

최 종
연구보고서

오디를 이용한 고부가가치 기능성

건강보조식품 제조기술 개발

Development of High Quality Functional Foods Using

Mulberry(*Morus* spp.) Fruit

주 관 연 구 기 관

대구가톨릭대학교

농 립 부

최 종 보 고 서

2005년도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 오디를 이용한 고부가가치 기능성 건강보조식품 제조기술 개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 10부

2. 최종보고서 디스켓 1매

2005 년 11 월 14 일

주관연구기관 : 대구가톨릭대학교

총괄연구책임자 : 최 상 원 (인)

주관연구기관장 : 서 경 돈 총장 직인

농 립 부 장 관 귀 하

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “오디를 이용한 고부가가치 기능성 건강보조식품
제조기술 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005 년 11 월 14 일

주관연구기관명 : 대구가톨릭대학교
총괄연구책임자 : 최 상 원
세부연구책임자 : 조 성 희
연 구 원 : 김 미 지
연 구 원 : 김 경 란
참여연구기관명 : 영천양잠농업협동조합
참여연구책임자 : 최 필 환

요 약 문

I. 제 목

오디를 이용한 고부가가치 기능성 건강보조식품 제조기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 급격한 산업사회의 발전과 더불어 식생활의 서구화로 암, 동맥경화, 고혈압, 심장질환, 뇌질환, 및 당뇨 등 각종 성인병이 크게 증가하고 있다. 따라서 현재 이러한 만성적인 질병을 치료하기위한 합성의약품이 널리 사용되고 있으나 독성 및 안전성이 문제시되면서 천연 유래의 보다 안전하고 효능이 있는 생리화학물질(phytochemicals)의 개발과 더불어 그를 이용한 다양한 기능성식품(functional foods, nutraceuticals)의 개발이 활발히 이루어지고 있다.

뽕나무(*Morus app.*, Moraceae) 열매인 오디(mulberry, *Mori Fructus*)는 한방에서 '상삼자'라하여 예로부터 대머리를 예방하고 머리를 검게하는 자양·보양제로서 뿐만 아니라 고혈압, 당뇨병, 및 노화를 치료하는 생약으로 사용되어져 왔다. 또한, 오디에는 sanggenon, moracin, cyclomulberrin 및 kuwanon와 같은 항산화, 항고혈압 및 항노화성 활성을 지니고 있는 여러 플라보노이드 뿐만 아니라 albafrican, bergapten 등의 항균 및 항염증 물질과 더불어 resveratrol, oxy-resveratrol, oxydihydroresveratrol, 및 broussonin과 같은 phytoalexin을 함유하고 있어 암, 염증 및 고혈압 예방 효과를 지닌 생리활성물질이 함유되어 있음이 밝혀지고 있다. 이와같이 지금까지 오디로부터 생리활성물질의 분리 및 동정 그리고 생리적작용에 관한 많은 연구가 이루어져 왔으나 아직까지 오디의 혈당강하 및 혈압강하 작용을 뒷받침해 줄 과학적인 증거가 부족하고 아울러 오디 가공품의 구체적인 효능 규명의 연구가 거의 없는 실정이다.

오디는 당과 유기산이 풍부할 뿐 아니라 여러 정유성분과 안토시아닌 색소를 함유

하고 있어 외국에서는 잼, 젤리, 음료 및 술 등 여러 가공식품의 개발이 이루어지고 있으나 국내에서는 오디의 연간 생산량이 낮고 다른 과실에 비해 크기가 작으며 수분함량이 높아 저장성이 낮을 뿐만 아니라 여러 물리·화학적인 요소에 불안정한 안토시아닌 색소를 다량 함유하고 있어 그를 이용한 가공식품 및 기능성식품의 개발이 미흡한 실정이다. 그런데 오디에 다량 함유되어 있는 안토시아닌 색소는 최근 독성 및 발암 등의 안전성의 문제가 제기되고 있는 합성착색료를 대체할 수 있는 천연 착색료로써 뿐만 아니라 항균, 항염증, 항산화 및 항경련 작용을 지니고 있는 생리활성 물질로써 새로이 밝혀지면서 이를 이용한 기능성 식품의 개발과 더불어 화장품 및 의약품의 신소재로써 개발이 요구되고 있다. 따라서 안토시아닌 색소의 안정화기술 개발과 더불어 최소가공(minimal processing technology) 기술을 이용한 고부가가치의 천연식품첨가물의 개발이 필요한 실정이다.

한편, 뽕나무 (*Morus alba* L.)의 잎에는 항산화 및 항고혈압성의 플라보노이드 화합물 및 GABA을 다량 함유하고 있을 뿐만 아니라 항당뇨 성분인 2-arylbenzofuran 유도체 등을 다량 함유하고 있어 최근 기능성식품 소재로 각광을 받고 있다. 또한, 누에는 예로부터 당뇨 치료에 효능이 있는 것으로 알려져 왔으며, 특히 최근에는 누에분말로부터 혈당강하물질의 하나인 1-deoxynojirimycin (DNJ)의 대량분리가 이루어지면서 기능성식품으로서 뿐만 아니라 전문의약품으로 개발 가능성이 제시되고 있다. 이와같이 오디를 비롯한 여러 잠상산물의 항당뇨 및 항고혈압작용 등이 서서히 밝혀지고 있으나 아직까지 오디 및 잠상산물을 혼합한 복합제제의 항당뇨, 항고혈압 및 항노화 활성화에 대한 과학적인 규명 연구와 더불어 이들 복합처방제를 이용하여 당뇨병을 비롯한 여러 성인병 예방용 고부가가치 기능성건강보조식품의 개발에 관한 연구가 미비한 실정이다.

최근 농촌진흥청 잠사곤충부에서 새로이 육종된 YK-209 뽕나무가 경북 영천지역 양잠농가와 영천양잠농업협동조합에서 시험재배에 성공하여 현재 그를 이용한 뽕잎 엑기스 및 정제환을 제조 판매하고 있으나 아직까지 오디의 생산량이 많지 않아 그를 이용한 가공식품 및 오디 복합제제의 개발이 이루어지지 않고 있다. 그러나 최근 오디 수확을 목적으로 새로이 뽕나무 품종을 대량 재배하여 향후 몇년내에 수확될 예정이라서 오디 및 잠상산물을 이용한 기능성식품의 제조가 가능해 질 것으로

