장 3Ts, 고춧가루
2Ts, 간양파 3Ts, 맛술 2Ts, 물엿 3Ts,
간장 1ts
- ▷ 다시물 1컵 : 다시멸치10마리, 다시마 사
방10cm, 대파 1/2뿌리

1. 연잎을 갈아 섞은 떡을 준비
2. 연근, 양파, 어묵, 당근, 대파는 떡볶이용
으로 썰기
3. 팬에 식용유를 두르고 연근, 당근, 양파
를 볶다가 팬에 고추장 소스를 섞어 볶기
4. 3의 팬에 떡과 다시물, 어묵, 대파순으로
넣어 볶기

(3-4인분)

* Per serving size...200g

Nutrition Facts

	Amount Per Serving	%Daily Value
Calories	263.3 kcal	13%
Carbohydrates	55.94 g	14%
Protein	5.59 g	13%
Fat	2.04 g	3%
Dietary Fiber	3.44 g	14%
Vitamin C	33.24 mg	33%
Iron	0.885 mg	9%

연근 닭꼬치 Lotus root and chicken on a skewer	스토리텔링
-----------------------------------------------------	--------------



닭고기를 기본 양념으로 하여 구운 후 빨강과 노랑색 등으로 물들인 연근을 함께 꼬치에 꽂아 시각적인 면과 미각적인 면에 정성을 들여 내·외국인 모두 선호할 수 있도록 개발한 메뉴

Recipe	영양성분
---------------	-------------

- ▷ 닭고기 500g, 간장 1/2C, 다시마물 1/2C, 맛술 1/2C, 설탕 1/2C
- ▷ 연근 8쪽, 치자가루, 비트 약간, 딸기가루, 식초
- ▷ 산적꼬치 8개

1. 닭은 뼈를 제거하고 살로만 준비하여 애벌 굽기
2. 연근은 껍질을 벗기고 얇게 썰어 식초 넣은 끓는 물에 1분간 데치기
3. 연근을 치자가루와 비트를 이용하여 노랑색과 붉은색으로 물 들이기
4. 꼬치구이용 양념장 재료를 섞어 끓이기
5. 애벌 구운 닭고기를 소스를 발라가며 굽기
6. 꼬치에 닭고기와 연근 꽂기

(꼬치 8개)

* Per serving size...100g

Nutrition Facts		
	Amount Per Serving	%Daily Value
Calories	184.0 kcal	9%
Carbohydrates	11.65 g	3%
Protein	12.44 g	28%
Fat	9.54 g	17%
Dietary Fiber	1.37 g	6%
Vitamin A	105.0 mg	24%
Vitamin C	9.6 mg	9%

5. 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램(가칭 K-diet) 개발

가. 연 메뉴를 이용할 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 개발

(1) 전문가 그룹에 의한 개발

- 비만전문가(영양학박사, Ph.D. 식품영양학과 교수)
- 1989년 미국에서 비만으로 영양학 박사학위(Ph.D.)를 취득
- 1995년 국내 병원에서 비만치료프로그램 인체연구를 수행·발표
- 1998년부터 14년간 전국적으로 ‘건강한 체중조절을 위한 맞춤형 영양’ 이터닝을 통해 맞춤형 영양상담으로 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 제공
- 임상영양사(7년간 보건소를 중심으로 영양교육과 영양상담을 진행)
- 운동처방사(10년간, 보건소에서 체중조절 프로그램을 진행)
- 전문가(비만전문가, 임상영양사, 운동처방사, 2명의 영양사)가 기존 프로그램 자료 수집과 평가, 의견 수렴을 통해 프로그램 개발

(2) 프로그램의 구성 및 특징

- 식사요법, 운동요법, 행동수정요법으로 구성
- 실천이 용이하도록 맞춤형 프로그램을 지향
- 스마트 기기 시대에 앱, SNS, 인터넷, QR 코드와 같은 스마트 기기를 이용함
- 요요현상을 최소화하기 위하여 일주일에 0.5 kg씩 8 주간 4 kg 감량, 또는 체지방률 30% 이하로 감량하는 것을 목표로 함
- 프로그램 참여희망자를 대상으로 2차례에 걸친 pilot study를 통해 프로그램 내용 보완, 수정됨

(3) 식이요법

- 맛있게 먹으면서 다이어트 하기
- 조사 대상자의 기존영양섭취 상태를 파악하여 섭취 필요량에서 약 300 kcal를 제한하여 섭취할 것을 권하였으며, 매일 식사일지를 작성하고 주 1회 개별 맞춤형영양상담을 실시
- 정해진 메뉴를 제공하는 것이 아니라 생애주기에 맞게 그리고 각자의 선호도를 고려하여 식품을 선택할 수 있도록 교육함

- 단순히 영양 지식의 전달이 아니라 실제 실생활에 적용하여 합리적인 식생활을 실천하여야 하므로 식품교환표를 이용하여 스스로 맞춤식단을 구성할 수 있도록 함
- 양질의 단백질 식품과 충분한 수분 공급하기

(가) 감량식이의 종류

음식 섭취량은 줄이면서 양질의 단백질, 비타민, 무기질, 수분을 충분히 공급해야 함
(비타민, 무기질의 공급은 보충제 활용 가능)

감량식이 종류	식이방법	식이내용	식이특징
저열량 불균형식	원푸드 다이어트	바나나, 포도, 헤조류 등	영양소 불균형, 단조로움
	케톤체 생성식이	저당질	케톤증, 식욕저하, 체액의 산성화, 피로, 탈수
	고단백식이	고단백 (40~45%)	아미노산 분해시 생성되는 암모니아의 배설을 위해 간과 신장에 부담
	고당질식이	저지방 (10% 미만)	철분, 지용성 비타민, 필수지방산 부족 가능
저열량 균형식	혼합저열량식	여러 식품 사용	맛있고 균형 잡힌 영양공급
	조제영양식	균질유동식	열량섭취 관리 쉬움 단조로움
	저열량밀도식사	고섬유질 저지방식	느린 섭취속도, 단조로움
단식	완전절식		체지방, 체단백질, 전해질 소모, 케톤체 생성 증대
	초저열량식	300~600 kcal	완전 절식보다 체단백질 소모 절약

	단백질 보충 변형 단식	양질의 단백질 보충	체단백 소모 절약
--	-----------------	------------	-----------

(나) 다이어트를 위한 식품 고르기

시장보는 단계부터 다이어트를 위한 식재료(날씬이 식품)를 선택하여야 함

종 류		선택 방법
저지방 식품	고기류	닭고기 조리시 껍질 벗겨 조리하기 지방이 없는 붉은 살코기 선택하며 지방이 살코기 속으로 들어가 있는 갈비나 안심, 등심, 삼겹살 등은 제한 (쇠고기는 우둔, 사태, 앞다리살, 돼지고기는 다리살 이용)
	어패류	열량이 낮은 흰살생선 (가자미, 대구 등) 과 오징어, 문어, 새우, 조개류 등 이용 껍질 바로 밑에 지방이 많으므로 제거
고식이섬유소 식품	채소류, 버섯류, 해조류	비타민과 미네랄 풍부하므로 많이 이용 조리법에 주의 (오리엔탈 소스, 마늘 소스 등 이용, 마요네즈 소스 주의), 튀김 제한
	과일류	당분이 많으므로 1회 섭취량 주의 (귤 1개, 사과 1/2개 / 1회, 2~3회/일)
피해야 할 식품	튀긴 음식, 동물성 기름, 마가린, 버터, 마요네즈, 가공식품, 단음식, 과일통조림, 프림, 중국음식 등	
먹을수록 좋은 식품	잡곡류, 해조류, 녹황색 채소 및 열량이 높지 않은 과일, 버섯류, 흰살생선, 조개류, 나물음식, 저지방 우유 등	
식품 및 간식의 칼로리	칼로리 코디 II (App.이용)	

(다) 저열량으로 맛있게 만들기

구분	방법
식품의 지방 줄이기	육류 구이시 프라이팬보다 석쇠나 그릴 사용
	튀김이나 부침 대신 찜 이용
	고기, 유부나 라면 등은 끓는 물에 데친 후 사용
지방 사용량 줄이기	튀김옷은 가능한 얇게 하고, 너무 낮지 않은 적당한 온도에서 튀기기
	테플론 코팅 프라이팬 사용
	기름 대신 물로 볶기
	전자레인지의 활용 높임(예: 잡채 등)

(4) 운동요법

- 운동은 식이요법 다음으로 다이어트에 필수 요소임
- 운동은 저열량식으로 인한 기초대사량의 저하와 근육 손실로 인한 탄력 저하를 막아주고 체중감소에 따른 건강의 손실을 막아줌
- 운동부하검사 후 본인에 맞는 운동과 양을 개별적으로 처방
 예) 걷기 운동시 운동자각도 (RPE)는 11-13, 운동심박수는 103-135 사이를 유지하는 운동
 예) 숨이 가쁘지 않고 약간 땀이 나는 정도로 최대 심박수의 70 % 수준을 유지해서 주 3~5 회, 한번에 20~30 분 정도 운동하여 약 200~300 kcal 정도를 소모하는 운동이 적합
- 체지방 연소를 위한 운동은 체지방 연소를 방해하는 혈중 인슐린 농도가 낮은 식전이나 간식 전에 해주는 것이 효율적임
- 운동일지 작성

(5) 행동수정요법

(가) 자기감시

- 먹는 음식과 먹는 행동에 영향을 주는 요인들을 추적하는 과정
- 예) 먹는 시간과 장소 기록하기
- 먹는 음식의 형태와 양 기록하기
- 곁에 누가 있었는지와 느낀 점 기록하기
- 기록한 것으로부터 문제점 찾기

(나) 자극조절

식품의 구매부터 식행동의 계획, 실행, 특별한 상황, 먹는 방법 등을 통제하여 체중조절을 방해하는 충동적 요인을 최소화함

- 예) 식품구매시 구매목록 작성 - 충동구매 억제
- 계획 - 세 끼 식사와 간식을 정해진 시간에만 먹기
- 실행 - 작은 크기의 그릇과 수저 사용하기
- 먹는 방법 - 음식을 먹는 사이사이 수저를 상에 내려놓기

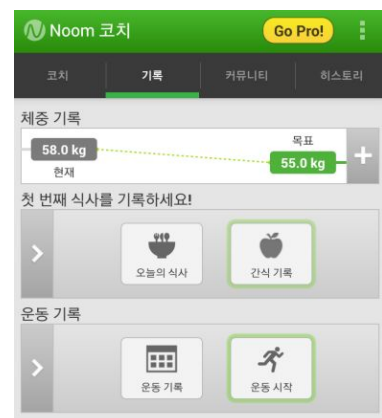
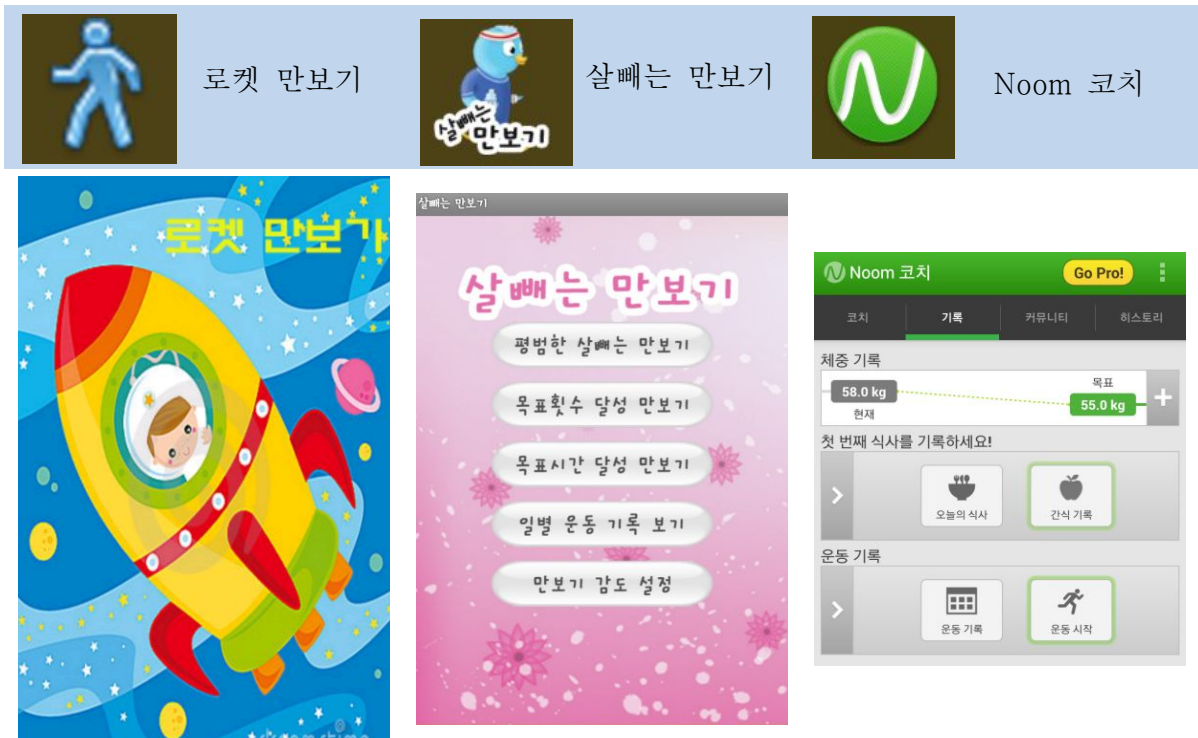
(다) 보상

- 예) 자기감시 기록을 기준으로 충동조절을 잘 했을 때 상 주기
- 특성 행동에 특정 상을 주도록 계약 설정하기
- 가족이나 친구에게 말이나 물질로 상을 주도록 협조 구하기

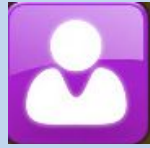
(5) 스마트 기기 이용 체중조절

(가) 앱 이용하기

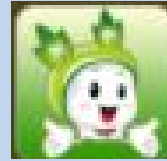
- 무료 앱의 예



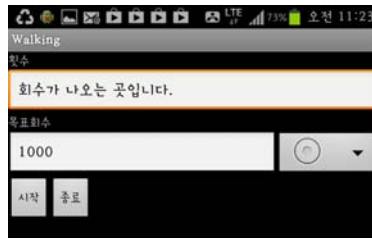
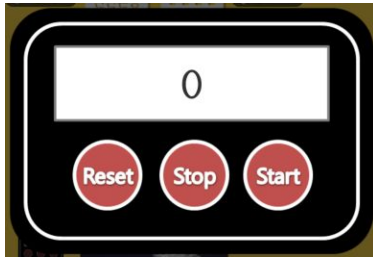
심플 만보계



Walking



칼로리 코디



칼로리 코디 II



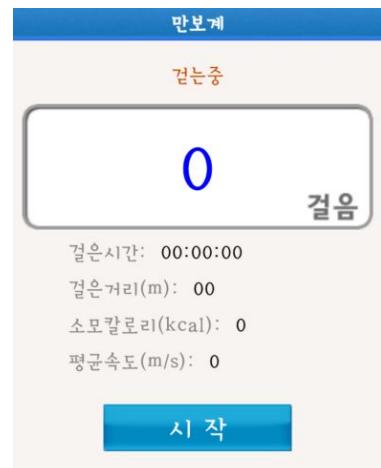
식품의약품안전청

칼로리 코디 II KFDA

음식명검색

음식명	열량(kcal)
31 요거트, 배스킨라빈스	197.0
가래떡	208.0
가지나물	19.0
간자장	825.0
간장꽃게장	64.0
갈릭라이스링, KFC	129.6
갈릭스테이크버거, 버거킹	637.2
갈비탕	237.0
가비탕	217.5

뒤 로 ?



(나) SNS 이용하기

- 체중조절은 여럿이 함께 서로 격려하고 체험을 공유하는 것이 효율적이며, 10명 내외의 소그룹을 만들어 운동을 하거나 동호회를 만들어 서로에게 지속적인 관심과 정보를 제공하는 것도 좋은 방법임
- Facebook을 구축하여 서로 간에 체중조절의 체험 공유 및 자조모임 결성에 도움을 줌

(다) 인터넷 사이트 이용하기

- 체중조절과 관련된 정보를 찾기 위해 포털 사이트에서 '다이어트', '체중조절', '비만' 을 검색하면 공인된 전문 사이트 뿐 아니라 상업적인 목적으로 정보를 왜곡시켰거나 전문성 부족으로 잘못된 정보도 많으므로 공인된 비영리 전문가 단체를 통하여 정보를 찾아야 함
- 공인된 비영리 전문가 단체의 예

대한지역사회영양학회 식생활정보센터 <http://www.dietnet.or.kr>

식품의약품안전청 식품나라 <http://www.foodnara.go.kr>

한국건강증진재단 건강길라잡이 <http://www.hp.go.kr>

대한영양사협회 <http://www.dietitian.or.kr>

한국식품영양재단 <http://www.nutritionkorea.com>

(라) QR코드 사용하기

- 쉽게 따라할 수 있는 운동방법이나 음식을 만드는 동영상을 제작하여 QR코드로 인식하여 쉽게 따라할 수 있게 함
- 홍보책자 제작 시 실제 활용 예정
- 기존 유튜브에 있는 동영상 활용
- 제작한 영상을 유튜브에 업로드



나. 개발된 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램에 연을 이용한 다이어트 메뉴 적용

(1) 패스트푸드를 대체할 수 있는 한그릇 음식

- 연자수삼죽 : 본 연구를 통하여 항비만 효과가 밝혀진 연자육과 면역능력 증강에 좋은 수삼을 함께 넣어 죽을 쑀어 부담 없는 아침식사로 적합함
- 연잎오곡롤 및 다양한 연잎롤 : 비타민과 미네랄이 풍부한 오곡밥이나 생애주기형 또는 개별 맞춤형으로 다양한 김밥 재료를 이용하되 항비만 효능이 우수한 연잎을 섭취할 수 있

도록 질기지 않은 어린 연잎에 싸서 만든 메뉴. 간단하게 섭취하면서도 영양의 균형을 잡아줄 수 있어 한끼 식사로 적당함

- 연만두 : 만두 속에 연잎과 연근을 다져 넣어 아삭거리는 질감을 높이고 항비만 효과가 있는 연잎가루와 연근가루를 만두피에 섞어 만든 것으로 저열량 고단백 식품임
- 연떡볶이 : 한국인과 외국인 모두 좋아하는 떡볶이를 항비만 효과가 뛰어난 연잎을 넣어 만든 떡과 아삭거리는 질감을 더하기 위하여 연근을 함께 넣고 만든 메뉴임



(2) 고열량 고지방 육식 반찬을 대신할 수 있으며 체중조절시 부작용인 변비에 도움을 주는 연 이용 부식류

- 연잎해물파전 : 연잎과 타우린을 함께 먹을 때 항비만 효과가 더 우수하다는 특허에 근거하여 개발한 것으로 타우린이 풍부한 해산물과 연잎을 함께 넣어 맛과 영양 뿐 아니라 생리활성 기능이 우수한 메뉴임. 체중조절시 튀김과 같은 고지방식은 제한해야 하므로 소량의 기름을 사용하여 만든 전을 이용하여 포만감을 높임
- 연근담꼬치 : 남녀노소 누구나 좋아하는 데리야끼 소스 바른 담꼬치에 화려한 색깔로 물들인 연근을 함께 꼬치에 꽂아 미각도 돋우고 야채 섭취량도 증가시킴
- 연근샐러드 : 다이어트에 꼭 필요한 채소 섭취를 증가시키기 위하여 빨강, 노랑, 초록의 화려한 천연 색깔과 연근의 아삭거림이 어우러져 오감을 만족시킬 수 있는 메뉴임. 두부나

닭가슴살을 곁들인 후 고열량의 마요네즈가 아닌 오리엔탈, 파인애플, 검은콩 소스 등을 이용하면 저열량 고영양의 다이어트 메뉴로 이용할 수 있음



6. 한국 거주 외국인 유학생을 대상으로 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 홍보 및 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 시식회 및 품평회

가. 한국 거주 외국인 유학생을 중심으로 연 이용 다이어트 한식 메뉴 홍보를 위한 시식회 및 품평회 개최

(1) 대상자 모집

- 인하대 유학중인 외국인 유학생 중 다양한 국가의 유학생 대상으로 자발적 참여자 모집



Fig 6-1 Nations of the subjects

Table 6-1 Socio-demographic characteristics of the subjects

No	Nation	Gender	Age	Periods (year)
1	그루지아	여	23	1
2	네팔	남	24	0.2
3	러시아	여	22	3
4	러시아	여	23	0.25
5	루마니아	남	24	0.2
6	말레이시아	남	25	0.25
7	몽골	여	24	3
8	방글라데시	여	26	1
9	수단	남	26	0.2
10	에티오피아	남	30	4
11	엘살바도르	여	27	0.2
12	우간다	남	25	3
13	우크라이나	여	22	0.2
14	인도네시아	여	26	0.2
15	중국	남	25	5
16	중국	여	22	1.5
17	중국	여	25	4
18	중국	여	23	3.5
19	중국	여	24	4
20	칠레	여	25	4
21	캄보디아	여	26	2.5
22	케냐	남	26	1
23	콜롬비아	여	27	3
24	태국	여	24	0.2
25	파키스탄	남	26	0.25

(2) 시식회 및 품평회 메뉴

연자수삼죽	연잎롤 (연잎오곡롤, 연잎치즈롤, 연잎참치롤)	
연근샐러드	연만두	연 떡볶이
연잎해물과전	연근닭꼬치	연잎차

(3) 시식회 및 품평회 현장

플 랑 카 드

한식의 세계화를 위한 연의 건강기능성 및 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 콘텐츠 개발

연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 시식회 및 품평회

 농림수산식품기술기획평가원
  인체영양 및 생화학 연구실
 ■ 일시 : 2012.11.13 (화) 16시

시식회 및 품평회 메뉴






연 메뉴에 대해 설명을 듣는 모습



연 메뉴를 시식 및 품평하는 모습



외국인 유학생 참가자들과 진행자들

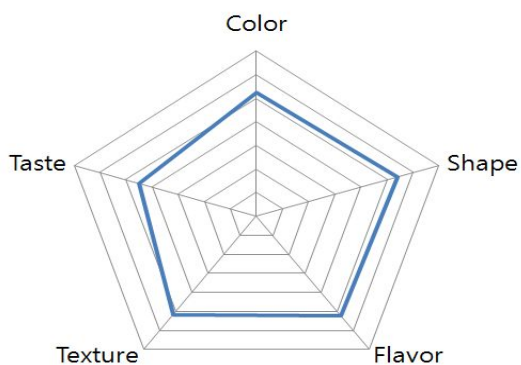


(4) 관능검사 및 메뉴별 comment

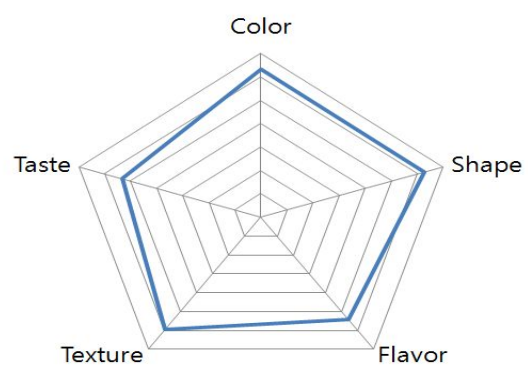
(가) 관능검사

- 맛, 냄새, 색, 질감, 맛 및 전반적인 기호도 조사 및 의견을 조사하였고, 메뉴별 각 항목은 7점 likert 척도법 (1 매우 불만족, 2 불만족, 3 약간 불만족, 4 보통, 5 약간 만족, 6 만족, 7 매우 만족)을 이용하여 평가하였음 (부록 2)
- 전반적으로 가장 높은 만족도를 보인 메뉴는 연잎롤 이었고 연잎해물파전과 연근닭꼬치가 그 다음이었음
- 연자수삼죽은 수삼의 맛이 낮설었고, 연떡볶이는 매운 것을 잘 못 먹는 외국인의 특성상 다른 메뉴에 비해 비교적 낮은 점수를 받았음

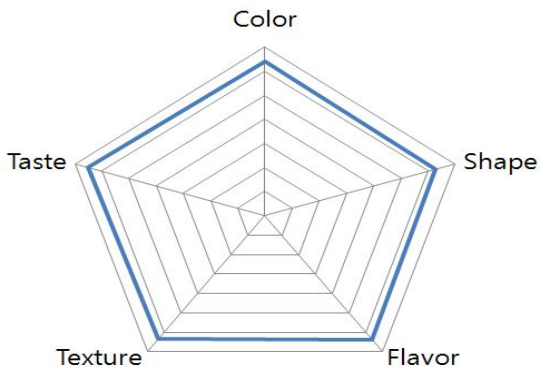
연자수삼죽



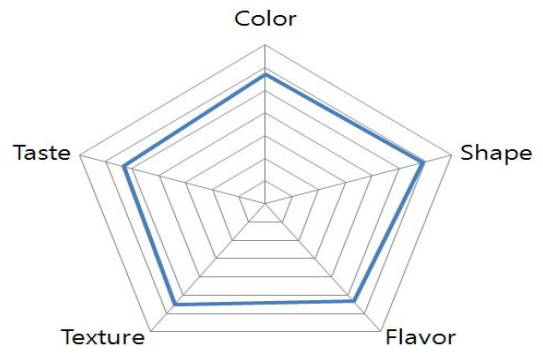
연근 샐러드



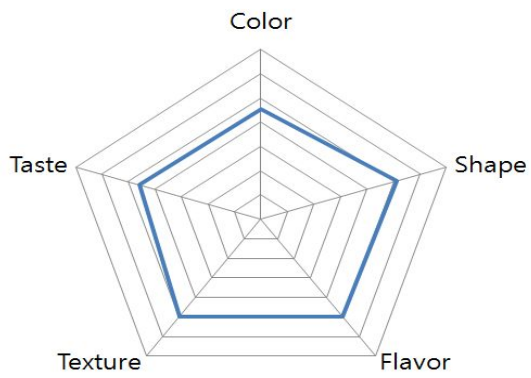
연잎롤



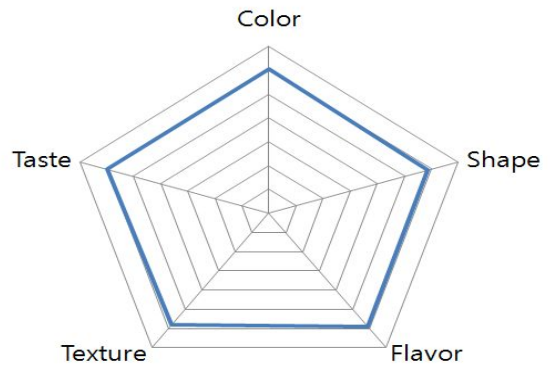
연만두



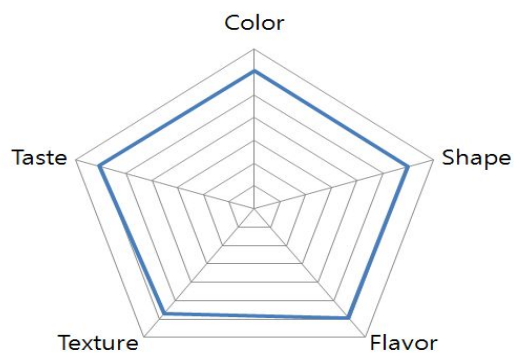
연떡볶이



연잎 해물파전



연근 닭꼬치



(나) 메뉴별 comment

메뉴	Comment
연자 수삼죽	<ul style="list-style-type: none"> • 인삼맛과 연맛이 진하고 다이어트에 좋을 것 같음. • 달지 않아서 매우 좋고 연자의 씹는 맛이 좋으므로 연자 추가 요함 • 만족스러운 맛이지만 소금이나 매운 맛 추가 요함 • 이해할 수 없는 어떤 특별한 질감과 맛이 있음 • 연에 좀 더 집중된 음식 이름이었으면 좋겠음 • 설탕을 넣어서 좀 더 단맛을 가미하면 좋겠음
연근 샐러드	<ul style="list-style-type: none"> • 연근으로 만들어서 매우 좋고 맛이 있음 • 소스가 더 많고 새콤하면 좋겠음. • 보통 샐러드보다 맛이 좋고 건강과 다이어트에 좋은 음식인 것 같음 • 색, 맛, 건강에 모두 좋은 음식인 것 같고 정말 굉장함
연잎롤	<ul style="list-style-type: none"> • 참치 롤이 제일 맛이 있고 일반 김밥과 잘 어울릴 듯 함 • 간장이나 소스와 함께 먹으면 더 맛있을 것 같음 • 색이 좋고 맛있어 매력적임 • 보통 김밥보다 맛이 있고 만족스러움
연만두	<ul style="list-style-type: none"> • 색이 좀 이상함 • 연 맛이 강하고 다른 야채들도 매우 좋음 • 질감이 좋고 한국 전통의 음식의 맛인 것 같으며 건강에 좋을 것 같음 • 연잎의 본래 밝은 색을 유지할 수 있으면 더 맛있어 보일 것 같음 • 일반 만두보다 더 맛있음
연잎 해물과전	<ul style="list-style-type: none"> • 조금 느끼하지만 해물이 많아서 좋고 우리나라에도 소개하고 싶음 • 잎이 많아 보이고 해물과 연의 조합이 매우 특별함 • 조금 더 길게 만들었으면 좋겠음 • 조금 맵지만 훌륭한 맛, 완벽함
연떡볶이	<ul style="list-style-type: none"> • 의학적으로도 음식으로도 가치 있는 것 같음 • 한 음식에서 맵고 달고 시고 쓴 여러가지 맛이 남 • 매운 것을 좋아하는 사람에게겐 좋을 듯함 • 맛은 좋지만 그냥 떡볶이가 더 좋은 것 같음 • 색이 매우 인상적이고 부드러우며 연잎 맛이 느껴짐 • 질감이 좋고 고추장 소스 맛이 좋음

<p>연근 닭꼬치</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 연근과 닭이 잘 어울리고 매우 맛이 있음 • 맛과 모양, 색이 모두 훌륭하고 가장 맛있는 음식임 • 따로 먹을 때보다 연근과 닭을 함께 먹을 때 매우 맛있음 • 맛있지만 단 맛이 적었으면 좋겠고 닭이 더 따듯했으면 좋겠음 • 닭고기가 조금 짜고 연근의 맛이 강하지 않음
<p>전체</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 새롭고 친숙하지 않은 음식이었음 • 매일 먹을 수 있을 것 같고 다른 맛없는 다이어트 음식들보다 맛이 있어 좋음 • 연은 우리나라 사람들도 즐겨먹지만 영양에 대해서는 잘 알지 못하기 때문에 이 연구가 성공적으로 이루어 졌으면 좋겠음 • 영양가도 높고 우리 건강에 매우 좋다는 점이 인상 깊었음 • 모든 음식이 건강해 보였지만 그 중 연잎 참치롤과 연잎 해물과전이 가장 맛있음 • 건강에 좋고 질 좋은 다양하고 훌륭한 메뉴임 • 모든 음식이 유명해져서 사람들 건강에 유익했으면 좋겠음

7. 해외 중점 홍보지역(미국, 중국, 일본, 베트남) 세계화를 위하여 책자, 인터넷, SNS 등을 활용한 홍보컨텐츠를 해당언어로 개발

가. 연 이용 다이어트 한식 메뉴 조리법 및 스토리 텔링, 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램(가칭 K-diet)을 결합한 홍보 컨텐츠 개발

(1) 책자 발간 (K-diet Best seller⁺)

- 맥킨지 스타일의 message 압축 기법 이용
- 개략적인 책의 컨셉과 목차

**Korean-diet
Best seller⁺**

건강한 체중조절을 위한 맞춤영양

BEST

Smart

Eco friendly

Lotus

Lean

Eat delicious

Recipe

Concept

- 스마트 기기 시대에 smart하고 eco-friendly한 맞춤형 건강 다이어트 책을 만들고자 함
- 친환경 식품인 연꽃의 이미지를 다이어트와 연결하여 육체적, 정신적 아름다움을 추구함
- 스마트 기기를 이용하여 좀 더 쉽고 재미있게 행복한 다이어트를 하는데 도움을 주고자 함
- 실천하기 쉬운 맞춤운동과 간편한 웰빙 조리법 등을 따라할 수 있도록 동영상도 연계함
- 한식의 세계화를 위해 전통 한식 재료로서 연 등의 다양한 친환경 식재료를 이용한 저열량 한식 recipe를 제공함
- SNS를 구축하여 건강한 체중조절을 위한 맞춤 다이어트 체험 공유의 장을 제공함

저자 소개

- **장경자 (張守延)**
 - 서울대학교 식품영양학과 (박사, 석사)
 - 미국 University of Minnesota 영양학박사 (Ph.D)
 - 현재 인하대학교 생활과학부 식품영양학 전공 교수
 - "건강한 체중조절을 위한 맞춤영양" web 강의 중
- **차일**
 - 국가공인표리기능장
 - 현재 서경대학교 호텔조리학과 겸임교수
 - 인천광역시청 여성복지관 전임강사
- **유정순**
 - 인하대학교 식품영양학과 (박사, 석사)
 - 현재 인하대학교 식품영양학과 박사과정 수료
- **김민정**
 - 수원대 생활체육학과 학사
 - 인하대 생활체육 교육대학원 석사
 - 현재 인천지역 호텔학교 스포츠 강사

목 차

1. Smart
스마트 기기 이용 다이어트 시작하기
2. Eco friendly
지구를 살리는 기초영양 공부하기
3. Lotus
연꽃처럼 아름다운 몸과 마음 만들기
4. Lean
실천하기 쉬운 맞춤운동 따라하기
5. Eat delicious
맛있게 먹으면서 다이어트 하기
6. Recipe
저열량 한식 메뉴 쉽게 요리하기
7. Plus

1. Smart
스마트 기기 이용 다이어트 시작하기
 - 1) 앱(App.) 이용하기
 - 2) SNS 이용하기
 - 3) 인터넷 사이트 이용하기
 - 4) QR 코드 사용하기

2. Eco-friendly
지구를 살리는 기초영양 공부하기
 - 1) 제때에 먹기
세 끼 식사의 중요성
 - 2) 골고루 먹기
영양소의 이해
식품구성 자전거의 이해
영양표시의 활용
 - 3) 알맞게 먹기
한국인의 영양섭취 기준
에너지 균형
 - 4) 신중하게
나트륨의 이해
나트륨 줄여 먹기
가공식품 중의 나트륨
 - 4) 즐겁게 먹기
논이 즐겁게 즐겨 푸드
장이 즐겁게 식이섬유소
지구가 즐겁게 환경을 살리는 식생활

3. Lotus
연꽃처럼 아름다운 몸과 마음 만들기

- 1) 연꽃의 아름다움
친환경
내 몸을 위한 연근, 연잎, 연꽃, 연자육
- 2) 비만의 개요
정의, 종류, 원인, 증상
- 3) 아름다운 몸 만들기
맞춤식이요법
맞춤운동요법
맞춤행동수정요법

4. Lean
실천하기 쉬운 맞춤운동 따라하기

- 1) 스트레칭 따라하기
- 2) 요가 따라하기
- 3) 파워워킹 따라하기
- 4) 스마트 기기 이용하기

6. Recipe
저열량 한식 메뉴 쉽게 요리하기

< 상세한 메뉴는 추후 프로그램에 맞추어 알려드릴 예정입니다 >

- 다양한 드레싱 만들기
각종 연음식들
친환경 저열량 한식 메뉴들

- 4) 아름다운 마음 만들기
스트레스 관리
명상
- 5) 함께 아름다워지기
사회적 지지
소그룹 활동
- 6) 아름다움 유지하기
웨이트 리사이클링
요요 현상
- 7) 잘못된 다이어트로 인한 마음의 병
거식증
폭식증
마구먹기 장애

5. Eat delicious
맛있게 먹으면서 다이어트 하기

- 1) 감량식이의 종류
- 2) 다이어트를 위한 식품 고르기
피해야 할 식품
저지방, 고섬유질, 고단백 식품
식품의 칼로리 바로 알기
간식의 칼로리 바로 알기
- 3) 칼로리는 줄이고 맛있게 만들기
- 4) 똑똑하게 외식하기
외식의 칼로리 바로 알기
술, 어떻게 먹을까?
- 5) 맞춤형 식단짜기 (예를 들어 만들어 주기)

7. Plus

- 1) 실천일기
- 2) Q & A

(2) 연 이용 다이어트 한식 메뉴의 세계화를 위하여 해외 중점 홍보지역(미국, 중국, 일본, 베트남)의 언어(영어, 중국어, 일본어, 베트남어)로 번역하여 책자, 인터넷, SNS 등을 활용하여 홍보

(가) Multimedia e-book 제작

- K-diet Best seller+의 내용을 영어, 중국어, 일본어, 베트남어로 번역하여 애플리케이션 제작
- 번역 및 제작 관련 계약 완료
- 책의 교정이 완료된 후 번역 작업 예정

(나) Facebook 구축

- Facebook을 이용한 SNS는 기존 한식의 세계화 사이트와 유튜브 연계 통해 전통 식재료로서의 연과 연 이용 다이어트 한식 메뉴의 지속적인 홍보에 도움을 주고, K-diet시 체험 공유 및 자조모임 결성에 도움

facebook Jeong Soon You

회원님은 K-Diet 이름으로 게시, 댓글 달기, 좋아요 클릭을 하고 있습니다. — Jeong Soon You(으)로 변경

K-Diet 타임라인 지금 관리자 패널



K-Diet
제일 먼저 좋아요를 클릭하세요.

건강미용 Korean-diet

연 띄뷰이 (lotus)

facebook Jeong Soon You

회원님은 K-Diet 이름으로 게시, 댓글 달기, 좋아요 클릭을 하고 있습니다. — Jeong Soon You(으)로 변경

K-Diet님이 링크를 공유했습니다. 22분 전



Korean Food - 한식 세계화 공식 포털
www.hansk.org

한식재단은 세계속의 한식을 알리기 위해 전 세계 237개국, 지구 한바퀴 40,120km를 달려갑니다.

좋아요 · 댓글 달기 · 공유하기

K-Diet님이 링크를 공유했습니다. 약 1분 전

한식재단 설문조사 결과 뉴요커 41%가 한식이 좋다고 응답, "선학과 집중 전략으로 한식의 이미지 확립에 힘쓸 것"



뉴요커 41% "한식좋아"



한식재단은 세계속의 한식을 알리기 위해 전 세계 237개국, 지구 한바퀴 40,120km를 달려갑니다.

LANGUAGE: KOREAN ENGLISH CHINESE JAPANESE FRENCH SPANISH

YouTube

* 기본 언어가 설정되었습니다.
언어 설정이 한국어로 설정되어 있습니다. 아래에서 이 설정을 업데이트할 수 있습니다.

한식세계화 사이트 구독

추천 동영상 찾아보기

업로드한 동영상 재생목록 좋아요 피드 댓글

제 2 절 연의 항비만 및 항산화 건강기능성 규명 위한 건강기능 (지표)성분 설정 및 원재료의 표준화 (제 1 협동)

1. 시료 준비를 위한 국내와 중국 일부 연 재배지, 관련 행사 및 제품 조사

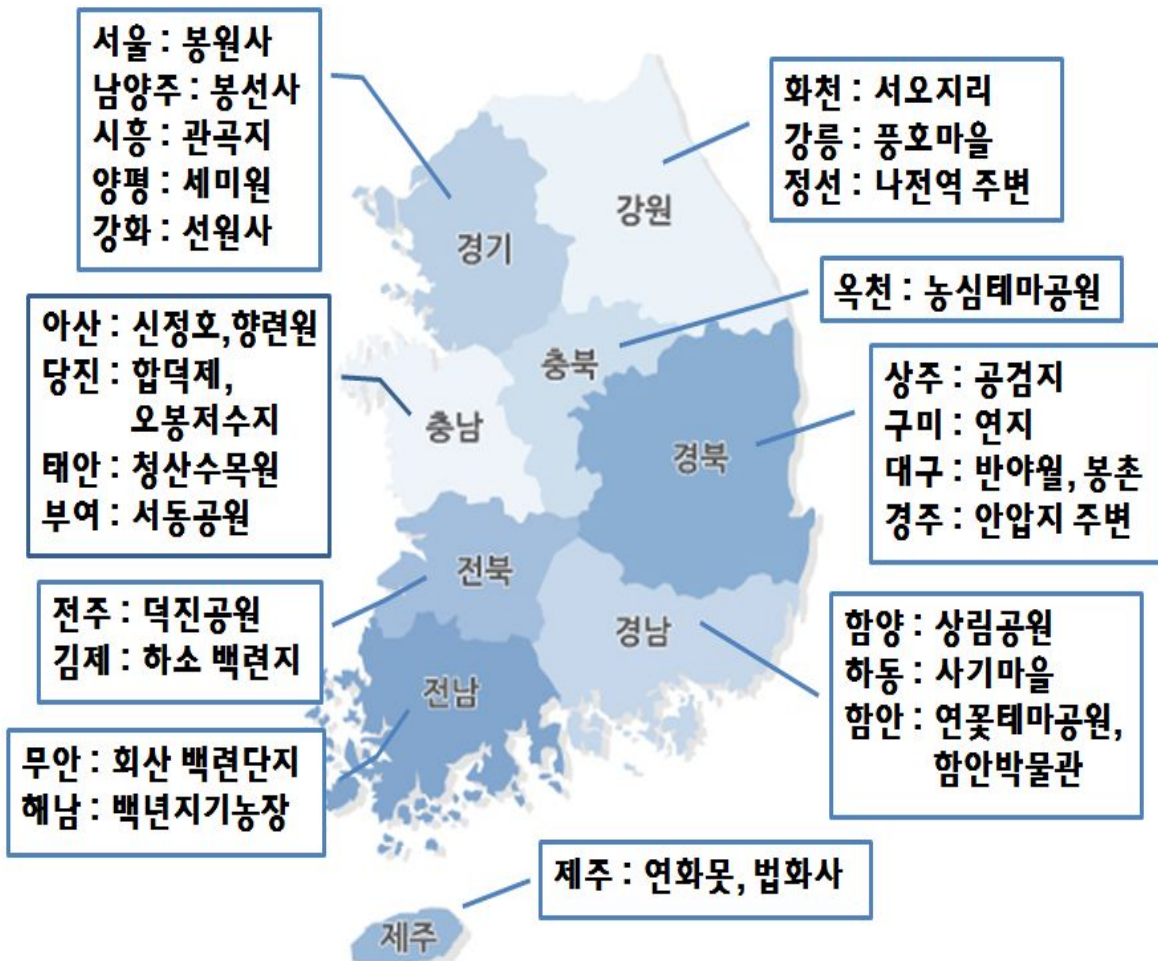
가. 국내 주요 연 재배지, 연 관련 행사 및 제품 조사

(1) 국내 재배 연의 특성

- 자생 품종 : 순채, 개연꽃, 왜개연꽃, 가시연꽃, 수련, 연꽃 등 국내자생 5종
- 생육 장소 : 연못, 논, 늪지 등 (노지)
- 생육 온도 : 25℃ 가 되면 성장하기 시작 ~ 30℃가 넘어가면 성장 둔화
- 적정 날씨 : 많은 일조량이 요구, 햇빛이 좋으면 수확량 증대
- 적정 수심 : 20cm 전후
- 적정 토양 : 유기질이 풍부한 점질토로 된 퇴적층이 적당
- 성장 시기 : 4월 하순 - 9월 (이후부터 3월까지 수확)
- 이용 방법 : 연꽃, 연근, 연잎, 연자육을 식용, 관상용 등으로 이용

(2) 국내 주요 연 재배지

국내 주요 연 재배지



(3) 국내 주요 연 재배지 현황

지 역	재배 지역	재배 장소	재배 면적 (ha)	연제품 생산업체	대표적인 연제품
서울 경기	서울	봉원사	3500 (화분재배, 송이)	-	-
	남양주	봉선사	3	-	-
	시흥	관곡지 연꽃테마파크	20	· 시흥연 (영농조합법인) · 예그린	· 연돈까스/연함박스테이크 · 연잎, 연근가루 · 연잎, 연근국수/연잎냉면 · 연근 콘플레이크 · 연 김 · 연아이스크림
	양평	세미원	60	· 세미원	· 연잎, 연근가루 · 연잎, 연근국수/연잎냉면 · 연잎차 · 연아이스크림
	강화	선원사	10	· 선원사 · 좋은연 · (주)찬우물	· 연떡국떡 · 연잎/연근가루 · 연고기/김치만두 · 연근막걸리 · 연근과자 · 연잎국수 · 연잎밥
강원	화천	서오지리	16.5	· 연 체험관	· 연잎/연꽃차 · 연아이스크림 · 백련주
	강릉	풍호마을	3	-	-
	정선	나전역 주변	0.8	-	-

충청	아산	신정호	6.6	· 아산연마을영농조합	· 연잎차 · 연잎냉면 · 연잎쌀국수
		향련원	1.1		
	당진	오봉저수지	69.47	· 신평양조장	· 백련막걸리
		합덕제	4.8	-	-
	태안	청산수목원	10	· 영농조합법인	· 백련차
	부여	서동공원 궁남지	38.6	· 부여 밥상연구회	· 연 음식 개발 및 판매
옥천	농심테마공원	0.6	-	-	
전라	전주	덕진연못	4.3	-	-
	김제	하소백련지	10	· 하소백련 · 흙바라기 (영농조합법인)	· 하소백련된장 · 백련잎차 · 생연근
	무안	회산백련단지	33	· 일로농협 · 백련사랑 · 하늘백련 · 성지농산 · 왕산제과 · (주)다연	· 연식혜 · 연잎/연근가루 · 연잎밥 · 연잎/연화차 · 연전병 · 생연근 · 연씨 · 연잎/연근소금

	해남	백년지기농장	33	· 백년지기	· 생연꽃 · 생연근 · 연잎차
경상	상주	공검지	10	-	-
	구미	금호연지	21.4	-	· 생연근
	대구	반야월	142	· 연근닷컴 · 연근가게 · 반야월연근 · 대구시농업기술센터	· 생연근 · 연소주 · 연식초 · 연막걸리
		봉촌 연꽃단지	78		
	경주	안압지 주변	6	-	-
	함양	상림공원	6.2	· 함양상림연영농조합	· 연잎밥 · 연잎차/연꽃차
	하동	사기마을	6.5	-	-
	함안	연꽃테마공원 함안박물관	11	· 연미식품	· 생연근/생연잎 · 연근국수
제주	애월	연화못	1	-	-
	구좌	법화사	1	-	-

(4) 지역별 연 관련 행사 및 제품 조사

(가) 서울 경기 지역

① 서울 - 봉원사

- 장소 : 서울 서대문구 봉원동 산 1번지
- 규모 : 약 3500여 송이 (화분 재배)
- 품종 : 홍련, 수련 등
- 관련 행사 : 제 10회 서울 연꽃 문화대축제 한마당 2012.8.4 - 2012.8.11
선암스님 연꽃사진전, 연음식 체험 등

봉원사 '제 10회 연꽃 문화 대축제'



② 남양주 - 봉선사

- 장소 : 경기 남양주시 진접읍 부평리 255
- 규모 : 3 ha
- 품종 : 백련, 홍련 등
- 관련 행사 : 2012 봉선사 연꽃축제 2012.7.28
백련차 무료 시음 등

봉선사 '2012 연꽃축제' 풍경



③ 시흥 - 관곡지

- 장소 : 경기 시흥시 하중동 271 연꽃테마파크
- 규모 : 20 ha
- 품종 : 백련, 홍련, 수련 등
- 제품 : 연근가루, 연잎가루, 연잎차, 연산자 등
- 관련 행사 : 2012 연사랑 거리예술제 2012.7.27 - 2012.9.1 (주중 제외, 금토일만)
제 21회 연성 문화제 2012.8.11 - 2012.8.12
제 6회 전국 연 음식 Festival 2012.9.8

연꽃테마파크의 연 행사와 '시흥연'의 연 제품 사진



④ 양평 - 세미원

- 장소 : 경기도 양평군 양서면 양수로 93
- 규모 : 60 ha
- 품종 : 백련, 홍련, 어리연꽃
- 이용 : 관상용, 식용
- 관련 행사 : 3월-11월 연꽃문화 체험교실 운영
연 음식, 연 염색 등을 체험

세미원의 체험교실과 그 외 연꽃 풍경, 연근 김치



세미원 연꽃박물관의 팜플릿

연꽃공원 세미원의
연꽃음식문화원을 축하합니다.



세미원은 수도권 주변의 생명수인 팔당의 물을 깨끗하게 지키겠다는 경기도민과 양평군민의 마음이 담긴 곳입니다. 세미원의 꽃들은 연꽃을 비롯하여 풀을 정화하는 수생식물이 대부분입니다. 진흙 속에서도 맑게 피어나는 연꽃들은 한강의 생태계를 건강하게 지켜줍니다.

선과 물을 수놓는 화려한 꽃은 아니지만 강 아래 낮은 곳에서 송크리고 피는 연꽃의 정갈함과 수려함은 보는 이의 마음을까지 깨끗하게 해줍니다.

진흙 속에 태어나고 자랐어도 때 묻지 않고 아름다운 꽃을 피우는 연(蓮)은 꽃과 잎과 열매와 뿌리 등 풀 전체를 활용할 수 있도록 모든 것을 다 내어주는 식물입니다.

이번 전시는 아름답고 정갈한 연꽃 음식문화를 느끼고 배우는 기회가 될 것입니다. 세미원 연꽃 박물관에서 연잎, 연근, 연차, 연꽃을 이용한 다양한 음식 문화를 체험하시고, 생활 속에서 연을 이용한 다양한 음식을 직접 만들어 보시기 바랍니다.

연꽃음식문화원을 다시 한 번 축하드리며, 전시를 준비해 주신 (사)우리문화가꾸기회와 세미원을 찾아주신 모든 분들께 깊은 감사의 말씀을 드립니다.


경기도지사 **김근우**




세미원 연꽃박물관

76-824 경기도 양평군 양서면 양수로 93
☎ 031)775-1835 Fax 031) 775-1845
www.semiwon.or.kr

2012 우리 생활 속에 핀 연꽃
식생활 속에 피어난 연꽃 음식문화



공중에서 연씨를 찼을과 함께 숨을 잊어 은술에 증류하는 모습

2012. 3. 17. ▶ 5. 31.
주최:(사)우리문화가꾸기회
후원:경기도,양평군

세미원 연꽃박물관


연씨를 찹쌀과 함께 빛은 궁중의 약소주
내국감홍로(内局甘紅露)

재료
연씨(蓮子), 계피(桂皮), 당귀(當歸), 정향(丁香),
백두궁, 용뇌(龍腦), 홍국(紅曲), 꿀, 시랑 (9가지)

만드는법

- ① 연자 5되, 찹쌀 2되를 죽 수어 누룩가루 4되를 합하여 독에 넣어 치감지도 않은 곳에 두었다가 알주알 지나 술이 되거든 찹쌀 한 말과 누룩가루 두 되로 덧술하면 10일후 술이 되면 이 술로 소주를 내린다.
- ② 독한 소주 다섯 그릇, 큰 시랑 1개, 좋은 꿀 2종지, 백두궁씨 3전, 정향 각 1전, 홍국 3전, 진피 3개, 용뇌 1전을 주머니에 넣어 이 모두를 은그릇에 넣어 네다섯번 끓인후 거품과 찌꺼기를 걸러내면 술맛이 지극히 맑고 좋다.

내국감홍로는 연자주를 기본으로 은술(銀露)을 사용하여 소주를 고이내고 홍국(紅曲)을 이용하여 붉은 색을 내고 꿀과 시랑으로 단 맛을 내고 참배(眞醜)로 맛을 순화시키고 정향(丁香), 계피 등으로 향기를 내고 당귀, 백두궁, 용뇌 등으로 약성(藥性)을 가하였다.



내국감홍로 증류 모습 내국감홍로

궁중의 내의원에서 만들었던 연잎밥
내국연반(内局蓮飯)

재료

5곡: 찹쌀850g, 찰80g, 녹두30g, 기장20g, 수수20g
5과: 연자3알, 짓2알, 방 1/2알, 대추1알, 은행1알
3근: 인삼1근, 연근2근, 우양조각
1염: 연잎 1장

만드는법

- ① 오곡밥 을 고슬고슬하게 찐다.
- ② 대추를 달인물에 소금으로 간하여 연자, 찌근,방,우양을 각각 졸인다.
- ③ 연잎을 뒤집어 놓고 1인분의 오곡찰밥 위에 고명을 얹어 연잎으로 쓴다.
- ④ 찜솥에 약 15분간 재내면 연잎향이 배어나는 연잎밥이 완성되 이다.



차회(茶會)를 열 때 마시는 차
연꽃차

- ① 백련꽃이 처음 피어 허리를 경하고 다음날 오전 12시후 3시간 안에 연꽃을 꺾는다.
- ② 꽃잎 사이에 녹차를 뿌려 놓고 꽃잎을 꺾 뒤어 펴므로 잘 찌서 냉동 보관한다.
- ③ 10평~15평까지 마실수 있는 큰대접에 냉동 보관된 연꽃방우리 찻을 넣고 앉힌다.
- ④ 75℃~80℃ 물을 부어주면 연꽃이 활짝 피면서 연꽃 향기와 녹차 향기가 은은한 연차를 마실수 있다.



연잎과 연자의 생명력을 담은 국수
연잎소면

- ① 연잎가루를 밀가루에 넣어 소면을 만든다.
- ② 연자와 잣을 삶아 같이 체에 받쳐 국물을 만든다.
- ③ 소면을 삶아 찬물에 식혀 찬 연자국물에 담는다.
- ④ 오이를 채 썰어 고명으로 얹는다.



⑤ 강화 - 선원사

- 장소 : 인천광역시 강화군 선원면 지산리 692-5
- 규모 : 10 ha
- 품종 : 백련, 홍련, 어리연 등
- 이용 : 관상용, 식용 (연잎, 연근)
- 제품 : 연잎 냉면, 연잎 국수, 연 떡국떡, 연잎 가루, 연근 가루 등
- 관련 행사 : 2012 선원사 연꽃축제 2012.8.1 - 2012.8.5

선원사 풍경과 '선원사' 연 제품들



선원사 연꽃축제 팜플릿

안내 2

2월~5월	<p>※ 1월~5월 매일 열리는 체험장</p> <ul style="list-style-type: none"> * 국가대표 요리팀 주도로 5일동안 대용전 전시 * 연날리기 체험 과 풍선에 소원을 거기 * 한지칠시 및 연으로 한지만들기 체험 * 연으로 실롱기 체험 / 연일차만들기 체험 * 연일차 무료시승회 (연보현성보살님) * 팔만대장경 탁본체험 * 통일대장경동판 시주 1만108만원 * 남북평화대장경상설전시(대웅전, 근엄당) * 연꽃그림 그리기 체험 (김미순 화가님) * 선원사 방송 특집 영상관 상설운영 * 2011대장경원년기념특별 사진전 (홍홍상 사진작가님 2회 초대전) * 연 (蓮)의 20~30가지 무대 상설전시 * 오후3시 재미있는 연요리 강의 (연송성원스님) * 12차동불행 우보상과 (정)사자전(산신각) 그 외 (축)제장보기 * 축제기간첫날 12시~1시까지만 점심공양무료 * 연꽃바물갈 운정 (아래벌당) * 한국 연 요리회, 선원사 합창단, 불을 합창단. 	<p>* 8월 1일~4일 저녁 8시 영화 상영</p> <p>1일 : 대장경로드 2일 : 팔만대장경 3일 : 권희선 4일 : 불난화 5일 : 소담결리리 대표</p> <p>발매처 010-5222-4800</p> <p>* 후원처 * 후원처 1: 한국 육림문화의 사랑회 * 김포 금빛 불자단 * 은빛사자 -수업까지</p> <p>황가업체 장구현통 연꽃재 연가실 010-421-3844 진도여객 중앙현010-4318-4034 죽음으로체험 이승호 10-4956-1425 한미도담계간 유진수 010-8472-0478 연꽃마을 연꽃재 정승하 010-3281-9874 은혜사 홍은사 대희진 011-302-6050 한국 사원 관공보실 황영숙 010-7475-5288</p>
8월5일 오후 5시	폐막식	

공정시간 전후에는 식권 발행을 하오니 축제기간 날리 양지내주실것을 부탁드립니다.

대한불교조계종
선원사
www.seonwonsa.com



2012 남북평화대장경봉안식 논두렁연꽃음식축제

2012. 8. 1(수)
오후 2시 대칭경이문식
오후 3시 개막식

고려 팔만대장경 판각 성지
강화도 선원사 대웅전, 연꽃지

남북평화대장경봉안 및 논두렁연꽃음식축제 여는글

호국도량 선원사에서는 "남북평화대장경" 봉안 및 논두렁 연꽃 음식 축제가 개최됩니다. "평화대장경"은 남북이 공동으로 3년여의 준비와 5개월에 걸친 작업 끝에 금강경(9장 16권) 4월과 반야심경(1장 1권) 4권이 판각되어, 2011년 북한 평양의 묘향산 보현사, 합천 해인사, 남해 화엄사, 강화 선원사에 봉안되었습니다.

이번 행사는 선원사에 봉안된 "고려대장경-금강경 1장" 동관동일대장경7권에 대한 통일법회공동 남북통일 협력을 담고자 합니다. 이번행사를 통하여 선원사뿐만 아니라 MDC부설의 역사 재구자들을 규합하고 잘못된 역사를 정정하여 이들에게 강력한 항의를 해야 합니다. 10년동안 쌓여온 연식문화, 연꽃축제와 연꽃음식축제를 기반으로 2011년 좋은 인연이후에 이어 2012년 7월5일 고려대학교 경영대학경리대학원에서 "연꽃문화와 자유의심" 전시주최가 통과되었습니다. 이는 대학원 연식와 한국불교최초 연(蓮)으로 호스닝으로 기록되었습니다. 연꽃음식전시, 국내최초 연한지만들기체험 등 다채로운 행사가 진행되어오니 많은 홍보와 동참 부탁드립니다.

선원사 주지 연송성원합장




안내 1

- * 주 회 : 선원사, 팔만대장경이문보존회
- * 주 관 : 선원사, 한국연꽃연합회, 한지산업개발진흥협회
- * 후 원 : 대한민문화예술체육진흥위원회(문화연), 선원사, 소담결리리, 한국연요리회, 국가대표요리팀, 신백송관장.
- * 축 제 기 간 : 2012년 8월 1일 ~ 5일 (오전 9시부터 오후 5시)

* 주최중 2회 부회장은 2회 부회장이 7월 29일 주지에게 주재하고 선원사관리부설을 계속 하시기 바랍니다. 다차량 사고는 물론 안전사고로 인해 참가자가 부러 선원사까지 진행할 예정입니다. 행사도 해지 하사 시연합니다. 반대 차선은 안전합니다.

	2012년 8월 1일 주일 행사 및 5일간 행사 일정
10시	* 박경희 대장경 유영수 여사 11주기 추모제 (추모회장 최갈순)
2시 대장경 이문식	* 남북평화대장경과 팔만대장경 이문식 사적지음발
3시 개막식	<ul style="list-style-type: none"> * 사 회 : 차재국 보살님 * 개 회 식 * 삼 귀 의 (다함께) * 반 야 심 경 (다함께) * 남북 평화대장경 및 통일대장경 봉안 발원문 - 김계연 위원장 * 애 국 가 - 우리의 소원은 통일 * 경좌보고 및 내빈소개 - 연송성원 * 정 법 가 - 다같이 * 법 어 - 보리달마종 종정대행 총무원장 범유 큰스님 * 격 려 사 - 대한불교조계종(전)총무원장 영남 큰스님 * 축 사 - 인천광역시장 송영길 * 축 사 - 대한예수교장로회, 이관구 목사님 * 사 후 서 환 * 공 지 사 항

매일오전 9시부터 오후 5시까지 30분 간격으로 선원사 역사관, 티미네 운영



선원사 세계 연꽃음식축제 팸플릿

프로그램

무대행사		상설행사	
일시	내용	일시	내용
10:00~11:00	선원사 개장행사	연일연예제전	연일연예제전
13:00~14:00	개막식	세계각국 연 요리 시연대회	연일연예제전
14:00~15:00	우리나라와 함께 하는 연꽃음식축제	연일연예제전	연일연예제전
16:00~17:00	개막식	연일연예제전	연일연예제전

동시행사

전 국민의 사랑을 받는 KBS 인기 프로그램 **전국노래자랑**이 세계연꽃음식축제와 함께 합니다.

KBS 전국노래자랑 강화군편

- 일시 8월 8일(토) 오후 1시
- 장소 강화역사관 광장

행사장 구성

선원사 오시는길

2009 세계 연꽃음식축제

World Lotus Food Festival 2009

우리의 연꽃, 세계로 나아가다

기간 2009. 8. 5(수)~8. 9(일)

장소 강화군 선원사 연꽃은 일대

주최 농협회사법인 (주)강화화랑의 비밀

주관 세계연꽃음식축제추진위원회, 선원사

후원 농협수산진흥부, 인천광역시, 강화군, 한국관광공사, KBS, 안국약품

세계연꽃음식의 축제에 대한 소개

국내 최초의 연꽃음식페스티벌로서 최고의 참실이 음식인 우리 연의 효능과 우수성을 널리 알리고, 연을 이용하여 만든 다양한 음식과 제품을 선보이고 체험함으로써, 연의 대중화와 더불어 세계속의 한류음식으로 발전시키는 계기를 마련하고자 합니다.

- 2003년 농특청 연꽃축제로 시작
- 매년 8월 1일~5일까지 진행
- 2007년까지 농특청 연꽃축제, 올해부터는 세계연꽃음식축제로 명칭 바꾸고 규모 확대

전시행사

- 연일연예제전
- 과일연꽃조각전
- 연꽃사진전
- 한달동안 먹는 세계연꽃음식 31선

1	2	3	4	5	6	7	8
연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전
9	10	11	12	13	14	15	16
연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전
17	18	19	20	21	22	23	24
연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전
25	26	27	28	29	30	31	
연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	연일연예제전	

체험행사

- 연일 & 연근사 만들기
- 연다례체험
- 연실물기체험
- 연꽃민화그리기

강화화의 비밀 소개

농협회사법인 (주)강화화랑의 비밀은 버의 대체재물로 연을 비롯한 기타 농작물을 기반으로 농촌의 새로운 활로를 개척함으로써 우리 농촌, 농업 및 농민에게 새로운 꿈과 희망을 도모하는데는 건강증진과 활력 증진을 그리고 지역경제의 활성화에 이바지하고자 설립되었습니다.

(주)강화화랑의 비밀은 강화의 고유한 역사성과 문화를 갖는 향토 특산물인 연을 중심으로 다양하고 특색적인 상품과 서비스를 창출하여 농업, 제조업, 서비스 그리고 농촌관광을 총체적으로 다루어 우리나라의 농촌을 개척화 사업의 우수한 모범사례가 되고자 합니다.

이로서 얻어진 사업의 결실은 본 사업에 참여하는 모든 이들의 복지향상과 강화군 지역사회의 친환경적인 지속가능한 발전, 그리고 소비자들에게는 안심하고 즐길 수 있는 건강한 먹을거리를 제공한다는데 사명감과 자긍심을 가지고 노력할 것입니다.

재미있는 연(蓮) 이야기

뜨거운 햇살을 받으며 연못이나 호수에서 꽃을 피우는 연(蓮)은 수련과에 속하는 여러해살이풀로 인도, 중국 및 우리나라 각지의 연못에서 자라며 농가에서는 수익성 작물로 연못이나 논에 심어서 키우기도 한다.

'순결', '청순한 마음'이란 꽃말을 가지고 있는 연꽃은 거머리가 특기스러운 더러운 진흙에 뿌리를 내리지만 물밖으로 웅장한 잎과 맑고, 순박한 꽃을 피어 올려 환난한 인간세계에서 살아가고 있는 고결한 중생을 구원한 식가모니를 상징하는 꽃으로 알려져 있다.

또한 지난한 심봉사의 말인 호녀 심청이를 왕비로 환생시킨 꽃이며 임제종파의 동화에서도 연꽃이 등장한다.

- 연의 꽃말: 당심이나 아름다운 것처럼 당심의 마음도 아름답다.
- 연의 개화기: 여름
- 연을 국화(國花)로 쓰는 나리: 스리랑카, 인도
- 연의 치유능력
- 연잎: 해열, 지혈, 지사의 효과가 있고, 피로회복에 좋다. 지방을 분해하고, 고혈압과 당뇨에 좋으며, 식욕을 증진한다.
- 연근: 전 무헌, 전골, 튀김, 조림, 찐, 볶음, 장아찌, 달 등에 이용. 해열, 냉해, 보혈, 지사, 노혈, 숙취해소에 좋다.
- 연꽃: 마음을 맑게 하고, 혈을 식히며, 열독을 풀고, 어혈을 제거한다.

(출처: 전농장학-동명농장)

(나) 강원 지역

① 화천 - 서오지리

- 장소 : 강원도 화천군 하남면 서오지리 연꽃단지
- 규모 : 16.5 ha
- 품종 : 홍련, 백련, 수련, 가시연, 어리연꽃 등

화천 연꽃마을의 연 체험관, 연 제품들



② 강릉 - 풍호마을

- 장소 : 강원도 강릉시 하시동3리 풍호마을 연꽃단지
- 규모 : 3 ha
- 품종 : 홍련, 백련, 수련 등
- 관련 행사 : 제 4회 기차길 옆 풍호마을 연꽃축제 2012.7.27 - 2012.7.31
연그리기, 연꽃차 만들기, 연잎밥, 연잎국수 등 시식

‘풍호마을 연꽃축제’ 풍경과 축제음식 연 메뉴



메뉴	
♦ 방풍막걸리	5,000
♦ 감자전	1장 3,000
	2장 5,000
♦ 연잎국수	5,000
♦ 연잎해물파전	8,000
♦ 도토리묵	5,000
♦ 연잎밥	8,000

풍호마을 연꽃축제

(다) 충청 지역

① 아산 - 신정호

- 장소 : 충청남도 아산시 신정로 506번지 수생식물전시관
- 규모 : 6.6 ha
- 품종 : 홍련, 백련, 가시연꽃, 노랑어리연, 수련 등 50여 종

② 아산 - 향련원

- 장소 : 충청남도 아산시 신창면 읍내리 향련원
- 규모 : 1.1 ha
- 품종 : 홍련, 백련, 수련 등
- 제품 : 연잎쌀국수, 연잎냉면, 연잎가루, 연잎차 등

‘아산연마을 영농조합’에서 만든 연 식품들



③ 당진 - 오봉저수지

- 장소 : 충청남도 당진시 신평면 상오리 오봉저수지
- 규모 : 69.47 ha
- 품종 : 백련, 홍련, 가시연꽃 등
- 제품 : 백련막걸리

④ 당진 - 합덕제

- 장소 : 충청남도 당진시 합덕읍 합덕리 합덕제 (연호방죽)
- 규모 : 4.8 ha
- 품종 : 백련, 홍련 등

‘합덕제’에 핀 연꽃과 당진 백련으로 만든 백련막걸리



⑤ 태안 - 청산수목원

- 장소 : 충청남도 태안군 남면 신장리 451번지
- 규모 : 10 ha
- 품종 : 홍련, 백련, 노랑어리연 등
- 제품 : 백련차
- 관련 행사 : 2012 태안연꽃축제 2012.6.28 - 2012.8.27

연꽃, 연잎 등을 이용한 4종의 차와 연 아이스크림, 연잎칼국수, 연콩국수, 연부침, 연밥 등 시식 체험

태안 연꽃축제 행사 때 연 아이스크림



02 행사내용

행사명	내용
전시행사	연꽃문화관, 연꽃사진전시, 미술전시, 태안홍보관
체험행사	농원산책, 소원지걸기, 비누만들기, 연잎차시음, 사진촬영
편의시설물	전망대 및 쉼터, 파고라, 농막, 몽골텐트, 연음식점
조형물	고흐브리지, 일주문, 피노키오, 돌담, 설치미술
판매행사	연부침, 연콩국수, 연아이스크림, 연잎차 등

부여 밥상연구회 행사 팸플릿

부여 밥상연구회 하늘채

충남 부여군 부여읍 영북리 589-1 ☎ 0413854-2227

- 원활밥**
오곡과 연근, 연자, 미, 인삼, 배당, 대추, 갈근, 자과 등 몸에 좋은 각종 재료를 연잎에 해서 대나무 찜기에 쪄내는 요리로 연잎향이 가득한 별미의 먹거리이다.
- 연근커피**
연근에 오색의 쌀밥을 저어 넣고 곱한 가루를 넣어 구워낸 요리로 독특하고 아늑한 맛이 일품이다.
- 연달리도**
신선한 아재비와 수삼을 넣고 연근부자로 고명을 올린 그릇요리인 송알에 부추, 오징어, 참깨 등 견과류를 올린 연근에 아재비와 오디로 장식한 건강의 별미 요리이다.
- 공제 나린 부추와 소고기, 배섯, 아재비** 볶은 편채를 먹거리로 밥이 연달리 주위로 둘러 내는 것으로 한층 더 백미와 아재비를 표현한 요리이다.

