

발 간 등 록 번 호

11-1543000-001425-01

고부가가치식품기술개발 R&D Report

# 제주산 건조 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연과일향 블렌딩 녹차 개발 최종보고서

2016. 10.

주관연구기관 / 농업회사법인 (주)제주팜플러스  
협동연구기관 / 농업회사법인 (주)경덕  
협동연구기관 / 제주대학교 산학협력단

농림축산식품자료실



0025046

농 립 축 산 식 품 부

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “제주산 건조 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연과일향 블렌딩 녹차 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2016 년 10 월

주관연구기관명 : 농업회사법인 (주)제주팜플러스

주관연구책임자 : 장성철

세부연구책임자 : 장성철

연 구 원 : 고한석, 정재은, 김진현,  
한기선

협동연구기관명 : 농업회사법인 (주)경덕 (다희연)

협동연구책임자 : 주시몽

연 구 원 : 현승화, 윤상식, 정규환

협동연구기관명 : 제주대학교 산학협력단

협동연구책임자 : 지영흔

연 구 원 : 빙소진, 조진희, 김아름,  
KHINM Herath

# 요 약 문

## I. 제 목

**제주산 건조 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연과일향 블렌딩 녹차 개발**

## II. 연구성과 목표 대비 실적

성과목표	사업화지표									연구기반지표							
	지식 재산권		기술이전	사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	출원	등록		제품화	기술창업	매출창출	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정채 활용	홍보 전시	
			SCI						비SCI								
최종목표	3	1	1	1	·	·	2	·	1	1	2	4	3	3	·	2	·
연구기간 내 달성실적	3	0	1	1	·	600만원	2	10억	1	4	0	7	3	3	·	3	·
달성율(%)	100	0 <sup>1</sup>	100	100	·	·	100	·	100	400 <sup>2</sup>	0 <sup>3</sup>	175 <sup>4</sup>	100	100	·	150 <sup>5</sup>	·

<sup>1</sup> 2016년 9월 26일자로 특허등록이 결정됨

<sup>2, 3</sup> 당초 기대보다 결과가 우수하여 비SCI 2건을 SCI 2건으로 상향 조정하였고, SCI(E) 1건은 2016. 08. 29자로 게재 승인되었으며, SCI 1건은 2016. 09. 09자로 게재 승인됨 (p98-99)

<sup>4, 5</sup> 초과 달성함

## III. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 환경오염물질 등과 같은 다양한 환경적 요인들로 인해 체내 면역력이 저하되고 감염에 대해 더 자주 노출되고 있으며, 더구나 새로운 균, 바이러스 또는 내성균, 내성바이러스들이 꾸준히 출현함으로 인해 단순한 항생제 요법으로는 감염증에 대한 치료가 용이하지 않게 되었고, 감염의 재발이나 만성화를 초래하기도 한다. 또한 농약, 살충제 등의 사용량 및 식품 내 잔류량 증가, 식품 보존제, 방부제, 착색제 등의 첨가된 가공식품의 소비 증가, 수질, 토양, 대기오염의 증가, 현대인의 스트레스의 증가, 활동량의 감소 그리고 풍요로운 식생활을 통한 비만 등의 문제들로 인해 암, 재발성, 난치성, 만성화된 호흡기 질병 등을 비롯한 다양한 질병으로 인한 환자가 늘어가고 있다. 따라서 이러한 면역력 저하의 문제점을 해결하기 위한 방안으로 면역력 증강을 위한 물질의 개발이 중요해졌으며, 면역력 증강에 대한 소비자의 관심도 증가하여 건강기능식품 시장이 지속적으로 성장하고 있는 추세이다. 또한, 웰빙 문화와 더불어 천연·유기농·오가닉 등 친환경적인 바람이 불고 있어 일반 소비자들도 자연스럽게 친환경적인 제품에 눈길을 돌리고 있다. 이러한 수요에 발맞춰 제주산 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트)의 유효활성성분 및 색, 맛, 향을 그대로 함유한 건조 농식품을 제조하여 제주산 유기농 녹차와 혼합한 과일 블렌딩 녹차를 개발하고자 한다.

#### IV. 연구개발 내용 및 범위

제주산 유기농 녹차와 혼합한 과일 블렌딩 녹차를 개발하기 위하여 제주산 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트) 고유의 색, 맛, 향을 유지할 수 있는 최적의 저온열풍복합건조 공정을 확립하였고, 천연 과일향 블렌딩 녹차에 적합한 제주산 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트) 과 유기농 녹차의 세절 규격을 선정된 후 녹차의 수확시기에 따른 제주산 건조 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트)의 배합 비율을 선정하였다. 또한 후보건조식품 추출물 (당유자, 한라봉, 레드비트) 처리에 의한 면역세포의 활성화 및 면역조절능 연구를 위하여 면역세포에 대한 추출물의 독성, 증식능 및 기능 변화를 평가하였고, 방사선 조사를 통한 면역억제와 immunogen 처리 및 귀 부종 (ear edema)이 유발된 염증동물모델을 이용하여 면역조절능을 검증하였다.

#### V. 연구개발결과

제주 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트) 원물의 맛, 향, 색을 유지하는 건조식품을 생산하기 위하여 (주)제주팜플러스의 저온열풍복합건조 공정을 이용하여 시험한 결과, 당유자를 4.2mm 두께로 세절하여 건조온도 70-85℃, 원적외선 60-70%, 기류속도 50-60Hz/sec, 벨트속도 65Hz/sec의 조건으로 공정을 거쳤을 때, 수분율 7.42%로 최적의 건조식품 생산 조건을 확립하였다. 레드비트는 3.2mm의 두께로 세절하여 80-90℃에서 원적외선 60-70%, 기류속도 50-60Hz, 벨트속도 60Hz의 조건으로 공정을 거쳤을 때, 수분율 3.35%로 최적의 건조식품 생산 조건을 확립하였다. 제주산 유기농 녹차 수확시기별 당유자, 한라봉, 레드비트의 건조식품 배합조건을 선정하기 위한 소비자 기호도 조사 결과 당유자의 경우 녹차와 8:2의 비율이, 한라봉의 경우에는 7:3, 레드비트의 경우 9:1의 비율이 소비자 선호도에서 높은 비율을 차지하였다. 이는 전문가 컨설팅 결과와 일치했으며, 소비자 기호도 조사에서 큰 차이를 보이지 않은 감귤류는 전문가 컨설팅에 따라 녹차와의 비율을 5:5로 결정하였다.

레드비트 추출물과 EGCG는 방사선 조사로 기능이 억제된 면역세포에 대하여 세포독성을 보이지 않았고, 방사선 조사에 의한 DNA 분절 현상을 효과적으로 억제시킨다는 것을 확인하였다. 레드비트 추출물은 방사선 조사로 인하여 발생한 hydrogen peroxide를 산소와 물로 변환시키는 과정을 촉진하는 항산화 효소인 catalase의 활성화를 촉진시켰으며, EGCG는 미토콘드리아에 많이 분포하고 있는 항산화 효소인 MnSOD의 활성화를 촉진시킴을 확인하였다. 또한, 레드비트 추출물을 처리하였을 경우 effector T 세포의 expansion에 관여하여 세포 증식에 영향을 미치는 인자중 하나인 interleukin-2 (IL-2)의 생성량이 유의적으로 증가함을 확인하였다. 또한 당유자와 한라봉 추출물은 immunogen (concanavalin A)으로 자극시킨 면역세포에 대하여 세포독성을 보이지 않았으며, immunogen으로 자극된 면역세포의 증식을 억제하였다. 특히 당유자, 한라봉 추출물과 EGCG를 병행처리를 하였을 경우 시너지 효과가 나타나 그 효능이 급격히 증가함을 확인하였다. 당유자와 한라봉 추출물은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)로 귀 부종을 유도한 마우스에서 염증세포의 침윤과 활성을 감소시키고 염증관련 효소인 COX-2와 iNOS의 발현을 억제하여 항염효과를 보인다는 것을 확인하였다.

## VI. 연구성과 및 성과활용 계획

제주산 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트)을 이용한 면역력 증진 및 조절 효과를 지닌 천연과일향 블렌딩 녹차를 개발하여 녹차에 의존적인 제주 차 산업의 확대 및 프리미엄 차 시장으로의 진출 가능성을 높이고 제주에서 생산된 차 종류의 확대에 의한 프랜차이즈 등 다양한 사업의 기회를 높일 것으로 사료된다. 또한 제주산 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트)을 이용한 기능성 식품의 개발과 추가적으로 요구되는 면역활성 및 조절 연구를 수행함으로써 지역거점대학과 지역산업체간 산학연 연계 활성화를 유도하여 낮은 취업률을 가지는 지방대학의 단점을 보강하여 우수한 전문 인력 양성에 기여할 것으로 사료된다. 또한 제주산 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트) 유래 면역활성능 및 조절능을 구명함으로써 새로운 생리활성물질 발굴 가능성을 높이고 학술적 토대를 마련하여 학술적 가치 증진을 도모할 것으로 사료된다.

## SUMMARY

### (영문요약문)

#### I. Project Title

Development of immune-boosting, natural fruit-flavored green tea with dried Jeju farm products and organic green tea

#### II. Objectives and Needs

Occurrence of health problems has increased rapidly in recent decade due to environmental pollution existed with the prompt industrialization of the world. Frequent exposure to these pollutants may account for the decreased immunity and exposure to infections more frequently. Particularly, exposure to pollutants enhances the infection of new virus and drug-resistant virus which can be attributed to cause unknown diseases. Further, the pollutants in the environment can alter the immune function of living organisms and results in diseases such as chronic relapsing disease and curable disease. Healthy functional foods play a crucial role in preventing adverse effects occurred in the body by pollutants and play as immune system boosters. In this context, there is an increasing consumer demand for immune-boosting, functional food based products in the market throughout the world. Therefore, our objective is to develop a competitive, value added, fruit-flavored green tea that contain natural bioactive substances with a pleasant color, taste and aroma.

#### III. Contents and Scopes

- ◆ Hallabong  
Hallabong [(*Citrus unshiu* x *C. sinensis*) x *C. reticulata*] is a hybrid citrus cultivated in temperate regions of South Korea. Its fruit is well-known for pharmacological properties. This study examined the anti-inflammatory effect of 80% ethanol extract of Hallabong on concanavalin A (Con A)-stimulated splenocytes and mouse oedema model induced by 12-O-tetradecanoylphorbol acetate (TPA).
- ◆ Dangyuja  
Dangyuja (*Citrus grandis* Osbeck), a citrus cultivated in South Korea, has been used in traditional medicine for its anti-inflammatory effect. In this study, we investigated the anti-inflammatory potential of fruit extract of *Citrus grandis* Osbeck (ECGO).
- ◆ Beetroot  
Beetroot (*Beta vulgaris*), a vegetable usually consumed as a food or a medicinal

plant in Europe, has been reported to have antioxidant and anti-inflammatory properties. Since lymphohematopoietic system is the most sensitive tissue to ionizing radiation, protecting it from radiation damages is one of the best ways to decreased detrimental effects from radiation exposure. In this study, we evaluated the radio-sensitive effects of beetroot in hematopoietic stem cells (HSCs) and progenitor cells.

#### IV. Results

- ◆ Hallabong

Hallabong-treated Con A-stimulated murine splenocytes showed a marked decrease in CD44/CD62L<sup>+</sup>memory T-cell population, an important marker for anti-inflammatory activity, and a significant inhibition in the production of IL-2 and IFN- $\gamma$ . Hallabong treatment had reduced the mouse skin oedema and myeloperoxidase (MPO) activity significantly (40%) in TPA-challenged ear tissues. More importantly, immunohistochemical localization revealed the suppressed ( $p < 0.05$ ) expression of inducible nitric oxide (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX2). Hallabong decreased the infiltration of CD3<sup>+</sup> T cells and F4/80<sup>+</sup> macrophages to the site of inflammation and at topical application of Hallabong significantly suppressed the expression of TNF- $\alpha$  (20.2%).

- ◆ Dangyuja

In *in vitro* assays, ECGO treatment of concanavalin A (10 $\mu$ g/ml, for 24 h) stimulated splenocytes showed significant reduction in CD44/CD62L<sup>+</sup> T cell population and a marked decrease in the production of inflammatory cytokines IL-2, IFN- $\gamma$  and IL-4. Interestingly, *in vivo* assays of ECGO topical treatment (100 $\mu$ g/20 $\mu$ l/ear) significantly mitigated the TPA (4 $\mu$ g/20 $\mu$ l/ear) induced edema induction and Myeloperoxidase activity. Anti-inflammatory potential of ECGO were further evidenced through its potent decrease in expression of inducible nitric oxide, cyclooxygenase-2, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$  and suppressed homing of CD3<sup>+</sup> T cells and F4/80<sup>+</sup> macrophages to site of inflammation.

- ◆ Beetroot

Beetroot not only stimulated cell proliferation suppressed by radiation but also minimized DNA damages of peripheral immunocytes. Beetroot also rescued bone marrow cells from radiation damages by repopulating S phase cells. Beetroot treated mice showed notable boosting of differentiation of HSCs into burst-forming units-erythroid (BFU-E) along with increased production of IL-3, a hematopoietic growth promoting cytokine, from bone marrow cells. Also, beetroot treated mice displayed enhancement in the level of hematocrit and hemoglobin as well as the number of red blood cell in peripheral blood. Beetroot diet improved survival rate of lethally exposed mice.

## **V. Proposal for Application**

This project focuses on expanding the Jeju green tea industry, global market entry, premium tea market advancement and increasing franchising opportunity. This study will revitalize the collaboration of industrial institutes and universities. In addition, the interchange and collaboration among industry and university laboratories is a critical component in efficient innovation of research work with the alliance of various technique, experiences and knowledge of experts in the academic field. Further, current expansion in development of natural plant products to industrial applications facilitates the growth of BT industry. Current study emphasizes the development of drugs and dietary supplement industry by promoting the utilization of locally abundant bio-materials in Jeju. Furthermore, results of this study will contribute to the development of regional economy through the growth of tertiary industry as well as increase the income of fishermen in Jeju.

# CONTENTS

## (영 문 목 차)

### I. Proposal Summary

- A. The research and development necessity
- B. Objective of research and contents

### II. Status of technical development

- A. Analysis of patents, paper and market

### III. Contents and Results

- A. The research development contents and results
  - 1. Supervising research and development institute;  
Agricultural Corporation Jeju Farm Plus Co., Ltd.
  - 2. 1<sup>st</sup> cooperative research and development institute;  
Agricultural Corporation Kyungduk Co., Ltd. (Daheeyeon)
  - 3. 2<sup>nd</sup> cooperative research and development institute;  
Jeju National University

### IV. Goal achievement and Contribution

- A. Final objectives
- B. Specific research objectives and Achievement

### V. Proposal for Application

- A. Outcome of patent applications and registration
- B. Outcome of published research paper and conference presentation
- C. Outcome of public relations and Exhibition
- D. Outcome of transfer of technique, education and guidance
- E. Outcome of technique and Product certification
- F. Application plan of research and development result

### VI. Technical know-how

### VII. References

# 목 차

## 제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

제 1 절 연구개발의 필요성

제 2 절 연구개발 목표 및 내용

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 특허, 논문, 제품(시장) 분석

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발 내용

1. 주관연구기관 -농업회사법인 (주)제주팜플러스
2. 제1협동기관 -농업회사법인 (주)경덕 (다희연)
3. 제2협동기관 -제주대학교

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 최종목표

제 2 절 세부연구목표 및 달성도

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 특허출원 및 등록 성과

제 2 절 논문 및 학술발표 성과

제 3 절 홍보 및 전시 성과

제 4 절 기술이전 및 교육지도 성과

제 5 절 기술 및 제품인증 성과

제 6 절 연구개발 성과 활용 계획

## 제 6 장 연구실 안전관리 이행실적

## 제 7 장 참고문헌

# 제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

## 제 1 절 연구개발의 필요성

### 1. 면역 활성 (Immune activity)의 중요성

- 가. 최근에 환경오염물질 등과 같은 다양한 환경적 요인들로 인해 체내 면역력이 저하되고 감염에 대해 더 자주 노출되고 있으며, 더구나 새로운 균, 바이러스 또는 내성균, 내성바이러스들이 꾸준히 출현함으로써 인해, 단순한 항생제 요법으로는 감염증에 대한 치료가 용이하지 않게 되었을 뿐만 아니라 감염의 재발이나 만성화를 초래하기도 한다 (1).
- 나. 뿐만 아니라, 농약, 살충제 등의 사용량 및 식품 내 잔류량 증가, 식품 보존제, 방부제, 착색제 등이 첨가된 가공식품의 소비 증가, 수질, 토양, 대기오염의 증가, 현대인의 스트레스 증가, 활동량의 감소 그리고 풍요로운 식생활을 통한 비만 등의 문제들로 인해 암, 재발성, 난치성, 만성화된 호흡기 질병 등을 비롯한 다양한 질병의 환자가 늘어가고 있다.
- 다. 특히, 암과 같은 질병의 치료를 위해 사용되어지고 있는 많은 항암제나 다양한 치료 요법들은 암세포뿐만 아니라 정상세포를 포함하는 면역세포에까지 영향을 끼침으로써 정상세포들의 세포분열상 DNA 변성을 초래한다는 점에서 독성작용이나 다른 부작용들이 대두되면서 그 사용이 제한되어지고 있는 실정이다.
- 라. 따라서 이러한 면역력 저하의 문제점을 해결하기 위한 방안으로 면역력 증강을 위한 물질의 개발은 매우 중요하다.
- 마. 그 예로, 최근 암을 치료하기 위하여 시행되는 chemotherapy, metastasis 억제 및 angiogenesis 억제를 통한 치료법에서 생기는 면역력의 저하나 알레르기성 비염, 축농증, 설염 등과 같은 염증성 질환의 치료를 위해서 면역증강제의 사용이 증대되고 있으며, 주목받고 있다.
- 바. 뿐만 아니라, 숙주면역기능을 증강시키기 위한 다른 치료제와 면역증강제의 병용 투여를 수행하는 immunotherapy가 사용되고 있다.

### 2. 면역력 증진 기능을 가진 건강식품 개발의 필요성

- 가. 건강기능식품 시장은 지속적으로 성장하고 있으며, 소비자 관심도 증대되고 있는 실정이다. 실제로 2008년부터 2011년까지 건강기능식품의 시장규모는 연평균 19% 이상의 고도성장을 하고 있으며, 질병예방은 물론 영양과 신체기능에 도움이 되는 건강기능식품을 소비자들이 ‘약’의 개념에서 ‘보조식품’으로 인식을 달리하면서 건강기능식품 구입율도 증가하고 있는 추세이다.
- 나. 특히 2012년 건강기능식품 산업동향 보고서에 따르면, 104개 건강기능식품 업체의 생산현황을 효능별로 살펴보았을 때, 면역력 증진, 체지방 감소 관련된 제품 생산이 많았으며, 향후 생산/판매하고 싶은 효능과 관련된 질문의 답변에도 생산/판매 중인 효능의 빈도와 유사하게 나타났다 (그림 1-1).

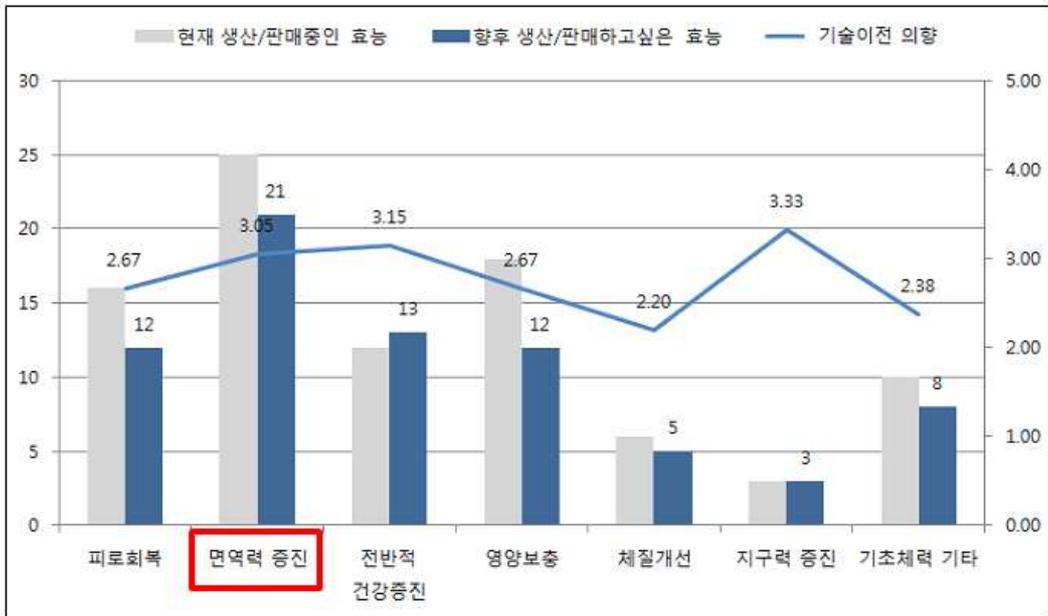


그림 1-1. 기초체력분야 기술니즈 및 기술이전의향 현황 (출처: 2012 건강기능식품 산업동향 보고서)

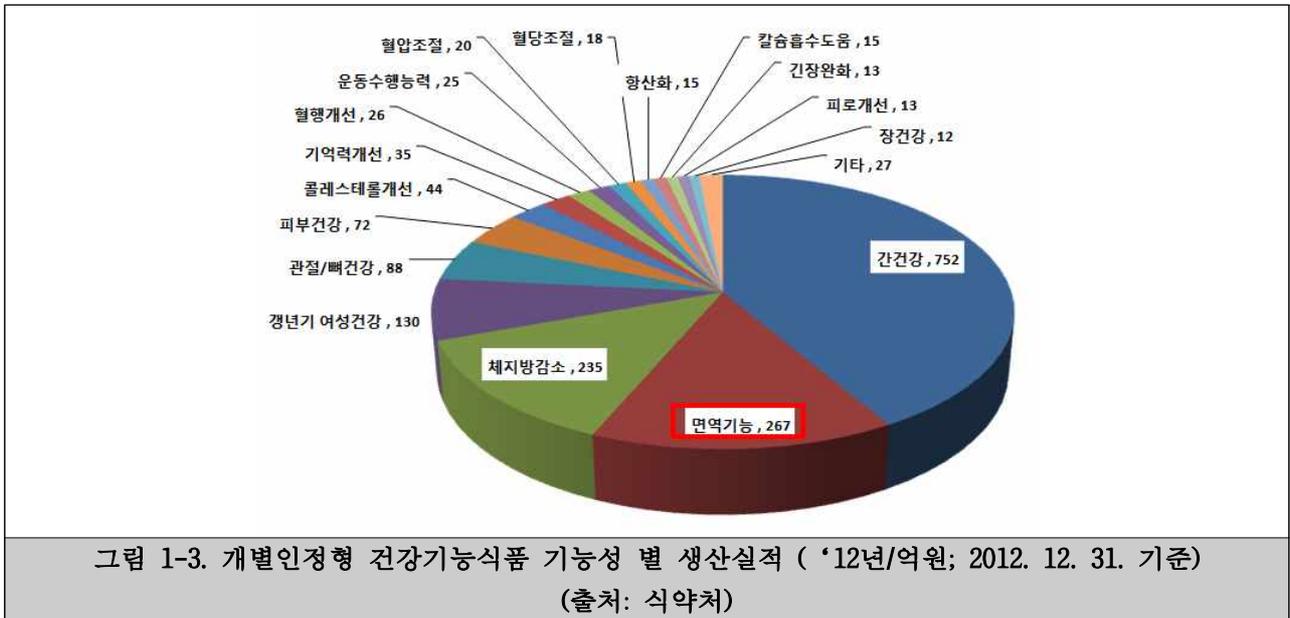
- 다. 기초체력 분야 중 향후 생산/판매하고 싶은 효능으로는 ‘면역력 증진’ 이 가장 높았으며, 기술이전 의향도 다른 분야에 비해 높은 편으로 나타났다.
- 라. 또한 기술이전 유망효능분야를 분석한 결과, 그림2에서 볼 수 있듯이 면역력 증진 분야는 2사분면에 분포하여, 기술이전 의향이나 향후 제조/판매를 원하는 빈도가 상대적으로 높은 것으로 나타났다 (그림 1-2).



그림 1-2. 연구개발 유망 분야 매트릭스 분석 (출처: 2012 건강기능식품 산업동향 보고서)

- 마. 따라서 향후 면역력 증진을 중심으로 기술을 발굴하고 이를 마케팅 전략으로 실행한다면 건강기능식품 관련 기술거래가 더욱 더 활성화 될 것으로 판단된다.
- 바. 또한 소비자들이 건강기능식품을 통해 해결하려는 건강 문제도 면역력 증진 분야가 높은 비율을 나타내어, 면역력 증진의 효능을 중심으로 기술 개발을 하는 것이 소비자의 요구 조건에 부합한다고 사료된다.
- 사. 실제로 2012년 식약처에서 조사한 개별 인정형 건강기능식품 기능별 생산실적 통계

를 보면, 면역기능과 관련된 제품의 생산 실적이 간 건강 관련 식품에 이어 두 번째로 많은 생산 실적 (267억원/2012년)을 보였다 (그림 1-3).



아. 바이오 푸드 네트워크에서 주관하고 한국건강기능식품협회와 대상(주)가 조사한 ‘2013 건강기능식품 소비자실태 및 시장구조 조사’ 보고서에 의하면, 건강기능식품 구매 시 가장 많이 고려하는 건강 문제로 면역력 증진이 피로회복에 이어 43.1%로 두 번째로 높게 나타났다 (그림 1-4).

<표 10> 건강기능식품 구매 시 고려하는 건강 관련 문제 (단위 : %)

구분	2010년	2012년	구분	2010년	2012년
피로회복	46.5	56.3	골 건강	0.0	3.8
<b>면역력 증진</b>	<b>41.7</b>	<b>43.1</b>	배변활동	0.0	3.6
전반적 건강증진	24.7	24.9	혈압	3.3	2.9
혈행 개선	14.2	22.8	스트레스	0.0	2.4
영양보충	19.6	17.5	기억력	2.0	2.2
관절 건강	16.3	16.5	혈당	0.2	1.7
피부 건강	7.3	7.9	지구력 증진	0.0	1.5
눈 건강	5.3	7.5	당뇨병	0.7	1.4
콜레스테롤 개선	6.5	6.5	성장	0.0	1.0
노화방지	5.3	5.8	전립선 건강	1.1	0.9
체질 개선	6.9	5.3	숙면	0.0	0.5
장 건강	4.0	5.1	알레르기	0.5	0.3
체지방 감소	1.5	4.8	구강 건강	0.0	0.2
간 건강	5.6	4.1	기타	1.3	2.2

출처 : BFN(2013), "2013년 건강기능식품 소비자 실태 및 시장구조 조사  
주) base : 2012년 구입경험자 583명

그림 1-4. 건강기능식품 구매시 고려하는 건강 관련 문제 (출처: 2012 건강기능식품 산업동향 보고서)

자. 따라서 면역력 증강 소재의 개발은 기술이전, 기술사업화에 용이할 뿐만 아니라, 현재 소비자들의 구매 욕구를 충분히 충족시킬 수 있을 것으로 사료된다.

### 3. 천연 생물자원을 이용한 상품 개발

가. 몇 년 전, 전 세계적으로 바람 불기 시작한 ‘웰빙 (Well-being)’. 육체적·정신적 건

강의 조화를 통해 행복하고 아름다운 삶을 추구하는 삶의 유형이나 문화를 통틀어 일컫는 개념으로, 멋과 건강을 중시하는 젊은 세대들부터 가족의 건강을 책임지는 중년 주부들까지 사회 전반적으로 큰 돌풍을 일으켰다.

- 나. 최근에는 잘 먹고 잘 살자 라는 웰빙문화에서 한발 더 나아가 천연·유기농·에코·오가닉 등 ‘이왕 먹는 거 몸에 좋은 거 먹으면서 환경도 지키자!’ 라는 친환경적인 바람이 불고 있다.
- 다. 최근 먹거리와 지구환경에 대한 우려가 심화되면서 친환경 유기농 제품을 선호하고 지구 환경을 생각하는 소비자들이 늘고 있다.
- 라. 지구 온난화와 같은 환경문제와 화장품 속 화학물질에 대한 관심이 커지면서 일반 소비자들도 자연스럽게 친환경적인 제품에 눈길을 돌리고 있다.
- 마. 이러한 수요를 보면 우리나라를 포함한 전 세계도 천연성분 제품의 수요가 지속적으로 증가할 것으로 전망된다.
- 바. 실제로 ‘2012 건강기능식품 소비자 실태 및 시장구조 조사 결과’ 를 보면, 구매 시 중요하다고 고려하는 요소 중 천연성분이나 재료로 만들어졌는지 여부를 소비자의 90%이상이 고려한다고 나타났다 (그림 1-5).

<표 13> 구매 시 중요하게 고려하는 요소 (단위 : %)

요소	비율	요소	비율
제조/판매회사가 믿을 만 하다	96.1	섭취 후 1개월 이내에 효과가 느껴진다	79.8
부작용이 없다	92.5	섭취하기 좋은 제형 및 크기로 되어있다	78.0
천연성분이나 재료로 만들어졌다	90.2	주원료 이외에 다양한 원료가 함유되어있다	78.0
전반적 건강증진에 좋다	89.7	주변에서 많이 권유한다	75.6
제품의 가격이 적정하다	89.5	할인 등 다양한 프로모션을 진행한다	71.5
고민하는 건강문제와 제품성분이 맞다	88.5	제품의 맛/향(냄새)이 좋다	66.2
질병 치료 및 예방에 도움이 된다	88.5	일일 섭취횟수가 적다	65.0
잘 알려져 있는 성분으로 만들어졌다	84.9	일일 섭취량(개수)이 적다	63.0
제품의 원산지가 마음에 든다	83.5	휴대하기 편리하다	61.4
구매하기 편하다	81.1	광고를 통해 접할 수 있는 대중적인 상표이다	60.2
고객 대응이 만족 (보상/교환이 신속/편리)	80.3	패키지가 고급스럽다	40.0
섭취 방법이 간편하다	79.9	용기 디자인이 좋다	35.0

출처 : BFN(2013), "2013년 건강기능식품 소비자 실태 및 시장구조 조사"

주1) 복수응답

주2) base : 2012년 구입경험자 583명

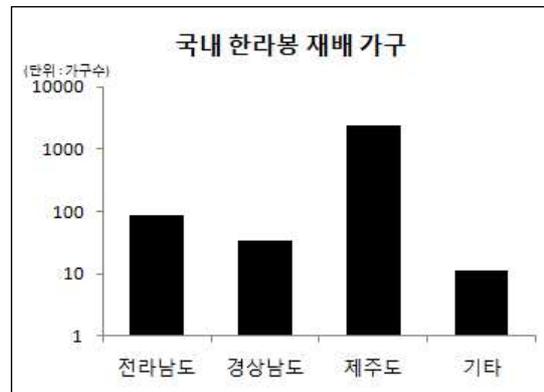
그림 1-5. 건강기능식품 구매 시 중요하게 고려하는 요소 (출처: 2012 건강기능식품 산업동향 보고서)

#### 4. 제주 지역 감귤산업 현황과 제주산 레드비트 생산 현황

- 가. 제주 지역은 생물의 북방과 남방 한계의 교차점으로 한라산과 중, 산간 습지 및 해안 지대에 여종의 생물종다양성 자원을 가진 생물유전자원의 보고로써 종 다양성자원을 활용한 산업개발 잠재력이 높게 평가된다.

- 나. 제주도는 풍부한 생물종 다양성, 다양한 기후대 보유, 한반도 기후변화 선단지 등의 특성 때문에 약 8600여 종의 생물종이 분포하는 생물자원의 보고이다.
- 다. 또한 제주도 주변 해역은 우리나라 전체 해역의 24.4%를 차지하고, 해양생물종 다양성이 풍부할 뿐 아니라 다른 해역에 분포치 않은 생물종이 서식하고 있다.
- 라. 한라봉은 일본 농림성 과수시험장에서 청견과 폰칸을 교배하여 육성한 교잡종으로 제주도 및 일본에 분포하고 있으며 국내에서 재배되고 있는 한라봉 중 95%가 제주도에서 생산되고 있다 (표 1-1).

표 1-1. 국내 한라봉 재배 가구 (2010년)



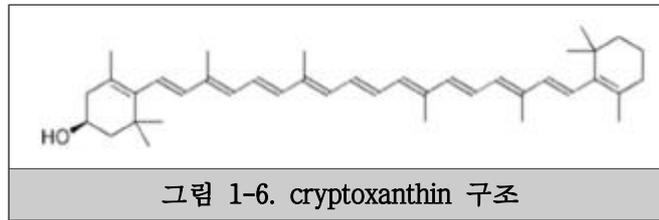
- 마. 당유자 (제주도에서는 덩우지라 부름)는 쌍떡잎식물 쥐손이풀목 운향과에 속하는 꿀나무로 제주 자생 감귤류의 일종으로 오래전부터 식용 및 약용으로 사용되어 왔으며 다른 귤류와 레몬에 비해 비타민 C의 함량이 4배 이상 들어있는 것으로 알려져 있다 (2).
- 바. 레드비트 (Red beet)는 명주아과에 속하며 아프리카 북부와 유럽 남부 지중해가 원산지인 것으로 알려져 있으며 현재 유럽 등지에서는 샐러드, 주스, 생식 및 천연색소 등으로 이용되고 있다 (3).
- 사. 제주지역 레드비트 재배에 적합한 좋은 최상의 기후조건과 자연환경을 가지고 있어 타 지역에 비하여 고품질의 레드비트를 생산할 수 있어 최근 제주도의 레드비트 재배 농가수가 증가하는 추세이다 (표 1-2).

표 1-2. 국내 비트 생산 농가

구분	농가명	위치
제주도내	제주하루	제주시 애월읍
	한스팜 (장시영)	제주시 애월읍
	숨쉬는돌	제주시 한경면
	영인농원	서귀포시 대정읍
제주도외	진도농장	전라남도 진도군
	늘푸른 농장	경기도 파주시
	벽산농장	경상북도 영양군

## 5. 한라봉, 당유자, 레드비트의 생리활성

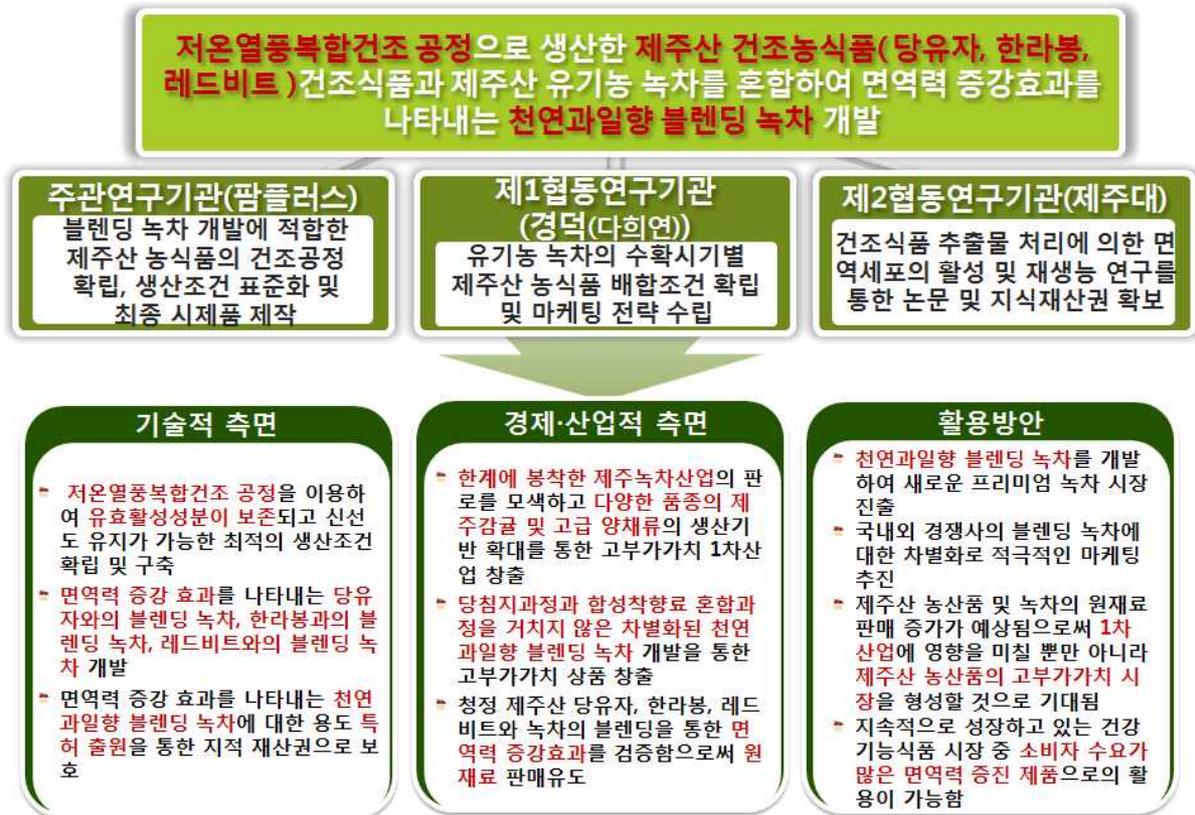
가. 한라봉의 과피와 과실에는 beta-cryptoxanthin이 각각 1.71mg, 0.65mg 포함되어 있는 것으로 보고되었다 (그림 1-6).



- 나. 한라봉의 과피와 과실에는 beta-cryptoxanthin이 각각 1.71mg, 0.65mg 포함되어 있는 것으로 보고되었다 (그림 6).
- 다. Beta-cryptoxanthin은 Vitamin A의 전구체로써 provitamin A라고 알려져 있으며, 항산화 효과가 있어 DNA와 세포에 free radical 로 인한 손상을 막아줄 뿐만 아니라 손상된 DNA의 회복을 자극시켜 주는 것으로 알려져 있다.
- 라. 당유자 (Citrus grandis Osbeck)는 유기산 및 유리당, 무기질, 비타민 등의 영양성분과 limonin, obacunone, nomilin 등의 limonoid류, naringin, hesperidin 등의 flavonoid류와 같은 다양한 기능성 성분을 함유하고 있는 것으로 보고되어 있다 (4, 5).
- 마. 또한 당유자의 잎 또는 과실 추출물의 항산화 효과 및 염증 억제 효과, 위암 억제 효과 등 다양한 생리활성이 보고되었다 (5, 6, 7).
- 바. 비트를 섭취한 집단에서 CRP (C-reactive protein), IL-6(Interleukin-6), TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor-alpha)의 농도가 유의하게 낮아진다는 보고가 있고 또한 항암 효과, 혈압강하 효과, 노화예방 효과, 다이어트 효과, 항염증 효과와 더불어 항산화 효과도 있다고 알려져 국내 소비자의 관심이 높아지고 있다.

## 제 2 절 연구개발 목표 및 내용

### 1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용



### 2. 과제별(세부·협동) 연구개발의 목표 및 내용



가. 연구개발의 목표

(1) 주관 연구기관 - (주)제주팜플러스

- (가) 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트의 특성에 맞는 저온열풍복합건조 공정을 확립하여 건조 후에도 유효활성 성분 및 영양성분이 보존됨을 공인시험분석기관을 통하여 검증한다.
- (나) 저온열풍복합건조 공정을 이용하여 생산한 당유자, 한라봉, 레드비트의 색, 향, 맛이 변하지 않음으로써 유기농 녹차와 블렌딩하였을 때 녹차 특유의 향과 떫은맛이 완충되어 녹차를 선호하지 않는 계층도 쉽게 음용할 수 있는 천연과일향 블렌딩 녹차 개발한다.

(2) 제1협동 연구기관 - (주)경덕 (다희연)

- (가) 유기농 과일녹차 블렌딩에 적합한 녹차와 제주산 농식품의 세절 규격을 선정하여 칩출에 용이하도록 한다.
- (나) 제주산 유기농 녹차의 수확시기에 따른 녹차와 제주산 농식품의 최적 배합비율을 선정한다. 또한, 소비자 기호도 조사 (관능검사)를 위한 설문지를 개발하여 소비자 기호도 조사(관능검사)를 통해 최종 배합비율을 확정한다.

(3) 제2협동 연구기관 - 제주대학교 지영훈

- (가) 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트의 면역조절 효과 및 면역증강 효과를 *In vitro*, *In vivo* system을 통하여 평가한다.
- (나) 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트의 면역조절 효과 및 면역증강 효과를 검증하여 기능성 천연과일향 블렌딩 녹차의 상품화에 과학적 근거 제시와 학술적 가치 증진을 도모한다.

나. 연구개발 내용 개괄도



## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 특허, 논문, 제품(시장) 분석

#### 1. 국내외 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라	연구신청팀		
건조과일	대한민국	20%	90%	95%	
녹차 블렌딩	싱가포르	50%	60%	95%	

#### 2. 특허분석

##### 가. 특허분석 범위

대상국가	국내외
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr)
검색기간	검색가능 전 기간
검색범위	제목 및 초록

##### 나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	유효활성성분을 보존한 건조식품	천연과일향 블렌딩 녹차	
Keyword	생과일건조	과일녹차	
검색건수	87	1616	
유효특허건수	9	7	
핵심특허 및 관련성	특허명	과일 건조 과자의 제조방법	기호성이 우수한 열대과일향 혼합차 및 그 제조 방법
	보유국	대한민국	대한민국
	등록년도	2010.01.10	2007.10.11 (출원일자)
	관련성(%)	10%	15%
	유사점	생과일을 슬라이스하여 건조	과일을 함유한 녹차
	차이점	기 특허는 과일 건조 과자의 제조 방법에 관한 것으로 건조하고자하는 과일을 슬라이스하고 시럽에 침지시킨 후 건조하는 과정을 거치나, 본 연구는 시럽에 침지시키는 과정을 거치지 않아 당류가 첨가되지 않으며 저온열풍복합건조 공정을 이용하여 건조 후에도 과일의 고유한 맛, 향, 색이 변하지 않음	기 특허는 열대과일향 혼합차 및 그 제조 방법에 관한 것으로 녹차 및 홍차의 혼합물에 열대과일향을 코팅하고 열대과일 과육 혼합물 및 마리골드를 혼합하여 녹차 특유의 청취와 짧은 맛을 제거하는 것이나, 본 연구는 인위적인 향을 첨가하지 않고 저온열풍복합건조 공정을 이용하여 맛, 향, 색감을 유지한 과일을 포함한 녹차를 제조하여 면역증강 효과 등을 규명하고자 함.

### 3. 논문분석

#### 가. 논문분석 범위

대상국가	국내
논문 DB	학술연구정보서비스 (www.riss.kr)
검색기간	검색가능 전 기간
검색범위	제목, 초록 및 키워드

#### 나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	후보건조식품에 대한 면역력 증진 기능과 방사선 방호효과 규명	후보건조식품에 대한 면역력 증진 기능과 방사선 방호효과 규명	
Keyword	한라봉	당유자	
검색건수	25	19	
유효논문건수	3	4	
핵심논문 및 관련성	논문명	유자 및 한라봉의 과즙 및 에탄올 추출물의 항산화 활성	온주밀감 및 당유자 진피 효소 추출물의 항산화 활성
	학술지명	The Journal of Kwangju Health	KOREAN J. FOOD COOKERY SCI.
	저자	송희순	현재석, 강성명, 마한다, 고원준, 양태석, 오명철, 오창경, 전유진, 김수현
	게재년도	2004	2010
	관련성(%)	10%	15%
	유사점	한라봉의 항산화 활성	당유자의 항산화 활성
	차이점	기 논문은 유자 및 한라봉의 과즙과 과 피에서 항산화 효과를 조사한 것이나, 본 연구에서는 한라봉뿐만 아니라 후보 건조식품인 레드비트와 당유자에 대해 서도 면역력 증진 기능과 방사선 방호 효과 등을 규명하고자 함.	기 논문은 온주밀감 및 당유자 진피 효소 추출물에서 항산화 활성을 연구한 것이나 본 연구에서는 후보건조식품인 당유자, 한라봉, 레드비트의 항산화 활성뿐만 아니라 면역력 증진 기능과 방사선 방호 효과 등을 규명하고자 함.

### 4. 제품 및 시장분석

#### 가. 생산 및 시장 현황

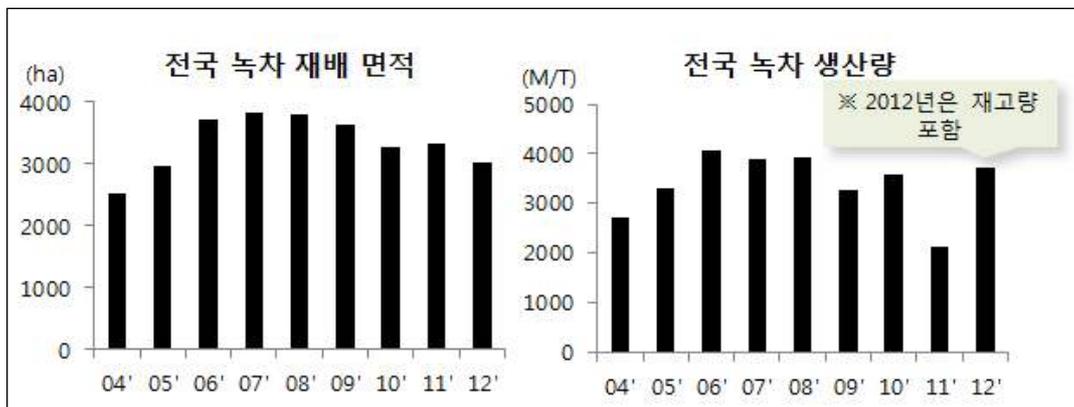
##### (1) 국내 제품 생산 및 시장 현황

(가) 최근 웰빙 문화의 확산과 건강에 대한 관심 고조, 새로운 것을 찾는 젊은 층의 변화에 발맞춰 녹차에 여러 과일을 블렌딩한 제품의 관심과 수요가 증가하고 있으며, 그 종류도 점점 다양해지는 추세이다 (그림 2-1, 2-2).

<p><b>차시장에 무슨일이?...웰빙타고 블렌딩티 관심 UP</b></p> <p>인터넷뉴스팀 기사   소셜댓글   입력 : 2013-03-18 06:45 <b>WOW한국경제TV</b> 성공할 부르는 습관</p> <p>직장인 최모씨는 최근 즐겨 마시던 커피믹스를 끊었다. 얼마 전 TV에서 본 블렌딩, 신장과민 등 커피 과다복용의 부작용과 언론과 인터넷 상에서 큰 이슈가 되었던 안스틴트 커피 지방 함유량에 대한 이야기가 아무래도 마음에 걸렸기 때문이다.</p> <p>'건강' 이슈로 쓰나미에 휩쓸렸던 커피시장이 흔들리고 있다. 최모씨와 같이 커피를 마시지 않거나, 대신 건강에 좋은 티(Tea)를 선택하는 소비자가 눈에 띄게 늘고 있고, 커피전문점들은 알다시피 티 메뉴를 강화하고 있다. 또한, 백화점 식품매장, 대형마트에서는 티(Tea) 매출 신장률이 커피를 앞섰다. 실제로 통계에 따르면 신세계와 현대 등 주요 백화점에서 신장률이 80%가량 상승한 것으로 나타났다.</p> <p>사실 이러한 차(茶) 시장의 변화는 커피믹스 논란으로 생긴 '반쪽' 현상은 아니다. 업계전문가에 따르면 국내 커피 시장이 포화상태(2011년 전국 커피전문점 시장 총량 보고서, 전국 커피전문점 수 1만 2381개)에 이르면서 자연스럽게 티에 대한 관심이 높아지고 있고, 웰빙, 힐링 등 몸과 마음의 건강을 생각하는 사회적 트렌드가 이러한 변화에 영향을 미쳤을 것이라고 보고 있다. 또한, 가장 중요한 포인트로 티(Tea)문화가 유행한 것뿐 아니라, 세련된 문화로 재탄생 되면서 20~30대 젊은 층에 크게 어필했기 때문이라고 분석하고 있다.</p> <p>이렇듯, 소비의 트렌드를 주도하는 젊은 층으로부터 젊은 티(Tea)문화가 확산되면서, 다방커피가 원두커피로 탈바꿈을 했듯, 신개념 티(Tea) 카페 고리가 각광받고 있다. 2000년대 초반 대학가를 중심으로 잠시 유행하다 사라졌던 버블티는 요즘 잘나가는 티(Tea) 아이템 중 하나다. 홍차와 우유를 혼합한 밀크티의 일종인 버블티는 열대식물 부리에서 채취한 열린 '티피오카'를 넣은 음료로, 최근 강남역, 대학가를 중심으로 소형점포와 글로벌 체인들이 생겨나고 있다.</p>	<p><b>경제</b> 불황 속...녹차 지고 블렌딩차 뜨고 <b>MBN 뉴스</b> ECONOMY   기사입력 2014-02-27 14:01</p> <p>【앵커멘트】 최근 국내 순수 녹차 소비는 급감하고 다른 것과 섞어서 만드는 '블렌딩 차' 시장은 커지고 있습니다. 입맛들이 변하는 걸까요. 불황이 깊어지면서 음료라도 새로운 맛을 찾고 싶은 걸까요? 최윤영 기자가 보도합니다.</p> <p>【기자】 국내 녹차 소비량은 2004년 3천4백 톤에서 지난해 1천1백 톤으로 10년 만에 3분의 1수준으로 줄어들었습니다.</p> <p>대신 녹차에 다른 재료들을 섞어 만드는 블렌딩 차들이 인기몰이 중입니다.</p> <p>▶ 스탠달 : 최윤영 / 기자 - "요즘에는 이 같은 순수 녹차 대신에 파파야 등 열대 과일이나 말린 꿀 등을 이용하는 차가 인기를 끌고 있습니다."</p> <p>자세히 보니, 향들이 발간색 노란색을 다른 여러 색깔의 알갱이들과 섞여 있는데, 이 같은 블렌딩차 종류는 30~40개나 되고,</p> <p>차의 향은 꽤 견한 게 특징입니다. ▶ 인터뷰 : 신승희 / 티 소믈리에 - "최근에는 젊은 층들이 블렌딩티를 많이 선호하시는데요. 맛과 향을 더 즐기려는 것 같습니다."</p> <p>요즘엔 커피도 이것저것 혼합돼 새롭게 선보이고 있는데 잘 팔립니다. 녹차와도 섞이고, 벗꽃과도 섞입니다.</p>
<p><b>그림 2-1. 웰빙타고 블렌딩티 관심 증가 (WOW 한국경제 TV, 2013년 3월 18일자 보도)</b></p>	<p><b>그림 2-2. 최근 커지고 있는 블렌딩 차 시장 (MBN뉴스, 2014년 2월 27일자 보도)</b></p>

- (나) 2007년 녹차에서 농약이 검출되었던 녹차 파동 이후 녹차의 소비가 감소하였으며, 커피 시장의 급속한 성장으로 녹차는 커피 판매량의 1/10에 그쳤다.
- (다) 또한 루이보스차, 메밀차, 마테차, 허브차 등 대체차 시장의 성장으로 녹차시장이 감소하였다.
- (라) 따라서 녹차의 소비가 줄어들어 따라 녹차 재배 농가의 수가 감소하고 있으며 경영난을 호소하는 농가가 증가하는 추세이다 (표 2-1).