예상되기 때문에 이에 대비하여 미리 항당뇨용 오디 및 잠상산물의 복합제제의 개발을 위해 원료의 적정 배합비율과 더불어 여러 기능성식품의 제조기술 개발을 위해 산·학·연 공동 연구가 절실히 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 뽕나무 열매인 오디의 일반성분 및 기능성성분의 분석과 더불어 최소가공기술을 이용하여 오디추출물로부터 천연식품첨가물의 제조 기술을 개발함과 동시에 그들의 항산화, 항고혈압, 항당뇨 및 항노화작용을 *in vitro* assay를 통해 조사하여 오디의 생리활성을 밝히고자 하였다. 또한, 오디추출물에 뽕잎 분말 및 누에가루를 적절하게 혼합하여 제조된 오디 복합제제의 항당뇨 효능을 동물실험을 통해 밝힘으로서 당뇨 예방용 우수 오디가공제품의 원료배합비를 설정하였고 이를 바탕으로 오디의 기호성 및 기능성을 보다 강화시킨 고품질의 건강보조식품의 제조기술을 개발을 확립하고자 하였다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 오디로부터 고품질의 오디추출물의 제조기술 개발과 더불어 그들의 항당뇨, 항고혈압, 항염증 및 항산화작용을 *in vitro* 실험을 통해 밝힘과 동시에 오디에 잠상산물을 혼합하여 항당뇨, 항고혈압 및 항산화 상승작용을 조사하고자 실시하였다. 또한, 고품질의 오디엑기스의 제조기술 개발과 더불어 여러 부형재를 이용하여 누구나 쉽고 간편하게 즐길 수 있는 오디과립차 및 오디드링크의 제조기술을 확립함과 동시에 오디에 뽕잎 및 누에분말을 첨가하여 항당뇨 효능이 우수한 복합제제의 최적 원료배합비를 확립하고 아울러 이들을 이용하여 항당뇨용 오디정제환의 제조기술을 확립하고자 하였다. 따라서 본 연구는 고품질의 오디첨가제 개발과 더불어 잠상산물을 혼용하여 항당뇨 및 항산화용 기능성식품의 제조기술 개발을 등 연구목적에 따라 2개의 세부과제로 나누어 실시하였으며, 본 연구과제에서 수행하고자 하였던 주요 연구 내용 및 범위를 각 과제별로 요약하면 다음과 같다.

▶세부과제1: 오디로부터 제조된 우수기능성 건강보조식품의 성인병 예방 효능 규명

구분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (2002)	오디추출물의 항당뇨 및 기타 생리활성 효능 검정 (<i>In vitro</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 오디추출물의 항당뇨 및 기타 생리활성 효능 검정 <ul style="list-style-type: none"> - 쥐 간조직 glucose-6-phosphatase 저해활성 측정 - 쥐 간조직 microsome 지질과산화 억제작용 측정 - Activated thromboplastin times & Thrombin times - Soybean lipoxxygenase(SLO) 저해활성 측정 ○ 잠상산물의 첨가에 따른 성인병예방 상승효과 검정 <ul style="list-style-type: none"> - 쥐 간조직 glucose-6-phosphatase 저해활성 측정 - 쥐 간조직 microsome 지질과산화 억제작용 측정 - Activated thromboplastin times & Thrombin times - Soybean lipoxxygenase(SLO) 저해활성 측정
2차년도 (2003)	오디 이용 우수 제조품의 동물실험을 통한 항당뇨 효능검증 (<i>In vivo</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 동물실험을 통한 오디추출물의 항당뇨 효능 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 혈당저하 효과 측정 - 소장에서 당 흡수 억제효과 측정 - 혈중 지질조성 개선 효과 측정 - 혈중 항산화 효과 측정 ○ 잠상산물 첨가에 따른 오디추출물의 항당뇨 개선 효과 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 혈당저하 효과 측정 - 소장에서 당분해 흡수 억제 관찰 - 혈중 지질조성 개선 효과 측정 - 혈중 항산화 효과 측정
3차년도 (2004)	오디 이용 우수 제조품의 동물실험을 통한 성인병 예방효능 검정 및 평가 (<i>In vivo</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 우수 오디 가공제품의 각종 성인병 예방 효과 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 지질대사 개선 효과 측정 <ul style="list-style-type: none"> -간조직중의 HMG-CoA reductase 활성 -간조직중의 중성지질 저하효과 -간조직중의 콜레스테롤 저하효과 - 항노화 효과 측정 <ul style="list-style-type: none"> -간조직 lipofuscin 함량 -간조직 carbonyl value 함량 -간조직 TBARS 함량 - 항산화 효과 측정 (SOD, GSH-px 활성) - Activated partial thromboplastin times & Thrombin times - 유효적정기준치 확립

▶ 세부과제2 : 오디를 이용한 식품첨가제 및 고품질의 기능성 건강보조식품 제조 기술 개발 및 제조

구 분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (2002)	오디를 이용한 식품첨가제의 제조기술 개발 및 제조	<ul style="list-style-type: none"> ○ 오디추출물의 제조 방법 확립 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 물, 에탄올 및 압착추출물 제조 - 오디추출물의 최소가공 조건 검토 ○ 오디추출물의 일반성분 및 생리활성물질의 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 일반성분의 분석 및 산도, 당도 및 pH 측정 - 비타민 C, GABA, 유기산 및 유리당의 분석 - 수용성 페놀 및 anthocyanin 색소의 분석 - Resveratrol 및 그 유도체의 분석 ○ 오디추출물 및 안토시아닌 색소의 안정화 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 여러 물리·화학적인 요인에 대한 안정성 조사 - 여러 유기산, 당 및 다당류에 의한 색소의 안정성 조사 - Chitosan, cyclodextrin 및 CMC를 이용한 안정화 기술 개발 ○ 오디 첨가물 (엑기스 및 분말) 제조방법 확립 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 추출물의 최적 건조, 농축 방법 확립 - 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 오디 추출물의 저장중 이화학적 품질변화 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 당도, 산도, 색도, 물성 및 pH 측정
2차년도 (2003)	오디를 이용한 고품질의 과립차와 정제환 제조 기술 개발 및 제조	<ul style="list-style-type: none"> ○ 오디를 이용한 과립차의 최적 제조조건 검토 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 잠상산물의 열수추출물 제조 및 농축 방법 확립 - 과립차 제조를 위한 제조 조건 검토, 성분배합비 및 건조 조건 확립 - 과립차의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 오디를 이용한 정제환의 최적 제조조건 검토 <ul style="list-style-type: none"> - 정제환 제조 조건 검토, 방법 확립 및 제조 - 정제환 제조를위한 성분배합비 및 건조조건 확립 - 정제환의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 제조품의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정 <ul style="list-style-type: none"> - 산도, 당도, 물성 및 색도 측정 - 수용성 페놀 및 anthocyanin 색소의 분석 ○ 품질 평가 및 규격화
3차년도 (2004)	오디를 이용한 고품질의 캡슐과 드링크 제조 기술 개발 및 제조	<ul style="list-style-type: none"> ○ 오디를 이용한 캡슐제조의 최적 제조조건 검토 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 캡슐 제조를 위한 적합성 조사, 주요 성분배합비 및 성형 조건 확립 및 제조 - 캡슐의 물성 측정 - 캡슐의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 오디를 이용한 드링크제조의 최적 제조조건 검토 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 드링크 제조를 위한 적합성 조사, 주요 성분배합비 및 살균 방법 확립 - 드링크의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 제조품의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정 <ul style="list-style-type: none"> - 용해성, 산도, 당도 및 pH 측정 - 수용성 페놀, anthocyanin 색소 및 GABA의 분석 - 품질평가 및 규격화

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

제 1 절 : 연구개발 결과

오디 및 잠상산물을 이용한 항당뇨 및 항산화용 고부가가치 기능성 건강보조식품 제조기술 개발을 위하여 2개의 세부과제로 연구를 수행하였다. 제 1세부과제에서는 오디추출물의 항당뇨, 항고지혈증, 항응고, 항염증 및 항산화 효능을 *in vitro* assay 사용하여 평가하였으며, 아울러 동물실험을 통하여 오디추출물 단독 또는 오디에 뽕잎과 누에 분말을 혼합한 복합제제의 항당뇨 효능을 평가함으로써 최적 원료배합비를 확립하였으며, 나아가 이들 복합제제의 각종 성인병 예방 효능을 동물실험을 통해 검정하였다.

