

11-  
1543000  
-002464  
-01

발 간 등 록 번 호

11-1543000-002464-01

나주배의 고부가가치화를 통한 지역산업 활성화 연구 최종보고서

2019

농림수산식품부

고부가가치식품기술개발사업 R&D Report

# 나주배의 고부가가치화를 통한 지역산업 활성화 연구 최종보고서

2019.01.14

주관연구기관 / 전남대학교 산학협력단  
협동연구기관 / Nature in lab  
이 · 조은산소  
나주시 농업기술센터

농 립 축 산 식 품 부

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “나주배의 고부가가치화를 통한 지역산업 활성화 연구 (고부가가치식품기술개발사업)”(개발기간 : 2015. 10. ~ 2018. 10.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 11. 25.

주관연구기관명 : 전남대학교 산학협력단	송진규 (인)
협동연구기관명 : 전남대학교 산학협력단	송진규 (인)
Nature in Lab	문제헌 (인)
나주시농업기술센터	이상목 (인)
이·조은산소(주)	김태용 (인)
참여기관명 : 전남대학교 산학협력단	송진규 (인)
Nature in Lab	문제헌 (인)
나주시농업기술센터	이상목 (인)
이·조은산소(주)	김태용 (인)

주관연구책임자 : 문제학

협동연구책임자 : 전태일, 문제헌, 박상철, 김태용

참여기관책임자 : 문제학, 전태일, 문제헌, 박상철, 김태용

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 배 부산물(낙과, 비상품과, 미성숙과, 착즙박, 전정가지)의 유용성 구명.</li> <li>○ Malaxinic acid (MA)의 쥐 경구투여 후 혈장 내 <i>in vivo</i> 생리활성 평가.</li> <li>○ 저분자 페놀성 화합물의 라디칼 소거능 및 속도에 관한 구조·활성 상관관계.</li> <li>○ 배 유효성분의 세포 지방축적 및 미토콘드리아 기능 조절 규명.</li> <li>○ 배 유효성분의 대사 및 인슐린 신호 조절 규명.</li> <li>○ 나주배 착즙박을 활용한 고부가가치화 기술 개발.</li> <li>○ 나주배의 고부가가치 산업화 전략 수립 및 식품개발.</li> <li>○ 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 고부가가치 식품 개발.</li> </ul>
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 배 부산물(전정가지, 착즙박, 미성숙과)과 성숙과에 함유된 지표성분을 도출하고, 정량 및 항산화 활성 비교.</li> <li>○ 배 부산물의 유용소재로써의 활용가능성을 위한 과학적 근거 제시</li> <li>○ 특히, 배나무 전정가지의 성분학적·기능학적 우수성 입증</li> <li>○ 배 함유 자궁경부암세포 사멸효과 발현 성분인 malaxinic acid (MA)의 혈중 대사체 구조 해석 및 pharmacokinetics 평가.</li> <li>○ MA 대사체들의 혈중 항산화능 발현 여부평가(cholesteryl ester hydroperoxide; CE-OOH 생성억제능 평가) ⇒ 항동맥경화 예방인자로서의 작용 가능성 평가.</li> <li>○ 항산화제의 상대적인 radical-scavenging speed 평가방법 새롭게 확립.</li> <li>○ 배는 물론 다양한 식품 중에 널리 함유되어 있는 저분자 페놀성 화합물을 대상으로 새롭게 확립된 방법을 이용하여 radical-scavenging 수 및 상대적인 radical-scavenging 속도를 계통적으로 비교 ⇒ pH 의존성에 따른 유용 항산화제의 도출.</li> <li>○ 페놀성 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생(환원) 여부 평가방법을 새롭게 확립.</li> <li>○ Ascorbic acid와 redox cycle system에서 작용 가능한 후보 화합물 군 도출.</li> <li>○ 배추출물과 MA의 지방세포분화 억제 및 근육세포 미토콘드리아 호흡기능 향상 증명.</li> <li>○ 배추출물과 MA의 지방산 산화율 향상효과 및 adipogenesis 유전자 (PPAR<math>\gamma</math>, C/EBP-<math>\alpha</math>, FABP4, FASN)발현 억제 증명.</li> <li>○ 배추출물과 MA의 ER stress (IRE1<math>\alpha</math>, XBP1s, PERK, eIF2<math>\alpha</math>), 염증성 cytokine IL-1<math>\beta</math>, autophagy (TFEB, ULK1, ATG16L1, LC3A) 유전자 발현 억제 증명.</li> <li>○ 배착즙박을 효소 가수분해하여 biomass로서 이용 가능한 단당류 생성.</li> <li>○ 배착즙박을 효소 가수분해하여 유용기능성 올리고당류 생성.</li> <li>○ 나주배 미성숙과 및 비상품과로부터 색소 추출법, 농축 및 분말화 공정 확립·응용.</li> <li>○ 미성숙과 및 비상품과로부터 추출한 색소를 이용하여 표준레시피 개발.</li> <li>○ 미성숙과 색소를 이용하여 색조가 개선된 적색 발효색소 제조.</li> <li>○ 미성숙과와 착즙박 등의 배 부산물 및 폐기자원을 이용한 가공식품 개발.</li> <li>○ 응용제품의 생리활성 성분 및 주요성분 분석을 통한 객관적인 data 확보.</li> <li>○ 배 부산물의 기능성 규명을 통한 건강기능식품 원료로 활용 가능성 평가.</li> </ul>
<p>연구개발성과의 활용계획</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 배 부산물들의 활용 가능성을 제시함으로써, 천연 미백 또는 항산화 화장품 및 천연 의약품 개발의 소재 확보를 통해 국내 기업들의 기술력과 경쟁력 증대</li> </ul>

(기대효과)

- 효과 기대됨.
- 또한 배 부산물들의 폐기 비용을 절감시켜 배농가의 부가가치 창출에 기여 가능.
- 배 및 부산물에 함유된 주요성분의 생리활성을 규명함으로써 배 및 부산물의 홍보 및 활용성 증대.
- MA 대사체의 구조결정 결과를 바탕으로 페놀성 화합물의 체내 흡수기전을 제어할 수 있는 원천기술을 응용하여 신규 lead compound 및 의약품 개발 가능성이 기대됨.
- MA의 자궁경부암세포 사멸효과가 보고된 내용에 더하여 MA의 혈중 대사체 및 혈액 산화억제능을 바탕으로 한 항동맥경화 효과에 관한 내용 도출로 배의 대표적인 star compound 발굴에 의한 배 홍보자료 제공을 통해 배의 내수 및 수출 활성화가 기대됨.
- 새롭게 확립된 radical-scavenging 속도 평가방법을 적용하여 식품 및 의약품 분야에 있어 목적에 적합한 항산화제 선택 기준을 제시 가능.
- 전량 폐기되어지고 있는 배착즙박을 효소가수분해를 통해 biomass 소재뿐만 아니라, 유용 기능성 올리고당 생성 원료로 활용하여 기능성 사료, 다이어트 소재, 프리바이오틱스 등으로의 실용화가 기대됨.
- 성숙과는 물론 미성숙과보다 arbutin 및 malaxinic acid의 함량이 현저히 높은 전정가지를 다양한 용도로 활용성을 개발함으로써 배 농가의 소득창출이 기대됨.
- 미성숙과, 낙과 및 비상품과로부터 추출 및 동결건조한 천연색소 소재는 폐기 자원의 활용도를 높일 수 있는 방법으로 농가소득 증대와 지역내수 활성화에 기여할 것으로 사료됨.
- 배 부산물을 활용하여 개발된 제품의 지속적인 생산을 통해 새로운 부가가치 창출 및 농가소득 증대가 기대됨.
- 배 및 그 부산물을 활용한 레시피를 일반인들에게 제공함으로써 배의 수요 창출 확대가 기대됨.
- 미활용자원 배 미성숙과를 이용한 가공식품의 개발로 배 농가소득 창출이 기대됨.
- 배 미성숙과의 우수성을 이용한 개별인정형 기능성 식품 개발 가능  
(기술이전 3건 완료 → 산업체에 의해 현재 제품화 실행중)
- 과학적이고 객관적인 data로 원천기술을 확보함으로써 적극적인 국내외 시장 공략 가능.
- 기존에 폐기 및 처리가 곤란했던 배 부산물의 활용성을 발굴함으로써 배 과수 단지의 환경 친화적 여건 조성
- 새로운 항산화 활성 평가법(상대적인 radical-scavenging 활성 평가법, 산화 페놀성 화합물의 ascorbic acid에 의한 재생 가능성 평가법)의 개발은 응용성에 더하여 관련 연구분야의 학문적 측면에 있어서의 발전에 기여가 기대됨.

국문핵심어 (5개 이내)	나주배	기능성 식품	가공제품	지표물질	유과
영문핵심어 (5개 이내)	NAJU PEAR	FUNCTIONAL FOOD	PROCESSED FOOD	INDICATING COMPOUND	IMMATURE FRUIT

# 목 차

1. 연구개발과제의 개요	
1-1. 연구개발 목적 및 필요성 .....	1
2. 연구수행 내용 및 결과	
- 저분자 Phenol성 화합물의 Radical Scavenging 수 및 속도에 관한 구조-활성 상관관계 ...	13
- 2,3- 및 3,4-DHBA의 혈중 흡수·대사, Pharmacokinetics 및 혈장산화 억제 효과 ...	69
- Malaxinic Acid (MA)의 쥐 경구투여 후 혈장 내 <i>In Vivo</i> 생리활성 평가 .....	79
- 나주배의 발효에 따른 유용성 향상 검증 .....	89
- 화장품 소재로서의 응용성 평가: 배 미성숙과로부터 Arbutin 정제법 개선 .....	110
- 배 착즙박의 활용성 향상을 위한 연구 .....	123
- 배 부산물(낙과, 비상품과, 미성숙과, 착즙박, 전정 가지)의 유용성 구명 .....	133
- 배 및 그 부산물의 생리활성 평가 및 주요 지표성분의 정량 .....	156
- 배 가공 식품 제작을 위한 안전성 평가 .....	181
- 지방축적 억제효과 연구 필요성 및 선행연구 결과와의 연계성: 배 유효물질 Malaxinic Acid	186
- 배를 이용한 기능성 식품화 기술 개발 .....	195
- 나주배의 생과, 유과, 착즙박을 이용한 화장품 원료 제품 개발 .....	211
- 나주배의 고부가가치 산업화 전략 수립 및 식품개발 .....	218
- 나주배를 이용한 전통식품 레시피 종합연구 정리 .....	248
- 나주배의 생과, 유과를 이용한 천연색소 소재 개발 .....	269
- 나주배의 고부가가치화 제품의 지역 전략 산업화를 위한 연계전략 구축 .....	309
- 나주배 제품의 지역 전략 산업화를 위한 실증 모델 개발을 통한 실증 .....	326
- 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 페놀성 화합물 함유 향산화 배음료 제품개발을 위한 추출물 개발	340
- 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 고부가가치 식품의 개발 .....	344
- 나주배 와 나주배유과 그리고 부산물인 착즙박을 이용한 제품생산 .....	363
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	
3-1. 목표 .....	380
3-2. 목표 달성여부 .....	384
4. 연구결과의 활용 계획 등 .....	402
참고문헌 .....	404
기술가치평가 보고서 .....	416
연구 성과 및 목록 .....	446

## 1. 연구개발과제의 개요

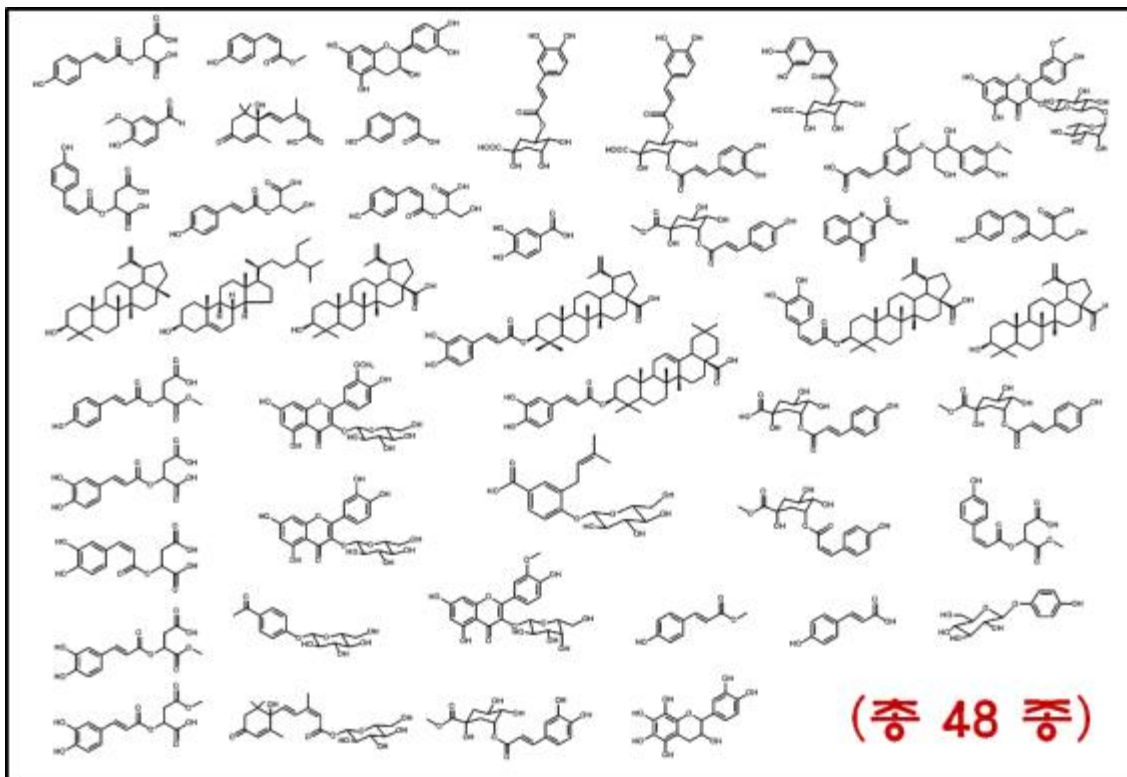
### 1-1. 연구개발 목적 및 필요성

#### <제1세부> 문체학 교수 (전남대)

▶ 과제명: 지리적 표시제 농산물 “나주배”의 고부가가치 지표물질 규명 및 제품화 지원

#### ▣ 선행연구 결과 및 선행연구와 본 연구과제와의 연계성

- 본 연구과제에서 수행하고자 하는 연구 내용이 “배수출연구사업단” 연구과제(2008-2013, 5년, iPET 지원)를 통해 확보된 본 연구그룹의 선행연구 결과와 밀접하게 관련성이 있어 먼저 그 선행연구 결과를 부분적으로 제시함.
- 배 함유 생리활성 화합물의 단리·정제 및 구조결정 연구를 통해 다종의 신규 화합물을 포함하여 약 50여 종의 화합물(참고-1)을 분자수준에서 밝혔음.

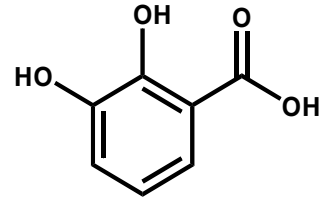


참고-1. 선행연구에 의해 구조가 밝혀진 배 함유성분.

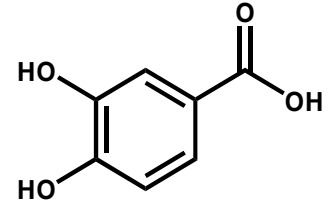
#### <3,4- 및 2,3-Dihydroxybenzoic Acids의 연구 필요성 및 선행연구 결과와의 연계성>

- 본 연구그룹의 선행연구에 의해 3,4-dihydroxybenzoic acid (3,4-DHBA)가 배에 함유되어 있음이 확인되었음.

- 또 선행연구를 통해 malaxinic acid (MA)가 배에 함유되어 있음도 처음으로 확인되었음.<sup>1)</sup>
- MA는 항균활성은 물론 자궁경부암세포 사멸효과가 있음이 밝혀진 바 있음.
- 선행연구를 통해 MA는 타 페놀성 화합물에 비해 혈액에 흡수속도 뿐만 아니라 흡수 농도 또한 높은 것으로 평가되었음.
- 그 이유로, 벤젠환에 결합된 carboxylic acid기의 존재가 흡수 속도 및 흡수율에 영향을 미치는 것으로 해석되었음.
- 3,4-DHBA는 항산화 active site인 catechol 구조를 가지고 있으며, 벤젠환에 carboxylic acid기 또한 결합되어 있어 혈액으로의 흡수율뿐만 아니라 흡수 속도에 있어 우수한 조건을 갖추고 있을 가능성이 높을 것으로 판단되었음.
- 또한 2,3-DHBA는 아스피린 합성의 전구체이며, 실질적으로 체내에서 아스피린의 생리활성을 발현하는 활성 본체인 salicylic acid (SA)에 수산기가 1개 더 결합된 구조를 지닌 화합물임.
- 따라서 배에 함유된 유용 생리활성 화합물의 한 대상 인자로 3,4-DHBA를 선정하였으며
- 3,4-DHBA의 혈액으로의 흡수·대사에 관한 연구를 수행할 필요가 있다고 판단하였음.
- 또한 3,4-DHBA와 수산기의 결합위치만이 다른 2,3-DHBA를 대조구로 설정하였으며, 3,4-DHBA뿐만 아니라 2,3-DHBA 또한 배에 함유 여부 및 정량의 필요성이 있다고 판단되었음.
- 본 연구는 제1세부과제에서 수행하였음.



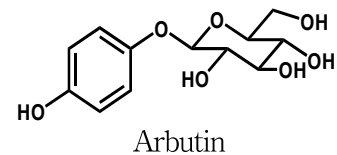
2,3-Dihydroxybenzoic acid



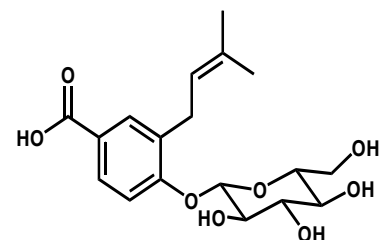
3,4-Dihydroxybenzoic acid

#### <미백효과 연구 필요성 및 선행연구 결과와의 연계성: Arbutin 및 Malaxinic Acid>

- 상기 참고-1의 자료에 제시하였듯이 선행연구를 통해 배의 주요 함유성분 중의 하나로써 arbutin이 존재함이 확인되었음.
- 뿐만 아니라 arbutin은 배에 가장 함유량이 높은 화합물임이 확인되었고
- 특히 배의 미성숙과 중에 그 함량(0.4-1 g/100 g F.W., 개화 20일 후 미성숙과)이 매우 높음이 확인되었음.
- Arbutin은 미백효과가 뛰어나 화장품의 미백소재로 활용되고 있음.
- 그러나 전량 외국으로부터 수입에 의존하고 있는 실정임.
- 천연 arbutin의 국내 생산이 가능해짐으로써 수입의존성을 극복할 수 있음.
- 이에 선행연구를 통해 배 미성숙과로부터 arbutin의 정제법을 확립한 바 있음.
- 그러나 선행연구 종료 후, 기술이전을 통해 산업화를 추진하는 과정에서 현실적으로 실용화하는데 어려운 점이 있음이 확인되었음.
- 그 문제점은 다음 표에 제시한 바와 같음.



Arbutin



Malaxinic acid

	기존 방법	대량 정제시 문제점
추출법	80% MeOH 추출 (유기용매 추출)	유기용매의 사용이 제한됨
용매분획	H <sub>2</sub> O/EtOAc	시간 및 경제적 문제
추출물 농축	감압농축	시간 및 경제적 문제
Open column chromatography	Diaion HP-20 column chromatography (10% EtOH 용출획분)	Diaion HP-20 column chromatography (10% EtOH 용출획분)

- 이와 같은 선행연구에서의 문제점을 해결하여 산업화에 연결시킬 수 있는 실용적 측면에서의 개선이 요구되었음.
- 따라서 본 연구를 통해 상기 문제를 해결하고자 하는 추가 연구를 행하고자 하였음.
- 본 arbutin 관련 추가 연구는 제1세부과제에서 수행하였음.
- 이와 같은 선행연구결과를 바탕으로 배 미성숙과를 활용한 화장품 소재 개발 연구가 제1협동 연구에서 수행하게 되었음.
- 또한 배 미성숙과의 항산화 활성이 현저히 높고, 피부미백에 관련된 다종의 유용 페놀성 화합물의 함량이 매우 높음도 확인된 바 있음(Cho JY et al. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 37-41. 2014).<sup>(1)</sup>
- 이에 제1협동과제 연구의 제품화 지원을 위한 기초자료 확보를 위해 제2세부과제에서 세포실험을 통한 피부미백효과에 관한 평가 실험을 수행하게 되었음.
- 또한 MA가 우수한 항균효과를 발현한다는 타 연구그룹의 선행연구 결과(Hayashi K et al. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1521-1524. 1999)<sup>(2)</sup>를 바탕으로, 배 미성숙과에 함유되어 있음이 확인된 MA의 화장품 소재로서의 응용 가능성을 검토하기 위해 MA의 피부미백효과를 제2세부과제에서 검토하였음.

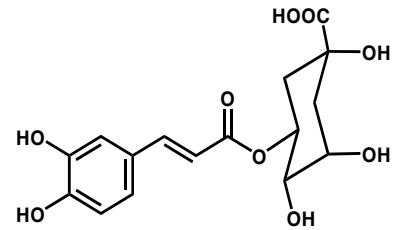
#### <배 부산물(낙과, 비상품과, 미성숙과, 착즙박, 전정 가지)의 유용성 구명>

- 타 과실류에 비해 배는 유용 함유성분의 연구 측면에 있어 발전성을 보이지 못했음.
- 특히, 서양배에 비해 국내산 품종을 포함한 동양배의 경우 생리활성 성분에 관한 연구가 거의 수행되지 못한 실정이었음.
- 그러나, 본 연구그룹의 선행연구를 통해 배 함유 유용 생리활성 화합물의 구명에 관한 연구가 체계적으로 수행되어 배, 배 과피 및 배 미성숙과(유과)로부터 51 종 화합물이 단리·구조결정된 바 있음(참고 1).<sup>(3-13)</sup>
- 한편, 배의 재배과정에서 얻어지는 낙과 및 하급품의 가공 과정에서 얻어지는 착즙박, 그리고 배나무의

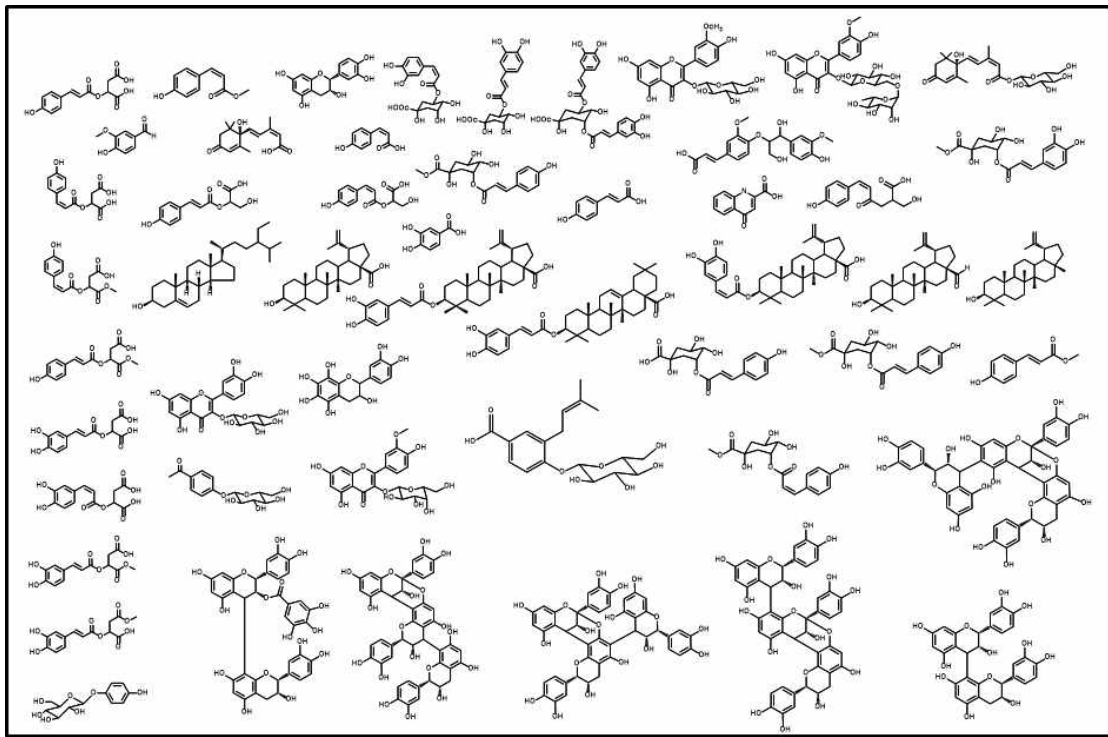


수형유지를 위해 제거되는 전정가지가 매년 다량으로 발생되고 있음.

- 그럼에도 불구하고 이들 배 부산물에 관한 유용성 및 활용성에 관한 연구는 거의 전례가 없는 실정임.
- 이에, 본 연구에서는 배의 미활용 부산물인 착즙박, 미성숙과 및 전정가지를 대상으로 유용성을 밝히고, 그 활용 가능성을 제시함으로써
- 배 농가소득의 향상을 위한 부가가치 창출에 기여할 수 있는 기초적 자료를 확보하고자 하였음.
- 본 연구그룹으로부터 배 함유성분으로 확인된 유용 생리활성 화합물들 중 arbutin, chlorogenic acid 및 malaxinic acid가 주요성분으로 함유되어 있으며,<sup>(3)</sup> 그 함유량이 높은 편은 아니나 3,4-dihydroxybenzoic acid (3,4-DHBA) 및 2,3-dihydroxybenzoic acid (2,3-DHBA) 또한 의미있는 생리활성 화합물인 것으로 평가된 바 있음.<sup>(14)</sup>
- 따라서 본 연구에서는 상기의 5종 화합물을 지표성분으로 하여 배 부산물들 중의 함량을 비교하고,
- 총 페놀성 화합물 및 총 flavonoid 함량에 더하여 항산화 활성을 비교·평가하고자 하였음.



Chlorogenic acid



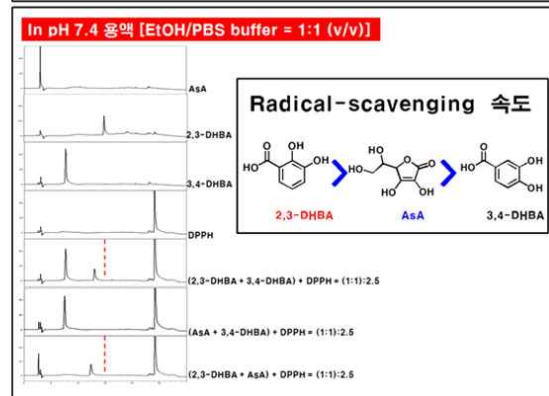
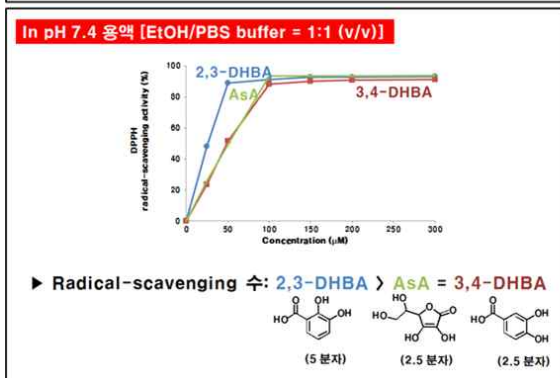
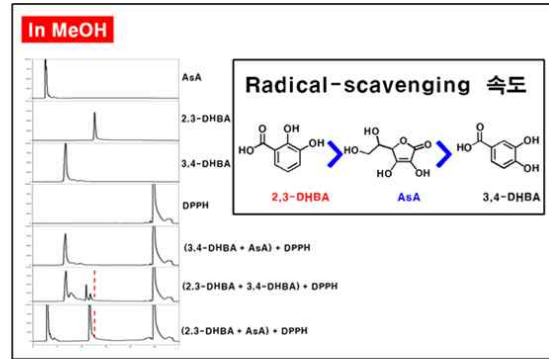
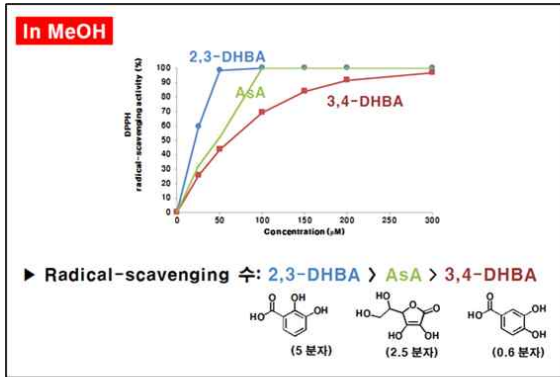
<참고 1. 선행연구를 통하여 배부터 단리·구조결정 된 51 종의 화합물<sup>(3,13)</sup>>

- 분석대상 5종 화합물의 특징 및 본 연구그룹의 선행연구 결과

화합물	특징 및 본 연구그룹의 선행연구 결과
Arbutin	피부 미백효과 우수, 배에 가장 다량 함유된 성분, 배 미성숙과로부터 고순도 대량 간이 정제법 확립(본 연구과제에서 추가실험 수행)
Chlorogenic acid	배에 두 번째로 다량 함유된 성분, 배 미성숙과로부터 고순도 대량 간이 정제법 확립, 항암 및 항산화 등 매우 다양한 생리활성이 보고
Malaxinic acid	자궁경부암세포 사멸효과, 항균활성, 항산화 활성, 혈액의 항산화활성 향상효과(항동맥경화) (본 연구과제에서 추가실험 수행)
3,4-DHBA	항산화, 항암, 항염증 등의 생리활성이 보고 (본 연구과제에서 추가실험 수행)
2,3-DHBA	항산화, 항미생물 등의 생리활성이 보고, radical-scavenging 수 및 radical-scavenging speed가 ascorbic acid보다 우수 (본 연구과제 결과)

<저분자 Phenol성 화합물의 Radical Scavenging 수 및 속도에 관한 구조·활성 상관관계 연구 필요성>

- 저분자 phenol성 화합물들은 우수한 항산화활성을 발현함이 보고되어왔음.
- 이러한 저분자 phenol성 화합물은 배를 포함하여 일상적으로 섭취하는 대부분의 식품소재에 다량·다량 함유되어있음.
- 지금까지 수행된 연구결과들을 통해 phenol성 수산기가 항산화 활성에 중요한 active site로 작용함이 잘 알려져 왔으며, 이 수산기의 결합 위치, 결합 양상 및 결합 개수에 따라 그 활성의 정도가 다름도 알게 되었음.
- 대표적인 예로, 1차년도에 보고된 바 있는 2,3- 및 3,4-dihydroxybenzoic acid (DHBA)는 배에 함유되어 있는 성분으로,
- 두 화합물의 carboxylic acid기의 결합 위치에 따른 구조적 차이만으로 *in vitro* 상에서의 항산화능뿐만 아니라 *in vivo* 상에서의 흡수율 및 흡수·대사기전에 큰 차이가 있음을 알 수 있었음(참고 2). (본 연구과제 결과)
- 항산화제의 radical-scavenging 수 및 속도 평가에 관련된 연구가 부분적으로 수행되기는 하였으나, 체계적이고 계통적인 연구는 아직도 미흡한 부분이 적지 않음.
- 따라서 본 연구에서는 phenol성 수산기를 갖는 다양한 구조의 화합물을 이용하여 그 구조적 차이와 항산화 활성 간의 상관관계를 계통적으로 비교하고자 하였음.
- 본 연구에서는 기존에 확립된 DPPH를 이용한 방법을 적용하여 다양한 저분자 phenol성 화합물들의 구조적 차이에 따른 radical-scavenging 수를 반응용액의 pH 변화와 함께 계통적으로 분석하였음.



<참고 2. 2,3- 및 3,4-DHBA의 DPPH radical-scavenging 수 및 속도 비교 결과>

- 뿐만 아니라 본 연구에서는 항산화제의 radical-scavenging 속도를 평가한 기존의 방법보다 간단한 새로운 평가법을 자체적으로 확립하였음.
- 이에, 본 연구에서 개발한 항산화제의 radical-scavenging 속도 비교법을 이용하여 다양한 구조를 갖는 항산화 화합물들의 radical-scavenging 속도 또한 비교하였음.
- 항산화제의 상대적인 radical-scavenging speed 평가법은 본 연구과제의 1차년도 연구 수행을 통해 본 연구그룹에 의해 자체적으로 새롭게 확립된 방법임.
- 1차년도의 선행연구를 통해 항산화제들의 상대적인 radical-scavenging speed를 간단한 HPLC 분석법을 적용하여 비교·평가할 수 있음이 확인되었음.
- 이에 확립된 방법을 본 연구과제의 2차년도 연구에서도 확대하여
- 배는 물론 다양한 식품 중에 널리 함유되어 있는 저분자 페놀성 화합물을 대상으로, 개발한 평가법의 활용성을 추가적으로 검토함은 물론,
- 본 방법을 적용하여 실질적으로 radical-scavenging speed가 우수한 저분자 항산화 화합물을 도출하고자 하였음.
- Radical-scavenging speed 평가법 개발에 더하여
- 그에 더하여 항산화 화합물이 radical을 scavenging한 후의 산화물이 ascorbic acid (AsA)에 의해 재생(환원) 가능한지의 여부를 평가하는 방법 또한 추가적으로 개발하고자 하였음.
- AsA는 함량에 다소의 차이는 있으나 배를 포함한 (거의)모든 식물(식품소재)에 함유되어 있을 뿐만 아니라
- 인체에서도 vitamin으로 작용하며, 산화-환원 redox cycle에 관여하는 생리학적으로 매우 중요한 화합물임.
- 따라서 동일 system에 있어 산화된 특정 화합물이 AsA와 공존할 때, 다시 환원 가능한지

를 평가하는 것은 매우 의미있는 연구라 판단됨.

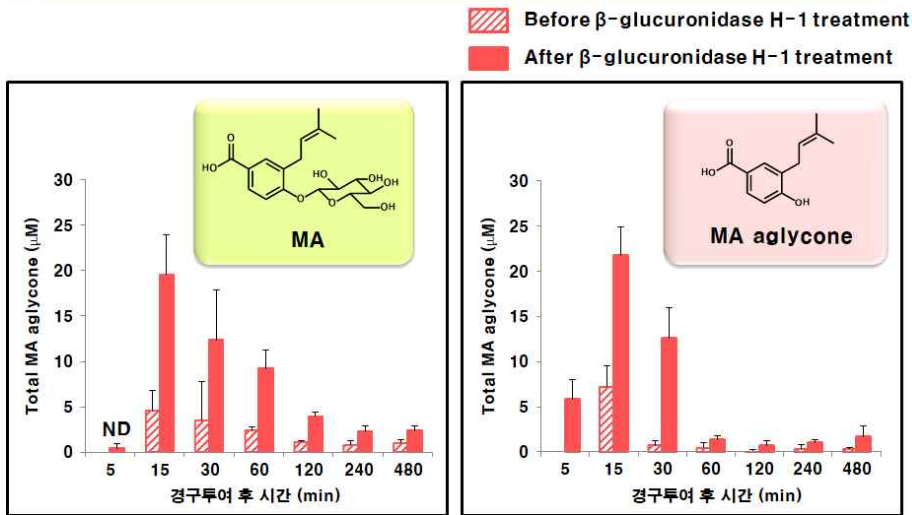
- 따라서, 2차년도에 본 연구에 있어서 매우 간단한 HPLC 분석법 이용하여 산화화합물의 AsA에 의한 환원 여부를 평가하는 방법을 확립하고자 하였음.
- 그리고 확립된 방법을 적용하여 배는 물론 다양한 식품소재에 함유된 저분자 페놀성 화합물을 대상으로 유용화합물을 도출하고자 하였음.

<Malaxinic acid (MA)의 쥐 경구투여 후 혈장 내 *in vivo* 생리활성 평가>

- Malaxinic acid (MA)의 연구 필요성 및 선행연구 결과와의 연계성 -

- 전술한 바와 같이 “배수출연구사업단” 과제를 통해 본 연구그룹에 의해 배 함유 생리활성 화합물 51종(참고 1)을 분자수준에서 밝혔음.<sup>(3~13)</sup>
- 그 선행연구를 통해 malaxinic acid (MA)가 배에 함유된 주요성분 중의 하나임이 처음으로 확인되었음.<sup>(15)</sup>
- 또한, MA는 항균 및 항산화 활성은 물론 자궁경부암세포 사멸효과 인자로 작용함도 밝혀진 바 있음.<sup>(16~18)</sup>
- 그에 더불어, 선행연구를 통해 MA 및 MA aglycone은 타 페놀성 화합물에 비해 혈액에 흡수속도 뿐만 아니라 흡수 농도 또한 높은 것으로 평가되었음(참고 3).

**MA 및 MA Aglycone의 Rat 투여 후 Pharmacokinetics**



<참고 3. MA 및 MA aglycone의 rat 경구투여 후 혈중 경시적 흡수율 변화>

- 따라서 본 연구에서는 MA가 혈액 내에서 어떤 형태로 흡수·대사되는지를 확인하고자 혈중 대사체의 구조를 밝히고자 하였음.
- 또한, 그 대사체들이 실제로 혈중에서 항산화활성을 발현하는지의 여부에 대해서도 평가하고자 하였음.
- 그리고, MA의 혈중 대사체 연구가 “배수출연구사업단”의 선행연구를 통해 1차적으로 수행된 바 있음.

- 그러나, 본 연구과제를 수행하는 과정에 있어 본 연구그룹의 선행연구에 의해 밝힌 MA 대사체의 구조해석에 실수가 있었음이 시사되었음.
- 생리활성 화합물이 생체 내에 흡수될 때 어떤 형태의 대사체로 변환되는지를 밝히는 것은 특정 화합물의 생체 내에서의 생리활성을 예측·평가하는데 매우 중요한 요인으로 작용함.
- 따라서, 특정 화합물의 대사체 구조의 제시에는 매우 큰 책임감이 수반되며, 오류 보고 시 막중한 책임감을 감수해야 함.
- 이와 같은 막중한 책임감이 수반되는 사항이기에 “배수출연구사업단” 연구의 연속선상에서 수행되고 있는 본 연구과제를 통해 의심스러운 선행연구 결과를 재확인하고, 실수가 발견될 경우 이를 바로잡을 필요가 있다고 판단하였음.
- 이에 “배수출연구사업단”에서 확립되었던 방법에 따라 MA 및 그 aglycone을 본 연구에서 추가적으로 유기합성하여 합성된 화합물을 대상으로 동물 투여실험을 행해 혈중 대사체의 정확한 구조해석 연구를 재차 행하게 되었음.
- 뿐만 아니라 MA의 성분학적 및 기능학적 측면에 있어서의 중요성을 고려하여 배 부산물 중의 MA 함량 분석 또한 행하고자 하였음
- 이는 배의 생리활성 측면뿐만 아니라 부산물(전정가지)의 활용성 측면에 있어 매우 중요한 의미가 있다고 판단됨.

#### <배 착즙박의 활용성 검토의 필요성>

- 태풍 등으로 인한 낙과나 우수 상품으로 인정받지 못해 판매가 어려운 비상품과가 매년 대량 발생되고 있음.
- 이들 대부분은 배음료 가공에 주로 이용되고 있음.
- 이 가공 과정에서 필연적으로 다량의 착즙박이 발생함.
- 그러나 아직 배착즙박의 활용성에 관한 대안이 제시되지 못하고 있음.
- 기존에 농가에서 배착즙박을 축산사료 및 비료로 활용성을 검토한 바 있음.
- 그러나 사료 및 비료로써 활용성이 떨어짐이 경험적으로 확인되었음.
- 특히, 배착즙박을 축산사료로 이용 시, 가축의 체중감량효과가 현저함이 알려져 왔음.
- 본 그룹의 선행연구 결과,<sup>(3)</sup> 배 과피에 다량의 페놀성 성분이 함유되어 있음이 확인된 바 있음.
- 즉, 배착즙박에 잔존해 있는 페놀성 성분에 더하여 펙틴질의 영향에 의해 가축의 체중감량효과가 나타나는 것으로 추측됨.
- 따라서 배착즙박을 구성하고 있는 주요성분인 펙틴질의 활용성을 제고할 필요가 있다고 판단하였음.
- 이에, 본 연구에서는 낙과 및 비상품과의 배를 가공하는 과정에서 필연적으로 발생하는 다량의 착즙박의 활용성을 개발함으로써 폐기자원으로부터 부가가치를 창출할 수 있는 방법을 확립하고자 하였음.
- 그 접근 방법으로써
  - ① 천연감미료 소재 및 바이오에너지원으로 활용할 수 있는 biomass 생성 및
  - ② 항비만 및 대장암 억제효과 등이 기대되는 유용 올리고당 생산 방법을 검토하고자 하였음.

## <제2세부> 전태일 교수 (전남대)

### ▶ 과제명: 나주배의 고부가가치화를 위한 기능성 검증 및 제품화 지원

#### □ 국내 대사증후군 현황 및 전망

- 인구 고령화와 생활습관병 환자로 인해 국민 4명 중 1명(천만명)이 대사증후군\* 환자 \*  
 대사증후군: 당뇨병, 고지혈증, 고혈압 등 생활습관병의 위험요인이 한 사람에게 동시에 나타나는 현상
- 의료비 지출 증가(2010년: 7,5천억, 전체 의료비 중 26.1 % 차지)
- 국내 건강 기능성 식품 판매량 증가(2012년: 1조3천억, 2005년 대비 약 2.5배 ↑)



[그림. 연령대별 대사증후군 환자비율]



[그림. 건기식 연도별 판매액]

#### □ 대사증후군에서 배의 기능 및 작용기전 연구의 필요성

- 2011년 세계보건기구(WHO)의 통계에 따르면, 전 세계 인구 중 15억명 정도가 비만인 것으로 추정하고 있으며, 전체 사망원인의 30% 이상이 대사성 질환과 관련된 것으로 알려져 있음.
- 국내의 경우에도 현재 비만인구가 전체 성인인구의 30% 정도이며, 향후 10년 이내에 전체 인구의 50% 정도가 대사성 증후군에 노출될 것으로 추정되고 있음.



[그림. 세계 비만 인구 증가율]



[그림. 대사증후군 의료비 지출]

- 대사증후군 관련 건강기능식품은 국제시장 총액 2,160억 \$ 중 18.7% (약 410억 \$)로써 가장 높은 시장성을 보이고 ascorbic acid, tocopherol, carotenoid, flavonoid 및 phenol성 화합물과 같은 유용 항산화제를 다량 함유하고 있는 과채류와 같은 녹황색 식물성 식품의 충분한 섭취가 예방 및 치료에 도움이 되는 것으로 밝혀지고 있음.
- 대사성 질환의 발병은 에너지 흡수와 소비 사이의 불균형이 근본적인 원인으로 알려져 있고 특히, glucose, lipid 대사의 불균형과 인슐린 저항성은 비만, 당뇨 및 동맥경화 발병과 밀접한 관련이 있음.
- 그러므로 식품성분의 당대사, 지질대사, 인슐린 저항성 조절에 관한 기전 연구를 통한 치료 target을 제시하는 것은 대사성 질환의 근본적 치료에 있어 매우 중요하고, 정확한 작용기전을 이용한 의약품 및 건강기능식품 개발이 가능하여 경제적, 산업적으로 큰 도움이 될 것임.
- 이에 1차년도 배추출물과 유효성분인 malaxinic acid의(참고 1) 항산화활성과 미백효과를 검증한 결과를 바탕으로 2차년도에는 지금까지 연구되지 않은 간과 지방세포에서 지방축적 억제 효과 및 그 기전을 연구하였음.

## <제2협동> 나주농업기술원 및 천연색소센터

### ▶ 과제명: 나주배의 고부가가치 산업화 전략 수립 및 식품개발

- 배는 대부분 생과로 섭취하고 있으며, 다른 과실보다 향이 강하지 않고 수분 함량이 높기 때문에 배를 이용한 (가공)식품의 종류가 매우 적음.
- 2013년 과실류의 가공현황을 살펴보면, 배의 가공률은 배 총 생산량의 2.7% 정도로 매우 미미한 수준임.
- 또한 이상기후로 인해 해를 거듭할수록 태풍과 폭우로 인한 피해가 늘어 배 농가의 안정적인 소득을 위해서라도 배 낙과 및 비상품과를 활용한 식품 소재 개발이 필요함.
- 최근 본 연구과제 공동연구 그룹의 다년간에 걸친 연구를 통하여 배에 유용한 생리활성 화합물이 다중·다량 함유되어 있음이 확인되었음(참고 1).<sup>(1-11)</sup>
- 따라서 본 연구에서는 낙과, 비상품과 및 미성숙과의 활용방안을 제시하기 위해
- 배로부터 유용성분을 추출하여 액상화 및 분말화시켜 영양 및 기능성을 강화시킬 수 있는 식품소재의 제조 방법을 확립하고자 하였음.
- 또한 이 식품소재를 활용하여 설탕 대체 소재로서 배의 향미와 시원한 맛을 부여할 수 있는 레시피를 확립하여 다양한 가공식품에 활용 방안을 모색하고자 하였음.
- 그 접근 방법으로써
  - ① 나주배를 이용한 색소 추출법, 농축 및 분말화 공정 확립
  - ② 가공식품 개발의 기초 자료를 확보하기 위한 색소 안정성 평가
  - ③ 나주배 색소(비상품과 이용)를 이용한 레시피 확립

- ④ 나주배 미성숙과를 이용한 발효색소를 제조하여 항산화 활성이 높은 적색 색소를 생산하는 방법을 검토하였음.

## <제3협동> 농업회사법인 이조은산소(주)

### 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 고부가가치 식품 개발

- 배의 재배 과정 중에 있어 고품질의 배를 생산하기 위해 개화 후 20~30일 경에 적과를 행함.
- 즉, 한 cluster에 약 10 개 정도의 미성숙과가 형성되는데, 그들 중 생육상태가 가장 양호한 미성숙과 1개만을 남겨두고 나머지는 모두 적과되고 있음.
- 적과된 미성숙과 대부분은 버려지고 있는 실정임.
- 연간 폐기되어지고 있는 배 미성숙과는 약 1,500 톤 이상으로 추정되고 있음.
- 이로 인해, 적과를 위한 인건비 및 폐기 비용이 추가적으로 발생되어 농가에 경제적인 부담이 발생되고 있음.
- 그러나 아직 배 미성숙과의 활용성에 관한 대안이 제시되지 못하고 있음.
- 본 연구과제의 공동연구그룹의 선행연구 결과,<sup>(3~13)</sup> 배 미성숙과로부터 51 종의 유용 생리활성 화합물을 단리·구조결정하여 보고한 바 있음.
- 배의 미성숙과는 성숙과에 비해 유용성분을 수집에서 많게는 약 200 배에 달할 정도의 고농도로 함유하고 있음이 보고된 바 있음.<sup>(1)</sup>
- 따라서 본 연구에서는 배 부산물 및 폐기자원을 활용하여 가공제품을 생산하고, 그 가공제품에 함유된 배의 주요성분의 분석 및 생리활성을 평가하고자 하였음.
- 과학적이고 객관적인 data를 바탕으로 원천기술을 확보함으로써 국내 및 해외시장에 적극적인 마케팅 공략이 가능할 것으로 기대됨.
- 이러한 배 폐기자원(미성숙과)의 활용성 제고를 통해 배 농가소득의 향상과 농촌지역의 산업 활성화에도 기여할 것으로 기대됨.
- 그 접근 방법으로써, 배 효소 추출물과 배 미성숙과 등을 이용한 제품(음료 및 과립 등)을 개발하여 생리활성 평가와 주요성분을 분석하고자 하였음.

### 1-2 연구개발 범위

- 배의 기능성 지표물질 규명 및 제품화 지원



- 1) 배의 고유 기능성 특이 지표 성분 탐색 및 도출에 의한 우수성 검증
- 2) 나주배의 발효에 따른 유용성 향상 검증
- 3) 배 부산물 및 폐기자원(미성숙과, 전정 가지)의 유용성 구명 및 응용제품 개발 지원
- 4) 배 미성숙과의 whole food로써 유용성분의 생체 내 흡수·대사 기전 규명 및 생리활성 평가
- 5) 배 가공품 함유 기능성 성분의 안정성 유지 방법 개발

## 2. 연구수행 내용 및 결과

### <제1세부과제> 문제학 교수 (전남대)

#### ▶ 과제명: 배의 고부가가치 지표물질 규명 및 제품화 지원

### <저분자 Phenol성 화합물의 Radical Scavenging 수 및 속도에 관한 구조-활성 상관관계>

#### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

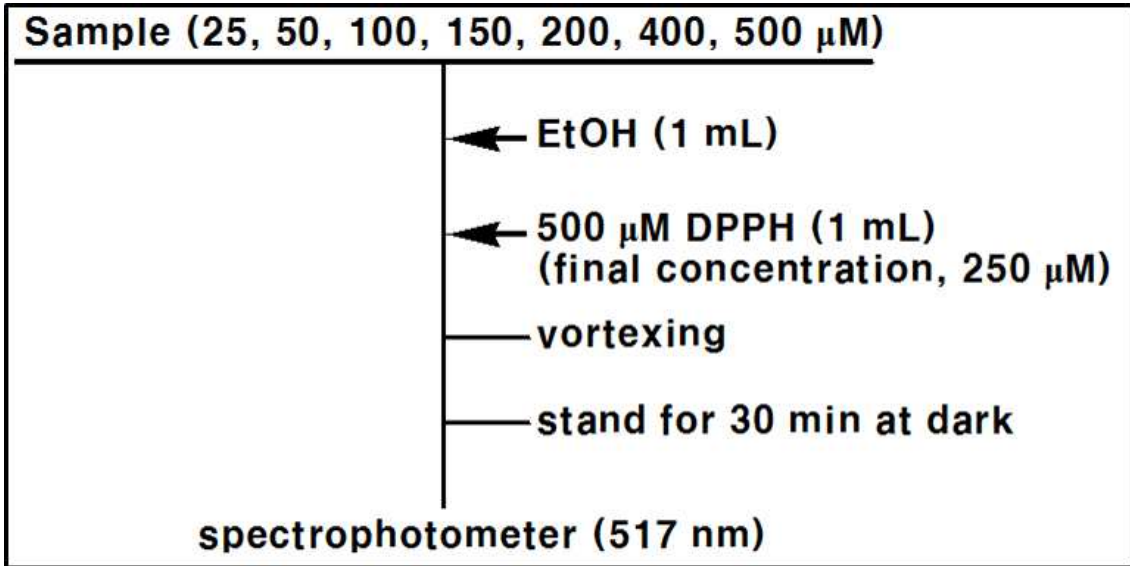
##### 가. LC-ESI-MS를 이용한 배의 2,3- 및 3,4-DHBA 존재여부 확인 및 정량

- 나주 신고배를 MeOH로 추출 및 용매분획하여 얻은 EtOAc층을 80% MeOH에 녹여 LC-ESI-MS로 분석함.
- 2,3- 및 3,4-DHBA를 80% MeOH에 희석하여 농도별로 HPLC분석을 행하여 표준곡선 및 검출한계 농도를 확인하였음.

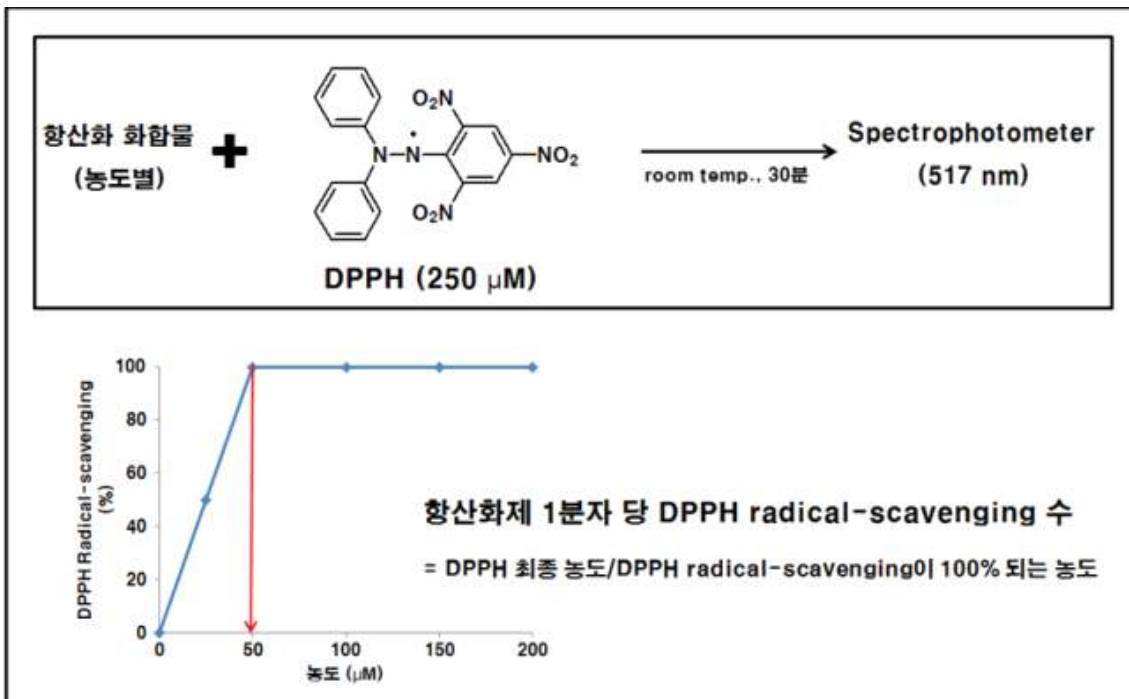
##### 나. 2,3- 및 3,4-DHBA의 DPPH Radical-scavenging 수 비교

- 평가 대상 화합물 각각의 최종농도가 25-600  $\mu\text{M}$ 인 용액 1 mL와 500  $\mu\text{M}$  DPPH EtOH 용액 1 mL (최종농도 250  $\mu\text{M}$ )를 혼합 후, 암소에서 30분 반응 시킨 다음, UV-Vis spectrophotometer (UVmini-1240, Shimazu)를 이용하여 517 nm에서 흡광도 값(RS)을 측정하였음(그림I-1, 그림 I-2). 반응 용매는 목적에 따라 pH를 조정하여 반응에 이용하거나 다양하게 선택하였음.
- 즉 반응용액의 pH는 8, 7.4, 7, 6, 5, 4, 3으로 조정하여 각 phenol성 화합물의 pH 변화에 따른 radical-scavenging 수를 비교하였음, 반응용액은 10 mM PBS buffer와 EtOH을 1:1 (v/v)로 혼합하여 조제하였음. 이를 위해 10 mM PBS buffer의 pH를 6.53, 7.15, 6.2, 5.17, 4.15, 3.1, 2.28로 조제하여 DPPH EtOH용액과 반응시켰으며, 각 phenol성 화합물의 최종농도는 25, 50, 100, 150, 200  $\mu\text{M}$ 이 되도록 조제하였음. 조제한 각 농도의 시료용액 1 mL에 500  $\mu\text{M}$  DPPH용액 1 mL (최종농도 250  $\mu\text{M}$ )를 가한 후, 암소에서 30분간 반응 시킨 다음, UV-Vis spectrophotometer (UVmini-1240, Shimazu)를 이용하여 517 nm에서 흡광도 값 (RS)을 측정하였음.

■ 그림 I-1. EtOH 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 방법.



■ 그림 I-2. 2,3- 및 3,4-DHBA의 DPPH Radical-scavenging 수 비교 원리.



▶ 반응에 따른 흡광도의 변곡점을 확인하였음.

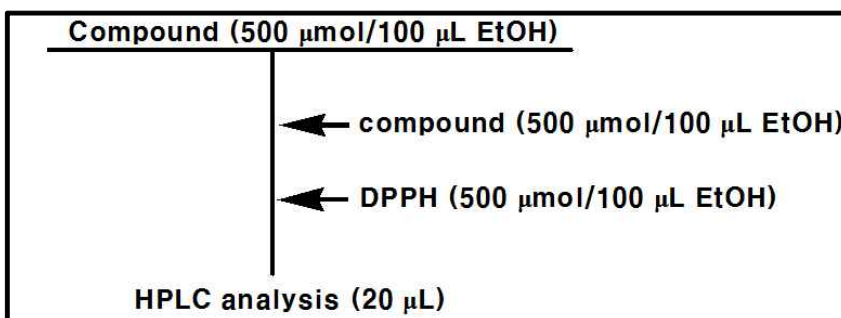
다. HPLC 분석법을 이용한 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 원리

- 먼저, 동일 mol의 모종의 화합물 A와 화합물 B를 HPLC로 분석하여 각 화합물의 peak area 값을 확인하였음. 그리고 화합물 A와 화합물 B를 동일 농도가 되도록 혼합한 후, 일정 농도의 DPPH용액을 가하여 반응시킨 직후에 HPLC 분석을 행하였음.

라. EtOH 용액 중 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교

- 상대적인 radical-scavenging 속도를 비교하고자 하는 2종의 화합물을 최종농도가 0.5 mM이 되도록 0.5 mL의 EtOH에 용해시킨 후, 최종농도가 1 mM이 되도록 DPPH EtOH용액을 가하여 혼합한 직후 HPLC로 분석을 행하였음(그림 I-3).

■ 그림 I-3. HPLC 분석법을 이용한 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 방법.

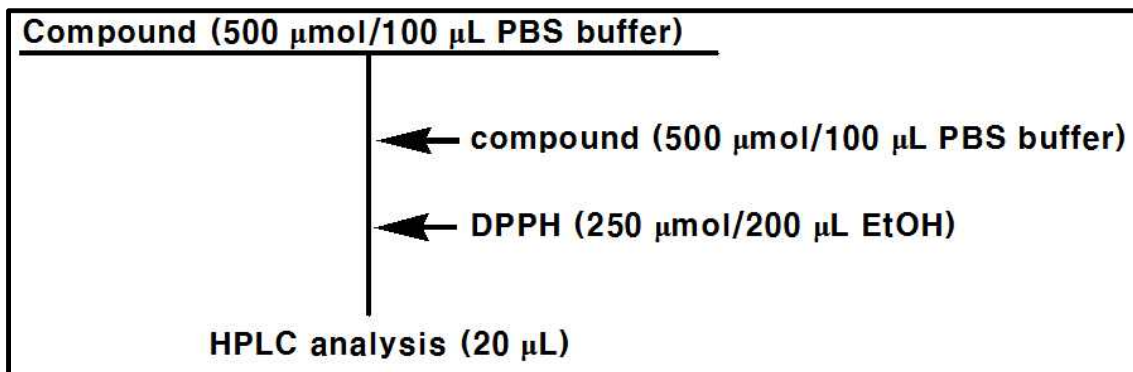


- ▶ 비교하고자 하는 2종의 화합물을 최종농도가 0.5 mM이 되도록 0.5 mL의 EtOH에 용해시킨 후, 최종농도가 1 mM이 되도록 DPPH EtOH용액을 가하여 혼합한 직후 HPLC로 분석을 행하였음.

마. 반응용액의 pH 변화에 따른 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교

- Phenol성 화합물을 10 mM PBS buffer와 EtOH의 1:1 (v/v, pH 7.4)의 용액 중에서 반응시켰음(그림 I-4). 그 다음, 각 phenol성 화합물들을 각각의 HPLC 조건으로 분석하였음(그림 I-4).

■ 그림 I-4. HPLC 분석법을 이용한 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 방법.



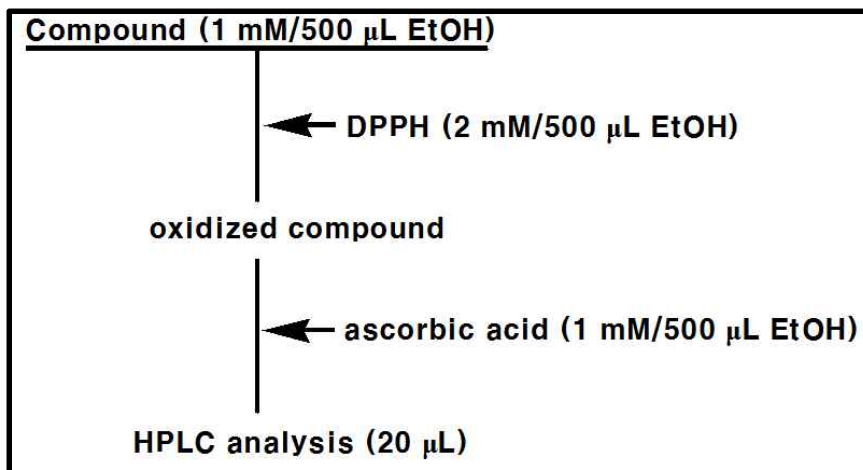
- ▶ 비교하고자 하는 2종의 화합물을 최종농도가 0.5 mM이 되도록 0.5 mL의 PBS buffer에 용해시킨 후, 최종농도가 1 mM이 되도록 DPPH EtOH용액을 가하여 혼합한 직후 HPLC로 분석을 행하였음.

- 바. HPLC를 이용한 2,3- 및 3,4-DHBA의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교
- 2,3- 및 3,4-DHBA를 DPPH radical과 반응 후 HPLC로 분석했음.
  - 비교하고자 하는 두 화합물을 동일 몰농도로 혼합한 후, DPPH첨가 직후에 HPLC분석을 행함.
  - Chromatogram 상에서 2종항산화제의 peak area의 감소정도를 비교함으로써 상대적인 radical-scavenging 속도를 비교함.
  - 즉 두 항산화제 중 peak area의 감소를 먼저 보인 화합물이 상대적으로 radical scavenging 속도를 비교하고자 MeOH 및 pH 7.4 용액[(EtOH/PBS buffer = 1:1 (v/v))]을 이용하여 각각 반응을 실시함.

- 사. pH 7.4 용액 중에서 2,3-DHBA와 Ascorbic Acid (AsA)의 경시적인 Radical-scavenging 속도 비교
- 2,3-DHBA와 ASA (각각 최종농도 50 $\mu$ M)를 pH 7.4 PBS buffer, pH 7.4 Tris buffer 및 [EtOH/PBS buffer = 1:1 (v/v, pH 7.4)] buffer 9.9 mL에 녹여 0.5 M의 AAPH 100  $\mu$ L를 첨가하여 산화를 유도하였음. 그 후 30분 간격으로 반응액을 취하여 AsA함량 및 2,3-DHBA의 함량을 분석하였음.

- 아. HPLC 분석법을 이용한 산화형 페놀성 화합물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인
- 대상 페놀성 화합물의 최종농도가 1 mM이 되도록 0.5 mL의 EtOH에 용해시킨 후, 최종농도가 2 mM이 되도록 DPPH EtOH용액을 반응시켜 색의 변화를 확인한 후, ascorbic acid 1 mM (최종농도)을 혼합용액에 가한 후, HPLC 분석을 행하였음(그림 I-5).

▣ 그림 I-5. HPLC 분석법을 이용한 산화형 페놀성 화합물의 ascorbic acid에 의한 재생 여부 확인 방법.



- 자. 2,3- 및 3,4-DHBA 산화물의 AsA에 의한 재생여부 검토
- 2,3-DHBA (최종농도 0.835 mM)와 3,4-DHBA (최종농도 0.835 mM) 각각을 DPPH (최종농도 1.67 mM)와 함께 반응시켜 산화시킨 후의 용액에 AsA (최종농도 1.67 mM)를 첨가하여 분석하였음.

차. 화합물의 단리 및 구조해석

- 3,4-DHBA와 2,3-DHBA를 각각 DPPH와 1:2 (mol/mol)로 반응시킨 후 각각 분취하여  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - 및 2D-NMR 분석을 통해 구조해석 하였음.

카. 쥐 혈장으로부터 2,3- 및 3,4-DHBA 분석조건 확립

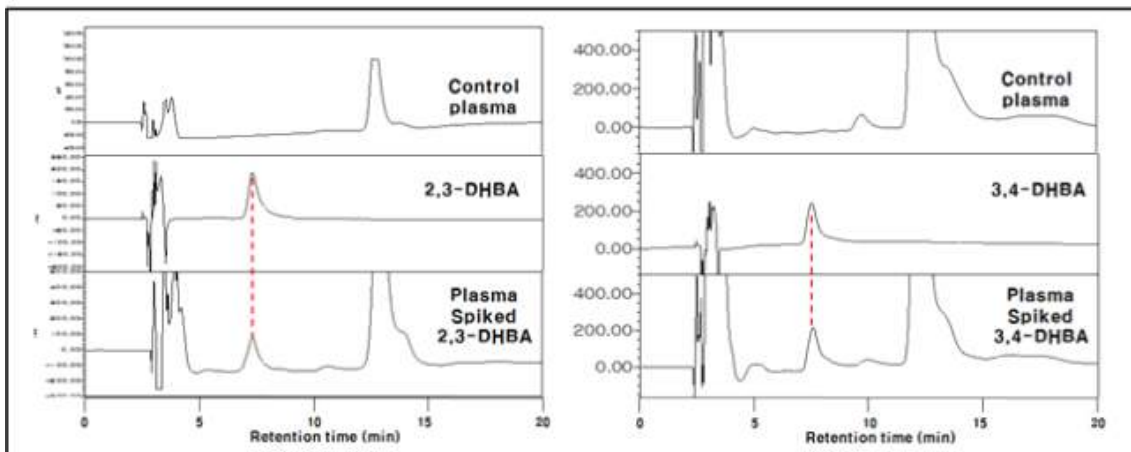
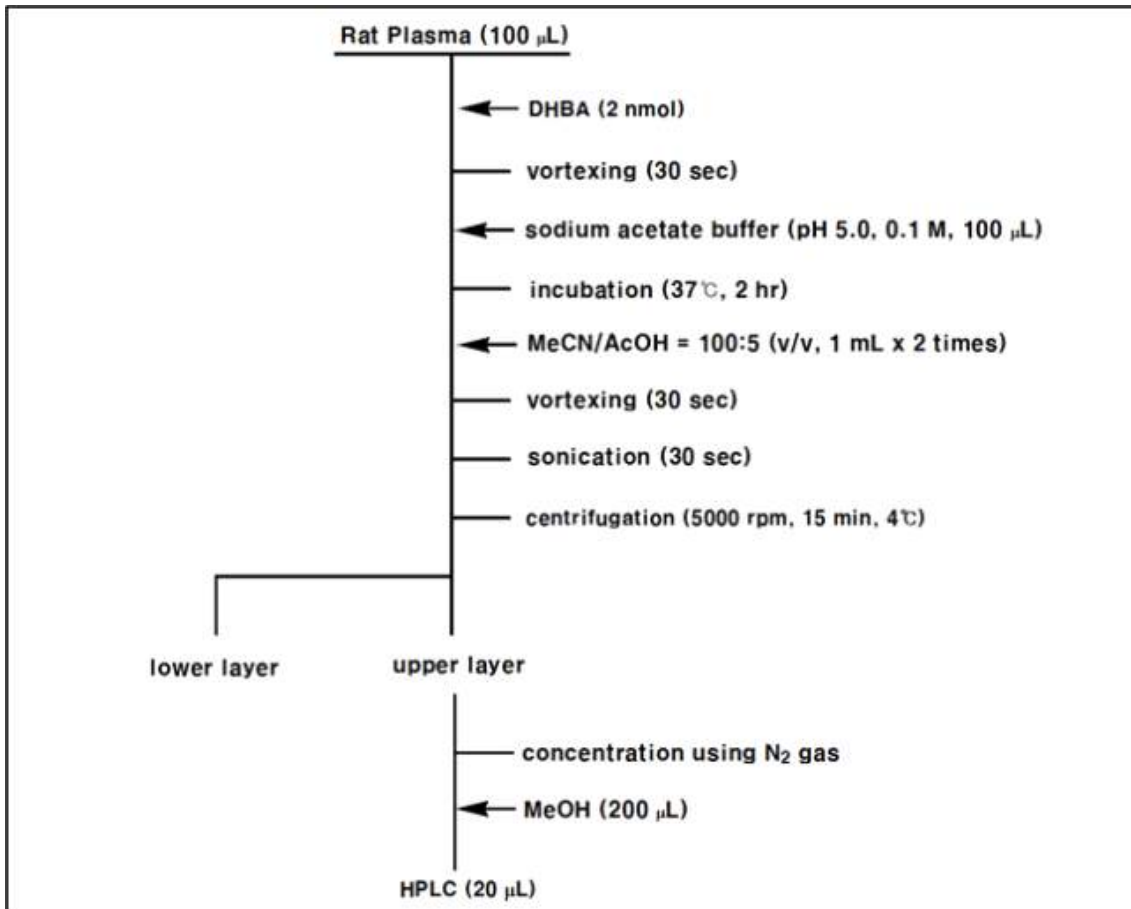
(1) 추출조건 검토

- 쥐 혈장에 3,4-DHBA를 spike 처리하여 섞은 후  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{AcOH} = 100:5$  (v/v)를 1 mL 섞어 sonication한 후 원심분리 하였음.
- 원심분리 후 상층액을 취하고 침전물에  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{AcOH} = 100:5$  (v/v) 1 mL 섞어 sonication한 후 원심분리 하여 상층액을 취했음. 얻어진 상층액을 혼합하여 농축한 후 MeOH로 회수하여 HPLC-ECD로 분석함. 2,3-DHBA도 같은 방법으로 추출함(그림 I-6).

(2) 쥐 혈장으로부터 2,3- 및 3,4-DHBA 회수율 확인

- 2,3- 및 3,4-DHBA를 쥐 혈장에 첨가하여 spike 분석법을 이용해 회수율을 확인함(그림 I-6).

■ 그림 I-6. 쥐 혈장으로부터 2,3- 및 3,4-DHBA의 추출물 검토 방법 (위) 및 HPLC chromatograms (아래).



- ▶ 2,3-DHBA는  $t_R$  7.4 min에서 용출되었고, 회수율은 97%였음.
- ▶ 3,4-DHBA는  $t_R$  7.6 min에서 용출되었고, 회수율은 98%였음.

(3) 2,3- 및 3,4-DHBA 표준곡선 작성 및 검출한계 농도 확인

- 2,3- 및 3,4-DHBA를 MeOH에 희석하여 농도별로 HPLC 분석하여 표준곡선 및 검출한계 농도를 확인함.

(4) 쥐에 2,3- 및 3,4-DHBA의 경구투여 및 혈장 분리

- 6주령의 Sprague-Dawley계, 180-200 g body wt. 수컷을 온도  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도는  $50 \pm 5\%$ , 12 시간 간격으로 light cycle 유지하고 식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였음.
- 또한 시료투여 15 시간 전에 절식, 3시간 전에 절수 후 propylene glycol에 용해시킨 2,3- 및 3,4-DHBA를 경구투여함.
- 경구투여 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 8, 12 시간 후 헤파린이 첨가된 주사기로 쥐의 대동맥으로부터 채혈하여 원심분리 후 상층액을 얻어  $-40^\circ\text{C}$ 에 보관하여 사용함.

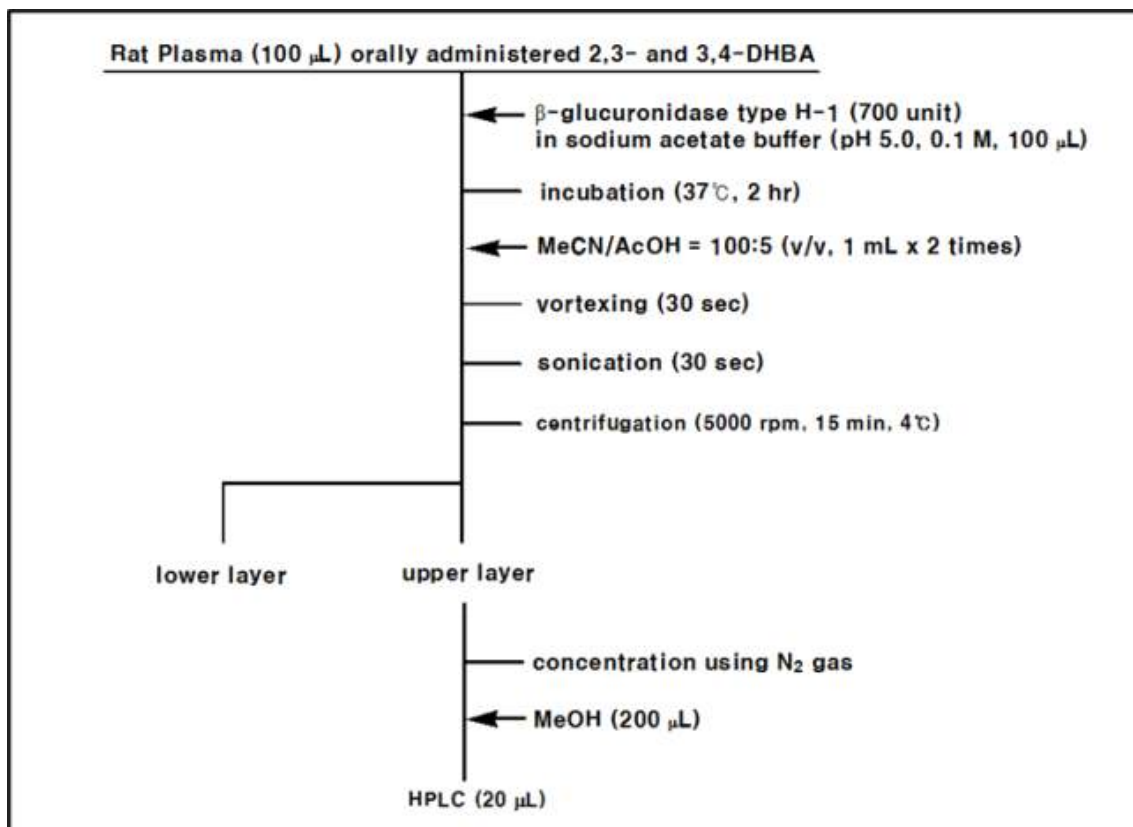
(5) 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장 내 Intact Form 존재 여부 확인: HPLC 분석

- 2,3-DHBA 경구투여 쥐로부터 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 8, 12 시간 후에 얻어진 각각의 혈장 100  $\mu\text{L}$ 에 sodium acetate buffer (pH 5.0)를 100  $\mu\text{L}$  가한 후, MeCN/AcOH = 100:5 (v/v)의 용액을 1 mL 첨가하였음. 추출은 2회 행하였으며, 추출 후 얻어진 상층액을 합하여 질소농축 후 농축물을 MeOH 200  $\mu\text{L}$ 에 녹여 HPLC 분석을 행함.

타. 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장 내 2,3- 및 3,4-DHBA 대사체 분석

- 각각의 혈장에  $\beta$ -glucuronidase type H-1을 처리한 후에 얻어진 각 반응용액의 추출물을 HPLC 분석함(그림 I-7).

▣ 그림 I-7. 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장 내 Intact Form 및 대사체 분석 방법.



▶  $\beta$ -Glucuronidase H-1 처리 전·후 혈장을 MeCN으로 추출하여 HPLC로 분석하였음.



- $\beta$ -glucuronidase type H-1을 0.1 M sodium acetate buffer (pH 5.0) 100  $\mu$ L에 각각 녹인 후, 경시적으로 얻어진 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장 100  $\mu$ L에 각각 첨가한 다음, 2 시간 동안 37°C에서 shaking incubation하였음.

파. 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 후 LC-MS 분석에 의한 쥐 혈장 중 대사체의 존재여부 재확인

- 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 30분 후의 혈장을 대상으로 효소( $\beta$ -glucuronidase) 처리 전·후로 나누어 MS 분석시료를 조제함.
- 추출 후 얻어진 상층액을 합하여 질소농축 후 MeOH에 녹여 LC-MS 분석을 행함.

하. 생리활성 평가

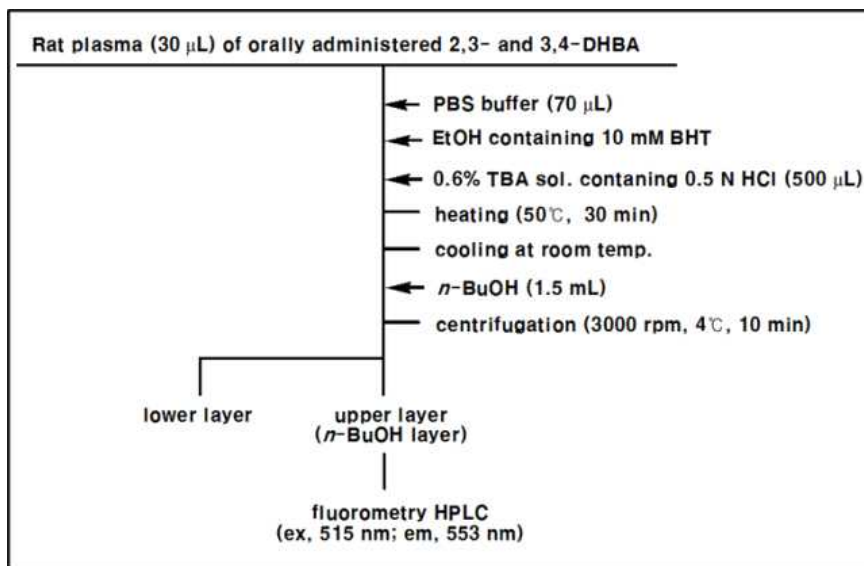
(1) 2,3- 및 3,4-DHBA의 쥐 내 경시적 흡수율 비교

- 쥐에 2,3- 및 3,4- DHBA를 propylene glycol에 용해시켜 각각 경구투여한 후 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 8, 12 시간 후 개복하여 얻은 혈장을 효소 ( $\beta$ -glucuronidase type H-1) 처리 전후로 나누어 intact form 및 두 화합물 각각의 total 함량을 분석함.

(2) Thiobarbituric acid법에 의한 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장의 피산화성 평가

- 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장을 PBS buffer로 희석한 후, 10 mM BHT를 함유한 EtOH를 첨가하였음. 그 후 0.5 N HCl이 함유되어 0.6% TBA 수용액을 첨가함으로써 산화 반응을 유도함.
- 반응용액은 50°C에서 30분간 반응시킨 후 냉각하여 *n*-butanol를 가한 후 원심분리(3000 rpm, 4°C, 10 분)하여 상층액을 취하여 HPLC 분석을 통해 TBARS의 함량을 분석함(그림 I-9).

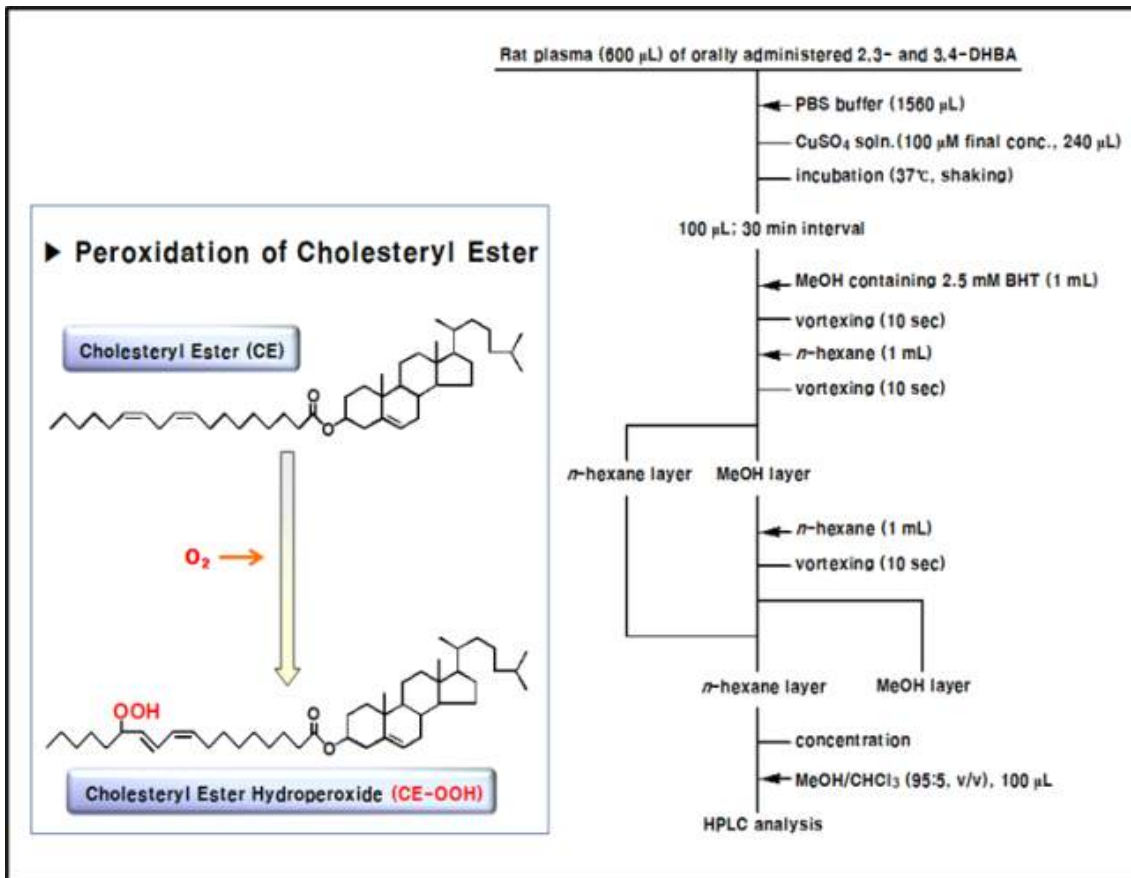
■ 그림 I-9. Thiobarbituric acid법에 의한 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장의 피산화성 평가방법.



▶ 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장을 대상으로 피산화성을 평가함.

- (3) 동이온 유도산화에 의한 Cholesteryl Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성억제능 비교
- 2,3- 및 3,4- DHBA 경구투여 쥐 혈장에 PBS buffer (pH 7.4)를 가한 후 동이온 (CuSO<sub>4</sub>)를 첨가하여 혈장의 산화를 유도하고 혼합용액은 37°C에서 shaking incubation 시키면서 30분 간격으로 100 μL를 취하여 2.5 mM BHT를 함유한 MeOH와 *n*-hexane을 각각 1 mL씩 가한 후 혼합하였음.
  - 또한 그 상층액을 취하여 전단계에서 얻어진 *n*-hexane층과 혼합하여 농축한 후 MeOH/CHCl<sub>3</sub> (95:5, v/v)로 녹여 시료 중의 CE-OOH 농도를 분석함(그림 I-10).

■ 그림 I-10. 동이온 유도산화에 의한 Cholesteryl Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성억제능 분석방법.



- 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장을 대상으로 동이온 유도산화에 의한 Cholesteryl Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성억제능을 평가함.

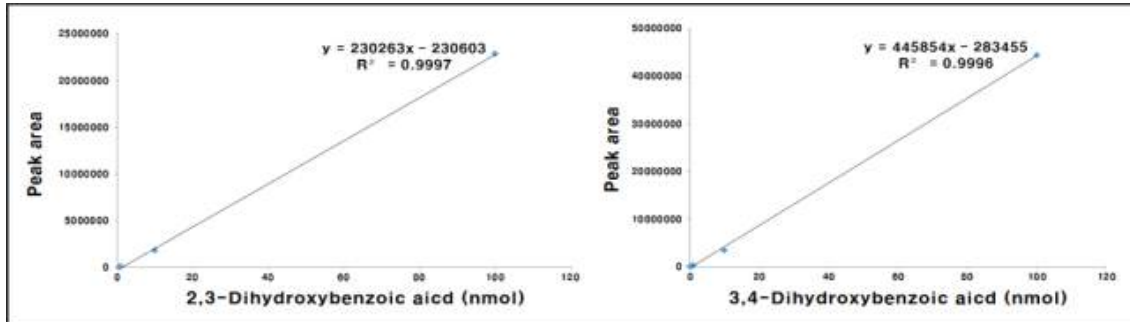
## 2. 연구내용 및 결과

가. LC-ESI-MS를 이용한 배의 2,3- 및 3,4-DHBA 존재여부 확인 및 정량

(1) 2,3- 및 3,4-DHBA 표준곡선 작성 및 검출한계 농도

- 2,3- 및 3,4-DHBA를 3.2~64 nmol의 범위에 걸쳐 각각의 표준곡선을 작성하였음(그림 I-11).
- 또한 3,4-DHBA의 검출한계농도는 0.32 nmol이었고, 2,3-DHBA의 검출한계농도는 0.065 nmol이었음(그림 I-11).

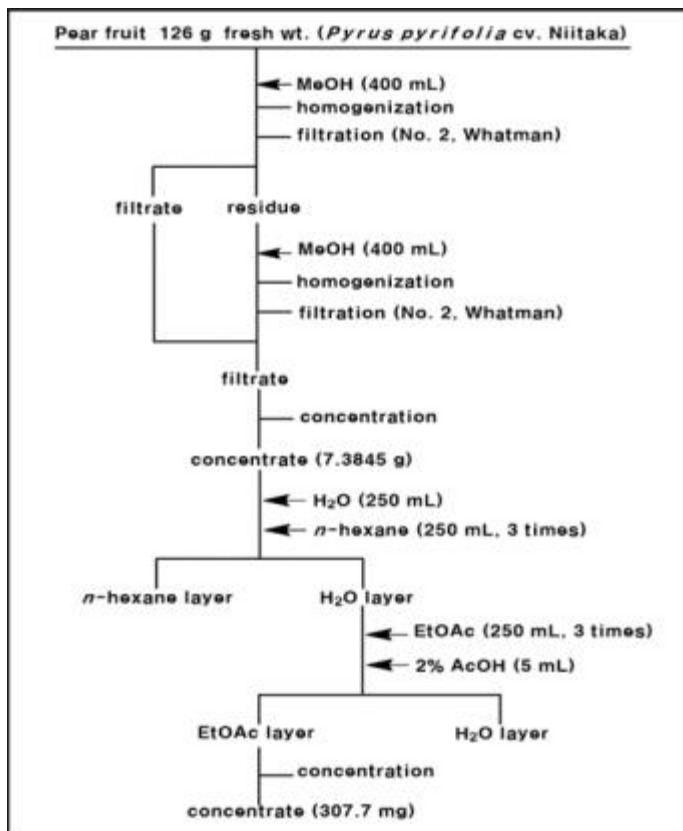
▣ 그림 I-11. 2,3- (왼쪽) 및 3,4-DHBA (오른쪽)의 표준곡선 작성 및 검출한계 농도.



▶ 2,3-DHBA의 검출한계농도는 0.065 nmol이었고, 3,4-DHBA의 검출한계농도는 0.32 nmol이었음.

(2) 신고배의 2,3- 및 3,4-DHBA 정량(그림 I-12).

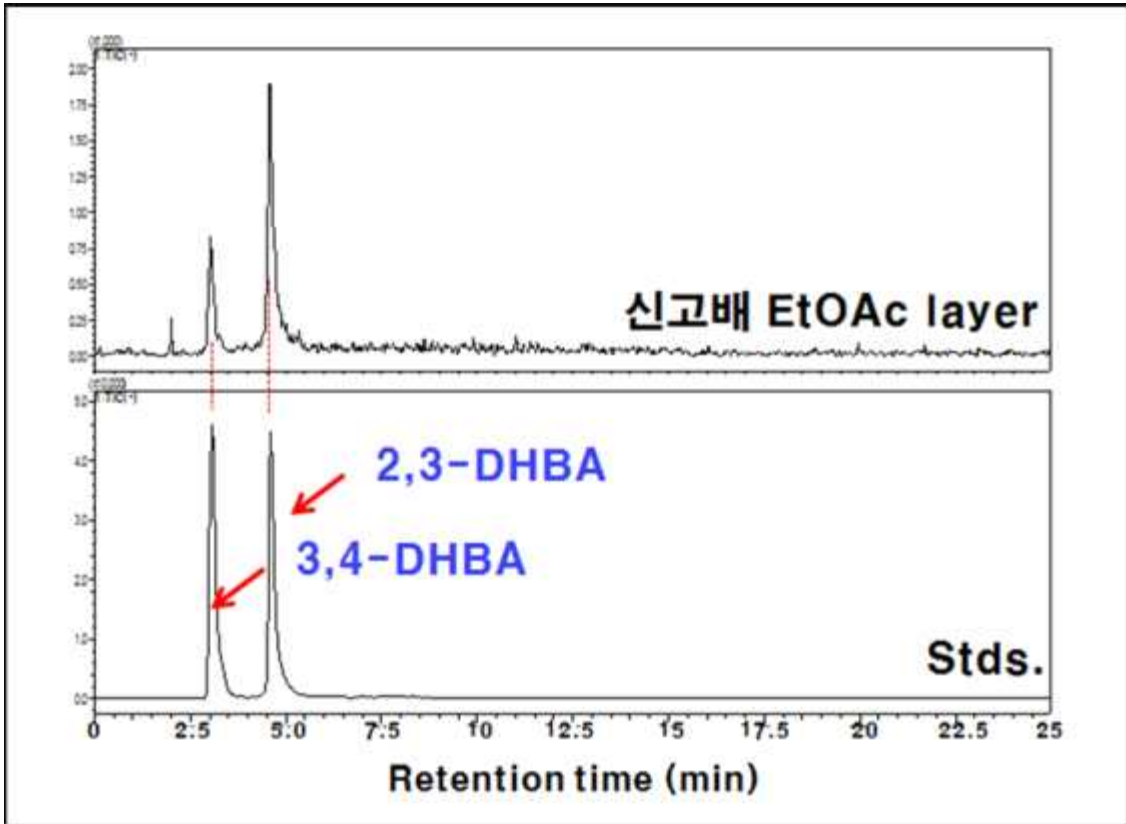
▣ 그림 I-12. 신고배로부터 2,3- 및 3,4-DHBA의 추출 방법.



▶ 추출물을 LC-ESI-MS로 분석하여 2,3- 및 3,4-DHBA를 정성 및 정량하였음.

- 2,3-DHBA는 신고배 100 g 상당량에 0.127 mg 함유되어 있었음(그림 I-13).
- 3,4-DHBA는 신고배 100 g 상당량에 0.154 mg 함유되어 있었음(그림 I-13).

▣ 그림 I-13. 신고배 중 2,3- 및 3,4-DHBA의 HPLC에 의한 정량.

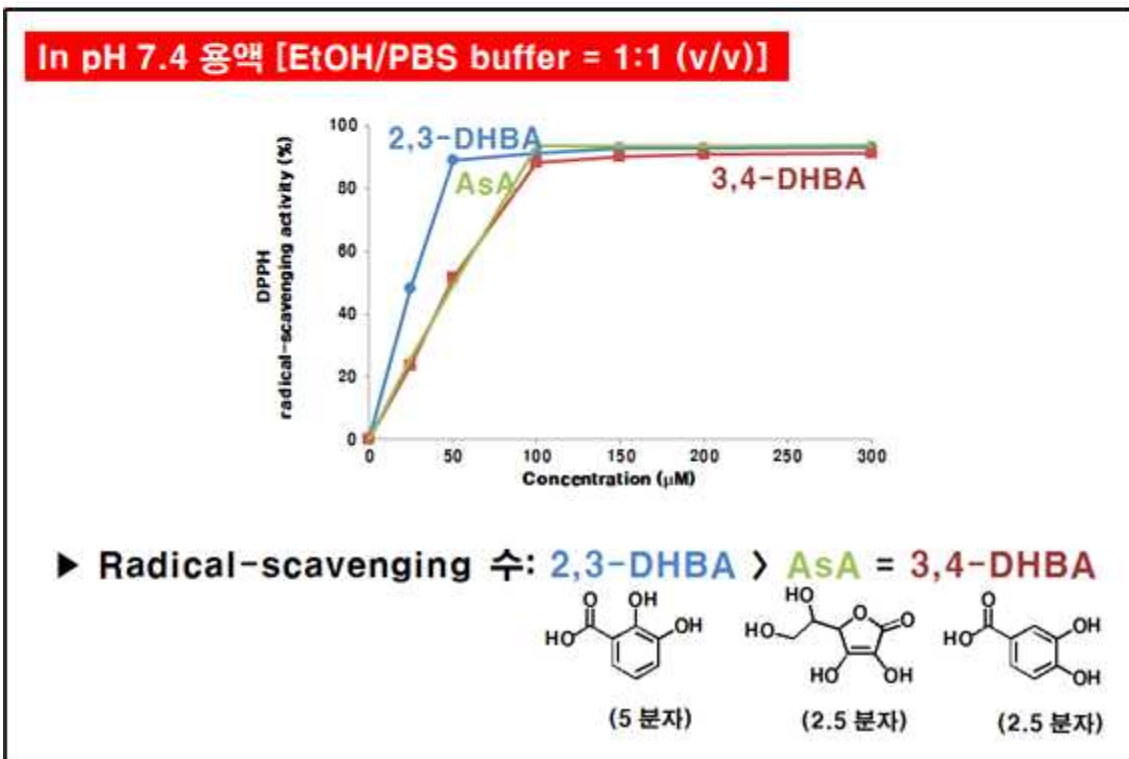
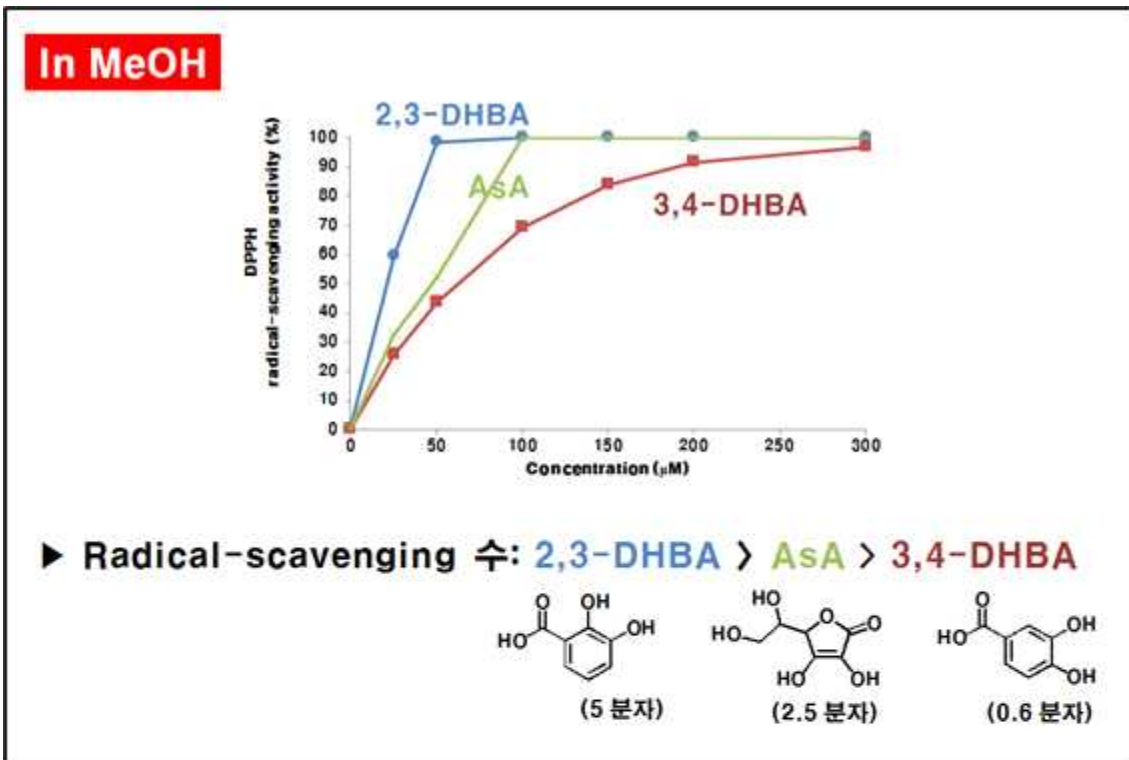


- ▶ 신고배 100 g 상당량에 2,3-DHBA는 0.127 mg, 3,4-DHBA는 0.154 mg 함유되어 있었음.

나. 2,3- 및 3,4-DHBA의 DPPH Radical-scavenging 수 비교

- MeOH 용액에서 각 화합물 1분자 당 radical-scavenging 수를 비교한 결과 2,3-DHBA (5 분자) > ASA (2.5 분자) > 3,4-DHBA (0.6 분자)의 순서로 활성이 나타남(그림 I-14).
- 또한 pH 7.4 용액[EtOH/PBS buffer] = 1:1 (v/v)]에서 비교한 결과 2,3-DHBA (5 분자) > ASA (2.5 분자) = 3,4-DHBA (2.5 분자) 순으로 나타남(그림 I-14).
- 용매의 종류 또는 용액의 pH에 따라 항산화제와 DPPH radical 또는 그 용액들 간의 반응성에 차이가 있을 가능성이 시사되었음.

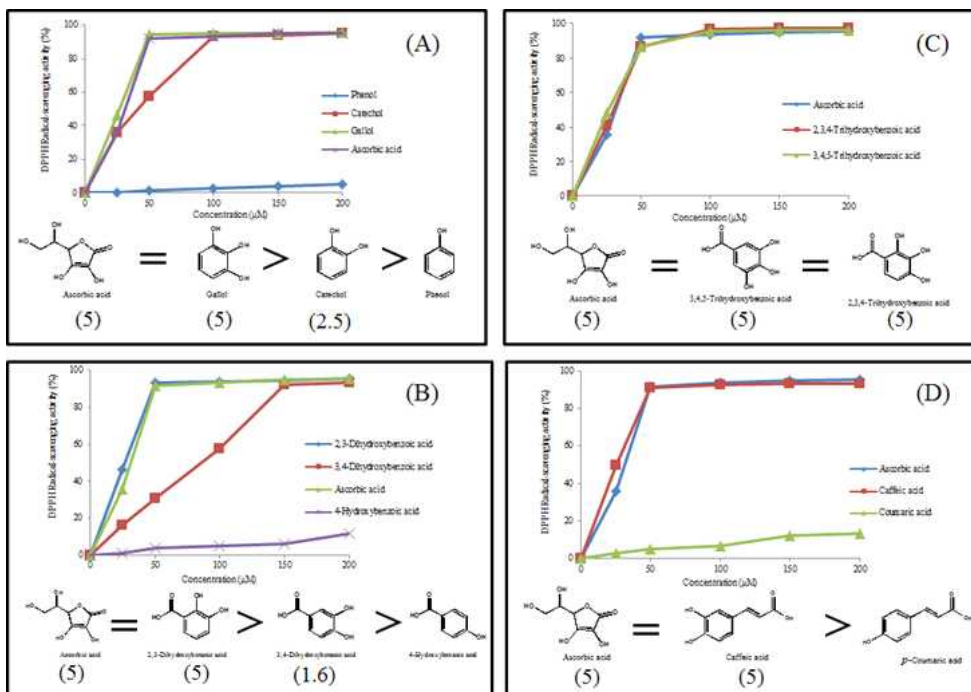
■ 그림 I-14. 2,3- 및 3,4-DHBA의 DPPH Radical-scavenging 수 비교 결과.



다. EtOH 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교

- 먼저, phenol 수산기의 개수에 따른 비교를 위해 그림 I-15의 A와 같이 ascorbic acid, phenol, catechol 및 gallol을 비교하였고,
- Carboxylic acid기의 위치에 따른 차이를 확인하기 위해 그림 I-15의 B와 같이 4-hydroxybenzoic acid, 2,3-dihydroxybenzoic acid 및 3,4-dihydroxybenzoic acid를 비교하였고,
- 그림 I-15의 C와 같이 2,3,4-trihydroxybenzoic acid와 3,4,5-trihydroxybenzoic acid를 비교하였음.
- 그리고, 그림 I-15의 D와 같이 propenoic acid기가 결합된 coumaric acid와 caffeic acid를 비교하였음.

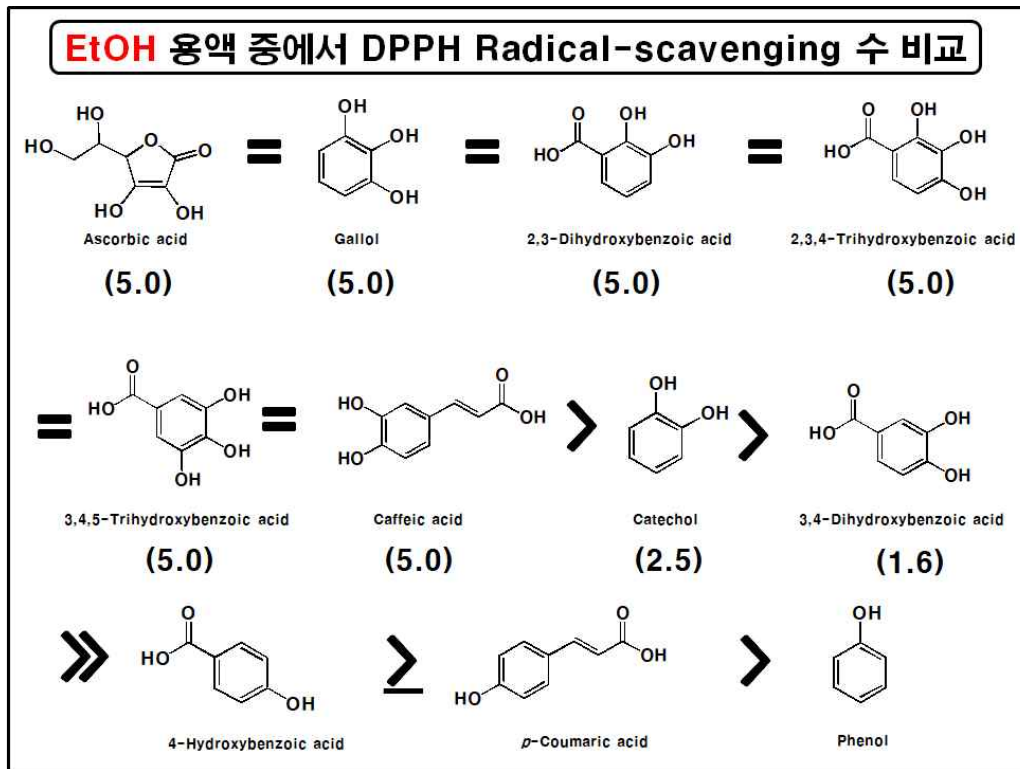
■ 그림 I-15. EtOH 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



▶ Phenol 수산기의 개수(A와 D) 및 carboxylic acid기의 위치(B와 C)에 따른 활성 비교.

- 화합물의 radical-scavenging 수를 비교한 결과(그림 I-16), ascorbic acid, gallol, 2,3-dihydroxybenzoic acid, 2,3,4-trihydroxybenzoic acid, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid 및 caffeic acid는 각 화합물 1분자 당 5분자의 DPPH radical을 동일하게 scavenging하는 것으로 나타났음.
- 그리고, 그 뒤를 이어 catechol, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid, coumaric acid 및 phenol의 순으로 활성을 보였음.
- 즉 catechol과 3,4-dihydroxybenzoic acid는 각 화합물 1분자 당 2.5와 1.6분자씩의 DPPH radical을 scavenging하였으며, 4-hydroxybenzoic acid, coumaric acid 및 phenol은 활성이 매우 낮은 것으로 관찰되었음.

■ 그림 I-16. EtOH 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



▶ EtOH 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수(괄호 안의 숫자) 비교 결과를 정리하였음.

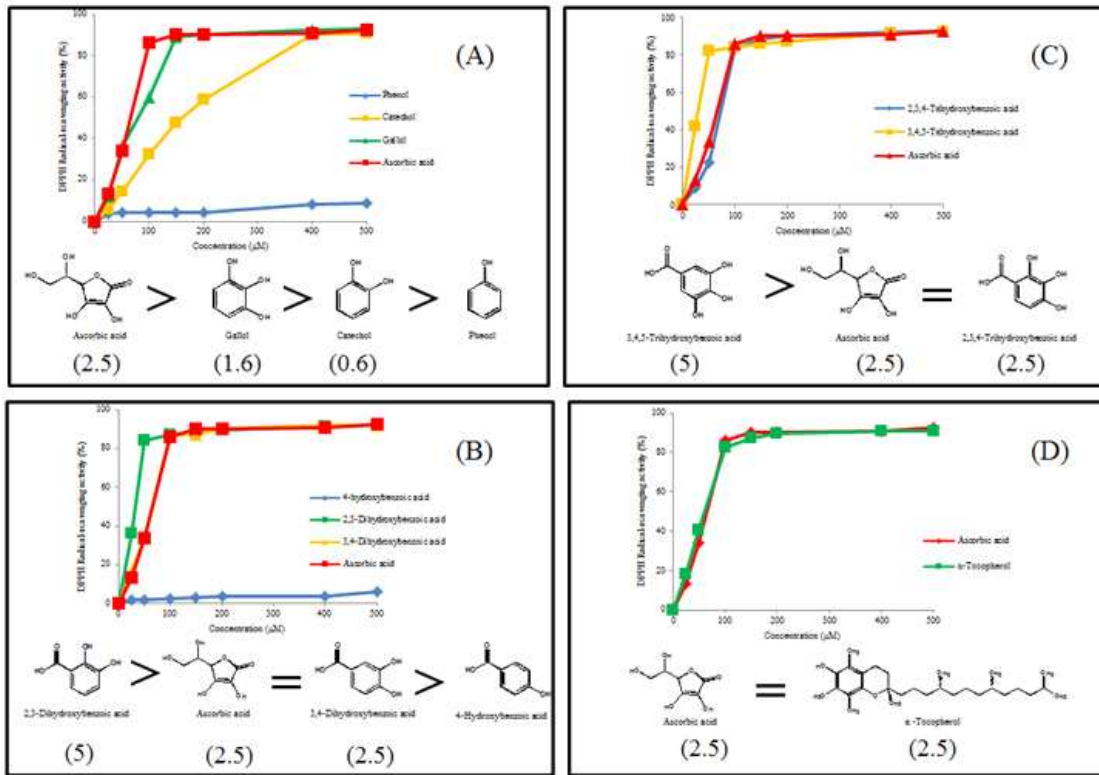
라. 반응 용액의 pH 변화에 따른 DPPH Radical-scavenging 수 비교

(1) pH 7.4 용액 중에서 DPPH Radical-scavenging 수 비교

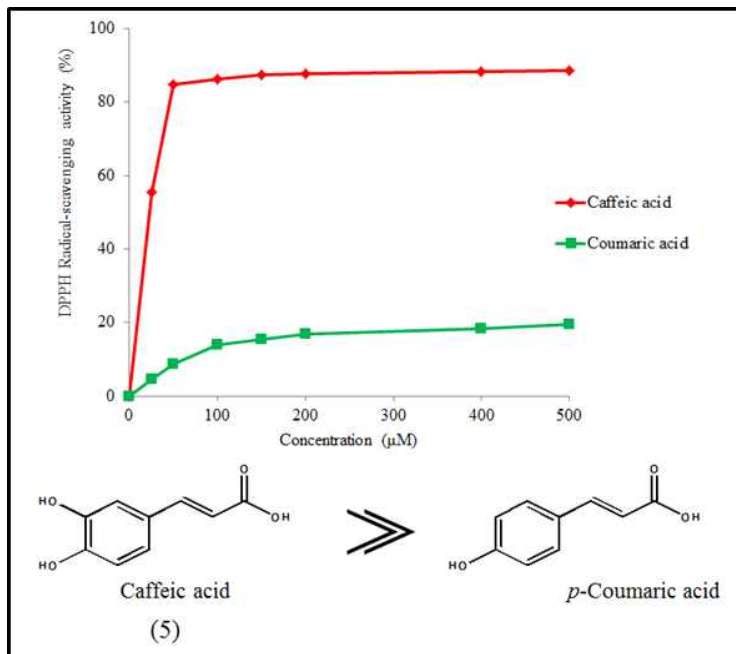
- 생리적 조건에 보다 가까운 용액 중에서 각 화합물들의 radical-scavenging 수를 비교하기 위해 pH 7.4의 용액을 이용하여 비교를 행하였음.
- 그 결과(그림 I-17과 18), 2,3-dihydroxy benzoic acid, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid 및 caffeic acid의 경우, EtOH 용액 중에서의 반응과 마찬가지로 각 화합물 1분자 당 5분자의 DPPH radical을 동일하게 scavenging하는 것으로 나타났음.
- 그 뒤를 이어 ascorbic acid, α-tocopherol, 3,4-dihydroxybenzoic acid 및 2,3,4-trihydroxybenzoic acid가 동일한 정도의 활성을 보였으며, 이들 각 화합물은 1분자 당 2.5분자의 DPPH radical을 scavenging하는 것으로 나타났음.
- 그 다음으로 gallol과 catechol로 각 1분자 당 1.6과 0.6분자씩의 radical을 scavenging하였으며, coumaric acid, 4-hydroxy benzoic acid 및 phenol은 매우 낮은 값을 보였음.
- EtOH 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수를 평가한 결과와 비교 시 전반적으로 유사한 결과를 보였으나, ascorbic acid, catechol, gallol 및 2,3,4-trihydroxybenzoic acid의 경우 EtOH 용액 중에서의 반응 비례 활성이 낮아짐을 확인하였고, 3,4-dihydroxybenzoic acid의 경우는 EtOH 용액 중에서의 반응보다 활성이 높아짐을 알 수 있었음(그림 I-17과 18).
- pH 7.4 용액에 있어서의 결과를 그림 1-18에 정리하였으며, 이와 같이, EtOH 용액 중에서의 반응과 다른 결과가 얻어진 것은 용액의 종류에 따른 화합물들의 용해도 차이 때문이거

나 반응용액의 pH의 차이로부터 기인되었을 가능성이 시사되었음. 그래서, pH의 차이에 따른 대상 화합물들의 반응성을 체계적으로 비교하였음.

■ 그림 I-17. pH 7.4 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



■ 그림 I-18. pH 7.4 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.

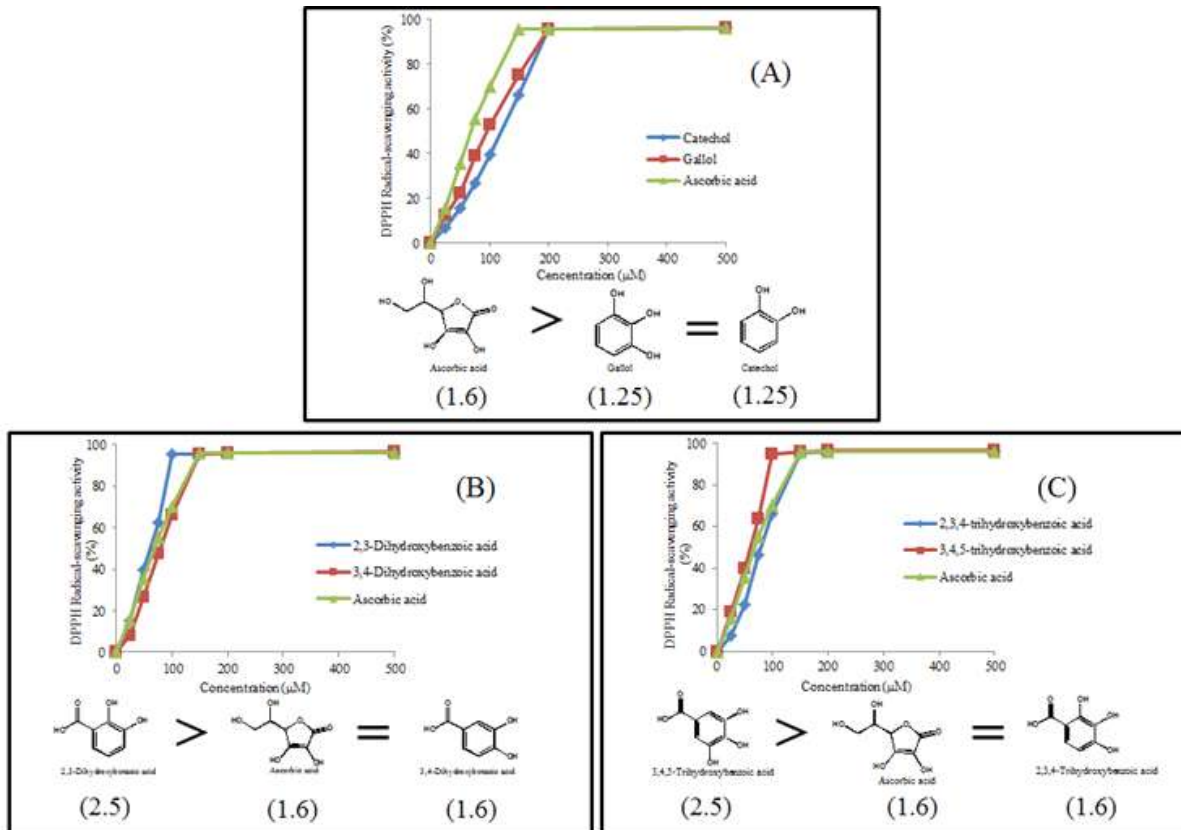




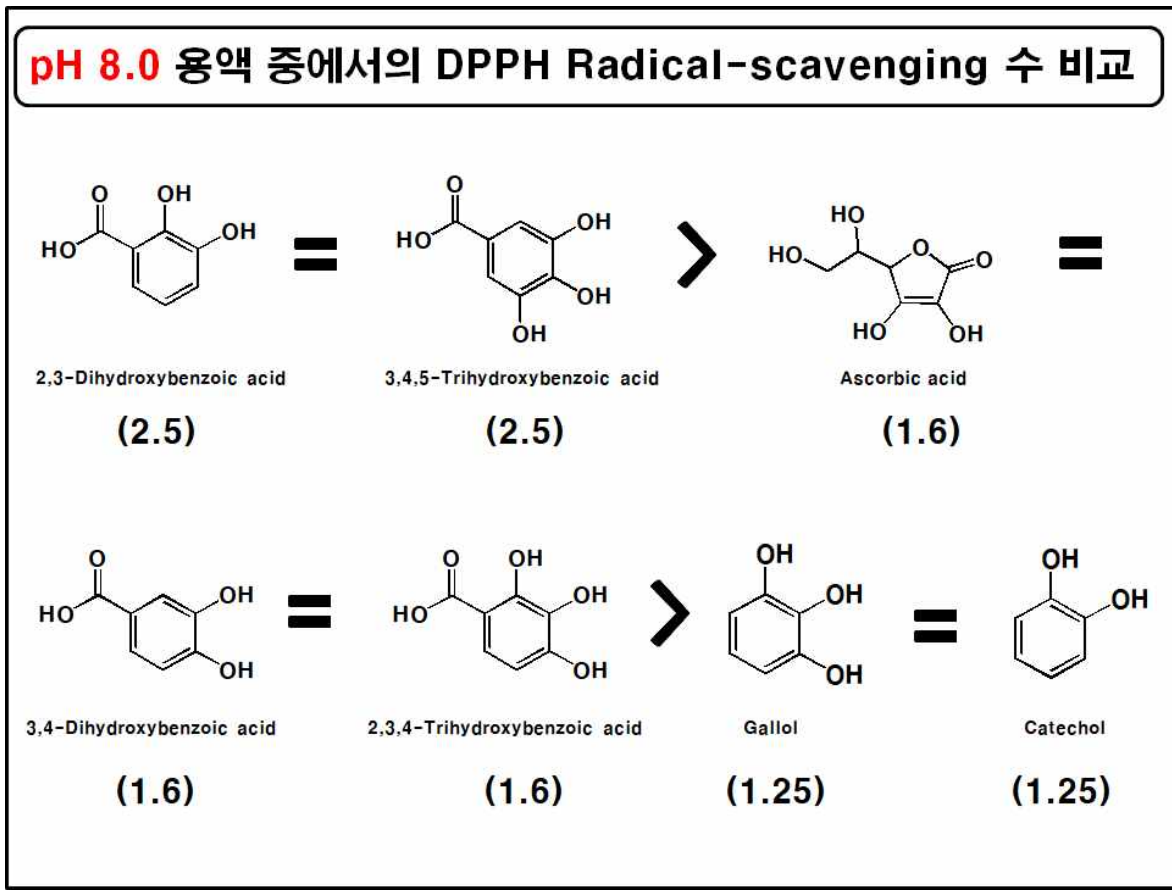
(2) pH 8.0 용액 중에서 DPPH Radical-scavenging 수 비교

- pH 8.0의 조건에서는 2,3-dihydroxybenzoic acid와 3,4,5-trihydroxy benzoic acid가 각각 1 분자 당 2.5분자의 DPPH radical을 scavenging함으로써 가장 높은 활성을 보였으며, 다음으로 ascorbic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid 및 2,3,4-trihydroxybenzoic acid가 1분자 당 각각 1.6분자의 DPPH radical을 scavenging함으로써 동일한 활성을 보였고, 다음으로 gallol (1.25), catechol (1.25) 순으로 활성을 보였음.
- pH 8.0에서 대상 화합물들의 DPPH radical-scavenging 수는 EtOH 용액 중에서의 결과와 비교하였을 때, pH 8.0 용액에서는 화합물들의 활성이 전반적으로 현저히 낮아졌으나, 3,4-dihydroxybenzoic acid만이 동일한 활성(1.6)을 보였음.
- 그리고, pH 7.4 용액 중에서의 결과와 비교하였을 때, pH 8.0 용액에는 화합물의 활성이 전반적으로 낮아졌으나, catechol의 경우에만 특이적으로 활성이 약 2배 정도 향상되었음.
- pH 8.0 용액 중에서 대상 화합물들의 radical-scavenging 수 및 그 활성정도를 그림 I-19와 I-20에 정리하였음.

■ 그림 I-19. pH 8.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



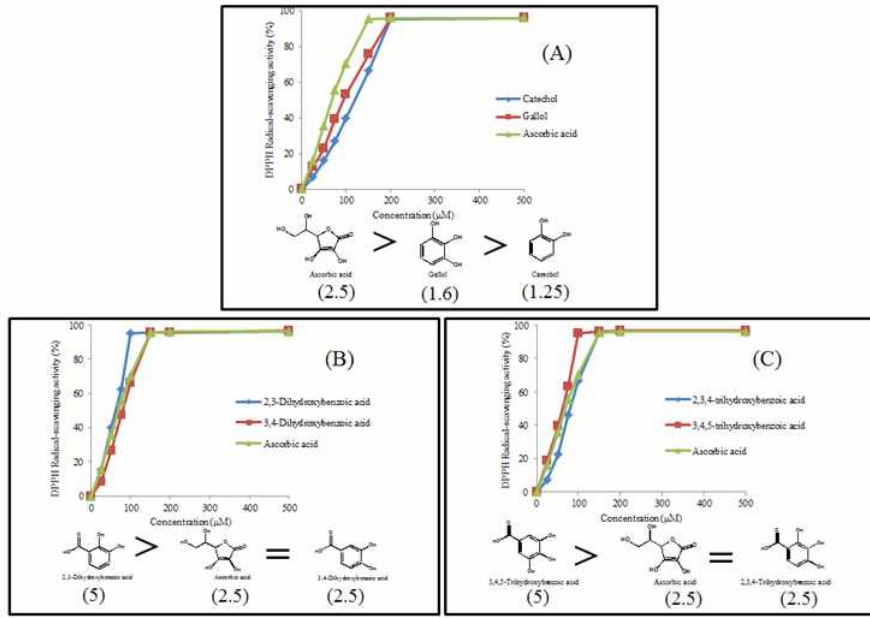
■ 그림 I-20. pH 8.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



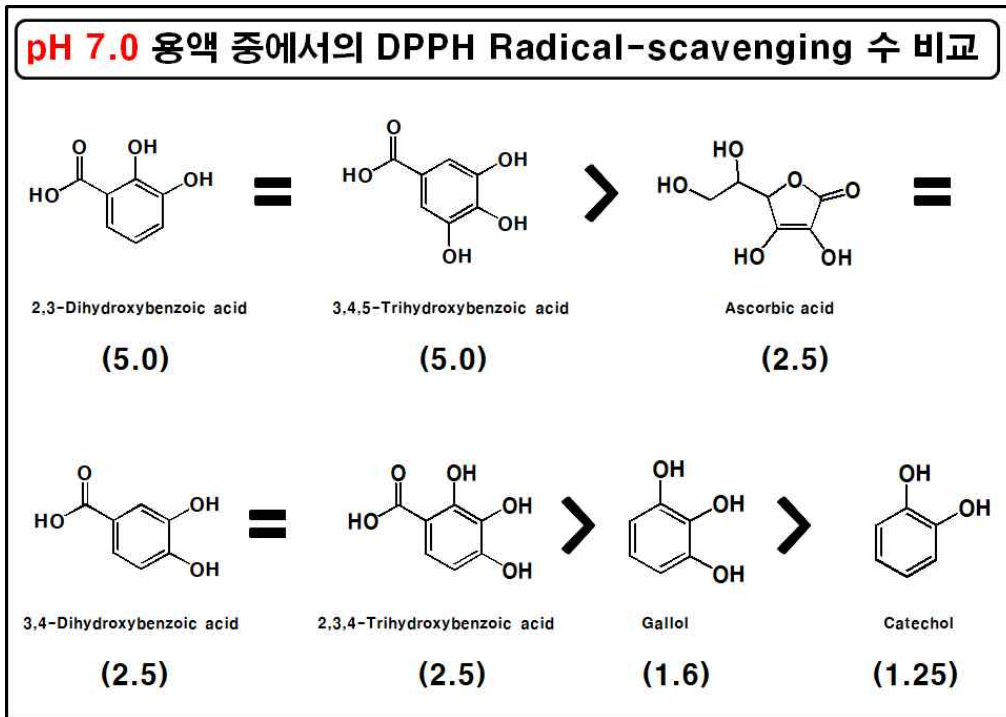
(3) pH 7.0 용액 중에서 DPPH Radical-scavenging 수 비교

- 이어, pH 7.0 용액 중에서의 반응성을 검토하였음. 그 결과(그림 I-21과 I-22), 상기의 조건에서 행한 결과와 달리, pH 7.0의 조건에서는 2,3-dihydroxybenzoic acid와 3,4,5-trihydroxybenzoic acid 각 1분자 당 5분자씩의 DPPH radical을 scavenging했음을 알 수 있었으며, 다음으로 ascorbic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid 및 2,3,4-trihydroxybenzoic acid가 각 1분자 당 2.5분자씩의 DPPH radical을 scavenging하였고, 이어, gallol (1.6)과 catechol (1.25) 순으로 활성을 보였음.
- 그리고, pH 8.0 용액 중에서의 결과와 비교하였을 때, catechol의 경우에만 1분자 당 1.6분자를 동일하게 scavenging하였으며, 다른 화합물들은 pH 7.0 용액 중에서 모두 향상된 활성을 보였음.
- 그리고 pH 7.4와 pH 7.0의 미묘한 pH 변화에 따라 catechol만이 pH 7.0에서 약 2배 정도 높은 활성을 보여 catechol은 pH 변화에 따라 매우 민감하게 작용함을 알 수 있었음.

■ 그림 I-21. pH 7.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



■ 그림 I-22. pH 7.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



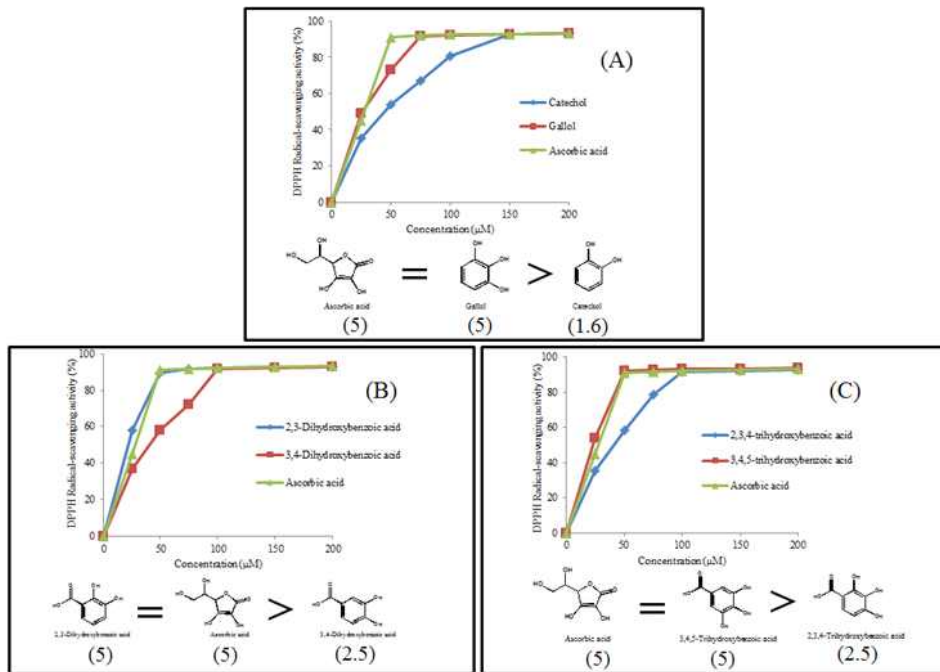
(4) pH 6.0 용액 중에서 DPPH Radical-scavenging 수 비교

- 다음으로 pH 6.0 용액 중에서의 반응성을 검토한 결과(그림 I-23과 I-24), gallol, 2,3-dihydroxybenzoic acid, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid 및 ascorbic acid가 각 1분자 당 5분자씩의 DPPH radical을 scavenging함으로써 가장 높은 활성을 나타냈음.
- 그 다음으로 3,4-dihydroxybenzoic acid와 2,3,4-trihydroxy benzoic acid는 1분자 당 각각 2.5분자씩의 DPPH radical-scavenging 활성을 보였으며, catechol은 1분자 당 1.6분자의

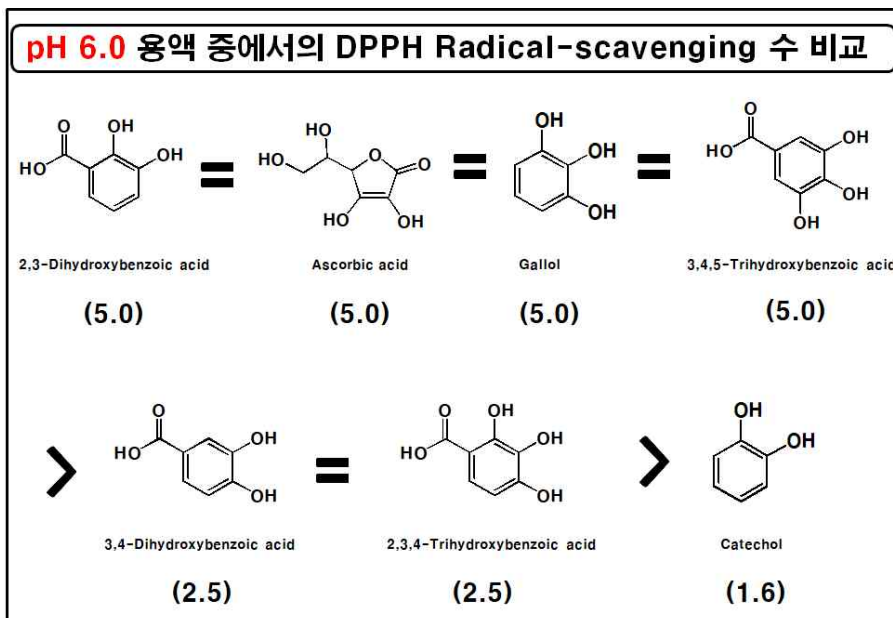
DPPH radical을 scavenging함으로써 가장 낮은 활성을 나타냈음.

- 그리고 pH 7.0 용액 중에서 결과와 비교하였을 때, ascorbic acid는 pH 7.0 용액 중에서의 반응 비해 활성이 2배 높게 나타났으며, gallol은 pH 7.0 용액 중에서 1분자 당 1.6분자를 scavenging 하였으나, pH 6.0 용액 중에서는 5분자를 scavenging할 정도로 높은 활성을 나타냈음.
- 다른 화합물의 경우에 있어서도 pH 6.0 용액 중에서의 결과가 pH 7.0 용액 중에서의 결과보다 더 활성이 높아짐을 확인하였음. pH 6.0 용액 중에서 대상 화합물들의 radical-scavenging 수 및 그 활성정도를 그림 I-24에 정리하였음.

■ 그림 I-23. pH 6.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



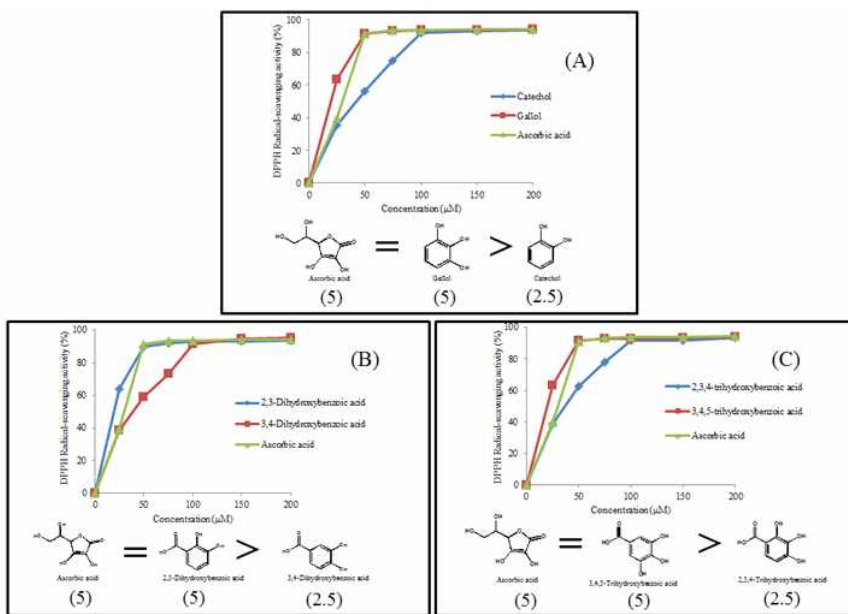
■ 그림 I-24. pH 6.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



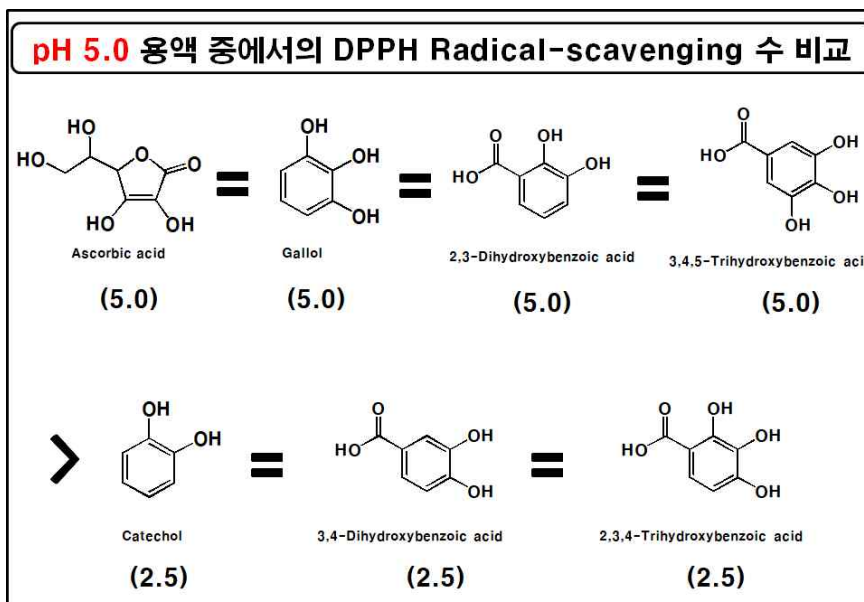
(5) pH 5.0 용액 중에서 DPPH Radical-scavenging 수 비교

- pH 5.0 용액 중에서의 반응성을 검토한 결과(그림 I-25과 I-26), ascorbic acid, gallol, 2,3-dihydroxybenzoic acid 및 3,4,5-trihydroxybenzoic acid가 각 1분자 당 5분자씩의 DPPH radical을 scavenging함으로써 가장 높은 활성을 보였으며, 그 다음으로 catechol, 3,4-dihydroxybenzoic acid 및 2,3,4-trihydroxybenzoic acid가 각 1분자 당 2.5분자씩의 DPPH radical을 scavenging함으로써 동일한 활성을 나타냈음.
- pH 6.0 용액 중에서는 catechol 1분자 당 1.6분자를 scavenging 하였으나, pH 5.0 용액 중에서는 1분자 당 2.5분자를 scavenging하여 catechol의 경우 pH 6.0 용액 중에서 보다 pH 5.0 용액 중에서 비해 활성이 더 향상됨을 확인하였음.

■ 그림 I-25. pH 5.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



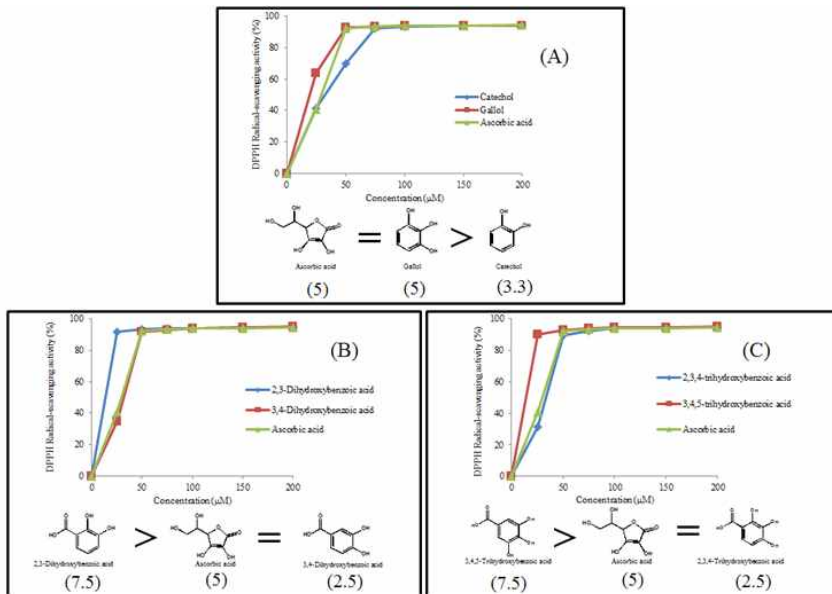
■ 그림 I-26. pH 5.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



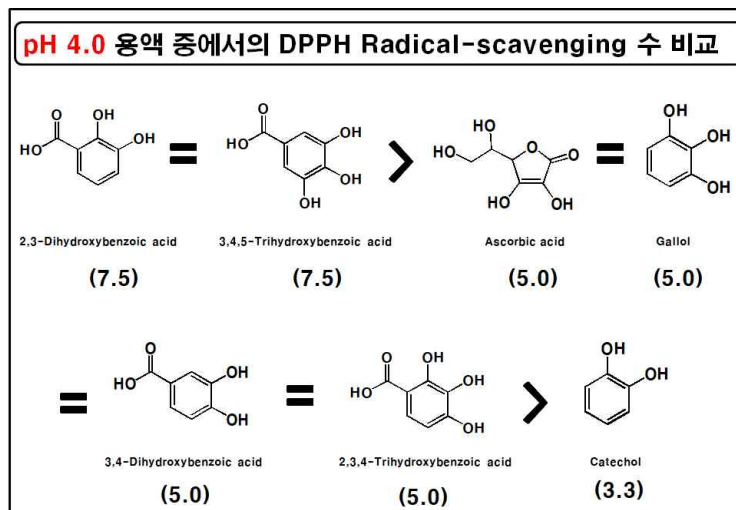
(6) pH 4.0 용액에서 DPPH Radical-scavenging 수 비교

- pH 4.0 용액 중에서의 화합물 반응성을 검토한 결과(그림 I-27과 I-28), 2,3-dihydroxybenzoic acid와 3,4,5-trihydroxybenzoic acid가 각 1분자 당 7.5분자의 DPPH radical을 scavenging함으로써 가장 활성이 높았으며, 그 다음으로 ascorbic acid와 gallol은 각 1분자 당 5분자씩을 scavenging하여 동일한 활성을 나타냈으며, 3,4-dihydroxybenzoic acid와 2,3,4-trihydroxybenzoic acid는 각 1분자 당 5분자씩의 DPPH radical을 scavenging 하였으며, catechol은 1분자 당 3.3분자를 scavenging하는 활성을 나타냈음.
- 그리고, pH 4.0과 pH 5.0의 용액 중에서의 결과들을 비교하였을 때, gallol만이 동일한 정도의 활성을 나타냈으며, 다른 화합물들은 pH 5.0 용액에 비해 pH 4.0 용액에서 활성이 더 높게 확인되었음.
- 그리고, pH 4.0 용액 중에서 3,4-dihydroxybenzoic acid (5)와 2,3,4-trihydroxybenzoic acid (5)의 경우에는 pH 5.0 용액 중에서의 결과(2.5)에 비해 활성이 2배나 높게 나타났음.

■ 그림 I-27. pH 4.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



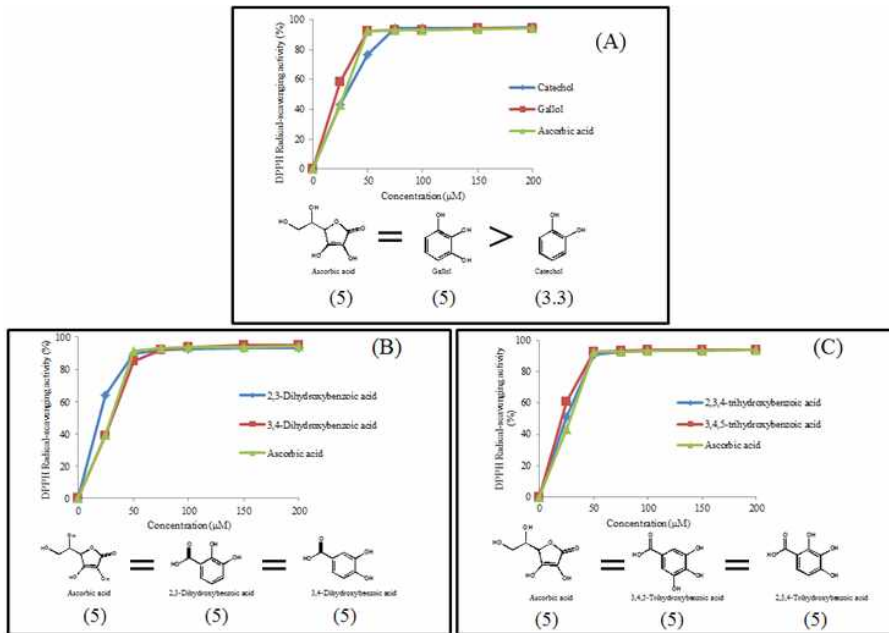
■ 그림 I-28. pH 4.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



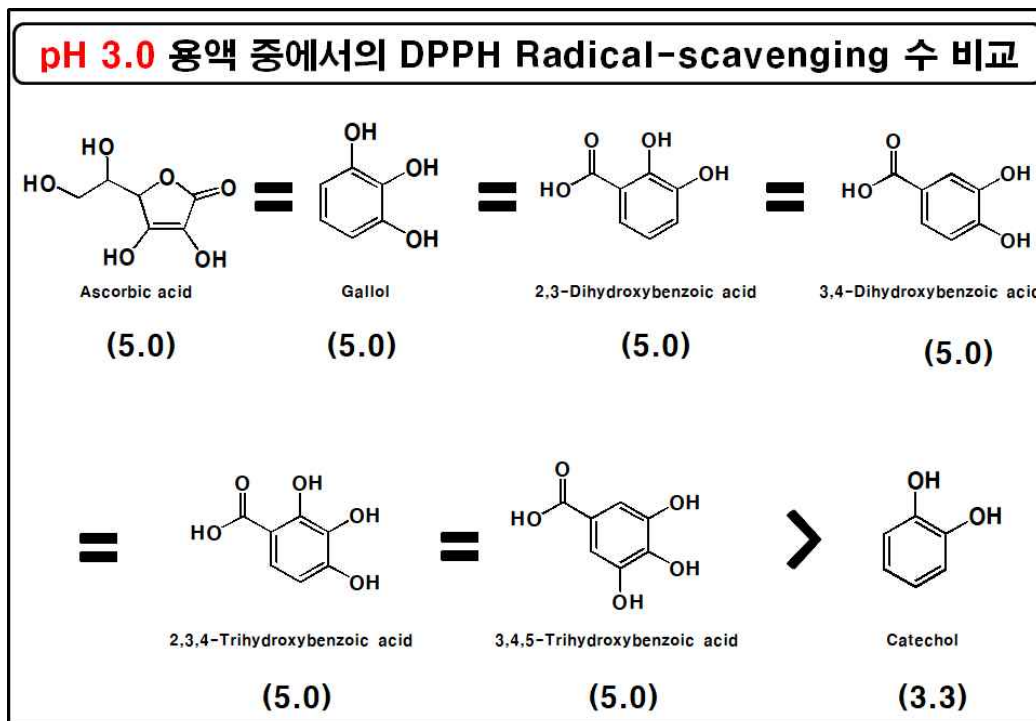
(7) pH 3.0 용액에서 DPPH Radical-scavenging 수 비교

- 이어, pH 3.0 용액 중에서의 반응성을 검토하였음. 그 결과(그림 I-29과 I-30), ascorbic acid, gallol, 2,3-dihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 2,3,4-trihydroxybenzoic acid 및 3,4,5-trihydroxybenzoic acid는 1분자 당 각각 5분자씩의 DPPH radical을 scavenging함으로써 가장 높은 활성을 보였으며, catechol은 1분자 당 3.3분자를 scavenging하였음.

■ 그림 I-29. pH 3.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.










■ 그림 I-30. pH 3.0 용액 중에서 DPPH radical-scavenging 수 비교 결과.



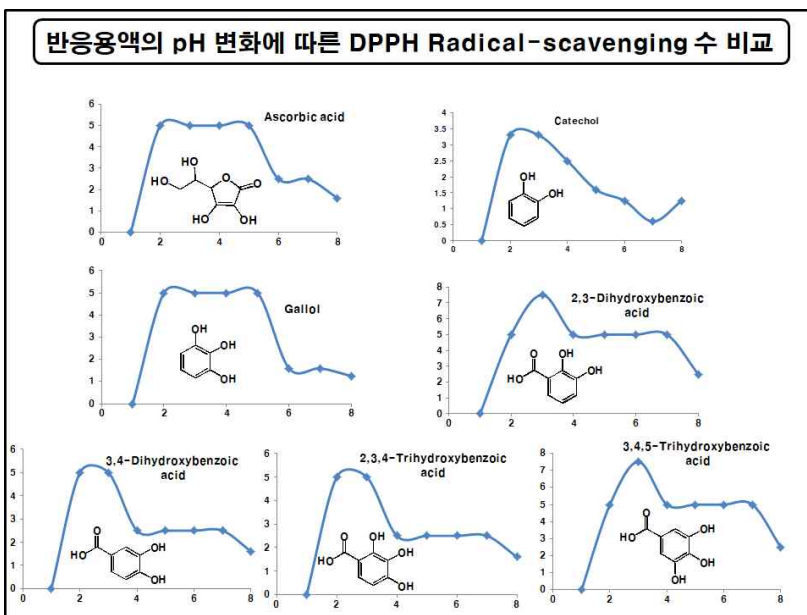
- 그리고, pH 4.0 용액 중에서의 결과와 비교하였을 때, 화합물 대부분의 활성정도가 동일하게 나타났으나, 2,3-dihydroxy benzoic acid와 3,4,5-trihydroxybenzoic acid는 pH 4.0 용액 중에서는 1분자 당 7.5분자씩을 scavenging하였으나, pH 3.0 용액 중에서는 1분자 당 5분자의 DPPH radical을 scavenging하여 pH 3.0 용액 중에서 더 낮은 활성을 나타냈음.
- 이상 반응용액의 pH 변화에 따른 대상 화합물들의 DPPH radical-scavenging 수를 비교한 결과를 그림 I-31에 종합하여 제시하였음. 또한 각 화합물의 pH에 따른 DPPH radical-scavenging 수는 그래프화하여 그림 I-32에 제시하였음.

■ 그림 I-31. 다양한 pH 조건에서의 radical-scavenging 수 평가 결과 요약.

Radical-scavenging 수의 요약									
화합물 이름	구조식	EtOH	pH						
			8	7.4	7	6	5	4	3
Ascorbic acid		5.0	1.6	2.5	2.5	5.0	5.0	5.0	5.0
Catechol		2.5	1.25	0.6	1.25	1.6	2.5	3.3	3.3
Gallol		5.0	1.25	1.6	1.6	5.0	5.0	5.0	5.0
2,3-Dihydroxybenzoic acid		5.0	2.5	5.0	5.0	5.0	5.0	7.5	5.0
3,4-Dihydroxybenzoic acid		1.6	1.6	2.5	2.5	2.5	2.5	5.0	5.0
2,3,4-Trihydroxybenzoic acid		5.0	1.6	2.5	2.5	2.5	2.5	5.0	5.0
3,4,5-Trihydroxybenzoic acid		5.0	2.5	5.0	5.0	5.0	5.0	7.5	5.0

▶ 반응 용액의 pH 변화에 따라 radical-scavenging 활성정도가 다른 화합물에 비해 매우 민감함.

■ 그림 I-32. 다양한 pH 조건에서의 radical-scavenging 수 평가 결과 요약.



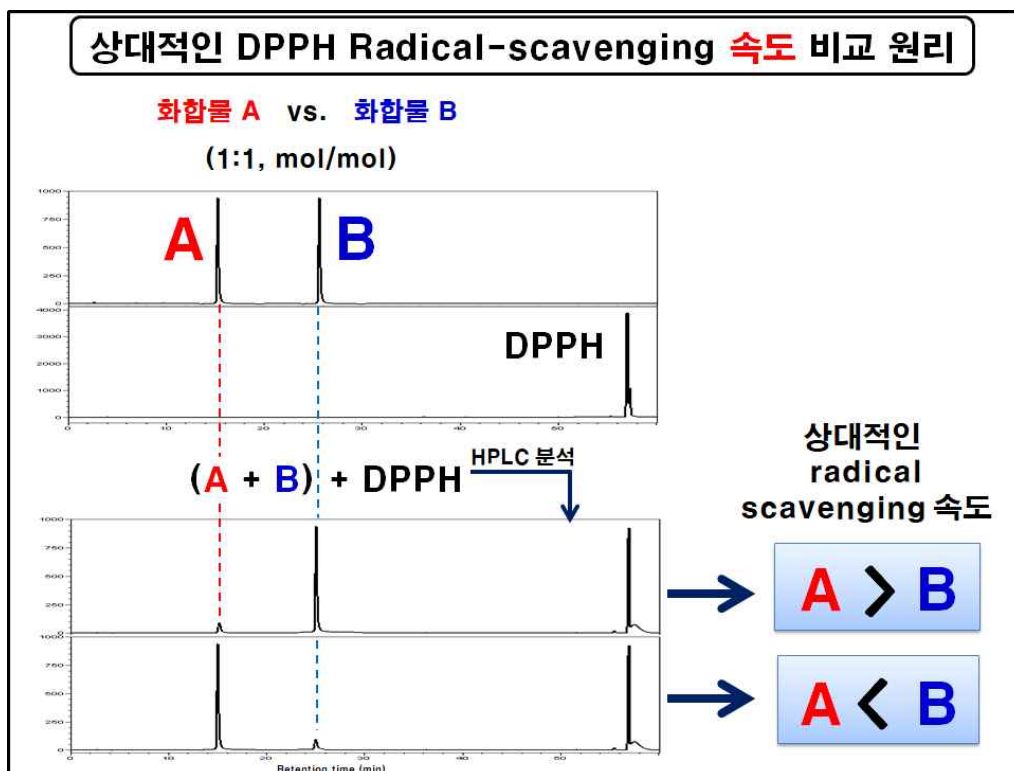
▶ 반응 용액의 pH 변화에 따라 radical-scavenging 활성정도가 다른 화합물에 비해 매우 민감함.



마. HPLC 분석법을 이용한 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 원리

- 본 연구에서는 phenolic 화합물의 상대적인 radical-scavenging 속도의 비교방법을 HPLC 분석법을 이용하여 자체적으로 확립하였음.
- 분석결과는 두 가지의 경우로 나타날 수 있음.
- 첫 번째 경우로써는 화합물 A는 감소하거나 소실되고, 화합물 B는 초기상태와 동일한 정도로 나타나는 경우임.
- 이 경우에는 화합물 A가 화합물 B보다 DPPH radical-scavenging 속도가 더 빨랐음을 의미함.
- 그리고 두 번째로는 화합물 A가 초기상태와 동일한 정도를 유지하고 화합물 B가 감소하거나 소실되는 경우임.
- 이 경우에는 화합물 B가 화합물 A보다 DPPH radical을 더 빠르게 scavenging하였음을 의미함.
- 이와 같은 매우 간단한 원리를 적용하여 대상 화합물들의 상대적인 radical-scavenging 속도를 계통적으로 비교하였음(그림 I-33).

▣ 그림 I-33. HPLC 분석법을 이용한 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 원리.



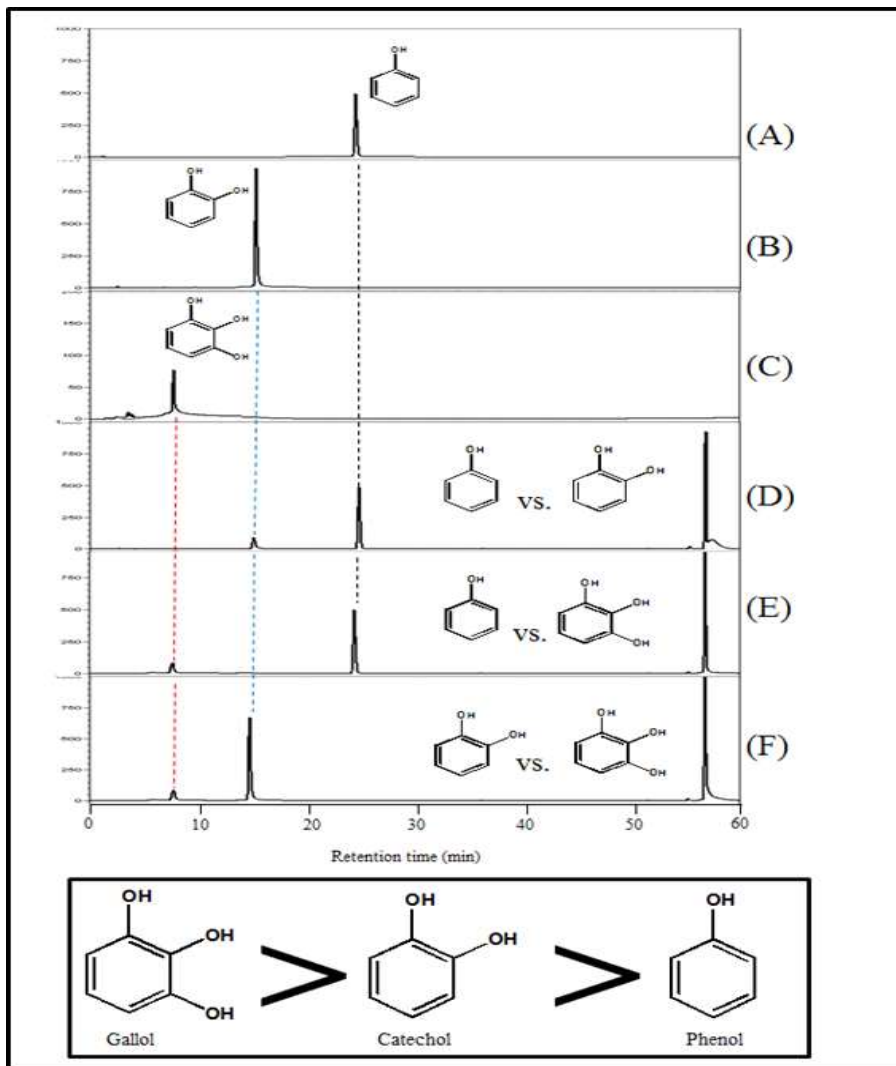
- ▶ 본 방법은 간단한 원리를 이용하여 매우 신속하게 항산화 화합물들의 상대적인 radical-scavenging 속도를 비교할 수 있는 방법임.
- ▶ 그래서 본 방법을 이용하여 대상 화합물들의 상대적인 radical-scavenging 속도를 계통적으로 비교하였음.

바. EtOH 용액 중 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교

(1) Phenol, Catechol 및 Gallol의 상대적인 DPPH Radical- scavenging 속도 비교

- 수산기가 하나인 phenol (그림 I-34의 A,  $t_R$  26 min)과 두 개인 catechol (그림 I-34의 B,  $t_R$  15 min)을 비교한 결과(그림 I-34의 D), phenol의 peak 감소는 관찰되지 않았으나 catechol의 peak만이 소실되었음.
- 즉 이 결과로부터 catechol이 phenol에 비해 DPPH radical을 더 빨리 scavenging했음을 의미함.
- 그리고 수산기가 세 개인 gallol (그림 I-34의 C,  $t_R$  8 min)과 phenol을 비교한 결과(그림 I-34의 E), gallol의 radical-scavenging 속도가 더 빨랐음을 알 수 있었음.
- 다음으로 phenol보다 radical-scavenging 속도가 더 빨랐던 catechol과 gallol을 비교한 결과 (그림 I-34의 F), 수산기가 세 개인 gallol이 catechol보다 더 빠른 radical-scavenging 속도를 보였음. 따라서 인접한 phenolic 수산기의 수가 더 많을수록 DPPH radical-scavenging 속도가 더 빠름을 확인할 수 있었음.

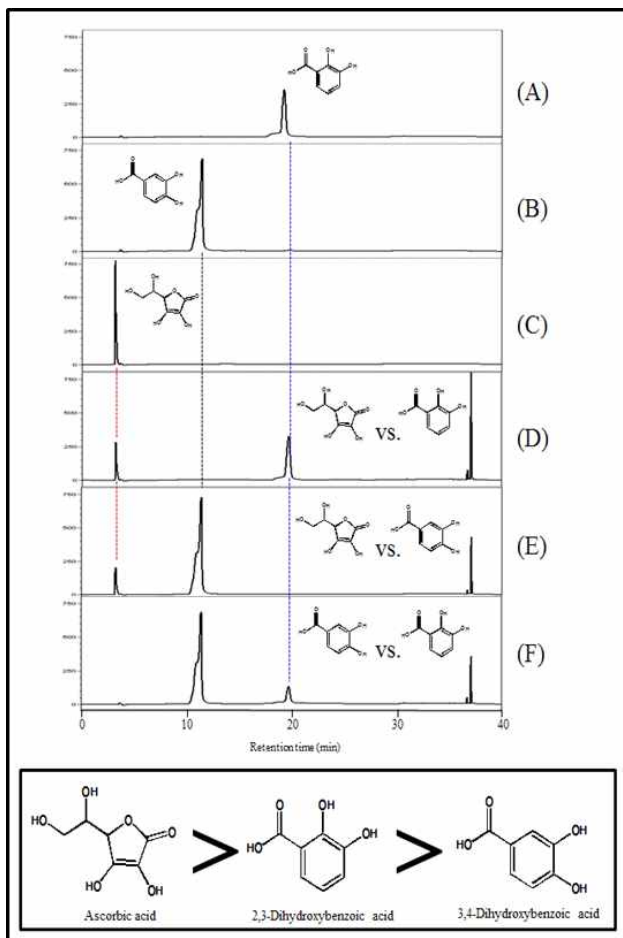
■ 그림 I-34. EtOH 용액 중 phenol, catechol 및 gallol의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.



(2) 2,3-Dihydroxybenzoic Acid, 3,4-Dihydroxybenzoic Acid 및 Ascorbic Acid의 상대적인 DPPH Radical-scavenging 속도 비교

- 이어, 본 항에서는 공통적으로 catechol 구조를 가지고 있으나 benzene 환에 carboxylic acid기의 결합위치만이 다른 화합물들을 대상으로 DPPH radical-scavenging 속도를 비교 하였음.
- 먼저 2,3-dihydroxybenzoic acid (그림 I-35의 A,  $t_R$  22 min)와 대조구로 이용된 ascorbic acid (그림 I-35의 C,  $t_R$  3 min)를 비교하였음.
- 그 결과(그림 I-35의 D), 2,3-dihydroxybenzoic acid보다 ascorbic acid의 radical-scavenging 속도가 더 빨랐음.
- 그리고 2,3-dihydroxybenzoic acid와 carboxylic acid기의 결합위치만이 다른 3,4-dihydroxybenzoic acid (그림 I-35의 B,  $t_R$  11 min) 및 ascorbic acid 간의 상대적인 radical-scavenging 속도를 비교하였음.
- 그 결과(그림 I-35의 E), ascorbic acid가 3,4-dihydroxybenzoic acid보다 radical-scavenging 속도가 더 빨랐음.
- 다음은 2,3-dihydroxybenzoic acid와 3,4-dihydroxybenzoic acid를 비교한 결과(그림 I-35의 F), 2,3-dihydroxybenzoic acid가 더 radical-scavenging 속도가 빠름을 확인하였음.

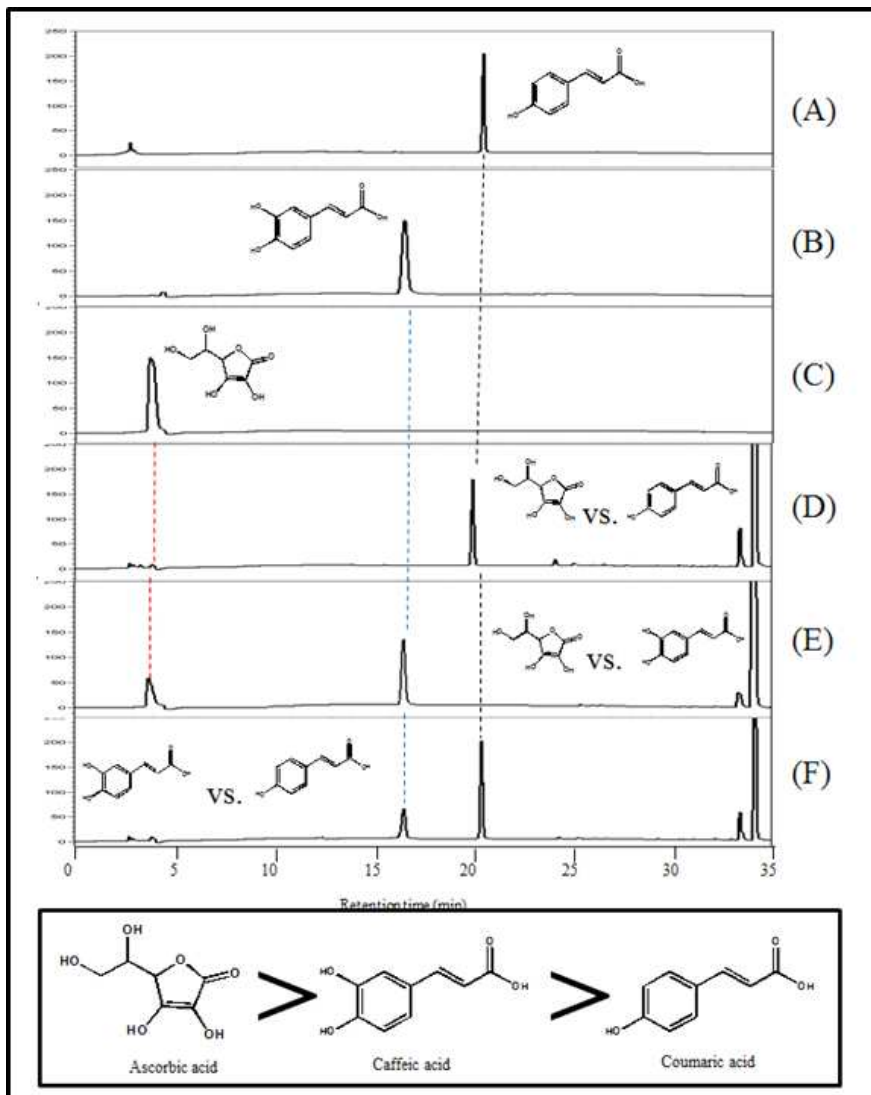
■ 그림 I-35. EtOH 용액 중 2,3-dihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid 및 ascorbic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.



(3) Caffeic Acid, Coumaric Acid 및 Ascorbic Acid의 상대적인 DPPH Radical-scavenging 속도 비교

- 이어, propenoic acid기가 catechol에 결합된 화합물들을 대상으로 그들 간의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도를 비교하였음.
- 수산기 한 개를 갖는 coumaric acid (그림 I-36의 A,  $t_R$  21 min)와 ascorbic acid (그림 I-36의 C,  $t_R$  4 min)를 비교하였음.
- 그 결과(그림 I-36의 D), coumaric acid보다 ascorbic acid가 더 빠른 DPPH radical-scavenging 속도를 보였음.
- 이어, 수산기를 두 개 갖는 caffeic acid (그림 I-36의 B,  $t_R$  17 min)와 ascorbic acid를 비교하였던 결과(그림 I-36의 E), caffeic acid보다 ascorbic acid가 더 빠른 radical-scavenging 속도를 보였음.
- 그리고, coumaric acid와 caffeic acid를 비교한 결과(그림 I-36의 F) 수산기를 한 개 갖는 coumaric acid보다 수산기를 두 개를 갖는 caffeic acid가 더 radical-scavenging 속도가 빠름을 확인하였음.

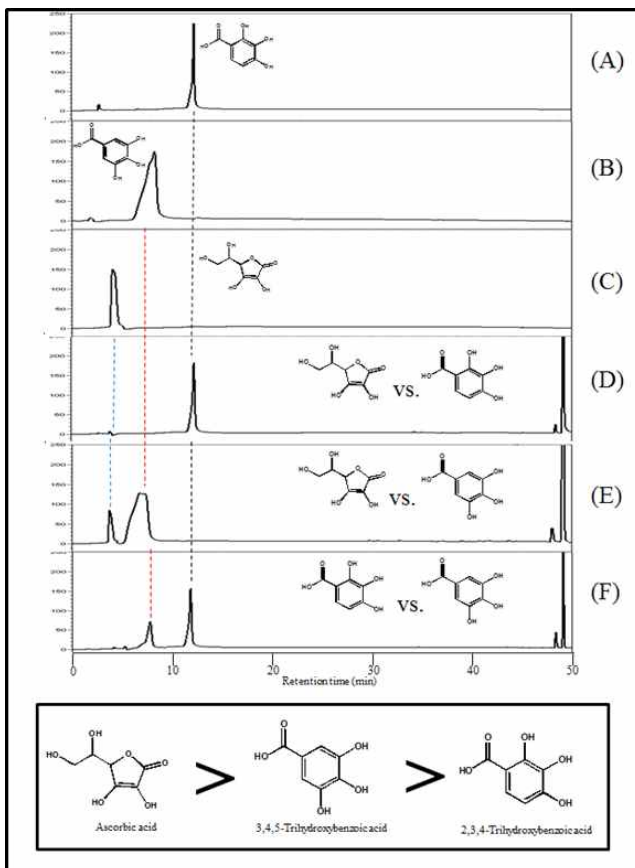
■ 그림 I-36. EtOH 용액 중 caffeic acid, coumaric acid 및 ascorbic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.



(4) 2,3,4-Trihydroxybenzoic Acid, 3,4,5-Trihydroxybenzoic Acid 및 Ascorbic Acid의 상대적인 DPPH Radical-scavenging 속도 비교

- Benzene환에 인접 수산기 3종이 연속하여 결합된 gallol 구조에 carboxylic acid의 결합위치만이 다른 화합물들 간의 DPPH radical-scavenging 속도를 비교하였음.
- 2,3,4-trihydroxybenzoic acid (그림 I-37의 A,  $t_R$  12 min)와 ascorbic acid (그림 I-37의 C,  $t_R$  4 min)를 비교한 결과(그림 1-38의 D), ascorbic acid가 2,3,4-trihydroxybenzoic acid보다 radical-scavenging 속도가 더 빨랐음.
- 그리고 3,4,5-trihydroxybenzoic acid (그림 I-37의 B,  $t_R$  8 min)와 ascorbic acid를 비교한 결과(그림 I-37의 E), 초기상태를 100%로 하여 감소정도를 비교하면, ascorbic acid는 44%, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid는 30%가 감소되었음. 즉, ascorbic acid가 3,4,5-trihydroxybenzoic acid보다 더 빠른 radical-scavenging 속도를 보인 것으로 해석됨. 그러나 이러한 경우, 설정된 분석조건에 있어 두 화합물들의 검출감도가 다를 것을 고려하였을 때 그들의 상대적인 radical-scavenging 속도를 단정적으로 결론짓기는 어렵다고 판단됨. 그러나 두 화합물이 모두 감소했던 것으로 보아 두 화합물의 radical-scavenging 속도는 거의 유사한 것으로 판단되며, 상호 경쟁적으로 반응하는 것으로 해석됨.
- 이어, 2,3,4-trihydroxybenzoic acid와 3,4,5-trihydroxybenzoic acid를 비교한 결과(그림 I-37의 F), 흥미롭게도 3,4,5-trihydroxybenzoic acid가 2,3,4-trihydroxybenzoic acid보다 더 빠른 radical-scavenging 속도를 보였음.

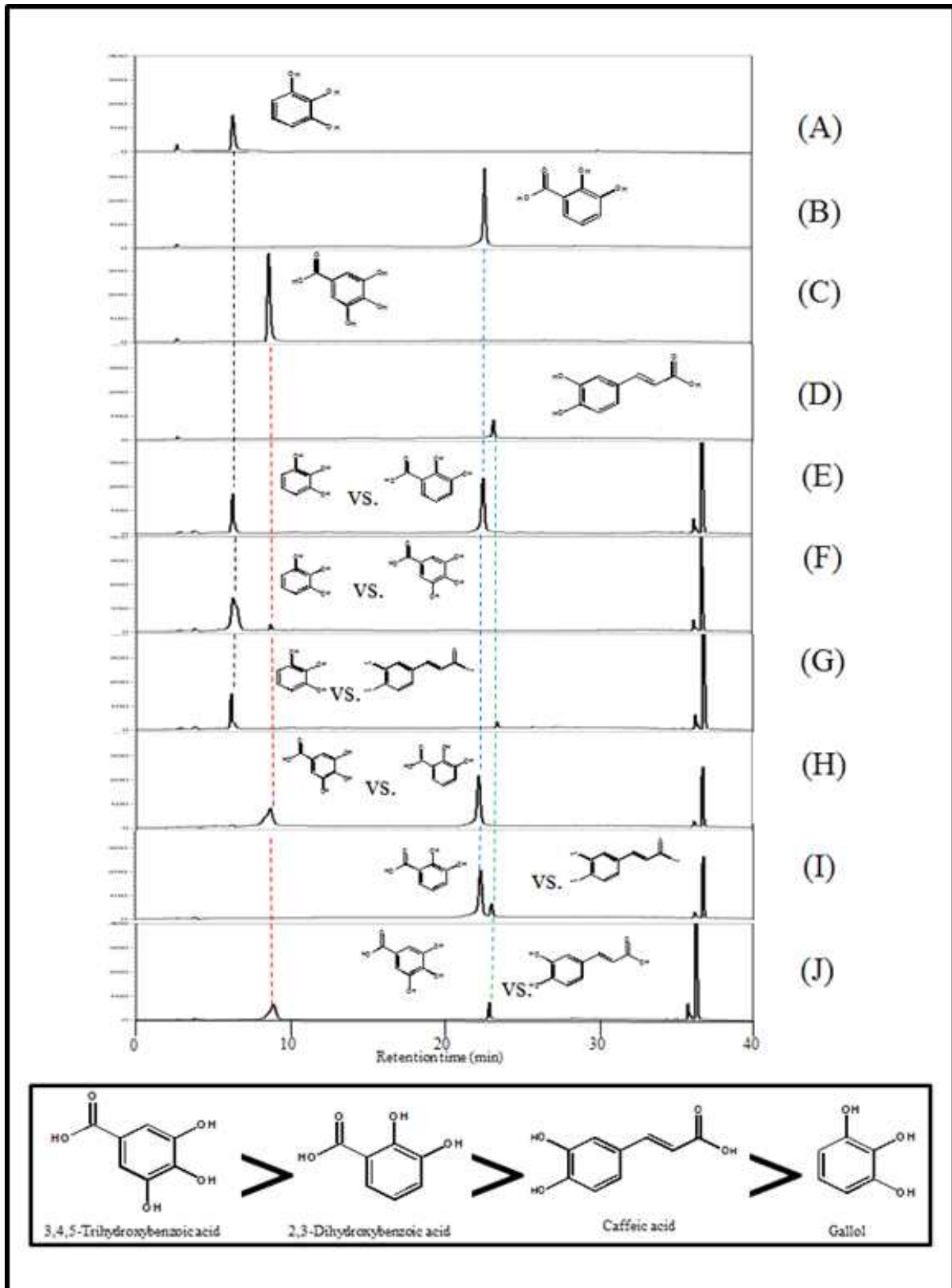
■ 그림 I-37. EtOH 용액 중 2,3,4-trihydroxybenzoic acid, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid 및 ascorbic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.



(5) Gallol, 2,3-Dihydroxybenzoic Acid, 3,4,5-Trihydroxybenzoic Acid 및 Caffeic Acid의 상대적인 DPPH Radical-scavenging 속도 비교

- EtOH 용액 중에서 수산기가 세 개인 gallol (그림 I-38의 A,  $t_R$  8 min)과 catechol 구조에 carboxylic acid기가 결합된 2,3-dihydroxybenzoic acid (그림 I-38의 B,  $t_R$  21.5 min) 간의 DPPH radical-scavenging 속도를 비교하였음.
- 그 결과(그림 I-38의 E), carboxylic acid기가 결합되지 않은 gallol보다 carboxylic acid기가 결합되어 있으면서 catechol 구조를 갖는 2,3-dihydroxybenzoic acid가 더 빠른 radical-scavenging 속도를 보였음. 다음으로, gallol과 gallol 구조에 carboxylic acid기가 결합된 3,4,5-trihydroxybenzoic acid (그림 I-38의 C,  $t_R$  9 min)와 비교한 결과(그림 I-38의 F), carboxylic acid기가 없는 gallol보다 carboxylic acid기를 갖는 3,4,5-trihydroxybenzoic acid가 확연히 더 빠른 radical-scavenging 속도를 보였고, catechol 구조에 propenoic acid기가 결합된 caffeic acid (그림 I-38의 D,  $t_R$  22 min)와 gallol 간의 비교 결과(그림 I-38의 G), gallol보다 caffeic acid가 더욱 radical을 빨리 scavenging하였음.
- 그리고 2,3-dihydroxybenzoic acid와 3,4,5-trihydroxybenzoic acid를 비교한 결과(그림 I-38의 H), 초기의 상태를 100%로 하여 그들의 감소정도를 확인하였을 때, 2,3-dihydroxybenzoic acid는 40% 감소하였고, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid는 80% 감소되었음. 따라서 2,3-dihydroxybenzoic acid보다 3,4,5-trihydroxybenzoic acid가 더 빠른 radical-scavenging 속도를 보인 것으로 해석됨.
- 2,3-Dihydroxybenzoic acid와 caffeic acid의 radical-scavenigng 속도를 비교한 결과(그림 1-39의 I), 두 화합물들의 확연한 감소경향을 판단하기 어려웠음. 따라서 반응 전의 peak area값을 100%로 하여 감소정도를 확인한 바, caffeic acid는 23%, 그리고 2,3-dihydroxybenzoic acid는 40%가 감소한 것으로 확인되었음. 즉, caffeic acid보다 2,3-dihydroxybenzoic acid가 더욱 빨리 radical을 scavenging한 것으로 판단되었음.
- 그리고, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid와 caffeic acid를 비교한 결과(그림 I-38의 J), caffeic acid보다 3,4,5-trihydroxybenzoic acid가 더욱 빠른 radical-scavenging 속도를 보였음.
- 앞에서도 기술한 바와 같이 동일 반응용액 중에서 두 화합물들 모두가 감소되는 경향을 보인 경우에는 그 정도에 차이가 있을지라도 양자가 경쟁적으로 radical을 scavenging하는 것으로 해석되어야 한다고 판단됨.

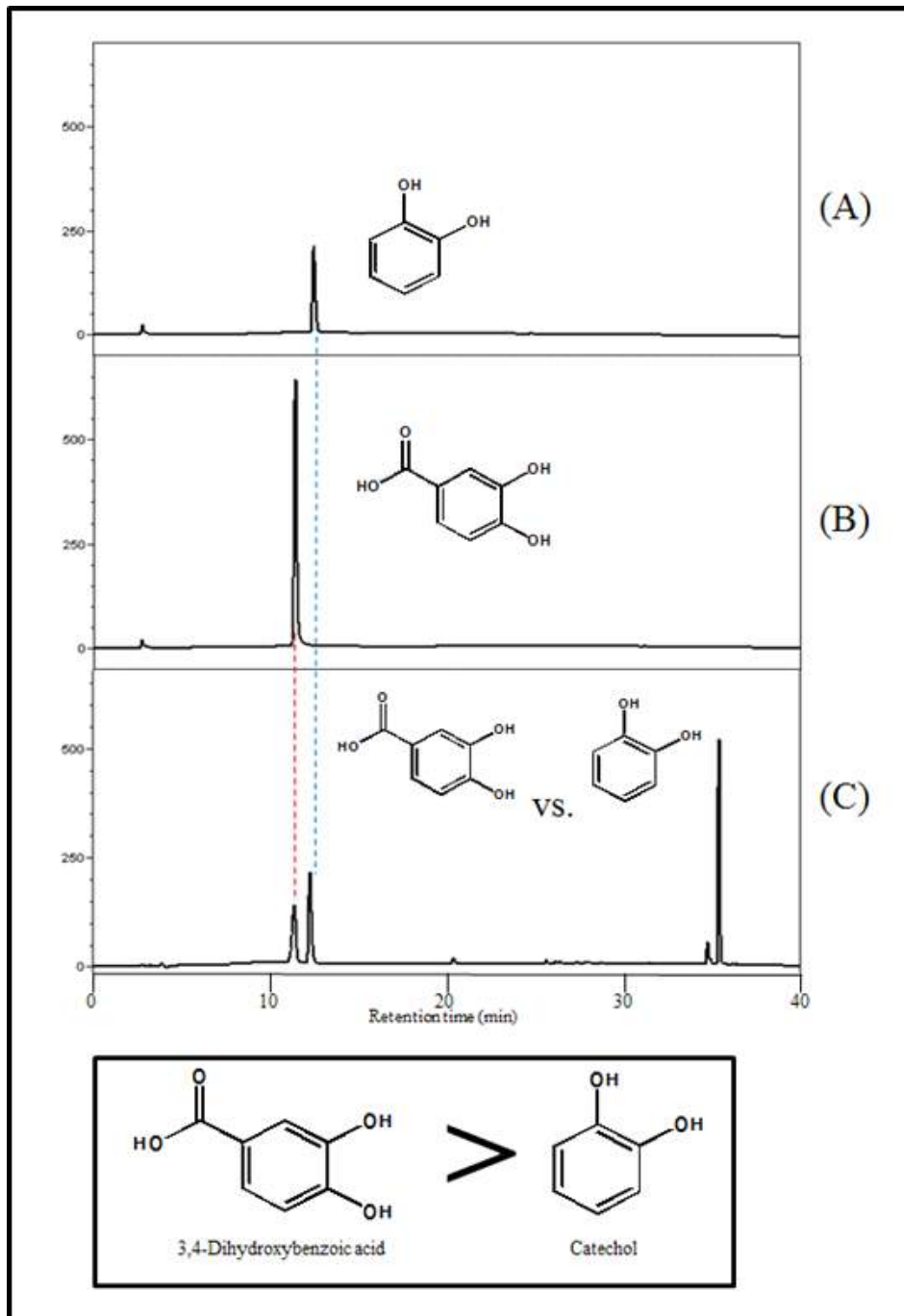
■ 그림 I-38. EtOH 용액 중 gallol, 2,3-dihydroxybenzoic acid, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid 및 caffeic acid의 상대적인 DPPH radical- scavenging 속도 비교 결과.



(6) Catechol과 3,4-Dihydroxybenzoic Acid의 상대적인 DPPH Radical-scavenging 속도 비교

- 이어, catechol (그림 I-39의 A,  $t_R$  12 min)과 catechol 구조에 carboxylic acid기가 결합된 3,4-dihydroxybenzoic acid (그림 I-39의 B,  $t_R$  11 min)를 대상으로 DPPH radical-scavenging 속도를 비교하였음. 그 결과(그림 I-39의 C), catechol보다 3,4-dihydroxybenzoic acid가 더 빠른 radical-scavenging 속도를 나타냈음.

■ 그림 I-39. EtOH 용액 중 catechol과 3,4-dihydroxybenzoic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.

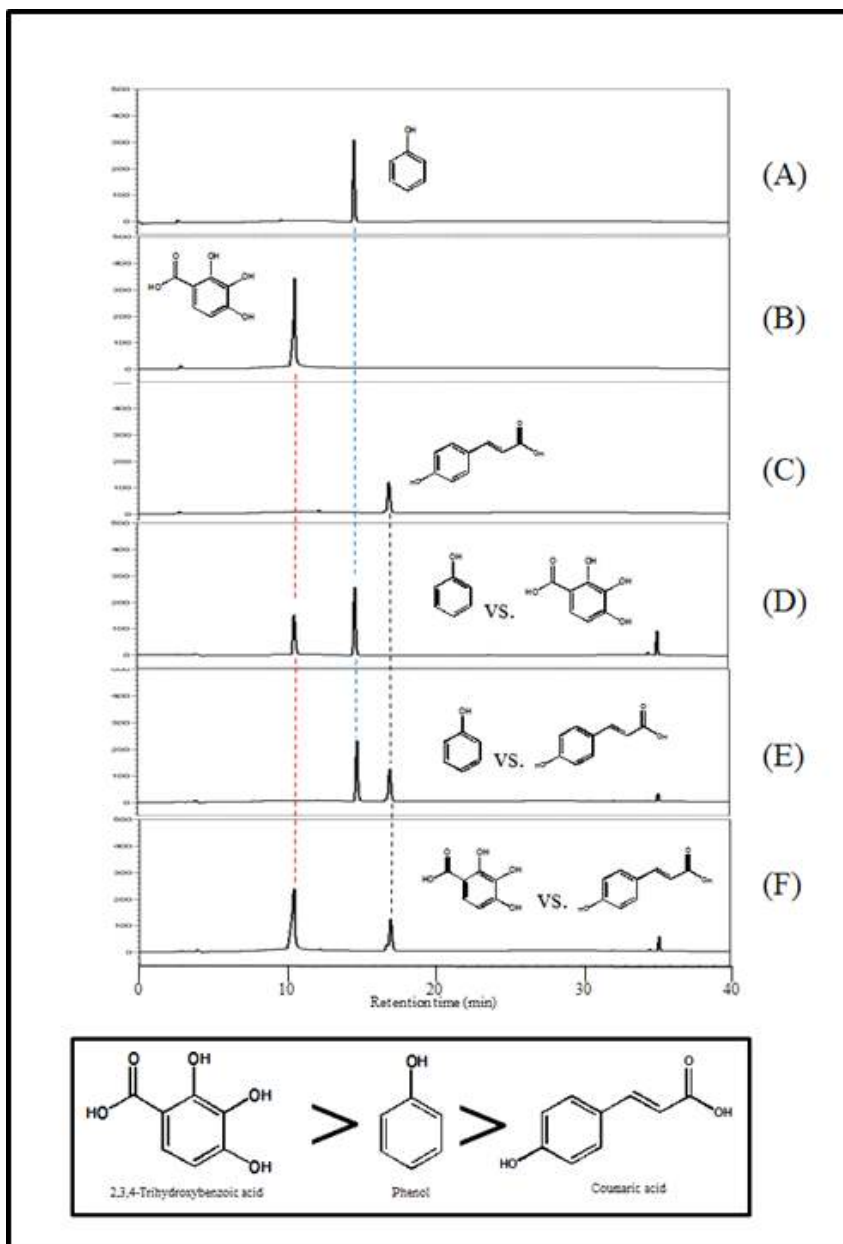




(7) Phenol, 2,3,4-Trihydroxybenzoic Acid 및 Coumaric Acid의 상대적인 DPPH Radical-scavenging 속도 비교

- Phenol (그림 I-40의 A,  $t_R$  14.5 min)과 2,3,4-trihydroxybenzoic acid (그림 I-40의 B,  $t_R$  10.5 min)의 radical-scavenging 속도를 비교한 결과(그림 I-40의 D), phenol보다 2,3,4-trihydroxybenzoic acid가 더 빠르게 radical을 scavenging 하였고,
- Phenol과 coumaric acid (그림 I-40의 C,  $t_R$  18 min)간의 비교(그림 I-40의 E)에 있어서는 coumaric acid가 phenol보다 radical-scavenging 속도가 더 빨랐음.
- 그리고, 2,3,4-trihydroxybenzoic acid와 coumaric acid를 비교한 결과(그림 I-40의 F), coumaric acid가 2,3,4-trihydroxybenzoic acid보다 더욱 빠른 radical-scavenging 속도를 보였음.

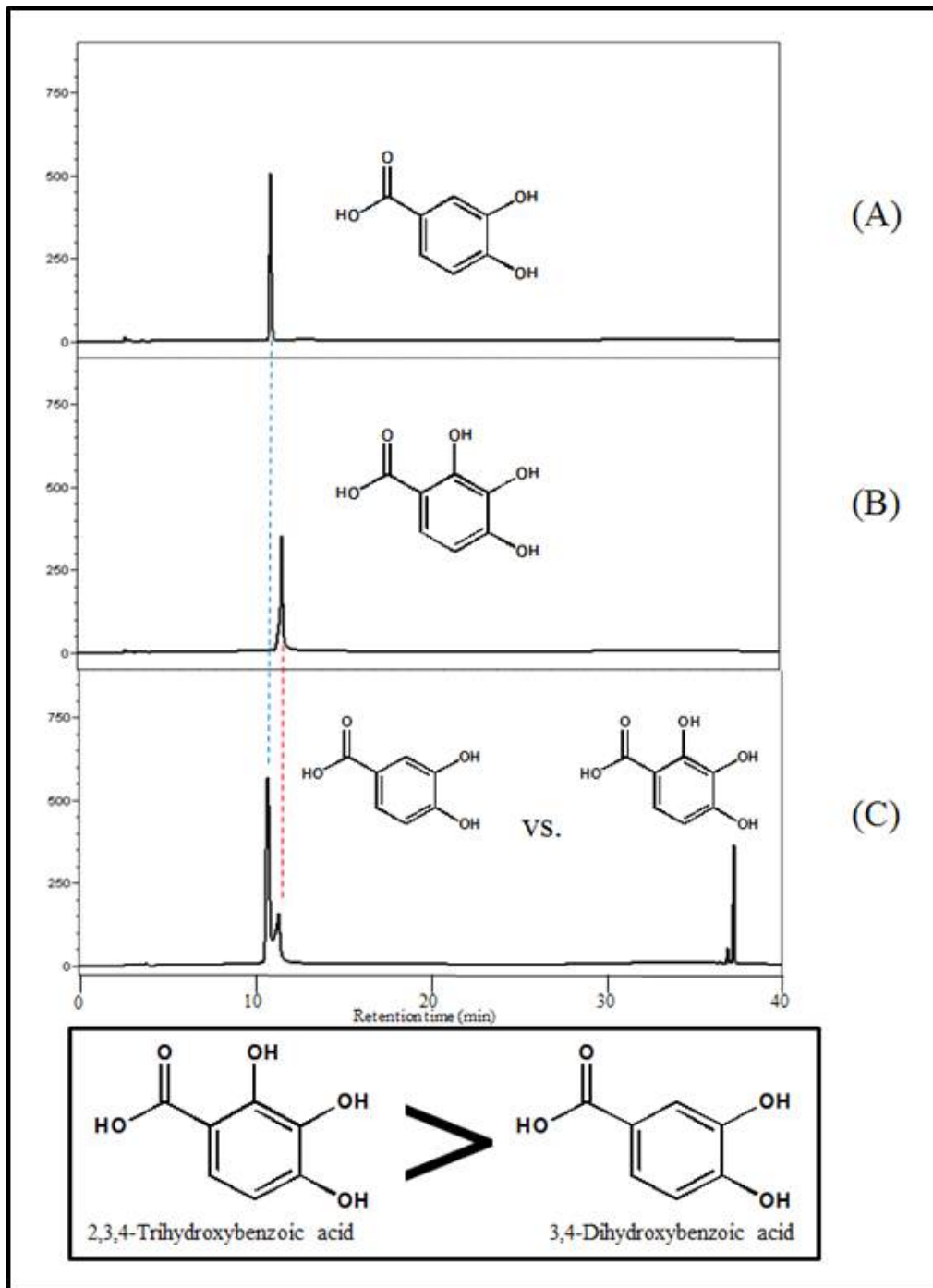
■ 그림 I-40. EtOH 용액 중 phenol, 2,3,4-trihydroxybenzoic acid 및 coumaric acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.