**표 2-1. 전국 녹차 재배 면적 및 전국 녹차 생산량**



(출처 : 2012 특용작물 생산실적, 농림축산식품부)

(마) 국내 건조과일 주요시장 경쟁사

경쟁사명	제품명	판매가격 (천원)
① 우원식품	해썹 파인애플칩	4.5
② 남양유업	아기꼬야	3.9
③ 올가홀푸드(풀무원)	올가 친환경 과일칩	4
④ 내추럴초이스	사과 그대로, 배그대로	3.5

(바) 국내 과일녹차 주요시장 경쟁사

경쟁사명	제품명	판매가격 (천원)
설록	리치 망고티	4.9
	레이디 스트로베리티	4.9
	애플 시나몬티	4.9
	리치망고 아이스워터	5.9
	레이디 스트로베리 아이스 워터	5.9
	스윗 애플 그린티	6.9
	제주 삼다영골티	5.52

(2) 국외 제품 생산 및 시장 현황

(가) 세계적으로 확산된 웰빙 트렌드로 인해 미국에서도 차 시장이 급성장하고 있으며 현재 미국의 차 시장은 일본, 중국이 상당부분을 점유하고 있다. 따라서 청정 제주 유기농 녹차라는 강점과 더불어 저온열풍복합건조 공정으로 생산하여 인공물질이 첨가되지 않는다는 점으로 미루어 볼 때 타국 제품 비하여 경쟁력이 있다고 사료된다 (그림 2-3).

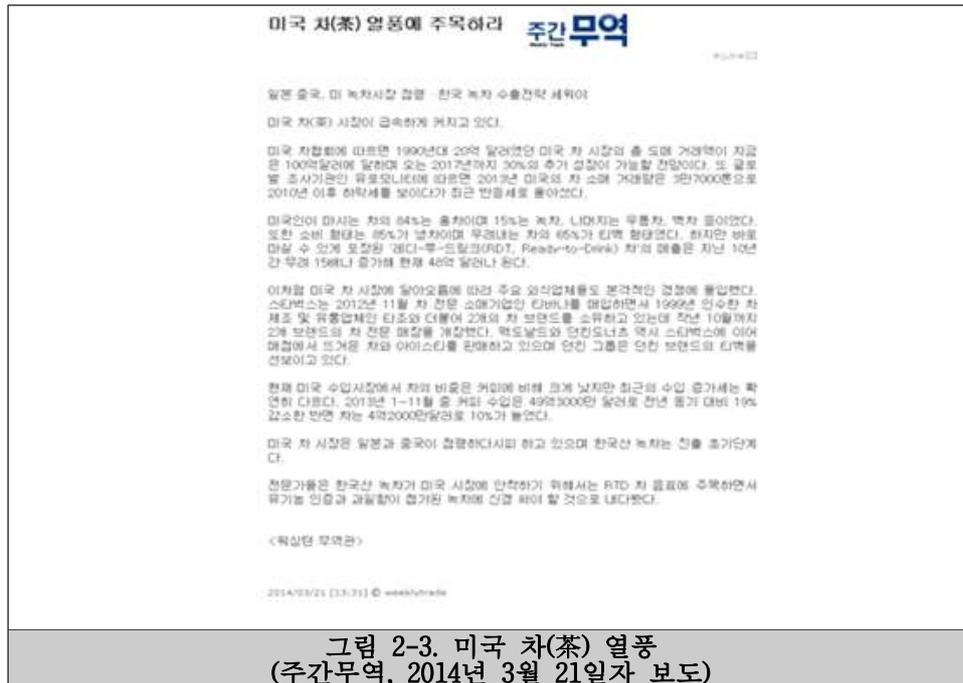


그림 2-3. 미국 차(茶) 열풍 (주간무역, 2014년 3월 21일자 보도)

(나) 국외 건조과일 주요시장 경쟁사

경쟁사명	제품명	판매가격 (천원)
① Mariani (미국)	wild blueberries	6.2
② Bare fruit (미국)	Granny Smith Apple chips	4.6
③ Dole (미국)	sliced strawberries	41

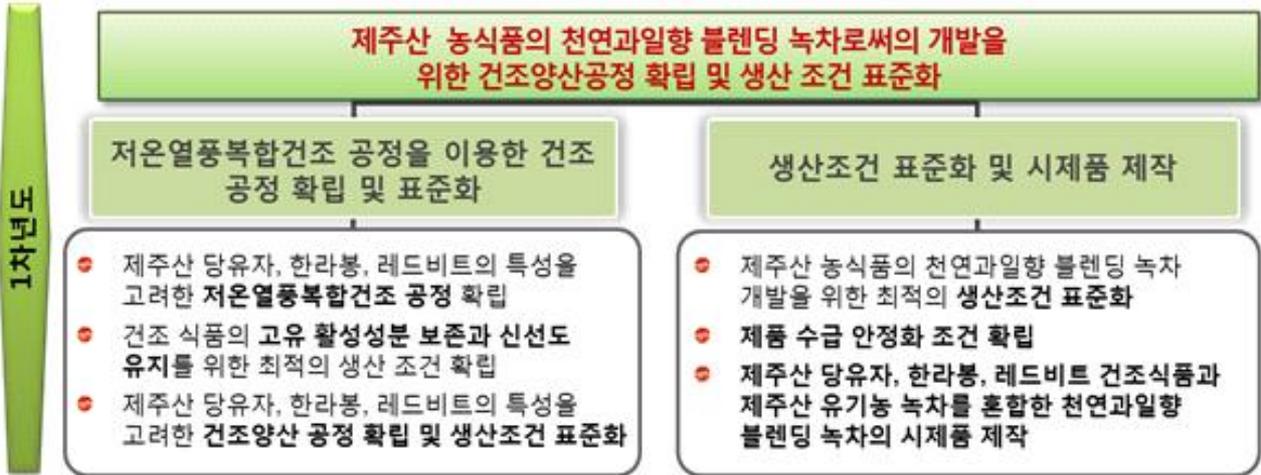
(다) 국외 과일녹차 주요시장 경쟁사

경쟁사명	제품명	판매가격 (천원)
① TWINNGS	silver moon tea	34
	Caramelised Apple Indulgence Green Tea	4.35
	cranberry green tea	8.73
	Lemon Green Tea	8.73
	green tea goji berry	5.17
	green tea blueberry slim life	5.17
	green tea pomegranate	5.17
	green tea lemon ginger	5.17
② Yogi tea	acai berry green tea bags	10.38
	Pomegranate Green Tea Bags	10.38
	Blueberry Green Tea Bags	10.38
	Black Raspberry Green Tea Bags	10.38
	Wild Berry Plum Green Tea Bags	10.38
③ The Republic of Tea	goji raspberry green tea bags	10.38
	kiwi pear green tea bags	10.38
	ginger peach green tea bags	10.38
	decaf pomegranate green tea bags	13.49
	pineapple ginger green tea bags	10.38

# 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

## 제 1 절 연구개발 내용 및 결과

### 1. 주관 연구기관 - (주)제주팜플러스



#### 가. 제주산 농식품의 천연과일향 블렌딩 녹차로써의 개발을 위한 건조공정 확립

##### (1) 저온열풍복합건조 공정을 이용한 건조공정 확립

##### (가) 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트의 특성을 고려한 저온열풍복합건조 공정 확립

- ① 제주 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트) 원물의 맛, 향, 색을 유지하는 건조식품을 생산하기 위하여 (주)제주팜플러스의 저온열풍복합건조 공정을 이용하여 시험한 결과, 당유자를 4.2mm 두께로 세절하여 건조온도 80-90℃, 기류속도 50-60Hz/sec, 벨트속도 60Hz/sec의 조건으로 저온열풍복합건조 공정을 거쳤을 때, 건조 조건이 높아 과건으로 인한 변색이 일어남을 확인하였다. 이 후 시험에서 건조온도 70-85℃ 원적외선 60-70%, 기류속도 50-60Hz, 벨트속도 65Hz의 조건으로 저온열풍복합건조 공정을 거쳤을 때, 수분을 7.42%로 최적의 건조식품 생산 조건을 확립하였다. 레드비트는 3.2mm의 두께로 세절하여 80-90℃에서 원적외선 60-70%, 기류속도 50-60Hz, 벨트속도 60Hz의 조건으로 저온열풍복합건조 공정을 거쳤을 때, 수분을 3.35%로 최적의 건조식품 생산 조건을 확립하였다 (그림 3-1).

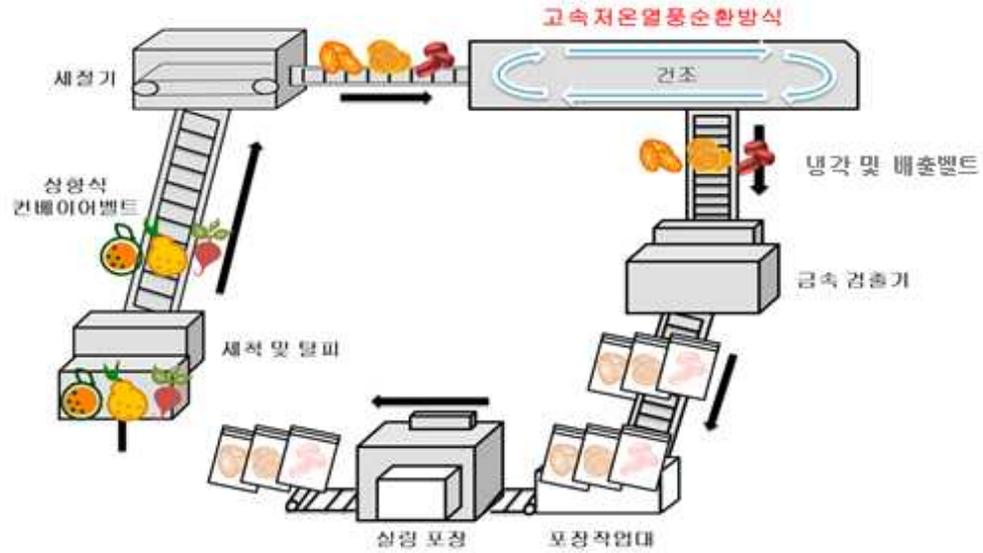


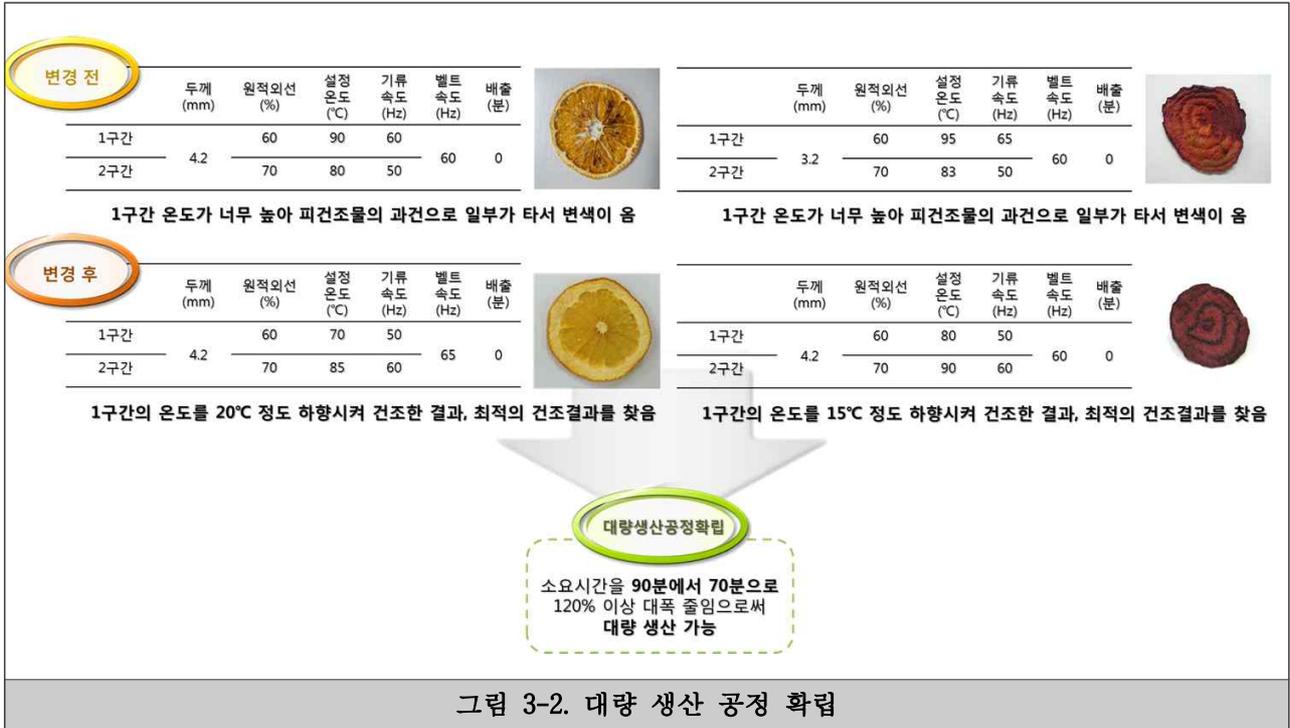
그림 3-1. 유효활성성분 보존이 가능한 저온열풍복합건조 공정 확립

(나) 건조식품의 고유 활성성분 보존과 신선도 유지를 위한 최적의 생산 조건 확립

② 대량 생산 공정을 확립하기 위하여 시간 당 원물 투입량을 100kg/h에서 150kg/h까지 끌어올리는 것이 핵심 문제로 부상하였다. 이를 해결하기 위한 건조 조건을 확립하였다 (그림 3-2).



그림 3-2. 대량 생산 공정 확립



(다) 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트의 특성을 고려한 건조양산 공정 확립 및 생산조건 표준화

- ③ 원물의 부패를 막기 위하여 수급 즉시 냉장 보관하였으며 생산 일정에 따라 단위 별로 전처리하여 초저온 냉동 보관하였다. 또한 HACCP 인증을 받은 생산 공장에서 제품을 생산하여 유해물질의 침입을 원천 차단하였다.

<당유자 건조 실패 사례와 생산 조건 표준화>

		두께 (mm)	원적외선 (%)	설정온도 (°C)	기류속도 (Hz)	벨트속도 (Hz)	배출 (분)	건조물 사진
실패 조건	1구간	4.2	60	90	60	60	0	
	2구간		70	80	50			
성공 조건	1구간	4.2	60	70	50	65	0	
	2구간		70	85	60			

<레드비트 건조 실패 사례와 생산 조건 표준화>

		두께 (mm)	원적외선 (%)	설정온도 (°C)	기류속도 (Hz)	벨트속도 (Hz)	배출 (분)	건조물 사진
실패 조건	1구간	3.2	60	95	65	60	0	
	2구간		70	83	50			

성공 조건	1구간	3.2	60	80	50	60	0	
	2구간		70	90	60			

(2) 생산조건 표준화 및 소비자 기호도 조사 (관능검사)를 위한 1차 시제품 제작

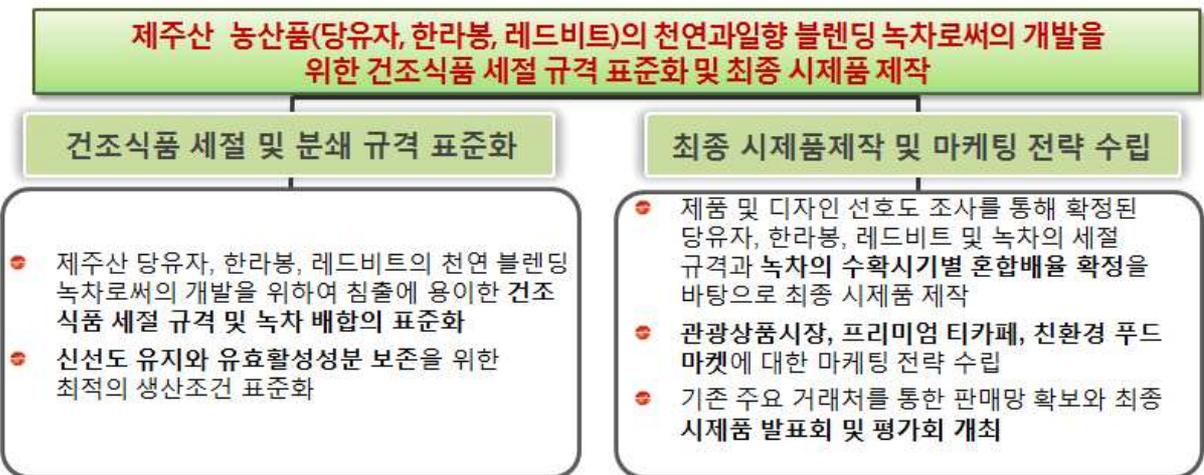
(가) 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트 건조식품과 제주산 유기농 녹차를 혼합한 천연 과일향 블렌딩 녹차의 시제품 제작

④ 또한, 본 과제를 통하여 제품화하게 될 상품의 디자인 중 한라봉&그린티와 레드비트&그린티의 디자인을 1차년도에 미리 추진하였다 (그림 3-3).



그림 3-3. 제주 블렌딩 녹차 디자인 시안 -(주)제주팜플러스

2차년도



나. 제주산 농식품의 천연과일향 블렌딩 녹차로써의 개발을 위한 건조과일 세절 규격 표준화 및 최종 시제품 제작

(1) 건조식품 세절 및 분쇄 규격 표준화

(가) 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트의 천연 블렌딩 녹차로써의 개발을 위한 침출에 용이한 세절 건조과일 규격 및 녹차 배합의 표준화

- ① 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트의 건조식품 배합조건을 선정하기 위하여 소비자 기호도 조사를 실시한 결과 당유자의 경우 녹차와의 비율이 8:2, 한라봉의 경우 녹차와 7:3, 레드비트의 경우 녹차와 9:1의 비율이 소비자 선호도가 높았다.
- ② 이는 전문가 컨설팅 결과와 일치했으며, 소비자 기호도 조사에서 큰 차이를 보이지 않은 감귤류 (당유자, 한라봉)는 전문가 컨설팅에 따라 녹차와 5:5의 비율로 결정하였다.

**(나) 신선도 유지와 유효활성성분 보존을 위한 최적의 생산조건 표준화**

- ① 당유자를 4.2mm 두께로 세절하여 건조온도 70-85℃ 원적외선 60-70%, 기류속도 50-60Hz, 벨트속도 65Hz의 조건으로 저온열풍복합건조 공정을 거쳤을 때, 수분율 7.42%로 최적의 건조식품 생산 조건을 확립하였다. 레드비트는 3.2mm의 두께로 세절하여 80-90℃에서 원적외선 60-70%, 기류속도 50-60Hz, 벨트속도 60Hz의 조건으로 저온열풍복합건조 공정을 거쳤을 때, 수분율 3.35%로 최적의 건조식품 생산 조건을 확립하였다.
- ② 확립된 건조조건이 유효활성성분을 보존하는지 알아보기 위하여 영양성분 분석을 의뢰한 결과 마그네슘, 칼슘, 철, 인, 비타민 C 등의 영양성분이 보존되는 것을 확인하였다 (표 3-1, 3-2, 그림 3-4). 그림번호 일괄 수정 예정

**표 3-1**

성분	당유자 원물	당유자 건조식품
탄수화물	15.5%	81.1%
식이섬유	4.7%	26.4%
조지방	0.5%	2.5%
조단백질	0.7%	1.5%
나트륨	3.6mg/100g	9.3mg/100g
마그네슘	13.1mg/100g	69.9mg/100g
인	17.9mg/100g	108.6mg/100g
칼륨	167.3mg/100g	1,068.6mg/100g
비타민 C	16mg/100g	222mg/100g
대장균	음성	음성

**표 3-2**

성분	당유자 원물	당유자 건조식품
탄수화물	11.6%	76.3%
식이섬유	3.6%	15.6%
조지방	0.5%	2.9%
나트륨	2.9mg/100g	36.1mg/100g
칼슘	15.6mg/100g	101.1mg/100g
철	0.1mg/100g	0.9mg/100g
칼륨	180.7mg/100g	593.2mg/100g
비타민 C	52mg/100g	208mg/100g
대장균	음성	음성



발표회 및 마케팅 세미나’에서 ‘산뜻하고 그윽한 제주 블렌딩 녹차 (Yuza & Green Tea, Redbeet & Green Tea, Hanrabong & Green Tea)’ 시제품을 처음 공개하는 자리를 가졌다.

- ③ 본 세미나에는 양용진 제주향토음식보전연구원장, 제주대학교 산업응용경제학 고성보 교수, 제주관광특산품 도매 유통업체 미르상사 성용제 대표, 한국티 (TEA)협회 정승호 회장, 윤철수 헤드라인제주 대표이사를 비롯한 관련 관계자 등이 참여한 가운데, 시제품을 시음하는 시간을 가졌으며, 시음 후 평가하는 시간을 가졌다(그림 3-6).
- ④ 양용진 원장은 (주)제주팜플러스에서 가진 건조기술력을 바탕으로 제주 농산물과 유기농 녹차를 이용하여 블렌딩 녹차를 성공적으로 해냈다는 말과 함께 특히 레드비트와 녹차를 함께 블렌딩한 차에서 레드비트의 맛과 향이 진해 놀랐다는 평을 남겼다. 또한, 본 제품을 기초제품으로 파생상품 확산에 대한 기대감이 크다는 의견을 밝혔다.
- ⑤ 고성보 교수는 비교적 소비자에게 친숙한 차인 녹차에 레드비트, 당유자, 한라봉을 블렌딩을 함으로써 소비자에게 거부감 없이 다가갈 수 있을 것이며 레드비트, 당유자, 한라봉의 기능성을 강조한 마케팅 전략을 세워 추진한다면 사업 성공 가능성이 클 것이라는 의견을 내놓았다.
- ⑥ 또한, 정승호 회장도 최근 차를 이용한 티톡스가 주목받고 있다며, 녹차에 제주 농산물을 블렌딩한 제품의 기능성을 강조하고 마케팅한다면 긍정적 효과를 일으킬 것이라고 예상하였고, 제품에 사용하는 녹차는 3호를 제품화하여 가격 단가를 낮추어 가격 문턱을 낮추는 것을 제안하였다.
- ⑦ 윤철수 대표는 언론 미디어 측면에서 좋은 제품을 개발하는 것도 중요하지만 이에 따른 마케팅 및 판촉 전략도 중요하다는 의견을 제시하며 3차 산업과 연계할 수 있는 구체적 방안을 수립해야 할 것이며, 또한 본 제품의 소비자 타깃을 정하여 소비자 타깃에 맞춘 마케팅 전략을 수립할 필요가 있을 것이라는 의견을 제시하였다.





그림 3-5. 제주블렌딩녹차 디자인 시안 -(주)제주팜플러스



그림 3-6. 블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나

**(나) 관광상품시장, 프리미엄 티카페, 친환경 푸드 마켓에 대한 마케팅 전략 수립**

- ① 천연과일향 블렌딩 녹차 제품을 제주 관광 상품 시장에 도입하기 위하여 제주관광 특산품 전문 도매 유통업체인 미르상사의 성용제 대표의 자문을 통하여 마케팅 전략을 수립하고 추진하였다.
- ② 또한 농업회사법인 (주)경덕 (다희연)이 보유한 오프인 매장 및 제품 전시장과 온라인 쇼핑몰을 활용하여 제주 관광객들을 타깃으로 전략적인 마케팅을 수립하고 추진하였다.
- ③ 지난 2016년 7월 4일에 제주 KAL호텔 무궁화홀에서 진행된 ‘블렌딩녹차 시제품 발표회 및 마케팅 세미나’에 양용진 제주향토음식보전연구원장, 제주대학교 산업응용경제학 고성보 교수, 제주관광특산품 도매 유통업체 미르상사 성용제 대표, 한국티 (TEA)협회 정승호 회장, 윤철수 헤드라인제주 대표이사를 비롯한 관련 관계자들이 참여한 가운데, 시제품을 시음하는 시간을 가졌으며, 시음 후 평가하는 시간을 가졌다.
- ④ 양용진 원장은 (주)제주팜플러스에서 가진 건조기술력을 바탕으로 제주 농산물과 유기농 녹차를 이용하여 블렌딩 녹차를 성공적으로 해냈다는 말과 함께 특히 레드비트와 녹차를 함께 블렌딩한 차에서 레드비트의 맛과 향이 진해 놀랐다는 평을 남겼다. 또한, 본 제품을 기초제품으로 파생상품 확산에 대한 기대감이 크다는 의견을 밝혔다.
- ⑤ 고성보 교수는 비교적 소비자에게 친숙한 차인 녹차에 레드비트, 당유자, 한라봉을 블렌딩을 함으로써 소비자에게 거부감 없이 다가갈 수 있을 것이며 레드비트, 당유자, 한라봉의 기능성을 강조한 마케팅 전략을 세워 추진한다면 사업 성공 가능성이 클 것이라는 의견을 내놓았다.
- ⑥ 또한, 정승호 회장도 최근 차를 이용한 티톡스가 주목받고 있다며, 녹차에 제주 농산물을 블렌딩한 제품의 기능성을 강조하고 마케팅한다면 긍정적 효과를 일으킬 것이라고 예상하였고, 제품에 사용하는 녹차는 3호를 제품화하여 가격 단가를 낮추어 가격 문턱을 낮추는 것을 제안하였다.
- ⑦ 윤철수 대표는 언론 미디어 측면에서 좋은 제품을 개발하는 것도 중요하지만 이에 따른 마케팅 및 판촉 전략도 중요하다는 의견을 제시하며 3차 산업과 연계할 수 있는 구체적 방안을 수립해야 할 것이며, 또한 본 제품의 소비자 타깃을 정하여 소비자 타깃에 맞춘 마케팅 전략을 수립할 필요가 있을 것이라는 의견을 제시하였다.

**(다) 기존의 거래처를 통한 판매망 확보와 최종 시제품 발표회 및 평가회 개최**

- ① 천연과일향 블렌딩 녹차 제품에 대한 판매망을 확보하고 마케팅 전략을 수립하기 위한 블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나를 개최하였다(그림 3-7, 3-9).
- ② 기존 블렌딩 녹차와의 제품 차별성 즉, 천연향, 제주산 농산물(레드비트, 당유자, 한라봉)의 고유 색깔, 영양성분 등이 살아있다는 점을 강조한 마케팅 전략을 수립하고 추진할 예정이다.
- ③ 기존의 혼합차 경쟁상품의 가격, 중량, 포장, 디자인 등에 대한 전수 조사를 토대로 하여 합리적인 가격 및 디자인 계획 등을 수립하였다.

- ④ 롯데 제주 면세점 등의 면세점 시장에 론칭하고 기존의 푸르낙 유통망을 활용하여 판매망을 확보할 예정이며, 제주지역 외국인 관광객 대상 사후 면세점 시장에 납품하여 블렌딩 녹차를 선보일 예정이다.
- ⑤ 개별 고급 관광객을 상대로 블로그 등을 활용한 온라인 마케팅을 통하여 온라인 판매망을 구축할 예정이다.

뉴스 경제

### 천연건조과일 블렌딩 녹차 시제품.. "시장 공략 가능성 높아"

당유지, 한라봉, 비트 블렌딩 녹차 시제품 발표 세미나  
"천연건조 과일 건강 기능성 효과로, 시장 경쟁력 커"

헤드라인제주

2016년 07월 15일 14:52:00

세계 녹차 시장이 스트레이트 티에서 새로운 향과 미를 더한 블렌딩 차 시장으로 이동하고 있는 흐름에 맞춰 제주산 천연건조과일을 블렌딩한 녹차 시제품이 출시돼 관심을 끌고 있다.

14일 오후 제주칼호텔에서 열린 '블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나'에서는 원물의 향과 색상이 보존되는 특화된 건조기술에 의한 건조농산물과 제주산 청정 녹차를 결합한 '블렌딩 차' 상품의 시제품이 처음 공개됐다.

첫 선을 보인 시제품은 비트 블렌딩 녹차, 한라봉 블렌딩 녹차, 당유자 블렌딩 녹차 등 3종류.

농수산식품기술기획평가원의 지원으로 2014년 6월부터 2년에 걸쳐 수행 중인 '제주산 농식품과 유기농 녹차를 활용한 천연건조과일 블렌딩 녹차 개발' 연구개발과제 프로젝트의 성과물이기도 했다.

이 연구과제 수행은 천연건조과일스낵 '푸르낙' 제품을 생산해 판매하는 농업회사법인 (주)제주팜플러스(대표이사 장성철)이 주관기관으로, 제주대학교 산학협력단(연구책임자 지영호 수의과 대학 교수), ㈜경덕이 협동기관으로 함께 참여하고 있다.

행사에서는 양용진 제주항토음식보전연구원장, 제주대학교 산업융합경제학과 고성보 교수, 제주관광특산물 도매 유통업체인 미르상사의 성용재 대표, 경승호 한국티(TEA)협회 회장을 비롯해 차 및 식품산업 관계자, 학계인사 등이 참가한 가운데 시제품을 시음하며 평가하는 시간이 마련됐다.

이어 마케팅 전략 세미나를 통해 시장 가능성에 대한 심도있는 논의가 이뤄졌다. 협동기관으로 참여하고 있는 지영호 교수는 인사말을 통해 "오늘 발표되는 블렌딩 녹차의 시제품은 특허권 등록, 면역 증강용 기능성 효과 등과 더불어 정확한 마케팅 프로그램이 결합되면 충분한 가능성이 있는 상품이라고 판단하고 있다"고 전제한 후, "특히 한라봉과 당유자 등에 대한 기능성 연구 결과, 면역력 증강 효과가 매우 높은 것으로 파악됐다"며 2년 동안의 면역력 증강을 중심으로 한 연구 결과를 소개했다.

연구개발 프로젝트의 책임연구원인 장성철 대표이사는 시제품 개발과정 및 특성에 대한 주제발표를 통해 "이번 블렌딩 녹차 연구개발 과정에서 가장 큰 애로사항은 건조 농산물과 녹차의 최적 비율을 찾아내는 것이었는데, 원물의 상태에 따른 최적의 블렌딩 비율은 지속적으로 찾아내야 할 것이다"며 "또 한가지 장애는 제주 관광특산물 시장에서 경쟁력을 갖출 수 있는 가격대를 설정하는 것이고, 향후 경쟁력있는 완제품을 만들면서 녹차 소비를 확대하는 데 기여를 하고 싶다"고 말했다.

첫번째 토론회로 나선 양용진 원장은 "예전에 꿀감과 같이 감귤도 그렇게 만들지는 않을까 하는 생각을 했었는데, 제주팜플러스가 제주 감귤등을 이용한 천연건조과일 푸르낙을 생산해낸데 이어 블렌딩 녹차를 개발해냈다"며 천연건조과일을 기초제품으로 삼은 '파생상품'의 확산에 대해 고무적 반응을 보였다.

그는 "제주팜플러스의 독특한 건조기술로 만든 건조농산물을 기초제품으로 삼고, 이를 응용한 파생상품의 개발에 관심이 많다"며 "한라봉 블렌딩 녹차는 매우 향이 진한데, 차가 되었을 때도 향이 좀 더 진할 수 있는 혼합 비율을 찾았으면 좋겠다고 생각한다"고 말했다.

양 원장은 이어 "비트 블렌딩 녹차는 비트의 맛이 매우 진하고 강해서 놀랐다. 또한 제주에서도 출자를 건조농산물과 블렌딩한 녹차도 개발해야 할 시점이라고 생각한다"며 이번 시제품의 가능성을 매우 높게 평가했다.

제주지역 관광특산물 시장에서 도매 유통을 하고 있는 성용재 대표는 "제주 관광특산물 시장에서 차 상품은 매우 열악하다. 글피차, 황칠차 정도이다. 2가지 이상의 것이 혼합된 차는 신선하다"며 "특히 당유자와 한라봉은 제주만의 토속적인 상품이다. 경쟁력있는 가격을 책정하는 것이 매우 중요하다"고 말했다.

고성보 교수는 "제주지역 자생 농산물의 기능성에 주목한 상품 홍보가 필요하다. 원물 소비가 많은 것을 소재로 하여 상품개발이 이뤄지는 것이 중요하다"고 지적한 후, "그래야 시장 접근성이 용이하다. 한라봉과 당유자, 비트 등의 소재는 매우 적절하다고 생각한다"며 원물 소비 확대를 위한 제품개발의 중요성을 강조했다.

고 교수는 "이번에 블렌딩한 비트나 한라봉, 당유자의 기능성에 대한 홍보가 매우 중요한 것"이라며 "소비자의 입맛과 함께 활용하고 있는 기능성을 잘 어필하는 방법으로 마케팅 전략을 가져 나간다면 사업 성공가능성은 클 것"이라고 말했다.

이에 지영호 교수는 "당유자의 면역력 증가 및 항염 기능이 매우 탁월하다. 친식 기질에 효과가 매우 높게 나왔다. 비트는 조혈 기능이 매우 좋아 빈혈 치료에 유효하다"며 제품의 기능성에 대해 구체적으로 연구성과를 설명했다.

경승호 회장은 "최근에는 티톡스가 주목받고 있다. 티톡스는 차를 이용한 해독작용이다. 제주의 특산물의 기능성을 접목시켜 블렌딩차를 마케팅하면 충분히 경쟁력이 있다"며 "세계적으로 유명한 루이보스차도 남아공의 특산물이다. 제주특산품인 제주블렌딩녹차도 명품으로 성장할 수 있을 것"이라고 말했다.

정 회장은 "세계적인 명품과의 경쟁도 할 수 있다. 오늘의 블렌딩 녹차에 건조감귤조각을 조금 첨가해서 맛을 순화시키면 좋겠다"고 밝히면서 향후 전망을 긍정적으로 평가하고 마지막 완제품 개발의 방향에 대해 의견을 제시했다.

윤철수 대표는 "아까 시음한 차의 맛과 향이 지금도 입안에 그윽하게 남아있다. 오늘 선보인 제품들이 제주의 3차산업과 연계할 수 있는 구체적인 방안이 마련돼야 할 것"이라며 "특히 이번 시제품의 소비자 시장의 타킷을 어디로 정할 것인지, 그리고 이에따라 판촉, 마케팅 전략이 수립돼야 하는데, 아울러 미디어 노출을 통한 마케팅 방법을 좀 더 체계화할 필요가 있다"고 말했다.

이번 연구개발의 책임연구원인 장성철 대표는 마지막 송괄정리를 통해 "제주팜플러스가 보유한 '항산화 건조 기술'에 의해 생산된 제주의 토속 농산물을 활용한 파생 상품 개발에 지속적인 노력을 기울일 것"이라며 "이번의 블렌딩 녹차를 반드시 소비자로부터 사랑받는 상품으로 성장시키겠다"고 밝혔다. <헤드라인제주>

**그림 3-7. 블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나 보도 자료**  
(헤드라인제주, 2016. 07. 15)

사회

제주를 품다. 제주를 음미하다 '블렌딩 녹차'

농업회사법인(주)제주팜플러스 '블렌딩 녹차 시제품 발표& 마케팅 세미나'  
'제주특산물에 기능성까지 - 충분한 경쟁력 있을 듯'

대스크림인 2016.07.15 16:00:20

이기사 기자 | kamsama@hanmail.net

한라봉과 당유자, 비트가 녹차와 만나 제주를 담은 블렌딩(Blending)으로 탄생했다. 과거의 녹차 시장은 한 가지 향을 음미하는 스트레이트 티(Straight tea)가 유행했다면, 최근 대세는 새로운 향과 미를 더한 블렌딩 차다.

이런 흐름에 맞춰 제주특산물의 기능성과 고유의 향을 갖춘 제주를 담은 블렌딩 녹차 시제품이 개발돼 눈길을 끌고 있다.

농업회사법인(주)제주팜플러스(대표이사 장성철)는 지난 14일 오후 3시 제주합호빌 2층 무궁화홀에서 '제주블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 전략 세미나'를 개최했다.

앞서 (주)제주팜플러스는 지난 2014년 8월~2016년 7월까지 농림축산식품부와 농림수산물기술개발사업의 지원을 받고 '제주산 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연과일향 블렌딩 녹차 개발' 연구 과제를 수행한 바 있다.

과제 수행은 제주대학교 산학협력단(연구책임자 지영훈 수의과대학 교수), (주)경덕이 협동기관으로 함께 참여했다.

고성보 교수는 '제주지역 자생 농산물의 기능성에 주목한 상품개발이 중요한데 한라봉과 당유자, 비트 등의 소재는 매우 적절하다'고 원물 소비 확대를 위한 제품개발의 중요성을 강조했다.

지영훈 제주대학교 교수는 시제품의 기능성 측면을 두고 말을 이었다. 그는 "당유자는 천식 기침에 효과가 높게 나오는 등 면역력 증가와 항염 기능이 매우 탁월하다"며 "비트는 조절 기능이 좋아 빈혈 치료에 유효하다"고 설명했다.

경승호 한국티협회 회장은 "최근에는 차를 이용한 해독작용인 '티톡스'가 주목받고 있다"며 "제주의 특산물의 기능성을 접목시켜 블렌딩 차를 마케팅하면 충분히 경쟁력이 있다"고 말했다.

이어 "세계적으로 유명한 루이보스차도 남아공의 특산물으로, 제주 블렌딩 녹차도 명품으로 성장할 수 있다"고 낙관적으로 바라봤다.

마지막 토론자로 나선 윤철수 대표는 "토론 전 시음한 차의 맛과 향이 지금도 입안에 남아있다"며 "제품들이 제주의 3차 산업과 연계할 수 있는 방안 마련과 지역 언론을 통한 마케팅도 체계화해야 된다"고 조언했다.

끝으로 장성철 대표는 "제주팜플러스가 보유한 '향 보존 건조 기술'에 의해 생산된 제주의 토산 농산물을 활용한 파생 상품 개발에 지속적인 노력을 기울이겠다"며 "이번 블렌딩 녹차를 반드시 소비자로부터 사랑 받는 상품으로 성장시키겠다"고 포부를 밝혔다.

개발된 블렌딩 차는 원물의 향과 색깔이 보존되는 특화된 건조기술에 의한 '건조 농산물'과 제주산 청정 '녹차'가 결합해 탄생됐다. 첫 산출 보인 제품은 한라봉 당유자 비트 블렌딩 녹차 등 3종류다.

팜플러스는 천연건조 과일스낵 '프루넬' 제품을 생산 판매하는 회사로 이미 천연건조기술에 두각을 보여 블렌딩 녹차에 대한 기대 또한 크다.

제주팜플러스 장성철 대표의 사회 및 발제로 진행된 토론회는 제주향토음식보존연구원 양용진 원장, 상용제 미르상사 대표, 고성보 제주대학교 산업응용경제학과 교수, 경승호 한국티협회 회장, 윤철수 헤드라인 제주 대표가 참여했다.

이 자리에서 장성철 대표이사는 "연구개발 과정에서 건조 농산물과 녹차의 최적 비율을 찾아내는 것과 가격대 설정이 큰 애로사항이었다"며 "향후 경쟁력 있는 원제품을 만들어서 녹차 소비를 확대하는 데 기여를 하고 싶다"고 말했다.

첫 번째 토론자로 나선 양용진 원장은 "제주팜플러스의 특화된 건조기술로 만든 건조농산물을 기초제품으로 삼고, 이를 응용한 파생상품 개발에 관심이 많다"며 "비트 블렌딩 녹차는 비트의 맛이 매우 진하고 강해서 놀랐다"고 시제품을 좋게 평가했다.

제주지역 관광특산물 시장에서 도매 유통을 하고 있는 상품제 대표는 "제주 관광특산물 시장에서 차 상품은 갈피차, 황칠차 정도로 열악하다"며 "두 가지 이상 혼합된 차는 신선하다. 특히 당유자와 한라봉은 제주만의 토속적인 상품으로, 경쟁력 있는 가격을 책정하는 것이 중요하다"는 소견을 내세웠다.



그림 3-8. 블랜딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나 보도 자료 (시사제주, 2016. 07. 15)

### 고급 블랜딩차 시장 공략가능성 높아

당유자, 한라봉, 비트 블랜딩 녹차 시제품 발표회  
천연향과 면역력 증강 효과, 마케팅 전략 세미나  
세미나 전 행사장서 블랜딩 녹차 시음회도 가져

최병근 기자 | 승인 2016.07.17 20:48 | 댓글 0



[제주도민일보=최병근 기자] 세계 녹차 시장이 스트레이트 티에서 새로운 향과미를 더한 블랜딩 차 시장으로 이동하고 있는 흐름에 맞는 시의적절한 행사가 열려 눈길을 끌고 있다.

원물의 향과 색깔이 보존되는 특화된 건조기술에 의한 건조농산물과 제주산 청정 녹차를 결합한 '블랜딩 차' 상품의 시제품이 개발돼 14일 오후 3시부터 6시까지 제주칼호텔 2층 무궁화홀에서 '제주블랜딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 전략 세미나'가 열렸다.

이날 세미나의 사회 및 발제는 제주팜플러스 장성철 대표, 토론자로는 제주향토음식보전연구원 양용진 원장, 성용계 미르상사 대표, 고성보 제주대학교 산업응용경제학과 교수, 경승호 한국티협회 회, 윤철수 헤드라인제주 대표 등이 참여했다.

농업회사법인(주)제주팜플러스(대표이사 장성철)는 농림축산식품부와 농림수산식품기술기획평가원(이하 농기평)의 지원으로 2014년 8월부터 2016년 7월까지 2년에 걸쳐 '제주산 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연과일향 블랜딩 녹차 개발' 연구과제를 주관기관으로 참여하여 수행하고 있다.

연구과제 수행에는 제주대학교 산학협력단(연구책임자 지영훈 수의과대학 교수), ㈜경덕이 협동기관으로 함께 참여하고 있다. '블랜딩녹차 시제품 발표회 및 마케팅 전략 세미나'는 연구과제의 최종 결과물인 시제품을 공개 발표하고, 이에 대한 평가와 향후 마케팅 전략을 모색하기 위해 마련된 자리이다.

특히 세미나가 시작되기 전, 참가자들은 행사장에 마련된 블랜딩 녹차를 시음하는 기회를 가졌다.

지영훈 제주대 교수는 "시제품의 기능성 효과가 매우 높다"고 강조했다.

협동기관으로 참여하고 있는 제주대학교 산학협력단 수의학과 지영훈 교수는 "오늘 발표되는 블랜딩 녹차의 시제품은 특허권 등록, 면역 증강용 기능성 효과 등과 더불어 정확한 마케팅 프로그램이 결합되면 충분한 가능성이 있는 상품이라고 판단하고 있다"며 "특히 한라봉과 당유자 등에 대한 기능성 연구 결과, 면역력 증강 효과가 매우 높다고 파악됐다"고 2년 동안의 면역력 증강을 중심으로 한 연구 결과를 소개했다.

이날 세미나의 사회 및 발제를 맡은 제주팜플러스 장성철 대표이사는 "이번 블랜딩 녹차 연구개발 과정에서 가장 큰 애로사항은 건조 농산물과 녹차의 최적 비율을 찾아내는 것이었는데, 원물의 상태에 따른 최적의 블랜딩 비율은 지속적으로 찾아내야 할 것"이라며 "또 한 가지 장애는 제주 관광특산물 시장에서 경쟁력을 갖출 수 있는 가격대를 설정하는 것이다. 향후 경쟁력있는 완제품을 만들어서 녹차 소비를 확대하는 데 기여를 하고 싶다"고 말했다.

첫 번째 토론자로 나선 양용진 원장은 "제주팜플러스의 독특한 건조기술로 만든 건조농산물을 기초제품으로 삼고, 이를 응용한 파생상품의 개발에 관심이 많다. 한라봉 블랜딩 녹차는 매우 향이 진한데, 차가 되었을 때도 향이 좀 더 진할 수 있는 혼합 비율을 찾았으면 좋겠다고 생각한다"며 "비트 블랜딩 녹차는 비트의 맛이 매우 진하고 강해서 놀랐다. 또한 제주에서도 홍차를 건조농산물과 블랜딩한 블랜딩 홍차도 개발해야 할 시점"이라고 말하면서 이번 시제품의 가능성을 매우 높게 평가해 눈길을 끌었다.

제주지역 관광특산물 시장에서 도매 유통을 하고 있는 성용제 대표는 "제주 관광특산물 시장에서 차 상품은 매우 열악하다. 굴피차, 황칠차 정도이다. 2가지 이상의 것이 혼합된 차는 신선하다. 특히 당유자와 한라봉은 제주만의 토속적인 상품이다. 경쟁력있는 가격을 책정하는 것이 매우 중요하다"고 말했다.

고성보 교수는 "제주지역 자생 농산물의 기능성에 주목한 상품 홍보가 필요하다. 원물 소비가 많은 것을 소재로 하여 상품개발이 이뤄지는 것이 중요하다. 그래야 시장 접근성이 용이하다"며 "한라봉과 당유자, 비트 등의 소재는 매우 적절하다고 생각한다"고 원물 소비 확대를 위한 제품개발의 중요성을 강조했다.

토론 중간에 지영훈 제주대학교 교수는 "당유자의 면역력 증가 및 항염 기능이 매우 탁월하다. 천식 기침에 효과가 매우 높게 나왔다. 비트는 조혈 기능이 매우 좋아 빈혈 치료에 유효하다"며 제품의 기능성에 대해 구체적으로 연구성과를 설명했다.

정승호 한국티협회 회장은 "최근에는 티톡스가 주목받고 있다. 티톡스는 차를 이용한 해독 작용이다. 제주의 특산물의 기능성을 겹쳐서 블렌딩차를 마케팅하면 충분히 경쟁력이 있다. 세계적으로 유명한 루이보스차도 남아공의 특산품이다. 제주특산품인 제주블렌딩녹차도 명품으로 성장할 수 있다. 세계적인 명품과의 경쟁도 할 수 있다. 오늘의 블렌딩 녹차에 건조감귤초콜을 조금 첨가해서 맛을 순화시키면 좋겠다."라고 하면서 향후 전망을 긍정적으로 평가하고 마지막 완제품 개발의 방향에 대해 의견을 제시했다.

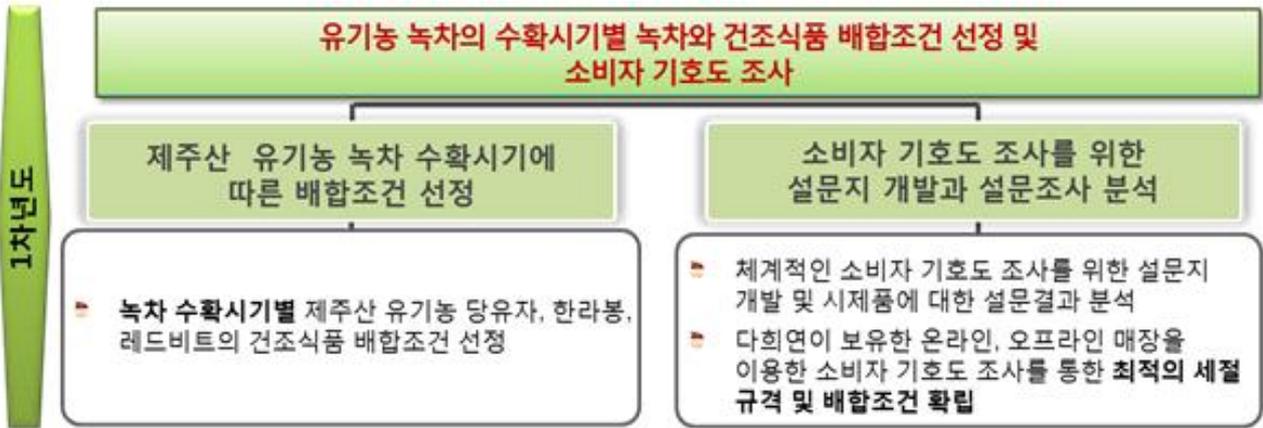
윤철수 대표는 "아까 시음한 차의 맛과 향이 지금도 입안에 그윽하게 남아있다. 오늘 선보인 제품들이 제주의 3차산업과 연계할 수 있는 구체적인 방안이 마련되어야 할 것이다. 특히 지역 언론 노출을 통한 마케팅 방법도 좀 더 체계화할 필요가 있다"고 지적하면서 지역 언론을 활용한 상품 마케팅의 방법을 개척할 것을 주문했다.