월정식(수리식): 25,000원 / 월술상 20,000원
익선명밥 10,000원 / 연잎밥 정식 12,000원

부여 밥상연구회 향토정

충남 부여군 금암면 금암리 61-1 ☎ 0413854-6263

- 연말비빔밥**은 국내산 한우 안심에서 구드래왕도결만미 비빔으로 만든 특제 양념장에 밥, 콩새, 연근등을 곁들이 함으로 조리해 한우입소금이 고유미 맛과 연근의 아삭함을 같이 맛 볼 수 있는 별장식이다.

꽃등심(150g) 30,000
삼치살(150g) 35,000
생갈비(200g) 35,000

부여 밥상연구회 향우정

충남 부여군 부여읍 구아리 97 ☎ 0413855-0065

- 연근불고기정식**
각종 야채와 버섯 그리고 연근을 넣은 불고기정식
- 연근갈비정식**
대추, 은행, 갈근, 버섯, 양파, 연근을 넣은 갈비정식
- 연잎밥**
부여밥상 연구회에서 개발하였음.

연잎정식 10,000원, 불고기정식 13,000원,
두레갈비정식 15,000원, 생밥 10,000원,
갈비탕 18,000원, 시골밥상 8,000원

부여밥상연구회 회원업소

업 소 명	대표음식	전 화
구드래돌연밥/백제의집	돌연밥/연밥	836-9259
* 하늘채	원정식	854-2227
오대양회집	황어피	835-2627
백제향	백선향안밥	837-0110
연꽃가든	연잎정식	836-7100
사비아마을	아구찜	835-0025
왕우정	불고기정식	835-0085
사동한우	한우전문	835-7585
송내올레스도방	양식	837-0116
구드래왕도정	한우전문	834-6263
나루터식당	장어구이	835-5155
백제요리학원	요리학원	837-7778
남태평양피자촌	황어피	836-7221

제10회 부여 서동·연꽃축제 연요리 전시회

부여 밥상연구회

2012. 7. 26(목) - 29일
서동공원(공남지) 일일

부여 밥상연구회 구드래돌쌈밥

충남 부여군 부여읍 관북리 96-2 ☎ 0413836-9259

- 연꽃쌈밥**
별장 요리만큼 정제된 특이하고, 당근, 연근, 대추, 연근을 넣어서 볶은 쌀을 밥을 짓는다.
- 연근카나레**
튀긴 연근에 단호박 소스를 곁들여 맛과 맛을 올려 마무리한다.
- 연근김밥**
연근을 기름에 튀겨서 소금과 식염으로 비벼준다.
- 아재**
여러 가지 유거농아재로 연밥이 약 20가지로 만들.
- 연근조림**
연근을 간장과 물엿을 넣어서 조리.
- 연근계란**
연근을 먹음에 넣어 굵아고 미도로 볶음 된다.
- 연잎조림**
연과 연잎을 삶아서 건강에 조리.
- 연근커피**
연잎을 갈아 쌀가루와 반죽하여 부치고 그 위에 연근을 올린다.

돌쌈밥 14,000원 / 생밥 7,000원 / 송술밥 8,000원

부여 밥상연구회 백제의집

충남 부여군 부여읍 구아리 119-3 ☎ 0413834-1212

- 연밥**
칼과 콩, 흑미를 넣어서 고소하고 새 계절을 짓는다.
- 최근 밥을 한 그릇 정도 연잎을 올려놓고 연근과 대추, 맛, 참, 단호박을 넣어서 잘 연잎으로 잘 해서 정돈 10분 정도 조리.

수리연정식 15,000원 / 수리연밥 12,000원 / 연잎밥 8,000원

부여 밥상연구회 사비아구

충남 부여군 부여읍 구아리 13-2 ☎ 0413855-0025

- 연근아구찜**
연근과 연근의 아삭함에 감칠맛이 난다.
- 연잎수육**
고기기 감칠맛 없애주고 육질이 부드러워진다.
- 연꽃등갈**
연꽃가루를 준독함이고 연꽃의 향이 독특하다.
- 에 단호박: 부드러운 색깔에 식욕을 돋운다.
- 표고버섯: 연잎의 향과 표고의 향이 어우러져 맛이 감미롭다.

아구찜(대) 45,000원 (소) 35,000원
불향(대) 45,000원 (소) 35,000원
낙지찜(대) 30,000원

부여 밥상연구회 나루터식당

충남 부여군 부여읍 구아리 99 ☎ 0413855-5155

- 장어연잎정식**
장어의 부드러운 맛과 연잎의 아삭한 맛을 더하여 고소하고 담백한 장어의 맛을 즐길 수 있는 장어 요리
- 장어연잎양념죽**
장어가 살아 뼈를 빼낸 후 연밥과 같이 끓이면 영양단점의 죽이 된다.
- 연근오미저조림**
다섯 가지 맛을 내는 오미자 액기스에 연근을 졸여내면 다섯 가지 맛을 내는 연근조림이 된다.
- 연밥전**
간짜와 연밥을 같이 찹쌀가루에 섞어 전을 부쳐 연밥을 올리면 담백하고 고소한 연밥전이 된다.

장어구이 12,000원 / 장어+연밥 12,000원

부여 밥상연구회 백제향

충남 부여군 부여읍 사비로 30번길 17 ☎ 0413837-0110

- 연잎밥**
연잎가루와 찹쌀가루, 밀가루등 기타 여러 가지 재료로 백제시대 연꽃 화단분양은 도입하여 개발함 (디자인 등록 완료)
- 연양갱**
한걸음 녹이 연근을 달가 군원위에 다시 한천과 팔랑김을 끓여 넣어 여러 가지 완성한다.
- 연꽃차**
연잎차물에 연꽃을 넣어 연꽃향을 더하여 음용

백련향 연밥(1인분) 16,000원 / 연잎밥(1인분) 11,000원 / 두원쌈밥(1인분) 10,000원

부여 밥상연구회 연꽃가든

충남 부여군 부여읍 동남리 185-4 ☎ 0413836-0061

- 연잎김밥**
연잎가루를 넣어 밥을 짓고 연잎을 생으로 말아서 만든 건강식 김밥
- 연근김치**
일만 김치에 연근을 가미한 김치가 김치
- 연근오이된장**
도숙적인 된장으로 맛을 낸
- 연근냉채국**
시원한 육수에 오이재와 연근을 곁들임
- 연근 초절임**
비트를 이용해 색감을 주었음.

연잎정식(1인분) 12,000원
장어구이(1인분) 22,000원
오리구이(1마리) 42,000원

⑦ 옥천 - 농심테마공원

- 장소 : 옥천군 옥천읍 매화리
- 규모 : 0.66 ha
- 이용 : 관상용
- 품종 : 홍련, 백련, 수련 등
- 관련 행사 : 2012 향수옥천농특산물축제 2012.7.20 - 2012.7.23

(라) 전라 지역

① 전주 - 덕진공원

- 장소 : 전라북도 전주시 덕진구 덕진동 2가 1314-4 덕진공원 내 덕진연못
- 규모 : 4.3 ha
- 품종 : 백련, 홍련 등
- 관련 행사 : 전주 연꽃문화제 2012.7.21 - 2012.7.22

덕진연못 풍경과 시음행사 백련차



② 김제

- 장소 : 전북 김제시 하소백련지
- 규모 : 10 ha
- 품종 : 백련
- 제품 : 연된장, 연잎차, 연근 등
- 관련 행사 : 2012 하소백련축제 2012.07.13 - 2012.07.22

김제 '하소백련'에서 판매하는 연 제품들



제11회 하소백련 축제 2012
11TH HASO BAEKRYON FESTIVAL

만남 그리고 어울림

일정: 2012. 07. 13(금)~07. 22(일)
장소: 전북 김제시 청하면 하소백련지 일원
주제: 만남 그리고 어울림
주최: 하소백련축제 제전위원회
주관: 하소백련축제 제전실무위원회, 청하면
<http://www.baekryon.com>

특히 받은 하소백련 전통된장
제2회 농식품 및 아이디어 가공제품 최우수상 수상!!

된장 전통



백련잎차

원료명 : 과방, 잎
중량 : 80g

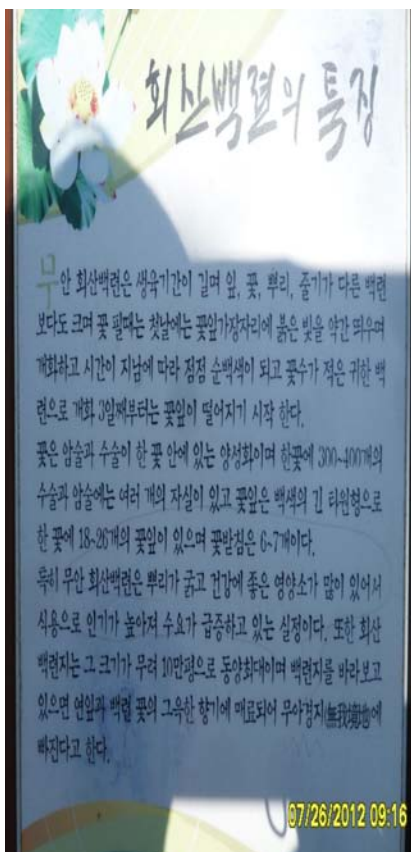
- * 영업허가 - 김제시위 제00
- * 제품종류 - 다류
- * 원산지 - 국내산(김제)
- * 제조일 - 제품겉면 표기
- * 유통기간 - 제조일로부터

하소 백련

③ 무안 - 회산백련단지

- 장소 : 전라남도 무안군 회산 백련지
- 규모 : 33 ha
- 품종 : 백련
- 제품 : 연잎차, 연꽃차, 연잎가루, 연근가루 등
- 관련 행사 : 2012 무안연꽃축제 2012.7.26 - 2012.7.29
연 요리경연, 연 염색체험 등

무안 회산백련의 특징과 무안 연 제품들



무안 연꽃축제 팸플릿



| 행사 일정표 |

	7. 26 THU	7. 27 FRI	7. 28 SAT	7. 29 SUN
10:00 ~ 11:00	청소년 문화해설 대회 현경복초 오케스트라 협연 합주			
11:00 ~ 12:00	청소년 페스티벌 유치, 밴드, 밴드 공연	2012 무안 연꽃축제	제6회 전국 연오리 경연대회	연꽃축제 기념 초청 서커스 - 중국기예단 공중기예 "나비" - 중국기예단 아크로바틱 공연
12:00 ~ 13:00		백련 메들리 무안군 여성합창단	13:00 ~ 14:00	승달국악대제천 수상자 공연
13:00 ~ 14:00	2012 무안 일로품바페스티벌 개막식	품바명인대회 수상자 초청공연	14:00 ~ 15:00	무안의 소리를 찾아 무안물놀이, 남도민요, 사물놀이 경매용유 가이던 산조
14:00 ~ 15:00	품바명인대회 수상자 초청공연	제7회 전국품바경연대회 산인부	15:00 ~ 16:00	품바 즉석노래자랑
15:00 ~ 16:00	제7회 전국품바경연대회 청소년부		16:00 ~ 17:00	제7회 전국 품바경연대회 영인부
16:00 ~ 17:00	2012 무안연꽃축제 개막식		17:00 ~ 18:00	제7회 전국 품바경연대회 영인부
17:00 ~ 18:00	각설이 품바 전통놀이극	백련 앙상블 세소프 독주/앙상블 공연	18:00 ~ 19:00	무안 필하모니 금관앙상블
18:00 ~ 19:00	한지음 밴드 7080 콘서트		19:00 ~ 20:00	생활음악협회 퓨전국악 콘서트
19:00 ~ 20:00		푸른음악회 서울합스오케스트라	20:00 ~ 21:00	연이랑 한흥단 공연
20:00 ~ 21:00	2012 무안연꽃축제 개막 축하공연		21:00 ~ 22:00	군민노래자랑 폐막식
21:00 ~ 22:00	출연진 : 달샤벳, 나인뮤지스, 박상철 김용민, 박구연, 정성, 한수영			

연꽃과 소중한 인권

찾아오시는 길

네비게이션주소 : 무안군 일로읍 백련리 140-1

무안 IC → 행사장 22km
복토 IC → 행사장 5km

무안국제공항 | 무안국제공항 061-450-2114
무안국제공항 관공실 061-453-2348

고속버스 | 서울→무안 : 2회 운행
광주→무안 : 1시간 간격 운행 | 목포→무안 : 108
무안→광주 061-453-2518 | 목포→무안 061-276-0021

지가람 | 서울→사해면고속도로→복토IC→일로IC
복토IC→일로IC→무안읍주교IC→사해면

열차 | 서울→무안·일로 | 광주→무안·일로 | 목포·
철도청 1544-7700 | 일로역 061-281-7708

④ 해남

- 장소 : 전라남도 해남군 내사리 925-5 백년지기 농장
- 규모 : 33 ha
- 품종 : 백련
- 제품 : 백년지기 연잎차, 생연근, 생연꽃 등

백년지기 농장의 판매 연 제품들



(마) 경상 지역

① 상주 - 공검지와 백련단지

- 장소 : 경상북도 상주시 공검면 양주리 저수지
- 규모 : 10 ha
- 품종 : 백련, 홍련 등
- 관련 행사 : 제 5회 공갈못연꽃문화제 2012.7.28

연잎차, 연잎떡, 연잎밥 등 공갈못에 만발한 연꽃잎으로 만든 각종 음식 시식

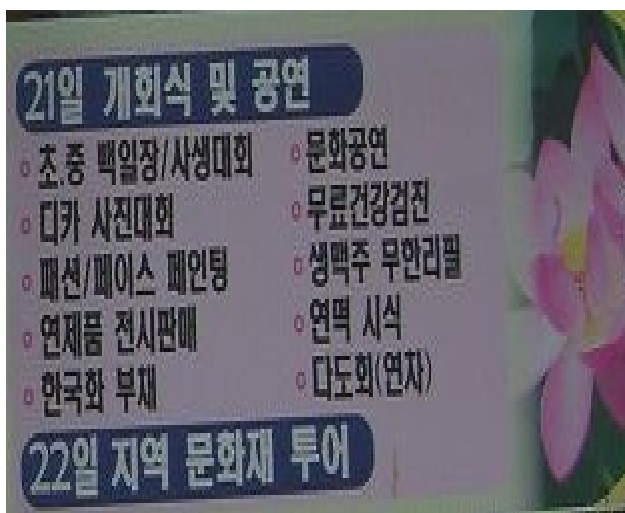
상주에서 지정한 향토음식점의 '백련 한정식' 메뉴들



② 구미 - 금호연지생태공원

- 장소 : 구미시 해평면 금호리 연지
- 규모 : 21.4 ha
- 품종 : 홍련
- 관련 행사 : 2012 해평연꽃 문화축제 2012.7.21 - 2012.7.22
연제품 전시판매, 연떡 시식, 연자 다도회 등

해평 연꽃문화축제 풍경



③ 대구 - 반야월

- 장소 : 대구광역시 동구 반야월
- 규모 : 142 ha
- 품종 : 백련, 홍련 등

④ 대구 - 봉춘 연꽃단지

- 장소 : 대구광역시 달성군 하빈면 봉춘 2리
- 규모 : 78 ha
- 품종 : 백련, 홍련 등

대구 연 요리 전문점 메뉴들과 대구농업기술센터에서 만든 연 제품들



연밥



연근 양념구이



연근 볶침전



연 영양죽



연근 초



연 막걸리



연 소주



연 스포츠음료

⑤ 경주 - 안압지 주변

- 장소 : 경상북도 경주시 인왕동 안압지 주변
- 규모 : 6 ha
- 품종 : 백련, 홍련, 황련, 수련 등
- 관련 행사 : 2012 한여름밤의 꽃축제 (7-9월, 금요일만, 6회)

⑥ 함양 - 상림공원

- 장소 : 경상남도 함양군 함양읍 교산리 1047-1 상림공원 내 연꽃단지
- 규모 : 6.2 ha
- 품종 : 연꽃 150종, 수련 100종 등 300여 종
- 제품 : 연잎차, 연꽃차, 연잎가루, 연근가루 등
- 관련 행사 : 함양 산삼·연꽃축제 2012.7.26 - 2012.7.30

연 요리, 종이 연꽃 만들기, 연 부채 만들기 체험 등

함양 연꽃행사와 함양 연잎밥



⑦ 하동 - 사기마을

- 장소 : 경상남도 하동군 진교면 백련리 사기마을
- 규모 : 6.5 ha
- 품종 : 백련, 홍련 등

⑧ 함안 - 연꽃테마공원

- 장소 : 경상남도 함안군 가야읍 가야리 천연습지
- 규모 : 11 ha
- 품종 : 홍련, 백련 등

⑨ 함안 - 함안박물관

- 장소 : 경상남도 함안군 가야읍 고분길 함안박물관
- 규모 : 0.1 ha
- 품종 : 아라홍련, 그 외 홍련, 백련 등

(바) 제주 지역

① 제주 - 연화못

- 장소 : 제주시 애월읍 하가리 연화못
- 규모 : 1 ha
- 품종 : 홍련, 백련 등

② 제주 - 법화사

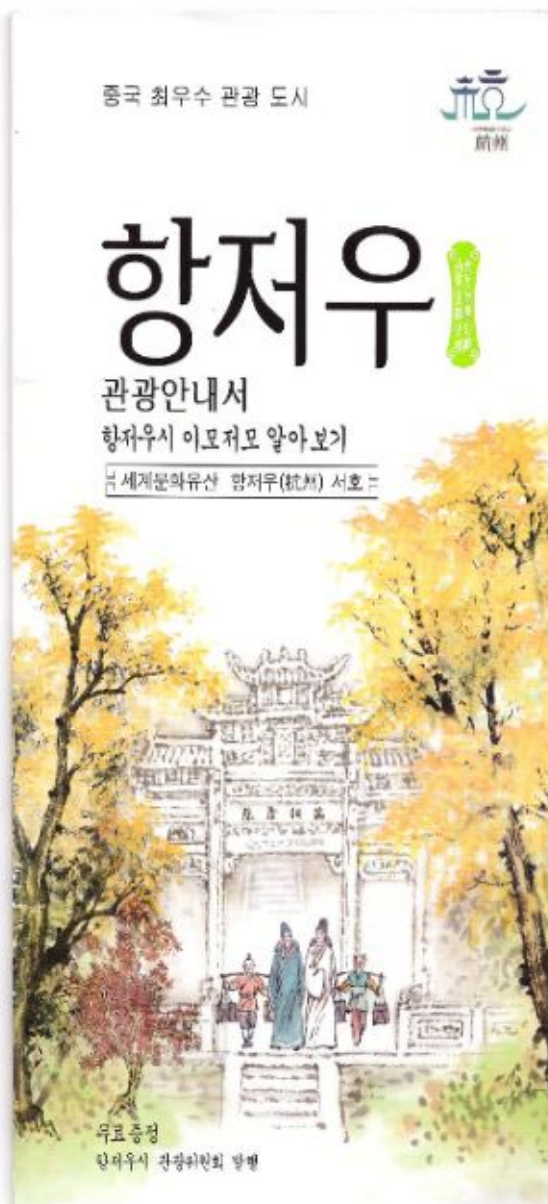
- 장소 : 제주시 구좌읍 하도리 995 번지 (태고종) 법화사
- 규모 : 1 ha
- 품종 : 백련
- 관련 행사 : 2012 천년고찰 법화사 연꽃축제 2012.8.19 - 2012.8.27

나. 중국 일부 연 재배지 및 연 관련 음식

(1) 항저우 - 서호(西湖) 취위안평허(曲院風荷)

‘취위안’은 원래 술 빛는 공장이었는데 후에 연꽃이 필 때 연꽃과 술의 향기가 어우러져 은은하게 풍겨 온다 해서 얻은 이름이다.

항저우의 연꽃 감상 명소 ‘취위안평허’



취위안평허(曲院風荷) — 양궁띠(楊公堤) — 귀창(郭莊) — 마오자푸(茅家埠) — 중국차박물관

취위안평허(曲院風荷) [P4-D2]

◎남송 때는 '취위안허평(曲院荷平)'이라고 불렀는데 청나라 강희(康熙)황제가 남방 순찰시 이를 '취위안평허'로 고쳤다. '취위안'은 원래 남송(1127년-1279년) 때 궁중의 술을 빛는 공장이었는데 후에 호수 가운데 연꽃을 많이 심어서 연꽃이 필 때 연꽃과 술의 향기가 어우러져 은은하게 풍겨 온다 해서 그 이름을 얻었다. 지금의 취위안평허는 1980년에 재건한 것이며 시후에서 여름철 연꽃을 감상하는 명소이다.

📍 북산로(北山路)와 수광로(曙光路) 교차로 📍 28, 15, 82 🚗 무료관람 🕒 24시간

양궁띠·양띠정성 [P4-D2]

◎양궁띠의 총길이는 3,328m이다. 원래는 명나라 정덕(正德) 3년(1508년)에 항저우 지사였던 양맹명(楊孟瑛)이 시후를 준설할 때 호수 밑의 진흙을 쌓아 준설한 것인데 2003년에 재건되었다.

📍 Y5, Y9, 527 🚗 무료관람

귀창(郭莊) [P4-D3]

◎원래 이름은 완유(端友)별장, 송광(宋莊)이다. 청나라 말기에 와서 항저우의 비단상인 송씨의 가족 사당과 개인 정원건축이 되었다. 후에 객씨 자택으로 양도되면서 '원양(汾陽)별장'으로 불렸으며 지금은 '귀창'으로 속칭된다. '귀창'은 시후의 전형적인 정원의 대표가 되었으며, 특히 시후 산수를 끼고 있어서 유명해졌고 '우린즈(武林池)관 중에서 제일 복고적인 곳'이라는 평가를 받고 있다.

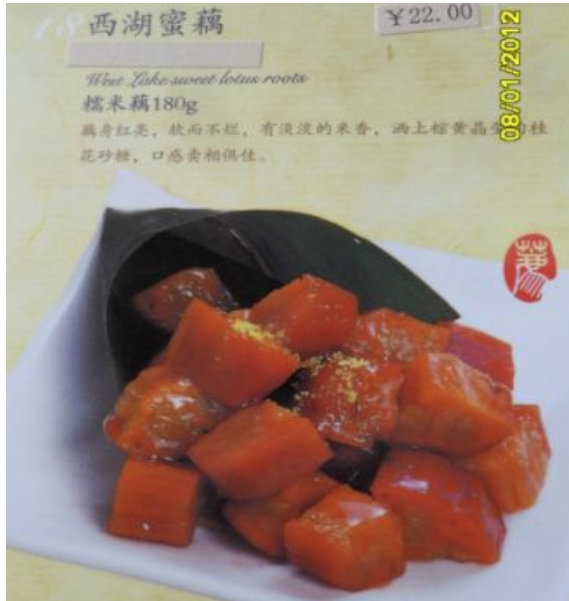
📍 양궁띠 28번지 📍 K527, Y5 🚗 10위안 📞 87986026 🕒 8:00-17:00



항저우의 연꽃 풍경과 연밥



항저우의 연 음식들



(2) 광동성 - 포산시

규모 : 53 ha, 500 여 종의 연꽃이 피어 있음

포산시의 삼수하화세계 'LOTUS WORLD' 소개 팸플릿



포산시의 삼수하화세계 'LOTUS WORLD' 연꽃 풍경



포산시의 연 음식



2. 시료 준비

가. 국내

국내 주요 재배 지역 중 경기도의 시흥, 전라도의 무안, 경상도의 대구, 함안 지역의 연 (Table 2-1) 을 구입하여 시료로 사용하였고, 구입한 연자육과 연근은 액체 질소로 급속 냉동시킨 후 사용하기 전까지 -20°C 에서 보관하였다.

Table 2-1 The information of domestic lotus

Area	Part	Status
Siheung	Red seed with embryo	Frozen
	Red rhizome	Fresh
Muan	White seed with embryo	Dried
	White rhizome	Fresh
Daegu	Red rhizome	Fresh
Haman	Red rhizome	Fresh

나. 국외

중국, 일본, 베트남, 태국의 연 (Table 2-2)을 구입하여 시료로 사용하였고, 구입한 연자육과 연근은 액체질소로 급속 냉동시킨 후 사용하기 전까지 -20°C 에서 보관하였다.

Table 2-2 The information of abroad lotus

Area	Part	Status	
Guangzhou	Red seed with embryo	Dried	
China	Hubei	Red seed with embryo	Dried
	Guangxi	Red rhizome	Dried
Vietnam	Red seed with embryo	Dried	
	Red rhizome	Dried	
Japan	White rhizome	Fresh	
Thailand	Red seed with embryo	Dried	

3. 한식 식재료로 사용되는 연의 부위에서 항비만 및 항산화 건강증진 효과의 건강기능(지표)성분 설정

가. 연구 방법

(1) 조추출물과 분획물 제조 및 기능성분 분리

(가) 조추출물과 분획물 제조

냉동된 연자육 (시흥, 경기도) (1.2 kg)을 믹서기로 갈아 50 °C의 95 % 에탄올 (6 L)에서 2 시간동안 두었다가 추출하기를 4 번 반복하였다. 연근 (시흥, 경기도) (1.2 kg)도 같은 방법으로 4 번 추출하였고, 이렇게 추출한 각각의 추출물을 모아 감압하여 용매를 제거하였다. 연자육추출물은 LS95E (69.79 g)로, 연근추출물은 LR95E (44.00 g)로 표시하였다. 그 후 각각의 에탄올 추출물을 다시 상온에서 400 mL 헥세인으로 5 번 추출하였다. 이렇게 추출한 추출물을 모아 감압하여 용매를 제거하고, 연자육의 헥세인 추출물은 LS95EH (16.97 g)로, 연근의 헥세인 추출물은 LR95EH (2.07 g)로 표시하였다.

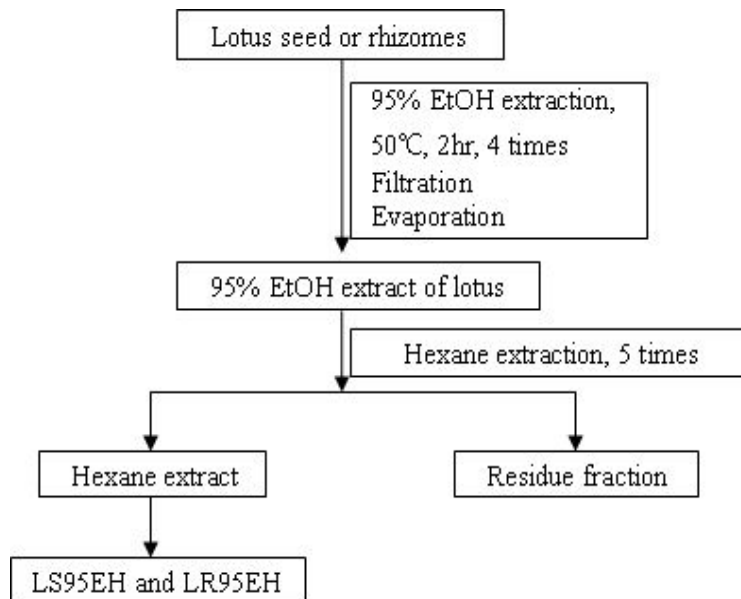


Fig. 3-1 The hexane extraction method for lotus seed and rhizome

(나) 지방산과 식물성 스테롤의 분리

① 실리카겔 컬럼 크로마토그래피

LS95EH와 LR95EH는 실리카겔을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다 (140 mm × 20 mm i.d.). 컬럼 용매는 헥세인/디에틸에테르 (1:0, 8:1, 6:1, 4:1, 2:1, 1:1, 0:1)와 헥세인/에틸아세테이트 (1:1, 0:1)의 비율을 바꿔가며 순서대로 사용하였고, 7 개의 분획을 받았다. 각각의 분획은 왁스와 과산화물, steryl ester, triglycerides, diglycerides와 monoglycerides, 유리 식물성 스테롤, 유리 지방산, 소량의 플라보노이드가 포함하고 있음을 TLC와 ¹H NMR로 확인하였다. 그 후 diglycerides와 monoglycerides, 유리 식물성 스테롤, 유리 지방산은 가수분해 없이 TMS 유도체로 만든 후 GC-MS로 분석하였고, steryl ester와 triglyceride는 가수분해 후 TMS 유도체로 만들어 GC-MS로 분석하였다.

② 가수분해

LS95EH (0.38 g)와 LR95EH (0.26 g) 각각의 샘플에 수산화칼륨 (0.5 g)과 수산화나트륨 (0.3 g), THF (20 mL), 증류수 (약 20 방울)를 넣고 60°C의 oil bath에서 12 시간 반응시켰다. 그 후 헥세인으로 (20 mL × 5) 스테롤을 추출하였다. 추출하고 남은 용액은 다시 35% 염산 (2 mL)을 첨가하여 용액을 산성으로 만든 후 헥세인으로 (20 mL × 5) 지방산을 추출하였다. 각 추출물들은 TMS 유도체로 만든 후 GC-MS로 분석하였다. 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 분리해낸 triglyceride (0.05 g)와 steryl ester (0.06 g)도 같은 방법으로 가수분해한 후 GC-MS로 분석하였다.

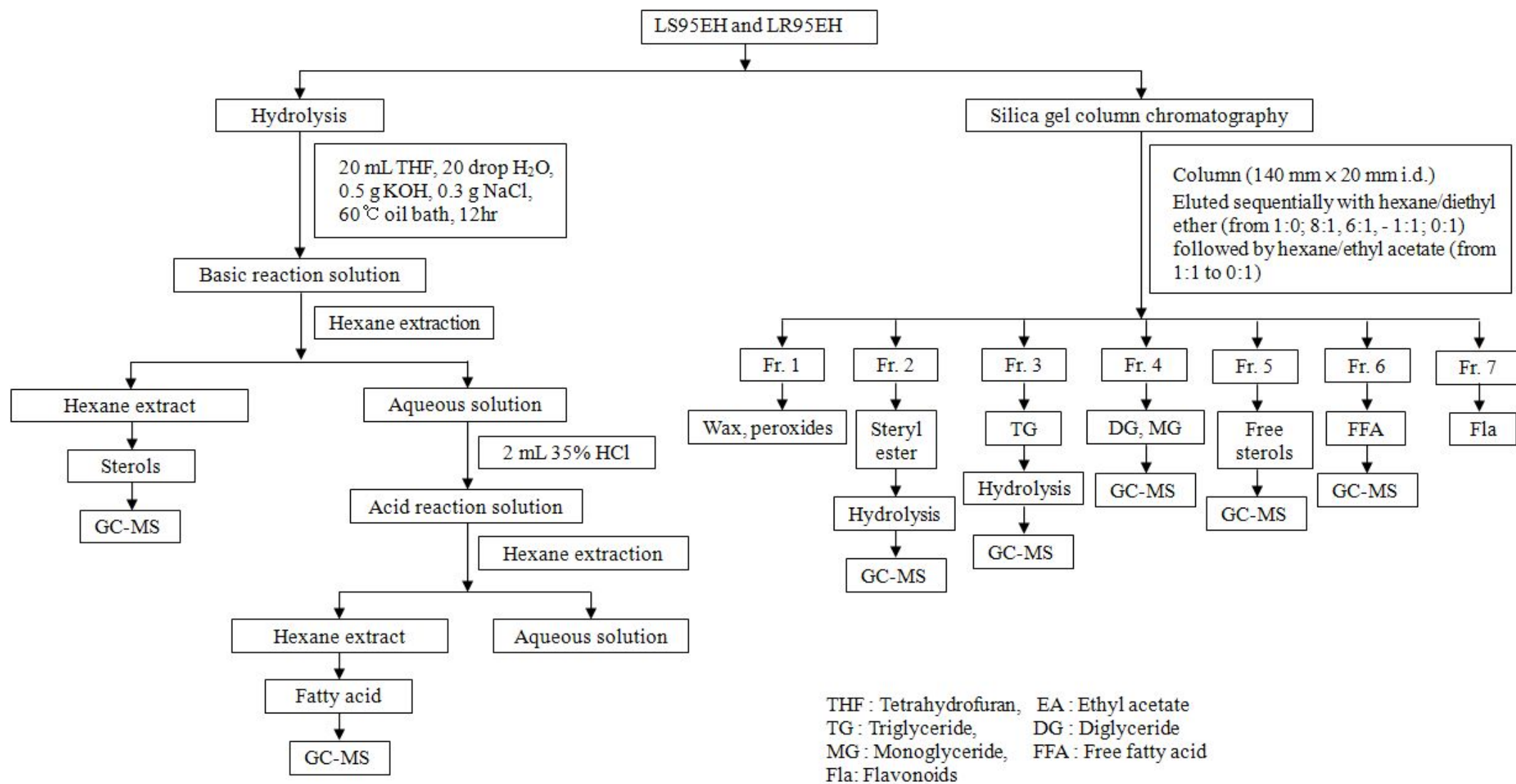


Fig. 3-2 Analysis of fatty acids and phytosterols in LS95EH and LR95EH

(다) 플라보노이드와 알칼로이드의 추출 및 분리

① 플라보노이드와 알칼로이드의 추출

연자육과 연근을 각각 믹서기로 갈아 50°C의 70% 에탄올 (6 L)에서 2 시간동안 두었다가 추출하기를 4 번 반복하였다. 이렇게 추출한 각각의 추출물을 모아 감압하여 용매를 제거하였다. 연자육은 LS70E로 표시하였고, 연근은 LR70E로 표시하였다. 그 후 각각의 에탄올 추출물을 다시 상온에서 400 mL 헥세인으로 5 번씩 추출하였다. 이렇게 추출한 추출물을 모아 감압하여 용매를 제거하고, 연자육의 헥세인 추출물은 LS70EH로 표시하고, 연근의 헥세인 추출물은 LR70EH로, 추출하고 남은 용액 부분은 각각 LS70ER, LR70ER로 표시하였다. LS70E와 LR70E, LS70EH, LR70EH, LS70ER, LR70ER 부분들의 총 페놀은 Folin-Ciocalteu assay로, 총 플라보노이드는 비색법으로, 항산화 효과는 DPPH 라디칼 소거 활성으로 분석하였다.

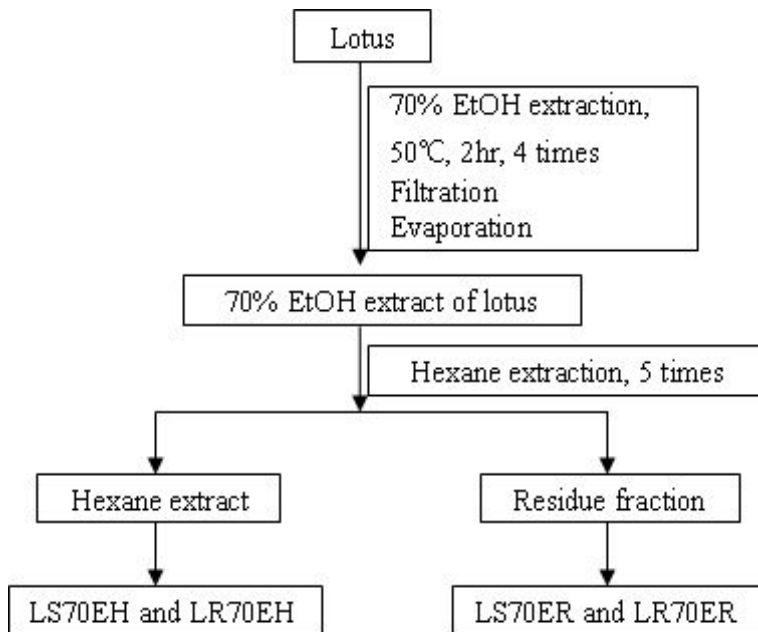


Fig. 3-3 The hexane extraction method for lotus seeds and rhizomes

② AB-8 macroporous resin column에 의한 플라보노이드와 알칼로이드의 분리

연자육, 연근을 70% 에탄올로 추출하고 남은 부분인 LS70ER과 LR70ER (약 3 g)을 증류수 (25 mL)에 녹여 원심 분리하였다. 그 후 상층액을 따서 감압하여 물을 제거하고, 이 부분을 AB-8 macroporous resin column (Anhui Sanxing Resin Technology Co., Ltd, Anhui, China) (250mm × 45 mm i.d.)에 넣고 분리하였다. 용매를 제거한 상층액 부분은 증류수 (10 mL)에 녹여 AB-8 macroporous resin column에 2 시간 동안 흡착시

켰다 (Deng, *et al.*, 2009). 그 후 증류수 (1.5 L)로 컬럼하여 수용성의 화합물 (색소와 당)을 얻어내었고, 그 다음으로 95% 에탄올 (1.5 L)로 내려 플라보노이드와 알칼로이드가 들어 있는 부분을 얻었다. 마지막으로 나머지 부분은 5% 암모니아 용액 (1 L)으로 내려 받아 내었다.

처음에 원심 분리하여 얻은 잔여물 부분은 AB-8 macroporous resin column으로 분리해낸 에탄올 분획 부분 (Re-EtOH 부분)과 합쳐서 HPLC로 순도를 확인하였다. 이 분획에는 약간의 triglyceride가 포함되어 있었다. Triglyceride는 탄소의 수가 많아 분자량이 크고 끓는점이 높기 때문에 GC-MS로 분석할 수 없다. 따라서 이 triglyceride를 헥세인으로 추출하여 제거하였다. 먼저 잔여물 부분과 Re-EtOH 부분 약 0.5 g을 메틸렌 클로라이드 (5 mL)에 녹여 추출하고 메틸렌 클로라이드 추출물 부분을 감압하여 용매를 제거하였다. 그 후 메틸렌 클로라이드 추출물을 메탄올 (5 mL)에 녹이고 헥세인 (5 mL)으로 triglyceride를 추출하여 제거하였다. 추출하고 남은 메탄올 분획은 감압하여 용매를 제거하고, 메탄올 분획의 플라보노이드와 알칼로이드는 TMS 유도체로 만든 후 GC-MS로 분석하였다.

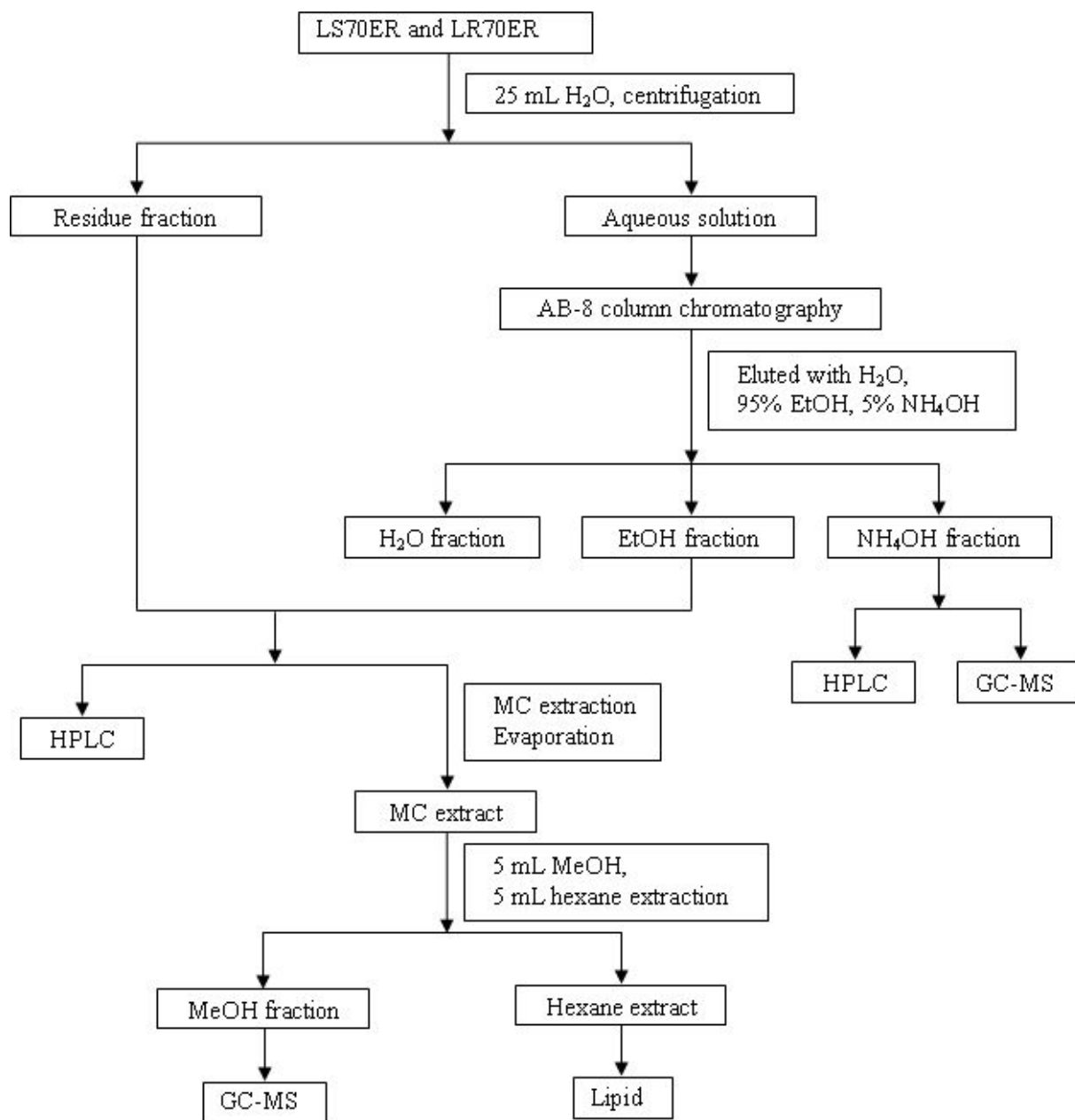


Fig. 3-4 Separation methods for flavonoids and alkaloids from LS95ER and LR95ER

(2) 항산화 활성 측정

(가) DPPH 라디칼 소거 활성 측정

① 반응 메커니즘 (Prior *et al.*, 2005)

DPPH (Fig. 2-5) 라디칼은 안정한 질소 라디칼이며 보라색을 띤다. 이 실험은 항산화 물질이 DPPH를 환원시키는 능력을 측정하였다. 이 능력은 전자스핀 공명이나 흡광도의 감소를 측정함으로써 알아볼 수 있고, 항산화 실험은 DPPH와 샘플을 반응 시킨 뒤 517nm 파장에서 DPPH의 흡광도를 측정하여 수행하였다. 항산화 물질의 환원 능력은 EC₅₀을 이용하여 나타내는데, EC₅₀란 반응 후 DPPH 라디칼 농도가 반응 전 DPPH 라디칼 농도의 반이 되게 하는 항산화 시약의 농도를 말한다.

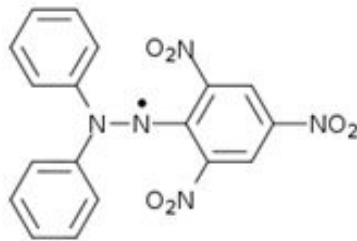


Fig. 3-5 Structure of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

② 실험 방법

자유 라디칼의 소거 활성은 Lin *et al.*의 방법으로 부터 수정된 DPPH 라디칼을 이용하여 측정하였다 (Lin *et al.*, 2009). 먼저 DPPH의 메탄올 용액 (100 μ M, 5 mL)을 여러 농도의 샘플과 반응 시켰다 (0-2.0 mg/mL, 0.6 mL). 그 후 이 혼합물을 빛이 없는 곳에서 30 분간 보관하였다. 흡광도는 Cary 300 UV-Vis spectrophotometer (Agilent Technologies, USA)를 이용하여 517 nm에서 측정하였고, 바탕용액으로 DPPH가 없는 메탄올을 사용하였다. 선형회귀분석에 의해 얻어진 EC₅₀값으로 항산화물질의 활성을 표시하였다. 샘플들의 DPPH 소거활성 표준화를 위해 표준물질로 비타민C를 사용하였다.

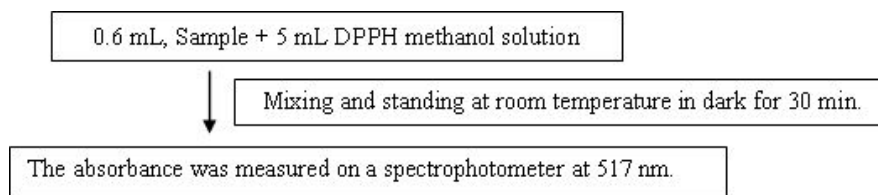


Fig. 3-6 DPPH radical decoloration assay

- DPPH 억제 비율 = $[1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100\%$

A_i: 샘플과 DPPH 반응물의 흡광도

A_j: 샘플의 메탄올 용액의 흡광도

A_c: DPPH 메탄올 용액의 흡광도

(나) 환원력 측정

연근과 연자육 에탄올 추출물의 환원력을 측정하고자 Oyaizu의 방법 (Oyaizu, 1986)을 이용하여 환원력을 측정하였다. 시료를 각각 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 mg/ml 농도별로 조제한 시료 0.1 ml에 0.2 M 인산 완충액 (pH 6.6) 0.25 ml와 1% potassium ferricyanide (K₃Fe(CN)₆) 0.25 ml를 넣은 다음, 50 °C에서 20분간 반응시켰다. 0.25 ml의 10 % trichloroacetic acid를 첨가하고 650 g, 10분간의 원심분리를 통하여 얻어진 상층액 0.3 ml에 증류수 0.3 ml와 0.1 %의 FeCl₃ 0.06 ml를 넣어서 발색반응을 유도시킨 다음 UV-visible spectrophotometer (Hewlett packard, Wilmington, DE, USA)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

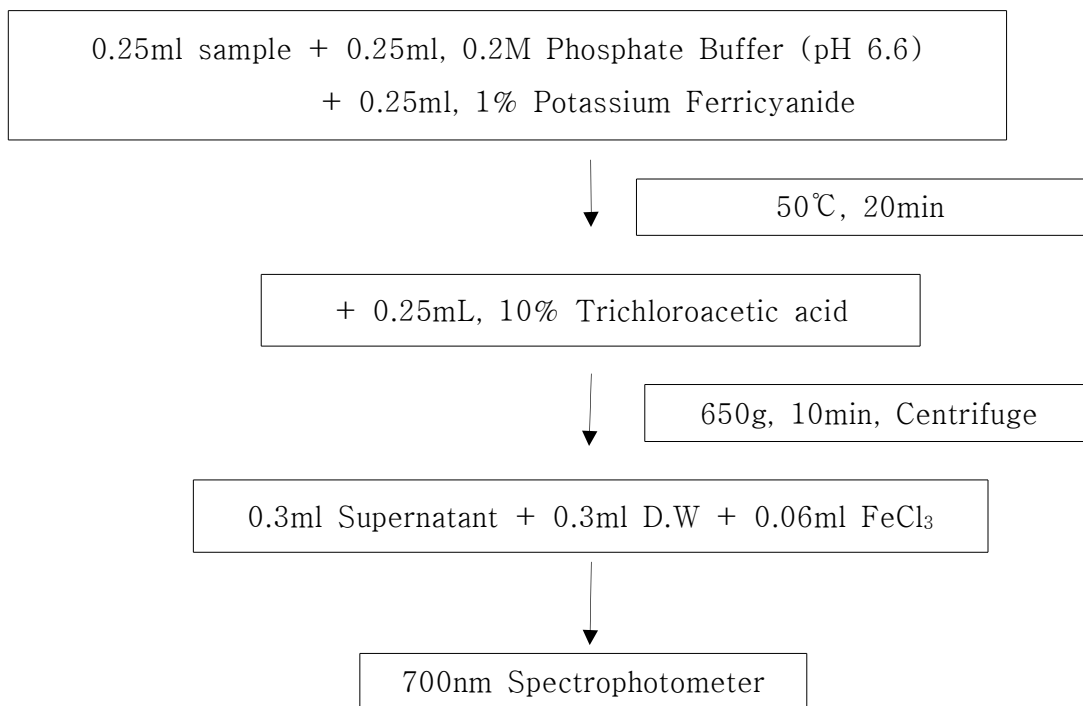


Fig. 3-7 Reducing power assay process

(다) 지질과산화 억제 효과

지질과산화 억제 효과는 Mitsuda 등의 방법 (Mitsuda *et al.*, 1966)을 수정한 것으로 측정하였다. 시료가 첨가된 linoleic acid emulsion을 자동산화시키고 Fe^{2+} 로 과산화를 유도시킨 후, 지질과산화물을 TBA로 발색시켜 과산화 정도를 측정하였다. Linoleic acid emulsion의 제조는 200 μ L linoleic acid (2.5 % in 99.9 % ethanol), 400 μ L sodium phosphate buffer (pH 7.0, 50 mM), 200 μ L D.W와 DMSO를 사용하여 4 mg/ml로 희석시킨 연근과 연자육 에탄올 추출물을 200 μ L를 혼합한 후 40 $^{\circ}$ C 암소에서 6일간 자동산화를 시켰다. 제조한 emulsion에 0.1M iron sulfate ($FeSO_4 \cdot H_2O$) 8 μ L를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C, shaking incubator에서 2시간 동안 과산화 반응을 유발시켰다. 처리된 emulsion 800 μ L를 4 $^{\circ}$ C에서 10 분동안 tempering 시키고 400 μ L의 TBA reagent를 가한 다음 잘 혼합하여 95 $^{\circ}$ C, water bath에서 15 분간 발색시킨 후 얼음물에서 10 분간 냉각시켰다. 냉각된 emulsion에 1.12 ml의 n-butanol을 가하고 잘 혼합하여 250 g로 20 분 동안 원심 분리 시킨 후 n-butanol 층을 취하여 Powerwave X microplate spectrophotometer (Biotek instruments Inc., Winooski, USA)로 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비타민 C를 표준물질로 하여 지질과산화 억제 효과 정도를 비교하였다.

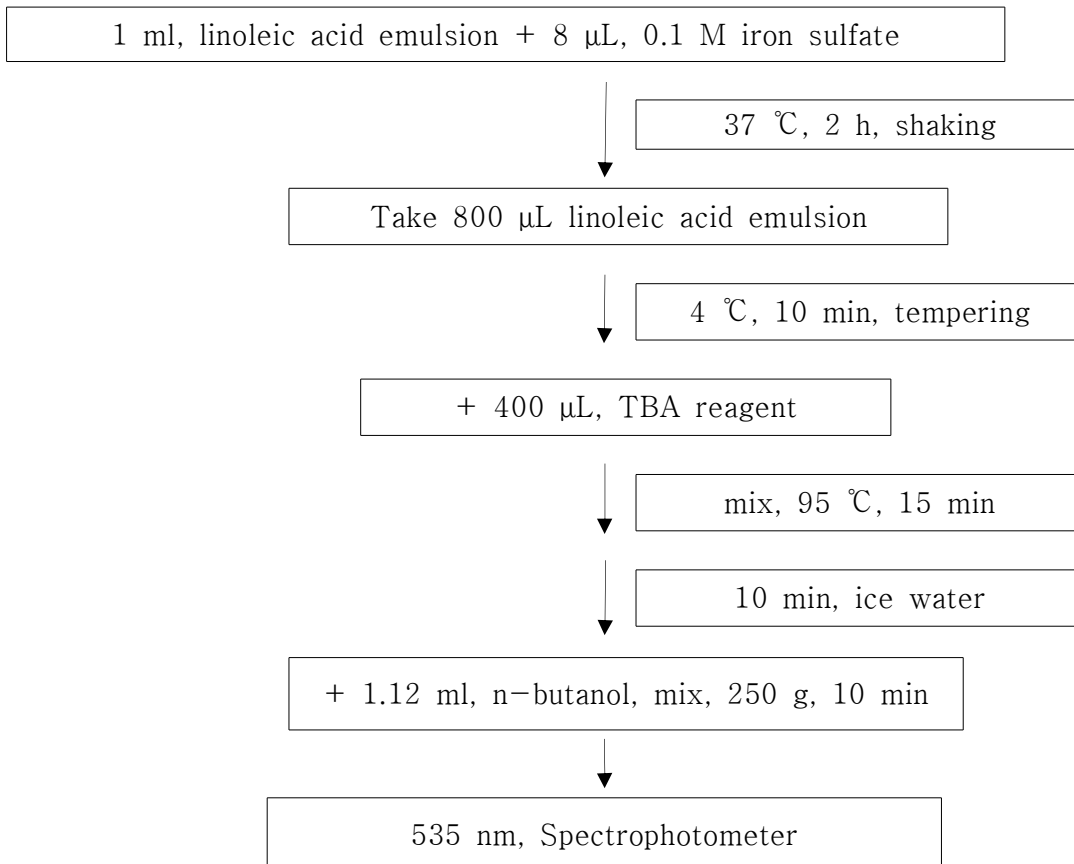


Fig. 3-8 Lipid peroxidation inhibition assay process

(라) ORAC assay

OxiSelect™ ORAC Assay Kit (Cell Biolabs, Inc., San Diego, CA, USA)를 사용하여 oxygen radical antioxidant capacity를 측정하였다. 시료는 연자육과 연근 추출물을 0.025 g 사용하였고 D.W (1:2 w/v)을 0.05 ml 넣어 4 °C, 10,000 ×g로 10 분간 원심분리 하였다. 상층액을 분리한 후 남은 plup을 D.W로 세척하여 plup을 제외한 액체를 상층액에 첨가하고 모든 상층액은 assay diluent로 10 배 희석하여 사용하였다. 남은 plup은 각각의 무게를 재서 acetone (1:4 w/v)과 잘 섞은 후 실온에서 30-60 분 방치하고 12,000 ×g로 10 분간 원심 분리한 후 상층액을 분리하여 assay diluent로 10 배 희석하여 사용하였다. 5 mM antioxidant standards 10 µl과 assay diluent 혹은 50 % acetone을 240 µl 첨가하여 0.2 mM로 희석하여 사용하였다. 96-well microtiter plate에 농도별로 희석한 antioxidant standards와 samples을 25 µl씩 넣은 후 각 well에 150 µL fluorescein solution을 첨가하였다. 잘 섞어 plate를 37 °C에서 30 분간 반응시키고 각 well에 25 µl free radical initiator solution을 첨가하였다. 피펫팅으로 잘 섞어주고 fluorescent microplate reader (LS 55 Luminescence Spectrometer, Perkin Elmer Inc., USA)를 사용하여 480 nm excitation wavelength and 520 nm emission wavelength 로 37 °C에서 1 시간 동안 2-5 분 간격으로 측정하고 ORAC value를 µmol TE/g 단위로 나타내었다.

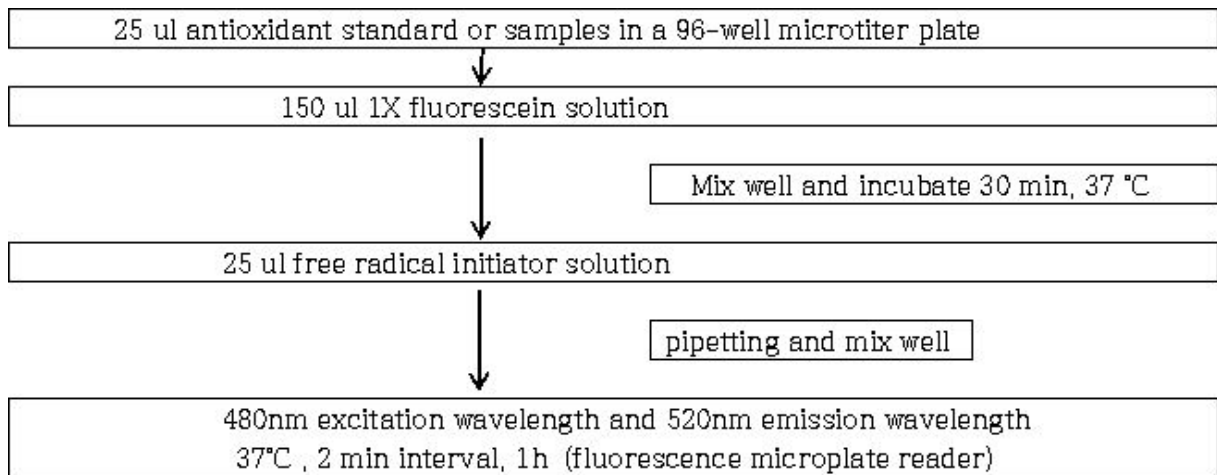


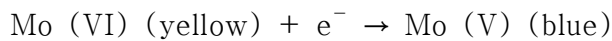
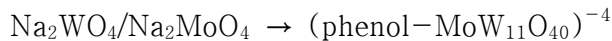
Fig. 3-9 ORAC assay process

(3) 기능성분 분석

(가) 총 페놀 함량 측정

① 반응 메커니즘 (Prior, Wu and Schaich, 2005)

Folin-Ciocalteu assay는 1927년 타이로신 분석에 사용된 시약으로부터 기원된다. 이 시약은 타이로신이 molybdotungstate에 의해 페놀이 산화되어 λ_{\max} 745-750 nm에서 흡광을 일으키게 한다:



이 방법은 간단하고 감도가 좋으며 경제적이지만 산성에서는 반응 속도가 느려지며 특이성이 떨어진다. 따라서 Singleton과 Rossi는 molybdotungstophosphoric heteropolyanion 시약을 이용하여 티로신 검출에 이용된 방법을 향상시켰다:



이는 앞선 방법보다 더 특이적으로 페놀을 산화시켜 λ_{\max} 765 nm에서 검출되는 생성물을 만든다. 예측할 수 있고 신뢰성 있는 데이터를 얻기 위해서 꼭 지켜야 할 필수적인 방법과 조건이 있다. 1) 알칼리 시약과 Folin-Ciocalteu 시약의 적당한 부피 비, 2) 색 검출을 위한 적절한 반응시간과 온도, 3) 765 nm에서의 흡광도 측정, 4) reference-standard 페놀로써 gallic acid를 사용하는 것이다.

② Gallic acid의 산화 메카니즘 (Abdel-Hamid and Newair, 2011)

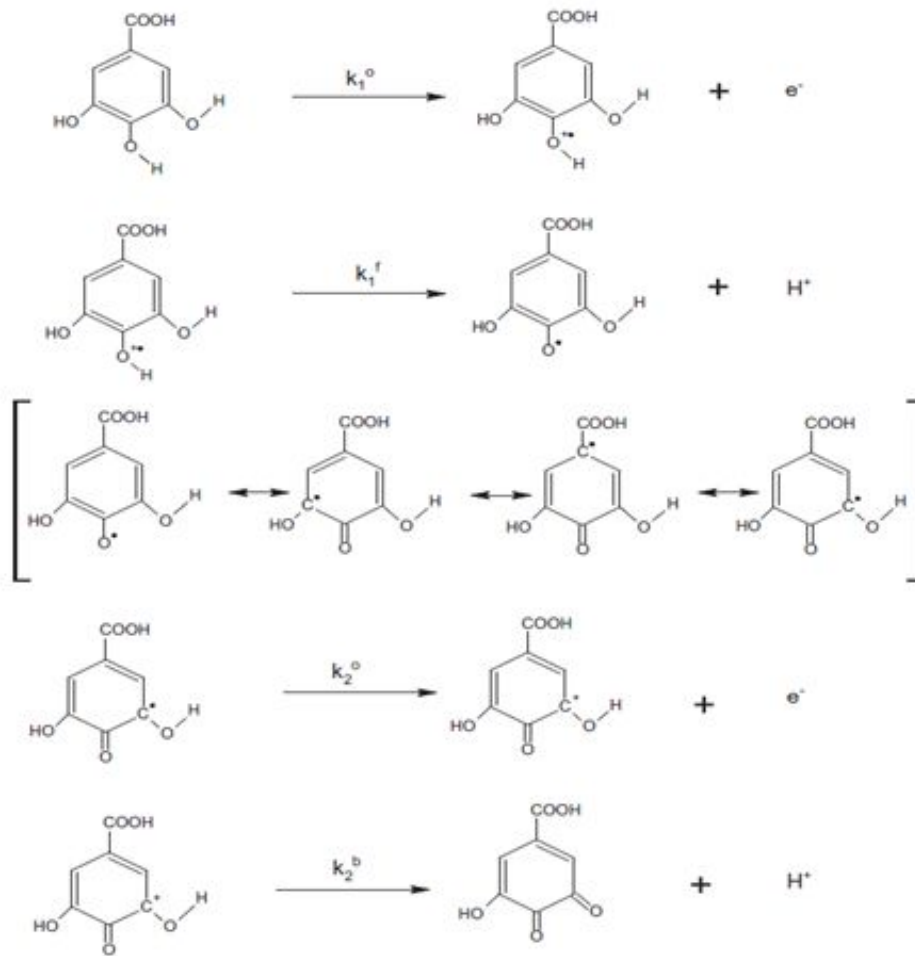


Fig. 3-10 Oxidation mechanism of gallic acid

Gallic acid (GA)와 그 유도체는 자연 속에 존재하는 폴리페놀계 항산화물질 중 하나로 건강에 잠재적인 효과를 가지고 있다. GA가 비가역적 산화가 일어나면 세미퀴논 라디칼 양이온 ($GA^{\cdot+}$)을 생성한다. 그 후 생성된 라디칼 양이온은 양성자를 잃고 세미퀴논 라디칼 (GA^{\cdot})이 된다. 산화에 의해 생성된 세미퀴논 라디칼 (GA^{\cdot})은 두 번째 비가역적 전자 전이로 인해 퀴논 양이온 (GA^+)이 되고, 탈양성자화에 의해 퀴논 (GAO)이 형성된다 (Fig. 3-10).

③ 실험 방법

총 페놀의 함량은 Lin 등의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu assay로 분석하였다 (Lin *et al.*, 2009). 먼저 증류수 (2 mL)에 샘플 (2 mg/mL, 0.1 mL)과 Folin-Ciocalteu 페놀 시약 (1 mL)을 넣고 섞었다. 5 분 후 20% 탄산나트륨 용액 (5 mL)을 첨가하고 빛이 없는

곳에서 60 분간 보관하였다. 시간이 지나면 735 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀의 함량은 다양한 농도 (0-800 $\mu\text{g/mL}$)에서 gallic acid를 검정 기준으로 사용하여 측정되었다.

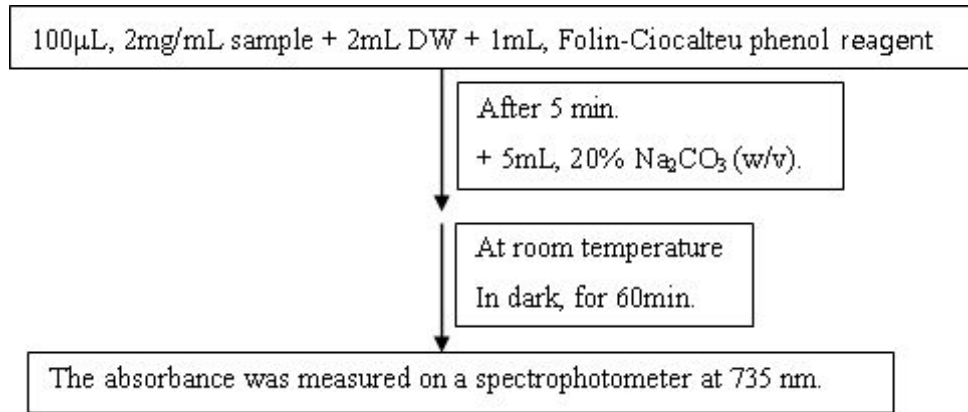


Fig. 3-11 Determination of total phenolic contents

(나) 총 플라보노이드 함량 측정

① 반응 메커니즘 (Vasantha Rupasinghe, 2012, Chen *et al.*, 2012)

총 플라보노이드 함량 측정 방법은 염화알루미늄 비색분석법으로 측정할 수 있다. 염화알루미늄은 플라보노이드와 플로보놀 구조의 C-3나 C-5의 하이드록시기와 C-4의 케톤기와 반응하여 산성의 안정한 착물을 형성한다. 또한 플라보노이드의 A-고리, B-고리에 있는 2개의 o-다이하이드록시기와 반응하여 산성의 불안정한 착물을 형성한다. 형성된 착물은 붉은 빛을 띠며 이에 대한 흡광도는 510 nm에서 측정하여 총 플라보노이드 함량을 측정한다.

② 실험 방법

총 플라보노이드 함량은 Lin 등의 방법으로부터 수정된 비색법을 사용하여 측정하였다 (Lin *et al.*, 2009). 먼저 증류수 (3.75 mL)에 샘플 (2 mg/mL, 0.6 mL)과 5% 질산나트륨 수용액 (0.225 mL)을 넣어 섞었다. 그리고 6 분 후 10% 염화알루미늄 수용액 (0.45 mL)을 첨가하고 다시 5 분 후 수산화나트륨 용액 (1 M, 1.5 mL)을 첨가하였다. 그 후 증류수를 첨가하여 총 부피가 7.5 mL가 되도록 맞추고, 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 다양한 농도 (0-800 $\mu\text{g/mL}$)에서 카테킨을 검정 기준으로 사용하여 측정되었고, 그 결과는 샘플의 g당 카테킨 mg 당량으로 표기했다.

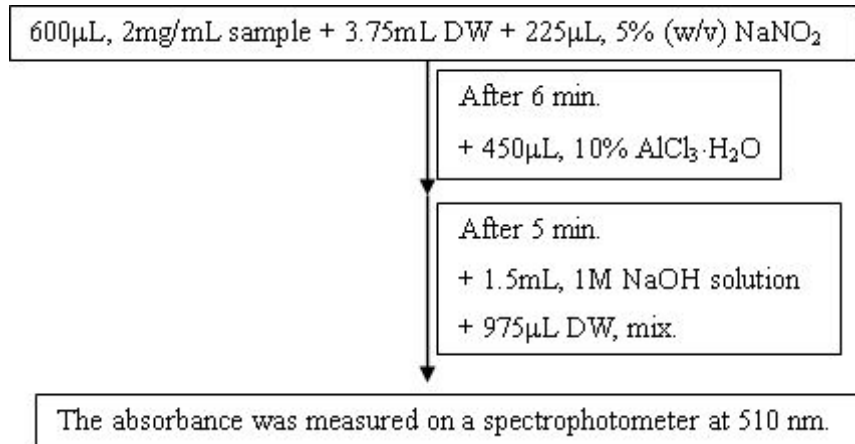


Fig. 3-12 Determination of total flavonoid contents

(다) 기능성분의 GC-MS와 GC 분석

① Silylation

샘플 0.5 mg에 TMS (100 µL)와 pyridine (50 µL), acetonitrile (350 µL)을 넣어 섞은 후 80°C의 oil bath에서 반응 시키는데, 지질은 3 시간 동안 (Sakouhi, *et al.*, 2009), 플라보노이드와 알칼로이드는 12 시간 동안 반응 시켰다. Silylation 반응 후, 용액의 1 µL는 GC와 GC-MS 분석에 사용되었다.

② 지방산과 식물성 스테롤의 GC-MS와 GC 분석

GC 분석은 Shimadzu gas chromatography-17A 와 FID, Class-5000 software (Shimadzu Co. Ltd, Kyoto, Japan.)를 사용하여 실험하였다. 모세관 컬럼 (30 m × 0.25 mm i.d.)은 0.25 µm 필름으로 코팅되었다. 컬럼의 온도는 처음에 100 °C에서 샘플을 주입한 후 5 분 동안 유지시켜주고 그 후 20 °C/min 속도로 200 °C까지 올린 후 10 분 동안 유지시켜주었다. 그 후 10 °C/min 속도로 230 °C까지 온도를 올리고, 320 °C까지는 5 °C/min 속도로 올렸다. 그리고 나서 35 분 동안 온도를 유지시켜주었다. 분할 주입 (1 µL)은 분할 비율이 1:30이 되도록 실행하였고 주사 온도는 260 °C에 맞췄다. 유속은 1.0 mL/min으로 맞추고 인터페이스의 온도는 280 °C로 맞춰주었다. 결과는 표준 시약의 머무름 시간을 비교함으로써 확인하였다.

GC-MS는 Shimadzu QP-5000 gas chromatography-17A 기구와 QP5050A mass spectrometer, 그리고 Class-5000 software (Shimadzu Co. Ltd, Kyoto, Japan.)를 사

용하여 실험하였다. 모세관 컬럼 ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm i.d.}$)은 $0.25\text{ }\mu\text{m}$ 필름으로 코팅되었다. 컬럼의 온도는 처음에 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 샘플을 주입한 후 5 분 동안 유지시켜주고 그 후 $20\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 속도로 $200\text{ }^\circ\text{C}$ 까지 올린 후 10 분 동안 유지시켜주었다. 그 후 $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 속도로 $230\text{ }^\circ\text{C}$ 까지 온도를 올리고, $320\text{ }^\circ\text{C}$ 까지는 $5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 속도로 올렸다. 그리고 35 분 동안 온도를 유지시켜주었다. 분할 주입 ($1\text{ }\mu\text{L}$)은 분할 비율이 1:30이 되도록 실행하였고 주사 온도는 $260\text{ }^\circ\text{C}$ 에 맞췄다. 헬륨은 운반기체로써 $1.0\text{ mL}/\text{min}$ 의 속도로 맞추고 인터페이스 온도는 $280\text{ }^\circ\text{C}$ 에 맞추었다. 전자에너지는 70 eV , 스캔 범위는 30에서 1050 m/z 로 맞춰주었다. 화합물의 구조는 표준물질과 비교하거나 NIST62 library spectra와 비교하여 확인하였다.