한편, 제 2세부과제에서는 오디를 이용하여 오디분말 및 추출물의 제조기술 개발과 더불어 오디 일반성분과 기능성성분의 함량을 분석하였으며, 아울러 오디추출물의 안정화기술 개발을 통하여 고품질의 오디엑기스 제조기술을 확립하였다. 또한, 항당뇨 효능이 우수한 오디추출물 및 잠상산물(뽕잎 및 누에)을 혼합한 복합제제를 이용하여 고부가가치의 오디 과립차, 정제환, 캡슐 및 드링크의 제조기술 개발과 더불어 그들의 저장 중 이화학적 품질 변화를 측정함으로써 오디를 이용한 기능성건강보조식품 제조기술을 확립하였다. 이상의 결과를 세부과제별로 나누어 정리하면 다음과 같다.

세부과제 1 : 오디로부터 제조된 우수기능성 건강보조식품의 성인병 예방 효능 규명

1. 오디추출물의 항당뇨 및 기타 생리활성 효능 검정 (*in vitro*)

- 1) 오디 추출물의 혈당저하 효과를 알아보기위해 쥐 간조직 glucose-6-phosphate 저해활성을 측정한 결과 오디 물 및 에탄올추출물은 효소 저해활성 우수하였으며, 또한 오디박추출물이 오디즙보다 효소 저해활성이 우수하였다. 또한, 잠상산물 혼합에 의한 오디추출물의 혈당강하 시너지 효과는 오디:뽕잎:누에(1:1:1, w/w) 비율일 때 가장 효과가 우수하였다.

- 2) 오디추출물의 항산화 효과를 관찰하기 위해 쥐 간조직의 microsome 지질과산화 억제작용 및 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과 오디 40% 메탄올 분획물이 우수하였다. 또한, 적혈구의 항산화 방어계는 오디즙, 오디박, 오디 분말 및 잠상산물 혼합물에 의해 개선됨을 확인하였다.
- 3) 오디추출물의 항혈전 및 항응고 효과를 관찰한 결과 오디 80% 메탄올 분획물이 항혈전 및 항응고 효과가 가장 우수하였으며, 아울러 오디 물추출물도 항혈전 및 항응고 효과가 우수하였다. 오디추출물의 항혈전 및 항응고 효과는 잠상산물의 첨가에 따라 농도의존적으로 증가하였다.
- 4) 오디추출물의 soybean lipoxygenase(SLO) 저해활성을 측정한 결과 오디 80% 메탄올 분획물이 가장 저해효과가 우수하였고, 또한 오디 물추출물이 뽕잎 및 누에 열수추출물보다 SLO 저해활성이 우수하였다.

2. 오디 이용 우수제조품의 동물실험을 통한 항당뇨 효능 검증 (*in vivo*)

- 1) Streptozotocin-유발 당뇨쥐에서 오디즙 및 오디박의 혈당강하 효과를 비교 관찰하기 위하여 혈청 중 포도당 함량을 측정한 결과 오디즙 1% 및 2% 공급군은 혈당강하 효과가 미비하였으나 오디박 1% 및 2% 공급군은 혈당강하 효과가 높게 나타났다. 또한, 특히 잠상산물 혼합물(오디:뽕잎:누에분말=1:1:1, w/w)의 혈당강하 상승 효과를 관찰하였다.
- 2) Streptozotocin-유발 당뇨쥐 소장에서 오디즙 및 오디박의 당 흡수 억제효과 측정한 결과 오디즙보다 오디박이 proximal 부분에서 maltase 활성을 저해하였으며, 아울러 잠상산물(뽕잎 및 누에분말)의 혼합에 의한 당흡수의 저해 상승 효과를 관찰하였다.
- 3) Streptozotocin-유발 당뇨쥐에서 오디즙 및 오디박의 혈중 지질조성 개선 효과

를 관찰한 결과 오디즙 및 오디박 모두 지질개선 효과 우수하였으며, 아울러 오디분말의 혈중 TG, LDL-cholesterol 및 AI 저하 효과도 우수하였다.

- 4) Streptozotocin-유발 당뇨쥐에서 오디즙 및 오디박의 혈중 항산화 효과를 관찰한 결과 SOD 및 catalase 활성도는 오디박이 오디즙보다 우수한 반면, GSH-px 활성은 오디즙이 오디박보다 우수하였다. 한편, 오디분말에 빵잎 및 누에분말을 혼합하여 식이한 결과 모든 항산화 효소 활성이 증가함을 알 수 있었다.

3. 오디이용 우수제품의 동물실험을 통한 성인병 예방 효능 검증 및 평가 (*in vivo*)

- 1) 오디 복합제제(오디+빵잎+누에)의 지질대사 개선 효과를 측정한 결과 간조직 HMG-CoA reductase 활성 저해, 간조직의 중성지질 저하 효과 및 간조직 콜레스테롤 저하효과가 우수하였으나 혼합그룹 사이의 유의성은 없었다.
- 2) 오디 복합제제의 항노화 효과를 관찰한 결과 간조직 lipofuscin 함량, 간조직 carbonyl value 함량 및 간조직 TBARS 함량을 낮추었으나, 혼합그룹 사이의 유의성은 없었다.
- 3) 오디 복합제제의 항산화 효과 측정한 결과 SOD 활성과 GSH-px 활성 증가 효과가 있었으나 혼합그룹 사이의 유의적인 차이는 없었다.
- 4) 오디 복합제제의 항혈전 및 항응고 효과를 관찰하기 위해 APTT 및 TT 활성을 측정한 결과 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 혼합군에서 유의적으로 활성이 증가되었다.
- 5) 오디 복합제제는 농도의존적으로 여러 생리활성(항당뇨, 항노화, 및 항산화)의 촉진 효과를 나타내었기 때문에 유효적정기준치를 확립하기 어려웠다.