(8) 3,4-Dihydroxybenzoic Acid와 2,3,4-Trihydroxybenzoic Acid의 상대적인 DPPH Radical-scavenging 속도 비교

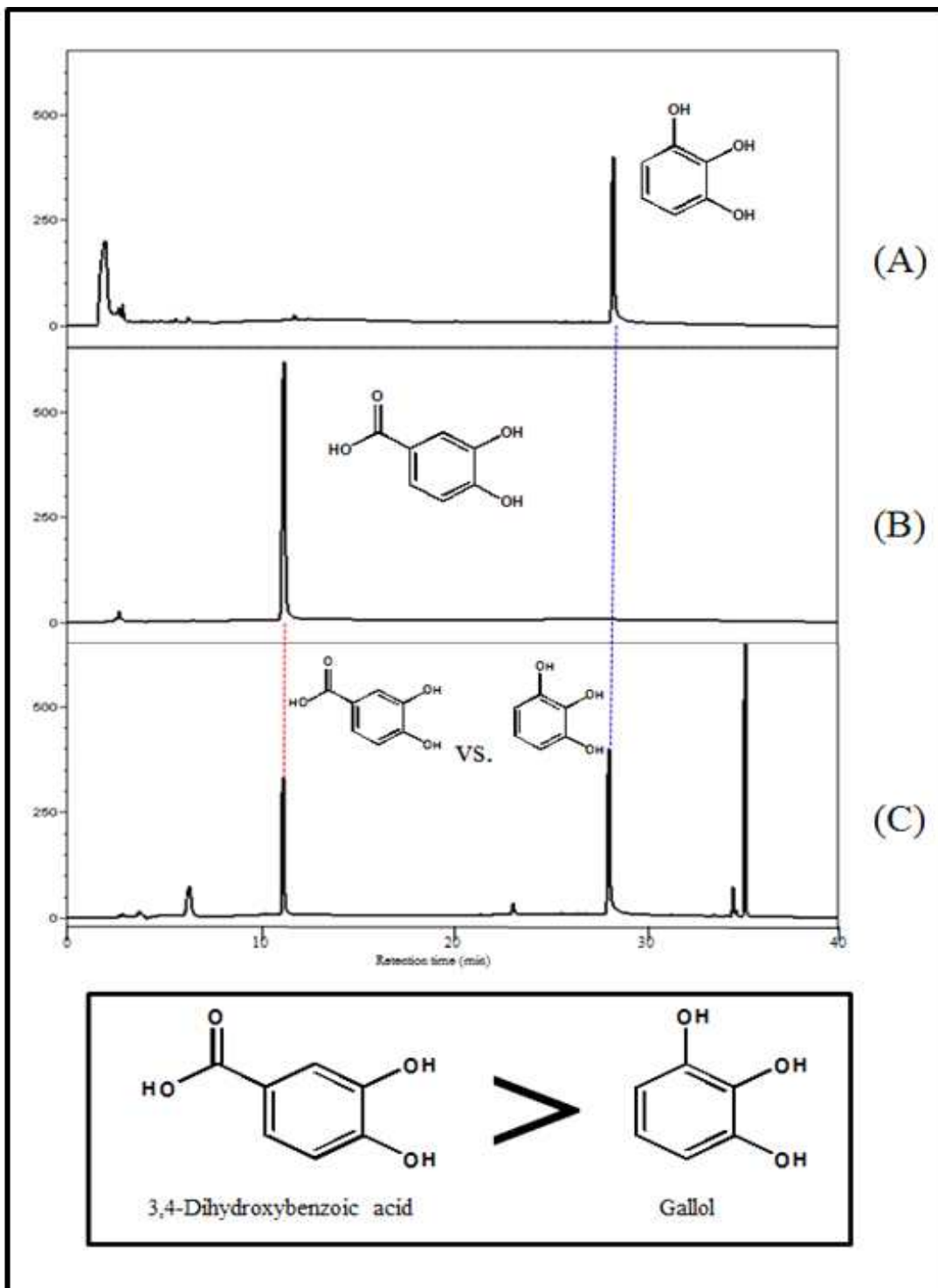
- 이어, 3,4-dihydroxybenzoic acid (그림 I-41의 A,  $t_R$  11 min) 2,3,4-trihydroxybenzoic acid (그림 I-41의 B,  $t_R$  11.5 min)의 radical-scavenging 속도를 비교한 결과(그림 I-41의 C, 3,4-dihydroxybenzoic acid보다 2,3,4-trihydroxybenzoic acid가 더 빠른 radical-scavenging 속도를 보였음.

■ 그림 I-41. EtOH 용액 중 3,4-dihydroxybenzoic acid와 2,3,4-trihydroxybenzoic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.



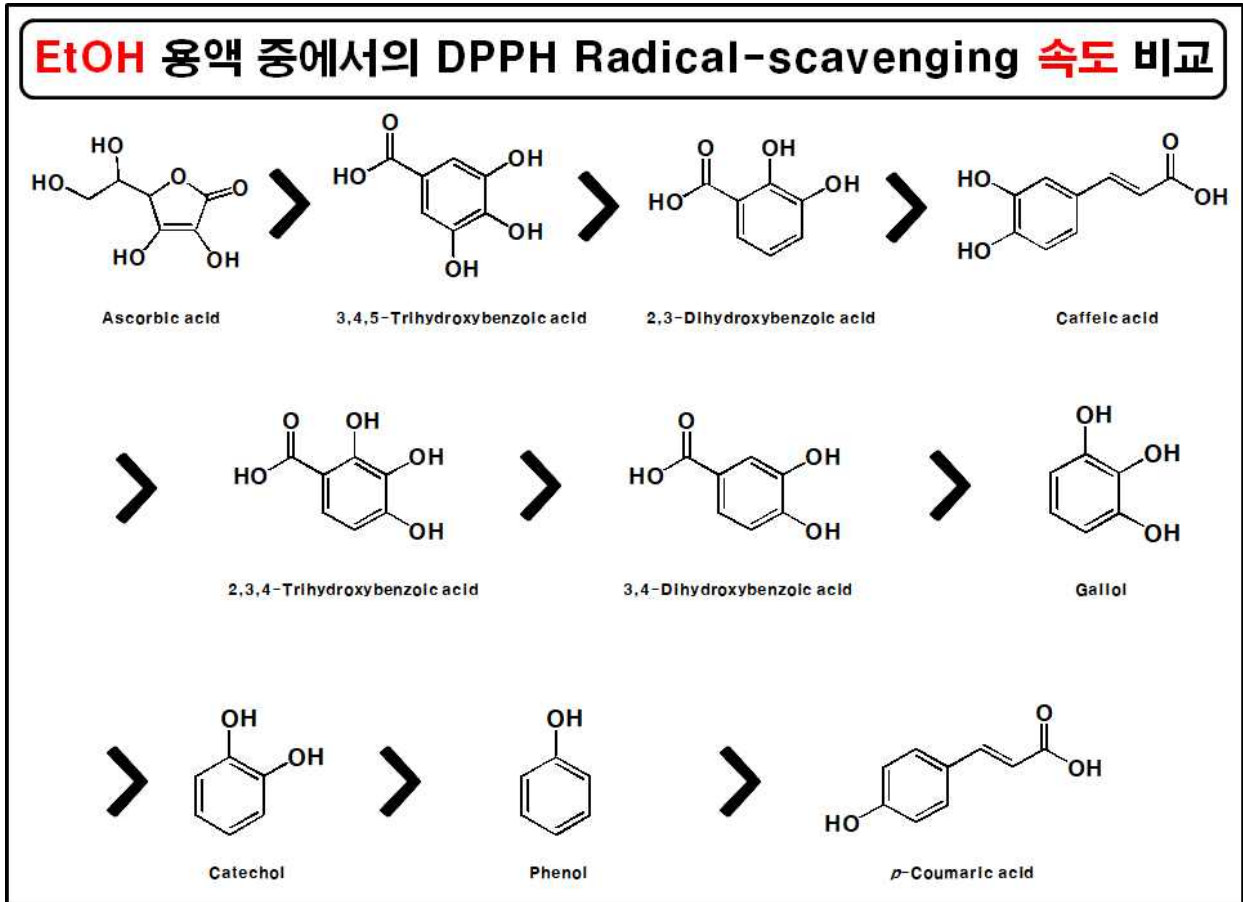
(9) Gallol과 3,4-Dihydroxybenzoic Acid의 상대적인 DPPH Radical-scavenging 속도 비교  
 - 이어, gallol (그림 I-42의 A,  $t_R$  28 min)과 3,4-dihydroxybenzoic acid (그림 I-42의 B,  $t_R$  12 min)의 radical-scavenging 속도를 비교한 결과(그림 I-42의 C), gallol보다 3,4-dihydroxybenzoic acid의 radical-scavenging 속도가 더 빨랐음.

■ 그림 I-42. EtOH 용액 중 gallol과 3,4-dihydroxybenzoic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.



※ EtOH 용액 중에서 대상 화합물들의 상대적인 DPPH radical-scavnging 속도를 비교함으로써 확인된 활성순서를 그림 I-43에 정리하였음.

▣ 그림 I-43. EtOH 용액 중에서의 상대적인 DPPH radical- scavenging 속도 비교 결과.



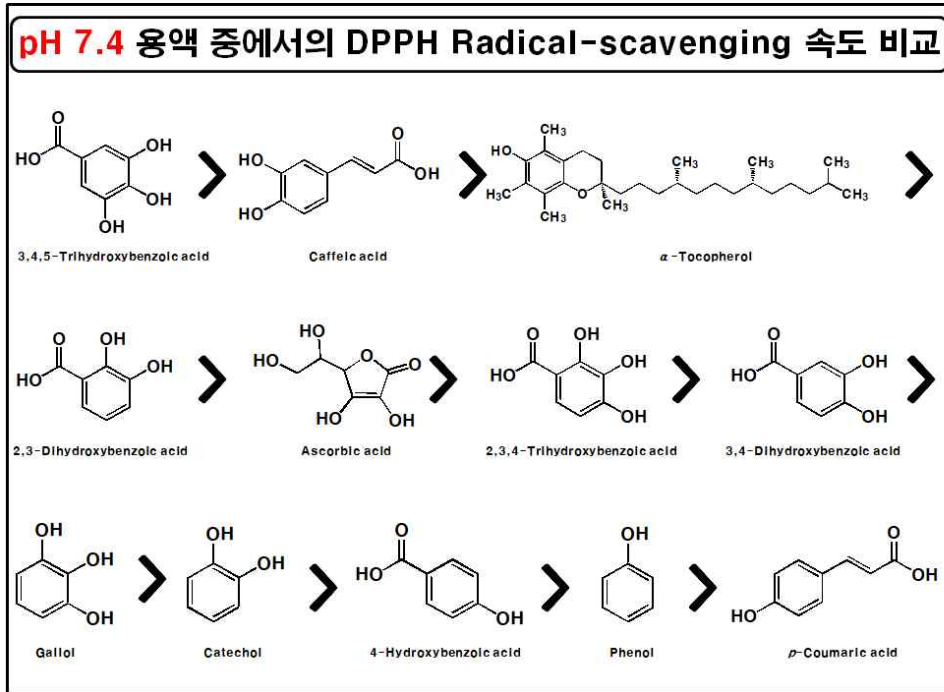
▶ EtOH 용액 중에서의 상대적인 radical-scavenging 속도(그림 I-34 ~ 42)를 정리한 것임.

사. 반응용액의 pH 변화에 따른 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교

(1) pH 7.4 용액 중에서 DPPH Radical의 상대적인 Scavenging 속도 비교

- pH 7.4 용액 중에서의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도는 ascorbic acid의 결과를 제외하고 나머지 화합물들은 EtOH 용액 중에서의 결과와 거의 동일하게 확인되었음.
- 즉, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid > caffeic acid > α-tocopherol > 2,3-dihydroxybenzoic acid > ascorbic acid > 2,3,4-trihydroxybenzoic acid > 3,4-dihydroxybenzoic acid > gallol > catechol > 4-hydroxybenzoic acid > phenol > *p*-coumaric acid 순으로 관찰되었음(그림 I-44).

■ 그림 I-44. pH 7.4 용액 중에서의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.

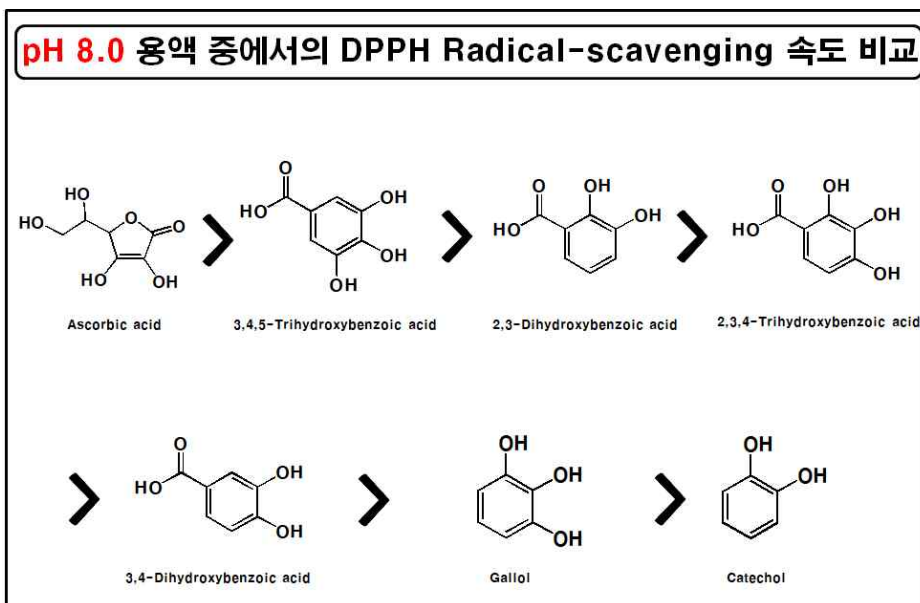


▶ Ascorbic acid의 결과를 제외하고 나머지 화합물들은 EtOH 용액 중에서의 결과와 거의 동일하게 확인되었음.

(2) pH 8.0 용액 중에서 DPPH Radical의 상대적인 Scavenging 속도 비교

- pH 8.0 용액 중에서의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도는 EtOH 용액 중에서의 결과와 동일하게 ascorbic acid > 3,4,5-trihydroxybenzoic acid > 2,3-dihydroxybenzoic acid > 2,3,4-trihydroxybenzoic acid > 3,4-dihydroxybenzoic acid > gallol > catechol 순으로 관찰되었음(그림 I-45).

■ 그림 I-45. pH 8.0 용액 중에서의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.

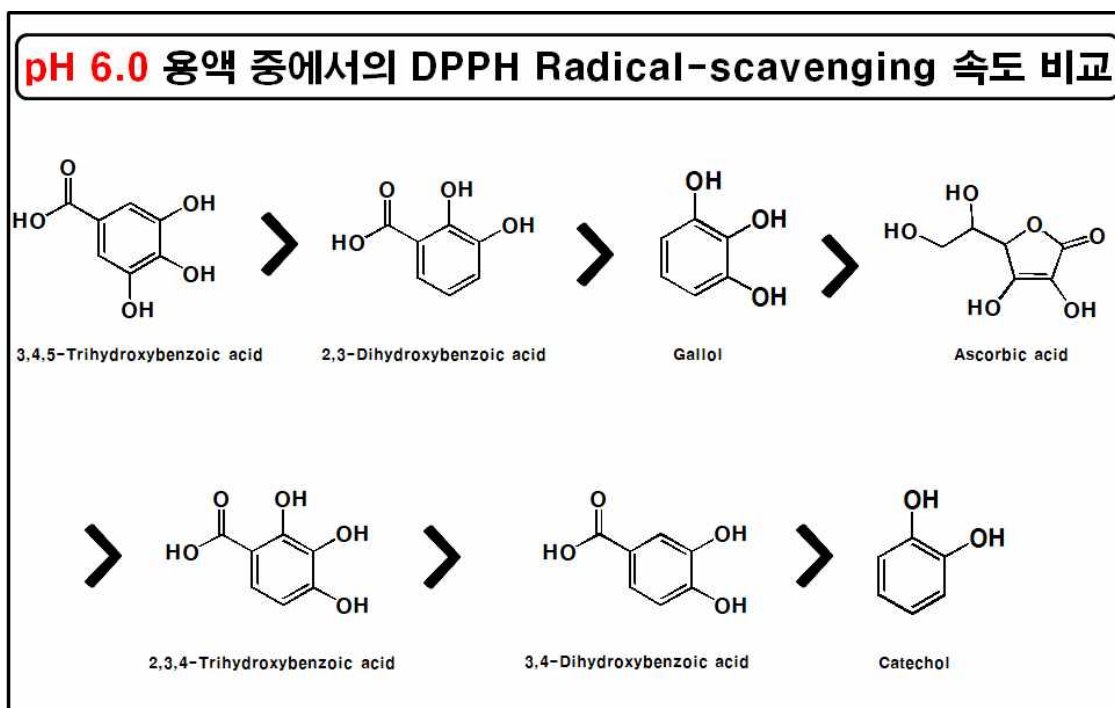


▶ EtOH 용액 중에서의 결과와 동일하게 확인되었음.

(3) pH 6.0 용액 중에서 DPPH Radical의 상대적인 Scavenging 속도 비교

- pH 6.0 용액 중에서의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도는 pH 7.4 용액 중에서의 결과와 비슷하였으나, ascorbic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도가 보다 낮아지는 결과를 보였음.
- 그에 더불어, gallol의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도는 현저히 증가되는 결과가 확인되었음.
- 이상의 결과들을 종합하였을 때, pH 6.0 용액 중에서의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도는 3,4,5-trihydroxybenzoic acid > 2,3-dihydroxybenzoic acid > gallol > ascorbic acid > 2,3,4-trihydroxybenzoic acid > 3,4-dihydroxybenzoic acid > catechol 순으로 관찰되었음(그림 I-46).

■ 그림 I-46. pH 6.0 용액 중에서의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 결과.

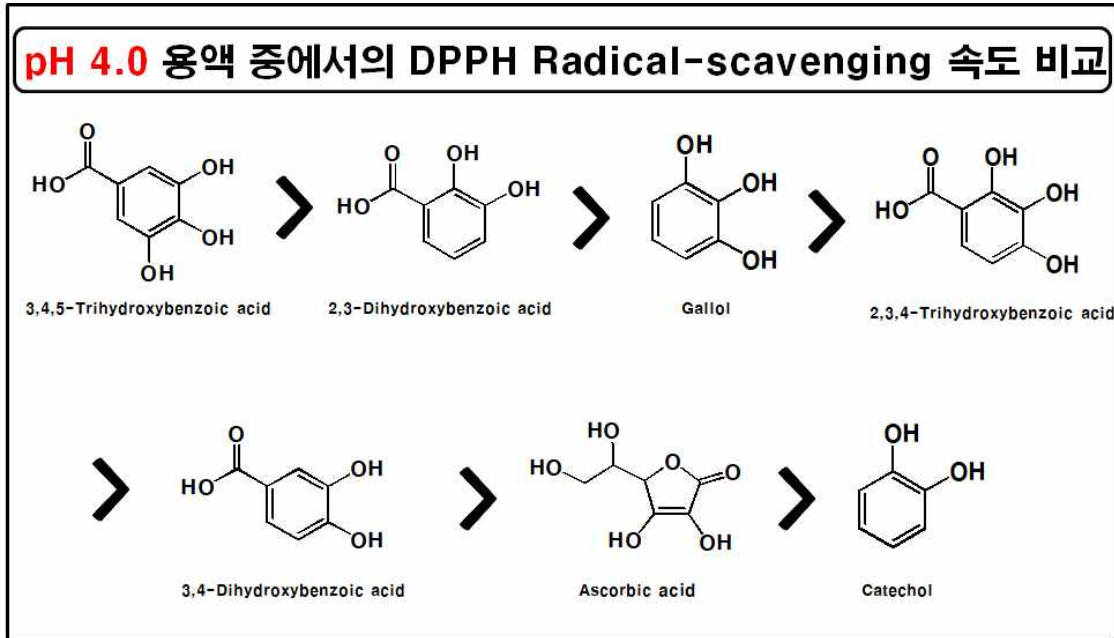


- ▶ pH 7.4 용액 중에서의 결과와 비슷하였으나, ascorbic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도가 보다 낮아지는 결과를 보였음.

(4) pH 4.0 용액 중에서 DPPH Radical의 상대적인 Scavenging 속도 비교

- pH 4.0 용액 중에서 ascorbic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도는 pH 6.0 용액 중에서의 결과보다 낮아지는 결과를 보였음.
- 그 외 다른 화합물들의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도는 pH 6.0 용액 중에서의 결과와 거의 비슷하게 관찰되었음.
- 즉, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid > 2,3-dihydroxybenzoic acid > gallol > 2,3,4-trihydroxybenzoic acid > 3,4-dihydroxybenzoic acid > ascorbic acid > catechol 순으로 관찰되었음(그림 I-47).

■ 그림 I-47. pH 4.0 용액 중에서의 상대적인 DPPH radical- scavenging 속도 비교 결과.

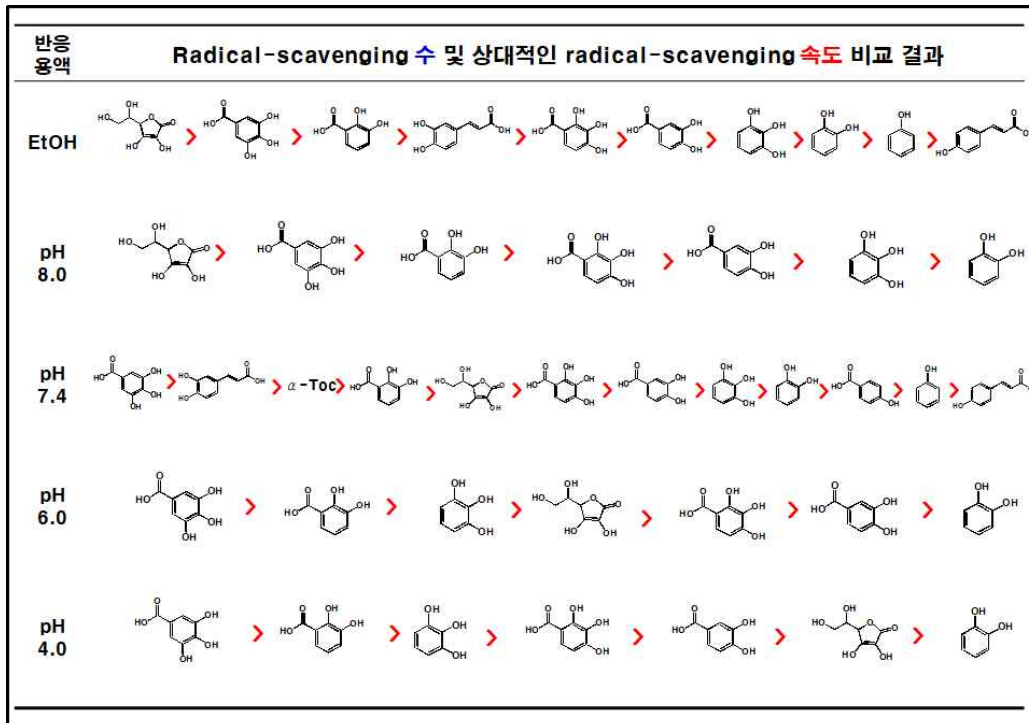


▶ pH 4.0 용액 중에서 ascorbic acid의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도는 pH 6.0 용액 중에서의 결과보다 낮아지는 결과를 보였음.

▶ 그 외 다른 화합물들은 pH 6.0 용액 중에서의 결과와 거의 비슷하게 관찰되었음.

※ 반응용액의 pH 변화에 따른 상대적인 radical-scavenging 속도를 그림 I-48에 정리하여 제시하였음.

■ 그림 I-48. 반응용액의 pH 변화에 따른 상대적인 DPPH radical- scavenging 속도 비교 결과.

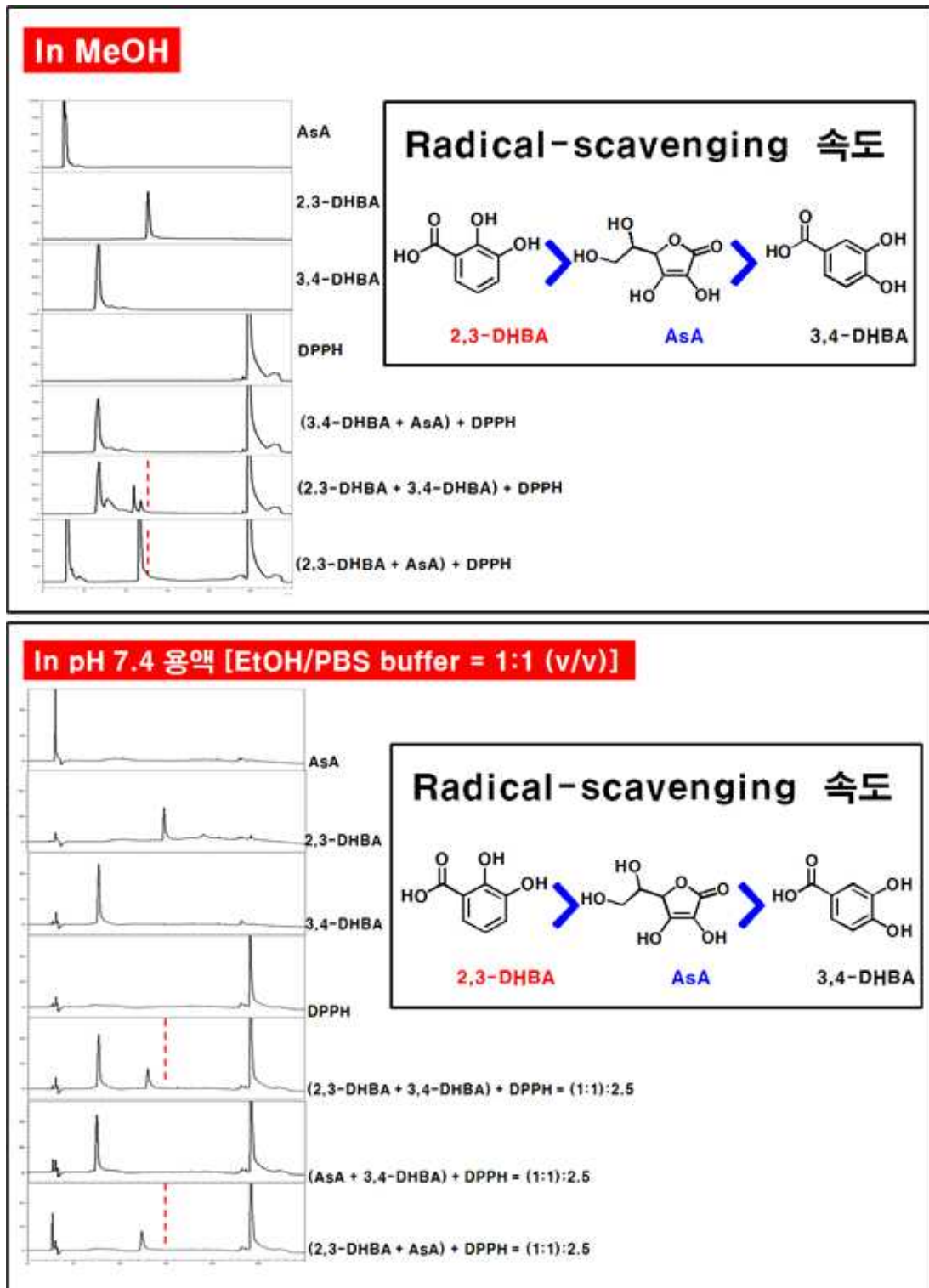


▶ 반응용액의 pH 변화에 따른 상대적인 radical-scavenging 속도(그림 I-44 ~ I-47)를 정리한 것임.

- 아. HPLC를 이용한 2,3- 및 3,4-DHBA의 상대적인 DPPH radical-scavenging 속도 비교 (본 연구를 통해 개발된 방법적용)
- MeOH 용액 중에서 뿐만 아니라 pH 7.4 용액 [EtOH/PBS buffer = 1:1 (v/v)] 중에서 모두 3,4-DHBA는 AsA보다 상대적으로 더 느린 radical-scavenging 속도를 보였음(그림 I-49).
  - 반면 2,3-DHBA는 두 용액에서 모두 AsA보다 상대적으로 더 빠른 radical-scavenging 속도를 보였음(그림 I-49).
  - 다음과 같은 결과를 통해, carboxylic acid의 결합위치는 radical-scavenging 속도에 미치는 영향이 크다고 시사되었음.



■ 그림 I-49. 2,3- 및 3,4-DHBA의 DPPH Radical-scavenging 속도 비교 결과.



▶ 본 연구그룹에서 자체적으로 개발한 방법을 이용하였음.

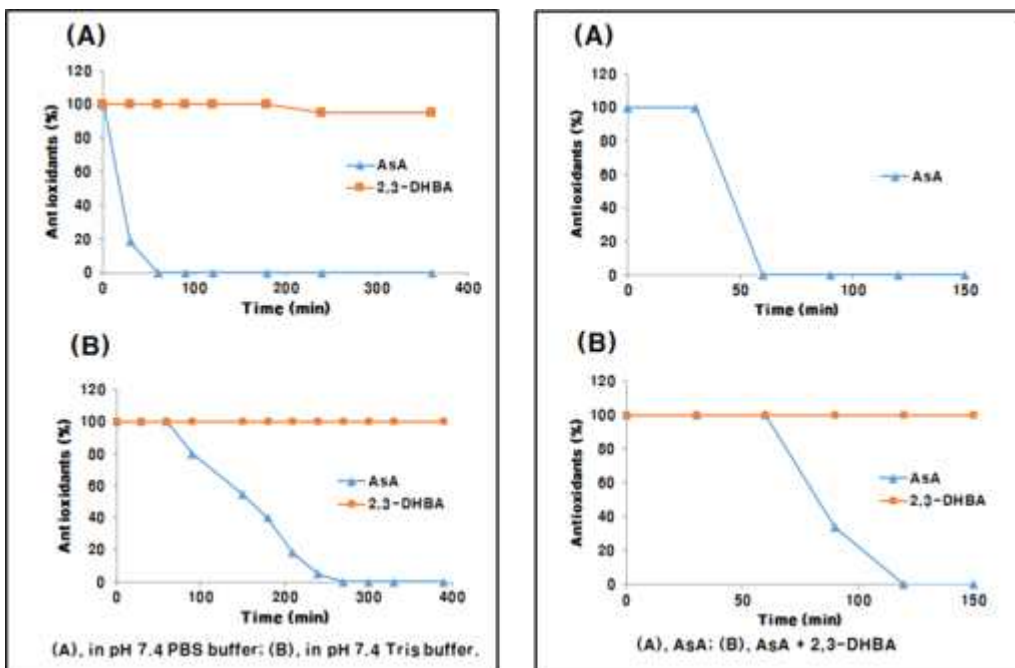
자. pH 7.4 용액 중에서 2,3-DHBA와 ASA의 경시적인 Radical-scavenging 속도 비교 (본 연구를 통해 개발된 방법적용)

- PBS buffer (pH 7.4) 및 Tris buffer (pH 7.4)의 두 용액에서 2,3-DHBA보다 AsA가 더 빠르게 소실되었음(그림 I-50). 이는 DPPH를 이용한 결과와 상반되어서 다시 pH 7.4 용액

[EtOH/PBS buffer = 1:1 (v/v)] 중에서 AAPH에 의해 유도된 산화 조건에서 재검토했음.

- AsA와 2,3-DHBA가 혼합된 용액이 AsA만이 존재했을 때보다 AsA의 감소 시작점과 잔존 시간이 현저히 연장됨(그림 I-50).
- 그러므로 AsA와 2,3-DHBA가 상호 경쟁적으로 radical을 scavenging함으로써 AsA가 spare되어졌을 가능성이 시사되어짐.
- 그러나 pH 7.4 용액 중에서 행한 본 반응에 있어서도 2,3-DHBA보다 AsA가 더 빨리 소실되었음.

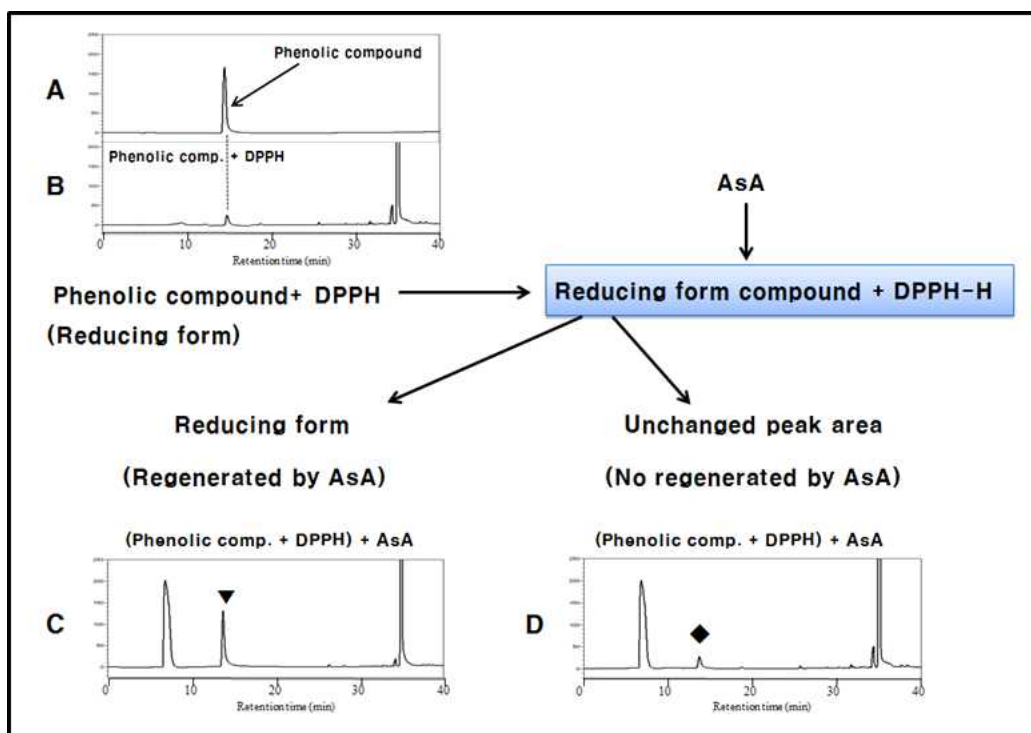
■ 그림 I-50. pH 7.4 용액 중에서 2,3-DHBA와 AsA의 경시적인 Radical-scavenging 속도 비교.



- ▶ PBS buffer (pH 7.4) 및 Tris buffer (pH 7.4)의 두 용액에서 2,3-DHBA보다 AsA가 더 빠르게 소실되었음(왼쪽).
- ▶ pH 7.4 용액 [EtOH/PBS buffer = 1:1 (v/v)] 중에서 AAPH에 의해 유도된 산화 조건에서 재검토했던 결과(오른쪽), AsA와 2,3-DHBA가 혼합된 용액에서 AsA의 잔존시간이 연장됨.

- 차. HPLC 분석법을 이용한 산화형 페놀성 화합물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인 원리
- 먼저, 일정 농도의 대상 페놀성 화합물을 HPLC로 분석하여 화합물의 peak area 값을 확인함(그림 I-51의 A).
  - 그리고 페놀성 화합물과 일정 농도의 DPPH용액을 가하여 반응시킨 직후에 HPLC 분석을 행하여 화합물의 산화(감소)정도를 확인함(그림 I-51의 B).
  - 그리고 산화된 화합물을 함유한 용액에 ascorbic acid를 반응시킨 후 HPLC 분석을 행함(그림 I-51의 C, D).
  - 이 때 분석결과는 두 가지의 경우로 나타날 수 있음.
  - 첫 번째 경우는 DPPH와 반응하여 산화됨으로써 감소된 페놀성 화합물의 peak area가 산화전의 상태로 복원(환원)될 수 있을 것임(그림 I-51의 C, peak ▼).
  - 이 경우에는 산화되었던 페놀성 화합물이 ascorbic acid와의 반응에 의해 재생(환원)되었음을 의미함.
  - 그리고 두 번째로는(그림 I-51의 D) DPPH와의 반응에 의해 산화되었던 페놀성 화합물의 감소된 peak가 ascorbic acid의 첨가 후에도 산화전의 상태로 복원되지 않고 산화후의 상태를 그대로 유지되는 경우임(그림 I-51의 D, peak ◆).
  - 이 경우에는 산화된 페놀성 화합물이 ascorbic acid와의 반응에 의해 재생(환원)되지 않음을 의미함.
  - 이와 같은 간단한 원리를 적용

■ 그림 I-51. HPLC 분석법을 이용한 산화형 페놀성 화합물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인 원리.



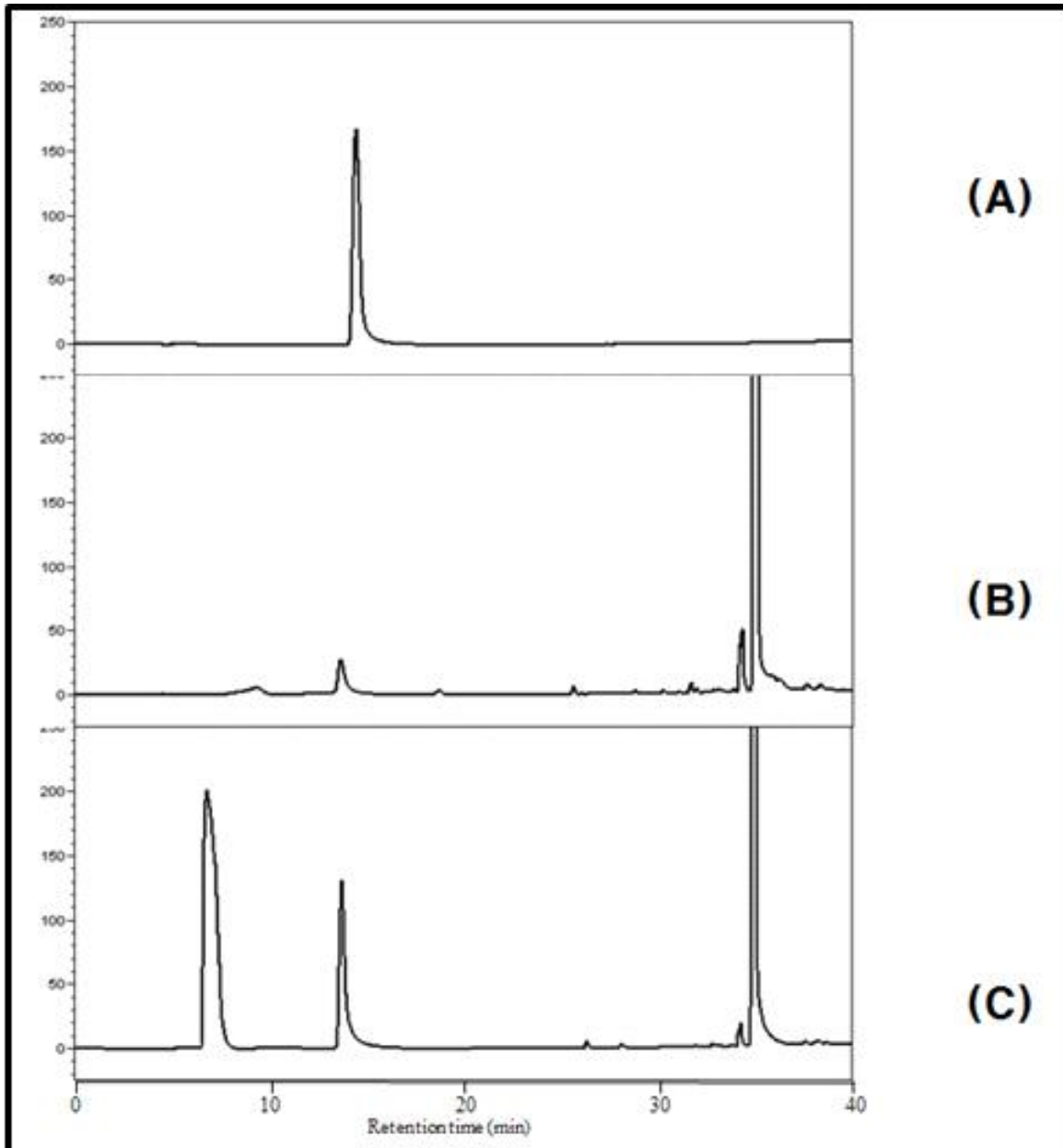
▶ 위와 같은 원리를 적용하여 산화형 화합물들의 ascorbic acid에 의한 재생 여부를 확인하였음

카. HPLC 분석법을 이용한 산화형 페놀성 화합물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인

(1) Catechol 산화물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인

- DPPH와 반응 후에 산화(감소)된 catechol peak(그림 I-52의 B)는 ascorbic acid와의 반응에 의해 DPPH와 반응하기 전(그림 I-52의 A)의 catechol peak 상태로 복원됨이 확인되었음(그림 I-52의 C). 이 결과로부터 산화형 catechol은 ascorbic acid와의 반응에 의해 재생(환원)됨이 확인되었음.

■ 그림 I-52. Catechol 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생 여부 확인.

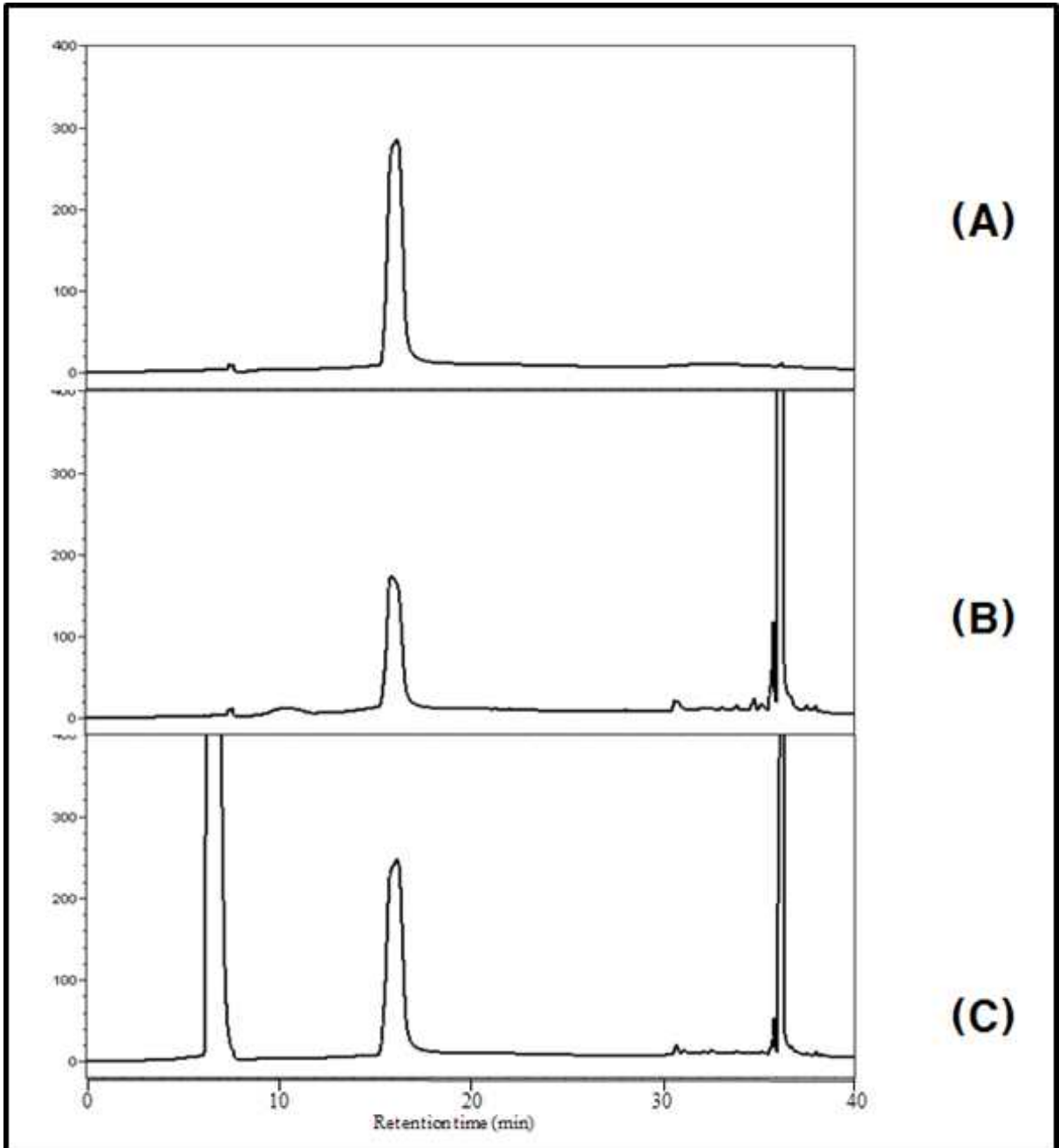


▶ 산화형 catechol (B)은 ascorbic acid와의 반응에 의해 산화 전(A)의 상태로 재생(환원, C) 됨이 확인되었음.

(2) 3,4-Dihydroxybenzoic Acid 산화물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인

- 산화되었던 3,4-dihydroxybenzoic acid의 peak(그림 I-53의 B)는 DPPH와 반응 전(그림 I-53의 A)의 상태로 다시 복원됨이 확인되었음(그림 I-53의 C). 이 결과로부터 산화되었던 3,4-dihydroxybenzoic acid는 ascorbic acid와의 반응에 의해 재생(환원)됨이 확인되었음.

■ 그림 I-53. 3,4-Dihydroxybenzoic acid 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생 여부 확인.

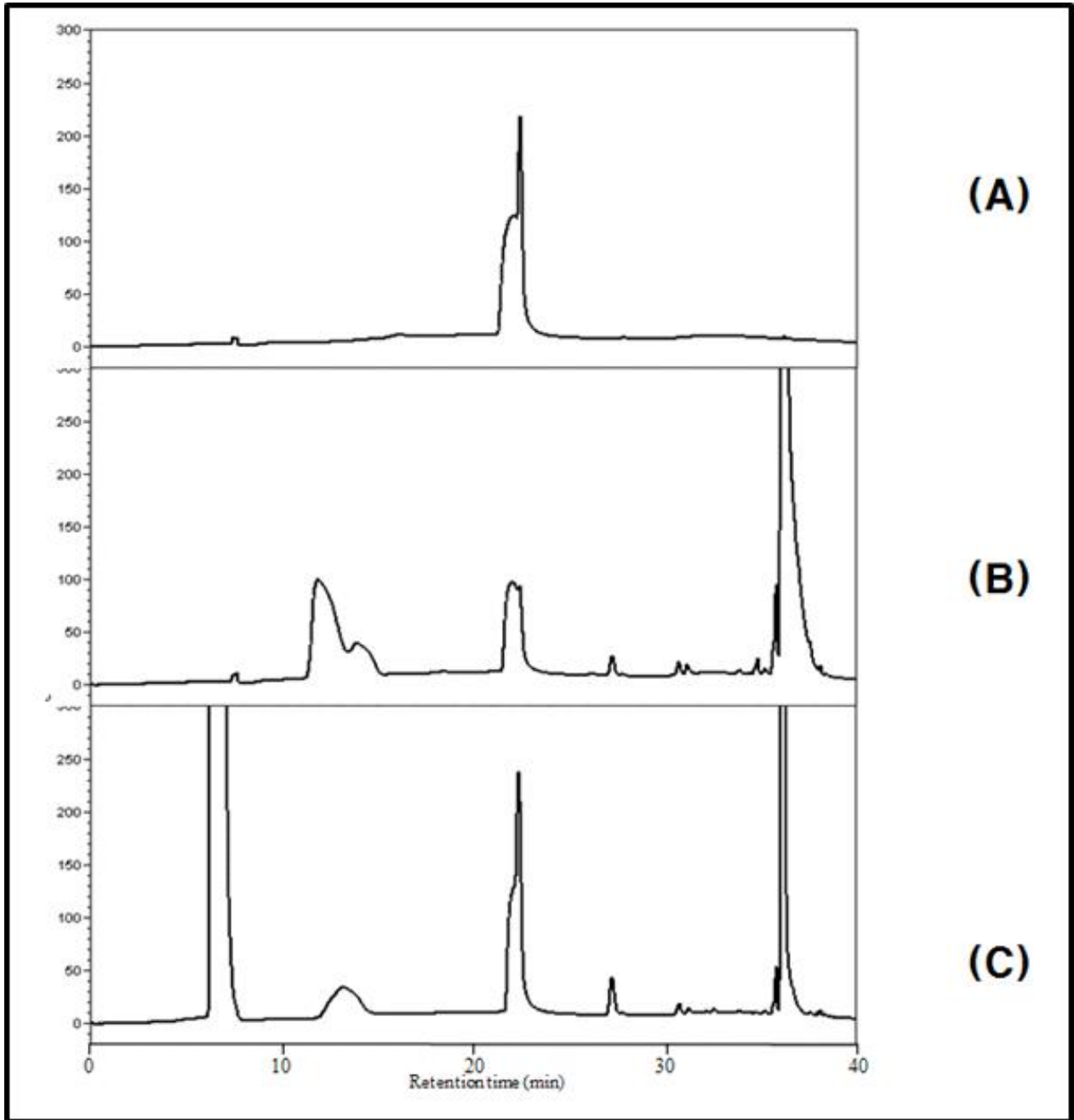


- ▶ 산화된 3,4-dihydroxybenzoic acid (B)는 ascorbic acid와의 반응에 의해 산화 전(A)의 상태로 재생(환원, C)됨이 확인되었음.

(3) 2,3-Dihydroxybenzoic Acid 산화물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인

- 산화된 2,3-dihydroxybenzoic acid(그림 I-54의 B)는 ascorbic acid와의 반응에 의해 재생됨이 확인되었음(그림 I-54의 C).

■ 그림 I-54. 2,3-Dihydroxybenzoic acid 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생 여부 확인.

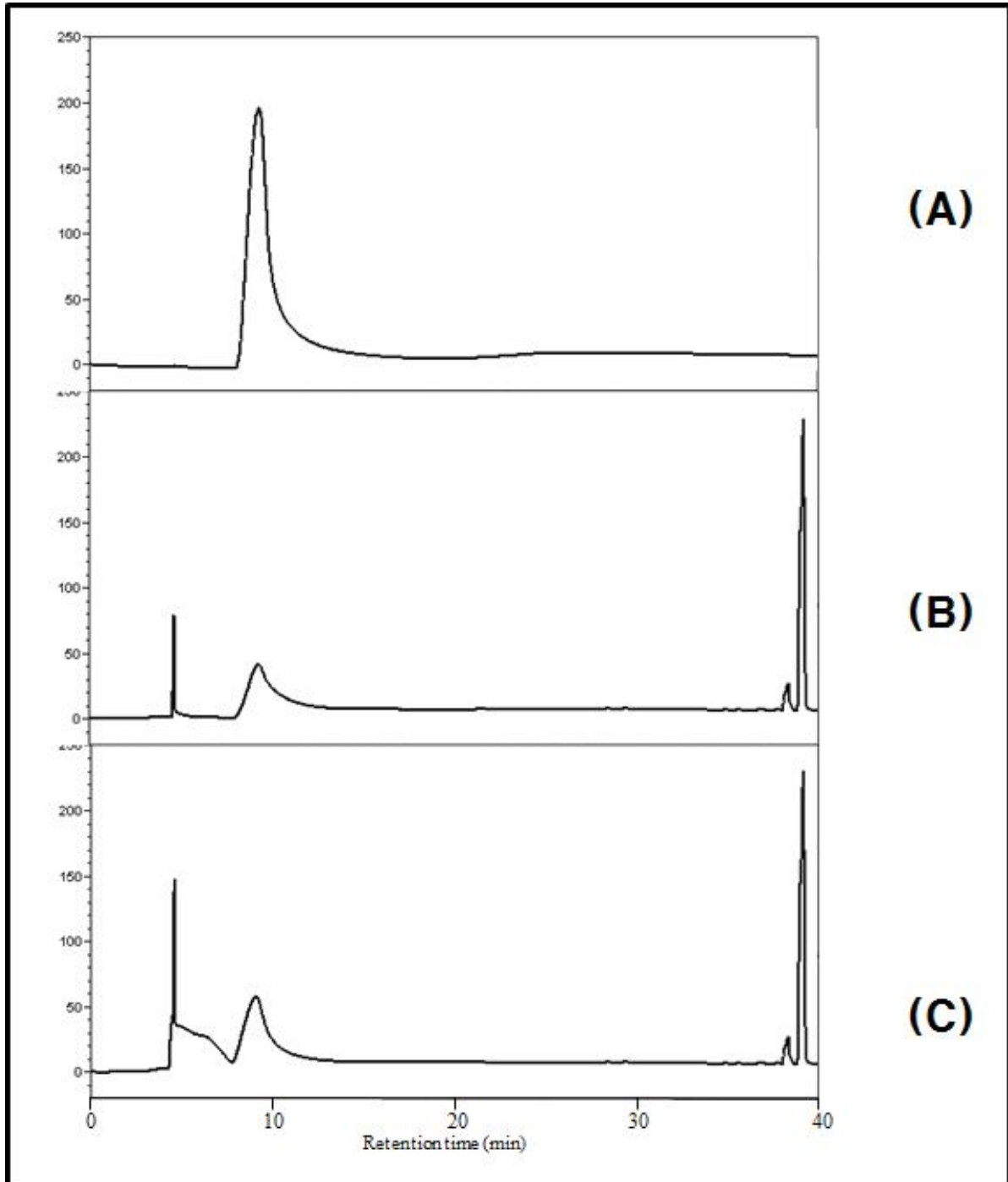


- ▶ 산화된 2,3-dihydroxybenzoic acid (B)는 ascorbic acid와의 반응에 의해 산화 전(A)의 상태로 재생(환원, C)됨이 확인되었음.

(4) Gallol 산화물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인

- 산화되었던 gallol의 감소된 peak (그림 I-55의 B)는 산화전(그림 I-55의 A)의 상태로 복원되지 않았음(그림 I-55의 C). 이 결과로부터 산화된 gallol은 catechol과는 달리 ascorbic acid와의 반응에 의해 재생되지 않음이 확인되었음.

■ 그림 I-55. Gallol 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생 여부 확인.

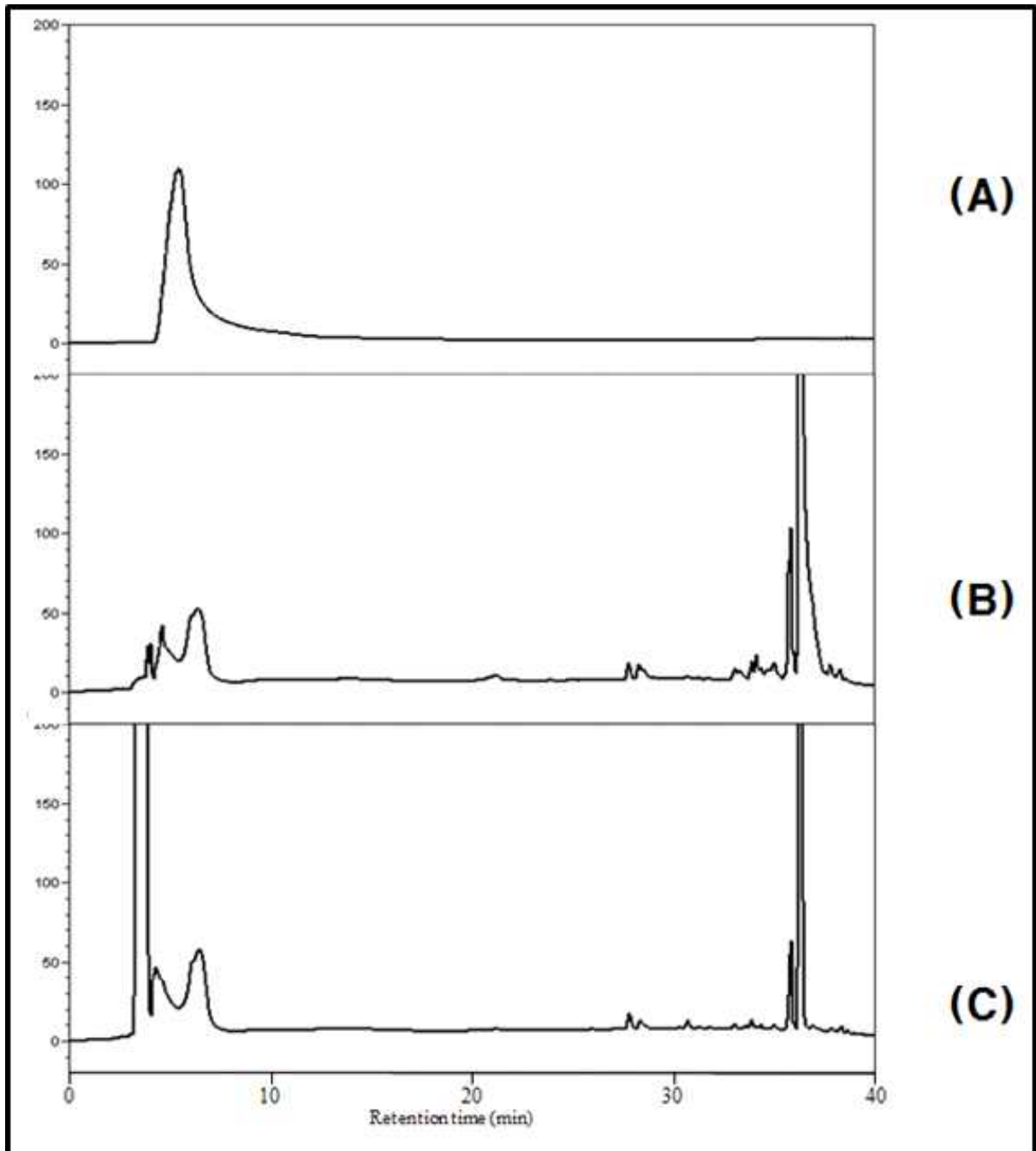


- ▶ 산화된 gallol (B)은 catechol과 달리 ascorbic acid와의 반응에 의해 산화 전(A)의 상태로 재생(환원, C)되지 않음이 확인되었음.

(5) 3,4,5-Trihydroxybenzoic Acid 산화물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인

- 산화된 3,4,5-trihydroxybenzoic acid (그림 I-56의 B)는 ascorbic acid와의 반응 후 peak area에 변화를 보이지 않았음(그림 I-56의 C). 이 결과로부터 산화된 3,4,5-trihydroxybenzoic acid는 ascorbic acid와의 반응에 의해 재생되지 않음이 확인되었음.

▣ 그림 I-56. 3,4,5-Trihydroxybenzoic acid 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생 여부 확인.



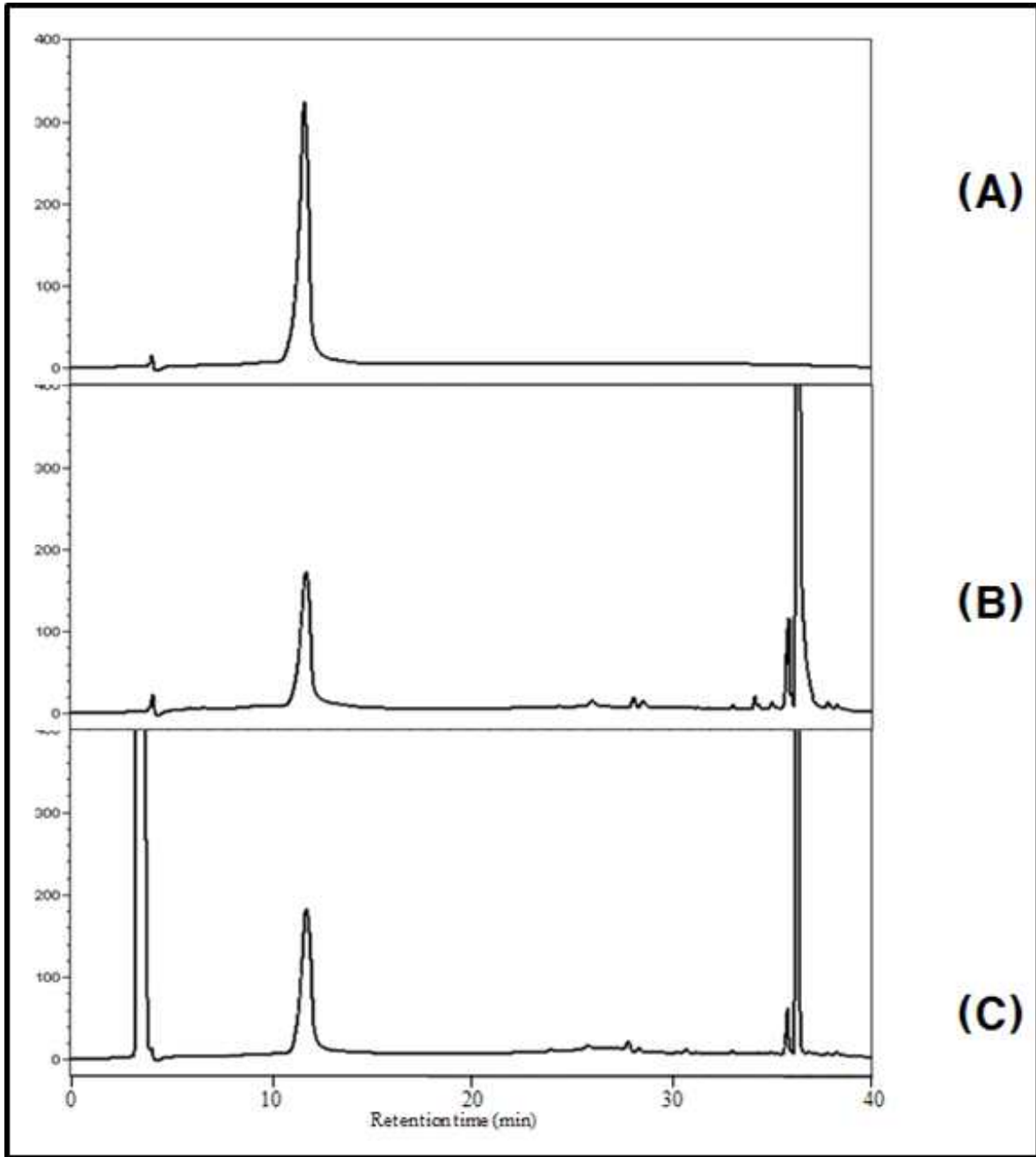
- ▶ 산화된 3,4,5-trihydroxybenzoic acid (B)는 ascorbic acid와의 반응에 의해 산화 전(A)의 상태로 재생(환원, C)되지 않음이 확인되었음.



(6) 2,3,4-Trihydroxybenzoic Acid 산화물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인

- 2,3,4-trihydroxybenzoic acid 산화물의 peak (그림 I-57의 B)는 산화 전(그림 I-57의 A)의 상태로 복원되지 않음이 확인되었음(그림 I-57의 C). 따라서 2,3,4-trihydroxybenzoic acid는 ascorbic acid에 의해 재생되지 않음이 확인되었음.

■ 그림 I-57. 2,3,4-Trihydroxybenzoic acid 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생 여부 확인.

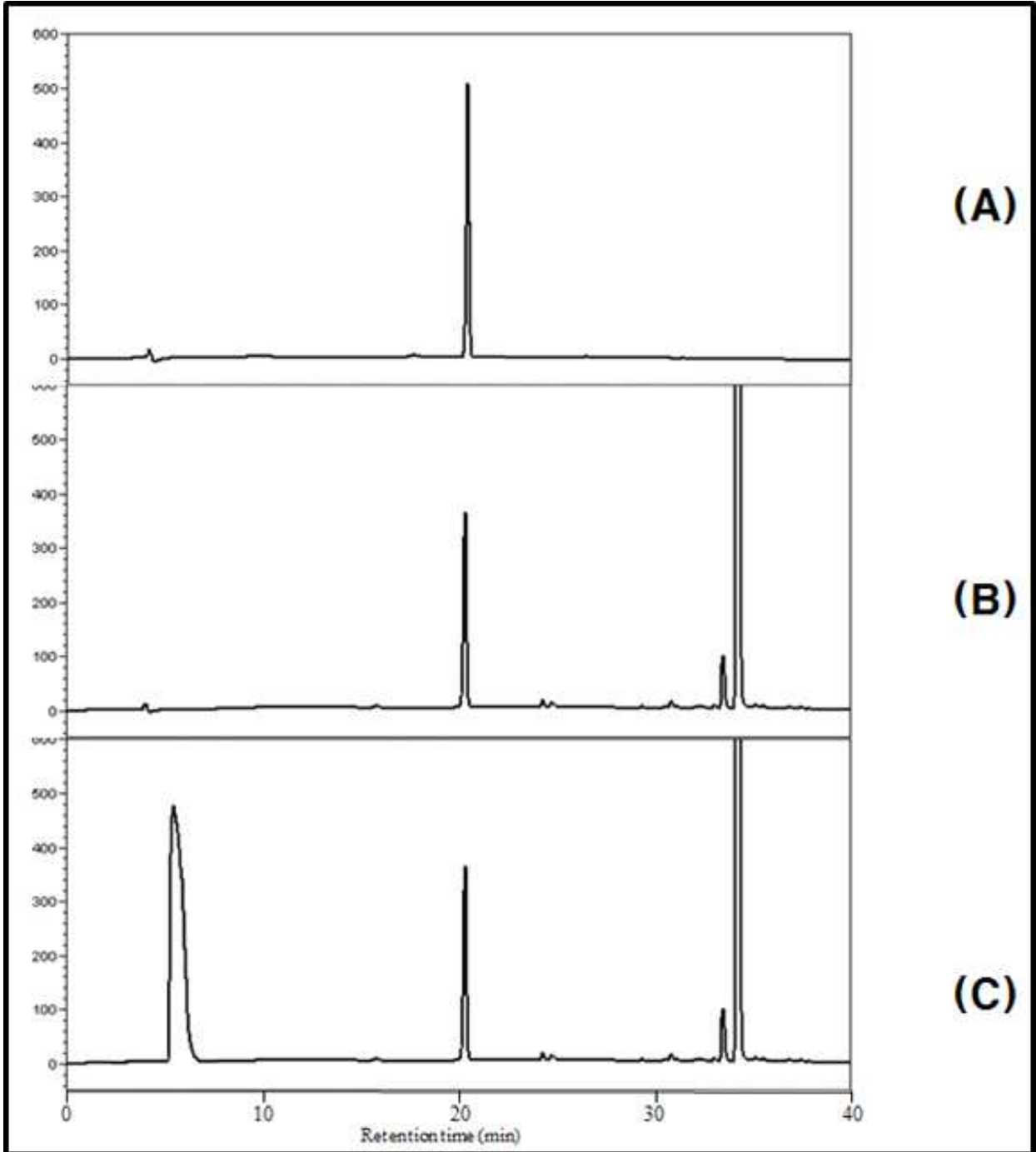


- ▶ 산화된 3,4,5-trihydroxybenzoic acid (B)는 ascorbic acid와의 반응에 의해 산화 전(A)의 상태로 재생(환원, C)되지 않음이 확인되었음.

(7) Coumaric Acid 산화물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인

- 산화된 coumaric acid의 감소된 peak (그림 I-58의 B)는 산화 전(그림 I-58의 A)의 상태로 복원되지 않았음(그림 I-58의 C). 이 결과로부터 산화된 coumaric acid는 ascorbic acid에 의해 재생되지 않음이 확인되었음.

■ 그림 I-58. Coumaric acid 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생 여부 확인.

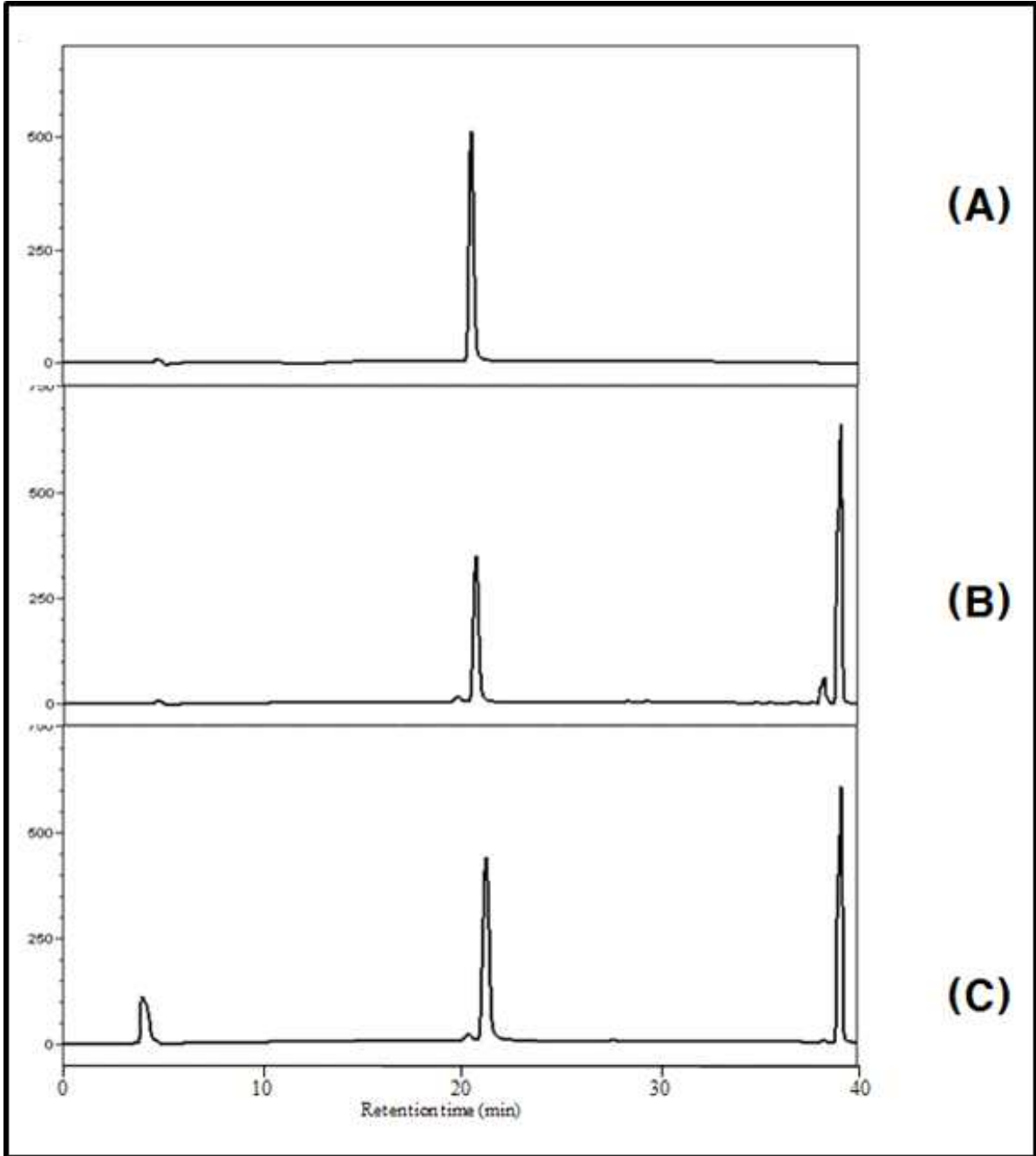


- ▶ 산화된 coumaric acid (B)는 ascorbic acid와의 반응에 의해 산화 전(A)의 상태로 재생(환원, C)되지 않음이 확인되었음.

(8) Caffeic Acid 산화물의 Ascorbic Acid에 의한 재생 여부 확인

- 산화된 caffeic acid (그림 I-59의 B)는 ascorbic acid와의 반응에 의해 재생됨이 확인되었음 (그림 I-59의 C).

■ 그림 I-59. Caffeic acid 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생 여부 확인.



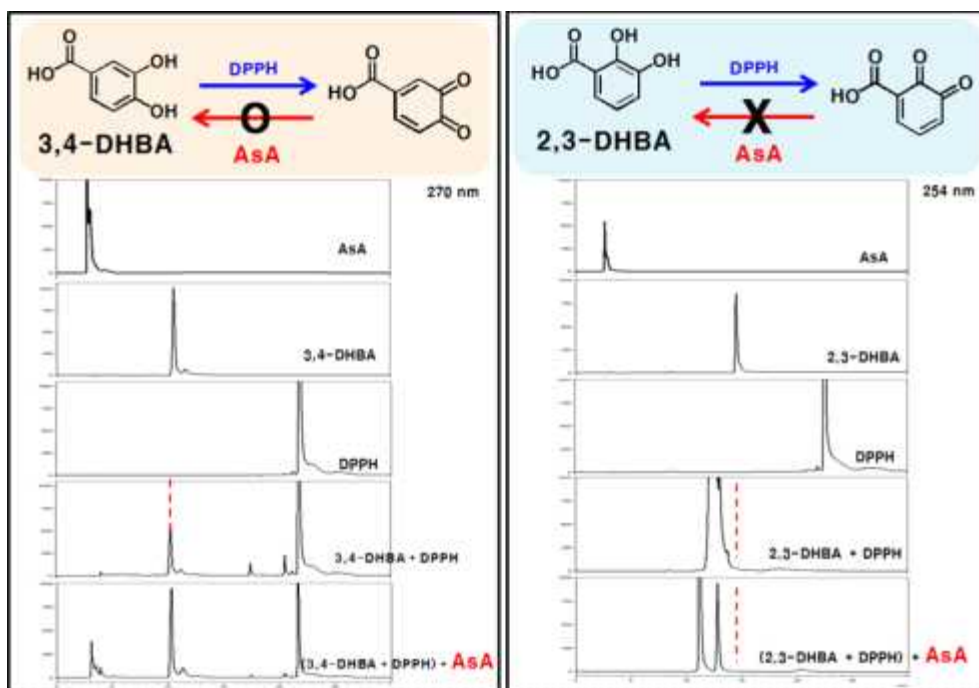
- ▶ 산화된 caffeic acid (B)는 ascorbic acid와의 반응에 의해 산화 전(A)의 상태로 재생 (환원, C)됨이 확인되었음.

타. 2,3- 및 3,4-DHBA 산화물의 ASA에 의한 재생여부 검토

(본 연구를 통해 개발된 방법적용)

- 3,4-DHBA에 DPPH를 반응시킨 용액에 AsA를 첨가한 결과, 감소되었던 3,4-DHBA peak가 DPPH 반응 전의 상태로 증가하였음 이로부터 산화된 3,4-DHBA는 AsA와의 반응에 의해 재생됨이 확인됨(그림 I-60).
- 2,3-DHBA에 DPPH를 반응시킨 용액에 AsA를 첨가한 결과, 감소되었던 3,4-DHBA peak가 DPPH 반응 전의 상태로 증가하지 않았음. 이로부터 산화된 3,4-DHBA는 AsA와의 반응에 의해 재생되지 않음이 확인되었음. (그림 I-60)
- 이로부터 2,3- 및 3,4-DHBA는 상호 다른 산화기전에 의해 radical을 scavenging했을 가능성이 있다고 시사됨.

■ 그림 I-60. 2,3- 및 3,4-DHBA 산화물의 AsA에 의한 재생여부 검토.



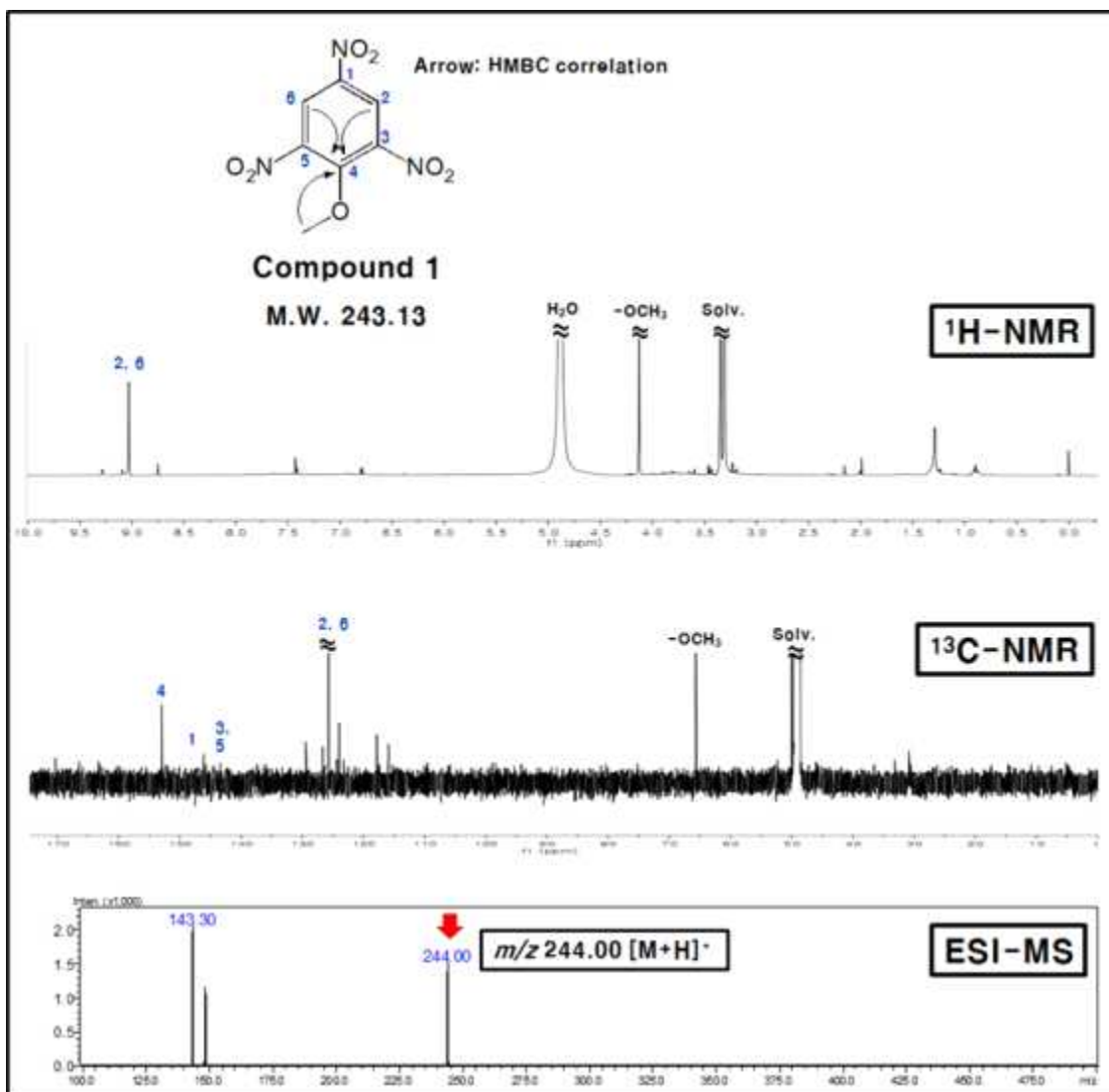
- ▶ DPPH에 의해 산화된 3,4-DHBA는 AsA에 의해 재생되었으나(왼쪽), 2,3-DHBA는 재생되지 않아 상호 산화기전에 다른 것으로 판단됨(본 연구그룹에서 자체적으로 개발한 방법을 적용하였음).

파. 화합물의 단리 및 구조해석

- 화합물 1:  $^1\text{H-NMR}$  spectrum으로부터 2H분의  $sp^2$  carbon proton [ $\delta$  9.03 (2H, s, H-26)]이 검출되어 4치환체의 benzene ring의 존재가 시사되었으며, 1종의 methoxyl기 유래의 proton signal [ $\delta$  4.13 (3H, s)] 또한 관찰됨(그림 I-61).  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum으로부터 3종의 quaternary carbon signal( $\delta$  153.0-146.0)을 포함한 총 6종의 benzene환 유래의  $sp^2$  carbon signal들이 관찰되었으며, methoxyl기 유래의 signal ( $\delta$  65.7) 또한 관찰됨을 통해

$^1\text{H-NMR}$  결과로부터 얻어진 정보가 지지됨(그림 I-61). 추가적으로 HMBC 분석 (그림 I-61) 및 ESI-MS 분석( $m/z$  244.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ )을 통해 2-methyl-1,3,5-trinitrobenzene으로 동정

■ 그림 I-61. 화합물 1의 NMR 및 ESI-MS spectra.

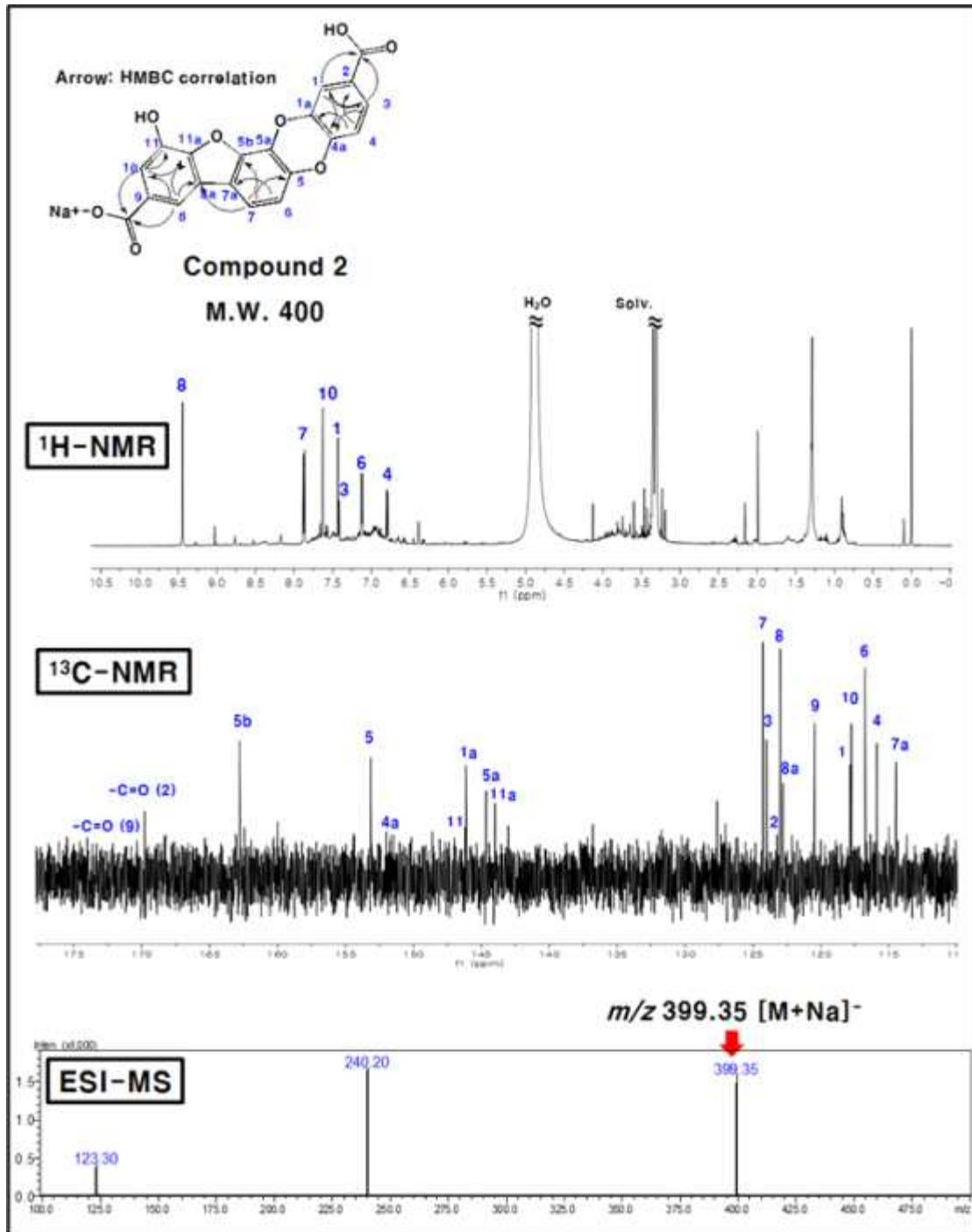


▶ 화합물 1은 2-methyl-1,3,5-trinitrobenzene으로 동정됨.

- 화합물 2:  $^1\text{H-NMR}$  spectrum으로부터 3종의 trisubstituted benzene ring proton signal들[ $\delta$  7.43 (1H, dd,  $J = 8.4, 1.8$  Hz, H-2), 7.41 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-3), 6.79 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-7)], 2종의 *ortho*-benzene ring proton signal들[ $\delta$  7.87 (1H, d, 8.4 Hz, H-7), 7.12 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-6), 그리고 2종의 *meta*-benzene ring proton signal들[ $\delta$  9.44 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-8) 7.63 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-11)]들이 관찰됨(그림 I-62). 그리고  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum으로부터 2종의 carbonyl carbon signal들( $\delta$  169.8과 170.4)과 11종의 quaternary carbon signal들( $\delta$  162.8-114.5)을 포함한 총 20종의 carbon signal들이 관찰됨(그림 I-62). 정확한 구조해석을 위해 2D-NMR ( $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC)분석(그림 I-62) 및 ESI-MS 분석( $m/z$  399.35  $[\text{M}-\text{H}]^-$ )을 통해 화합물 2는 sodium

2-carboxy-11-hydroxybenzofuro[8a, 11a-a]dibenzo[b,e] [1a, 4a]dioxine-9-carboxylate일 가능성이 강하게 시사되었으나 sodium이 2종의 carboxylic acid들 중 어느 위치에 결합되어 있는지, 그리고 3,4-dihydroxybenzoic acid에 결합된 carboxylic acid가 2위 혹은 3위에 결합되어 있는지에 대해서는 추후 추가적인 분석을 통해 보다 정확한 구조해석이 필요한 상황임

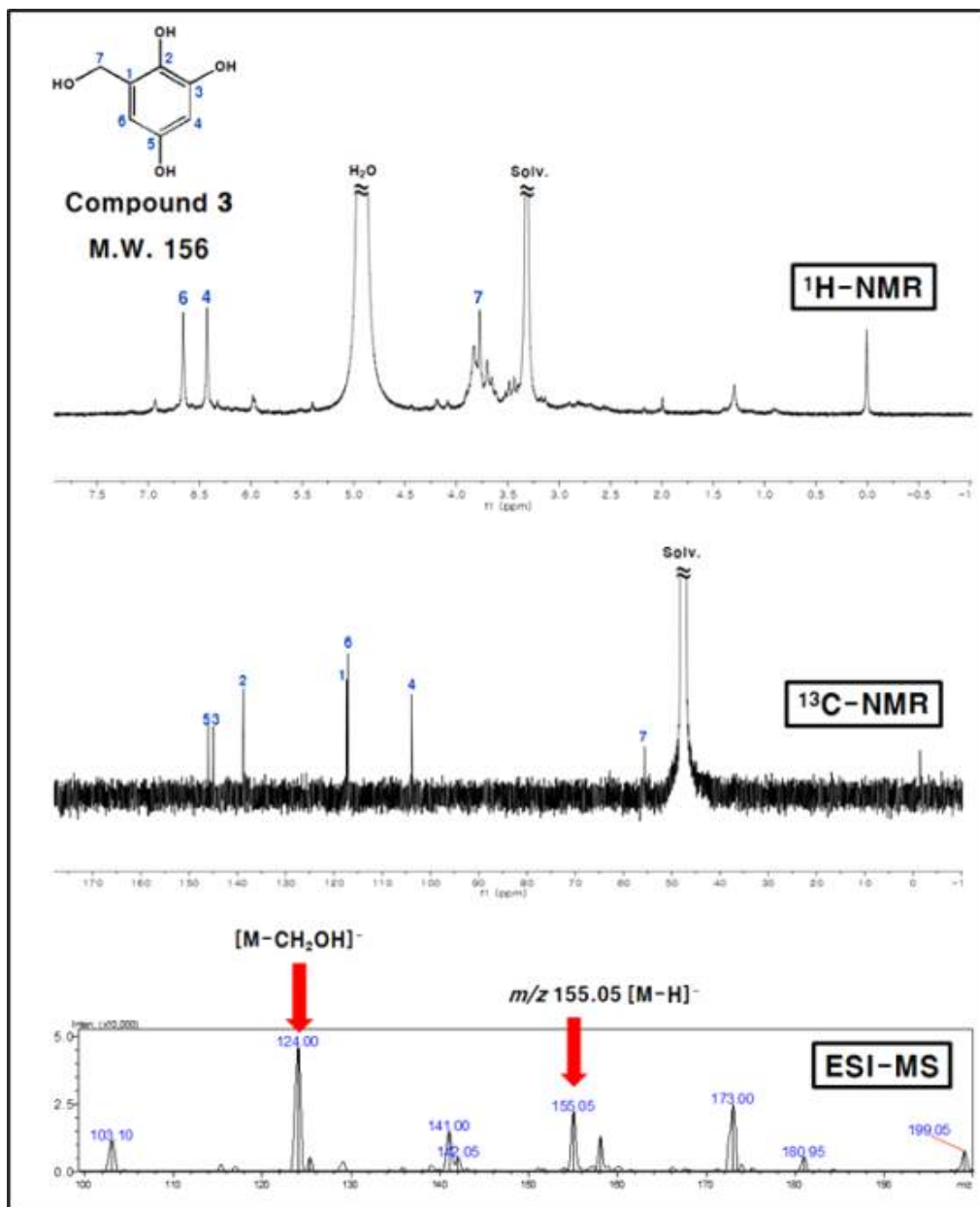
■ 그림 I-62. 화합물 2의 NMR 및 ESI-MS spectra.



▶ 화합물 2는 sodium 2-carboxy-11-hydroxybenzofuro[8a,11a-a]dibenzo[b,e] [1a,4a]dioxine-9-carboxylate일 가능성이 강하게 시사됨.

- 화합물 3:  $^1\text{H-NMR}$  spectrum으로부터 2종의  $sp^2$  carbon proton의 benzene ring 유래의 proton signal들[6.66 (1H, s, H-6)] 6.43 (1H, s, H-4)]과 1종의 oxygenated methylene proton signal [ 3.77 (2H, s, H-1')]이 관찰됨(그림 I-63). 그리고  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum으로부터 4종의 quaternary signal들을 포함한 6종의 benzene환 유래의 carbon signal들과 oxygenated meylene유래의 carbon signal (55.6)이 관찰됨(그림 I-63). 1D-NMR spectra로부터 화합물 3은 hydroxymethylbenzentril로 시사되었으며,  $^1\text{H-NMR}$  결과에 있어 benzene환에 결합된 proton 2종이 singlet으로 관찰되었던 것으로부터 새롭게 치환된 hydroxyl기는 5위에 결합되었음을 알 수 있었고, ESI-MS분석( $m/z$  155.05 [ $\text{M-H}^-$ ])을 통해 hydroxymethylbenzene-2,3,5-triol로 동정되었음.

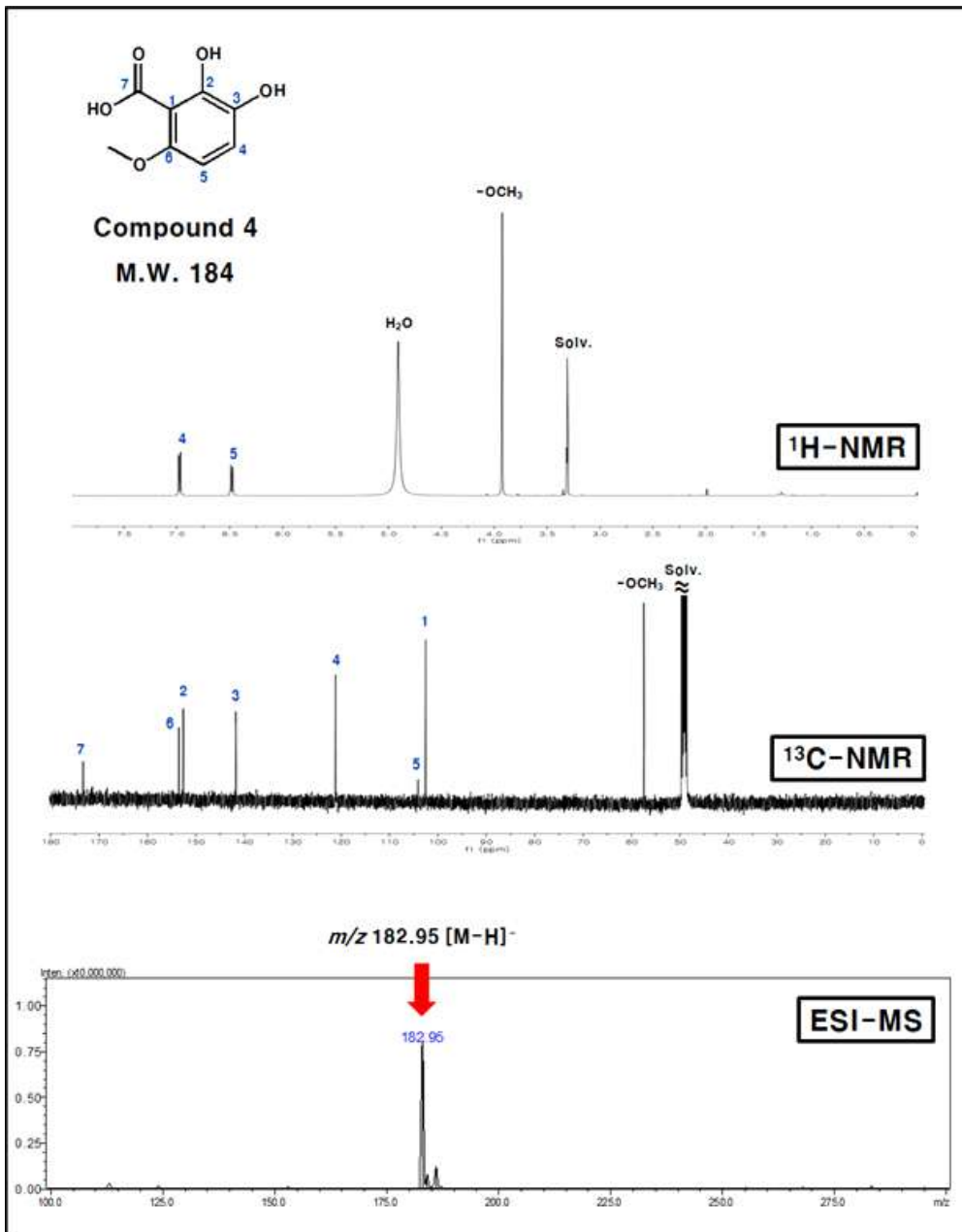
■ 그림 I-63. 화합물 3의 NMR 및 ESI-MS spectra.



- ▶ 화합물 3은 hydroxymethylbenzene-2,3,5-triol로 동정됨.

- 화합물 4:  $^1\text{H-NMR}$  spectrum으로부터 2종의 등가 proton singlet들[6.97 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-4), 6.48 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-5)]이 관찰되어 4치환체 *ortho*-benzene ring의 존재가 확인되었고, 1종의 methoxy기 유래의 proton signal [3.93 (3H, s)]이 추가적으로 관찰됨(그림 I-64). 그리고  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum으로부터 1종의 carbonyl carbon signal (173.3, C-7)과 4종의 quaternary carbon signal들(153.5-121.2)을 포함한 총 8종의 carbon signal들이 관찰됨(그림 I-64). 1D-NMR spectrum과 ESI-MS분석 ( $m/z$  182.95 [ $\text{M-H}^-$ ])을 통해 2,3-dihydroxy-6-methoxybenzoic acid로 시사되었으며, 기존의 데이터와 비교한 결과 2,3-dihydroxy-6-methoxybenzoic acid로 동정하였음.

■ 그림 I-64. 화합물 4의 NMR 및 ESI-MS spectra.



- ▶ 화합물 4는 2,3-dihydroxymethoxybenzoic acid로 동정됨.



- 상기의 결과로부터 2,3- 및 3,4-DHBA는 상호 radical-scavenging 반응 기전이 다름을 알 수 있었음.
- 또 2,3-DHBA는 radical-scavenging 수 및 radical-scavenging 속도 측면에 있어 ascorbic acid보다 우수한 특징이 있음이 확인되었음.
- 그리고 3,4-DHBA는 radical을 scavenging한 후 산화된 화합물이 ascorbic와의 반응에 의해 재생(환원)될 수 있음 또한 확인되었음.
- 이에, 배에 함유되어 있는 이 두 성분은 생체 내에서도 매우 우수한 생리활성을 발현할 가능성이 시사되었음.
- 따라서 2,3- 및 3,4-DHBA는 배의 지표성분 후보 화합물로 활용 가능성이 높다고 판단되었음.

- 본 연구그룹의 선행연구 결과 및 본 연구과제의 수행을 통해 배로부터 약 60여 종의 화합물을 단리·구조결정 하였음.
- 이들 성분을 대상으로 독자적으로 확립한 방법에 의해 배의 지표성분으로써 2,3- 및 3,4-DHBA의 활용 가능성이 확보되었음.
- 즉 화합물들의 상대적인 radical-scavenging 속도를 비교할 수 있는 매우 간단하고 경제적인 방법(HPLC 분석법 이용)을 확립하였음
- 그리고 산화 화합물의 ascorbic acid에 의한 재생(환원) 여부 평가법(HPLC 분석법 이용) 또한 자체적으로 확립하였음
- 또 자체적으로 확립된 상기의 방법을 이용하여 2,3- 및 3,4-DHBA의 radical 반응 생성물의 구조를 밝힘으로써 그들의 항산화 반응 mechanism을 해명할 수 있었음.

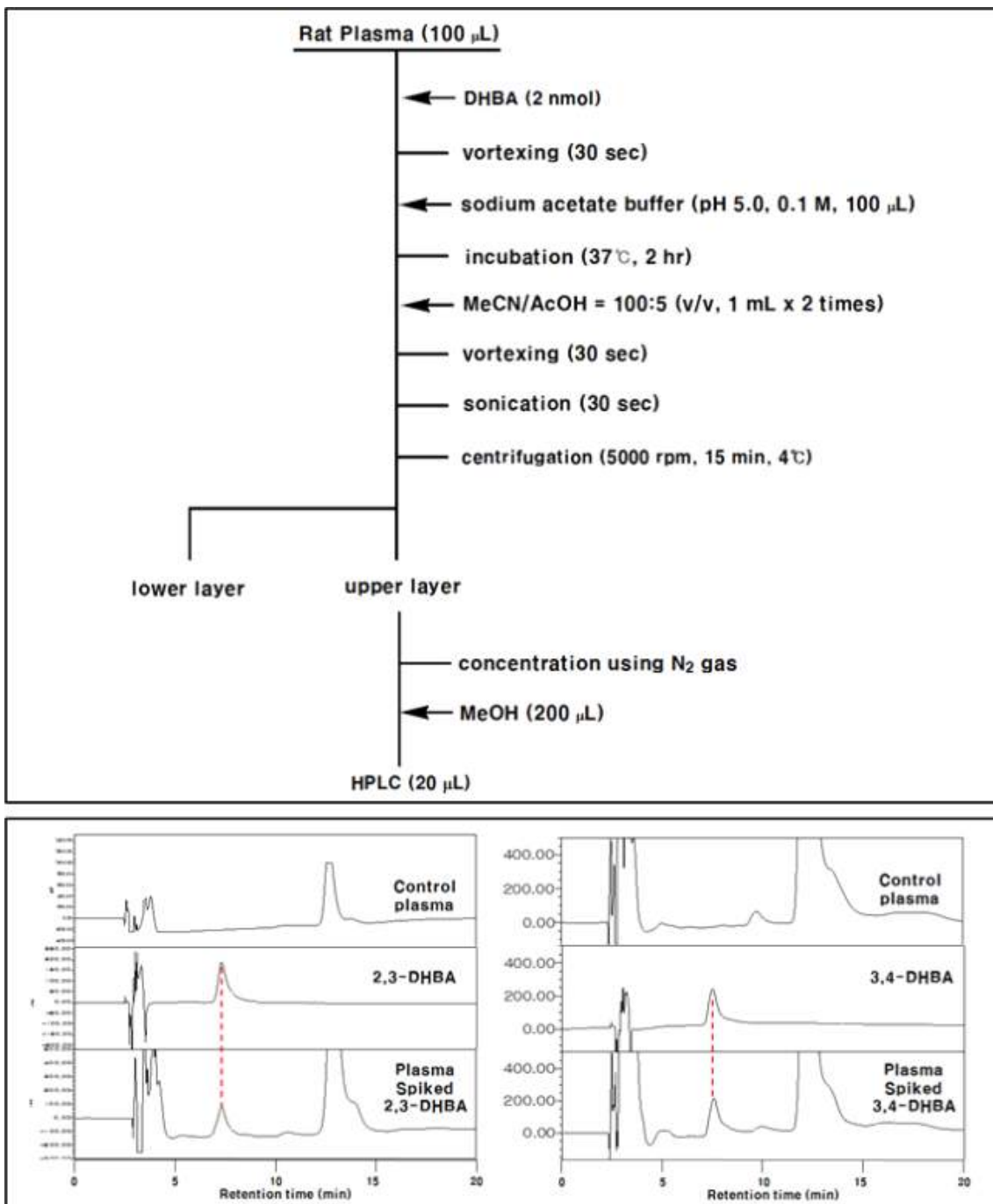
## <2,3- 및 3,4-DHBA의 혈중 흡수·대사, Pharmacokinetics 및 혈장산화 억제 효과>

가. 쥐 혈장에서부터 2,3- 및 3,4-DHBA 분석조건 확립

(1) 추출조건 확립 및 회수율

- 3,4-DHBA는  $t_R$  7.6 min에서 용출되었고, 회수율은 98%였으며(그림 I-65), 2,3-DHBA는  $t_R$  7.4 min에서 용출되었고, 회수율은 97%로 높은 값을 보였음(그림 I-65).

■ 그림 I-65 - 쥐 혈장에서부터 2,3- 및 3,4-DHBA의 추출물 검토 방법 (위) 및 HPLC chromatograms (아래).



- ▶ 2,3-DHBA는  $t_R$  7.4 min에서 용출되었고, 회수율은 97%였음.
- ▶ 3,4-DHBA는  $t_R$  7.6 min에서 용출되었고, 회수율은 98%였음.

(2) 2,3- 및 3,4-DHBA 표준곡선 작성 및 검출한계 농도

- 2,3- 및 3,4-DHBA를 10~100 pmol과 20~200 pmol의 범위에 걸쳐 각각의 표준곡선을 작성하였음.
- 또한 3,4-DHBA의 검출한계농도는 20 pmol이었고, 2,3-DHBA의 검출한계농도는 10 pmol이었음.

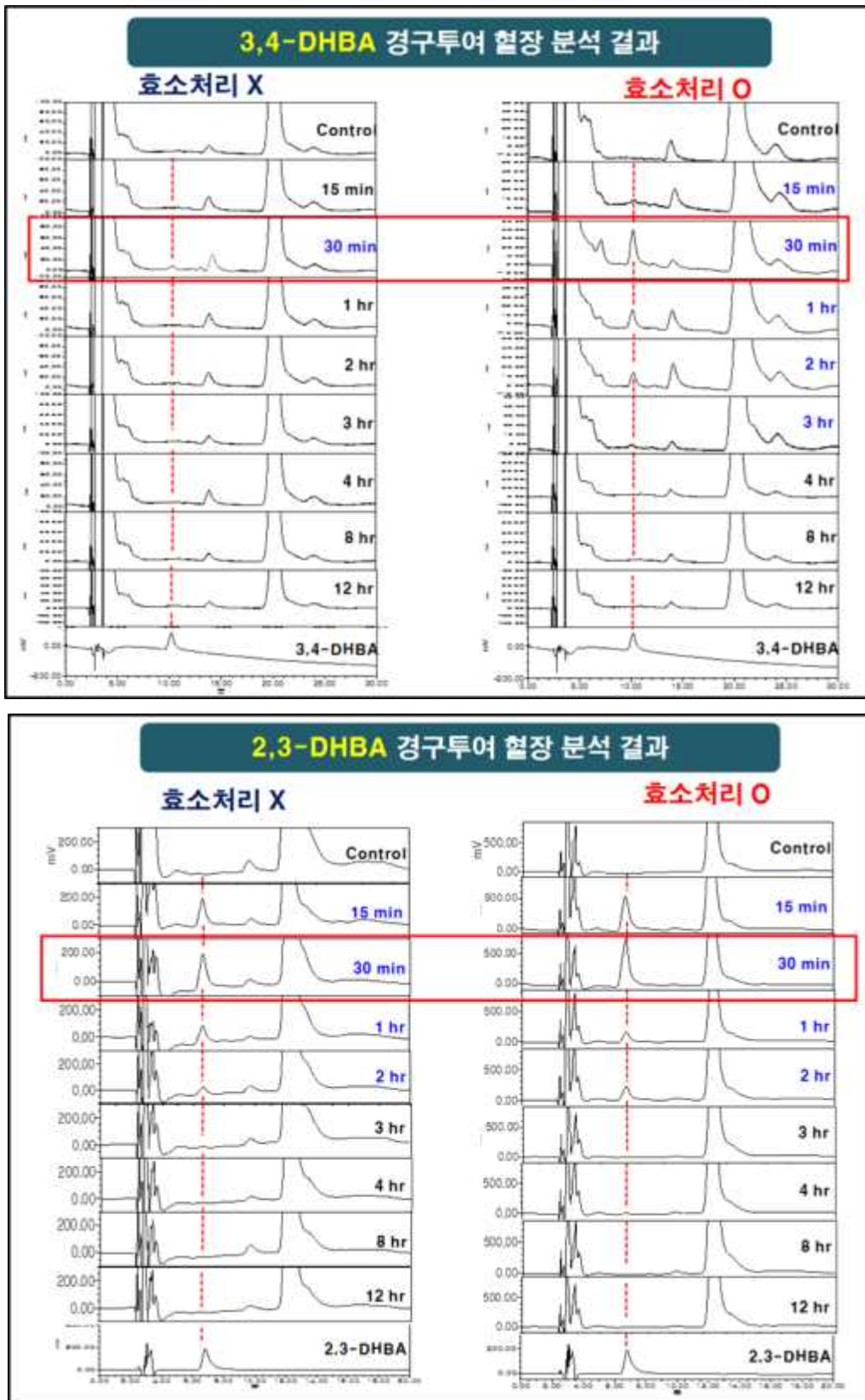
(3) 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장 내 Intact Form의 존재여부 확인: HPLC 분석

- 3,4-DHBA는 경구투여 30분 후의 혈장을 제외한 다른 모든 혈장으로부터 3,4-DHBA와 동일한  $t_R$ 에 아무런 peak도 검출되지 않았음.
- 이러한 결과로 경구투여한 3,4-DHBA는 intact form으로 혈액에 거의 흡수되지 않은 것으로 판단되었음.
- 2,3-DHBA는 경구투여 후 혈장에서 경구투여 0.25 시간에서 3시간까지의 혈장으로부터 2,3-DHBA와 동일한  $t_R$ 에서 peak가 관찰되었으며, 특히 15분 및 30분 후의 혈장에서 intact form으로 추측되는 피크가 비교적 고농도로 검출되었음.

나. 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장 내 2,3- 및 3,4-DHBA 대사체 분석

- 3,4-DHBA 경구투여 15분 후부터 3시간까지의 혈장에서 효소처리 전에 비해 3,4-DHBA와 동일  $t_R$ 에서 peak area가 현저히 상승되었음(그림 I-66).
- 또한 2,3-DHBA에서도 2,3-DHBA와 같은  $t_R$ 에서 peak area가 현저히 상승되었음(그림 I-66).

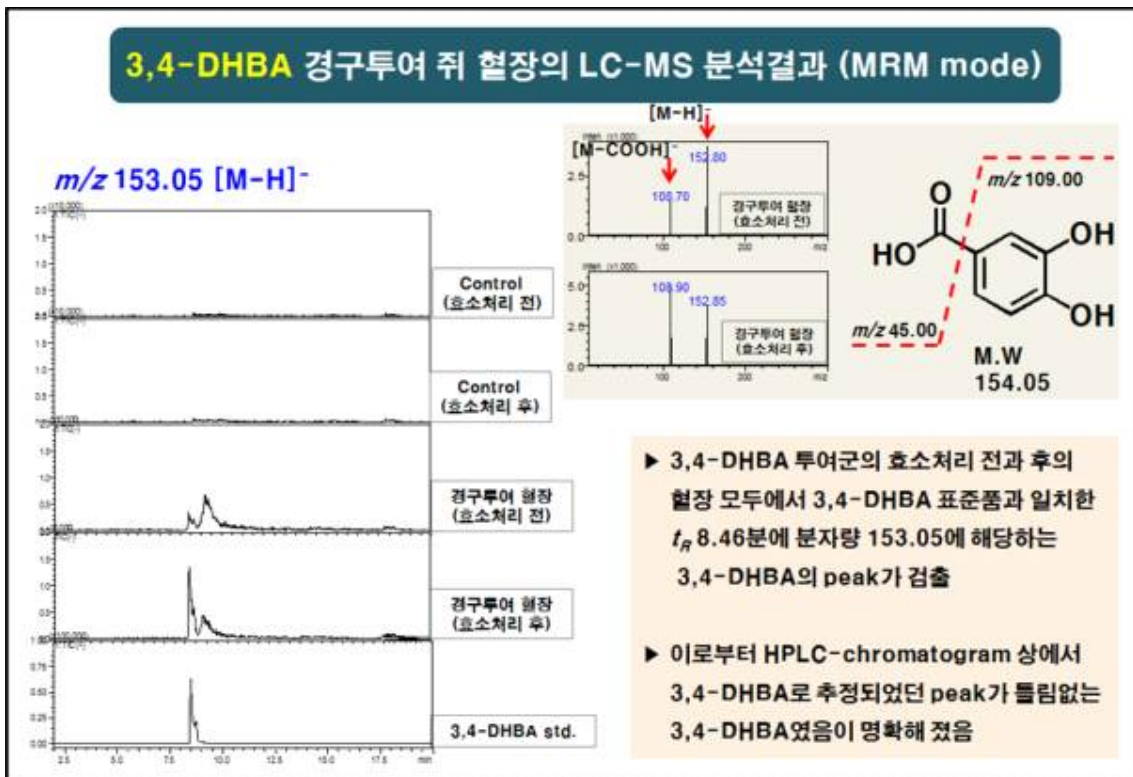
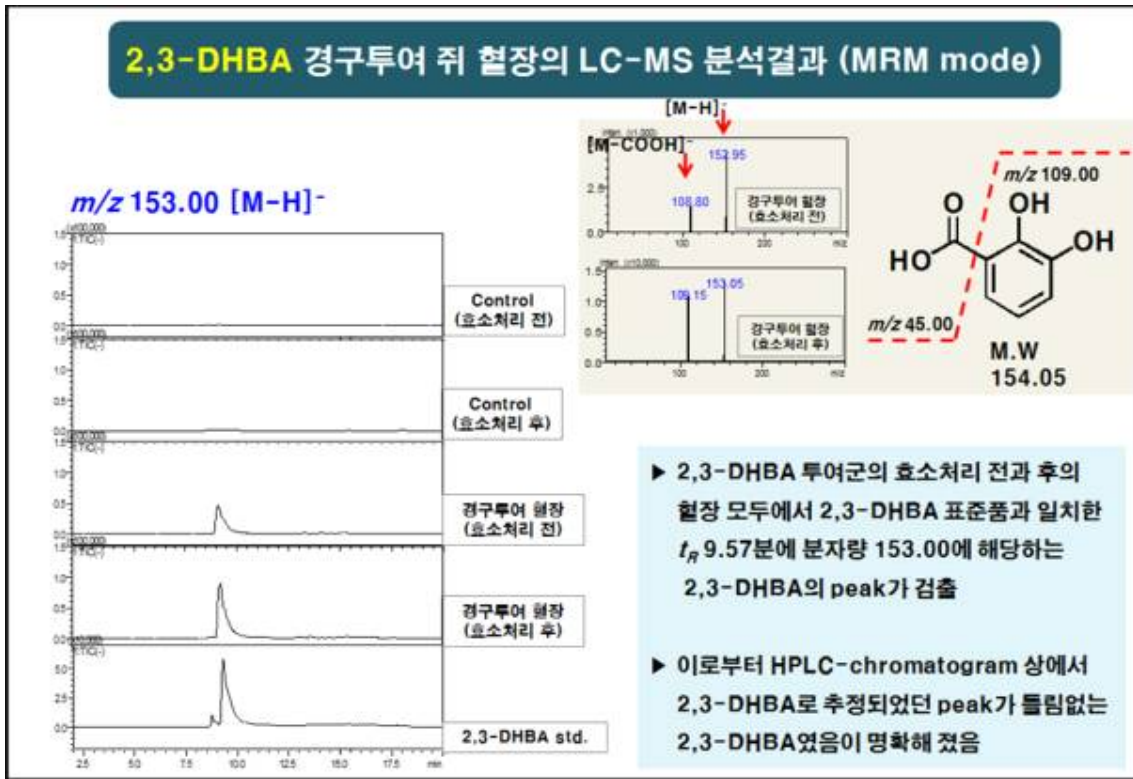
■ 그림 I-66. 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장 내 Intact Form 및 대사체 분석.



- ▶ 3,4-DHBA는 intact form으로 혈액에 거의 흡수되지 않았고, 2,3-DHBA는 15분 및 30분 후의 혈장에서 intact form으로 추정되는 피크가 고농도로 검출됨.
- ▶ 2,3-DHBA와 3,4-DHBA 모두 효소처리 시 peak area가 현저히 상승되었음.

- 다. 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 후 LC-MS 분석에 의한 쥐 혈장 중 대사체의 존재여부 재확인
- (1) 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 혈장에 Intact Form 존재 여부: LC-MS 분석
- 3,4-DHBA 투여군의 효소처리 전의 혈장에서  $m/z$  152.80 [M-H]<sup>-</sup>에 해당하는 3,4-DHBA와  $t_R$ 이 일치하는 peak가 검출되어 3,4-DHBA는 쥐 혈장에서 intact form의 형태로 혈액에 흡수됨이 분명해짐(그림 I-67).
  - 2,3-DHBA 투여군 또한 효소처리 전의 혈장에서  $m/z$  152.95에 해당하는 3,4-DHBA와  $t_R$ 이 일치하는 peak가 검출되어 3,4-DHBA는 쥐 혈장에서 intact form의 형태로 혈액에 흡수됨이 분명해짐. (그림 I-67)
- (2) 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 혈장의 효소처리에 의한 대사체 동정: LC-MS 분석
- 2,3- 및 3,4-DHBA 투여 30분 후의 혈장을 효소처리하여 LC-MS 분석한 결과(그림 I-67), 2,3- 및 3,4-DHBA 모두 각각의 standard와 일치하는  $t_R$ 에서 peak가 검출되어 효소처리 후에 생성된 화합물 또한 각각 2,3- 및 3,4-DHBA였음을 확인함.

■ 그림 I-67. 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 후 LC-MS 분석에 의한 쥐 혈장 중 대사체의 존재여부 재확인.

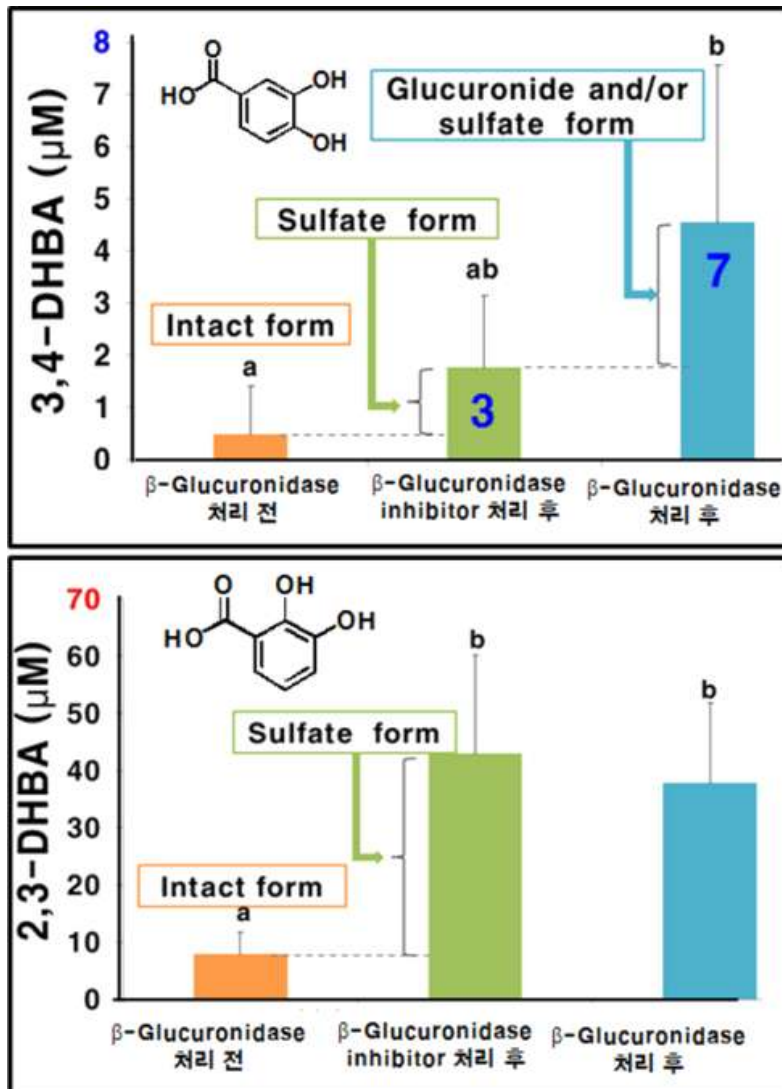


- ▶ LC-ESI-MS 분석 결과, 2,3- 및 3,4-DHBA 모두 intact form으로 혈액에 흡수됨.
- ▶ 효소처리 후 생성된 화합물 또한 각각 2,3- 및 3,4-DHBA임이 확인됨.

(3) 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장 중의 대사체 존재형태 분석:  $\beta$ -Glucuronidase Inhibitor 처리(그림 I-68)

- 3,4-DHBA 투여 혈장 (그림 I-68)에 있어 3,4-DHBA의 포함체 형태는 glucuronide와 sulfate form이 7:3 (M/M)의 비율로 존재하였음에 비해 2,3-DHBA 투여혈장 (그림 I-68)에 있어 2,3-DHBA의 포함체의 형태는  $\beta$ -glucuronidase inhibitor 처리 후의 2,3-DHBA의 농도가  $\beta$ -glucuronidase 처리 후의 2,3-DHBA 농도보다 약간 더 높은 경향을 보였으나, 유의차가 관찰되지 않아 sulfate form으로만 혈장 중에 존재하는 것으로 해석됨.

▣ 그림 I-68. 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장 중의 대사체 존재형태 분석:  $\beta$ -Glucuronidase Inhibitor 처리.



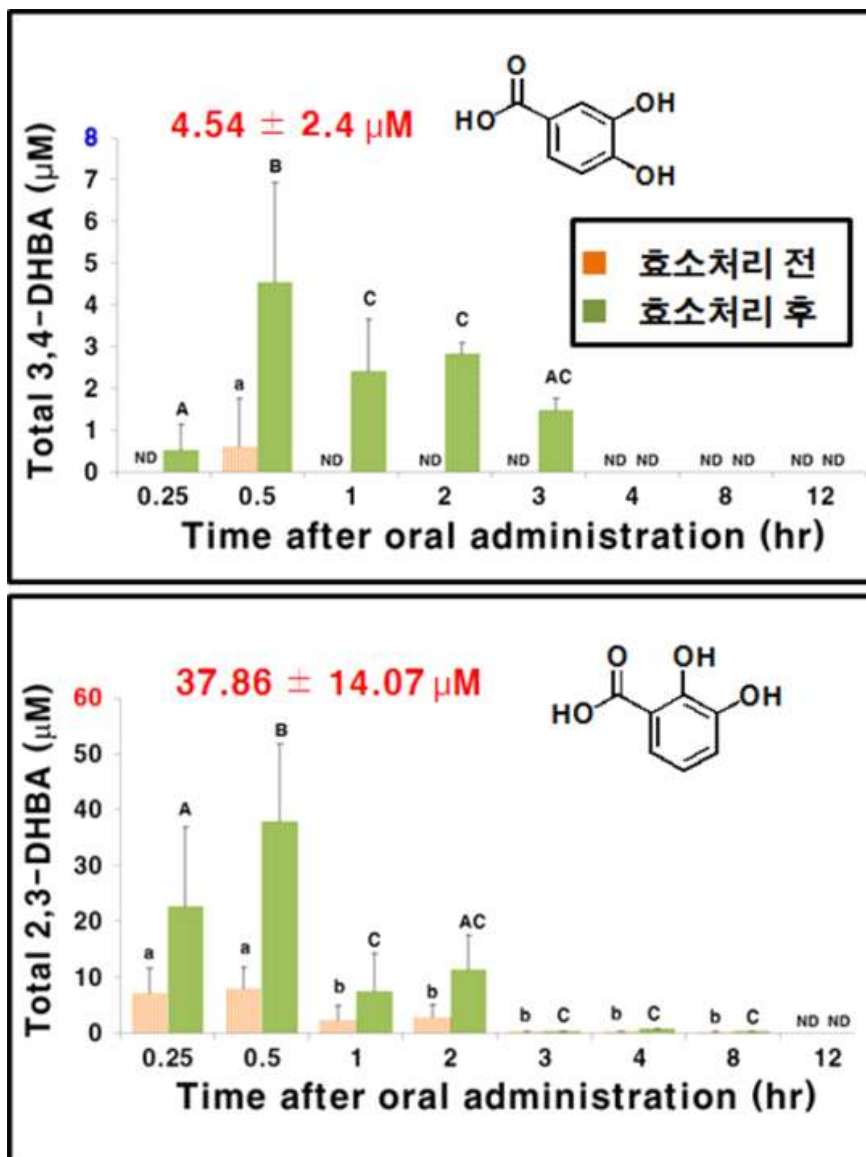
- ▶ 3,4-DHBA의 포함체 형태는 glucuronide와 sulfate form이 7:3의 비율로 존재하였음.
- ▶ 2,3-DHBA는 sulfate form으로만 존재하였음.
- ▶ 2,3-DHBA와 3,4-DHBA는 그들의 구조에 미묘한 차이가 있을 뿐인데도 혈중에 흡수되는 정도와 대사되는 경향이 매우 다름.

라. 생리활성 평가

(1) 2,3- 및 3,4-DHBA의 쥐 내 경시적 흡수율 비교

- 경구투여 30분 후의 혈장에 있어 2,3-DHBA의 total 함량(유리형+포합체형)은 3,4-DHBA의 total 함량에 비해 약 8배 높았음(그림 I-69).
- 두 화합물 각각을 경구투여한 혈장 중에 있어 2,3-DHBA의 intact form은 3,4-DHBA의 total 함량에 비해 약 13배 높음이 확인됨.
- 2,3- 및 3,4-DHBA 투여 혈장 양자 모두에 있어 각각의 intact form 및 total 함량은 2,3-DHBA 투여군에서 월등히 높게 나타나 이후 생리활성 평가에서 2,3-DHBA와 3,4-DHBA투여 30분 후의 혈장을 이용함.

▣ 그림 I-69. 2,3- 및 3,4-DHBA의 쥐 내 경시적 흡수율 비교.

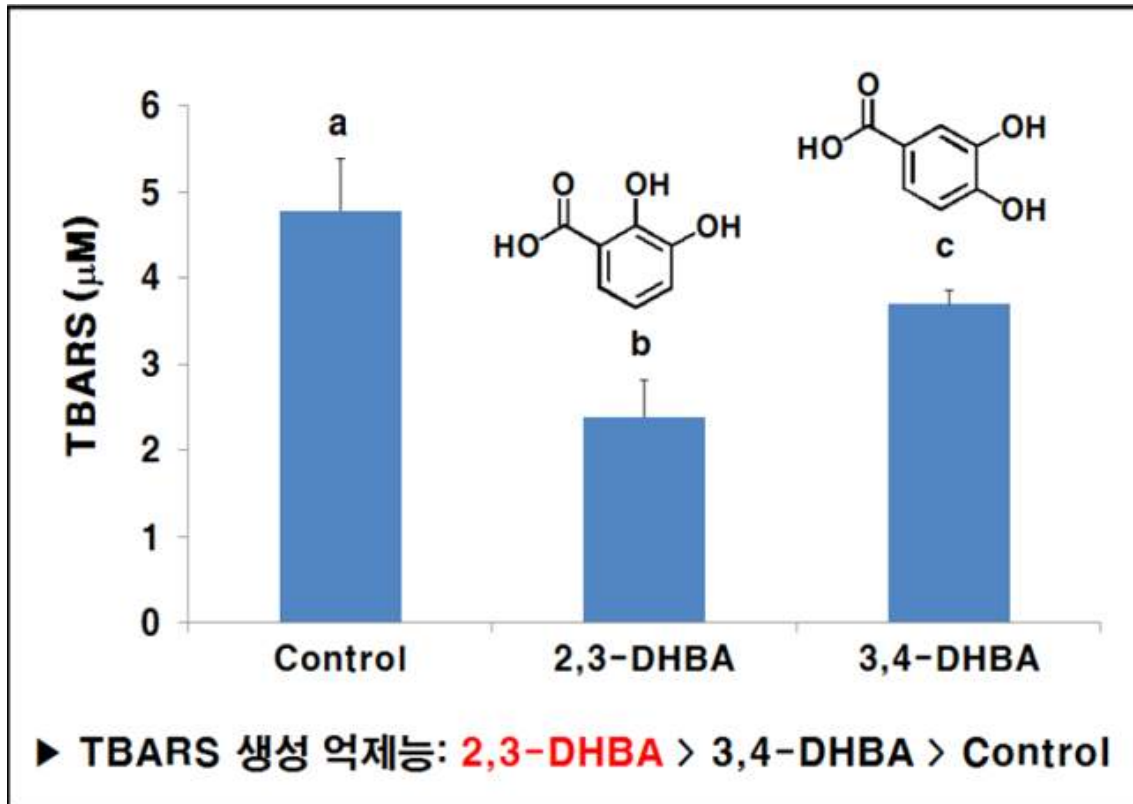


- ▶ 경구투여 30분 후의 혈장에 있어 2,3-DHBA의 total 함량은 3,4-DHBA의 total 함량에 비해 약 8배 높았음.
- ▶ 2,3-DHBA의 intact form은 3,4-DHBA의 total 함량에 비해 약 13배 높음이 확인됨.



- (2) Thiobarbituric Acid법에 의한 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장의 피산화성 평가
- Control 쥐 혈장의 TBARS 함량과 비교하였을 때(그림 I-70), 3,4-DHBA 경구투여 혈장에 있어 약 20%의 생성억제 효과가 관찰됨.
  - 2,3-DHBA 경구투여 혈장은 대조구에 비해 약 50%의 TBARS 함량을 보였으며, 3,4-DHBA보다 TBARS 생성억제능이 더 우수함을 알 수 있었음.

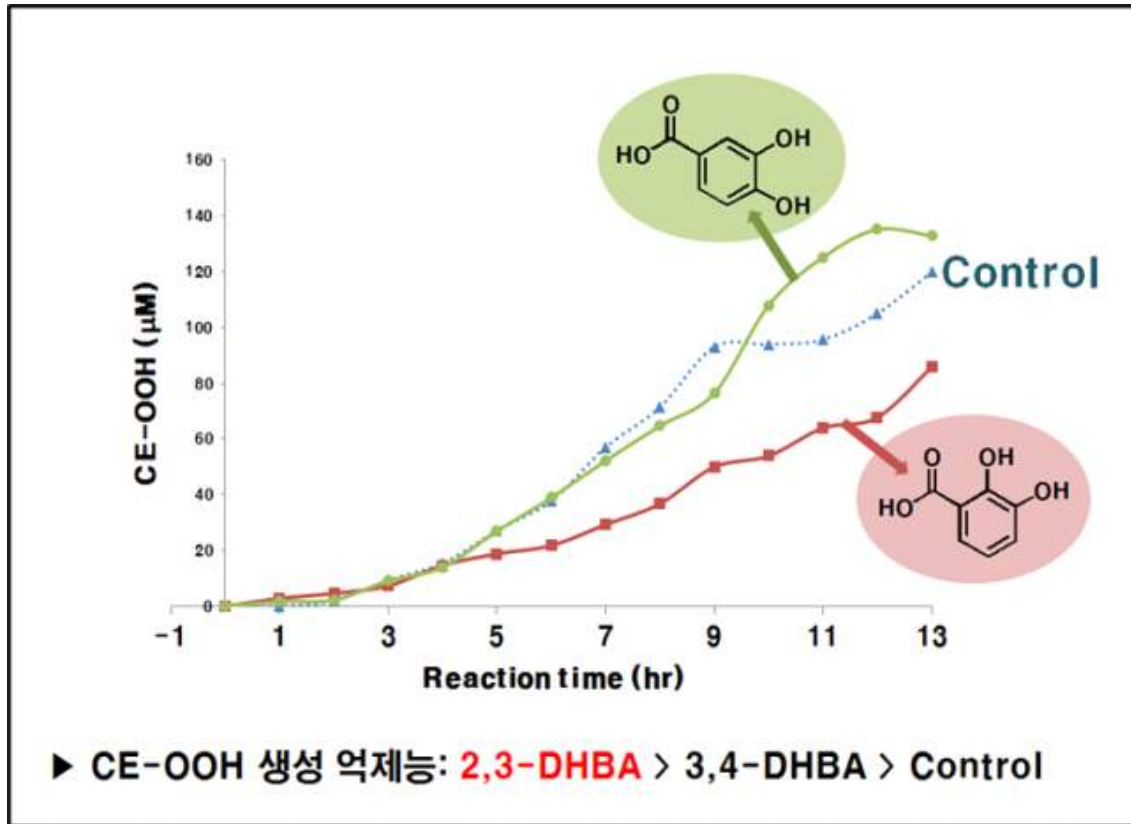
▣ 그림 I-70. Thiobarbituric acid법에 의한 2,3- 및 3,4-DHBA 경구투여 쥐 혈장의 피산화성 평가



- ▶ Control 쥐 혈장의 TBARS 함량을 비교하였을 때, 3,4-DHBA 경구투여 혈장이 약 20%의 생성억제 효과가 관찰됨.
- ▶ 2,3-DHBA 경구투여 혈장은 대조구에 비해 약 50%의 TBARS 함량을 보였음.
- ▶ 즉, 2,3-DHBA가 3,4-DHBA보다 TBARS 생성억제능이 더 우수함을 확인함.

- (3) 동이온 유도산화에 의한 Cholesterol Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성억제능 비교
- 3,4-DHBA 투여 혈장은 control 혈장의 CE-OOH 생성 경향과 거의 유사하게 관찰되었음. 그러나 2,3-DHBA 투여혈장은 control 혈장뿐만 아니라 3,4-DHBA 투여 혈장에 비해 CE-OOH 생성시간을 보다 효과적으로 지연시킴을 알 수 있었음(그림 I-71).
  - 3,4-DHBA는 흡수율이 낮을뿐더러 대부분 포합체화되어 혈액에 도달되기 때문에 혈액 내에서 항산화능이 거의 발현되지 않았으나, 2,3-DHBA는 유리형으로 혈액에 도달되는 양이 3,4-DHBA보다 더 많기 때문에 항산화능이 높게 발현되는 것으로 시사됨.

▣ 그림 I-71. 동이온 유도산화에 의한 Cholesteryl Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성 억제능 비교.



- ▶ 3,4-DHBA 투여 혈장은 control 혈장의 CE-OOH 생성 경향과 거의 유사하게 관찰되었음.
- ▶ 2,3-DHBA 투여혈장은 control 혈장뿐만이 아니라 3,4-DHBA 투여 혈장에 비해 CE-OOH 생성시간을 보다 효과적으로 지연시킴을 알 수 있었음.
- ▶ 2,3-DHBA는 유리형으로 혈액에 도달되는 양이 3,4-DHBA보다 더 많기 때문에 혈중 항산화능이 높게 발현되는 것으로 시사됨.

- 2,3- 및 3,4-DHBA의 배 지표성분으로써의 활용 가능성을 보다 구체적으로 확인하기 위해 쥐를 이용한 흡수·대사, pharmacokinetics 및 항동맥경화 인자으로써의 유용성을 평가하였음.
- 그 결과, 3,4-DHBA는 어느 정도 대사가 되지만, intact form으로도 혈액에 도달됨이 확인되었음.
- 그리고 2,3-DHBA는 대부분의 flavonoid류보다 혈중 흡수 농도가 많게는 7배 정도 높은 것으로 확인되었을 뿐만 아니라 intact form으로 혈액에 흡수되는 농도도 매우 높았음.
- 경구투여 시 2종 화합물 모두 비교구에 비해 혈액에 있어 cholesteryl ester hydroperoxide의 생성억제능이 높게 관찰되었으며
- 특히 2,3-DHBA의 활성은 매우 우수한 것으로 확인되었음.
- 즉 2,3- 및 3,4-DHBA 모두 섭취 시 생체 내에서 우수한 생리활성을 발현할 것으로 시사되었음.
- 이에 2,3- 및 3,4-DHBA는 배의 의미있는 지표성분으로써 활용가치가 높다고 판단되었음.

## <Malaxinic Acid (MA)의 쥐 경구투여 후 혈장 내 *In Vivo* 생리활성 평가>

### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

#### 가. 재료 및 방법

##### (1) MA 및 MA aglycone의 유기합성

- “배수출연구사업단”의 연구 수행 시, 본 연구그룹의 선행연구를 통해 기 확립된 유기합성 방법에 준하여 MA 및 MA aglycone을 추가적으로 확보하였음.
- MA 및 MA aglycone을 대상으로 한 연구의 중요성과 의의에 관한 내용은 상기의 연구 배경에 기술하였음.
- MA의 유기합성법 scheme을 다음 페이지에 제시하였음.
- 이와 같은 방법에 의해 MA 및 MA aglycone을 gram 단위로 확보한 후,
- 이 화합물들 각각을 쥐를 대상으로 경구투여하여 혈액 중의 대사체 구조해명에 관한 연구를 수행하였음.

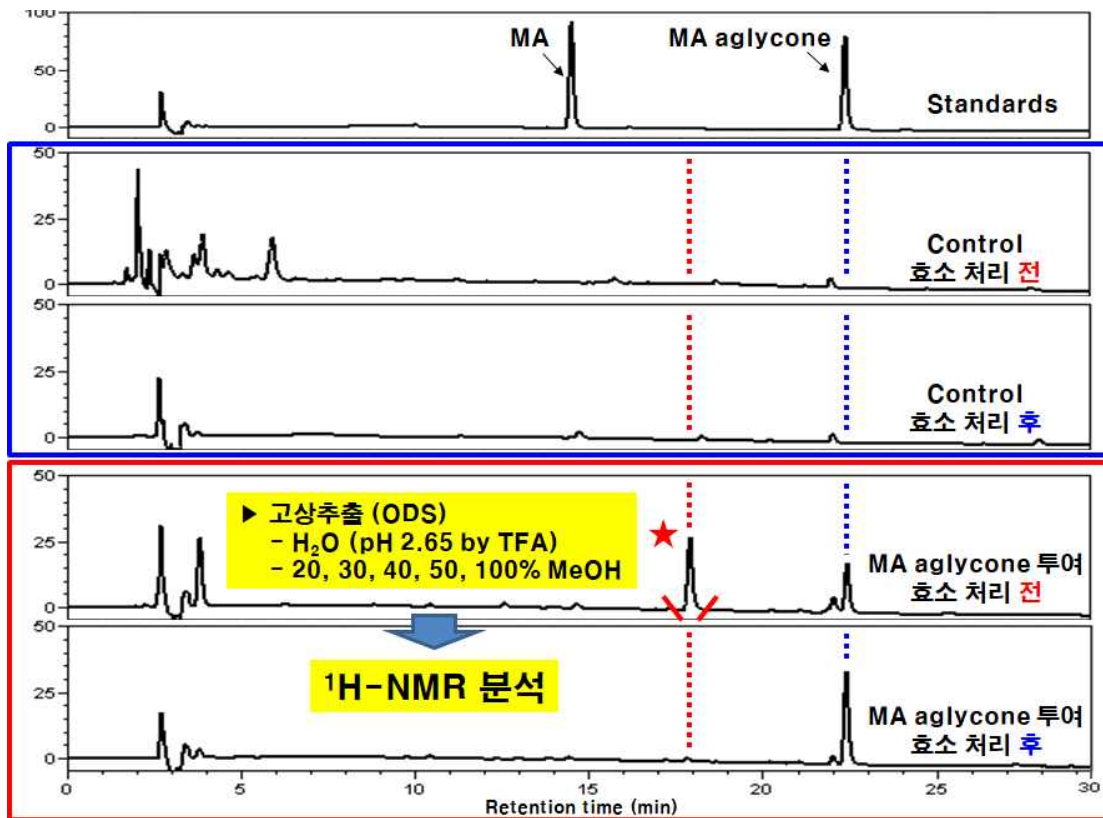
##### (2) MA의 쥐 경구투여 및 혈장 내 대사체의 단리·구조결정

- MA 3.68 mg (10  $\mu$ mol)을 1 mL의 propylene glycol에 용해시켜 경구투여용 zonde를 이용하여 경구투여 하였음.
- MA 경구투여 15분 후에 채혈하여 얻은 쥐 혈장( $n = 50$ , 총 200 mL)에 acetic acid (5 mL)를 첨가 후, EtOAc (200 mL)로 3회 추출하였음.
- 추출한 EtOAc층을 농축 후, MeOH (2 mL)로 용해시킨 다음, 원심분리(5000 rpm, 10 min, 4 $^{\circ}$ C) 후 얻은 상층액을 ODS column ( $\mu$ Bondapak, 7.8  $\times$  300 mm, Waters, MA, USA)이 장착된 HPLC를 이용하여 MA 대사체( $t_R$  18 min)를 분취하였음(그림 I-72).
- HPLC 분석조건은 아래와 같음.
  - Column:  $\mu$ Bondapak C18, 7.8  $\times$  300 mm, Waters, USA
  - Wavelength: 254 nm
  - Flow rate: 5.0 mL/min
  - Mobile phase:

Time (min)	2% AcOH	60%MeCN
0	100	0
15	40	60
25	30	70
26	0	100
45	0	100

- 얻어진 획분을 곧바로 ODS 고상추출 카트리지(Sep-Pak Vac 35 cc, Waters, MA, USA)에 charge한 다음,
- 20%, 30%, 40%, 50%, 100% MeOH (각 70 mL)로 순차적으로 용출시켰음(그림 I-72).
- 그 중 MA 대사체가 용출되었다고 판단된 30% MeOH 용출 획분을 농축 후 NMR 및 HR-ESI-MS 분석을 행하였음.

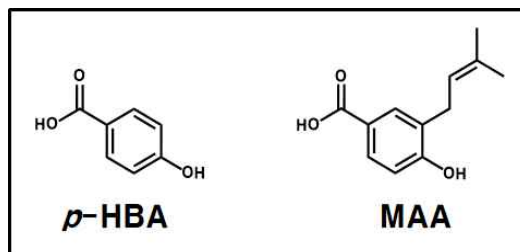
■ 그림 I-72 . MA의 쥐 경구투여 후 혈장 내 대사체의 정제·단리 및 구조 확인.



▶ HPLC를 이용하여 대사체 peak(★)를 분취 후 고상추출을 이용하여 정제하였음.

(3) MA 및 MA aglycone (MAA) 투여 쥐 혈장 CE-OOH 생성억제능: *p*-Hydroxybenzoic acid 투여 혈장과 활성 비교

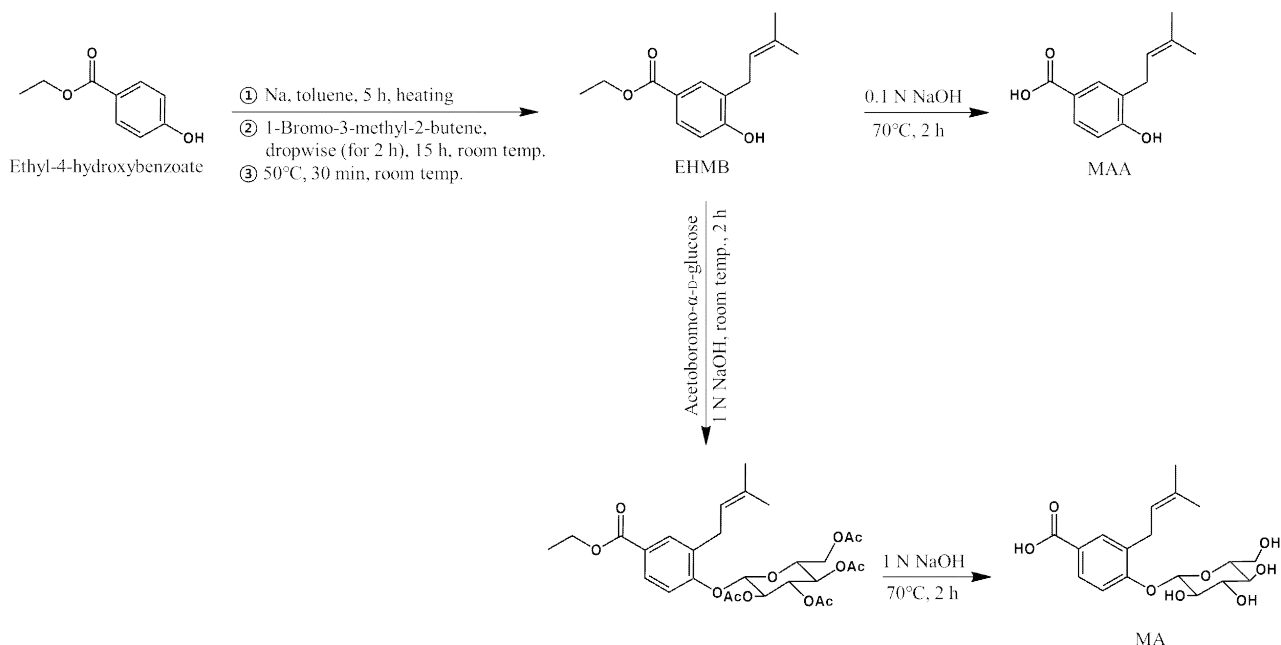
- *p*-Hydroxybenzoic acid (*p*-HBA)는 MAA의 구조식에 있어 isoprenyl 기가 결여된 화합물임.



- 그래서 본 연구에서 MA의 isoprenyl 기가 활성화에 미치는 영향을 비교하는데 유용하다고 판단되어 *p*-HBA를 대조구로 선정하였음.
- *p*-HBA를 MA 및 MAA와 동일 mol이 되도록 쥐에 투여한 후, 채혈한 혈장을 대상으로 동이온 산화를 유도한 다음, CE-OOH의 생성억제능을 비교하였음.

## 2. 연구내용 및 결과

### 가. MA 및 MA aglycone의 유기합성

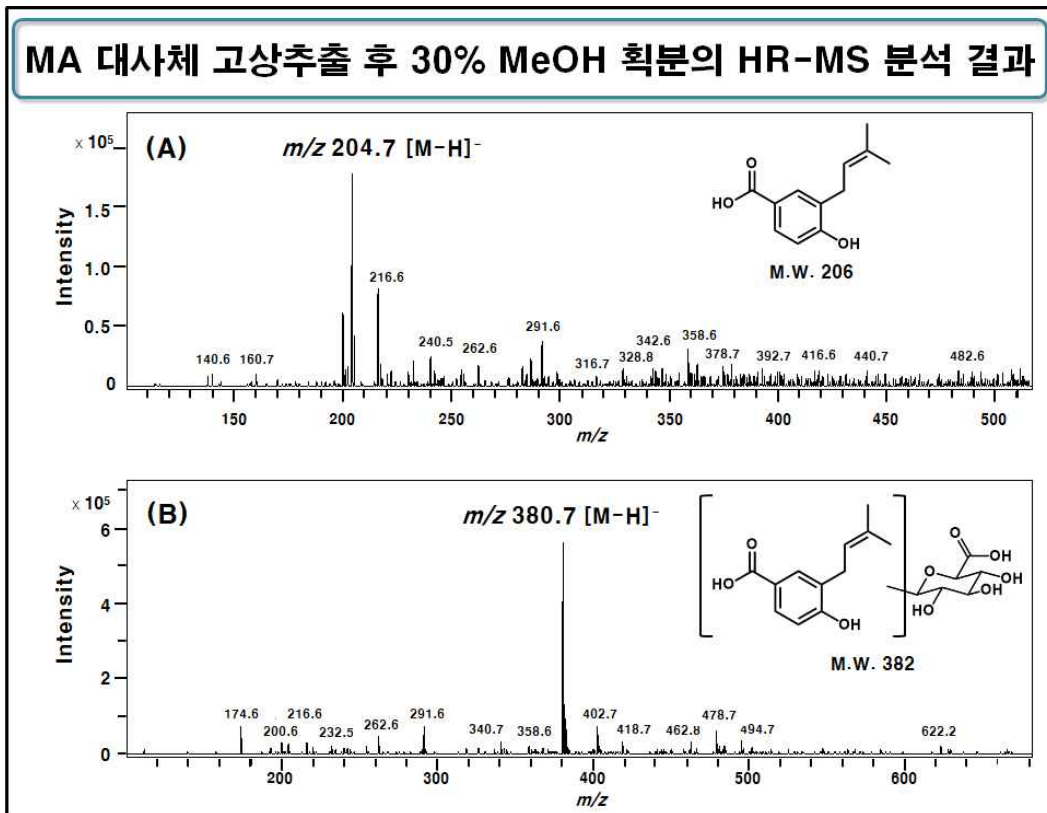


### <MA 및 MA aglycone의 유기합성 방법>

### 나. MA의 쥐 경구투여 및 혈장 내 대사체의 단리·구조결정

- HR-ESI-MS (positive) spectrum으로부터 pseudomolecular ion peak로  $m/z$  405.1157  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  signal이 검출되어 MA 대사체의 예상 분자량( $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_9$ , MW 382)과 일치성이 확인되었음(그림 I-73).

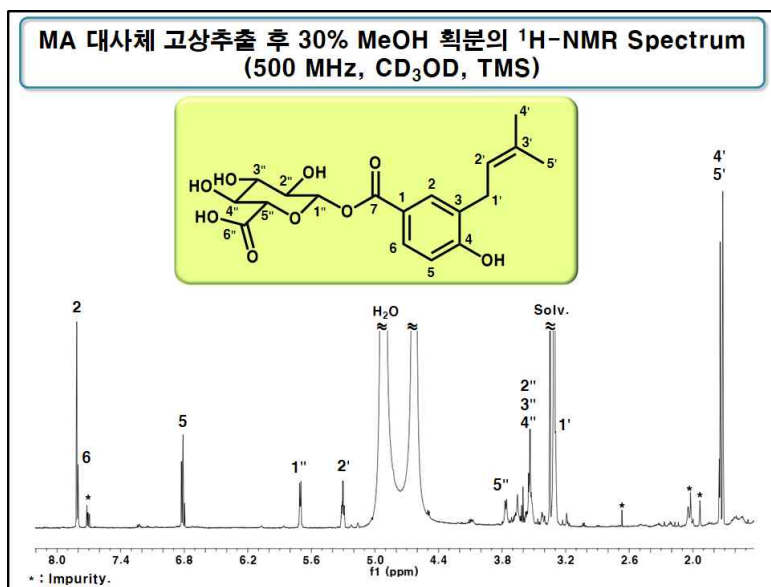
■ 그림 I-73. MA 대사체의 HR-ESI-MS (positive) spectrum.



▶ Pseudomolecular ion peak로  $m/z$  405.1157  $[M+Na]^+$  peak가 관찰되어 MA 대사체의 예상 분자량 ( $C_{18}H_{22}O_9$ , MW 382)과 그 일치성이 확인되었음.

-  $^1H$ - 및  $^{13}C$ -NMR spectra로부터 MA의 aglycone (MAA) 및 glucuronic acid의 존재가 확인되었음(그림 I-74와 I-75).

■ 그림 I-74. MA 대사체의  $^1H$ -NMR spectrum.

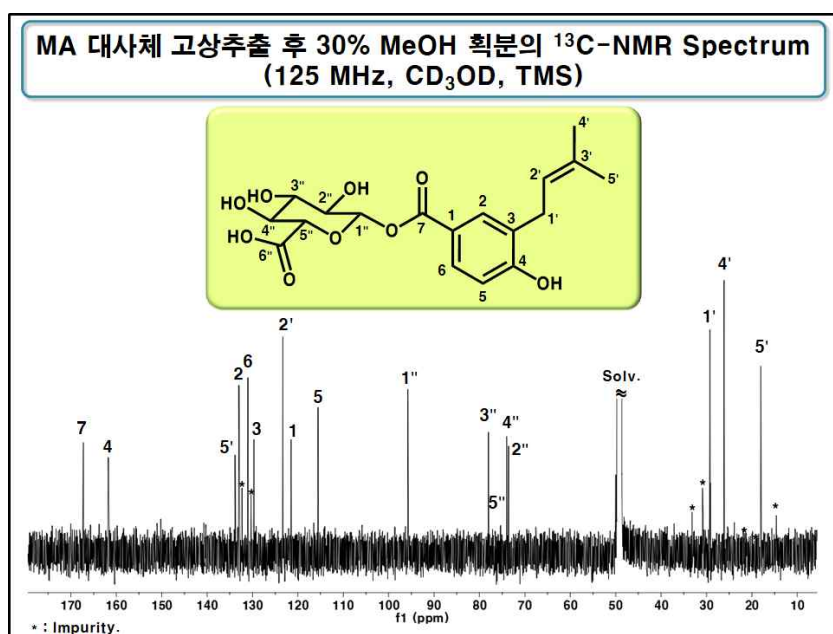


▶ 대사체의 부분구조로 MAA 및 glucuronic acid의 존재가 확인되었음.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,) data of MA metabolite in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	MA metabolite	
	$\delta_{\text{H}}$ ( <i>int.</i> , <i>mult.</i> , <i>J</i> in Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1		121.5
2	7.82 (1H, d, 2.0)	133.0
3		129.7
4		161.8
5	6.82 (1H, d, 9.0)	115.6
6	7.81 (1H, dd, 9.0, 2.0)	131.0
7		167.2
1'	3.30 (2H, m)	29.2
2'	5.30 (1H, t, 6.0)	123.3
3'		133.8
4'	1.72 (3H, s)	26.1
5'	1.74 (3H, s)	18.0
1''	5.71 (1H, d, 7.2)	95.8
2''		73.6
3''	3.50 - 3.55 (3H, m)	78.0
4''		74.0
5''	3.77 (1H, d, 8.4)	76.6
6''a		176.3
6''b		

■ 그림 I-75. MA 대사체의  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum.

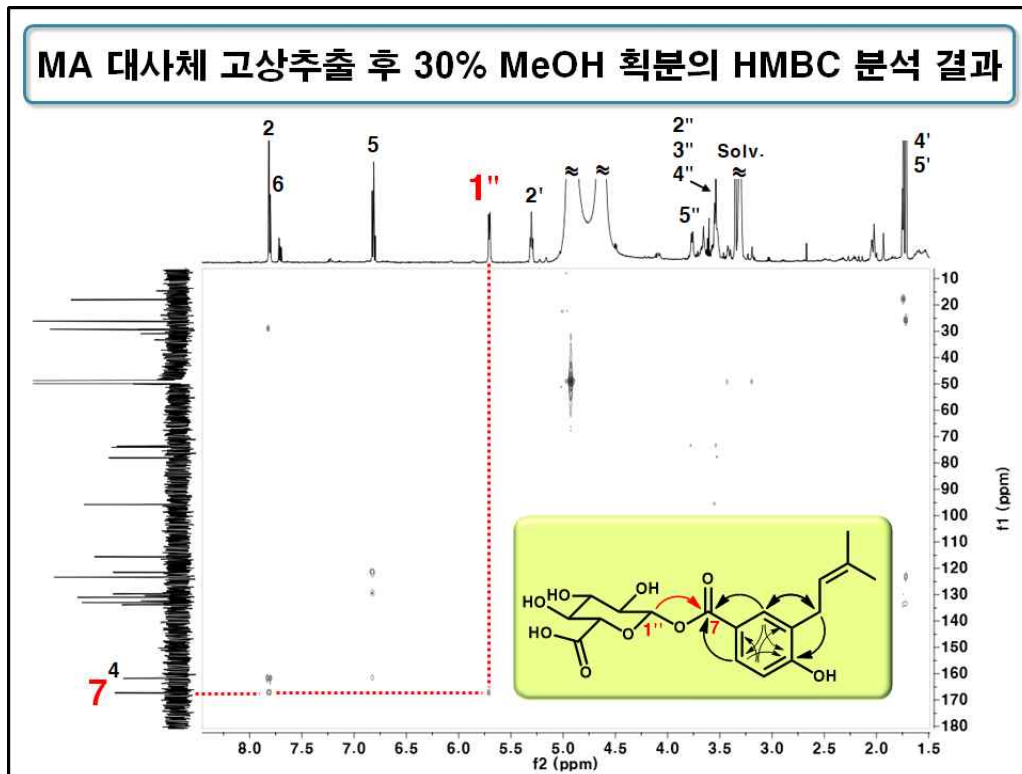


▶ 대사체의 부분구조로 MAA 및 glucuronic acid의 존재가 확인되었음

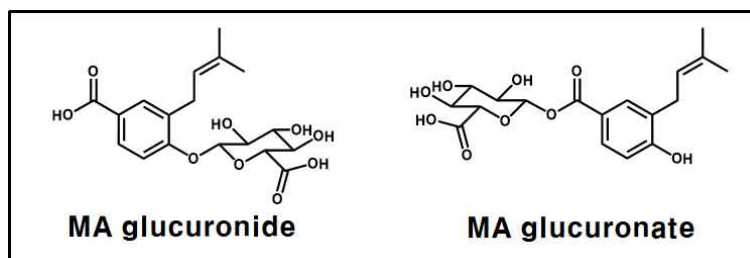


- MAA와 glucuronic acid의 연결성을 확인하기 위해 HMBC 분석을 행하여 proton과 carbon 간의 correlation을 확인하였음.
- 그 결과, MA 대사체는 MA의 benzene 환 4위에 결합된 수산기에 glucuronic acid가 결합된 glucuronide가 아니고
- MA의 benzene 환 1위에 결합된 carboxylic acid의 수산기에 glucuronic acid가 결합된 glucuronate로 구조가 확인되었음(그림 I-76).

■ 그림 I-76. MA 대사체의 HMBC 분석 결과.



▶ MA 대사체는 MA glucuronide가 아닌 MA glucuronate로 구조가 확인되었음.



- “배수출연연구사업단”의 연구 수행 시, 본 연구그룹의 선행연구를 통해 행해진 MA 혈중 대사체의 구조는 glucuronide로 제시되었음.
- 그러나 ODS column을 이용한 HPLC chromatogram 상에서 MA 대사체의 거동(용출위치)이 납득이 되지 않았음.
- 이것이 의문의 단초가 되어 선행연구에 의해 제시된 대사체의 구조에 문제가 있었음을 인식하게 되었고,

- 본 연구를 통해 재확인 절차를 거친 결과, 선행연구에 의해 제시된 대사체의 구조 (glucuronide)가 잘못 제시되었음이 확인되어
- 본 연구를 통해 잘못 제시된 구조를 바로잡을 수 있었음.
- Flavonoid를 포함한 대부분의 페놀성 화합물은 섭취 후에 혈액에 흡수되는 과정에서 소화 관 점막 및 간장을 통과하면서 일반적으로 페놀성 수산기에 포함체화가 이루어짐.
- 그러나 MA의 경우, 페놀성 수산기가 아니라 carboxylic acid 기에 포함체화가 이루어졌음.
- 이것은 MA의 페놀성 수산기의 *ortho* 위치에 isoprenyl 기가 결합되어 있음으로써 포함체화 전이효소의 작용이 방해되기 때문으로 추측됨.
- 본 가설이 다른 유사 화합물들에서도 재현성이 입증된다면, 항산화능을 발현하는 페놀성 화합물 active site의 대사를 조절할 수 있는 획기적인 방법이 도출될 수도 있을 것으로 기대됨.
- 따라서 본 연구성과는 식품기능학적 측면뿐만이 아니라 의약품 개발 측면에 있어서도 시사하는 바가 매우 크다고 판단됨.

- 본 연구성과는 최근 하기의 학회지에 게재되었음.

■ 저자: HJ Lee, HY Jeong, MR Jin, HJ Lee, JY Cho, and JH Moon.

■ 제목: Metabolism and antioxidant effect of malaxinic acid and its corresponding aglycone in rat blood plasma.

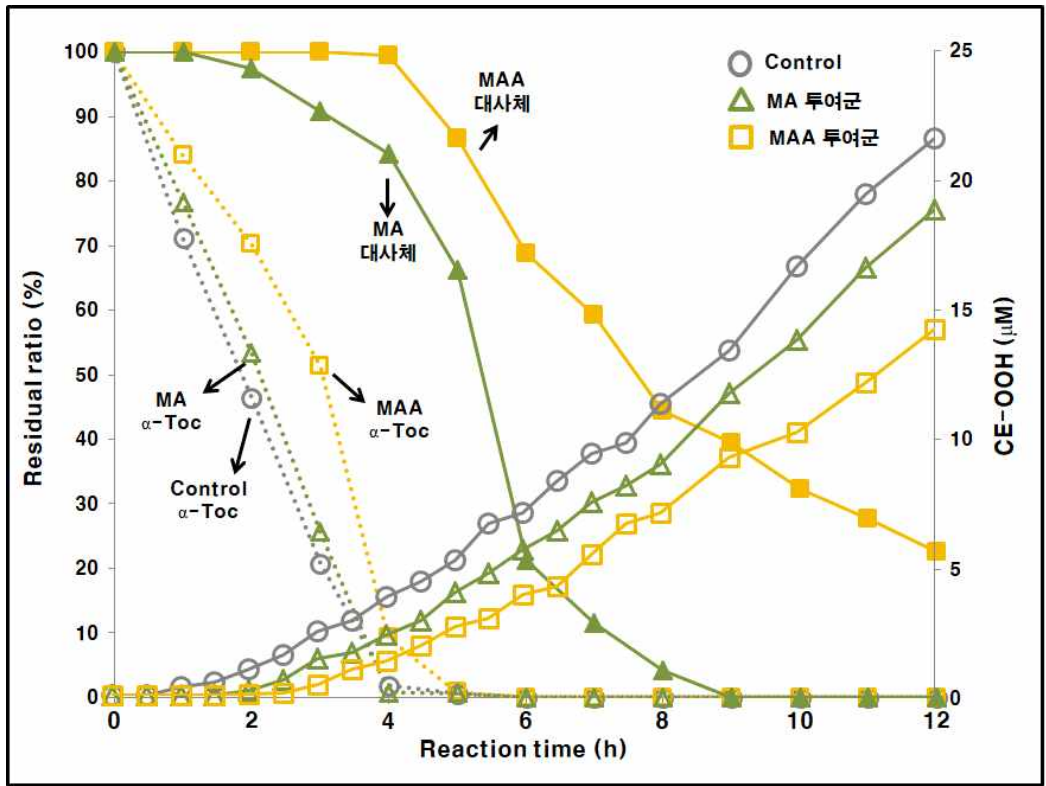
■ 잡지: **Free Radical Biology and Medicine (Impact Factor 6.02)**

■ 권호: 110: 399-407, 2017.

1-3. MA 및 MA aglycone (MAA)의 Radical 발생제에 의해 유도된 쥐 혈장의 산화억제능: CE-OOH 생성억제능

- 모든 반응군에 있어서 반응시간이 경과됨에 따라 CE-OOH의 농도는 증가하였고,  $\alpha$ -tocopherol 및 대사체들(MAA 및 MAA glucuronate)의 농도는 감소하였음.
- $\alpha$ -Tocopherol의 감소는 MA 및 MAA 투여군에서 control군보다 지연됨이 관찰되었고,
- MA 투여군에 있어  $\alpha$ -tocopherol은 control군과 거의 같은 감소경향을 보였음에 반해, MAA 투여군에서는 더 지연되는 현상이 관찰되었음.
- MA와 MAA의 대사체들은  $\alpha$ -tocopherol이 소실된 후에 감소되기 시작하였으며(그림 I-77),
- MAA 대사체는 MA 대사체보다 감소되는 속도가 월등히 지연되었음.
- 이는 MA 및 MAA의 대사체들보다  $\alpha$ -tocopherol의 radical-scavenging speed가 더 빨랐기 때문으로 판단됨.
- 그리고, MAA 대사체가 MA 대사체보다 감소속도가 더 지연된 것은 MA 대사체의 혈중 농도보다 MAA 대사체의 혈중 농도가 더 높았기 때문으로 판단됨.
- MA 및 MAA 투여군은 control군보다 더 효과적으로 CE-OOH 생성을 억제하였으며,
- MAA 투여군이 MA 투여군보다 더 높은 CE-OOH 생성 억제능을 보였음.
- 이는 MAA 투여군 중의 대사체가 MA 투여군 중의 대사체보다  $\alpha$ -tocopherol의 감소속도를 더 효율적으로 지연시킴으로써  $\alpha$ -tocopherol과 MAA 대사체가 상호 상승작용을 발현하여 작용하였기 때문이라 판단됨.

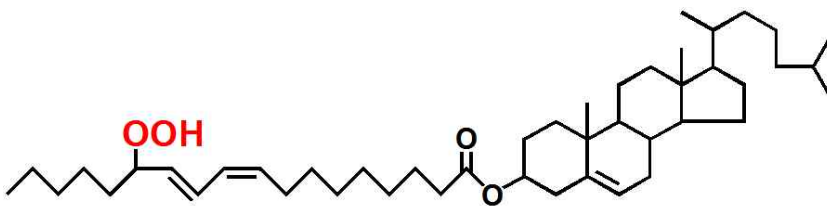
■ 그림 I-77. MA 및 MA aglycone (MAA)의 radical 발생제 유도 쥐 혈장 산화억제능 및 대사체와  $\alpha$ -tocopherol의 잔존 여부 평가 결과.



▶ MA 및 MAA 투여군은 control군보다 더 효과적으로 산화를 억제하였으며, MAA 투여군이 MA 투여군보다 높은 산화억제능을 보였음.

■ 본 연구성과 또한 상기에 제시한 Free Radical Biology and Medicine (110: 399-407, 2017)에 MA 대사체 구조결정 내용과 함께 게재되었음.

※ Cholesteryl Ester Hydroperoxide (CE-OOH)의 구조식  
(본 연구그룹에 의해 유기합성하여 이용)

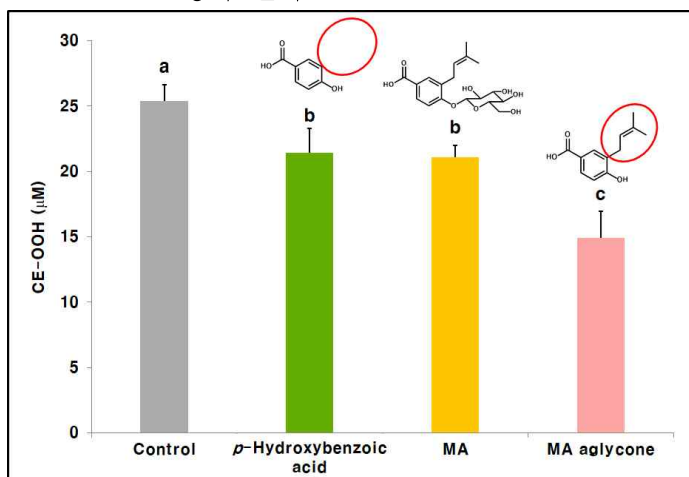


**Cholesteryl Ester Hydroperoxide (CE-OOH)**

- 그 결과(그림 I-78), *p*-HBA, MA 및 MAA 투여군은 외부로부터 아무런 항산화제를 투여하지 않은 혈장에 비해 모두 유의하게 더 높은 CE-OOH 생성억제능을 보였음.
- 한편, MA 투여 혈장은 *p*-HBA 투여 혈장과 CE-OOH 생성억제능에 있어 유의차를 보이지 않았음.

- 반면에 MAA 투여 혈장은 p-HBA 및 MA 투여 혈장보다 유의하게 더 높은 CE-OOH 생성억제능을 보였음.
- 타 연구그룹의 선행연구를 결과, p-HBA는 혈액에 흡수되어 carboxylic acid 뿐만 아니라 그 para 위치의 수산기에도 포함체화가 이루어짐이 보고된 바 있음.(Ref.)
- 그래서 MAA 투여군 혈장이 p-HBA 투여군 혈장보다 유의하게 더 높은 활성을 발현한 것으로 판단됨.
- 이 결과로부터 MA 혈중 대사에 있어 isoprenyl 기가 포함체화 효소의 작용을 방해함으로써 MAA의 수산기에 포함체화가 이루어지지 못하고, carboxylic acid 기에 포함체화가 이루어졌을 것이라는 상기의 가설이 지지되었다고 판단됨.

■ 그림 I-78. p-HBA, MA 및 MA aglycone (MAA) 경구투여 쥐 혈장의 동이온 유도 산화억제능 평가 결과.



▶ MAA 투여군은 p-HBA 및 MA 투여 혈장보다 유의하게 더 높은 CE-OOH 생성억제능을 보였음.

- MA는 항균, 항산화 및 자궁경부암세포 사멸효과가 있음이 보고되어 왔음.
- 그리고 MA가 배에 함유되어 있음 또한 본 연구실의 선행연구를 통해 밝혀졌음
- 따라서 MA는 배의 지표성분으로써 활용성이 높다고 판단되었음.
- 그러나 지표성분으로써의 활용성을 보다 자세히 검토할 필요가 있다고 판단되어
- 쥐를 이용한 흡수 · 대사 실험을 행하여 생체 내에서의 거동 및 생리활성을 평가하였음.
- 그 결과, 대사체 형태로 혈액에 일부 흡수되거나 intact form으로 상당량이 흡수됨이 확인되었으며,
- 혈액 중에서 cholesteryl ester hydroperoxide의 생성억제능이 매우 우수한 결과를 보였음.
- 특히 혈중 α-tocopherol의 감소를 지연시키는 효과가 관찰되었음
- 또 MA의 혈중 대사체를 분리하여 NMR 및 MS 분석을 통해 구조를 결정한 결과,
- 항산화 active site인 페놀성 수산기가 유리형으로 존재함이 확인되었음.
- 이는 MA가 대사되었음에도 불구하고 유리형 MA와 더불어 혈중에서 우수한 항산화 효과를 발현할 수 있었던 이유라 해석되었음.
- 이에 MA 또한 배의 지표성분으로써 활성이 높고, 기능성 측면에 있어서도 충분한 근거가 확보된 것으로 판단되었음.

- ▶ 이상과 같은 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 행하여 2,3- 및 3,4-DHBA와 MA를 배 지표성분으로 선발하였으며,
- ▶ 그에 더하여 배 및 그 부산물에 첫 번째 및 두 번째로 함량이 높은 arbutin과 chlorogenic acid 또한 배의 지표성분으로 선발하였음.
- ▶ Arbutin과 chlorogenic acid 또한 피부 미백효과 및 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 발현하는 화합물임을 고려하였을 때, 이들 또한 배의 지표성분으로써 충분히 활용가치가 높다고 판단되었음.

## <나주배의 발효에 따른 유용성 향상 검증>

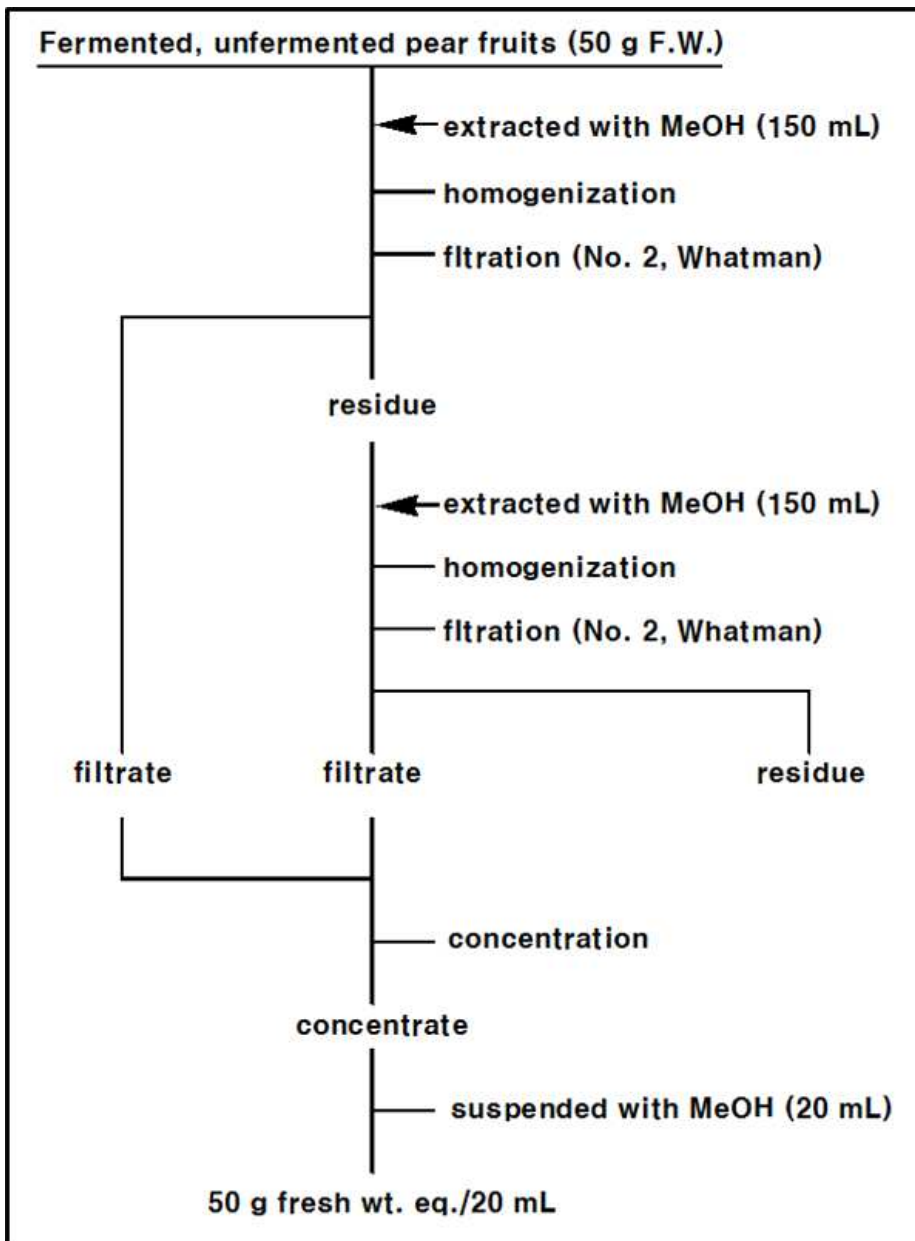
### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

가. 배 미성숙과의 발효 및 미발효 시료의 항산화 활성 비교

(1) 배 미성숙과 발효물의 추출물 조제

- 배 미성숙과를 대상으로 균질화 → 멸균(121°C, 15분) → 냉각 → 미생물(9종) 접종 → 발효(37°C, 48시간) → 추출(MeOH) → 균질화 → 여과 → 감압농축(37°C)의 과정을 통해 추출물을 조제함(그림 I-79).

▣ 그림 I-79. 배 미성숙과 발효물의 추출물 조제방법.



▶ 배 미성숙과 50 g을 대상으로 발효물 9종의 MeOH 추출물 조제함.

(2) 배 미성숙과 발효 미생물 선별

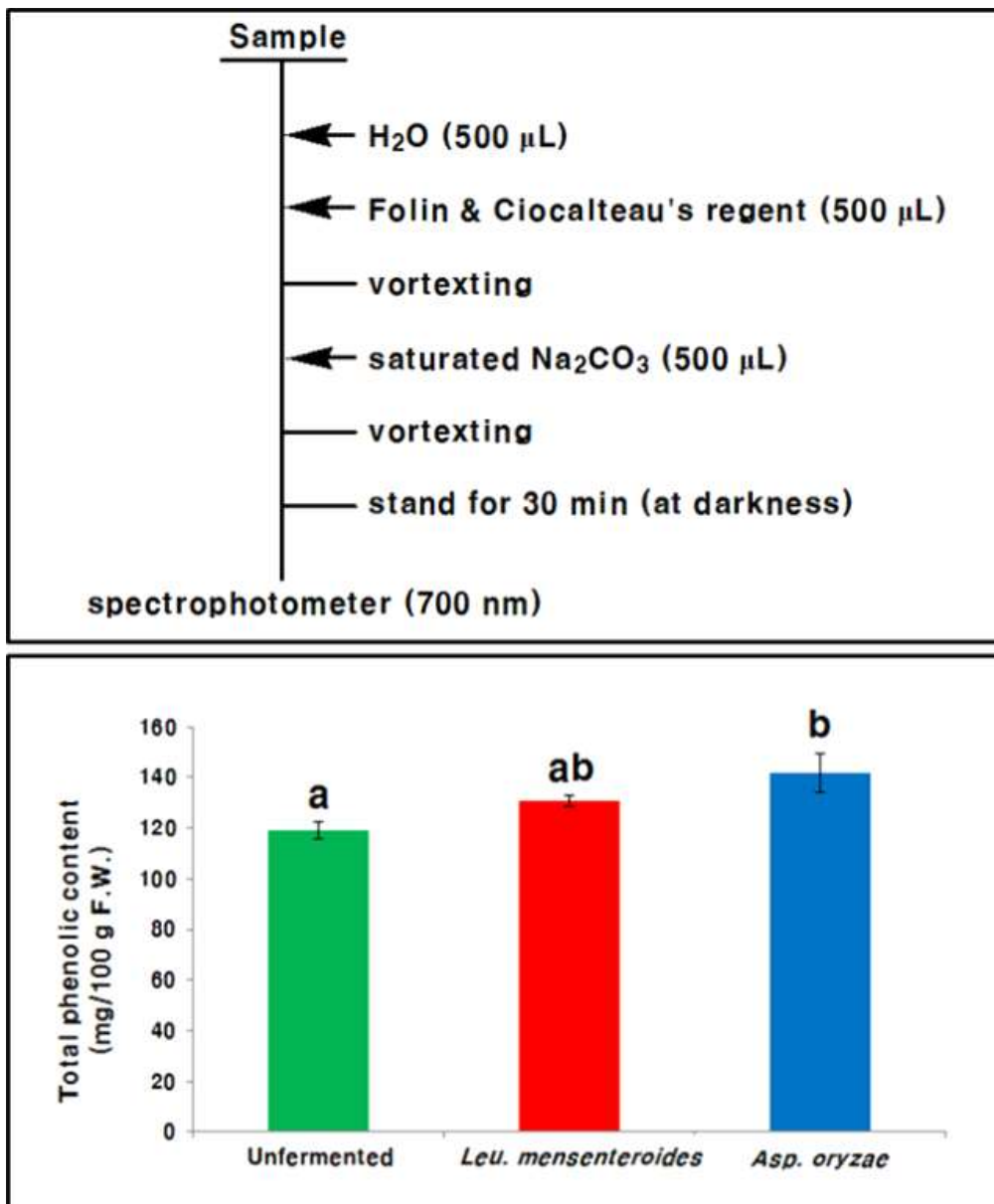
- 9종의 미생물을 세균 및 곰팡이균 군으로 분류하여 각각의 발효물을 대상으로 DPPH radical-scavenging 활성을 평가함.

(3) 배 미성숙과 발효물의 총 페놀성 및 Flavonoid 함량

(가) 총 페놀성 화합물 함량 분석

- Folin & Ciocalteu's법을 따라 추출물, Folin & Ciocalteu's시약,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  포화수용액을 혼합한 뒤 30분간 암실에서 보관 후 700 nm에서 흡광도 측정(그림 I-80).
- 함량은 gallic acid를 이용한 standard curve로부터 계산.

■ 그림 I-80. 배 미성숙과 발효물의 총 페놀성 화합물 함량 분석방법 (위) 및 분석결과 (아래).

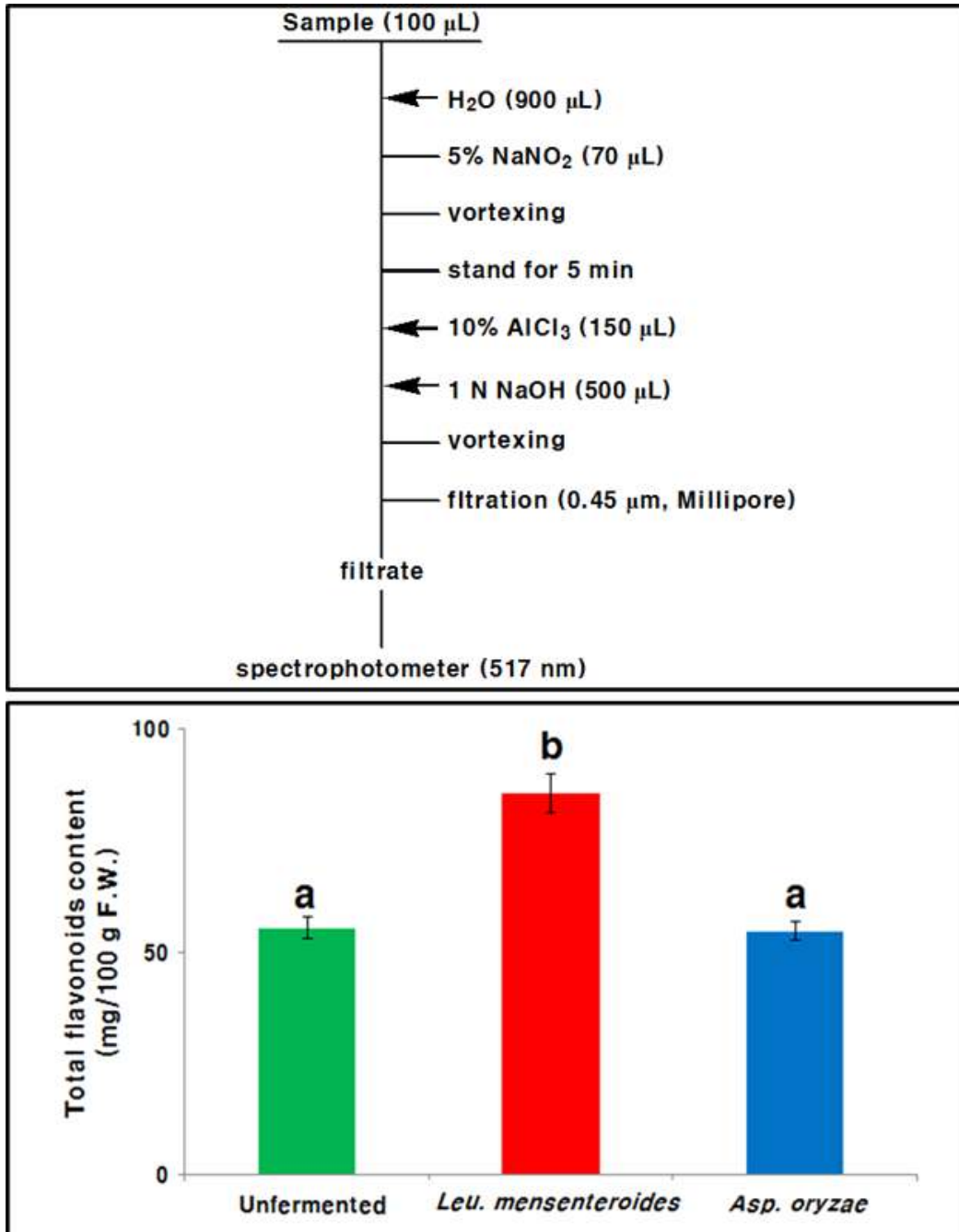


- ▶ 페놀성 화합물의 함량은 *Asp.*-발효균의 추출물에서 가장 높게 나타남.
- ▶ *Lm*-발효균은 다른 두 군과 유의적 차이를 나타내지 않음.

(나) 총 Flavonoid 함량 분석

- 추출물, H<sub>2</sub>O, 5% NaNO<sub>2</sub>를 혼합하여 5분간 반응 후 10% AlCl<sub>3</sub>와 1 N NaOH를 혼합하고 여과 후 여액을 대상으로 517 nm에서 흡광도 측정(그림 I-81).
- 함량은 catechin을 이용한 standard curve로부터 계산.

■ 그림 I-81. 배 미성숙과 발효물의 총 Flavonoid 화합물 함량 분석방법 (위) 및 분석결과 (아래).



- ▶ *Lm*-발효균의 추출물에 더 많은 flavonoid가 함유되어 있음을 확인하였으며, 대조군과 *Ao*-발효균의 추출물 간에는 유의적인 차이가 없었음.
- ▶ β-Glucosidase와 같은 가수분해효소의 작용으로 시사됨.

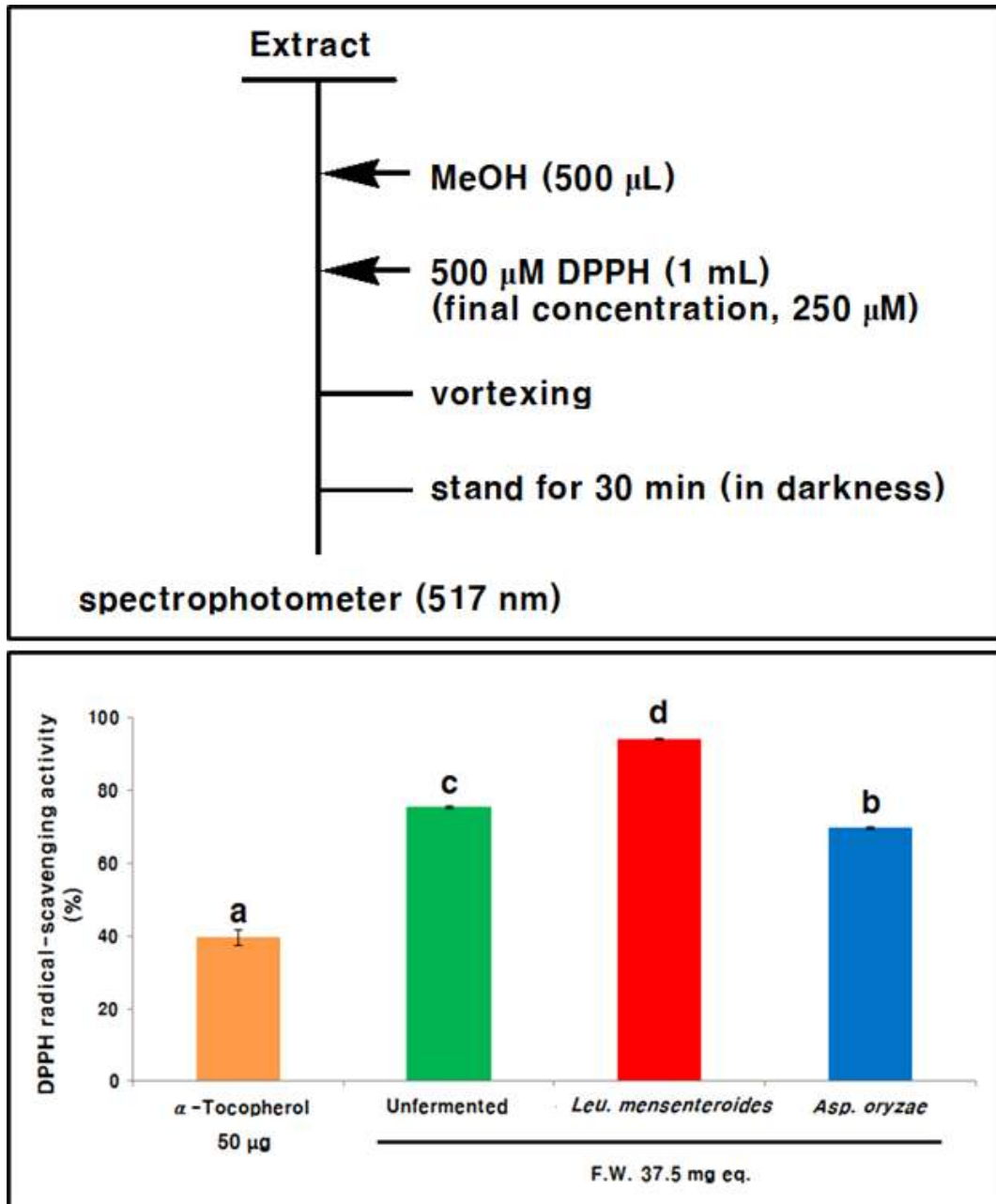


(4) 배 미성숙과 발효물의 생리활성 평가

(가) DPPH Radical-scavenging 활성 평가

- 추출물과 대조구인  $\alpha$ -Toc을 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 혼합용액과 암소에서 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정(그림 I-82).

■ 그림 I-82. 배 미성숙과 발효물의 DPPH Radical-scavenging 활성 평가방법 (위) 및 결과 (아래).



- ▶ *Lm*-발효균이  $\alpha$ -Toc보다 2배이상 더 높은 DPPH radical-scavenging 활성을 보였음.
- ▶ *Lm*-발효균에 존재하는 다량의 flavonoid 및 총 페놀성 화합물에 기인한 것으로 추정됨.

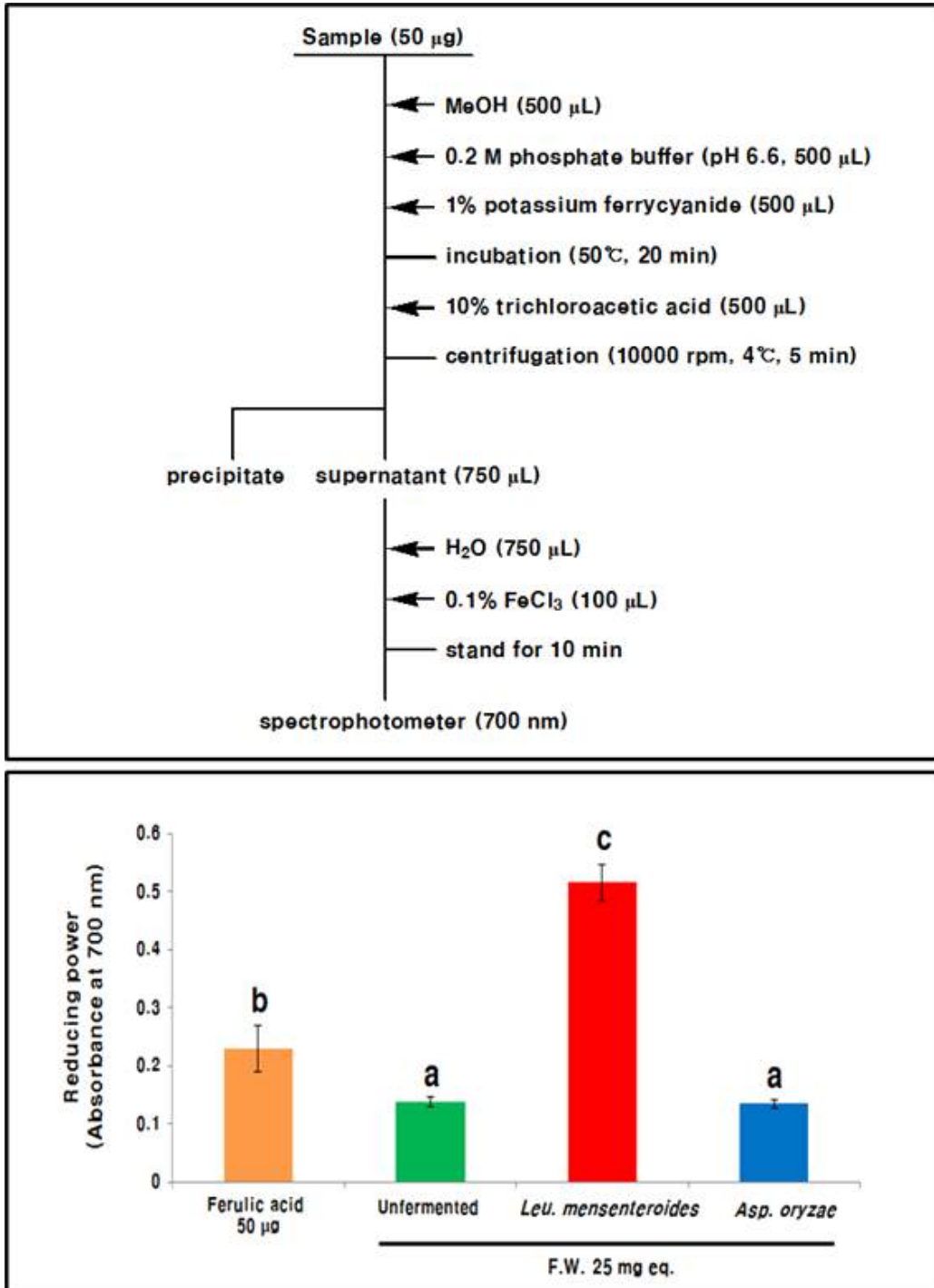
(나) Reducing Power

- 추출물, 80% MeOH, 0.2 M phosphate buffer 및 1% potassium ferricyanide를 혼합하여

50℃에서 20분간 반응

- 반응물에 10% trichloroacetic acid를 가하여 원심분리 후 얻은 상층액에 H<sub>2</sub>O와 0.1% FeCl<sub>3</sub>를 가하고 10분간 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정(그림 I-83).
- 대조구로 ferulic acid를 이용.