③ 플라보노이드와 알칼로이드의 GC-MS 분석

GC-MS는 Shimadzu QP-5000 gas chromatography-17A 기구와 QP5050A mass spectrometer, 그리고 Class-5000 software (Shimadzu Co. Ltd, Kyoto, Japan.)를 사용하여 실험하였다. 모세관 컬럼 ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm i.d.}$)은 $0.25\text{ }\mu\text{m}$ 필름으로 코팅되었다. 컬럼의 온도는 처음에 $180\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 샘플을 주입한 후 3 분 동안 유지시켜주고 그 후 $260\text{ }^\circ\text{C}$ 까지 $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 속도로 온도를 올렸다. 그리고 $20\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 속도로 $290\text{ }^\circ\text{C}$ 까지 온도를 올리고, 47 분 동안 온도를 유지시켜주었다. 분할 주입 ($1\text{ }\mu\text{L}$)은 분할 비율이 1:30이 되도록 실행하였고 주사 온도는 $280\text{ }^\circ\text{C}$ 에 맞췄다. 운반 기체로 헬륨을 사용하였는데, 유속은 $1.5\text{ mL}/\text{min}$ 으로 맞추고 검출기의 온도는 $280\text{ }^\circ\text{C}$ 로 맞춰주었다. 전자에너지는 70 eV , 스캔 범위는 30에서 1090 m/z 로 맞춰주었다. 화합물의 구조는 표준물질과 비교하여 확인하였다.

(라) HPLC 분석

① 플라보노이드의 HPLC 분석 (Lin *et al.*, 2009)

플라보노이드 분석은 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 HPLC (Agilent Technologies 1200 series HPLC)와 Waters C18 reverse-phase column ($250\text{ mm} \times 4.6\text{ mm i.d.}$)을 사용하여 실험하였다. 이동상은 2 % 아세트산 (용매 A)과 0.5 % 아세트산 : 아세토나이트릴 (1:1 v/v, 용매 B)을 사용하였다. 구배 용리 조건은 다음과 같다: 0-10 min, 90-60 % 용매 A; 10-40 min, 60-45 % 용매 A; 55-60 min, 45-20 % 용매 A; 60-65 min, 20-0 % 용매 A; 65-70 min, 0-50 % 용매 A; 70-75 min, 50-70 % 용매 A; 75-80 min, 70-90 % 용매 A. 주사 양은 $20\text{ }\mu\text{L}$ 이고, UV 검출은 270, 300, 350, 380 nm에서 측정하였다. 연자육과 연근에 함유되어 있는 플라보노이드는 표준물질들의 머무름 시간과 비교하여 확인하였다.

Table 3-1 Elution conditions of flavonoid

Time (min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)	Flow rate (mL/min)
0-10	90	10	1
10-40	60	40	1
40-55	45	55	1
55-60	20	80	1
60-65	0	100	1
65-70	50	50	1
70-75	70	30	1
75-80	90	10	1

② 알칼로이드의 HPLC 분석 (Zhenjia *et al.*, 2010)

알칼로이드 분석은 30°C에서 HPLC (Agilent Technologies 120 series HPLC)와 Waters C18 reverse-phase column (250 mm × 4.6 mm i.d.)을 사용하여 실행하였다. 이동상은 아세트산 (용매 A)과 0.1% 트리에틸아민 (용매 B)을 사용하였다. 구배 용리 조건은 다음과 같다: 0-15 min, 40-70 % 용매 A; 15-20 min, 70-100 % 용매 A; 20-30 min, 100-40 % 용매 A. 주사 양은 20 μL이고, UV 검출은 270 nm에서 측정하였다. 연자육과 연근에 함유되어 있는 알칼로이드는 표준물질들의 머무름 시간과 비교하여 확인하였다.

Table 3-2 Elution conditions of alkaloid

Time(min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)	Flowrate (mL/min)
0	40	60	1
15	70	30	1
20	100	0	1
30	40	60	1

(4) 기능성분의 항비만효과 측정 (*in vitro*)

지방세포 분화에 대한 효과를 확인하기 위하여, 인간 지방전구세포 (human preadipocyte)를 지방세포 (adipocyte)로 분화유도하면서 연근, 연잎, 연자육에서 분리한 기능성분 (catechin, nuciferine, isoquercetin, quercetin, isoliensinine, O-nornuciferine)을 농도별로 처리하여 지방세포 분화 억제 효과를 비교하였다.

(가) Human preadipocyte 배양

인간 (Human) 지방전구세포 (Cell Applications Inc., San Diego, CA, USA)를 지방전구세포 배양 배지 (preadipocyte growth medium) (Cell Applications Inc., San Diego, CA, USA)를 이용하여 6-well plates에 세포를 2 mL(1.8×10^5 cell/well in 2 mL of medium)씩 분주하여 confluent 상태가 될 때까지 37 °C, 5 %로 이산화탄소가 공급되는 세포배양기에서 배양하였다. 배양된 지방전구 세포는 분화를 위해 지방세포 분화 배지 (adipocyte differentiation medium) (Cell Applications Inc., San Diego, CA, USA)로 바꾸어 2주 동안 배양하였다. 기능성분들의 지방세포 분화 억제 효과를 확인하기 위하여 동일한 농도 (25, 125 μ M/mL)를 처리하며 결과를 비교하였다.

(나) Oil red O 염색

분화가 완료된 지방세포에 Oil red O 염색을 통해 지방 축적의 여부를 확인하였다. 세포 배양액을 버리고 10% formaldehyde 용액으로 1시간 동안 고정시킨 후, oil Red O (Sigma, USA)가 있는 60% isopropanol 용액으로 20분 동안 염색하였다. 염색된 세포는 세포질내 붉은색 과립이 있는 세포를 분화된 지방세포로 간주하고, 현미경 (Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰 후 사진 촬영하였다. 또한, 염색된 Oil Red O를 isopropanol 용액으로 녹여내어 Emax microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용해서 500 nm에서 optical density (OD)를 측정하였다. 결과는 대조군을 100으로 하여 처리군 OD 값의 백분율로 나타내었다.

(5) 통계 분석

통계 분석은 Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 17.0를 사용하여 수행하였다. 결과는 평균 \pm 표준편차로 계산하였고, One-way analysis of variance (ANOVA)와 Duncan's multiple range test는 지역별 연 성분들의 차이를 분석하기 위해 사용하였다.

나. 연구 결과

(1) 연자육과 연근의 분획별 수율

이 연구의 목적은 연 추출물의 기능성분들을 조사하여 향후 연자육과 연근 추출물을 포함하는 기능성 식품을 개발하는 것이다. 그러므로 추출에 사용되는 화학약품과 시약들은 반드시 무독성이고 안전해야 한다. 따라서 연자육과 연근의 추출에는 에탄올을 사용하였다. 그런데 비극성 성분은 70% 에탄올보다 95% 에탄올에서 더 잘 추출되기 때문에 지질 성분을 분석할 때는 95% 에탄올을 사용하였다. 에탄올 추출물은 몇 가지 지질을 포함하는데 특히 연자육에서 그 양이 많았다. 지질의 분리에는 헥세인을 사용하였고, 95% 에탄올 추출물과 헥세인 추출물, 헥세인 추출 후 남은 분획의 수율은 Table 3-3에 나타내었다.

Table 3-3 Yields of 95% ethanol extract, hexane extract, and residue fraction after hexane extraction of lotus seeds and rhizomes

Sample	Yield (%)		
	95% ethanol extract	Hexane extract	Residue fraction
Lotus seeds	5.81	24.26	72.73
Lotus rhizomes	3.66	4.70	93.25

¹⁾ Yield (%) of 95% ethanol extract: 95% ethanol extract/raw lotus

²⁾ Yield (%) of hexane extract: hexane extract/ 95% ethanol extract

³⁾ Yield (%) of residue fraction: residue fraction/ 95% ethanol extract

(2) 연자육과 연근의 항산화 활성

산화적 스트레스는 심혈관 질환 (Dhalla, *et al.*, 2000), 파킨슨 병 (Nikam, *et al.*, 2009), 암 (Halliwell, 2007)을 포함한 인간의 다양한 질병을 야기하기 때문에 이에 대한 관심이 급증해오고 있다. 그에 따라 산화적 손상을 약화시키기 위한 자연적이고 안전한 항산화 물질로써 식이식물의 사용이 증가되어 왔다. 본 연구에서는 연자육과 연근의 헥세인 추출

물의 항산화 효과를 알아보기 위하여 항산화 실험에 자주 쓰이는 DPPH 방법을 이용하여 그 효과를 알아보았다. Table 3-4은 LR95EH가 DPPH 소거 활성 효율에 있어서 LS95EH 보다 더 낮은 활성을 갖는 것을 보여준다.

Table 3-4 Antioxidant activities of hexane extract of lotus seeds and rhizomes

Sample	DPPH scavenging activity EC ₅₀ (μg/mL)
LS95EH	85.83 ± 1.04 ¹⁾
LR95EH	101.24 ± 4.03
Vitamin C	5.79 ± 0.11

¹⁾ Mean ± SD

(3) 연자육과 연근의 총 페놀과 총 플라보노이드 함량

음식에 있는 페놀 성분과 플라보노이드 물질은 산화적 스트레스에 대항하는 잠재적인 보호력을 가진 식물화학물질이다. 이러한 페놀과 플라보노이드의 성분은 그 양이 적긴 하지만 LR95EH보다 LS95EH에서 더 많았다 (Table 3-5).

Table 3-5 Contents of total phenolics and flavonoids from 95% ethanol extract of lotus seeds and rhizomes

Sample	Total phenolic content (mg/g of extract)	Total flavonoid content (mg/g of extract)
LS95EH	54.10 ± 0.83 ¹⁾	36.40 ± 0.47
LR95EH	37.03 ± 0.67	18.87 ± 0.76

¹⁾ Mean ± SD

(4) 헥세인 추출물의 지방산과 식물성 스테롤의 함량

신체의 중요한 성분으로써 지질은 많은 생물학적 기능 (에너지 축적, 세포막의 성분, 신호전달물질)을 가지고 있다. 이러한 지질 중 식물에서 중요한 지질에는 triglyceride, 스테롤, 에스터가 있다. 지질은 유기물이기 때문에 유기용매에 잘 녹는다. 따라서 70% 에탄올보다 95% 에탄올에서 지질의 추출 비율이 더 높다. 또한 헥세인은 비극성용매로 널리

사용되며, 거의 모든 비극성 지질부분이 헥세인으로 추출될 수 있다. 그러므로 이 연구에서는 연자육과 연근의 95% 에탄올 추출물로부터 다시 헥세인으로 추출한 연자육, 연근의 헥세인 추출물 (LS95EH와 LR95EH)로 지방산과 식물성 스테롤의 구성성분에 대해 분석하였다.

지방산과 식물성 스테롤은 주로 식물성 식품에서 유리 지방산, 스테롤, triglyceride, steryl ester로 존재한다. 이전의 연구에서는 이러한 물질들이 건강을 증진시키는 효과를 가지고, 또한 인간의 많은 질병의 위험을 감소시킬 수 있다는 것이 보고되어 왔다. (Mozaffarian D, 2006, Rissanen *et al.*, 2000, Lunn and Theobald, 2006, Mahadik *et al.*, 2001, Frenoux *et al.*, 2001, Mencarelli *et al.*, 2009, Rao and Janezic, 1992, Pollak, 1953). 그래서 많은 종류의 식용 가능한 오일들이 광범위하게 연구되고 있다. 하지만 연자육과 연근 오일에 대한 연구는 많지 않다. 따라서 이 연구에서는 연자육과 연근으로부터 추출해낸 헥세인 추출물에서 유리 지방산과 유리 스테롤, 지방산의 에스터, 스테롤에 대해 GC-MS을 이용하여 분석하였다. Table 3-6에는 몇 가지 식용 가능한 오일의 불포화 지방산과 스테롤의 함량을 나타내었다 (Institute of Shortening and Edible Oils, 2006). 그 함량을 비교해보면, 연자육과 연근의 헥세인 추출물에는 다른 오일에 비해 올레산의 양이 적은 것을 볼 수 있다. 반면에 리놀레산은 연근 추출물에는 많고 연자육 추출물에는 적게 들어있다. 또한 스테롤과 β -시토스테롤은 다른 오일들에 비해 특별히 더 많은 양이 들어있음을 볼 수 있다 (Piironen *et al.*, 2000). Table 3-7는 유리 지방산, 유리 스테롤, monoglyceride와 diglyceride의 머무름 시간, M^+ 의 분자량, 질량 스펙트럼에서의 주된 이온 조각들의 m/z 를 보여준다. Fig. 3-10은 steryl ester와 유리 지방산의 구조를 나타내었다. 이 steryl ester와 유리 지방산의 구조는 1H NMR로 확인하였다 (Fig. 3-11).

Table 3–6 Fatty acids and sterols in some edible oils

Food item	Fatty acids (mg/mg total fatty acids)				Sterols (mg/g of extract)			
	Unsaturated fatty acid	Linolenic acid	Linoleic acid	Oleic acid	Total sterols	β-Sitosterol	Campesterol	Stigmasterol
Lotus seed	65.19	0.18	52.86	11.40	101.21	82.82	7.43	0.31
Lotus rhizomes	72.65	8.93	48.78	14.93	73.32	70.21	3.10	–
Soybean oil*	85	7	54	24	2.29–4.59	1.22–2.31	0.62–0.76	0.45–0.76
Corn oil*	87	1	58	28	8.09–15.57	9.89	2.59	0.98
Olive oil*	83	1	10	71	1.44–1.50	1.18–1.21	0.05	0.01

*1. fatty acid reference: Institute of Shortening and Edible Oils: In Food fats and oils, Institute of Shortening and Edible Oils, 1750 New York Avenue, NW, Suite 120, 2006; 1750 New York Avenue, NW, Suite 120, 2006.

2. sterol reference: Piironen V., Lindsay D. G., Miettinen T. A., Toivo J., Lampi A.M.: Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J Sci Food Agri* 2000, 80, (7), 939–966.

Table 3-7 Retention time and mass spectrometric data for TMS derivatives of lipid by GC-MS

Common name	Lipid numbers	Retention time (min)	M ⁺	Major fragmentation ions (<i>m/z</i>)
Fatty acid				
Myristate	C14:0	12.949	300	285,145,132,117
Palmitate	C16:0	16.448	328	313,145,132,117
Linoleate	C18:2	21.219	352	337,178,150,117,109
Linolenate	C18:3	21.27	350	335,149,117,108,95
Oleate	<i>cis</i> -C18:1	21.384	354	339,145,117,96
Elaidate	<i>trans</i> -C18:1	21.496	354	339,145,117,96
Stearate	C18:0	22.025	356	341,201,145,117
Eicosadienoate	C20:2	25.122	380	365,290,206,150,95
Gondoate	C20:1	25.258	382	367,145,117,96
Arachidate	C20:0	25.801	384	369,145,132,117
Heneicosylate	C21:0	27.475	398	383,201,145,117
Behenate	C22:0	29.108	412	397,145,129,117
Tricosylate	C23:0	30.578	426	411,145,132,117
Lignocerate	C24:0	32.035	440	425,145,132,117
Pentacosylate	C25:0	33.409	454	439,411,145,117
Cerotate	C26:0	34.746	468	453,409,145,117
Sterol				
Campasterol		37.704	472	457,382,343,129,95
Isofucosterol		38.575	484	469,394,355,190,96
Stigmasterol		38.712	484	469,393,386,355,190,133,96
β-Sitosterol		38.858	486	471,396,357,129,119,95
β-Amyrin		38.971	498	483,386,296,257,119,95
Dehydrolanosterol		39.342	500	485,395,177,133,96

Monoglycerides

α-Glycerolpalmitate	28.065	474	459,403,329,313,239,218,191,147,103
β-Glycerolpalmitate	28.607	474	459,371,313,239,203,147,129,116,103
α-Glycerollinoleate	31.045	498	483,409,395,305,262,203,147,129,117,103
α-Glyceroleate	31.135	500	485,410,397,257,147,129,117,103
β-Glycerylbehenate	36.775	558	543,455,355,191,177,133,103

Diglycerides

Glycerol, 1,3-dipalmitate, 2-OTMS-	46.325	640	625,550,503,385,371,341,313,191,177,163,133,119,96
Glycerol, 1-palmitate-2-linoleate,3-OTMS-	49.07	664	649,574,408,385,337,313,262,191,145,129,103
Glycerol, 1-palmitate-3-linoleate,2-OTMS-	50.04	664	649,574,408,395,385,371,313,262,239,146,129,109,95
Glycerol, 1-oleate-2-linolenate,3-OTMS-	53.44	688	673,600,411,337,262,191,177,129,103,96
Glycerol, 1-oleate-3-linolenate,2-OTMS-	54.735	688	673,600,411,395,339,262,191,129,109,95

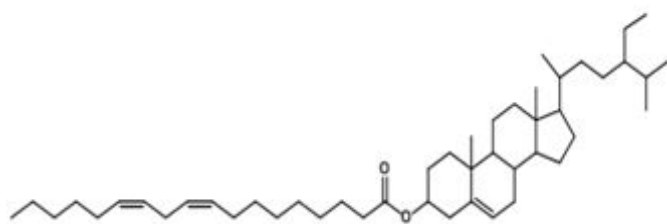
총 지방산과 식물성 스테롤의 농도는 Table 3-8에 나타내었다. LS95EH와 LR95EH의 지방산 중의 절반 정도는 다중불포화 지방산이었다. 리놀레산과 팔미트산, 올레산이 LS95EH와 LR95EH의 주된 지방산이었고, 그 중 리놀레산의 양이 가장 많았다. 또한 베헨산이 LS95EH에서 많은 양을 차지하였다. 지질의 농도는 LR95EH보다 LS95EH가 높았다. 하지만 레놀레산의 농도는 LR95EH가 더 높았다. β -시토스테롤, β -아미린, 캄페스테롤은 LS95EH와 LR95EH의 주된 식물성 스테롤 성분인데, LR95EH에는 β -시토스테롤, 캄페스테롤만 존재하였다. 총 식물성 스테롤의 함량은 LR95EH보다 LS95EH에 더 많았다. 그 이유는 식물성 스테롤이 발아 과정 중 세포의 분화와 증식에 관여하는 중요한 식물 성장 호르몬이기 때문이다 (Guo *et al.*, 1995). 따라서 씨앗이 발아하고 나면 스테롤의 농도가 점차적으로 감소하게 된다.

LS95EH와 LR95EH에 있는 steryl ester와 triglyceride, diglyceride, monoglyceride, 유리 스테롤, 유리 지방산은 실리카겔 컬럼 크로마토그래피에 의해 분리되었다. Triglyceride는 탄소수가 많아 분자량이 크고 끓는점이 높기 때문에 바로 GC-MS로 분석할 수 없었다. 따라서 triglyceride와 steryl ester는 가수분해 후 GC-MS로 분석하였다. 그 결과 LS95EH의 triglyceride의 주된 구성성분은 리놀레산과 팔미트산, 올레산이었고, steryl ester의 주된 구성성분은 β -시토스테롤, β -아미린임을 알 수 있었다 (Table 3-9). LR95EH의 triglyceride 역시 주된 구성성분은 리놀레산과 팔미트산, 올레산이었지만 LR95EH에서 steryl ester는 존재하지 않았다. Diglyceride와 monoglyceride는 Isidorov *et al.*의 실험 (Isidorov *et al.*, 2007)과 NIST62 library spectra로 분석하였다 (Table 3-10). 그 결과 LS95EH의 monoglyceride의 주된 구성성분은 β -Glyceryl palmitate이고, LR95EH의 monoglyceride에는 α -Glyceryl linoleate만 존재함을 알 수 있었다. LS95EH의 diglyceride의 주된 구성성분은 glycerol, 1-palmitate-3-linoleate, 2-OTMS-와 glycerol, 1-oleate-3-linolenate, 2-OTMS-와 glycerol, 1-palmitate-2-linoleate, 3-OTMS-였다. LR95EH의 diglyceride에는 소량의 glycerol, 1-palmitate-3-linoleate, 2-OTMS-와 glycerol, 1-palmitate-2-linoleate, 3-OTMS-가 존재하였다. LS95EH와 LR95EH의 글리세리드 함량에 차이가 나는 이유는 글리세리드가 씨앗을 발아시키기 위해 필요한 에너지를 저장하는 형태로 사용되기 때문이다.

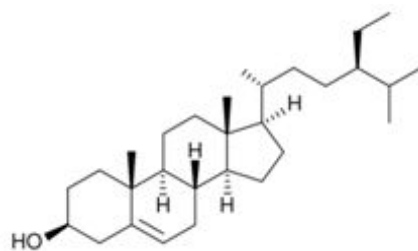
Table 3–8 TMS derivatives of total fatty acid and sterols from hydrolysis

Item	LS95EH (mg/g of extract)	LR95EH (mg/g of extract)
Fatty acid		
C14:0	1.97 ± 0.05 ¹⁾	0.19 ± 0.01
C16:0	127.41 ± 5.92	37.72 ± 0.75
C18:2	335.20 ± 4.51	73.99 ± 2.64
C18:3	1.15 ± 0.20	13.55 ± 0.39
<i>cis</i> -C18:1	69.91 ± 1.57	21.42 ± 0.43
<i>trans</i> -C18:1	2.39 ± 1.51	1.23 ± 0.01
C18:0	9.47 ± 0.27	1.15 ± 0.01
C20:2	1.42 ± 0.18	–
C20:1	3.35 ± 0.04	–
C20:0	12.76 ± 0.16	0.16 ± 0.02
C21:0	2.05 ± 0.04	0.69 ± 0.12
C22:0	48.30 ± 1.65	0.66 ± 0.02
C23:0	3.31 ± 0.19	0.31 ± 0.03
C24:0	13.65 ± 0.94	0.37 ± 0.02
C25:0	0.46 ± 0.07	–
C26:0	0.71 ± 0.18	0.15 ± 0.02
Total fatty acid	634.16 ± 1.03	151.69 ± 0.32
Saturated fatty acid	220.74 ± 0.86	41.34 ± 0.10
Monounsaturated fatty acid	75.65 ± 1.04	22.65 ± 0.22
Polyunsaturated fatty acid	337.77 ± 1.63	87.54 ± 1.51
Sterol		
Campasterol	7.43 ± 0.35	3.10 ± 0.24
Isofucosterol	0.76 ± 0.08	–
Stigmasterol	0.31 ± 0.04	–
β -Sitosterol	82.82 ± 3.74	70.21 ± 2.37
β -Amyrin	9.65 ± 1.77	–
Dehydrolanosrrol	0.24 ± 0.07	–

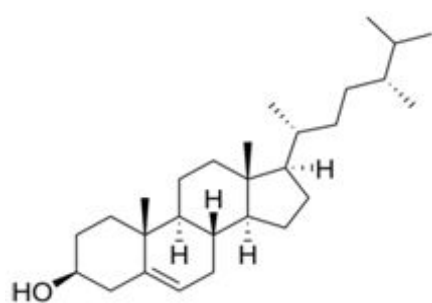
¹⁾ Mean ± SD



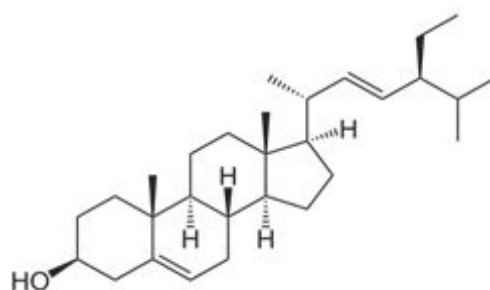
Fatty acid steryl ester



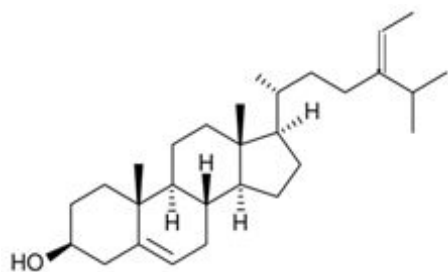
β -Sitosterol



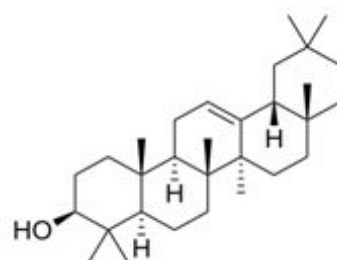
Campesterol



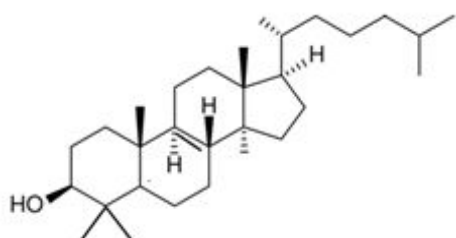
Stigmasterol



Isofucosterol



β -Amyrin



Dehydrolanosterol

Fig. 3-10 Structures of steryl esters and free sterols

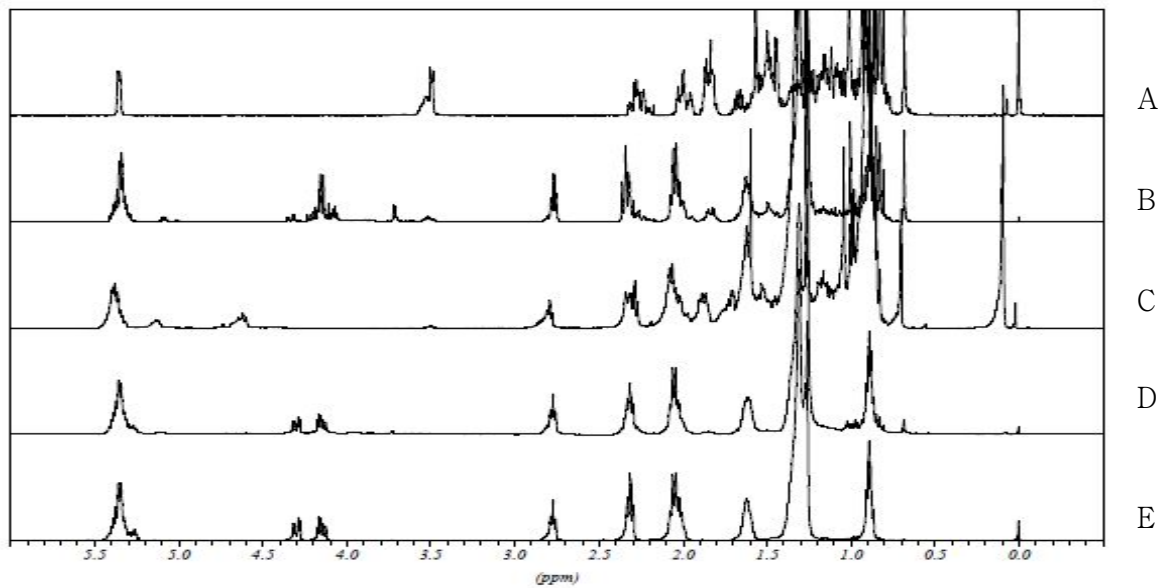


Fig. 3-11 ^1H NMR data of (A) corn oil, (B) LS95EH, (C) steryl ester, (D) free fatty acid and sterol, and (E) sitosterol

Table 3–9 Concentrations of fatty acids and sterols in the triglycerides and steryl esters

Item	LS95EH (mg/g of extract)		LR95EH (mg/g of extract)	
	Esterified fatty acids	Esterified sterols	Esterified fatty acids	Esterified sterols
Fatty acid				
C14:0	0.86 ± 0.01 ¹⁾		–	
C16:0	59.47 ± 0.48		16.94 ± 0.594	
C18:2	176.75 ± 1.01		14.83 ± 0.37	
C18:3	6.66 ± 0.51		3.24 ± 0.174	
<i>cis</i> -C18:1	43.19 ± 0.26		6.23 ± 0.42	
<i>trans</i> -C18:1	3.87 ± 0.02		0.51 ± 0.08	
C18:0	5.40 ± 0.03		3.09 ± 0.15	
C20:2	0.38 ± 0.03		–	
C20:1	1.47 ± 0.05		–	
C20:0	7.77 ± 0.08		0.27 ± 0.19	
C21:0	1.04 ± 0.03		–	
C22:0	28.95 ± 0.49		0.68 ± 0.10	
C23:0	1.64 ± 0.04		–	
C24:0	8.34 ± 0.18		–	
C25:0	0.23 ± 0.01		–	
C26:0	0.38 ± 0.01		–	
Sterol				
Camasterol		1.55 ± 0.03		–
Isofucosterol		0.12 ± 0.10		–
Stigmasterol		–		–
β -Sitosterol		10.57 ± 0.11		–
β -Amyrin		5.15 ± 0.08		–
Dehydrolanosrero		–		–
1				

¹⁾ Mean ± SD

Table 3-10 Concentrations of monoglycerides and diglycerides

Item	LS95EH (mg/g of extract)	LR95EH (mg/g of extract)
Monoglyceride		
<i>α</i> -Glyceryl palmitate	0.81 ± 0.06 ¹⁾	—
<i>β</i> -Glyceryl palmitate	12.64 ± 0.56	—
<i>α</i> -Glyceryl linoleate	3.60 ± 0.13	7.11 ± 0.10
<i>α</i> -Glyceryl oleate	2.06 ± 0.13	—
<i>β</i> -Glyceryl behenate	0.26 ± 0.03	—
Diglyceride		
Glycerol, 1,3-dipalmitate, 2-OTMS-	0.27 ± 0.07	—
Glycerol, 1-palmitate-2-linoleate, 3-OTMS-	13.17 ± 0.32	0.27 ± 0.07
Glycerol, 1-palmitate-3-linoleate, 2-OTMS-	32.56 ± 0.28	0.45 ± 0.07
Glycerol, 1-oleate-2-linolenate, 3-OTMS-	4.91 ± 0.42	—
Glycerol, 1-oleate-3-linolenate, 2-OTMS-	14.45 ± 0.30	—

¹⁾ Mean ± SD

LS95EH와 LR95EH에서 리놀레산은 모든 지방산과 에스터를 통틀어서 가장 많은 양을 차지한다. 하지만 유리 지방산 중에는 팔미트산이 가장 많은 양을 차지한다 (Table 3-11). 식물 성장 호르몬으로써 스테롤은 발생 초기의 발달과 식물 성장에 사용된다. Steryl ester는 스테롤의 저장과 운반에 있어서 중요한 역할을 한다 (Dyas and Goad, 1993). 그러므로 LS95EH에서 스테롤은 대부분의 유리 스테롤과 소량의 steryl ester의 형태로 존재하고, LR95EH에서 스테롤은 모두 유리 스테롤의 형태로 존재한다. 이러한 결과는 이전의 연구 결과와 유사했다 (Dyas and Goad, 1994, Schaller, 2003).

Table 3–11 Concentrations of free fatty acids and sterols

Item	LS95EH (mg/g of extract)	LR95EH (mg/g of extract)
Fatty acid		
C14:0	0.31 ± 0.03 ¹⁾	0.11 ± 0.01
C16:0	36.95 ± 0.76	6.05 ± 0.13
C18:2	26.06 ± 1.13	5.21 ± 0.06
C18:3	1.26 ± 0.09	1.51 ± 0.02
<i>cis</i> -C18:1	13.20 ± 0.37	1.51 ± 0.04
<i>trans</i> -C18:1	0.67 ± 0.03	0.15 ± 0.01
C18:0	1.10 ± 0.02	0.41 ± 0.02
C20:1	0.45 ± 0.05	0.02 ± 0.00
C20:0	0.37 ± 0.03	0.09 ± 0.01
C21:0	–	0.02 ± 0.01
C22:0	2.24 ± 0.04	0.34 ± 0.03
C23:0	0.38 ± 0.02	0.09 ± 0.01
C24:0	0.85 ± 0.02	0.45 ± 0.03
Sterol		
Camasterol	5.25 ± 0.08	4.51 ± 0.16
Isofucosterol	–	0.65 ± 0.03
Stigmasterol	18.46 ± 0.76	–
β -Sitosterol	38.62 ± 0.84	76.27 ± 0.21
β -Amyrin	1.61 ± 0.02	2.50 ± 0.10
Dehydrolanosrerol	–	0.62 ± 0.03

¹⁾ Mean ± SD

(5) 기능성분의 항비만 효과 (*in vitro*)

연근 에탄올 추출물과 연자육 에탄올 추출물의 항비만, 항산화 효과를 *in vivo* 실험을 통하여 확인하였고 (제 1세부 과제 연구결과), 연 추출물 중 항비만 효과를 갖는 기능성분을 설정하고자 연근과 연자육에서 분리한 catechin, nuciferine, isoquercetin, isoliensinine과 항비만 효과가 알려져 있는 연잎에서 추출한 quercetin과 O-nornuciferine의 항비만 효과를 25 $\mu\text{M}/\text{mL}$ 와 125 $\mu\text{M}/\text{mL}$ 의 동일한 농도에서 OD를 비교하여 그래프로 나타낸 결과 (Fig. 3-12) 시료를 처리하지 않는 대조군에 비해 quercetin > isoliensinine > nuciferine > O-nornuciferine > isoquercetin > catechin 순으로 지방생성 억제효과가 뛰어났다. 이 중 quercetin은 연근과 연자육에는 들어있지 않으므로 연근과 연자육의 항비만 건강기능성분으로 가장 효과가 좋은 것은 **isoliensinine** 이다.

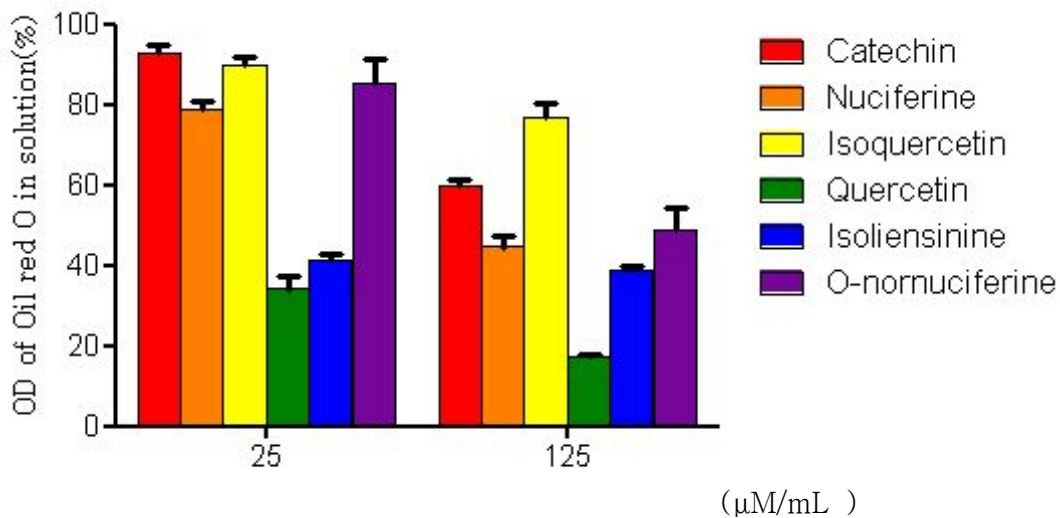


Fig. 3-12 Effect of compounds from lotus extract on human adipocyte differentiation. Values are optical density (%) at 500 nm of the dye retained in adipocytes. Values are expressed as SEM

4. 국내외(중국, 일본, 베트남, 태국 등) 연의 재배지역별, 부위별 원재료 표준화

가. 국내 재배지역별, 해외 (중국, 일본, 베트남, 태국) 연의 부위별 건강기능 (지표) 성분 함량 비교

(1) 분획별 수율 비교

여러 샘플 중에 시흥 LS70E와 한국 LR70E와 일본 LR70E의 양은 다른 지역보다 적은 양이 나오는 것을 볼 수 있는데, 그 이유는 시흥의 연자육과 한국산, 일본산 연근에는 다른 샘플에 비해 상대적으로 수분이 많기 때문이다 (Table 4-1와 Table 4-2). 헥세인 추출물의 양은 연근보다 연자육이 더 많았다. 그 이유는 씨앗을 받아시키기 위해 필요한 에너지를 저장하는 형태가 지질이기 때문이다.

Table 4-1 Yields of ethanol extract, hexane extract, and residue fraction after hexane extraction of lotus seed

Area	Yield (%)			
	LR70E ¹⁾	LR70EH ²⁾	LR70ER ³⁾	
Korea	Siheung	9.08	8.71	90.54
	Muan	22.46	7.07	93.17
China	Guangzhou	20.90	7.13	91.13
	Hubei	20.32	8.55	89.38
Vietnam		21.12	7.44	92.24
Thailand	-	19.42	8.37	91.82

¹⁾ Yield (%) of LS70E: LS70E/seeds

²⁾ Yield (%) of LS70EH: LS70EH/ LS70E

³⁾ Yield (%) of LS70ER: LS70ER/ LS70E

Table 4-2 Yields of ethanol extract, hexane extract, and residue fraction after hexane extraction of lotus rhizomes

Area	Yield (%)			
	LR70E ¹⁾	LR70EH ²⁾	LR70ER ³⁾	
Siheung	5.41	2.44	95.43	
Korea	Muan	5.85	2.12	
	Daegu	5.29	2.27	
	Haman	6.51	1.75	
China	Guangxi	22.21	2.64	96.65
Vietnam		36.98	1.86	96.16
Japan	—	6.84	1.30	95.26

¹⁾ Yield (%) of LR70E: LR70E/rhizomes

²⁾ Yield (%) of LR70EH: LR70EH/ LR70E

³⁾ Yield (%) of LR70ER: LR70ER/ LR70E

AB-8 macroporous resin은 극성 성분을 흡착시킬 수 없다. 따라서 LS95ER과 LR95ER을 원심분리한 후 얻은 상층액 부분을 AB-8 macroporous resin column에 로딩한 후 증류수로 내리면 수용성 화합물 (색소와 당)이 극성 용매인 증류수와 함께 용출되어 극성 성분을 얻어낼 수 있었다. 그리고 나서 대부분의 플라보노이드와 알칼로이드, 소량의 지질이 에탄올 수용액과 함께 용출되었다. 에탄올 수용액에서 용출되어 나온 이 소량의 지질은 헥세인 추출물의 잔여물이다. 마지막으로 컬럼에 남아있는 물질들은 염기성 용액에 의해 용출되었다. LS70ER과 LR70ER의 H₂O, Re-EtOH, NH₄OH 분획의 수율은 Table 4-3과 Table 4-4에 나타내었다. 시흥과 태국 LS70E의 Re-EtOH 분획과 함안, 중국의 광서, 일본 LR70E의 Re-EtOH 분획은 그 양이 다른 지역보다 많은 것을 볼 수 있는데, 이러한 결과는 시흥과 태국의 연자육과 함안과 중국의 광주, 일본의 연근이 보다 많은 플라보노이드와 알칼로이드를 함유하고 있다는 것을 예측할 수 있다.

Table 4-3 Yields of H₂O, Re-EtOH, and NH₄OH fractions isolated from LS70ER by AB-8 macroporous resin column

Area	Yield (%)			
	H ₂ O ¹⁾	Re-EtOH ²⁾	NH ₄ OH ³⁾	
Korea	Siheung	92.40	9.48	1.71
	Muan	97.52	5.93	2.21
China	Guangzhou	94.76	4.22	3.22
	Hubei	98.18	4.45	3.77
Vietnam		93.70	5.59	2.31
Thailand	—	93.75	7.54	2.66

¹⁾ Yield (%) of H₂O: H₂O fraction/LS70ER

²⁾ Yield (%) of Re-EtOH: Re-EtOH fraction/ LS70ER

³⁾ Yield (%) of NH₄OH: NH₄OH fraction/LS70ER

Table 4-4 Yields of H₂O, Re-EtOH, and NH₄OH fractions isolated from LR70ER by AB-8 macroporous resin column

Area	Yield (%)			
	H ₂ O ¹⁾	Re-EtOH ²⁾	NH ₄ OH ³⁾	
Korea	Siheung	91.65	5.96	0.90
	Muan	92.31	5.49	1.63
	Daegu	95.10	6.56	2.00
	Haman	97.24	7.27	2.35
China	Guangxi	96.00	8.30	1.80
Vietnam		96.24	5.53	2.30
Japan	—	94.04	7.77	2.39

¹⁾ Yield (%) of H₂O: H₂O fraction/LR70ER

²⁾ Yield (%) of Re-EtOH: Re-EtOH fraction/ LR70ER

³⁾ Yield (%) of NH₄OH: NH₄OH fraction/LR70ER

(2) 항산화 활성 비교

연의 항산화 효과를 알아보기 위하여 DPPH 방법, 환원력, 지질과산화 억제작용, ORAC assay를 이용하여 그 효과를 알아보았다. DPPH 소거능에서 LS70E와 LS70EH, LS70ER의 항산화 효과는 Table 4-5에 LR70E와 LR70EH, LR70ER의 항산화 효과는 Table 4-6에 나타내었다. 연자육의 경우 대만 연자육이 가장 높은 DPPH 소거능을 가졌음을 알 수 있었다. 환원력의 경우 모든 연근과 연자육이 농도의존적으로 환원력을 가지고 있었다 (Table 4-7, 4-8).

Table 4-5 Antioxidant activities of LS70E, LS70EH, and LS70ER fractions isolated from lotus seeds

	Area	DPPH scavenging activity EC ₅₀ (µg/mL)		
		LS70E	LS70EH	LS70ER
Korea	Siheung	224.46±2.61 ^{1)a2)}	140.92±9.05 ^a	245.04±8.20 ^a
	Muan	228.55±5.90 ^a	71.86±4.11 ^b	197.10±6.41 ^b
China	Guangzhou	310.92±4.72 ^b	96.85±4.63 ^c	377.15±6.84 ^c
	Hubei	413.44±1.94 ^c	73.13±2.81 ^b	379.64±2.42 ^c
Vietnam		134.92±4.11 ^d	67.81±6.41 ^b	141.78±6.51 ^d
Thailand	—	98.94±6.32 ^e	75.92±1.93 ^b	188.30±4.76 ^b

¹⁾Mean±SD

²⁾Values with ^{abcde} means in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

Table 4-6 Antioxidant activities of LR70E, LR70EH, and LR70ER fractions isolated from lotus rhizomes

	Area	DPPH scavenging activity EC ₅₀ (µg/mL)		
		LR70E	LR70EH	LR70ER
Korea	Siheung	57.30±0.81 ^{1)a2)}	124.51±3.49 ^a	60.02±1.63 ^a
	Muan	111.69±2.56 ^b	143.16±8.77 ^b	85.82±3.55 ^b
	Daegu	50.33±0.66 ^c	175.69±4.01 ^c	72.51±0.66 ^c
	Haman	72.56±1.32 ^d	131.68±3.73 ^{ad}	72.95±3.40 ^c
China	Guangxi	98.89±0.63 ^e	137.15±6.68 ^{bd}	99.16±3.92 ^d
Vietnam		138.25±2.11 ^f	409.00±4.44 ^e	109.54±3.75 ^e
Japan	—	70.75±1.97 ^d	90.57±1.71 ^f	75.62±0.85 ^c

¹⁾Mean±SD

²⁾Values with ^{abcdef} means in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

Table 4–7 Reducing power of LS70E fractions isolated from lotus seeds

Area		Reducing power (absorbance)					
		2	1	0.5	0.25	0.125	0
Korea	Siheung	1.11±0.03 ¹⁾	0.68±0.01	0.51±0.01	0.43±0.01	0.39±0.02	0.34±0.00
	Muan	1.10±0.03	0.78±0.00	0.63±0.04	0.47±0.01	0.37±0.00	0.34±0.00
China	Guangzhou	1.00±0.01	0.75±0.01	0.48±0.01	0.43±0.00	0.40±0.01	0.34±0.00
	Hubei	0.65±0.00	0.51±0.01	0.45±0.00	0.42±0.01	0.39±0.01	0.34±0.00
Vietnam		1.16±0.05	0.78±0.02	0.54±0.02	0.45±0.01	0.42±0.00	0.34±0.00
Thailand	—	1.16±0.01	0.78±0.03	0.53±0.02	0.45±0.02	0.42±0.01	0.34±0.00

¹⁾Mean±SD

Table 4–8 Reducing power of LR70E fractions isolated from lotus rhizomes

Area		Reducing power (absorbance)					
		2	1	0.5	0.25	0.125	0
Korea	Siheung	2.21±0.02 ¹⁾	1.35±0.05	0.94±0.03	0.65±0.02	0.52±0.01	0.34±0.01
	Muan	0.79±0.01	0.63±0.05	0.37±0.00	0.33±0.01	0.32±0.00	0.34±0.01
	Daegu	1.56±0.10	0.75±0.02	0.77±0.01	0.52±0.01	0.42±0.01	0.34±0.01
	Haman	1.27±0.02	0.85±0.03	0.59±0.02	0.46±0.02	0.41±0.01	0.34±0.01
China	Guangxi	1.18±0.07	0.84±0.03	0.56±0.01	0.46±0.01	0.41±0.01	0.34±0.01
Vietnam		1.03±0.04	0.69±0.02	0.54±0.01	0.38±0.01	0.34±0.02	0.34±0.01
Japan	—	1.19±0.06	0.83±0.02	0.54±0.02	0.41±0.02	0.36±0.01	0.34±0.01

¹⁾Mean±SD

지질과산화 억제 작용을 통해 항산화 활성도를 확인한 결과 연자육 중에는 한국 시흥 연자육의 억제 작용이 가장 컸으며 (Table 4-9), 연근의 경우 한국 함안 연근의 억제 작용이 가장 큰 것으로 나타났다 (Table 4-10).

Table 4-9 Antioxidant activities of LS70E fractions isolated from lotus seeds on Fe⁺-induced linoleate peroxidation

Area		Absorbance at 4 mg/ml
Korea	Siheung	0.243±0.01
	Muan	0.343±0.02
China	Guangzhou	0.403±0.01
	Hubei	0.553±0.05
Vietnam		0.248±0.01
Thailand	—	0.522±0.03
Vitamin C (0.01mg/ml)		0.362±0.01

1)Mean±SD

Table 4-10 Antioxidant activities of LR70E fractions isolated from lotus seeds on Fe⁺-induced linoleate peroxidation

Area		Absorbance at 4 mg/ml
Korea	Siheung	0.353±0.02
	Muan	0.348±0.00
	Daegu	0.301±0.01
	Haman	0.194±0.01
China	Guangxi	0.209±0.03
Vietnam		0.248±0.01
Japan	—	0.213±0.01
Vitamin C (0.01mg/ml)		0.362±0.01

1)Mean±SD

ORAC assay를 통해 항산화 활성도를 확인한 결과 연자육 중에는 한국 시흥의 연자육이 29.48로 매우 높은 활성도를 보였으며 (Table 4-11), 연근의 경우 한국 대구의 연근이 48.17로 매우 높은 항산화 활성도를 보였다 (Table 4-12).

Table 4-11 ORAC value of LS70E fractions isolated from lotus seeds

	Area	ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$)
Korea	Siheung	29.48
	Muan	12.26
China	Guangzhou	12.52
	Hubei	13.39
Vietnam		12.47
Thailand	—	14.14
	Blueberry (fresh)	21.82
	Blueberry (ice)	20.78

Table 4-12 ORAC value of LR70E fractions isolated from lotus rhizomes

	Area	ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$)
Korea	Siheung	47.68
	Muan	45.89
	Daegu	48.17
	Haman	43.39
China	Guangxi	12.11
Vietnam		7.11
Japan	—	37.11
	Blueberry (fresh)	21.82
	Blueberry (ice)	20.78

(3) 총 페놀과 총 플라보노이드 함량 비교

음식에 있는 페놀 성분과 플라보노이드 물질은 산화적 스트레스에 대항하는 잠재적인 보호력을 가진 식물화학물질이다. 70 % 에탄올 추출물과 헥세인 추출물, 헥세인 추출 후 남은 분획 중의 총 페놀과 총 플라보노이드 함량은 Table 4-13과 Table 4-14에 나타냈다.

Table 4–13 Contents of total phenolics and flavonoids from 70 % ethanol extract of lotus seeds

Area	Total phenolic content (mg/g of extract)			Total flavonoid content (mg/g of extract)			
	LS70E	LS70EH	LS70ER	LS70E	LS70EH	LS70ER	
Korea	Siheung	23.24±1.13 ^{1)a2)}	22.97±0.54 ^a	20.56±0.91 ^a	11.81±0.92 ^a	21.77±0.79 ^a	6.62±0.26 ^a
	Muan	21.63±0.57 ^{ab}	67.81±1.23 ^b	19.95±1.03 ^a	8.89±0.42 ^b	11.87±0.41 ^b	7.70±0.39 ^b
China	Guangzhou	12.86±0.56 ^c	43.02±1.90 ^c	11.22±0.56 ^b	5.81±0.46 ^c	10.80±0.95 ^b	4.27±0.60 ^c
	Hubei	14.63±0.96 ^d	54.81±1.79 ^d	9.82±1.30 ^b	6.38±0.37 ^d	14.06±0.23 ^c	3.11±0.23 ^d
Vietnam		28.19±1.89 ^e	52.64±1.03 ^d	16.64±0.71 ^c	13.34±1.30 ^e	11.91±0.33 ^b	9.49±0.49 ^e
Thailand		24.68±0.75 ^b	59.49±1.65 ^e	19.34±1.15 ^a	10.91±0.89 ^a	15.14±0.81 ^c	7.86±0.96 ^b

¹⁾Mean±SD

²⁾Values with ^{abcde} means in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

Table 4–14 Contents of total phenolics and flavonoids from 70 % ethanol extract of lotus rhizomes

Area	Total phenolic content (mg/g of extract)			Total flavonoid content (mg/g of extract)			
	LR70E	LR70EH	LR70ER	LR70E	LR70EH	LR70ER	
Korea	Siheung	69.39±0.85 ^{1)a2)}	36.36±1.93 ^a	67.73±1.73 ^a	4.90±0.24 ^a	10.64±0.25 ^a	12.78±0.72 ^a
	Muan	31.63±1.37 ^b	25.39±1.28 ^b	28.63±1.09 ^b	7.33±0.17 ^b	19.65±0.37 ^b	7.22±0.10 ^b
	Daegu	51.23±1.56 ^c	33.71±0.24 ^c	49.06±1.61 ^c	9.24±0.34 ^c	9.25±0.50 ^c	9.82±0.82 ^c
	Haman	43.64±1.39 ^d	26.24±0.50 ^b	42.14±1.43 ^d	7.59±0.10 ^b	9.83±0.40 ^{ac}	8.59±0.65 ^d
China	Guangxi	24.48±0.58 ^e	32.76±1.21 ^c	25.08±0.96 ^e	5.91±0.11 ^d	10.68±1.17 ^a	13.44±0.60 ^a
Vietnam		22.50±0.66 ^f	21.36±0.25 ^d	24.53±0.75 ^e	5.49±0.12 ^{ad}	8.92±0.24 ^c	4.64±0.35 ^e
Japan		43.06±1.32 ^d	41.52±0.97 ^e	43.38±1.52 ^d	9.05±1.02 ^c	12.85±1.02 ^d	11.26±0.23 ^f

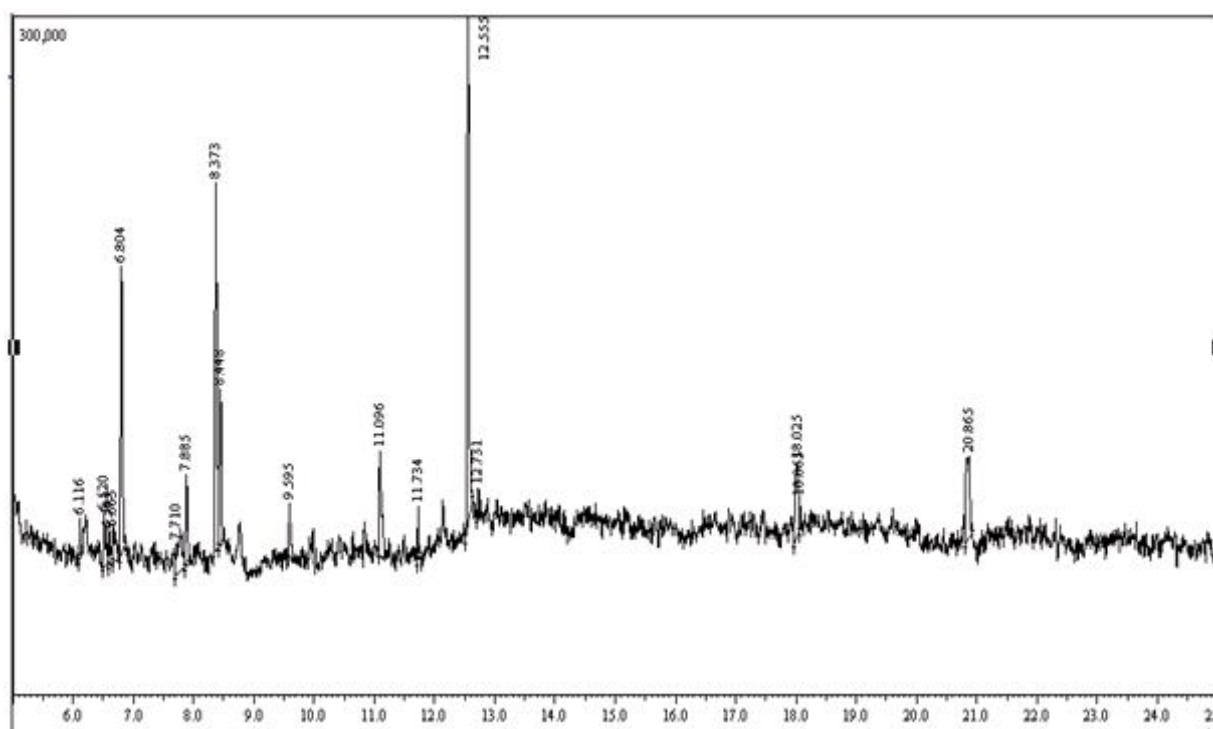
¹⁾Mean±SD

²⁾Values with ^{abcdef} means in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

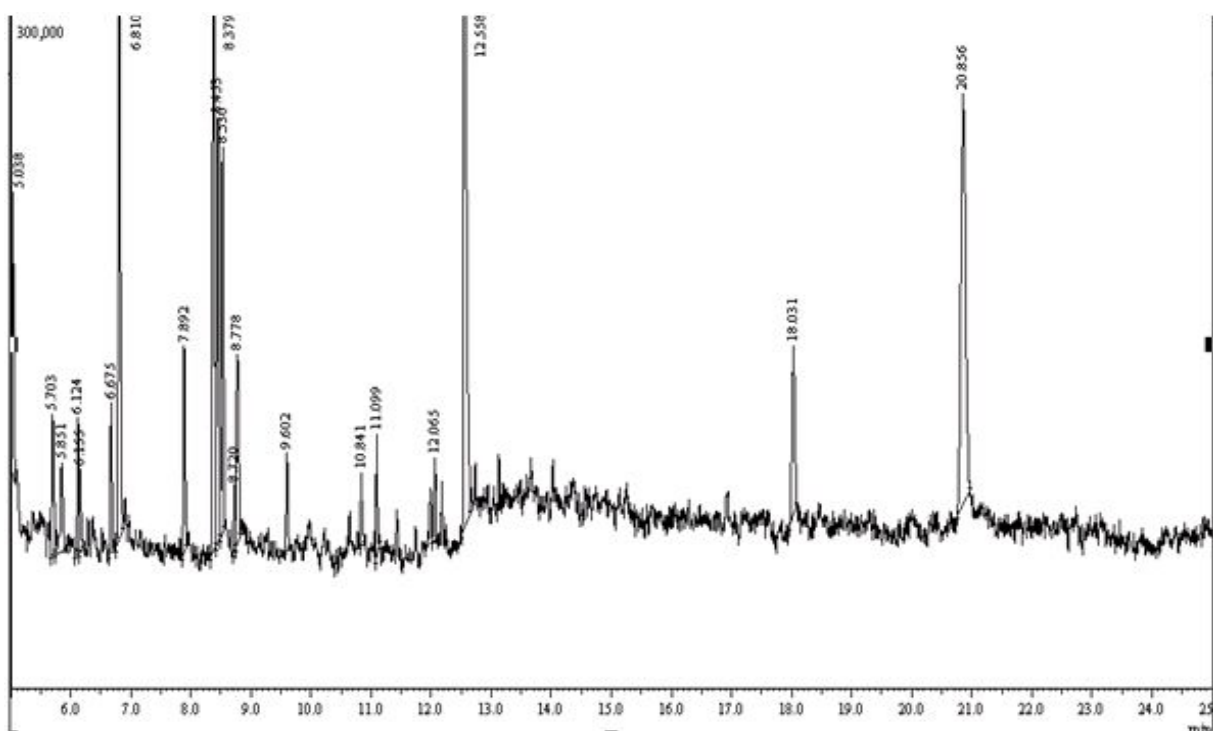
(4) 70 % 에탄올 추출물의 플라보노이드와 알칼로이드의 함량 비교

플라보노이드는 그 종류가 다양하고 이미 널리 알려져 있는 자연 성분으로써 중요한 페놀성분이다. 따라서 이전부터 플라보노이드의 항산화, 항당뇨, 항비만 기능에 대한 연구 보고가 있어왔다 (Jung *et al.*, 2008, Wu *et al.*, 2010). 연잎과 녹색의 연자심에 많은 알칼로이드 역시 항비만 효과와 간, 심혈관 보호 효과에 대한 많은 연구 보고가 있어왔다 (Bin *et al.*, 2011, Ding *et al.*, 2010, Qian, 2002). 따라서 본 연구에서는 5 개 나라의 연자육과 연근에 함유되어 있는 플라보노이드와 알칼로이드에 대해 연구하였다.

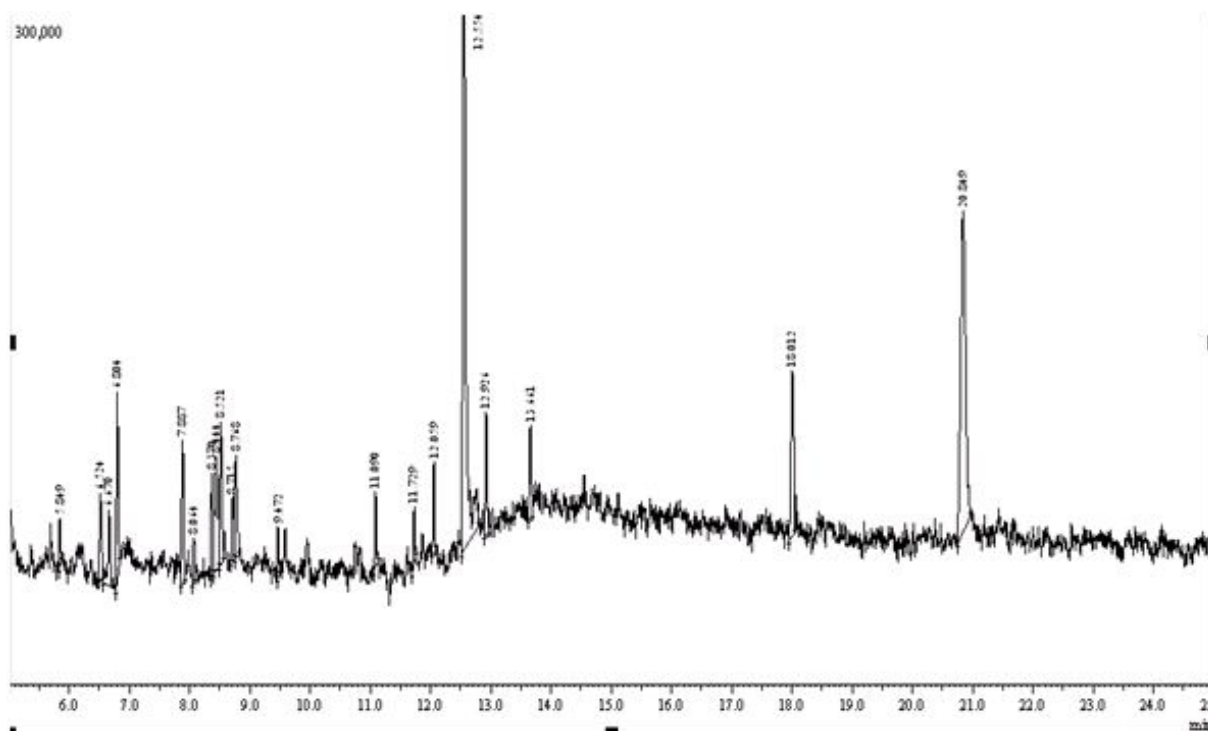
GC-MS 분석 결과, 베트남 LS70E는 카테킨을 제외한 다른 종류의 플라보노이드와 알칼로이드 피크가 나타나지 않았고, 지방산과 당, 스테롤, monoglyceride의 몇 가지 피크만 나타났다. 그 이유는 플라보노이드와 알칼로이드를 TMS와 반응시켰을 때 반응이 제대로 일어나지 않았기 때문이라고 예측할 수 있다. LS70E와 LR70E의 Re-EtOH 분획의 GC-MS 크로마토그램은 Fig. 4-1과 Fig. 4-2에 나타나있다.



