

# 매실 및 매실가공 제품의 아미그달린 함량분석과 저감화 공정 기술 개발 최종보고서

2019.04.

주관연구기관 / 슬로푸드(주)농업회사법인  
협동연구기관 / 경기대학교 산학협력단  
서울여자대학교 산학협력단  
힐링숨농장영농조합법인

농림축산식품부  
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “매실 및 매실가공 제품의 아미그달린 함량분석과 저감화 공정 기술 개발”(개발기간 : 2017.04.21. ~ 2018.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 4. .

주관연구기관명 : 슬로푸드(주)농업회사법인 (대표자) 이 강 삼 (인)

협동연구기관명 : 경기대학교 산학협력단 (대표자) 이 준 성 (인)

협동연구기관명 : 서울여자대학교 산학협력단 (대표자) 허 중 호 (인)

협동연구기관명 : 힐링숨농장영농조합법인 (대표자) 손 병 희 (인)

주관연구책임자 : 이 강 삼

협동연구책임자 : 김 현 석

협동연구책임자 : 최 수 진

협동연구책임자 : 손 병 희

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

## 보고서 요약서

과제고유번호	317002-2	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.04.21. - 2018.12.31.	단 계 구 분	(총 단 계 )
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농생명산업기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세 부 과 제 명	매실 및 매실가공 제품의 아미그달린 함량분석과 저감화 공정 기술 개발			
연구책임자	김태은	해당단계 참여연구원 수	총: 21명 내부: 8명 외부: 13명	해당단계 연구개발비	정부: 300,000천원 민간: 75,000천원 계: 375,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 38명 내부: 15명 외부: 23명	총 연구개발비	정부: 525,000천원 민간: 132,500천원 계: 657,500천원
연구기관명 및 소속부서명	경기대학교 산학협력단(식품생물공학과), 서울여자대학교 산학협력단(식품공학전공), 힐링습농장영농조합법인			참여기업명 슬로푸드(주)농업회사법인 힐링습농장영농조합법인	
국제공동연구	상대국명: (해당 없음)			상대국 연구기관명: (해당 없음)	
위탁연구	연구기관명: (해당 없음)			연구책임자: (해당 없음)	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의 4에 따라 일반과제로 분류
-------------------------	---

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

보고서 면수

## 요 약 문

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>&lt;연구의 목적&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 매실의 품종별·숙기별 및 매실제품의 제조공정별 아미그달린 함량에 대한 현황 분석</li> <li>▪ 매실가공제품의 가공공정에 따른 저감화 공정 및 기술개발</li> <li>▪ 최종 매실제품의 안전성 검증을 바탕으로 한 저감화 공정 및 기술 제시</li> </ul> <p>&lt;연구내용&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 매실 및 매실가공제품에 대한 국내외 시장조사</li> <li>▪ 매실 대표 품종(2-3종)의 숙기별, 부위별, 개화시기별 아미그달린 등 성분 함량 분석 - 분석항목: 아미그달린, 일반성분, 유기산, 무기질, 비타민 등</li> <li>▪ 매실가공제품(매실청, 매실주 등)의 용도별, 제조공정별, 숙성기간별 아미그달린 함량 분석 - 제조공정별 및 저장기간에 따른 함량 분석</li> <li>▪ 매실 및 매실가공제품의 아미그달린 저감화 방법 모색 및 저감 공정 기술개발 - 최적 저감화 제조 공정 개발 및 저감화 신기술개발</li> <li>▪ 아미그달린 저감화 제품의 안전성 평가기술 개발(세포수준/동물모델 적용) 및 독성 안전성 자료 확보 - 일반가공제품 vs 저감화 가공제품 비교 분석</li> <li>▪ 아미그달린 저감화 기술을 통한 매실가공제품 생산 및 최적 가공공정 제시 - 최적 저감화 기술 및 가공공정 프로토콜 확보</li> </ul>
<p>연구개발성과</p>	<p>&lt;연구개발결과&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 매실/매실가공품의 국내외 시장현황 조사 완료</li> <li>▪ 매실의 아미그달린 추출은 50% 에탄올을 추출용매로 하여 시료와 용매를 1:10의 비율로 혼합하여 4시간 이상 동안 상온에서 교반하는 것임.</li> <li>▪ 아미그달린은 매실의 과육보다 씨에 다량 함유되어 있었으며, 청매실로부터 숙성된 황매실의 아미그달린 함량이 유의적으로 낮음.</li> <li>▪ 매실이 매화나무에 맺힌 후 아미그달린은 급격히 증가하여 5월 하순까지 성숙하는 동안 지속적으로 증가한 후 수확철인 6월경부터는 아미그달린이 감소하였음. 매실 5 품종에서 공통적으로 관찰되었음.</li> <li>▪ 매실 5품종의 과육에 대한 아미그달린 함량, 일반성분, 식이섬유, 유기산, 비타민, 무기질, 폴리페놀, 유리당 함량들을 정량하였음.</li> <li>▪ 매실청 제조 시 아미그달린이 당침 2개월까지 급격히 증가하며 당침 3개월에 소폭감소하고, 액분리 후 숙성하는 동안 아미그달린이 지속적으로 감소됨을 확인하였음.</li> <li>▪ 5품종의 매실을 이용하여 매실청을 제조하며 제조공정별/숙성기간별 아미그달린 함량의 변화를 추적조사하였음.</li> <li>▪ 5품종 매실을 이용하여 제조된 매실청의 아미그달린 함량, 일반성분, 식이섬유, 유기산, 비타민, 무기질, 폴리페놀, 유리당 함량들과 색 특성 등을 분석하였음.</li> <li>▪ 장기간(1-3년) 숙성된 매실청들의 아미그달린 함량, 일반성분, 식이섬유, 유기산, 비타민, 무기질, 폴리페놀, 유리당 함량들과 색 특성 등을 분석하였음.</li> <li>▪ 매실 침출주와 매실와인의 제조공정에 따른 아미그달린 함량을 추적조사하였으며, 매실주들의 숙성기간 동안 아미그달린이 감소하는 현상을 확인하였음.</li> <li>▪ 매실 염절임(우메보시)와 매실 초절임(매실초)의 제조공정별/숙성기간별 아미그달린 함량을 추적조사하였음.</li> <li>▪ 매실청과 침수형 자외선 조사처리한 매실청을 이용하여 매실고추장을 제조하고 이들의 아미그달린 함량과 품질 특성을 조사하였음. 고추장 제조 시 매실청을 이용하는 것은 고추장의 일부 품질을 저하시켰음.</li> <li>▪ 기 생산 2종 및 아미그달린 저감화 매실가공제품(매실청) 2종에 대한 독성 평가기술 개발 및 독성자료 확보하였는데, 아미그달린의 독성이 체내 분해되면서 대사체 형성에 기인함을 확인하였고, 매실청에서는 대사체 형성이 저해되어 독성을 감소시킬 수 있는 것으로 나타남.</li> </ul>

<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 기 생산 2종 및 아미그달린 저감화 매실가공제품(매실청) 2종에 대한 독성 평가기술 개발 및 독성자료 확보하였는데, 아미그달린의 독성이 체내 분해되면서 대사체 형성에 기인함을 확인하였고, 매실청에서는 대사체 형성이 저해되어 독성을 감소시킬 수 있는 것으로 나타남.</li> <li>▪ 기 생산 2종 및 아미그달린 저감화 매실가공제품(매실청) 2종에 대한 체내 흡수율 평가기술 개발 및 흡수율 자료 확보하였는데, 매실과 함께 숙성, 매실 제거 후 숙성한 기 생산 매실청의 경우 체내 흡수량이 극히 낮으며 특히 매실과 함께 숙성한 매실청의 흡수율이 감소되었고, 플라즈마 및 UVC 처리에 의한 저감화 매실청의 체내 흡수율이 약 70% 감소하여 체내 저감화 효과를 확인함.</li> <li>▪ 기 생산 2종 및 아미그달린 저감화 매실가공제품(매실청) 2종에 대한 동물모델에서 경구독성 평가기술 개발 및 독성자료를 확보하여, 매실과 함께 숙성, 매실 제거 후 숙성한 기 생산 매실청이 경구독성이 없으며 플라즈마 및 UVC 처리에 의한 저감화 매실청의 경구독성이 없음을 확인함.</li> <li>▪ 기 생산 매실청과 아미그달린 저감화 매실청의 안전성 비교 분석 자료를 확보함.</li> <li>▪ 매실청 생산 시 살균(열처리)는 아미그달린 저감 효과가 없음을 확인함.</li> <li>▪ 습식플라즈마 처리를 적용 시 입력전압 80 V에서 플라즈마를 형성시켜 플라즈마 에너지 320 W로 유지하면서 60분간 플라즈마 처리할 때, 매실청의 아미그달린 감소율 27% 달성함.</li> <li>▪ 습식플라즈마 처리는 매실주와 같이 휘발성 성분(알코올)이 많은 제품에는 적절치 않음</li> <li>▪ 건식 UV-C 자외선조사 처리는 매실청, 매실 침출주와 매실와인의 아미그달린을 저감할 수 없었음.</li> <li>▪ 침수형 UV-C 자외선조사 처리는 매실청, 매실 침출주와 매실와인의 아미그달린을 33-60% 저감시킬 수 있었음.</li> <li>▪ 매실청 및 매실 침출주의 폴리페놀성 화합물의 농도 증가는 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 아미그달린 저감 효과를 낮추었음.</li> <li>▪ 매실청과 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속시 자외선조사 처리 공정 및 장치를 개발하였음.</li> <li>▪ 유기농매실액, 매실초고추장, 매실발효차를 개발하여 제품화하였음.</li> </ul> <p>&lt;연구개발성과&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 특허출원(국내) : 2건 / 기술이전 : 1건(기술료 : 5,000천원[VAT 별도])</li> <li>▪ 제품화 : 3건(매실발효차, 매실초고추장, 유기농매실액/국내매출 : 11,315,000원)</li> <li>▪ SCI논문 : 1편(IF 3.412) / 비SCI 논문 : 3편 / 학술발표 : 13건</li> <li>▪ 고용창출 : 3명</li> <li>▪ 전문인력양성 : 3명</li> <li>▪ 기타 : 1건</li> </ul>
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 본 연구개발로부터 얻은 결과들은 추가적인 특허출원/등록, 논문발표 및 기술이전의 근거로 활용</li> <li>▪ 본 연구개발을 통해 전통적인 제조방법에 의한 매실청 및 매실주의 아미그달린 부재의 검증으로 소비자의 클레임과 악의적 보도에 대한 대응근거로 활용</li> <li>▪ 전통적인 제조방법이 아미그달린의 저감 및 제거에 효과적인 방법임이 증명으로 기존의 매실청 및 매실주 제조·판매업체들의 마케팅 전략으로 활용</li> <li>▪ 개발된 아미그달린 저감화 공정들은 매실과 같이 독성성분을 함유한 핵과류 가공업체들에 제공하여 독성성분 저감 제품 생산에 활용</li> <li>▪ 본 연구과제에서 도출된 세포 및 동물수준 안전성 평가기술을 다양한 농산물 및 식품 유해성분의 안전성 평가 기술로 활용</li> <li>▪ 매실가공제품에 대한 과학적이고 종합적인 안전성 자료를 확보하여 소비자의 막연한 불안감을 해소하는데 기여</li> <li>▪ 본 연구개발에서 개발된 아미그달린 저감 기술은 연속공정에 의해 대량생산이 가능하며, 초기 장치설비비와 운전비용이 저렴하며, 아미그달린 저감 효과가 클 것으로 예상되어 국내·외 관련 산업에서 기술적 우위의 점유가 기대</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 안전성이 확보된 매실가공제품을 생산함으로써 매실 산업의 활성화 및 세계화에 기여하며, 이로 인해 매실 생산 및 가공산업의 활성화로 청년고용창출이 가능할 수 있으며, 지역경제 활성화에도 기여</li> <li>▪ 본 연구개발로부터 개발된 아미그달린 저감 매실가공품들은 최근 건강증진/유지 가공식품 트렌드에 부합하여 국민건강 및 보건의 증진에 기여</li> </ul>				
국문핵심어 (5개 이내)	매실 및 매실가공품	아미그달린	in vitro 및 in vivo 독성평가	활성화학종 조사 기술	아미그달린 저감 및 분해
영문핵심어 (5개 이내)	Maesil (Prunus mume) & maesil-based food product	Amygdalin	in vitro & in vivo toxicity evaluation	Irradiation by active chemical species	Amygdalin reducing & degrading

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

## < 목 차 >

제1장. 연구개발과제의 개요 .....	1
제2장. 연구수행 내용 및 결과 .....	8
제3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	161
제4장. 연구결과의 활용 계획 등 .....	165
붙임. 참고문헌 .....	167
<별첨 1> 연구개발보고서 초록	
<별첨 2> 자체평가의견서	
<별첨 3> 연구성과 활용계획서	



# 제1장. 연구개발과제의 개요

## 제1절. 연구개발 목적

- 매실의 품종별·숙기별 및 매실제품의 제조공정별 아미그달린 함량에 대한 현황 분석
- 매실가공제품의 가공공정에 따른 저감화 공정 및 기술개발
- 최종 매실제품의 안전성 검증을 바탕으로 한 저감화 공정 및 기술 제시

## 제2절. 연구개발의 필요성

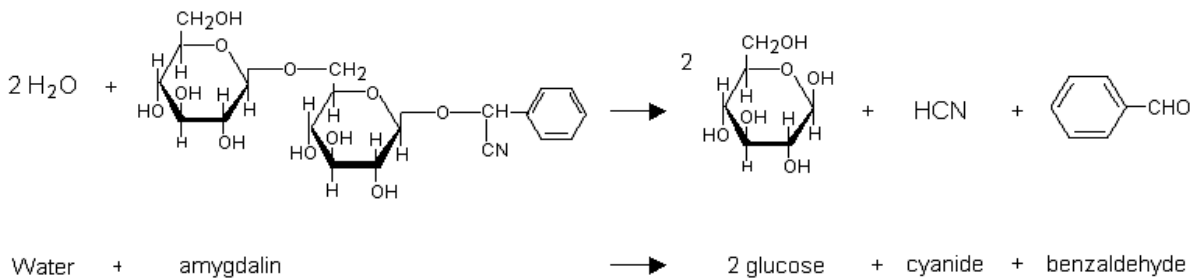
### 1. 매실 및 매실가공품의 개요

- 매실(*Prunus mume*)은 장미과에 속하는 매화나무의 열매로, 원산지는 중국의 사천성과 호북성의 산간지이며 아시아대륙의 동남부 즉, 한국, 중국, 일본 및 대만의 온난한 기후 지역에 분포하고 재배되고 있다(Kang, 1990; Lim과 Eun, 2012).
- 매실은 오래 전부터 건강 기능성으로 인해 차로 음용되거나, 술, 음료, 절임, 잼, 농축액(청), 식초 등 각종 식품으로 이용되고 있다. 매실은 동의보감 및 본초강목 등 각종 한의서에서 만성기침, 열기, 목마름, 설사, 혈변, 혈뇨, 구충, 해열, 발한 등에 약리 작용이 있는 것으로 기록되어 있다(Hwang 등, 2004; Lee 등, 2007).
- 최근 건강 기능성에 대한 관심이 증가함에 따라 매실의 생리활성에 대한 연구가 진행되어 항균성, 항암성, 항산화성, 항혈전, 피로회복, 간기능 개선, 위장장애 억제 효과 등이 보고된 바 있는데(Kim 등, 1997; Chuda 등, 1999; Hwang, 2005; Otsuka 등, 2005; Choi 등, 2007; Piirainen 등, 2007), 이러한 생리활성은 다량의 유기산 및 항산화 물질을 함유하고 있기 때문으로 보인다(Shim 등, 2002; Lee 등, 2004).
- 매실에는 구연산(citric acid), 사과산(malic acid), 수산(oxalic acid), 타타르산(tartaric acid), 호박산(succinic acid) 등 다양한 유기산이 다량 함유되어 있고, 항산화 물질의 주된 성분은 루틴(rutin)으로 알려져 있다(Kim 등, 1996; Han 등, 2001).
- 그러나 최근 매실에 함유된 사이안글리코사이드(cyanogenic glycoside), 특히 아미그달린(amygdalin,  $C_{20}H_{27}NO_{11}$ )에 대한 독성 논란으로 소비자들의 불안감 및 혼란을 초래하여 성장하던 매실산업이 침체기에 이르게 되었다.
- 특히 매실추출제품은 6월 중순~7월 초순에 과육이 단단하고 파란, 익지 않은 청매실 상태에서 수확하여 가공하게 되는데, 청매실에 아미그달린이 가장 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Kim 등, 2010).

- 아미그달린은 매실 이외에 체리, 복숭아, 살구, 사과, 배와 같은 과일의 씨와 쓴 아몬드에서도 발견된다(Tatsuma 등, 1998).
- 매실은 식품의 원재료 중 이용비율이 매우 낮은 품목이지만 국내 원료 비중이 90% 이상인 22종 하나의 품목으로 독성 안전성 검증을 바탕으로 식품 원료로의 소비량을 증진시킬 필요성이 있다.

## 2. 아미그달린(amygdalin)에 의한 독성 유발

- 아미그달린은 경구 섭취 시 소장내 존재하는 베타글루코시드가수분해효소( $\beta$ -glucosidase)에 의해 가수분해 되어 프루나신(prunasin)과 만델로나이트릴(mandelonitrile)로 분해되고, 만델로나이트릴은 다시 분해되어 벤즈알데하이드(benzaldehyde)와 사이안화수소(HCN)를 생성하는 것으로 알려져 있다(Hughes 등, 2003; Newmark 등, 1981; Poulton과 Li, 1994; Shim과 Kwon, 2010) (그림 1).



[그림 1] 아미그달린의 가수분해 패턴(IPCS, International Programme for Chemical Safety (국제화학물질안전계획))

- 최종 분해산물인 사이안화수소는 무색의 휘발성 액체로 특유의 냄새가 있으며, 사이안화수소의 수용액을 사이안화수소산 또는 청산이라고 한다.
- 사이안화수소는 미토콘드리아 세포호흡에 관여하는 단백질의 일종인 사이토크롬 산화효소(cytochrome oxidase)의 헴(heme) 부분의 철(iron)과 결합하여 산소 이용이 저해되고, 궁극적으로 산화 대사가 정지되어 무산소 상태에 이르게 하는 맹독성 물질이다(Antonini 등, 1971; Cooper와 Brown, 2008; Shragg 등, 1982).
- 따라서 다량 섭취 시 마비, 혼수, 호흡마비에 의한 사망에 이를 수 있고, 장기간 섭취 시 현기증, 구토, 호흡곤란, 경련 등의 증상을 유발하며, 피부로도 쉽게 흡수되어 중독을 일으킨다(Akyildiz 등, 2010; Egekeze와 Oehme, 1980; Sanchez-Verlaan 등, 2011).
- 한편 사이안화수소는 휘발성이 크고, 끓는점이 26°C로 낮아 가공과정에서 쉽게 제거되며, 저장기간이 증가함에 따라 대부분 공기 중으로 휘산되는 것으로 알려져 있다(Feng 등, 2003).

○ 그럼에도 불구하고 매실추출제품에 함유되어 있는 아미그달린의 잠재적 독성 영향으로 인한 소비자의 불안감은 완전히 해소되지 않고 있는 실정이다.

### 3. 아미그달린 독성에 관한 사례 및 연구 현황

○ 국외(미국)에서는 40대 여성이 살구 섭취 뒤 20분 만에 호흡곤란의 증세를 보인 뒤 혼수상태 및 저체온 증세를 보인 최초의 독성 사례가 보고된 바 있으며, 이는 살구 안에 포함된 아미그달린에 의한 시안화수소 중독에 의한 것으로 여겨진다(Suchard et al., 1998).

○ 국내에서도 덜 익은 청매실(꽃매실) 속에 함유된 아미그달린이 체내 흡수 시 독성을 일으킬 수 있다는 의견이 제기되면서 이에 대한 충분한 연구의 필요성이 제시되고 있다(그림 2).

#### 청매실 독성있다...매실청은 황매로

국제신문 디지털뉴스부 inews@kookje.co.kr | 입력 : 2016-06-10 00:53:09

트위터 페이스북



[그림 2] 매실의 독성과 관련된 뉴스기사 (국제신문, 2016.06.10)

In vitro 연구		
<저자>	<논문명>	<년도>
Koeffler 등	Amygdalin (Laetrile): effect on clonogenic cells from human myeloid leukemia cell lines and normal human marrow.	1980
Park 등	Amygdalin inhibits genes related to cell cycle in SNU-C4 human colon cancer cells.	2005
Zhou 등	Enhancement of amygdalin activated with $\beta$ -D-glucosidase on HepG2 cells proliferation and apoptosis.	2012
Chen 등	Amygdalin induces apoptosis in human cervical cancer cell line HeLa cells.	2013

In vivo 연구		
<저자>	<논문명>	<년도>
Khandekar 등	Studies of Amygdalin (Laetrile) Toxicity in Rodents.	1979
Newton 등	Amygdalin toxicity studies in rats predict chronic cyanide poisoning in humans	1981
Rauws 등	The pharmacokinetics of amygdalin.	1982

[그림 3] 세포수준 및 동물모델에서의 아미그달린 독성연구 현황

- 세포수준 및 동물모델에서 아미그달린의 독성 연구가 아래와 같이 확인되었다(그림 3). 세포수준에서는 아미그달린에 의한 세포성장저해 및 세포자살(apoptosis) 유발 등의 연구결과를 통하여 세포독성을 확인하였으며, 동물모델에서는 경구 또는 비경구투여를 통하여 아미그달린에 의한 치사율 확인 및 약물동태학(pharmacokinetics)적 시험법을 활용한 연구 내용이 확인되었다.

#### 4. 아미그달린의 독성 및 저감에 대한 국내·외 기술 현황

- 핵과류의 독성성분인 아미그달린(amygdalin)의 독성에 대한 분석기술 및 평가방법에 대한 연구들과 아미그달린을 저감 또는 분해하는 저감기술에 대한 연구들은 국내·외 연구진들에 의해 많은 연구가 수행되지 않고 있으며, 이들의 상업화된 사례는 찾아보기 어려운 상황이다.
- 핵과류의 씨로부터 아미그달린을 추출·정제하여 항암제(표적항암제), 천연진통제 등과 같은 약제를 개발하기 위해 약리적 특성과 생리활성 특성을 조사하는 많은 연구들이 수행되고 있으나, 핵과류의 농산물 및 가공식품 측면에서 이들의 안전성 평가 및 향상·개선에 대한 연구는 극히 소수가 존재한다.
- 본 연구개발의 목표와 연구내용과 관련된 국내·외 연구논문과 특허들에 대해 다음의 [표 1]에 제시하였다. [표 1]에 제시된 논문과 특허를 볼 때 국내·외적으로 핵과류의 아미그달린에 대한 독성·안전성 및 저감에 대한 기술수준이 도입기에 있는 것으로 판단된다.
- 아미그달린과 시안화수소산에 대한 분석방법은 정립되어 있으며, 아미그달린의 생체 내에서 독성에 대한 연구가 일부 수행되었으나, 세포수준에서 수행되었거나, 동물모델에서 아미그달린 자체의 pharmacokinetics 시험법을 활용하여 연구가 수행되었다.
- 아미그달린(시안배당체, 시안화합물 포함) 저감에 대한 기존 연구와 특허가 존재하나, 매실 가공품에 관련된 것은 매실주에 대한 것만 존재할 뿐이며, 기존 연구에서 제시한 저감 기술들은 분말상 원료를 이용하였기 때문에 매실청과 매실주와 같이 액상 원료에서 저감 기술을 개발할 필요가 있다.

[표 1] 본 연구개발과 관련된 연구논문과 특허

구분	아미그달린 관련기술	논문명/특허명	게재학회지, 등록(출원)권자
연구논문	분석방법	매실추출제품의 시안화합물 분석법에 관한 연구	한국식품과학회지
	독성평가	Amygdalin inhibits the growth of renal cell carcinoma cells in vitro	Int. J. Mol. Med.
	독성평가	The pharmacokinetics of amygdalin	Arch. Toxicol.
	저감기술	가열조리방법을 통한 행인 내 시안화합물의 저감화	한국식품위생안전성학회지
	저감기술	Catalytic degradation of amygdalin by extracellular enzymes from <i>Aspergillus niger</i>	Proc. Biochem.
	저감기술	Screening for Bacillus subtilis group isolated that degrade cyanogens at pH 4.5-5.0.	Int. J. Food Microbiol.
	저감기술	Characterization of amygdalin-degrading <i>Lactobacillus</i> species	J. Appl. Microbiol.
	저감기술	The effects of grinding, soaking and cooking on the degradation of amygdalin of bitter apricot seeds	Food Chem.
	저감기술	Degradation of cyanogenic glycosides of bitter apricot seeds ( <i>Prunus armeniaca</i> ) by endogenous and added enzymes as affected by heat treatments and particle size	Food Chem.
특 허	추출/분석방법	도인 또는 행인으로부터 아미그달린을 효과적으로 얻는 추출방법 및 HPLC를 이용한 분리방법	(주)한약마을
	저감기술	살구씨에 포함된 아미그달린 제거방법	조아미네탈(주)
	저감기술	시안화합물이 저감된 핵과류 과실주의 제조방법	보해양조주식회사
	저감기술	시안화합물 저감 또는 제거방법	한국원자력연구원

### 5. 국내 매실 산업에 적합한 아미그달린 함량 분석, 독성 연구 및 저감화 기술개발의 필요성

- 경구로 투여된 아미그달린이 비 경구적 투여에 의한 아미그달린보다 시안화수소로의 분해가 더욱 높다는 연구결과가 있어, 다른 투여 경로보다 경구로 섭취되는 식품 중의 아미그달린의 독성연구의 중요성이 제기된다(Ames et al., 1978; Ames et al., 1981).
- 특히 아미그달린이 포함된 식품 중 국내에서 많이 소비되는 과실의 하나인 매실에 포함된 아미그달린의 독성작용에 대한 연구의 필요성이 대두되고 있다. 또한 아미그달린은 섭취과정까지 식품에 잔류하여, 체내에서 분해되면서 독성작용을 일으키게 되므로 식품 내 존재하는 아미그달린의 함량 자체가 주요한 독성지표가 될 수 있기 때문에 이를 저감화할 수 있는 기술개발 역시 필요할 것으로 여겨진다.

- 매실에서 아미그달린 함량 저감화를 위한 연구가 일부 시도된 바 있으나, 이는 주로 열처리, 효소처리, 미생물 등을 이용한 아미그달린 분해 균주 등을 이용한 방법으로 실질적인 매실가공품의 가공공정상 적용이 어려움 한계점이 있다.
- 자외선, 플라즈마 기술 등 물리적 처리기법에 의한 아미그달린 저감화 연구는 수행된 바가 없으며, 물리적 기술 적용에 의해 매실가공품의 제조공정상 처리가 용이하며, 이로 인한 품질이나 기호적 특성에 미치는 영향이 상대적으로 미비하다.
- 에틸카바메이트(ethyl carbamate)는 식품 및 음료 중에 존재하는 시안화수소, 요소 및 알코올(ethanol)과 같은 전구체에 의하여 식품가공 및 저장하는 과정 중 생성될 수 있다고 알려진 물질이다. 특히 매실을 함유하거나 매실로부터 제조된 주류 또는 알코올 침출농축액은 아미그달린을 함유하고 있고 이는 에탄올과 반응 시, 에틸카바메이트를 생성할 수 있다.
- 2007년 유럽식품안전청 (EFSA, European Food Safety Authority)에서 발표한 보고서에 따르면 (그림 4), 매실을 포함하는 핵과(核果)로 제조된 주류에서 기타 음료 및 주류보다 월등히 높은 에틸카바메이트가 측정되었으며, 이는 또한 다른 과실로 제조한 주류보다도 높은 수치임이 확인되었다. 따라서 국내에서 매실이 매실주로 가공되어 소비되는 경우가 많기 때문에 매실주 제조 시, 아미그달린 저감화 공정이 필요할 것으로 예상된다.

Product	No. of samples	Ethyl carbamate in µg/kg beverage			
		Median	Mean	P95 <sup>a)</sup>	Range
<b>Alcoholic beverages</b>					
Beer	13 (1) <sup>b)</sup>	-	-	-	ND <sup>c)</sup> -1
Cider	1 (0)	-	-	-	ND <sup>d)</sup>
Wine	17 (11)	11	10-11 <sup>e)</sup>	21	ND-24
Fortified wine	15 (15)	29	32	49	14-60
Sake	2 (2)	-	123	-	81-164
Brandy	42 (19)	0-30	123-129	395	ND-2,100
Cachaça	19 (19)	110	229	478	40-730
Distillate	13 (8)	1210	1,425-1,435	4500	ND-4500
Gin	1 (1)	-	-	-	580
Liqueur	4 (2)	6-7	45-47	146	ND-170
Miscellaneous spirits	86 (64)	290	590	1,745	ND-6,000
Other fruit brandy	328 (281)	215	663-667	4,187	ND-7,920
Rum	11 (10)	280	325-328	755	ND-1,020
Stone-fruit brandy	3,244 (2,912)	330	848-851	3,399	ND-22,000
Vodka	60 (57)	365	386-387	846	ND-2,140
Whisky	210 (196)	22	41	78	ND-1,000
<b>Food</b>					
Bakery	50 (49)	5	6	13	ND-20
Dairy	22 (0)	-	-	-	ND
Fermented beans	6 (0)	-	-	-	ND
Fermented olives	3 (0)	-	-	-	ND
Fermented sauce	44 (28)	2-3	3-4	14	ND-18
Sauerkraut	1 (1)	-	-	-	29
Vinegar	10 (1)	-	-	-	ND-33
Yeast extract	1 (1)	-	-	-	41

[그림 4] 식품 및 음료 중 에틸카바메이트의 농도(EFSA, European Food Safety Authority)

## 제3절. 연구개발 범위

### 1. RFP상 연구개발의 범위

- 매실 및 매실가공제품에 대한 국내외 시장조사
- 매실 대표 품종(2-3종)의 숙기별, 부위별, 개화시기별 아미그달린 등 성분 함량 분석
  - 분석항목: 아미그달린, 일반성분, 유기산, 무기질, 비타민 등
- 매실가공제품(매실청, 매실주 등)의 용도별, 제조공정별, 숙성기간별 아미그달린 함량 분석
  - 제조공정별 및 저장기간에 따른 함량 분석
- 매실 및 매실가공제품의 아미그달린 저감화 방법 모색 및 저감 공정 기술개발
  - 최적 저감화 제조 공정 개발 및 저감화 신기술개발
- 아미그달린 저감화 제품의 안전성 평가기술 개발(세포수준/동물모델 적용) 및 독성 안전성 자료 확보
  - 일반가공제품 vs 저감화 가공제품 비교 분석
- 아미그달린 저감화 기술을 통한 매실가공제품 생산 및 최적 가공공정 제시
  - 최적 저감화 기술 및 가공공정 프로토콜 확보

### 2. 연차별 연구개발의 범위

#### [1차년도]

- 매실/매실가공품의 국내 시장현황 조사
- 매실가공제품의 제조공정/숙성기간별 아미그달린 함량 분석
- 매실 품종별 아미그달린/영양성분 분석 및 매실/매실가공제품의 아미그달린 저감화 방법 모색
- 기존 생산되고 있는 매실가공제품에 대한 in vitro 독성 및 안전성 평가 기술 개발
- 매실을 활용한 초절임식품 및 고추장소스 개발

#### [2차년도]

- 아미그달린 저감화 매실청 및 매실주 개발 및 제품화
- 매실의 생장정도에 따른 아미그달린/영양성분 분석 및 활성화화학종 조사처리의 연속공정 개발
- 아미그달린 저감화 제품의 안전성 평가기술 개발(세포수준/동물모델 적용) 및 독성 안전성 자료 확보
- 매실/매실가공품의 국외 시장현황 조사
- 활성화화학종 연속처리 공정의 현장실증 시험을 통한 아미그달린 저감 기술 구축

## 제2장. 연구수행 내용 및 결과

### 제1절. 매실 및 매실가공품의 국내·외 시장현황

#### 1. 매실 생산 및 수출입 현황

매실 생산량은 지속적으로 증가 추세에 있다(Fig. 1-1). 우리나라 매실은 전국적으로 1980년도에 156 ha에서 601톤이 생산될 정도로 미미하였으나 2000년도에는 7,743톤이 생산되었으며, 생산량이 지속적으로 증가하여 2014년에는 49,150톤이 생산되었다. 2000년 전후로 매실의 효능이 다양한 매체를 통해 소비자들에게 알려지며 매실이 건강식품으로 인식되면서 소비자의 관심 증가와 함께 매실 수요도 동시에 높아졌다. 이에 따라 주산지인 전남, 경남 지역뿐만 아니라 경기, 충남 등지까지도 재배지역이 크게 확대되어 생산이 증가하게 되었다.



Fig. 1-1. Trends in maesil yield (2000~2014, unit: ton).

매실 생산액은 1990년대 중반까지 100억원 내외를 유지하다가 2000년대부터 증가하기 시작하여 2008년 565억원에 이른 후 꾸준히 상승하여 2013년에는 1,852억원을 달성하였다. 즉 2008년과 비교하면 2013년 생산액 규모는 3.2배 증가하였다(Fig. 1-2). 매실 생산액이 빠르게 증가한 것은 수요가 높아짐에 따른 매실 재배면적 급증과 단위면적당 수확량의 증가로 생산량이 빠르게 증가했기 때문으로 분석된다.



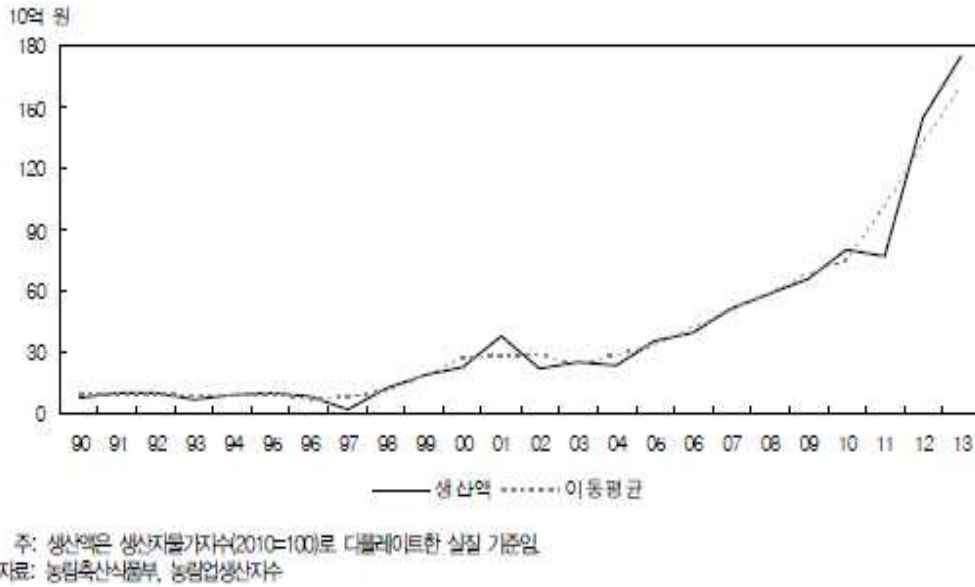


Fig. 1-2. Trends in the production amount of maesil.

매실 출하 시기는 6월로 집중되어 있어 물량 비중이 높아지게 되는데, 그에 따라 시장으로의 반입 비중도 6월에 증가하게 된다. 국내 매실 가격 동향은 2011년 이후 점진적으로 상승하여 2012년 이후에는 4,100원대/kg를 형성하고 있다(Fig. 1-3).

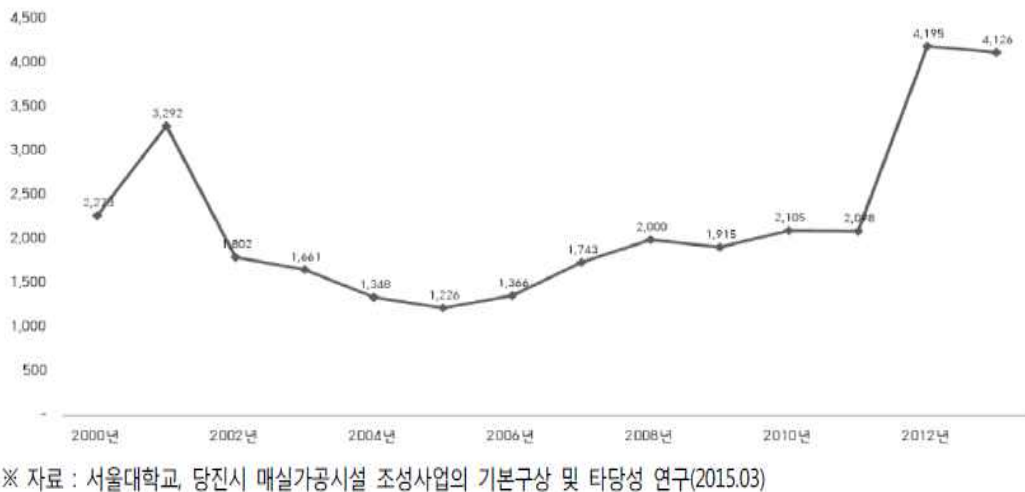


Fig. 1-3. Trends in farm sale price of maesil.

매실의 수출은 2010년 50 kg으로 매우 소량이었지만 2014년에는 14톤으로 확대되었으며 이는 약 6만 달러에 해당된다(Fig. 1-4). 1톤 이상 수출이 이루어진 것은 2014년 미국에 13톤, 2013년 일본에 10톤이 수출된 바 있다. 신선 매실의 수입량은 극히 미비하고 대부분 국내 생산으로 충당하고 있다(Fig. 1-5). 즉 매실은 국산 원료 비율이 90% 이상인 품목 22종 중 하나에 해당된다.

년도	수출		수입	
	총량(kg)	금액(\$)	총량(kg)	금액(\$)
2014	14,056.2	59,668	-	-
2013	10,575.8	16,036	1	46
2012	-	-	1	8
2011	441.3	2,393	-	-
2010	50	210	-	-

※ 자료 : 서울대학교, 당진시 매실가공시설 조성사업의 기본구상 및 타당성 연구(2015.03)

Fig. 1-4. Trends in exports and imports of fresh maesil (2010~2014).

국가	년도	총량(kg)	금액(\$)
대만	2013	1	46
미국	2012	1	8
미국	2009	1	18
미국	2007	2	26
일본	2001	67	254

※ 자료 : 서울대학교, 당진시 매실가공시설 조성사업의 기본구상 및 타당성 연구(2015.03)

Fig. 1-5. Trends in country imports of fresh maesil (2000~2014).

매실의 재배면적은 2010년 전라남도(광양, 순천, 하동, 구례, 순창, 곡성)과 경상남도(진주, 양산, 밀양, 사천)이 전국 재배면적 대비 각각 42.5%와 9.1%로 총 51.6%를 차지하고 있고, 2007년에 비해 평균적으로 2배정도 증가하였다(Fig. 1-6).

순위	지역	재배면적	비율	누적비율	2007년		증가면적
					순위	면적	
	전국	7,773				4,418	3,355
1	광양시	1,114	14.30%	14.30%	1	756	358
2	순천시	946	12.20%	26.50%	2	502	444
3	하동군	671	8.60%	35.10%	3	379	292
4	진주시	358	4.60%	39.70%	6	153	205
5	구례군	205	2.60%	42.40%	11	81	124
6	순창군	192	2.50%	44.80%	4	205	-13
7	곡성군	175	2.30%	47.10%	7	134	41
8	양산시	122	1.60%	48.70%	13	62	60
9	밀양시	115	1.50%	50.10%	12	64	51
10	사천시	110	1.40%	51.60%	9	91	19

※ 자료 : 서울대학교, 당진시 매실가공시설 조성사업의 기본구상 및 타당성 연구(2015.03)

Fig. 1-6. Trends in regional cultivation areas of maesil (2010).

2017년도 통계청의 농업면적조사에 의하면 전국 매실 재배면적은 11,253 ha로 2010년에 비해 약 30.9%가 순 증가하였으며, 전라남도과 경상남도 지역의 매실 재배면적은 각각 27.8%와 62.6%로 순 증가하였다(Table 1-1). 또한 전국 매실 재배면적 기준으로는 2010년에 비해 약 5.8% 증가하였다. 결과적으로 현재 우리나라 매실의 재배지역은 주로 전라남도과 경상남도 지역이 전체 재배면적의 약 58% 이상을 차지하고 있으며, 광양시, 순천시, 하동군이 3대 매실 주산지로 분석되었다. 그럼에도 최근 지구온난화로 인해 북부 및 중부지역에서도 매실 재배면적이 증가하고 있는 실정이다.

Table 1-1. Regional cultivation areas of maesil (2017)

지역	2017년 (단위: ha)	
	매실	매실(성과수)
서울특별시	5	4
부산광역시	103	68
대구광역시	111	108
인천광역시	121	71
광주광역시	135	114
대전광역시	176	164
울산광역시	157	131
세종특별자치시	60	50
경기도	898	695
강원도	168	102
충청북도	468	339
충청남도	522	440
전라북도	788	670
전라남도	4,572	4,084
경상북도	914	702
경상남도	1,886	1,525
제주도	169	151
계	11,253	9,418

(출처 : KOSIS, 농업면적조사)

## 2. 매실 가공 및 가공제품 현황

### 가. 매실 가공 현황

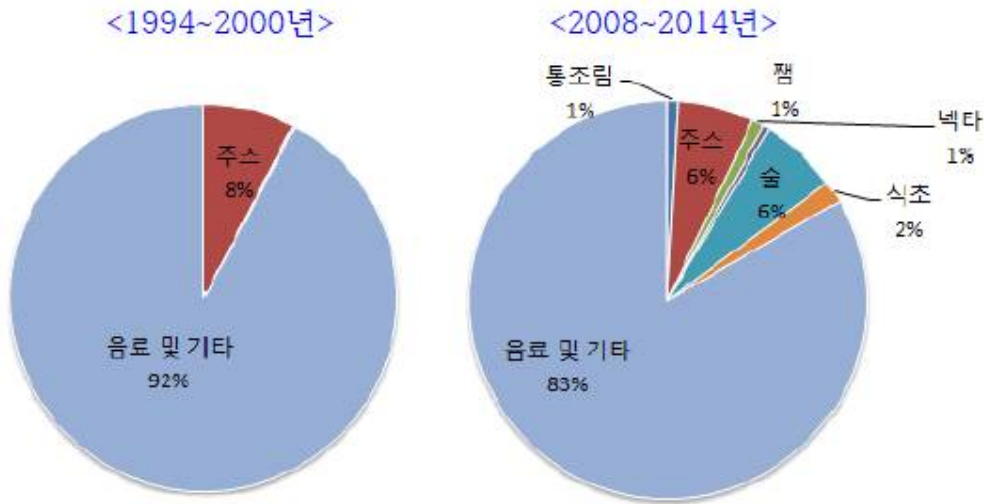
전국적으로 매실은 주스, 즙, 청, 음료, 분말차, 식초, 기타 등으로 가공되고 있으며, 경상남도는 전라남도에 이어 매실 재배면적이 2위에 위치하지만 지역별 매실 가공량 현황 자료에 따르면 매실 가공량은 약 2,728톤으로 전국 1위의 수준을 나타내고 있다(Table 1-2). 경상남도 다음으로 매실 가공량이 많은 지역은 경상북도로 매실을 연간 약 2,496톤을 가공하고 있으며, 다음으로 전라남도, 전라북도, 충청남도, 경기도, 대전광역시 순이었다. 매실 재배면적이 전국 2위인 경상북도의 매실 가공량이 많은 것은 수확된 대부분의 매실을 매실주로 담그기 때문인 것으로 판단된다(Table 1-2).

Table 1-2. Trends in types and amount of maesil processing

지역	가공유형	2015년 (단위:톤)
대전광역시	넥타	1.13
	음료	6
경기도	음료	27.5
	기타	7.7
충청남도	주스	1
	음료	62.77
	분말	6
전라북도	주스	1
	술	193
	음료	150
전라남도	주스	11
	식초	0.5
	음료	39.5
	즙청	188.5
	분말차	110
	기타	681.65
경상북도	술	2443
	식초	20
	음료	20.6
	즙청	2.5
	기타	10
경상남도	잼	2
	음료	468.1
	즙청	33
	기타	2225.35
합계		6,711.8

(출처 : KOSIS, 지역별 매실 가공현황, 2015)

매실은 생과로 섭취하기 보다는 주로 가공하여 섭취하는 가공전용 과실로, 2000년대 이전에는 주로 음료 및 기타 유형과 주스류가 매실가공품의 대부분을 차지하였으나, 2000년대에 들어서는 통조림, 잼, 넥타, 술, 식초 등 다양한 형태로 가공되고 있는 실정이다. 그럼에도 음료, 주스, 기타 유형이 전체 가공품의 약 89%로 여전히 높은 수준을 유지하고 있다(Fig. 1-7).



(출처 : 농림축산식품부, 과실류 가공현황, 2015)

Fig. 1-7. Processing rate of maesil depending on types of the processed foods.

매실은 식품의 원재료 중 이용비율이 매우 낮은 품목으로 2011년 기준 1.0%가 사용되었으나 다른 과실류의 이용률 감소 추세와 동일하게 2013년도에는 0.3%로 감소하였다. 매실은 식품의 원료로 소비되는데 2011년 기준 1,416톤이 사용되었고 금액 기준으로는 51억원에 해당된다. 2013년도에는 증가하여 2,338톤이 소비되었으며 이는 69억원에 해당되는 금액이다. 이는 사과류의 5배 성장 규모에 비하면 낮은 소비량 증가로 매실의 식품원료로의 소비 촉진이 필요한 실정이다. 매실은 통조림, 주스, 넥타, 잼, 술, 식초, 음료, 조미, 증청, 분말차 등으로 가공되어 식품으로 생산되고 있다. 2013년 기준 매실 가공현황을 살펴보면 음료 253톤, 증청 229톤, 술 222톤 순으로 가공되었다. 또한 5년간 가공현황을 종합해 보면, 매실 가공제품의 절반이 음료로 생산되고 있는 것으로 조사되었다(Fig. 1-8).

Table 1-3. Trends in processing amount of maesil depending on years

(단위: 톤)

연도	합계	통조림	주스	넥타	잼	술	식초	음료	조미	증청	분말차	기타
2013	3,456	0	55	0	10	222	10	253	6	229	0	2,671
2012	2,669	0	124	18	0	139	213	1,436	1	200	0	537
2011	2,669	0	124	18	0	139	213	1,436	1	200	0	537
2010	1,945	20	819	150	0	206	47	283	1	217	6	196
2009	5,639	100	43	3	7	121	28	4,772	1	362	0	202

※ 자료 : 서울대학교, 당진시 매실가공시설 조성사업의 기본구상 및 타당성 연구(2015.03)

## 나. 매실가공품 현황

### (1) 국내 매실가공품

국내 매실의 가격은 증감을 지속하고 있으며 변화폭이 크다. 매실의 연평균 농가 판매가격은 2001년 3,292원/kg으로 형성되다가 2005년 1,226원/kg까지 하락하였다. 이후 2011년까지 점진적으로 상승하였고, 2012년 이후에는 kg 당 4,100원대를 형성하고 있다. 현재 국내 판매 중인 매실 가공품은 주로 매실주, 매실음료, 매실엑기스, 매실식초 등 음료형태가 주를 이루며, 그 외에도 매실장류, 매실장아찌, 매실잼, 매실캔디류 등의 다양한 형태로도 제조 및 판매되고 있다. 그 중에서도 건강 지향적인 소비자층의 욕구를 파악하여 그들이 쉽게 접근 할 수 있도록 가공한 음료제품이 매실 가공품 중 차지하는 비율이 높다. 매실 음료의 주요 브랜드로는 웅진의 ‘초록매실’, 롯데칠성의 ‘델몬트 매실’, 코카콜라의 ‘미닛메이드’ 등이 있다.

<b>제품 이미지</b>			
<b>제품 유형</b>	과·채음료	과·채음료	과·채음료
<b>제품명(업체명)</b>	초록매실(보해양조)	미닛메이드(코카콜라)	델몬트 매실(롯데칠성)
<b>제품 특징</b>	매실 과즙과 발효매실 진액을 첨가하여 매실 본연의 맛을 강화한 제품	매실 농축과즙을 이용, 가공하였으며 비타민C가 첨가된 제품	매실 과즙을 이용한 매실 농축액을 원재료로 한 제품.

주류의 형태로는 매실주 원액을 첨가하여 가공하거나 매실 숙성 원액을 이용한 과실주 형태로 가공하여 젊은 층의 소비자를 겨냥한 제품으로도 판매되고 있다. 매실주의 주요 브랜드로는 보해양조의 ‘매취순’ 과 ‘매이’, 롯데주류의 ‘설중매’, ‘설중매 스파클링’, 하이트진로의 ‘매화수’ 등이 있다.

<b>제품 이미지</b>			
<b>제품 유형</b>	과실주	과실주	과실주
<b>제품명(업체명)</b>	매취순(보해양조)	설중매(롯데주류)	매이(보해양조)
<b>제품 특징</b>	보해 매원에서 수확한 국산 청 매실을 95% 고순도 주정으로 침출 시킨 후 5년간 숙성시킨 제품	국산 매실을 이용, 저온 침출법으로 가공하여 병 안에 매실을 담아 시각적 효과를 극대화시킨 제품	보해 매원에서 수확한 국산 청 매실 원액에 화이트와인을 이용하여 제조한 알코올 함량 10도의 저도수주

<b>제품 이미지</b>			
<b>제품 유형</b>	음료베이스	음료베이스	음료베이스
<b>제품명(업체명)</b>	매원프리미(보해양조)	라임트리 매실원 (한국암웨이)	산이슬먹고자란매실청 (자임에프앤비)
<b>제품 특징</b>	농축 액상음료로써 소비자의 기호에 맞게 희석하여 음용 가능한 제품 유형		

<b>제품 이미지</b>			
<b>제품 유형</b>	절임식품	액상차	잼류
<b>제품명(업체명)</b>	그리올 매실장아찌(그리올푸드)	그리올 매실과육채(그리올푸드)	참매실잼(참과일촌영농조합법인)
<b>제품 특징</b>	전남지역의 남고매실을 이용하여 소량의 식염으로 간 한뒤 당절임을 하는 방법으로 가공함.	남고매실 진액에 매실과육을 넣어서 매실 진액과 과육을 동시에 맛볼 수 있는 제품	매실씨앗을 제거하고 조청과 꿀로 가공한 잼류 제품

이 외에도 가공식품으로서 매실의 용도가 다양화되면서 음료와 주류 이외에도 물에 희석하여 음용하거나 식재료로 사용할 수 있는 농축액형태의 매실 가공품도 주로 시판되고 있으며 매실 자체를 절임형태로 제조 가공하는 비중도 점차 증가하는 추세이다. 또한 최근에는 가공된 제품을 구매하는 것과 더불어 생과 자체를 구매해 직접 매실 장아찌, 매실청 등을 직접 만들어 먹는 소비자가 많아지면서 생과의 수요도 증가하는 경향이며, 그 중 담금주용 매실의 판매가 큰 성장세를 보이고 있다. 또한 최근에는 매실농축액이 피로회복 기능의 기능성식품원료로 고시되면서, 매실추출물을 농축한 농축제품과 매실추출물을 분말화하여 비타민과 혼합한 건강기능식품 등이 생산되어 판매되고 있으며, 매실농축액을 첨가한 농후발효유 등의 제품이 생산되어 판매되고 있다.

<b>제품 이미지</b>			
<b>제품 유형</b>	농후발효유	기타발효음료	건강기능식품
<b>제품명(업체명)</b>	덴마크드링킹요구르트 (동원F&B)	매실추출물 골드(보해양조)	매시리안(하동매실유동활성화사업단)
<b>제품 특징</b>	농후발효유에 국산 생매실 농축시럽을 첨가한 제품	국산 매실 100% 원액 추출물로 응용하여 피로개선 등의 기능성을 부여하도록 한 매실 농축제품	하동 매실 추출물 분말과 비타민 B군이 함유된 건강 기능식품

한편 국내에서 생산된 매실청 제품들이 미국에 수출되고 있으나 국내 시장 위축에 따른 밀어내기식 판매에 따른 평균 시장가격이 형성되지 않고 있음. 현재 미국 LA에서 판매되고 있는 국내산 매실청의 가격은 500 mL 용량 기준으로 6.99~11.99 US 달러의 시장가격을 형성하고 있다. 게다가 미국 캘리포니아 지역 현지의 매실 재배와 출하로 2016년 기준 약 40% 이상의 국내 매실청의 판매량이 감소하고 있는 추세에 있다.



하동매실 500 mL (11.99 USD) 보해매원 500 mL (8.99 USD) 순천매실 500 mL (6.99 USD)

## (2) 국외 매실가공품

국외에서의 매실에 대한 제품생산 및 소비는 주로 아시아권에서 이루어지며, 특히, 일본, 대만, 중국에서 이루어지고 있고, 서양권에서는 매실가공제품의 시장이 극히 미미한 것으로 확인되었다. 매실류는 전통적으로 일본 내 건강식품 및 기호식품으로 선호도가 높아 인지도가 높은 편이어서 매실을 원료로 한 다양한 제품을 쉽게 찾아볼 수 있으며, 이와 같은 높은 기호성으로 일본 내에서 매실의 과수 면적은 상위 여섯 번째에 달하는 것으로 확인되었다. 또한 일본의 건강식품 품목 분류에서도 “매실엑기스제품”을 별도로 분류하고 있어, 매실을 활용한 건강식품 시장이 활성화 되어 있는 것으로 판단된다. 일본의 매실 재배면적은 18,000 ha로 국내 재배면적보다 약 1.6배 넓으며, 출하량은 101,300톤으로 국내 출하량의 약 2.1배 많았다.



<ul style="list-style-type: none"> <li>· 단백질</li> <li>1. 단백질식품</li> <li>2. 단백질소분해물식품</li> <li>3. 모려(굴껍데기)가공 식품</li> <li>4. 잉어가공식품</li> <li>5. 바지락가공식품</li> <li>6. 녹색홍합가공식품</li> <li>7. 자라(건조분말)분말가공식품</li> <li>· 지방질류</li> <li>8. EPA/DHA함유 정제어유가공식품</li> <li>9. γ리놀렉산 함유식품</li> <li>10. 월견초유</li> <li>11. 자라오일식품</li> <li>12. 대두레시틴함유식품</li> <li>· 당류</li> <li>13. 글루코사민식품</li> <li>14. 올리고당류가공식품</li> <li>15. 식이섬유가공식품</li> <li>16. 키토산가공식품</li> <li>17. 뮤코다당단백함유식품</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 비타민류</li> <li>18. 미배아유</li> <li>19. 소맥배아유</li> <li>20. 대맥배아유</li> <li>21. 율무배아유</li> <li>22. Vitamin E 함유식품</li> <li>23. Vitamin C 함유식품</li> <li>· 미네랄</li> <li>25. 칼슘함유식품</li> <li>· 발효미생물류</li> <li>26. 유산균(생균)이용식품</li> <li>27. 효모식품</li> <li>28. 식물발효식품</li> <li>29. 식품액기스발효식품</li> <li>· 해초류</li> <li>30. 해초류</li> <li>31. 스피루리나</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 버섯류</li> <li>32. 표고버섯가공식품</li> <li>33. 영지버섯가공식품</li> <li>· 허브 등 식품성분류</li> <li>34. 인삼근가공식품</li> <li>35. 가시오가피가공식품</li> <li>36. 매실액기스식품</li> <li>37. 푸룬액기스식품</li> <li>38. 키타치알로에</li> <li>39. 알로에베라</li> <li>40. 맥류약엽가공식품</li> <li>41. 진교(줄)가공식품</li> <li>42. 알팔파식품</li> <li>43. 베이식품</li> <li>44. 녹차액기스식품</li> <li>45. 김네마실베스타가공식품</li> <li>46. 가르시니아추출물식품</li> <li>47. 대두사포닌가공식품</li> <li>48. 대두ISO플라본식품</li> <li>· 기타</li> <li>49. 화분식품</li> <li>50. 프로폴리스식품</li> </ul>
--	---	--

※ 자료: 新開發食品ハンドブック, 2001

〈일본의 건강식품 품목 분류(기능성 식품의 최근 해외시장 동향-한국보건산업진흥원, 2004)〉

구 분	수확 · 출하시기	과수면적	10a당 수량	수확량	출하량	도매가격
		ha	kg	t	t	엔/kg
굴	'06년 9월~'07년 3월	50,300	1,670	841,900	743,200	264
사 과	'06년 8월~'07년 3월	40,300	2,060	831,800	739,500	254
감	'06년 9월~'07년 12월	23,500	990	232,700	186,600	244
밤	'06년 8월~'07년 10월	23,300	99	23,100	16,200	394
포 도	'06년 7월~'07년 10월	18,900	1,110	209,800	191,100	607
매 실	'06년 6월	18,000	665	119,800	101,300	279
일 본 배	'06년 8월~'07년 9월	14,900	1,960	290,900	266,200	303
복 송 아	'06년 6월~'07년 8월	10,300	1,430	146,300	133,900	476
앵 두	'06년 5월~'07년 7월	4,490	464	20,800	18,400	1,481
자 두	'06년 7월~'07년 8월	3,090	692	21,400	18,400	468
키 위	'06년 10월~'07년 5월	2,470	1,320	32,700	26,800	352
비 파	'06년 5월~'07년 6월	1,780	343	6,100	4,870	922
파인애플	'06년 4월~'07년 3월	441	2,420	10,700	10,400	-

(출처 : 일본 매실산업 선진지 견학 공무국외여행보고서-광양시의회, 2009년)

〈일본의 과수의 면적, 수확량, 출하량과 도매가격, 2009년〉

중국의 경우에는 최근 건강을 증시하는 풍조로 과일주스가 인기를 모으고 있어, 매실을 이용한 제품의 인기도 함께 증가하는 추세이다. 물과 희석하여 마시는 타입의 원액보다는 농축액 타입의 제품들이 시장에 많은 것으로 확인되었으며, 현재까지 중국에서 제조되어 판매되는 제품은 극소수이며 대부분 시장에서 판매되는 제품은 대만에서 제조한 것들이 많은 것으로 확인되었다(중국 매실원액 해외시장보고서-농수산식품수출지원정보, 2015)

<b>제품 이미지</b>			
<b>제품 유형</b>	과실주	과실주	과실주
<b>제품명(국가명)</b>	토와노시즈쿠(일본)	芋焼酎造り梅酒(일본)	太宰府さんのおいしい梅酒(일본)
<b>제품 특징</b>	일본에서 인기있는 우메보시(매실장아찌) 명가에서 설탕을 이용, 매실을 숙성시켜 제조한 매실주	고구마소주 제조방법으로 만들어진 일본의 매실주	매화로 유명한 일본 다자이후 지역의 매실주

<b>제품 이미지</b>			
<b>제품 유형</b>	매실농축액	매실농축액	매실농축액
<b>제품명(국가명)</b>	台湾梅园农场(대만)	香港楼上燕窝庄(홍콩)	九寨天绿青梅合作社 [중국사천]
<b>제품 특징</b>	중국에서 판매되는 매실농축액 타입의 제품		

<b>제품 이미지</b>			
<b>제품 유형</b>	잼류	발효식초	기타발효음료
<b>제품명(국가명)</b>	梅びしほ(일본)	Ume Plum Vinegar (미국)	梅肉エキス(일본)
<b>제품 특징</b>	매실과육에 설탕을 넣고 가공하여 만든 페이스트형 잼류	매실을 소금에 절여 가공한 식초	매실과육을 농축하여 유효성분의 함량을 높인 매실농축제품

## 제2절. 매실의 아미그달린(amygdalin) 및 영양성분

### 1. 연구방법

#### 가. 재료

##### (1) 매실 시료

##### (가) 숙성유무에 따른 매실

청매실은 경상남도 하동군의 매실농장에서 2017년 6월 중·하순에 수확된 것을 구입하여 사용하였으며, 구입된 청매실을 상온에서 3일간 숙성한 것을 황매실로 하였다(Fig. 2-1).



Fig. 2-1. Green, yellow, and red (Namgo cultivar) maesil fruits used in this study.

##### (나) 지역별 매실

남고 품종의 홍매실은 2017년 6월 하순 수확된 것을 경상남도 하동군, 전라남도 순천시와 전라남도 광양시의 매실농장들에서 각각 구입하여 재료로 사용하였다(Fig. 2-1). 매실 구입 시 매실농장들을 직접 방문하여 홍매실인지를 확인한 후 구입하였다.

##### (다) 품종별 매실

백가하(Shirogaka), 앵숙(Oshuku), 옥영(Okyoung), 천매(Chunmae)와 남고(Namgo) 품종들의 매실은 녹차먹은 매실(경상남도 하동군)에서 관리하는 매실 농장들에서 구입하였다. 백가하, 앵숙, 옥영 매실은 경상남도 하동군에 위치하는 매실농장에서, 천매 매실은 전라남도 구례군에 위치하는 매실농장에서, 남고 매실은 전라남도 광양시에 위치하는 매실농장에서 직접 채취하였다. 매실 품종들이 혼합되는 것을 방지하기 위해 백가하, 앵숙, 옥영과 천매 매실들은 2018년 6월 4일부터 시작되는 매실 수확 작업 전(2018년 6월 1일)에 채취하였으며, 남고 매실은 2018년 6월 22일에 채취하였다.

## (라) 숙기별 매실

매실을 개화 후 매실열매가 맺혀 채취하기 용이한 크기일 때부터인 2018년 4월 27일부터 경상남도 하동군(청매실과 남고 매실), 전라남도 광양시(청매실과 남고 매실)와 경상북도 영덕군(청매실)에서 2주 간격으로 채취하였다.

## (2) 아미그달린 및 기타

아미그달린(amygdalin, >99%)은 살구씨로부터 추출·정제된 것을 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 시료 제조 및 분석에 사용된 시약과 용매들은 모두 HPLC급 이상의 것을 사용하였다.

## 나. 매실의 전처리

구입 및 채취된 매실들은 영양성분의 변화를 최소화하기 위해 -45℃에서 72시간 동안 동결한 후 동결건조기를 이용하여 건조하였다. 동결건조된 매실의 일부는 과육과 씨로 분리하였다. 동결건조된 매실과육과 매실씨는 가정용 믹서기를 이용하여 분쇄한 후 60 mesh 표준체 망을 통과시켜 PET 재질의 시료병에 흡습제와 함께 넣어 밀봉하고 4℃에서 저장하면서 분석을 위한 시료로 사용하였다.

## 다. 매실의 아미그달린 및 영양성분 분석

### (1) 아미그달린 정량

#### (가) 아미그달린 추출조건 탐색

매실 시료(과육 및 씨)로부터 아미그달린을 최대로 추출할 수 있는 추출조건을 탐색하기 위해 추출용매의 에탄올 농도비율, 추출시간, 추출회수를 추출요인으로 하여 아미그달린 추출조건을 결정하였다. 결정된 추출조건 하에서 매실과육과 매실씨로부터 아미그달린을 추출하고 HPLC를 이용하여 정량하였다.

#### (나) 아미그달린 정량

매실 시료(과육 및 씨)로부터 결정된 추출조건에 의해 얻어진 추출물은 Kim 등(2010)의 방법에 따라 n-hexane과 ethyl acetate로 순차적으로 정제한 후 HPLC를 이용하여 아미그달린을 분리하였다. HPLC 분석조건은 **Table 2-1**에 제시하였다. HPLC 크로마토그램으로부터 얻은 아미그달린 피크의 면적을 아미그달린 표준품을 이용하여 작성된 검정곡선(**Fig. 2-2**)에 대입하여 아미그달린 함량을 결정하였다.

Table 2-1. HPLC analysis conditions for the quantification of amygdalin

Item	Conditions
Column	Acclaim 120 C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm, 120 Å)
Mobile phase	Acetonitrille:water = 20:80 (v/v), 1 mL/min
Column temperature	25°C
Detector	UV detector, 215 nm
Injection volume	10.0 μL
HPLC equipment	Shimadzu DGU-20A5R

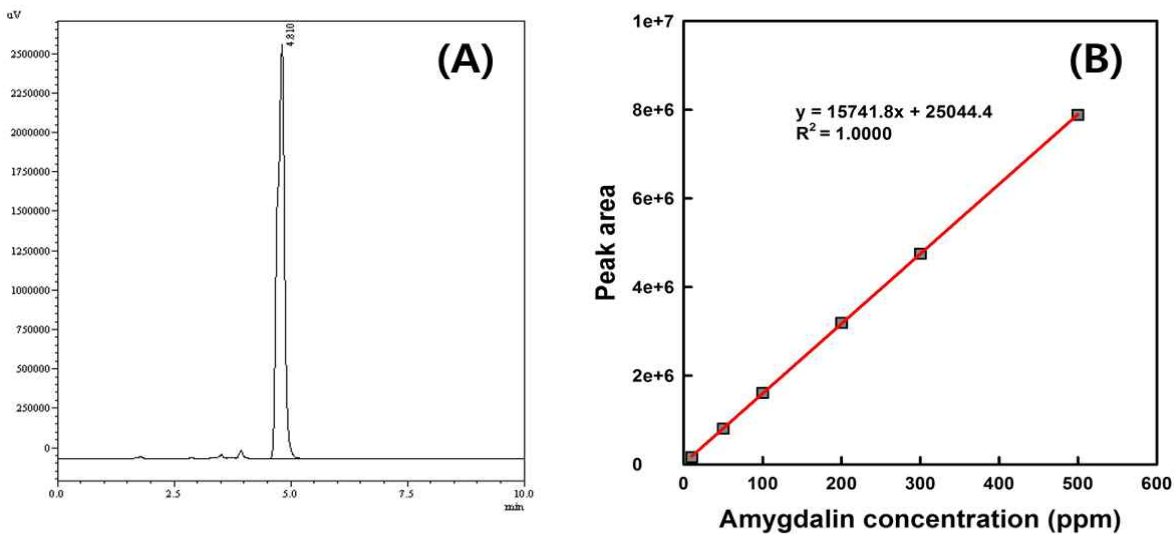


Fig. 2-2. HPLC chromatogram (A) and calibration curve (B) of the standard material of amygdalin.

(2) 일반성분

동결건조된 매실 시료들(과육 및 씨)의 일반성분은 AOAC법(2000)에 준하여 분석하였다. 수분은 105°C에서 상압가열건조법을, 조단백질은 Kjeldahl법(질소계수 6.25)을, 조지방은 Soxhlet법을, 조회분은 건식회화법을 이용하여 분석하였다. 탄수화물 함량은 시료의 건조중량 100 g 중에서 조단백질, 조지방과 조회분의 건조중량을 차감하여 계산하였다.

### (3) 식이섬유

매실 시료들(과육 및 씨)의 식이섬유는 AOAC법(2000)에 따라 total dietary fiber assay kit (Megazyme, Wicknow, Ireland)를 이용하여 정량하였다. 매실시료의 건조분말 1 g (d.b)을 뚜껑 달린 시약병(500 mL)에 넣고 MES-Tris buffer (pH 8.2)를 40 mL를 가한 후 철저히 혼합하고 내열성  $\alpha$ -amylase 용액(50  $\mu$ L)를 첨가하여 끓는 물 수욕조( $\sim 96^{\circ}\text{C}$ )에서 30분간 반응시켰다. 30분 반응 후에 반응혼합물의 온도를  $60^{\circ}\text{C}$ 의 수욕조에서 온도를 조정하고 protease 용액(100  $\mu$ L)을 가하여  $60^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 반응시켰다. 단백질 분해가 종결된 후 0.56 N HCl (5 mL)를 가하고 1 N HCl과 1 N NaOH를 이용하여 pH를 4.0-4.7 범위로 조정하고 amyloglucosidase 용액 (300  $\mu$ L)를 첨가하여  $60^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 반응시켰다. 모든 효소반응이 종결된 후 반응혼합물은 celite를 포함하고 있는 fritted-glass filtered crucible을 이용하여 여과하고 효소분해 잔류물을 포함하는 fritted-glass filtered crucible은  $105^{\circ}\text{C}$ 에서 항량을 구하였다(불용성 식이섬유 분획). 여과를 통해 얻어진 여액은 95% ethanol (240 mL)를 가하여 상온에서 1시간 방치한 후 celite를 포함하고 있는 fritted-glass filtered crucible을 통과시켜 침전물을 회수하고 75% ethanol (30 mL), 95% ethanol (10 mL)과 acetone (10 mL)을 연속적으로 통과시켜 침전물을 세척한 후  $105^{\circ}\text{C}$ 에서 건조시켜 항량을 구하였다(수용성 식이섬유 분획). 항량을 구한 불용성 및 수용성 식이섬유 분획들의 단백질과 회분함량을 Kjeldahl법과 건식회화법을 이용하여 정량하였다. 총 식이섬유는 불용성 및 식이섬유 분획들의 항량 합에서 그들의 단백질과 회분함량을 차감하여 계산하였다.

### (4) 유리당

동결건조된 매실 과육은 증류수와 10 mg/mL (w/v)가 되도록 혼합한 후  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 12시간 동안 교반하였다. 12시간 후 시료들은 원심분리(3,000 $\times$ g, 20 min,  $4^{\circ}\text{C}$ )에서 원심분리하여 상층액을 취하여 분석에 사용하였다. 매실의 유리당 조성은 고성능 음이온 교환크로마토그래피 (high-performance anion-exchange chromatography, HPAEC)를 이용하여 분석하였다. 회수된 상층액은 시린지 필터로 여과한 후 20 mM NaOH 용액으로 10배 희석하여 PA-1 컬럼에 10  $\mu$ L를 주입하였다. 초기 분석 10분 동안은 120 mM sodium acetate를 포함하는 100 mM NaOH를 흘려주었으며, 이후 10분 동안은 200 mM NaOH 용액을 0.5 mL/min의 유속으로 흘려주었다. 매실 과육으로부터 용출된 유리당은 포도당만 검출되어 포도당에 대한 검정곡선(Fig. 2-3)을 작성하여 HPAEC 크로마토그램으로부터 매실과육의 포도당 함량을 결정하였다.

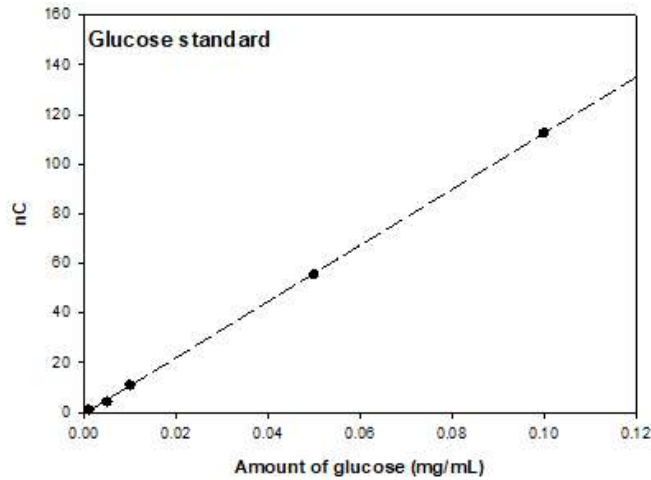


Fig. 2-3. Calibration curve of glucose for HPAEC analysis.

(5) 유기산

(가) Gas chromatography

동결건조된 매실과육의 건조중량의 10배에 해당하는 탈이온수를 가하여 10시간 동안 상온에서 교반한 후 원심분리(2,500×g, 20 min, 25°C)하여 1차 추출물과 잔사로 분리하였다. 잔사는 다시 동량의 탈이온수를 가하여 10시간 동안 상온에서 교반하고 원심분리하여 2차 추출물을 얻었다. 1차 추출물과 2차 추출물은 혼합하여 4°C에서 18시간 동안 방치한 후 원심분리하여 상등액을 얻었고, 상등액은 감압여과하여 매실-물 추출물을 얻었다. 매실-물 추출물은 -45°C에서 72시간 동안 동결한 후 동결진공건조기를 이용하여 3일간 건조하여 농축하고, 이를 유기산 분석을 위한 시료로 하였다. 동결건조된 매실-물 추출물에 존재하는 유기산을 정량하기 위해 추출물 시료를 황산/메탄올을 이용한 methyl ester화하고 가스크로마토그래피(GC)를 이용하여 분석하였다. 표준물질은 oxalic acid, malonic acid, malic acid, fumaric acid, succinic acid, citric acid를 사용하였다. GC 분석조건은 Table 2-2에 나타내었다.

Table 2-2. GC analysis conditions for the quantification of organic acids in maesil

Item	Conditions
Column	Supelcowax 10 fused silica capillary (0.25 mm id×30 m, 0.25 μm)
Carrier gas	N <sub>2</sub> 1 mL/min (split ratio = 30:1)
Oven temperature	230°C isotherm
Detector	FID
Injection volume	1.0 μL
GC equipment	Hewlett-Packard 5890

## (나) Ion chromatography (IC)

품종별 매실 과육의 유기산 분석을 위해 동결건조된 매실 시료 10 g을 취하여 탈이온수 50 mL와 혼합하고 2시간 동안 진탕하여 유기산을 추출한 후 원심분리(3,000×g, 20 min)하여 25 mL의 상층액을 취하고 동량의 에탄올을 가하였다. 추출액과 에탄올 혼합물을 상온에서 충분히 혼합하고 5분간 진탕한 후 원심분리하여 상층액을 취하여 회전진공농축기로 에탄올을 제거하였다. 이를 메탄올, 증류수 및 0.01 N HCl로 미리 활성화시킨 sep-pak C18 cartridge에 통과시킨 다음 증류수로 회수하여 총량을 50 mL로 하여 IC 분석을 위한 시료로 하였다(Shin et al., 2011). 분석용 시료는 시린지 필터를 통과시킨 후 Dionex IonPac ICE-AS1 column이 장착된 ion chromatography를 이용하여 유기산을 분리 및 정량하였다. 유기산은 사과산(malic acid), 구연산(citric acid)와 호박산(succinic acid)로 한정하였다. 전술한 방법에 따라 한국식품연구원에 의뢰하여 매실 과육의 유기산을 분석하였다.

## (5) 무기질

품종별 매실 과육의 무기질은 서울대학교 농생명과학공동기기원에 의뢰하여 분석하였다. 무기질(Na, K, P, Fe, Ca)은 inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES)에 의해 정량되었다(Anderson, 1996).

## (6) 비타민

품종별 매실 과육의 비타민은 다량 함유되어 있는 것으로 알려진 비타민 C와 베타카로틴( $\beta$ -carotene)에 대해 한국식품연구원에 의뢰하여 분석하였다. 비타민 C는 식품공전의 식품의 기준 및 규격의 비타민류 시험법에 준하여 분석하였으며, 베타카로틴은 건강기능식품의 기준 및 규격의 베타카로틴 시험법에 준하여 분석하였다.

## (7) 총 폴리페놀(polyphenol) 함량

동결건조 매실 시료(과육 및 씨) 5 g에 70% 에탄올 수용액 100 mL를 가하여 진탕배양기를 이용하여 25°C에서 24시간 동안 진탕한 후 감압여과하여 여액을 총 폴리페놀 정량을 위한 시료로 하였다. 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 응용하여 분석하였다. 시료 10  $\mu$ L를 탈이온수 790  $\mu$ L와 혼합하고 희석한 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 500  $\mu$ L를 가하여 잘 혼합하고 1분간 방치한 후 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 서서히 가하였다. 이 혼합액을 2시간 동안 암실에서 방치한 후 UV/Vis spectrophotometer (Optizen POP, Mecasys, Korea)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀(polyphenol) 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 결정되었다.



## 라. 통계처리

모든 매실 시료들은 적어도 3회 반복하여 분석하였으며, 측정된 특성치들은 one-way ANOVA 분석을 수행하고, 평균±표준편차로 나타내었다. 처리군들의 평균값들 사이의 통계적 유의성은 95% 신뢰수준에서 Tukey's HSD test를 이용하여 분석하였다. 모든 통계적 계산과 분석은 Minitab 16 (Minitab Inc., State College, PA, USA)에 의해 수행되었다.