■ 그림 I-83. 배 미성숙과 발효물의 Reducing power 측정방법 (위) 및 결과 (아래).

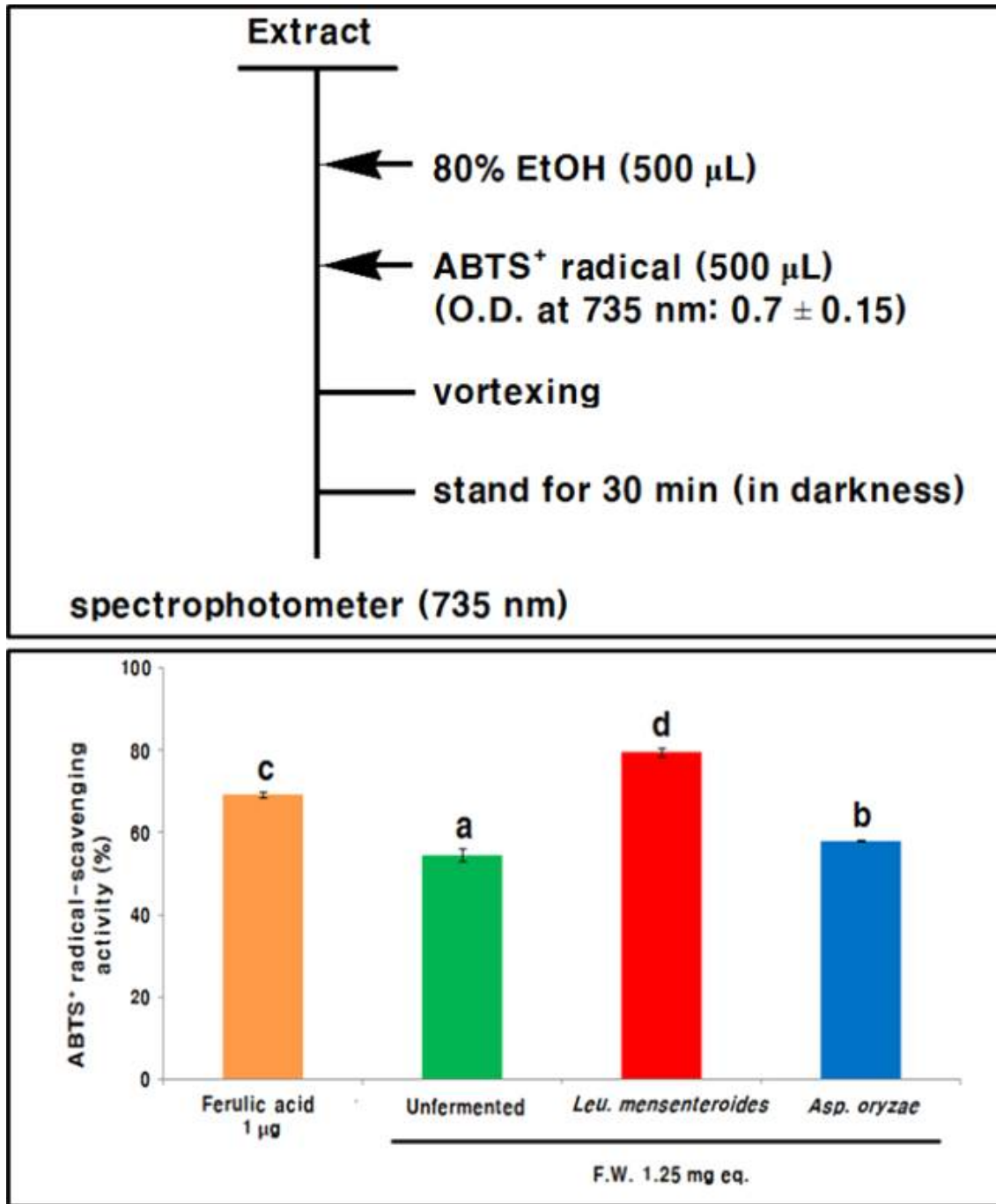


- ▶ *Lm*-발효균이 ferulic acid보다 2배, *Ao*-발효균과 대조군보다 약 5배 더 높은 환원력을 보였음.
- ▶ DPPH radical-scavenging 활성보다 더 높은 활성을 나타냄.

(다) ABTS<sup>+</sup> Radical-scavenging 활성 평가

- 추출물에 ABTS<sup>+</sup> 용액을 혼합 후 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정(그림 I-84).

▣ 그림 I-84. 배 미성숙과 발효물의 ABTS<sup>+</sup> Radical-scavenging 활성방법 (위) 및 결과 (아래).

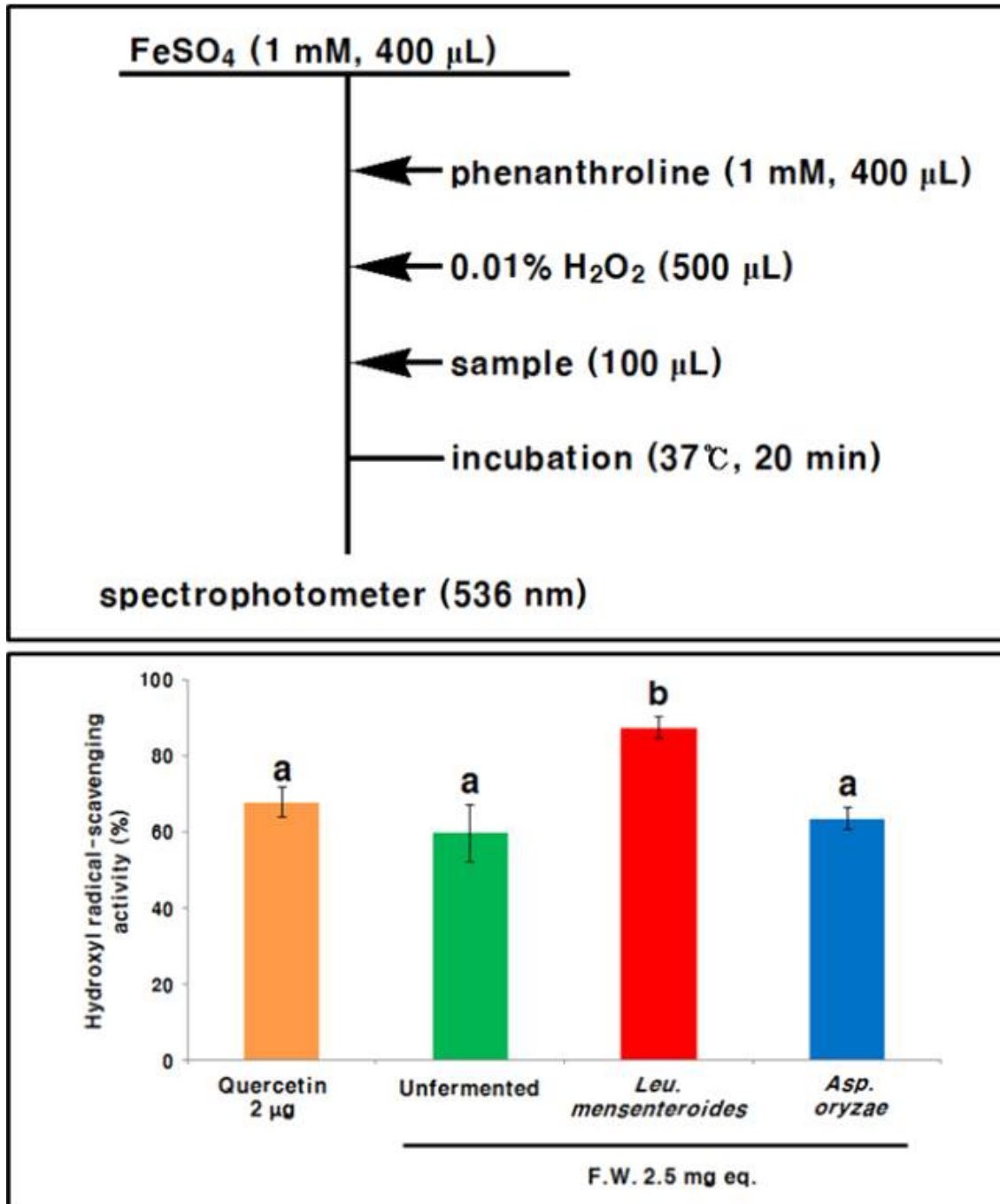


▶ *Lm*-발효균이 *Ao*-발효균과 대조군 및 ferulic acid보다 유의적으로 더 높은 활성을 보였음.

(라) Hydroxyl Radical-scavenging 활성 평가

- FeSO<sub>4</sub> 1 mM, phenanthroline 1 mM, 0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 순차적으로 가하여 hydroxyl radical 생성을 유도하고 추출물을 가하여 37°C에서 20분간 반응 후 536 nm에서 흡광도 측정(그림 I-85).
- 대조구로 quercetin을 이용

▣ 그림 I-85. 배 미성숙과 발효물의 Hydroxyl Radical-scavenging 활성방법 (위) 및 결과 (아래).

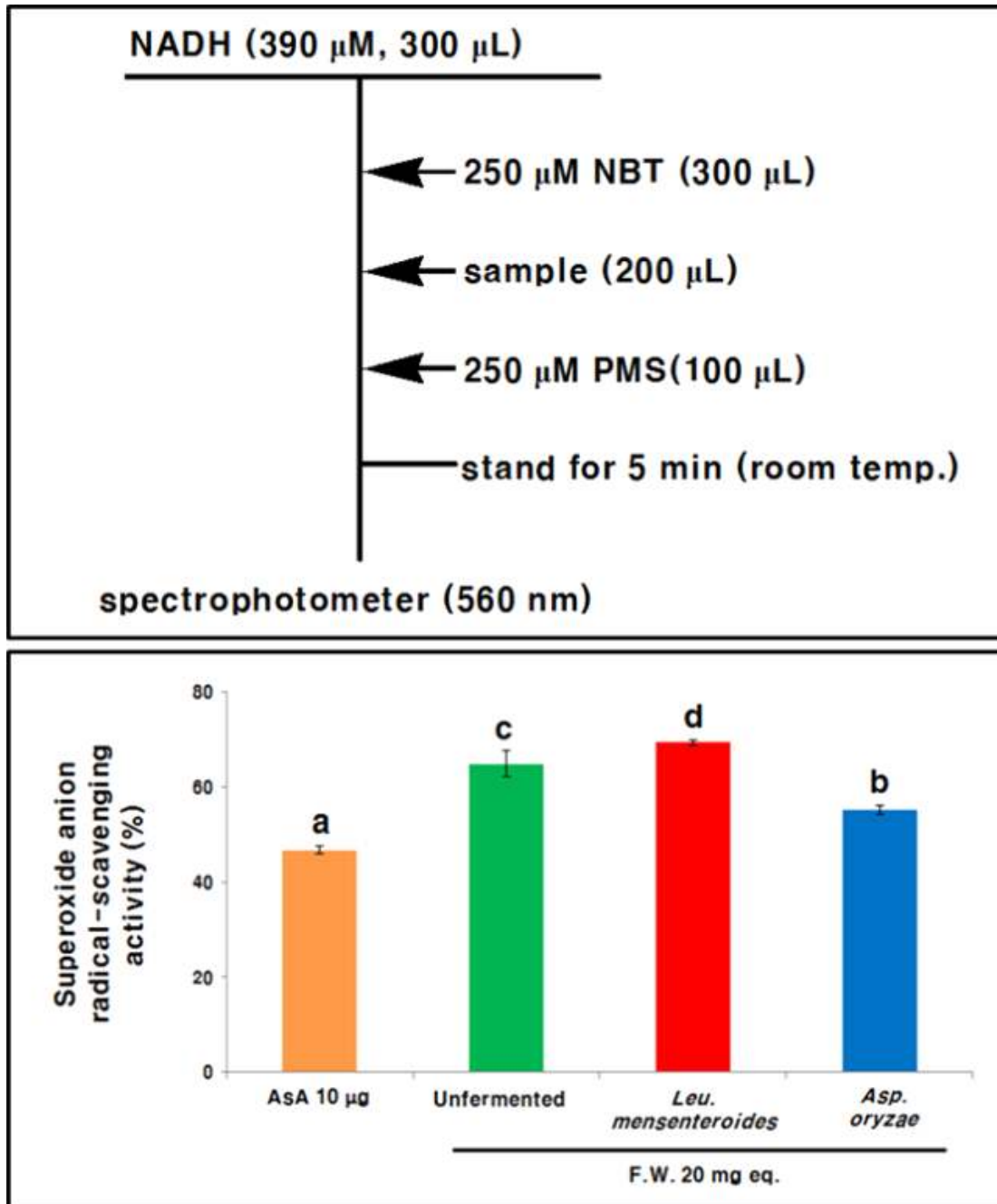


- ▶ *Lm*-발효균이 가장 높은 활성을 보였음.
- ▶ *Ao*-발효균과 대조군보다 높은 활성을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않음.

(마) Superoxide Anion Radical-Scavenging 활성 평가

- 환원형의 nicotinamide adenine dinucleotide 390  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$  NBT를 추출물과 혼합한 뒤, 250  $\mu\text{M}$  PMS(Phenazine methosulfate)를 첨가하여 5분간 반응하여 흡광도(RS) 측정(그림 I-86).
- 대조구로 ascorbic acid를 이용

▣ 그림 I-86. 배 미성숙과 발효물의 Superoxide Anion Radical-scavenging 활성방법 (위) 및 결과 (아래).

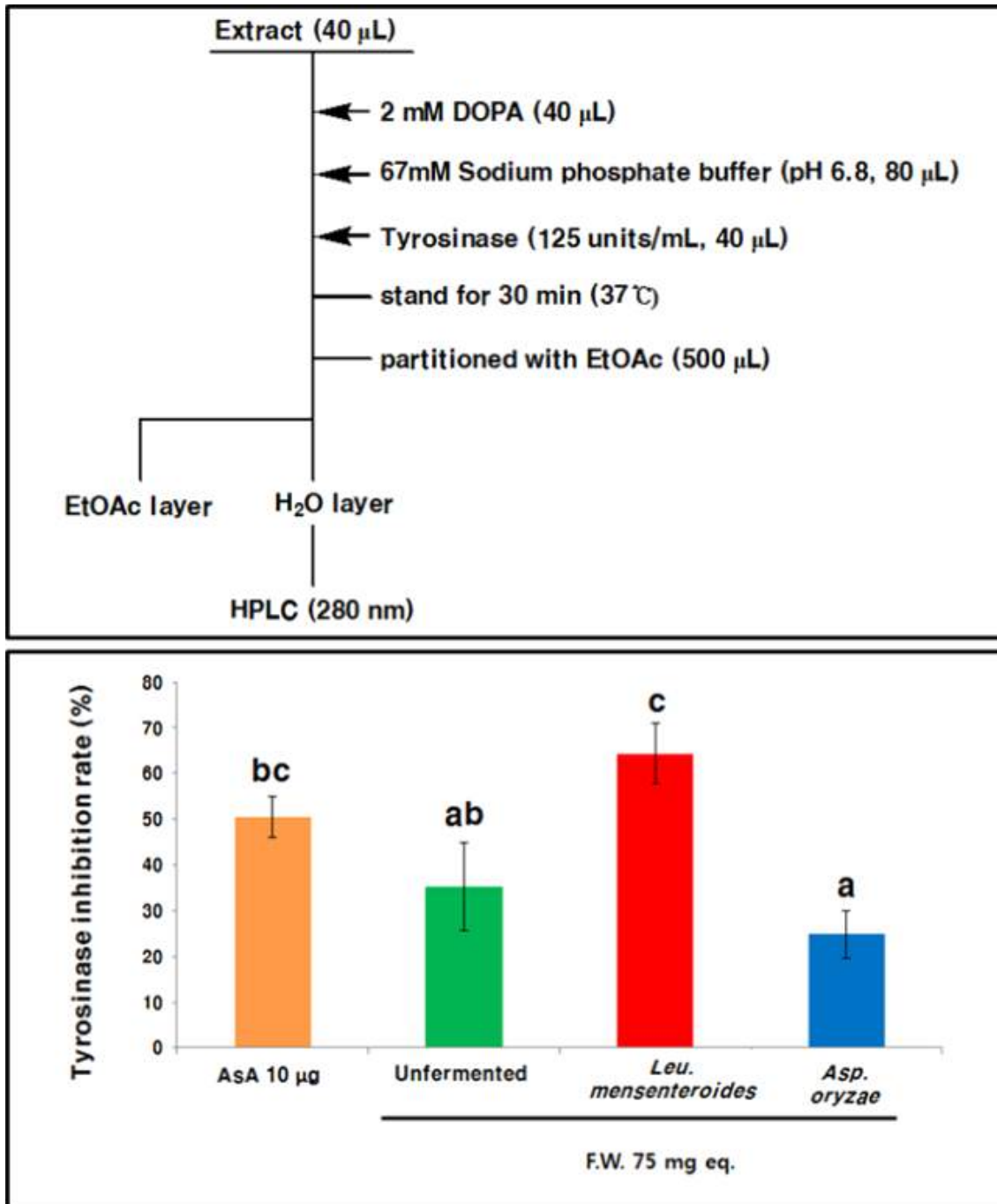


- ▶ *Lm*-발효균이 가장 높은 활성을 보였음.
- ▶ *Lm*-발효균 > *Asp*-발효균 > 대조군 순으로 superoxide anion radical-scavenging 활성을 나타냄.

(바) Tyrosinase 저해활성 평가

- 추출물, 2 mM DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine), 67 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8) 및 tyrosinase (125 unit/mL)를 가한 후 37°C에서 30분간 반응.
- 반응액을 대상으로 EtOAc를 이용한 용매분획 2회 후, EtOAc층을 제거한 H<sub>2</sub>O층을 대상으로 HPLC분석 실시(그림 I-87).

▣ 그림 I-87. 배 미성숙과 발효물의 Tyrosinase 저해활성 평가방법 (위) 및 평가결과 (아래).



▶ *Lm*-발효균이 가장 높은 산화 억제능을 나타냈으며, 대조구인 ascorbic acid보다 더 우수함이 확인되었음.

▶ 이러한 결과는 미백 화장품의 첨가 소재로서의 기능성이 높을 것으로 시사됨.

(사) 항균활성 평가

① 사용균주 및 배지조성

- 대표적인 피부 병원균 5종(*C. andida albicans*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) 및 Econazole, miconazole 및 benzoic acid를 대조구로 비교함.
- 배지 조성은 *C. albicans*는 Yeast Malt (YM), *E. coli* 및 *P. aeruginosa*는 Luria Bertani (LB)를, 그리고 *S. aureus*와 *S. epidermidis*는 Nutrient 배지를 각각 사용함.
- 고압증기멸균기를 이용하여 121°C에서 30분간 멸균 처리 후 사용함.

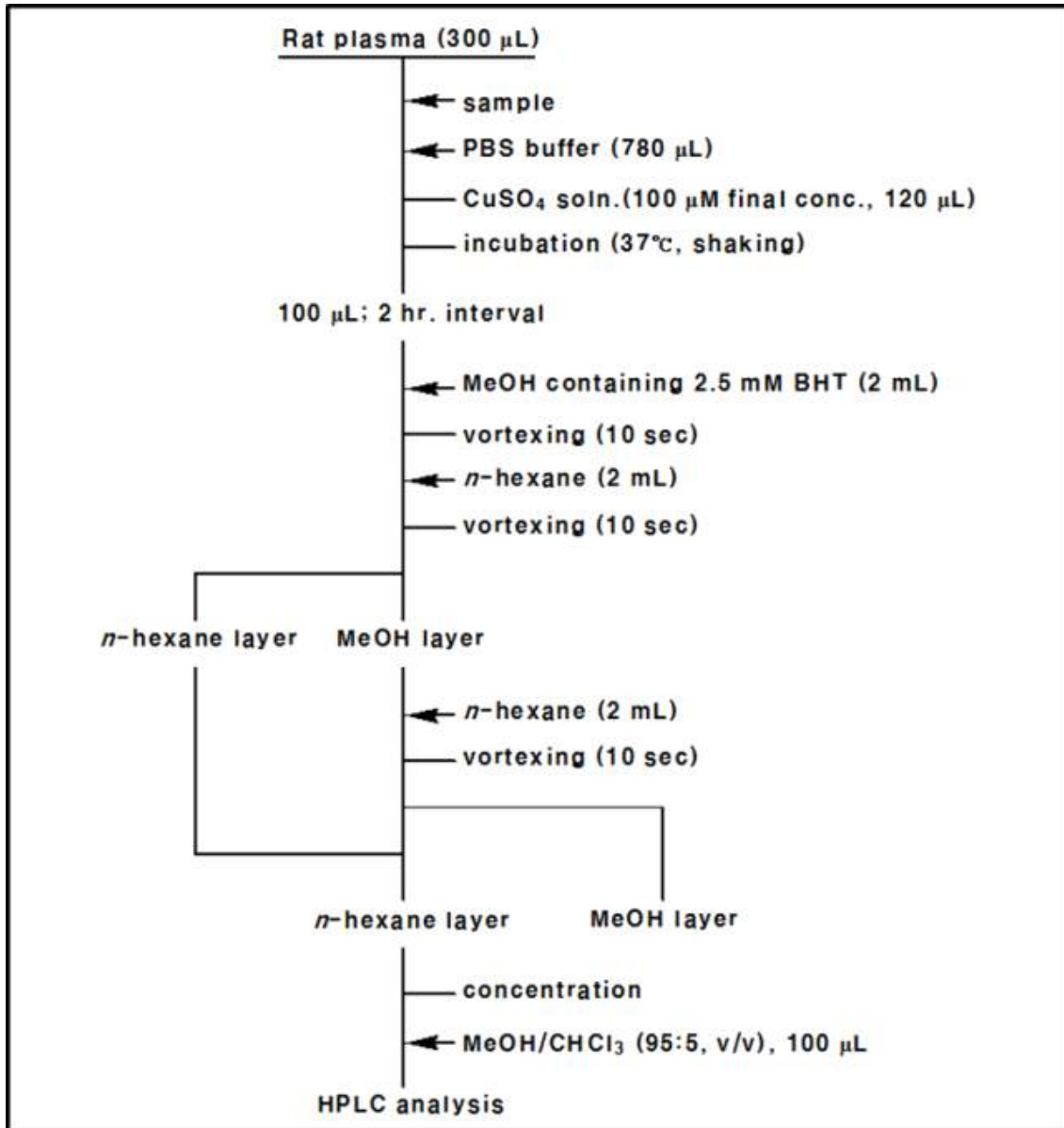
② 실험방법

- 배 미성숙과의 발효물과 발효전의 시료를 신성중량 250 mg eq., miconazole과 econazole를 각각 250 nmol 처리
- Benzoic acid 9 µmol을 paper disc에 흡수 시킨 후 30분간 자연건조시켜 용매 제거
- 시료들을 흡수시킨 paper disc를 각각의 미생물이 spreading된 배지위에 놓고 *C. albicans*는 25°C, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* 및 *S. epidermidis*는 37°C에서 16시간 배양하여 paper disc 주위에 형성된 clear zone의 직경(mm)으로 항균활성의 정도를 평가함

(아) Cholestery Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성 억제능 평가

- 쥐 혈장에 신선유과 6.25 mg 상당량의 발효물, PBS buffer (pH 7.4) 및 동이온( $\text{CuSO}_4$ , final conc. 100 µM)을 순차적으로 가한 후 37°C에서 8시간 반응.
- 반응액에 2.5 mM BHT MeOH용액과 *n*-hexane을 첨가하여 혼합시킴. 혼합 후 분리된 상층액 (*n*-hexane)을 취함 (이 과정을 2차 반복)
- 얻어진 상층액 (*n*-hexane)을 합쳐 농축 후 MeOH/ $\text{CHCl}_3$  (95:5, v/v)에 녹여 HPLC분석 실시(그림 I-88).

■ 그림 I-88. 배 미성숙과 발효물의 Cholestery Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성 억제능 평가방법.



▶ 쥐 혈장에 신선유과 6.25 mg 상당량의 발효물을 대상으로 Cholestery Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성 억제능 평가함.

## 2. 연구내용 및 결과

가. 배 미성숙과 발효물의 추출물 조제

- 배 미성숙과 50 g을 대상으로 발효물 9종의 MeOH 추출물의 농축물을 20 mL(50 g F.W./20 mL in MeOH)로 정용함.

나. 배 미성숙과의 발효 미생물 선별



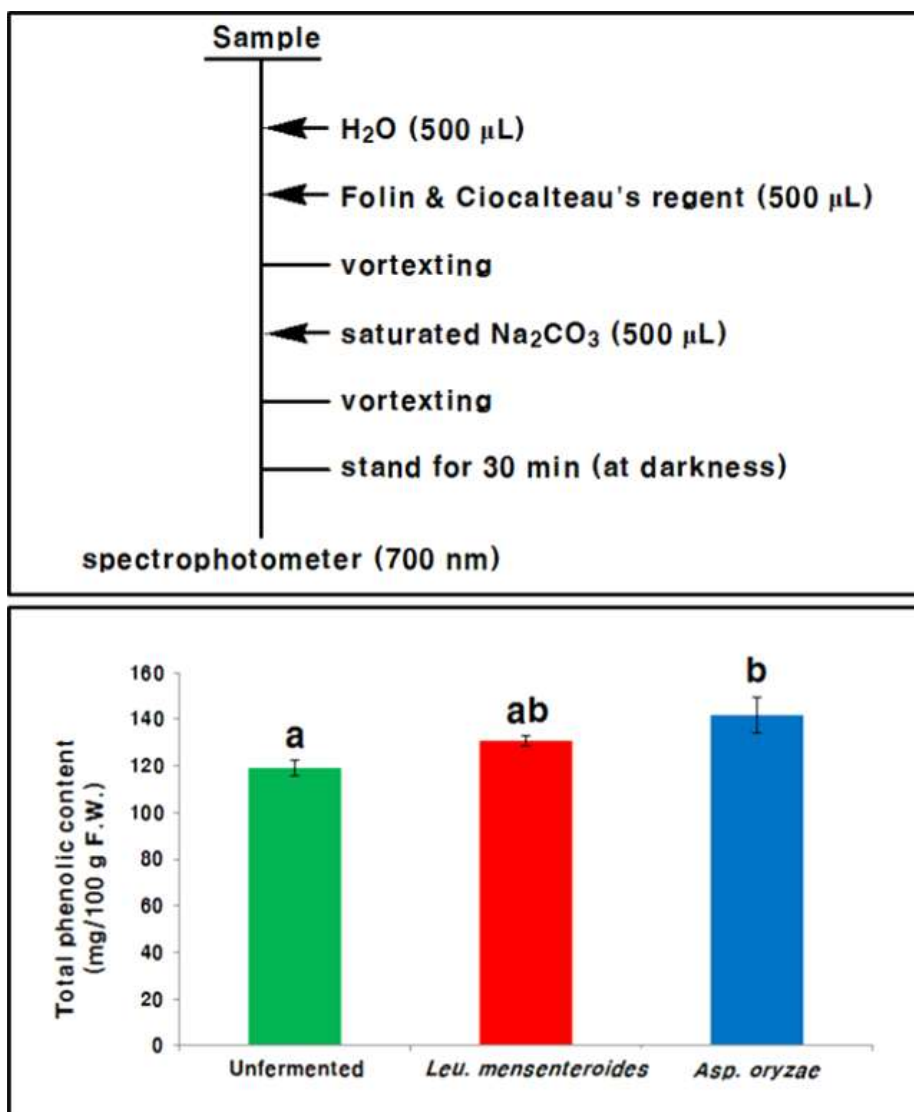
- 식품소재 및 천연물의 발효에 흔히 사용되는 9종의 미생물을 대상으로 DPPH radical-scavenging을 평가한 결과, 세균류에 속하는 *Leu. mensenteroides*와 진균류인 곰팡이 중 *Asp. oryzae*의 균주가 각각 높은 활성을 나타냄.
- 최종적으로 2종의 균 및 대조군(미발효)으로 실험을 진행함.

다. 배 미성숙과 발효물의 총 페놀성 및 Flavonoid 함량

(1) 총 페놀성 화합물 함량 분석

- 페놀성 화합물의 함량은 -발효균의 추출물에서 가장 높게 나타났으며 *Lm*-발효균은 다른 두 균과 유의적인 차이를 나타내지 않았음(그림 I-89).
- 세 균 모두 총 페놀성 화합물 함량에 있어서 매우 근소한 차이를 보였음.

■ 그림 I-89. 배 미성숙과 발효물의 총 페놀성 화합물 함량 분석방법 (위) 및 분석결과 (아래).

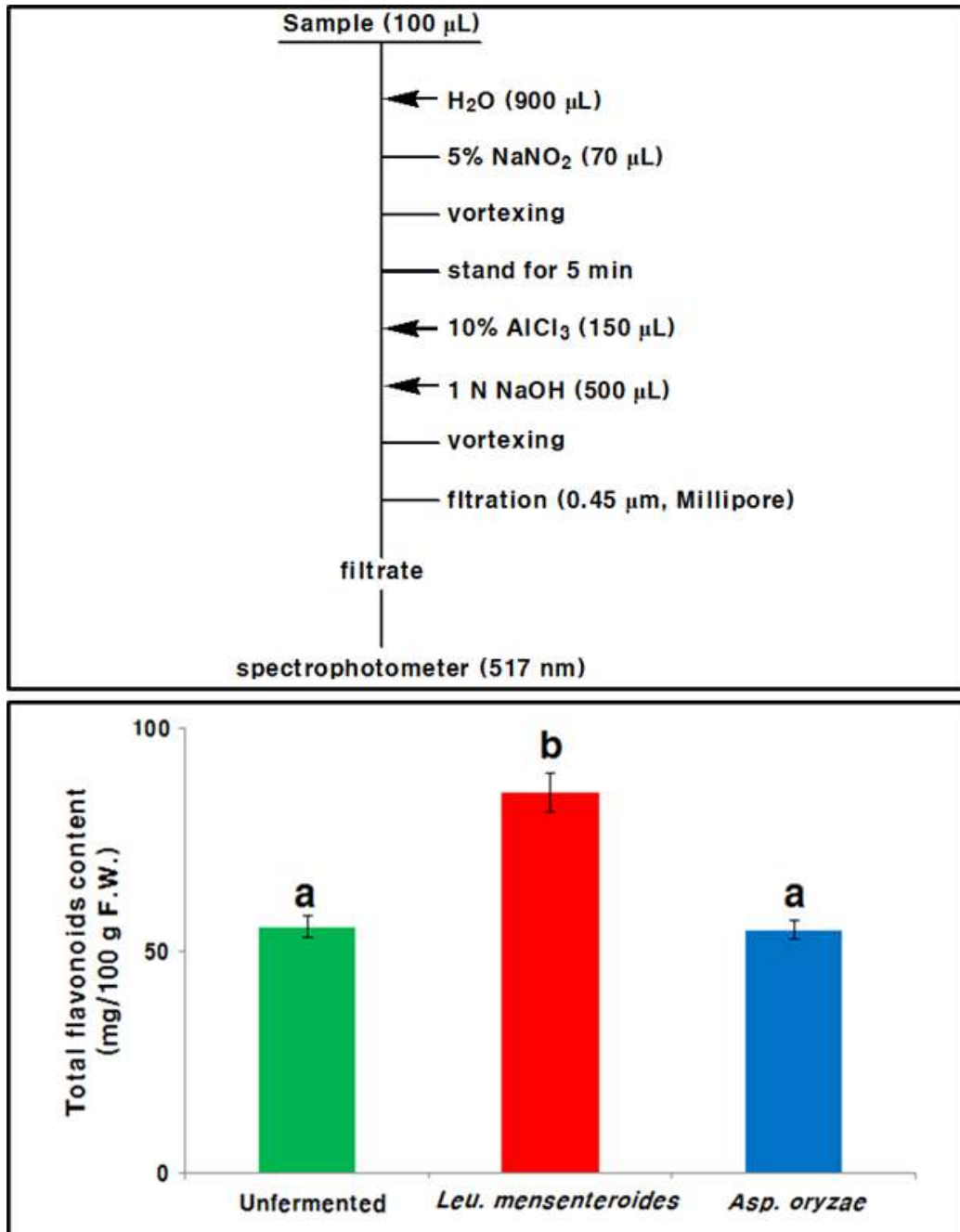


- ▶ 페놀성 화합물의 함량은 *Asp*-발효균의 추출물에서 가장 높게 나타남.
- ▶ *Lm*-발효균은 다른 두 균과 유의적 차이를 나타내지 않음.

(2) 총 Flavonoid 함량 분석

- 대조군과 *Ao*-발효군의 추출물보다 *Lm*-발효군의 추출물에 더 많은 flavonoid가 함유되어 있음을 확인하였으며 대조군과 *Ao*-발효군의 추출물 간에는 유의적인 차이가 없었음(그림 I-90).
- 이는  $\beta$ -glucosidase와 같은 가수분해효소의 작용에 의한 결과라 판단됨.

■ 그림 I-90. 배 미성숙과 발효물의 총 Flavonoid 화합물 함량 분석방법 (위) 및 분석결과 (아래).



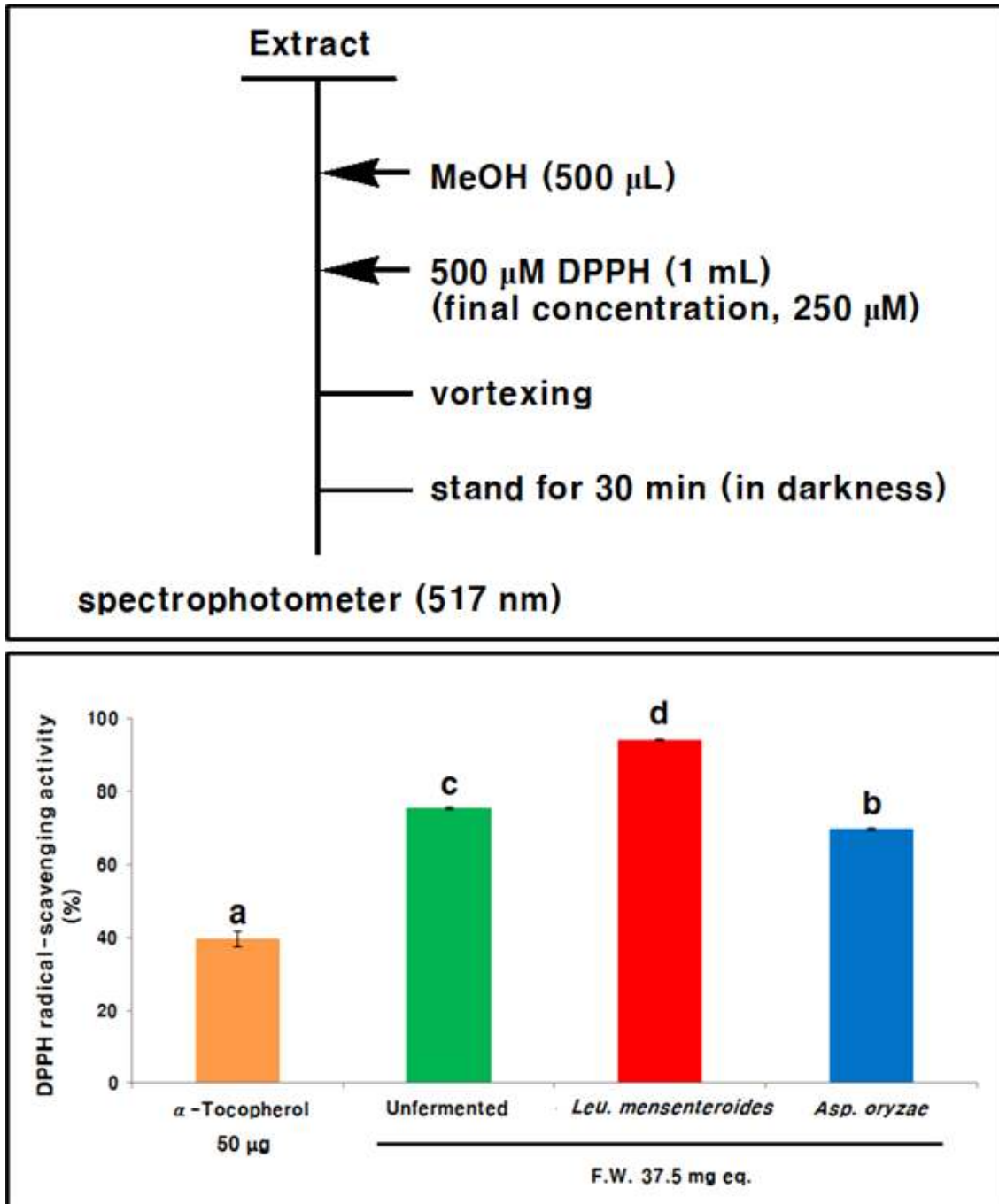
- ▶ *Lm*-발효군의 추출물에 더 많은 flavonoid가 함유되어 있음을 확인하였으며, 대조군과 *Ao*-발효군의 추출물 간에는 유의적인 차이가 없었음.
- ▶  $\beta$ -Glucosidase와 같은 가수분해효소의 작용으로 시사됨.

라. 배 미성숙과 발효물의 생리활성 평가

(1) DPPH Radical-scavenging 활성 평가

- *Lm*-발효균이  $\alpha$ -Toc보다 2배이상 더 높은 DPPH radical-scavenging 활성을 보였음(그림 I-91).
- 총 flavonoid 함량 평가의 결과로 미루어 볼 때, *Lm*-발효균에 존재하는 다량의 flavonoid 및 총 페놀성 화합물에 기인한 것으로 추정됨.

▣ 그림 I-91. 배 미성숙과 발효물의 DPPH Radical-scavenging 활성 평가방법 (위) 및 결과 (아래).

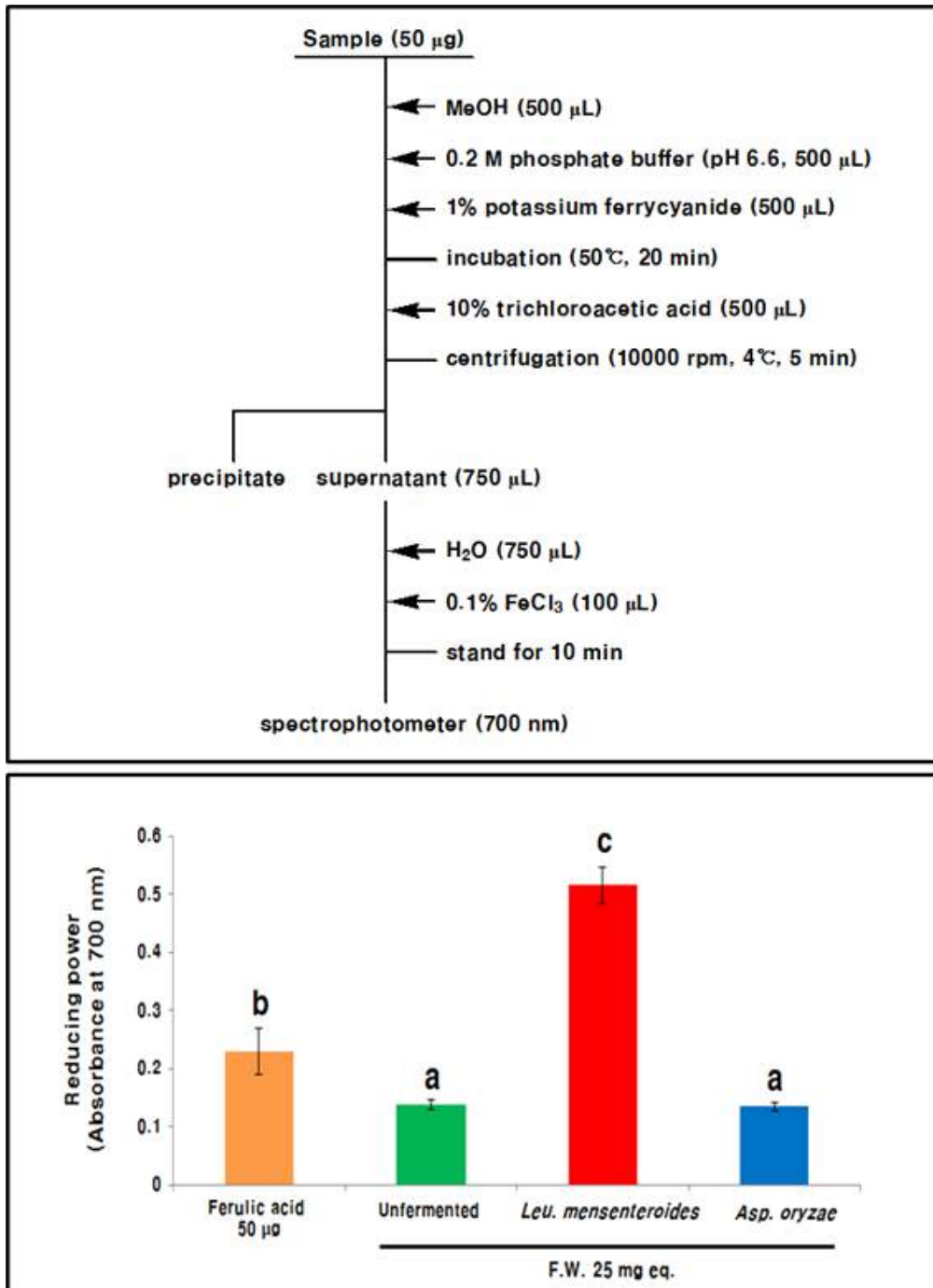


- ▶ *Lm*-발효균이  $\alpha$ -Toc보다 2배이상 더 높은 DPPH radical-scavenging 활성을 보였음.
- ▶ *Lm*-발효균에 존재하는 다량의 flavonoid 및 총 페놀성 화합물에 기인한 것으로 추정됨.

(2) Reducing power

- *Lm*-발효균이 ferulic acid보다 2배,  *Ao*-발효균과 대조군보다 약 5배 더 높은 환원력을 나타냄 (그림 I-92).
- DPPH radical-scavenging 활성보다 환원력 평가에서 훨씬 더 높은 활성을 나타냄.

■ 그림 I-92. 배 미성숙과 발효물의 Reducing power 측정방법 (위) 및 결과 (아래).

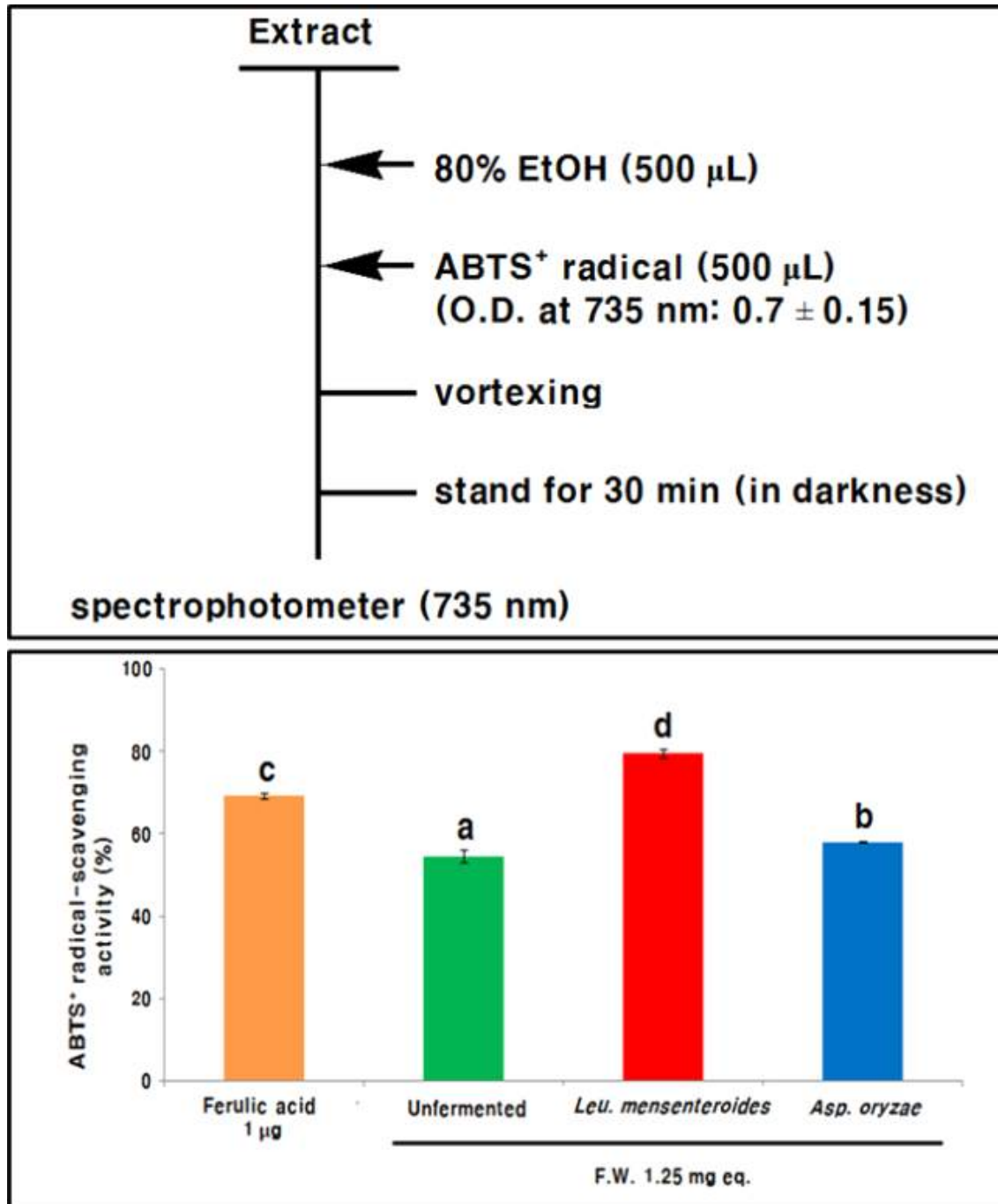


- ▶ *Lm*-발효균이 ferulic acid보다 2배,  *Ao*-발효균과 대조군보다 약 5배 더 높은 환원력을 보였음.
- ▶ DPPH radical-scavenging 활성보다 더 높은 활성을 나타냄.

(3) ABTS<sup>+</sup> Radical-scavenging 활성 평가

- *Lm*-발효균이 *Ao*-발효균, 대조군 및 ferulic acid보다 유의적으로 더 높은 ABTS<sup>+</sup> Radical-Scavenging 활성을 나타냄(그림 I-93).

▣ 그림 I-93. 배 미성숙과 발효물의 ABTS<sup>+</sup> Radical-scavenging 활성방법 (위) 및 결과 (아래).

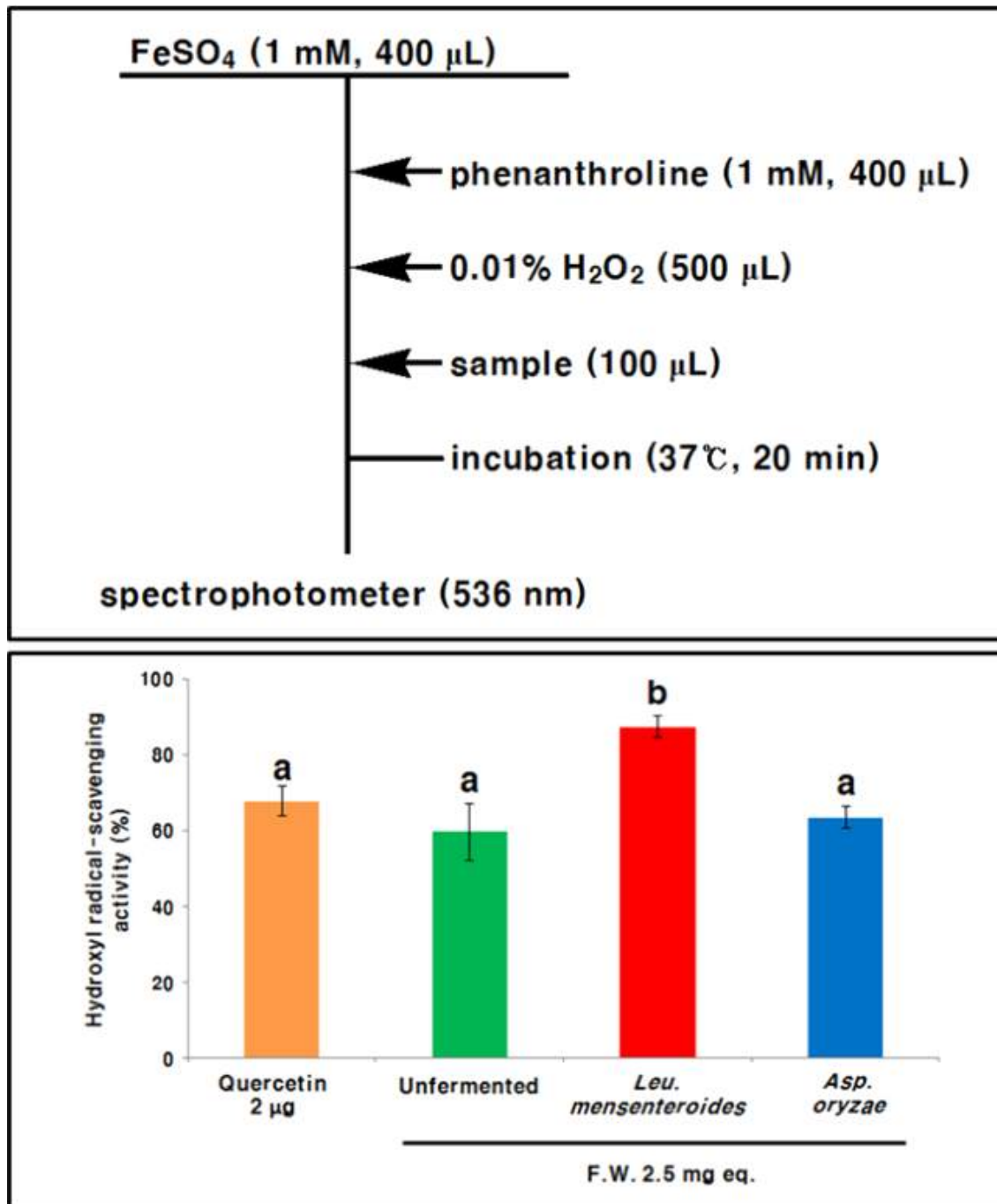


▶ *Lm*-발효균이 *Ao*-발효균과 대조군 및 ferulic acid보다 유의적으로 더 높은 활성을 보였음.

(4) Hydroxyl Radical-scavenging 활성 평가

- *Lm*-발효균이 가장 높은 활성을 보였으며, *AO*-발효균과 대조군은 다소 낮은 활성을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았음(그림 I-94).

▣ 그림 I-94. 배 미성숙과 발효물의 Hydroxyl Radical-scavenging 활성방법 (위) 및 결과 (아래).

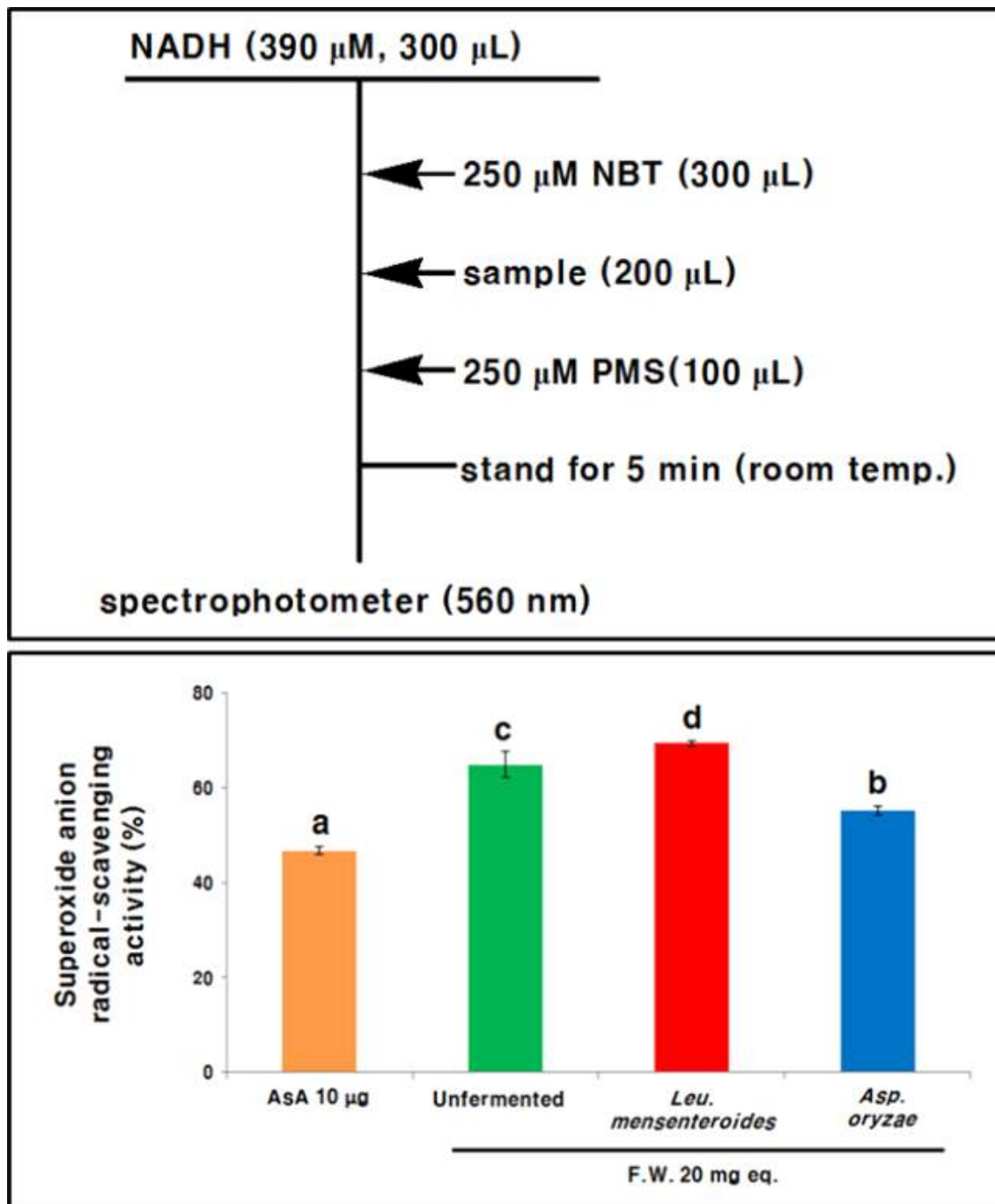


- ▶ *Lm*-발효균이 가장 높은 활성을 보였음.
- ▶ *AO*-발효균과 대조군보다 높은 활성을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않음.

(5) Superoxide Anion Radical-Scavenging 활성 평가

- 각 발효균 및 대조군을 이용한 시료들이 더 높은 활성을 보임(그림 I-95).
- *Lm*-발효균 > *Ao*-발효균 > 대조군 순으로 superoxide anion radical-scavenging 활성을 나타냄

▣ 그림 I-95. 배 미성숙과 발효물의 Superoxide Anion Radical-scavenging 활성방법 (위) 및 결과 (아래).

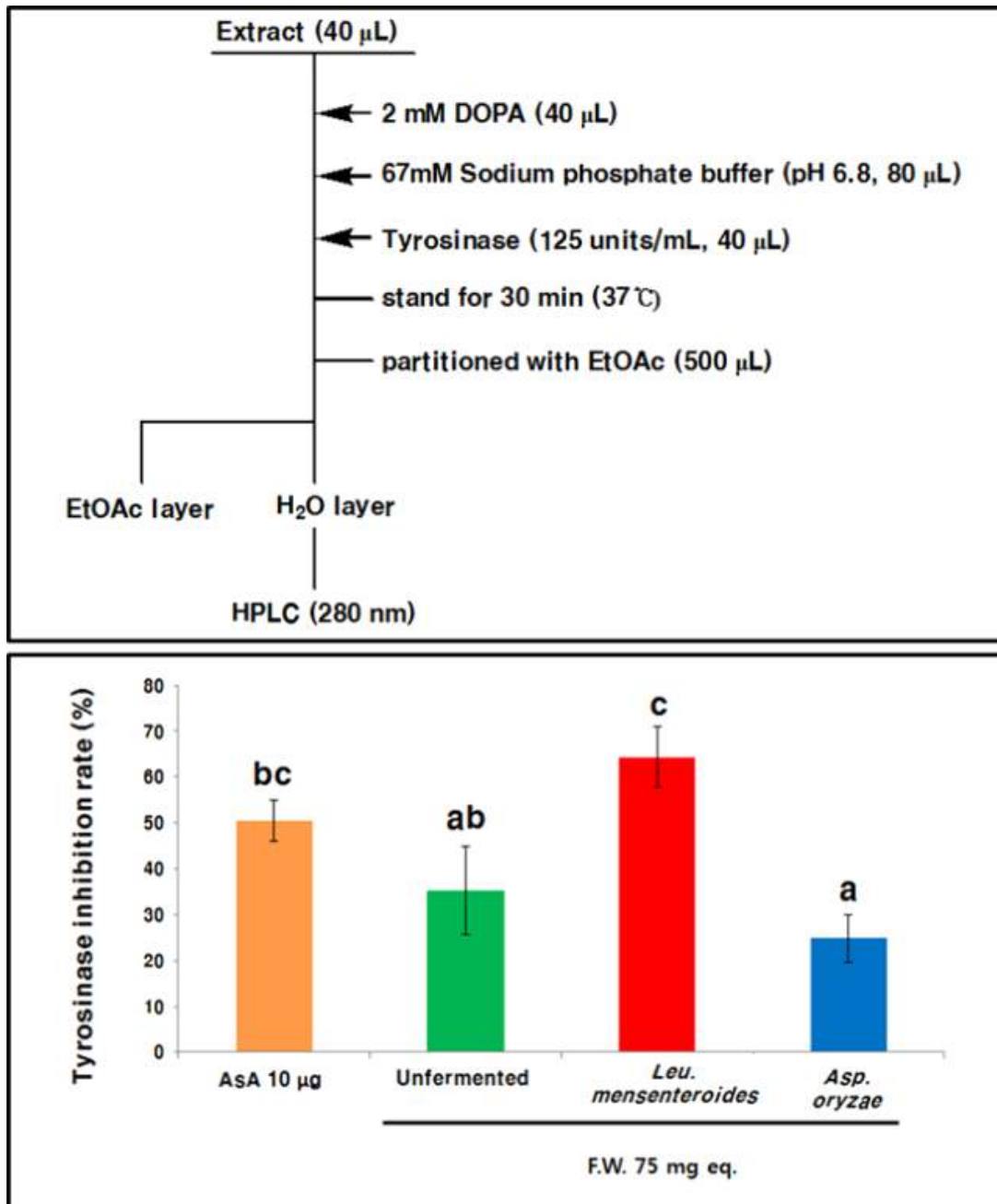


- ▶ *Lm*-발효균이 가장 높은 활성을 보였음.
- ▶ *Lm*-발효균 > *Ao*-발효균 > 대조군 순으로 superoxide anion radical-scavenging 활성을 나타냄.

(6) Tyrosinase 저해활성 평가

- Tyrosine의 산화 중간체인 DOPA(3,4-dihydroxy-L-phenylalanine)를 기질로 하여 tyrosinase와 반응시켜 산화되지 않고 존재하는 DOPA의 농도변화를 HPLC로 측정
- 앞선 실험결과와 유사하게 *Lm*-발효균에서 가장 높은 DOPA의 산화 억제능을 나타냈으며 대조구인 ascorbic acid보다 더 우수함이 확인됨(그림 I-96).
- 이러한 결과로부터 배 미성숙과 및 그 추출물 모두 미백 화장품의 첨가 소재로서의 가능성이 높을 것으로 시사됨

■ 그림 I-96. 배 미성숙과 발효물의 Tyrosinase 저해활성 평가방법 (위) 및 평가결과 (아래).



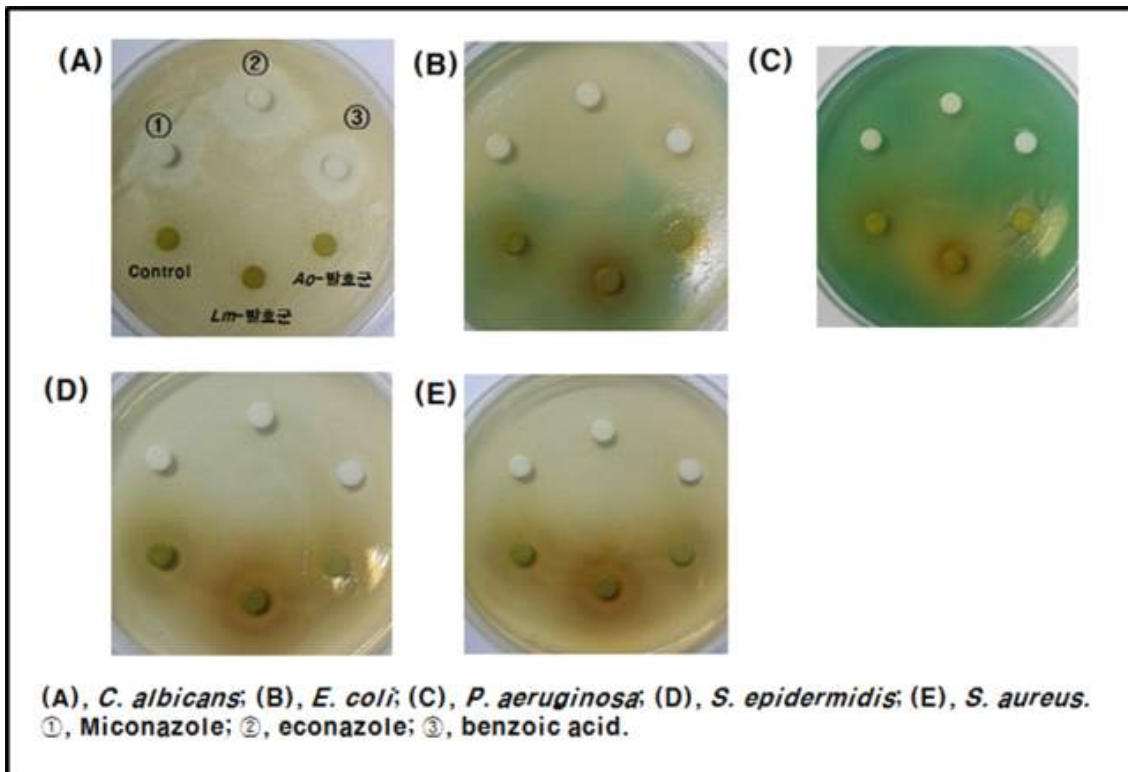
- ▶ *Lm*-발효균이 가장 높은 산화 억제능을 나타냈으며, 대조구인 ascorbic acid보다 더 우수함이 확인되었음.
- ▶ 이러한 결과는 미백 화장품의 첨가 소재로서의 가능성이 높을 것으로 시사됨.



(7) 항균활성 평가

- *C. albicans* 균에서는 대조구에서만 inhibition zone을 형성하고 발효 추출물에서는 전혀 나타나지 않았음(그림 I-97).
- *C. albicans* 균을 제외한 나머지 4종의 균에서는 대조구에서 전혀 저해활성을 나타내지 않는 반면 *Lm*-발효균은 가장 높은 저해활성을 나타냈음
- 또한, *Ao*-발효균 및 대조균 추출물의 inhibition zone은 benzoic acid보다 대부분 넓거나 같은 정도의 inhibition zone을 나타냄

■ 그림 I-97. 배 미성숙과 발효물의 항균활성 평가.



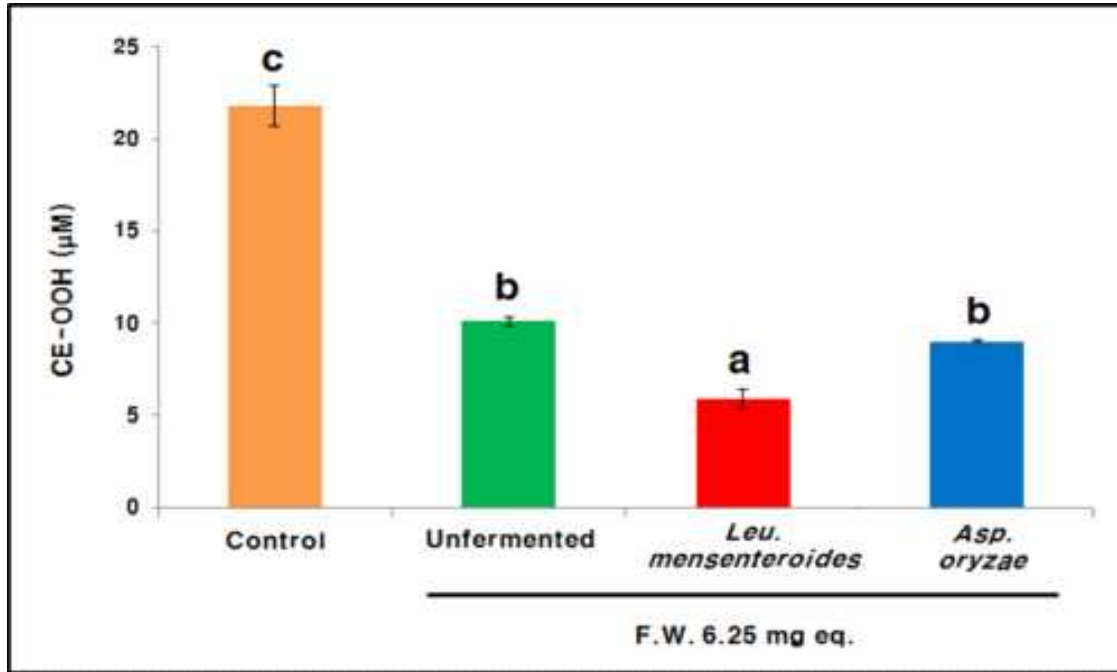
- ▶ *Candida albicans* 균에서는 대조구에서만 inhibition zone을 형성하고 발효 추출물에서는 전혀 나타나지 않았음.
- ▶ 나머지 4종의 균에서는 *Lm*-발효균이 가장 높은 저해활성을 나타냈음.
- ▶ *Ao*-발효균 및 대조균 추출물의 inhibition zone은 benzoic acid보다 대부분 넓거나 같은 정도의 inhibition zone을 나타냄.

(8) Cholesteryl Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성 억제능 평가

- 항산화활성의 결과들과 유사하게 *Lm*-발효균의 추출물을 첨가한 혈장에서 무첨가 혈장( $21.8 \pm 1.1 \mu\text{M}$ )에 비해 유의하게 높은 CE-OOH ( $5.9 \pm 0.6 \mu\text{M}$ ) 생성 억제능을 나타냄(그림 I-98).
- *Ao*-발효균과 대조균의 추출물을 첨가한 혈장에서의 CE-OOH의 농도는 각각 *Lm*-발효균보다 높은  $9.0 \pm 0.1 \mu\text{M}$ ,  $10.1 \pm 0.3 \mu\text{M}$ 로 측정되었으나, 이들 또한 control 혈장에 비해 우수한 활성을 나타냄.

- 이 결과 역시 *Lm*-발효균의 추출물에 함유된 높은 총 flavonoid 및 총 페놀성 화합물의 함량으로부터 기인된 결과로 추측됨.

▣ 그림 I-98. 배 미성숙과 발효물의 Cholestery Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성 억제능 평가.



- ▶ *Lm*-발효균의 추출물을 첨가한 혈장에서 무첨가 혈장(21.8 ± 1.1 μM)에 비해 유의하게 높은 CE-OOH (5.9 ± 0.6 μM) 생성 억제능을 나타냄.
- ▶ *Ao*-발효균 또한 control 혈장에 비해 우수한 활성을 나타냄.
- ▶ *Lm*-발효균의 추출물에 함유된 높은 총 flavonoid 및 총 페놀성 화합물의 함량으로부터 기인된 결과로 추측됨.

- 배 미성숙과의 활용성을 더욱 향상시키기 위해 미생물에 의한 발효방법을 적용하였음.
- 다양한 유용 균주를 활용하여 발효를 행하고, 항산화 활성을 지표로 우수균주를 선발하였음.
- 선발 미생물을 이용하여 배 미성숙과를 발효시킨 후, 발효전의 배 미성숙과 추출물과 항산화 활성을 비교·평가한 결과,
- 발효 전 시료에 비해 발효 후의 시료에 있어 보다 우수한 활성이 발현되었음.
- 이는 배 미성숙과를 발효시킴으로써 그 유용성이 향상됨을 의미함.
- 따라서 발효 배 미성숙과를 소재로 하여 다양한 가공식품 및 그 원료로 활용할 가치가 높다고 판단되었음.

## <화장품 소재로써의 응용성 평가: 배 미성숙과로부터 Arbutin 정제법 개선>

### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

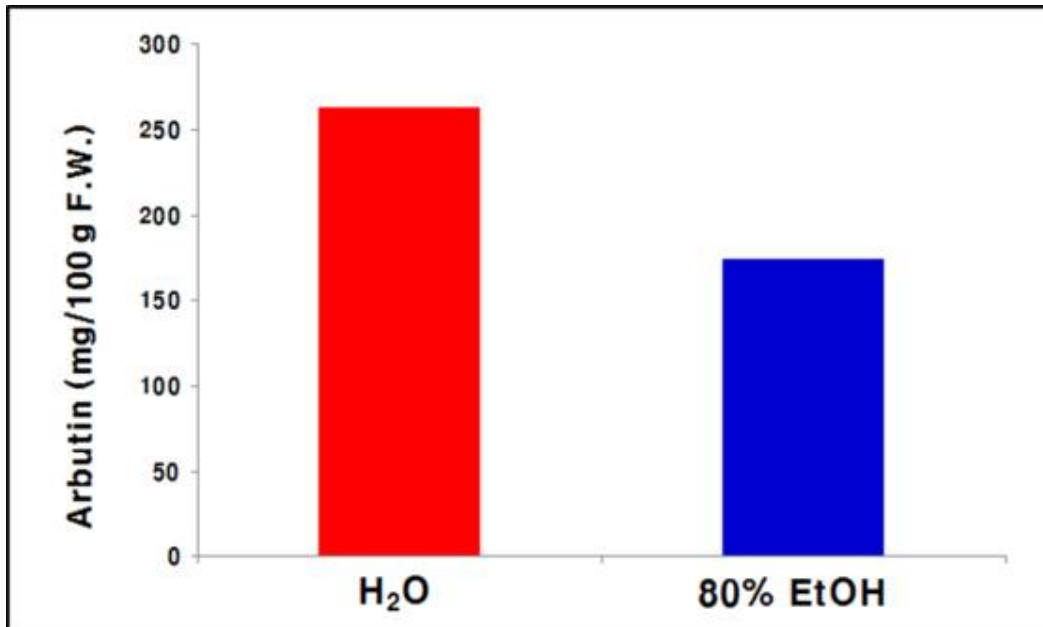
#### 가. 배 미성숙과의 수분함량

- $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 보관된 배 미성숙과 5 g을 24시간 동안 동결건조(freezer dryer, FDU-540, Eyela, ToKyo, Japen)시킨 다음, 동결건조 전후의 무게를 기준으로 신선중량 100 g 중의 수분함량을 측정.

#### 나. 배 미성숙과로부터 Arbutin 추출용매 비교 (80% EtOH 추출, 열수추출)

- 배 미성숙과 20 g을 대상으로 80% EtOH와  $\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가 후, homogenization을 행하고, 80% EtOH는 상온에 30분,  $\text{H}_2\text{O}$ 는 30분간 가열을 행함
- 여과 후 얻어진 잔사를 대상으로 80% EtOH와 열수를 가한 후 균질화 및 여과를 재차 행함. 여과 후 얻어진 여액을 농축하여 농축물을 얻음
- 각각 얻어진 농축물을 대상으로  $\text{H}_2\text{O}$ 로 잘 용해시킨 후 TFA (pH 2.65)로 조정 후 EtOAc를 이용하여 용매분획을 3회 실시
- 얻어진 각각의 층을 대상으로 HPLC분석을 통해 arbutin의 함량을 비교함(그림 I-99).

■ 그림 I-99. 배 미성숙과로부터 Arbutin 추출용매 비교.



- ▶ 열수추출 (262.8 mg/100 g 신선중량)이 80% EtOH 추출물로부터 얻어진  $\text{H}_2\text{O}$  회분(174.8 mg/100 g 신선중량)보다 더 높은 arbutin 함량을 나타냄.

다. 열수추출 시간에 따른 Arbutin의 안정성 검토

- 배 미성숙과로부터 얻어진 조추출물을 대상으로 0, 4, 8, 12시간 동안 각각 가열(120℃)을 행함
- 가열 후 얻어진 각각의 추출물을 대상으로 HPLC 분석을 행하였으며, 그 함량은 표준품 arbutin을 이용하여 standard curve에 의하여 계산함

라. Diaion HP-20 Column Chromatography 후 TLC 및 HPLC를 이용한 Arbutin 정제

- 1차 정제: Diaion HP-20 (25 L, Mitsubishi Chemical Industrial, Tokyo, Japan)을 H<sub>2</sub>O 48 L 로 평형화한 다음, bed volume에 적합한 농축물의 무게에 해당하는 20 L (720 g; 신선 배 미성숙과 16 kg 상당량)를 Diaion HP-20 resin이 충전된 column (20 × 120 cm) 상단에 충전시킨 후, EtOH/H<sub>2</sub>O (0:100, 10:90, 20:80, v/v) 용매계를 이동상으로 하였다. 각 용매를 순차적으로 용출시켜 각 단계별로 36 L씩을 흘려보내는 step-wise 용출 방법에 의해 용출·분획하였으며, 각 단계를 4 L씩 분획하여 총 26개의 획분으로 분리를 행하였음
- Arbutin의 용출획분 및 HPLC 분석: TLC는 silical gel plate (aluminium sheet, silical gel 60 F254, MERCK, Darmstadt, Germany)를 이용하였으며, 전개용매는 BuOH/AcOH/H<sub>2</sub>O = 4:1:1 (v/v)으로 하여, column chromatography 이후에 얻어진 획분들을 대상으로 arbutin의 용출획분 확인에 이용 및 HPLC 분석을 통해 arbutin의 거동을 확인함
- 2차 정제: 1차적으로 정제된 arbutin 함유 농축물(156.5 g)을 대상으로 Diaion HP-20 column chromatography를 EtOH/H<sub>2</sub>O (0:100, 10:90, 20:80, v/v) 용매계로 하여 step-wise 용출 방법을 이용하여 정제함
- 3차 정제: prep-HPLC를 이용하여 보다 높은 순도로 arbutin을 정제함

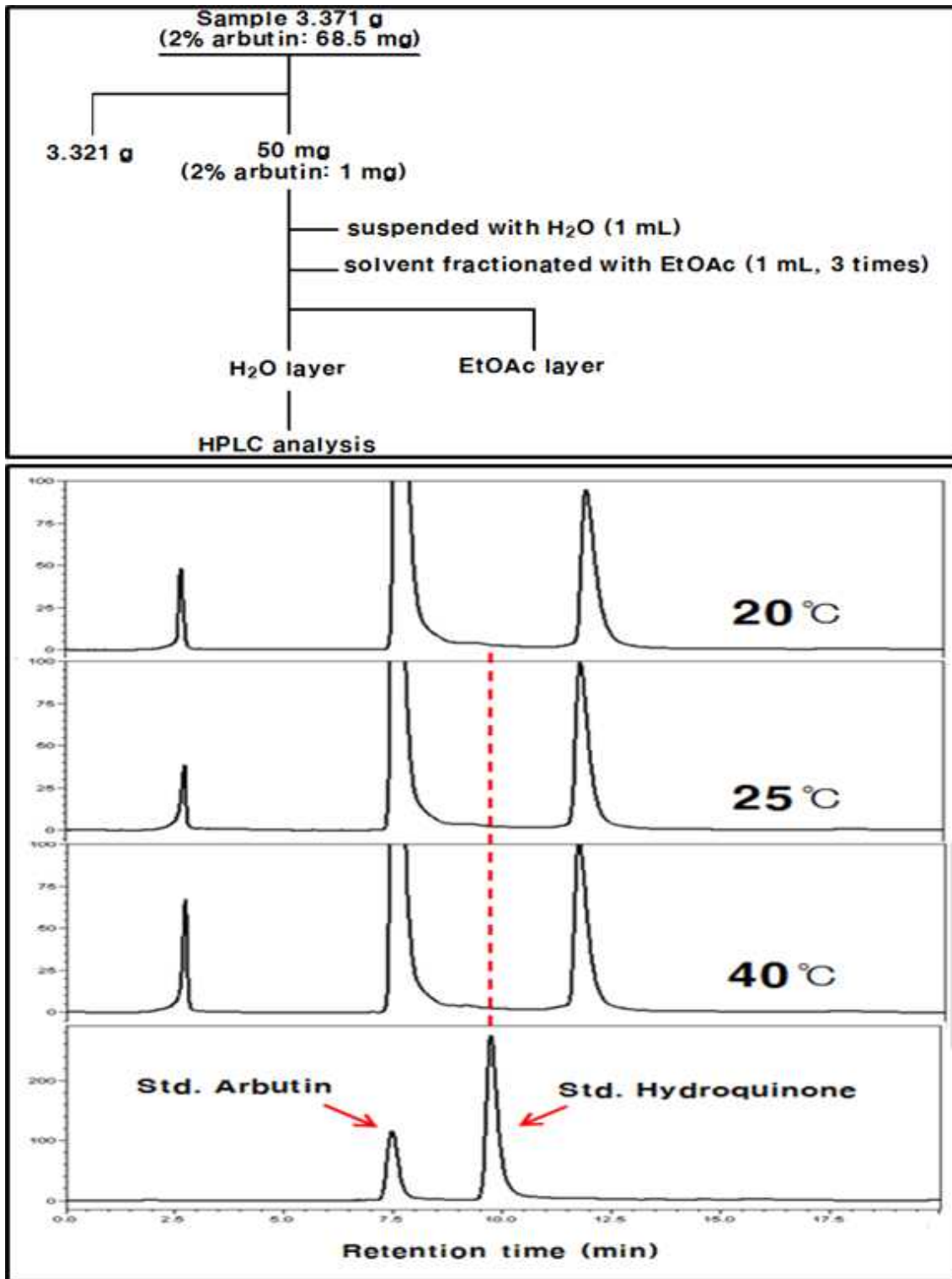
마. 기기분석: <sup>1</sup>H-NMR 분석

- <sup>1</sup>H-NMR 분석을 행하였으며, 각각의 data를 표준품의 data와 비교함

바. 화장품 제형의 저장기간 및 온도에 따른 Hydroquinone 생성여부 확인

- 정제된 arbutin power 2% (w/w)가 첨가된 화장품 제형을 각각 20, 25, 40℃에서 4주간 보관
- Arbutin이 산화되어 생성되는 hydroquinone의 생성여부를 HPLC를 이용하여 확인(그림 I-100).
- Hydroquinone의 함량은 standard curve에 의하여 계산

■ 그림 I-100. 화장품 제형의 저장기간 및 온도에 따른 Hydroquinone 생성여부 확인방법 (위) 및 결과 (아래)



▶ 각각의 온도조건(20, 25, 40°C)에서 hydroquinone의 생성여부를 HPLC로 확인한 결과, 모든 온도조건에서 hydroquinone이 생성되지 않음을 확인함.

## 2. 연구내용 및 결과

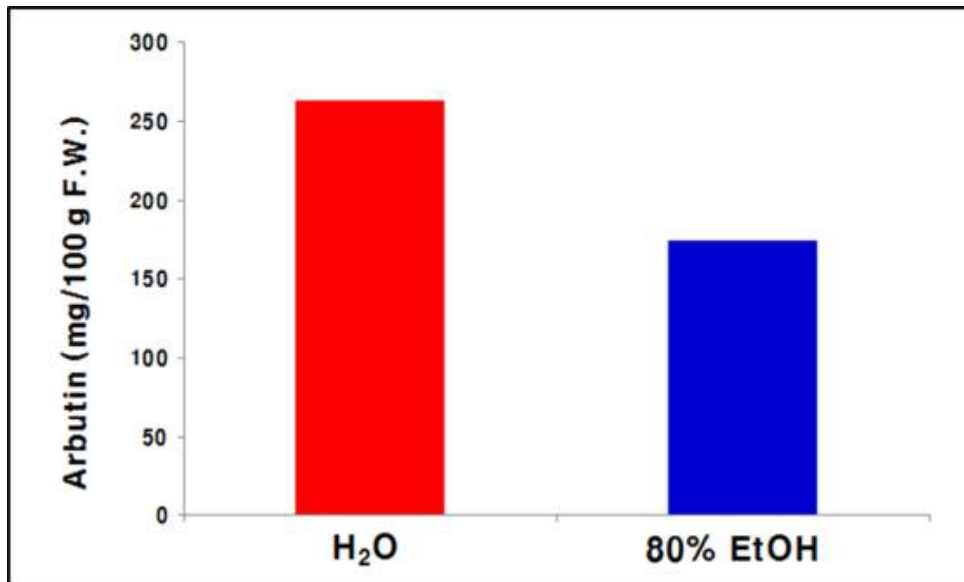
### 가. 배 미성숙과의 수분함량

- 신선 배 미성숙과(평균무게 5 g)을 대상으로 계산한 결과, 평균 수분함량은  $75.05 \pm 1.02\%$ 임을 확인함.

### 나. 배 미성숙과로부터 Arbutin 추출용매 비교 (80% EtOH, 열수추출)

- 80% EtOH와 열수추출의 수율을 비교한 결과, 열수추출물(262.8 mg/100 g 신선중량)이 80% EtOH 추출물로부터 얻어진 H<sub>2</sub>O획분(174.8 mg/100 g 신선중량)보다 더 높은 arbutin 함량을 나타냄(그림 I-101).
- 이러한 결과로부터 arbutin을 화장품산업에 적용 및 경제적인 소요 감소에 더 효율적인 것으로 판단됨
- ※ Arbutin의 대량 정제법 확립에 관한 본 연구는 기존에 본 연구실에서 수행된 바 있는 방법(Ref 1)을 개선·보완하여 현장 적용형으로 활용하고자 하였음.
- ※ 개선·보안 사항: 추출 용매 추출방법, 컬럼의 대형화, 컬럼 chromatography의 이동상.

▣ 그림 I-101. 배 미성숙과로부터 Arbutin 추출용매 비교.



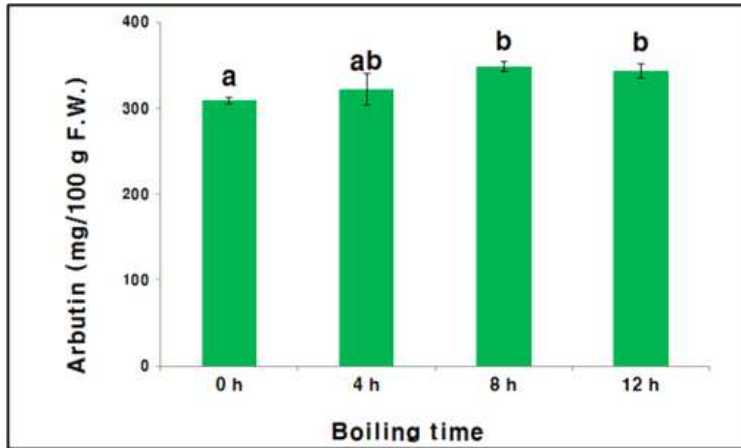
- ▶ 열수추출 (262.8 mg/100 g 신선중량)이 80% EtOH 추출물로부터 얻어진 H<sub>2</sub>O 획분(174.8 mg/100 g 신선중량)보다 더 높은 arbutin 함량을 나타냄.  
[Food Sci. Biotechnol. 20(3): 801-807, 2011.]

### 다. 열수추출 시간에 따른 Arbutin의 안정성 검토

- 배 미성숙과를 대상으로 열수추출(120℃)을 행하고 가열 시간을 각각 0, 4, 8, 12시간 가함으로써 arbutin의 안정성을 검토한 결과, 가열하지 않는 시료의 arbutin 함량보다 8시간, 12시간 가열한 arbutin의 함량이 유의적으로 높음을 확인함(그림 I-102).
- 12시간 이상 가열 시에도 arbutin의 안정성에는 문제가 없다고 판단되었으나, 8시간과 12시

간 가열한 시료 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으므로 8시간동안 열수추출을 행하는 것이 경제적 측면에 있어 더 좋다고 판단됨

■ 그림 I-102. 열수추출 시간에 따른 Arbutin의 안정성 검토.

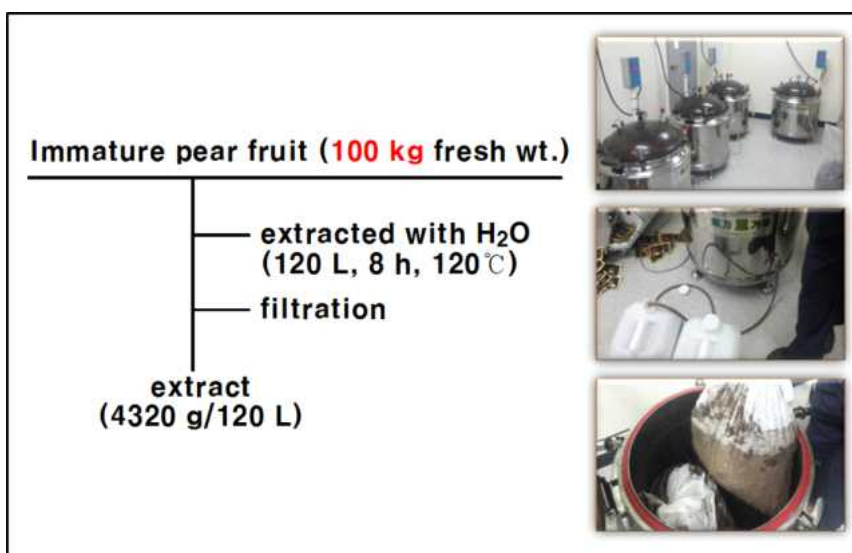


- ▶ 가열하지 않은 시료의 arbutin의 함량보다 8시간 및 12시간 가열한 시료의 arbutin의 함량이 유의적으로 높음을 확인함.
- ▶ 8시간과 12시간 가열한 시료 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으므로 8시간 동안 열수추출을 행하는 것이 좋다고 판단됨.

라. Diaion HP-20 Column Chromatography 후 TLC 및 HPLC를 이용한 Arbutin 정제

- 신선 배 미성숙과 100 kg을 대상으로 열수추출장치(동방기계, Daejeon, Korea)를 통해 추출 및 여과를 거쳐 총 농축물 4320 g/120 L로 측정되었으며, 그 중 일부인 720 g/20 L를 대상으로 정제를 행함(그림 I-103).

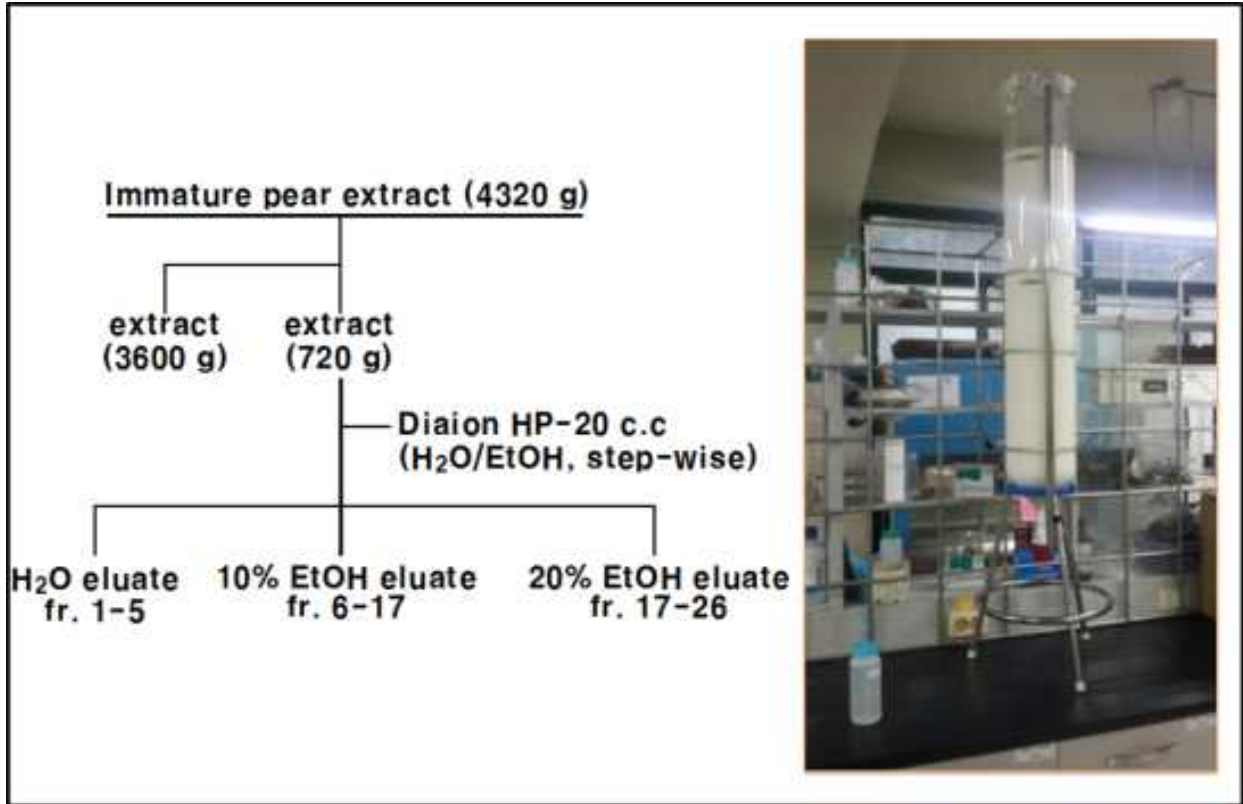
■ 그림 I-103. 배 미성숙과로부터 열수추출 및 여과를 통해 농축물 제조.



- ▶ 신선 배 미성숙과 100 kg을 대상으로 총 4320 g/120 L의 농축물을 얻었으며, 그 중 720 g/20 L를 정제하기로 함.

- Diaion HP-20 column chromatography (20 × 120 cm, EtOH/H<sub>2</sub>O step-wise)를 수행하여 추출물(720 g/20 L)을 총 26개의획분으로 분획함(그림 I-104).

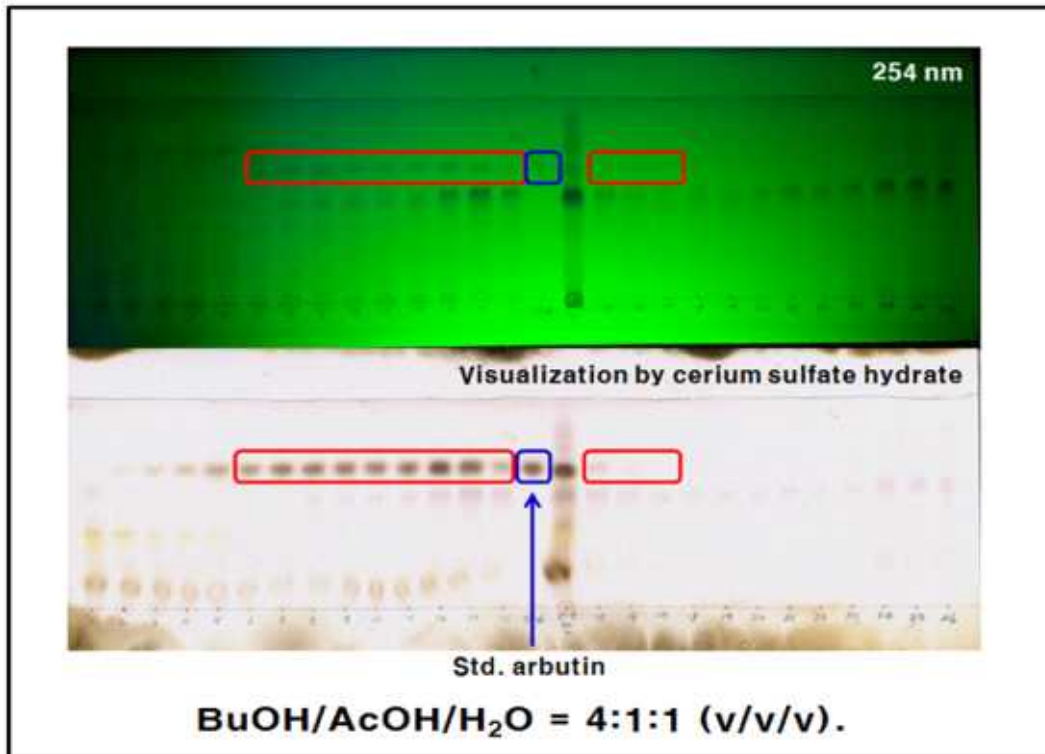
■ 그림 I-104. Diaion HP-20 Column Chromatography를 이용한 정제방법.



- ▶ Diaion HP-20 column chromatography (20 × 120 cm, EtOH/H<sub>2</sub>O step-wise)를 수행하여 추출물 (720 g/20 L)을 총 26개의 획분으로 분획하였음.
- 얻어진 획분들을 대상으로 TLC 분석결과(그림 I-105), arbutin으로 판단되는 화합물( $R_f$ : 0.77)이 10% EtOH 용출획분에서 검출되었으며, 그 화합물의  $R_f$ 값은 arbutin 표준 화합물의  $R_f$ 값(0.77)과 일치하는 위치에서 spot이 검출됨을 확인함



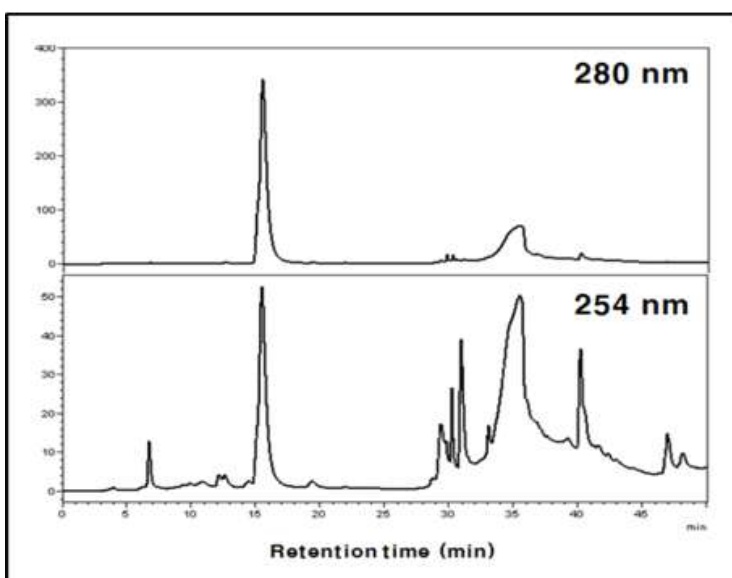
■ 그림 I-105. Diaion HP-20 column chromatography를 이용한 정제 후 TLC 분석결과.



▶ Arbutin 표준 화합물의  $R_f$ (0.77)과 일치하는 spot이 10% EtOH 용출획분에서 검출됨.

- HPLC 분석결과, arbutin보다 더 비극성 용출범위에서 다수의 분순물 유래 peak가 검출됨이 확인됨으로써 추가적인 정제가 필요한 것으로 판단됨(그림 I-106).

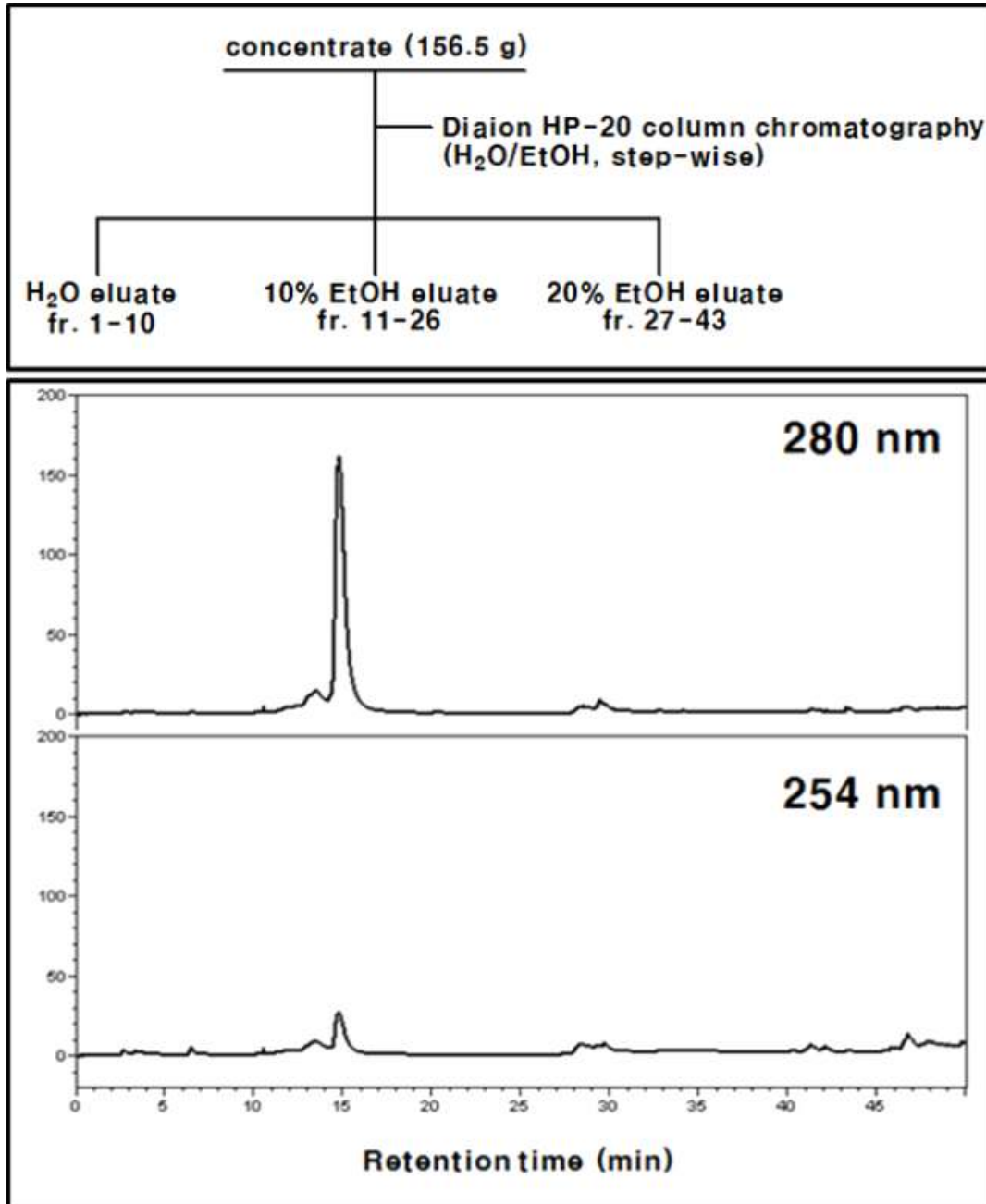
■ 그림 I-106. HPLC 분석을 통해 추가적인 정제의 필요성 판단.



▶ Arbutin보다 더 비극성 용출범위에서 다수의 분순물 유래 peak가 검출됨이 확인됨으로써 추가적인 정제가 필요한 것으로 판단됨.

- Arbutin이 함유된 획분(156.5 g)을 대상으로 Diaion HP-20 column chromatography를 재차 행하여 총 43개의 획분으로 분획함(그림 I-107).
- Arbutin이 함유되어 있을 것으로 예상되는 획분(10% EtOH 용출획분)을 대상으로 HPLC 분석을 행하여 순도를 확인한 결과 78%로 확인되었음(그림 I-107).

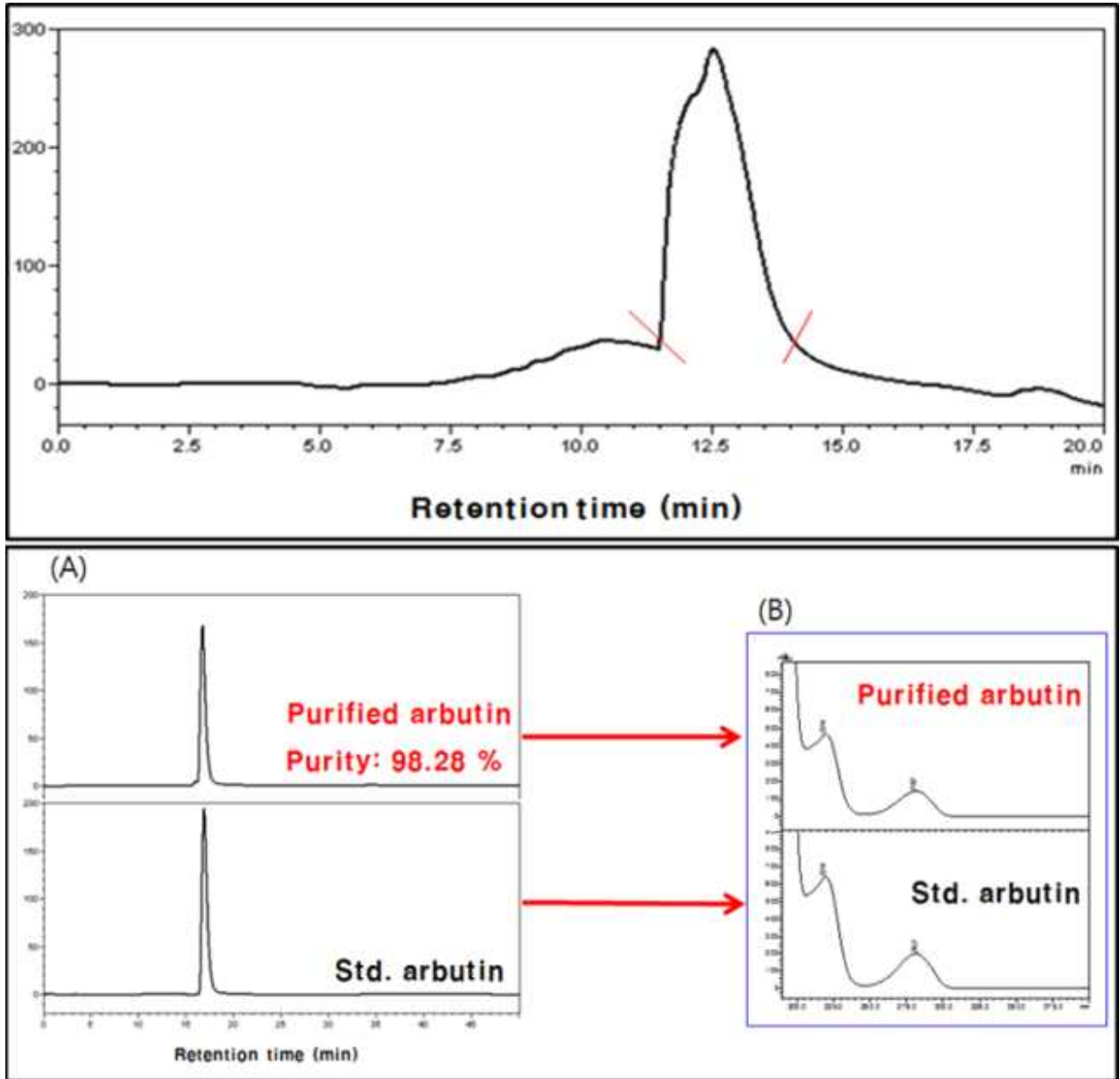
■ 그림 I-107. Diaion HP-20 column chromatography를 이용한 추가 정제 (위) 및 순도확인 (아래).



- ▶ Arbutin이 함유된 획분(156.5 g)을 대상으로 추가 정제하여 총 43개의 획분을 얻었음.
- ▶ Arbutin이 함유되었을 것으로 예상된 획분(10% EtOH 용출획분)을 대상으로 HPLC 분석을 행하여 순도를 확인한 결과, 78%로 확인됨.

- 감압농축 및 동결건조를 통해 총 44.2 g의 arbutin 분말을 얻었음
- 보다 더 높은 순도의 arbutin을 정하기 위해 44.2 g 중 100 mg을 대상으로 추가적으로 prep-ODS HPLC를 이용하여 순도 98%이상의 arbutin을 얻었으며, 표준품의 arbutin과 UV/VIS spectrum이 일치함을 확인함(그림 I-108).

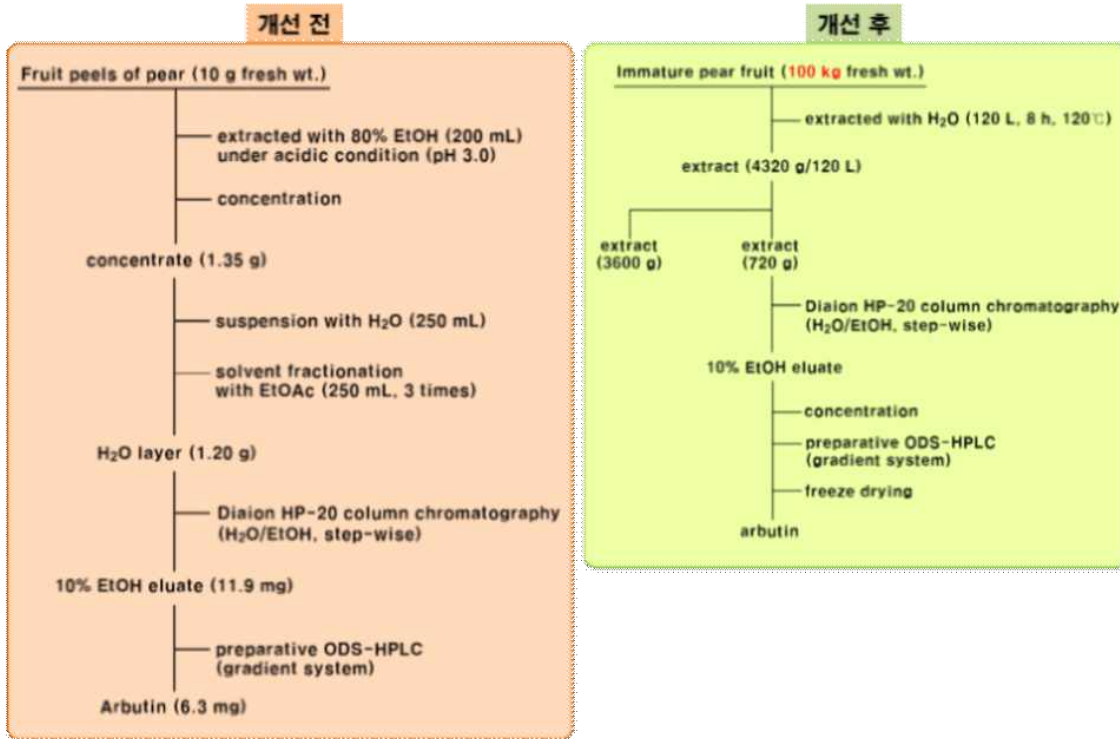
■ 그림 I-108. prep-HPLC를 이용한 추가적인 정제 (위) 및 UV/VIS spectrum 비교 (아래).



- ▶ prep-ODS HPLC를 이용하여 순도 98% 이상의 arbutin을 얻었으며, 표준품의 arbutin과 UV/VIS spectrum이 일치함을 확인함.

- 본 연구를 통해 확립된 방법은 정제 능률 측면에 있어 기존에 개발된 small-scale의 arbutin 정제 방법보다 더욱 개선되었으며, 산업적으로 적용 가능한 large-scale의 방법이 확립되었음(그림 I-109).

▣ 그림 I-109. 재확립된 arbutin 추출 및 정제에 관한 공정도 (위) 및 개선사항 (아래).



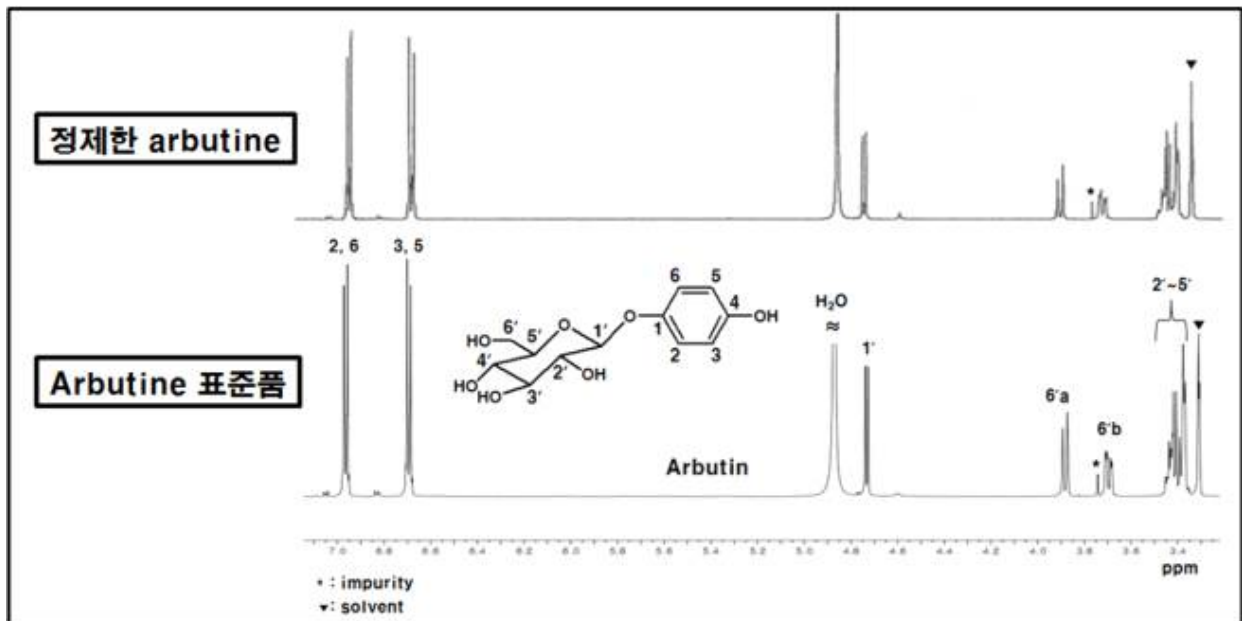
	기존 방법	개선 사항
추출방법	유기용매 추출	물 사용
추출물 농축	감압 농축 행함	생략했음
용매분획	H <sub>2</sub> O/EtOAc 용매분획 행했음	생략했음
Open column chromatography	소형	대형화 (자체 제작)
시간	장시간 소요	시간 단축 되었음
경제성	유기용매, 농축 등에 의하여 경제성 부족하다고 판단됨	추출 및 용매분획에 있어 유기용매 사용하지 않고 농축이 생략됨으로써 경제성 향상됨

- ▶ 산업적으로 적용 가능한 large-scale의 방법이 확립되었음.

마. 기기분석:  $^1\text{H-NMR}$  분석

- $^1\text{H-NMR}$  분석결과, 1종의 glucose에 귀속되어지는 7종의  $sp^3$  carbon proton signals [ $\delta$  3.88 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-6'a), 3.70 (1H, d,  $J = 17.0$  Hz, H-6'b), 3.44~3.30 (4H, m,  $J = 7.0$  Hz)]가 관찰되었으며, 각각 2H분의 aromatic carbon proton 유래로 시사되는 2종의  $sp^2$  carbon proton signals [6.46 (2H, br. d,  $J = 9.0$  Hz, H-2, 6), 6.69 (2H, br. d,  $J = 9.0$  Hz, H-3, 5)]가 관찰됨. 그리고 그 signals의 분열패턴 및 chemical shift로부터 AA'BB'계의 benzene환이 존재하는 것으로 확인되었음(그림 I-110).
- $\delta$  4.58 (H-1)에서 검출된 proton signal의 coupling constant 값( $J = 7.0$  Hz)으로부터 단리 화합물이  $\beta$ -glucose와 ether 결합을 하고 있는 arbutin인 것으로 강하게 시사되었으며, 표준품 arbutin의  $^1\text{H-NMR}$  분석결과와 일치함을 확인함(그림 I-110).

■ 그림 I-110. 정제한 Arbutin 및 그 표준품의 NMR Spectra 비교.

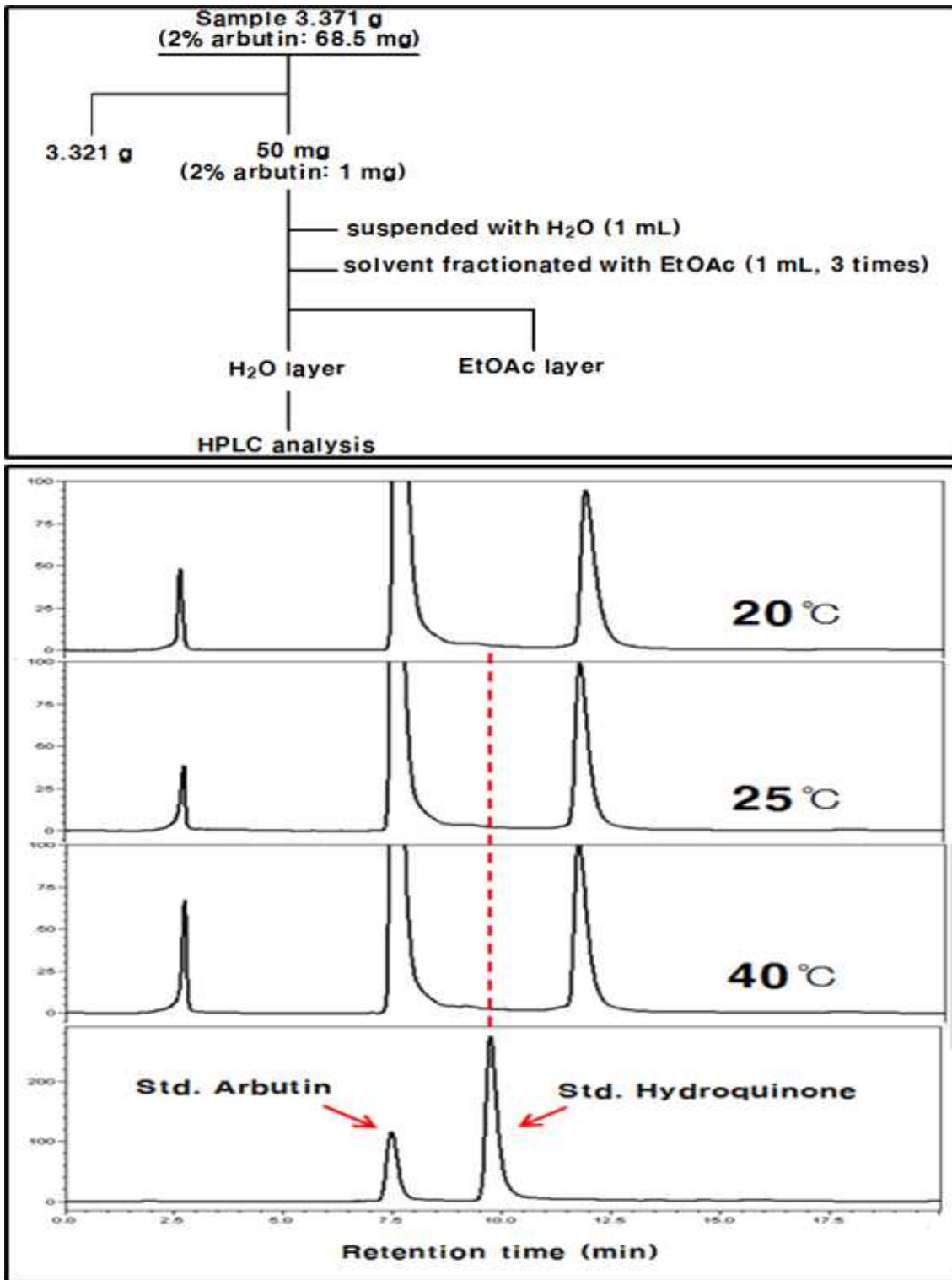


▶ 정제한 arbutin의  $^1\text{H-NMR}$ 분석 결과와 표준품 arbutin의  $^1\text{H-NMR}$  분석 결과가 일치함을 확인함.

바. 화장품 제형의 저장기간 및 온도에 따른 Hydroquinone 생성여부 확인

- 각각의 온도조건(20, 25, 40°C)에서 hydroquinone의 생성여부를 HPLC로 확인한 결과, 모든 온도조건에서 hydroquinone이 생성되지 않음을 확인함(그림 I-111).
- Arbutin의 안정성 및 조제된 화장품의 안전성 또한 확인되었고, hydroquinone에 의한 부작용 및 문제점은 수반되지 않을 것으로 판단됨.

■ 그림 I-111. 화장품 제형의 저장기간 및 온도에 따른 Hydroquinone 생성여부 확인방법 (위) 및 결과 (아래)



▶ 각각의 온도조건(20, 25, 40°C)에서 hydroquinone의 생성여부를 HPLC로 확인한 결과, 모든 온도조건에서 hydroquinone이 생성되지 않음을 확인함.

- 배 미성숙과에는 품종에 따라 100 g 신선중량 당 1 g 정도의 arbutin이 함유되어 있음.
- 이는 타 천연소재로부터 거의 전례가 없는 현상임.
- 따라서 배 미성숙과는 피부 미백효과가 뛰어난 arbutin의 천연소재로써 활용가치가 높음.
- 그러나 배 미성숙과는 지금까지 전량 폐기되어 왔음.
- 이에 arbutin 고함유 배 미성숙과는 arbutin의 우수한 천연자원으로써 활용성이 매우 높음.
- 본 연구그룹의 선행연구를 통해 실험실 수준에서 arbutin의 정제방법을 확립하였으나, 실용화 단계에서 bulk 수준에 적용하기에는 애로사항이 있음이 확인되었음.
- 이에 현실성을 고려하여 arbutin의 대량 간이 정제법을 재확립하고자 하였음.
- 본 연구를 통해 공정을 더욱 간소화하고, 대량화가 가능하면서도 arbutin의 수율 및 순도를 높일 수 있는 방법이 확립되었음.
- 뿐만 아니라 arbutin의 안정성 평가에 있어서도 배 미성숙과 유래 arbutin은 매우 우수한 것으로 확인되었음.
- 이에, 본 방법을 이용하여 배 미성숙과로부터 arbutin을 확보하는 방법을 기술이전하였으며,
- 추후 bulk 수준에서의 생산도 가능한 방법이 확립된 바, 배 부산물의 활용성 향상을 통한 부가가치 창출에 기대가 모아짐.

## <배 착즙박의 활용성 향상을 위한 연구>

### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

#### 가. 재료 및 방법

- 배착즙박이 펙틴질이라는 기존의 연구결과를 바탕으로 배착즙박을 효율적으로 가수분해할 수 있는 효소 및 반응조건을 다양하게 검토하였음.
- 본 반응조건 검토는 산업화를 염두에 두고, 쉽고 간편하게 적용할 수 있는 방법을 우선적으로 적용하고자 하였음.
- 배착즙박의 효소가수분해 여부 및 정도는 Somogyi- Nelson법을 이용하여 환원당을 정량함으로써 평가하였음.
- 배 과피의 주요 구성성분은 펙틴질임이 잘 알려져 있음.
- 배 과피의 펙틴질은 당류가 다양한 조합에 의해 결합되어 있는 polymer임.
- 종래의 연구에 의하면, 과일의 과피 펙틴질의 가수분해물로부터 유용 올리고당이 개발된 사례가 있음.<sup>(23)</sup>
- 이들 올리고당은 감미료 대체제로 활용될 뿐만 아니라
- 항비만, 항암 및 면역력 향상 효과 등의 다양한 기능성을 발현하는 경우가 많음.
- 배의 낙과 및 비상품과를 이용하여 배 음료를 가공하는 과정에서 매년 다량의 배착즙박이 발생하고 있으나 그 활용처가 아직 개발되지 못하고 있음.
- 그럼에도 불구하고 아직 배착즙박의 활용성에 관한 연구가 적극적으로 행해지지 못하고 있는 실정임.
- 따라서 본 연구에서는 폐기자원인 배착즙박의 활용성을 biomass에 더하여 더욱 확대시키고자
- 배착즙박을 효소처리하여 유용 올리고당 생성 여부를 HPLC 및 NMR 분석을 통해 확인함으로써
- 배착즙박으로부터 올리고당 생성 가능성을 확인하고자 하였으며,
- 이를 통해 배 농가의 부가가치 창출에 기여하고자 하였음.

### 2. 연구내용 및 결과

#### 가. 배착즙박의 전처리: 유리형 당의 제거

##### 1) 비세척 시료 조제(그림 I-112)

- 배 음료 가공공장에서 확보된 배착즙박 400 g (wet wt.)을 50℃ 오븐(FO-450M, Jeio tech, Seoul, Korea)에서 10시간 건조시킨 후, 믹서기(HMF-3080SS, Hanil, Seoul, Korea)를 이용하여 분말화하였음.



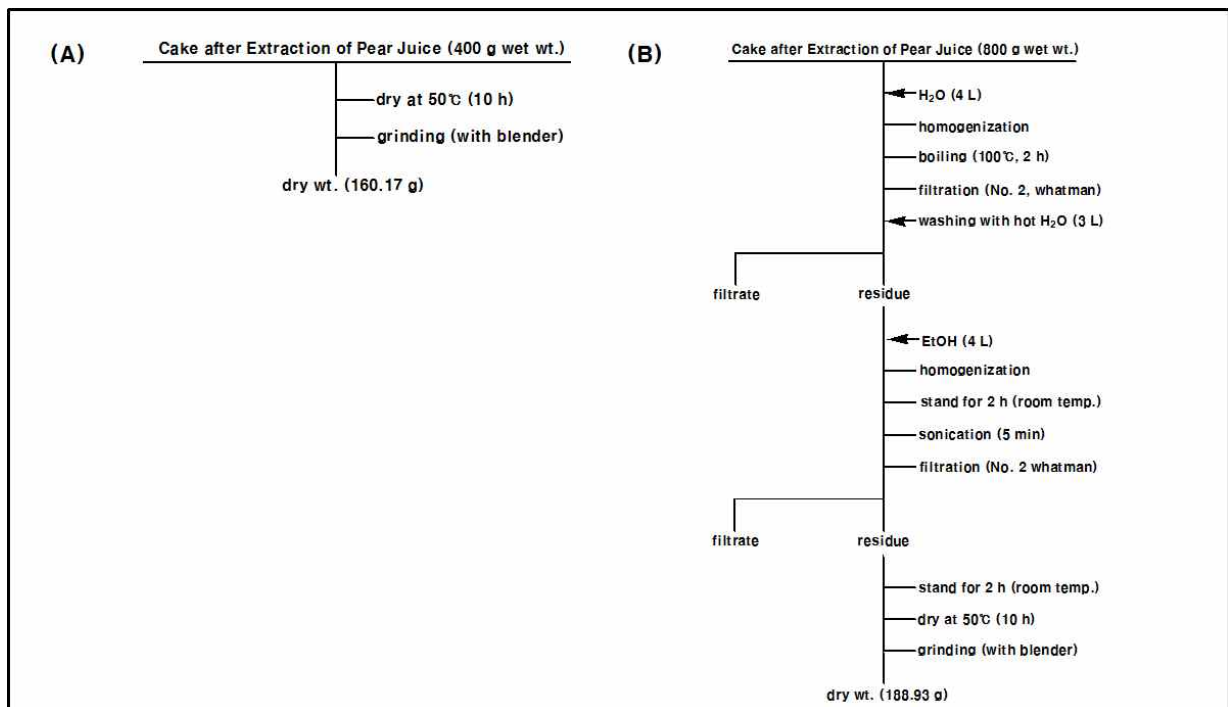
2) 세척시료 조제(그림 I-113)

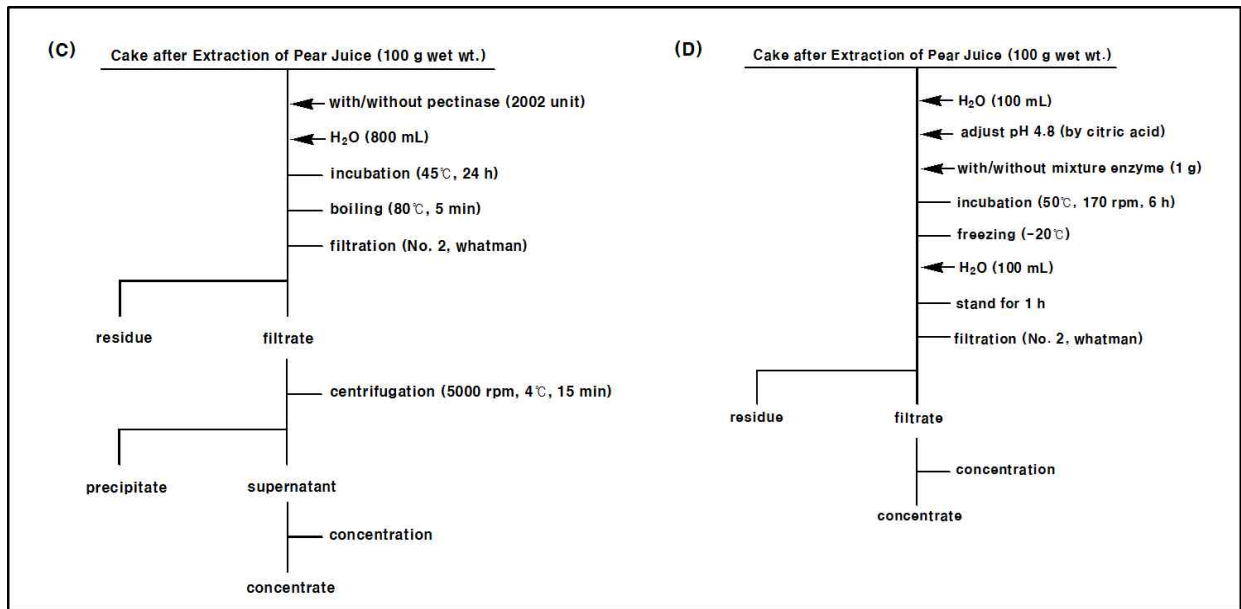
- 상기 가) 항과 동일한 배착즙박 800 g (wet wt.)에 증류수 4 L를 가하여 균질화 후 100°C에서 2시간 가열하였음.
- 가열 후 얻어진 용액을 여과(No. 2, Whatman)하여 미리 준비해 둔 열수 2 L를 잔사에 가하여 세척함으로써 유리형 당을 제거하고, 남은 잔사에 추가적으로 EtOH 4 L를 가하여 균질화하고, 실온에서 2시간 정치 후, 여과(No. 2, Whatman)하여 그 잔사를 50°C 오븐(HMF-3080SS, Hanil, Seoul, Korea)에서 10시간 건조 시킨 후, 믹서기(HMF-3080SS, Hanil, Seoul, Korea)를 이용하여 분말화하였음.

나. 효소 처리 및 무처리 군의 반응방법(그림 I-113)

- 효소가수분해는 다음과 같은 실험구를 설정하여 행하였음.
  - ① 비세척 배착즙박 분말의 효소 무처리 군
  - ② 세척 배착즙박 분말의 효소 무처리 군
  - ③ 비세척 배착즙박 분말의 효소 A 처리 군
  - ④ 비세척 배착즙박 분말의 효소 B 처리 군
  - ⑤ 세척 배착즙박 분말의 효소 A 처리 군
  - ⑥ 세척 배착즙박 분말의 효소 B 처리 군

■ 그림 I-127. 배 착즙박 세척, 비세척 후 powder sample 제조법 및 효소 가수분해 전·후 sample 제조 방법.





- ▶ (A)는 미세척한 배착즙박, (B)는 세척 처리한 배 착즙박의 powder 제조법.
- ▶ (C)는 세척, 미세척 배착즙박의 효소 A (pectinase)를 이용한 효소 가수분해 전·후, (D)는 세척, 미세척 배착즙박의 효소 B (optipece enzyme)를 이용한 효소 가수분해 전·후 반응 방법.

- 배착즙박은 모두 세척 전의 wet wt. 상당량을 기준으로 사용하였음.
- 효소 A (pectinase) 처리 군은 배착즙박 100 g 상당량을 증류수에 가하여 효소 A 2002 unit을 첨가한 후, stirring을 행하면서 45°C에서 24시간 반응을 행하였음.
- 반응이 종료된 후 80°C에서 5분 동안 중탕하여 효소를 불활성화시키고 여과(No. 2, Whatman)하여 여액을 원심분리 하였음.
- 원심분리를 통해 얻어진 상층액을 이용하였음.
- 효소 B (optipece enzyme) 처리 군은 배착즙박 100 g 상당량을 증류수(100 mL)에 가하여 효소 B 280,000 unit을 첨가한 후, stirring을 행하면서 50°C에서 6시간 반응을 행하였음.
- 반응이 종료된 후 -20°C에서 효소를 불활성화시키고, 물 100 mL를 첨가하여 1시간 동안 실온에서 정치시킨 후 여과(No. 2, Whatman)하여 그 여액을 이용하였음.

다. 효소 처리 및 무처리 군의 환원당 정량

1) 시약 제조

- D-1 시약: 무수탄산나트륨(6 g), Rochelle염(3 g), 탄산수소나트륨(4 g), 무수 황산나트륨 (36 g)을 200 mL가 되도록 물로 정용하였음(25°C 이상으로 보존).
- D-2 시약: CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O (1 g), 무수황산나트륨(9 g)을 50 mL가 되도록 물로 정용하였음.
- D-3 시약: Ammonium molybdate [(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O] 10 g을 증류수 180 mL로 용해하고, 진한황산 8 mL를 가한 후 여기에 sodium arsenate (Na<sub>2</sub>HAsO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O) 1.2 g을 증류수 10 mL에 용해시킨 것을 천천히 교반하면서 첨가하였음. 그 후 37°C에서 24~48 시간 보존하면 서서히 황색을 띠도록 반응시켰음.

2) 발색반응 및 환원당 측정

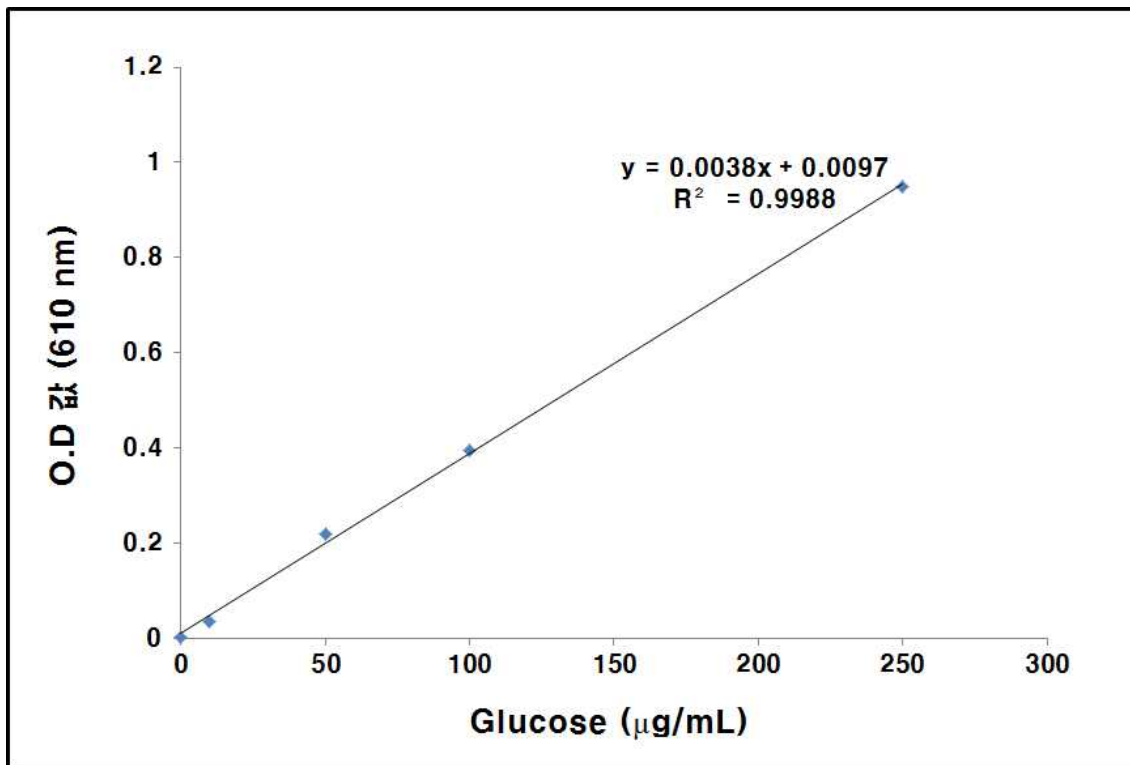
- 상기 ①~⑥ 처리 군의 반응 종료 후에 얻어진 각각의 용액을 적당한 농도로 희석하여 12.5 mL만큼 표선이 되어있는 시험관에 1 mL씩 취한 후, 시약(시약 D-1/D-2 = 4:1 혼합액)을 1 mL와 혼합하여 10분간 중탕하였음. 반응 직후 신속히 냉각하여 발색시약 D-3을 1 mL 가하고, 증류수로 12.5 mL까지 정용하였음. 그리고 이를 UV/VIS spectrophotometer (610 nm)에서 흡광도를 측정하였음.

라. 환원당 정량 결과

1) 환원당 정량용 검량선

- Glucose를 물에 녹여 0~250  $\mu\text{g/mL}$ 의 범위에 걸쳐 검량선을 작성하였음(그림 I-114).
- 작성된 검량선은  $R^2$  값이 1에 가까운 직선성이 인정되어 검량선으로서의 활용성이 확보되었음.

■ 그림 I-114. Glucose의 표준곡선 작성.



▶  $R^2$  값이 1에 근접한 직선이 확보된 검량선이 작성되었음.

2) 열수 및 유기 용매 세척 효과

- 본 실험에서 적용하고자 하는 효소처리법에 의해 biomass 원으로 활용할 수 있는 환원당의 생성 여부를 확인하고자 하였음.
- 그래서, 세척한 배착즙박의 효소 무처리군(처리군 ②)과 세척하지 않은 배착즙박의 효소 무처리군(처리군 ①)의 환원당 함량을 비교하였음.
- 그 결과, 세척한 배착즙박(처리군 ②)의 환원당 함량은 10.19 mg/착즙박 wet wt. 100 g의 함량을 보인 반면,

- 세척하지 않은 배착즙박(처리군 ①)의 환원당 함량은 4759.88 mg/착즙박 wet wt. 100 g의 함량을 보였음.
- 즉, 세척하지 않은 배착즙(처리군 ①)을 세척함으로써 약 1/260의 환원당이 제거되었음이 확인되었음.
- 즉, 세척하지 않은 배착즙(처리군 ①)을 대상으로 열수 및 EtOH 세척을 행하였음에도 불구하고, 미량의 환원당이 아직도 착즙박에 잔존해있음이 확인되었음.
- 그러나, 세척을 행한 착즙박을 대상으로 효소처리에 의해 환원당의 생성 여부를 평가하는 이후의 실험에 문제가 없다고 판단되었음.

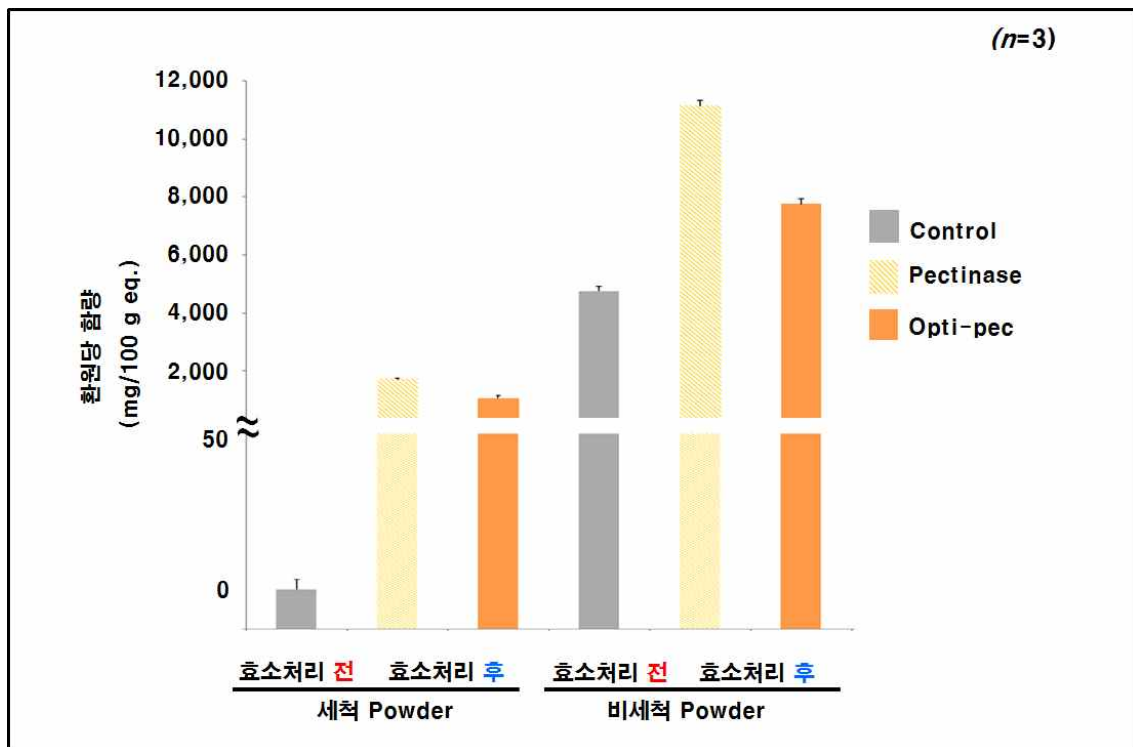
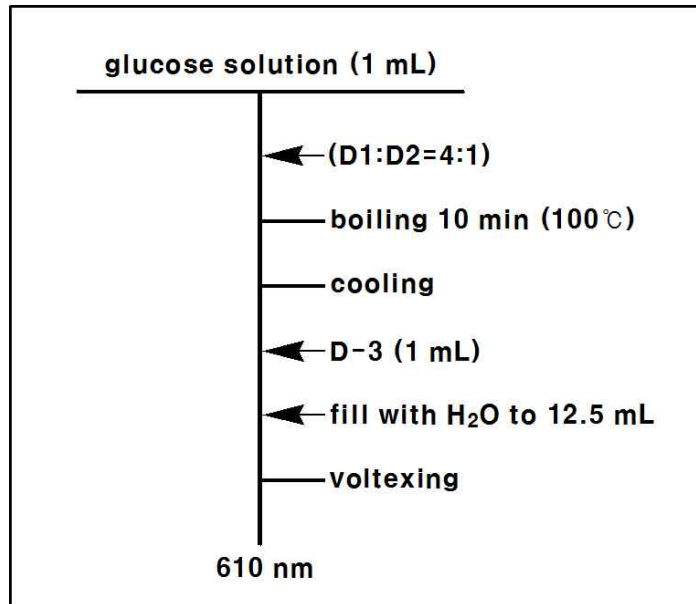
### 3) 효소 가수분해에 의한 환원당의 생성 정도 비교·확인 (그림 I-115)

- 효소처리한 시료(③~⑥)와 효소처리 하지 않은 시료(①, ②)간의 함량 및 효소 A (③, ⑤) 및 B (④, ⑥)의 환원당 생성능력을 비교함에 있어 다음과 같은 해석이 가능함.

※ 아래의 ①~⑥은 해당되는 각 시료 중의 환원당 함량 (mg/착즙박 wet wt. 100 g 상당량)임.

- ① = 비세척 착즙박에 본래 함유된 환원당의 함량 (4759.9)
- ② = 세척 착즙박에 본래 함유된 환원당의 함량 (10.19)
- ① - ② = 세척에 의해 제거된 환원당의 함량 (4749.7)
- ⑤ - ② = 세척 착즙박 이용시, 효소 A에 의해 새롭게 생성된 유리당의 함량 (1699.7)
- ⑥ - ② = 세척 착즙박 이용시, 효소 B에 의해 새롭게 생성된 유리당의 함량 (1057.4)
- ③ - ① = 비세척 착즙박 이용시, 효소 A에 의해 새롭게 생성된 유리당의 함량 (6372.4)
- ④ - ① = 비세척 착즙박 이용시, 효소 B에 의해 새롭게 생성된 유리당의 함량 (2997.9)
- ③ = 비세척 착즙박 이용시, 효소 A의 작용에 의해 새롭게 생성된 유리당의 함량 + 비세척 착즙박에 본래 함유된 유리당의 함량 (11132.24)
- ④ = 비세척 착즙박 이용시, 효소 B의 작용에 의해 새롭게 생성된 유리당의 함량 + 비세척 착즙박에 본래 함유된 유리당의 함량 (7757.73)
- ⑤ = 세척 착즙박 이용시, 효소 A의 작용에 의해 새롭게 생성된 유리당의 함량 + 세척 착즙박에 본래 함유된 유리당의 함량 (1709.9)
- ⑥ = 세척 착즙박 이용시, 효소 B의 작용에 의해 새롭게 생성된 유리당의 함량 + 세척 착즙박에 본래 함유된 유리당의 함량 (1067.6)
- 효소 A와 B의 환원당 생성률 비교: ⑤와 ⑥의 값을 비교 → ⑤ > ⑥

■ 그림 I-115. 세척 및 미세척 배착즙박 powder의 효소 처리 전·후 시료의 환원당 정량 방법(위)과 실험 결과(아래).



- ▶ Somogyi-nelson법에 의해 시료들에 함유된 환원당을 정량하였음.
- ▶ 환원당 측정 결과를 배착즙박 100 g wet wt. 상당량을 기준으로 나타낸 결과임.

- 본 결과로부터 효소가수분해에 의해 환원당이 새롭게 생성됨이 확인되었음.
- 특히, 효소 B보다 효소 A에 의한 환원당 생성능이 약 1.6 배 높음이 확인되었음.
- 따라서 배 착즙박의 효소가수분해에 의한 환원당 생성에 효소 B보다 효소 A가 더 효율적임이 확인되었음.

- 열수 및 유기용매에 의한 세척 시료를 대상으로 효소처리를 행한 이유는 착즙박에 처음부터 함유된 환원당을 제거함으로써 효소처리에 의해 새롭게 생성된 환원당의 함량을 보다 정확한 수준에서 정량하고자 한 것임.
- 그러나 배 착즙박을 biomass 소재로 활용하고자 할 때에는 오히려 세척을 행하지 않는 것이 더 효율적이라 판단됨.
- 따라서, 세척을 행하지 않고 효소 A를 처리하여 생성된 총 환원당의 함량(③, 11132.2 mg/착즙박 wet wt. 100 g 상당량)을 기준으로 하였을 때, 착즙박 wet wt. 100 g으로부터 약 11.1 g의 환원당이 확보됨이 확인되었음.
- 즉 착즙박의 wet wt.를 기준으로 하였을 때, 환원당의 수율은 11.1%임.
- 그리고, 착즙박 wet wt. 100 g을 건조하면, 약 40 g이 됨.
- 즉 착즙박의 dry wt.를 기준으로 하였을 때의 환원당 수율은 27.8%로 환산됨.
- 목질 등의 우수한 biomass의 경우, 가수분해에 의해 약 70% 정도까지의 수율이 확보된 것에 비하면 배착즙박으로부터 얻어진 환원당의 수율은 높은 수준이라 평가하기 어려움.
- 그러나, 우리나라에서 생산되고 있는 배의 당도가 10~12° Brix이며, 생과에 함유된 유리당의 대부분이 배 가공(착즙) 과정에서 제거됨과 가공 후에 얻어진 착즙박이 전량 폐기되어 왔음을 함께 고려하였을 때,
- 배 착즙박의 가수분해에 의해 얻어지는 환원당은 식품학적 및 biomass 산업 측면으로부터 유용성을 제고할 만한 소재라 판단됨.
- 이에, 본 결과로부터 배 가공 후에 발생하는 착즙박을 biomass 및 당 소재로써 활용할 수 있는 과학적 근거가 확보되었다고 판단되는 바, 추후 그 활용성이 기대됨.

마. 배착즙박의 전처리: 유리형 당 및 페놀성 화합물의 제거(그림 I-116)

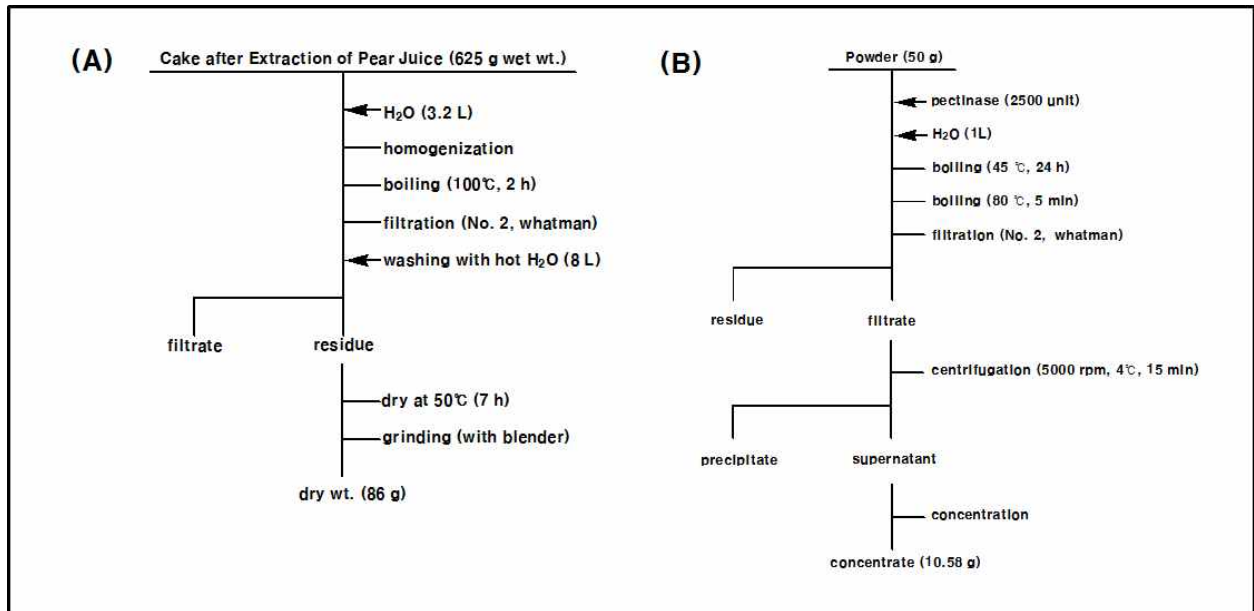
- 본 실험에서 배착즙박으로부터 얻고자 하는 것은 유용 올리고당임.
- 그러므로 열수 및 EtOH 세척으로 배착즙박에 함유된 페놀성 화합물 및 유리형 당을 제거하고자 하였음.
- 배 음료 가공공장에서부터 확보된 배착즙박 625 g (wet wt.)에 증류수 3.2 L를 가하여 균질화 후 100°C에서 2시간 가열시킴. 가열 후 얻어진 용액을 여과(No. 2, Whatman)하여 잔사에 뜨거운 증류수 8 L를 가하여 남은 유리형 당을 세척하고 그 잔사를 50°C 오븐(HMF-3080SS, Hanil, Seoul, Korea)에서 7시간 건조시킨 후, 믹서기(HMF-3080SS, Hanil, Seoul, Korea)를 이용하여 분말화하였음.
- 이러한 과정을 통해 배 착즙박의 유리형 당을 제거한 펙틴질을 얻었음.

바. 효소 가수분해 방법(그림 I-116)

- 배의 껍질에는 다량의 펙틴질이 함유되어 있다고 알려져 있음.
- 본 연구실에서는 다양한 예비실험을 통해 다음과 같은 효소가수분해 조건을 확립하였음.
- 배착즙박 100 g (wet wt.) 상당량을 증류수(275 mL)에 가하여 pectinase 563 unit을 첨가한 후, stirring을 행하면서 45°C에서 24시간 반응을 행하였음.
- 반응이 종료된 후 80°C에서 5분 동안 증탕하여 효소를 불활성화 시키고, 여과(No. 2, Whatman)하여 여액을 원심분리하였음.
- 이후, 원심분리(5000 rpm, 4°C, 15 min, VS-24SMII, Vison scientific, Seoul, Korea)를 통해 얻어진

상층액을 농축하여 증류수 15 mL로 용해 후, TLC 및 HPLC 분석을 통해 올리고당을 분석하였음.

■ 그림 I-116. 배착즙박의 열수세척 및 건조방법(A)과 효소 가수분해 방법(B).



사. 올리고당 생성물 확인 방법

(1) TLC 분석(그림 I-117)

- TLC 분석조건은 다음과 같음.

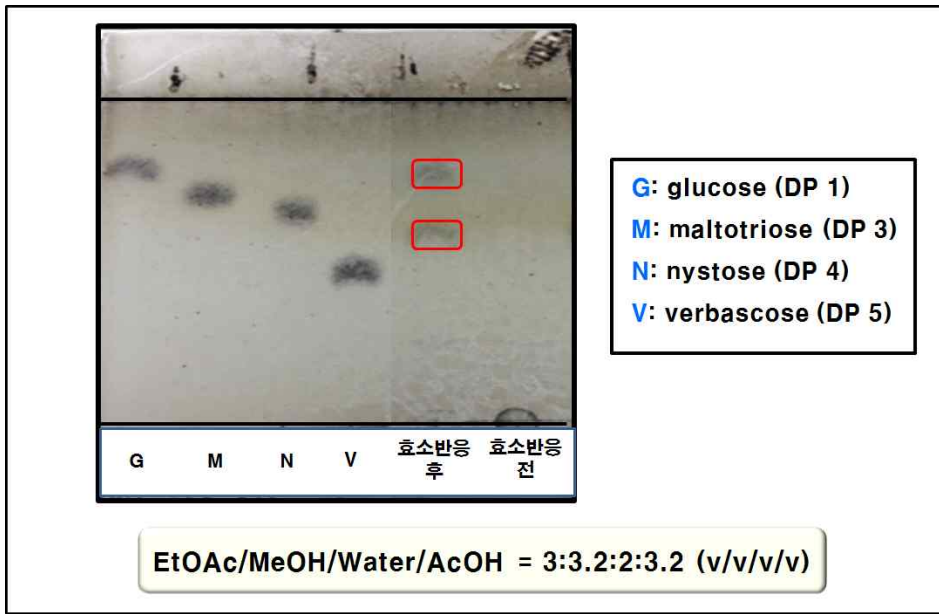
- Plate: TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub>, Merck, Germany
- 전개용매: EtOAc/MeOH/Water/AcOH = 3 : 3.2 : 2 : 3.2 (v/v)
- Detection: cerium 발색

- 1종의 단당류(glucose) 및 3종의 올리고당 표준품 [maltotriose (3당), nystose (4당), verbascose (5당)]과 함께 배착즙박의 효소가수분해 생성물을 TLC로 분석하였음.

- 그 결과, 단당류(glucose)와 표준품 올리고당의 TLC 상에서의 거동을 참고로 4~5의 올리고당으로 판단되는 R<sub>f</sub> 영역에서 spot이 검출되었음.

- 본 결과로부터 배착즙박의 가수분해 생성물에는 단당류와 4~5 당 정도의 올리고당이 혼합되어 있을 것으로 판단되었음.

■ 그림 I-117. 배착즙박의 효소 가수분해 생성물의 TLC 분석결과.



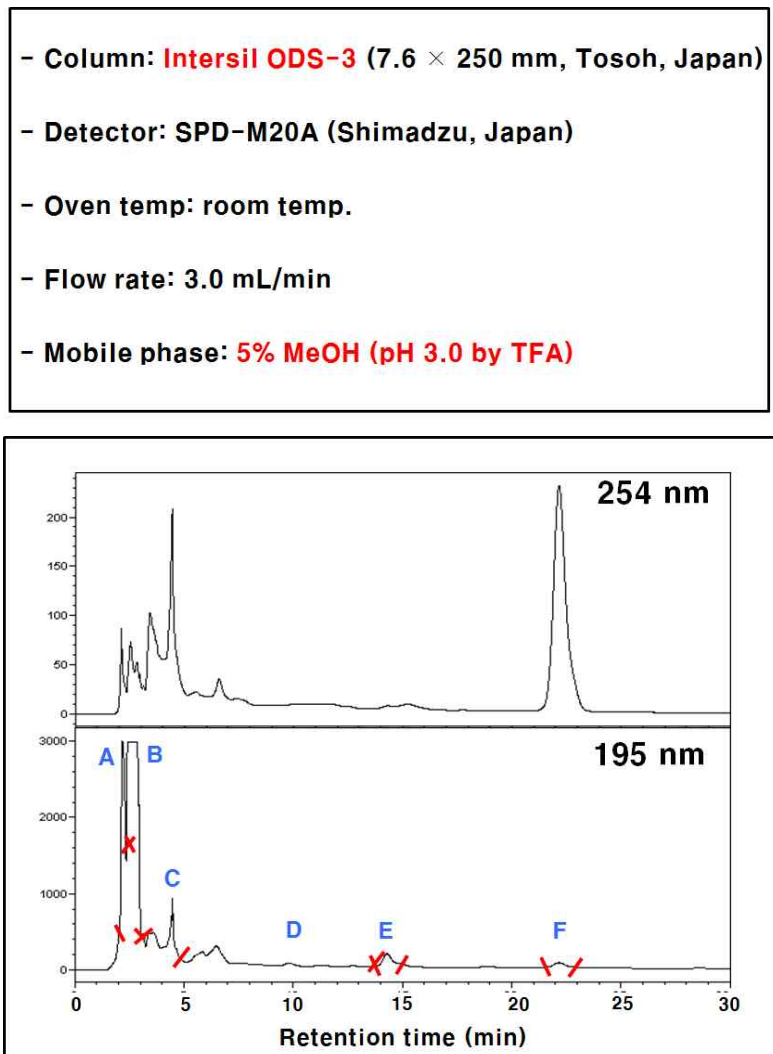
(2) Prep-HPLC 및 <sup>1</sup>H-NMR 분석

- 혼합된 당류들을 극성 차이에 의해 분리하기 위해 HPLC를 이용하여 분석을 행하였음.
- 분석 조건은 다음과 같음(그림 I-118).
  - Column: Intersil ODS-3 (7.6 x 250 mm, 5 μm, Tosoh, Japan)
  - 이동상: 5% MeOH (pH 3.0 by TFA), isocratic elution
  - Detection: SPD-M20A, Shimadzu, Japan
  - Pump: LC-6AD, Shimadzu, Japan
- 본 조건에서 HPLC 분석을 행하여 배착즙박의 효소가수분해 생성물로 판단되는 피크 E (그림 I-118, *t<sub>R</sub>* 14.29 min)의 화합물을 분취하여 분리하였음.
- 분리된 화합물의 보다 정확한 구조해석을 위해 분리 화합물을 DMSO-*d*<sub>6</sub>에 녹여 <sup>1</sup>H-NMR 분석을 행하였음.
- 피크 E의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 δ 6.5~7.5의 범위에 당의 anomeric proton에 귀속되어지는 signal들 4종이 검출되었음.
- 특히, δ 6.56에서 검출된 signal이 2H 분에 해당됨을 고려하였을 때,
- 피크 E는 5당으로 구성된 올리고당일 가능성이 시사되었음.
- 뿐만 아니라 δ 3.0~4.3의 범위에서 anomeric proton 이외의 당유래 proton signal들이 검출되어 화합물 E는 당으로 구성된 화합물일 가능성이 더욱 강하게 시사되었음.
- 또, δ 1.23에서 검출된 rhamnose의 methyl 기에 귀속되어지는 특징적인 예리한 proton signal이 검출되었던 것으로부터
- 피크 E의 화합물은 1종의 rhamnose를 함유하고 있을 가능성이 높게 시사되었음.
- 결과적으로, 본 연구에 의해 배착즙박의 효소가수분해에 의해 생성된 올리고당은 1종의 rhamnose를 포함한 5당으로 구성된 화합물일 가능성이 시사되었음.



- 현재, 피크 E의 화합물을 대상으로 보다 상세한 구조해석이 진행되고 있음.
- 추후 보다 정확한 구조가 해석되어짐으로써 신규성의 여부가 밝혀질 것이며,
- 만약, 신규 화합물인 것으로 밝혀질 경우, 본 연구에서 확립된 효소가수분해 방법에 더하여 수율을 향상시키기 위한 최적조건을 재검토한 위에 해당 화합물의 대량 조제를 행한 후,
- 다양한 생리활성을 평가할 필요가 있다고 판단됨.
- 반면, 기지 올리고당이라 할지라도 기존의 제조법과 비교하여 수율 및 경제성이 우수하다면, 이 또한 매우 의미 있는 활용 가치가 있다고 판단됨.
- 본 연구에 의해 지금까지 폐기되어 온 배착즙박을 이용하여 올리고당의 생성 가능성이 제시되었음.
- 본 연구성과를 바탕으로 폐기자원인 배착즙박의 활용성이 더욱 확대될 수 있는 근거가 제시되었다고 판단되며,
- 이와 같은 성과가 배 농가 및 배 가공업체의 수익창출로 연계될 수 있기를 기대함.

■ 그림 I-118. 배착즙박의 효소 가수분해 생성물의 Prep-HPLC 분석조건 (위), 배착즙박 효소 가수분해 생성물의 HPLC chromatogram (아래).



## <배 부산물(낙과, 비상품과, 미성숙과, 착즙박, 전정 가지)의 유용성 구명>

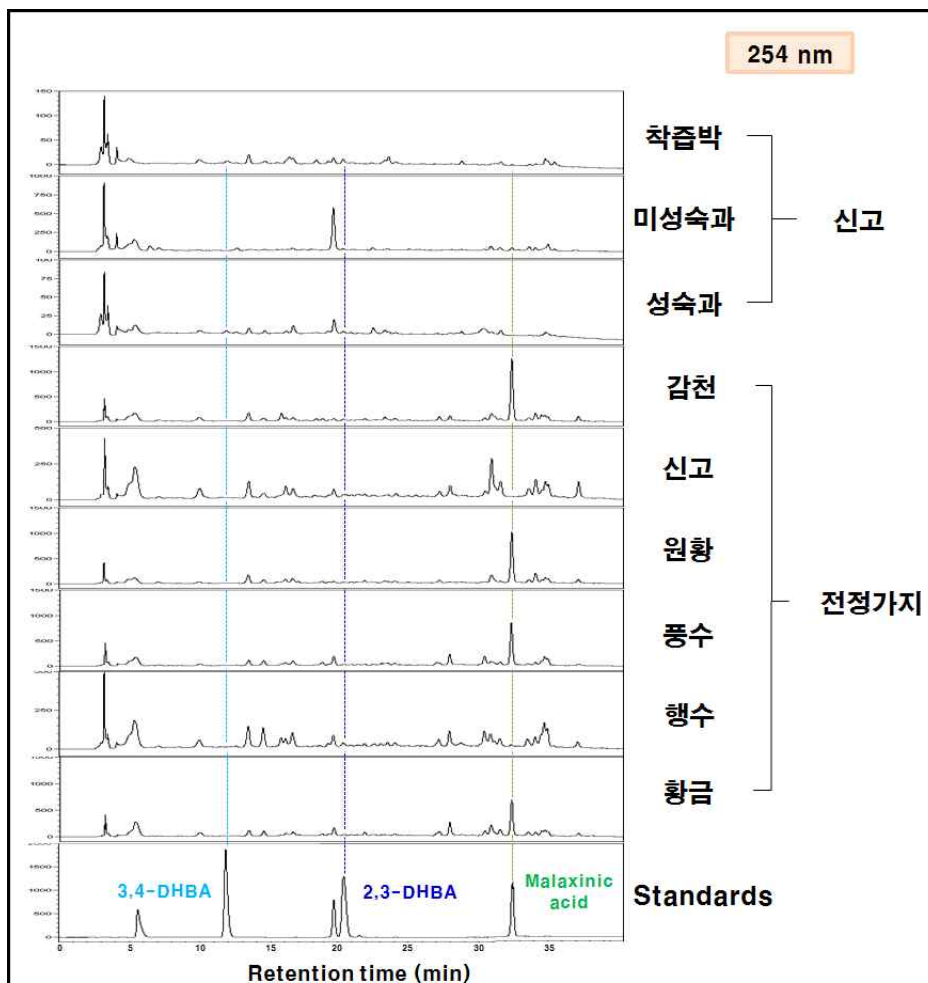
### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

#### 가. 재료 및 방법

##### (1) 시료선정

- 배 부산물 선정 이유: 상기 연구배경 참고
- 배 성숙과, 미성숙과 및 착즙박은 현재 우리나라에서 가장 생산량이 많은 신고 품종을 대상으로 유용성을 검토하였음.
- 전정가지는 본 연구그룹의 예비실험을 통해 몇 성분들이 특이적으로 다량 함유되어 있음이 확인된 바 있어(그림 I-119), 다양한 품종의 전정가지(감천, 신고, 원황, 풍수, 행수 및 황금)를 확보하여 실험에 이용하였음.

■ 그림 I-119. 배 부산물 함유 arbutin, 3,4-DHBA, chlorogenic acid, 3,4-DHBA 및 malaxinic acid의 chromatograms (254 nm).



▶ 3,4-DHBA, 2,3-DHBA 및 malaxinic acid는 254 nm에서 정량하였음.

(2) 배 부산물 중의 배 함유 주요성분 정량: HPLC 분석

- 분석 대상 화합물 선정이유: 상기 연구배경의 표 참고
- 분석 대상 화합물: arbutin, chlorogenic acid, 2,3-DHBA, 3,4-DHBA 및 malaxinic acid.
- 분석 대상 화합물의 추출법 및 HPLC 분석법을 자체적으로 확립.
- 각 화합물의 방해피크(순도) 유무, 추출률 및 검출한계 농도 확인.
- 각 화합물의 표준품을 80% MeOH에 녹여 일정 범위 내의 농도에서 각각 검량선을 작성하여 외부표준법에 의해 함량을 계산하였음.
- 분석시료 조제방법: 각 배 부산물의 신선중량 20 g 상당량에 MeOH 100 mL를 가한 후, 균질화(T-50 Ultra Turrax, Ika, Seoul, Korea)를 행한 다음, 실온·암소에 24시간 동안 정치시킨 후, 여과(No. 2, Whatman, England)를 행하여 얻어진 여액은 따로 취하고, 잔사에 MeOH 100 mL를 가하여 재차 균질화한 다음, 바로 여과(No. 2)하였음. 얻어진 각 시료의 여과액을 합하여 진공농축기(A-3S, Eyela, Tyoko, Japan)를 이용하여 38°C에서 농축한 다음, 얻어진 농축물을 80% MeOH 5 mL에 녹여 Millipore 여과장치(0.45 μm, PTFE)로 여과를 행한 여과액을 HPLC로 분석하였음.
- HPLC 분석조건(5종 화합물 동시 분석법):
  - Column: UG 120 (4.6 × 250 mm, Shiseido, Japan)
  - Flow rate: 1.0 mL/min
  - Injection volume: 20 μL
  - Oven temp.: 40°C
  - Detection: 254 nm, 280 nm (SPD-M20A, Shimadzu)
  - Mobile phase:

Time (min)	H <sub>2</sub> O (2% AcOH)	50% MeOH
0	100	0
30	0	100
40	0	100

(3) 배 부산물의 총 페놀성 화합물 및 총 Flavonoid의 정량을 위한 시료조제

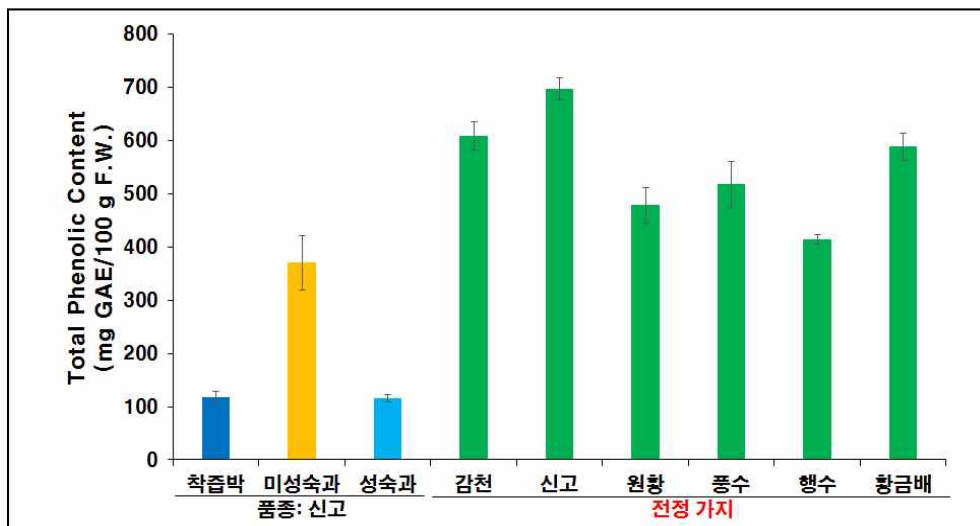
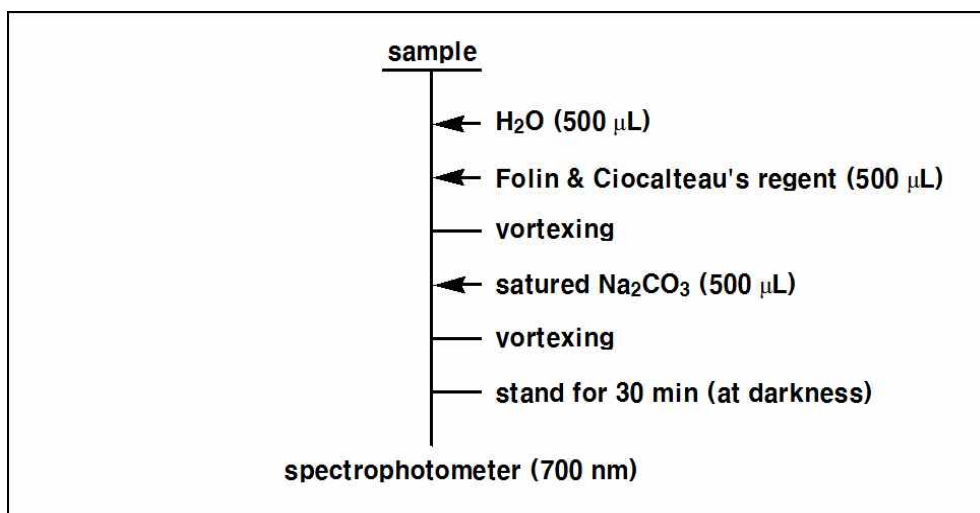
- 각 배 부산물의 신선중량 20 g 상당량에 MeOH 100 mL를 가한 후, 균질화(T-50 Ultra Turrax, Ika, Seoul, Korea)를 행한 다음, 실온·암소에서 24시간 동안 정치시킨 후, 여과(No. 2, Whatman, England)를 행하여 얻어진 여액은 따로 취하고, 잔사는 MeOH 100 mL를 가하여 재차 균질화한 다음, 바로 여과(No. 2, Whatman, England)하였음. 얻어진 각 시료의 여과액을 합하여 진공농축기(A-3S, Eyela, Tyoko, Japan)를 이용하여 38°C에서 농축한 다음, 얻어진 농축물을 80% MeOH 7 mL에 녹인 용액을 실험 목적에 따라 적당한 농도로 희석하여 총 페놀성 화합물 및 총 flavonoid 함량 평가에 사용하였음.

(4). 배 부산물의 총 페놀성 화합물 및 총 Flavonoid의 정량 방법

가) 총 페놀성 화합물 함량 분석 (그림 I-120)

- 상기 조제법에 의해 조제된 각 시료(신선중량 12 mg 상당량)에 Folin & Ciocalteu's phenol 시약(500 μL)을 가한 후, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화수용액(500 μL)을 혼합하여 암소에서 30분간 반응시킨 다음, ELISA (VERSAmax microplate reader, USA) 를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였음.
- 총 페놀성 화합물 함량은 gallic acid로 검량선을 작성하여 흡광도를 대입해 계산하였으며, gallic acid 상당량(GAE)으로 제시하였음.

■ 그림 I-120. 배 부산물의 총 페놀성 화합물 함량 분석 방법(위) 및 결과(아래).

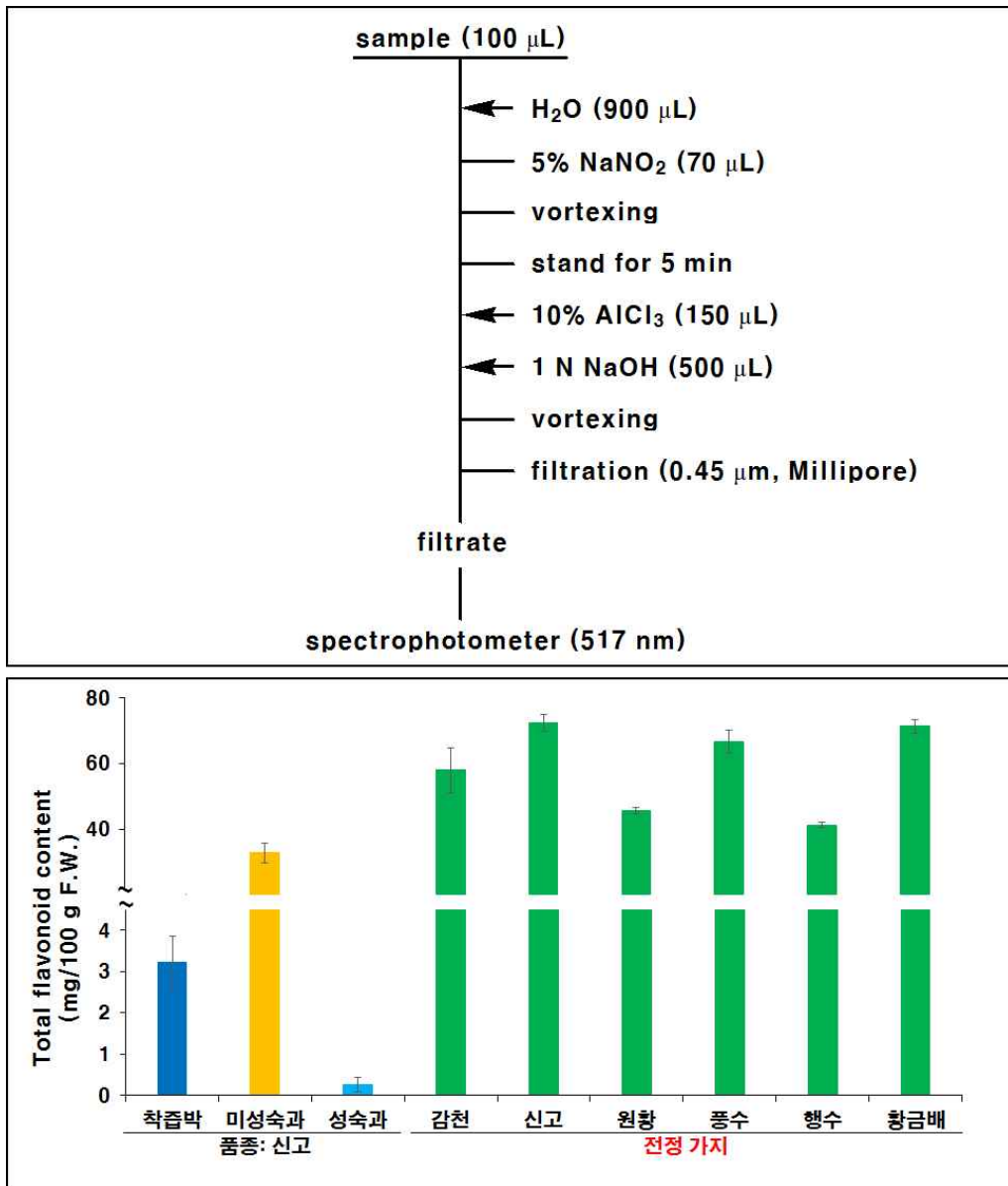


- ▶ 총 페놀성 화합물의 함량은 전정가지에서 가장 높게 나타났음.
- ▶ 그 함량(mg GAE/100g 신선중량 상당량)의 차이는 전정가지(6품종) > 미성숙과(신고, 370.6) > 착즙박(신고, 117.0) > 성숙과(신고, 115.2) 순이었으며, 착즙박과 성숙과의 경우 근소한 차이를 보였음.
- ▶ 전정가지의 경우, 신고(696.7) > 감천(608.5) > 황금(588.0) > 풍수(517.8) > 원황(477.9) > 행수(413.6) 순으로 품종에 따라 그 함량에 차이가 있었음.

나) 총 Flavonoid 함량 분석 (그림 I-121)

- 각 시료(신선중량 100 mg 상당량)에 H<sub>2</sub>O (900 μL)와 5% NaNO<sub>2</sub> 수용액(70 μL)을 혼합한 후 5분간 반응시킨 다음, 10% AlCl<sub>3</sub> 수용액(150 μL)과 1 N NaOH 용액(500 μL)을 혼합하여 millipore 여과(0.45 μm, PTFE)한 후, 얻어진 여과액을 ELISA (VERSAmax microplate reader, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정 하였음.
- 총 flavonoid 함량은 catechin으로 검량선을 작성하여 계산 하였으며, catechin 상당량으로 제시하였음.

▣ 그림 I-121. 배 부산물의 총 flavonoid 함량 분석 방법(위) 및 결과(아래).



▶ 총 flavonoid 함량(mg/100 g 신선중량 상당량)은 전정가지 > 미성숙과(신고, 32.7) > 착즙박(신고, 3.2) > 성숙과(신고, 0.3) 순으로 총 페놀성 화합물의 함량과 유사한 경향을 보였음.

▶ 전정가지 중 신고 품종이 72.4 mg으로 가장 높았으며, 신고(72.4) > 황금(71.4) > 풍수(66.8) > 감천(58.0) > 원황(45.6) > 행수(41.3) 순으로 함량에 차이가 나타났음.

(5) 배 부산물의 항산화 활성 평가를 위한 시료조제

- 각 배 부산물의 신선중량 20 g 상당량에 MeOH 100 mL를 가한 후, 균질화(T-50 Ultra Turrax, Ika, Seoul, Korea)를 행한 다음, 실온·암소에서 24시간 동안 정치시킨 후, 여과(No. 2, Whatman, England)를 행하여 얻어진 여액은 따로 취하고, 잔사에는 MeOH 100 mL를 가하여 재차 균질화한 다음, 바로 여과(No. 2, Whatman, England)하였음.
- 얻어진 각 시료의 여과액을 합하여 진공농축기(A-3S, Eyela, Tyoko, Japan)를 이용하여 38°C에서 농축한 다음, 얻어진 농축물을 80% MeOH 7 mL에 녹인 용액을 실험 목적에 따라 적당한 농도로 희석하여 항산화 활성 평가에 사용하였음.

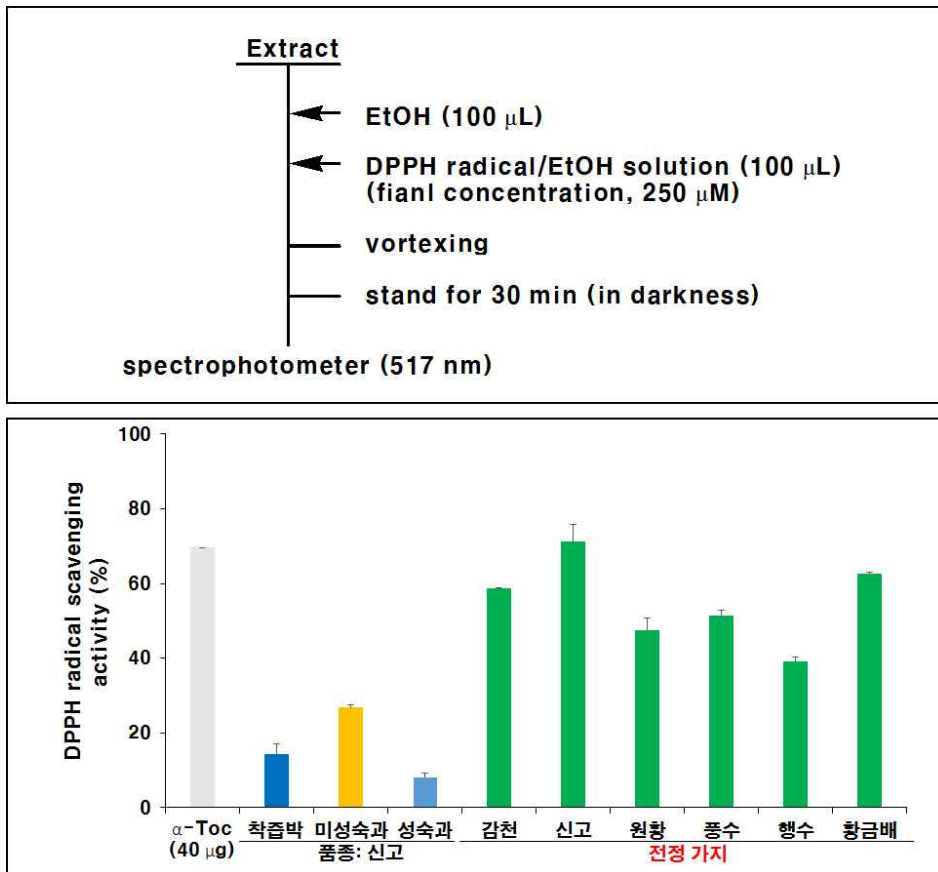
(6). 배 부산물의 항산화 활성 평가 방법

가) DPPH Radical-scavenging 활성 평가 방법 (그림 I-122)

- 상기 방법에 의해 조제된 각 시료의 80% MeOH 용액을 동일 용액으로 희석하여 1.2 mg 신선중량 상당량에 해당되는 시료를 100  $\mu$ L에 혼입되도록 하여 500  $\mu$ M DPPH EtOH 용액 100  $\mu$ L(최종 농도 250  $\mu$ M)에 첨가한 후, 암소에서 30분간 반응시킨 다음, ELISA (VERSAmix microplate reader USA)로 517 nm에서 흡광도 값(RS)을 측정하였음.
- 대조구로  $\alpha$ -tocopherol을 이용하였음.
- DPPH radical-scavenging 활성 정도는 다음과 같이 계산하였음.

$$\text{DPPH radical-scavenging activity (\%)} = [(\text{control} - \text{RS})/\text{control}] \times 100$$

■ 그림 I-122. 배 부산물의 DPPH radical-scavenging 활성 평가 방법(위) 및 결과(아래).

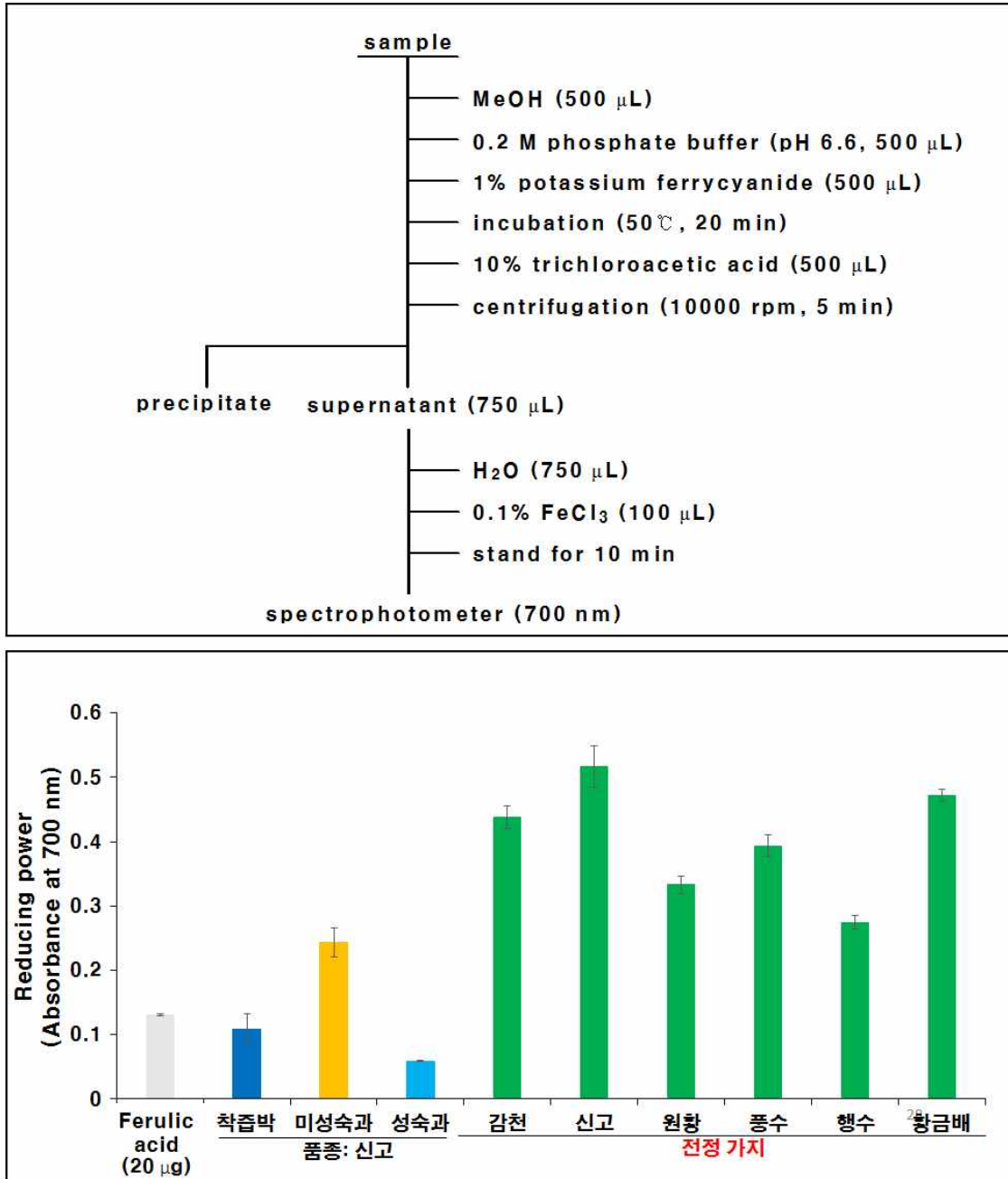


- ▶ DPPH radical-scavenging 활성은 전정가지가 미성숙과(신고, 26.8%), 착즙박(신고, 14.3%), 성숙과(신고, 8.1%)보다 높게 나타났음.
- ▶ 전정가지에서 신고 품종의 활성이 가장 높았으며, 신고(71.0 %) > 황금(62.5 %) > 감천(58.5 %) > 풍수(51.2 %) > 원황(47.5 %) > 행수(39.1 %) 순으로 차이를 보였음.

나) Reducing Power (환원력) 평가 방법 (그림 I-123)

- 각 시료(12 mg 신선중량 상당량)에 80% MeOH 500 µL, 0.2 M phosphate buffer (pH 6.6) 500 µL, 1% potassium ferricyanide 500 µL를 가하여 혼합한 후, 50°C에서 20분간 반응시켰음. 반응액에 10% trichloroacetic acid 용액 500 µL를 가한 다음, 원심분리(10000 rpm, 5 min)하여 얻어진 상층액 750 µL 에 H<sub>2</sub>O 750 µL와 0.1% FeCl<sub>3</sub> 수용액 100 µL를 가하여 10분간 방치 후, ELISA (VERSAmix microplate reader, USA)를 이용하여 700 nm에서 흡광도 값을 측정하였음.
- 환원력은 흡광도 값 자체로 제시하였음.
- 대조구로 ferulic acid를 이용하였음.

■ 그림 I-123. 배 부산물의 Reducing power 측정 방법(위) 및 결과(아래).



- ▶ 전정가지 > 미성숙과 > 착즙박 > 미성숙과 순으로 전정가지가 가장 높은 환원력을 보였음.
- ▶ 전정가지의 경우, 신고(0.52) > 황금(0.47) > 감천(0.44) > 풍수(0.39) > 원황(0.33) > 행수(0.28) 순으로 품종 간에 환원력의 차이가 관찰되었음.