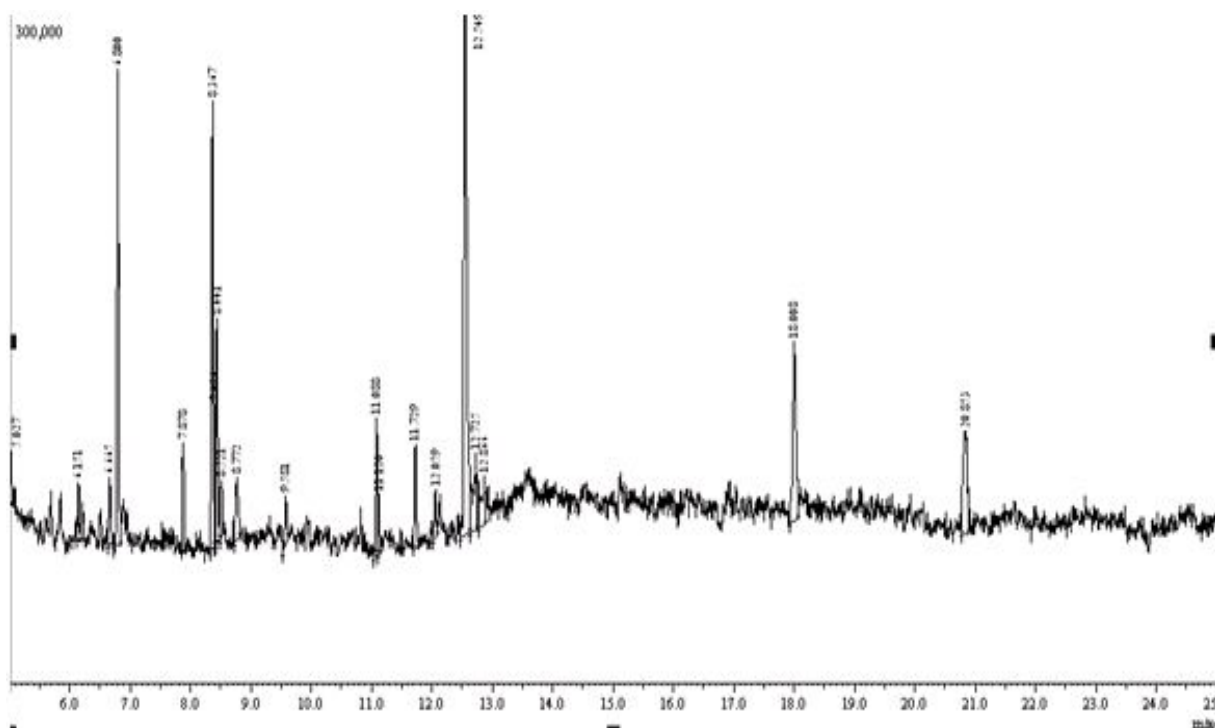
Siheung in Korea LS70E: Re-EtOH fraction



Muan in Korea LS70E: Re-EtOH fraction

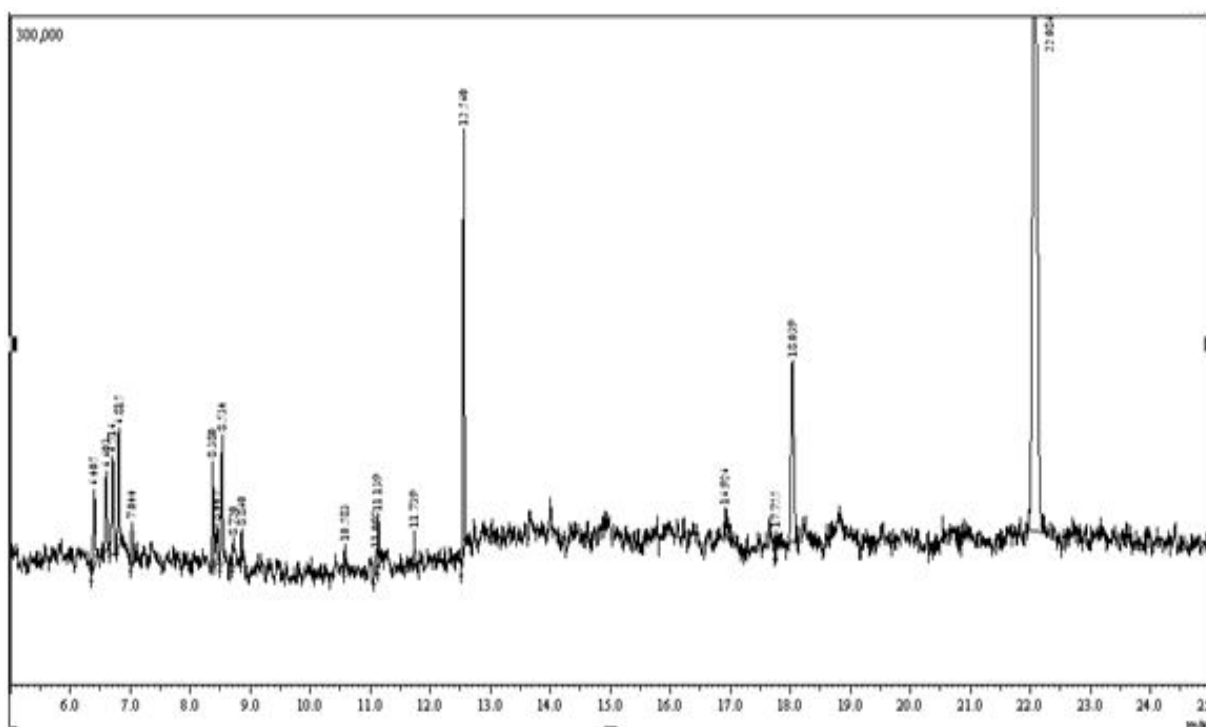


Vietnam LS70E: Re-EtOH fraction

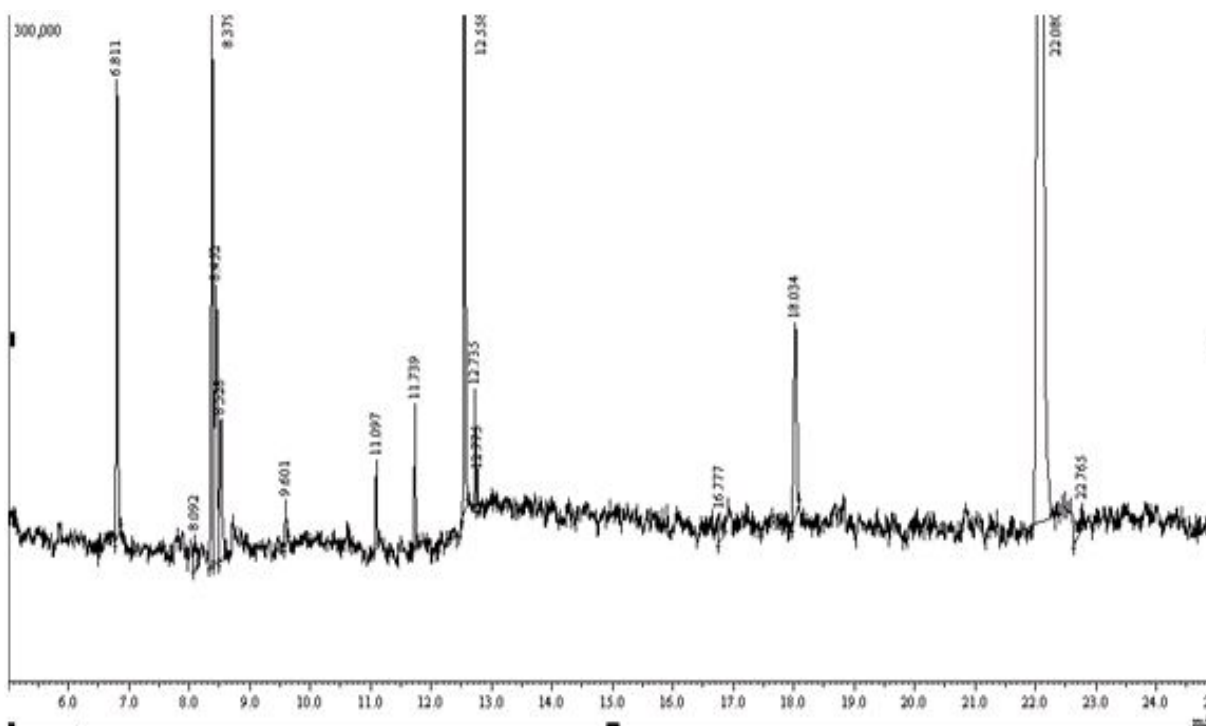


Thailand LS70E: Re-EtOH fraction

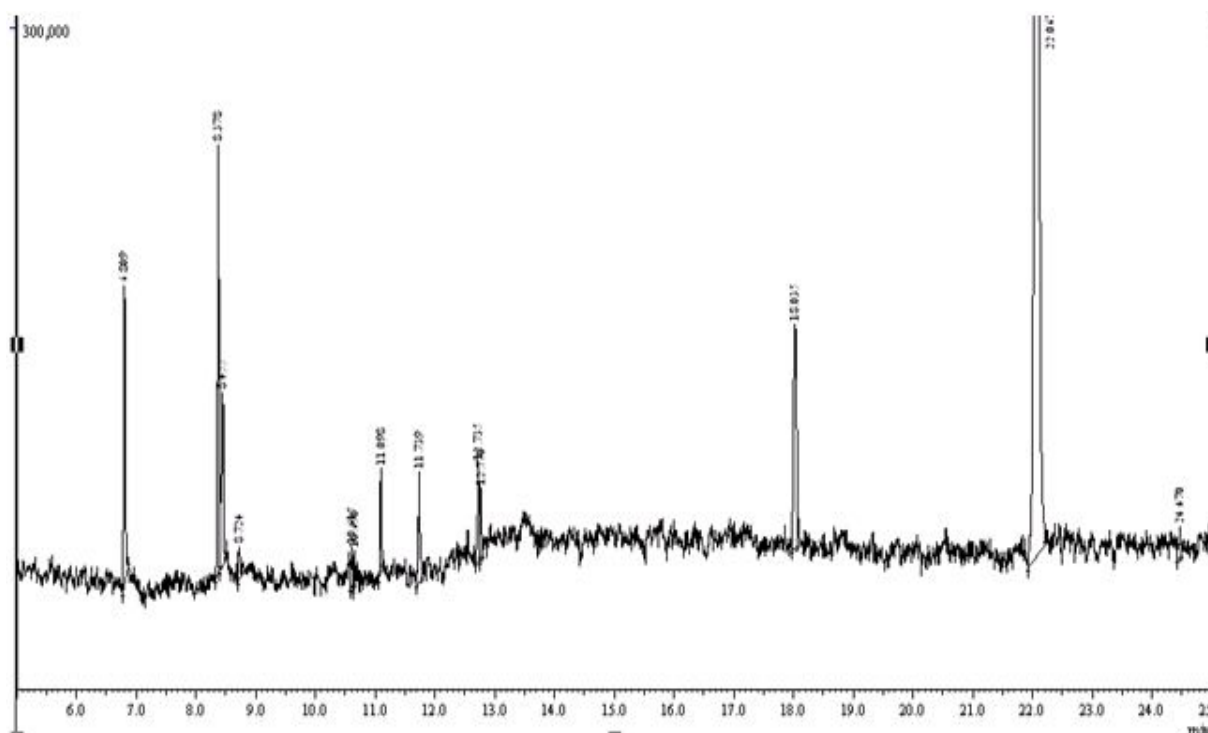
Fig. 4-1 The GC-MS chromatogram of Re-EtOH fraction of LS70ER



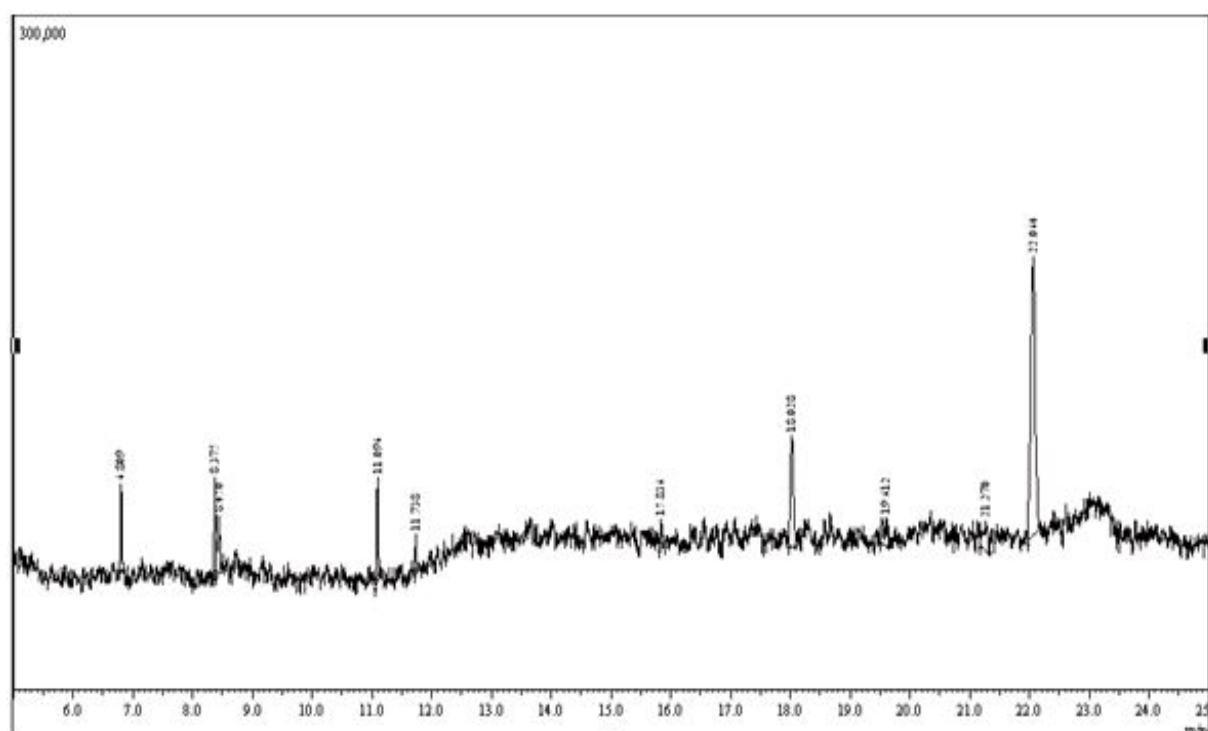
Siheung in Korea LR70E: Re-EtOH fraction



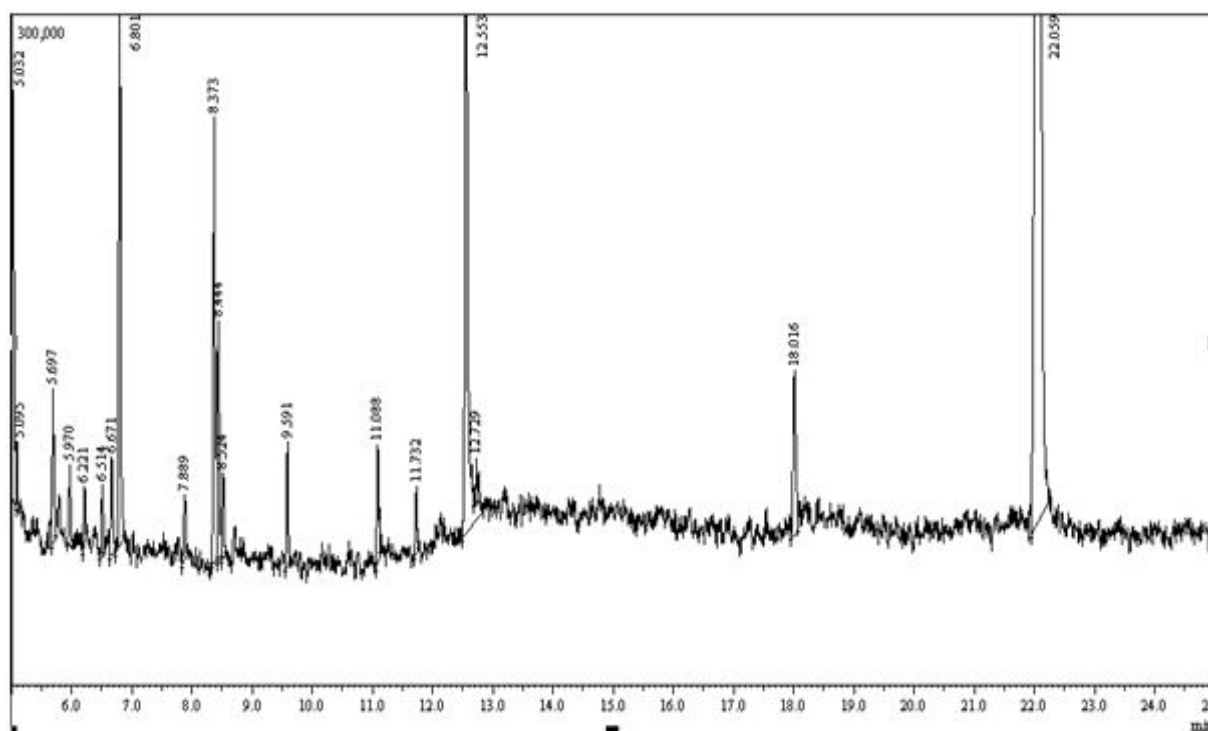
Muan in Korea LR70E: Re-EtOH fraction



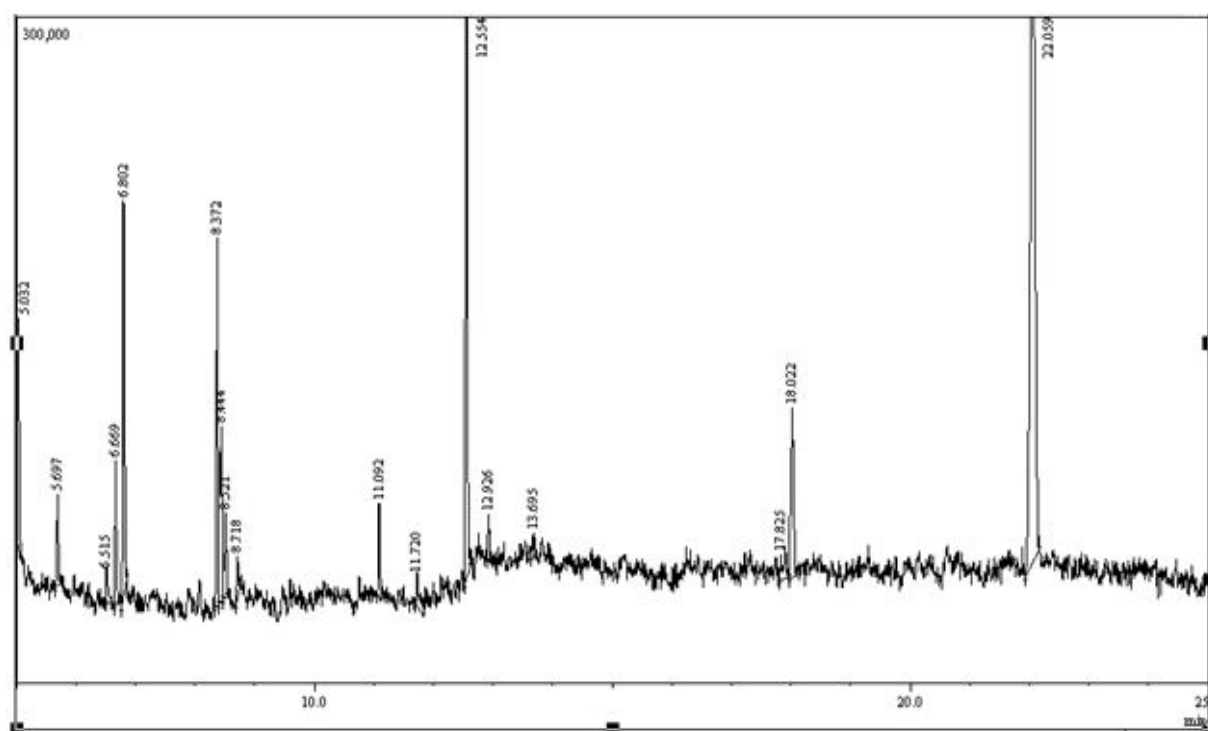
Daegu in Korea LR70E: Re-EtOH fraction



Haman in Korea LR70E: Re-EtOH fraction



Guangxi in China LR70E: Re-EtOH fraction



Vietnam LR70E: Re-EtOH fraction

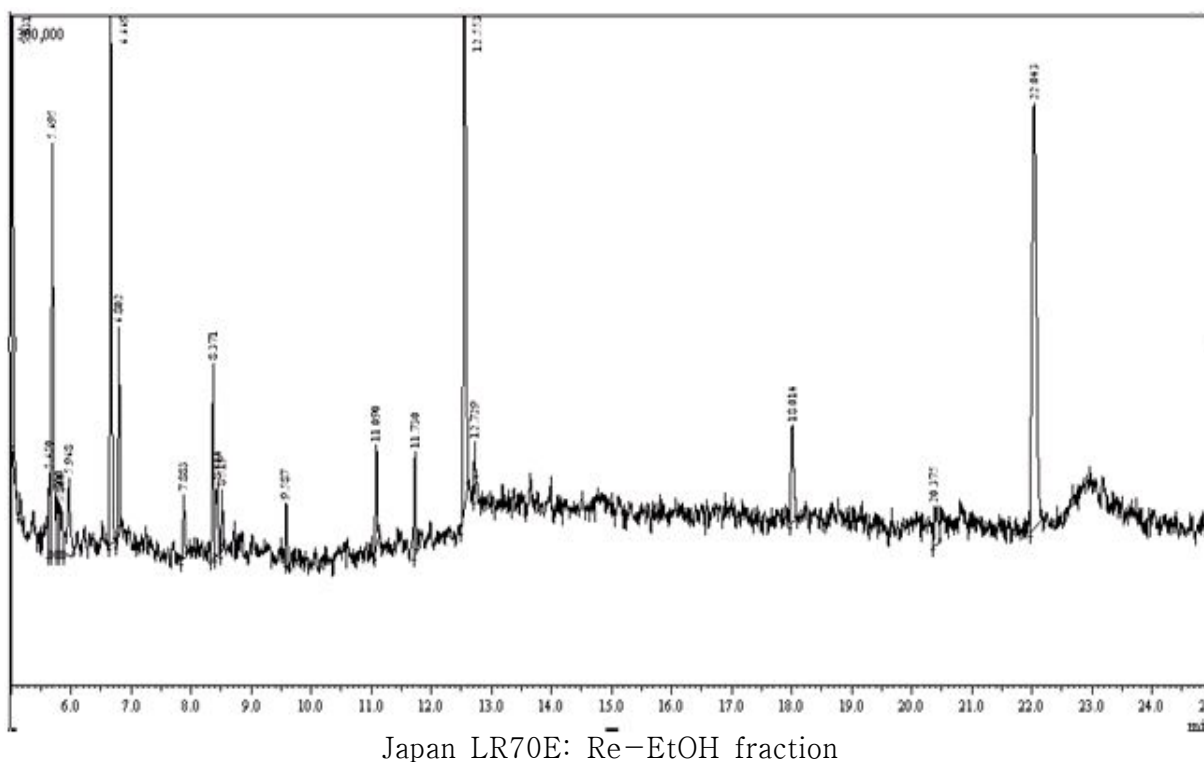
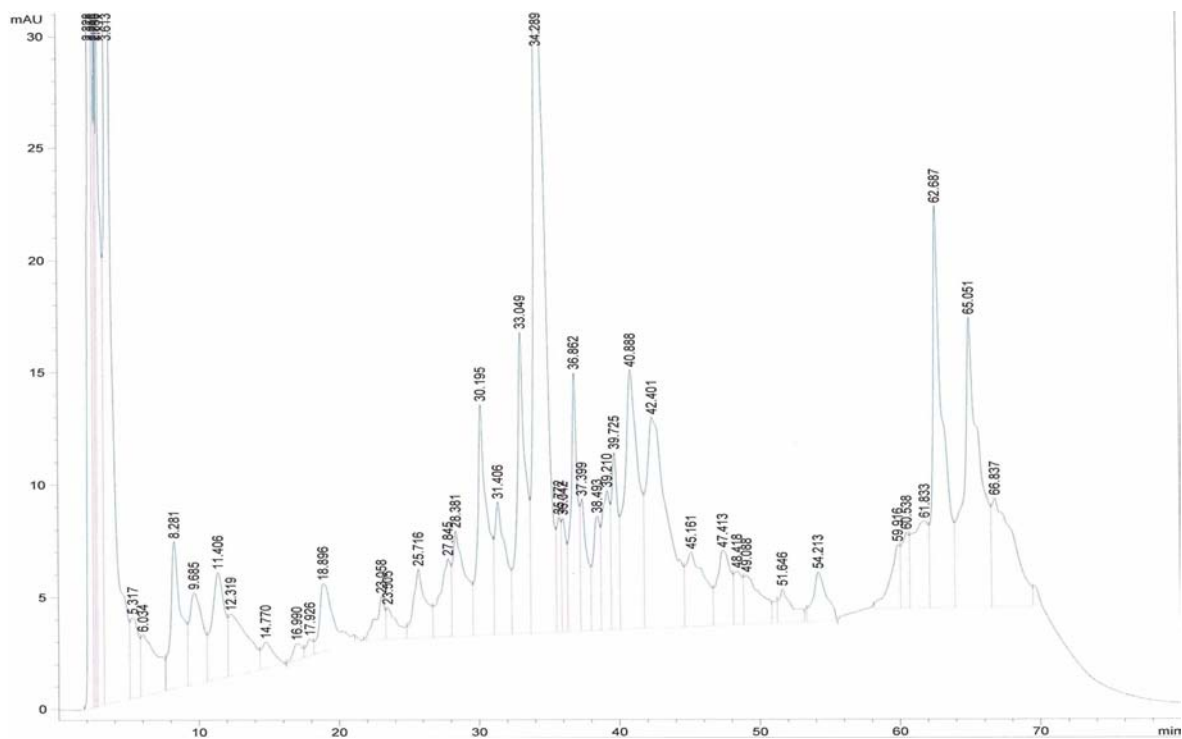


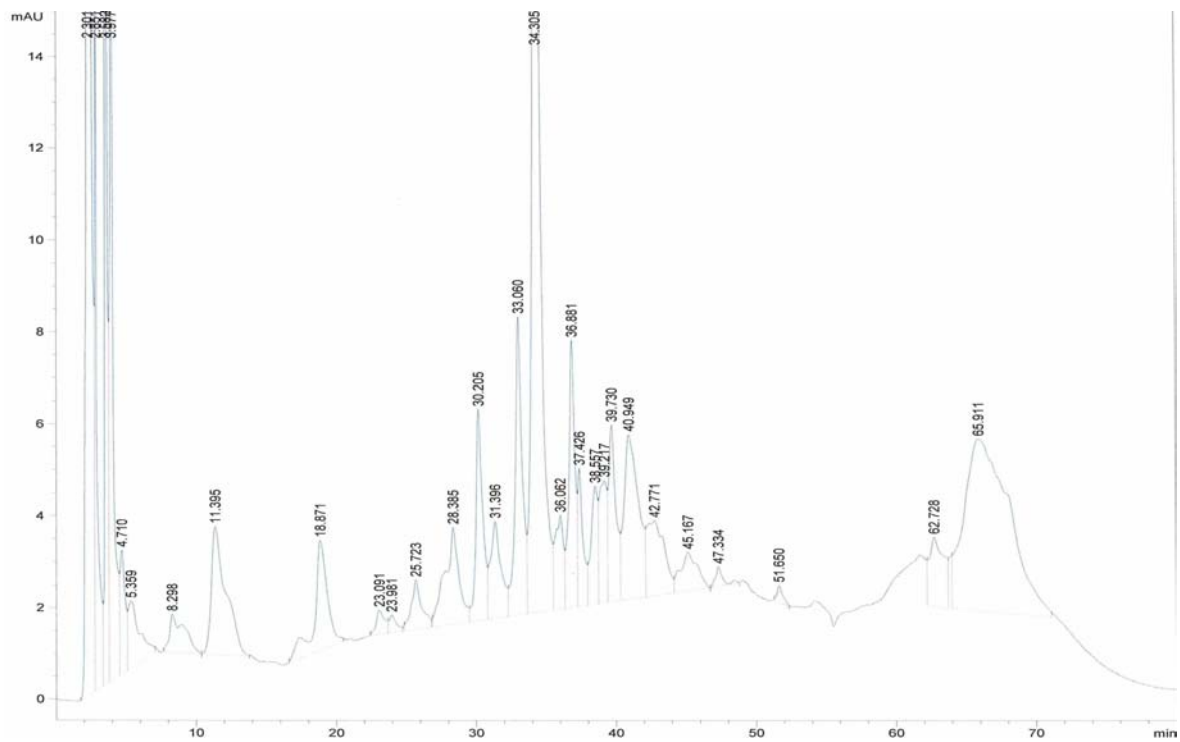
Fig. 4-2 The GC-MS chromatogram of Re-EtOH fraction of LR70ER

대부분의 플라보노이드와 알칼로이드는 HPLC 분석에 의해 연구되었다 (Lin, Kuo, Lin and Chiang, 2009). Hydroxybenzic acid와 카테킨, 아스트라갈린은 270 nm에서 검출되고, 플라본과 플라보놀, 이소플라본은 300-400 nm 범위에서 검출된다. 이 연구에서도 연의 플라보노이드의 대부분은 270과 300, 350, 380 nm에서 피크가 나타났다. 알칼로이드의 흡광도는 270 nm에서 측정하였다. 연자육과 연근의 Re-EtOH과 NH₄OH 분획의 플라보노이드 HPLC 크로마토그램은 Fig. 4-3와 Fig. 4-4, Fig. 4-5, Fig. 4-6에 각각 나타나 있다. 연자육, 연근의 Re-EtOH과 NH₄OH 분획의 알칼로이드 HPLC 크로마토그램은 Fig. 4-7과 Fig. 4-8, Fig. 4-9, Fig. 4-10에 각각 나타나 있다. 이 크로마토그램은 플라보노이드와 알칼로이드의 농도가 지역별로 다르게 나타남을 보여준다. 비록 플라보노이드와 알칼로이드의 모든 피크를 알고 있지는 않지만, 지역별 샘플의 플라보노이드와 알칼로이드 농도의 차이를 분석하기 위해 각 샘플의 크로마토그램의 피크 비율을 비교하였다. 또한 몇몇 플라보노이드와 알칼로이드는 표준 시약을 이용해 HPLC로 검정했다. LS70E와 LR70E의 플라보노이드 농도는 Table 4-13과 Table 4-14에 나타내었고, 알칼로이드 농도는 Table 4-15과 Table 4-16에 각각 나타내었다. 베트남 LS70E는 다른 지역보다 hydroxybenzic acid와 카테킨, 아스트라갈린, 루틴을 더 많이 함유하는 것으로 나타났다. 그리고 소량의 캄페롤이 함유되어 있는데 이는 베트남 LS70E에만 존재했다. 또한 시흥 LR70E에서도 다

른 지역의 샘플보다 더 많은 hydroxybenzic acid와 카테킨, 루틴이 발견되었다. 이소퀴서틴은 시흥과 무안 LR70E에서만 발견되었다. 알칼로이드 성분은 시흥 LS70E가 다른 지역보다 더 많은 누시페린과 이소리엔시닌을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 태국 LS70E는 상대적으로 다우리신을 더 많이 함유하고 있고, 대구와 봉춘리 LR70E에는 보다 많은 누시페린과 네페린이, 일본 LR70E에는 다우리신과 이소리엔시닌이 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다. Re-EtOH와 NH₄OH 분획, LS70E, LR70E의 플라보노이드 농도는 Fig. 4-11~16에 나타내었고, 알칼로이드 농도는 Fig. 4-17~22에 나타내었다.

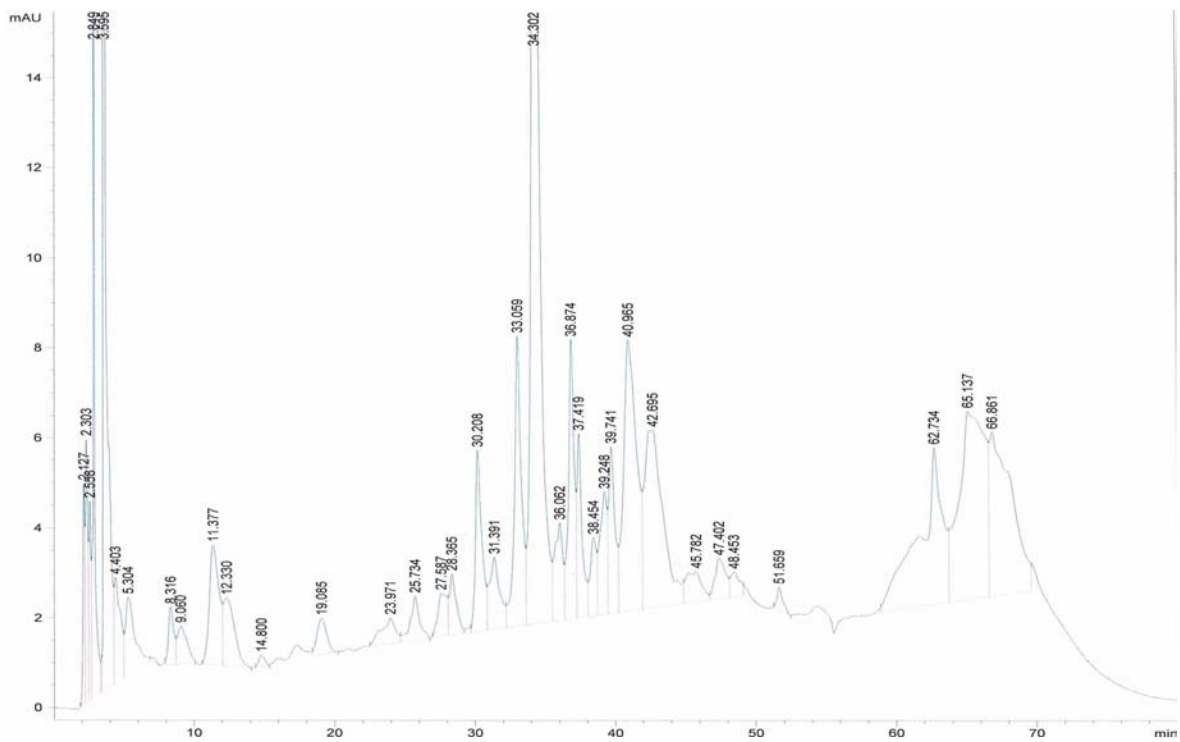
결과적으로 플라보노이드의 농도는 베트남의 연자육과 한국 시흥의 연근에서 가장 높았고, 알칼로이드의 농도는 한국 시흥, 중국 후베이의 연자육과 한국 봉춘, 일본의 연근에서 가장 높았다.



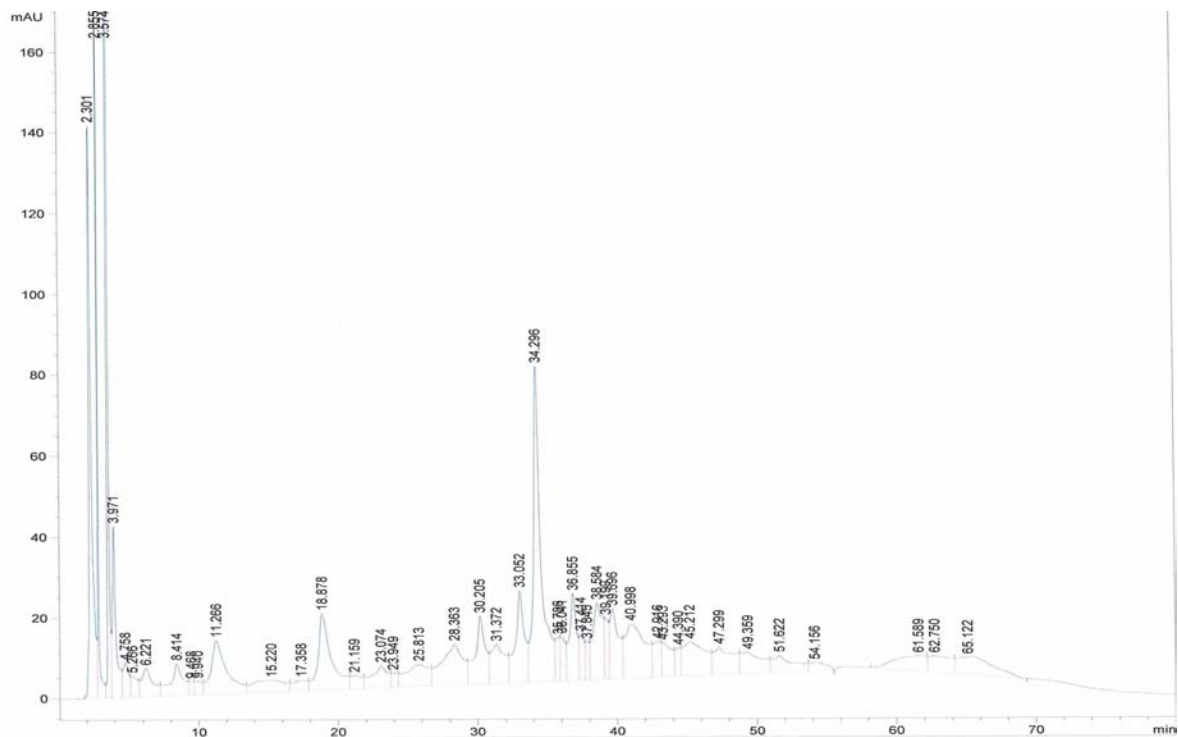


Guangzhou in China LS70ER

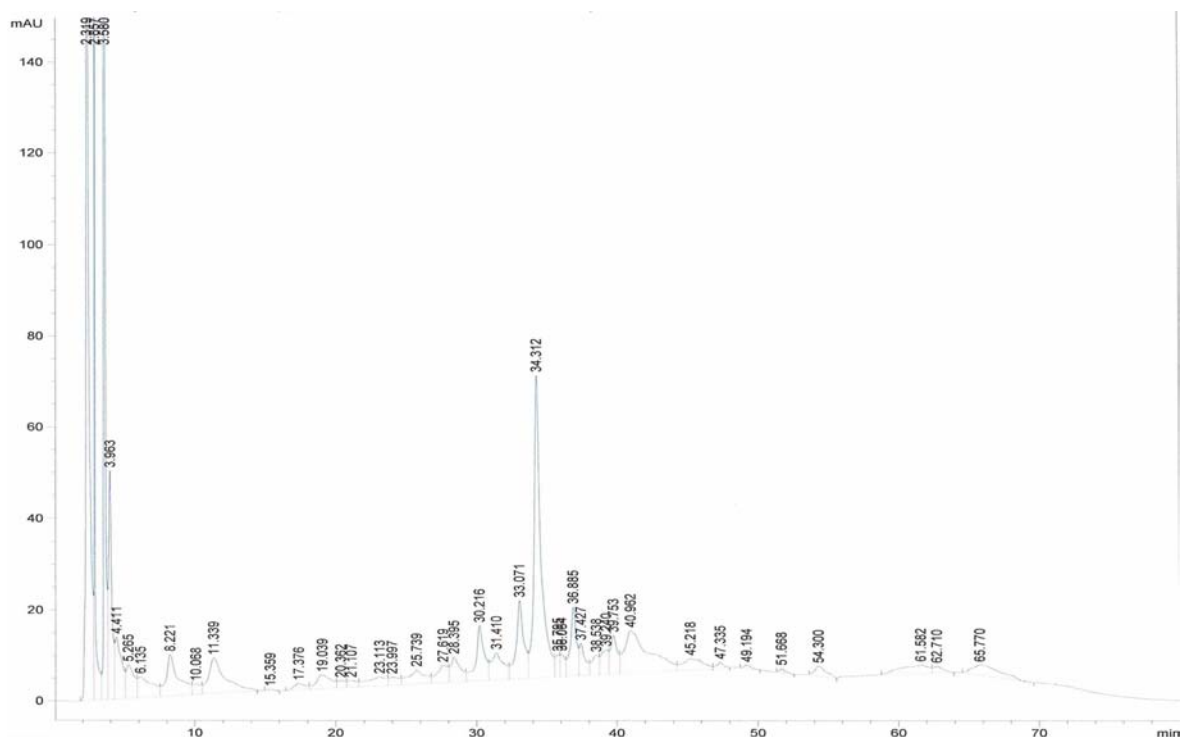
: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



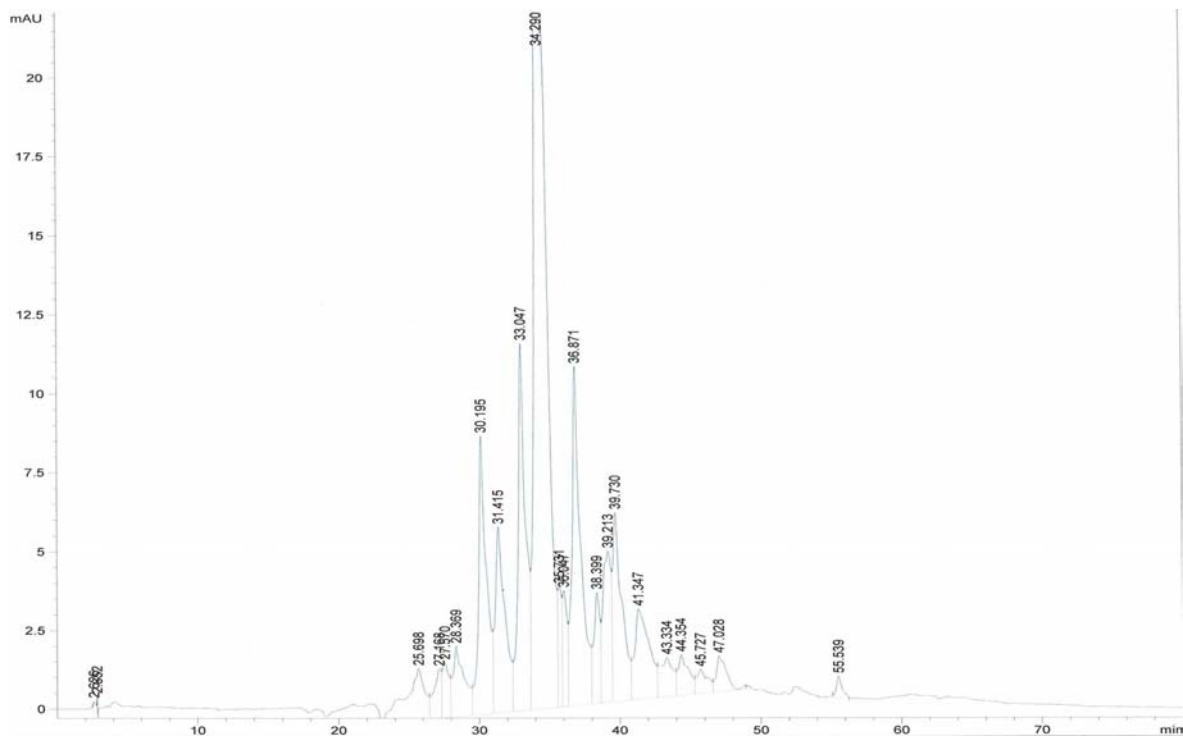
Hubei in China LS70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



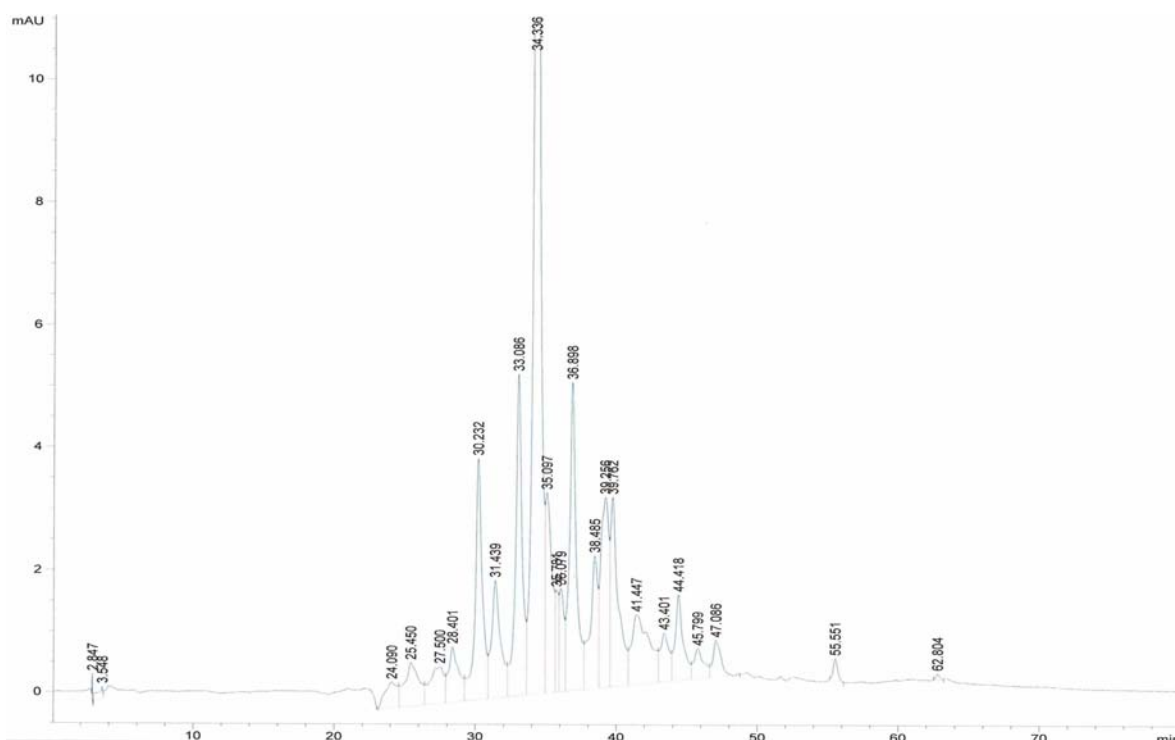
Vietnam LS70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



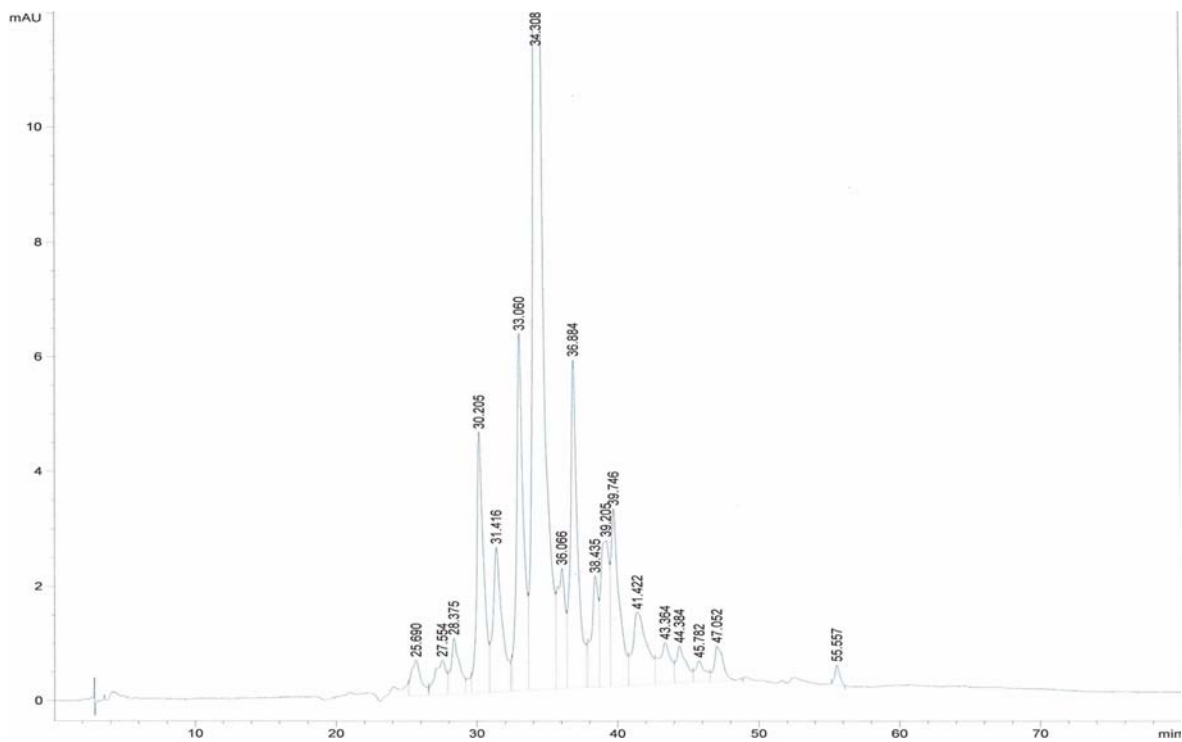
Thailand LS70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



Siheung in Korea LS70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

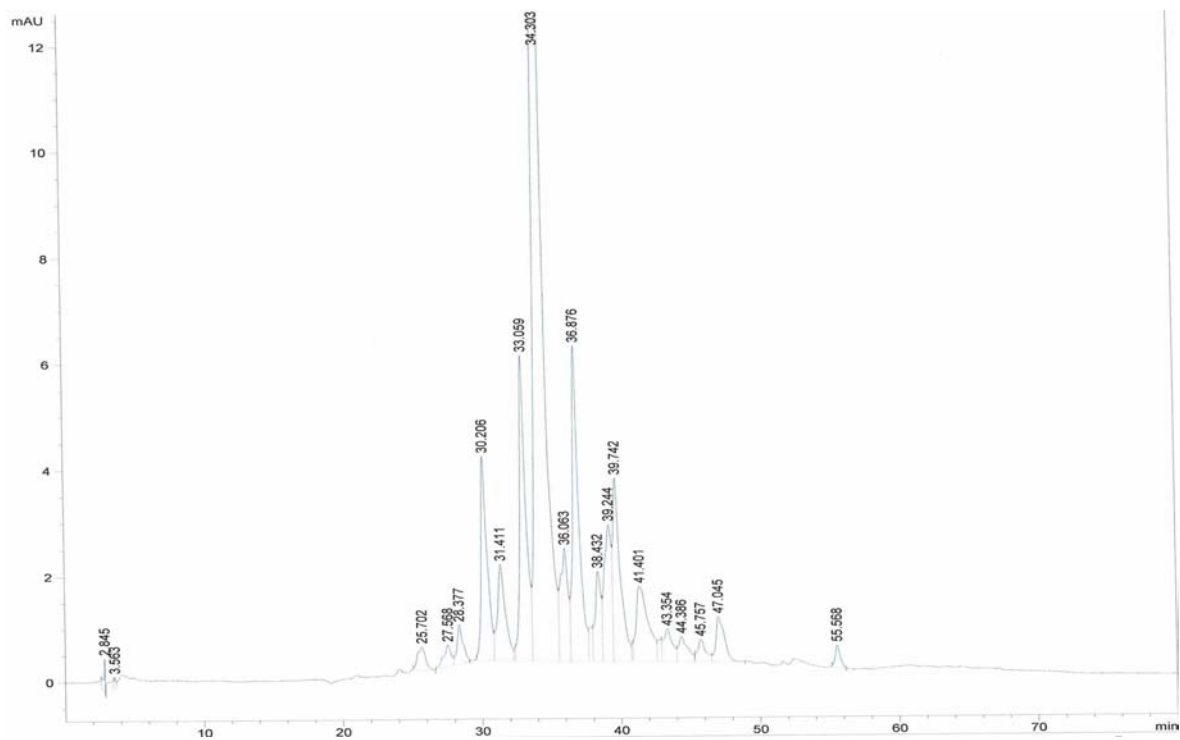


Muan in Korea LS70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

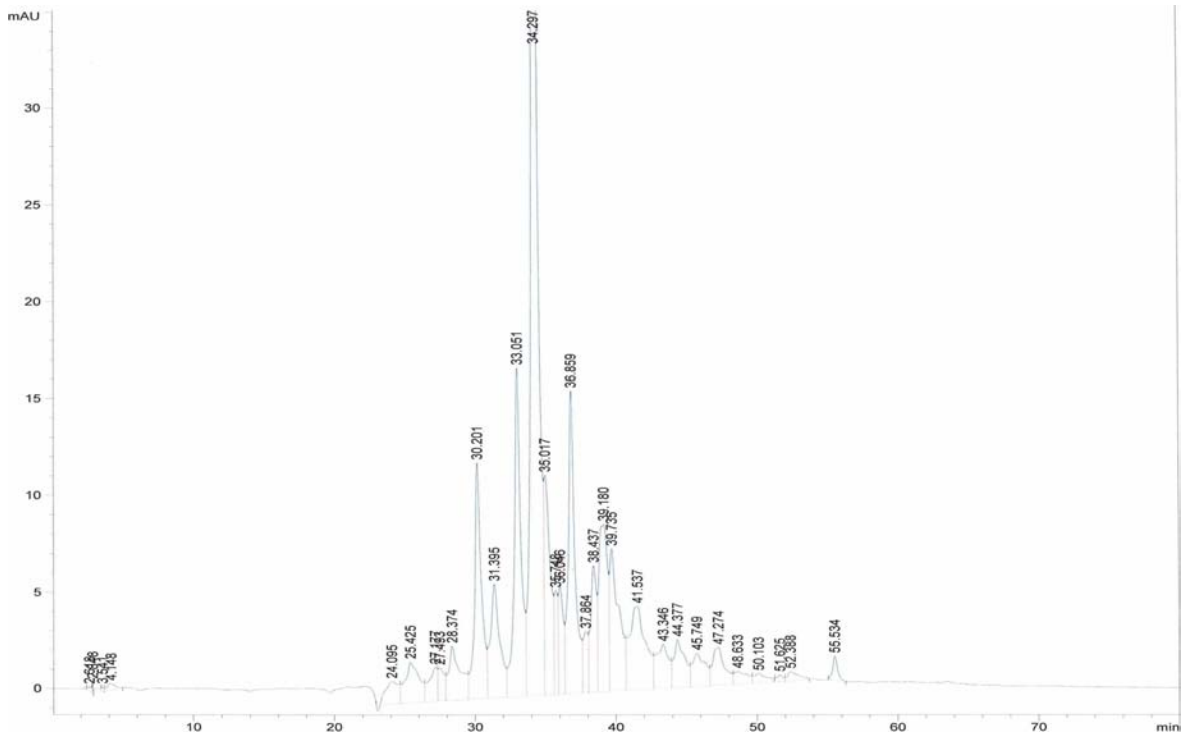


Guangzhou in China LS70ER

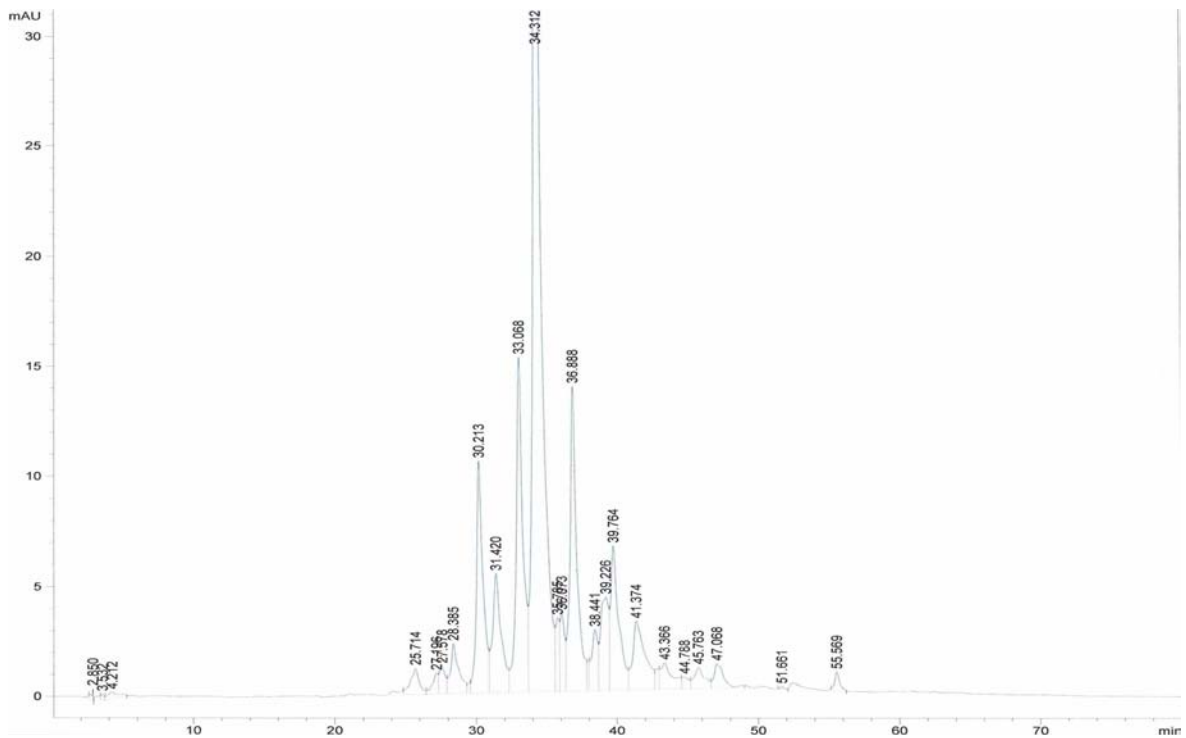
: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



Hubei in China LS70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

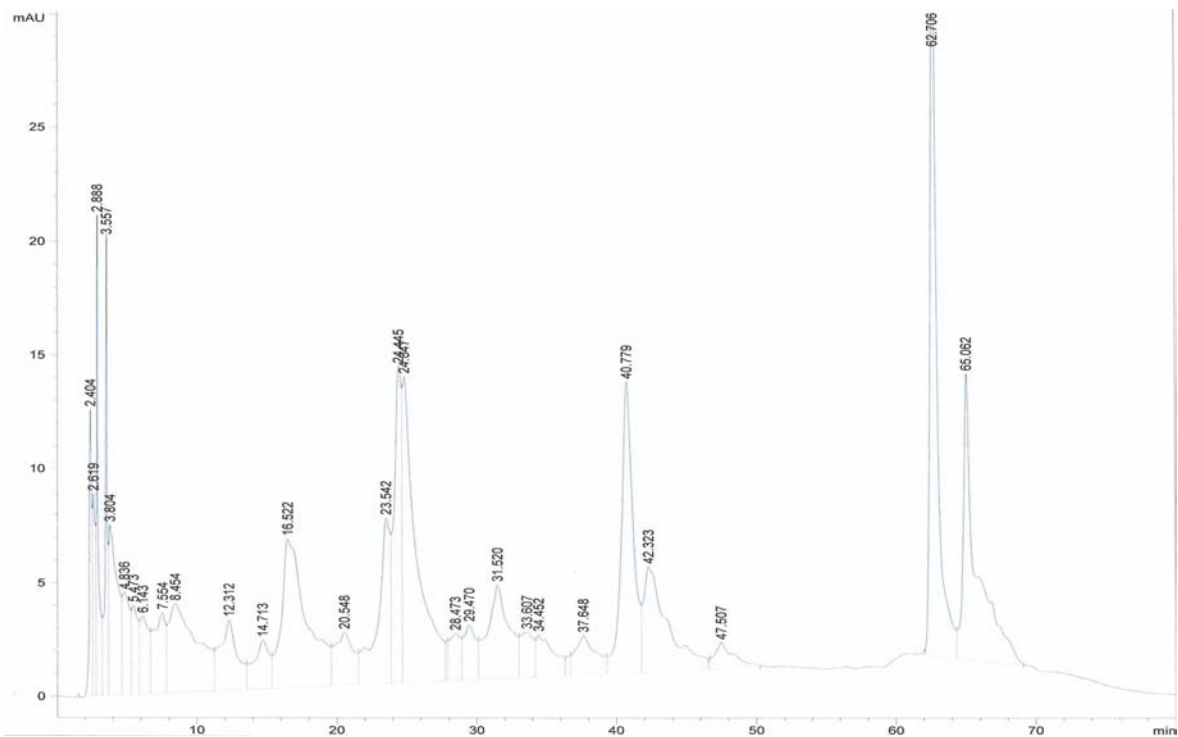


Vietnam LS70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

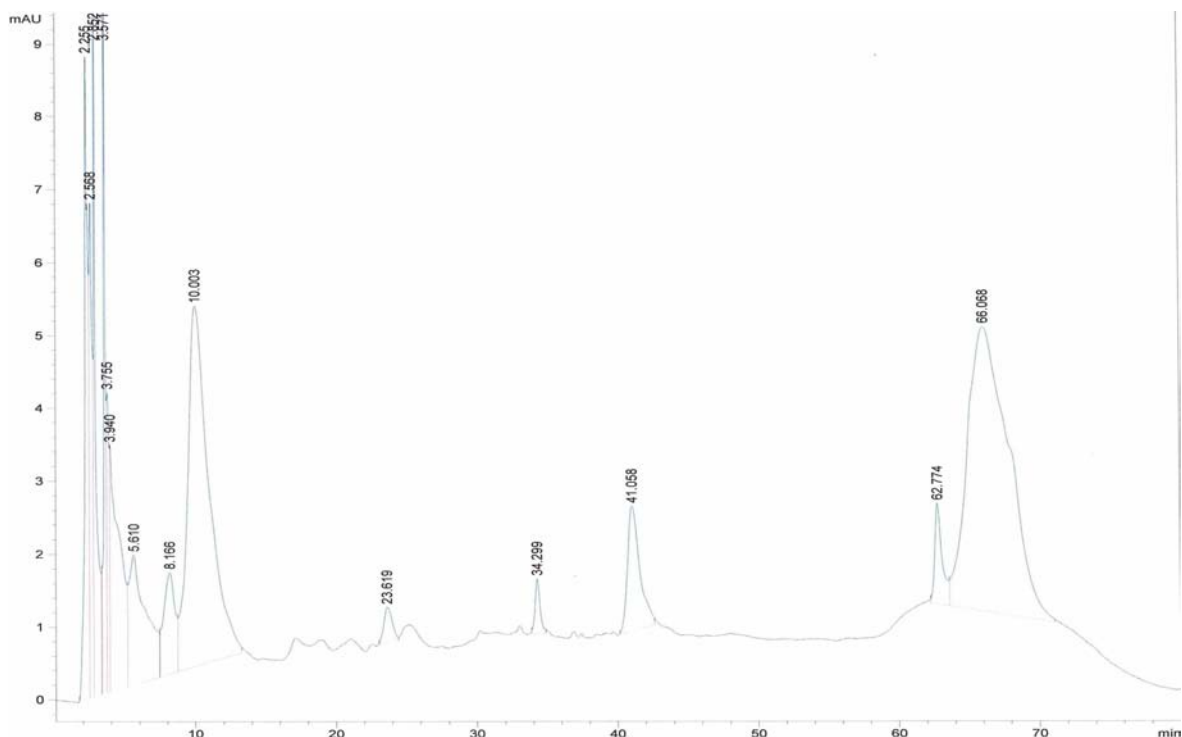


Thailand LS70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

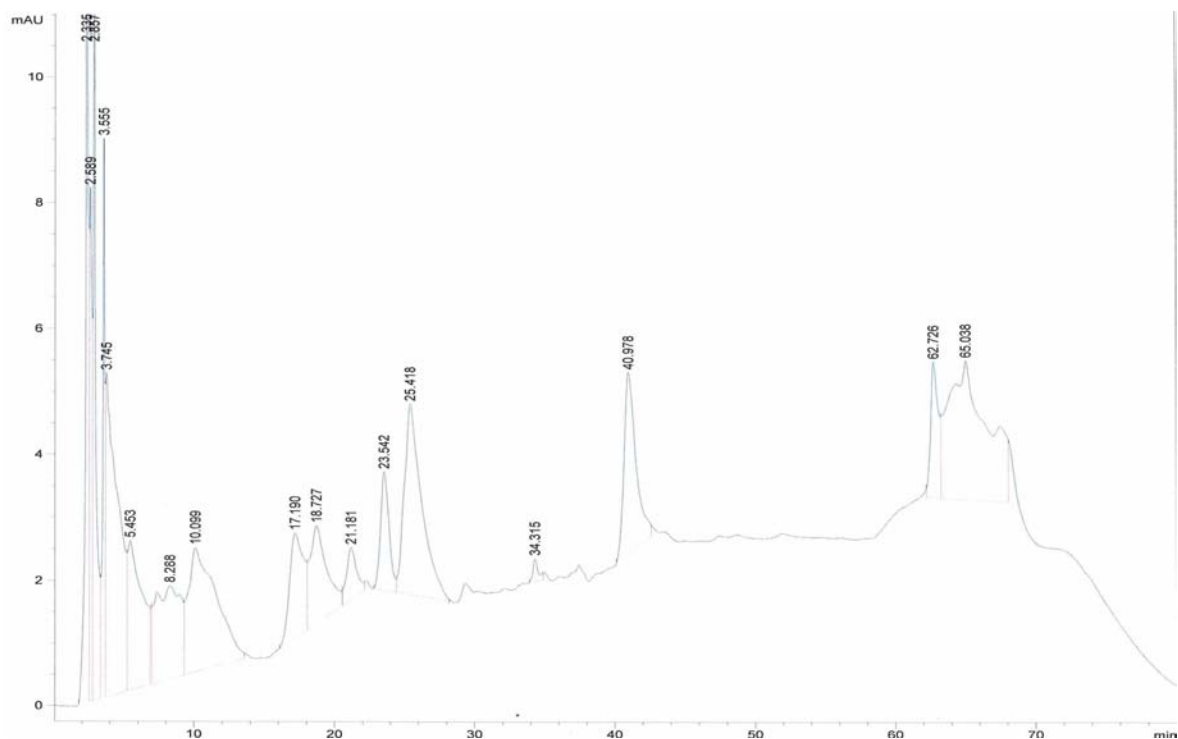
Fig. 4-3 The HPLC chromatogram of flavonoids from Re-EtOH fraction of LS70ER



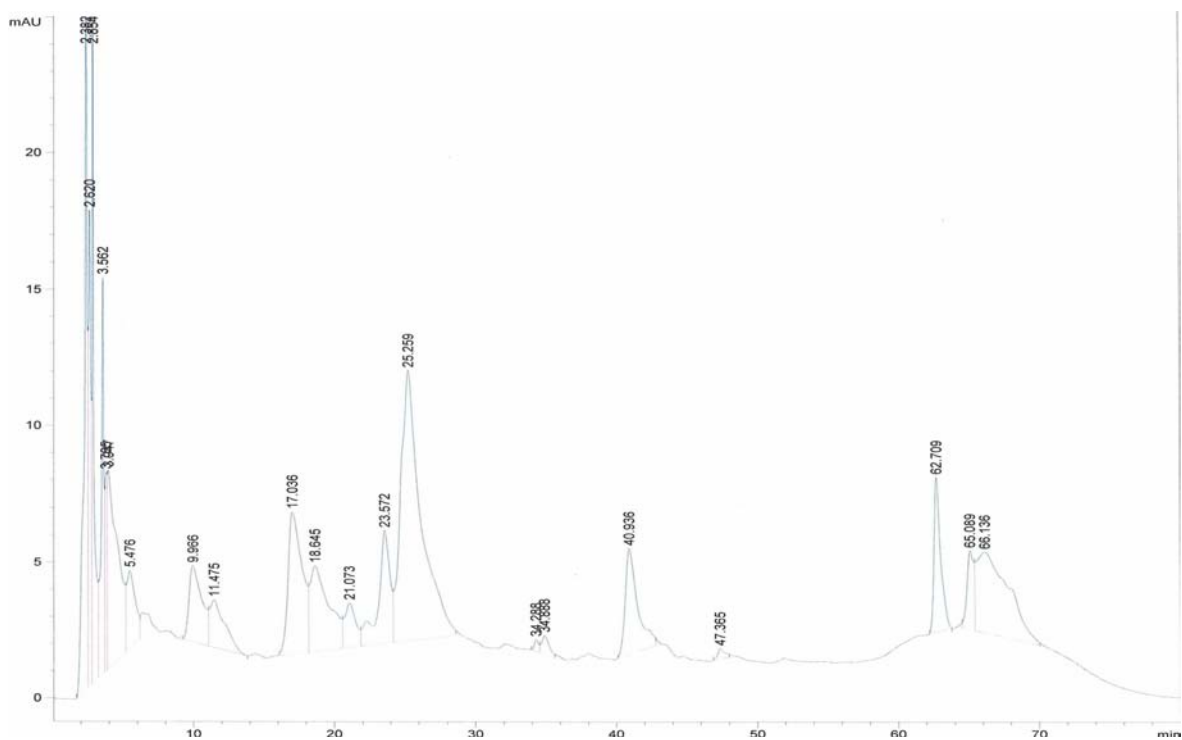
Siheung in Korea LS70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



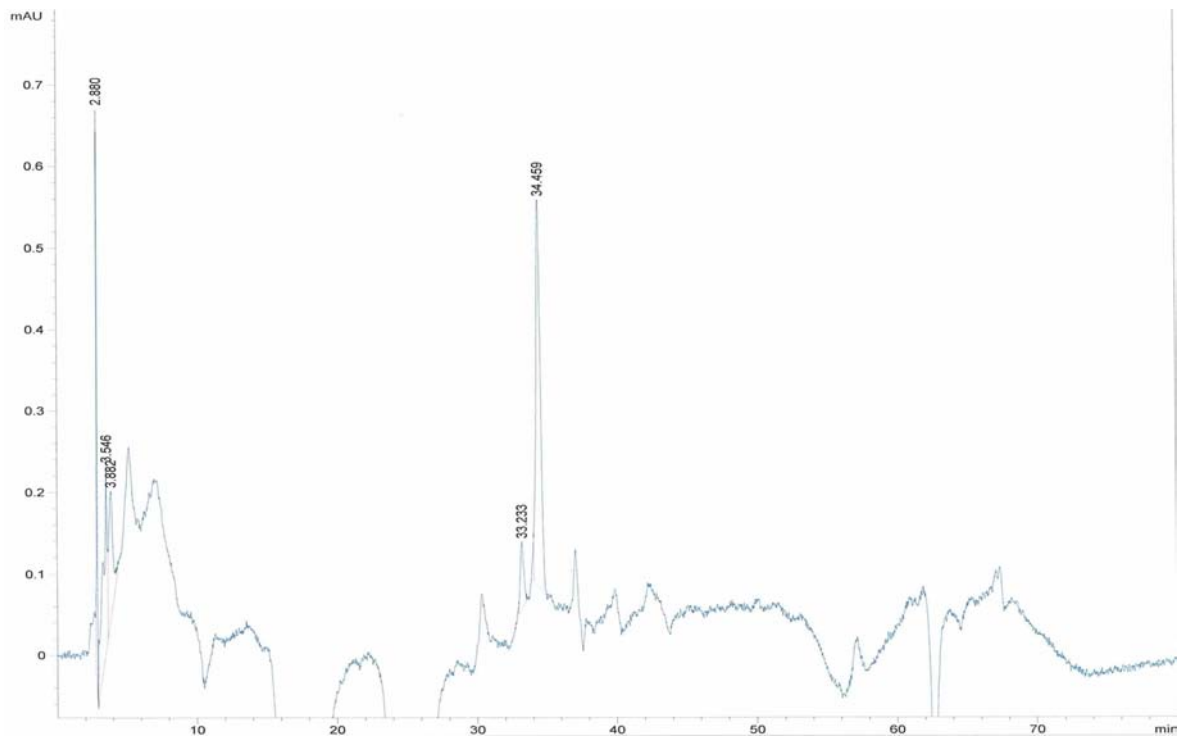
Muan in Korea LS70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



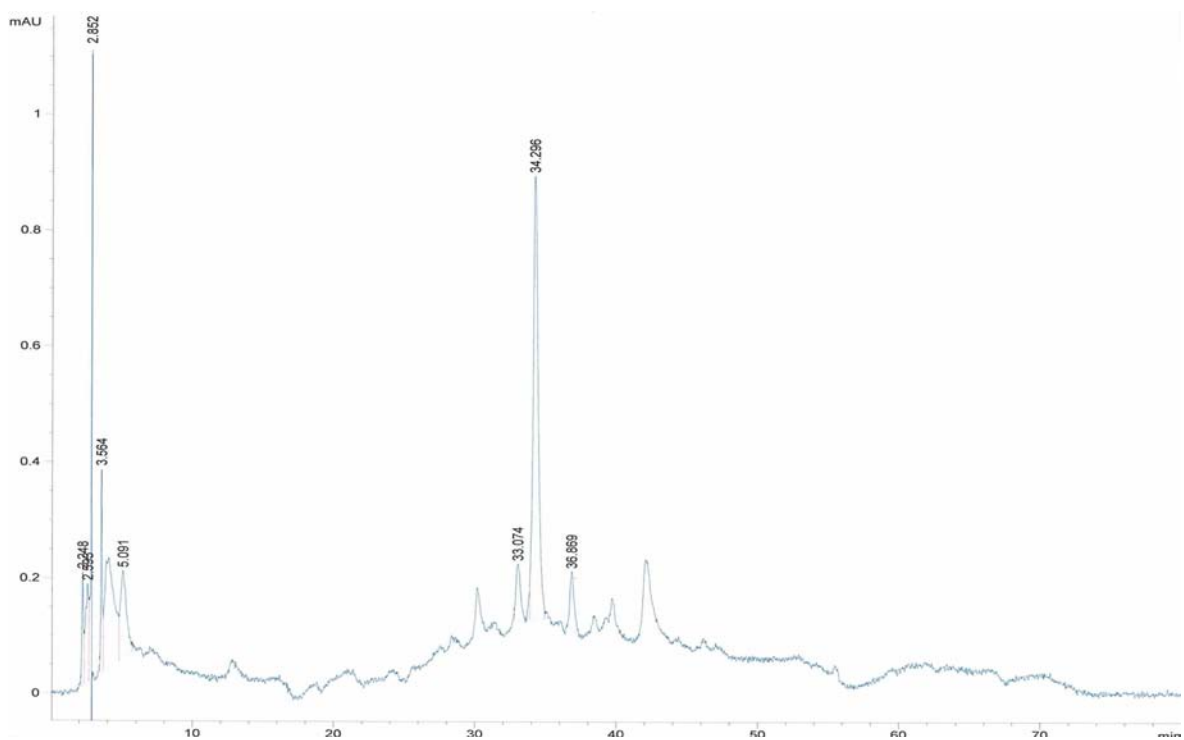
Vietnam LS70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



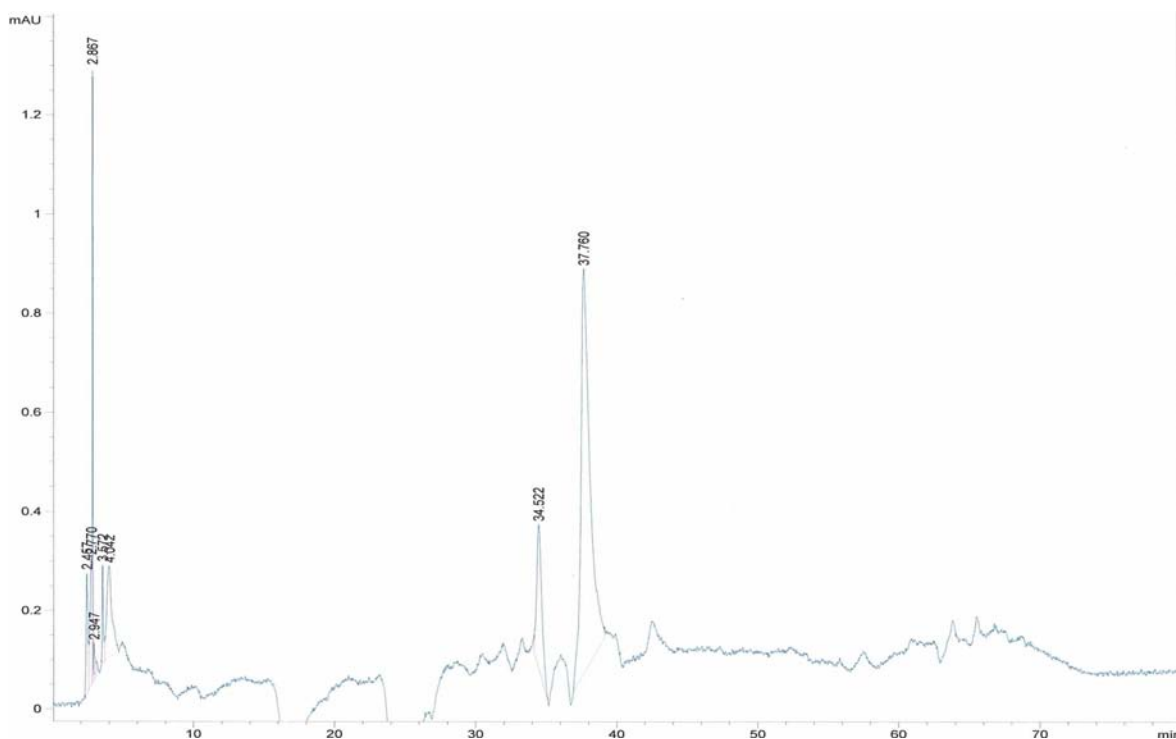
Thailand LS70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