## 2. 연구결과

### 가. 매실의 아미그달린 함량

#### (1) 매실로부터 아미그달린 추출조건 탐색

매실과육 및 매실씨에의 정확한 아미그달린 함량을 분석을 위해 아미그달린을 매실 시료들로부터 최대로 추출할 수 있는 추출조건을 탐색하였다. 아미그달린 추출조건 탐색은 매실씨 분말을 이용하였으며, 아미그달린의 추출용매로는 무수에탄올과 탈이온수의 혼합용매로 하였다. 무수에탄올과 탈이온수의 혼합비율을 달리하여 청매실씨 분말과 10:1 (v/w)의 비율로 혼합하여 25°C에서 18시간 동안 교반하여 아미그달린을 추출한 후 HPLC에 의해 정량된 아미그달린 함량을 Fig. 2-4에 나타내었다.

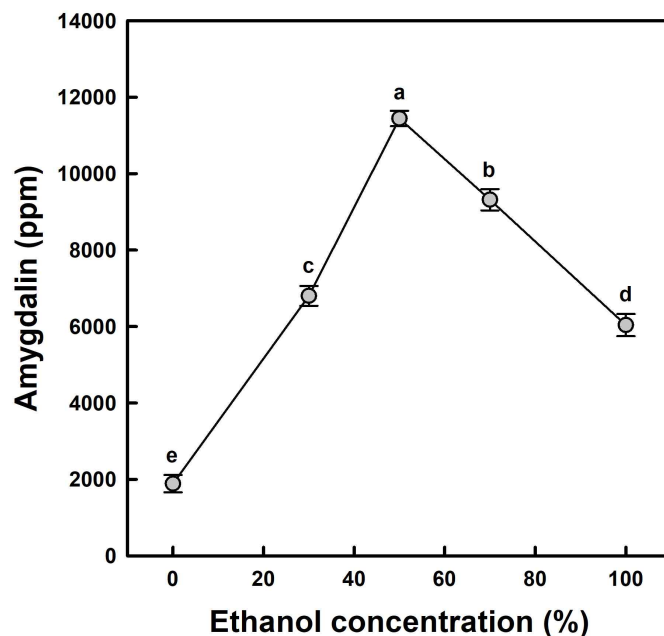


Fig. 2-4. Effects of the concentration of ethanol in the extraction solvent on the extraction of amygdalin from maesil seeds. Bullets sharing the same lowercase letter in the figure are not significantly different at  $p < 0.05$ .

표준품인 아미그달린이 탈이온수에서 용해도가 높아 탈이온수를 추출용매로 사용할 때 가장 높은 아미그달린 함량을 예상하였지만 탈이온수는 가장 적은 아미그달린(1,886.1 ppm)을 추출하였다. 아미그달린은 추출용매 내의 에탄올 농도가 50%까지 증가하면서 증가하였으며, 50%를 초과하여 100%로 증가하면서 감소하는 경향을 나타내었다. 추출용매를 50% 에탄올 수용액으로 할 때, 아미그달린은 11,445 ppm으로 가장 높았다(Fig. 2-4). 따라서 아미그달린 추출을 위한 추출용매는 50% 에탄올 수용액이 적절하였다.

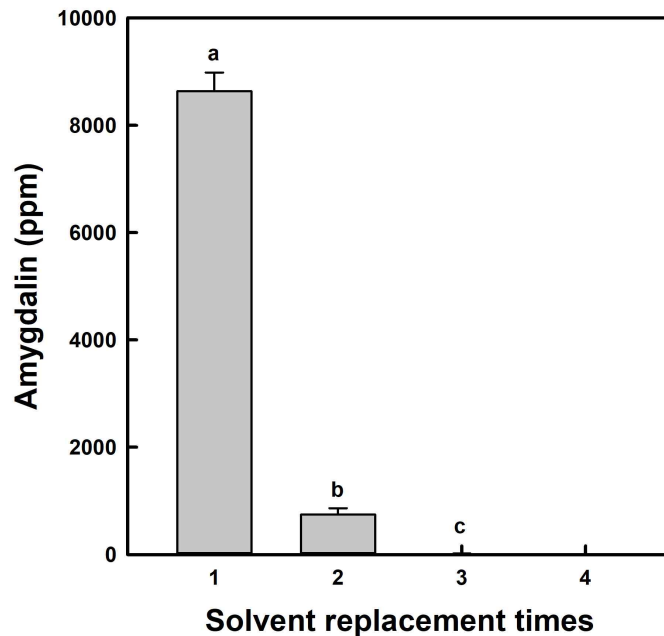


Fig. 2-5. Effects of solvent replacement times on the extraction of amygdalin from maesil seeds. Bars sharing the same lowercase letter in the figure are not significantly different at  $p < 0.05$ .

추출용매를 50% 에탄올 수용액으로 하고 청매실씨 분말과 10:1 (v/w)의 비율로 혼합하여 25°C에서 1시간 동안 교반한 후 원심분리하여 상등액을 얻고, 추출잔사에 새로운 추출용매를 가하여 2차 추출을 수행하였다. 이와 같은 조작을 총 4회 반복하였다. 추출조작 4회에 걸쳐 회수된 아미그달린 추출물의 아미그달린 함량을 HPLC로 분석하여 Fig. 2-5에 나타내었다. 1회 추출조작에서 8,634 ppm의 아미그달린이 추출되었으며, 2회 추출조작에서는 742.8 ppm의 아미그달린이 추출되면서 아미그달린 함량이 급격히 감소하였다. 또한 3회 추출조작에서는 15.5 ppm의 매우 적은 아미그달린이 추출되었으며, 4회 추출조작에서는 아미그달린 검출되지 않았다. 또한 1회 및 2회 추출조작에서 추출된 아미그달린 함량의 총합은 9,376 ppm이었으며, Fig. 2-4에서 제시된 추출시간을 18시간으로 하여 1회만 추출한 아미그달린 함량(11,445 ppm) 보다 낮은 수준을 나타내었다. 이와 같은 결과는 청매실씨의 조직이 단단하고 치밀하여 추출용매가 청매실씨 조직 내로 침투하여 아미그달린을 용해시켜 청매실씨 조직 밖으로 용출시키는데 상당한 시간이 요구된다는 것을 의미한다. 따라서 추출시간을 짧게 하면서 추출용매를 교환하는 추출방법은 적절하지 않은 것 같다.

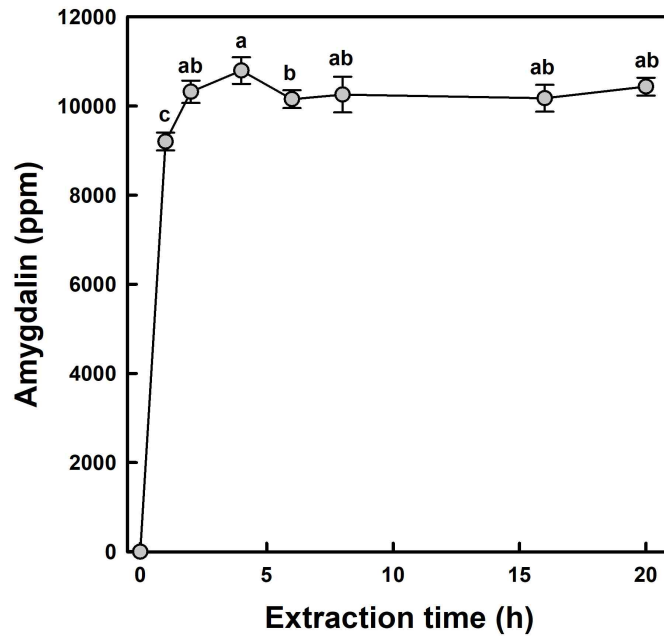


Fig. 2-6. Effects of extraction time on the extraction of amygdalin from maesil seeds. Bullets sharing the same lowercase letter in the figure are not significantly different at  $p < 0.05$ .

그래서 추출용매를 50% 에탄올 수용액으로 하고 청매실씨 분말과 10:1 (v/w)의 비율로 혼합하여 25°C 에서 추출시간을 달리하면서 교반한 후 원심분리하여 상등액을 얻어 HPLC로 아미그달린 함량을 분석하였다(Fig. 2-6). 추출 1시간에서 아미그달린 함량(9,203 ppm)은 급격히 증가하였으며, 2-4시간으로 추출시간이 연장되면서 아미그달린 함량은 완만히 증가하여, 4시간에서 아미그달린의 최대 농도(10,795 ppm)가 검출되었다. 그러나 4시간 이후에는 아미그달린 함량이 10,152~10,436 ppm의 범위에 있었고, 추출시간마다 약간의 변동이 관찰되었으나, 4시간 추출시간의 아미그달린 함량과 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 아미그달린 추출을 위한 추출시간은 4시간 또는 4시간 이상으로 하는 것이 적절한 것 같다. 한편 추출온도의 상승은 청매실씨 분말로부터 아미그달린 추출 시 추출용매의 에탄올 함량의 변화를 가져오며, 아미그달린 이외의 성분들이 다량 추출되는 것을 예비실험에서 확인하여, 아미그달린 추출 시에는 25°C 에서 수행하는 것으로 결정하였다. 결과적으로 매실과육 및 매실씨로부터 아미그달린을 추출하는 최적조건은 50% 에탄올 수용액을 추출용매로 하여 25°C 에서 4시간 동안 교반하는 것이었다.

(2) 숙성에 따른 매실의 부위별 아미그달린 함량

청매실과 황매실로부터 상온에서 숙성된 황매실을 동결건조한 후 과육과 씨 부위들을 분리하였다. 분리된 매실의 과육과 씨의 아미그달린 함량을 결정하기 위해 아미그달린 최적추출조건에서 아미그달린을 추출하고 HPLC를 이용하여 분석하였다(Fig. 2-7). 익히 알려진 것처럼 매실 과육의 아미그달린 함량이 매실 씨의 것보다 낮은 수준을 나타내었으며, 숙성되어 청매실이 황매실로 전환되면서 아미그달린 함량은 감소하였다. 또한 숙성에 의해 과육의 아미그달린 함량의 감소율이 씨의 아미그달린 함량 감소율에 비해 높았으며, 매실 씨의 아미그달린 함량은 숙성된 황매실에서도 여전히 높은 함량을 유지하였다. 또한 청매실와 황매실의 총 아미그달린 함량은 청매실이 황매실보다 월등히 높은 수준이었다.

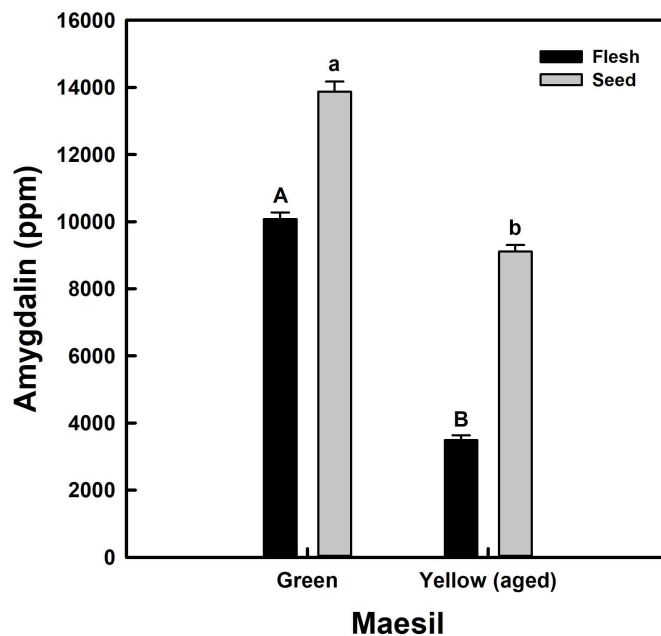


Fig. 2-7. The contents of amygdalin of flesh and seed from green and yellow (aged from green maesil) maesil. Bars sharing the same uppercase (for flesh) or lowercase (for seed) letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

(3) 매실의 지역별 및 부위별 아미그달린 함량

아미그달린의 최적추출조건 하에서 재배지역이 다른 “남고” 품종의 홍매실의 과육과 씨로부터 아미그달린을 추출하고, 그 함량을 분석하여 Fig. 2-8에 나타내었다. 청매실과 황매실에서 관찰된 것과 같이 홍매실의 아미그달린은 과육보다 씨에 주로 분포하고 있었다. 청매실이나 황매실에 비해 홍매실의 과육 내의 아미그달린 함량은 급격히 낮은 수준을 나타내었으나(Fig. 2-7) 홍매실의 씨의 아미그달린 함량은 청매실 및 황매실보다 높은 수준을 나타내었다. 홍매실 과육의 아미그달린 함량은 하동 > 순천 > 광양의 순서로 증가하였으나, 홍매실 씨의 아미그달린 함량은 광양 > 순천 > 하동의 순서로 감소하였다. 결과적으로 홍매실의 총 아미그달린 함량은 광양이 가장 많았으며, 다음으로 순천과 하동의 순서였다.

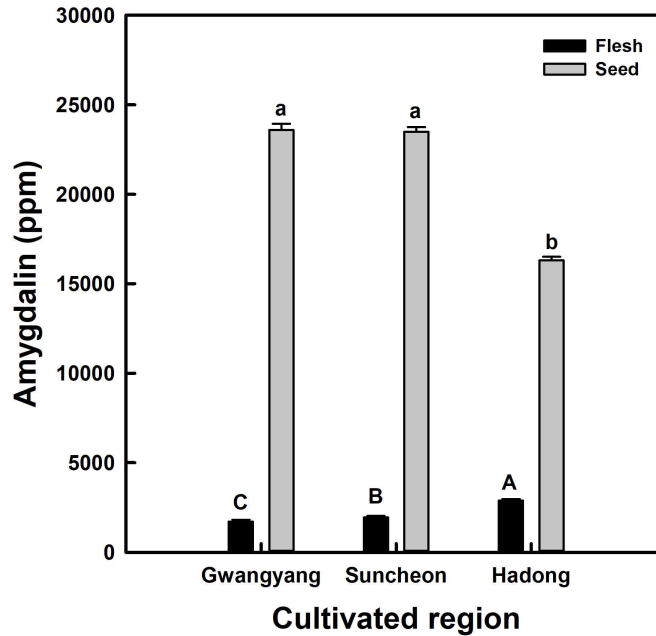


Fig. 2-8. The contents of amygdalin of flesh and seed from Namgo maesil cultivated from different regions. Bars sharing the same uppercase (for flesh) or lowercase (for seed) letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

#### (4) 매실의 숙기(개화시기)에 따른 아미그달린의 함량

매실의 숙기에 따른 아미그달린 함량의 변화를 조사하기 위해 매실이 맺혀 분석용으로 채취가 가능한 2018년 4월 27일부터 2주 간격으로 매실을 채취하여 아미그달린 함량의 변화를 추적하였다. 매실이 성숙되기 전에는 과육과 씨로 분리되지 않아 숙기에 따른 아미그달린 함량의 변화의 추적을 위해 본 연구에서는 매실 전체를 이용하여 아미그달린을 추출하고, 그 함량을 조사하였다(Fig. 2-9와 Fig. 2-10). 먼저 광양지역과 하동지역의 남고 품종의 매실들의 숙기에 따른 아미그달린 함량의 변화를 조사하였다(Fig. 2-9). 4월 27일에 채취한 매실은 10원짜리 동전 크기로 과육과 씨로 분리되지 않았으며, 광양지역이 16,440 ppm, 하동지역이 38,829 ppm이었다. 2주 후(5월 11일)에 광양지역은 87,106 ppm으로 아미그달린이 급격히 증가하였으나, 하동지역은 41,967 ppm으로 완만히 증가하였다. 4주 후(5월 25일)에는 광양지역은 51,359 ppm으로 아미그달린이 감소하였으나, 하동지역은 63,061 ppm으로 급격히 증가하였다. 그러나 남고 매실을 최종적으로 수확한 8주 후(6월 22일)에는 광양지역이 22,388 ppm, 하동지역이 19,181 ppm으로 아미그달린이 감소하였다. 이러한 현상은 Kim 등(2002)의 결과와 유사하였다. Kim 등(2002)은 2002년 5월 20일까지 아미그달린이 증가하다 이후부터는 지속적으로 감소하는 것을 관찰하였고, 6월 10일에는 5월 20일에 수확한 매실의 최대 아미그달린에 비해 약 40~45%가 감소하는 현상을 보고하였다. 한편 광양, 하동과 영덕 지역의 청매실(품종 구분 없음)에 대해서도 숙기에 따른 아미그달린 함량을 조사하였다(Fig. 2-10). 4월 27일에 수확한 광양지역과 하동지역의 청매실에서는 아미그달린이 검출되지 않았으나, 영덕지역의 청매실에서는 6,505 ppm의 아미그달린이 검출되었다(Fig. 2-10).

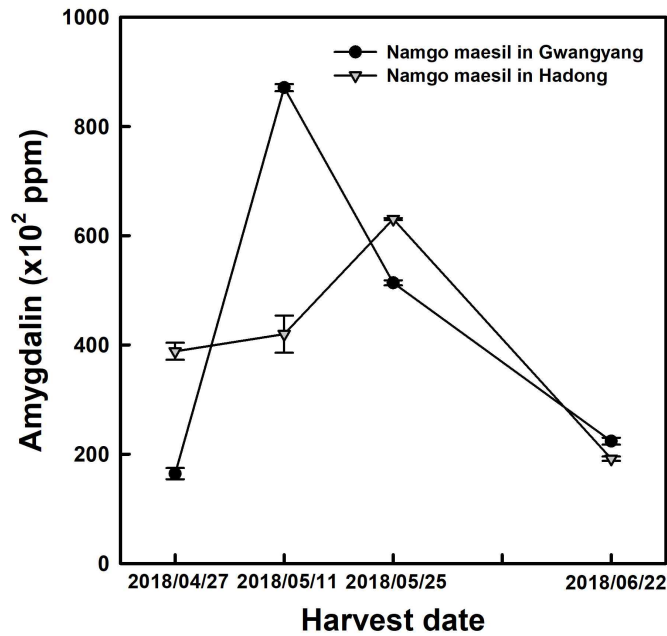


Fig. 2-9. Impact of maesil maturity on the changes in amygdalin contents of Namgo maesil harvested from Gwangyang and Hadong regions.

4월 27일 이후 모든 지역의 매실들은 5월 25일까지 성숙되면서 아미그달린 함량은 급격히 증가하여 최대치에 도달하였고, 6월 11일에는 남고 품종의 매실들에서 관찰된 것과 같이 모두 감소하는 양상을 나타내었다(Fig. 2-10). 이상의 결과를 종합할 때, 매실은 매화나무에서 가능한 오랫동안 성숙시키는 것이 아미그달린이 최소화된 매실을 수확할 수 있는 것으로 생각된다. 또한 일본에서 매실을 수확하는 것과 같이 매화나무에서 매실이 충분히 성숙하여 자발적으로 낙과하는 매실을 이용하는 것이 아미그달린 함량이 최소화된 매실가공품을 제조할 수 있을 것으로 생각된다.

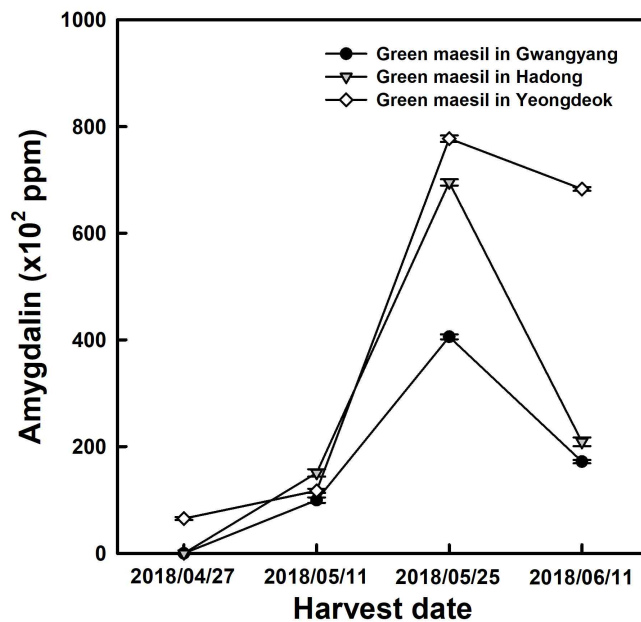


Fig. 2-10. Impact of maesil maturity on the changes in amygdalin contents of green maesil harvested from Gwangyang, Hadong, and Yeongdeok regions.

## (5) 매실 품종별 아미그달린 함량

매실의 품종에 따른 아미그달린 함량을 조사하기 위해 2018년 6월 1일에 남고(Namgo), 백가하(Shirogaka), 천매(Chunmae), 옥영(Okyoung), 앵숙(Oshuku) 품종의 매실들을 수확하고 동결 건조한 후 과육 부위만을 분리하여 과육부위의 아미그달린 함량을 조사하였다(Fig. 2-11). 남고 품종은 8,361 ppm, 백가하 품종은 8,205 ppm, 천매 품종은 7,563 ppm, 옥영 품종은 11,110 ppm, 앵숙 품종은 14,760 ppm의 아미그달린을 함유하고 있었다. 조사된 매실 품종 중 옥영과 앵숙 품종이 다른 품종에 비해 유의적으로 높은 아미그달린을 과육에 함유하고 있었고, 이중 앵숙 품종이 가장 높은 아미그달린을 나타내었다. 따라서 칩출 및 절임 방식에 의한 매실가공품을 제조할 때는 상대적으로 아미그달린 함량이 적은 남고, 백가하, 천매 품종의 매실을 이용하는 것이 적절할 것으로 생각된다.

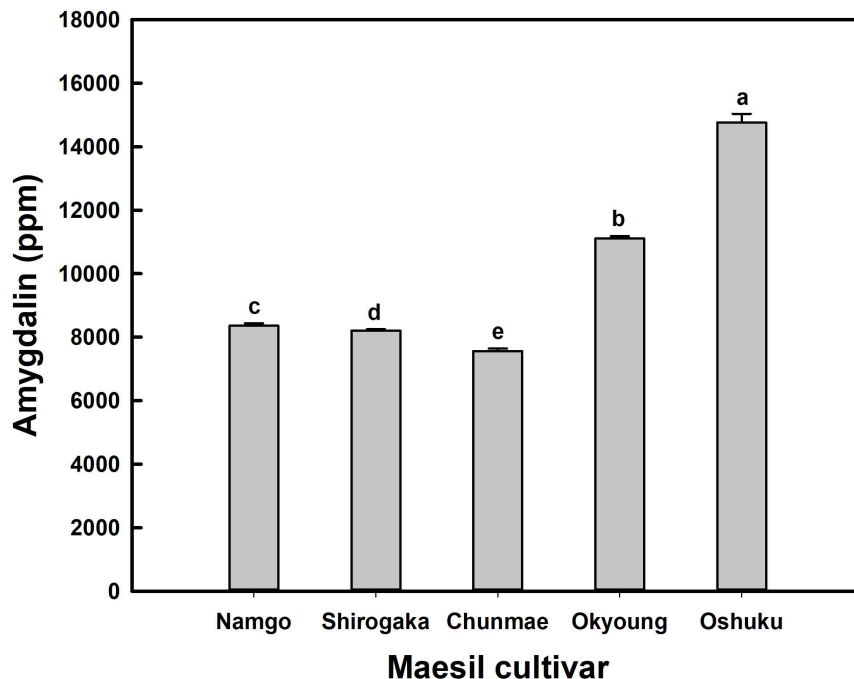


Fig. 2-11. The contents of amygdalin of maesil flesh depending on its cultivars. Bars sharing the same lowercase letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

## 나. 매실의 영양성분

### (1) 매실의 과육 및 씨의 영양성분

청매실과 황매실로부터 동결건조하여 분리된 매실과육과 매실씨의 일반성분과 식이섬유함량을 Table 2-3에 나타내었다. 매실의 과육과 씨의 일반성분을 비교하였을 때, 상온에서의 숙성 유무에 관계없이 매실과육이 매실씨보다 조단백질, 조지방 및 조회분 함량이 유의적으로 높은 수준을 나타내었다. 그러나 총 탄수화물 함량과 식이섬유 함량은 매실씨가 매실의 과육보다 유의적으로 낮은 수준을 나타내었다(Table 2-3).

Table 2-3. Mean<sup>1)</sup> values of proximate composition and total dietary fiber of flesh and seed from green and yellow (aged) maesil

Maesil	Part	Proximate composition (% , d.b)				Dietary fiber (% , d.b)
		Crude protein	Crude fat	Crude ash	Total carbohydrate	
Green	Flesh	8.7±0.6 <sup>b</sup>	21.2±1.0 <sup>a</sup>	6.8±0.7 <sup>b</sup>	63.3±1.1 <sup>b</sup>	20.4±0.2 <sup>b</sup>
	Seed	6.9±0.6 <sup>c</sup>	8.1±0.7 <sup>c</sup>	0.9±0.2 <sup>c</sup>	84.1±0.2 <sup>a</sup>	82.3±1.3 <sup>a</sup>
Yellow	Flesh	11.7±0.0 <sup>a</sup>	15.9±1.1 <sup>b</sup>	8.7±0.3 <sup>a</sup>	63.7±1.4 <sup>b</sup>	19.0±0.4 <sup>b</sup>
	Seed	7.0±0.6 <sup>c</sup>	7.9±0.3 <sup>c</sup>	1.2±0.1 <sup>c</sup>	83.9±0.4 <sup>a</sup>	82.8±0.6 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

매실의 숙성정도에 따른 매실의 과육과 씨의 화학적 성분을 비교할 때, 청매실과 황매실의 씨의 조단백질, 조지방, 조회분, 총 탄수화물과 총 식이섬유 함량들은 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 2-3). 그러나 청매실과 황매실의 과육에 있어 조단백질은 황매실이, 조지방은 청매실이, 조회분은 황매실이 유의적으로 높은 수준을 나타내었으며, 총 탄수화물과 총 식이섬유 함량은 숙성에 관계없이 유의적인 차이를 보이지 않았다.

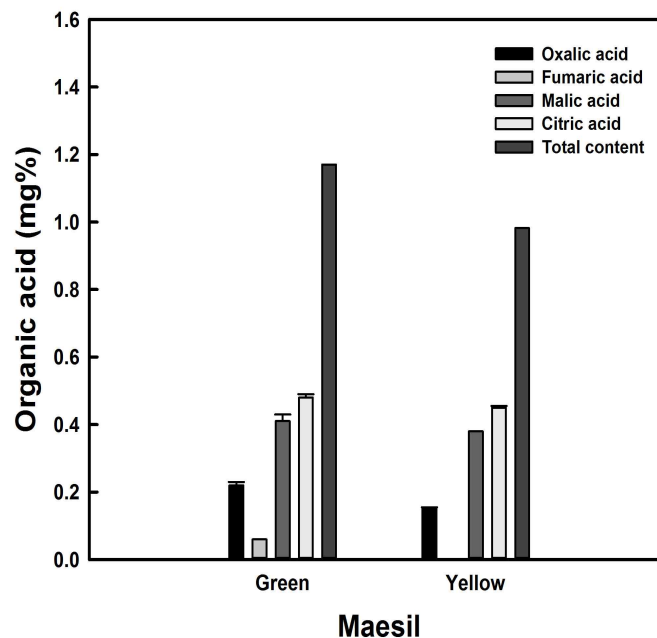


Fig. 2-12. Contents of organic acids of flesh from green and yellow (aged) maesil.



청매실과 황매실 과육들의 유기산 함량을 정량하여 Fig. 2-12에 나타내었다. 청매실과 황매실의 매실과육들에서 oxalic acid, fumaric acid, malic acid, citric acid가 유의적인 피크를 나타내었으나, succinic acid, malonic acid, tartaric acid 들은 매우 미미한 피크들을 보였으며, 이들은 본 연구에서 사용된 GC의 검출한계를 벗어난 것으로 생각되었다. 따라서 본 연구에서는 매실과육에 succinic acid, malonic acid, tartaric acid는 존재하지 않는 것으로 결론지었다. 청매실과 황매실 과육들의 유기산 조성과 함량은 정량된 모든 유기산들(oxalic acid, fumaric acid, malic acid, citric acid)에 있어 청매실이 황매실보다 높은 수준을 나타내었으며, malic acid와 citric acid가 총 유기산의 약 76%를 차지하였다. 이 중 citric acid가 가장 높은 함량을 나타내었다. 청매실이 황매실보다 높은 유기산 함량을 보인 것은 과실류들에 있어 숙성되면서 유기산 함량은 감소하면서 당 함량이 증가하는 일반적인 현상과 동일한 양상을 보인 것으로 판단된다. 따라서 건강기능식품 원료로 인정되는 매실추출물을 제조하기 위해서는 구연산 함량(매실추출물의 지표성분)이 가장 많은 청매실을 이용하여야 할 것으로 생각된다.

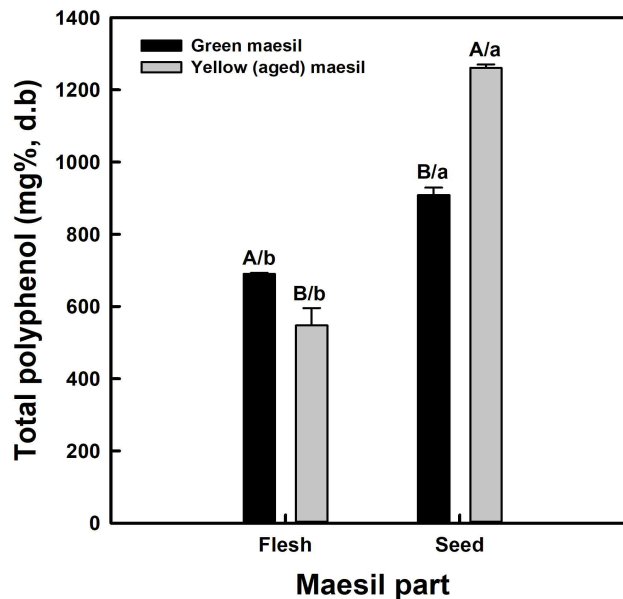


Fig. 2-13. Total polyphenol contents of flesh and seed from green and yellow (aged) maesil. Bars sharing the same uppercase (within maesil parts) or lowercase (between green and yellow maesil of a given maesil part) letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

청매실과 황매실의 과육과 씨의 총 폴리페놀(polyphenol) 화합물의 함량을 조사하여 Fig. 2-13에 제시하였다. 청매실과 황매실의 씨가 과육에 비해 더욱 높은 폴리페놀성 화합물을 포함하고 있었다. 이와 같은 결과는 청매실과 황매실의 씨에 아미그달린이 다량 함유하고 있고, 아미그달린의 화학구조에 있어 환형의 방향성 탄화수소결합을 가지고 있기 때문에 폴리페놀성 화합물의 정량에 있어 아미그달린이 함께 정량된 것으로 생각된다. 한편 매실의 과육에 있어서는 청매실이 황매실보다 유의적으로 높은 폴리페놀 화합물을 함유하고 있었으나, 매실의 씨에 있어서는 청매실보다 황매실에서 유의적으로 높은 폴리페놀 화합물이 검출되었다.

(2) 지역별 매실의 과육 및 씨의 영양성분

재배지역을 달리하여 수확된 “남고” 품종의 매실을 동결건조하여 과육과 씨로 분리하고 이들의 일반성분과 식이섬유함량을 조사하여 Table 2-4에 나타내었다. 매실의 과육에 있어, 조단백질은 하동 ≈ 광양 > 순천, 조회분은 광양 > 하동 > 순천, 총 탄수화물은 순천 > 하동 > 광양의 순서로 높았으나, 조지방은 재배지역별로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 특히하게도 하동매실과 광양매실의 조단백질 함량은 순천매실에 비해 약 2배 많은 함량을 나타내었다. 이러한 차이는 조단백질 분석에 킬달법을 사용하여 총 질소함량을 정량하였기 때문으로 판단된다. 즉 아미그달린 분자에는 질소가 포함되어 있어 킬달법으로 조단백질 함량을 정량할 경우 킬달법의 질소 함량에 아미그달린 분자의 질소가 함유되었을 수 있다. 따라서 매실의 조단백질 함량은 매실의 아미그달린 함량과 관련되어 있는 것으로 생각된다. 총 식이섬유의 경우 19.2~23.0%의 범위를 보였으며, 순천 > 하동 ≈ 광양의 순서로 높았다. 매실의 씨에 있어, 조단백질은 하동 ≈ 광양 > 순천, 조지방은 순천 > 하동 ≈ 광양, 조회분은 순천 ≈ 하동 > 광양의 순서로 높았으나, 총 탄수화물은 75.3~78.7%의 범위로 재배지역별로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 한편 총 식이섬유 함량은 순천이 76.6%로 가장 높았으며, 광양과 하동은 각각 61.7%와 62.1%로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 2-4. Mean<sup>1)</sup> values of proximate composition and total dietary fiber of flesh and seed from Namgo maesil cultivated at different regions

Region	Maesil part	Proximate composition (% , d.b)				Dietary fiber (% , d.b)
		Crude protein	Crude fat	Crude ash	Total carbohydrate	
Hadong	Flesh	12.0±0.6 <sup>b</sup>	20.8±1.4 <sup>a</sup>	8.6±0.5 <sup>b</sup>	58.6±1.5 <sup>c</sup>	21.3±1.2 <sup>d</sup>
	Seed	13.4±1.3 <sup>a</sup>	10.3±0.5 <sup>c</sup>	1.0±0.0 <sup>d</sup>	75.3±0.8 <sup>a</sup>	62.1±2.3 <sup>b</sup>
Gwangyang	Flesh	12.9±0.6 <sup>ab</sup>	22.6±1.8 <sup>a</sup>	11.3±0.1 <sup>a</sup>	53.2±1.2 <sup>d</sup>	19.2±1.0 <sup>de</sup>
	Seed	14.7±0.6 <sup>a</sup>	9.7±1.7 <sup>c</sup>	0.7±0.0 <sup>e</sup>	74.8±2.4 <sup>a</sup>	61.7±0.4 <sup>b</sup>
Suncheon	Flesh	6.5±0.0 <sup>d</sup>	22.1±1.0 <sup>a</sup>	7.7±0.1 <sup>c</sup>	63.7±1.1 <sup>b</sup>	23.0±1.4 <sup>c</sup>
	Seed	7.8±0.6 <sup>c</sup>	12.5±1.0 <sup>b</sup>	1.0±0.0 <sup>d</sup>	78.7±1.6 <sup>a</sup>	76.6±2.0 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

“남고” 매실을 재배지역별로 채취하여 동결건조한 후 이들의 과육부위에 존재하는 유기산을 정량하여 Fig. 2-14에 나타내었다. 청매실과 황매실의 경우와 마찬가지로 재배지역별 매실과육들에서 oxalic acid, fumaric acid, malic acid, citric acid가 유의적인 피크를 나타내었으나, succinic acid, malonic acid, tartaric acid 들은 매우 미미한 피크들을 보였으며, 이것은 본 연구에서 사용된 GC의 검출한계를 벗어난 것으로 생각되었다. 따라서 본 연구에서는 재배지역별 남고 품종의 매실과육에서도 succinic acid, malonic acid, tartaric acid는 존재하지 않는 것으로 결론지었다. Fig. 2-14에 의하면 oxalic acid는 하동 > 광양 > 순천, citric acid는 하동 > 순천 > 광양의 순서로 높아졌다. 반면 fumaric acid와 malic acid는 재배지역에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다. 한편 남고 품종의 홍매실 과육의 전체적인 유기산 함량은 하동 > 광양 > 순천의 순서로 증가하였으며, 지역에 관계없이 malic acid와 citric acid가 전체 유기산 함량의 약 70% 이상을 차지하는 것으로 분석되었다.

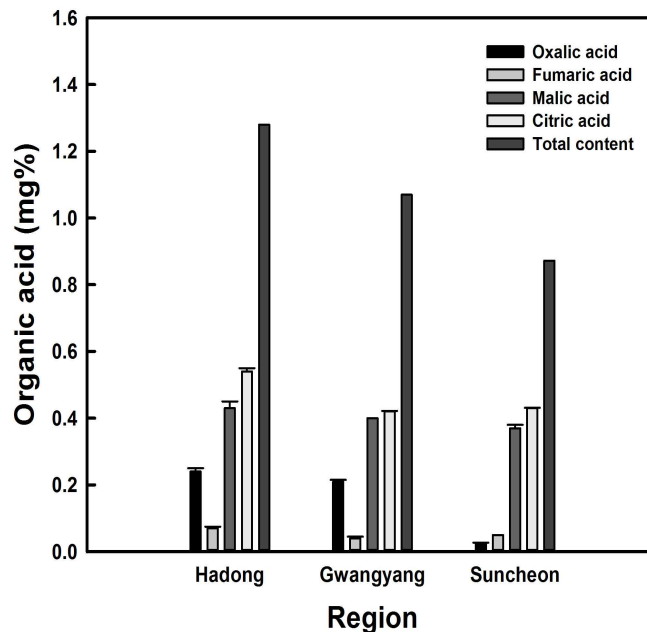


Fig. 2-14. Contents of organic acids of flesh from Namgo maesil cultivated at different regions.

남고 품종의 홍매실을 지역별로 채취하여 동결건조된 과육과 씨의 총 폴리페놀(polyphenol) 화합물의 함량을 조사하여 Fig. 2-15에 제시하였다. 매실의 과육에서는 총 폴리페놀함량은 하동 ≈ 광양 > 순천의 순서로 유의적으로 증가하였으며, 매실의 씨에서는 순천 > 광양 > 하동의 순서로 유의적으로 증가하였다. 지역별 매실의 과육과 씨의 총 폴리페놀 함량을 비교하면, 하동에서는 과육과 씨의 총 폴리페놀 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 광양과 순천의 매실들은 과육의 총 폴리페놀 함량이 씨의 것보다 유의적으로 낮은 수준을 나타내었다. 이것은 청매실과 황매실에서 씨가 과육에 비해 더욱 높은 폴리페놀성 화합물을 포함하고 있는 결과 (Fig. 2-13)와 유사하였다.

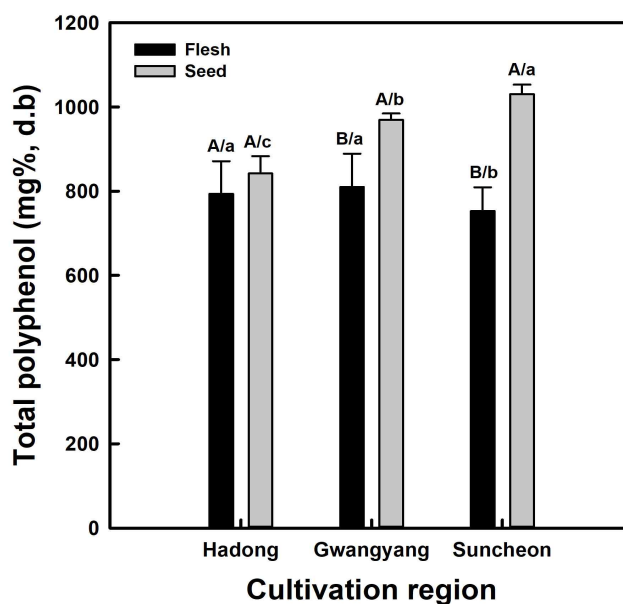


Fig. 2-15. Total polyphenol contents of flesh and seed from Namgo maesil cultivated at different regions. Bars sharing the same uppercase (between flesh and seed of a given cultivation region) or lowercase (among cultivation regions of a given maesil part) letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

(3) 매실 과육의 영양성분에 대한 품종의 영향

Table 2-5. Mean<sup>1)</sup> values of proximate composition and total dietary fiber of flesh from different cultivars of maesil

Cultivar	Proximate composition (% , d.b)				Dietary fiber (% , d.b)
	Crude protein	Crude fat	Crude ash	Total carbohydrate	
Namgo	6.6 ± 0.4 <sup>c</sup>	27.2 ± 1.1 <sup>a</sup>	8.2 ± 2.1 <sup>a</sup>	58.0 ± 1.2 <sup>d</sup>	15.8 ± 0.2 <sup>c</sup>
Shirogaka	13.5 ± 0.8 <sup>a</sup>	15.4 ± 0.3 <sup>d</sup>	6.3 ± 0.6 <sup>ab</sup>	64.8 ± 0.3 <sup>b</sup>	21.1 ± 0.3 <sup>ab</sup>
Chunmae	9.8 ± 0.0 <sup>b</sup>	20.1 ± 0.7 <sup>c</sup>	7.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	62.8 ± 0.2 <sup>c</sup>	20.0 ± 0.2 <sup>b</sup>
Okyoung	10.2 ± 0.7 <sup>b</sup>	14.8 ± 0.5 <sup>d</sup>	6.2 ± 0.8 <sup>ab</sup>	68.6 ± 0.4 <sup>a</sup>	21.6 ± 0.2 <sup>a</sup>
Oshuku	12.3 ± 0.8 <sup>a</sup>	22.7 ± 1.4 <sup>b</sup>	6.1 ± 0.6 <sup>ab</sup>	58.9 ± 0.8 <sup>d</sup>	19.7 ± 0.4 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

매실의 영양성분에 대한 품종의 영향을 조사하기 위해 남고, 백가하, 천매, 옥영, 앵숙 품종들의 매실을 채취하여 동결건조한 후 과육과 씨 부위들로 분리하여 과육의 영양성분에 대해 조사하였다. 매실과육에 대해서만 영양성분을 조사한 것은 매실장아찌와 매실잼 등과 같은 매실가공품을 섭취할 때 씨 부위는 전혀 섭취하지 않기 때문에 영양성분 분석은 매실 과육에 대해서만 수행하였다. 품종별 매실 과육의 일반성분과 총 식이섬유 함량은 Table 2-5에 나타내었다. 매실의 일반성분과 총 식이섬유 함량은 품종에 따라 상이한 결과를 나타내었는데, 조단백질 함량은 6.6~13.5%의 범위로 백가하 > 앵숙 > 옥영 > 천매 > 남고의 순서로 유의적으로 증가하였고, 조지방은 14.8~27.2%의 범위로 남고 > 앵숙 > 천매 > 백가하 ≈ 옥영의 순서로 유의적으로 증가하였으며, 조회분은 6.1~8.2%의 범위로 남고 > 천매 > 백가하 ≈ 옥영 ≈ 앵숙의 순서로 유의적으로 증가하였고, 총 탄수화물은 58.0~68.6%의 범위로 옥영 > 백가하 > 천매 > 남고 ≈ 앵숙의 순서로 유의적으로 증가하였다. 총 식이섬유 함량은 15.8~21.6%의 범위로 옥영 ≈ 백가하 > 천매 > 앵숙 > 남고의 순서로 증가하였다.

Table 2-6. Compositions and contents of minerals in flesh obtained from different cultivars of maesil

Cultivar	Na (mg%, d.b)	K (mg%, d.b)	P (mg%, d.b)	Fe (mg%, d.b)	Ca (mg%, d.b)
Namgo	6.0	3,157.4	206.4	1.1	83.8
Shirogaka	1.1	2,838.8	258.1	1.6	183.5
Chunmae	3.9	2,895.4	250.6	2.0	164.2
Okyoung	0.9	2,542.8	249.7	1.1	160.7
Oshuku	1.0	2,705.1	257.0	1.4	116.7

Table 2-7. Contents of organic acid and vitamine in flesh obtained from different cultivars of maesil

Cultivar	Organic acid (%, d.b)		Vitamin (mg%, d.b)	
	Malic acid	Citric acid	C	$\beta$ -carotene
Namgo	0.7	3.8	38.1	6.1
Shirogaka	2.4	2.4	28.8	4.4
Chunmae	1.5	2.3	15.5	6.0
Okyoung	1.6	2.0	29.2	4.0
Oshuku	1.6	2.2	18.9	4.7

품종별 매실의 과육의 미네랄 조성과 함량을 조사하여 Table 2-6에 제시하였다. Na은 0.9~6.0 mg%의 범위에 있었으며, 남고 > 천매 > 백가하 > 앵숙 > 옥영 품종의 순서로 높은 수준이었다. K은 2,542.8~3,157.4 mg%의 범위에 있었으며, 남고 > 천매 > 백가하 > 앵숙 > 옥영의 순서로 높은 수준이었다. P는 206.4~258.1 mg%의 범위에 있었으며, 백가하 > 앵숙 > 천매 > 옥영 > 남고의 순서로 높았다. Fe는 1.1~2.0 mg%의 범위에 있었으며, 천매 > 백가하 > 앵숙 > 남고 ≈ 옥영의 순서로 높은 수준이었다. Ca은 83.8~183.5 mg%의 범위에 있었으며, 백가하 > 천매 > 옥영 > 앵숙 > 남고의 순서로 높았다. 한편 매실 과육의 유기산 함량에 대한 매실 품종의 영향을 조사하여 Table 2-7에 나타내었다. 매실의 유기산은 다량 함유되어 있는 malic acid와 citric acid에 대해 이온크로마토그래피를 이용하여 분석하였다. 가스크로마토그래피를 이용한 선행된 연구에서 succinic acid는 검출되지 않아 이온크로마토그래피법에서도 조사하였지만 매실 과육에는 succinic acid는 검출되지 않았다. 따라서 매실의 유기산은 succinic acid가 존재하지 않는 것을 재확인 하였다. Malic acid는 0.7~2.4%의 범위에 있었으며, 백가하 > 옥영 > 앵숙 > 천매 > 남고의 순서로 높은 수준이었다. Citric acid는 2.0~3.8%의 범위에 있었으며, 남고 > 백가하 > 천매 > 앵숙 > 옥영의 순서로 높은 수준이었다. 선행된 GC에 의한 정량에 있어서도 citric acid가 malic acid보다 높은 수준을 나타내었는데(Fig. 2-12와 Fig. 2-14), IC를 이용한 분석에서도 역시 citric acid가 malic acid보다 높은 수준을 나타내었다. 게다가 품종별 매실 과육의 비타민 C와 베타카로틴의 함량을 정량하여 Table 2-7에 나타내었다. 매실의 비타민류 중 극미량 함유되어 있는 비타민 B군의 분석은 본 연구에서 제외하였다. 비타민 C의 경우 15.5~38.1 mg%의 범위에 있었으며, 남고 > 옥영 > 백가하 > 앵숙 > 옥영의 순서로 높은 수준이었다. 베타카로틴의 경우에는 4.0~6.1 mg%의 범위에 있었으며, 남고 > 천매 > 앵숙 > 백가하 > 옥영의 순서로 높은 수준을 나타내었다.

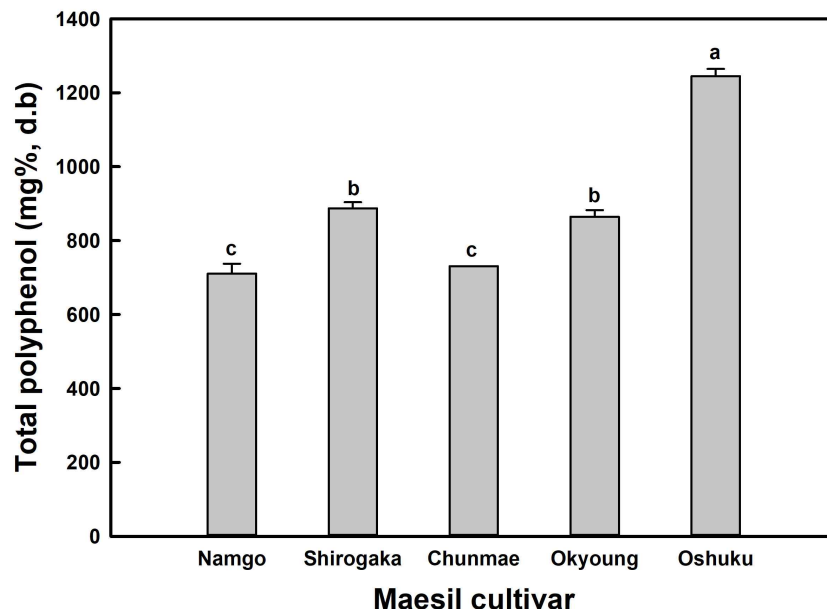


Fig. 2-16. Total polyphenol contents in flesh isolated from different cultivars of maesil. Bars sharing the same lowercase letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

품종별 매실로부터 분리한 과육 내에 함유된 총 폴리페놀 화합물의 함량을 분석하여 Fig. 2-16에 나타내었다. 매실 과육의 총 폴리페놀 함량은 710.9~1,245.1 mg%의 범위에 있었으며, 앵숙 > 백가하 ≈ 옥영 > 남고 ≈ 천매 품종의 순서로 높은 수준을 나타내었다. 한편 매실 과육에 함유되어 있는 유리당을 분석하여 Fig. 2-17과 Table 2-8에 나타내었다. 유리당 분석 시에 사용하는 7종의 당을 표준물질로 하여 매실과육으로부터 얻은 추출물 수용액 내의 당을 분석하였을 때, 매실과육 추출물에는 포도당만이 검출되었으며, unknown 피크가 2개 검출되었다 (Fig. 2-17). Fig. 2-17의 HPAEC 크로마토그램으로부터 검출된 포도당을 정량하였을 때, 1.7~2.4%의 범위에 있었으며, 남고 > 천매 > 옥영 > 앵숙 > 백가하 품종의 순서로 높은 수준을 나타내었다(Table 2-8).

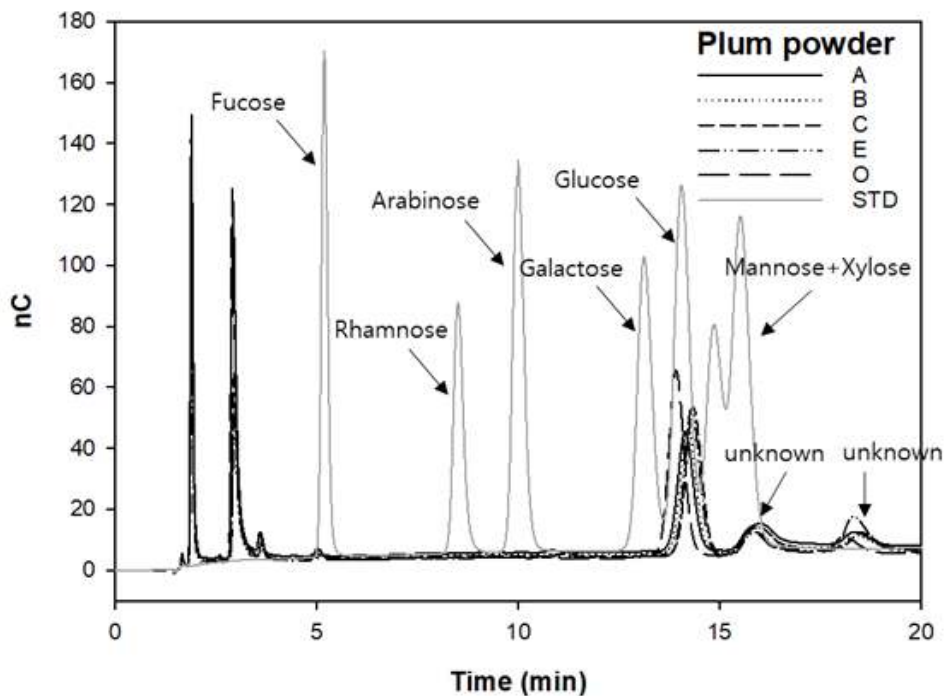


Fig. 2-17. Comparison of the analysis of free sugars from the maesil flesh powders by anion-exchange chromatography and 7 sugar standards (0.005%) (A, Shirogaka; B, Oshuku; C, Chunmae; E, Okyoung; O, Namgo).

Table 2-8. Amount<sup>1)</sup> of glucose in the flesh powders isolated from different cultivars of maesil

Cultivar	Shirogaka	Oshuku	Chunmae	Okyoung	Namgo
Glucose (%, d.b)	1.7±0.0 <sup>d</sup>	1.7±0.0 <sup>c</sup>	2.1±0.0 <sup>b</sup>	2.0±0.0 <sup>b</sup>	2.4±0.0 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within a row are not significantly different at  $p < 0.05$ .

### 3. 요약 및 결론

- 매실의 과육 및 씨로부터 아미그달린을 추출하는 최적조건은 50% 에탄올 수용액을 추출용매로 하여 매실의 건조시료들과 10:1 (v/w)의 비율로 혼합하여 25℃에서 4시간 동안 또는 4시간 이상 교반하는 것이었다.
- 아미그달린은 과육보다 씨 부분에 높은 함량으로 존재하였으며, 상온에서 숙성하여 청매실이 황매실로 되었을 때 아미그달린은 유의적으로 감소하였다. 따라서 최소한의 아미그달린이 함유된 매실가공제품을 제조하기 위해서는 청매실보다는 청매실을 수확하여 숙성시킨 황매실을 사용하는 것이 적절한 것으로 생각된다.
- 남고 품종의 홍매실은 청매실보다 적은 아미그달린 함량을 함유하고 있었으며, 청매실과 황매실에서 관찰된 것과 같이 남고 품종도 과육보다는 씨에 아미그달린이 다량 함유되어 있었다. 남고 품종에 있어 지역별로는 하동 < 광양 < 순천 지역의 홍매실 순서로 아미그달린이 적었다.
- 매실의 숙기별로는 매화가 수분되어 매실이 맺히면서 아미그달린이 형성되고 매실이 성숙되면서 아미그달린이 급격히 증가하였으며, 5월 하순에 매실의 아미그달린 함량은 최대치에 도달하였고, 수확시기인 6월부터는 매실의 아미그달린이 감소하는 양상을 나타내었다. 이와 같은 결과에 기초할 때, 매실은 가능한 매화나무에서 충분히 성숙한 후 수확하는 것이 아미그달린을 최소한으로 함유된 매실을 얻는 방법일 것이다.
- 숙성에 따른 매실의 영양성분은 청매실과 황매실의 경우 과육에서는 일반성분과 총 식이섬유 함량에 있어 조단백과 조지방 만이 유의적인 차이를 보였으며, 씨에서는 청매실과 황매실 사이에 일반성분과 총 식이섬유 함량은 유사하였다. 총 폴리페놀 함량은 과육에서는 청매실이, 씨에서는 황매실이 유의적으로 높았다. 과육의 유기산은 청매실이 황매실보다 유의적으로 높았으며, malic acid와 citric acid의 총 합이 전체 유기산의 약 76%를 차지하였다.
- 지역별 남고 매실의 영양성분은 재배지역별로 일반성분에 있어 상이한 결과를 나타내었으며, 과육의 총 유기산 함량은 하동 > 광양 > 순천의 순서로 증가하였다. 총 폴리페놀 함량은 과육에서 하동 ≈ 광양 > 순천의 순서로 증가하였으나, 씨에서는 순천 > 광양 > 하동의 순서로 증가하였다.
- 품종별 매실의 영양성분을 분석하였을 때, 조단백질은 백가하 품종이, 조지방은 남고 품종이, 조회분은 남고 품종이, 총 탄수화물은 옥영 품종이, 총 식이섬유는 옥영 품종이, Na은 남고 품종이, K은 남고 품종이, P는 백가하 품종이, Fe는 천매 품종이, Ca은 백가하 품종이, malic acid는 백가하 품종이, citric acid는 남고 품종이, 비타민 C는 남고 품종이, 베타카로틴은 남고 품종이, 총 폴리페놀은 앵숙 품종이, 유리당(포도당)은 남고 품종이 가장 높은 함량을 나타내었다.



### 제3절. 매실가공제품의 제조과정/숙성기간별 아미그달린 함량 및 특성

#### 1. 연구방법

##### 가. 재료

##### (1) 매실

##### (가) 매실가공제품 제조를 위한 매실

매실가공제품용 청매실은 하동군 및 광양시 지역에서 2017년 6월 중·하순에 수확한 것을 슬로푸드(주)농업회사법인(Hadong, Gyeongsangnam, Korea)에서 구매하여 청매실을 사용하였다. 각 연구기관에 공급된 청매실은 이쭈시개를 이용하여 꼭지를 따고 세척한 후 표면수분을 제거하여 매실청, 매실주 등을 담는데 사용하였으며, 일부는 -45℃에서 48시간 동안 동결한 후 -20℃에서 저장하면서 추가 실험을 위해 사용하였다.

##### (나) 품종별 매실

백가하(Shirogaka), 앵숙(Oshuku), 옥영(Okyoung), 천매(Chunmae)와 남고(Namgo) 품종들의 매실은 녹차먹은 매실(경상남도 하동군)에서 관리하는 매실 농장들에서 구입하였다. 백가하, 앵숙, 옥영 매실은 경상남도 하동군에 위치하는 매실농장에서, 천매 매실은 전라남도 구례군에 위치하는 매실농장에서, 남고 매실은 전라남도 광양시에 위치하는 매실농장에서 직접 채취하였다. 매실 품종들이 혼합되는 것을 방지하기 위해 백가하, 앵숙, 옥영과 천매 매실들은 2018년 6월 1일에 채취하였으며, 남고 매실은 2018년 6월 22일에 채취하였다.

##### (2) 매실청

##### (가) 장기 숙성 매실청

2015년 6월 하순, 2016년 6월 하순, 2017년 6월 하순에 매실청을 담가 액분리 공정을 거친 후 2018년 6월 하순까지 숙성 중인 장기 숙성 매실청을 슬로푸드(주)농업회사법인에서 2018년 7월 초에 공급받아 본 연구의 재료로 사용하였다.

##### (나) 상업용 매실청

전라남도 순천시와 광양시 및 경상남도 하동군의 매실농장에서 생산하여 판매 중인 상업용 매실청을 구입하여 본 연구의 재료로 사용하였다.

(3) 아미그달린 및 기타

아미그달린(amygdalin, >99%)은 살구씨로부터 추출·정제된 것을 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 시료 제조 및 분석에 사용된 시약과 용매들은 모두 HPLC급 이상의 것을 사용하였다. 매실가공품 제조를 위한 원료들은 시판중인 것들을 구입하여 사용하였다.

나. 매실청의 제조

(1) 대량생산 매실청

매실청은 슬로푸드(주)농업회사법인의 제조공정에 따라 제조하였다(Fig. 3-1과 Fig. 3-2).

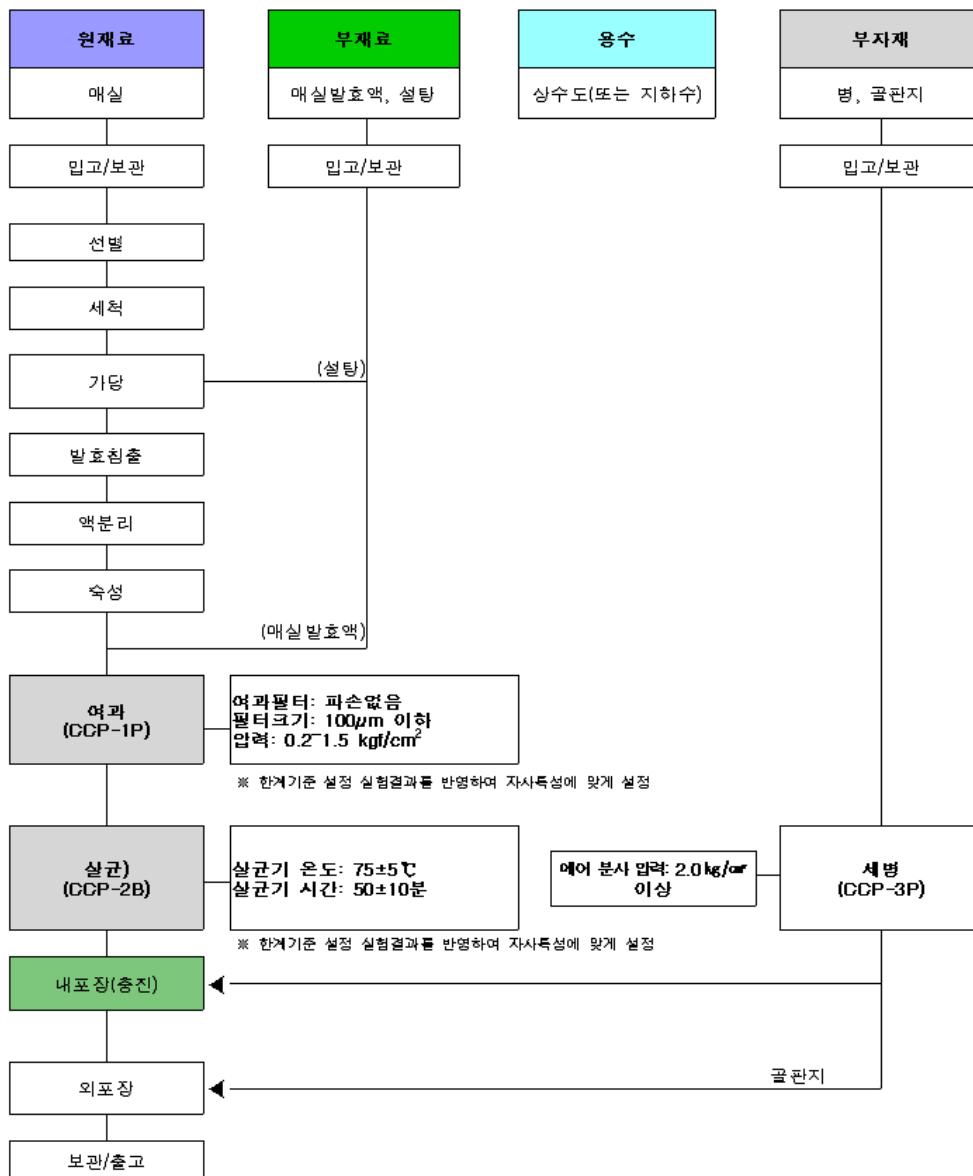


Fig. 3-1. Manufacturing process of maesil chung.



Fig. 3-2. The detailed steps according to the manufacturing process of maesil chung.

## (2) 소량생산 매실청

구입하거나 채취한 매실은 이쑤시개를 이용하여 꼭지를 따고 세척하고 종이타올을 이용하여 표면수분을 제거하였다. 열수처리로 살균하여 건조시킨 담금통에 준비된 매실과 정백당을 교대로 켜켜히 쌓고 가장 위층에는 정백당으로 도포한 후 밀봉하여 15°C 정도의 암실에 보관하였다. 매실과 정백당의 비율은 중량비율로 1:1이었다. 담금통은 매일 진탕하여 침전된 정백당을 다시 분산시켰고, 모든 정백당이 녹았을 때를 0개월로 하여 3개월 동안 당침하였다. 3개월의 당침이 완료된 후 매실을 제거하는 액분리 공정을 거친 후 담금통에 다시 담아 밀봉하고 숙성하였다. 아미그달린 분석을 위한 매실청 시료는 1개월 간격으로 채취하여 분석에 사용하였다.

## 다. 매실주의 제조

### (1) 매실 침출주

매실 침출주는 청매실을 수확 후 3일내에 슬로푸드(주)농업회사법인의 제조법에 따라 제조하였다. 청매실의 꼭지를 제거한 후 세척하고 페이퍼타올로 표면수분을 제거하였다. 준비된 청매실은 담금 소주(30% 알코올 함량)와 1:1의 중량비율로 살균된 담금통(20 L)에 넣어 상온(~25°C)에서 3개월 동안 침출시켰다. 3개월 후 매실을 제거하지 않은(ML1), 매실로부터 씨를 제거한 후 매실과육을 재투입한(ML2), 매실을 제거한(ML3) 매실 침출주들을 상온(~25°C)에서 3개월 동안 숙성하였다. 매실 침출주의 제조공정도는 Fig. 3-3에 나타내었다. 매실 침출주들은 담금통을 이용하여 숙성하였으며(Fig. 3-4A), 완성된 매실 침출주들은 병에 담아 보관하였다(Fig. 3-4B). 매실 침출주는 침출부터 숙성까지 1개월 간격으로 취하여 -20°C에서 저장하면서 분석에 활용하였다.

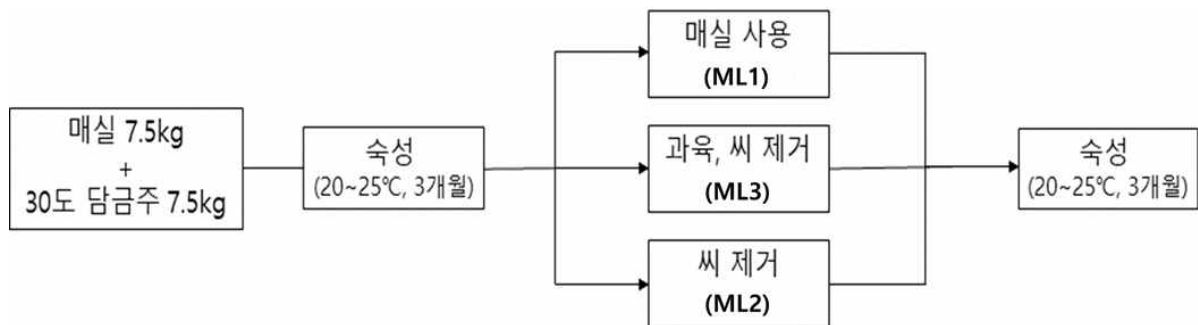


Fig. 3-3. A schematic diagram of the manufacturing process of maesil liqueur.



Fig. 3-4. Maesil liqueurs during aging (A) and finished through aging for 3 months.

## (2) 매실 와인

청매실은 수확 직후 3일 이내에 꼭지를 제거하고 세척한 후 표면수분을 제거하여 준비하였다. 준비된 청매실과 정백당은 1:1의 중량비율로 살균된 담금통(20 L)에 청매실, 정백당, 청매실, 정백당의 순서로 켜켜이 넣고 밀봉하였다. 상온의 암소에서 청매실과 정백당의 혼합물은 2주간 매일 저어주어 용해되지 않고 침전한 정백당을 다시 분산시켰으며, 정백당이 모두 용해되었을 때부터(0일차) 3개월간 숙성하여 매실청을 제조하였다. 3개월 후 매실을 제거한 매실청과 제거하지 않은 매실청을 매실 와인의 원료로 하였다.

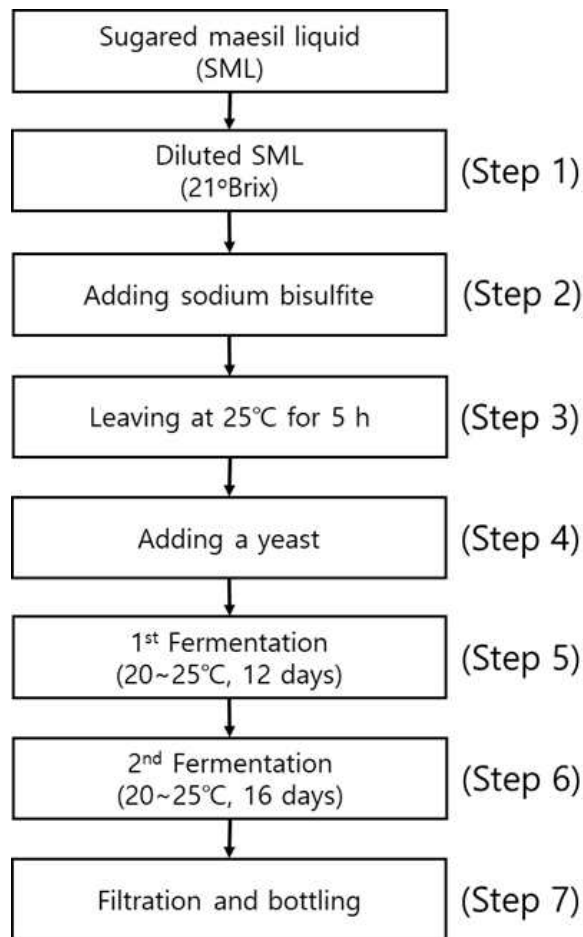


Fig. 3-5. Preparation steps of maesil wines.



Fig. 3-6. Filtering (A), bottling (B), and aging (C, at 15°C) of maesil wines.

매실을 제거하지 않은 매실청(MW1)과 매실을 제거한 매실청(MW2)을 이용하여 매실 와인을 Lee 등(2002)의 방법을 참고하여 제조하였다. 매실 와인의 제조단계들을 Fig. 3-5에 나타내었다. 3개월 동안 숙성시킨 매실청에 정제수를 가하여 당도를 21°Brix로 조정하고(Fig. 3-5 Step 1) 매실청 중량의 0.02%에 해당하는 산성아황산나트륨을 가하여 용해시켰다(Fig. 3-5 Step 2). 이를 상온에서 5시간 동안 방치한 후(Fig. 3-5 Step 3) 매실청 중량 기준 0.02%의 효모를 가하여(Fig. 3-5 Step 4) 20~25°C에서 12일간 1차 발효하였다(Fig. 3-5 Step 5). 1차 발효 종료 후 매실을 함유하는 발효주로부터 매실을 제거하였다. 1차 발효된 발효주에 매실청 중량 기준 0.013%의 산성아황산나트륨을 추가로 가한 후 20~25°C에서 16일간 2차 발효하였다(Fig. 3-5 Step 6). 매실청 중량 기준 0.05%의 벤토나이트를 40°C의 정제수 100 mL에 용해시킨 벤토나이트 용액을 2차 발효가 종료된 발효주에 가하여 20~25°C에서 1주일간 숙성하였다. 숙성이 완료된 발효주는 여과지(공극 3  $\mu$ m)가 장착된 여과기(Wine Kit Korea Co., Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 여과한(Fig. 3-6A) 후 병입하여(Fig. 3-6B) 매실 와인을 제조하였다(Fig. 3-5 Step 7). 제조된 매실 와인은 15°C에서 숙성하면서(Fig. 3-6C) 1개월 간격으로 아미그달린 함량과 특성의 변화를 3개월간 추적하였다.

#### 라. 매실의 염절입(salting, 우메보시)

꼭지를 제거한 청매실을 씻어 말린 뒤 살균된 16 L 담금통에 매실 8 kg과 소금 1.2 kg을 켜켜이 쌓고 상층부에 담금주 250 mL를 넣어 우메보시를 제조하였다. 이후 소금이 잘 녹도록 흔들어주고, 4개월 동안 숙성하면서 1개월 단위로 측정하였다(Fig. 3-7).



Fig. 3-7. Umeboshi during aging at 25°C.

#### 마. 매실초 제조

꼭지를 제거한 청매실을 씻어 말린 뒤 살균된 20 L담금통에 매실 9 kg과 식초 9 kg를 넣어 매실초를 제조하였다(Fig. 3-8). 이후 4개월 동안 숙성하면서 1개월 단위로 아미그달린의 변화를 추적하였다. 그리고 4개월 이후에는 매실초 안에 있는 매실을 모두 제거 후 숙성을 진행하였다.



Fig. 3-8. Maesil vinegar during aging at 25°C.

#### 바. 아미그달린 정량

매실가공제품들로부터 채취된 시료들은 Kim 등(2010)의 방법에 따라 n-hexane과 ethyl acetate로 순차적으로 정제한 후 HPLC를 이용하여 아미그달린을 분리하였다. HPLC 분석조건은 Table 3-1에 제시하였다. HPLC 크로마토그램으로부터 얻은 아미그달린 피크의 면적을 아미그달린 표준품을 이용하여 작성된 검정곡선(Fig. 2-2)에 대입하여 아미그달린 함량을 결정하였다.

Table 3-1. HPLC analysis conditions for the quantification of amygdalin

Item	Conditions
Column	Acclaim 120 C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm, 120 Å)
Mobile phase	Acetonitrille:water = 20:80 (v/v), 1 mL/min
Column temperature	25°C
Detector	UV detector, 215 nm
Injection volume	10.0 μL
HPLC equipment	Shimadzu DGU-20A5R

한편 우메보시와 매실초의 과육과 씨의 아미그달린 함량을 정량하기 위해 과육과 씨는 50% 에탄올 수용액과 1:10의 비율로 믹서에 혼합하여 20시간 이상 상온에서 진탕한 후 여과하여 추출물을 얻고, 이를 전술한 정제과정을 거쳐 분획된 추출물을 제조하였다. 정제된 추출물을 HPLC에 주입하여 Table 3-1의 조건에 따라 분석하여 아미그달린을 정량하였다.

## 사. 매실청의 특성 분석

### (1) 당도

매실청의 당도(가용성 분획)는 굴절당도계(N-3E, Atago, Tokyo, Japan)를 사용하여 3회 반복하여 측정하였다.

### (2) 색 특성

매실청을 분체용 petri dish ( $\varnothing 35$  mm  $\times$  20 mm)에 10 mm 깊이가 되도록 담고 색차계(JC-801, Color Techno Corporation, Osaka, Japan)를 이용하여 Hunter의 색 체계에 따라 색 특성을 분석하였다. 이때 사용된 표준백판의 L, a, b값은 각각 99.65, 4.82, 10.36이었다.

### (3) 총 폴리페놀(polyphenol) 함량

동결건조 매실 시료(과육 및 씨) 5 g에 70% 에탄올 수용액 100 mL를 가하여 진탕배양기를 이용하여 25°C에서 24시간 동안 진탕한 후 감압여과하여 여액을 총 폴리페놀 정량을 위한 시료로 하였다. 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 응용하여 분석하였다. 시료 10  $\mu$ L를 탈이온수 790  $\mu$ L와 혼합하고 희석한 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 500  $\mu$ L를 가하여 잘 혼합하고 1분간 방치한 후 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 서서히 가하였다. 이 혼합액을 2시간 동안 암실에서 방치한 후 UV/Vis spectrophotometer (Optizen POP, Mecasys, Korea)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀(polyphenol) 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 결정되었다.

### (4) 5-HMF (5-hydroxymethyl furfural) 함량

5-HMF 함량은 식품공전의 일반시험법을 참고하여 분석하였다. 매실청 시료 5 g을 탈이온수 25 mL에 용해시킨 후 30% Zn(CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 0.5 mL와 15% K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 0.5 mL를 순차적으로 가한 다음, 탈이온수를 이용하여 50 mL로 정용한 후 여과한 여액을 시험용액으로 하였다. 시험용액은 탈이온수 5 mL를, 공시험용액은 0.2% NaHSO<sub>3</sub> 5 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 UV/Vis spectrophotometer (Optizen POP, Mecasys, Seoul, Korea)를 사용하여, 각각 284 nm와 336 nm에서 흡광도를 측정하여 결정하였다.

### (5) 총당

매실청의 총 당 함량은 페놀-황산법(Dubois et al., 1956)을 이용하여 분석하였다. 희석한 매실청 1 mL에 5% phenol 수용액 1 mL와 95% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 mL를 순차적으로 가한 후 20분 동안 상온에 반응시키고, 냉수욕조에서 20분간 냉각시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 당 함량은 Glucose를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 결정하였다.



(6) 당 조성

매실청의 단순당(포도당, 과당, 설탕)의 조성은 고성능 음이온 교환크로마토그래피(high-performance anion-exchange chromatography, HPAEC)를 이용하여 분석하였다. 50배 희석된 매실청은 시린지 필터로 여과한 후 PA-1 컬럼에 10  $\mu$ L를 주입하였다. 이동상은 150 mM NaOH 수용액이었으며, 0.5 mL/min의 유속으로 총 15분간 흘려주면서 단순당들을 분리하였다. HPAEC 크로마토그램으로부터 매실청의 포도당, 과당, 설탕의 함량은 미리 결정된 이들 각각의 검정곡선들(Fig. 3-9)로부터 결정되었다.