다) ABTS<sup>+</sup> Radical- scavenging 활성 평가 방법 (그림 I-124)

- ABTS<sup>+</sup> radical 수용액(ABTS<sup>+</sup>)은 7 mM ABTS<sup>+</sup> 수용액과 2.5 mM potassium persulfate 수용액을 95:5 (v/v)의 비율로 혼합하여 암소에서 반응(4°C, 12 h)시킨 후, 735 nm에서 흡

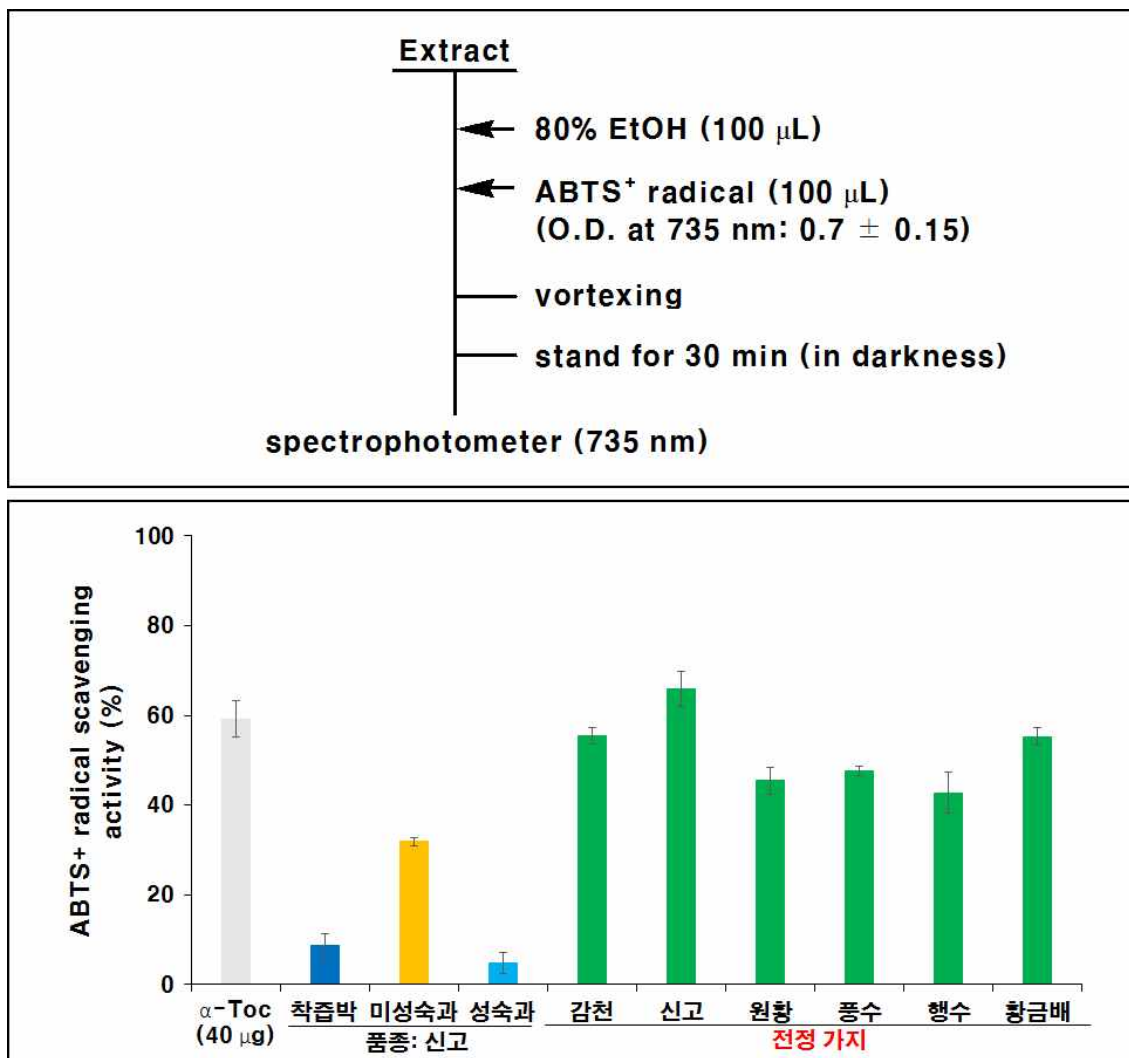


광도값이  $0.7 \pm 0.15$ 가 되도록 EtOH로 희석하여 사용하였음.

- 각 시료(0.6 mg 신선중량 상당량)와 80% EtOH 100  $\mu$ L, 희석된 ABTS $\cdot^+$  용액 100  $\mu$ L를 혼합하여 암소에서 30분간 반응시킨 후 ELISA (VERSAmix microplate reader, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도 값(RS)을 측정하였음.
- 대조구로  $\alpha$ -tocopherol 를 이용하였음.
- ABTS $^+$  radical-scavenging 활성 정도는 다음과 같이 계산하였음.

$$\text{ABTS}^+ \text{ radical-scavenging activity (\%)} = [(\text{control} - \text{RS})/\text{control}] \times 100$$

■ 그림 I-124. ABTS $^+$  radical-scavenging 활성 평가 방법(위) 및 결과(아래).



- ▶ ABTS $^+$  radical-scavenging 활성은 전정가지 6품종에서 높았음.
- ▶ 신고(65.9 %) > 감천(55.5 %) > 황금(55.2%) > 풍수(47.6 %) > 원황(45.5%) > 행수(42.7 %) 순으로 전정가지의 품종 간에 활성 차이가 관찰되었음.
- ▶ 미성숙과(신고, 31.9%)는 전정가지보다 활성이 낮았으나, 착즙박(신고, 8.6 %)과 성숙과(신고, 4.8%)보다 높은 활성을 보였음.

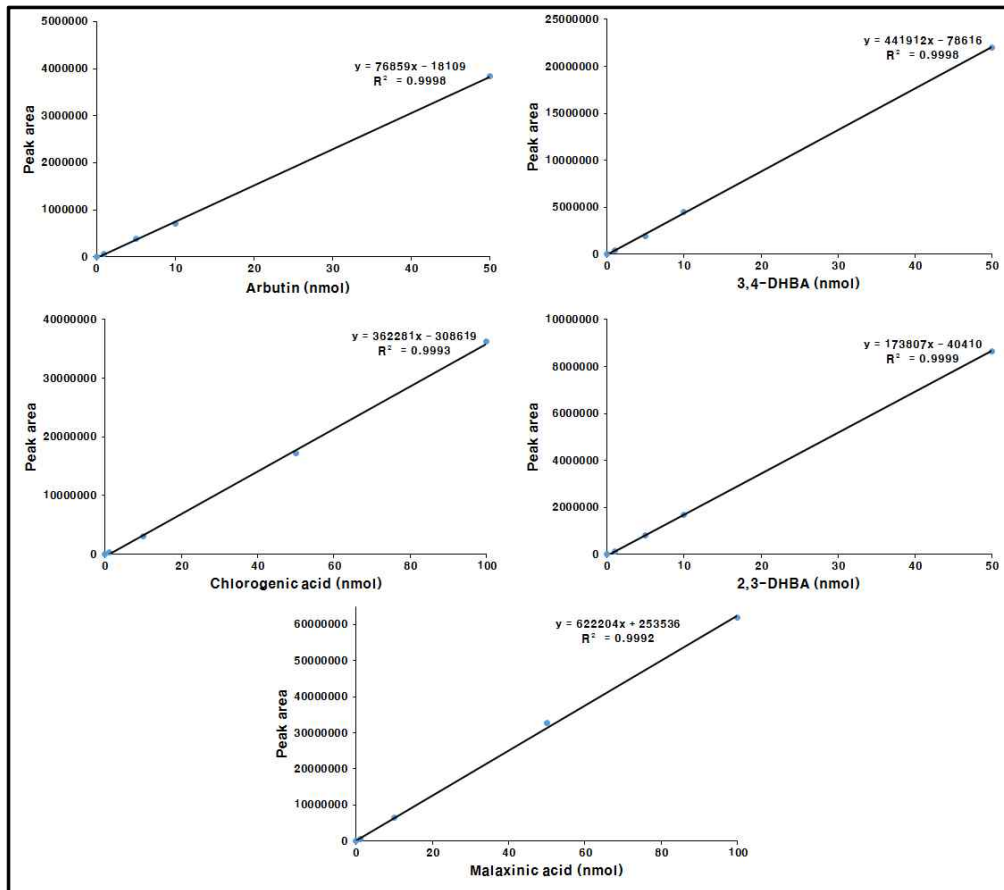
## 2. 연구내용 및 결과

### 1. HPLC를 이용한 배 부산물의 주요성분 정량

가) 분석 대상 5종 화합물의 검량선 작성

- 분석 대상 화합물 5종을 대상으로 각각의 검량선을 작성한 결과(그림 I-125), R<sup>2</sup> 값이 1에 접근한 직선성이 얻어졌음.

■ 그림 I-125. Arbutin, 3,4-DHBA, chlorogenic acid, 3,4-DHBA 및 Malaxinic acid의 표준곡선.



▶ 5종 화합물 모두에 있어 R<sup>2</sup> 값이 1에 근접한 직선성이 확보되었음.

나) 분석 대상 5종 화합물의 추출률

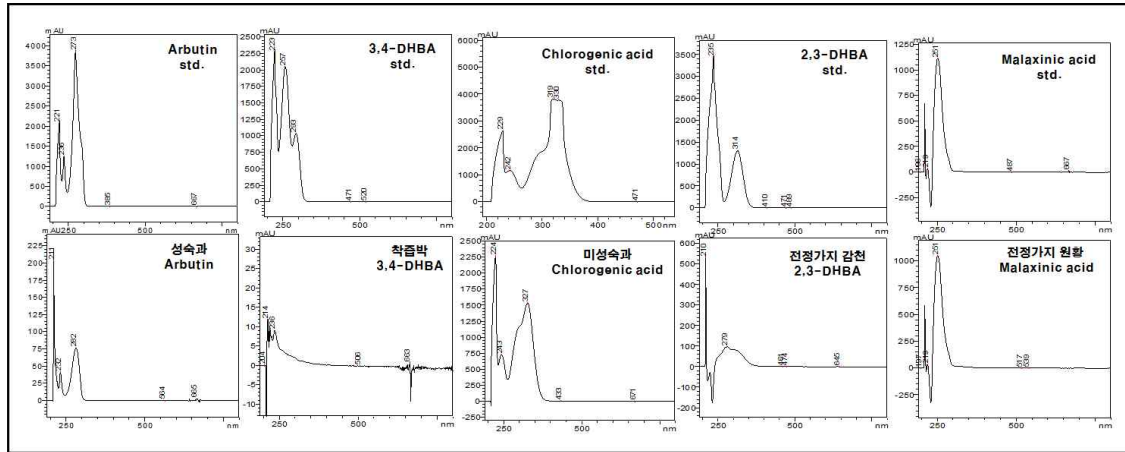
- 각 부산물 추출 시료에 기지농도의 분석대상 화합물 5종을 각각 첨가하여 상기의 “분석시료 조제방법”과 동일한 방법으로 행한 spike 추출법에 의해 각 화합물의 추출률을 확인한 결과, 모두 95% 이상의 우수한 추출률이 확보됨이 확인되었음.

다) 분석 대상 5종 화합물의 순도

- 확립된 분석조건에서 검출된 각 시료 중의 화합물들의 피크와 5종 화합물의 표준품 피크들 간에 PDA 상의 UV/VIS spectra를 비교한 결과(그림 I-126), 해당되는 각 피크들 간의 일치성이 확인되어 본 분석조건에 의해 분석 대상 화합물들의 정성 및 정량이 불순물의 방

해없이 가능성이 확인되었음.

■ 그림 I-126. 각 시료 중에 함유된 화합물들의 피크와 5종의 표준품 피크들 간에 PDA 상의 UV/VIS spectra.



- ▶ 표준품 피크들의 UV/VIS spectra와 각 시료 중 화합물들의 피크 spectrum을 비교한 결과, 해당되는 각 피크들 간의 일치성이 확인되었음.
- ▶ 따라서, 본 분석조건에 의해 분석 대상 화합물들의 정성 및 정량이 가능성이 확인되었음.

라) 시료 중의 분석 대상 5종 화합물의 정량

- 총 9종 시료 중에 함유된 5종 화합물의 함량 (mg/100 g)

시료 성분	성숙과 <sup>1)</sup> (신고)	미성숙과 <sup>1)</sup> (신고)	착즙박 <sup>2)</sup> (신고)	전정가지 <sup>1)</sup>					
				감천	신고	원황	풍수	행수	황금
Arbutin	18.8	286.1	2.5	482.6	551.9	337.2	390.5	372.1	609.0
Chlorogenic acid	1.8	39.0	1.4	3.1	4.3	4.4	9.3	5.7	11.5
2,3-DHBA	0.2	2.2	0.5	2.6	1.6	1.6	2.6	2.6	2.9
3,4-DHBA	0.1	0.4	0.2	0.7	0.8	0.6	0.7	0.6	0.7
Malaxinic acid	TR	1.2	TR	22.5	0.3	19.2	20.6	0.4	14.6

1) 신선중량 100 g 상당량을 기준으로 하였음.

2) Wet wt. 100 g 상당량을 기준으로 하였음.

TR: trace.

<Arbutin의 함량 비교>

- Arbutin의 함량(mg/100 g 신선중량 상당량)은 미성숙과(신고, 286.1)가 성숙과(신고, 18.8) 및 착즙박(신고, 2.5)보다 높았음.
- 그러나 전정가지에 함유된 arbutin 함량은 미성숙과(신고, 286.1)보다 전반적으로 높았음.
- 즉, 전정가지 중의 arbutin 함량은 황금(609.0) > 신고(551.9) > 감천(482.6) > 풍수(390.5)

- > 행수(372.1) > 원황(337.2) 순이었으며,
- 함량이 가장 높은 황금 전정가지 중의 arbutin 함량은 미성숙과 및 성숙과 중의 arbutin 함량보다 각각 2.1 및 32.4 배 높은 값을 보였음.
- 본 연구그룹의 선행연구<sup>(20)</sup>를 통해 배 미성숙과 중에 다량의 arbutin이 함유되었음이 확인된 바 있음.
- 피부미백효과가 매우 우수함이 인정된 arbutin을 천연미백 화장품 소재로 활용하기 위해 본 연구그룹의 선행연구에서 “배 미성숙과로부터 arbutin의 대량 간이 정제법”이 확립된 바 있음(참고문헌 22, 특허번호제 10-11295870000호).
- 그러나 배 미성숙과에 비해 배 전정가지에 arbutin이 약 2 배 정도 높게 함유되어 있음이 새롭게 밝혀졌음.
- 지금까지 전량 폐기되어 왔던 배나무 전정가지의 활용성에 관한 과학적 근거가 본 연구를 통해 처음으로 확인되었음.
- 이에, 배나무 전정가지는 천연 미백 화장품소재로서의 활용성이 충분하다고 판단됨.
- 본 연구 결과를 통해 배나무 전정가지의 새로운 활용성이 제시된 바, 배 농가의 수익창출 원으로써 배나무 전정가지의 활용성이 기대됨.

#### <Chlorogenic acid의 함량 비교>

- Chlorogenic acid의 함량(mg/100 g 신선중량 상당량)은 미성숙과(신고, 39.0)가 성숙과(신고, 1.8)와 착즙박(신고, 1.4)보다 30 배 이상 압도적으로 더 높게 함유되어 있었음.
- 그리고 arbutin과는 달리, 전정가지(3.1~11.5)에 있어서도 chlorogenic acid의 함량은 미성숙과에 현저히 높게 함유(3.4~12.6 배) 되어 있음이 확인되었음.
- 본 결과로부터, chlorogenic acid의 함량만을 기준으로 하였을 때, 전정가지보다 미성숙과의 활용성이 더 우수한 것으로 평가됨.

#### <2,3-DHBA의 함량 비교>

- 2,3-DHBA의 함량(mg/100 g 신선중량 상당량)은 성숙과(0.2)와 착즙박(0.5)에서 현저히 낮게 검출되었음.
- 미성숙과(신고, 2.2)와 전정가지(6품종)에 함유되어 있는 2,3-DHBA의 함량에는 큰 차이가 관찰되지 않았음.
- 본 항의 “연구배경” 중 “분석대상 5종 화합물의 특징 및 본 연구그룹의 선행연구 결과”를 정리한 표에서 전술하였듯이 2,3-DHBA는 항산화, 항미생물 등의 생리활성이 우수할 뿐만 아니라, 본 연구 수행 결과에도 제시된 바와 같이, radical-scavenging 수 및 radical-scavenging speed가 ascorbic acid보다 뛰어남이 확인된 성분임을 고려하였을 때,
- 미성숙과를 포함하여 전정가지는 2,3-DHBA의 측면에 있어서도 유용성을 고려할 만한 소재라 판단되었음.

#### <3,4-DHBA의 함량 비교>

- 3,4-DHBA의 함량(mg/100 g 신선중량 상당량)은 미성숙과(신고, 0.4), 전정가지(6품종; 0.

- 6~0.8), 성숙과(신고, 0.1) 및 착즙박(신고, 0.2) 중의 함량 차이는 2,3-DHBA와 유사한 경향을 보였으나,
- 3,4-DHBA의 함량은 2,3-DHBA보다 대부분 1/2 및 그 이하의 수준을 보였음.

<Malaxinic acid (MA)의 함량 비교>

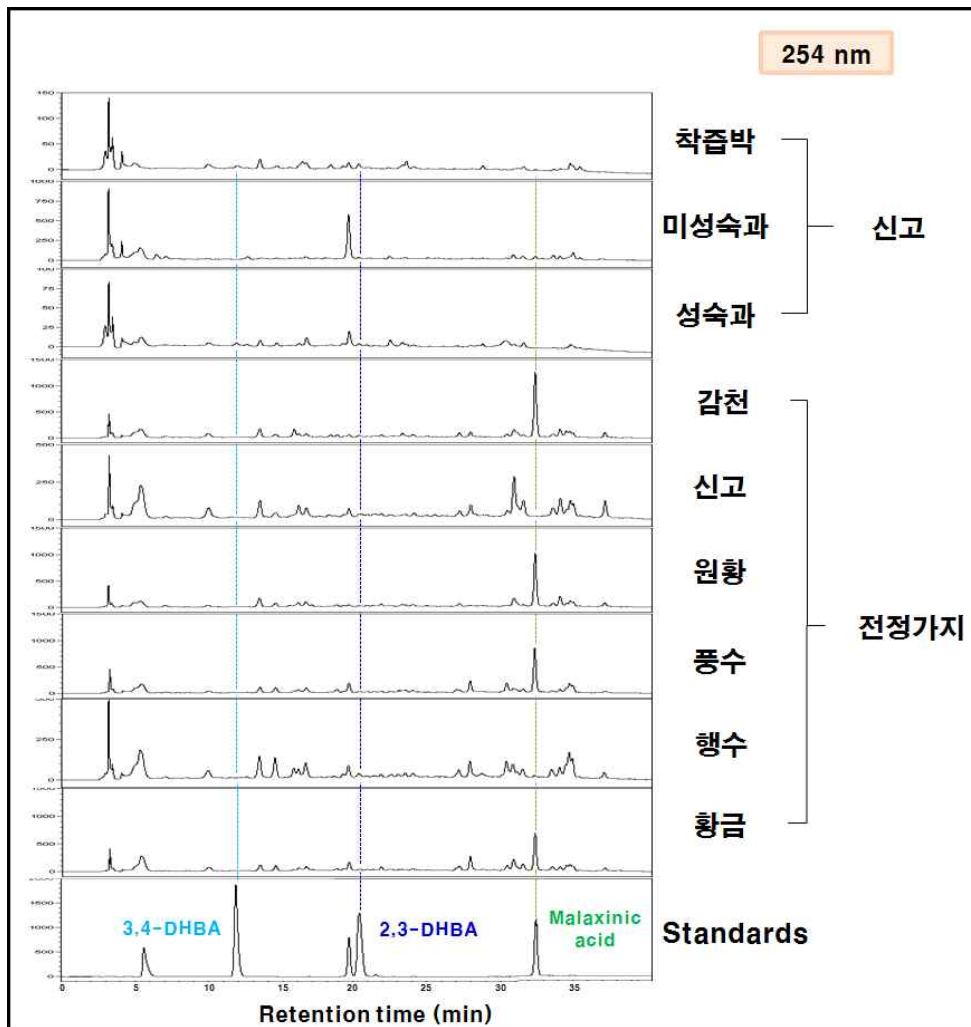
- 본 항의 “연구배경” 중 “분석대상 5종 화합물의 특징 및 본 연구그룹의 선행연구 결과”를 정리한 표에서 전술하였듯이 MA는 항산화, 항균 및 자궁경부암세포 사멸효과가 있는 것으로 보고되어 있음.
- 특히, 본 연구 성과를 통해 MA의 체내 흡수·대사 기전 및 혈중 대사체의 구조가 밝혀졌음(본 보고서의 pp. 100~101 그림 1-63~1-65 참고)은 물론,
- 혈액의 산화를 억제함으로써 동맥경화 예방 인자로서의 작용 가능성이 제시되었음.
- 이와 같은 근거로부터 MA는 배에 함유되어 있는 유용성분들 중 배를 대표하는 유용성분 중의 하나로 충분히 중요한 자리매김을 해오고 있는 성분이라 판단됨.
- 이에, 배 부산물들 중의 MA 함량을 검토한 결과,
- MA의 함유(mg/100 g 신선중량 상당량) 경향은 다른 성분들의 존재 경향과 많은 차이점을 보였음.
- 즉, 성숙과와 착즙박에는 미량만이 함유되어 있었고,
- 미성숙과에도 1.2 정도로 낮은 함량을 보였음.
- 또, 전정가지에 있어서도 품종에 따라 현저한 차이를 보였음.
- 즉, 품종별로 감천(22.5) > 풍수(20.6) > 원황(19.2) > 황금배(14.6) > 행수(0.4) > 신고(0.3) 순으로 품종 간에 MA의 함량에 큰 차이가 관찰되었음.
- 그리고, 신고와 행수에는 각각 0.3 및 0.4 정도로 낮은 함량을 보였음에 비해
- 감천, 원황, 풍수 및 황금에는 각각 22.5, 20.6, 19.2 및 14.6의 함량으로 신고와 행수보다 높은 함량을 보였음.
- 그들 중 감천 품종(22.5)의 전정가지에서 가장 높은 함량이 관찰되었으며,
- 신고 품종의 배 미성숙과(1.2)에 비해 무려 19 배 정도의 높은 함량을 보였음.
- 이 결과로부터 배나무 전정가지, 특히 감천 품종의 전정가지는 MA의 활용성 측면에 있어 매우 독보적인 가치를 지닌 천연소재로써의 활용성이 시사되었다고 판단됨.
- 특히, 매우 흥미로운 현상이 각 시료를 분석한 HPLC chromatogram으로부터 관찰되었음.
- 그림 I-127에 제시된 바와 같이, chromatogram 상의 retention time ( $t_R$ ) 25~37 분의 범위에서 MA의 피크( $t_R$  32.12 min)가 높게 검출된 감천, 원황, 풍수 및 황금의 경우, MA 전후에서 용출된 화합물들의 피크는 작게 검출되었음에 비해,
- 반대로, MA의 함량(피크)이 낮게 검출된 신고와 행수의 경우, MA의 전후에서 용출된 화합물들의 피크가 상대적으로 크게 검출되었음.
- 추후 보다 다양한 품종과 시기별 시료를 체계적으로 검토해야만 MA와 그 전후에서 검출된 화합물들 간의 상관성이 명확해질 것으로 사료되나,
- 품종 개발에 따른 계통에 의한 차이가 영향을 미친 것은 아닌지 검토할 필요가 있다고 판단됨.
- 우수한 생리활성이 인정되고 있는 MA가 지금까지 전량 폐기되어 왔던 배나무 전정가

지에 다량 함유되어 있음을 제시한 결과는 본 연구의 대표적인 성과 중의 하나라 판단됨.

- 추후 배나무 전정가지의 활용성을 살려 실용화함으로써 배농가의 소득창출이 기대됨.
- 배나무 전정가지 중에 함유된 MA로 판단된 화합물이 정말 MA인지를 분자수준에서 보다 정확히 확인할 필요가 있다고 판단되어
- MA라고 판단된 화합물, 즉 HPLC chromatogram 상의  $t_R$  32.12 min에서 검출된 화합물을 대상으로 단리 및 NMR 분석을 통해 동정을 행하였음.

※ 본 보고서에 데이터로 제시하지는 않았으나,  $t_R$  25~37 분의 범위에서 MA 전후에서 용출된 화합물들의 PDA 상에서의 UV/VIS spectra를 검토한 결과, 대부분이 flavonoid로 추정되는 spectra가 관찰되었음.

■ 그림 I-127. 배 부산물 함유 arbutin, 3,4-DHBA, chlorogenic acid, 3,4-DHBA 및 malaxinic acid의 chromatograms (254 nm).

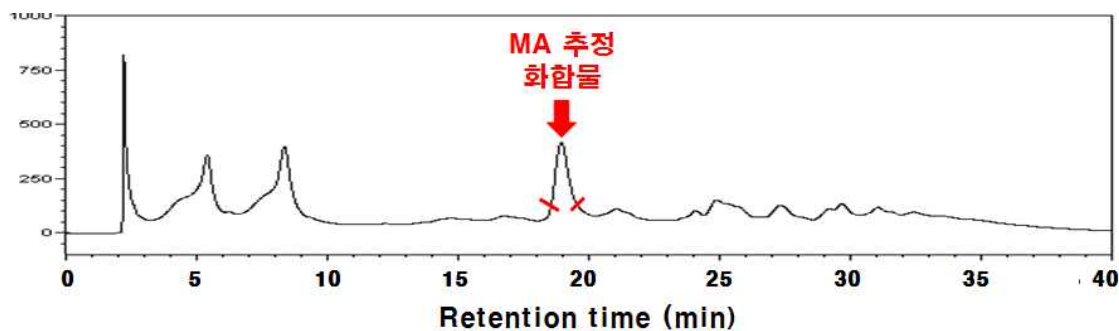


▶ 3,4-DHBA, 2,3-DHBA 및 malaxinic acid는 254 nm에서 정량하였음.

- 마) MA로 추정된 화합물의 단리: prep-HPLC에 의한 정제
- 원황 품종의 신선중량 전정가지 30 g을 적당한 크기로 세절한 다음, 상기 “분석시료 조제방법”에 제시된 방법과 동일한 조작을 행하여 추출물(1.8 g)을 얻었음.
  - 얻어진 추출물물 전량을 증류수(180 mL)로 현탁하여 지용성 화합물을 제거하기 위해 *n*-hexane 180 mL로 총 3회 용매분획을 행하였음.
  - *n*-Hexane층은 버리고, 물층을 EtOAc (180 mL × 3회)로 용매분획을 행하였음.
  - 얻어진 EtOAc층을 모두 합하여 회전진공농축기(A-3S, Eyela, Tyoko, Japan)를 이용하여 38°C에서 농축하였음.
  - 얻어진 EtOAc층의 농축물(61.08 mg, 신선중량 전정가지 30 g 상당량)을 대상으로 다음과 같은 조건에서 prep-HPLC를 이용하여 malaxinic acid로 판단되는 화합물(그림 I-128의  $t_R$  18.98 min의 피크)을 분취하였음.
  - prep-HPLC 조건:
    - Column:  $\mu$ bondapak<sup>TM</sup> C<sub>18</sub> (7.8 × 300 mm, Tosoh, Japan)
    - Detection: 210 nm, SPD-M20A (Shimadzu, Japan)
    - Flow rate: 5 mL/min
    - Mobile phase:

Time (min)	20%MeOH (pH 3.0 by TFA)	
	50%MeOH	
0	100	0
30	0	100
40	0	100

■ 그림 I-128. 원황 품종의 전정가지 추출물로부터 얻어진 EtOAc 획분의 prep-HPLC chromatogram (MA로 추정되는 화합물).



- ▶ Malaxinic acid로 추정되는 화합물의 보다 정확한 구조를 확인하기 위해 해당 화합물로 추정되는 용출 획분을 분취하였음.

- 바) 전정가지(원황)로부터 단리한 MA 추정 화합물의 구조해석
- HPLC chromatogram 상에서 MA로 추정된 화합물이 정말 malaxinic acid인지를 명확히 밝히기 위해 <sup>1</sup>H-NMR 분석을 행하였음.

- 이때 CD<sub>3</sub>OD를 용매로 하였으며, 내부표준물질인 tetramethylsilane (TMS)을 기준점( $\delta = 0$ )으로 하여 chemical shift를 측정하였음.
- 그림 I-129에 그 <sup>1</sup>H-NMR spectrum을 제시하였음.
- MA로 추정된 화합물의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum으로부터 3 치환체 benzene ring proton signal들 [ $\delta$  7.79(1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 7.17 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5), 7.84(1H, dd,  $J = 8.5, 2.0$  Hz, H-6)]에 더하여 당의 anomeric proton [ $\delta$  5.02 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1'')]을 포함한 당에 귀속되어지는 6종의 non-anomeric proton signal들 [ $\delta$  3.52 (1H, dd,  $J = 9.0, 7.5$  Hz, H-2''), 3.48 (1H, dd,  $J = 9.0, 9.0$  Hz, H-3''), 3.43 (1H, dd,  $J = 9.0, 9.0$  Hz, H-4''), 3.41 (1H, m, H-5''), 3.90 (1H, dd,  $J = 12.0, 2.3$  Hz, H-6''a), 3.70 (1H, dd,  $J = 12.0, 5.5$  Hz, H-6''b)]이 관찰되어  $\beta$ -D-glucose의 존재가 확인되었음.
- 그에 더하여 MA의 aglycone에 귀속되어지는 일련의 proton signal들, 즉 1 종의  $sp^2$  methine proton signal [ $\delta$  5.34 (1H, t, H-2')], 2 종의 methylene proton signal들 [ $\delta$  5.02 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1'a), 3.40 (1H, m, H-1'b)], 그리고 2 종의 methyl proton signal들 [ $\delta$  1.72 (3H, s, H-4'), 1.75 (3H, s, H-5')]이 관찰되어 MA aglycone의 구조가 확인되었음.

표 I-1. <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz,) data in CD<sub>3</sub>OD

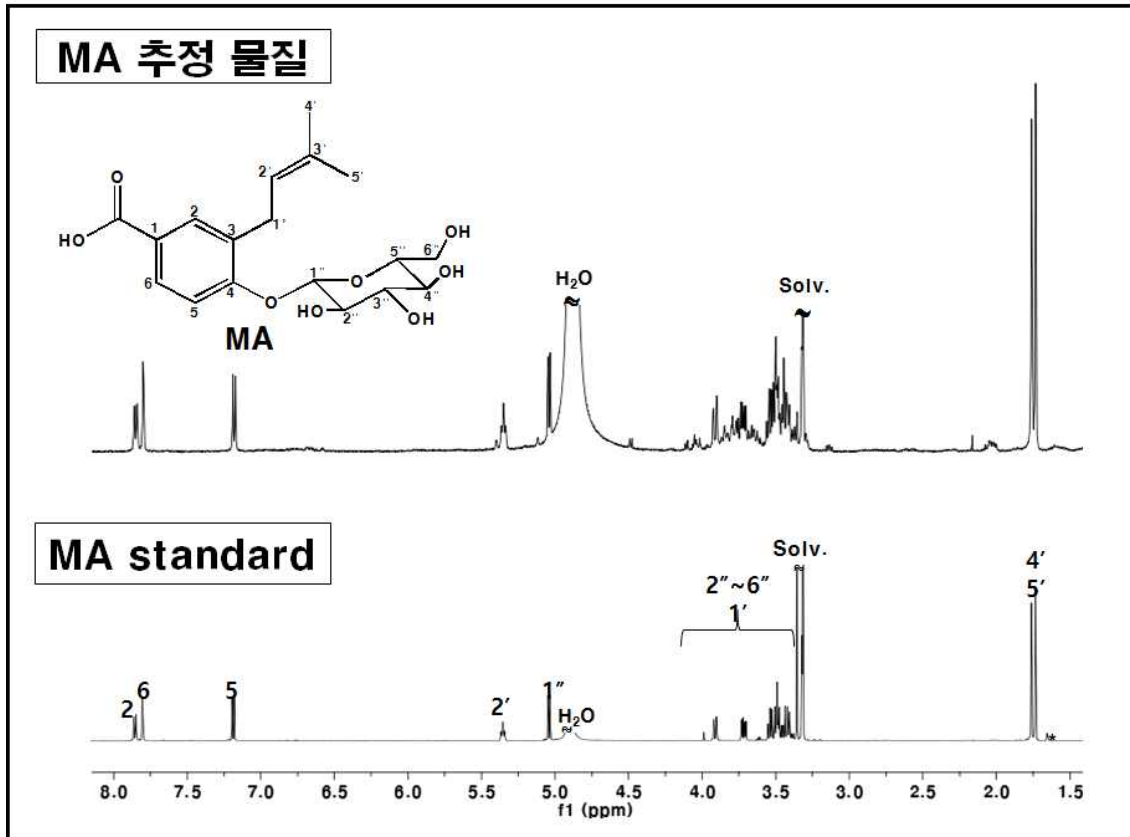
position	$\delta_H$ ( <i>int.</i> , <i>mult.</i> , $J$ in Hz)
2	7.79 (1H, d, 2.0)
5	7.17 (1H, d, 8.5)
6	7.84 (1H, dd, 8.5, 2.0)
1'	3.44 (1H, m)
2'	5.34 (1H, t)
4'	1.72 (3H, s)
5'	1.75 (3H, s)
1'a	5.02 (1H, d, 7.5)
1'b	3.40 (1H, m)
2''	3.52 (1H, dd, 9.0, 7.5)
3''	3.48 (1H, dd, 9.0, 9.0)
4''	3.43 (1H, dd, 9.0, 9.0)
5''	3.41 (1H, m)
6''a	3.90 (1H, dd, 12.0, 2.3)
6''b	3.70 (1H, dd, 12.0, 5.5)

- 이상의 NMR data로부터 MA로 추정되었던 단리 화합물이 MA일 가능성이 매우 높게 시사되었음.
- 신속한 동정을 위해 본 연구그룹의 선행연구에서 제시된 MA의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum (참고문헌 18)을 본 연구에서 단리된 화합물의 그것(그림 I-129)과 비교하였음.
- 그 결과, 양자의 spectra가 일치함이 확인되었음(그림 I-129).
- 이에, 본 연구에서 MA로 추정되었던 화합물이 틀림없는 malaxinic acid [3-(3'-methyl-2'-butenyl)benzoic acid]인 것으로 동정되었음.



- 이 NMR 분석결과로부터 상기의 MA 정량분석 결과에 대한 타당성 및 정확성이 확보되었음.

▣ 그림 I-129. MA로 추정되는 화합물(상) 및 MA 표준품(하)의 1H-NMR spectra (500 MHz, CD3OD).



- ▶ 기존에 보고된 malaxinic acid data와 비교한 결과, 일치성이 확인되었음.
- ▶ 본 연구에 의해 단리된 화합물이 malaxinic acid인 것으로 명확히 동정되었음.
- ※ MA 표준품은 본 연구실의 선행연구를 통해 유기합성된 화합물을 이용하였음.

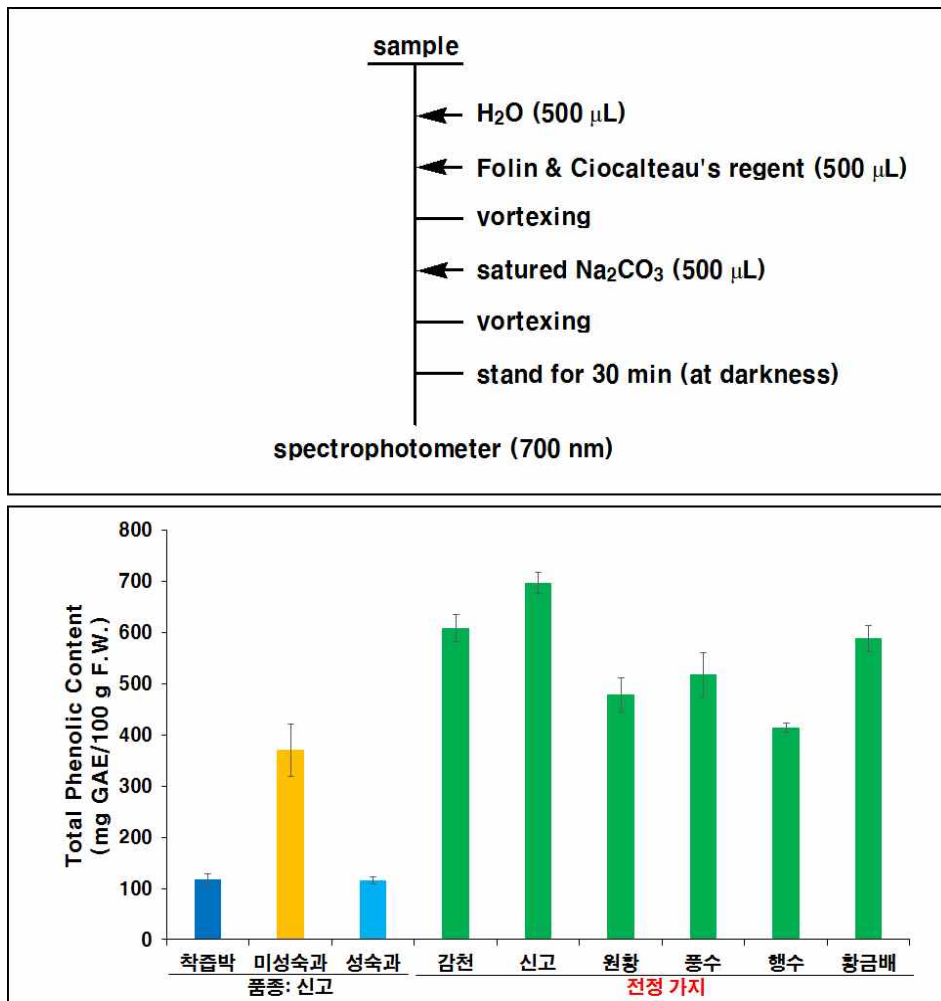
표 I-2. 배 부산물의 총 페놀성 화합물 및 총 Flavonoid의 함량

평가항목	시료	성숙과 (신고)	미성숙과 (신고)	착즙박 (신고)	전정가지					
					감천	신고	원황	풍수	행수	황금
총 페놀성 화합물 총		115.2	370.6	117.0	608.5	696.7	477.9	517.8	413.6	588.0
flavonoid 화합물		0.3	32.7	3.2	58.0	72.4	45.6	66.8	41.3	71.4

가) 총 페놀성 화합물 함량 (그림 I-130)

- 총 페놀성 화합물의 함량(mg GAE/100 g 신선중량 상당량)은 전정가지(6품종; 413.6~696.7) > 미성숙과(신고, 370.6) > 착즙박(신고, 117.0) > 성숙과(신고, 115.2) 순으로 시료들 간에 큰 차이를 보였으며,
- 착즙박과 성숙과의 경우 각각 117.0과 115.2로 유사한 함량을 보였음.
- 미성숙과(신고, 370.6)는 착즙박(신고, 117.0)과 성숙과(신고, 115.2)보다 더 높은 함량의 총 페놀성 화합물이 함유되어 있었으나,
- 전정가지 중에서 가장 낮은 함량을 보였던 행수 품종(413.6)이 미성숙과 보다 무려 43.0 mg 이 더 함유되어 있었음.
- 총 페놀성 화합물의 함량이 전반적으로 높게 검출된 전정가지의 경우, 신고(696.7) > 감천(608.5) > 황금(588.0) > 풍수(517.8) > 원황(477.9) > 행수(413.6) 순으로 품종에 따라 많게는 283.1의 차이를 보였음.
- 전정가지 중 신고(696.7) 품종에 있어 가장 높은 총 페놀성 화합물의 함량이 관찰되었으며, 배 성숙과(신고, 115.2)보다 6 배 정도 높은 함량을 보였음.

■ 그림 I-130. 배 부산물의 총 페놀성 화합물 함량 분석 방법(위) 및 결과(아래).



▶ 총 페놀성 화합물의 함량은 전정가지에서 가장 높게 나타났음.

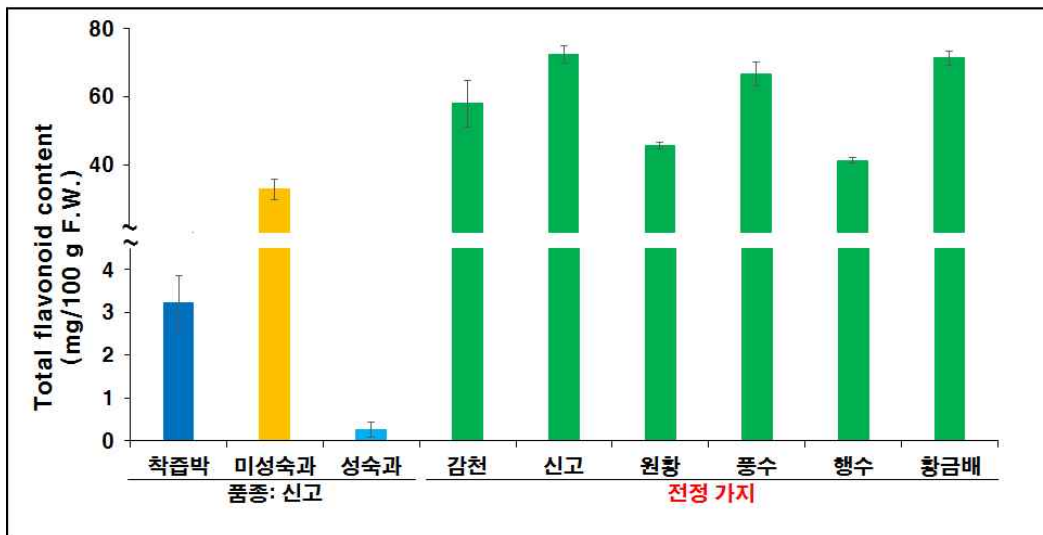
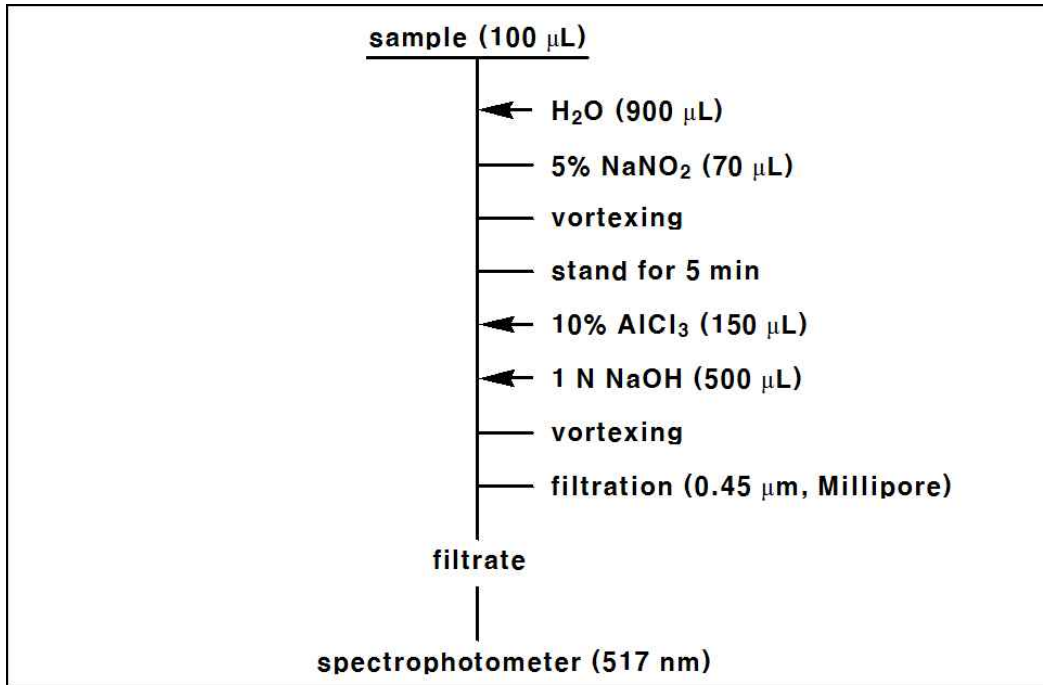
▶ 그 함량(mg GAE/100g 신선중량 상당량)의 차이는 전정가지(6품종) > 미성숙과(신고,

370.6) > 착즙박(신고, 117.0) > 성숙과(신고, 115.2) 순이었으며, 착즙박과 성숙과의 경우 근소한 차이를 보였음.

- ▶ 전정가지의 경우, 신고(696.7) > 감천(608.5) > 황금(588.0) > 풍수(517.8) > 원황(477.9) > 행수(413.6) 순으로 품종에 따라 그 함량에 차이가 있었음.

나) 총 Flavonoid 함량 (그림 I-131)

■ 그림 I-131. 배 부산물의 총 flavonoid 함량 분석 방법(위) 및 결과(아래).



- ▶ 총 flavonoid 함량(mg/100 g 신선중량 상당량)은 전정가지 > 미성숙과(신고, 32.7) > 착즙박(신고, 3.2) > 성숙과(신고, 0.3) 순으로 총 페놀성 화합물의 함량과 유사한 경향을 보였음.

- ▶ 전정가지 중 신고 품종이 72.4 mg으로 가장 높았으며, 신고(72.4) > 황금(71.4) > 풍수(66.8) > 감천(58.0) > 원황(45.6) > 행수(41.3) 순으로 함량에 차이가 나타났음.

- 총 flavonoid 함량(mg/100 g 신선중량 상당량)은 전정가지(6품종; 41.3~72.4) > 미성숙과(신고, 32.7) > 착즙박(신고, 3.2) > 성숙과(신고, 0.3) 순으로 총 페놀성 화합물 함량 순서와 유사한 경향을 보였음.
- 성숙과의 경우, 0.3 정도로 시료 중 가장 낮은 함량을 보였으며, 전정가지 중의 함량은 성숙과 중의 함량보다 무려 137.7~240.3 배 높은 함량을 보였음.
- 전정가지에서는 신고(72.4) > 황금(71.4) > 풍수(66.8) > 감천(58.0) > 원황(45.6) > 행수(41.3) 순으로 품종 간에 많게는 100 g 신선중량 상당량을 기준으로 31.1 mg의 차이를 보였음.
- 총 flavonoid 함량이 전정가지 다음으로 높았던 미성숙과(신고, 32.7)의 경우, 착즙박(신고, 3.2)과 성숙과(신고, 0.3)보다 각각 10 배 및 100 배 이상 높은 함량을 보였으나,
- 전정가지(6품종; 41.3~72.4)와 비교하였을 때, 전정가지가 미성숙과보다 약 1.3~2.2 배 더 높은 함량을 보였음.

**➔ 총 페놀성 화합물 및 총 Flavonoid의 함량 측면에 있어 전정가지는 본 연구에서 대상으로 한 부산물들 중 가장 우수한 특징을 보였음.**

표 I-3. 배 부산물의 항산화 활성 평가 결과 비교

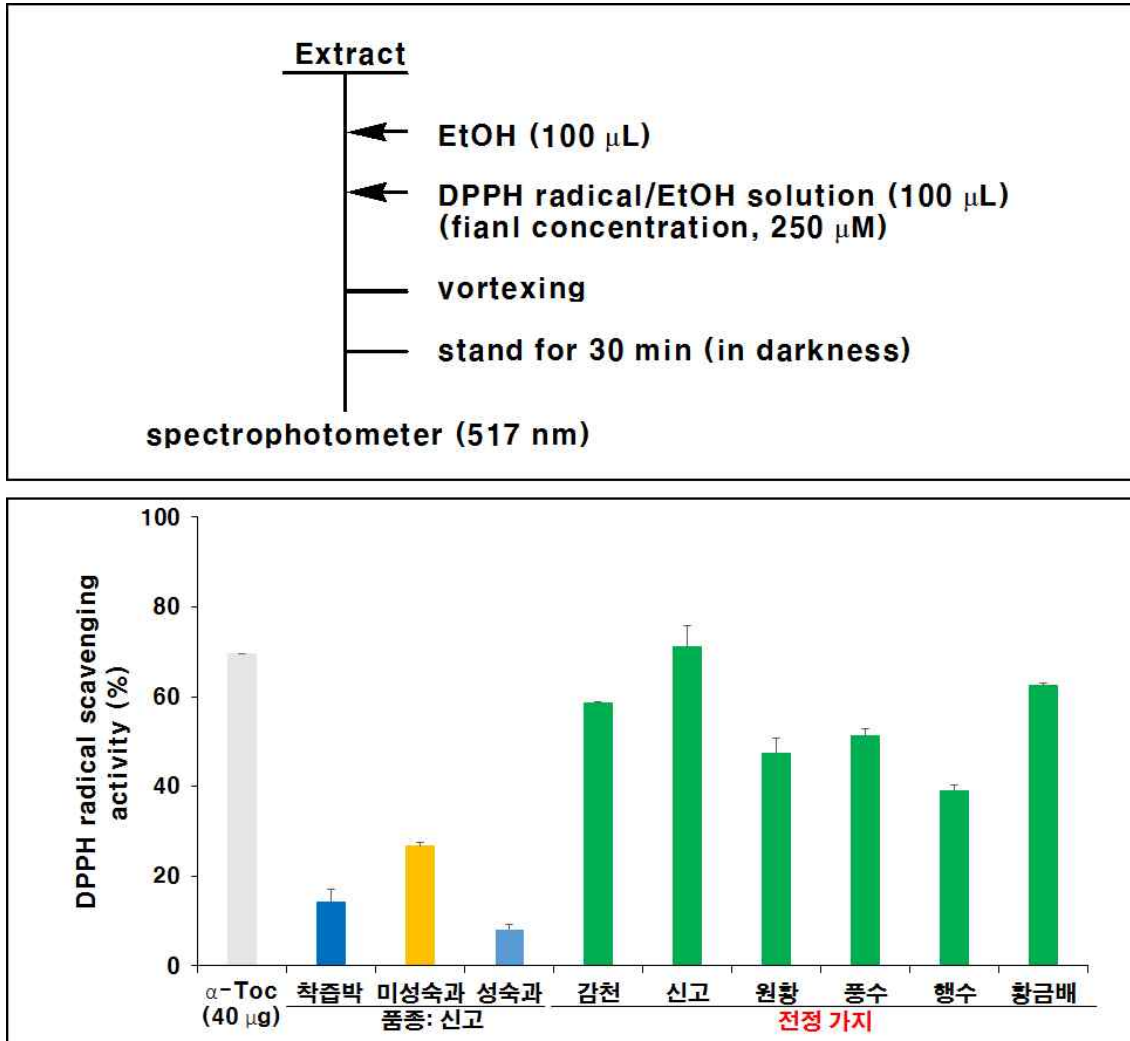
평가항목	시료	성숙과 (신고)	미성숙과 (신고)	착즙박 (신고)	전정가지					
					감천	신고	원황	풍수	행수	황금
DPPH Radical-scavenging 활성 (%)		8.1	26.8	14.3	58.5	71.0	47.5	51.2	39.1	62.5
Reducing Power		0.06	0.24	0.11	0.44	0.52	0.33	0.39	0.28	0.47
ABTS <sup>+</sup> radical-scavenging 활성 (%)		4.8	31.9	8.6	55.5	65.9	45.4	47.6	42.7	55.2

가) 각 시료의 DPPH Radical-scavenging 활성 (그림 I-132)

- 시료 각각의 신선중량 1.2 mg에 해당하는 추출물을 대상으로 DPPH radical-scavenging 활성을 비교하였음.
- 전정가지(6품종; 39.1~71.0%) > 미성숙과(신고, 26.8%) > 착즙박(신고, 14.3%) > 성숙과(신고, 8.1%) 순으로 전정가지가 가장 높은 활성을 보였음.
- 전정가지의 경우, 품종에 따라 그 활성에 차이가 관찰되었는데,
- 신고(71.0%) > 황금(62.5%) > 감천(58.5%) > 풍수(51.2%) > 원황(47.5%) > 행수(39.1%) 순이었음.
- 미성숙과(신고, 26.8%)와 착즙박(신고, 14.3%)은 DPPH radical-scavenging 활성이 가장 낮았던 성숙과(신고, 8.1%)보다 각각 18.7% 및 6.2% 더 높은 활성을 보였음.
- 전정가지(6품종; 39.1~71.0%)의 활성은 성숙과(신고, 8.1%)보다 4.8~8.8 배 더 높은 DPPH radical-scavenging 활성을 보였음.
- 각 시료의 DPPH radical-scavenging 활성의 경향은 총 페놀성 화합물의 함량 및 총 flavonoid 함량과 매우 유사한 경향을 보였음.

- 그 결과들로부터 전정가지의 가장 높은 DPPH radical-scavenging 활성은 전정가지에 함유된 총 flavonoid 및 총 페놀성 화합물의 함량에 기인한 것으로 판단됨.

■ 그림 I-132. 배 부산물의 DPPH radical-scavenging 활성 평가 방법(위) 및 결과(아래).



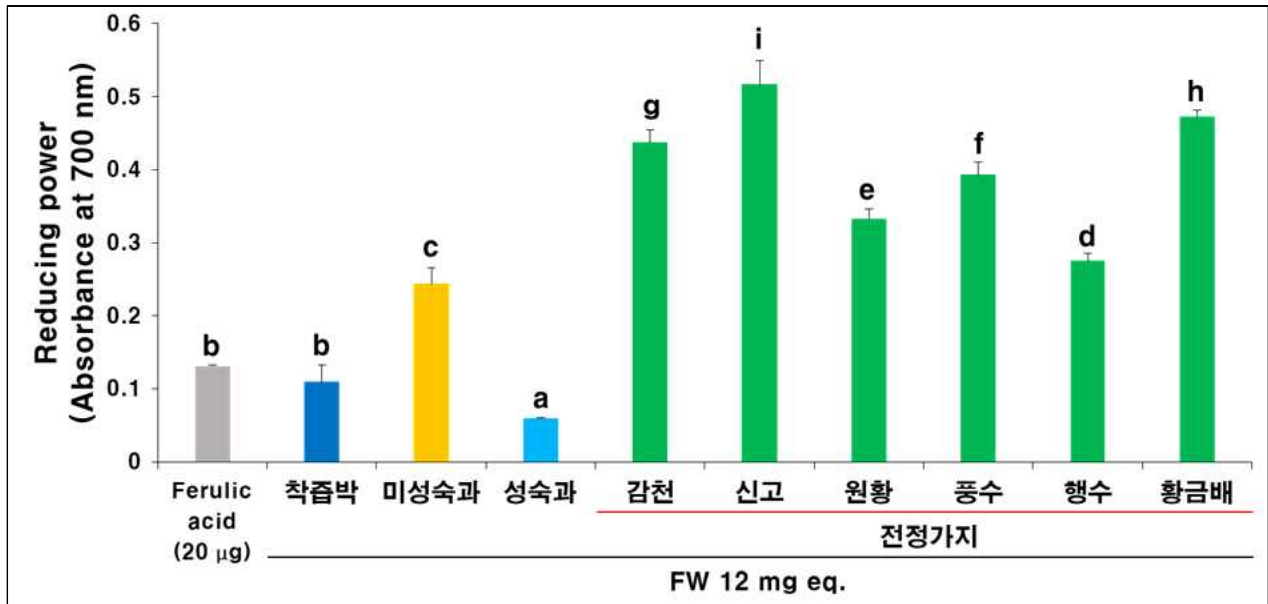
- ▶ DPPH radical-scavenging 활성은 전정가지가 미성숙과(신고, 26.8%), 착즙박(신고, 14.3%),성숙과(신고, 8.1%)보다 높게 나타났음.
- ▶ 전정가지에서 신고 품종의 활성이 가장 높았으며, 신고(71.0 %) > 황금(62.5 %) > 감천(58.5 %) > 풍수(51.2 %) > 원황(47.5 %) > 행수(39.1 %) 순으로 차이를 보였음.

나) Reducing Power (환원력) (그림 I-133)

- 각 시료의 신선중량 12 mg 상당량을 대상으로 환원력을 평가하였음.
- 착즙박(신고, 0.11)과 성숙과(신고, 0.06)는 대조구인 ferulic acid 20 µg (0.13)보다 각각 0.02, 0.07 정도의 낮은 환원력을 나타냈음.
- 그러나 미성숙과(신고, 0.24)와 전정가지(6품종; 0.28~0.52)는 ferulic acid보다 각각 0.11, 0.15~0.39 정도 더 높은 환원력을 보였음.
- 즉, 본 환원력 평가에 있어서도 전정가지가 가장 높은 환원력을 보였음.

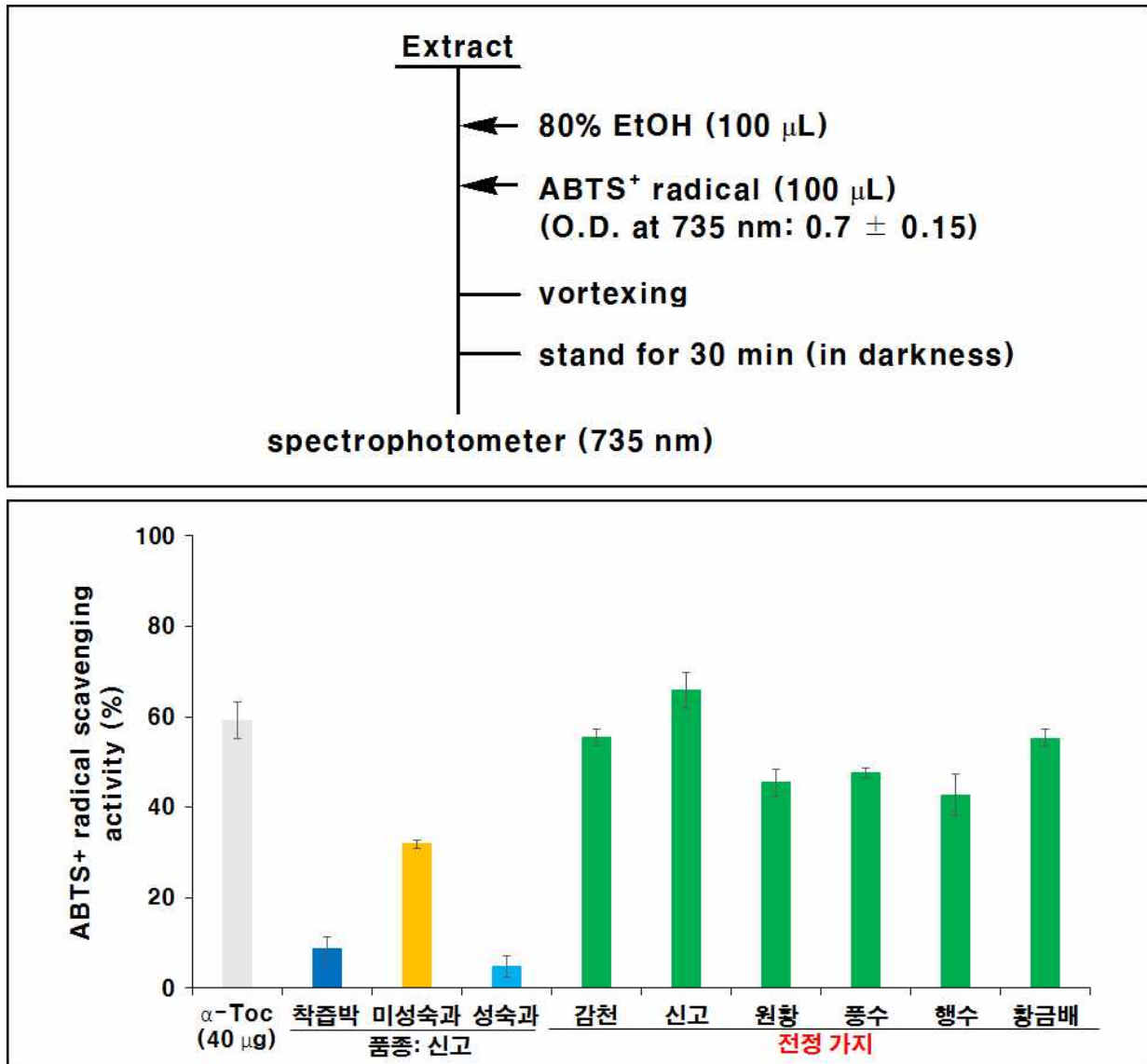
- 전정가지의 환원력은 품종별로 차이를 보였는데,
- 신고(0.52) > 황금(0.47) > 감천(0.44) > 풍수(0.39) > 원황(0.33) > 행수(0.28) 순이었음.
- 이 중 환원력이 가장 높았던 신고 품종의 전정가지(0.52)는 대조구(0.13)보다 환원력이 약 4 배 더 높았음.

■ 그림 I-133. 배 부산물의 Reducing Power 활성결과



다) ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성 평가 (그림 I-134)

▣ 그림 I-134. ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성 평가 방법(위) 및 결과(아래).



- ▶ ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성은 전정가지 6품종에서 높았음.
- ▶ 신고(65.9 %) > 감천(55.5 %) > 황금(55.2%) > 풍수(47.6 %) > 원황(45.5%) > 행수(42.7 %) 순으로 전정가지의 품종 간에 활성 차이가 관찰되었음.
- ▶ 미성숙과(신고, 31.9%)는 전정가지보다 활성이 낮았으나, 착즙박(신고, 8.6 %)과 성숙과(신고, 4.8%)보다 높은 활성을 보였음.

- 각 시료의 신선증량 0.6 mg 상당량을 이용하여 ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성을 평가하였음.
- 그 결과, 다른 항산화 활성 평가의 결과와 마찬가지로 전정가지(6품종; 42.7~65.9%)에서 높은 활성이 관찰되었음.
- 전정가지 다음으로 활성이 높았던 시료는 미성숙과(신고, 31.9%)로, 착즙박(신고, 8.6%)과 성숙과(신고, 4.8%)보다 각각 약 4배 및 7배 더 높은 활성을 보였음.
- 품종에 따라 전정가지의 ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성에 있어 차이가 관찰되었는데,
- 신고(65.9%) > 감천(55.5%) > 황금(55.2%) > 풍수(47.6%) > 원황(45.5%) > 행수(42.7%) 순이었음
- 즉, 본 항목의 활성평가에 있어서도 전정가지가 가장 높은 활성을 보였으며,
- 신고 품종의 전정가지가 가장 우수한 활성을 보였음.

- ➔ 이상의 결과들로부터 본 연구에서 행한 항산화 활성 평가 결과, 성숙과 및 미성숙과와 부산물들 중 전정가지가 가장 높은 활성을 보였음.
- ➔ 그리고 총 flavonoid 및 총 페놀성 화합물의 함량 또한 전정가지가 다른 시료들 보다 품종에 무관하게 높은 함량을 보였음.
- ➔ 지금까지 배나무의 수형관리를 위해 전정을 행할 때 매년 방대한 양 (통계자료 없음)의 전정가지가 생성됨을 고려하였을 때, 대단히 획기적인 발견이라 판단됨.
- ➔ 예로부터 민간요법으로 전정가지 달임액은 부스럼 등의 피부질환 치료에 활용되어 왔음이 동의보감 등의 고서를 통해 전해져 왔음.
- ➔ 본 연구를 통해 우리 선조들의 지혜가 과학적으로 해명될 수 있는 과학적 근거가 부분적으로나마 제시될 수 있었다고 판단됨.
- ➔ 한편, 품종에 따라 다소의 차이는 있었으나, 자궁경부암세포 사멸효과, 항균·항산화 및 동맥경화 예방효과 등이 확인된 malaxinic acid가 전정가지에 특이적으로 다량 함유되어 있는 현상이나, flavonoid를 포함한 페놀성 화합물을 배 성숙과는 물론, 유용성분이 다량 함유되어 있는 것으로 확인된 미성숙과보다 월등히 고농도로 함유되어 있는 현상에 관한 식물생리학적 의미에 대해서는 현재까지의 성과들만으로는 아직 단정짓기 어렵다고 판단됨.
- ➔ 본 실험에 있어 배나무의 전정이 일반적으로 겨울에 많이 행해짐을 고려하여 전정가지는 1월 11일에 채취한 것을 이용하였음.
- ➔ 이를 고려하였을 때, 추운 겨울을 견디기 위해 나뭇가지에 유용성분을 비축하고 있을 가능성도 시사됨.
- ➔ 그러나 이 또한 품종별 및 시기별로 보다 체계적이고 구체적으로 분석을 행한 후에 고찰될 수 있는 사항이라 판단됨.
- ➔ 또 유용성분이 나뭇가지의 껍질 및 내부의 목질 부분 어느 쪽에 주로 함유되어 있는지에 대해서도 활용성 측면에 있어 중요한 사항이라 판단됨.
- ➔ 이에, 보다 구체적인 추가 연구가 적극적으로 수행될 필요가 있다고 판단되며,
- ➔ 결론적으로, 본 연구를 통해 지금까지 폐기자원이었던 배나무의 전정가지가 매우 유용한 소재로 활용될 수 있다는 가능성이 충분히 시사되었음.
- ➔ 이와 같은 성과가 폐기자원을 활용한 배농가의 부가가치 창출에 기여할 수 있는 기초자료로 활용되길 기대함.



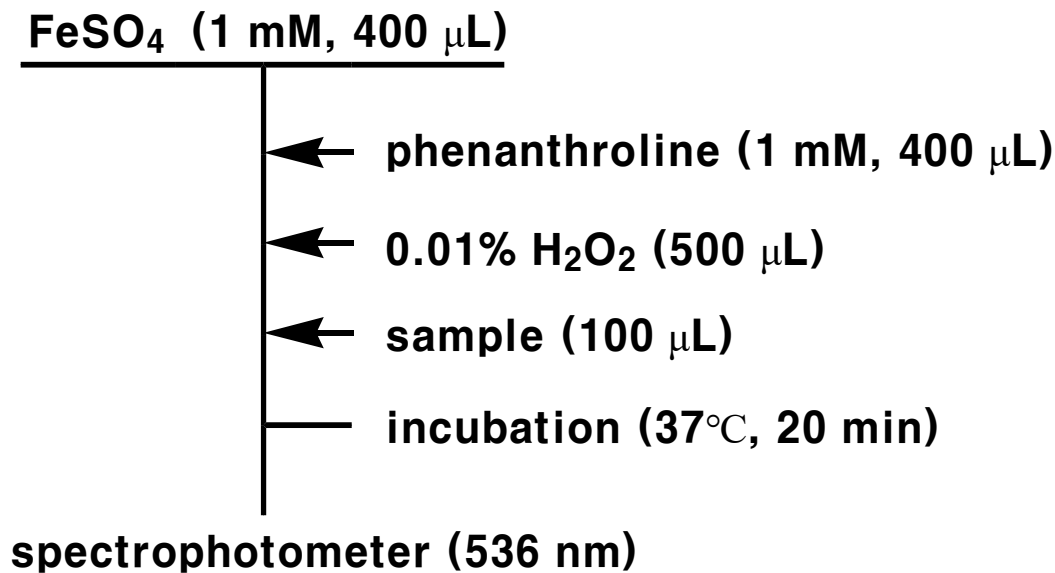
## <배 및 그 부산물의 생리활성 평가 및 주요 지표성분의 정량>

### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

#### 1) Hydroxyl Radical-scavenging 활성 평가

- 배 부산물 및 성숙과 추출물의 hydroxyl radical-scavenging 활성은 Xiao 등의 방법<sup>(24)</sup>을 이용하여 평가하였음.
- 1 mM FeSO<sub>4</sub> 400 μL, 1 mM phenanthroline 400 μL, 0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 500μL를 혼합한 후, 추출물(배 성숙과, 미성숙과 및 진정가지, 33.1 mg fresh wt. eq.; 착즙박, 33.1 mg wet wt. eq.) 100 μL씩을 첨가한 다음, 37°C에서 20분 동안 반응시켰음. ELISA (VERSAmax microplate reader, USA)를 이용하여 536 nm에서 반응액의 흡광도(RS)를 측정하였음
- 대조구로 quercetin을 사용하였으며, 아래의 계산식을 이용하여 hydroxyl radical-scavenging 활성을 계산하였음.

▣ 그림 I-135. Hydroxyl radical-scavenging activity 활성 평가 방법



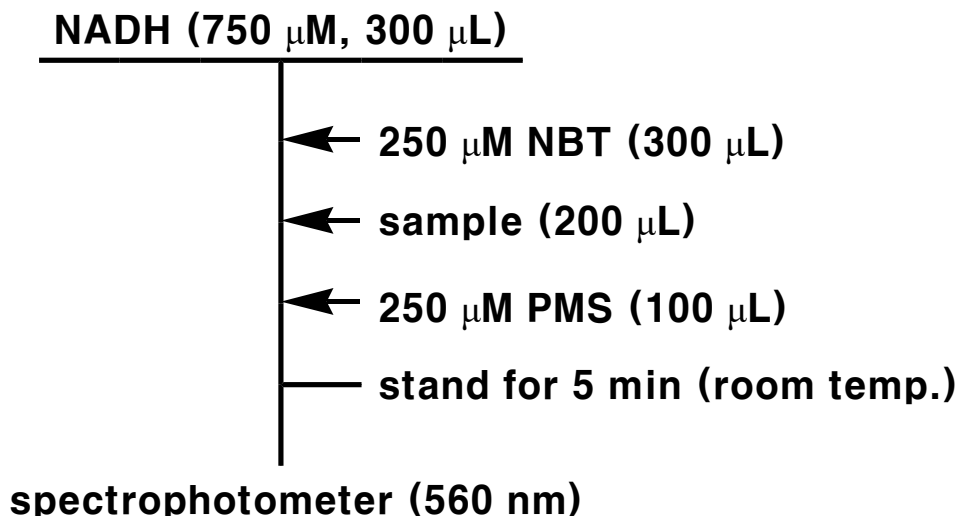
$$\text{Hydroxyl radical-scavenging activity (\%)} = [(\text{RS-Control})/(\text{A}_0\text{-Control})] \times 100$$

- RS: 시료를 첨가하여 반응시킨 용액의 흡광도.
- A<sub>0</sub>: 시료와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가하지 않은 용액의 흡광도.
- Control: 시료를 첨가하지 않은 용액의 흡광도.

## 2) Superoxide Anion Radical-scavenging 활성 평가

- 각 추출물의 superoxide anion radical-scavenging 활성은 Xiao 등의 방법(M)을 약간 변형하여 평가하였음.
- 환원형의 750  $\mu\text{M}$  nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) 용액 300  $\mu\text{L}$ , 250  $\mu\text{M}$  nitroblue tetrazolium (NBT) 용액 300  $\mu\text{L}$ 와 각각의 MeOH 추출물 100  $\mu\text{L}$  (배 성숙과, 미성숙과 및 전정가지, 8 mg fresh wt. eq.; 착즙박, 8 mg wet wt. eq.)를 혼합한 후, 250  $\mu\text{M}$  phenazine methosulfate (PMS) 100  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 반응시켰음. 5분 동안 반응시킨 후 ELISA (VERSAmix microplate reader, USA)를 이용하여 560 nm에서 흡광도(RS)를 측정하였음.
- Ascorbic acid를 대조구로 사용하였으며, 다음의 계산식으로부터 그 활성 정도를 계산하였음.

▣ 그림 I-136. Superoxide anion radical-scavenging activity 평가 방법.



$$\text{Superoxide anion radical-scavenging activity (\%)} = [(\text{Control-RS}) / \text{Control}] \times 100$$

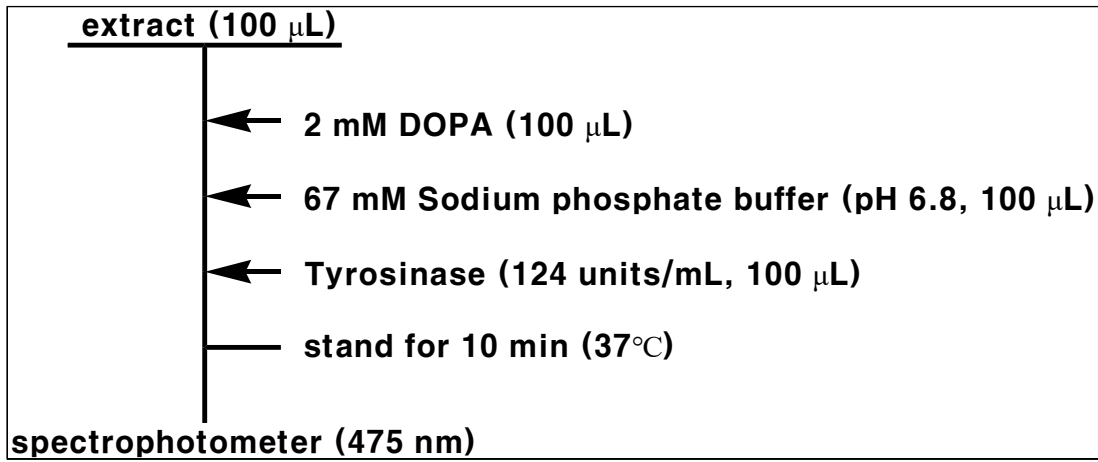
## 3) Tyrosinase 저해활성 평가 방법

- Lee 등의 방법<sup>(25)</sup>을 변형하여 배 부산물 및 성숙과 추출물의 tyrosinase 저해활성을 평가하였음.
- MeOH 추출물 100  $\mu\text{L}$  (배 성숙과, 미성숙과 및 전정가지, 10 mg fresh wt. eq.; 착즙박, 10 mg wet wt. eq.)에 2 mM 3,4-dihydroxyl-L-phenylalanine (DOPA) 100  $\mu\text{L}$ , 67 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8) 100  $\mu\text{L}$ 와 tyrosinase (124 units/mL) 100  $\mu\text{L}$ 를 혼합한 후, 37°C에서 10분 동안 반응시킨 다음, 475 nm (ELISA; VERSAmix microplate reader, USA)에서 흡광도를 측정하였음.
- 각 시료의 tyrosinase 저해활성은 다음과 같은 계산식으로 계산하였음.

$$\text{Tyrosinase inhibitory activity (\%)} = \frac{\{(\text{Control}-C_0)-(\text{RS}-A_0)\}}{(\text{Control}-C_0)} \times 100$$

- RS: 시료, DOPA 및 tyrosinase를 첨가하여 반응시킨 용액의 흡광도.
- A<sub>0</sub>: 시료, DOPA 및 buffer를 첨가하여 반응시킨 용액의 흡광도.
- Control: 시료를 첨가하지 않고 DOPA와 tyrosinase를 혼합하여 반응시킨 용액의 흡광도.
- C<sub>0</sub>: 시료를 첨가하지 않고 DOPA와 buffer를 혼합하여 반응시킨 용액의 흡광도.

■ 그림 I-137. Tyrosinase inhibitory activity 평가 방법.



#### 4) 쥐 혈장의 과산화물 (Cholesteryl Ester Hydroperoxide) 생성 억제능 평가 방법

##### (가) 실험동물의 혈장 분리

- 본 실험에 사용된 쥐는 Sprague-Dawley계 6주령 수컷을 구입(Samtako, Osan, Korea)하여 cage에서 4일 동안 순화시켰음.
- 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하였고, 식이 및 물의 섭취는 자유롭게 할 수 있도록 하였음.
- 희생시키기 14시간 전에 절식시키고, 3시간 전에 절수시킨 후, ether로 마취하여 개복한 다음, 대동맥으로부터 채혈하였음.
- 채혈 시 혈액의 응고 방지를 위해 heparin (Sigma-Aldrich chemical Co., st. Louis, MO, USA)이 첨가된 주사기를 사용하였음.
- 얻어진 혈액은 원심분리(5000 rpm, 4°C, 20 min, VS-24SMTI, High speed refrigerated centrifuge, Korea)를 행하여 상층액(혈장)만을 취하여 사용 직전까지 -80°C에서 보관하였음.

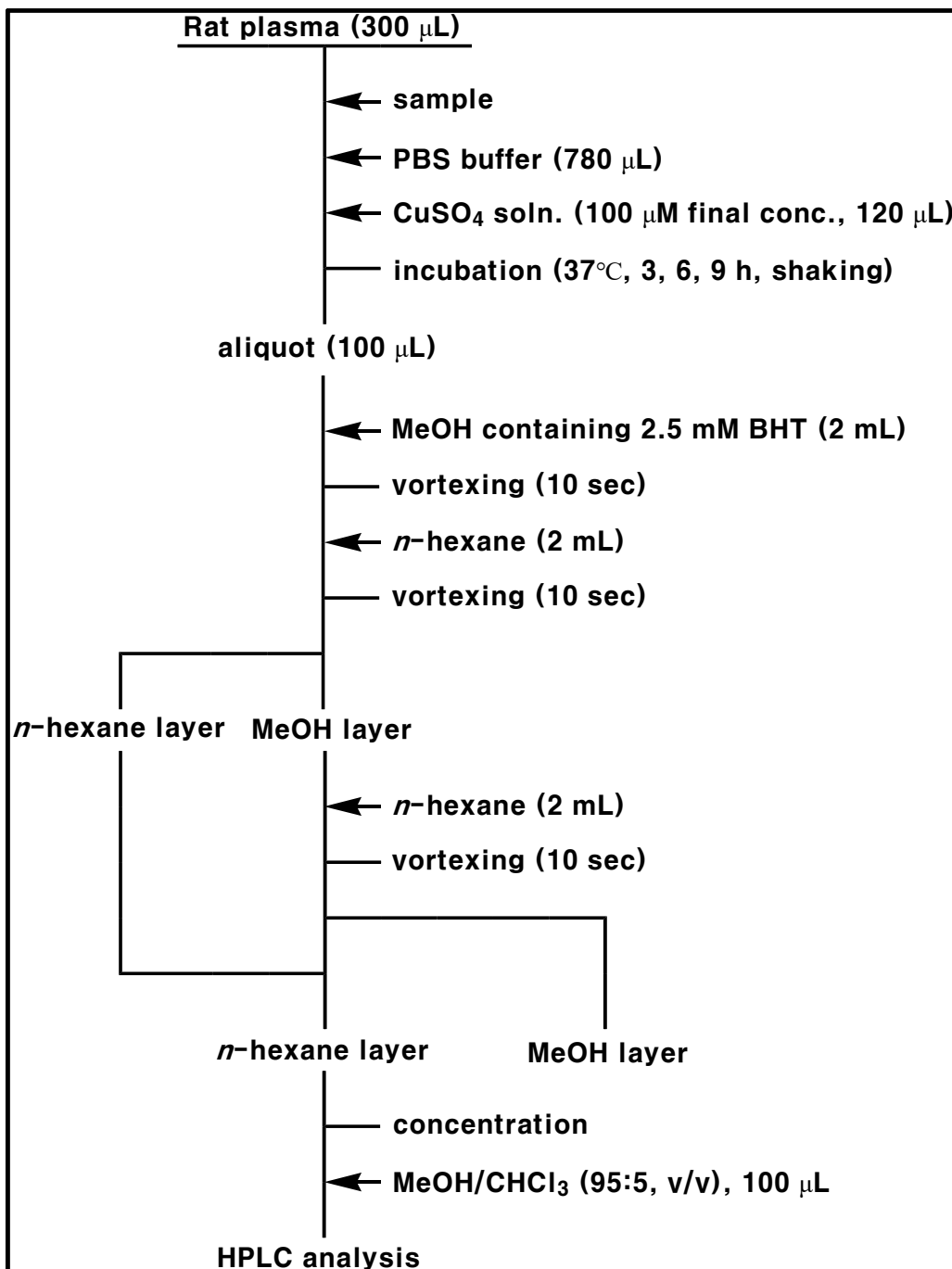
##### (나) 쥐 혈장의 Cholesteryl Ester Hydroperoxide (CE-OOH) 생성 억제능 평가

- 조제된 MeOH 추출물(배 성숙과, 미성숙과 및 전정가지, 2.5 mg fresh wt. eq.; 착즙박, 2.5 mg wet wt. eq.)을 취하여 질소가스로 농축시킨 다음, PBS buffer (pH 7.4) 650 μL와 쥐 혈장 250 μL를 혼합한 후, CuSO<sub>4</sub>용액이 최종적으로 100 μM이 되도록 PBS buffer

로 조제하여 100  $\mu\text{L}$ 를 첨가하였음. 37°C에서 4시간 동안 반응시킨 후, 반응액 100  $\mu\text{L}$ 를 취하여 2.5 mM BHT/MeOH 용액 2 mL와 *n*-hexane 2 mL를 가한 후 vortex로 혼합하였음. 상층액인 *n*-hexane층을 다른 용기에 취하고, 하층액에 다시 *n*-hexane 2 mL를 가하여 vortex로 재차 혼합한 후, 전 조작에서 얻어진 *n*-hexane층과 합하여 농축하였음. 얻어진 농축물에 MeOH/CHCl<sub>3</sub> (95:5, v/v)용액 100  $\mu\text{L}$ 를 가하여 녹인 후 시료 중의 CE-OOH 농도를 HPLC로 분석하였음.

- 본 실험에서 사용한 CE-OOH는 본 연구실의 선행연구에 의해 합성된 합성품을 이용하였으며,<sup>(26)</sup> CE-OOH 함량은 CE-OOH의 표준곡선에 의해 계산하였음.

▣ 그림 I-138. 쥐 혈장의 과산화물 (Cholesteryl Ester Hydroperoxide) 생성 억제능 평가 방법



- HPLC 분석은 다음과 같은 조건에서 행하였음.

#### <HPLC-1>

- Column: Octyl-80Ts (4.6 × 150 mm, TSK-gel, Tosoh).
- Flow rate: 1.0 mL/min.
- Detection: 235 nm (SPD-20A, UV/VIS detector, Shimadzu).
- Oven temp.: room temp.
- Mobile phase: 97.5% MeOH.

#### 5) 배 전정가지 목질과 수피의 Malaxinic Acid 함량 비교

- 배 전정가지 6 품종(감천, 신고, 원황, 풍수, 행수 및 황금배)을 대상으로 각각 목질과 수피로 분리하였음.
- 전정가지를 목질과 수피로 분리 시 목질은 수심, 심재 및 변재를 포함한 부분을 사용하였으며, 수피는 껍질, 체관부 및 형성층을 포함한 부분을 사용하였음.
- 분리된 전정가지의 목질과 수피를 전정가위로 세절한 후, 목질과 수피 각각에 MeOH 100 mL를 가하여 homogenizer (T-50 Ultra Turrax, Ika, Seoul, Korea)를 이용하여 균질화하였음.
- 균질화한 다음, 실온 및 압 조건 하에 24시간 동안 정치시킨 후, 여과(No. 2, Whatman, Maidenstone)하여 여과액과 잔사를 분리하였음.
- 잔사에 MeOH 100 mL를 재차 가한 후, 바로 여과(No. 2, Whatman, Maidenstone)하여 얻어진 여과액을 합하여 진공농축(A-3S, EYELA, Tokyo, Japan)하였음.
- H<sub>2</sub>O를 농축물에 가하여 용해한 후, 1 N HCl로 pH를 3.0으로 조정한 다음, H<sub>2</sub>O를 가하여 100 mL가 되도록 정용한 후, *n*-hexane과 함께 용매분획을 3회 실시하였음.
- 용매분획 후 얻어진 H<sub>2</sub>O층을 진공농축(A-3S, EYELA, Tokyo, Japan)한 후, 80% MeOH을 가하여 녹인 다음, membrane filter (0.45 μm, PTFE)로 여과하였음.
- 조제된 추출물은 위의 HPLC-1 조건을 이용하여 malaxinic acid의 함량을 분석하였음.

6) 열수추출 시간에 따른 전정가지 수피 함유 Malaxinic Acid의 안정성 검토

- 감천 품종의 신선 전정가지 12 g으로부터 수피(약 4 g)를 분리하고 전정가위로 세절한 다음, 내열성 재질의 cap test tube 3개에 1.2 g씩 나누어 담고 10 mL의 열수를 가하였음.
- 열수를 가한 후, heating block (EYELA, JP/MGS-2100B, Block heater, Tokyo, Japan)을 이용하여 100°C에서 0, 4, 8, 12 시간 동안 각각 가열하였음.
- 가열한 후 실온에서 냉각시켜 여과(No. 2, Whatman, Maidenstone, England)한 다음, 잔사에 열수 100 mL를 가하여 재차 여과하였음.
- 얻어진 여과액을 합하여 38°C에서 진공농축(A-3S, Eyela, Tokyo, Japan)하여 추출물을 얻었음.
- 얻어진 각각의 추출물을 대상으로 HPLC-1의 조건을 이용하여 분석하였으며, malaxinic acid 함량은 작성된 malaxinic acid의 standard curve를 이용하여 계산하였음.

7) 배 전정가지 수피 함유 화합물의 단리 및 동정

(가) 배 전정가지 수피 추출물의 조제 및 용매분획

- 신고 품종 신선 전정가지 207.8 g으로부터 수피 68.21 g을 얻었고, 그 중 60.05 g을 사용하였음.
- 분리한 수피를 세절한 후, MeOH 300 mL를 가하여 균질화(T-50 Ultra Turrax, Ika, Seoul, Korea)하였음.
- 균질화된 전정가지 수피를 실온 및 암소 조건 하에서 24시간 동안 방치한 다음, filter paper (No. 2, Whatman, Maidenstone)로 여과하였음.
- 여과액과 잔사를 분리하고, 회수한 잔사에 MeOH 300 mL를 가하여 재차 균질화(T-50 Ultra Turrax, Ika, Seoul, Korea)한 후, 바로 여과(No. 2, Whatman, Maidenstone, England)하였음.
- 얻어진 여과액을 합하여 38°C에서 진공농축(A-3S, Eyela, Tokyo, Japan)하여 농축물을 얻었음.
- H<sub>2</sub>O를 가하여 농축물을 녹인 후, 1 N HCl로 pH를 3.0으로 조정한 다음, H<sub>2</sub>O를 가하여 최종 용량이 100 mL가 되도록 정용하였음.
- 농축물 수용액에 *n*-hexane 100 mL를 3회 가하여 용매분획을 실시하고, H<sub>2</sub>O층만을 진공농축(A-3S, Eyela, Tokyo, Japan)하여 추출물을 얻었음.
- 농축된 H<sub>2</sub>O층을 80% MeOH로 회수한 후, 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였음. 분석 조건은 HPLC-1과 같음.

(나) 기기분석: UV/VIS Spectrophotometer 및 NMR 분석

- 조제된 전정가지 수피 추출물을 HPLC-1의 조건으로 분석한 후, PDA system 상에서 UV/VIS spectra를 비교하였으며,
- HPLC chromatogram 상에서  $t_R$  25 ~ 35 min에 해당하는 malaxinic acid 주변 화합물은 HPLC-3와 같은 조건에서 분취하였음.
- 단리된 화합물들은 <sup>unity</sup>INOVA 500 및 600 (Varian, Walnut Creek, CA, USA; 한국기초과학지원연구원 광주센터)의 NMR 기기를 이용하여 <sup>1</sup>H- 및 <sup>13</sup>C-NMR 분석을 행하였으며, 분석용매는 내부 표준물질인 tetramethylsilane (TMS)이 함유되어 있는 CD<sub>3</sub>OD를 사용하였음.

<HPLC-3>

- Column: UG 120 (10 × 250 mm, Shiseido, Japan).
- Flow rate: 5.0 mL/min.
- Injection volume: 200 µL.
- Detection: 245 nm, 280 nm (SPD-M20A, Shimadzu, Japan).
- Oven temp.: 40°C.
- Mobile phase:

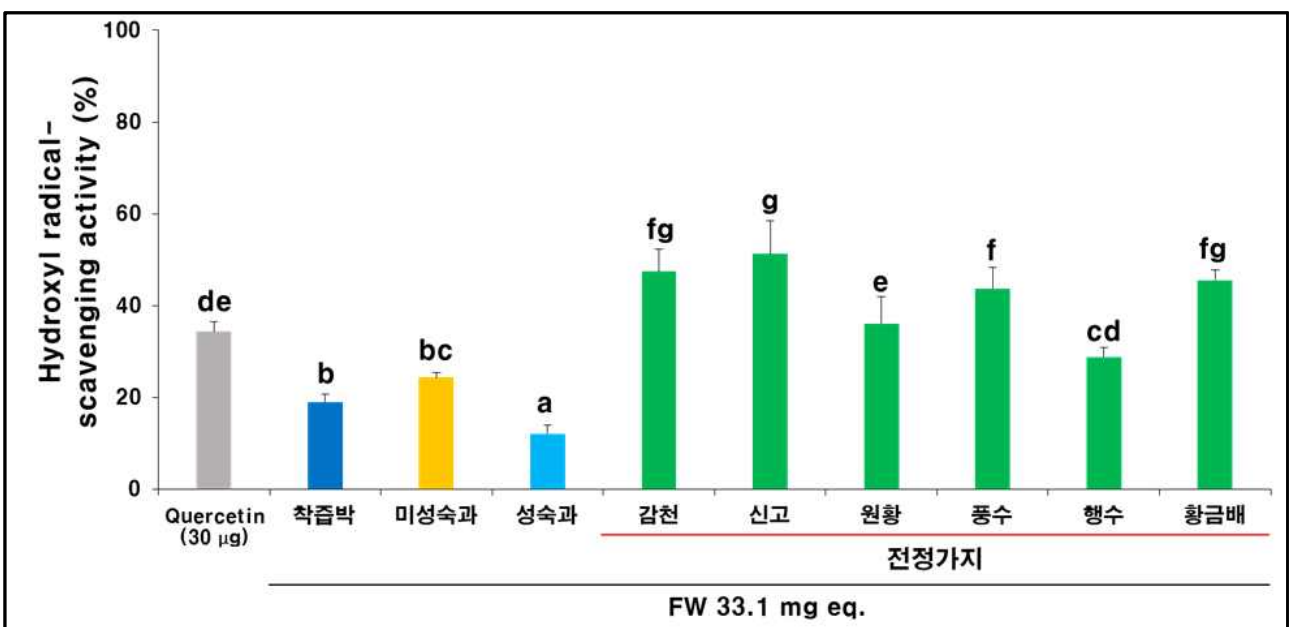
Time (min)	10% MeCN (pH 3.0 by TFA)	60% MeCN
0	100	0
30	50	50
40	0	100
50	0	100

## 2. 연구내용 및 결과

### 1) Hydroxyl Radical-scavenging 활성

- 각 시료의 33.1 mg 신선중량 상당량을 대상으로 hydroxyl radical-scavenging 활성을 비교하였음.
- 그 결과, 전정가지 > 미성숙과 > 착즙박 > 성숙과 순으로 hydroxyl radical-scavenging 활성이 관찰되었음.
- 미성숙과의 hydroxyl radical-scavenging 활성은  $24.4 \pm 1.1\%$ 였으며, 착즙박( $19.0 \pm 1.8\%$ )의 활성과 유의적 차이가 나타나지 않았지만, 성숙과( $12.1 \pm 1.8\%$ )의 활성보다는 유의적으로 높게 관찰되었음.
- 또한 미성숙과의 활성은 행수 품종 전정가지( $28.8 \pm 2.2\%$ )와 유사한 활성을 보였음.
- 그러나 행수 품종을 제외한 5품종의 전정가지에서는 모두 미성숙과보다 더 높은 hydroxyl radical-scavenging 활성을 나타냈음
- 또한 전정가지는 신고( $51.3 \pm 7.2\%$ ) > 감천( $47.5 \pm 4.8\%$ ) > 황금배( $45.6 \pm 2.1\%$ ) > 풍수( $43.7 \pm 4.5\%$ ) > 원황( $36.1 \pm 5.9\%$ ) > 행수( $28.8 \pm 2.2\%$ ) 순이었으며, 품종 간에 hydroxyl radical-scavenging 활성의 차이를 보였음.
- Hydroxyl radical-scavenging 활성이 가장 우수하였던 신고 품종 전정가지는 미성숙과, 착즙박 및 성숙과의 활성보다 각각 2.1배, 2.7배 및 4.2배 더 높았음.
- DPPH radical-scavenging 활성이나 ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성에 있어 모든 시료들 중에서 신고 품종 전정가지가 유의하게 높은 활성을 보였음.
- 그러나 hydroxyl radical-scavenging 활성의 경우, 신고, 감천, 황금배 및 풍수 품종의 전정가지들 간의 활성에 있어 유의한 차이는 관찰되지 않았음.

### ▣ 그림 I-139. Hydroxyl radical-scavenging activity 결과

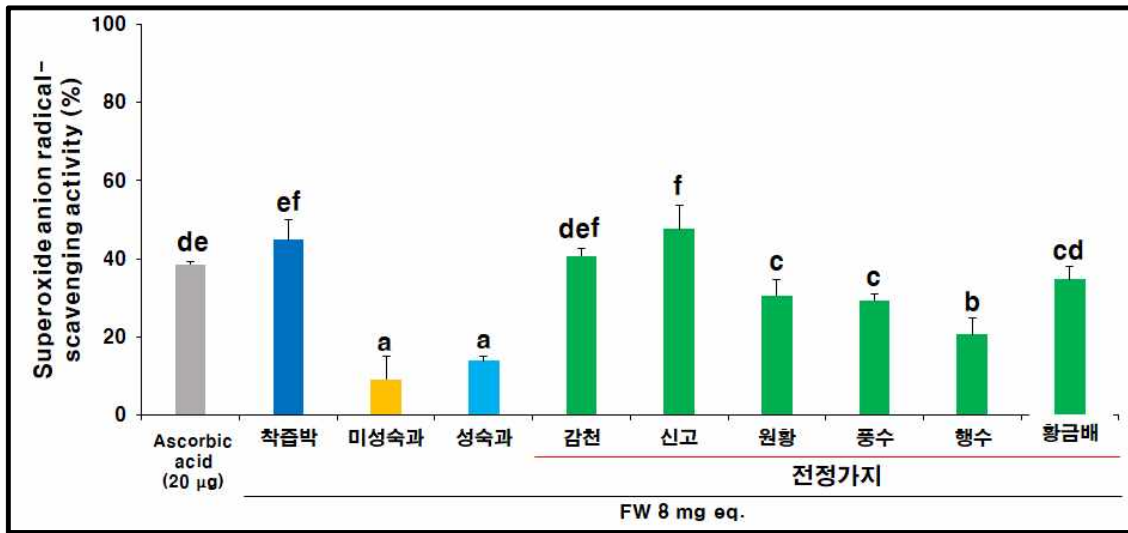




## 2) Superoxide Anion Radical-scavenging 활성

- 배 부산물 및 성숙과의 8 mg 신선중량 상당량으로 superoxide anion radical-scavenging 활성을 평가하였음.
- 즉, 상기의 결과들에 있어서는 착즙박, 미성숙과 및 성숙과 중 미성숙과가 모두 높은 값을 보였으나,
- 본 superoxide anion radical-scavenging 활성( $9.1 \pm 5.7\%$ )에 있어서는 미성숙과가 세 시료들 중 가장 낮은 활성을 나타냈음.
- 그리고 세 시료들 중 착즙박이 현저히 높은 활성을 보이는 특징이 관찰되었음
- 그리고 전정가지에 있어 행수 품종 전정가지의 활성이  $20.6 \pm 4.3\%$ 로 미성숙과( $9.1 \pm 5.7\%$ )의 활성보다는 높았지만, 성숙과( $13.8 \pm 1.3\%$ )의 활성과는 유의적인 차이를 보이지 않았음.
- 그러나 행수를 제외한 5품종 전정가지의 활성은 미성숙과 및 성숙과의 활성보다 높게 관찰되었음.
- 그리고 착즙박의 superoxide anion radical-scavenging 활성은  $44.9 \pm 5.2\%$ 였으며, 미성숙과 및 성숙과의 활성보다 각각 4.9배 및 3.3배 더 높았음.
- 뿐만 아니라 착즙박의 활성은 풍수 및 원황 품종 전정가지의 활성( $29.3 \pm 1.06\%$ ,  $30.6 \pm 4.0\%$ )보다 더 높았음.
- 그리고 황금배 및 감천 품종 전정가지의 활성은  $34.7 \pm 3.3\%$  및  $40.8 \pm 2.0\%$ 로 착즙박의 활성과 유사한 정도를 보였음.
- 그리고 전정가지들 중 가장 높은 superoxide anion radical-scavenging 활성을 보였던 신고 품종 전정가지의 경우, 그 활성이  $47.7 \pm 6.1\%$ 였으며, 착즙박의 활성( $44.9 \pm 5.2\%$ )과 유의적 차이를 보이지 않았음.
- 또한 전정가지의 경우, 앞선 항산화활성 실험 결과와 마찬가지로 품종에 따라 활성이 다르게 관찰되었으며, 그 활성정도는 신고( $47.7 \pm 6.1\%$ ) > 감천( $40.8 \pm 2.0\%$ ) > 황금배( $34.7 \pm 3.3\%$ ) > 원황( $30.6 \pm 4.0\%$ ) > 풍수( $29.3 \pm 1.06\%$ ) > 행수( $20.6 \pm 4.3\%$ ) 순이었음.
- 지금까지 진행되었던 항산화활성 평가 결과들과 다르게 superoxide anion radical-scavenging 활성에 있어서는 착즙박의 활성이 미성숙과의 활성보다 더 높게 관찰되었을 뿐만 아니라 전정가지들과의 비교에 있어서도 유사하거나 월등히 우수한 활성을 보였음.
- 이 결과로부터 superoxide anion radical-scavenging 활성 측면에 있어 착즙박의 우수성 및 활용가치가 강조되었다 판단됨.

■ 그림 I-140. Superoxide Anion radical-scavenging activity 결과

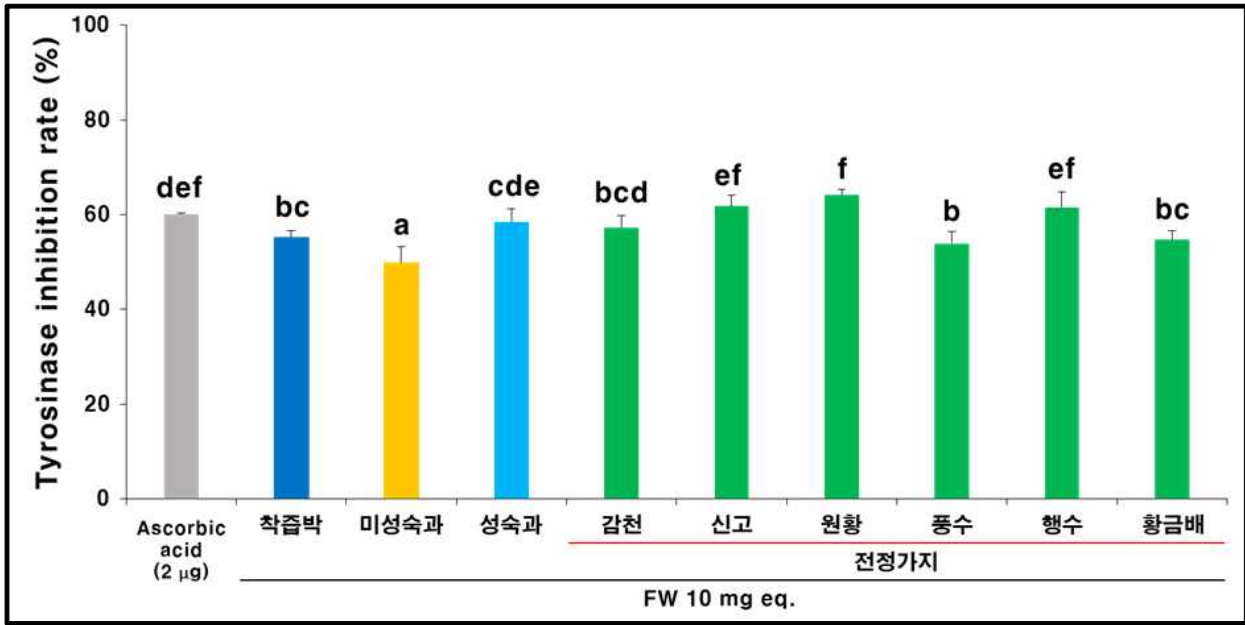


### 3) Tyrosinase 저해 활성

- Arbutin은 멜라닌 색소 생성에 관여하는 tyrosinase의 활성을 저해하는 효과가 있어 미백 화장품 소재로 널리 사용되고 있음.<sup>(27)</sup>
- 본 연구그룹의 선행연구에 의해 arbutin이 배 과피<sup>(28)</sup> 및 미성숙과<sup>(29)</sup>에 다량 함유되어 있음이 밝혀진 바 있음.
- 이에 본 연구에 있어서도 부산물들의 활용성 확장 차원의 일환으로 tyrosinase 저해 활성을 평가하였음.
- 각 시료의 신선중량 10 mg 상당량을 이용하여 tyrosinase 저해 활성을 평가하였으며, 대조구로 ascorbic acid를 이용하였음.
- 평가 결과, 앞에서 제시한 실험 결과들과는 다르게 시료들 간의 활성에 큰 차이가 나타나지 않았음.
- 즉 미성숙과의 tyrosinase 저해 활성은  $49.8 \pm 3.5\%$ 였으며, 착즙박( $55.2 \pm 1.4\%$ )과 풍수( $53.9 \pm 2.5\%$ ) 및 황금배( $54.8 \pm 1.8\%$ ) 품종 전정가지의 활성과 유사하게 나타났음.
- 성숙과의 활성은  $58.6 \pm 2.6\%$ 였으며, 미성숙과보다 활성이 유의적으로 높았고, 미성숙과 외의 시료들과 유사한 활성이 관찰되었음.
- Superoxide anion radical-scavenging 활성을 제외한 항산화활성 평가 실험에서는 미성숙과의 활성이 착즙박과 성숙과보다 높게 나타났으나, 본 실험에서는 오히려 성숙과의 활성이 미성숙과보다 유의적으로 높게 관찰되었음.
- 본 연구그룹의 선행연구에서 배 열매의 성숙 정도에 따라 arbutin의 함유 정도가 다르게 나타났으며,
- Arbutin의 함량에 있어서는 품종에 따라 차이를 보였지만 전체적으로 미성숙한 열매가 성숙한 열매보다 더 많은 arbutin을 함유하고 있음을 밝힌 바 있음Q)

- 이를 참고하였을 때, 미성숙과와 성숙과에 함유된 arbutin의 함량만을 고려한다면, 배 미성숙과의 tyrosinase 저해 활성이 성숙과의 tyrosinase 저해 활성보다 더 우수할 것이라고 생각할 수 있음.
- 그러나 본 연구 결과 성숙과의 tyrosinase 저해 활성이 미성숙과의 활성보다 높게 나타났으며, 이러한 결과는 아직 어떤 화합물인지 특정할 수는 없으나 arbutin 이외에 피부 미백에 관여하는 다른 화합물이 미성숙과보다 성숙과에 더 많이 존재하였기 때문으로 판단됨.
- 한편, 전정가지는 원황( $64.3 \pm 1.1\%$ ) > 신고( $61.8 \pm 2.2\%$ ) > 행수( $61.6 \pm 3.2\%$ ) > 감천( $57.3 \pm 2.4\%$ ) > 황금배( $54.8 \pm 1.8\%$ ) > 풍수( $53.9 \pm 2.5\%$ ) 순으로 활성의 차이가 나타났다.
- 앞에서 언급하였듯이 풍수 및 황금배 품종 전정가지를 제외한 나머지 4품종의 전정가지에서는 tyrosinase 활성이 미성숙과보다 높게 관찰되었음.
- 또한 원황 품종 전정가지만이 미성숙과 및 착즙박보다 유의적으로 높은 tyrosinase 저해 활성을 나타냈음.
- 전정가지에서 tyrosinase 저해 활성이 높게 나타난 것은 전정가지에 다량 함유되어 있는 arbutin을 포함한 총 페놀성 화합물의 영향으로 추측됨.
- 또 본 항에서 시료들 간의 활성에 큰 차이가 관찰되지는 않았으나 본 연구에서 대상으로 한 시료들 모두 전반적으로 높은 활성을 보였음에 주목할 필요가 있음.
- 즉 본 항의 결과로부터 미성숙과는 물론 착즙박과 성숙과 또한 의미있는 활성을 보였으며,
- 전정가지 또한 품종에 무관하게 높은 tyrosinase 저해 활성을 보인 것은 배 부산물의 활용성 측면에 있어 매우 흥미로운 결과라 사료됨.
- 본 연구결과로부터 미성숙과는 물론, 착즙박, 성숙과 및 전정가지 역시 피부 미백 화장품의 소재로써 활용 가치가 높다고 판단되었음.

■ 그림 I-141. Tyrosinase Inhibition 결과



4) 쥐 혈장의 Cholesteryl Ester Hydroperoxide 생성 억제능

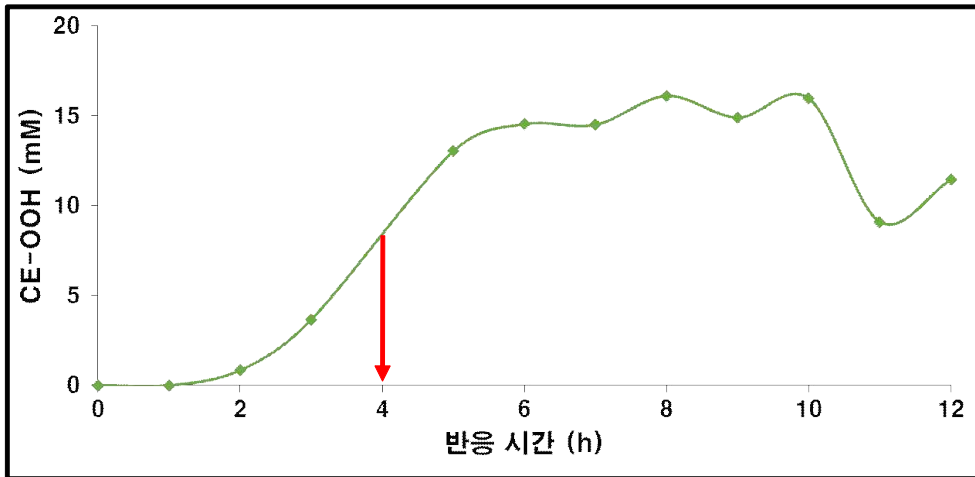
- 배 부산물 및 성숙과 추출물의 혈장에 대한 산화억제능을 평가하기 위해 쥐 혈장에 각 시료의 추출물을 첨가하여 혈장의 과산화물 생성 억제 정도를 평가하였음.
- 동맥경화의 발병원인 중의 하나로 저밀도지단백질(low density lipoprotein, LDL)의 산화로 인한 혈관 내피세포의 plaque형성 기전이 잘 알려져 있음.<sup>(31)</sup>
- LDL의 대표성분 중 하나인 cholesteryl ester는 산화에 민감하게 반응하여 과산화물을 생성하고, 혈중에서 산화된 LDL은 혈관 내피세포를 통과하는 과정에서 macrophage에 혼입되어 foam cell을 형성하게 됨.<sup>(31)</sup>
- 이로 인해 동맥경화의 원인인 plaque를 혈관벽에 침착시키게 됨.<sup>(31)</sup>
- 따라서 본 실험에서는 본 연구실에서 합성한 cholesteryl ester hydroperoxide (CE-OOH)<sup>(32)</sup>를 지표 물질로 하여, 동이온 유도를 통해 생성된 CE-OOH의 생성 농도를 측정하여 산화 정도를 평가하였음.

(가) 쥐 혈장의 산화반응 시간 설정을 위한 CE-OOH 생성 경향 검토

- 평가 대상 시료들의 쥐 혈장 산화 억제능 평가에 앞서 혈장의 적절한 산화 반응 시간을 설정하기 위해 배 부산물 및 성숙과 추출물을 첨가하지 않은 쥐 혈장을 대상으로 먼저 CE-OOH의 경시적인 생성 정도를 확인하였음.
- 동이온 유도 산화를 개시한 후, 1 시간 간격으로 CE-OOH 생성량을 확인하였음.
- 그 결과, 반응 2 시간 후부터 생성량이 급격하게 증가하기 시작하였고, 5 시간 이후부터 함량이 증가와 감소를 반복하는 것으로 확인되었음.

- 따라서 시료를 첨가한 쥐 혈장의 과산화물 생성 억제능은 CE-OOH의 정량성이 확보될 수 있다고 판단된 4시간을 반응시간으로 설정하였음.

■ 그림 I-142. 산화반응 시간에 따른 CE-OOH 생성 정도

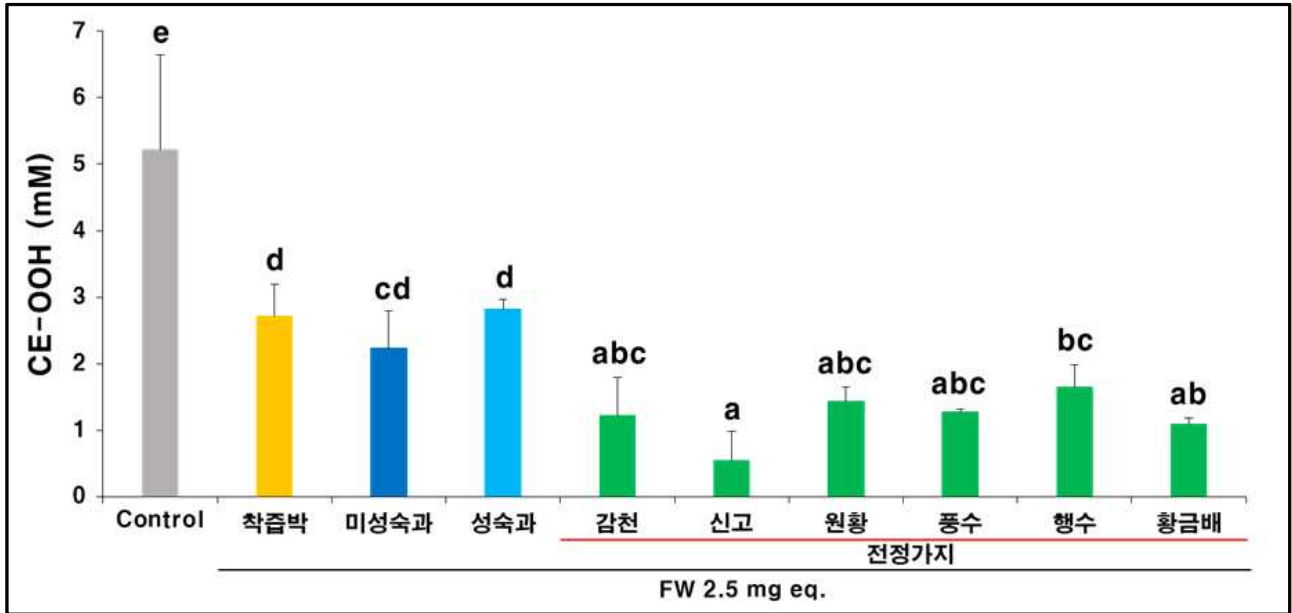


(나) 배 부산물 및 성숙과 추출물 첨가 쥐 혈장의 CE-OOH 생성 억제능

- 각각의 시료 2.5 mg 신선중량 상당량을 쥐 혈장에 첨가하여 산화반응 4 시간 후의 CE-OOH 생성 농도를 확인하였음.
- 그 결과, 시료를 첨가하지 않은 control의 CE-OOH 농도는  $5.22 \pm 1.4$  mM이었고, 시료를 첨가한 쥐 혈장의 CE-OOH 농도는 모두 control보다 유의적으로 낮았음.
- 즉, 시료 첨가구가 시료 무첨가구보다 쥐 혈장의 산화 억제능이 높음을 알 수 있었음.
- 성숙과 추출물을 첨가한 쥐 혈장의 CE-OOH 농도는  $2.8 \pm 0.2$  mM로 CE-OOH 생성 억제능이 가장 낮게 나타났음.
- 그리고 착즙박의 CE-OOH 농도는  $2.7 \pm 0.5$  mM, 미성숙과의 CE-OOH 농도는  $2.2 \pm 0.5$  mM로 관찰되었으며, 이는 성숙과의 CE-OOH 농도와 유사하였음.
- 전정가지의 경우, CE-OOH 농도가  $0.5 \pm 0.4 \sim 1.6 \pm 0.3$  mM로 품종에 따라 CE-OOH의 생성 억제능에 차이가 관찰되었음.
- 앞선 실험 결과들의 경향과 마찬가지로 신고 품종 전정가지( $0.5 \pm 0.4$  mM)에서 가장 높은 혈장 산화 억제 효과가 관찰되었음.
- 그 외 다른 품종의 전정가지는 황금배( $1.1 \pm 0.1$  mM) > 감천( $1.2 \pm 0.6$  mM) > 풍수 ( $1.3 \pm 0.04$  mM) > 원황( $1.4 \pm 0.2$  mM) > 행수( $1.6 \pm 0.3$  mM) 순으로 CE-OOH 생성 억제능이 나타났지만, 전정가지 품종 간에 신고를 제외하고 유의적인 차이는 없었음.
- 본 실험의 결과로부터, 전정가지 신고 품종이 가장 우수한 CE-OOH 생성 억제능을 보였

던 것 역시 총 페놀성 화합물 및 총 flavonoid 함량과 상관성이 있는 것으로 판단됨.

■ 그림 I-143. 배 부산물 및 성숙과 추출물 첨가 쥐 혈장의 CE-OOH 생성 억제능 확인 결과

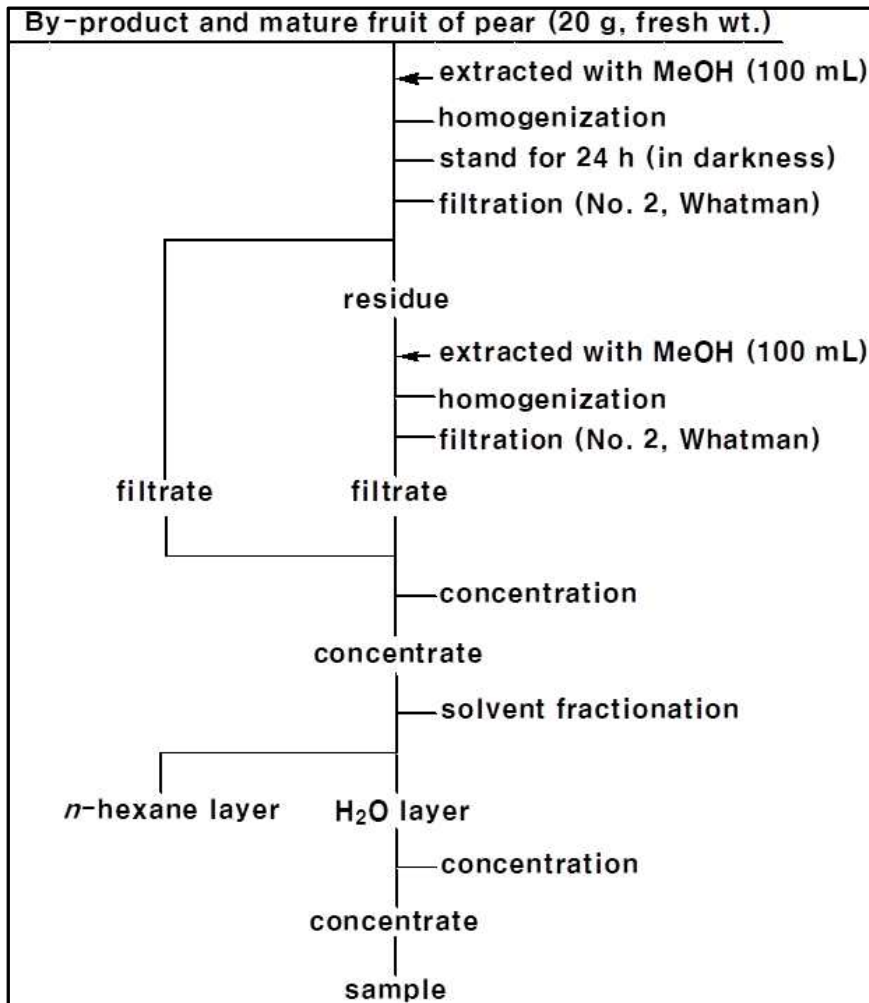


5) 배 전정가지 목질 및 수피의 Malaxinic Acid 함량 비교

(가) 배 전정가지 목질 및 수피 추출물 조제

- 항균활성,<sup>(28)</sup> 살충효과<sup>(29)</sup> 및 자궁경부암세포 사멸 효과가 있음이 밝혀진 malaxinic acid가 본 연구그룹의 선행연구<sup>(28,30)</sup>를 통해 배 미성숙과에 다량 함유되어 있음이 보고된 바 있음.
- 한편, 앞선 실험을 통해 미성숙과보다 전정가지에 더 많은 양의 malaxinic acid가 함유되어 있음을 확인하였음.
- 이러한 malaxinic acid가 앞선 실험을 통해 전정가지에 다량 함유되어 있음이 확인되어, 전정가지를 목질과 수피로 나누어 각각의 부위에 함유된 malaxinic acid의 함량을 비교하고자 하였음.
- 얻어진 추출물을 80% MeOH 1 mL로 정용한 다음, 0.45 μm membrane filter (PTFE)로 여과를 행한 후, HPLC를 이용하여 분석을 진행하였음.

■ 그림 I-144. 배 전정가지 목질 및 수피 추출물 조제 방법



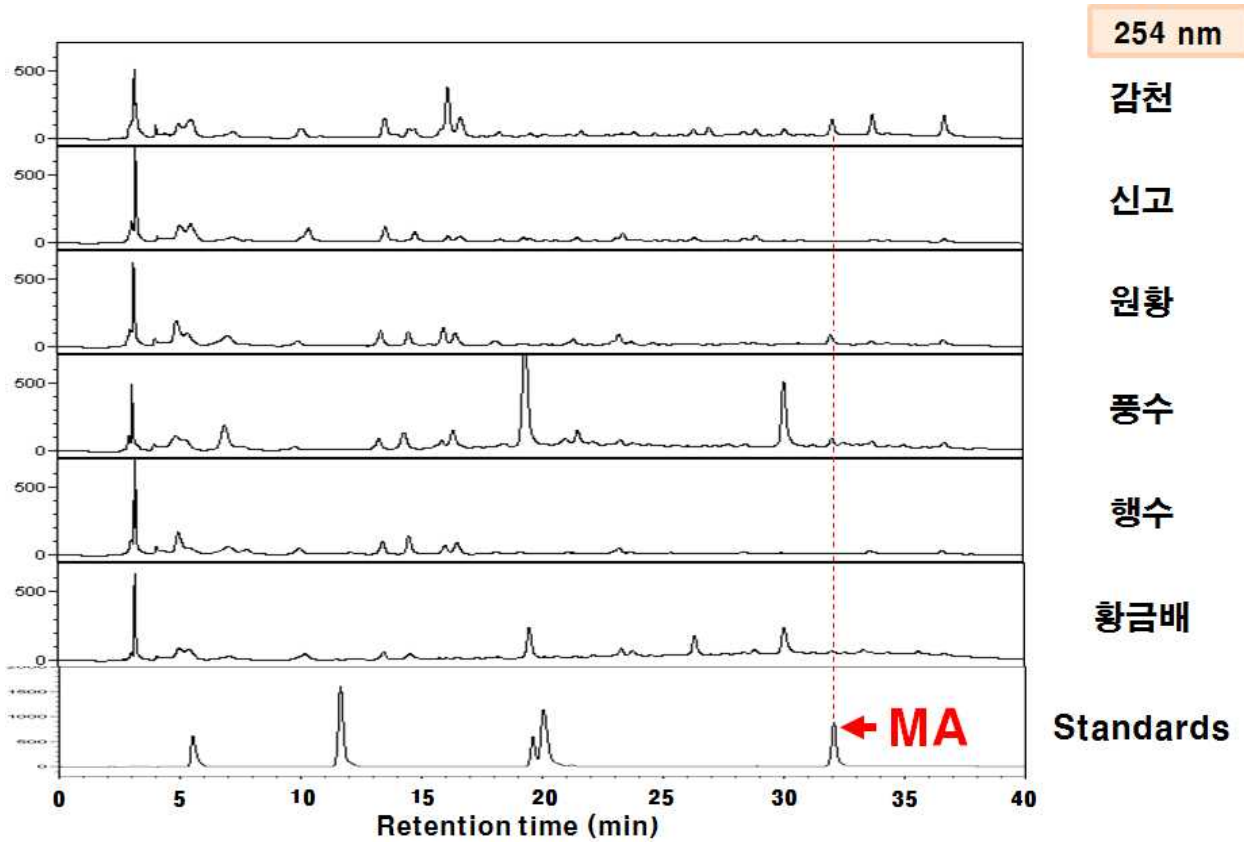
(나) HPLC 분석을 통한 배 전정가지 목질 및 수피의 Malaxinic Acid 함량

- 앞선 실험에서 배 착즙박, 미성숙과, 성숙과 및 전정가지 중에 함유되어 있는 주요 생리활성 화합물 5종을 분석한 결과,
- Malaxinic acid가 전정가지에 다량 함유되어 있음을 확인하였음.
- 이에 전정가지를 대상으로 부위별(목질, 수피) malaxinic acid의 함량을 확인함으로써 이후에 진행될 실험에 있어 효율성을 가하고자 하였음.
- 따라서 전정가지를 품종별로 목질 부분과 수피 부분으로 분리하여 실험을 진행하였음.
- 배 품종별 전정가지의 목질 추출물 및 수피 추출물을 HPLC로 분석한 결과,
- HPLC chromatogram (그림 I-145-146)상에서 볼 수 있듯이 malaxinic acid ( $t_R$  32.14 min)가 6품종의 전정가지 모두 목질 추출물에서 peak가 낮게 검출되었으며, 수피 추출물에서는 peak가 높게 검출되었음.
- 또한 전정가지 수피 추출물의 경우, 품종에 따라 malaxinic acid peak 크기에 현저한 차이가 관찰되었음.
- 이러한 HPLC chromatogram 상에서의 peak 차이는 부위별로 구분하지 않은 전정가지의 품종별 malaxinic acid 함량 결과(표 I-4)와 유사하였음.

- 각각의 peak area값을 malaxinic acid 검량선에 대입하여 그 함량(mg/100 g fresh wt. eq.)을 계산하였음.
- 그 결과, 전정가지 목질에 함유되어 있는 malaxinic acid 함량은 신고 및 행수 품종에서 낮게 나타났으며, 각각  $0.4 \pm 0.1$ ,  $0.5 \pm 0.3$  정도를 함유하고 있었음(그림 I-147).
- 전정가지 감천, 원황 및 풍수 품종의 목질에 함유되어 있는 각각의 malaxinic acid 함량은  $1.5 \pm 0.4$ ,  $1.2 \pm 0.1$ ,  $1.2 \pm 0.8$ 이었으며, 신고 품종과 행수 품종의 함량보다 높게 나타났지만 유의적인 차이는 없었음.(그림 I-147)
- 황금배 품종 전정가지의 목질에는  $2.0 \pm 0.2$ 의 malaxinic acid가 함유되어 있었으며, 신고 및 행수 품종 전정가지의 목질보다 유의적으로 더 높은 함량이었음(그림 I-147).
- 한편, 6품종 전정가지 수피에는 목질보다 유의적으로 더 많은 양의 malaxinic acid를 함유하고 있었음(그림 I-147).
- 신고 품종과 행수 품종의 수피는 다른 품종의 수피보다 malaxinic acid 함량이 낮게 관찰되었지만, 전정가지 목질 중의 함량보다 높았음.
- 감천, 원황, 풍수 및 황금배 품종 전정가지 수피의 malaxinic acid 함량은 각각  $53.6 \pm 16.9$ ,  $58.7 \pm 21.4$ ,  $41.1 \pm 6.8$ ,  $41.7 \pm 13.9$ 로 유사한 정도의 양이 함유되어 있었음(그림 I-147).
- Malaxinic acid 함량이 높았던 감천, 원황, 풍수 및 황금배 품종의 전정가지 수피는 신고 및 행수 품종의 전정가지 수피보다 10배 이상 더 높았음(그림 I-147).
- 본 실험 결과, malaxinic acid가 전정가지 목질보다 수피에 더 다량 함유되어 있는 것으로 관찰되었는데, 이는 식물의 생리학적 특성에 기인하는 것으로 추측됨.
- 식물의 경우, 물관과 체관으로 나누어져 물관은 수분과 무기양분이, 체관은 유기 양분의 이동통로 역할을 하는 것으로 알려져 있음.
- 따라서 본 실험에서 껍질, 체관부, 형성층을 수피 부분으로 사용하였으므로 수피 부분에 더 많은 malaxinic acid가 함유되어 있었던 것으로 판단됨.



■ 그림 I-145. 배 전정가지 목질 추출물의 HPLC Chromatogram



■ 그림 I-146. 배 전정가지 수피 추출물의 HPLC Chromatogram

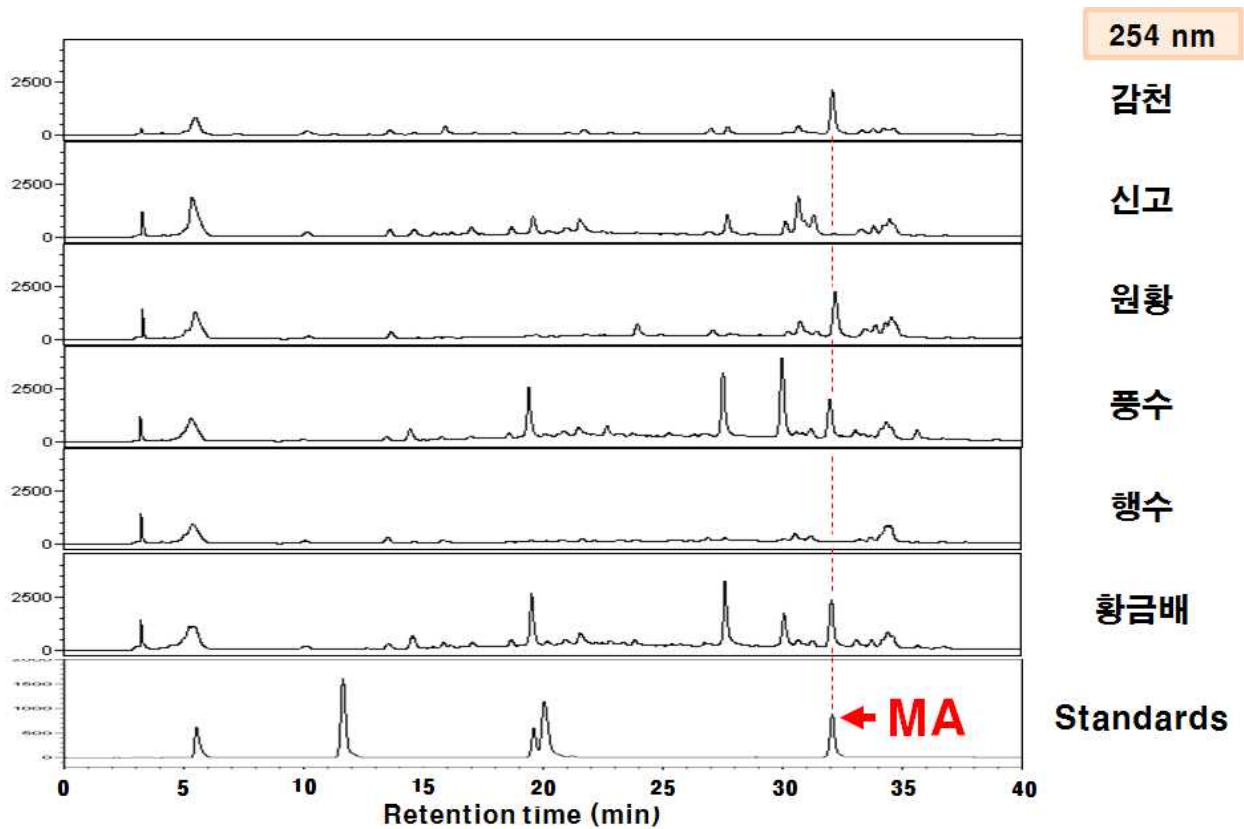


표 I-4. 총 9종 시료 중에 함유된 5종 화합물의 함량 (mg/100 g)

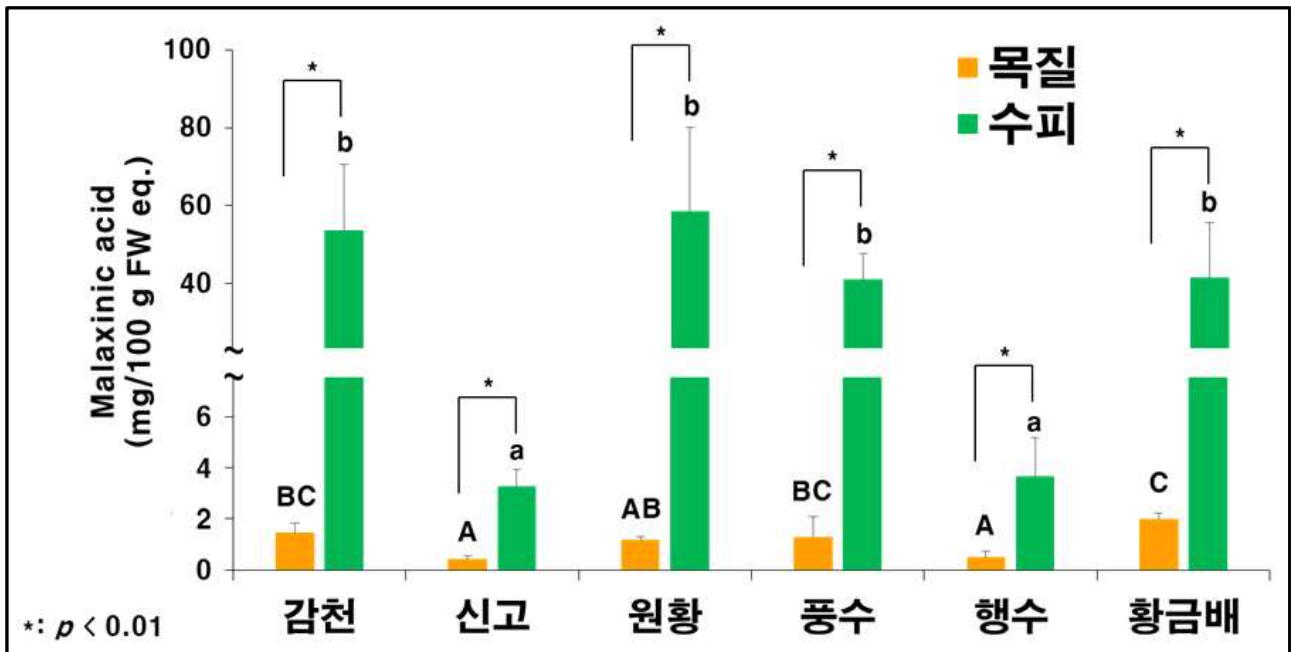
성분	시료	성숙과 <sup>1)</sup> (신고)	미성숙과 <sup>1)</sup> (신고)	착즙박 <sup>2)</sup> (신고)	전정가지 <sup>1)</sup>					
					감천	신고	원황	풍수	행수	황금
Arbutin		18.8	286.1	2.5	482.6	551.9	337.2	390.5	372.1	609.0
Chlorogenic acid		1.8	39.0	1.4	3.1	4.3	4.4	9.3	5.7	11.5
2,3-DHBA		0.2	2.2	0.5	2.6	1.6	1.6	2.6	2.6	2.9
3,4-DHBA		0.1	0.4	0.2	0.7	0.8	0.6	0.7	0.6	0.7
Malaxinic acid		TR	1.2	TR	22.5	0.3	19.2	20.6	0.4	14.6

<sup>1)</sup> 신선중량 100 g 상당량을 기준으로 하였음.

<sup>2)</sup> Wet wt. 100 g 상당량을 기준으로 하였음.

TR: trace.

▣ 그림 I-147. 배 전정가지 목질 및 수피 추출물의 Malaxinic Acid 함량 비교 결과

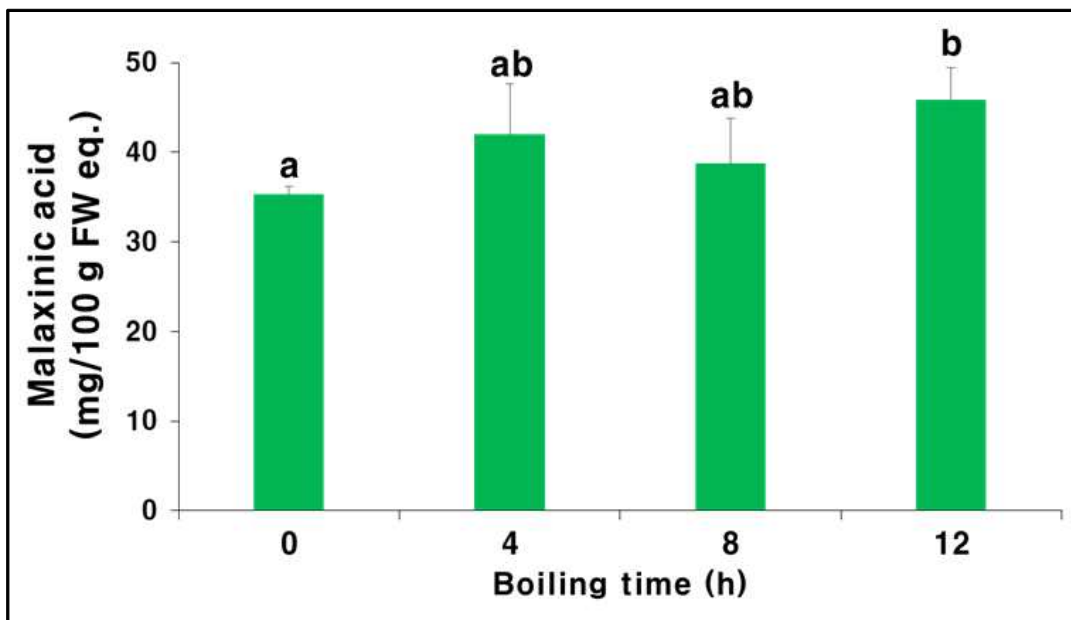


- 본 실험을 통해 다양한 유용 생리활성을 발현하는 malaxinic acid가 전정가지 수피에 다량 함유되어 있음이 확인되었음.
- 본 결과로부터 지금까지 전량 폐기되어왔던 배나무 전정가지의 유용성을 과학적으로 제시하였으며,
- 이를 통해 배나무 전정가지의 활용을 위한 과학적 근거가 제시되었음
- 본 결과는 배 부산물의 활용성 제고를 위한 본 연구과제에 있어 매우 의미있는 성과라 판단됨.
- 본 결과를 기초로 배나무 전정가지를 활용함으로써 다양한 응용제품의 개발이 가능할 것으로 판단되며, 배 농가소득의 향상에 기여할 수 있을 것으로 기대됨.

6) 열수추출 시간에 따른 전정가지 수피 함유 Malaxinic Acid의 안정성 확인

- 상기의 연구를 통해 다양한 활성과 그 우수성이 확인된 malaxinic acid가 전정가지 수피에 다량 함유되어 있음이 확인되었음.
- 전정가지로부터 MA를 포함한 다양한 함유성분 추출시 안전성 및 경제성 등을 고려하였을 때, 열수추출이 효율적이라고 판단됨.
- 따라서 열수추출을 행하는 과정에서 malaxinic acid의 안정성을 확인하고자 하였음.
- 배 전정가지 수피 열수추출물을 대상으로 가열시간을 다르게 하여 경시적(0, 4, 8, 12 시간)으로 malaxinic acid의 안정성을 검토하였음.
- 가열시간에 따른 malaxinic acid 함량(mg/100 g F.W.)은 그림 I-148에 나타내었음.
- 가열시간이 0, 4, 8, 12시간이었을 때, 각각 그 함량은  $35.3 \pm 0.9$ ,  $42.0 \pm 5.6$ ,  $38.7 \pm 5.1$  및  $45.8 \pm 3.6$ 이었음.
- 가열시간이 0시간이었을 때의 malaxinic acid의 양보다 4, 8, 12시간 동안 가열하였던 시료들에서 더 많은 양의 malaxinic acid가 얻어졌지만, 가열시간에 따라 유의적인 차이가 나타나지는 않았음.
- 본 실험 결과, 12시간 동안 열수추출을 행함에 있어서 malaxinic acid는 안정하였으며, 오히려 가열하지 않았을 때보다 가열을 하였을 때 추출률이 더 향상되어짐을 확인할 수 있었음.

■ 그림 I-148. Malaxinic Acid의 열 안정성 평가 결과



7) 배 전정가지 수피 함유 화합물의 단리 및 동정

- 배 전정가지 추출물을 HPLC로 분석한 결과, 품종 간에 malaxinic acid 함량(표 I-1, 그림 I-146~147)이 다르게 나타났으며,
- HPLC chromatogram 상에서 관찰되었듯이 malaxinic acid peak 주변으로 다종의 peak들

이 확인되었음(그림 I-146~147).

- Malaxinic acid 함량이 높았던 감천, 원황, 풍수 및 황금배 품종의 경우, 주변의 peak들이 낮게 관찰되는 반면, malaxinic acid 함량이 다소 낮았던 신고 및 행수 품종의 경우, malaxinic acid 주변의 peak들이 높게 관찰되었음(그림 I-146~147).
- 즉, MA 함량과 MA 주변 화합물들의 함량 간에 역상관계가 확인되었음.
- MA 주변에서 용출된 화합물들이 어떤 성분인지를 확인하는 것은 배나무의 식물생리학적 측면에 있어 의미가 있다고 판단하였음.
- 따라서 전정가지 신고 품종을 대상으로 목질과 수피로 분리한 후, 수피에 해당하는 부분만을 추출하여 그 중에 함유되어 있는 화합물을 분리 및 동정하고자 하였음.

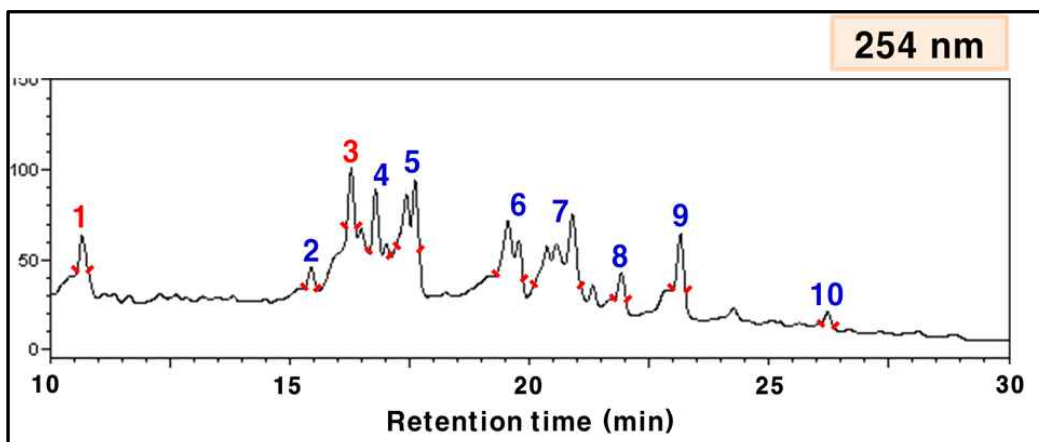
#### 가. 배 전정가지 수피 추출물의 HPLC 분석

- 배 전정가지 신고 품종으로부터 분리한 수피를 추출하여 얻은 농축물(7 g)을 80% MeOH 28 mL로 회수하여 정용한 다음, membrane filter (0.45  $\mu$ m, PTFE)로 여과한 후 HPLC 분석을 행하였음.
- HPLC chromatogram을 살펴보면, 앞선 실험 결과와 마찬가지로,  $t_R$  5.36 min에서 arbutin으로 추정되는 peak가,  $t_R$  10.17 min에서 3,4-DHBA으로 추정되는 peak가,  $t_R$  19.60 min에서 chlorogenic acid로 추정되는 peak가, 그리고  $t_R$  20.23 min에서 2,3-DHBA로 추정되는 peak가 관찰되었으며,  $t_R$  32.16 min에서 malaxinic acid로 추정되는 peak가 관찰되었음.
- 시료 중의 화합물들 peak와 표준품 peak들 간에 일치성을 확인하기 위해 PDA 상의 UV/VIS spectra를 비교한 결과(data 생략), 각 peak들 간의 일치성이 확인되어 전정가지 수피에 arbutin, 3,4-DHBA, 2,3-DHBA, chlorogenic acid 및 malaxinic acid가 함유되어 있음을 재차 확인하였음.

#### 나. 배 전정가지 수피 추출물로부터 분리한 화합물의 구조해석: NMR 분석

- 배 전정가지 수피 추출물로부터 malaxinic acid 주변 화합물들을 분취하기에 앞서, HPLC-3의 조건에서 분석하였을 때 관찰되는 화합물들의 용출 패턴을 확인하였음(그림 I-149).
- 이 결과를 참고로  $t_R$  10 min 이후에 용출된 화합물들을 각각 분취하였음.

■ 그림 I-149. 배 전정가지 수피 추출물의 분취 Chromatogram

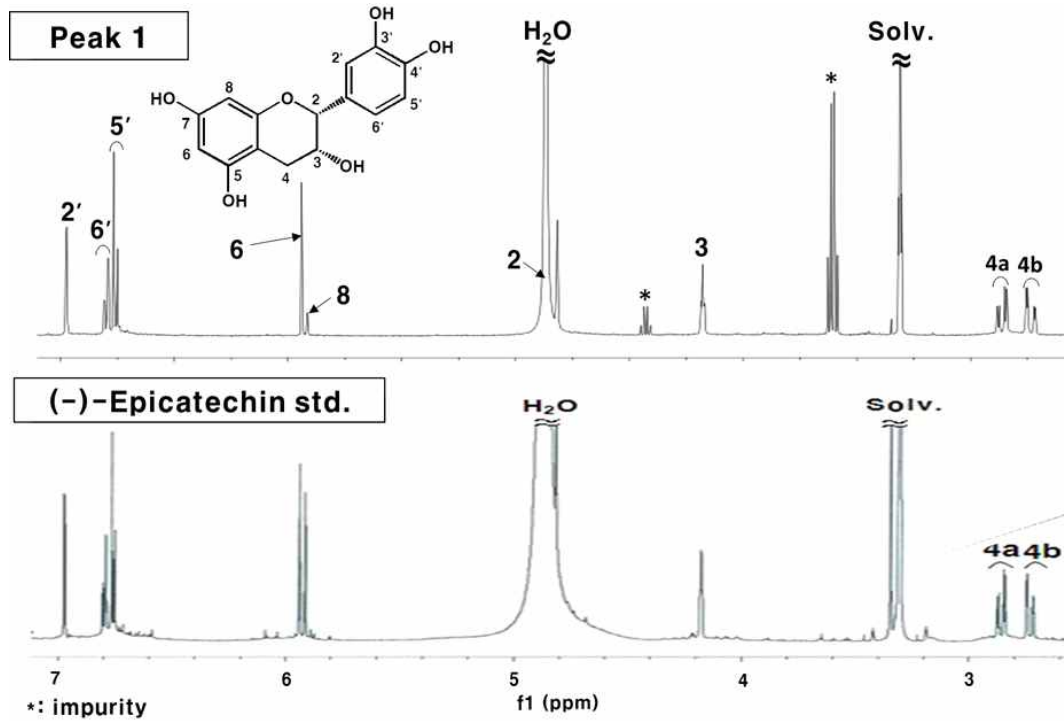


▶ 그 중 구조해석된 화합물은 peak 1과 3임.

1)  $^1\text{H-NMR}$  분석을 이용한 Peak 1의 구조해석

- HPLC chromatogram 상에서  $t_R$  10.71 min에서 용출된 화합물의 구조를 밝히기 위해  $\text{CD}_3\text{OD}$ 를 분석용매로 사용하여  $^1\text{H-NMR}$  분석을 행하였으며, 그림 I-150에 그  $^1\text{H-NMR}$  spectrum을 제시하였음.
- Flavonoid A ring 유래로 시사된 2종의 proton signal들[ $\delta$  5.85 (1H, s, H-6), 5.83 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-8)]과 flavonoid의 B ring 유래로 시사된 3종의 proton signal들[ $\delta$  6.89 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-2'), 6.71 (1H, dd,  $J = 2.0, 0.5$ , H-6')]에 더불어, flavonoid의 C ring 유래로 시사된 4종의 proton signal들[ $\delta$  4.73 (1H, s, H-2), 4.34 (1H, m, H-3), 2.78 (1H, dd,  $J = 16.5, 4.5$  Hz, H-4a), 2.65 (1H, dd,  $J = 17.0, 2.5$  Hz, H-4b)]이 관찰되었음.
- 본 결과로부터 화합물 1은 (-)-epicatechin일 가능성이 시사되었음.
- 따라서 선행연구<sup>(38)</sup>로부터 단리되었던 (-)-epicatechin의  $^1\text{H-NMR}$  spectrum과 비교한 결과, 두 spectra가 일치함이 확인되어 단리한 화합물은 (-)-epicatechin임이 확인되었음(그림 I-150).

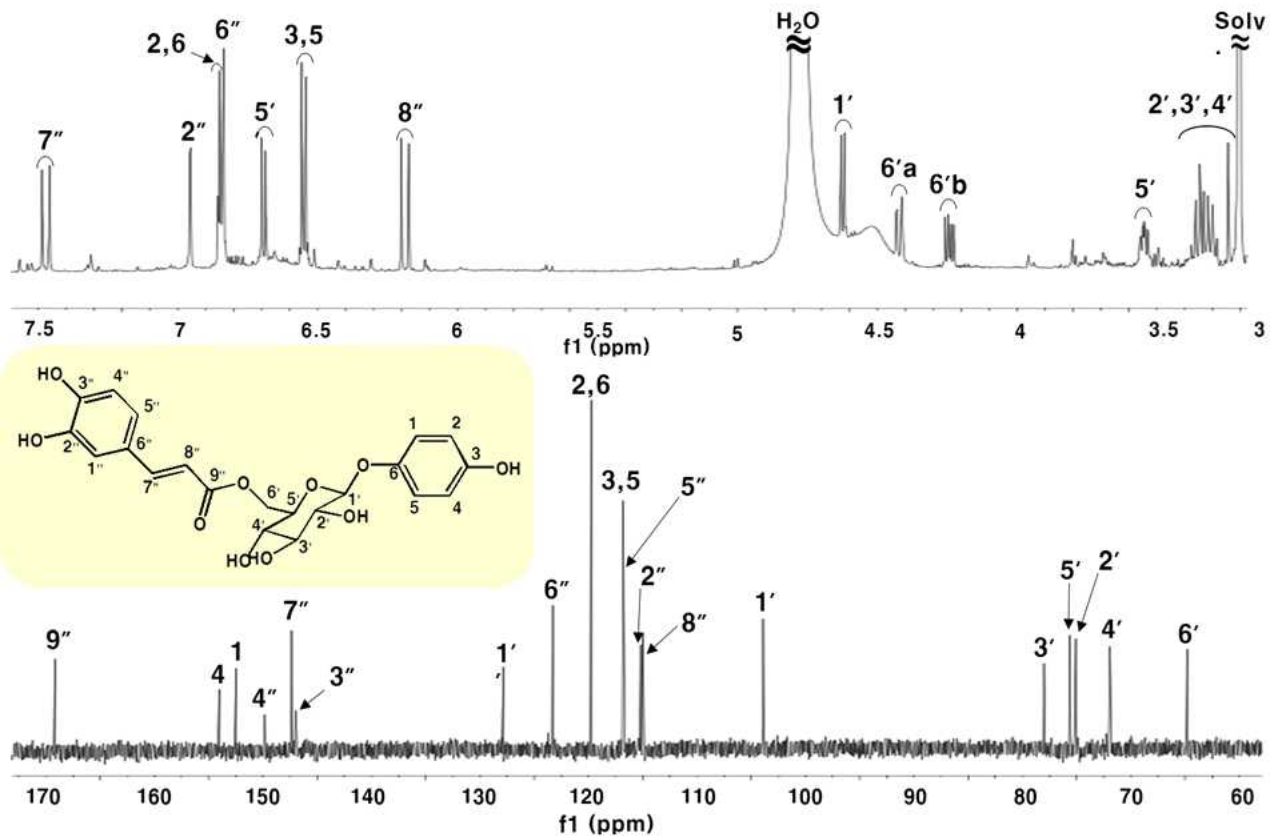
▣ 그림 I-150. 배 전정가지 수피 추출물 Peak 1 및 (-)-Epicatechin 표준품의 NMR spectra



2)  $^1\text{H}$ -및  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석을 이용한 Peak 3의 구조해석

- 그림 I-151의 HPLC chromatogram의  $t_R$  16.29 min에서 용출된 화합물의 구조를 해석하기 위해 그 획분을 분취한 후,  $\text{CD}_3\text{OD}$  용매를 사용하여  $^1\text{H}$ -NMR 및  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석을 행하였음.
- $^1\text{H}$ -NMR spectrum으로부터 3 치환체 benzene ring proton signal들 [ $\delta$  6.96 (1H, d,  $J$  = 6.7 Hz, H-2''), 6.70 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, H-5''), 6.84 (1H, d,  $J$  = 1.8 Hz, H-6'')]과 trans olefinic double-bond proton signal들 [ $\delta$  7.47 (1H, d,  $J$  = 16.2 Hz, H-7''), 6.19 (1H, d,  $J$  = 16.2 Hz, H-8'')]이 관찰되어 부분구조로써 caffeic acid의 존재가 확인되었음.
- 그에 더하여 *p*-substituted aromatic ring proton signal들 [ $\delta$  6.85 (2H, q, H-2,6), 6.55 (2H, dt, H-3,5)]에 더하여 당의 anomeric proton signal [ $\delta$  4.62 (1H, d,  $J$  = 7.2 Hz, H-1')]을 포함한 당에 귀속되어지는 6종의 non-anomeric proton signal들 [ $\delta$  3.38-3.24 (3H, H-2'~H-4'), 3.54 (1H, qd, H-5'), 4.42 (1H, dd,  $J$  = 12, 2.4 Hz, H-6'a), 4.25 (1H, dd,  $J$  = 12, 6.6 Hz, H-6'b)]의 존재가 관찰되어 부분구조로써 arbutin의 존재가 확인되었음.

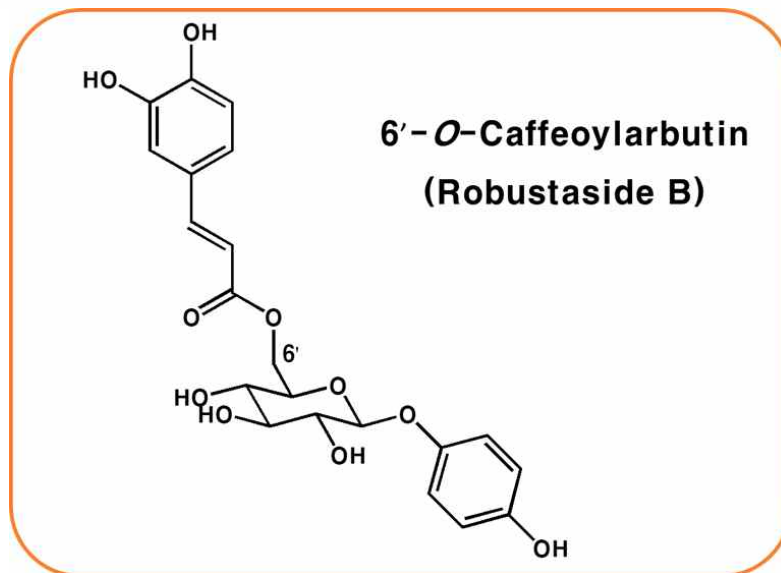
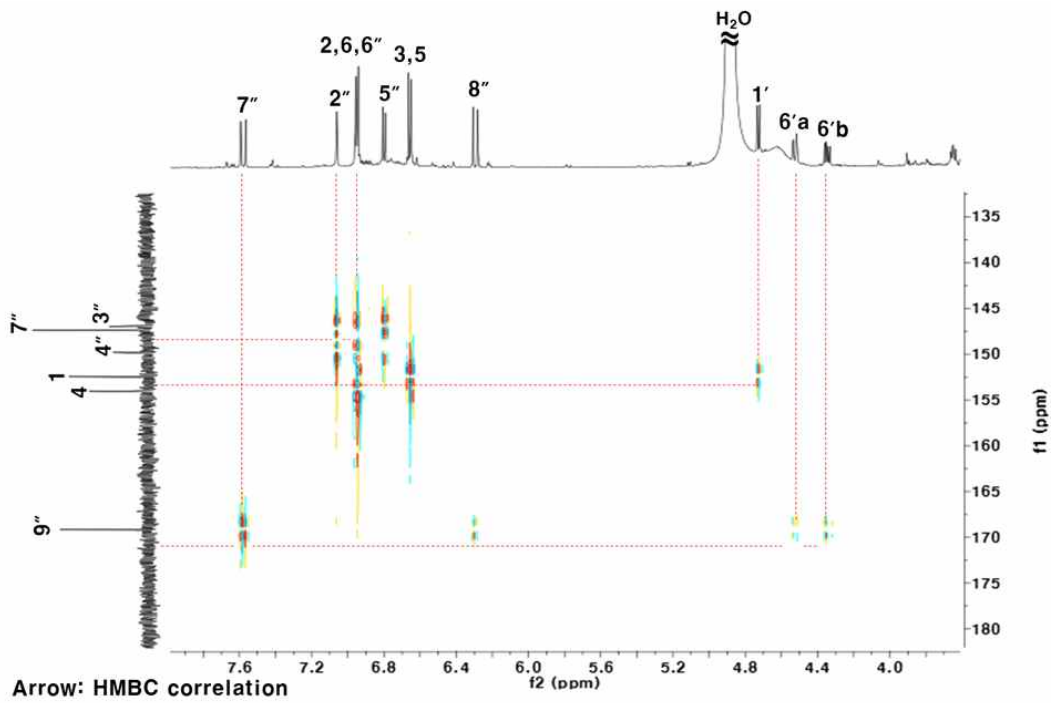
▣ 그림 I-151. 배 전정가지 수피 추출물 Peak 3의  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra



- 추가적으로 화합물의 구조 및 결합 위치를 확인하고자  $^{13}\text{C}$ -NMR (그림 I-151) 및 HMBC (그림 I-152) 분석을 행하였음.  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석 결과, caffeic acid와 arbutin 유래의 19종 carbon signal들이  $\delta$  154.03–64.81에서 검출되었음. 또한, HMBC 분석 결과,  $\delta$  4.62 (H-1') signal과  $\delta$  152.47 (C-1) signal,  $\delta$  4.42 (H-6'a) 및 4.25 (H-6'b)의 signal들과  $\delta$  169.16 (C-9'')의 signal,  $\delta$  6.96 (H-2'') 및 6.84 (H-6'')의 signal들과  $\delta$  147.36 (C-7'')의 signal 간에 각각 상관관계가 나타났음.
- 특히,  $\delta$  4.42 (H-6'a) 및 4.25 (H-6'b)의 signal들과  $\delta$  169.16 (C-9'')의 signal 간에 상관관계가 관찰됨으로써 arbutin의 6'위와 caffeic acid의 9''위가 에스테르 결합한 구조임이 확인되었음. 따라서 peak 3은 6'-O-caffeoylarbutin (robustaside B)으로 동정되었음.
- (-)-Epicatechin은 차를 비롯한 다양한 식물에 널리 분포되어 있으며, 항산화 항균 항암 등의 다양한 생리활성을 발현함이 잘 알려져있음.
- 이 화합물은 배 및 배 미성숙과에 함유되어 있음이 본 연구결과로부터 확인되었음.
- 그러나, 전정가지에 (-)-epicatechin이 존재함은 본 연구에 의해 처음으로 확인되었음.
- 그리고 robustaside B는 항산화활성을 비롯한 다양한 생리활성을 발현함이 기 보고된 caffeic acid를 부분구조로 하고 있으며,
- 또 피부미백효과가 우수한 arbutin 또한 부분구조를 이루고 있음.
- 따라서 본 화합물은 항산화활성을 비롯한 다양한 생리활성을 발현할 가능성이 매우 높을 것으로 판단되며, 피부미백효과에도 우수한 활성을 보일 가능성이 매우 높을 것으로 판단됨.
- 따라서 robustaside B가 배나무 전정가지 이외에 배 성숙과 및 미성숙과 등에도 함유되어

있는지를 정성 및 정량할 필요가 있다고 판단됨.

▣ 그림 I-152. 배 전정가지 수피 추출물 Peak 3의 HMBC 결과 및 구조해석 결과





- 본 연구에서 배 성숙과 및 배 부산물(착즙박, 미성숙과, 전정가지 등)의 유용성을 평가하고자 하였음.
- 이에 상기 연구를 통해 선발된 5종의 배 지표성분(arbutin, chlorogenic acid, malaxinic acid, 2, 3-DHBA, 3,4-DHBA)의 함량 분석 및 다양한 생리활성 평가를 행하였음.
- 그 결과, 전반적으로 성숙과와 착즙박보다 미성숙과에서 우수한 결과가 관찰되었음.
- 특히 미성숙과보다 전정가지에 있어 성분학적 측면뿐만 아니라 기능성 측면에서도 월등히 우수한 결과가 확인되었음.
- 지금까지 배나무 전정가지는 전량 폐기되어 왔음.
- 그러나 본 연구 성과를 통해 배나무 전정가지의 우수성이 처음으로 제시되었음.
- 배나무 전정가지에는 피부 미백활성을 보이는 arbutin은 물론, chlorogenic acid와 malaxinic acid, 3,4- 및 2,3-DHBA 등의 지표성분 이외에도 타 유용성분들의 함량 또한 전반적으로 높아 화장품 소재 및 다양한 식품소재로써의 활용성이 매우 기대됨.

## <제 2세부> 전태일 교수 (전남대)

▶ 과제명: 나주배의 고부가가치화를 위한 기능성 검증 및 제품화 지원

### <배 가공 식품 제작을 위한 안전성 평가>

#### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

가. 배추출물과 구성성분들의 지방세포 독성 평가

- 배추출물과 구성성분들의 세포독성 평가를 위해 배추출물 (PE, 0.05 - 2 mg/mL), 2,3-DHBA (1 - 300  $\mu$ M), 3,4-DHBA (1 - 300  $\mu$ M)를 3T3-L1 지방전구세포에 48시간 동안 처리한 후 MTT assay를 통해 세포 생존율을 분석하였음.

나. 배추출물의 *in vivo* 독성 평가

- 배추출물과 구성성분들의 *in vivo* 독성 평가를 위해 C57BL/6 마우스에 배추출물 (PE) 0.5% (w/w)와 2% (w/w)를 식이에 섞어 11주, 6주간 각각 섭취시킨 후 체중, 식이섭취량, 혈액성분을 분석하였음.

#### 2. 연구내용

가. 배추출물과 구성성분들의 지방세포 독성 평가

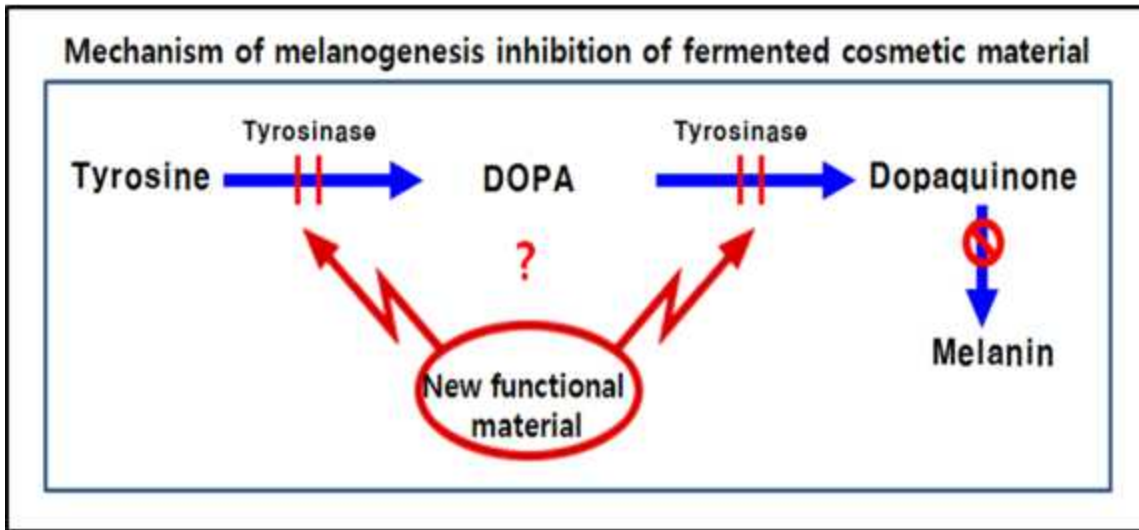
- 추출물과 단일화합물의 일반적 평가 처리 농도 범위 내에서 전혀 독성이 보이지 않았기 때문에 2차년도 계획인 지방세포분화 및 지방축적 억제 기능 평가에 문제가 없을 것으로 보임 (그림 II-5).

나. 배추출물의 *in vivo* 독성 평가

- PE 0.5% (w/w)와 2% (w/w) group 모두 식이섭취와 체중변화가 대조군과 비교했을 때 유의성 있는 차이가 보이지 않았음 (그림 II-6).
- 또한, 간기능 검사결과 GOT와 GPT의 혈장내 수치가 대조군과 비교했을 때 유의성 있는 차이가 보이지 않았으므로 배추출물의 0.5% (w/w)와 2% (w/w) 수준의 식이섭취는 배의 기능성평가를 위한 향후 동물실험에 문제가 없을 것으로 생각됨(그림 II-6).

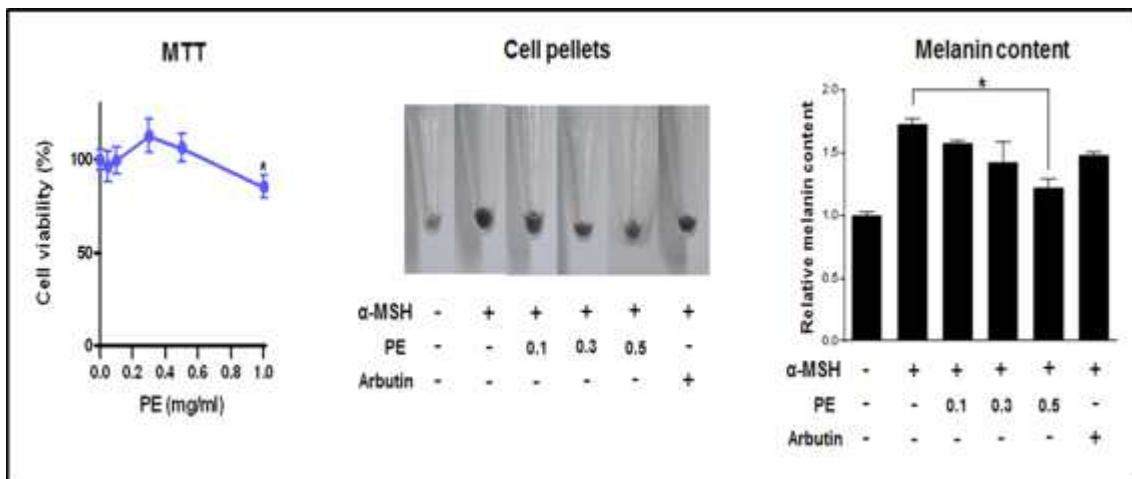
### 3. 연구결과

▣ 그림 II-1. Melanin 합성 기전.



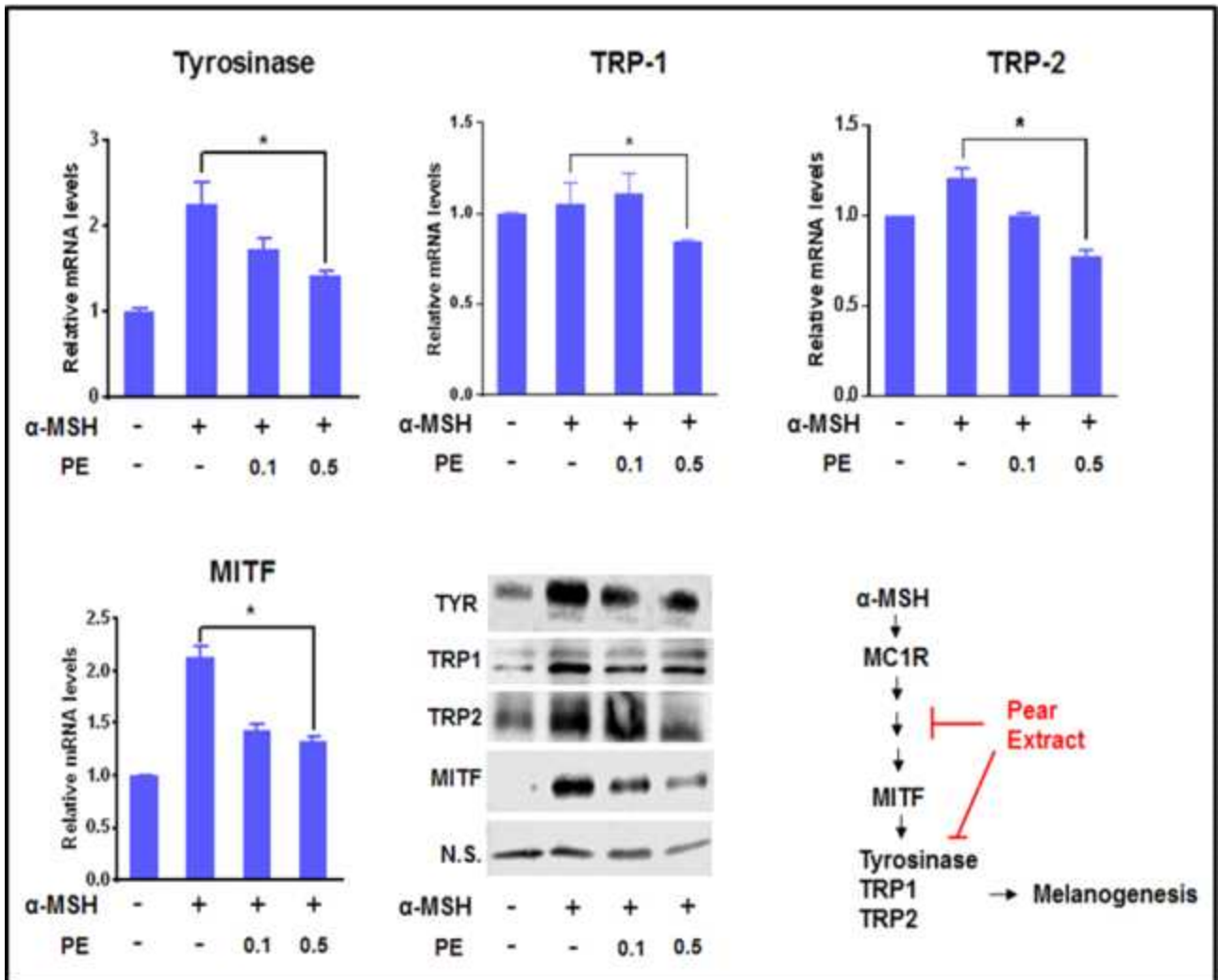
- ▶ Melanin은 L-tyrosine이 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)로 hydroxylation되고 다시 dopaquinone으로 산화되면서 합성되는데 이때 tyrosinase는 rate-limiting enzyme으로서 melanin 합성과정을 조절함.

▣ 그림 II-2. 배추출물의 melanin 합성 억제.



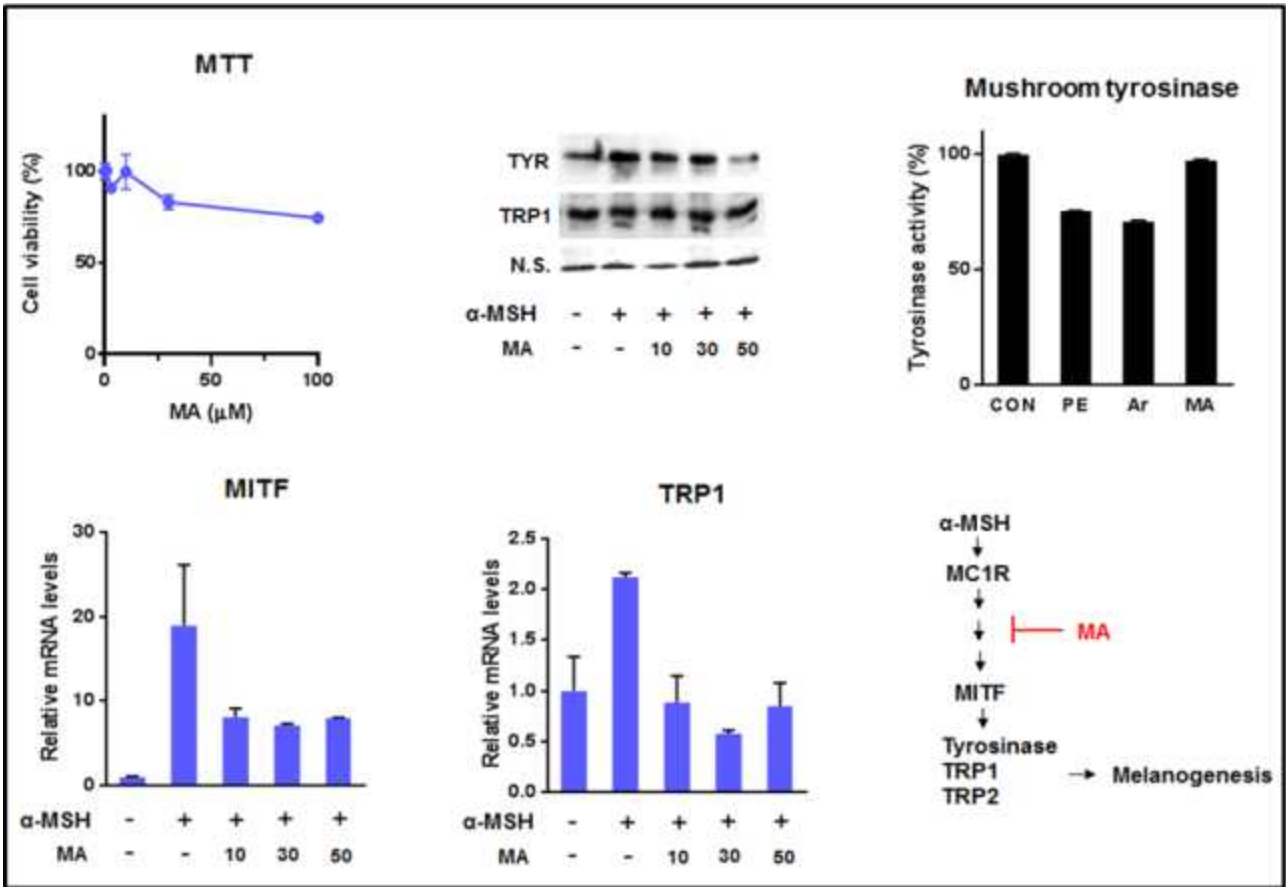
- ▶ α-MSH에 의해 유도된 melanin 합성은 PE에 의해 농도 의존적으로 억제 되고 있음을 확인함.
- ▶ 0.5 mg/mL PE는 positive control인 arbutin보다 더 높은 억제력을 보였음.

■ 그림 II-3. 배추출물의 melanin 합성 유전자 발현 억제.



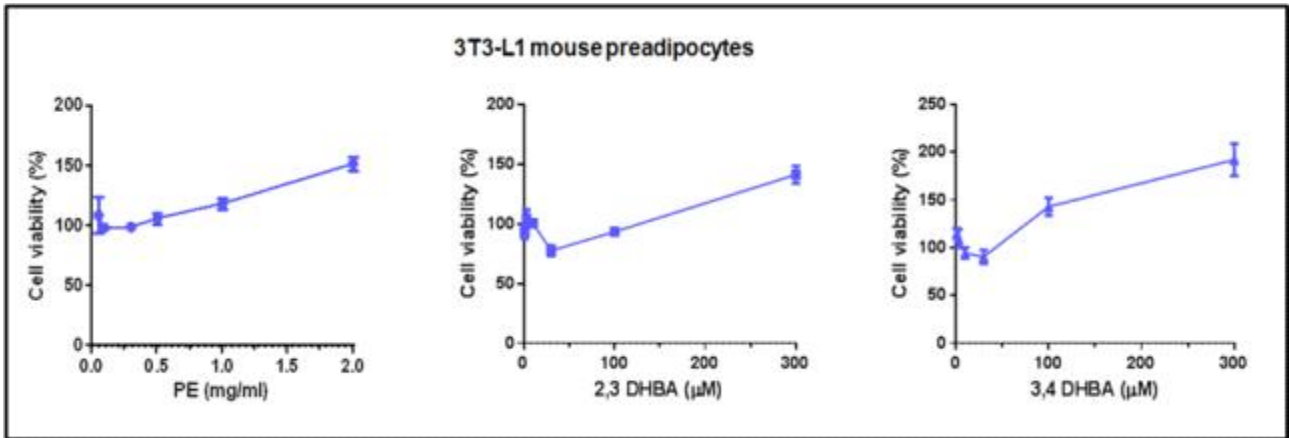
- ▶ PE 처리 후 tyrosinase, TRP-1, TRP-2의 mRNA 발현은 농도 의존적으로 감소되었음.
- ▶ Tyrosinase와 TRPs 조절 전사인자인 MITF의 mRNA와 단백질 발현도 PE에 의해 유의성 있게 감소되었음.

■ 그림 II-4. 배성분의 melanin 합성 유전자 발현 억제.



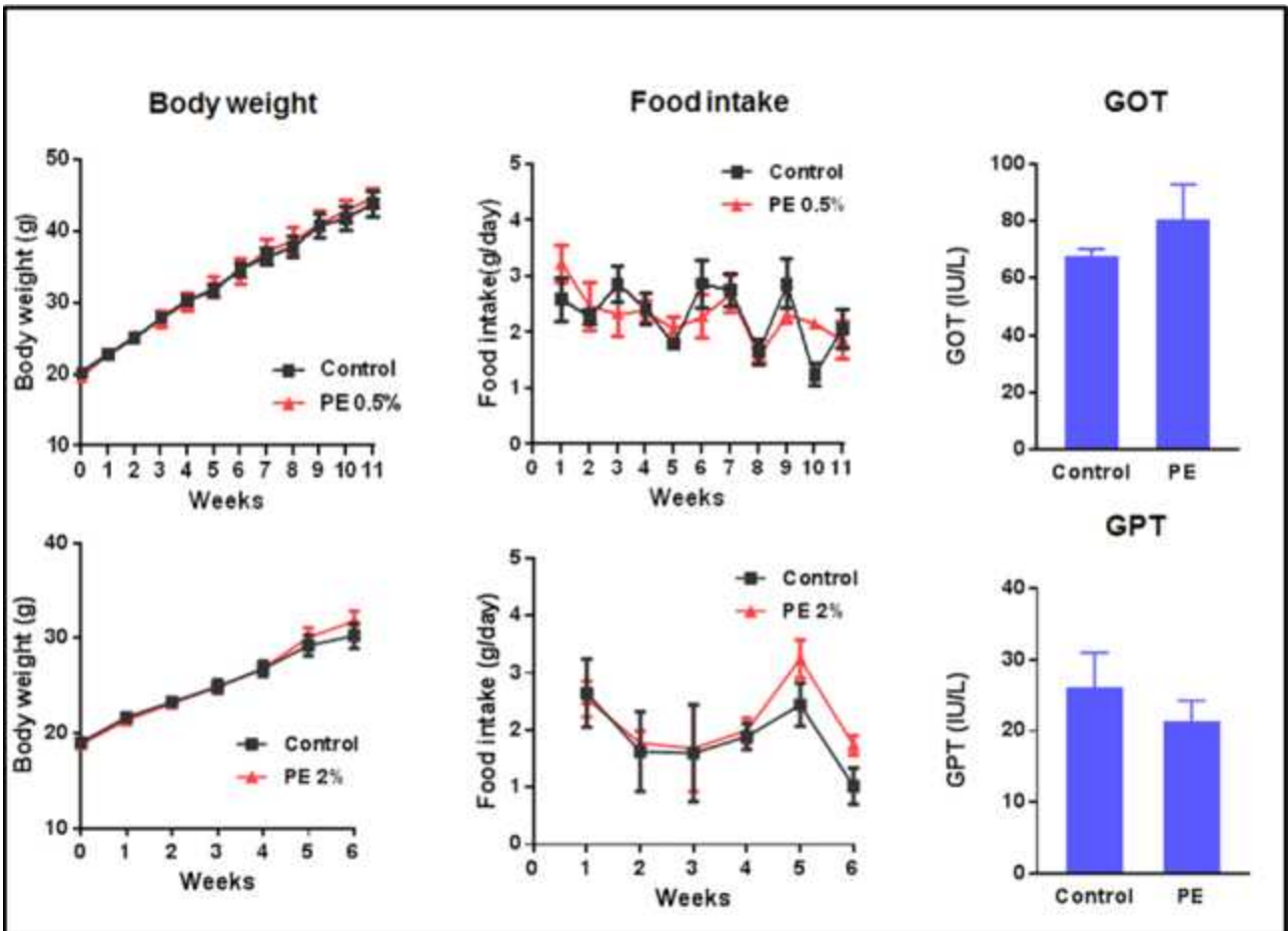
- ▶ 배추출물 (0.1 mg/mL)은 positive control인 arbutin (0.5 mM)처럼 tyrosinase활성을 40% 정도 직접적으로 억제하였음.
- ▶ MA (0.5 mM)는 tyrosinase 활성을 전혀 조절하지 않았음.
- ▶ 배추출물의 직접적 tyrosinase 효소활성 억제는 배추출물에 포함되어 있는 arbutin에 의해 나타나는 것으로 생각되어지고 MA는 arbutin과 같은 직접적 억제제는 아니지만 MSH signal 조절을 통해 MITF와 tyrosinase, TRPs 발현을 억제하는 것으로 생각됨.

■ 그림 II-5. 배추출물의 지방세포 독성.



▶ 추출물과 단일화합물의 일반적 평가 처리 농도 범위 내에서 전혀 독성이 보이지 않았기 때문에 2차년도 계획인 지방세포분화 및 지방축적 억제 기능 평가에 문제가 없을 것으로 보임.

■ 그림 II-6. 실험동물에서 배추출물의 안전성.



▶ PE 0.5% (w/w)와 2% (w/w) group 모두 식이섭취와 체중변화가 대조군과 비교했을 때 유의성 있는 차이가 보이지 않았음.

▶ 간기능 검사결과 GOT와 GPT의 혈장내 수치가 대조군과 비교했을 때 유의성 있는 차이가 보이지 않았으므로 배추출물의 0.5% (w/w)와 2% (w/w) 수준의 식이섭취는 배의 기능성평가를 위한 향후 동물실험에 문제가 없을 것으로 생각됨.

## <지방축적 억제효과 연구 필요성 및 선행연구 결과와의 연계성: 배 유효물질 Malaxinic Acid>

### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

가. 배 유효성분의 세포 지방 축적 및 미토콘드리아 기능 조절 규명

#### (1) 간세포 지방축적

- Mouse 간세포 AML12에 PE, MA를 24시간 처리한 후 oleic acid를 첨가하여 지방축적을 4시간동안 유도시킨 후 Nile red를 이용하여 lipid를 형광 염색하였음.

#### (2) 지방세포분화

- Mouse preadipocyte 3T3-L1 세포를 PE, MA 처리와 동시에 분화유도 배지를 이용해 지방세포로 8일간 분화유도한 후 Oil Red O 염색을 통해 지방축적을 분석하였음.

#### (3) 미토콘드리아 기능

- Mouse 근육세포 C2C12 세포를 myotube로 분화한 후 PE, MA를 24시간 처리한 후 Seahorse analyzer를 이용하여 산소소모량을 분석하였음.
- 지방산 산화율 분석을 위해 palmitic acid를 처리 한 후 Seahorse analyzer를 이용하여 산소소모량을 분석하였음.

나. 배 유효성분의 대사 및 인슐린 신호 조절 규명

#### (1) 간세포 지방대사 유전자 발현

- Mouse 간세포 AML12에 PE, MA를 24시간 처리한 후 glucose/serum free media로 12시간 starvation 후 insulin과 glucose를 6시간 처리한 후 RNA 분리하여 RT-qPCR로 분석하였음.

#### (2) Adipogenesis 유전자 발현

- Mouse preadipocyte 3T3-L1 세포를 PE, MA 처리와 동시에 분화유도 배지를 이용해 지방세포로 8일간 분화유도한 후 RNA와 단백질을 분리하여 RT-qPCR과 immunoblotting으로 분석하였음.

#### (3) ER stress, autophagy, inflammation 유전자 발현

- Mouse preadipocyte 3T3-L1 세포를 PE, MA 처리와 동시에 분화유도 배지를 이용해 지방세포로 8일간 분화유도한 후 RNA와 단백질을 분리하여 RT-qPCR과 immunoblotting으로 분석하였음.

## 2. 연구내용 및 결과

가. 배 유효성분의 세포 지방 축적 및 미토콘드리아 기능 조절 규명

(1) 배 추출물 및 유효성분의 간세포 지방축적

- Oleic acid 처리에 의해 증가된 지방축적은 PE, MA에 의해 감소되지 않았음(그림 II-7).

(2) 배 추출물 및 유효성분의 지방세포분화 억제

- PE, MA 처리는 유의성 있게 지방세포분화를 억제하였음(그림 II-8, 그림 II-12).

(3) 배 추출물 및 유효성분의 미토콘드리아 기능 향상

- PE, MA 처리는 기초 산소소모량과 palmitic acid의 산화율을 증가시켰음(그림 II-9).

나. 배 유효성분의 대사 및 인슐린 신호 조절 규명

(1) 배 추출물 및 유효성분의 간세포 지방대사 유전자 발현 조절

- Insulin과 glucose에 의해 증가된 지방합성 유전자 SREBP-1c, FASN, ACC1의 발현은 PE, MA에 의해 감소되지 않았음(그림 II-10).

(2) 배 추출물 및 유효성분의 지방 세포분화 유전자 발현 억제

- PE, MA 처리는 지방세포분화 유전자 (PPAR $\gamma$ , C/EBP- $\alpha$ , FABP4, FASN)의 mRNA와 단백질 발현을 감소시켰음(그림 II-11, 그림 II-13)

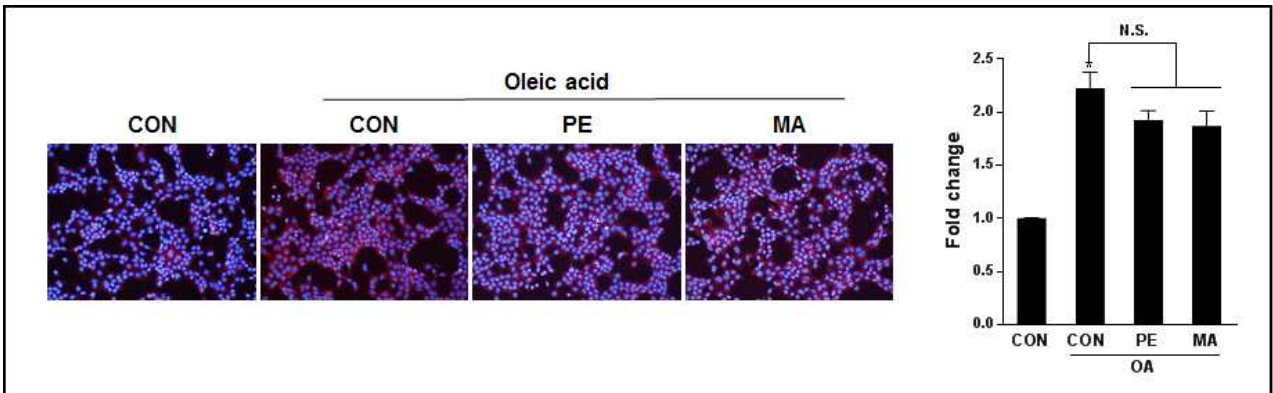
(3) 배 추출물 및 유효성분의 ER stress, autophagy, inflammation 유전자 발현 억제

- PE, MA 처리는 ER stress (IRE1 $\alpha$ , XBP1s, PERK, eIF2 $\alpha$ ), 염증성 cytokine IL-1 $\beta$ , autophagy (TFEB, ULK1, ATG16L1, LC3A)의 mRNA와 단백질 발현을 감소시켰음(그림 II-14 그림 II-15)



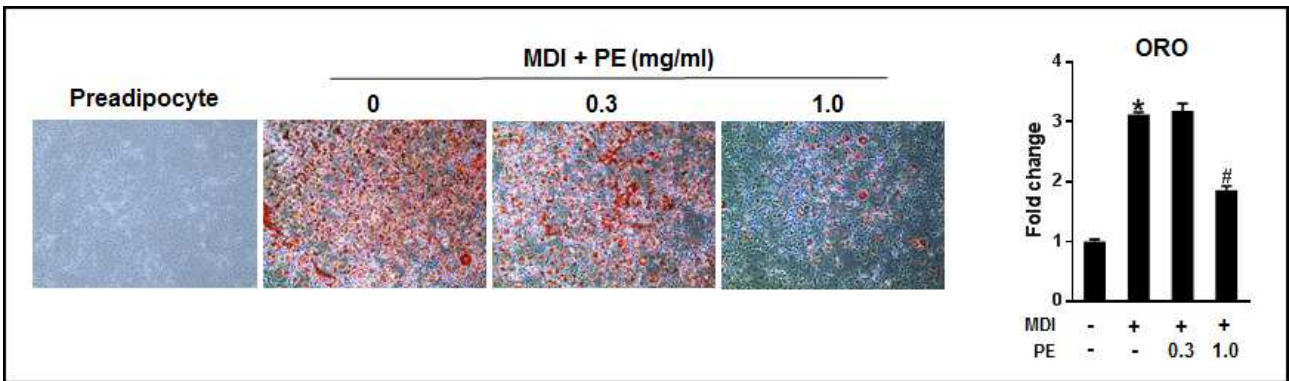
### 3. 연구결과

▣ 그림 II-7. 배추출물의 간세포 지방축적 조절 확인



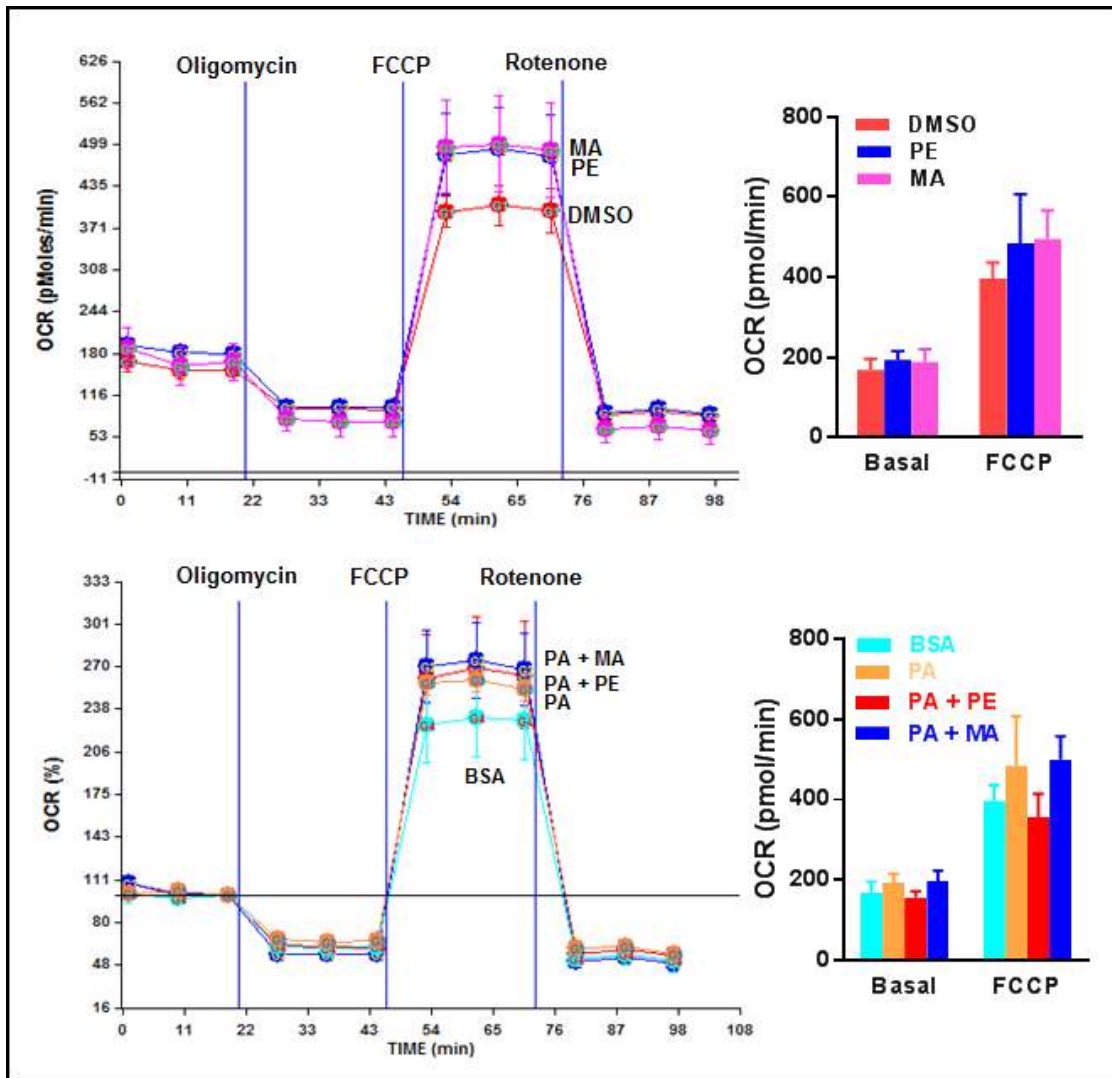
- ▶ AML12 간세포에 oleic acid (OA, 200  $\mu$ M)를 24시간 처리하여 지방축적을 유도한 후 Nile red 염색을 통해 확인하였음. 배추출물 (PE)과 배 유효성분 malaxinic acid (MA)의 간세포 지방축적 억제를 확인하기 위해 PE와 MA를 24시간 전처리 후 OA를 24시간 처리하였음.
- ▶ PE와 MA는 OA에 의해 유도되는 간세포 지방축적에 대해 억제 효과를 보이지 않았음.