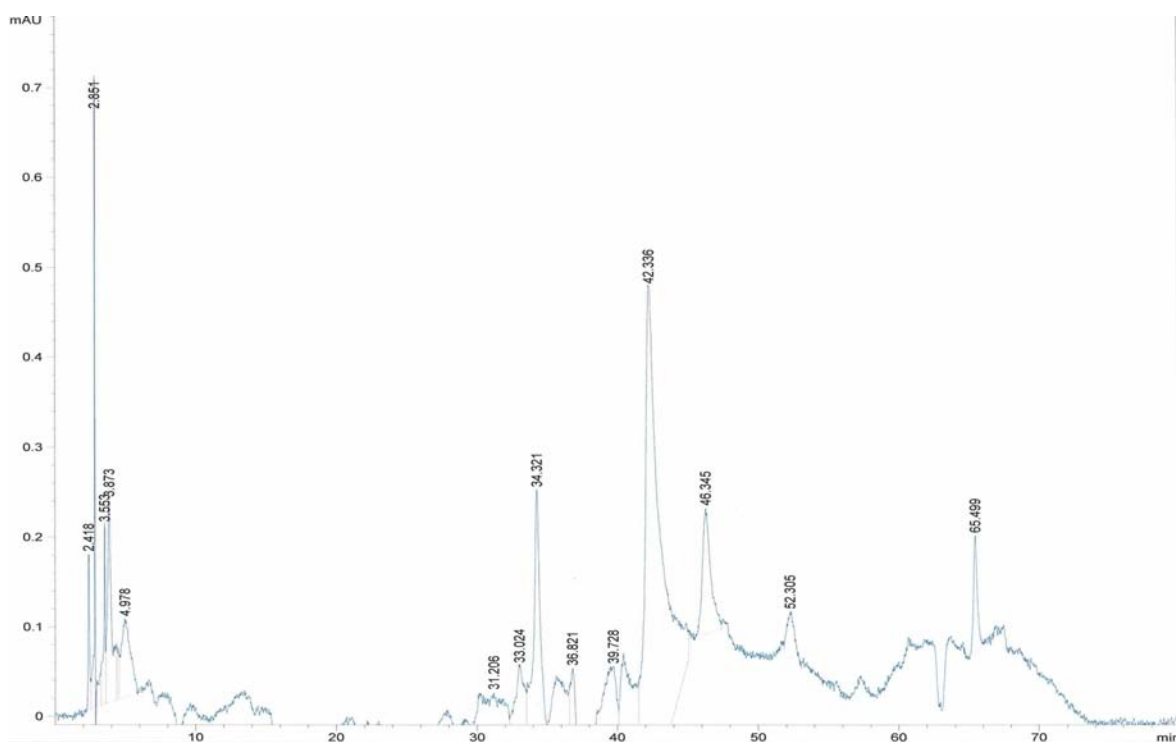
Siheung in Korea LS70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



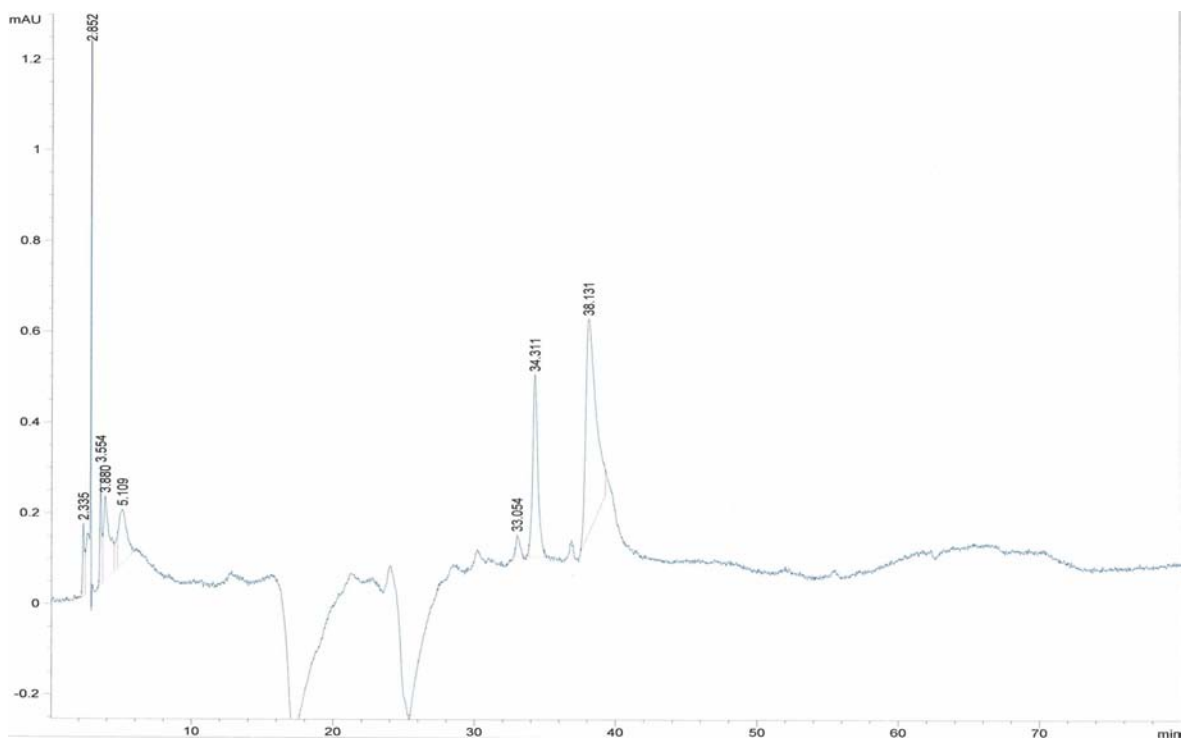
Muan in Korea LS70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



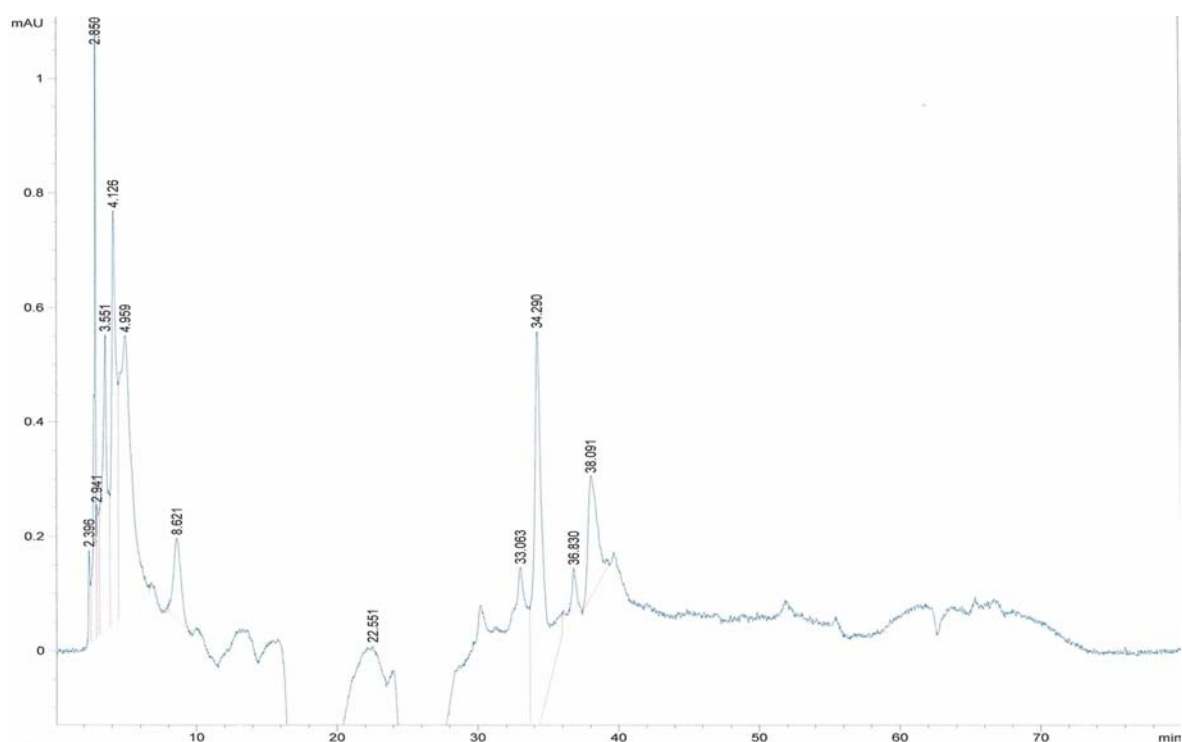
Guangzhou in China LS70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



Hubei in China LS70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

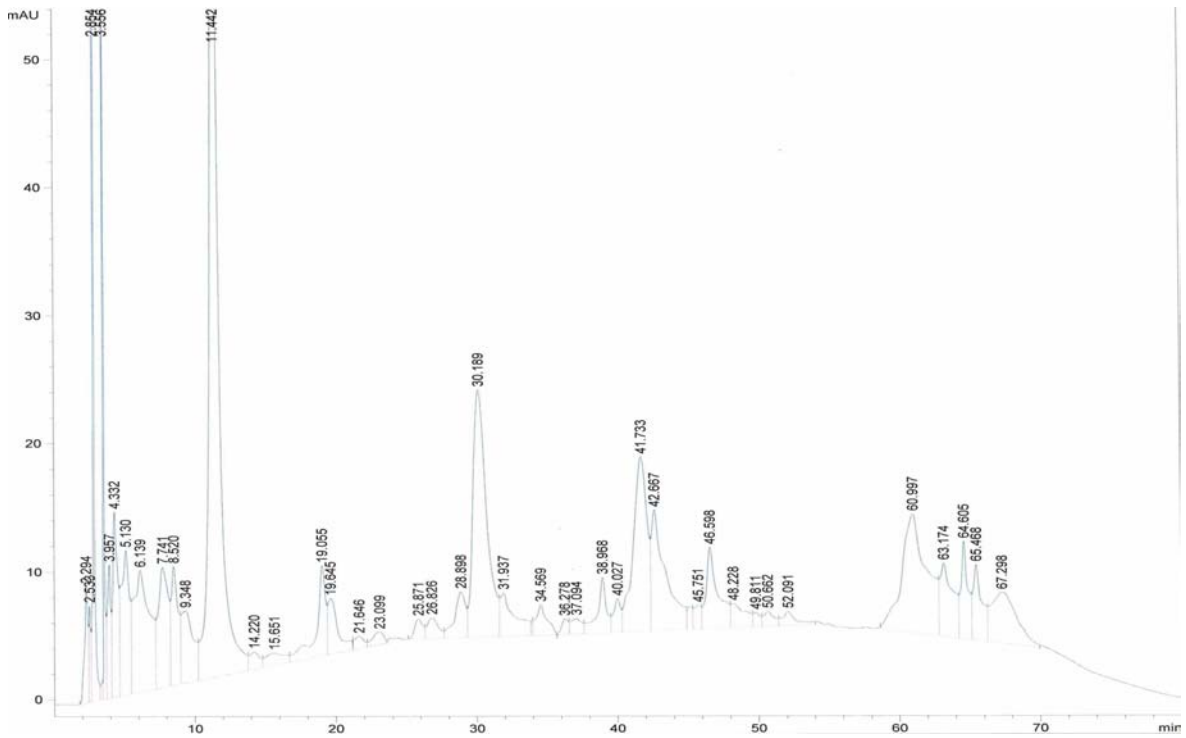


Vietnam LS70ER: NH_4OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

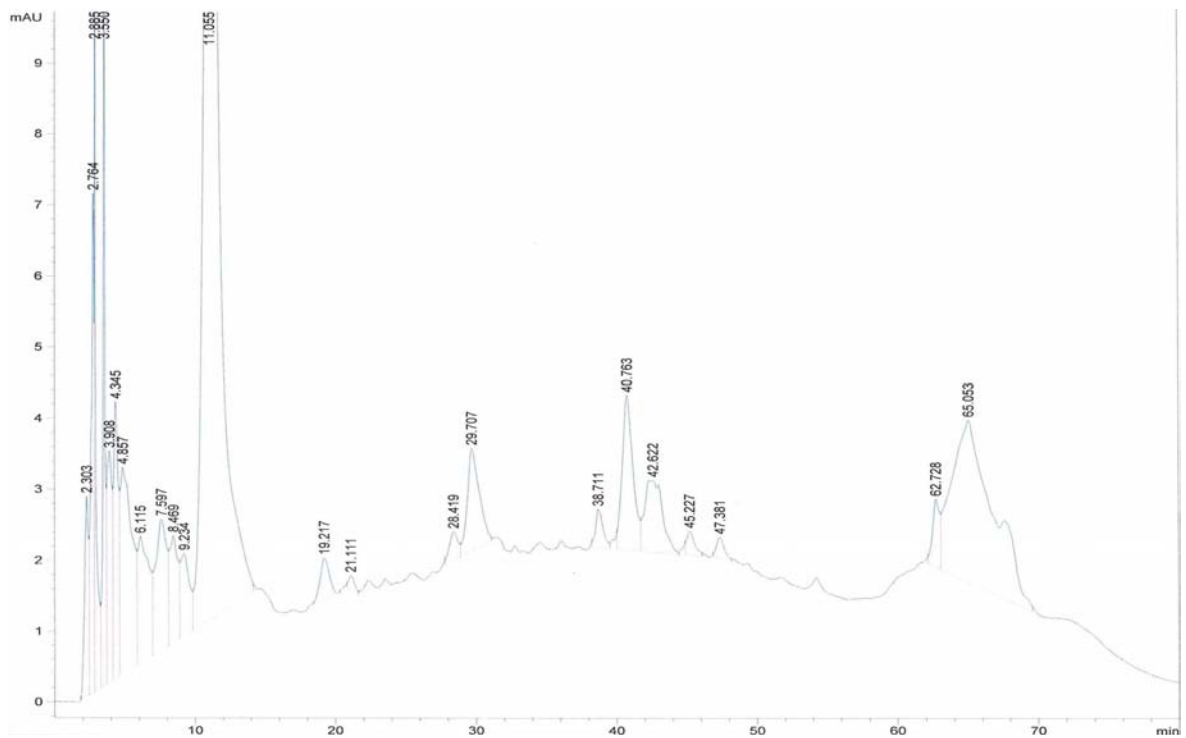


Thailand LS70ER: NH_4OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

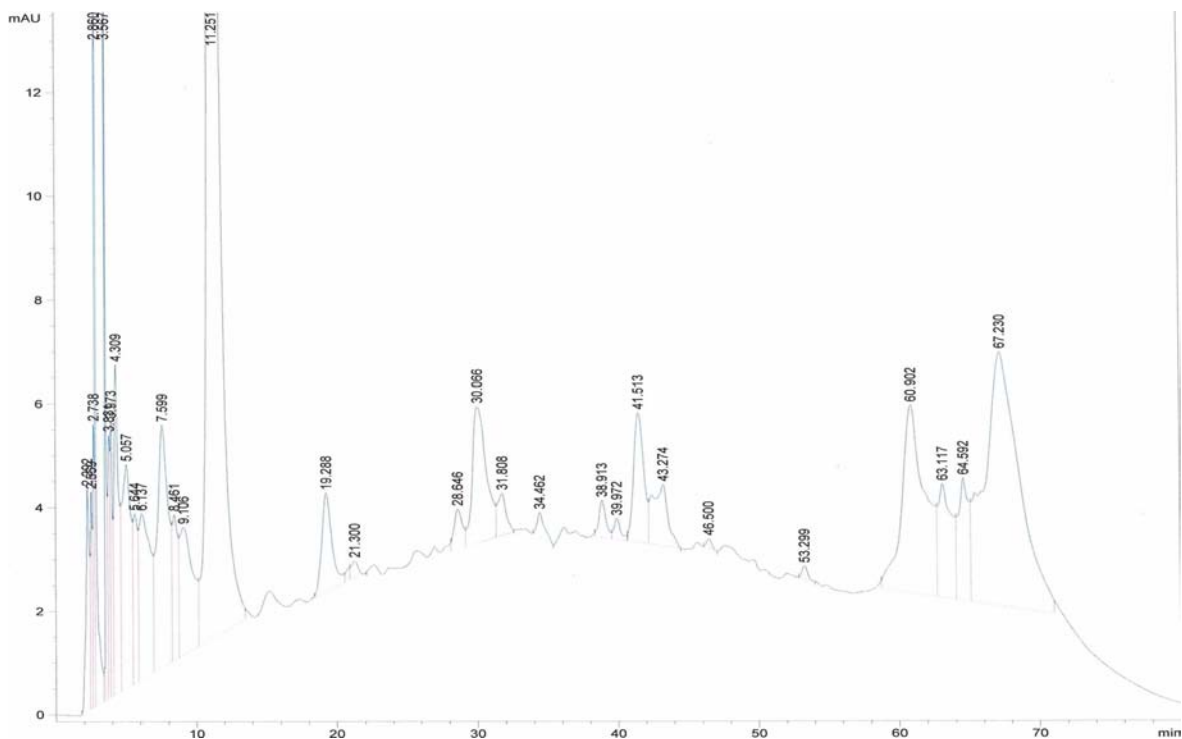
Fig. 4-4 The HPLC chromatogram of flavonoids from NH_4OH fraction of LS70ER



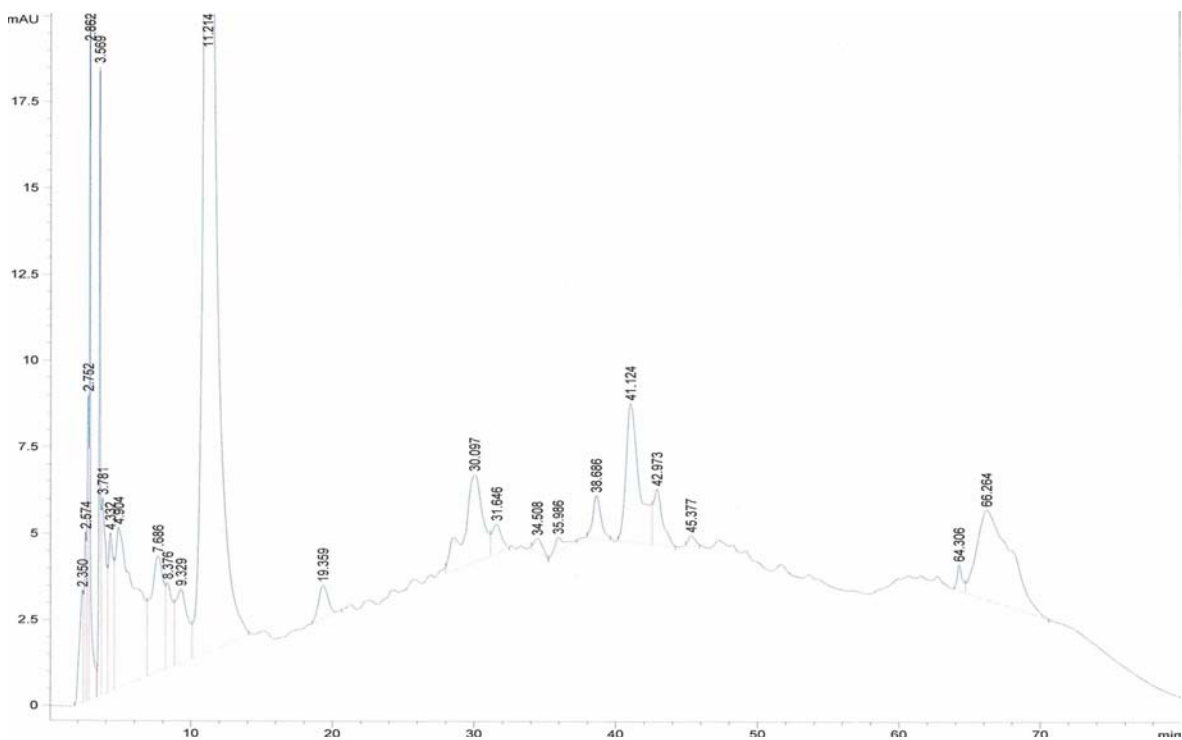
Siheung in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



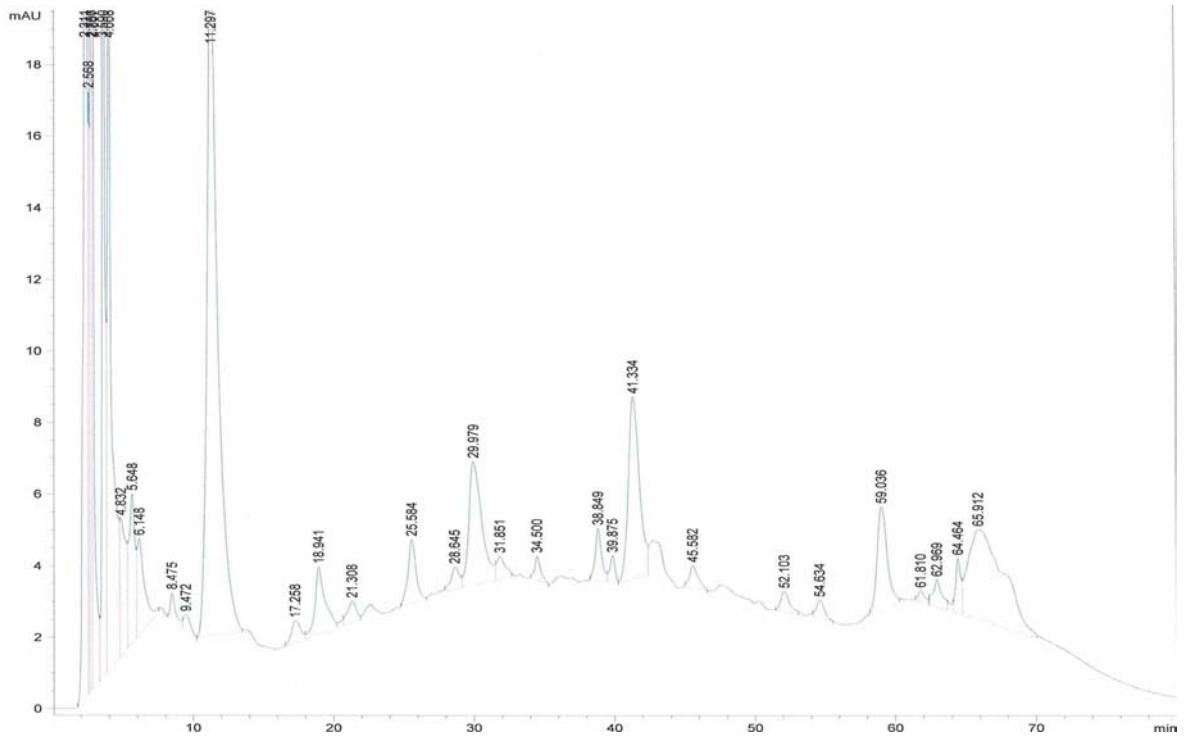
Muan in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



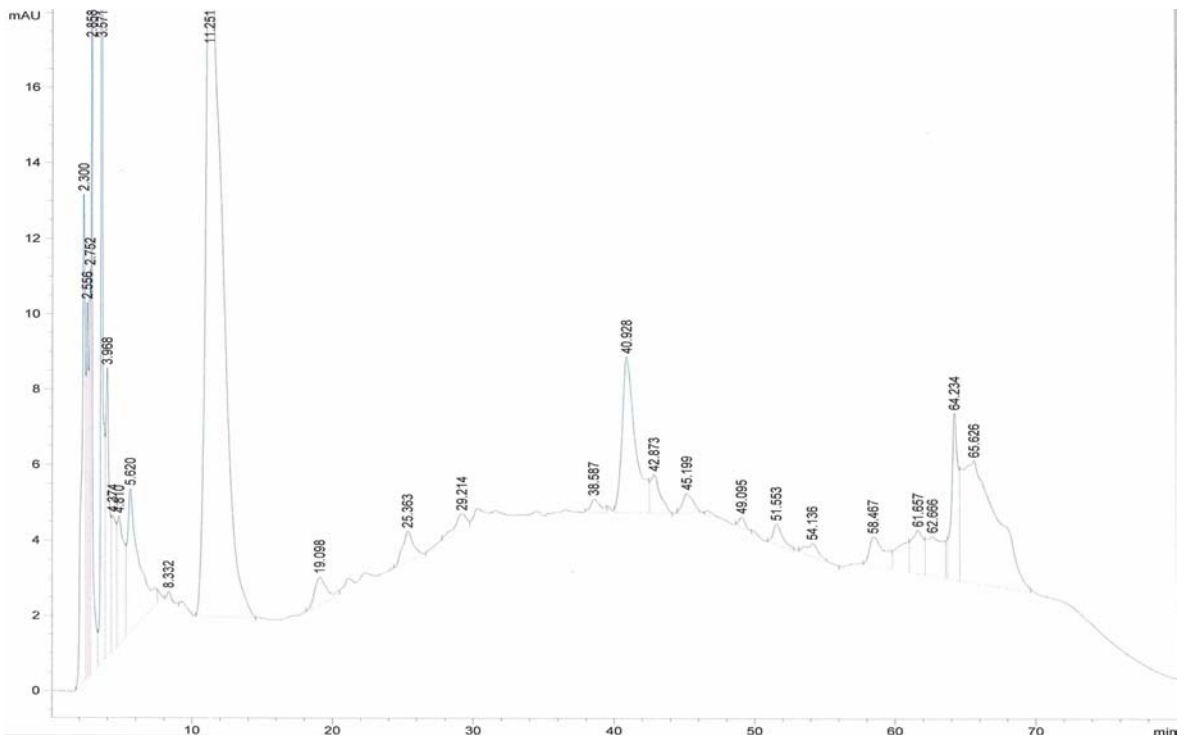
Daegu in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



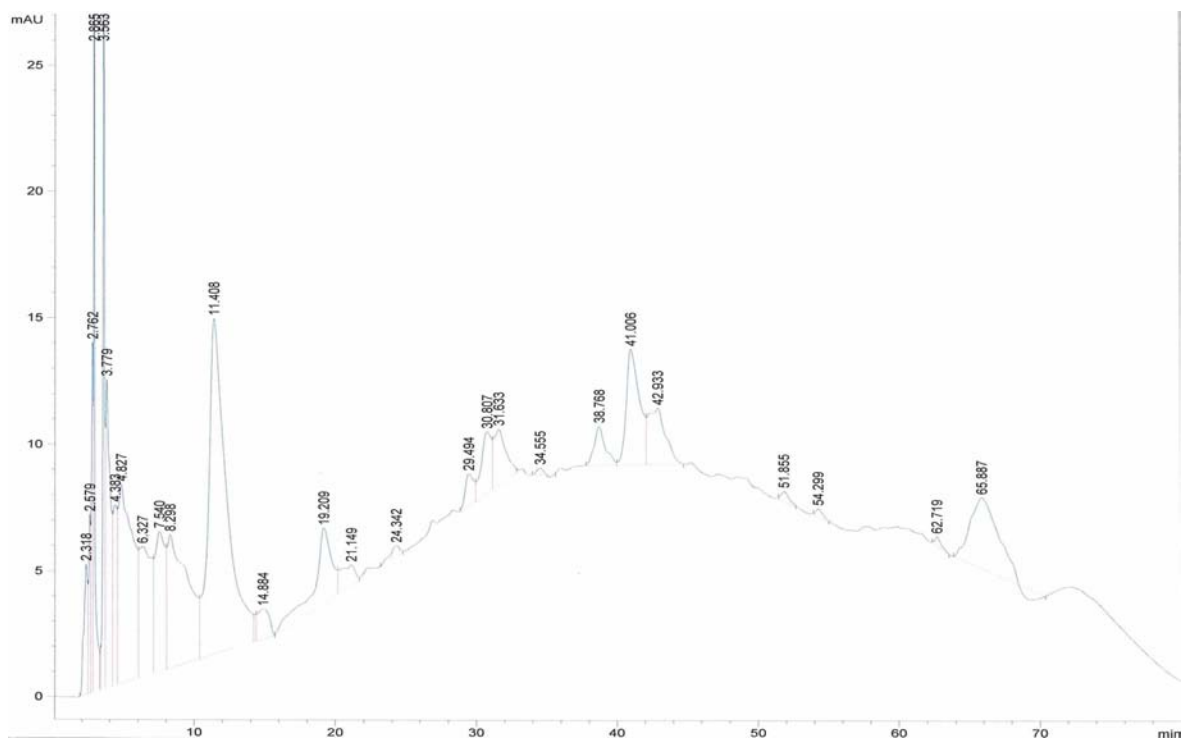
Haman in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



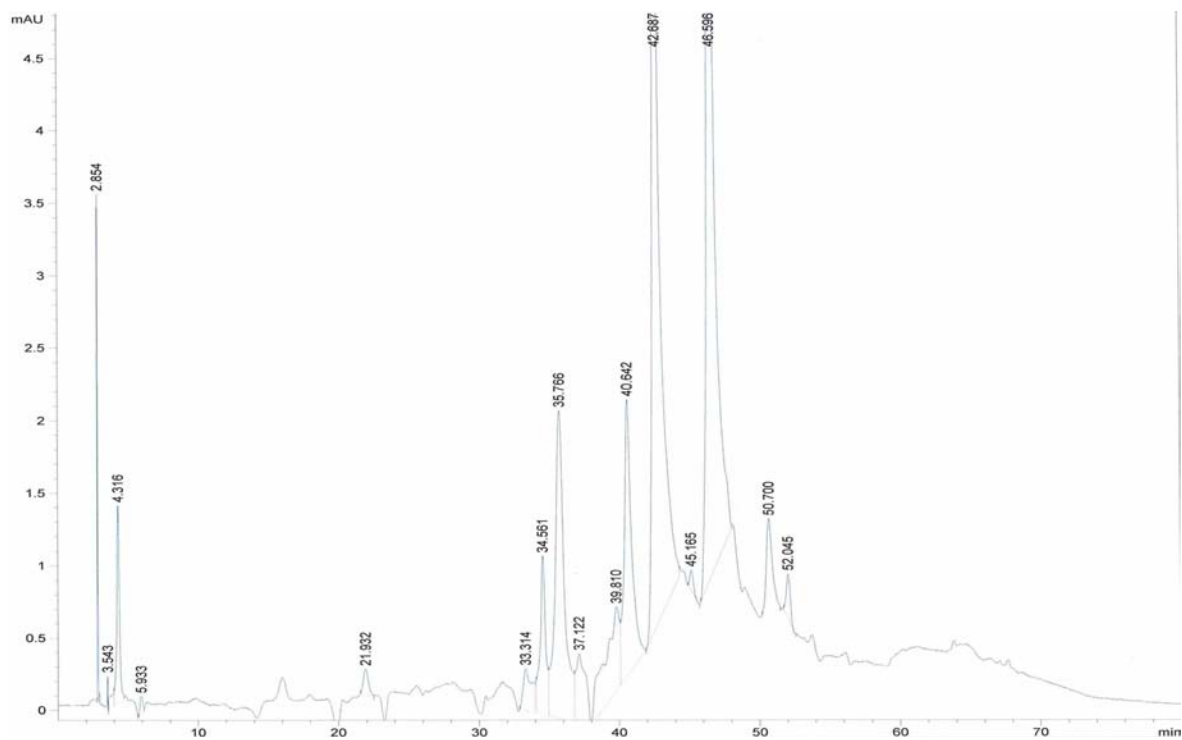
Guangxi in China LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



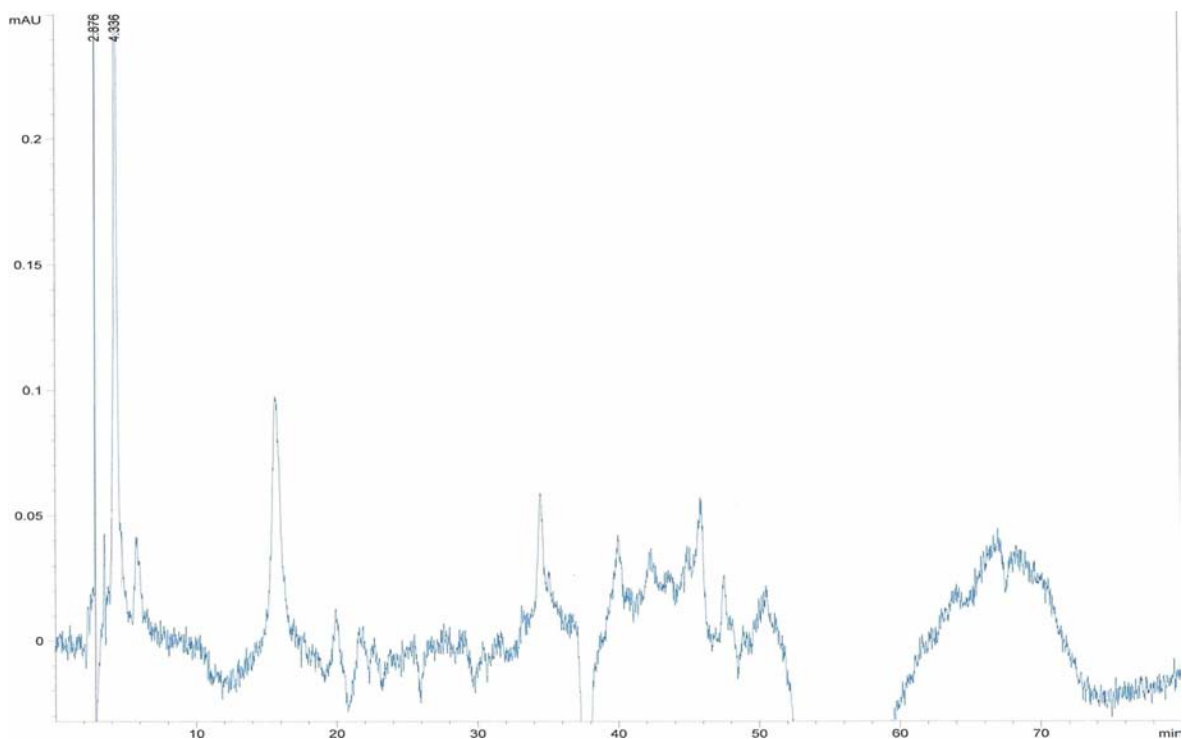
Vietnam LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



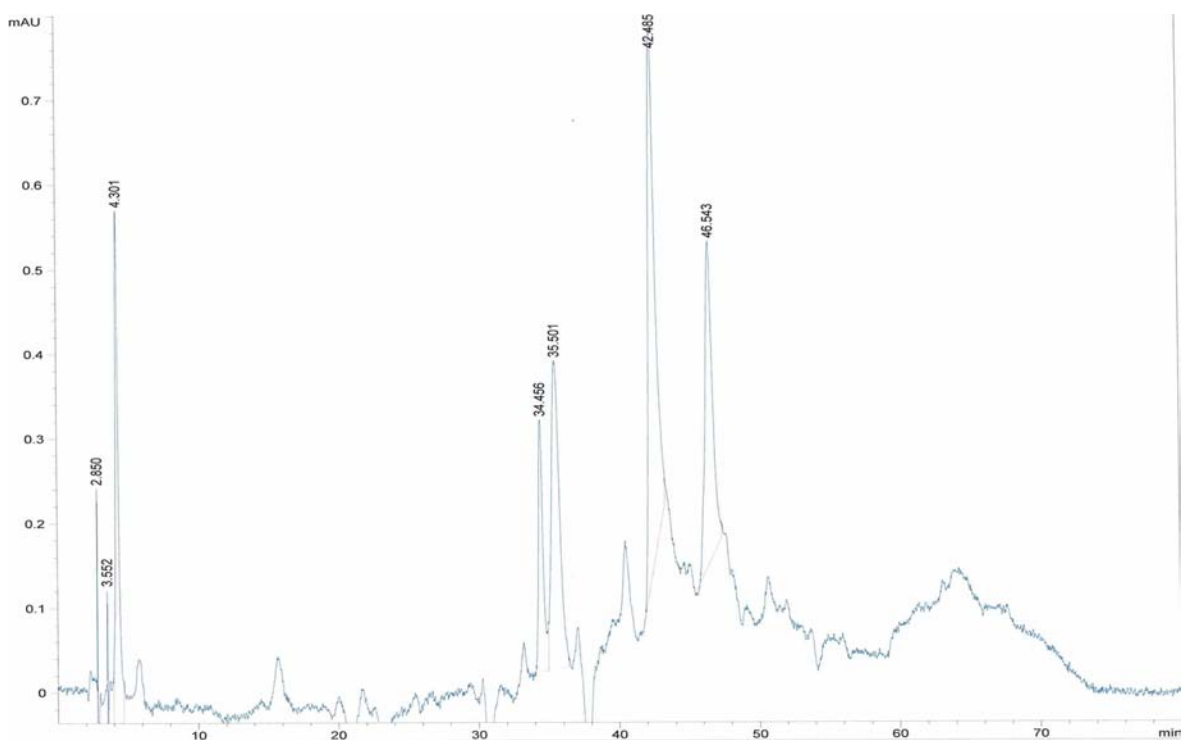
Japan LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



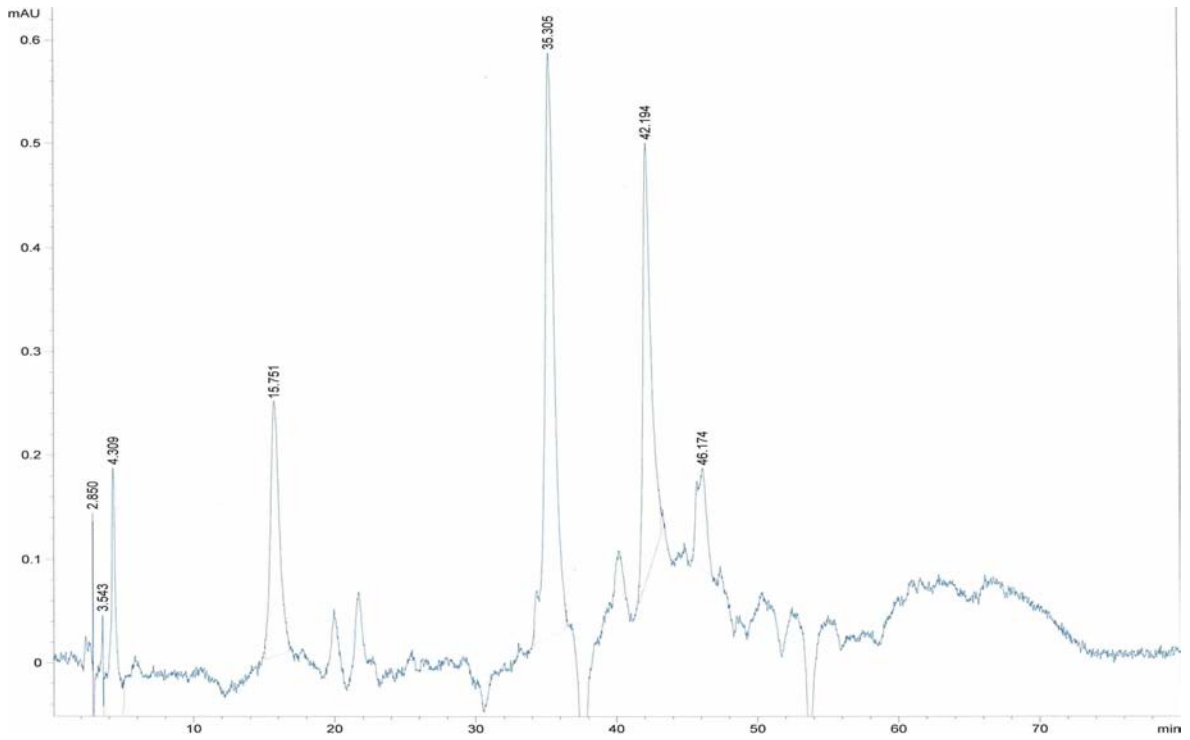
Siheung in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



Muan in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



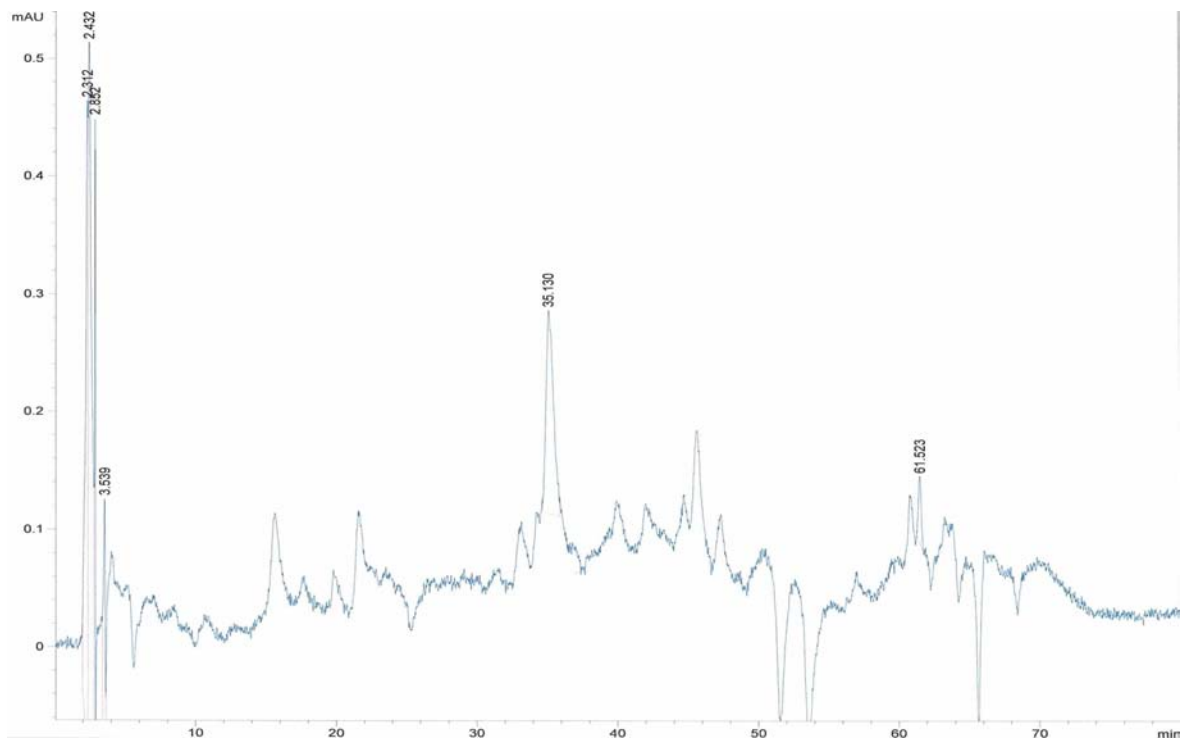
Daegu in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



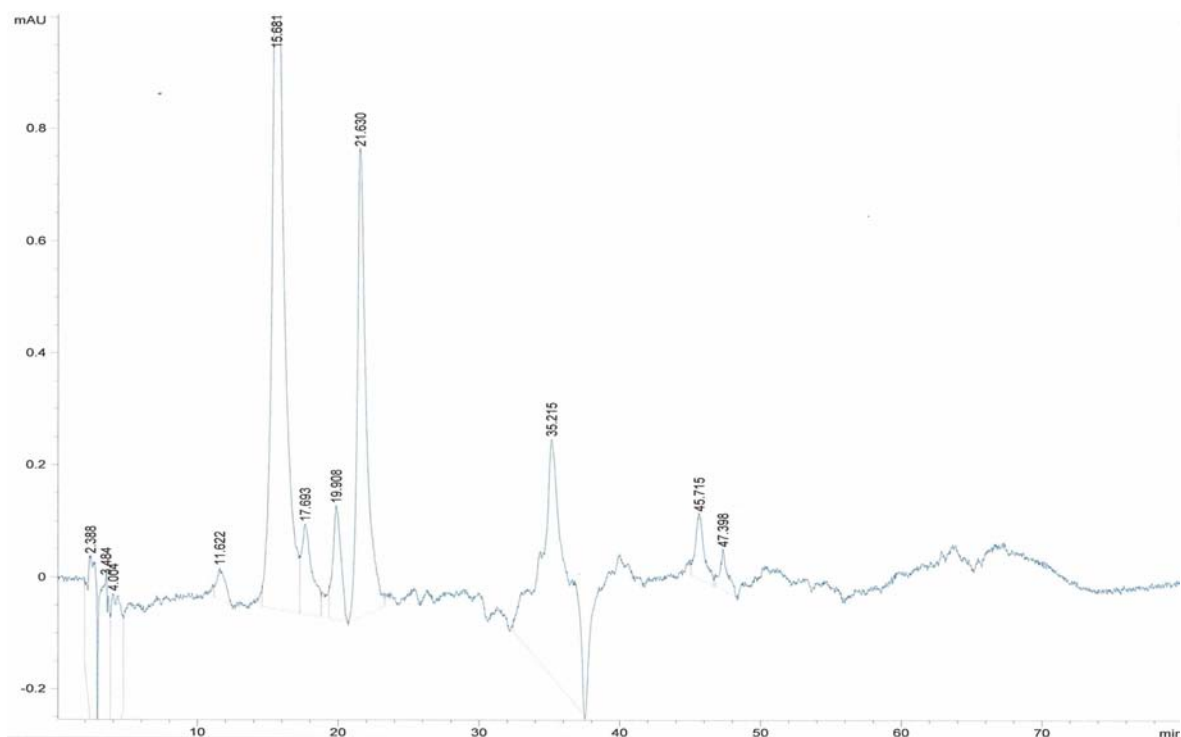
Haman in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



Guangxi in China LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

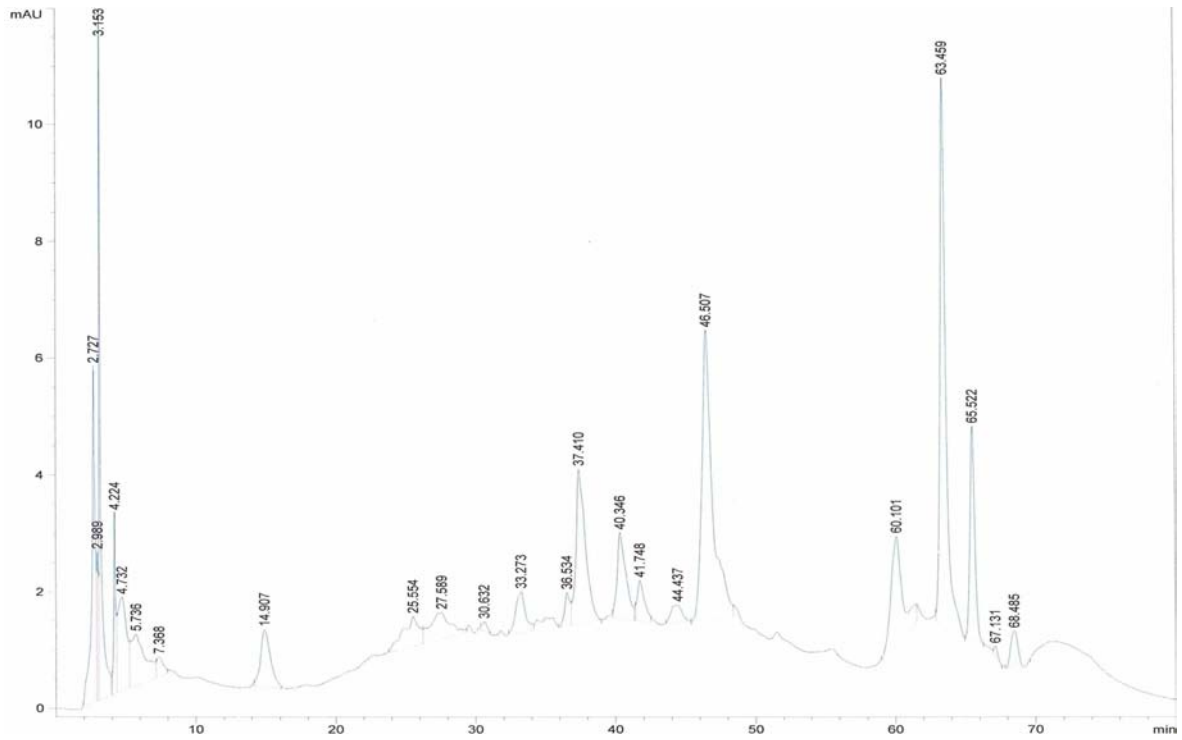


Vietnam LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

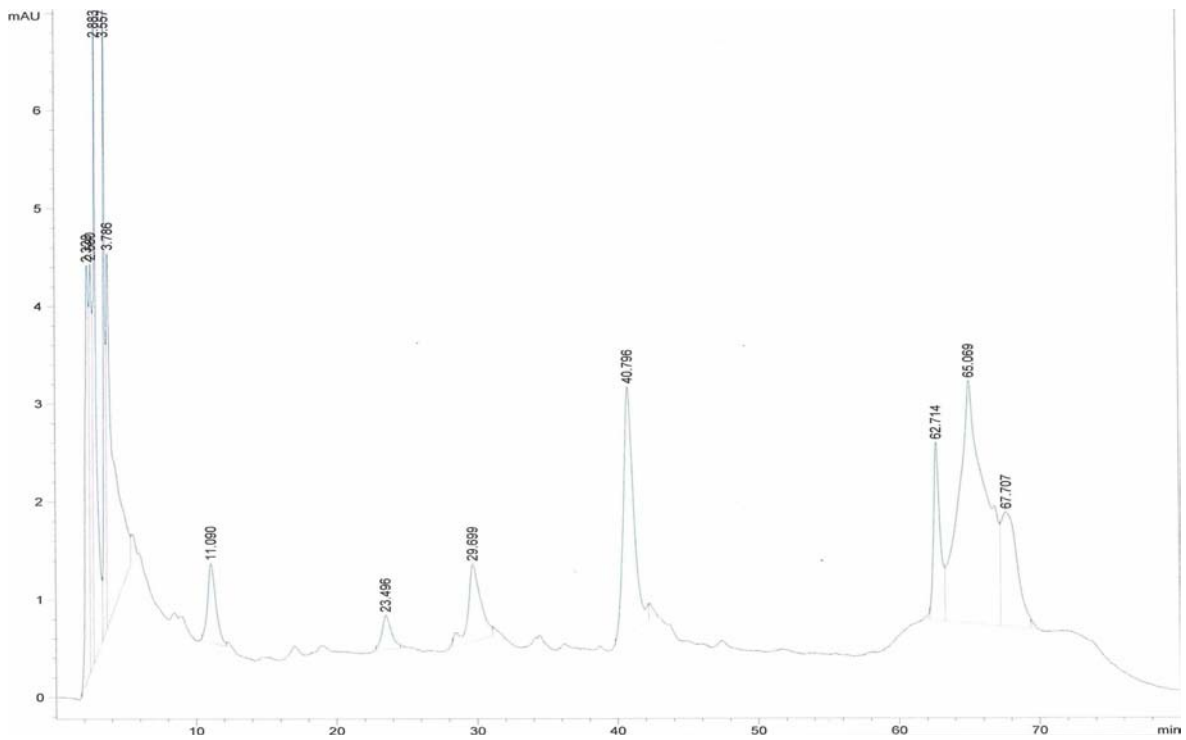


Japan LR70ER: Re-EtOH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

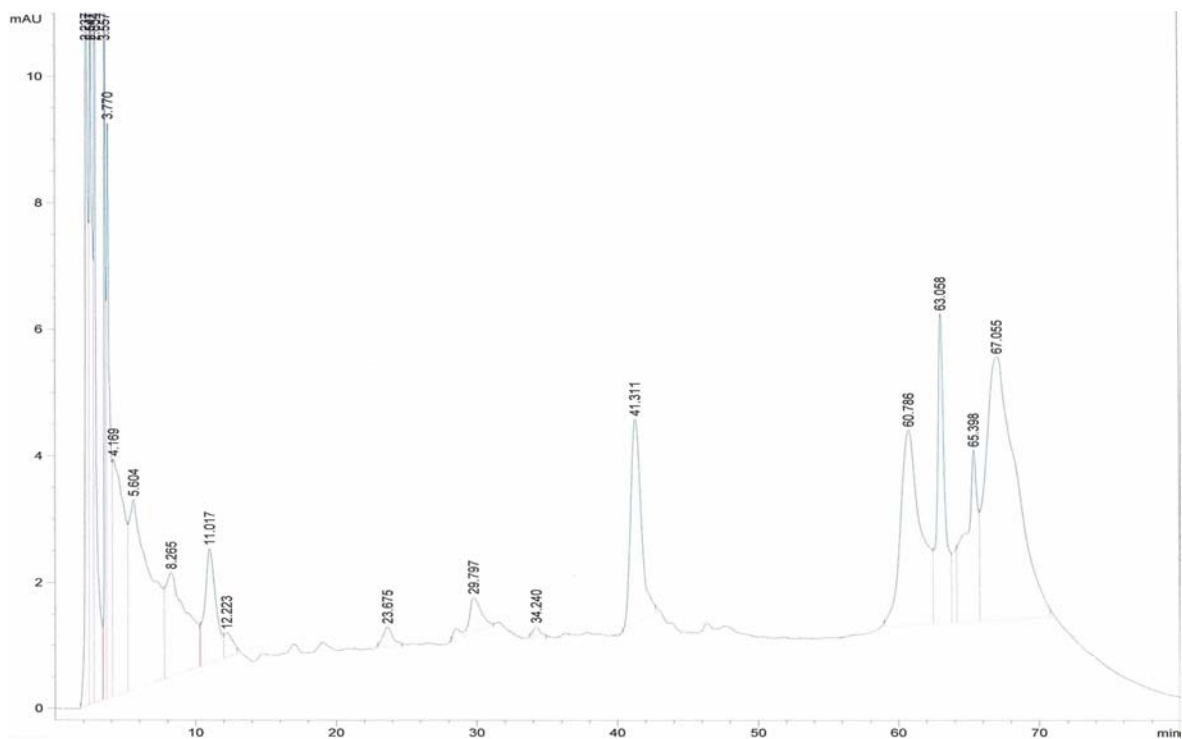
Fig. 4-5 The HPLC chromatogram of flavonoids from Re-EtOH fraction of LR70ER



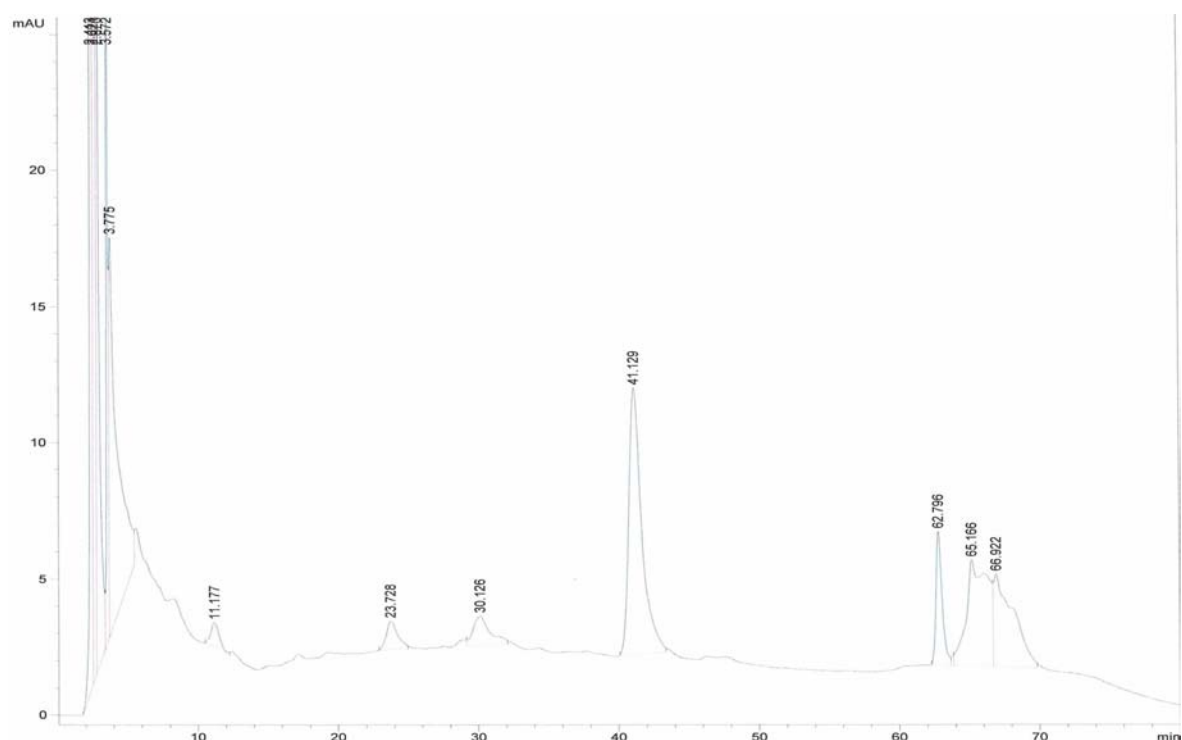
Siheung in Korea LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



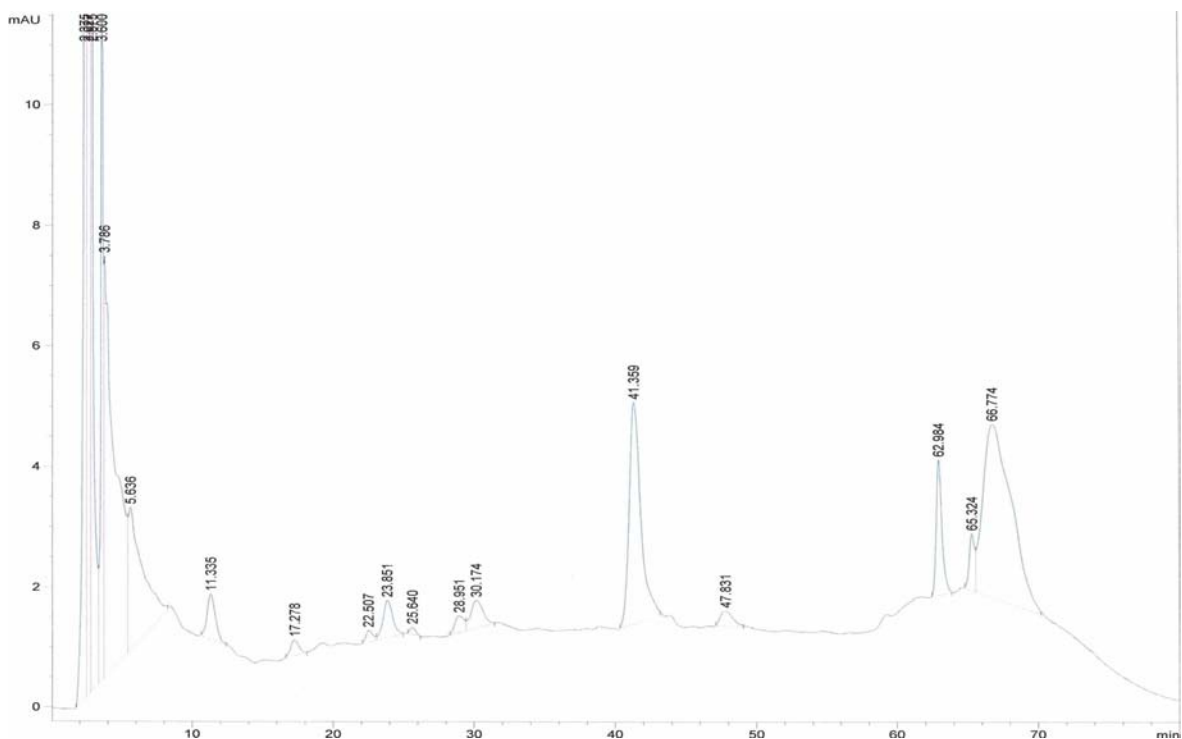
Muan in Korea LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



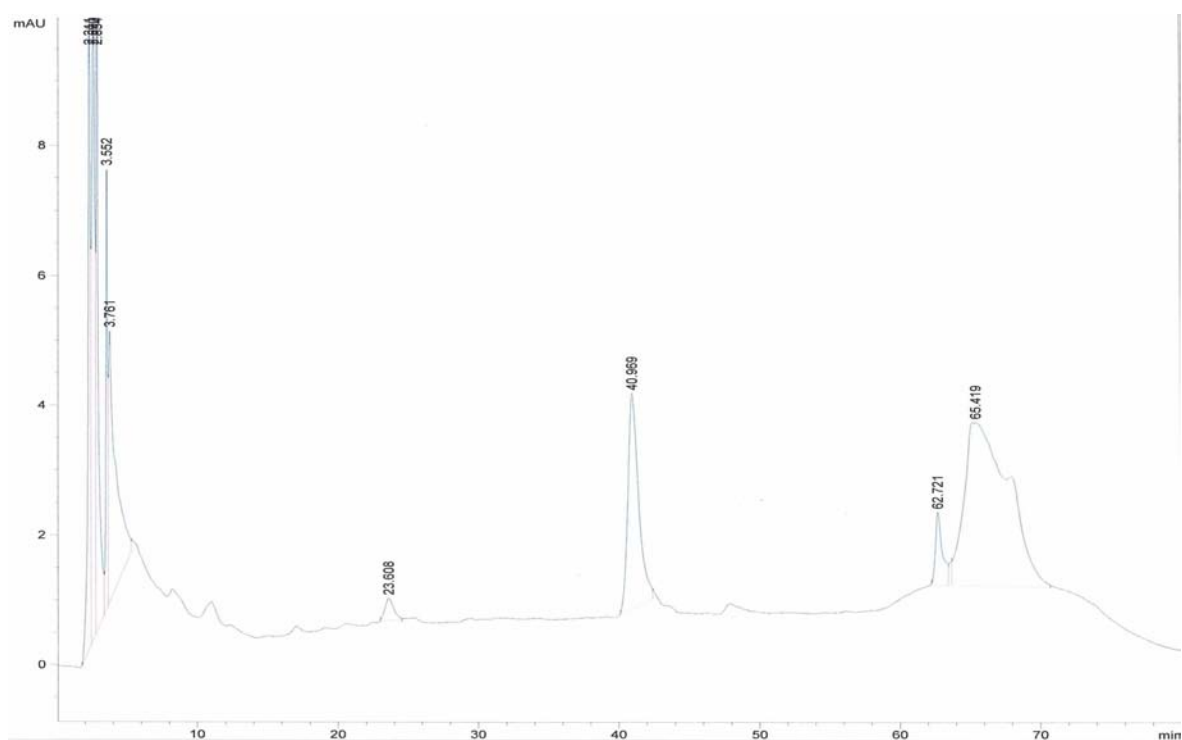
Daegu in Korea LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



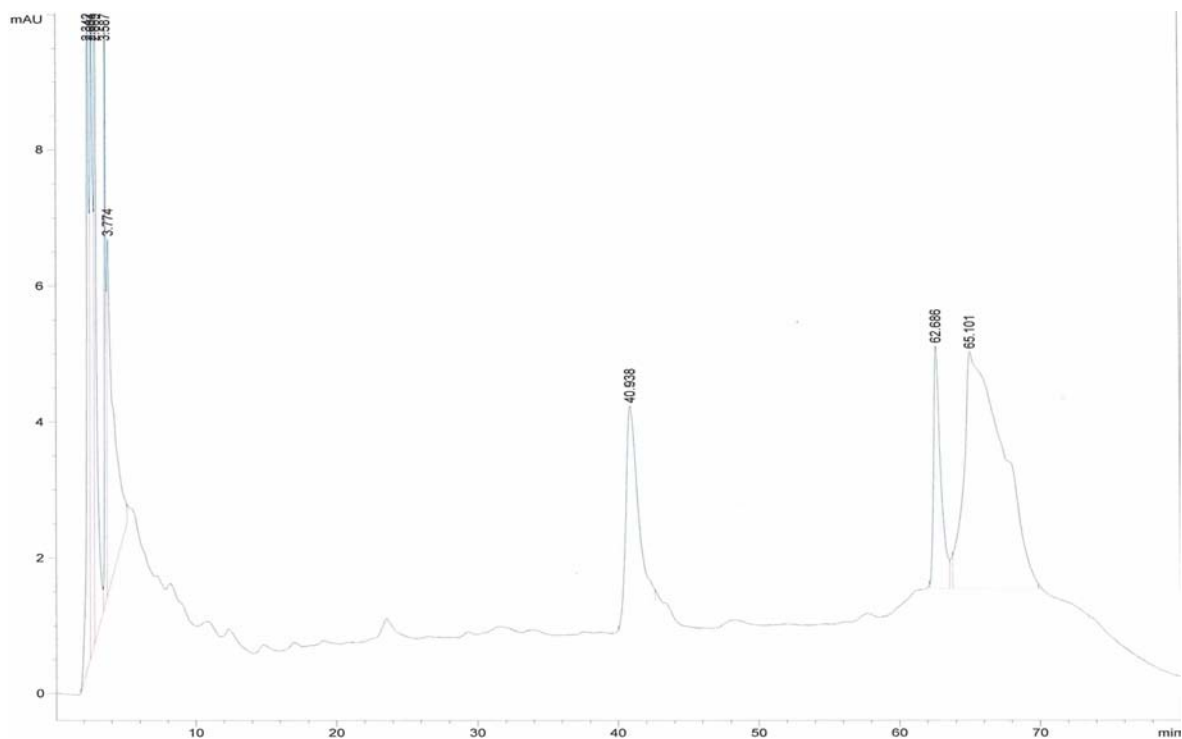
Haman in Korea LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



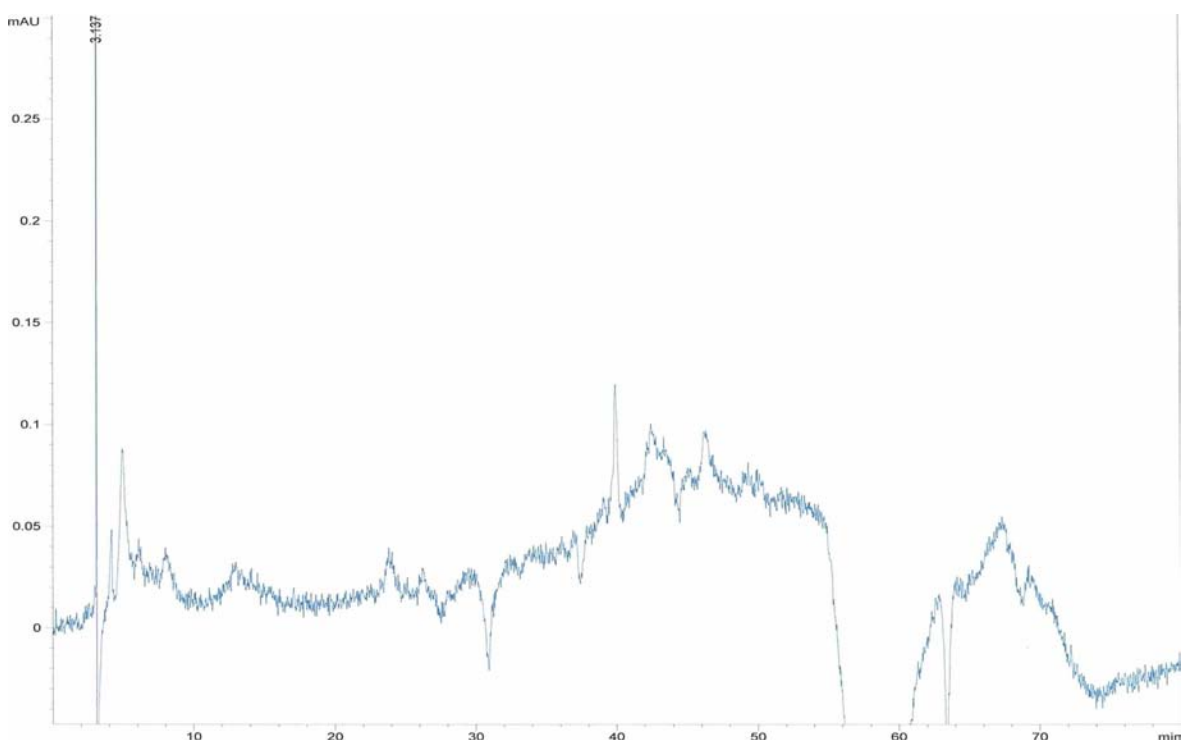
Guangxi in China LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