이번 연구개발의 책임연구원인 장성철 대표는 "제주팜플러스가 보유한 '항 보전 건조 기술'에 의해 생산된 제주의 토속 농산물을 활용한 파생 상품 개발에 지속적인 노력을 기울일 것이다. 이번의 블렌딩 녹차를 반드시 소비자로부터 사랑받는 상품으로 성장시키겠다"며 행사를 마무리했다.



그림 3-9. 블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나 보도 자료  
(제주도민일보, 2016. 07. 17)

2. 제1협동 연구기관 - (주)경덕 (다희연)



가. 유기농 녹차 수확시기에 따른 녹차와 건조식품 배합조건 선정 및 소비자 기호도 조사 (관능검사)

(1) 제주산 유기농 녹차 수확시기에 따른 배합조건 선정

(가) 녹차 수확시기별 제주산 유기농 당유자, 한라봉, 레드비트의 건조식품 배합조건 선정

- ① 제주산 유기농 녹차는 수확시기에 따라 5월경 수확한 아미노산 함량이 풍부한 1번 차와 10월경 수확한 카테킨 함량이 풍부한 4번 차를 선정하여 블렌딩에 사용하였다.
- ② 각 시기별 녹차와 건조식품 (당유자, 한라봉, 레드비트)의 배합 비율은 블렌딩 차 전문가들의 조언을 반영하여 1번 녹차 : 당유자 건조식품 = 8 : 2, 4번 녹차 : 당유자 건조식품 = 8 : 2, 1번 녹차 : 한라봉 건조식품 = 7 : 3, 4번 녹차 : 한라봉 건조식품 = 7 : 3, 1번 녹차 : 레드비트 건조식품 = 9 : 1, 4번 녹차 : 레드비트 건조식품 = 6 : 4의 비율로 블렌딩하여 테스트하였다.
- ③ 테스트 결과 건조식품 (당유자, 한라봉, 레드비트)이 녹차의 향을 해치지 않는 적정 비율인 1번 녹차 : 당유자 건조식품 = 8 : 2, 1번 녹차 : 한라봉 건조식품 = 7 : 3, 1번 녹차 : 레드비트 건조식품 = 9 : 1의 블렌딩 비율을 확립하였다 (그림 3-10).



그림 3-10. 제주산 유기농 녹차의 수확시기에 따른 배합 조건 선정

(2) 소비자 기호도 조사 (관능검사)를 위한 설문지 개발과 설문조사 분석

(가) 체계적인 소비자 기호도 조사 (관능검사)를 위한 설문지 개발 및 시제품에 대한 설문결과 분석

- ① 체계적인 소비자 기호도 조사 (관능검사)를 위하여 블렌딩 차 전문 생산 업체에 의뢰하여 소비자 기호도 조사(관능검사) 설문지를 개발하였다 (그림 3-11).
- ② 2015년 5월 소비자 기호도 조사를 위한 설문지를 바탕으로 (주)경덕 (다회연)의 유기농 녹차밭을 방문하는 관광객과 녹차박물관 내부 방문자들을 중심으로 소비자 기호도 조사(관능검사)를 실시하였다 (그림 3-12, 그림3-13).
- ③ 소비자 기호도 설문 조사를 분석한 결과, 20세 이하부터 61세 이상까지 다양한 연령층이 설문 조사에 응하였으며, 남성보다 여성의 비율이 2배가량 많았고 일주일에 순수 녹차 음용 횟수를 묻는 질문에는 ‘녹차를 일주일에 한 번 이하 마신다’는 응답이 55%로 가장 높은 비율을 차지하였다.
- ④ 소비자 기호도 조사를 바탕으로 한라봉 블렌딩 녹차의 경우 1번 녹차와 한라봉 건조식품을 8:2의 비율로 블렌딩 했을 때 소비자의 선호도가 가장 높았으며, 레드비트 블렌딩 녹차의 경우 1번 녹차와 레드비트 건조식품을 9:1의 비율로 블렌딩 했을 때 소비자의 선호도가 가장 높았다.
- ⑤ 이를 바탕으로, 한라봉 블렌딩 녹차의 경우 1번 녹차와 한라봉 건조식품을 8:2로, 레드비트 블렌딩 녹차의 경우 1번 녹차와 레드비트 건조식품을 9:1의 비율로 배합 조건을 확립하였다 (그림 3-14).

### 제품 개발 설문지

안녕하세요. 먼저 농림축산부의 고부가가치 식품 기술 개발 사업의 RND 지원으로 진행되는 설문에 응해 주신 점 감사드립니다.  
본 설문지 내용은 제주산 건조 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면에 중점을 둔 \*천연 과일향 블렌딩 녹차 개발을 위한 설문입니다.  
이 설문은 '다회연'에서 고객 친화적인 제품 개발에 있어서 중요한 자료로 활용되며, 설문 조사의 결과는 총합적으로 통계처리 되기 때문에 여러분의 개인적인 의견과 정보는 외부로 유출되지 않습니다. 안심하시고 설문에 응해 주시면 감사하겠습니다.

\*과일향 블렌딩 녹차는 맛과 향과 색이 살아있는 제주산 건조 농식품을 제주산 유기농 녹차와 결합하여 만든 블렌딩 녹차입니다.

7.귀하는 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 적이 있다면 앞으로 기회가 된다면 과일향 블렌딩 녹차를 마실 의향이 있으신가요?  
있다    없다    관심없다

8.다음 한라봉 과일향 블렌딩 녹차 중 어떤 맛이 가장 좋는지 체크해주세요.  
 A. 한라봉 블렌딩 녹차 비율 1번 녹차 7 : 한라봉 3  
 B. 한라봉 블렌딩 녹차 비율 4번 녹차 7 : 한라봉 3

9. 다음 레드비트 과일향 블렌딩 녹차 중 어떤 맛이 가장 좋는지 체크해주세요.  
 C. 레드비트 블렌딩 녹차 비율 1번 녹차 9 : 레드비트 1  
 D. 레드비트 블렌딩 녹차 비율 4번 녹차 6 : 레드비트 4

10. 순수 녹차 티백 20티백 기준으로 한 박스 가격이 15000원이라면 과일향 블렌딩 녹차의 가격은 어느 정도가 적당하다고 보십니까?  
1만원이하    1만원    1만5천원    2만원    2만원이상

11. 오늘 시용하신 한라봉과 레드 비트 과일향 블렌딩 녹차 중 가장 선호하는 향은 어느것입니까?  
A    B    C    D    비슷해서 잘 모르겠다

12. 그 밖에 등 제품 개발에 대한 귀하의 의견을 자유롭게 기술해 주십시오. ( )

1. 귀하의 연령대는 어떻게 됩니까?  
20세 이하    21-30세    31-40세    41-50세    51-60세    61세이상

2. 귀하의 성별은 어떻게 됩니까?  
남자    여자

3.귀하는 일주일에 순수 녹차를 평균 몇잔 정도 마시나요?  
한잔 이하    2-5잔    6잔이상

4.귀하는 과일향 블렌딩 녹차를 마셔 본 적이 있나요?  
있다    없다

5.귀하는 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 적이 있다면 순수 녹차와 비교했을 때 어느 쪽을 더 선호하시나요?  
순수녹차    과일향 블렌딩 녹차    둘 다 비슷

6.귀하는 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 적이 있다면 기억나는 선호하는 회사 제품이 있으면 기술해 주세요. ( )

그림 3-11. 소비자 기호도 조사를 위한 제품 개발 설문지

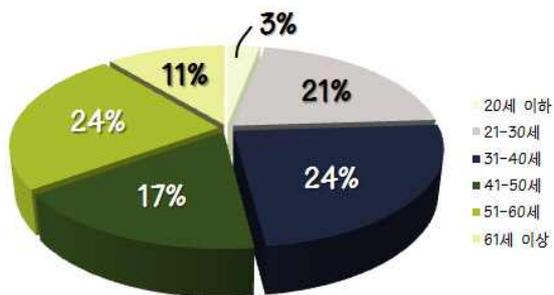


그림 3-12. 좌; 소비자 기호도 조사를 위한 블렌딩 녹차 제조  
우; 레드비트 블렌딩 녹차를 우려낸 모습

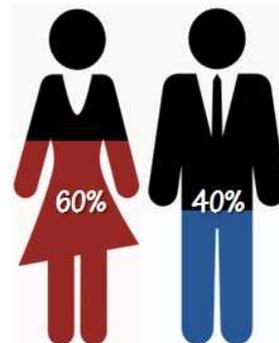


그림 3-13. 2015년 5월 일 소비자 기호도 조사 (관능검사)

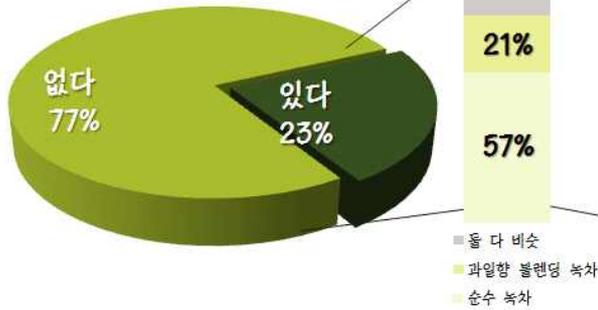
설문 조사 참여자 연령대



설문 조사 참여자 성별



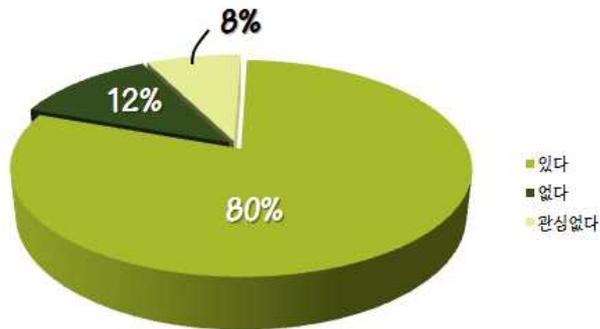
### 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 경험



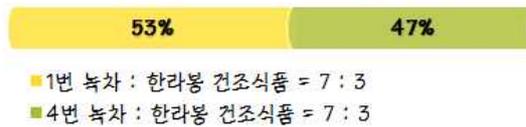
### 선호하는 과일향 블렌딩 녹차 브랜드



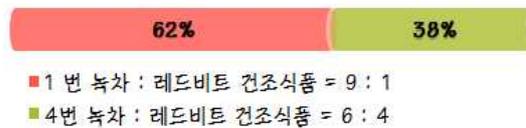
### 향후 과일향 블렌딩 녹차 섭취 의향



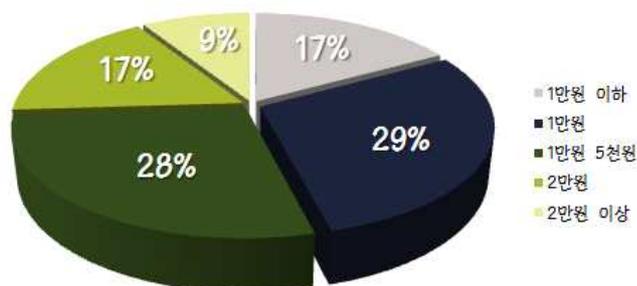
### 녹차의 수확시기에 따른 한라봉 블렌딩 녹차 선호도



### 녹차의 수확시기에 따른 레드비트 블렌딩 녹차 선호도



### 20티백 기준 적절한 과일향 블렌딩 녹차의 가격



## 가장 선호하는 향의 블렌딩 녹차



- 1번 녹차 : 한라봉 건조식품 = 7 : 3
- 4번 녹차 : 한라봉 건조식품 = 7 : 3
- 1번 녹차 : 레드비트 건조식품 = 9 : 1
- 4번 녹차 : 레드비트 건조식품 = 6 : 4
- 비슷해서 잘 모르겠다

그림 3-14. 소비자 기호도 조사 (관능검사) 결과

(나) (주)경덕 (다희연)이 보유한 온라인, 오프라인 매장을 이용한 소비자 기호도 조사 (관능검사)를 통한 최적의 세절 규격 및 배합조건 확립 및 시제품 제작

- ① (주)경덕 (다희연)에서 진행한 소비자 대상 시음회 결과, 한라봉 블렌딩 녹차의 경우 1번 녹차와 한라봉 건조식품의 비율이 7:3일 때, 레드비트 블렌딩 녹차의 경우 1번 녹차와 레드비트 건조식품의 비율이 9:1 일 때 소비자 선호도가 가장 높았다.
- ② 이에 당유자, 한라봉 및 레드비트 블렌딩 녹차에 대한 시제품 디자인을 추진하였다 (그림 3-15).





그림 3-15. 천연과일향 블렌딩 녹차 시제품 디자인 - (주)경덕 (다희연)

2차년도

**유기농 녹차와 건조식품의 세절 규격에 따른 배합조건 확립 및 소비자 기호도 조사**

**유기농 녹차와 건조식품의 세절 규격에 따른 배합조건 확립 및 소비자 기호도 조사**

- 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트의 천연과일향 블렌딩 녹차로서의 개발을 위한 침출에 용이한 건조과일 세절 규격 및 녹차 배합의 표준화
- 소비자 기호도 조사를 통한 최적의 배합조건 확립
- 제주산 유기농 녹차 수확시기에 따른 최적의 배합조건 확립 후 기호성 높은 천연과일 블렌딩 녹차 개발

**최종 시제품 발표회 및 마케팅 전략 수립**

- 다희연이 보유한 온라인 쇼핑몰과 오프라인 매장 및 제품 전시장을 활용한 전략적인 마케팅 추진
- 최종 시제품 발표회 및 마케팅 전략 수립
- 최종 시제품에 대한 소비자 기호도 조사

나. 유기농 녹차와 건조식품의 세절 규격에 따른 배합조건 확립 및 소비자 기호도 조사 (관능검사)

(1) 유기농 녹차와 건조식품의 세절 규격에 따른 배합조건 확립 및 소비자 기호도 조사

(관능검사)

10. 다음 과일향 블렌딩 녹차 중 어떤 맛이 가장 좋은지 체크해주세요.

A. 한라봉 블렌딩 녹차 (비율 5 : 5)

B. 당유자 블렌딩 녹차 (비율 5 : 5)

C. 레드비트 블렌딩 녹차 (비율 1 : 9)

그림 3-16. 소비자 기호도 조사를 위한 제품 개발 설문지 및 소비자 기호도

(가) 제주산 당유자, 한라봉, 레드비트의 천연과일향 블렌딩 녹차로써의 개발을 위한 침출에 용이한 건조과일 세절 규격 및 녹차 배합의 표준화

- ① 제주산 천연 과일향 블렌딩 녹차로써의 개발을 위해 건조과일 및 녹차의 세절 규격을 티백 포장에 용이하도록 표준 규격 티백망의 사이즈에 맞게 3-5mm로 세절하였다.

(나) 소비자 기호도 조사 (관능검사)를 통한 최적의 배합조건 확립

- ① 한라봉과 당유자의 경우 녹차와의 비율이 5:5인 경우 가장 반응이 좋았으며, 레드비트는 녹차와의 비율이 9:1인 경우 가장 반응이 좋았다.

(다) 제주산 유기농 녹차 수확시기에 따른 최적의 배합조건 확립 후 기호성 높은 천연 과일 블렌딩 녹차 개발

- ① 제주산 유기농 녹차의 수확시기인 경우 테아닌과 카테킨이 모두 풍부한 5월 녹차(1번 녹차)가 상대적으로 카테킨만 풍부한 10월 녹차(4번 녹차) 보다 반응이 좋았다.
- ② 제주산 건조과일과 유기농 녹차와의 블렌딩차를 개발하는 경우 20대에서 녹차보다 블렌딩차에 대한 호감도가 높았다. 또한 제주산 건조과일 중 한라봉 블렌딩 녹차와 레드비트 블렌딩 녹차 순으로 선호도가 높아서 차후 한라봉 블렌딩 녹차와 비트 블렌딩 녹차를 제품으로 개발할 예정이다.

(2) 최종 시제품 발표회 및 마케팅 전략 수립

(가) (주)경덕 (다희연)이 보유한 온라인 쇼핑몰과 오프라인 매장 및 제품 전시장을 활용한 전략적인 마케팅 추진 및 시제품 발표회 및 평가회 개최

- ① 2016년 07월 29일부터 30일까지 양일간 (주)경덕 (다희연) 오프라인 매장 및 제품전시장에서 제주도민 및 관광객을 대상으로 최종 시제품에 대한 소비자 기호도 조사와 함께 마케팅 행사를 진행하였다 (그림 3-17).
- ② 소비자 기호도 조사 결과 20대에서 블렌딩 녹차에 대한 기호도가 가장 높게 나와,

20대를 타겟으로 마케팅할 수 있는 감각있는 제품 디자인의 개발이 필요하고, 홍보 전략 역시 20대가 주로 모이는 대학가 또는 20대가 선호하는 차블렌딩 전문점을 통한 마케팅을 진행할 예정이다.



그림 3-17. 최종 시제품에 대한 소비자 기호도 조사

**(나) 최종 시제품에 대한 소비자 기호도 조사(관능검사)**

- ① 2016년 07월 29일부터 30일까지 양일간 (주)경덕 (다희연) 오프라인 매장 및 제품전시장에서 제주도민 및 관광객을 대상으로 최종 시제품에 대한 소비자 기호도 조사를 진행하였다 (그림 3-18, 3-19).
- ② 소비자 기호도 설문 조사를 분석한 결과, 20세 이하부터 61세 이상까지 다양한 연령층이 설문 조사에 응하였으며, 남성보다 여성의 비율이 2배가량 많았고, 제주도에 거주하는 21.58%의 도민을 포함하여 다양한 지역에 거주하는 관광객을 대상으로 소비자 기호도 조사를 실시하였다.
- ③ 일주일에 순수 녹차 음용 횟수를 묻는 질문에는 ‘녹차를 일주일에 한 잔 이하 마신다’는 응답이 71.58%로 가장 높은 비율을 차지하였다. 또한 ‘커피를 일주일에 한 잔 이하 마신다’는 응답이 53.68%로 나타났다.
- ④ 연령대별 과일향 블렌딩 녹차 선호도 조사에서는 21-30세에서 39.39%로 과일향 블렌딩 녹차에 대한 선호도가 가장 높았으며, 31-40세, 41-50세 순으로 과일향 블렌딩 녹차에 대한 선호도가 높은 것으로 나타났다.

- ⑤ 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 경험이 있다고 응답한 사람은 80.53%이며, 한라봉 블렌딩 녹차를 가장 선호하였고(51.35%), 그 뒤를 이어 레드비트 블렌딩 녹차는 27.03%, 당유자 블렌딩 녹차는 21.62%의 선호도를 보였다.
- ⑥ 반면, 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 경험이 없다고 응답한 사람은 19.47%이며, 그 중 과일향 블렌딩 녹차를 섭취할 의향을 묻는 질문에는 70%가 섭취할 의향이 있다고 응답했으며, 12.63%는 없다, 16.84%는 관심없다고 응답하였다. 또한 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 경험이 없는 집단에서도 한라봉 블렌딩 녹차를 가장 선호하였고(43.05%), 그 뒤를 이어 레드비트 블렌딩 녹차(34.44), 당유자 블렌딩 녹차(21.62%)순으로 선호도가 높았다.
- ⑦ 소비자 기호도 조사 결과 한라봉 블렌딩 녹차가 44.21%로 가장 높았으며, 레드비트 블렌딩 녹차는 32.63%, 당유자 블렌딩 녹차는 22.11%로 그 뒤를 이었다.
- ⑧ 연령대별로 선호하는 천연 과일향 블렌딩 녹차를 조사한 결과, 21-30세 집단에서 레드비트 블렌딩 녹차를 가장 선호하였으며(40%), 이어 한라봉 블렌딩 녹차(37.5%), 당유자 블렌딩 녹차(22.5%) 순으로 높은 선호도를 보였다. 반면, 31-40세 집단에서는 한라봉 블렌딩 녹차의 선호도가 가장 높았고(51.79%), 레드비트 블렌딩 녹차(26.79%), 당유자 블렌딩 녹차(21.43%) 순으로 높은 선호도를 보였다. 41-50세 집단에서는 한라봉 블렌딩 녹차를 가장 선호하였고(39.02%), 레드비트 블렌딩 녹차(36.59%), 당유자 블렌딩 녹차(24.39%) 순으로 높은 선호도를 보였다.
- ⑨ 성별로 선호하는 과일향 블렌딩 녹차를 조사한 결과 여성에서는 41.41%가 한라봉 블렌딩 녹차를 가장 선호하였고, 그 다음으로는 39.06%가 레드비트 블렌딩 녹차를, 19.53%의 여성이 당유자 블렌딩 녹차를 선호하였다. 남성에서도 한라봉 블렌딩 녹차의 선호도가 가장 높았으며(44.44%), 레드비트 블렌딩 녹차(33.33%), 당유자 블렌딩 녹차(22.22%) 순으로 여성과 같은 결과를 보였다.

과일향 블렌딩 녹차는 맛과 향과 색이 살아있는 제주산 건조 농식품을 제주산 유기농 녹차와 결합하여 만든 블렌딩 녹차입니다.

1. 귀하의 연령대는 어떻게 됩니까?  
 20세 이하    21-30세    31-40세    41-50세    51-60세    61세이상

2. 귀하의 성별은 어떻게 됩니까?  
 남자    여자

3. 귀하의 거주지는 어디입니까?  
 서울    경기도 및 인천    강원도    충청도 및 대전시  
 경상도 및 대구시 부산시    전라도 및 광주    제주도

4. 귀하는 일주일에 순수 녹차를 평균 몇잔 정도 마시나요?  
 한잔 이하    2-5잔    6잔이상

5. 귀하는 일주일에 커피를 평균 몇잔 정도 마시나요?  
 5잔 이하    6-15잔    16잔 이상

6. 귀하는 이전에 과일향 블렌딩 녹차를 마셔 본 적이 있나요?  
 있다    없다

7. 귀하는 이전에 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 적이 있다면 순수 녹차와 비교했을 때 어느 쪽을 더 선호하시나요?  
 순수 녹차    과일향 블렌딩 녹차    둘 다 비슷    없다

8. 귀하는 이전에 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 적이 있다면 기억나는 선호하는 회사 제품이 있으시면 기술해 주세요. (   )

9. 귀하는 이전에 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 적이 없다면 앞으로 기회가 된다면 과일향 블렌딩 녹차를 마실 의향이 있으신가요?  
 있다    없다    관심없다

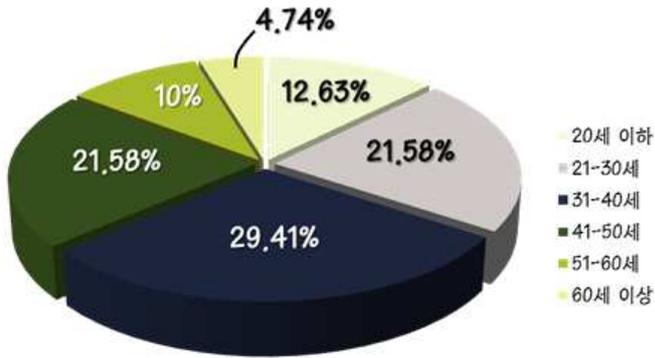
10. 다음 과일향 블렌딩 녹차 중 어떤 맛이 가장 좋은지 체크해주세요.  
A. 한라봉 블렌딩 녹차 (비율 5 : 5)  
B. 당유자 블렌딩 녹차 (비율 5 : 5)  
C. 레드비트 블렌딩 녹차 (비율 1 : 9)

11. 순수 녹차 티백 20티백 기준으로 한 박스 가격이 15000원이라면 과일향 블렌딩 녹차의 가격은 어느 정도가 적당하다고 보십니까?  
 1만원이하    1만원    1만5천원    2만원    2만원이상

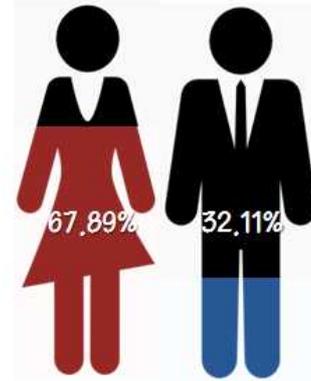
12. 그 밖에 동 제품 개발에 대한 귀하의 의견을 자유롭게 기술해 주십시오. (   )

그림 3-18. 최종 시제품에 대한 소비자 기호도 조사를 위한 제품 개발 설문지

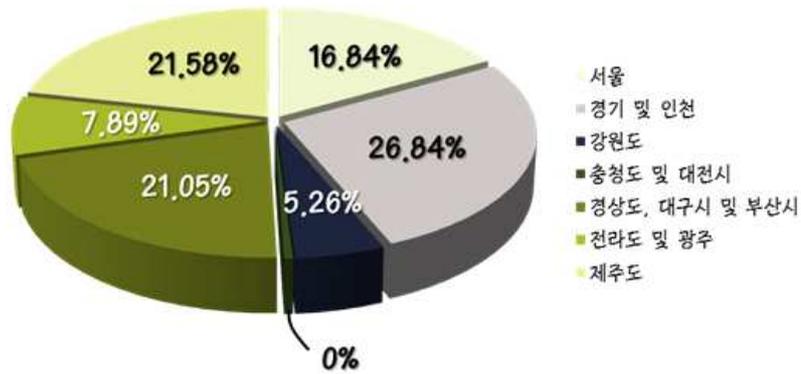
설문 조사 참여자 연령대



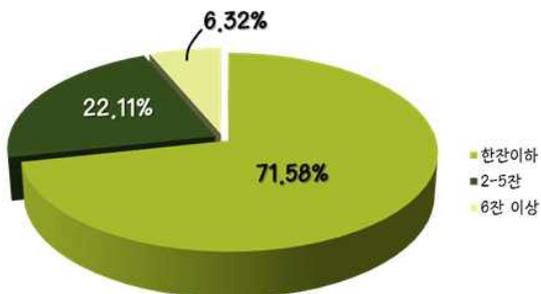
설문 조사 참여자 성별



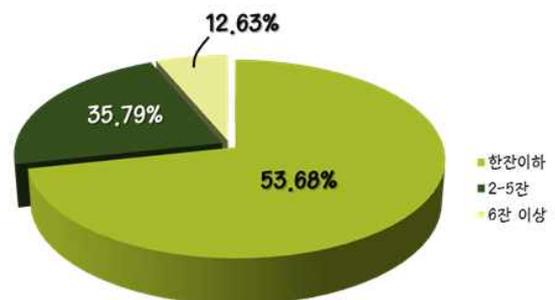
설문 조사 참여자 거주지



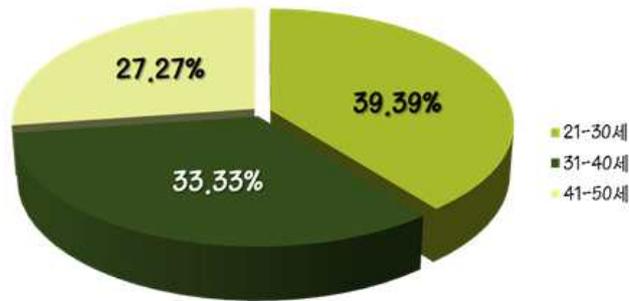
일주일 동안 마시는 순수 녹차



일주일 동안 마시는 커피



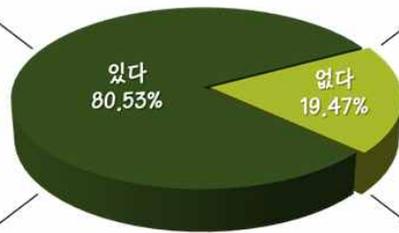
### 연령대별 과일향 블렌딩 녹차 선호도



### 과일향 블렌딩 녹차를 섭취할 의향



### 과일향 블렌딩 녹차를 마셔본 경험



### 가장 선호하는 블렌딩 녹차

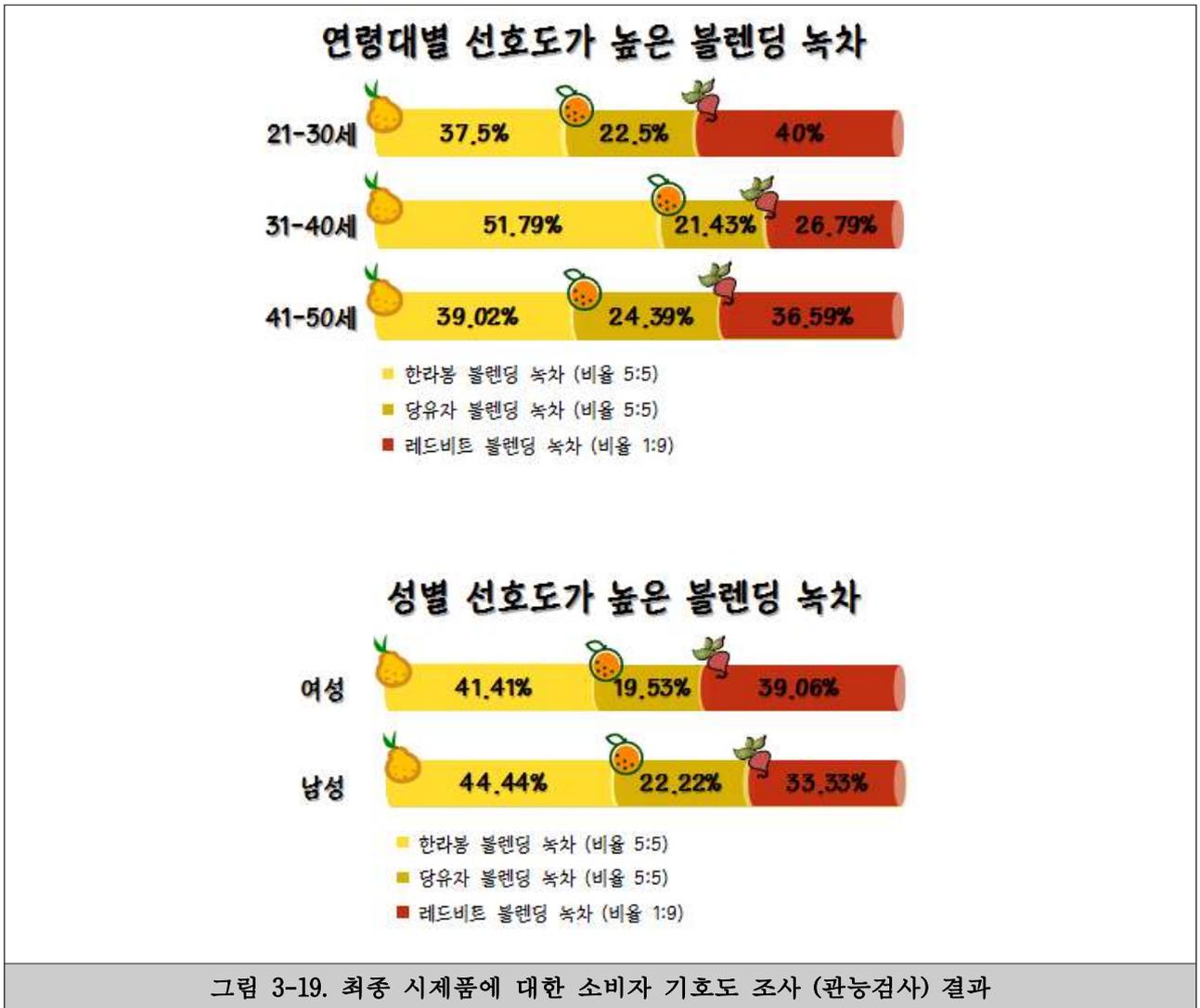


### 가장 선호하는 블렌딩 녹차



### 가장 선호하는 블렌딩 녹차





### 3. 제2협동 연구기관 - 제주대학교 지영훈

가. 방사선 조사로 기능이 억제된 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 생존율 및 증식능 변화 평가 (*In vitro* system)

(1) 레드비트 추출물 또는 EGCG의 처리가 방사선에 의한 면역세포의 생존율 감소를 억제하는지 유무를 MTT assay를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액 (Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 1.5 Gy의 방사선을 조사한 후, 레드비트 추출물 또는 녹차에 함유되어 있는 폴리페놀의 주성분인 Epigallocatechin gallate (이하 EGCG)를 농도별로 처리하였다.

본 실험에 사용한 레드비트 추출물은 세분하여 동결 건조된 레드비트를 가루로 분

쇄한 후, 70% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 레드비트를 감압 여과 장치를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 2회 더 반복 추출하였다. 얻어진 여액을 40°C 이하의 수욕상에서 진공농축기 (rotary vacuum evaporator)로 농축하여 70% 에탄올 추출물을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 현탁시키고, 분별깔대기를 이용해 극성 순서에 따라 *n*-hexane-ethyl acetate-*n*-butanol 순으로 분획하여 *n*-hexane 층(Hexane extract), ethyl acetate 층 (EtOAc extract), *n*-butanol 층 (BuOH extract), water 층 (H<sub>2</sub>O extract)의 총 4개의 용매 분획층을 얻어 water 층 (H<sub>2</sub>O extract)을 사용하였다.

### (나) 실험방법

레드비트 추출물 또는 EGCG가 방사선을 조사한 면역세포에 대하여 독성을 나타내는지 확인하기 위해 MTT assay를 통하여 면역세포의 생존율을 측정하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를  $1 \times 10^5$  cells/well로 넣고 농도별 레드비트 추출물 또는 EGCG와 함께 24시간 배양한 후, MTT 용액 (5mg/ml)을 각각의 well에 15  $\mu$ l씩 넣고 4시간 배양한 후 버퍼 (solubilization buffer, pH 4.7) 100  $\mu$ l씩 첨가하여 formazan 결정을 녹인 후, 570nm와 630nm에서 흡광도를 측정하였다.

### (3) 실험결과

살아있는 세포에 담황색의 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (이하 MTT)를 처리할 경우, 미토콘드리아에 있는 효소에 의해 불용성 암청색의 포르마잔 (formazan)으로 환원시키는 정도를 흡광도로 측정하여 세포 독성을 측정할 수 있다. 본 실험을 수행한 결과 면역세포에 방사선을 조사할 경우 세포의 수는 정상 대조군에 비해 85% 수준으로 유의적으로 감소하였고, 레드비트 추출물을 처리할 경우 1000  $\mu$ g/ml까지의 고농도에서도 독성을 보이지 않았다 (그림 3-20A). EGCG를 처리할 경우에도 100  $\mu$ M까지의 고농도에서도 독성을 보이지 않았다 (그림 3-20B). 본 결과를 통해, 방사선을 조사한 면역세포에 레드비트 추출물 또는 EGCG를 처리할 경우 모든 농도군에서 면역세포의 수적 감소가 일어나지 않은 것으로 보아 레드비트 추출물과 EGCG가 방사선을 조사한 면역세포에 독성이 없음을 알 수 있었다 (그림 3-20).

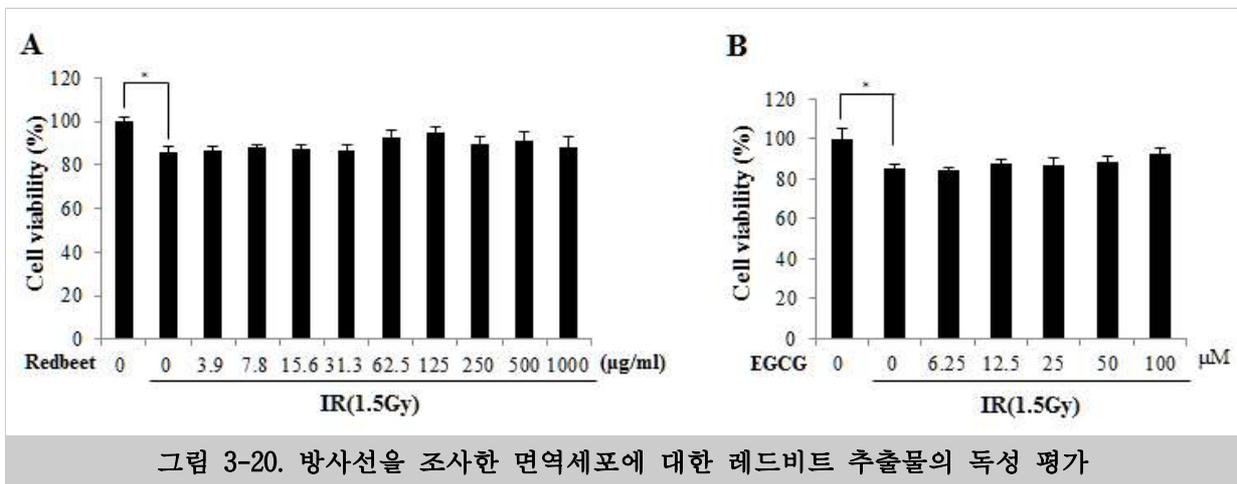


그림 3-20. 방사선을 조사한 면역세포에 대한 레드비트 추출물의 독성 평가

(2) 레드비트 추출물과 EGCG의 병행 처리가 방사선에 의한 면역세포의 생존을 감소를 억제하는지 유무를 MTT assay를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액 (Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 1.5 Gy의 방사선을 조사한 후, 레드비트 추출물을 농도별로 EGCG 0, 25, 50  $\mu$ M과 함께 처리하였다.

본 실험에 사용한 레드비트 추출물은 세분하여 동결 건조된 레드비트를 가루로 분쇄한 후, 70% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 레드비트를 감압 여과 장치를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 2회 더 반복 추출하였다. 얻어진 여액을 40°C 이하의 수욕상에서 진공농축기 (rotary vacuum evaporator)로 농축하여 70% 에탄올 추출물을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 현탁시키고, 분별깔대기를 이용해 극성 순서에 따라 *n*-hexane-ethyl acetate-*n*-butanol 순으로 분획하여 *n*-hexane 층(Hexane extract), ethyl acetate 층 (EtOAc extract), *n*-butanol 층 (BuOH extract), water 층 (H<sub>2</sub>O extract)의 총 4개의 용매 분획층을 얻어 water 층 (H<sub>2</sub>O extract)을 사용하였다.

(나) 실험방법

레드비트 추출물과 EGCG의 병행 처리가 방사선을 조사한 면역세포에 대하여 독성을 나타내는지 확인하기 위해 MTT assay를 통하여 면역세포의 생존율을 측정하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를  $1 \times 10^5$  cells/well로 넣고 농도별 추출물과 함께 24시간 배양한 후, MTT용액 (5mg/ml)을 각각의 well에 15  $\mu$ l씩 넣고 4시간 배양한 후 버퍼 (solubilization buffer, pH 4.7) 100  $\mu$ l씩 첨가하여 formazan 결정을 녹인 후, 570nm와 630nm에서 흡광도를 측정하였다.

(다) 실험결과

살아있는 세포에 담황색의 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (이하 MTT)를 처리할 경우, 미토콘드리아에 있는 효소에 의해 불용성 암청색의 포르마잔 (formazan)으로 환원시키는 정도를 흡광도로 측정하여 세포 독성을 측정할 수 있다. 본 실험을 수행한 결과, 면역세포에 방사선을 조사할 경우 세포의 수는 정상 대조군에 비해 85%로 유의적으로 감소하였고, 레드비트 추출물과 EGCG를 병행 처리할 경우 레드비트 1000  $\mu$ g/ml, EGCG 50  $\mu$ M까지의 고농도에서도 독성을 보이지 않았다. 본 결과를 통해, 방사선을 조사한 면역세포에 레드비트 추출물과 EGCG를 함께 병행 처리할 경우 면역세포의 수적 감소가 모든 농도군에서 일어나지 않은 것으로 보아 레드비트 추출물과 EGCG의 병행 처리가 독성이 없음을 알 수 있었다 (그림 3-21).

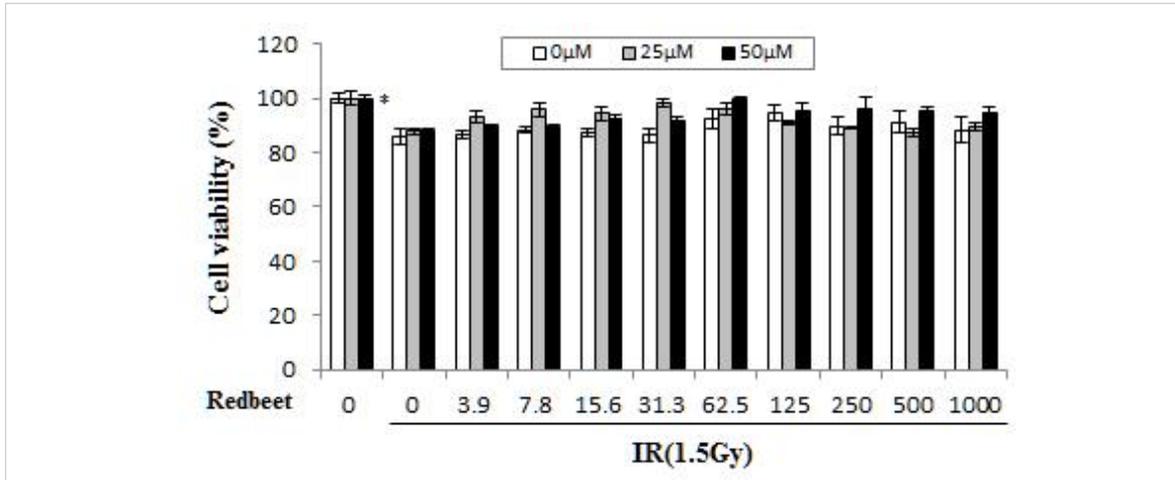


그림 3-21. 방사선을 조사한 면역세포에 대한 레드비트 추출물과 EGCG의 병행 처리 시 독성 평가

(1) 레드비트 추출물 또는 EGCG의 처리가 방사선에 의한 면역세포의 증식능 감소를 억제 하는지 유무를  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation assay를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액 (Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 1.5 Gy의 방사선을 조사한 후, 레드비트 추출물 또는 EGCG를 농도별로 처리하였다.

(나) 실험방법

레드비트 추출물 또는 EGCG가 방사선을 조사한 면역세포의 증식능에 미치는 영향을 확인하기 위해  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation assay를 수행하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를  $5 \times 10^5$  cells/well로 분주하여 농도별 레드비트 추출물 또는 EGCG와 함께 54시간 배양한 후,  $^3\text{H}$ -thymidine (42Ci/mmol; Amersham, USA)을 각각의 well에  $1 \mu\text{Ci}$ 씩 넣고 18시간 배양한 후 유리섬유 여지에 포획하고 건조하여 방사선 측정기 (TriLux, USA)를 이용하여 방사선 동위원소 양을 측정하였다.

본 실험에 사용한 레드비트 추출물은 세분하여 동결 건조된 레드비트를 가루로 분쇄한 후, 70% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 레드비트를 감압 여과 장치를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 2회 더 반복 추출하였다. 얻어진 여액을 40°C 이하의 수욕상에서 진공농축기 (rotary vacuum evaporator)로 농축하여 70% 에탄올 추출물을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 현탁시키고, 분별깔대기를 이용해 극성 순서에 따라 *n*-hexane-ethyl acetate-*n*-butanol 순으로 분획하여 *n*-hexane 층 (Hexane extract), ethyl acetate 층 (EtOAc extract), *n*-butanol 층 (BuOH extract), water 층 (H<sub>2</sub>O extract)의 총 4개의 용

매 분획층을 얻어 water 층 (H<sub>2</sub>O extract)을 사용하였다.

#### (다) 실험결과

면역세포에 방사성 동위원소인 <sup>3</sup>H-thymidine을 처리할 경우, 새로운 DNA 복제 시 방사성 동위원소가 포함된 양에 따라 그 세포의 증식능을 판단할 수 있다. 그 결과, 면역세포에 방사선을 조사할 경우 세포의 증식능은 정상 대조군에 비해 44% 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. 방사선을 조사하여 증식능을 억제시킨 면역세포에 레드비트 추출물을 처리할 경우 250, 500, 1000 μg/ml의 농도에서 농도 의존적으로 세포의 증식능이 증가하는 것을 확인하였다 (그림 3-22A). 반면, EGCG를 처리할 경우에는 레드비트 추출물과는 달리 6.25 μM의 저농도에서 100 μM까지의 고농도까지 세포 증식능의 변화를 관찰할 수 없었다 (그림 3-22B). 앞서 MTT assay 상에서 EGCG가 모든 농도에서 독성을 나타내지 않은 것으로 보아, 증식률의 변화가 없는 것은 독성에 의한 것은 아닌 것으로 사료된다. 본 결과를 통해, 방사선을 조사한 면역세포에 레드비트 추출물을 고농도로 처리할 경우 방사선에 의해 억제된 면역세포 증식능의 회복에 도움을 줄 수 있다는 것을 알 수 있었다 (그림 3-22).

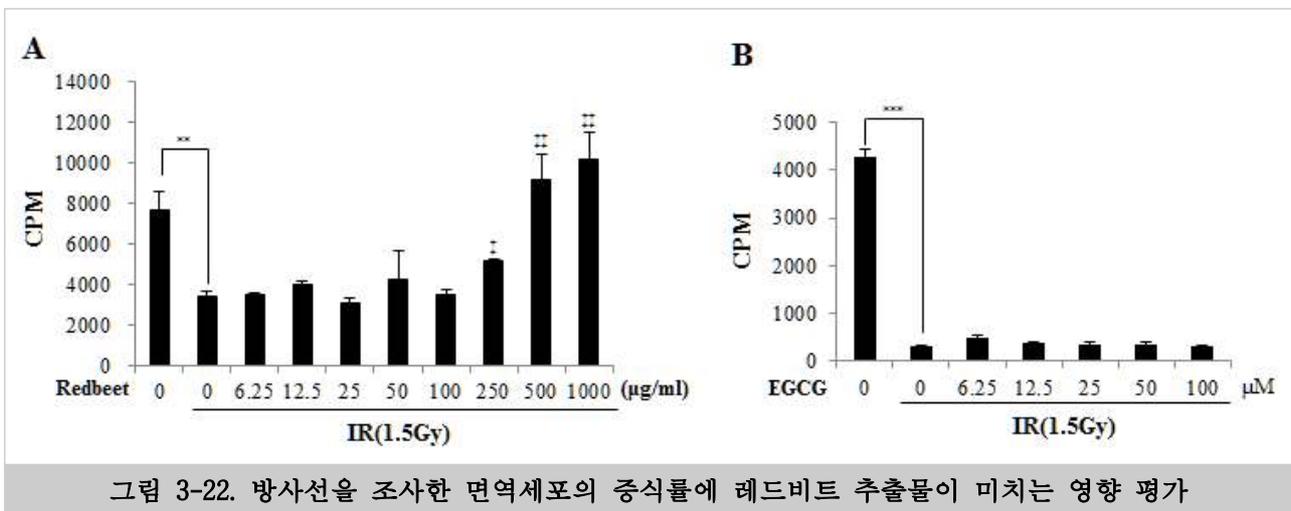


그림 3-22. 방사선을 조사한 면역세포의 증식률에 레드비트 추출물이 미치는 영향 평가

#### (4) 레드비트 추출물과 EGCG의 병행 처리가 방사선에 의한 면역세포의 증식능 감소를 억제하는지 여부를 <sup>3</sup>H-thymidine incorporation assay를 통하여 평가함

##### (가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄(ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청(Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신(Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지(Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장세포의 단일세포부유액에 2 Gy의 방사선을 조사한 후, 레드비트 추출물을 농도별로 EGCG 0, 25, 50 μM과 함께 처리하였다.

본 실험에 사용한 레드비트 추출물은 세분하여 동결 건조된 레드비트를 가루로 분쇄한 후, 70% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 레드비트를 감압

여과 장치를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 2회 더 반복 추출하였다. 얻어진 여액을 40°C 이하의 수욕상에서 진공농축기(rotary vacuum evaporator)로 농축하여 70% 에탄올 추출물을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 현탁시키고, 분별깔대기를 이용해 극성 순서에 따라 *n*-hexane-ethyl acetate-*n*-butanol 순으로 분획하여 *n*-hexane 층(Hexane extract), ethyl acetate 층(EtOAc extract), *n*-butanol 층(BuOH extract), water 층(H<sub>2</sub>O extract)의 총 4개의 용매 분획층을 얻어 water 층(H<sub>2</sub>O extract)을 사용하였다.

#### (나) 실험방법

레드비트 추출물과 EGCG를 병행 처리할 경우 방사선을 조사한 면역세포의 증식능에 미치는 영향을 확인하기 위해 <sup>3</sup>H-thymidine incorporation assay를 수행하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를 5×10<sup>5</sup>cells/well로 분주하여 농도별 추출물과 함께 54시간 배양한 후, <sup>3</sup>H-thymidine(42 Ci/mmol; Amersham, USA)을 각각의 well에 1 μCi씩 넣고 18시간 배양한 후 유리섬유 여지에 포획하고 건조하여 방사선 측정기(TriLux, USA)를 이용하여 방사선 동위원소 양을 측정하였다.