▣ 그림 II-8. 배추출물의 지방세포분화 억제



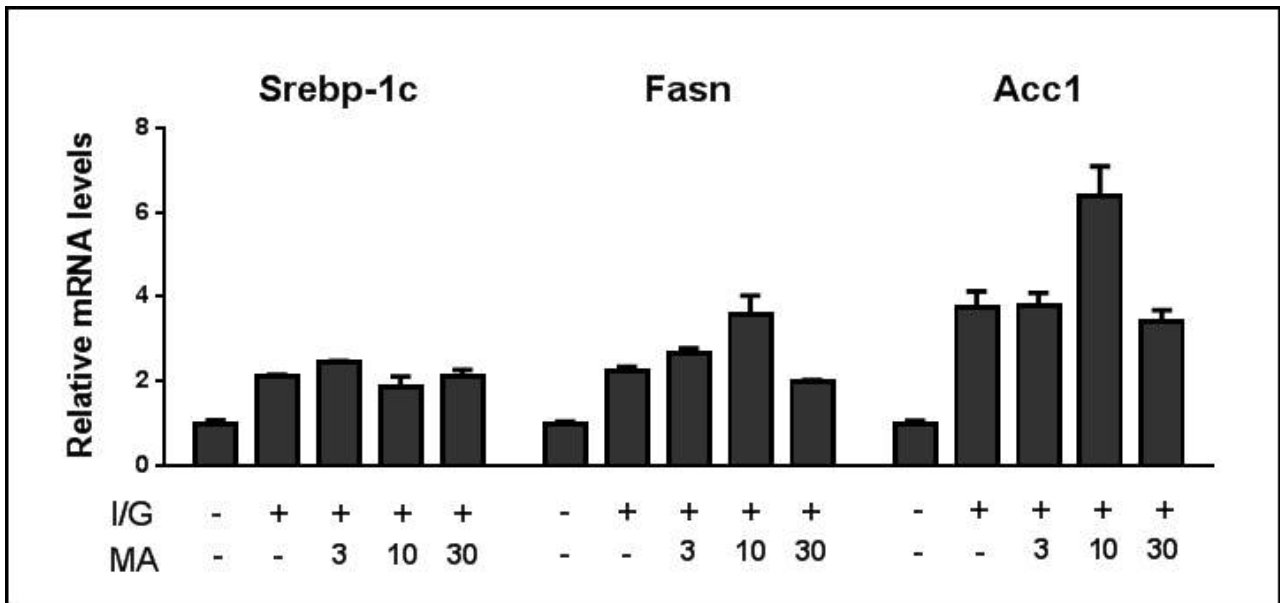
- ▶ 3T3-L1 세포에 MDI (IBMX + Dexamethasone + Insulin) media를 8일간 처리하여 지방세포분화를 유도한 후 Oil Red O 염색을 통해 확인하였음. 배추출물 (PE)의 지방세포분화 억제를 확인하기 위해 MDI media와 같이 8일간 처리하였음.
- ▶ 그림 2-1에서는 PE의 간세포 지방축적 억제 효과를 볼 수 없었지만 지방세포에서는 PE가 지방분화를 유의성 있게 억제함을 확인하였음.

■ 그림 II-9. 미토콘드리아 호흡 기능 확인



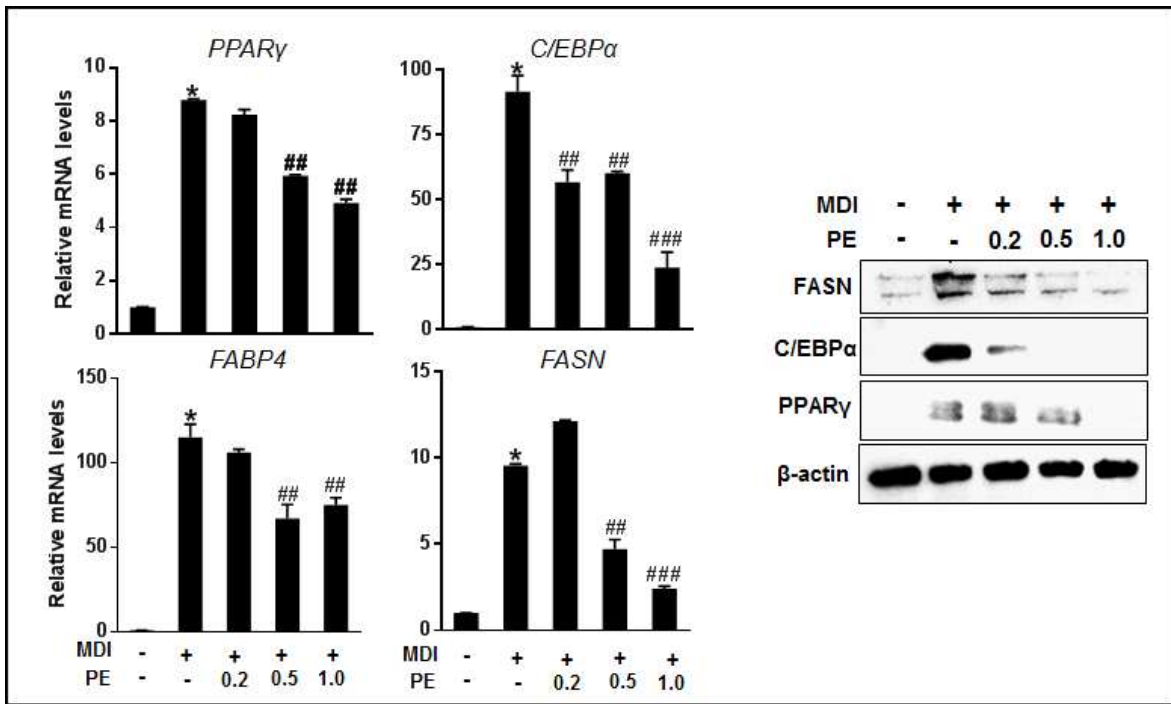
- ▶ 지방세포에서 PE와 유효성분인 malaxinic acid (MA)의 미토콘드리아 호흡기능을 seahorse analyzer로 분석한 결과 통계적 유의성은 없었지만 PE와 MA가 미토콘드리아 기초 호흡기능을 증가시켰음.
- ▶ 지방세포에서 palmitic acid를 이용해 지방산 산화율을 seahorse analyzer로 분석한 결과 통계적 유의성은 없었지만 PE와 MA가 palmitic acid 산화율을 증가시켰음.
- ▶ 그러므로, 지방세포에서 PE와 MA가 미토콘드리아 기능 증가를 통해 에너지 소비를 증가시킴으로써 지방축적을 억제하는 것으로 생각되어짐.

■ 그림 II-10. 간세포에서 지방대사 관련 유전자 발현 조절 확인



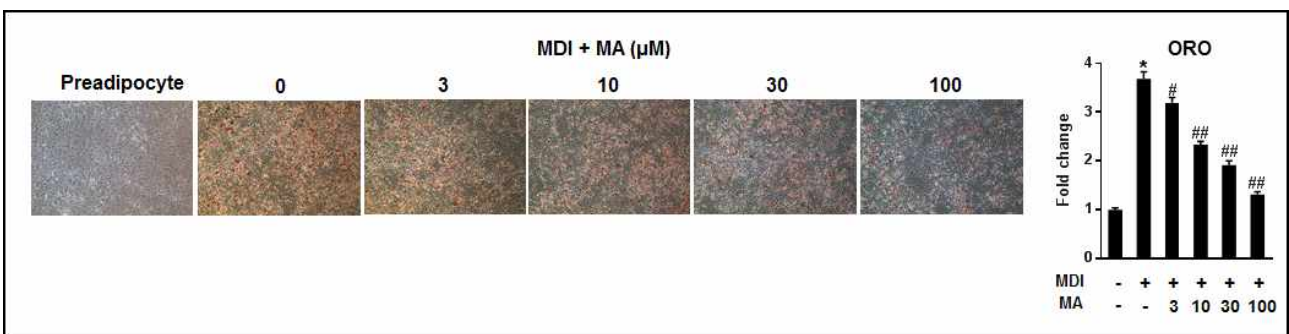
- ▶ AML12 간세포에서 12시간동안 glucose/serum starvation 하고 insulin (I, 100 nM)과 glucose (G, 25 mM)를 6시간 처리하여 지방합성을 증가시킨 후 유전자 발현을 분석하였음. 배 유효성분 MA의 간세포 지방합성 유전자 발현 억제를 확인하기 위해 MA를 24시간 전처리하고 starvation 후 I/G 처리하였음.
- ▶ MA는 I/G에 의해 증가된 지방합성 유전자 Srebp-1c, Fasn, Acc1의 발현을 억제하지 못하였음. 그림 2-1의 간지방 축적 결과처럼 배추출물과 그 유효성분인 MA는 간 지방대사에 직접적인 영향을 주지 않는 것으로 생각되어짐.

■ 그림 II-11. 배추출물의 지방세포분화 관련 유전자 발현 억제



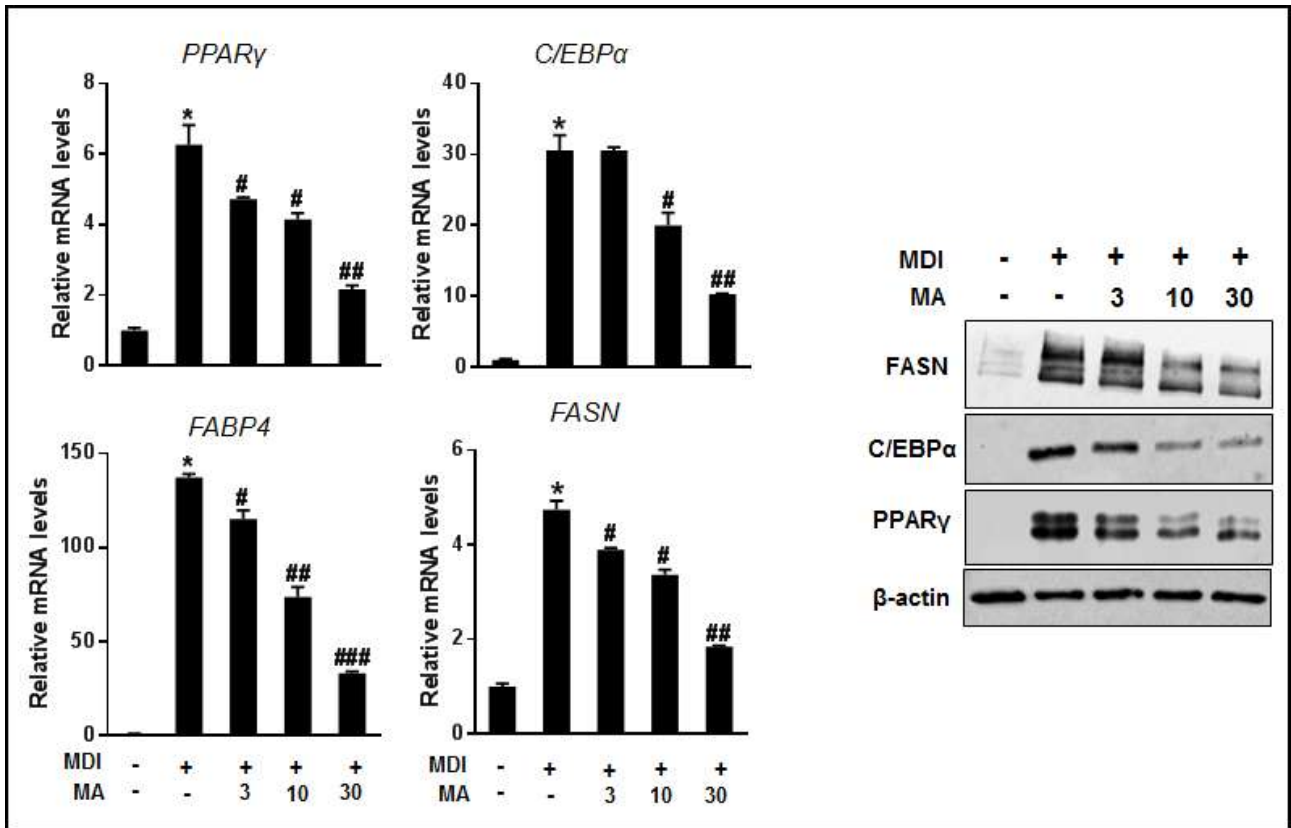
- ▶ MDI media에 의해 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , FABP4, FASN의 mRNA와 단백질의 발현이 증가되었고, PE 처리시 모든 유전들의 발현이 유의성 있게 감소되는 것을 확인하였음.
- ▶ 그러므로 PE는 지방세포 분화 및 지방합성 유전자의 발현을 억제함으로써 지방분화 및 축적을 억제하는 것으로 생각됨.

■ 그림 II-12. 배 유효성분 malaxinic acid (MA)의 지방세포분화 억제



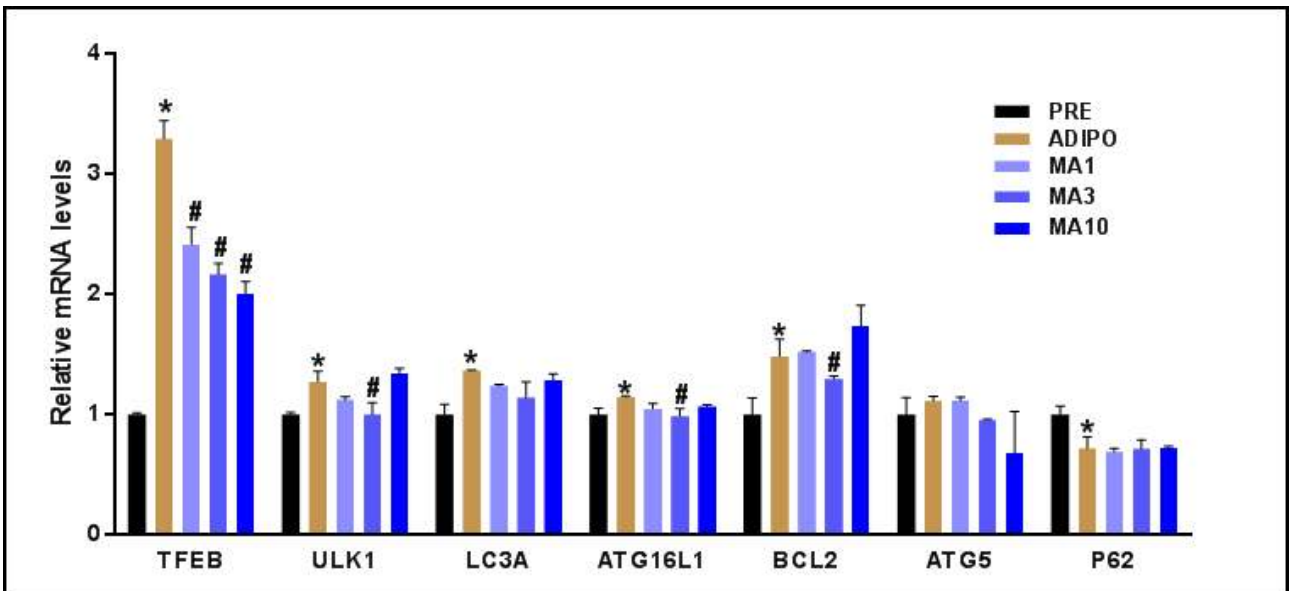
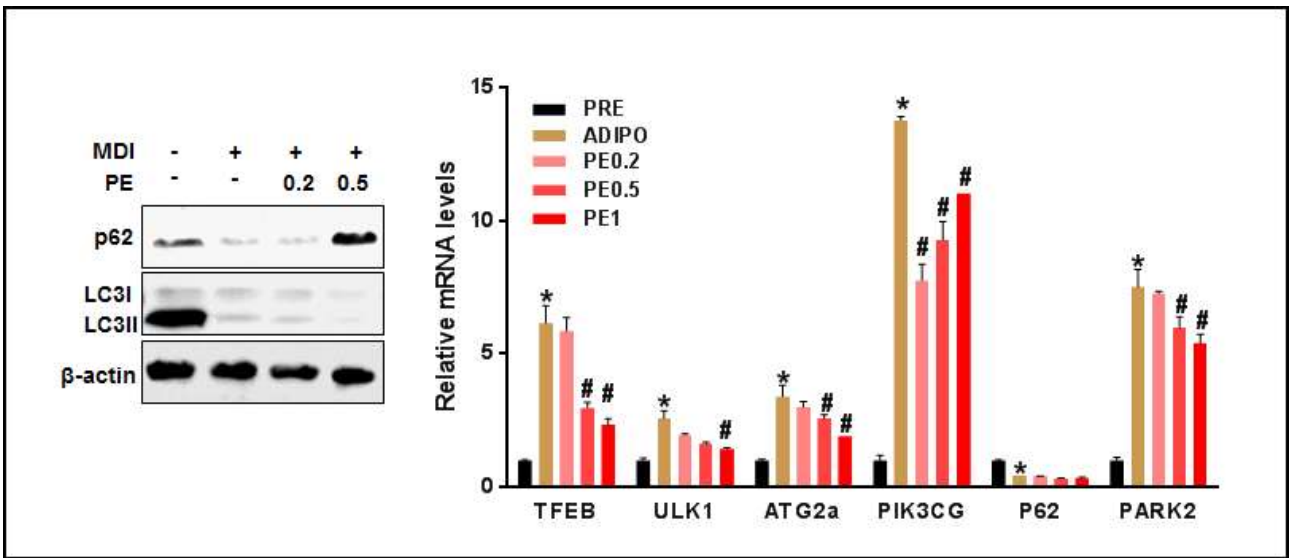
- ▶ 3T3-L1 세포에 MDI media를 8일간 처리하여 지방세포분화를 유도한 후 Oil Red O 염색을 통해 확인하였음. 1세부과제에서 분리된 배 유효성분인 malaxinic acid (MA)의 지방세포분화 억제를 확인하기 위해 MDI media와 같이 8일간 처리하였음.
- ▶ MDI만 처리한 그룹과 비교하였을 때 MA는 농도 의존적으로 지방세포분화를 억제하였음을 확인하였음.

■ 그림 II-13. 배 유효성분 MA의 지방세포분화 관련 유전자 발현 억제



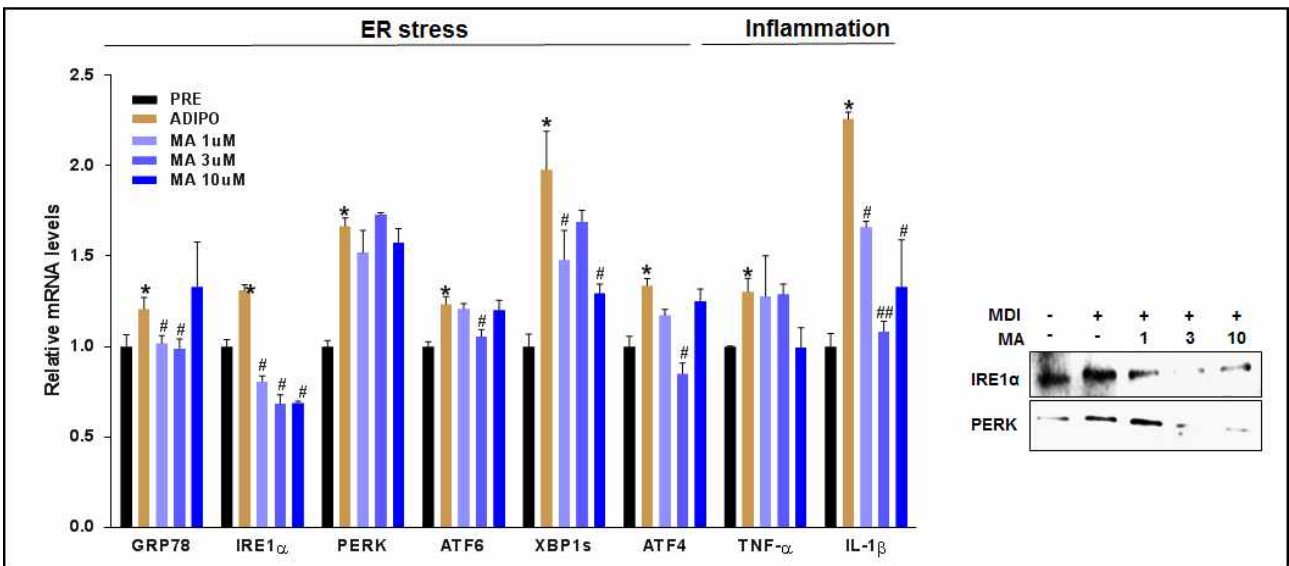
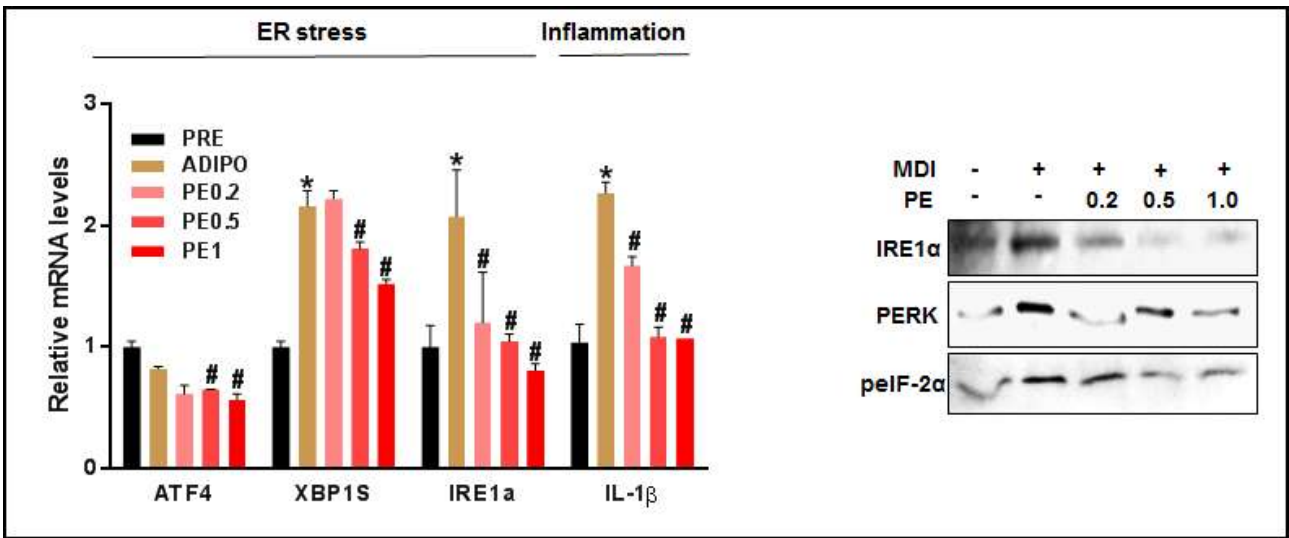
- ▶ MDI media에 의해 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , FABP4, FASN의 mRNA와 단백질의 발현이 증가되었고, MA 처리시 모든 유전들의 발현이 유의성 있게 감소되는 것을 확인하였음.
- ▶ 그러므로 MA는 지방세포 분화 및 지방합성 유전자 발현 억제를 통해 지방세포분화 및 지방축적을 억제하였음.
- ▶ 이것은 MA가 배추출물의 지방세포분화 억제 효과에 대한 유효성분으로서 이용 가능성을 나타냈음.

■ 그림 II-14. 배추출물과 유효성분의 autophagy 조절



- ▶ MDI media에 의해 지방세포에서 LC3 II와 p62가 모두 감소되는 것으로 보아 autophagy flux가 증가되지만 PE 처리시 특히, 0.5 mg/ml의 농도에서 p62의 level이 preadipocyte 보다 더 증가되어 있고 LC3 I과 LC3 II 모두 감소되어 있는 것으로 보아 PE는 autophagy 개시를 억제하는 것으로 생각됨.
- ▶ PE와 MA처리는 autophagy 유전자 발현의 master regulator인 TFEB를 억제하고 실제로 ULK1, ATG2a, PIK3CG, PARK2, LC3A, ATG16L1, BCL2등이 감소되어 있는 것을 볼 수 있음.
- ▶ 그러므로 PE는 autophagy 유전자 발현 억제를 통해 지방세포분화를 억제하는 것으로 생각됨.

■ 그림 II-15. 배추출물과 유효성분의 ER stress와 염증 유전자 발현 억제



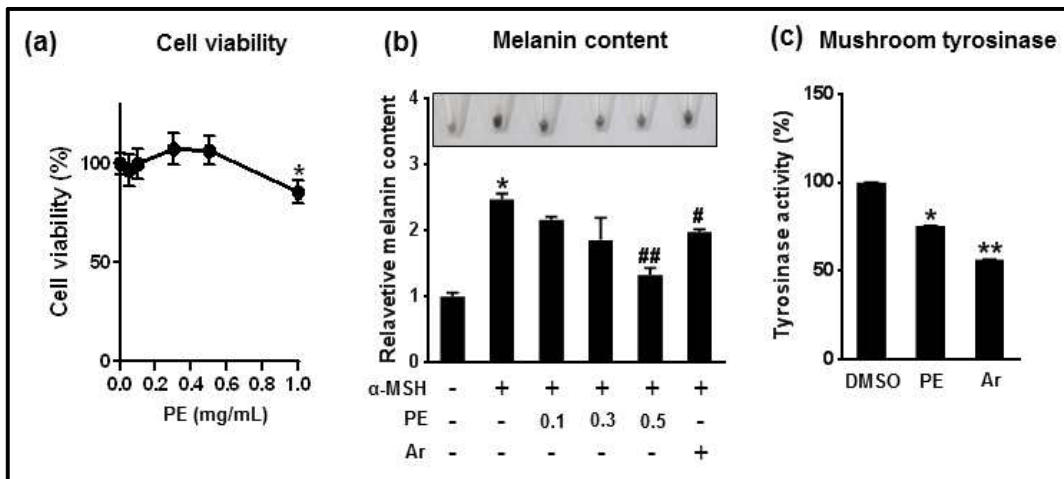
- ▶ MDI media에 의해 지방세포에서 ER stress marker인 GRP78, IRE1α, PERK, XBP-1s, ATF4 mRNA 발현이 증가 되었고 PE와 MA 처리시 IRE1α, XBP-1s가 유의성 있게 억제 되었음.
- ▶ 단백질 수준에서도 IRE1α가 PE와 MA에 의해 억제되었고 PERK-eIF2α 또한 억제되었음.
- ▶ 또한, PE와 MA는 염증성 cytokine인 IL-1β의 발현을 억제하였음.
- ▶ 그러므로 PE와 MA는 지방세포분화 동안 증가되는 ER stress를 감소시켜 지방세포분화 및 염증반응을 억제하는 것으로 생각됨.

## <배를 이용한 기능성 식품화 기술 개발>

### 1. 연구수행 내용 및 결과

가. 배 가공 제품 제작을 위한 미백 기능 평가 및 기전 규명

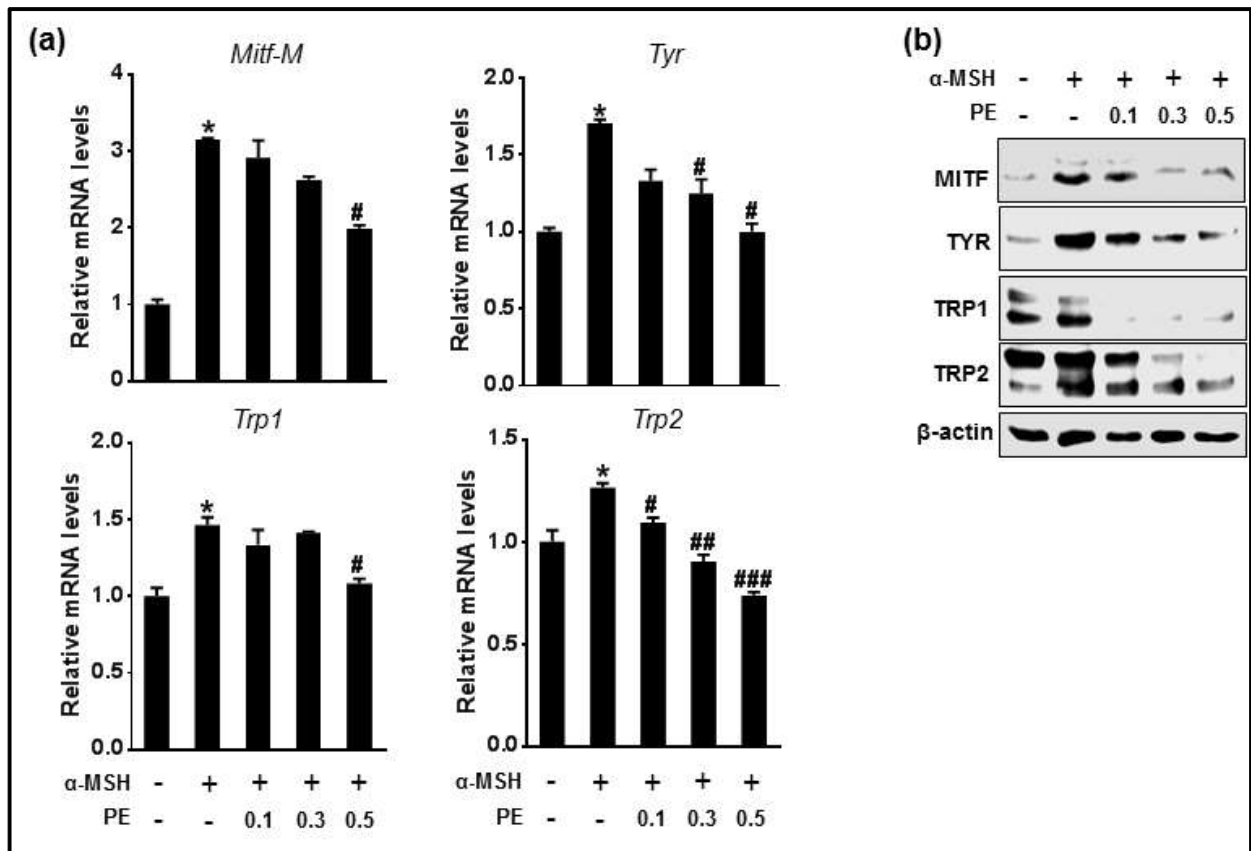
■ 그림 II-16. 배추출물의 melanin 합성 억제.



- ▶ α-MSH에 의해 유도된 B16F10 mouse melanoma 세포의 melanin 합성은 배추출물 (PE)에 의해 농도 의존적으로 억제 되고 있음을 확인함.
- ▶ 0.5 mg/mL PE는 positive control인 arbutin보다 더 높은 억제력을 보였음.
- ▶ 다량의 arbutin을 함량하고 있는 PE는 직접적인 tyrosinase inhibitor로서 역할을 함.

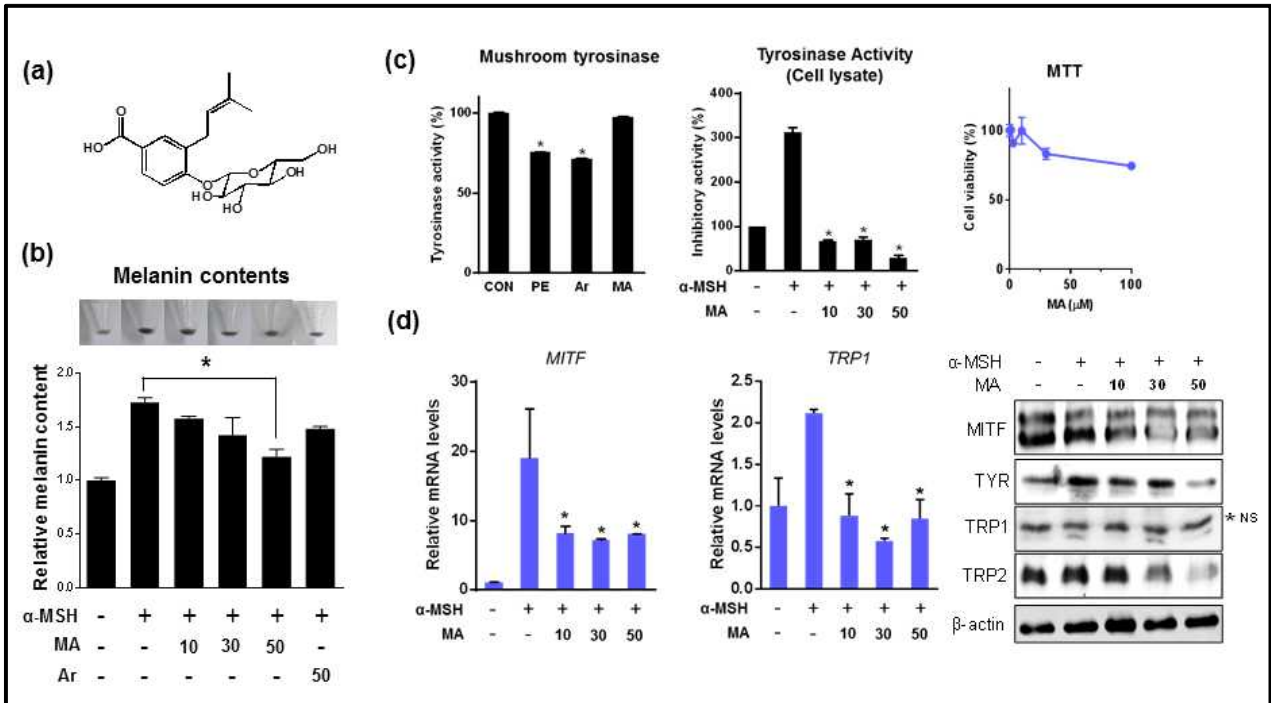


■ 그림 II-17. 배추출물의 melanin 합성 유전자 발현 억제.



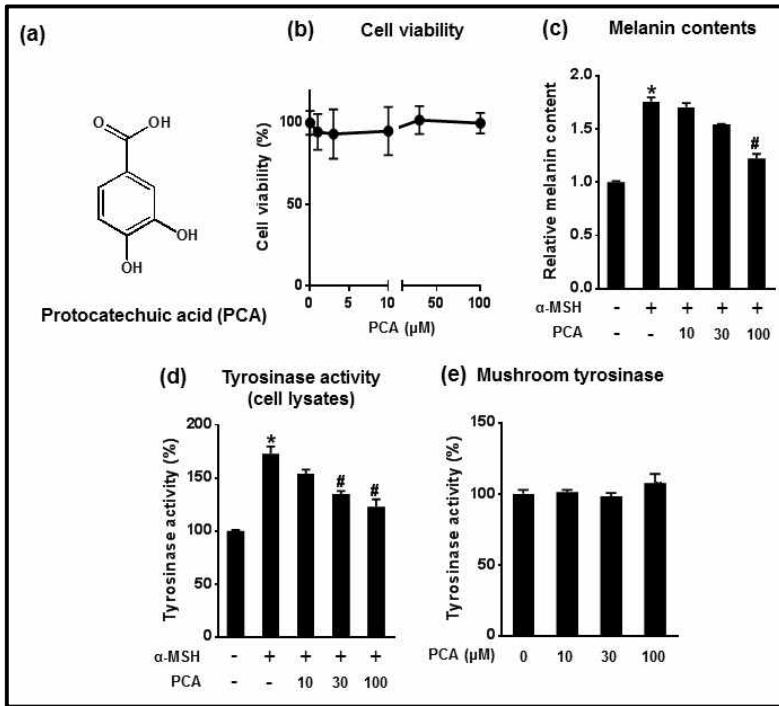
- ▶ PE 처리 후 tyrosinase, TRP-1, TRP-2의 mRNA와 단백질 발현은 농도 의존적으로 감소되었음.
- ▶ Tyrosinase와 TRPs 조절 전사인자인 MITF의 mRNA와 단백질 발현 또한 PE에 의해 유의성 있게 감소되었기 때문에 PE의 melanin 합성 억제는 MITF downregulation을 통해 가능할 것으로 생각됨.

▣ 그림 II-18. 배성분 malaxinic acid (MA)의 melanin 합성과 melanogenic 유전자 발현 억제.



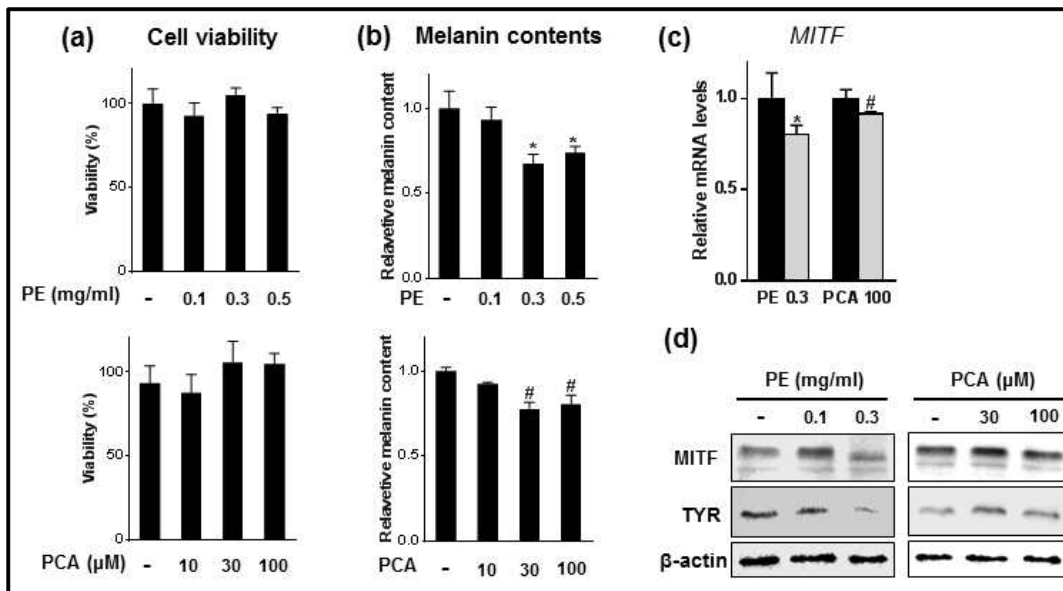
▶ PE와 arbutin은 tyrosinase활성을 직접적으로 억제하는 반면 MA는 효과가 없었음. 하지만, MA를 처리한 세포에서 melanin 합성과 세포 tyrosinase활성이 감소되었고, PE의 결과에서처럼 melanin 합성 조절 유전자의 발현을 감소시켰기 때문에 MA는 α-MSH signal 조절을 통해 melanin 합성을 억제하는 것으로 생각됨.

■ 그림 II-19. 배성분 protocatechuic acid (PCA)의 melanin 합성 억제



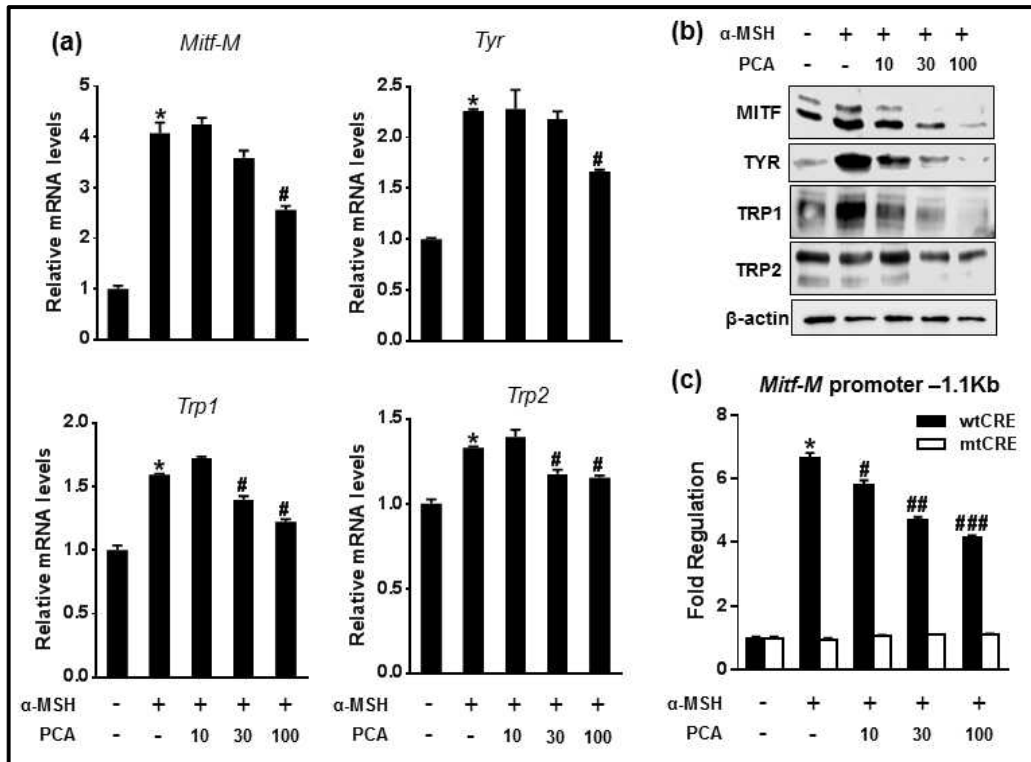
- ▶ α-MSH에 의해 유도된 B16F10 mouse melanoma 세포의 melanin 합성은 배성분인 PCA에 의해 농도 의존적으로 억제 되고 있음을 확인함.
- ▶ MA와 같이 PCA 또한 tyrosinase 활성을 직접적으로 억제하지 않았기 때문에 α-MSH signal 조절을 통한 melanin 합성 억제를 연구함.

■ 그림 II-20. SK-MEL-28 human melanoma cell에서 PE와 PCA의 melanin 합성 억제



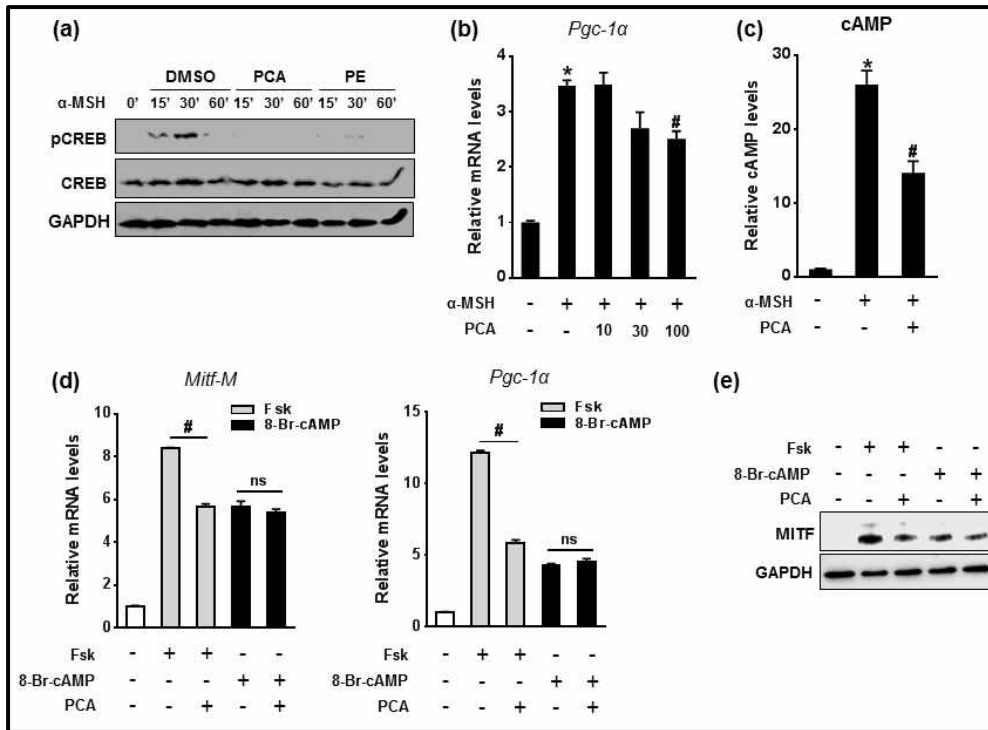
- ▶ Mouse melanoma cell에서 PE와 PCA의 melanin 합성억제는 human melanoma 세포에서도 동일 하게 나타난 것을 확인하였음.

■ 그림 II-21. 배성분 protocatechuic acid (PCA)의 melanin 합성 유전자 발현 억제



- ▶ PE, MA와 같이 PCA 또한 melanin 합성 조절 유전자의 발현을 감소 시켰고 특히, 전사인자인 MITF promoter의 활성을 직접적으로 억제하였음.
- ▶ MITF promoter는 다양한 전사인자에 의해 조절되고 있는데 α-MSH에 의해 활성화되는 CREB에 의한 조절 작용이 잘 알려져 있음. CREB 결합부위인 CRE 부분을 deletion시킨 MITF promoter의 경우 PCA에 의해 전혀 억제 되지 않는 것을 보아 PCA는 CREB의 MITF promoter 활성을 조절하는 것으로 생각됨.

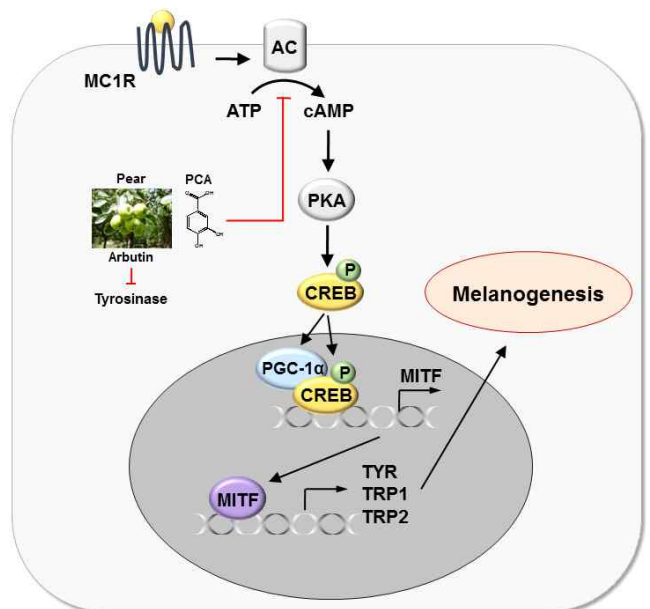
■ 그림 II-22. 배성분 protocatechuic acid (PCA)의 cAMP 신호 억제



- ▶ CREB은  $\alpha$ -MSH receptor MC1R의 downstream 신호인 cAMP/PKA에 의해 인산화되고 활성화 되어 MITF promoter를 조절하는데, PE와 PCA는  $\alpha$ -MSH에 의해 증가되는 cAMP의 수준을 50%까지 감소시켰고 CREB 인산화를 완전하게 억제하였음.
- ▶ PCA의 cAMP level 억제 효과는 adenylyl cyclase 활성기능을 갖는 forskolin에 의해 증가된 cAMP는 감소시켰지만, 세포막을 직접 침투할 수 있는 8-Br-cAMP에 의해 증가된 level은 감소시키지 못했기 때문에 PCA는 adenylyl cyclase 억제를 통해 cAMP/PKA/CREB 신호를 조절 하는 것으로 생각됨.

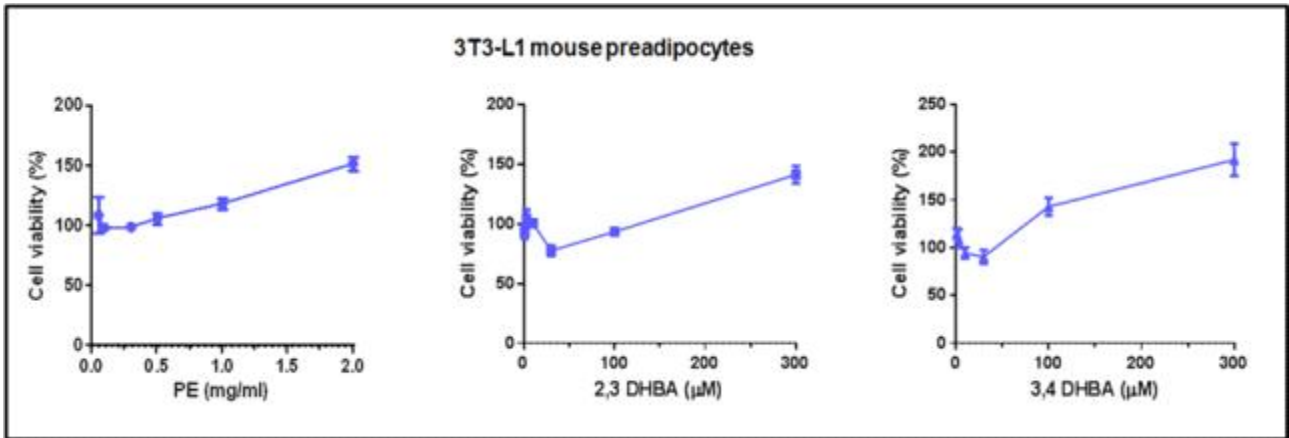
■ 그림 II-23. PE와 PCA의 melanogenesis 억제 기전

- ▶ 배추출물의 melanin 합성 억제는 배성분인 arbutin의 직접적인 tyrosinase 효소활성 억제와 또 다른 성분인 MA와 PCA의  $\alpha$ -MSH 신호 조절에 의해 이루어짐. 특히, PCA는  $\alpha$ -MSH receptor인 MC1R과 adenylyl cyclase (AC)활성을 통해 증가되는 cAMP level 억제를 통해 CREB 인산화를 감소시키고 CREB binding에 의해 활성화 되는 MITF promoter 활성 억제로 인해 tyrosinase를 포함한 melanogenic 유전자의 발현을 조절하는 기전을 통해 최종적으로 melanin 합성을 감소시킴.



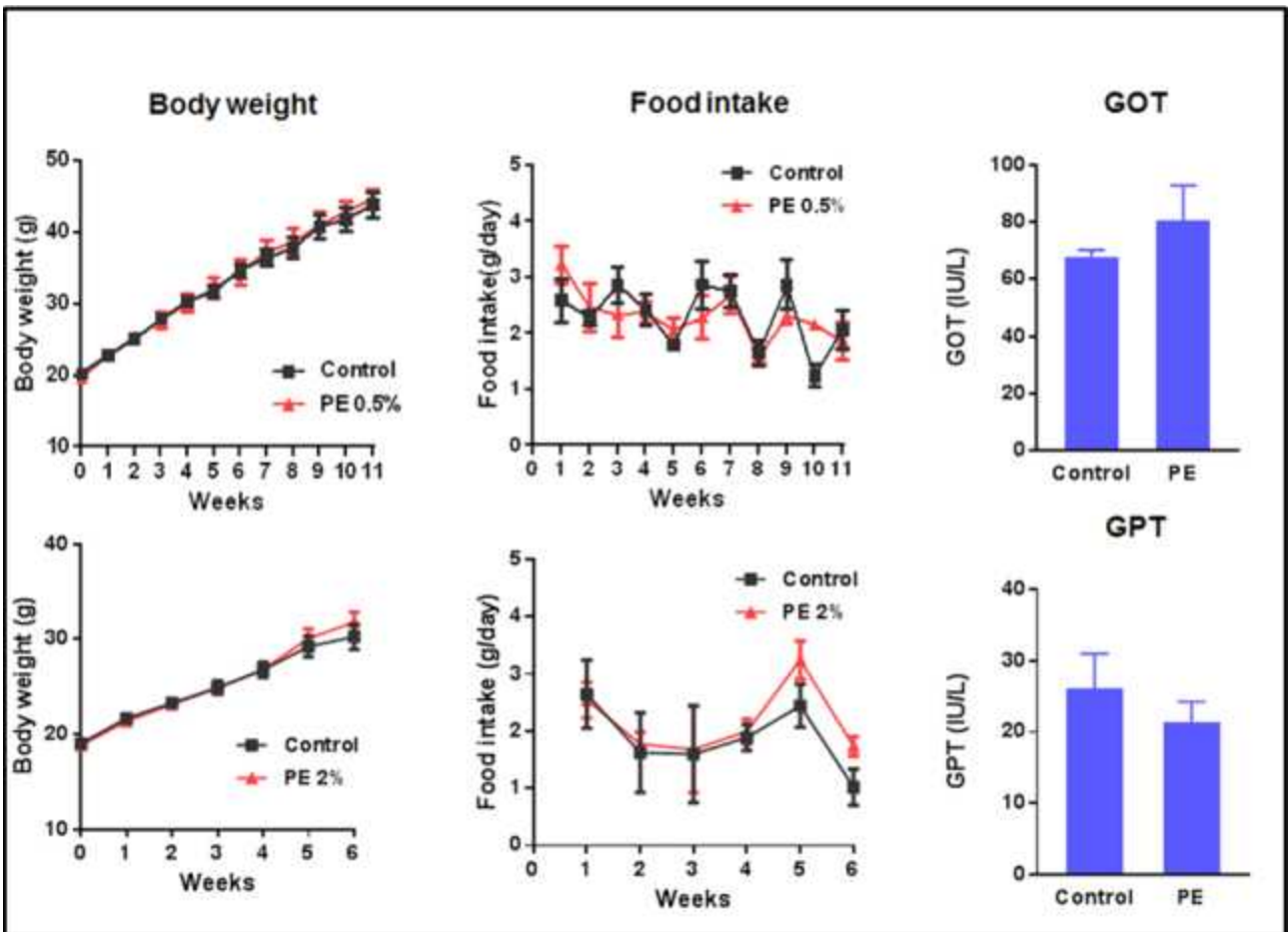
나. 배 가공 식품 제작을 위한 안전성 평가

▣ 그림 II-24. 배추출물의 지방세포 독성.



▶ 지방전구세포에서 추출물과 단일화합물의 일반적 평가 처리 농도 범위 내에서 전혀 세포 독성이 보이지 않았음.

▣ 그림 II-25. 실험동물에서 배추출물의 안전성.

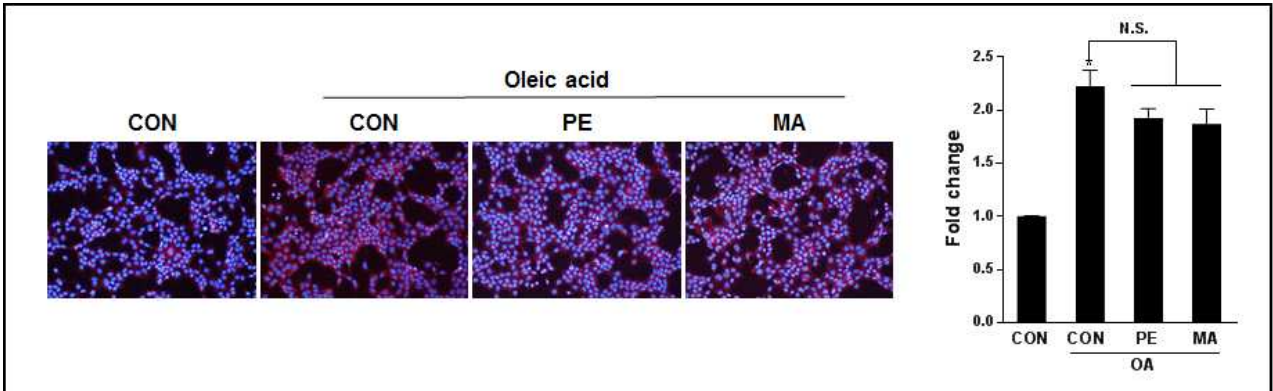


▶ 마우스에서 PE 0.5% (w/w)와 2% (w/w) group 모두 식이섭취와 체중변화가 대조군과 비교했을 때 유의성 있는 차이가 보이지 않았음.

▶ 간기능 검사결과 GOT와 GPT의 혈장내 수치가 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 보이지 않았음.

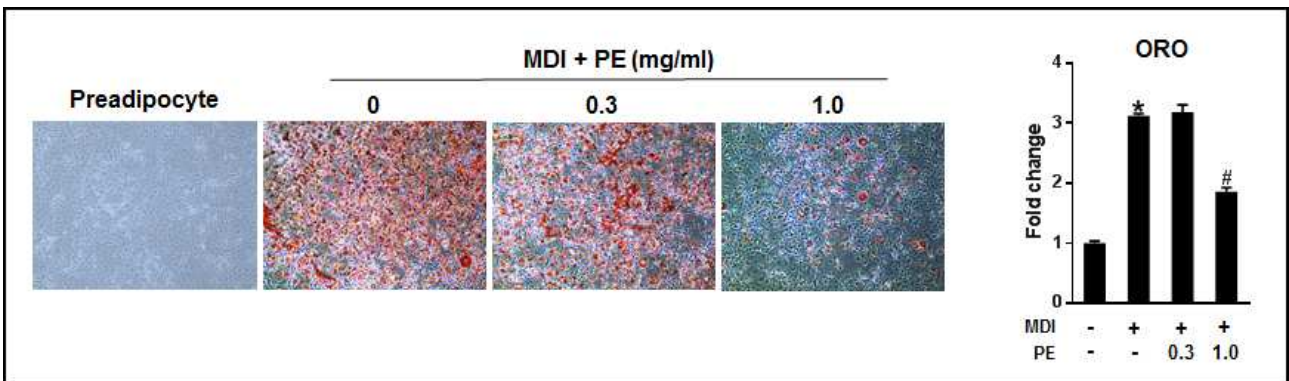
다. 배 유효성분의 세포 지방축적 및 대사신호 조절

■ 그림 II-26. 배추출물의 간세포 지방축적 조절 확인



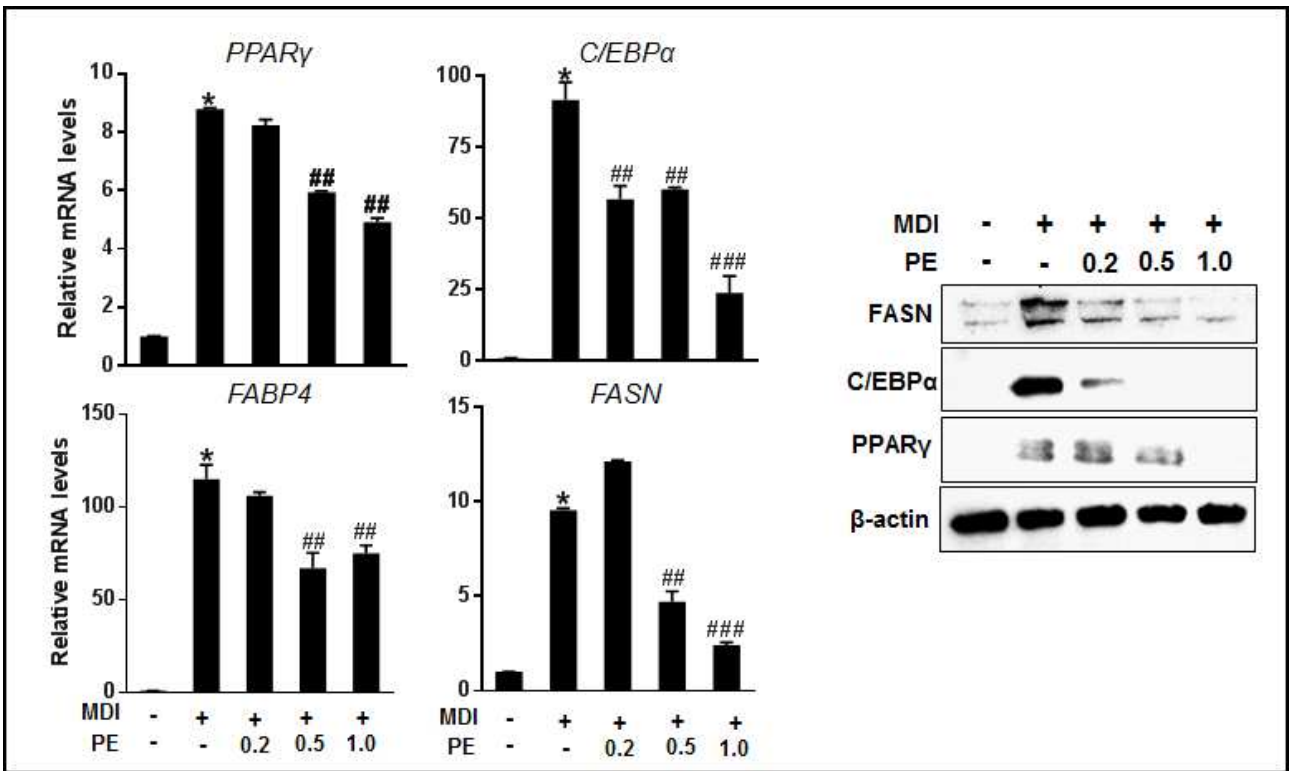
- ▶ AML12 간세포에 oleic acid (OA, 200 μM)를 24시간 처리하여 지방축적을 유도한 후 Nile red 염색을 통해 확인하였음. 배추출물 (PE)과 배 유효성분 malaxinic acid (MA)의 간세포 지방축적 억제 효과를 확인하기 위해 PE와 MA를 24시간 전처리 후 OA를 24시간 처리하였음.
- ▶ PE와 MA는 OA에 의해 유도되는 간세포 지방축적에 대해 억제 효과를 보이지 않았음.

■ 그림 II-27. 배추출물의 지방세포분화 억제



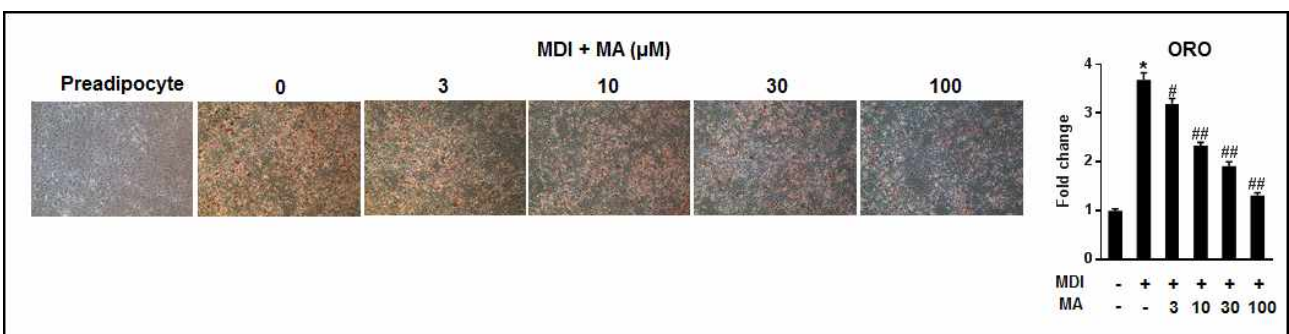
- ▶ 3T3-L1 세포에 MDI (IBMX + Dexamethasone + Insulin) media를 8일간 처리하여 지방세포분화를 유도한 후 Oil Red O 염색을 통해 확인하였음. 배추출물 (PE)의 지방세포분화 억제 효과를 확인하기 위해 MDI media와 같이 8일간 처리하였음.
- ▶ 그림 2-11에서는 PE의 간세포 지방축적 억제 효과를 볼 수 없었지만 지방세포에서는 PE가 지방분화를 유의성 있게 억제함을 확인하였음.

■ 그림 II-28. 배추출물의 지방세포분화 관련 유전자 발현 억제



- ▶ MDI media에 의해 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , FABP4, FASN의 mRNA와 단백질의 발현이 증가되었고, PE 처리시 모든 유전들의 발현이 유의성 있게 감소되는 것을 확인함.
- ▶ 그러므로 PE는 지방세포 분화 및 지방합성 유전자의 발현을 억제함으로써 지방분화 및 축적을 억제하는 것으로 생각됨.

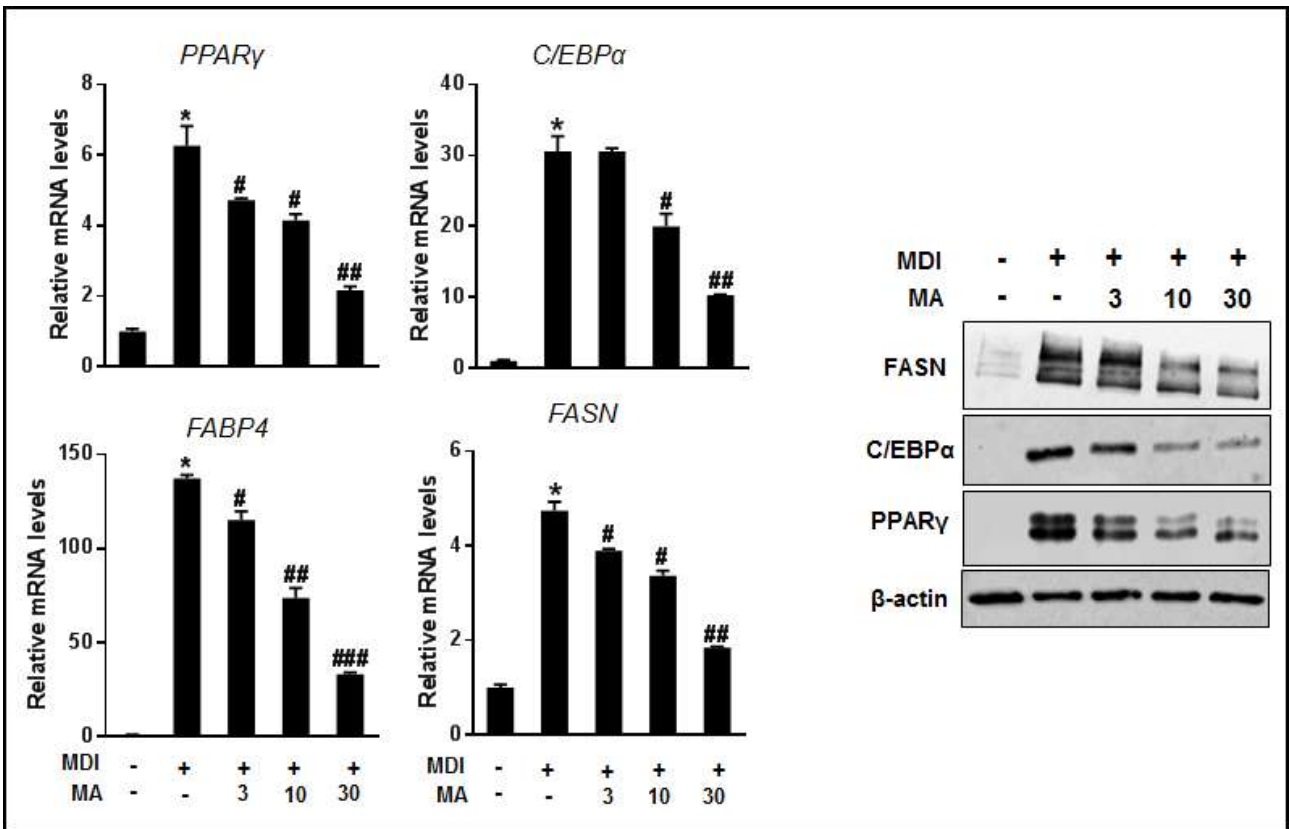
■ 그림 II-29. 배 유효성분 MA의 지방세포분화 억제



- ▶ 3T3-L1 세포에 MDI media를 8일간 처리하여 지방세포분화를 유도한 후 Oil Red O 염색을 통해 확인하였음. 1세부과제에서 분리된 배 유효성분인 MA의 지방세포분화 억제를 확인하기 위해 MDI media와 같이 8일간 처리하였음.
- ▶ MDI만 처리한 그룹과 비교하였을 때 MA는 농도 의존적으로 지방세포분화를 억제하였음을 확인함.

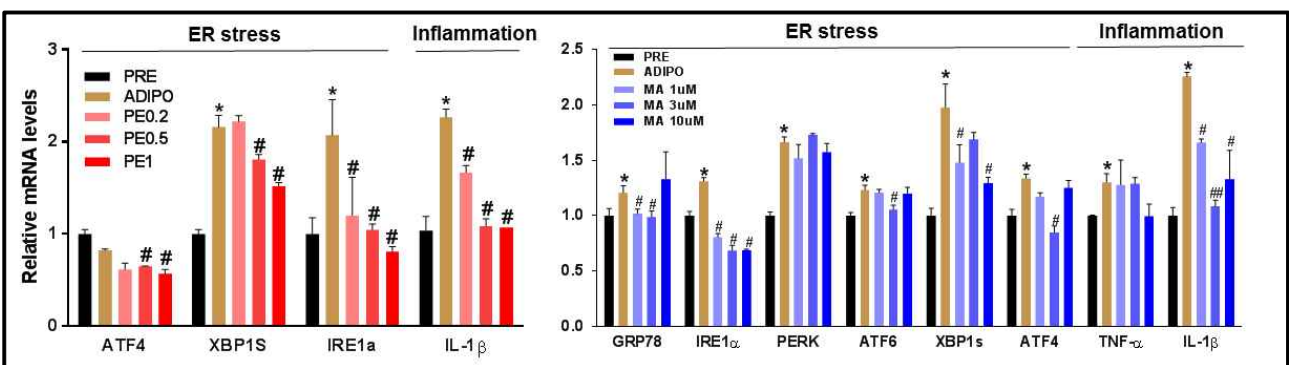


■ 그림 II-30. 배 유효성분 MA의 지방세포분화 관련 유전자 발현 억제



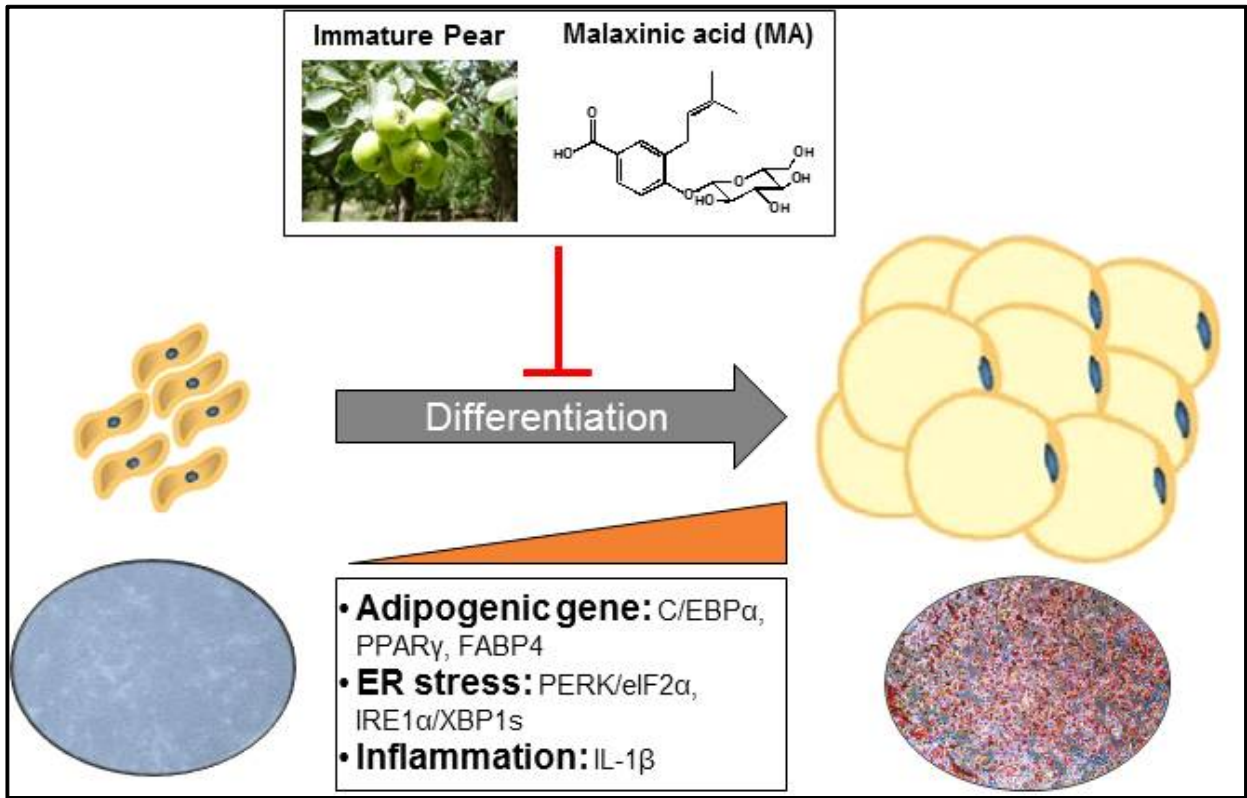
- ▶ MDI media에 의해 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , FABP4, FASN의 mRNA와 단백질의 발현이 증가되었고, MA 처리시 모든 유전들의 발현이 유의성 있게 감소되는 것을 확인함.
- ▶ 그러므로 MA는 지방세포 분화 및 지방합성 유전자 발현 억제를 통해 지방세포분화 및 지방축적을 억제함.
- ▶ 이것은 MA가 배추출물의 지방세포분화 억제 효과에 대한 유효성분으로서 이용 가능함을 나타냄.

■ 그림 II-31. 배추출물과 유효성분의 ER stress와 염증 유전자 발현 억제



- ▶ MDI media에 의해 지방세포에서 ER stress marker인 GRP78, IRE1 $\alpha$ , PERK, XBP-1s, ATF4 mRNA 발현이 증가 되었고 PE와 MA 처리시 IRE1 $\alpha$ , XBP-1s가 유의성 있게 억제 되었음.
- ▶ 또한, PE와 MA는 염증성 cytokine인 IL-1 $\beta$ 의 발현을 억제하였음.

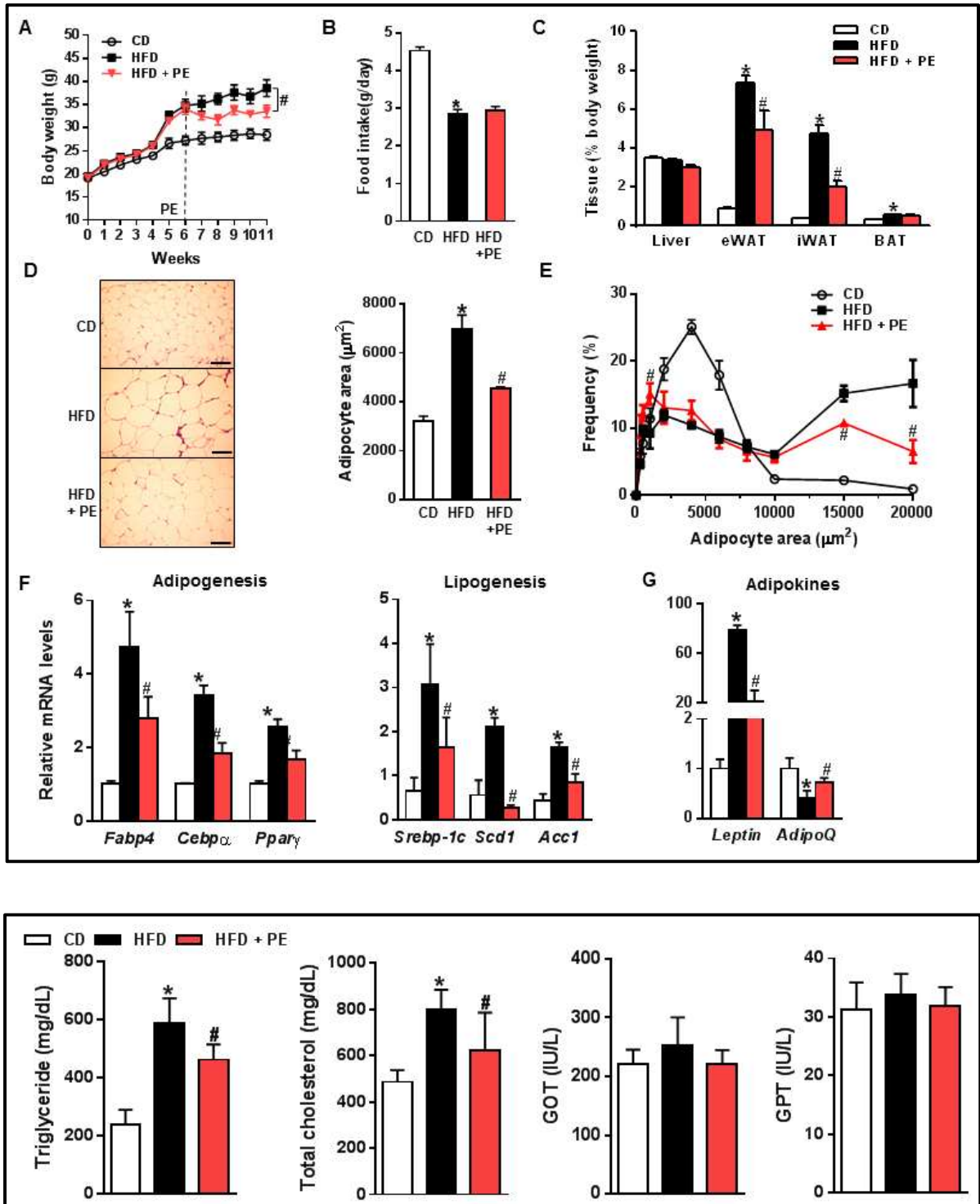
■ 그림 II-32. PE와 MA의 지방세포분화 억제효과



▶ 그러므로 PE와 MA는 adipogenic 유전자의 발현 감소를 통해 지방세포분화 동안 증가되는 지방축적과 ER stress를 감소시켜 염증반응을 억제하는 것으로 생각됨.

라. 대사증후군 동물모델에서 배 유효성분의 효능 및 작용기전 규명

■ 그림 II-33. 고지방식이 유도 비만 (diet-induced obesity, DIO) 쥐에서 PE의 비만 척도 개선 효과



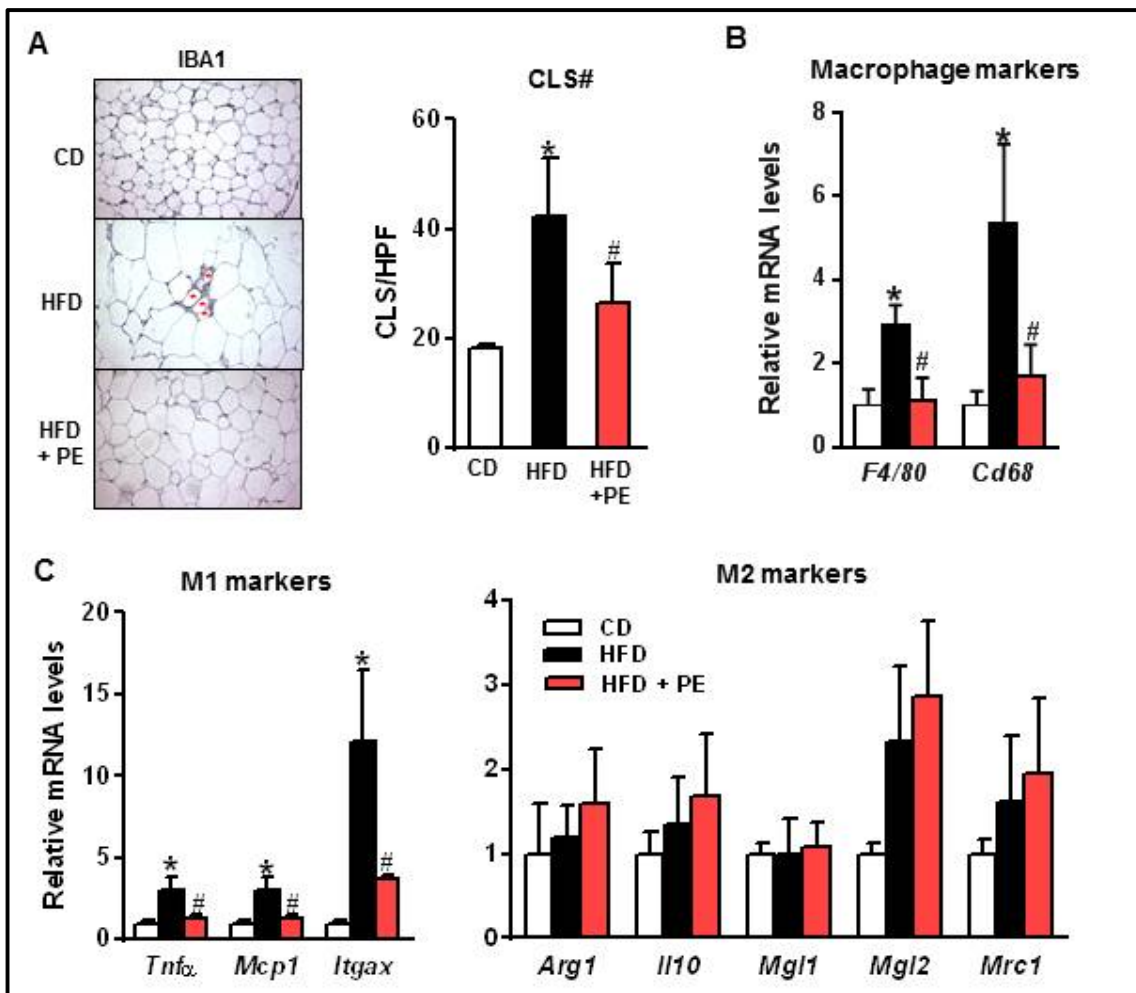
▶ 6주동안 고지방식이 급여로 DIO를 유도한 후 5주간 PE를 경구투여한 결과 식이섭취량의 변화와 간독성을 유도하지 않으면서 체중과 혈중 중성지방과 콜레스테롤 level을 현저히 감소시켰음.

▶ 조직 무게 변화와 H&E 염색 결과 PE는 고지방식이에 의해 피하지방 (iWAT)과 내장지방

(eWAT)에 과도하게 축적되는 지방을 유의미적으로 감소시켰음. 증가된 지방세포의 size와 size별 분포도 또한 일반식이군 (CD)과 유사하게 회복되었음.

- ▶ 2차년도 PE의 지방세포 분화 억제 결과와 일치하게 *in vivo*에서도 지방세포분화 유전자인 *Ppar $\gamma$* , *Cebpa*, *Fabp4*와 지방합성 유전자인 *Srebp-1c*, *Scd1*, *Acc1*의 mRNA 발현을 감소시켰고, 지방세포에서 분비되는 adipokine인 *Leptin*과 *Adiponectin*의 발현 또한 일반식이군 수준으로 회복되었음.

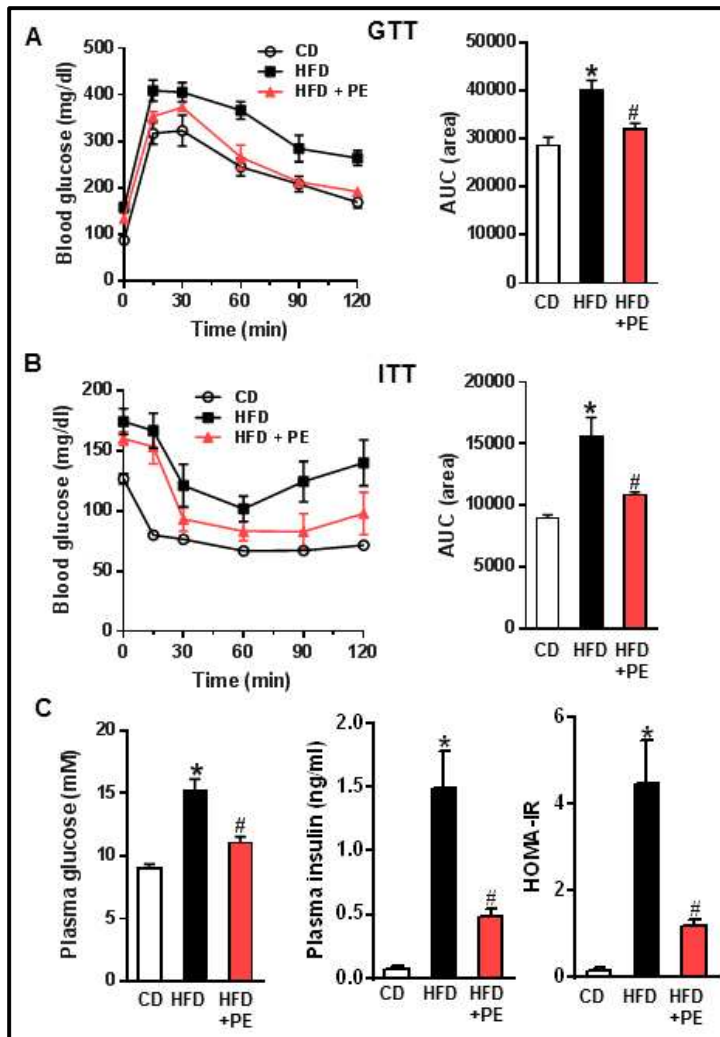
■ 그림 II-34. DIO 쥐에서 PE의 지방조직 염증 개선 효과



- ▶ 지방세포 크기의 증가 (adipocyte hypertrophy)는 지방조직으로의 염증성 면역 세포 유입을 유도하여 지방세포 기능 이상을 초래하고 이러한 현상은 비만에 의해 발생하는 인슐린 저항성과 밀접한 관련이 있음.
- ▶ 조직면역염색법 (IHC)으로 지방조직에서 macrophage surface marker인 IBA1을 염색한 결과, 고지방식이군 (HFD)에서 증가된 지방세포 크기와 더불어 증가된 macrophage 유입에 의해 괴사된 지방세포 (crown like structure, CLS)가 많이 관찰되었지만 PE군 (HFD+PE)에서는 일반식이군 (CD)과 유사한 수준을 유지하였음. 또 다른 macrophage marker인 *F4/80*와 *Cd68*의 mRNA 발현 또한 PE가 지방조직의 macrophage 유입을 효과적으로 억제하고 있음을 나타냄.

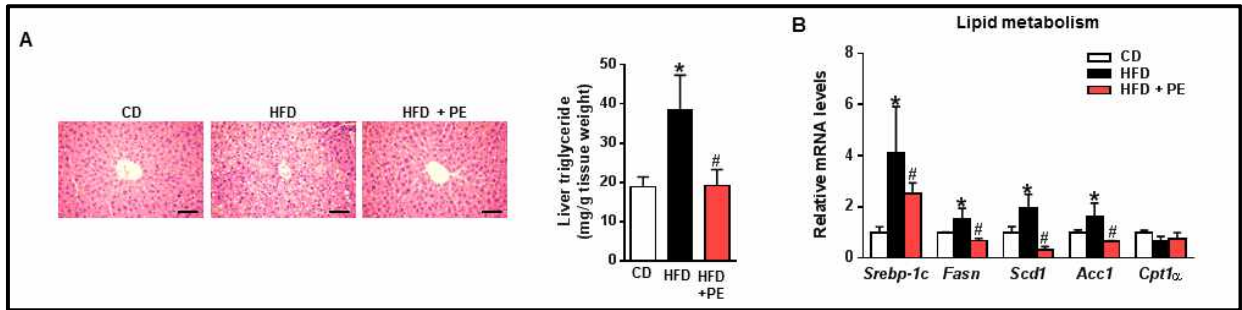
- ▶ M1 type으로의 macrophage polarization 유도는 pro-inflammatory cytokine 분비의 증가를 통해 CLS를 증가시키고 인슐린 저항성을 유도할 수 있음. 고지방식이군에서 증가된 M1 marker *Tnf $\alpha$* , *Mcp1*, *Itgx* mRNA 발현은 PE에 의해 감소되었음. 하지만 anti-inflammatory M2 macrophage marker는 대부분 유의성 있는 차이를 보이지 않았음. 이와 같은 결과는 비만 쥐에서 PE가 지방세포 분화와 크기조절을 통해 지방조직 염증반응을 억제할 수 있다는 것을 의미함.

■ 그림 II-35. DIO 쥐에서 PE의 glucose 항상성과 인슐린 민감도 개선 효과



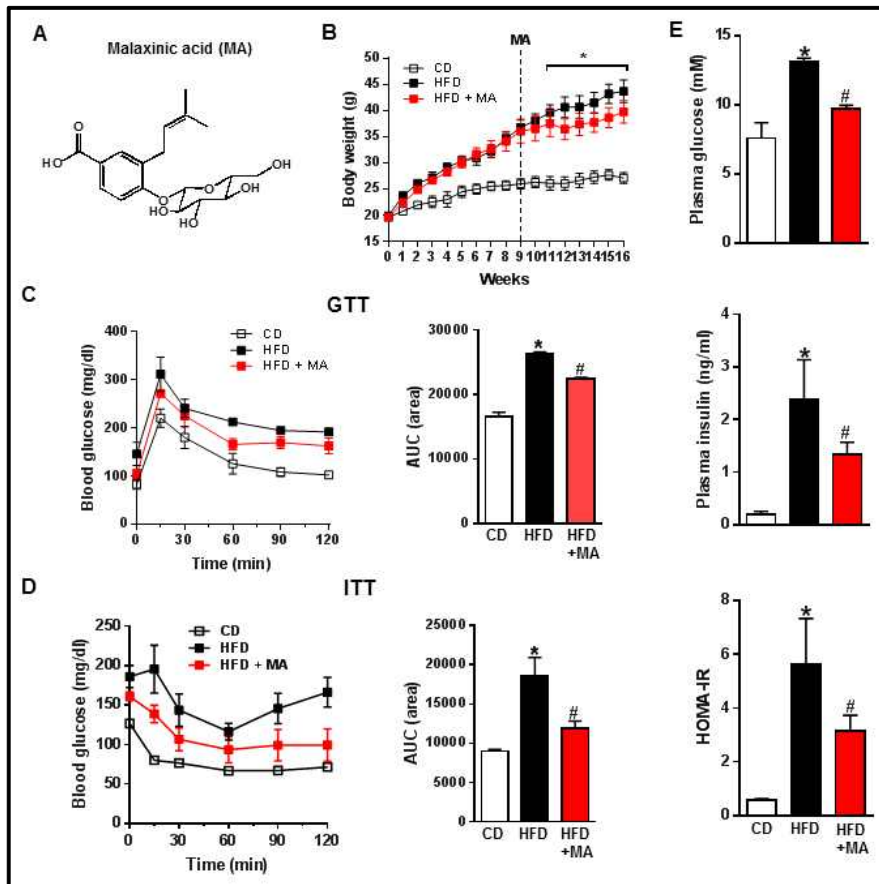
- ▶ 지방조직 염증반응의 증가는 인슐린 저항성을 유도 할 수 있으므로 PE에 의한 glucose 항상성 조절에 대한 효과를 당부하 검사 (GTT)와 인슐린 부하 검사 (ITT)를 통해 분석하였음. GTT 결과 PE 처리군은 고지방식이군과 비교하여 포도당 투여에 의한 시간별 혈당 상승을 효과적으로 억제 시켰고 특히, 포도당 투여 60분 후 부터는 정상 수준과 같은 혈당 수준으로 회복 된 것을 볼 수 있음. ITT에서도 인슐린 투여 후 120분 까지 모든 시간대에서 PE 처리군이 고지방식이군보다 낮은 혈당량을 보였음.
- ▶ 또한, 공복 혈장 포도당과 인슐린 농도를 기초로 인슐린 저항성 (HOMA-IR)을 분석 한 결과 고지방식이군과 비교하였을 때 PE 처리군에서 유의성 있게 감소된 것을 볼 수 있었음. 이러한 결과들은 PE가 고지방식이에 의해 발생하는 고혈당, 고인슐린혈증, 인슐린저항성에 대한 개선 효과가 있음을 보여줌.

■ 그림 II-36. DIO 쥐에서 PE의 glucose 항상성과 인슐린 민감도 개선 효과



▶ PE의 지방간 형성 억제 효과를 확인하기 위해 H&E 염색을 통해 간 조직을 분석하였음. 고지방식이군에서 비정상적 지방축적이 관찰된 반면, PE 처리군은 일반식이군과 같은 수준으로 지방형성이 감소되어 있는 것을 볼 수 있었음. 또한, 지방생합성에 중요한 인자인 *Srebp-1c*, *Fasn*, *Acc1*의 mRNA 발현은 고지방식이군에서 현저히 증가된 반면, PE처리군에서는 일반식이군과 같은 수준으로 발현이 억제 되어있는 것을 볼 수 있었음. 이러한 실험결과는 PE가 고지방식이에 의해 발생하는 비알콜성지방간이 생성되는 것을 억제 하는 효과가 있음을 보여줌. 또한, 인슐린저항성이 간 지방축적에 있어 중요한 원인 중 하나로서 알려져 있는 점을 고려하면, PE의 비알콜성지방간 생성 억제능은 PE의 인슐린저항성 개선효과와 상보적인 관계를 형성할 것으로 생각됨.

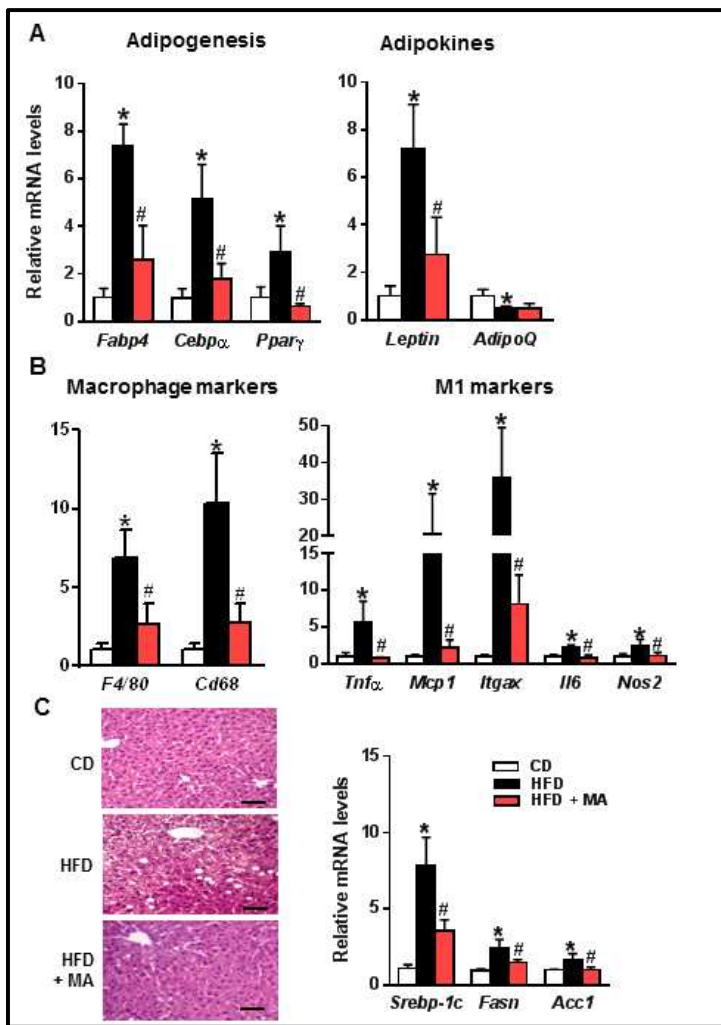
■ 그림 II-37. DIO 쥐에서 MA의 체중 조절과 glucose 항상성 개선 효과



▶ *In vitro*에서처럼 배추출물의 기능성 성분으로서 MA의 인슐린저항성 및 비알콜성지방간 개선효과를 확인하기 위하여 고지방식이 마우스 모델을 이용하였음. 고지방식이 9주 후

40 mg/kg body weight으로 MA를 매일 7주간 경구 투여한 결과 경구투여 1주만에 고지방식이군과 비교하여 체중이 감소되는 결과가 나타났으며 7주간 유지되고 있는 것을 확인하였음. GTT와 ITT 결과 MA는 고지방식이군과 비교하여 포도당 투여에 의한 시간별 혈당 상승과 인슐린 투여에 의한 시간별 혈당량이 유의적으로 낮았고, 그래프의 면적 (area under curve, AUC)도 현저히 감소시켰음. MA는 고지방식이에 의해 증가된 혈장 포도당과 인슐린 수준을 유의적으로 감소시켰고, 인슐린저항성 수치가 고지방식이군과 비교하여 MA처리 군의 경우 유의적으로 감소되어 있음을 확인하였음. 이러한 결과는 MA가 고지방식이에 의해 발생하는 과체중, 고혈당, 고인슐린혈증, 인슐린저항성에 대한 개선 효과가 있음을 보여줌.

■ 그림 II-38. DIO 쥐에서 MA의 지방조직 염증과 지방간 억제 효과



▶ 2차년도 MA의 지방세포 분화 억제 결과와 일치하게 *in vivo*에서도 지방세포분화 유전자인 *Pparγ*, *Cebpa*, *Fabp4*와 adipokine인 *Leptin*과 *Adiponectin*의 발현을 감소시켰고, PE의 지방조직 염증 억제 효과처럼 MA 또한 macrophage 유입과 염증성 cytokine과 M1 type marker의 발현을 유의성 있게 감소시켰음. 고지방식이에 의한 지방간 형성과 지방합성 유전자 발현의 감소 또한 PE의 효과와 유사하게 나타났음. 그러므로, 이와 같은 결과들은 MA가 PE의 체중조절과 인슐린 저항성 개선 효과에 대한 기능성 지표성분으로써 이용 가능함을 나타냄.

## <제 1협동> Nature in Lab

나주배 가공 소재를 활용한 화장품 원료 제품 개발

### <나주배의 생과, 유과, 착즙박을 이용한 화장품 원료 제품 개발>

#### 1. 연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)

가. 배추출물 함유 기능성 화장품 제형화

- 배추출물 함유 기능성 화장품의 개발을 위하여 배추출물을 제형에 적용하여 제형 안정성을 관찰·평가하였음(그림3-1).
- 화장품 제형별로 함유된 배추출물의 최적 농도를 찾고, 첨가하기 위해 다양하게 적용하고 제형의 안정성 및 단가 등을 고려하여 최적 조성을 찾고자 함.

나. 배추출물 함유 마스크팩 제형화

- 계획서상의 배유과 착즙박의 경우 착즙박내 당성분 때문에 sheet화가 되지 않아 배추출물을 원료로 마스크팩 제형화 하고자 함.

#### 2. 연구내용 및 결과

가. 배추출물 함유 기능성 화장품 제형화

(1) 원료화된 배추출물 0.1%~5%를 화장품 제형에 적용하여 제형안정성을 확인하였음(그림 3-2, 그림 3-3).

##### ① 제형별 적합한 타겟 레시피 개발

- ▶ 원료화된 배추출물의 화장품 제형 적용을 위해 각 제형별 타겟을 설정함.
- ▶ 스킨 : 가용화 타입 / 로션 : 저점도 유화 타입 / 크림 : 고점도 유화 타입
- ▶ 가용화 및 저점도/고점도 유화 타입에 적합한 배추출물의 배합공정 기술 개발

##### ② 제형내 배추출물의 안정성 확보

- ▶ 각 제형에서의 배추출물의 안정화를 확보하기 위해 배추출물의 처방 농도 조정
- ▶ 배추출물의 제형내 안정화에 도움을 줄 수 있는 성분의 조정

##### ③ 개발된 제형의 안정화 테스트

- ▶ 안정화 조건 테스트 : 배추출물이 처방된 레시피의 물성, 제조 공정의 온도 및 시간, pH에 따른 최적 생산 조건 확립
- ▶ 가혹조건 테스트 : 제형 샘플은 상온, 45°C, 냉장, Freez & Thaw, 일광, 냉동 등의 가혹조건에서 약 2개월 동안의 안정도 테스트 실시
- ▶ 안정한 레시피 라고 판단이 된 제형 중 사용감을 고려하여 최종 선정함

##### ④ 제형별 기초처방 확정 : 각 제형별 기초 처방을 중심으로 각 제품의 추가 개발 진행

- 스킨제형: 배추출물, 정제수, 에탄올, 부틸렌글라이콜, 피이지/피피지-17/6코폴리머, 소듐하



이알루로네이트, 피이지-60하이드로제네이티드캐스터오일, 알란토인, 포타슘하이드록사이드, 아크릴레이트/C10-30 알킬아크릴레이트크로스폴리머, 디소듐이디티에이, 메칠파라벤, 프로필파라벤, 향료

- 로션제형: 배추출물, 정제수, 에탄올, 하이드로제네이티드C6-14올레핀폴리머, 부틸렌글라이콜, 스쿠알란, 피이지/피피지-17/6코폴리머, 사이클로펜타실록산, 사이클로헥사실록산, 폴리소르베이트60, 세틸에칠헥사노에이트, 팔미틱에씨드, 스테아릭에씨드, 세테아릴알코올, 하이드로제네이티드식물성오일, 소듐하이알루로네이트, 소르비탄스테아레이트, 디메치콘, 실리카, 글리세릴스테아레이트, 피이지-100스테아레이트, 포타슘하이드록사이드, 카보머, 판테놀, 카퍼트리헵타이드-1, 디소듐이디티에이, 페녹시에탄올, 메칠파라벤, 프로필파라벤, 향료
- 크림제형: 배추출물, 정제수, 올리브오일, 글리세린, 스쿠알란, 글리세레스-26, 합성왁스, 메도우폼씨오일, 사이클로펜타실록산, 세테아릴올리베이트, 소르비탄올리베이트, 사이클로헥사실록산, 소듐하이알루로네이트, 글리세릴스테아레이트, 피이지-100스테아레이트, 쉐어버터, 디메치콘/비닐디메치콘 크로스폴리머, 폴리아크릴아마이드, C13-14이소파라핀, 라우레스-7, 베타-글루칸, 카퍼트리헵타이드-1, 판테놀, 알란토인, 프로필렌글라이콜, 하이드롤라이즈드익스텐신, 부틸렌글라이콜, 에탄올, 디소듐이디티에이, 페녹시에탄올, 메칠파라벤, 프로필파라벤, 향료

(2) 각각의 공정도는 표로 제출함. 3종의 제형 안정성은 0.1%에서 2%까지는 안정하였으나 제품화시 제품의 효력 및 단가 등을 고려할 때 최종 시제품별 최적 농도는 조정할 필요가 있음.

### (3) 배추출물을 함유한 화장품 개발 및 출시

- 최종 제품화를 위한 레시피 다양화 실험
  - 최종 제품화를 위해 상기의 기초 처방을 중심으로 레시피 다양화 실험 진행
- 확정 제형의 피부 안전성 임상 실험
  - 확정된 각 제품들은 사용시 피부 트러블 등의 소비자의 안전성 확보 필요함
  - 임상기관(더마프로)과의 협업을 통해 피부 안전성 임상 실험 진행
  - 피부에 자극이 없거나 적은 안전한 처방이라는 최종 판단 결과 확보
- 배추출물을 함유한 화장품 제품 출시
  - 최종적으로 원료화된 배추출물은 약 15종의 제품에 주요 원료로 처방되어 출시 (그림 3-4)

### (4) 배추출물의 화장품 원료화 개발 및 출시

- 화장품 제품화 이외에 원료 형태로의 거래도 성공적으로 진행됨.
  - 배추출물 납품 업체 (총 6개 제조사) : LG생활건강, 코스맥스, 코리아코스팩, 진코스텍, GDK화장품 및 솔렉 등

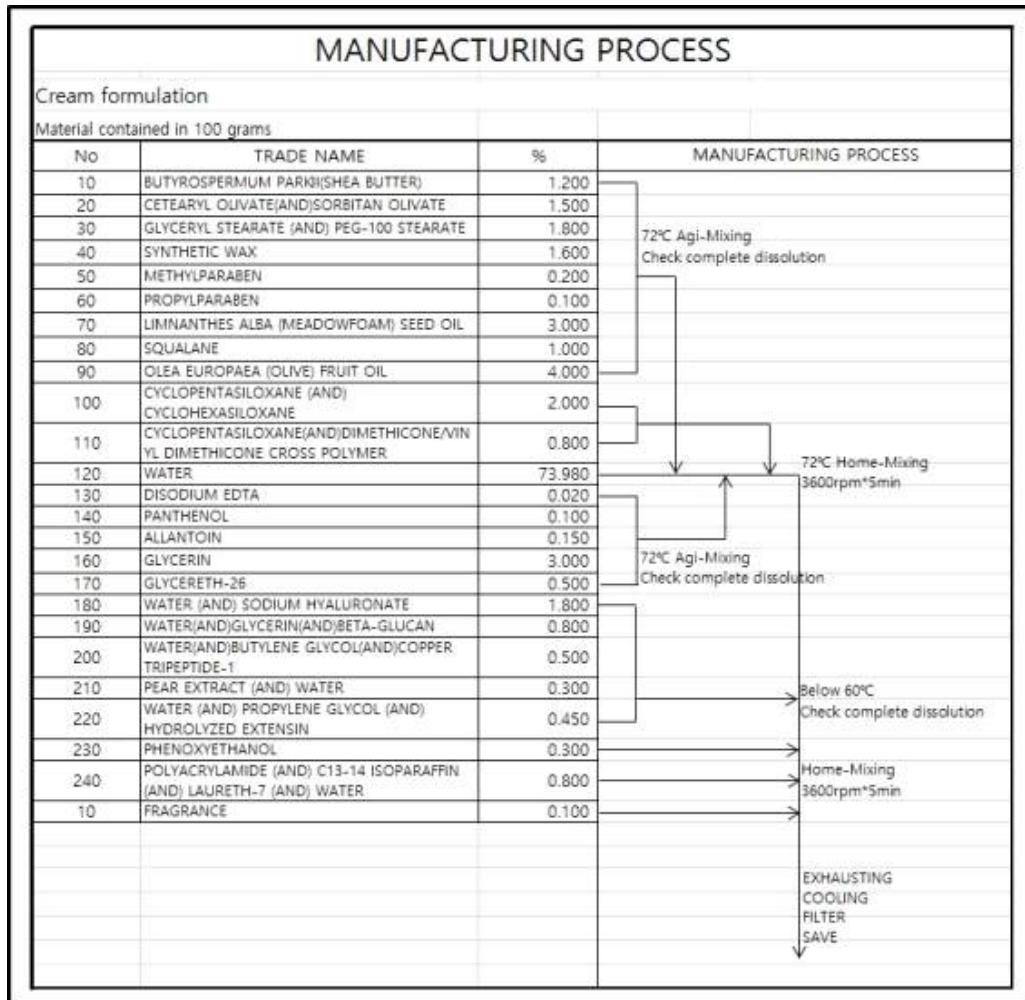
### 나. 배추출물 함유 마스크팩 제형화

- (1) 초기 계획대로 착즙박 함유 마스크 시트화를 위해 적용테스트 결과, 착즙박의 자체 성분으로 인해 시트화가 잘 되지 않아 배추출물로 대체하게 됨.

(2) 배추출물 함유 마스크팩 적용 시험중으로 구체적인 조성물 및 시트화를 진행중에 있음(그림 3-3).

### 3. 연구결과

▣ 그림 III-1. 배추출물 함유 기능성 화장품 제형과 과정.



▶ 배추출물 함유 기능성 화장품의 개발을 위하여 배추출물을 제형에 적용하여 제형 안정성을 관찰, 평가함.

▣ 그림 III-2. 배추출물 함유 기능성 화장품 제작 과정.

[과정1 사진]



[과정설명]

배추출물 원료화  
(칭량 및 제형)

[과정2 사진]



[과정설명]

화장품 제형화  
(스킨/크림/로션)

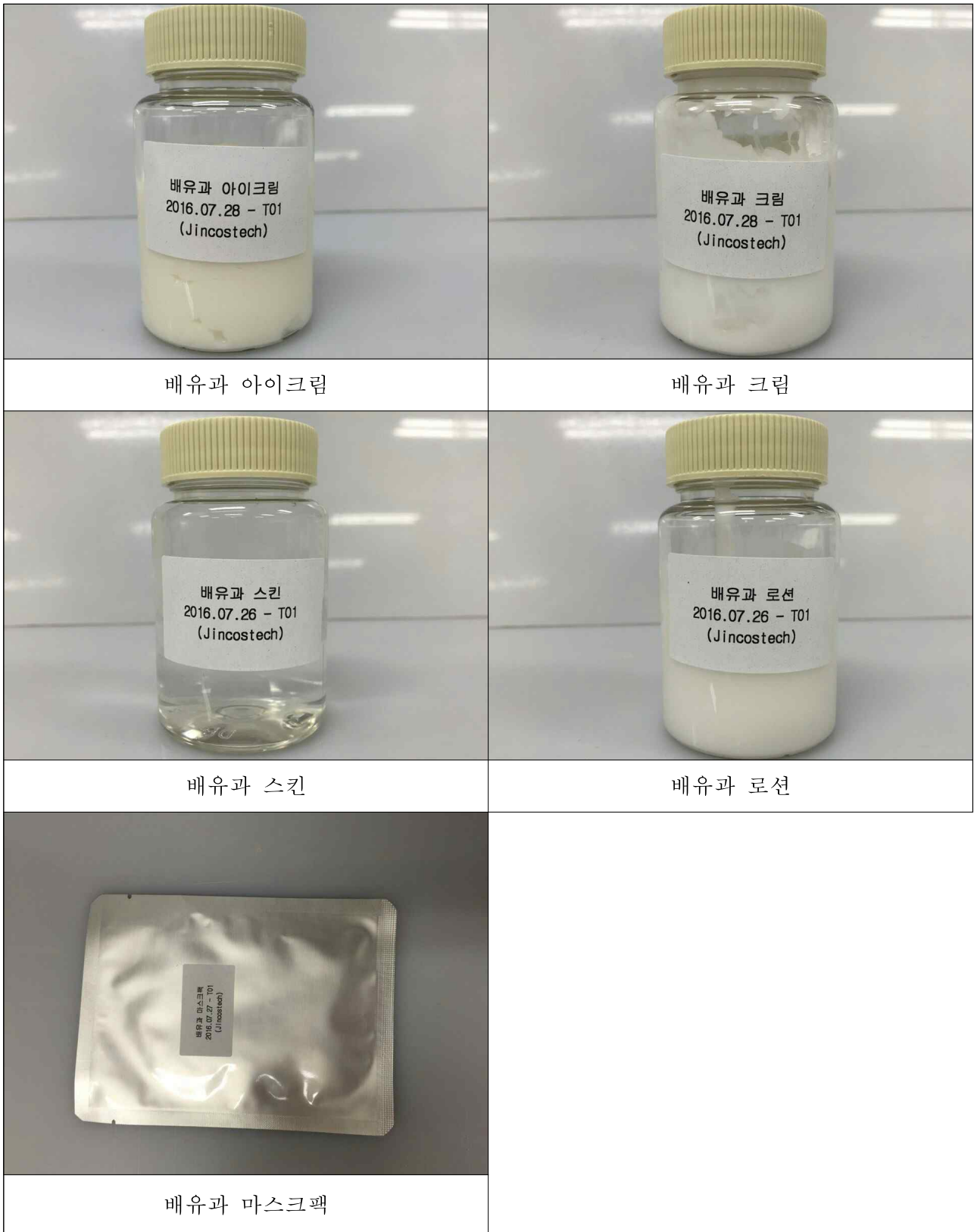
[과정3 사진]



[과정설명]

균질화 및 안정성

■ 그림 III-3. 배추출물 함유 기능성 화장품 제작.



▣ 그림 III-4. 배추출물 함유 화장품 개발 및 출시



#### 4. 배추출물 제품화를 통한 경제성

##### 가. 화장품 원료화

- 본 과제를 통해 배추출물을 활용한 화장품 원료화 진행함.
- 배추출물 원료는 현재 6개 OEM/ODM회사 및 완제품 제조업체에 납품되고 있으며 꾸준한 매출 신장이 되고 있음.
- 배추출물 납품업체 : LG생활건강, 코스맥스, 코리아코스팩, 진코스텍, GDK화장품 및 슬렉 등
- 원료화 이후 현재 까지(2015년~2018년)까지의 매출액 추이 (국내/단위:천원)

회계년도	2017년	2018년
매출액	10,000	30,000
누적매출액	10,000	40,000

- 글로벌 화장품 원료시장은 2016년 218억 5,000만 달러의 규모를 형성한 이래 2017년~2023년까지 연평균 약 4.43% 성장할 것으로 예측되고 있음. (Zion Market Reserch. 유형별, 용도별 화장품 원료시장 : 글로벌 업계 조망, 포괄적 분석 및 2017~2023년 전망. USA)
- 국내 화장품 원료의 약 80%를 수입에 의존하고 있는 현재 상황에서 본 제품의 개발은 화장품 원료의 수입대체 효과를 기대할 수 있음.

##### 나. 화장품 제품화

- 본 과제를 통해 배추출물을 활용한 화장품 완제품 15종 개발 진행함.
- 배추출물을 함유한 화장품 완제품은 현재 슬렉의 주력 제품인 주디스 리버 브랜드 15종 제품에 처방되고 있음.
- 제품화 이후 현재까지의 매출액 추이 (국내/단위:천원)

회계년도	2017년	2018년
매출액	700,000	1,100,000
누적매출액	700,000	1,800,000

- 완제품의 중국 수출도 계약 완료 (중국/단위:천원)

회계년도	2019년(E)
매출액	80,000
누적매출액	80,000

- 국내 완제품 시장의 확대 및 중국 수출 확대에 추가적인 부가가치 창출을 기대할 수 있음.

## <제 2협동> 나주시 농업기술센터

### ▶ 과제명: 나주배의 고부가가치 산업화 전략 수립 및 식품개발

- 나주배의 재배, 생산 조건 등 자연 환경적 요인 종합연구 결과 정리
  - 관련분야 연 구결과 발굴을 통한 추가보완
    - 년차별 품질특성 조사 연구결과 보완
    - 자연환경적 특성 변화 연구결과 보완
    - 재배법 연구결과 보완
    - 소비시장 대응 품질기준 설정
- 나주배를 이용한 식품 레시피 종합연구 결과 정리
  - 나주배 이용 전통식품 생산업체 조사
  - 전라남도 식품산업지원센터(나주시 소재)등 연구기관과의 연계를 통한 나주배 이용 전통 식품 레시피 도출
    - 전통식품: 배즙, 배술, 배숙회, 배한과, 배고추장 등 5종이상 전통식품
- 나주배의 생과 및 유과를 이용한 천연색소 소재 개발
  - 나주배의 생과 및 유과를 이용한 천연색소 제품 개발
    - 나주배 생과 또는 유과 추출물을 이용한 천연식용색소 추출, 농축 및 분말화 공정 기술개발
    - 대량생산 및 효율적인 제조공정 개발
    - 안정성, 순도 등 물리·화학적 특성 조사
    - 천연 발효색소의 제조
    - 첨가용 색소농도, 발효시간, 온도 pH 등 색소 최적 생산조건 확립
    - 대량생산을 위한 pilot-plant 시스템 구축 및 실용화
    - 천연색소의 항산화성 및 항균성 평가
    - 최적 공정에 의해 생산된 천연색소를 활용한 가공식품의 적성 평가
    - 선호제품 등 색소 첨가 모델식품의 제작
- 나주배의 고부가가치화 제품(화장품원료, 천연염료, 기능성식품)의 지역 전략 산업화를 위한 가치(value) 체인별(생산-반가공-가공-유통-외식-관광 등) 연계전략 구축
  - 고부가가치 제품의 원료 생산기반 구축 전략
  - 고부가가치 제품의 반제품 생산 시스템 구축 전략
  - 반제품 생산 시스템의 지역 산업 연계방안 도출
  - 유통지원 전략 도출
  - 나주배테마파크 등과 연계한 지역 연계 관광상품화 전략 도출

- 나주배의 고부가가치화 제품(화장품원료, 천연염료, 기능성식품)의 지역 전략 산업화를 위한 실증 모델 개발을 통한 실증
  - 고부가가치 제품의 원료 생산 농가 조직화
    - 농가의 원료공급에 따른 경제성 분석
    - 지리적표시 나주배 영농조합 소속농업인 대상 사업설명회 개최
    - 원료생산농가 조직화
  - 고부가가치 제품의 원료 생산단지 구축
    - 원료생산농가조직과 원료공급계약 추진
  - 고부가가치 제품의 반제품 생산의 지역 산업체와의 연계 모델 구축
    - 지역산업체 대상 기술설명회 개최
    - 지역산업체와 상용기술이전 실시



## [제 2협동, 나주시 농업기술센터]

### ▶ 과제명: 나주배의 고부가가치 산업화 전략 수립 및 식품개발

#### 1. 나주배의 재배, 생산조건, 기능성 성분 조사

##### 가. 나주배의 재배적 특징 조사<sup>(1),(2)</sup>

##### 1) 토양개량

- (1) 월동기(낙엽이 지면서 열기 전)에 심경에 의해 토양 개량을 실시한다. 토양개량 방법은 도랑식, 윤구식, 구덩이식이 있으며 농가의 과원 특성에 맞추어 3가지 방법 중 한가지를 선택하여 토양 개량을 실시한다.<sup>(1)</sup>

표 IV-1. 토양 개량 방법<sup>(1)</sup>

방법	특징
윤구식	나무의 둘레를 원형으로 구덩이를 파는 방법
도랑식	나무 사이를 도랑 형태로 깊게 파는 방법
구덩이식	나무 주위 몇 곳에 넓이 및 깊이를 60~80 cm로 파고 유기물을 넣는 방법

##### 2) 수분관리

- (1) 배수: 명거, 암거 배수가 있으며 암거 배수 처리 시설을 설치하여 배수불량에 의한 배나무 생육이 저하되는 것을 막는다.<sup>(1)</sup>
- (2) 관수: 5월 중·하순~6월 중순, 9월 상~하순에 관수를 행한다. 또한, 가뭄이 지속될 때 관수를 하면 토양 내의 무기양분 유효도가 증가되어 무기 양분의 흡수가 증가하기 때문에 시기 별로 관수를 철저히 하여 배나무 생육을 원활하게 한다.<sup>(1)</sup>

##### 3) 시비

배의 생육상태와 포장조건에 따라 구획을 나누어 토양 검정 실시한다. 토양 검정 후에 시비할 경우는 복합비료가 아닌 단비위주로 시비하며 비료를 줄 때는 유기물의 투입종류, 양에 따라 질소량이 차이가 나므로 비료의 종류에 따라 시비량을 조절한다.<sup>(1)</sup>

표 IV-2. 시비방법 및 비중에 따른 비율<sup>(1)</sup>

시비방법	비중에 따른 비율
질소의 표토시용(관비)	30~50% (90%)
표면관수에 의한 질소시비	50~70%
질소의 엽면시비	11~75%
인산의 표토시용(관비)	30% (40%)
칼륨의 표토시용(관비)	40% (80%)

#### 4) 정지 전정 시 유의사항

햇빛을 잘 받는 나무가 되도록 가지 배치를 잘 해야 하며, 작업이 편리하도록 수형을 만들어야 한다. 주간의 높이는 토양조건, 품종, 수세, 재식거리에 알맞게 조절하여 정지, 전정 한다. 주지는 직선이 되도록 사립형으로 유인하며, 주지의 선단가지(연장지)는 적당한 세력으로 유지시킨다. 그리고 여름 전정은 적기에 적량(최소한 도장지의 30%는 남김)을 실시토록 하며 무리하게 하기전정을 실시하지 않도록 한다. 진전량은 최적 엽면적 지수가 되도록 조절해 준며, 엽/재(잎/나무줄기)비율을 높여 과실 품질을 향상시키도록 조절한다.<sup>(1)</sup>

#### 5) Y자 수형 구성방법

##### (1) 2~3년차 전정법

주지는 3년차까지 유인하지 않고 곧게 키우며, 주지기부에서 발생하는 가지는 조기에 제거한다. 주지에서 발생된 가지는 신초 비틀기, 적심 등을 하여 성장을 억제하여 세력에 영향을 미치지 못하게 하며, 주지 연장지는 매년 1/3정도 끝 절단을 해주어 세력을 연장시키고 경쟁지는 적심 또는 기부에서 제거하도록 한다.<sup>(1),(2)</sup>

##### (2) 4~5년차 전정법

4~5년차 전정법은 4년차 봄 수액 이동이 활발할 때 유인해준다. 유인 시 분지각도가 좁은 것은 굵기의 1/3 정도 5 cm 간격으로 목질 부를 4~10군데 상처를 내고 유인하여 세력을 조절하여 도장지가 발생되지 않도록 유인한다. 유인 후에는 연장지의 세력이 약화되기 쉬우므로 배면의 상부 눈을 남기고 전정한다. 생육기의 신초는 2~3년차와 같이 여름전정, 적심, 염지 등을 하여 주지 상에 단과지와 중과지를 형성되도록 관리한다. 주지 유인시에는 활처럼 휘지 않게 유인하고 사립형으로 유인하는 것이 도장지 발생이 적어 밀식장애를 줄일 수 있으므로 주의하여 유인 해 준다. 지주형태는 평덕식이나 아취형(하우스형태)이 나주지역에 맞는 지주형태이므로 과원 관리가 용이하도록 지주를 설치한다.<sup>(1),(2)</sup>

##### (3) 5년차 이후의 전정방법

5년차 이후 수형을 완성시키도록 하며, 수형 완성 후 세력이 약화되지 않게 하고 단과지, 중과지 위주로 결실시키며 발생각도가 넓은 가지를 이용하도록 한다. 밀식 장애 시 간벌을 실시하고 측지를 주지와 직각이 되게 형성시켜 세력을 분산시켜 주도록 한다.<sup>(1),(2)</sup>

## 6) 적과<sup>(1)</sup>

### (1) 적과 요령

- 나무전체를 먼저 실시한다.
  - 주지 및 큰가지의 기부와 끝 부분 30 cm 정도는 우선 솎아냄
  - 장과지 또는 곁가지(측지)의 끝눈에 달리는 열매를 솎아냄
  - 수관 외부를 먼저 끝낸 뒤에 수관 내부를 솎아냄
  - 가지의 적과를 실시함
  - 밑으로 처지거나 곧장 치솟은 가지에 달린 과실은 우선 솎아냄
  - 과충엽이 없는 열매는 솎아냄
  - 옆으로 비스듬히 나와 달리는 열매를 남김
- 한 과충(열매꼬투리)의 적과 요령
  - 6번째 이상의 열매를 제거함
  - 3~4번과 중 1과를 남기고 나머지 기부에서 1, 2번과의 끝쪽의 5번과를 솎아 내도록 한다.
  - 3~4번과가 병충해, 기계적 상처, 동록이 생겼으면 2번과와 5번과를 남기고 다소 장원형이고 열매꼭지가 굵고 긴 것이 좋다.
- 과충의 선택 및 과충간의 거리 간격 보기
  - 열매를 솎은 뒤 열매간의 거리는 품종별로 다르기 때문에 최소한 15 cm 이상 되도록 하여 수확 시 열매가 서로 맞닿지 않아야 함
  - 거리가 적당하다면 가능한 한 열매가 굵은 과종을 남김
  - 아들꽃 또는 아들열매는 우선 솎아내야 함
- 남기는 과형(선택할 과실)
  - 과형이 좌우가 길고 반듯하며 적과할 때 다소 길쭉한 형으로 꽃이 깨끗이 떨어져 남아있지 않은 무체과
- 다음과 같은 과형은 우선 솎아내어 제거토록 작업한다.
  - 표면이 울퉁불퉁한 과일
  - 과면에 골이 져있는 과일
  - 과면이 깨끗하지 못하거나 동록이 낀 과일
  - 꽃이 깨끗이 떨어지지 않고 남아있는 유체과

### (2) 과실을 솎는 시기 및 순서

- 1차 적과: 예비적과는 꽃가루 받이 및 수정이 끝나서 착과 여부가 확실히 드러나는 꽃이 진 뒤 7~10일부터 시작
- 2차 적과: 본격과로서 한 과충 내의 3~4번과 중에서 한 개 남김. 최종 수확할 과실 수보다 20% 더 남김
- 3차 적과: 마무리 적과로서 이 때 수확예상량보다 20% 더 남김

## 나. 나주배의 재배 환경적 특성 조사

### 1) 기후<sup>(2)~(9)</sup>

일교차는 과실의 착색, 당분의 함량에 영향을 미치는 요소이다.<sup>(2)~(7)</sup> 배는 연평균 기온이 7℃ 이상이면 재배가 가능하지만 동해피해, 품질 저하 등을 고려할 때 연평균 기온이 대체로 13~14℃ 정도 여야 한다.<sup>(3)</sup> 나주의 평균 기온은 13.8℃이며, 연평균 최저기온은 9.5℃로 배를 재배하기에 가장 최적의 온도 조건을 가지고 있다. 특히 나주배의 과실 발육기인 8월~9월에는 평균 기온이 22℃이상인 지역이 양질의 배 생산을 할 수 있는 최적지로서 적정 수준을 나타내고 있다(표 IV-3, 표 IV-4).

밤의 온도가 낮을수록 호흡에 의한 소모량이 적어 착색과 당의 축적에 효과적이다.<sup>(3)~(8)</sup> 나주지역의 연평균 일교차는 약 10℃정도로 다른 배 주산지에 비해 더 크거나 유사한 경향을 보인다(표 IV-3).

배 재배에 필요한 연강수량은 품종, 토질 및 그 밖의 조건에 따라 일정하지는 않지만 대체로 1,200~1,500 mm이며, 특히 생장기인 4~10월 강수량은 800 mm 이상이 되어야 한다. 나주는 연강수량 1391.0 mm, 생육기인 7~9월의 강수량이 670 mm로 최적의 여건을 갖추고 있다(표 IV-3, 표 IV-5).<sup>(3),(9)</sup>

배 과실 당도는 일조시간에 기인한 광선투과가 많을수록 당도에 긍정적인 영향을 미친다.<sup>(3)~(8)</sup> 나주 지역은 평균 일조시간이 2136.3시간으로 일조량이 매우 풍부하여 고품질의 배를 만드는데 천혜의 자연조건을 가지고 있다.

표 IV-3. 나주 지역 기후자료(1981~2010년)

요소	평년값
평균기온(℃)	13.8
최고기온(℃)	19.1
최저기온(℃)	9.5
강수량(mm)	1391.0
소형증발량(mm)	1152.4
평균풍속(m/s)	2.1
평균습도(%)	69.5
평균증기압(hPa)	13.0
일조합(hr)	2136.3
평균일사량(MJ/m <sup>2</sup> )	4864
안개계속시간(hr)	44.99
전운량(할)	5.4
해면기압(hPa)	1016.1
최저초상온도(℃)	7.0
지면온도(℃)	15.3
5cm지중온도(℃)	14.9
10cm지중온도(℃)	15.1
20cm지중온도(℃)	15.5
30cm지중온도(℃)	15.5
50cm지중온도(℃)	15.8
1.0m지중온도(℃)	15.8

※ 자료: 기상청([www.kma.go.kr](http://www.kma.go.kr)), 2016

나주지역은 자체적으로 기상을 관측할 수 있는 관측소가 설치되어 있지 않아 30년 동안에 대한 기상자료는 없으며, 인근 접근지역은 광주광역시와 20여분 거리에 있고 커다란 산이나 지형적으로 기후 변화를 줄 만한 지형 조건이 없어 광주지역의 기후 영향을 받고 있음(2013년도부터 나주시농업기상정보시스템 운영).

표 IV-4. 나주시 평균온도(°C)

연 도 별	평균	1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월	12월
2013	12.9	-1.4	1.0	5.8	9.8	17.2	22.8	26.8	26.7	20.8	14.0	7.4	2.4
2014	13.0	0.4	2.9	7.0	12.4	17.5	22.4	24.3	23.3	20.4	14.7	8.9	1.1
2015	13.4	1.9	2.6	6.6	12.5	17.9	20.9	24.0	24.1	19.5	14.6	10.7	4.6

※ 자료: 나주시농업기상정보시스템, 2016

표 IV-5. 나주시 강수량(mm)

연 도 별	계	1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월	12월
2013	1697.5	32.5	86	143.5	93.5	240.5	88	282	333	272.5	37.5	77.5	11
2014	1349.5	7.5	10	110.5	50.5	48	32.5	494.5	316	102.5	46	97	34.5
2015	1023.5	29.5	29.5	34	109	79.5	88.5	178	109	78	102	127	59.5

※ 자료: 나주시농업기상정보시스템, 2016

## 2) 토양<sup>(3),(10)~(12)</sup>

배나무 토양은 식양토나 사양토가 적합하며, 산도는 pH 5.5~6.5의 미산성을 유지해야 한다.<sup>(3),(10)~(12)</sup> 재배에는 평지가 작업이 편리할 수 있으나 배수가 불량하고, 경사가 급하면 토양 유실이 심하고 관리가 어렵다. 따라서 약간 경사진 지형이 재배에 적합하다. 이상적인 토양은 물 빠짐성이 좋고 뿌리가 용이하게 뻗어 나갈 수 있는 성질을 지니고 있어야 한다.<sup>(3)</sup> 나주의 경우 토양의 산도는 pH 6.1이며(표 IV-6), 표토는 배의 재배에 적합한 식양토나 사양토가 전체의 89.7%를 차지하고 있으며(표 IV-7) 심토는 식양토, 사양토 비율이 약 49.5% 정도를 차지하고 있다(표 IV-8). 나주의 배 재배지는 15% 이내의 경사를 이룬 지역이 전체의 약 59.6% 정도를 차지하고 있어 배의 생산에 최적의 조건을 갖추었다고 할 수 있다(표 IV-9). 또한 물 빠짐성이 좋은 양호 이상의 재배 적지가 전체의 약 72.8%를 차지하고 있으며(표 IV-10), 나주지역의 적지 등급 이상의 비율은 약 44.6%를 차지하고 있어 배 재배의 적합한 토양을 지니고 있다(표 IV-11).

표 IV-6. 나주시 토양의 화학적 조성

pH	유기물 (g/kg)	유효 인산 (mg/kg)	치환성 양이온(cmol <sup>+</sup> /kg)			전 기 전도도	유효규산 (mg/kg)
			칼륨	칼슘	마그네슘		

나주시	6.1	29.8	839.6	1.2	7.5	2.3	1.0	0.1
금천면	6.0	29.6	967.9	1.2	7.4	2.1	1.0	0.0
공산면	6.2	27.0	667.7	1.1	7.8	2.4	0.8	0.0
남평읍	6.3	24.7	758.	0.7	7.6	3.3	2.1	0.0
노안면	5.9	29.9	822.4	1.1	7.1	2.1	0.8	0.3
다도면	6.1	30.0	793.4	1.2	7.4	3.3	3.1	0.0
다시면	6.2	30.5	791.0	1.1	7.1	2.0	1.0	0.0
동강면	6.7	28.4	722.5	1.6	8.7	3.3	1.0	0.0
문평면	6.1	27.8	631.7	1.2	5.9	2.4	1.0	0.0
반남면	6.2	27.1	702.2	1.2	7.3	2.4	0.9	0.0
봉황면	6.2	30.2	754.7	1.2	7.2	2.3	1.0	0.2
산포면	6.0	26.6	809.6	0.9	6.8	2.1	1.2	0.0
세지면	6.1	27.4	744.1	1.2	7.0	2.3	0.8	0.0
왕곡면	6.4	31.9	900.9	1.4	8.4	2.3	0.9	0.0

※ 자료: 햅토람, 2016

표 IV-7. 나주의 햅토 토성

구 분	면 적 (㎡)
햅질조사토	0 (0%)
햅질세사토	0 (0%)
햅질사토	0 (0%)
세사햅토	12,943,098 (2.3%)
사햅토	11,642,883 (2.0%)
햅토	438,965,366 (77.1%)
미사햅햅토	81,655,300 (4%)
미사햅햅식햅토	22,718,389 (4%)
식햅토	1,700,108 (0.3%)

※ 자료: 햅토람, 2016

표 IV-8. 나주의 심토 토성

구 분	면 적 (㎡)
역질	446,161,550 (19.1%)
사력질	96,255,118 (15.9%)
사질	430,475 (0.1%)
사햅햅	35,739,104 (5.9%)
미사사햅햅	10,981,311 (1.8%)
미사식햅햅	41,692,191 (6.9%)
식햅햅	211,955,343 (34.9%)
식질	56,440,053 (9.3%)
기타	37,341,070 (6.2%)

※ 자료: 흡토람, 2016

표 IV-9. 나주의 경사

구 분	면 적 (㎡)
0~2%	121,254,439 (20%)
2~7%	86,397,851 (14.2%)
7~15%	154,167,714 (25.4%)
15~30%	61,074,792 (10.1%)
30~60%	82,073,639 (13.5%)
60~100%	64,656,709 (10.7%)
기타	37,341,070 (6.2%)

※ 자료: 흡토람, 2016

표 IV-10. 나주의 배수등급

구 분	면 적 (㎡)
매우 양호	97,776,457 (16.1%)
양호	266,564,408 (43.9%)
약간 양호	77,575,895 (12.8%)
약간 불량	113,944,793 (18.8%)
불량	11,471,624 (1.9%)
매우 불량	2,291,967 (0.4%)
기타	37,341,070 (6.2%)

※ 자료: 흡토람, 2016

표 IV-11. 나주의 배 재배적지

구 분	면 적 (㎡)
최적지	225,556,706 (37.2%)
적지	44,928,235(7.4%)
가능지	55,008,866(9.1%)
저위 생산지	29,171,694(4.8%)

※ 자료: 흡토람, 2016

## 다. 나주배의 연차별 품질 특성

### 1) 1979~2006년 생육 특성과 품질 특성<sup>(13)</sup>

Lee(2008)등은 1979년부터 2006년까지 나주배 시험장에서 재배되는 배(신고)의 발아기, 개화기, 만개기, 과중, 당도 등을 조사하였으며, 나주에는 30년 이상 관측되고 있는 기상관측지점이 없기 때문에 나주와 인접한 광주의 기상자료를 이용하여 기후 변수의 변화에 따른 생육시기(발아기, 개화기, 만개기) 및 생육상태(과중, 당도)의 변화율을 분석하여 나주지역 농업생태와 기후 변화의 관계를 보고하였다(IV-12).<sup>(13)</sup>

표 IV-12. 나주지역 배의 생육기시(조사기간: 1979-2006년)<sup>(13)</sup>

	평균	표준편차	년도에 따른 변화율	온도에 따른 변화율
발아기	3월 12일	9.1	-0.87 일/년	-4.1 일/°C (기후변수 : 2-3월까지의 평균기온)
개화기	4월 10일	4.5	-0.30 일/년	-3.0 일/°C (기후변수 : 2-4월까지의 평균기온)
만개기	4월 15일	4.3	-0.13 일/년	-3.6 일/°C (기후변수 : 2-4월까지의 평균기온)

※자료: 이승호 등, 대한지리학회지 43(1), 20-35, 2008

조사 기간 동안 평균 발아기는 3월 12일이었으며, 회귀식은  $y=-0.87x+1806.0$ 으로 10년간 8.7일씩 일러지는 경향을 보였다고 보고되었다(그림 IV-1). 또한 배의 발아기와 2~3월의 평균기온 간의 회귀식은  $y=-4.1x+90.5$ 이며, 변화율은 -4.1 일/°C로 이시기의 평균기온이 1°C 상승할 경우 나주배의 개화기는 4.1일 빨라지는 경향을 보였다고 보고되었다.<sup>(13)</sup>

조사 기간 동안 나주배의 평균 개화기는 4월 10일이었으며, 회귀식은  $y=-0.30x+689.7$ 로 10년간 3일씩 일러지는 경향을 보였다고 보고되었다(그림 IV-2). 나주배의 개화기는 2~4월의 평균기온과 높은 부의 상관관계를 보였으며, 평균기온에 따른 배 개화기의 변화율은 -3.0 일/°C로 이시기의 평균기온이 1°C도 상승할 경우 나주배의 개화기는 3일 일러지는 경향을 보이는 것으로 보고되었다.<sup>(13)</sup>

배의 평균 만개기는 4월 15일이었으며, 회귀식은  $y=-0.13x+367.9$ 로 10년간 1.3일씩 일러진 것으로 보고되었다(그림 IV-3). 2~4월의 평균기온에 따른 만개기의 변화율은 -3.6일/°C로 이시기의 평균기온이 1°C 상승할 경우 만개기는 3.6일 빨라지는 경향을 보이는 것으로 보고되었다.<sup>(13)</sup>



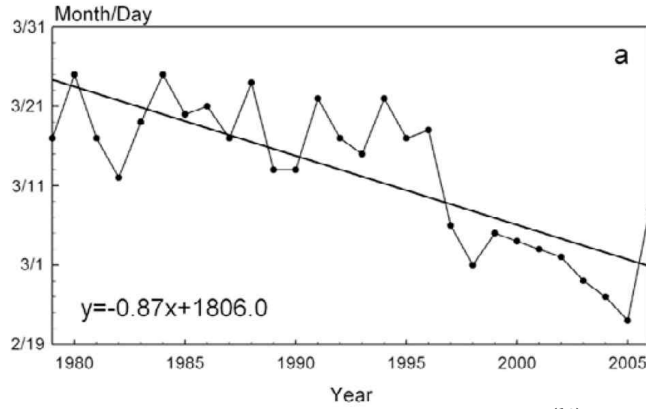


그림 IV-1. 나주배의 년도별 발아기.<sup>(13)</sup>

※자료: 이승호 등, 대한지리학회지 43(1), 20-35, 2008

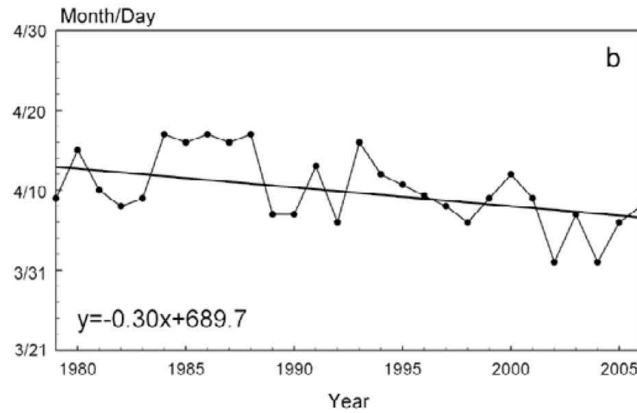


그림 IV-2. 나주배의 년도별 개화기.<sup>(13)</sup>

※자료: 이승호 등, 대한지리학회지 43(1), 20-35, 2008

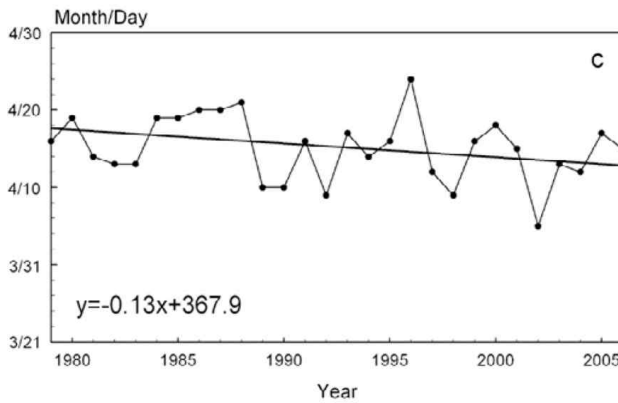


그림 IV-3. 나주배의 년도별 만개기.<sup>(13)</sup>

※자료: 이승호 등, 대한지리학회지 43(1), 20-35, 2008

배의 품질 기준에 있어 과중, 당도 등은 중요한 인자로 고려되고 있는 요소이다. 그리고 과수 재배에서 기상환경 중 기온은 과수의 생육과 품질에 밀접한 관계가 있는 것으로 알려졌다. Lee(2008) 등이 보고한 결과에 따르면 나주지역 배의 개화시기 이후 숙기까지 연별 평

균기온과 배의 과중과 당도를 상관관계를 분석한 결과 과중은 9월의 평균 기온에 당도는 8월의 평균기온에 높은 양의 상관관계를 가지는 것으로 밝혀졌다(표 IV-13).<sup>(13)</sup>

표 IV-13. 나주지역 배의 품질특성(조사기간: 1979-2006년)<sup>(13)</sup>

	평균	표준편차	년도에 따른 변화율	온도에 따른 변화율
당도(brix)	12.2	0.8	0.04 brix/년	0.4 brix/°C (기후변수 : 8월의 평균기온)
과중(g)	581.7	110.5	9.61 g/년	46.2 g/°C (기후변수 : 9월의 평균기온)

※자료: 이승호 등, 대한지리학회지 43(1), 20-35, 2008

조사기간 동안 배의 평균 과중은 581.7 g으로 전반적으로 과중은 증가하는 경향을 보였다(그림 IV-4). Lee(2008) 등이 보고한 결과에 따르면 조사시간동안 독립변수를 연도, 종속변수를 과중으로 하여 회귀분석을 실시한 연구결과에 따르면 회귀식은  $y=9.61x-18560.3$ 로 10년에 96.1g 정도 증가하는 경향을 보인다고 보고되었다.<sup>(13)</sup> 또한 9월 평균기온에 따른 과중의 변화율은 46.2 g/°C로 9월의 평균기온이 1°C 상승하게 되면 배의 과중은 46.2 g 증가하는 것으로 보고되었다.<sup>(13)</sup>

배의 평균 당도는 12.2 brix였으며 회귀식은  $y=0.04x-67.0$ 으로 10년에 4 brix씩 당의 함량이 증가하는 경향을 보인 것으로 보고되었다(그림 IV-5). 배의 당도는 8월 평균기온에 따른 당도의 변화율은 0.4 brix/°C로 8월 평균기온이 1°C 상승하게 될 경우 0.4 brix 증가하는 경향을 보인 것으로 보고되었다.<sup>(13)</sup>

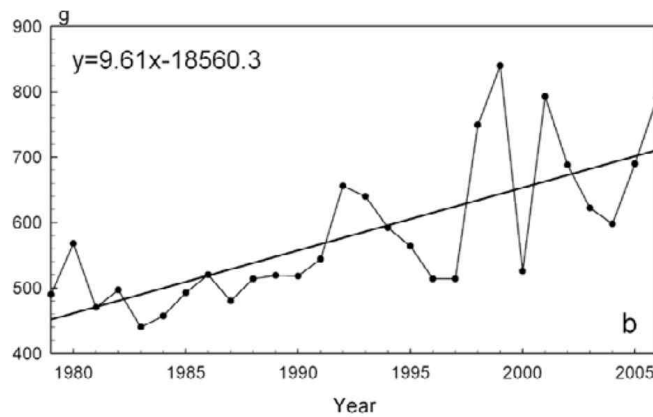


그림 IV-4. 나주배의 년도별 과중.<sup>(13)</sup>

※자료: 이승호 등, 대한지리학회지 43(1), 20-35, 2008

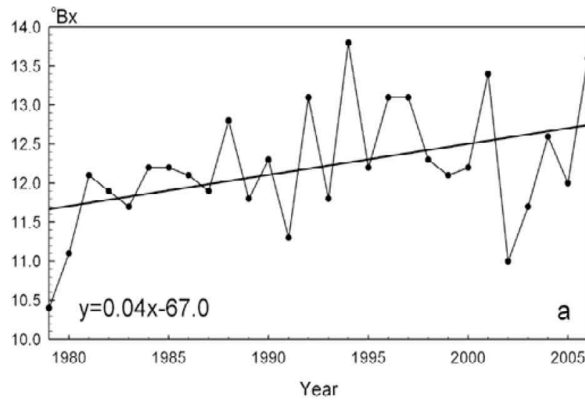


그림 IV-5. 나주배의 년도별 당도.<sup>(13)</sup>

※자료: 이승호 등, 대한지리학회지 43(1), 20-35, 2008

## 2) 1997~2015년 생육 특성과 품질 특성

나주지역 신고의 연도별 만개일, 수확일, 품질특성은 표 IV-14에 제시되었다. 만개일, 수확일, 품질특성의 자료는 1997년부터 2015년까지 나주에 위치한 배연구소에서 샘플링한 조사 자료를 이용하였다. 배의 만개일, 수확일, 품질특성의 변화율은 독립변수를 연도 종속변수를 만개일, 수확일, 당도, 과중으로 하여 회귀분석을 이용하여 변화 경향을 분석하였다. 생육기간 동안의 기상 자료는 1997년부터 2015년까지 나주의 자동기상관측기에서 측정된 기상 자료를 이용하였으며, 측정되지 않은 날의 기상 자료는 나주에서 가장 인접한 광주에 기상자료를 활용하였다.

표 IV-14. 나주배의 만개기, 수확기와 품질특성

연도	만개기	수확기	과중 (g)	중경 (mm)	횡경 (mm)	당도 (°Bx)	산도 (%)	경도
1997	4월 12일	10월 02일	525	91.2	100.5	13.4	0.08	1.1
1998	4월 09일	09월 30일	470	88.3	98	13.5	0.07	1.1
1999	4월 16일	10월 08일	676	98.3	110.9	13	0.11	1.1
2000	4월 18일	10월 13일	647	107.3	119.1	12.8	0.1	1.1
2001	4월 15일	10월 04일	627	105	112.3	11.9	0.09	1.37
2002	4월 05일	10월 08일	710	100.2	109.8	11.5	0.21	1.2
2003	4월 13일	10월 14일	710	86.4	96.7	10.1	0.2	1.1
2004	4월 10일	10월 17일	729	95.9	101.5	11.6	0.1	1.2
2005	4월 17일	10월 14일	731	98.5	106.2	11.4	0.1	1
2006	4월 15일	10월 13일	761	103.6	114.9	11.8	0.09	1.1
2007	4월 11일	10월 16일	638	94.2	109.4	11	0.08	1.2
2008	4월 16일	10월 07일	822	103.3	118	12	0.14	1
2009	4월 10일	10월 02일	764.2	98.6	104.8	12.4	0.11	1
2010	4월 16일	10월 02일	752	97.1	105.1	12.2	0.12	1
2011	4월 18일	10월 01일	823	100.1	117.2	13.3	0.12	0.9
2012	4월 20일	09월 30일	743.3	113	100.2	12.8	0.13	1.1
2013	4월 14일	10월 04일	751.6	103.0	114.3	14.01	0.12	1.1
2014	4월 07일	10월 01일	703.30	95.89	109.86	12.62	0.11	1
2015	4월 01일	10월 06일	759	105.2	118	13.6	0.13	1.1
평균	4월 12일	10월 06일	702.23	99.22	108.78	12.36	0.12	1.09

※ 자료: 배연구소(나주)

조사 기간 동안 배의 만개기는 평균 4월 12일이며, 표준편차는 4일이였다. 만개일이 가장 빠른 해는 2015년도로 4월 1일이며 가장 늦은 해는 2012년도로 4월 20일로 19일 차이를 보였다. 분석 기간 중 배 만개기 기울기는  $-0.107$ 로 10년마다 1일씩 일러지는 경향을 보였지만 유의성은 없는 것으로 확인되었다. 배의 수확기는 평균 10월 6일이며 표준편차는 5일이였다. 수확일이 가장 빠른 해는 1998년과 2012년도로 9월 30일이며 가장 늦은 해는 2004년도로 10월 17일로 17일 차이를 보였으며, 이는 만개일의 19일에 비해 2일 적었다. 분석 기간 중 배 수확기 기울기는  $-0.2719$ 로 10년마다 2일씩 일러지는 경향을 보였지만 유의성은 없는 것으로 확인되었다. 만개일에 따라 과실 생육일수가 가장 짧은 해는 164일, 가장 긴 해는 191일로 차이는 27일이였으며 평균 생육일수는 178일 이였다. (그림 IV-6)

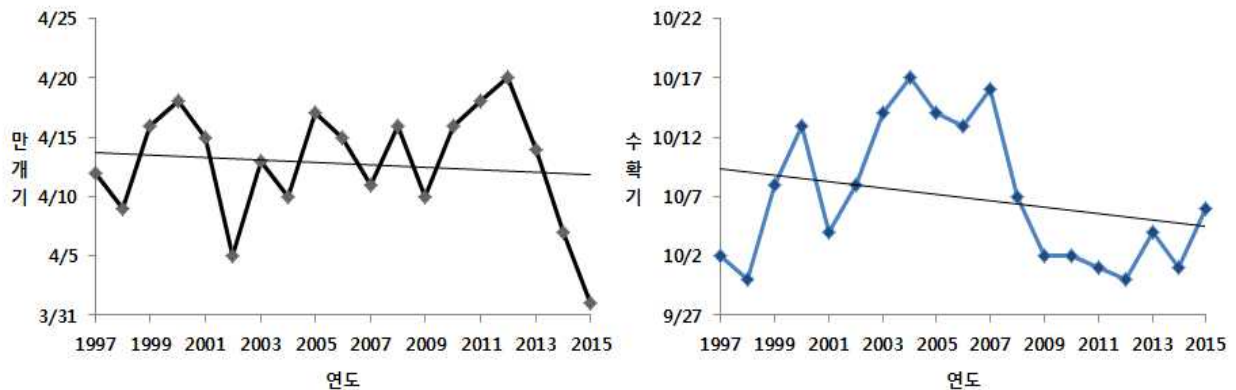


그림 IV-6. 배의 만개일과 수확기.

배의 평균 과중은 702.23 g이며 표준편차는 90.24 g이다. 1998년에 470 g으로 과중이 가장 낮았으며 2011년에 823 g으로 가장 높은 과중이 나타났다. 배 과중의 회귀식은  $y = 11.374x - 22114$ 로 10년에 11.37 g 정도 증가하는 경향을 보였으며, 유의수준  $\alpha = 0.05$ 에서 통계적으로 유의하였다. 결정계수는 0.5031로서 약 50%의 설명이 가능하였다. 조사 기간 동안 배의 평균 당도는 12.36 brix이며 표준편차는 1.00 brix이다. 2003년에 10.1 brix로 과중이 가장 높았으며 2013년에 456.25 g으로 가장 낮은 과중이 나타났다. 배 당도의 기울기는 0.0322로 10년에 0.32 brix 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다.

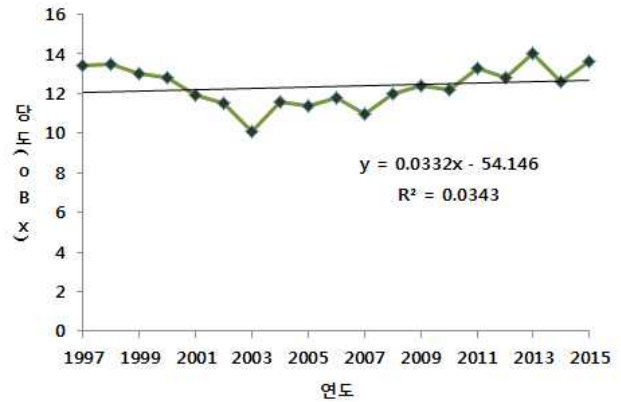
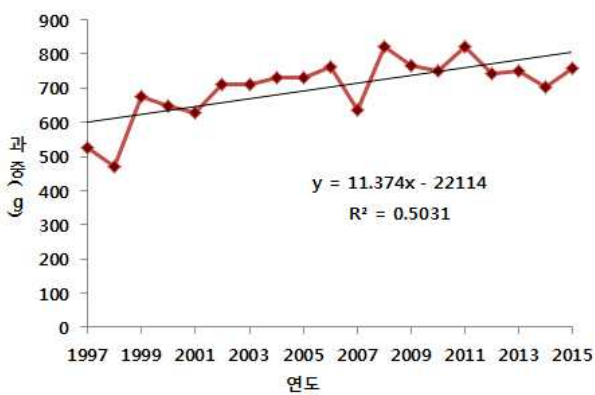


그림 IV-7. 배의 과중과 당도

또한 조사시간동안 평균 종경은 99.2 mm, 평균 횡경은 108.78 mm, 평균 산도는 0.12%, 경도는 1.09 kgf으로 조사되었다.

표 IV-15. 배 ‘신고’의 만개일부터 수확기까지 기상 요인의 누적값

연도	만개기	수확기	일평균기온의 생육온도 일수 (°C)		만개일부터 수확기까지의 강수량(mm)
			0	5	
1997	4월 12일	10월 02일	3806.1	2936.1	838
1998	4월 09일	09월 30일	3950.2	3075.2	1600.5
1999	4월 16일	10월 08일	3910.1	3030.1	1250.5
2000	4월 18일	10월 13일	3943.8	3048.8	1221.5
2001	4월 15일	10월 04일	3918.8	3053.8	690.5
2002	4월 05일	10월 08일	3979.7	3044.7	1211.5
2003	4월 13일	10월 14일	4026.7	3096.7	1584.5
2004	4월 10일	10월 17일	4203.1	3243.1	1475
2005	4월 17일	10월 14일	4045.5	3135.5	793
2006	4월 15일	10월 13일	3966.4	3056.4	1017.5
2007	4월 11일	10월 16일	4152.3	3207.3	1128
2008	4월 16일	10월 07일	3835.5	2955.5	749.5
2009	4월 10일	10월 02일	3721.3	2836.3	1406.5
2010	4월 16일	10월 02일	3790.8	2935.8	1177
2011	4월 18일	10월 01일	3753.4	2913.4	902.5
2012	4월 20일	09월 30일	3746.7	2926.7	1336.5
2013	4월 14일	10월 04일	3770.6	2900.6	979
2014	4월 07일	10월 01일	3673.9	2783.9	1033.5
2015	4월 01일	10월 06일	3966.3	3016.3	732.5
평균	4월 12일	10월 06일	3903.22	3010.33	1111.97

※ 자료: 기상청, 방재월보, 1997~2015 (<https://data.kma.go.kr>)

표 IV-15은 나주 지역에서 1997년부터 2015년까지 배 ‘신고’의 만개일부터 수확기까지의 기상요인누적 값을 기상청의 방재연보를 참고하여 조사한 것이다. 일평균기온의 누적값(일평균기온의 생육온도 일수)은 2014년도에 가장 낮았고 2004년도에 가장 높았던 것을 확인할 수 있었다. 기준온도를 0℃로 하였을 때 일평균기온의 누적값(일평균기온의 생육온도 일수)의 평균은 3903.22였고 기준온도를 5℃로 하였을 때 일평균기온의 누적값(일평균기온의 생육온도 일수)의 평균은 3010.33이었다. 또한 만개일부터 수확기까지의 강우량의 누적값은 1998년도에 1600.5 mm로 가장 높았으며 2015년도에 732.5 mm로 가장 낮았으며 평균은 1111.97 mm로 조사되었다.

## 라. 나주배의 품질기준

### 1) 적용 범위

나주 배산업 특구에서 생산되어 신선한 상태로 국내 유통되는 상품성 있는 배에 한하여 적용하며, 가공용 또는 수출용의 경우에는 따로 정한다.

### 2) 품질 등급

#### (1) 특품

- 날개의 고르기: 별도로 정하는 표 IV-16에서 무게가 다른 것이 섞이지 않은 것
- 무게: 별도로 정하는 표 IV-16에서 “중”이상인 것
- 설탕: 품종 고유의 설탕이 뛰어난 것
- 당도: 11.6 brix 이상(신고 품종)
- 신선도: 껍질의 수축현상이 나타나지 않은 것
- 중결점과: 없는 것
- 경결점과 : 없는 것

표 IV-16. 무게 구분

품 종		호 칭	특 대	대	중	소
1개의 무게 (g)	신고, 만삼길, 금춘추, 화산, 원황, 미황, 만수, 감천배, 영산배 및 이와 유사한 품종	750 이상	600 이상 750 미만	500 이상 600 미만	375 이상 500 미만	
	장십량, 황금, 추황, 풍수, 선황, 감로 및 이와 유사한 품종	600 이상	500 이상 600 미만	375 이상 500 미만	300 이상 375 미만	
	신천, 신수, 행수 및 이와 유사한 품종	375 이상	300 이상 375 미만	250 이상 300 미만	200 이상 250 미만	

※ 자료: 나주배지리적표시제

< 용어의 정의 >

- ① 날개의 고르기는 포장단위별로 전체 과수 중 표 IV-16에서 무게가 다른 것의 개수 비율을 말한다.
- ② 당도는 날개의 당도를 말한다.
- ③ 결점과 혼입율은 포장 단위별로 전체 과수에 대한 결점과의 개수비율을 말한다.

④ 중결점과는 다음의 것을 말한다.

㉠ 이품종과 : 품종이 다른 것

㉡ 부패, 변질과 : 과육이 부패 또는 변질된 것

㉢ 미숙과 : 당도, 경도 및 색택으로 보아 성숙이 현저하게 덜된 것(성숙 이전에 인공 착색한 것을 포함한다)

㉣ 과숙과 : 경도, 색택으로 보아 성숙이 지나치게 된 것

㉤ 병해충과 : 붉은별무늬병(적성병), 검은별무늬병(흑성병), 겹무늬병, 심식충류, 매미충류 등 병해충의 피해가 과육까지 미친 것

㉥ 상해과 : 열상, 자상 또는 압상이 있는 것. 다만 경미한 것은 제외한다.

㉦ 모양 : 모양이 심히 불량한 것

㉧ 기타 : 경결점과에 속하는 사항으로 그 피해가 현저한 것

⑤ 경결점과는 다음의 것을 말한다.

㉡ 품종 고유의 모양이 아닌 것

㉢ 경미한 과피흑점, 얼룩, 녹, 일소 등으로 외관이 떨어지는 것

㉣ 병해충의 피해가 과피에 그친 것

㉤ 경미한 찰상 등 중결점과에 속하지 않는 상처가 있는 것

㉥ 꼭지가 빠진 것

㉦ 기타 결점의 정도가 경미한 것

#### 마. 나주배의 기능성 성분

배는 장미과(Rosaceae) 배나무속(*Pyrus*)에 속하며, 세계적으로 재배되는 품종은 한국과 일본이 원산지인 남방형 동양배(*P. pyrifolia* N.), 중국이 원산지인 북방형 동양배(*P. ussuriensis* M.), 그리고 유럽과 서부아시아가 원산지인 서양배(*P. communis* L.)로 구분된다.<sup>(1),(2)</sup> 배는 100g당 수분 88.4%, 열량은 41kcal, 비타민 B1 0.02 mg, B2 0.01 mg, 나이아신 0.1 mg, 비타민 C 4 mg이 함유되어있다(농촌진흥청, 2012, (표준)식품성분표).

배는 민간요법에서 피부질환, 가래, 기침, 해혈 등을 다스리는데 사용되어 왔으며<sup>(14)</sup>, 항당뇨, 항고혈압, 혈중 지질 감소 작용, 면역 촉진 등의 생리활성을 발휘하는 것으로 보고되었다.<sup>(15)~(17)</sup>

동양배(*Pyrus pyrifolia* Nakai)와 관련된 유사어들을 조합하여 국·내외의 논문과 특허를 검색한 결과 이와 같은 배경을 바탕으로 생리활성을 발휘하는 활성 본체에 관련된 연구가 활발히 진행되었음을 확인할 수 있었다.<sup>(18)~(31)</sup> Moon 등의 연구그룹에서는 나주산 배를 대상으로 분자수준에서 체계적인 연구를 행하였고 최근 10년 동안의 다양한 연구들을 통하여 배에는 유용한 생리활성을 발현하는 다중·다량의 화합물이 함유되어 있음이 확인되었다.<sup>(18)~(30)</sup> 따라서 본 연구에서는 나주배의 기능성 화합물과 그들의 생리활성을 정리하여 나주배의 우수성을 제시할 수 있는 객관적인 자료 수집과 고부가가치 전략 수립을 위한 기초자료를 확립하고자하였다.



## 1) Arbutin

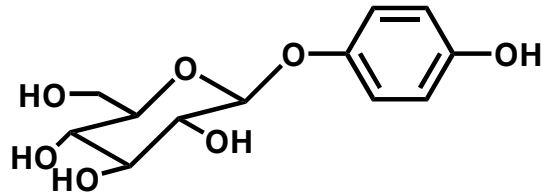


그림 IV-8. Arbutin 구조.

Arbutin은 배의 주요 기능성 화합물로 4-hydroxyphenol과 glucopyranoside가 에테르 결합한 배당체이며, 배 이외에도 시베리아바위취(*Bergenia crassifolia*)의 잎, 굴나무(*Arctostaphylosuva-ursi*)의 잎, 블루베리, 크렌베리에서 단리되었다.<sup>(19),(32)~(34)</sup> 당 부분의 anomeric 수산기의 결합 형태에 따라 α-arbutin(4-hydroxyphenyl α-D-glucopyranoside) 및 β-arbutin (4-hydroxyphenyl β-D-glucopyranoside)의 두 이성체가 천연에 존재하며, 배에는 β-arbutin이 함유된 것으로 알려졌다(그림 IV-8).

Arbutin은 서양배의 부란병에 저항성을 가지는 항생물질로 밝혀졌으며, arbutin이 함유된 월굴나무 추출물은 비뇨생식관 감염 치료제로 이용되어지고 있는 실정이다.<sup>(35),(36)</sup> 게다가 버섯, mouse 그리고 인간의 멜라닌세포(melanocyte)에서 멜라닌색소 생성에 관여하는 tyrosinase의 저해효과가 관찰되었고 그 후 미백효과가 있는 것이 밝혀져 화장품에 이용되고 있는 기능성 화합물이다(그림 IV-9).<sup>(37)</sup> Arbutin은 tyrosinase의 mRNA 발현을 억제하는 것이 아니라 경쟁적 저해제로 작용하여, 멜라닌 생합성 초기 단계에서 tyrosine의 산화 과정을 방해함으로써 색소 형성 및 침착을 개선한다.<sup>(37)~(40)</sup>

앞서 기술했듯이 arbutin은 피부미백효과를 나타내는 화합물로 화장품의 첨가제로써 활용되고 있다. Arbutin은 배의 과피와 미성숙과에 다량 함유되었다. 품종 및 성장시기별로 다소 차이가 있지만 미성숙과(개화 후 20일) 신선중량 100 g 당 840 ~ 465 mg 정도 함유된 것으로 알려져 있다(그림 IV-10).<sup>(29)</sup> 그리고 이러한 소재를 이용하여 알부틴을 추출하고 기능성 소재로 이용하고자 하는 연구들이 시도되고 있다.

Cho(2015) 등은 산업적으로 arbutin을 대량 생산할 수 있는 대량간이정제법을 확립하였다. 배 미성숙과(*P. pyrifolia* cv. Niitaka) 열수추출물의 농축단계 및 용매분획단계를 생략하였고 바로 Diaion HP-20 column chromatography를 2회 수행하여 정제를 하였다.<sup>(26)</sup> 결론적으로 배 미성숙과 신선중량 16 kg의 상당량으로부터 44.2 g의 arbutin을 정제하였고 화장품소재로써의 활용가능성이 제시되었다.

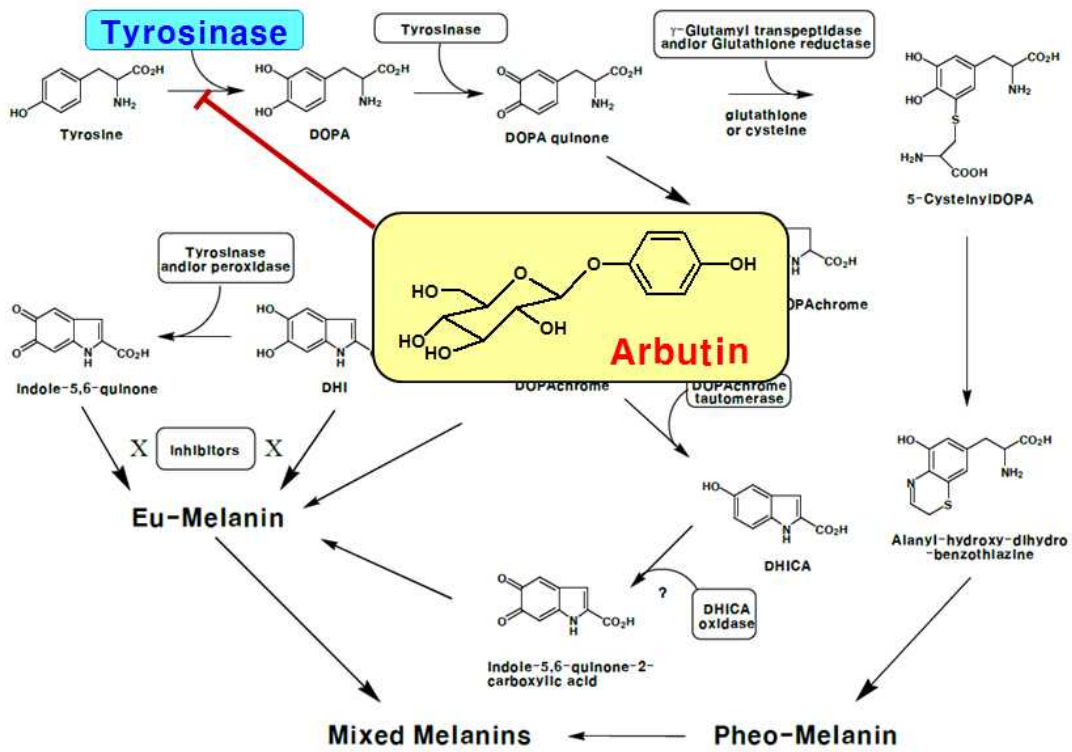


그림 IV-9. Arbutin의 타이로신 저해활성.

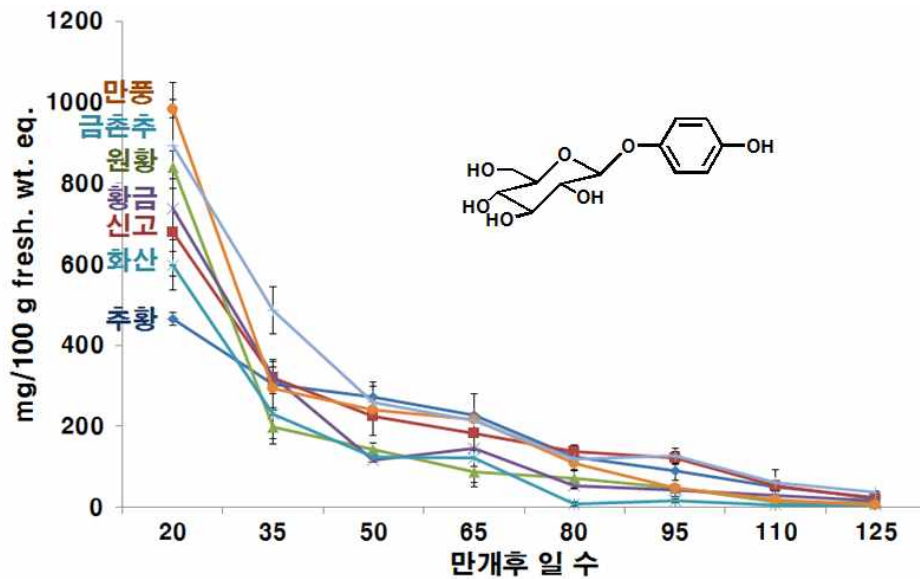


그림 IV-10. 성장시기· 품종에 따른 arbutin 함량 변화.<sup>(29)</sup>

※자료: JY Cho 등. 2015. *Biosci Biotechnol Biochem.* 79(2):260-270

## 2) 클로로젠산(chlorogenic acid)

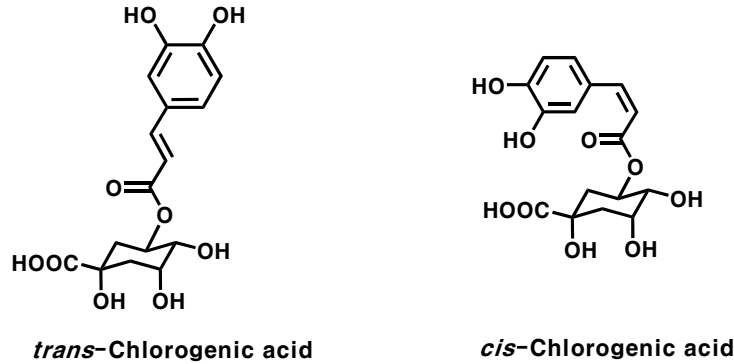


그림 IV-11. Chlorogenic acid의 구조

Chlorogenic acid는 caffeic acid와 quinic acid가 ester 결합된 화합물이며, 배의 과피와 미성숙과에 다량 함유됨이 밝혀졌다(그림 IV-11). 품종 및 성장시기별로 다소 차이가 있지만 미성숙과(개화 후 20일) 신성중량 100 g 당 247~106 mg 정도 함유된 것으로 알려져 있다.<sup>(29)</sup> 배에는 *cis*-chlorogenic acid, *trans*-chlorogenic acid, 3,5-dicaffeoyl-quinic acid와 같은 chlorogenic acid 유도체 형태로 함유되었다. 이들 유도체는 커피, 과일, 채소 등 다양한 식물에 존재하며, 항산화 활성, 항종양, 항염증 활성 등을 지니는 것으로 보고되었다.<sup>(41),(42)</sup>

최근 chlorogenic acid는 *in vitro* 및 *in vivo*상에서 생리활성의 연구가 활발히 진행되어져 오고 있다. Chlorogenic acid는 소장에서 intact form (배당체) 형태로 흡수되기보다는 ester 결합이 분해된 후 caffeic acid로 흡수된다. 흡수된 caffeic acid는 glucuronic acid 또는 sulfuric acid로 포함체화되어 혈액 내에 도달됨이 보고되었다.<sup>(43),(44)</sup> 따라서 *in vivo*상에서 보고된 chlorogenic acid의 다양한 생리활성은 chlorogenic acid 대사체로부터 기인되었다고 판단된다. Jin (2015)등은 제 2형 당뇨병 실험 모델인 *db/db* mice에 chlorogenic acid를 12주간 투여 후 체질량, 공복혈당, 신장의 TGF- $\beta$ 1 및 aldose reductase, glucose-6-phosphatase 활성이 감소됨을 보고하였다. 또한 혈중 adiponectin, adiponectin receptor의 발현 그리고 AMPK (AMP-activated protein kinase)의 인산화가 증가됨이 확인되어 chlorogenic acid는 항당뇨 효과가 있음을 시사해주었다.<sup>(45)</sup> 이 외에도 면역증강, 항암효과, 심혈관 질환 예방 효과 등을 발휘하며 배에서 중요한 생리활성 화합물임이 밝혀졌다.

Cho등(2015)은 배 품종 및 성장시기에 따른 chlorogenic acid 함량을 분석하였다. 그 결과 대상 시료의 모든 품종에서 만개 후 20일경 유과에서 함량이 가장 높은 것으로 밝혀졌다. 만개 후 20일경 유과의 경우 황금 > 추황 > 원황 > 화산 > 신고의 순으로 나타났고, 성장시기의 경과와 함께 급격한 감소 경향을 보였다(그림 IV-12).<sup>(29)</sup>

그리고 Lee(2015) 등은 배 미성숙과(만개 후 20일)를 이용하여 chlorogenic acid를 높은 순도로 추출할 수 있는 정제법을 확립하였다. 배 미성숙과(*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae)의

80% 메탄올 추출물을 농축 후 용매분획하여 얻어진 에틸아세테이트 산성획분을 대상으로 Diaion HP-20 column chromatography과 preparative ODS-HPLC을 수행하여 정제를 하였다. 결론적으로 배 미성숙과 신선중량 20 g의 상당량으로부터 순도 99% 이상인 24.3 mg의 chlorogenic acid를 정제할 수 있는 간이 정제법이 보고되었다.<sup>(28)</sup>

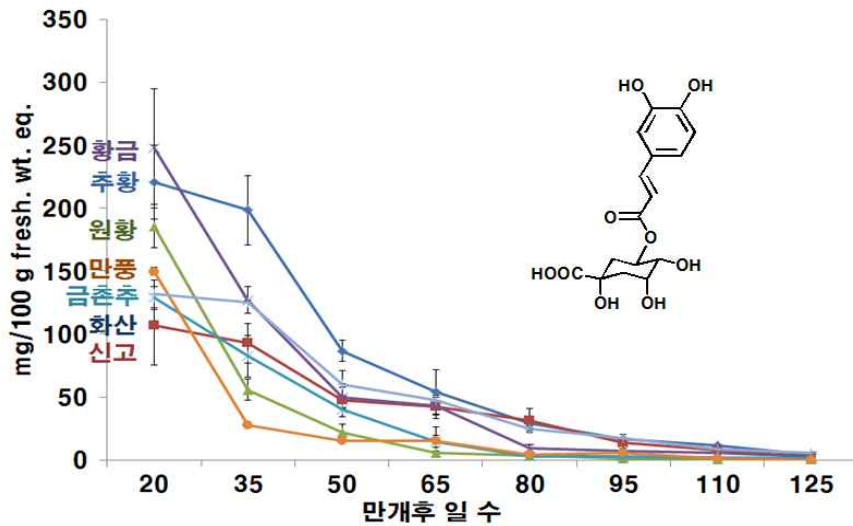


그림 IV-12. 성장시기· 품종에 따른 chlorogenic acid 함량 변화.<sup>(29)</sup>

※자료: JY Cho 등. 2015. *Biosci Biotechnol Biochem.* 79(2):260-270

### 3) 말락시닉산(Malaxinic acid)

배의 주요 기능성 화합물인 말락시닉산(malaxinic acid)은  $\beta$ -D-glucose와 4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)benzoic acid가 에테르 결합한 배당체이다(그림 IV-13).<sup>(19)</sup> 말락시닉산은 배, 아몬드껍질, 살구나무에서 단리되었으며, 말락시닉산 아글리콘은 후추, 프로폴리스로에 함유됨이 보고되었다.<sup>(46)~(49)</sup>

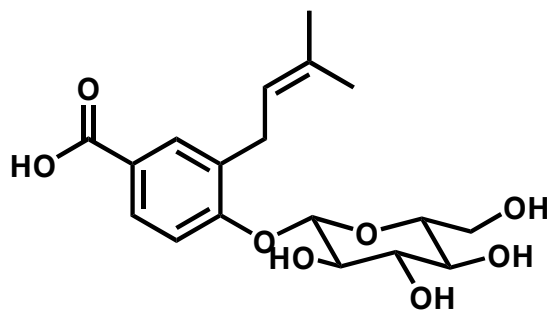


그림 IV-13. Malaxinic acid의 구조

배의 말락시닉산 함량은 품종에 따라 차이가 있지만 미성숙과(개화 후 20일) 신선중량 100 g 당 1~6 mg/100 g 정도 함유되어 있다고 보고되었다.<sup>(29)</sup> 배에서 동정된 알부틴(arbutin)과 클로로젠산(chlorogenic acid)보다는 그 함량이 낮았으나, 단일 화합물로서는 비교적 함유량이 높은 편이었으며, 말락시닉산 고함유 품종의 배미성숙과의 경우 아몬드껍질 및 살구나무보다 그 함량이

높은 것으로 확인되었다.<sup>(46)~(49)</sup>

Cho등(2015)은 말락시닉산의 함량을 배 품종 및 성장시기에 따라 분석하였고 성장시기가 경과함에 따라 감소경향을 보였다고 보고했다. 만개후 20일에 가장 함량이 높았으며, 만풍> 금춘추> 신고> 추황> 황금 > 화산> 원황의 순으로 높은 함량을 보였다(그림 IV-14).<sup>(29)</sup>

그리고 Lee(2013) 등은 금춘추 배 미성숙과(만개 후 35일)를 이용하여 말락시닉산을 높은 순도로 추출할 수 있는 정제법을 확립하였다. 금춘추 배 미성숙과(*Pyrus pyrifolia* Nakai)의 60% 에탄올 추출물을 농축 후 용매분획하여 얻어진 에틸아세테이트 산성획분을 대상으로 Amberlite XAD-2, Diaion HP-20, Sephadex LH-20 column chromatography를 수행하여 정제를 하였다. 그리고 말락시닉산이 함유된 획분을 대상으로 preparative HPLC을 수행하여 고순도로 정제하였다. 결론적으로 배 미성숙과 신선중량 18 kg의 상당량으로부터 순도 99% 이상인 793 mg의 말락시닉산을 정제할 수 있는 간이 정제법이 보고되었다.<sup>(27)</sup>

말락시닉산의 아글리콘(Aglycon)은 *Curvularia fallax*, *Discular* spp에서 식물 독소 인자로 밝혀졌으며, 항진균 효과를 발휘하는 것으로 보고되었다.<sup>(50)~(52)</sup> 또한 말락시닉산 아글리콘은 자궁경부암세포 사멸효과가 있는 것으로 밝혀졌다.<sup>(53)</sup> Kim(2004)<sup>(53)</sup> 등은 HeLa(인간 자궁경부암세포) 세포에 미치는 말락시닉산 아글리콘의 영향을 연구하였다. 그 결과 말락시닉산 아글리콘을 처리하지 않은 대조군에 비해 처리군은 HeLa 세포의 DNA 합성기인 S기가 감소되는 경향을 보인 반면, 세포분열 정지기인 G<sub>0</sub>은 증가하는 경향을 보여 비정상적인 세포분열을 저해하는 것으로 밝혀졌다.<sup>(53)</sup> 또한 말락시닉산 아글리콘은 암억제단백질인 p21의 mRNA와 단백질 발현을 증가시켜 암세포의 세포의 증식을 억제하고, 암세포에서 비정상적으로 활성화된 단백질 CDK(사이클린의존성 인산화효소)의 발현을 저해함으로써 자궁경부암 발생을 예방할 수 있다고 보고했다.<sup>(53)</sup>

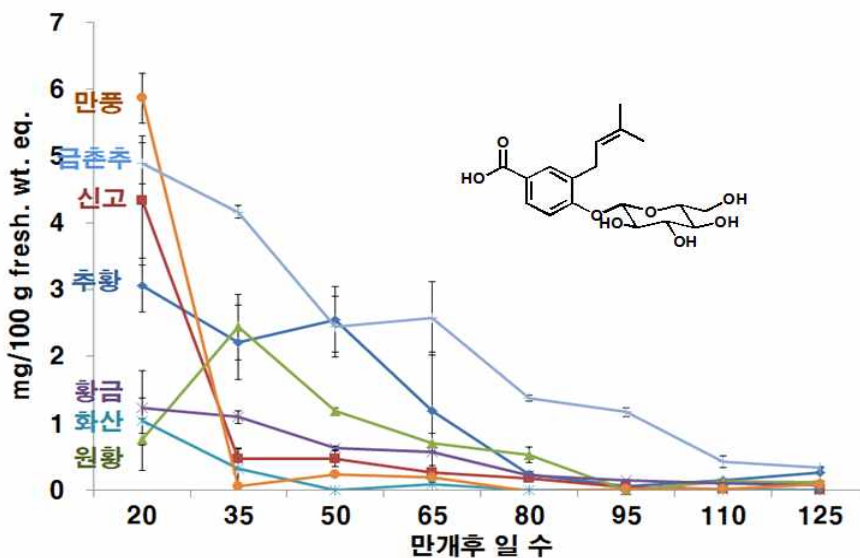


그림 IV-14. 성장시기· 품종에 따른 Malaxinic acid 함량 변화.<sup>(29)</sup>

※자료: JY Cho 등. 2015. *Biosci Biotechnol Biochem.* 79(2):260-270

#### 4) 카테킨류

카테킨류는 플라보노이드의 일종으로 녹차에 다량 함유되어 있으며, 작두콩, 포도, 홍차, 배에 함유되어 있다고 알려져 있다. 카테킨류는 catechin, epicatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin, epigallocatechin gallate, galocatechin gallate 그리고 프로시안니딘 등이 알려져 있다. 배에 함유된 카테킨류는 (+)-catechin, (-)-epicatechin, (+)-gallocatechin, (-)-epigallocatechin 그리고 procyanidin B3 3-O-gallate로 밝혀졌으며(그림 IV-15)<sup>(19),(20),(31)</sup>, 비타민C와 비타민E에 비해 강력한 활성산소 제거효과를 가지고 있는 화합물들이므로 알려졌다.

배의 catechin과 epicatechin 함량은 과육보다 과피에 다량 함유되어있으며, catechin은 미성숙과(만개 후 134일, 추황) 과피 신성중량 100 g 당 6.44 mg/100 g, epicatechin은 미성숙과(만개 후 119일, 신고) 과피 산성중량 100 g 당 68.02 mg/100 g이 함유됨이 보고되었다.<sup>(54)</sup>

카테킨류의 생리활성 연구는 광범위하게 연구되어 왔으며, 항산화효과, 항암효과 등이 있는 것으로 밝혀졌다. 경구투여된 (+)-catechin은 주로 소장에서 흡수되며 유리형과 glucuronic acid가 결합된 포합체 형태로 흡수됨이 확인되었다.<sup>(55)~(57)</sup> 또한 그들 중 일부는 간장에서 methylation 되어 혈액 내에 도달됨이 보고된바 있다. 소장에서 흡수되지 못한 화합물들은 장내의 미생물이 분비하는 효소에 의해 valerolactone류 2차 대사체로 분해되어 일부 흡수되는 것으로 밝혀졌다.<sup>(55)~(57)</sup> Catechin 대사체의 생리활성에 관한 연구는 다양하게 행해지지 않았으나, 유리형의 catechin과 다른 기전으로 생리활성을 발휘한다고 보고되었다. Koga T등<sup>(58)</sup>은 catechin 대사체의 항동맥경화 효과를 평가한 결과, Cytokine interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )로 유도된 혈관 내피 세포(human aortic endothelial cell)에서 비정상적인 단핵구(monocyte)의 부착을 억제하여 동맥경화를 예방한다고 보고하였다. 또한 유도된 혈관 내피 세포에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 발생된 활성산소종과 IL-1 $\beta$ 로 발생된 활성산소종을 모두 제거하는 것으로 밝혀졌다. 이와는 반대로 유리형의 catechin은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 발생된 활성산소는 제거할 수 있으나 IL-1 $\beta$ 로 발생된 활성산소는 유의적으로 억제하지 못하는 것으로 밝혀졌다.<sup>(58)</sup>

Epicatechin은 catechin의 거울상이성질체로 강한 항산화제이며, 항암, 항당뇨, 신경보호효과 등이 있는 것으로 보고되었다. *In vitro* 실험을 통해 저밀도지단백콜레스테롤 유래의 산화적 스트레스로부터 신경세포의 사멸을 억제하는 것이 밝혀졌으며, 이는 MAPK(mitogen-activated protein kinase) cascade를 조절함으로써 억제함이 보고되었다.<sup>(59)</sup> 또한 *in vivo* 실험을 통해 경구 투여된 epicatechin이 혈액뇌장벽을 통과하기 때문에 산화적 스트레스를 경감시켜 뇌세포 및 신경을 보호할 수 있는 것으로 시사되었다.<sup>(60),(61)</sup> 혈액뇌장벽은 혈액에서 뇌조직으로 물질의 이행을 제한하는 두꺼운 막이다. 항산화제가 뇌의 산화적 스트레스를 감소시켜 신경세포의 사멸을 막기 위해서는 혈액뇌장벽을 통과하여야만 생리활성을 발휘할 수 있다. MANAL M. ABD EL MOHSEN (2002)등은 Rat에게 epicatechin 100 mg/kg body weight를 경구투여한 후 rat의 뇌 추출물을 대상으로 HPLC-PDA 및 LC-MS/MS 분석을 시행하였다. 그 결과 epicatechin glucuronide와 3'-O-methyl epicatechin glucuronide가 rat의 뇌추출물로부터 검출되었다.<sup>(62)</sup> 이는 epicatechin은 혈액뇌장벽을 통과할 수 있으며, 뇌 세포에서 항산화 활성을

발휘할 것으로 사료되는 결과이다.

(+)-Gallocatechin은 구아바(*Psidium guajava* L.)의 잎, bananas (*Musa Cavendish*)의 껍질, 캐슈넛 껍질, 배 등에 함유되어 있다. 항돌연변이효과, 항산화효과 등이 있는 것으로 보고되었다.<sup>(63)~(65)</sup> (-)-Epigallocatechin은 (+)-gallocatechin의 거울상이성질체이며, 파골세포형성 저해효과, 항산화 효과 등이 보고되었다.<sup>(66),(67)</sup> Procyanidin B3 3-O-gallate은 catechin과 catechin gallate의 이량체로 포도씨와 배 등에 함유된 화합물이다.<sup>(68)</sup>

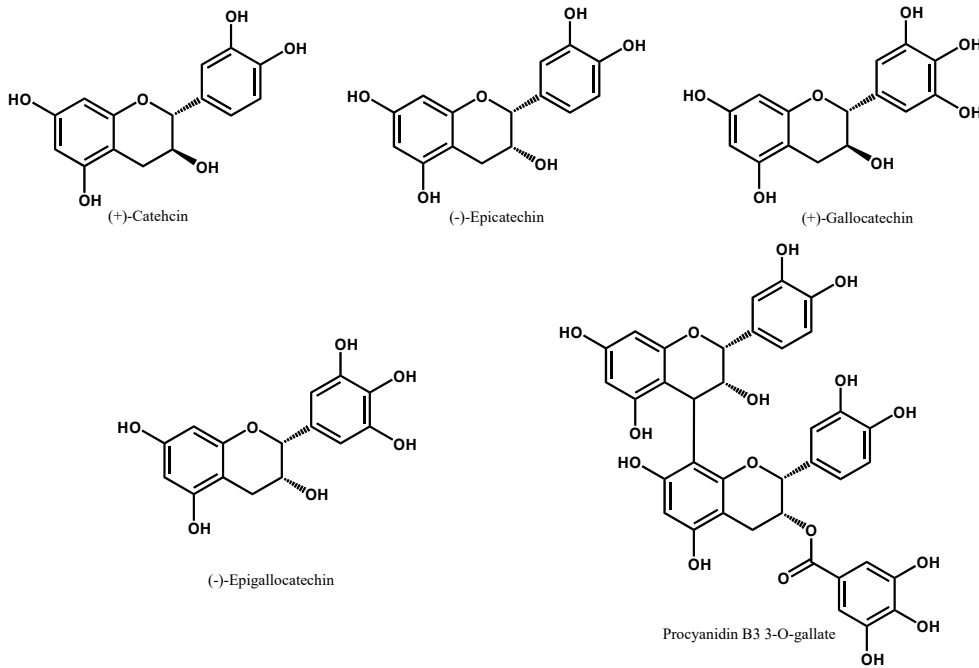


그림 IV-15. 배에 함유된 catechin 류.