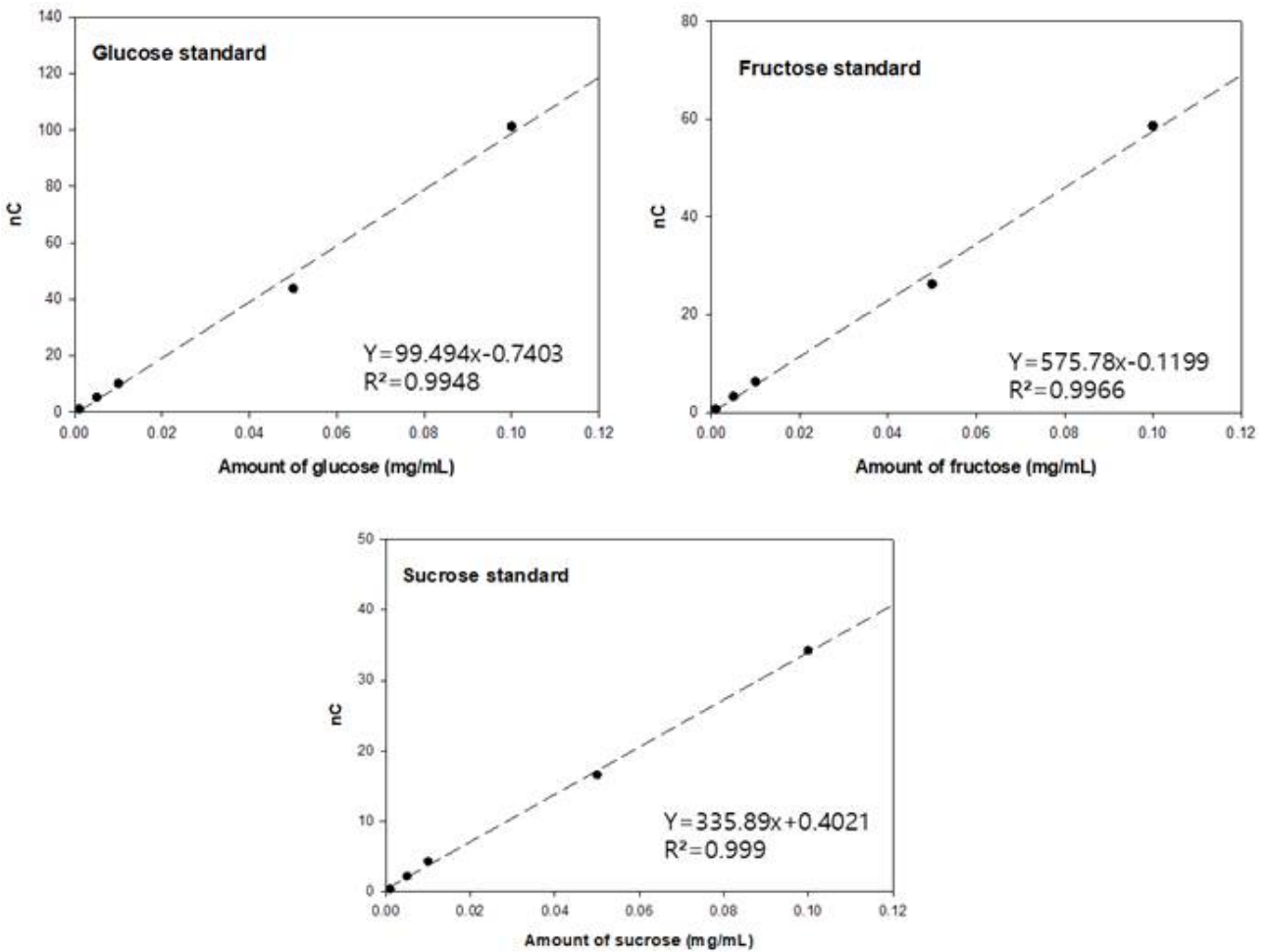


Fig. 3-9. Calibration curve of glucose, fructose, and sucrose for HPAEC analysis.

(7) 총산도

매실청의 총산도는 식품공전의 일반시험법에 준하여 분석하였다. 희석된 매실청 50 mL에 pH meter의 probe를 담그고 0.1 N NaOH 표준용액(F=1.001)을 이용하여 희석된 매실청의 pH가 8.1에 도달할 때까지 적정하였다. 0.1 N NaOH 표준용액의 소비량을 이용하여 구연산을 기준으로 매실청의 총 산도를 결정하였다.

## (8) 유기산 함량

매실청 25 mL에 동량의 에탄올을 가하고 매실청과 에탄올 혼합물을 상온에서 충분히 혼합하여 5분간 진탕한 후 원심분리하여 상층액을 취하여 회전진공농축기로 에탄올을 제거하였다. 이를 메탄올, 증류수 및 0.01 N HCl로 미리 활성화시킨 sep-pak C18 cartridge에 통과시킨 다음 증류수로 회수하여 총량을 50 mL로 하여 IC 분석을 위한 시료로 하였다(Shin et al., 2011). 분석용 시료는 시린지 필터를 통과시킨 후 Dionex IonPac ICE-AS1 column이 장착된 ion chromatography를 이용하여 유기산을 분리 및 정량하였다. 유기산은 사과산(malic acid), 구연산(citric acid)와 호박산(succinic acid)로 한정하였다. 전술한 방법에 따라 한국식품연구원에 의뢰하여 매실 과육의 유기산을 분석하였다.

## (9) 무기질

매실청의 무기질은 서울대학교 농생명과학공동기기원에 의뢰하여 분석하였다. 무기질(Na, K, P, Fe, Ca)은 inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES)에 의해 정량되었다(Anderson, 1996).

## (10) 비타민

매실청의 비타민 C와 베타카로틴( $\beta$ -carotene)에 대해 한국식품연구원에 의뢰하여 분석하였다. 비타민 C는 식품공전의 식품의 기준 및 규격의 비타민류 시험법에 준하여 분석하였으며, 베타카로틴은 건강기능식품의 기준 및 규격의 베타카로틴 시험법에 준하여 분석하였다.

### 아. 매실 침출주와 와인의 특성 분석

#### (1) 알코올 함량

매실 침출주 또는 와인 100 mL에 증류수 30 mL를 혼합하고 가열하여 증류액을 메스실린더에 70 mL까지 회수한 후 탈이온수를 가하여 100 mL로 하고 주정계(Deakwang Inc., Seoul, Korea)를 이용하여 측정 후 Gay-Lussac 주정도수환산표를 이용해 보정을 해주었다(Kim과 Yi, 2010).

#### (2) pH와 적정산도(titratable acidity)

매실 침출주 또는 와인의 pH는 pH meter (Thermo-Orion 710A, Thermo Fisher Scientific Korea Co., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다. 적정산도는 매실 침출주 또는 와인 10 mL와 증류수 90 mL를 혼합한 후 0.1 N NaOH 표준용액(F=1.001)를 이용하여 pH 8.3까지 적정하여 소비된 0.1 N NaOH 표준용액의 소비량을 구연산(citric acid)으로 환산하였다(Chae 등, 2008).

### (3) 색 특성

매실 침출주 또는 와인을 액체 시료용 큐벳(cuvette)에 넣고 색차계(JC801, Color Techno System Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 매실 와인의 색 특성을 Hunter의 색 체계에 따라 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness)를 측정하였다. 이때 사용된 색차계의 표준백판은 L 98.21, a -0.16와 b 1.65이었다.

### (4) 매실 와인의 기호도 평가

완성된 매실와인을 식품공학전공 대학원생 21명을 대상으로 관능평가를 진행하였다. 점수는 1~9점이며, 관능평가에 사용된 항목은 짙은맛, 신맛, 단맛, 후미, 향, 바디감, 목넘김이고, 짙은맛, 신맛, 단맛 항목은 강도평가를 진행하였고, 후미, 향, 바디감, 목넘김 항목은 기호도 평가를 진행하였다.

## 자. 매실고추장의 제조 및 특성 분석

### (1) 고추장 재료

매실청을 첨가한 고추장의 제조 실험에 사용된 매실청은 힐링습농장영농조합법인(Yeongdeok, Gyeongsangbuk, Korea)에서 제조된 매실청(57.5°Brix)을 사용하였다. 고추장의 제조에 사용된 고춧가루는 고추장용 고춧가루(Andong, Gyeongsangbuk, Korea)를, 메주가루는 전라북도 순창군의 메주가루를, 소금과 조청은 각각 (주)백설(CJ제일제당)과 (주)대흥식품(Andong, Gyeongsangbuk, Korea)의 것을 구입하여 사용하였다.

### (2) 매실청 전처리

매실청은 18 W 침수형 UVC 램프를 이용하여 3시간 동안 자외선 조사처리한 뒤 매실고추장의 원료로 사용하였다.

### (3) 매실청 첨가 고추장의 제조

Table 3-2는 고추장 제조를 위한 재료와 배합비를 나타내었다. 대조군(control) 고추장과 달리 매실청(maesil)과 UVC 조사처리 매실청(UVC-maesil) 고추장은 조청과 물 대신 매실청을 사용하였는데, 조청과 물의 비율은 매실청의 당도(°Brix)와 같은 값을 가지게 비율을 조정하였다. 모든 재료들을 정확히 칭량하여 kitchenAid 믹싱보울에 넣고 비터를 이용하여 덩어리진 부분들이 안보일 때까지 혼합하였다. 균일하게 혼합된 고추장들은 고추장용기에 1 kg씩 담고 20°C에서 저장하면서 숙성하였다.

Table 3-2. Formula for preparing maesil gochujang

Gochujang	Rice syrup	Water	Maesil chung	Red pepper powder	Meju powder	Salt	Total
Control	790 g	655 g	-	325 g	130 g	100 g	2,000 g
Maesil	-	-	1,445 g	325 g	130 g	100 g	2,000 g
UVC-Maesil	-	-	1,445 g	325 g	130 g	100 g	2,000 g

(4) 수분함량

고추장의 수분함량은 AOAC법(AOAC 2000)에 따라 105°C 상압가열건조법에 준하여 측정하였다.

(5) pH

고추장의 pH는 고추장 10 g, 증류수 90 g을 교반하여 총 100 g의 혼합물을 상온에서 pH meter (PB-10, Sartorius, Germany)를 이용하여 3회 반복 측정한 뒤 평균값을 구하였다.

(6) 염도

고추장의 염도는 디지털 염도계(SB-2000PRO, 기미상궁, Korea)를 사용하여 고추장 10 g, 증류수 90 g을 교반하여 총 100 g의 혼합물을 3회 반복하여 측정한 뒤 평균값을 구하였다.

(7) 당도

고추장의 당도는 굴절 당도계(N-3E, Atago, Tokyo, Japan)를 사용하여 고추장 10 g에 증류수 90 g을 교반하여 총 100 g의 혼합물을 3회 반복하여 측정한 뒤 평균값을 구하였다.

(8) 겉보기 점도

고추장의 겉보기 점도는 고추장 100 g을 회전점도계(LVDV-I+, Brookfield, U.S.A)를 이용하여 S64번 스펀들을 이용하여 1.0 RPM에서 5분간 3회 반복 측정한 뒤 평균값을 구하였다.

(9) 색 특성

고추장을 petri dish (35 mm × 10 mm)에 담아 색차계(JC-801, Color Techno Corporation, Osaka, Japan)를 사용하여 3회 반복하여 측정한 뒤 평균값을 구하였다. 이때 사용된 표준 백판의 L, a, b값은 100.05, 3.183, 10.99이었다.

## (10) 총 균수 측정

고추장의 총 균수 측정은 고추장 5 g을 0.1% peptone water으로 필요한 만큼 희석하였다. 총 균수는 Cycloheximide가 첨가된 plate count agar 배지에 도말하여 37°C에서 1일간 배양 후 집락을 계수하였다.

## (11) 총 효모 수 측정

고추장의 총 효모 측정은 고추장 5 g을 1% Tween 80으로 필요한 만큼 희석하였다. 총 효모 수는 Streptomycin이 첨가된 potato dextrose agar 배지에 도말하여 25°C에서 2일간 배양 후 집락을 계수하였다.

## (12) Amygdalin 정량

고추장의 amygdalin 함량은 고추장 10 g에 50% EtoH 100 mL를 첨가한 뒤 진탕배양기에서 22시간 이상 진탕한 후 감압여과하여 여액을 얻었다. 분리된 여액은 separatory funnel에 넣고 n-hexane과 ethyl acetate로 각각 2회 처리한 후 회전감압농축기에서 농축한 후 아미그달린 분석을 위한 시료로 사용하였다. 아미그달린의 분석은 **Table 3-1**에 제시된 분석조건에 준하여 수행하였고, **Fig. 2-2**의 아미그달린 검정곡선을 이용하여 계산하였다.

## 차. 통계처리

매실가공제품의 처리조건에 따라 각각 3회 반복하여 제조하였으며, 처리조건별 반복하여 제조된 각각의 시료들의 아미그달린 함량과 특성들은 3회 반복하여 분석하였다. 분석된 결과들은 일원분산분석(one-way ANOVA)을 통해 통계적 유의성을 분석한 후 평균±표준편차로 표시하였다. 매실가공제품들의 평균값들에 있어 처리군들 사이의 유의적인 차이는 신뢰수준 95%에서 Tukey's HSD test를 이용하여 분석하였다. 모든 통계적 계산과 분석은 Minitab 16 (Minitab Inc., State College, PA, USA)에 의해 수행되었다.

## 2. 연구결과

### 가. 매실청의 아미그달린 함량 및 특성

#### (1) 매실청의 아미그달린 변화

꼭지를 따고 표면을 세척하여 건조한 매실과 설탕(50:50, w/w)을 첨가하여 설탕이 모두 녹은 후부터 3개월간(대략 100~105일) 당침(sugaring)하였다. 3개월 후 매실 당침액으로부터 매실을 제거하는 액분리 공정을 거쳐 매실청을 담근 후 추가로 3개월간 숙성하면서 1개월 간격으로 아미그달린 함량의 변화를 조사하였다(**Fig. 3-10**). 당침 0개월은 매실-설탕 혼합물에 있어 설탕이 모두 녹은 상태에 도달하였을 때부터 하였다.

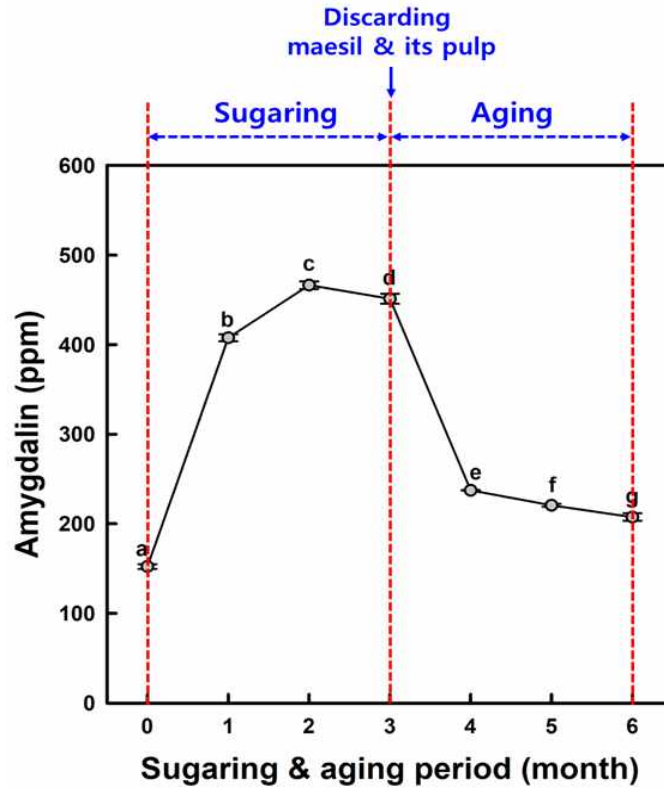


Fig. 3-10. Changes in amygdalin contents of maesil chung depending on sugaring and aging periods. Bullets sharing the same lowercase letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

설탕이 모두 용해되었을 때(당침 0개월), 매실 당침액의 아미그달린 함량은 152.3 ppm이었고, 1개월 당침 시 급격히 증가하여(407.6 ppm) 2개월 당침에 최대치(466.4 ppm)에 도달하였다. 그리고 3개월 당침에서 451.1 ppm으로 소폭 감소하였다(Fig. 3-10). 3개월 당침이 완료된 후 매실 당침액으로부터 매실과 매실펄프를 제거하여 숙성을 시작하였을 때, 숙성 1개월차에 매실청의 아미그달린 함량이 237.3 ppm으로 급격히 감소하였고, 숙성 3개월차까지 숙성기간이 연장되면서 점진적으로 감소하여 207.5 ppm에 도달하였다(Fig. 3-10). 이와 같은 결과는 Son 등 (2017)이 보고한 매실청의 아미그달린 함량이 당침 90일 이후 감소하였다는 결과와 동일한 양상을 나타내었다.

Table 3-3. Amygdalin contents of maesil chung from different preparation date

Process	Process description	Date starting Sugaring	Amygdalin <sup>1)</sup> (ppm)
Discarding maesil & its pulp	When finishing sugaring for 100 days	June 22, 2017	358.3±0.9 <sup>a</sup>
		July 11, 2017	329.5±0.7 <sup>b</sup>
Aging	Aging for 12 months after discarding maesil & its pulp	June 22, 2017	275.4±0.5 <sup>c</sup>
		July 11, 2017	232.2±1.2 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within a column are not significantly different at  $p < 0.05$ .

한편 매실의 입고일이 다른 매실들을 이용하여 슬로푸드(주)농업회사법인(주관연구기관)의 제조공정과 배합비에 따라 매실청을 담가 100일간 당침한 후 액분리 공정을 마무리하였을 때 아미그달린 함량은 2017년 6월 22일에 당침한 것은 358.3 ppm이었으며, 2017년 7월 11일에 당침한 것은 329.5 ppm으로 당침일에 따라 유의적인 차이를 나타내었다(Table 3-3). 이와 같이 당침일이 늦은 매실청의 아미그달린 함량이 낮은 것은 Fig. 2-7과 Fig. 2-10에서 보고된 것과 같이 매실이 숙성 또는 성숙될수록 매실 자체의 아미그달린 함량이 낮아지기 때문인 것으로 판단된다. 당침일을 달리하여 제조된 매실청의 액분리 공정 후 1년 동안 숙성한 후 아미그달린을 분석하였을 때, 2017년 6월 22일에 당침한 것은 275.4 ppm, 2017년 7월 11일에 당침한 것은 232.2 ppm이었다(Table 3-3). Fig. 3-10에서 관찰된 것과 같이 액분리 공정 이후 숙성하면서 아미그달린은 감소하였으며, 제조일에 따른 아미그달린 함량의 차이는 그대로 유지되는 것을 알 수 있었다. 따라서 아미그달린 함량이 적은 매실청을 제조하기 위해서는 100일간 당침 후 장기간 동안 숙성하는 방법이 적절한 것 같다.

## (2) 장기간 숙성 매실청의 아미그달린 함량과 품질 특성

슬로푸드(주)농업회사법인에서 2015년, 2016년, 2017년 담근 매실청을 슬로푸드(주)농업회사법인의 매실청 생산 공정에 따라 처리한 후 이들의 아미그달린 함량과 품질 특성들을 조사하였다. 매실청들은 당침액과 매실 및 매실펄프가 함께 포함되어 있는 상태에서 숙성되고 있는 것들이었다. 매실청은 여과하여 매실과 매실펄프를 제거하는 액분리 공정을 거친 후 Fig. 3-1의 살균(열처리) 공정에 따라 처리한 것을 분석을 위한 매실청으로 하였다. 액분리된 매실청을 살균(열처리)하는 것은 매실청이 숙성하는 동안 부분적인 발효로 인해 알코올이 생성되기 때문에 이를 제거하는 것과 매실청에 함유되어 있는 미생물들을 사멸시킬 목적으로 수행한다.

Table 3-4. Mean<sup>1)</sup> values of soluble sugar, amygdalin, total polyphenol, and 5-hydroxymethyl furfural (5-HMF) contents of maesil chungs aged for 1-3 years (prepared at 2017, 2016, and 2015)

Aging period (preparation year)	Soluble sugar (°Brix)	Amygdalin (ppm)	Total Polyphenol (ppm)	5-HMF (ppm)
1 year (2017)	48.7±0.1 <sup>b</sup>	408.2±1.4 <sup>a</sup>	711.40±12.4 <sup>a</sup>	61.1±5.9 <sup>c</sup>
2 years (2016)	56.6±0.2 <sup>a</sup>	339.8±3.9 <sup>b</sup>	679.82±11.7 <sup>b</sup>	98.8±6.6 <sup>a</sup>
3 years (2015)	56.9±0.1 <sup>a</sup>	246.5±3.8 <sup>c</sup>	527.19±17.4 <sup>c</sup>	102.9±5.9 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

장기간 숙성된 매실청의 상업용 처리공정을 거친 장기간 숙성된 매실청의 당도, 아미그달린 함량, 총 폴리페놀 및 5-HMF 함량과 이들의 색 특성을 조사하여 각각 Table 3-4와 Table 3-5에 나타내었다. 장기간 숙성된 매실청들의 당도는 숙성기간이 1년에서 3년으로 연장되면서 48.7°Brix에서 56.9°Brix로 유의적으로 증가하였다(Table 3-4). 이는 저장기간이 증가하면서 매실 당침액의 수분이 증발하여 농축된 결과인 것으로 판단된다. 아미그달린 함량은 1년 숙성된 것은 408.2 ppm, 2년 숙성된 것은 339.8 ppm, 3년 숙성된 것은 246.5 ppm으로 숙성기간이 연장되면서 감소하였다(Table 3-4). 이들의 아미그달린 함량이 Table 3-3에 제시된 1년 숙성된 것보다 높은 이유는 장기간 숙성 시 매실과 매실펄프가 함유되어 있어 매실로부터 지속적으로 아미그달린이 용출되기 때문인 것으로 보인다. 그럼에도 숙성기간이 연장되면서 아미그달린 함량은 감소하는 것은 동일하였다. 총 폴리페놀 함량은 1년 숙성된 것이 711.4 ppm, 2년 숙성된 것이 679.8 ppm, 3년 숙성된 것이 527.2 ppm으로 숙성기간이 연장되면서 감소하는 양상을 나타내었다(Table 3-4). 이는 아미그달린 함량 감소와 동일한 양상이었으며, 아마도 아미그달린의 감소로 인해 총 폴리페놀 함량의 정량 시 아미그달린이 정량되지 않았기 때문으로 생각된다.

Table 3-5. Mean<sup>1)</sup> values of color characteristics of maesil chungs aged for 1-3 years (prepared at 2017, 2016, and 2015)

Aging period (preparation year)	$L^2)$	$a^2)$	$b^2)$
1 year (2017)	27.0±0.0 <sup>a</sup>	-9.5±0.1 <sup>a</sup>	9.6±0.1 <sup>b</sup>
2 years (2016)	26.0±0.1 <sup>b</sup>	-9.7±0.6 <sup>a</sup>	10.3±0.1 <sup>a</sup>
3 years (2015)	27.0±0.1 <sup>a</sup>	-8.8±0.5 <sup>a</sup>	9.2±0.1 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup> $L$ ,  $a$ , and  $b$  correspond to lightness, redness, and yellowness, respectively.



Fig. 3-11. Appearance of maesil chungs (before heat treatment) aged for 3 months (2017 preparation) and 3 years (2015 preparation).



5-HMF와 관련하여, 5-HMF는 카라멜화 반응(caramelization)이나 마이야르 반응(Maillard reaction)이나 에서 갈변성분의 중간물질로 갈변의 정도를 평가하는 지표물질로 사용된다. 매실청의 저장기간이 연장되면서 매실청의 색이 어두워졌기(Fig. 3-11) 때문에 5-HMF 함량의 측정을 통해 갈변의 정도를 평가하고자 하였다. 5-HMF는 1년 숙성된 것이 61.1 ppm, 2년 숙성된 것이 98.8 ppm, 3년 숙성된 것이 102.9 ppm으로 숙성기간이 연장되면서 증가하였다(Table 3-4). 이는 매실청의 색이 매실청의 환원당(포도당과 과당)과 단백질 사이의 마이야르 반응에 의해 갈변이 진행되었다는 것을 암시한다. 매실청의 갈변정도를 매실청의 색 특성을 조사하여 확인하고자 하였다. 매실청의 명도는 26.0~27.0으로 숙성기간에 따라 유의적인 차이를 보이지만 그 차이가 크지 않았다. 적색도는 -8.8~-9.7로 숙성기간이 연장되면서 유의적으로 높아지는 경향을 나타내었으며, 황색도는 9.2~10.3으로 숙성기간에 따라 유의적인 차이를 나타내었다(Table 3-5). 그러나 전반적으로 매실청의 숙성기간에 따른 색 특성은 큰 차이를 보이지 않았고, 이것은 여과한(액분리) 후 살균(열처리)하면서 매실청들이 갈변화가 진행되면서 전반적으로 어두워졌기 때문이다.

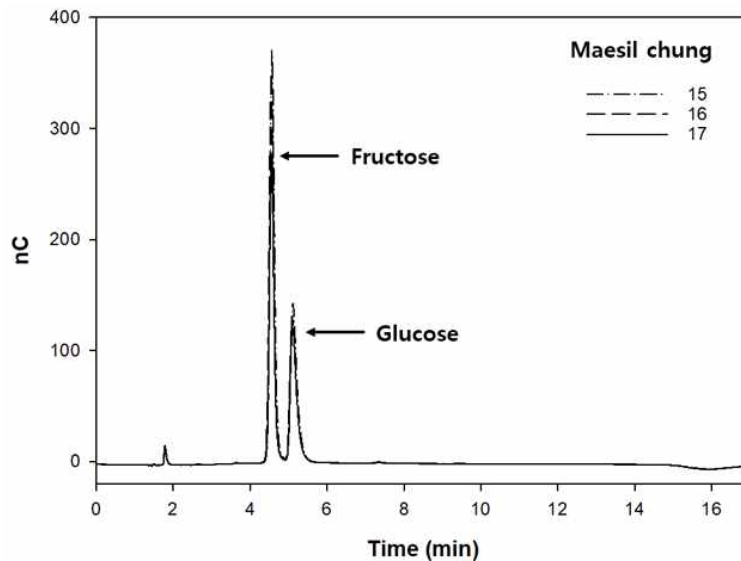


Fig. 3-12. HPAEC chromatograms of maesil chungs aged for 1-3 years (prepared at 2017, 2016, and 2015)

장기가 숙성된 매실청의 당 조성을 HPAEC를 이용하여 조사하여 Fig. 3-12와 Table 3-6에 제시하였다. 매실청들의 HPAEC 크로마토그램(Fig. 3-12)을 보면 1년(17), 2년(16), 3년(15) 숙성된 매실청들에서 sucrose의 피크는 관찰되지 않는 것을 알 수 있다. 이것은 숙성하면서 발효를 통해 sucrose의 전량이 glucose와 fructose로 가수분해되었기 때문이다. HPAEC 크로마토그램에서 얻은 당 성분들의 피크면적을 이용하여 Fig. 3-9의 검정곡선을 이용하여 당 성분들의 농도를 계산하였을 때(Table 3-6), 포도당은 1년 숙성된 것이 2.06 mg/mL, 2년 숙성된 것이 2.58 mg/mL, 3년 숙성된 것이 2.66 mg/mL이었으며, 과당은 1년 숙성된 것이 2.11 mg/mL, 2년 숙성된 것이 2.28 mg/mL, 3년 숙성된 것이 2.43 mg/mL이었다. 매실청의 포도당과 과당은 숙성기간이 연장되면서 증가하는 양상을 나타내었고, 이것은 숙성 동안 매실청이 농축되었기(soluble sugar in Table 3-4) 때문으로 생각된다.

Table 3-6. Mean<sup>1)</sup> values of glucose, fructose, and sucrose contents of maesil chung aged for 1-3 years (prepared at 2017, 2016, and 2015)

Aging period (preparation year)	Glucose (mg/mL)	Fructose (mg/mL)	Sucrose (mg/mL)
1 year (2017)	2.1±0.1 <sup>b</sup>	2.1±0.1 <sup>b</sup>	- <sup>2)</sup>
2 years (2016)	2.6±0.1 <sup>a</sup>	2.3±0.1 <sup>a</sup>	- <sup>2)</sup>
3 years (2015)	2.7±0.1 <sup>a</sup>	2.4±0.1 <sup>a</sup>	- <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>Not detected.

장기간 숙성된 매실청들의 유기산(malic acid, citric acid, succinic acid), 비타민 C와 베타카로틴의 함량을 조사하여 Table 3-7에 제시하였다. 매실청의 유기산들은 malic acid, citric acid와 succinic acid가 검출되었다. 특이한 것은 매실의 과육과 씨에는 succinic acid를 함유하지 않았음에도(Fig. 2-12, Fig. 2-14와 Table 2-7) 매실청에서는 검출되었다. 이것은 매실청이 숙성되면서 발효가 일어나 발효부산물로 succinic acid가 생성된 것으로 판단된다. Malic acid는 242.4~540.6 mg%의 범위에 있었으며, 숙성기간이 연장되면서 증가하였다. Citric acid는 1,211.7~2,039.3 mg%의 범위에 있었으며, 숙성기간이 연장되면서 감소하였다. Succinic acid는 39.5~104.8 mg%의 범위에 있었으며, 숙성기간이 연장되면서 증가하였다. 한편 비타민 C와 베타카로틴은 매실과육에 상당량 존재하였음에도(Table 2-7) 장기간 숙성된 매실청에서는 검출되지 않았다. 이것은 비타민 C는 수용액상에서 상당히 불안정하여 장기간 숙성되는 동안 산화되어 검출되지 않은 것으로 판단되며, 베타카로틴은 수용액에 대한 용해도가 극히 낮아 당침동안 매실과육으로부터 용출되지 않은 것으로 판단된다.

Table 3-7. The contents of organic acids, vitamin C, and  $\beta$ -carotene of maesil chung aged for 1-3 years (prepared at 2017, 2016, and 2015)

Aging period (preparation year)	Malic acid (mg%)	Citric acid (mg%)	Succinic acid (mg%)	Vitamin C (mg%)	$\beta$ -carotene (mg%)
1 year (2017)	242.4	2,039.3	39.5	- <sup>1)</sup>	- <sup>1)</sup>
2 years (2016)	339.5	1,406.8	59.4	- <sup>1)</sup>	- <sup>1)</sup>
3 years (2015)	540.6	1,211.7	104.8	- <sup>1)</sup>	- <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Not detected.

장기간 숙성된 매실청들의 무기질 조성을 조사하여 **Table 3-8**에 제시하였다. Na는 0.8~1.5 mg%의 범위에 있었으며, 2년 숙성 > 3년 숙성 > 1년 숙성한 순서로 높은 수준을 나타내었다. K는 186.0~287.2 mg%의 범위에 있었으며, 1년 숙성 > 3년 숙성 > 2년 숙성한 순서로 높은 수준을 나타내었다. P는 10.3~13.4 mg%의 범위에 있었으며, 1년 숙성 > 3년 숙성 > 2년 숙성한 순서로 높은 수준을 나타내었다. Fe는 0.2~0.3 mg%로 숙성기간에 따라 유의미한 함량을 보이지 않았다. Ca은 5.7~19.1 mg%로 1년 숙성 > 3년 숙성 > 2년 숙성한 순서로 높은 수준을 나타내었다. 매실청의 무기질 함량은 매실과육의 무기질 함량에 비해 극히 낮은 수준이었으나, K, P과 Ca이 풍부하였다.

**Table 3-8. Compositions and contents of minerals in maesil chungs aged for 1-3 years (prepared at 2017, 2016, and 2015)**

Aging period (preparation year)	Na (mg%)	K (mg%)	P (mg%)	Fe (mg%)	Ca (mg%)
1 year (2017)	0.8	287.2	13.4	0.3	19.1
2 years (2016)	1.5	186.0	10.3	0.3	5.7
3 years (2015)	1.1	227.4	12.4	0.2	6.9

(3) 상업용 매실청의 아미그달린과 색 특성

전라남도 순천시와 광양시와 경상남도 하동군의 매실농장에서 생산하여 시판중인 매실청을 구입하여 아미그달린 함량을 조사하였다(**Table 3-9**). 매실청들의 당도는 46.4~52.4 °Brix로 순천 매실청이 가장 높았으며, 하동 매실청이 가장 낮았다. 아미그달린 함량은 204.2~307.6 ppm의 범위에 있었으며, 순천이 가장 높았고, 광양이 가장 낮은 수준이었다.

**Table 3-9. Mean<sup>1)</sup> values of soluble sugar and amygdalin of commercial maesil chungs purchased at Suncheon, Gwangyang, and Hadong**

Commercial maesil chung	Soluble sugar (°Brix)	Amygdalin (ppm)
Suncheon	52.4±0.1 <sup>a</sup>	307.6±2.0 <sup>a</sup>
Gwangyang	50.0±0.0 <sup>b</sup>	204.2±0.2 <sup>c</sup>
Hadong	46.4±0.0 <sup>c</sup>	226.3±3.5 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

Table 3-10. Mean<sup>1)</sup> values of color characteristics of commercial maesil chung purchased at Suncheon, Gwangyang, and Hadong

Commercial maesil chung	$L^{2)}$	$a^{2)}$	$b^{2)}$
Suncheon	25.0±0.1 <sup>b</sup>	0.4±0.6 <sup>b</sup>	10.0±0.1 <sup>b</sup>
Gwangyang	26.1±0.0 <sup>a</sup>	1.8±0.3 <sup>a</sup>	8.4±0.1 <sup>c</sup>
Hadong	23.2±0.0 <sup>c</sup>	0.1±0.0 <sup>b</sup>	17.1±0.0 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup> $L$ ,  $a$ , and  $b$  correspond to lightness, redness, and yellowness, respectively.

상업적 매실청들의 색 특성을 조사하여 Table 3-10에 제시하였다. 명도는 23.2~26.1의 범위에 있었으며, 광양 > 순천 > 하동의 순서로 유의적으로 증가하였다. 적색도는 0.1~1.8의 범위에 있었으며, 광양 > 순천 > 하동의 순서로 유의적으로 증가하였다. 황색도는 8.4~17.1의 범위에 있었으며, 광양 > 순천 > 하동의 순서로 유의적으로 증가하였다. 색 특성들을 종합하여 볼 때, 하동의 상업적 매실청이 광양 및 순천 지역의 상업적 매실청들보다 어두운 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 매실청의 제조 공정에 있어 차이 때문일 수 있으며, 하동의 상업적 매실청은 남고 품종의 매실로 제조되어 색소성분이 더욱 많이 용출되었기 때문일 수 있다.

#### (4) 매실청의 아미그달린과 품질 특성에 대한 매실 품종의 영향

남고, 백가하, 천매, 옥영과 앵숙 품종의 매실을 이용하여 매실청을 담고 당침 기간과 숙성 기간에 따른 아미그달린 함량을 추적하였다(Fig. 3-13). 남고 매실을 이용할 경우 설탕이 모두 용해된 당침 0개월 차에 약 400 ppm에 달하는 아미그달린이 매실 당침액에서 관찰되었으며, 당침 1개월 차에 아미그달린 함량이 최고치에 도달하였다. 이후 당침 3개월까지 아미그달린의 지속적인 감소가 관찰되었다(Fig. 3-13A). 3개월 당침 후 액분리한 후 추가로 3개월 숙성하는 동안 아미그달린은 지속적으로 감소하여 198.3 ppm에 도달하였다. 앵숙 매실을 이용할 경우 설탕이 모두 용해된 당침 0개월 차에 매실 당침액에서 219.2 ppm의 아미그달린이 검출되었으며, 당침 2개월까지 지속적으로 증가하여 최고치에 도달하였다. 이후 액분리 전까지 감소하는 양상을 보였으며 추가적인 3개월의 숙성하는 동안 아미그달린은 지속적으로 감소하여 142.5 ppm에 도달하였다(Fig. 3-13A). 백가하 매실을 이용할 경우 설탕이 모두 용해된 당침 0개월 차에 매실 당침액에서 170.4 ppm의 아미그달린이 검출되었으며, 당침 2개월까지 지속적으로 증가하여 최고치에 도달하였다. 이후 액분리 전까지 감소하는 양상을 보였으며 추가적인 3개월의 숙성하는 동안 아미그달린은 지속적으로 감소하여 86.4 ppm에 도달하였다(Fig. 3-13B).

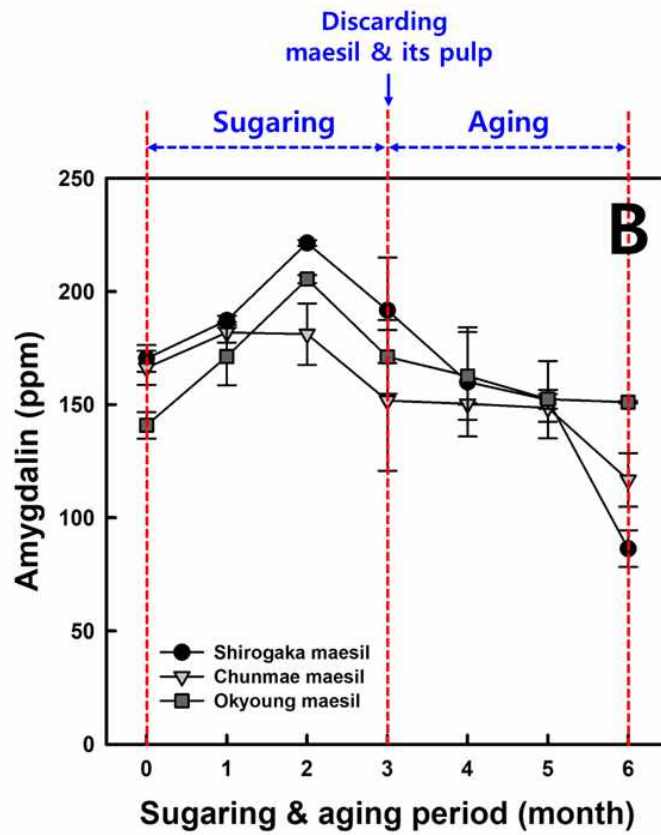
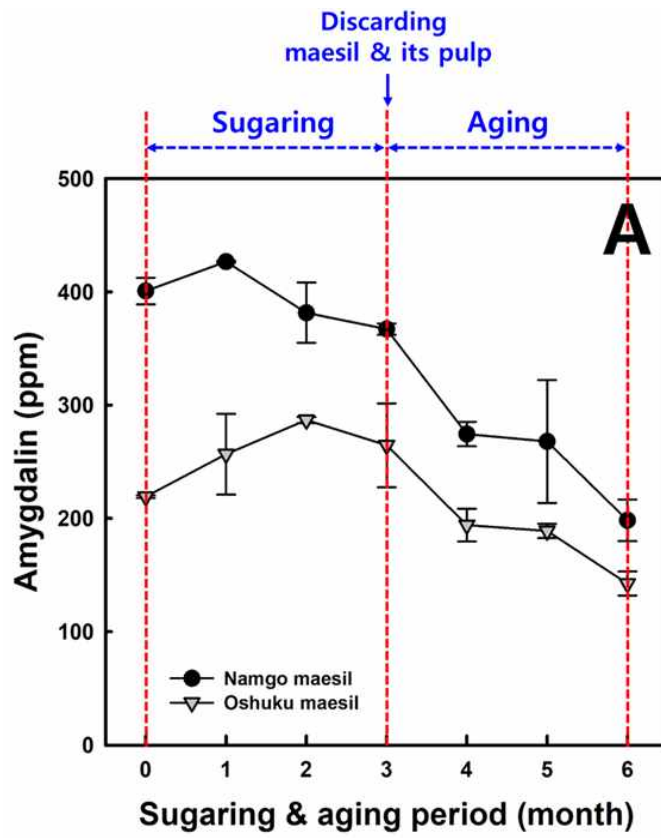


Fig. 3-13. Changes in amygdalin contents of maesil chungs prepared with different cultivars of maesil.

천매 매실을 이용할 경우, 설탕이 모두 용해된 당침 0개월 차에 매실 당침액에서 166.2 ppm의 아미그달린이 검출되었으며, 당침 1개월에 최고치에 도달하였고, 당침 2개월까지 큰 변화가 없었지만, 역시 당침 3개월에는 아미그달린 함량이 감소하였다. 액분리 후 추가적인 3개월의 숙성하는 동안 아미그달린은 지속적으로 감소하여 116.73 ppm에 도달하였다(Fig. 3-13B). 옥영 매실을 이용할 경우, 설탕이 모두 용해된 당침 0개월 차에 매실 당침액에서 140.8 ppm의 아미그달린이 검출되었으며, 당침 2개월까지 지속적으로 증가하여 최고치에 도달하였다. 이후 액분리 전까지 감소하는 양상을 보였으며 추가적인 3개월의 숙성하는 동안 아미그달린은 지속적으로 감소하여 151.1 ppm에 도달하였다(Fig. 3-13B). 이상의 결과를 종합할 때, 매실 품종에 따라 상이한 양상은 있으나 보편적으로 당침 2개월 차에 매실 당침액의 아미그달린 함량은 최고치에 도달하였으며, 당침 3개월까지 아미그달린이 소폭 감소하는 양상을 나타내었다. 또한 액분리 후 숙성하는 동안 숙성 1개월 차에 아미그달린이 급격히 감소하고 이후부터는 점진적으로 감소하는 양상이 관찰되었다.

Table 3-11. Mean<sup>1)</sup> values of soluble sugar, amygdalin, total polyphenol, and 5-hydroxymethyl furfural (5-HMF) contents of maesil chung prepared with different maesil cultivars

Cultivar	Soluble sugar (°Brix)	Amygdalin (ppm)	Total Polyphenol (ppm)	5-HMF (ppm)
Namgo	60.0±0.0 <sup>c</sup>	179.4±18.4 <sup>a</sup>	223.7±0.0 <sup>c</sup>	11.9±2.2 <sup>a</sup>
Shirogaka	59.8±0.0 <sup>d</sup>	68.5±8.1 <sup>d</sup>	189.5±3.7 <sup>e</sup>	7.9±1.5 <sup>b</sup>
Chunmae	62.3±0.1 <sup>a</sup>	101.3±11.4 <sup>c</sup>	226.3±0.0 <sup>b</sup>	5.7±0.4 <sup>c</sup>
Okyoung	60.4±0.1 <sup>b</sup>	129.5±0.8 <sup>b</sup>	213.2±0.0 <sup>d</sup>	13.4±1.5 <sup>a</sup>
Oshuku	58.8±0.0 <sup>e</sup>	137.5±9.4 <sup>b</sup>	246.1±1.9 <sup>a</sup>	3.5±1.1 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

다른 품종의 매실들을 이용하여 담은 매실청은 액분리 후 3개월의 숙성기간이 완료되었을 때, 슬로푸드(주)농업회사법인의 매실청 생산공정에 따라 여과 후 살균(열처리)하여 매실청을 제조를 완료하였다. 이들 매실청을 이용하여 매실청의 품질 특성에 대한 분석을 수행하였다. 매실청들의 당도는 58.8~62.3 °Brix의 범위에 있었으며, 매실 품종에 따른 당도의 차이는 3.5 °Brix 정도로 매우 미미하였지만 천매 > 옥영 > 남고 > 백가하 > 앵숙 매실청의 순서로 증가하였다(Table 3-11). 이러한 차이는 매실이 함유하고 있는 수분함량의 차이인 것으로 판단된다.

매실 품종을 달리한 매실청들의 아미그달린 함량을 조사하였을 때, 모든 매실청들이 숙성 3개월이 완료된 시점의 아미그달린 함량보다 감소한 결과를 나타내었다. 이것은 열처리를 통해 아미그달린의 당들이 가수분해되면서 HPLC 분석에서 검출되지 않았기 때문으로 보인다. 매실청들의 아미그달린 함량은 68.5~179.4 ppm의 범위에 있었으며, 남고 > 앵숙 > 옥영 > 천매 > 백가하 매실청의 순서로 감소하였다(Table 3-11). 매실청의 총 폴리페놀 함량은 189.5~246.0 ppm의 범위에 있었으며, 앵숙 > 천매 > 남고 > 옥영 > 백가하 매실청들의 순서로 증가하였다. 한편 갈변도의 지표물질인 5-HMF는 3.5~13.4 ppm의 범위로 장기간 숙성된 매실청(Table 3-4)에 비하면 매우 적은 수준을 나타내었다. 5-HMF는 옥영 > 남고 > 백가하 > 천매 > 앵숙 매실청의 순서로 증가하였다(Table 3-11).

Table 3-12. Mean<sup>1)</sup> values of color characteristics of maesil chungs prepared with different maesil cultivars

Cultivar	$L^{2)}$	$a^{2)}$	$b^{2)}$
Namgo	27.0±0.1 <sup>c</sup>	9.5±0.7 <sup>a</sup>	6.9±0.1 <sup>a</sup>
Shirogaka	27.5±0.0 <sup>a</sup>	9.8±0.9 <sup>a</sup>	5.5±0.2 <sup>b</sup>
Chunmae	27.6±0.1 <sup>a</sup>	9.9±0.2 <sup>a</sup>	5.4±0.1 <sup>c</sup>
Okyoung	27.2±0.0 <sup>b</sup>	10.5±0.8 <sup>a</sup>	5.3±0.3 <sup>bc</sup>
Oshuku	26.8±0.1 <sup>c</sup>	9.4±0.7 <sup>a</sup>	6.6±0.2 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup> $L$ ,  $a$ , and  $b$  correspond to lightness, redness, and yellowness, respectively.

매실 품종을 달리한 매실청들의 색 특성을 조사하여 Table 3-12에 나타내었다. 명도는 26.8~27.6의 범위에 있었으며, 매실 품종에 따라 유의적인 차이를 보였지만 최소값과 최대값의 차이가 0.8로 매우 미미하였다. 그럼에도 크기별로 나열하면 천매 ≈ 백가하 > 옥영 > 남고 > 앵숙 매실청의 순서로 밝았다. 적색도는 9.4~10.5의 범위에 있었으며 매실 품종에 따른 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 황색도는 5.3~6.9의 범위에 있었으며, 남고 > 앵숙 > 백가하 ≈ 옥영 > 천매 매실청의 순서로 유의적으로 높았다. 이상의 결과들을 종합하면, 3개월 숙성을 완료한 후 제조된 매실청들의 색 특성은 매실 품종에 따른 유의적인 차이를 보이지 않는 것으로 판단된다. 또한 매실청의 색은 장기간 숙성하면서 갈변반응에 의해 어두워지는 것으로 보아 (Fig. 3-11) 매실청의 색은 숙성기간 또는 살균(열처리)의 영향이 더욱 큰 것으로 생각된다.

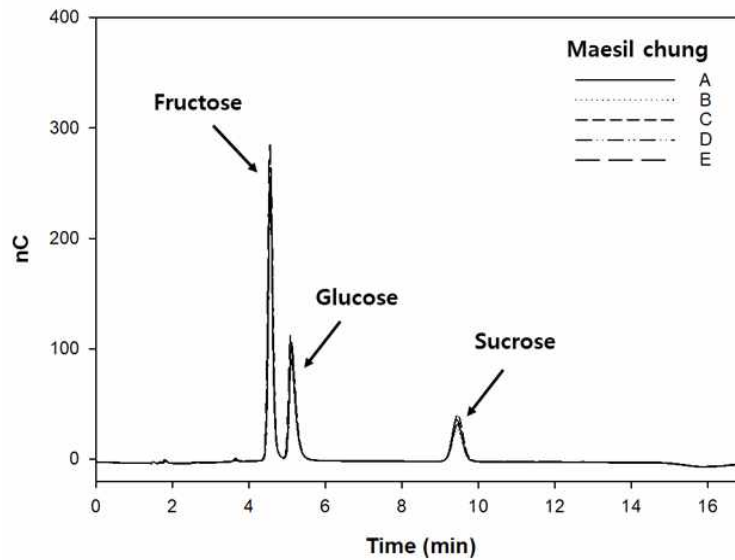


Fig. 3-14. HPAEC chromatograms of maesil chung prepared with different maesil cultivars (A, Shirogaka; B, Oshuku; C, Chunmae; D, Okyoung; E, Namgo).

매실 품종을 달리하여 제조된 매실청의 총당 함량과 당 조성을 HPAEC로 조사하였다(Table 3-13과 Fig. 3-14). 매실청의 HPAEC 크로마토그램에 있어, 장기간 숙성된 매실청에서는 설탕 피크가 검출되지 않았지만(Fig. 3-12), 매실 품종별 모든 매실청들에서는 과당, 포도당과 설탕의 피크들이 모두 검출되었다(Fig. 3-14). 이것은 매실 품종별 매실청들의 숙성기간이 3개월로 짧아 발효가 충분히 진행되지 않아 설탕이 과당과 포도당으로 모두 전환되지 않았기 때문으로 생각된다.

Table 3-13. Mean<sup>1)</sup> values of total carbohydrate, glucose, fructose, and sucrose contents of maesil chung prepared with different maesil cultivars

Cultivar	Total carbohydrate (%)	Glucose (mg/mL)	Fructose (mg/mL)	Sucrose (mg/mL)
Namgo	44.7 ± 0.5 <sup>a</sup>	2.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	2.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.1 <sup>c</sup>
Shirogaka	41.5 ± 1.4 <sup>b</sup>	1.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	1.8 ± 0.1 <sup>b</sup>
Chunmae	39.8 ± 0.8 <sup>c</sup>	1.9 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.8 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.9 ± 0.0 <sup>a</sup>
Okyoung	38.7 ± 0.4 <sup>c</sup>	1.9 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.8 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.5 ± 0.0 <sup>c</sup>
Oshuku	34.2 ± 0.1 <sup>d</sup>	2.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>Not detected.



한편 매실 품종별 매실청들의 총당 함량은 34.2~44.7%로, 남고 > 백가하 > 천매 ≈ 옥영 > 앵숙 매실청들의 순서로 높은 수준을 나타내었다(Table 3-13). 매실청을 담을 때 사용된 설탕의 양은 동일하였음에도 매실 품종에 따라 상이한 함량을 나타내었는데, 이것은 매실이 함유하고 있는 수분이 품종에 따라 상이하였기 때문으로 생각된다. 매실청의 포도당 함량은 1.8~2.1 mg/mL의 범위에 있었으며, 남고 ≈ 앵숙 > 백가하 ≈ 천매 ≈ 옥영 매실청의 순서로 높은 수준을 나타내었다(Table 3-13). 매실청의 과당 함량은 1.6~2.0 mg/mL의 범위에 있었으며, 남고 ≈ 앵숙 > 천매 ≈ 옥영 > 백가하 매실청의 순서로 높은 수준을 나타내었다(Table 3-13). 매실청의 설탕 함량은 1.3~1.9 mg/mL의 범위에 있었으며, 천매 > 백가하 > 남고 ≈ 옥영 > 앵숙 매실청의 순서로 높은 수준을 나타내었다(Table 3-13).

**Table 3-14.** The contents of titratable acidity, organic acids, vitamin C, and  $\beta$ -carotene of maesil chungs prepared with different maesil cultivars

Cultivar	Titratable acidity (%) <sup>1)</sup>	Malic acid (mg%)	Citric acid (mg%)	Succinic acid (mg%)	Vitamin C (mg%)	$\beta$ -carotene (mg%)
Namgo	2.0±0.0 <sup>c2)</sup>	900.1	1,433.0	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>
Shirogaka	2.0±0.0 <sup>d</sup>	1,025.0	1,300.2	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>
Chunmae	2.1±0.0 <sup>b</sup>	899.0	1,528.0	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>
Okyoung	2.0±0.0 <sup>d</sup>	930.9	1,449.6	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>
Oshuku	2.3±0.0 <sup>a</sup>	896.2	1,630.8	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>As citric acid.

<sup>2)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>3)</sup>Not detected.

매실 품종을 달리하여 제조된 매실청들의 적정산도와 유기산 조성을 Table 3-14에 나타내었다. 매실청들의 적정산도는 구연산으로 환산하였을 때, 2.0~2.3%의 범위를 나타내었으며, 매실 품종에 따라 그 차이는 크지 않지만 통계학적으로 유의적인 차이를 나타내었다. 그래서 매실청의 적정산도는 앵숙 > 천매 > 남고 > 백가하 ≈ 옥영 매실청들의 순서로 높은 수준을 나타내었다(Table 3-14). 매실청들의 유기산 조성을 조사하였을 때, 3개월 숙성된 매실청들에서는 malic acid와 citric acid만이 검출되었으며, succinic acid는 검출되지 않았다(Table 3-14). Malic acid는 896.2~1,025.0 mg%의 범위에 있었으며, 백가하 > 옥영 > 남고 > 천매 > 앵숙 매실청의 순서로 높은 수준이었다. Citric acid는 1,300.2~1,630.8 mg%의 범위에 있었으며, 앵숙 > 천매 > 옥영 > 남고 > 백가하 매실청의 순서로 높은 수준이었다. 한편 매실 품종별 매실청들에 있어 비타민 C와 베타카로틴은 검출되지 않았다(Table 3-14).

Table 3-15. Compositions and contents of minerals in maesil chung prepared with different maesil cultivars

Cultivar	Na (mg%)	K (mg%)	P (mg%)	Fe (mg%)	Ca (mg%)
Namgo	0.9	138.2	6.4	0.1	3.7
Shirogaka	0.6	156.7	10.1	0.1	0.6
Chunmae	0.7	183.7	11.5	0.1	2.1
Okyoung	0.5	139.3	11.4	0.1	2.2
Oshuku	0.4	143.5	11.2	0.1	1.3

매실 품종을 달리한 매실청의 무기질 조성을 조사하였다(Table 3-15). Na은 0.4~0.9 mg%의 범위에 있었으며, 남고 > 천매 > 백가하 > 옥영 > 앵숙 매실청의 순서로 높은 수준이었다. K은 138.2~183.7 mg%의 범위에 있었으며, 천매 > 백가하 > 앵숙 > 옥영 > 남고 매실청의 순서로 높은 수준이었다. P은 6.4~11.5 mg%로, 천매 > 옥영 > 앵숙 > 백가하 > 남고 매실청의 순서로 높은 수준이었다. Fe은 매실 품종에 관계없이 매실청들에 약 0.1 mg%가 함유되어 있었다. Ca은 0.6~3.7 mg%의 범위에 있었으며, 남고 > 옥영 > 천매 > 앵숙 > 백가하 매실청의 순서로 높은 수준이었다. 장기간 숙성된 매실청과 마찬가지로 3개월 숙성된 매실 품종별 매실청들도 Na과 Fe은 미량 함유되어 있었으며, K, P과 Ca은 상대적으로 풍부하였다.

#### 나. 매실주의 아미그달린 함량 및 특성

##### (1) 매실 침출주

##### (가) 매실의 원료와 알코올 침출 중 아미그달린 함량

매실 침출주의 원료로 사용된 청매실은 동결건조한 후 과육과 씨를 분리하고 50% 에탄올 수용액을 이용하여 아미그달린을 추출하여(Bae 등, 2017) 정량하였을 때, 청매실의 과육에는 1.01%, 씨에는 1.39%가 함유되어 있었다. 아미그달린의 함량은 상이하지만 청매실의 과육과 씨에서 아미그달린이 모두 검출된 Kim 등(2002)의 결과와 유사하였다. 본 연구와 Kim 등(2002)의 아미그달린 함량이 상이한 것은 본 연구는 아미그달린의 최적 추출조건에서 추출하여 분석하였기 때문일 수 있으며(Bae 등, 2017), 게다가 매실의 재배지역, 품종, 수확시기가 상이하기 때문인 것으로 생각된다(Kim 등, 2002). 매실을 담금주 안에서 침출하는 동안 아미그달린 함량의 변화는 Fig. 3-15A에 나타내었다. 침출초기(0개월, 청매실과 담금주를 혼합하여 침출 1일차에 채취)에는 181.48 ppm이었다. 침출 1개월 차에는 470.50 ppm으로 침출초기에 비해 아미그달린 함량이 급격히 증가하였으며, 침출 2개월 차에는 465.45 ppm으로 침출 1개월 차의 아미그달린 함량과 유의적인 차이를 보이지 않았다.

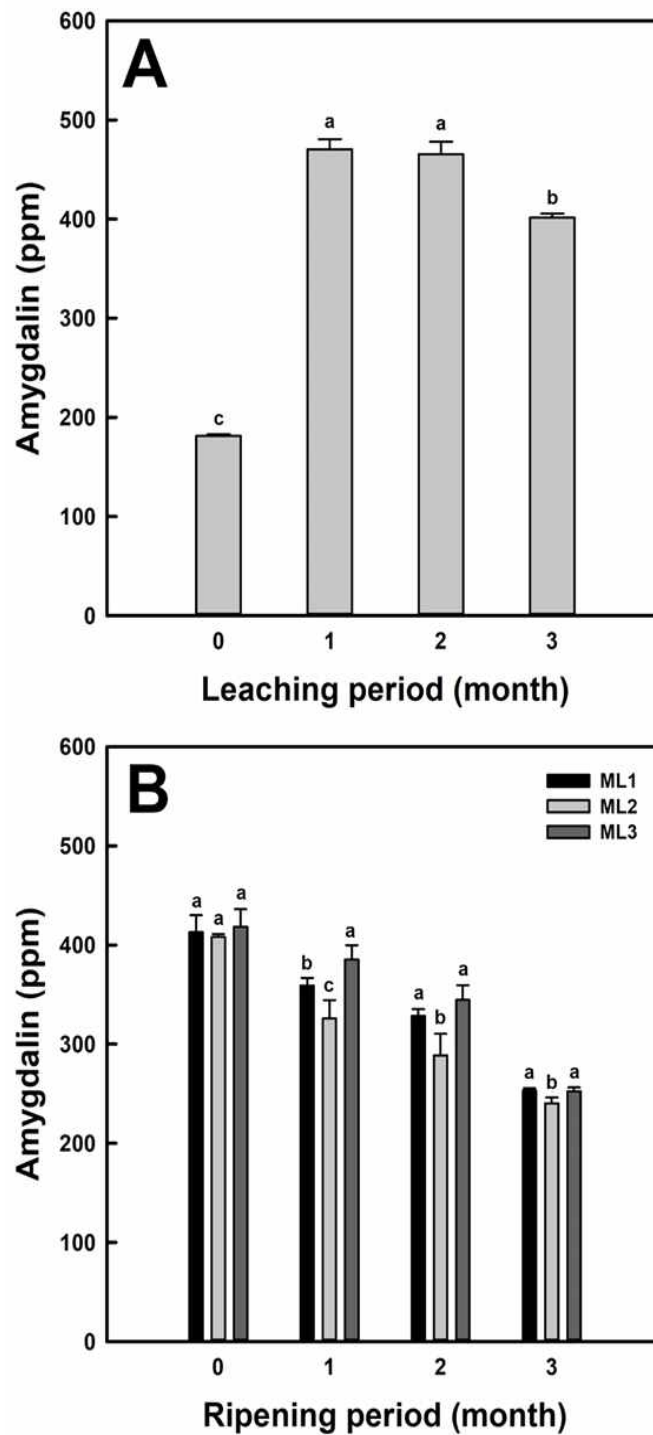


Fig. 3-15. Changes in amygdalin of maesil liquors according to leaching (A) and ripening (B) periods. (A) Bars sharing the same lowercase letters are not significantly different at  $p < 0.05$ , (B) Bars sharing the same lowercase letters of a given ripening period are not significantly different at  $p < 0.05$ .

그러나 침출 3개월 차(401.67 ppm)에는 2개월 차에 비해 유의적으로 감소하였다. Son 등 (2017)은 매실청의 아미그달린 함량이 당침 90일 이후 감소하였다고 보고하였고, 이러한 양상은 당침 중 매실로부터 용출된 유기산 과 아미그달린 가수분해효소(amygdalin hydrolase)의 작용 때문이라 설명하였다. 따라서 본 연구에서 침출 3개월 차에 아미그달린 함량이 감소한 것은 유기산이나 아미그달린 가수분해효소에 의해 아미그달린이 프루나신이나 만델로나이트릴로 가수분해되기 때문인 것으로 생각된다. 또한 3개월간 매실 내의 수분 및 영양성분들이 침출되면서 매실 침출주 내의 아미그달린 함량이 희석된 결과일 수도 있을 것으로 생각된다.

#### (나) 매실 침출주의 숙성 중 아미그달린 함량

매실을 담금주에서 3개월간 침출하여 제조된 매실 침출주를 매실을 포함시켜(ML1), 매실을 회수하여 씨를 제거하고 다시 매실 침출주에 포함시켜(ML2), 매실을 완전히 분리하여(ML3) 숙성하면서 매실 침출주의 아미그달린 함량을 조사하였다(Fig. 3-15B). 매실 침출주의 아미그달린 함량은 숙성기간이 0개월에서 3개월로 증가하면서 ML1은 413.00 ppm에서 253.03 ppm으로, ML2는 407.97 ppm에서 240.30 ppm으로, ML3는 418.23 ppm에서 252.43 ppm으로 감소하는 등 (Fig. 3-15A), 모든 처리군들에서 숙성기간이 연장되면서 아미그달린 함량이 감소하는 양상을 나타내었다. 이와 같은 결과들은 매실농축액, 매실차와 매실청의 숙성기간에 따라 아미그달린 함량이 감소한다고 보고한 연구들(Kim 등, 2002; Son 등, 2017)과 유사하였다. 게다가 숙성기간에 대한 아미그달린 함량의 선형회기분석을 통해 아미그달린이 감소하는 속도를 평가하였을 때, ML2 ( $Y=-54.03X+396.77$ ,  $r^2=0.97$ ) > ML1 ( $Y=-51.04X+414.96$ ,  $r^2=0.97$ ) > ML3 ( $Y=-36.84X+419.54$ ,  $r^2=0.99$ ) > 의 순서로 빠르게 감소하였다. 이미 설명한 Son 등(2017)의 설명에 기초할 때, 아미그달린 함량이 ML1과 ML2가 ML3보다 빠르게 감소하는 것은 아미그달린 가수분해효소를 함유하고 있는 매실 자체와 매실 과육이 존재하기 때문으로 생각된다. 게다가 ML1이 ML2보다 아미그달린 감소 속도가 늦은 것은 아미그달린 가수분해효소에 의해 아미그달린이 분해되면서도 씨에 다량으로 존재하는 것이 숙성 중에도 침출되기 때문으로 판단된다. 한편 본 연구에서 3개월간 숙성된 매실 침출주들의 아미그달린 함량은 처리군들에 있어 유사한 수준을 나타내었는데(Fig. 3-15B), 이는 당침 완료 후 60일간 숙성된 매실청들에서 유사한 아미그달린 함량을 보인 것과 동일하였다(Son 등, 2017). Son 등(2017)은 매실과 설탕의 혼합비율을 달리하여 제조한 매실청들에서 90일간 당침하였을 때 아미그달린 함량은 유의적으로 상이하였지만, 추가로 60일간 숙성 후에는 처리군들 사이에서 아미그달린에 있어 유의적인 차이가 없었다고 하였다. 따라서 본 연구에서 숙성기간이 연장되면서 매실 침출주들의 아미그달린 함량이 수렴하는 것은 이미 제시된 것처럼 아미그달린이 분해되어 감소하는 속도가 처리군들 사이에서 다르고, 숙성 3개월 시점이 숙성기간에 대한 아미그달린 함량의 선형회기식들이 교차하는 지점이기 때문인 것으로 생각된다.

(다) 매실 침출주들의 알코올, pH, 적정산도

알코올 함량, pH, 적정산도에 대한 결과는 Table 3-16에 나타내었다. 30% 알코올 함량의 담금주로 매실을 3개월간 침출하였을 때(숙성 0개월), 매실 침출주의 알코올 함량은 19.43%로 감소하였다. 이는 매실 침출주에 대한 기존 연구들(Chae 등, 2008; Lee 등, 2007; Park 등, 2007)에서 보고한 것과 같이 매실 자체에 함유되어 있는 수분과 다른 성분들이 담금주 내로 유출되어 희석되었기 때문으로 생각된다. 또한 3개월 숙성이 완료된 후 매실 침출주들의 알코올 함량은 ML1과 ML2는 각각 15.23%와 15.84%로 숙성 0개월 차에 비해 감소하였는데, 이것은 매실과 매실 과육을 포함시켜 숙성함으로써 이들로부터 수분 등이 추가적으로 유출되어 희석된 결과인 것으로 보인다(Chae 등, 2008; Lee 등, 2007; Park 등, 2007). 반면에 ML3의 알코올 함량은 3개월 숙성 후에 19.01%로 숙성 0개월에서의 함량과 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 3-16. Mean<sup>1)</sup> values for alcohol contents of maesil liquors during ripening periods

Ripening period (month)	Alcohol content (%)		
	ML1 <sup>2)</sup>	ML2 <sup>2)</sup>	ML3 <sup>2)</sup>
0	19.43±0.06 <sup>A</sup>	19.43±0.06 <sup>A</sup>	19.43±0.06 <sup>A</sup>
1	_ <sup>3)</sup>	_ <sup>3)</sup>	_ <sup>3)</sup>
2	_ <sup>3)</sup>	_ <sup>3)</sup>	_ <sup>3)</sup>
3	15.23±0.21 <sup>Bb</sup>	15.84±0.69 <sup>Bb</sup>	19.01±0.51 <sup>Aa</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three measurements; values sharing the same uppercase letters within rows of a given characteristic and ripening period or sharing the same lowercase letter within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>ML1, ML2, and ML3 indicated maesil liquors ripened with maesil, with maesil flesh only (removing its seeds), and without maesil, respectively.

<sup>3)</sup>Not determined.

매실 침출주들의 pH는 3.60~3.64의 범위를 가지며 숙성기간이나 처리군들 사이에서 뚜렷한 변화가 관찰되지 않았으며(Table 3-17), 이러한 양상은 기존 연구들(Chae 등, 2008; Lee 등, 2007; Park 등, 2007)의 보고와 유사하였다. 적정산도 변화를 보면(Table 3-18), 매실 침출주들은 23.45~25.49%의 범위를 나타내었으며, 처리군들 사이에서 유의적이거나 유의적이지 않은 차이를 보였으나 적정산도 값의 차이는 미미한 수준이었다. 또한 주어진 매실 침출주에 있어 숙성기간이 연장되면서 감소하는 경향을 보였지만, 숙성기간에 따른 적정산도 값의 차이는 현저하지 않았고, 기존의 연구들(Chae 등, 2008; Lee 등, 2007; Park 등, 2007)에서 보고한 경향들과 유사하였다.

**Table 3-17. Mean<sup>1)</sup> values for pH of maesil liquors during ripening periods**

Ripening period (month)	pH		
	ML1 <sup>2)</sup>	ML2 <sup>2)</sup>	ML3 <sup>2)</sup>
0	3.60 ± 0.02 <sup>Aa</sup>	3.62 ± 0.01 <sup>Ab</sup>	3.60 ± 0.01 <sup>Aa</sup>
1	3.64 ± 0.01 <sup>Ab</sup>	3.60 ± 0.00 <sup>Ba</sup>	3.63 ± 0.02 <sup>ABa</sup>
2	3.63 ± 0.02 <sup>Ab</sup>	3.64 ± 0.01 <sup>Ac</sup>	3.61 ± 0.03 <sup>Aa</sup>
3	3.60 ± 0.00 <sup>Aa</sup>	3.61 ± 0.01 <sup>Aab</sup>	3.61 ± 0.01 <sup>Aa</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three measurements; values sharing the same uppercase letters within rows of a given characteristic and ripening period or sharing the same lowercase letter within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>ML1, ML2, and ML3 indicated maesil liquors ripened with maesil, with maesil flesh only (removing its seeds), and without maesil, respectively.

**Table 3-18. Mean<sup>1)</sup> values for titratable acidity of maesil liquors during ripening periods**

Ripening period (month)	Titratable acidity (% as citric acid)		
	ML1 <sup>2)</sup>	ML2 <sup>2)</sup>	ML3 <sup>2)</sup>
0	24.63 ± 0.11 <sup>Ba</sup>	25.04 ± 0.38 <sup>ABa</sup>	25.49 ± 0.15 <sup>Aa</sup>
1	24.29 ± 0.27 <sup>Ca</sup>	24.77 ± 0.13 <sup>Bab</sup>	25.26 ± 0.11 <sup>Aa</sup>
2	23.81 ± 0.29 <sup>Bb</sup>	24.36 ± 0.49 <sup>ABab</sup>	24.54 ± 0.15 <sup>Ab</sup>
3	23.45 ± 0.11 <sup>Bb</sup>	24.25 ± 0.36 <sup>Ab</sup>	24.34 ± 0.43 <sup>Ab</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three measurements; values sharing the same uppercase letters within rows of a given characteristic and ripening period or sharing the same lowercase letter within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>ML1, ML2, and ML3 indicated maesil liquors ripened with maesil, with maesil flesh only (removing its seeds), and without maesil, respectively.

(라) 색 특성

매실 침출주들의 숙성 중 색 특성의 변화는 Table 3-19, Table 3-20과 Table 3-21에 나타내었다. 명도는 처리군들 모두 숙성기간이 증가하면서 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. ML1과 ML3는 저장기간에 따라 차이가 크지 않았으나, ML2는 현저히 감소하였다. 이는 숙성하는 동안 과육의 펄프가 침출주 내로 분산되어 침출주가 불투명해졌기 때문이다(Table 3-19).

**Table 3-19. Mean<sup>1)</sup> values for lightness of maesil liquors during ripening**

Ripening period (month)	ML1 <sup>2)</sup>	ML2 <sup>2)</sup>	ML3 <sup>2)</sup>
0	92.32 ± 0.00 <sup>Aa</sup>	92.01 ± 0.03 <sup>Ba</sup>	91.70 ± 0.03 <sup>Ca</sup>
1	91.37 ± 0.16 <sup>Bb</sup>	91.72 ± 0.21 <sup>Aa</sup>	89.04 ± 0.39 <sup>Cd</sup>
2	90.66 ± 0.39 <sup>Ac</sup>	88.29 ± 0.24 <sup>Bb</sup>	90.94 ± 0.14 <sup>Ab</sup>
3	90.24 ± 0.53 <sup>Ad</sup>	78.89 ± 1.11 <sup>Cc</sup>	89.35 ± 0.27 <sup>Bc</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three measurements; values sharing the same uppercase letters within rows of a given color characteristic and ripening period or sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>ML1, ML2, and ML3 indicated maesil liquors ripened with maesil, with maesil flesh only (removing its seeds), and without maesil, respectively.

**Table 3-20. Mean<sup>1)</sup> values for redness of maesil liquors during ripening**

Ripening period (month)	ML1 <sup>2)</sup>	ML2 <sup>2)</sup>	ML3 <sup>2)</sup>
0	1.51 ± 0.12 <sup>Bd</sup>	1.42 ± 0.02 <sup>Cc</sup>	1.71 ± 0.06 <sup>Ac</sup>
1	1.85 ± 0.14 <sup>Bc</sup>	1.37 ± 0.06 <sup>Cc</sup>	2.74 ± 0.18 <sup>Ab</sup>
2	2.36 ± 0.22 <sup>Bb</sup>	2.10 ± 0.24 <sup>Cb</sup>	2.68 ± 0.03 <sup>Ab</sup>
3	2.85 ± 0.38 <sup>Ca</sup>	3.47 ± 0.15 <sup>Ba</sup>	4.37 ± 0.02 <sup>Aa</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three measurements; values sharing the same uppercase letters within rows of a given color characteristic and ripening period or sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>ML1, ML2, and ML3 indicated maesil liquors ripened with maesil, with maesil flesh only (removing its seeds), and without maesil, respectively.

적색도(Table 3-20)와 황색도(Table 3-21)는 매실 침출주를 숙성하는 동안 유의적으로 증가하는 양상을 나타내었으며, 명도의 변화(Table 3-19)에 비해 현저한 변화를 나타내었다. 매실 침출주의 색 특성을 종합적으로 고려할 때, 숙성기간이 연장되면서 매실 침출주들은 어두워졌고, 기존 연구들(Chae 등, 2008; Lee 등, 2007; Park 등, 2007)에서 보고한 경향과 유사하였다.

Table 3-21. Mean<sup>1)</sup> values for yellowness of maesil liquors during ripening

Ripening period (month)	ML1 <sup>2)</sup>	ML2 <sup>2)</sup>	ML3 <sup>2)</sup>
0	12.64 ± 0.35 <sup>Cc</sup>	13.23 ± 0.18 <sup>Bc</sup>	14.22 ± 0.53 <sup>Ad</sup>
1	16.91 ± 0.78 <sup>Bb</sup>	14.12 ± 0.36 <sup>Cb</sup>	21.00 ± 0.18 <sup>Ab</sup>
2	19.26 ± 0.88 <sup>Aa</sup>	17.90 ± 0.47 <sup>Ba</sup>	19.89 ± 0.07 <sup>Ac</sup>
3	19.10 ± 0.94 <sup>Ba</sup>	18.37 ± 0.62 <sup>Ba</sup>	22.21 ± 0.28 <sup>Aa</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three measurements; values sharing the same uppercase letters within rows of a given color characteristic and ripening period or sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>ML1, ML2, and ML3 indicated maesil liquors ripened with maesil, with maesil flesh only (removing its seeds), and without maesil, respectively.

## (2) 매실 와인

### (가) 청매실과 당침 중 아미그달린 함량

동결건조된 청매실은 과육과 씨로 분리한 후 50% 에탄올 수용액을 이용하여 아미그달린을 추출하여(Bae 등, 2017) 정량하였을 때, 청매실의 과육과 씨는 각각 1.01%와 1.39%의 아미그달린을 함유하고 있었다(Fig. 3-16A). Kim 등(2002)이 매실의 과육보다 씨에 더 많은 아미그달린 존재한다고 보고한 것과 유사하였다. 그러나 본 연구에서 정량한 아미그달린 함량과 Kim 등(2002)의 것이 상이한 것은 본 연구에서는 매실로부터 아미그달린의 최대 추출수율을 보이는 추출조건(Bae 등, 2017)에서 아미그달린을 추출하여 정량하였기 때문일 것이며, 또한 매실의 수확시기, 품종, 재배지역 등이 다르기 때문일 것으로 생각된다(Kim 등, 2002). 한편 매실 와인의 원료로 사용할 매실청을 제조하기 위해 청매실을 당침하는 동안 아미그달린 함량의 변화를 조사하여 Fig. 3-16B에 나타내었다. 당침에 사용한 정백당이 모두 용해되었을 때(당침 0개월), 당침액의 아미그달린 함량은 169.60 ppm이었으며, 당침 1개월 후, 2개월 후와 3개월까지 아미그달린 함량은 각각 231.90 ppm, 259.10 ppm과 277.69 ppm으로 지속적으로 증가하였다(Fig. 3-16B). 그러나 당침 2개월과 3개월의 아미그달린 함량은 통계적으로 유의성을 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). 매실의 당침 90일까지 아미그달린 함량이 증가하였다는 Son 등(2017)의 보고와 동일하였다. Silem 등(2006)과 Tunçel 등(1995)은 살구씨를 냉수에 침지하였을 때, 침지시간에 따라 살구씨로부터 용출된 아미그달린의 함량이 증가하는 현상을 보고하였다. 따라서 당침기간이 연장되면서 당침액 내의 아미그달린 함량의 증가는 당 용액의 삼투압으로 인해 매실 내의 수분과 유용성분뿐만 아니라 아미그달린도 함께 매실 외부로 유출되기 때문이다(Son 등, 2017).