#### (다) 실험결과

면역세포에 방사성 동위원소인 <sup>3</sup>H-thymidine을 처리할 경우, 새로운 DNA 복제 시 방사성 동위원소가 포함된 양에 따라 그 세포의 증식능을 판단할 수 있다. 본 실험을 수행한 결과, 방사선을 조사한 면역세포에 레드비트 추출물을 단독으로 처리할 경우, 250, 500, 1000 μg/ml의 농도에서 농도 의존적으로 세포의 증식능을 증가시키는 것을 확인할 수 있었으나, EGCG를 병행 투여할 경우 방사선에 의해 억제된 증식능의 회복이 이루어지지 않음을 확인할 수 있었다. 이는 앞선 MTT assay 결과에서 레드비트 추출물과 EGCG의 고농도 병행 처리군에서도 세포수의 감소가 나타나지 않았던 결과에 비추어 볼 때, 독성으로 인한 것은 아닌 것으로 사료된다 (그림 3-23). 본 실험 결과를 통해 레드비트 추출물과 EGCG의 병행 처리가 방사선으로 인해 억제된 세포의 증식능 회복에는 긍정적인 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

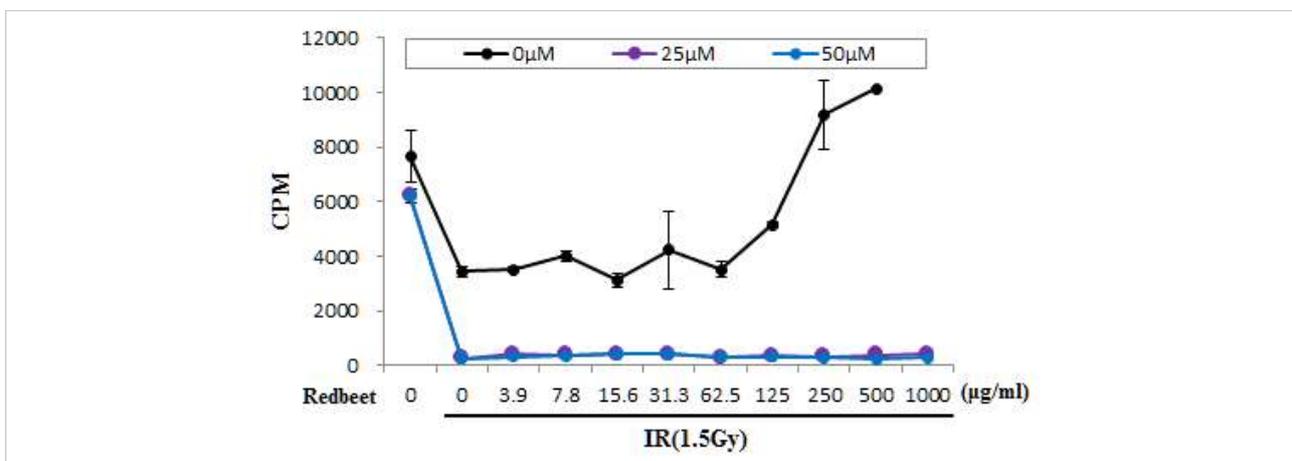


그림 3-23. 방사선을 조사한 면역세포의 증식률에 레드비트 추출물이 미치는 영향 평가

## 나. 방사선 조사로 기능이 억제된 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 항산화능 평가

(1) 레드비트 추출물 또는 EGCG의 처리가 방사선에 의한 면역세포의 DNA 손상을 억제하는지 유무를 PI (Prophidium iodine) staining을 통하여 평가함

### (가) 실험재료

C57BL/6 마우스의 대퇴골을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 단일세포부유액에 방사선을 조사한 후, 레드비트 추출물을 처리하였다.

본 실험에 사용한 레드비트 추출물은 세분하여 동결 건조된 레드비트를 가루로 분쇄한 후, 70% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 레드비트를 감압 여과 장치를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 2회 더 반복 추출하였다. 얻어진 여액을 40°C 이하의 수욕상에서 진공농축기 (rotary vacuum evaporator)로 농축하여 70% 에탄올 추출물을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 현탁시키고, 분별깔대기를 이용해 극성 순서에 따라 *n*-hexane-ethyl acetate-*n*-butanol 순으로 분획하여 *n*-hexane 층 (Hexane extract), ethyl acetate 층 (EtOAc extract), *n*-butanol 층 (BuOH extract), water 층 (H<sub>2</sub>O extract)의 총 4개의 용매 분획층을 얻어 water 층 (H<sub>2</sub>O extract)을 사용하였다.

### (나) 실험방법

레드비트 추출물이 방사선을 조사한 면역세포의 DNA 손상을 억제하는지 유무를 확인하기 위해 면역세포 중 하나인 골수세포에 PI staining을 이용하여 분석하였다. 마우스의 대퇴골로부터 골수 세포를 얻어 세포 여과기를 통해 단일 세포 부유액을 얻은 후, 각 군당  $1 \times 10^6$ 개의 세포를 70% 알코올로 고정하였다. 고정된 세포의 DNA를 PI (20  $\mu$ g/ml)와 RNase (200  $\mu$ g/ml) 혼합액 500  $\mu$ l로 36.5°C, 5% CO<sub>2</sub>가 있는 incubator에서 30분간 염색한 후, flow cytometry (FACS Calibur, BD bioscience)를 이용하여 분석하였다.

### (다) 실험결과

방사선 조사로 인해 세포자멸사가 유도된 세포는 DNA가 분절화 되어 DNA 함량이 줄어든다. 따라서 DNA를 염색할 수 있는 PI를 처리할 경우, 세포주기 분석을 이용한 유세포 분석에서 G0/G1기의 세포보다 DNA의 염색양이 적어 sub-G1기 peak를 형성하는 것으로 알려져 있다. 세포자멸사가 일어난 Sub-G1기의 세포는 방사선 대조군에서 정상 대조군 ( $3.4 \pm 0.8\%$ )에 비해  $10.7 \pm 4.3\%$ 로 증가하는 반면, 레드비트 추출물 처리군은  $1.1 \pm 0.1\%$ 로 정상 대조군 보다도 낮은 수준으로 감소하였다. 따라서 본 결과를 통해 레드비트 추출물이 방사선 조사에 의해 생기는 면역세포의 세포자멸사 DNA 분절 현상을 효과적으로 억제시킨다는 것을 알 수 있었다 (그림 3-24).

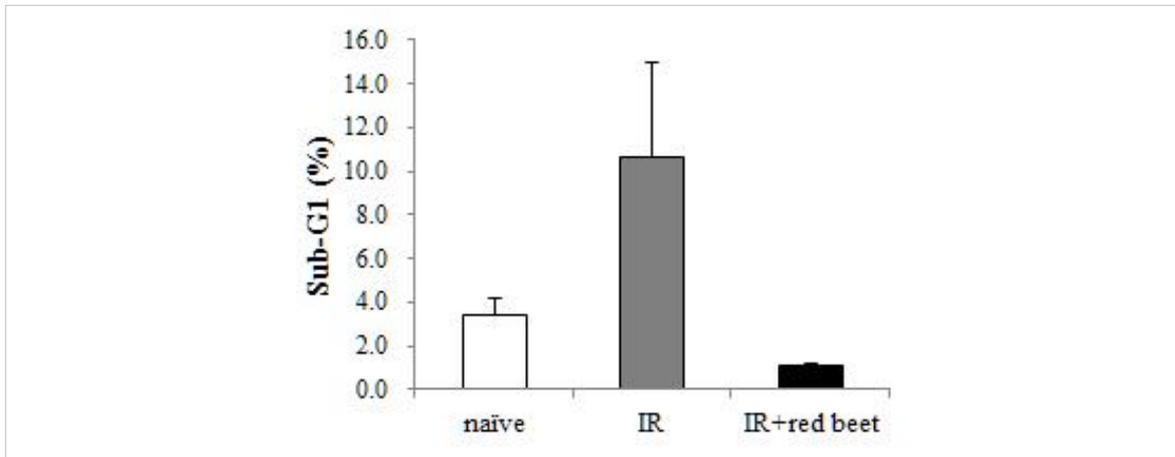


그림 3-24. 방사선을 조사한 면역세포에 대한 레드비트 추출물의 DNA 손상 보호 효과

(2) 레드비트 추출물 또는 EGCG가 방사선을 조사한 면역세포에서 항산화 효소 (MnSOD, Catalase)에 미치는 영향을 Western blotting을 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액 (Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 2 Gy의 방사선을 조사한 후, 레드비트 추출물 500  $\mu$ g/ml 또는 EGCG 25  $\mu$ M을 처리하였다.

본 실험에 사용한 레드비트 추출물은 세분하여 동결 건조된 레드비트를 가루로 분쇄한 후, 70% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 레드비트를 감압 여과 장치를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 2회 더 반복 추출하였다. 얻어진 여액을 40°C 이하의 수욕상에서 진공농축기 (rotary vacuum evaporator)로 농축하여 70% 에탄올 추출물을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 현탁시키고, 분별깔대기를 이용해 극성 순서에 따라 *n*-hexane-ethyl acetate-*n*-butanol 순으로 분획하여 *n*-hexane 층 (Hexane extract), ethyl acetate 층 (EtOAc extract), *n*-butanol 층 (BuOH extract), water 층 (H<sub>2</sub>O extract)의 총 4개의 용매 분획층을 얻어 water 층(H<sub>2</sub>O extract)을 사용하였다.

(나) 실험방법

레드비트 추출물 또는 EGCG가 방사선을 조사한 면역세포의 항산화 효소 발현에 미치는 영향을 확인하기 위하여 Western blotting을 수행하였다. 100mm plate에 면역세포를 3 × 10<sup>7</sup> cells/plate로 분주하여 레드비트 추출물 500  $\mu$ g/ml 또는 EGCG 25  $\mu$ M과 함께 2시간 배양한 후, 세포를 수확하였다. 그 후, 용해액 (lysis buffer, 40mM tris, 120nM NaCl, 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 10mg/ $\mu$ l leupeptin, 2mM sodium orthovanadate, 10  $\mu$ g/ml aprotinin (Sigma-Aldrich, MO, USA))에 넣어 12,000rpm으로 20

분 동안 원심 분리하여 단백질을 추출하였고 추출한 단백질을 정량하여 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (10% SDS PAGE)를 이용하여 전기영동 하였다. 분리된 단백질은 니트로셀룰로오스 막 (nitrocellulose membrane)에 100V에서 120분간 전이 시킨 후 비특이적 반응을 막기 위하여 2% 탈지우유 (skim milk)를 사용하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 1차 항체로는 anti-MnSOD (1:1000, Upstate, VA, USA), anti-Catalase (1:1000, Santacruz, TX, USA), anti- $\beta$ -actin (1:1500, Sigma-Aldrich)를 이용하여 4°C에서 18시간 반응시켰고, 그 후 Horseradish peroxidase (HRP)가 표지된 anti-rabbit IgG 또는 anti-mouse IgG (1:2000, Santacruz)를 사용하여 실온에서 45분 동안 반응시켜 단백질 밴드는 ECL detection kit (Amersham, UK)로 발현시켜 Fusion Solo<sup>®</sup> (Vilber Lourmat, France)를 이용하여 이미지를 얻어, Bio-1D<sup>®</sup> program (Vilber Lourmat)을 이용하여 분석하였다.

#### (다) 실험결과

방사선 조사는 체내에서 활성 산소 (reactive oxygen species, ROS)을 생성하여 세포와 조직을 손상시킨다고 알려져 있어, ROS의 방어기작에 관여하는 효소들을 항산화능 평가에 바이오마커로서 활용하고 있다. 레드비트 추출물 또는 EGCG가 방사선을 조사한 마우스의 면역세포의 항산화 효소에 미치는 영향을 알아보기 위하여 미토콘드리아에 많이 분포하고 있는 항산화 효소인 MnSOD와 방사선 조사로 인해 발생한 hydrogen peroxide를 산소와 물로 변환시키는 과정을 촉진하는 항산화 효소인 catalase의 발현 정도를 Western blotting을 통해 평가하였다. 그 결과, 면역세포에 방사선을 조사할 경우 MnSOD의 발현량은 정상 대조군에 비해 1.85배 증가하였고, Catalase의 발현량은 3.31배 증가하였다. 레드비트 추출물을 처리한 군에서는 MnSOD의 발현양이 방사선 대조군과 비교했을 때 크게 차이 나지 않았으나, Catalase의 발현량은 1.39배로 유의성 있게 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (그림 3-25A). 한편, EGCG를 처리한 군의 경우 방사선 대조군에 비해 MnSOD의 발현량은 1.54배 증가하는 경향임을 확인할 수 있었고, Catalase에서는 그 발현량이 감소하는 경향임을 확인할 수 있었다 (그림 3-25B). 본 결과를 통해, 방사선을 조사한 면역세포에서 레드비트 추출물의 경우에는 Catalase의 활성화를 촉진하고, EGCG의 경우에는 MnSOD의 활성화를 촉진하는 것을 확인할 수 있었다 (그림 3-25).

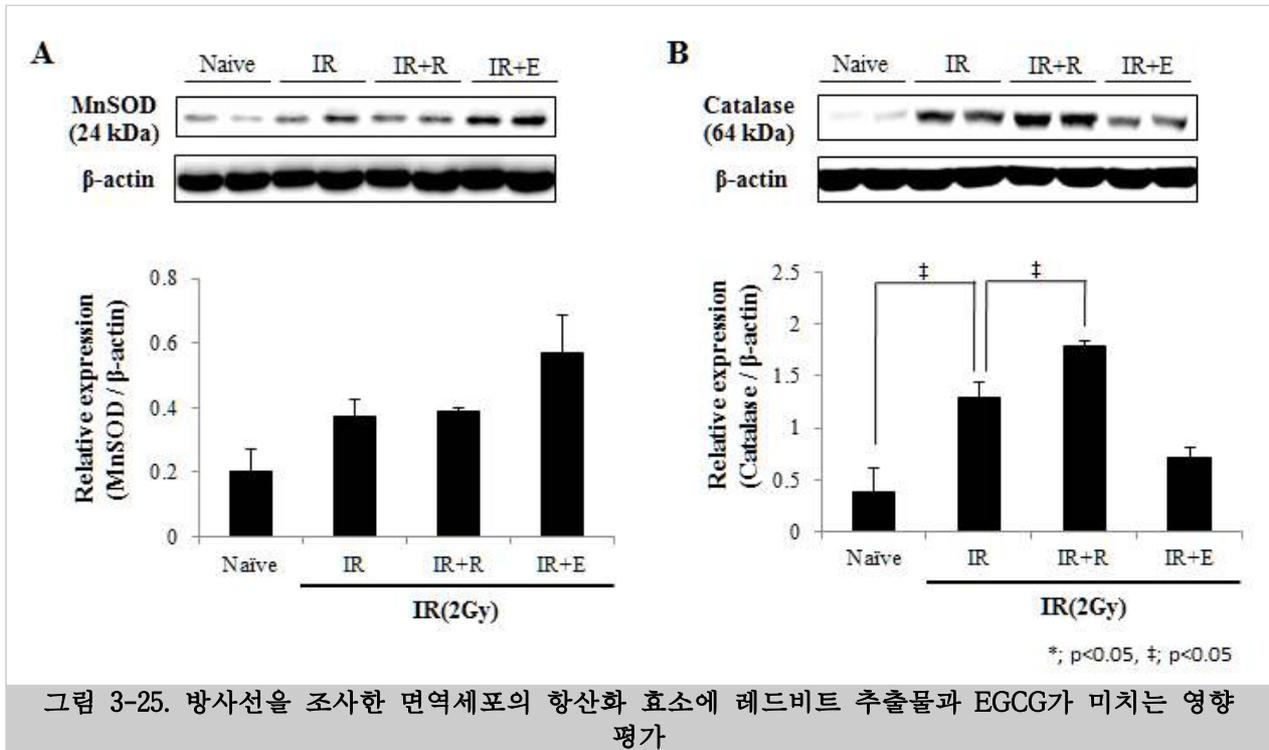


그림 3-25. 방사선을 조사한 면역세포의 항산화 효소에 레드비트 추출물과 EGCG가 미치는 영향 평가

다. 방사선 조사로 기능이 억제된 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 기능 변화 평가

(1) 방사선 조사로 기능이 억제된 면역세포에 대해 레드비트 추출물 또는 EGCG의 면역활성능을 알아보기 위하여 면역촉진인자인 IL-2의 단백질 분비량 변화를 ELISA assay를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액 (Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 2 Gy의 방사선을 조사한 후, 레드비트 추출물 500 μg/ml 또는 EGCG 25 μM을 처리하였다.

본 실험에 사용한 레드비트 추출물은 세분하여 동결 건조된 레드비트를 가루로 분쇄한 후, 70% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 레드비트를 감압 여과 장치를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 2회 더 반복 추출하였다. 얻어진 여액을 40℃ 이하의 수욕상에서 진공농축기 (rotary vacuum evaporator)로 농축하여 70% 에탄올 추출물을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 현탁시키고, 분별깔대기를 이용해 극성 순서에 따라 *n*-hexane-ethyl acetate-*n*-butanol 순으로 분획하여 *n*-hexane 층 (Hexane extract), ethyl acetate 층 (EtOAc extract), *n*-butanol 층 (BuOH extract), water 층 (H<sub>2</sub>O extract)의 총 4개의 용매 분획층을 얻어 water 층 (H<sub>2</sub>O extract)을 사용하였다.

**(나) 실험방법**

레드비트 추출물 또는 EGCG가 방사선을 조사한 면역세포의 면역활성능에 미치는 영향을 확인하기 위해 면역촉진인자인 IL-2의 단백질 분비량 변화를 ELISA assay를 통해 평가하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를  $1 \times 10^6$  cells/well로 분주하여 레드비트 추출물 500  $\mu$ g/ml 또는 EGCG 25  $\mu$ M과 함께 72시간 배양한 후, 상층액을 수확하였다. 이후, IL-2 ELISA kit (biolegend)를 사용하여 IL-2 단백질 분비량 변화를 분석하였다.

**(다) 실험결과**

여러 종류의 cytokine 중 interleukin-2 (IL-2)는 effector T 세포의 expansion에 관여하여 세포의 증식에 영향을 미치는 중요한 인자이다. 레드비트 추출물 또는 EGCG가 방사선을 조사한 면역세포의 IL-2 생성량에 미치는 영향을 확인하기 위해 ELISA assay를 수행한 결과, 정상면역세포에 비해 방사선을 조사한 면역세포군에서는 IL-2 생성량이 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. 레드비트 추출물을 처리한 군에서는 방사선 조사로 인해 감소한 IL-2의 생성을 유의적으로 증가시키는 것을 확인할 수 있었고, 반면 EGCG를 처리한 군에서는 IL-2 생성량의 증가를 관찰할 수 없었다. 레드비트 추출물 처리군에서 IL-2의 생성량이 증가한 것은 앞선  $^3$ H-thymidine incorporation assay를 통하여 알아본 세포증식능이 증가하였던 결과와 유사한 경향으로, 이는 IL-2가 세포증식에 관여하는 인자이기 때문인 것으로 사료된다 (그림 3-26).

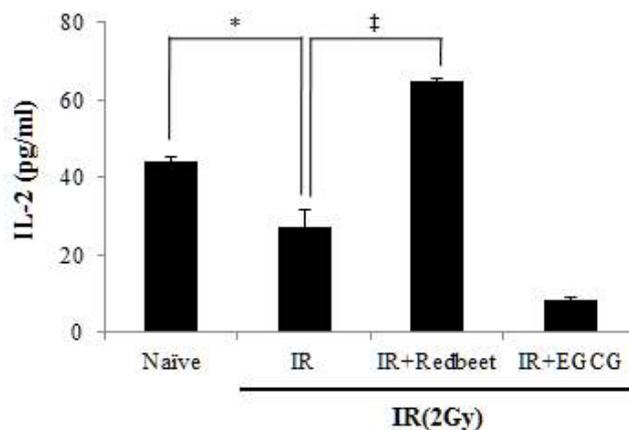


그림 3-26. 면역세포의 IL-2 분비에 레드비트 추출물 또는 EGCG가 미치는 영향 평가

**레드비트의 면역증진 효과에 대한 상기의 결과들에 대해  
학술발표 2건, 논문 1건\*, 특허출원 1건\*\*, 특허등록1건\*\*을 달성함**

\*Pharmaceutical Biology에 'Beetroot(*Beta vulgaris*) rescues mice from  $\gamma$ -ray irradiation by accelerating hematopoiesis and curtailing immunosuppression' 이라는 제목으로 투고하였고, 2016년 9월 9일자로 게재 승인됨

\*\* 레드비트 추출물을 이용한 방사선에 의한 면역조절 기능 장애 방호용 조성물

(출원번호: 10-2014-0068468 / 2016년 9월 28일자로 특허등록이 결정됨)

라. Immunogen으로 자극시킨 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 생존율 및 증식  
능 평가

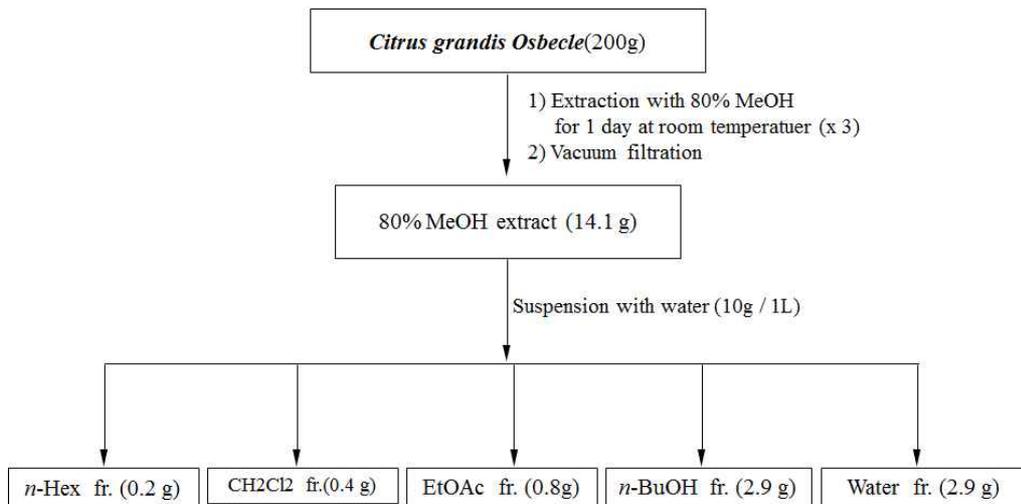
(1) 감귤류 추출물 (당유자, 한라봉)이 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 생존율에  
미치는 영향을 MTT assay를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포  
부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하  
였다. 그 후, 인산완충용액(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL,  
Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토  
마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지(Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장  
세포의 단일세포부유액에 당유자 및 한라봉 추출물을 농도별로 처리하였다.  
Immunogen을 이용하여 면역세포를 자극시킨 군은 concanavalin A를 10  $\mu$ g/ml 농도로  
처리하였다.

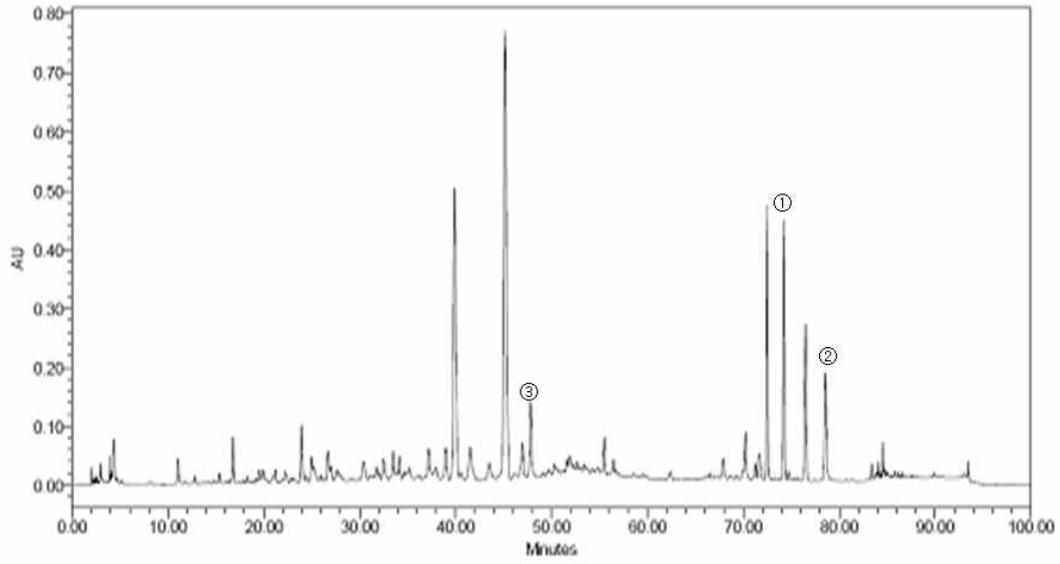
본 실험에 사용한 당유자 및 한라봉 추출물은 세분하여 동결 건조된 당유자 및 미  
성숙 한라봉의 과육을 가루로 분쇄한 후, 80% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시  
켰다. 침출시킨 당유자 및 한라봉 과육을 감압 농축기 (rotary evaporator)를 이용하여  
농축한 후 동결 건조하여 분말 형태의 당유자 및 한라봉 추출물을 얻어 사용하였다.

미성숙 당유자 시료 추출



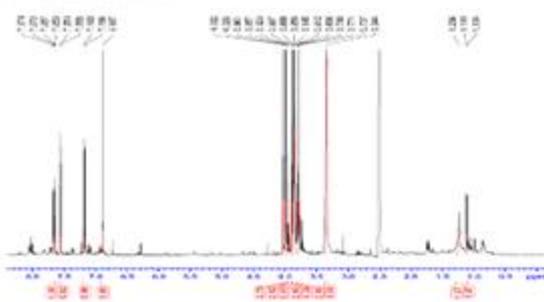
※미성숙 당유자

○ 미성숙 당유자 추출물을 이용한 HPLC 분석 크로마토그램

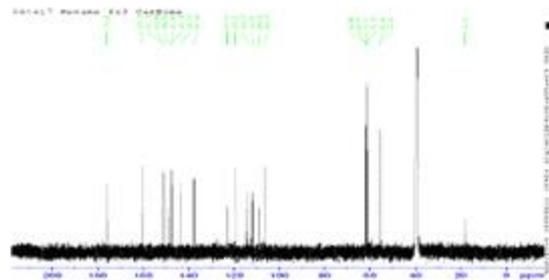


① 미성숙 당유자 peak 1

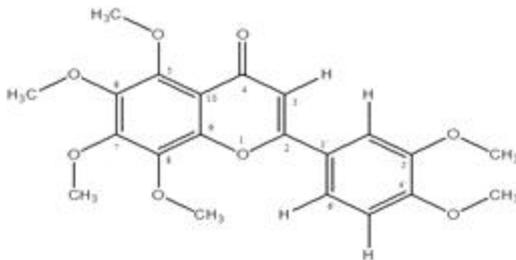
○ 미성숙 당유자 peak 1 1H-NMR spectrum



○ 미성숙 당유자 peak 1 13C-NMR spectrum

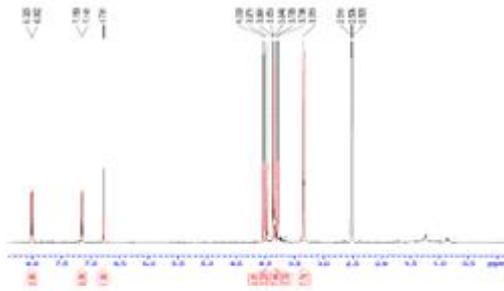


○ 3',4',5,6,7,8-Hexamethoxyflavone

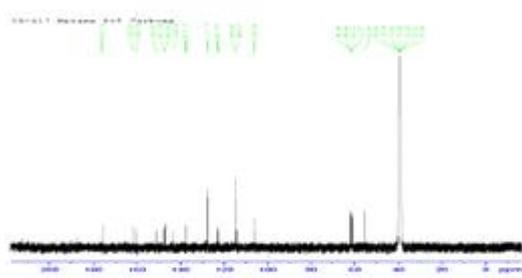


② 미성숙 당유자 peak 2

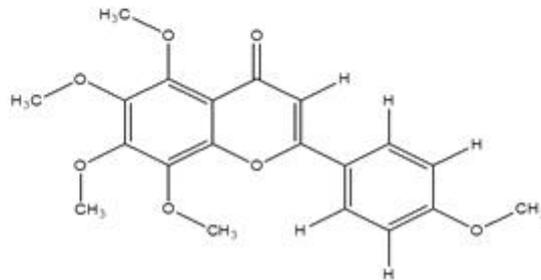
○ 미성숙 당유자 peak 2 1H-NMR spectrum



○ 미성숙 당유자 peak 2 13C-NMR spectrum

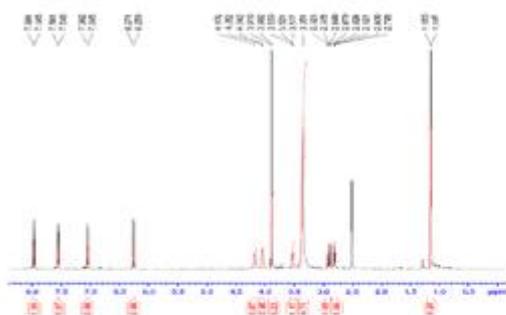


○ 5,6,7,8-Tetramethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-one.

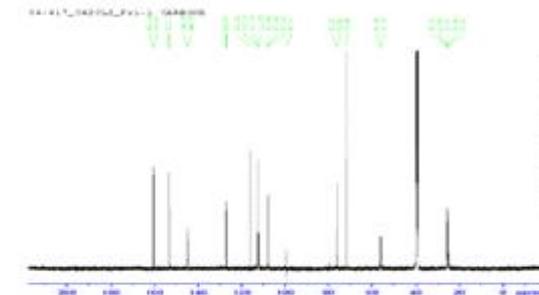


③ 미성숙 당유자 peak 3

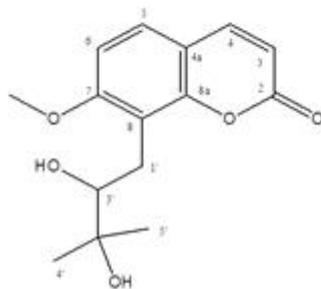
○ 미성숙 당유자 peak 3 1H-NMR spectrum



○ 미성숙 당유자 peak 3 13C-NMR spectrum



○ Structure of Meranzin hydrate



(나) 실험방법

당유자 및 한라봉 추출물이 정상면역세포와 immunogen으로 자극시킨 면역세포에 대하여 독성을 나타내는지 확인하기 위해 MTT assay를 이용하여 면역세포의 생존율을 측정하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를  $1 \times 10^5$  cells/well로 넣고 농도별

추출물과 함께 24시간 배양한 후, MTT용액 (5mg/ml)을 각각의 well에 15  $\mu$ l씩 넣고 4시간 배양한 후 버퍼 (solubilization buffer, pH 4.7) 100  $\mu$ l씩 첨가하여 formazan 결정을 녹인 후, 570nm와 630nm에서 흡광도를 측정하였다.

**(다) 실험결과**

당유자 및 한라봉 추출물이 정상면역세포와 immunogen으로 자극시킨 면역세포에 대하여 독성을 나타내는지 확인하기 위해 MTT assay를 실시하였다. 그 결과, 정상면역세포에 당유자와 한라봉 추출물 모두 250  $\mu$ g/ml까지의 고농도에서 독성을 보이지 않았다 (그림 3-27A, 그림 3-28A). Immunogen (Concanavalin A)를 이용하여 면역세포를 자극 시 세포의 수가 약 150% 유의적으로 증가하였으며, 당유자와 한라봉 추출물 처리 시 자극된 면역세포의 수적 감소가 모든 농도군에서 일어나지 않은 것으로 보아 당유자 및 한라봉 추출물이 독성을 나타내지 않음을 알 수 있었다 (그림 3-27B, 그림 3-28B).

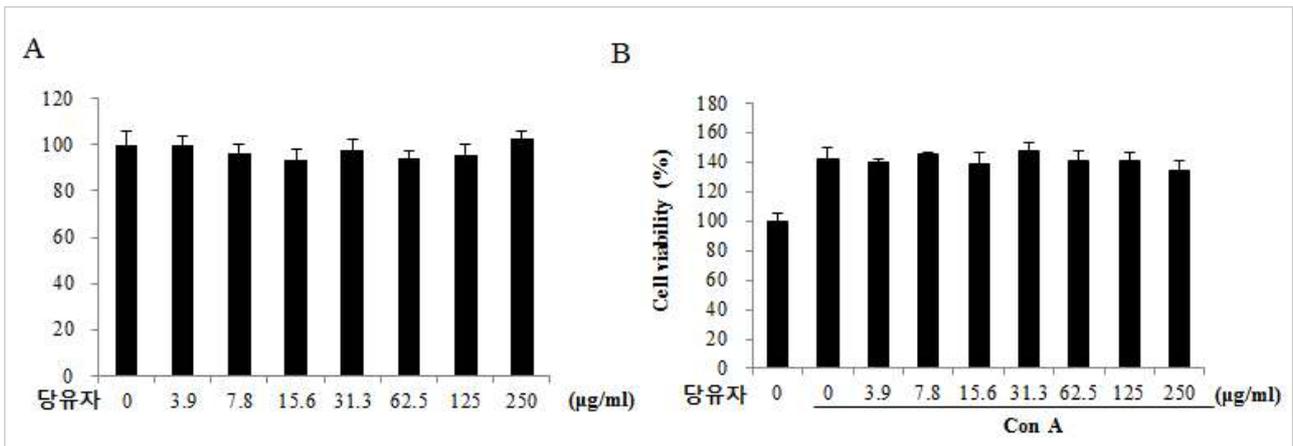


그림 3-27. 면역세포에 대한 당유자 추출물의 독성 평가 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

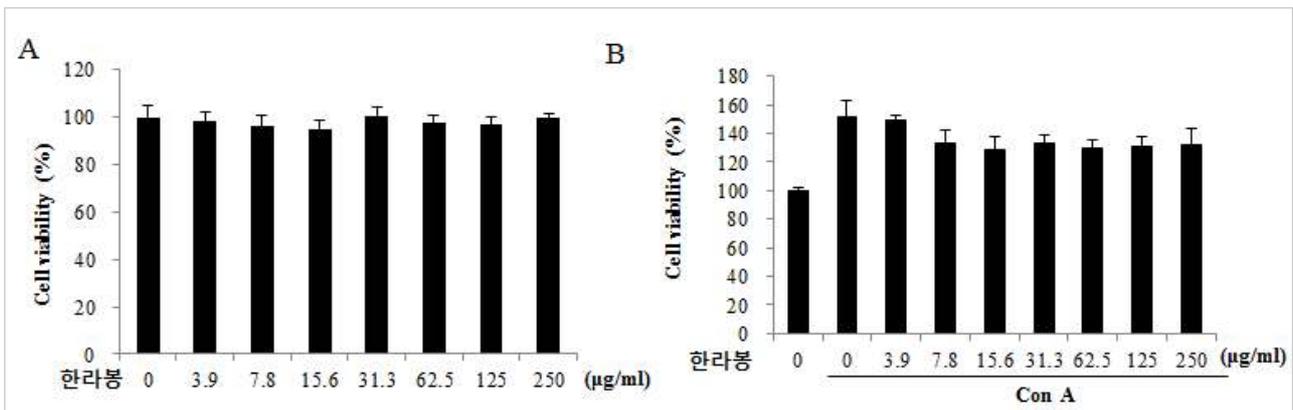


그림 3-28. 면역세포에 대한 한라봉 추출물의 독성 평가 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

## (2) 감귤류 추출물 (당유자, 한라봉)과 EGCG 병행 처리가 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 생존율에 미치는 영향을 MTT assay를 통하여 평가함

### (가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 당유자 및 한라봉 추출물과 함께 EGCG를 농도별로 병행 처리하였다. Immunogen을 이용하여 면역세포를 자극시킨 군은 concanavalin A를 10  $\mu$ g/ml 농도로 처리하였다.

본 실험에 사용한 당유자 및 한라봉 추출물은 세분하여 동결 건조된 당유자 및 미성숙 한라봉의 과육을 가루로 분쇄한 후, 80% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 당유자 및 한라봉 과육을 감압 농축기 (rotary evaporator)를 이용하여 농축한 후 동결 건조하여 분말 형태의 당유자 및 한라봉 추출물을 얻어 사용하였다.

### (나) 실험방법

당유자 추출물과 EGCG 병행 처리 및 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리가 정상면역세포와 immunogen으로 자극시킨 면역세포에 대하여 독성을 나타내는지 확인하기 위해 MTT assay를 이용하여 면역세포의 생존율을 측정하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를  $1 \times 10^5$  cells/well로 넣고 농도별 추출물과 함께 24시간 배양한 후, MTT용액 (5mg/ml)을 각각의 well에 15  $\mu$ l씩 넣고 4시간 배양한 후 버퍼 (solubilization buffer, pH 4.7) 100  $\mu$ l씩 첨가하여 formazan 결정을 녹인 후, 570 nm와 630 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### (다) 실험결과

당유자 추출물과 EGCG 병행 처리 및 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리가 정상면역세포와 immunogen으로 자극시킨 면역세포에 대하여 독성을 나타내는지 확인하기 위해 MTT assay를 실시하였다. 그 결과, EGCG의 병행 처리는 25, 50, 100  $\mu$ M 농도 모두에서 세포 생존율에 차이를 보이지 않았다 (그림 3-29, 그림 3-30). 이는 당유자, 한라봉 단독 처리뿐만 아니라 EGCG를 병행 처리하여도 세포의 생존율에는 큰 변화가 없는 것으로 보아, 당유자 추출물과 EGCG 병행 처리 및 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리는 세포에 독성을 나타내지 않는다는 것을 알 수 있었다.

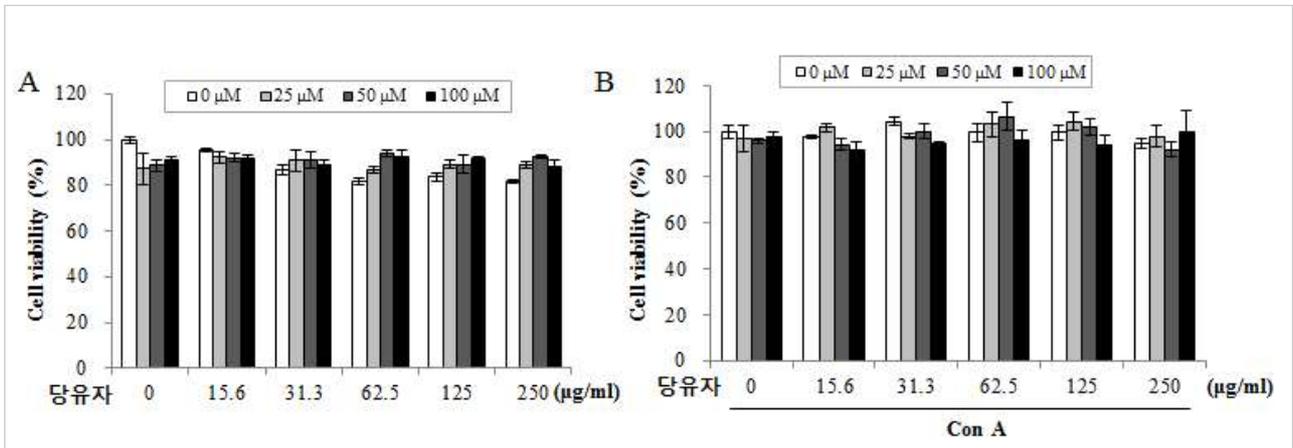


그림 3-29. 면역세포의 생존율에 당유자 추출물과 EGCG 병행 처리가 미치는 영향 평가 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

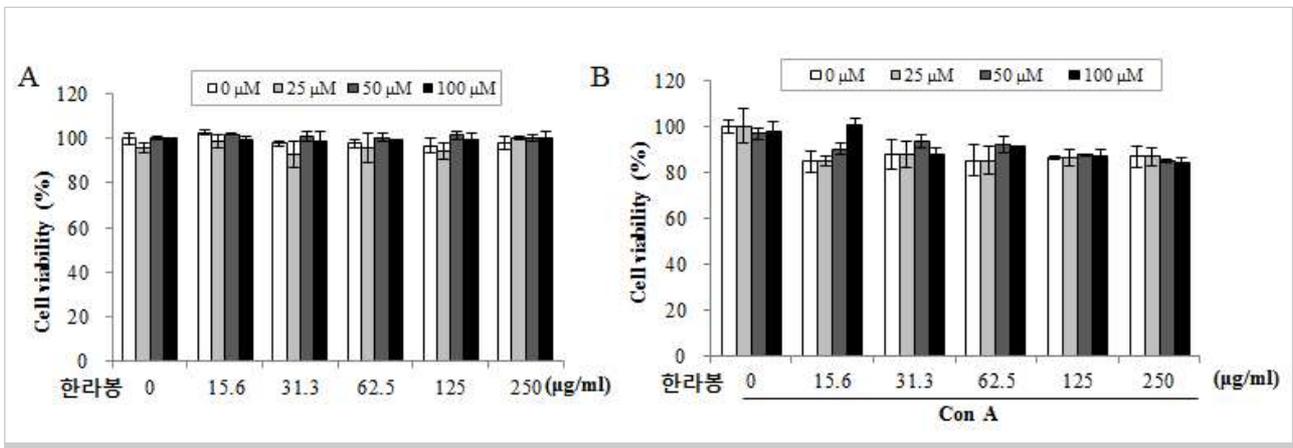


그림 3-30. 면역세포의 생존율에 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리가 미치는 영향 평가 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

(3) 감귤류 추출물 (당유자, 한라봉)이 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 증식률에 미치는 영향을 <sup>3</sup>H-thymidine incorporation assay를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 당유자 및 한라봉 추출물을 농도별로 처리하였다. Immunogen을 이용하여 면역세포를 자극시킨 군은 concanavalin A를 10 μg/ml 농도로 처리하였다.

본 실험에 사용한 당유자 및 한라봉 추출물은 세분하여 동결 건조된 당유자 및 미성숙 한라봉의 과육을 가루로 분쇄한 후, 80% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 당유자 및 한라봉 과육을 감압 농축기 (rotary evaporator)를 이용하여 농축한 후 동결 건조하여 분말 형태의 당유자 및 한라봉 추출물을 얻어 사용하였다.

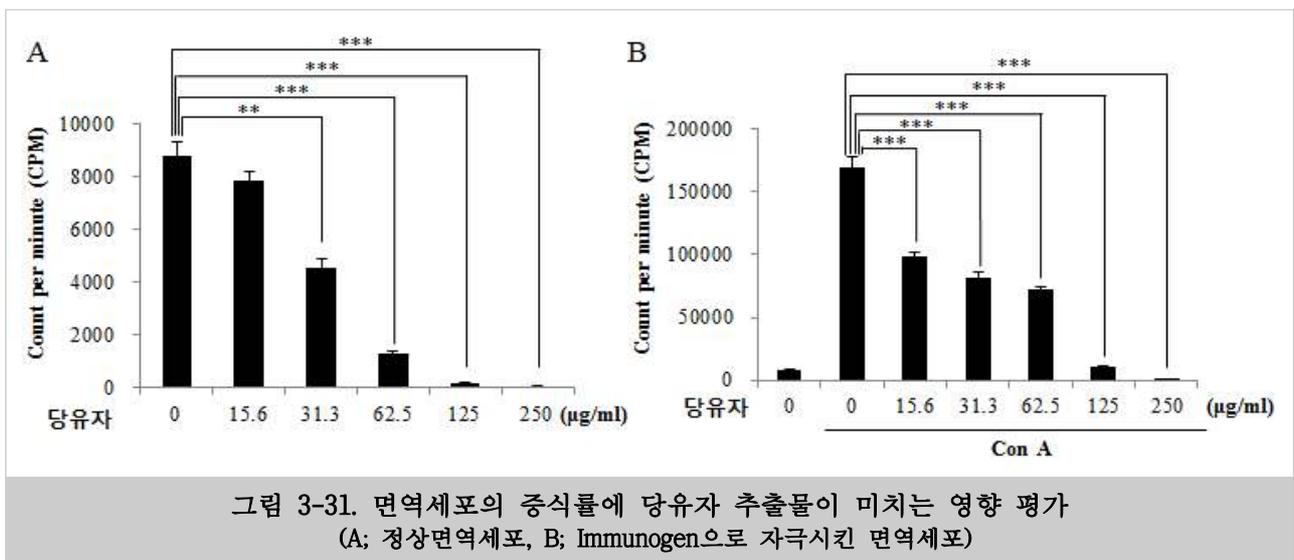
**(나) 실험방법**

당유자 및 한라봉 추출물이 정상면역세포와 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 증식능에 미치는 영향을 확인하기 위해 <sup>3</sup>H-thymidine incorporation 실험을 수행하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를 5×10<sup>5</sup>cells/well로 분주하여 농도별 추출물과 함께 54시간 배양한 후, <sup>3</sup>H-thymidine (42 Ci/mmol; Amersham, USA)을 각각의 well에 1μCi씩 넣고 18시간 배양한 후 유리섬유 여지에 포획하고 건조하여 방사선 측정기 (TriLux, USA)를 이용하여 방사선 동위원소 양을 측정하였다.

**(다) 실험결과**

당유자 및 한라봉 추출물이 마우스의 정상면역세포와 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 증식능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 면역세포에 방사성 동위원소인 <sup>3</sup>H-thymidine을 처리함으로써 새로운 DNA 복제 시 방사성 동위원소가 포함된 양에 따라 그 세포의 증식능을 판단할 수 있는 <sup>3</sup>H-thymidine incorporation assay를 실시하였다.

그 결과, 정상면역세포 및 immunogen으로 자극시킨 면역세포에서 당유자와 한라봉 추출물 모두 31.3, 62.5, 125, 250 μg/ml의 농도에서 농도 의존적으로 세포의 증식률을 감소시키는 것을 확인하였다 (그림 3-31, 그림 3-32). 특히, 당유자 추출물은 저농도 (15.6 μg/ml)에서도 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 증식률을 감소시킴을 확인하였다. 앞서 MTT assay상에서 당유자와 한라봉 추출물이 모든 농도에서 독성을 나타내지 않은 것으로 보아, 증식률 감소 효능은 독성에 의한 것이 아닌 것으로 사료된다.



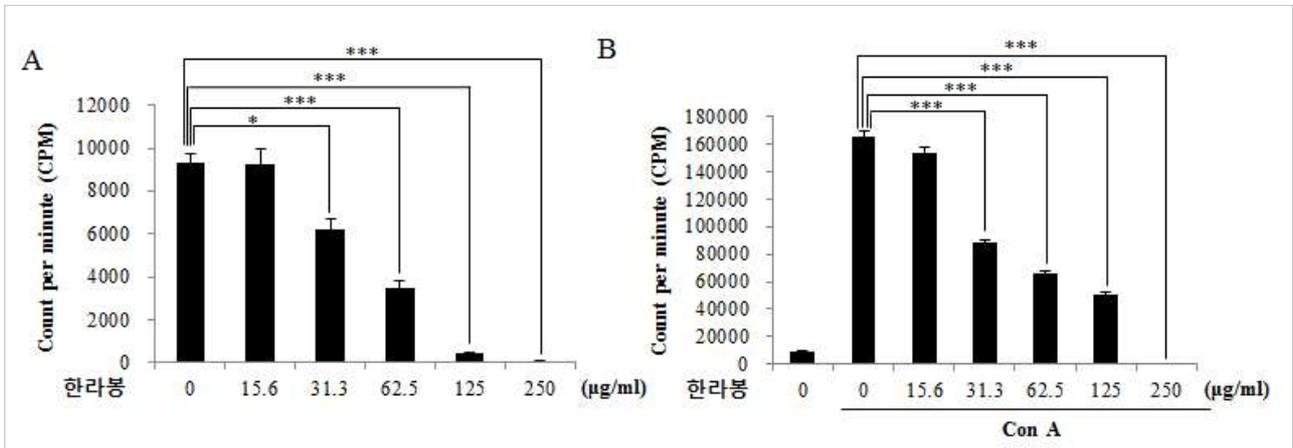


그림 3-32. 면역세포의 증식률에 한라봉 추출물이 미치는 영향 평가 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

(4) 감귤류 추출물 (당유자, 한라봉)과 EGCG 병행 처리가 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 증식률에 미치는 영향을 <sup>3</sup>H-thymidine incorporation assay를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액 (Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 당유자 및 한라봉 추출물과 함께 EGCG를 농도별로 병행 처리하였다. Immunogen을 이용하여 면역세포를 자극시킨 균은 concanavalin A를 10 µg/ml 농도로 처리하였다.

본 실험에 사용한 당유자 및 한라봉 추출물은 세분하여 동결 건조된 당유자 및 미성숙 한라봉의 과육을 가루로 분쇄한 후, 80% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 당유자 및 한라봉 과육을 감압 농축기 (rotary evaporator)를 이용하여 농축한 후 동결 건조하여 분말 형태의 당유자 및 한라봉 추출물을 얻어 사용하였다.

(나) 실험방법

당유자 추출물과 EGCG 병행 처리 및 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리가 정상면역세포와 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 증식률에 미치는 영향을 확인하기 위해 <sup>3</sup>H-thymidine incorporation assay를 수행하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를 5×10<sup>5</sup>cells/well로 분주하여 농도별 추출물과 함께 54시간 배양한 후, <sup>3</sup>H-thymidine (42 Ci/mmol; Amersham, USA)을 각각의 well에 1 µCi씩 넣고 18시간 배양한 후 유리섬유 여지에 포획하고 건조하여 방사선 측정기 (TriLux, USA)를 이용하여 방사선 동위원소 양을 측정하였다.