세부과제 2: 오디를 이용한 식품첨가제 및 고품질의 기능성 건강보조식품 제조기술 개발 및 제조

1. 오디를 이용한 고품질의 오디 첨가물의 제조

- 1) 오디로부터 얻어진 에탄올추출물의 수율은 물추출물 보다 2배 이상 높았으며, 또한 오디로부터 제조된 오디즙의 물 및 메탄올추출물의 수율은 오디박 보다 약 30~40배 높았다. 한편, 페놀 함량은 오디즙보다 오디박추출물이 높았으며, 아울러 3가지 라디칼(DPPH, superoxide & hydroxyl) 소거활성도 오디박추출물이 오디즙 보다 높았다.
- 2) 상주 및 영천에서 수확된 오디(청일뽕)의 일반성분 및 기능성성분을 분석한 결과, 상주 오디는 영천 오디 보다 수분 함량이 다소 적었으나 그 외 단백질, 지방, 당 및 무기질의 함량은 영천 오디 보다 약간 높았다. 또한, 상주 오디 과실이 영천 오디 보다 무게, 경도, 당도, 산도 및 페놀 함량이 전반적으로 높았으나, pH는 낮았다. 오디의 주요 당 성분은 glucose와 fructose이며, 미량의 sucrose 와 maltose 등이 존재하였으며, 그 함량은 상주오디가 영천오디 보다 약간 높았다. 오디의 주된 유기산은 citric acid, malic acid 및 oxalic acid로서, 당조성 함량과 달리 영천오디가 상주 오디 보다 약간 높았다. 한편, 오디로부터 2가지 주된 anthocyanin 색소[cyanidin 3-O-β-D-glucoside(P1) & cyanidin 3-O-β-D-rutinoside(P2)]를 분리 및 동정하였으며, 그 함량을 측정한 결과 상주 오디(P1: 332.6 ± 29.3mg%, & P2: 82.8 ± 19.4 mg%)가 영천 오디(A: 231.8 ± 25.3 mg%, B: 80.6 ± 10.1 mg%) 보다 약 30% 가량 cyanidin 3-O-β-D-glucoside 함량이 높은 반면, cyanidin 3-O-β-D-rutinoside 함량은 거의 유사하였다. 오디로부터 6가지 flavonoid 화합물(rutin, isoquercitrin, astragalinal, dehydroquercetin, morin 및 quercetin)을 분리 및 동정하였으며, 그 함량은 rutin(14-16 mg%) > quercetin(9-10 mg%) > isoquercitrin (7-9 mg%) > astragalinal(5 mg%) ≥ dehydroquercetin(5 mg%) ≥ morin(5 mg%)

순으로 낮았다. 그리고 상주 오디가 영천 오디 보다 각 flavonoid 화합물의 함량이 대체로 높았다. 또한, 오디로부터 3가지 2-arylbenzofuran 유도체 (4-prenyl- moracin, mulberrofuran F, mulberrofuran U)를 분리 및 동정하였으며, 그 함량은 3~4 mg%로서 상주 오디가 영천 오디 보다 대체로 함량이 높았다. 마지막으로 GABA 및 DNJ의 함량은 10~40 mg% 범위로서 색소 및 플라보노이드와 달리 영천 오디가 상주 오디 보다 대체로 함량이 높았다.

- 3) 오디의 안토시아닌 색소의 안정성을 조사한 결과, 온도 및 열안정성은 우수하나 pH, 금속이온 및 효소에 대해서는 매우 불안정하였다. 열처리(10~15분)에 의해 오디 안토시아닌 색소의 고정화가 유도되었으며, 유기산 및 비타민 C 처리에 의해 색소 안정화를 도모할 수 있었다. 여러 다당류에 의한 오디 색소의 흡착력을 조사한 결과 chitosan의 흡착력이 약 80% 이상으로서 가장 강한 흡착력을 나타내었으며, 그 다음으로 chitin (약 70%) 나타내었으나 α -cyclodextrin 및 carboxymethylcellulose (CMC)는 거의 색소를 흡착하지 못했다.
- 4) 최소가공기술을 이용한 고품질의 오디 첨가물(엑기스 및 분말)의 제조기술 개발하기 위해 먼저 최소가공기술을 이용한 오디 주스 제조방법을 개발하였다. 먼저 오디과실을 70% 에탄올로 침지한 후 수세하고 파쇄하여 얻어진 오디의 추출액을 면포여과, 감압여과 및 원심분리를 각각 실시한 결과 원심분리가 가장 좋은 청징효과를 나타내었다. 그리고 여러 여과보조제 및 청징제를 첨가한 후 원심분리하여 얻은 오디 과실즙의 색의 변화는 처리한 여과보조제, 청징제 및 청징효소의 종류에 따라 차이가 있었으며, 특히 casein, gelatin, chitin, chitosan 및 PVPP는 오디 색소를 강하게 흡착하였으며, 그리고 청징효소 중 α -amylase 처리구가 가장 좋은 청징 효과를 나타내었다. 다음, 오디 과즙을 원심분리 한 후 0.01 μ m membrane filter를 실시한 결과 오디주스의 청징 효과가 매우 우수하였으나 ultrafiltration 처리방법은 오디 색소의 강한 흡착으로 적절하지 않았다. 한편, 4가지 갈변저해제 처리에 따른 오디 과실주스의 갈변억제 효과를 측정한 결과 200 ppm sodium hydrosulfite 처리구가 가장 갈변억제 효과가 우수하였

으며, 아울러 0.1% L-ascorbic acid (L-AsA) 및 citric acid (CA)도 갈변 억제 효과가 있었다. 그리고 위의 3가지 갈변저해제를 2중 복합병행 처리한 결과 0.1% L-AsA + 0.1% CA 처리구가 가장 좋은 갈변억제 효과를 나타내었다. 마지막으로 당산비를 조절하여 오디주스의 관능검사를 실시한 결과 오디주스의 최적 당/산비는 40~50 이었으며, 또한 상업적살균 온도 (85~90℃)에서 처리시간은 40초가 가장 적합함을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 다음과같이 오디 첨가물의 제조방법을 확립하였다. 즉, 생체 오디과실(1 kg)을 선별, 70% 알코올 수용액에 1분 침지 후 수세한 다음 갈변저해제를 함유한 조미액 (오디:0.1% CA 및 0.01% L-AsA 함유 증류수=1:10, w/w)을 가하여 파쇄한 후 착즙 및 원심분리하여 (8,000 rpm, 10분) 얻어진 상등액에 당(고과당)과 산(citric acid 및 sodium citrate)를 가하여 당/산비를 40으로 조절한 후 열처리 (85~90℃, 30~50초)하여 오디주스(수율 약 90%)를 제조하고 난 후 spray dry 또는 동결 건조하거나 감압농축하여 최종 분말 오디 첨가물 (60 g, 수율 6%) 또는 오디 엑기스 (200 g, 40° Brix, 수율 20%)를 제조함.

- 5) 오디 첨가물의 항산화 및 항당뇨 효능을 상승시키고 나아가 오디첨가물의 기호성을 개선시키고자 과실의 특성을 지니고 있으면서 특히 항산화 및 항당뇨 효능을 지니고 있는 4가지 생약 (복분자, 구기자, 오미자, 산수유) 물추출물의 첨가에(3가지 생약은 1~5%, 오미자는 0.1~0.5%) 따른 오디첨가물의 기능성 및 기호성 (맛, 색깔 및 향)의 증대 효과를 측정한 결과는 오디 첨가제에 각 생약추출물을 2%(오미자 0.2%) 첨가구가 가장 양호한 기능성과 기호성을 나타냄을 알 수 있었다.
- 6) 오디 첨가물의 저장 (5℃, 25℃) 중 이화학적 품질 특성(당도, pH, 산도, 색도, 및 흡광도)의 변화 및 관능검사를 실시한 결과, 저온 저장의 경우 오디 첨가물의 당도 및 산도는 약간 증가하였으나 pH, 흡광도(안토시아닌 색소 척도) 및 색도는 거의 변화가 없었다. 그리고 색, 향 및 맛에 대한 관능검사를 실시한 결과 저장 기간 중 종합적인 관능은 약간 감소하였으나 별다른 품질의 변화를 감지할

수 없었다. 반면, 상온 저장의 경우 당도 및 산도는 저장 초기 증가한 후 말기에는 감소하는 경향을 나타내었으나 pH, 흡광도 및 색도("L")는 저장 전반에 걸쳐 감소하였다. 그리고 관능검사 결과 저장 1주일부터 품질의 변화가 일어나기 시작하였으며, 저장 말기에는 색을 제외하고 향과 맛의 크게 변함을 알 수 있었다. 따라서 오디 첨가물은 저온저장이 필수이며, 저장 기간은 약 1개월로 추정된다.