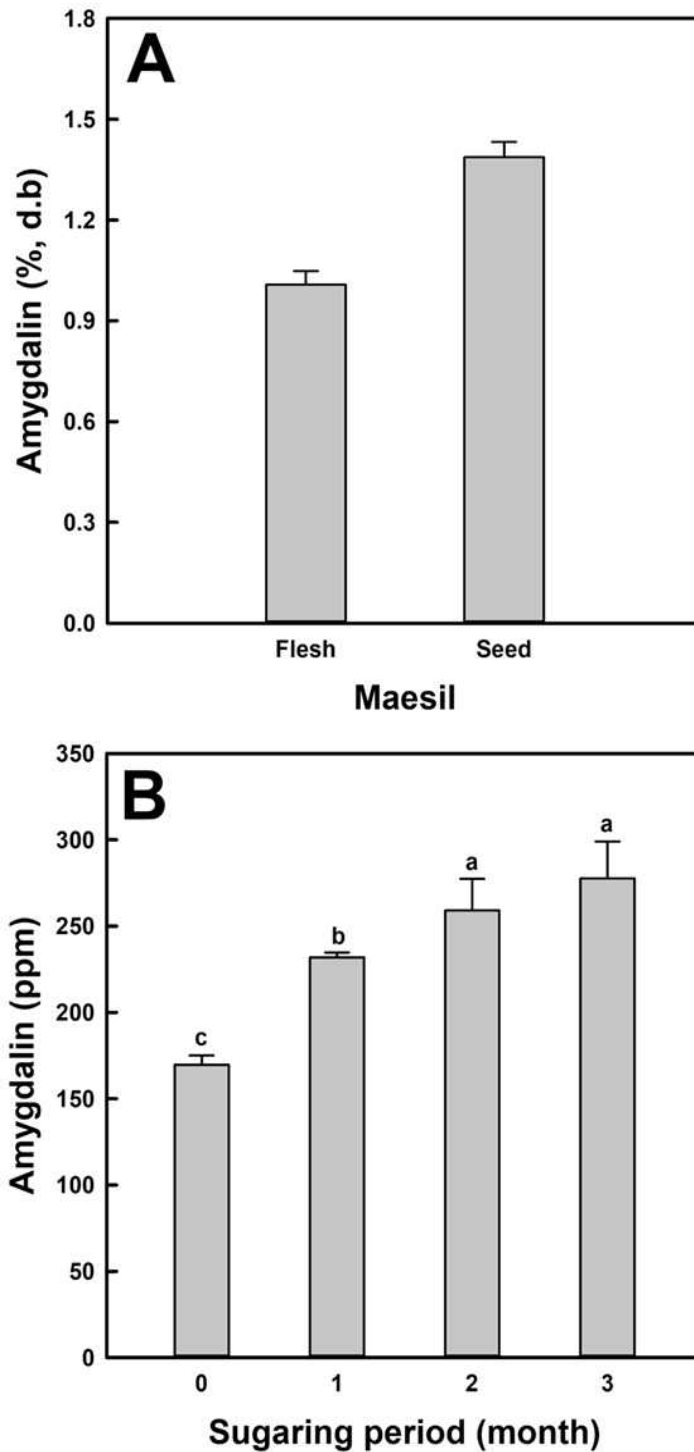


Fig. 3-16. Amygdalin content of flesh and seed from freeze-dried maesil and its changes of a sugared maesil liquid during sugaring periods. Bars sharing the same lowercase letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

(나) 매실 와인의 제조공정 중 아미그달린 함량

매실 와인은 90일간 당침이 완료된 후 매실을 제거하지 않은 매실청(MW1)과 매실을 제거한 매실청(MW2)을 이용하여 Fig. 3-5에 제시된 제조공정도에 따라 제조하였다. 매실청에서 매실을 제거하지 않고(MW1) 발효를 진행한 것은 매실에 존재하는 아미그달린 가수분해효소(amygdalin hydrolase)와 프루나신 가수분해효소(prunasin hydrolase)에 의해 발효 중 아미그달린이 감소하는 지를 검증하기 위한 것이었다(Son 등, 2017). 매실 와인의 제조공정별 아미그달린 함량의 변화는 Fig. 3-17에 나타내었다. 당침이 완료된 매실청은 약 47~48 °Brix를 나타내어 포도주용 효모에 의한 발효가 가능한 20~22 °Brix의 당도에 적절치 않아 정제수를 가하여 21 °Brix로 희석하여 사용하였다(Lee 등, 2002). 매실청을 희석하였을 때(Fig. 3-5 Step 1), 아미그달린 함량은 MW1이 52.26 ppm, MW2가 47.26 ppm로 급격히 감소하였는데(Fig. 3-17), 이는 MW1에는 매실이 포함되어 있어 매실청의 당도 조절을 위해 정제수를 가하면서 아미그달린이 매실로부터 추가로 용출되었기 때문인 것 같다(Silem 등, 2006; Tunçel 등, 1995). 이후 산성아황산나트륨과 효모를 첨가하는 단계까지(Fig. 3-5 Step 2-4) 아미그달린 함량은 MW1이 54.44~57.83 ppm, MW2가 46.75~50.36 ppm의 범위를 나타내었고, 주어진 공정에서 MW1과 MW2 사이에서, 처리군 내 공정별 유의적인 차이가 관찰되었으나 아미그달린 함량 차이는 미미한 수준이었다(Fig. 3-17). 그래서 환원제인 산성아황산나트륨과 효모의 첨가는 아미그달린의 함량 변화에 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다.

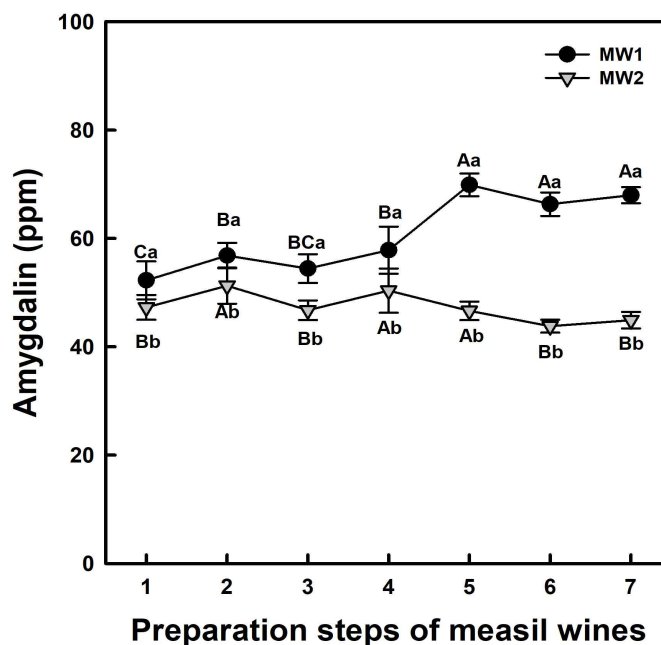


Fig. 3-17. Changes in amygdalin according to the preparation steps of measil wines. MW1 and MW2 indicated maesil wines fermented without and with the removal of measil, respectively. Numbered legends (1-7) of X-axis corresponded to step 1-7, respectively, depicted in Fig. 3-5. Bars sharing the same uppercase letters among preparation steps within a given wine or sharing the same lowercase letters within a given preparation step are not significantly different at  $p < 0.05$ .

한편 1차 발효가 완료되었을 때(Fig. 3-5 Step 5), MW1은 아미그달린 함량이 69.90 ppm으로 증가하였는데(Fig. 3-17), 이는 매실을 포함하고 있는 MW1은 발효로 인해 알코올 함량이 증가하면서 매실로부터 추가적인 아미그달린이 용출되었기 때문으로 생각된다(Bae 등, 2017). Bae 등(2017)은 매실의 씨로부터 아미그달린의 추출을 위한 추출용매의 알코올 농도가 0%에서 50%로 증가하면서 아미그달린의 추출속도와 추출수율이 증가한다고 보고하였다. MW2의 경우에는 아미그달린이 46.63 ppm으로 소폭 감소하였으나 효모 첨가 시(Fig. 3-5 Step 4)의 아미그달린 함량과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 계속해서 2차 발효가 완료되었을 때(Fig. 3-5 Step 6), 아미그달린 함량은 MW1이 66.34 ppm로 1차 발효 때보다 소폭 감소하였으나 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 3-17). 그러나 MW2는 43.80 ppm으로 1차 발효 때보다 유의적으로 감소하였으나 그 차이는 크지 않았다(Fig. 3-17). 아미그달린 함량 차이는 크지 않지만 1차 발효보다 2차 발효에서 아미그달린이 감소하는 경향을 고려하면 포도주 용 효모의 당화효소에 의해 아미그달린이 분해될 수 있음을 암시하는 것 같다. 2차 발효가 완료된 후 발효주를 여과하고 병입하여 매실 와인을 완성하였을 때 아미그달린 함량은 MW1 (67.99 ppm)과 MW2 (44.90 ppm) 모두 2차 발효 시의 것과 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 3-17).

#### (다) 매실 와인의 숙성 중 아미그달린 함량

매실 와인을 완성한 후 포도주를 숙성하는 것과 같이 15℃에서 숙성하면서 아미그달린 함량의 변화를 조사하였다(Fig. 3-18). 아미그달린 함량은 숙성기간이 연장되면서 MW1은 67.99 ppm에서 33.76 ppm으로, MW2는 44.90 ppm에서 21.22 ppm으로 모두 유의적으로 감소하였다(Fig. 3-18). 이러한 현상은 매실 발효주와 매실 침출주 모두 숙성기간이 연장되면서 아미그달린 함량이 감소하였다고 보고한 Cho 등(2018)의 연구와 유사하였다. Son 등(2017)은 매실청의 당침이 완료된 90일 이후, 150일까지 숙성하면서 아미그달린 함량이 감소한 것은 매실청의 아미그달린 가수분해효소의 작용 때문일 것이라고 설명하였다. 따라서 본 연구에서 숙성에 따른 매실 와인의 아미그달린 감소 현상은 잔존하는 아미그달린 가수분해효소의 작용에 의한 것일 수 있다. 이는 매실을 포함하여 발효를 진행한 MW1이 매실을 제거하여 발효를 진행한 MW2보다 아미그달린 함량이 빠르게 감소하는 것에 의해 유추할 수 있다. 또한 매실 와인에 잔존하는 효모의 당화효소도 아미그달린의 분해에 일부 기여한 것으로 생각된다.

#### (라) 매실 와인의 숙성 중 알코올 함량 변화

매실 와인의 숙성 중 알코올 함량을 Table 3-22에 나타내었다. MW1과 MW2의 알코올 함량은 숙성 초기에 각각 10.94%와 10.11%이었고, 유의적인 차이를 보이지 않았다. 본 연구의 매실 와인 제조법과 동일한 방법으로 국내산 포도를 이용한 포도주 제조 및 특성을 연구한 Lee 등(2002)이 보고한 알코올 함량(11.4~12.3%)보다는 유사하거나 낮았다. 그러나 오디(Kim 등, 2008)나 살구(Jung 등, 2003)를 원료로 제조된 발효주(와인)의 알코올 함량(약 9.5~10.5%)과는 유사하였다. 숙성 3개월 후 MW1과 MW2의 알코올 함량은 각각 10.30%와 9.87%을 나타내었으며, 처리군들 사이에서, 숙성기간에 따른 유의적인 차이는 없었다. Lee 등(2002)도 본 연구와 동일한 방법으로 제조된 포도주의 알코올 함량에 있어 유의적인 변화가 없음을 보고하였다.

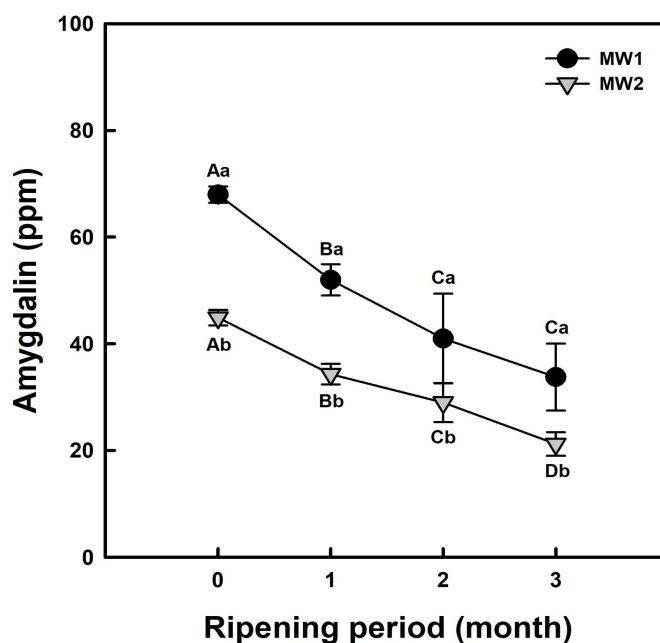


Fig. 3-18. Changes in amygdalin of measil wines over ripening periods for 3 months. MW1 and MW2 indicated maesil wines fermented without and with the removal of measil, respectively. Bullets sharing the same uppercase letters among preparation steps within a given wine or sharing the same lowercase letters within a given preparation step are not significantly different at  $p < 0.05$ .

Table 3-22. Mean<sup>1)</sup> values for alcohol contents of maesil wines during ripening

Aging period (month)	Alcohol content (%)	
	MW1 <sup>2)</sup>	MW2 <sup>2)</sup>
0	10.94 ± 0.56 <sup>Aa</sup>	10.11 ± 0.80 <sup>Aa</sup>
1	— <sup>3)</sup>	— <sup>3)</sup>
2	— <sup>3)</sup>	— <sup>3)</sup>
3	10.30 ± 0.98 <sup>Aa</sup>	9.87 ± 1.15 <sup>Aa</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three measurements; values sharing the same uppercase letters within rows of a given characteristic or sharing the same lowercase letter within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>MW1 and MW2 indicated maesil wines fermented without and with the removal of measil, respectively.

<sup>3)</sup>Not determined.

(마) 매실 와인의 숙성 중 pH와 적정산도의 변화

매실 와인의 숙성 중 pH와 적정산도를 Table 3-23에 나타내었다. 매실 와인의 pH는 MW1이 숙성기간에 따라 3.57~3.74의 범위를 나타내었으나, 숙성초기(pH 3.57)을 제외하고 숙성기간에 따라 큰 차이를 보이지 않았다(Table 3-23). MW2의 경우 pH는 3.78~3.80의 범위를 나타내어 숙성기간에 따른 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 매실 와인의 pH 수준은 오디(Kim 등, 2008), 살구(Jung 등, 2003), 포도(Lee 등, 2002)를 활용한 발효주의 것들과 유사하였다. 또한 발효가 완료된 후 숙성 중 포도주의 pH는 변화가 없었다고 보고한 Lee 등(2002)의 연구와 유사하였다. MW1과 MW2 사이에 pH 값의 차이는 미미한 수준이었으나 MW1이 유의적으로 낮은 pH를 나타내었는데, 이것은 MW1이 매실을 제거하지 않고 발효함으로써 매실로부터 유기산이 용출된 결과인 것 같다. 한편 Lee 등(2002)이 보고한 것과 유사하게 적정산도는 매실 와인(MW1과 MW2)의 숙성기간이 연장되면서 소폭 감소하였지만 숙성기간별 적정산도의 차이는 미미한 수준이었다(Table 3-23). 그러나 MW1과 MW2 사이에서는 매실을 제거하지 않고 발효한 MW1 (10.32~10.62%)이 MW2 (8.89~9.35%)보다 유의적으로 높은 수준을 나타내었다. 이미 설명한 바와 같이 MW1에서 발효 중 매실로부터 유기산이 용출되었기 때문이다.

Table 3-23. Mean<sup>1)</sup> values for pH, and titratable acidity of maesil wines during ripening

Aging period (month)	pH		Titratable acidity	
	MW1 <sup>2)</sup>	MW2 <sup>2)</sup>	MW1 <sup>2)</sup>	MW2 <sup>2)</sup>
0	3.57±0.01 <sup>Bb</sup>	3.78±0.01 <sup>Aab</sup>	10.62±0.03 <sup>Aa</sup>	9.35±0.11 <sup>Ba</sup>
1	3.73±0.00 <sup>Ba</sup>	3.78±0.00 <sup>Ab</sup>	10.68±0.02 <sup>Aa</sup>	9.27±0.13 <sup>Ba</sup>
2	3.70±0.05 <sup>Ba</sup>	3.80±0.02 <sup>Aa</sup>	10.42±0.07 <sup>Ab</sup>	9.02±0.14 <sup>Bb</sup>
3	3.74±0.01 <sup>Bab</sup>	3.78±0.00 <sup>Aab</sup>	10.32±0.21 <sup>Ab</sup>	8.89±0.09 <sup>Bb</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three measurements; values sharing the same uppercase letters within rows of a given characteristic or sharing the same lowercase letter within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>MW1 and MW2 indicated maesil wines fermented without and with the removal of measil, respectively.

(바) 매실 와인의 숙성 중 색 특성

매실 와인의 저장 중 색 특성의 변화를 Table 3-24에 제시하였다. 매실을 넣어 발효시킨 MW1의 경우 숙성기간이 연장되면서 명도(L)는 92.32에서 90.24로 감소하였고, 적색도(a)는 1.51에서 2.85로 증가하였으며, 황색도(b)는 12.64에서 19.10으로 증가하였다(Table 3-24). 매실을 제거하고 발효시킨 MW2는 숙성기간이 연장되면서 명도(L)는 91.70에서 89.35로 감소하였고, 적색도(a)는 1.71에서 4.37로 증가하였으며, 황색도(b)는 14.22에서 22.21로 증가하였다(Table 3-24).

**Table 3-24. Mean<sup>1)</sup> values for color characteristics of maesil wines during ripening**

Ripening period (month)	L <sup>2)</sup>		a <sup>2)</sup>		b <sup>2)</sup>	
	MW1 <sup>3)</sup>	MW2 <sup>3)</sup>	MW1 <sup>3)</sup>	MW2 <sup>3)</sup>	MW1 <sup>3)</sup>	MW2 <sup>3)</sup>
0	92.32±0.00 <sup>Ba</sup>	91.70±0.03 <sup>Aa</sup>	1.51±0.12 <sup>Bd</sup>	1.71±0.06 <sup>Ac</sup>	12.64±0.35 <sup>Bc</sup>	14.22±0.53 <sup>Ad</sup>
1	91.37±0.16 <sup>Ab</sup>	89.04±0.39 <sup>Bd</sup>	1.85±0.14 <sup>Bc</sup>	2.74±0.18 <sup>Ab</sup>	16.91±0.78 <sup>Bb</sup>	21.00±0.18 <sup>Ab</sup>
2	90.66±0.39 <sup>Ac</sup>	90.94±0.14 <sup>Ab</sup>	2.36±0.22 <sup>Bb</sup>	2.68±0.03 <sup>Ab</sup>	19.26±0.88 <sup>Aa</sup>	19.89±0.07 <sup>Ac</sup>
3	90.24±0.53 <sup>Bd</sup>	89.35±0.27 <sup>Bc</sup>	2.85±0.38 <sup>Ba</sup>	4.37±0.02 <sup>Aa</sup>	19.10±0.94 <sup>Ba</sup>	22.21±0.28 <sup>Aa</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three measurements; values sharing the same uppercase letters within rows of a given color characteristic or sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>2)</sup>L, a, and b correspond to lightness, redness, and yellowness.

<sup>3)</sup>MW1 and MW2 indicated maesil wines fermented without and with the removal of measil, respectively.

전반적으로 매실 와인들은 숙성되면서 색이 진해지는 양상을 나타내었다. 이와 같은 현상은 매실 침출주를 저장하는 경우에도 동일하게 관찰되었다(Chae 등, 2008; Lee 등, 2007; Park 등, 2007). 한편 전반적인 색 특성을 고려할 때, MW1이 MW2보다 밝은 색 특성을 나타낸다. Choi 등(2006)은 과실주 발효 시 색소류 성분들의 안정성은 유기산, 페놀성화합물 및 당의 함량에 영향을 받는다고 하였다. 본 연구에서 적정산도가 매실을 제거하지 않고 발효된 MW1이 매실을 제거하고 발효한 MW2보다 높은 수준을 나타내었고(Table 3-23), 그래서 폴리페놀성분도 MW1이 MW2보다 높을 것으로 예측된다. 따라서 MW1이 MW2보다 숙성 중 색 변화가 상대적으로 적은 것으로 생각된다.

(사) 매실 와인의 기호도 평가

3개월의 숙성을 거쳐 제조된 매실 와인들의 기호도 평가를 수행하여 그 결과를 Table 3-25에 나타내었다. 떫은맛(astringency), 신맛과 단맛의 강도는 MW1이 MW2보다 강한 것을 확인하였으며, 후미(residual taste), 바디감(body), 목넘김(swallowing)은 MW2가, 향은 MW1이 더 선호도가 높았다.

**Table 3-25. Preference test of maesil wines**

Maesil wine	Astringency	Sour	Sweet	Residual taste	Flavor	Body	Swallowing	Overall
MW1	4.3±0.7	6.1±0.7	5.4±1.4	5.1±0.4	5.6±0.5	5.1±0.3	5.7±0.7	5.6±1.1
MW2	4.0±0.6	5.7±0.7	5.3±0.7	5.4±0.0	5.2±0.0	5.2±0.2	5.9±0.5	5.9±0.4

다. 우메보시(매실 염절임)의 숙성기간 중 아미그달린 함량 변화

우메보시의 숙성과정 중 아미그달린 함량의 변화를 조사하여 Fig. 3-19에 나타내었다. Fig. 3-19A는 매실의 염절임 중 매실 과육과 씨의 아미그달린 함량의 변화를, Fig. 3-19B는 매실의 염절임 중 매실 침출액의 아미그달린 함량의 변화를 나타내었다. 매실을 4개월간 염장하였을 때, 과육의 아미그달린은 6,550.6 ppm에서 1704.8 ppm으로, 씨의 아미그달린은 12,775.4 ppm에서 1,733.7 ppm으로 급격히 감소하였다(Fig. 3-19A). 그리고 침출액의 아미그달린은 137.3 ppm에서 128.78 ppm으로 감소하였다(Fig. 3-19B).

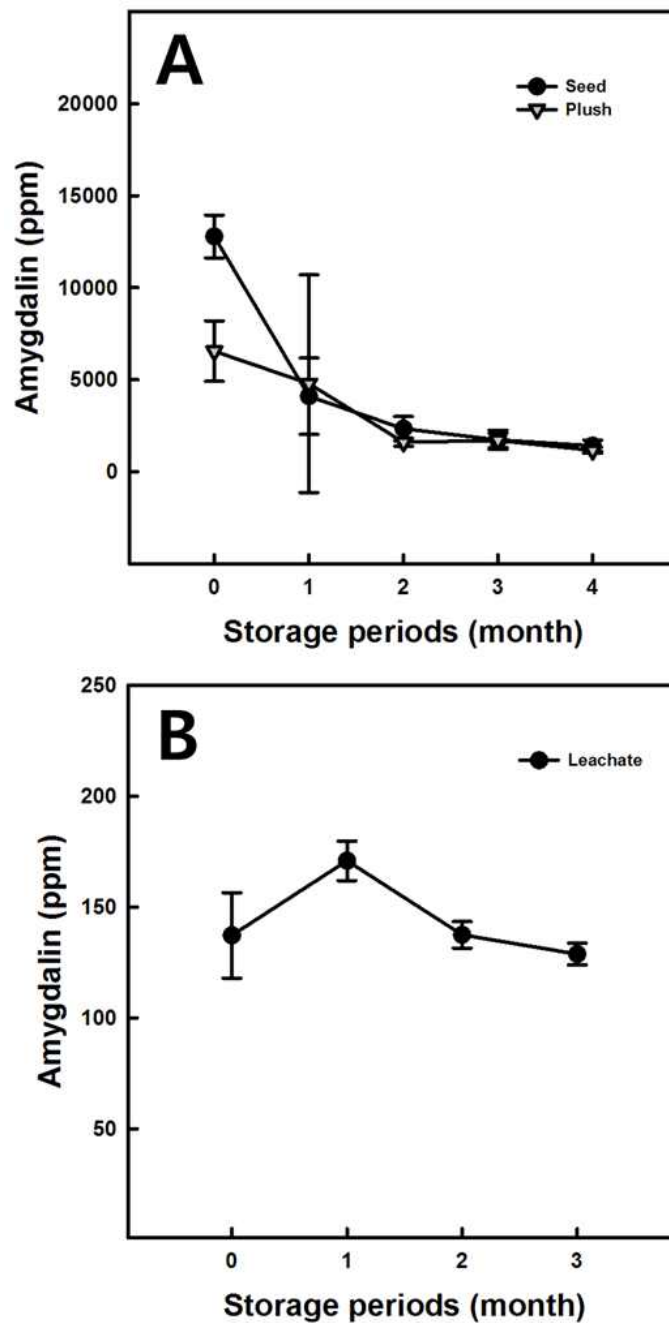


Fig. 3-19. Changes in amygdalin contents of maesil flesh, maesil seed, and leachate during salting maesil for 4 months.

## 라. 매실초의 숙성기간 중 아미그달린 함량 변화

매실초의 숙성과정 중 아미그달린 함량의 변화를 조사하여 Fig. 3-20에 나타내었다. Fig. 3-20A는 매실의 초절임 중 매실 과육과 씨의 아미그달린 함량의 변화를, Fig. 3-20B는 매실의 초절임 중 매실 침출액의 아미그달린 함량의 변화를 나타내었다. 매실초를 3개월간 숙성시켰을 때 과육의 아미그달린은 15,968.1 ppm에서 4,568.6 ppm으로, 씨의 아미그달린은 8,770.2 ppm에서 1,615.5 ppm으로 급격히 감소하였다(Fig. 3-20A). 그러나 침출액의 아미그달린은 10.65 ppm에서 176.23 ppm으로 급격히 증가하였다(Fig. 3-20B).

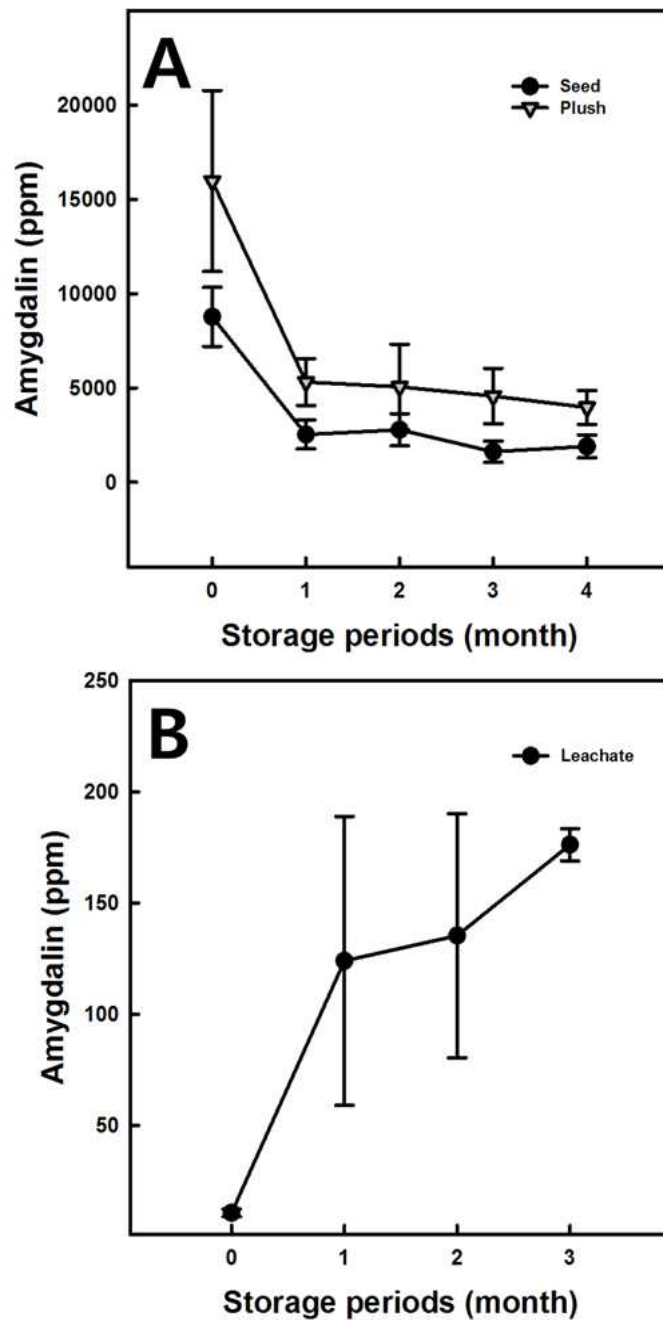


Fig. 3-20. Changes in amygdalin contents of maesil flesh, maesil seed, and leachate during immersing maesil for 4 months in vinegar.



#### 마. 매실고추장의 제조 및 특성

아미그달린이 저감된 매실고추장을 제조하기 하기 매실청은 침수형 UVC 램프를 이용하여 조사처리하여 아미그달린 저감 매실청을 제조한 후 Table 3-2의 배합비에 따라 대조군(조청을 이용한 고추장), 매실고추장(UVC 조사처리 하지 않은 매실청을 이용한 고추장)과 아미그달린 저감 매실고추장(UVC 조사처리한 매실청을 이용한 고추장)을 제조하여 3개월 동안 발효시키며 아미그달린의 변화와 고추장의 품질특성을 조사하였다. 본 연구에서 고추장을 직접 발효하여 매실고추장을 제조한 것은 *Bacillus* 속 균주들이 아미그달린을 저감하는 기능을 보유하고 있다는 Abban 등(2013)의 연구결과에 착안하여 자외선조사처리에 의한 아미그달린 저감 이외의 생물학적 저감 효과를 확인하기 위한 것이었다. 제조된 고추장 시료들의 발효시간에 따른 아미그달린 변화를 추적하여 Fig. 3-21에 나타내었다. 발효 초기(고추장 제조 직후)에 무처리 매실청을 이용하여 제조한 매실고추장의 아미그달린 함량은 1,382 ppm이었으나 UVC 처리 매실청을 이용하여 제조한 UV 매실고추장의 아미그달린 함량은 890 ppm이었다. 이러한 현상은 매실청의 UVC 처리에 의해 매실청의 아미그달린이 분해되었기 때문이다. 한편 발효기간에 따른 아미그달린의 변화에 있어, 모든 매실고추장의 아미그달린 함량은 발효기간에 따라 그 함량에 있어 변동이 관찰되었지만 발효기간에 따라 통계학적으로 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 또한 제조 초기에 매실고추장과 UV 매실고추장 사이의 아미그달린 함량의 차이는 어느 정도 수준에서 그대로 유지되는 현상이 관찰되었다. 그래서 Abban 등(2013)이 보고한 것과는 달리 고추장의 발효에 따른 아미그달린의 생물학적 저감 현상은 발생하지 않은 것으로 판단된다. 따라서 아미그달린이 저감된 매실고추장을 제조하기 위해서는 매실고추장 제조 전 매실청을 UVC 처리를 통해 아미그달린을 저감시켜야 달성할 수 있을 것이다.

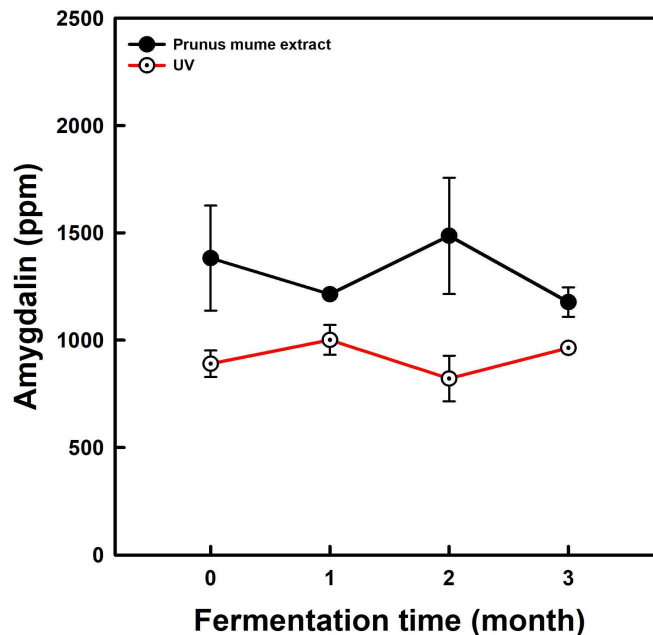


Fig. 3-21. Changes in amygdalin contents of gochujangs with untreated and UVC-irradiated *Prunus mume* extracts.

매실고추장과 UV 매실고추장에서 발효기간에 걸쳐 아미그달린의 변화가 없는 것이 Bacillus 속 균주들이 성장하지 못한 것인지를 확인하기 위해 고추장의 발효에 따른 총균과 총효모의 성장을 추적하였다(Fig. 3-22). 고추장 발효 시 총균의 변화를 관찰했을 때, 매실고추장과 UV 매실고추장의 총균의 변화는 대조군과 큰 차이를 보이지 않았다. 반면에 총효모의 생장은 매실고추장과 UV 매실고추장은 대조군과는 달리 발효 1개월이 지나서 효모가 성장하기 시작하였으며 발효 2개월에 최고 성장을 나타내었지만 대조군에 비해 여전히 낮은 수준이었다. 또한 대조군은 발효 3개월까지 효모의 생장이 지속되었지만 매실고추장에서는 효모의 생장이 저하되었으며 UV 매실고추장에 있어서는 효모가 더 이상 성장하지 못하는 결과들이 관찰되었다. 따라서 매실청이나 UVC 처리 매실청을 고추장 제조 시 첨가하는 것은 효모의 충분한 성장에 도움이 되지 않는 것으로 생각된다.

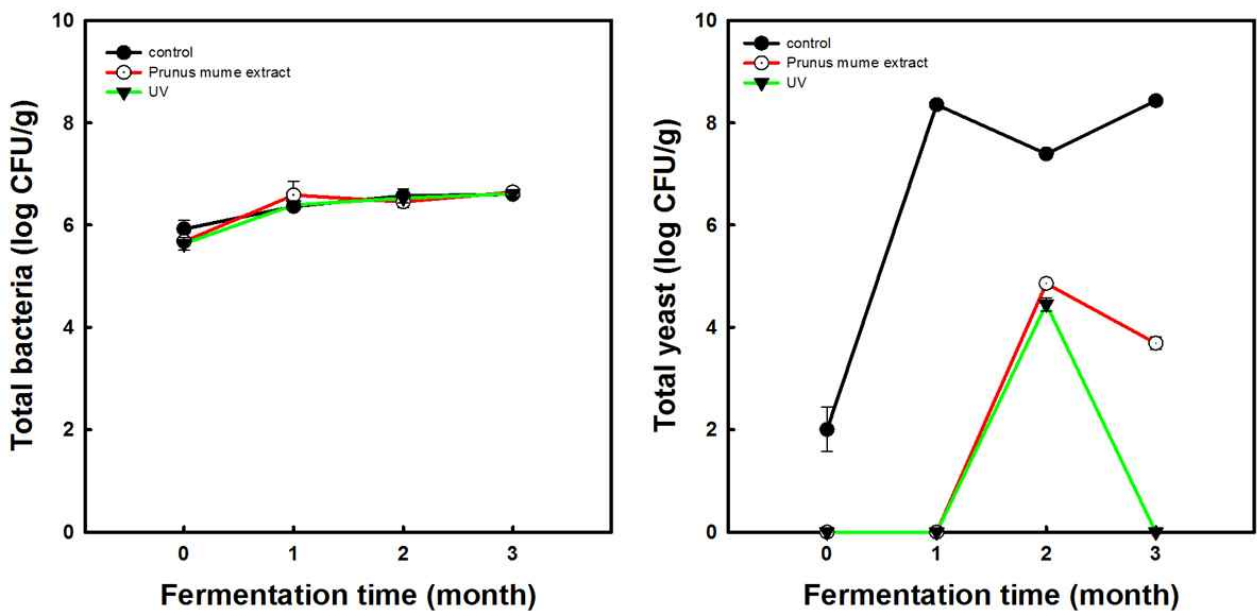


Fig. 3-22. Changes in viable cell counts of gochujangs during fermentation time.

대조군, 매실고추장과 UV 매실고추장의 발효기간에 따른 수분함량과 가용성 당 함량을 조사하여 Fig. 3-23에 나타내었다. 고추장 시료들의 수분함량은 제조 당시에는 UV 매실고추장 > 대조군 > 매실고추장의 순서로 유의적인 차이를 나타내었으나, 발효 1개월 이후 부터는 모든 고추장 시료들의 수분함량이 점진적으로 증가하였다(Fig. 3-23). 또한 대조군의 수분함량이 다른 고추장들의 수분함량보다 미미하게 낮았지만 큰 차이를 보이지 않았다. 한편 고추장 시료들이 가용성 당의 발효기간에 따른 변화에 있어, 모든 고추장들은 발효기간이 0개월에서 3개월로 연장되면서 감소하는 양상을 나타내었으며, 처리군들 사이에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 3-23). 한편 대조군, 매실고추장과 UV 매실고추장의 발효기간에 따른 pH와 염도를 조사하였다(Fig. 3-24). pH는 대조군이 매실고추장과 UV 매실고추장보다 높은 수준을 나타내었는데, 이는 매실청의 pH가 낮기 때문에 고추장의 pH를 낮춘 것으로 생각된다. 또한 모든 고추장 처리군들은 발효기간에 걸쳐 유사한 pH를 나타내었다. 염도는 대조군, 매실고추장과 UV 매실고추장에 있어 모두 발효기간에 걸쳐 4.6~5.1%의 범위에 있었으며 주어진 발효기간에서 염도는 처리군들 사이에서 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

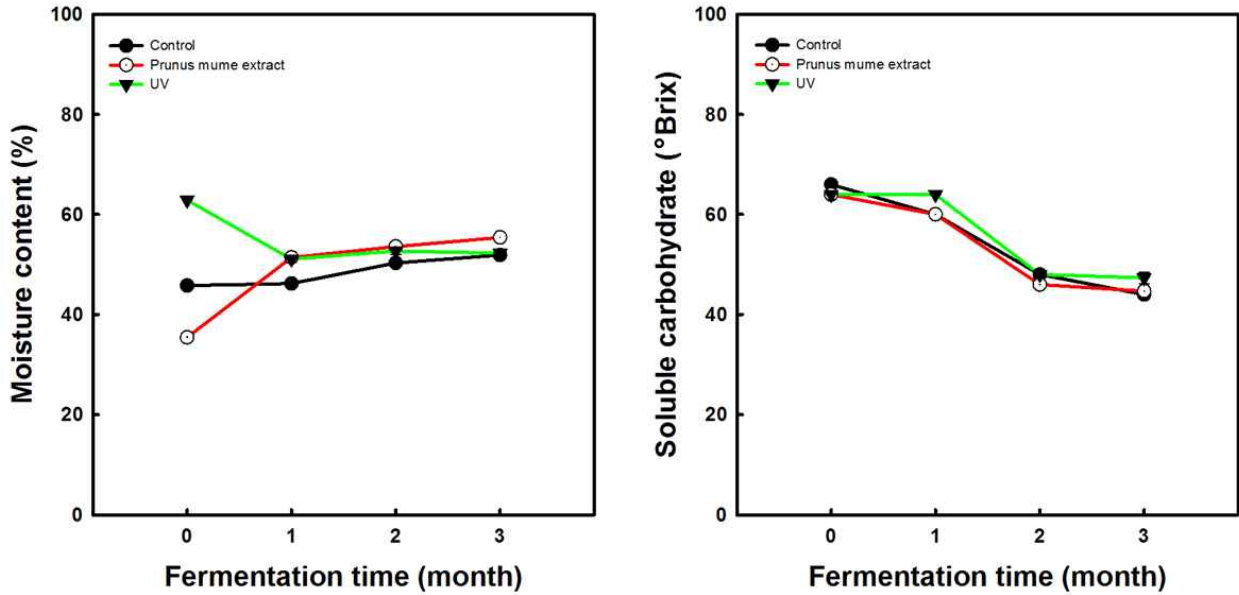


Fig. 3-23. Changes in moisture content and soluble carbohydrate of gochujangs during fermentation time.

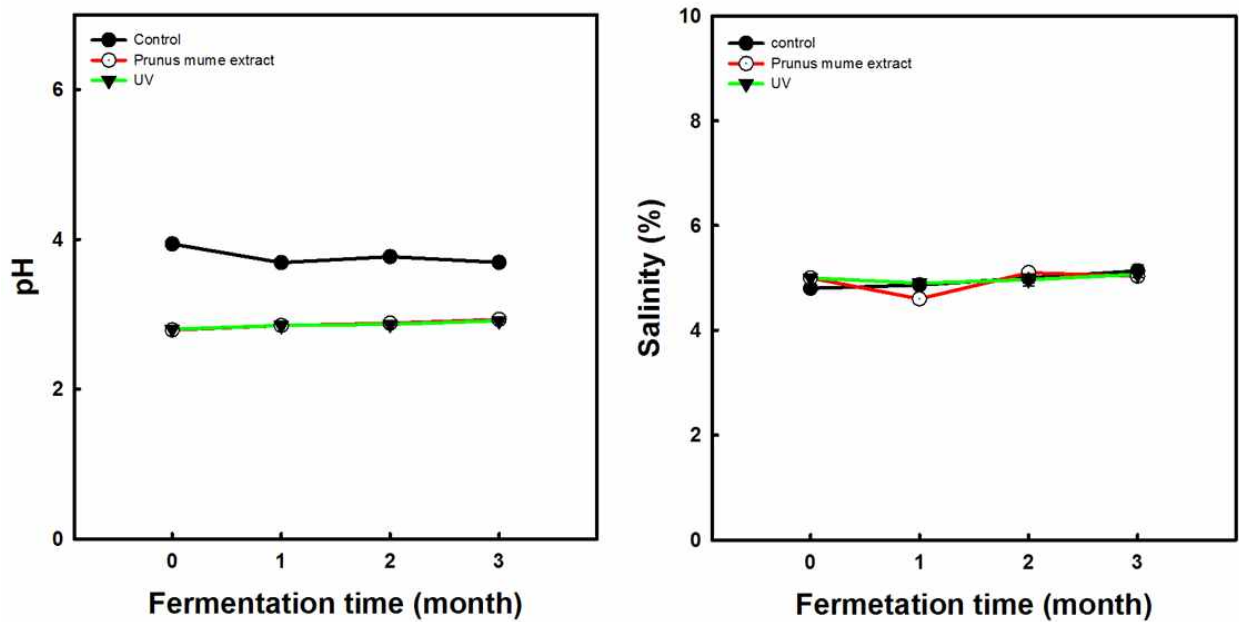


Fig. 3-24. Changes in pH and salinity of gochujangs during fermentation time.

대조군, 매실고추장과 UV 매실고추장의 겉보기 점도를 측정하여 Fig. 3-25에 제시하였다. 모든 고추장 처리군들이 발효기간이 0개월에서 3개월로 연장되면서 겉보기 점도가 감소하는 경향을 나타내었다. 이것은 고추장 발효에 따른 미생물의 생장으로 점도를 유발시키는 탄수화물 고분자와 단백질들의 가수분해의 결과이다. 또한 제조 당시에는 조청을 사용하는 대조군이 매실고추장들보다 높은 겉보기 점도를 나타낼 것으로 예상하였지만, 대조군의 겉보기 점도가 매실고추장이나 UV 매실고추장보다 낮은 수준을 나타내었다. 이것은 매실청에 함유되어 있는 다가 양이온들에 의해 매실고추장의 단백질 성분들의 이온성 회합의 결과인 것 같다.

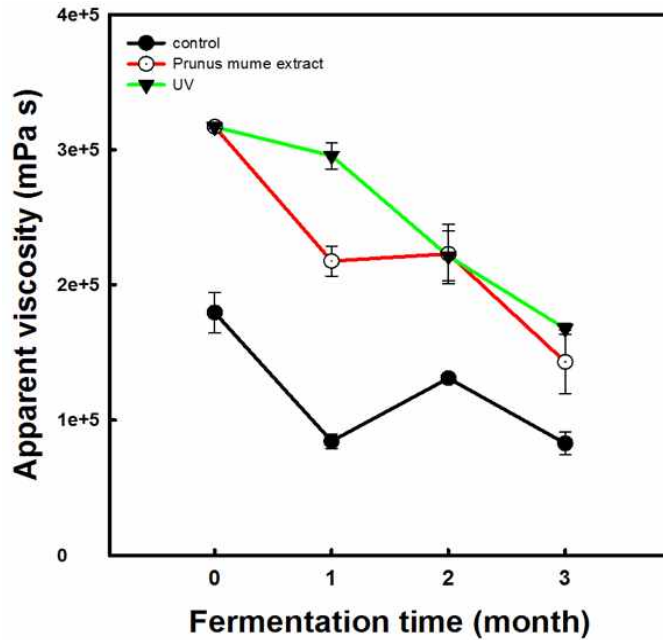


Fig. 3-25. Changes in apparent viscosity of gochujang during fermentation time.

발효기간에 따른 고추장의 색 특성을 추적하여 Fig. 3-26에 나타내었다. 발효기간에 따라 대조군, 매실고추장과 UV 매실고추장들의 색 특성 인자들은 2개월까지 유사한 수준을 나타내었으나, 3개월 발효 완료시에는 매실고추장과 UV 매실고추장보다 대조군의 명도와 황색도는 상승하였고, 적색도는 감소하는 경향을 나타내었다.

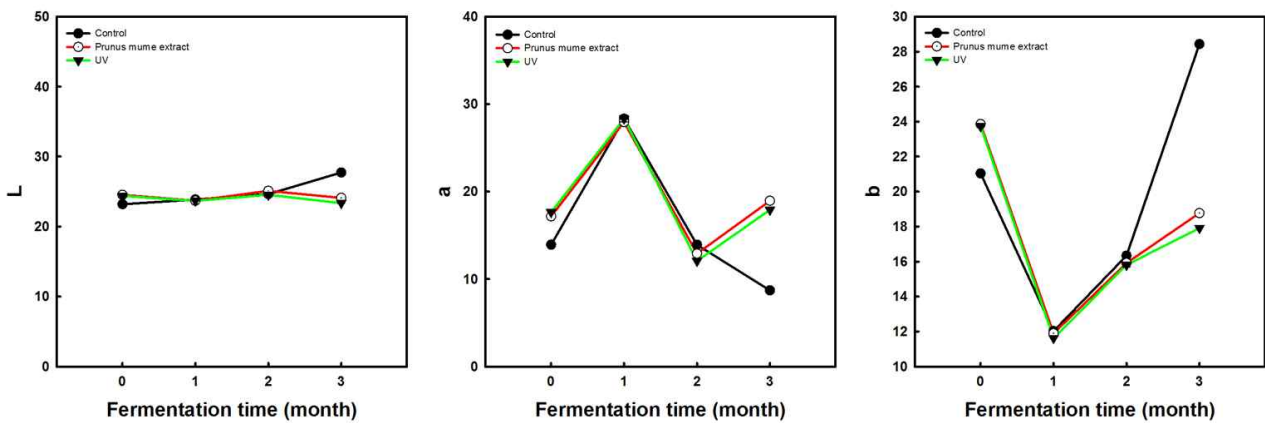


Fig. 3-26. Changes in color characteristics (*L*, *a*, & *b*) of gochujang during fermentation time.

### 3. 요약 및 결론

○ 청매실로 담근 매실청은 2개월 당침까지 아미그달린 함량이 급격히 증가하여 최대치에 도달하며 당침 3개월에는 소폭 감소하였다. 당침이 완료된 후 액분리 공정을 거쳐 숙성할 때, 숙성 1개월차에 아미그달린 함량이 급격히 감소하며 3개월 숙성까지 점진적으로 감소하는 양상을 나타내었다. 매실이 충분히 성숙되었을 때, 매실청을 담그는 것이 매실청의 아미그달린이 최소로 함유된 매실청을 제조할 수 있다.

- 슬로푸드(주)농업회사법인의 생산 공정에 따라 처리된 장기간 숙성된 매실청에 있어, 숙성 기간이 1년에서 3년으로 연장되면서 가용성 당은 증가하였고, 아미그달린 함량은 감소하였으며, 총 폴리페놀 함량은 감소하였고, 5-HMF는 증가하였다. 색 특성은 숙성기간이 연장되면서 전반적으로 어두워졌으나 색 특성치들에 있어서는 큰 차이를 보이지 않았다. 장기간 숙성된 매실청에는 sucrose가 존재하지 않았으며, 포도당과 과당은 숙성기간이 연장되면서 증가하였다. Malic acid와 succinic acid는 숙성기간에 따라 증가하였으나, citric acid는 감소하였다. 비타민 C와 베타카로틴은 검출되지 않았고, 무기질은 K, P와 Ca이 풍부하였다.
- 하동, 광양, 순천 지역의 매실농장에서 생산하여 시판 중인 상업적인 매실청을 분석하였을 때, 아미그달린 함량은 순천 > 하동 > 광양 매실청의 순서로 높은 수준을 나타내었고, 하동 지역의 매실청이 가장 어두운 색을 나타내었다.
- 매실 품종에 따라 상이한 양상은 있으나 보편적으로 당침 2개월 차에 매실 당침액의 아미그달린 함량은 최고치에 도달하였으며, 당침 3개월까지 아미그달린이 소폭 감소하는 양상을 나타내었다. 또한 액분리 후 숙성하는 동안 숙성 1개월 차에 아미그달린이 급격히 감소하고 이후부터는 점진적으로 감소하는 양상이 관찰되었다. 매실 품종을 달리하여 제조된 매실청들의 영양성분들은 매실 품종에 따라 상이한 양상을 나타내었다.
- 매실을 담금 소주에 침출하는 동안과 3개월 침출이 완료된 후 숙성하는 동안 매실 침출주 내의 아미그달린 함량을 추적하였다. 침출 1개월 차에 아미그달린은 최고치에 도달하였고 침출기간 2개월까지 변화가 없었으나, 침출 3개월 차에 감소하는 경향을 나타내었다. 침출이 완료된 후 매실 침출주는 매실을 포함시켜 숙성하거나, 매실을 회수하여 씨를 제거한 후 다시 매실 침출주에 포함시켜 숙성하거나, 매실을 제거한 후 매실 침출주 만을 숙성하였을 때, 매실과 매실과육을 포함시켜 숙성하는 것이 매실을 제거하여 숙성하는 것보다 아미그달린이 빠르게 감소하였다. 또한 매실보다는 매실과육만을 포함시켜 숙성하는 것이 더욱 효과적이었다.
- 매실 침출주들의 숙성 중 품질인자들의 변화와 관련하여, 알코올 함량은 매실과 매실과육을 포함하여 숙성하는 경우에 유의적으로 감소하였으며, 매실을 제거한 경우에는 숙성 초기에 비해 큰 변화를 보이지 않았다. pH와 적정산도는 숙성기간에 따른 현저한 변화는 관찰되지 않았으나 색은 숙성기간이 연장되면서 어두워지는 양상을 보였다. 결과적으로 매실 침출주를 오랜 기간 동안 숙성할수록 아미그달린과 관련된 독성 안전성에 대한 이슈로부터 자유로울 수 있을 것이며, 매실 침출주를 숙성 시 매실이나 매실과육과 함께 숙성하는 것이 아미그달린의 저감에 효과적인 것으로 판단된다.

- 매실청을 제조한 후 매실을 제거하지 않은 매실청(MW1)과 매실을 제거한 매실청(MW2)을 발효하여 매실 와인을 제조하였다. 매실청은 당침 기간이 증가하면서 아미그달린 함량은 증가하였다. 매실 와인 제조과정별 아미그달린 함량을 비교하면, MW1이 MW2보다 모든 과정에서 높은 수준의 아미그달린을 함유하고 있었다. 매실청의 회석부터 효모의 첨가까지는 아미그달린 함량의 변화는 유의적이나 공정별 차이는 미미한 수준이었다. 그러나 MW1의 경우 1차 발효 후 아미그달린 함량이 유의적으로 증가한 후 2차 발효와 병입까지 유의적인 변화를 보이지 않았다. 반면 MW2는 효모 첨가 후 1차와 2차 발효를 거쳐 병입될 때까지 미미하나마 유의적으로 아미그달린 함량이 감소하였다. 완성된 매실 와인의 숙성기간이 증가할수록 아미그달린 함량은 지속적으로 감소하였고, MW1이 MW2보다 아미그달린 함량에 있어 빠른 감소가 관찰되었다.
- 본 연구에서 제조된 매실 와인들의 알코올 함량은 숙성 초기에 10.11~10.94%이었으며, 3개월 숙성 후 9.87~10.30%를 나타내었고, 처리군들 사이에서 또는 숙성기간별 유의적인 차이는 없었다. 또한 pH와 적정산도는 숙성기간이 연장되면서 유의적인 변화가 없거나 소폭 감소하는 양상을 나타내었다. 그러나 MW2에 비해 MW1의 pH는 낮고, 적정산도는 높았다. 색 특성은 숙성기간이 증가하면서 명도는 감소하고, 적색도와 황색도는 증가하는 공통적인 양상을 보였지만, MW1이 MW2보다 밝은 색 특성을 나타내었다. 결과적으로 낮은 도수의 술을 선호하는 소비자들의 최근 술 소비 패턴과 최소한의 아미그달린 함량을 고려할 때, 전통적으로 높은 알코올 농도의 담금주에 매실을 재어 침출하는 침출주 형태보다는 효모에 의해 매실청을 발효시켜 제조하는 매실 발효주(와인)이 매실주로서 적합한 것으로 판단된다.
- 매실의 염절임(우메보시)와 초절임 시 매실 과육과 씨의 아미그달린은 침출 1개월에 급격히 감소한 후 침출 및 숙성 기간이 연장되면서 점진적으로 감소하였다. 반면에 우메보시의 침출액의 아미그달린은 저장 1개월에 증가하였다가 이후부터 감소하였지만, 매실초의 아미그달린 함량은 침출 1개월에 급격히 증가한 후 점진적으로 증가하는 양상을 나타내었다.
- 매실청과 UVC 조사처리된 매실청을 첨가하여 고추장 베이스를 제조하여 발효를 진행하였을 때, 발효에 의한 추가적인 아미그달린의 감소는 확인되지 않았다. 또한 겉보기 점도와 pH를 제외한 고추장의 특성들은 대체로 대조군(고추장 기본배합비에 의한 고추장)과 매실 고추장 및 UV 매실고추장 사이에서 큰 차이를 나타내지 않았으나, 매실고추장과 UV 매실고추장에서는 효소의 생장이 저해되는 현상이 발견되었다. 따라서 고추장 제조 시 매실청을 직접 첨가하여 매실고추장을 제조하는 방식은 적절치 않은 것으로 판단된다.

## 제4절. 세포/동물모델을 활용한 아미그달린의 독성동태 분석 및 아미그달린 저감 매실 가공품의 안전성 검증

### 1. 연구방법

#### 가. 기존 생산되고 있는 매실가공품의 세포독성 평가기술 개발 및 독성자료 확보

(1) 기존 생산되고 있는 매실가공품의 아미그달린 등 성분 함량 분석

(가) 아미그달린 및 대사체 성분 분석

아미그달린 및 아미그달린의 대사체 분석은 DAD (diode array detector)가 장착된 고성능액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 이용하여 수행하였다. 분석시스템으로는 Agilent HPLC 1100 series를 사용하였으며 모든 시료는 syringe filter (0.45  $\mu$ m)로 여과한 뒤 HPLC 분석에 사용하였다. 분석조건은 Supelcosil™ LC-18 (250 × 4.6 mm, i.d., 5  $\mu$ m) 컬럼을 사용하여 25°C에서 유속은 1 mL/min, injection volume은 20  $\mu$ L로 하였고, 이동상은 HPLC급 물과 아세토나이트릴(acetonitrile)을 80:20 (v/v)의 조성으로 제조하여 감압여과 후 탈기하여 사용하였으며 215 nm 파장에서 측정하였다(Fig. 4-1). 표준물질은 아미그달린, 프루나신, 만델로나이트릴, 벤즈알데하이드 및 시안화수소를 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다(Fig. 4-2).

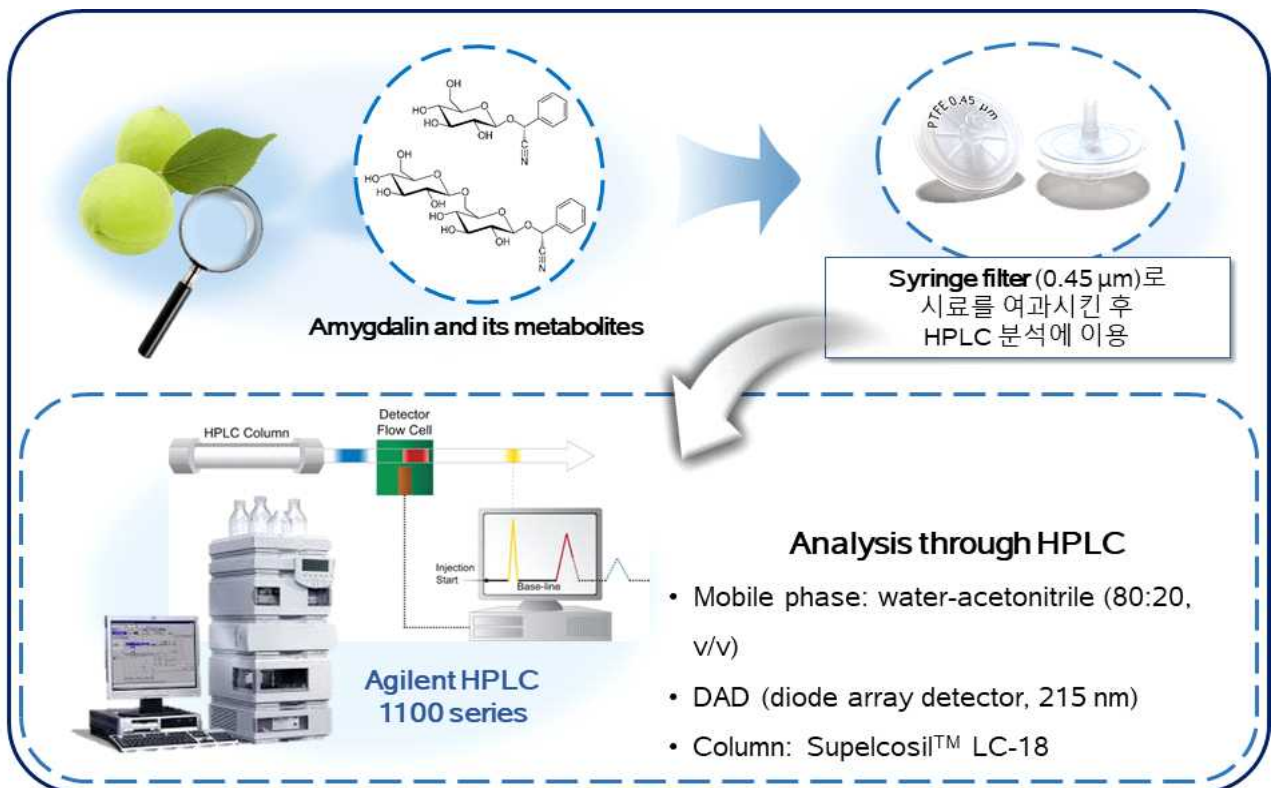


Fig. 4-1. Experimental scheme for HPLC analysis to detect amygdalin and its metabolites.

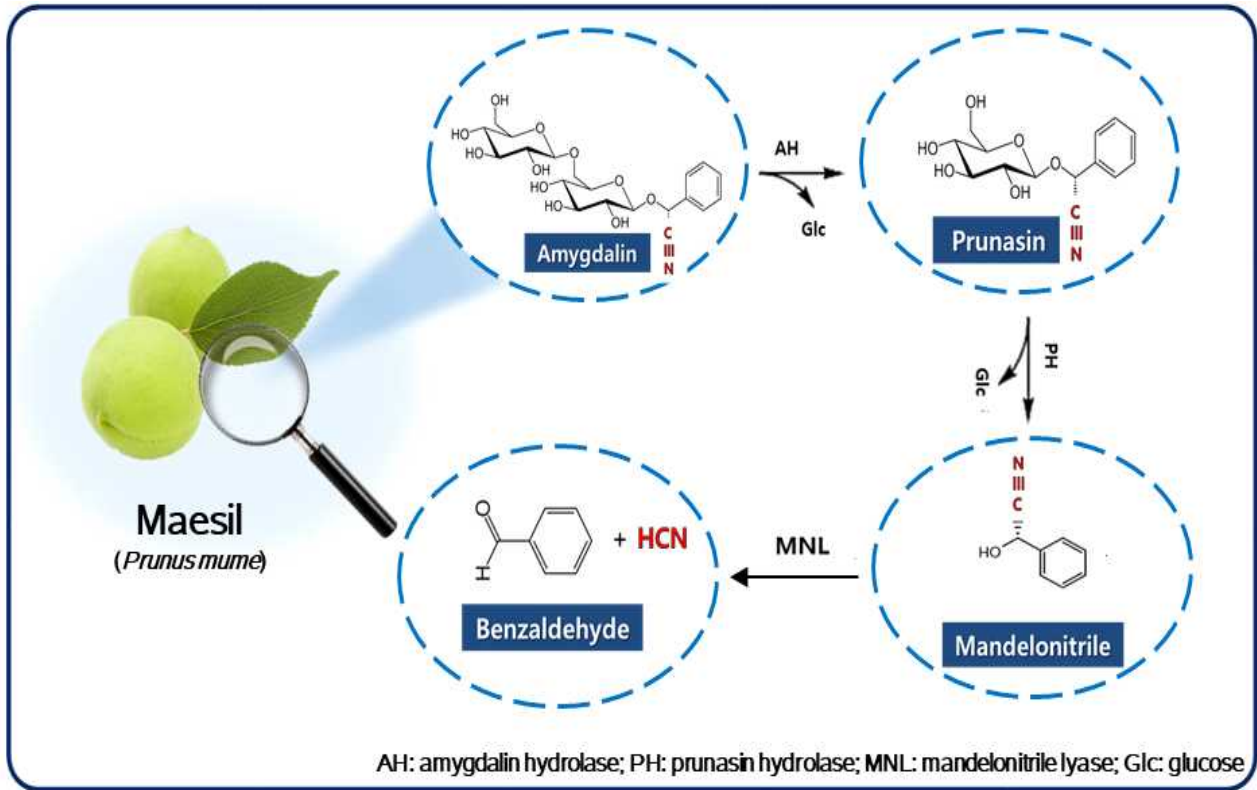


Fig. 4-2. Metabolic conversion of amygdalin in Maesil (*Prunus mume*) (Del Cueto et al., Front. Plant Sci., 2017).

(나) 매실가공품의 당 성분 및 항산화 성분 분석

① 단순당 분석

과당(fructose) 및 포도당(glucose) 분석을 위해서 시료는 syringe filter (0.45  $\mu$ m)로 여과한 후 HPLC을 이용하여 분석하였다. 분석시스템은 Shimadzu HPLC를 사용하였으며 컬럼은 Hypersil APS-2 (250  $\times$  4.6 mm, i.d., 5  $\mu$ m)을, 검출기는 RID (refractive index detector)를 사용하였다. 이동상은 HPLC급 물과 아세트나이트릴을 20:80 (v/v)의 조성으로 제조하여 감압여과 후 탈기하여 사용하였으며, 컬럼 온도는 40 $^{\circ}$ C, 이동상의 유속은 1 mL/min 조건으로 분석하였다 (Fig. 4-3).

② 총 폴리페놀 화합물

추출물 중 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(Appel et al., J. Chem. Ecol., 2001)에 의해서 분석하였다. 시료 80  $\mu$ L에 50% Folin-Ciocalteu 시약 20  $\mu$ L를 가하여 암소에서 5분간 방치한 후 2% 탄산소듐( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 100  $\mu$ L를 가하였다. 30분간 암소에서 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀의 함량은 갈산(gallic acid)을 표준물질로 이용하여 얻은 표준곡선으로부터 계산하였다(Fig. 4-4).



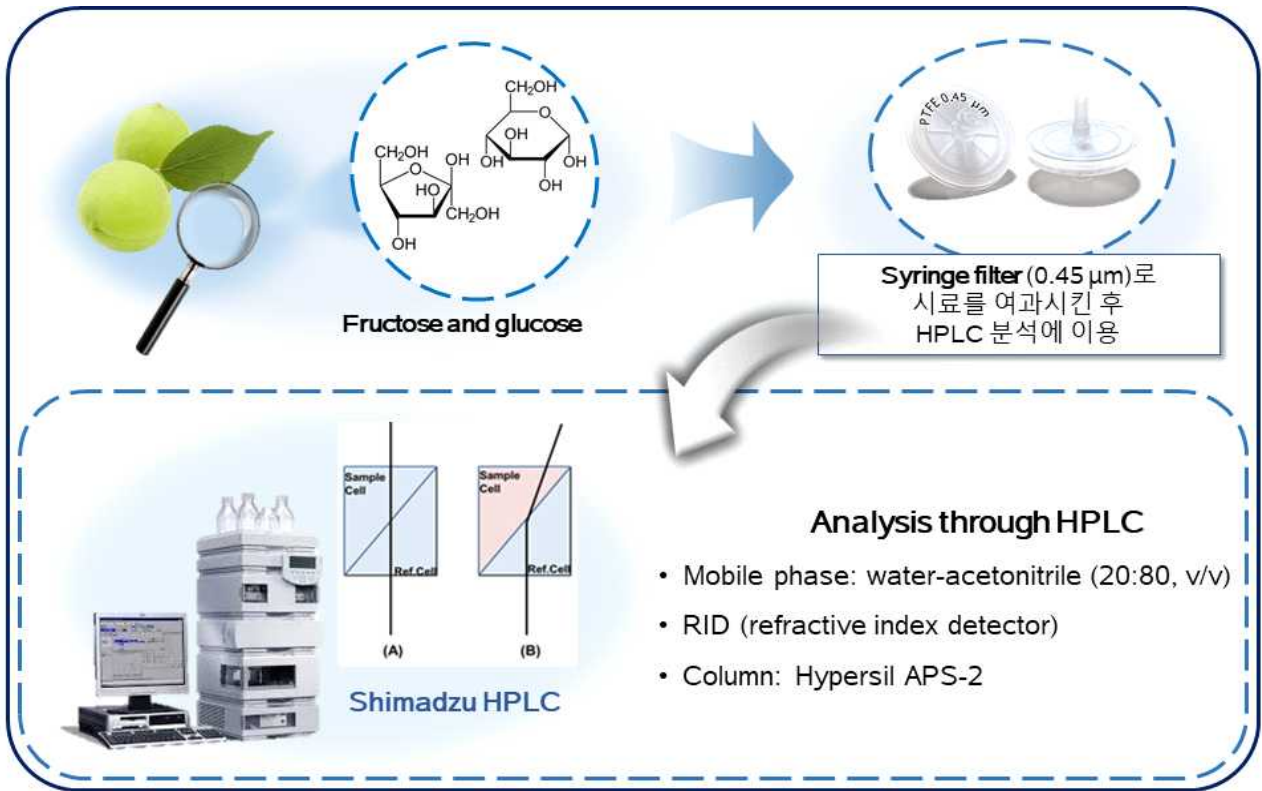


Fig. 4-3. Experimental scheme for HPLC analysis to detect fructose and glucose.

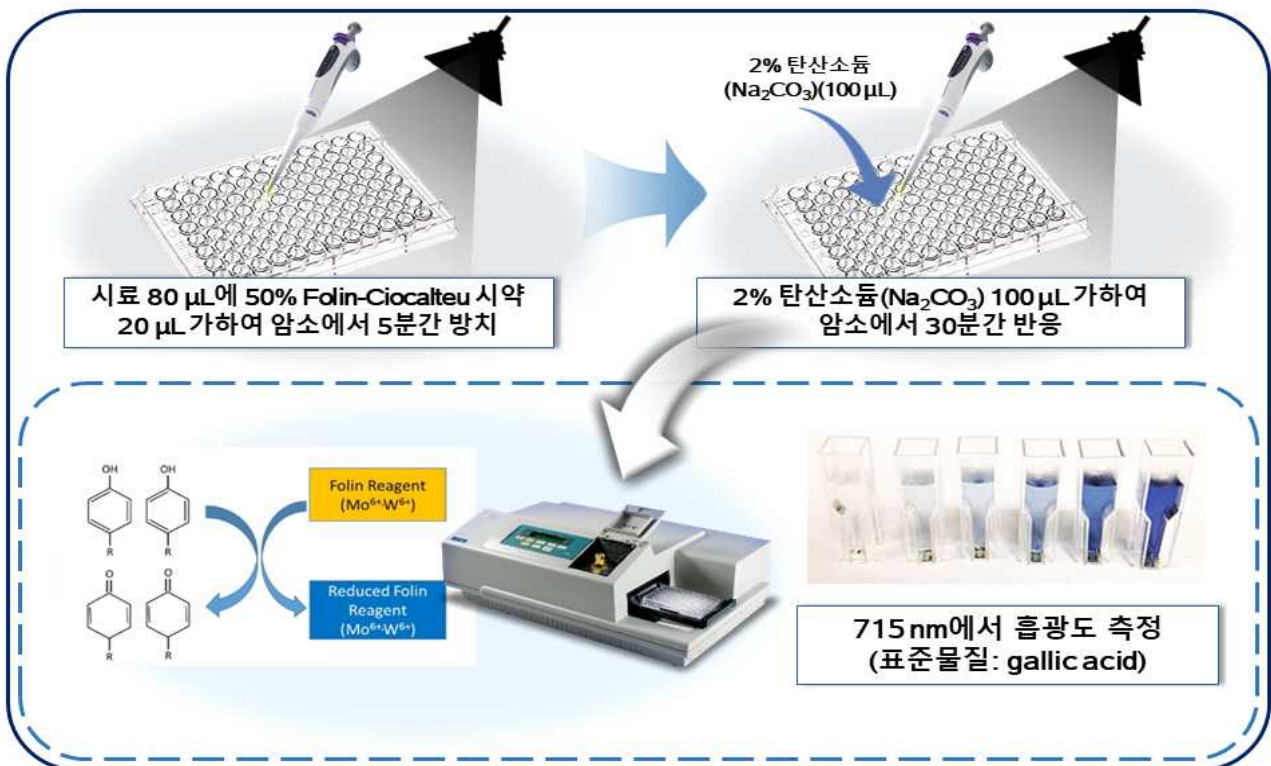


Fig. 4-4. Experimental scheme for quantification of total phenolic compounds.

### ③ 총 플라보노이드 화합물

추출물 중 총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(Zhishen et al., Food Chem., 1999)의 변형된 방법에 따라 측정하였다. 시료 50  $\mu\text{L}$ 에 5% 아질산소듐 30  $\mu\text{L}$ 를 가한 후, 5분 뒤 2%  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  60  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 암소에서 6분간 반응시켰다. 이후 1 N 수산화나트륨 100  $\mu\text{L}$ 를 가한 뒤 11분간 반응시킨 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드의 함량은 퀘르세틴(querctetin)을 표준물질로 이용하여 얻은 표준곡선으로 계산하였다(Fig. 4-5).

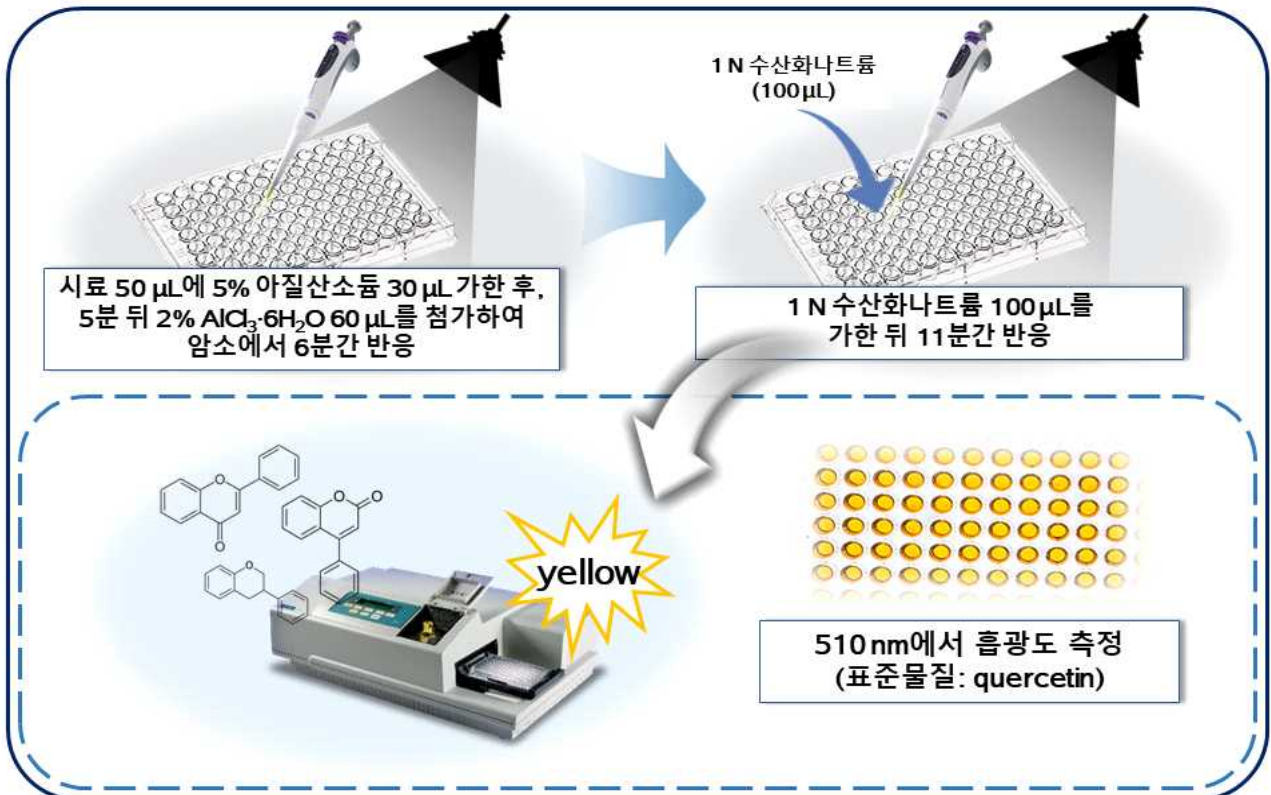


Fig. 4-5. Experimental scheme for quantification of total flavonoid compounds.

#### (다) 효소( $\beta$ -glucosidase)에 의한 아미그달린의 분해 및 대사체 분석

효소에 의한 아미그달린의 대사체 생성을 확인하기 위하여 아미그달린 표준품과 매실청에  $\beta$ -glucosidase (3.7 U/mL, Sigma-Aldrich) 첨가 후 시간에 따른 아미그달린 및 대사체를 HPLC 분석하였다.

(2) 세포독성 연구

세포독성 연구를 수행하기 위해 매실가공품의 주요 성분인 아미그달린의 경구섭취 후 체내 대사를 고려하여 사람의 장관계 상세포주인 INT-407 (human intestinal cell)과 간세포주인 HepG2 (human hepatocarcinoma cell)을 선택하여 연구를 수행하였다(Wagner et al., J. Appl. Toxicol., 2003). 또한 아미그달린은 체내에서  $\beta$ -glucosidase에 의해 대사되면서 독성을 나타내는 것(Fig. 4-6)으로 알려져 있으므로 효소처리에 의해 대사된 아미그달린 대사체에 의한 세포 독성과 아미그달린 자체에 의한 세포독성 영향을 함께 비교하였다(Sanchez-Perez et al., Plant Physiology, 2008; Cooper et al., J. Bioenerg. Biomembr., 2008).

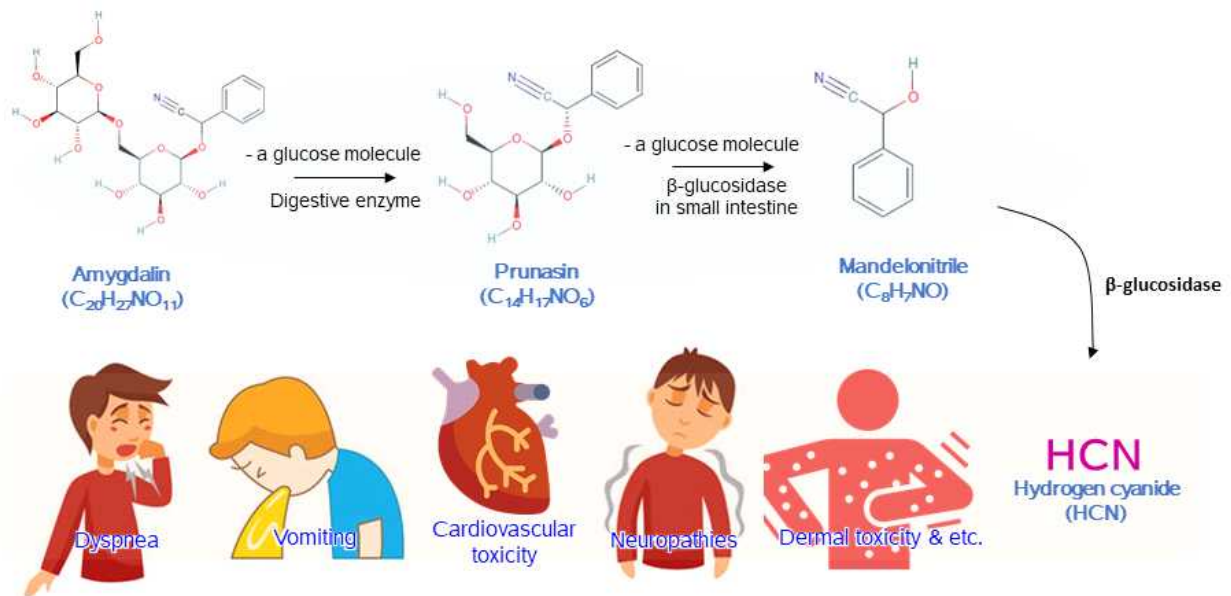


Fig. 4-6. The metabolic changes of amygdalin in the presence of  $\beta$ -glucosidase and toxic effects of hydrogen cyanide on human.