(다) 실험결과

당유차 추출물과 EGCG 병행 처리 및 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리가 마우스의 정상면역세포와 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 증식능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 면역세포에 방사성 동위원소인 <sup>3</sup>H-thymidine을 처리함으로써 새로운 DNA 복제 시 방사성 동위원소가 포함된 양에 따라 그 세포의 증식능을 판단할 수 있는 <sup>3</sup>H-thymidine incorporation assay를 실시하였다. 그 결과, 앞의 결과와 같이 정상면역세포 및 immunogen으로 자극시킨 면역세포에서 당유차와 한라봉 추출물 단독 처리 시, 농도 의존적으로 세포의 증식률을 감소시키는 것을 확인하였으며, 이러한 세포 증식률의 감소는 병행 처리한 EGCG의 농도에 비례하여 감소되는 것을 확인하였다 (그림 3-33, 그림 3-34). 즉, 당유차 및 한라봉 추출물이 지닌 세포 증식률 억제 효능은 EGCG 병행처리에 의하여 시너지 효과를 나타내어 그 효능이 급격히 증가함을 알 수 있었다.

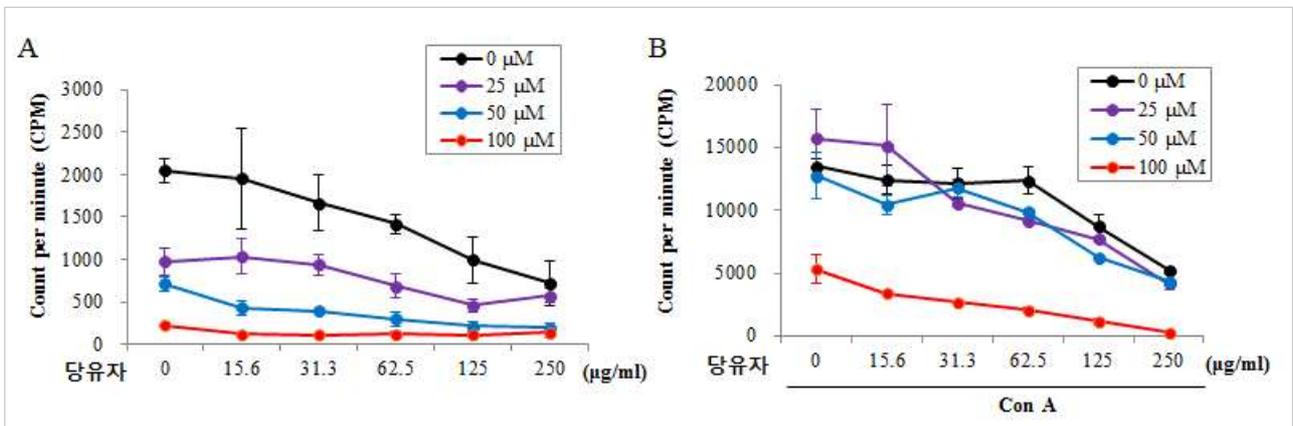


그림 3-33. 면역세포의 증식률에 당유차 추출물과 EGCG 병행 처리가 미치는 영향 평가 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

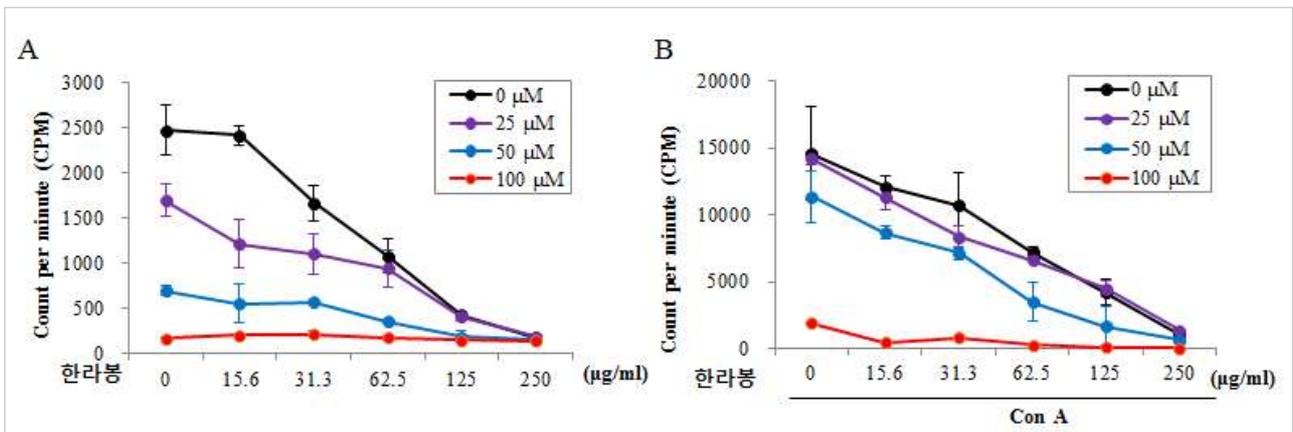


그림 3-34. 면역세포의 증식률에 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리가 미치는 영향 평가 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

마. Immunogen으로 자극시킨 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 기능 변화 평가

(1) 감귤류 추출물 (당유자, 한라봉)이 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 phenotype에 미치는 영향을 flow cytometry를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 당유자 및 한라봉 추출물을 농도별로 처리하였다.

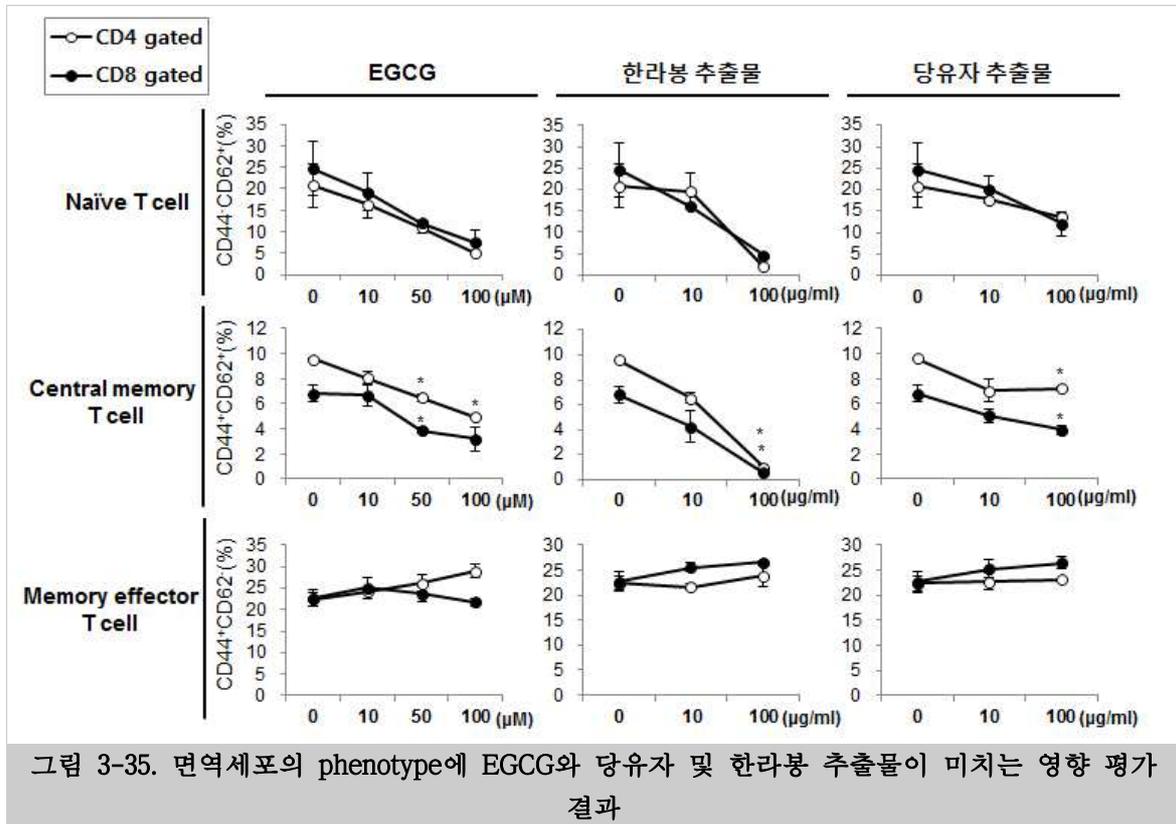
본 실험에 사용한 당유자 및 한라봉 추출물은 세분하여 동결 건조된 당유자 및 미성숙 한라봉의 과육을 가루로 분쇄한 후, 80% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 당유자 및 한라봉 과육을 감압 농축기 (rotary evaporator)를 이용하여 농축한 후 동결 건조하여 분말 형태의 당유자 및 한라봉 추출물을 얻어 사용하였다.

(나) 실험방법

당유자 및 한라봉 추출물이 면역세포의 phenotype 변화에 미치는 영향을 확인하기 위해 flow cytometry assay를 수행하였다. 24-well plate에, 위에서 얻은 면역세포를  $1 \times 10^6$  cells/well로 분주하여 농도별 추출물과 함께 24시간 배양한 후, 면역세포 중 표면에 Fc receptor를 발현하는 세포들에 의한 비특이적 반응을 줄이기 위해 purified anti-mouse CD16/32 단클론항체 ( $5 \mu\text{g/ml}$ )를 이용하여 4°C에서 15분간 반응시킨 후, FITC- 또는 PE-labelled anti-mouse CD44, anti-mouse CD62L, anti-mouse CD4, anti-mouse CD8 단클론항체 (각  $5 \mu\text{g/ml}$ )를 4 °C에서 30분간 반응시켰다. 각 반응이 끝난 뒤에 washing buffer를 이용하여 2회에 걸쳐 세포를 세척하고, 염색이 완료된 세포를 1% paraformaldehyde가 포함된 staining buffer에 보관하여 FACS Calibur™ flow cytometer와 CellQuest™ software (BD Biosciences)를 이용하여 분석하였다.

(다) 실험결과

EGCG, 당유자 및 한라봉 추출물이 면역세포의 phenotype 변화에 미치는 영향을 확인하기 위해 flow cytometry assay를 수행하였다. 본 연구에서 사용한 immunogen (Concanavalin A)은 면역세포 중 T 세포의 활성을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 면역세포에 EGCG, 당유자, 한라봉 추출물을 각각 처리 후 CD4 T 세포와 CD8 T 세포의 전체 수적변화에는 차이가 없었다. 그러나 CD44와 CD62L 표면분자의 발현 정도를 기준으로 Naive T 세포 (CD44-CD62L+), Central memory T 세포 (CD44+CD62L+), memory effector T 세포 (CD44+CD62L-)로 세분화하여 각 단계별 T 세포의 population을 평가한 결과, EGCG, 당유자, 한라봉 추출물 처리는 농도 의존적으로 Naive T 세포 (CD44-CD62L+), Central memory T 세포 (CD44+CD62L+)의 population을 감소시키는 것을 확인하였다 (그림 3-35).



(2) 감귤류 추출물 (당유자, 한라봉)이 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 IL-2단백질 분비량 변화를 ELISA assay를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액 (Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 당유자 및 한라봉 추출물을 농도별로 처리하였다. Immunogen을 이용하여 면역세포를 자극시킨 군은 concanavalin A를 10 μg/ml 농도로 처리하였다.

본 실험에 사용한 당유자 및 한라봉 추출물은 세분하여 동결 건조된 당유자 및 미성숙 한라봉의 과육을 가루로 분쇄한 후, 80% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 당유자 및 한라봉 과육을 감압 농축기 (rotary evaporator)를 이용하여 농축한 후 동결 건조하여 분말 형태의 당유자 및 한라봉 추출물을 얻어 사용하였다.

(나) 실험방법

당유자 및 한라봉 추출물이 면역세포의 IL-2 생성량에 미치는 영향을 확인하기 위해 ELISA assay를 수행하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를 1×10<sup>6</sup>cells/well로 분주하여 농도별 추출물과 함께 72시간 배양한 후, 각 well로부터 100 μl의 상층액을

언어 ELISA kit (biologend)을 사용하여 IL-2의 생성을 확인하였다.

**(다) 실험결과**

여러 종류의 cytokine 중 interleukin-2 (IL-2)는 effector T 세포의 expansion에 관여하여 세포의 증식에 영향을 미치는 중요한 인자이다. 본 연구에서 당유자 및 한라봉 추출물이 면역세포의 IL-2 생성량에 미치는 영향을 확인하기 위해 ELISA assay를 수행한 결과, 정상면역세포 및 immunogen으로 자극시킨 면역세포에서 당유자와 한라봉 추출물 모두 31.3, 62.5, 125, 250  $\mu$ g/ml의 농도에서 농도 의존적으로 세포의 IL-2 생성량을 감소시키는 것을 확인하였다 (그림 3-36, 그림 3-37). 특히, 당유자는 저농도 (15.6  $\mu$ g/ml)에서도 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 IL-2 생성을 감소시킴을 확인하였다. 이는  $^3$ H-thymidine incorporation assay를 통하여 알아본 세포증식률의 결과와 매우 흡사하였으며, 앞서 설명했듯 IL-2가 세포 증식에 관여하는 인자이기 때문인 것으로 사료된다.

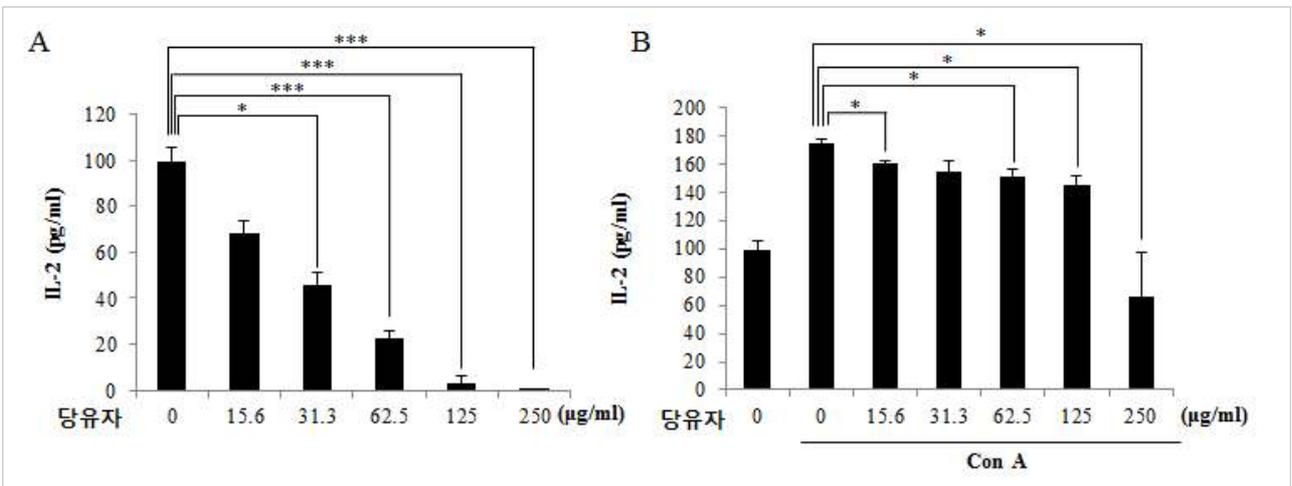


그림 3-36. 면역세포의 IL-2 분비에 당유자 추출물이 미치는 영향 평가 결과 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

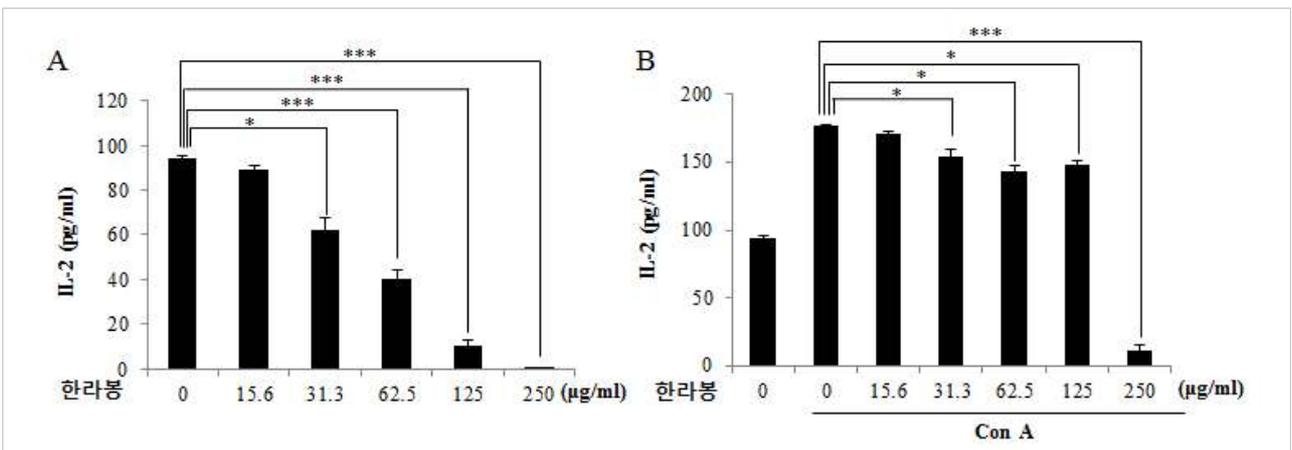


그림 3-37. 면역세포의 IL-2 분비에 한라봉 추출물이 미치는 영향 평가 결과 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

**(3) 감귤류 추출물 (당유자, 한라봉)이 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 Th1, Th2**

## 단백질 분비량 변화를 ELISA assay를 통하여 평가함

### (가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 당유자 및 한라봉 추출물을 농도별로 처리하였다. Immunogen을 이용하여 면역세포를 자극시킨 군은 concanavalin A를 10  $\mu$ g/ml 농도로 처리하였다.

본 실험에 사용한 당유자 및 한라봉 추출물은 세분하여 동결 건조된 당유자 및 미성숙 한라봉의 과육을 가루로 분쇄한 후, 80% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 당유자 및 한라봉 과육을 감압 농축기(rotary evaporator)를 이용하여 농축한 후 동결 건조하여 분말 형태의 당유자 및 한라봉 추출물을 얻어 사용하였다.

### (나) 실험방법

당유자 및 한라봉 추출물이 면역세포의 Th1 타입, Th2 타입 cytokine의 생성량에 미치는 영향을 확인하기 위해 ELISA assay를 수행하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를  $1 \times 10^6$  cells/well로 분주하여 농도별 추출물과 함께 72시간 배양한 후, 각 well로부터 100  $\mu$ l의 상층액을 얻어 ELISA kit (biologend)을 사용하여 대표적인 Th1 타입 cytokine인 IFN-gamma와 Th2 타입 cytokine인 IL-4의 생성량을 확인하였다.

### (다) 실험결과

helper T 세포는 cytokine 분비 양상에 따라 Th1과 Th2 타입의 세포로 나눌 수 있는데, Th1 세포는 대표적으로 IFN-gamma를 분비하여 대식세포 등을 활성화함으로써 세포성 면역반응을 유도하고 반면, Th2 세포는 IL-4 등의 cytokine을 분비한다. 본 연구에서 당유자 및 한라봉 추출물이 면역세포의 Th1 타입, Th2 타입의 cytokine 생성에 미치는 영향을 확인하기 위해 ELISA assay를 수행한 결과, immunogen으로 자극시킨 면역세포에서 당유자와 한라봉 추출물 모두 250  $\mu$ g/ml의 농도에서 IFN-gamma의 생성량을 크게 감소시키는 것을 확인하였다 (그림 3-38, 그림 3-39). 반면, Th2 타입의 cytokine인 IL-4의 생성은 당유자, 한라봉 추출물 처리에 아무런 영향을 받지 않았다. 이 결과를 통하여, 당유자, 한라봉 추출물 처리가 immunogen으로 자극된 면역세포의 활성화 중 특히, Th1 타입의 면역 반응을 억제하는 것을 알 수 있었다.

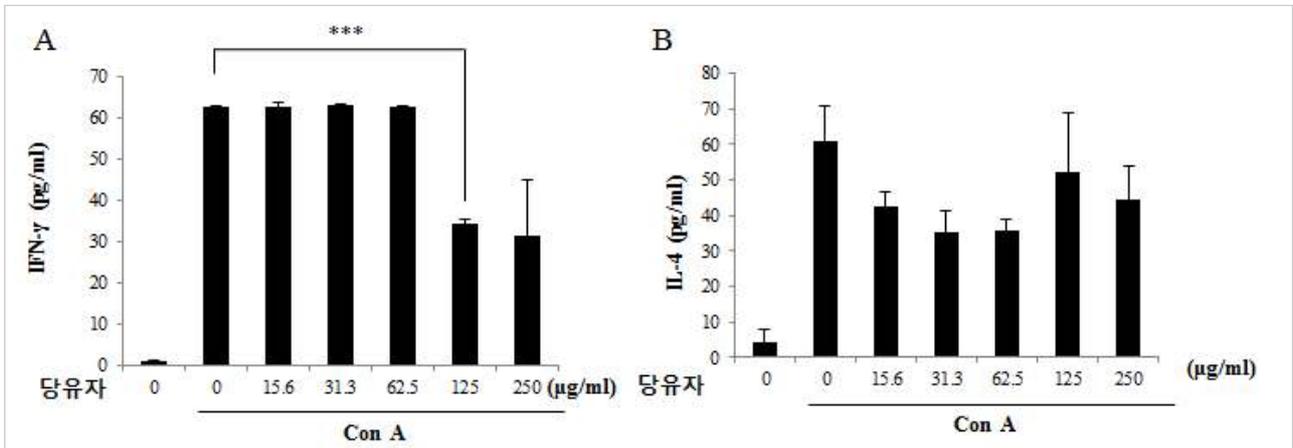


그림 3-38. 면역세포의 Th1, Th2 타입 cytokine 분비에 당유자 추출물이 미치는 영향 평가 결과

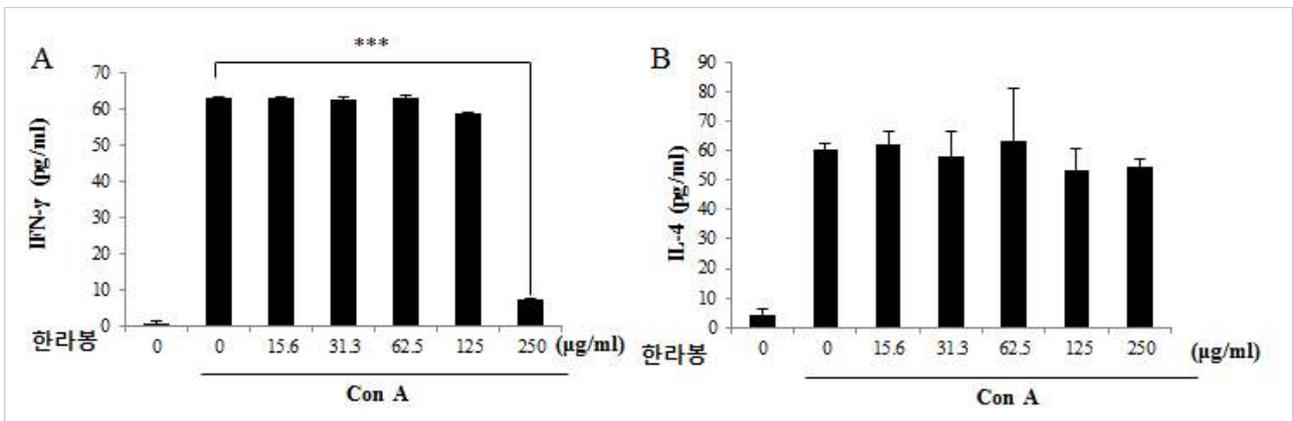


그림 3-39. 면역세포의 Th1, Th2 타입 cytokine 분비에 한라봉 추출물이 미치는 영향 평가 결과

(4) 감귤류 추출물 (당유자, 한라봉)과 EGCG 병행 처리가 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 IL-2 단백질 분비량 변화를 ELISA assay를 통하여 평가함

(가) 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스의 비장을 적출하여 세포 여과기를 통해 얻은 단일 세포 부유액을 염화 암모늄 (ammonium chloride, ACK)용액과 함께 10분간 실온에서 배양하였다. 그 후, 인산완충용액(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS, Gibco BRL, Paisley, UK)으로 씻어내고, 10% 소태아 혈청 (Gibco BRL)과 1% 페니실린 및 스트렙토마이신 (Gibco BRL)이 포함된 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL)에 부유시켰다. 이 후 비장 세포의 단일세포부유액에 당유자 및 한라봉 추출물을 농도별로 처리하였다. Immunogen을 이용하여 면역세포를 자극시킨 군은 concanavalin A를 10  $\mu\text{g/ml}$  농도로 처리하였다.

본 실험에 사용한 당유자 및 한라봉 추출물은 세분하여 동결 건조된 당유자 및 미성숙 한라봉의 과육을 가루로 분쇄한 후, 80% 에탄올에 넣고 실온에서 24시간 침출시켰다. 침출시킨 당유자 및 한라봉 과육을 감압 농축기 (rotary evaporator)를 이용하여 농축한 후 동결 건조하여 분말 형태의 당유자 및 한라봉 추출물을 얻어 사용하였다.

### (나) 실험방법

당유자 추출물과 EGCG 병행 처리 및 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리가 면역세포의 IL-2 생성량에 미치는 영향을 확인하기 위해 ELISA assay를 수행하였다. 96-well plate에 위에서 얻은 면역세포를  $1 \times 10^6$  cells/well로 분주하여 농도별 추출물과 함께 72 시간 배양한 후, 각 well로부터 100  $\mu$ l의 상층액을 얻어 ELISA kit (biolegend)을 사용하여 IL-2의 생성량을 확인하였다.

### (다) 실험결과

여러 종류의 cytokine 중 interleukin-2 (IL-2)는 effector T 세포의 expansion에 관여하여 세포의 증식에 영향을 미치는 중요한 인자이다. 본 연구에서 당유자 추출물과 EGCG 병행 처리 및 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리가 면역세포의 IL-2 생성량에 미치는 영향을 확인하기 위해 ELISA assay를 수행한 결과, 앞의 결과와 같이 정상면역세포 및 immunogen으로 자극시킨 면역세포에서 당유자와 한라봉 추출물 단독 처리시, 농도 의존적으로 세포의 IL-2 생성량을 감소시키는 것을 확인하였으며, 이러한 IL-2 생성량의 감소는 병행 처리한 EGCG의 농도에 비례하여 감소되는 것을 확인하였다 (그림 3-40, 그림 3-41). 즉, 당유자 및 한라봉 추출물이 지닌 IL-2 생성 억제 효능은 EGCG 병행 처리에 의하여 시너지 효과를 나타내어 그 효능이 증가함을 알 수 있었다.

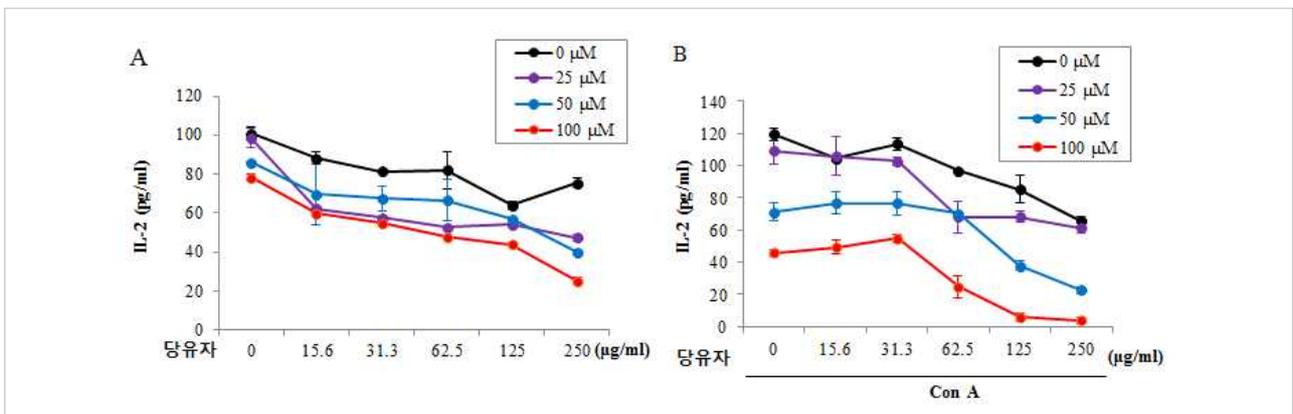


그림 3-40. 면역세포의 IL-2 분비량에 당유자 추출물과 EGCG 병행 처리가 미치는 영향 평가 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

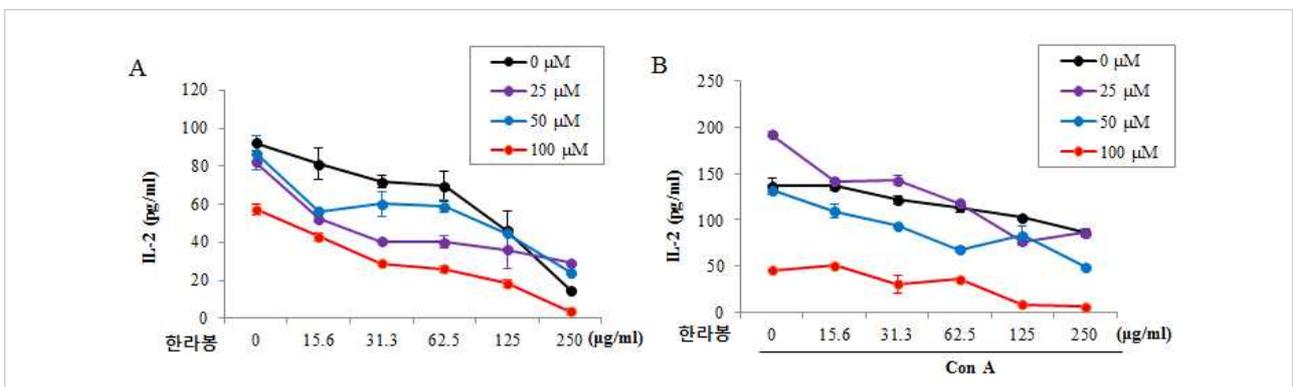


그림 3-41. 면역세포의 IL-2 분비량에 한라봉 추출물과 EGCG 병행 처리가 미치는 영향 평가 (A; 정상면역세포, B; Immunogen으로 자극시킨 면역세포)

가. 감귤류 (당유자, 한라봉) 추출물을 통한 후보 건조식품의 면역세포 조절능 연구 (*In vivo system*)



(1) 당유자 또는 블렌딩 유효활성성분이 마우스의 면역조절능에 미치는 영향 평가

(가) 당유자의 투여가 귀 부종 (ear edema)이 유발된 염증동물모델에서 부종의 정도와 염증 침윤 정도에 미치는 영향을 Hematoxylin-Eosin 염색법을 통해 평가함

① 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 습도를  $50 \pm 5\%$ 로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

② 실험방법

염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는  $4 \mu\text{g}$ 을 정량하여  $20 \mu\text{l}$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전  $100 \mu\text{g}$ 의 당유자 추출물과  $50 \mu\text{g}$ 의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. 실험군은 정상군(Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 당유자 추출물을 처리한 실험군 (Dangyuja), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 마우스의 귀 두께 변화를 측정하고 염증을 평가하기 위하여 귀조직을 떼어내어 20% 중성 포르말린에 담가 보존하였다. 그 후 통상적인 방법에 따라 조직검사 처리과정을 거쳐 파라핀 포매를 한 후  $5 \mu\text{m}$  두께의 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색을 시행하였다.

### ③ 실험결과

당유자 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 부종의 정도와 염증침윤 정도에 미치는 영향을 평가하였다. 먼저 귀 두께를 측정한 결과, 정상군 (Normal)의 귀 두께는  $119.5 \mu\text{m}$  이고, 비처치군인 대조군 (Vehicle)은  $364.1 \mu\text{m}$ 으로 정상군에 비해 현저히 증가함을 확인하였다. 당유자 추출물 처리군 (Dangyuja)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각  $248.5 \mu\text{m}$ ,  $184.7 \mu\text{m}$  정도의 증가량을 보임으로써 대조군에 비해 귀 두께의 증가폭이 작았다 (그림 3-42A, B). Hematoxylin-eosin 염색 결과, TPA 처리 시 대조군 (Vehicle)의 진피 (dermis) 부위에 호중구와 림프구의 침윤이 두들어졌으며, 당유자 추출물 처리군 (Dangyuja)과 양성대조군 (Dexamethasone)에서 이러한 염증세포의 침윤이 크게 감소하였다 (그림 3-42C). 이 결과를 통하여, 당유자 추출물의 처리는 TPA에 의해 유도되는 염증 및 부종을 효과적으로 감소시키는 것을 알 수 있었으며, 그 효과는 양성시료(Dexamethasone)과 유사하였다.

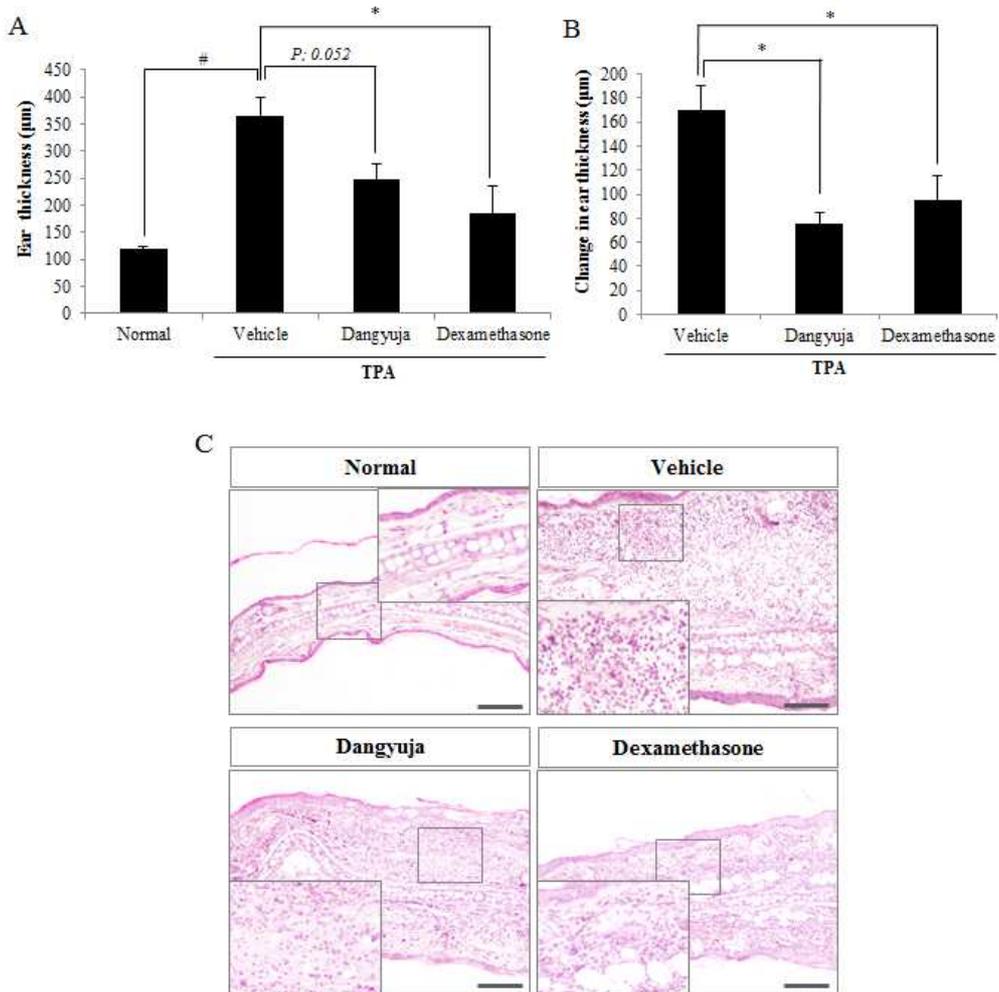


그림 3-42. 당유자 추출물이 염증이 유발된 동물모델의 귀 부종 및 염증정도에 미치는 영향 (A; 귀 두께, B; 귀 두께 변화, C; Hematoxylin-eosin 염색)

(나) 당유자의 투여가 대표적인 염증세포인 호중구의 활성 및 침윤정도에 미치는 영향을 myeloperoxidase (MPO) activity assay kit를 이용해 평가

① 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도를  $50 \pm 5\%$ 로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

② 실험방법

염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는  $4 \mu\text{g}$ 을 정량하여  $20 \mu\text{l}$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전  $100 \mu\text{g}$ 의 당유자 추출물과  $50 \mu\text{g}$ 의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. 실험군은 정상군 (Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 당유자 추출물을 처리한 실험군 (Dangyuja), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 호중구의 과립 내 peroxidase 효소인 myeloperoxidase (MPO)의 활성을 측정하기 위하여, 귀 조직을 homogenizer로 분쇄 후, 상층액을 얻어 MPO activity assay kit (Abcam)을 이용하여 MPO 활성을 측정하였다.

③ 실험결과

당유자 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 염증세포의 활성에 미치는 영향을 평가하였다. 대표적인 염증세포인 호중구의 활성 및 침윤정도를 peroxidase 효소인 myeloperoxidase의 활성 측정을 통하여 알아본 결과, TPA 처리 후 대조군 (Vehicle)의 MPO 활성은 정상군 (Normal)에 비해 2.2배 증가하였다. 반면 당유자 추출물 처리군 (Dangyuja)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 정상군 (Normal)과 유사한 수치를 나타내었으며, 대조군과 비교 시 유의성을 보였다 (그림 3-43).

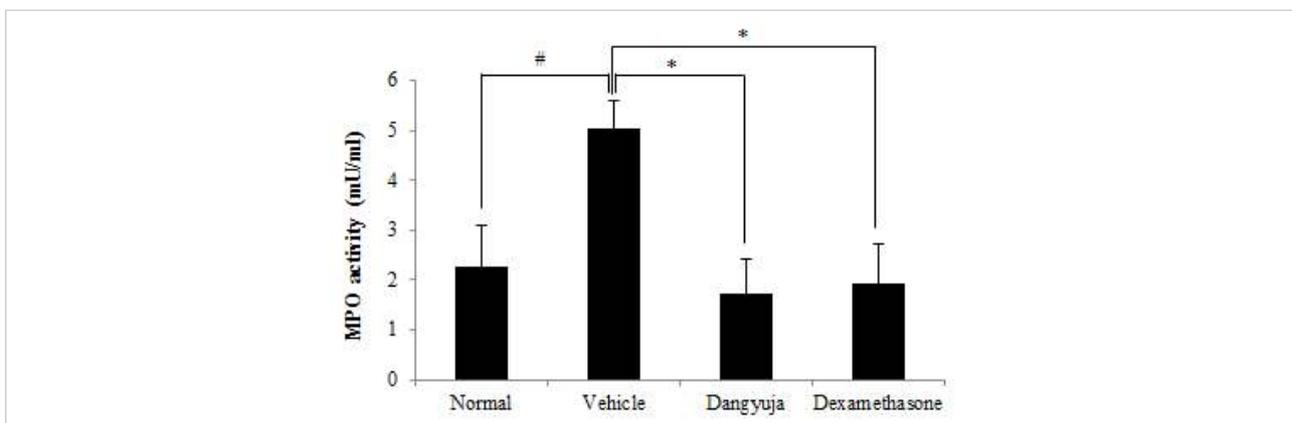


그림 3-43. 당유자 추출물이 염증이 유발된 동물모델의 염증세포 활성에 미치는 영향

(다) 당유자의 투여가 염증 관련 인자 (Cox-2, iNOS 등)의 발현에 미치는 영향을 면역조직화학염색법을 통해 평가

① 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 습도를  $50 \pm 5\%$ 로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

② 실험방법

염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는  $4 \mu\text{g}$ 을 정량하여  $20 \mu\text{l}$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전  $100 \mu\text{g}$ 의 당유자 추출물과  $50 \mu\text{g}$ 의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. 실험군은 정상군 (Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 당유자 추출물을 처리한 실험군 (Dangyuja), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 마우스의 귀 두께 변화를 측정하고 염증을 평가하기 위하여 귀조직을 떼어내어 20% 중성포르말린에 담가 보존하였다. 그 후 통상적인 방법에 따라 조직검사 처리과정을 거쳐 파라핀 포매를 한 후  $5 \mu\text{m}$  두께의 절편을 만들어 면역조직화학검사법을 실시하였다. 조직을 normal blocking serum에 30 분간 배양시킨 후, 항체 Cox-2 (1:200), iNOS (1:500)를 각각의 농도로  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 하루동안 반응시켰다. 이 후 biotinylated anti-rabbit IgG를 45분 반응시키고 이후에 ABC kit (Vector, Burlingame, CA, USA)를 사용하여 다시 45분간 반응시켰다. 마지막으로 3,3-diaminobenzidine (DAB; Vector)으로 발색 후, hematoxylin으로 대조염색 하였다. 분석은 X400배율에서 양성세포의 수를 Image J 프로그램을 이용하여 측정하였다.

③ 실험결과

당유자 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 염증관련 인자인 Cox-2와 iNOS의 발현에 미치는 영향을 평가하였다. 면역조직화학법을 이용하여 Cox-2와 iNOS의 발현양상을 알아본 결과 진피부위에 침윤된 염증세포 중 호중구와 대식세포의 세포질에서 주로 양성반응이 관찰되었다. 이러한 양성반응은 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 X400배 한 화면 당  $273.6 \pm 16.1$ 개로 가장 두드러졌으며, 반면 당유자 추출물 처리군 (Dangyuja)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각  $138.75 \pm 29.1$ 개,  $120.0 \pm 25.2$ 개로 대조군에 비해 Cox-2 양성세포의 수가 유의적으로 감소하였다 (그림 3-44). 또한 iNOS 양성세포 역시 유사하게, TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 X400배 한 화면 당  $299.3 \pm 13.1$ 개로 가장 두드러졌으며, 반면 당유자 추출물 처리군 (Dangyuja)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각  $229.5 \pm 27.5$ 개,  $147.7 \pm 17.4$ 개로 대조군에 비해 iNOS 양성세포의 수가 유의적으로 감소하였다 (그림 3-45).

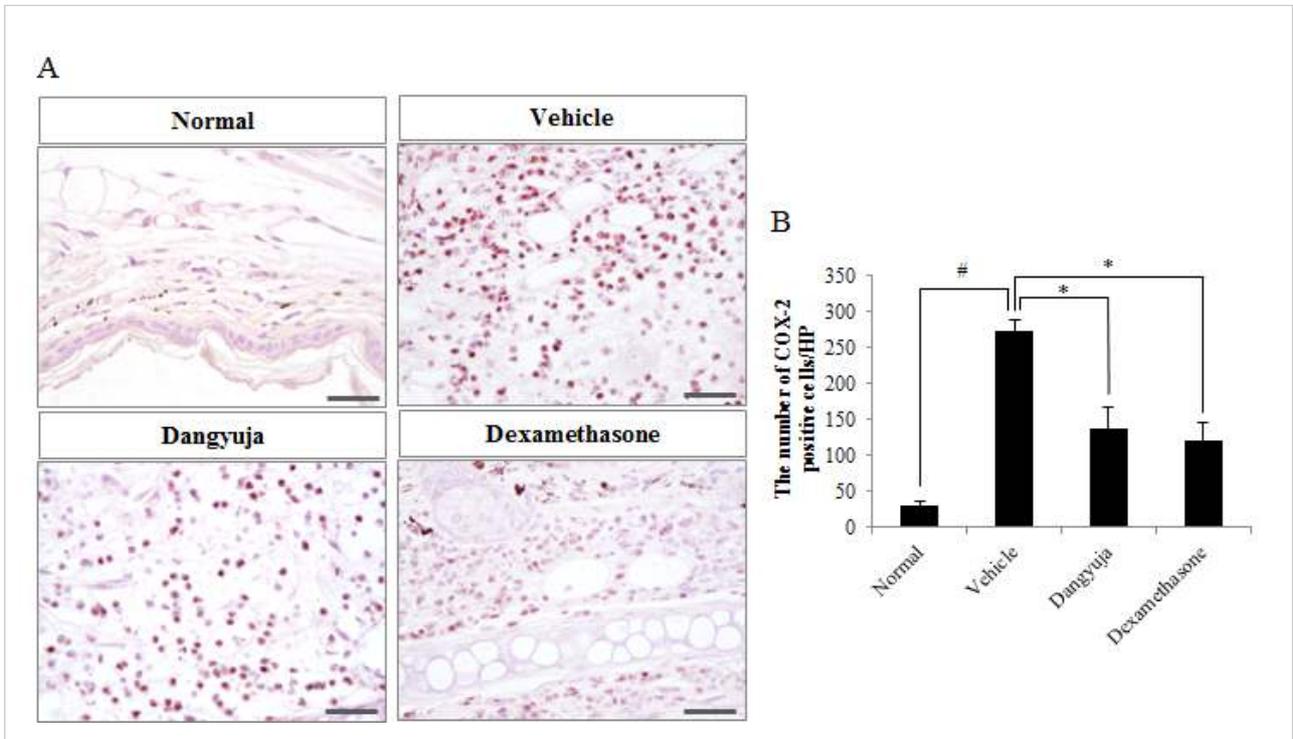


그림 3-44. 당유자 추출물이 염증이 유발된 동물모델의 Cox-2 발현에 미치는 영향

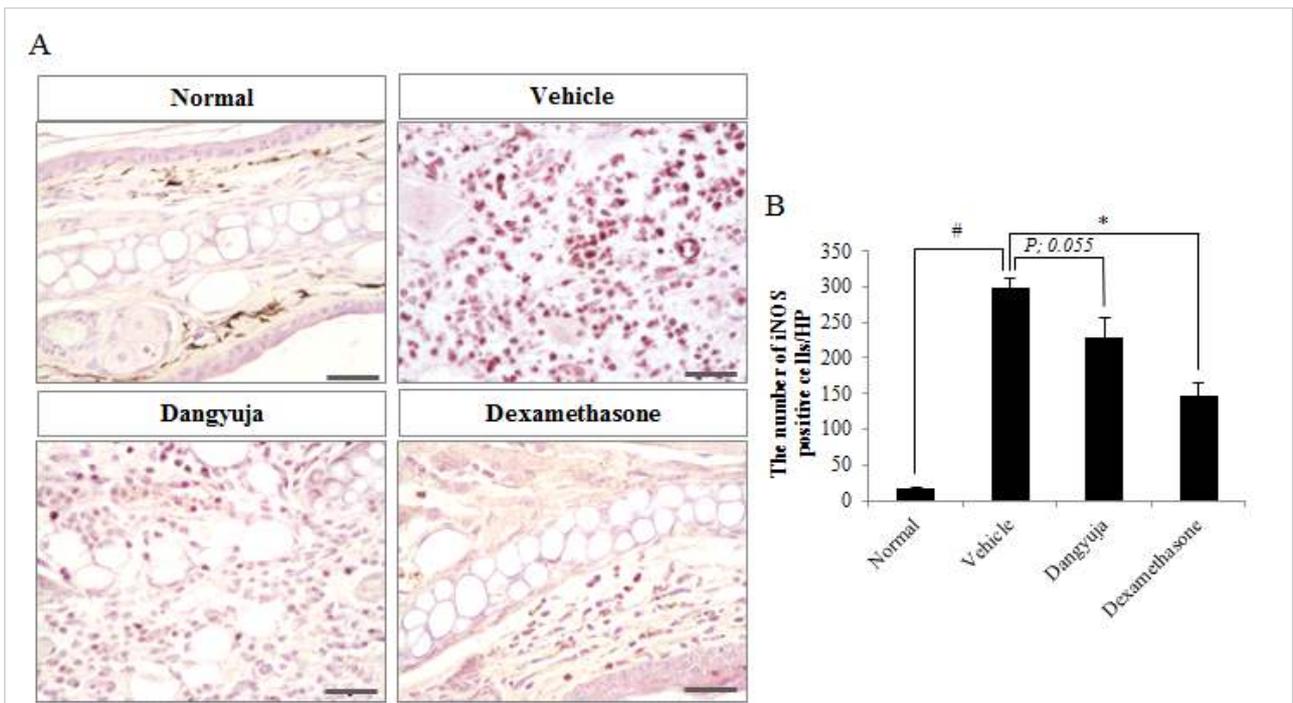


그림 3-45. 당유자 추출물이 염증이 유발된 동물모델의 iNOS 발현에 미치는 영향

(라) 당유자의 투여가 염증세포 (T cell(CD3), Macrophage (F4/80))의 침윤에 미치는 영향을 면역조직화학염색법을 통해 평가

① 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다.