2. 오디를 이용한 고부가가치의 기능성건강보조식품의 제조

1) 고품질의 오디 과립차를 제조하기 위해 먼저 오디과즙 엑기스를 물로 희석한 후 여기에 정제포도당을 가하여 오디 과립분말을 제조하였다. 다음 오디과립 81%에 오디분말과 당 및 산의 농도를 조절하면서 제조한 과립차의 이화학적 품질 특성 및 관능검사를 실시한 결과, 오디 과립 81%에, 오디분말 2%, 설탕 3.39%, 올리고당 1.0%, 유당 5%, 비타민 C 6.3%, 구연산 0.2%, 오디향 0.01% 및 sodiumsilio- aluminate 1.0% 비율로 첨가하여 제조한 오디과립차가 가장 양호한 품질을 얻을 수 있었다.

한편, 위에서 제조된 오디 과립차의 저장(5℃, 25℃) 중 이화학적 품질 변화 측정 및 관능검사를 실시한 결과 먼저 저온(5℃) 저장 경우 저장 전반에 걸쳐 당, 산도 및 pH는 거의 변화가 없었으며, 색도 또한 다소 감소하나 큰 변화가 없었다. 그리고 색, 맛 및 향에 대한 종합적인 관능검사를 실시한 결과 저장 기간 동안 맛 과 색 품질의 저하가 거의 없었다. 반면, 상온(25℃) 저장시 당도는 저장 기간이 경과함에 따라 다소 증가한 후 감소하는 경향을 나타낸 반면, 산도는 저장 전반에 걸쳐 서서히 증가함에 따라 pH는 감소하는 경향을 나타내었다. 그리고 색도 "L"치는 저장 중 서서히 감소한 반면, "a"치는 증가하는 경향을 나타내었다. 다음, 관능검사 결과 상온 저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 저온 저장과 유사한 품질변화를 나타내었으나 저장 후반기에는 맛, 향 및 색깔이 다소 떨어지는 것을 확인할 수 있었다.

2) 고품질의 오디 정제환을 제조하기 위해 먼저 오디분말에 빵잎 분말 및 누에가루

를 1:1:1, 2:1:1, 및 3:1:1(w/w) 비율로 혼합하여 제조한 후 색, 맛, 및 향 등의 이화학적 품질특성을 조사함과 동시에 제1세부과제에서 확인된 항당뇨용 오디정제환의 재료 혼합비를 감안하여 최적 오디정제환의 혼합비율(뽕잎:누에가루:오디=1:1:1, w/w)을 결정한 후 그로부터 찹쌀풀과 물을 가하거나 아니면 가하지 않고 그대로 고품질의 오디정제환을 제조하였다.

한편, 위에서 제조된 오디 정제환의 저장수명(shelf life)을 측정하기위해 저장 온도별(5℃ 및 25℃) 이화학적 품질 변화 측정 및 관능검사를 실시한 결과 저온(5℃) 저장 경우 저장 전반에 걸쳐 당도, 산도, pH 및 색도가 미비하게 감소하는 경향을 나타내었으나 뚜렷한 이화학적 품질 변화는 거의 없었다. 아울러 색, 향 및 맛에 대한 관능검사에서도 저장 전반에 걸쳐 뚜렷한 품질 저하현상을 볼 수 없었다. 반면, 상온 저장의 경우 당도, 산도, pH 및 색도가 저온 저장보다 다소 크게 감소하는 현상이 보였으나 뚜렷한 품질 변화는 나타나지 않았다. 그리고 관능검사에서는 저온 저장의 경우와 달리 저장 2개월부터 다소 품질이 저하됨을 알 수 있었으며, 저장 말기에는 누에가루에서 발생하는 것으로 예측되는 불쾌한 냄새를 다소 감지할 수 있었다.

- 3) 고품질의 오디 캡슐을 제조하기위해 먼저 오디분말에 뽕잎 분말 및 누에가루를 여러 비율로 혼합하여 제조한 후 이화학적 품질특성을 조사함과 동시에 제1세부과제에서 확인된 항당뇨용 오디 함유 잠상산물의 재료 혼합비(뽕잎:누에가루:오디=1:1:1, w/w)에 오디캡슐의 맛 및 조직감을 상승시키는 셀룰로오스 및 만니톨을 부형제로 첨가하여(오디분말 10%, 뽕잎 분말 10%, 누에분말 10%, 결정셀룰로오스 50%, 만니톨 20%) 오디캡슐을 제조하였다.

한편, 위에서 제조된 오디 캡슐의 저장수명(shelf life)을 측정하기위해 저장 온도별(5℃ 및 25℃) 이화학적 품질 변화 측정 및 관능검사를 실시한 결과, 저온 저장의 경우 당도, 산도, pH 및 흡광도는 저장 전반에 걸쳐 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 그렇게 뚜렷한 성분 변화를 감지할 수 없었다. 반면, 상온 저장의 경우 저장 기간이 경과함에 따라 흡광도를 제외하고 당도, 산도 및 pH는 다소 크게 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 저장 중 오디 캡슐의 색, 향 및

맛에 대한 종합적인 관능검사를 실시한 결과 저온 저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 별다른 색, 맛 및 향의 변화를 감지할 수 없었으나 상온저장의 경우 저장 2개월부터 품질의 변화를 감지할 수 있었으며 특히 저장 3개월째 색을 제외한 맛과 향에 대해 상당히 품질 저하를 관찰할 수 있었다.

- 4) 고품질의 오디드링크를 제조하기위해 먼저 앞서 수립된 최소가공기술을 이용한 오디 주스 제조방법을 그대로 이용하되 제1세부과제에서 확인된 항당뇨 효능이 있는 오디박을 함유한 오디 즙액을 오디 착즙액 대신에 사용하여 여러 개의 시험구를 제조한 후 관능검사를 실시한 결과 다음의 재료비율 [오디즙(오디박 함유) 20%, 액상과당 7.35%, 설탕 5.5%, 구연산 0.15%, 구연산나트륨 0.05%, 펙틴 0.023%, 향료(KMC-1087) 0.12%, 이온수 66.807%]로 혼합하여 오디드링크를 제조하였다.

한편, 오디 드링크의 저장(5℃, 25℃) 중 이화학적 품질 변화 측정 및 관능검사를 실시한 결과 저온 저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 당도, 산도, 색도 및 pH의 변화가 거의 없었으나 반면, 상온저장에서는 저장 중 당도 및 산도는 약간 증가하였으나 pH 및 흡광도는 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 저장 중 오디드링크의 관능검사를 실시한 결과 저온저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 색, 향 및 맛의 뚜렷한 변화를 감지할 수 없었으나 상온저장의 경우 저장 초기에는 품질 변화를 거의 감지할 수 없었으나 저장 말기에는 색도는 큰 변화가 없었으나 향과 맛은 저장 초기에 비해 다소 변하여 품질 저하를 감지할 수 있었다.