(가) 단기 세포성장 저해 시험

단기 세포 성장 저해 시험은 WST-1 (water soluble tetrazolium salt-1) 시약을 이용하였는데, WST-1 시험법은 많은 시료를 쉽고 빠르게 판독할 수 있어 배양세포에서 세포 독성에 관한 연구에 주로 사용되는 방법으로 정상 세포의 미토콘드리아 내의 탈수소효소와 WST-1 시약을 환원시키는 원리를 이용함으로써 흡광도를 측정하여 세포독성을 평가할 수 있다. 두 세포주 (INT-407, HepG2)를 각각 96 well plate에  $1 \times 10^4$  cells/100  $\mu$ L 농도로 세포배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 하룻밤 배양한 뒤, 아미그달린을 농도에 따라 (1, 2.5, 5, 10 mg/mL) 처리하였고 대사체에 의한 세포독성 비교를 위하여 동일한 방법으로 아미그달린을 처리하고  $\beta$ -glucosidase (3.7 U/mL)을 병행처리하였다. 24시간 후 각 well에 WST-1 시약을 10  $\mu$ L씩 첨가하고 암소에서 4시간 동안 배양한 뒤 400 nm와 650 nm에서 흡광도를 측정하고 결과값은 440 nm 흡광도에서 650 nm 흡광도를 보정한 값으로 나타내었다(Fig. 4-7).

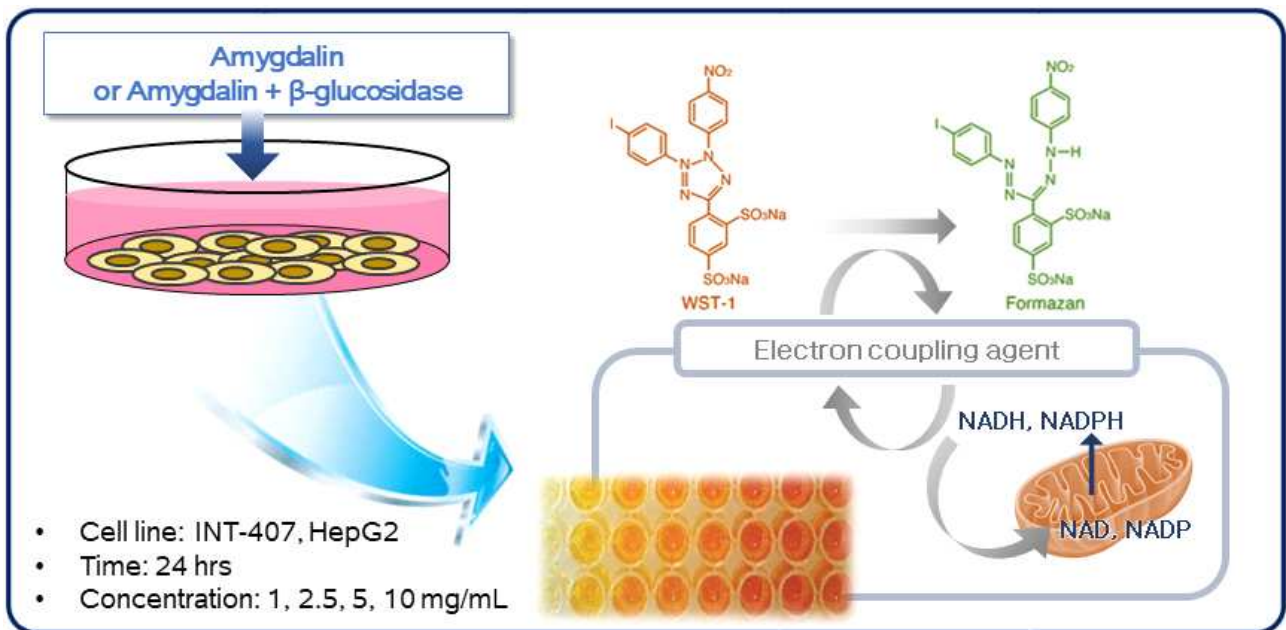


Fig. 4-7. Experimental scheme for cell proliferation assay using WST-1 assay.

(나) 장기 세포성장 저해 시험

장기 세포 성장 저해 시험은 clonogenic assay를 통해서 수행하였는데 즉, 세포주에 단기세포독성을 일으키지 않는 농도의 물질을 장기간 처리한 뒤 형성된 콜로니(colony)를 관찰 및 계수함으로써 콜로니 형성에 미치는 영향을 확인함으로써 판단할 수 있다(Franken et al., Nat Protoc., 2006). 장관계 상피세포주인 INT-407을 6 well plate에  $5 \times 10^2$  cells/2 mL 농도로 세포배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 하룻밤 배양한 뒤, 아미그달린을 농도에 따라 (0.5, 1, 2.5 mg/mL) 처리하였고 대사체에 의한 세포독성 비교를 위하여 동일한 방법으로 아미그달린을 처리하고  $\beta$ -glucosidase (3.7 U/mL)을 병행처리하였다. 7일 후 PBS (phosphate buffered saline)로 2회 세척하고 90% 메탄올로 얼음위에서 30분간 처리하여 세포를 고정시키고 0.5% crystal violet으로 얼음위에서 1시간 동안 처리하여 콜로니를 염색시켰다. 3차 증류수로 여러 차례 세척 후 건조시켜 콜로니를 계수하였다(Fig. 4-8).

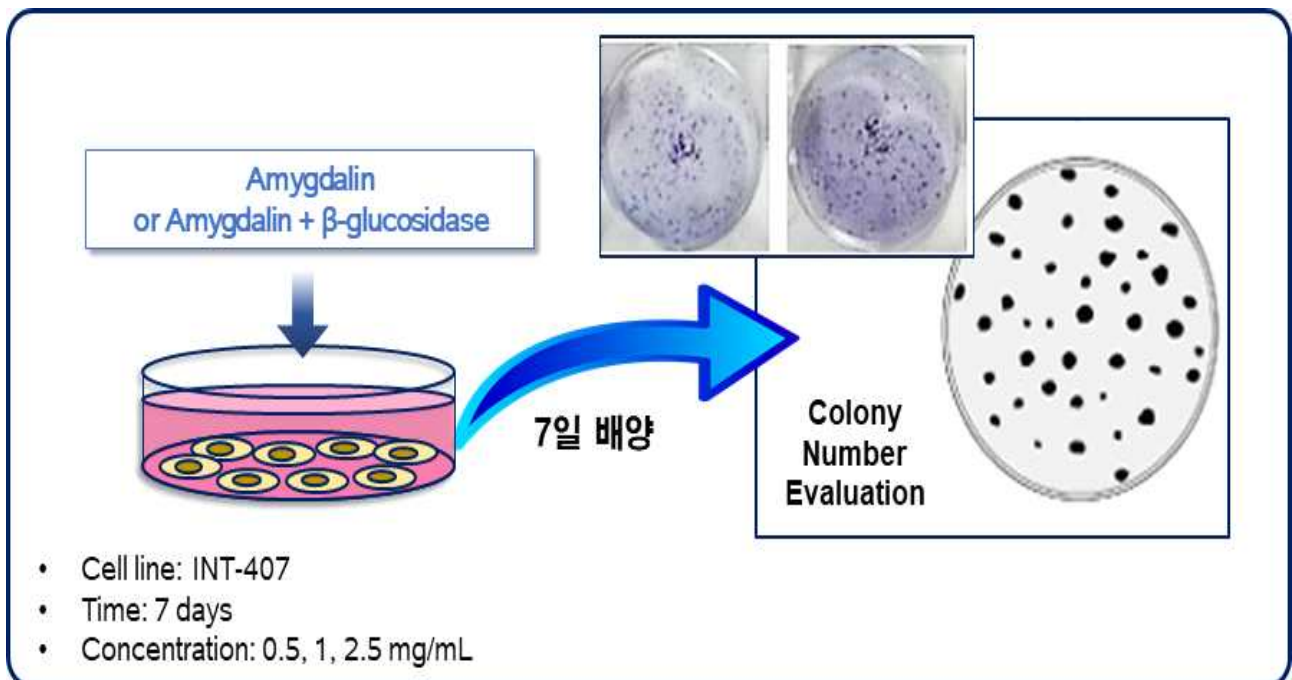


Fig. 4-8. Experimental scheme for clonogenic assay.

(다) 세포 내 활성산소종 유발

세포 내 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 H<sub>2</sub>DCFDA (2' 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate) 시약을 이용하여 정량하였는데 H<sub>2</sub>DCFDA 시약은 세포 내에서 esterase에 의해 탈아세틸화된 H<sub>2</sub>DCF 형태가 되고 활성산소종에 의해 산화되어 형광을 나타내는 DCF로 변화하게 된다. 이때 DCF의 형광을 측정함으로써 세포 내 활성산소종을 정량하였다. 장관계 상피세포주인 INT-407을 96 well plate에 1 × 10<sup>4</sup> cells/100 μL 농도로 세포배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 하룻밤 배양한 뒤, 아미그달린을 농도에 따라 (0.5, 1, 2.5 mg/mL) 처리하였고 대사체에 의한 세포독성 비교를 위하여 동일한 방법으로 아미그달린을 처리하고 β-glucosidase (3.7 U/mL)을 병행처리하였다. 24시간 후 각 well을 PBS로 1회 세척하고 40 μM H<sub>2</sub>DCFDA시약을 첨가한 뒤 37°C에서 60분간 배양하고 PBS로 1회 세척한 뒤 excitation 파장 485 nm, emission 파장 535 nm에서 형광을 측정하였다(Fig. 4-9).

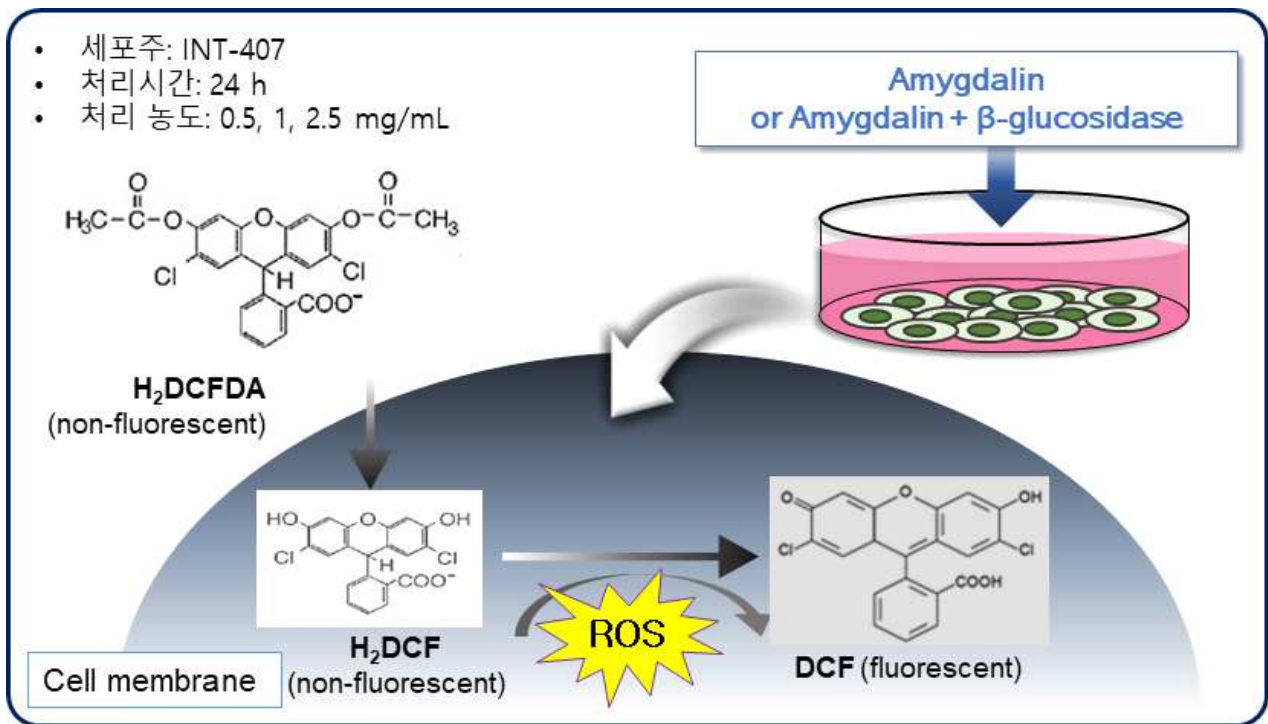


Fig. 4-9. Measurement of intracellular ROS using H<sub>2</sub>DCFDA.

(라) 세포자멸사(apoptosis) 유발

Apoptosis가 일어나게 되면 세포막 안의 phosphatidyl serine이 세포막 밖으로 노출되게 되는데, annexin V는 phosphatidyl serine과 같은 음전하 인지질과 높은 친화력을 보유하므로 apoptosis가 진행되고 있는 세포는 FITC (fluorescein isothiocyanate)로 표지된 annexin V와 선택적으로 결합하여 형광을 나타내는 원리를 이용하여 분석할 수 있다. 한편 PI (propidium iodide)는 살아있는 세포의 세포막은 통과하지 못하기 때문에 annexin V와 PI의 염색 패턴을 통해 세포의 apoptosis 및 세포괴사(necrosis) 유발 여부를 판별하였다. 장관계 상피세포주인 INT-407을 6 well plate에  $1 \times 10^6$  cells/2 mL 농도로 세포배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 하룻밤 배양한 뒤, 아미그달린(2.5 mg/mL)을 처리하였고 대사체에 의한 세포독성 비교를 위하여 동일한 방법으로 아미그달린을 처리하고  $\beta$ -glucosidase (3.7 U/mL)을 병행처리하였다. 24시간 후 배양액을 제거하고 PBS 1 mL로 세포를 harvest한 뒤, 원심분리하고 상층액을 제거한 후 차가운 PBS 1 mL을 첨가하고 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 이후, 100  $\mu$ L의 annexin-binding buffer에 세포농도가  $1 \times 10^6$  cells/mL이 되도록 분산시키고 5  $\mu$ L FITC annexin V와 1  $\mu$ L PI를 첨가하여 15분 동안 암소에서 반응시켰다. 400  $\mu$ L annexin-binding buffer를 첨가하여 섞어준 후 유세포 분석기(flow cytometry)를 이용하여 최소 10,000 counts까지 형광 신호를 관찰 분석하였다(Fig. 4-10).

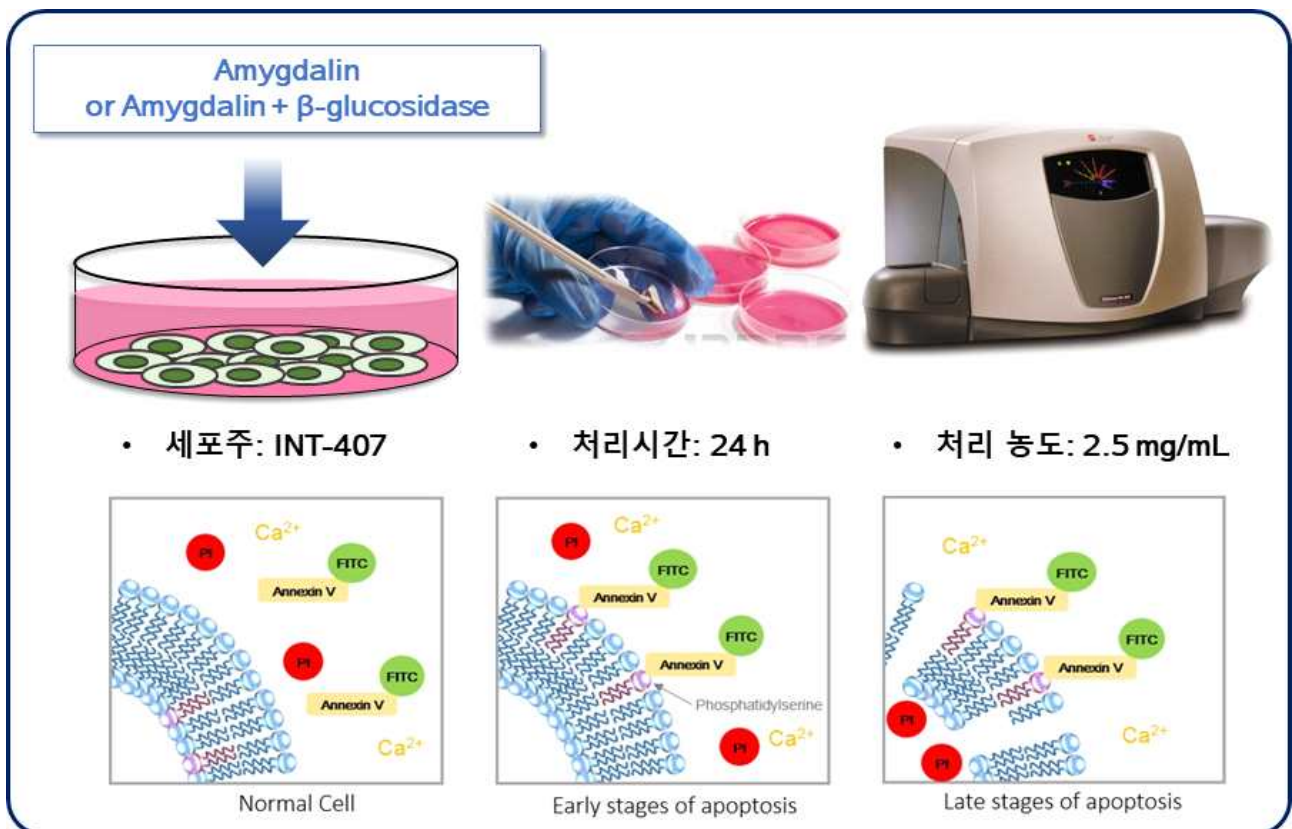


Fig. 4-10. Experimental scheme for apoptosis analysis.

나. 기존 생산되고 있는 매실가공품의 체내 흡수율 평가기술 개발 및 자료 확보

(1) 아미그달린 및 체내 대사체의 최적 분석법 확립

(가) 혈액 내 아미그달린 및 대사체의 분석

아미그달린 및 체내 대사된 아미그달린의 대사체 분석은 앞서 확립한 HPLC를 이용한 방법을 토대로 수행하였으며, 아미그달린의 체내 흡수율 평가를 위하여 혈액에서의 아미그달린 및 대사체의 최적 분석방법을 확립하였다(Oh et al., Bioconjugate Chem., 2006). 즉, 혈장의 단백질을 침전시키기 위해 각 시료 부피의 2배에 해당하는 아세토나이트릴(acetonitrile)을 가하여 vortex한 뒤, 원심분리 (10,000×g, 3분)하여 얻은 상층액을 분석하였다(Fig. 4-11).

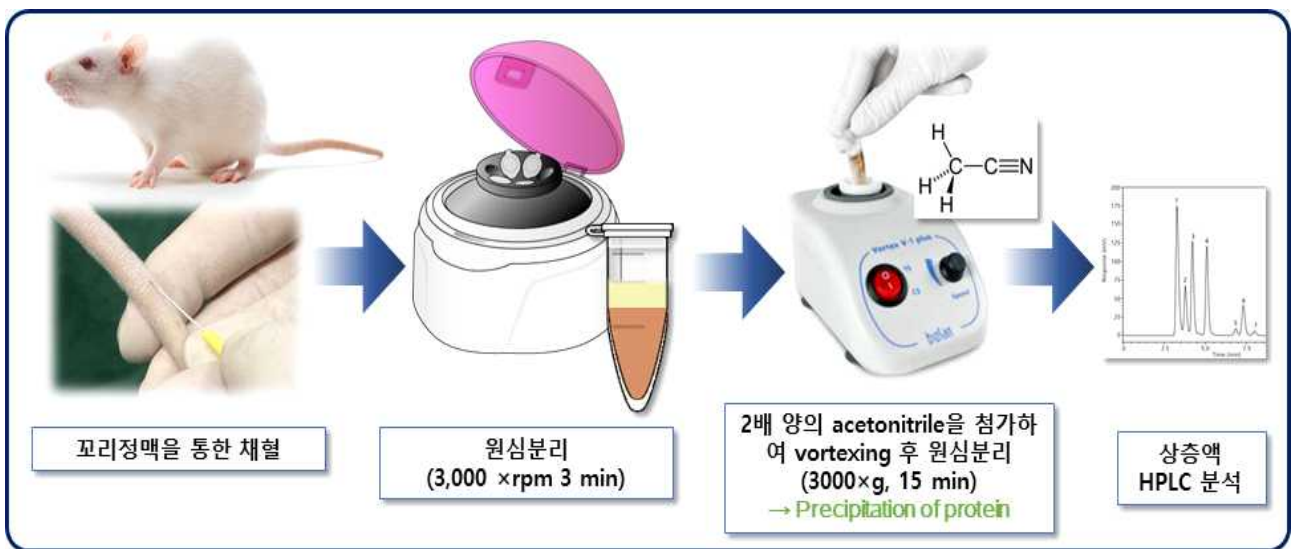


Fig. 4-11. Pre-treatment method for amygdalin detection in blood samples using HPLC analysis.

(2) 아미그달린 및 기존 생산되고 있는 매실가공품의 단회 경구 투여 후 체내 흡수율 연구

아미그달린의 체내 흡수율 연구를 위하여 6주령 암컷 SD (Sprague-Dawley) 랫드를 코아텍(주)으로부터 공급받아 1주일간 순화시킨 뒤 실험에 사용하였으며 사료와 물은 1주일간 자유롭게 공급하였다. 사육환경은 일정 온도(20 ± 2°C)와 습도(60 ± 10%) 및 조명시간(12시간)을 유지하도록 하였으며 본 동물실험은 서울여자대학교 동물실험윤리심의위원회의 승인을 거쳐 수행하였다(SWU IACUC-2017A-1).



(가) 아미그달린의 체내 흡수율 연구

SD 랫드 암컷 7주령에 아미그달린 표준품을 250 mg/kg의 용량으로 단회 경구 투여한 뒤 시간별(0, 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 10 h)로 꼬리정맥에서 채혈 후 원심분리 하여 분리한 플라즈마를 HPLC 분석하여 아미그달린 또는 대사체 분석을 수행하였다. 혈장에서 HPLC 분석 결과를 바탕으로 Kinetica software (Thermo Fisher Scientific)를 이용하여 독성동태학적 파라미터 (area under the plasma concentration time curve (AUC), maximum concentration ( $C_{max}$ ), time to maximum plasma concentration ( $T_{max}$ ), half-life ( $T_{1/2}$ ), mean residence time (MRT)) 등을 도출하였으며, 이를 바탕으로 체내 흡수율을 계산하였다(Fig. 4-12).

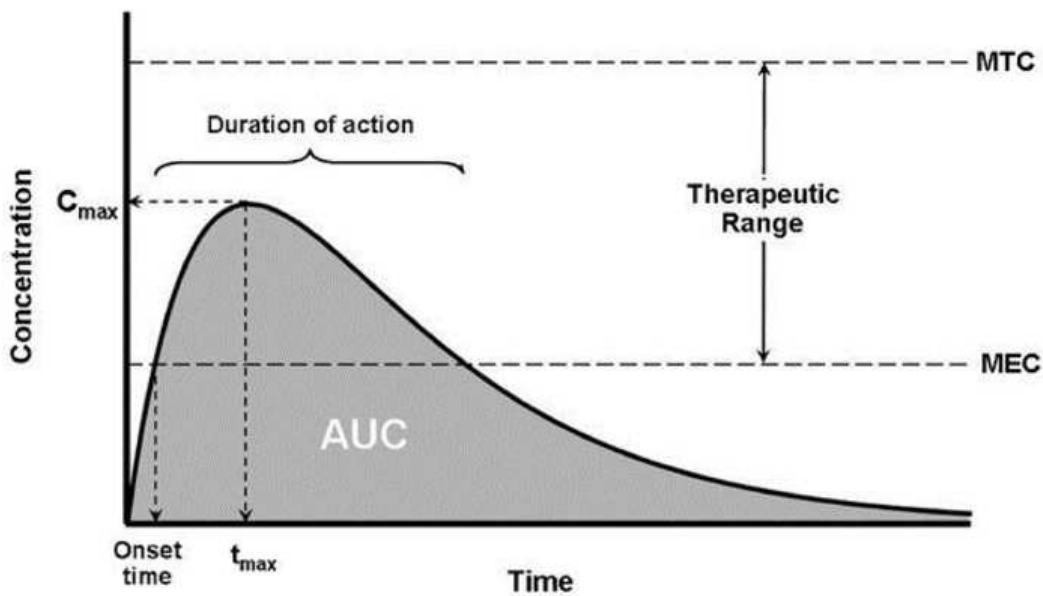


Fig. 4-12. Time-concentration profile and toxicokinetic parameters following a single dose administration.

(나) 기존 생산되고 있는 매실가공제품의 체내 흡수율 연구

SD 랫드 암컷 7주령에 기존 생산되고 있는 매실가공제품으로 매실청을 선정하였으며, 매실(씨 포함)과 함께 숙성한 매실청(Maesil syrup with Maesils)과 매실(씨 포함)과 100일 동안 숙성한 뒤 매실을 분리하여 숙성한 매실청(Maesil syrup without Maesils) (Fig. 4-13), 두 가지를 10 mL/kg (경구투여 시 최대 투여 가능 용량)의 용량으로 단회 경구 투여하였다. 이후 꼬리정맥에서 시간별(0, 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 10 h)로 채혈 및 원심분리하여 분리한 혈장을 HPLC로 분석하여 아미그달린 및 체내 대사체 분석을 수행하였다. 혈장에서 HPLC 분석 결과를 바탕으로 Kinetica software (Thermo Fisher Scientific)를 이용하여 AUC,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$ , MRT 등의 독성동태학적 파라미터를 도출하였으며, 체내 흡수율을 계산하였다(Fig. 4-14).

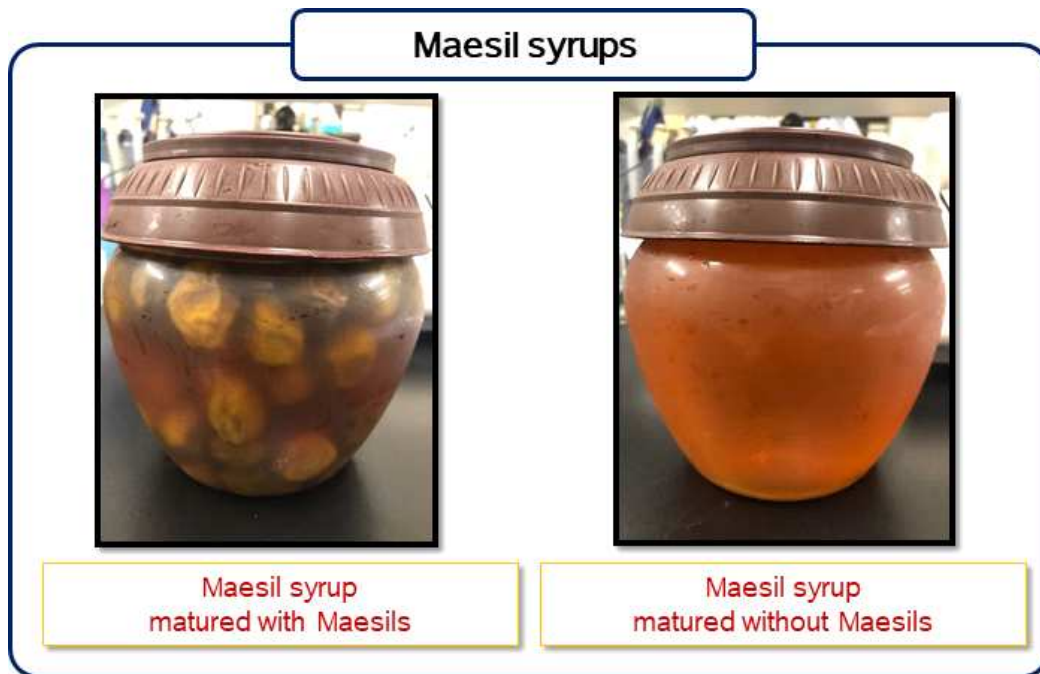


Fig. 4-13. Maesil syrup with and without maesils used in the present study.



Fig. 4-14. Experimental scheme for toxicokinetic study following a single dose oral administration to rats.

(다) 아미그달린 및 기존 생산되고 있는 매실가공품의 체내 배출 연구

SD 랫드 암컷 7주령에 아미그달린 표준품과 기존 생산되고 있는 매실청(Maesil syrup without Maesils)을 각각 250 mg/kg, 10 mL/kg으로 단회 투여하고 대사케이지(metabolic cage)를 이용하여 시간별(1, 2, 4, 6, 24 h)로 urine을 채취한 뒤, 아미그달린 및 대사체를 HPLC로 분석하였다. Urine에서의 아미그달린 및 대사체의 최적 분석방법을 확립하였는데 즉, urine 내 혈장의 단백질을 침전시키기 위해 각 시료 부피의 2배에 해당하는 아세트나이트릴을 가하여 vortex 한 뒤, 원심분리 (10,000×g, 3분)하여 얻은 상층액을 분석하였다(Fig. 4-15).

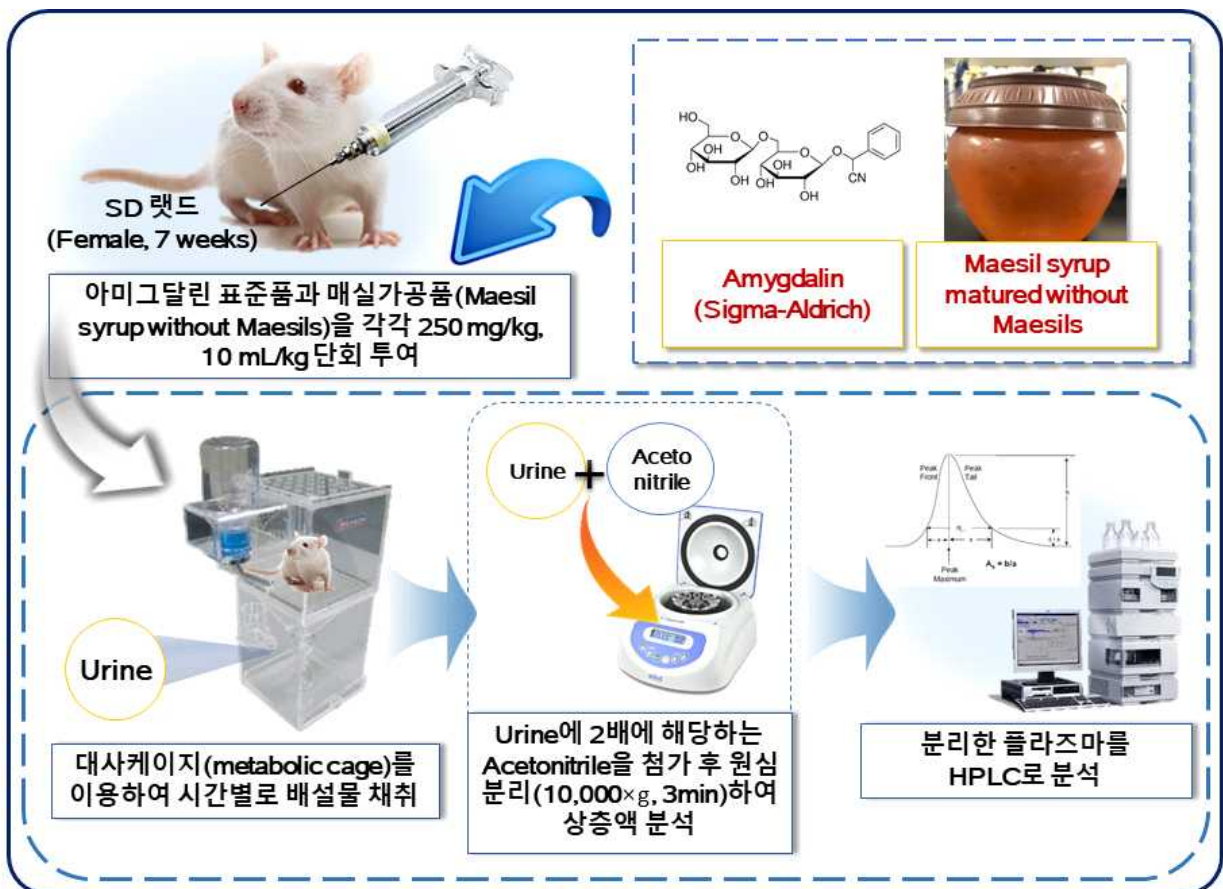


Fig. 4-15. Experimental scheme of excretion study following a single dose oral administration to rats.

다. 기존 생산되고 있는 매실가공품의 동물모델에서 경구독성 자료 확보

(1) 기존 생산되고 있는 매실가공품의 14일 반복 경구 독성 연구

기존 생산되고 있는 매실청의 14일 반복 경구독성 연구를 위해 동물사육 및 사용은 ‘나. 기존 생산되고 있는 매실청의 체내 흡수율 평가기술 개발 및 자료 확보’와 동일한 조건으로 하였으며, 서울여자대학교 동물실험윤리심의위원회의 승인을 거쳐 수행하였다(SWU IACUC-2017A-1).



Fig. 4-16. Experimental scheme for 14-days repeated oral toxicity study.

(가) 14일 반복 투여에 의한 관찰

SD 랫드 암컷에 기존 생산되고 있는 매실청 2종(Maesil syrup with/without Maesils)을 10 mL/kg의 용량으로 14일 반복 경구 투여하였다. 투여기간 동안 물질 투여에 의한 이상징후, 행동변화를 관찰하였고 몸무게, 식이 및 물 섭취량 변화를 기록하였다(Fig. 4-16). 14일 반복투여 종료 후 CO<sub>2</sub> 안락사하여 장기(brain, heart, kidney, large intestine, liver, lung, ovary, small intestine, spleen, stomach)를 적출 뒤 육안검사를 실시하여 이상여부를 확인하고 적출한 조직의 무게(g)를 동물의 몸무게(g)로 나눈 organ index (%)를 산출하여 14일 반복투여에 의한 매실가공품의 경구독성을 판단하였다(Fig. 4-17).

$$\text{Organ index(\%)} = \frac{\text{the organ weight (g)}}{\text{total body weight (g)}} \times 100$$

Fig. 4-17. Formula for calculation of organ index (%).

#### (나) 14일 반복 투여에 의한 혈청생화학적, 혈액학적 및 조직병리검사

SD 랫드 암컷에 반복 경구투여 후 혈액을 채취하여 혈액학적 및 혈청생화학적 분석을 통해 독성지표에 대한 영향을 분석하였는데, 혈액학적 지표 분석에 의하여 혈액독성 및 면역학적 독성을 판단하고 혈청생화학적 지표 분석을 통해 잠재적 표적장기에 대한 독성을 예측하였다. 또한 주요 장기(kidney, liver, lung, spleen)를 적출하여 병리학적 검사를 수행함으로써 조직병리학적 관점에서 이상 유무 판단을 통해 종합적인 독성영향 및 안전성에 대한 자료를 확보하고자 하였다. 혈액학적, 혈청생화학적 분석 및 조직병리학적 검사의 경우 고도의 전문성이 요구되는 분야이므로 다년간 공동연구를 수행하고 GLP (good laboratory practice) 기관인 한국화학융합시험연구원(KTR, Korea testing & research institute)에 의뢰하여 수행하였다.

#### 라. 아미그달린 저감화 제품의 독성 평가기술 및 자료 확보

아미그달린의 저감화 제품은 매실청(maesil syrup without maesils)에 플라즈마 및 자외선(UVC, ultraviolet) 처리공정을 통해 개발하였으며 제1협동연구기관(경기대학교)으로부터 제공받아 연구를 수행하였다. 아미그달린 저감화 제품의 아미그달린 및 대사체의 함량은 ‘가. 기존 생산되고 있는 매실가공품의 세포독성 평가기술 개발 및 독성자료 확보’에서 확립한 HPLC 분석방법을 통하여 분석하였다.

#### 마. 아미그달린 저감화 제품의 체내 흡수율 평가기술 개발 및 자료 확보

아미그달린의 체내 흡수율 연구를 위해 동물사육 및 사용은 ‘나. 기존 생산되고 있는 매실가공품의 체내 흡수율 평가기술 개발 및 자료 확보’와 동일한 조건으로 하였으며, 서울여자대학교 동물실험윤리심의위원회의 승인을 거쳐 수행하였다(SWU IACUC-2018A-1). SD 랫드 암컷 7주령에 아미그달린 저감화 매실청 2종(플라즈마 또는 UVC 처리)을 10 mL/kg의 용량으로 단회 경구 투여하였다. 이후 꼬리정맥에서 시간별(0, 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6 h)로 채혈 및 원심분리하여 분리한 플라즈마를 HPLC 분석하여 아미그달린 또는 대사체 분석을 수행하였다. 혈장에서 HPLC 분석 결과를 바탕으로 Kinetica software (Thermo Fisher Scientific)를 이용하여 AUC,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$ , MRT 등의 독성동태학적 파라미터를 도출하였으며, 체내 흡수율을 계산하였다.

#### 바. 아미그달린 저감화 제품의 동물모델에서의 경구독성 자료 확보

아미그달린 저감화 매실청의 14일 반복 경구독성 연구를 위해 동물사육 및 사용은 ‘나. 기존 생산되고 있는 매실가공품의 체내 흡수율 평가기술 개발 및 자료 확보’와 동일한 조건으로 하였으며, 서울여자대학교 동물실험윤리심의위원회의 승인을 거쳐 수행하였다(SWU IACUC-2018A-1).

### (가) 14일 반복 투여에 의한 관찰

SD 랫드 암컷에 아미그달린 저감화 매실청 2종(플라즈마 또는 UVC 처리)을 10 mL/kg 의 용량으로 14일 반복 경구 투여하였다. 투여기간 동안 물질 투여에 의한 이상징후, 행동변화를 관찰하였고 몸무게, 사료 및 물 섭취량 변화를 기록하였다. 14일 반복투여 종료 후 CO<sub>2</sub> 안락사 하여 장기(brain, heart, kidney, large intestine, liver, lung, ovary, small intestine, spleen, stomach)를 적출 뒤 육안검사를 실시하여 이상여부를 확인하고 적출한 조직의 무게(g)를 동물의 몸무게(g)로 나눈 organ index (%)를 산출하여 14일 반복투여에 의한 매실가공품의 경구독성을 판단하였다.

### (나) 14일 반복 투여에 의한 혈청생화학적, 혈액학적 및 조직병리검사

SD 랫드 암컷에 반복 경구투여 후 혈액을 채취하여 혈액학적 및 혈청생화학적 분석을 통해 독성지표에 대한 영향을 분석하였는데, 혈액학적 지표 분석에 의하여 혈액독성 및 면역학적 독성을 판단하고 혈청생화학적 지표 분석을 통해 잠재적 표적장기에 대한 독성을 예측하였다. 또한 주요 장기(kidney, liver, lung, spleen)를 적출하여 병리학적 검사를 수행함으로써 조직병리학적 관점에서 이상 유무 판단을 통해 종합적인 독성영향 및 안전성에 대한 자료를 확보하고자 하였다. 혈액학적, 혈청생화학적 분석 및 조직병리학적 검사는 GLP 기관인 한국화학융합시험연구원에 의뢰하여 수행하였다.

## 사. 일반매실가공제품과 아미그달린 저감화 매실가공제품의 안전성 비교 분석

일반 매실청과 아미그달린 저감화 매실청의 아미그달린 등의 성분 분석을 통하여 저감화 공정 처리에 의한 영향, 특히 독성영향을 일으킬 수 있는 물질 및 플라즈마 및 UVC 처리에 의한 분해산물 생성 여부를 비교 분석하였다. 또한 본 연구과제를 통하여 기존생산되고 있는 일반매실청과 아미그달린 저감화 매실청의 확보된 경구독성 자료를 바탕으로 종합적인 비교 분석을 통해 안전성을 판단하였다.

## 2. 연구결과

### 가. 기존 생산되고 있는 매실가공품의 세포독성 평가기술 개발 및 독성자료 확보

#### (1) 기존 생산되고 있는 매실가공품의 아미그달린 등 성분 함량 분석

##### (가) 아미그달린 및 대사체의 분석

HPLC에 의한 아미그달린 및 대사체 분석을 수행하기 위하여 각 표준물질에 대한 분석방법을 확립하였고 모든 물질이 정량적으로 분석이 잘 이루어지는 것으로 확인되어 표준곡선을 작성하여 분석에 활용하였다(Fig. 4-18).

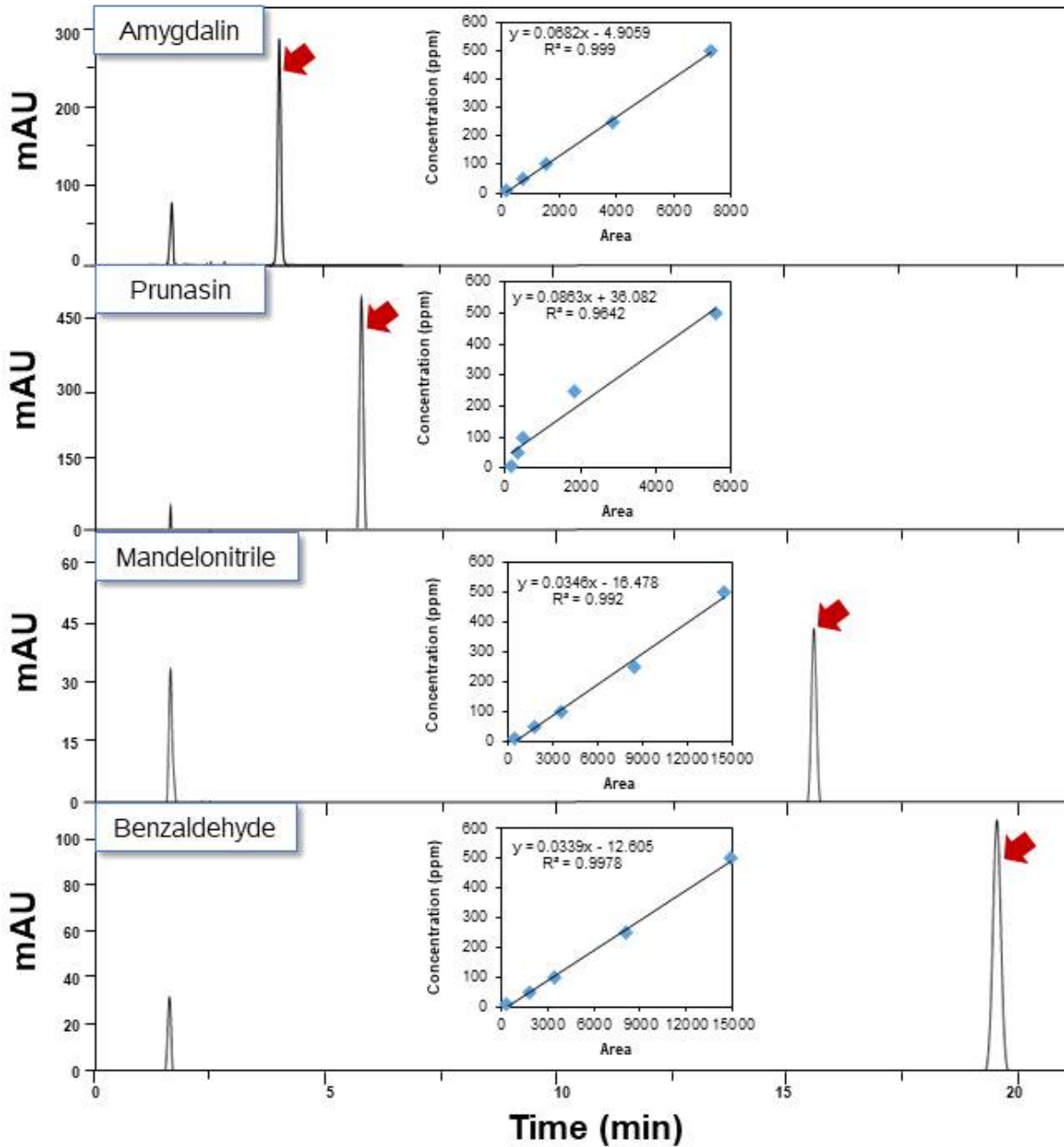


Fig. 4-18. HPLC chromatograms of amygdalin and its metabolites, such as prunasin, mandelonitrile, and benzaldehyde.

본 연구에 사용된 HPLC 분석기기의 검출한계(LOD, limits of detection) 및 정량한계(LOQ, limits of quantification)를 산출하였는데, 아미그달린 분석의 LOD는  $0.33 \mu\text{g/mL}$ , LOQ는  $1.00 \mu\text{g/mL}$ 으로, 프루나신 분석의 LOD는  $0.39 \mu\text{g/mL}$ , LOQ는  $1.17 \mu\text{g/mL}$ 로 확인되었다. 또한 각 분석물질의 HPLC를 이용한 분석 결과치의 회수율을 산출하였는데, 아미그달린은 99.39~102.32%로, 프루나신은 96.30~104.37%로 확인되었다.

(나) 매실가공품의 아미그달린, 당, 항산화성분 등 성분 분석

기존 생산되고 있는 매실청 2종(Maesil syrup with/without Maesils)의 아미그달린 등 성분 분석을 수행하였다(Table 4-1). 아미그달린 및 대사체 분석은 HPLC로 분석하였는데, 아미그달린과 대사체인 프루나신이 검출되었으며 그 밖의 대사산물인 만델로나이트릴, 벤즈알데하이드 및 시안화수소는 검출되지 않았다. 매실청에서 시안화수소가 검출되지 않은 것은 시안화수소의 휘발성에 기인한 것으로 보인다. 매실청 종류에 따른 비교 시, 매실과 함께 숙성한 매실청(Maesil syrup with Maesils)의 아미그달린 및 프루나신 함량이 매실을 분리 후 숙성한 매실청(Maesil syrup without Maesils) 대비 유의적으로 낮은 것으로 확인되었다(Table 4-1). 이는 매실성분이 아미그달린의 분해를 촉진하는 역할을 하는 것으로 보이며, 기존의 보고된 매실의 저장 및 과숙기간 동안 아미그달린이 감소하는 결과와 일치함을 보여준다(Kim et al., Korean J. Food Preserv., 2002).

**Table 4-1. Contents of amygdalin, its metabolites, saccharides, total polyphenols, and total flavonoids of Measil syrups with or without Maesils**

Constituents	Maesil syrups	
	with Maesils	without Maesils
amygdalin (µg/mL)	134.98 ± 5.96 <sup>a</sup>	166.82 ± 4.16 <sup>b</sup>
prunasin (µg/mL)	26.05 ± 0.15 <sup>a</sup>	31.57 ± 0.16 <sup>b</sup>
fructose (µg/mL)	238.72 ± 0.72 <sup>a</sup>	200.36 ± 8.10 <sup>b</sup>
glucose (µg/mL)	210.80 ± 1.82 <sup>a</sup>	205.28 ± 3.18 <sup>b</sup>
total polyphenol (µg GAE/mL)	461.30 ± 8.12 <sup>a</sup>	376.41 ± 12.18 <sup>b</sup>
total flavonoid (µg QE/mL)	252.58 ± 17.21 <sup>a</sup>	201.06 ± 2.62 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Significant differences between Maesil syrups with and without Maesils in the same row ( $p < 0.05$ ).

매실청에 포함된 당류의 HPLC 분석 결과, 주로 fructose와 glucose가 분석되었는데 이는 매실청 제조 시 첨가되는 자당(sucrose)이 glucose와 fructose로 가수분해되었기 때문으로 판단된다(Table 4-1). 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량 분석 결과에서는 매실과 함께 숙성한 매실청(Maesil syrup with Maesils)이 매실을 분리 후 숙성한 매실청(Maesil syrup without Maesils) 대비 유의적으로 높은 함량이 확인되었는데, 본 결과는 매실과 함께 숙성시키는 것이 매실청의 생리활성 물질의 함량을 증가시킬 수 있는 것으로 보인다(Table 4-1).



(다) 효소( $\beta$ -glucosidase)에 의한 아미그달린의 분해 및 대사체 분석

효소에 의한 아미그달린의 대사체 생성을 확인하기 위하여 아미그달린 표준품과 매실청에  $\beta$ -glucosidase 첨가 후 시간에 따른 아미그달린 및 대사체를 HPLC 분석한 결과(Fig. 4-19와 Fig. 4-20), 아미그달린 표준품의 경우 효소에 의하여 5분 이내에 빠르게 분해되어 프루나신, 만델로나이트릴 및 벤즈알데하이드로 변환되는 것으로 확인되었다. 효소반응 30분 이후에는 만델로나이트릴과 벤즈알데하이드만이 검출되었다(Fig. 4-19). 반면  $\beta$ -glucosidase 첨가에 의한 아미그달린의 변화를 매실청에서 확인한 결과, 1시간까지 아미그달린의 분해가 확인되지 않았으며 6시간부터 24시간까지 유의적인 감소가 확인되었으나 아미그달린 표준품과는 달리 급격한 감소양상을 보이지 않았다(Fig. 4-19). 따라서 매실청 내 포함되어있는 다양한 기능성 성분들이  $\beta$ -glucosidase 효소에 의한 아미그달린의 분해를 저해시키는 것으로 보이며, 궁극적으로 대사체 생성 감소는 아미그달린의 독성현상 발현을 저해시킬 수 있을 것이다.

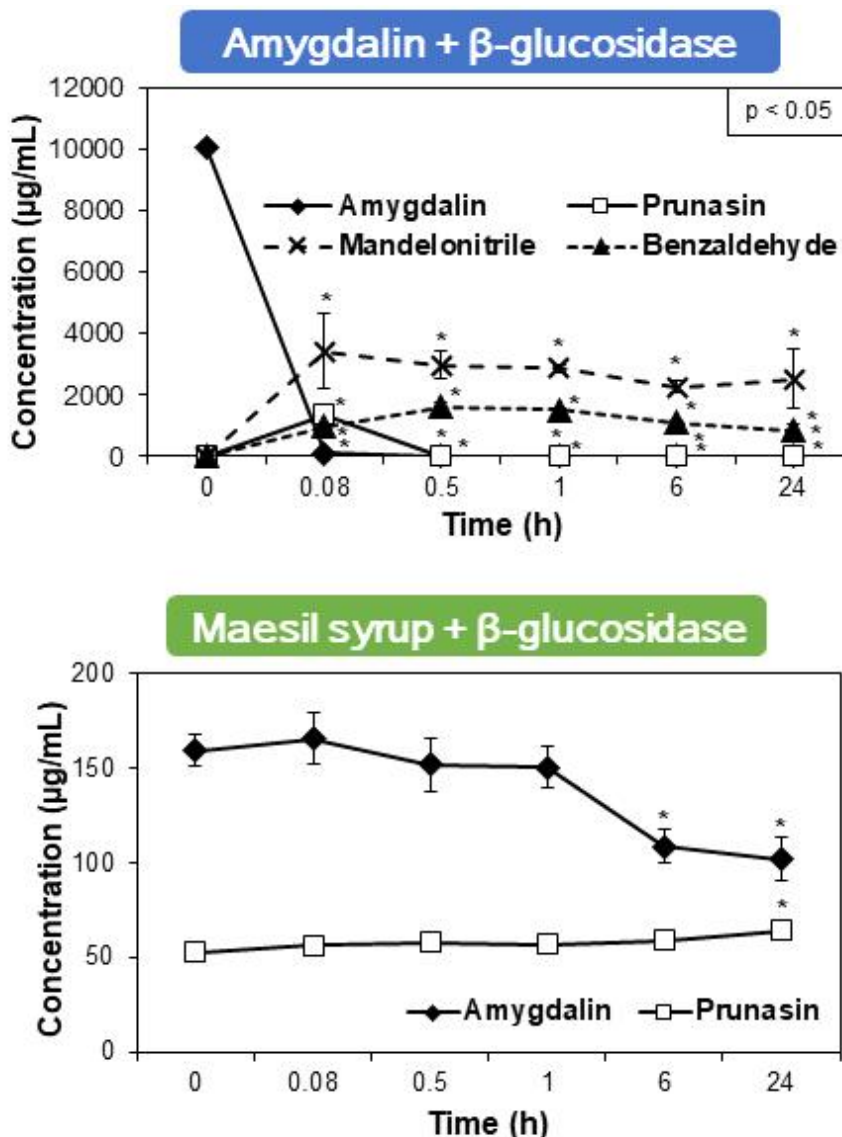


Fig. 4-19. Metabolic changes of amygdalin standard or amygdalin in Maesil syrup in the presence of  $\beta$ -glucosidase. \*Significant differences from non-treated sample ( $p < 0.05$ ).

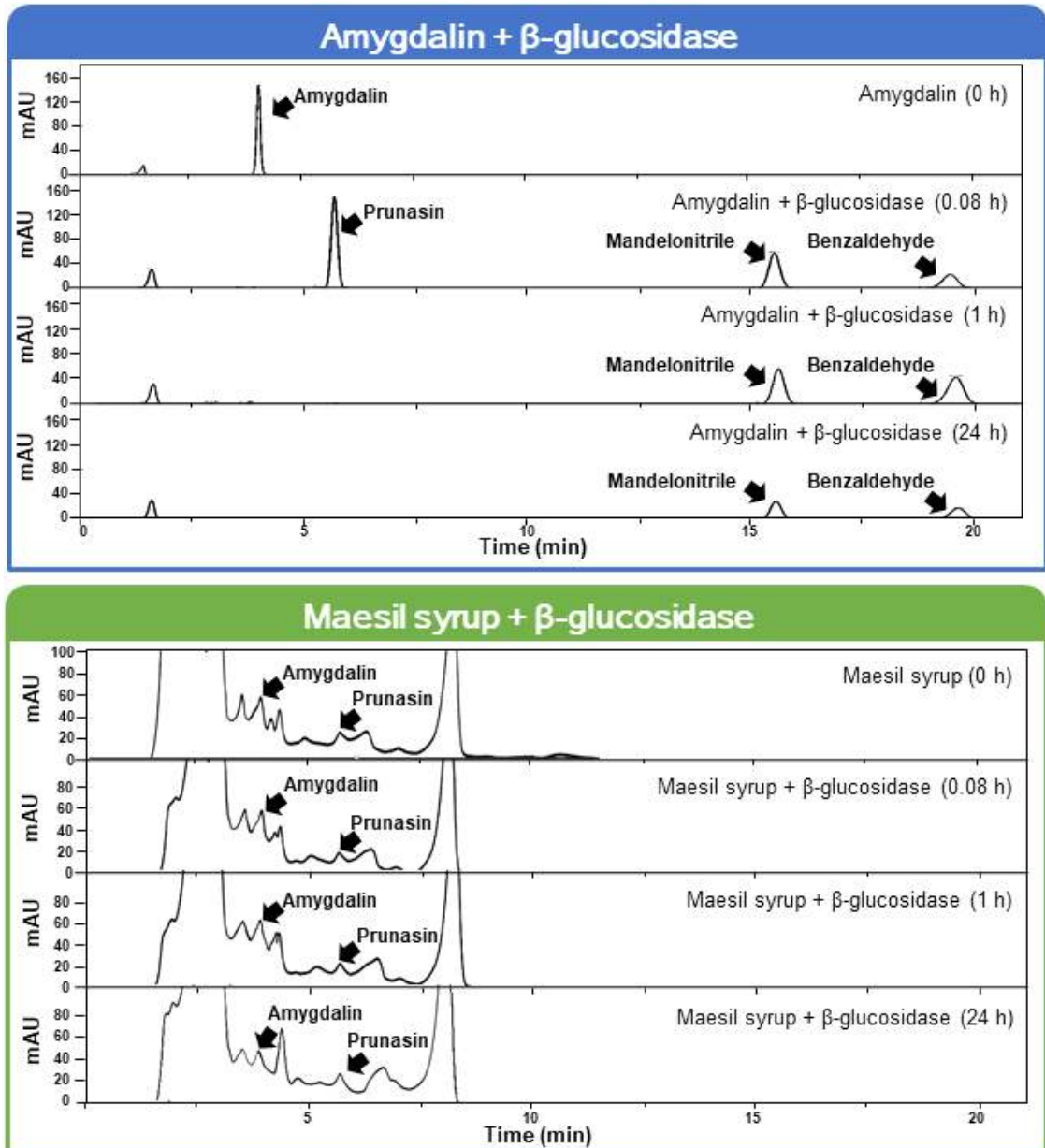
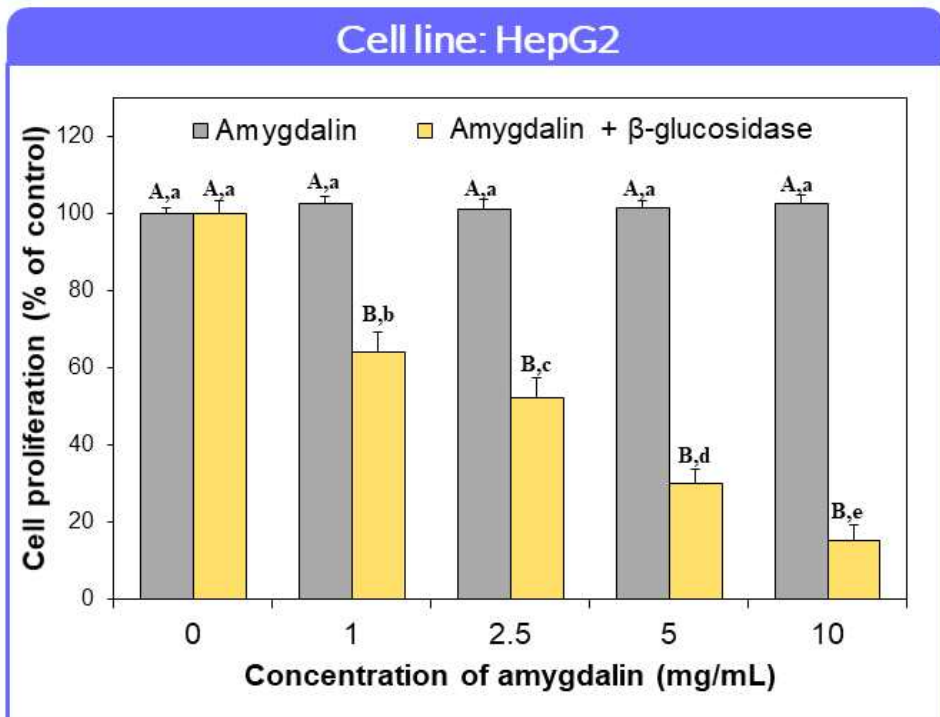
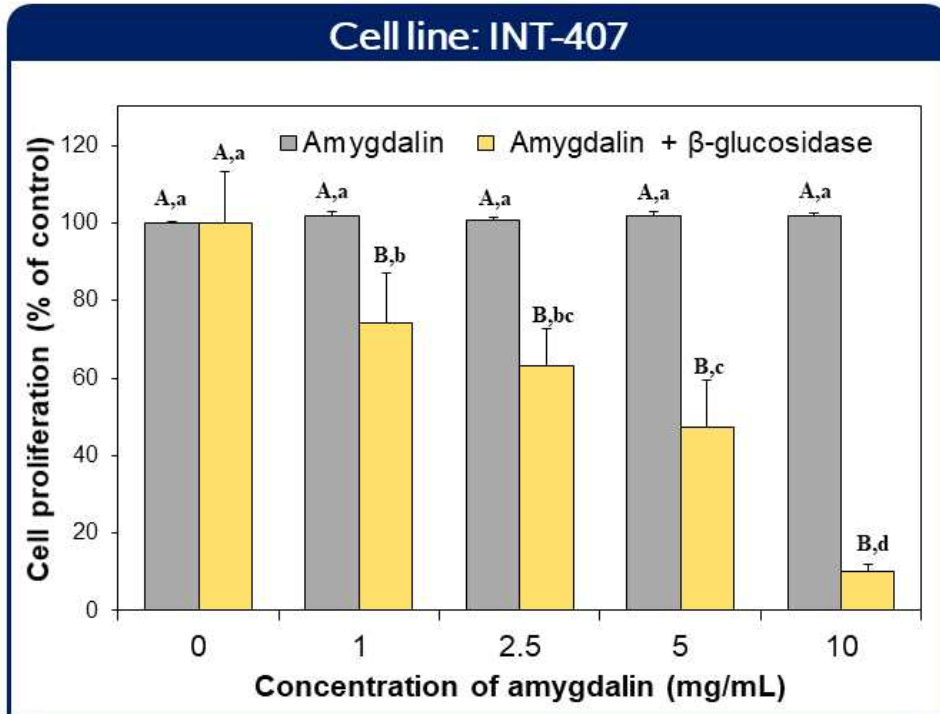


Fig. 4-20. HPLC chromatograms of metabolic changes of amygdalin standard or amygdalin in Maesil syrup in the presence of  $\beta$ -glucosidase.

(2) 세포독성 연구

(가) 단기 세포성장 저해 시험

아미그달린의 단기간 노출 시 세포 성장 및 사멸에 미치는 영향을 WST-1으로 분석한 결과 (Fig. 4-21), 최대 10 mg/mL 농도로 24시간 처리하였을 때까지 아미그달린 자체의 세포독성은 나타나지 않았으며, 세포주 차이에 의한 영향도 확인되지 않았다. 반면  $\beta$ -glucosidase를 병행 처리한 결과, 효소에 의해 분해되어 생성된 대사체에 의해 세포독성이 농도 의존적으로 증가하는 것으로 나타났으며 서로 다른 두 가지 세포주에서 같은 경향을 확인할 수 있었다.



- A,B: 효소처리 유무에 따른 통계처리( $p < 0.05$ ).
- a-e: 농도에 따른 통계처리 ( $p < 0.05$ ).

Fig. 4-21. Short-term effect of amygdalin on cell proliferation of INT-407 cells and HepG2 cells in the absence or presence of  $\beta$ -glucosidase after 24 h. <sup>A,B</sup>Significant differences between absence and presence of  $\beta$ -glucosidase ( $p < 0.05$ ). <sup>a-d</sup>Significant differences among different concentrations ( $p < 0.05$ ).

본 연구결과는 아미그달린 자체의 단기간 노출에 의한 세포독성은 낮으나  $\beta$ -glucosidase에 의해 분해되면서 대사체에 의한 독성이 증가할 수 있음을 보여주며, 근본적으로 아미그달린의 독성은 체내 대사체에 기인함을 제시한다.

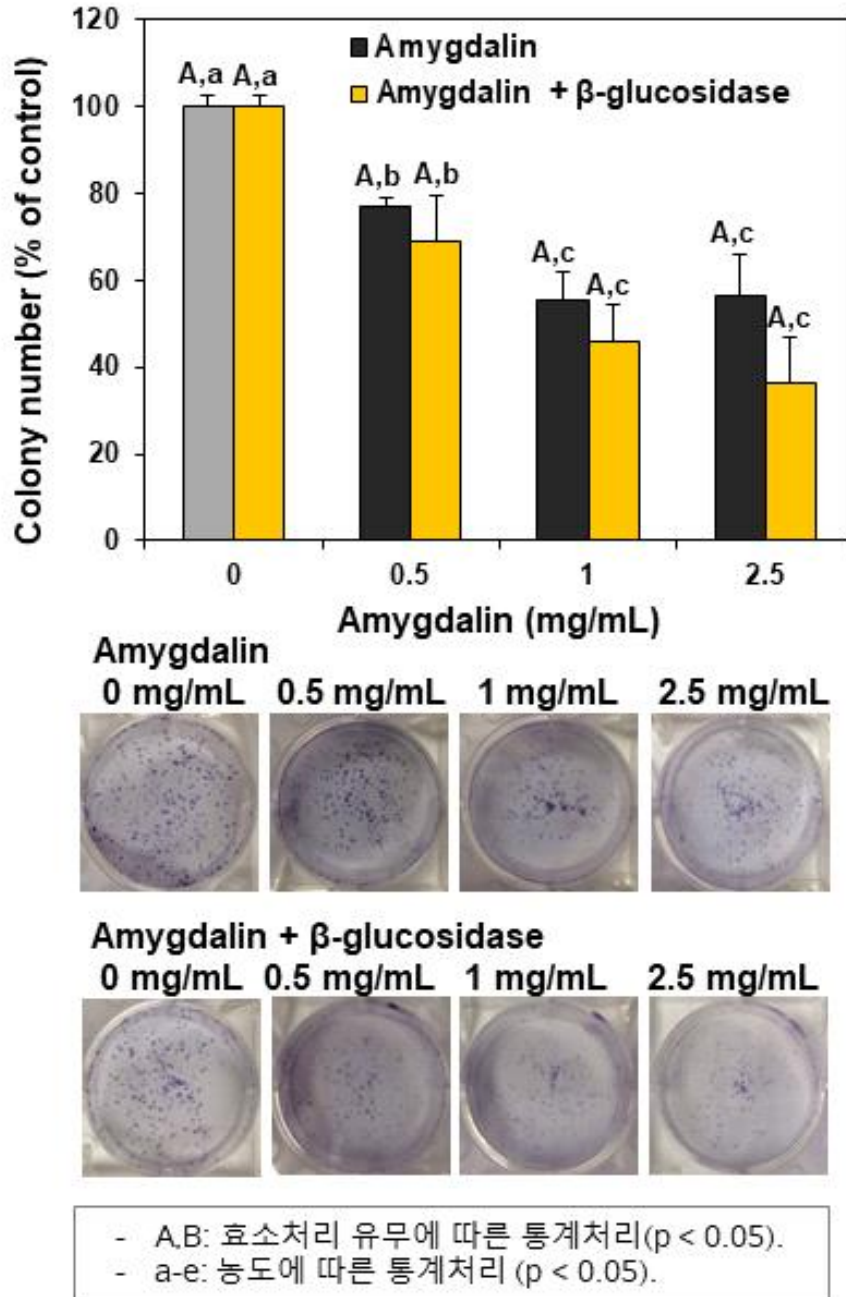


Fig. 4-22. Long-term effect of amygdalin on cell proliferation of INT-407 cells in the absence or presence of  $\beta$ -glucosidase after 7 days. <sup>A,B</sup>Significant differences between absence and presence of  $\beta$ -glucosidase ( $p < 0.05$ ). <sup>a-d</sup>Significant differences among different concentrations ( $p < 0.05$ ).

(나) 장기 세포성장 저해 시험

아미그달린의 세포 성장 및 사멸에 미치는 장기간 영향을 clonogenic assay 방법을 이용하여 분석한 결과,  $\beta$ -glucosidase 처리에 관계없이 모두 콜로니 형성을 저해하는 것으로 나타났으며 아미그달린의 농도 의존적으로 독성영향이 증가하는 것으로 확인되었다(Fig. 4-22). 이는 아미그달린에 장기간 노출됨에 따라 세포 대사 활동에 의해 분해가 촉진되었어 세포독성이 증가하는 것으로 보인다.

(다) 세포 내 활성산소종 유발

아미그달린에 의해 유발된 세포 내 활성산소종(ROS) 분석 결과, 아미그달린 자체는 ROS를 거의 유발하지 않는 것으로 나타났으나,  $\beta$ -glucosidase 효소 존재 시 세포 내 ROS의 양이 유의적으로 증가하는 것으로 확인되었다. 즉, 아미그달린 자체는 산화스트레스를 유발하지 않으나 효소에 의해 분해되면서 대사체에 의한 산화스트레스를 유발할 수 있는 것으로 보인다(Fig. 4-23).

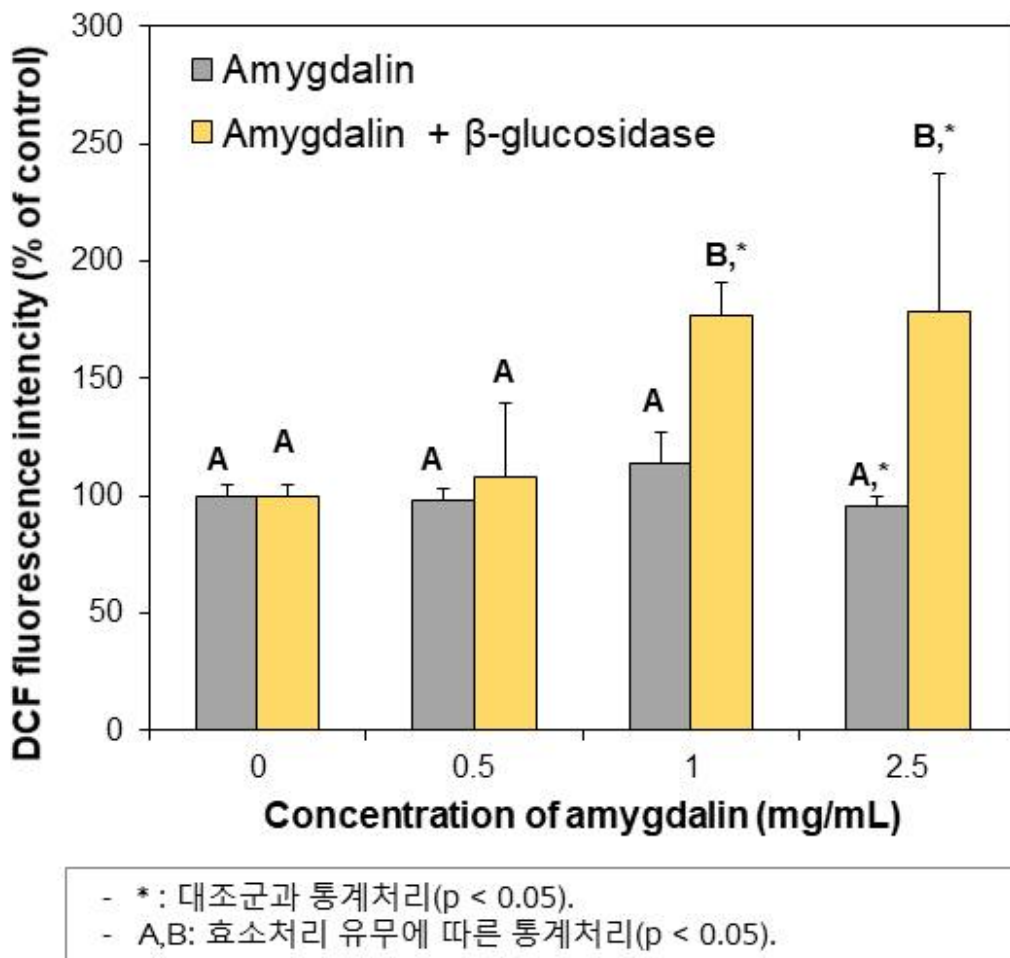


Fig. 4-23. Effect of amygdalin on intracellular ROS generation in the absence or presence of  $\beta$ -glucosidase in INT-407 cells after 6 h. <sup>A,B</sup>Significant differences between absence and presence of  $\beta$ -glucosidase ( $p < 0.05$ ). <sup>\*</sup>Significant differences from non-treated sample ( $p < 0.05$ ).

(라) 세포자멸사 유발

아미그달린에 의한 apoptosis 또는 necrosis 유발 여부를 확인한 결과, 아미그달린 자체에 의해서는 세포의 apoptosis 또는 necrosis가 거의 유발되지 않은 반면,  $\beta$ -glucosidase에 의해 분해된 아미그달린 대사체에 의해서 apoptosis가 유발되는 것으로 확인되었다(Fig. 4-24). 즉 아미그달린 자체에 의한 독성보다는 효소에 의해 분해되면서 대사체 생성에 의한 apoptosis가 유발될 수 있는 것으로 판단된다.

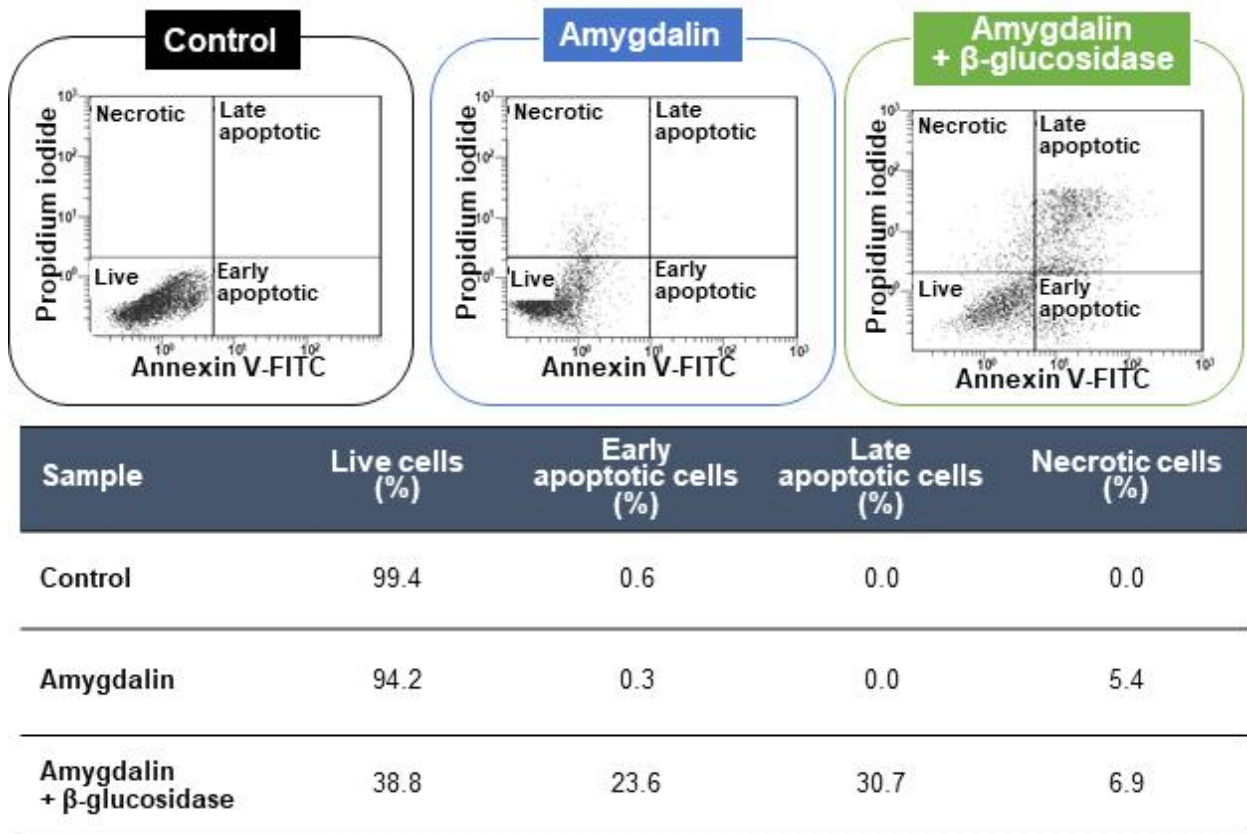


Fig. 4-24. Effect of amygdalin on apoptosis in the absence or presence of  $\beta$ -glucosidase in INT-407 cells after 6 h.