### 5) 퀘르세틴(querctetin) 배당체 및 아이소람네티(Isorhamnetin) 배당체

Quercetin은 C6-C3-C6 골격을 가진 flavonoid 화합물로 *in vitro* 및 *in vivo*상에서 항산화, 항염증, 항암, 항동맥경화 등을 발현함이 보고되었다.<sup>(69)~(71)</sup> 추황배 과피로부터 단리된 quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside는 quercetin의 3번 탄소 수산기에 glucose가 에스테르 결합된 화합물로 양파에 다량 함유되어있음이 확인되었다.<sup>(25)</sup>

Quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside를 포함한 quercetin의 단당 배당체들은 섭취 후 대부분이 소장에서 흡수된다. 또한 배당체 형태로 흡수되지 않고 aglycone으로 가수분해된 후, 소장상 피세포에서 흡수되어 glucuronic acid 또는 sulfuric acid로 포합체화되고, 그들 중 일부는 간장에서 methylation되어 혈액 내에 도달됨이 보고된바 있다.<sup>(72),(73)</sup> 또한 혈액 내에 존재하는 quercetin 대사체들은 유리형으로 존재하지 않지만 혈액 내에서 항산화능을 발현함이 보고되었다.<sup>(72),(73)</sup>

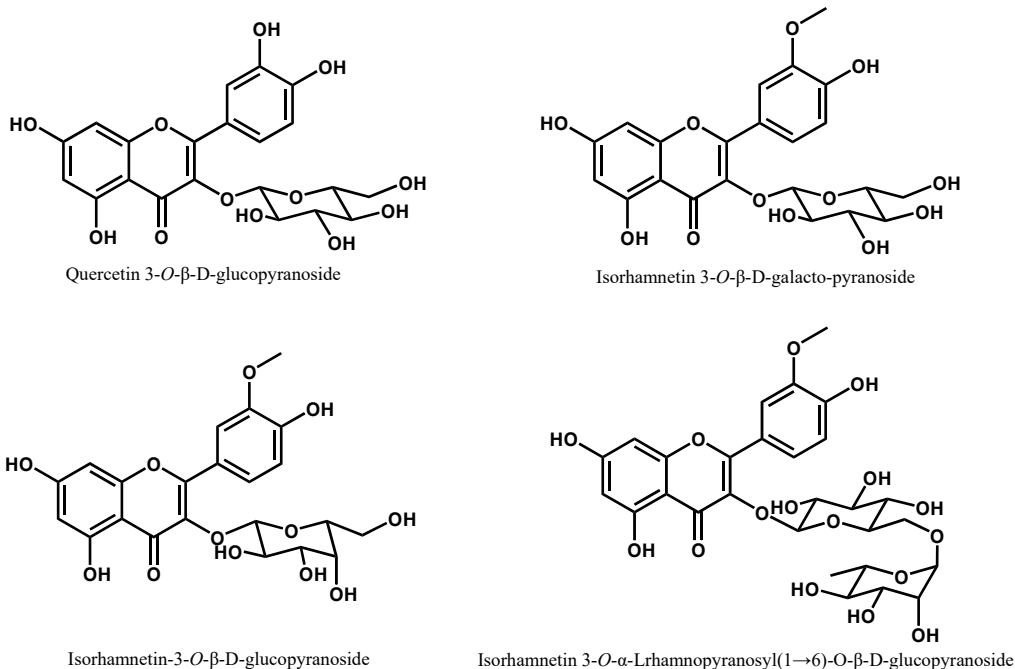


그림 IV-16. 배에 함유된 quercetin 배당체 및 아이소람네틴 Isorhamnetin 배당체.

Isorhamnetin은 quercetin의 B ring 수산기에 methyl기가 에스테르 결합된 화합물이며, 결합된 당의 종류에 따라 다양한 배당체 화합물이 존재한다. 배로부터 단리된 Isorhamnetin 배당체는 isorhamnetin 3-*O*-β-D-galacto-pyranoside, isorhamnetin-3-*O*-β-D-glucopyranoside 및 isorhamnetin 3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl(1→6)-*O*-β-D-glucopyranoside로 보고되었다.<sup>(19),(20),(25)</sup>

Isorhamnetin 3-*O*-β-D-galacto-pyranoside(IMG)는 미나리(*Oenanthe javanica*)로부터 단리·동정된바 있는 화합물이다. IMG는 염증반응이 유도된 인형 제대정맥 내피세포(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)에서 혈액응고에 관여하는 트롬빈과 factor X의 활성을 억제함으로써 항응고활성을 발휘하는 것으로 밝혀졌다.<sup>(74)</sup> 또한 IMG의 메톡실(methoxyl)기는 항응고활성의 양성조절(positive regulation)작용을 하는 것으로 보고된 바 있다. 함초(*Salicornia herbacea*)로부터 단리된 isorhamnetin-3-*O*-β-D-glucopyranoside는 지방생성(adipogenesis)과 관련된 단백질의 하향조절(downregulation)을 통하여 지방세포(3T3-L1)의 분화와 지방 축적을 억제함이 보고된 바 있다.<sup>(75)</sup> Isorhamnetin 3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl(1→6)-*O*-β-D-glucopyranoside (narcissin)은 수선화 등에 함유됨이 보고되었고 몇몇의 연구로부터 생리활성의 연구가 수행되었다. 보도된 연구 결과에 따르면 Narcissin은 이질아메바(*Entamoeba histolytica*) 성장 저해효과와 에프스타인-바바이러스(Epstein-Barr virus)의 초기 항원 활성 저해효과가 있는 것으로 밝혀졌으며<sup>(76),(77)</sup> 생물학적 효과 및 약물동태학에 대한 연구는 향후 밝혀져야 할 분야로 판단된다.



## 6) 그 외 Phenylpropanoid계 화합물

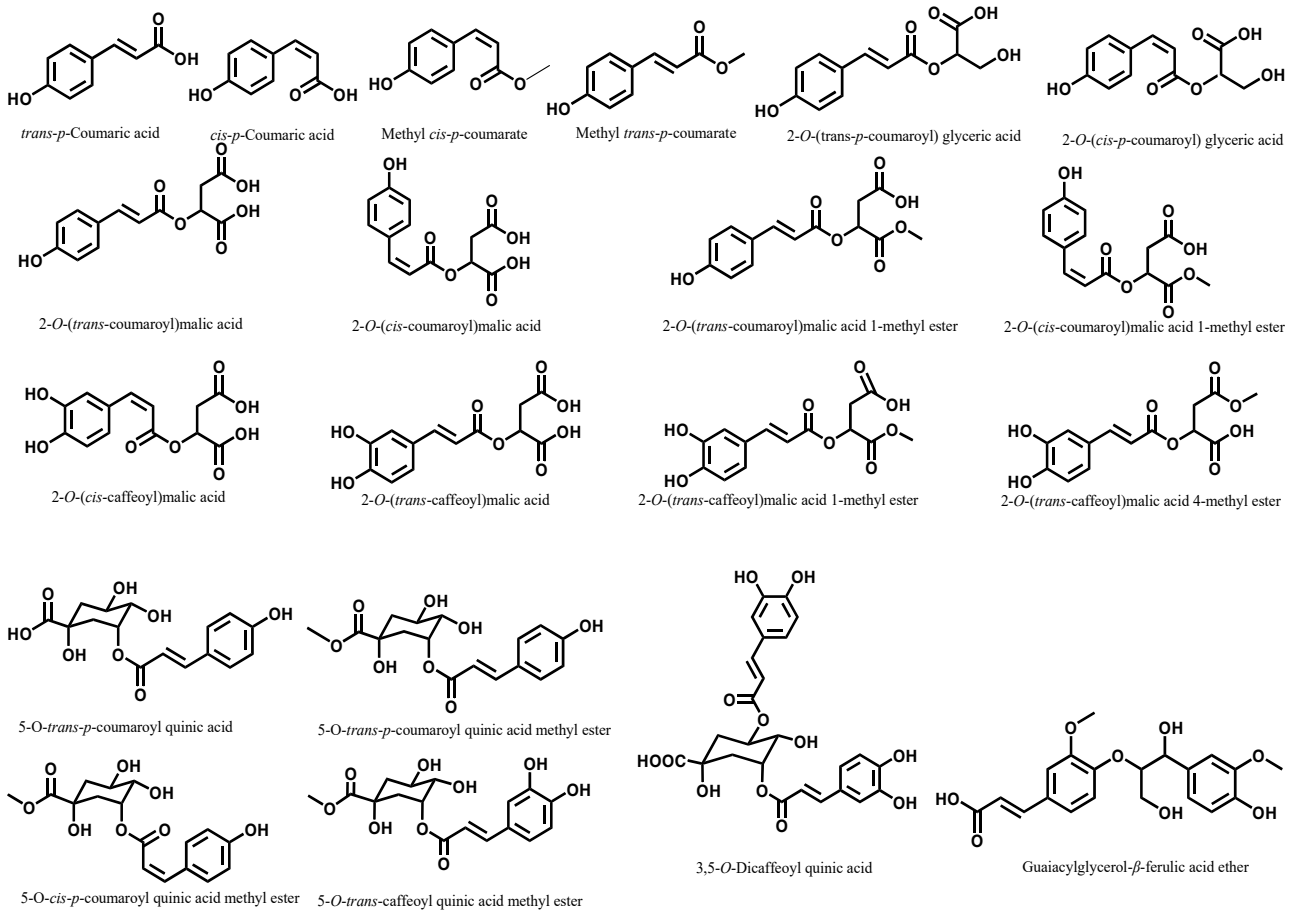


그림 IV-17. 배에 함유된 Phenylpropanoid계 화합물.

배로부터 단리된 phenylpropanoid계 화합물들의 구조는 그림 IV-17에 제시되었다. 이 화합물들은 배 및 미성숙과로부터 단리·동정되었다.<sup>(18),(19),(20),(22),(24)</sup>

*cis-p*-Coumaric acid는 일반적으로 자연계에 널리 분포되어있는 phenylpropanoid계 화합물로 올리브오일, *Cinnamomum subavenium*, 류캐나(*Leucaena leucocephala*), 구아바(*Psidium guajava*)으로부터 동정된 바 있다.<sup>(78)~(86)</sup> 특히 한국의 오죽(*Phyllostachys nigra*)으로부터 단리된 *cis-p*-coumaric acid는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 유도산화에 의한 신경세포(RGC-5 cell) 사멸 억제효과를 갖는다고 보고된 바 있다.<sup>(87)</sup> 그리고 이 외에도 항산화 효과, tyrosinase 저해효과, 심근독성 저해효과, 항균효과 등이 있는 것으로 밝혀졌다.<sup>(78)~(86)</sup>

*E. japonica*에서 단리된 2-*O*-(*trans*-coumaroyl)malic acid 1-methyl ester는 marine BV2 cell에서 lipopolysaccharide로 유도된 nitric oxide 생성을 억제한다고 보고되었다.<sup>(88)</sup> 2-*O*-(*trans*-coumaroyl)malic acid 및 2-*O*-(*trans*-caffeoyl)malic acid는 서양배 품종인 *Pyrus communis* L.와 *Pyrus bretschneideri* Reld.에서 보고된 적이 있으며, 그 외의 화합물은 배에서는 처음으로 동정된 화합물이었다. 2-(*trans*-caffeoyl)malic acid 4-methyl ester는 개소시랑개

비(*Potentilla supina* L.)에서 2-O-(*trans*-coumaroyl)malic acid는 *Cymbidium Great Flower 'Marylaurencin'*에서 분리된 화합물이다.<sup>(18)</sup>

이들의 생리활성은 정확히 보고되지 않았다. 하지만 분리된 화합물은 항산화, 항염증, 항종양 활성이 보고된 coumaric acid 또는 caffeic acid를 부분구조로 취하고 있기 때문에 배의 과피로부터 분리된 화합물 역시 항산화 활성을 발휘할 것으로 예상된다.

## 7) Triterpene계 화합물

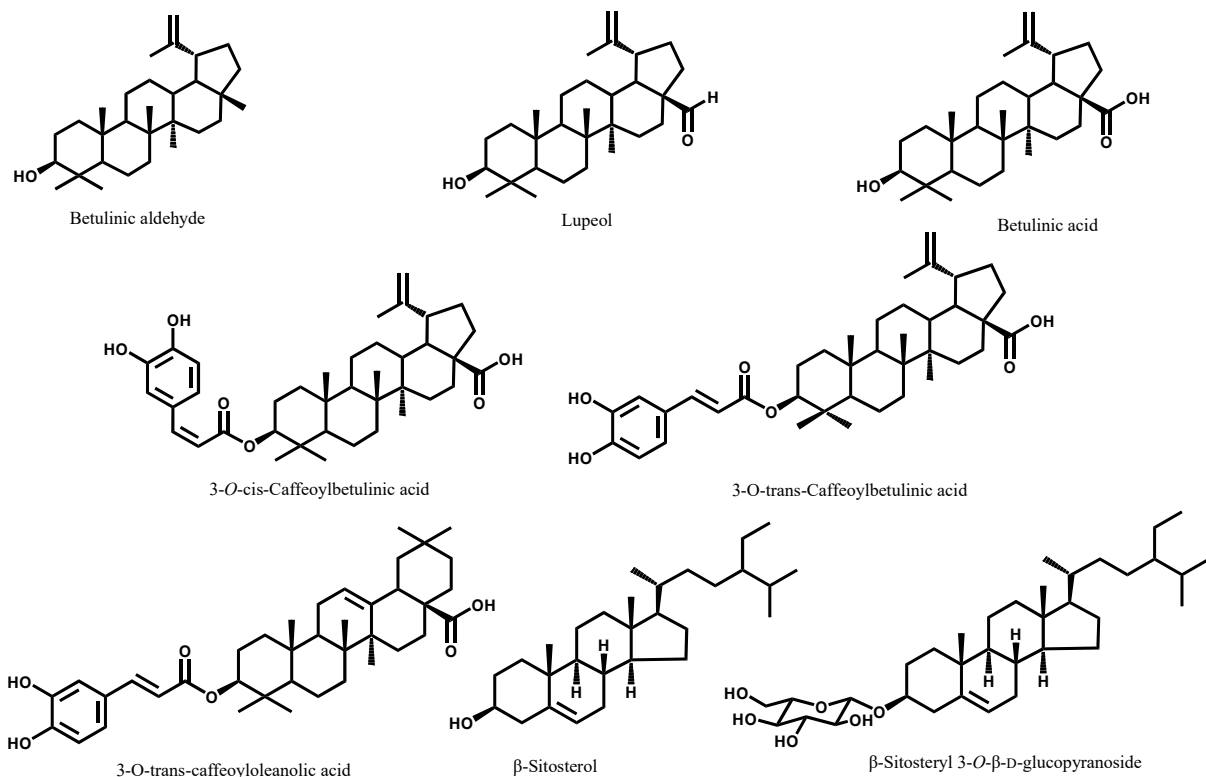


그림 IV-18. 배에 함유된 triterpene계 화합물.

추황배(*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae) 과피 MeOH 추출물의 EtOAc 페놀성획분으로부터 8종의 triterpene계 화합물들과 배당체 화합물이 분리되었고 구조식은 그림 IV-18에 제시되었다.<sup>(21),(23)</sup>

Cho(2013)등 분리된 6종의 triterpene계 화합물들을 대상으로한 *in vitro* 실험에서 DPPH radical-scavenging 및 혈장의 과산화물 생성억제효과를 평가하였다. Caffeoyl triterpene계 화합물인 3-O-*cis*-caffeoylbetulinic acid, 3-O-*trans*-caffeoylbetulinic acid 그리고 3-O-*trans*-caffeoyloleanolic acid의 항산화활성과 혈장 과산화물 생성억제효과는 다른 3종의 triterpene계 화합물보다 높은 활성을 나타냈고 caffeic acid와는 유사한 활성을 나타내었다.<sup>(21)</sup>

다른 triterpene계 화합물보다 이들 3종의 화합물이 높은 생리활성이 발현되는 이유는 caffeic acid가 벤젠환의 인접 탄소에 2개의 수산기가 연속되어 결합된 catechol 구조를 가지기 있기 때문이다.

Betulinic aldehyde, lupeol, betulinic acid는 비록 항산화 활성은 낮지만 말라리아원충의 성장 저해효과가 있는 것으로 보고되었다. Hanne L. Ziegler(2004)<sup>(89)</sup> 등은 말라리아에 감염된 적혈구와 betulinic aldehyde, lupeol, betulinic acid을 2, 4, 6, 8일간 함께 배양 후 말라리아의 성장 저해효과를 측정하였다. 이 3종의 화합물들 모두 말라리아의 성장 저해효과를 발휘했으며 배양 후 8일째에는 말라리아가 완전히 사멸된 것을 관찰할 수 있었다. 말라리아 저해효과는 betulinic acid(IC<sub>50</sub>= 13.9 ± 2.9 μM), Betulinic aldehyde(IC<sub>50</sub>= 14.0 ± 3.5 μM), lupeol(IC<sub>50</sub>= 27.7 ± 0.5 μM)의 순으로 관찰되었다. 말라리아 성장 저해효과 외에도 Betulinic acid와 유사한 구조를 가지는 화합물들은 항암효과, 항균활성, 항염증 활성, 항당뇨, 간독성 보호 활성 등을 발휘한다고 보고되었다.<sup>(90)</sup>

β-Sitosterol은 비타민나무(*Hippophae rhamnoides* L.), Cruciferae plant, *Viburnum lancifolium*, 쌀 및 중국배(*P. bretschneideri* Rehd.)로부터 단리·동정되었고, 항균 및 항염증 활성이 있음이 보고된 바 있다.<sup>(23),(91)~(95)</sup> 또한 뽕나무(*Morus alba* var. *multicaulis*)로부터 단리된 β-sitosterol은 glycerol-3-phosphate dehydrogenase의 활성을 억제하여 지방세포(3T3-L1)의 분화를 억제하는 것으로 확인되었다.<sup>(96)</sup> β-Sitosterol의 배당체인 β-Sitosteryl 3-O-β-D-glucopyranoside는 애기팽이눈(*Chrysosplenium flagelliferum*), *Brillantaisia lamium*로부터 단리·동정된바 있으며, 항균활성을 나타내는 것으로도 보고되었다.<sup>(97),(98)</sup>

## 8) 그 외의 배로부터 단리·동정된 화합물

(-)-Dulcisflavan은 추황배 과피와 등나무열매 껍질에 함유되어 있음이 보고된 바 있으며, *in vitro* 상에서 항산화 활성을 발현함이 보고된 바 있다.<sup>(25),(99),(100)</sup> Deachathai S등(2005)<sup>(100)</sup>은 (-)-dulcisflavan을 대상으로 DPPH radical-scavenging 활성을 평가한 결과, (-)-dulcisflavan의 항산화활성(scavenging activity: 87%)은 대조구인 동일 농도(10 μM)의 (-)-epicatechin(scavenging activity: 82%), scorbic acid (scavenging activity: 77%) 및 BHT (scavenging activity: 43%)보다 더 높은 항산화 활성을 타냄이 보고된 바 있다. 이와 같이 높은 항산화 활성이 발현되는 이유는 (-)-dulcisflavan이 A-ring의 인접 탄소에 4개의 수산기가 연속되어 결합된 구조를 가지기 있으며, A-ring에 존재하는 tetra-hydroxyl group이 일정 부분 free radical scavenging에 유용하게 관여하기 때문이라고 보고되었다.<sup>(100)</sup>

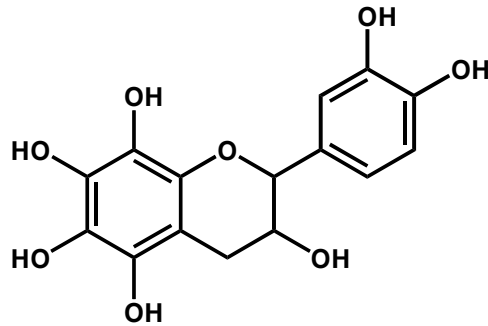


그림 IV-19. Dulcisflavan의 구조.

앞서 언급한 화합물외에 (S)-(+)-2-cis-abscisic acid와 그 배당체 화합물 및 picroside, 3,4-Dihydroxybenzoic acid, 2-Carboxyl 4(1H)-quinolinone, Vanillin이 배로부터 단리·동정되었으며 구조식은 그림 IV-20에 제시하였다.<sup>(19),(20),(23),(24)</sup>

(S)-(+)-2-cis-abscisic acid는 식물가뭄에 대한 저항성을 높이고 기공, 탈엽, 씨앗, 휴면 등을 조절하는 식물호르몬으로 알려져 있다.<sup>(101)</sup> (S)-(+)-2-cis-abscisic acid O-β-D-glucopyranosyl ester는 유자(*Citrus junos*)와 수박(*Citrullus lanatus*)에 함유되어있음이 보고되었다.<sup>(102),(103)</sup>

Picroside는 *Picroriza scrophulariiflora*와 *Salix matxudana*로부터 단리·동정된바 있는 화합물로 *Picroriza scrophulariiflora*로부터 단리된 Picroside는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>에 의한 hydroxyl radical scavenging 효과와 Xanthine/Xanthine oxidase system에서의 superoxide anion scavenging 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다.<sup>(104),(105)</sup>

2-carboxyl 4(1H)-quinolinone은 chest honey에서 동정된 바있으며, tryptophan의 대사물로 알려져 있다.<sup>(106)</sup> 특히 excitoxin 아미노산에 의한 뇌손상 저해 효과가 보고된 바 있으며, E. coli의 생육억제효과, 항산화 효과도 있음이 보고된 바 있다.<sup>(107)~(109)</sup>

Vanillin은 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*), *Annona squamosa* L., 조릿대(*Sasa borealis*)로부터 단리된 바 있으며, 바닐라의 주요 향기성분 중의 하나로 식품 향료로도 널리 이용되고 있다.<sup>(110)~(113)</sup>

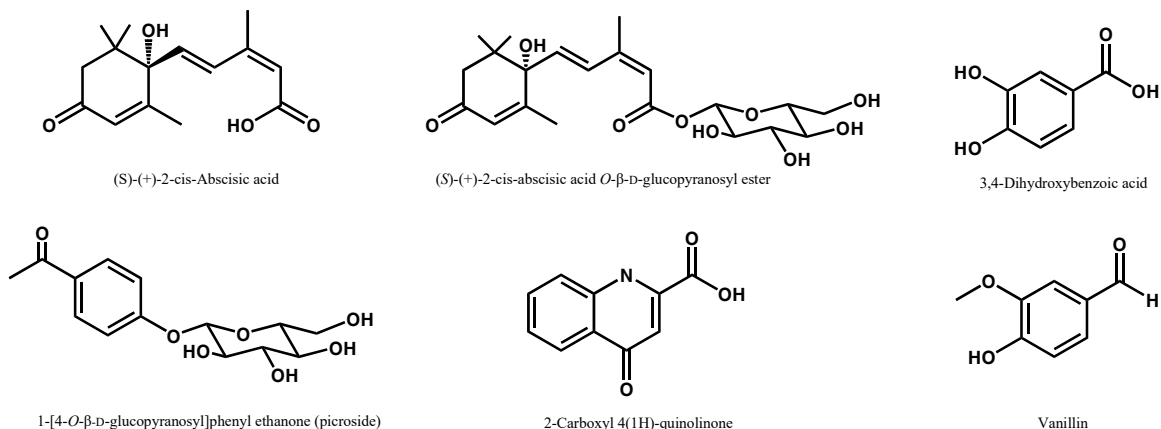


그림 IV-20. 그 외의 배로부터 단리·동정된 화합물.

## 2. 나주배를 이용한 전통식품 레시피 종합연구 정리

배는 대부분 생과의 형태로 섭취하고 있으며 다른 과실보다 향이 강하지 않고 물이 많기 때문에 배를 이용한 식품의 종류나 양이 매우 적다. 2013년 과실류의 가공현황을 살펴보면 배의 가공률은 2.7%로 미비한 수준이었으며 대부분 주스와 음료 및 기타가 주를 이루고 있다.

배의 생산량 증가와 소비부진으로 인해 배의 활용도를 높이기 위한 해결책으로 레시피 및 가공식품 개발의 중요성이 대두되고 있는 실정이다. 실제 다수의 기관에서 배의 소비를 높이기 위해 레시피 및 가공식품의 개발이 행해지고 있지만 배의 사용량과 다양성에서 다소 부족한 실정이었다.

이에 본 연구는 나주배의 부가가치 창출 및 활용방안을 제시하기 위해 생과뿐만 아니라 즙, 건과 등의 형태로 가공한 식품 소재를 이용하여 약 60여 가지의 레시피를 도출하였으며 표 IV-22에 제시되었다. 레시피는 전라남도 음식명인(천수봉 명인) 및 배식문화연구회(박연옥, 정귀덕, 김보애, 정금례, 정선화, 노진양, 박혜란, 김은정 등)의 연계를 통해 확립하였으며, 대중적으로 잘 알려진 나주배 전통음식에서부터 기능성을 향상 시킨 다양한 레시피를 정리 및 도출하고자 하였다.(표 IV-22)

### 가. 나주배 이용한 가공식품 생산업체

#### 1) 조사 개요

- 대상: 2014년 나주시 식품가공업체로 등록된 132개 업체 중 나주배를 이용한 가공식품 생산업체(단, 휴업, 부재, 조사거부 업체는 제외)
- 방법: 식품가공업체 현황조사표에 따라 현장조사, 전화조사
- 내용: 업체 기본정보와 품목조사를 기본으로 함

#### 2) 조사 결과

- 나주배를 이용한 가공 식품 생산업체는 총 18곳으로 조사됨
- 대부분 배즙의 형태로 가공되어짐  
(배즙: 14개 업체, 한과: 2개 업체, 배고추장: 1개 업체, 과일칩배: 1개 업체)

표 IV-17. 나주배 이용한 가공식품 생산업체 조사(나주지역)

번호	업체명	소재지	생산품목	연간 매출 (백만)	판매처	전화번호	기타
1	해솔식품	남평읍	배즙	700	전자상거래	333 -5120	
2	농업회사법인대양 건강식품(주)	세지면	배즙	-	전자상거래위탁	331 -5520	
3	나주선경식품	왕곡면	한과 (배즙사용)	120	나주관내마트, 직거래	335 -7606	
4	(농)선한세상	반남면	배고추장	280		336 -0388	
5	(주)웹시바 F&B	노안면	과일칩배	400	홈쇼핑, 전자상거래, 백화점, 수출	332 -2827	HACCP
6	나주배들이영농조합 법인	금천면	배즙	400	전자상거래, 거래처, 직거래	334 -2706	특허
7	매향전통식품	금천면	배유과	200	마트, 백화점, 우체국쇼핑, 전자상거래	332 -1100	전통식품 품질인증
8	장수식품	봉황면	배즙	260	전자상거래	332- 9616	
9	우리동산과일촌	봉황면	배즙	300	전자상거래	332 -3363	
10	햇살가득	송월동	배즙	50	전자상거래	337 -6161	
11	자연나라생생배즙	금천면	배즙	-	-	333 -5585	
12	우영시인과배즙	금천면	배즙	-	-	331 -3399	
13	나주배가족농장	금천면	배즙	-	-	-	
14	한국나주배	동강면	배즙	-	-	337 -2196	
15	가보팜스	운곡동	배즙	-	전자상거래	334 -1160	
16	맑은세상영농조합	이창동	배즙	-	-	335 -0009	
17	좋은영농조합법인	노안면	배즙	-	전자상거래	355 -9630	HACCP
18	옛스런식품	봉황면	배즙	-	전자상거래	331 -8606	

나. 나주배 이용한 가공식품 특허 등록 현황

1) 특허분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽, 중국)
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr)
키 워 드	배
검색범위	제목 및 초록

2) 주요 특허 및 요지

발명의 명칭	배 식이섬유를 포함하는 변비 또는 비만의 예방 또는 개선용 조성물		
출원번호	1020130070920	출원일	2013.06.20
발명요지	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 배 식이섬유를 포함하는 변비 또는 비만의 예방 또는 개선용 조성물</li> <li>- 배 식이섬유에 차전차피를 함께 혼합하여 수분 흡수력을 높인 후 배 울리고당을 첨가함으로써, 장 건강증진에 효과가 있는 조성물을 개발</li> </ul>		

발명의 명칭	배를 이용한 기능성 올리고당의 제조방법		
출원번호	1020130070919	출원일	2013.06.20
발명요지	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 배를 이용한 기능성 올리고당의 제조방법</li> <li>- 배 식이섬유를 이용하며 항노화 및 항당뇨 효능이 가미된 글루코올리고당을 제조</li> </ul>		

발명의 명칭	배를 활용한 한약재 배합 숙취 해소 음료 및 이의 제조방법		
출원번호	1020120069828	출원일	2012.06.28
발명요지	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 배를 활용한 한약재 배합 숙취 해소 음료의 제조방법</li> <li>- 배 추출물과 대금음자 및 비타민 C를 배합하여 숙취해소 및 간기능 개선에 효과가 있는 기능성 음료를 개발</li> </ul>		

발명의 명칭	배 양갱 및 그 제조방법		
출원번호	1020110143608	출원일	2011.12.27
발명요지	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 물 대신 배즙을 포함하는 것을 특징으로 하는 배 양갱 제조 방법</li> <li>- 배 양갱은 배즙, 배 분말, 양금, 한천, 젤라틴, 소금을 포함하는 것이 특징</li> <li>- 배즙과 배 분말을 포함하게 되면 배에 포함된 당 성분으로 인해 양갱의 당분, 탄력성, 씹힘성, 경도 등을 높이고 부착성을 감소시켜 전반적인 양갱의 품질이 향상</li> </ul>		

발명의 명칭	배를 이용한 조청의 제조방법		
출원번호	1020110059777	출원일	2011.06.20
발명요지	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 배를 가미하여 맛이 부드럽고 기호도를 증진시킨 조청의 제조방법</li> <li>- 배를 이용한 조청의 제조방법은 쌀을 물과 혼합한 후 가열하여 상기 쌀을 익히는 호화단계와, 호화된 쌀에 엿기름액을 혼합하여 당화시키는 당화단계와, 당화단계에서 당화된 쌀과 엿기름액을 여과하여 당화액을 획득하는 여과단계와, 당화액에 배로부터 추출한 배추출액을 혼합한 후 가열하여 농축시키는 농축단계로 구성</li> </ul>		

발명의 명칭	맑은 배즙 제조장치 및 그 제조방법		
출원번호	1020110059777	출원일	2011.06.20
발명요지	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 불용성 침전 고형물을 제거하여 색상이 맑고 식감이 깔끔한 맑은 배즙 제조장치 및 그 제조방법</li> <li>- 세척기, 파쇄기, 착즙기, 진동분리기, 청징용기, 균질기, 저장탱크, 여과기, 살균기, 포장기로 제조 장치를 이용하여 배즙을 제조</li> </ul>		

발명의 명칭	배 과육잔여물 입자를 함유한 초콜릿 및 이의 제조방법		
출원번호	1020100010953	출원일	2010.02.05
발명요지	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 배 과육잔여물 입자를 함유한 초콜릿 및 이의 제조방법</li> <li>- 배 과육 100 g 당 배즙을 80 ~ 90 g 착즙하고 남은 과육잔여물을 동결 건조 후 분쇄하여 초콜릿에 첨가</li> </ul>		

발명의 명칭	배를 이용한 발효음료 제조방법		
출원번호	1020080105514	출원일	2008.10.27
발명요지	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 배를 이용한 발효음료 제조방법</li> <li>- 배즙 착즙 -&gt; 25 brix로 당도 조절 -&gt; 아황산염(potassium metabisulfite) 첨가 -&gt; 배즙에 효모 첨가 후 알코올발효 -&gt; 여과 -&gt; 알콜제거 -&gt; 저온 살균의 단계를 걸쳐 제조</li> </ul>		

발명의 명칭	배를 활용한 기능성 주류의 제조 방법		
출원번호	1020070029520	출원일	2007.03.27
발명요지	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 배를 활용한 기능성 주류의 제조 방법</li> <li>- 배즙 착즙 -&gt; 종균 배양 -&gt; 한약재 추출물 제조 -&gt; 배즙에 주모 및 한약제 첨가 -&gt; 알콜발효 -&gt; 술덧 압착 및 여과 -&gt; 저장 및 조미 -&gt; 살균 포장의 단계를 걸쳐 제조</li> </ul>		



다. 나주배 이용한 음식 전시 및 요리 교육

1) 나주배를 이용한 음식 전시

- 기간: 2016. 5. 5. ~ 2016. 5. 29. / 25일간
- 장소: 2016년 세계친환경디자인박람회장 일원(전남농업기술원)
- 규모: 25 m<sup>2</sup>(≒몽골텐트 1동)
- 전시주제 : 5개 분야 약 61종의 나주배를 활용한 음식 전시
  - 생과 이용 전통음식, 조청 이용 전통한과, 건과 이용 떡요리, 제과·제빵, 음료·주류
- 판넬전시: 4점
  - 음식 설명 2점, 나주배 우수성 설명 1점, 요리교실 안내 1점
- 방문객수: 약 6,000명(요리법 12,000매 배부)
- 전시성과: 배를 이용한 다양한 요리법 소개, 방문객의 요리법과 전시에 대한 높은 평가와 상품화 가능성 타진

표 IV-18. 나주배 음식 전시관 전시 품목

1	배오색말이떡	21	배튀김	41	배삼색매작과
2	파리고추배말이	22	배강정	42	뿌리채소진정과모듬
3	배쌈떡	23	배아롱사태	43	배산자
4	배고추장장아찌	24	배모닝빵	44	방울강정
5	배통김치	25	배초밥	45	호두강정
6	배김칫국	26	배잼	46	배막걸리
7	배각두기	27	이화빵	47	배모주
8	배푸딩	28	배잼까나페	48	배식초
9	배삼겹살구이	29	배와인조림	49	배흑미초
10	배도그	30	배찰말이떡	50	배민트초
11	배갈비	31	배쭈굴래떡	51	백김치
12	배유자화채	32	배영양떡	52	과일물김치
13	배와인생선조림	33	배꽃송편	53	배육회
14	배정과	34	배건과 꽃떡	54	배마드레느
15	배숙	35	오색찰쌀피자병	55	배파운드케이크
16	배약과	36	배떡케이크	56	배머핀
17	배식혜	37	배삼색설기	57	배타르트
18	배찜	38	배양갱	58	배 절임 냉동 쿠키
19	배술(청주)	39	배조청	59	배를 품은 배빵
20	배고추장	40	깨엿강정	60	배 블루베리 스콘

표 IV-19. 나주배를 이용한 음식전시



전시장 전체 모습

전시장 관람



전시장 관람



전시관 설명



나주배 음식 레시피 배포



나주배 음식 레시피 설명



전시음식(배짬) 시식



전시관 및 요리교실 안내 판넬

# 음식 속의 “나주배”

### 생과를 이용한 음식

배는 음식에 시원한 맛과 단맛을 더해줌  
 → 설탕 등 화학 감미료 대신에 사용되어 칼로리 부담을 줄여줌  
 단백질의 연육을 도와 육류를 부드럽게 먹을 수 있도록 함  
 생과는 생강, 무, 꿀, 도라지 등과 함께 요리하여 감기, 천식 등 기관지 질환을 다스리는데 사용될 수 있음  
 음식의 재료에 사용된 생과는 수분과 식이섬유가 풍부하기 때문에 변비 예방 효과가 있음




### 건과를 이용한 떡요리

배건과는 껍질과 씨방을 제거하고 0.5cm 두께로 썰어 60℃의 건조기에서 약 18시간 건조  
 배의 당은 과육의 13% 내외로 들어있으며, 수분이 제거된 건과는 상대적으로 단맛이 더욱 증가됨  
 배 건과를 잘게 썰거나 가루로 내어 떡에 사용하면 설탕의 양을 줄이고 시원한 향미와 맛을 부여함








그림 IV-21. 나주배를 이용한 음식 레시피 판넬

# 음식 속의 “나주배”

### 조청을 이용한 전통한라

배조청은 엷기름을 당화시킨 후 배즙을 넣고 8시간이상 끓인 천연 감미료  
 → 배즙이 첨가되어 기존의 조청보다 영양 및 기능성이 강화됨  
 → 전통한라 조리 및 떡을 찍어먹는 용도로 사용하며, 은은한 단맛을 내고 식거나 색이 진한 요리를 만들 때 사용 가능




### 배를 이용한 제과·제빵

·와인에 절인 배, 배즙 또는 배건과를 첨가하여 제과 제빵의 재료로 사용  
 → 촉촉하고 부드러운 식감과 자연적인 감미효과를 내며, 배의 유효성분을 그대로 섭취할 수 있게 됨




### 배를 이용한 전통 음료·주류·식초

·전통 음료·주류에 배를 첨가하면 건강에 좋고 풍미와 향량감을 상승시켜주며, 배시초는 배즙을 발효시켜 만들어 배의 시원하고 달콤한 맛이 살아 있음  
 → 희석하여 음용하거나 시원한 냉면, 냉국, 생채무침에 사용 가능








그림 IV-22. 나주배를 이용한 음식 레시피 판넬-2

# 나주배 이야기


### 지리적표시제 농산물 “나주배”

·나주 배의 평균 당도는 12.2 brix  
 → 10년간 4 brix 정도 증가하는 경향  
 나주 배의 평균 과육은 50.1 g  
 → 10년간 9.6% 정도 증가하는 경향  
 ·연평균 기온이 14.1℃이며, 성숙기에는 일조량이 많아 당도가 높음  
 ·영산강 유역의 양질의 토양에서 재배되어 품질이 우수함  
 ·석세포가 적어 육질이 연하고 부드러운 과즙이 많음

농림부, 농촌진흥청(농진청) 2014. 20. 24.

**달분 및 식이섬유**

- 달분 함량 10 ~ 13%
- 지당>과당>술비톨>포도당
- 식이섬유 풍부



**51kcal**

**수분함량 85 ~ 88%**

**강한 알칼리성 식품**

- 혈액이 중성으로 되어 건강을 유지에 도움

**단백질함량 0.3%**

- 주요 아미노산 : 아스파라긴산

**비타민**

- 비타민 B1, B2, C 함유

### 주요 기능성 성분

<b>클로로겐산</b> ↓ 항산화효과	<b>알부틴</b> ↓ 피부 미백효과	<b>말릭시닉산</b> ↓ 자궁경부암세포 사멸효과 항균활성효과	<b>퀴시스플라빈</b> ↓ 항산화효과	<b>에피카테킨</b> ↓ 항산화효과 항암효과 면역력 향상 효과
----------------------------	----------------------------	---	-----------------------------	---

© Daehwa etc., Phytochemistry 46(12): 2368-2370, 2005 / J. Agr. Sci., Camb. 2000, 135(3): 545-551, 2005  
 Lee et al., J. Food. Qual. Anal. 16, 333-336, 2005 / J. Agric. Sci., Camb. 2008, 142(5): 619-623, 2008 / Lee et al., Korean J. Food. Sci. Technol. 40(5): 570-575, 2008








그림 IV-23. 나주배 판넬

# 배의 생리활성 및 유용성

### 배의 생리활성

**Part 1. 당뇨병 예방 효과**

· 배에 함유된 당도, 당노병 예방 효과  
 → 배의 당도는 12.2 brix로, 당노병 예방 효과가 있음  
 → 배의 당도는 12.2 brix로, 당노병 예방 효과가 있음

**Part 2. 항산화능 및 항암효과**

· 다환족방향성탄화수소(PAHs)  
 → 탄수, 수소의 불완전 연소로 발생(탄, 매연, 흡연)  
 → 체내 DNA 변성을 초래하여 암을 일으킴  
 배는 다환족방향성탄화수소(PAHs)의 배를을 증가시킨  
 → 탄수, 흡연 등으로 발생하는 PAHs를 감소시켜 암을 예방함  
 → 배는 반응성 대사산물을 신속히 배출하여 체내의 잔류물 막아 암을 억제함

Kim S. Korean J. Food Sci. Technol. 36, 1337-1343, 2003  
 Kim S. Korean J. Food Sci. Technol. 36, 1337-1343, 2003  
 Lee H.M., Cancer Prev. Res. 14, 19-19, 2009

### 배 유과의 유용성

· 과육의 배를 수확하기 위하여 한 클러스터에 1-2개의 유과만을 제외하고 폐기되고 있음  
 → 폐기되고 있는 유과 역시 배농성 화합물의 함량이 높아 경제적 가치가 있음  
 → 폐기되는 배 유과로부터 유용성분을 추출하여 음료, 화장품 및 의약품 등의 기능성소재로 활용성 높음

적과후 ↓



클로로겐산

퀴시스플라빈

알부틴



(단위: mg)

Choi J.W., Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 79(2), 296-270, 2005





그림 IV-24. 배 기능성 판넬

## 2) 나주배 요리 교육

- 기간: 2016. 5. 5 ~ 5. 29. / 기간중 11회
- 주요참여: 초등학교 이하 자녀를 둔 학부모와 자녀 중심
- 운영시간: 13:00 ~ 16:00 / 3시간 운영
- ➡ 참여자수: 11회 245명 (22명/회)
- ➡ 교육성과: 나주배 요리법을 일반인들에게 교육하여 배에 대한 인식 개선 및 소비를 촉진

표 IV-20. 나주배 요리교실 일정표

회차	일정	요리명	교육인원	비고
1	5 / 5(목)	배 숙	23	
2	5 / 6(금)	이화빵	21	
3	5 / 7(토)	배 찜	23	
4	5 / 8(일)	배 숙	20	
5	5 / 14(토)	배 찜	13	
6	5 / 15(일)	이화빵	21	
7	5 / 21(토)	배 숙	16	
8	5 / 22(일)	이화빵	21	
9	5 / 26(목)	배 숙	18	
10	5 / 28(토)	배 찜	12	
11	5 / 29(일)	이화빵	57	

표 IV-21. 나주배 요리 교육 사진



5월 5일

5월 6일

5월 7일



5월 8일



5월 14일



5월 15일



5월 21일



5월 22일



5월 26일



5월 28일



5월 29일

교육한 음식(배잼, 배숙, 이화빵)

표 IV-22. 나주배 이용한 음식 레시피

음식사진	레시피
 <p data-bbox="268 568 386 600">배고추장</p>	<p data-bbox="513 331 1378 416">&lt;배 10개, 배조청 900 g, 고춧가루 1 kg, 메춧가루 400 g, 진간장 400 mL, 소금 113 g, 찹쌀 360 g&gt;</p> <ol data-bbox="513 427 1378 555" style="list-style-type: none"> <li>1. 배를 강판에 갈아서 중간 불에서 절반으로 졸인다.</li> <li>2. 찹쌀밥에 1의 배와 메춧가루와 같이 버무려 하루 정도 놓아둔다.</li> <li>3. 2의 찹쌀밥에 고춧가루와 간장을 넣고 소금으로 간을 하여 완성한다.</li> </ol>
 <p data-bbox="225 909 429 940">배고추장장아찌</p>	<p data-bbox="513 640 1378 725">&lt;배 5개, 고추장 450 g, 배조청 200 mL, 물엿 200 mL, 고춧가루 36 g, 소금 6 g&gt;</p> <ol data-bbox="513 736 1378 909" style="list-style-type: none"> <li>1. 배의 씨를 제거하고 도톰하게 썰어 바람이 잘 통하는 곳에서 일주일간 말린다.</li> <li>2. 고추장에 배조청, 물엿, 고춧가루를 넣고 양념소스를 만든다.</li> <li>3. 1의 말린배에 2의 양념소스를 넣고 버무려 완성한다.</li> </ol>
 <p data-bbox="225 1263 429 1294">파리고추배말이</p>	<p data-bbox="513 949 1378 1077">&lt;파리고추 300 g, 배 3개, 간장 45 mL, 설탕 13 g, 물엿 15 mL, 참기름 5 mL, 소금 5 g, 깨 10 g, 실고추 3 g, 밀가루 약간, 이쑤시개&gt;</p> <ol data-bbox="513 1088 1378 1308" style="list-style-type: none"> <li>1. 고추는 끓는 물에 소금을 넣고 살짝 데친다.</li> <li>2. 고추에 밀가루를 바른 후 얇게 썬 배로 감싸고 이쑤시개로 고정한다.</li> <li>3. 간장, 설탕, 물엿, 참기름, 소금을 넣어 양념간장 소스를 만든다.</li> <li>4. 3의 양념간장소스에서 2의 고추를 10분간 볶아 실고추와 깨로 장식하여 완성한다.</li> </ol>
 <p data-bbox="268 1599 386 1630">배깍두기</p>	<p data-bbox="513 1341 1378 1426">&lt;배 1개, 미나리 3줄기, 멸치 액젓 45 mL, 고춧가루 11 g, 소금 2 g, 검정깨 3 g&gt;</p> <ol data-bbox="513 1438 1378 1610" style="list-style-type: none"> <li>1. 배를 깍두기 모양으로 썰어 둔다.</li> <li>2. 1의 배에 고춧가루를 넣고 먼저 버무려 놓는다.</li> <li>3. 버무려 놓은 배에 4 cm로 자른 미나리를 넣고 멸치 액젓, 소금을 넣고 버무린 후 검정깨를 넣어 완성한다.</li> </ol>
 <p data-bbox="268 1935 386 1966">배김치국</p>	<p data-bbox="513 1664 1378 1749">&lt;배 1개, 미나리 3줄기, 멸치액젓 45 mL, 고춧가루 11 g, 소금 2 g, 검정깨 3 g&gt;</p> <ol data-bbox="513 1760 1378 1933" style="list-style-type: none"> <li>1. 배를 나박김치 모양으로 썰어 놓는다.</li> <li>2. 고추 다대기를 면포에 싸고 물을 첨가하여 고추물만 빼놓는다.</li> <li>3. 2의 고추물에 소금, 새우젓을 넣고 국물을 만든다.</li> <li>4. 1의 배에 3 cm 길이로 썰어둔 미나리를 넣고 국물을 부어 완성한다.</li> </ol>

 <p>과일물김치</p>	<p>&lt;배 530 g, 사과 540 g, 파프리카 210 g, 오이 210 g, 양파 200 g, 방울토마토 350 g, 양념국물(고춧가루 12 g, 다진 생강 8 g, 다진 마늘 40 g, 설탕 13 g, 소금 28 g, 물 1.2 L)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배, 사과, 파프리카, 오이는 나박김치 모양으로 썰어 놓는다.</li> <li>2. 4등분한 양파를 적당한 크기로 자르고 방울토마토는 3등분한다.</li> <li>3. 물에 소금, 고춧가루, 다진 마늘, 다진 생강, 설탕을 넣고 양념 국물을 만든다.</li> <li>4. 준비한 재료들을 함께 넣고 양념 국물을 부어 완성한다.</li> </ol>
 <p>백김치</p>	<p>&lt;배추 6 kg, 소금물(천일염 280 g, 물 2 L), 김치국물(물 1 L, 소금 28 g, 배즙 200 mL, 찹쌀풀 100 mL), 소(배 1개, 무 600 g, 쪽파 100 g, 미나리 80 g, 대추 5개, 밤 5개, 마늘 80 g, 생강 20 g, 석이버섯 2장, 홍고추 2개, 새우젓 6 g, 소금 5 g)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배추는 반으로 잘라 소금물에 절여 물기를 뺀다.</li> <li>2. 물에 배즙, 찹쌀풀, 소금을 넣고 김치국물을 만든다.</li> <li>3. 무는 채 썰어 소금에 절이고 밤은 납작한 편으로 대추, 마늘, 생강, 석이버섯, 홍고추는 채 썬다.</li> <li>4. 배 1개는 채 썰고 배 1개는 강판에 갈아 체에 걸러 놓는다.</li> <li>5. 그릇에 3과 채 썬 배를 넣고 새우젓으로 간을 하여 소를 만든다.</li> <li>6. 5에 김치국물을 조금 넣고 소를 만들어 배추 사이사이에 넣고 2의 김치국물을 붓는다.</li> </ol>
 <p>배통김치</p>	<p>&lt;배 3개, 배추 1통, 청각 100 g, 무 200 g, 쪽파 30 g, 배즙 100 g, 양파즙 40 g, 마늘 30 g, 홍고추 15 g, 청고추 15 g, 생강 15 g, 간 밤 3개, 대추 3개, 소금 30 g, 물 6 L, 실고추, 새우젓국 약간, 굵은소금 약간&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배추는 소금에 절이고, 무는 4 cm 크기로 채 썰고 쪽파 역시 4 cm 크기로 썬다.</li> <li>2. 마늘, 생강, 밤, 대추, 청고추와 홍고추는 채 썰고 청각은 물에 불린다.</li> <li>3. 1과 2를 함께 버무린 후 절인 배추 이파리 사이에 넣어 백김치를 만든다.</li> <li>4. 물에 소금, 양파즙, 배즙을 넣고 새우젓국으로 간을 맞추면서 김치국물을 만든다.</li> <li>5. 중앙만 파 둔 배에 백김치와 국물을 넣은 후 실고추로 장식하여 완성한다.</li> </ol>
 <p>배갈비</p>	<p>&lt;배 1개, 갈비 300 g, 양념소스 재료(간장 30 mL, 설탕 7 g, 청주 15 mL, 물엿 15 mL, 배 2개, 참기름 7.5 mL, 후추 약간, 마늘 10 g, 생강 2 톨)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 갈비는 핏물을 빼고 한번 끓인 후 찬물에 행군다.</li> <li>2. 배 2개는 갈아서 즙을 만든 후 간장 30 mL, 설탕 7 g, 청주 15 mL, 물엿 15 mL, 참기름 7.5 mL, 다진 마늘, 다진 생강, 후추약간을 넣고 양념소스를 만든다.</li> <li>3. 배 1개는 6등분 하여 양념소스 및 갈비와 함께 재워 놓은 후 1시간정도 숙성시킨 후 재운 갈비를 냄비에 담고 중간 불에</li> </ol>

 <p>배삼겹살구이</p>	<p>서 익힌다.</p> <p>&lt;배 1개, 삼겹살 300 g, 양념소스 재료(배 1개, 간장 30 mL, 설탕 7 g, 물엿 15 mL, 마늘 6쪽, 파 20 g, 참기름 5 mL, 청주 15 mL, 후추 2 g, 생강 2톨)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배 1개는 즙을 만들고 양념소스 재료를 섞는다.</li> <li>2. 1의 양념소스에 삼겹살을 재워놓은 후 앞뒤로 노릇하게 굽는다.</li> <li>3. 배 1개는 약간 도톰하게 썰고 삼겹살을 돌돌 말아 완성한다.</li> </ol>
 <p>배아롱사태</p>	<p>&lt;아롱사태 1 kg, 배 2개, 오이 1개, 표고버섯 3개, 홍고추 3개, 사태 삶은 소스물(파 1개, 마늘 3톨, 생강 2톨, 양파 1개, 청양고추 3개, 청주 45 mL, 후추 약간, 배즙 200 mL)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 사태물 재료에 사태를 넣고 1시간 이상 삶는다.</li> <li>2. 1의 사태를 실로 감아 랩으로 싸서 냉동 보관 후 원형으로 얇게 썰어놓는다.</li> <li>3. 배는 원형으로 찍어서 사태와 같이 놓는다.</li> <li>4. 오이, 표고버섯, 홍고추를 채 썰어 중앙에 놓고 완성한다.</li> </ol>
 <p>배육회</p>	<p>&lt;쇠고기 400 g, 배 200 g, 달걀 1개, 잣 5 g, 설탕물(물 200 mL, 설탕 9 g), 양념(간장 23 mL, 소금 5 g, 설탕 7 g, 마늘 80 g, 볶은 깨 6 g, 다진 파 9 g, 다진 마늘 13 g, 참기름 15 mL)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 쇠고기는 결 반대로 채 썰고 배는 얇게 썰어 설탕물에 담갔다가 물기를 뺀다.</li> <li>2. 쇠고기에 약간의 설탕을 넣고 주무른 다음 양념을 넣어 버무린다.</li> <li>3. 그릇에 배를 보기 좋게 깔고 육회를 올려 완성한다.</li> </ol>
 <p>배도그</p>	<p>&lt;배 1개, 튀김가루 50 g, 식용유 1 L, 찹쌀가루 18 g, 전분 18 g, 설탕&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 튀김가루, 찹쌀가루, 전분, 물을 넣어 튀김가루 반죽을 만든다.</li> <li>2. 배는 중앙을 동그랗게 파내고 1의 튀김가루 반죽에 묻힌 후 튀겨낸다.</li> <li>3. 튀겨낸 반죽에 설탕을 뿌려서 먹는다.</li> </ol>
 <p>배튀김</p>	<p>&lt;배 1개, 전분 9 g, 튀김가루 24 g, 소금 2 g, 식용유 1 L, 치자 가루 3 g&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배를 먹기 좋은 크기로 썬다.</li> <li>2. 전분과 튀김가루를 섞어 소금으로 간을 한다.</li> <li>3. 2의 반죽에 배를 넣고 섞은 후 기름에 2번 튀겨낸다.</li> </ol>
 <p>배강정</p>	<p>&lt;배 1개, 전분 7 g, 튀김가루 24 g, 소금 3 g, 식용유 1 L, 치자 가루 3 g, 양념소스 재료(양념 고추장 30 mL, 고춧가루 6 g, 케첩 30 mL, 물엿 15 mL, 꿀 30 mL, 깨 약간, 참기름 약간)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배를 먹기 좋은 크기로 썰고 전분과 튀김가루를 섞어 소금으로 간을 한다.</li> <li>2. 1의 반죽에 배를 넣고 섞은 후 기름에 2번 튀겨낸다.</li> <li>3. 양념소스 재료들을 팬에서 끓인 후 배 튀김을 넣어 완성한다.</li> </ol>









 <p>배와인조림</p>	<p>&lt;배 1개, 적색 와인&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배는 4등분 후 껍질과 과심을 제거한다.</li> <li>2. 배에 와인을 넣고 1시간 동안 조려 완성한다.</li> </ol>
 <p>배와인생선조림</p>	<p>&lt;배 1개, 조림 생선 1마리, 배와인 100 mL, 고추 다대기, 다진 마늘, 고춧가루, 간장, 설탕, 다진 생강, 참기름(3:1:2:2:1:0.2:0.3의 비율, 생선의 크기에 따라 양 조절), 양파 1개, 대파 1개&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 생선은 먹기 좋은 크기로 토막을 낸 후 고추 다대기에 와인을 넣은 후 버무리려 놓는다.</li> <li>2. 배는 6등분 하여 껍질을 벗긴 후 간장으로 밑간을 하여 생선과 같이 조려낸다.</li> </ol>
 <p>배초밥</p>	<p>&lt;배 1개, 밥 1공기, 깨 8 g, 2배 식초 30 mL, 설탕 26 g, 다시마 5×5 cm 1장, 일배식초 100 mL 미나리 10줄기, 소금 5 g&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배를 자른 후 일배 식초에 담갔다가 건져서 물기를 뺀다.</li> <li>2. 2배 식초, 설탕, 다시마, 소금을 넣고 센 불에서 5분간 끓여 단춧물을 만든다.</li> <li>3. 밥에 단춧물, 깨를 넣고 함께 버무린 후 모양을 만들어 그 위에 배를 얹고 미나리로 장식을 하여 완성한다.</li> </ol>
 <p>배찜</p>	<p>&lt;배 1개, 도라지 1개, 콩나물 20 g, 대추 2톨, 생강 10 g, 꿀 40 mL&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배 중앙의 속을 깊게 파내고 꿀, 도라지, 콩나물, 대추, 생강, 무를 넣는다.</li> <li>2. 잘라두었던 배의 윗부분을 덮고 1시간을 쪄내어 완성한다.</li> </ol>
 <p>배푸딩</p>	<p>&lt;배 2개, 한천 2 g, 레몬주스 2 g, 설탕 13 g, 딸기 1개, 소금 5 g&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배 2개를 믹서로 간 후 저어가면서 냄비에 끓인다.</li> <li>2. 갈아둔 배가 끓어오르면 한천, 레몬주스, 소금을 넣고 잘 저어준다.</li> <li>3. 2가 걸쭉해지면 용기에 1/2을 담은 후 중간에 딸기를 넣고 다시 1/2을 붓고 냉장고에서 굳혀 완성한다.</li> </ol>
 <p>배삼떡</p>	<p>&lt;배 1개, 한천 20 g, 설탕 26 g, 찹쌀가루 330 g, 소금 3 g, 팔양금 100 g, 물 15 mL&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배 1개를 갈아서 한천, 설탕, 소금을 넣고 끓인 후 걸쭉해지면 바닥에 펴서 굳힌다.</li> <li>2. 찹쌀가루에 소금과 물을 넣고 12분 정도 쪄 후 스텐볼에 넣고 치대어 찰떡을 만든다.</li> <li>3. 2의 찰떡에 팔양금을 넣고 굳힌 1의 배를 찰떡 바깥쪽에 감싸 완성한다.</li> </ol>

	<p>&lt;불린 한천 40 g, 설탕 40 g, 백앙금 40 g, 물엿 30 g, 물 100 mL&gt;          -색재료 : 무색(배 270 g), 자주색(비트 80 g, 배 190 g), 노란색(단호박 140 g, 배 140 g), 연두색(완두콩 90 g, 배 180 g), 검붉은색(삶은 팔 140 g, 배 130 g)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 한천에 설탕과 물을 넣고 2/3 정도가 되도록 줄인다.</li> <li>2. 1에 갈아진 각각의 색재료와 백앙금, 물엿을 넣고 끓인다.</li> <li>3. 25분 후 모양 틀에 굳혀 완성한다.</li> </ol>
	<p>&lt;참쌀가루 330 g, 배 1개, 소금 6 g, 팔앙금 60 g, 물 100 mL, 물엿 15 g, 설탕 15 g, 천연색소 15 g&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배는 얇게 자르고 물엿과 설탕물에 색을 염색 후 건조한다.</li> <li>2. 참쌀가루에 소금, 물을 넣은 후 체에 내리고 12분 정도 쪄 후 스텐볼에 넣어 치댄다.</li> <li>3. 2의 떡을 직사각형으로 길게 밀고 떡 위에 앙금을 펴 발라준다.</li> <li>4. 3의 떡을 말아놓은 다음 염색된 배를 떡 위에 갈아 놓고 썰어 담는다.</li> </ol>
	<p>&lt;참쌀가루 800 g, 배건과 100 g, 물 30 mL, 소금 7 g, 빵가루 150 g, 소(배건과 400 g, 황설탕 80 g, 아몬드 가루 70 g)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 3분 동안 쪄 배건과에 아몬드 가루와 황설탕을 넣고 믹서에 간다.(소)</li> <li>2. 참쌀가루에 물과 소금을 넣고 체에 내린다.</li> <li>3. 2를 시루에 올려 쪄 후 스텐볼에 넣고 치댄다.</li> <li>4. 3의 떡을 0.3 mm 두께로 밀고 1의 배소를 펴 바른 후 말아준다.</li> <li>5. 빵가루를 묻힌 다음 1 cm 두께로 썰어준다.</li> </ol>
	<p>&lt;참쌀가루 1 kg, 삶은 쑥 150 g, 거피고물 200 g, 설탕 40 g, 소금 7 g, 대추 3개, 소(배건과 200 g, 백앙금 150 g, 대추 10개, 호두 25 g, 잣 25 g, 유자청 15 mL)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 3분 동안 쪄 배건과, 유자청, 데친 호두, 대추를 잘게 다진다.</li> <li>2. 백앙금에 1의 재료와 잣을 넣고 소를 만든다.</li> <li>3. 참쌀가루에 물과 소금을 넣고 체에 내린 후 쪄다.</li> <li>4. 떡이 익으면 쑥을 올려 뜸을 들인 후 스텐볼에 넣고 치댄다.</li> <li>5. 4의 인절미에 소를 넣고 둥글게 빚은 후 거피고물을 묻힌다.</li> </ol>
	<p>&lt;멥쌀가루 1.8 kg, 삶은 쑥 80 g, 소금 15 g, 끓은 물 200 mL, 치자 2개, 자색고구마가루 15 g, 참기름 30 mL, 소(배건과 150 g, 호두 40 g, 밤 30 g, 대추 35 g, 꽃감 30 g, 볶은 참깨 25 g, 꿀 45 g, 소금 5 g)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 쌀가루 1/4에 소금을 넣고 섞은 후 삶은 쑥을 넣어 뺏는다.</li> <li>2. 나머지 쌀가루에 치자, 자색고구마를 넣고 체에 내린 후 익반죽한다.</li> <li>3. 배건과, 호두, 대추를 다지고 꿀, 소금으로 간을 하여 소를 만든다.</li> <li>4. 1, 2 반죽에 3의 소를 넣고 송편을 빚고 꽃장식을 만들어 위에 붙인다.</li> <li>5. 시루에 4의 송편을 쪄서 완성한다.</li> </ol>

 <p style="text-align: center;">배꽃떡</p>	<p>&lt;멥쌀가루 800 g, 비트 분말 15 g, 물 200 mL, 단호박가루 5 g, 소금 7 g, 소(배건과 200 g, 백앙금 150 g, 거피고물 50 g)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 데친 배건과를 다진 후 백앙금, 거피고물과 같이 섞어 소를 만든다.</li> <li>2. 멥쌀가루에 물을 넣고 시루에 올려 찐다.</li> <li>3. 익은 떡은 스텐볼에 치댄 후 떡의 1/3은 비트 분말로 물들인다.</li> <li>4. 떡의 1/3은 얇게 펴서 둥근 모양틀로 찍고 1의 소를 넣어 둥글게 말아준다.</li> <li>5. 남은 1/3은 두껍게 늘린 후 3의 떡을 지름 1cm 원기둥 모양으로 만들어 겹쳐 올린 후 밀대로 얇게 밀어준다.</li> <li>6. 5의 떡을 꽃모양틀로 찍은 후 4의 떡을 넣어 꽃잎이 겹치도록 붙여준다.</li> <li>7. 흰떡의 자투리를 이용해 노란색 단호박 물을 들인 후 장식한다.</li> </ol>
 <p style="text-align: center;">배떡케이크</p>	<p>&lt;멥쌀가루 1.8 kg, 생딸기즙 200 mL, 설탕 100 g, 배건과 100 g, 소금 3 g, 꿀 15 mL&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배건과는 물에 적셔 1 cm로 잘라 꿀에 재워둔다.</li> <li>2. 쌀가루에 생딸기즙을 섞고 중간체에 내린다.</li> <li>3. 체에 내린 쌀가루에 1의 배를 섞은 후 시루에 찐다.</li> <li>4. 배건과로 정과를 만들어 꽃 장식을 한다.</li> </ol>
 <p style="text-align: center;">배삼색설기</p>	<p>&lt;멥쌀가루 1.6 kg, 배건과 200 g, 배 1개, 설탕 130 g, 단호박가루 30 g, 흑임자가루 50 g, 완두배기 45 g, 소금 15 g, 잣 15g&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배건과는 2분간 찌며 1 cm 크기로 자른 후 설탕 30 g을 넣고 섞는다.</li> <li>2. 배 껍질을 제거 후 믹서에 갈고 쌀가루와 섞는다.</li> <li>3. 2의 쌀가루를 체에 내리고 설탕 100 g을 넣은 다음 다시 체에 내린다.</li> <li>4. 3의 쌀가루 중 1/3에 단호박가루와 물 15 mL, 1/3에는 흑임자가루를 넣고 체에 내린다.(나머지 1/3은 흰쌀가루)</li> <li>5. 흰쌀가루와 단호박 쌀가루에 배건과와 완두배기를 넣고 흑임자 쌀가루에 배건과와 잣을 넣은 후 시루에 찌서 완성한다.</li> </ol>
 <p style="text-align: center;">배양양떡</p>	<p>&lt;찹쌀가루 800 g, 흑임자가루 400 g, 배건과 100 g, 생밤 150 g, 서리태콩 50 g, 잣 20 g, 호두 30 g, 설탕 100 g, 소금 7 g, 물 70 mL&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 찹쌀가루에 물과 소금을 넣고 체에 내린다.</li> <li>2. 찹쌀가루 1/3에 흑임자가루, 호두, 잣을 넣고 섞어준다.</li> <li>3. 배건과, 밤, 콩을 각각 1/2씩 시루에 안친다.</li> <li>4. 3의 위에 찹쌀가루 1/3을 올린 후 2를 올리고 남은 재료를 올린다.</li> <li>5. 시루에서 25~30분 찐다.</li> </ol>

	<p>&lt;참쌀가루 550 g, 흑미 가루 7 g, 백년초 가루 6 g, 쑥가루 3 g, 치자가루 2 g, 토핑(배건과 50 g, 호두 30 g, 볶은참깨 20 g, 호박씨 10 g, 꽃감 1개, 올리고당 15 mL, 설탕 4 g, 포도씨유 45 mL), 소스(배조청 30 mL, 계피가루 3 g, 소금 3 g)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 참쌀가루는 5등분 하여 오색으로 익반죽하고 지름 4 cm, 두께 0.5 cm로 빚는다.</li> <li>2. 볶은 호두와 호박씨 그리고 잘게 썬 배건과와 꽃감에 참깨, 올리고당, 설탕을 넣고 조린다.</li> <li>3. 식용유가 둘러진 팬에 1의 반죽을 익히고 배조청, 계피가루, 소금을 섞어 소스를 위에 바르고 2의 토핑을 올려 완성한다.</li> </ol>
	<p>&lt;멤쌀 8 kg, 옛기름 800 g, 물 4 L, 배즙 4 L&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 쌀은 고두밥을 짓고 옛기름은 물에 불려 체에 거른다</li> <li>2. 고두밥에 옛기름물을 섞고 보온밥통에서 6시간 이상 삭힌다.</li> <li>3. 면보자기로 건더기를 제거한 후 맑은 밥물과 배즙을 4시간 동안 센 불에서 졸인다.</li> <li>4. 약불에서 8시간 동안 더 졸여 완성한다.</li> </ol>
	<p>&lt;밀가루 300 g, 튀김가루 50 g, 소금 2 g, 생강즙 30 mL, 치자가루 5 g, 백년초가루 5 g, 파래가루 10 g, 식용유 1.5 L, 즈청시럽(배조청 300 g, 물 200 mL, 설탕 85 g)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 밀가루에 튀김가루와 소금을 넣고 체에 내린 후 생강즙, 물과 함께 삼색으로 반죽한다.</li> <li>2. 1의 반죽을 가로 2.5, 세로 5 cm로 자른 후 타래 모양을 만든다.</li> <li>3. 120~130℃에서 튀긴 후 매작과를 즈청하고 말려 완성한다.</li> </ol>
	<p>&lt;참쌀 1.6 kg, 소금 30 g, 콩 60 g, 소주 200 mL, 식용유 1 L, 튀밥 1 kg, 즈청시럽(배조청 600 mL, 물엿 600 mL, 생강즙 30 mL)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 참쌀은 골마지가 끼도록 삭힌 다음 씻어서 방아에 찧는다.</li> <li>2. 참쌀가루에 소주, 설탕을 넣어 반죽하고 시루에 찧 후 가는 실이 보일 때까지 치댄다.</li> <li>3. 전분을 뿌리고 치댄 떡을 쏟아놓은 뒤 다시 전분을 뿌린다.</li> <li>4. 3을 4 cm 크기로 썰어서 말린 후 90℃의 기름에 넣는다.</li> <li>5. 부풀기 시작하면 180~190℃로 튀기고 즈청한 다음 튀밥을 묻힌다.</li> </ol>
	<p>&lt;볶은 깨 240 g, 시럽 150 mL, 식용유 7.5 mL, 소금 2 g, 견과류, 시럽(배조청 200 mL, 설탕 1컵, 소금 1 g)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 시럽 45 mL을 끓이다 식용유 1 g과 볶은 깨 120 g을 넣고 약한 불에서 덩어리가 되도록 잘 버무려 비닐로 싰다.(둘레)</li> <li>2. 시럽 45 mL에 식용유 1 g을 넣고 끓이다가 볶은 깨 120 g과 견과류를 넣고 덩어리가 되도록 버무린다.</li> <li>3. 2의 깨강정을 원하는 모양으로 만든 후 1을 밀대로 밀어 2를 둘러싸게 한다.</li> </ol>

	<p>&lt; 쌀 180 g, 소금 1 g, 식용유 1 L, 배조청 45 mL, 설탕 39 g, 물 23 mL, 천연색소(치자가루, 쑥가루, 백년초가루, 포도즙)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 쌀은 5시간 이상 불린 후 15분 동안 끓인다.</li> <li>2. 1의 쌀을 헹군 후 소금물에 담그고 간이 배면 건져서 채반에 말린다.</li> <li>3. 180~190℃의 기름에 넣어 튀긴 다음 한지를 이용하여 기름을 뺀다.</li> <li>4. 냄비에 설탕, 배조청, 물을 넣고 시럽을 만들고 시럽에 각각의 천연색소를 넣고 섞는다.</li> <li>5. 색이 입혀진 시럽에 튀긴 쌀을 100 g씩 넣고 덩어리로 뭉쳐 완성한다.</li> </ol>
	<p>&lt;호두 120 g, 물 200 mL, 설탕 170 g, 소금 5 g, 배조청 15 mL, 식용유 1 L&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 뜨거운 물에 호두를 10분 정도 담근 후 건진다.</li> <li>2. 냄비에 호두, 물, 설탕, 소금을 넣고 끓인다.</li> <li>3. 약불에서 물이 반으로 줄면 배조청을 넣고 졸인 다음 호두를 건진다.</li> <li>4. 호두를 160℃의 기름에서 잠깐 튀긴다.</li> </ol>
	<p>&lt;연근 200 g, 수삼 300g, 우영 200 g, 도라지 200 g, 무 200 g, 배조청 500 g, 설탕 500 g, 물 500 mL&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 연근, 수삼, 우영, 도라지, 무에 물을 붓고 익힌다.</li> <li>2. 익힌 1의 재료에 설탕, 배조청을 넣고 센 불에서 끓이다가 약불에서 조린다.</li> <li>3. 2의 재료를 건져서 하루 정도 말려 완성한다.</li> </ol>
	<p>&lt;배 5개, 잣 200 g, 설탕 850 g, 배조청 1 L, 쌀가루 5 g, 보리새싹가루 5 g, 치자가루 5 g&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배를 껍질을 벗기고 0.2~0.3 cm 편으로 썬다.</li> <li>2. 둥근 원 모양으로 찍어(지름5~6 cm)설탕으로 수분을 뺀다.</li> <li>3. 맑은 배조청에 각각의 색을 혼합하여 하루 동안 재운다.</li> <li>4. 3을 체에 건져서 여분의 수분과 조청을 제거한 다음 원모양으로 펴서 잣 3개를 넣고 반접는다.</li> <li>5. 4를 건조기나 바람 잘 통하는 곳에서 말린다.</li> </ol>
	<p>&lt;배 5개, 설탕 700 g, 물엿 1 L, 흰색와인 500 mL, 적색와인 500 mL, 소금 약간&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배를 원하는 모양으로 만든 후 와인으로 먼저 수분을 제거 후 설탕과 물엿을 넣고 조린다.</li> <li>2. 조려낸 배는 바람이 잘 통하는 곳에서 약간 건조시킨다.</li> </ol>
	<p>&lt;배 조청 200 mL, 밀가루 100 g, 참기름 67 mL, 소주 200 mL, 소금 2 g, 식용유 1 L&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 체에 내린 밀가루에 참기름을 넣고 비빈 후 다시 한 번 내린다.</li> <li>2. 1의 밀가루에 소주와 배조청을 넣고 부드럽게 반죽한다.</li> <li>3. 모양틀을 이용하여 반죽을 찍은 후 뒷면에 대꼬치로 구멍을 낸다.</li> </ol>

	<p>4. 반죽을 140℃ 식용유에 넣어 160℃까지 서서히 온도를 올려 열은 갈색이 날 때까지 튀겨 건진다.</p>
 <p>배잼</p>	<p>&lt;배 1개, 설탕 300 g, 레몬즙 3 g, 소금 1 g, 펙틴 5 g&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배는 곱게 채 썰어 볶은 다음 설탕을 넣고 물이 나오기 시작하면 펙틴을 넣는다.</li> <li>2. 배가 갈색으로 변하면 약불로 조절하고 잘 저어준 다음 걸쭉해지면 레몬즙과 소금을 넣고 완성한다.</li> </ol>
 <p>배잼까나페</p>	<p>&lt;배잼 75 mL, 무설탕 크래커 10개, 제철과일&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 설탕이 첨가되지 않은 크래커에 배잼을 바른다.</li> <li>2. 그 위에 크래커를 덮은 후 제철과일 딸기나 방울토마토를 올려 완성한다.</li> </ol>
 <p>배모닝빵</p>	<p>&lt;모닝빵 3개, 배 1/2개, 양상추, 청파프리카 1/4개, 홍파프리카 1/4개, 노란파프리카 1/4, 마요네즈&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배는 작은 깍두기 모양으로 썰고 파프리카도 먹기 좋은 크기로 썰어 마요네즈를 넣고 버무린다.</li> <li>2. 빵의 중앙을 칼로 자른 후 양상추를 밑바닥에 깔고 1의 소를 넣고 완성한다.</li> </ol>
 <p>이화빵</p>	<p>&lt;밀가루 140 g, 달걀 1개, 버터 30 g, 물엿 20 g, 설탕 20 g, 소금 2 g, 소(팥소 130 g, 배건과 130 g)&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 버터, 물엿, 설탕은 중탕한 후 달걀을 넣어 잘 섞는다.</li> <li>2. 체에 거른 밀가루에 1을 넣고 반죽 후 1시간 동안 휴지시킨다.</li> <li>3. 팥과 배건과를 같이 섞어서 소를 완성한다.</li> <li>4. 2의 반죽 20 g에 3의 소 20 g를 넣은 다음 오븐에서 20분 동안 구워서 완성한다.</li> </ol>
 <p>배마드레느</p>	<p>&lt;박력분 400 g, 설탕 320 g, 달걀 400 g, 버터 400 g, 소금 4 g, 베이킹파우더 8 g, 배 1개&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 박력분과 베이킹파우더는 체에 내린다.</li> <li>2. 달걀을 잘 풀어준 후 설탕과 소금을 넣어 녹인다.</li> <li>3. 버터는 중탕하여 녹여 준비한다.</li> <li>4. 배의 일부는 즙을 짜고, 일부는 잘게 썰어 레몬과 설탕에 절여 준비한다.</li> <li>5. 2에 배즙을 넣어 섞고 1의 가루재료를 섞는다.</li> <li>6. 5에 녹인 버터와 절여 놓은 배를 넣어 잘 섞는다.</li> <li>7. 4의 반죽을 찰주머니에 넣고 틀에 3/4 정도 담고 절인 배를 토핑 후 오븐에 구워준다.</li> </ol>



배모주

- <걸러둔 막걸리 9 L, 찹 100 g, 대추 100 g, 배 5개, 감초, 계피 약간>  
 1. 막걸리에 배, 찹, 대추를 넣고 3시간 이상 푹 곤 다음 체에 거른다.  
 2. 1에 기호에 따라 한약재를 첨가하여 완성한다.



배파운드케이크

- <버터 640 g, 설탕 500 g, 소금 8 g, 달걀 640 g, 박력분 800 g, 탈지분유 16 g, 바닐라향 8 g, 베이킹파우더 16 g, 배즙 160 g, 배 1개, 설탕 문혀 준비한 배조각, 달걀 물>  
 1. 버터는 풀어 준 후 설탕, 소금을 넣어 잘 섞는다.  
 2. 1에 달걀을 조금씩 넣어 크림처럼 만든다.  
 3. 가루 재료는 모두 합하여 체에 친다.  
 4. 배의 2/3는 강판에 갈고, 1/3은 잘게 잘라 설탕에 버무려 준비한다.  
 5. 2에 3의 가루 재료를 섞어 보이지 않을 때까지 섞는다.  
 6. 4에 간 배와 잘게 잘라 설탕에 버무린 배의 약간을 5에 섞는다.  
 7. 6의 반죽을 파운드 틀에 2/3 정도 채우고 잘라 놓은 배에 설탕을 뿌려 올려 예열된 오븐에 구워준다.  
 8. 완성된 파운드케이크 위에 달걀 물을 골고루 발라준다.



배머핀

- <박력분 200 g, 버터 170 g, 설탕 160 g, 소금 2 g, 달걀 170 g, 베이킹파우더 5 g, 건포도 50 g, 호두 20 g, 적포도주 60 g, 배 1개>  
 1. 버터는 풀어 준 후 설탕, 소금을 넣어 잘 섞는다.  
 2. 1에 달걀을 조금씩 넣어 크림처럼 만든다.  
 3. 가루 재료는 모두 합하여 체에 친다.  
 4. 잘게 자른 배와 호두는 적포도주에 절여 놓는다.  
 5. 2에 3의 가루 재료를 섞어 밀가루가 보이지 않을 때까지 섞는다.  
 6. 5에 절여둔 4의 배와 호두를 섞어 반죽을 마무리한다.  
 7. 6의 반죽을 컵케이크 틀에 2/3 정도 채워 넣는다.  
 8. 7에 슬라이스한 배로 꽃을 만들어 올려 예열된 오븐에 굽는다.



배타르트

- <시트 (중력분 200 g, 아몬드 가루 30 g, 버터 90 g, 소금 1 g, 물 60 g), 필링(아몬드 가루 . 버터 . 슈가파우더 각 50 g, 달걀 1개, 옥수수전분 3 g), 토핑(반달로 자른 배 1/2개, 설탕에 졸인 배 1/2개)>  
 1. 볼에 체에 친 중력분과 아몬드 가루를 잘 섞고 버터를 넣어 섞는다.  
 2. 1에 물을 섞어 반죽하고 냉장고에 30분 정도 휴지한 후 타르트 팬에 펼친 후 오븐에 굽는다.(타르트 시트)  
 3. 볼에 버터, 슈가파우더, 소금을 넣고 섞은 후 달걀을 넣어 크림상태로 만든다.  
 4. 3에 체에 친 박력분과 아몬드 가루를 넣고 잘 섞는다.(아몬드 필링)  
 5. 배는 잘라 설탕에 졸이고, 다시 설탕을 문혀 토핑을 만든다.  
 6. 시트에 졸인 배와 아몬드 필링을 채우고 배를 올려 굽는다.



배절입냉동쿠키

<버터 135 g, 설탕 95 g, 소금 2 g, 박력분 215 g, 우유 50 g, 와인에 절인 배 200 g, 와인에 절인 아몬드 슬라이스 10 g, 와인 200 mL>

1. 버터에 설탕, 소금을 섞고 달걀을 조금씩 넣어 크림처럼 만든다.
2. 1에 체에 친 박력분을 넣고 반죽한 다음 와인에 절인 배와 아몬드 슬라이스를 넣어 섞는다.
3. 쿠키 모양으로 성형해 1시간 이상 얼린 후 배즙과 설탕을 곁에 발라 예열된 오븐에 굽는다.



배를푼은배빵

<강력분 200 g, 설탕 20 g, 소금 3 g, 이스트 3 g, 버터 20 g, 우유 135 g, 필링(배 1개, 설탕 35 g, 시나몬 가루 9 g), 장식(빼빼로 스틱, 호박씨, 달걀 물)>

1. 우유에 설탕, 소금을 녹인 후 강력분과 이스트를 넣어 반죽한다.
2. 1의 반죽에 녹인 버터를 넣고 10분간 반죽해 1차 발효를 한다.
3. 배는 잘라서 설탕에 졸이고 시나몬 가루를 넣어 필링을 만든다.
4. 2의 반죽을 분할해 3의 필링을 넣어 머핀 틀에서 2차 발효한다.
5. 4의 반죽에 데코재료를 이용하여 장식 후 오븐에 구워 완성한다.



배블루베리스콘

<중력분 280 g, 설탕 30 g, 버터 90 g, 소금 2 g, 달걀 1개, 우유 50 g, 플레인 요거트 80 g, 베이킹파우더 10 g, 부재료(와인에 졸인 배와 블루베리 200 g)>

1. 체에 친 중력분과 베이킹파우더에 버터, 설탕, 소금을 섞어준다.
2. 우유에 플레인 요거트, 달걀을 섞고 1에 넣어준 후 부재료를 넣어 둥글고 평평하게 뭉쳐 준비한다.
3. 2의 반죽을 1시간정도 냉동실에 휴지한 후 피자 조각모양으로 자르고 노른자 물을 바른 다음 오븐에 구워 완성한다.



배식혜

<배 3~4개, 옛기름 300 g, 물 2 L, 찹쌀 220 g, 설탕 약간>

1. 옛기름에 물을 붓고 한 시간이 지나면 비벼가면서 하얀 물을 만든 후 건더기를 제거한다.
2. 하얀 물을 하루 정도 방치하여 생성된 맑은 윗물만 취한다.
3. 강판에 갈아놓은 배를 맑은 윗물에 넣고 찹쌀과 약간의 설탕을 첨가한다.
4. 3을 밥솥에 넣고 보온상태에서 5시간 정도 방치하고 밥알이 10개 정도 떠오르면 끓인 후 차게 식혀 완성한다.



배숙

<배 1개, 통후추 18개, 계피 1조각, 꿀 200 mL, 생강 1톨, 설탕 13 g, 물 1.2 L>

1. 배를 6등분 하여 과심을 제거한 후 조각난 배의 위부분에 통후추 3개를 박는다.
2. 냄비에 계피를 담고 물을 넣은 후 10분간 방치한다.
3. 2의 냄비에 생강, 꿀, 설탕을 넣고 약한 불에서 10분정도 끓인다.
4. 우려낸 생강 꿀물을 체를 사용하여 건더기를 걸러낸다.
5. 끓여 둔 생강꿀물에 2의 통후추를 박은 배를 넣고 끓인다.



 <p>배유자화채</p>	<p>6. 배가 투명해지면서 떠오르면 식혀서 완성한다.</p> <p>&lt;배 2개, 유자 3개, 석류 1개, 꿀 200 mL, 생강 1톨, 설탕 85 g, 물 200 mL&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 생강은 채 썰어 꿀, 설탕, 물과 함께 끓인 후 차갑게 식힌다.</li> <li>2. 배와 유자는 곱게 채 썰어 그릇에 돌려 담는다.</li> <li>3. 2의 화채에 1의 국물을 부은 후 중앙을 석류로 장식하여 완성한다.</li> </ol>
 <p>배막걸리</p>	<p>&lt;쌀 4 kg, 누룩 600 g, 물 9 L, 배 5개, 막걸리용 생수&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 쌀은 고두밥을 짓고 식힌 후 누룩과 섞어 술미를 빚는다.</li> <li>2. 항아리에 술미를 넣어 10~15일간 발효시킨다.</li> <li>3. 술이 익으면 용수를 박아두었다가 2일 후에 청주를 떠낸다.</li> <li>4. 지게미에 동량의 물을 첨가하여 체에 걸러준다.</li> <li>5. 4에 갈아진 배를 넣고 완성한다.</li> </ol>
 <p>배청주</p>	<p>&lt;찹쌀 1.6 kg, 누룩 200 g, 배 3개, 물 2 L&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 찹쌀은 고두밥이 되도록 찜통에 찌서 식힌다.</li> <li>2. 차갑게 식은 고두밥에 누룩을 섞어 놓는다.</li> <li>3. 배를 강판에 갈아 누룩과 2의 고두밥을 섞은 후 항아리에 담아 물을 붓고 일주일 동안 발효시킨다.</li> </ol>
 <p>배식초</p>	<p>&lt;배 1 kg, 설탕 300 g, 누룩 50 g, 초산균 약간&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 잘게 다진 배에 설탕을 넣고 알코올 발효시킨다.</li> <li>2. 알코올 발효가 끝나면 찌꺼기를 제거한다.</li> <li>3. 맑은 액을 표면이 넓은 용기에 넣어 초산 발효시킨다.</li> </ol>
 <p>배흑미초</p>	<p>&lt;배 1 kg, 흑미 2 kg, 누룩 400 g, 초산균 약간&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 흑미를 24시간 이상 불리고 고두밥을 지은 후 식힌다.</li> <li>2. 항아리에 고두밥, 배즙, 누룩을 함께 섞고 알코올 발효시킨다.</li> <li>3. 발효가 끝나면 찌꺼기를 제거하여 맑은 액을 얻는다.</li> <li>4. 맑은 액을 표면이 넓은 용기에 넣어 초산 발효시킨다.</li> </ol>
 <p>배민트초</p>	<p>&lt;배 1 kg, 애플민트 100 g, 누룩 50 g, 설탕 300 g, 초산균 약간&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배, 애플민트를 잘게 분쇄하고 설탕, 누룩을 넣어 알코올 발효시킨다.</li> <li>2. 발효가 끝나면 찌꺼기를 제거하고 초산 발효시킨다.</li> </ol>

### 3. 나주배의 생과, 유과를 이용한 천연색소 소재 개발

배는 대부분 생과로 섭취하고 있으며, 다른 과실보다 향이 강하지 않고 수분 함량이 높기 때문에 배를 이용한 (가공)식품의 종류가 매우 적다. 2015년 과실류의 가공현황을 살펴보면, 배의 가공률은 배 총 생산량의 3.8% 정도로 매우 미미한 수준으로 보고되었다(표 IV-23). 또한 이상 기후로 인해 해를 거듭할수록 태풍과 폭우로 인한 피해가 늘어 배 농가의 안정적인 소득을 위해서라도 배 낙과 및 비상품과를 활용한 식품 소재 개발이 필요한 실정이다. 최근 본 연구과제 공동연구 그룹의 다년간에 걸친 연구를 통하여 배에 유용한 생리활성 화합물이 다종·다량 함유되어 있음이 확인되었다. 따라서 본 연구에서는 낙과, 비상품과 및 미성숙과의 활용방안을 제시하기 위해 배로부터 유용성분을 추출하여 액상화 및 분말화시켜 영양 및 기능성을 강화시킬 수 있는 식품소재의 제조 방법을 확립하고자 하였다. 또한 이 식품소재를 활용하여 설탕 대체 소재로서 배의 향미와 시원한 맛을 부여할 수 있는 레시피를 확립하여 다양한 가공식품에 활용 방안을 모색하고자 하였다. 그 접근 방법으로써 나주배를 이용한 색소 추출법, 농축 및 분말화 공정 확립, 가공식품 개발의 기초 자료를 확보하기 위한 색소 안정성 평가, 나주배 색소(비상품과 이용)를 이용한 레시피 확립, 나주배 미성숙과를 이용한 발효색소를 제조하여 항산화 활성이 높은 적색 색소를 생산하는 방법을 검토하였다.

표 IV-23. 2015년 과실류의 가공현황

구분	2014			2015			증감 (D/B)
	생산량(A)	가공량(B)	B/A(%)	생산량(C)	가공량(D)	D/C(%)	
계	2,697	256	9.5	2,697	207	7.7	-19.1
사과	475	40	8.4	583	57	9.8	42.5
배	303	6	2.0	261	10	<b>3.8</b>	66.7
포도	269	7	2.6	259	7	2.7	0.0
감귤	722	154	21.3	672	86	12.8	-44.2
복숭아	210	2	1.0	238	1	0.4	-50.0
기타	718	47	6.5	684	46	6.7	-2.1

※자료 : 농림축산식품부, 2016

## 가. 나주배 생과 또는 유과를 이용한 천연식용색소 추출, 농축, 분말화 공정 기술 확립

### 1) 재료 및 방법

#### (1) Pilot plant 시스템을 이용한 배성숙과 농축물 및 동결건조 분말 제조

배 성숙과 신선중량 15 kg에 H<sub>2</sub>O 20 L를 가하여 pilot 추출기(Hansung F&C CO., HS-1505-D-01)에서 추출(85℃, 4시간)하였다. 얻어진 추출물의 여과액 30 L 중 15 L는 pilot 농축기(Hansung F&C CO., HS-1505-D-05)에서 감압농축(50℃, 700 mmHg)하여 60° Brix의 농축물 540 g을 얻었다. 나머지 여과액 15 L는 pilot 농축기(Hansung F&C CO., HS-1505-D-05)에서 감압농축(50℃, 700 mmHg)하여 8° Brix의 농축물을 얻었고 -40℃에서 냉동시킨 후 3일간 동결 건조하여 진한황색의 동결건조분말을 260 g을 얻었다.

#### (2) Pilot plant 시스템을 이용한 배미성숙과 농축물 및 동결건조 분말 제조

배 미성숙과 농축물은 배 미성숙과 신선중량 20 kg에 H<sub>2</sub>O 20 L를 가하여 pilot 추출기(Hansung F&C CO., HS-1505-D-01)에서 추출(100℃, 2시간)하였다. 얻어진 추출물의 여과액은 pilot 농축기(Hansung F&C CO., HS-1505-D-05)에서 감압농축(60℃, 700 mmHg)하여 40° Brix의 농축물 1.2 kg을 얻었다. 배 미성숙과 동결건조분말은 배 미성숙과 신선중량 25 kg에 H<sub>2</sub>O 25 L를 가하여 pilot 추출기(Hansung F&C CO., HS-1505-D-01)에서 추출(100℃, 2시간)하였다. 이 추출물을 대상으로 10° Brix까지 감압농축(60℃, 700 mmHg)하여 얻은 추출물을 -40℃에서 냉동시킨 후 3일간 동결건조하여 암갈색의 분말 703 g을 얻었다.

#### (3) 대량생산 이용한 배성숙과 농축물 및 동결건조 분말 제조

배 성숙과 신선중량 180 kg을 수세 후 4등분으로 절단하여 추출시료로 사용하였다. 시료를 나일론 그물망에 나누어 담은 후 스테인레스 스틸제의 다공성 철망에 넣은 후 5,000 L 용량의 추출탱크(Hansung F&C CO., HS-EXT-500)에 넣은 다음, 1,800 L의 H<sub>2</sub>O를 충전 하였다. 시스템을 사용하여 탱크 내부온도가 85℃로 유지하도록 하였으며 추출효율 증진을 위하여 탱크내의 추출용매를 순환시켜 고형분함량이 0.8° Brix에 도달할 때까지 추출하였다. 6시간동안 추출하여 얻은 0.8° Brix의 추출물을 여과(카탈리지여과기, Hansung F&C CO.) 후 1차 농축탱크(Hansung F&C CO., HS-EVT-150)로 10° Brix까지 농축하였다. 10° Brix의 1차 농축물 120 L를 얻었고 이중 80 L는 2차 농축탱크(Hansung F&C CO., HS-EVT-200)에 60° Brix까지 농축하여 액상의 농축물 11.2 kg을 얻었다. 동결건조 분말은 앞서 얻어진 10° Brix의 1차 농축물 120 L 중 40 L를 동결건조 트레이에 넣고 -40℃에서 냉동시킨 후 3일 동안 동결 건조하여 2.1 kg의 분말을 얻었다.

#### (4) 대량생산 시스템을 이용한 배미성숙과 농축물 및 동결건조 분말 제조

배 미성숙과 농축물은 배 미성숙과 신선중량 160 kg을 수세 후 추출시료로 사용하였다. 시료를 나일론 그물망에 나누어 담은 후 스테인레스 스틸제의 다공성 철망에 넣은 후 5,000 L 용량의 추출탱크(Hangsung F&C CO., HS-EXT-500)에 넣은 다음, 1,600 L의 물을 충전 하였다. 스팀을 사용하여 탱크 내부온도가 100℃로 유지하도록 하였으며 추출효율 증진을 위하여 탱크내의 추출용매를 순환시켜 2시간동안 추출하였다. 2시간동안 추출하여 얻은 추출물을 여과(카탈리지여과기, Hangsung F&C CO.) 후 1차 농축탱크(Hangsung F&C CO., HS-EVT-150)로 10° Brix까지 농축하였다. 이 1차 농축물(10° Brix)은 2차 농축탱크(Hangsung F&C CO., HS-EVT-200)를 이용하여 60° Brix까지 농축하였고 액상의 농축물 4.84 kg을 얻었다. 배 미성숙과 동결건조 분말은 배 미성숙과 신선중량 120 kg에 1,200 L의 H<sub>2</sub>O를 가하여 5,000 L 용량의 추출기(Hangsung F&C CO., HS-EXT-500)에서 추출(100℃, 2시간)하였다. 얻은 추출물은 여과(카탈리지여과기, Hangsung F&C CO.) 후 1차 농축탱크(Hangsung F&C CO., HS-EVT-150)를 이용하여 10° Brix까지 농축하였다. 이 1차 농축물을 대상으로 동결건조 트레이에 넣고 -40℃에서 냉동시킨 후 3일간 동결 건조하여 분말 3.5 kg을 얻었다.

## 2) 결과

나주배 색소 추출의 과정은 표 IV-24에 제시되었으며 액상색소 및 동결건조 분말 색소는 그림 IV-25에 제시되었다. Pilot plant 시스템은 추출, 감압농축의 단계로 나누어져 있으며, 배 성숙과 신선중량 15 kg으로부터 60° Brix의 액상 색소 540 g과 동결건조 분말 260 g를 얻으며, 미성숙과 신선중량 20 kg으로부터 40° Brix의 액상 1.2 kg, 미성숙과 신선중량 25 kg으로부터 703 g의 암갈색 분말을 얻었다. 대량 추출 시스템은 추출, 여과, 1차 농축, 2차 농축의 단계로 이루어져 있으며, 고농도의 액상 색소를 얻기 위해 1차 감압농축기에서 10° Brix까지 농축 후 2차 감압농축기에서 60° Brix까지 농축하였다. 또한 대량 추출 시스템을 이용하여 동결건조분말을 제조하기위해 1차 감압농축기에서 10° Brix까지만 농축 후 2차 농축과정을 걸치지 않고 바로 -40℃에서 1차 농축물을 저장 후 동결 건조하였다. 배 성숙과 신선중량 180 kg으로부터 60° Brix의 액상 색소 11.2 kg 및 동결건조 분말 2.1 kg을 얻었으며, 미성숙과 160 kg으로부터 60° Brix의 액상 색소 4.84 kg, 미성숙과 120 kg으로부터 3.5 kg의 암갈색 동결건조분말을 얻었다.

표 IV-24. 나주배 색소 추출 과정



수세 및 선별



추출준비



추출기에 배 주입



물 주입



색소 추출



여과



1차 농축



1차 농축 과정



당도 확인



2차 농축



2차 농축물 고형분 함량 확인



액상 색소 제조 완료



- 40℃ 에서 냉동 후 동결건조



분말 색소 제조 완료



그림 IV-25. 나주배를 이용한 액상 색소 및 동결건조 색소.

#### 나. 나주배 미성숙과를 이용한 천연 발효색소 제조

##### 1) 재료 및 방법

###### (1) 배 미성숙과 동결건조 암갈색 색소 추출

가향의 제조공정을 통해 얻어진 배 미성숙과 동결건조 분말을 본 실험에 사용하였다.

###### (2) 배 미성숙과의 발효 미생물 선별 및 농도설정

###### (가) 발효미생물

배 미성숙과 천연 발효색소에 사용된 균주(4종)은 *Aspergillus oryzae* (누룩균), *Monascus purpureus* (홍국균), *Monascus pilosus* (홍국균), *Monascus ruber* (홍국균)를 사용하였으며 (표 IV-26), *Aspergillus oryzae*는 한국미생물보존센터(KCCM, Seoul, Korea)에서 구입하였고 그 외 균주 모두는 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Deajeon, Korea)에서 구입하였다.

표 IV-25. 미성숙과 색소 발효 균주 목록

Strain	Culture Temp.	Culture Medium	Suorce
<i>Aspergillus oryzae</i>	25°C	PDA	KCCM 11372
<i>Monascus purpureus</i>	25°C	PDA	KCTC 6120
<i>Monascus pilosus</i>	25°C	PDA	KCTC 26768
<i>Monascus ruber</i>	25°C	PDA	KCTC 6122

(나) 미생물 전배양

*Aspergillus oryzae*는 PDA 고체평판배지를 이용하여 25°C에서 2일간 배양 후, 10 mm 디스크 5개 잘라 PDB 액체배지 50 mL에 넣은 다음, 진탕배양기에서 25°C에서 3일간 배양하였다. 3종의 *Monascus* sp.는 PDA 고체평판배지를 이용하여 25°C에서 7일간 배양 후 10 mm 디스크 5개 잘라 PDB 액체배지 50 mL에 넣은 다음 진탕배양기에서 25°C, 7일간 배양하였다.

(다) 색조변화측정

미생물 발효색소의 색조는 색차계(CM-3500d, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였으며 L (명도), a (적색도), 그리고 b (황색도) 값으로 나타내었다.

(라) 배 미성숙과 동결건조 암갈색 색소 첨가 농도 설정

배 미성숙과 색소의 농도는 배지량의 0.25%, 0.5%, 1.0%로 농도를 달리하여 첨가하여 색소의 변화를 2일 간격으로 측정하였다.

(마) 배 미성숙과 발효 색소 제조

진균류인 *Aspergillus oryzae*와 3종의 *Monascus* sp.은 PDB 액체배지에 농도를 달리한 배 미성숙과 색소를 첨가 후 전배양한 균주를 5%(v/v) 농도로 접종하여 총 부피가 150 mL가 되도록 하였다. 진탕배양기에서 25°C, 130rpm으로 *Aspergillus oryzae*는 4일간, 3종의 *Monascus* sp.는 7일간 배양하였고 48시간 간격으로 배양액 15 mL를 취하였다. 48시간 간격으로 취한 배양액은 1분 동안 sonication을 행한 후 여과(No. 6, Whatman)하였고 얻어진 여액을 대상으로 8,000 rpm, 4°C로 원심분리한 상층액을 취하여 Hunter L, a, b 값을 측정하여 색조 변화를 보인 미생물을 발효미생물로 최종 선발하였다.

(3) 홍국균을 이용한 미생물 발효색소 제조

(가) 나주배 미성숙과 암갈색 색소 첨가 농도 및 발효시간 설정

배 미성숙과 암갈색 색소의 첨가 농도는 배지량의 0%, 0.25%, 0.5%, 1.0%, 2%, 4%, 6%, 10% 농도로 첨가하여 적색소로의 변환을 경시적으로 측정하였다. PDB 액체배지에 농도를 달리한 배 미성숙과 색소를 첨가 후 전배양한 균주를 5% (v/v) 농도로 접종하여 총 부피가 150 mL가 되도록 하였다. 진탕배양기에서 25°C, 130 rpm으로 21일간 배양하였고 48시간 간격으로 배양액 15 mL를 취하였다. 48시간 간격으로 취한 배양액은 1분 동안 sonication을 행한 후 원심분리(8,000 rpm, 4°C, VS-15CFN)하였다. 원심분리 후 얻어진 상층액을 취하여 Hunter 색도계를 이용하여 L, a, b 값을 측정하여 색조 변화를 측정하여 적정 발효시간을 설정하였다.

(나) 배 미성숙과 발효 색소의 DPPH Radical-scavenging 활성 평가

유과발효물 3 µL 또는 20 uL에 Tris buffer (0.01M, pH 7.4) 488 µL 또는 480 µL를 첨가 후 500 µM DPPH ethanol 용액(최종농도 250 µM) 500 µL를 가하여 혼합한 후, 암소에서 30분간 반응시킨 뒤, 5분 동안 원심분리하여 얻어진 여과액을 HPLC 분석 시료로 사용하였다. DPPH radical-scavenging 활성은 blank와 시료의 DPPH radical 감소로 인한 HPLC chromatogram 상의 peak area의 차이로 평가하였다.



HPLC분석은 Octyl-80Ts column (4.6×150 mm, Tosoh, Tokyo, Japan)이 장착된 system에서 MeCN/H<sub>2</sub>O=6:4 (v/v)의 isocratic 용매계를 이용하여 517 nm (SPD-10A, Shimadzu, Kyoto, Japan)의 파장과 유속 1.2 mL/min (LC-6AD, Shimadzu)의 조건하에서 15분간 분석하였다.

(다) 배 미성숙과 발효 색소의 ABTS<sup>+</sup> Radical-scavenging 활성 평가

ABTS<sup>+</sup> radical 수용액(ABTS•<sup>+</sup>)은 7 mM ABTS<sup>+</sup> 수용액과 2.5 mM potassium persulfate 수용액을 95:5 (v/v)의 비율로 혼합 후 암소에서 반응 4℃, 12 h)시켜 조제하였다. 조제된 radical 수용액은 735 nm에서 흡광도가 0.7 ± 0.15가 되도록 EtOH로 희석하여 실험에 사용하였다. 배미성숙과 발효색소 100배 희석액에 80% EtOH를 첨가하여 총 부피가 150 μL가 되도록 하였고 희석된 ABTS•<sup>+</sup> 용액 150 μL를 각각 가하여 혼합 후 30분 동안 반응시켜 735 nm에서 흡광도값(Versa max microplate reader, Molecular Devices, USA)을 측정하였다. ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 정도는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{ABTS}^+ \text{ radical-scavenging activity (\%)} = [(\text{control} - \text{RS})/\text{control}] \times 100$$

(라) 나주배 미성숙과 적색 발효색소를 이용한 염료 가능성 평가

염료는 앞서 제조한 나주배 미성숙과 적색 발효색소 2 g과 매염제인 소석회를 이용하였으며, 피염물인 직물은 면직물 백포를 사용하였다. 피염물의 실용가능성을 검토하기 위해 시험포를 나주배 미성숙과 적색 발효색소로 염색 후 세탁견뢰도, 마찰견뢰도, 땀견뢰도, 일광견뢰도, 색조를 평가하였다. 세탁견뢰도는 KS K ISO 105 C06, 마찰견뢰도는 KS K ISO 105 B02, 땀견뢰도는 KS K ISO 105 X12, 일광견뢰도는 KS K ISO 105 E04의 방법에 따라 조사하였다.

## 2) 결과

(1) 배 미성숙과 동결건조 암갈색 색소 추출

가항의 제조공정을 통해 얻어진 배 미성숙과 동결건조 분말 3.5 kg을 발효색소 제조에 이용하였다.

(2) 배 미성숙과의 발효 미생물 선별 및 농도설정

색조변화를 보인 미생물 균주를 선별하기 위해 선행연구에서 발효 후 높은 항산화활성 상승을 보인 균주인 *Aspergillus oryzae*와 적색 색소를 생산하는 균주인 3종의 *Monascus sp.*를 접종하여 발효시켰다. 각각의 미생물을 접종한 발효색소를 대상으로 Hunter L, a, b 값을 측정하였다. *Aspergillus oryzae*는 명도를 나타내는 Hunter L이 증가하였고 적색도를 나타내는 Hunter a 값과 황색도를 나타내는 Hunter b 값은 명도변화와 부의 상관관계를 나타냈다. 즉, Hunter a 값과 b 값은 발효 2일째에 급격히 감소하였으면 반대로 Hunter L 값은 증가하는 경향을 보였고 발효 4일째에 육안으로도 투명해 지는 현상이 관찰하였다. 따라서 *Aspergillus*

*oryzae*는 색조 변화 미생물 보다는 수질 정화 미생물로 적합할 것이라고 판단되었다(그림 IV-26, IV-27).

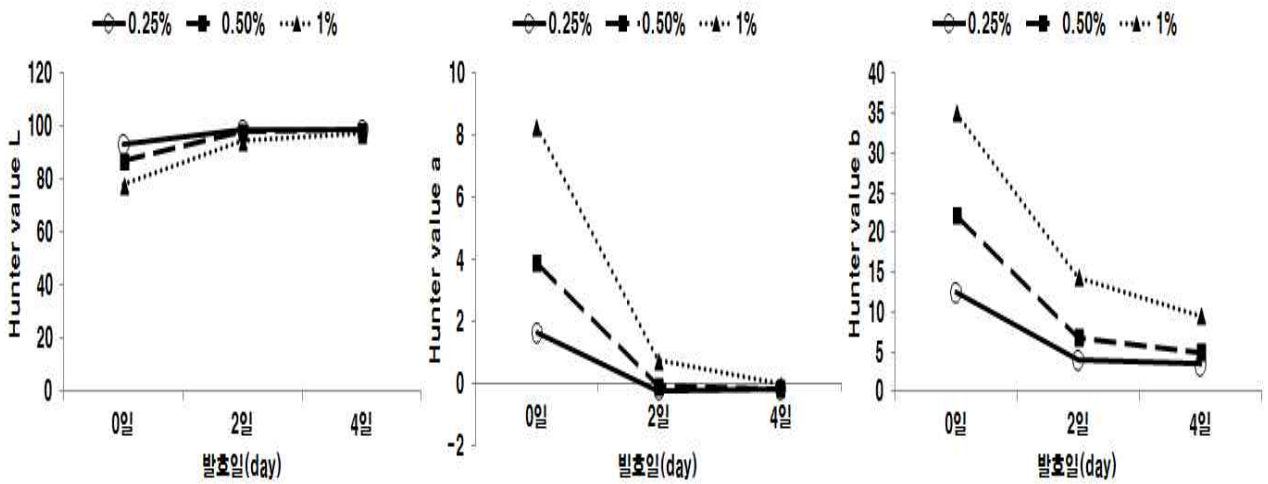


그림 IV-26. *Aspergillus oryzae*를 이용한 나주배 미성숙과 색소의 색조 변화

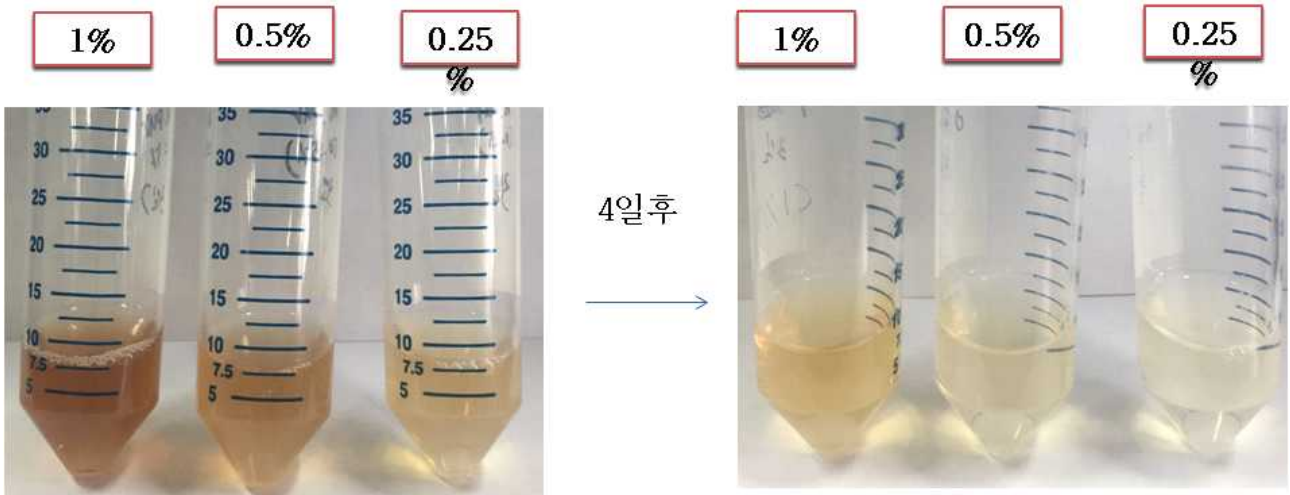


그림 IV-27. *Aspergillus oryzae*를 이용한 나주배 미성숙과 색소의 색조 변화

반면 배 미성숙과 암갈색 색소는 *Monascus purpureus*, *Monascus pilosus*, *Monascus ruber*에 의해 변색이 유도됨이 확인되었다. *Monascus purpureus*의 경우 배지량의 1.0% 배 미성숙과 암갈색 색소를 첨가하였을 때 가장 높은 Hunter a값의 증가를 보였으며, Hunter b 값은 발효 5일째까지 감소하다 발효 7일에 증가하는 경향을 보였다. *Monascus pilosus*의 경우 1% 배 미성숙과 색소를 첨가했을 때 가장 높은 Hunter a값은 증가를 보였고 발효 5일째까지 감소하는 경향을 보이다가 발효 7일째 급격한 증가경향을 보였으며, Hunter b값 역시 발효 5일째까지 감소하다 발효 7일째에 증가하는 경향을 보였다. *Monascus ruber*의 경우 1% 배 미성숙과 색소를 첨가하여 7일간 발효하였

을 때 Hunter a와 b값이 가장 높게 관찰되었지만 발효전보다 낮았다. 반면 0.25% 배 미성숙과 색소를 첨가하였을 때 발효전보다 가장 큰 Hunter a 값 증가를 보인 것으로 평가되었다(그림 IV-28~30).

일련의 실험을 통해 *Aspergillus oryzae*와 3종의 *Monascus sp.*를 이용하여 발효한 결과 암갈색 색소에서 적색으로 색조변화를 일으키는 균주인 *Monascus sp.*가 발효색소 제조에 적합한 균주인 것으로 평가되었다. 3종의 *Monascus sp.*를 접종한 후 발효 7일까지 색조변화를 관찰한 결과 Hunter a값이 감소하다가 증가하는 경향을 보였다. 특히 발효 7일에 적색도를 나타내는 Hunter a값이 증가한 경향을 보아 이후에도 적색도가 급격하게 증가할 것으로 판단되었다. 따라서 이 3종의 *Monascus sp.*를 대상으로 발효시간 및 첨가량에 따른 변화양상을 재검토하여 적색도가 높게 발현되는 발효시간 및 배 미성숙과 첨가량을 산출하고자하였다.

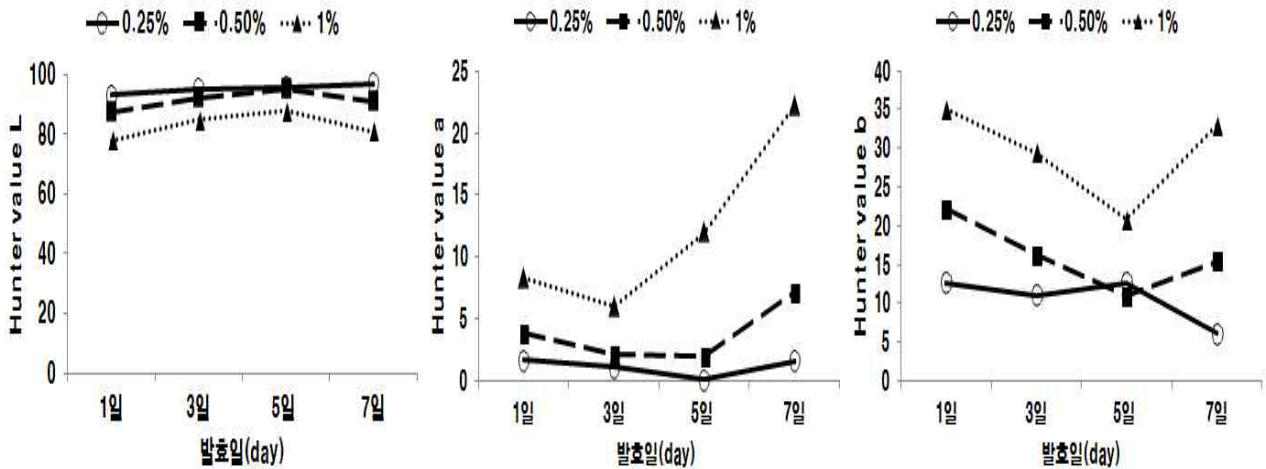


그림 IV-28. *Monascus purpureus*를 이용한 나주배 미성숙과 색소의 색조 변화

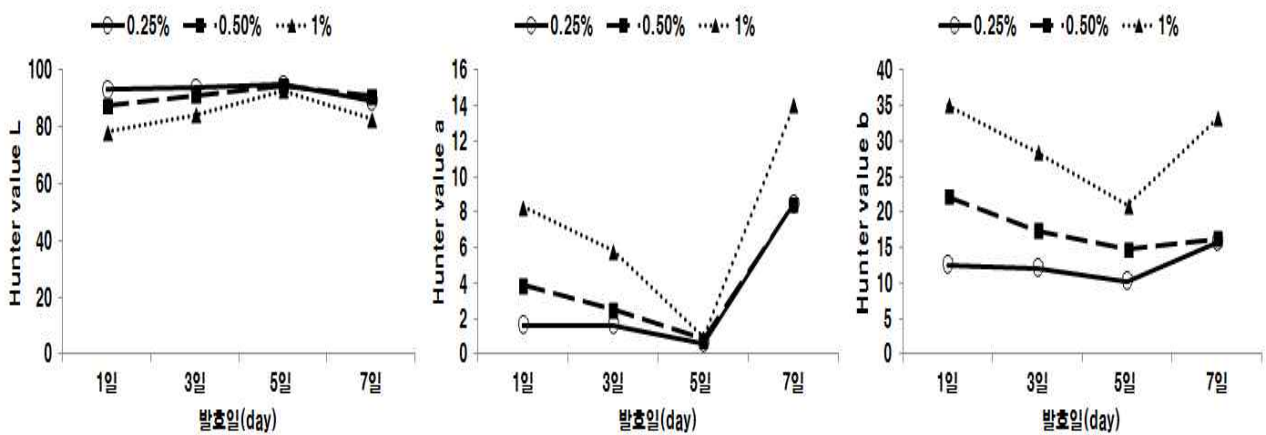


그림 IV-29. *Monascus pilosus*를 이용한 나주배 미성숙과 색소의 색조

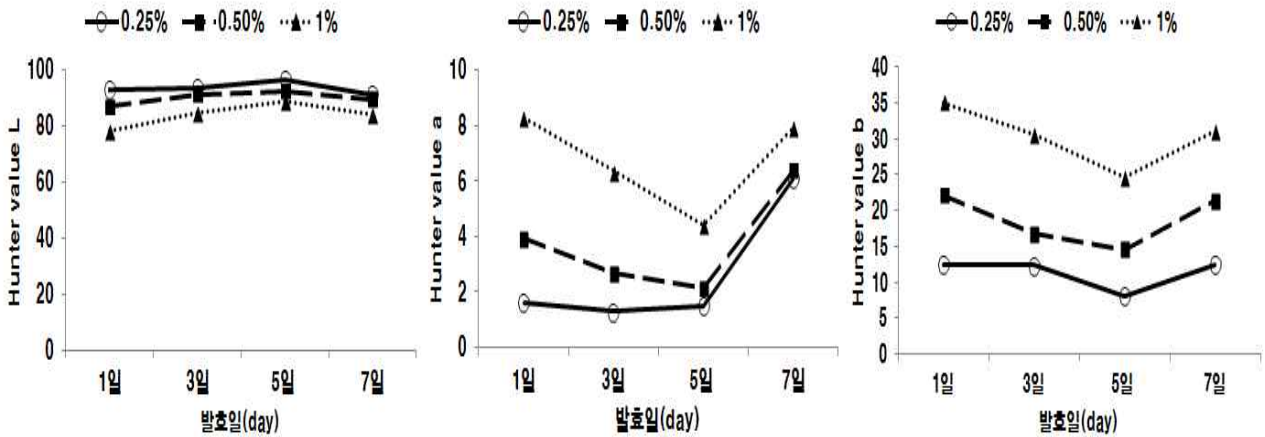


그림 IV-30. *Monascus ruber*를 이용한 나주배 미성숙과 색소의 색조 변화

### (3) 홍국균을 이용한 미생물 발효색소 제조

각 미생물들의 나주배 미성숙과 암갈색 색소 첨가량에 따른 색조변화 및 최적첨가량을 발효 후 21일 동안 검토한 결과, 나주배 미성숙과 암갈색 색소 농도가 미생물의 적색변환능에 영향을 미치고 있음을 알 수 있었다. *Monascus purpureus*의 경우 Hunter L 값이 전체적으로 감소하는 경향을 보였고 적색도 및 황색도를 나타내는 Hunter a, b 값은 배 미성숙과 동결건조 분말 첨가농도가 0.25%, 1.0%일 때 증가하는 경향을 관찰하였으며, 0.25%에 가장 높은 증가를 보였다(그림 IV-31). *Monascus pilosus*의 경우 역시 Hunter L 값이 전체적으로 감소하는 경향을 보였고 적색도 및 황색도를 나타내는 Hunter a, b 값은 배 미성숙과 동결건조 분말 첨가농도가 1.0%일 때 증가하는 경향을 관찰하였다(그림 IV-32). *Monascus ruber*의 경우 역시 Hunter L 값이 전체적으로 감소하는 경향을 보였다. Hunter a 값은 1%과 0.5%에서 증가하는 경향을 보였고 Hunter b 값은 첨가농도가 0.25%, 0.5%, 1%에서 증가하는 경향을 보였다(그림 IV-33). 갈색으로부터 적색계 색상으로 변색현상을 보인 대부분의 실험구는 배 미성숙과 색소 첨가농도가 0.25~1%였으며 발효 17일째까지 Hunter a 및 b 값이 급격히 증가하다가 이후부터는 큰 변화 없이 일정하게 유지되었다. 따라서 적정 발효시간은 17일인 것으로 평가되었으며, 발효 17일째 나주배 미성숙과 색소는 그림 IV-34에 제시되어있다. 또한 색소 첨가량이 2% 이상부터 적색도를 나타내는 Hunter a와 황색도를 나타내는 b값이 발효전보다 낮은 경향을 보였으며 적색으로 변색이 관찰되지 않았다. 이는 배 미성숙과 색소의 강한 항산화 활성이 미생물의 생육을 저해했기 때문으로 판단된다.

한편 배 미성숙과 암갈색 색소의 색조 변화가 미생물에 의한 것인지를 확인하기 위하여 배 미성숙과 암갈색 색소 첨가 배지(배지량의 0.25~1% 배 미성숙과 암갈색 색소 첨가)에 미생물을 첨가하지 않고 미생물 첨가군들과 동일 조건에서 색조 변환여부를 검토하였다. 그 결과

(data 생략) 미생물 첨가군들에서 관찰되었던 적색계통의 색상 발현은 관찰되지 않았다. 이 결과로부터 본 실험에서 관찰된 배 미성숙과 암갈색 색소의 색조변환은 산화 등의 화학적 변화가 아니라 첨가된 각 미생물에 의해 유도된 생물학적 변화임이 확인되었다.

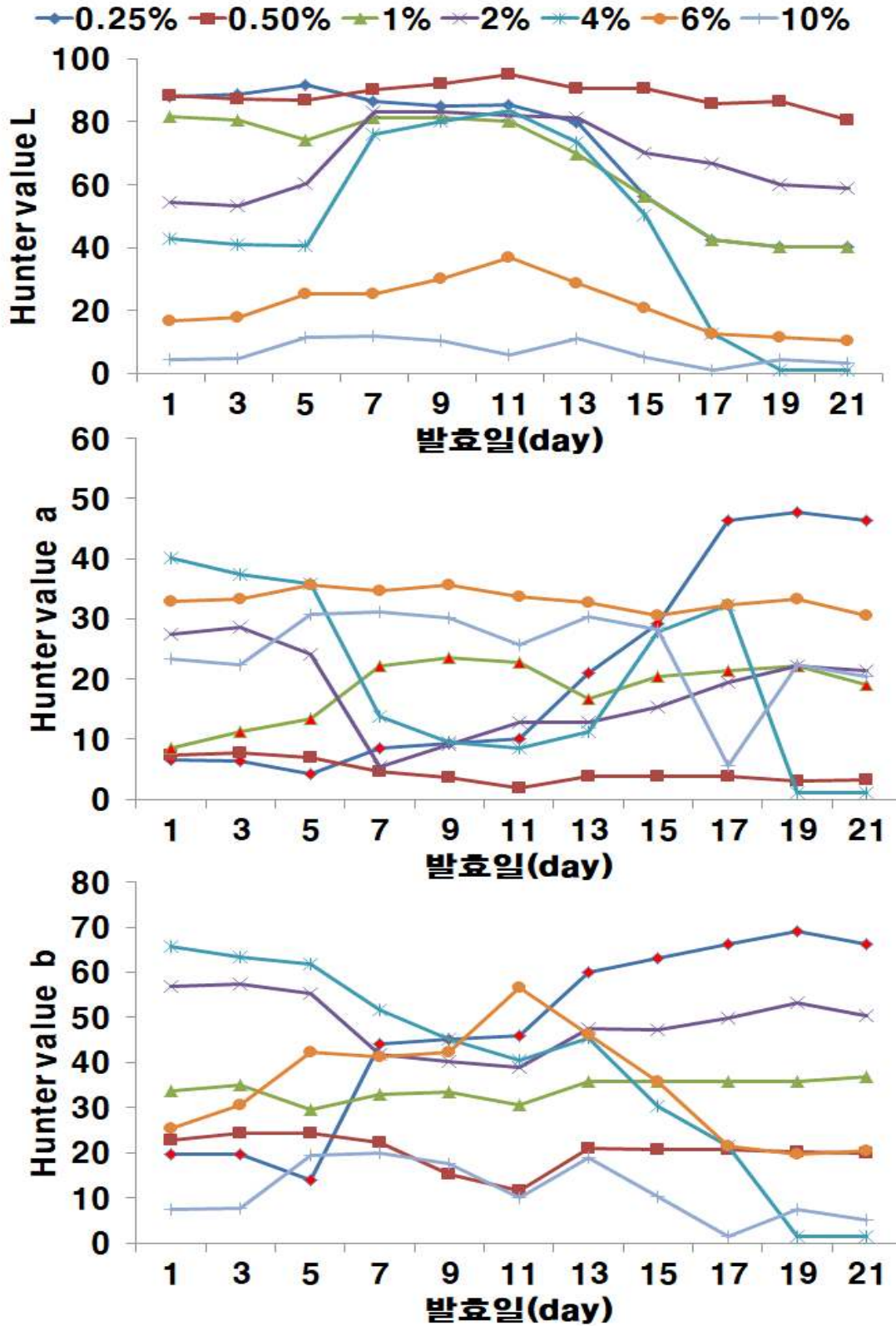


그림 IV-31. *Monascus purpureus*를 이용한 배 유과 암갈색 색조 변화.

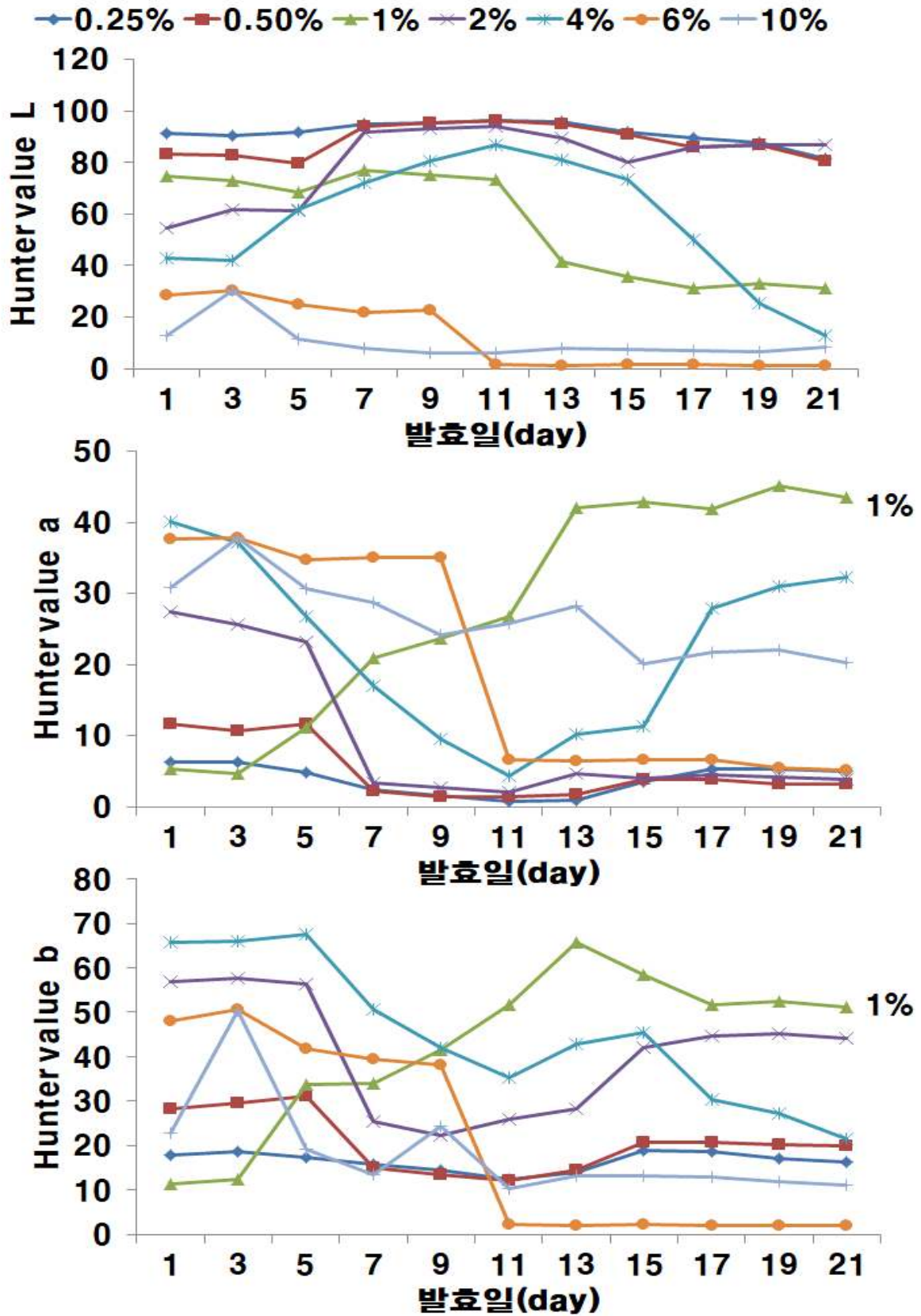


그림 IV-32. *Monascus pilosus*를 이용한 배 유과 암갈색 색조 변화.

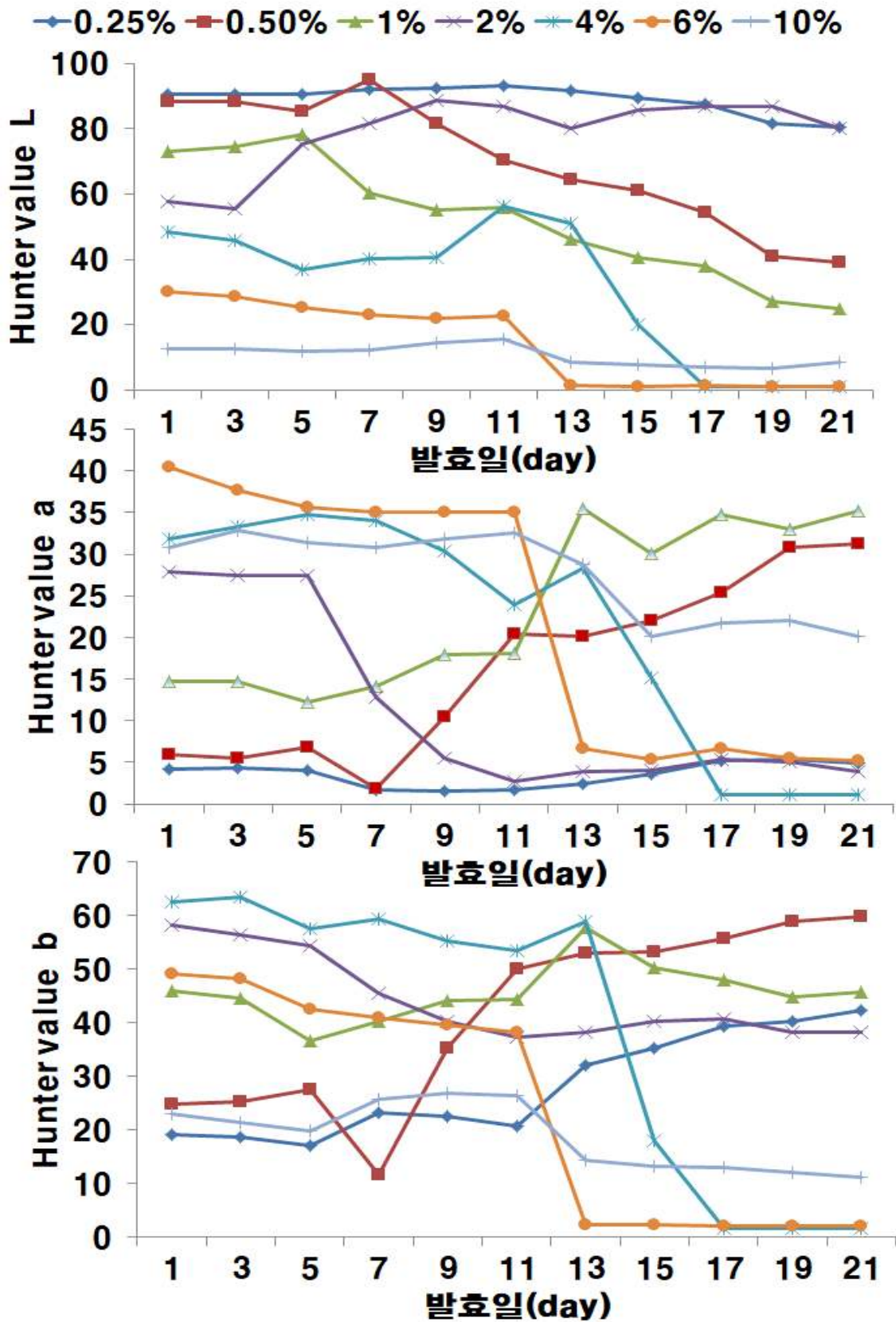
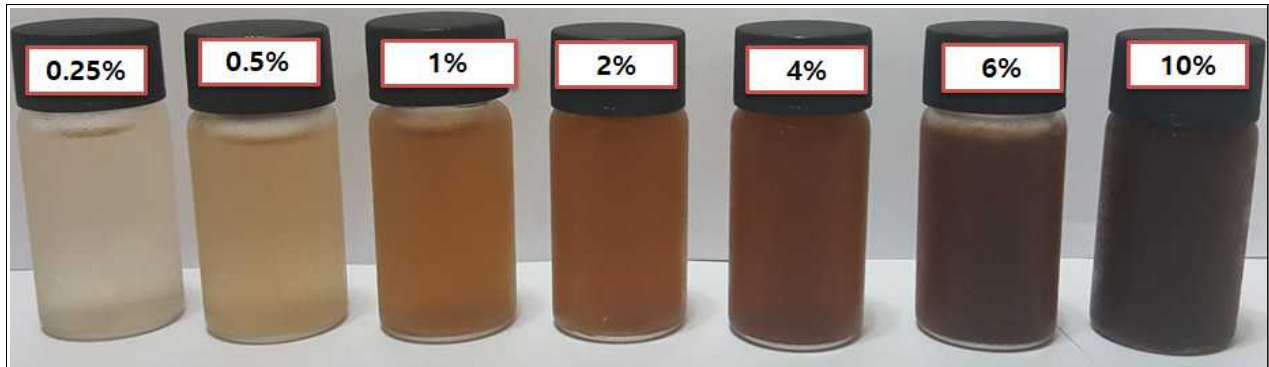
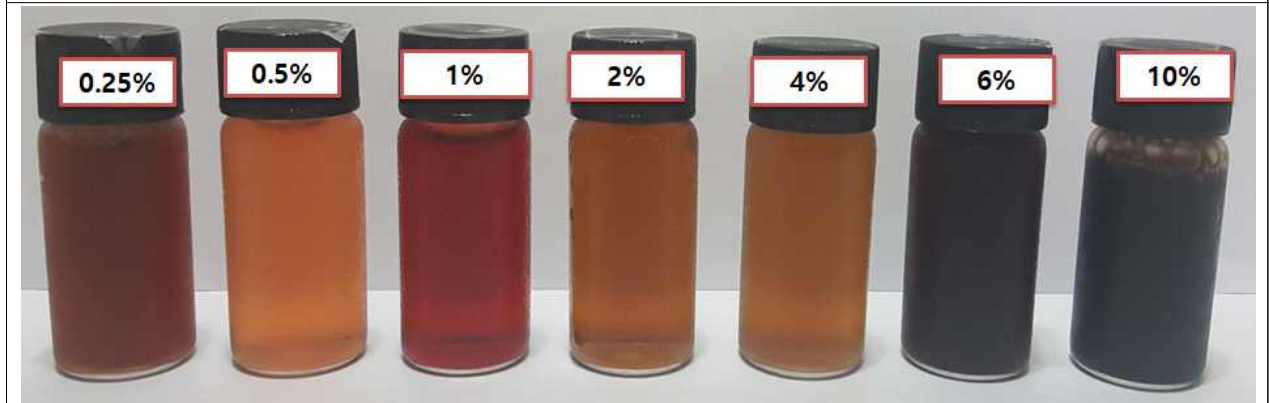


그림 IV-33. *Monascus ruber*를 이용한 배 유과 암갈색 색조 변화.



발효전



*Monascus purpureus*를 이용한 배 유과 암갈색 색소 변화



*Monascus pilosus*를 이용한 배 유과 암갈색 색소 변화



*Monascus ruber*를 이용한 배 유과 암갈색 색소 변화

그림 IV-34. 발효 17일 후 나주배 미성숙과 홍국균 발효 색소.



(4) 홍국균을 이용한 미생물 발효색소의 생리활성 평가

(가) DPPH radical-scavenging 활성 평가

DPPH를 이용한 본 항산화 활성평가는 홍국균이 생산한 적색 색소 성분에 의한 흡광도 값의 영향을 배제하기 위해 spectrophotometer를 이용하지 않고, DPPH를 선택적으로 분석 가능한 HPLC 분석법을 적용하였다. 앞의 항에서 기술한 바와 같이 적정 발효시간으로 평가된 17일째의 나주배 미성숙과 적색 발효색소 3  $\mu\text{L}$  및 20  $\mu\text{L}$ 를 대상으로 DPPH(최종농도, 250  $\mu\text{M}$ ) radical-scavenging 활성을 평가하였다. 발효 17일째의 배 미성숙과 색소 첨가 농도별 발효색소의 DPPH radical-scavenging 활성은 발효전보다 낮았지만 홍국균만 배양한 배양액보다 높은 활성을 보였다(그림 IV-35~36). 또한 배 미성숙과 동결건조 분말 첨가농도가 2.0%일 때를 제외하고 농도 의존적으로 DPPH radical-scavenging 활성이 증가하는 경향을 보였다. 배 미성숙과 암갈색 색소에 *Monascus purpureus*를 접종하여 21일까지 발효한 발효색소를 대상으로 DPPH radical-scavenging 활성을 평가한 결과 발효가 진행될수록 DPPH radical-scavenging은 감소하는 현상을 보였다. 따라서 발효 17일째 적색도를 나타내는 Hunter a 값이 가장 높지는 않으나 21일째에서 DPPH radical-scavenging 현저히 감소하는 것을 보아 항산화 활성이 높은 적색 발효색소를 제조하기 위해서 17일이 적당한 것으로 평가되었다(그림 IV-37~38).

\* 17일 배양액 3  $\mu\text{L}$ 를 사용

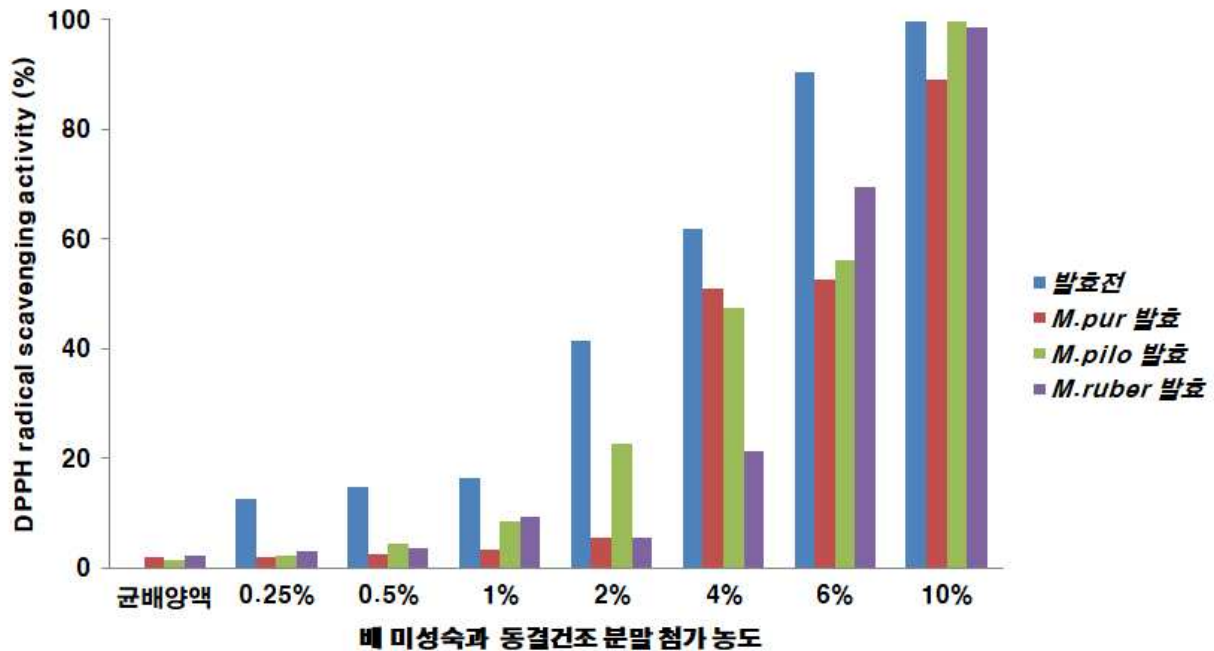


그림 IV-35. 나주배 미성숙과 홍국균 발효 색소의 DPPH radical-scavenging(배양 후 17일째).

\* 17일 배양액 20 uL를 사용

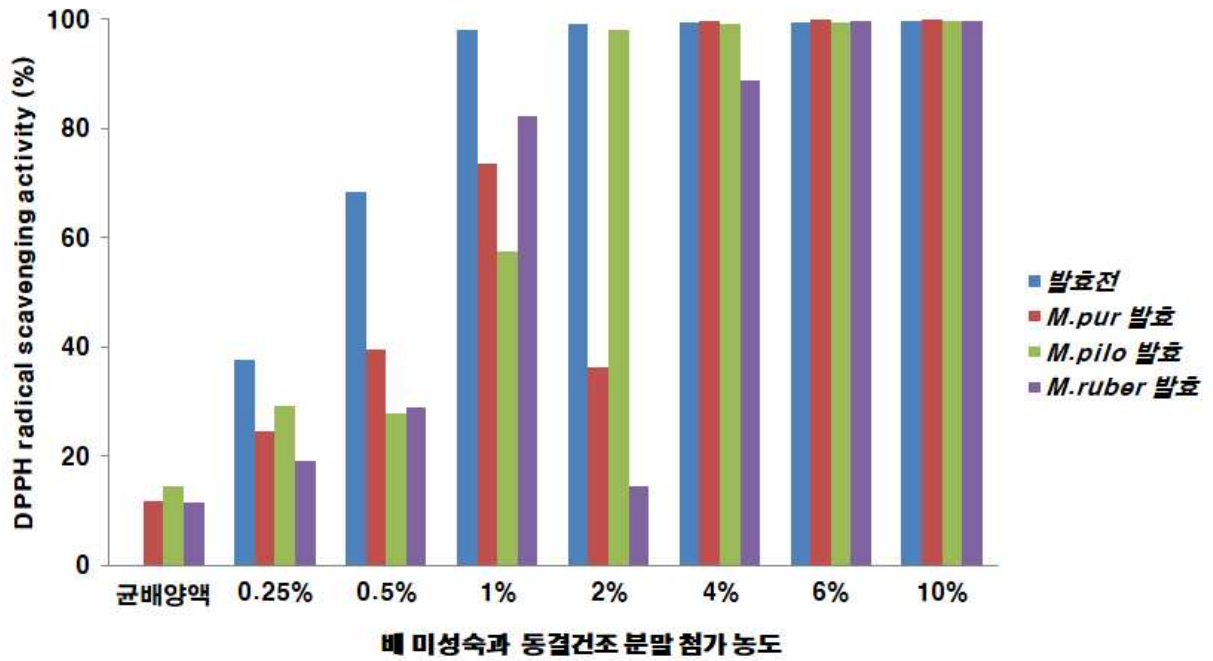


그림 IV-36. 나주배 미성숙과 홍국균 발효 색소의 DPPH radical-scavenging(배양 후 17일째).

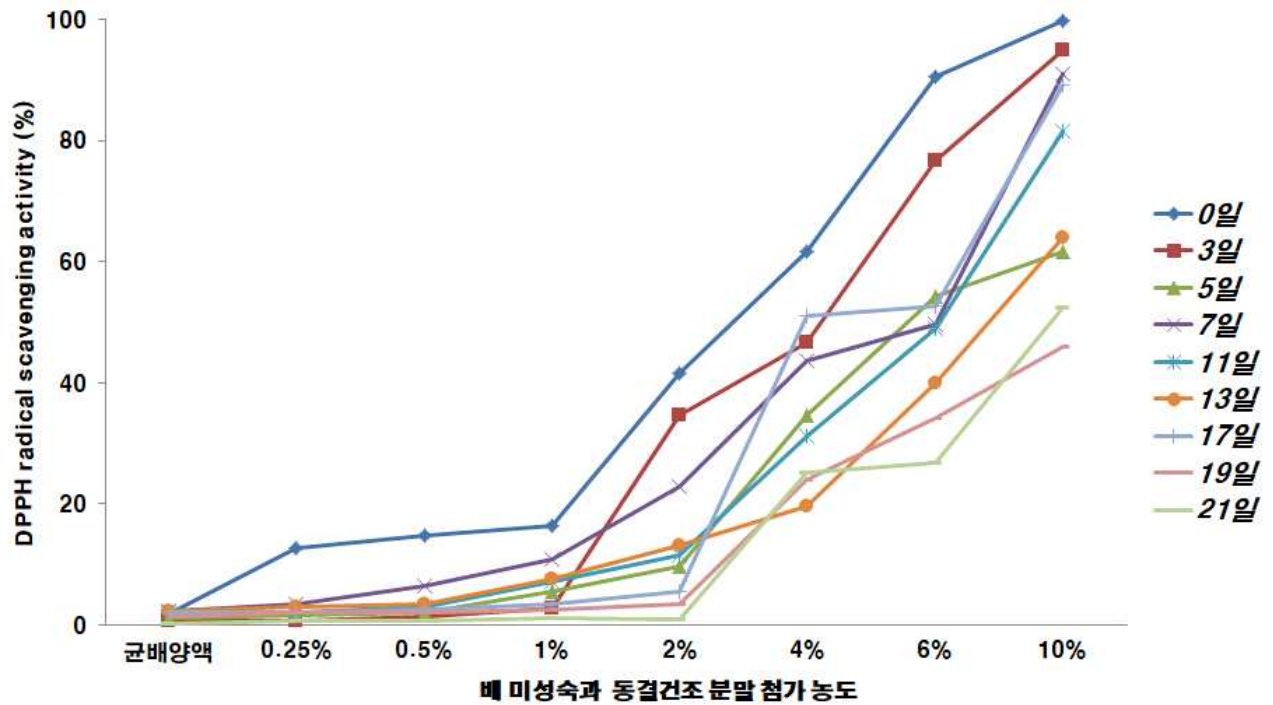


그림 IV-37. 나주배 미성숙과 색소를 *M. purpureus*로 발효 시 경시적인 DPPH radical-scavenging 변화 (배양액 3  $\mu$ L 반응).

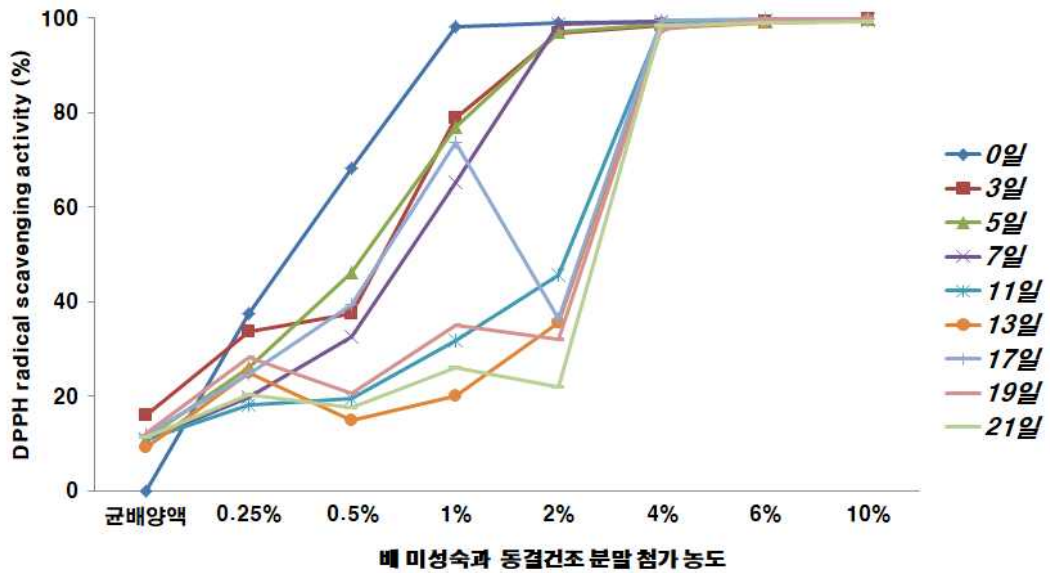


그림 IV-38. 나주배 미성숙과 색소를 *M. purpureus*로 발효 시 경시적인 DPPH radical-scavenging 변화 (배양액 20  $\mu$ L 반응).

(나) ABTS<sup>+</sup> Radical-scavenging 활성 평가

앞의 항에서 기술한 바와 같이 적정 발효시간으로 평가된 17일째의 나주배 미성숙과 적색 발효색소를 100배로 희석한 샘플을 대상으로 ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성을 평가하였다. 발효 17일째의 배 미성숙과 색소 첨가 농도별 발효색소의 ABTS<sup>+</sup> Radical-scavenging 활성 역시 발효전보다 낮았지만 홍국균만 배양한 배양액보다 높은 활성을 보였다(그림 IV-39).

앞서 시행한 DPPH radical-scavenging 활성 평가와 ABTS<sup>+</sup> Radical-scavenging 활성 평가에서 나타난 것처럼 홍국적색소는 항산화 활성이 뛰어나지 않았다. 반면 배 미성숙과 색소를 발효하여 생성된 발효 색소는 홍국균이 생산하는 적색소보다 높은 항산화 활성을 보였기 때문에 항산화 활성이 향상된 적색소가 제조되었다.

- 3종의 *Monascus sp.* 17일 배양액 100배 희석한 것을 사용

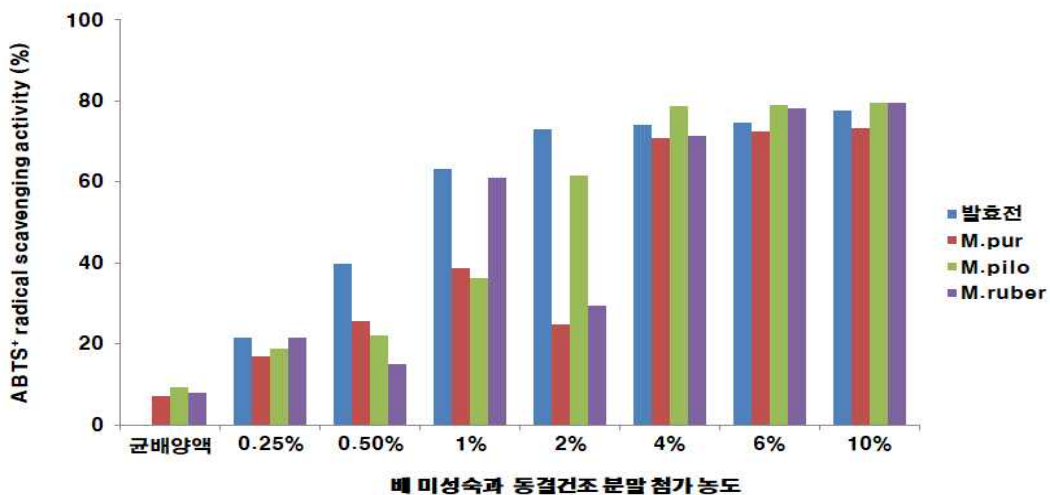


그림 IV-39. 나주배 미성숙과 홍국균 발효 색소의 ABTS<sup>+</sup> Radical-scavenging(배양 후 17일째).

(5) 나주배 미성숙과 적색 발효색소를 이용한 염료 가능성 평가

나주배 미성숙과 적색 발효색소를 이용한 면직물 염색 결과는 그림 IV-40과 표 IV-26~27에 제시되었다. 표 IV-26에 제시된 바와 같이 배미성숙과 발효색소를 이용하여 염색된 직물의 Hunter L 값은 82.49, Hunter a값은 5.79, Hunter b 값은 10.73이었고 육안으로 볼 때 옅은 적색이었다. 또한 나주배 미성숙과 발효색소를 이용한 염색 가능성을 검토하기 위해 면직물 시험포에 대한 매염후의 색조, 세탁견뢰도, 일광견뢰도, 마찰견뢰도, 땀견뢰도를 평가하였으며 결과는 표 IV-27에 제시되었다. 마찰견뢰도는 전항목이 4-5급으로 우수하였으며, 세탁 및 땀견뢰도의 오염 역시 4-5급으로 우수하게 나타났다. 세탁견뢰도의 변퇴색은 3급, 땀견뢰도의 변퇴색은 4급, 일광견뢰도는 3-4급으로 양호하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 나주배 미성숙과 발효색소는 염착성이 좋고 견뢰도도 우수한 것으로 판단되었다. 따라서 나주배 재배과정 중 적과 시 폐기되는 미성숙과를 이용하여 발효시켰을 때 생성된 색소는 천연염색에 활용 가능 자원이라고 판단되었다.



그림 IV-40. 나주배 미성숙과 홍국균 발효 색소를 이용한 천연염색.

표 IV-26. 배미성숙과 발효색소를 이용하여 염색된 직물의 Hunter L, a, b 값

	L	a	b
발효색소 염색 직물	82.49	5.79	10.73

표 IV-27. 배미성숙과 발효색소를 이용하여 염색한 직물의 견뢰도

			등급	방법
세탁	변퇴색		3	KS K ISO 105 C06
	오염(면)		4-5	
	오염(모)		4-5	
일광	4급 표준 조광		3-4	KS K ISO 105 B02
마찰견뢰도	경사	건조	4-5	KS K ISO 105 X12
		습윤	4-5	
	위사	건조	4-5	
		습윤	4-5	
땀견뢰도	산성	변퇴색	4	KS K ISO 105 E04
		오염(면)	4-5	
		오염(모)	4-5	
	알카리성	변퇴색	4	
		오염(면)	4-5	
		오염(모)	4-5	

#### 다. 나주배 색소의 물리·화학적 특성 조사

##### 1) 재료 및 방법

###### (1) 실험재료

본 실험에 사용한 시료는 나주배 미성숙과 동결건조 색소분말(A), 나주배 성숙과 동결건조 색소분말(B), 맑은 배즙에 미성숙과 추출물과 한약재료를 배합한 음료(C, 이좋은 산소에서 개발한 미성숙과 음료), 나주배 미성숙과 색소에 포도당과 과당을 1:1(w/w)로 첨가하여 14° Brix 까지 조정한 음료(D)를 -30℃ 냉동고에 저장해 두면서 실험에 사용하였다.

###### (2) 첨가 농도 설정

나주배로부터 추출한 색소 및 나주배를 이용하여 조제한 음료의 특성 및 안전성을 조사하기 위해 각각의 샘플을 농도별로 조제한 음료의 특성을 조사하였다. 각 농도별로 조제한 샘플은 나주배 색소의 최대 흡수파장인 370 nm (Versa max microplate reader, Molecular Devices, USA)에서 흡광도를 측정하였고 최대 흡광도(OD) 값의 2/3가 되는 지점의 농도를 선택하여 저장기간 중 색조변화를 평가하였다.

(3) 색소의 저장 안정성

다의 나)항에서 서술한 봐와 같이 나주배로부터 추출한 색소 및 나주배를 이용하여 제조한 음료의 최대 흡광도(OD) 값의 2/3가 되는 지점의 농도를 선택하여 실온에 보존하면서 48시간 간격으로 색차계(CM-3500d, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 색조의 변화를 분석하였다.

(4) Ascorbic acid (AsA), 2,3-dihydroxybenzoic acid (DHBA)의 영향

AsA와 DHBA의 영향은 나주배 색소 용액을 표 IV-28와 같이 제조하여 색소 용액에 미치는 영향을 조사하였다. AsA 또는 DHBA를 첨가한 색소 용액을 실온 보존하면서 48시간 간격으로 색차계(CM-3500d, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 색조의 변화를 분석하였다.

표 IV-28. 시험 용액 100 mL 당 ascorbic acid 및 2,3-dihydroxy benzoic acid 첨가 농도(mg/100 mL)

	Ascorbic acid	2,3-Dihydroxy benzoic acid	Ascorbic acid 와 2,3-Dihydroxy benzoic acid 1:1(w/w) mix
1% A	1	1	1
12% B	10	10	10
15% C	20	20	20
1% D	30	30	30

(5) 온도의 영향

온도의 영향은 상온 및 40℃로 저장하면서 색소용액에 미치는 영향을 조사하였다. 표 IV-28과 같이 제조한 색소용액을 실온과 40℃에서 15일간 보존하면서 48시간 간격으로 색차계(CM-3500d, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 색조의 변화를 분석하였다.

(6) pH의 영향

나주배 색소의 pH 영향을 조사하기 위해 완충용액을 사용하여 pH를 3~10까지 평가하였다. pH 3.0에서 8.0까지는 MacIlvaine 완충용액(0.1 M citric acid+0.2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)을 사용하였으며, pH 9.0에서 10.0은 Carbonate- Bicarbonate 완충용액(0.2 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + 0.2 M NaHCO<sub>3</sub>)을 사용하여 색소용액을 제조하였다. pH별로 제조된 색소용액은 test tube에 30 mL씩 넣고 4시간 방치한 후 370 nm (Versa max microplate reader, Molecular Devices, USA)에서 흡광도를 측정하였다.

## 2) 결과

### (1) 첨가농도 설정

나주배 색소의 첨가농도를 설정하기 위해 나주배로부터 추출한 색소를 농도별로 조제 후 최대 흡수 최대 흡수파장인 370 nm (Versa max microplate reader, Molecular Devices, USA)에서 흡광도를 측정하였고, 최대 흡광도(OD) 값의 2/3가 되는 지점의 농도로 하였다. 나주배 미성숙과 색소의 농도에 따른 흡광도는 그림 IV-41에 제시하였다. 나주배 미성숙과 색소(A)의 흡광도 값은 색소 농도 2%까지 농도 의존적으로 상승하다가 그 이후부터는 큰 변화 없이 일정하게 유지되었으며, 최대 흡광도(OD) 값의 2/3가 되는 지점의 농도는 1%로 평가되었다. 나주배 성숙과 색소(B)의 농도에 따른 흡광도는 그림 IV-42에 제시하였다. 나주배 성숙과 색소의 흡광도 값은 색소 농도가 19%까지 농도 의존적으로 증가하였으며, 최대 흡광도 (OD) 값의 2/3가 되는 지점의 농도는 12%로 평가되었다. 맑은 배즙에 미성숙과 추출물과 한약 재료를 배합한 음료(C)의 농도에 따른 흡광도는 그림 IV-43에 제시하였다. 맑은 배즙에 미성숙과 추출물과 한약재료를 배합한 음료의 흡광도 값은 20%까지 농도 의존적으로 증가하였으며, 최대 흡광도(OD) 값의 2/3가 되는 지점의 농도는 15%였다. 나주배 미성숙과 색소에 포도당과 과당을 1:1(w/w)로 첨가하여 14° Brix까지 조정한 음료(D)의 농도에 따른 흡광도는 그림 IV-44에 제시되었다. 나주배 미성숙과 색소에 포도당과 과당을 1:1(w/w)로 첨가하여 14° Brix까지 조정한 음료의 흡광도 값은 색소 농도 2%까지 농도 의존적으로 증가하였고, 최대 흡광도 (OD) 값의 2/3가 되는 지점의 농도는 1%로 평가되었다. 결론적으로 나주배 색소의 적정 첨가 농도는 나주배 미성숙과 색소(A)는 1%, 나주배 성숙과 색소(B)는 12%, 맑은 배즙에 미성숙과 추출물과 한약 재료를 배합한 음료(C)는 15%, 나주배 미성숙과 색소에 포도당과 과당을 1:1(w/w)로 첨가하여 14° Brix까지 조정한 음료(D)는 1%로 평가되었다.

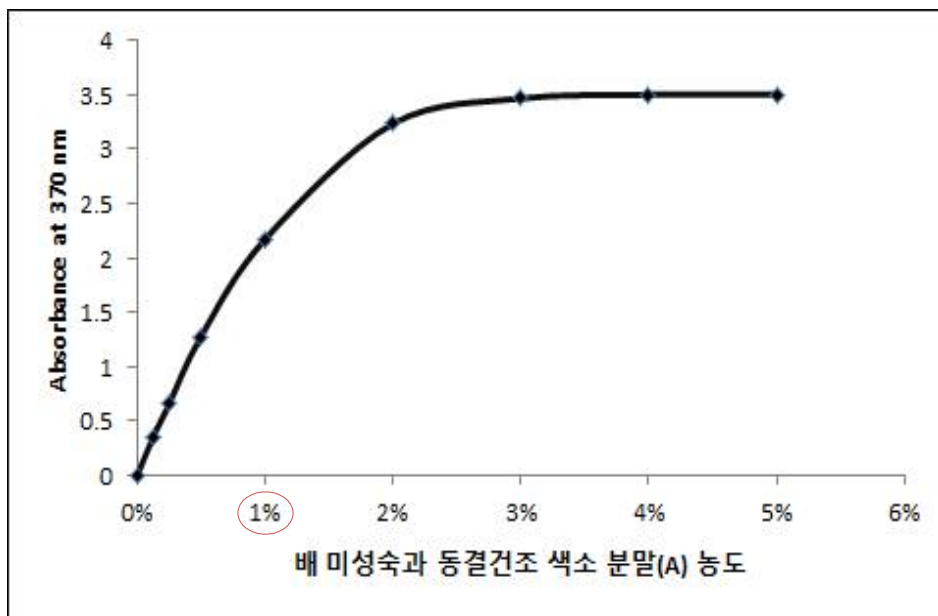


그림 IV-41. 배 미성숙과 동결건조 색소 분말(A) 농도 설정.

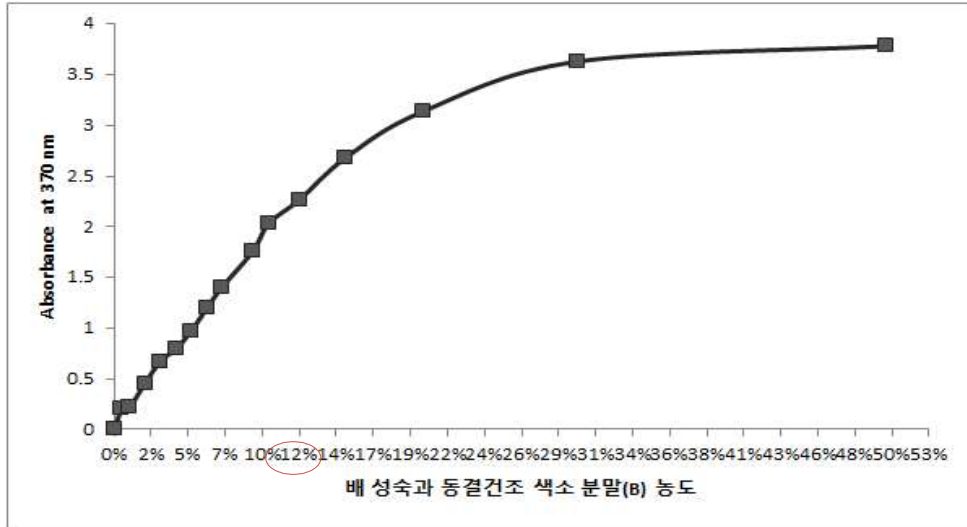


그림 IV-42. 배 성숙과 동결건조 색소 분말(B) 농도 설정.

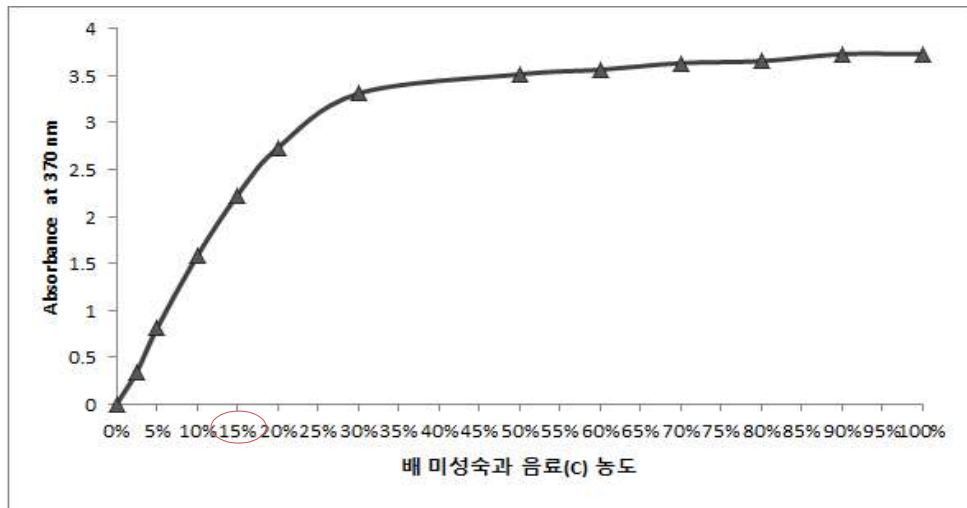


그림 IV-43. 맑은 배즙에 미성숙과 추출물과 한약 재료를 배합한 음료(C) 농도 설정.

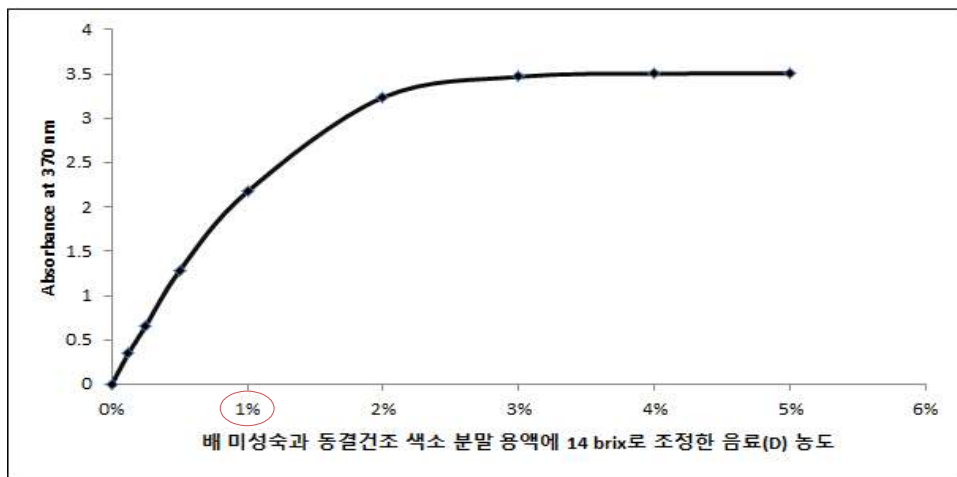


그림 IV-44. 나주배 미성숙과 색소에 포도당과 과당을 1:1(w/w)로 첨가하여 14 brix까지 조정  
한 음료(D) 농도 설정.



(2) 색소의 저장 안정성

저장기간 중 나주배 색소 및 음료의 경시적인 변화를 조사한 결과는 그림 IV-45~48에 제시하였다. 나주배 미성숙과 색소(A), 나주배 성숙과 색소(B), 나주배 미성숙과 색소에 포도당과 과당을 1:1(w/w)로 첨가하여 14° Brix까지 조정한 음료(D)를 실온에 15일간 저장하였을 경우 Hunter L 값이 증가하는 경향을 보였으며 Hunter a, b값이 감소하는 경향을 보였다. 반면 맑은 배즙에 미성숙과 추출물과 한약 재료를 배합한 음료(C)는 Hunter L 값이 감소하는 경향을 보였으며 Hunter a, b값은 증가하는 경향을 보였다.

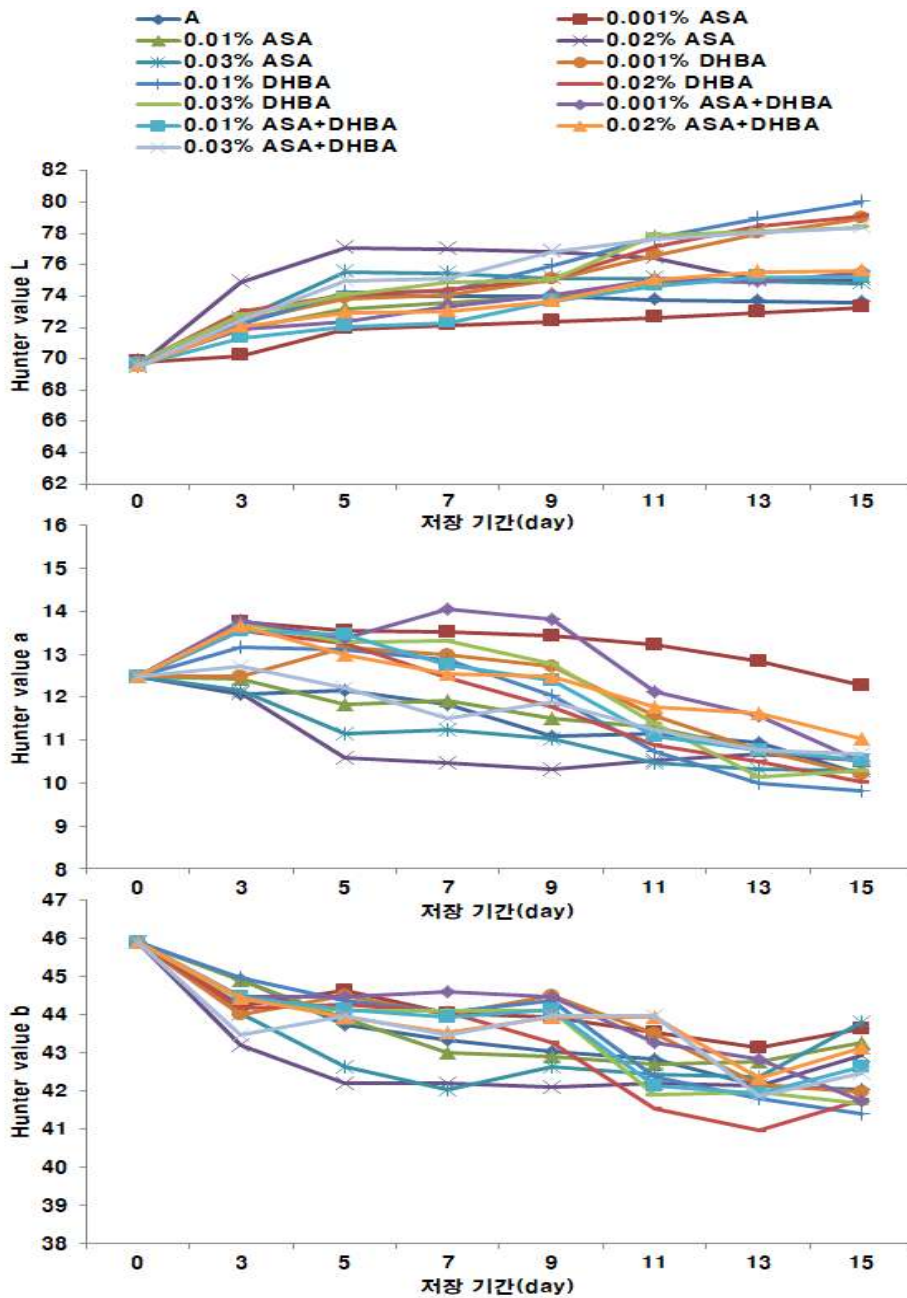


그림 IV-45. 저장기간에 따른 시험용액 A의 색조 변화(상온).

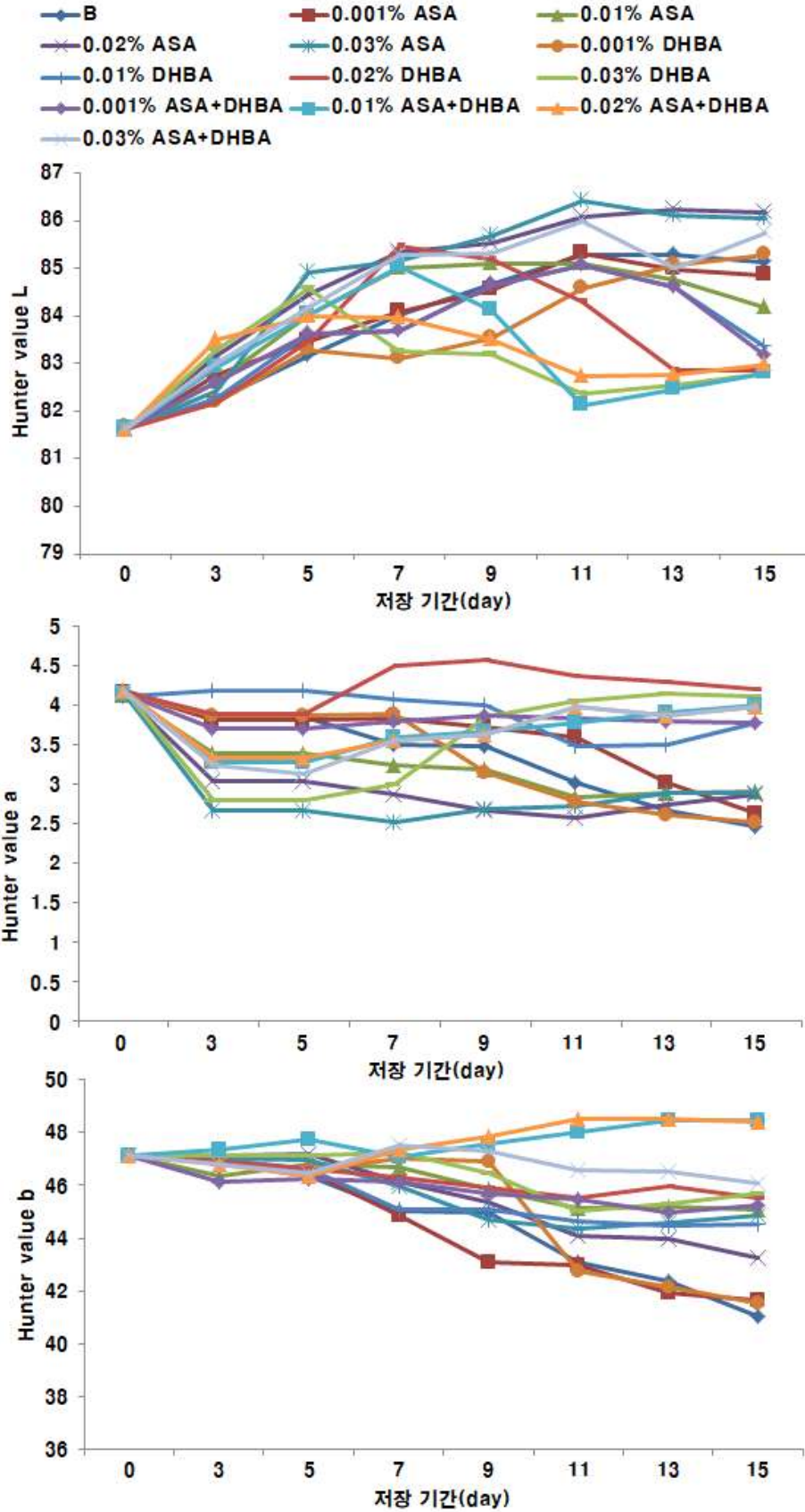


그림 IV-46. 저장기간에 따른 시험용액 B의 색조 변화(상온).

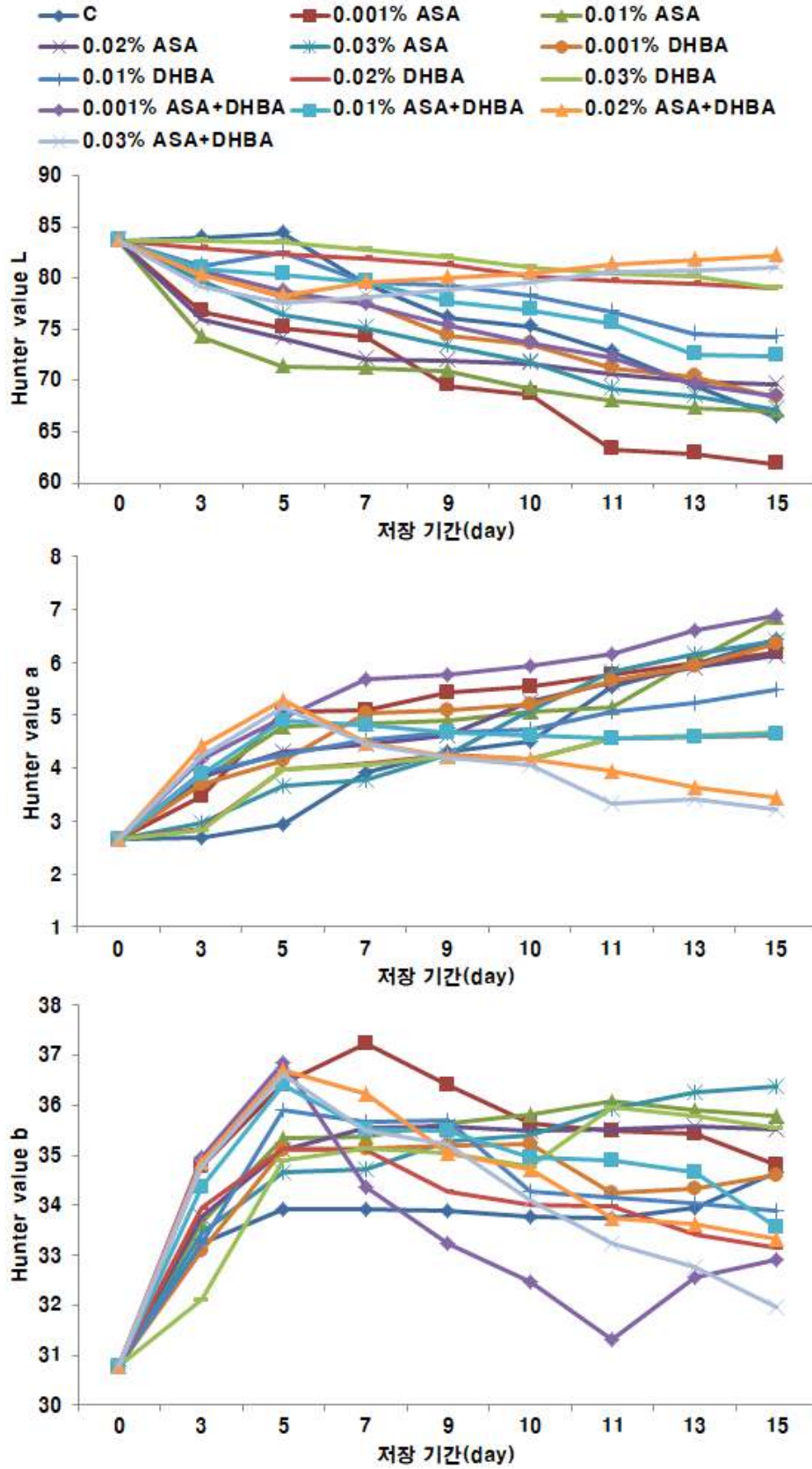


그림 IV-47. 저장기간에 따른 시험용액 C의 색조 변화(상은).

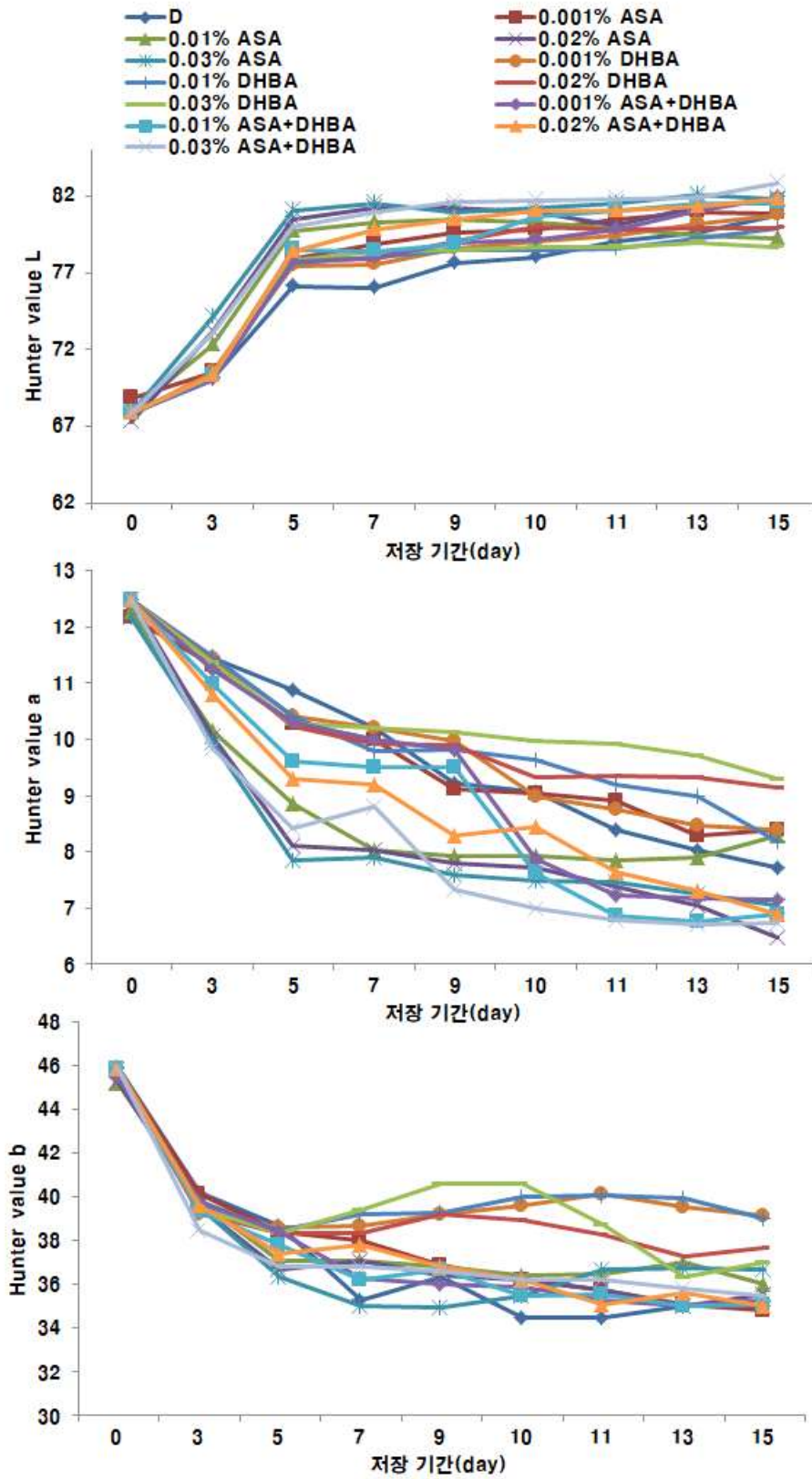


그림 IV-48. 저장기간에 따른 시험용액 D의 색조 변화(상온).

### (3) 온도의 영향

40℃에 저장하였을 경우 저장기간 중 나주배 색소 및 음료의 경시적인 변화를 조사한 결과는 그림 IV-49~52에 제시하였다. 나주배 미성숙과 색소(A)를 40℃에 저장하였을 경우 5일까지 Hunter L 값은 감소하다 그 이후에는 증가하는 경향을 보였고 반대로 Hunter a, b 값은 5일까지 증가하다가 그 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 이와는 반대로 나주배 성숙과 색소(B), 맑은 배즙에 미성숙과 추출물과 한약 재료를 배합한 음료(C), 나주배 미성숙과 색소에 포도당과 과당을 1:1(w/w)로 첨가하여 14° Brix까지 조정한 음료(D)는 Hunter L 값이 감소하는 경향을 보였으며 Hunter a, b 값은 증가하는 경향을 보였다. 40℃에서 저장하였을 때 적색도를 나타내는 Hunter a 값과 황색도를 나타내는 Hunter b 값이 상승하는 경향을 보아 환원당에 의한 비효적 갈변인 메일라드 반응, 열에 불한정한 당에 의한 카라멜화 반응을 일으킨 것이라 판단된다. 나주배 미성숙과 색소(A)의 경우 당함량이 낮기 때문에 메일라드 반응 및 카라멜화 반응이 상대적으로 발생되지 않아 Hunter a와 b 값이 상승하지 않았다. 반면 나주배 미성숙과 색소(A)에 포도당과 과당을 1:1(w/w)로 첨가하여 14° Brix까지 조정한 음료 경우 첨가한 당이 반응하여 갈변현상을 보인 것으로 평가되었다.

### (4) Ascorbic acid (AsA), 2,3-dihydroxybenzoic acid (DHBA)의 영향

나주배 색소 및 음료의 색도 안정성에 AsA와 DHBA가 미치는 영향은 그림 IV-49~52에 제시되었다. 나주배 색소 및 음료의 색도 안정성에 AsA와 DHBA가 미치는 영향을 검토한 결과 AsA는 고농도보다 오히려 저농도에서 효과적이었으며, DHBA는 Hunter a 값과 b 값의 안정성에 부분적으로나마 효과를 발현하는 것으로 판단되었다.

### (5) pH에 따른 안정성 평가

나주배 색소의 pH 영향을 조사하기 위해 pH별로 조제된 완충용액에 앞서 확립한 적정 색소 농도만큼 첨가하여 pH에 따른 안정성을 평가하였다. pH별로 test tube에 30 mL씩 넣고 4시간 방치한 후 370 nm에서 흡광도를 측정한 결과 pH 3~5에서 90%의 잔존율을 보였다.(0시간 흡광도 값: 2.214, 2.221, 2.27, 4시간 뒤 흡광도 값: 2.09, 2.109, 2.09). pH 6~9에서 95% 이상의 잔존율(4시간후 흡광도 값: 2.224, 2.230, 2.223, 2.221, 4시간 뒤 흡광도 값: 2.189, 2.239, 2.231, 2.217)을 보여 비교적 넓은 범위의 pH에서 안정한 것을 확인하였다.

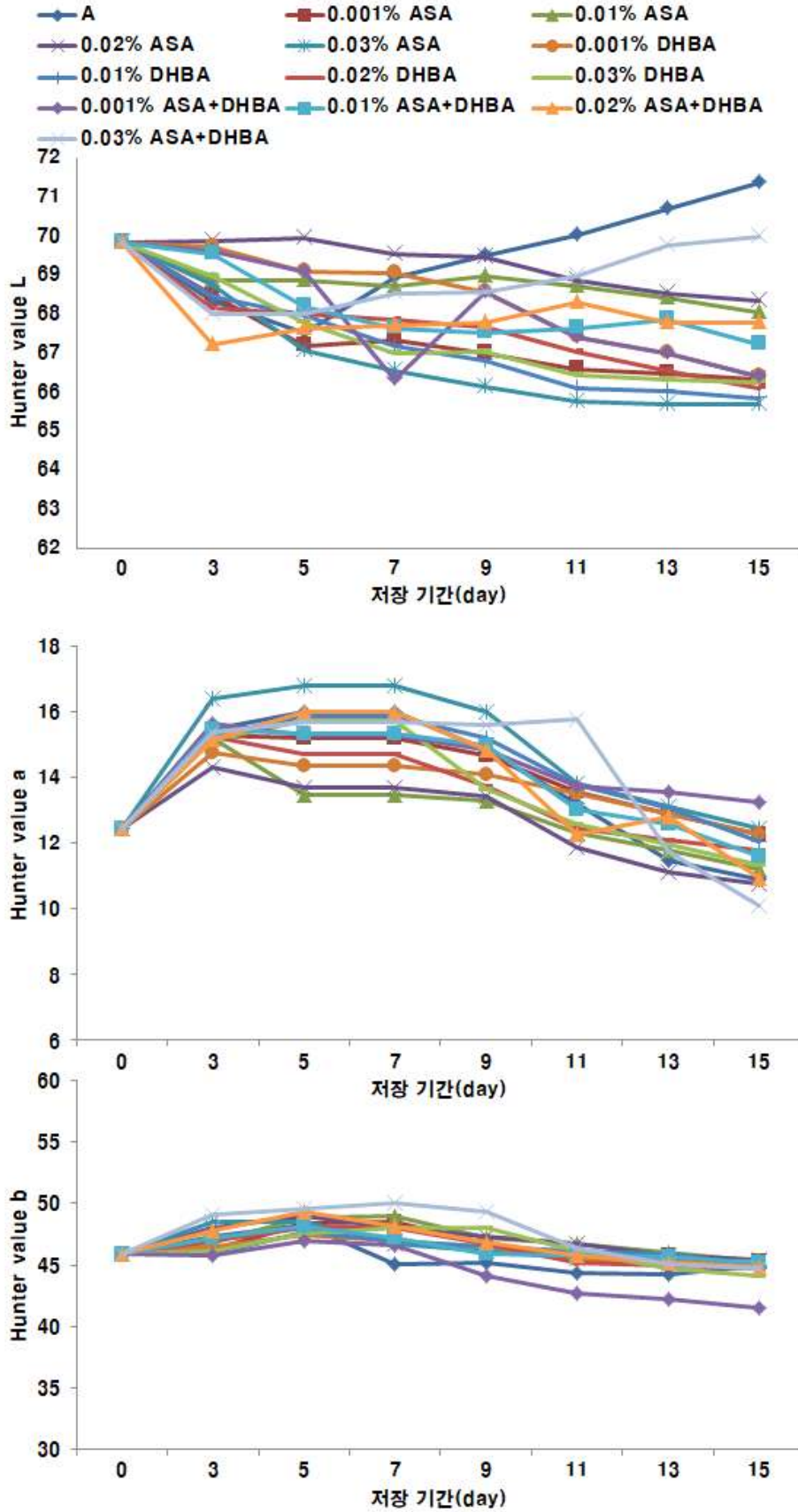


그림 IV-49. 저장기간에 따른 시험용액 A의 색조 변화(40°C).