제 2 절 : 활용에 대한 건의

본 연구과제 수행으로 획득한 항당뇨, 항산화 및 항노화용 오디추출물 및 오디 가공품 제조기술 개발을 효율적으로 활용하여 향후 성인병 예방용 고품질의 오디 가공품 내지 기능성건강보조식품의 개발을 달성하기위한 방안 및 활용 가능성은 다음과 같다.

1. 오디에 존재하는 항산화 및 항당뇨 성분인 여러 페놀화합물(페놀산, 안토시아닌, 플라보노이드 및 2-arylbenzofuran 유도체 등)의 분리·정제 및 생리활성작용을 밝히고 아울러 이를 함유한 오디추출물 제조 기술을 확립함으로써 오디를 이용한 새로운 기능성식품의 개발과 더불어 고부가가치의 식품 및 의약품의 신소재를 개발하는 데 기초자료로 유용하게 활용할 수 있을 것으로 기대된다.
2. 최소가공기술을 이용한 오디 주스의 제조 방법을 확립함으로써 향후 오디를 이용한 발효식품 및 가공식품 등의 고부가가치의 오디 가공품의 개발 뿐만 아니라 오디 이외의 과일 주스의 개발에 응용할 수 있다.
3. Chitosan에 의한 오디 안토시아닌 색소의 강한 흡착력을 이용하여 안토시아닌 색소의 안정화기술 개발과 더불어 천연색소를 함유한 chitosan을 이용한 새로운 기능성식품의 개발에 응용할 수 있다.
4. 오디분말에 빵잎분말 및 누에 가루를 1:1:1(w/w)로 혼합하여 제조된 복합제제는 동물실험에서 당뇨 억제 효능이 우수한 것으로 확인함으로써 향후 이들 복합제제를 이용하여 항당뇨용 기능성식품의 개발이 가능할 것으로 기대된다.
5. 오디를 이용한 고부가가치의 항당뇨, 항산화 및 항노화 예방용 오디추출물 및 기능성식품(오디환 및 캡슐)의 제조기술을 개발함으로써 국내 오디과실의 재배 및 생산을 적극 장려하여 농가소득원으로서 육성할 수 있으며, 나아가 양잠농가,

양잠업 관련 식품, 화장품 및 의약품 등의 관련 산업을 크게 부흥시킬 수 있다.

6. 오디 및 잠상산물(뽕잎 및 누에)을 이용하여 오디 과립차, 정제환, 캡슐 및 드링크 제조 방법을 확립함으로써 향후 오디 가공품 내지 기능성식품의 효율적인 가공 및 개발에 응용할 수 있을 것으로 기대된다.
7. 본 연구에서 개발된 오디 가공품 또는 건강보조식품에 대한 소비자의 기호성 및 기능성을 보다 높이기위해 최근 기능성 신소재로 개발되어 판매되고 있는 여러 당류, 아미노산 및 비타민류를 보강할 예정이며, 아울러 오디 및 잠상산물 이외의 항당뇨 효능을 지니고 있는 식품 또는 생약을 병행하여 사용함으로써 새로운 항당뇨 기능성식품의 개발을 도모할 것이다.
8. 향후 오디의 가공제품의 소비촉진에 따른 국내산 오디 원료의 부족분을 보충하기 위해 외국산 오디엑기스의 제조 및 수입 판매 현황을 조사할 것이며, 아울러 이들 오디제품의 적정 원료로서의 타당성을 조사하고 나아가 그 원료를 사용함으로써 혹시 초래될 수 있는 국민보건상의 피해를 최소한으로 줄일 수 있는 오디 품질 관리체계를 수립하고자 한다.
9. 본 연구에서 수립된 우수한 항당뇨용 오디 가공제품 제조기술을 본 과제의 참여 기업체인 영천양잠농업협동조합에 기술이전하여 직접 생산 및 판매할 수 있도록 인적 및 기술적 협동체계를 구축하여 오디 이용 고부가가치 기능성 건강보조식품의 산업화에 앞장설 방침이다. 그리고 오디로부터 개발된 항당뇨, 항노화 및 항산화용 신소재를 이용하여 고품질의 기능성 식품 및 화장품의 개발에 적극 나설 계획이다.

SUMMARY

I. TITLE

Development of High Quality Functional Foods Using Mulberry(*Morus* spp.) Fruit

II. OBJECTIVE AND NECESSITY

As rapid industrialization progress and increased western-style foods consumption of our country have recently realized, several degenerative diseases, such as cancer, diabetes, atherosclerosis and cardiovascular diseases, and aging have significantly been increased. Additionally, since synthetic food additives and chemical drugs are currently suspected to be toxic, needs of consumer on more safe and effective natural food additives and medicinal plants have been increased. Among above pathological diseases, diabetes is known to be one of major cause of mortality and morbidity in industrialized countries. Recent scientific evidence revealed that the mortality of diabetes can be eliminated by aggressive treatment with diet exercise, and new medicinal-pharmacological approaches to achieve better control of blood glucose levels. Particularly, much attention has recently been focused on dietary supplements and/or herbal medicines capable of inhibiting the onset of diabetes.

Oxidative stress has been increasingly implicated in numerous pathological diseases such as cancer, atherosclerosis, inflammation, microvascular complications of diabetes, and aging. Particularly, oxidative stress has been found to be elevated in both non-insulin dependent(NIDDM) and insulin dependent diabetes (IDDM), even in patients without complications. Therefore, consumption of dietary natural antioxidants from plant sources is believed possibly to control diabetes mellitis induced by oxidative stress mediated lipid peroxidation. For these reasons,

an extensive search for novel natural antioxidants from edible plants has been undertaken.

Mulberries (*Morus* sp.) are a good source of sugars, acids and anthocyanin pigments, which are important sources of palatable foods, such as juices, beverages and wines. Particularly, the crude drug "Sangsimja", the fructus of *Morus alba* (Moraceae), has been used traditionally to cure and prevent diabetes, anemia, hypertension and arthritis in Chinese medicine. Recently, mulberry fruits have been reported to have several biological actions, such as antidiabetic, antioxidant, antiinflammatory and antihyperlipidemic activities. Therefore, consumer demand for the mulberry fruit has been recently increased because of its dessert and functional properties.

Mulberry tree (*Morus alba* L.) are widely cultivated in East Asia including Korea, Japan and China. Mulberry leaves and silkworm powder have been reported to possess a significant hypoglycemic effect. Recently, sericulture-related materials such as silk powder, silkworm powder, and mulberry leaves have been developed as natural functional foods in Korea and Japan. Palatable beverages such as jam, juice and wine using mulberry fruits, and ice-cream containing mulberry leaf powder has been widely used in Korea. However, systematic studies on antihyperglycemic and other biological activity of mulberry fruits and a complex pills including mulberry fruit, leaf and silkworm powder, and on development of high quality functional foods, such as pill, capsule and tablet, are still very limited so far.

To date, a number of phytochemical components, such as anthocyanins, flavonoids, 2-arylbenzofurans, GABA, and 1-DNJ, etc., have been isolated and identified from mulberry fruits, leaves, and silkworms, as major active principles for antihyperglycemic and other biological activities. However, few systematic analyses of antihyperglycemic, antioxidant and antihypertensive phytochemicals in mulberry fruits are still available.