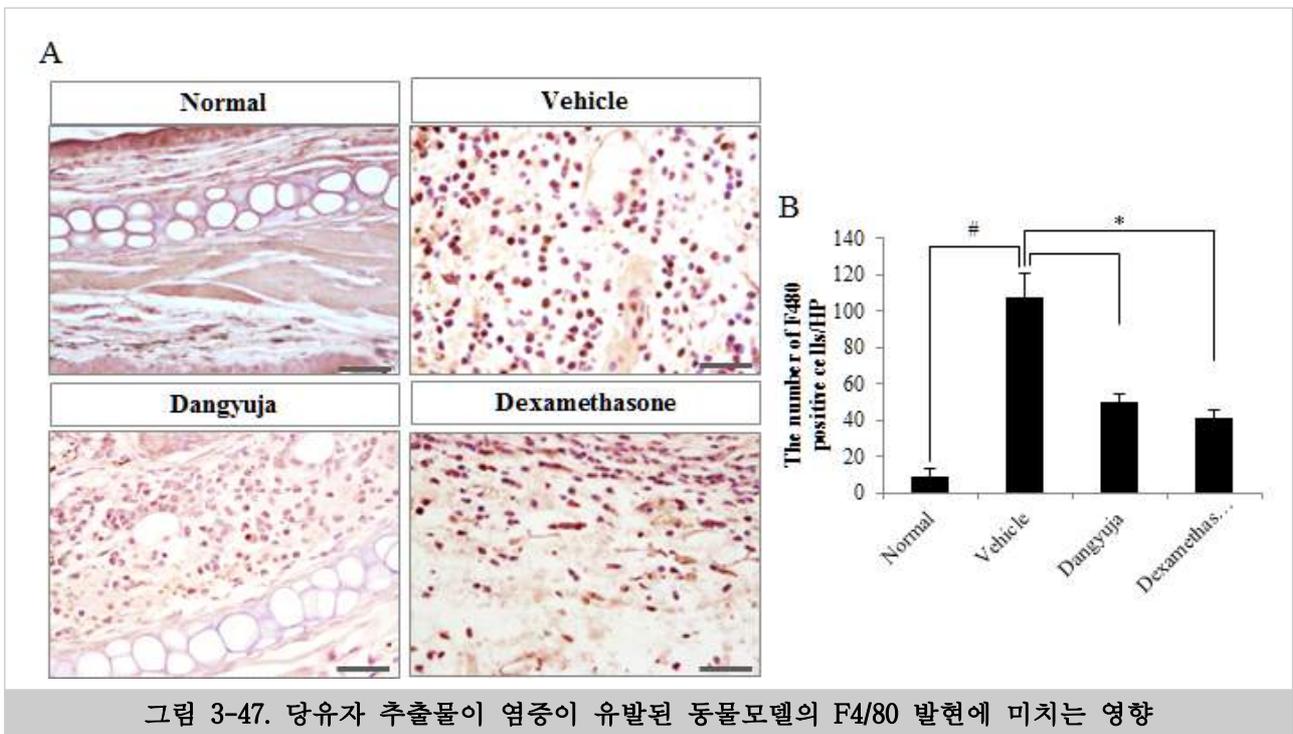
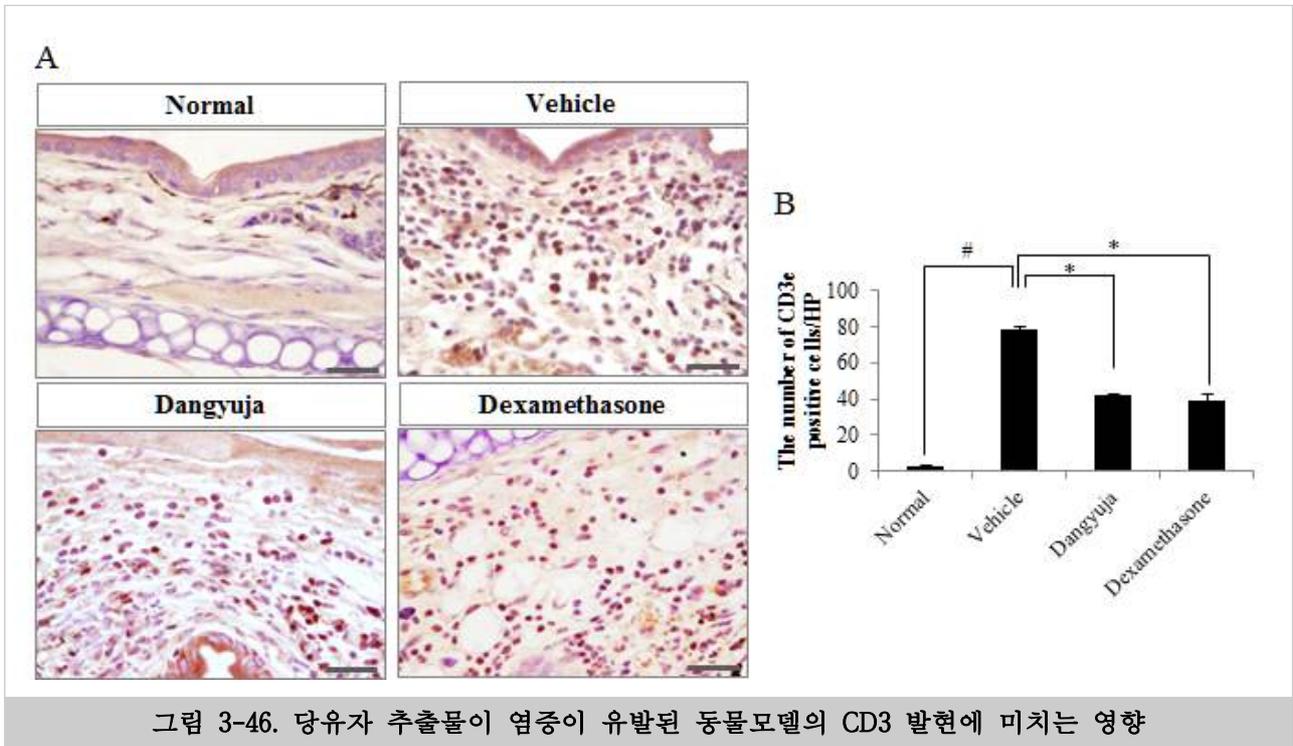
실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도를  $50 \pm 5\%$ 로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

## ② 실험방법

염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는  $4 \mu\text{g}$ 을 정량하여  $20 \mu\text{l}$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전  $100 \mu\text{g}$ 의 당유자 추출물과  $50 \mu\text{g}$ 의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. 실험군은 정상군(Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 당유자 추출물을 처리한 실험군 (Dangyuja), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 마우스의 귀 두께 변화를 측정하고 염증을 평가하기 위하여 귀조직을 떼어내어 20% 중성포르말린에 담가 보존하였다. 그 후 통상적인 방법에 따라 조직검사 처리과정을 거쳐 파라핀 포매를 한 후  $5 \mu\text{m}$  두께의 절편을 만들어 면역조직화학검사법을 실시하였다. 조직을 normal blocking serum에 30 분간 배양시킨 후, 항체 CD3 (1:200), F4/80 (1:50)을 각각의 농도로  $4^\circ\text{C}$ 에서 하루동안 반응시켰다. 이 후 biotinylated anti-rabbit IgG를 45분 반응시키고 이후에 ABC kit (Vector, Burlingame, CA, USA)를 사용하여 다시 45분간 반응시켰다. 마지막으로 3,3-diaminobenzidine (DAB; Vector)으로 발색 후, hematoxylin으로 대조염색 하였다. 분석은 X400배율에서 양성세포의 수를 Image J 프로그램을 이용하여 측정하였다.

## ③ 실험결과

당유자 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 염증세포 (T cell, Macrophage)의 침윤에 미치는 영향을 면역조직화학법을 이용하여 평가하였다. 그 결과, T cell의 마커인 CD3 발현양상의 경우, TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 X400배 한 화면 당  $78.5 \pm 1.5$  개로 가장 두드러졌으며, 반면 당유자 추출물 처리군 (Dangyuja)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각  $42.0 \pm 1.0$ 개,  $39.0 \pm 4.0$ 개로 대조군에 비해 CD3 양성세포의 수가 유의적으로 감소하였다 (그림 3-46). 또한 Macrophage의 마커인 F4/80 발현양상의 경우, T cell과 유사하게 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 X400배 한 화면 당  $108.0 \pm 12.4$ 개로 가장 두드러졌으며, 반면 당유자 추출물 처리군 (Dangyuja)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각  $49.5 \pm 4.5$ 개,  $41.0 \pm 5.0$ 개로 대조군에 비해 F4/80 양성세포의 수가 유의적으로 감소하였다 (그림 3-47).



(마) 당유자의 투여가 염증세포가 분비하는 cytokine (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ )에 미치는 영향을 PCR을 통해 평가

① 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는 23 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, 습도를 50 $\pm$ 5%로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험

계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

## ② 실험방법

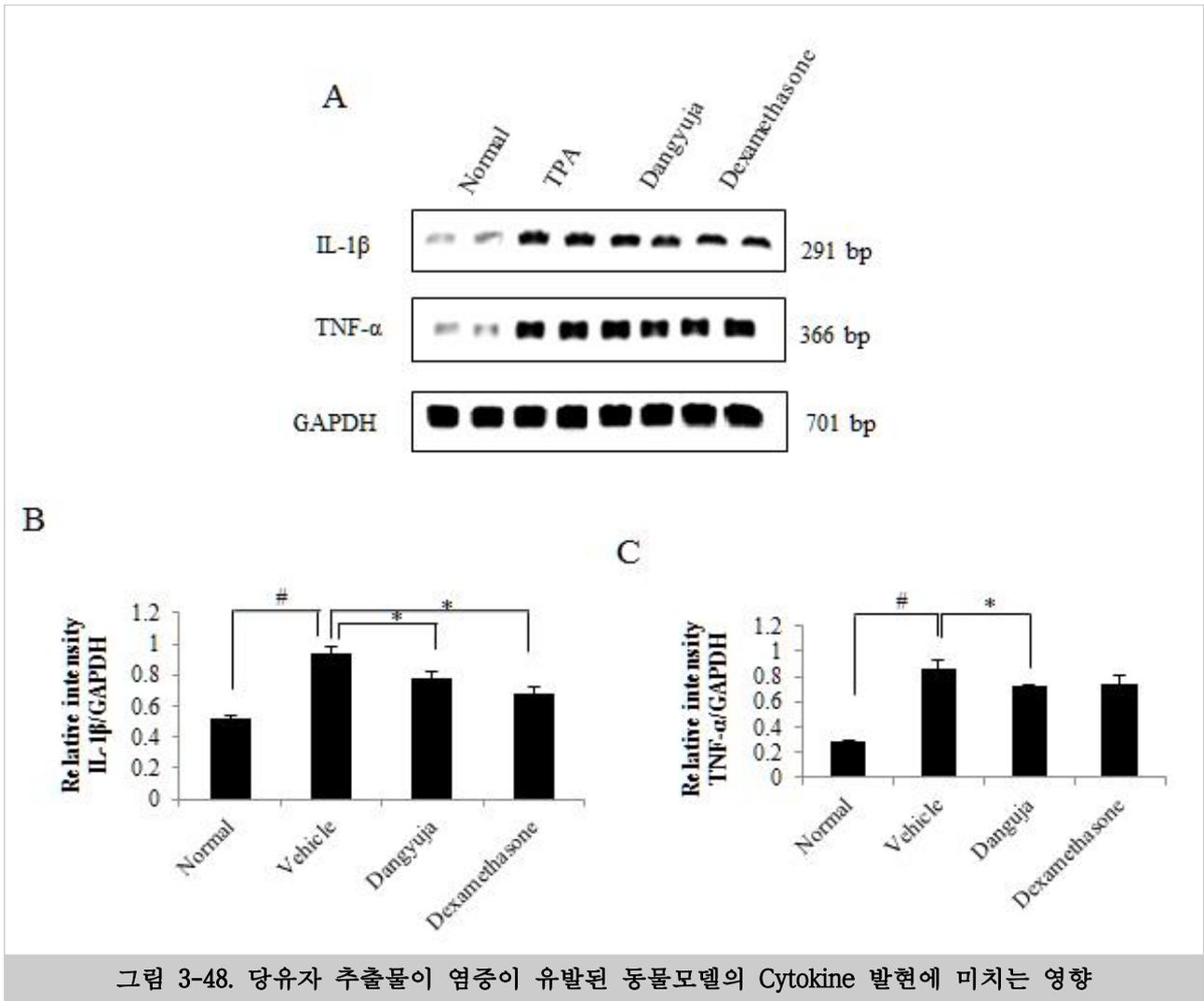
염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는 4  $\mu$ g을 정량하여 20  $\mu$ l의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에 10  $\mu$ l씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전 100  $\mu$ g의 당유자 추출물과 50  $\mu$ g의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에 10  $\mu$ l 씩 처리하였다. 실험군은 정상군 (Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 당유자 추출물을 처리한 실험군 (Dangyuja), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 마우스의 귀조직을 떼어내어 1ml의 Trizol reagent (Ambion, TX, USA)를 이용하여 RNA를 분리하고, RQ1 RNase-Free DNase (Promega, USA)로 오염된 DNA를 제거하여 RNA 순도를 높였다. 최종으로 얻어진 RNA는 100ng/ $\mu$ l가 되도록 하여 Super-Script first-strand synthesis system (Invitrogen, CA, USA)를 이용하여 cDNA로 합성하였다. primer는 다음과 같이 사용하였다.

<b>GAPDH</b>	5'-primer	5'- CCC AAT GTG TCC GTC GTG -3'
	3'-primer	5'- CCT GCT TCA CCA CCT TCT TG -3'
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	5'-primer	5'- GCT ACC TGT GTC TTT CCC GTC G -3'
	3'-primer	5'- TTG TCG TTG CTT GGT TCT CCT TG -3'
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	5'-primer	5'- CAA GGG ACT AGC CAG GAG -3'
	3'-primer	5'- TGC CTC TTC TGC CAG TTC -3'

Polymerase chain reaction (PCR) 조건은 95 $^{\circ}$ C-6sec, 60 $^{\circ}$ C-12sec, 72 $^{\circ}$ C-20sec, 82 $^{\circ}$ C-6sec(denaturation-annealing-extension-fluorescence measurment)로 구성된 4-step cycle을 설정하여 시행하였다.

## ③ 실험결과

당유자 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 염증세포가 분비하는 cytokine에 미치는 영향을 확인하기 위해, cytokine의 mRNA 발현을 역전사 PCR법을 이용해 평가하였다. 그 결과 IL-1 $\beta$ 의 경우 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 그 발현이 유의성있게 증가하였으나, 반면 당유자 추출물 처리군 (Dangyuja)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다 (그림 3-48A, B). 또한, TNF- $\alpha$ 의 발현양상 역시 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 그 발현이 유의성있게 증가하였으나, 당유자 추출물 처리군 (Dangyuja)에서는 유의적으로 감소하였고, 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 감소하는 경향을 나타내었다 (그림 3-48A, C).



**당유자의 면역억제 효과에 대한 상기의 결과들에 대해**

**학술발표 3건, 논문 1건\*, 특허출원 1건\*\*을 달성함**

\*Biomedicine&Pharmacotherapy에 ‘Anti-inflammatory activities of Dangyuja(Citrus grandis Osbeck) in concanavalin A stimulated murine splenocytes and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced murine skin edema’ 라는 제목으로 게재됨

\*\*당유자 추출물을 이용한 면역억제용 조성물 (출원번호: 10-2016-0078462)

**(2) 한라봉 또는 블렌딩 유효활성성분이 마우스의 면역조절능에 미치는 영향 평가**

(가) 한라봉의 투여가 귀 부종 (ear edema)이 유발된 염증동물모델에서 부종의 정도와 염증 침윤 정도에 미치는 영향을 Hematoxylin-Eosin 염색법을 통해 평가

**① 실험재료**

7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는 23±1℃, 습도를 50±5%로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학

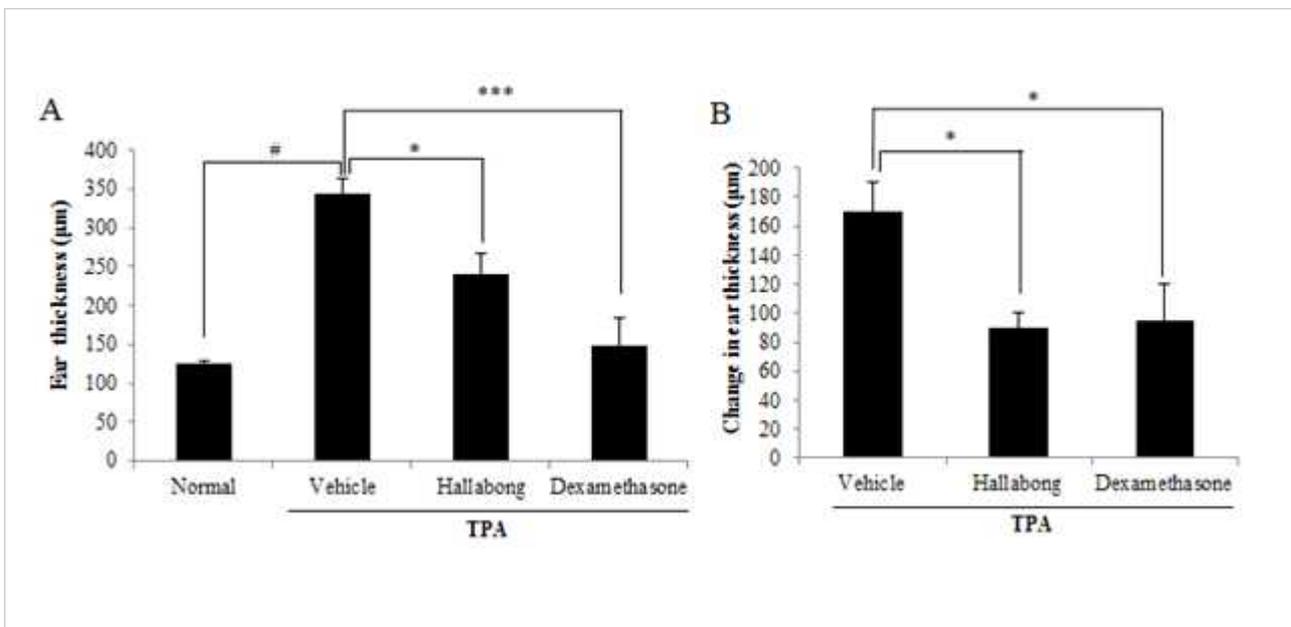
교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

## ② 실험방법

염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는 4  $\mu\text{g}$ 을 정량하여 20  $\mu\text{l}$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에 10  $\mu\text{l}$ 씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전 100  $\mu\text{g}$ 의 한라봉 추출물과 50  $\mu\text{g}$ 의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에 10  $\mu\text{l}$ 씩 처리하였다. 실험군은 정상군 (Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 한라봉 추출물을 처리한 실험군 (Hallabong), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 마우스의 귀 두께 변화를 측정하고 염증을 평가하기 위하여 귀조직을 떼어내어 20% 중성포름알린에 담가 보존하였다. 그 후 통상적인 방법에 따라 조직검사 처리과정을 거쳐 파라핀 포매를 한 후 5  $\mu\text{m}$  두께의 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색을 시행하였다.

## ③ 실험결과

한라봉 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 부종의 정도와 염증침윤 정도에 미치는 영향을 평가하였다. 먼저 귀 두께를 측정한 결과, 정상군 (Normal)의 귀 두께는 124.4  $\mu\text{m}$  이고, 비처리군인 대조군 (Vehicle)은 343.1  $\mu\text{m}$ 으로 정상군에 비해 현저히 증가함을 확인하였다. 한라봉 추출물 처리군 (Hallabong)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각 240.4  $\mu\text{m}$ , 148.9  $\mu\text{m}$  정도의 증가량을 보임으로써 대조군에 비해 귀 두께의 증가폭이 작았다 (그림 3-49A, B). Hematoxylin-eosin 염색 결과, TPA 처리 시 대조군 (Vehicle)의 진피 (dermis) 부위에 호중구와 림프구의 침윤이 두들어졌으며, 한라봉 추출물 처리군 (Hallabong)과 양성대조군 (Dexamethasone)에서 이러한 염증세포의 침윤이 크게 감소하였다 (그림 3-49C). 이 결과를 통하여, 한라봉 추출물의 처리는 TPA에 의해 유도되는 염증 및 부종을 효과적으로 감소시키는 것을 알 수 있었으며, 그 효과는 양성시료 (Dexamethasone)과 유사하였다.



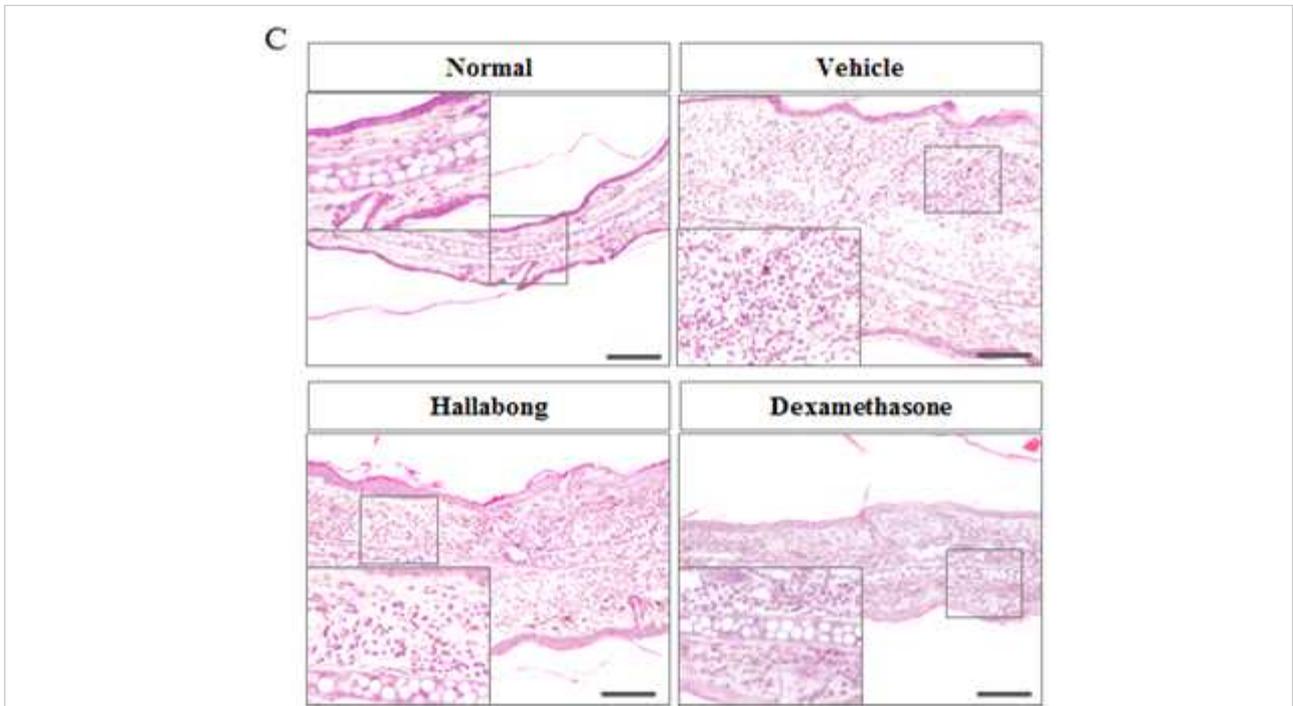


그림 3-49. 한라봉 추출물이 염증이 유발된 동물모델의 귀 부종 및 염증정도에 미치는 영향 (A; 귀 두께, B; 귀 두께 변화, C; Hematoxylin-eosin 염색)

(나) 한라봉의 투여가 대표적인 염증세포인 호중구의 활성화 및 침윤정도에 미치는 영향을 myeloperoxidase (MPO) activity assay kit를 이용해 평가

① 실험재료

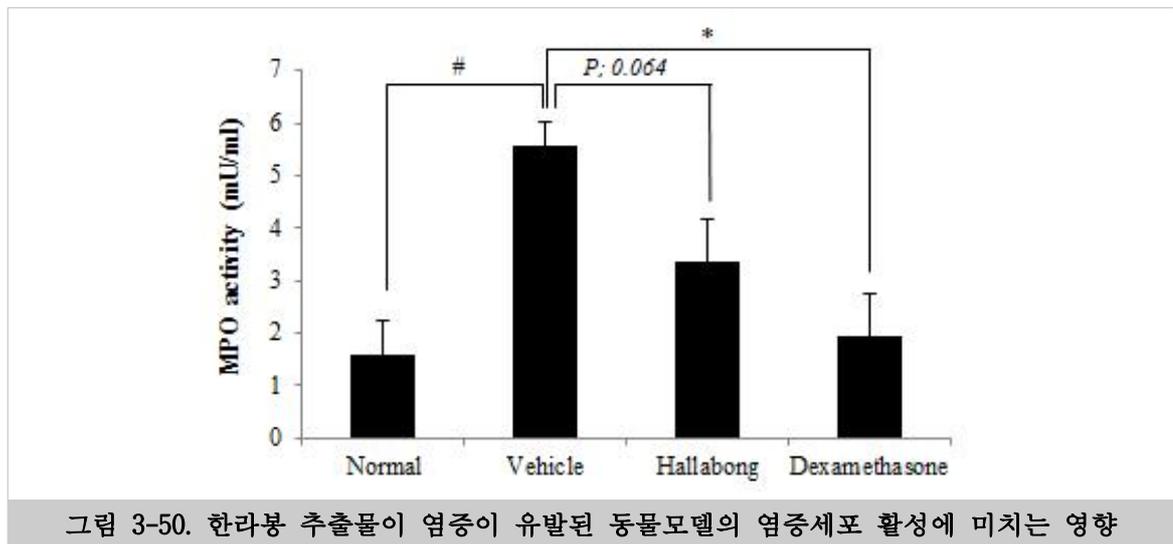
7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오린엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도를  $50 \pm 5\%$ 로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

② 실험방법

염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는  $4 \mu\text{g}$ 을 정량하여  $20 \mu\text{l}$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전  $100 \mu\text{g}$ 의 한라봉 추출물과  $50 \mu\text{g}$ 의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. 실험군은 정상군 (Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 한라봉 추출물을 처리한 실험군 (Hallabong), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 호중구의 과립 내 peroxidase 효소인 myeloperoxidase (MPO)의 활성을 측정하기 위하여, 귀 조직을 homogenizer로 분쇄 후, 상층액을 얻어 MPO activity assay kit (Abcam)을 이용하여 MPO 활성을 측정하였다.

### ③ 실험결과

한라봉 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 염증세포의 활성화에 미치는 영향을 평가하였다. 대표적인 염증세포인 호중구의 활성화 및 침윤 정도를 peroxidase 효소인 myeloperoxidase의 활성화 측정을 통하여 알아본 결과, TPA 처리 후 대조군 (Vehicle)의 MPO 활성화는 정상군 (Normal)에 비해 3.5배 증가하였다. 반면 한라봉 추출물 처리군 (Hallabong)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 정상군 (Normal)에 비해 각각 2.1배, 1.2배 정도의 증가량을 보임으로써 대조군에 비해 MPO 활성화의 증가폭이 작았다 (그림 3-50).



(다) 한라봉의 투여가 염증 관련 인자 (Cox-2, iNOS 등)의 발현에 미치는 영향을 면역조직화학염색법을 통해 평가

#### ① 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오린엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도를  $50 \pm 5\%$ 로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

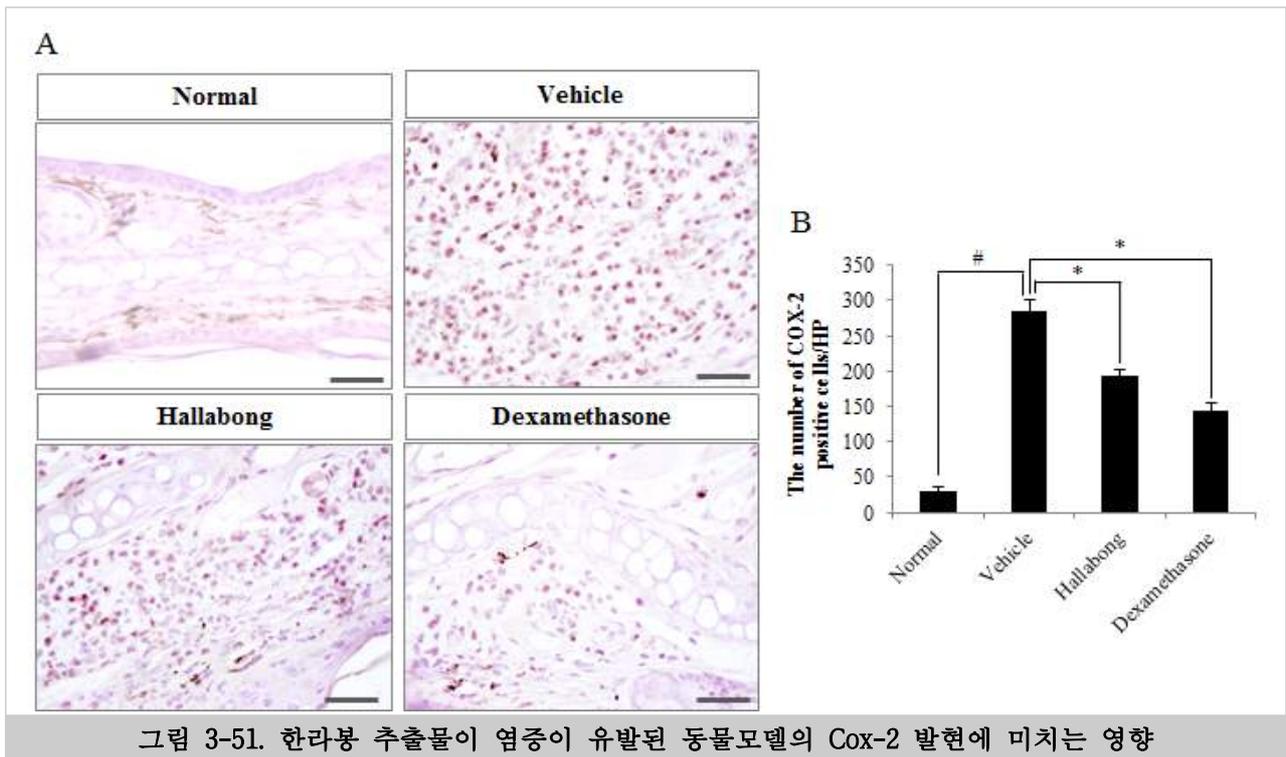
#### ② 실험방법

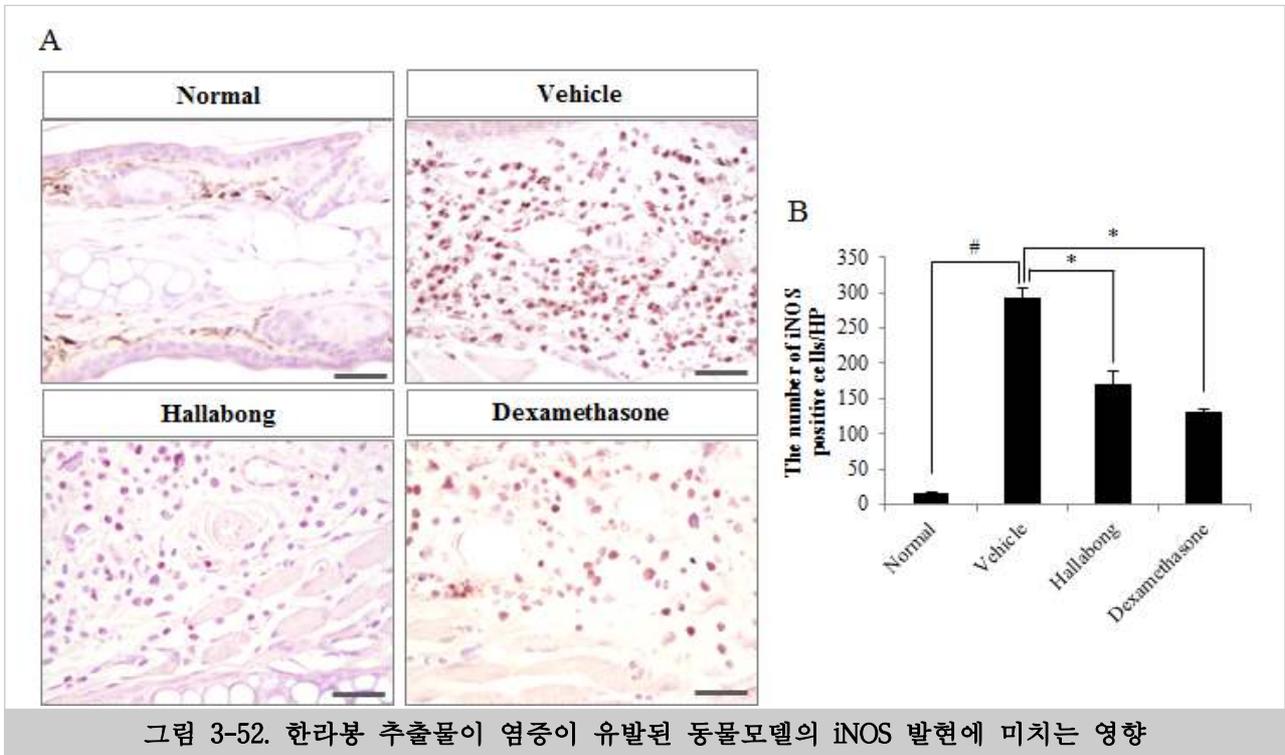
염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는  $4 \mu\text{g}$ 을 정량하여  $20 \mu\text{l}$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전  $100 \mu\text{g}$ 의 한라봉 추출물과  $50 \mu\text{g}$ 의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. 실험군은 정상군 (Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 한라봉 추출물을 처리한 실험군 (Hallabong), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 마우스의

귀 두께 변화를 측정하고 염증을 평가하기 위하여 귀조직을 떼어내어 20% 중성포르말린에 담가 보존하였다. 그 후 통상적인 방법에 따라 조직검사 처리과정을 거쳐 파라핀 포매를 한 후 5  $\mu$ m 두께의 절편을 만들어 면역조직화학검사를 실시하였다. 조직을 normal blocking serum에 30 분간 배양시킨 후, 항체 Cox-2 (1:200), iNOS (1:500)를 각각의 농도로 4°C에서 하루동안 반응시켰다. 이 후 biotinylated anti-rabbit IgG를 45분 반응시키고 이후에 ABC kit (Vector, Burlingame, CA, USA)를 사용하여 다시 45분간 반응시켰다. 마지막으로 3,3-diaminobenzidine(DAB; Vector)으로 발색 후, hematoxylin으로 대조염색 하였다. 분석은 X400배율에서 양성세포의 수를 Image J 프로그램을 이용하여 측정하였다.

### ③ 실험결과

한라봉 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 염증관련 인자인 Cox-2와 iNOS의 발현에 미치는 영향을 평가하였다. 면역조직화학법을 이용하여 Cox-2와 iNOS의 발현양상을 알아본 결과 진피부위에 침윤된 염증세포 중 호중구와 대식세포의 세포질에서 주로 양성반응이 관찰되었다. 이러한 양성반응은 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 X400배 한 화면 당 283.8 $\pm$ 16.2개로 가장 두드러졌으며, 반면 한라봉 추출물 처리군 (Hallabong)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각 194.0 $\pm$ 7.8개, 144.5 $\pm$ 10.5개로 대조군에 비해 Cox-2 양성세포의 수가 유의적으로 감소하였다 (그림 3-51). 또한 iNOS 양성세포 역시 유사하게, TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 X400배 한 화면 당 291.7 $\pm$ 15.2개로 가장 두드러졌으며, 반면 한라봉 추출물 처리군 (Hallabong)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각 170.0 $\pm$ 18.0개, 130.5 $\pm$ 4.5개로 대조군에 비해 iNOS 양성세포의 수가 유의적으로 감소하였다 (그림 3-52).





(라) 한라봉의 투여가 염증세포 (T cell (CD3), Macrophage (F4/80))의 침윤에 미치는 영향을 면역조직화학염색법을 통해 평가

① 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도를  $50 \pm 5\%$ 로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

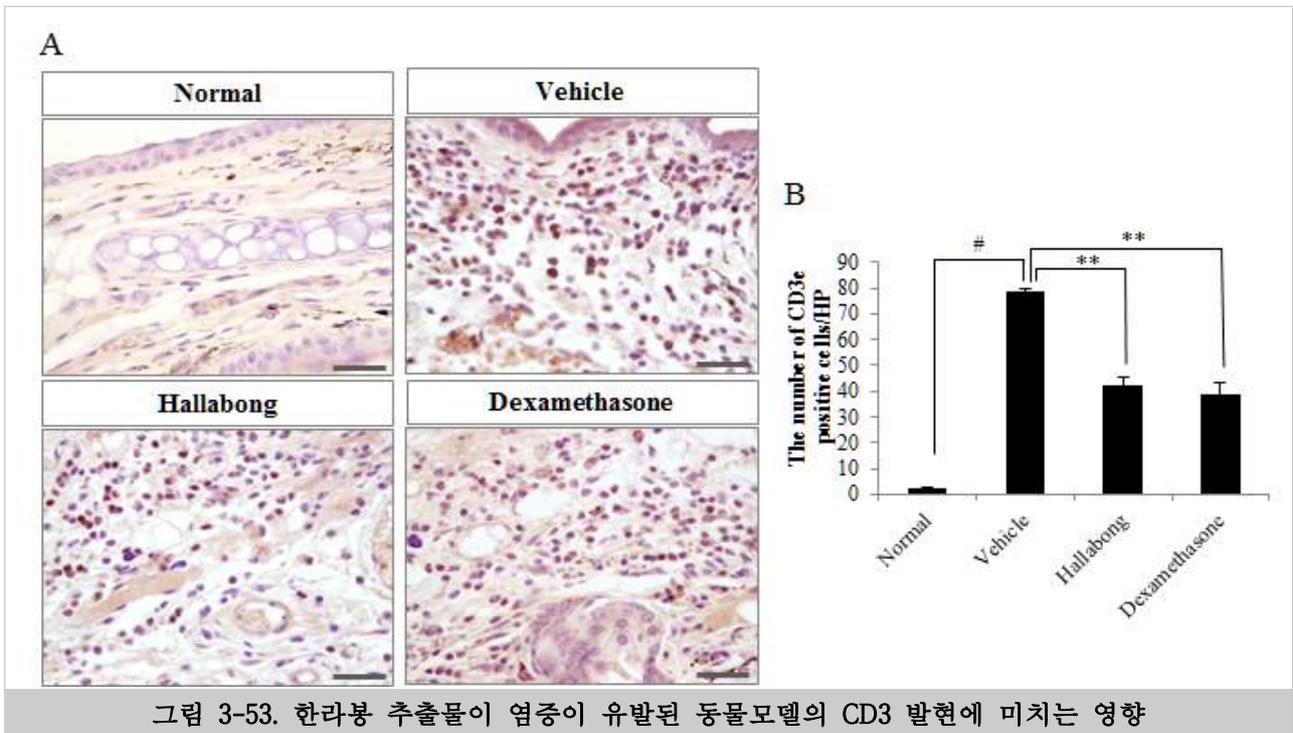
② 실험방법

염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는  $4 \mu\text{g}$ 을 정량하여  $20 \mu\text{l}$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전  $100 \mu\text{g}$ 의 한라봉 추출물과  $50 \mu\text{g}$ 의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에  $10 \mu\text{l}$ 씩 처리하였다. 실험군은 정상군 (Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 한라봉 추출물을 처리한 실험군 (Hallabong), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 마우스의 귀 두께 변화를 측정하고 염증을 평가하기 위하여 귀조직을 떼어내어 20% 중성포르말린에 담가 보존하였다. 그 후 통상적인 방법에 따라 조직검사 처리과정을 거쳐 파라핀 포매를 한 후  $5 \mu\text{m}$  두께의 절편을 만들어 면역조직화학검사법을 실시하였다. 조직을 normal blocking serum에 30 분간 배양시킨 후, 항체 CD3 (1:200), F4/80 (1:50)을 각각의 농도로  $4^\circ\text{C}$ 에서 하루동안 반응시켰다. 이 후 biotinylated anti-rabbit IgG를 45분 반

응시시키고 이후에 ABC kit (Vector, Burlingame, CA, USA)를 사용하여 다시 45분간 반응시켰다. 마지막으로 3,3-diaminobenzidine (DAB; Vector)으로 발색 후, hematoxylin으로 대조염색 하였다. 분석은 X400배율에서 양성세포의 수를 Image J 프로그램을 이용하여 측정하였다.

### ③ 실험결과

당유자 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 염증세포 (T cell, Macrophage)의 침윤에 미치는 영향을 면역조직화학법을 이용하여 평가하였다. 그 결과, T cell의 마커인 CD3 발현양상의 경우, TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 X400배 한 화면 당  $77.3 \pm 1.5$  개로 가장 두드러졌으며, 반면 한라봉 추출물 처리군 (Hallabong)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각  $45.5 \pm 3.5$ 개,  $39.0 \pm 4.0$ 개로 대조군에 비해 CD3 양성세포의 수가 유의적으로 감소하였다 (그림 3-53). 또한 Macrophage의 마커인 F4/80 발현양상의 경우, T cell과 유사하게 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 X400배 한 화면 당  $108.0 \pm 12.4$ 개로 가장 두드러졌으며, 반면 한라봉 추출물 처리군(Hallabong)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 각각  $38.5 \pm 3.5$ 개,  $41.0 \pm 5.0$ 개로 대조군에 비해 F4/80 양성세포의 수가 유의적으로 감소하였다 (그림 3-54).



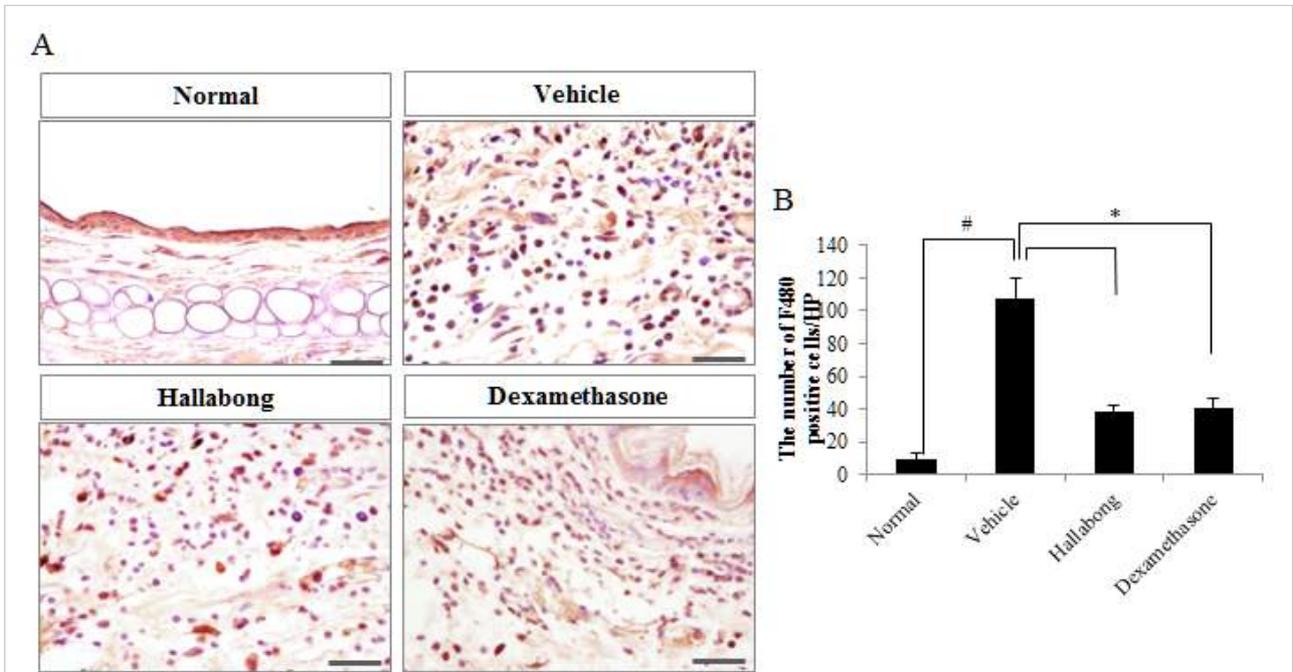


그림 3-54. 한라봉 추출물이 염증이 유발된 동물모델의 F4/80 발현에 미치는 영향

(마) 한라봉의 투여가 염증세포가 분비하는 cytokine ( $IL-1\beta$ ,  $TNF-\alpha$ )에 미치는 영향을 PCR을 통해 평가

① 실험재료

7~10주령 C57BL/6 마우스를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도는  $23\pm 1^{\circ}C$ , 습도를  $50\pm 5\%$ 로 유지시키고 사료는 NIH-07 식이를 주었고, 음수는 자유급식하게 하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

② 실험방법

염증동물모델은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다. TPA는  $4\mu g$ 을 정량하여  $20\mu l$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고, 오른쪽 귀의 양면에  $10\mu l$ 씩 처리하였다. TPA 도포 1시간 전  $100\mu g$ 의 한라봉 추출물과  $50\mu g$ 의 양성대조군인 Dexamethasone을 오른쪽 위의 양면에  $10\mu l$ 씩 처리하였다. 실험군은 정상군 (Normal)과 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle), TPA와 한라봉 추출물을 처리한 실험군 (Hallabong), 그리고 TPA와 Dexamethasone을 처리한 양성대조군 (Dexamethasone)으로 총 4개의 군으로 나누었다. TPA 처리 18시간 경과 후, 마우스의 귀조직을 떼어내어 1ml의 Trizol reagent (Ambion, TX, USA)를 이용하여 RNA를 분리하고, RQ1 RNase-Free DNase (Promega, USA)로 오염된 DNA를 제거하여 RNA 순도를 높였다. 최종으로 얻어진 RNA는  $100ng/\mu l$ 가 되도록 하여 Super-Script first-strand synthesis system (Invitrogen, CA, USA)를 이용하여 cDNA로 합성하였다. primer는 다음과 같이 사용하였다.

<b>GAPDH</b>	5'-primer	5'- CCC AAT GTG TCC GTC GTG -3'
	3'-primer	5'- CCT GCT TCA CCA CCT TCT TG -3'
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	5'-primer	5'- GCT ACC TGT GTC TTT CCC GTC G -3'
	3'-primer	5'- TTG TCG TTG CTT GGT TCT CCT TG -3'
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	5'-primer	5'- CAA GGG ACT AGC CAG GAG -3'
	3'-primer	5'- TGC CTC TTC TGC CAG TTC -3'

Polymerase chain reaction (PCR) 조건은 95°C -6sec, 60°C -12sec, 72°C -20sec, 82°C -6sec(denaturation-annealing-extension-fluorescence measurment)로 구성된 4-step cycle을 설정하여 시행하였다.

### ③ 실험결과

한라봉 추출물이 귀 부종이 유발된 염증동물모델에서 염증세포가 분비하는 cytokine 에 미치는 영향을 확인하기 위해, cytokine의 mRNA 발현을 역전사 PCR법을 이용해 평가하였다. 그 결과 IL-1 $\beta$ 의 경우 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 그 발현이 유의성있게 증가하였으나, 반면 한라봉 추출물 처리군 (Hallabong)과 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다 (그림 3-55A, B). 또한, TNF- $\alpha$ 의 발현양상 역시 TPA만 처리한 대조군 (Vehicle)에서 그 발현이 유의성 있게 증가하였으나, 한라봉 추출물 처리군 (Hallabong)에서는 유의적으로 감소하였고, 양성대조군 (Dexamethasone)의 경우 감소하는 경향을 나타내었다 (그림 3-55A, C).