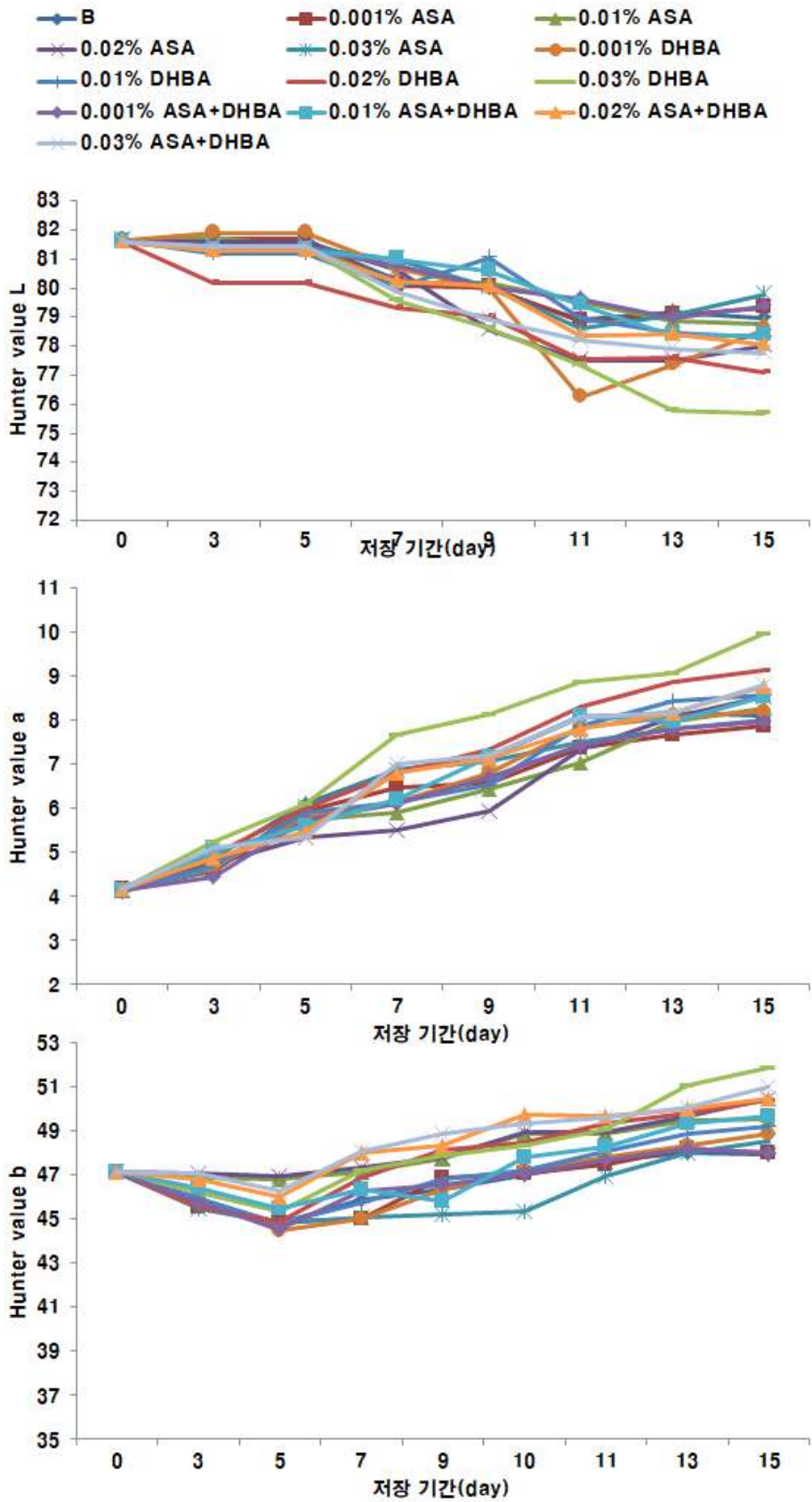


그림 IV-50. 저장기간에 따른 시험용액 B의 색조 변화(40℃).

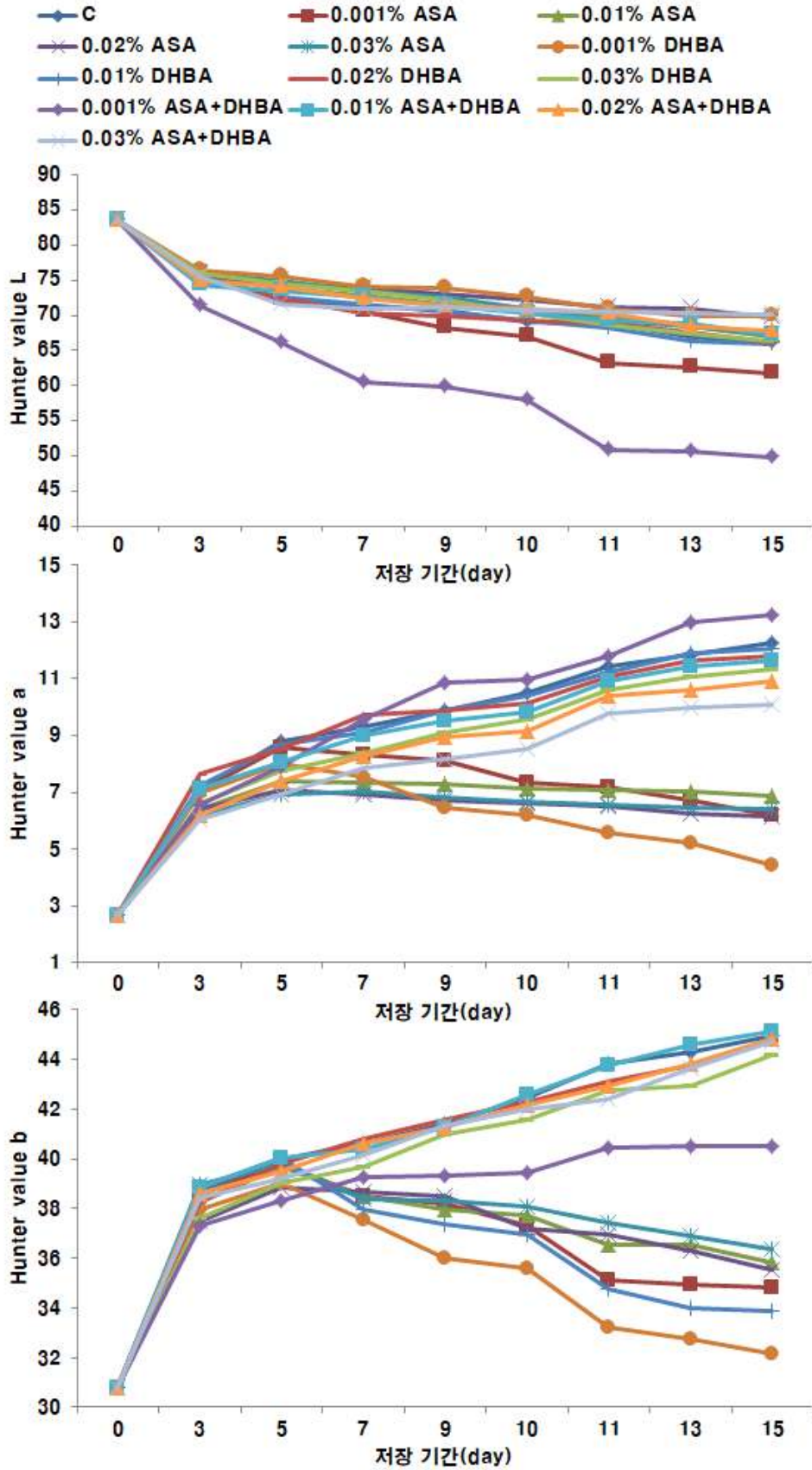


그림 IV-51. 저장기간에 따른 시험용액 C의 색조 변화(40℃).



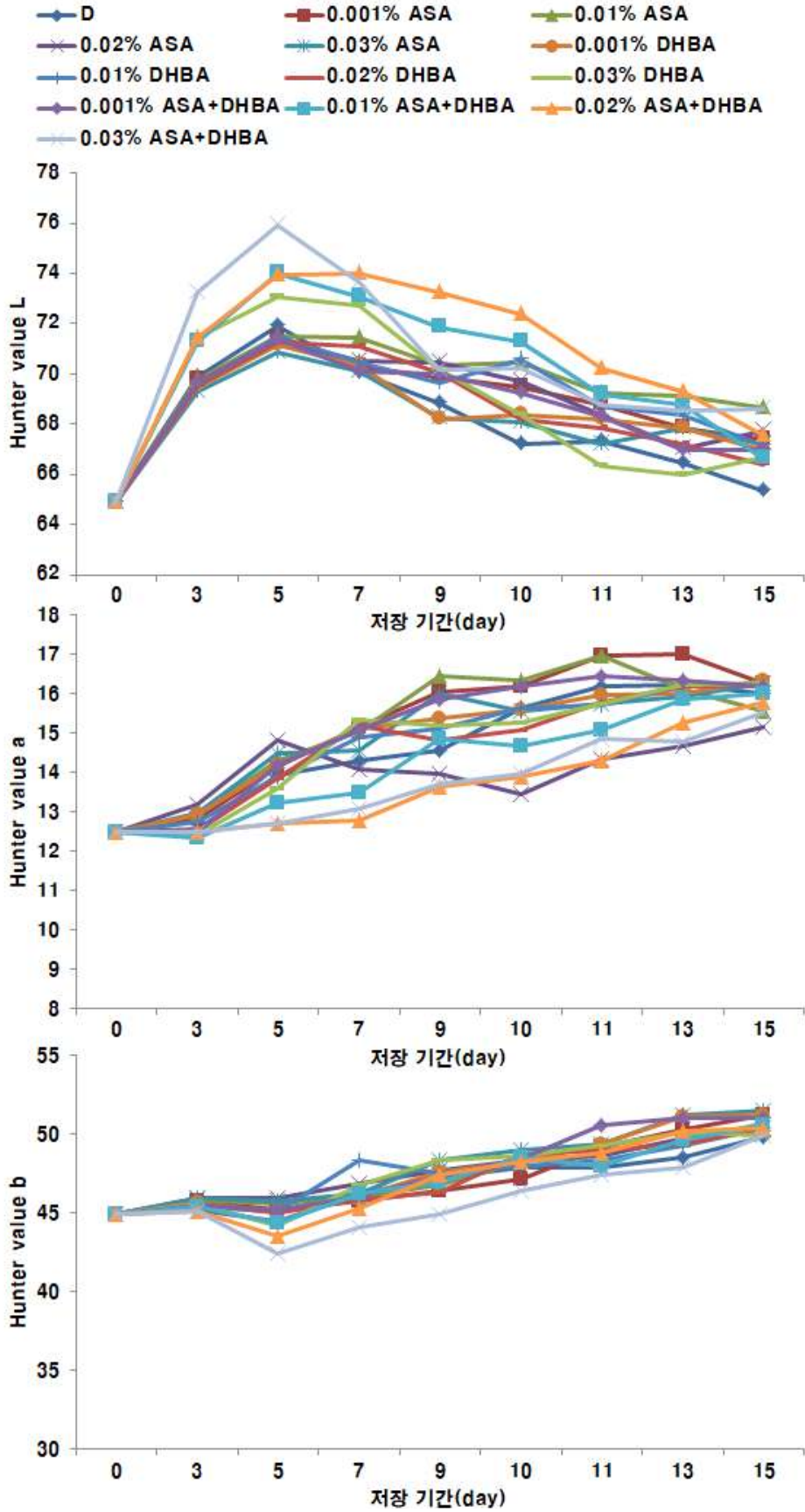


그림 IV-52. 저장기간에 따른 시험용액 D의 색조 변화(40°C).

## (6) 배 미성숙과 추출물 첨가 발효액의 항산화활성 변화

DPPH radical은 특유의 보라색을 나타내는데 항산화제의 작용에 의해 환원됨으로써 안정한 형태의 화합물로 전환되면서 radical 용액이 옅은 노란색으로 탈색되는 정도를 평가하여 항산화 활성을 측정하는 방법이다. 본 연구에서는 배 미성숙과 추출물을 첨가한 홍국균 발효액을 제조하는데 있어서 색차계를 이용한 색도의 차이만을 기준으로 배 미성숙과 추출물 첨가량과 발효시간을 판단하였다. 따라서 배 미성숙과 추출물을 첨가한 홍국균 발효액이 홍국균에 의하여 발효가 진행될 때 실제로 색상변화에 비례하여 항산화활성이 변화되는지를 검토하고자 하였다. 이에 색상의 변화가 가장 뚜렷하게 관찰된 발효 17일째의 시료를 대상으로 홍국균 접종에 따른 항산화 활성의 변화를 검토하였다. 그 결과(그림 IV-53), 홍국균 *M. purpureus* 및 *M. pilosus*를 이용하여 배양한 실험군에서 배 미성숙과 추출물 첨가 농도의 증가에 따라 유의적으로 DPPH radical-scavenging 활성이 증가됨이 관찰되었다. 그러나 홍국균 *M. ruber*를 이용한 배양액의 경우, 배 미성숙과 추출물 무첨가군에 비해 0.25% 첨가군에서는 항산화 활성이 향상되었으나, 그 이상의 첨가군에서는 항산화능의 향상 효과가 관찰되지 않았다. 그러나 특히 *M. purpureus*를 접종한 실험군에서 가장 높은 항산화 활성의 증가율이 관찰되었다. 홍국균 발효시 배 미성숙과 추출물을 첨가하지 않은 군에 비해 정도의 차이는 있었으나 첨가군 모두에서 항산화 활성이 향상됨을 알 수 있었다.

이어 배 미성숙과를 첨가하여 배양하였을 때 가장 높은 항산화활성의 향상 효과가 관찰된 *M. purpureus* 실험군을 대상으로 배양시간의 경과에 따른 경시적인 항산화 활성의 변화 경향을 검토한 결과(그림 IV-54), 발효 전 시료(0 일)에서 배 미성숙과 추출물의 첨가 농도에 따라 정도의 차이는 있었으나 0.25~1% 첨가군 모두에 있어 항산화활성의 향상 효과가 관찰되었다. 그리고 배 미성숙과 추출물의 첨가농도가 높을수록 항산화 활성의 향상 정도가 더 증가됨이 관찰되었다. 이 현상에 대한 원인을 현 단계에서 정확히 제시할 수는 없으나 배 미성숙과 추출물의 첨가에 따라 홍국균 배양액의 항산화능이 향상된 것은 배 미성숙과 추출물에 함유된 모종의 성분이 홍국균의 영양원으로 작용하였을 가능성, 그리고 그와는 달리 그 함유성분들이 홍국균에 의해 배당체 성분 및 페놀성 화합물들이 분해되어 발생한 현상일 가능성이 추측되었다.

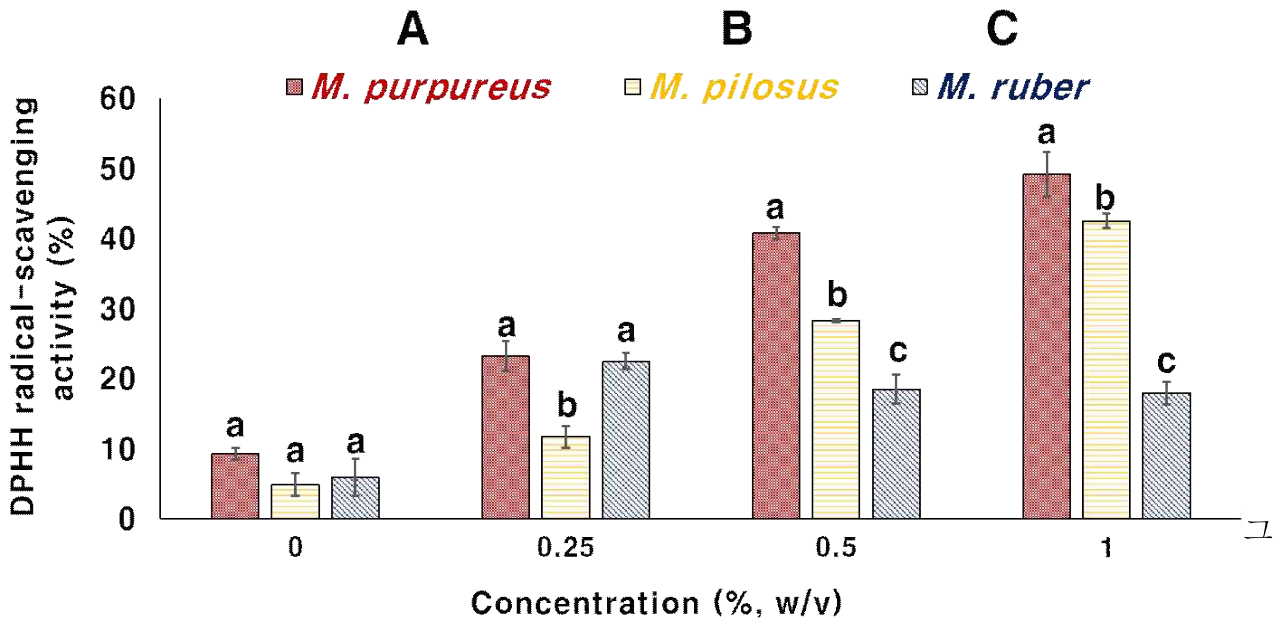


그림 IV-53. 미성숙과와 *Monascus sp.* 첨가 배지의 DPPH radical-scavenging activity

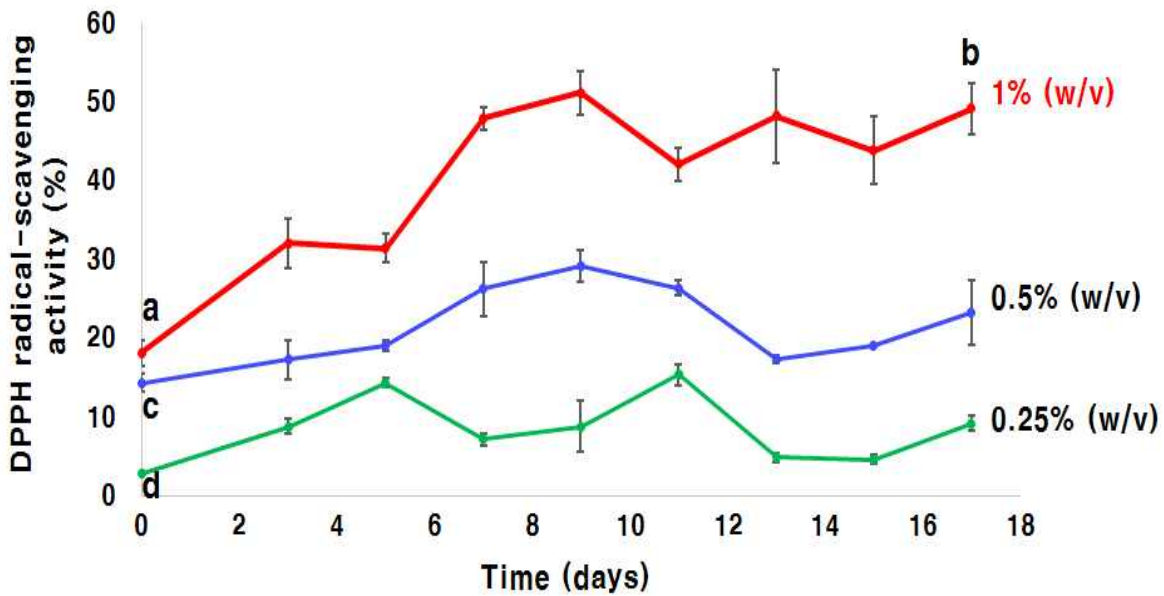


그림 IV-54. 배 미성숙과와 *M. purpureus* 첨가 발효 배지의 경시적인 DPPH radical-scavenging activity

### (7) 배 미성숙과 추출물의 첨가농도에 따른 *M. purpureus* 생성 색소의 변화

*M. purpureus* 배양액에 배 미성숙과 추출물을 0, 0.25, 0.5 및 1%가 되도록 첨가한 다음, 17 일 동안 배양한 발효액(그림 IV-55의 B-E)과 시판되고 있는 홍국균 색소(Monascus red 100)를 대상으로 HPLC 분석을 각각 행한 결과(그림 IV-55), 시판되고 있는 홍국균 색소의 HPLC chromatogram (그림 IV-55의 A)으로부터 다양한 peak들이 검출되었다. 그러나 *M. purpureus* 배양액에 배 미성숙과 추출물을 첨가하지 않은 시료의 HPLC chromatogram (그림 IV-55의 B)으로부터는 Monascus red 100의 chromatogram (그림 IV-55의 A)과는 매우 상이한 경향이 관찰되었다. 즉, 배 미성숙과 추출물 무첨가 배양액에서 검출된 화합물들은 *M. purpureus* 생성 화합물들임을 알 수 있다. 이 chromatogram 상에서  $t_R$  15.6 min에 가장 현저한 peak가 검출되었으며, 이 화합물은 Monascus red 100에는 함유량이 매우 적거나 함유되어있지 않은 화합물로 추정되었다. 그리고 극성이 높은 화합물들의 용출 범위( $t_R$  1-5 min) 및  $t_R$  20-30 min의 용출 범위에서는 몇 종의 화합물이 검출되었다. 그리고 배 미성숙과 추출물의 첨가량을 0.25 (그림 IV-55의 C), 0.5 (그림 IV-55의 D) 및 1% (그림 IV-55의 E)가 되도록 하여 *M. purpureus*와 함께 17일 동안 배양하였을 때, 배 미성숙과 추출물 무첨가 배양액의 HPLC chromatogram 상(그림 IV-55의 B)  $t_R$  15.6 min의 화합물은 배 미성숙과 추출물의 농도가 높아짐에 따라 그 생성률이 증가되는 현상을 보였다. 그리고,  $t_R$  1-5 min의 용출 범위에서 검출된 화합물들 또한 배 미성숙과 추출물의 첨가량이 증가할수록 생성률이 증가하는 경향을 보였다. 반면에  $t_R$  20-30 min 사이에서 관찰되었던 화합물들은 배 미성숙과 추출물의 첨가농도가 증가함으로써 오히려 감소되는 경향을 보였다. 배 미성숙과 추출물과 함께 발효된 배양액으로부터 검출된 화합물들이 홍국균 색소를 대표하는 성분들인지에 대해서는 아직 단정하기는 어렵지만 배 미성숙과 무첨가 배양액으로부터도 이들 peak가 관찰되었음은 이 화합물들이 배 미성숙과 추출물 유래가 아니라 홍국균 유래의 화합물임을 알 수 있다. 이 점을 고려하였을 때, 배 미성숙과 추출물이 첨가된 배양액에 있어 검출된 peak들의 증가 또는 감소가 관찰되었음은 배 미성숙과 추출물이 홍국균이 생산하는 화합물들의 생성경향에 영향을 미치고 있음을 시사하는 결과라 판단된다. 이러한 결과들은 상기의 실험에서 홍국균 발효 시 배 미성숙과 추출물의 첨가 유무 및 첨가 농도의 차이에 따른 다양한 색도 변화 경향이 관찰되었던 것 또한 배 미성숙과 추출물이 홍국균이 생성하는 색소성분의 생성경향에 영향을 미쳤음을 지지하는 결과라 판단된다.

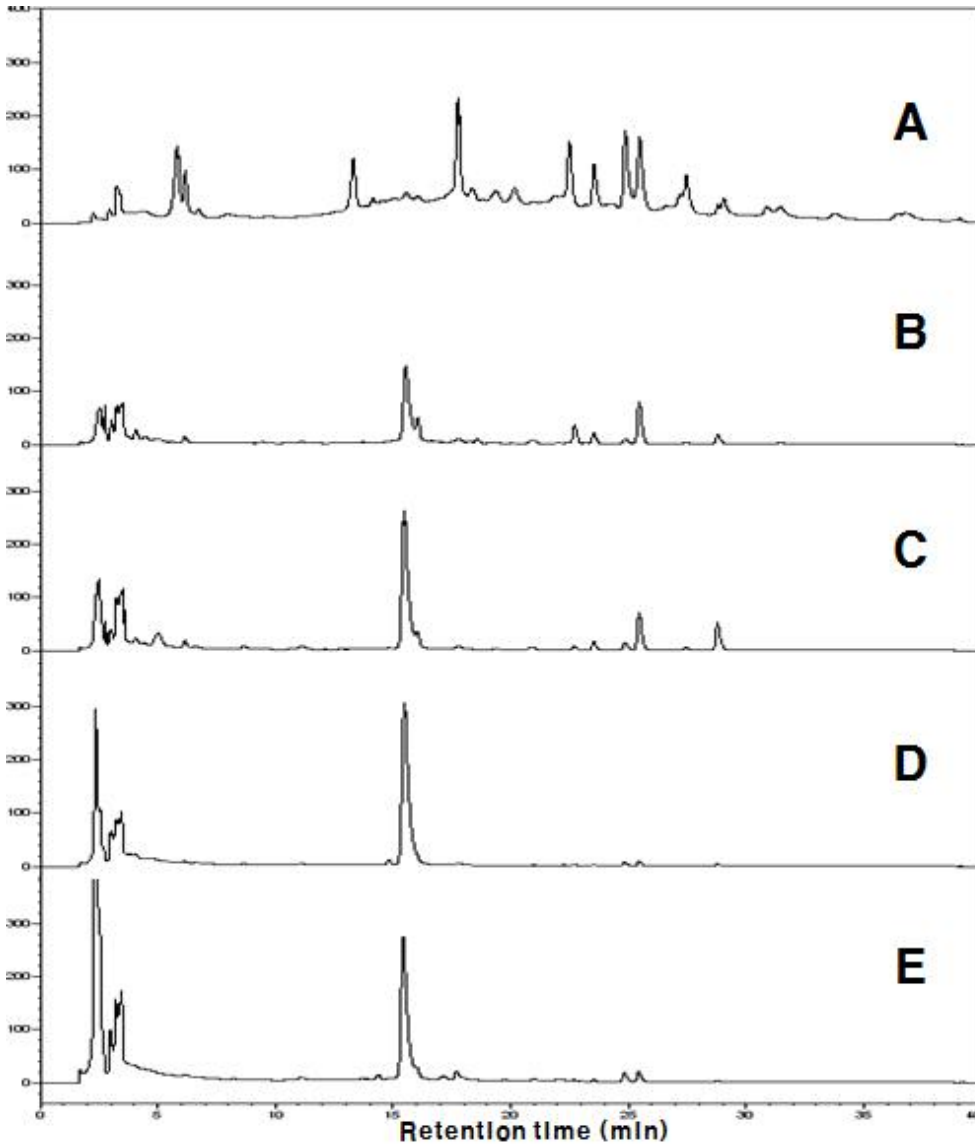


그림 IV-55. 배 미성숙과 추출물과 *M. purpureus* 첨가 발효 배지의 HPLC chromatograms

현재까지 *M. purpureus*의 배양액으로부터 동정된 색소 성분으로 적색 계열의 monascorubrin과 rubropunctatin, 황색 계열의 rubropunctamine과 monascorubramine, 그리고 황색 계열의 monascin 및 ankaflavin 등이 보고된 바 있다. 이들 중 본 연구에서는 최근 지방 합성 억제효과 및 고지혈증 예방에 효과가 있다고 알려져 주목을 받고 있는 monascin에 초점을 맞추어 배 미성숙과 추출물의 첨가농도에 따른 함량변화를 검토하였다. *M. purpureus* 배양액에 배 미성숙과 추출물을 0.25, 0.5, 1 및 2%가 되도록 첨가한 다음, 17일 동안 배양한 후에 monascin 생성량을 HPLC를 이용하여 표준곡선(그림 IV-56)을 작성한 후 비교하였다. 그 결

과(그림 IV-57), monascin 표준품(그림 IV-57의 A)은  $t_R$  25.5 min에 검출되었으며, *M. purpureus*만의 배양액(그림 IV-57의 B)은 물론 배 미성숙과 추출물 첨가 배양액 모두(그림 IV-57의 C-E)에 있어 양적인 차이는 있었으나 그 존재가 확인되었다. 그리고 HPLC 분석 결과에 있어 배 미성숙과 추출물의 첨가 농도와 monascin 생성량 간에 상관성은 관찰되지 않았으며, 오히려 배 미성숙과 추출물의 첨가 농도가 가장 낮은 0.25% 첨가군에서 monascin 생성량이 가장 높았다(표 IV-29). 본 연구에서는 monascin 1종만의 생성량을 비교한 아쉬움이 있지만 *M. purpureus* 배양 시 배 미성숙과 추출물을 첨가함으로써 색소 생성 특성에 영향이 유도됨이 확인되었고, 그 첨가량에 따라 특정 성분들의 증가 또는 감소가 초래됨을 알 수 있었다. 이와 같은 결과로부터 홍국균을 이용하여 색소 생산을 유도하고자 할 때, 배 미성숙과 추출물을 첨가함으로써 홍국균 색소 성분의 생성능을 제어할 수 있는 가능성이 제시되었다. 추후 배 미성숙과 추출물의 첨가량과 홍국균 유래 특정 성분들의 생성 경향을 보다 구체적으로 비교·검토함으로써 홍국균의 활용성을 극대화시킬 수 있을 것으로 기대된다.

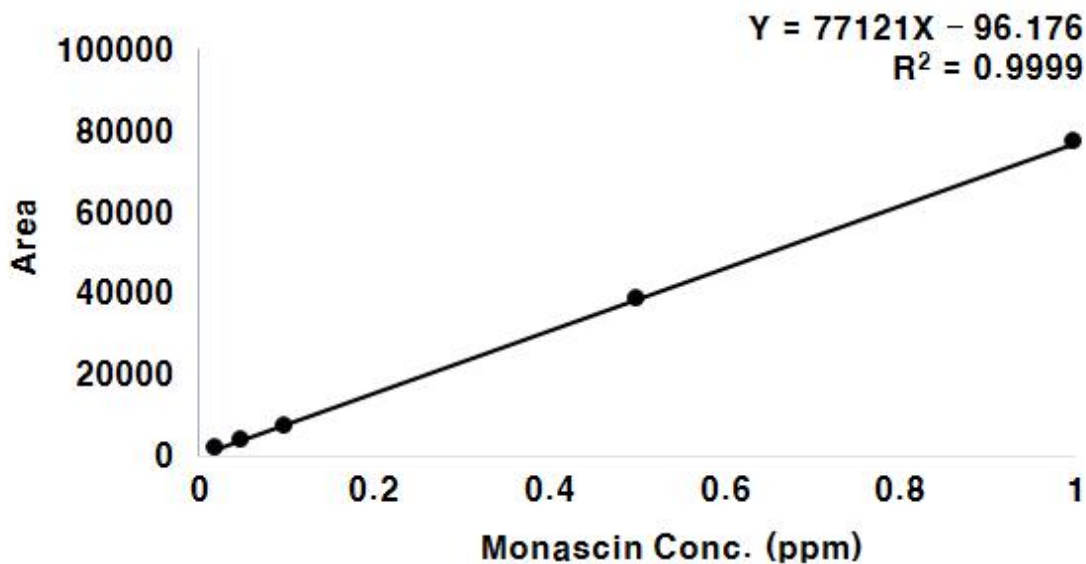


그림 IV-56. monascin의 표준곡선

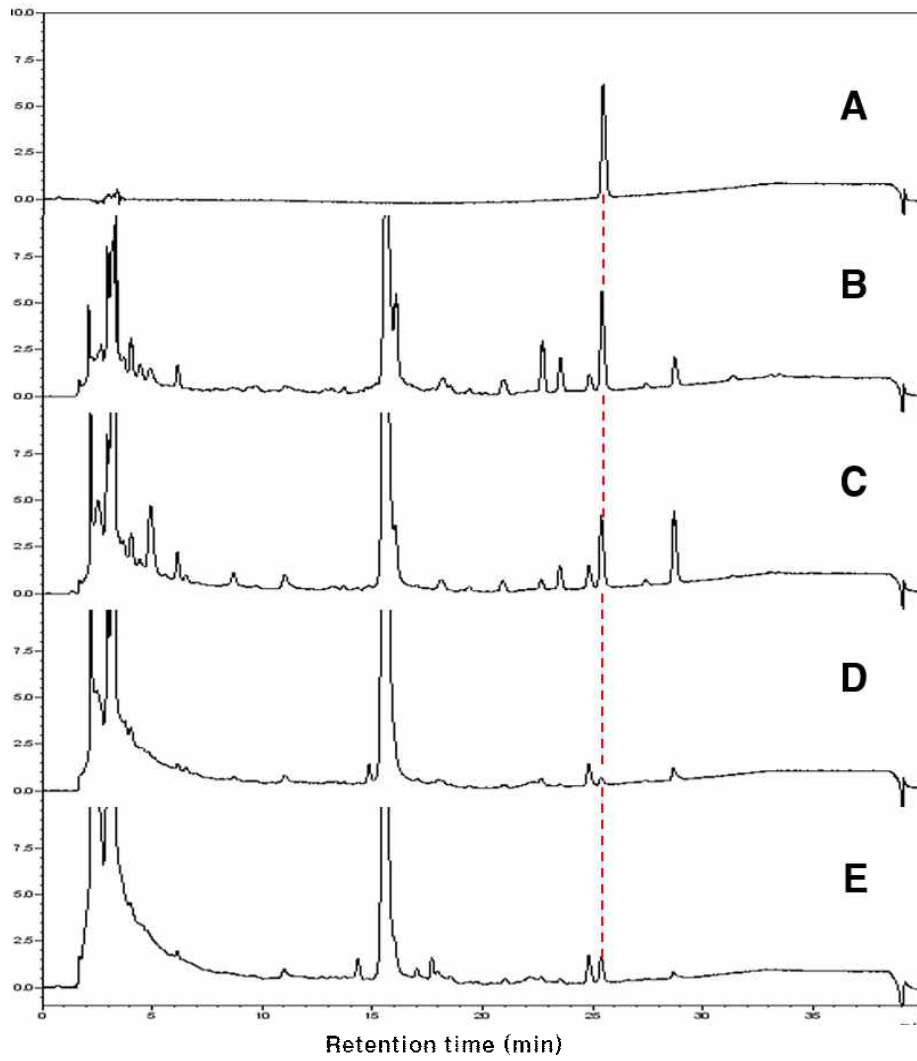


그림 IV-57. 배 미성숙과 추출물의 첨가량에 따른 monascin 함량의 변화 chromatogram

표 IV-29. 미성숙과 추출물 처리량과 monascin의 농도 비교

Addition amount of immature pear fruit ( <i>P. pyrifolia</i> ) extract (w/v)	Monascin ( $\mu\text{g/mL}$ )
0%	0.86
0.25%	0.63
0.5%	0.06
1%	0.22

본 연구실의 선행연구를 통해 지금까지 활용되고 있지 않았던 배 미성숙과를 대상으로 arbutin, malaxinic acid 및 chlorogenic acid 등의 활용성을 제시한 바 있다. 배 미성숙과에 유용 생리활성 화합물이 다종·다량 함유되어 있음에 착안하여 그 활용성을 보다 확대시키기 위한 접근법의 일환으로 본 연구에서는 배 미성숙과 추출물을 조제하여 홍국균과 함께 발효시킴으로써 홍국균의 색소 생성능을 향상시키고자 하였다. 홍국균을 이용한 배 미성숙과 추출물 첨가 발효액을 제조하기 위해 *M. purpureus*, *M. pilosus* 및 *M. ruber* 3종의 홍국균을 이용하였으며, 이들 홍국균은 배 미성숙과 추출물을 첨가한 발효액을 갈색에서 적색계 색상으로 변화시키는 것으로 관찰되었다. 홍국균 3종의 배양액에 배 미성숙과 추출물을 배지량 기준으로 0.25, 0.5, 1, 2 및 4% 농도로 첨가하고 배양기간에 따라 색도의 변화 양상을 검토하였다. 그 결과, 배 미성숙과 추출물을 첨가한 홍국균 발효액은 발효 17일째에 가장 높은 색상의 변화를 나타냈고, 배 미성숙과 추출물 첨가량이 1% 이하였을 때 적절한 것으로 판단되었다. 특히 DPPH radical을 이용한 항산화 활성 평가결과로부터 홍국균을 이용한 배 미성숙과 추출물 첨가 발효액의 경시적인 색도 변화 경향은 항산화 활성의 변화 경향과 상관성이 있음이 확인되었다. 즉 홍국균에 의해 배 미성숙과 추출물이 발효됨에 따라 배 미성숙과 추출물 미첨가 실험군에 비하여 항산화 활성이 뚜렷하게 증가되는 현상이 관찰되었다. 이는 홍국균이 생산하는 다수의 효소 중에 가수분해활성을 가지는 효소들이 배 미성숙과 추출물에 함유된 배당체 화합물들을 가수분해하여 항산화 활성에 관여하는 유리 수산기의 수를 증가시켰을 가능성, 그리고 발효과정 동안 배 미성숙과에 함유된 화합물들이 추가적인 반응에 의해 저분자화 되어짐으로써 발효중 항산화활성이 증가되었을 가능성이 추측되었다. 또한 HPLC 분석 결과 *M. purpureus* 배양액에서와 같이 배 미성숙과 추출물을 함유한 *M. purpureus* 발효액에서도 비슷한 화합물들이



생성되는 것이 확인되었고, 향후 추가적인 연구를 통해 다른 화합물들도 성분 구명을 함으로써 배 미성숙과 발효액의 보다 폭 넓은 활용방안이 제시될 수 있을 것으로 판단되었다.

본 연구에서는 배 미성숙과를 이용한 홍국균 발효액에서 색도와 항산화 활성이 증가됨을 확인함으로써 항산화 활성이 증가된 천연색소로써의 이용가능성을 확인하였다. 배 미성숙과 추출물을 첨가하여 *M. purpureus*로 발효시킨 발효액에서 색소 생성에 영향을 미치는 화합물이 존재할 수 있다고 판단되며, HPLC 분석 결과로부터 monascin 외에 다른 화합물들도 생성됨이 확인되었다. 추후 추가적인 분자수준에서의 연구를 통해 새로운 기능성 화합물 및 유용성분들을 확인함으로써 식품소재로써의 산업적 활용가치를 높일 수 있을 것으로 기대된다.

#### 4. 나주배의 고부가가치화 제품의 지역 전략 산업화를 위한 연계전략 구축

##### 가. 나주배 착즙박, 미성숙과, 전정가지 원료 생산기반 구축 전략

###### 1) 나주배 착즙박 원료 생산 기반 구축 전략

전라남도 지방의 배는 연간 7만톤이 생산되고(표 IV-30) 3천톤이 음료가공용으로 가공되며, 음료제조로 인하여 발생된 부산물은 환경적인 측면에서도 문제점이 야기된 상태이다.(2016년 전라남도 배 가공 : 주스 338, 넥타 2, 음료 329, 즙청 2133, 표 IV-31). 나주시 식품가공업체로 등록된 약 132개 업체 중 배즙을 생산하는 업체(건강원 제외)는 14곳으로 조사되었으며 표 IV-32에 제시되었다. 이 중 설문 에 응답한 업체들은 총 11곳이었으며, 표 IV-32에 제시된 바를 통해 알 수 있듯이 나주 관내 배즙 가공업체에서 발생하는 착즙박은 연간 340톤으로 추정된다. 이는 가공에 소비되는 배의 양에 비교했을 때 25 ~ 30% 비율로 적지 않은 양이나 이 부산물들은 활용되지 못하고 모두 폐기처분되고 있는 실정 이다. 이에 본 연구에서 배의 부산물 활용방안을 제시하기 위해 착즙박의 분말화 공정 확립 및 시제품 개발을 수행하였으며, 이를 통하여 착즙박의 활용도를 제시하였다. 따라서 착즙박을 활용한 제품을 개발하기위해 표 IV-32의 기업체로부터 원료(착즙박)를 제공받으면 연간 300톤 이상의 착즙박을 안정적으로 공급이 가능한 것으로 판단된다.

표 IV-30. 최근 2년간 배 생산량

	재 배 면 적			10a당 생산량			생 산 량		
	2016	2017	증감률	2016	2017	증감률	2016	2017	증감률
	ha		%	ha		%	ha		%
전국	10,333	10,258	-0.7	2,303	2,591	12.5	238,014	265,757	11.7
전남	2,437	2,393	-1.8	2,836	2,866	1.1	69,119	68,601	-0.7

※자료 : 통계청, 2017

표 IV-31. 전라남도 과실류 가공현황(배)

과 종	합계	통조 림	(단위 : 톤)										
			주스	넥타	잼	술	식 초	음료	조미	사료	즙청	분말 차	기 타
배	2,802	0	338	2	0	0	0	329	0	0	2,133	0	0

※자료 : 농림축산식품부, 2016

표 IV-32. 나주지역 배즙 가공업체에서 생산하는 착즙박량 조사

번호	업체명	소재지	연간 매출 (백만)	전화번호	가공에 소비되는 배 의 양	배출되는 착즙박 량
1	해솔농원식품	남평읍	700	336 -0457	15~20톤	5톤
2	농업회사법인아 리유통	세지면	-	331 -5520	-	-
3	나주배돌이영농 조합 법인	금천면	400	334 -2706	300톤	90톤
4	장수식품	봉황면	260	332- 9616	30~40톤	10톤
5	우리동산과일촌	봉황면	300	332- 3363	-	-
6	햇살가득	송월동	50	337 -6161	100톤	25톤
7	자연나라생생배즙	금천면	-	333 -5585	-	-
8	우영시인과배즙	금천면	-	331 -3399	30~40톤	8~10톤
9	나주배가족농장	금천면	-	336 -8180	60톤	12톤
10	한국나주배	동강면	-	337 -2196	30톤	10톤
11	가보팜스	운곡동	-	334 -1160	300톤	80톤
12	맑은세상영농조 합	이창동	-	335 -0009	35톤	10톤
13	좋은영농조합법 인	노안면	-	335 -9630	130톤	30톤
14	옛스런식품	봉황면	-	331 -8606	200톤	60톤

## 2) 나주배 미성숙과 및 전정가지 원료 생산 기반 구축 전략

나주시 관내에서 배 재배시 발생하는 폐기물인 미성숙과는 배 농가의 적과량을 역으로 환산하였을 때 연간 약 770톤으로 추정하고 있으며, 전정가지 또한 다량 폐기되고 있다(표 IV-33~34). 본 연구그룹에서는 폐기자원인 미성숙과와 전정가지에 유용성분의 함량이 배 성숙과보다 높은 것으로 확인(표 IV-35)되었으며, 이의 유용성을 구명하여 객관적인 활용방안을 제시하였다. 나주시 관내 농가는 표 IV-33에 제시되어 있으며, 나주시로컬푸드직매장 출하 농가 현황은 표 IV-36에 제시되었다. 따라서 미성숙과 및 전정가지를 활용한 제품을 개발하기 위해 나주시 관내 농가 및 나주시로컬푸드직매장의 출하 농가(표 IV-36)으로부터 원료를 제공받으면 안정적으로 공급이 가능한 것으로 판단된다.

표 IV-33. 2017년 배 생산현황 및 농가수

(단위 : ha, 톤)

구분	전국(A)	전남(B)	나주(C)	점유율(%)		비고
				C/A	C/B	
재배면적	10,861	2,450	2,000	18.4	81.6	농가수 2,262
단수(kg/10a)	2,447	2,800	2,702			
총생산량	265,757	68,601	54,040	20.3	78.7	

※ 자료: 나주시농업기술센터 배기술지원과

표 IV-34. 나주 관내 배나무 적과로 발생하는 미성숙과량 계상

구분	총 재배면적	배나무 수	1그루당 배 미성숙과 적과량		총 발생량
			작은나무 기준	큰 나무 기준	
배 미성숙과	2000 ha	약 617,300그루	약 100개	약 250~300개	770톤 가량 발생

※ 위 수치는 배 농가당 적과량을 역으로 환산하여 계상한 수치임



그림 IV-58. 배 미성숙과 적과

표 IV-35. 원료로부터 함유되어 있는 기능성성분 함량 측정

(단위 : mg/100 g)

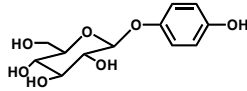
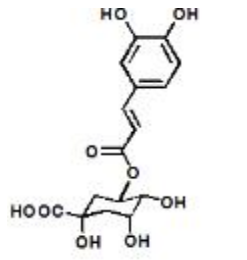
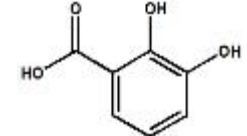
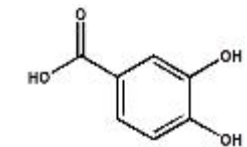
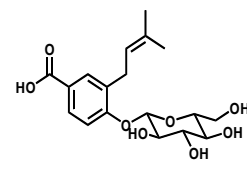
성분	시료	성숙 과 (신고)	미성숙 과 (신고)	착즙 박 (신고)	전정가지					
					감천	신고	원황	풍수	행수	황금
		18.8	286.1	2.5	482.6	551.9	337.2	390.5	372.1	609.0
알부틴										
		1.8	39.0	1.4	3.1	4.3	4.4	9.3	5.7	11.5
클로로젠산										
		0.2	2.2	0.5	2.6	1.6	1.6	2.6	2.6	2.9
2,3-DHBA										
		0.1	0.4	0.2	0.7	0.8	0.6	0.7	0.6	0.7
3,4-DHBA										
		TR	1.2	TR	22.5	0.3	19.2	20.6	0.4	14.6
말락시닉산										

표 IV-36. 나주시로컬푸드 출하 농가 현황

(단위 : 명)

구분	계	분류별농가수 (중복포함)												
		과수류			식량작물류			채소류			특용작물류			화훼
		전체	블루베리	딸기	전체	백미	두류	전체	엽채	과채	전체	버섯	약용	
계	319	128	12	9	161	35	117	227	135	151	93	14	62	9
남평읍	31	10	4	6	11	5	11	27	18	23	8	2	4	1
세지면	13	3	0	0	7	2	2	8	5	6	3	0	3	0
왕곡면	40	15	0	0	22	4	18	27	7	20	15	1	9	0
반남면	22	13	0	0	15	5	14	19	12	12	7	0	4	1
공산면	14	2	0	0	9	3	6	11	5	8	2	1	1	0
동강면	8	4	0	0	7	4	7	7	5	4	5	0	5	0
다시면	38	21	5	0	23	2	19	29	20	17	12	0	9	0
문평면	12	1	0	0	6	2	1	6	2	1	8	6	3	0
노안면	28	10	1	0	16	1	11	21	15	11	8	2	4	0
금천면	15	7	0	0	5	1	3	6	3	3	4	1	2	0
산포면	23	4	1	0	3	0	3	16	9	13	1	0	1	2
다도면	12	3	0	1	7	0	6	6	5	4	5	0	4	2
봉황면	37	20	0	2	22	5	12	27	19	18	9	0	8	1
동지역	26	15	1	0	8	1	4	17	10	11	6	1	5	2

※ 배 출하 농가는 30농가로 등록되어 있음

## 나. 고부가가치 제품의 반제품 생산 시스템 구축전략

나주배를 이용한 고부가가치 소재로는 나주배 배즙 농축물, 나주배 배즙 동결건조물, 나주배 동결건조물, 나주배 착즙박 열풍건조물 등이 있다. 이를 이용하여 배 젤리, 배 빵, 배 떡 등을 제조할 수 있으며, 나주배 미성숙과 농축물을 이용하여 항산화활성이 뛰어난 배 음료와 과립제품을 완제품으로 생산할 수 있다. 나주배를 이용한 반제품은 나주 관내에 위치한 나주천연색소센터와 농업인가공활성화센터의 장비를 이용하여 생산할 수 있으며, 추출, 동결건조, 열풍건조 등을 할 수 있는 기반시설을 통해 농민과 기업이 장비를 임대하여 농산물을 가공할 수 있다.

### 1) 나주시천연색소산업화지원센터

나주시는 영산강문화권을 중심으로 천연색소를 예로부터 衣, 食, 住의 재료로써 식품 및 의류염색용 등 다양한 분야에서 사용해 왔다. 천연색소 원료는 수입의존도가 높은 편이며 웰빙·트렌드에 맞춰 천연색소의 사용량이 증가함에 따라, 그 수입량도 지속적으로 증가할 것으로 예상된다. 나주시는 새로운 시장변화에 대비하여 천연색소산업을 새로운 나주시 적합산업으로 추진하여 지속가능한 천연색소 산업의 영세성 및 수입 중심산업을 국내 산업육성을 통한 천연색소 산업 표준화 기틀을 마련하였다. 약용작물 및 색소작물로부터 천연색소(정제색소, 분말색소)를 추출하여 고부가가치를 창출하기 위한 설비의 표준모델로, 농산물의 특성 및 상품성에 따라 최적의 공정라인을 적용하여 생산성을 높이고, 안전과 위생을 확보하며 HACCP·GMP 시설 기준에 부합한 설비를 구축하고 있다.(그림 IV-59, 표 IV-37)

표 IV-37. 천연색소산업화지원센터 HACCP 및 GMP공장 설비 현황

구분	추출	농축	건조	발효	세척/착즙	포장
생산 설비	-추출기 -저장탱크 -배합탱크	-자연순환농축 -2차반구형농축 -원심박막농축 -파일럿플랜트	-열풍건조 -동결건조 -분쇄 -분말충진	-퍼멘터 -세라믹여과 -호모믹서	-세척기 -절단 -브렌칭기 -착즙 -교반탱크 -필터프레스	-배합탱크 -TUBLAR H.T.S.T -PLATE H.T.S.T -스탠딩파우치 -포장기
생산 제품	천연색소 기능성식품	천연색소 기능성식품/음료	천연색소 기능성식품 천연분말	발효 생균제	천연색소 과즙·채즙 가공식품 천연분말	천연색소(액상) 과즙·채즙(액상) 건강기능성(액상)

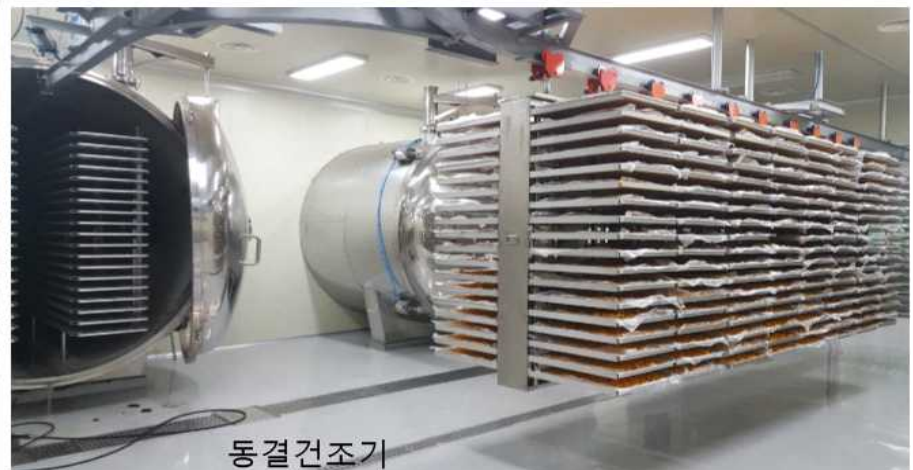


그림 IV-59. 나주시천연색소센터 주요 장비 및 시설



## 2) 농업인가공활성화센터

나주시는 규모화, 전문화 위주의 농업정책에서 소외되어 왔던 소농, 고령농의 안정적인 농가 소득을 보장하고, 단계적인 친환경 농업 전환을 통해 안전한 먹거리를 제공하기 위한 나주형 로컬푸드시스템을 구축해 나가고 있다.(그림 IV-55) 생산자 조직을 활성화하고 유통 단계의 축소를 통해 신선한 농산물의 소비를 확대시켜 생산자와 소비자의 살아있는 관계 형성을 추진해왔다. 소농, 고령농이 개인별 가공 사업장 없이도 농산물을 직접 가공·판매할 수 있도록 각종 가공설비를 구축하고, 설비를 이용한 가공교육 및 창업코칭 등 단계별 지원을 통한 6차산업 육성으로 지속가능한 농업 실현 및 농가의 부가가치 증진과 사회적 경제를 활성화 한다.(표 IV-38~39, 그림 IV-61)

### 지역사회의 통합적 먹거리 선순환체계 구축(민관거버넌스)

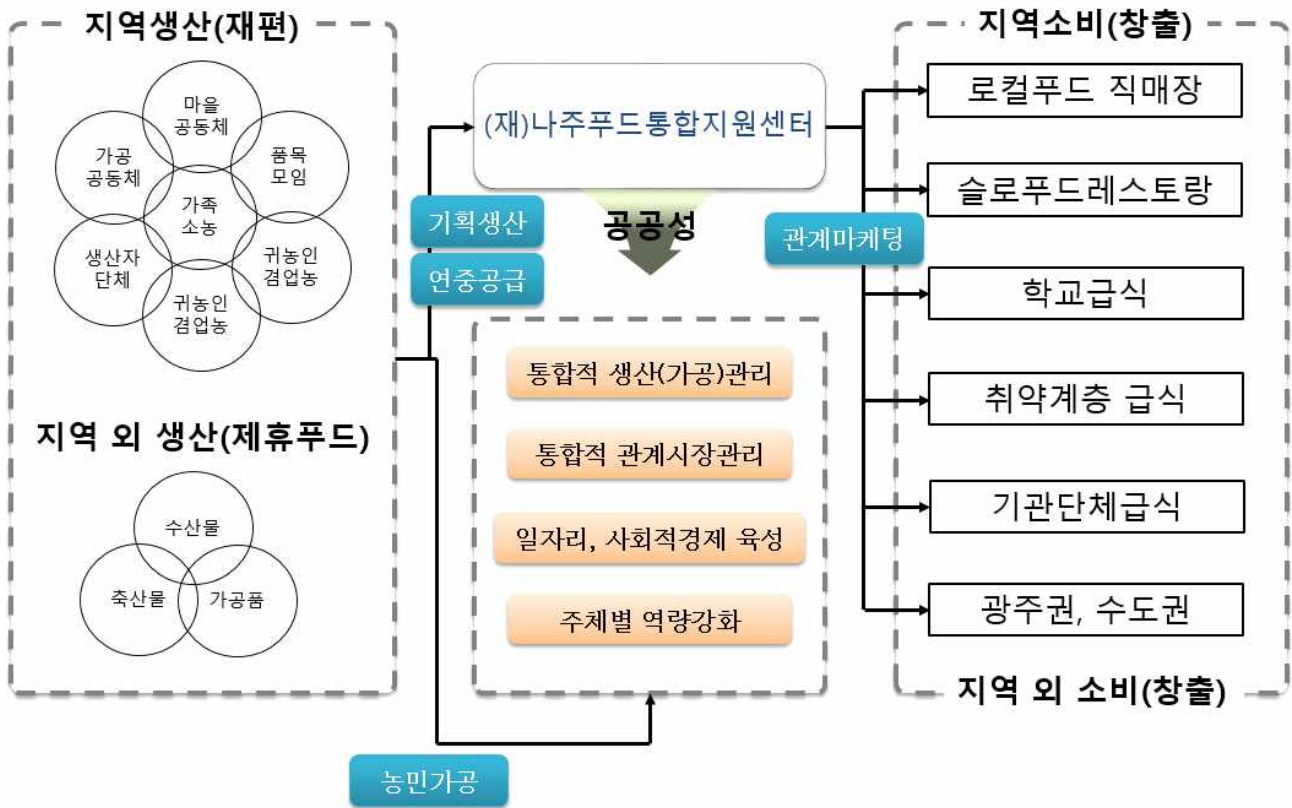


그림 IV-60. 시스템으로서의 나주푸드플랜(지향)

표 IV-38. 농업인가공활성화센터 생산자 제품 개발 교육 실시 현황

구분		기간	인원	횟수	내용
가공교육	반찬	2016. 3. 16. ~ 2017. 12. 28	62	27	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 반찬류, 천연양념류 등 식품에 대한 이해</li> <li>· 시제품 개발 및 제품화 실습</li> <li>· 천연재료를 이용한 맛소금,간장·된장·고추장 장아찌, 맛간장, 발효장아찌, 피클식장아찌 등의 교육과 식감, 색감, 맛(간), 포장상태</li> </ul>
	잼/조청(기초)	2016. 3. 16. ~ 2016. 12. 20	32	17	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 과일류 및 농산물을 활용한 잼류, 조청류 시제품 개발</li> <li>· 무설탕잼, 올리고당잼, 무펙틴잼, 천연펙틴 만들기, 코디얼류, 곡물바, 견과류크런치, 쌀강정, 깨강정 등의 교육과 식감, 색감</li> </ul>
	떡(기초)	2016. 10. 31. ~ 2017. 12. 28	68	39	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 치는떡(인절미, 절편, 가래떡), 찌는떡(떡케익, 백설기, 시루떡, 송편, 개떡, 영양찰떡)등의 교육과 식감, 색감, 맛(간)</li> <li>· 떡과 곡물에 관련한 이론</li> <li>· 기존 시판 떡과 차별화 될 수 있는 소규모 수제떡 가공 기술 등</li> </ul>
기타교육	견학	2016. 5. 4.~ 2017. 5	59	2	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 가공식품의 가공공정에 대한 이해, 가공사업을 통한 지역 활성화 사례, 원가계산</li> <li>· 떡 포장방법 및 떡 가공 실습</li> </ul>
	안전교육	2017. 4. 6	20	1	· 로컬푸드의 이해, 먹거리안전
	위생	2016. 3. 16	49	1	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 식품위생법, 식품행정사항, 식품표기사항, 품질관리법 등</li> <li>· 이물클레임 예방활동과 이물관리계획</li> </ul>
	포장	2017. 6. 29	40	1	· 보자기 포장, 병포장, 상자포장 등

표 IV-39. 농업인가공활성화센터 가공 설비 현황

구분	생산설비
전처리실	버블세척기, 쌀세척기, 구근탈피기, 축열식 온수기
떡가공실	개떡성형기, 떡절단기, 올인원제병기, 전기스팀보일러, 돌로라, 스팀편칭기, 반죽기, 고압 스팀형 찜기
반찬가공실	분쇄기, 대용량 믹서기, 제빵용 오븐, 전기튀김기, 과일박피기, 양념분쇄기, 야채절단기, 습식파쇄기, 회전식국솥, 찜솥
습식실	교반식 전기살균기, 공압식 전기추출기, 진공저온찜교반기, 탈피기, 블루베리착즙기
내포장실	스탠딩 파우치충진기, 병 캡핑기, 스파우트포장기, 금속검출기, 자동날인기
건조건식실	스텐곡물분쇄기, 스텐 평롤라, 전기볶음솥, 제환기, 원적외선건조기, 당의기, 빵튀기 기계, 반죽기, 냉풍제습건조기, 집진기
위생실	손소독기, 이물질흡입기, 손세정대, 장화세척기



그림 IV-61. 나주시 농업인가공활성화센터 주요 장비 및 시설

다. 반제품 생산 시스템의 지역 산업 연계방안 도출

1) 지역산업체와 연계한 식품, 화장품 등 생산 연계 방안 도출

나주천연색소산업화지원센터와 농민가공활성화센터에서 생산된 반제품을 이용하여 농민과 기업이 장비를 임대하여 떡, 음료, 분말스틱 등으로 완제품 생산이 가능하다(그림 IV-62, 그림 IV-63, 표 IV-40~41). 따라서, 설비들을 이용하여 농업회사법인 이조은산소에서 병음료 및 과우치 음료 형태로 완제품 생산이 가능하며, 네이처인랩에서 배 유과 추출물(반제품)을 이용하여 화장품 생산이 가능하다. 이렇게 반제품을 이용하여 생산된 완제품은 나주시로컬푸드센터와 이조은산소, 네이처인랩의 자체 유통시스템을 활용하여 판매할 수 있다.(표 IV-42~43)

표 IV-40. 천연색소산업화지원센터 입주기업 현황

업체명	업종	고용인원(명)
클로바이오팜(주)	식품제조(클로로필a900)	2
(주)에프엔디	제조/동결건조	9
(주)네이처인랩	식품원료	3
에이엔씨바이오(주)	색소제조	2



그림 IV-62. 나주시 천연색소산업화지원센터 농산물 HACCP 생산 현황



그림 IV-63. 나주시 천연색소산업화지원센터 생산제품(완제품) 현황

표 IV-41. 농업인가공활성화센터 개발 가능 품목

구분		제품명
반찬류	절임류 (간장, 된장, 고추장 발효장아찌)	고추, 마늘, 마늘쫑, 깻잎, 양파, 콩잎, 참외, 메론, 돼지감자, 무, 김, 버섯 등
	피클류	오이, 버섯, 무우, 양파, 고추, 콜라비쌈, 모든채소 등
	김치류	오이소박이, 갓김치, 파김치, 열무김치, 총각김치, 깍두기, 부추김치, 양파김치, 물김치류 등
	장조림, 자반류	콩조림, 콩자반, 땅콩조림, 우엉조림, 연근조림, 표고버섯 등
습식류	잼류(무설탕잼, 무펙 틴잼, 설탕잼)	구기자, 배, 단호박, 무화과, 복숭아, 포도, 복분자, 블루베리, 양파잼, 코디얼류, 발효조청잼 등
	푸딩류	딸기, 복숭아, 포도, 아로니아, 감 등
	조청	와송조청, 블루베리조청, 쌀조청, 배조청, 도라지조청 고구마조청, 단호박조청 등

	액상류	식혜, 양과즙, 쌀요거트, 각종 과채즙류 등
	액상청류	대추, 솔잎, 도라지, 와송, 생강, 생강대추, 배도라지, 석류, 매실, 한라봉 등
	드레싱류	초고추장, 별미고추장소스, 된장소스, 참다래, 참깨, 양파, 땅콩, 만능맛간장 등
	정과류	도라지정과, 생강정과, 배정과, 무화과정과 등
건식류	분말류	고구마분말, 들깨가루, 미숫가루, 현미가루, 찹쌀가루, 콩가루, 엿기름, 버섯가루, 와송가루 등
	반건조정과류	고구마, 배, 감, 단호박, 무화과 등
	곡물가공	곡물바, 현미시리얼, 누룽지, 건과류크런치, 배편강, 조청편강 등
	차류	돼지감자볶음차, 감잎차, 우엉차, 말린무우볶음차, 보리차, 옥수수차, 현미차 등
	건과류	볶음깨, 볶음땅콩, 볶음콩 등
	건조칩	고구마, 감자, 단호박, 연근 등
	환류	도라지환, 썩환, 복분자환, 여주환, 솔잎환, 돼지감자환 등
떡 류	치는떡	인절미, 절편, 가래떡등
	찌는떡	떡케익, 백설기, 약식, 시루떡, 송편, 개떡, 영양찰떡 등
	삶은떡	경단종류 등

표 IV-42. 지역산업체(네이처인랩, 이조은산소) 유통시스템

구분	유통경로
이조은산소	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 온라인 쇼핑몰 이용</li> <li>○ 당사 급식 및 유통업체 영업망등을 이용한 판매경로 이용</li> <li>○ 도·소매 이용</li> <li>○ 장례예식장을 이용한 홍보 및 판매</li> </ul>
네이처인랩	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 원료(나주배 미성숙과 농축물) : 제조업체 직납</li> <li>○ 제품 : 다단계 업체, 제품개발의뢰업체, 홈쇼핑 업체 등을 통한 판매</li> </ul>

표 IV-43. 나주시로컬푸드센터 유통시스템

구분	내용
판매 및 경영 관리	<p>운영원칙</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 나주시 농업인이 나주시 관내에서 생산한 농산물 출하               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 소농과 고령농의 우선 출하 보장</li> <li>- 지역산 원료가 50%이상 포함되어 있는 가공식품 출하</li> <li>- 제휴푸드의 경우 전체 출하량의 5%를 넘지 않는 범위에서 허용</li> </ul> </li> <li>○ 농가가 직접 소포장하여 직매장에 출하               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 농가에서 직접 가격 결정(로컬푸드센터에서 기준 가격 제시)</li> <li>- 판매하고 남은 잔량은 농가 자가회수가 원칙</li> <li>※ 진열기한 경과 농산물 출하농가/입점업체 대상 50% 할인판매</li> </ul> </li> <li>○ 신선도 유지를 위한 진열기한의 준수 및 안전성 관리</li> <li>○ 안전성 검증을 위한 상시 점검 실시</li> </ul>
	<p>홍보사업</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 홈페이지, 블로그, SNS구축 활동</li> <li>○ 로컬푸드 주부 서포터즈               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 온/오프라인 홍보, 직매장 모니터링, 시장조사, 소비촉진 캠페인</li> </ul> </li> <li>○ 로컬푸드 소비자 회원 관리               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 적립포인트를 활용한 소비자 대상 이벤트 추진</li> </ul> </li> <li>○ 로컬푸드 전용 상품권 판매</li> <li>○ 로컬푸드 팜투어, 로컬푸드 소비자 체험투어</li> </ul>
	<p>기획생산체 계</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기획생산: 소농, 고령농 소득보장</li> <li>○ 출하농가 교육 및 조직화</li> <li>○ 주요 농산물 순회수집 시행</li> <li>○ 생산자전진대회 시행</li> </ul>
	<p>관계시장 창출</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 로컬푸드직매장 본점 추진</li> <li>○ 로컬푸드 무인판매대 운영</li> <li>○ 식당 식재료 공급사업</li> <li>○ 광주시 남구 로컬푸드 제휴푸드 추진</li> </ul>

## 2) 지역 연계 관광상품화 전략 도출

나주시는 영산강, 금성산, 나주읍성, 남평 드들강 솔밭유원지 등 관광자원을 가지고 있으며, 축제자원으로는 영산포 홍어축제, 한수제 벚꽃축제, 마한문화축제, 빛가람페스티벌 등이 있다. 나주시융복합산업재단과 관광자원, 축제자원 등과 연계하여 나주배 고부가가치화를 위한 관광상품화 전략을 도출할 수 있으며, 홍보활동을 통해서 나주 농특산품 브랜드 인지도를 높이고 매출증대의 효과를 실현할 수 있을 것으로 기대된다.(그림 IV-64)

### <지역연계 관광상품화 전략 도출>

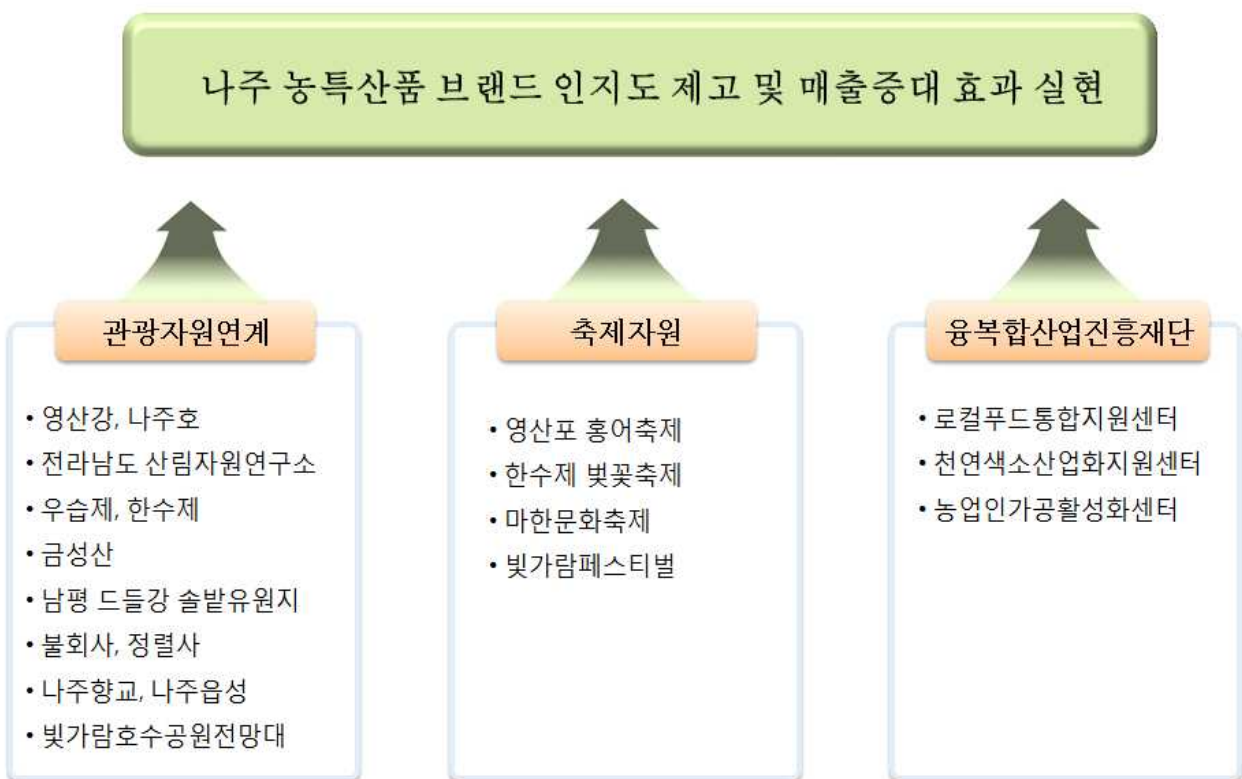


그림 IV-64. 연계마케팅 기획 방향



(1) 지역축제 연계 홍보활동

-행사개요: 제14회 영산포 홍어축제

-장소: 영산포 둔치체육공원 일원

-기간: 2018/04/13(금)

-행사내용: 로컬푸드 농산물 가공식품 상품개발 전시회와 연계한 '나주배 고부가가치 산업화 전략 및 식품개발' 연구개발 상품(나주배 미성숙과 추출물을 넣은 음료) 전시 및 홍보(그림 IV-65)



그림 IV-65. 제 14회 영산포 홍어축제 홍보 · 전시

(2) 지역직거래장터 연계 홍보활동

-행사개요: 금남동직거래장터

-장소: 금남동 주민센터 일대 곰탕거리

-기간: 2018/04/21(토)

-행사내용: 매주 나주 관내에서 운영되는 직거래 장터에서 '나주배 고부가가치 산업화 전략 및 식품개발 연구개발 상품(나주배 미성숙과 추출물을 넣은 음료) 전시 및 홍보 (그림 IV-66)



그림 IV-66. 금남동 직거래 장터 홍보 · 전시

## 5. 나주배 제품의 지역 전략 산업화를 위한 실증 모델 개발을 통한 실증

### 가. 고부가가치 제품의 원료 생산 농가 조직화

#### 1) 농가의 원료공급에 따른 경제성 분석

배 농가에서는 고품질의 과실을 생산하기 위해 한 과총 당 충실한 배 미성숙과 1-2개를 남기고 모두 적과한다. 적과로 제거된 배 미성숙과들은 별다른 활용방안을 찾지 못해 모두 폐기 처분되고 있는 실정이다. 따라서 농가로부터 이러한 배 미성숙과들을 공급받는데 많은 원료비가 소요되지 않으므로 가격경쟁력이 있으며, 배 미성숙과에는 본 연구팀에서 밝힌 바와 같이 기능성 물질이 성숙과보다 다량 함유되어있으므로 활용가치 면에서 우수하다.

표 IV-44. 배 미성숙과를 이용한 제품의 단가 산정

업체명	배 미성숙과 매입가	원료 단가	제품단가
이조은산소	6,720원/kg 2017년 기준	36,000원/kg	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 이활(병): 12,000원</li> <li>- 1박스당 6병(1병당 100 mL)</li> <li>- 1병당 원료 함유량: 54 mL</li> <li>○ 이활본(과립): 35,000원</li> <li>- 1박스당 5개 소포장박스(180 g)</li> <li>- 1소포장박스 당 10개 과립포 (1소포장박스 당 36 g)</li> <li>- 1박스당 원료 함유량: 0.612 g</li> <li>○ 이활진(과립): 35,000원</li> <li>- 1박스당 5개 소포장박스(180 g)</li> <li>- 1소포장박스 당 10개 과립포 (1소포장박스 당 36 g)</li> <li>- 1박스당 원료 함유량: 0.612 g</li> </ul>
네이처인랩			<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 배 미성숙과 화장품: 50,000원/80 mL</li> </ul>

## 2) 원료 생산 농가 조직화

### (1) 농업인 대상 사업설명회

국립원예특작과학원 배연구소와 연계하여 ‘나주배의 고부가가치를 위한 지역활성화 연구’를 2차년도 동안 수행하며 도출한 연구성과들을 소개하는 사업설명회를 과수분야 산학관연 관계자 및 배 농가들을 대상으로 실시했다. 배 연구소 개소 48주년 기념 학술심포지엄에서 본 과제에 참여하는 전남대학교 문제학교수와 전대일 교수는 행사 2부 순서에서 일련의 연구성과들을 참석자들에게 발표했으며, 배 부산물을 이용하여 고부가가치 제품 개발의 가능성을 제시한 본 설명회는 배 농가들의 큰 관심 속에서 진행했다.

- 행사명: 배연구소 개소 48주년 기념 학술 심포지엄 「6차산업을 접목한 과수산업 활성화 방안」
- 일시: 2018.04.12(목)
- 장소: 국립원예특작과학원 배연구소(금천면 소재)
- 주관: 국립원예특작과학원 배연구소
- 공동개최기관·단체: 전남대학교, (사)한국과수협회, (사)한국배연합회, iPET
- 참석대상: 과수분야 산학관연 관계자 및 배 생산자, 원예학회 호남지부 회원



그림 IV-67. 나주배 연구성과 수록 심포지엄 책자



그림 IV-68. 농업인대상 사업설명회 사진

(2) 배 산업 경쟁력 확보 전략 심포지엄 초청 강연

- 행사명: 배 건강기능성 발굴을 통한 산업 경쟁력 확보 전략 심포지엄
- 일시: 2018.09.08(토) / 13:30 ~ 16:50
- 장소: 농협 양재 하나로마트(대회의실)
- 주최: (사)한국배연합회(한국배자조금관리위원회)
- 주관: 농림축산식품부, 농촌진흥청(배연구소), 농협중앙회, (사)한국과수협회
- 참석대상: 배 산학관련 관계자 및 소비자

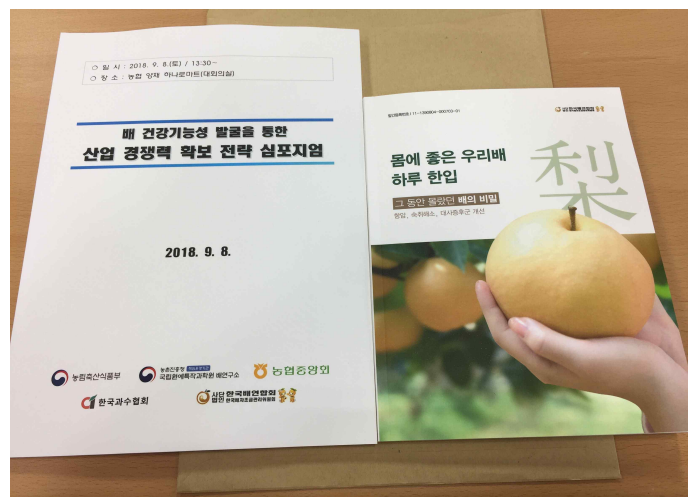


그림 IV-69. 배 산업 경쟁력 확보 전략 심포지엄 책자



그림 IV-70. 배 산업 경쟁력 확보 전략 심포지엄 사진

## 나. 나주배 고부가가치화 실증 모델 개발을 위한 지역 산업체와의 연계

### 1) 나주배 동결건조칩 제품개발 지원

나주시 천연색소산업화지원센터에서 천연색소를 이용하여 동결건조기법으로 ‘지암지암까까 비트를 품은 나주배’ 제품을 개발·출시 하였다. 배에 천연색소 영양성분이 가미되고, 따로 당을 첨가하지 않아도 당도가 높고, 식품첨가제도 첨가하지 않아 웰빙(well-being)시대에 걸맞은 제품이며, 천연원료 그대로의 아삭아삭한 조직감을 가질 뿐만 아니라 보존성이 향상되고 간편하게 섭취할 수 있다. 기존의 동결건조 제품과는 차별화된 식품으로써 소비자들의 고급화 취향에 맞출 수 있고, 맛과 기능성을 동시에 충족시킬 수 있는 배 가공식품으로써 경제력을 갖췄다.



그림 IV-71. 비트를 품은 나주배 동결건조칩 제품 사진

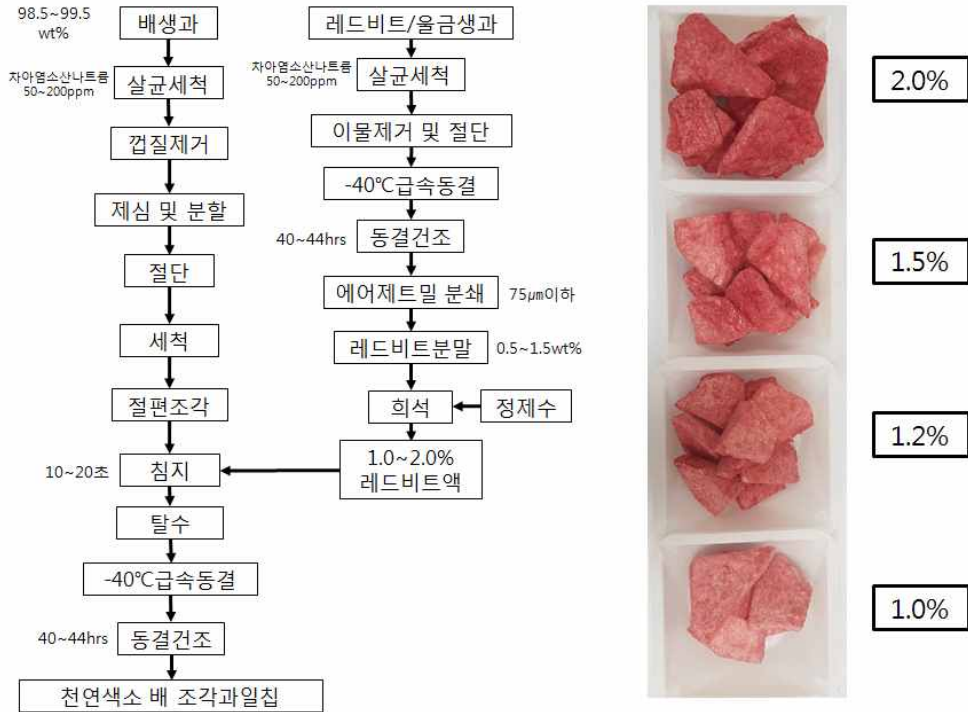


그림 IV-72. 레드비트 천연색소 특성을 가진 동결건조 배 과일칩 제조공정도

발급번호 : 06SE-S00M-ETUJ-930H-6PM

### 식품(식품첨가물) 품목제조보고서

원명(법인명)	생년월일(법인번호)		
김민규	1955년 04월 10일		
주소	전화번호		
전라남도 나주시 동수농공단지길 62-8(동수동)	휴대전화 01033439438		
영입소	영입등록번호		
나주시천연색소산업화지원센터	20160512161		
소재지			
전라남도 나주시 동수농공단지길 62-8(동수동)			
식품의 유형	과, 재가공품류	요청하는 품목제조 보고번호	201605121614
제품명	지렁이양귀비 비트를 품은 나주 배		
유통기한	제조일로부터 1년		
품질유지기장			
원재료 또는 성분명, 배합비율	뽕장애 기재		
용도 용법	뽕장애 기재		
보관방법 및 포장재질	뽕장애 기재		
포장방법 및 포장단위	12g, 15g × 1, 2, 3, 6, 10, 12, 24, 30, 48포		
생상	밝은 적색의 고풍 건조칩으로 비트와 배 고유의 맛과 이며? 이취가 없어 미다.		
품목의 특성	<input type="checkbox"/> 고염량 · 저염량 식품 해당 여부 [ ]에 [ ]여니오 [O] 해당 없음 <input type="checkbox"/> 알콜인등 식품 해당 여부 [ ]에 [O]여니오		
기타			

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2017년 11월 08일  
보고인 김민규

전라남도 나주시장 귀하

품목보고번호	20160512161-4
처리부서	보건소 보건위생과
처리자명	차리자명
나관명	처리일자
	2017년 11월 10일

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며, 식품안전정보포털(http://www.foodsafetykorea.go.kr) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

발급번호 : 06SE-S00M-ETUJ-930H-6PM

원재료명 또는 성분명 및 배합비율		
No.	원재료명 또는 성분명	배합비율(%)
1	배	99%
2	레드비트분말	1%
용도용법	1일 1포 3~4회 나누어 섭취하십시오.	
보관방법 및 포장재질	직사광선과 고온다습한 곳을 피해 보관하십시오. 내포장재질: 폴리에틸렌	

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며, 식품안전정보포털(http://www.foodsafetykorea.go.kr) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

그림 IV-73. 비트를 품은 나주배 식품 품목제조보고서

## 2) 나주배를 이용한 음식 레시피 확립

### (1) 나주배 착즙박을 이용한 레시피 확립

배는 대부분 음료가공용으로 이용되며 배즙을 생산할 때 생과를 세척하고 착즙하는 공정에서 20~25%정도의 착즙박이 발생하고 있다. 배착즙박에는 기능성 물질인 페놀성 화합물들이 다량함유되어 있음에도 불구하고 활용방안을 제시하지 못해 모두 폐기처분 되고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 배착즙박을 활용하는 방안으로 두가지 건조방법을 통해 분말화 작업을 실시하였으며, 이를 이용한 총 8건의 레시피를 확립하였다.

#### (가) 나주배 착즙박 분말화 공정




나주배 착즙박 분말화 공정을 확립하기 위해 나주시천연색소산업센터와 농업인가공활성화센터의 장비를 이용하여 동결건조와 열풍건조를 각기 실시하였다.(표 IV-45) 동결건조의 경우 -40℃에서 24시간 냉각 후 95℃에서 27시간 건조했으며, 열풍건조에 비해 장비이용면에서 비용이 많이 드나 대량건조가 용이하고 건조시 색이 더 깨끗하고 분말화가 잘 됨을 볼 수 있었다. 열풍건조의 경우 70℃에서 16시간 건조했으며, 동결건조와 비교했을 때, 건조 작업 중간중간에 고루 섞어서 퍼주는 작업을 해야 하는 공정상 번거로움이 있지만 장비이용면에서는 저렴하다.





표 IV-45. 나주배 착즙박 분말화 공정


방법	배착즙박 건조 전	배착즙박 건조 준비	건조기 투입	건조 완료	비고
동결건조					-40℃에서 24시간냉각 95℃에서 27시간 건조
열풍건조					70℃에서 16시간 건조



(나) 나주배 착즙박 분말을 이용한 레시피


레시피	사진	내용
배 고추장		<p>□ 재료 : 고춧가루 2 kg, 찹쌀가루 2 kg, 메주가루 1 kg, 소금 800 g, 옛기름 1 kg, 배즙 3 L, 배착즙박 분말 200 g</p> <p>□ 만드는 법</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 메주콩을 5시간 정도 불려 푹 삶아서 하루 정도 더운 곳에 놓고 발효시킨 다음 햇볕에 말려서 곱게 빻아 가루를 낸다.(온도는 32-35℃가 적당. 45℃를 넘으면 안된다.)</li> <li>2. 찹쌀을 5시간 정도 불렀다가 뜨거운 솥에 고들고들 썰서 메주콩과 함께 섞어 발효한 후 말려서 곱게 빻아 가루를 낸다.</li> <li>3. 1과 2의 가루를 섞어 고추장 재료로 쓰일 메주가루를 완성한다.</li> <li>4. 고추를 잘 씻어서 햇볕에 말린 후 곱게 빻아 가루를 낸다.</li> <li>5. 옛기름은 배즙에 담가 불린 후 체에 걸러 받쳐둔다.</li> <li>6. 찹쌀은 깨끗이 씻어 물에 5시간 이상 충분히 불린 다음 큰 솥에 담은 후 30분간 찜는다.</li> <li>7. 6의 찹쌀고두밥에 5의 옛기름물을 붓고 50-55℃로 가열하여 30-50분간 삭힌다.</li> <li>8. 7의 삭힌 찹쌀고두밥을 핸드블렌더로 쌀알의 형태가 없어지도록 충분히 갈아준 후 계속하여 50-55℃로 30-50분간 더 삭힌다.</li> <li>9. 불을 끄고 8의 찹쌀고두밥에 4의 고춧가루와 3의 메주가루 그리고 배착즙박 분말을 넣고 잘 섞이도록 주걱으로 저어준다.</li> <li>10. 어느 정도 섞여 붉은 색이 나오면 소금으로 간하고 향아리에 넣는다. (간을 할 때 간장이나 액젓을 조금 넣으면 빛깔이 더욱 좋아진다.)</li> <li>11. 향아리를 햇볕에 잘 쪄서 숙성시킨다.</li> </ol>
배 무장아 찌		<p>□ 재료 : 무 1 kg, 된장 500 g, 배착즙박 분말 500 g, 배즙 200 mL, 설탕 300 g, 소금 100 g</p> <p>□ 만드는 법</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 무를 흐르는 물에 깨끗이 씻고 무싹은 잘라내고 무껍질을 채칼로 벗겨내서 다듬는다.</li> <li>2. 깨끗하게 다듬은 무를 적당한 크기로 토막썰기한 다음 소금과 설탕을 넣고 3시간 가량 절인다.</li> <li>3. 절인 무를 흐르는 물에 행군후 45℃에서 12시간 건조한다.</li> <li>4. 꼬들꼬들하게 건조한 무에 된장과 배즙, 배착즙박 분말을 넣고 버무린다.</li> <li>5. 버무린 장아찌를 적당한 크기의 용기에 옮겨 담고 밀봉한 후 숙성시킨다.</li> </ol>
배 블루베 리잼		<p>□ 재료: 블루베리 500 g, 설탕 300 g, 배즙 100 mL, 배착즙박 분말 20 g, 펙틴 12 g, 레몬 1개</p> <p>□ 만드는 법</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 블루베리를 흐르는 물에 씻어 체에 받쳐 물기를 뺀 후 꼭지를 정리한다.</li> <li>2. 볼에 레몬이 잠길 만큼의 물을 넣고 베이킹 소다를 넣은 후 10분 정도 둔다.</li> <li>3. 2의 레몬을 굵은 소금으로 문질러 껍질을 깨끗이 씻고 레몬을 2등분한 후 겉껍질을 벗겨 가늘게 채 썰고, 껍질을 벗긴 레몬은 즙을 낸다.</li> <li>4. 냄비에 블루베리와 배착즙박 분말, 레몬즙을 넣고 설탕을 켜켜이 담아 설탕이 녹을 때까지 실온에 둔다.</li> <li>5. 4를 핸드블렌더로 갈아준 후 펙틴분말을 첨가하고 강불에서 주걱으로 저어주며 끓인다.</li> <li>6. 가장자리가 끓어오르면 약불로 줄이고 점성이 생길 때까지 계속 저어주며 끓인다.</li> <li>7. 완성된 잼을 한 김 식힌 후에 소독한 용기에 옮겨 담고 냉장보관한다.</li> </ol>

<p>배 인절미</p>		<p>□ 재료: 찹쌀 2.5 kg, 설탕 200 g, 배착즙박 분말 40 g, 배즙 400 mL, 소금 32 g, 콩가루 500 g</p> <p>□ 만드는 법</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 찹쌀을 깨끗이 씻어 물에 반나절 이상 불린다.</li> <li>2. 불린 찹쌀은 물기를 빼주고 소금을 넣은 후 곱게 빻아 가루를 낸다.</li> <li>3. 2의 가루를 주먹으로 쥐어 뭉쳐서 스티프팬칭기에 넣은 후 물을 충분히 빼주면서 면보를 씌우고 하얀 가루가 보이지 않을 때까지 충분히 찐다.</li> <li>4. 완전히 찐 찹쌀 반죽을 적당한 찰기가 생기도록 쳐대준다.</li> <li>5. 4의 반죽에 설탕과 배즙, 배착즙박 분말을 넣고 계속하여 쳐대준다.</li> <li>6. 충분히 치대어 찰기가 생긴 반죽은 기름을 두른 떡판에 쏟아낸 후 한김 식힌다.</li> <li>7. 어느 정도 식어 단단해진 떡 반죽을 떡컷팅칼로 일정 모양으로 잘라낸다.</li> <li>8. 적당한 크기로 잘라낸 떡을 콩가루와 배착즙박 분말을 섞은 고물로 사방으로 굴려서 충분히 가루를 묻혀서 그릇에 담아낸다.</li> </ol>
<p>배 양갱</p>		<p>□ 재료: 배즙 1000 mL, 백앙금 500 g, 배착즙박 분말 20 g, 한천분말 20 g, 물엿 100 g, 소금 10 g</p> <p>□ 만드는 법</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 한천분말을 미지근하게 데운 배즙에 넣고 불린다.</li> <li>2. 한천분말이 녹으면 배착즙박 분말과 백앙금을 넣고 중불에서 천천히 주걱으로 저어주며 졸인다.</li> <li>3. 어느 정도 졸인 2에 소금과 물엿을 넣고 계속해서 저어준다.</li> <li>4. 젓는 주걱을 들어보아 푹푹 떨어질 정도로 걸쭉해지면 실리콘 몰드에 붓고 식혀 완전히 굳힌다.</li> </ol>
<p>배 젤리</p>		<p>□ 재료: 배즙 1100 mL, 설탕 500 g, 젤라틴 60 g, 레몬즙 40 g, 배착즙박 분말 20 g</p> <p>□ 만드는 법</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배즙을 냄비에 넣고 끓여준다.</li> <li>2. 배즙이 끓기 시작하면 불을 끄고 한김 식힌 후 판젤라틴을 넣고 중탕으로 녹인다.</li> <li>3. 중탕으로 녹인 젤라틴에 설탕, 배착즙박 분말, 레몬즙을 넣고 설탕이 녹을 때까지 가열하며 주걱으로 저어준다.</li> <li>4. 설탕이 완전히 녹으면 불을 끄고 모양틀에 넣고 굳힌다.</li> </ol>
<p>배 전병</p>		<p>□ 재료: 계란흰자 100 g, 설탕 80 g, 버터 40 g, 박력분 30 g, 아몬드분말 20 g, 배착즙박 분말 20 g, 검은깨 15 g</p> <p>□ 만드는 법</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 버터를 연한 갈색이 날 때까지 끓인 후 체에 한번 걸러준다.</li> <li>2. 계란흰자를 잘 풀어 설탕과 섞어준다.</li> <li>3. 체에 곱게 쳐서 내린 박력분에 버터와 배착즙박 분말, 아몬드분말, 검은깨, 2의 계란흰자를 넣고 섞어준다.</li> <li>4. 시트지를 깎 오븐팬에 3의 반죽을 적당한 크기로 얇게 원모양으로 팬닝한다.</li> <li>5. 170°C로 예열한 오븐에 7-8분가량 구워낸다.(표면이 노릇해질 때 오븐에서 빼낸다.)</li> <li>6. 약간 말랑한 정도로 구워낸 전병을 오목한 틀에 올려 모양을 잡아준 채로 식힌다.</li> </ol>


배 초코파이		<p>□ 재료:</p> <p>-빵시트: 중력분 250 g, 설탕 250 g, 버터 150 g, 계란 120 g, 코코아파우더 86 g, 우유 60 g, 배착즙박분말 30 g, 소금 6 g, 베이킹파우더 3 g, 바닐라향 2 g, 다크커버춰초콜릿 750 g</p> <p>-마시멜로우: 설탕 220 g, 물 90 g, 물엿 75 g, 계란흰자 50 g, 젤라틴 15 g, 배착즙박분말 15 g</p>
		<p>□ 만드는 법</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 계란과 버터는 사용하기 전에 마디 실온에 꺼내어 둔다</li> <li>2. 박력분, 배착즙박 분말, 베이킹파우더, 코코아분말은 2번정도 함께 체에 쳐서 둔다.</li> <li>3. 실온에 두어 밀랑밀랑해진 버터를 거품기 또는 핸드믹서로 믹싱하여 부드럽게 풀어준다.</li> <li>4. 버터에 소금을 넣고, 설탕을 2-3차례에 나누어 넣으면서 설탕의 입자가 작아질 때까지 믹싱한다</li> <li>5. 계란은 흰자와 노른자를 풀어서 4에 2-3번 걸쳐 조금씩 나누어 넣으면서 빠르게 믹싱한다</li> <li>6. 체친 2의 가루를 5에 넣고 주걱으로 가루가 보이지 않을 정도로 고루 섞어준다.</li> <li>7. 6의 반죽에 우유를 넣고 주걱으로 고루 섞다가 바닐라향을 첨가하고 한 번 더 섞어준다</li> <li>8. 찰주머니에 원형까지 10 mm를 끼운 후 7의 반죽을 넣고 테프론시트나 유산지를 깔 오븐팬에 지름 6 cm 크기의 원형모양으로 짜준다.</li> <li>9. 170-175℃로 예열된 오븐에서 15분정도 구운 후 식힘망 위에 올려 완전히 식혀준다.</li> <li>10. 마시멜로우를 만들 젤라틴을 미지근한 물에 15분가량 불린다.</li> <li>11. 설탕을 따뜻하게 데운 물에 녹인 후, 불린 젤라틴을 넣고 완전히 녹인다.</li> <li>12. 계란흰자를 휘핑기로 쳐서 머랭을 만든다.</li> <li>13. 만들어진 머랭에 11을 3-4번에 걸쳐 넣으면서 믹싱한다.</li> <li>14. 13의 반죽에 배착즙박 분말과 물엿을 넣으면서 점성이 생길 때까지 믹싱한다.</li> <li>15. 14의 마시멜로우 반죽을 찰주머니에 넣고, 완성된 9의 초코파이 빵의 평평한 면에 원을 그리며 짜준 후, 또 다른 초코파이 빵으로 덮어준다.</li> <li>16. 증탕으로 녹인 다크커버춰초콜릿을 고루 문힌 후 초콜릿이 굳을 때까지 식힌다.</li> </ol>

(2) 나주배 천연색소를 이용한 레시피 확립


□ 배 젤리(배즙 동결건조 색소 이용)

재 료	배즙 동결건조 분말 10 g(또는 배즙 농축액 15 mL), 물 100 g, 판 젤라틴 20 g, 설탕 100 g
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 판 젤라틴을 차가운 물에 불려준다.</li> <li>2. 불린 젤라틴은 물을 짰 짜고 용기에 담아 전자레인지에 20초 정도 돌린다.</li> <li>3. 배즙분말과 설탕을 물에 녹인 후 중약불에서 가열 후 불을 끄고 녹인 젤라틴과 잘 섞고 원하는 틀에 담아 냉동고에서 굳힌다.</li> </ol>

□ 배 마카롱(배즙 동결건조 색소 이용)

재 료	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 마카롱 코크(겉부분): 아몬드가루 80 g, 달걀흰자 60 g, 슈가파우더 80 g, 배즙동결건조분말 10 g, 설탕 50~55 g</li> <li>- 마카롱 필링: 무염버터 70 g, 우유 20 g, 달걀노른자 15 g, 배즙동결건조분말 10 g (혹은 배즙 농축물), 설탕 8 g</li> </ul>
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 아몬드가루, 슈가파우더를 체로 친다.</li> <li>2. 건조된 볼에 달걀흰자를 넣고 거품을 내면서 배즙 동결건조 분말을 3회 나누어 넣고 머랭을 만든다.(머랭이 단단해 질 때까지 거품을 낸다)</li> <li>3. 볼에 체로 친 아몬드가루, 슈가파우더를 담고 머랭을 3회 나누어 넣어 섞는다.</li> <li>4. 짤 주머니에 반죽을 담고, 마카롱 전용 시트를 깐 오븐용 팬에 동그랗게 짤 후 실온에서 1시간 정도 반죽을 말린다.</li> <li>5. 160℃로 예열한 오븐을 150℃까지 내린 후 코크를 굽는다.</li> <li>6. 냄비에 우유와 배즙동결건조분말, 설탕을 넣고 저어주면서 살짝 끓어오르면 불을 끈다.</li> <li>7. 6의 필링을 식힌 다음 계란노른자를 넣고 섞는다.</li> <li>8. 약한 불로 7의 필링을 가열하고 크림화 되면 불을 끈다.</li> <li>9. 버터를 크림화 한 후 8의 필링과 섞고 짤 주머니에 담는다.</li> <li>10. 식힌 5의 마카롱 코크위에 9의 필링을 짜주어 완성한다.</li> </ol>

□ 배 단자(배즙 농축물 색소 이용)

재 료	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 찹쌀가루 600 g, 설탕 26 g, 배즙 농축물 30 mL, 배즙동결건조분말 45 mL, 물 약간</li> <li>- 코코넛 가루 100 g, 배 생과 동결건조분말 20 g</li> <li>- 단자소 : 배즙농축물 30 mL, 거피동부 100 g, 녹두앙금 100 g</li> </ul>
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 체로 친 찹쌀가루에 배즙농축물, 배즙동결건조분말과 설탕을 넣은 후 버무려 준다 (쌀가루를 주먹 쥐서 뭉쳐지면 물의 양이 적당한 상태이다).</li> <li>2. 끓는 물이 있는 시루에 젖은 면보를 깔고 1의 쌀가루를 넣은 후 10-15분정도 센불에서 찐다.</li> <li>3. 비닐 위에 식용유를 살짝 발라준 후 그 위에서 2의 떡을 치댄 후 치댄 떡을 30 g 씩 떼어 식힌다.</li> <li>4. 녹두와 동부앙금, 배즙농축물을 섞어 반죽 후 15 g씩 떼어 냉동실에 둔다.</li> <li>5. 3을 넓게 늘린 후 4를 중앙에 놓고 동그랗게 만든다.</li> <li>6. 쟁반에 코코넛 가루와 배생과 건조분말을 넓게 깔고 5의 떡을 굴려 겉면에 코코넛 가루와 배생과 건조분말을 묻혀준다.</li> </ol>

□ 배 파이(동결건조 배 이용)

재 료	<p>파이용 사각시트 1장, 계란 1개, 설탕물에 절인 동결건조 배</p>
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 동결건조 배를 설탕물에 담근 후 중불에서 끓여 준다.</li> <li>2. 파이용 사각시트를 녹인 후 4등분으로 잘라주고 4등분 중 2개는 칼집을 넣는다.</li> <li>3. 칼집이 없는 파이용 사각시트에 1의 배를 올려준다.</li> <li>4. 3의 칼집이 없는 파이용 사각시트에 칼집이 있는 파이용 사각 시트를 덮은 후 계</li> </ol>



- 란 물을 붓으로 발라준다.
5. 180℃로 예열된 오븐에 15-20분간 구워 준다.

□ 배 백설기(배즙 동결건조 색소 이용)

재 료	멥쌀 800 g(멥쌀가루 1.2 kg), 소금 10 g, 배즙 동결건조 분말 130 g, 설탕물(설탕:물 = 1:2)
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 멥쌀은 씻어 물에 12시간 이상 충분히 불렀다가 건진 다음 소금으로 간을 한다.</li> <li>2. 1의 멥쌀을 곱게 빻은 후 체로 내린다.</li> <li>3. 2의 멥쌀가루에 설탕물과 배즙 동결건조 분말 가루를 넣고 골고루 섞는다.(멥쌀가루를 주먹 쥐서 뭉쳐지면 물의 양이 적당한 상태이다)</li> <li>4. 3의 멥쌀가루를 체를 이용하여 내린다.</li> <li>5. 시루에 젖은 면보를 깔고 체로 내린 4의 멥쌀가루를 골고루 뿌려 준다.(위를 평평하게 해준다)</li> <li>6. 센불에서 찌면서 김이 나오면 뚜껑을 덮어 20분 정도 더 찐다.</li> <li>7. 20분 후 불을 끄고 5분 정도 뜸을 들인 후 썰어 낸다.</li> </ol>

□ 배 쿠키(배생과 동결건조 분말 이용)

재 료	식용유 50 mL, 설탕 30 g, 바닐라오일 1 mL, 소금 0.6 g, 박력분 130 g, 배생과 동결건조배 가루 20 g, 아몬드가루 20 g, 코코넛가루 20 g, 견과류 10 g, 우유 50 mL, 배생과 동결건조배 적당량(장식용)
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 둥근 불에 식용유, 설탕, 바닐라오일, 소금을 넣고 거품기로 섞는다.</li> <li>2. 1에 체로 내린 박력분과 배생과 동결건조배 가루, 아몬드가루, 코코넛가루, 견과류를 넣고 주걱으로 섞는다.</li> <li>3. 2에 우유를 넣은 후 거품기로 섞는다.</li> <li>4. 쟁반에 밀가루를 뿌려 그 위에 3의 반죽을 놓고 반죽 위에 밀가루를 뿌리고 비닐로 덮은 다음 밀대로 얇게 민다.</li> <li>5. 4의 반죽을 쿠키틀로 모양을 찍어 낸다.</li> <li>6. 적당량의 설탕과 배생과 건조배를 5의 쿠키 반죽 위에 박은 후 170~180℃로 예열한 오븐에 10-15분간 굽는다.</li> </ol>

□ 베스편지케이크(배즙 농축물 색소 및 동결건조 배 이용)

재 료	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 밀가루 200 g, 달걀 4개, 설탕 70 g, 배 생과 동결건조 가루 75 mL, 정종 15 mL, 베이킹 파우더 5 g, 오일 15 mL, 소금약간</li> <li>- 배즙농축물 75 mL, 배 생과 동결건조 가루 2 g(유자청 또는 한라봉청 15 mL 정도와 혼합하여도 좋다.)</li> </ul>
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 달걀과 설탕을 중탕하여 거품이 90% 정도 생성되면 배생과 동결건조배가루를 혼합한다.</li> <li>2. 밀가루, 베이킹파우더를 체로 내린다.</li> <li>3. 1에 2를 혼합한 후 정종, 오일을 넣고 섞은 다음 케익틀에 부어 170-180℃로 예열한 오븐에 굽는다.</li> </ol>



4. 배생과 동결건조 가루와 배즙 농축물을 혼합하여 안의 잼을 만들어준다.
5. 구워진 케익을 먹기 좋은 크기로 잘라 중간에 4의 배잼을 바르고 샌드한다.

□ 배 강정(배즙 농축물 색소 이용)

재 료	멥쌀 180 g, 소금 1 g, 배즙농축물 45 mL, 설탕 40 g, 물 20 mL, 견과류 적당량, 식용유 적당량
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 쌀을 5시간 이상 불린 후 물을 넣고 심이 없어질 때까지 끓인다.</li> <li>2. 1의 쌀을 씻은 후 소금물에 담근 후 간이 베이면 건져서 건조시킨다.</li> <li>3. 말린 쌀을 180℃~190℃ 기름에 넣어 튀긴 다음 충분히 기름을 뺀다.</li> <li>4. 냄비에 설탕, 배즙농축물, 물을 넣고 시럽을 만든다.</li> <li>5. 시럽에 견과류를 넣고 볶은 후 튀긴 쌀을 넣어 한 덩어리가 되게 볶은 후 모양을 내고 자른다.</li> </ol> <p>※ 쌀튀밥을 사용하면 1~3의 과정 생략가능</p>


□ 배 인절미(배즙 농축물 색소 이용)

재 료	참쌀가루 1 kg, 소금 15 g, 설탕 50 g, 카스테라 가루 200 g, 배즙농축물 적당량
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 참쌀가루에 소금을 넣고 체에 내린다.</li> <li>2. 1의 참쌀가루에 배즙농축물을 넣고 반죽한다(주먹 쥐서 참쌀가루가 뭉쳐지면 물의 양이 적당한 상태이다).</li> <li>3. 시루에 젖은 면보를 깔고 위에 설탕을 뿌린 후 2의 참쌀가루를 골고루 뿌리면서 시루에 넣어 준다.</li> <li>4. 시루에서 김이 나오면 약 25~30분 정도 쪄낸다.</li> <li>5. 비닐 위에 식용유를 살짝 바른 후 그 위에서 다 익은 4의 떡을 치댄 후 모양을 만들어 먹기 좋은 크기로 자른다.</li> <li>6. 쟁반에 카스테라 가루를 깔고 5의 떡을 굴려 겉면에 카스테라 가루를 묻혀준다.</li> </ol>


□ 배유자에이드(배즙 농축물 색소 이용)

재 료	배즙농축물 10 g, 유자를 갈아서 당을 첨가한 유자청 2 g
만드는법	1. 배즙농축물(배즙농축물 고형분 함량 60° Brix)과 유자청(유자를 갈은 것과 설탕 1:1로 만들 유자청)을 10:2의 배합비율로 혼합한다.
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>&lt;액상 배에이드&gt;</p> <p>색상은 좋지 않지만 가공료가 저렴</p> </div> <div style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: red;">VS</div> <div style="text-align: center;"> <p>&lt;동결건조 분말 배에이드&gt;</p> <p>색상은 좋지 않지만 가공료가 고가</p> </div> </div>	


□ 배 초콜릿(동결건조 배 이용)

재 료	배 생과 동결건조, 다크커버춰 초콜릿
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배 심을 제거한 후 껍질을 벗겨 먹기 좋은 크기로 비스듬하게 썰어 동결건조한다.</li> <li>2. 둥근 불에 잘게 다진 다크커버춰 초콜릿을 넣은 후 60℃의 따뜻한 물에서 중탕하여 다크커버춰 초콜릿을 녹인다.</li> <li>3. 녹인 다크커버춰 초콜릿을 27~28℃가 될 때까지 식혀주면서 주걱으로 저어준다.</li> <li>4. 3의 초콜릿을 다시 따뜻한 물로 중탕해 31~32℃가 될 때까지 중탕한다.</li> <li>5. 준비한 동결건조 배를 준비한 초콜릿에 담갔다 빼다.</li> </ol>


□ 배양갱(배즙 농축물 색소를 이용)

재 료	한천 6 g(6-8 g), 물 400 g, 설탕 70 g, 팔앙금 400 g, 배즙농축물 100 g, 물엿 30 g, 소금 약간
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 불에 물 300 g을 붓고 가루 한천을 넣어 20분 정도 불린다.</li> <li>2. 냄비에 물 100 g을 붓고 물이 끓으면 1의 불린 한천을 넣는다.</li> <li>3. 2에 설탕을 넣고 저으면서 녹여주고 충분히 녹으면 불을 끈다.</li> <li>4. 3에 팔앙금과 배즙농축물을 넣고 섞어준 다음 주걱으로 저어주면서 중간 불로 끓이다가 끓어오르기 시작하면 가장 약한 불로 줄여 더 끓인다.</li> <li>5. 앙금이 걸쭉해지면 물엿, 소금 약간을 넣고 주걱으로 저어주면서 2분 정도 더 조리한다.</li> <li>6. 5를 틀에 붓고 냉장고에 옮겨 완전히 굳힌다.</li> </ol>

□ 배레몬에이드(배즙 농축물 색소 이용)

재 료	배즙농축물 10 g, 레몬즙농축물 2 g
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 배즙농축물(배즙농축물 고형분 함량 60° Brix)과 레몬시럽(레몬즙 고형분함량 40%에 정백당을 첨가하여 50° Brix까지 혼합한 것)을 10:2의 배합비율로 혼합한다.</li> </ol>

□ 개피떡(동결건조배 이용)

재 료	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 멥쌀 400 g(멥쌀가루 600 g), 소금 6 g, 물 적당량</li> <li>- 소: 팔 200 g, 배생과 동결건조배 20 g, 배즙동결건조분말 10 g, 소금 4 g, 꿀 30 g, 참기름 적당량</li> </ul>
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 멥쌀을 물에 12시간 정도 담갔다 건진 다음 소금 간을 한 후 곱게 빻아 체로 내린다.</li> <li>2. 쌀가루에 적당량의 물을 넣고 섞은 후 시루에 찐 다음 떡을 식용유를 발라둔 비늘 위에서 치댄다.</li> <li>3. 팔에 배생과 동결건조배, 배즙동결건조분말, 소금, 꿀을 섞어 멥쳐 소를 만든다.</li> <li>4. 2의 떡에서 적당히 3의 팔소를 중앙에 놓고 반달 모양으로 만든 후 참기름을 고루 바른다.</li> </ol>

□ 배브라우니(동결건조 배 이용)

재 료	버터 125 g, 다크커버춰초콜릿 125 g, 흑설탕 125 g, 바닐라가루 8 g, 달걀 3개, 박력분 50 g, 코코아가루 50 g, 베이킹파우더 1.2 g, 호두 30 g, 배생과 동결건조배 20 g
-----	--



1. 볼에 버터와 다크커버춰초콜릿을 넣고 중탕하여 녹여준다.
2. 1을 스테인레스 볼에 옮겨 담고 흑설탕과 바닐라가루를 넣어 거품기로 섞은 후 달걀을 넣어 섞는다.
3. 박력분, 코코아가루, 베이킹파우더를 체에 내린 후 2에 넣고 섞은 뒤, 호두, 배생과 동결건조배를 넣고 주걱으로 섞는다.
4. 종이호일을 깔아놓은 오븐용 팬에 3의 반죽을 넣은 후 그 위에 장식용 호두와 배생과 동결건조배를 박은 후 180℃로 예열한 오븐에 넣고 구운 후 냉장고에서 식힌다.



<제 3협동> 이조은산소(주)

<나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 폐늘성 화합물 함유 향산화 배음료 제품개발을 위한 추출물 개발>

1. 연구목적 및 필요성

배의 크기가 크지않은 배의 경우 시장에서 선호도가 떨어지고 최종적으로는 아무런 이용이 되지 못하고 폐기되는 경우가 많음. 이를 최대한 해결하면서 배의 기능성을 활용할 수 있는 재료를 만들어 내는 것을 이번년도에 목표로 삼았음.

2. 연구수행 내용 및 결과

(1) 나주배 세척 및 선별과정

나주배 당도가 12 ~ 13° Brix 원물을 공급받았으며 1차자동세척 2차자동세척 후 썩은 원물을 제거하는 3차 선별을 실시하였음. 3차 선별의 경우 실시하지 않고 그대로 진행시 음료등의 제품 제작시 쓴 맛유발 제품의 질에 영향을 줄 수 있기 때문에 거치는 과정임. 3차 선별을 하는 과정에서 썩은 부위의 절단을 통해 일부 손실이 발생하였음. (그림V-1)

▣ 그림V-1. 1차년도 고부가가치 제품 제작을 위한 추출물 제조





나주배 원물 2차 자동 세척



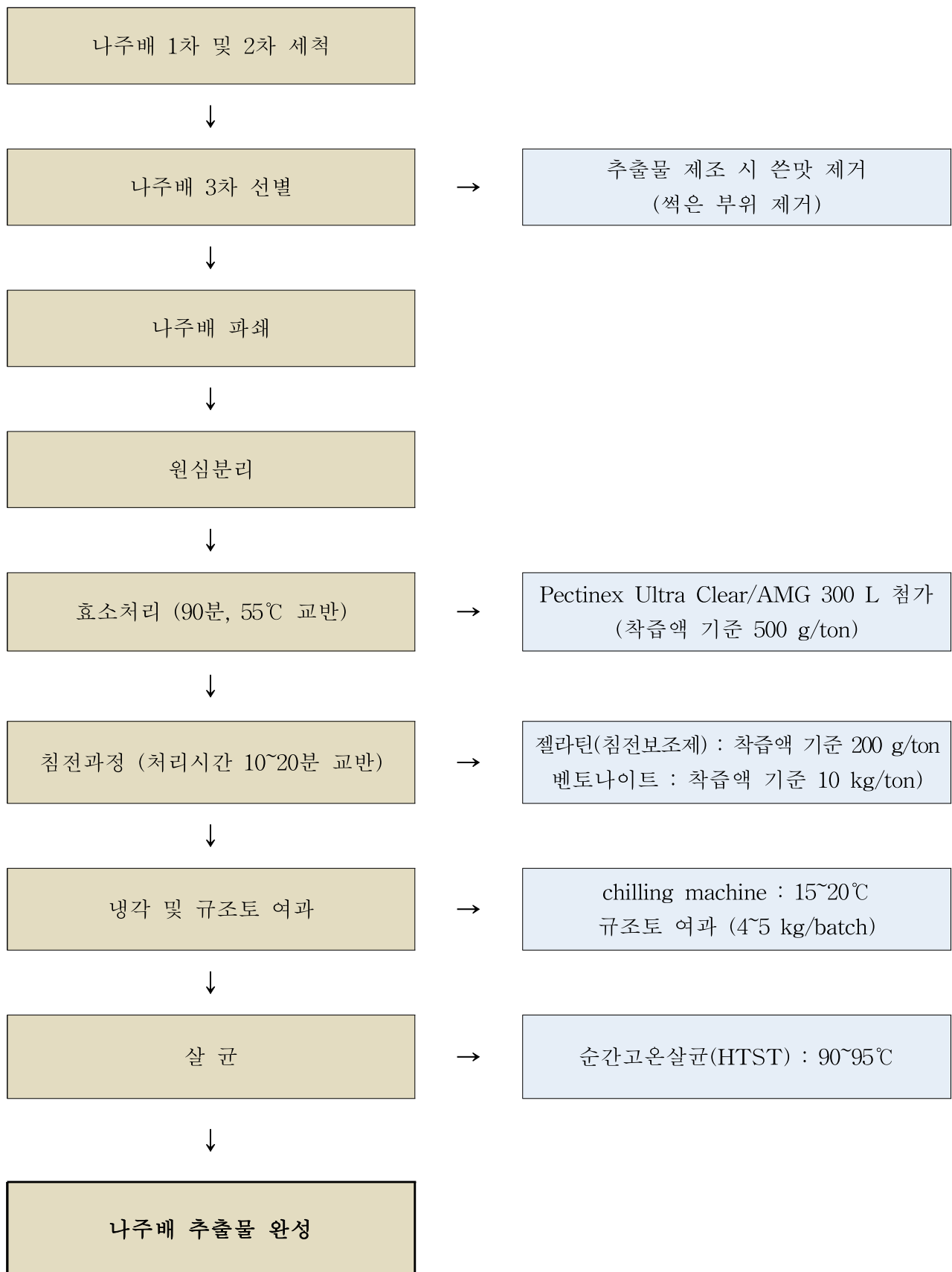
나주배 원물 3차 선별과정

**(2) 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 페놀성 화합물 함유 향산화 배 음료제품 개발위한 공법 확립 및 추출물 조제**

1차, 2차 세척 및 선별과정을 거친 나주배를 이용하여 과쇄 과정을 진행하였다. 다음과정으로 원심분리를 하여 착즙액을 얻었음.

착즙액에 효소를 처리(Pectinex Ultra Clear/AMG 300 L, 500 g/ton)하여 90분 동안 교반탱크에서 55℃를 유지하였고, 효소처리 후 젤라틴(200 g/ton)과 벤토나이트(10 kg/ton)를 투입하여 침전과정 거쳤음. 추출물은 냉각(15~20℃)후 현탁물이나 세균등을 제거하기 위하여 규조토 여과기(4~5 kg/batch)를 이용하여 여과하는 과정을 거쳤음. 여과액을 살균처리(90~95℃)후 포장하여 추출물을 최종적으로 제작하였음.(그림 V-2~3) 1차년도 에서는 추출물을 만드는데 주력하였고 이 추출물을 대상으로 추후 병이나 파우치 제품으로 시제품 및 완제품을 제작 할 예정이다.(그림 V-4)

■ 그림 V-2. 나주배의 착즙액을 이용한 여과액 제조 과정.



■ 그림 V-3. 여과액을 살균처리 후 제품 생산.



■ 그림 V-4. 나주배 효소처리 추출물.



## <나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 고부가가치 식품의 개발>

### 1. 연구목적 및 필요성

배는 재배 과정 중에 있어 고품질의 배를 생산하기 위해 개화 후 20~30일 경에 적과를 행하는데 그들 중 생육상태가 가장 양호한 미성숙과 1개만을 남겨두고 나머지는 모두 적과를 진행하는 것이 현재의 실정임. 적과된 미성숙과 대부분은 현재 쓰임새가 불분명하여 버려지는 것이 대부분임. 연간 폐기되어지고 있는 배 미성숙과는 약 1,500 톤으로 추정되고 있음. 이로 인해, 적과를 위한 인건비 및 폐기 비용이 추가적으로 발생되어 농가에 경제적인 부담이 발생되고 있음. 그러나 아직 배 미성숙과의 활용성에 관한 대안이 제시되지 못하고 있는 것이 현재의 실정임.

본 연구과제의 공동연구그룹의 선행연구 결과에는(1차년도와 2차년도 성분분석 연구) 배 미성숙과로부터 51 종의 유용 생리활성 화합물을 단리·구조결정하여 보고한 바가 있는데 특히 배의 미성숙과는 성숙과에 비해 유용성분을 수십에서 많게는 약 200 배에 달할 정도의 고농도로 함유하고 있음이 보고된 바가 확인이 되었음.

따라서 본 연구에서는 배 부산물 및 폐기자원을 활용하여 가공제품을 생산하고, 그 가공제품에 함유된 배의 주요성분의 분석 및 생리활성을 평가하고자 하는 것이 주 연구 목적이 되었음. 이 연구에 따라 과학적이고 객관적인 data를 바탕으로 원천기술을 확보함으로써 국내 및 해외 시장에 적극적인 마케팅 공략이 가능할 것으로 기대가 되고 이러한 배 폐기자원(미성숙과)의 활용성 제고를 통해 배 농가소득의 향상과 농촌지역의 산업 활성화에도 기여할 수 있을 것으로 보이기에 이 연구에 대한 중요도는 높다고 볼 수 있음. 우리는 연구의 접근 방법으로써, 배 효소 추출물과 배 미성숙과 등을 이용한 제품(음료 및 과립 등)을 개발하여 생리활성 평가와 주요성분을 다양한 방법으로 분석하는 것을 실시하였음.

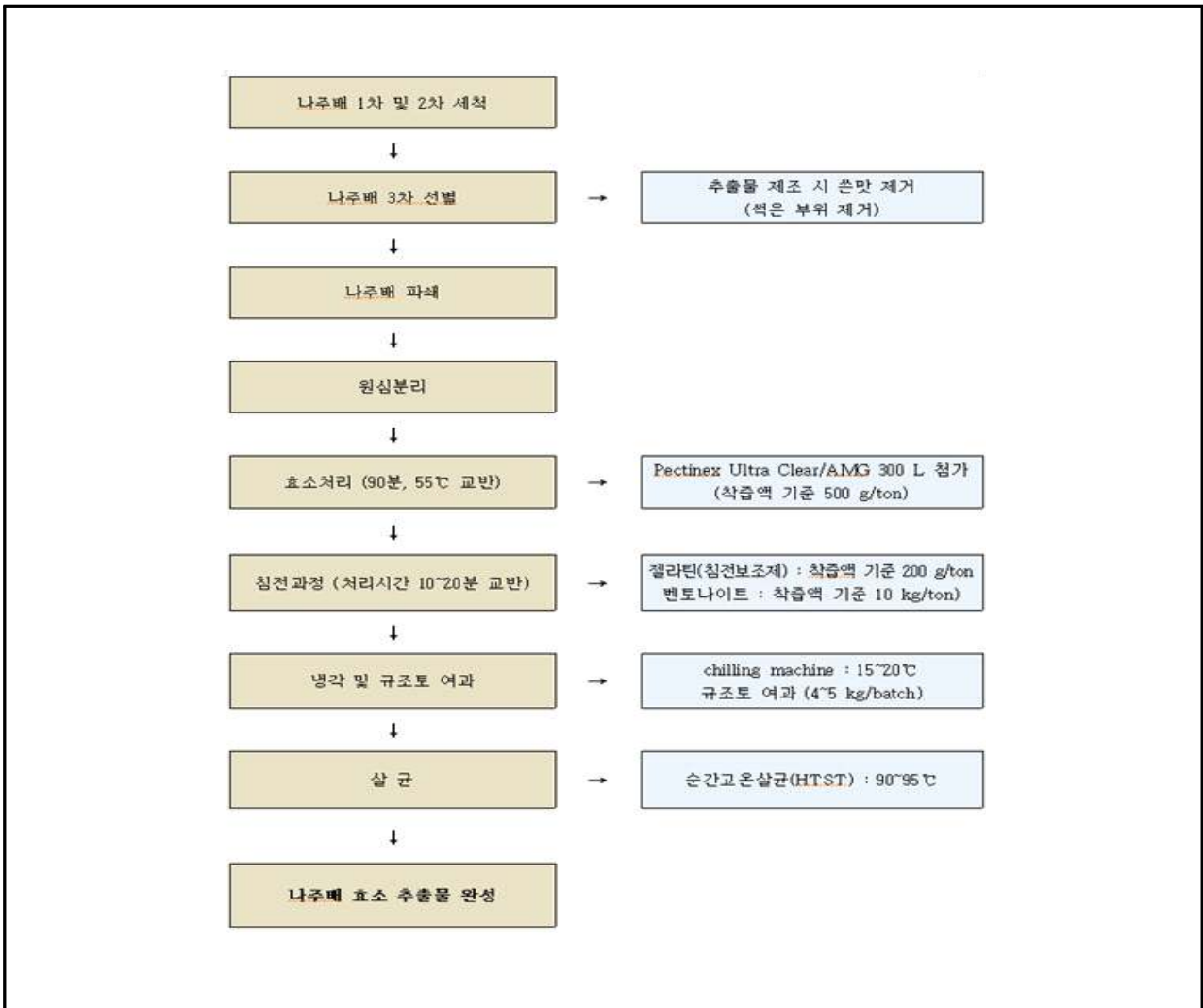
## 1. 연구수행 내용 및 결과

### (1) 나주배 효소 추출물 제조

원료의 경우 먼저 유과의 추출물을 이용하기 위하여 유과가 적과되는 시기인 여름이 본격적으로 시작되기 이전 5월달 정도를 기점으로하여 확보를 진행하였다. 그 다음 최적의 보관 상태를 유지하기 위해 추출을 진행한 후 냉동보관하였다. 다음은 나주배 원물 확보이다. 나주배의 경우 원물을 섭취하는 것이 아닌 약간 흠이 있거나 크거나 작더라도 일정수준의 단맛(12 brix ~ 13 brix내외)이 나타날 경우 충분히 음료에 사용이 가능하다. 그러므로 원가 절감 및 사용되지 못하고 버려지는 배를 사용하는 두 가지 효과가 있었기 때문에 산업체와 농가 모두에게 이득이 되는 측면이 있었다. 이렇게 확보한 원물을 이용하여 나주배 효소 추출물을 제조하고 먼저 제조한 유과 추출물과 함께 준비하였고 추가적으로 기타 원료들을 도매업체를 통해 구매하여 식품제조를 위한 준비를 마쳤다.

나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 페놀성 화합물 함유 향산화 배 음료제품 개발에 필요한 추출물의 제작은 나주배 당도가 12~13° Brix 원물을 공급받아 1차와 2차를 자동 세척기를 사용하여 세척 후 썬은 원물은 추출물(음료)제조 과정에서 쓴맛이 나지 않게 3차 선별과정을 거쳐 사용하였음. 1차, 2차 세척 및 선별과정을 거친 나주배를 이용하여 페놀성 화합물 함유 향산화 배 음료제품 개발 후 원심분리를 하여 착즙액을 얻었고 착즙액에 효소를 처리(Pectinex Ultra Clear/AMG 300 L, 500 g/ton)하여 90분 동안 교반탱크에서 55℃를 유지 효소처리 후 젤라틴(200 g/ton)과 벤토나이트(10 kg/ton)를 투입하여 침전과정 거쳤음. 추출물은 냉각(15~20℃)후 현탁물이나 세균 등을 제거하기 위하여 규조토여과기(4~5 kg/batch)를 이용하여 여과하였음. 여과액을 살균처리(90~95℃)후 포장하여 제품을 생산하였다. 이는 1차년도에 연구개발된 과정이나 생산과정에 필요한 과정이므로 재언급하였음. (그림 V-5~6)

■ 그림 V-5. 나주배 효소 추출물 및 제품 공정개발 모식도.



■ 그림 V-6. 나주배 효소 추출물.



(2) 제품 개발을 위한 배 유과 농축액 첨가량에 따른 기호도 조사

나주배 음료 제품 개발을 위해 배 유과 농축액 첨가량(1%, 2%, 5%, 10%)에 대한 기호도 조사를 20~50세의 학생 및 직장인을 대상으로, 기호도 조사의 목적과 시료에 대한 충분히 설명한 후 배 유과 농축액 함량이 상이한 음료 제품을 제공하였음. 기호도 조사는 향, 단맛, 쓴맛, 한약맛, 뒷맛, 전체적인 기호도에 대하여 7점 척도법으로 1점 ‘대단히 싫다’ 2점 ‘싫다’, 3점 ‘조금 싫다’, 4점 ‘보통이다’, 5점 ‘조금 좋다’, 점 ‘좋다’, 7점 ‘대단히 좋다’의 평가 항목으로 진행 하였음.(그림 V-7)

20~50대 남성, 여성 패널을 대상으로 나주배 음료 4종(배 유과 농축액 함량이 상이)의 기호도 조사를 실시한 결과는 (그림 V-8 및 표 V-1)과 같음. · 전체적인 기호도는 602번(배 유과 농축액 2%)이 좋은 것으로 평가 되었음. 향의 기호도는 4종의 제품에서 차이를 보이지 않았으며, 단맛 기호도는 301번(배 유과 농축액 1%)이 좋은 것으로 평가 되었음. 쓴맛, 한약맛, 기호도에서는 301번(배 유과 농축액 1%), 602(배 유과 농축액 2%), 910번(배 유과 농축액 10%)보다 805번(배 유과 농축액 5%)이 높게 나타났으며, 뒷맛의 기호도는 602번(배 유과 농축액 2%)이 좋은 것으로 평가 되었음. 결과적으로 602번(배 유과 농축액 2%)이 전반적으로 좋은 평가를 받아 개발을 위한 나주배 음료 및 과립 제품의 유과 추출물 첨가량은 2%가 좋을 것으로 판단됨.

2차년도 과제에 앞서 나주배 음료 제품 개발을 위해 배 유과 농축액 첨가량(1%, 2%, 5%, 10%)에 대한 기호도 조사를 20~50세의 학생 및 직장인을 대상으로 기호도 조사의 목적과 시료에 대한 충분히 설명한 후 배 유과 농축액 함량이 상이한 음료 제품을 제공하였다. 기호도 조사는 향, 단맛, 쓴맛, 한약맛, 뒷맛, 전체적인 기호도에 대하여 7점 척도법으로 1점 ‘대단히 싫다’ 2점 ‘싫다’, 3점 ‘조금 싫다’, 4점 ‘보통이다’, 5점 ‘조금 좋다’, 점 ‘좋다’, 7점 ‘대단히 좋다’의 평가 항목으로 진행 하였다.(그림 V-7)

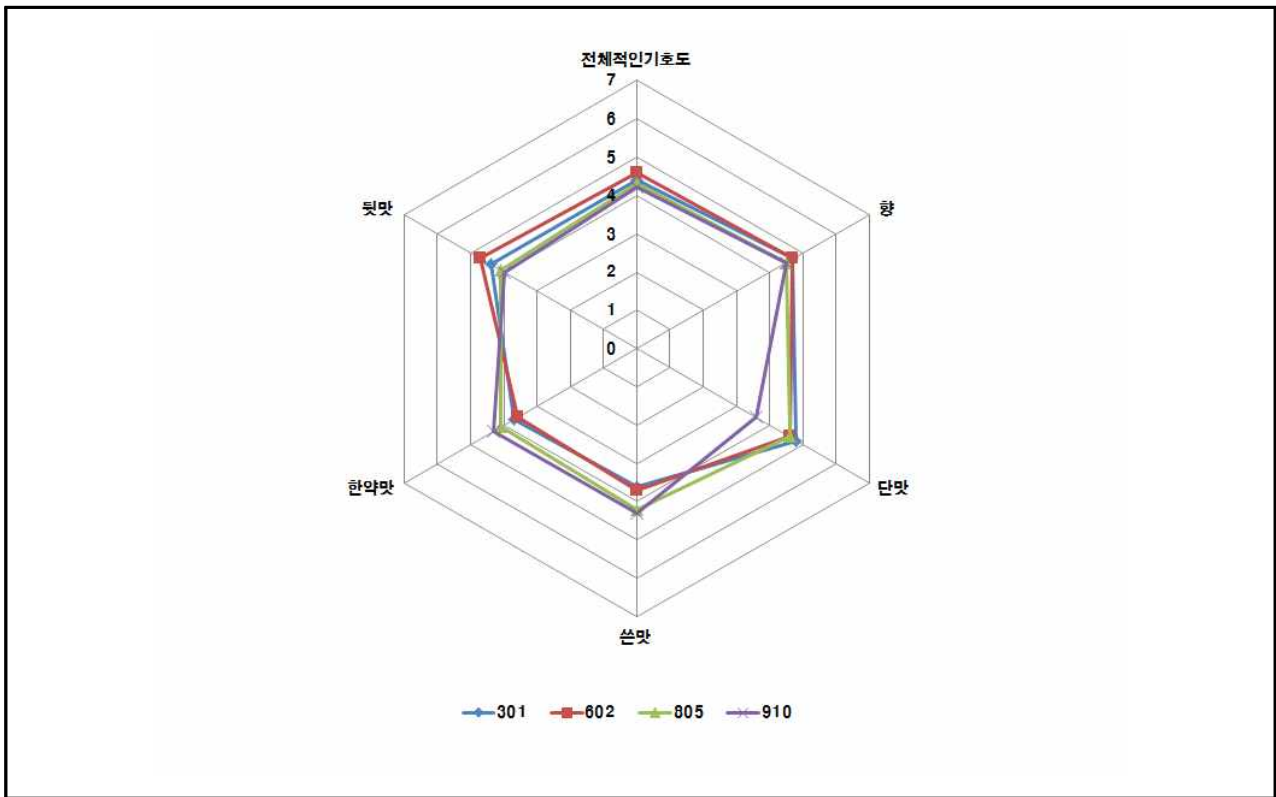


20~50대 남성, 여성 패널을 대상으로 나주배 음료 4종(배 유과 농축액 함량이 상이)의 기호도 조사를 실시한 결과는 (V-8 및 표 V-1)과 같음. · 전체적인 기호도는 602번(배 유과 농축액 2%)이 좋은 것으로 평가 된다. 향의 기호도는 4종의 제품에서 차이를 보이지 않았으며, 단맛 기호도는 301번(배 유과 농축액 1%)이 좋은 것으로 평가 되었다. 쓴맛, 한약맛, 기호도에서는 301번(배 유과 농축액 1%), 602(배 유과 농축액 2%), 910번(배 유과 농축액 10%)보다 805번(배 유과 농축액 5%)이 높게 나타났으며, 뒷맛의 기호도는 602번(배 유과 농축액 2%)이 좋은 것으로 평가 되었다. 결과적으로 602번(배 유과 농축액 2%)이 전반적으로 좋은 평가를 받아 개발을 위한 나주배 음료 및 과립 제품의 유과 추출물 첨가량은 2%가 좋을 것으로 판단되었다.

앞서 조사한 결과를 바탕으로 2%의 추출물을 혼합하기로 결정하고 나머지 재료의 경우 당사의 음료 제조 경험을 토대로 기타 원료의 배합비를 정해 개발을 완료하였다.



■ 그림 V-8. 기호도 검사 결과.



■ 표 V-1. 기호도 검사 결과

특 성		샘 플 번 호 <sup>1)</sup>			
		301	602	805	910
기 호 도	향	4.70±0.48	4.70±0.48	4.50±0.53	4.50±0.53
	단 맛	4.80±0.84	4.60±0.42	4.60±0.52	3.60±0.70
	쓴 맛	3.60±0.79	3.70±0.48	4.20±0.67	4.30±0.70
	한약맛	3.70±0.74	3.60±0.52	4.10±0.67	4.30±0.67
	뒷 맛	4.40±0.84	4.70±0.8	4.10±0.74	4.00±0.67
전체적인 기호도		4.40±0.52	4.60±0.52	4.30±0.45	4.20±0.63

**(3) 나주배 음료 및 과립제품 제조**

고부가가치 식품을 이용한 제품으로 2차년도에는 병음료 제품과 과립스틱제품 2종을 제작 하였음. 음료제품(병 및 파우치)제조는 나주배 효소추출물80%, 배 유과 농축액 2%, 양과즙 5%, 한약 추출물 13% (감초 54%, 당귀 15.3%, 백복령 15.3%, 천궁 15.3%), 콩나물 추출물 5%(파우치 제품 첨가)를 혼합하여 100℃에서 가열 하는 방식으로 제조하였음.

과립제품은 곡물효소함유제품(국내산 현미 100%)에 2종의 음료 제품을 1:1.2 비율로 첨가하여 혼합(GRM-30, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)하고 과립기(GRG-9, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)에서 성형한 후, 50℃로 세팅된 건조기(GRD-112, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)에서 4시간 동안 건조시켜 2종의 과립제품을 만들었음.(그림 V-9)

고부가가치 식품을 이용한 제품으로 2차년도에는 병음료 제품과 과립스틱제품 2종을 제작 하였다. 음료제품(병 및 파우치)제조는 나주배 효소추출물80%, 배 유과 농축액 2%, 양과즙 5%, 한약 추출물(감초, 당귀, 복령, 천궁)을 혼합하여 100℃에서 가열 하는 방식으로 제조하였다. 과립제품은 이활진 제품의 경우 곡물발효효소제품에 음료 제품을 첨가하여 혼합하여 제품을 구성하였고, 이활 본 제품의 경우 같은 구성에 콩나물추출농축액을 추가하여 제품성분 구성을 완료 제품개발을 마쳤다. 제조는(GRM-30, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)과 과립기(GRG-9, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)에서 앞선 혼합 재료들을 성형한 후, 50℃로 세팅된 건조기(GRD-112, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)에서 4시간 동안 건조시켜 2종의 과립제품을 만들어냈다.

음료 제품의 경우 병에 충전작업을 한 후 스티커 작업을 통해 기본 음료 외형작업을 마쳤고 다음으로 박스에 2차포장을 하여 세트포장을 진행 선물 및 유통에 용이하도록 하였다. 과립제품은 과립화된 제품을 각각 스티커형으로 소량씩 포장하여 만든 후 제품을 담은 작은 박스와 선물용 큰 박스를 제작하여 최종상품화를 진행하였다.

▣ 그림 V-9. 나주배 음료 및 과립제품 제조.

제품명	제품사진	시험검사성적서	품목보고 보고서
이활 - 병 제품			

이활眞(진)  
- 과립스틱



시험·검사결과서

발행번호	2021-12-27-02664	검사번호	17100000000000000000
검사대상물	이활眞(진)	검사방법	2021-12-27-02664
제출처	충청남도	발행처(검사기관)	
발행처	충청남도	발행처(검사기관)	
검사일자	2021-12-27	검사시간	14:00 ~ 15:00
검사시간	14:00 ~ 15:00	검사시간	14:00 ~ 15:00
시험·검사항목	시험·검사 항목 및 결과		
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	단위
중금속(As) (mg/kg)	기준치	458.8	mg/kg
중금속(Cd) (mg/kg)	기준치	41.4	mg/kg
중금속(Cr) (mg/kg)	기준치	5.3	mg/kg
중금속(Hg) (mg/kg)	기준치	18.3	mg/kg
중금속(Mn) (mg/kg)	기준치	22.0	mg/kg
중금속(Ni) (mg/kg)	기준치	2.9	mg/kg
중금속(Pb) (mg/kg)	기준치	3.3	mg/kg
중금속(Sb) (mg/kg)	기준치	5.0	mg/kg
중금속(Tl) (mg/kg)	기준치	0.5	mg/kg
중금속(W) (mg/kg)	기준치	25.0	mg/kg

식품(식품첨가물) 용역제조보고서

제출처	충청남도	제출일자	2021-12-27
제출번호	2021-12-27-02664	제출처(제출기관)	
제출대상물	이활眞(진)	제출방법	2021-12-27-02664
제출일자	2021-12-27	제출시간	14:00 ~ 15:00
제출시간	14:00 ~ 15:00	제출시간	14:00 ~ 15:00
시험·검사항목	시험·검사 항목 및 결과		
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	단위
중금속(As) (mg/kg)	기준치	458.8	mg/kg
중금속(Cd) (mg/kg)	기준치	41.4	mg/kg
중금속(Cr) (mg/kg)	기준치	5.3	mg/kg
중금속(Hg) (mg/kg)	기준치	18.3	mg/kg
중금속(Mn) (mg/kg)	기준치	22.0	mg/kg
중금속(Ni) (mg/kg)	기준치	2.9	mg/kg
중금속(Pb) (mg/kg)	기준치	3.3	mg/kg
중금속(Sb) (mg/kg)	기준치	5.0	mg/kg
중금속(Tl) (mg/kg)	기준치	0.5	mg/kg
중금속(W) (mg/kg)	기준치	25.0	mg/kg

이활本(본)  
- 과립스틱



시험·검사결과서

발행번호	2021-12-27-02664	검사번호	17100000000000000000
검사대상물	이활眞(진)	검사방법	2021-12-27-02664
제출처	충청남도	발행처(검사기관)	
발행처	충청남도	발행처(검사기관)	
검사일자	2021-12-27	검사시간	14:00 ~ 15:00
검사시간	14:00 ~ 15:00	검사시간	14:00 ~ 15:00
시험·검사항목	시험·검사 항목 및 결과		
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	단위
중금속(As) (mg/kg)	기준치	458.8	mg/kg
중금속(Cd) (mg/kg)	기준치	41.4	mg/kg
중금속(Cr) (mg/kg)	기준치	5.3	mg/kg
중금속(Hg) (mg/kg)	기준치	18.3	mg/kg
중금속(Mn) (mg/kg)	기준치	22.0	mg/kg
중금속(Ni) (mg/kg)	기준치	2.9	mg/kg
중금속(Pb) (mg/kg)	기준치	3.3	mg/kg
중금속(Sb) (mg/kg)	기준치	5.0	mg/kg
중금속(Tl) (mg/kg)	기준치	0.5	mg/kg
중금속(W) (mg/kg)	기준치	25.0	mg/kg

식품(식품첨가물) 용역제조보고서

제출처	충청남도	제출일자	2021-12-27
제출번호	2021-12-27-02664	제출처(제출기관)	
제출대상물	이활眞(진)	제출방법	2021-12-27-02664
제출일자	2021-12-27	제출시간	14:00 ~ 15:00
제출시간	14:00 ~ 15:00	제출시간	14:00 ~ 15:00
시험·검사항목	시험·검사 항목 및 결과		
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	단위
중금속(As) (mg/kg)	기준치	458.8	mg/kg
중금속(Cd) (mg/kg)	기준치	41.4	mg/kg
중금속(Cr) (mg/kg)	기준치	5.3	mg/kg
중금속(Hg) (mg/kg)	기준치	18.3	mg/kg
중금속(Mn) (mg/kg)	기준치	22.0	mg/kg
중금속(Ni) (mg/kg)	기준치	2.9	mg/kg
중금속(Pb) (mg/kg)	기준치	3.3	mg/kg
중금속(Sb) (mg/kg)	기준치	5.0	mg/kg
중금속(Tl) (mg/kg)	기준치	0.5	mg/kg
중금속(W) (mg/kg)	기준치	25.0	mg/kg

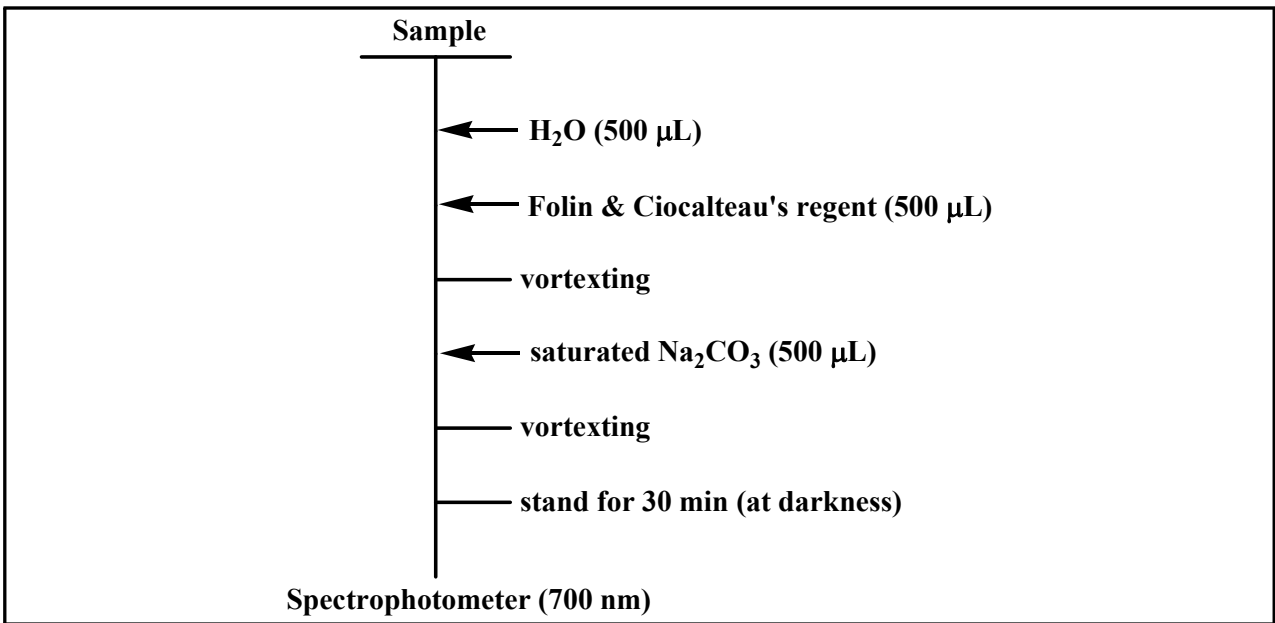
(4) 나주배 음료 및 과립제품의 총 페놀성 함량 분석

총 페놀성 함량 분석방법은 각 시료(시료 희석배수 50배) 0.5 mL에 Folim & Ciocalteu's 시약 0.5 mL를 가하여 혼합한 후, Na2CO3 포화수용액 0.5 mL를 더하여 혼합 후, 암실에서 30 분간 반응하여 얻어진 용액을 700 nm에서 흡광도를 측정하였고 총 페놀성 화합물의 함량은 gallic acid를 이용한 standard curve로부터 계산하여 총 페놀성 화합물 함량을 구했음.(그림 V-10)

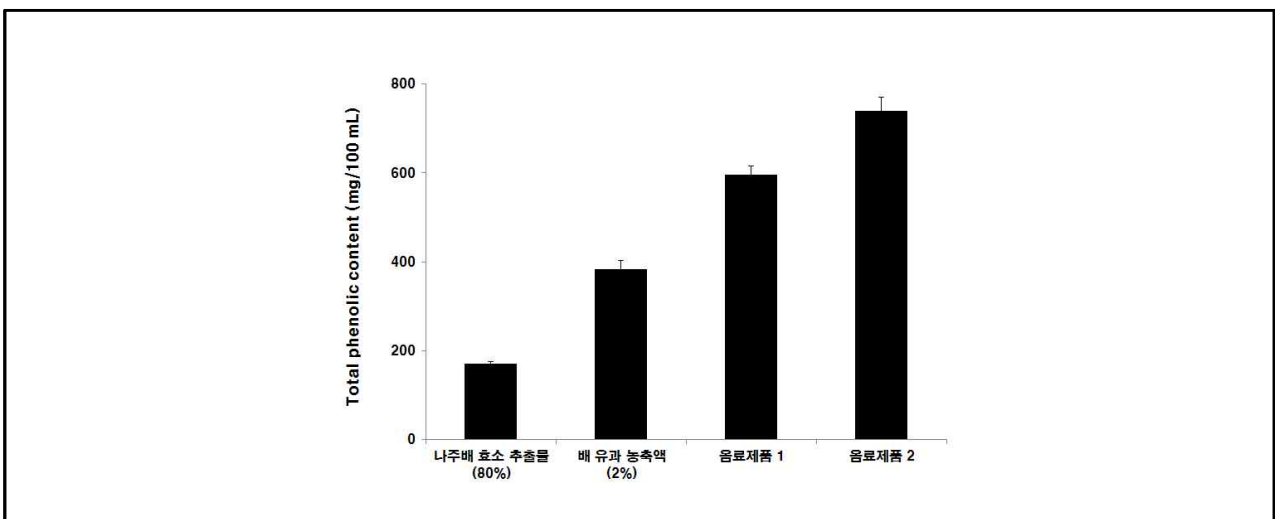
음료 제품의 총 페놀성 함량 개발된 음료제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80% 및 배 유과 농축액 2%)을 대상으로 총 페놀성 화합물의 함량을 측정한 결과는 그림 V-11 위쪽 부분과 같음. 총 페놀성 함량은 각각 나주배 효소 추출물 80%; 171.04 ± 3.92 mg/mL, 배 유과 농축액 2%; 383.59 ± 19.38, 음료제품 1; 596.15 ± 18.89, 음료제품 2; 739.69 ± 31.15 mg/mL로 측정되었고 대조군보다 나주배 효소 추출물에 배 유과 농축액을 첨가한 음료제품 2종 모두에서 높게 측정되었음.

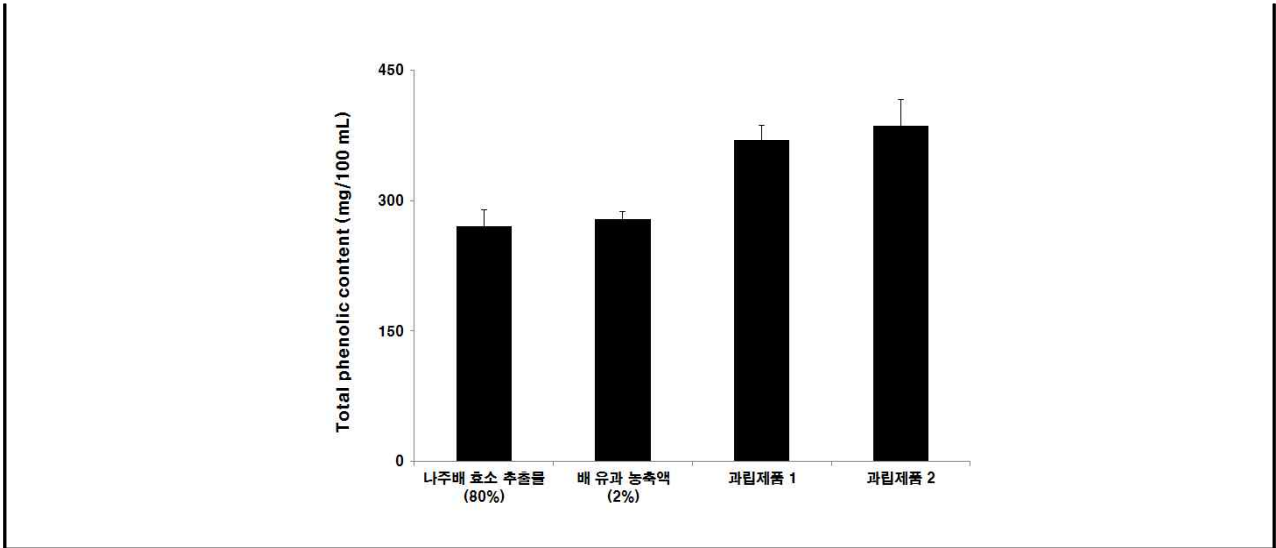
과립 제품의 총 페놀성 함량의 경우 개발된 과립제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80% 및 배 유과 농축액 2%)을 대상을 총 페놀성 화합물의 함량을 측정한 결과는 그림 V-11 아래쪽 부분과 같음. 총 페놀성 함량은 각각 나주배 효소 추출물 80%; 270.76 ± 19.24 mg/mL, 배 유과 농축액 2%; 27.39 ± 7.82 mg/mL, 과립 제품 1; 370.14 ± 16.25, 과립제품 2; 386.35 ± 30.17 mg/mL로 측정되었음. 대조군보다 나주배 효소 추출물에 배 유과 농축액을 첨가한 과립제품 2종 모두에서 높게 측정되었음.

■ 그림 V-10. 나주배 음료 및 과립 제품의 총 페놀성 함량 분석.



■ 그림 V-11. 나주배 음료 및 과립 제품의 총 페놀성 함량 비교.





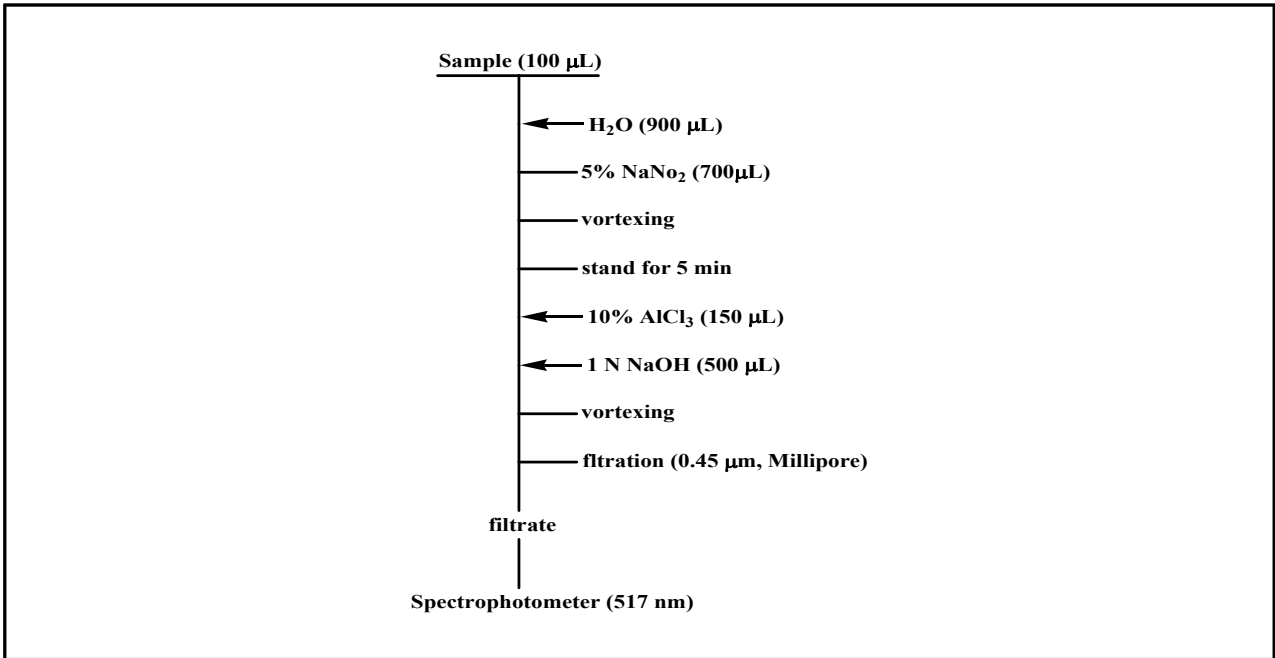
### (5) 나주배 음료 및 과립제품의 총 Flavonoid 함량분석

총 Flavonoid 함량 분석은 각 시료 100 uL에 H<sub>2</sub>O 900 uL와 5% NaNO<sub>2</sub> 수용액 70 uL를 각각 가한 후, 혼합하여 5분간 반응시켰음. 여기서 10% AlCl<sub>3</sub> 수용액 150 uL와 1 N NaOH 500 uL를 각각 가하여 혼합 후 여과(0.45 um, Millipore)하여 얻어진 여과액을 대상으로 UV-VIS spectrophotometer (UVmini-1240, Shimazu)를 이용하여 517 nm에서 흡광도 값을 측정하였고 총 Flavonoid 함량은 chtechin을 이용한 standard curve로부터 계산하여 총 flavonoid 함량을 구하였음.(그림 V-12)

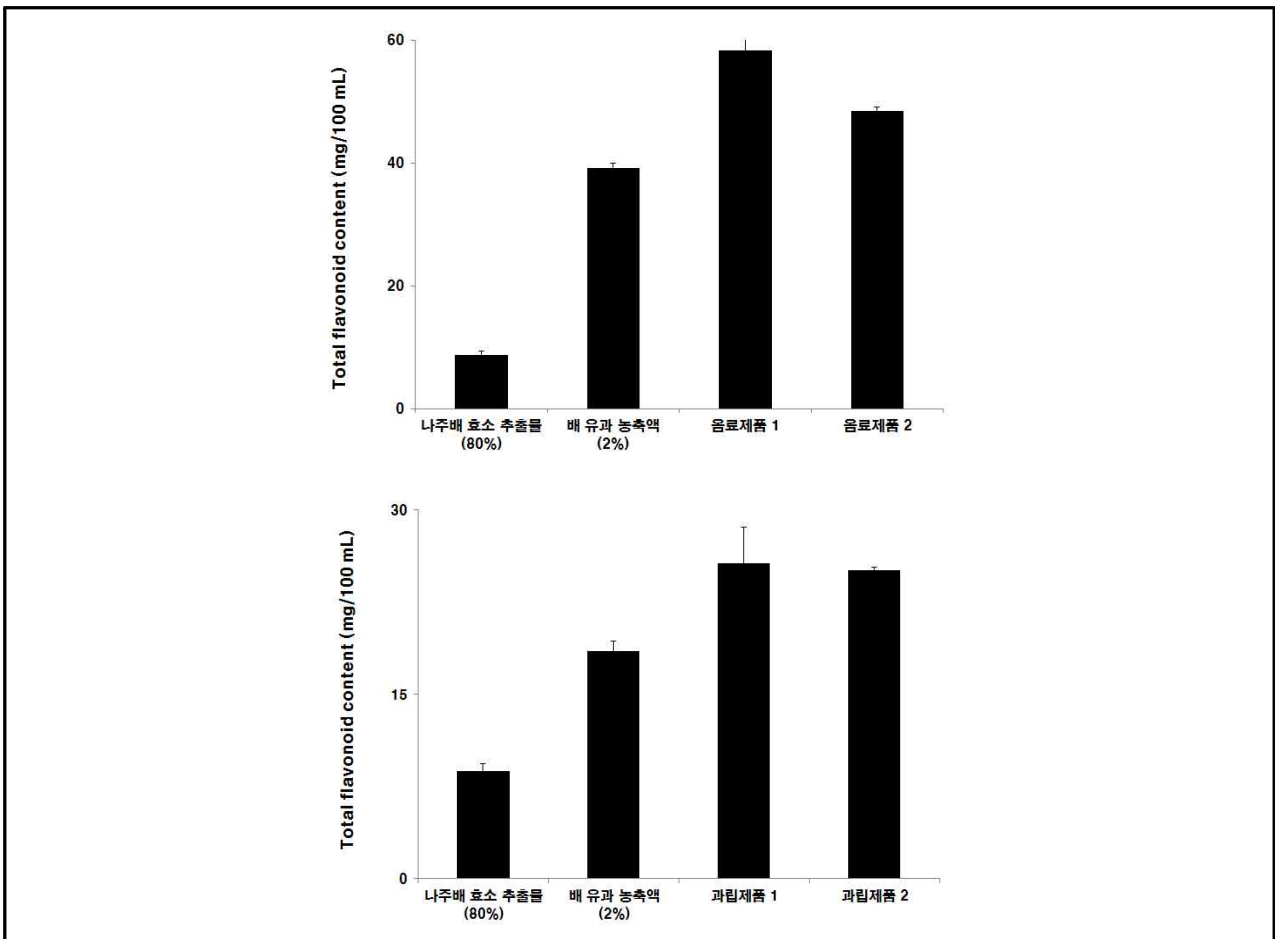
음료 제품의 총 flavonoid 함량 역시 총 페놀성 화합물의 함량과 마찬가지로 개발된 음료제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80%와 배 유과 농축액 2%)을 대상으로 행하였음. 총 페놀성 화합물의 함량과 같은 경향이 관찰되었음. 각각 나주배 효소 추출물 80%; 8.74 ± 0.58 mg/mL, 배 유과 농축액 2%; 39.15 ± 0.8 mg/mL, 음료제품 1; 58.23 ± 1.87 mg/mL, 음료제품 2; 48.41 ± 0.62 mg/mL로 측정되었고(그림 V-13), 대조군 보다 음료제품 2종에서 함량이 높게 관찰되었음.

과립 제품의 총 Flavonoid 함량 총 flavonoid 함량 역시 총 페놀성 화합물의 함량과 마찬가지로 개발된 과립제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80%와 배 유과 농축액 2%)을 대상으로 행하였음. 총 페놀성 화합물의 함량과 같은 경향이 관찰되었음. 각각 나주배 효소 추출물 80%; 8.74 ± 0.63 mg/mL,, 배 유과 농축액 2%; 18.49 ± 0.86 mg/mL, 음료제품 1; 25.68 ± 2.93 mg/mL, 음료제품 2; 25.10 ± 0.23 mg/mL로 측정되었고(그림 V-13), 과립제품 또한 대조군보다 함량이 높게 관찰되었음.(그림 V-13하단)

■ 그림 V-12. 나주배 음료 및 과립 제품의 총 flavonoid 함량 분석



■ 그림 V-13. 나주배 음료 및 과립 제품의 총 flavonoid 함량 비교





## (6) 나주배 음료 및 과립제품의 DPPH Radical-Scavenging 활성 평가

DPPH Radical-Scavenging 활성 평가는 각 시료 0.5 mL에 500 uM DPPH EtOH 용액 0.5 ml (최종농도 250 uM)를 가한 후, 암소에서 30분간 반응하여 얻어진 반응액을 UV-VIS spectrophotometer (UVmini-1240, Shimadzu)를 이용하여 517 nm에서 흡광도 값(RS)를 측정하였음.(그림V-14)

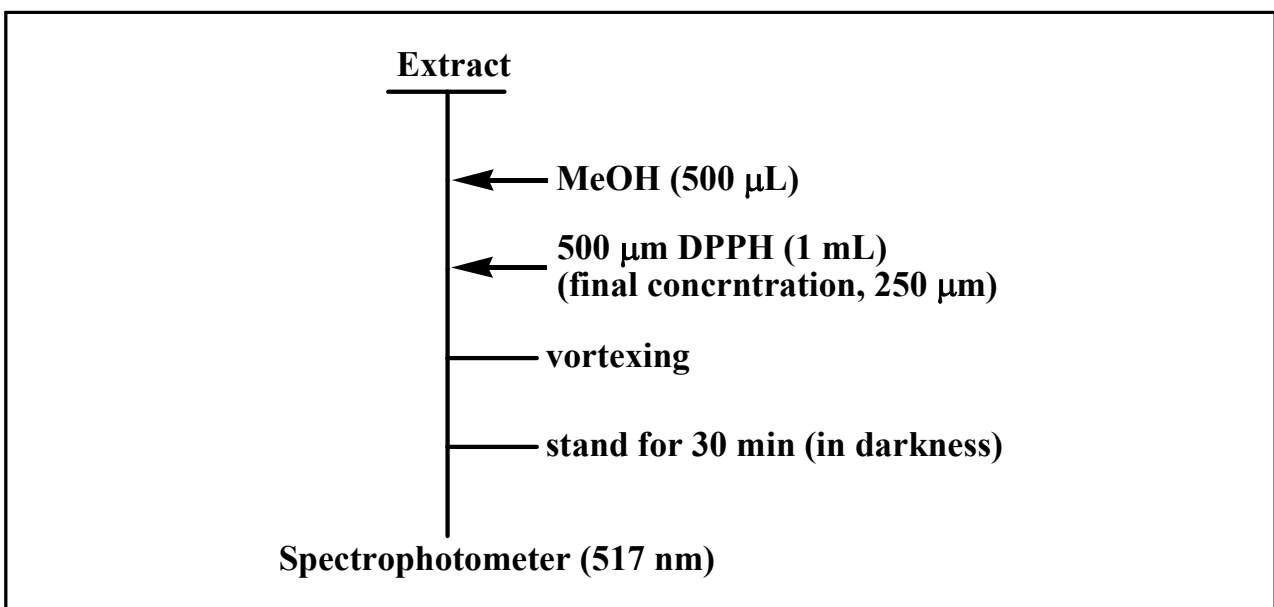
(DPPH Radical-Scavenging 활성 정도는 다음과 같이 계산함 DPPH Radical-Scavenging activity (%) = [(control -RS)/control] × 100)

음료 제품의 DPPH radical-scavenging 활성 개발된 음료제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80%와 배 유과 농축액 2%)을 희석(50배)하여 각각을 대상으로 DPPH radical-scavenging 활성을 비교 평가하였음. 그 결과 나주배 효소 추출물 80%; 13.01 ± 2.02%, 배 유과 농축액 2%; 53.96 ± 4.61%, 음료제품 1; 58.80 ± 6.56, 음료제품 2; 59.50 ± 2.96%로 측정되었음.(그림V-15 상단)

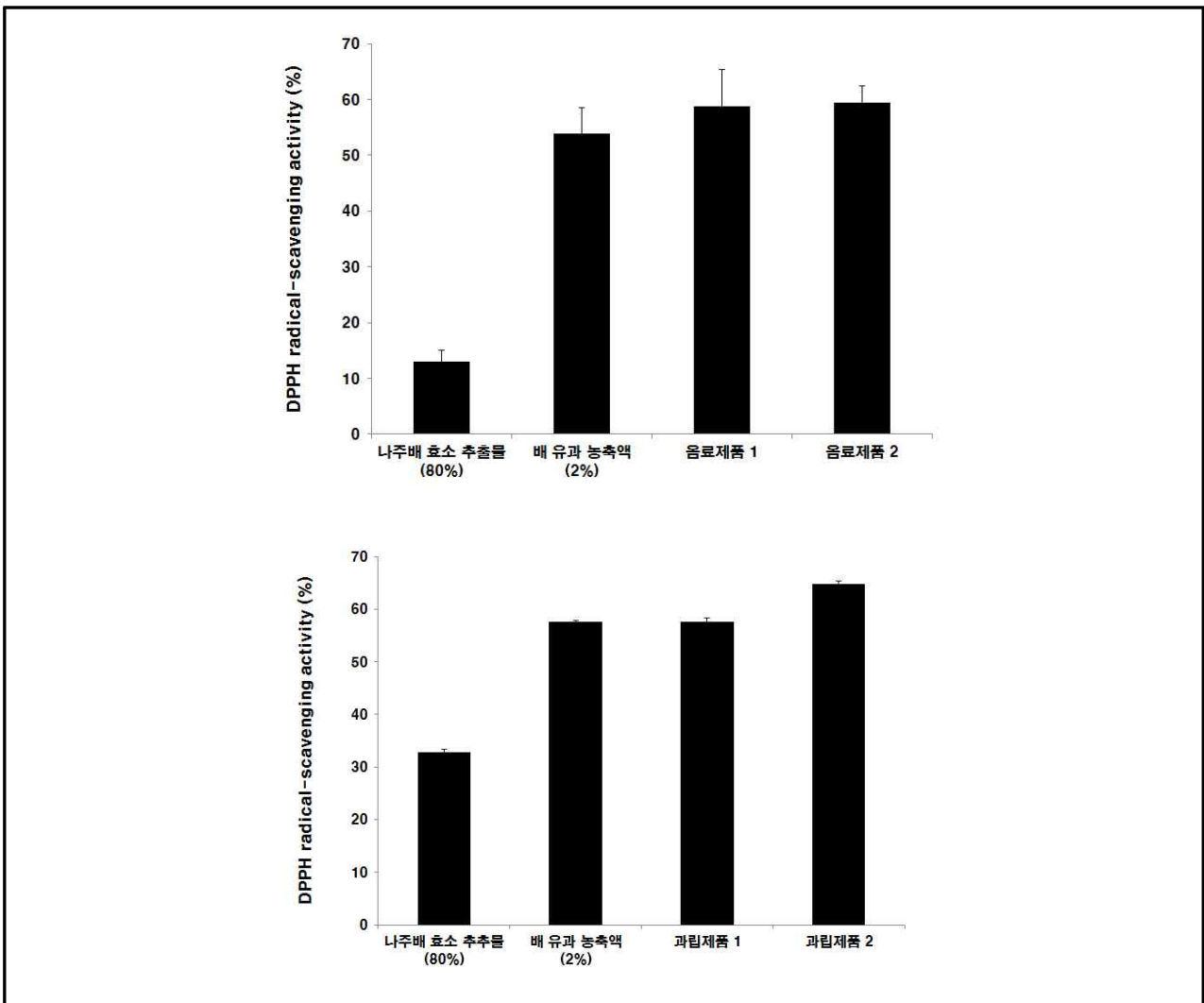
대조군인 나주배 효소 추출물보다 유과 추출물이 첨가된 음료제품 2종 모두에서 4배 이상 더 높은DPPH radical-scavenging 활성을 보였음.

과립 제품의 DPPH radical-scavenging 활성의 경우 개발된 과립제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80%와 배 유과 농축액 2%)을 희석(10배)하여 각각을 대상으로 DPPH radical-scavenging 활성을 비교 평가하였음. 나주배 효소 추출물 80%; 32.84 ± 0.56%, 배 유과 농축액 2%; 57.57 ± 0.29%, 음료제품 1; 57.63 ± 0.64, 음료제품 2; 64.74 ± 0.64%로 측정되었음. 음료제품과 마찬가지로 유과가 추출물이 첨가된 과립제품 2종에서 대조군보다 더 높은 DPPH radical-scavenging 활성을 보였음.(그림 V-15 하단)

■ 그림 V-14. 나주배 음료 및 과립 제품의 DPPH radical-scavenging 활성 평가.



■ 그림 V-15. 나주배 음료 및 과립 제품의 DPPH radical-scavenging 활성 평가.



### (7) Reducing Power

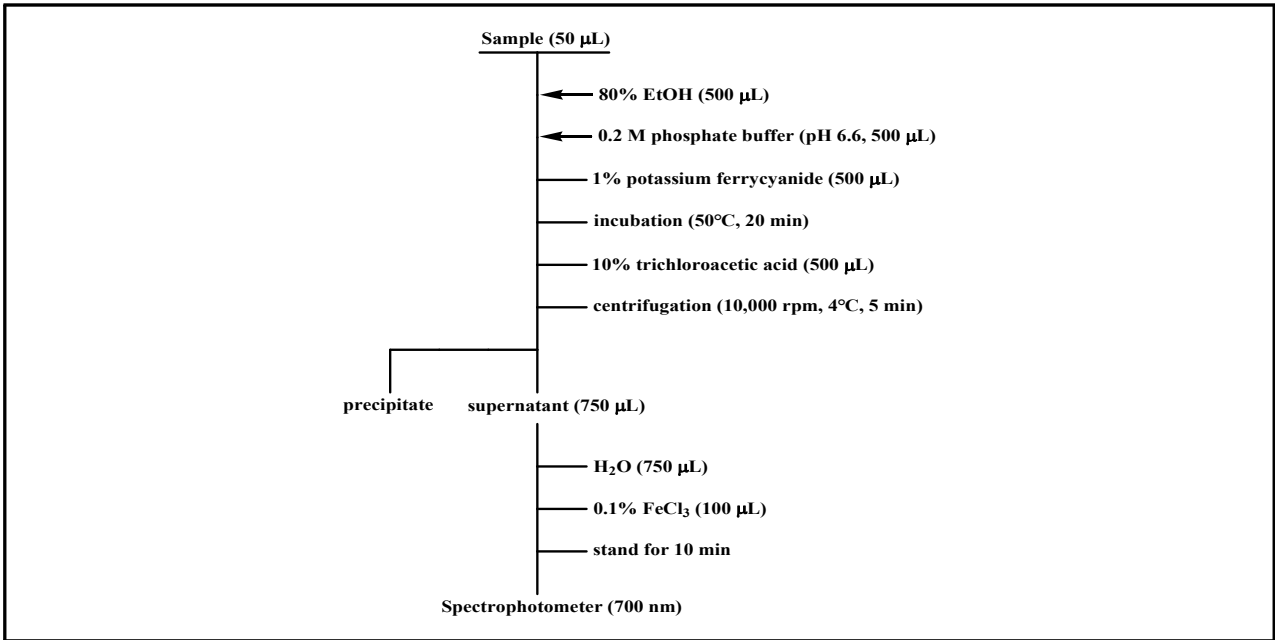
실험방법으로는 각 시료(시료 희석배수 10배) 50 uL에 80% EtOH 0.5 mL, 0.2 M phosphate Buffer (pH 6.6) 0.5 mL, 그리고 1% potassium ferricyanide 0.5 mL를 각각 가하여 혼합 후, 50°C에서 20분간 반응시켰음. 다음으로 반응액에 10% trichloroacetic acid 용액 0.5 mL을 가한 후 원심분리(10,000 rpm, 5 min, 4°C)한 후 얻어진 상층액 0.75 mL에 H<sub>2</sub>O 0.75 mL와 0.1% FeCl<sub>3</sub>(ferric chloride)수용액 0.1 mL를 각각 가하여 10분간 방치 후 UV-VIS spectrophotometer (UVmini-1240, Shimadzu)를 이용하여 700 nm에서 흡광도 값을 측정 흡광도 값 자체로 환원력을 제시하였음. 환원력은 Fe<sup>3+</sup>이 추출물 및 항산화 화합물에 의해 Fe<sup>2+</sup>으로 환원되면서 나타나는 흡광도의 차이를 이용하여 평가를 행하였음. 따라서 반응 후의 흡광도 값이 곧 환원력을 나타냄.(그림V-16)

음료 제품의 Reducing power는 개발된 음료제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80%와 배유과 농축액 2%)을 희석(10배)하여 각각을 대상으로 환원력을 비교 · 평가하였음. 앞선 항산화 활성 평가의 결과들과 같이 음료제품 2종(음료제품 1; 1.472 ± 0.060, 음료제품 2; 1.527 ±

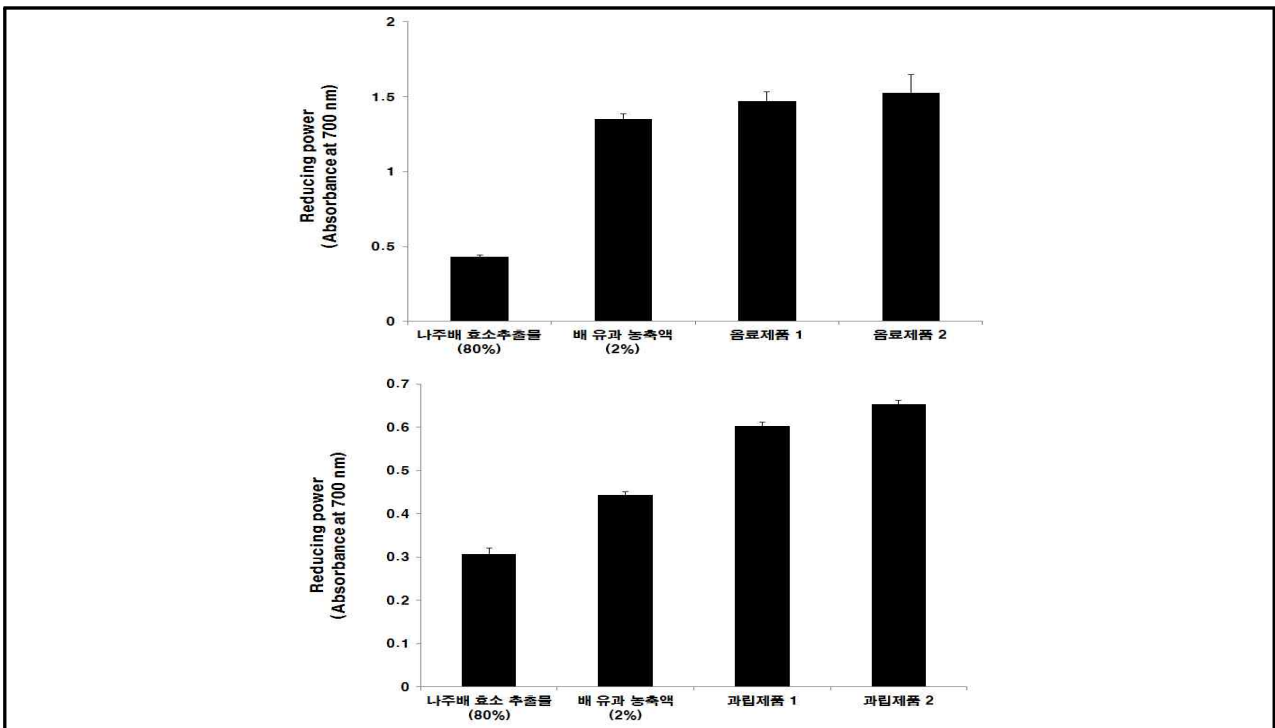
0.121)에서 대조군(나주배 효소 추출물;  $0.432 \pm 0.01$ , 배 유과 농축액 2%;  $1.350 \pm 0.033\%$ )보다 높은 환원력이 관찰되었음.(그림V-17 상단)

과립 제품의 Reducing power의 경우 개발된 과립제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80%와 배 유과 농축액 2%)을 희석(10배)하여 각각을 대상으로 환원력을 비교 · 평가하였음. 앞선 항산화 활성 평가의 결과들과 같이 과립제품 2종(음료제품 1;  $0.603 \pm 0.009$ , 음료제품 2;  $0.654 \pm 0.008$ )에서 대조군(나주배 효소 추출물;  $0.307 \pm 0.013$ , 배 유과 농축액 2%;  $0.444 \pm 0.006\%$ )보다 높은 환원력이 관찰되었음.(그림V-17 하단)

■ 그림 V-16. 나주배 음료 및 과립 제품의 reducing power 평가.



■ 그림 V-17. 나주배 음료 및 과립 제품의 reducing power.



(8) 나주배 음료 및 과립제품의 ABTS<sup>+</sup> Radical-Scavenging 활성 평가

ABTS<sup>+</sup> Radical-Scavenging 활성 평가에는 먼저 ABTS<sup>+</sup> radical 수용액(ABTS · +)은 7 mM ABTS<sup>+</sup> 수용액과, 2.5 mM potassium persulfate 수용액을 95:5 (v/v)의 비율로 혼합 후, 암소

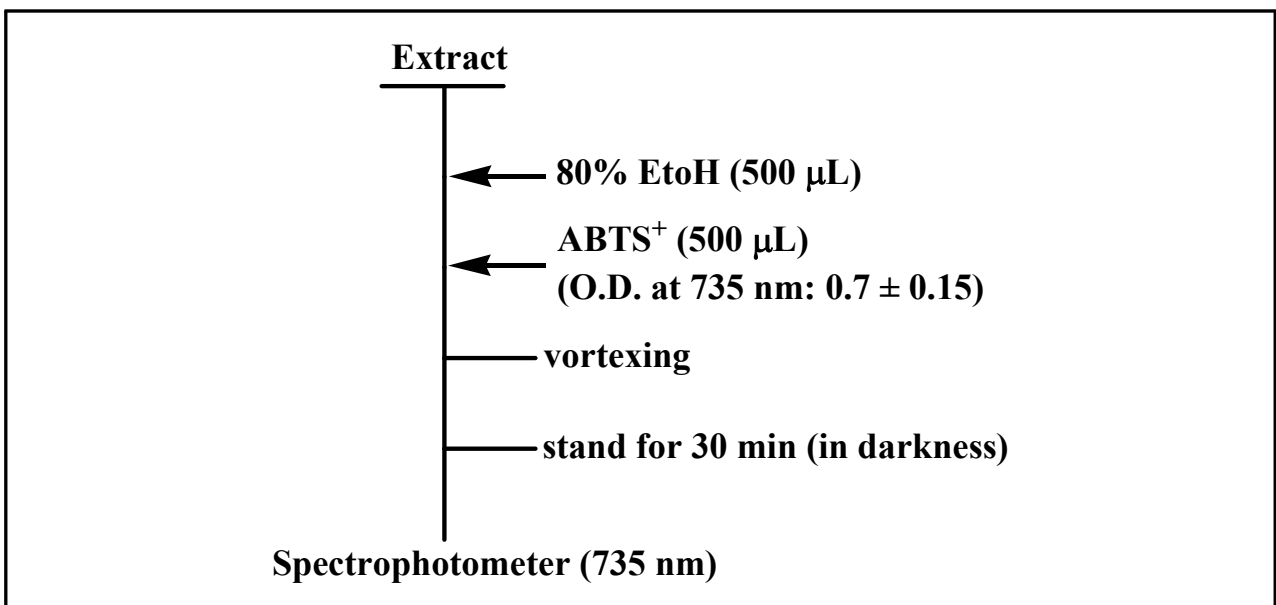
에서 반응(4°C, 12 h)시켜 조제하였고 조제된 radical 수용액은 735 nm에서 흡광도가  $0.7 \pm 0.15$ 가 되도록 EtOH로 희석하여 실험에 사용하였음. 최종적으로 각 시료(희석배수: 음료제품 800배, 과립제품 150배) 0.5 mL와 희석된 ABTS<sup>•+</sup> 용액 0.5 mL를 각각 가하여 혼합 후, 30 분 동안 반응시켜 UV-VIS spectrophotometer (UVmini-1240, Shimazu)를 이용하여 735 nm에서 흡광도값(RS)를 측정하였음.(그림 V-18)

(ABTS<sup>•+</sup> Radical-Scavenging 정도는 다음과 같이 계산함. ABTS<sup>•+</sup> Radical-Scavenging activity (%) = [(control -RS)/control] × 100)

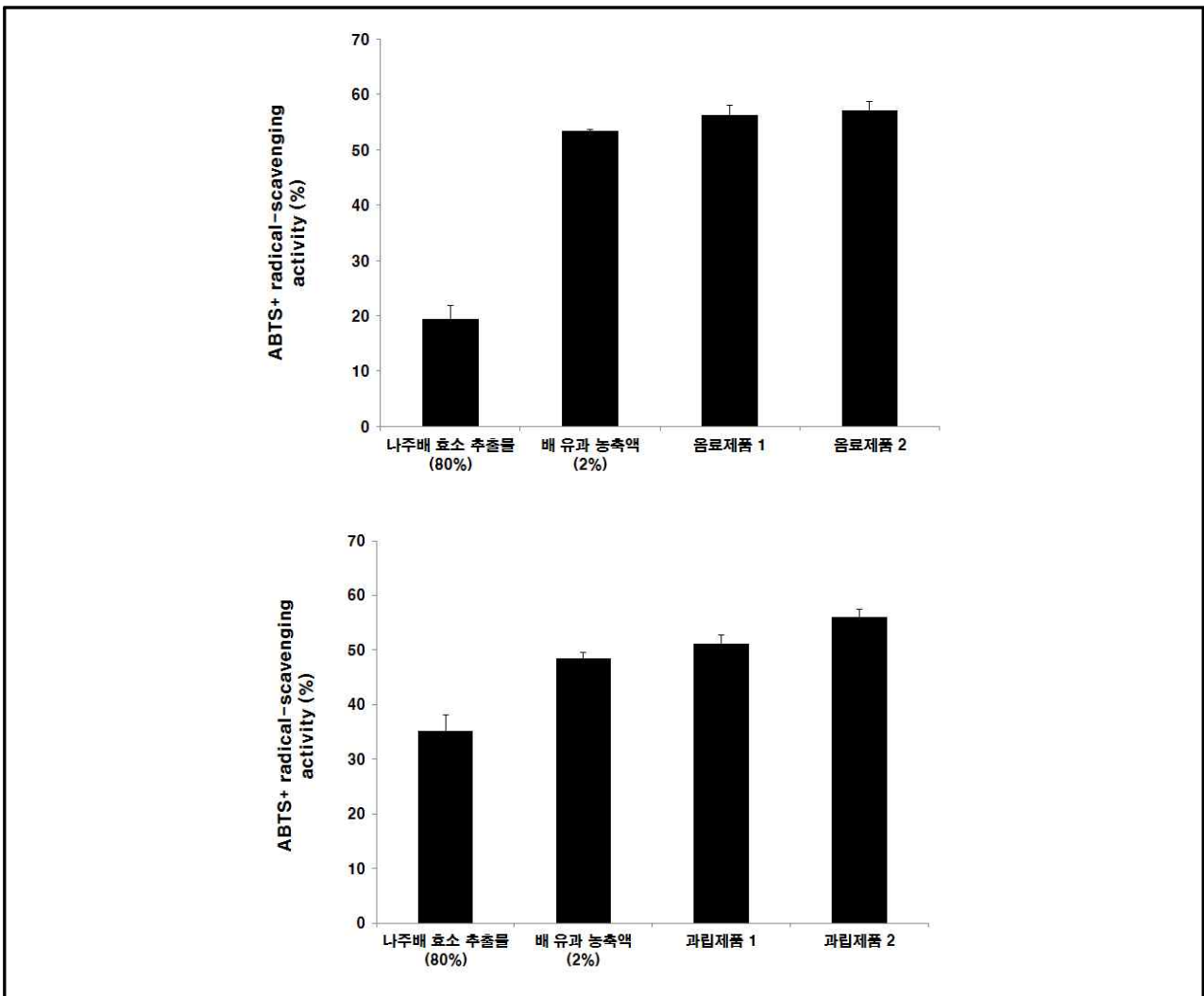
실험은 개발된 음료제품 2종과 대조군인 나주배 효소 추출물 80%와 배 유과 농축액 2%을 희석(800배)하여 각각의 시료를 대상으로 비교 행하였음. 그 결과, 그림들과 유사한 경향을 보였으며, 음료제품 2종(음료제품 1;  $56.23 \pm 1.81$ , 음료제품 2;  $57.19 \pm 1.16\%$ )에서 대조군(나주배 효소 추출물;  $19.43 \pm 2.33\%$ , 배 유과 농축액 2%;  $53.35 \pm 0.37\%$ )보다 높은 ABTS<sup>•+</sup> Radical-Scavenging 활성이 관찰되었음.(그림 V-19 상단)

과립 제품의 ABTS<sup>•+</sup> Radical-Scavenging 활성의 경우 개발된 과립제품 2종과 대조군인 나주배 효소 추출물 80%와 배 유과 농축액 2%을 희석(150배)하여 각각의 시료를 대상으로 비교 행하였음. 그 결과 그림들과 유사한 경향을 보였으며, 과립제품 2종(과립제품 1;  $51.13 \pm 1.61$ , 과립제품 2;  $56.09 \pm 1.61\%$ )에서 대조군(나주배 효소 추출물;  $35.21 \pm 2.93\%$ , 배 유과 농축액 2%;  $48.43 \pm 1.17\%$ )보다 높은 ABTS<sup>•+</sup> Radical-Scavenging 활성이 관찰되었음.(그림 V-19 하단)

▣ 그림 V-18. 나주배 음료 및 과립 제품의 ABTS<sup>•+</sup> radical-scavenging 활성 평가.



■ 그림 V-19. 나주배 음료 및 과립 제품의 ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성 평가.



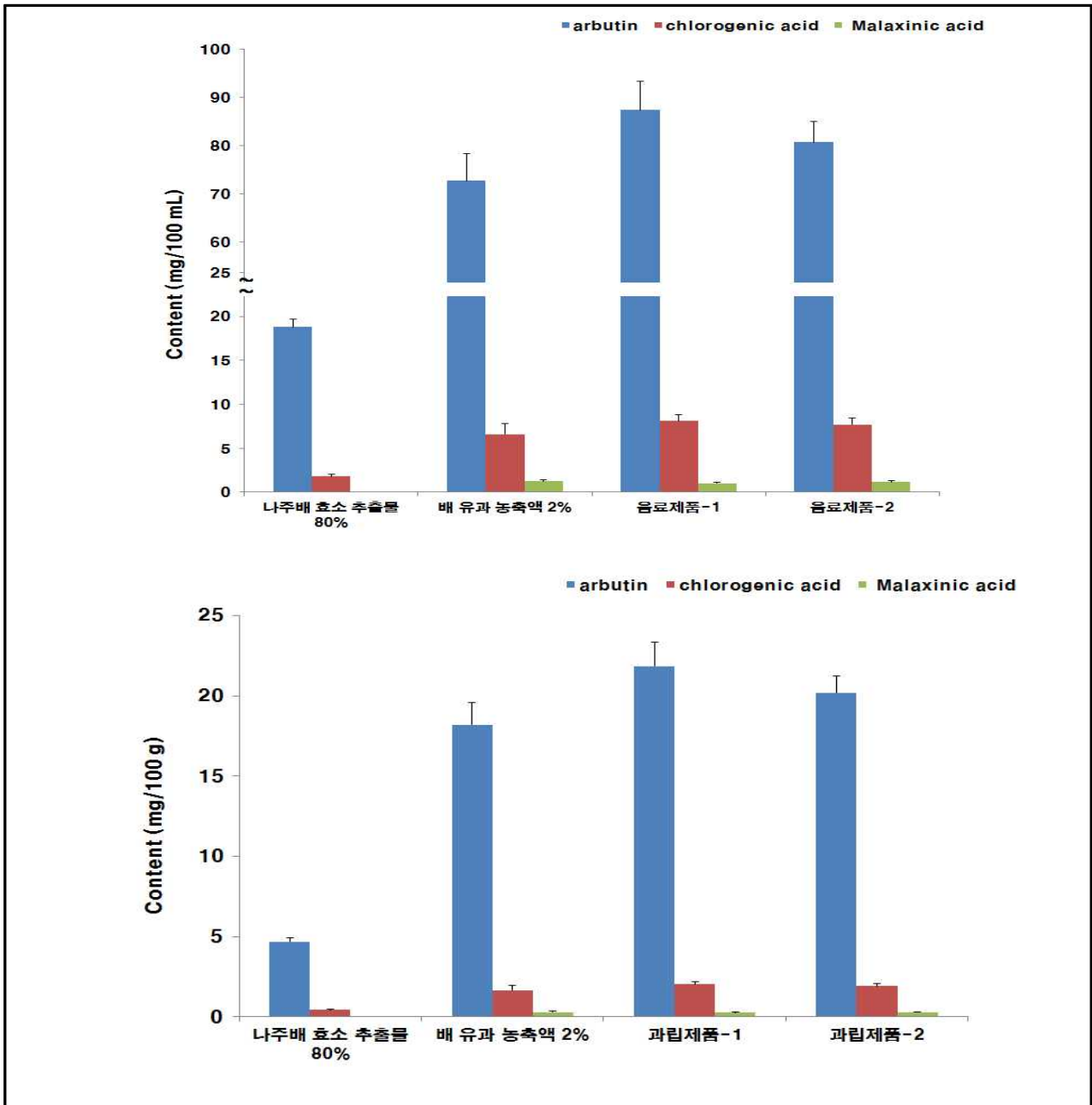
### (9) 나주배 음료의 Arbutin, Chlorogenic acid, Malaxinic acid 함량 분석

주요성분 분석에는 나주배 음료 및 과립제품의 추출물 제조하여 HPLC로 분석하였음. HPLC 장치로는 photo diode array (PDA) HPLC system (SPD-M20D, Shimadzu, Kyoto, Japan)을 이용하였으며, 분석 컬럼은 UG 120 column (4.0 I.D. x 250 mm, Shiseido, Kyoto, Japan)을 사용하였음. 이동상은 2% AcOH를 포함한 H<sub>2</sub>O (용매 A)와 50% MeOH (용매 B)로 구성되었고, 유속은 1.0 mL/min, 오븐온도 40℃를 유지시켰음. 이동상의 용출은 gradient elution 방법으로 다음과 같이 수행되었음. (0-30분까지, 용매 B를 100%; 30-10분까지, 용매 B를 100%가 되도록)

음료 제품의 Arbutin, Chlorogenic acid, Malaxinic acid 함량 분석의 경우 개발된 음료제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80%와 배유과 농축액 2%)에 대하여 arbutin, chlorogenic acid, malaxinic acid 함량 분석을 실시하였음. 그 결과 (그림 V-20) Arbutin과 chlorogenic acid의 경우는 대조군보다 음료제품에서 높게 관찰되었음. 또한 malaxinic acid는 나주배 효소 추출물 80%에서는 검출되지 않았고, 음료제품에서는 미량이 검출되었음.(그림 V-20)

과립 제품의 Arbutin, Chlorogenic acid, Malaxinic acid 함량 분석의 경우 개발된 음료제품 2종과 대조군(나주배 효소 추출물 80%와 배 유과 농축액 2%)에 대하여 arbutin, chlorogenic acid, malaxinic acid 함량 분석 실시하였음. 그 결과 (그림 V-20) Arbutin과 chlorogenic acid의 경우는 대조군보다 과립제품에서 높게 관찰되었음. 또한 malaxinic acid는 나주배 효소 추출물 80%에서는 검출되지 않았고, 음료제품에서는 미량이 검출되었음.(그림 V-20)

■ 그림 V-20. 나주배 음료 및 과립 제품의 Arbutin, Chlorogenic acid, Malaxinic acid 함량



## <나주배와 나주배유과 그리고 부산물인 착즙박을 이용한 제품생산>

### 1. 연구목적 및 필요성

- 나주배 미성숙과 그리고 나주배 및 그 부산물의 활용

현재 배는 일반적으로 껍질을 잘라낸 후 과육만을 섭취하거나 착즙가공하여 팩형태의 배즙으로 만들거나 말통형태의 농축액으로 가공으로 만드는 것이 일반적임. 착즙가공을 진행한 다음에는 약간의 가공방법에서 차이가 있긴 하겠으나 필연적으로 착즙박이 나오게 되는데 현재는 대부분의 착즙박은 쓰임새가 없이 버려지고 있는 것이 실정임.