나. 기존 생산되고 있는 매실가공품의 체내 흡수율 평가기술 개발 및 자료 확보

(1) 아미그달린 및 체내 대사체의 최적 분석법 확립

(가) 혈액 내 아미그달린 및 대사체의 분석

아미그달린의 체내 흡수율 평가를 위하여 혈장에서 아미그달린 및 아미그달린 대사체에 대한 spiking test를 수행하여 분석법 확립 및 표준곡선을 작성하였으며 체내 흡수율 연구에 활용하였다(Fig. 4-25). 아미그달린의 경구투여 후 혈장에서 대사체인 프루나신만 검출되었으므로 프루나신에 대한 spiking test를 수행하여 체내 흡수율 연구에 활용하였다.

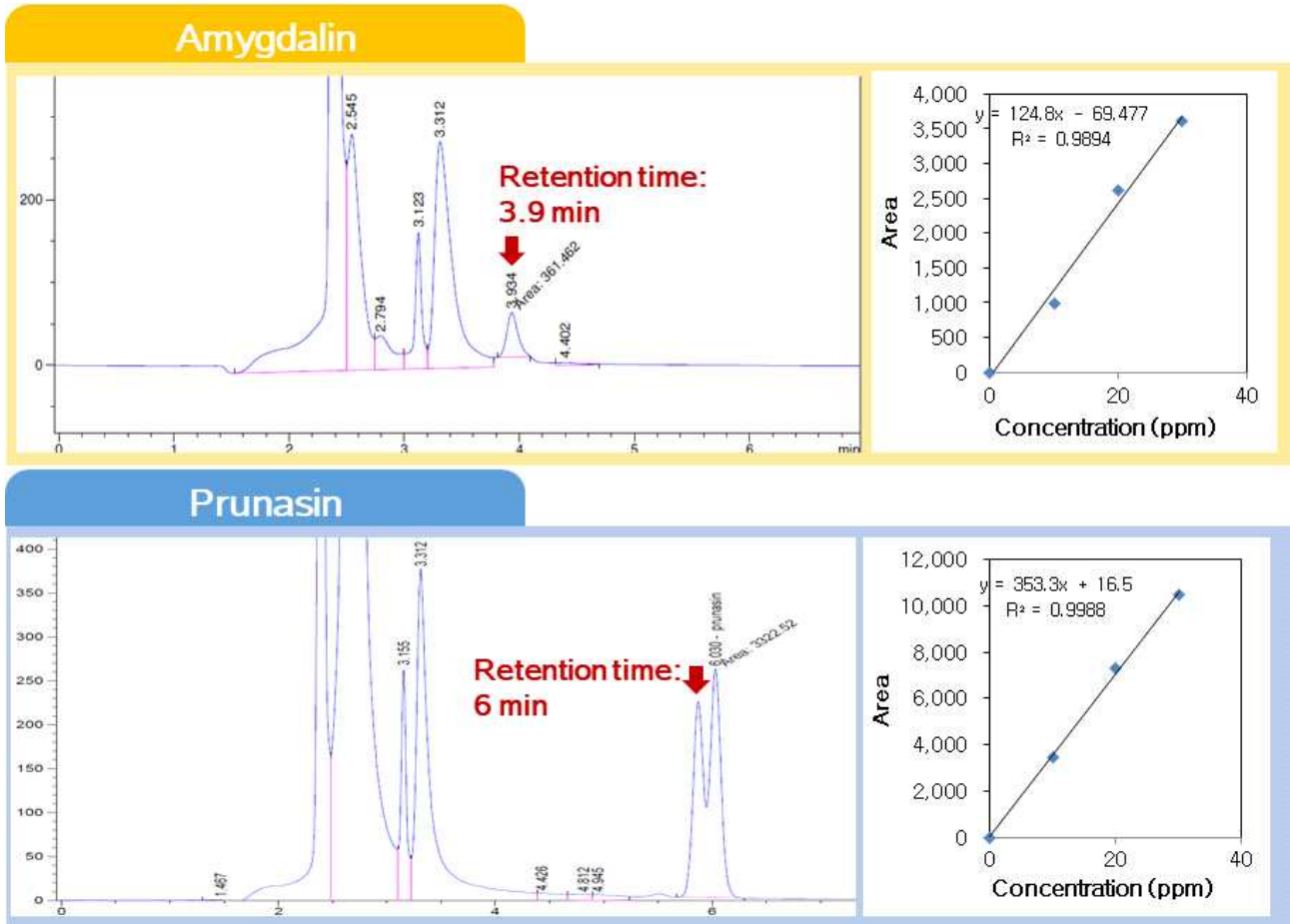
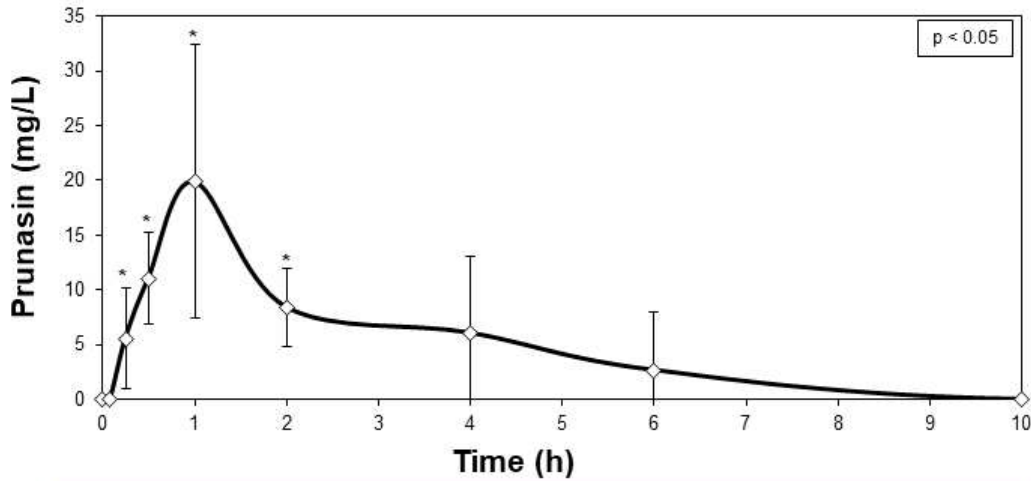


Fig. 4-25. HPLC chromatograms of plasma spiked with amygdalin or prunasin.

(2) 아미그달린 및 기존 생산되고 있는 매실가공품의 단회 경구 투여 후 체내 흡수율 연구

(가) 아미그달린의 체내 흡수율 연구

아미그달린의 체내 흡수율 연구를 위하여 아미그달린 표준품(250 mg/kg, 급성독성이 나타나지 않는 최고 농도)을 랫드에 단회 경구투여한 후 꼬리정맥에서 채혈한 혈액에서 혈장을 분리한 후 HPLC 정량분석을 수행하였다. 분석 결과(Fig. 4-26), 아미그달린 자체의 peak는 확인되지 않았으며 아미그달린의 첫 번째 대사체 형태인 프루나신의 peak만 확인되어 아미그달린이 체내에 흡수된 뒤에 프루나신으로 빠르게 대사되어 존재하는 것으로 나타났다. 그 외의 대사체 형태는 검출되지 않았다. 프루나신의 HPLC 정량분석 결과를 바탕으로 체내 흡수율 및 독성동태학적 파라미터를 도출한 결과, 흡수율은 프루나신 형태로 약 1.53%로 체내에 흡수되는 양이 매우 낮은 것으로 확인되었다. 아울러 경구 투여 후 1시간 이내에 혈류 내 최고 농도를 보였을 뿐만 아니라  $T_{1/2}$  및 MRT를 고려하였을 때, 체내 체류시간이 짧아 빠른 시간 내에 배출될 수 있을 것으로 보인다.



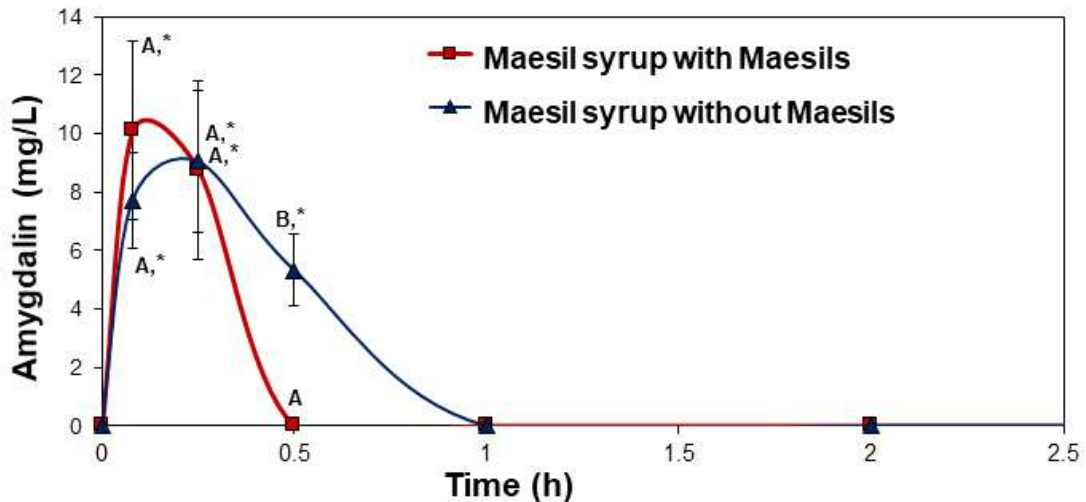
Toxicokinetic parameters	
$C_{max}$ (mg/L)	$20.11 \pm 11.04$
$T_{max}$ (h)	$0.92 \pm 0.20$
AUC (h × mg/L)	$73.24 \pm 23.85$
$T_{1/2}$ (h)	$3.10 \pm 1.89$
MRT (h)	$4.86 \pm 2.36$
absorption (%)	$1.53 \pm 0.50$

Fig. 4-26. Plasma concentration-time profiles and toxicokinetic parameters after a single dose oral administration of amygdalin to rats. \*Significant differences from non-treated sample ( $p < 0.05$ ).

(나) 기존 생산되고 있는 매실가공제품의 체내 흡수율 연구

기존 생산되고 있는 매실청 2종(매실과 함께 숙성한 매실청, 매실 분리 후 숙성한 매실청, 10 mg/kg)을 랫드에 단회 경구 투여한 후 꼬리정맥에서 채혈하여 분리한 혈장을 HPLC로 정량 분석하였는데, 아미그달린 표준품을 투여한 경우 대사체인 프루나신 형태로 검출된 반면, 매실청을 투여한 경우 혈장에서 아미그달린 형태로만 존재하는 것으로 확인되었다(Fig. 4-27). 이러한 결과는 매실청 성분이 아미그달린의 체내 대사체 형성을 저해하여 궁극적으로는 독성영향을 감소시킬 수 있을 것으로 보인다. 아미그달린 함량을 HPLC로 정량분석한 결과를 바탕으로 체내 흡수율 및 독성동태학적 파라미터를 도출한 결과, 매실을 분리 후 숙성한 매실청(Maesil syrup with Maesils)이 매실과 함께 숙성한 매실청(Maesil syrup with Maesils)에 비해 체내에서 오래 체류하는 것으로 나타났으나, AUC값 및 체내 흡수율에 있어서는 두 제품 간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 매실가공제품 2종의 아미그달린의 흡수율은 아미그달린 형태로 약 20% 정도로 도출되었는데, 매실청에서 아미그달린 함량이 약 134-167  $\mu\text{g/mL}$ 로 매우 낮은 점과 절대적인 흡수량인 AUC 값을 고려하면 아미그달린 표준품 대비 체내 흡수되는 양이 매우 적은 것을 알 수 있다.





Toxicokinetic parameters	Maesil syrups	
	with Maesil	without Maesil
$C_{max}$ (mg/L)	$11.71 \pm 2.03^a$	$9.57 \pm 2.20^a$
$T_{max}$ (h)	$0.14 \pm 0.09^a$	$0.19 \pm 0.09^a$
AUC (h × mg/L)	$4.71 \pm 1.78^a$	$7.39 \pm 2.71^a$
$T_{1/2}$ (h)	$0.25 \pm 0.07^a$	$0.47 \pm 0.22^b$
MRT (h)	$0.40 \pm 0.09^a$	$0.75 \pm 0.28^b$
absorption (%)	$18.23 \pm 6.89^a$	$24.89 \pm 9.12^a$

- \*: 0시간과 통계처리(p < 0.05).  
 - A,B: 매실가공제품 차이에 따른 통계처리(p < 0.05).

Fig. 4-27. Plasma concentration-time profiles and toxicokinetic parameters after a single dose oral administration of Maesil syrups with or without Maesils to rats.

체내 잔류시간 예측에  $T_{1/2}$  및 MRT 값을 고려해보면, 매실청은 매실과 함께 숙성여부와 상관 없이 모두 1시간 이내 배출이 가능한 것으로 보이며, 매실과 함께 숙성한 매실청의 체내 잔류시간이 매실 분리 후 숙성한 매실청 대비 유의적으로 짧은 것으로 나타났다(Fig. 4-27). 결론적으로, 아미그달린 표준품 대비 매실청의 흡수율 및 체내 잔류시간이 매우 짧으며, 매실과 함께 숙성시 매실청에서 아미그달린의 양을 감소시킴으로써 독성영향을 감소시킬 수 있는 것으로 보인다. 또한 매실청에 존재하는 아미그달린은 경구섭취 시 대사체로 분해되지 않아 독성영향을 감소시키는데 크게 기여할 수 있을 것이다.

(다) 아미그달린 및 기존 생산되고 있는 매실가공품의 체내 대사 후 배출 연구

아미그달린의 체내 대사 후 배출 연구를 위하여 urine에서 아미그달린 및 아미그달린 대사체에 대한 spiking test를 수행하여 분석법 확립 및 표준곡선을 작성하였으며 배출기작 연구에 활용하였다(Fig. 4-28). 아미그달린의 경구투여 후 혈장 내에서 대사체 프루나신이 분석되었으므로 프루나신에 대한 spiking test를 수행하여 배출 연구에 활용하였다.

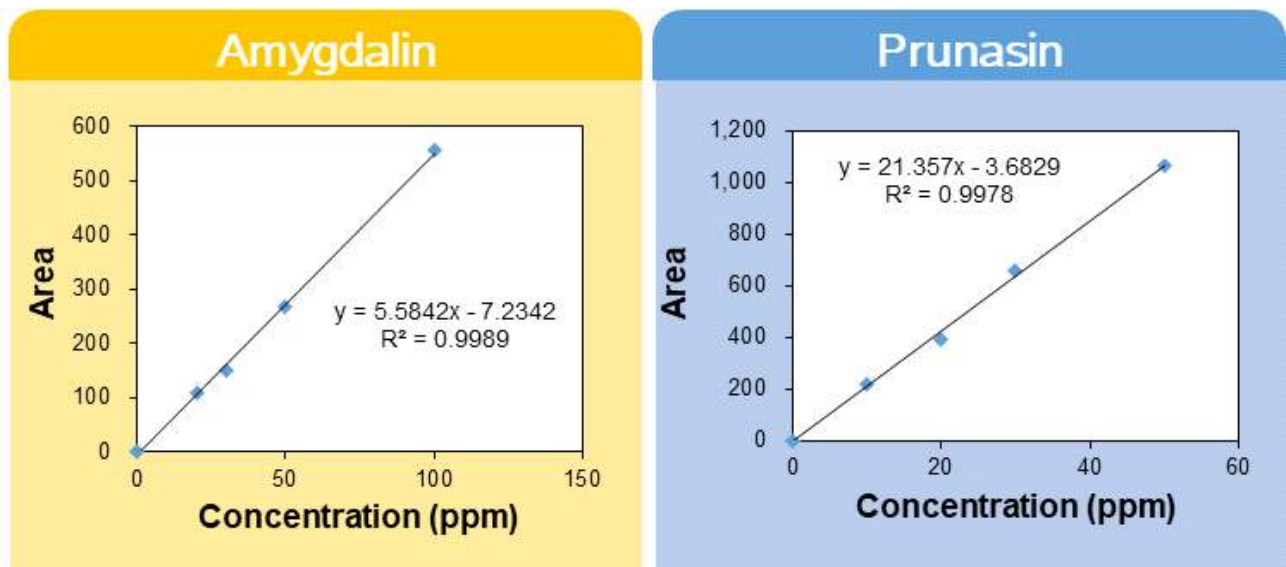


Fig. 4-28. Standard curves of urine spiked with amygdalin or prunasin.

아미그달린의 체내 대사 후 배출 연구를 위하여 아미그달린 표준품 및 매실청(매실 분리 후 숙성)을 랫드에 단회 경구투여한 뒤 대사케이지를 통하여 수집한 urine에서의 아미그달린 및 대사체를 HPLC 분석하였다(Fig. 4-29). 분석 결과, 아미그달린 표준품 투여 시 아미그달린의 첫째 대사체 형태인 프루나신 형태로만 배출되는 것으로 확인되었는데, 이는 혈장에서 프루나신 대사체로만 검출되었던 독성동태학적 연구결과와 일치하는 결과이다. 즉, 아미그달린은 경구섭취 후 체내에서 프루나신으로 대사되어 흡수되고 배출되는 것으로 보인다. 반면, 매실청의 경구 투여 시에는 아미그달린과 프루나신이 모두 검출되었으나, 대부분은 아미그달린 형태로 배출되고 일부만 체내 잔류시간이 증가함에 따라 프루나신으로 대사되어 urine으로 배출되는 것으로 나타났다(Fig. 4-29). 이는 혈장에서 아미그달린 형태로만 검출되었던 독성동태학적 연구결과와 일치하는 결과이며, 체내 체류 시간이 증가함에 따라 일부 프루나신으로 대사되어 배출될 수 있는 것으로 보인다. 아미그달린 표준품과 매실청 투여의 경우 모두 프루나신 이외에 아미그달린의 대사체는 urine에서 검출되지 않았다. 본 연구결과는 매실청의 경우 경구섭취 후 6시간 이내에 모두 대사되어 urine으로 배출될 수 있음을 보여준다.

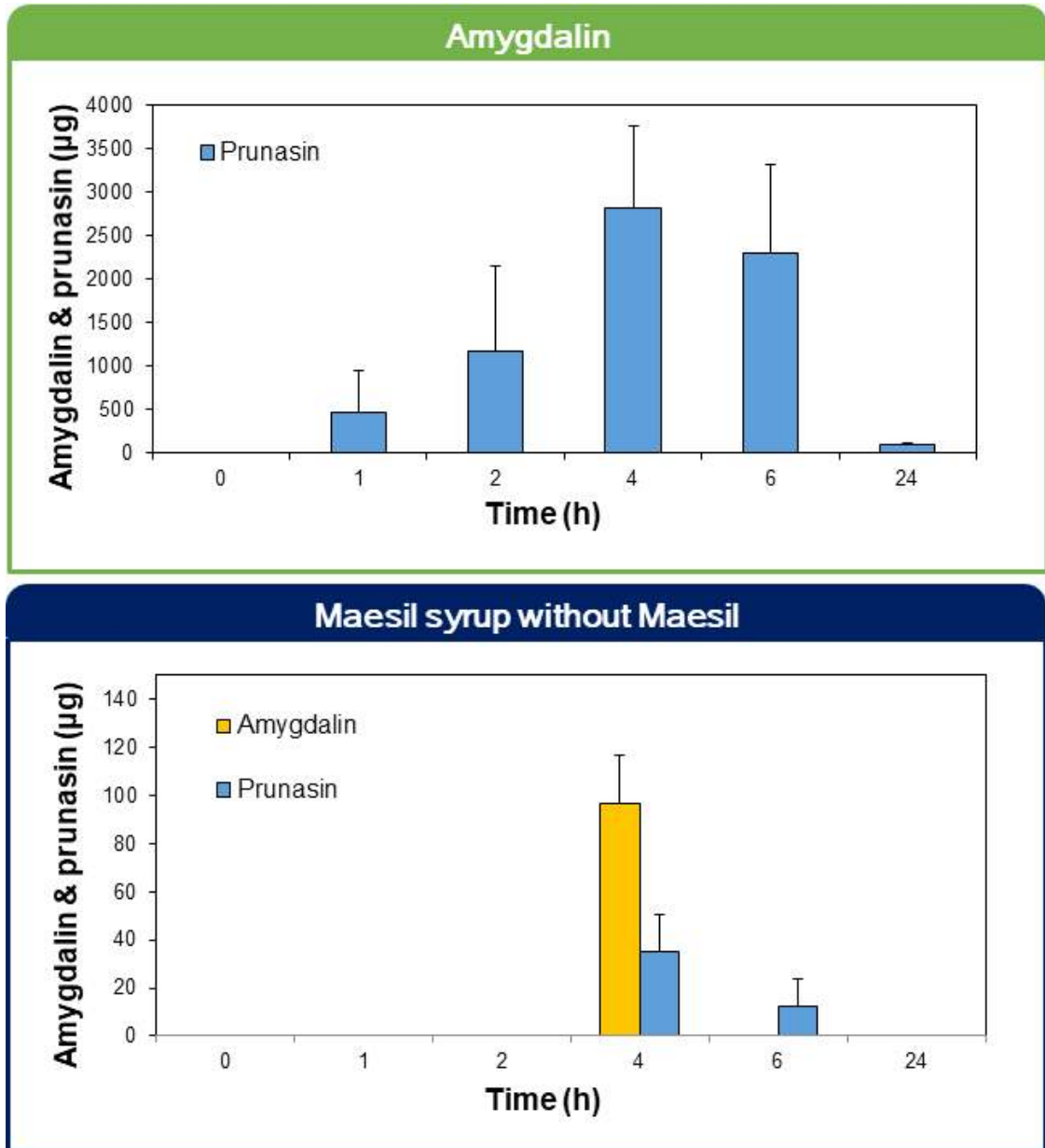


Fig. 4-29. Excretion profile via urine after a single dose oral administration of amygdalin standard or Maesil syrup to rats.

#### 다. 기존 생산되고 있는 매실가공품의 동물모델에서 경구독성 자료 확보

##### (1) 기존 생산되고 있는 매실가공품의 14일 반복 경구 독성 연구

##### (가) 14일 반복 투여에 의한 관찰

매실청 2종을 14일 동안 반복 경구투여하고 몸무게 변화, 사료 및 물 섭취량을 매일 기록하였는데, 14일 동안 대조군(DW 투여) 대비 몸무게, 1일 평균 사료 및 물 섭취량에 있어서 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ) (Fig. 4-30). 매실청 투여에 의한 행동이상 등 특별한 이상증상 또한 관찰되지 않았다( $p > 0.05$ ) (Fig. 4-31).

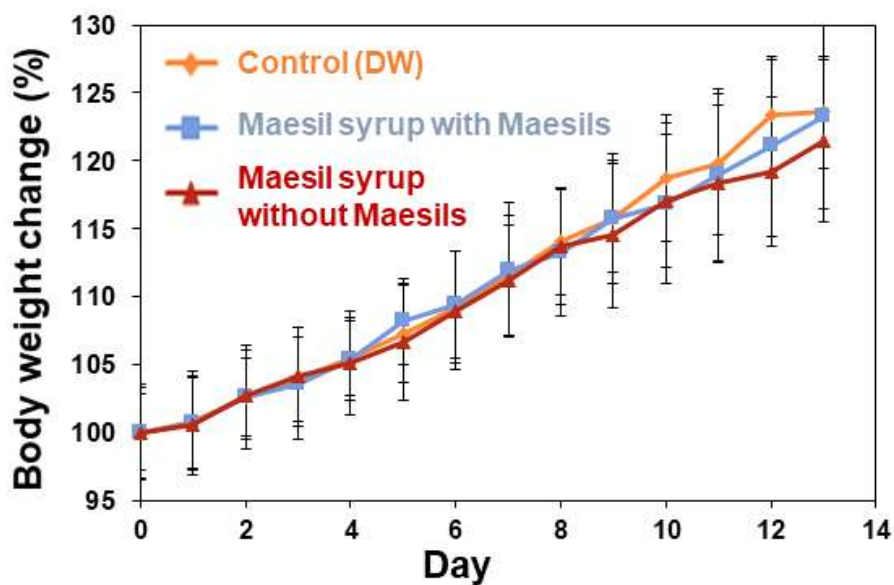


Fig. 4-30. Changes in body weight gain in rats administered Maesil syrups with/without Maesils or DW (distilled water) as a control.

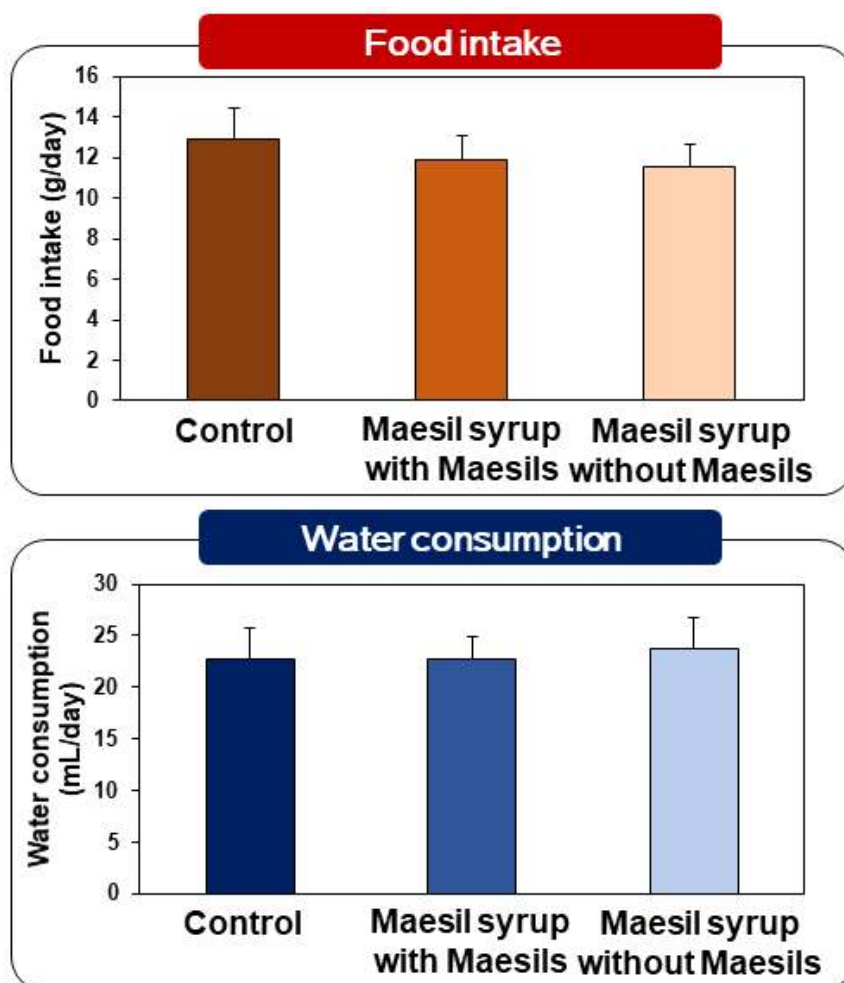


Fig. 4-31. Changes in food intake and water consumption in rats administered Maesil syrups with/without Maesils or DW as a control after 14-day repeated oral administration.

14일 반복 경구투여 후 해부하여 조직을 적출 뒤 육안검사를 실시하여 이상 여부를 확인한 결과, 모든 조직에서 특별한 이상 증상이 관찰되지 않았다( $p > 0.05$ ). 대조군 대비 매실청의 14일 반복 경구투여에 의한 organ index (%)의 유의적인 증가 또는 감소가 확인되지 않았다( $p > 0.05$ ) (Table 4-2).

Table 4-2. Organosomatic indices of rats after 14 days repeated oral administration of Measil syrups with/without Maesils

Organ	Control	Maesil syrup with Maesils	Maesil syrup without Maesils
brain	0.86 ± 0.04	0.90 ± 0.04	0.87 ± 0.03
heart	0.40 ± 0.01	0.40 ± 0.03	0.40 ± 0.03
kidney	0.87 ± 0.08	0.79 ± 0.02	0.83 ± 0.03
large intestine	1.39 ± 0.21	1.42 ± 0.07	1.37 ± 0.28
liver	3.68 ± 0.34	3.52 ± 0.25	3.73 ± 0.32
lung	0.58 ± 0.04	0.59 ± 0.17	0.53 ± 0.04
ovary	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01
small intestine	3.45 ± 0.11	3.62 ± 0.11	3.48 ± 0.44
spleen	0.30 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.34 ± 0.05
stomach	0.89 ± 0.16	1.11 ± 0.22	1.23 ± 0.30

No significant differences from the controls ( $p > 0.05$ ).

(나) 14일 반복 투여에 의한 혈청생화학적, 혈액학적 및 조직병리검사

매실청의 14일 반복 경구투여 후 채취한 혈액의 혈액학적 분석(Table 4-3) 및 혈청생화학적 분석(Table 4-4)을 수행한 결과 대조군 대비 유의적으로 증가 또는 감소한 항목이 나타나지 않았다( $p > 0.05$ ). 또한, 주요장기(간, 신장, 폐, 비장)를 적출하여 조직병리학적 검사를 수행한 결과, 모든 분석 조직에서 대조군과 비교하여 물질 투여와 관련된 비정상적 조직병리학적 이상 현상이 나타나지 않았다(Fig. 4-32와 Table 4-5). 따라서 매실청(매실청과 함께 숙성, 매실 분리 후 숙성)에 의한 14일 반복투여 경구 독성이 없는 것으로 보인다.

**Table 4-3. Hematological and coagulation time values of rats after 14-day repeated oral administration of Maesil syrups with/without Maesils**

Groups	WBC	WBC differential counting (%)					RBC	Hb	HCT	MCV	MCH	MC HC	RETI	PLT	PT	AP TT
	(10 <sup>3</sup> / μL)	NE	LY	MO	EO	BA	(10 <sup>6</sup> / μL)	(g/ dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/ dL)	(%)	(10 <sup>3</sup> / μL)	(sec)	(sec)
Control	6.50 ± 0.82	13.0 ± 3.2	81.3 ± 3.2	2.6 ± 1.1	2.0 ± 0.8	0.3 ± 0.1	6.90 ± 0.15	14.4 ± 0.1	46.3 ± 0.3	67.1 ± 1.7	20.9 ± 0.3	31.2 ± 0.5	3.09 ± 0.44	931 ± 139	16.4 ± 0.5	30.4 ± 4.7
Maesil syrup with Maesils	7.44 ± 1.38	7.6 ± 1.3	88.2 ± 1.2	1.8 ± 0.7	1.0 ± 0.3	0.4 ± 0.1	6.85 ± 0.17	14.0 ± 0.2	45.3 ± 1.0	66.2 ± 1.1	20.4 ± 0.3	30.8 ± 0.5	3.58 ± 0.75	1202 ± 133	16.9 ± 0.5	25.2 ± 4.8
Maesil syrup without Maesils	8.23 ± 1.69	9.0 ± 2.3	87.0 ± 2.6	1.7 ± 0.3	1.1 ± 0.3	0.3 ± 0.1	6.90 ± 0.20	13.9 ± 0.3	45.2 ± 1.2	65.5 ± 1.1	20.2 ± 0.4	30.9 ± 0.1	3.08 ± 0.17	1090 ± 83	16.7 ± 0.6	21.3 ± 1.7

WBC, white blood cell; NE, neutrophils; LY, lymphocytes; MO, monocytes; EO, eosinophils; BA, basophils; RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RETI, reticulocyte; PLT, platelet; PT, prothrombin time; APTT, activated partial thromboplastin time.

**Table 4-4. Serum biochemical values of rats after 14-day repeated oral administration of Maesil syrups with/without Maesils**

Groups	TP	ALB	A/G	T-BIL	ALP	AST	ALT	CREA	BUN	CHOL	TG	GLU	CA	IP	CK	Na	K	Cl
	(g/dL)	(g/dL)	-	(mg/dL)	(U/L)	(U/L)	(U/L)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(U/L)	(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)
Control	6.2 ± 0.2	4.2 ± 0.1	2.1 ± 0.1	0.01 ± 0.01	591 ± 108	71 ± 4	40 ± 7	0.58 ± 0.03	18.5 ± 2.4	120 ± 8	64 ± 8	260 ± 42	12.0 ± 0.6	11.1 ± 1.0	163 ± 24	146.4 ± 1.2	5.29 ± 0.56	96.7 ± 1.7
Maesil syrup with Maesils	6.3 ± 0.3	4.2 ± 0.2	2.0 ± 0.1	0.01 ± 0.01	614 ± 102	73 ± 8	35 ± 5	0.55 ± 0.02	11.6 ± 1.0	89 ± 10	63 ± 17	296 ± 43	12.3 ± 0.3	10.8 ± 0.5	213 ± 57	147.3 ± 1.3	5.78 ± 0.17	97.4 ± 0.1
Maesil syrup without Maesils	6.3 ± 0.1	4.2 ± 0.0	2.0 ± 0.1	0.00 ± 0.00	602 ± 185	65 ± 5	31 ± 1	0.54 ± 0.08	15.3 ± 1.9	97 ± 17	73 ± 9	272 ± 131	12.4 ± 0.6	11.4 ± 1.1	161 ± 78	146.8 ± 1.0	6.48 ± 0.71	98.3 ± 1.1

TP, total protein; ALB, albumin; A/G, A/G ratio; T-BIL, total bilirubin; ALP, alkaline phosphatase; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; CREA, creatinine; BUN, blood urea nitrogen; CHOL, total cholesterol; TG, triglycerides; GLU, glucose; CA, calcium; IP, inorganic phosphorus; CK, creatine kinase; Na, sodium; K, potassium; Cl, chloride

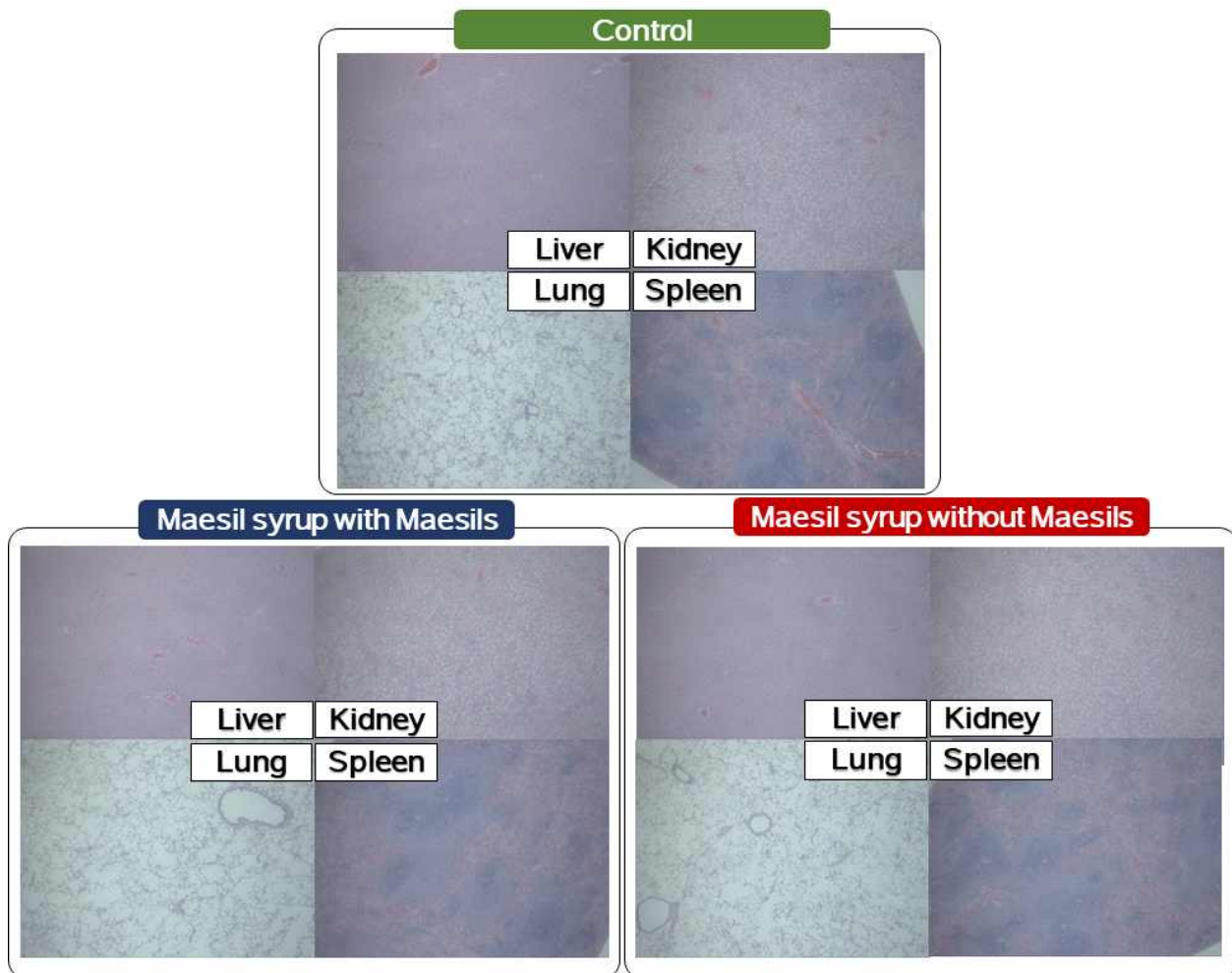


Fig. 4-32. Normal histopathological sections of kidneys, liver, lungs, and spleen of rats administered Maesil syrups with/without Maesils or DW (distilled water) as a control after 14-day repeated oral administration.

Table 4-5. Summary of histopathological findings of rat organs after 14-day repeated oral administration of Maesil syrups with/without Maesils

Groups	Control	Maesil syrup with Maesils	Maesil syrup without Maesils
No. of animal examined	5	5	5
Kidney			
No abnormalities detected	5	5	5
Liver			
No abnormalities detected	5	5	5
Lung			
No abnormalities detected	5	5	5
Spleen			
No abnormalities detected	5	5	5

## 라. 아미그달린 저감화 제품의 독성 평가기술 및 자료 확보

### (1) 아미그달린 저감화 제품의 아미그달린 등 성분 함량 분석

#### (가) 아미그달린 및 대사체의 분석

매실청(Maesil syrup without Maesils)의 성분 분석한 결과(Fig. 4-33), 아미그달린 및 프루나신이 각각 약 167, 32 ppm으로 검출되었으며 그 외 다른 대사체인 만델로나이트릴, 벤즈알데하이드 및 시안화수소는 검출되지 않아 매실청 숙성과정에서 아미그달린이 프루나신으로 일부 분해되었음을 확인하였다. 한편, 플라즈마 처리 후 매실청에서는 아미그달린이 약 130 ppm, 프루나신이 약 37 ppm으로 검출되었고 UVC 처리한 매실청에서는 아미그달린 및 프루나신 함량이 각각 약 136, 37 ppm이 분석되어 플라즈마 및 UVC 처리에 의해 아미그달린 함량이 19~22% 감소되는 것을 확인하였다. 아미그달린 저감화 공정에 의하여 아미그달린 함량이 감소하였고 플라즈마 및 UVC 처리시간 및 강도가 증가함에 따라 기타 부산물 생성에 의한 독성영향이 증가할 수 있을 것으로 판단되어 아미그달린 함량이 저감화되는 위의 조건을 동물수준 독성시험에 활용하였다.



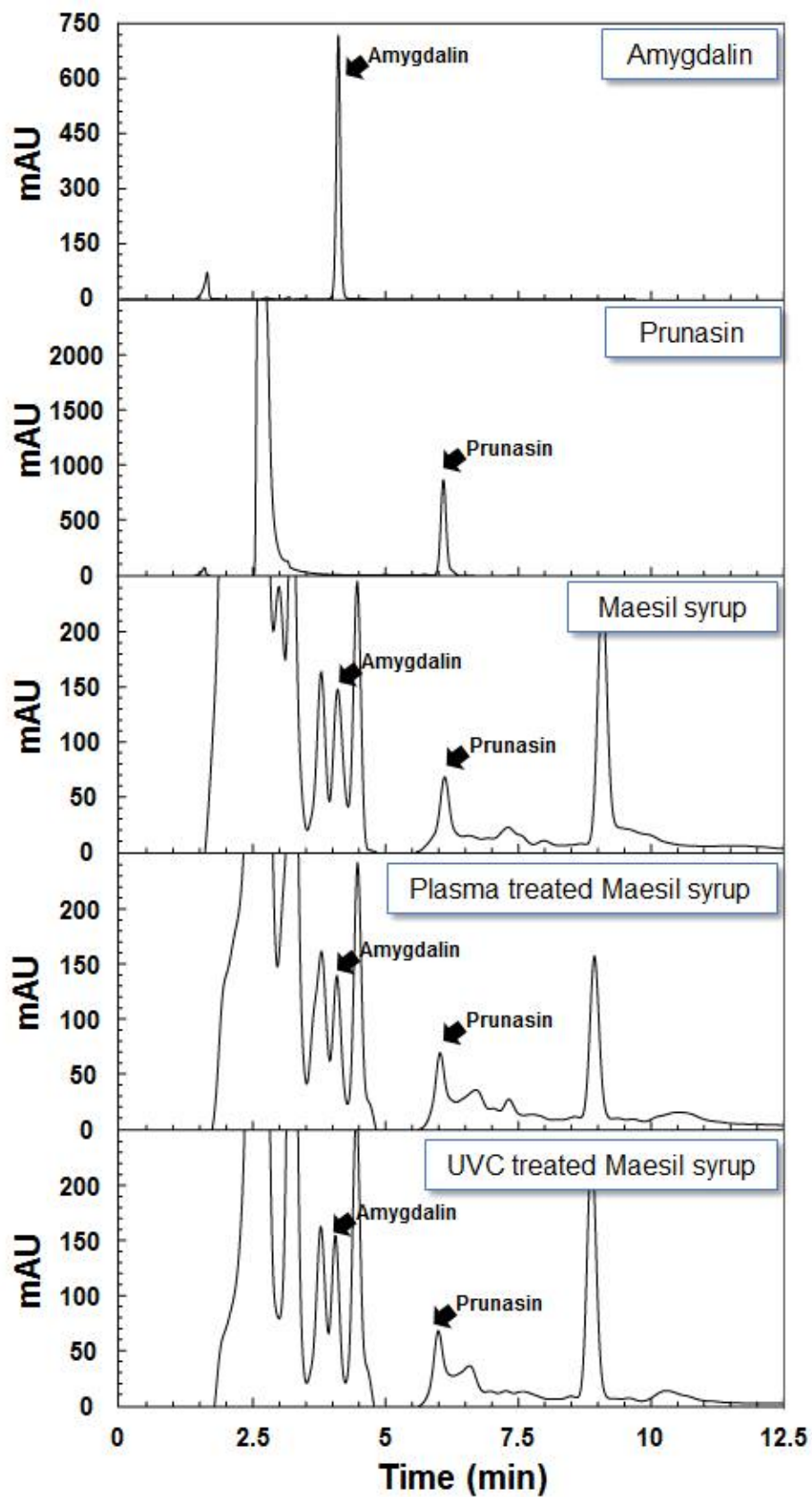


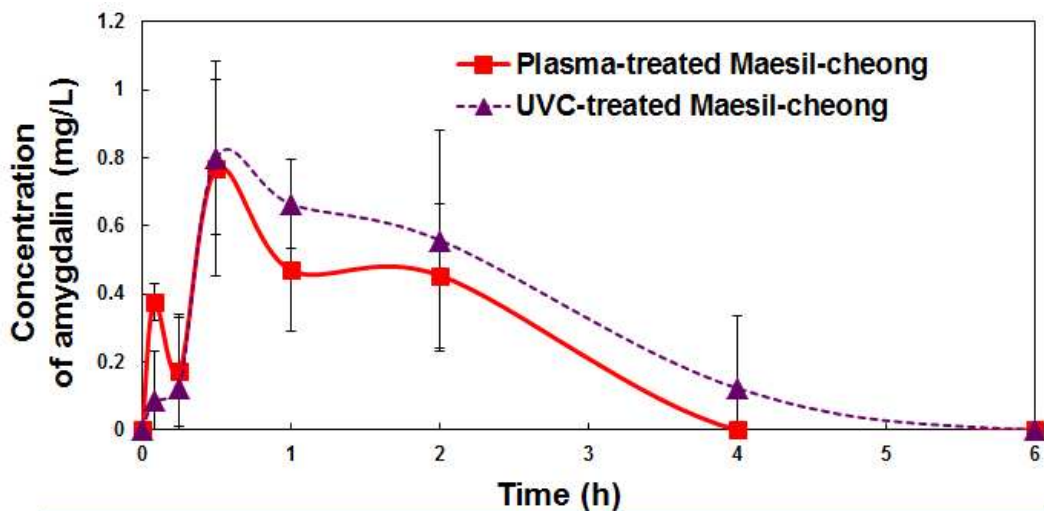
Fig. 4-33. HPLC chromatograms of amygdalin and prunasin in plasma-treated Maesil syrup and UVC-treated Maesil syrup.

마. 아미그달린 저감화 제품의 체내 흡수율 평가기술 개발 및 자료 확보

(1) 아미그달린 저감화 제품의 단회 경구투여 후 체내 흡수율 연구

(가) 아미그달린 저감화 제품의 체내 흡수율 연구

플라즈마 및 UVC 처리를 통한 아미그달린 저감화 매실청을 랫드에 단회 경구투여하여 체내 흡수율 및 독성동태학적 파라미터를 도출하였는데, 두 가지의 아미그달린 저감화 매실청 모두 아미그달린 형태로 체내 흡수되는 것으로 나타났으며 두 매실청 간 유사한 독성동태학적 프로파일을 나타냈다(Fig. 4-34). 즉 경구투여 후 0.5시간에 최고혈중농도( $C_{max}$ )에 도달하는 것으로 확인되었고 반감기( $T_{1/2}$ )는 약 1.6-1.9시간, 평균체류시간(MRT)은 3시간 이내인 것으로 나타났다. 플라즈마 및 UVC 처리에 의한 독성동태학적 파라미터 분석 결과 모든 파라미터에서 유의적 차이가 나타나지 않았다( $p > 0.05$ ) (Fig. 4-34). 매실청(매실 분리 후 숙성)의 독성동태학적 연구결과에서 절대적인 흡수량인 AUC 값이 약  $7.39 \text{ h} \times \text{mg/L}$ 로 분석되었는데, 저감화 매실청에서의 AUC 값은  $1.98\text{-}2.20 \text{ h} \times \text{mg/L}$ 으로 체내 흡수량이 약 70-73% 감소하는 것으로 나타나 저감화 효과를 확인할 수 있었다(Fig. 4-34).



Toxicokinetic parameters	Maesil syrups	
	plasma-treated	UVC-treated
$C_{max}$ (mg/L)	$0.86 \pm 0.10$	$0.81 \pm 0.02$
$T_{max}$ (h)	0.5	0.5
AUC ( $\text{h} \times \text{mg/L}$ )	$1.98 \pm 0.69$	$2.20 \pm 1.08$
$T_{1/2}$ (h)	$1.88 \pm 0.98$	$1.58 \pm 1.15$
MRT (h)	$3.01 \pm 1.43$	$2.77 \pm 1.53$
absorption (%)	$9.34 \pm 3.24$	$9.93 \pm 4.86$

Fig. 4-34. Toxicokinetic parameters and oral absorption of plasma- or UVC-treated Maesil syrup after a single dose oral administration to rats.

바. 아미그달린 저감화 제품의 동물모델에서의 경구독성 자료 확보

(1) 아미그달린 저감화 제품의 14일 반복 경구독성 연구

(가) 14일 반복투여에 의한 관찰

아미그달린 저감화 매실청 2종을 14일 동안 반복 경구투여하고 몸무게 변화, 사료 및 물 섭취량을 매일 기록하여 독성영향을 확인하였는데, 14일 동안 대조군(DW 투여) 대비 몸무게, 평균 사료 및 물 섭취량에 있어서 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ) (Fig. 4-35와 Fig. 4-36). 투여기간 동안 어떠한 행동 이상이나 특별한 이상 증상 또한 관찰되지 않았다.

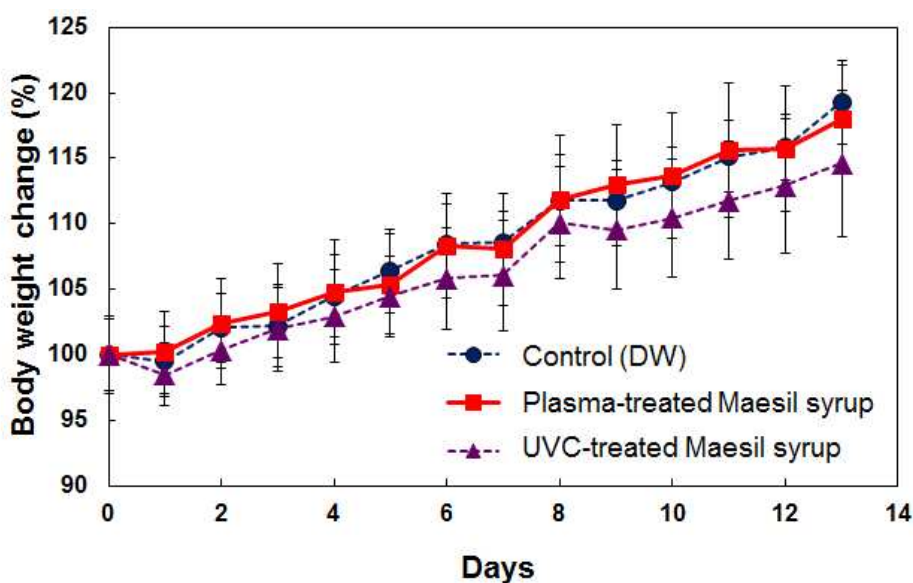


Fig. 4-35. Changes in body weight gain in rats after 14-day repeated oral administration of DW as a control, plasma- or UVC-treated Maesil syrup.

14일 반복 경구투여 후 해부하여 조직 적출 뒤 육안검사를 실시하여 이상 여부를 확인한 결과, 모든 조직에서 특별한 이상증상이 관찰되지 않았다. 대조군 대비 organ index (%)의 유의적인 증가 또는 감소를 확인한 결과, 14일 반복 경구 투여에 의해서는 대조군 대비 유의적 차이를 나타내는 조직이 확인되지 않았다( $p > 0.05$ ) (Table 4-6).

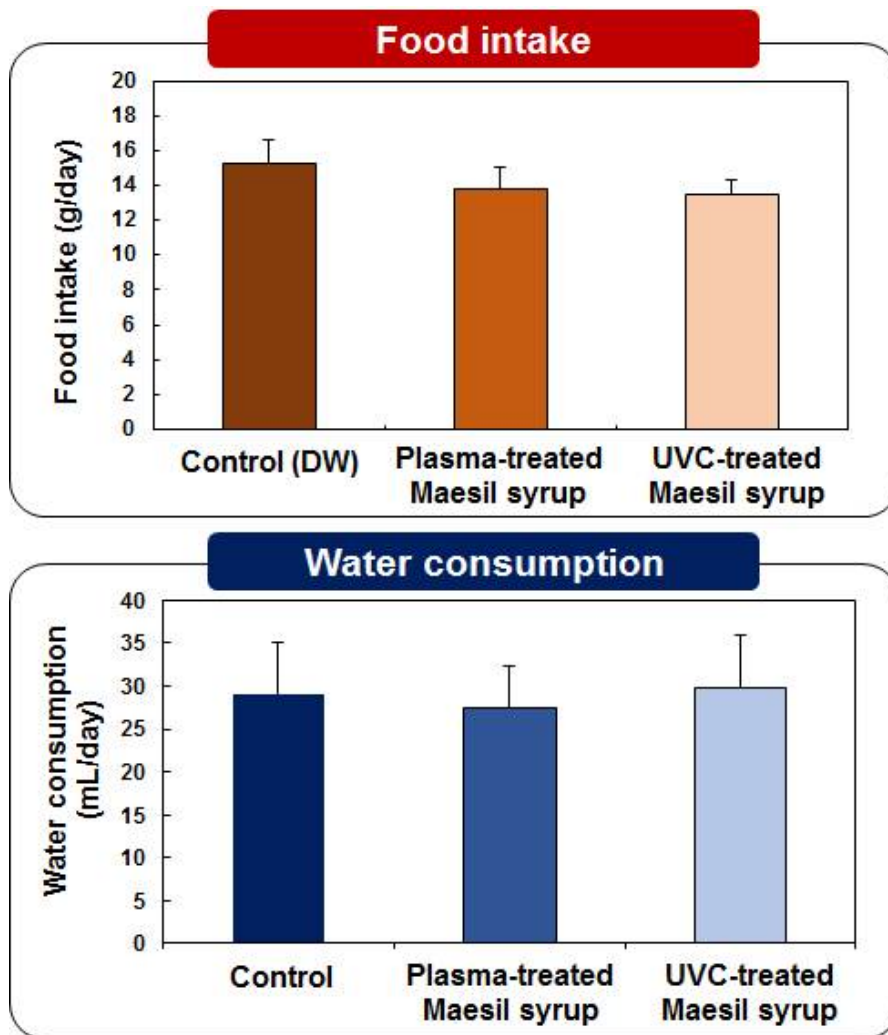


Fig. 4-36. Changes in food intake and water consumption in rats administered plasma- or UVC-treated Maesil syrup or DW as a control after 14-day repeated oral administration to rats.

Table 4-6. Organosomatic indices of rats after 14-days repeated oral administration of plasma- or UVC-treated Maesil syrup or DW as a control to rats.

Organ	Control	Plasma treated Maesil syrup	UVC treated Maesil syrup
brain	0.86 ± 0.03	0.90 ± 0.06	0.90 ± 0.04
heart	0.42 ± 0.03	0.38 ± 0.01	0.38 ± 0.04
kidney	0.83 ± 0.05	0.84 ± 0.04	0.86 ± 0.03
large intestine	1.52 ± 0.53	1.62 ± 0.34	1.66 ± 0.19
liver	3.74 ± 0.18	3.53 ± 0.14	3.56 ± 0.18
lung	0.60 ± 0.04	0.61 ± 0.02	0.62 ± 0.04
ovary	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01
small intestine	3.89 ± 0.19	3.80 ± 0.23	3.62 ± 0.24
spleen	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.03
stomach	1.20 ± 0.19	1.15 ± 0.15	1.18 ± 0.08

(나) 14일 반복 투여에 의한 혈청생화학적, 혈액학적 및 조직병리검사

아미그달린 저감화 매실청의 14일 반복 경구투여 후 채취한 혈액을 통해 혈액학적 분석을 수행한 결과(Table 4-7), UVC 처리 매실청 투여군에서 평균적혈구색소량(MCH)과 망상적혈구(reticulocyte) 수치가 유의적으로 감소하였으나 이와 관련된 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구색소 농도(MCHC), 헤모글로빈(Hb), 헤마토크릿(HCT), 적혈구(RBC) 수치 등 기타 지표들이 모두 정상범주로 확인되어 독성학적 의미는 없는 것으로 판단된다. 또한 그 외의 기타 지표들은 모두 대조군 대비 유의적 차이를 보이지 않았으며 정상범주로 확인되었다. 한편, 혈청생화학적 분석 결과(Table 4-8), 플라즈마 및 UVC 처리 저감화 매실청 투여군의 모든 지표가 대조군 대비 유의적 차이를 보이지 않았으며 정상범주로 확인되었다( $p > 0.05$ ).

**Table 4-7. Hematological and coagulation time values of rats after 14-day repeated oral administration of plasma- or UVC-treated Maesil syrup or DW as a control**

Groups	WBC (10 <sup>3</sup> / μL)	WBC differential counting (%)					RBC (10 <sup>9</sup> / μL)	Hb (g/ dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MC HC (g/ dL)	RETI (%)	PLT (10 <sup>3</sup> / μL)	PT (sec)	AP TT (sec)
		NE	LY	MO	EO	BA										
Control	4.12 ± 1.64	15.2 ± 2.9	80.9 ± 2.7	1.4 ± 0.5	1.4 ± 0.3	0.4 ± 0.1	4.73 ± 1.13	9.4 ± 2.2	32.5 ± 8.1	68.7 ± 2.1	19.9 ± 0.3	28.9 ± 0.7	3.45 ± 0.51	663 ± 161	16.0 ± 0.5	30.4 ± 1.3
	Maesil syrup with Maesils	4.93 ± 0.89	12.9 ± 3.3	81.8 ± 4.2	1.8 ± 0.5	1.8 ± 0.7	0.4 ± 0.1	5.84 ± 0.71	11.6 ± 1.3	40.1 ± 4.6	68.6 ± 1.2	19.8 ± 0.5	28.9 ± 0.4	2.83 ± 0.34	802 ± 220	17.4 ± 1.8
Maesil syrup without Maesils	4.82 ± 0.76	12.2 ± 1.4	83.6 ± 2.1	1.5 ± 0.5	1.1 ± 0.2	0.4 ± 0.2	5.45 ± 0.56	10.4 ± 1.2	37.1 ± 4.0	68.1 ± 1.1	19.1 ± 0.3*	28.0 ± 0.5	2.72 ± 0.17*	841 ± 89	16.4 ± 0.5	30.7 ± 3.1

WBC, white blood cell; NE, neutrophils; LY, lymphocytes; MO, monocytes; EO, eosinophils; BA, basophils; RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RETI, reticulocyte; PLT, platelet; PT, prothrombin time; APTT, activated partial thromboplastin time. \*denotes significant difference from the control at  $p < 0.05$ .

**Table 4-8. Serum biochemical values of rats after 14-day repeated oral administration of plasma- or UVC-treated Maesil syrup or DW as a control**

Groups	TP (g/d L)	ALB (g/d L)	A/ G -	T -BIL (mg/ dL)	ALP (U/ L)	AST (U/ L)	ALT (U/ L)	CREA (mg/ dL)	BUN (mg/ dL)	CHOL (mg /dL)	TG (mg /dL)	GLU (mg /dL)	CA (mg/ dL)	IP (mg/ dL)	CK (IU/ L)	Na (mmol /L)	K (mmol /L)	Cl (mmol /L)
Control	6.6 ± 0.4	4.4 ± 0.2	2.0 ± 0.1	0.01 ± 0.01	503 ± 108	83 ± 9	42 ± 7	0.51 ± 0.05	23.3 ± 4.4	97 ± 20	40 ± 16	141 ± 34	12.2 ± 0.6	12.6 ± 1.0	153 ± 36	143.2 ± 2.8	7.59 ± 0.75	97.9 ± 0.5
	Maesil syrup with Maesils	6.8 ± 0.2	4.5 ± 0.1	2.0 ± 0.2	0.03 ± 0.01	549 ± 37	77 ± 4	39 ± 5	0.52 ± 0.05	24.6 ± 8.5	103 ± 7	36 ± 9	118 ± 27	12.5 ± 0.3	13.2 ± 0.7	137 ± 24	145.0 ± 0.9	7.71 ± 0.55
Maesil syrup without Maesils	6.8 ± 0.3	4.4 ± 0.1	1.9 ± 0.1	0.02 ± 0.01	542 ± 85	73 ± 6	39 ± 6	0.47 ± 0.02	23.0 ± 4.8	96 ± 20	37 ± 8	115 ± 9	12.4 ± 0.3	13.8 ± 0.8	132 ± 28	145.2 ± 1.3	8.08 ± 0.40	99.1 ± 1.3

TP, total protein; ALB, albumin; A/G, A/G ratio; T-BIL, total bilirubin; ALP, alkaline phosphatase; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; CREA, creatinine; BUN, blood urea nitrogen; CHOL, total cholesterol; TG, triglycerides; GLU, glucose; CA, calcium; IP, inorganic phosphorus; CK, creatine kinase; Na, sodium; K, potassium; Cl, chloride

주요장기인 간, 신장, 폐 및 비장을 적출하여 조직병리학적 검사를 수행한 결과(Fig. 4-37과 Table 4-9), 모든 분석 조직에서 대조군 대비 플라즈마 및 UVC 저감화 매실청 투여와 관련된 병리학적 및 독성학적 이상 현상이 관찰되지 않았다.

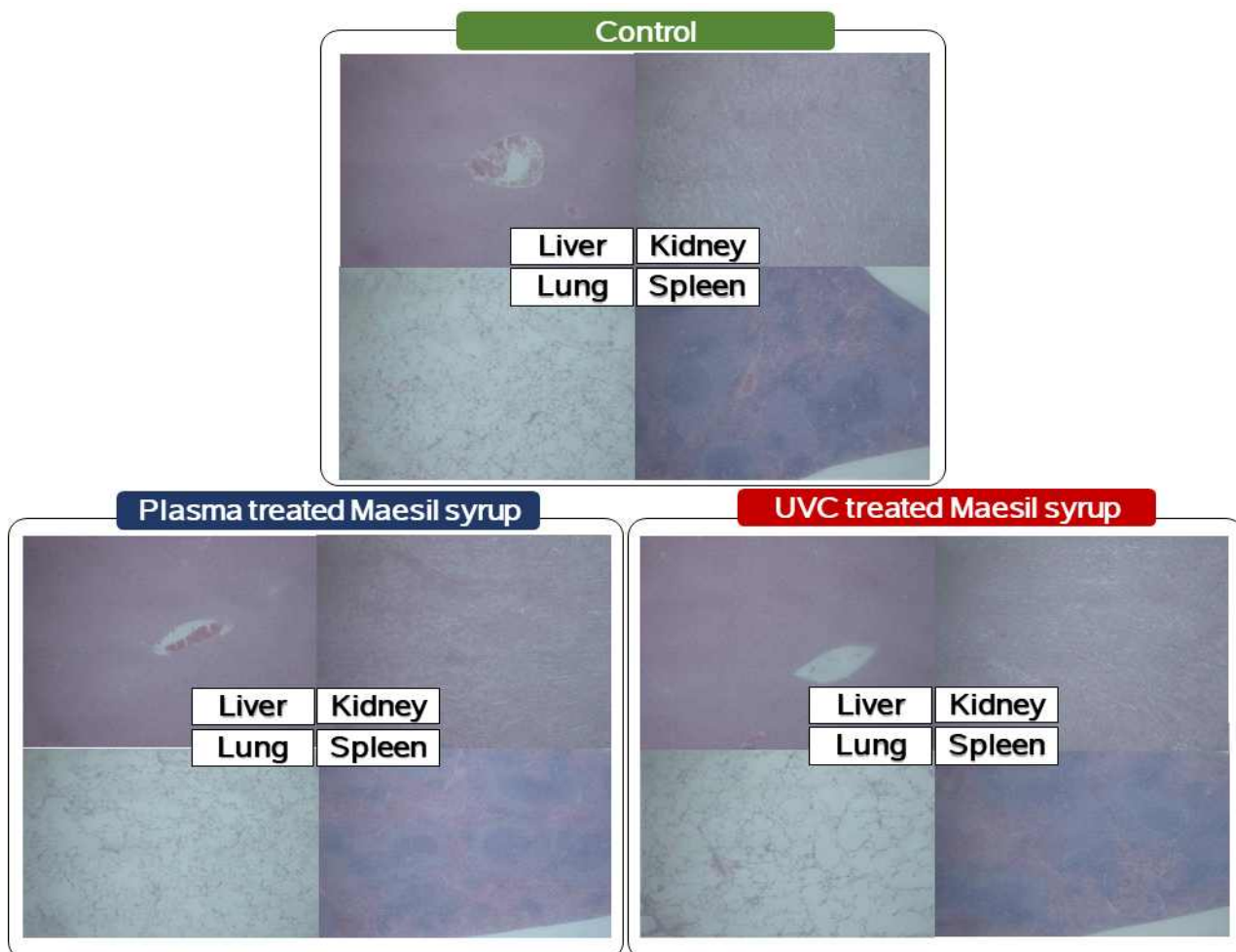


Fig. 4-37. Normal histopathological sections of kidneys, liver, lungs, and spleen of rats administered plasma- or UVC-treated Maesil syrup or DW as a control after 14-day repeated oral administration.

Table 4-9. Summary of histopathological findings of rat organs after 14-day repeated oral administration of plasma- or UVC-treated Maesil syrup or DW as a control

Groups	Control	Plasma treated Maesil syrup	UVC treated Maesil syrup
No. of animal examined	5	5	5
Kidney			
No abnormalities detected	2	5	5
Cortical scar	1	0	0
Tubular basophilia	1	0	0
Tubular cast	1	0	0
Liver			
No abnormalities detected	5	5	5
Lung			
No abnormalities detected	5	5	5
Spleen			
No abnormalities detected	5	5	5

## 사. 일반매실가공제품과 아미그달린 저감화 매실가공제품의 안전성 비교 분석

일반 매실청과 아미그달린 저감화 매실청의 아미그달린 및 대사체 분석을 통해 저감화 공정 처리에 의한 독성성분을 분석한 결과, 플라즈마 및 UVC 처리에 의해 매실청 내 아미그달린의 함량이 각각 22, 19% 감소한 것으로 확인되었으며 프루나신 외에 기타 추가적인 분해산물은 생성되지 않는 것으로 확인되었다(Fig. 4-33). 따라서 본 연구과제를 통해 개발된 아미그달린 저감화 공정 즉, 플라즈마 및 UVC 처리공정은 아미그달린의 함량은 감소시키면서 기타 분해산물은 생성하지 않는 조건으로 아미그달린에 의한 잠재적 독성영향을 감소시킬 수 있는 것으로 판단되었다. 또한 기존 생산되고 있는 일반 매실청과 아미그달린 저감화 매실청의 단회 경구투여에 의한 독성동태학적 연구 결과, 아미그달린 저감화 매실청에서 아미그달린의 체내 흡수량이 급격히 감소함을 확인하였다. 즉 독성동태 파라미터 중 흡수율 계산에 이용하는 AUC 값을 비교해 보면, 일반 매실청은 약  $7.4 \text{ h} \times \text{mg/L}$  (Fig. 4-27)인 반면, 플라즈마 및 UVC 처리 매실청의 AUC 값은 각각 약 2.0, 2.2  $\text{h} \times \text{mg/L}$ 로 나타나(Fig. 4-34), 저감화 공정에 의해 체내 흡수량이 약 70-73% 감소하는 것을 확인하였다. 기존 생산되고 있는 일반 매실청과 아미그달린 저감화 매실청의 14일 반복투여 연구결과, 물질 투여에 의한 어떠한 독성학적 이상 현상이 관찰되지 않았다. 따라서 본 연구과제를 통해 개발된 플라즈마 및 UVC 처리 공정은 안전성이 확보된 공정으로서 매실청의 아미그달린 저감화 공정에 효과적으로 활용될 있을 것이다.

## 3. 요약 및 결론

- 본 연구과제를 통하여 세포 및 동물모델을 활용하여 아미그달린 저감 매실가공품(매실청)의 안전성을 종합적으로 검증하였다.
- 기존 생산되고 있는 매실가공제품에 대한 세포독성 평가기술개발 및 독성자료 확보를 위하여 아미그달린 표준품을 이용한 세포독성 연구를 단기간 세포성장 저해, 장기간 콜로니 형성능 저해, apoptosis 유발, 산화스트레스 유발 관점에서 수행한 그 결과, 아미그달린 자체에 의한 독성은 매우 낮으나, 체내  $\beta$ -glucosidase 효소와 동시 처리 시 분해되어 대사체를 형성하면서 세포독성이 급격히 증가하는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 아미그달린의 독성이 체내 대사체에 기인함을 직접적으로 입증해주는 결과이다.
- 기존 생산되고 있는 매실가공제품에 대한 세포독성자료 확보의 일환으로 아미그달린 표준품과 매실청에  $\beta$ -glucosidase 효소를 처리하여 대사체 생성변화를 분석한 결과, 아미그달린 표준품은 효소 처리에 의해 5분 내에 프루나신 대사체로 전량 전환되고 시간이 지남에 따라 만델로니트릴 및 벤즈알데히드 같은 대사체 형성이 증가하는 것으로 나타난 반면, 매실청은 효소 처리 후 6시간 지난 후에야 일부만 프루나신으로 분해되고 다른 대사체는 더 이상 생성되지 않는 것으로 분석되었다. 따라서, 매실청의 기능성 성분들이 아미그달린이 효소에 의해 분해되어 독성 대사체를 형성하는 것을 억제하는 것으로 유추할 수 있다.



- 기존 생산되고 있는 매실가공제품의 체내 흡수율 평가기술 개발 및 흡수율 자료 확보를 위하여 아미그달린 표준품 및 매실청(매실 분리 후 숙성, 매실과 함께 숙성 2종)의 단회 경구 투여에 의한 독성동태학적 연구를 수행한 결과, 아미그달린 표준품 투여의 경우 대사체(프루나신) 형태로 흡수되고 체내 흡수율은 약 1.5%로 매우 낮은 것으로 분석되었다. 매실청의 경우, 혈류 내 아미그달린이 대사체로 분해되지 않고 아미그달린 형태 그대로 흡수되는 것으로 나타났으며, 매실과 함께 숙성한 매실청이 매실 분리 후 숙성한 매실청 대비 아미그달린 흡수율이 유의적으로 낮고 체내 잔류시간이 감소하여 독성동태학적 관점에서 독성영향이 적을 것으로 판단되었다, 체내 흡수율에 있어서는 두 가지 다른 숙성조건의 매실청 모두 아미그달린 형태로 투여용량 기준 약 20%가 흡수되는 것으로 나타났으나, 매실청에서의 낮은 아미그달린 함량을 고려하면 매실청 섭취로 인한 아미그달린의 절대 흡수량은 매우 적은 것으로 판단된다.
- 기존 생산되고 있는 매실가공제품의 동물모델에서의 경구독성 평가기술 개발 및 독성자료 확보를 위하여 매실청(매실 분리 후 숙성, 매실과 함께 숙성 2종)의 14일 반복 경구 독성연구를 수행하고 혈액학적, 혈청생화학적 분석 및 조직병리학적 검사를 수행한 결과, 반복투여에 의한 독성영향이 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 기존 생산되고 있는 매실청의 경구 섭취에 의한 독성영향이 없음을 제시한다.
- 2차년도에는 아미그달린 저감화 제품의 안전성 평가기술을 개발하고 독성자료를 종합적으로 확보하였다.
- 아미그달린 저감화 공정은 제1협동기관에서 플라즈마 및 UVC 처리를 통해 수행하였는데, 두 가지 공정에 의해 매실청에 함유된 아미그달린의 함량이 유의적으로 감소하였을 뿐만 아니라 기타 부산물 등이 생성되지 않아 아미그달린 저감화 공정에 의해 매실청의 잠재적 독성영향이 감소한 것으로 판단되었다.
- 아미그달린 저감화 매실청 제품 2종(플라즈마 및 UVC 처리)의 단회 경구투여에 의한 독성동태학적 연구 결과, 아미그달린의 체내 흡수율이 약 70-73% 감소하는 것으로 나타나 저감화 공정에 의한 체내 흡수율 감소 효과 또한 확인하였다.
- 플라즈마 및 UVC 처리 매실청의 14일 반복 경구투여 독성연구 결과, 어떠한 병리학적 및 독성학적 영향이 확인되지 않았는데 즉, 몸무게 변화, 식이 및 물 섭취량, 장기무게, 혈액학적 및 혈청생화학적 분석, 조직병리학적 분석 결과를 종합하면 아미그달린 저감화 매실청의 경구독성 영향은 없는 것으로 보인다.
- 본 연구과제를 통하여 기존 매실가공제품과 아미그달린 저감화 가공제품의 독성영향을 세포와 동물 수준에서 다양한 기법을 통하여 연구하고 안전성 자료를 확보하였는데, 이러한 자료는 안전성이 확보된 아미그달린 저감화 제품 개발에 활용될 수 있을 것이며 향후 매실산업의 활성화에 기여할 수 있을 것으로 보인다.

## 제5절. 아미그달린(amygdalin) 저감화 기술 개발

### 1. 연구방법

#### 가. 재료 및 시약

아미그달린 표준품( $\geq 99\%$ , from apricot kernels)은 Sigma-Aldrich, Co. (St. Louis, MO, USA)에서, acetonitrile (99.9%, HPLC grade)은 J.T. Baker Chemical Co. (Phillipsburg, NJ, USA)의 것을 사용하였다. 청매실과 매실청은 슬로푸드(주)농업회사법인(Hadong, Gyeongsangnam, Korea)에서 제공받았으며, 매실 침출주와 매실와인은 제공받은 청매실을 이용하여 각각 Fig. 3-3과 Fig. 3-5의 제조공정에 따라 제조한 후 3개월간 숙성한 것을 사용하였다. 이외의 본 연구의 시료 제조 및 분석을 위해 사용된 시약 및 용매들은 ACS 등급의 것들을 사용하였다.

#### 나. 아미그달린 저감에 따른 열처리의 영향

아미그달린의 안정성에 대한 열처리의 영향을 조사하기 위해 처리온도, 처리시간, 구연산 농도를 변수로 한  $3^3$  완전요인설계법을 이용하여 실험조건을 도출하였다(Table 5-1). 구연산 농도를 달리하여 제조된 구연산용액에 아미그달린이 500 ppm이 되도록 용해시킨 후 50 mL 원심분리관에 담아 밀봉하고 Table 5-1의 처리조건에 따라 열처리하였다. 열처리된 아미그달린 용액은 상온으로 방랭한 후 열처리 동안 손실된 수분을 보충하여 아미그달린 잔류량을 고성능액체크로마토그래피(high-performance liquid chromatography, HPLC)를 이용하여 분석하여 다음의 계산식에 의해 아미그달린 잔존률을 계산하였다.

$$\text{Residual rate (\% of amygdalin)} = \frac{\text{Concentration (ppm) of amygdalin after heat treatment}}{\text{Initial concentration (ppm) of amygdalin}} \times 100$$

Table 5-1. Factors and levels of  $3^3$  factorial complete randomized design for reducing amygdalin by heat treatment

Factor	Level		
	-1	0	+1
Temperature (°C)	70	85	100
Heating time (min)	10	20	30
Citric acid concentration (% w/v)	0.5	1.0	1.5

## 다. 습식플라즈마 처리에 의한 아미그달린 저감화

아미그달린과 매실가공품(매실청과 매실주)의 플라즈마 처리는 자체 제작한 습식플라즈마 처리 장치(Fig. 5-1과 Fig. 5-2)를 이용하여 수행하였다. 아미그달린 용액(500 ppm) 또는 매실가공품 500 g을 반응기에 넣고 미리 결정된 입력전압(80, 160, 240 V)으로 조정한 후 습식플라즈마 처리 장치를 작동시켜 플라즈마가 발생하는 3 A의 전류량에 도달하였을 때부터 1시간 동안 플라즈마 처리를 수행하였다. 플라즈마 처리를 수행하는 동안 전류량이 5 A를 초과하지 않도록 입력전압조정기를 이용하여 입력전압을 조정하였으며, 플라즈마 처리에 소요된 전력량은 평균적으로 320 W였다. 플라즈마 처리 완료 후(처리용액 온도 약 96.5°C) 감압여과하여 플라즈마 처리 용액 내의 침전물과 부유물을 제거하고 상온으로 냉각하였다. 회수된 플라즈마 처리 시료용액은 탈이온수를 가하여 무처리 시료용액의 부피(또는 매실청의 경우 당도)로 조정한 후 4°C에서 보관하면서 아미그달린의 분석에 사용하였다. 무처리 및 플라즈마 처리 시료용액들의 아미그달린 함량은 HPLC를 이용하여 분석하였다. 플라즈마 처리에 대한 아미그달린의 감소 효율은 아래 나타낸 것과 같은 아미그달린 감소율(amygdalin reduction rate)으로 나타내었다.

$$\text{Amygdalin reduction rate (\%)} = \frac{C_i - C_t}{C_i} \times 100$$

여기서,  $C_i$ 와  $C_t$ 는 각각 무처리 및 전식 UV-C 조사처리 시료용액들의 아미그달린 함량을 나타낸다.