Meanwhile, levels of several phytochemical constituents in mulberry fruits could be affected by maturity, cultivar and processing. Particularly, since mulberry fruits possessed a large amounts of anthocyanin pigment which is unstable towards several physical and chemical factors, development of a non-thermal minimally processed mulberry juice, and of stabilization technology of anthocyanins are greatly required.

In this study, we have prepared high quality mulberry extracts, and further evaluated their antioxidant, antihyperglycemic, antiinflammatory, anticoagulant, and antihyperlipidemia activities using several *in vitro* assays. Additionally, antihyperglycemic activity of mulberry fruits, and complex pills composed of mulberry leaf and silkworm powders, and their synergistic effects were evaluated using a *in vivo* animal model systems, and thereby developing high quality functional foods, such as granule tea, pills, capsule, and health drink using mulberry powder, and sericulture-related mulberry leaf and silkworm powders.

III. CONTENTS AND SCOPE OF THE STUDY

This project consists of two subjects to fulfill effectively the research on screening of several biological activity of mulberry fruit extracts, including antihyperglycemic activity, and further development of high quality functional food using mulberry fruit and sericulture-related mulberry leaf and silkworms. One is the development of high quality mulberry extracts, and further the evaluation for their antihypoglycemic, antihyperlimidemic and antioxidant activity using *in vitro* assays. The other is evaluation of antihyperglycemic activity of mulberry powder and of complex pill composed of mulberry fruit and sericulture-related mulberry leaf and silkworms using animal model systems. Additionally, development of high quality functional foods using mulberry fruit,

and mulberry leaf and silkworm powders. Major contents and scopes of this project can be summarized as follows:

III-1. Effect of mulberry fruit using product on preventing adult disease

1. Effect of antidiabetic and physiology activity of extract product of mulberry fruit
 - 1) Inhibitory activity of glucose-6-phosphatase in hepatic
 - 2) Inhibitory activity of α -glucosidase
 - 3) Control of lipid peroxide in hepatic microsome
 - 4) Activated partial thromboplastin time (APTT) & thrombin times (TT)
 - 5) Inhibitory activity of soybean lipoxygenase (SLO)
 - 6) DPPH radical scavenging activity

2. Effect of antidiabetic and other physiology activity of extract of mulberry fruit and several sericultural product (*in vitro*)
 - 1) Inhibitory activity of glucose-6-phosphatase in hepatic
 - 2) Inhibitory activity of α -glucosidase
 - 3) Control of lipid peroxide in hepatic microsome
 - 4) Activated partial thromboplastin time (APTT) & Thrombin times (TT)
 - 5) Inhibitory activity of soybean lipoxygenase (SLO)
 - 6) DPPH radical scavenging activity

3. Effect of antidiabetic of extract of mulberry fruit and several sericultural product (*in vivo*)
 - 1) Effect on glucose level in blood
 - 2) Effect on glucose level in intestinal
 - 3) Effect on improvement of lipid composition in blood

- 4) Effect on antioxidative defense system in erythrocyte

4. Effect of mulberry fruit and several sericultural extract on prevention of several adult diseases (*in vivo*)
 - 1) Effect on improvement of lipid metabolism
 - (1) HMG-CoA reductase
 - (2) Effect on triglyceride
 - (3) Effect on cholesterol
 - 2) Effect on antiaging
 - (1) Lipofuscin
 - (2) Carbonyl value
 - (3) TBARS
 - 3) Effect on antioxidative defense system
 - (1) SOD
 - (2) GSH-px
 - 4) Effect on APTT&TT

III-2. Development of high quality mulberry additives

1. Preparation of mulberry extract, and analysis of chemical components of mulberry fruits
 - 1) Preparation of water and ethanol extracts from mulberry fruits, and of water and ethanol extracts from mulberry juice and mulberry cake
 - 2) Analysis of proximate compositions and biological components from mulberry fruits
 - 3) Evaluation of radical scavenging activity of water and methanol extracts from mulberry juice and cake

2. Stabilization of anthocyanin pigment of mulberry fruits
 - 1) Stability of anthocyanin pigments of mulberry fruits against physical and chemical factors
 - 2) Stabilization of anthocyanin pigments of mulberry fruits by several polysaccharide adsorbents

3. Development of high quality mulberry additives using minimal processing technology
 - 1) Development of mulberry juice using minimal processing technology
 - 2) Development of high quality of mulberry additives
 - 3) Development of processing technology for improving palatability and functionality of mulberry additives
 - 4) Changes in physicochemical properties of mulberry additives during storage at 5°C and 25°C

III-3. Development of high quality functional foods using mulberry extract and other sericultural materials(silkworm powder and mulberry leaf powder)

1. Preparation of mulberry granule tea, and changes in physicochemical properties during storage at 5°C and 25°C
 - 1) Preparation of mulberry powder and mulberry juice extract
 - 2) Establishment of the optimum formulation for preparation of mulberry granule tea
 - 2) Preparation of mulberry granule tea
 - 3) Changes in physico-chemical properties of mulberry granule tea during storage at 5°C and 25°C

2. Preparation of mulberry pill, and changes in physicochemical properties during storage at 5°C and 25°C
 - 1) Establishment of the optimum formulation for preparation of mulberry pill
 - 2) Preparation of mulberry pill
 - 3) Changes in physico-chemical properties of mulberry pill during storage at 5°C and 25°C

3. Preparation of mulberry capsule, and changes in physicochemical properties during storage at 5°C and 25°C
 - 1) Establishment of the optimum formulation for preparation of mulberry capsule
 - 2) Preparation of mulberry capsule
 - 3) Changes in physico-chemical properties of mulberry capsule during storage at 5°C and 25°C

4. Preparation of mulberry drink, and changes in physicochemical properties during storage at 5°C and 25°C
 - 1) Establishment of the optimum formulation for preparation of mulberry drink
 - 2) Preparation of mulberry drink
 - 3) Changes in physico-chemical properties of mulberry drink during storage at 5°C and 25°C

IV. RESULTS AND APPLICATIONS

1. **Physiological activity of from mulberry fruit extracts and other sericultural products**
 - 1) Blood glucose lowering effect of mulberry fruit extracts was determined using *in vitro* and *in vivo* assay systems. Methanol fraction and water

extract of mulberry fruit showed strong inhibitory activity against hepatic glucose-6-phosphatase. Blood glucose lowering effect of mulberry fruit cake powder was higher than that of mulberry fruit juice. Additionally, synergistic effect of mulberry complex extract with antihyperglycemic activity showed at complex mulberry powder composed of mulberry fruit, mulberry leaves and silkworm(1:1:1, w/w).

- 2) Among five aq. methanol fraction from mulberry fruits on Diaion HP-20 column chromatography, the 40% aq. methanol fraction of mulberry fruit exhibited strong effect on control of lipid peroxide in hepatic microsome and DPPH radical scavenging activity. Mulberry cake powders showed stronger antiperoxidative activity and DPPH radical scavenging activity than those of mulberry juice. Mulberry fruit powder and several sericultural product exerted considerable effect on improvement of erythrocyte antioxidative defense system.
- 3) Among five aq. methanol fraction from mulberry fruits on Diaion HP-20 column chromatography, the 80% aq. methanol fraction from mulberry fruit showed strong inhibitory anticoagulant effect on antithrombus. Anticoagulant effect of water extract from mulberry fruit was higher than that of methanol extract. Anticoagulant effect of several sericultural product showed in dose-dependent manner.
- 4) Among several methanol fractions from mulberry fruits, the 80% methanol fraction showed the strongest soybean lipoxygenase(SLO) inhibitory effect. The SLO inhibitory effect of water extract from mulberry fruit was higher than that of mulberry leaves and silkworm.