또한 배의 경우 재배 과정 중에 있어 고품질의 배를 생산하기 위해 개화 후 20~30일 경에 적과를 행하는데 한 cluster에 약 10 개 정도의 미성숙과가 형성되는데, 그들 중 생육상태가 가장 양호한 미성숙과 1개만을 남겨두고 나머지는 모두 적과되고 있음. 이 적과된 미성숙과 대부분은 버려지고 있는 현 상황임.

통계적으로는 대략 연간 폐기되어지고 있는 배 미성숙과는 약 1,500 톤으로 추정되고 이로 인해 농가에서는 적과를 위한 인건비 및 폐기 비용이 추가적으로 경제적인 부담이 발생되고 있음. 그러나 아직 배 미성숙과의 활용성에 관한 대안이 제시되지 못하고 있음.

본 연구과제의 공동연구그룹의 선행연구 결과,<sup>(1차년도, 2차년도 연구결과 참조)</sup> 배 미성숙과로부터 51종의 유용 생리활성 화합물을 단리·구조결정하여 보고한 바 있음. 배의 미성숙과는 성숙과에 비해 유용성분을 수십에서 많게는 약 200 배에 달할 정도의 고농도로 함유하고 있음이 보고된 바 있음. 또한 배의 착즙박 역시 펙틴질 등의 함유가 풍부하고 1차년도에 화장품으로써의 가능성이 보인 원료제품이었음. 따라서 본 연구에서는 배 부산물 및 폐기자원을 활용하여 제품을 생산함으로써 기존에 폐기자원이 되던 미성숙과 및 그 부산물의 활용성 제고를 통해 배 농가 소득의 향상과 농촌지역의 산업 활성화에도 기여하는 것에 목표를 두었음.

### 2. 연구수행 내용 및 결과

#### 1) 나주배 및 나주배 유과 그리고 미활용 소재들을 이용한 착즙박을 이용한 제품생산

##### (1) 고부가가치 식품을 이용한 제품의 원료 준비 및 개발

나주배는 도매상을 이용하여 구매를 진행하였으며 추출물을 만드는 과정에서 나오는 부산물인 착즙박을 제품제작에 추가적으로 사용하였음. 나주배유과의 경우 유과가 무의미하게 버려지는 시기인 5월경에 유과를 구입한 후 추출농축과정을 거쳐 가공제품에 이용하였음. 제품의 개발에는 회의를 통해 준비된 나주배 유과 추출물과 나주배 추출물을 액체 형태로 그대로 혼합하기로 결정하였고 착즙박의 경우 앞서 만들었던 분말화된 착즙박을 넣도록 결



정하였다. 비누제작에 있어서 핵심원료인 배관련 원료인 나주배 관련 원료를 제외한 부원료의 경우 협력업체와의 협의를 통해 기본적인 비누의 베이스 원료를 넣은 뒤 유기농성분인 카모마일, 히비스커스, 루이보스티, 라벤더, 로즈힙, 페퍼민트등을 향의 조화가 이루어지는지를 사전확인 한 뒤 추가로 첨가하여 구성성분의 구상을 마치고 최종 제품 제조 단계로 들어갔다.



나주배 원료 구매



나주배 원료세척 착즙진행

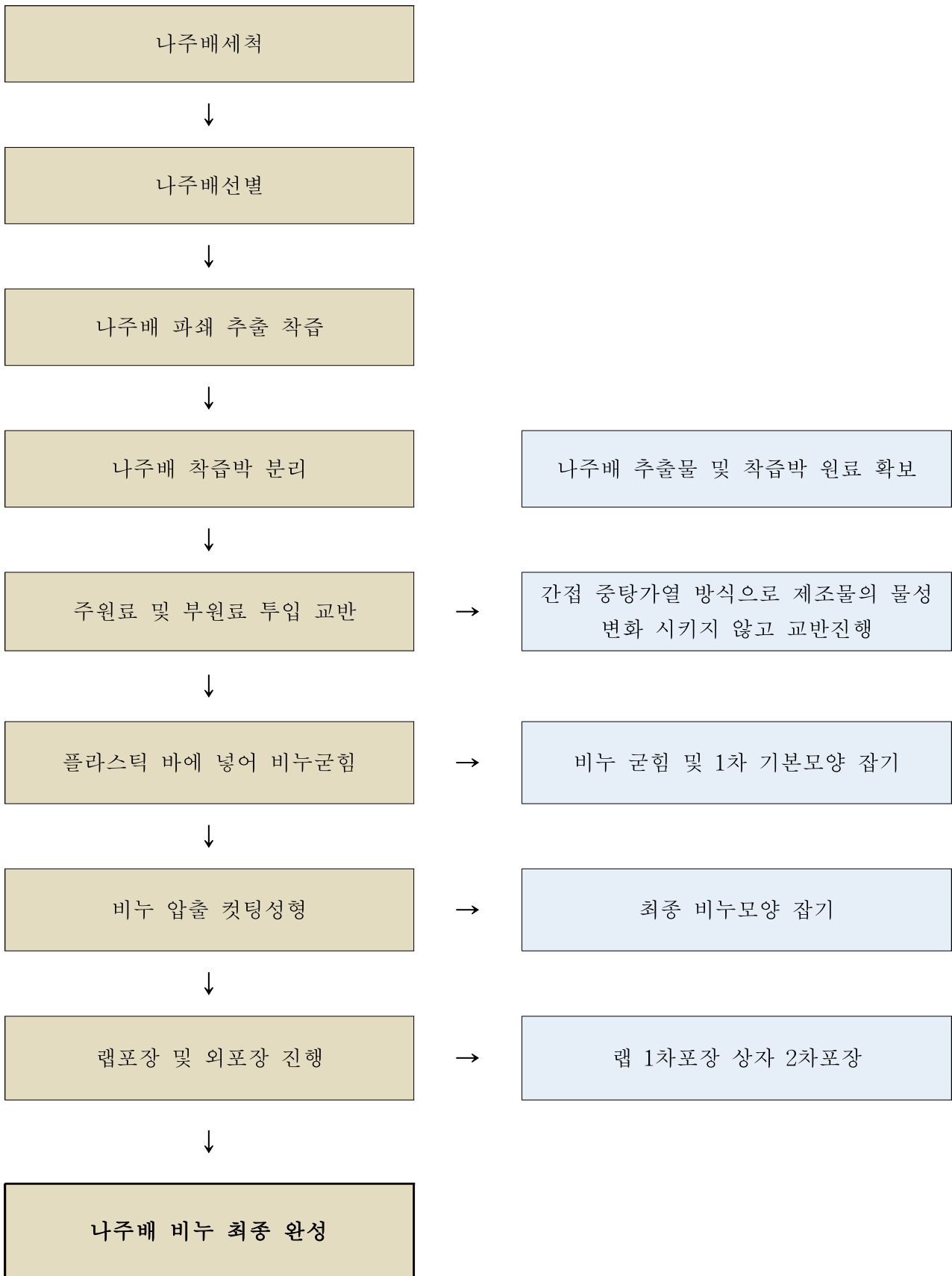


나주배 착즙박 원료



나주배유과

[그림 V-21. 나주배 원료구매 및 준비]



[그림 V-22. 나주배 비누 제품 공정개발 모식도]

(2) 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 비누제품의 제조  
비누 제조과정

<p>원료교반작업 진행</p>	<p>교반 후 제조물 확인작업</p>
<p>비누 굳힘 후 압출 컷팅작업</p>	<p>비누성형작업</p>
<p>내포장작업</p>	<p>외포장작업</p>

[그림 V-23. 나주배 비누 제조과정]

### (3) 나주배 비누 제작과정 설명 및 마케팅 계획

나주배 비누제품의 원료로는 나주배추출물과 유과추출농축액 착즙박을 주원료로 사용했으며 부원료로는 카모마일, 히비스커스, 루이보스티, 레몬밤, 라벤더, 올리브오일, 살구씨오일등을 사용함으로써 기본 비누베이스와 배관련 원료가 들어간 단순한 제품이 아닌 비누의 향이나 추가적인 기능성을 강화시켰음.

비누 제작과정은 먼저 비누교반기에 앞서 언급했던 주원료와 부원료를 넣은 뒤 중탕가열식으로 가열하면서 교반진행과정을 거쳤음. 이 때 교반이 잘 진행되었는지 작업도중 배출구를 통해 확인을 해 줄 필요가 있음. 다음으로 제조물이 충분히 교반진행이 된 후 제조물을 옮긴 다음 굳힘 작업을 진행하였음. 1차적으로 둥글고 긴형태의 플라스틱 바에 제조물을 넣어주고 성형과 1차 굳힘이 완료되면 다음으로 압출 컷팅기계에 굳어진 제조물을 넣어주었음. 압출 컷팅기계에서는 플라스틱바에 굳어져 있는 제조물을 밀어내어 압출하고 일정한 무게로 컷팅하여 우리가 알고있는 비누의 둥그란 모양으로 만들어줌. 이것은 최초의 모양이기 때문에 처음에는 단순하게 투박하면서 원형의 비누에 불과함. 마지막에 비누 성형기를 통해 디자인해 놓은 비누형태로 최종 완성이 되는데 여기에 이름을 새긴다던지 좀 더 둥그런 모양으로 만들거나 각진 모양을 제거하는 등의 다양한 형태로 변형을 줌. 이 다음과정으로 먼저 비누를 랩핑하여 내포장하는 작업을 진행함.(그림 V-25 하단 형태 참조) 랩핑 내포장 작업이 완료되면 최종적으로 비누박스에 완성된 제품을 담아 최종 외포장작업을 마쳐 그림 V-27와 같은 최종제품으로 만들어 졌음.

추가적으로 앞으로의 마케팅 계획은 이 제품의 경우 비누 자체만으로 많은 거품이 나는 제품이지만 비누의 외포장에 비누망을 넣어 거품발생을 더욱 쉽게하고 소비자가 사용하기에 더욱 유용하도록 만들 예정임. 그리고 배와 배유과 착즙박의 기능성 뿐 아니라 부원료로 들어간 각종 재료들의 장점들을 강조함으로써 다른제품들과의 차별성을 마케팅전략에 사용할 예정임.

(4) 나주배비누 디자인



그림 V-24. 나주배 비누 박스 디자인



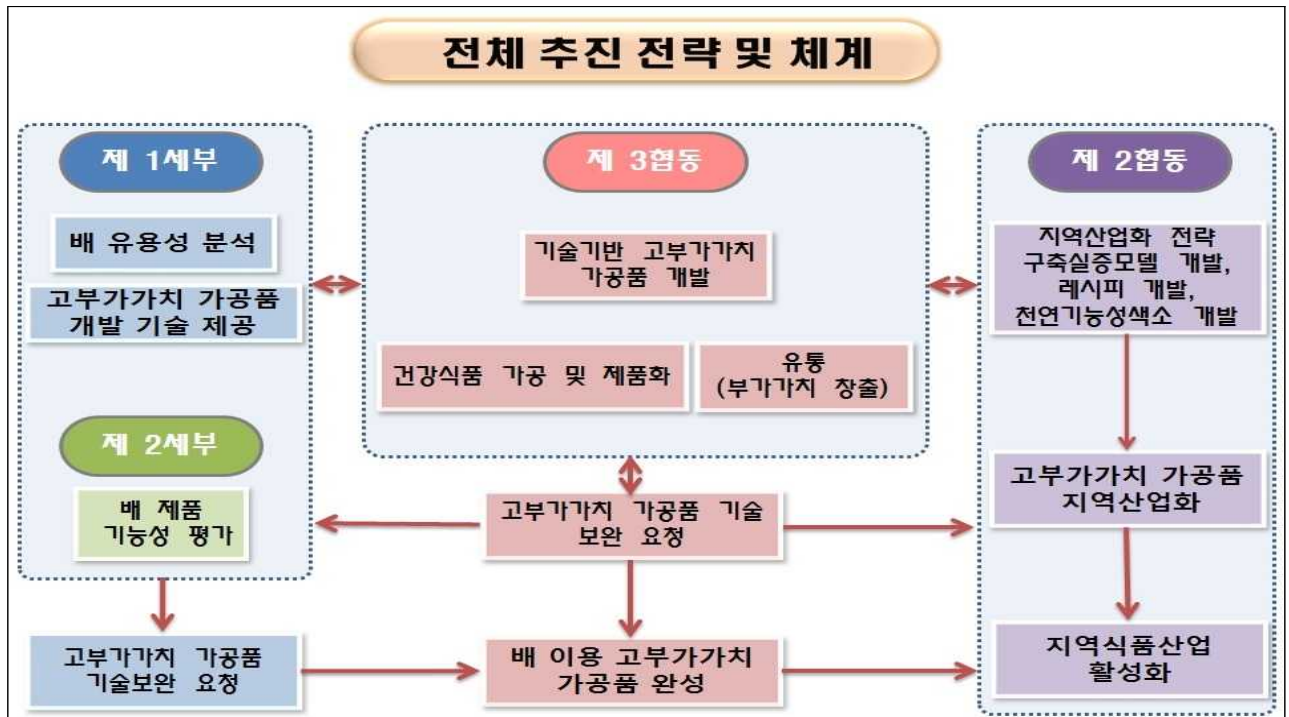
그림 V-25. 나주배 비누의 디자인

(5) 나주배비누 실물

제품명	제품사진
<p>나주배 - 이화미인</p>	

○ 연구개발의 추진전략·방법 및 추진체계

1) 연구개발 추진전략 · 방법



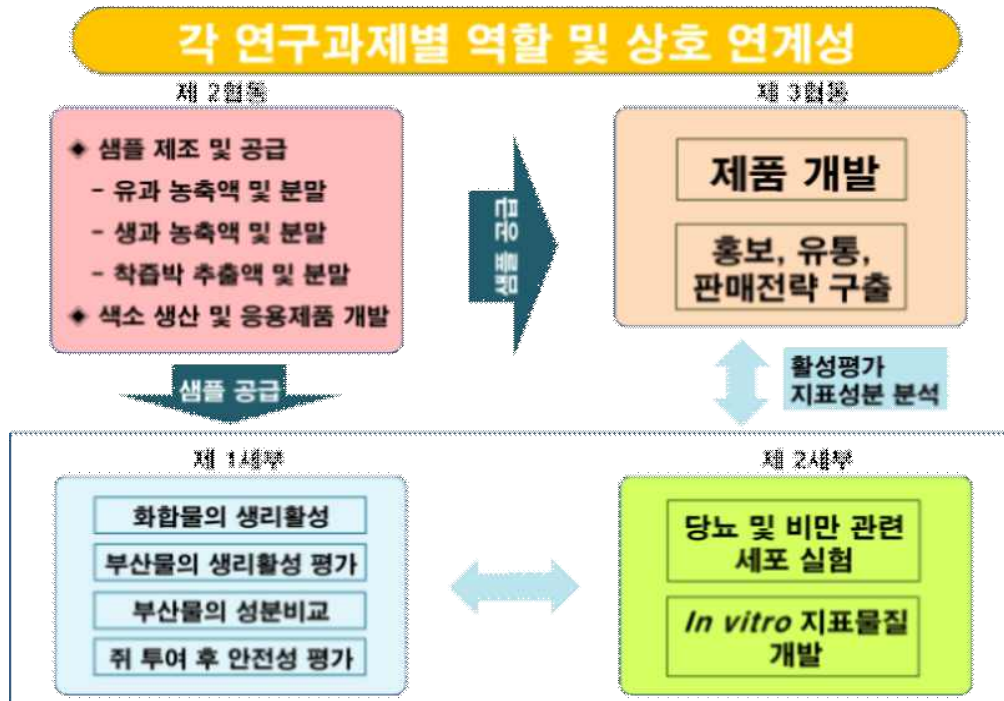


2) 연구개발 추진체계

연구개발과제		총 참여 연구원	
과제명	나주배의 고부가가치화를 통한 지역산업 활성화 연구	주관연구책임자 (문제학)외 총 17명	
기관 별 참여 현황			
구 분	연구기관수	참여연구원수	
중소기업	1	4	
대 학	2	11	
국공립(연)	1	3	

전남대학교	전남대학교	나주시농업기술센터	이·조은산소(주)
배의 기능성 지표물질 규명 및 제품화 지원	나주배의 고부가가치화를 위한 기능성 검증 및 제품화 지원	나주배의 고부가가치 산업화 전략 수립 및 식품개발	나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 고부가가치 식품개발
연구책임자(문제학)외 5명	연구책임자(전태일)외 4명	연구책임자(박상철)외 2명	연구책임자(김태용)외 3명
담당기술개발내용	담당기술개발내용	담당기술개발내용	담당기술개발내용
1) 배 함유 고유 기능성 특이 지표성분의 탐색 및 도출에 의한 우수성 검증 2) 나주배의 발효에 따른 유용성 향상 검증 3) 배 부산물 (낙과, 비상품과, 미성숙과, 착즙박, 전정가지)의 유용성 규명 4) 배 미성숙과의 whole food로써 유용성분의 생체내 흡수·대사 기전 규명 및 생리활성 평가 5) 배 가공품 함유 기능성 성분의 안정성 유지 방법 개발	1) 배 가공 제품 제작을 위한 미백 기능 평가 및 기전 규명 2) 배 가공 식품 제작을 위한 안전성 평가 3) 배 가공 식품 제작을 위한 대사중후군 조절 효능 평가 및 기전 규명	1) 나주배의 재배, 생산 조건 등 자연 환경적 요인 종합연구 결과 정리 2) 나주배의 생과 및 유과를 이용한 천연색소 소재 개발 3) 나주배의 고부가가치화 제품의 지역 전략 산업화를 위한 가치 체인별 연계전략 구축 4) 나주배의 고부가가치화 제품의 지역 전략 산업화를 위한 실증 모델 개발을 통한 실증	1) 나주배 및 그 미활용소재를 활용한 페놀성 화합물 함유 향산화 배 음료제품 개발 2) 나주배 및 그 미활용 소재 기반 효소활용 과립스티커 제품 개발 3) 나주배 및 그 미활용 소재를 활용 식품첨가물 개발 4) 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 천연 식품소재 개발



○ 연구개발성과

- 국내외 논문 게재

No	게재 연도	논문명	주저자명	학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분	SCI 여부 (SCI/비SCI)	등록번호
1	2016	Flavonoid의 흡수 · 대사: Catechin을 중심으로	정향연, 조정용, 문제학	한국차학회지	22(4): 64-82	국내	비SCI	
2	2017	Metabolism and antioxidant effect of malaxinic acid and its corresponding aglycone in rat blood plasma	Hyun Joo Lee, Hang Yeon Jeong, Mi Rim Jin, Hyoung Jae Lee, Jeong-Yong Cho, Jae-Hak Moon	Free Radical Biology and Medicine	110, 399-407	국외	SCI	10.1016
3	2017	Isolation of five proanthocyanidins from pear ( <i>Pyrus pyrifolia</i> Nakai) fruit peels	Da Eun Jeong, Jeong-Yong Cho, Yu Geon Lee, Hang Yeon Jeong, Hyoung Jae Lee, Jae-Hak Moon	Food Science and Biotechnology	26(5): 1209-1215	국내	SCI	10.1007/s10068-017-0157-4
4	2017	Glu - Phe from onion ( <i>Allium Cepa</i> L.) attenuates lipogenesis in hepatocytes	Yu Geon Lee, Jeong - Yong Cho, Eom Ji Hwang, Tae - Il Jeon & Jae - Hak Moon	Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	81(7): 1409-1416	국외	SCI	10.1080/09168451.2017.1303358
5	2017	3-Decylcatechol induces autophagy-mediated cell death through the IRE1α/JNK/p62 in hepatocellular carcinoma cells	Da-Hye Go, Yu Geon Lee, Da-Hye Lee, Jin-A Kim, In-Hwa Jo, Yeon Soo Han, Yong Hun Jo, Kwang-Youn Kim, Young-Kyo Seo, Jae-Hak Moon, Chang Hwa Jung and Tae-Il Jeon	Oncotarget	8(35): 58790-58800	국외	SCI	10.18632/oncotarget.17732
6	2016	Enhancement of antioxidative and antimicrobial activities of immature pear ( <i>Pyrus pyrifolia</i> cv. Niitaka) fruits by fermentation with <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Sang Won Lee, Jeong-Yong Cho, Hang Yeon Jeong, Tae-Woong Na, Sang-Hyun Lee, and Jae-Hak Moon	Food Science and Biotechnology	25(6): 1719-1726	국내	SCI	10.1007/s10068-016-0263-8
7	2017	Phenolics and eudesmanolide from aged common sage exudate with sugar	Tae Yeon Kim, Jeong-Yong Cho, Yu Geon Lee, Hang Yeon Jeong, Hyoung Jae Lee, Jae-Hak Moon	Food Science and Biotechnology	26(6): 1491-1500	국내	SCI	10.1007/s10068-017-0234-8
8	2017	Protocatechuic Acid from Pear Inhibits Melanogenesis in Melanoma Cells	Xuan T. Truong, Seo-Hee Park, Yu-Geon Lee, Hang Yeon Jeong, Jae-Hak Moon and Tae-Il Jeon	Molecular Sciences	18(8): E1809	국외	SCI	10.3390/ijms1808109

○ 사업화 계획

1) 생산 계획

구분		( 2019년) 개발 종료 후 1년	(2020년) 개발 종료 후 2년	(2021년) 개발 종료 후 3년
국 내	시장점유율(%)	-	-	-
	판매량(단위 : 수량)	50,000	10,000	15,000
	판매단가(원)	10,000	10,000	10,000
	국내매출액(백만원)	500	1,000	1,500
해 외	시장점유율(%)	-	-	-
	판매량(단위 : 수량 )	10,000	20,000	50,000
	판매단가(\$)	10	10	10
	해외매출액(십만\$)	1	2	5
당사 생산능력1)		100,000	200,000	250,000

2) 투자 계획

(단위 : 백만원)

항목		(2019년) 개발 종료 후 1년	(2020년) 개발 종료 후 2년	( 2021년) 개발 종료 후 3년
매출원가1)		700	1,300	2,000
판매관리비2)		150	230	350
자본적 지출	토지	470	-	-
	건물/구축물	100	700	300
	기계장치등	-	150	300
자본적지출 합계		570	850	600

3) 사업화 전략

○ 제품홍보, 판로확보, 판매전략 등의 사업화 추진전략

가. 참여기업1 (주관/참여기관 중 기업만 작성)

구분	구체적인 내용			
	제품형태	용 량	예상가격	비 고
형태/규모	병음료(큐텐병)	100 mL/병	2,000~3,000원/병	
	파우치(스탠드)	80~100 mL/1포	1,000원~2,000원/병	
	스틱형(과립)	5 g/1포	35,000원~55,000원/box	OEM
	gel형	10 mL/1포	50,000원~60,000원/box	레시피 개발
	○ 수요처 - 자체 유통망 및 유통전문 모기업의 유통망을 이용한 제품 판매 - 온라인쇼핑몰, 유기농매장(한마음), 건강식품판매 쇼핑몰 등 ○ 개발 투입인력 및 기간 : 5명, 총 36개월 예상			
상용화 능력 및 자원보유	○ 엑기스 추출 : 자체공정 ○ 여과 및 농축 : 자체공정 ○ 살균 및 포장 : 자체공정 ○ 과립 제작 : OEM생산 (추후 자체공정 시설 확보예정)			
상용화 계획 및 일정	년 도	내 용		비 고
		시제품	사업화	
	1차년도	병 음료(큐텐병) 및 디자인 개발	-	
	2차년도	파우치 시제품 개발 및 디자인	병 제품(큐텐병) 및 과립스틱 제품 (품목 신고)	
	3차년도	-	파우치 제품(품목 신고)	
종료 후 1차년도	배, 미성숙과 및 착즙박을 이용한 다양한 시제품 개발	다양한 제품의 사업화 (품목 신고)		

4) 사업화를 위한 비즈니스 모델

가. BM 수립 배경

○ 배의 재배과정에 있어 고품질의 배를 생산하기 위해 개화 후 20-30일경에 7-10개로 구성된 클러스터 중 상태가 가장 양호한 단 한 개의 미성숙과만을 남겨두고 나머지는 모두 적과하여 버려지고 있는 실정

- 배 과실의 생산량을 역으로 환산하여 볼 때, 연간 폐기되어지고 있는 배 미성숙과는 약 1,5000톤으로 추정
- 배의 폐기자원인 과피와 미성숙과로부터 약 50종의 유용 생리활성화합물을 단리·정제하여 보고한 바 있고, 특히, 배의 미성숙과는 성숙과에 비해 유용성분의 함량이 수십 배~200 배에 달할 정도로 높음
- 제품선별 중 외형이 양호지 못한 성숙과 또는 낙과를 이용하여 배즙을 생산하고 있고, 배즙 제조 후 생산되는 “착즙박”에 대한 처리문제가 제기
- 배착즙박의 섭취는 변비해소 및 항비만에 효과가 있다고 알려져 일부 소비되어지고 있으나, 이에 대한 정확한 정보는 제시된 바 없다. 따라서 배착즙박의 유용성을 구명하여 객관적인 활용방안을 제시할 필요가 있다고 판단
- 이러한 배 폐기자원의 활용방안의 제시는 잠재적으로 농가소득 증대로 연결될 것이며, 농촌 지역의 산업 활성화에도 기여할 것으로 판단

#### 나. BM 목표 및 핵심경쟁요인

##### (1) BM 목표

- 농가에서 활용성이 없이 폐기되어지는 배 미성숙과의 발효물을 생산하여 그 발효물의 기능성을 과학적으로 구명하고 유용성분의 응용을 통해 폐기자원의 활용성을 높여 농가 증대와 부가가치를 창출.
- 그 외에도 착즙박, 전정가지 등 배 부산물 및 폐기자원의 유용성을 규명하고, 응용제품을 개발하여 고부가가치화를 실현

##### (2) 핵심경쟁요인

- 연구를 통해서 기능성 성분들의 거동 확인을 바탕으로 배의 기능성 성분의 활용방안 마련
- 배 미성숙과를 대상으로 발효물을 제조하지 않았으며, 발효에 사용된 미생물 또한 연구와 다르고 일반성분 분석과 미생물 분야에 치중되어 있는 실정이다. 연구를 통해 배 미성숙과의 활용성과 기능성을 향상 시키고 그 발효물의 제조법 및 기능성을 확보
- 50여종 이상의 유용성분이 밝혀졌으며, chemical profile를 기초로 특이 지표 마커를 도출하여 과학적이고 객관적인 data로 나주배의 우수성을 입증
- 또한, 배의 주요성분을 대상으로 배 부산물 및 폐기자원과 비교하여 생리활성 검증을 통해서 그 유용성분을 규명
- 과학적이고 객관적인 data로 원천기술을 확보로 국내시장 및 중국, 동남아시, 유럽 시장에 진입 시 적극적인 마케팅으로 시장공략 가능

#### 다. 목표 시장 구조

##### (1) 경쟁기업 현황

##### (가) 경쟁기업 현황 및 경쟁구조

## ① 국내 건강기능식품

### ○ 건강기능식품 시장

- 국내 건강기능식품의 시장의 2011년 생산액은 13,622억원으로, 내수시장을 중심으로 빠르게 성장하고 있음

- 전체 생산액 중 국내판매 금액은13,126억원(95.9%), 수출액556 (4.1%)억원으로 내수시장이 큰 비중을 차지하고 있음.

○ 건강기능식품 중 홍삼이 가장 큰 시장을 형성하고 있으며, 2011년 전체 건강기능식품 생산액의 52.6%(7천억원)을 차지함

- 최근 홍삼제품의 면역효과 이외에도 피부미용 및 주름개선 등의 미용기능이 각광받기 시작하면서 전년매비 성장률이 23.6%를 기록하는 등 국내 건강기능식품시장의 성장을 주도

- 이러한 홍삼제품에 대한 주요 소비 계층이 기존 40,50대 중장년 위주에서 미용에 관심이 많은 20~30대 젊은 층으로 확장되면서 연령에 구분이 없어 홍삼의 수요는 지속적으로 증가할 것으로 전망



[그림 8] 국내 건강기능식품 생산액 및 성장률 현황 [그림 9] 주요 품목별 생산액 및 성장률 현황  
 자료 : '11년 건강기능식품 생산실태 분석결과 발표', 식품의약품안전청(2012. 5)

○ 비타민 및 무기질은 세계시장의 증가와 함께 국내에서 가장 큰성장률을 나타내고 있음

- 생산액 상위 5품목 중 2010년에서 2011년 증가율이 가장 높은 것은 비타민 및 무기질로 전내(991억원)대배 57.5% 상승한 1,561억원으로 나타남

- 세계 건강기능식품 중 점유율이 가장 큰 품목인 비타민과 무기질은 국내 시장에서도 급속히 증가하고 있음

- 이는 인지도와 구매경험이 높은 비타민이 친숙도가 높으며, 비타민과 무기질은 일반의약품으로 출시되고 있어 소비자들이 쉽게 구매할 수 있기 때문

○ 소비자 요구에 따른 새로운 기능성 원료를 이용한 개별인정형 제품의 시장이 새롭게 부각되고 있음

- 2011년도 개별인정형 제품은 전년 대비 27.1% 성장한 1,435억원으로 이중 생산액 1위는 간 건강제품(532억원)이었으며, 그 다음으로 면역기능에 도움을 주는 제품(179억원), 관절/뼈 건강제품(153억원)순으로 나타남



[그림 10] 건강기능식품 분류별 생산현황

[그림 11] 개별인증형 세부품목별 생산현황

자료 : '11년 건강기능식품 생산실태 분석결과 발표', 식품의약품안전청(2012. 5)

○ 국내 홍삼관련 제품의 기업 점유율 현황

- 홍삼 제품은 우리나라 건강기능식품의 전체 매출액의 약 35% 이상을 차지하고 있으며, 2011년 국내 홍삼의 72.3%를 인삼공사의 정관장, 농협 한삼인 11.2%, 천지양등 일반 중소기업 브랜드가 16.5%를 차지

[표 3] 연도별 국내 시장 점유율

(단위: 억 원)

구분	2007년	2008년	2009년	2010년	2011년
정관장	5,211 (74.4%)	6,426 (76.5%)	7,467 (78.6%)	8,428 (76.6%)	9,401 (72.3%)
농협 브랜드	970 (13.9%)	1,082 (12.9%)	1,128 (11.9%)	1,179 (10.7%)	1,454 (11.2%)
기타 기업	819 (11.7%)	892 (10.6%)	905 (9.5%)	1,393 (12.7%)	2,145 (16.5%)

•출처: 농림축산식품부

② 국내 음료시장

○ 09년 국내 음료 시장은 전년 비 약 1% 성장한 3조 6000억원 규모로 추정

- 경기불황으로 인해 상대적으로 가격이 저렴한 사이다와 콜라 등 탄산음료의 수요가 늘어 매출이 소폭 상승, 커피음료와 생수 매출은 증가, 주스와 차 음료 시장은 위축 경향

○ 부류별 과실음료 약 8,100억원(2.7% 감소)으로 23.4%를, 탄산음료시장은 1조 2천억원(9.1% 증가) 33.3%, 기타 음료시장 1조 5,900억원(2.1% 감소)으로 44.2%를 차지

○ 업체별로 보면('08) 롯데 36.7%, 해태 10.3%, 코카 17.6%, 동아 5.3%, 웅진 5.1% 정도임. 과실음료시장의 경우 롯데 45.1%, 해태 25.2%, 코카 7.8%, 웅진 14.7%, 탄산음료시장의 경우 롯데 45.7%, 해태 3.5%, 코카 44.5%, 동아 4.0%, 기타음료시장의 경우 롯데 26.3%, 해태 7.3%, 코카 4.5%, 동아 8.8%, 웅진 3.7% 정도

○ 국내 음료시장은 '05년 3조 4,150억원에서 '09년 3조 6천억원으로 최근 4년간 5.4% 증가하였음



자료 : 한국경제신문

(나) 경쟁구조

(2) 시장진입 장벽

○ 국내 건강기능 식품의 시장은 홍삼제품이 전체 매출의 35%이상과 음료는 탄산음료 및 기타음료가 시장의 70%이상을 점유하고 있어서 기존 시장진입이 어려움. 새로운 제품(배를 활용한 제품)으로 틈새시장을 공략

라. 수익 확보 전략

(1) 주요 고객군

○ 건강에 관심이 고조, 인구고령화 등에 힘입어 매년 큰 폭으로 성장하고 있어서, 피부미용 등 외모에 관심을 가지는 20~30대 제품과 질병예방, 건강개선 효과 등의 관심이 있는 실버세대 제품을 개발하여 공략

(2) BM의 수익창출 방안

○ 우리 사회의 음주문화 등으로 간 건강 제품에 대한 소비수요 증대, 일본방사능 유출, 환경오염, 자외선 등으로 인한 면역기능이나 피부건강에 대한 관심 증대

○ 기존 존재하는 원료에서 벗어나 치료 효능을 가진 원료가 발견되면, 신규 시장을 창출할 수 있는 잠재적 가능성이 내재되어 있어 기업들이 원료를 찾고 있음

○ 세계적인 웰빙 트렌드의 확산과 고령화의 영향으로 건강기능식품이 포함된 Nutrition Industry의 시장규모 성장 및 건강기능식품에 대한 소비층의 변화

→ 소비자가 요구에 따른 새로운 기능성 원료를 이용한 제품으로 시장에 진입하여 새롭게 부각 시킴으로써 수익창출 방안 마련

→ 고령화 및 노화방지를 위해 건강기능식품을 섭취하던 때와 달리, 피부미용 및 건강/체력증진에 있어 다양한 건강기능 식품이 요구되고 있어, 이에 따라 고객의 다양한 연결과 소비욕구를 고려하여 시장진입 방안 마련



### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

##### 1) 1차년도

###### <제 1세부> 배의 기능성 지표물질 규명 및 제품화 지원

- 배의 고유 기능성 특이 지표 성분 탐색 및 도출에 의한 우수성 검증
  - 배 함유 유용성분의 생체 내 흡수·대사 기전 규명을 통한 나주배의 우수성 입증
- 나주배의 발효에 따른 유용성 향상 검증
  - 발효 및 미발효 시료의 항산화 활성 비교
  - 화장품 소재로서의 응용성 평가

###### <제 2세부> 나주배의 고부가가치화를 위한 기능성 검증 및 제품화 지원

- 배 성분의 미백 기능 평가 및 기전 규명
  - 배 성분의 미백기능 평가 및 기전 규명
    - 1) 배 성분의 Tyrosinase 억제
    - 2) 배 성분의 Melanin 합성 억제
    - 3) 배 유효성분의  $\alpha$ -MSH에 의한 melanin 합성 억제 차단효과
- 배 가공 식품 제작을 위한 안전성 평가
  - 배 가공 식품 제작을 위한 안전성 평가
    - 1) 세포 독성 평가
    - 2) 동물에서 투여량 및 독성평가

###### <제 1협동> 나주배의 생과, 유과, 착즙박을 이용한 화장품 원료 제품 개발

- “나주배”의 생과, 유과, 착즙박을 이용한 화장품 원료 제품 개발
  - “나주배” 착즙박 함유 스킨, 로션, 크림 3종 개발
- “나주배 착즙박”을 이용한 마스크팩 제형 개발
  - “나주배” 착즙박 함유 마스크팩 제형 개발

###### <제 2협동> 나주배의 고부가가치 산업화 전략 수립 및 식품개발

- 나주배의 재배, 생산 조건 등 자연 환경적 요인 종합연구 결과 정리
  - 관련분야 연구결과 발굴을 통한 추가보완
    - 1) 재배법 연구결과 보완 등
    - 2) 년차별 품질특성 조사 결과 보완
    - 3) 기능성 화합물 조사
- 나주배를 이용한 식품 레시피 종합연구 결과 정리

- 나주배 이용 전통식품 생산업체 조사
- 나주배를 이용한 음식 레시피 도출

**<제 3협동> 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 페놀성 화합물 함유 향산화 배 음료 제품 개발**

- 나주 배 및 그 미활용 소재를 활용한 페놀성 화합물 함유 향산화 배 음료 제품 개발
  - Malaxinic acid 함유 제품의 제조방법
  - Chlorogenic acid 함유 제품의 제조 방법
  - 제품의 제조공정 매뉴얼 개발
  - 디자인 및 홍보 및 유통, 판매 전략 구축
  - 품질기준 및 관리방안 개발

**2) 2차년도**

**<제 1세부> 배의 기능성 지표물질 규명 및 제품화 지원**

- 배 부산물 및 폐기자원(미성숙과, 착즙박, 전정 가지)의 유용성 규명 및 응용제품 개발 지원
  - 배의 주요성분을 대상으로 배 부산물의 chemical profile 비교
  - 배 부산물의 향산화 활성 비교
  - 배 부산물의 천연 식용색소 소재로써의 응용 가능성 검토
  - 배 함유 malaxinic acid의 혈중 대사체 구조 확인

**<제 2세부> 나주배의 고부가가치화를 위한 기능성 검증 및 제품화 지원**

- 배 유효성분의 세포 지방축적 및 미토콘드리아 기능 조절 규명
  - 간세포에서 지방축적 억제 확인
  - 지방세포분화 억제 확인
  - 미토콘드리아 호흡 기능 확인
  - 당, 지방산 산화율 확인
- 배 유효성분의 대사 및 인슐린 신호 조절 규명
  - 간세포에서 지방합성, 산화관련 유전자 발현 조절 확인
  - Adipogenesis 관련 유전자 발현 조절 확인
  - 인슐린 신호전달 단백질 확인
  - ER stress, autophagy, 염증반응 유전자 발현 확인
- 배 소재의 비만/당뇨 억제 식품개발을 위한 *in vitro* 지표물질 발굴

**<제 2협동> 나주배의 고부가가치 산업화 전략 수립 및 식품개발**

- 추출, 농축, 동결건조 및 분말화 공정 기술 개발
- 대량생산 및 효율적인 제조공정 개발
- 안정성, 순도 등 물리·화학적 특성 조사
- 천연 발효색소의 제조

- 첨가용 색소농도, 발효시간, 온도, pH 등 색소 최적 생산조건 확립

**<제 3협동> 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 폐놀성 화합물 함유 향산화 배 음료 제품 개발**

- 제품의 제조방법, 제조공정 매뉴얼 개발
- 관능평가에 의한 소비자 기호도 조사
- 개발제품의 보관 및 유통방안 개발
- 디자인 홍보 및 유통, 판매전략 구출
- 제품 품질균질화를 위한 품질기준 및 관리방안 개발

**3) 3차년도**

**<제 1세부> 배의 기능성 지표물질 규명 및 제품화 지원**

- 배 미성숙과의 whole food로써 유용성분의 생체 내 흡수·대사 기전 규명 및 생리활성 평가
  - 배 미성숙과 함유 생리활성 화합물의 *in vitro* 및 *ex vivo* 생리활성 평가
  - 배 미성숙과 함유 생리활성 화합물의 생체 내 흡수·대사 기전 해명
- 배 가공품 함유 기능성 성분의 안정성 유지 방법 개발
  - 천연 색소소재로써 필요한 안정성 유지 방법 개발
  - 화장품 소재로써 필요한 안정성 유지 방법 개발
- 배 미성숙과 추출물 첨가 홍국균 발효에 의해 생성된 색소의 안정성 평가
  - 배 미성숙과 추출물을 첨가한 홍국균 발효에 의해 생성된 색소(배첨가 홍국균 색소)의 주요 색소 성분의 단리 및 구조결정 (HPLC, NMR 분석)
  - 단리된 색소성분을 표준품으로 활용하여 색소성분의 안정성 평가 지표 화합물로 이용
  - 열, 산화, pH에 대한 안정성 평가를 분자수준에서 평가

**<제 2세부> 나주배의 고부가가치화를 위한 기능성 검증 및 제품화 지원**

- 대사증후군 동물모델에서 배 유효성분의 효능 및 작용기전 규명
  - 고지방식이, 배 성분 급여 후 GTT, ITT 분석
  - 체중 변화, 혈액 및 조직 분석
  - 지방대사, 당대사, 인슐린 신호조절 유전자 발현 분석
  - ER stress, autophagy, 염증반응 조절유전자 발현 분석
- 배 소재의 비만/당뇨 억제 식품개발을 위한 *in vivo* 지표물질 발굴

**<제 2협동> 나주배의 고부가가치 산업화 전략 수립 및 식품개발**

- 나주배의 고부가가치화 제품(화장품원료, 천연염료, 기능성식품)의 지역 전략 산업화를 위한 가치(value) 체인별(생산-반가공-가공-유통-외식-관광 등) 연계전략 구축
  - 원료 생산기반 구축 전략
  - 반제품 생산 시스템 구축전략

- 반제품 생산시스템의 지역산업 연계방안 도출
- 유통지원 전략 도출
- 지역 연계 관광상품화 전략 도출
- 나주배의 고부가가치화 제품(화장품원료, 천연염료, 기능성식품)의 지역 전략 산업화를 위한 실증 모델 개발
  - 원료 생산 농가 조직화
  - 원료 생산단지 구축
  - 반제품 생산 지역 산업체와의 연계 모델 구축

**<제 3협동> 나주배 및 그 미활용 소재를 활용한 폐놀성 화합물 함유 향산화 배 음료 제품 개발**

- 나주배 및 그 미활용 소재 활용 식품첨가물 개발
  - 제품의 제조방법
    - 추출장치, 농축장치, 동결건조 장치 등의 대량 처리 시스템 상에서의 적정 제조 방법 검토 및 확립
  - 제품의 제조공정 매뉴얼 개발
    - 기존 시스템 상에서 추출물, 농축물 및 분말 등의 균일성과 재현성 확보
  - 개발제품의 대체품과의 비교분석
    - 기존 제품과의 소비자 선호도 향상을 위한 차별성 및 우수성 확보(제2세부과제와 연계)
  - 디자인 및 홍보 및 유통, 판매전략 구축
    - 나주시 로컬푸드센터의 유통망 활용
    - (주)이조은산소의 기존 유통망 활용
  - 품질균일화를 위한 품질기준 및 관리방안 개발
    - 개발제품 중에 함유된 특정 유용성분을 기준으로 품질의 균일성 평가
- 나주배 및 그 미활용 소재를 활용 천연 식품소재 개발
  - 나주배 착즙박의 분말화 최적공정 확립
    - 식품첨가소재로 활용성을 고려한 최적 분말화 조건(粒度 등) 확립
  - 나주배 착즙박 분말의 최적 첨가량 설정
    - 특정 식품에 적합한 각각의 최적 첨가량을 확립
  - 선호제품 등 착즙박 분말 첨가 모델식품의 제작
    - 식감 및 기호도를 충족시킬 수 있는 식품첨가소재로써의 다양한 모델식품을 선별 및 적용

3-2. 목표 달성여부

1. 정성적 목표달성도

1) 1차년도

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제1세부]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배의 고유 기능성 특이 지표 성분 탐색 및 도출에 의한 우수성 검증               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 배 함유 유용성분의 생체 내 흡수·대사 기전 규명을 통한 나주배의 우수성 입증</li> </ul> </li> <li>▪ 나주배의 발효에 따른 유용성 향상 검증               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 발효 및 미발효 시료의 항산화 활성 비교</li> <li>- 화장품 소재로서의 응용성 평가</li> </ul> </li> </ul>	120%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 항산화제 1 분자 당 radical-scavenging 수를 비교했음</li> <li>▪ 항산화제의 상대적인 radical-scavenging 속도 비교법을 새롭게 개발하였음</li> <li>▪ 산화된 항산화제의 ascorbic acid에 의한 재생(환원)여부의 평가법 새롭게 개발하였음</li> <li>▪ 상기 3 항목의 방법을 이용하여 배 함유성분들 중 지표성분 후보 화합물을 선별하였음</li> <li>▪ 배 및 배 부산물을 대상으로 지표성분 후보 화합물로 선별된 2,3- 및 3,4-DHBA의 정성·정량</li> <li>▪ 지표성분 후보 화합물로 선별된 2,3- 및 3,4-DHBA의 혈중 흡수·대사 연구를 행하였으며, pharmacokinetics 및 항동맥경화 인자로써의 가능성을 평가하였음</li> <li>▪ 최종적으로 2,3- 및 3,4-DHBA가 배 지표성분으로 활용 가치가 높다고 판단하였음</li> <li>▪ 배 및 그 부산물의 기능성 향상을 위해 발효 방법을 적용하였음</li> <li>▪ 항산화능 향상능이 우수한 균주를 선별하였음</li> <li>▪ 발효물을 대상으로 다양한 항산화 활성을 평가한 결과, 발효에 의해 기능성이 향상됨이 확인되었음</li> <li>▪ 피부미백효과가 뛰어난 arbutin의 고순도 대량 간이 정제법을 개선함으로써 bulk scale에서 현장 적용이 가능한 방법을 확립하였음</li> <li>▪ 확립된 방법에 의해 배 미성숙과로부터 정제한 arbutin을 대상으로 안전성 및 안정성 평가를 행한 결과, 실용화에 문제가 없을 것으로 판단되어 화장품 소재로 활용하였음</li> </ul>

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제2세부]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배 성분의 미백 기능 평가 및 기전 규명               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 배 성분의 미백기능 평가 및 기전 규명</li> <li>1) 배 성분의 Tyrosinase 억제</li> <li>2) 배 성분의 Melanin 합성 억제</li> <li>3) 배 유효성분의 α-MSH에 의한 melanin 합성 억제 차단효과</li> </ul> </li> <li>▪ 배 가공 식품 제작을 위한 안전성 평가</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ α-MSH에 의해 유도된 B16F10 mouse melanoma 세포의 melanin 합성은 배추출물 (PE)에 의해 농도 의존적으로 억제되고 있음을 확인함</li> <li>▪ 또한 tyrosinase와 TRPs 조절 전사인자인 MITF의 mRNA와 단백질 발현 또한 PE에 의해 유의성 있게 감소되었기 때문에 PE의 melanin 합성 억제는 MITF downregulation을 통해 가능할 것으로 생각됨.</li> <li>▪ 다량의 arbutin을 함유하고 있는 PE는 직접적인 tyrosinase inhibitor로서 역할을 함이 확인되었음</li> <li>▪ 배추출물과 구성성분들의 세포독성 평가를 위해 배추출물 (PE, 0.05 - 2 mg/mL), 2,3-DHBA (1 - 300 μM), 3,4-DHBA (1 - 300 μM)를 3T3-L1 지방전구세포에 48시간 동안 처리한 후 MTT assay를 통해 세포 생존율을</li> </ul>

<p>-배 가공 식품 제작을 위한 안전성 평가</p> <p>1) 세포 독성 평가</p> <p>2) 동물에서 투여량 및 독성평가</p>		<p>분석한 결과, 추출물과 단일화합물의 일반적 평가 처리 농도 범위 내에서 독성이 나타나지 않았음</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 또한, 간기능 검사결과 GOT와 GPT의 혈장내 수치가 대조군과 비교했을 때 유의성 있는 차이가 보이지 않았으므로 배추출물의 0.5% (w/w)와 2% (w/w) 수준의 식이섭취에서도 전혀 독성이 나타나지 않은 것으로 판단되었음</li> <li>▪ 상기의 결과로부터, 배 추출물의 식품으로써 안전성을 확인하였음</li> </ul>
--	--	---

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제1협동]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ “나주배”의 생과, 유과, 착즙박을 이용한 화장품 원료 제품 개발</li> <li>- “나주배” 착즙박 함유 스킨, 로션, 크림 3종 개발</li> <li>▪ “나주배 착즙박”을 이용한 마스크팩 제형 개발</li> <li>- “나주배” 착즙박 함유 마스크팩 제형 개발</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배 추출물 함유 기능성 화장품의 개발을 위하여 배 추출물을 제형에 적용하여 제형 안정성을 관찰·평가하였음</li> <li>▪ 화장품 제형별로 함유된 배 추출물의 최적 농도를 찾고, 첨가하기 위해 다양하게 적용하고 제형의 안정성 및 단가 등을 고려하여 최적 조성을 찾고자 하였음</li> <li>▪ 원료화된 배추출물 0.1%~5%를 화장품 제형에 적용하여 제형안정성을 확인하여 배추출물 함유 기능성 화장품 (아이크림, 크림, 스킨, 로션 및 마스크팩)을 제형화하였음</li> </ul>

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제2협동]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 나주배의 재배, 생산 조건 등 자연 환경적 요인 종합연구 결과 정리</li> <li>- 관련분야 연구결과 발굴을 통한 추가보완</li> <li>1) 재배법 연구결과 보완 등</li> <li>2) 년차별 품질특성 조사 결과 보완</li> <li>3) 기능성 화합물 조사</li> <li>▪ 나주배를 이용한 식품 레시피 종합연구 결과 정리</li> <li>- 나주배 이용 전통식품 생산업체 조사</li> <li>- 나주배를 이용한 음식 레시피 도출</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 나주배의 재배, 생산 조건 등 자연 환경적 요인 종합 연구 결과 정리</li> <li>- 연차별 품질 특성 조사결과 보완</li> <li>- 재배법 연구결과 보완</li> <li>- 나주배의 기능성 성분 조사</li> <li>▪ 나주배를 이용한 전통식품 레시피 도출</li> <li>- 나주배 이용 전통식품 생산업체 조사</li> <li>- 연구기관과 연계를 통한 전통식품 레시피 도출</li> <li>· 전통식품: 배즙, 배술, 배숙회, 배한과, 배고추장 등 60여종 이상</li> <li>- 나주배를 이용한 음식 전시 및 요리교육</li> </ul>

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제3협동]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 나주 배 및 그 미활용 소재를 활용한 페놀성 화합물 함유 향산화 배 음료 제품 개발</li> <li>- Malaxinic acid 함유 제품의</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배 및 그 미성숙과를 대상으로 추출물을 제조하였음</li> <li>▪ 추출물을 대상으로 제품 개발을 위한 첨가량에 따른 관능검사 및 기호도 조사를 통해 최적의 첨가량을 확인하였음</li> </ul>

제조방법 -Chlorogenic acid 함유 제품의 제조 방법 -제품의 제조공정 매뉴얼 개발 -디자인 및 홍보 및 유통, 판매 전략 구축 -품질기준 및 관리방안 개발		
---	--	--

## 2) 2차년도

### ○ 정성적인 성과

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<b>[제1세부]</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배 부산물 및 폐기자원(미성숙과, 착즙박, 전정 가지)의 유용성 구명 및 응용제품 개발 지원</li> <li>-배의 주요성분을 대상으로 배 부산물의 chemical profile 비교</li> <li>-배 부산물의 항산화 활성 비교</li> <li>-배 부산물의 천연 식용색소 소재로서의 응용 가능성 검토</li> <li>-배 함유 malaxinic acid의 혈중 대사체 구조 확인</li> </ul>	120%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배나무 전정가지에 arbutin 및 malaxinic acid가 다량 함유되어 있음을 최초로 확인하였음</li> <li>▪ 배 미성숙과와 성숙과 간의 항산화활성을 비교한 결과, 성숙과에 비해 미성숙과의 항산화활성이 매우 뛰어나 있음을 확인하였음</li> <li>▪ 또한 미성숙과의 성분연구를 통해, 대부분의 생리활성 물질이 성숙과에 비해 많게는 100배 이상 함유되어 있음이 확인되었음</li> <li>▪ 배를 가공하는 과정에서 필연적으로 발생하는 다량의 착즙박의 효소분해를 통해 단당류 및 올리고당을 생산함으로써, 천연감미료 소재 및 바이오에너지원으로 활용할 수 있는 biomass 생산법을 확립하였음</li> <li>▪ 배 전정가지를 대상으로 생리활성 평가를 진행한 결과, 배 성숙과는 물론이고 미성숙과 및 착즙박보다 높은 생리활성을 발현함이 확인되었음.</li> <li>▪ 배 전정가지의 성분 연구를 통해 arbutin, chlorogenic acid, 2,3 및 3,4-DHBA, malaxinic acid의 함량이 성숙과와 다른 부산물들에 비해 높음이 확인되었음</li> <li>▪ 상기 결과를 통해, 폐기자원인 착즙박, 미성숙과 및 전정가지의 유용성을 과학적으로 증명하였음</li> <li>▪ Malaxinic acid (MA)는 선행연구를 통해 타 페놀성 화합물에 비해 혈액에 흡수 속도뿐만 아니라 흡수 농도 또한 높은 것으로 평가되었음</li> <li>▪ MA를 경구투여 한 쥐의 혈장 중의 pharmacokinetics 평가 결과, 혈액으로의 흡수속도가 매우 빠르고, 대사체는 물론 intact form으로도 흡수됨은 물론, 페놀성 수산기가 아닌 carboxylic acid가 포함체화 된 형태로 흡수됨이 확인되었음</li> <li>▪ 또한 MA 경구투여 쥐의 혈중 과산화물(Cholesteryl ester hydroperoxide; CE-OOH)의 생성이 억제되는 것을 확인하였음</li> <li>▪ 상기의 결과로부터, MA의 항동맥경화 인자로서의 가능성을 확인하였음</li> </ul>

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제2세부]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배 유효성분의 세포 지방축적 및 미토콘드리아 기능 조절 규명 <ul style="list-style-type: none"> <li>-간세포에서 지방축적 억제 확인</li> <li>-지방세포분화 억제 확인</li> <li>-미토콘드리아 호흡 기능 확인</li> <li>-당, 지방산 산화율 확인</li> </ul> </li> <li>▪ 배 유효성분의 대사 및 인슐린 신호 조절 규명 <ul style="list-style-type: none"> <li>-간세포에서 지방합성, 산화 관련 유전자 발현 조절 확인</li> <li>-Adipogenesis 관련 유전자 발현 조절 확인</li> <li>-인슐린 신호전달 단백질 확인</li> <li>-ER stress, autophagy, 염증 반응 유전자 발현 확인</li> </ul> </li> <li>▪ 배 소재의 비만/당뇨 억제 식품개발을 위한 <i>in vitro</i> 지표물질 발굴</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oleic acid 처리에 의해 증가된 지방축적은 배 추출물과 malaxinic acid 처리에 의해 감소되지 않았으나</li> <li>▪ 배 추출물과 malaxinic acid에 의해 지방세포분화가 억제되는 것으로 확인되었음</li> <li>▪ 또한 미토콘드리아의 기초 산소소모량과 palmitic acid의 산화율을 증가시킴으로써, 비만 예방에 효과적인 가능성이 제시되었음</li> <li>▪ 배 추출물과 malaxinic acid의 처리는 지방세포분화 유전자 (PPAR<math>\gamma</math>, C/EBP-<math>\alpha</math>, FABP4, FASN) 및 ER stress (IRE1<math>\alpha</math>, XBP1s, PERK, eIF2<math>\alpha</math>), 염증성 cytokine IL-1<math>\beta</math>, autophagy (TFEB, ULK1, ATG16L1, LC3A)의 mRNA와 단백질 발현을 감소시켰음</li> <li>▪ 상기 결과를 통해 배 소재 식품의 비만 및 당뇨 억제 가능성이 제시되었음</li> </ul>

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제2협동]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 추출, 농축, 동결건조 및 분말화 공정 기술 개발</li> <li>▪ 대량생산 및 효율적인 제조공정 개발</li> <li>▪ 안정성, 순도 등 물리·화학적 특성 조사</li> <li>▪ 천연 발효색소의 제조</li> <li>▪ 첨가용 색소농도, 발효시간, 온도, pH 등 색소 최적 생산 조건 확립</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 나주배의 생과 및 유과를 이용한 천연색소 소재 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>-나주배 생과 또는 유과 추출물을 이용한 천연 식용 색소 추출, 농축 및 분말화 공정 기술개발</li> <li>-대량생산 및 효율적인 제조공정 개발</li> <li>-안전성, 순도 등 물리·화학적 특성 조사</li> <li>-천연 발효색소의 제조</li> <li>-첨가용 색소농도, 발효시간, 온도, pH 등 색소 최적 생산조건 확립</li> <li>-대량생산을 위한 pilot-plant 시스템 구축 및 실용화</li> <li>-천연색소의 항산화성 및 항균성 평가</li> <li>-천연색소를 활용한 레시피 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 배 마카롱, 배 젤리, 배 단자 등 15건</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제3협동]</b></p>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배 및 그 미성숙과를 대상으로 추출물을 제조하여 시제품 (음료 및 과립 제품)을 생산하였음</li> </ul>



<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 제품의 제조방법, 제조공정 매뉴얼 개발</li> <li>▪ 관능평가에 의한 소비자 기호도 조사</li> <li>▪ 개발제품의 보관 및 유통방안 개발</li> <li>▪ 디자인 홍보 및 유통, 판매전략 구출</li> <li>▪ 제품 품질균질화를 위한 품질 기준 및 관리방안 개발</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 음료 및 과립 제품을 대상으로 다양한 생리활성평가를 진행한 결과, 과립 제품에서 더 높은 생리활성이 확인되었음</li> <li>▪ 또한 같은 대상으로 성분분석을 한 결과, 생리활성평가와 유사한 경향을 확인할 수 있었음</li> <li>▪ 각 제품별로 chlorogenic acid, arbutin 및 malaxinic acid를 정량하였음</li> <li>▪ Arbutin의 경우 음료 100 mL당 70~80 mg이 함유되어 있어 피부미백 기능성 음료로서의 가능성이 제시되었음</li> </ul>
--	--	---

### 3) 3차년도

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제1세부]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배 미성숙과의 whole food로써 유용성분의 생체 내 흡수·대사 기전 규명 및 생리활성 평가 <ul style="list-style-type: none"> <li>-배 미성숙과 함유 생리활성 화합물의 <i>in vitro</i> 및 <i>ex vivo</i> 생리활성 평가</li> <li>-배 미성숙과 함유 생리활성 화합물의 생체 내 흡수·대사 기전 해명</li> </ul> </li> <li>▪ 배 가공품 함유 기능성 성분의 안정성 유지 방법 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>-천연 색소소재로써 필요한 안정성 유지 방법 개발</li> <li>-화장품 소재로써 필요한 안정성 유지 방법 개발</li> </ul> </li> <li>▪ 배 미성숙과 추출물 첨가 홍국균 발효에 의해 생성된 색소의 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> <li>-배 미성숙과 추출물을 첨가한 홍국균 발효에 의해 생성된 색소(배첨가 홍국균 색소)의 주요 색소 성분의 단리 및 구조결정 (HPLC, NMR 분석)</li> <li>-단리된 색소성분을 표준품으로 활용하여 색소성분의 안정성 평가 지표 화합물로 이용</li> <li>-열, 산화, pH에 대한 안정성 평가를 분자수준에서 평가</li> </ul> </li> </ul>	120%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배 미성숙과 함유 생리활성 성분인 2,3 및 3,4-DHBA와 malaxinic acid의 생체 내 흡수·대사 및 pharmacokinetics 평가를 진행하였음</li> <li>▪ 2,3- 및 3,4-DHBA의 혈중 흡수·대사 연구를 행하였으며, pharmacokinetics 및 항동맥경화 인자로써의 가능성을 평가하였음</li> <li>▪ MA의 혈중 흡수·대사 연구를 행하였으며, pharmacokinetics 및 항동맥경화 인자로써의 가능성을 평가하였음</li> <li>▪ 또한 MA 경구투여 쥐의 혈중 과산화물(cholesteryl ester hydroperoxide; CE-OOH)의 생성이 억제되는 것을 확인하였음</li> <li>▪ 피부미백효과가 뛰어난 arbutin의 고순도 대량 간이 정제법을 개선함으로써 bulk scale에서 현장 적용이 가능한 방법을 확립하였음</li> <li>▪ 확립된 방법에 의해 배 미성숙과로부터 정제한 arbutin을 대상으로 안전성 및 안정성 평가를 행한 결과, 실용화에 문제가 없을 것으로 판단되어 화장품 소재로 활용하였음</li> <li>▪ 배 미성숙과 추출물 첨가 홍국균 발효액의 항산화평가를 통해 항산화 활성이 높은 적색 발효색소를 제조하기 위한 최적의 조건을 확립하였음</li> <li>▪ 색소의 안정성(온도, pH 및 저장안정성)을 평가 및 면직물의 염료 가능성 평가를 통해 천연 염색에 활용 가능한 자원으로 판단되었음</li> </ul>

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제2세부]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 대사증후군 동물모델에서 배 유효성분의 효능 및 작용기전 규명               <ul style="list-style-type: none"> <li>-고지방식이, 배 성분 급여 후 GTT, ITT 분석</li> <li>-체중 변화, 혈액 및 조직 분석</li> <li>-지방대사, 당대사, 인슐린 신호조절 유전자 발현 분석</li> <li>-ER stress, autophagy. 염증 반응 조절유전자 발현 분석</li> </ul> </li> <li>▪ 배 소재의 비만/당뇨 억제 식품개발을 위한 <i>in vivo</i> 지표물질 발굴</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 고지방식이 유도 비만 쥐에서 배 추출물의 비만 척도 개선 효과를 확인한 결과, 식이섭취량의 변화와 간독성을 유도하지 않으면서 체중과 혈중 중성지방과 콜레스테롤 level을 현저히 감소시켰음</li> <li>▪ 이는 배 추출물이 고지방식이에 의해 발생하는 고혈당, 고인슐린혈증, 인슐린저항성에 대한 개선 효과가 있음이 확인되었음</li> <li>▪ 배 추출물이 고지방식이에 의해 발생하는 비알콜성지방간이 생성되는 것을 억제하는 효과가 있음이 확인되었음</li> <li>▪ 또한, 인슐린저항성이 간 지방축적에 있어 중요한 원인 중 하나로서 알려져 있는 점을 고려하면, 배 추출물의 비알콜성지방간 생성 억제능은 배 추출물의 인슐린저항성 개선효과와 상보적인 관계를 형성할 것으로 판단됨.</li> <li>▪ 배 함유 성분 중 하나인 malaxinic acid 역시 배 추출물과 유사한 지방간 및 지방합성 유전자 발현의 감소를 나타내었음</li> <li>▪ 즉, 상기 결과들을 통해 malaxinic acid가 배 추출물의 체중 조절과 인슐린 저항성 개선 효과에 대한 기능성 지표성분으로써 이용 가능성이 제시되었음</li> </ul>

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제2협동]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 나주배의 고부가가치화 제품 (화장품원료, 천연염료, 기능성식품)의 지역 전략 산업화를 위한 가치(value) 체인별 (생산-반가공-가공-유통-외식-관광 등) 연계전략 구축               <ul style="list-style-type: none"> <li>-원료 생산기반 구축 전략</li> <li>-반제품 생산 시스템 구축전략</li> <li>-반제품 생산시스템의 지역 산업 연계방안 도출</li> <li>-유통지원 전략 도출</li> <li>-지역 연계 관광상품화 전략 도출</li> </ul> </li> <li>▪ 나주배의 고부가가치화 제품 (화장품원료, 천연염료, 기능성식품)의 지역 전략 산업화를 위한 실증 모델 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>-원료 생산 농가 조직화</li> <li>-원료 생산단지 구축</li> <li>-반제품 생산 지역 산업체와의 연계 모델 구축</li> </ul> </li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 나주배의 고부가가치화 제품의 지역 전략 산업화를 위한 가치(value) 체인별 연계전략을 구축하였음               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 고부가가치 제품의 원료 생산기반 전략 구축</li> <li>- 고부가가치 제품의 반제품 생산 시스템 전략 구축</li> <li>- 반제품 생산 시스템의 지역 산업 연계방안 도출</li> <li>- 유통지원 전략 도출</li> <li>- 지역 연계 관광상품화 전략 도출</li> </ul> </li> </ul>
	97%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 나주배의 고부가가치화 제품의 지역 전략 산업화를 위한 실증 모델 개발을 통한 실증               <ul style="list-style-type: none"> <li>-고부가가치 제품의 원료 생산 농가 조직화                   <ul style="list-style-type: none"> <li>·농가의 원료공급에 따른 경제성 분석</li> <li>·농업인 대상 사업설명회 개최</li> </ul> </li> <li>-고부가가치 제품의 원료 생산단지 구축                   <ul style="list-style-type: none"> <li>·전남대 동양배연구소와 배수출전문단지 간에 이미 MOU가 체결되어 부산물 등의 원료 수급에 문제없음</li> <li>·나주배원예협동조합과 MOU 체결을 통해 원료수급 등의 문제 해결</li> </ul> </li> <li>-반제품 생산 지역 산업체와의 연계모델 구축                   <ul style="list-style-type: none"> <li>·고부가가치 제품 개발 지원</li> <li>·나주배 부산물을 이용한 8건의 레시피 개발</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>

연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
<p><b>[제3협동]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 나주배 및 그 미활용 소재 활용 식품첨가물 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>-제품의 제조방법 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 추출장치, 농축장치, 동결 건조 장치 등의 대량 처리 시스템 상에서의 적정 제조 방법 검토 및 확립</li> </ul> </li> <li>-제품의 제조공정 매뉴얼 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 기존 시스템 상에서 추출물, 농축물 및 분말 등의 균일 성과 재현성 확보</li> </ul> </li> <li>-개발제품의 대체품과의 비교 분석 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 기존 제품과의 소비자 선호도 향상을 위한 차별성 및 우수성 확보(제2세부 과제와 연계)</li> </ul> </li> <li>-디자인 및 홍보 및 유통, 판매 전략 구축 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 나주시 로컬푸드센터의 유통망 활용</li> <li>· (주)이조은산소의 기존 유통망 활용</li> </ul> </li> <li>-품질균일화를 위한 품질기준 및 관리방안 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 개발제품 중에 함유된 특정 유용성분을 기준으로 품질의 균일성 평가</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>▪ 나주배 및 그 미활용 소재를 활용 천연 식품소재 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>-나주배 착즙박의 분말화 최적공정 확립 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 식품첨가소재로 활용성을 고려한 최적 분말화 조건(粒度 등) 확립</li> </ul> </li> <li>-나주배 착즙박 분말의 최적 첨가량 설정 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 특정 식품에 적합한 각각의 최적 첨가량을 확립</li> </ul> </li> <li>-선호제품 등 착즙박 분말 첨가 모델식품의 제작 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 식감 및 기호도를 충족시킬 수 있는 식품첨가소재로써의 다양한 모델식품을 선별 및 적용</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 배 및 그 부산물의 가공을 위한 최적 공정 및 가공 매뉴얼이 확립되었음</li> <li>▪ 소비자의 선호도가 높은 가공제품 개발을 통해 배 및 그 부산물의 활용도를 향상시켰음</li> <li>▪ 다양한 가공제품의 포장, 유통 및 판매전략이 확립되었음</li> <li>▪ 개발 제품의 유용성 평가가 이루어졌음</li> <li>▪ (주)이조은산소의 기존 유통망 활용을 통해 배 관련 시제품의 소비 촉진</li> <li>▪ 나주시 로컬푸드센터의 새로운 유통망 활용</li> </ul>

## 2. 정량적 목표달성도

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍 보		기타 (레시 피개발)	
	특허 출원	특허 등록	품 종 등 록	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시		
												SC I	비 SC I							논 문 평 균 IF
단위	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	20					30								10		20		10	10	
최종목표	4	3		2		3						7	1		10		9	1	9	5
1 차 년 도	목 표					0						1	1	-	2		2		3	
	실 적					1									7	11	3		8	61
2 차 년 도	목 표	2				1						3		-	4		3		3	2
	실 적	4	1			4						4	1	3.3	4	1	3		20	15
3 차 년 도	목 표	2	3		2	2						3		-	4		4	1	3	3
	실 적	2	5		2	1						3		1.8	4		3	1	73	8
연간내 달성실적	6	6		2		6						7	1	2.6	15	12	9	1	101	84
달성율(%)	150	200		100		200						100	100	-	150	100	100	100	1122	1680

### □ 연구 성과 및 실적 목록: 447-448 쪽 참고

(상기의 “정량적 목표달성도”에 미포함 내용 제시하였음)

### 3. 연구성과

○ 국내 및 국제학술회의 발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	한국식품과학회	정항연	2016. 08. 17	대구 EXCO	대한민국
2	한국식품과학회	이자연	2016. 08. 17	대구 EXCO	대한민국
3	한국식품과학회	이자연	2016. 08. 17	대구 EXCO	대한민국
4	한국식품과학회	김주경	2016. 08. 17	대구 EXCO	대한민국
5	한국식품과학회	김주경	2016. 08. 17	대구 EXCO	대한민국
6	한국식품과학회	진미림	2016. 08. 17	대구 EXCO	대한민국
7	한국식품과학회	박서희	2016. 08. 17	대구 EXCO	대한민국
8	한국식품과학회	김유경	2017. 06. 23.	제주 ICC	대한민국
9	한국식품과학회	이자연	2017. 06. 23.	제주 ICC	대한민국
10	한국식품과학회	Xuan Truong Trong	2017. 06. 23.	제주 ICC	대한민국
11	한국원예학회	문제학	2017. 05. 26.	대전 DCC	대한민국
12	한국식품과학회	문제학	2018. 06. 29.	부산 BEXCO	대한민국
13	한국식품과학회	문제학	2018. 06. 29.	부산 BEXCO	대한민국
14	한국식품과학회	김유경	2018. 06. 29.	부산 BEXCO	대한민국
15	한국식품과학회	이고은	2018. 06. 29.	부산 BEXCO	대한민국

○ 홍보실적 (신문, 방송, 저널 등)

No	구분	홍보유형	매체명	제목	일시
1	홍보실적	지방일간지	나주투데이	나주 농수산물, 세계 친환경디자인박람회에서 선보이다	2016. 04. 17
2	홍보실적	지방일간지	산경일보	나주배 음식 전시회, 요리교실 큰 ‘인기’	2016. 06. 02
3	홍보실적	지방일간지	시민의 소리	나주배 음식 전시회와 요리교실 큰 인기	2016. 06. 03
4	홍보실적	지방일간지	KJB한국방송	나주배 음식 전시회와 요리교실 큰 인기모아	2016. 06. 03
5	홍보실적	지방일간지	뉴스메이커	나주배 음식 전시회, 세계친환경디자인박람회서 큰 인기	2016. 06. 04
6	홍보실적	지방일간지	나주투데이	나주배 음식 전시회와 요리교실 큰 인기 모아	2016. 06. 05
7	홍보실적	지방일간지	광남일보	나주배 음식 전시회 요리교실 ‘호응’	2016. 06. 07
8	홍보실적	지방일간지	서울일보	나주배 활용한 다양한 요리법 소개합니다.	2016. 11. 11

9	홍보실적	지방일간지	뉴스웨이	나주시, 나주배 활용 60여여가지 요리법 홈 페이지 공개	2016. 11. 12
10	홍보실적	지방일간지	광주데일리	나주배 활용 요리법 함께 배워요.	2016. 11. 12
11	홍보실적	지방일간지	아시아일보	나주시, 나주배 활용 요리법 공개	2016. 11. 13
12	홍보실적	지방일간지	광주타임즈	“나주배 활용 다양한 요 리법 소개합니다.”	2016. 11. 13
13	홍보실적	지방일간지	축제N뉴스	나주배를 활용한 다양 한 요리법을 소개합니 다.	2016. 11. 14
14	홍보실적	지방일간지	전남매일	“나주배 활용 다양한 요 리법 소개합니다.”	2016. 11. 14
15	홍보실적	지방일간지	호남매일	나주시 “배 이용한 60여가지 레시피 알려 드려요.”	2016. 11. 14
16	홍보실적	지방일간지	광남일보	나주배 활용-다양한 요 리법 ‘눈길’	2016. 11. 16
17	홍보실적	지방일간지	중도일보	명절선물은 역시’나주 배’...건강 개선 과일 우 수성 입증	2017. 09. 29
18	홍보실적	지방일간지	아시아경제	명절선물은 역시 나주 배 ...건강 개선 과일 입증	2017. 09. 30
19	홍보실적	지방일간지	뉴스메이커	명절선물은 역시 나주 배 ...건강 개선 과일 입증	2017. 09. 30
20	홍보실적	지방일간지	미디어24	명절선물은 역시’나주 배’...건강 개선 과일 우 수성 입증	2017. 09. 30
21	홍보실적	지방일간지	대한뉴스	나주배 건강 개선 과일 우수성 입증	2017. 09. 30
22	홍보실적	지방일간지	무등일보	명절선물은 역시 나주 배 ...건강 개선 과일 입증	2017. 10. 02
23	홍보실적	지방일간지	전라닷컴	명절선물은 역시’나주 배’...건강 개선 과일 우 수성 입증	2017. 10. 04
24	홍보실적	지방일간지	한성일보	명절선물은 역시 나주 배 ...건강 개선 과일 입증	2017. 10. 09
25	홍보실적	지방일간지	전남매일	명절선물은 역시 나주 배 ...건강 개선 과일 입증	2017. 10. 11
26	홍보실적	지방일간지	전남일보	나주배의 변신 ‘비트품은 나주배칩’	2018. 02. 13

27	홍보실적	지방일간지	뉴시스	나주배 동결건조 식품... ‘비트폼은 나주배 칩’ 출시	2018. 02. 13
28	홍보실적	지방일간지	세계타임즈	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
29	홍보실적	지방일간지	한성일보	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
30	홍보실적	지방일간지	투데이광주	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
31	홍보실적	지방일간지	전남인터넷신문	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
32	홍보실적	지방일간지	선경일보	나주시 색소센터 ‘비트 폼은 나주배’ 개발 출시	2018. 02. 20
33	홍보실적	지방일간지	서울매일	나주 색소센터, 나주 배 활용한 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
34	홍보실적	지방일간지	중부뉴스통신	색소센터, 나주 배 활용한 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
35	홍보실적	지방일간지	브레이크뉴스	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
36	홍보실적	지방일간지	뉴스웨이	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
37	홍보실적	지방일간지	시대일보	나주시 색소센터, 나주 배 활용한	2018. 02. 20
38	홍보실적	지방일간지	아시아투데이	나주 색소센터, 나주 배 활용한 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
39	홍보실적	지방일간지	광남일보	나주시 색소센터, 배 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
40	홍보실적	지방일간지	프라임경제	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
41	홍보실적	지방일간지	아시아경제	나주시 색소센터 ‘비트 폼은 나주배’ 등 신제품 개발	2018. 02. 20
42	홍보실적	지방일간지	남도일보	나주시 천연색소센터, 배 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20

43	홍보실적	지방일간지	프레스이안	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
44	홍보실적	지방일간지	플러스코리아	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
45	홍보실적	지방일간지	아침신문	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
46	홍보실적	지방일간지	위키트리	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 20
47	홍보실적	지방일간지	전라닷컴	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 21
48	홍보실적	지방일간지	천지일보	나주시 색소센터, 배 동결 건조법 활용한 '비트 품은 나주 배' 출시	2018. 02. 21
49	홍보실적	지방일간지	중도일보	나주시 색소센터, 나주 배 활용 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 21
50	홍보실적	지방일간지	일요신문	나주시, 나주배 활용한 동결건조 신제품 개발 외	2018. 02. 21
51	홍보실적	지방일간지	무등일보	나주 배 판로 확대... 동결건조 신제품 개발	2018. 02. 21
52	홍보실적	지방일간지	서울경제	'비트를 품은 나주 배' 동결건조 과일칩 출시	2018. 02. 21
53	홍보실적	지방일간지	일간대한뉴스	나주시 천연색소산업화 지원센터, 나주 배 활용한 동결건조 신제품 '비트를 품은 나주 배' 개발출시	2018. 02. 21
54	홍보실적	지방일간지	여성종합뉴스	나주시, 저장 배 활용한 동결건조 제품인 '비트 품은 나주배' 개발 출시	2018. 02. 21
55	홍보실적	지방일간지	광주일보	나주배 가공 신제품 개발...소비자 유혹 나섰다	2018. 02. 22
56	홍보실적	지방일간지	호남디지털뉴스	나주배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유	2018. 04. 17
57	홍보실적	지방일간지	피디언	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유...고부가가치 기대	2018. 04. 17



58	홍보실적	지방일간지	프레시안	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유 ‘고부가가치 기대’	2018. 04. 17
59	홍보실적	지방일간지	뉴스웨이	“나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유…고부가가치 기대”	2018. 04. 17
60	홍보실적	지방일간지	CNB기독교TV	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유…고부가가치 기대	2018. 04. 17
61	홍보실적	지방일간지	전남바른신문	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유…고부가가치 기대	2018. 04. 17
62	홍보실적	지방일간지	일등방송	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유…고부가가치 기대	2018. 04. 17
63	홍보실적	지방일간지	IPC종합뉴스	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유…고부가가치 기대	2018. 04. 17
64	홍보실적	지방일간지	금요저널	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유…고부가가치 기대	2018. 04. 17
65	홍보실적	지방일간지	뉴스로	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유…고부가가치 기대	2018. 04. 17
66	홍보실적	지방일간지	포커스데일리	전남 나주, 특산품 배 고부가가치창출 기대	2018. 04. 17
67	홍보실적	지방일간지	푸드투데이	“미성숙 나주 배 버리지 마세요” …향산화 물질 다량 함유 외	2018. 04. 17
68	홍보실적	지방일간지	일요신문	[나주시정] “나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유” 외	2018. 04. 17
69	홍보실적	지방일간지	중부뉴스통신	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유…고부가가치 기대	2018. 04. 17
70	홍보실적	지방일간지	전남일보	나주배 미성숙과에 ‘기능성 향산화 물질’ 많아	2018. 04. 18
71	홍보실적	지방일간지	서울일보	나주배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유	2018. 04. 18
72	홍보실적	지방일간지	일간투데이	나주 배 미성숙과, 기능성 향산화 물질 함유…고부가가치 기대	2018. 04. 18

73	홍보실적	지방일간지	아시아투데이	미성숙 나주배, 기능성 항산화 물질 함유…고 부가가치 기대	2018. 04. 18
74	홍보실적	지방일간지	더한국타임즈	나주 배 미성숙과, 부 산물에 기능성 항산화 물질 다량 함유	2018. 04. 18
75	홍보실적	지방일간지	광남일보	나주 배 미성숙과, 기 능성 항산화 물질 함 유…고부가가치 기대	2018. 04. 18
76	홍보실적	중앙일간지	중앙일보	나주배 미성숙과에 ‘기능성 항산화 물 질’ 가득…고부가 창 출 기대	2018. 04. 18
77	홍보실적	지방일간지	굿모닝나주	나주 배 미성숙과, 기 능성 항산화 물질 함 유…고부가가치 기대	2018. 04. 18
78	홍보실적	지방일간지	세계타임즈	나주 배 미성숙과, 기 능성 항산화 물질 함 유…고부가가치 기대	2018. 04. 18
79	홍보실적	지방일간지	뉴시스	나주배 미성숙과에 ‘기능성 항산화 물 질’ 가득…고부가 창 출 기대	2018. 04. 18
80	홍보실적	지방일간지	인터넷핫뉴스	나주배 미성숙과에 기 능성 항산화 물질 함 유…고부가 창출 기대	2018. 04. 18
81	홍보실적	지방일간지	여성종합뉴스	나주 배 미성숙과, 기 능성 항산화 물질 함 유…고부가가치 기대	2018. 04. 18
82	홍보실적	지방일간지	선경일보	나주 배 미성숙과, 기 능성 항산화 물질 함 유…고부가가치 기대	2018. 04. 18
83	홍보실적	지방일간지	광주타임즈	나주배 미성숙과 ‘기 능성 항산화 물질’ 함유	2018. 04. 19
84	홍보실적	지방일간지	광주일보	덜 여문 나주배에 항 산화 물질 다량 함유	2018. 04. 19
85	홍보실적	지방일간지	중도일보	나주 배 미성숙과, 기 능성 항산화 물질 함유	2018. 04. 19
86	홍보실적	지방일간지	나주투데이	나주배…고부가 창출 기대	2018. 04. 22
87	홍보실적	지방일간지	빛가람신문	나주배의 ‘대반전’	2018. 04. 23
88	홍보실적	지방일간지	나주신문	나주 배 미성숙과, 기 능성 항산화 물질 함유	2018. 04. 25

89	홍보실적	지방일간지	푸드뉴스	배 산업 경쟁력 확보 전략 심포지엄 8일 개최	2018. 09. 06
90	홍보실적	지방일간지	보건뉴스	배 건강기능성 발굴 성과 알린다	2018. 09. 06
91	홍보실적	지방일간지	식약일보	배 건강기능성 발굴 배 산업 경쟁력 제고	2018. 09. 07
92	홍보실적	지방일간지	대한민국 정책브리핑	배 건강기능성 발굴로 배 산업 경쟁력 높인다	2018. 09. 07
93	홍보실적	지방일간지	전북도민일보	배 건강기능성 발굴로 배 산업 경쟁력 높인다	2018. 09. 07
94	홍보실적	지방일간지	한국영농신문	배 건강기능성 발굴로 배 산업 경쟁력 높인다	2018. 09. 09
95	홍보실적	지방일간지	한국농업신문	배 건강기능성 발굴로 배 산업 경쟁력 높인다	2018. 09. 10
96	홍보실적	지방일간지	화이트페이퍼	농촌진흥청, '배 건강기능성 발굴로 배 산업 경쟁력 높인다	2018. 09. 10
97	홍보실적	지방일간지	한국농어민신문	“배 건강기능성 부각시켜 침체된 소비 늘려야”	2018. 09. 14

○ 교육 및 컨설팅

No	교육 및 컨설팅명	교육 및 컨설팅 교재명	주요내용	활용연도
1	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월5일 배숙 조리법 교육	2016
2	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 6일 이화빵 조리법 교육	2016
3	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 7일 배잼 조리법 교육	2016
4	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 8일 배숙 조리법 교육	2016
5	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 14일 배잼 조리법 교육	2016
6	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 15일 이화빵 조리법 교육	2016
7	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 21일 배숙 조리법 교육	2016
8	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 22일 이화빵 조리법 교육	2016
9	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 26일 배숙 조리법 교육	2016

10	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 28일 배짬 조리법 교육	2016
11	나주배 요리 교실	음식속의 나주배	2016년 5월 29일 이화빵 조리법 교육	2016
12	나주배 레시피 교육	없음	2017 8월 25일 로컬푸드센터 가공교육과 함께 배 레시피 배부 및 교육	2017

○ 국내행사 (전시회, 박람회, 제품설명회 등)

No	국내행사	주요내용	일시
1	2016 세계친환경디자인박람회	나주배를 이용한 60종의 음식 전시	2016. 05. 29
2	제 2회 빛가람 페스티벌	배 시식 및 판매(기능성 홍보)	2016. 10. 17
3	제 2회 마한문화축제	배즙 및 농산물 판매(기능성 홍보 포함)	2016. 10. 30
4	제 14회 영산포 홍어축제 (로컬푸드 농산물 가공식품 상품개발 전시회 부스 참여)	로컬푸드 농산물 가공식품 상품개발 전시회와 연계하여 나주배 고부가가치 산업화 전략 및 식품개발(iPET과제) 연구개발 상품 전시 및 홍보	2018. 04. 13

○ 제품화

No	제품명	제품유형	품목보고번호	내용	비고
1	이활-병제품	완제품	2010022729211	나주배 효소추출물 80%, 배 유효농축액 2%, 양파즙 5%, 한약 추출물 13% (감초 54%, 당귀 15.3%, 백복령 15.3%, 천궁 15.3%)를 혼합하여 100℃에서 가열 후에 병 포장을 하여 음료 제품을 제조함	농업회사법인 이조은산소(주): 사업화 완료
2	이활-파우치제품	시제품		나주배 효소추출물 75%, 배 유효농축액 2%, 양파즙 5%, 한약 추출물 13% (감초 54%, 당귀 15.3%, 백복령 15.3%, 천궁 15.3%), 콩나물 추출물 5%를 혼합하여 100℃에서 가열 후에 파우치 포장을 하여 음료 제품을 제조함	농업회사법인 이조은산소(주): 사업화 예정

3	이활本	완제품	2010022729213	<p>나주배 효소추출물 75%, 배 유과 농축액 2%, 양과즙 5%, 한약 추출물 13% (감초 54%, 당귀 15.3%, 백복령 15.3%, 천궁 15.3%), 콩나물 추출액 5% 비율로 조제된 음료(이활-과우치)와 곡물효소함유제품(국내산 현미 100%)을 1:1.2의 비율로 혼합(GRM-30, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)하고 과립기(GRG-9, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)에서 성형한 후, 50℃로 세팅된 건조기(GRD-112, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)에서 4시간 동안 건조시켜 2종의 과립제품을 제조 함.</p>	<p>농업회사법인 이조은산소(주): 사업화 완료</p>
4	이활眞	완제품	2010022729212	<p>나주배 효소추출물 80%, 배 유과 농축액 2%, 양과즙 5%, 한약 추출물 13% (감초 54%, 당귀 15.3%, 백복령 15.3%, 천궁 15.3%) 비율로 조제된 음료(이활)와 곡물효소함유제품(국내산 현미 100%)을 1:1.2의 비율로 혼합(GRM-30, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)하고 과립기(GRG-9, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)에서 성형한 후, 50℃로 세팅된 건조기(GRD-112, Garyeo industry, Gyeonggi, Korea)에서 4시간 동안 건조시켜 2종의 과립제품을 제조 함.</p>	<p>농업회사법인 이조은산소(주): 사업화 완료</p>
5	비트를 폼은 나주배	완제품	201605121614	나주배 동결건조칩 가공식품	<p>나주시천연색소지원센터 완제품 제작지원 : 나주배 및 포장재 지원</p>

○ 기타 (레시피)

No	제품명	제품유형	내용	비고
1	나주배를 이용한 음식 레시피	레시피	나주배를 이용한 총 61종의 레시피 확립	배오색말이떡, 짜리고추배말이, 배쌈떡, 배고추장장아찌, 배통김치, 배 김칫국, 배각두기, 배푸딩, 배삼겹살구이, 배도그, 배갈비 등 61건의 레시피 도출
2	나주배 동결건조 및 색소를 이용한 레시피	레시피	나주배 동결건조 및 색소를 이용한 총 15종의 레시피 확립	배 백설기, 배 브라우니, 배 개피떡, 배 양갱, 배 청스펀지케이크, 배단자, 배쿠키, 배마카롱, 배젤리, 배초콜릿, 배에이드 등 15건 레시피 도출
3	나주배 착즙박을 이용한 레시피	레시피	나주배 착즙박을 이용한 레시피 총 8종의 레시피 확립	배 고추장, 배 무장아찌, 배 블루베리잼, 배 인절미, 배 양갱, 배 젤리, 배 전병, 배 초코파이 등 총 8건 레시피 도출

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

○ 해당사항 없음

#### 4. 연구결과의 활용 계획 등

##### 1) 연구개발성과

- 배 부산물(전정가지, 착즙박, 미성숙과)과 성숙과에 함유된 지표성분 및 항산화 활성 비교.
- 배 함유 자궁경부암세포 사멸효과 발현 성분인 malaxinic acid (MA)의 혈중 대사체 구조 해석 및 pharmacokinetics 평가.
- MA 대사체들의 혈중 항산화능 발현 여부평가(cholesteryl ester hydroperoxide; CE-OOH 생성억제능 평가) ⇒ 항동맥경화 예방인자로서의 작용 가능성 평가.
- 항산화제의 상대적인 radical-scavenging speed 평가방법 새롭게 확립.
- 배는 물론 다양한 식품 중에 널리 함유되어 있는 저분자 페놀성 화합물을 대상으로 새롭게 확립된 방법을 이용하여 radical-scavenging 수 및 상대적인 radical-scavenging 속도를 계통적으로 비교 ⇒ pH 의존성에 따른 유용 항산화제의 도출.
- 페놀성 산화물의 ascorbic acid에 의한 재생(환원) 여부 평가방법 새롭게 확립.
- Ascorbic acid와 redox cycle system에서 작용 가능한 후보 화합물 군 도출.
- 배추출물과 MA의 지방세포분화 억제 및 근육세포 미토콘드리아 호흡기능 향상 증명.
- 배추출물과 MA의 지방산 산화율 향상효과 및 adipogenesis 유전자 (PPAR $\gamma$ , C/EBP- $\alpha$ , FABP4, FASN)발현 억제 증명.
- 배추출물과 MA의 ER stress (IRE1 $\alpha$ , XBP1s, PERK, eIF2 $\alpha$ ), 염증성 cytokine IL-1 $\beta$ , autophagy (TFEB, ULK1, ATG16L1, LC3A) 유전자 발현 억제 증명.
- 배착즙박을 효소 가수분해하여 biomass로서 이용 가능한 단당류 생성.
- 배착즙박을 효소 가수분해하여 유용기능성 올리고당류 생성.
- 나주배 미성숙과 및 비상품과로부터 색소 추출법, 농축 및 분말화 공정 확립·응용.
- 미성숙과 및 비상품과로부터 추출한 색소를 이용하여 표준레시피 개발.
- 미성숙과 색소를 이용하여 색조가 개선된 적색 발효색소 제조.
- 미성숙과와 착즙박 등의 배 부산물 및 폐기자원을 이용한 가공식품 개발.
- 응용제품의 생리활성 성분 및 주요성분 분석을 통한 객관적인 data 확보.
- 기능성 규명을 통한 건강기능식품 원료로 활용 가능성 평가.

##### 2) 활용 계획 및 기대효과

- 배 부산물들의 활용 가능성을 제시함으로써, 천연 미백 또는 항산화 화장품 및 천연 의약품 개발의 소재 확보를 통해 국내 기업들의 기술력과 경쟁력 증대 효과 기대됨.
- 또한 배 부산물들의 폐기 비용을 절감시켜 배농가의 부가가치 창출에 기여 가능.
- 배 및 부산물에 함유된 주요성분의 생리활성을 규명함으로써 배 및 부산물의 홍보 및 활용성 증대.
- MA 대사체의 구조결정 결과를 바탕으로 페놀성 화합물의 체내 흡수기전을 제어할 수 있는

원천기술을 응용하여 신규 lead compound 및 의약품 개발 가능성이 기대됨.

- MA의 자궁경부암세포 사멸효과가 보고된 내용에 더하여 MA의 혈중 대사체 및 혈액 산화 억제능을 바탕으로 한 항동맥경화 효과에 관한 내용 도출로 배의 대표적인 star compound 발굴에 의한 배 홍보자료 제공에 의해 배의 내수 및 수출 활성화가 기대됨.
- 새롭게 확립된 radical-scavenging 속도 평가방법을 적용하여 식품 및 의약품 분야에 있어 목적에 적합한 항산화제 선택 기준을 제시 가능.
- 전량 폐기되어지고 있는 배착즙박을 효소가수분해를 통해 biomass 소재뿐만 아니라, 유용 기능성 올리고당 생성 원료로 활용하여 기능성 사료, 다이어트 소재, 프리바이오틱스 등으로의 실용화가 기대됨.
- 성숙과는 물론 미성숙과보다 arbutin 및 malaxinic acid의 함량이 현저히 높은 전정가지의 다양한 용도로의 활용성 개발로 배 농가의 소득창출이 기대됨.
- 미성숙과, 낙과 및 비상품과로부터 추출 및 동결건조한 천연색소 소재는 폐기자원의 활용도를 높일 수 있는 방법으로 농가소득 증대와 지역내수 활성화에 기여할 것으로 사료됨.
- 미활용자원 배 미성숙과를 이용한 가공식품의 개발로 배 농가소득 창출이 기대됨.
- 과학적이고 객관적인 data로 원천기술을 확보함으로써 적극적인 국내외 시장공략 가능.
- 새로운 항산화 활성 평가법(상대적인 radical-scavenging 활성 평가법, 산화 폐놀성 화합물의 ascorbic acid에 의한 재생 가능성 평가법)의 개발은 응용성에 더하여 관련 연구분야의 학문적 측면에 있어서의 발전에 기여가 기대됨.
- 나주배의 재배, 생산 조건 등 자연 환경적 요인 종합 연구 결과 정리를 통해 데이터베이스 로써의 활용 가능
- 본 연구결과의 홍보활동을 통해 배 기능성 물질에 대한 농가의 관심도 증대로 배 부산물의 이용성에 대한 활용성이 제시됨에 따라 제품 개발 등 고부가가치 창출의 소재로써의 활용 기대
- 배 폐기자원의 활용방안 제시로 농가소득 증대 방안 모색 및 농촌지역경제 활성화 기여
- 배 부산물의 원료확보를 위한 지속적인 홍보활동 및 원료공급농가 확보가 필요

- **본 연구성과로부터 확보된 특허 내용을 기반으로 기술이전 한 (주)서흥에서 배 미성숙과를 이용한 기능성식품 제조를 계획 중에 있음(2020년 출시 예정)**
- **연 매출액: 출시 당해연도 약 5억, 출시 2차연도 50억, 출시 3차연도 100억 예상**



## - 참고문헌

### <제 1세부>

1. Cho JY, Lee SH, Kim EH, Yun HR, Jeong HY, Lee YG, Kim WS, Moon JH. Change in chemical constituents and free radical-scavenging activity during Pear (*Pyrus pyrifolia*) cultivar fruit development. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 79(2): 260-270 (2015)
2. Hayashi K, Komura S, Isaji N, Ohishi N, Yagi K. Isolation of Antioxidative Compounds from Brazilian Propolis : 3, 4-Dihydroxy-5-prenylcinnamic Acid, a Novel Potent Antioxidant. *Chem. Pharm. Bull.* 47(11): 1521-1524 (1999)
3. Lee KH, Cho JY, Lee HJ, Park KY, Ma YK, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Park KH, Moon JH. Isolation and identification of phenolic compounds from an asian pear(*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peel. *Food Sci. Biotechnol.* 20(6): 1539-1545 (2011).
4. Lee KH, Cho JY, Lee HJ, Ma YK, Kwon J, Park SH, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Park KH, Moon JH. Hydroxy cinnamoyl malic acids and their methyl esters from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peel. *J. Agric. Food Chem.* 59(18) 10124-10128 (2011).
5. Lee YG, Cho JY, Kim CM, Lee SH, Kim WS, Jeon TI, Park KH, Moon JH. Coumaroyl quinic acid derivatives and flavonoids from immature pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit. *Food Sci. Biotechnol.* 22(3) 803-810 (2013).
6. Cho JY, Lee YG, Lee SH, Kim WS, Park KH, Moon JH. An ether and three ester derivatives of phenylpropanoid from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae) fruit and their radical-scavenging activity. *Food Sci. Biotechnol.* 23(1) 253-259 (2014).
7. Kang SH. Isolation and identification of antioxidants from immature pear fruit quantitative behavior analysis of malaxinic acid according to growth stage of various per cultivars. PhD thesis, Chonnam National University, Gwangju, Korea (2012).
8. Han AR. Isolation and identification of antioxidant compounds from EtOAc-acidic fraction of pear (*Pyrus pyrifolia* N. cv. Chuwhangbae) fruit peel extract. Master's thesis Chonnam National University, Gwangju, Korea (2013).
9. Lee YG, Cho JY, Kim CM, Jeong HY, Lee DI, Kim SR, Lee SH, Kim WS, Park KH, Moon JH. Isolation and identification of 3 low-molecular compounds from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae) fruit peel. *Korean J. Food Sci technol* 45(2) 174-179(2013).
10. Cho JY, Kim CH, Lee HJ, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Park KH, Moon JH. Caffeoyl triterpenes from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peels and their antioxidative activities against oxidation of rat blood plasma. *J. Agric. Food Chem.* 64(19) 4563-4569 (2013).
11. An ES. Isolation and identification of antioxidants from pear and antioxidant potential of peels and fleshes of pear. PhD thesis, Chonnam National University, Gwangju,

Korea (2012).

12. Lee YG, Cho JY, Lee HJ, Lee YH, Lee SH, Han TH, Kim WS, Park KH, Moon JH. Isolation and identification of a sterol and three glucosides from the peel of pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae). *Korean J. Food Sci Technol* 45(2) 174-179 (2013).
13. Jeong DE. Isolation and Structural Elucidation of Procyanidins from EtOAc-Acidic Fraction of Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae) Fruit Peels. Master's thesis Chonnam National University, Gwangju, Korea (2015).
14. Park HM. Absorption and Metabolism of 2,3- and 3,4-Dihydroxybenzoic Acids in Rat Blood Plasma. Chonnam National University, Gwangju, Korea (2016).
15. Lee HJ. Absorption, Metabolism, and Bioactivity of Malaxinic Acid and Its Aglycone in Rat Plasma. Chonnam National University, Gwangju, Korea (2015).
16. Hayashi K, Komura S, Isaji N, Ohishi N, Yagi K. Isolation of antioxidative compounds from Brazilian propolis: 3,4-dihydroxy-5-prenyl cinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Chem. Pharm. Bull* 47(11) 1521-1524 (1999).
17. Kim HJ, HO JK. Synthesis and biological activity of fungal metabolite, 4-hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)-benzoic acid. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17(3). 543 - 545 (2007).
18. Kim SN, Kim WG, Jung HJ, Shim JS, Kim HJ, Lee HB, Han JT, Kim CJ, Baek NI, Yoo ID, Kwon HJ. Cell Cycle Inhibitory Activity of 4-Hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)-benzoic Acid from *Curvularia* sp. KF119. *J. Antibiotics.* 57(9) 605-608 (2004).
20. Cho JY, Park KY, Lee KH, Lee HJ, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Shin SC, Park KH, Moon JH. Recovery of Arbutin in High Purity from Fruit Peels of Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Food Sci. Biotechnol.* 20(3) 801-807 (2011).
21. Lee HJ. Absorption, Metabolism, and Bioactivity of Malaxinic Acid and Its Aglycone in Rat Plasma. Chonnam National University, Gwangju, Korea (2015).
22. Gomez B, Yanez R, Parajo JC, Alonso JL, Production of pectin-derived oligosaccharides from lemon peels by extraction, enzymatic hydrolysis and membrane filtration. *Society of Chemical Industry.* 91, 234-247 (2016).
23. Cho AS, Jeon SM, Kim MJ, Yeo JY, Seo KI, Choi Ms, Lee MK. Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food Chem Toxicol.* 48, 937-943 (2010).
24. Shetty R, Frette X, Jensen B, Shetty NP, Jensen JD, Jorgensen HJL, Newman M, Christensen LP. Silicon-induced changes in antifungal phenolic acids, flavonoids, and key phenylpropanoid pathway genes during the interaction between miniature roses and the biotrophic pathogen *Podosphaera pannosa*. *Plant Physiol.* 157, 2194-2205 (2011).
25. Lee SW, Lee YG, Cho JY, Kim YC, Lee SH, Kim WS, Moon JH. Establishment of a simple method for purification of high purity chlorogenic acid from immature fruit of pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 58(3), 335-341(2015).

26. Lee KH, Cho JY, Lee HJ, Park KY, Ma YK, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Park KH, Moon JH. Isolation and identification of phenolic compounds from an asian pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peel. *Food Sci. Biotechnol.* 20(6), 1539-1545 (2011).
27. Cho JY, Lee SH, Kim EH, Yun HR, Jeong HY, Lee YG, Kim WS, Moon JH. Change in chemical constituents and free radical-scavenging activity during pear (*Pyrus pyrifolia*) cultivar fruit development. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 79(2), 260-270 (2015).
28. Venkatasubbaiah P, Chilton WS. Toxins produce by the dogwood anthracnose fungus *Discula* Sp. *J. Nautral Products.* 54(5), 1293-1297 (1991).
29. An ES. Isolation and Identification of Antioxidants from Pear and Antioxidant Potential of Peels and Fleshes of Pear. PhD thesis, Chonnam National University, Gwangju, Korea (2012).
30. Hayashi K, Komura S, Isaji N, Ohishi N, Yagi K. Isolation of antioxidative compounds from Brazilian proplis: 3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Chem. Pharm. Bull* 47(11), 1521-1524 (1999).
31. Cho JY, Lee SH, Kim EH, Yun HR, Jeong HY, Lee YG, Kim WS, Moon JH. Change in chemical constituents and free radical-scavenging activity during pear (*Pyrus pyrifolia*) cultivar fruit development. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 79(2), 260-270 (2015).
32. Hayashi K, Komura S, Isaji N, Ohishi N, Yagi K. Isolation of antioxidative compounds from Brazilian proplis: 3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Chem. Pharm. Bull* 47(11), 1521-1524 (1999).
33. Kim HJ, Kwon HJ. Synthesis and biological activity of fungal metabolite, 4-hydroxy-3(3'-methyl-2'-butenyl)-benzoic acid. *J. Microbiol. Biotechno.* 17(3), 543-545 (2007).
34. Lee KH, Cho JY, Lee HJ, Park KY, Ma YK, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Park KH, Moon JH. Isolation and identification of phenolic compounds from an asian pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peel. *Food Sci. Biotechnol.* 20(6), 1539-1545 (2011).
35. Lee KH. Isolation and structural determination of antioxidants from EtOAc acidic fraction of pear extract. PhD thesis, Chonnam National University, Gwangju, Korea (2011).

## <제 2협동>

- ※ 자료: 나주배지리적표시제
- ※ 자료: 나주시농업기상정보시스템(<http://나주시농업기상정보시스템.kr>), 2006
- ※ 자료: 흙토람(<http://soil.rda.go.kr>), 2006
- ※ 자료: 나주시통계연보, 2014
- ※ 자료: 통계청, 농업면적조사, 2015
- ※ 자료: 기상청([www.kma.go.kr](http://www.kma.go.kr)), 2016
- ※ 자료: 농림축산식품부, 과실류 가공현황, 2016
- ※ 자료: 나주시농업기술센터 배기술지원과, 배 생산현황 및 농가수, 2017
- ※ 자료: 통계청, 사·도별 사과배 생산량, 2017
- ※ 나주시, 1992-2015, 나주시통계연보
- ※ 농촌진흥청, 2012, (표준)식품성분표
- (1) 농촌진흥청, 2013, 배재배
- (2) 농촌진흥청, 2002, 농업과학기술대전
- (3) 농촌진흥청, 2015, 배
- (4) Pheng, S., Khush, G. S., Cassman, K. G. 1994. Evolution of the new plant type for increased yield potential, in cassman, K. G. (ed.). Breaking the yield barrier, 5-20
- (5) Kaack, K., H.L. Pedersen. 2010. Prediction of diameter, weight and quality of apple fruit (*Malus domestica* Borkh.) cv. 'Elsta' using climatic and their interactions. Europ. Hort. Sci. 75:60-70
- (6) Salisbury, F.B., C.W. Ross. 1992. Plant physiology. 4th ed. Wadsworth, Belmont, California.
- (7) Park, M.S., Y.J. Kim, H.K. Park, Y.S. Chang, J.H. Lee. 1995. Using air temperature and sunshine duration data to select seed production site for *Eleutherococcus senticosus* Max. Kor. J. Crop Sci. 40:444-450
- (8) Sugiura, T. 1997. Interpretation of climatic ecology response and development model to predic growth and development of pear tree. Ph.D. Diss., Kyoto Univ., Kyoto.
- (9) Jeom Hwa Han, In Chang Son, In Myeong Choi, Seung Heui Kim, Jung Gun Cho, Seok Kyu Yun, Ho Cheol Kim, Tae-Choon Kim. 2013. Relationship between yearly fruit growth and climatic factors in 'Niiitaka' Pear. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 31(1):8-13
- (10) Faust, M., C.B, Shear. 1968. Corking disorders of apple: a Physiological and biochemical review. Bot. Rev. 34:441-469
- (11) Ik Youl Kim, Tae Hyun Chang. 2008. Effects of soil chemical properties in orchards on 'Niiitaka' Pear quality. Korean Journal of Environmental Agriculture. 27(3): 253-259
- (12) Reil W.O., 2007. Orchard establishment, in Micham, E.J., Elkins, R.B. (Eds), Pear: Production and handling manual. University of California Ariculture and natural Resources Publication, Oakland, CA, USA,.

- (13) Seung Ho Lee, In Hye Heo, Kyoung Mi Lee, Sun Young Kim, Yun Sun Lee, Won tae Kwon. 2008. Impacts of climate change on phenology and growth of crops: In the case of Naju, Journal of the Korean Geographical Society. 43(1): 20-35
- (14) T Cui, K Nakamura, L Ma, JZ Li, H Kayahara. 2005. Analyses of arbutin and chlorogenic acid, the major phenolic constituents in oriental pear. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 3882–33887.
- (15) LJ Huang, WY Gao, X Li, WS Zhao, LQ Huang, CX Liu. 2010. Evaluation of the in vivo anti-inflammatory effects of extracts from *Pyrus bretschneideri* Rehd. J. Agric. Food Chem. 2010, 58, 8983–88987.
- (16) X Li, JY Zhang, WY Gao, Y Wang, HY Wang, JG Cao, LQ Huang. 2012. Chemical composition and anti-inflammatory and antioxidant activities of eight pear cultivars. J. Agric. Food Chem. 60: 8737–88744.
- (17) X Li, J Zhang, W Gao, H Wang. 2012. Study on chemical composition, anti-inflammatory and anti-microbial activities of extracts from chinese pear fruit (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). Food Chem. Toxicol. 50: 3673–33679.
- (18) KH Lee, JY Cho, HJ Lee, YK Ma, J Kwon, SH Park, SH Lee, JA Cho, WS Kim, KH Park, JH Moon. 2011. Hydroxycinnamoylmalic acids and their methyl esters from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peel. J. Agr. Food Chem. 59: 10124-10128
- (19) KH Lee, JY Cho, HJ Lee, KY Park, YK Ma, SH Lee, JA Cho, WS Kim, KH Park, JH Moon. 2011. Isolation and identification of phenolic compounds from an asian pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peel. Food Sci. Biotechnol. 20: 1539-1545
- (20) YG Lee, JY Cho, CM Kim, SH Lee, WS Kim, TI Jeon, KH Park, JH Moon. 2013. Coumaroyl quinic acid derivatives and flavonoids from immature pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit. Food Sci. Biotechnol. 22: 803-810
- (21) JY Cho, CM Kim, HJ Lee, SH Lee, JA Cho, WS Kim, KH Park, JH Moon. 2013, Caffeoyl triterpenes from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peels and their antioxidative activities against oxidation of rat blood plasma. J. Agr. Food Chem. 61: 4563-4569
- (22) JY Cho, YG Lee, SH Lee, WS Kim, KH Park, JH Moon. 2014. An ether and three ester derivatives of phenylpropanoid from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae) fruit and their radical scavenging activity. Food Sci. Biotechnol. 23: 253-259
- (23) YG Lee, JY Cho, HJ Lee, YH Lee, SH Lee, TH Han, WS Kim, KH Park, JH Moon. 2013. Isolation and identification of a sterol and three glucosides from the peel of pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae). Korean J. Food Sci. Technol. 45: 557-564
- (24) YG Lee, JY Cho, CM Kim, HY Jeong, DI Lee, SR Kim, SH Lee, WS Kim, KH Park, JH Moon. 2013. Isolation and identification of 3 low-molecular compounds from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae) fruit peel. Korean J. Food Sci. Technol. 45: 174-179

- (25) SW Lee, YG Lee, JY Cho, YC Kim, SH Lee, WS Kim, JH Moon. 2015. Isolation and Identification of Two Flavonoids from Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae) Fruit Peel. Korean J. Food Sci. Technol. 47(2): 170-175
- (26) Jeong-Yong Cho, Keun Young Park, Ki Hoon Lee, Hyoung Jae Lee, Sang-Hyun Lee, Jeong An Cho, Wol-Soo Kim, Soo-Cheol Shin, Keun-Hyung Park, Jae-Hak Moon. 2011. Recovery of Arbutin in High Purity from Fruit Peels of Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). Food Sci. Biotechnol. 20(3): 801-807
- (27) Yu Geon Lee, Jeong-Yong Cho, Jun Park, Sang-Hyun Lee, Wol-Soo Kim, Keun-Hyung Park, and Jae-Hak Moon. 2013. Large-scale Isolation of Highly Pure Malaxinic Acid from Immature Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) Fruit. Food Sci. Biotechnol. 22(6): 1539-1545
- (28) Sang Won Lee, Yu Geon Lee, Jeong-Yong Cho, Young Chool Kim, Sang-Hyun Lee, Wol-Soo Kim, Jae-Hak Moon. 2015. Establishment of a simple method for purification of high purity chlorogenic acid from immature fruit of pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). Korean Society for Applied Biological Chemistry. 58(3): 335-341
- (29) Jeong-Yong Cho, Sang-Hyun Lee, Eun Hee Kim, Hae Rim Yun, Hang Yeon Jeong, Yu Geon Lee, Wol-Soo Kim, Jae-Hak Moon. 2015. Change in chemical constituents and free radical-scavenging activity during Pear (*Pyrus pyrifolia*) cultivar fruit development. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 79(2):260-270
- (30) Sang-Hyun Lee, Jeong-Yong Cho, Hang Yeon Jeong, Da Eun Jeong, Duwoon Kim, Se-Young Cho, Wol-Soo Kim, Jae-Hak Moon. 2015. Comparison of bioactive compound contents and in vitro and *ex vivo* antioxidative activities between peel and flesh of pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). 24(1): 207-216
- (31) Yun-Bin Zhang, Hee-Jin Choi, Ho-Suk Han, Jung-Hye Park, Jun-Ho Son, Jong-Ho Bae, Tae-Su Seung, Bong-Jeun An, Hyun-Gu Kim. Cheong Choi. 2003. Chemical Structure of Polyphenol isolated from Korean Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai), Korean J. Food Sci. Technol., 35(5), 959-967
- (32) Couteau C, Coiffard LJM. 2000. Photostability determination of arbutin, a vegetable whitening agent. Farmaco. 55: 410-413
- (33) Lamien-Meda A, Lukas B, Schmiderer C, Franz, Novak J. 2009. Validation of a quantitative assay of arbutin using gas chromatography in *Origanum majorana* and *Arctostaphylosuva-ursi* extracts. Phytochem. Anal. 20: 416-420
- (34) Lubsandorzheva PB, Zhigzhitov BS, Dargaeva TD, Bazarova ZG, Nagaslaeva LA. 2000. Chromatospectrophotometric determination of arbutin in the leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. Pharm. Chem. J. 34: 261-264
- (35) Schindler G, Patzak U, Brinkhaus B, von Niecieck A, Wittig J, Krähmer N, Glöckl I, Veit M. 2002. Urinary excretion and metabolism of arbutin after oral administration of *Arctostaphylos uvae ursi* extract as film-coated tablets and aqueous solution in healthy humans. J Clin Pharmacol. 42(8):920-7
- (36) Hildebrand DC, Schroth MN. 1963. Relation of arbutin-hydroquinone in pear blossoms

to invasion by *E. amylovora*. *Nature*, 197, 513.

- (37) Funayama M, Arakawa H, Yamamoto R, Nishino T, Shin T, Murao S. 1995. Effect of  $\alpha$ - and  $\beta$ -arbutin on activity of tyrosinases from mushroom and mouse melanoma. *Biosci. Biotechn. Bioch.* 59: 143-144
- (38) Sugimoto K, Nomura K, Nishimura T, Kiso T, Sugimoto K, Kuriki T. 2005. Synthesis of  $\alpha$ -arbutin- $\alpha$ -glycosides and a comparison of their inhibitory effects on human tyrosinase. *J. Biosci. Bioeng.* 99: 272-276
- (39) Hwang IK, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Yang MH, Kim HS. 2006. Change of physicochemical characteristics of Korean pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Korean J. Soc. Food Sci. Biotechnol.* 38: 342-347
- (40) Maeda K, Fukuda M. 1996. Arbutin: mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture. *J Pharmacol Exp Ther.* 276(2): 765-769
- (41) Zaixiang Lou, Hongxin Wang, Song Zhu, Chaoyang Ma, Zhouping Wang. 2011. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Chlorogenic Acid. 76(6): 398-403
- (42) Youyou Zhao, Junkuan Wang, Olivier Ballevre, Hongliang Luo, Weiguo Zhang. 2012. Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids. 35: 370 - 374
- (43) Keiko Azuma, Katsunari Ippoushi, Masayoshi Nakayama, Hidekazu Ito, Hisao Higashio, Junji Terao. 2000. Absorption of Chlorogenic Acid and Caffeic Acid in Rats after Oral Administration. *J. Agric. Food Chem.* 48(11): 5496 - 5500
- (44) Olthof MR, Hollman PC, Katan MB. 2001. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The journal of nutrition.* 131(1): 66-71.
- (45) Shasha Jin, Cuiqing Chang, Lantao Zhang, Yang Liu, Xianren Huang, Zhimin Chen. 2015. Chlorogenic Acid Improves Late Diabetes through Adiponectin Receptor Signaling Pathways in db/db Mice. *PLoS ONE.* 10(4): 1-15.
- (46) Sheng Min Sang, Karen Lapsley, Robert T. Rosen, Chi Tang Ho. 2002. New Prenylated Benzoic Acid and Other Constituents from Almond Hulls (*Prunus amygdalus* Batsch). *J. Agric. Food Chem.* 50: 607-609
- (47) Bilia AR, Cencchini C, Marsili A, Morelli I. 1993. Coumarins and other constituents of *Prunus Prostrata*. *Nat Prod J.* 56(12): 2142-2148
- (48) Friedrich U, Siems K, Solis PN, Gupta MP, Jenett-Siems K. 2005. New prenylated benzoic acid derivatives of *Piper hispidum*. *Int J Pharm Sci Invent.* 60(6): 455-457
- (49) Hayashi K, Komura S, Isaji N, Ohishi N, Yagi K. 1999. Isolation of antioxidative compounds from Brazilian propolis: 3,4-Dihydroxy-5-prenyl cinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Chem. Pharm. Bull* 47(11): 1521-1524
- (50) Wolf-Rainer Abraham, Hans-Adolf Arfmann. 1990. Hydroxy-(methylbutenyl)-benzoic acid and derivatives from *Curvularia fallax*. *Phytochemistry.* 29(8): 2641-2644
- (51) P. Venkatasubbaiah, William Scott Chilton. 1991. Toxins produced by the dogwood anthracnose fungus *Discula* sp. *J. Nat. Prod.* 54 (5): 1293 - 1297-54 (5), pp 1293 - 1297
- (52) Kim HJ, HO JK. 2007. Synthesis and biological activity of fungal metabolite,

- 4-hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)-benzoic acid. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17(3): 543 - 545
- (53) Kim SN, Kim WG, Jung HJ, Shim JS, Kim HJ, Lee HB, Han JT, Kim CJ, Baek NI, Yoo ID, Kwon HJ. 2004. Cell Cycle Inhibitory Activity of 4-Hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)-benzoic Acid from *Curvularia sp.* KF119. *J antibiotics.* 57(9): 605-608
- (54) Xian Zhang, Ja-Heon Koo, Jong-Bang Eun. 2006. Antioxidant Activities of Methanol Extracts and Phenolic Compounds in Asian Pear at Different Stages of Maturity. *Food Sci. Biotechnol.* 15(1): 44-50
- (55) Gunter Kuhnle, Jeremy P. E. Spencer, Hagen Schroeter, Baskar Shenoy, Edward S. Debnam, S. Kaila S. Srail, Catherine Rice-Evans, Ulrich Hahn. 2000. Epicatechin and Catechin are O-Methylated and Glucuronidated in the Small Intestine. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 277(2): 507-512
- (56) Donovan JL, Bell JR, Kasim-Karakas S, German JB, Walzem RL, Hansen RJ, Waterhouse AL. 1999. Catechin is present as metabolites in human plasma after consumption of red wine. *The Journal of Nutrition.* 129(9):1662-1668
- (57) Baba S1, Osakabe N, Natsume M, Muto Y, Takizawa T, Terao J. 2001. In vivo comparison of the bioavailability of (+)-catechin, (-)-epicatechin and their mixture in orally administered rats. *Journal of Nutrition.* 131(11): 2885-2891
- (58) Koga T., and Meydani M. 2001. Effect of plasma metabolites of (+)-catechin and quercetin on monocyte adhesion to human aortic endothelial cells, *Am. J. Clin. Nutr.* **73**: 941 - 948.
- (59) Terao J, Piskula M, Yao Q. 1994. Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 308(1): 278-284
- (60) H. Schroeter, R.J. Williams, R. Matin, L. Iversen, C.A. Rice-Evans. 2000. Phenolic antioxidants attenuate neuronal cell death following uptake of oxidized low-density lipoprotein, *Free Radic. Biol. Med.*, 29(12): 1222 - 1233
- (61) H. Schroeter, J.P. Spencer, C. Rice-Evans, R.J. Williams. 2001. Flavonoids protect neurons from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis involving c-Jun N-terminal kinase (JNK), c-Jun, and caspase-3. *Biochem. J.*, 358: 547 - 557
- (62) Manal M Abd El Mohsen, Gunter Kuhnle, Andreas R Rechner, Hagen Schroeter, Sarah Rose, Peter Jenner, Catherine A Rice-Evans. 2002. Uptake and metabolism of epicatechin and its access to the brain after oral ingestion. 33(12), 1693 - 1702
- (63) Shinichi Someya, Yumiko Yoshiki, Kazuyoshi Okubo. 2002. Antioxidant compounds from bananas (*Musa Cavendish*). *Food chemistry*, 79(3), 351 - 354
- (64) Murthy, S.S.N., Prakasa-Rao, N.S., Anjaneyulu, A.S.R., Row, L.R. 1974. Isolation of (+)-gallicolcatechin from cashewnut shells
- (65) Tomoaki Matsuo, Norifumi Hanamure, Kayoko Shimoi, Yoshiyuki Nakamura, Isao Tomita. 1994. Identification of (+)-gallicolcatechin as a bio-antimutagenic compound in



*Psidium guava* leaves. *Phytochemistry*, 36(4): 1027–1029

- (66) Kiyotaka Nakagawa, Shiho Okuda, Teruo Miyazawa . 1999. Dose-dependent incorporation of tea catechins, (–)-epigallocatechin-3-gallate and (–)-epigallocatechin, into human plasma. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 61(12): 1981–1985
- (67) Chun Hay Ko, Kit Man Lau, Wing Yee Choy, Ping Chung Leung. 2009. Effects of tea catechins, epigallocatechin, gallic acid, and gallic acid gallate, on bone metabolism, *J. Agric. Food Chem.*, 57(16): 7293 - 7297
- (68) Jorge M. Ricardo da Silva, Jacques Rigaud, Véronique Cheynier, Annie Cheminat, Michel Moutounet. 1991. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochemistry*. 30(4): 1259–1264
- (69) Miura S, Watanabe J, Sano M, Tomita T, Osawa T, Hara Y, Tomita I. 1995. Effects of various natural antioxidants on the Cu<sup>2+</sup>-mediated oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biol. Pharm. Bull.* 18(1): 1–4
- (70) Yamamoto N, Moon JH, Tsushida T, Nagao A, Terao J. 1999. Inhibitory effect of quercetin metabolites and their related derivatives on copper ion-induced lipid peroxidation in human low-density lipoprotein. *Arch. Biochem. Biophys.* 372(2): 347–354
- (71) Zheng SY, Li Y, Jiang D, Zhao J, Ge JF. 2012. Anticancer effect and apoptosis induction by quercetin in the human lung cancer cell line A-549. *Mol. Med. Rep.* 5(3): 822–826
- (72) Moon JH, Tsushida T, Nakahara K, Terao J. 2001. Identification of quercetin 3-O-β-D-glucuronide as an antioxidative metabolite in rat plasma after oral administration of quercetin. *Free Radical Bio. Med.* 30(11): 1274–1285
- (73) Moon JH, Nakata R, Oshima S, Inakuma T, Terao J. 2002. Accumulation of quercetin conjugates in blood plasma after the short-term ingestion of onion by women. *Am. J. Physiol.* 279(2): 461–467
- (74) Sae-Kwang Kua, Tae Hoon Kim, Sangkyu Lee, Seong Min Kim, Jong-Sup Bae. 2013. Antithrombotic and profibrinolytic activities of isorhamnetin-3-O-galactoside and hyperoside. *Food Chem Toxicol.* 53: 197 - 204
- (75) Chang-Suk Kong, Youngwan Seo. 2012. Antiadipogenic activity of isorhamnetin 3-O-β-D-glucopyranoside from *Salicornia herbacea*. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 34(6): 907–911
- (76) Fernando Calzada, Claudia Velázquez, Roberto Cedillo-Rivera. 2003. Baldomero Esquivel Antiprotozoal activity of the constituents of *Telexys graveolens*. *Phytotherapy Research*, 17(7): 731–732
- (77) Hideyuki Ito, Masateru Miyake, Eisei Nishitani, Kazuko Mori, Tsutomu Hatano, Takuo Okuda, Takao Konoshima, Midori Takasaki, Mutsuo Kozuka, Teruo Mukainaka, Harukuni Tokuda, Hoyoku Nishino, Takashi Yoshida. 1999. Anti-tumor promoting activity of polyphenols from *Cowania mexicana* and *Coleogyne*

- ramosissima. *Cancer Lett.* 143(1): 5 - 13
- (78) Zhang Y, Tie X, Bao B, Wu X, Zhang Y. 2007. Metabolism of flavone C-glucosides and *p*-coumaric acid from antioxidant of bamboo leaves (AOB) in rats. *Br J Nutr.* 97(3): 484-494
- (79) Lou Zaixiang, Wang Hongxin, Rao Shengqi, Sun Juntao, Ma Chaoyang, Li Jing, 2011. *p*-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control.* 25(2): 550-554
- (80) Abdel-Wahab MH, El-Mahdy MA, Abd-Ellah MF, Helal GK, Khalifa F, Hamada FM. 2003. Fluence of *p*-coumaric acid on doxorubicin-induced oxidative stress in rat's heart. *Pharmacological Research.* 48(5): 461-465
- (81) L Y Zang, G Cosma, H Gardner, X Shi, V Castranova, V Vallyathan. 2003. Effect of antioxidant protection by *p*-coumaric acid on low-density lipoprotein cholesterol oxidation. *American Journal of Physiology Cell Physiology.* 279(4): 954-C960
- (82) C Luceri, F Guglielmi, M Lodovici, L Giannini, L Messerini, P Dolara. 2004. Plant phenolic 4-coumaric acid protects against intestinal inflammation in rats. *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* 39(11): 1128-1161
- (83) Zaixiang Lou, Hongxin Wang, Shengqi Rao, Juntao Sun, Chaoyang Ma, Jing Li. 2012. *p*-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control* Vol. 25(2): 550-554
- (84) Chen, CY, Wang YD. 2011. A novel sesquiterpenoid from the leaves of *Cinnamomum subavenium*. *Chem. Nat. Comp.* 47: 215-217
- (85) Chen CY, Wang YD. 2010. Polyprenol from the whole plants of *Leucaena leucocephala*. *J. Environ. Protect.* 1: 70-72
- (86) Wu H, Li X, Li R, Li, L, Wang N. 2010. Study on anti-oxidative components from leaves of *Psidium guajava*. *Zhongcaoyao.* 41: 1593-1597
- (87) Kim KA, Kang KD, Lee EH, Kim CY, Um BH, Jung SH. 2010. The 2-*O*-(*trans*-caffeoyl)malic acid compound isolated from the leaves of *Phyllostachys nigra* protects oxidative stress-induced retinal ganglion cells death. *Food Chem. Toxicol.* 48: 1721-1727
- (88) Liang YS , Choi YH , Kim HK , Linthorst HJ , Verpoorte R. 2006. Metabolomic analysis of methyl jasmonate treated *Brassica rapa* leaves by 2-dimensional NMR spectroscopy. *Phytochemistry.* 67(22): 2503-2511
- (89) Hanne L. Ziegler, Henrik Franzyk, Majid Sairafianpour, Mehrnoush Tabatabai, Mahboubeh D. Tehrani, KarimBagherzadeh, Henry Ha" gerstrand, Dan Stærk, Jerzy W. Jaroszewskia. 2004. Erythrocyte membrane modifying agents and the inhibition of *Plasmodium falciparum* growth: structure - ctivity relationships for betulinic acid analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 12: 119 - 127
- (90) Yogeewari, Perumal, Sriram, Dharmarajan. 2005. Betulinic Acid and Its Derivatives: A Review on their Biological Properties. *Current Medicinal Chemistry.* 12(6): 657-666
- (91) Marie Sajfrtová, Ivana Ličková, Martina Wimmerová, Helena Sovová, Zdeněk

- Wimmer. 2010. International Journal of Molecular Sciences. 11(4): 1842–1850
- (92) Hashem FA, Saleh MM. 1999. Antimicrobial components of some cruciferae plants (*Diplotaxis harra* Forsk. and *Erucaria microcarpa* Boiss.). *Phytother. Res.* 13: 329–332
- (93) Mo J, Wu B. 2011. A phytochemical and chemotaxomic study on *Viburnum lancifolium*. *Biochem. Syst. Ecol.* 39: 857–860
- (94) Park MH, Chung IM, Ahmad A, Kim BH, Hwang SJ. 2009. Growth inhibition of unicellular and colonial *Microsistis* strains (Cyanophyceae) by compounds isolated from rice (*Oryza sativa*) hulls. *Aqua. Bot.* 90: 309–314
- (95) Li X, Zhang J, Gao W, Wang H. 2012. Study on chemical composition, anti-inflammatory and anti-microbial activities of extracts from Chinese pear fruit (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). *Food Chem. Toxicol.* 50: 3673–3679
- (96) Yang ZG, Matsuzaki K, Takamatsu S, Kitanaka S. 2011. Inhibitory effects of constituents from *Morus alba* var. *multicaulis* on differentiation of 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW264.7 cells.
- (97) Tamokou JDD, Kuate JR, Tene M, Kenla Nwemeguela TJ, Tane P. 2011. The antimicrobial activities of extract and compounds isolated from *Brillantaisia lamium*. *Iran. J. Med. Sci.* 36: 24–31
- (98) Arisawa M, Hatashita T, Numata Y, Tanaka M, Sasaki T. 1997. Cytotoxic principles from *Chrysosplenium flagelliferum*. *Int. J. Pharm.* 35: 141–143
- (99) BH Tai, TN Trung, NX Nhiem, DT Ha, CV Men, VB Duong, HV Luong, SB Song, K Bae, YH Kim. 2011. A new flavan-3-ol and the anti-inflammatory effect of flavonoids from the fruit peels of *Wisteria floribunda*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 13: 1061–1068
- (100) S Deachathai, W Mahabusarakam, S Phongpaichit, WC Taylor. 2005. Phenolic compounds from the fruit of *Garcinia dulcis*. *Phytochemistry.* 66: 2368–2375
- (101) S Saito, N Hirai, C Matsumoto, H Ohigashi, D Ohta, K Sakata, M Mizutani. 2004. Arabidopsis CYP707As encode (+)-abscisic acid 8-hydroxylase, a key enzyme in the oxidative catabolism of abscisic acid. *Plant Physiol.* 134: 1439–1449
- (102) H Kato-Noguchi, Y Tanaka, T Murakami, S Yamamura, S Fujihara. 2002. Isolation and identification of an allelopathic substance from peel of *Citrus junos*. *Phytochem.* 61: 849–853
- (103) Y Kobayashi, K Nabeta, H Matsuura. 2010. Chemical inhibitors of viviparous germination in the fruit of watermelon. *Plant Cell Physiol.* 51: 1594–1598
- (104) H Wang, Y Sun, WC Ye, F Xiong, JJ Wu, CH Yang, SX Zhao. 2004. Antioxidative phenylethanoid and phenolic glycosides from *Picrorhiza scrophulariiflora*. *Chem. Pharm. Bull.* 52: 615–617
- (105) X Li, Z Liu, XF Zhang, LJ Wang, YN Zheng, CC Yuan, GZ Sun. 2008. Isolation and characterization of phenolic compounds from the leaves of *Salix matsudana*. *Molecules* 13: 1530–1537
- (106) G Beretta, E Caneva, RM Facino. 2007. Kynurenic acid in honey from arboreal

plants: MS and NMR Evidence. *Planta. Med.* 73: 1592–1595

- (107) T Fukushima, S Mitsunashi, M Tomiya, M Iyo, K Hashimoto, T Toyo'ka. 2007. Determination of kynurenic acid in human serum and its correlation with the concentration of certain amino acids. *Clin. Chim. Acta* 377: 174–178
- (108) AG Shilabin, L Dzhekieva, P Misra, B Jayaram, RF Pratt. 2011. 4-Quinolones as noncovalent inhibitors of high molecular mass penicillin-binding proteins. *ACS Med. Chem. Lett.* 3: 592–595
- (109) S Chrosten, E Peterhans, R Stocker. 1990. Antioxidant activities of some tryptophan metabolites: Possible implication for inflammatory diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87: 2506–2510
- (110) KH Ko, SH Nam. 2012. Antioxidant activities of volatile aroma components from *Cudrania tricuspidata* (Carr.) bureau extracts. *Korean Soc. Food Nutr.* 41: 1493–1501
- (111) UB Jagtap, VA Bapat. 2012. Antioxidant activities of various solvent extracts of custard apple (*Annona squamosa* L.) fruit pulp. *Nutrafoods* 11: 137–144
- (112) YH Jeong, J Lee, YJ Kwon, EK Seo. 2006. Reverse-phase HPLC method for identification of diastereomeric constituents from *Sasa borealis*. *Yakhak Hoechi* 50: 21–25
- (113) Mohamed Maknia, Yassine Chtouroua, Hamadi Fetouia, El Mouldi Garouia, Tahia Boudawarac, Najiba Zeghal. 2011. Evaluation of the antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective properties of vanillin in carbon tetrachloride-treated rats. *European Journal of Pharmacology.* 668(1-2): 133–139

# 기술가치평가 보고서

**기술명** : 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학조성물  
및 화장료 조성물 외 2건

**발명자** : 문 제 학

**권리자** : 전남대학교 산학협력단

**제출일자** : 2018년 12월

**평가기관** : 주식회사 아이피온

1. 본 보고서는 평가용도 외로 사용할 수 없으며, 기술평가기관은 본 보고서를 기초로 한 행위결과에 대하여 어떠한 책임도 부담하지 않습니다.
2. 본 보고서에서 사용된 가정들은 향후 사업환경의 변화 및 신청기술을 적용하는 경영진이나 기술인력 등의 능력에 따라 영향을 받으며, 이에 따라 그 결과가 변동될 수 있습니다.

# 1. 기술가치평가 요약

## 1) 피부미백개선용 화장품 조성물 가치평가 요약

특허번호	한국등록특허 10-1793652	권리자	전남대학교 산학협력단
기술명	말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학조성물 및 화장료조성물		

### 【기술가치평가 종합의견】

#### (가) 평가 목적

본 평가는 전남대학교 산학협력단이 소유하고, 문제학 교수가 발명한 특허권을 기술 이전하는데 따른 특허기술의 가치를 금액으로 산정하는 것이며, 동 평가의 주요 목적은 특허기술이전용으로 활용하는 데 있음

#### (나) 평가 대상 기술

본 기술은 말락시닉산을 유효성분으로 포함하는 피부 미백 개선용 조성물에 관한 것으로, 말락시닉산이 멜라닌 생성세포에서의 멜라닌 합성을 억제함으로써 피부미백 개선에 우수한 효과를 나타내어 미백 화장품으로 유용하게 활용 가능함. 본 기술 가치 평가에서는 일차적으로 적용할 수 있는 미백 화장품 시장에 초점을 두어 평가를 진행하였음

#### (다) 평가 방법

본 평가에서는 평가대상기술의 가치를 금액으로 환산하기 위하여 수익접근법을 적용하여 기술의 가치를 산정하였음. 본 평가는 2018년 12월 28일을 평가기준일로 수행함

#### (라)평가의 주요 조건 및 가정

- 본 평가대상기술을 미백 화장품으로 상용화 하였을 때의 매출액을 추정하기 위해 미백화장품 시장을 조사하였으며 국내 시장을 사업화 대상으로 설정하여 시장 규모를 추정 하였음
- 식품의약품안전처의 보도자료(2018)에 의하면, 국내 미백 화장품 시장 2017년 4,361억 원 규모를 형성함 → 2012~2017년 시장 성장률 8%를 적용하여 시장규모를 산출 함
- 국내 미백화장품 상위 10위 기업의 평균 시장점유율은 7%로, 미백화장품으로 제품화 시 국내 미백화장품 시장의 최대 7%까지 점유할 수 있을 것으로 가정함
- 본 평가대상기술의 기술이전 대상 기업인 (주)서흥에서 사업화한다는 가정 하에 (주)서흥의 재무비율을 활용하여 가치평가를 진행함

(마) 평가결과 요약

주요 변수	시나리오 (국내 미백화장품 시장)
기술의 경제적 수명	9년
할인율	6.2%
기술기여도	29~33%
기술의 가치	182 ~ 208 백만원

2) 대사성질환 개선 관련 건강기능식품 가치평가 요약

특허번호	한국등록특허 제 10-1793654호 외 1건	권리자	전남대학교 산학협력단
기술명	말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 개선용 약학조성물 및 건강기능식품 외 1건		

**【기술가치평가 종합의견】**

(가) 평가 목적

본 평가는 전남대학교 산학협력단이 소유하고, 문제학 교수가 발명한 특허권을 기술 이전하는데 따른 특허기술의 가치를 금액으로 산정하는 것이며, 동 평가의 주요 목적은 특허기술이전용으로 활용하는 데 있음

(나) 평가 대상 기술

본 기술은 말락시닉산을 유효성분으로 함유하는 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학 조성물 및 건강기능식품에 관한 것으로, 지방세포 분화인자들의 활성을 억제시켜 지방세포로의 분화를 억제시키는 것을 확인하였으며, 고지방식이에 의해 발생하는 고혈당, 고인슐린혈중, 인슐린 저항성에 대한 개선 효과가 있음을 확인하였으므로, 대사성질환 개선 건강기능식품으로 유용하게 사용할 수 있음. 본 기술 가치 평가에서는 일차적으로 적용할 수 있는 대사성질환 관련 건강기능식품 시장에 초점을 두어 평가하였음

(다) 평가 방법

본 평가에서는 평가대상기술의 가치를 금액으로 환산하기 위하여 수익접근법을 적용하여 기술의 가치를 산정하였음. 본 평가는 2018년 12월 28일을 평가기준일로 수행함



(라)평가의 주요 조건 및 가정

- 본 평가대상기술을 대사성질환 개선 관련 건강기능식품으로 상용화 하였을 때의 매출액을 추정하기 위해 대사성질환 개선 관련 건강기능식품 시장을 조사하였으며, 국내 시장을 사업화 대상으로 설정하여 시장 규모를 추정하였음
- 2016년 기준 혈당조절 건강기능식품 시장규모 141억 8,000만원 → 2017년도 건강기능식품 시장 성장률 17%를 적용하여, 혈당조절 건강기능식품 시장규모 산출
- 2016년 기준 콜레스테롤 개선 건강기능식품 시장규모 823억 9,000만원 → 2017년도 건강기능식품 시장 성장률 17%를 적용하여, 혈당조절 건강기능식품 시장규모 산출
- 2016년 기준 혈중중성지방 개선 건강기능식품 시장규모 770억 원 → 2017년도 건강기능식품 시장 성장률 17%를 적용하여, 혈당조절 건강기능식품 시장규모 산출
- 2016년 기준 체지방 감소 건강기능식품 시장규모 917억 원 → 2017년도 건강기능식품 시장 성장률 17%를 적용하여, 혈당조절 건강기능식품 시장규모 산출
- 국내 혈당조절, 콜레스테롤 개선, 혈중중성지방 개선, 체지방 감소 건강기능식품의 시장 규모를 모두 합산하여 국내 대사성질환 관련 건강기능식품 시장으로 가정
- 2016년 기준 건강기능식품 상위 10위 기업의 평균 시장점유율은 6.2%임 → 본 평가대상기술을 대사성 질환 개선 관련 건강기능식품으로 제품화할 시, 국내 대사성질환 건강기능식품 시장의 최대 6.5%까지 점유할 수 있을 것으로 가정함
- 본 평가대상기술의 기술이전 대상 기업인 (주)서흥에서

사업화한다는 가정 하에 (주)서흥의 재무비율을 활용하여  
가치평가를 진행함

(마) 평가결과 요약

주요 변수	시나리오 (국내 대사성질환 개선 관련 건강기능식품 시장)
기술의 경제적 수명	9년
할인율	6.2%
기술기여도	25~29%
기술의 가치	372 ~ 432 백만원

3) 가치평가 금액 합산

- 본 평가대상기술(피부미백개선용 화장료 조성물 및 대사성질환 개선 관련 건강기능식품)의 기술가치를 합산 한 결과, 평가기준일(2018년 12월 27일) 현재 본 특허 기술의 가치는 약 5억 9,700만 원으로 추정됨

기술명	가치평가 금액
말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학조성물 및 화장료조성물	182 ~ 208 백만원
말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 개선용 약학조성물 및 건강기능식품 외 1건	372 ~ 432 백만원
합 계	554 ~ 640 백만원
평균값	597 백만원

## 2. 수익접근법에 의한 가치평가

### 1) 평가대상기술 개요

#### □ 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장품 조성물

- 본 평가대상기술(이하, 대상기술)은 말락시닉산을 유효성분으로 포함하는 피부미백개선용 조성물에 관한 기술임
- 멜라닌은 방사능 및 자외선으로부터 인간의 피부를 보호하는 표피세포의 구성요소임. 그러나, 피부가 지나친 자외선과 같은 외부 스트레스에 노출되면 멜라닌이 비이상적으로 생겨 기미(melasma), 주근깨(freckles), 갈색반점(brown nevus), 그리고 노인흑색점(senile lentigo)과 같은 색소성질환(pigmentation disorder)의 발병이 원인이 됨
- 멜라닌합성(melanogenesis)은 표피의 기저층에 존재하는 멜라닌생성세포(melanocyte)에 의해 진행되며, 이는 타이로시나제(tyrosinase)의 활성화에 의해 대부분 조절됨. 타이로시나제는 L-타이로신을 수화하여 3,4-다이하이드록실페닐알라닌(L-DOPA)을 생성하거나, L-DOPA를 퀴논(quinone)형 화합물인 도파퀴논(dopaquinone)으로 산화시키는 반응을 촉매함. 이어, 도파퀴논은 비효소적 반응에 의해 더 산화되어 갈색 혹은 검은색을 띠는 멜라닌을 형성, 피부변색의 원인이 됨
- 이에 따라, 피부색소침착의 개선방안을 찾는 종래의 연구들은 천연자원으로부터 타이로시네이즈에 대해 우수한 저해능을 가진 화합물을 찾고자 다양한 연구가 진행되고 있으나, 종래의 타이로시네이즈 저해제로 제안된 화합물들은 높은 독성, 낮은 안정성, 그리고 낮은 표피침투율 등과 같은 한계점에 직면하여 상용화되지 못하고 있는 실정임
- 본 대상기술에 의하면 배로부터 분리된 말락시닉산이 멜라닌생성세포 내 멜라닌 생성에 관여하는 유전자들의 발현을 조절하여, 멜라닌생성세포의 멜라닌 합성을 저해하는 활성을 나타내며, 이에 멜라닌생성세포에서 멜라닌 과다 합성으로 인해 발생하는 피부흑화과정을 억제할 수 있어 피부미백 개선용 화장품으로 활용 가능함
- 따라서, 본 기술가치 평가에서는 일차적으로 적용할 수 있는 미백 화장품 시장에 초점을 두어 평가하였음

## □ 말라시닉산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품

- 본 평가대상기술(이하, 대상기술)은 말라시닉산을 유효성분으로 함유하는 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품에 관한 기술임
- 생활수준 향상에 따른 영양의 과잉섭취, 운동부족과 같은 잘못된 생활습관으로 대사성 질환 인구는 전 세계적으로 급격히 증가하고 있으며, 이에 따른 생산성 감소와 막대한 의료비 지출은 사회경제적으로 심각한 문제가 되고 있음
- 비만은 지질대사의 항상성(lipid homeostasis)이 원활하게 유지되지 않음에 따라 지방세포의 분화(differentiation)가 촉진되어 지방세포의 수와 크기가 증가되고, 그로 인해 지방조직에 과도하게 지질이 축적됨에 따라 발병함
- 또한, 비만은 인슐린 저항성(insulin resistance)과 같은 대사이상을 유발함. 인슐린 저항성은 간, 지방 및 근육 조직의 인슐린 민감성(sensitivity) 감소로서, 조직으로의 혈중 포도당 이동이 감소되고 간이 당 신생합성이 증가되어 고혈당증을 유도하고, 내당능장애, 이상 지질혈증, 조직 내 비정상적 지방침착을 유도하여 제2형 당뇨병나 비알콜성지방간 등의 위험성을 증가시킴
- 이처럼 비만은 최근 식습관의 불균형 및 운동부족 등으로 인해 전 세계적으로 발병률이 증가되고 있는 대사성질환 중 하나로 인식되고 있으며, 이와 관련하여 대사성 질환에 치료 및 예방법에 대한 관심이 증가하고 있음
- 본 대상기술에서는 말라시닉산이 지방세포 분화인자들의 활성을 억제하여 지방전구세포에서 지방세포로의 분화를 억제시키는 것을 확인하였으며, 지방세포에서 과도한 분화를 원인으로 하는 대사성질환을 개선시킬 수 있음
- 또한, 말라시닉산이 지방생합성에 중요한 인자인 SREBP-1c, FASN, ACC1의 mRNA 발현을 억제하여, 고지방식이에 의해 발생하는 지방생합성을 억제함으로써 비알콜성 지방간 형성을 억제시켜 고지방식이에 의해 발생하는 고혈당, 고인슐린혈증, 인슐린 저항성에 대한 개선 효과가 있음을 확인함
- 배 및 배미성숙과를 포함하는 배미활용자원 중 하나 이상으로부터 분리된 말라시닉산을 유효성분으로 포함함으로써 식용 가능한 천연물에서 추출된 것이므로 자원재활용은 물론 독성에 대한 염려 없이 지방대사성 관련 질환 개선용 건강기능성식품으로 활용 가능함

- 따라서, 본 기술가치 평가에서는 일차적으로 적용할 수 있는 대사성 질환 개선 관련 건강기능식품 시장에 초점을 두어 평가하였음

## 2) 기술가치 평가 산식

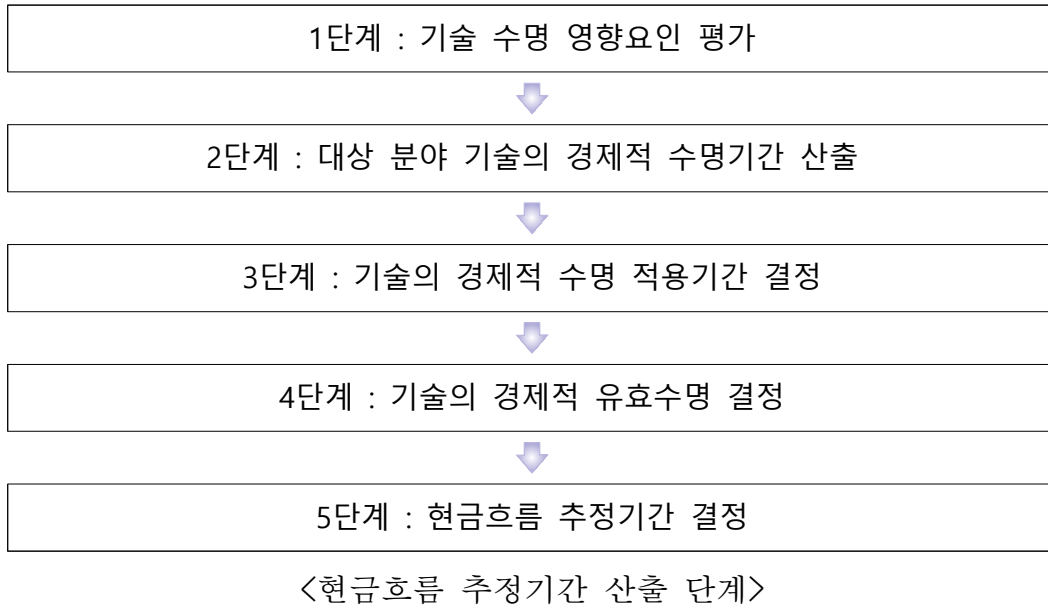
- 기술가치 평가 기본모형은 다음과 같은 수익접근법 기반의 산식을 이용하며, 특정한 기술의 가치는 기술의 경제적 수명기간 동안 미래의 여유현금흐름을 추정하여 얻어짐. 여기서 t는 년 수, n은 기술의 경제적 수명, FCF<sub>t</sub>는 여유현금흐름, r은 할인율을 의미함

$$\text{기술의 가치} = \sum_{t=1}^n \frac{FCF_t}{(1+r)^t} \times \text{기술기여도}$$

## 2) 수익기간 추정

- 기술의 경제적 수명은 어떤 기술자산을 이용함으로써 이익이 산출되는 기간을 뜻하는 것으로 기술 자산을 이용함으로써 더 이상 이익이 발생하지 않게 되는 시점, 또는 다른 기술자산을 이용함으로써 보다 큰 이익을 산출할 수 있게 되는 시점을 의미 하기도 하며, 사용 가능 연수와는 다른 개념임
- 기술가치 평가에서 기술수명을 고려할 경우에는 관련 기술이 이용되는 시장의 존재와 시장의 성장에 따른 기술의 지속적인 필요성을 전제하여 기술수명을 추정하게 되며, 기술의 진입 장벽, 특허권의 존속기간, 대체기술의 출현 가능성, 경쟁업체의 유사 내지 개선기술 개발동향, 제품의 수명주기 및 수요시장의 특성 등을 종합적으로 고려하여 산정함
- 기술의 경제적 수명을 결정할 수 있는 하나의 추정방법으로 특허인용수명(Technology Cycle Time : TCT)을 적용할 수 있음. 특허인용수명이란 특정의 특허가 등록 이후 다른 특허에 의해 인용되는 기간을 의미함. 특허인용수명 이외에도 대상기술 분야에 개발된 로드맵을 활용하거나, 생존분석을 통한 기술의 잔존수명을 추정하여 활용할 수도 있으며, 해당기술 분야 전문가들의 경험과 지식을 활용하는 전문가 합의에 의해 결정하는 것이 바람직함
- 기술가치평가 실무가이드에서는 현금흐름 추정기간을 구하기 위한 기술의 경제적 수명은 특허인용수명 지수(TCT 등) 통계를 활용하되, ① 기술수명 영향요인에 의한 경제적 수명 정량화 모델 I과 ② 기술수명 영향요인에 의한 경제적 수명 정량화 모델 II의 2가지로 제시하고 있음<sup>1)</sup>

- 현금흐름 추정기간의 결정은 다음과 같이 다섯 단계를 거쳐 이루어짐



○ 1단계 : 기술수명 영향요인 평가

- 기술의 경제적 수명에 미치는 영향요인은 기술적 요인과 시장적 요인 측면에서 10개 요인을 평가하며, 각 항목별로 보통인 경우 0을 기준으로 상대적으로 우위에 있을 경우 가점(+), 열위에 있을 경우 감점(-)하여 평점을 산출함

□ 말락시너산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장품 조성물

- 기술수명 영향요인에 대한 평가지표에 따라 평가한 결과 영향요인 점수 획득 값은 5점임

1) 기술가치평가 실무가이드, 산업통상자원부, 2014.12.

〈기술수명 영향요인 평가〉

구분	세부 요인	가중치	매우낮음	낮음	보통	높음	매우높음
			-2	-1	0	1	2
기술 요인	대체기술출현 가능성	1				V	
	기술적 우월성	1				V	
	유사.경쟁기술의 존재(수)	1			V		
	모방 난이도	1				V	
	권리 강도	1				V	
시장 요인	시장집중도(주도기업 존재)	1				V	
	시장경쟁의 변화	1			V		
	시장경쟁강도	1			V		
	예상 시장점유율	1			V		
	신제품 출현빈도	1			V		
영향요인평점 합계			5				

□ 말라시닉산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품

- 기술수명 영향요인에 대한 평가지표에 따라 평가한 결과 영향요인 점수 획득 값은 4점임

〈기술수명 영향요인 평가〉

구분	세부 요인	가중치	매우낮음	낮음	보통	높음	매우높음
			-2	-1	0	1	2
기술 요인	대체기술출현 가능성	1				V	
	기술적 우월성	1				V	
	유사.경쟁기술의 존재(수)	1			V		
	모방 난이도	1				V	
	권리 강도	1				V	
시장 요인	시장집중도(주도기업 존재)	1			V		
	시장경쟁의 변화	1			V		
	시장경쟁강도	1			V		
	예상 시장점유율	1			V		
	신제품 출현빈도	1			V		
영향요인평점 합계			4				

○ 2단계 : 대상분야 기술의 경제적 수명기간 산출

- 특허권의 존속기간은 특허출원일로부터 20년으로 규정하고 있음. 따라서 본 평가 대상 기술의 경제적 수명을 평가기준일인 2018년 12월 27일을 기준으로 특허권의 법적 보호기간을 적용하여 산출해 보면 다음과 같음

□ 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장료 조성물

〈법적보호기간 적용 경제적 수명〉

특허번호	기술의 명칭	출원일	존속기한	잔존기간
10-1793652	말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학조성물 및 화장료조성물	2017.03.17	2037.03.17	19

평가기준일 : 2018년 12월 27일

- 대상기술은 국제특허분류 A61K(의약품, 치과용 또는 화장용 제제)에 해당하며 A61K 분야의 특허인용 수명에 의한 중앙값은 8년임

〈특허인용 수명〉

IPC	Title	평균	Q1	중앙값	Q3
A61K	의약품, 치과용 또는 화장용 제제	9.89	4	8	13

- 1단계에서 수행된 기술수명 영향요인 평가결과를 아래 식을 통해 기술의 경제적 수명기간을 산출함
- 기술의 경제적 수명은 기술수명 영향요인 평가결과에 따라 특허인용 수명 중간값(Q2), 즉 TCT를 기준으로 최저 0배에서 최대 2배 사이의 값을 가질 수 있음

$$\begin{aligned} \text{기술의 경제적 수명} &= \text{조정 특허인용수명} \times (1 + \text{영향요인 평점 합계}/20) \\ &= 8 \times (1+5/20) \end{aligned}$$

- 따라서, 기술의 경제적 수명 영향요인 평가를 통해 대상기술의 경제적 수명을 산출하면



10년이 됨

□ 말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품

<법적보호기간 적용 경제적 수명>

특허번호	기술의 명칭	출원일	존속기한	잔존기간
10-1793654	말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품	2017.03.17	2037.03.17	19
10-1892659	말락시닉산을 이용한 인슐린감도개선용 약학조성물 및 건강기능성식품	2017.03.23	2037.03.23	19

평가기준일 : 2018년 12월 27일

- 대상기술은 국제특허분류 A61K(의약품, 치과용 또는 화장용 제제)에 해당하며 A61K 분야의 특허인용 수명에 의한 중앙값은 8년임

<특허인용 수명>

IPC	Title	평균	Q1	중앙값	Q3
A61K	의약품, 치과용 또는 화장용 제제	9.89	4	8	13

- 1단계에서 수행된 기술수명 영향요인 평가결과를 아래 식을 통해 기술의 경제적 수명기간을 산출함
- 기술의 경제적 수명은 기술수명 영향요인 평가결과에 따라 특허인용 수명 중간값(Q2), 즉 TCT를 기준으로 최저 0배에서 최대 2배 사이의 값을 가질 수 있음

$$\begin{aligned} \text{기술의 경제적 수명} &= \text{조정 특허인용수명} \times (1 + \text{영향요인 평점 합계}/20) \\ &= 8 \times (1+4/20) \end{aligned}$$

- 따라서, 기술의 경제적 수명 영향요인 평가를 통해 대상기술의 경제적 수명을 산출하면 9.6년이 됨

○ 3단계 : 기술의 경제적 수명 적용기간 결정

□ 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장료 조성물

- 기술의 경제적 수명 적용기간의 대상분야 기술의 경제적 수명에서 대상특허의 출원 이후의 경과년수(1년)를 빼면 기술의 경제적 수명 적용기간은 9년으로 산출됨

□ 말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품

- 기술의 경제적 수명 적용기간의 대상분야 기술의 경제적 수명에서 대상특허의 출원 이후의 경과년수(1년)를 빼면 기술의 경제적 수명 적용기간은 8.6년으로 산출됨

○ 4단계 : 기술의 경제적 유효 수명 결정

- 3단계에서 산출된 기술수명 적용기간은 기술수명 영향요인과 특허 경과년수를 고려한 기간이지만, 법적 실체인 특허로서의 기술수명은 법적 수명을 초과할 수 없으므로 이를 고려하여 최종적으로 기술의 경제적 유효수명을 결정함

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• 기술의 경제적 수명 적용기간 &lt; 법적 잔존기간 ⇒ 기술의 경제적 수명을 유효수명으로 적용</li><li>• 기술의 경제적 수명 적용기간 &gt; 법적 잔존기간 ⇒ 법적 잔존 권리기간을 유효수명으로 적용</li></ul> |
|---|

□ 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장료 조성물

- 기술의 법적 잔존 기간과 기술의 경제적 수명 적용기간 중 짧은 것을 선택하면 기술의 경제적 유효수명은 9년으로 산출됨

□ 말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품

- 기술의 법적 잔존 기간과 기술의 경제적 수명 적용기간 중 짧은 것을 선택하면 기술의 경제적 유효수명은 9(8.6)년으로 산출됨

○ 5단계 : 현금흐름 추정기간 결정

- 4단계에서 산출된 기술의 경제적 유효수명을 현금흐름 추정에 적용할 경우 대상 기술이 시장에 노출된 이후에 적용되는 수명이므로, 매출이 시현되기 전의 사업화 투자 기간을 별도로 고려하여야 함

현금흐름 추정기간 = 사업화 투자기간 + 기술의 경제적 유효수명

□ 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장료 조성물

- 본 평가대상기술의 상용화 기간은 효력평가, 비임상(단회, 반복, 생식 독성시험) 등을 거쳐 미백 화장품으로 제품화하는데 1년이 소요될 것으로 가정하였으며, 유사과제비(미백화장품 개발)를 참고하여 사업화 소요비용은 199백만 원으로 가정하였음
- 따라서, 사업화 투자기간 1년과 기술의 경제적 유효수명 9년을 합하여 기술수명 영향 요인에 의한 경제적 수명 정량화 모델에 의한 현금흐름 추정기간은 10년으로 산출됨

〈본 기술의 현금흐름 추정기간 결정〉

단계		추정 결과
1단계	기술의 수명 영향요인 평가	영향요인 점수결과 획득 값 = 5점
2단계	기술의 경제적 수명기간 산출	대상기술의 경제적 수명 = $Q2 \times (1 + (\text{영향요인 평점 합계}/20))$ = $8\text{년} \times (1 + (5/20)) = 10\text{년}$
3단계	기술의 경제적 수명 적용기간 결정	기술의 경제적 수명(10년) - 평가대상특허의 출원 이후 경과년수(1년) = 9년
4단계	기술의 경제적 유효수명 결정	기술의 경제적 수명 적용기간(9년)을 유효 수명으로 적용 = 법적 잔존기간(19년) > 기술의 경제적 수명 적용기간(9년)
5단계	현금흐름 추정기간 결정	사업화투자기간(1년) + 기술의 경제적 유효수명(9년)

□ 말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및

## 건강기능성식품

- 본 평가대상기술의 상용화 기간은 효능 및 안전성 검증, 원료 표준화 등을 거쳐 건강기능성식품으로 제품화하는데 1년이 소요될 것으로 가정하였으며, 유사 과제비(대사성 질환 건강기능성식품 개발)를 참고하여 사업화 소요비용은 90백만 원으로 가정하였음
- 따라서, 사업화 투자기간 1년과 기술의 경제적 유효수명 8.6년을 합하여 기술수명 영향요인에 의한 경제적 수명 정량화 모델에 의한 현금흐름 추정기간은 9.6년으로 산출됨

### <본 기술의 현금흐름 추정기간 결정>

단계		추정 결과
1단계	기술의 수명 영향요인 평가	영향요인 점수결과 획득 값 = 5점
2단계	기술의 경제적 수명기간 산출	대상기술의 경제적 수명 = $Q2 \times (1 + (\text{영향요인 평점 합계}/20))$ = 8년 $\times (1 + (4/20)) = 9.6$ 년
3단계	기술의 경제적 수명 적용기간 결정	기술의 경제적 수명(10년) - 평가대상특허의 출원 이후 경과년수(1년) = 8.6년
4단계	기술의 경제적 유효수명 결정	기술의 경제적 수명 적용기간(9년)을 유효 수명으로 적용 = 법적 잔존기간(19년) > 기술의 경제적 수명 적용기간(8.6년)
5단계	현금흐름 추정기간 결정	사업화투자기간(1년) + 기술의 경제적 유효수명(8.6년)

### 3) 수익창출유형

- 수익창출유형은 신규 시장 창출형, 기존 시장 침투형, 원가구조개선형으로 구분되며 본 평가대상기술은 기존 시장 침투형으로 선정함

〈수익창출유형〉

<p>1. 신규시장창출형</p> <p><input type="checkbox"/> 기존에 없던 새로운 제품이나 서비스를 창출하는 기업</p> <p>2. 기존시장침투형</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 기존에 있던 제품이나 서비스를 대체, 보완하는 기술</p> <p>3. 원가구조개선형</p> <p><input type="checkbox"/> 기존 제품이나 서비스를 생산하는 과정에서 원가구조를 개선하는 방법</p>
---

4) 시장규모 예측 및 매출 추정

말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장품 조성물

[국내 미백화장품 시장규모 및 전망]

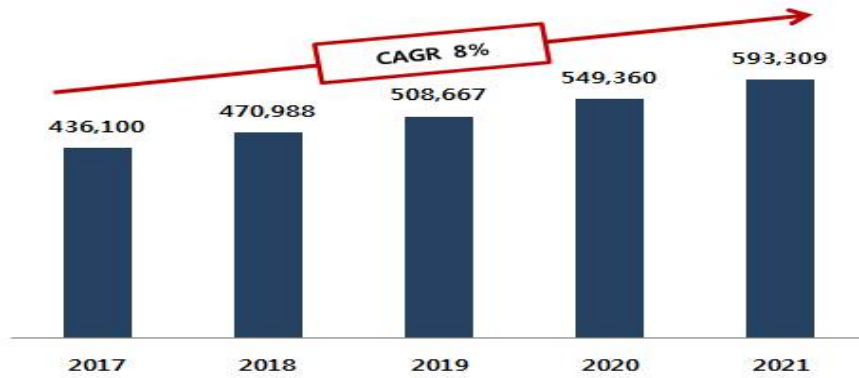
- 국내 기능성 화장품 생산 실적은 2017년 4조 8,558억 원으로 2016년 4조 4,439억 원 대비 9.3% 증가하였으며, 기능성화장품의 최근 5년간 성장률도 17.9%로 꾸준한 성장세를 나타내고 있음
- 최근 화장품 소비자의 제품 선택 요인은 과거 “브랜드 인지도”에서 “목적성·기능성”으로 옮겨지고 있는 경향을 보이고 있으며, 환경호르몬이나 유전자변형에 따른 화장품 성분에 대한 문제점이 심각하게 대두되면서 “천연성”을 선호하는 소비자 심리가 반영되어 천연물을 중심으로 한 기능성 화장품의 수요가 증가하고 있음
- 식품의약품안전처 보도자료에 의하면, 국내 미백화장품 시장은 2017년 4,361억 원 규모에서 연평균 8%로 성장하여, 2028년 1조 168억 원의 규모에 이를 것으로 전망됨

〈국내 미백화장품 시장규모 및 전망〉

	2017	2018	2019	2020	2021	CAGR
시장규모	436,100	470,988	508,667	549,360	593,309	8%

\* 2012~2017년 시장 성장률 8%를 적용하여 시장규모 산출

출처: 식품의약품안전처 보도자료, 2018



〈국내 미백화장품 시장규모 및 전망〉

출처: 식품의약품안전처 보도자료, 2018

- 현재, 미백 기능성 화장품을 개발하기 위해 다양한 기전의 기능성 원료들이 개발되고 있으며, Arbutin, Kojic acid 등의 Tyrosinase inhibition 기전의 원료가 가장 대표적이며 이 외에 vitamin C 유도체들이 국내기능성 기능성 주성분으로 고시되어 있음

#### [시장규모 예측 및 매출 추정]

- 본 평가대상기술은 피부 미백 개선 효능을 가지는 말락시닉산에 대한 기술로서, 말락시닉산이 멜라닌생성세포의 멜라닌합성을 억제하는 활성을 나타내어 미백효능이 있음을 확인하였으므로, 향후 미백 화장품으로 제품화가 가능할 것으로 기대됨
- 따라서, 가치평가를 위한 목표 시장을 미백 화장품 시장으로 설정하였으며, 국내 미백화장품 시장을 타깃으로 하여 시장규모 및 매출액을 추정함

〈국내 미백화장품 시장규모 및 매출액 예측(단위 : 백만원,%)〉

구분	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	CAGR
시장규모	508,667	549,360	593,309	640,774	692,036	747,399	807,191	871,766	941,507	8
점유율	0.1	0.8	1.8	3.2	5	7	7	6.95	6.9	-
매출액	209	4,395	10,680	20,505	34,602	52,318	56,503	60,588	64,978	-

시나리오

1) 식품의약품안전처의 보도자료(2018), 국내 미백화장품 시장 2017년 4361억 원 규모 형성, 2012~2017년 시장 성장률 8%를 적용하여 시장규모 산출

2) 시장점유율

- 국내 기능성화장품 상위 10위 기업의 평균 시장점유율은 7%임 → 본 평가대상기술을 미백 화장품으로 제품화할 시 국내 미백 화장품 시장의 최대 7%까지 점유할 수 있을 것으로 가정함

□ 말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품

[국내 대사성질환 개선 관련 건강기능식품 시장규모 및 전망]

- 2017년 국내 건강기능식품 시장규모는 3조 8천억 원으로 2016년(3조 2천억 원) 대비 17.2% 성장하였으며, 매년 성장세를 거듭하고 있는 것으로 나타남
- 국내 1가구 당 연평균 건강기능식품 구매액은 29만 6천원으로 2015년(26만 6천원) 대비 11% 이상 성장했으며, 고령화와 소득수준 향상으로 국내 시장은 꾸준한 성장세가 이어질 것으로 전망됨



〈국내 건강기능식품 시장 규모〉

〈구매 경험률 및 평균 구매액〉

출처 : 한국건강기능식품협회

- 원료별 시장구조를 살펴보면, 매년 판매 1위로 꼽히는 홍삼 외에도 당귀등혼합추출물 등 면역 기능성 원료가 주목을 받고 있으며, 이와 함께 밀크씨슬(간 건강), 체지방감소 제품 등 관련 원료 구매 금액이 상위권을 차지하는 등 신체 부위별 건강관리에 대한 관심이 높아지고 있는 것으로 나타남
- 본 평가대상기술과 관련 있는 대사성질환 개선 관련 건강기능식품으로는 체지방 감소, 콜레스테롤 개선, 혈중중성지방 개선, 혈당조절 등이 있으며, 기능성별 매출 현황을 살펴보면 다음과 같음

〈건강기능식품 기능성별 매출 현황〉

기능성	매출액(억 원, %)				2016년 매출액(억 원, %)			
	2016년		2015년		고시형		개별 인정형	
	매출액	점유율	매출액	점유율	매출액	점유율	매출액	점유율
체지방감소	917.9	1.4	1,132.4	2.3	554.9	0.9	362.9	10.3
콜레스테롤개선	823.9	1.3	765.5	1.5	709.1	1.2	114.9	3.2
혈중중성지방개선	770.0	1.2	559.1	1.1	770.0	1.3		
혈당조절	141.8	0.2	126.2	0.3	119.1	0.2	22.8	0.6

출처 : 건강기능식품 국내 시장 규모 동향 분석, 2016

[시장규모 예측 및 매출 추정]

- 본 평가대상기술은 지방 대사성질환 개선 및 인슐린감도 개선 효능을 가지는 말락시닉산에 대한 기술로서, 말락시닉산이 지방세포의 증식 및 분화 억제활성 및 고지방식이에 의해 발생하는 지방생합성을 억제함으로써 대사성 질환 개선에 효과가 있음을 확인하였으므로, 향후 대사성 질환 개선 건강기능식품으로 제품화가 가능할 것으로 기대됨
- 따라서, 가치평가를 위한 목표 시장을 대사성질환 개선 건강기능식품(체지방감소, 콜레스테롤 개선, 혈중중성지방 개선, 혈당조절)으로 설정하였으며, 국내 건강기능식품 시장을 타깃으로 하여 시장규모 및 매출액을 추정함



<국내 대사성 질환 건강기능식품 시장규모 및 매출액 예측(단위: 백만 원, %)>

구분	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	CAGR
혈당조절	22,711	26,572	31,089	36,374	42,558	49,792	58,257	68,161	79,748	17%
콜레스테롤 개선	131,957	154,390	180,636	211,344	247,272	289,309	338,491	396,035	463,360	17%
혈중중성지방 개선	123,324	144,289	168,818	197,518	231,096	270,382	316,347	370,126	433,047	17%
체지방 감소	147,012	172,004	201,245	235,456	275,484	322,316	377,110	441,219	516,226	17%
대사성질환 개선	425,004	497,255	581,788	680,692	796,410	931,799	1,090,205	1,275,540	1,492,382	17%
점유율	0.1	0.5	1.0	3.0	5.0	6.2	6.5	6.5	6.3	-
매출액	425	2,486	5,818	20,421	39,820	57,772	70,863	82,910	94,020	-

시나리오

- 1) 2016년 기준 혈당조절 건강기능식품 시장규모 141억 8,000만원 → 2017년도 건강기능식품 시장 성장률 17%를 적용하여, 혈당조절 건강기능식품 시장규모 산출
- 2) 2016년 기준 콜레스테롤 개선 건강기능식품 시장규모 823억 9,000만원 → 2017년도 건강기능식품 시장 성장률 17%를 적용하여, 혈당조절 건강기능식품 시장규모 산출
- 3) 2016년 기준 혈중중성지방 개선 건강기능식품 시장규모 770억 원 → 2017년도 건강기능식품 시장 성장률 17%를 적용하여, 혈당조절 건강기능식품 시장규모 산출
- 4) 2016년 기준 체지방 감소 건강기능식품 시장규모 917억 원 → 2017년도 건강기능식품 시장 성장률 17%를 적용하여, 혈당조절 건강기능식품 시장규모 산출
- 4) 국내 혈당조절, 콜레스테롤 개선, 혈중중성지방 개선, 체지방 감소 건강기능식품의 시장 규모를 모두 합산하여 국내 대사성질환 관련 건강기능식품 시장으로 가정
- 5) 시장점유율
  - 2016년 기준 건강기능식품 상위 10위 기업의 평균 시장점유율은 6.2%임 → 본 평가대상 기술을 대사성 질환 개선 관련 건강기능식품으로 제품화할 시, 국내 대사성질환 건강기능식품 시장의 최대 6.5%까지 점유할 수 있을 것으로 가정함

## 5) 수익구조 추정

- 본 평가보고서에서는 수요기업인 (주)서흥에서 사업화한다는 가정하에 서흥의 재무 비율을 활용하여 가치평가를 진행함

〈(주)서흥 기업 재무정보〉

(단위: 백만원, %)

기업개요			
기업명	(주)서흥	대표자명	양주환
사업자번호	130-81-00576	업종	완제 의약품 제조업
법인(주민)번호	124311-0004252		
종업원수/전화번호	758명/ 043-249-4399	설립일자/ 기업형태	1973.01.30/유가증권시장
주소(도로명)	(28161) 충북 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명로 61(연제리)		
주요 재무상태표 (단위 : 백만원)			
구분	2015	2016	2017
자산총계	390,050	405,273	415,798
부채총계	178,588	180,311	184,454
자본총계	211,462	224,963	231,344
주요 손익계산서 (단위 : 백만원)			
구분	2015	2016	2017
매출액	232,225	260,348	258,202
영업이익	24,394	24,215	18,210
당기순이익	19,968	19,383	12,602

출처: CRETOP, 2018

## 6) 할인율 추정

- 미래에 발생할 소득을 현재가치로 환산하기 위해 할인율을 적용하여 추정함. 기술이전 가능 대상 기업의 할인율을 적용하여 본 기술의 사업가치를 산정하였음
- 기술이전 대상 기업인 (주)서흥은 코스피으로 분류하여 평가하였으며 따라서 아래표의

할인율 추정결과 중 BT(group2) 코스피에 해당하는 할인율인 6.2%를 적용하였음

<업종별, 규모별 할인율 추정결과 표>

규모별	업종별	할인율	규모별	업종별	할인율
코스피	group1	0.07	비상장(중)	group1	0.111
	<b>group2</b>	<b>0.062</b>		group2	0.097
	group3	0.077		group3	0.095
	group4	0.067		group4	0.096
	group5	0.066		group5	0.097
	group6	0.076		group6	0.105
	group7	0.068		group7	0.106
코스닥	group1	0.091	비상장(소)	group1	0.131
	group2	0.078		group2	0.119
	group3	0.077		group3	0.12
	group4	0.077		group4	0.12
	group5	0.079		group5	0.119
	group6	0.082		group6	0.128
	group7	0.089		group7	0.129
비상장(대)	group1	0.101	비상장(창업)	group1	0.159
	group2	0.087		group2	0.145
	group3	0.084		group3	0.153
	group4	0.086		group4	0.151
	group5	0.088		group5	0.146
	group6	0.091		group6	0.166
	group7	0.094		group7	0.159

출처: 기술가치평가 실무지침서, 기술보증기금, 2008

<업종별 7개 Group 표>

기술군	기술 분야
IT (group1)	전기/반도체, 전자/통신, 정보매체, 컴퓨터
BT (group2)	농수산, 바이오, 식료품, 의약, 의료.레저, 생명공학, 보건의료, 환경
기계 (group3)	기계부품, 엔진/펌프, 포장, 의료정밀기기, 기반기술
소재 (group4)	고분자, 금속가공, 분리/혼합, 비금속가공, 섬유, 야금/도금, 제지, 조명/가열, 초미세기술, 측정/광학, 가정용품, 광업
화학 (group5)	무기화학/수처리, 무기/폭발, 석유/정밀화학, 원자력, 유기화학
건설, 수송 (group6)	수송.교통, 건설.토목
기타 (group7)	출판, 기타제조업, 도소매

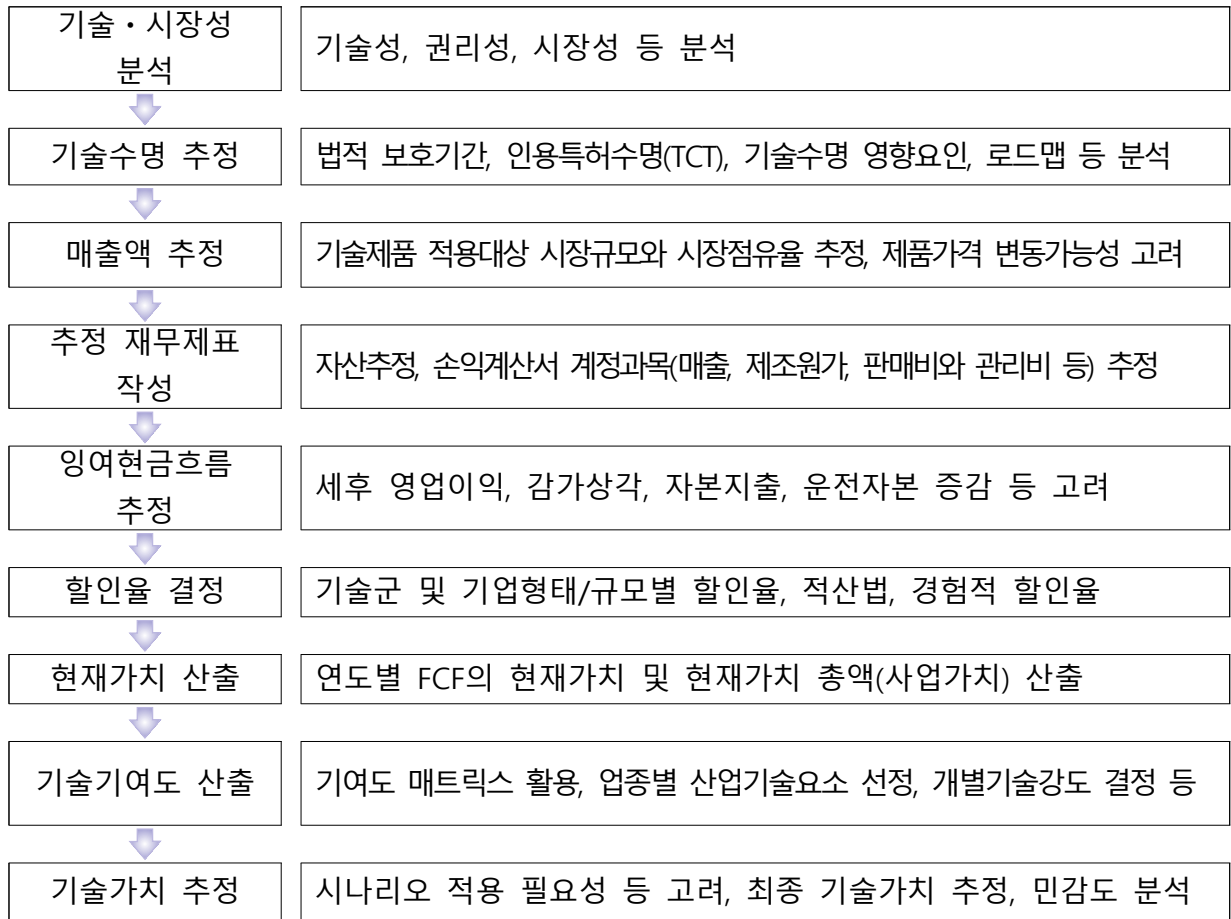
출처: 기술가치평가 실무지침서, 기술보증기금, 2008

7) 기술가치 산출

- 수익접근법은 대상기술이 미래의 경제적 이익창출능력에 초점을 두고 미래의 경제적 이익을 현재가치로 환산하는 방법으로서 대상기술에 대한 미래의 경제적 이익 추정, 예상 수익기간 추정, 소요자본 지출, 원가분석, 할인율의 추정 등이 필요함
- 현금흐름할인 방식에 의한 수익접근법을 사용하여 기술의 사업가치를 산정한 후, 기술기여도를 적용하여 최종 기술가치를 산출함

<수익접근법 가치평가 절차>

$$\text{수익접근법에 의한 기술가치} = \text{기술의 사업가치} \times \text{기술기여도}$$



□ 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장품 조성물

<재무비율 적용 추정 손익계산서(단위: 백만원)>

구분	재무비율	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027
매출액	100%	209	4,395	10,680	20,505	34,602	52,318	56,503	60,588	64,978
매출원가	83.71%	175	3,679	8,940	17,165	28,965	43,795	47,299	50,718	54,393
매출총이익	16.29%	34	716	1,740	3,340	5,637	8,523	9,204	9,870	10,585
판매관리비	7.69%	16	338	821	1,577	2,661	4,023	4,345	4,659	4,997
세전영업이익	8.6%	18	378	918	1,763	2,976	4,499	4,859	5,211	5,588
법인세 등 (세법적용)		2	61	180	366	633	968	1,047	1,124	1,207
세후 영업이익		16	317	738	1,397	2,343	3,531	3,812	4,087	4,381

〈사업가치분석(단위 : 백만원)〉

구분	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027
세후영업이익	16	317	738	1,397	2,343	3,531	3,812	4,087	4,381
자본적지출	192	3,793	5,703	8,923	12,813	16,119	3,891	3,809	4,093
감가상각비	0	8	20	39	66	99	107	115	123
운전자본증가	93	1,854	2,785	4,353	6,246	7,850	1,854	1,810	1,945
회수자본									87,748
잉여현금흐름 (FCF)	-269	-5,322	-7,730	-11,840	-16,650	-20,339	-1,826	-1,417	86,214
현가계수	0.8866	0.8349	0.7861	0.7402	0.6970	0.6563	0.6180	0.5819	0.5480
사업가치 PV(FCF)	-238	-4,443	-6,077	-8,764	-11,605	-13,348	-1,128	-825	47,245
사업가치 합계	629 백만원								

□ 말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품

〈재무비율 적용 추정 손익계산서(단위: 백만원)〉

구분	재무비율	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027
매출액	100%	425	2,486	5,818	20,421	39,820	57,772	70,863	82,910	94,020
매출원가	83.71%	356	2,081	4,870	17,094	33,334	48,361	59,320	69,404	78,704
매출총이익	16.29%	69	405	948	3,327	6,487	9,411	11,544	13,506	15,316
판매관리비	7.69%	33	191	447	1,570	3,062	4,443	5,449	6,376	7,230
세전영업이익	8.6%	37	214	500	1,756	3,425	4,968	6,094	7,130	8,086
법인세 등 (세법적용)		4	25	88	364	732	1,071	1,319	1,547	1,757
세후 영업이익		33	189	412	1,392	2,694	3,897	4,775	5,583	6,329

〈사업가치분석(단위: 백만원)〉

구분	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027
세후영업이익	33	189	412	1,392	2,694	3,897	4,775	5,583	6,329
자본적지출	326	1,869	3,024	13,244	17,618	16,343	11,973	11,051	10,225
감가상각비	1	5	11	39	76	110	135	158	179
운전자본증가	188	913	1,477	6,470	8,595	7,955	5,800	5,338	4,922
회수자본									126,707
잉여현금흐름 (FCF)	-480	-2,588	-4,078	-18,283	-23,444	-20,291	-12,863	-10,648	118,068
현가계수	0.8866	0.8349	0.7861	0.7402	0.6970	0.6533	0.6180	0.5819	0.5480
사업가치 PV(FCF)	-426	-2,161	-3,206	-13,533	-16,340	-13,317	-7,949	-6,196	64,701
사업가치 합계	1,489백만원								

## 8) 기술기여도 결정

- 기술기여도 측정은 산업특성을 파악하는 산업기술요소 도출과 개별기술의 특성을 파악하는 개별 기술강도를 도출하는 과정으로 구성되며, 다음 산식으로 얻어짐

$$\text{기술가치} = \text{기술의 사업가치(Business Value)} \times \text{기술요소(Technology Factor, \%)}$$

$$\text{기술요소} = \text{산업기술요소(Industry Factor, \%)} \times \text{개별기술강도(Technology Rating)}$$

- 산업기술요소 = 최대실현 무형자산가치비율 × 평균기술자산비율
- 무형자산가치 = 기업시장가치(시가총액) - 순 자산가치(자기자본+부채의 장부가)
- 무형자산 가치비율 = 무형자산가치 / 기업시장가치(시가총액)
- 기업가치 = 기업시장가치(시가총액) + 부채가치
- 평균기술자산비율 = 연구개발비 / (연구개발비+광고선전비+교육훈련비)

### □ 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장품 조성물

- KISTI에서 제공하는 KISTI 기술기여도 측정 방법을 통해 기술혁신단계는 선도기술로 분류할 수 있고, 산업분류코드(C20; 화학물질 및 화학제품 제조업; 의약품제외)는 높음으로 평가되었으며, 기술기여도는 29~33% 으로 산출하였음

#### <기술혁신단계 분류>

##### 1. 잠재적 경제력

- 신생기술로 시장에서의 경쟁력 확보의 잠재력이 아직 입증되지 않았다.
- 시장에서의 경쟁력 확보의 잠재력이 이미 입증된 기술이다.

$$\text{기술기여도} = \text{기술혁신단계 분류, 산업특성}$$



기술혁신단계 분류	선도기술
산업특성	높음
최종 기술기여도(%)	29~33%

□ 말락시너산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품

- KISTI에서 제공하는 KISTI 기술기여도 측정 방법을 통해 기술혁신단계는 선도기술로 분류할 수 있고, 산업분류코드(C10; 식료품 제조업)는 낮음으로 평가되었으며, 기술 기여도는 25~29% 으로 산출하였음

<기술혁신단계 분류>

1. 잠재적 경쟁력

- 신생기술로 시장에서의 경쟁력 확보의 잠재력이 아직 입증되지 않았다.  
 시장에서의 경쟁력 확보의 잠재력이 이미 입증된 기술이다.

기술기여도 = 기술혁신단계 분류, 산업특성

기술혁신단계 분류	선도기술
산업특성	낮음
최종 기술기여도(%)	25~29%

9) 기술가치 산출결과

- 수익접근법에 의해 추정된 기술가치는 다음과 같음

□ 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학 조성물 및 화장품 조성물

- 사업가치(629 백만원)에 대하여 기술기여도 29% ~ 33%를 고려하여 최종적으로 산출될 수 있음. 그 결과는 다음과 같이 182 ~ 208 백만원(약 1억 8,200만원 ~ 2억 800만원)으로 추정되고 있음

〈수익접근법에 의한 기술가치 산출결과(단위: 백만원)〉

구분	국내 미백 화장품 시장	
기술가치 (=사업가치 × 기술기여도)	시나리오 최대 점유율 7%	182 ~ 208 백만원

□ 말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 및 인슐린 감도 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품

- 사업가치(1,489 백만원)에 대하여 기술기여도 25% ~ 29%를 고려하여 최종적으로 산출될 수 있음. 그 결과는 다음과 같이 372 ~ 432 백만원(약 3억 7,200만원 ~ 4억 3,200만원)으로 추정되고 있음

〈수익접근법에 의한 기술가치 산출결과(단위: 백만원)〉

구분	국내 미백 화장품 시장	
기술가치 (=사업가치 × 기술기여도)	시나리오 최대 점유율 6.5%	372 ~ 432 백만원

## 연구 성과 및 실적 목록

No	구분	제목	비고
1	논문	Flavonoid의 흡수·대사: Catechin을 중심으로	학진 등재지
2	논문	Enhancement of antioxidative and antimicrobial activities of immature pear ( <i>Pyrus pyrifolia</i> cv. Niitaka) fruits by fermentation with <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	FSB (IF 0.79)
3	논문	Metabolism and antioxidant effect of malaxinic acid and its corresponding aglycone in rat blood plasma	FRBM (IF 6.02)
4	논문	Isolation of five proanthocyanidins from pear ( <i>Pyrus pyrifolia</i> Nakai) fruit peels	FSB (IF 0.79)
5	논문	Phenolics and eudesmanolide from aged common sage exudate with sugar	FSB (IF 0.79)
6	논문	3-Decylcatechol induces autophagy-mediated cell death through the IRE1 $\alpha$ /JNK/p62 in hepatocellular carcinoma cells	Oncotarget (IF 5.17)
7	논문	Glu-Phe from onion ( <i>Allium Cepa</i> L.) attenuates lipogenesis in hepatocytes	BBB (IF 1.26)
8	논문	Protocatechuic Acid from Pear Inhibits Melanogenesis in Melanoma Cells	Mole. Science (IF 3.69)
9	특허	항산화활성을 갖는 신규화합물, 상기 화합물을 포함하는 류코노스톡 메센테로이데스 배양액 및 상기 화합물 또는 배양액을 포함하는 항산화제 조성물	대한민국
10	특허	항산화 화합물의 상대적인 라디칼소거속도 평가방법 및 상기 방법으로 평가된 화합물들의 라이브러리	대한민국
11	특허	말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학조성물 및 화장료조성물	대한민국
12	특허	말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품	대한민국
13	특허	말락시닉산을 이용한 인슐린감도개선용 약학조성물 및 건강기능성식품	대한민국
14	특허	천연색소를 이용한 동결건조 배침의 제조방법	대한민국
15	서적	몸에 좋은 우리 배 하루 한입 (총 3 건) - 배 함유 유용성분 및 기능성 (제 1세부) - 배 및 배 부산물의 가공품 (제 1세부) - 배의 비만, 당뇨 등 대사증후군 개선 건강식품 소재화(제 2세부)	보고서의 정량적 목표 달성도에는 미포함
16	학술발표	본 연구과제의 학술적 성과를 발표	총 15건
17	홍보자료	본 연구과제의 성과를 홍보	총 98건

18	기술 이전	1. 말락시닉산을 이용한 지방대사성 질환 개선용 약학조성물 및 건강기능성식품(특허번호: 10-1793654, 등록일: 2017. 10. 30.) 2. 배 미성숙과 함유 말락시닉산 정제방법 및 상기 정제방법으로 정제된 배 미성숙과 함유 말락시닉산 (특허등록번호: 10-1451166, 등록일: 2014. 10. 08.) 3. 말락시닉산을 이용한 피부미백개선용 약학조성물 및 화장료 조성물(특허등록번호: 10-1793652, 등록일: 2017. 10. 30.)	총 3건
19	정책 건의	건의 기관: 나주시청 먹거리계획과 (최춘옥 과장) 건의 내용: 배 부산물의 활용을 통한 농가소득 창출 방안 (비상품과, 낙과, 미성숙과, 착즙박, 전정가지)	총 1건
20	MOU 체결	대상: 나주배원예협동조합 내용: 나주시의 배 관련 재배, 생산, 유통, 수출 및 가공산업에 관한 업무협정	2018. 12. 04.
21	MOU 체결	대상: 나주시 천연색소산업화지원센터 내용: 나주배 및 그 부산물의 재배, 생산, 유통, 수출 및 가공산업을 위한 업무협정	2018. 11. 20.
22	강연	농촌진흥청 배연구소 개소 기념 학술 심포지엄 - 배 부산물의 유용성 발굴 및 무가가치 향상 -	2018. 04. 12.
23	강연	배 건강기능성 발굴을 통한 산업 경쟁력 확보 전략 심포지엄 - 배 함유 유용 성분 및 기능성 -	2018. 09. 08.
24	강연	한국원예학회 학술대회 강연 제목: 배 기능성 소재개발 및 활용	2017. 05. 26.