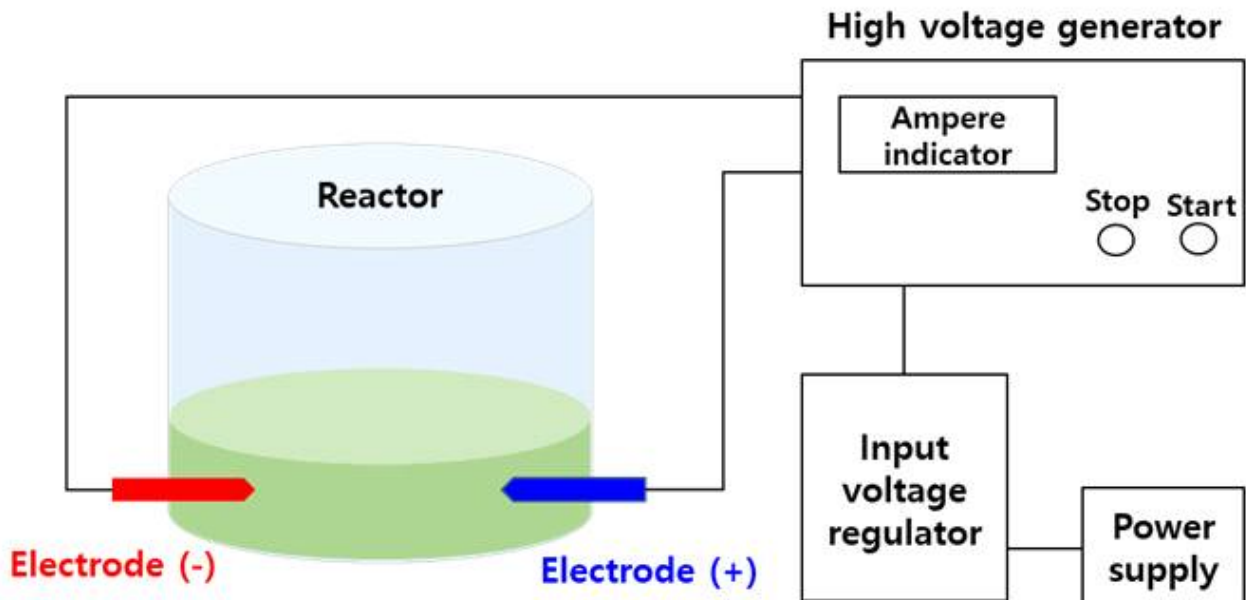


Fig. 5-1. Schematic diagram for underwater plasma equipment.

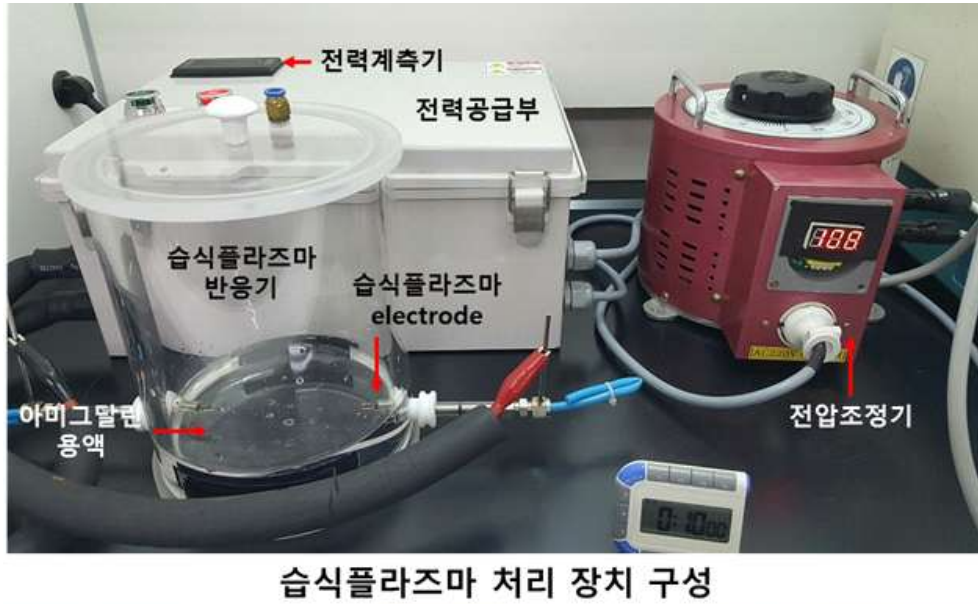


Fig. 5-2. Actual appearance of underwater plasma treatment.

#### 라. 자외선조사 처리에 의한 아미그달린 저감화

##### (1) 건식 자외선조사 처리

아미그달린 용액과 매실가공품(매실청 및 매실주)의 건식 자외선조사 처리는 UV-C 램프 (G6T5/OF RG3, Hansung Ultraviolet Co., Ltd., Seongnam, Korea)가 장착된 자외선 조사 처리 장치(Kim과 Yoo, 2015) (Fig. 5-3)를 이용하여 수행하였다. 아미그달린 용액 또는 매실가공품은 2개의 석영 재질의 페트리디쉬(지름 115 mm, 높이 10 mm)에 각각 50 g씩 넣어(처리용액의 깊이 5 mm) 석영 재질의 페트리디쉬의 뚜껑을 덮지 않은 상태와 뚜껑을 덮은 상태에서 자외선 조사 처리 장치의 시료 지지대 위에 설치하고 상온에서 UVC irradiance를 2 mW/cm<sup>2</sup>으로 하여 6시간 동안 자외선을 조사하였다. 자외선조사가 완료되었을 때 매실청의 온도는 약 40℃이었다. 자외선 조사 처리 시료용액은 탈이온수를 가하여 무처리 용액(또는 매실가공품)의 초기 부피(또는 당도)로 조정된 후 4℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다.



Fig. 5-3. Equipment of dry UV-C irradiation treatment.

(2) 침수형 자외선조사 처리

아미그달린 용액과 매실가공품(매실청 및 매실주)의 침수형 UV-C 자외선조사 처리는 Fig. 5-4에 제시된 침수형 자외선조사 처리 장치를 이용하여 수행하였다. 다양한 농도로 제조된 아미그달린 용액 또는 매실가공품(매실청 및 매실주)를 항온순환기(LCB-R08, DAIHAN LabTech Co., Ltd., Namyangju, Gyeonggi, Korea)가 연결된 water-jacket beaker에 넣어 주어진 온도에 도달할 때까지 방치하였다. 주어진 온도에 도달하였을 때, water-jacket beaker에 침수형 UV-C 자외선 램프(254 nm, TUV 6W G6T5, Hansung Ultraviolet Co., Ltd., Seongnam, Korea)를 담그고 침수형 UV-C 자외선 램프를 작동시켜 시료용액에 대한 자외선조사 처리를 주어진 시간 동안 수행하였다. UV-C 자외선조사를 위한 UV-C irradiance는 7.85~23.55 mW/cm<sup>2</sup> 또는 27.18 mW/cm<sup>2</sup>이었다. 자외선 조사 처리 시료용액은 탈이온수를 가하여 무처리 용액(또는 매실가공품)의 초기 부피(또는 당도)로 조정된 후 4℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

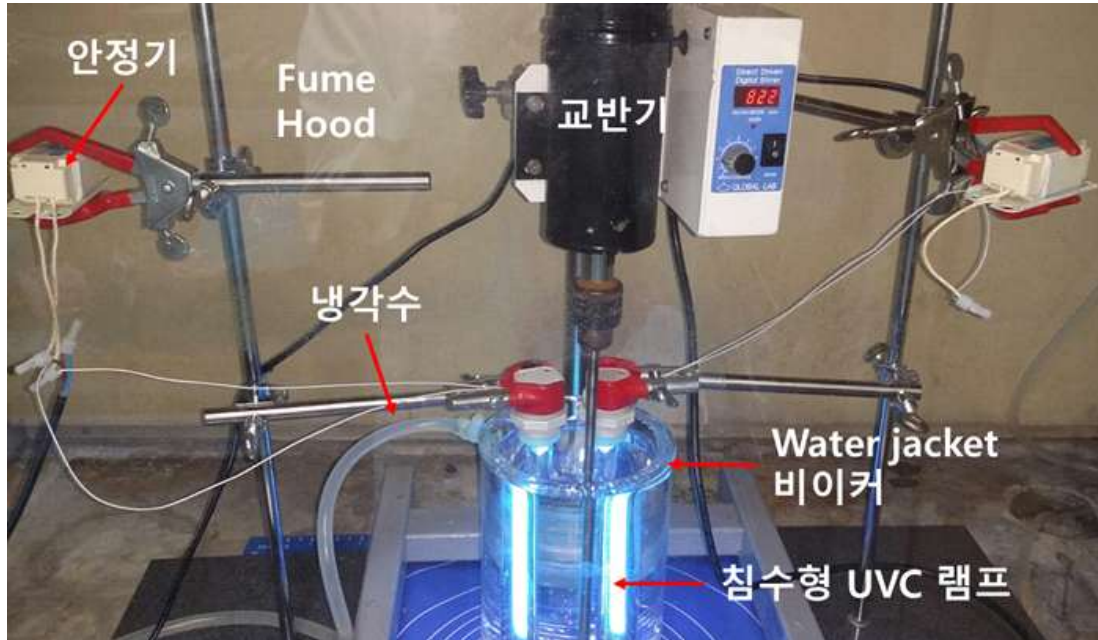


Fig. 5-4. Equipment for the submerged UV-C irradiation treatment.

### (3) UV-C 자외선조사 처리에 대한 아미그달린 저장 효율

UV-C 자외선조사 처리가 완료된 후 처리된 시료용액들의 아미그달린을 HPLC를 이용하여 정량한 후 아미그달린의 저장에 대한 UV-C 자외선조사 처리의 효율을 아래 나타낸 것과 같은 아미그달린 감소율(amygdalin reduction rate)으로 나타내었다.

$$\text{Amygdalin reduction rate (\%)} = \frac{C_i - C_t}{C_i} \times 100$$

여기서,  $C_i$ 와  $C_t$ 는 각각 무처리 및 건식 UV-C 조사처리 시료용액들의 아미그달린 함량을 나타낸다.

### 마. 아미그달린의 정량

무처리, 열처리, 플라즈마 처리 및 자외선조사 처리된 아미그달린 용액 또는 매실가공품(매실청 및 매실주)들의 아미그달린의 함량은 C18 역상컬럼(Thermo Fisher Scientific Korea Co., Seoul, Korea)이 장착된 고성능액체크로마토그래피(Shimadzu prominence, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 분석하였다. 시료용액은 PTFE syringe filter (0.45  $\mu$ m, Advantec DISMIC-13HP, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)으로 여과시킨 후 분석에 사용하였다. 세부적인 분석조건은 Table 5-2에 제시하였다. 아미그달린의 정량은 아미그달린의 농도(10~500 ppm)에 따른 피크면적의 선형회기식(피크면적=15,741×아미그달린 농도+25,044,  $r^2=0.9999$ ) (Fig. 5-5)을 이용하여 계산하였다.

Table 5-2. HPLC conditions for amygdalin quantification

Column	Acclaim 120 C18 (5 $\mu\text{m}$ , 4.6 $\times$ 250 mm, 120 $\text{\AA}$ )
Mobile phase	Deionized water:acetonitrile = 80:20 (v/v)
Flow rate	1 mL/min
Detector	UV/VIS detector
Detection wavelength	215 nm
Temperature	25 $^{\circ}\text{C}$
Injection volume	20 $\mu\text{L}$

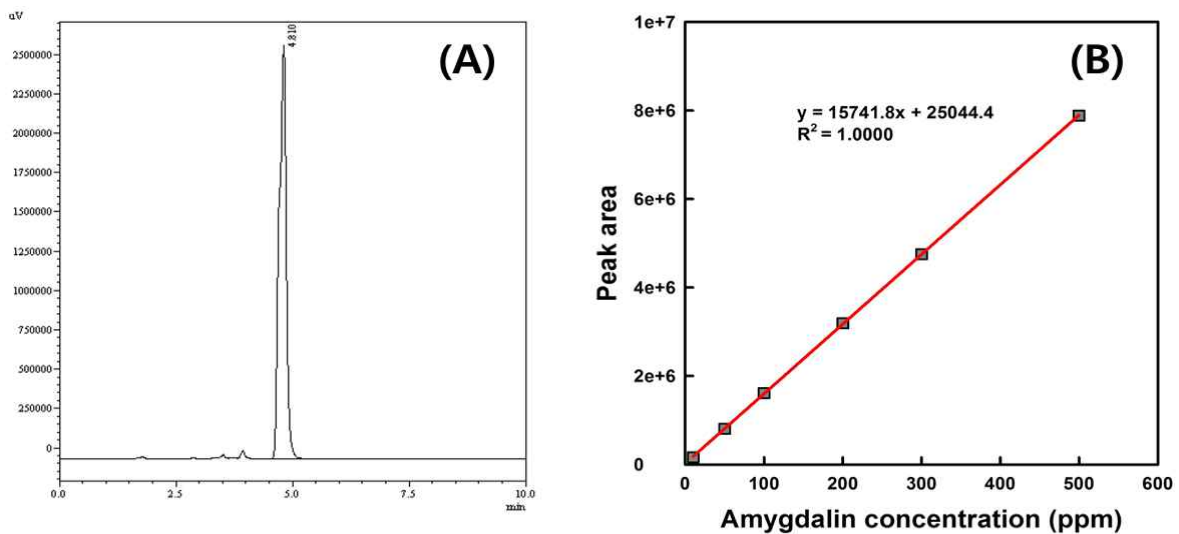


Fig. 5-5. HPLC chromatogram (A) and calibration curve (B) of amygdalin.

#### 바. 통계처리

아미그달린 용액 또는 매실가공품(매실청 및 매실주)들은 제시된 처리방법에 따라 주어진 조건에서 3회 반복하여 처리하였다. 무처리 및 처리된 시료용액들의 아미그달린 함량은 적어도 2회 반복하여 분석하여 평균±표준편차로 나타내었다. 분석된 모든 데이터들은 일원분산분석(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)을 수행하였고, 처리조건별 아미그달린 함량에 대한 유의성 검증은 Tukey's HSD test를 이용하여 신뢰수준 95%에서 수행하였다. 모든 통계적 계산과 분석은 Minitab 16 (Minitab Inc., State College, PA, USA)를 이용하여 수행하였다.

## 2. 연구결과

### 가. 아미그달린 저감화에 대한 열처리 효과

매실청 제품들은 숙성이 끝나고 여과과정(액분리) 후 매실청에 존재하는 알코올 성분 제거와 살균 및 풍미 증진을 위해 75°C 이상으로 가열처리하는 공정을 거쳐 생산된다. 또한 매실농장 및 매실가공공장에서는 이러한 열처리가 매실청의 아미그달린을 제거한다고 믿고 있었다. 따라서 열처리가 아미그달린의 저감에 영향을 미치는 지를 조사하기 위해, 아미그달린 표준용액(500 ppm)에 대해 가열온도와 가열시간을 달리하여 열처리하여 아미그달린이 저감되는 지를 조사하였다. 게다가 매실청의 주요 유기산 성분인 구연산을 아미그달린 표준용액에 함께 용해시켜 열처리 시 아미그달린 저감에 대한 유기산의 효과도 탐색하였다. Table 5-1의 3<sup>3</sup> 완전요인실험계획의 요인(factor)과 수준(level)에 기초하면 총 27개의 실험점이 도출된다. 도출된 27개의 실험조건들에 따라 처리하였을 때, 결론적으로 아미그달린의 저감율은 2% 내외를 나타내어 열처리하는 아미그달린의 저감에 대한 효과가 없는 것으로 결론지었다. 그래서 모든 실험결과들을 제시하는 것을 지양하고, 각 요인들의 수준에 따른 결과만을 요약하여 나타내었다. 아미그달린 표준용액 내에 구연산 농도가 0.0-1.5%가 되도록 구연산을 첨가하고 70, 85, 100도의 온도에서 30분간 처리한 후 아미그달린 잔존율을 조사하여 Fig. 5-6에 나타내었다. 구연산 농도와 가열처리 온도에 관계없이 아미그달린 표준용액의 아미그달린 함량은 전혀 감소하지 않았다. 따라서 아미그달린 저감에 대한 구연산 농도와 열처리 온도는 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

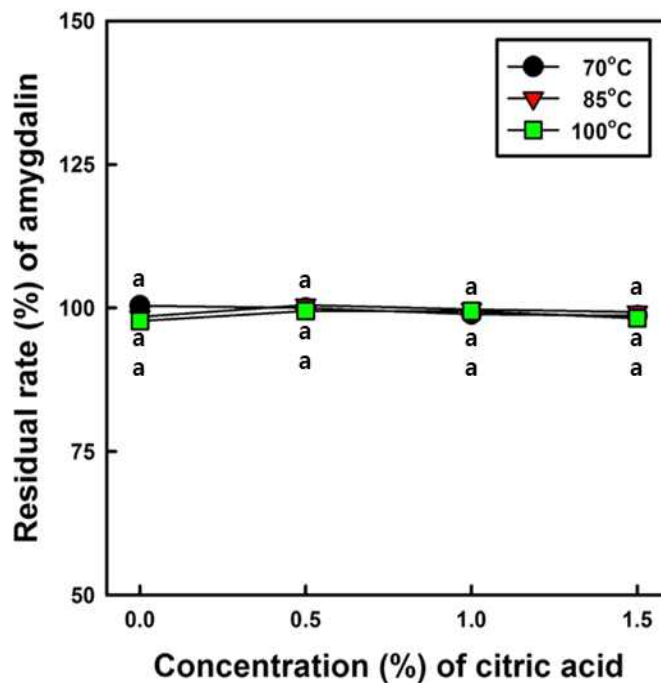


Fig. 5-6. Effects of citric acid concentrations and heating temperatures on the reduction of amygdalin. Bullets sharing the same lowercase letters of a given citric acid concentration are not significantly different at  $p < 0.05$ .



아미그달린 표준용액 내에 구연산 농도가 1.5%가 되도록 구연산을 첨가하고 70℃, 85℃와 100℃의 온도에서 10-30분간 처리한 후 아미그달린 잔존율을 조사하여 Fig. 5-7에 나타내었다. 주어진 온도에서 가열시간이 증가와 무관하게 아미그달린 표준용액의 아미그달린 함량은 감소하지 않았다. 또한 주어진 가열시간에서 가열온도의 증가와 무관하게 아미그달린 표준용액의 아미그달린 함량은 감소하지 않았다. 따라서 아미그달린의 저감에는 가열시간과 가열온도는 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

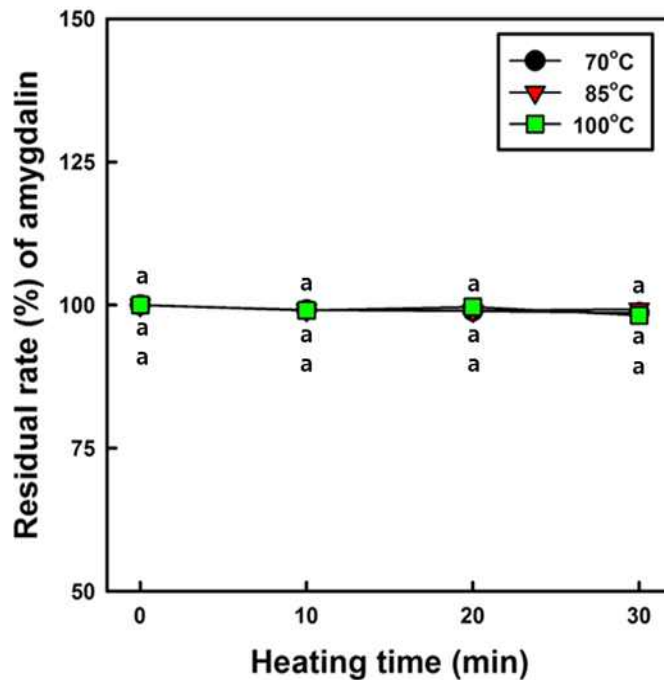


Fig. 5-7. Effects of heating times and heating temperatures on the reduction of amygdalin. Bullets sharing the same lowercase letters of a given citric acid concentration are not significantly different at  $p < 0.05$ .

이외의 본 연구개발에서 설계된 모든 조건들에서 아미그달린 표준용액의 아미그달린 함량은 큰 변화가 없었으며, 27개의 실험점들 중 구연산농도 1.5%, 가열시간 30분, 가열온도 100도의 실험점에서 2.25%의 아미그달린 감소율을 나타내었고, 이것이 가장 높은 감소율이었다. 따라서 아미그달린은 산성용액에서의 열처리에 안정한 화합물인 것으로 생각되며, 매실청을 열처리하는 것은 매실청의 아미그달린의 저감에 영향을 미치지 않고, 단지 매실청의 알코올 제거, 살균 및 풍미개선의 목적으로만 사용된다는 점을 확인하였다.

## 나. 아미그달린 저감에 대한 습식플라즈마 처리의 영향

### (1) 습식플라즈마 처리 공정 요인들에 대한 영향 탐색

습식플라즈마 처리에 의한 매실가공제품들(매실청 및 매실주)의 아미그달린 저감화 기술을 개발하고자 하였다. 아미그달린 표준용액(500 ppm)은 습식플라즈마장치(Fig. 5-1과 Fig. 5-2)에 넣고 입력전압 80 V, 160 V와 240 V로 하여 습식플라즈마 처리시간에 따른 플라즈마에너지와 처리시간에 따른 아미그달린의 저감의 효과를 조사하였다. 입력전압을 80 V로 하여 아미그달린 표준용액을 180분까지 습식플라즈마 처리하면서 아미그달린 함량, 플라즈마 에너지, 아미그달린 용액의 온도의 변화를 추적하여 Fig. 5-8에 나타내었다. 80 V의 입력전압에서는 180분 동안 플라즈마 에너지도 16.8-24.8 W의 범위에 있었으며, 아미그달린 용액의 온도도 21-28°C의 범위로 큰 변화가 없었다. 결과적으로 아미그달린 용액의 아미그달린 함량은 전혀 줄지 않았다. 이와 같은 현상은 입력전압 80 V에서는 플라즈마 에너지가 24.8 W까지 산출되었지만, 전극에서 플라즈마가 형성되지 않았기 때문에 아미그달린에 대한 영향이 없었던 것으로 판단된다.

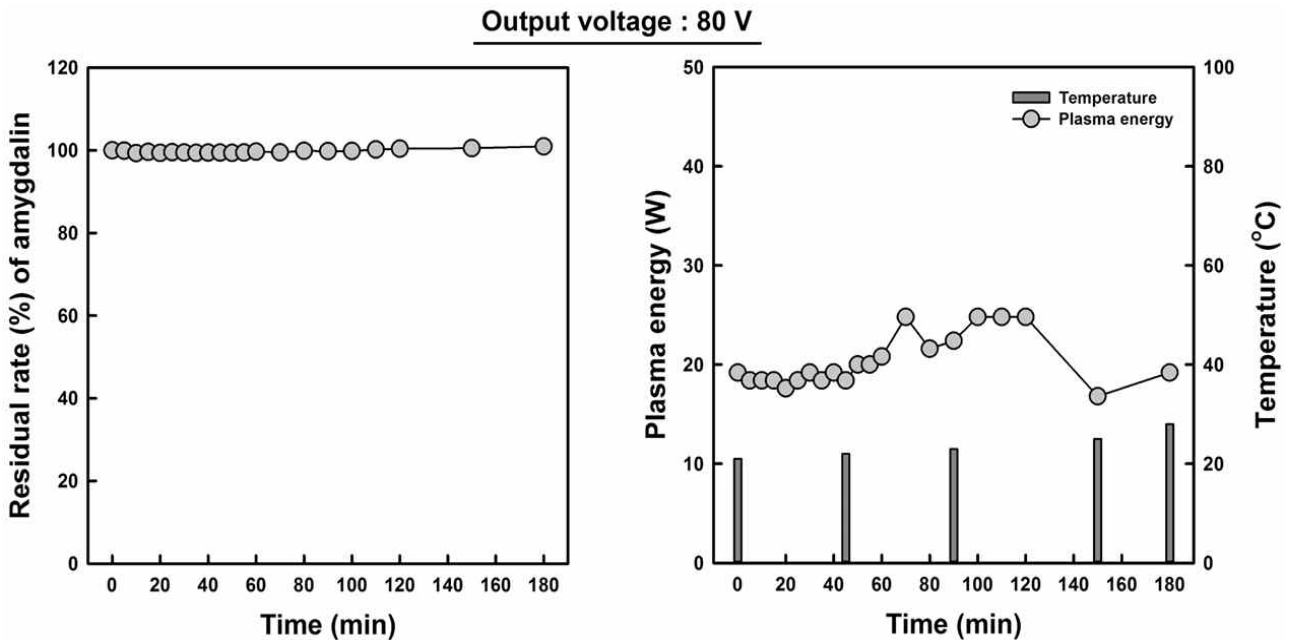


Fig. 5-8. Reduction of amygdalin subjected to the underwater plasma treatment at the input voltage of 80 V.

입력전압을 160 V로 하여 아미그달린 표준용액을 180분까지 습식플라즈마 처리하면서 아미그달린 함량, 플라즈마 에너지, 아미그달린 용액의 온도의 변화를 추적하여 Fig. 5-9에 나타내었다. 습식플라즈마 처리 시 150분까지 플라즈마 에너지는 67.2~188.8 W로 점진적으로 증가하였고, 150분부터는 188.8 W를 초과하여 960 W에 도달하였다. 또한 습식플라즈마 처리시간 150분부터 플라즈마가 형성되기 시작하였다(Fig. 5-2). 아미그달린 용액의 온도도 습식플라즈마 처리시간이 연장되면서(플라즈마 에너지가 증가하면서) 역시 21°C에서 96°C로 상승하였다. 아미그달린 함량의 변화율을 추적하였을 때, 160 V의 입력전압에서는 150분까지(~188.8 W) 아미그달린이 감소되지 않았으나, 150분부터 180분(960 W) 사이에 약 24%의 아미그달린이 분해되었다. 결과적으로 습식플라즈마 처리 시 전극에서 본격적인 플라즈마가 발생이 시작되어야 아미그달린 분해 효과를 나타내는 것으로 생각된다. 한편 입력전압 160 V에서 180분을 초과하여 습식플라즈마 장치를 운전할 수 없었는데, 그 이유는 180분 이후부터는 전류량이 5 A를 초과하여 10 A까지 급격히 치솟는 현상이 발생하였기 때문이다. 전류량이 5 A를 초과하면 습식플라즈마 처리 장치의 전극과 전기장치가 녹는 현상이 발생한다.

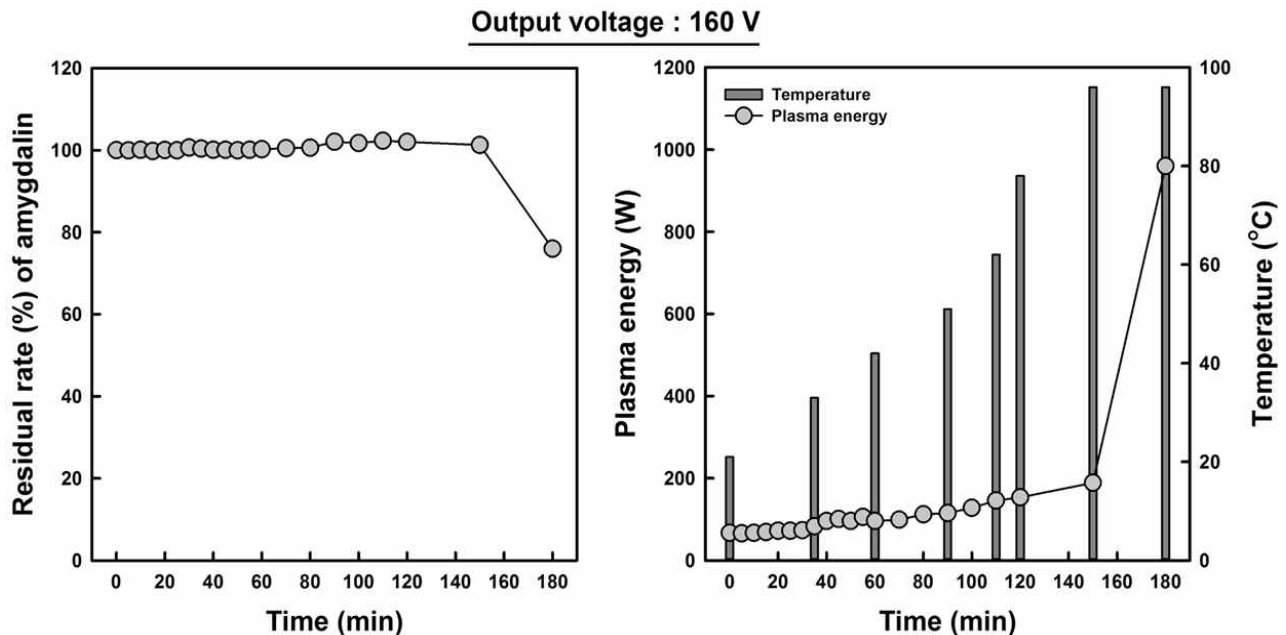


Fig. 5-9. Reduction of amygdalin subjected to the underwater plasma treatment at the input voltage of 160 V.

입력전압을 240 V로 하여 아미그달린 표준용액을 180분까지 습식플라즈마 처리하면서 아미그달린 함량, 플라즈마 에너지, 아미그달린 용액의 온도의 변화를 추적하여 Fig. 5-10에 나타내었다. 입력전압 240 V에서 플라즈마 처리를 시작한 후 5분부터 60분까지 플라즈마 에너지는 184.8 W에서 384.0 W로 증가하였고, 60분부터는 384.0 W를 초과하여 70분에 1,800 W에 도달하였다. 또한 55분(324 W)부터 플라즈마가 형성되어 60분부터는 본격적인 플라즈마가 형성되었고, 전류량의 급격한 증가로 70분까지만 플라즈마 처리가 수행되었다. 이에 따라 아미그달린 용액의 온도는 21°C에서 96°C로 급격히 증가하였다.

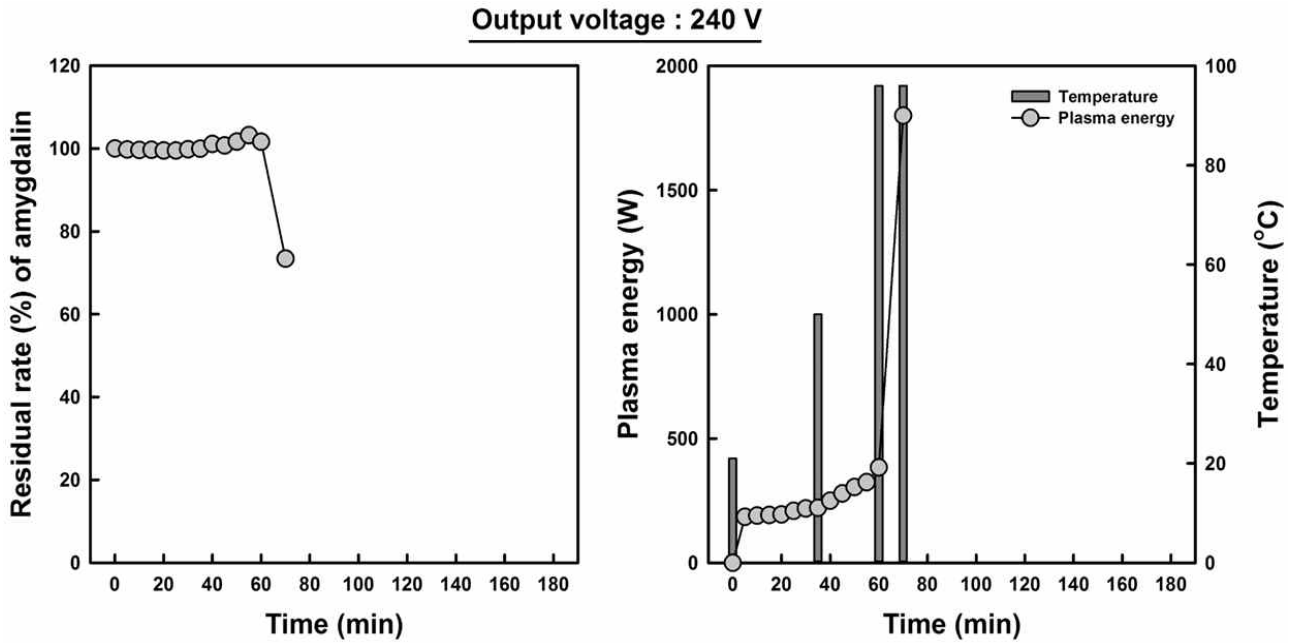


Fig. 5-10. Reduction of amygdalin subjected to the underwater plasma treatment at the input voltage of 240 V.

입력전압 240 V에서는 60분까지는 아미그달린이 감소되지 않았으나, 60분부터 70분 사이에 약 27%의 아미그달린이 분해되었다. 결과적으로 습식플라즈마 처리 시 전극에서 본격적인 플라즈마가 발생을 촉진시키기 위해서는 출력전압을 240 V로 하여야 하며, 출력전압이 높을 경우 아미그달린의 분해는 촉진되는 것을 확인하였다.

(2) 매실가공품(매실청과 매실주)의 아미그달린 저감에 대한 습식플라즈마의 효과

아미그달린 표준용액에 대해 입력전압 240 V에서 플라즈마가 형성된 후 10분 안에 초기 아미그달린 농도의 약 27%를 감소시키는 것을 확인하였다. 그래서 매실청, 매실 침출주와 매실와인에 대해 플라즈마 처리에 의한 아미그달린 저감 효과를 조사하였다. 입력전압 240 V에서 매실청과 매실주를 플라즈마처리하였을 때, 전력을 공급하자마자 1분 내에 전류량이 5 A를 초과하여 10 A까지 급격히 상승하였다. 또한 입력전압 160 V에서는 전력을 공급하고 2분내에 전류량이 5 A를 초과하였다. 이러한 현상들은 아미그달린만을 함유하고 있는 표준용액에서 관찰되지 않은 것으로 매실청 및 매실주에 아미그달린 이외의 성분들이 다량 존재하여 플라즈마가 빠르게 형성된 것으로 생각된다. 결과적으로 아미그달린 표준용액에서 아미그달린의 저감이 관찰된 입력전압 160 V와 240 V에서는 매실청과 매실주를 처리하지 못하였다. 한편 입력전압 80 V에서는 전력을 공급하였을 때, 2분 안에 전류량이 3 A를 초과하여 플라즈마를 형성한 후 60분 동안 전류량이 3.5~5.4 A의 범위로 상대적으로 안정적으로 플라즈마 처리가 수행되었고, 이때의 평균적인 플라즈마 에너지는 약 320 W의 수준을 유지하였다. 그래서 매실청과 매실주를 입력전압 80 V에서 60분간 처리한 후 이들의 처리전 부피로 조정하여 HPLC로 분석한 후 아미그달린의 감소율을 결정하였다.

**Table 5-3. Mean<sup>1)</sup> values of amygdalin reduction rate and alcohol contents of maesil chung, maesil liquor, and maesil wine subjected to underwater plasma for 60 min**

Maesil product (Initial amygdalin content)	Amygdalin reduction rate (%)	Alcohol content (%)
Maesil chung (287.6±3.2 ppm)	23.7±0.8 <sup>c</sup>	- <sup>2)</sup>
Maesil liquor <sup>3)</sup> (294.3±5.1 ppm)	28.1±0.6 <sup>b</sup>	- <sup>2)</sup>
Maesil wine <sup>3)</sup> (42.8±0.7 ppm)	100±0.0 <sup>a</sup>	- <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at p<0.05.

<sup>2)</sup>Not detected.

<sup>3)</sup>Alcohol contents of untreated (control) maesil liquor and maesil wine and 15.8% and 10.2%, respectively.

입력전압 80 V에서 플라즈마를 발진시켜(플라즈마 에너지 약 320 W) 60분 동안 매실청, 매실 침출주와 매실와인을 처리하여 이들의 아미그달린 함량을 정량하고 아미그달린 감소율(amygdalin reduction rate)과 알코올 함량을 조사하여 **Table 5-3**에 제시하였다. 습식플라즈마 처리하였을 때, 아미그달린 감소율은 매실청이 23.7%, 매실 침출주가 28.1%, 매실와인은 100%이었다. 매실와인이 100%인 것은 무처리 매실와인의 아미그달린 함량이 42.8 ppm으로 매우 낮은 농도를 보유하고 있기 때문이다. 한편 매실 침출주와 매실와인의 알코올 함량을 습식플라즈마 처리 이후에 분석하였을 때, 매실 침출주와 매실와인에서 알코올이 정량되지 않았다. 이것은 습식플라즈마 처리 시 플라즈마가 발진된 후 처리용액의 온도를 96℃까지 상승시키기 때문에 매실 침출주와 매실와인은 처리하는 동안 알코올 성분이 증발되어 제거되면서 농축되는 현상이 발생하였기 때문이다. 습식플라즈마 처리는 아미그달린을 저감시키는 효과가 있었으나 동시에 매실 침출주와 매실와인의 알코올도 증발시켜 습식플라즈마 처리 후 매실 침출주와 매실와인은 더 이상 매실주가 아니게 되었다. 따라서 습식플라즈마 처리는 매실청에만 적용할 수 있을 것으로 판단되며, 고비용의 고전압 발생장치, 대용량 습식플라즈마 처리 장치의 설비에 대한 한계와 일정한 운전조건(전류량 3~5 A로 유지)의 유지가 어려운 점을 고려할 때, 상업적으로 사용하기에는 현재의 기술수준으로는 어려운 것 같다.

#### 다. 아미그달린 저감에 대한 건식 자외선조사 처리의 영향

**Fig. 5-3**의 건식 UV-C 자외선조사 처리 장치에 의한 아미그달린의 저감 효과를 조사하였다. 건식 UV-C 자외선조사 처리를 위해 아미그달린 표준용액을 석영 재질의 패트리디쉬에 담고 뚜껑을 덮은 것과 덮지 않은 시료들의 상층부에서 UV-C를 UV irradiance 2 mW/cm<sup>2</sup>로 180분간 조사하면서 아미그달린의 감소율을 추적하였다(**Fig. 5-11**).

Fig. 5-11에 제시된 것과 같이 석영 재질의 페트리디쉬의 뚜껑을 덮고 자외선조사 처리한 경우 120분에 초기 아미그달린 농도의 91.2%가 감소되었지만, 뚜껑을 덮지 않고 자외선조사 처리한 것은 150분이 되어야 초기 아미그달린 농도의 90.8%가 감소된 것을 알 수 있었다. 예상한 것과는 다르게 석영 뚜껑을 덮은 후 건식 UV-C 자외선조사를 수행하는 것이 석영 뚜껑을 덮지 않고 수행하는 것보다 아미그달린의 감소가 빠르게 진행되는 것을 알 수 있으며, 석영 뚜껑을 덮은 경우에는 아미그달린이 3시간 후 모두 분해된 것으로 보인다. 따라서 건식 UV-C 자외선조사 처리를 통한 매실가공품들(매실청과 매실주)의 아미그달린 제거 공정이 구축될 수 있을 것으로 판단되며, 기존의 고로쇠수의 살균처리를 위한 연속식 자외선조사 살균처리 장치를 이용할 수도 있을 것으로 판단된다.

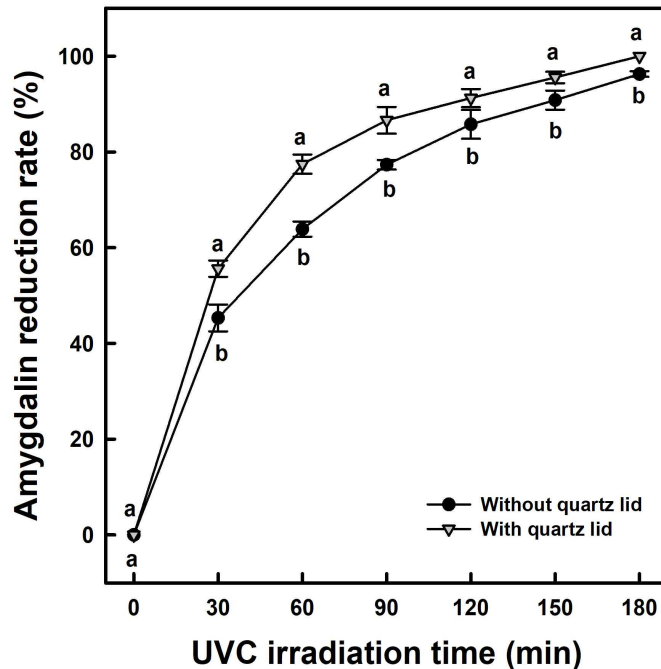


Fig. 5-11. Changes in the reduction of amygdalin by dry UV-C irradiation treatment. Bullets sharing the same lowercase letters of a given UVC irradiation time are not significantly different at  $p < 0.05$ .

매실청, 매실 침출주와 매실와인에 대한 건식 UV-C 자외선조사 처리의 아미그달린 저감 효과를 조사하여 Table 5-4에 제시하였다. 뚜껑을 덮은 석영 재질의 페트리디쉬에 매실가공품을 넣고 건식 UV-C 자외선조사 처리 장치에서 3시간 동안 자외선조사 처리하였다. 아미그달린 표준용액에서 관찰된 아미그달린의 저감 효율이 매실청, 매실 침출주, 매실와인에서 관찰되지 않았다. 아미그달린 감소율은 매실청이 0%, 매실 침출주가 1.5%, 매실와인이 5.8% 이었고, 매실청과 매실 침출주의 아미그달린 감소율은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 결과적으로 건식 UV-C 자외선조사 처리에 의해서는 매실가공품(매실청, 매실 침출주와 매실와인)에 대한 아미그달린 저감효과를 기대할 수 없는 것 같다.

Table 5-4. Mean<sup>1)</sup> values of amygdalin reduction rate and alcohol contents of maesil chung, maesil liquor, and maesil wine subjected to dry UV-C irradiation treatment with a quartz lid

Maesil product (Initial amygdalin content)	Amygdalin reduction rate (%)	Alcohol content (%)
Maesil chung (287.6±3.2 ppm)	0.0±1.5 <sup>b</sup>	— <sup>2)</sup>
Maesil liquor <sup>3)</sup> (294.3±5.1 ppm)	1.5±0.7 <sup>b</sup>	15.3±1.2 <sup>a</sup>
Maesil wine <sup>3)</sup> (42.8±0.7 ppm)	5.8±0.2 <sup>a</sup>	10.6±0.5 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at p<0.05.

<sup>2)</sup>Not detected.

<sup>3)</sup>Alcohol contents of untreated (control) maesil liquor and maesil wine and 15.8% and 10.2%, respectively.

#### 라. 아미그달린 저감에 대한 습식 자외선조사 처리의 영향

##### (1) 침수형 UV-C 자외선조사 처리 공정 요인들에 대한 영향 탐색

대부분의 매실가공품들은 매실청, 매실주, 매실음료 등으로 액상 제품들이 대부분이다. 따라서 액상제품에 효과가 높은 방법을 구축할 필요가 있어 침수형 UV-C 자외선 램프를 이용한 처리장치를 구축하였고(Fig. 5-4), 아미그달린 표준용액을 이용하여 UV-C 자외선조사 처리 온도, UV-C 자외선조사 에너지 및 조사시간과 아미그달린 용액의 농도에 대한 침수형 UV-C 자외선조사 처리 공정의 아미그달린 저감 효율을 조사하였다. 본 연구에 사용된 침수형 UV-C 자외선 램프의 한계 작동 온도는 50℃이기 때문에 자외선 조사 처리 중 시료 용액의 온도가 50℃를 초과해서는 안 된다. 따라서 침수형 UV-C 자외선조사 처리온도에 대한 아미그달린 저감효율을 조사하기 위해 500 ppm의 아미그달린 표준용액과 7.85 mW/cm<sup>2</sup>의 UV irradiance를 이용하여 처리온도 5~45℃의 범위에서 60분간 처리한 후 아미그달린 표준용액의 아미그달린 감소율을 조사하였다(Fig. 5-12). 아미그달린 감소율은 아미그달린의 온도 5~45℃의 범위에서 61.7~63.5%의 범위를 나타내었으며, 자외선조사 처리온도에 따른 통계적 유의적 차이는 관찰되지 않았다. 따라서 침수형 UV-C 자외선조사에 있어 처리시료의 온도(자외선조사 처리온도)는 중요한 요인이 아닌 것으로 판단된다. 그럼에도 상온보다 낮은 온도에서 침수형 UV-C 자외선조사를 매실청 등에 처리할 경우 매실청의 점도가 증가하여 자외선에 의한 아미그달린 저감 효율이 낮아질 수 있는 잠재적인 문제점이 예상되기 때문에 침수형 UV-C 자외선조사 처리는 25도에서 수행하는 것이 적절한 것으로 판단되어 이 후의 자외선조사 처리 온도는 25℃에서 수행하였다.

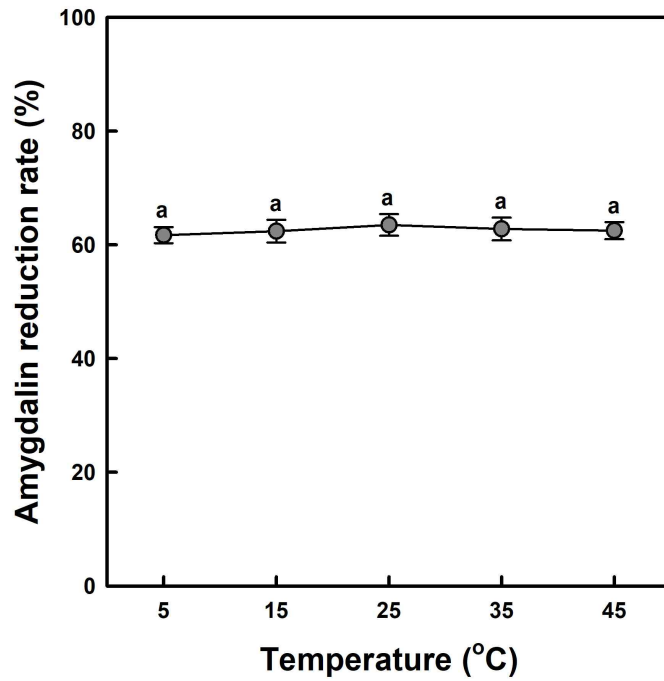


Fig. 5-12. Effects of temperatures on the reduction of amygdalin by the submerged UV-C irradiation. Bullets sharing the same lowercase letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

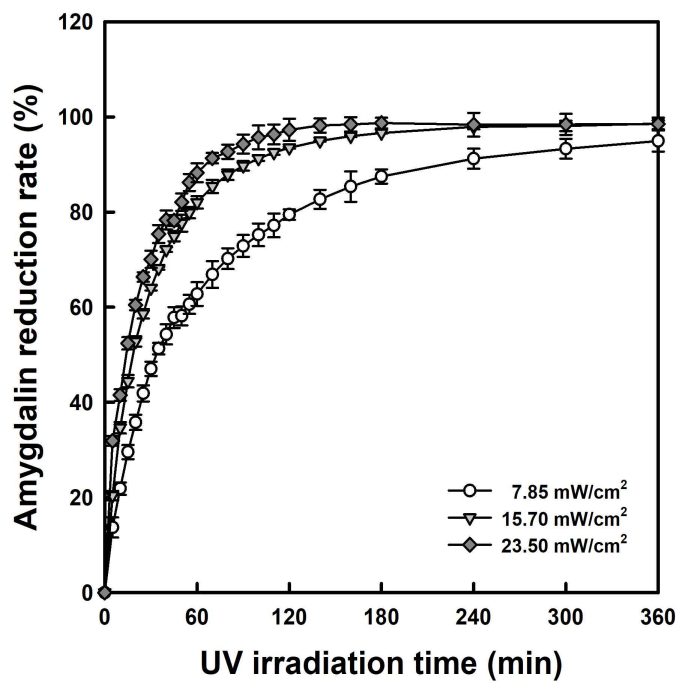


Fig. 5-13. Effects of UV irradiance and UV irradiation time on the reduction of amygdalin by the submerged UV-C irradiation.



아미그달린 저감에 대한 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 UV irradiance와 조사시간의 영향을 조사하여 Fig. 5-13에 나타내었다. UV irradiance가 7.85 mW/cm<sup>2</sup>에서 23.50 mW/cm<sup>2</sup>으로 증가하면서 아미그달린 감소율은 급격히 증가하는 양상을 나타내었으며, 대체로 자외선조사 30분까지는 아미그달린 감소율이 직선성을 가지고 감소하였으며, 그 이후에는 완만히 감소하는 경향을 나타내었다. 초기 아미그달린 농도의 50%가 감소하는 자외선 조사시간은 UV irradiance 7.85 mW/cm<sup>2</sup>에서 33분, 15.70 mW/cm<sup>2</sup>에서 18분, 23.50 mW/cm<sup>2</sup>에서 14분이었다. 결과적으로 자외선 조사에 의한 아미그달린의 신속한 조사는 본 연구개발에서 시험된 최대 UV irradiance 인 23.50 mW/cm<sup>2</sup>보다 높은 UV irradiance를 조사하는 것이 연속공정을 설계하는데 도움이 될 것으로 판단된다. 한편 23.50 mW/cm<sup>2</sup> UV irradiance에서 180분 처리한 아미그달린 표준용액의 HPLC chromatogram (Fig. 5-14)을 검토하였을 때 Fig. 5-13에서 관찰된 아미그달린의 감소는 아미그달린의 분해의 결과인 것을 확인하였다.

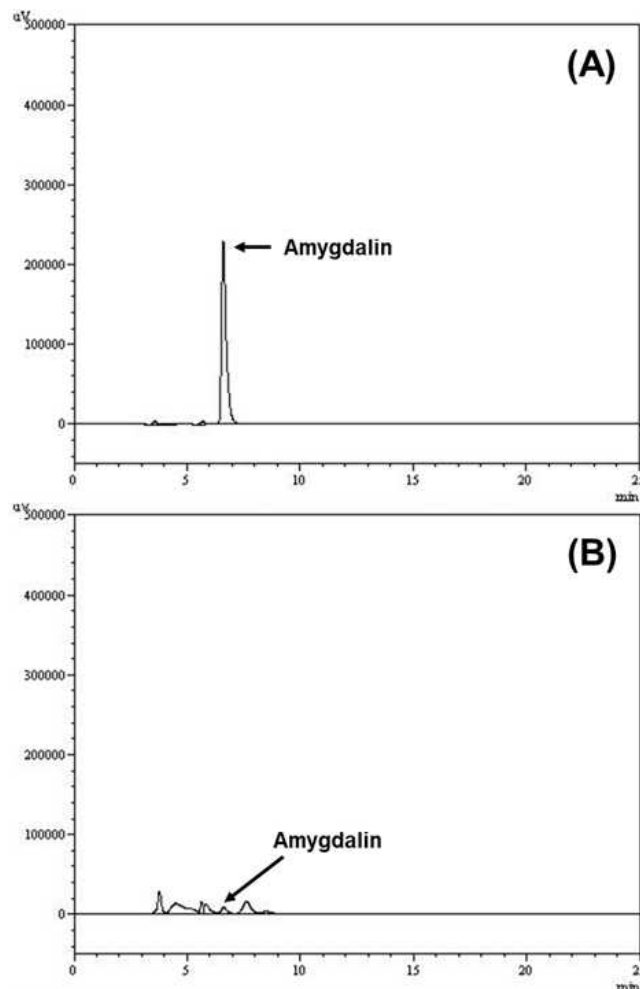


Fig. 5-14. HPLC chromatograms of amygdalin subjected to the untreated (A) and submerged UV-C irradiation for 180 min at 23.50 mW/cm<sup>2</sup>.

UV irradiance 15.70 mW/cm<sup>2</sup>에서 30분간 처리할 경우 아미그달린 감소율에 대한 아미그달린 표준용액의 초기 아미그달린 농도의 영향을 조사하여 Fig. 5-15에 나타내었다. 시험된 아미그달린 초기 농도는 매실청과 매실주의 평균적인 아미그달린 함량이 포함될 수 있는 10~300 ppm 이었다. 아미그달린 초기 농도 10 ppm은 100% 제거되었으며, 50 ppm은 86.5%, 100 ppm은 83.5%, 200 ppm은 80.1%, 300 ppm은 70.5%가 감소되었고, 아미그달린 초기 농도가 증가할 수록 아미그달린의 감소율은 적어졌다. 그럼에도 침수형 UV-C 자외선조사의 UV irradiance가 본 연구개발에서 적용한 수준보다 높을 경우에는 더욱 큰 효과가 있을 것으로 예상된다.

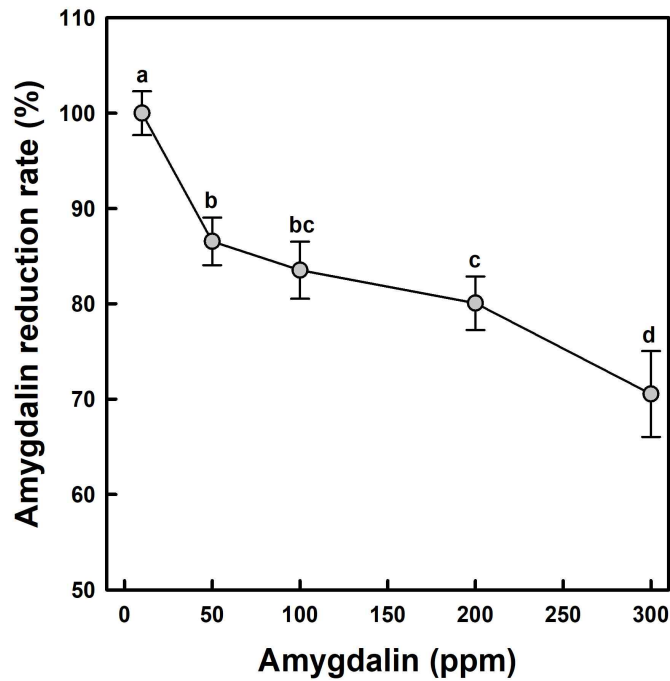


Fig. 5-15. Effects of initial amygdalin concentrations on the reduction of amygdalin subjected to the submerged UV-C irradiation for 30 min at the UV irradiance of 15.70 mW/cm<sup>2</sup>. Bullets sharing the same lowercase letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

(2) 매실가공품(매실청과 매실주)의 아미그달린 저감에 대한 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 효과

매실청, 매실 침출주와 매실와인에 대한 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 아미그달린 저감 효과를 조사하여 Table 5-5에 제시하였다. 매실가공품들을 Fig. 5-4의 습식 UV-C 자외선조사 처리장치에 넣어 UV irradiance 27.18 mW/cm<sup>2</sup>에서 4시간 동안 자외선조사 처리하였다. 아미그달린 감소율은 매실청이 33.7%, 매실 침출주가 54.9%, 매실와인이 100%이었다. 매실와인의 초기 농도가 다른 매실가공품들에 비해 적기 때문에 아미그달린 감소율이 100%에 도달한 것 같다. 그럼에도 아미그달린 표준용액에서 관찰된 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 아미그달린 저감 효율에 비해 매실청과 매실 침출주의 것들은 현저히 낮았다. 결과적으로 습식 UV-C 자외선조사 처리에 의해 매실가공품(매실청, 매실 침출주와 매실와인)에 대한 아미그달린 저감효과는 여전히 기대할 수 있다. 시험된 조건에서 처리된 매실청의 HPLC chromatogram에 의하면 아미그달린이 저감된 것은 명확한 사실이다(Fig. 5-16).

Table 5-5. Mean<sup>1)</sup> values of amygdalin reduction rate and alcohol contents of maesil chung, maesil liquor, and maesil wine subjected to dry UV-C irradiation treatment with a quartz lid

Maesil product (Initial amygdalin content)	Amygdalin reduction rate (%)	Alcohol content (%)
Maesil chung (287.6±3.2 ppm)	33.7±3.5 <sup>c</sup>	— <sup>2)</sup>
Maesil liquor <sup>3)</sup> (294.3±5.1 ppm)	54.9±1.7 <sup>b</sup>	14.2±2.3 <sup>a</sup>
Maesil wine <sup>3)</sup> (42.8±0.7 ppm)	100.0±0.0 <sup>a</sup>	9.9±1.2 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Mean values of three replicate measurements; Values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at p<0.05.

<sup>2)</sup>Not detected.

<sup>3)</sup>Alcohol contents of untreated (control) maesil liquor and maesil wine and 15.8% and 10.2%, respectively.

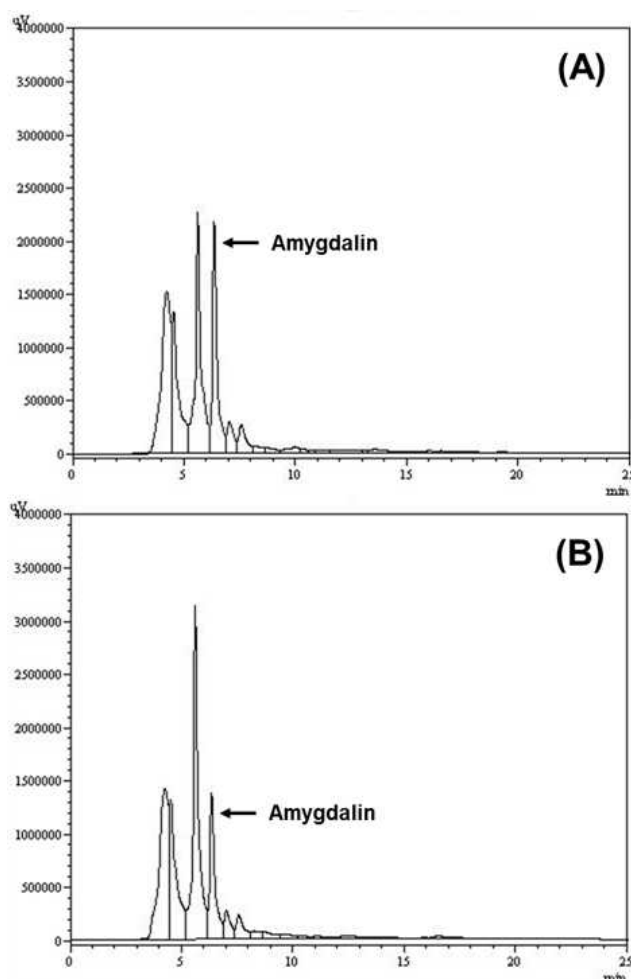


Fig. 5-16. HPLC chromatograms of amygdalin subjected to the untreated (A) and submerged UV-C irradiation for 180 min at 23.50 mW/cm<sup>2</sup>.

(3) 매실청에 대한 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 낮은 효과에 대한 원인 규명

침수형 UV-C 자외선조사는 수용액 내에 전자, 자유라디칼(free radical), 활성산소종(active oxygen species)들을 형성시키고, 이러한 활성화학종들에 의해 아미그달린의 산화반응에 의해 아미그달린이 분해되는 것으로 생각되고 있다. 선행된 연구에서 아미그달린 표준용액에 아미그달린만이 존재할 때는 침수형 UV-C 자외선조사 처리에 의해 모든 아미그달린이 저감될 수 있었지만, 매실청과 매실 침출주와 같은 매실가공품에 대해서는 30~60% 정도의 아미그달린 감소율을 나타내었다. 이러한 현상은 아마도 매실청과 매실 침출주에 존재하는 폴리페놀성 화합물에 의한 자외선조사로부터 생성되는 전자, 자유라디칼, 활성산소종들을 제거로 인해 매실청과 매실 침출주의 아미그달린의 분해가 저해되는 것으로 생각된다. 따라서 이를 확인하기 위해 아미그달린 표준용액에 gallic acid를 0~500 ppm의 농도가 되도록 하여 UV irradiance 15.70 mW/cm<sup>2</sup>에서 4시간 동안 자외선조사 처리하면서 아미그달린 감소율을 조사하였다(Fig. 5-17). 아미그달린 표준용액은 자외선조사 처리 1시간째에 100%가 분해되었다. 그러나 gallic acid를 함유하고 있는 아미그달린 표준용액은 4시간 자외선조사 처리 후에도 여전히 아미그달린이 검출되었으며, gallic acid의 농도가 증가하면서 아미그달린 감소율은 낮아지는 현상을 나타내었다. 4시간 자외선 조사처리 후 gallic acid 농도가 50 ppm인 것은 89.1%, 100 ppm인 것은 66.6%, 200 ppm인 것은 41.4%, 300 ppm인 것은 28.4%, 400 ppm인 것은 22.5%, 500 ppm인 것은 17.3%이었다. 결과적으로 Table 5-5에서 관찰된 상대적으로 낮은 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 효과는 매실청과 매실 침출주에 함유되어 있는 폴리페놀성 화합물의 항산화 효과에 의한 것인 것 같다.

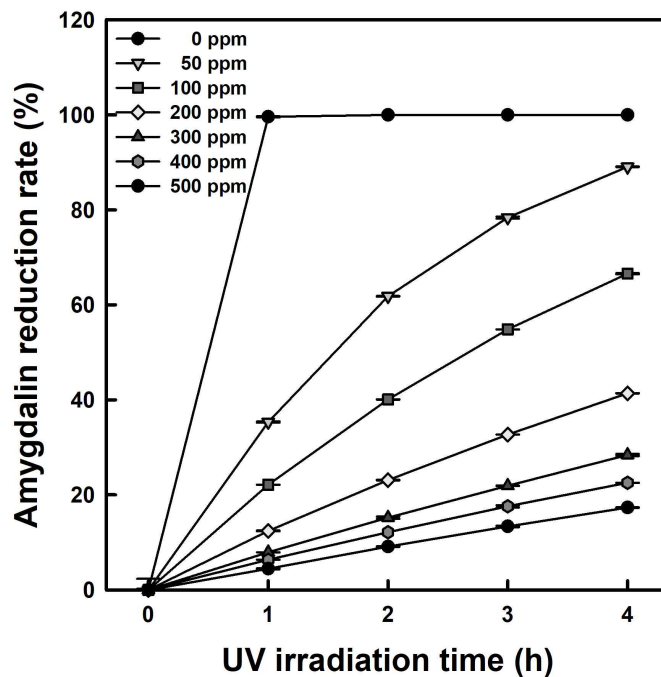


Fig. 5-17. Effects of gallic acid concentrations on the reduction of amygdalin subjected to the submerged UV-C irradiation for 4 h at 15.70 mW/cm<sup>2</sup>.

또한 침수형 UV-C 자외선조사 처리에 의한 아미그달린 감소율에 대한 유기산의 영향을 조사하기 위해 매실청의 주요 유기산인 citric acid를 0.5~1.5%의 농도가 되도록 아미그달린 표준 용액에 용해시켜 선행된 것과 동일하게 자외선조사 처리하여 아미그달린 감소율을 조사하였다 (Fig. 5-18). 침수형 UV-C 자외선조사 처리 1시간째에 아미그달린 감소율은 citric acid의 농도가 0.5%에서 1.5%로 증가하면서 99.6%에서 94.1%로 낮아졌다. 그러나 citric acid의 농도에 따른 아미그달린 감소율의 차이가 크지 않아 매실청과 매실주의 유기산은 아미그달린 저감에 대한 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 효과를 낮추지 않는 것 같다.

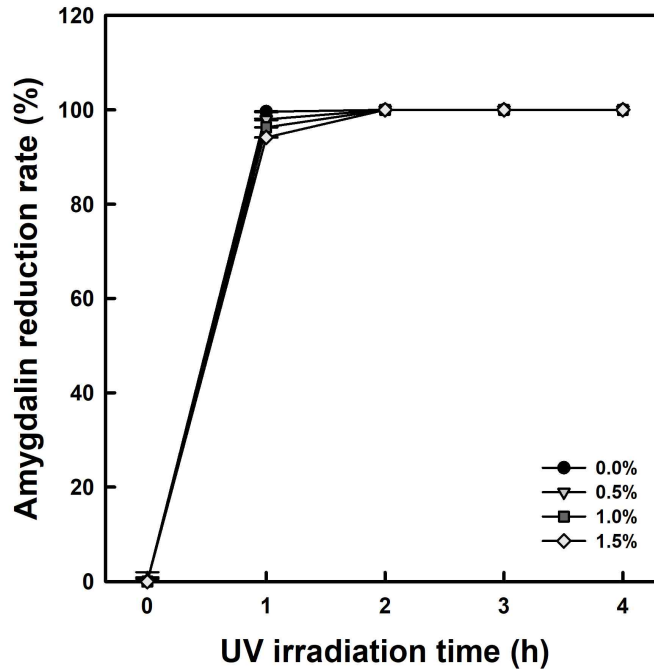


Fig. 5-18. Effects of citric acid concentrations on the reduction of amygdalin subjected to the submerged UV-C irradiation for 4 h at 15.70 mW/cm<sup>2</sup>.

한편 폴리페놀성 화합물들의 항산화 효과는 유기산의 존재에 의해 향상되거나 지속될 수 있다는 사실은 익히 알려져 있다. 그래서 gallic acid와 citric acid를 함유하는 아미그달린 표준 용액에 대해 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 효과를 조사하였다(Fig. 5-19). 아미그달린 감소율은 gallic acid만 함유된 아미그달린 표준용액과 gallic acid와 citric acid가 모두 포함된 아미그달린 표준용액에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 아미그달린 감소율에 대한 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 효과를 낮추는 인자는 매실청과 매실주에 함유되어 있는 폴리페놀성 화합물이며, 이들에 함께 포함되어 있는 유기산은 영향을 미치지 않은 것으로 결론지었다.

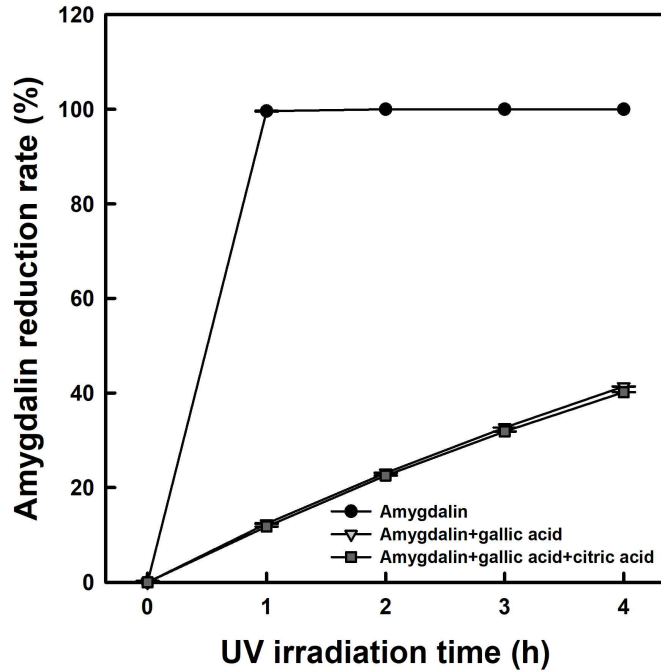


Fig. 5-19. Effects of the mixture of gallic acid and citric acid on the reduction of amygdalin subjected to the submerged UV-C irradiation for 4 h at 15.70 mW/cm<sup>2</sup>.

#### 마. 매실청과 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속식 자외선 조사 처리 장치 개발

침수형 UV-C 자외선조사 처리에 의한 매실청과 매실주의 아미그달린 저감에 대한 연구결과를 기반으로 연속적으로 자외선조사 처리가 가능한 장치를 고안하여 특허출원하였다. 이하부터는 고안된 연속식 자외선 조사 처리장치에 대해 설명하였다. Fig. 5-20에 제시된 아미그달린 저감을 위한 연속식 자외선 조사 처리 장치(1)는 매실청 또는 매실주 등을 제조할 때 생성되는 아미그달린(amygdalin)의 저감을 위한 것으로, 이미 발효되고 과실이 걸러진 매실청 또는 매실주의 유량을 조절하여 공급하도록 펌프(230)가 마련된 공급부(200), 적어도 1개 이상의 밀폐된 용기(110)와, 용기(110) 내부에 설치되는 침수형 UV-C 램프(120)가 마련되는 조사처리부(100), 및 자외선 조사 처리된 매실청 또는 매실주를 여과하도록 형성된 배출부(300)를 포함하여 구성된다. 주입구(210)로 들어가는 매실청 또는 매실주는 설명의 편의를 위하여, 이미 발효되고 과실이 걸러진(전처리된) 것으로, 이하에서는 ‘유체’라 하기로 한다.

유체가 들어가는 입구인 주입구(210)와 나오는 출구인 배출구(320) 사이를 연결하는 이송라인 내 ‘공급부(200)-조사처리부(100)-배출부(300)’가 설치되고, 각각의 구성 요소는 이송라인에 의해 연결된다. 공급부(200)는 유체를 주입하는 주입구(210), 펌프(230), 유량계(250), 주입구(210)와 펌프(230) 사이 마련되는 제1 밸브(220), 펌프(230)와 유량계(250) 사이에 마련되는 제2 밸브(240) 및 유량계(250)와 후술할 조사처리부(100) 사이에 마련되는 제3 밸브(260)를 포함하여 구성될 수 있다. 전처리된 유체는, 제1, 2, 3 밸브(220, 240, 260)가 개방된 상태에서 펌프(230)에 의해 주입구(210)를 통해 인입되어 제1 밸브(220)를 거쳐 조사처리부(100)로 이송된다. 제2 밸브(240)는 유량조절밸브로 유체의 유량을 조절하는 것이고, 유량계(250)는 통과하는 유체의 유량을 측정하기 위한 계기이다.

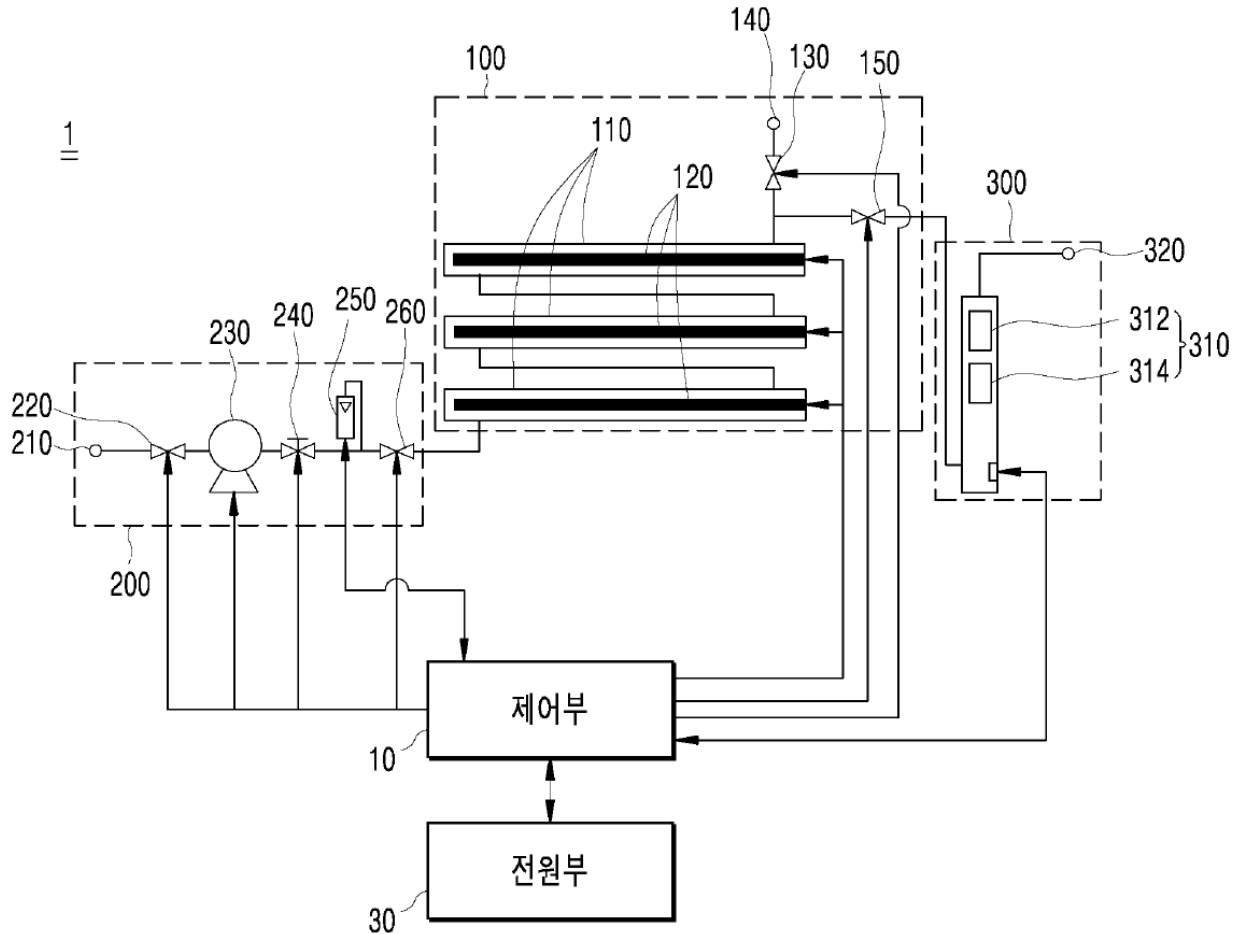


Fig. 5-20. Schematic diagram of continuous process and equipment of UV irradiation treatment for amygdalin reduction of maesil chung and liquor.

펌프(230)에 의해 이송되는 유체는 유량조절밸브(240)와 유량계(250)에 의해 적절한 유량이 조절되고, 개방된 제3 밸브(260)를 지나 조사처리부(100)로 이송된다. 여기서 펌프(230)는 압력 작용을 이용하여 이송라인을 통해 유체를 수송하는 것으로, 식품용 펌프인 10-50 W의 용량의 것을 사용할 수 있다. 유체가 매실청일 경우 당 성분 때문(높은 점도)에 펌프(230)가 오작동하거나 수명이 단축될 수 있으므로, 자체 흡입 및 토출이 가능하고 점도까지 고려할 수 있는 것을 사용하는 것이 적절하다. 따라서 식품용 펌프를 사용하는 것이 적절하다. 또한 펌프(230) 용량이 10 W 미만일 경우에는 후술할 침수형 UV-C 램프(120)가 구비된 용기(110)를 가득 채울 수 없고, 유체의 이송이 원활하지 않으며, 50 W를 초과할 경우 제2 밸브(240)로 유량을 조절하더라도 난류가 발생하여 이송되는 유체에 기포가 많이 생겨 자외선 조사 처리의 효율이 낮고 오존이 발생할 수 있다. 따라서 이송되는 유체에 있어 난류의 형성과 기포 발생이 최소화되면서 침수형 UV-C 램프(120)의 용기(110)을 가득 채울 수 있는 10 W~50 W 사이 용량의 식품용 펌프를 사용하는 것이 바람직하다.

조사처리부(100)는 공급부(200)를 통과한 유체에 자외선을 조사하여 자외선 처리하기 위한 것으로, 적어도 1개 이상의 밀폐된 용기(110), 용기(110) 내부에 설치되는 침수형 UV-C 램프(120), 공기배출구(140), 공기배출구(140)와 용기(110) 사이에 마련되는 제4 밸브(130), 및 용기(110)와 후술할 배출부(300) 사이에 마련되는 제5 밸브(150)를 포함하여 구성될 수 있다.

공급부(200)를 통해 유입된 유체는 용기(110)의 일단으로 유입하여 수평이송 후 용기(110)의 타단으로 배출될 수 있다. 용기(110)는 탱크형 또는 막대형으로 형성되어 수평(Fig. 5-20) 또는 수직(Fig. 5-21)으로 배치될 수 있으며, 유체의 유출입구를 제외하고는 밀폐되는 것이 바람직하다. 이는 자외선 조사 처리에 의해 매실주의 품질이 상승하여 매실주의 알코올이 휘발되면서 매실주의 품질을 유지할 수 없는 문제를 방지하기 위함이다.