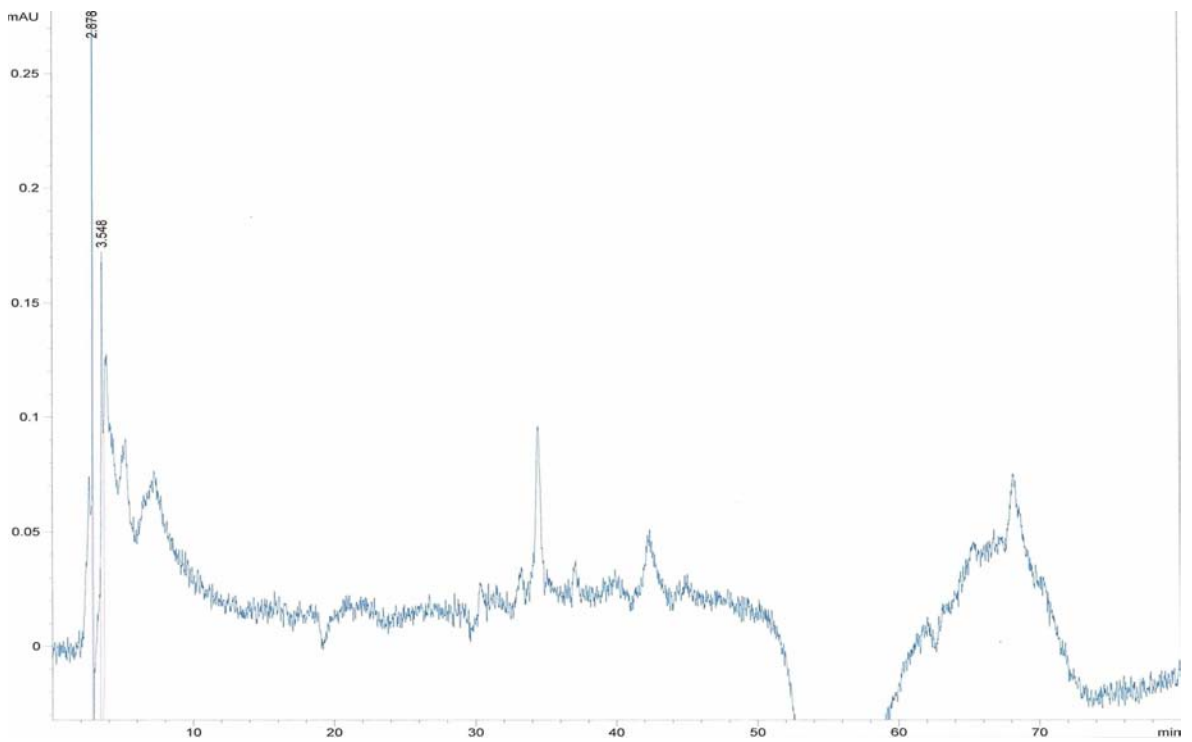
Vietnam LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



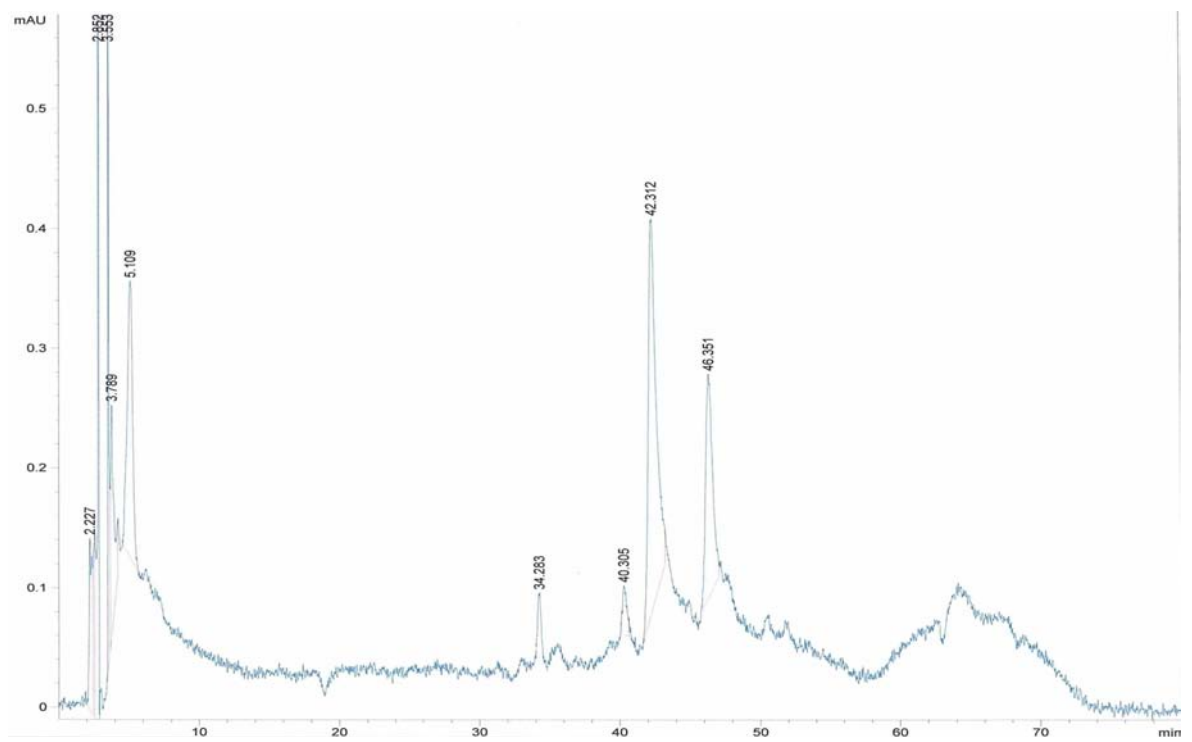
Japan LR70ER: NH_4OH fraction flavonoids method (UV 270 nm)



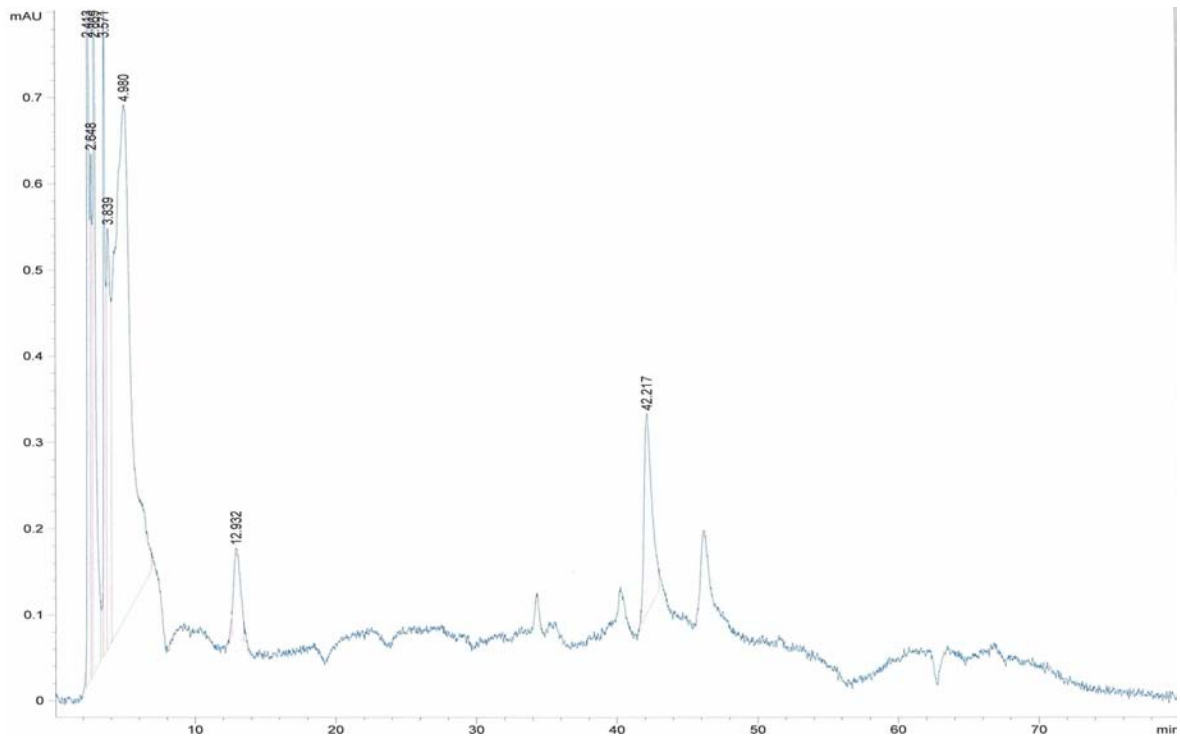
Siheung in Korea LR70ER: NH_4OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



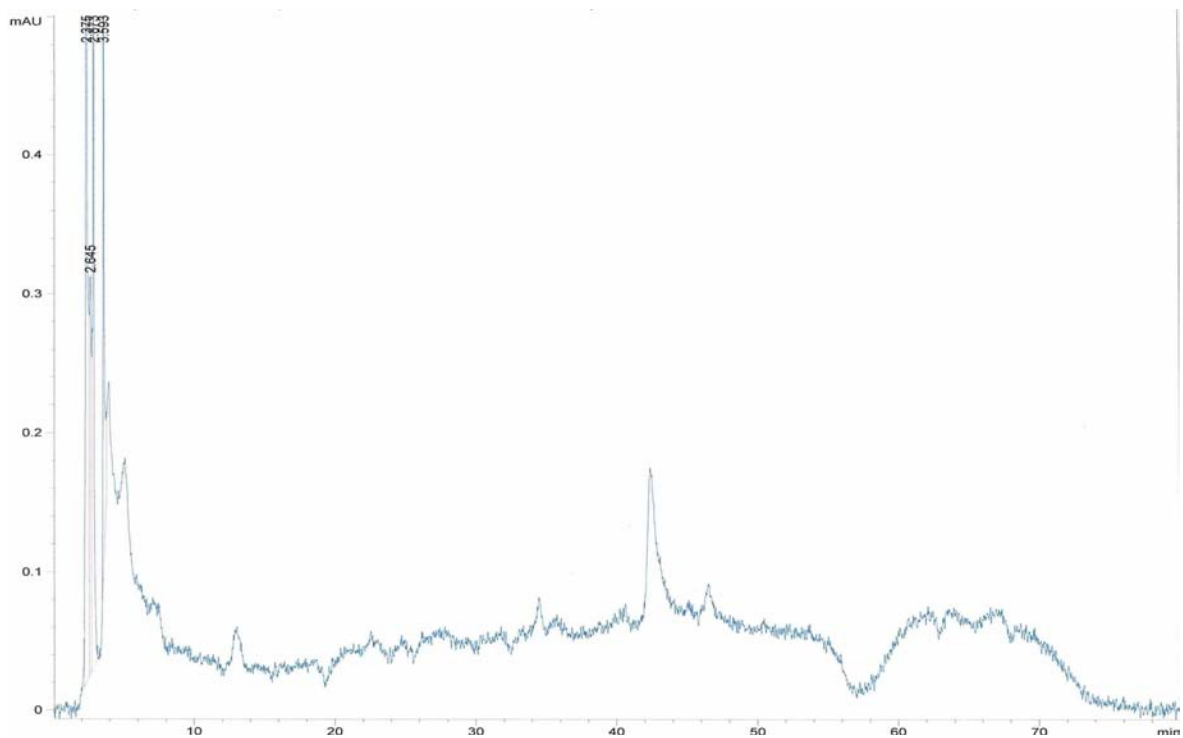
Muan in Korea LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



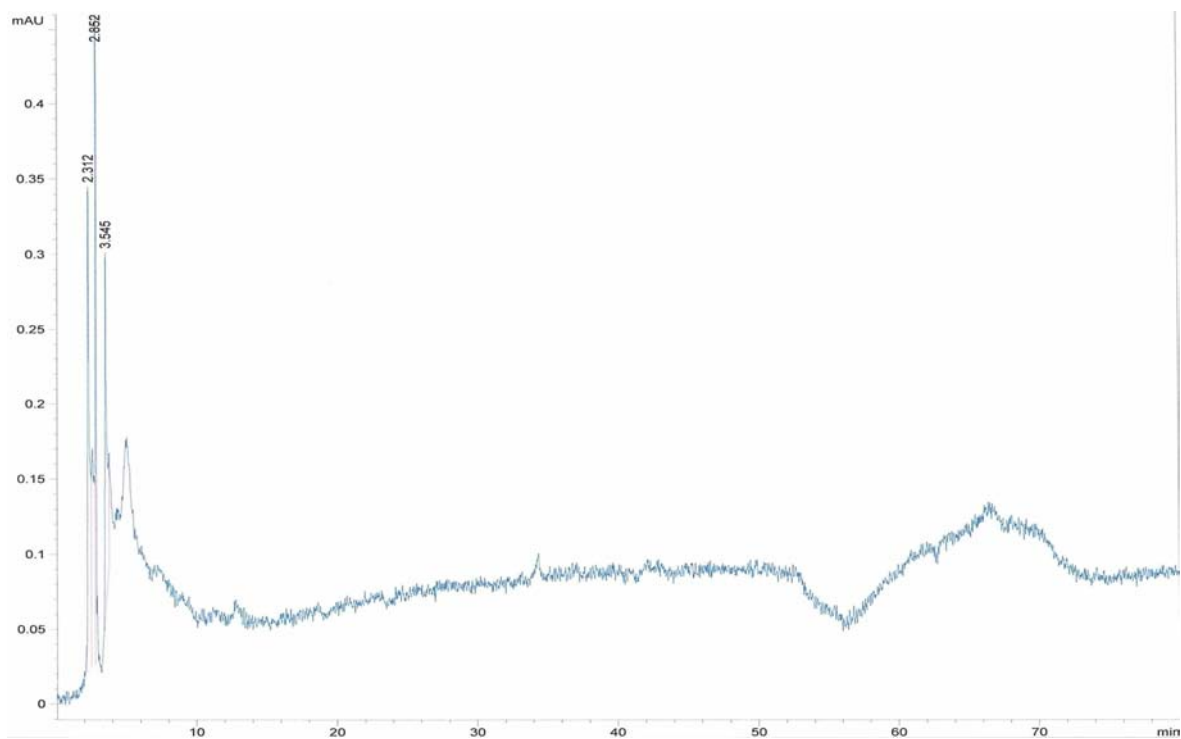
Daegu in Korea LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



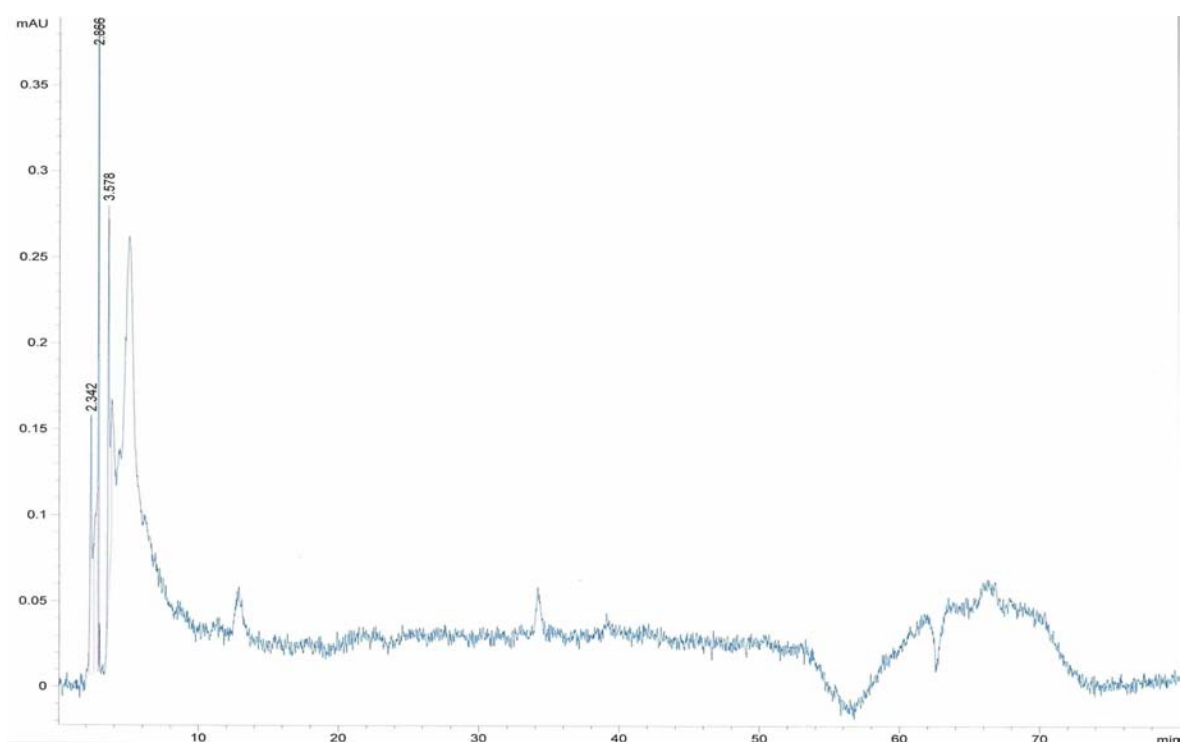
Haman in Korea LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)



Guangxi in China LR LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

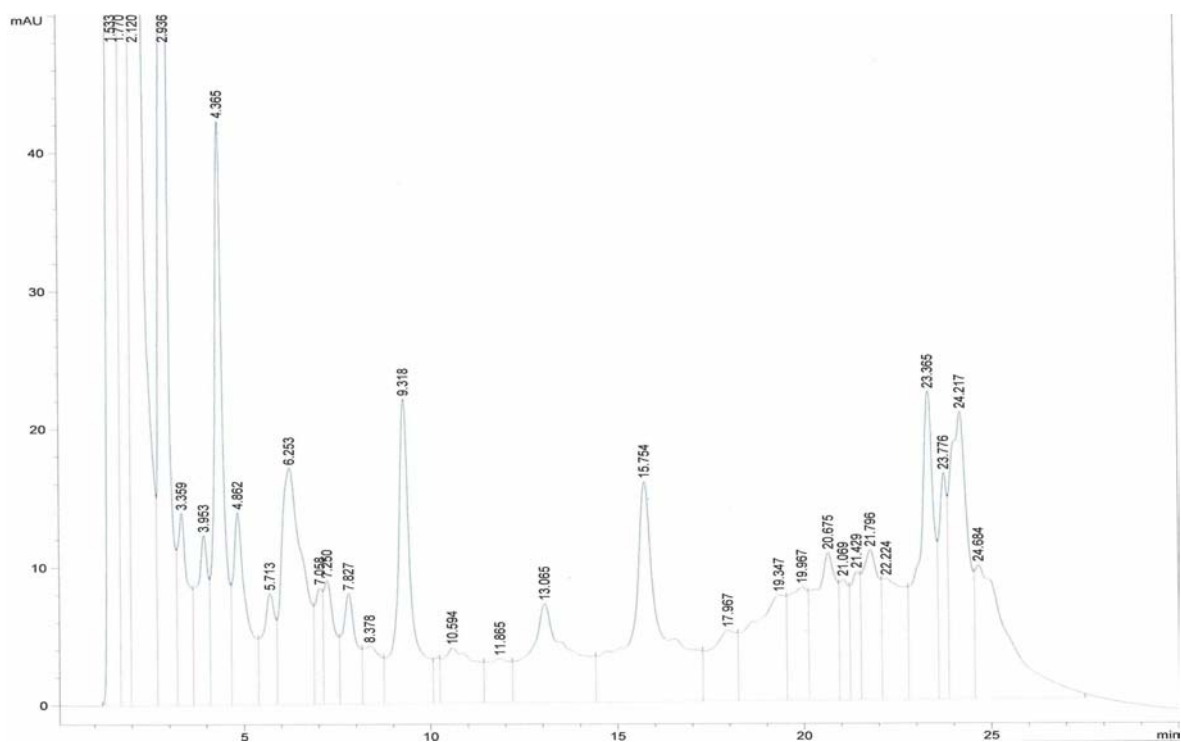


Vietnam LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

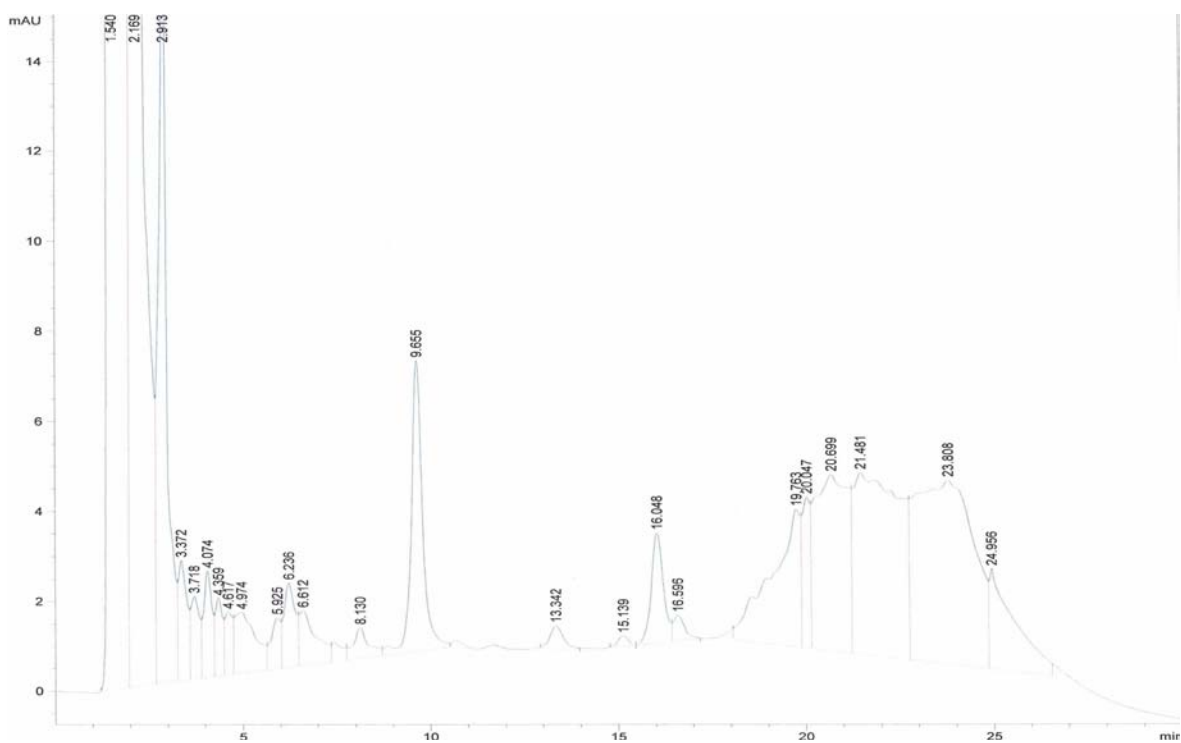


Japan LR70ER: NH₄OH fraction flavonoids method (UV 350 nm)

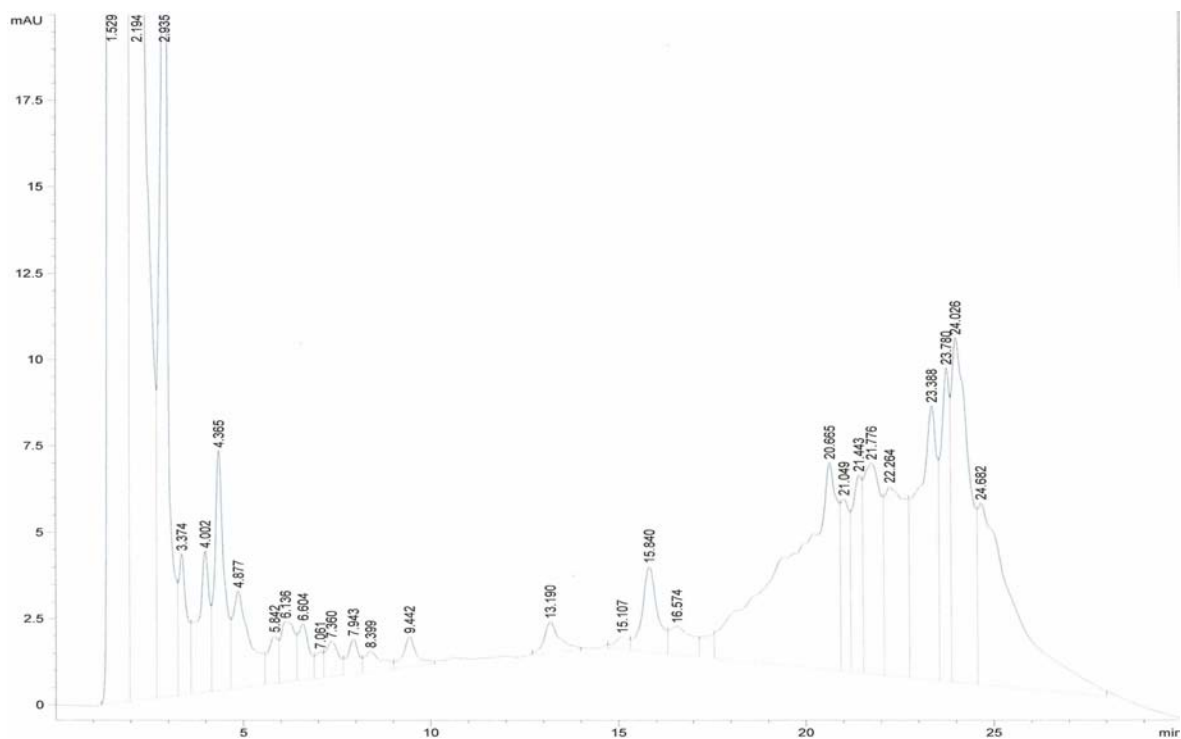
Fig. 4-6 The HPLC chromatogram of flavonoids from NH₄OH fraction of LR70ER



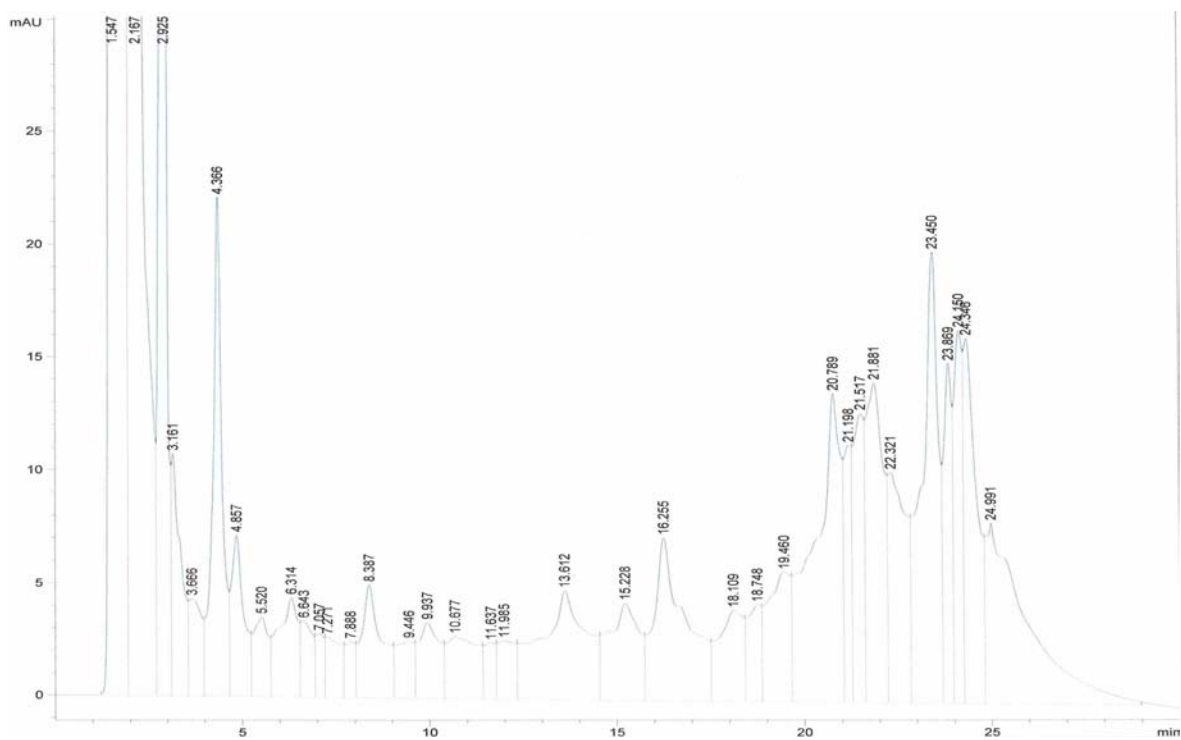
Siheung in Korea LS70R: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



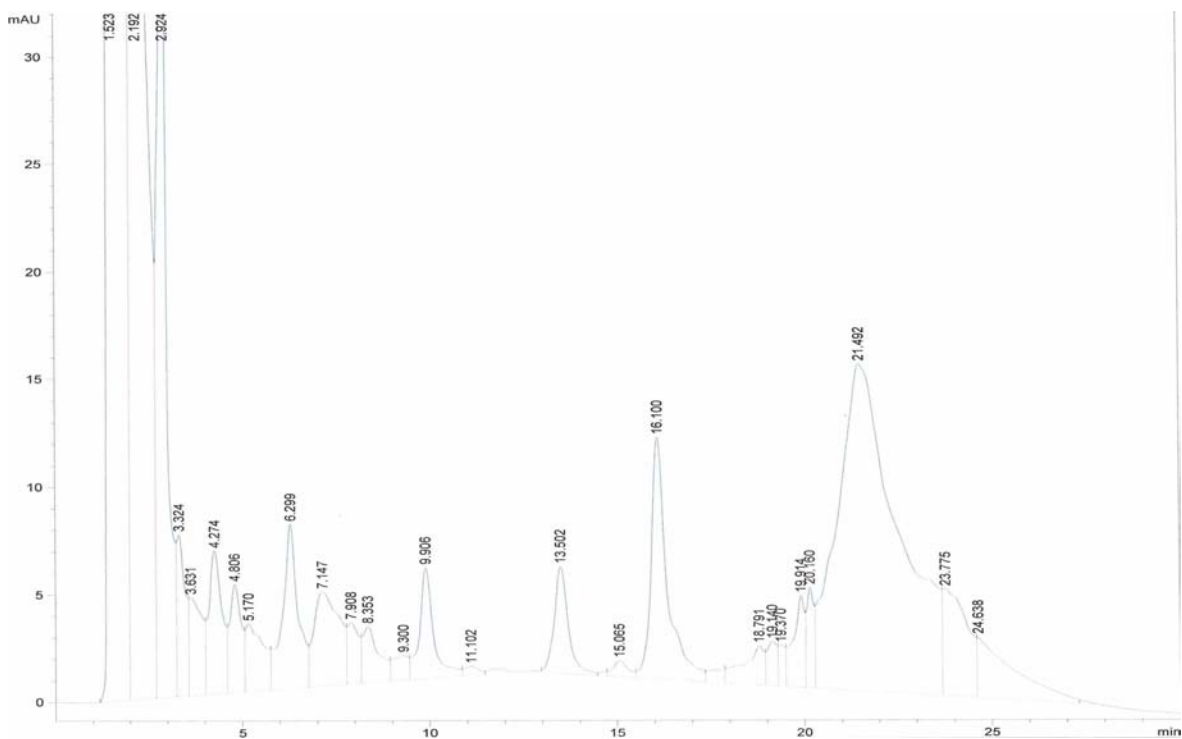
Muan in Korea LS70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



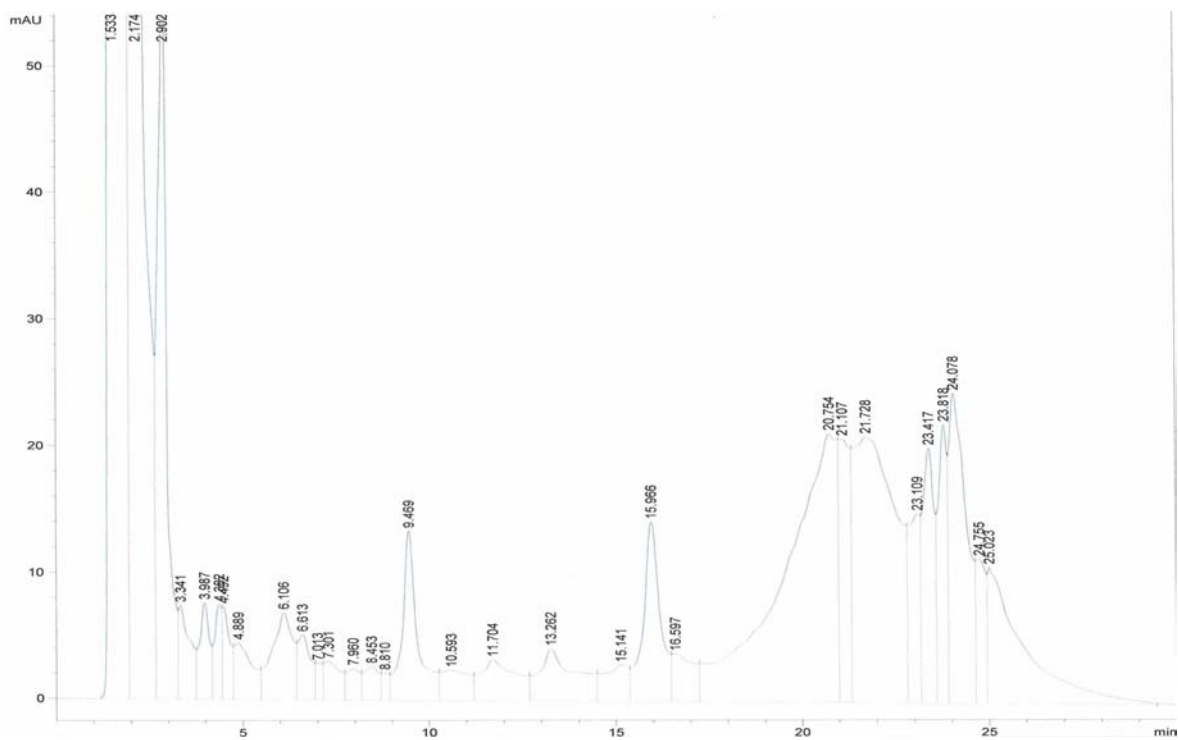
Guangzhou in China LS70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



Hubei in China LS70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

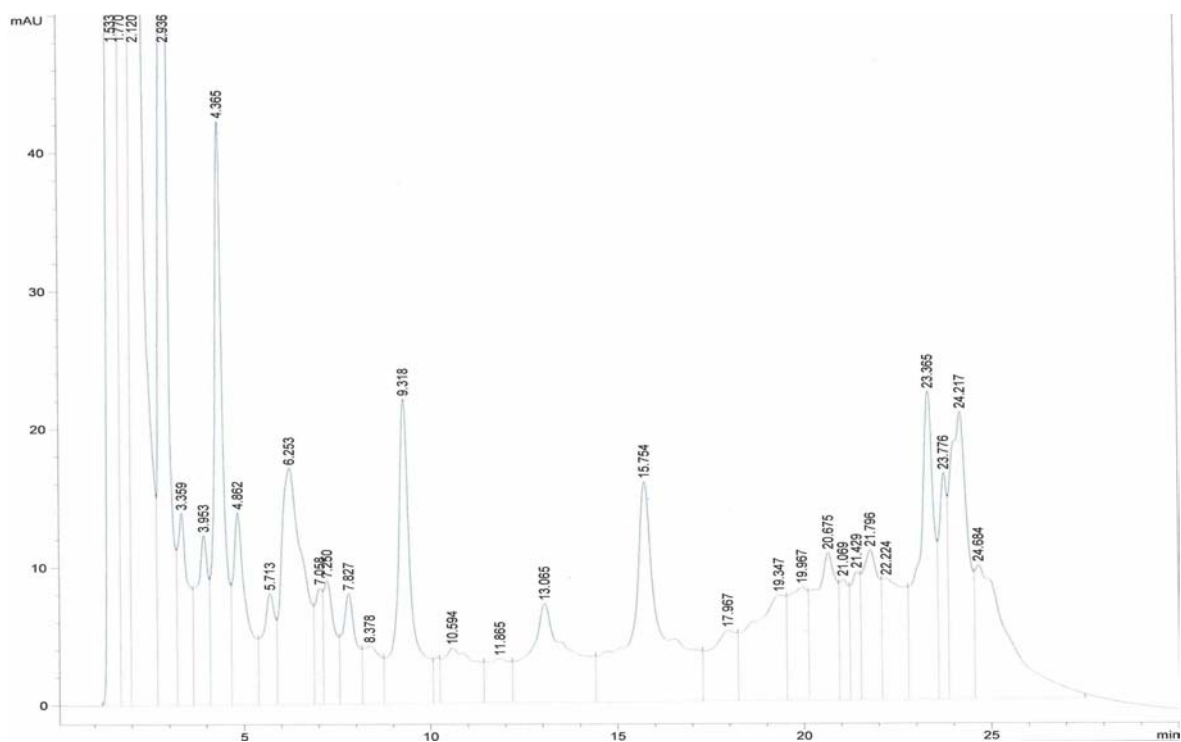


Vietnam LS70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

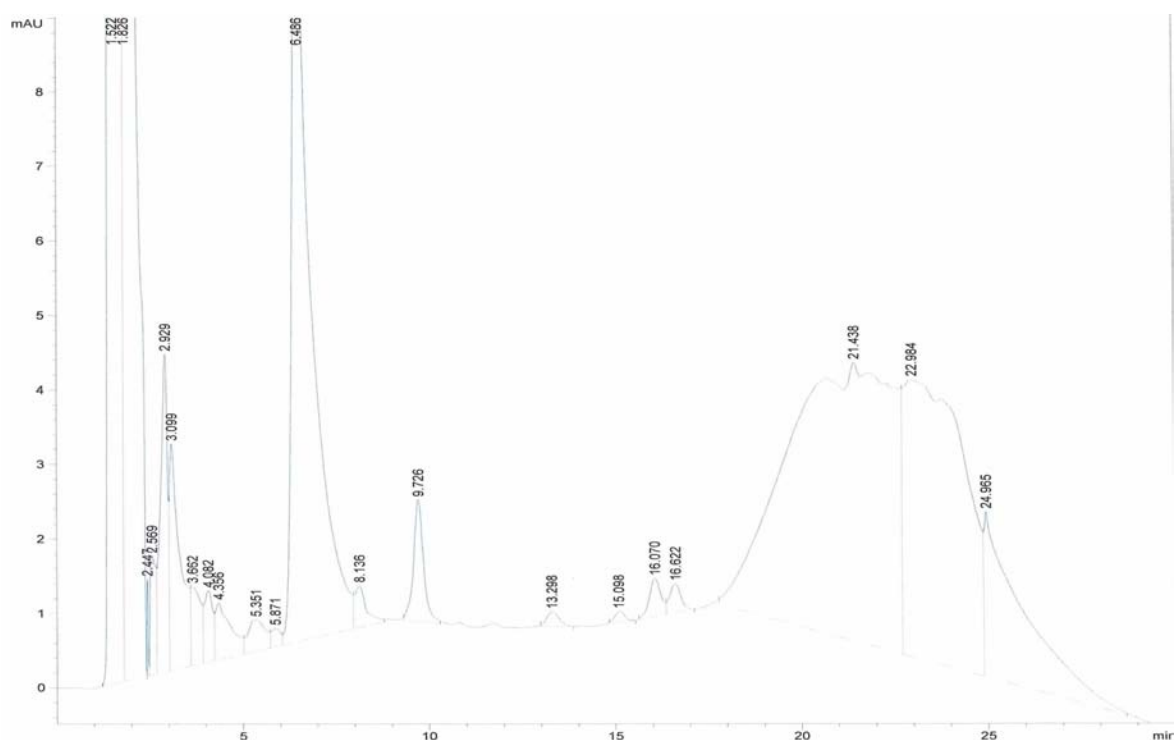


Thailand LS70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

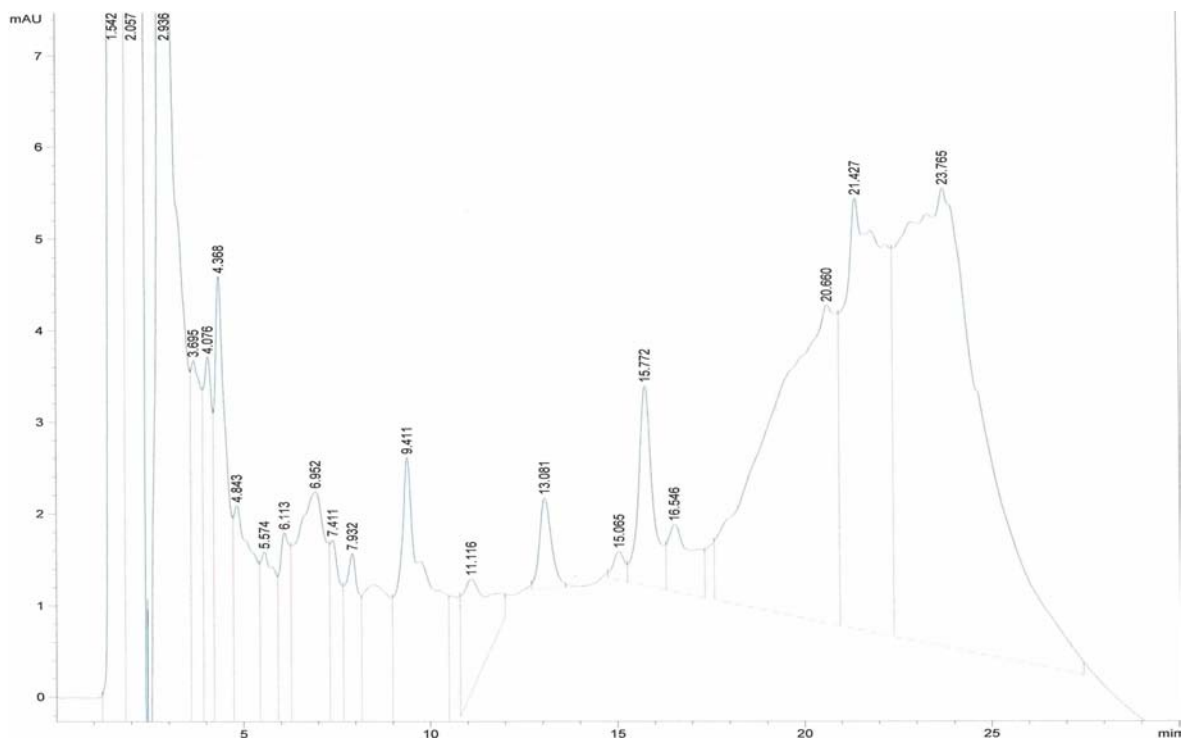
Fig. 4-7 The HPLC chromatogram of alkaloids from Re-EtOH of LS70ER



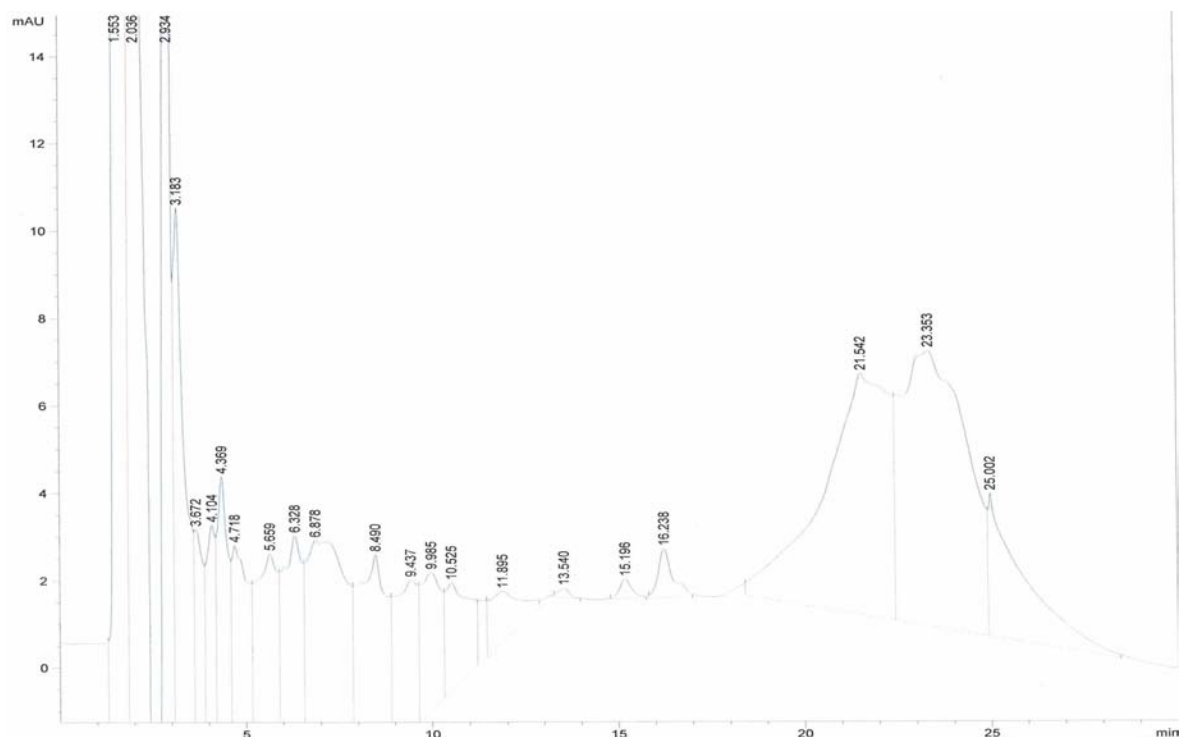
Siheung in Korea LS70ER: NH₄OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



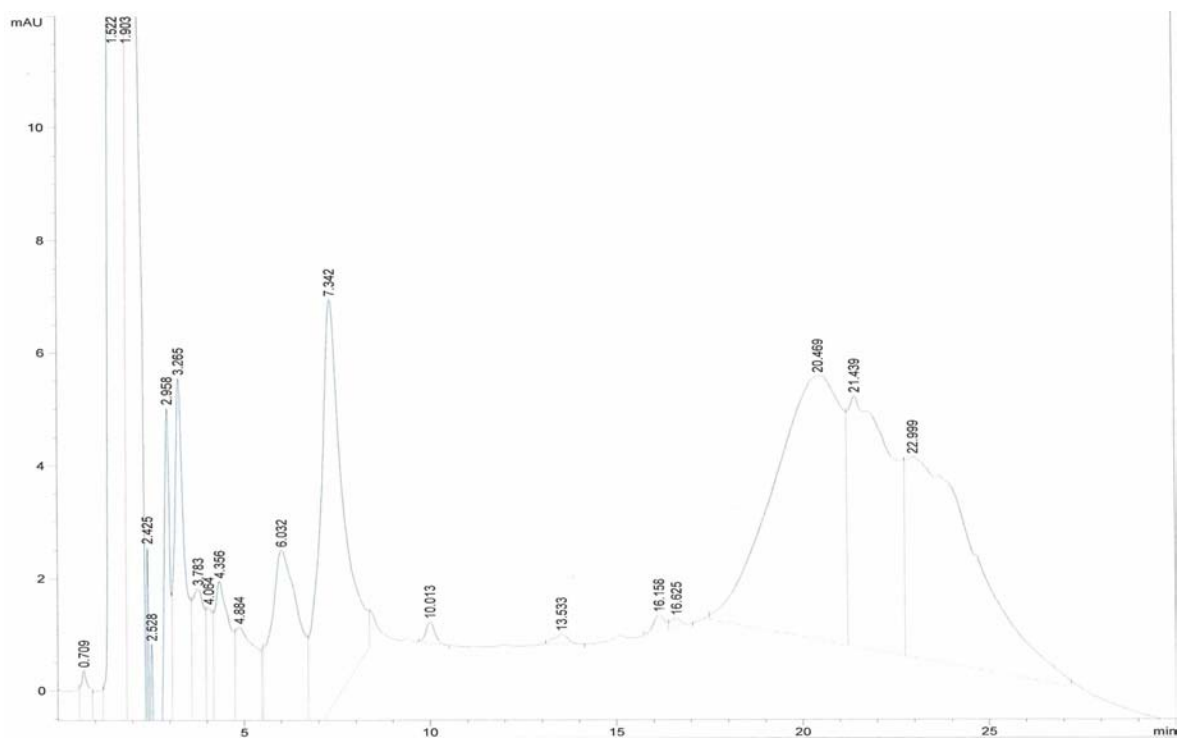
Muan in Korea LS70ER: NH₄OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



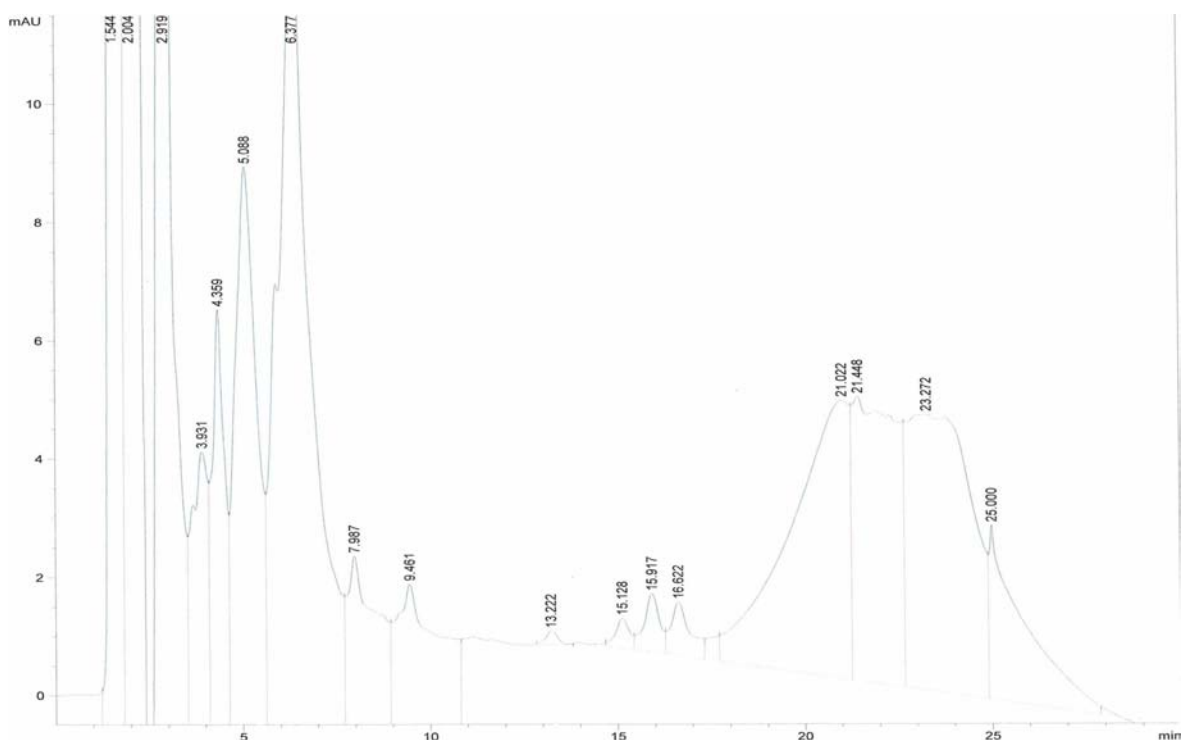
Guangzhou in China LS70ER: NH₄OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



Hubei in China LS70ER: NH₄OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

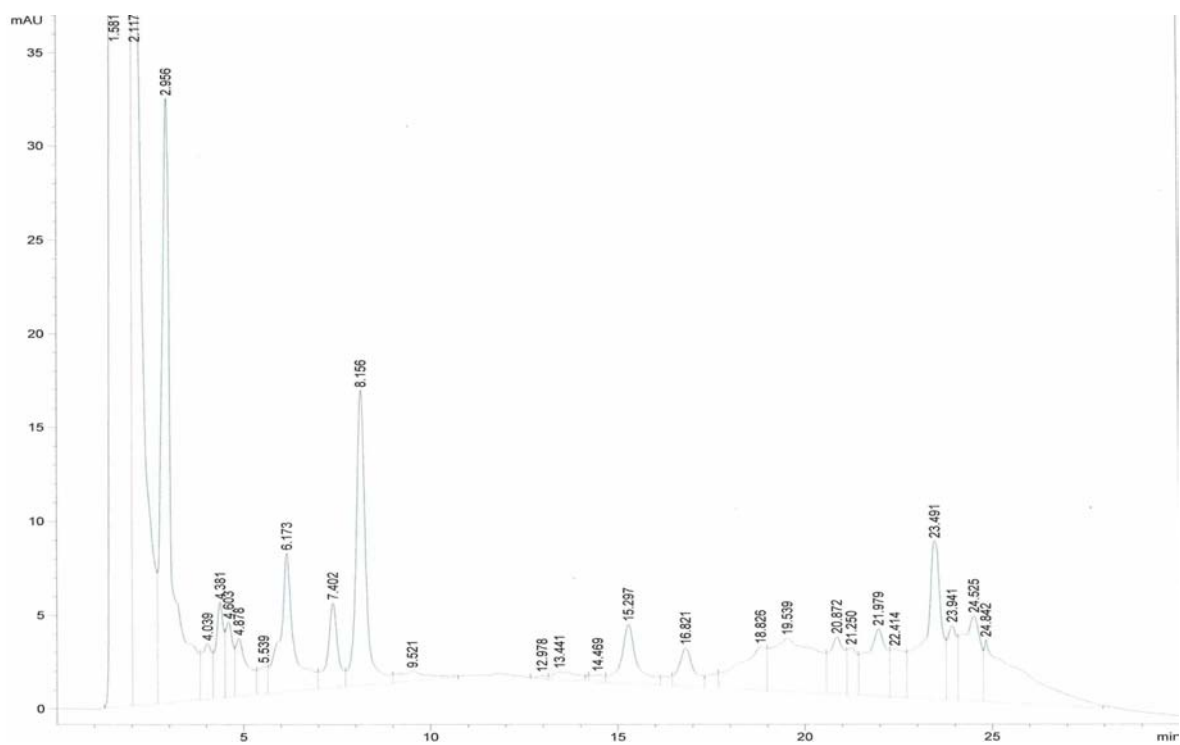


Vietnam LS70ER: NH_4OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

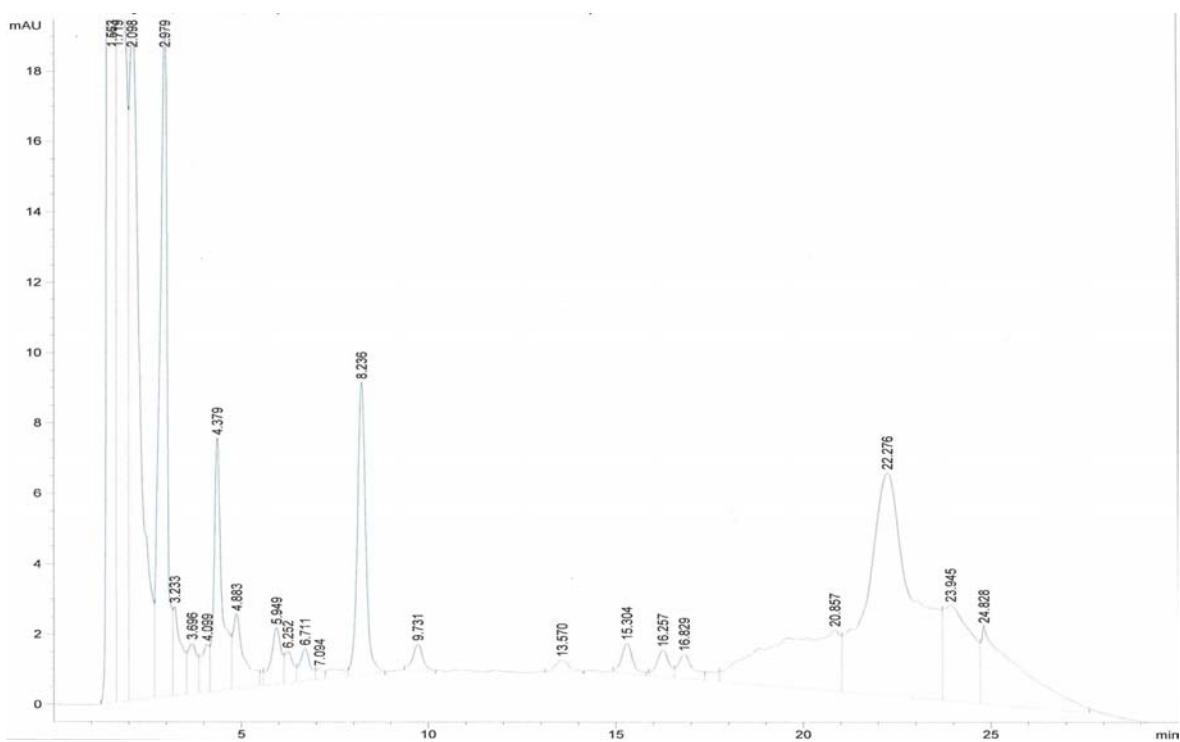


Thailand LS70ER: NH_4OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

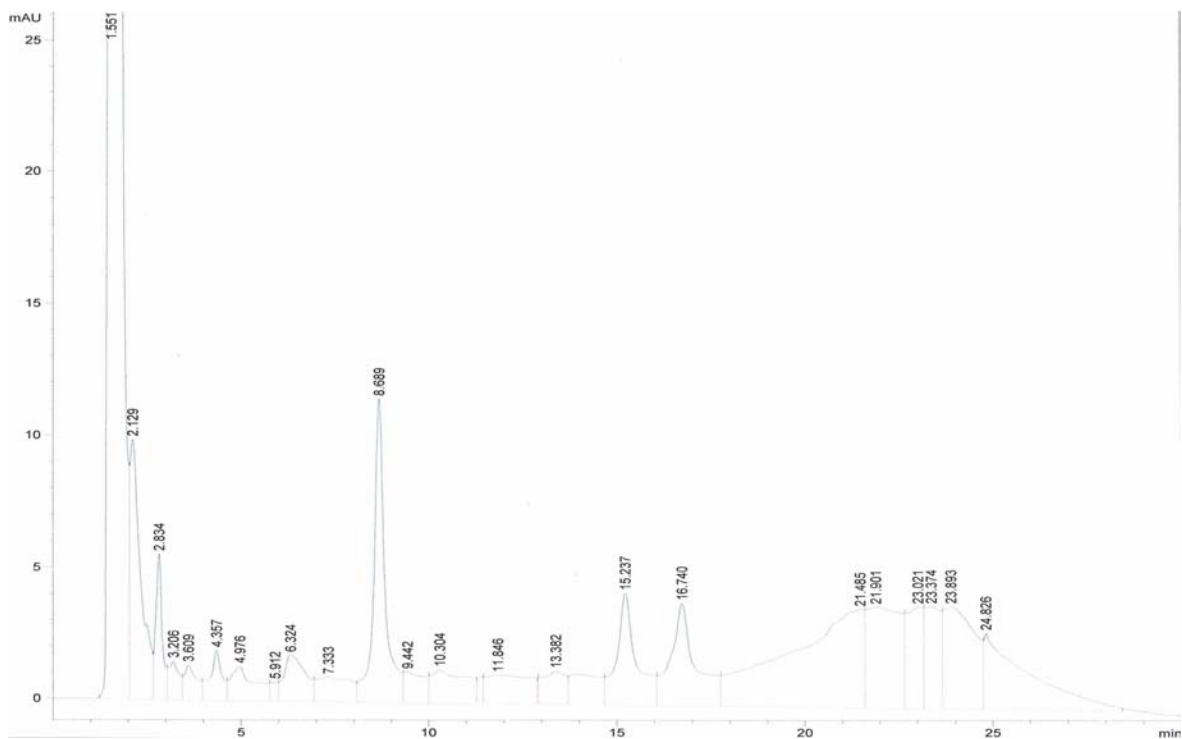
Fig. 4-8 The HPLC chromatogram of alkaloids from NH_4OH fraction of LS70ER



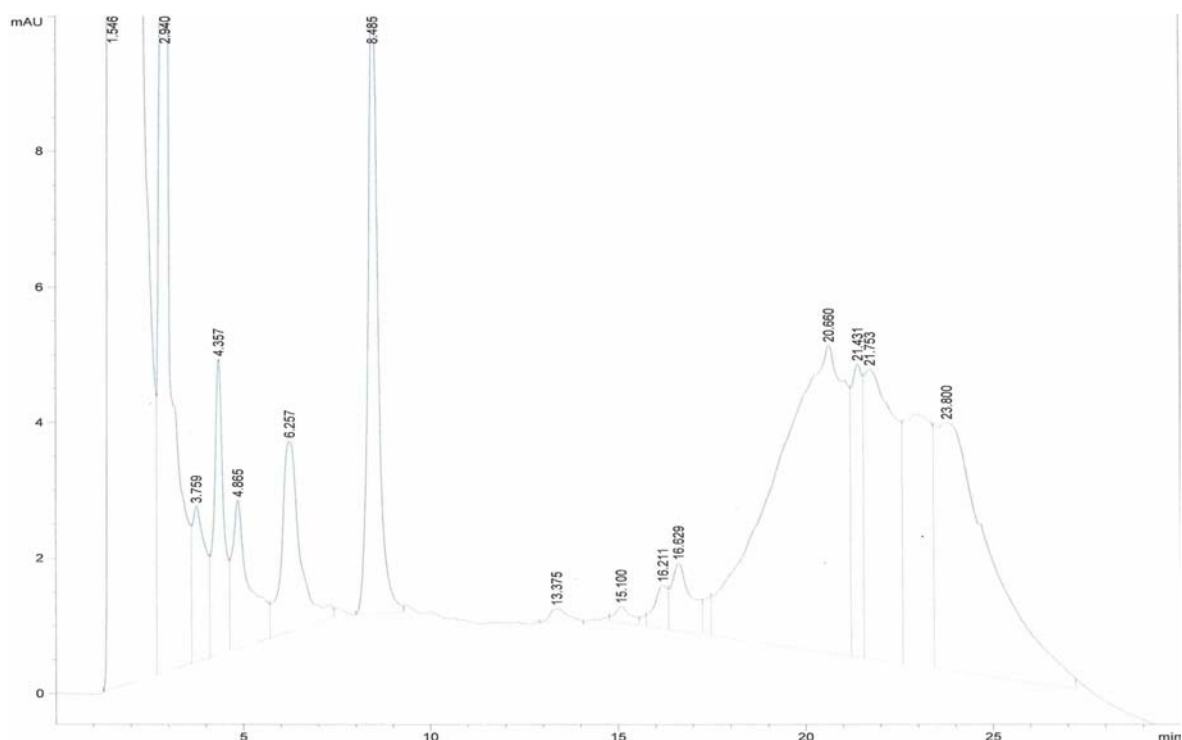
Siheung in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



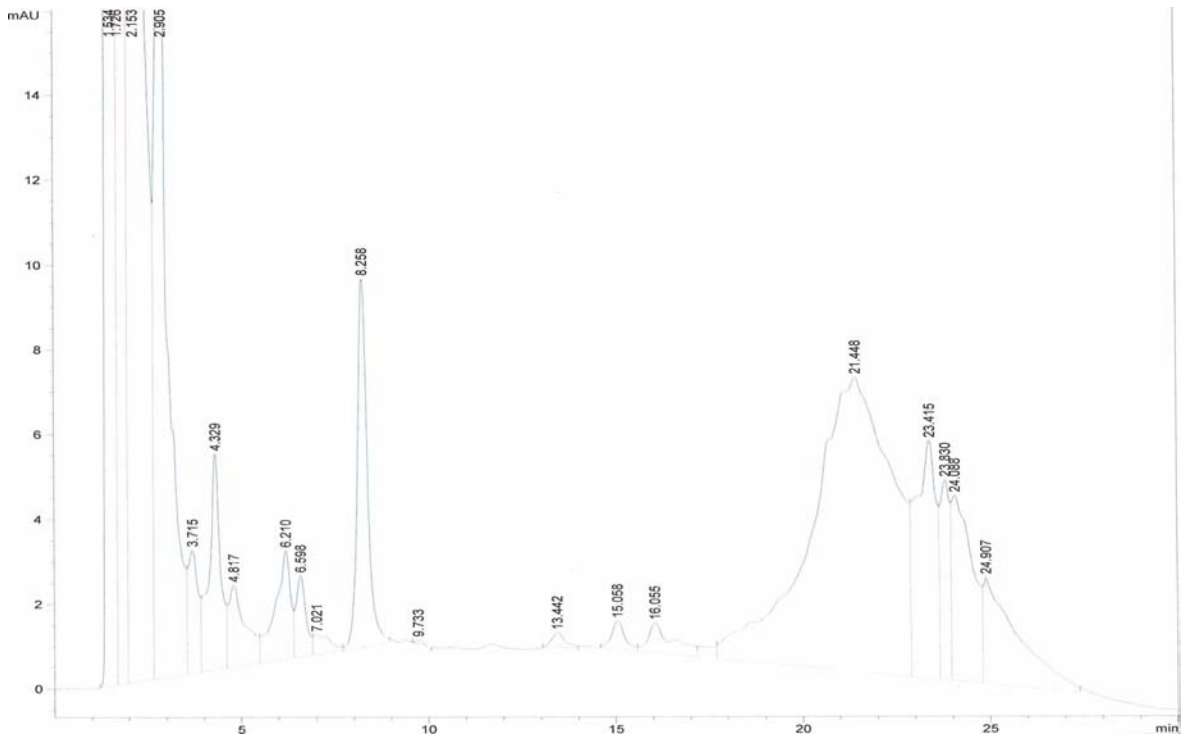
Muan in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



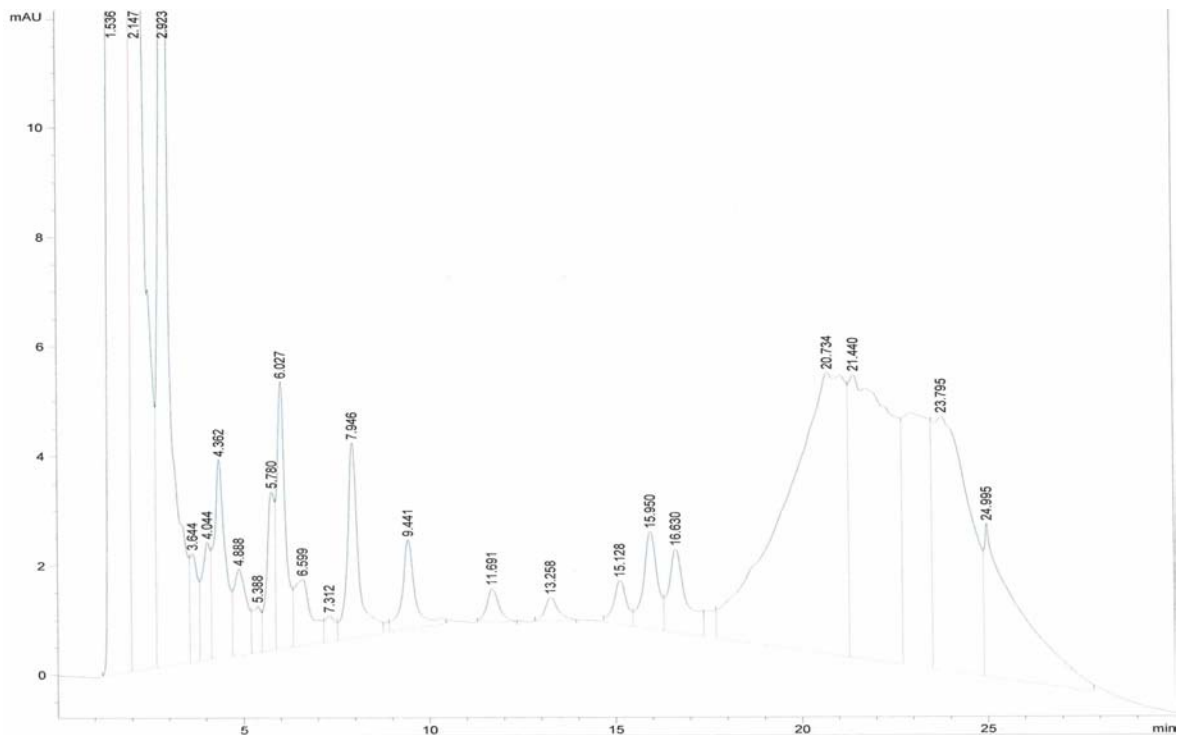
Daegu in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



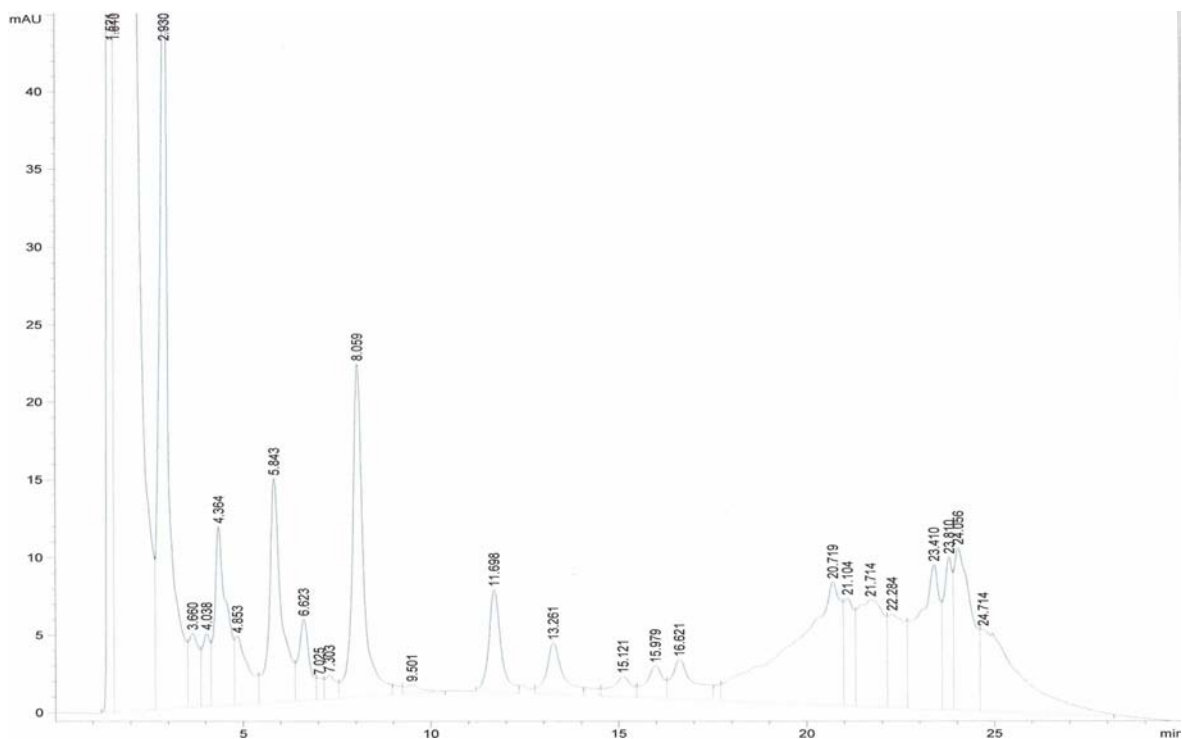
Haman in Korea LR70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