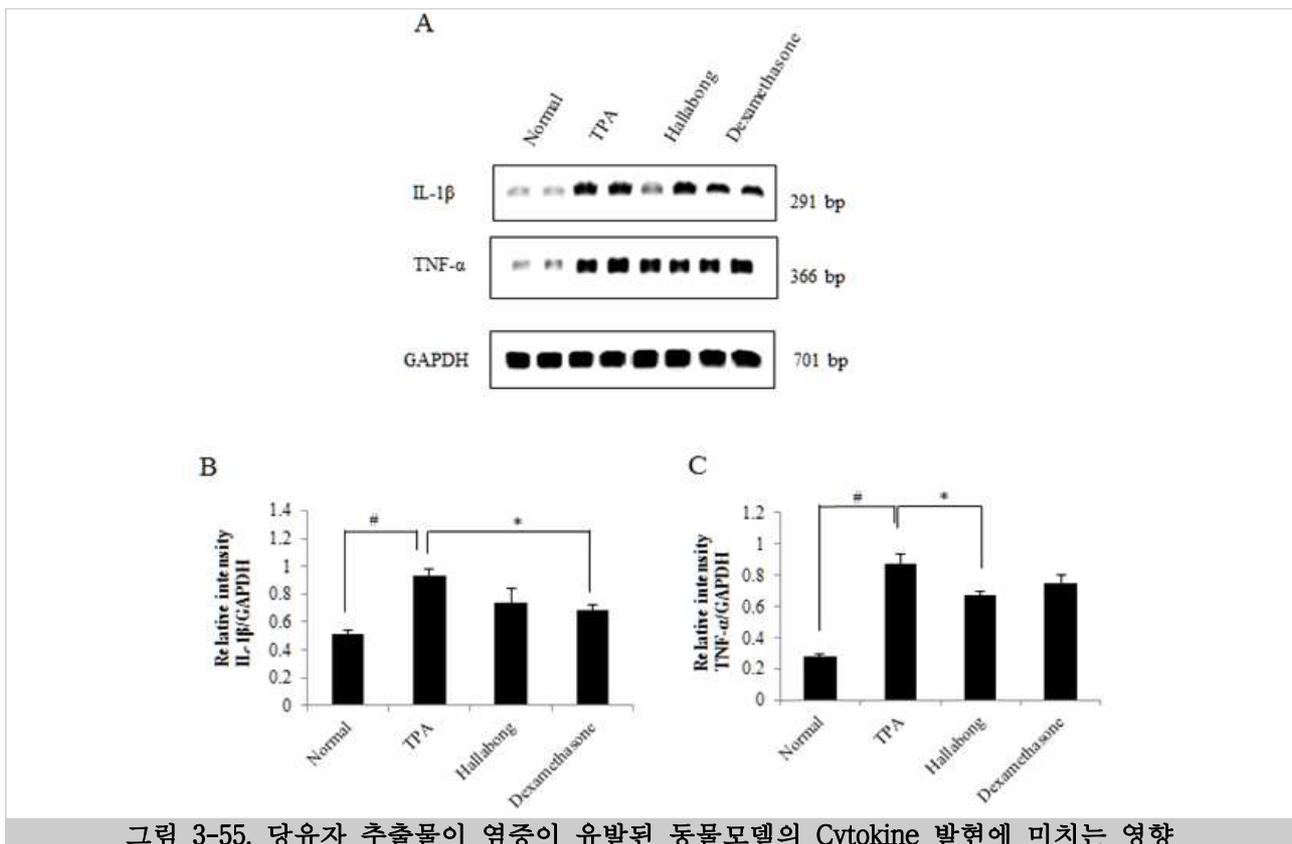


그림 3-55. 당유자 추출물이 염증이 유발된 동물모델의 Cytokine 발현에 미치는 영향

**한라봉의 항염효과에 대한 상기의 결과들에 대해  
학술발표 2건, 논문 1건\*, 특허출원 1건\*\*을 달성함**

\*Pharmaceutical Biology에 ‘Citrus hallabong [(Citrus unshiu × C. sinensis) × C. reticulata)] exerts potent anti-inflammatory properties in murine splenocytes and TPA-induced murine ear oedema model’ 이라는 제목으로 게재됨

\*\*한라봉 과육 추출물을 이용한 항염증 및 면역억제용 조성물 (출원번호: 10-2015-0103734)

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절 최종목표

1. 저온열풍복합건조 공정을 이용하여 제주산 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트)의 유효활성 성분 및 색, 맛, 향을 그대로 함유한 건조 농식품을 제조하여 제주산 유기농 녹차와 혼합한 과일 블렌딩 녹차를 개발
2. 제주산 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트)의 면역력 증진 효과 및 조절효과를 in vitro 와 in vivo system을 이용하여 평가하기 위하여, 방사선 조사를 통한 면역억제와 immunogen 처리를 통하여 면역활성능 및 면역조절능을 검증
3. 제주산 농산품 (당유자, 한라봉, 레드비트)을 녹차의 활성성분과 병행 처리하여 말초면역 세포의 활성화에 미치는 상승효과 (synergy effect)를 검증하여 생리활성이 있는 천연과일 블렌딩 녹차의 상품화에 과학적 근거 제시와 학술적 가치 증진 도모

### 제 2 절 세부연구목표 및 달성도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)
1차 년도 (2014. 08.01 - 2015. 07.31)	저온열풍복합건조 공정을 이용한 건조 공정 확립	대량 생산 공정 확립	100%
	생산조건 표준화 및 시제품 제작	생산 조건 표준화 프로그램 개발	100%
		시제품 제작	100%
	제주산 유기농 녹차의 수확시기에 따른 배합 조건 선정	수확 시기에 따른 제주산 유기농 녹차와 당유자, 한라봉, 레드비트와의 배합 조건 확립	100%
	소비자 기호도 조사(관능검사)를 위한 설문지 개발과 설문조사 분석	소비자 기호도 조사(관능검사)를 위한 설문지 개발과 설문조사 분석	100%
	방사선 조사로 기능이 억제된 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 생존율 및 증식능 변화 평가	레드비트 추출물 또는 EGCG의 처리가 방사선에 의한 면역세포의 생존율 감소를 억제하는지 확인	100%
		레드비트 추출물과 EGCG의 병행 처리가 방사선에 의한 면역세포의 생존율 감소를 억제하는지 확인	100%
		레드비트 추출물 또는 EGCG의 처리가 방사선에 의한 면역세포의 증식능 감소를 억제하는지 확인	100%
		레드비트 추출물과 EGCG의 병행 처리가 방사선에 의한 면역세포의 증식능 감소를 억제하는지 확인	100%

방사선 조사로 기능이 억제된 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 항산화능 평가	레드비트 추출물 또는 EGCG의 처리가 방사선에 의한 면역세포의 DNA 손상을 억제하는지 확인	100%
	레드비트 추출물 또는 EGCG의 처리가 방사선에 의한 면역세포의 ROS 생성을 억제하는지 확인	100%
방사선 조사로 기능이 억제된 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 기능 변화 평가	레드비트 추출물 또는 EGCG가 면역촉진인자인 IL-2의 단백질 분비량 변화 확인	100%
Immunogen으로 자극시킨 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 생존율 및 증식능 평가	감귤류 추출물(당유자, 한라봉)이 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 생존율에 미치는 영향 확인	100%
	감귤류 추출물(당유자, 한라봉)과 EGCG 병행 처리가 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 생존율에 미치는 영향 확인	100%
	감귤류 추출물(당유자, 한라봉)이 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 증식률에 미치는 영향 확인	100%
	감귤류 추출물(당유자, 한라봉)과 EGCG 병행 처리가 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 증식률에 미치는 영향 확인	100%
Immunogen으로 자극시킨 면역세포에 대한 블렌딩 유효활성성분의 기능 변화 평가	감귤류 추출물(당유자, 한라봉) 또는 EGCG가 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 phenotype에 미치는 영향 확인	100%
	감귤류 추출물(당유자, 한라봉)이 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 IL-2 단백질 분비량 변화 확인	100%
	감귤류 추출물(당유자, 한라봉)이 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 Th1, Th2 단백질 분비량의 변화 확인	100%
	감귤류 추출물(당유자, 한라봉)과 EGCG의 병행 처리가 immunogen으로 자극시킨 면역세포의 IL-2 단백질 분비량 변화 확인	100%
저온열풍복합건조공정으로 생산된 건조식품(당유자, 한라봉)의 유효활성성분 보존 유무 평가	저온열풍복합건조 공정으로 생산된 건조식품(당유자, 한라봉)의 유효활성성분 분석을 통하여 면역력 증진, 억제 및 조절 효능을 그대로 가질 수 있는지 확인	100%

2차 년도 (2015. 08.01 - 2016. 07.31)	건조식품 세절 및 분쇄 규격 표준화	저온열풍건조 공정으로 생산된 당유자, 한라봉, 레드비트의 침출을 위한 세절규격 표준화	100%
	유기농 녹차와 건조식품의 세절 규격에 따른 배합 조건 확립 및 소비자 기호도 조사(관능검사)	유기농 녹차와 당유자, 한라봉, 레드비트의 세절 규격에 따른 배합 조건 확립	100%
		소비자 기호도 조사(관능검사)	100%
	최종 시제품 발표회 및 마케팅 전략 수립	최종 시제품 제작	100%
		최종 시제품 발표회 개최	100%
		마케팅 전략 수립	100%
	당유자 또는 블렌딩 유효활성성분이 마우스의 면역조절능에 미치는 영향 평가	당유자의 투여가 귀 부종(ear edema)이 유발된 염증동물모델에서 부종의 정도와 염증 침윤 정도에 미치는 영향 확인	100%
		당유자의 투여가 대표적인 염증세포인 호중구의 활성화 및 침윤 정도에 미치는 영향 확인	100%
		당유자의 투여가 염증 관련 인자(Cox-2, iNOS 등)의 발현에 미치는 영향 확인	100%
		당유자의 투여가 염증세포(T cell(CD3), Macrophage(F4/80))의 침윤에 미치는 영향 확인	100%
		당유자의 투여가 염증세포가 분비하는 cytokine(INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 등)에 미치는 영향 확인	100%
	한라봉 또는 블렌딩 유효활성성분이 마우스의 면역조절능에 미치는 영향 평가	한라봉의 투여가 귀 부종(ear edema)이 유발된 염증동물모델에서 부종의 정도와 염증 침윤 정도에 미치는 영향 확인	100%
		한라봉의 투여가 대표적인 염증세포인 호중구의 활성화 및 침윤 정도에 미치는 영향 확인	100%
		한라봉의 투여가 염증 관련 인자(Cox-2, iNOS 등)의 발현에 미치는 영향 확인	100%
		한라봉의 투여가 염증세포(T cell(CD3), Macrophage(F4/80))의 침윤에 미치는 영향 확인	100%
한라봉의 투여가 염증세포가 분비하는 cytokine(INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 등)에 미치는 영향 확인		100%	

## 제 5 장 연구개발 성과 활용계획

### 제 1 절 특허출원 및 등록 성과

#### 1. 특허출원 및 등록 성과

가. 한라봉 과육 추출물을 이용한 항염증 및 면역억제용 조성물에 대한 특허를 출원함

관 인 생 략	
<b>출원번호통지서</b>	
출원일자	2015.07.22
특기사항	심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호	10-2015-0103734 (접수번호 1-1-2015-0712303-06)
출원인명칭	제주대학교 산학협력단(2-2004-016727-0)
대리인성명	특허법인 태웅(9-2012-100102-8)
발명자성명	조진희 빙소진 카라헤 헤와게 이레샤 나디카 마두샤니 헤랏 김아름 지영흔 장성철 주시몽
발명의명칭	한라봉 과육 추출물을 이용한 항염증 및 면역억제용 조성물

그림 5-1. 한라봉 과육 추출물을 이용한 항염증 및 면역억제용 조성물

나. 당유자 추출물을 이용한 면역억제용 조성물에 대한 특허를 출원함

관 인 생 략	
<b>출원번호통지서</b>	
출원일자	2016.06.23
특기사항	심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호	10-2016-0078462 (접수번호 1-1-2016-0607084-95)
출원인명칭	제주대학교 산학협력단(2-2004-016727-0)
대리인성명	특허법인 태웅(9-2012-100102-8)
발명자성명	지영흔 김아름 조진희 빙소진 카라헤 헤와게 이레샤 나디카 마두샤니 헤랏 장성철 주시몽
발명의명칭	당유자 추출물을 이용한 면역억제용 조성물

그림 5-2. 당유자 추출물을 이용한 면역억제용 조성물

다. 레드비트 추출물을 이용한 방사선에 의한 면역조절 기능 장애 방호용 조성물에 대한 특허를 출원함

출원인	출원번호 (출원일)
제주대학교 산학협력단	10-2014-0068468(2014.06.05) [명칭 : 레드비트 추출물을 이용한 방사선에 의한 면역조절기능 장애 방호용 조성물]
	10-2016-0048131(2016.04.20) [명칭 : 레드비트 추출물을 이용한 방사선에 의한 면역조절 기능 장애 방호용 조성물]
보정내용 (국가과제)	1) 【과제고유번호】 C0146890 【부처명】 중소기업청 【연구관리 전문기관】 한국산업기술평가관리원 【연구사업명】 중소기업 기술개발 지원사업-산학연협력 기술개발사업-첫걸음기술개발사업 【연구과제명】 조절기능 증진을 통한 방사선 방호작용을 가지는 제주 레드비트(Red beet) 가공식품 및 바이오 원료 소재 개발 【기여율】 1/2 【주관기관】 제주대학교 산학협력단 【연구기간】 2013.12.01 ~ 2014.11.30
보정내용 (국가과제)	2) 【과제고유번호】 114022-02-1-SB010 【부처명】 농림축산식품부 【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원 【연구사업명】 고부가가치식품기술개발사업 【연구과제명】 제주산 건조 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연과일향 블렌딩 녹차 개발 【기여율】 1/2 【주관기관】 농림회사법인 (주)제주팜플러스 【연구기간】 2014.08.01 ~ 2016.07.31

작성 일자 : 2016-05-24

10-2014-0068468

작성 일자 : 2016-05-24

10-2014-0068468

【서지사항】

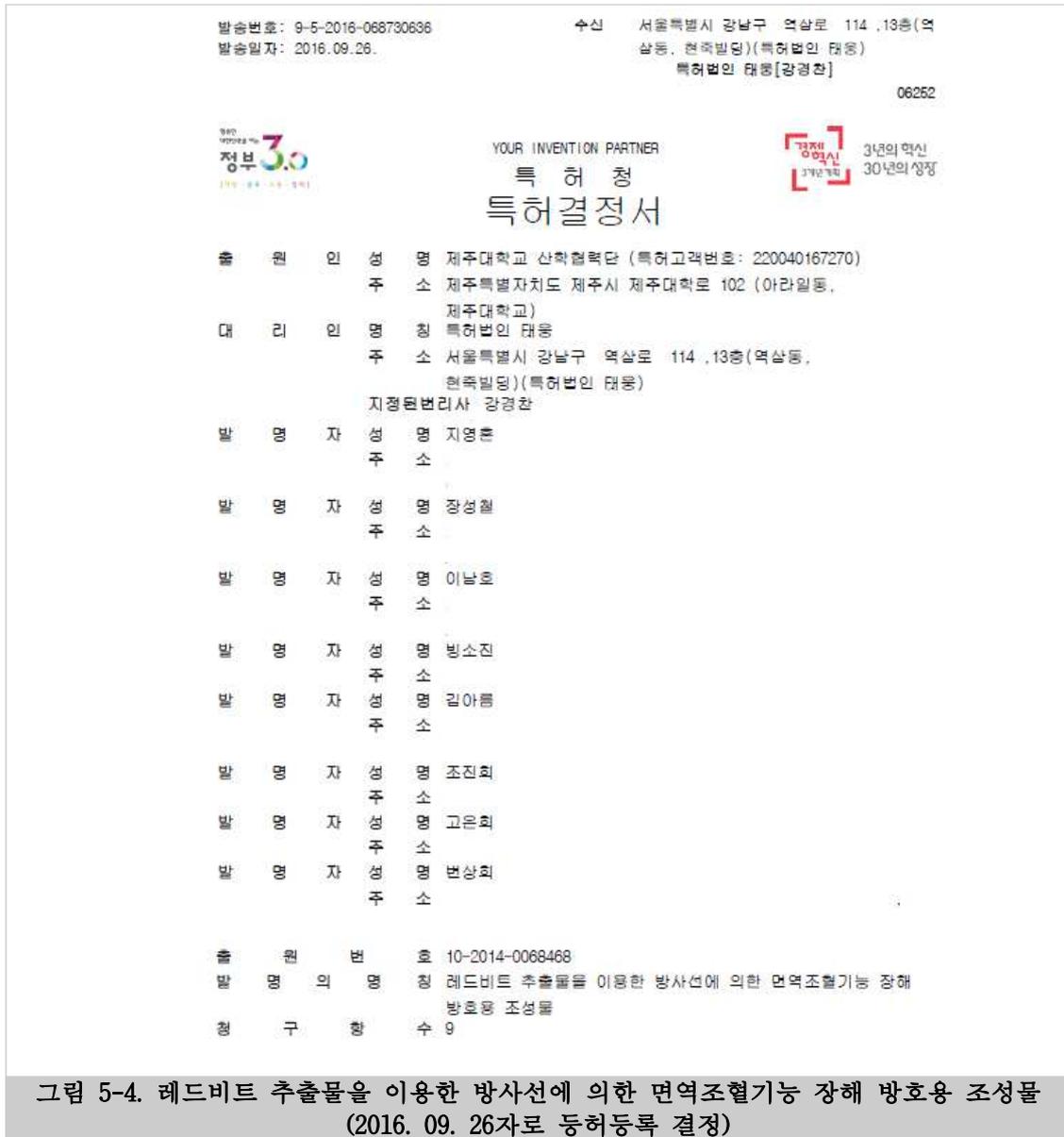
【서류명】 보증서  
【구분】 출원서 및 보증  
【제출처】 특허청장  
【제출인】  
【영칭】 제주대학교 산학협력단  
【출원인코드】 2-2004-016727-0  
【사건과의 관계】 출원인  
【대리인】  
【영칭】 특허법인 대웅  
【대리인코드】 9-2012-100102-6  
【지정된변리사】 강경환 변리사  
【사건의 표시】  
【출원번호】 10-2014-0068468  
【제출된일이 된 서류의 접수번호】 1-1-2014-0531496-18  
【보정할 서류】 특허출원서  
【보정할 사항】  
【보정대상항목】 이 발명을 지원한 국가연구개발사업  
【보정방법】 정경  
【보정내용】  
【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】  
【과제고유번호】 C0146890

【부처명】 중소기업청  
【연구관리 전문기관】 한국산업기술평가관리원  
【연구사업명】 중소기업 기술개발 지원사업-산학연협력 기술개발사업-첫  
걸음기술개발사업  
【연구과제명】 조절기능 증진을 통한 방사선 방호작용을 가지는 제주 레드  
비트(Red beet) 가공식품 및 바이오 원료 소재 개발  
【기여율】 1/2  
【주관기관】 제주대학교 산학협력단  
【연구기간】 2013.12.01 ~ 2014.11.30  
【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】  
【과제고유번호】 114022-02-1-SB010  
【부처명】 농림축산식품부  
【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원  
【연구사업명】 고부가가치식품기술개발사업  
【연구과제명】 제주산 건조 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천  
연과일향 블렌딩 녹차 개발  
【기여율】 1/2  
【주관기관】 농림회사법인 (주)제주팜플러스  
【연구기간】 2014.08.01 ~ 2016.07.31

【비고】 위와 같이 특허청장(특허심판원장, 심판장)에게 제출합니다.  
대리인 특허법인 대웅 (서명 또는 인)

그림 5-3. 레드비트 추출물을 이용한 면역조절 기능 장애 방호용 조성물 (출원)

라. 레드비트 추출물을 이용한 방사선에 의한 면역조절 기능 장애 방호용 조성물에 대하여 2016년 09월 26일자로 특허등록이 결정됨



## 제 2 절 논문 및 학술발표 성과

### 1. 논문 게재 성과 -총 4건

가. TPA로 귀 부종을 유도한 마우스 모델에서 한라봉 추출물이 항염 효과와 관련한 연구결과가 2016년 Pharmaceutical Biology에 게재됨

RESEARCH ARTICLE

*Citrus hallabong* [(*Citrus unshiu* × *C. sinensis*) × *C. reticulata*] exerts potent anti-inflammatory properties in murine splenocytes and TPA-induced murine ear oedema model

Kalahe Hewage Iresha Nadeeka Madushani Herath<sup>a\*</sup>, So Jin Bing<sup>a\*</sup>, Jinhee Cho<sup>a</sup>, Areum Kim<sup>b</sup>, Gi-Ok Kim<sup>c</sup>, Jong-Chul Lee<sup>c</sup> and Youngheun Jee<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Department of Veterinary Medicine and Veterinary Medical Research Institute, Jeju National University, Jeju, Korea; <sup>b</sup>Department of Advanced Convergence Technology & Science, Jeju National University, Jeju, Korea; <sup>c</sup>Jeju Diversity Research Institute, Jeju Technopark, Seogwipo, Korea

ABSTRACT

**Context:** Hallabong [(*Citrus unshiu* × *C. sinensis*) × *C. reticulata*] (Rutaceae) is a hybrid citrus cultivated in temperate regions of South Korea. Its fruit is well-known for pharmacological properties.

**Objective:** This study examined the anti-inflammatory effect of 80% ethanol extract of Hallabong (HE) on concanavalin A (Con A)-stimulated splenocytes and mouse oedema model induced by 12-O-tetradecanoyl-phorbol acetate (TPA).

**Materials and methods:** Murine splenocytes treated with HE were stimulated with Con A (10 µg/mL, for 24 h) were evaluated for T-cell population and production of inflammatory cytokines IL-2, IL-4 and IFN-γ. Anti-inflammatory effect of topically applied HE (100 µg/20 µL) on TPA (4 µg/20 µL/ear)-induced ear oedema was investigated in mouse model.

**Results:** HE-treated Con A-stimulated murine splenocytes showed a marked decrease in CD44/CD62L<sup>+</sup> memory T-cell population, an important marker for anti-inflammatory activity, and a significant inhibition in the production of IL-2 and IFN-γ. HE treatment had reduced the mouse skin oedema (47%) and myeloperoxidase (MPO) activity significantly (40%) in TPA-challenged tissues. More importantly, immunohistochemical localization revealed the suppressed (*p* < 0.05) expression of inducible nitric oxide (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX2). HE decreased the infiltration of CD3<sup>+</sup> T cells and F4/80<sup>+</sup> macrophages to the site of inflammation and a topical application of HE significantly suppressed the expression of TNF-α (20.2%).

**Discussion and conclusion:** A topical application of HE can exert a potential anti-inflammatory effect and HE can be explored further as a putative alternative therapeutic agent for inflammatory oedema.

ARTICLE HISTORY

Received 12 November 2015  
Accepted 24 May 2016  
Published online 22 June 2016

KEYWORDS

Anti-inflammation; ear skin oedema; pro-inflammatory cytokines; pro-inflammatory mediators

그림 5-5. Pharmaceutical biology, 2016 Jun 22:1-12.

나. 면역 억제 마우스 모델에서 레드비트 추출물이 조혈 및 면역 활성화 효과와 관련한 연구결과를 Pharmaceutical Biology에 투고하였고 2016년 9월 9일자로 게재 승인됨



그림 5-6. Pharmaceutical biology, 2016

다. Concanavalin A로 자극시킨 마우스 비장세포와 TPA로 유도한 귀 부종 마우스 모델에서 당유자 추출물의 항염 효과와 관련한 결과가 2016년 Biomedicine & Pharmacotherapy에 게재됨



Available online at  
**ScienceDirect**  
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
 www.em-consulte.com/en



Original article

## Anti-inflammatory activities of Dangyuja (*Citrus grandis* Osbeck) in concanavalin A stimulated murine splenocytes and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced murine skin edema



Kalahe Hewage Iresha Nadeeka Madushani Herath<sup>a,1</sup>, So Jin Bing<sup>a,1</sup>, Jinhee Cho<sup>a</sup>, Aream Kim<sup>b</sup>, Sumin Shin<sup>a</sup>, Gi-Ok Kim<sup>c</sup>, Jong-chul Lee<sup>c</sup>, Youngheun Jee<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Veterinary Medicine and Veterinary Medical Research Institute, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea  
<sup>b</sup> Department of Advanced Convergence Technology & Science, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea  
<sup>c</sup> Jeju Diversity Research Institute, Jeju Technopark, Seogwipo 63608, Republic of Korea

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 16 May 2016  
 Received in revised form 4 August 2016  
 Accepted 16 August 2016

#### Keywords:

Skin inflammation  
 Anti-inflammatory cytokines  
 iNOS  
 COX-2  
 MPO activity

### ABSTRACT<sup>2</sup>

Dangyuja (*Citrus grandis* Osbeck), a citrus cultivated in southern Korea, has been used in traditional medicine for its anti-inflammatory effect. In this study, we investigated the anti-inflammatory potential of extract of *Citrus grandis* Osbeck (ECGO). In *in vitro* assays, ECGO treatment of concanavalin A (10 μg/ml, for 24 h) stimulated splenocytes showed significant reduction in CD44/CD62L<sup>+</sup> T cell population and a marked decrease in the production of inflammatory cytokines IL-2, IFN-γ and IL-4. Interestingly, *in vivo* assays of ECGO topical treatment (100 μg/20 μl/ear) significantly mitigated the TPA (4 μg/20 μl/ear) induced edema induction and Myeloperoxidase activity. Anti-inflammatory potential of ECGO were further evidenced through its potent decrease in expression of inducible nitric oxide, cyclooxygenase-2, IL-1β and TNF-α and suppressed homing of CD3<sup>+</sup> T cells and F4/80<sup>+</sup> macrophages to site of inflammation. This study emphasizes the possibility of developing ECGO as an alternative natural topical agent to combat inflammatory diseases.

© 2016 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

그림 5-7. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016

라. 유효 농산물의 추출물이 면역억제 모델 마우스에서 면역조절 효과를 보여 그 결과를 Food Science and Biotechnology에 투고하였고 2016년 8월 29일자로 게재 확정됨

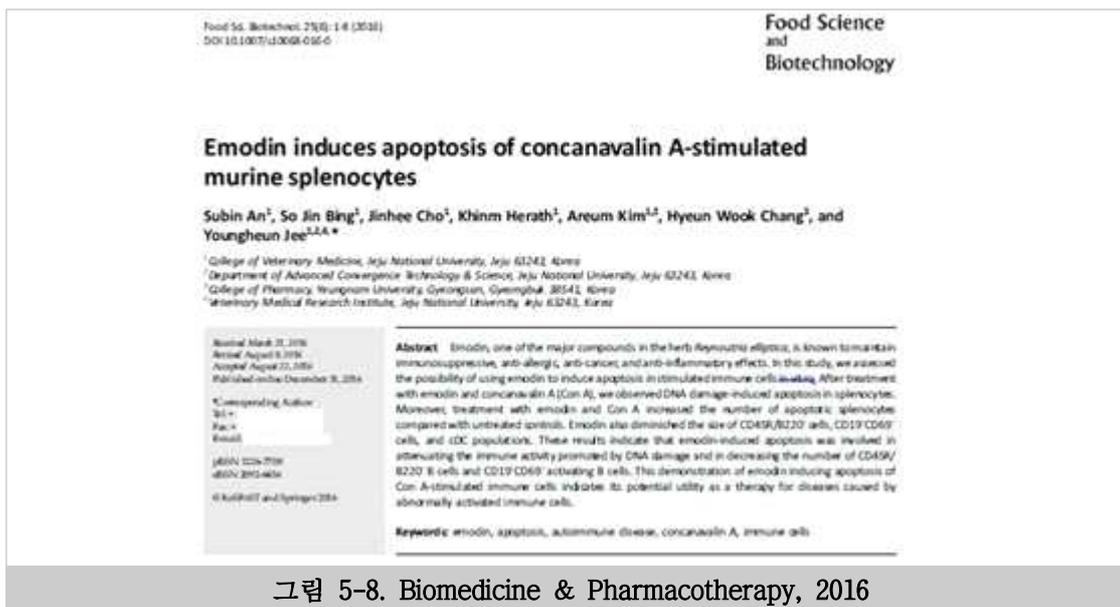


그림 5-8. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016

## 2. 학술발표 성과 -총 7건

가. 레드비트 추출물이 방사선에 의하여 손상된 면역억제모델 마우스의 조혈모세포와 조혈전구세포를 보호한다는 연구결과를 2014 대한면역학회 추계학술대회에서 포스터 발표함

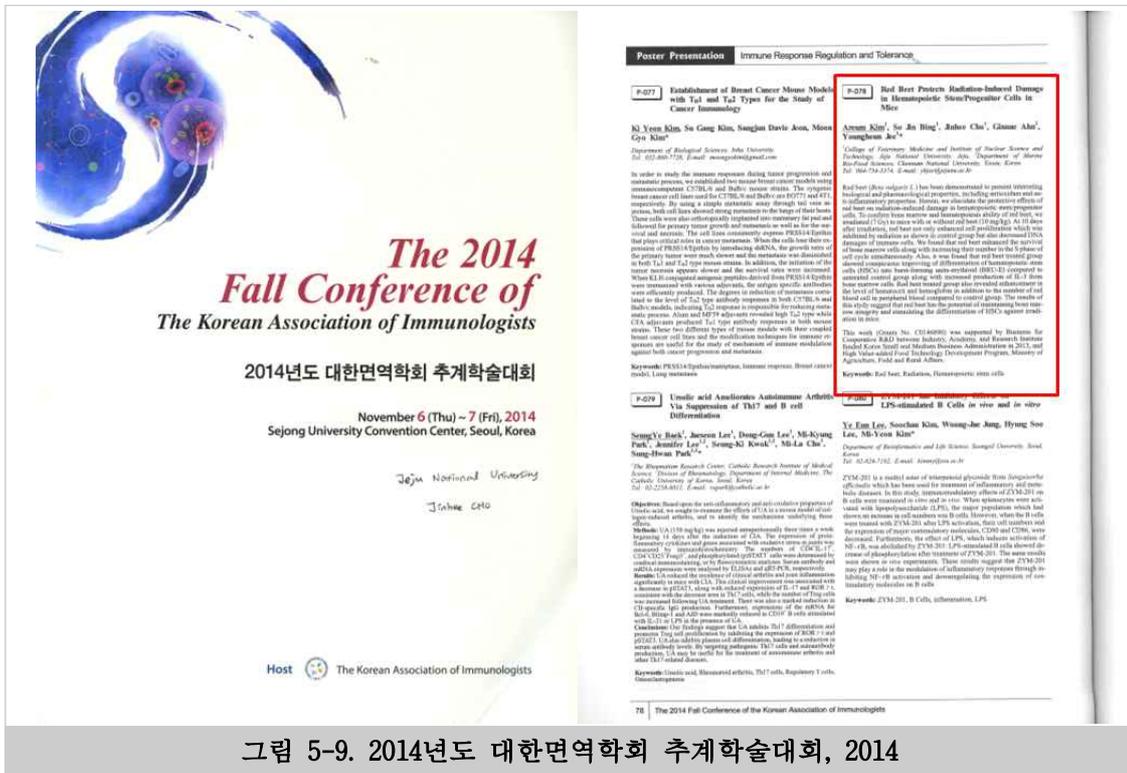


그림 5-9. 2014년도 대한면역학회 추계학술대회, 2014

나. 레드비트 추출물이 방사선으로 인하여 면역억제모델 마우스의 조혈모세포 및 조혈 전구세포의 기능을 자극시킨다는 연구결과를 5<sup>th</sup> congress of asian association of veterinary anatomists에서 포스터 발표함

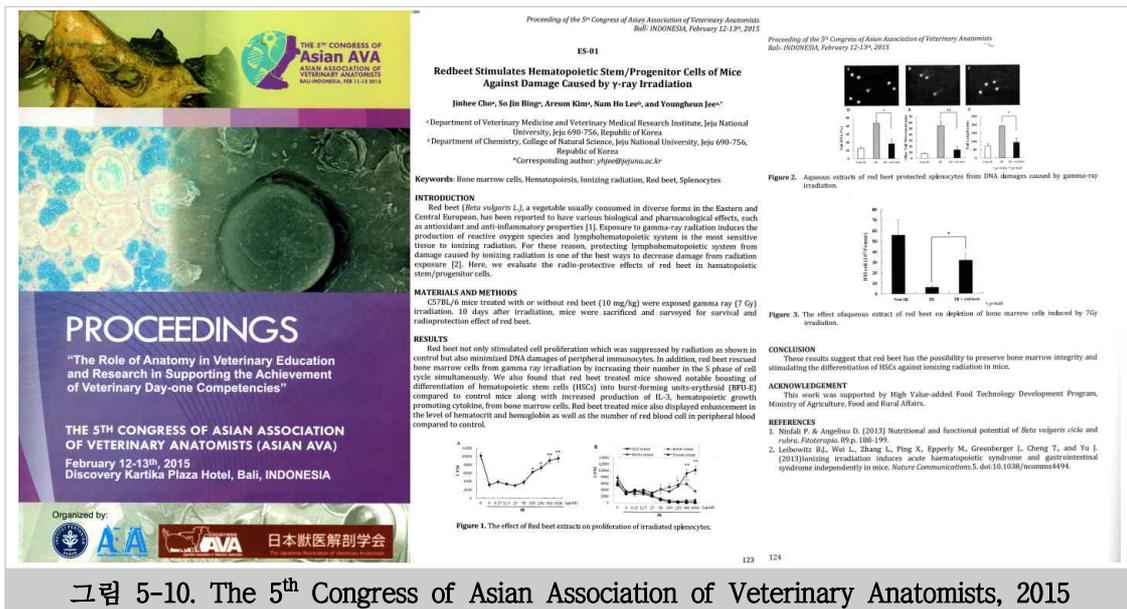


그림 5-10. The 5<sup>th</sup> Congress of Asian Association of Veterinary Anatomists, 2015





그림 5-12. 대한수의학회 2015년도 추계국제학술대회, 2015

마. TPA로 염증이 유도된 마우스 피부에 대하여 당유자 추출물이 항염 효과를 가진다는 연구결과를 10<sup>TH</sup> International Congress on Autoimmunity에서 구두발표함



# 10<sup>TH</sup>

## INTERNATIONAL CONGRESS ON AUTOIMMUNITY

APRIL 6-10, 2016, LEIPZIG, GERMANY

FRIDAY, APRIL 8

**Station 8**

<p><b>10:00 - 10:30</b></p> <p><b>EPD24: IMMUNOMODULATION: BETTER THAN IMMUNOSUPPRESSION</b></p> <p>Chair: <b>L. Ishikawa</b> (Brazil)</p>	<p>400</p>
<p>10:00 MYCOPHENOLATE MOFETIL AS A SECOND LINE THERAPY IN AUTOIMMUNE DISEASES</p> <p>A. Danca, D. Graha, V. Dominguez, A. Vargas, B. Adriana, M. Goñi (Uruguay)</p>	<p>401</p>
<p>10:05 DANGYUJA (<i>CITRUS GRANDIS</i> OSBECKI) TOPICAL TREATMENT ATTENUATES SKIN INFLAMMATION IN MOUSE EAR INDUCED WITH 12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETATE (TPA)</p> <p>KILLIM, Haruh, S.J. Bing, J. Cho, A. Kim, W. Lee, J.H. Um, E.J. Han, G. Ahn, G.O. Kim, J.C. Lee, Y. Jee (Republic of Korea)</p>	<p>402</p>
<p>10:10 IMMUNOMODULATORY EFFECT OF HYDROXYCHLOROQUINE IN BONE MARROW-DERIVED DENDRITIC CELLS AND COLLAGEN-INDUCED ARTHRITIS: PRELIMINARY RESULTS</p> <p>L.L. Ishikawa, L. Oliveira, R. Morales, L.A. Mimura, T.F. Fraga-Silva, S.F. Zorzella-Pezavento, R. Thomé, L. Verinaud, A. Sartori (Brazil)</p>	<p>403</p>
<p>10:15 CD4+CD25+ CELLS ARE ESSENTIAL IN THE INDUCTION AND MAINTAINING OF IMMUNOLOGICAL TOLERANCE IN CHICKENS INOCULATED WITH XENOGENIC ANTIGENS AT A LATE STAGE OF EMBRYONIC DEVELOPMENT</p> <p>Y. Xiaoxue, Z. Li (China)</p>	<p>404</p>

### PROGRAM BOOK

CONGRESS ORGANIZERS

Akenes

Rue Francois-Versovner 7,  
CH-1207 Geneva, SWITZERLAND  
Tel: +41 22 908 0488  
Fax: +41 22 906 9140  
Email: [autoimmunity@kenes.com](mailto:autoimmunity@kenes.com)  
Website: [autoimmunity.kenes.com](http://autoimmunity.kenes.com)

E-POSTERS

89

그림 5-13. 10<sup>TH</sup> International Congress on Autoimmunity, 2016

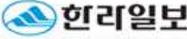
### 제 3 절 홍보 및 전시 성과

#### 1. 홍보 성과 (신문, 방송, 저널 등) - 총 7건

가. 2015. 05. 13 일간지 한라일보에 ‘제주산 과일 블랜딩 녹차, 시의적절한 과제’ 라는 제목으로 세미나 관련 기사가 실림

뉴스  
경제

**"제주산 과일 블랜딩 녹차, 시의적절한 과제"**  
 13일 제주팜플러스 주최 초청 세미나  
 정승호 한국티협회 회장 강연  
 뉴미디어부 기자 n@halla.com



한라일보

입력 : 2015. 05. 13. 21:13:15



농업회사법인(주) 제주팜플러스(대표이사 장성철)는 13일 제주그랜드호텔에서 '천연과일 블랜딩 녹차 시장의 현황 및 전망'을 주제로 한 초청 세미나와 블랜딩 녹차 시음회를 개최했다.

이날 행사는 농림축산식품부와 농림수산물기술기획평가원의 지원으로 진행되고 있는 '제주산 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연과일향 블랜딩 녹차 개발' 연구과제의 일환으로 마련됐다.

이 연구과제에는 제주대학교 산학협력단과 농업회사법인 (주)경덕 등이 협동기관으로 참여하고 있다.

이날 초청 세미나에는 한국티(TEA)협회 정승호 회장이 강연자로 나서 천연과일 블랜딩 녹차 시장에 대한 최신 정보와 흐름에 대해 소개했다.

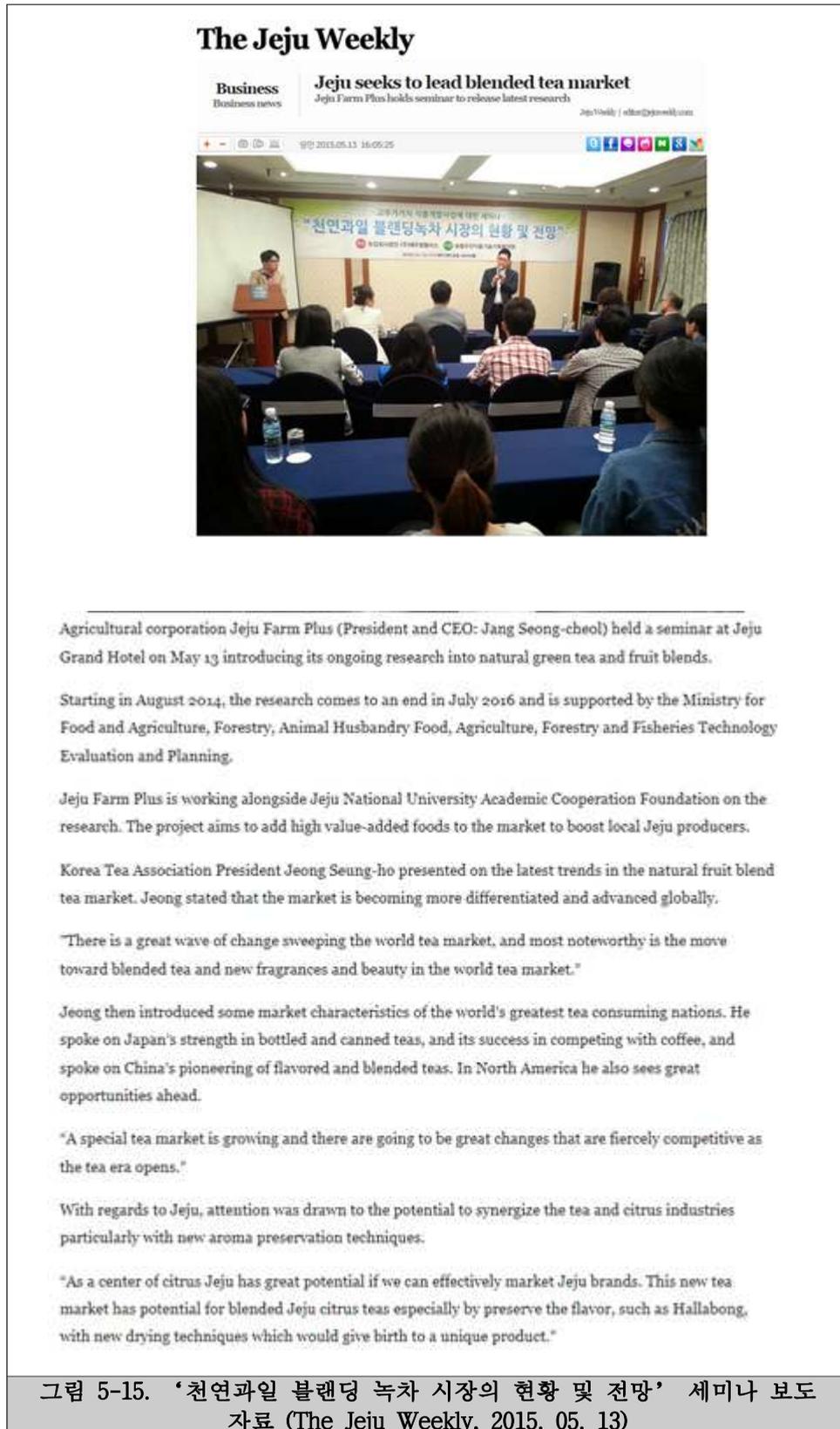
정 회장은 "세계 티 시장에서 큰 변화의 물결이 일고 있다. 가장 주목할만한 것은 세계 녹차 시장이 '스트레이트 티'에서 새로운 향과미를 더한 '블랜딩 티' 시장으로 이동하고 있다"고 설명했다.

정 회장은 또 "제주에 갖고 있는 감귤류 중심의 농산물과 제주산 녹차를 블랜딩 하겠다는 것은 차 시장의 새로운 흐름에 비취 봤을때 매우 시의적절한 과제"라며 "청정 제주 브랜드를 결합해 체계적인 마케팅을 했을 때는 새로운 차 시장을 개척할 수 있을 것"이라고 내다봤다.

이어 "제주팜플러스가 보유한 '향 보전이 가능한 건조 기술'에 의해 생산된 당유자, 비트, 한라봉, 온주밀감 등의 건조제품이 녹차와 블랜딩 되면 매우 차별화되고 독특한 블랜딩 차 상품이 탄생할 수 있을 것"이라고 말했다.

그림 5-14. '천연과일 블랜딩 녹차 시장의 현황 및 전망' 세미나 보도 자료 (한라일보, 2015. 05. 13)

나. 2015. 05. 13 제주영자신문 Jeju Weekly에 ‘Jeju seeks to lead blended tea market’ 이라는 제목으로 세미나 관련 기사가 실림



다. 2015. 05. 13 인터넷신문 시사제주에 ‘제주산 건조과일 블렌딩 녹차, 특화기술로 대기업과 승부수’ 라는 제목으로 세미나 관련 기사가 실림

홈 > 뉴스 > 사회 > 사회일반



www.sisajeju.com

---

사회

제주산 건조과일 블렌딩 녹차, 특화 기술로 대기업과 승부수

한국 티(TEA)협회 정승호 회장, '티 시장' 커피→녹차→블렌딩 이동

---

데스크상인 2015.05.13 14:59:05 김진규 기자 | true0268@nate.com

제주산 건조과일과 블렌딩 녹차를 개발하고 있는 도내 중소기업이 특화된 기술력으로 승부수를 던졌다.

청정제주 브랜드와 체계적인 마케팅, 특화된 연구개발로 차별화된 상품을 내놨을 경우 대기업과의 시장 경쟁에서도 결코 밀리지 않는다는 자신감이다.

농업회사법인(주)제주팜플러스(대표이사 장성철)는 농림축산식품부와 농림수산식품기술기획평가원(이하 농기평)의 지원으로 2014년 8월부터 2016년 7월까지 2년에 걸쳐 '제주산 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연과일향 블렌딩 녹차 개발' 연구과제를 수행하고 있다.

제주팜플러스는 그 일환으로 13일 오전 제주그랜드호텔에서 '천연과일 블렌딩 녹차 시장의 현황 및 전망'에 대한 초청 세미나와 '블렌딩 녹차 시음회'를 개최했다.

이날 세미나에는 한국 티(TEA)협회 정승호 회장이 '스트레이트 티에서 블렌딩 시장으로 이동'이라는 주제로 강연했다.

정 회장은 "세계 티 시장에서 큰 변화의 물결이 일고 있는데, 가장 주목할 만한 것은 세계 녹차 시장이 스트레이트 티에서 새로운 향과미를 더한 블렌딩 티 시장으로 이동하고 있다"고 말했다.

커피 시장에서 고급화 차별화 전략에 의해 고급 천연과일과 녹차 시장으로 확대되고 있다는 설명이다.

정 회장은 세계 주요 차 소비 국가의 사례를 설명하면서 "일본의 경우 커피에 익숙한 젊은 층들이 기호와 수요를 이끌어내는 차원에서 페르병과 캔 형태의 녹차 상품 개발에 더욱 많은 연구가 집중되고 있다. 캐나다에서는 '스피셜 티' 운동이 일어나는 등 차 시장에 새로운 변화가 거세게 일고 있다. 비야흐로 '티(TEA)의 시대'가 열리고 있다"고 강조했다.

정 회장은 "제주에 갖고 있는 감귤류 중심의 농산물과 제주산 녹차를 블렌딩 하겠다는 것은 차 시장의 새로운 흐름에 비춰봤을 때 매우 시의적절한 과제로 보인다. 청정제주의 브랜드를 결합해 체계적인 마케팅을 했을 때에는 새로운 차 시장을 개척할 수 있을 것"이라고 전망했다.

이어 "특히 제주팜플러스가 보유한 '향 보전이 가능한 건조 기술'에 의해 생산된 당유차, 비트, 한라봉, 운주말갈 등의 건조제품이 녹차와 블렌딩 되면 매우 차별화 되고 독특한 블렌딩 차 상품이 탄생할 수 있을 것"이라고 덧붙였다.

이날 세미나에 참석한 제주대학교 산학협력단 연구책임자 지영훈 수의과대학 교수는 "녹차 시장뿐만 아니라 과일의 천연향이 그대로 나고, 영양도 90% 남아 있다는 것이 과학적으로 증명됐다"고 설명했다.

그러면서도 "좋은 기술을 갖고 있더라도 영세기업 제품의 판매가 이어지지 않는다는, 마케팅과 과학적 근거 시장에 대한 활로를 등 과제를 성공적으로 수행해서 2년 후에는 재대로 생산해 판매되기를 바란다"고 말했다.

이날 강연 이후 참석자들은 제주팜플러스의 건조제품과 (주)경덕이 생산한 녹차 시제품을 시음한 후 프리미엄 차 상품으로서 시장 경쟁력이 있다는데 의견을 같이했다.

커피 시장에서 고급화 차별화 전략에 의해 고급 천연과일과 녹차 시장으로 확대되고 있다는 설명이다.

정 회장은 세계 주요 차 소비 국가의 사례를 설명하면서 "일본의 경우 커피에 익숙한 젊은 층들이 기호와 수요를 이끌어내는 차원에서 페트병과 캔 형태의 녹차 상품 개발에 더욱 많은 연구가 집중되고 있다. 캐나다에서는 '스페셜 티' 운동이 일어나는 등 차 시장에 새로운 변화가 거세게 일고 있다. 비야흐로 '티(TEA)의 시대'가 열리고 있다"고 강조했다.

정 회장은 "제주에 갖고 있는 감귤류 중심의 농산물과 제주산 녹차를 블렌딩 하겠다는 것은 차 시장의 새로운 흐름에 비춰봤을 때 매우 시의적절한 과제로 보인다. 청정제주의 브랜드를 결합해 체계적인 마케팅을 했을 때에는 새로운 차 시장을 개척할 수 있을 것"이라고 전망했다.

이어 "특히 제주팜플러스가 보유한 '항 보전이 가능한 건조 기술'에 의해 생산된 당유차, 비트, 한라봉, 온주말갈 등의 건조제품이 녹차와 블렌딩 되면 매우 차별화 되고 독특한 블렌딩 차 상품이 탄생할 수 있을 것"이라고 덧붙였다.

이날 세미나에 참석한 제주대학교 산학협력단 연구책임자 지영훈 수의과대학 교수는 "녹차 시장뿐만 아니라 과일의 천연향이 그대로 나고, 영양도 90% 남아 있다는 것이 과학적으로 증명됐다"고 설명했다.

그러면서도 "좋은 기술을 갖고 있더라도 영세기업 제품의 판매가 이어지지 않는다. 마케팅과 과학적 근거 시장에 대한 알로를 등 과제를 성공적으로 수행해서 2년 후에는 재대로 생산해 판매되기를 기원한다"고 말했다.

이날 강연 이후 참석자들은 제주팜플러스의 건조제품과 (주)경덕이 생산한 녹차 시제품을 시음한 후 프리미엄 차 상품으로서 시장 경쟁력이 있다는데 의견을 같이했다.

그림 5-16. ‘천연과일 블렌딩 녹차 시장의 현황 및 전망’ 세미나 보도 자료 (시사제주, 2015. 05. 13)

라. 2015. 05. 14 인터넷신문 제주의 소리에 ‘제주산 건조과일과 녹차가 만나면? 시장 경쟁력 충분’이라는 제목으로 세미나 관련 기사가 실림

제주의소리

제주산 건조과일과 녹차가 만나면? "시장 경쟁력 충분"

제주팜플러스-제주대산학협력단-경덕인연과일농업연구소가 공동 주최

2015년 5월 13일 목요일 14:21 327



제주산 건조과일과 녹차를 블렌딩한 녹차 개발이 추진되고 있는 가운데 프리미엄 차 상품으로서 시장에서 충분히 경쟁력을 가질 수 있을 것이라는 전망이 제시됐다.

농업회사법인 ㈜ 제주팜플러스(대표이사 강성철)는 5월13일 오전 제주그랜드호텔에서 '천연과일 블렌딩 녹차 시장의 현황 및 전망' 을 주제의 세미나 및 '블렌딩 녹차 시음회' 를 개최했다.

㈜제주팜플러스는 농림축산식품부와 농림수산물기술기획평가원의 지원으로 2014년 8월부터 2016년 7월까지 2년간 '제주산 농식품과 유기농 녹차를 활용한 연역증강용 천연과일 향 블렌딩 녹차 개발' 연구과제를 수행하고 있다. 연구과제 수행에는 제주대학교 산학협력단(연구책임자 지명훈 수의과대학교수), ㈜경덕이 협동기관으로 함께 참여하고 있다.

이날 세미나에는 한국티(TEA) 협회 정승호 회장은 천연과일 블렌딩 녹차 시장에 대한 최신 정보와 흐름을 소개해 관심을 끌었다. 정 회장은 "세계 티 시장에 큰 변화의 물결이 일고 있는데, 가장 주목할 것은 세계 녹차 시장이 스트레이트 티에서 새로운 향과 미를 더한 블렌딩 티 시장으로 이동하고 있다는 것" 라고 소개했다. 세계 차 시장의 흐름이 고급화·차별화 전략에 의해 변화를 겪으면서 고급 천연과일과 녹차를 블렌딩 한 녹차 시장이 새롭게 형성되고 있다는 것이다.

정 회장은 "일본의 경우 커피에 익숙한 젊은 층들의 기호와 수요를 끌어내는 차원에서 페트병과 캔 형태의 녹차 상품 개발에 연구를 집중하고 있고 중국도 가향, 가미의 블렌딩 티 시장을 개척하고 있다" 고 주요 차 소비국가의 사례를 소개했다.