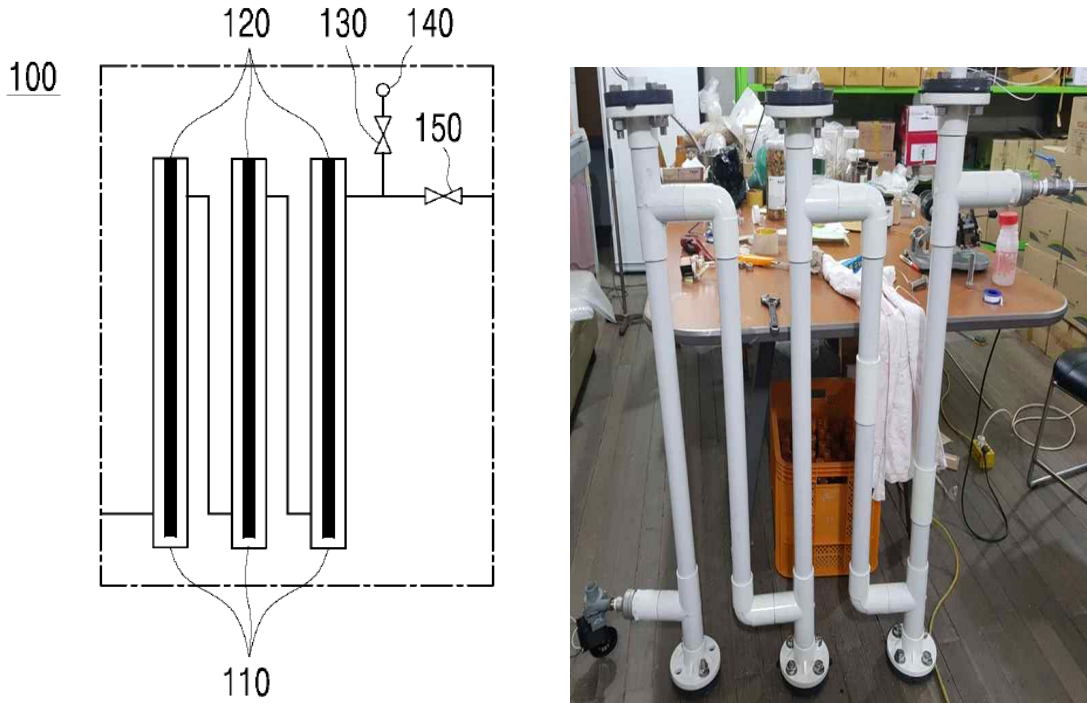


Fig. 5-21. Vertical type of a UV-C irradiation module.

용기(110)의 단면 형상에는 특별한 한정은 없으나 원형으로 이루어지는 것이 바람직하다. 이는 용기 중앙에 위치한 침수형 UV-C 램프(120)가 점등되어 자외선을 조사할 때 조사에너지가 유체에 균등하게 미치게 하기 위함이다. 예컨대, 침수형 UV-C 램프(120)가 1개가 위치할 경우, 용기의 직경은 6 cm 이하인 관형태로 형성될 수 있으며, 이는 유체의 탁도 때문에 자외선 조사처리 시, 침수형 UV-C 램프(120)에서 떨어진 유체에는 조사에너지가 미치지 못하는 것을 방지하기 위한 것이다. 또한, 용기(110)는 1~n개가 직렬 연결될 수도, 병렬 연결될 수도, 또는 직렬과 병렬의 혼합으로 이루어질 수 있다. 용기(110)가 직렬로 연결됨으로써 유체가 단계적으로 자외선 조사 처리되는 이점이 있고, 병렬로 연결됨으로써 유체가 대량으로, 즉 동시에 자외선 조사 처리되는 이점이 있다. 이러한 다수의 연결된 용기(110)는 병렬 배치됨으로써 설치 공간의 효율성이 향상된다. 물론 각 용기(110)들 사이에 추가적인 밸브를 구비할 수 있고, 이 밸브는 후술할 제어부(10)를 통해 제어될 수 있다. 또한, 용기(110)의 내부는, 침수형 UV-C 램프(120)가 자외선을 조사할 때 조사에너지가 유체인 매질을 통과하여 반사되도록 은박 처리되거나 거울로 이루어질 수 있다. 침수형 UV-C 램프(120)는, 용기(110) 내 유체에 자외선을 조사하는 것으로, 용기(110)의 길이방향으로 설치되고, 하나의 용기(110) 내에 복수개의 침수형 UV-C 램프(120)가 마련될 수도 있다. 또한, 침수형 UV-C 램프(120)는, 침수형임을 감안하여 유체로부터 보호하기 위해 석영관 내에 삽입된 형태로 이루어지는 것이 바람직하다.



한편, 침수형 자외선 램프(120)는 UV-A (Ultraviolet A, 파장 : 315-400nm), UV-B (Ultraviolet B, 파장 : 280-315nm) 및 UV-C (Ultraviolet C, 파장 : 100-280nm)를 사용하는 램프들이 있지만 UV-A와 UV-B 램프들은 아미그달린의 분해에는 효과가 없다. 따라서 본 발명에서는 자외선 램프 중에서도 침수형 UV-C 램프(120)를 사용하는 것이 바람직하다. 침수형 UV-C 램프(120)의 조사에너지는 105 W 또는 145 W의 것을 사용할 수 있다. 조사에너지는 침수형 UV-C 램프(120)의 길이에 비례하여 증가하는데, 105 W 보다 적은 조사에너지를 처리할 경우 침수형 UV-C 램프(120)를 내장하는 용기(110)의 부피가 작아져 유체의 처리용량이 적어지게 되고, 상대적으로 처리시간이 길어지는 문제가 있다. 그리고 105 W와 145 W 사이의 침수형 UV-C 램프(120)와 145W를 초과하는 침수형 UV-C 램프(120)는 국내에서 제작되지 않아 침수형 UV-C 램프(120)의 원활한 공급이 어렵다. 또한 145 W의 침수형 UV-C 램프(120)는 길이가 1.55 m 정도로 취급이 어려울 수 있다. 따라서 취급이 용이하고, 침수형 UV-C 램프(120)의 원활한 공급이 가능한 105 W의 침수형 UV-C 램프(120)를 사용하는 것이 바람직하다. 즉 침수형 UV-C 램프(120)가 길수록 자외선 조사 효과가 있으나, 안정적으로 생산되는 침수형 UV-C 램프(120)의 길이에는 한계가 있으므로, 일정 길이의 용기(110)를 직렬로 연결하되 병렬로 배치하여 공간의 효율을 높이거나, 순환부를 구비하여 공간의 효율을 높일 수 있다. 적어도 1개 이상의 밀폐된 용기(110) 내부에 유체가 채워지게 되면, 제4, 5밸브(130, 150)를 폐쇄하여 유체가 용기(110) 내 일정시간(약 6~24시간) 머물 수 있도록 한다. 그리고 침수형 UV-C 램프(120)를 점등시켜 용기(110) 내 유체에 자외선을 조사하여 아미그달린을 분해토록 한다. 이때 용기(110) 자체에 진동을 주어 용기(110) 내 유체를 교반시키거나 용기(110) 자체를 회전하도록 하여 용기(110) 내 유체를 교반시키도록 공지의 진동발생장치가 적용될 수도 있다.

공기배출구(140)는, 이송 중 생긴 기체를 배출하는 것으로, 이송라인 내 제4 밸브(130)가 개방된 상태에서 공기가 배출될 수 있도록 이송라인 외부로 개방되어 있다. 배출부(300)는 자외선 조사 처리된 유체를 여과하여 수집하는 것으로 여과 및/또는 열처리를 할 수 있는 후처리부(310) 및 유체배출구(320)를 포함하여 구성될 수 있다. 즉 자외선 조사 처리된 유체는 제5 밸브(150)가 개방되면 후처리부(310)를 거쳐 유체배출구(320)를 통해 수집할 수 있게 된다. 후처리부(310)는 조사처리부(100)를 통과한 유체를 체망을 통과시켜 불용성 침전물을 제거하는 여과부(312)와, 조사처리부(100)를 거친 유체(특히 매실청)의 이취성분 제거 및 살균을 조정하는 열처리부(314)로 나누어질 수 있다. 여과부(312)는 조사처리부(100)를 통과한 유체를 230~400메쉬(mesh) 체망을 통과시키는 것이다. 230메쉬보다 작은 체망을 이용할 경우 불용성 침전물의 제거가 불완전하여 최종 제품을 혼탁하게 하거나 침전물이 발생할 수 있고, 400메쉬 보다 큰 체망을 사용할 경우에는 여과효율이 낮고 여과하는데 시간이 오래 걸려 미생물의 오염이 발생할 수 있다. 또한 도시되지는 않았지만, 용기(110)와 용기(110) 사이에 여과기를 구비하여 연속적으로 여과시킬 수도 있다. 연속적으로 여과기를 통과시켜 침전물을 제거함으로써 침전물이 제거되고 아미그달린이 저장된 유체를 연속적으로 생산할 수 있게 된다. 열처리부(314)는 발열체를 사용하여 75-85℃의 온도에서 30-60분간 열처리하는 것이다. 즉 후처리부(310)의 내부 또는 외부에 설치되는 발열체와 내부온도 감지용 센서를 포함하여 구성될 수 있다. 이러한 발열체와 센서는 제어부(10)에 의해 제어될 수 있다. 이러한 열처리부(314)가 형성됨에 따라, 조사처리부(100)를 거친 유체, 특히 매실청의 이취성분 및 알코올 성분의 제거, 살균과 당도를 조정할 목적으로 수행할 수 있다.

가령 75도 미만으로 열처리할 경우, 이취성분과 알코올의 제거가 완전하지 않고, 당도를 조정하기 위해 장시간 열처리하여 에너지 효율이 낮은 문제가 있고, 85도를 초과하여 열처리할 경우, 이취성분과 알코올은 제거되지만 매실청일 경우 수분의 증발 속도가 빨라 당도 조정이 어려우므로, 제어부(10)는 내부온도 감지용센서가 센싱하는 센싱값에 의해 75~85℃의 온도에서 열처리 하도록 제어할 수 있다. 또한 30분 미만에서는 이취성분과 알코올성분의 제거되지 않고, 60분을 초과할 경우 유체가 과도하게 농축되는 문제가 있으므로, 제어부(10)는 30~60분 동안 열처리하도록 제어할 수 있다. 따라서 여과부(312)에서는 조사처리부(100)를 통과한 유체를 230~400메쉬(mesh) 체망을 통과시키고, 열처리부(314)에서는 발열체를 사용하여 75~85℃의 온도에서 30~60분간 열처리할 수 있는데, 유체의 종류에 따라 여과부에 의한 여과공정과 열처리부에 의한 열처리공정이 선택적으로 이루어질 수 있다. 즉 매실청의 경우에는 열처리공정을 필수적으로 포함함에 따라, 이취성분 및 알코올 성분의 제거, 살균과 당도를 조정할 수 있고, 매실주의 경우에는 선택적으로 소정 시간동안 열처리를 하여 원하는 알코올 함량을 조절하거나 이취성분 제거 및 살균을 할 수 있게 된다. 이렇게 후처리까지 완료된 유체는 유체배출구(320)를 통해 수집될 수 있다. 이와 같은 아미그달린 저감을 위한 연속식 자외선 조사 처리 장치(1)는 공급부(200), 조사처리부(100), 및 배출부(300)의 각 구성을 제어하는 제어부(10) 및 장치에 전원을 공급해주는 전원부(30)를 더 포함하여 구성될 수 있다.

### 3. 요약 및 결론

- 아미그달린의 저감에 대한 열처리의 효과를 조사하였을 때, 아미그달린은 구연산 농도, 열처리 온도와 열처리 시간에 대해 영향 받지 않았다. 따라서 열처리는 매실청의 아미그달린 저감에 효과가 없는 것으로 판단된다.
- 습식플라즈마 처리 시 전극에서 플라즈마가 본격적으로 형성하여 플라즈마 에너지가 대략 320 W에 도달할 때부터 아미그달린의 분해가 시작되었다. 아미그달린 표준용액에 대해서는 입력전압 80 V는 아미그달린을 분해시키지 못하였으나, 160 V와 240 V에서는 아미그달린을 분해시켰다. 또한 입력전압 240 V가 160 V보다 플라즈마를 형성시키는 시간을 단축하였으며, 플라즈마 에너지를 320 W 이상으로 상승시켰고, 단시간에 아미그달린을 저감시킬 수 있었다.
- 습식플라즈마 처리장치를 이용하여 입력전압 80 V에서 플라즈마를 형성시켜, 플라즈마 에너지를 평균적으로 320 W로 유지하면서 60분 동안 매실청, 매실 침출주와 매실와인에 처리하였을 때, 이들의 아미그달린의 저감 효과가 관찰되었다. 그러나 습식플라즈마 처리로 인해 매실 침출주와 매실와인의 알코올 성분을 증발시켜 처리 후에는 알코올이 남아있지 않게 되었다. 따라서 습식플라즈마 처리에 의한 아미그달린 저감 기술은 매실청에만 적용되어야 할 것으로 판단된다.
- 건식 UV-C 자외선조사 처리에 의한 아미그달린의 저감효율은 아미그달린 표준용액을 수용하는 석영 패트리디쉬의 뚜껑을 덮은 상태에서 UV-C 자외선조사가 되었을 때, 180분 뒤에 아미그달린 감소율 100%에 도달하였다.

- 매실가공제품(매실청, 매실 침출주, 매실와인)에 대해 건식 UV-C 자외선조사 처리하였을 때, 매실청과 매실 침출주에는 아미그달린 감소 효과가 없었고, 매실와인은 극히 적은 양의 아미그달린이 감소하여, 매실가공제품에는 건식 UV-C 자외선조사 처리가 적합하지 않았다.
- 침수형 UV-C 자외선조사는 아미그달린의 저감에 대해 자외선조사 처리온도는 영향을 미치지 않았으며, UV irradiance의 증가와 UV-C 자외선조사 처리시간의 연장은 아미그달린 감소율을 증가시켰다. 또한 아미그달린 표준용액의 초기 아미그달린 농도가 높을수록 침수형 UV-C 자외선조사 처리에 대한 아미그달린 감소율은 낮아졌다.
- 침수형 UV-C 자외선조사 처리는 매실가공제품(매실청, 매실 침출주, 매실와인)의 아미그달린을 완전히 제거하지는 못하였으나 상당량 감소시켰고, 매실가공제품에 함유되어 있는 아미그달린의 농도가 낮을수록 아미그달린 감소율은 증가하였다.
- 아미그달린 표준용액에 비해 매실가공제품의 침수형 UV-C 자외선조사 처리에 의한 아미그달린 감소율이 상대적으로 낮은 것은 매실가공제품에 함유되어 있는 폴리페놀성 화합물들의 항산화 효과 때문이다.
- 매실청과 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속식 (또는 연속순환식) 자외선조사처리 공정과 장치를 고안하였다.

## 제6절. 본 연구개발을 통해 달성된 매실가공제품들

### 1. 슬로푸드(주)농업회사법인(주관연구기관)의 개발 제품



[유기농매실액]

○ 판매단가	5,200원/병
○ 매출액(2018년)	4,290,000원
○ 아미그달린 함량	58.3 ppm

### 2. 힐링숨농장영농조합법인(제3협동연구기관)의 개발 제품



[매실초고추장]

○ 판매단가	6,800원/kg
○ 매출액(2018년)	1,360,000원
○ 아미그달린 함량	35.1 ppm



[매실발효차]

○ 판매단가	4,500원/병
○ 매출액(2018년)	5,665,000원
○ 아미그달린 함량	364.4 ppm

## 제7절. 연구개발성과

### 1. 논문게재 성과

번호	논문명	저자명	학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	논문게재일	SCI여부
1	Toxicity and toxicokinetics of amygdalin in Maesil (Prunus mume) syrup: protective effect of Maesil against amygdalin toxicity	Mi-Ran Go, Hyeon-Jin Kim, Jin Yu, Soo-Jin Choi,	Journal of Agricultural and Food Chemistry	66(43)	국외	2018년 10월	SCI (IF 3.412)
2	아미그달린 저감화 매실청의 독성동태학적 및 경구독성 연구	김현진, 고미란, 유진, 황지수, 최현우, 김현석, 최수진	한국식품과학회지	50(6)	국내	2018년 12월	비SCI
3	매실 침출주의 제조와 숙성 중 아미그달린 (amygdalin) 함량과 특성 변화	조정원, 김병용, 정진부, 김현석	한국식품과학회지	50(6)	국내	2018년 12월	비SCI
4	매실 와인의 제조공정에 따른 아미그달린(amygdalin) 함량의 변화와 품질 특성	조정원, 김병용, 최수진, 정진부, 김현석	한국식품과학회지	51(2)	국내	2019년 2월	비SCI
5	Reduction of amygdalin by UV-C irradiation in a submerged mode	Hyun Woo Choi, Jin Boo Jung, Hyun-Seok Kim	Food Science and Biotechnology		국내	Submitted	SCIE

### 2. 특허성과

번호	특허명	출원인	출원번호	출원일	출원국
1	아미그달린이 저감된 매실청의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 아미그달린이 저감된 매실청	슬로푸드(주) 농업회사법인	10-2018-0165560	2018년 12월 19일	대한민국
2	매실청 또는 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속식 자외선 조사 처리 장치 및 그 방법	힐링습농장 영농조합법인	10-2019-0013090	2019년 1월 31일	대한민국

### 3. 기술거래(이전) 성과

번호	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (2018)
1	노하우	매실청 및 매실추출물의 아미그달린(amygdalin) 제거 방법에 대한 노하우 기술	슬로푸드(주) 농업회사법인	2018년 5월 25일	5,000,000원 (VAT 별도)

### 4. 사업화성과 및 매출실적

○ 사업화 성과 : 제품화 3건(국내 매출액 : 11,315,000원)

항목	세부항목		성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	11.3백만원
			향후 3년간 매출	억원
		관련제품	개발후 현재까지	억원
			향후 3년간 매출	억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		위

### 5. 학술발표

번호	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	한국산업식품공학회 2017년도 추계 학술대회 및 심포지엄(아미그달린(amygdalin) 저감화 방안 탐색)	최현우, 조정원, 김병용, 김현석	2017년 11월 2일	강릉 라카이 샌드파인 리조트	대한민국
2	한국산업식품공학회 2017년도 추계 학술대회 및 심포지엄(매실 및 매실가공품의 아미그달린(amygdalin) 함량)	배상준, 최현우, 김수연, 김병용, 김현석	2017년 11월 2일	강릉 라카이 샌드파인 리조트	대한민국
3	한국산업식품공학회 2017년도 추계 학술대회 및 심포지엄(매실 Amygdalin 및 매실가공품의 안전성 연구)	배송화, 고미란, 김현진, 유진, 최수진	2017년 11월 2일	강릉 라카이 샌드파인 리조트	대한민국

4	대한독성 유전·단백체 학회 2017년 국제학술대회 및 정기총회(Safety aspects of amygdalin and maesil-based products)	김현진, 고미란, 최수진	2017년 11월 2일	서울여자대학 교 바름교육관	대한민국
5	2018 춘계 학술대회 및 심포지엄(매실 amygdalin 및 매실가공제품의 안전성 연구: 대사체와 독성과의 상관관계)	유진, 최수진	2018년 4월 27일	서울여자대학 교 50주년 기념관	대한민국
6	2018 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting(Toxicokinetics and 14-day oral toxicity of maesil-cheongs)	Hyeon-Jin Kim, Ji-Soo Hwang, Soo-Jin Choi	2018년 6월 28일	부산 BEXCO	대한민국
7	2018 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting(Changes in characteristics of maesil liquor depending on aging)	조정원, 김수연, 김병용, 김현석	2018년 6월 28일	부산 BEXCO	대한민국
8	2018 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting(Characteristics of maesil wine depending on manufacturing processes and aging)	조정원, 김수연, 김병용, 김현석	2018년 6월 28일	부산 BEXCO	대한민국
9	대한 독성 유전·단백체 학회 2018년 국제학술대회 및 정기총회(Protective role of Maesil syrup in enzymatic degradation and amygdalin toxicity)	Jin Yu, Ji-Soo Hwang, Soo-Jin Choi	2018년 11월 1일	베스트 웨스턴 프리미어 서울가든호텔	대한민국
10	2018 KFN International Symposium and Annual Meeting(자외선조사 매실청을 이용한 매실고추장의 제조 및 품질특성 변화)	서서영, 최현우, 김이재, 김재현, 김현석	2018년 11월 1일	부산 BEXCO	대한민국
11	2018 KFN International Symposium and Annual Meeting(매실청의 아미그달린, 페놀성화합물과 5-HMF 함량에 대한 숙성기간의 영향)	최현우, 서서영, 김지은, 김현석	2018년 11월 1일	부산 BEXCO	대한민국
12	(사)한국산업식품공학회 2018년 추계 학술대회 및 심포지엄(매실청의 아미그달린 대사체 생성 저해 기능성 연구)	유진, 황지수, 최수진	2018년 11월 30일	CJ Blossom Park Conference Hall(수원)	대한민국
13	(사)한국산업식품공학회 2018년 추계 학술대회 및 심포지엄(매실청의 UV처리를 통한 amygdalin 함량 변화)	조정원, 김수연, 김현석, 김병용	2018년 11월 30일	CJ Blossom Park Conference Hall(수원)	대한민국

## 6. 연구인력양성 성과

번호	분류	기준 년도	현 황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	전문연구인력 (고미란)	2018		1				1	1				
2	전문연구인력 (배송화)	2018		1				1	1				
3	전문연구인력 (김현진)	2018		1				1	1				

## 7. 고용창출

번호	고용인력	고용기관명	고용창출일	고용형태
1	임정숙	힐링습농장영농조합법인	2017년 5월 1일	정규직
2	이민복	힐링습농장영농조합법인	2017년 10월 11일	정규직
3	최성진	힐링습농장영농조합법인	2018년 9월 1일	정규직

## 8. 기타

번호	수상(포상)명	수여기관	수상일	수상기관
1	우수논문발표상	대한 독성 유전단백체 학회	2017년 11월 2일	서울여자대학교 산학협력단



### 제3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 제1절. 목표달성여부

##### 1. 정성목표

구분	세부연구개발 목표	달성도
1차년도 (2017년)	▪ 매실/매실가공품의 국내 시장현황 조사	100%
	▪ 매실가공제품의 제조공정/숙성기간별 아미그달린 함량 분석	100%
	▪ 매실 품종별 아미그달린/영양성분 분석 및 매실/매실가공제품의 아미그달린 저감화 방법 모색	100%
	▪ 기존 생산되고 있는 매실가공제품에 대한 in vitro 독성 및 안전성 평가 기술 개발	100%
	▪ 매실을 활용한 초절임식품 및 고추장소스 개발	100%
2차년도 (2018년)	▪ 아미그달린 저감화 매실청 및 매실주 개발 및 제품화	80%
	▪ 매실의 성장정도에 따른 아미그달린/영양성분 분석 및 활성화 화종 조사처리의 연속공정 개발	100%
	▪ 아미그달린 저감화 제품의 안전성 평가기술 개발(세포수준/동물모델 적용) 및 독성 안전성 자료 확보	100%
	▪ 매실/매실가공품의 국외 시장현황 조사	100%
	▪ 활성화화종 연속처리 공정의 현장실증 시험을 통한 아미그달린 저감 기술 구축	100%

## 2. 정량목표

성과 목표	사업화지표											연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍 보		기 타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출원	특 허 등록	품 종 등록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		논 문 평 균 IF	학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SCI	비 SCI							
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	20%			15%		15%			10%				15%	15%		5%			5%	
최종목표	2	2		1	5	2	25	25	2			2	3	1.0	4		2		4	
연구 기간 내	목표	2		1		2			2			2	3	1.0	4		2		4	
	실적	2		1	5	3	11.3		3			1	3	342	13		3		1	
연구 종료 후	목표		2		5		25	25												
	실적																			
최 종	목표	2	2	1	5	2	25	25	2			2	3	1.0	4		2		4	
	실적	2		1	5	3	11.3		3			1	3	342	13		3		1	

## 제2절. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

### ○ 2차년도에 아미그달린 저감화 매실청 및 매실주 제품화 미달성

- 아미그달린 저감화 공정이 개발되었고, 이와 관련된 연속식 자외선조사 처리 공정과 장치는 개발을 완료하였다. 그러나 개발된 아미그달린 저감화 공정을 현재의 생산시설에 적용하기 위해서는 현재 공정을 개조하는 자금과 시간이 필요한 실정으로 아미그달린이 저감화된 매실청의 제품화를 달성하지 못하였다. 또한 본 주관연구기관인 슬로푸드(주)농업회사법인은 주류판매 허가가 없는 상황으로 아미그달린 저감화 매실주를 제품화하기 어려운 상황이다.
- 현재 슬로푸드(주)농업회사법인은 투자를 유치하여 건강기능식품원료인 매실농축액을 생산하는 GMP 공장을 설립 중에 있으며, 현재의 매실청 생산시설보다는 개발된 아미그달린 저감화 공정을 새로이 설립하고 있는 GMP 공장에 적용을 하려 시도하고 있으며, 공장설립이 완료되면 아미그달린 저감화 매실청 제품을 제조하여 판매할 수 있을 것이다.
- 아미그달린 저감화 매실주의 제품화는 매실주를 생산하는 관련 업체에 매실주의 아미그달린 저감화 기술을 기술이전함으로써 아미그달린 저감화 매실주의 제품화를 달성할 수 있을 것으로 기대하고 있다. 현재 매실주 생산 업체 및 농가에 기술이전을 타진하고 있는 실정이다.

○ 본 연구과제에는 매실청에 존재하는 아미그달린에 의한 독성영향을 세포와 동물수준에서 종합적으로 연구하여 안전성에 대한 과학적 정보를 제공하고자 하였으며, 기타 농산물에 존재하거나 이를 이용한 가공제품에서 생성되는 유해물질의 인체 안전성 자료 확보를 위한 지속적인 연구가 필요하다.

○ 매실 등을 이용한 가공제품의 기능성 성분들이 독성영향을 감소시킬 수 있는 가능성이 제시되었는데, 기능성 성분과 독성영향과 상관관계에 대한 후속연구가 지속적으로 필요하다.

○ 본 연구과제에서 개발된 저감화 공정은 농산물에 존재하거나 가공과정에서 생성되는 기타 다른 유해물질의 저감화 공정에도 활용될 수 있으므로 보다 다양한 가공제품에 확대 적용될 필요성이 있다.

### 제3절. 관련분야 기여도

- 일상생활에서 자주 접해왔으나 과학적인 독성영향 정보가 부족한 매실 가공제품의 인체 안전성 자료를 세포와 동물수준에서 확보하였으며, 체내 대사와 독성기작과 연계하여 종합적인 독성연구를 수행함으로써 농산물 기반 가공제품의 안전성 연구 수준을 한 단계 발전시킬 수 있다.
- 매실가공제품의 다양한 기능성 성분들이 매실에 함유된 아미그달린의 독성을 감소시키는데 기여할 수 있음이 과학적으로 제시됨으로써 매실가공제품의 기능성으로 인한 산업 활성화에 기여할 수 있을 것이다.
- 매실가공제품에서 아미그달린 저감화 공정을 개발하고 저감화 효과를 *in vitro*와 *in vivo* 수준에서 확인함으로써 매실가공제품의 산업화 및 활성화에 기여할 수 있다.

## 제4장. 연구결과의 활용 계획 등

### 제1절. 연구결과 및 연구성과의 활용계획

- 본 연구개발을 통해 전통적인 제조방법에 의한 매실청 및 매실주의 아미그달린 부재의 검증으로 소비자의 클레임과 악의적 보도에 대한 대응근거로 활용
- 전통적인 제조방법이 아미그달린의 저감 및 제거에 효과적인 방법임이 증명으로 기존의 매실청 및 매실주 제조·판매업체들의 마케팅 전략으로 활용
- 개발된 아미그달린 저감화 공정들은 매실과 같이 독성성분을 함유한 핵과류 가공업체들에 제공하여 독성성분 저감 제품 생산에 활용
- 본 연구개발의 기존 매실가공품과 아미그달린 저감 매실가공품의 생체독성 평가를 통해 이들의 안전성을 구명하여 소비자들의 매실가공품에 대한 불안감 해소에 활용이 가능
- 본 연구개발을 통해 개발된 아미그달린 저감 기술들과 아미그달린 저감 매실가공품들에 대한 특허를 출원 및 등록에 대한 근거자료로 활용
- 아미그달린의 생체 독성 평가와 아미그달린 저감 기술로부터 얻어진 결과들은 국내·외 전문학술지에 논문들의 출간에 활용
- 본 연구개발로부터 개발된 아미그달린 저감 매실가공품들은 최근 건강증진/유지 가공식품 트렌드에 부합하여 국민건강 및 보건 증진에 기여할 수 있음
- 본 연구결과에서 도출한 아미그달린의 독성과 대사체와 상관관계 분석 기술 개발 결과를 기타 다른 농산물 및 이를 이용한 가공제품에서 독성성분의 인체 영향을 규명하는데 활용
- 세포수준과 동물수준에서 수행한 아미그달린 및 매실청에 대한 독성평가기술 개발 연구 결과를 기타 식품 또는 농산물에 존재하는 유해물질의 인체 안전성을 평가하는데 활용
- 매실청의 기능성 성분들이 매실에 존재하는 아미그달린의 체내 대사를 저해하여 독성영향을 감소시킬 수 있는 새로운 기능성이 제시되었으므로, 이에 대한 지속적 후속 연구를 수행하여 매실청의 기능성 성분과 독성 영향에 대한 상관관계를 규명하는데 활용
- 매실청의 안전성 자료를 다양한 매실 가공제품의 산업화, 제품화 및 수출 근거 자료로 활용

## 제2절. 추가 연구의 필요성 및 계획

### 1. 추가 연구의 필요성

- 본 연구과제에는 매실청에 존재하는 아미그달린에 의한 독성영향을 세포와 동물수준에서 종합적으로 연구하여 안전성에 대한 과학적 정보를 제공하고자 하였으며, 기타 농산물에 존재하거나 이를 이용한 가공제품에서 생성되는 유해물질의 인체 안전성 자료 확보를 위한 지속적인 연구가 필요하다.
- 매실 등을 이용한 가공제품의 기능성 성분들이 독성영향을 감소시킬 수 있는 가능성이 제시되었는데, 매실청에서의 기능성 성분과 독성영향과 상관관계에 대한 후속연구가 지속적으로 필요하다.
- 본 연구과제에서 개발된 저감화 공정은 농산물에 존재하거나 가공과정에서 생성되는 기타 다른 유해물질의 저감화 공정에도 활용될 수 있으므로 보다 다양한 가공제품에 확대 적용될 필요가 있다.

### 2. 추가 연구 계획

- 매실청의 기능성 성분 중 어떠한 성분이 아미그달린의 체내 대사 변화를 저해하여 독성 영향을 감소시키는지에 대한 구체적 성분 규명 및 메커니즘적 연구를 수행하고자 한다.
- 기타 다른 유해성분의 저감화를 위해 플라즈마 및 UVC 처리 공정을 활용하여 적용 후, 이를 적용한 제품에 대한 인체 안전성 영향을 지속적으로 연구해 나가고자 한다.
- 플라즈마 및 UVC 처리 공정을 다양한 식품 유해성분의 저감화 공정에 적용하고자 유해성분 종류에 따른 최적 공정을 확립해 나가고자 한다.

## 붙임. 참고문헌

- AACC. Approved methods of the AACC International. 10<sup>th</sup> ed: American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA (2000)
- Abban S, Brimer L, Abdelgadir WS, Jakobsen M, Thorsen L. Screening for *Bacillus subtilis* group isolates that degrade cyanogens at pH 4.5–5.0. *Int. J. Food Microbiol.* 161: 31–35 (2013)
- Akyildiz BN, Kurtoglu S, Kondolot M, Tunc A. Cyanide poisoning caused by ingestion of apricot seeds. *Ann. Trop. Paediatr.* 30: 39–43 (2010)
- Ames MM, Kovach JS, Flora KP. Initial pharmacologic studies of amygdalin (laetrile) in man. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 22: 175–185 (1978)
- Ames MM, Moyer TP, Kovach JS, Moertel CG, Rubin J. Pharmacology of amygdalin (laetrile) in cancer patients. *Cancer Chemoth. Pharm.* 6: 51–57 (1981)
- Anderson KA. Micro-digestion and ICP-AES analysis for the determination of macro and micro elements in plant tissues. *Atom. Spec.* 17: 30–33 (1996)
- Antonini E, Brunori M, Greenwood C, Malmstrom BG, Rotilio GC. The Interaction of cyanide with cytochrome oxidase. *Eur. J. Biochem.* 23: 396–400 (1971)
- AOAC. Official method of analysis. 17<sup>th</sup> ed: AOAC International, Gaithersberg, MD, USA (2000)
- Appel HM, Govenor HL, D'Ascenzo M, Siska E, Schultz JC. Limitations of Folin assays of foliar phenolics in ecological studies. *J. Chem. Ecol.* 27: 761–778 (2001)
- Bae SJ, Choi HW, Kim SY, Kim BY, Kim HS. Amygdalin contents of maesil and maesil-based products (abstract no. P-65). In: Abstracts: 2017 Fall Conference and Symposium of Korean Society for Food Engineering. November 2, Lakai Sandfine Resort Convention Center, Gangneung, Korea. Korean Society for Food Engineering, Anseong, Korea (2017)
- Cha HS, Hwang JB, Park JS, Park YK, Jo JS. Changes in chemical composition of mume (*Prunus mume Sieb. et Zucc*) fruits during maturation. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 6: 481–487 (1999)

- Chae MH, Park LY, Lee SH. Effect of temperature on changes of maesil (*Prunus mume*) liqueur during leaching and ripening. *Korean J. Food Preserv.* 15: 311–316 (2008)
- Chang J, Zhang Y. Catalytic degradation of amygdalin by extracellular enzymes from *Aspergillus niger*. *Process Biochem.* 47: 195–200 (2012)
- Cho JW, Kim SY, Baik MY, Kim HS, Kim BY. Changes in amygdalin contents of maesil wine and liqueur during the storage period (abstract no. P-16). In: Abstracts: 2018 Spring Conference and Symposium of Korean Society for Food Engineering. April 27, Seoul Women's University International Conference Room, Seoul, Korea. Korean Society for Food Engineering, Anseong, Korea (2018)
- Choi HJ, Kang OH, Park PS, Chae HS, Oh YC, Lee YS, Choi JG, Lee GH, Kweon OH, Kwon DY. Mume Fructus water extract inhibits pro-inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *J. Med. Food* 10: 460–466 (2007)
- Choi HS, Kim MK, Park HS, Kim YS, Shin DH. Alcoholic fermentation of *Bokbunja* (*Rubus coreanus Miq.*) wine. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 543–547 (2006)
- Chuda Y, Ono H, Ohnishi-Kameyama M, Matsumoto K, Nagata T, Kikuchi Y. Mumefural, citric acid derivative improving blood fluidity from fruit-juice concentrate of Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc). *J. Agr. Food Chem.* 47: 828–831 (1999)
- Cooper CE, Brown GC. The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide: chemical mechanism and physiological significance. *J. Bioenerg. Biomembr.* 40: 533–539 (2008)
- da Silva VM, Sato JAP, Araujo JN, Squina FM, Muniz JRC, Riske KA, Garcia W. Systematic studies of the interactions between a model polyphenol compound and microbial  $\beta$ -glucosidases. *PLoS ONE* 12: 1–15 (2017)
- Del Cueto J, Ionescu IA, Pičmanová M, Gericke O, Motawia MS, Olsen CE, Campoy JA, Dicenta F, Møller BL, Sánchez-Pérez Anderson KA. Cyanogenic glucosides and derivatives in almond and sweet cherry flower buds from dormancy to flowering. *Front. Plant Sci.* 8: 1–16 (2017)
- Do B, Kwon H, Lee DH, Nah AH, Choi YJ, Lee SY. Removal of cyanogenic compounds in apricot kernel during heating process. *J. Fd. Hyg. Safety* 22: 395–400 (2007)



- Egekeze JO, Oehme FW. Cyanides and their toxicity: a literature review. *Vet. Quart.* 2: 104-114 (1980)
- Feng D, Shen Y, Chavez ER. Effectiveness of different processing methods in reducing hydrogen cyanide content of flaxseed *J. Sci. Food Agr.* 83: 836-841 (2003)
- Francisco IA, Pinotti MHP. Cyanogenic glycosides in plants. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 43: 487-492 (2000)
- Franken NA, Rodermond HM, Stap J, Havenman J, van Bree C. Clonogenic assay of cells in vitro. *Nat Protoc.* 1: 2015-2019 (2006)
- Go MR, Kim HJ, Yu J, Choi SJ. Toxicity and toxicokinetics of amygdalin in Maesil (*Prunus mume*) syrup: protective effect of Maesil against amygdalin toxicity. *J. Agr. Food Chem.* 66: 11432-11440 (2018)
- Han JT, Lee SY, Kim KN, Baek NI, Rutin, antioxidant compound isolated from the fruit of *Prunus mume*, *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 44: 35-37 (2001)
- Hughes C, Lehner F, Dirikolu L, Harkins D, Boyles J, McDowell K, Tobin T, Crutchfield J, Sebastian M, Harrison L, Baskin SI, A simple and highly sensitive spectrophotometric method for the determination of cyanide in equine blood. *Toxicol. Mech. Method.* 13: 129-138 (2003)
- Hwang JY. Pharmacological effects of Maesil (*Prunus Mume*). *Food Sci. Indu.* 38: 112-119 (2005)
- Hwang JY, Ham. JW, Nam SH. The antioxidant activity of Maesil (*Prunus Mume*). *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 461-464 (2004)
- Hwang LH, Kim AK, Park KA, Kim JY, Hwang IS, Chae YZ. The effect of raw material, alcohol content, and trans-resveratrol on the formation of ethyl carbamate in plum wine. *J. Fd. Hyg. Safety* 24: 194-199 (2009)
- Jo MR, Bae SH, Go MR, Kim HJ, Hwang YG, Choi SJ. Toxicity and biokinetics of colloidal gold nanoparticles. *Nanomaterials* 5: 835-850 (2015)
- Jung GT, Ju IO, Ryu J, Choi JS, Choi YG. Studies on manufacture of wine using apricot. *Korean J. Food Preserv.* 10: 493-497 (2003)

- Kang CK. A historical study on fruits in Korea. J. Korean Soc. Food Cult. 5: 301-312 (1990)
- Kim NY, Eom MN, Do YS, Kim JB, Kang SH, Yoon MH, Lee JB. Determination of ethyl carbamate in maesil wine by alcohol content and ratio of maesil (*Prunus mume*) during ripening period. Korean J. Food Preserv. 20: 429-434 (2013)
- Kang MY, Jeong YH, Eun JB. Physical and chemical characteristics of flesh and pomace of Japanese apricots(*Prunus mume Sieb. et Zucc.*). Korean J. Food Sci. Technol. 31: 1434-1439 (1999)
- Kim YS, Jeong DY, Shin DH. Optimum fermentation conditions and fermentation characteristics of mulberry (*Morus alba*) wine. Korean J. Food Sci. Technol. 40: 63-69 (2008)
- Kim YD, Kang SK, Hyun KH. Contents of cyanogenic glucosides in processed foods and during ripening of ume according to varieties and picking date. Korean J. Food Preserv. 9: 42-45 (2002)
- Kim YD, Kang SH, Kang SK. Studies on the acetic acid fermentation using Maesil juice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 25: 695-700 (1996)
- Kim YD, Koo SK, Hyun KH. Contents of cyanogenic glucosides in processed foods and during ripening of ume according to varieties and picking date. Korean J. Food Preserv. 9: 42-45 (2002)
- Kim EJ, Lee HJ, Jang JW, Kim IY, Kim DH, Kim HA, Lee SM, Jang HW, Kim SY, Jang YM, Im DK, Lee SH. Analytical determination of cyanide in Measil (*Prunus mume*) extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 42: 130-135 (2010)
- Kim Y, Ximenes E, Mosier NS, Ladisch M.R. Soluble inhibitors/deactivators of cellulase enzymes from lignocellulosic biomass. Enzyme Microb. Tech. 48: 408-415 (2011)
- Kim JY, Yi YH. pH, Acidity, color, amino acids, reducing sugars, total sugars, and alcohol in puffed millet powder containing millet takju during fermentation. J. Food Sci. Technol. 42: 727-732 (2010)
- Kim HS, Yoo HS. Preparing method of highly-dispersed Chinese yam flour using simultaneous treatment of UV irradiation and organic acid. Korean patent 10-1578040 (2015)

- Lee OK, Lee HJ, Shin YS, Ahn YG, Jo HJ, Shin HC, Kang HY. Quantitative analysis of the fruit flesh of *Prunus mume* Siebold & Zuccarni. Korean J. Medicinal Crop Sci. 15: 143-147 (2007)
- Lee JH, Na MS, Lee MY. Effects of ethanol extract of *Prunus mume* on the antioxidative system and lipid peroxidation on ethanol induced hepatotoxicity in rat liver. Korean J. Food Preserv. 11: 71-78 (2004)
- Lee SH, Park LY, Chae MH. Effect of alcohol concentration on quality changes of maesil (*Prunus mume*) liqueur during leaching and ripening. Korean J. Food Preserv. 14: 552-556 (2007)
- Lee JE, Won YD, Kim SS, Koh KH. The chemical characteristics of Korean red wine with different grape varieties. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 151-156 (2002)
- Lim SJ, Eun JB. Processing and distribution of Maesil, Japanese apricot in Korea. Food Sci. Indu. 45: 2-9 (2012)
- Lim JW, Jeong JT, Lim YT. Preparing method of stone fruits wine having reduced cyanide. Korean Patent 10-2011-0004601 (2011)
- Menon R, Munjal N, Sturino JM. Characterization of amygdalin-degrading *Lactobacillus* species. J. Appl. Microbiol. 118: 443-463 (2014)
- Newmark J, Brady RO, Grimley PM, Gal AE, Waller SG, Thistlethwaite JR. Amygdalin (Laetrile) and prunasin  $\beta$ -glucosidases: distribution in germ-free rat and in human tumor tissue. P. Natl. Acad. Sci. USA. 78: 6513-6516 (1981)
- Oh JM, Choi SJ, Kim ST, Choy JH. Cellular uptake mechanism of an inorganic nanovehicle and its drug conjugates: Enhanced efficacy due to clathrin-mediated endocytosis. Bioconjugate chem. 17: 1411-1417 (2006)
- Otsuka T, Tsukamoto T, Tanaka H, Inada K, Utsunomiya H, Mizoshita T, Kumagai T, Katsuyama T, Miki K, Tatematsu M. Suppressive effects of fruit-juice concentrate of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. (Japanese apricot, ume) on *Helicobacter pylori*-induced glandular stomach lesions in Mongolian gerbils. Asian Pac. J. Cancer P. 6: 337-341 (2005)
- Park LY, Chae MH, Lee SH. Effect of ratio of Maesil(*Prunus mume*) and alcohol on quality changes of maesil liqueur during leaching and ripening. Korean J. Food Preserv. 14: 645-649 (2007)

- Peng S, Cao Q, Qin Y, Li X, Liu G, Qu Y. An aldonolactonase AltA from *Penicillium oxalicum* mitigates the inhibition of  $\beta$ -glucosidase during lignocellulose biodegradation. *Appl. Microbiol. Biot.* 101: 3627–3636 (2017)
- Piirainen L, Peuhkuri K, Backstrom K, Korpela R, Salminen S. Prune juice has a mild laxative effect in adults with certain gastrointestinal symptoms. *Nutr. Res.* 27: 511–513 (2007)
- Poulton JE, Li CP. Tissue level compartmentation of (R)-amygdalin and amygdalin hydrolase prevents large-scale cyanogenesis in undamaged *Prunus* seeds. *Plant Physiol.* 104: 29–35 (1994)
- Sanchez-Perez R, Jørgensen K, Olsen CE, Dicenta F, Møller BL. Bitterness in almonds. *Plant Physiol.* 146: 1040–1052 (2008)
- Sanchez-Verlaan P, Geeraerts T, Buys S, Riu-Poulenc B, Cabot C, Fourcade O, Megarbane B, Genestal M. An unusual cause of severe lactic acidosis: cyanide poisoning after bitter almond ingestion. *Intens. Care Med.* 37: 168–169 (2011)
- Shim JH, Park MW, Kim MR, Lim KT, Park ST. Screening of antioxidant in *Fructus mume* (*Prunus Mume* Sieb. et Zucc.) extract. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 45: 119–123 (2002)
- Shim SM, Kwon H. Metabolites of amygdalin under simulated human digestive fluids. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 61: 770–779 (2010)
- Shim KH, Sung NK, Choi JS, Kang KS. Changes in major components of Japanese apricot during ripening. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 18: 101–108 (1989)
- Shin JH, Lee SJ, Jung WJ, Kang MJ, Sung NJ. Physicochemical characteristics of Galic (*Allium sativum* L.) on collected from the different regions. *J. Agri. Life Sci.* 45: 103–114 (2011)
- Shragg TA, Albertson TE, Fisher Jr CJ. Cyanide poisoning after bitter almond ingestion. *Western J. Med.* 136: 65–69 (1982)
- Silem A, Günter HO, Einfeldt J, Boualia A. The occurrence of mass transport processes during the leaching of amygdalin from bitter apricot kernels: detoxification and flavour improvement. *Int. J. Food Sci. Tech.* 41: 201–213 (2006)

- Son SJ, Jeong YJ, Kim SY, Choi JH, Kim NY, Lee HS, Bae JM, Kim SI, Lee HS, Shin JS, Han JS. Analysis of amygdalin of content Prunus mume by variety, harvest time, and fermentation conditions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 46: 721-729 (2017)
- Suchard JR, Wallace KL, Gerkin RD. Acute cyanide toxicity caused by apricot kernel ingestion. *Ann. Emerg. Med.* 32: 742-744 (1998)
- Tatsuma T, Tani K, Ogawa T, Oyama N. Interference-based amygdalin sensor with emulsin and peroxidase. *Sensor. Actuat. B-Chem.* 49: 268-272 (1998)
- Tunçel G, Nout MJR, Brimer L. The effects of grinding, soaking and cooking on the degradation of amygdalin of bitter apricot seeds. *Food Chem.* 53: 447-451 (1995)
- Wagner B, Galey WR. Kinetic analysis of hexose transport to determine the mechanism of amygdalin and prunasin absorption in the Intestine. *J. Appl. Toxicol.* 23: 371-375 (2003)
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64: 555-559 (1999)

[별첨 1]

## 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 매실 및 매실가공 제품의 아미그달린 함량분석과 저감화 공정 기술 개발				
	(영문) Development of reducing process and technique of amygdalin from maesil ( <i>Prunus mume</i> ) and its quantification				
주 관 연구 기관	슬로푸드(주)농업회사법인		주 관 연 구	(소속) 총무부/연구개발부	
참 여 기 업	슬로푸드(주)농업회사법인 힐링습농장영농조합법인		책 임 자	(성명) 이 강 삼	
총연구개발비 (525,000천원)	계	657,500천원	총 연 구 기 간	2017.04.21. ~ 2018.12.31. (2년)	
	정부출연 연구개발비	525,000천원	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	38명
	기업부담금	132,500천원		내부인원	15명
	연구기관부담금	-		외부인원	23명
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <p>&lt;연구개발 목표&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 매실의 품종별·숙기별 및 매실제품의 제조공정별 아미그달린 함량에 대한 현황 분석</li> <li>▪ 매실가공제품의 가공공정에 따른 저감화 공정 및 기술개발</li> <li>▪ 최종 매실제품의 안전성 검증을 바탕으로 한 저감화 공정 및 기술 제시</li> </ul> <p>&lt;연구개발 성과&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 특허출원(국내) : 2건 / 기술이전 : 1건(기술료 : 5,000천원[VAT 별도])</li> <li>▪ 제품화 : 3건(매실발효차, 매실초고추장, 유기농매실액/국내매출 : 11,315,000원)</li> <li>▪ SCI논문 : 1편(IF 3.412) / 비SCI 논문 : 3편 / 학술발표 : 13건</li> <li>▪ 고용창출 : 3명</li> <li>▪ 전문인력양성 : 3명</li> <li>▪ 기타 : 1건</li> </ul> <p>○ 연구내용 및 결과</p> <p>&lt;연구내용&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 매실 및 매실가공제품에 대한 국내외 시장조사</li> <li>▪ 매실 대표 품종(2-3종)의 숙기별, 부위별, 개화시기별 아미그달린 등 성분 함량 분석             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 분석항목: 아미그달린, 일반성분, 유기산, 무기질, 비타민 등</li> </ul> </li> <li>▪ 매실가공제품(매실청, 매실주 등)의 용도별, 제조공정별, 숙성기간별 아미그달린 함량 분석             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제조공정별 및 저장기간에 따른 함량 분석</li> </ul> </li> <li>▪ 매실 및 매실가공제품의 아미그달린 저감화 방법 모색 및 저감 공정 기술개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 최적 저감화 제조 공정 개발 및 저감화 신기술개발</li> </ul> </li> <li>▪ 아미그달린 저감화 제품의 안전성 평가기술 개발(세포수준/동물모델 적용) 및 독성 안전성 자료 확보             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 일반가공제품 vs 저감화 가공제품 비교 분석</li> </ul> </li> </ul>					

- 아미그달린 저감화 기술을 통한 매실가공제품 생산 및 최적 가공공정 제시
  - 최적 저감화 기술 및 가공공정 프로토콜 확보

<연구개발 결과>

- 매실/매실가공품의 국내외 시장현황 조사 완료
- 매실의 아미그달린 추출은 50% 에탄올을 추출용매로 하여 시료와 용매를 1:10의 비율로 혼합하여 4시간 이상 동안 상온에서 교반하는 것임.
- 아미그달린은 매실의 과육보다 씨에 다량 함유되어 있었으며, 청매실로부터 숙성된 황매실의 아미그달린 함량이 유의적으로 낮음.
- 매실이 매화나무에 맺힌 후 아미그달린은 급격히 증가하여 5월 하순까지 성숙하는 동안 지속적으로 증가한 후 수확철인 6월경부터는 아미그달린이 감소하였음. 매실 5 품종에서 공통적으로 관찰되었음.
- 매실 5품종의 과육에 대한 아미그달린 함량, 일반성분, 식이섬유, 유기산, 비타민, 무기질, 폴리페놀, 유리당 함량들을 정량하였음.
- 매실청 제조 시 아미그달린이 당침 2개월까지 급격히 증가하며 당침 3개월에 소폭감소하고, 액분리 후 숙성하는 동안 아미그달린이 지속적으로 감소됨을 확인하였음.
- 5품종의 매실을 이용하여 매실청을 제조하며 제조공정별/숙성기간별 아미그달린 함량의 변화를 추적 조사하였음.
- 5품종 매실을 이용하여 제조된 매실청의 아미그달린 함량, 일반성분, 식이섬유, 유기산, 비타민, 무기질, 폴리페놀, 유리당 함량들과 색 특성 등을 분석하였음.
- 장기간(1-3년) 숙성된 매실청들의 아미그달린 함량, 일반성분, 식이섬유, 유기산, 비타민, 무기질, 폴리페놀, 유리당 함량들과 색 특성 등을 분석하였음.
- 매실 침출주와 매실와인의 제조공정에 따른 아미그달린 함량을 추적조사하였으며, 매실주들의 숙성기간 동안 아미그달린이 감소하는 현상을 확인하였음.
- 매실 엽절임(우메보시)와 매실 초절임(매실초)의 제조공정별/숙성기간별 아미그달린 함량을 추적조사하였음.
- 매실청과 침수형 자외선 조사처리한 매실청을 이용하여 매실고추장을 제조하고 이들의 아미그달린 함량과 품질 특성을 조사하였음. 고추장 제조 시 매실청을 이용하는 것은 고추장의 일부 품질을 저하시켰음.
- 기 생산 2종 및 아미그달린 저감화 매실가공제품(매실청) 2종에 대한 독성 평가기술 개발 및 독성자료를 확보하였는데, 아미그달린의 독성이 체내 분해되면서 대사체 형성에 기인함을 확인하였고, 매실청에서는 대사체 형성이 저해되어 독성을 감소시킬 수 있는 것으로 나타남.
- 기 생산 2종 및 아미그달린 저감화 매실가공제품(매실청) 2종에 대한 체내 흡수율 평가기술 개발 및 흡수율 자료를 확보하였는데, 매실과 함께 숙성, 매실 제거 후 숙성한 기 생산 매실청의 경우 체내 흡수량이 극히 낮으며 특히 매실과 함께 숙성한 매실청의 흡수율이 감소되었고, 플라즈마 및 UVC 처리에 의한 저감화 매실청의 체내 흡수율이 약 70% 감소하여 체내 저감화 효과를 확인함.
- 기 생산 2종 및 아미그달린 저감화 매실가공제품(매실청) 2종에 대한 동물모델에서 경구독성 평가기술 개발 및 독성자료를 확보하여, 매실과 함께 숙성, 매실 제거 후 숙성한 기 생산 매실청이 경구독성이 없으며 플라즈마 및 UVC 처리에 의한 저감화 매실청의 경구독성이 없음을 확인함.
- 기 생산 매실청과 아미그달린 저감화 매실청의 안전성 비교 분석 자료를 확보함.
- 매실청 생산 시 살균(열처리)는 아미그달린 저감 효과가 없음을 확인함.
- 습식플라즈마 처리를 적용 시 입력전압 80 V에서 플라즈마를 형성시켜 플라즈마 에너지 320 W로 유지하면서 60분간 플라즈마 처리할 때, 매실청의 아미그달린 감소율 27% 달성함.
- 습식플라즈마 처리는 매실주와 같이 휘발성 성분(알코올)이 많은 제품에는 적절치 않음
- 건식 UV-C 자외선조사 처리는 매실청, 매실 침출주와 매실와인의 아미그달린을 저감할 수 없었음.
- 침수형 UV-C 자외선조사 처리는 매실청, 매실 침출주와 매실와인의 아미그달린을 33-60% 저감시킬 수 있었음.
- 매실청 및 매실 침출주의 폴리페놀성 화합물의 농도 증가는 침수형 UV-C 자외선조사 처리의 아미그달린 저감 효과를 낮추었음.
- 매실청과 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속시 자외선조사 처리 공정 및 장치를 개발하였음.
- 유기농매실액, 매실초고추장, 매실발효차를 개발하여 제품화하였음.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 본 연구개발로부터 얻어진 연구결과들로부터 SCI급 논문 1편(IF 3.412), 비SCI급 논문 3편, 학술발표 13건, 특허출원 2건, 기술이전 1건(기술료 5백만원), 제품화 3건(11.3백만원)의 연구성과들을 달성하였으며, 본 연구개발의 수행으로 3명의 석사급 전문연구인력이 배출하였고, 3명의 고용창출이 달성되었으며, 기타(수상실적) 1건을 달성하였음.
- 본 연구개발로부터 얻은 결과들은 추가적인 특허출원/등록, 논문발표 및 기술이전의 근거로 활용
- 본 연구개발을 통해 전통적인 제조방법에 의한 매실청 및 매실주의 아미그달린 부재의 검증으로 소비자의 클레임과 악의적 보도에 대한 대응근거로 활용
- 전통적인 제조방법이 아미그달린의 저감 및 제거에 효과적인 방법임이 증명으로 기존의 매실청 및 매실주 제조·판매업체들의 마케팅 전략으로 활용
- 개발된 아미그달린 저감화 공정들은 매실과 같이 독성성분을 함유한 핵과류 가공업체들에 제공하여 독성성분 저감 제품 생산에 활용
- 본 연구과제에서 도출된 세포 및 동물수준 안전성 평가기술을 다양한 농산물 및 식품 유해성분의 안전성 평가 기술로 활용
- 매실가공제품에 대한 과학적이고 종합적인 안전성 자료를 확보하여 소비자의 막연한 불안감을 해소하는데 기여
- 본 연구개발에서 개발된 아미그달린 저감 기술은 연속공정에 의해 대량생산이 가능하며, 초기 장치설비비와 운전비용이 저렴하며, 아미그달린 저감 효과가 클 것으로 예상되어 국내·외 관련 산업에서 기술적 우위의 점유가 기대
- 안전성이 확보된 매실가공제품을 생산함으로써 매실 산업의 활성화 및 세계화에 기여하며, 이로 인해 매실 생산 및 가공산업의 활성화로 청년고용창출이 가능할 수 있으며, 지역경제 활성화에도 기여
- 본 연구개발로부터 개발된 아미그달린 저감 매실가공품들은 최근 건강증진/유지 가공식품 트렌드에 부합하여 국민건강 및 보건의 증진에 기여



## 자체평가의견서

### 1. 과제현황

		과제번호	317002-2		
사업구분	고부가가치기술개발사업				
연구분야	매실, 식품		과제구분	단위	
사업명	농생명산업기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	매실 및 매실가공 제품의 아미그달린 함량분석과 저감화 공정 기술 개발		과제유형	개발	
연구기관	슬로푸드(주)농업회사법인		연구책임자	이강삼	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2017.04.~2017.12.	225,000	57,500	282,500
	2차연도	2018.01.~2018.12.	300,000	75,000	375,000
	3차연도				
	4차연도				
	5차연도				
	계	2017.04.~2018.12.	525,000	132,500	657,500
참여기업	슬로푸드(주)농업회사법인, 힐링습농장영농조합법인				
상대국	-	상대국연구기관	-		

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2019.02.14.

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
슬로푸드(주)농업회사법인	대표	이강삼

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	이강삼
----	-----

# I. 연구개발실적

## 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발에서 매실가공품의 침수형 UV-C 자외선조사 처리에 의한 아미그달린을 저감할 수 있는 기술을 개발하였으며, 이에 기초한 연속식(또는 연속순환식) 자외선조사 처리 공정 및 장치를 개발하였음. 개발된 기술은 현재 적용되고 있는 곳이나 기존 연구결과가 부재하여 개발기술의 우수성, 독창성, 신규성이 높음. 또한 숙성별, 성숙별, 품종별 매실과 제조공정별, 숙성기간별 매실가공제품들의 아미그달린의 변화를 제공할 수 있는 근거를 확보하여 향후 매실산업활성화에 지대한 기여를 할 수 있음. 게다가 기존 생산되고 있는 매실가공제품(매실청 2종)과 아미그달린 저감화 제품(매실청 2종)에 대한 안전성을 세포와 동물수준에서 세포독성, 독성동태, 흡수율 및 경구독성 관점에서 연구하여 인체 안전성에 대한 종합적 정보를 제공하였음. 특히 독성 메커니즘과 연계한 연구결과 아미그달린의 독성이 체내 대사체 형성에서 기인함을 입증하였고 아울러 매실청의 기능성 성분이 아미그달린 대사체 형성을 저해하여 독성을 감소시킬 수 있는 새로운 가능성을 제시함. 이와 같은 매실가공제품의 안전성에 대한 연구는 전 세계적으로 최초의 연구에 해당되며 연구 결과를 농업분야 JCR 랭킹 상위 3.5% 저널인 J. Agri. Food. Chem.에 2018년도 게재한 바 있음.

## 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발에서 구축된 아미그달린 저감 기술과 매실 및 매실가공제품에 대한 정보들을 확보하였음. 또한 기존 생산되고 있는 매실청 2종과 아미그달린 저감화 매실청 2종에 대한 세포 및 동물수준 독성 자료를 확보함으로써 소비자의 막연한 불안감을 해소하기 위한 과학적이고 종합적인 정보를 제공함. 도출된 안전성 자료는 다양한 매실가공제품의 산업화 및 세계화에 기여할 수 있을 것으로 보여짐.

## 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

숙성별, 성숙별, 품종별 매실의 아미그달린 변화와 제조공정별, 숙성기간별 매실가공제품들의 아미그달린 변화를 제공하여 매실농장 및 매실가공업체에 활용도가 매우 높을 것으로 보임. 또한 매실가공제품들의 아미그달린 저감 기술의 개발로 매실가공제품들에 대한 소비자 불안감 해소와 언론의 대응에 활용이 가능하여 매실산업활성화에 기여할 수 있음. 게다가 세포수준과 동물수준에서 수행한 아미그달린 및 매실청에 대한 독성평가기술 개발 연구 결과를 기타 식품 또는 농산물에 존재하는 유해물질의 인체 안전성을 평가하는데 활용함. 매실청의 기능성 성분들이 매실에 존재하는 아미그달린의 체내 대사를 저해하여 독성영향을 감소시킬 수 있는 새로운 가능성이 제시되었으므로, 이에 대한 지속적 후속 연구를 수행하여 매실청의 기능성 성분과 독성 영향에 대한 상관관계를 규명하는데 활용함. 본 연구과제를 통해 개발된 아미그달린 저감화 기술은 기타 다른 식품, 농산물 및 가공제품에서 유해성분의 저감을 위한 신기술로 활용될 수 있을 것임.

## 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발계획서에 준하여 각 연구기관들은 연구개발을 성실히 수행하였으며, 정량적 및 정성적 연구성과들을 충실히 달성하였음. 다만 아미그달린 저감 기술 개발과 이를 적용한 아미그달린 저감 매실청과 매실주를 제품화하지 못하였는데, 이는 현재의 생산시설의 개선 및 변경을 추진 중에 있어 완료되는대로 달성할 예정임. 또한 본 연구과제에서는 기존 생산되고 있는 매실청 2종(매실과 함께 숙성, 매실 제거 후 숙성)과 아미그달린 저감화 매실청 2종(플라즈마, UVC 처리)에 대한 세포 및 동물수준 독성자료를 확보하였으며, 특히 매실청의 안전성에 대한 우려가 매실 자체에 존재하는 아미그달린에서 기인하는 점을 고려하여 매실과 함께 숙성한 매실청에 대한 독성연구를 추가적으로 병행수행하여 매실청의 새로운 가능성을 제시함. 또한 아미그달린의 독성 기작과 연계한 연구결과, 매실청이 아미그달린의 대사체 형성을 저해함으로써 독성영향을 감소시킬 수 있음을 세계 최초로 입증하여 제시함.

#### 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발을 통해 특허출원 2건, 기술이전 1건(기술료 5백만원), 제품화 3건(국내매출액 11.3백만원), 고용창출 3명, SCI논문 1편(1편 심사중), 비SCI 논문 3편, 학술발표 13건, 인력양성 3명, 기타 1건(우수논문 발표상)을 달성하였으며, 매실가공제품(매실청 2종)에 대한 독성연구결과는 전 세계적으로 최초의 연구에 해당되며, 이러한 연구 결과를 농업분야 JCR 랭킹 상위 3.5% 저널인 J. Agri. Food. Chem.에 2018년도 게재되었음.

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
<ul style="list-style-type: none"> <li>매실/매실가공품의 국내·외 시장현황 조사</li> </ul>	10	100	- 매실/매실가공품의 국내·외 시장현황 조사 자료 확보
<ul style="list-style-type: none"> <li>매실가공제품의 제조공정/숙성기간별 아미그달린 함량 분석</li> </ul>	10	100	- 매실청, 매실 침출주, 매실와인, 매실초, 우메보시의 제조공정별 및 숙성기간별 아미그달린 함량 분석 완료
<ul style="list-style-type: none"> <li>매실 품종별 아미그달린/영양성분 분석 및 매실/매실가공제품의 아미그달린 저감화 방법 모색</li> </ul>	15	100	- 5품종의 매실의 아미그달린 및 영양성분 분석 완료 - 매실은 숙성시킬수록, 매화나무에서 숙성시킬수록 아미그달린이 감소하는 것을 확인 - 매실가공제품(매실청과 매실주)의 아미그달린 저감 기술들(열처리, 건식 및 습식 UV-C 자외선조사, 습식플라즈마처리)의 효과 검증 완료
<ul style="list-style-type: none"> <li>기존 생산되고 있는 매실가공제품에 대한 in vitro 독성 및 안전성 평가 기술 개발</li> </ul>	15	100	- 아미그달린 및 대사체 생성에 의한 세포독성 평가기술 개발 및 독성자료 확보 - 기 생산(2종) 및 아미그달린 저감화(2종) 매실청의 독성 분석기술 개발 및 자료 확보
<ul style="list-style-type: none"> <li>매실을 활용한 초절임식품 및 고추장소스 개발</li> </ul>	10	100	- 매실초 개발하였으며, 매실고추장 제조 및 품질특성 조사 완료 - 매실청을 이용한 고추장소스 개발 완료 및 제품화
<ul style="list-style-type: none"> <li>아미그달린 저감화 매실청 및 매실주 개발 및 제품화</li> </ul>	10	80	- 매실가공제품들(매실청과 매실주)의 아미그달린 저감화 기술 개발 완료 - 개발된 기술을 적용한 매실청과 매실주 개발 완료 - 아미그달린 저감 매실청 및 매실주의 제품화 추진 중
<ul style="list-style-type: none"> <li>매실의 성장정도에 따른 아미그달린/영양성분 분석 및 활성화학종 조사처리의 연속공정 개발</li> </ul>	10	100	- 매실의 성숙에 따른 아미그달린 함량변화 조사 완료 - 품종별 매실과 이들로부터 제조된 매실청의 아미그달린 함량과 영양성분 분석 완료 - 매실청 및 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속식(또는 연속순환식) 자외선조사 처리 장치와 공정 개발 완료
<ul style="list-style-type: none"> <li>아미그달린 저감화 제품의 안전성 평가기술 개발(세포수준/동물모델 적용) 및 독성 안전성 자료 확보</li> </ul>	10	100	- 기 생산(2종) 및 아미그달린 저감화(2종) 매실청에 대한 독성동태학적 연구를 통해 체내 흡수율을 평가기술 및 자료 확보 - 기 생산(2종) 및 아미그달린 저감화(2종) 매실청의 랫드에 14일 반복 경구투여에 의한 경구독성 자료 확보 - 기 생산 매실청(2종)과 아미그달린 저감화(2종) 매실청에 대한 안전성 비교 분석 자료 확보

<ul style="list-style-type: none"> <li>활성화학종 연속처리 공정의 현장 실증 시험을 통한 아미그달린 저감 기술 구축</li> </ul>	10	100	- 매실청 및 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속식(또는 연속순환식) 자외선조사 처리 장치와 공정 개발 완료
합계	100점		

### III. 종합의견

#### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

<ul style="list-style-type: none"> <li>매실의 성숙별, 숙성별, 품종별 아미그달린 함량의 제공으로 매실가공제품 개발업체들에서 아미그달린 저감된 매실가공제품들의 개발에 유용할 것임.</li> <li>매실가공제품들의 제조공정별/숙성기간별 아미그달린의 변화의 조사로 아미그달린이 최소화된 매실가공제품들의 제조에 도움이 될 것임.</li> <li>매실가공제품들의 아미그달린 저감 기술의 개발과 이에 기반한 연속식 자외선조사 처리 공정 및 장치의 개발을 완료로 아미그달린이 저감된 매실가공제품의 개발할 수 있을 것으로 판단됨.</li> <li>본 연구과제에서는 기존 생산되고 있는 매실가공제품(매실청 2종)과 아미그달린 저감화 제품(매실청 2종)에 대한 안전성을 세포와 동물수준에서 세포독성, 독성동태, 흡수율 및 경구독성 관점에서 연구하여 인체 안전성에 대한 종합적 정보를 제공하였음.</li> <li>본 연구개발에서 얻은 연구결과들을 기반으로 매실에 대한 여론을 개선하는 근거로 사용할 수 있으며, 이를 통해 매실 및 매실가공품 산업 활성화에 기여할 것으로 기대됨.</li> </ul>
---

#### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

<ul style="list-style-type: none"> <li>본 연구과제에서 아미그달린 저감 기술의 개발과 이를 적용한 매실청과 매실주를 개발하였지만, 현재 주관연구기관의 생산시설에 적용하기 위해 생산공정을 개선 및 변경하여야 하는바 상당한 시일과 투자가 필요한 상태임. 그래서 현재 주관연구기관에서 건설 중인 GMP 시설에 적용하여 생산시설이 준공되는 데로 아미그달린 저감 매실청 및 매실농축액 제품을 생산하여 제품화할 예정임을 감안하여 평가해주시길 것을 요청드립니다.</li> <li>본 연구과제에서는 매실청(매실과 함께 숙성, 매실 제거 후 숙성) 2종과 아미그달린 저감화 매실청(플라즈마, UVC 처리) 2종에 대한 안전성 연구를 in vitro 세포수준과 in vivo 동물(독성동태학적, 14일 반복 경구투여 독성) 수준에서 종합적으로 수행하였을 뿐만 아니라, 아미그달린의 독성 기작과 대사체 생성과 연계하여 매실청이 아미그달린 독성 저해 효과를 보유하고 있음을 새로이 과학적으로 제시함.</li> </ul>
---

#### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

<ul style="list-style-type: none"> <li>본 연구과제에는 매실청에 존재하는 아미그달린에 의한 독성영향을 세포와 동물수준에서 종합적으로 연구하여 안전성에 대한 과학적 정보를 제공하고자 하였으며, 기타 농산물에 존재하거나 이를 이용한 가공제품에서 생성되는 유해물질의 인체 안전성 자료 확보를 위한 지속적인 연구가 필요함.</li> <li>매실 등을 이용한 가공제품의 기능성 성분들이 독성영향을 감소시킬 수 있는 가능성이 제시되었는데, 매실청에서의 기능성 성분과 독성영향과 상관관계에 대한 후속연구가 지속적으로 필요함.</li> <li>본 연구과제에서 개발된 저감화 공정은 농산물에 존재하거나 가공과정에서 생성되는 기타 다른 유해물질의 저감화 공정에도 활용될 수 있으므로 보다 다양한 가공제품에 확대 적용될 필요성이 있음.</li> <li>아미그달린 저감 매실청 및 매실추출농축액은 주관연구기관의 GMP 시설의 준공이 완료되어 생산을 시작하는데로 제품화할 계획이며, 매실주는 주류제조허가를 보유한 업체에 기술이전을 추진하여 제품화를 진행할 계획임.</li> </ul>
--

#### IV. 보안성 검토

##### 1. 연구책임자의 의견

보안성은 일반으로 적합함.

##### 2. 연구기관 자체의 검토결과

보안성은 일반으로 적합함.

[별첨 3]

## 연구성과 활용계획서

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	매실, 식품	
연구과제명	매실 및 매실가공 제품의 아미그달린 함량분석과 저감화 공정 기술 개발			
주관연구기관	슬로푸드(주)농업회사법인	주관연구책임자	이강삼	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	525,000,000원	132,500,000원	-	657,500,000원
연구개발기간	2017.04.21. ~ 2018.12.31.			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(논문게재)			
	<input type="checkbox"/> 미활용 (사유: _____ )			

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 매실/매실가공품의 국내·외 시장현황 조사	- 매실/매실가공품의 국내·외 시장현황 조사 자료 확보
② 매실가공제품의 제조공정/숙성기간별 아미그달린 함량 분석	- 매실청, 매실 침출주, 매실와인, 매실초, 우메보시의 제조공정별 및 숙성기간별 아미그달린 함량 분석 완료
③ 매실 품종별 아미그달린/영양성분 분석 및 매실/매실가공제품의 아미그달린 저감화 방법 모색	- 5품종의 매실의 아미그달린 및 영양성분 분석 완료 - 매실은 숙성시킬수록, 매화나무에서 숙성시킬수록 아미그달린이 감소하는 것을 확인 - 매실가공제품(매실청과 매실주)의 아미그달린 저감 기술들(열처리, 건식 및 습식 UV-C 자외선조사, 습식플라즈마처리)의 효과 검증 완료
④ 기존 생산되고 있는 매실가공제품에 대한 in vitro 독성 및 안전성 평가 기술 개발	- 아미그달린 및 대사체 생성에 의한 세포독성 평가기술 개발 및 독성자료 확보 - 기 생산(2종) 및 아미그달린 저감화(2종) 매실청의 독성 분석기술 개발 및 자료 확보
⑤ 매실을 활용한 초절임식품 및 고추장소스 개발	- 매실초 개발하였으며, 매실고추장 제조 및 품질특성 조사 완료 - 매실청을 이용한 고추장소스 개발 완료 및 제품화
⑥ 아미그달린 저감화 매실청 및 매실주 개발 및 제품화	- 매실가공제품들(매실청과 매실주)의 아미그달린 저감화 기술 개발 완료 - 개발된 기술을 적용한 매실청과 매실주 개발 완료 - 아미그달린 저감 매실청 및 매실주의 제품화 추진 중
⑦ 매실의 생장정도에 따른 아미그달린/영양성분 분석 및 활성화화종 조사처리의 연속공정 개발	- 매실의 성숙에 따른 아미그달린 함량변화 조사 완료 - 품종별 매실과 이들로부터 제조된 매실청의 아미그달린 함량과 영양성분 분석 완료

	- 매실청 및 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속식(또는 연속순환식) 자외선조사 처리 장치와 공정 개발 완료
⑧ 아미그달린 저감화 제품의 안전성 평가기술 개발(세포수준/동물모델 적용) 및 독성 안전성 자료 확보	- 기 생산(2종) 및 아미그달린 저감화(2종) 매실청에 대한 독성동태학적 연구를 통해 체내 흡수율 평가기술 및 자료 확보 - 기 생산(2종) 및 아미그달린 저감화(2종) 매실청의 랫드에 14일 반복 경구투여에 의한 경구독성 자료 확보 - 기 생산 매실청(2종)과 아미그달린 저감화(2종) 매실청에 대한 안전성 비교 분석 자료 확보
⑨ 활성화화학종 연속처리 공정의 현장실증 시험을 통한 아미그달린 저감 기술 구축	- 매실청 및 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속식(또는 연속순환식) 자외선조사 처리 장치와 공정 개발 완료

\* 결과에 대한 의견 첨부 가능

### 3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문 SC I	비 SC I	논문 평균 IF			학술발표	정책 활용	
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치	20%			15%		15%			10%				15%	15%		5%			5%
최종목표	2	2		1	5	2	25	25	2			2	3	1.0	4		2		4
연간내 달성실적	2			1	5	3	11.3		3			1	3	342	13		3		1
달성율(%)	100			100	100	100			100			50	100	100	100		100		25

### 4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	습식플라즈마 처리에 의한 매실청의 아미그달린 저감 기술
②	침수형 UV-C 자외선조사 처리에 의한 매실청 및 매실주의 아미그달린 저감 기술
③	매실청 및 매실주의 아미그달린 저감을 위한 연속식 자외선조사 처리 공정 및 장치
④	기 생산 및 아미그달린 저감화 매실가공제품의 안전성 평가 기술



5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장에로 결	정책 자료	기타
①의 기술		v								v
②의 기술		v				v				
③의 기술		v				v				
④의 기술		v						v		v

\* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 관련 연구결과는 SCI급 또는 비SCI급 논문으로 출간할 계획임.</li> <li>▪ 관련 연구결과를 특허출원할 계획임.</li> </ul>
②의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 제2협동연구기관에서 주관연구기관으로 노하우 기술이전을 완료하였음.</li> <li>▪ 이를 기반으로 주관연구기관에서 특허출원을 완료하였음.</li> <li>▪ 아미그달린 저감 매실청 제조에 활용될 것으로 기대</li> </ul>
③의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 제4협동연구기관인 힐링습농장영농조합법인에서 특허출원을 완료하였음.</li> <li>▪ 주관연구기관의 설립 중인 GMP 시설에 특허출원된 공정 및 장치를 설비를 타진 하고 있음.</li> <li>▪ 아미그달린 저감 매실청 및 매실농축액(기능성식품원료)의 제품화가 기대</li> </ul>
④의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 세포 및 동물수준 안전성 평가기술을 다양한 농산물 및 식품 유해성분의 안전성 평가 기술로 활용</li> <li>▪ 매실청의 기능성 성분과 독성 영향에 대한 상관관계를 규명하는데 활용</li> <li>▪ 안전성이 확보된 아미그달린 저감 매실가공제품의 산업화로 국민건강 및 보건 증진에 기여</li> <li>▪ 매실청의 안정성 자료를 다양한 매실가공제품의 산업화, 제품화 및 수출 근거 자료로 활용</li> </ul>

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치	20%			15%		15%			10%				15%	15%		5%			5%
최종목표	2	2		1	5	2	25	25	2			2	3	1.0	4		2		4
연구기간내 달성실적	2			1	5	3	11.3		3			1	3	342	13		3		1
연구종료후 성과창출 계획		2					25	25											

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함) : 해당 없음

핵심기술명 <sup>1)</sup>			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 <sup>2)</sup>	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타( )		
이전소요기간		실용화예상시기 <sup>3)</sup>	
기술이전시 선행조건 <sup>4)</sup>			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리  
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.