Guangxi in China LR70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

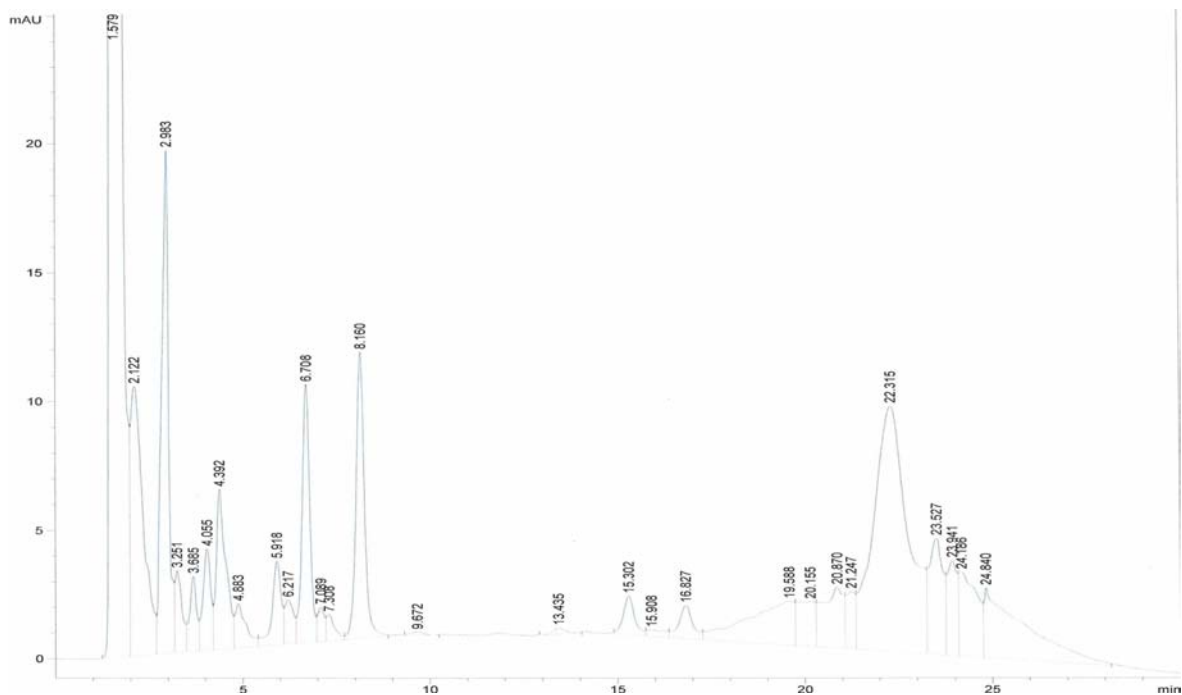


Vietnam LR70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

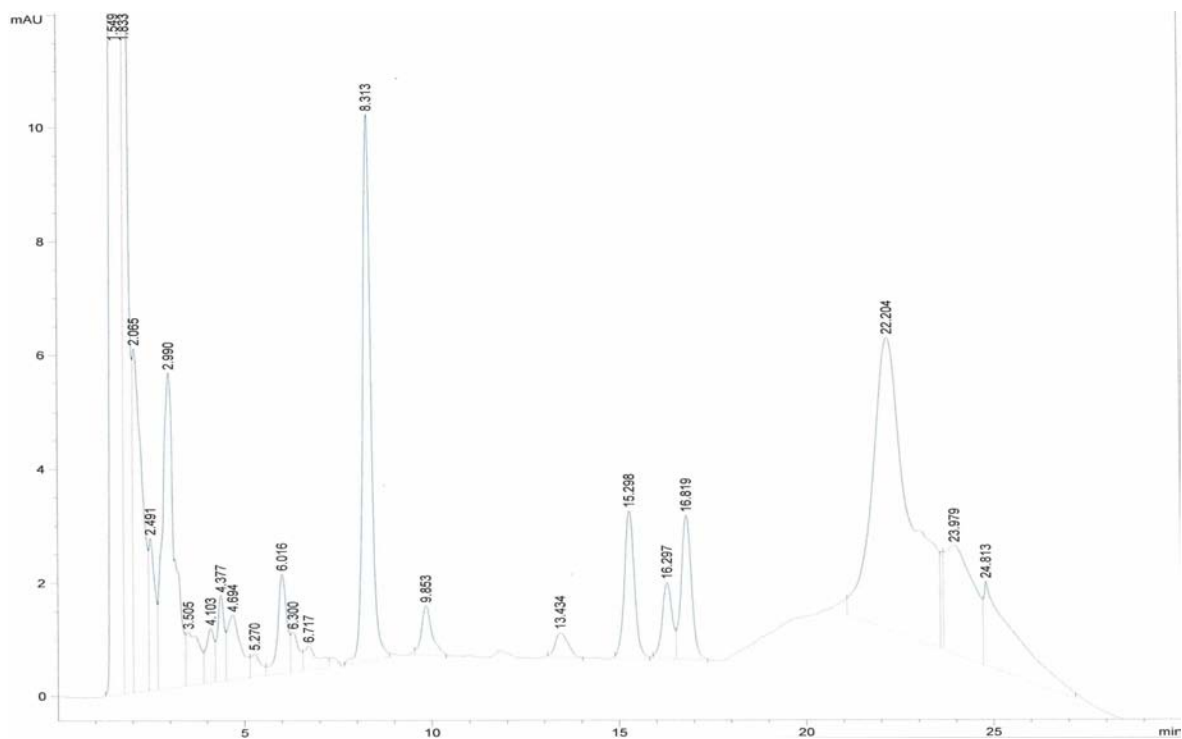


Japan LR70ER: Re-EtOH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

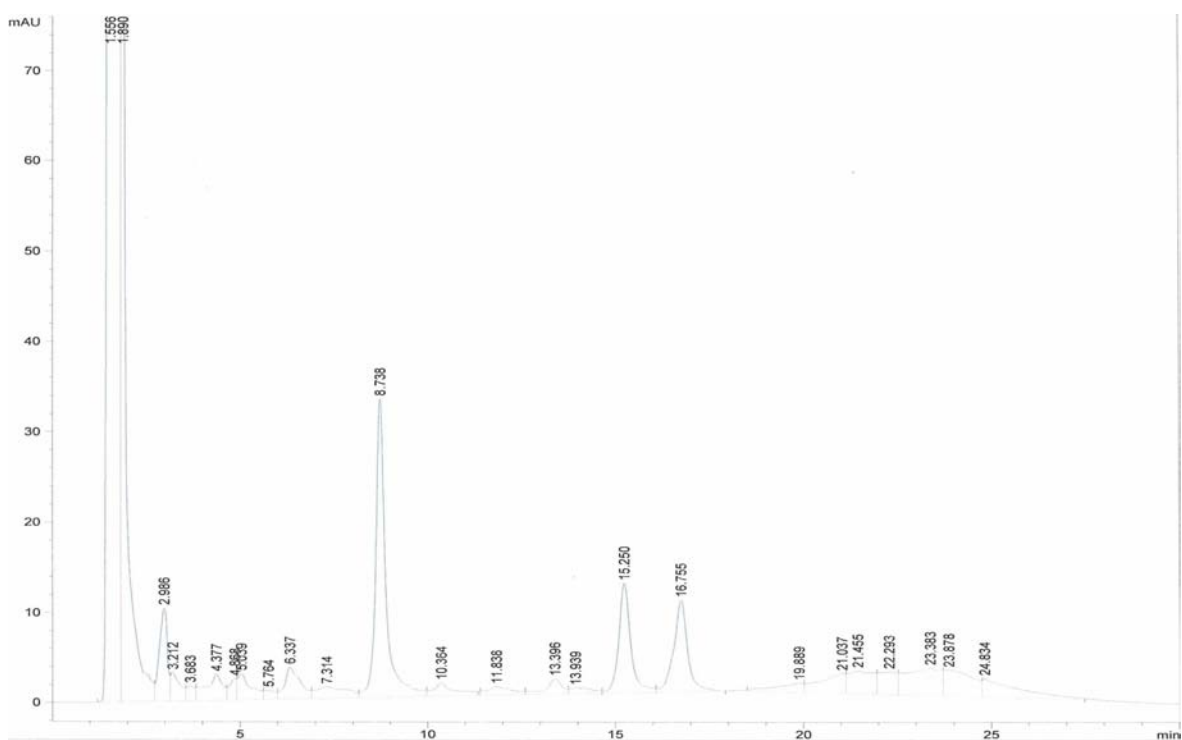
Fig. 4-9 The HPLC chromatogram of alkaloids from Re-EtOH fraction of LR70ER



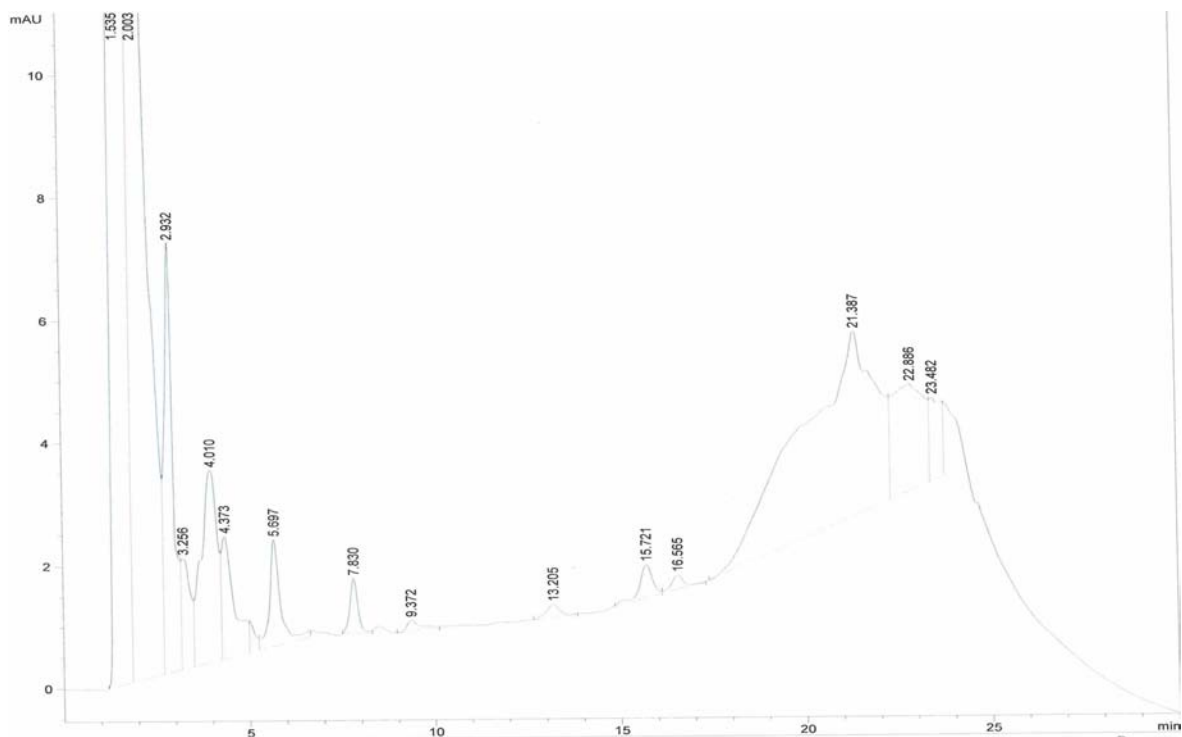
Siheung in Korea LR70ER: NH₄OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



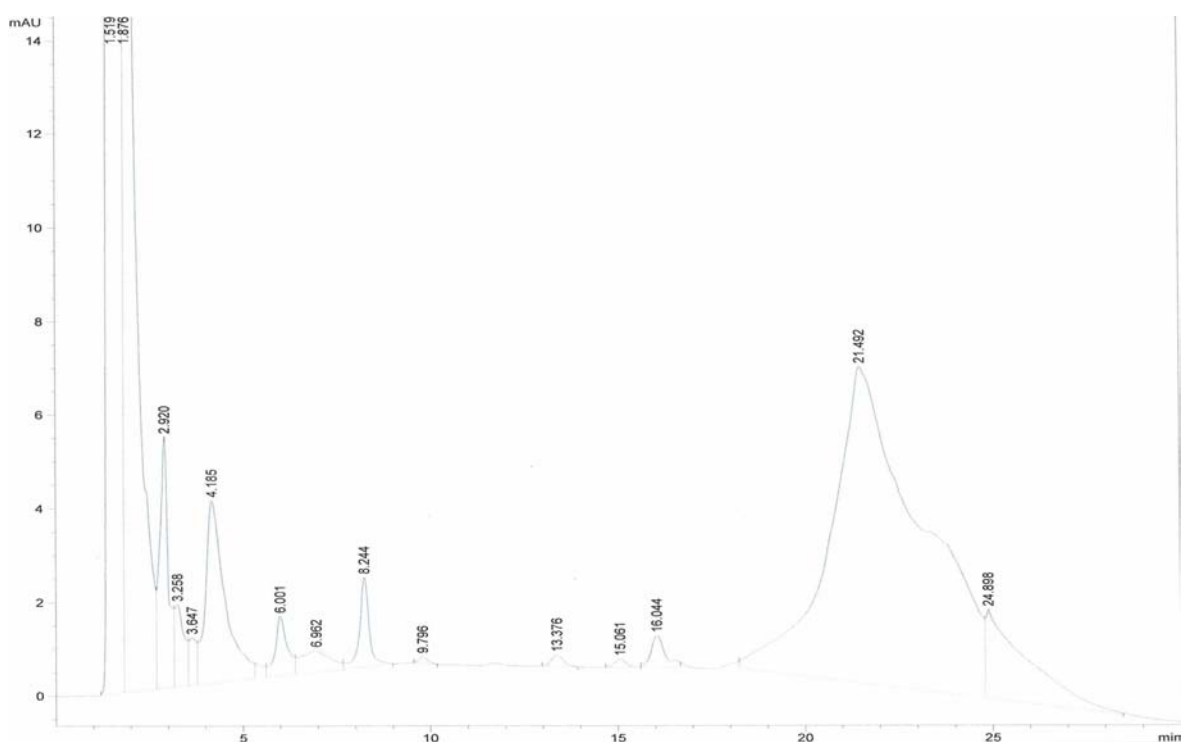
Muan in Korea LR70ER: NH₄OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



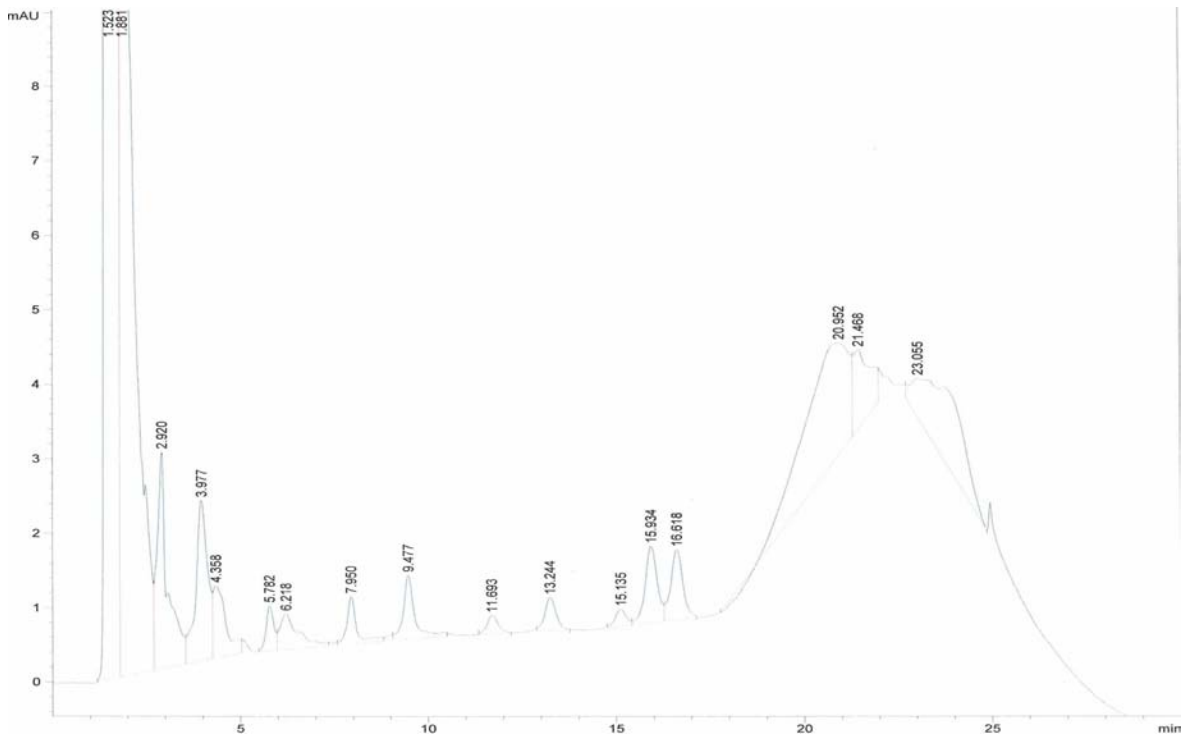
Daegu in Korea LR70ER: NH₄OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



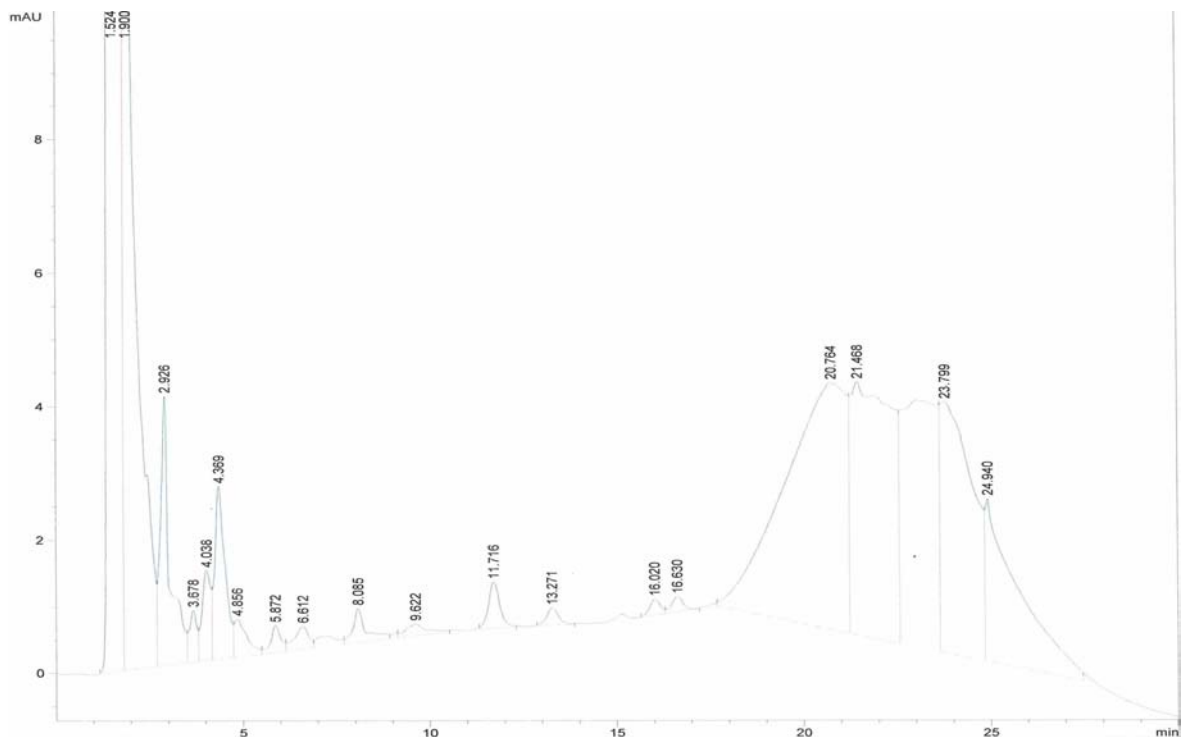
Haman in Korea LR70ER: NH_4OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



Guangxi in China LR70ER: NH_4OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



Vietnam LR70ER: NH_4OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)



Japan LR70ER: NH_4OH fraction alkaloids method (UV 270 nm)

Fig. 4-10 The HPLC chromatogram of alkaloids from NH_4OH fraction of LR70ER

Table 4–15 Concentrations of flavonoids from Re–EtOH fraction, NH₄OH fraction, and LS70E of lotus seeds

Flavonoids (mg/g)		Area					
		Korea		China		Vietnam	Thailand
		Siheung	Muan	Guangzhou	Hubei		–
Hydroxybenzic acid	Re–EtOH fraction	0.14±0.06 ^{1)ab2)}	0.16±0.01 ^{ab}	0.19±0.03 ^b	0.11±0.01 ^a	0.44±0.06 ^c	0.10±0.01 ^a
	NH ₄ OH fraction	1.34±0.07 ^a	0.08±0.01 ^b	0.38±0.002 ^c	0.27±0.01 ^d	0.28±0.02 ^d	0.77±0.01 ^e
	LS70E	0.03±0.004 ^a	0.01±0.001 ^b	0.02±0.001 ^c	0.01±0.001 ^b	0.03±0.003 ^d	0.03±0.001 ^d
Catechin	Re–EtOH fraction	4.49±0.31 ^a	8.17±0.79 ^b	6.96±0.81 ^c	2.45±0.16 ^d	27.96±0.35 ^e	2.70±0.34 ^d
	NH ₄ OH fraction	1.59±0.20 ^a	0.76±0.10 ^b	–	–	3.23±0.19 ^c	5.57±0.79 ^d
	LS70E	0.41±0.03 ^a	0.47±0.04 ^b	0.27±0.03 ^c	0.10±0.10 ^d	1.51±0.02 ^e	0.32±0.01 ^f
Astragaline	Re–EtOH fraction	1.15±1.31 ^a	1.67±0.23 ^a	0.61±0.68 ^a	0.92±0.58 ^a	7.96±0.22 ^b	1.53±1.19 ^a
	NH ₄ OH fraction	–	–	–	–	–	–
	LS70E	0.10±0.11 ^a	0.09±0.01 ^a	0.02±0.03 ^a	0.04±0.02 ^a	0.41±0.01 ^b	0.11±0.08 ^a
Rutin	Re–EtOH fraction	10.12±1.17 ^a	21.81±0.25 ^b	17.35±2.40 ^c	18.64±1.47 ^c	29.72±0.72 ^d	7.14±0.80 ^e
	NH ₄ OH fraction	–	–	–	–	–	–
	LS70E	0.87±0.10 ^a	1.21±0.01 ^b	0.67±0.09 ^c	0.74±0.06 ^c	1.53±0.04 ^d	0.49±0.06 ^e
Isoquercitrin	Re–EtOH fraction	5.44±0.17 ^a	5.72±0.06 ^a	5.61±0.37 ^a	6.61±0.37 ^a	6.61±1.57 ^a	2.89±0.38 ^b
	NH ₄ OH fraction	–	–	–	–	–	–
	LS70E	0.47±0.02 ^a	0.32±0.003 ^b	0.22±0.04 ^c	0.26±0.02 ^{bc}	0.32±0.08 ^b	0.20±0.03 ^c
Kaempherol	Re–EtOH fraction	–	–	–	–	0.09±0.004	–
	NH ₄ OH fraction	–	–	–	–	–	–
	LS70E	–	–	–	–	0.004±0.0002	–

¹⁾Mean±SD

²⁾Values with ^{abcdef} means in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$) among the areas.

Table 4-16 Concentrations of flavonoids from Re-EtOH fraction, NH₄OH fraction, and LR70E of lotus rhizomes

Flavonoids (mg/g)		Area						
		Korea			China	Vietnam	Japan	
		Siheung	Muan	Daegu	Haman	Guangxi	—	
Hydroxybenzoic acid	Re-EtOH fraction	0.09±0.03 ^{1)NS2)}	0.05±0.01	0.07±0.04	0.06±0.003	0.08±0.01	—	—
	NH ₄ OH fraction	0.09±0.02 ^{a3)}	0.03±0.03 ^b	0.04±0.01 ^b	0.02±0.02 ^b	0.03±0.01 ^b	0.03±0.002 ^b	0.02±0.0002 ^b
	LS70E	0.006±0.002 ^{ac}	0.003±0.001 ^b	0.005±0.003 ^{abc}	0.005±0.001 ^{ab}	0.007±0.001 ^c	0.0006±0.00 ^d	0.0004±0.00 ^d
Catechin	Re-EtOH fraction	17.71±6.84 ^a	2.96±0.67 ^b	5.81±0.73 ^b	1.88±0.06 ^b	2.65±0.21 ^b	1.59±0.11 ^b	5.15±2.07 ^b
	NH ₄ OH fraction	6.33±1.03 ^a	0.65±0.17 ^b	0.66±0.20 ^b	0.19±0.06 ^b	0.27±0.10 ^b	0.15±0.001 ^b	0.15±0.02 ^b
	LS70E	1.06±0.40 ^a	0.17±0.03 ^b	0.37±0.04 ^b	0.14±0.01 ^b	0.22±0.02 ^b	0.09±0.01 ^b	0.39±0.35 ^b
Astragaline	Re-EtOH fraction	0.82±0.04 ^{ab}	1.27±0.83 ^b	—	0.20±0.03 ^a	0.33±0.01 ^a	0.50±0.09 ^a	—
	NH ₄ OH fraction	—	0.29±0.09	—	—	—	—	—
	LS70E	0.05±0.002 ^{ab}	0.07±0.04 ^b	—	0.01±0.002 ^a	0.03±0.001 ^a	0.03±0.005 ^a	—
Isoquercitrin	Re-EtOH fraction	2.13±0.76 ^{NS}	0.99±0.98	—	—	—	—	—
	NH ₄ OH fraction	2.48±1.48 ^{NS}	1.28±0.33	—	—	—	—	—
	LS70E	0.14±0.04 ^{NS}	0.07±0.06	—	—	—	—	—

¹⁾ Mean±SD

²⁾ Values with ^{NS} superscripts are not significantly different

³⁾ Values with ^{abcd} means in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$) among the areas.

Table 4–17 Concentrations of alkaloids from Re–EtOH fraction, NH₄OH fraction, and LS70E of lotus seeds

Alkaloids (mg/g)		Area					
		Korea		China		Vietnam	Thailand
		Siheung	Muan	Guangzhou	Hubei		–
Nuciferine	Re–EtOH fraction	4.61±0.25 ^{1)a2)}	1.78±0.08 ^b	0.50±0.04 ^c	2.35±0.12 ^d	0.83±0.04 ^e	1.48±0.16 ^f
	NH ₄ OH fraction	0.14±0.07 ^{NS3)}	0.32±0.05	0.52±0.60	0.30±0.06	0.15 ± 0.16	0.35±0.04
	LS70E	0.40±0.02 ^a	0.11±0.01 ^b	0.03±0.02 ^c	0.10±0.01 ^b	0.05±0.003 ^c	0.11±0.01 ^b
Dauricine	Re–EtOH fraction	2.20±0.81 ^{NS}	–	–	3.83±0.50	–	3.53±0.99
	NH ₄ OH fraction	–	–	–	–	–	–
	LS70E	0.19±0.07 ^{NS}	–	–	0.15±0.02	–	0.25±0.07
Isoliensinine	Re–EtOH fraction	25.49±2.36 ^a	1.49±0.15 ^b	7.00±0.32 ^c	44.04±2.97 ^d	7.19±0.47 ^c	9.61±1.62 ^c
	NH ₄ OH fraction	0.60±0.12 ^a	0.28±0.24 ^a	1.29±0.08 ^a	3.75±1.22 ^b	0.81±0.59 ^a	0.33±0.13 ^a
	LS70E	2.20±0.20 ^a	0.09±0.01 ^b	0.31±0.01 ^c	1.88±0.08 ^d	0.39±0.02 ^c	0.67±0.12 ^e
Neferine	Re–EtOH fraction	8.45±0.85 ^a	0.63±0.24 ^b	3.41±0.26 ^b	20.60±3.50 ^c	0.62±0.19 ^b	2.58±0.29 ^b
	NH ₄ OH fraction	2.57±0.36 ^a	0.12±0.11 ^b	0.45±0.09 ^b	2.27±0.74 ^a	–	0.42±0.07 ^b
	LS70E	0.77±0.07 ^a	0.04±0.01 ^b	0.15±0.01 ^{bc}	0.90±0.13 ^d	0.03±0.01 ^b	0.19±0.02 ^c

¹⁾ Mean±SD

²⁾ Values with ^{abcdef} means in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$) among the areas.

³⁾ Values with ^{NS} superscripts are not significantly different.

Table 4-18 Concentrations of alkaloids from Re-EtOH fraction, NH₄OH fraction, and LR70E of lotus rhizomes

Alkaloids (mg/g)		Area						
		Korea			China	Vietnam	Japan	
		Siheung	Muan	Daegu	Haman	Guangxi	—	
Nuciferine	Re-EtOH fraction	0.25±0.02 ^{1)ab2)}	0.16±0.01 ^{ab}	0.52±0.28 ^b	—	0.05±0.03 ^c	0.42±0.03 ^a	0.12±0.04 ^a
	NH ₄ OH fraction	0.08±0.01 ^a	0.30±0.01 ^{bc}	0.34±0.34 ^a	0.02±0.001 ^a	0.02±0.001 ^a	0.12 ±0.05 ^{abc}	0.04±0.02 ^a
	LS70E	0.02±0.001 ^a	0.01±0.0001 ^{acd}	0.04±0.02 ^b	0.0003±0.00 ^c	0.004±0.002 ^{ac}	0.03±0.002 ^d	0.01±0.003 ^{ac}
Dauricine	Re-EtOH fraction	—	—	—	—	—	0.59±0.13 ^{NS3)}	4.08±0.13
	NH ₄ OH fraction	—	—	0.93±0.94 ^{NS}	—	—	0.15±0.05	0.59±0.15
	LS70E	—	—	0.02±0.02 ^a	—	—	0.04±0.01 ^a	0.32±0.01 ^b
Isoliensinine	Re-EtOH fraction	1.49±0.21 ^a	0.80±0.08 ^a	3.22±1.91 ^b	0.92±0.20 ^a	0.97±0.24 ^a	1.67±1.28 ^{ab}	6.16±0.80 ^c
	NH ₄ OH fraction	1.48±0.56 ^{ac}	1.18±0.46 ^{abc}	1.80±0.88 ^c	0.21±0.03 ^d	0.26±0.06 ^d	0.41 ±0.30 ^{bd}	0.68±0.24 ^{abd}
	LS70E	0.10±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	0.23±0.11 ^b	0.07±0.02 ^a	0.08±0.02 ^a	0.10±0.07 ^a	0.47±0.06 ^c
Neferine	Re-EtOH fraction	5.66±2.51 ^a	0.91±0.16 ^b	8.34±1.91 ^c	0.55±0.05 ^b	0.98±0.46 ^b	1.61±0.82 ^b	1.63±0.69 ^b
	NH ₄ OH fraction	3.10±2.81 ^{ab}	3.68±1.53 ^b	15.72±3.37 ^c	0.10±0.07 ^a	0.14±0.01 ^a	0.18±0.06 ^a	0.22±0.16 ^a
	LS70E	0.35±0.14 ^a	0.11±0.03 ^b	0.82±0.17 ^c	0.04±0.01 ^b	0.08±0.04 ^b	0.09±0.05 ^b	0.13±0.05 ^b

¹⁾ Mean±SD

²⁾ Values with ^{abcd} means in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$) among the areas.

³⁾ Values with ^{NS} superscripts are not significantly different.

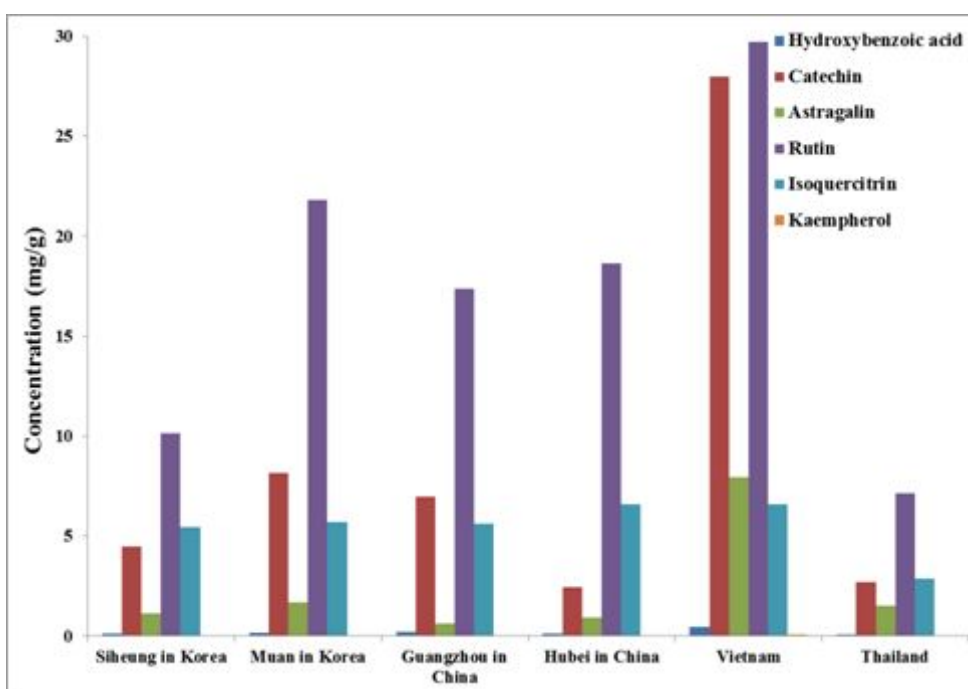


Fig. 4-11 Concentrations of flavonoids in Re-EtOH fraction of lotus seeds by HPLC analysis

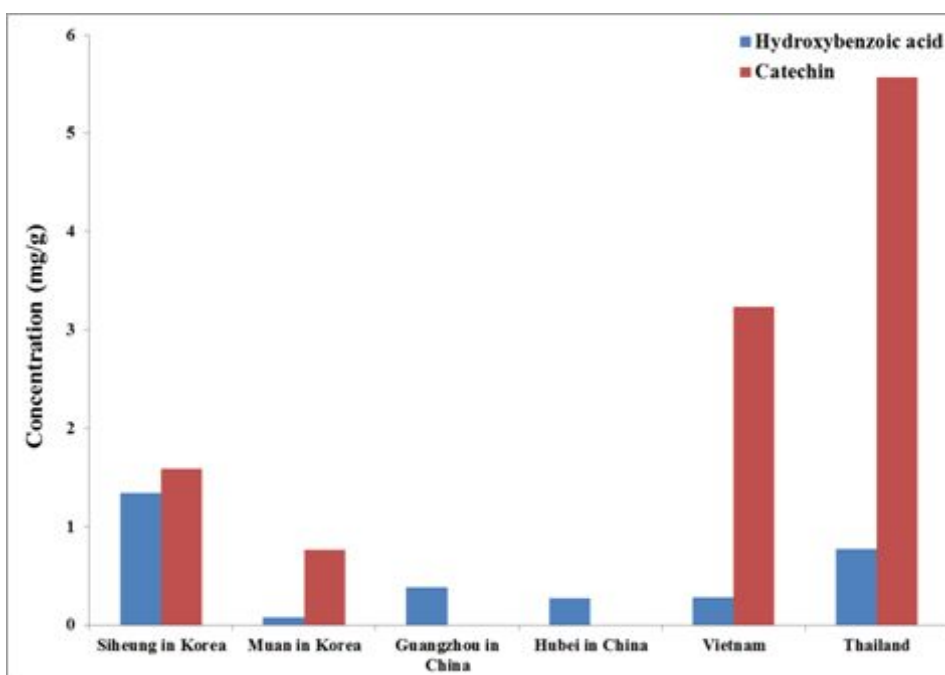


Fig. 4-12 Concentrations of flavonoids in NH₄OH fraction of lotus seeds by HPLC analysis

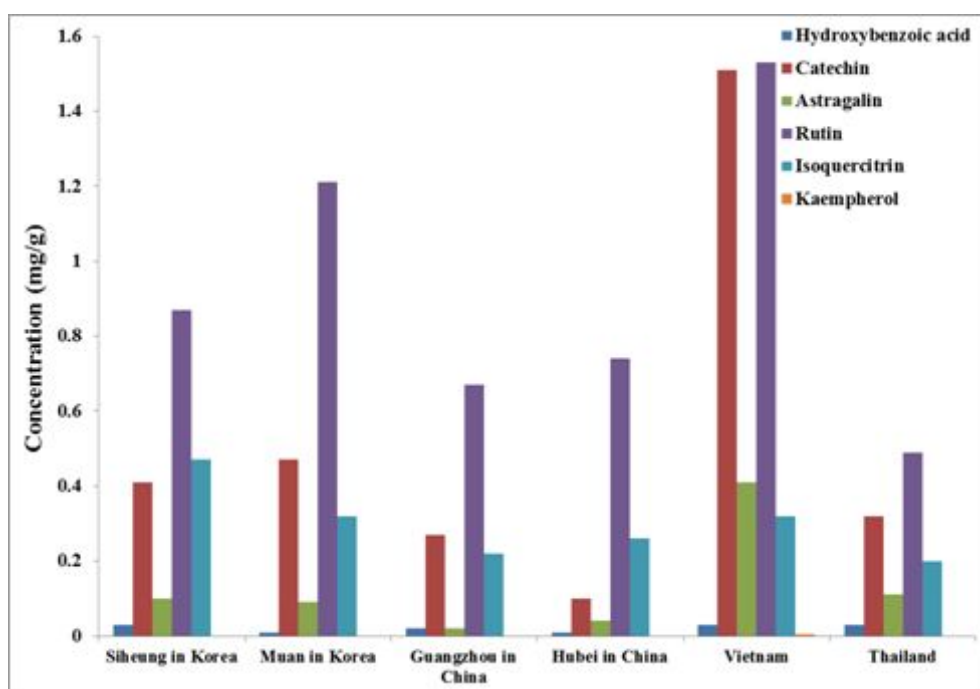


Fig. 4-13 Concentrations of flavonoids in LS70E by HPLC analysis

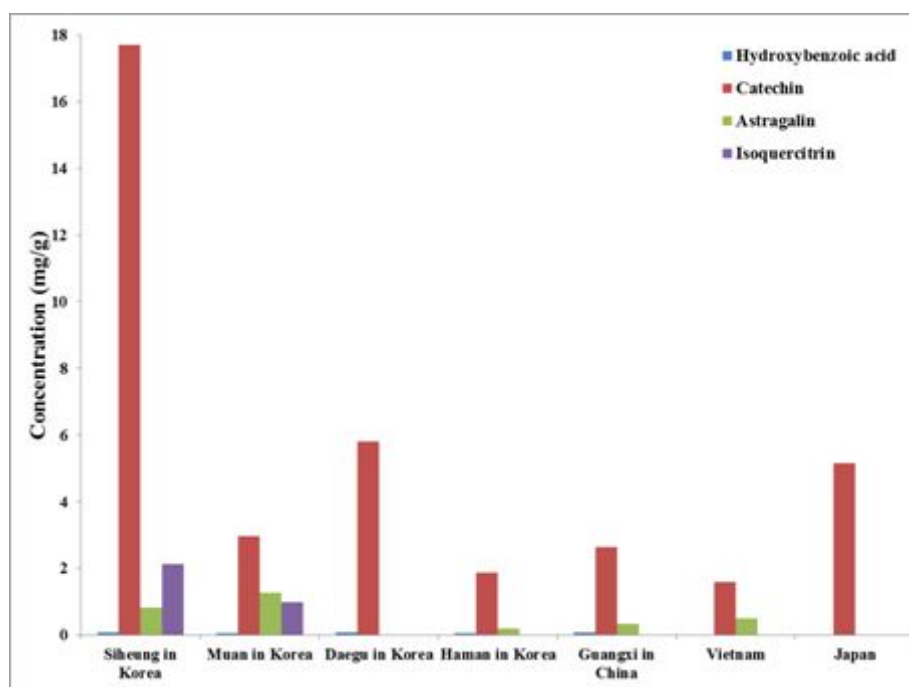


Fig. 4-14 Concentrations of flavonoids in Re-EtOH of lotus rhizomes by HPLC analysis

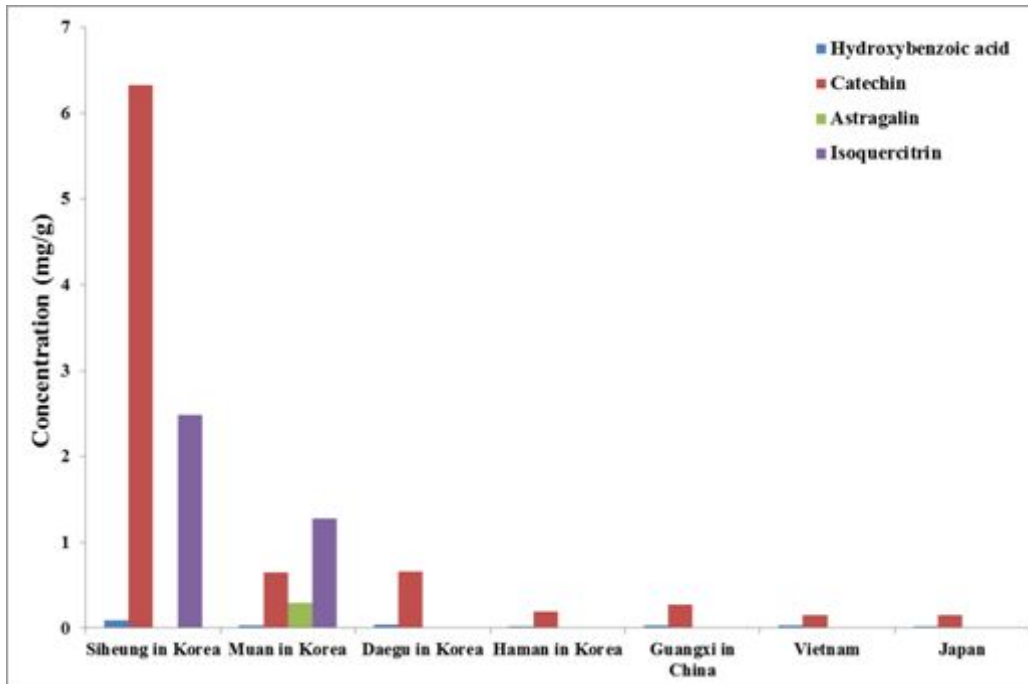


Fig. 4-15 Concentrations of flavonoids in NH_4OH of lotus rhizomes by HPLC analysis

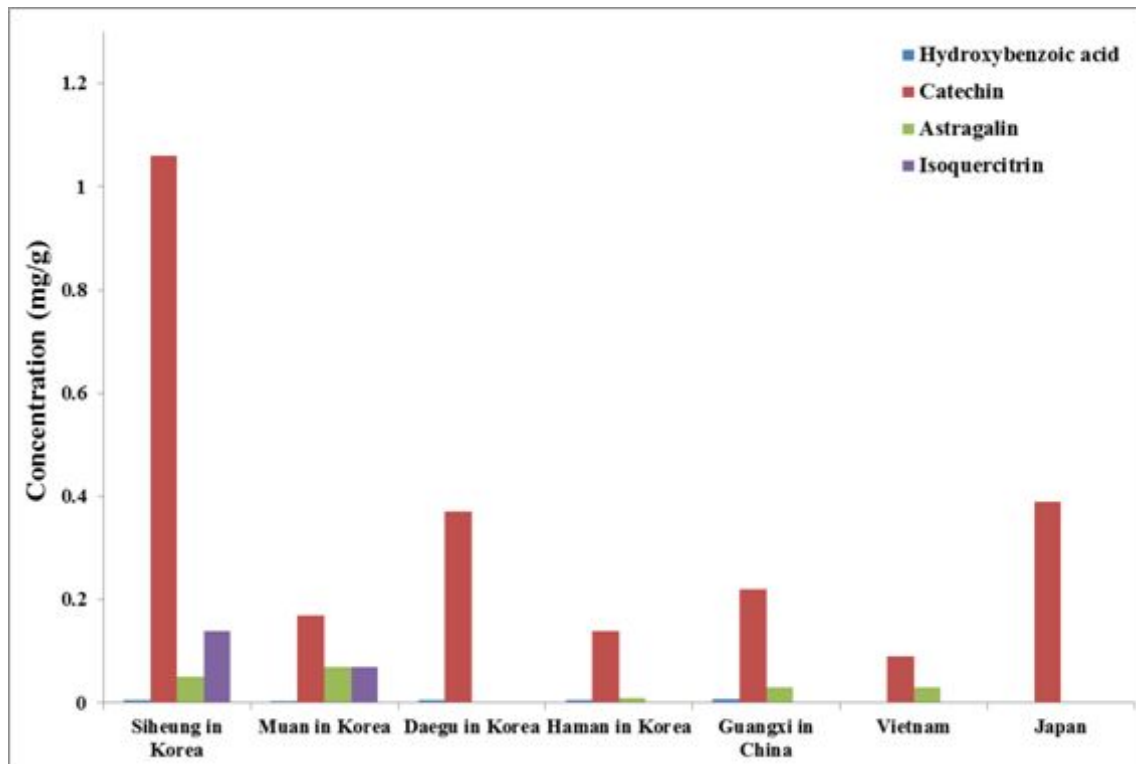


Fig. 4-16 Concentrations of flavonoids in LR70E by HPLC analysis

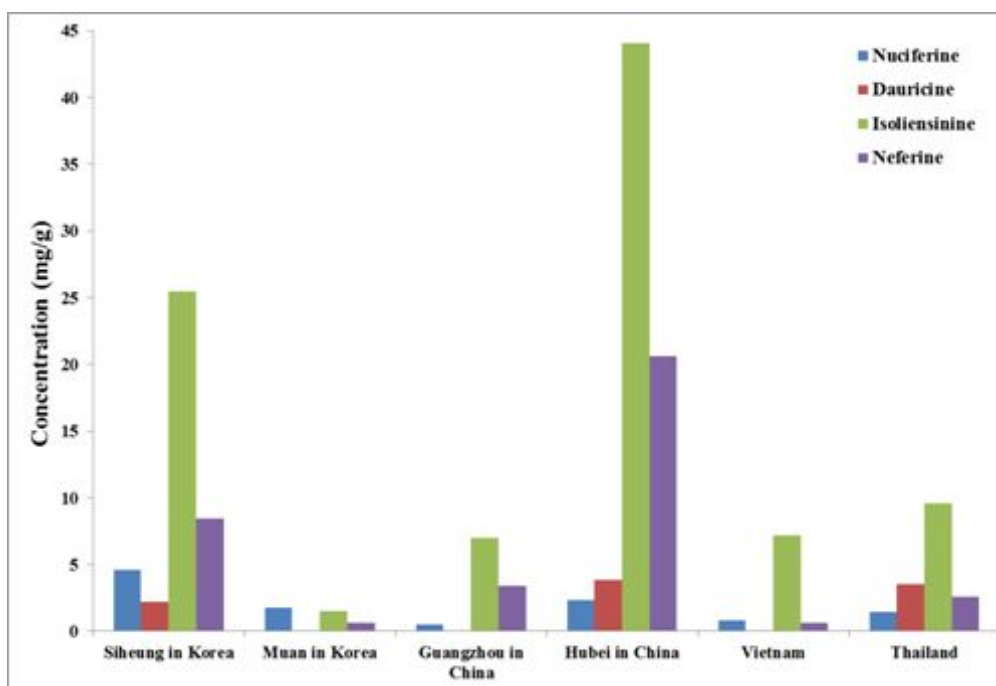


Fig. 4-17 Concentrations of alkaloids in Re-EtOH of lotus seeds by HPLC analysis

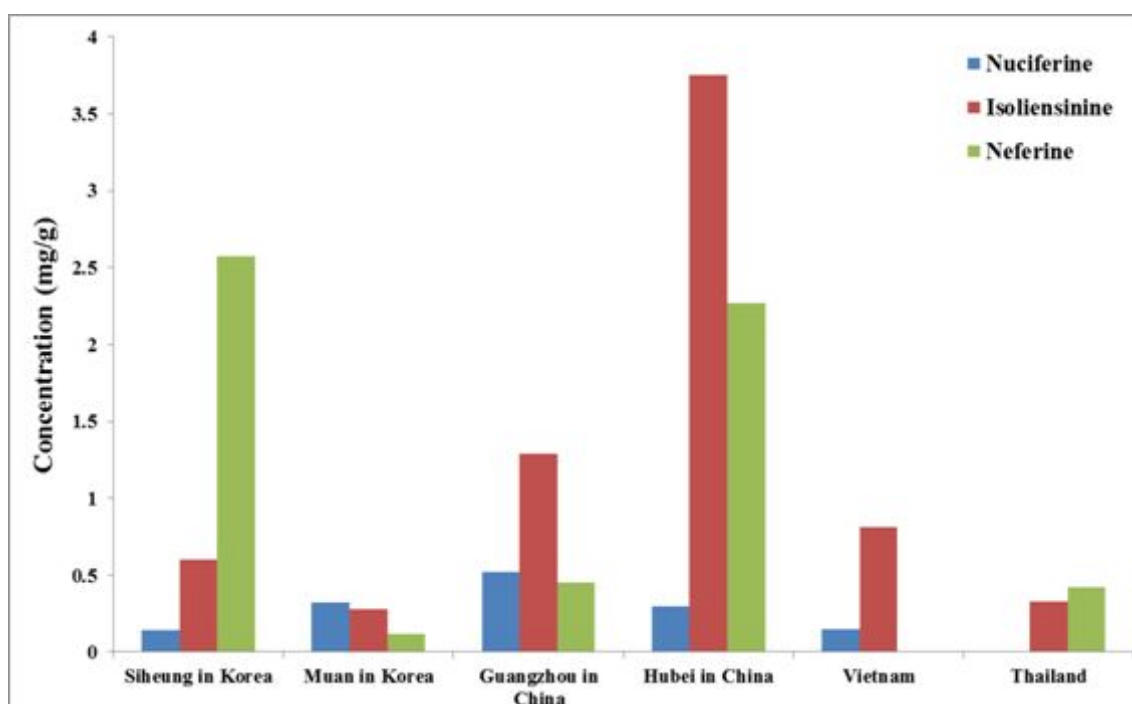


Fig. 4-18 Concentrations of alkaloids in NH₄OH of lotus seeds by HPLC analysis

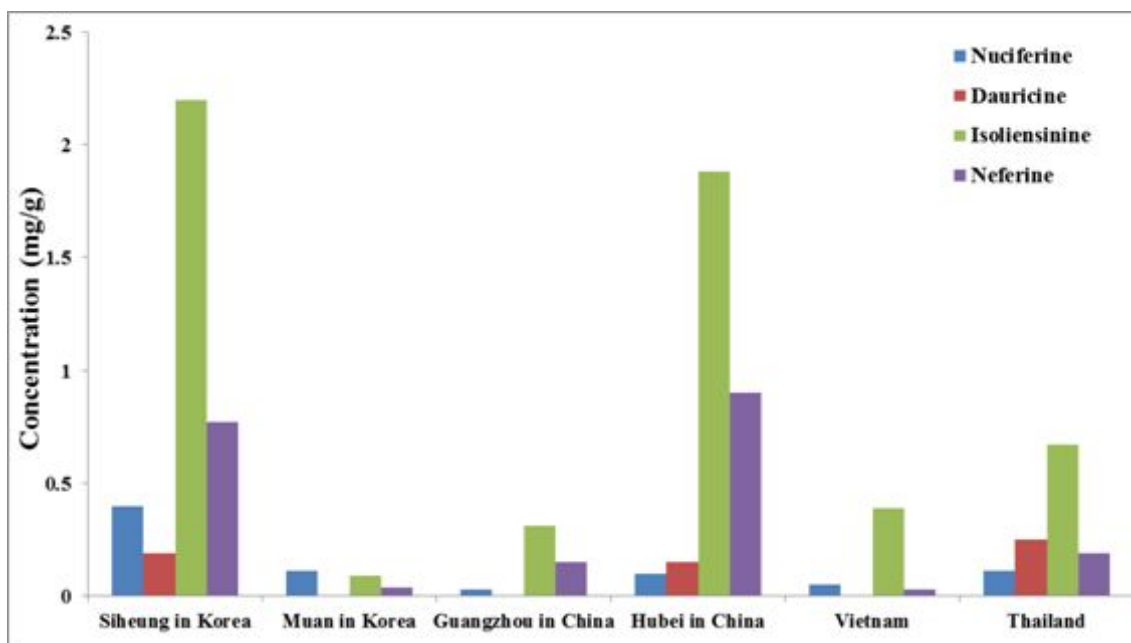


Fig. 4-19 Concentrations of alkaloids in LS70E by HPLC analysis

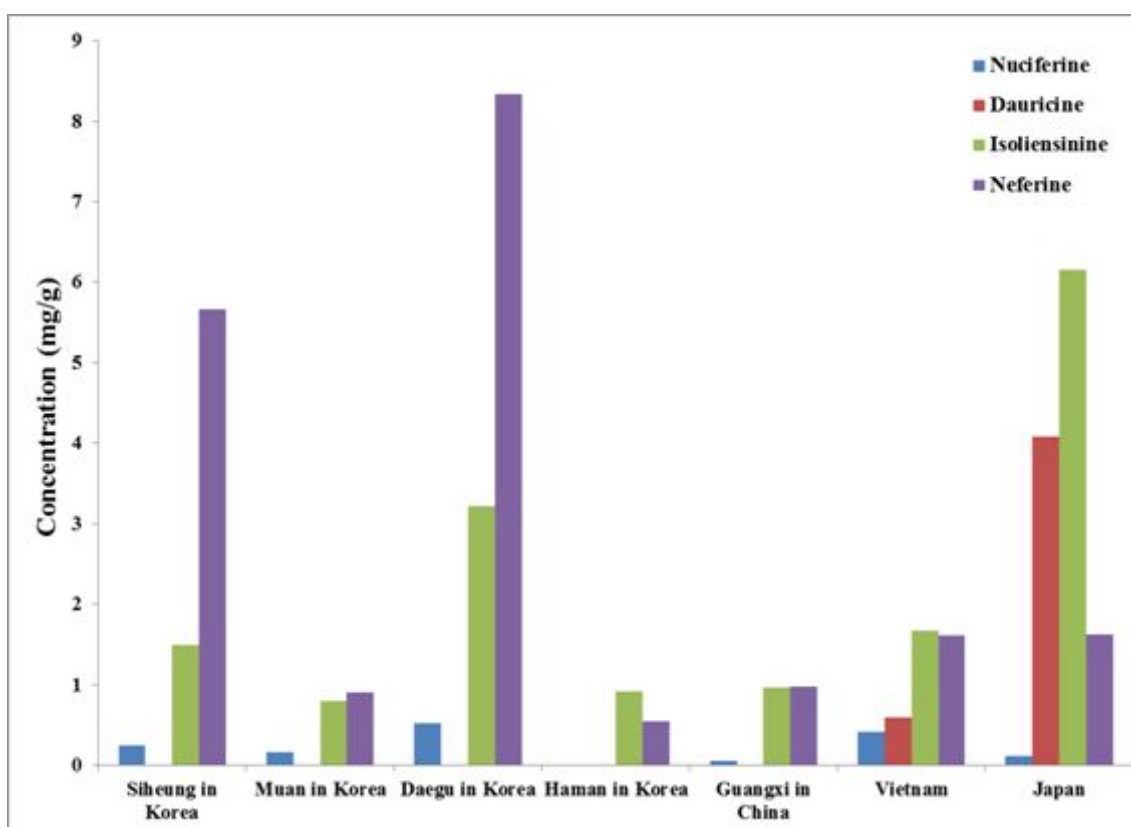


Fig. 4-20 Concentrations of alkaloids in Re-EtOH of lotus rhizomes by HPLC analysis

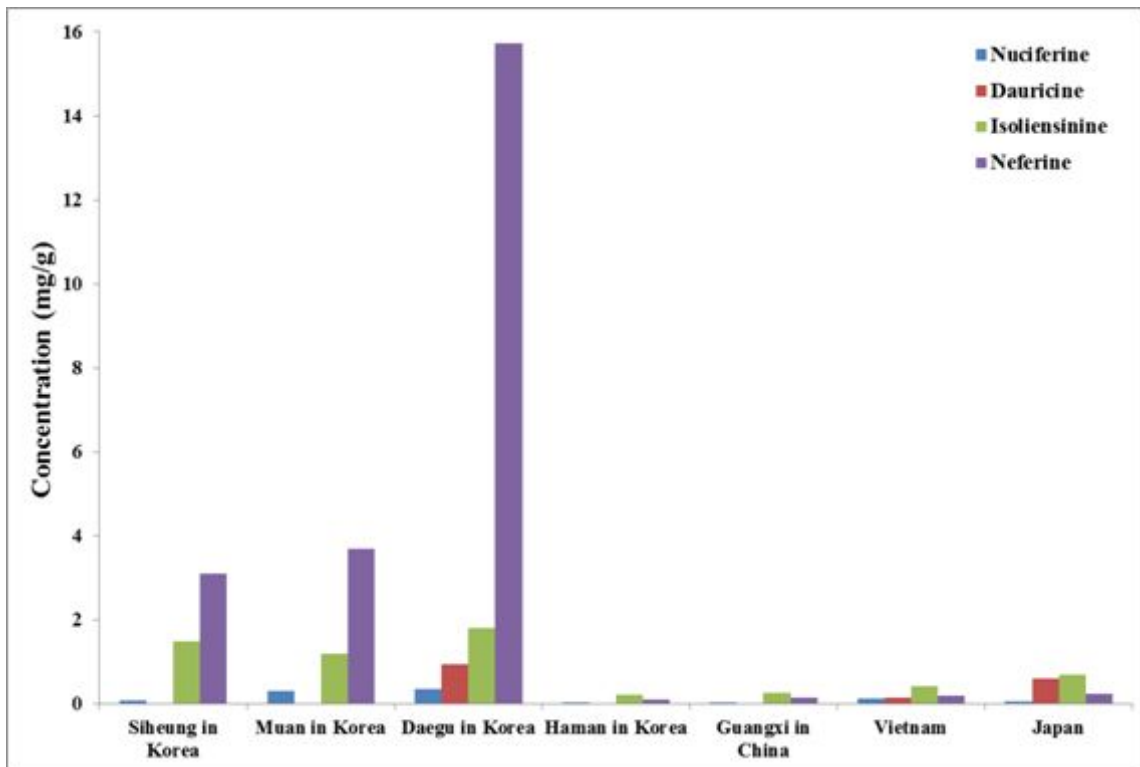


Fig. 4-21 Concentrations of alkaloids in NH₄OH of lotus rhizomes by HPLC analysis

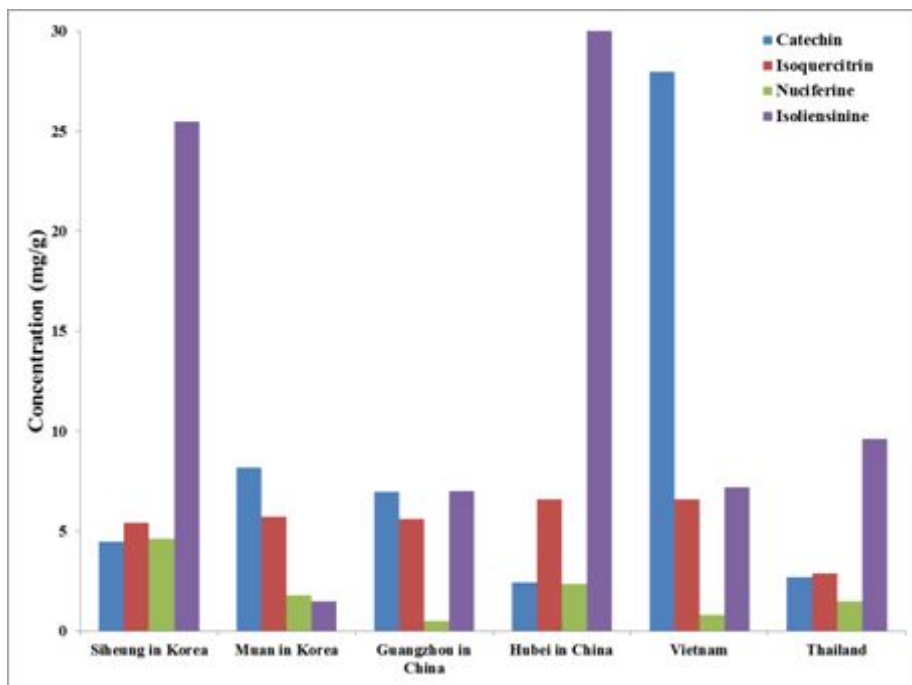


Fig. 4-22 Concentrations of alkaloids in LR70E by HPLC analysis

(5) 국내 재배지역별, 해외 (중국, 일본, 베트남, 태국) 연의 항비만 효과 기능성분 함량 비교

본 연구에서는 보통 식재료로 쓰이는 연자육과 연근에 대해 연구하였다. 그 결과 한국, 중국, 베트남, 일본, 태국의 연자육과 연근에는 catechin, isocatechin, isoquercitrin, nuciferine, isoliensinine이 포함되어 있었다 (Table 4-19, 4-20). Fig. 4-23~28은 Re-EtOH 분획과 NH₄OH 분획, 에탄올 추출물의 catechin, isocatechin, isoquercitrin, nuciferine, isoliensinine의 함량을 보여준다. 기능성분들의 세포 실험 결과, catechin, isocatechin, isoquercitrin, quercitrin, nuciferine, isoliensinine, O-nonuciferine 이 항비만에 효과가 있었다. 이 중 quercitrin과 O-nonuciferine은 연자육과 연근에는 없지만, 연잎에는 풍부하게 존재하였다. 연잎은 비록 그 소비가 많지는 않지만 음식의 향신료로 주로 쓰이는데, 이번 연구에서는 이 연잎을 이용하여 한식 메뉴를 개발하였다. 앞으로 여러 나라들의 연잎에 함유되어 있는 기능성분에 대한 연구가 계속해서 이루어져야 할 것이다.

Table 4–19 Concentrations of flavonoids and alkaloids from Re–EtOH fraction, NH₄OH fraction, and LS70E of lotus seeds

Item (mg/g)		Area					
		Korea		China		Vietnam	Thailand
		Siheung	Muan	Guangzhou	Hubei		–
Catechin	Re–EtOH fraction	4.49±0.31 ^{1)a2)}	8.17±0.79 ^b	6.96±0.81 ^c	2.45±0.16 ^d	27.96±0.35 ^e	2.70±0.34 ^d
	NH ₄ OH fraction	1.59±0.20 ^a	0.76±0.10 ^b	–	–	3.23±0.19 ^c	5.57±0.79 ^d
	LS70E	0.41±0.03 ^a	0.47±0.04 ^b	0.27±0.03 ^c	0.10±0.10 ^d	1.51±0.02 ^e	0.32±0.01 ^f
Isoquercitrin	Re–EtOH fraction	5.44±0.17 ^a	5.72±0.06 ^a	5.61±0.37 ^a	6.61±0.37 ^a	6.61±1.57 ^a	2.89±0.38 ^b
	NH ₄ OH fraction	–	–	–	–	–	–
	LS70E	0.47±0.02 ^a	0.32±0.003 ^b	0.22±0.04 ^c	0.26±0.02 ^{bc}	0.32±0.08 ^b	0.20±0.03 ^c
Nuciferine	Re–EtOH fraction	4.61±0.25 ^a	1.78±0.08 ^b	0.50±0.04 ^c	2.35±0.12 ^d	0.83±0.04 ^e	1.48±0.16 ^f
	NH ₄ OH fraction	0.14±0.07 ^{NS3)}	0.32±0.05	0.52±0.60	0.30±0.06	0.15 ± 0.16	0.35±0.04
	LS70E	0.40±0.02 ^a	0.11±0.01 ^b	0.03±0.02 ^c	0.10±0.01 ^b	0.05±0.003 ^c	0.11±0.01 ^b
Isoliensinine	Re–EtOH fraction	25.49±2.36 ^a	1.49±0.15 ^b	7.00±0.32 ^c	44.04±2.97 ^d	7.19±0.47 ^c	9.61±1.62 ^c
	NH ₄ OH fraction	0.60±0.12 ^a	0.28±0.24 ^a	1.29±0.08 ^a	3.75±1.22 ^b	0.81±0.59 ^a	0.33±0.13 ^a
	LS70E	2.20±0.20 ^a	0.09±0.01 ^b	0.31±0.01 ^c	1.88±0.08 ^d	0.39±0.02 ^c	0.67±0.12 ^e

¹⁾ Mean±SD

²⁾ Values with ^{abcd} means in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$) among the areas.

³⁾ Values with ^{NS} superscripts are not significantly different.

Table 4–20 Concentrations of flavonoids and alkaloids from Re–EtOH fraction, NH₄OH fraction, and LR70E of lotus rhizomes

Item (mg/g)		Area						
		Korea			China	Vietnam	Japan	
		Siheung	Muan	Daegu	Haman	Guangxi	–	
Catechin	Re–EtOH fraction	17.71±6.84 ^{1)a2)}	2.96±0.67 ^b	5.81±0.73 ^b	1.88±0.06 ^b	2.65±0.21 ^b	1.59±0.11 ^b	5.15±2.07 ^b
	NH ₄ OH fraction	6.33±1.03 ^a	0.65±0.17 ^b	0.66±0.20 ^b	0.19±0.06 ^b	0.27±0.10 ^b	0.15±0.001 ^b	0.15±0.02 ^b
	LS70E	1.06±0.40 ^a	0.17±0.03 ^b	0.37±0.04 ^b	0.14±0.01 ^b	0.22±0.02 ^b	0.09±0.01 ^b	0.39±0.35 ^b
Isoquercitrin	Re–EtOH fraction	2.13±0.76 ^{NS3)}	0.99±0.98	–	–	–	–	–
	NH ₄ OH fraction	2.48±1.48 ^{NS}	1.28±0.33	–	–	–	–	–
	LS70E	0.14±0.04 ^{NS}	0.07±0.06	–	–	–	–	–
Nuciferine	Re–EtOH fraction	0.25±0.02 ^{ab}	0.16±0.01 ^{ab}	0.52±0.28 ^b	–	0.05±0.03 ^c	0.42±0.03 ^a	0.12±0.04 ^a
	NH ₄ OH fraction	0.08±0.01 ^a	0.30±0.01 ^{bc}	0.34±0.34 ^a	0.02±0.001 ^a	0.02±0.001 ^a	0.12 ±0.05 ^{abc}	0.04±0.02 ^a
	LS70E	0.02±0.001 ^a	0.01±0.0001 ^{acd}	0.04±0.02 ^b	0.0003±0.00 ^c	0.004±0.002 ^{ac}	0.03±0.002 ^d	0.01±0.003 ^{ac}
Isoliensinine	Re–EtOH fraction	1.49±0.21 ^a	0.80±0.08 ^a	3.22±1.91 ^b	0.92±0.20 ^a	0.97±0.24 ^a	1.67±1.28 ^{ab}	6.16±0.80 ^c
	NH ₄ OH fraction	1.48±0.56 ^{ac}	1.18±0.46 ^{abc}	1.80±0.88 ^c	0.21±0.03 ^d	0.26±0.06 ^d	0.41 ±0.30 ^{bd}	0.68±0.24 ^{abd}
	LS70E	0.10±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	0.23±0.11 ^b	0.07±0.02 ^a	0.08±0.02 ^a	0.10±0.07 ^a	0.47±0.06 ^c

¹⁾ Mean±SD

²⁾ Values with ^{abcd} means in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$) among the areas.

³⁾ Values with ^{NS} superscripts are not significantly different.