특히 그는 "미국에서는 스타벅스가 차 시장에 뛰어들고, 캐나다에서는 '스페셜티' 운동이 벌어지는 등 차 시장에 새로운 변화가 거세게 일고 있다" 며 새로운 차 시장의 흐름을 자세하게 설명했다.

향을 보전한 건조기술로 생산된 제주산 건조과일과 녹차를 혼합한 상품의 가능성도 높게 봤다.

정 회장은 "제주에 갖고 있는 감귤류 중심의 농산물과 제주산 녹차를 블렌딩 하겠다는 것은 차 시장의 새로운 흐름에 비추어 봤을 때 매우 시의적절한 과제라고 보여진다" 며 "창정제주 브랜드를 결합해 체계적인 마케팅을 했을 때는 새로운 차 시장을 개척할 수 있을 것" 이라고 말했다.

특히 제주팜플러스가 보유한 '향 보전 건조 기술' 에 의해 생산된 당유자, 비트, 한라봉, 온주말강 등의 건조제품이 녹차와 블렌딩 될 경우 차별화되면서 독특한 블렌딩 차 상품이 탄생할 수 있을 것이라고 기대감을 표출했다.

강연 후에는 제주팜플러스의 건조제품과 ㈜경덕이 생산한 녹차를 5:5 비율로 혼합한 과일 블렌딩 녹차 시제품에 대한 시음회가 열렸다.

그림 5-17. '천연과일 블렌딩 녹차 시장의 현황 및 전망' 세미나 보도 자료 (제주의 소리, 2015. 05. 14)

마. 2016. 07. 15 헤드라인제주에 '천연건조과일 블렌딩 녹차 시제품 시장 공략 가능성 높아' 라는 제목으로 세미나 관련 기사가 실림



이 연구과제 수행은 천연건조과일스낵 '프루넥' 제품을 생산에 관여하는 농업회사법인 (주)제주 팜플러스(대표이사 장성철)이 주관기관으로, 제주대학교 산학협력단(연구책임자 지영훈 수의과 대학 교수), ㈜경역이 협동기관으로 함께 참여하고 있다.

행사에서는 양용진 제주향토음식보존연구원장, 제주대학교 산업융용경제학과 고성보 교수, 제주관광특산물 도매 유통업체인 미르상사의 성용계 대표, 경승호 한국티(TEA)협회 회장을 비롯해 차 및 식품산업 관계자, 학계인사 등이 참가한 가운데 시제품을 사용하여 평가하는 시간이 마련됐다.

이어 마케팅 전략 세미나를 통해 시장 가능성에 대한 심도있는 논의가 이뤄졌다. 협동기관으로 참여하고 있는 지영훈 교수는 인사말을 통해 "오늘 발표되는 불린딩 녹차의 시제품은 특허권 등록, 면역 증강용 기능성 효과 등과 더불어 정확한 마케팅 프로그램이 결합되면 충분한 가능성이 있는 상품이라고 판단하고 있다"고 전제한 후, "특히 한라봉과 당유자 등에 대한 기능성 연구 결과, 면역력 증강 효과가 매우 높은 것으로 파악됐다"며 2년 동안의 면역력 증강을 중심으로 한 연구 결과를 소개했다.

연구개발 프로젝트의 책임연구원인 장성철 대표이사는 시제품 개발과정 및 특성에 대한 주제발표를 통해 "이번 불린딩 녹차 연구개발 과정에서 가장 큰 여로서항은 건조 농산물과 녹차의 최적 비율을 찾아내는 것이었는데, 원물의 상태에 따른 최적의 불린딩 비율은 지속적으로 찾아내야 할 것이다"며 "또 한가지 장점은 제주 관광특산물 시장에서 경쟁력을 갖출 수 있는 가격대를 설정하는 것이고, 향후 경쟁력있는 완제품을 만들어서 녹차 소비를 확대하는 데 기여를 하고 싶다"고 말했다.

첫번째 토론자로 나선 양용진 원장은 "예전에 귤과 같이 감귤도 그렇게 만들수는 없을까 하는 생각을 했었는데, 제주팜플러스가 제주 감귤등을 이용한 천연건조과일 프루넥을 생산하는데 이어 불린딩 녹차를 개발해냈다"며 천연건조과일을 기초제품으로 삼은 '파생상품'의 확산에 대해 고무적 반응을 보였다.

그는 "제주팜플러스의 독특한 건조기술로 만든 건조농산물을 기초제품으로 삼고, 이를 응용한 파생상품의 개발에 관심이 많다"며 "한라봉 불린딩 녹차는 매우 향이 진한데, 차가 되었을 때도 향이 좀 더 진할 수 있는 혼합 비율을 찾았으면 좋겠다고 생각한다"고 말했다.

양 원장은 이어 "비트 불린딩 녹차는 비트의 맛이 매우 진하고 강해서 좋았다. 또한 제주에서도 홍차류 건조농산물과 불린딩한 불린딩 홍차도 개발하여 할 시점이라고 생각한다"며 이번 시제품의 가능성을 매우 높게 평가했다.

제주지역 관광특산물 시장에서 도매 유통을 하고 있는 성용계 대표는 "제주 관광특산물 시장에서 차 상품은 매우 열악하다. 갈피차, 황칠차 정도이다. 2가지 이상의 것이 혼합된 차는 신선하다"며 "특히 당유자와 한라봉은 제주만의 토속적인 상품이다. 경쟁력있는 가격을 책정하는 것이 매우 중요하다"고 말했다.

고성보 교수는 "제주지역 자생 농산물의 기능성에 주목한 상품 홍보가 필요하다. 원물 소비가 많은 것을 소재로 하여 상품개발이 이뤄지는 것이 중요하다"고 지적한 후, "그래야 시장 접근성이 용이하다. 한라봉과 당유자, 비트 등의 소재는 매우 적절하다고 생각한다"며 원물 소비 확대를 위한 제품개발의 중요성을 강조했다.

고 교수는 "이번에 불린딩한 비트나 한라봉, 당유자의 기능성에 대한 홍보가 매우 중요할 것"이라며 "소비자의 입맛과 함께 활용하고 있는 기능성을 잘 어필하는 방법으로 마케팅 전략을 가져 나간다면 사업 성공가능성은 높 것"이라고 말했다.

이에 지영훈 교수는 "당유자의 면역력 증가 및 항염 기능이 매우 탁월하다. 친식 기침에 효과가 매우 높게 나왔다. 비트는 조절 기능이 매우 좋아 빈혈 치료에 유효하다"며 제품의 기능성에 대해 구체적으로 연구성과를 설명했다.

경승호 회장은 "최근에는 티록스가 주목받고 있다. 티록스는 차를 이용한 허독작용이다. 제주의 특산물의 기능성을 겹쳐서 불린딩차를 마케팅하면 충분히 경쟁력이 있다"며 "세계적으로 유명한 루이보스차도 남아공의 특산물이다. 제주특산물인 제주불린딩 녹차도 영문으로 성장할 수 있을 것"이라고 말했다.

경 회장은 "세계적인 명품과의 경쟁도 할 수 있다. 오늘의 불린딩 녹차에 건조감귤초코를 조금 첨가해서 맛을 순화시키면 좋겠다"고 밝히면서 향후 전망을 긍정적으로 평가하고 마지막 완제품 개발의 방향에 대해 의견을 제시했다.

윤철수 대표는 "아까 시음한 차의 맛과 향이 지금도 입안에 그윽하게 남아있다. 오늘 선보인 제품들이 제주의 3차산업과 연계할 수 있는 구체적인 방안이 마련돼야 할 것"이라며 "특히 이번 시제품의 소비자 시장의 타킷을 어디로 정할 것인지, 그리고 이에따라 판촉, 마케팅 전략이 수립돼야 하는데, 아울러 미디어 노출을 통한 마케팅 방법을 좀 더 체계화할 필요가 있다"고 말했다.

이번 연구개발의 책임연구원인 장성철 대표는 마지막 총괄정리를 통해 "제주팜플러스가 보유한 '항 보전 건조 기술'에 의해 생산된 제주의 토속 농산물을 활용한 피싱 상품 개발에 지속적인 노력을 기울일 것"이라며 "이번의 블렌딩 녹차를 반드시 소비자로부터 사랑받는 상품으로 성장시키겠다"고 밝혔다. <헤드라인제주>



그림 5-18. 블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나 보도 자료 (헤드라인제주, 2016. 07. 15)

바. 2016. 07. 15 시사제주에 ‘제주를 품다, 제주를 음미하다 블렌딩 녹차’ 라는 제목으로 세미나 관련 기사가 실림

홈 > 뉴스 > 사회 > 사회일반

**시사제주**  
[www.sisajeju.com](http://www.sisajeju.com)

---

**사회**

**제주를 품다, 제주를 음미하다 '블렌딩 녹차'**

농업회사법인(주)제주팜플러스, '블렌딩 녹차 시제품 발표& 마케팅 세미나'  
'제주특산물에 가능성까지...충분한 경쟁력 있을 듯'

---

데스크방안 2016.07.15 16:00:20 이강사 기자 | kamsama@hanna1.net

한라봉과 당유자, 비트가 녹차와 만나 제주를 담은 블렌딩(Blending)으로 탄생했다. 과거의 녹차 시장은 한 가지 향을 음미하는 스트레이트 티(Straight tea)가 유행했다면, 최근 대세는 새로운 향과미를 더한 블렌딩 차다.

이런 흐름에 맞춰 제주특산물의 기능성과 고유의 향을 갖춘 제주를 담은 블렌딩 녹차 시제품이 개발돼 눈길을 끌고 있다.

농업회사법인(주)제주팜플러스(대표이사 장성철)는 지난 14일 오후 3시 제주칼호텔 2층 무궁화홀에서 '제주블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 전략 세미나'를 개최했다.

앞서 (주)제주팜플러스는 지난 2014년 8월~2016년 7월까지 농림축산식품부와 농림수산식품기술기획평가원의 지원을 받고 '제주산 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연차잎향 블렌딩 녹차 개발' 연구 과제를 수행한 바 있다.

과제 수행은 제주대학교 산학협력단(연구책임자 지영은 수의과대학 교수), (주)영덕이 협동기관으로 함께 참여했다.

고성보 교수는 "제주지역 자생 농산물의 기능성에 주목한 상품개발이 중요하데 한라봉과 당유자, 비트 등의 소재는 매우 적절하다"고 원료 소비 확대를 위한 제품개발의 중요성을 강조했다.

지역관 제주대학교 교수인 시제품의 기능성 측면을 두고 말을 이었다. 그는 "당유자는 천식 기침에 효과가 높게 나오는 등 면역력 증가와 항염 기능이 매우 탁월하다"며 "비트는 조혈 기능이 좋아 빈혈 치료에 유효하다"고 설명했다.

경승호 한국티협회 회장은 "최근에는 차를 이용한 건강차용인 '티투스'가 주목받고 있다"며 "제주의 특산물의 기능성을 접목시켜 블렌딩 차를 마케팅하면 충분히 경쟁력이 있다"고 말했다.

이어 "세계적으로 유명한 루이보스차도 남아공의 특산품으로, 제주 블렌딩 녹차도 명품으로 성장할 수 있다"고 낙관적으로 바라봤다.

마지막 토론자로 나선 윤철수 대표는 "토론 전 시음한 차의 맛과 향이 지금도 입안에 남아있다"며 "제품들이 제주의 3차 산업과 연계할 수 있는 방안 마련과 지역 언론을 통한 마케팅도 체계화해야 된다"고 조언했다.

끝으로 장성철 대표는 "제주팜플러스가 보유한 '항 보건 건조 기술'에 의해 생산된 제주의 토속 농산물을 활용한 파생 상품 개발에 지속적인 노력을 기울이겠다"며 "이번 블렌딩 녹차를 반드시 소비자로부터 사랑 받는 상품으로 성장시키겠다"고 포부를 밝혔다.

개발된 블렌딩 차는 원물의 향과 색깔이 보존되는 특화된 건조기술에 의한 '건조 농산물'과 제주산 청정 '녹차'가 결합해 탄생했다. 첫 선을 보인 제품은 한라봉 당유자 비트 블렌딩 녹차 등 3종류다.

팜플러스는 천연건조 과일스틱 '프루넥' 제품을 생산 판매하는 회사로 이미 천연건조기술에 두각을 보여 블렌딩 녹차에 대한 기대 또한 크다.

제주팜플러스 장성철 대표의 사회 및 발제로 진행된 토론회는 제주항토음식보전연구원 양용진 원장, 성용제 미르상사 대표, 고상보 제주대학교 산업응용경제학과 교수, 경승호 한국티협회 회장, 윤철수 헤드라인 제주 대표가 참여했다.

이 자리에서 장성철 대표이사는 "연구개발 과정에서 건조 농산물과 녹차의 최적 비율을 찾아내는 것과 가격대 설정이 큰 애로사항이었다"며 "향후 경쟁력 있는 완제품을 만들어서 녹차 소비를 확대하는 데 기여를 하고 싶다"고 말했다.

첫 번째 토론자로 나선 양용진 원장은 "제주팜플러스의 독특한 건조기술로 만든 건조농산물을 기초제품으로 삼고, 이를 응용한 파생상품 개발에 관심이 많다"며 "비트 블렌딩 녹차는 비트의 맛이 매우 진하고 강해서 놀랐다"고 시제품을 좋게 평가했다.

제주지역 관광특산물 시장에서 도매 유통을 하고 있는 성용제 대표는 "제주 관광특산물 시장에서 차 상품은 골피차, 황칠차 정도로 열악하다"며 "두 가지 이상 혼합된 차는 신선하다. 특히 당유자와 한라봉은 제주만의 토속적인 상품으로, 경쟁력 있는 가격을 책정하는 것이 중요하다"는 소견을 내세웠다.



그림 5-19. 블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나 보도 자료 (시사제주, 2016. 07. 15)

사. 2016. 07. 17 제주도민일보에 ‘고급 블랜딩 차 시장 공략 가능성 높아’ 라는 제목으로 세미나 관련 기사가 실림

## 고급 블랜딩 차 시장 공략 가능성 높아

당유자, 한라봉, 비트 블랜딩 녹차 시제품 발표회  
천연향과 면역력 증강 효과, 마케팅 전략 세미나  
세미나 전 행사장서 블랜딩 녹차 시용회도 가졌다

최병근 기자    2016.07.17 20:48    0 댓글

 **제주도민일보**

[제주도민일보=최병근 기자] 세계 녹차 시장이 스트레이트 티에서 새로운 향과미를 더한 블랜딩 차 시장으로 이동하고 있는 흐름에 맞는 시의적절한 행사가 열려 눈길을 끌고 있다.

원물의 향과 색깔이 보존되는 특화된 건조기술에 의한 건조농산물과 제주산 청정 녹차를 결합한 '블랜딩 차' 상품의 시제품이 개발돼 14일 오후 3시부터 6시까지 제주칼호텔 2층 무궁화홀에서 '제주블랜딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 전략 세미나'가 열렸다.

이날 세미나의 사회 및 발제는 제주팜플러스 장성철 대표, 토론자로는 제주향토음식보전연구원 양용진 원장, 성용제 미르상사 대표, 고성보 제주대학교 산업응용경제학과 교수, 경승호 한국티협회 회, 윤철수 헤드라인제주 대표 등이 참여했다.

농업회사법인(주)제주팜플러스(대표이사 장성철)는 농림축산식품부와 농림수산물기술기획평가원(이하 농기평)의 지원으로 2014년 8월부터 2016년 7월까지 2년에 걸쳐 '제주산 농식품과 유기농 녹차를 활용한 면역증강용 천연과일향 블랜딩 녹차 개발' 연구과제를 주관기관으로 참여하여 수행하고 있다.

연구과제 수행에는 제주대학교 산학협력단(연구책임자 지영훈 수의과대학 교수), ㈜경덕이 협동기관으로 함께 참여하고 있다. '블랜딩 녹차 시제품 발표회 및 마케팅 전략 세미나'는 연구과제의 최종 결과물인 시제품을 공개 발표하고, 이에 대한 평가와 향후 마케팅 전략을 모색하기 위해 마련된 자리이다.

특히 세미나가 시작되기 전, 참가자들은 행사장에 마련된 블랜딩 녹차를 시용하는 기회를 가졌다.

지영훈 제주대 교수는 "시제품의 기능성 효과가 매우 높다"고 강조했다.

협동기관으로 참여하고 있는 제주대학교 산학협력단 수의학과 지영훈 교수는 "오늘 발표되는 블랜딩 녹차의 시제품은 특허권 등록, 면역 증강용 기능성 효과 등과 더불어 정확한 마케팅 프로그램이 결합되면 충분한 가능성이 있는 상품이라고 판단하고 있다"며 "특히 한라봉과 당유자 등에 대한 기능성 연구 결과, 면역력 증강 효과가 매우 높다고 파악됐다"고 2년 동안의 면역력 증강을 중심으로 한 연구 결과를 소개했다.

이날 세미나의 사회 및 발제를 맡은 제주팜플러스 장성철 대표이사는 "이번 블랜딩 녹차 연구개발 과정에서 가장 큰 애로사항은 건조 농산물과 녹차의 최적 비율을 찾아내는 것이었는데, 원물의 상태에 따른 최적의 블랜딩 비율은 지속적으로 찾아내야 할 것"이라며 "또 한 가지 장애는 제주 관광특산물 시장에서 경쟁력을 갖출 수 있는 가격대를 설정하는 것이

다. 향후 경쟁력있는 완제품을 만들어서 녹차 소비를 확대하는 데 기여를 하고 싶다"고 말했다.

첫 번째 토론자로 나선 양용진 원장은 "제주팜플러스의 독특한 건조기술로 만든 건조농산물을 기초제품으로 삼고, 이를 응용한 파생상품의 개발에 관심이 많다. 한라봉 블렌딩 녹차는 매우 향이 진한데, 차가 되었을 때도 향이 좀 더 진할 수 있는 혼합 비율을 찾았으면 좋겠다고 생각한다"며 "비트 블렌딩 녹차는 비트의 맛이 매우 진하고 강해서 놀랐다. 또한 제주에서도 홍차를 건조농산물과 블렌딩한 블렌딩 홍차도 개발해야 할 시점"이라고 말하면서 이번 시제품의 가능성을 매우 높게 평가해 눈길을 끌었다.

제주지역 관광특산물 시장에서 도매 유통을 하고 있는 성용제 대표는 "제주 관광특산물 시장에서 차 상품은 매우 열악하다. 굴피차, 황칠차 정도이다. 2가지 이상의 것이 혼합된 차는 신선하다. 특히 당유자와 한라봉은 제주만의 토속적인 상품이다. 경쟁력있는 가격을 책정하는 것이 매우 중요하다"고 말했다.

고성보 교수는 "제주지역 자생 농산물의 기능성에 주목한 상품 홍보가 필요하다. 원물 소비가 많은 것을 소재로 하여 상품개발이 이뤄지는 것이 중요하다. 그래야 시장 접근성이 용이하다"며 "한라봉과 당유자, 비트 등의 소재는 매우 적절하다고 생각한다"고 원물 소비 확대를 위한 제품개발의 중요성을 강조했다.

토론 중간에 지명훈 제주대학교 교수는 "당유자의 면역력 증가 및 항염 기능이 매우 탁월하다. 천식 기침에 효과가 매우 높게 나왔다. 비트는 조혈 기능이 매우 좋아 빈혈 치료에 유효하다"며 제품의 기능성에 대해 구체적으로 연구성과를 설명했다.

정승호 한국티협회 회장은 "최근에는 티톡스가 주목받고 있다. 티톡스는 차를 이용한 해독 작용이다. 제주의 특산물의 기능성을 접목시켜 블렌딩차를 마케팅하면 충분히 경쟁력이 있다. 세계적으로 유명한 루이보스차도 남아공의 특산품이다. 제주특산품인 제주블렌딩녹차도 명품으로 성장할 수 있다. 세계적인 명품과의 경쟁도 할 수 있다. 오늘의 블렌딩 녹차에 건조감귤초코를 조금 첨가해서 맛을 순화시키면 좋겠다."라고 하면서 향후 전망을 긍정적으로 평가하고 마지막 완제품 개발의 방향에 대해 의견을 제시했다.

윤철수 대표는 "아까 시음한 차의 맛과 향이 지금도 입안에 그윽하게 남아있다. 오늘 선보인 제품들이 제주의 3차산업과 연계할 수 있는 구체적인 방안이 마련되어야 할 것이다. 특히 지역 언론 노출을 통한 마케팅 방법도 좀 더 체계화할 필요가 있다"고 지적하면서 지역 언론을 활용한 상품 마케팅의 방법을 개척할 것을 주문했다.

이번 연구개발의 책임연구원인 장성철 대표는 "제주팜플러스가 보유한 '향 보전 건조 기술'에 의해 생산된 제주의 토속 농산물을 활용한 파생 상품 개발에 지속적인 노력을 기울일 것이다. 이번의 블렌딩 녹차를 반드시 소비자로부터 사랑받는 상품으로 성장시키겠다"며 행사를 마무리했다.



그림 5-20. 블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나 보도 자료  
(제주도민일보, 2016. 07. 17)

## 2. 전시 성과 (전시회 등 참여) -총 5건

### 가. 'PLMA in Chicago' 박람회 참가

유형	행사명	전시품목	장소	활용년도
박람회 참가	PLMA in Chicago	한라봉 블렌딩 녹차 제품 테스트	Rosemont Convention Center	2014



그림 5-21. Chicago에서 열린 PLMA 박람회- 한라봉 블렌딩 녹차 제품 테스트

나. ‘천연과일 블렌딩 녹차 시장의 현황 및 전망’ 전문가 초청 세미나 개최

유형	행사명	전시품목	장소	활용년도
전문가 초청 세미나 개최	천연과일 블렌딩 녹차 시장의 현황 및 전망	당유자, 레드비트, 한라봉 블렌딩 녹차 시음	제주 그랜드호텔	2015



그림 5-22. ‘천연과일 블렌딩 녹차 시장의 현황 및 전망’ 세미나

다. ‘제품개발을 위한 소비자 선호도 조사’ 시음회 개최

유형	행사명	전시품목	장소	활용년도
시음회 개최	제품 개발을 위한 소비자 선호도 조사	블렌딩 녹차실험제품	(주)경덕 녹차밭 입구	2015



그림 5-23. 제품 개발을 위한 소비자 선호도 조사 시음회 개최

라. ‘블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나’ 전문가 초청 시제품 발표 및 마케팅 세미나 개최

유형	행사명	전시품목	장소	활용년도
전문가 초청 시제품 발표 및 마케팅 세미나 개최	블렌딩 녹차 시제품 발표 및 마케팅 세미나	당유자, 한라봉, 레드비트 블렌딩 녹차 시제품	제주칼호텔	2016



그림 5-24. 전문가 초청 시제품 발표 및 마케팅 세미나 개최

마. ‘제품개발을 위한 소비자 선호도 조사’ 최종 시제품 시음회 개최

유형	행사명	전시품목	장소	활용년도
최종 시제품 시음회 개최	제품 개발을 위한 소비자 선호도 조사	당유자, 한라봉, 레드비트 블렌딩 녹차 시제품	(주)경덕 오프라인 매장 및 제품 전시장	2016



그림 5-25. 제품 개발을 위한 소비자 선호도 조사 시음회 개최

## 제 4 절 기술이전 및 교육지도 성과

### 1. 기술이전 성과

번호	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)
1	계약 기술	녹차와 당유자의 항염증 조성물 배합기술	제주대학교	2015년 7월 21일	2,000,000

### 2. 교육지도 성과

#### 가. 천연 과일향 블렌딩 녹차에 대한 자문 - (주)제주팜플러스

자문자	소속	자문내용
고성보	제주대학교 산업응용경제학과	제주브렌딩 녹차 시제품에 대한 자문

#### 제주브렌딩 녹차 시제품에 대한 자문

자문자 : 고성보 교수  
소속 : 제주대학교 산업응용경제학과  
일자 : 2016년 7월 14일

#### 자문 내용

- 브렌딩차의 개발함에 있어 소비자의 입맛에 익숙한 녹차를 베이스에 놓고 추가적인 재료인 한라봉, 당유자, 레드피프를 이용한 개발은 좋은 전략임. 왜냐하면 녹차도 기능성이 좋은 것으로 알려졌지만 레드피프, 한라봉, 당유자 등도 이에 못지않은 기능성물질을 함유한 것으로 연구됨에 의해 나열기 때문에 이종의 기능성, 입맛, 여분 기능성 등 녹차로 아이디어가 좋음.
- 녹차와 실가 재료인 레드피프, 한라봉, 당유자과의 비율은 현재의 비율을 기준으로 소비자가 익숙한 선에서 떨어져 마시는 형태로 가아 하면 마실 때 각 원료의 향과 시간, 물의 온도에 따라 다양한 맛을 느끼는 것이 좋을 것으로 보임. 즉 현재의 기존 혼합장도를 유지하되 너무 그 혼합비율에 신경을 쓰는 것은 바람직하지 않은 것으로 보임.
- 현재의 맛을 평가해 보면, 당유자 녹차는 맛이 강하다는 느낌, 한라봉은 원물에 비해 우려낸 차의 맛은 조금 약한 느낌, 피프 녹차는 보통의 느낌 정도이나 진한맛은 맛이 좋다고 평가됨. 차를 마시고 나서 한달 지난후에도 그 맛(좋은 느낌)이 오래가는 것은 좋은 평가를 받을 수 있을 것으로 보임.
- 마케팅 전략은 첫째, 가격전략은 최고급 프리미엄 전략(현재의 녹차

의 맛을차의 베이스를 그대로유지해안하고, 희박한맛이 아닌 기존의 고급녹차의 맛까지 포함시킬것임). 둘째, 대상은 저산위 소득 자원으로 계층, 연령, 홍보전략은 이종의 기능성의 장점을 활용한 홍보전략임.

- 녹차가 친환경(유기농)이고 맛과질이 전부 친환경이면 친환경차임을 강조하는 추가적인 안전, 안심 전략도 추가함. 단지 이렇게 되기 위해서는 안전성을 담보할 수 있는 증명자료의 확보는 소비자의 안전 욕구를 채우는데 매우 중요한 관건이 될 것임.

- 현재는 녹차기반이나 향후 차 선진국의 프렌드인 종자기반의 프렌드 차의 개발도 준비하는 것이 바람직함.

이상.

자문자	소속	자문내용
성용재	제주미르종합상사 대표	천연과일향 블렌딩 녹차 시제품 발표에 관한 자문

천연과일향 블렌딩 녹차 시제품 발표에 관한 자문

1. 성명: 양용진

2. 약력:  
제주미식품합조사 대표

3. 자문 내용

이번 제주산 당도자, 한라봉, 페르디트와 청정녹차를 이용하여 만든 블렌딩 녹차 시제품 발표회에 참석하게 됨을 감사하게 생각합니다.  
제주도 주시장이 조성돼가, 향신료, 향료자 등의 전문성은 있으나 대중화되지 못하여 선출시장유통에서는 힘든 경정을 하고 있는 것이 현실입니다. 그런 점에서 이런 향신료스의 참신하고 독특한 블렌딩 아이덴티티로 새로운 녹차시장을 개척하려는 제품개발 의지를 높이 평가 합니다.  
특히 도입이던 녹차나 일지않 쉽게 지나치는 당도자와 녹차를 블렌딩한 제품은 개발한 것은 선출시장의 니즈(need)를 충족시켜주는 탁월한 선택입니다.  
이에 수요층을 정확히 판단하고 여기에 알맞은 제품과 단가를 표방해서 유통하면 도내 선출시장의 제품 다양성과 고급화를 만들 수 있을것다 확신 합니다.

자문자	소속	자문내용
양용진	제주향토음식보전연구원장	천연과일향 블렌딩 녹차 시제품 발표에 관한 자문

천연과일향 블렌딩 녹차 시제품 발표에 관한 자문

1. 성명 : 양용진

2. 약 력 :  
제주향토음식보전연구원장

3. 자문 내용

1. 제주향신료스의 부트네를 활용한 블렌딩 제주 녹차는 발전 가능성이 매우 높은 상품으로 평가한다.
2. 원료가 되는 기초상품인 '부트네'와 그 가공기술은 유사상품들에 비해 향과 맛의 보편도가 뛰어나기 때문에 향을 중요하게 생각하는 '차'류 블렌딩 한다는 관상부터 뛰어난 기회이라 할 수 있고 아울러 제주 녹차의 경쟁력을 높여줄 수 있을 것으로 생각한다.
3. 특히 향자의 한 종류로 세계적으로 인정 받은 '일그레이'의 경우자면 세계적인 명품으로 인정적으로 기술 많은 가치가 있겠다.
4. 제주 녹차의 이미 그 가치를 인정받고 있지만 특질인의 향신료에 비해 한 상자의 평가를 제대로 인정받지 못하고 있으며 이를 보완하는 기회로 활용 했으면 좋겠다.
5. 페르디트 녹차의 경우 소량으로도 충분한 미트의 식감을 보여 주었고 페르디트 기능적인 부분은 최대한 부각시키길 바란다.
6. 한라봉 녹차의 경우 건조상표제시의 향이 매우 뛰어나지만 절충된 상표제시는 그 향이 많이 소멸된 편이 매우 아쉽다. 또한 한라봉의 경우에는 차가 보다는 조향대차가 더 어울릴 것으로 생각한다.
7. 당도자 녹차는 제주외 전통산음료로서의 당도자 녹차의 가치와 가능성을 부각시키길 바란다.
8. 아울러 제주향신료스의 부트네는 녹차와의 블렌딩 외에도 과실상향을 결합할 수 있는 기회점이 매우 높은 상품이므로 다양한 상품화를 생각할 수 있기를 바란다.

자문자	소속	자문내용
윤철수	헤드라인 제주 대표이사	천연과일향 블렌딩 녹차 시제품 발표에 관한 자문

**천연과일향 블렌딩 녹차 시제품 발표에 관한 자문**

전략적 결정이 있어야 함.

**1. 성명: 윤철수**

4) 시장을 세분화해 타겟을 명확히 하는 것과 더불어, 판매촉진 및 마케팅에 있어 언론홍보 및 PR 등 홍보마케팅 전략을 체계적으로 세워 추진해 나가는 것이 중요함.

**2. 약력:**

헤드라인제주 대표이사  
제주인문학회 감사  
제주대학교 강사(언론홍보학과)

결론적으로 1) 주요 소비자는 누구인가(타겟 설정) 2) 시장 분석(수요 및 공급 예측) 3) 제품브랜드 전략(홍보마케팅 전략) 4) 가격경쟁력 및 유통에 대한 전략적 검토가 필요함.

**3. 자문 내용**

1) 원물의 향과 색깔이 보존되는 특화된 건조기술에 의한 건조농산물과 제주산 청정 녹차를 결합한 '블렌딩 차' 시제품을 시용한 결과 맛이 그윽하고 기존의 차와는 차별성이 돋보임.

2년여의 연구개발 끝에 일찍이 성과를 올렸을 듯 평가할 수 있고, 또한 이번 연구과정에서 비트,안라봉,당유자 등에 함유된 기능성 성분도 높다고 하나, '기능성' 부분은 좀더 강조하는 전략이 필요.

2) 이번 시제품 개발이 3차 관광산업과 연계할 수 있는 방안에 대한 고민이 필요.

제주도에 많은 내외국인 관광객들이 몰리고 있는데, 이 블렌딩 제품이 관광시장과 잘 연계돼 판매가 촉진될 수 있는 전략적 방안이 검토될 필요가 있음.

3) 앞으로 이 시제품이 상품화돼 출시될 경우, 주요 소비자 타겟시장을 어떻게 설정할 것인가 하는 고민이 수반되어야 함.

예를들어 프리미엄 차라는 고급 브랜드 이미지로 전문차회습이나 호텔 등을 주요 시장으로 가져 나갈 것인지(고가 전략), 아니면 광범위한 유통매장을 통해 일반 소비자에 대량 판매하는 방식으로 갈 것인지(중저가 전략)에 대한

자문자	소속	자문내용
정승호	한국티협회 회장	제주브렌딩 녹차 시제품 발표에 관한 자문

## 제루브렌딩 녹차 시제품 발표에 관한 자문

한다면 세계 각 시장에 판매하기 위한 방안을 마련하는 데 그 어느 곳보다 유리하다고 볼 수 있  
다.

자문자 : 정 순 호

소속 : 한국티팩토리 회장

일자 : 2016년 7월 14일

우리가 원하는 녹차, 녹차물은 대부분 스프레이드 되었다. 하지만 국외의 많은 차 브랜드에서는 스프레이드 차 뿐 아니라 블렌딩 차와 블러이에도 차를 갖추고 있다. 또한 브랜드에서는 혼합 차가 스프레이드 차 보다 많은 비중을 차지하기도 하고 심지어 스프레이드 차가 많이 혼합 차로만 판매를 구형한 곳도 있다. 이러한 우호자 차를 접해볼때 있어서 스프레이드 차 뿐만 아니라 혼합 차에 대한 이해 역시 반드시 필요하다. 또한 특정 향미를 가진 블러이에도 차는 향을 이해하는데 많은 도움을 줄 수 있다.

블러이에도 차가 가진 향미 이외의 재료를 섞어 차에서 일반적으로 나지 않는 향이나 향이 나도록 만든 차를 말한다. 차는 나쁜 향이든 좋은 향이든 차 감에 향을 빠르게 흡수하는 성질을 가지고 있다. 이러한 성질을 차를 보관하는 과정에서 향미가 희기도 하지만 또 다른 면에서는 거품을 낼 수 있는 이유이기도 하다.

맛있이 단일하게 구성된 스프레이드 차를 제외한 모든 차류는 블렌딩 차이다. 블렌딩의 목적은 차를 가공의 균일하게 유지하는 것이다. 특히 특이한 생산자를 맞추기 위해서이다. 맛과 특이한 새로운 맛과 향을 가진 차를 만들기 위한 것이다. 이러한 다양한 이유로 블렌딩 차가 만들어지고 있다.

맛과 내용과 같이 차 블렌딩의 목적은 오랜 세월과 함께 건강, 용차, 그리고 다양한 문화와 깊은 관련을 맺으면서 발달해 왔다. 특히 오늘날에는 차를 제대로 알고 해석하는 문화와 함께 건강 목적의 차 문화도 확산되고 있어 과일과 혼합한 차 블렌딩의 의미를 재고할만한 양호의 국내 차 산업의 발전에 새로운 길을 열어 줄 것으로 보인다.

이러한 의미에서 진행 중에 있는 과일 혼합한 차 블렌딩을 활용하면 제루브렌딩차에서는 새로운 산업이 발전할 가능성이 높고추진한다. 만약 풍부한 향미 같은 주요 생산 과일 품을 얻어 녹차와 함께 사용하며 블렌딩 차, 정복한 맛이면 블러이에도 차를 대량 생산한다면 새로운 산업이 창출될 가능성이 높을 것이다.

특히 세계 각 시장에서는 스프레이드 차에서 블렌딩 차로 이동하고 있는 상황에서 제루브렌딩차 또는 한국산에서 차장하는 다양한 과일에서 생산되는 녹차 품을 이용하여 블러이에도 차를 생산

그림 5-26. 제품 개발을 위한 소비자 선호도 조사 시음회 개최

### 나. 한라봉 블렌딩 녹차, 당유자 블렌딩 녹차 및 레드비트 블렌딩 녹차 제품 생산 관련 자문 - ㈜경덕 (다희연)

자문자	소속	자문내용
성민창	한국티팩토리 주식회사	제품 생산 관련 자문

농업회사법인 경덕 주식회사  
제품 생산 관련 자문

제 품	한라봉 녹차 / 담양차 녹차 / 비트 녹차
의 령 사	농업회사법인 경덕 주식회사
대 표 자	주 시 봉
수 행 기 간	2016년 5월 15일 ~ 2016년 6월 15일

한국티팩토리(주)는 상기회사의 자문의료를 받아 아래와 같이 생산 자문을 드립니다.

- 내 용 -

품 명	규 격	단 위	주 생산 비율	테 슷트 비율
한라봉 녹차	삼각티백	1.2g	한라봉 40% : 녹차 51%	한라봉50% : 녹차 50%
담양차 녹차	삼각티백	1.2g	담양차 40% : 녹차 51%	담양차50% : 녹차 50%
비 트 녹차	삼각티백	1.2g	비 트 10% : 녹차 90%	비 트 10% : 녹차 50%

생산공정 < 공 통 >

1. 원물검사(육안검사) : 한라봉(제주산), 담양차(제주산), 비트(제주산), 녹차(제주산)

2. 분쇄

1) 한라봉(과육분분모함) : 2-5mm로 분쇄 250RPM / 10MESH : 분쇄 후 과육분 제거

2) 담양차 : 2-5mm로 분쇄 350RPM / 10MESH : 분쇄 후 과육분 제거

3) 비트 : 2-5mm로 분쇄180RPM / 10MESH : 분쇄 후 과육분 제거

3. 혼합

1) 한라봉 녹차 : 50% : 50% 비율 테스트

2) 담양차 녹차 : 50% : 50% 비율 테스트

3) 비 트 녹차 : 50% : 50% 비율 테스트

\*혼합차이 발생 후 24시간 보관 후 생산

4. 티백 생산

\* 과실과는 별도로 만강하므로 생산할 온도 18℃ / 습도 30% 이하 환경조성 후 생산

2016년 07월 15일

한국티팩토리 주식회사

대표이사 양민홍



그림 5-27. 제품 개발을 위한 소비자 선호도 조사 시음회 개최

다. 제주지역 차 생산 및 유통에 관한 자문 - (주)제주팜플러스

<별지1> 제주도에 적용할 예정인 연구 용역 보고서



그림 5-28. 제주지역 차 생산 및 유통 현황 (미래리서치)

## 제 5 절 기술 및 제품인증 성과

### 1. 유가공식품 인증 성과 -농업회사법인(주)제주팜플러스

구분	인증분야	인증기관	인증내용		인증획득일	국가명
			인증명	인증번호		
인증	유가공식품	(사)제주농림수산식품인증센터	유가공식품	제75-8-12호	2014.11.09	대한민국

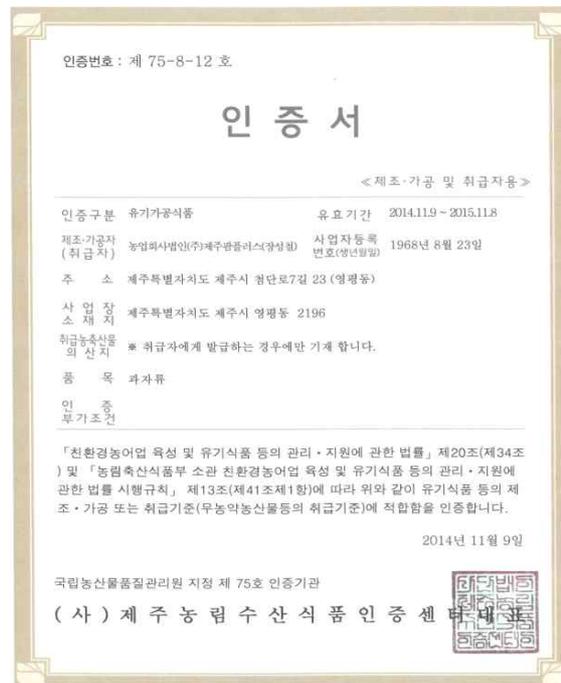


그림 5-29. 유가공식품 인증서 (농업회사법인(주)제주팜플러스)

### 2. 유가공식품 인증 성과 -농업회사법인(주)경덕

구분	인증분야	인증기관	인증내용		인증획득일	국가명
			인증명	인증번호		
인증	유가공식품	(주)비씨에스코리아	유가공식품	제71-8-69호	2016.10.05	대한민국



그림 5-30. 유기농식품 인증서

## 제 6 절 매출창출 성과

1. 경덕(다희연) 동굴 카페에서 레드비트 블렌딩 녹차, 당유자 블렌딩 녹차, 한라봉 블렌딩 녹차를 카페 메뉴로 추가하여 동굴 카페를 방문하는 관광객을 대상으로 판매하여 매출을 창출함

[첨부] 농업회사법인 다희연 오르래인베스트(다희연 동굴카페) 매출원장 (2016년 10월 8일)

NO	가명	상품코드	상품명	대분류	중분류	소분류	상품구분	과제구분	성가	판매가	수량	발급금액	재출금액	부가세	지티매출
1	동굴커피														
2	동굴커피														
3	동굴커피														
4	동굴커피														
5	동굴커피														
6	동굴커피														
7	동굴커피														
8	동굴커피														
9	동굴커피														
10	동굴커피														
11	동굴커피														
12	동굴커피														
13	동굴커피														
14	동굴커피														
15	동굴커피														
16	동굴커피														
17	동굴커피														
18	동굴커피														
19	동굴커피														
20	동굴커피														
21	동굴커피														
22	동굴커피														
23	동굴커피														
24	동굴커피														
25	동굴커피														
26	동굴커피	10000109	당유자녹차티백	대분류	차시계열	음료류	일반	Y	5,000	5,000	12	60,000	0	0	0
27	동굴커피	10000111	한라봉녹차티백	대분류	차시계열	음료류	일반	Y	5,000	5,000	18	77,778	2,222	202	2,000
합계															

그림 5-31. 매출원장 및 동굴 카페 사진



## 1. 활용방안

- 가. 제주산 농식품을 이용한 면역증강능을 지닌 천연과일향 블렌딩차를 개발하여 프리미엄 차시장 진출
- 나. 제주에서 생산된 차 종류의 확대에 의한 프렌차이즈 등 다양한 사업의 기회를 높임
- 다. 협소한 순수 녹차 시장과 비교하여 천연과일향 블렌딩 녹차는 글로벌한 시장인 점을 고려할 때 제주의 전략적 고부가가치 수출 상품으로써의 가능성을 높임
- 라. 제주산 농식품을 이용한 기능성 식품의 개발과 추가적으로 요구되는 면역활성 연구를 수행함으로써 지역거점대학과 지역산업체간 산학연 연계 활성화를 유도함

## 2. 파급효과

### 가. 기술적 파급효과

- (1) 저온열풍복합건조 공정을 이용하여 제주산 농산물에 대한 유효활성성분이 보존되고 신선도 유지가 가능한 최적의 생산 건조 조건 확립 및 구축
- (2) 면역력 증진 및 면역조절 효과를 나타내는 레드비트 블렌딩 녹차, 한라봉 블렌딩 녹차 및 당유자 블렌딩 녹차 개발
- (3) 면역력 증진 및 면역조절 효과를 나타내는 레드비트, 한라봉 및 당유자에 대한 특허 출원을 통한 지적재산권 확보
- (4) 기존의 녹차 및 건조과일 제조기술의 발전 및 부가가치 창출

### 나. 경제산업적 파급효과

- (1) 한계에 봉착한 제주녹차산업의 판로를 모색하고 다양한 품종의 제주감귤 및 고급 양채류의 생산 기반 확대를 통한 고부가가치 1차 산업 창출
- (2) 협소한 순수 녹차 시장과 비교하여 천연과일향 블렌딩 녹차는 글로벌한 시장인 점을 고려할 때 제주의 전략적 수출 상품으로써의 가능성을 높임
- (3) 기존의 인공적인 합성착향료가 첨가된 과일 블렌딩 차에 견주어 100% 천연과일향 블렌딩 녹차를 개발함으로써 청정 제주 농식품 산업의 수준 향상에 기여

### 다. 관련 농업인 또는 소비자 측면 파급효과

- (1) 제주 감귤류(한라봉, 당유자)의 향과 맛이 독특한 새로운 감귤 품종에 대한 수요 증가로 인한 농가의 수익 증대 및 감귤류 시장 확대
- (2) 세계적으로 널리 퍼진 웰빙 열풍으로 커피를 선호하던 소비자들이 보다 나은 건강을 위해 차류에 눈길을 돌리고 있으며, 기존의 합성착향료가 첨가된 과일 블렌딩 차가 아닌 100% 천연과일향 블렌딩 녹차를 개발함으로써 소비자의 요구에 부합

## 제 6 장 연구실 안전관리 이행실적

### 가. 제주대학교 연구실안전관리 조직

안전관리위원회	안전관리부서 (시설과)	연구실 소속대학 (학장)	연구실 책임자
<ul style="list-style-type: none"> <li>연구실안전을 위한 기본계획 수립</li> <li>중대한 안전사고 처리</li> <li>연구실 안전환경 증진 주요사항</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>연구실 안전점검, 연구활동종사자의 보험가입 및 건강검진</li> <li>연구실 안전관리 활동과 관련된 제반사항</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>연구실 책임자 지정</li> <li>연구활동종사자의 관리</li> <li>안전교육대상자 선정</li> <li>안전사고 발생 시 원인, 경위 조사, 사후처리 및 대책 강구</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>연구활동종사자의 신고</li> <li>연구활동종사자에 대한 안전 교육 및 지도</li> <li>연구실의 시설물, 장치, 시약, 폐액(폐기물) 및 기타 위험물 등의 관리</li> <li>연구실 일상점검 실시</li> <li>각종 안전사고예방과 사고발생 보고</li> </ul>

### 나. 연구실 안전점검

일상점검	정기점검	정밀안전진단
점검주기: 매일 1회 점검주관: 연구실 책임자 점검자: 연구실 책임자 (안전관리자)	점검주기: 연 1회 점검주관: 안전관리부서 진단기관: 일정 자격요건을 갖춘 전문기관	점검주기: 2년 1회 점검주관: 안전관리부서 진단기관: 일정 자격요건을 갖춘 전문기관

### 다. 연구활동종사자 안전교육

- 교육시간: 6개월에 6시간 이상 교육 이수
- 교육대상: 연구활동종사자 전원
- 교육방법: 전문기관 위탁 집합교육 2회(상·하반기)
- 기 타: 자체 안전교육(분기별 교육결과 확인)

### 라. 연구활동종사자 보험가입

- 대 상: 연구활동종사자(학부생, 대학원생, 연구원, 연구보조원) 전원
- 보상한도: 사망/휴유장애(1급) 1억원/인, 상해 1천만원/인  
**※ 재산종합보험(교육시설 재난공제회), 교직원, 학생 상해보험은 별도 가입**

### 마. 연구활동종사자 건강검진

- 검진종류: 특수건강검진
- 검진대상: 과학기술분야 연구개발 활동에 종사하는 연구원·대학생·대학원생 및 연구보조원 등

### 바. 기타

- 안전물품 보급(가스 전도방지 장치, 안전표지, 세안기 등)

- 폐수 및 폐시약 처리
- 연구실 전기분전함 정비 및 환경개선 공사
- 실내공기질 측정

사. 연구실 안전 추가 계획(연구실 안전정보망 구축)

- 실험실 현황을 구체적으로 파악하고, 효율적인 연구실 안전관리를 위하여 별도의 시스템 구축
- 연구실 등재
  - 안전관리자(정: 교수, 부: 대학원생 등), 실험분야, 연구실 현황 등재
  - ※ 연구실명, 호실, 면적, 건물명, 대학(학과), 위험등급, 상주인원, 안전시설, 고압가스, 주요실험, 안전보호장구, 위험화학약품, 배치도 등
- 안전사고 신고
  - 연구실 안전사고 발생 시 관리자 모드로 실시간 전송
- 안전점검 실시
  - 정기점검(정밀안전진단 포함) 결과 등록, 안전관리 활용
  - ※ 지적사항 개선 현황 등 사후관리 포함
  - 일일점검(자체) 후 정보망 등록(월별 출력 후 안전관리자 결재)
- 안전교육(사이버 교육) 실시
  - 수강신청, 온라인 학습, 시험평가, 수료증 출력
- 실험폐기물(폐수, 폐시약) 현황 등록
  - 폐기물 수거 신청, 폐기물 처리 현황
- 보험가입, 건강검진 현황 등 안전관리자료 등록
- 연구실 안전물품 신청
- 연구실 안전관련 제반사항
  - 공지사항, 제안사항, 묻고 답하기, 자료실 등

## 제 7 장 참고문헌

- (1) **Eric J. Hall.** Radiobiology for the radiologist 5<sup>th</sup> edition.
- (2) **Malek TR, Castro I.** Interleukin-2 receptor signaling: at the interface between tolerance and immunity. *Immunity.* 2010;33(2):153-65.
- (3) **Ninfali P, Angelino D.** Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris cicla* and *rubra.* *Fitoterapia,* 2013;89:188-99.
- (4) **Song EY, Choi YH, Kang KH, Koh JS.** Free sugar, organic acid, hesperidin, naringin and inorganic elements changes of chefu citrus fruits according to harvest dat. *Korean J Food Scie Technol.* 1998;30(2):306-312.
- (5) **Lee HJ, Kang GJ, Yoon WJ, Kang HK, Kim YS, Kim SM, Yoo ES.** Anti-inflammatory effect of Unripe fruit of *Citrus grandis* Osbeck in ROW264.7 and HaCaT cell. *Kor J Pharmacong.* 2006;37(2):74-80.
- (6) **Lim HK, Yoo ES, Moon JY, Jeon YJ, Cho SMK.** Antioxidant activity of extracts from Dangyuja(*Citrus grandis* Osbeck) fruits produced in Jeju island. *Food Sci Biotechnol.* 2006;15(2):312-316.
- (7) **Moon JY, Kim H, Cho M, Chang WY, Kim C, Cho SMK.** Induction apoptosis in SNU-16 human gastric cancer cels by the chloroform fraction of an extract of Dangyuja(*Citrus grandis*) leaves. *J Korean Appl Biol Chem.* 2009;52(2):168-175.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치 식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치 식품기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.