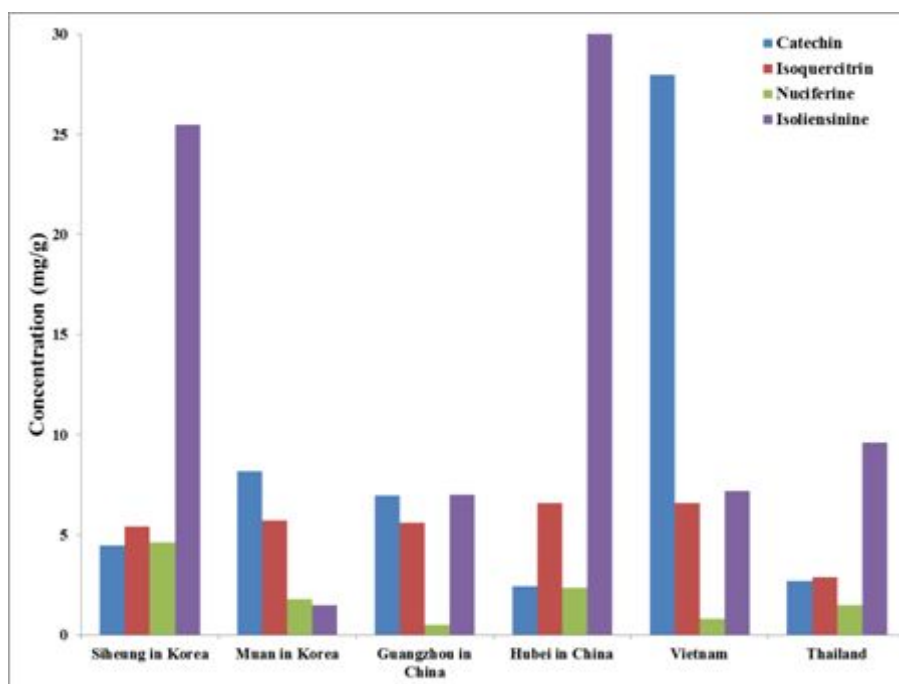


Fig. 4-23 Concentrations of flavonoids and alkaloids in Re-EtOH fraction of lotus seed

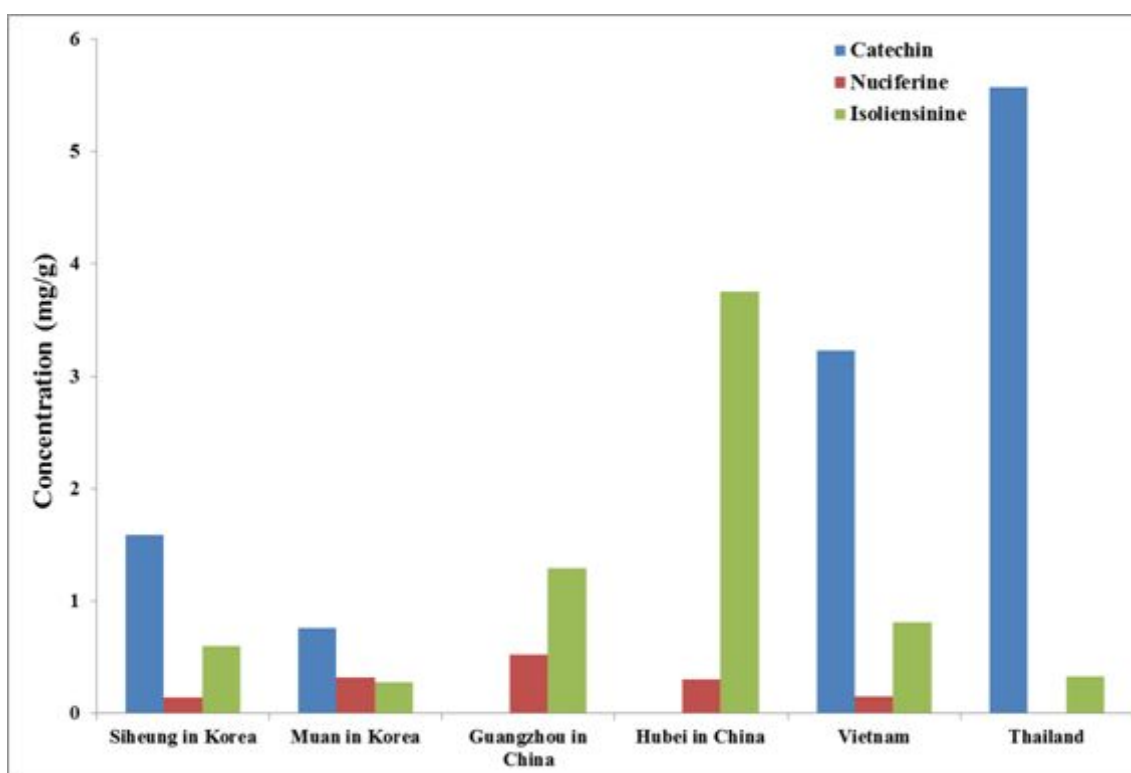


Fig. 4-24 Concentrations of flavonoids and alkaloids in NH₄OH fraction of lotus seed

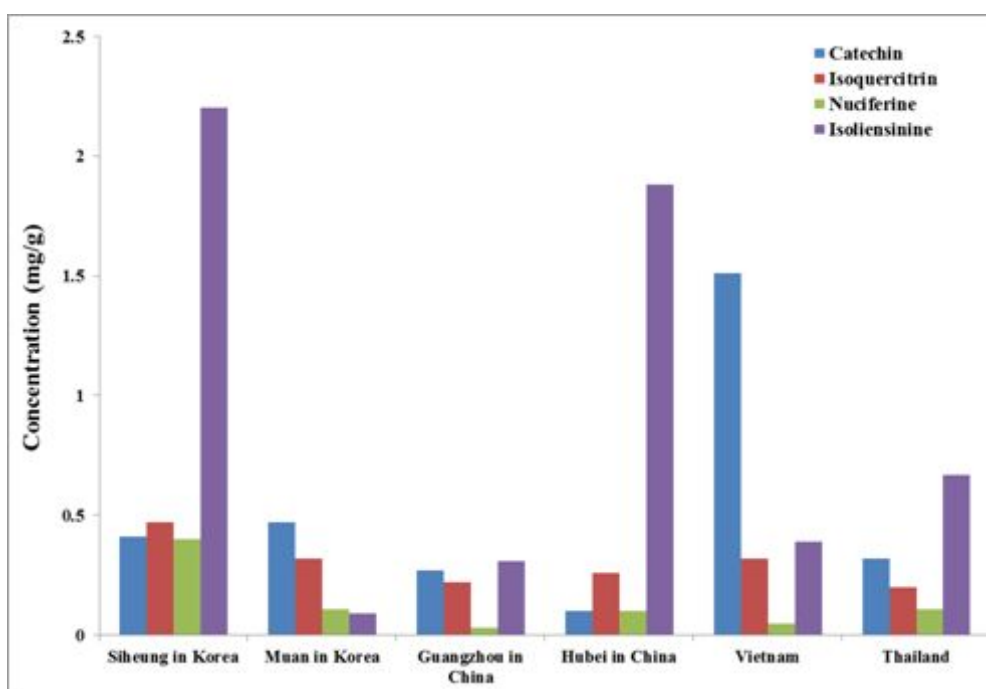


Fig. 4–25 Concentrations of flavonoids and alkaloids in LS70E

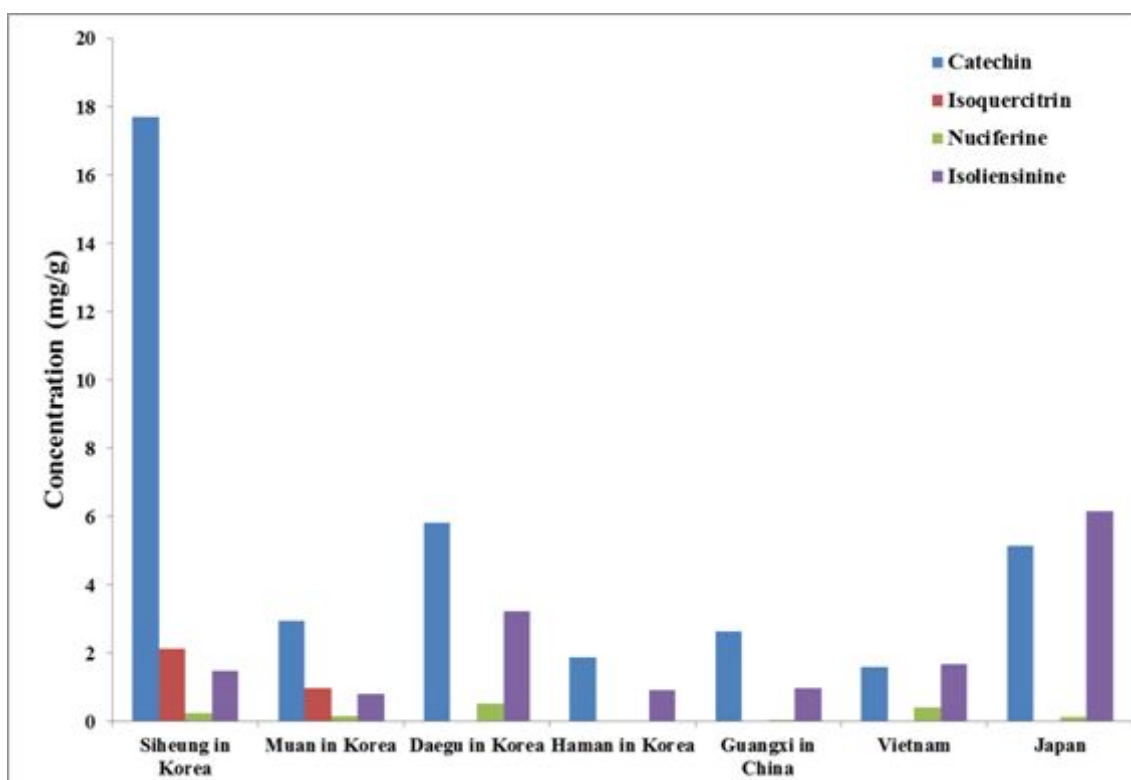


Fig. 4–26 Concentrations of flavonoids and alkaloids in Re-EtOH fraction of lotus rhizomes

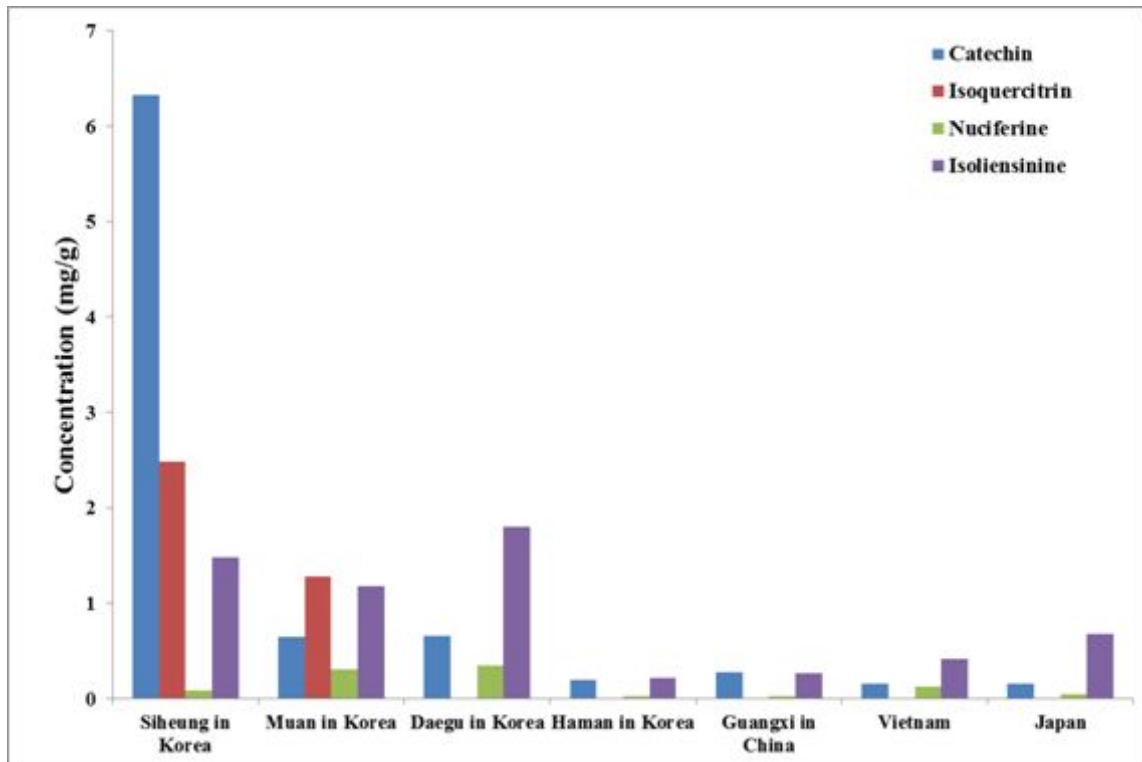


Fig. 4-27 Concentrations of flavonoids and alkaloids in NH₄OH fraction of lotus rhizomes

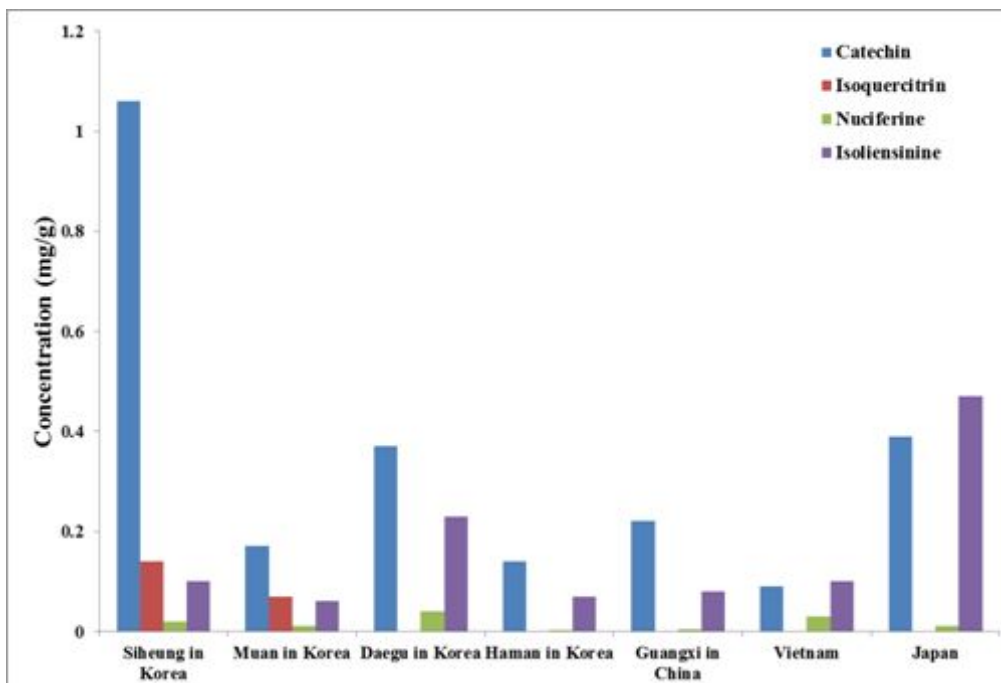


Fig. 4-28 Concentrations of flavonoids and alkaloids in LR70E

나. 국내 재배지역별, 해외(중국, 일본, 베트남, 태국) 연의 DNA 분석

(1) 연구 방법

(가) 시료

본 연구에 사용한 연은 국내 4종 국외 5종을 포함한 총 9개 시료를 가지고 실험에 사용하였다(Table 4-21). 각 sample 들은 액체질소를 사용하여 초저온으로 얼린 후 갈아서 사용하였다.

Table 4-21 List of lotus samples

No	Area	Part	Status
1	Japan	White rhizomes	Frozen raw
2	Haman in Korea	Red rhizomes	Fresh
3	Muan in Korea	White rhizomes	Fresh
4	Siheung in Korea	Red leaf	Fresh
5	Daegu in Korea	Red rhizomes	Fresh
6	Vietnam	Red rhizomes	Fresh
7	Guangxi in China	Red rhizomes	Dried
8	Guangzhou in China	Red seed with embryo	Dried
9	Thailand	Red petiole	Dried

(나) 시료 genomic DNA 추출 및 정량

DNA 추출은 DNA kit를 사용하는 방법, NaOH-Tris 방법과 2 X CTAB 방법 등을 변형하여 사용하였다. 건체는 NaOH-Tris method 와 2 X CTAB 방법을 변경하여 사용하였고, 생체는 Gell All Plant SV Kit (Gell All, Korea)의 프로토콜에 따라 genomic DNA 추출하였다.

① 건체 genomic DNA 추출 방법

약 100 mg의 생체 및 건조된 건체 시료를 막자사발에 넣고 액체질소를 사용하여 미세 분말 상태로 마쇄하였다. 분말 시료를 500 µl의 lysis buffer에 넣고 10 µl proteinase K를 첨가한 후, 37°C 항온기에서 1시간 반응시킨 뒤 400 µl의 CTBA 완충용액 (50 mM Tris-HCl[pH 8.0], 0.7 M NaCl, 50 mM EDTA[pH 8.0], 140 mM β-mercaptoethanol)

과 혼합한 다음 65 °C 항온기에서 30 분 처리하였다. 이 반응물에 페놀 : 클로로포름 : 이소아밀알콜 혼합액 (25 : 24 : 1) 600 µl를 넣어 위아래로 균질하게 잘 섞어 14,000 rpm으로 20 °C에서 10 분간 원심분리하여 상등액을 600 µl를 취하고 클로로포름 : 이소아밀알콜 혼합액 (24 : 1) 600 µl와 증류수 300 µl를 첨가하여 완전히 섞이도록 흔들어 준 다음, 14,000 rpm / 20 °C에서 10 분동안 원심분리 하였다. 상등액 600 µl를 새로운 E-tube에 넣고 isopropanol 600 µl를 첨가한 다음 수차례 invert한 뒤 10분간 방치하여 14,000 rpm / 20°C에서 10분간 원심분리 하였다. 침전된 DNA를 70% 에탄올 500 µl로 2~3회 세척하고 상온에서 자연건조 시켰다. 건조된 DNA를 20~30 µl 멸균된 3차 증류수에 녹여 4 °C에서 1시간동안 방치한 후 10 mg/ml RNase를 첨가하고 37° C항온기에서 1 시간동안 반응시켰다. 추출된 DNA를 1 % agarose gel에서 전기영동하여 확인한 후 UV spectrophotometer를 사용하여 260 nm와 280 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA 순도검정 및 정량을 실시하였다.

② 생체 genomic DNA 추출 방법

생체는 흐르는 수돗물로 표면을 깨끗이 씻어주고 paper towel을 이용하여 수분을 제거한 후에 사용하였다. 세척 후 막대사발에 넣고 액체질소를 부어 완전히 마쇄한 후에 분말 50 mg정도를 멸균한 1.5 ml Eppendorf tube에 넣었다. 그리고 녹기 전에 추출 buffer를 넣어 genomic DNA를 분리·정제하였다 (Gell All Plant SV Kit, Korea). 추출된 genomic DNA는 1.0% agarose gel에서 전기영동하여 상태를 확인 후, UV/VIS spectrophotometer (Amersham bioscience, USA)를 사용하여 206 nm와 208 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA 순도검정 및 정량을 실시하였다.

(다) PCR 증폭

① trnL-F 영역의 PCR 증폭

PCR 증폭은 AStec PCR 기기 (Astec PCR, Korea)를 사용하였다. 본 실험에서 사용한 trnL-F 영역의 oligonucleotide는 전문 업체에 의뢰하여 합성된 것을 사용하였다 (Genotec, Inc., Korea). trnL-F 염기서열을 결정하기 위해, trnL-F 영역의 universal primer인 trnLF-c (Forward)와 trnLF-f (Reverse) 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 수행하였다 (Fig. 4-29).

프라이머의 염기서열은 *trnL*-c (5'-CGA AAT CGG TAG ACG CTA-3')와 *trnL*-f(5'-ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG-3')이었으며 (Taberlet *et al.*, 1991), PCR condition은 pre-denaturation 96 °C, 2 min ; denaturation 96 °C, 30 sec ; annealing 50 °C, 30 sec ; extension 72 °C, 90 sec ; 36 cycles 이었다. 증폭된 PCR 산물을 정제하여 염기서열을 결정하였다.

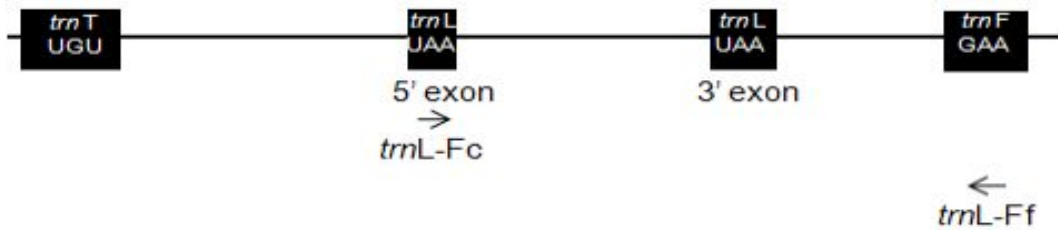


Fig. 4-29 A schematic diagram for detection of specific chloroplast DNA *trnL*-F region.

(라) DNA 염기서열 분석 및 기원확인

① NCBI를 이용한 정보 수집

NCBI(National Center for Biotechnology Information)의 genbank에 현재 등록되어 있는 *Nelumbo nucifera* Gaerther에 대한 *trnL*-F의 모든 sequence 정보를 수집하여 분석에 이용하였다.

② 염기서열 비교 분석

얻어진 염기서열을 분석하기 위하여 ClustalX 프로그램 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/>) 으로 염기서열을 정렬하고, Bioedit 프로그램을 이용하여 식물체의 염기서열들을 편집하였다(Fig. 4-30). 그리고 MEGA4 프로그램을 이용하여 neighbor-joining method로 phylogenetic tree (Fig. 4-31)를 작성하여 기원을 확인하였다 (Hall, 1999).

Guangzhou in China	1	AAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACGAATGGAGTTGACTGCGTTGCG	60
Hanman in Korea	1	AAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACGAATGGAGTTGACTGCGTTGCG	60
Thailand	1	AAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACGAATGGAGTTGACTGCGTTGCG	60
Guangxi in China	1	AAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACGAATGGAGTTGACTGCGTTGCG	60
Daegu in Korea	1	AAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACGAATGGAGTTGACTGCGTTGCG	60
Japan	1	AAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACGAATGGAGTTGACTGCGTTGCG	60
Shiheung in Korea	1	AAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACGAATGGAGTTGACTGCGTTGCG	60
Muan in Korea	1	AAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACGAATGGAGTTGACTGCGTTGCG	60
Vietnam	1	AAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACGAATGGAGTTGACTGCGTTGCG	60
Guangzhou in China	61	TTGGCAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTCCAGAAAAGAAAGGATGAAGGATAAATCTATA	120
Hanman in Korea	61	TTGGCAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTCCAGAAAAGAAAGGATGAAGGATAAATCTATA	120
Thailand	61	TTGGCAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTCCAGAAAAGAAAGGATGAAGGATAAATCTATA	120
Guangxi in China	61	TTGGCAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTCCAGAAAAGAAAGGATGAAGGATAAATCTATA	120
Daegu in Korea	61	TTGGCAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTCCAGAAAAGAAAGGATGAAGGATAAATCTATA	120
Japan	61	TTGGCAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTCCAGAAAAGAAAGGATGAAGGATAAATCTATA	120
Shiheung in Korea	61	TTGGCAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTCCAGAAAAGAAAGGATGAAGGATAAATCTATA	120
Muan in Korea	61	TTGGCAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTCCAGAAAAGAAAGGATGAAGGATAAATCTATA	120
Vietnam	61	TTGGCAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTCCAGAAAAGAAAGGATGAAGGATAAATCTATA	120
Guangzhou in China	121	CTATATACGTACGTATACGTACTGAAATATCATATCAAATGATTAATGACAACCTGAGTC	180
Hanman in Korea	121	CTATATACGTACGTATACGTACTGAAATATCATATCAAATGATTAATGACAACCTGAGTC	180
Thailand	121	CTATATACGTACGTATACGTACTGAAATATCATATCAAATGATTAATGACAACCTGAGTC	180
Guangxi in China	121	CTATATACGTACGTATACGTACTGAAATATCATATCAAATGATTAATGACAACCTGAGTC	180
Daegu in Korea	121	CTATATACGTACGTATACGTACTGAAATATCATATCAAATGATTAATGACAACCTGAGTC	180
Japan	121	CTATATACGTACGTATACGTACTGAAATATCATATCAAATGATTAATGACAACCTGAGTC	180
Shiheung in Korea	121	CTATATACGTACGTATACGTACTGAAATATCATATCAAATGATTAATGACAACCTGAGTC	180
Muan in Korea	121	CTATATACGTACGTATACGTACTGAAATATCATATCAAATGATTAATGACAACCTGAGTC	180
Vietnam	121	CTATATACGTACGTATACGTACTGAAATATCATATCAAATGATTAATGACAACCTGAGTC	180
Guangzhou in China	181	CGTATTTTTTTTATATAAAAAGGAAAAGGGAATTTTTGTGAATCAATTCACGTTGAAGT	240
Hanman in Korea	181	CGTATTTTTTTTATATAAAAAGGAAAAGGGAATTTTTGTGAATCAATTCACGTTGAAGT	240
Thailand	181	CGTATTTTTTTTATATAAAAAGGAAAAGGGAATTTTTGTGAATCAATTCACGTTGAAGT	240
Guangxi in China	181	CGTATTTTTTTTATATAAAAAGGAAAAGGGAATTTTTGTGAATCAATTCACGTTGAAGT	240
Daegu in Korea	181	CGTATTTTTTTTATATAAAAAGGAAAAGGGAATTTTTGTGAATCAATTCACGTTGAAGT	240
Japan	181	CGTATTTTTTTTATATAAAAAGGAAAAGGGAATTTTTGTGAATCAATTCACGTTGAAGT	240
Shiheung in Korea	181	CGTATTTTTTTTATATAAAAAGGAAAAGGGAATTTTTGTGAATCAATTCACGTTGAAGT	240
Muan in Korea	181	CGTATTTTTTTTATATAAAAAGGAAAAGGGAATTTTTGTGAATCAATTCACGTTGAAGT	240
Vietnam	181	CGTATTTTTTTTATATAAAAAGGAAAAGGGAATTTTTGTGAATCAATTCACGTTGAAGT	240

Guangzhou in China	241	AAAGGAAGAATCGAATATTCAGTGATCAAATCATTCACTCCACAGTCTGATAGATCTTTT	300
Hanman in Korea	241	AAAGGAAGAATCGAATATTCAGTGATCAAATCATTCACTCCACAGTCTGATAGATCTTTT	300
Thailand	241	AAAGGAAGAATCGAATATTCAGTGATCAAATCATTCACTCCACAGTCTGATAGATCTTTT	300
Guangxi in China	241	AAAGGAAGAATCGAATATTCAGTGATCAAATCATTCACTCCACAGTCTGATAGATCTTTT	300
Daegu in Korea	241	AAAGGAAGAATCGAATATTCAGTGATCAAATCATTCACTCCACAGTCTGATAGATCTTTT	300
Japan	241	AAAGGAAGAATCGAATATTCAGTGATCAAATCATTCACTCCACAGTCTGATAGATCTTTT	300
Shiheung in Korea	241	AAAGGAAGAATCGAATATTCAGTGATCAAATCATTCACTCCACAGTCTGATAGATCTTTT	300
Muan in Korea	241	AAAGGAAGAATCGAATATTCAGTGATCAAATCATTCACTCCACAGTCTGATAGATCTTTT	300
Vietnam	241	AAAGGAAGAATCGAATATTCAGTGATCAAATCATTCACTCCACAGTCTGATAGATCTTTT	300
Guangzhou in China	301	GAACAACTGATTAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACCGA	360
Hanman in Korea	301	GAACAACTGATTAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACCGA	360
Thailand	301	GAACAACTGATTAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACCGA	360
Guangxi in China	301	GAACAACTGATTAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACCGA	360
Daegu in Korea	301	GAACAACTGATTAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACCGA	360
Japan	301	GAACAACTGATTAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACCGA	360
Shiheung in Korea	301	GAACAACTGATTAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACCGA	360
Muan in Korea	301	GAACAACTGATTAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACCGA	360
Vietnam	301	GAACAACTGATTAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACCGA	360
Guangzhou in China	361	CAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTGCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAA	420
Hanman in Korea	361	CAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTGCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAA	420
Thailand	361	CAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTGCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAA	420
Guangxi in China	361	CAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTGCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAA	420
Daegu in Korea	361	CAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTGCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAA	420
Japan	361	CAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTGCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAA	420
Shiheung in Korea	361	CAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTGCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAA	420
Muan in Korea	361	CAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTGCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAA	420
Vietnam	361	CAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTGCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAA	420
Guangzhou in China	421	GTCCCTCTATCCCAATCTATCCCCCAAAGGCCGTTTTATTCCCTAACTATTTATCT	480
Hanman in Korea	421	GTCCCTCTATCCCAATCTATCCCCCAAAGGCCGTTTTATTCCCTAACTATTTATCT	480
Thailand	421	GTCCCTCTATCCCAATCTATCCCCCAAAGGCCGTTTTATTCCCTAACTATTTATCT	480
Guangxi in China	421	GTCCCTCTATCCCAATCTATCCCCCAAAGGCCGTTTTATTCCCTAACTATTTATCT	480
Daegu in Korea	421	GTCCCTCTATCCCAATCTATCCCCCAAAGGCCGTTTTATTCCCTAACTATTTATCT	480
Japan	421	GTCCCTCTATCCCAATCTATCCCCCAAAGGCCGTTTTATTCCCTAACTATTTATCT	480
Shiheung in Korea	421	GTCCCTCTATCCCAATCTATCCCCCAAAGGCCGTTTTATTCCCTAACTATTTATCT	480
Muan in Korea	421	GTCCCTCTATCCCAATCTATCCCCCAAAGGCCGTTTTATTCCCTAACTATTTATCT	480
Vietnam	421	GTCCCTCTATCCCAATCTATCCCCCAAAGGCCGTTTTATTCCCTAACTATTTATCT	480
Guangzhou in China	481	TATCCTCTTTTTTCGGCAACGGTTCAAAAAAATTAGTTATGCTTCTTATTCACTCTACT	540
Hanman in Korea	481	TATCCTCTTTTTTCGGCAACGGTTCAAAAAAATTAGTTATGCTTCTTATTCACTCTACT	540
Thailand	481	TATCCTCTTTTTTCGGCAACGGTTCAAAAAAATTAGTTATGCTTCTTATTCACTCTACT	540
Guangxi in China	481	TATCCTCTTTTTTCGGCAACGGTTCAAAAAAATTAGTTATGCTTCTTATTCACTCTACT	540
Daegu in Korea	481	TATCCTCTTTTTTCGGCAACGGTTCAAAAAAATTAGTTATGCTTCTTATTCACTCTACT	540
Japan	481	TATCCTCTTTTTTCGGCAACGGTTCAAAAAAATTAGTTATGCTTCTTATTCACTCTACT	540
Shiheung in Korea	481	TATCCTCTTTTTTCGGCAACGGTTCAAAAAAATTAGTTATGCTTCTTATTCACTCTACT	540
Muan in Korea	481	TATCCTCTTTTTTCGGCAACGGTTCAAAAAAATTAGTTATGCTTCTTATTCACTCTACT	540
Vietnam	481	TATCCTCTTTTTTCGGCAACGGTTCAAAAAAATTAGTTATGCTTCTTATTCACTCTACT	540
Guangzhou in China	541	CTTTCACATTCACAAATGGATCCGAGCAGAAATGTTTATCTCTTATCACAAGTTATATAT	600
Hanman in Korea	541	CTTTCACATTCACAAATGGATCCGAGCAGAAATGTTTATCTCTTATCACAAGTTATATAT	600
Thailand	541	CTTTCACATTCACAAATGGATCCGAGCAGAAATGTTTATCTCTTATCACAAGTTATATAT	600
Guangxi in China	541	CTTTCACATTCACAAATGGATCCGAGCAGAAATGTTTATCTCTTATCACAAGTTATATAT	600
Daegu in Korea	541	CTTTCACATTCACAAATGGATCCGAGCAGAAATGTTTATCTCTTATCACAAGTTATATAT	600
Japan	541	CTTTCACATTCACAAATGGATCCGAGCAGAAATGTTTATCTCTTATCACAAGTTATATAT	600
Shiheung in Korea	541	CTTTCACATTCACAAATGGATCCGAGCAGAAATGTTTATCTCTTATCACAAGTTATATAT	600
Muan in Korea	541	CTTTCACATTCACAAATGGATCCGAGCAGAAATGTTTATCTCTTATCACAAGTTATATAT	600
Vietnam	541	CTTTCACATTCACAAATGGATCCGAGCAGAAATGTTTATCTCTTATCACAAGTTATATAT	600
Guangzhou in China	601	ACTACGATATACGTACAAATAAACATCTATGAGAAAGGAATCCCCATTGAAATCATTAC	660
Hanman in Korea	601	ACTACGATATACGTACAAATAAACATCTATGAGAAAGGAATCCCCATTGAAATCATTAC	660
Thailand	601	ACTACGATATACGTACAAATAAACATCTATGAGAAAGGAATCCCCATTGAAATCATTAC	660
Guangxi in China	601	ACTACGATATACGTACAAATAAACATCTATGAGAAAGGAATCCCCATTGAAATCATTAC	660
Daegu in Korea	601	ACTACGATATACGTACAAATAAACATCTATGAGAAAGGAATCCCCATTGAAATCATTAC	660
Japan	601	ACTACGATATACGTACAAATAAACATCTATGAGAAAGGAATCCCCATTGAAATCATTAC	660
Shiheung in Korea	601	ACTACGATATACGTACAAATAAACATCTATGAGAAAGGAATCCCCATTGAAATCATTAC	660
Muan in Korea	601	ACTACGATATACGTACAAATAAACATCTATGAGAAAGGAATCCCCATTGAAATCATTAC	660
Vietnam	601	ACTACGATATACGTACAAATAAACATCTATGAGAAAGGAATCCCCATTGAAATCATTAC	660

Shiheung in Korea	781	CTTTAATGACATAGACCCAAGCCTCGAGTAGGATGAGGA	819
Muan in Korea	781	CTTTAATGACATAGACCCAAGCCTCGAGTAGGATGAGGA	819
Vietnam	781	CTTTAATGACATAGACCCAAGCCTCGAGTAGGATGAGGA	819
Guangzhou in China	661	CGTCCATATCATTGCTCTTAATGATCATTACTCTTAATGAAACTTACATACAAAGTCTTC	720
Hanman in Korea	661	CGTCCATATCATTGCTCTTAATGATCATTACTCTTAATGAAACTTACATACAAAGTCTTC	720
Thailand	661	CGTCCATATCATTGCTCTTAATGATCATTACTCTTAATGAAACTTACATACAAAGTCTTC	720
Guangxi in China	661	CGTCCATATCATTGCTCTTAATGATCATTACTCTTAATGAAACTTACATACAAAGTCTTC	720
Daegu in Korea	661	CGTCCATATCATTGCTCTTAATGATCATTACTCTTAATGAAACTTACATACAAAGTCTTC	720
Japan	661	CGTCCATATCATTGCTCTTAATGATCATTACTCTTAATGAAACTTACATACAAAGTCTTC	720
Shiheung in Korea	661	CGTCCATATCATTGCTCTTAATGATCATTACTCTTAATGAAACTTACATACAAAGTCTTC	720
Muan in Korea	661	CGTCCATATCATTGCTCTTAATGATCATTACTCTTAATGAAACTTACATACAAAGTCTTC	720
Vietnam	661	CGTCCATATCATTGCTCTTAATGATCATTACTCTTAATGAAACTTACATACAAAGTCTTC	720
Guangzhou in China	721	TTTTGGAGATCCAAGAATTTCCAGGGCCTGGGTAAGACTTTGTAATGCTTTTTTAGTCC	780
Hanman in Korea	721	TTTTGGAGATCCAAGAATTTCCAGGGCCTGGGTAAGACTTTGTAATGCTTTTTTAGTCC	780
Thailand	721	TTTTGGAGATCCAAGAATTTCCAGGGCCTGGGTAAGACTTTGTAATGCTTTTTTAGTCC	780
Guangxi in China	721	TTTTGGAGATCCAAGAATTTCCAGGGCCTGGGTAAGACTTTGTAATGCTTTTTTAGTCC	780
Daegu in Korea	721	TTTTGGAGATCCAAGAATTTCCAGGGCCTGGGTAAGACTTTGTAATGCTTTTTTAGTCC	780
Japan	721	TTTTGGAGATCCAAGAATTTCCAGGGCCTGGGTAAGACTTTGTAATGCTTTTTTAGTCC	780
Shiheung in Korea	721	TTTTGGAGATCCAAGAATTTCCAGGGCCTGGGTAAGACTTTGTAATGCTTTTTTAGTCC	780
Muan in Korea	721	TTTTGGAGATCCAAGAATTTCCAGGGCCTGGGTAAGACTTTGTAATGCTTTTTTAGTCC	780
Vietnam	721	TTTTGGAGATCCAAGAATTTCCAGGGCCTGGGTAAGACTTTGTAATGCTTTTTTAGTCC	780
Guangzhou in China	781	CTTTAATGACATAGACCCAAGCCTCGAGTAGGATGAGGA	819
Hanman in Korea	781	CTTTAATGACATAGACCCAAGCCTCGAGTAGGATGAGGA	819
Thailand	781	CTTTAATGACATAGACCCAAGCCTCGAGTAGGATGAGGA	819
Guangxi in China	781	CTTTAATGACATAGACCCAAGCCTCGAGTAGGATGAGGA	819
Daegu in Korea	781	CTTTAATGACATAGACCCAAGCCTCGAGTAGGATGAGGA	819
Japan	781	CTTTAATGACATAGACCCAAGCCTCGAGTAGGATGAGGA	819

Fig. 4-30 Sequence alignment



Fig. 4-31 Phylogenetic tree

③ DNA 염기서열의 분석

수집한 9개 연 시료들의 염기서열 정보를 확보하기 위해 각각의 genomic DNA를 샘플로부터 분리하고 trnL-F영역을 target으로 PCR을 증폭하였다. 그 결과 연의 1034 bp band를 형성하였다 (Fig. 4-32).

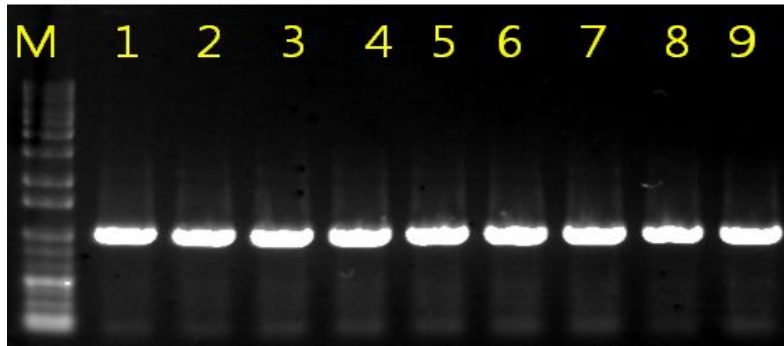


Fig. 4-32 Amplification of the *trnL*-F gene region in various samples of lotus Lane M: 1 kb DNA ladder; lane 1-9, different samples.

(2) 연구 결과

본 연구에서 사용된 연의 건체와 생체를 통해 얻어진 DNA 염기서열을 분석하여 sequence 결과를 살펴본 결과는 다음과 같다.

엽록체 DNA의 한 영역인 *trnL*-F 영역의 염기서열을 분석하여 NCBI 생물정보 Data base에서 blast 해 본 결과 연(*Nelumbo nucifera*)과 99% 일치함을 확인할 수 있었으며, 시료들 간의 유연관계를 분석하여 본 결과 시료들은 *trnL*-F region에서 한 그룹으로 이루어지며 유연관계가 매우 가까움을 알 수 있었다.

제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표 달성도

세부과제명	세부 연구 목표	달성도	비 고
연의 건강기능성 규명 전임상 실험과 연 이용 다이어트 한식 메뉴 발굴, 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 (가칭 K-diet) 및 세계화 홍보컨텐츠 개발 (세부과제)	전임상 실험을 통해 연의 항비만 및 항산화 건강증진효과 기능성 규명	120 %	(추가 연구) 연의 단기간 경구투여 독성시험 평가
	연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 발굴	100 %	
	연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램(가칭 K-diet) 개발	100 %	
	한국 거주 외국인 유학생을 대상으로 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 홍보 및 연을 이용한 다이어트 한식 메뉴 시식회 및 품평회	100 %	
	해외 중점 홍보지역(미국, 중국, 일본, 베트남)에서 세계화를 위하여 책자, 인터넷, SNS 등을 활용한 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램과 다이어트 한식 연 메뉴의 홍보컨텐츠를 해당 언어로 개발	100 %	(책자와 multimedia e-book 발간은 2013년 상반기)
연의 항비만 및 항산 화 건강기능성 규명 위한 건강기능(지표) 성분 설정 및 원재료 의 표준화	국내외 시료 준비	120 %	(추가 조사) 국내 주요 연 재배지 및 관련 행사, 제품 조사
	국내 연의 기능성분 설정 및 원재료 표준화	100 %	

	국내 연과 해외 연들의 성분 비교	120 %	(추가 연구) 시료별 DNA 염기서열 분석
--	--------------------	-------	-------------------------------

제 2 절 관련 분야에의 기여도



제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

종 류	계 획	성 과	성 과
지식재산권	-	2	국내특허 출원 - 출원번호: 10-2012-0126789 국내특허 출원 - 출원번호: 10-2012-0137043
연구논문 SCI(E)	3	6	SCI 초록 3편 게재예정 SCI 논문 3편 투고
학술발표	6	9	국제학술대회 7편 국내학술대회 2편
기타	7	5	연을 이용한 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램의 내용이 포함된 한국어 책자 및 영어, 중국어, 일어, 베트남어로 번역된 multimedia e-book을 앱 형태로 출시(2013년 7월 예정)
		2	Facebook을 이용하여 update가 용이한 홈페이지 기능 K-diet의 체험 공유 및 자조모임 결성에 도움 연 이용 다이어트 한식 메뉴의 지속적인 홍보 박사과정 대학원생 2명의 학위논문 완성
계	16	24	

제 1 절 특허 출원

1. 발명의 명칭 : 연잎을 이용한 연잎롤 제조방법과 연잎롤용 연잎 가공방법

출원일자 : 2012. 11. 09.

출원번호 : 10-2012-0126789

출원인 명칭 : 인하대학교 산학협력단

발명자 성명 : 장경자, 김성훈, 유정순, 차원, 이윤주, 김소영, 박소운

2. 발명의 명칭 : 연자육 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사성 질환 예방
및 치료용 조성물

출원일자 : 2012. 11. 29.

출원번호 : 10-2012-0137043

출원인 명칭: 인하대학교 산학협력단

발명자 성명 : 장경자, 김성훈, 김경수, 유정순, 이윤주, 김소영, 박소윤, 자오슈

제 2 절 논문

1. SCI 초록

Single dose oral toxicity of the Lotus(*Nelumbo Nucifera*) root ethanol extract in ICR mice. FASEB J 에 게재 예정 (2013. 4)

2. SCI 초록

Acute toxicity of lotus (*Nelumbo Nucifera*) seed ethanol extract in ICR mice. FASEB J 에 게재 예정 (2013. 4)

3. SCI 초록

Effects of phytosterols and fatty acids from lotus (*Nelumbo Nucifera*) seed on differentiation of human preadipocytes into adipocytes. FASEB J 에 게재 예정 (2013. 4)

4. SCI 논문

Lotus (*Nelumbo nucifera*) root extract inhibits preadipocyte differentiation and improves high-fat diet-induced obesity and body fat accumulation in rats.

Nutrition Research 지에 투고

5. SCI 논문

Antiobesity and hypolipidemic effects of lotus (*Nelumbo nucifera*) seed ethanol extract in human preadipocyte and rats fed high-fat diet.
Journal of Ethnopharmacology 지에 투고

6. SCI 논문

Analysis of Fatty Acids and Phytosterols in the Ethanol Extracts of *Nelumbo Nucifera* Seeds and Rhizomes from South Korea
Journal of Agricultural and Food Chemistry 에 투고

제 3 절 학술발표

1. 국제 학술대회

가. 학회 : KFN 2012 International Symposium and Annual meeting
(The Korean Society of Food Science and Nutrition)

발표자 : Jeong Soon You, Sung Hoon Kim, Kyoung Soo Kim, Yun Ju Lee,
Xu Zhao, Kyung Ja Chang

제목 : Effect of lotus(*Nelumbo Nucifera*) root ethanol extract on differentiation of human preadipocytes into adipocytes, and expression of adipokines in differentiated adipocytes

발표일시 : 2012. 11. 1.

- 나. 학회 : KFN 2012 International Symposium and Annual meeting
(The Korean Society of Food Science and Nutrition)
발표자 : Jeong Soon You, Sung Hoon Kim, Kyoung Soo Kim, Yun Ju Lee,
Xu Zhao, Kyung Ja Chang
제목 : Lotus (*Nelumbo Nucifera*) seed ethanol extract inhibits adipocyte
differentiation and modulates the expression of the adipokines
발표일시 : 2012. 11. 1.
- 다. 학회 : KFN 2012 International Symposium and Annual meeting
(The Korean Society of Food Science and Nutrition)
발표자 : Xu Zhao, Jian Shen, Kyung Ja Chang, Sung Hoon Kim
제목 : Characterization of fatty acids in the fatty glycerides and free fatty
acids from *Nelumbo Nucifera* (lotus) seeds ethanol extract
발표일시 : 2012. 11. 1.
- 라. 학회 : KFN 2012 International Symposium and Annual meeting
(The Korean Society of Food Science and Nutrition)
발표자 : Xu Zhao, Jian Shen, Kyung Ja Chang, Sung Hoon Kim
제목 : Analysis of dietary phytosterols from *Nelumbo Nucifera* seeds of
Korea
발표일시 : 2012. 11. 1.
- 마. 학회 : Experimental Biology 2013
발표자 : Jeong Soon You, Sung Hoon Kim, Yun Ju Lee, Xu Zhao,
Kyung Ja Chang
제목 : Single dose oral toxicity of the Lotus(*Nelumbo Nucifera*) root ethanol
extract in ICR mice
발표일시 : 2013. 4. 발표 예정 (submitted)

바. 학회 : Experimental Biology 2013

발표자 : Jeong Soon You, Sung Hoon Kim, Yun Ju Lee, Xu Zhao,
Kyung Ja Chang

제목 : Acute toxicity of lotus (*Nelumbo Nucifera*) seed ethanol extract in ICR mice

발표일시 : 2013. 4. 발표 예정 (submitted)

사. 학회 : Experimental Biology 2013

발표자 : Xu Zhao, Jian Shen, Kyung Ja Chang, Sung Hoon Kim

제목 : Effects of phytosterols and fatty acids from lotus (*Nelumbo Nucifera*) seed on differentiation of human preadipocytes into adipocytes

발표일시 : 2013. 4. 발표 예정 (submitted)

2. 국내 학술대회

가. 학회 : 2012 한국 영양학회 추계 학술대회

발표자 : Jeong Soon You, Yun Ju Lee, So Young Kim, So Yoon Park,
Xu Zhao, Sung Hoon Kim, Kyung Ja Chang

제목 : Lotus(*Nelumbo Nucifera*) root ethanol extract improves serum insulin level and adipokine status in rats fed high fat diet

발표일시 : 2012. 11. 16.

나. 학회 : 2012 한국 영양학회 추계 학술대회

발표자 : Jeong Soon You, Yun Ju Lee, So Young Kim, So Yoon Park,
Xu Zhao, Sung Hoon Kim, Kyung Ja Chang

제목 : Anti-obesity and hypolipidemic effects of lotus(*Nelumbo Nucifera*) seed ethanol extract in rats fed high-fat diet

발표일시 : 2012. 11. 16.

제 4 절 그 외 활용방안

1. 책자 발간

가. 제목 : K-diet Best seller + 한국어판

출판사 : 파워북

2013. 8월 발간 예정

2. Multimedia e-book Application

가. 영어판

나. 중국어판

다. 일어판

라. 베트남어판

3. SNS 구축

가. 홈페이지 기능도 하면서 쉽게 update 가능한 Facebook 구축

4. 본 연구과제 수행을 통하여 박사 2명의 학위 논문 작성

제 6 장 연구개발과 수집한 해외과학 기술정보

- 연 생리활성과 기능성 효과에 대한 문헌조사와 리뷰, 학술대회 참가와 연 재배지 방문을 통해 확보한 정보들은 연구결과에 반영하였음

제 7 장 참고문헌

- Abdel-Hamid R, Newair E. F. Electrochemical behavior of antioxidants: I. Mechanistic study on electrochemical oxidation of gallic acid in aqueous solutions at glassy-carbon electrode. *J Electroanal Chem* 2011, 657(1), 107-112
- Agnihotri VK, ElSohly HN, Khan SI, Jacob MR, Joshi VC, Smillie T, Khan IA, Walker LA. Constituents of *Nelumbo nucifera* leaves and their antimalarial and antifungal activity. *Phytochemistry Letters* 2008, 1, 89-93
- Amer J, Ghoti H, Rachmilewitz E, Levin C, Fibach E. Red blood cells, platelets and polymorphonuclear neutrophils of patients with sickle cell disease exhibit oxidative stress that can be ameliorated by antioxidants. *Br J Haematol* 2006, 132(1), 108-113.
- Bin X, Jin W, Wenqing W, Chunyang S, Xiaolong H, Jianguo F, *Nelumbo nucifera* alkaloid inhibits 3T3-L1 preadipocyte differentiation and improves high-fat diet-induced obesity and body fat accumulation in rats. *J Medicinal Plants Research* 2011, 5, 2021-2028
- Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J* 1999, 13(9), 1007-1024.
- Chen H. J, Inbaraj, B. S, Chen B. H. Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique. *Int J Mol Sci* 2012, 13(1), 260-285
- Choe JH, Jang A., Choi JH, Choi YS, Han DJ, Kim HY, Lee MA, Kim HW, Kim CJ. Antioxidant activities of lotus leaves (*Nelumbo nucifera*) and barley leaves (*Hordeum vulgare*) extracts. *Food Science and Biotechnology* 19, 831-836.
- Deng S, Den, Z, Fan Y, Peng Y, Li J, Xiong D, Liu R. Isolation and purification of three flavonoid glycosides from the leaves of *Nelumbo nucifera* (Lotus) by high-speed counter-current chromatography. *J Chromatogr B* 2009, 877(24), 2487-2492
- Dhalla N. S, Temsah R. M, Netticadan, T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens* 2000, 18(6), 655-673
- Ding H, Shi J, Wang Y, Guo J, Zhao J, Dong L. Neferine inhibits cultured hepatic stellate cell activation and facilitates apoptosis: A possible molecular mechanism. *Eur J Pharmacol* 2010, 650(1), 163-169
- Du H, You JS, Zhao X, Park JY, Kim SH, Chang KJ. Antiobesity and hypolipidemic effects of lotus leaf hot water extract with taurine supplementation in rats fed a high fat diet. *J Biomed Sci* 2010, 17, S42
- Du H, Zhao X, You JS, Park JY, Kim SH, Chang KJ. Antioxidant and hepatic protective effects of lotus root hot water extract with taurine supplementation in rats fed a high fat diet. *J Biomed Sci* 2010, 17, S39
- Duarte T. L, Lunec, J, Review Part of the Series: From Dietary Antioxidants to Regulators in Cellular Signalling and Gene Expression Review: When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free Radic Res* 2005, 39(7), 671-686

- Dyas, L, Goad, L. J. Steryl fatty acyl esters in plants. *Phytochemistry* 1993, 34(1), 17–29
- Dyas, L, Goad, L. The occurrence of free and esterified sterols in the oil bodies isolated from maize seed scutella and a celery cell suspension culture. *Plant Physiol Biochem* 1994, 32(6), 799–805
- Frenoux, J. M. R, Prost, E. D, Belleville, J. L, Prost, J. L. A polyunsaturated fatty acid diet lowers blood pressure and improves antioxidant status in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr* 2001, 131(1), 39–45
- Goo HR, Choi JS, Na DH. Simultaneous determination of quercetin and its glycosides from the leaves of *Nelumbo nucifera* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Archives of pharmacal research* 2009, 32, 201–206
- Guo X, Wang D, Duan W, Du J, Wang X. Preparative isolation and purification of four flavonoids from the petals of *Nelumbo nucifera* by high-speed counter-current chromatography. *Phytochemical Analysis* 2009, 21, 268–272
- Halliwell, B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochem. J* 2007, 401, 1–11
- Ho HH, Hsu LS, Chan KC, Chen HM, Wu CH, Wang CJ. Extract from the leaf of *nucifera* reduced the development of atherosclerosis via inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *Food and Chemical Toxicology* 2010, 48, 159–168
- Huang B, Ban X, He J, Tong J, Tian J, Wang Y. Hepatoprotective and antioxidant activity of ethanolic extracts of edible lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaves. *Food Chemistry* 2009, 120, 873–878
- Huang CF, Chen YW, Yang CY, Lin HY, Way TD, Chiang W, Liu SH. Extract of lotus leaf (*Nelumbo nucifera*) and its active constituent catechin with insulin secretagogue activity. *J Agric Food Chem* 2011, 59, 1087–1094
- Institute of Shortening and Edible Oils. In *Food fats and oils*, Institute of Shortening and Edible Oils, 1750 New York Avenue, NW, Suite 120, 2006
- Isidorov, V. A, Rusak, M, Szczepaniak, L, Witkowski, S. Gas chromatographic retention indices of trimethylsilyl derivatives of mono- and diglycerides on capillary columns with non-polar stationary phases. *J Chromatogr A* 2007, 1166 (1–2), 207–211
- Janeiro, P, Oliveira Brett, A. M. Catechin electrochemical oxidation mechanisms. *Anal Chim Acta* 2004, 518(1), 109–115
- Jiang Y, Ng T, Wang C, Li N, Wen T, Qiao W, Zhang D, Cheng Z, Liu F. First isolation of tryptophan from edible lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) rhizomes and demonstration of its antioxidant effects. *Int J Food Sci Nutr* 2010, 61, 346–356.
- Jiang Y, Ng TB, Liu Z, Wang C, Li N, Qiao W, Liu F. Immunoregulatory and anti-HIV-1 enzyme activities of antioxidant components from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) rhizome. *Biosci Rep* 2011, 31(5), 1–8
- Jung HA, Jung YJ, Yoon NY, Jeong DM, Bae HJ, Kim DW, Na DH, Choi JS. Inhibitory effects of *Nelumbo nucifera* leaves on rat lens aldose reductase, advanced glycation endproducts formation, and oxidative stress. *Food Chem Toxicol* 2008, 46, 3818–3826
- Karki R, Jung MA, Kim KJ, Kim DW. Inhibitory Effect of *Nelumbo nucifera* (Gaertn.) on the Development of Atopic Dermatitis-Like Skin Lesions in NC/Nga Mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012, 2012. 1–7

- Kim DW, Park JH. Protective effect of leaf extracts from *Nelumbo nucifera* on DNA damage against oxidative stress. *J Appl Oriental Medicine* 2010, 10, 33–40
- Kim SB, Rho SB, Rhyu DY, Kim DW. Effect of *Nelumbo nucifera* leaves on hyperlipidemic and atherosclerotic Bio F1B hamster. *Kor J Pharmacogn* 2005, 36, 229–234
- Ko BS, Jun DW, Jang JS, Kim JH, Park S. Effect of *Sasa Borealis* and white lotus roots and leaves on insulin action and secretion *in vitro*. *Korean J food Sci Technol* 2006, 38, 114–120
- Kulkarni M, Juvekar A. Attenuation of acute and chronic restraint stress-induced perturbations in experimental animals by *Nelumbo nucifera* Gaertn. *Indian J Pharm Sci* 2008, 70, 327–333
- Lee HJ, Chen CC, Chou FP, Wu CH, Lai FS, Yang MY, Wang CJ. Water extracts from *Nelumbo Nucifera* leaf reduced plasma lipids and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *J Food Biochem* 2009, 34, 779–795
- Lee JJ, Ha JO, Lee MY. Antioxidative activity of lotus root (*Nelumbo Nucifera* G.) extracts. *Journal of Life Science* 2007, 17, 237–243
- Lee JJ, Park SY, Lee MY. Effect of lotus root (*Nelumbo nucifera* G.) on lipid metabolism in rats with diet-induced hypercholesterolemia. *Korean J Food Preserv* 2006, 13, 634–642
- Lee KS, Kwon YJ, Lee KY. Analysis of chemical composition, vitamin, mineral and antioxidative effect of the lotus leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2008, 37, 1622–1626
- Lee KS, Lee KY. Effect of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf extract on serum and liver lipid levels of rats fed a high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2011, 40, 1544–1547
- Li M, Xu Z. Quercetin in a lotus leaves extract may be responsible for antibacterial activity. *Archives of pharmacal research* 2008, 31, 640–644
- Lin HY, Kuo YH, Lin YL, Chiang W. Antioxidative effect and active components from leaves of Lotus (*Nelumbo nucifera*). *J Agric Food Chem* 2009, 57, 6623–6629
- Lunn J, Theobald, H. The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutr Bull* 2006, 31(3), 178–224
- Mahadik SP, Evans D, Lal H. Oxidative stress and role of antioxidant and [omega]-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001, 25(3), 463–493
- Mani SS, Subramanian IP, Pillai SS, Muthusamy K. Evaluation of hypoglycemic activity of inorganic constituents in *Nelumbo nucifera* seeds on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Biol Trace Elem Res* 2010, 138, 226–237
- Mencarelli A, Renga B, Palladino G, Distrutti E, Fiorucci S. The plant sterol guggulsterone attenuates inflammation and immune dysfunction in murine models of inflammatory bowel disease. *Biochem Pharmacol* 2009, 78(9), 1214–1223
- Mistuda H, Yuasumoto K, Iwami K. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to Shokuryo* 1996, 19, 210–214
- Mozaffarian D, Rimm EB. Fish intake, contaminants, and human health: Evaluating the risks and the benefits. *J Am Med Assoc* 2006, 296(15), 1885–1899
- Mukherjee PK, Saha K, Pal M, Saha B. Effect of *Nelumbo nucifera* rhizome extract on blood sugar level in rats. *J Ethnopharmacol* 1997, 58, 207–213
- Nikam S, Nikam P, Ahaley S, Sontakke AV. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Indian J Clin Biochem* 2009, 24(1), 98–101

- Oh YL. Effect of flower extract on antioxidative of cultured C6 Glioma cells damaged by glucose oxidase of reactive oxygen species in *Nelumbo nucifera*. *J Kor Soc People Plants Environ* 2010, 13, 17–24
- Ono Y, Hattori E, Fukaya Y, Imai S, Ohizumi Y. Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. *J Ethnopharmacol* 2006, 106, 238–244
- Oyaizu M. Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine. *Jap J Nutr* 1986, 44, 307–315
- Pan Y, Cai B, Wang K, Wang S, Zhou S, Yu X, Xu B, Chen L: Neferine enhances insulin sensitivity in insulin resistant rats. *J Ethnopharmacol* 2009, 124, 98–102
- Park CH, Hur JM, Song KS, Park JC. Phenolic compounds from the leaves of *Nelumbo nucifera* showing DPPH radical scavenging effect. *Kor J Pharmacogn* 2007, 38, 263–269
- Park CH, Hyun JS, Sihm EH, Han JH. Functional evaluation of lotus root on serum lipid profile and health improvement. *J East Asian Dietary Life* 2005, 15, 257–263
- Park SH, Hahm TS, Han JH. Effects of Ethanol-extract of lotus root on the renal function and blood pressure of fructose-induced hypertensive rats. *J East Asian Dietary Life* 2005, 15, 165–170
- Park SH, Sihm EH, Koo JG, Lee TH, Han JH. Effects of *Nelumbo nucifera* on the regional cerebral blood flow and blood pressure in rats. *J East Asian Dietary Life* 2005, 15, 49–56
- Park YJ, Park YS, Im MH, Kim HJ, An JS, Cho JY, Heo BG. Antibiotic activities of flower and leaf extracts from four species of white lotus. *J life Sci & Nat Res* 2008, 30, 25–34
- Piironen V, Lindsay DG, Miettinen TA, Toivo J, Lampi AM. Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J Sci Food Agric* 2000, 80(7), 939–966
- Pollak OJ. Reduction of blood cholesterol in man. *Circulation* 1953, 7(5), 702–706
- Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 2005, 53(10), 4290–4302
- Qian, J. Q., Cardiovascular pharmacological effects of bisbenzylisoquinoline alkaloid derivatives. *Acta Pharmacol Sin* 2002, 23(12), 1086–1092
- Rai S, Wahile A, Mukherjee K, Saha BP, Mukherjee PK: Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus) seeds. *J Ethnopharmacol* 2006, 104, 322–327
- Rao AV, Janezic SA. The role of dietary phytosterols in colon carcinogenesis. *Nutr Cancer* 1992, 18(1), 43–52
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993, 123, 1939–1951
- Rissanen T, Voutilainen S, Nyssönen K, Lakka TA, Salonen JT, Fish Oil-Derived Fatty Acids, Docosahexaenoic Acid and Docosapentaenoic Acid, and the Risk of Acute Coronary Events. *circulation* 2000, 102(22), 2677–2679
- Sakouhi F, Absalon C, Sebei K, Fouquet E, Boukhchina S, Kallel H. Gas chromatographic-mass spectrometric characterisation of triterpene alcohols and monomethylsterols in developing *Olea europaea* L. fruits. *Food Chem* 2009, 116(1), 345–350

- Samee W, Vorarat S. Simultaneous determination of gallic acid, catechin, rutin, ellagic acid and quercetin in flower extracts of *Michelia alba*, *Caesalpinia pulcherrima* and *Nelumbo nucifera* by HPLC. *Thai Pharm Health Sci* 2008, 2, 131–137
- Schaller H. The role of sterols in plant growth and development. *Progress in Lipid Research* 2003, 42(3), 163–175
- Sohn DH, Kim YC, Oh SH, Park EJ, Li X, Lee BH. Hepatoprotective and free radical scavenging effects of *Nelumbo nucifera*. *Phytomedicine* 2003, 10, 165–169
- Staiger H, Haring H. Adipocytokines: fat-derived humoral mediators of metabolic homeostasis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2005, 113, 67–79
- Tsuruta Y, Nagao K, Kai S, Tsuge K, Yoshimura T, Koganemaru K, Yanagita T. Polyphenolic extract of lotus root (edible rhizome of *Nelumbo nucifera*) alleviates hepatic steatosis in obese diabetic db/db mice. *Lipids Health Dis* 2011, 10, 202–209
- Vasantha Rupasinghe, H. P., Haskap. A new berry crop with high antioxidant capacity. Associate Professor and Canada Research Chair in Fruit Bioactives & BioProducts 2012, 1–15.
- Venkatesh B, Dorai A. Antibacterial and Antioxidant potential of White and Pink *Nelumbo Nucifera* Gaertn Flowers. *Int Conf Biosci Bioche Bioinform.* 2011, 5, 213–217
- Wu CH, Yang MY, Chan KC, Chung PJ, Ou TT, Wang CJ. Improvement in high-fat diet-induced obesity and body fat accumulation by a *Nelumbo nucifera* leaf flavonoid-rich extract in mice. *J Agric Food Chem* 2010, 58, 7075–7081
- Wu MJ, Wang L, Weng CY, Yen JH. Antioxidant activity of methanol extract of the lotus leaf (*Nelumbo nucifera* Gertn.). *Am J Chin Med* 2003, 31, 687–698
- Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nature medicine* 2001, 7, 941–946
- Yang D, Wang Q, Ke L, Jiang J, Ying T. Antioxidant activities of various extracts of lotus (*Nelumbo nuficera* Gaertn) rhizome. *Asia Pac J Clin Nutr* 2007, 16, 158–163
- Yang MY, Chang YC, Chan KC, Lee YJ, Wang CJ. Flavonoid-enriched extracts from *Nelumbo nucifera* leaves inhibits proliferation of breast cancer in vitro and in vivo. *Eur J Integr Med* 2011, 3, e153–e163
- Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86, 3815–3819
- Yen GC, Duh PD, Su HJ, Yeh CT, Wu CH. Scavenging effects of lotus seed extracts on reactive nitrogen species. *Food Chem* 2006, 94, 596–602
- Yen GC, Duh PD, Su HJ. Antioxidant properties of lotus seed and its effect on DNA damage in human lymphocytes. *Food Chem* 2005, 89, 379–385
- Zhenjia Z, Minglin W, Daijie W, Wenjuan D, Xiao W, Chengchao Z. Preparative separation of alkaloids from *Nelumbo nucifera* leaves by conventional and pH-zone-refining counter-current chromatography. *J Chromatogr B* 2010, 878(19), 1647–1651
- Zhou T, Luo D, Li X, Luo Y. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoids from lotus (*Nelumbo nuficera* Gaertn) leaf in diabetic mice. *J Med Plant Res* 2009, 3, 290–293

동 의 서

인터뷰 내용은 ‘한식의 세계화를 위한 연의 건강기능성 및 연 이용 맞춤형 건강한 체중조절 프로그램 홍보 콘텐츠 개발’의 연구 목적이며 이에 연구내용과 관련한 여러분의 의견을 묻는 동의를 받고자 합니다.

여러분의 인적사항과 인터뷰 내용은 연구 목적 이외에는 사용하지 않고 철저히 비밀을 지켜드릴 것을 약속합니다.

감사합니다.

본인은 자발적으로 본 연구에 참여할 것을 동의합니다

2012년 11 월 일

성명: (인)

<부록 2>

Evaluation of Korean diet menus using lotus

Nation :

Name :

Age:

The length of residence in Korea :

Menus

- Lotus seed ginseng rice porridge
- Lotus mandu
- Lotus root salad
- Lotus leaf roll
 - Lotus leaf five grains roll
 - Lotus leaf cheese roll
 - Lotus leaf tuna roll
- Lotus leaf haemul pajeon
- Lotus topokki
- Lotus root and chicken on a shewer

Lotus seed ginseng rice porridge

	very dissatisfied	dissatisfied	little dissatisfied	normal	little satisfied	satisfied	very satisfied
Color	1	2	3	4	5	6	7
Shape	1	2	3	4	5	6	7
Flavor	1	2	3	4	5	6	7
Texture	1	2	3	4	5	6	7
Taste	1	2	3	4	5	6	7
Overall	1	2	3	4	5	6	7

Comment

**Lotus mandu
: Lotus leaf and root dumpling**

	very dissatisfied	dissatisfied	little dissatisfied	normal	little satisfied	satisfied	very satisfied
Color	1	2	3	4	5	6	7
Shape	1	2	3	4	5	6	7
Flavor	1	2	3	4	5	6	7
Texture	1	2	3	4	5	6	7
Taste	1	2	3	4	5	6	7
Overall	1	2	3	4	5	6	7

Comment

Lotus root salad

	very dissatisfied	dissatisfied	little dissatisfied	normal	little satisfied	satisfied	very satisfied
Color	1	2	3	4	5	6	7
Shape	1	2	3	4	5	6	7
Flavor	1	2	3	4	5	6	7
Texture	1	2	3	4	5	6	7
Taste	1	2	3	4	5	6	7
Overall	1	2	3	4	5	6	7

Comment

Lotus leaf roll
Lotus leaf five grains roll
Lotus leaf cheese roll
Lotus leaf tuna roll

	very dissatisfied	dissatisfied	little dissatisfied	normal	little satisfied	satisfied	very satisfied
Color	1	2	3	4	5	6	7
Shape	1	2	3	4	5	6	7
Flavor	1	2	3	4	5	6	7
Texture	1	2	3	4	5	6	7
Taste	1	2	3	4	5	6	7
Overall	1	2	3	4	5	6	7

Comment

**Lotus leaf haemul pajeon
: Lotus leaf seafood and green onion pancake**

	very dissatisfied	dissatisfied	little dissatisfied	normal	little satisfied	satisfied	very satisfied
Color	1	2	3	4	5	6	7
Shape	1	2	3	4	5	6	7
Flavor	1	2	3	4	5	6	7
Texture	1	2	3	4	5	6	7
Taste	1	2	3	4	5	6	7
Overall	1	2	3	4	5	6	7

Comment

Lotus topokki
: stir-fried lotus leaf rice cake lotus root

	very dissatisfied	dissatisfied	little dissatisfied	normal	little satisfied	satisfied	very satisfied
Color	1	2	3	4	5	6	7
Shape	1	2	3	4	5	6	7
Flavor	1	2	3	4	5	6	7
Texture	1	2	3	4	5	6	7
Taste	1	2	3	4	5	6	7
Overall	1	2	3	4	5	6	7

Comment

Lotus root and chicken on a skewer

	very dissatisfied	dissatisfied	little dissatisfied	normal	little satisfied	satisfied	very satisfied
Color	1	2	3	4	5	6	7
Shape	1	2	3	4	5	6	7
Flavor	1	2	3	4	5	6	7
Texture	1	2	3	4	5	6	7
Taste	1	2	3	4	5	6	7
Overall	1	2	3	4	5	6	7

Comment

Overall comment

Thank you very
much ^^!!