- 5) Antiglycemic activity of mulberry juice and cake in streptozotocin-induced diabetic rat was evaluated through determining glucose level of blood serum. As a result, anti-glycemic activity of 1% and 2% mulberry juice groups showed weak activity, while those of mulberry cake exhibited higher antiglycemic activity. Additionally, synergic effects for anti-glycemic of mulberry fruits were found to be at sericultural complex composed of mulberry fruit, leaf and silkworm(1:1:1, w/w).

- 6) As compared to extract of mulberry juice group, mulberry cake group showed stronger inhibitory effect against glucose absorption in small intestine, and also maltase activity in a proximal part of small intestine. Synergistic effect of sericultural product against inhibition of glucose absorption of mulberry fruit powder exhibited in mulberry complex composed of mulberry fruit powder, mulberry leaf and silkworm.

- 7) The lipid-lowering effect of mulberry juice and cake in blood of streptozotocin-induced diabetic rat was evaluated through determining TG, LDL-cholesterol and AI. Both of mulberry juice and cake groups were effective to improve lipid level, and especially mulberry cake also was very effective for lowering TG, LDL-cholesterol and AI.

- 8) Antioxidant activity of mulberry juice and cake on antioxidant defense enzyme systems of streptozotocin-induced diabetic rat was evaluated through determining of activities of three enzymes, such as SOD, catalase, and GSH-px, Mulberry cake group showed higher SOD and catalase activities than that of mulberry juice group, whereas mulberry juice did higher GSH-px activity than that of mulberry cake. Synergistic effect of sericultural product against antioxidant defense system enzymes exhibited in mulberry

complex composed of mulberry fruit powder, mulberry leaf and silkworm.

- 9) The improving effects of mulberry complex (mulberry fruit powder + mulberry leaf and silkworm powder) against the lipid metabolism was evaluated through determining HMG-CoA reductase, TG and cholesterol in liver of streptozotocin-induced diabetic rat. The mulberry complex was effective for improving lipid metabolism, such as inhibition of HMG-CoA reductase, lowering effect of TG and cholesterol. However, there is no significant differences among mulberry complex groups ($P < 0.05$).
- 10) In above animal test, the mulberry complex was effective for anti-aging activity through lowering lipofuscin level, carbonyl value, and TBARS in liver of streptozotocin-induced diabetic rat. However, there is no significant differences among mulberry complex groups ($P < 0.05$).
- 11) In above animal test, the mulberry complex was effective for antioxidant activity through increasing SOD and GSH-px activity in liver of streptozotocin-induced diabetic rat. However, there is no significant differences among mulberry complex groups ($P < 0.05$).
- 12) In above animal test, the mulberry complex was significantly effective for anti-thrombotic and anti-coagulant activity through increasing APTT and TT activities in plasma of streptozotocin-induced diabetic rat, as compared to only mulberry group ($P < 0.05$).

2. Preparation of high quality of mulberry additives

- 1) Yields of water and ethanol extracts from mulberry fruit were about 6%

and 13%, respectively. Additionally, the yields of the water and methanol extracts from the mulberry juice were 70.01 and 65.38%, respectively, while those of water and methanol extracts from mulberry cake were 1.68 and 1.82%, respectively.

- 2) Among two water and two methanol extract from mulberry juice and cake, the methanol extract of mulberry cake showed the most potent radical scavenging activity against DPPH radical ($IC_{50}=167.45 \mu\text{g/mL}$), and superoxide ($IC_{50}=36.18 \mu\text{g/mL}$) and hydroxyl radicals ($IC_{50}=467.08 \mu\text{g/mL}$). The water extract of mulberry cake also exhibited stronger radical scavenging activity than those of water and methanol extracts of mulberry juice. Meanwhile, the methanol extract of mulberry juice exerted stronger three radical scavenging activity than the water extract of mulberry juice. Total phenolic content of the water and methanol extracts from mulberry cake was higher than that of the water and methanol extracts from mulberry juice. Thus, the methanol extract of mulberry cake containing antioxidant phenolic compounds may be useful as a promising source of natural antioxidant for functional foods and cosmetics.

- 3) Proximate compositions of two different mulberry fruits(Sangju & Youngcheon) used in this study were analyzed. The moisture content of Sangju mulberry fruits(84.2%) were lower than that of Youngcheon(86.4%), but other components levels of Sangju mulberry were higher than those of Youngcheon mulberry. Additionally, levels of L-ascorbic acid and phenolic of Sangju mulberry also were higher than those of Youngcheon mulberry. Major sugars and organic acids of mulberry fruits were glucose and fructose, and citric acid, respectively.

The levels of two components in Sangju mulberry were higher than those of Youngcheon mulberry. Thirteen phenolic compounds, such as two phenolic acids (procatechuic acid, caffeic acid), two anthocyanins [cyanidin-3-O- β -D-glucopyranoside(A), cyanidin 3-O- β -D-rutinoside(B)], six flavonoids (rutin, isoquercitrin, astragalin, quercetin, dehydroquercetin, morin), three 2-arylbenzofuran derivatives (4-prenylmoracin, mulberrofuran F & mulberrofuran U) were first isolated and identified from mulberry fruits, and their contents were further determined by HPLC in two different mulberry fruits. Levels of anthocyanin A and B in Sangju and Youngcheon mulberry were 332.6 & 231.8, and 82.8 & 80.6 mg%(dry base), respectively, and those of six flavonoids, including rutin, isoquercitrin, astragalin, quercetin, morin, dihydroquercetin, were 16.13 & 14.13, 9.66 & 7.21, 5.6 & 5.4, 10.11 & 9.92, 4.76 & 4.95, 4.98 & 4.79 mg% (dry base), respectively. Levels of three 2-arylbenzofuran derivatives, such as 4-prenylmoracin, mulberrofuran F and mulberrofuran U, of Sangju and Youngcheon mulberry were 4.51 & 4.45, 3.22 & 3.01, and 3.24 & 3.12 mg%, respectively. GABA and 1-DNJ contents of mulberry fruits from Sangju and Youngcheon were 12.32 & 10.71, and 35.76 & 28.38 mg%(dry base), respectively.

- 4) Anthocyanin pigments from mulberry fruits showed considerable stability against high temperature and heating, but did very unstable against several physical and chemical factors. Fixation of anthocyanins was induced by heat treatment for 10~20 min, and depigmentation of anthocyanins was inhibited by citric acid and L-ascorbic acid. Moreover, several polysaccharide adsorbents, such as chitosan, chitin, cyclodextrin and CMC, exhibited strong binding capacity, and especially chitosan

exhibited potent binding capacity(above 80%) against anthocyanins in mulberry fruits. On the base of these results, it is possible to stabilize anthocyanin pigments in mulberry fruits through blanching for 10~20 min, followed by treatment of anti-browning agents and chitosan, in the order.

5) High quality mulberry (*Morus* spp.) juice was prepared by minimal processing technology. Clarification of mulberry juice could be improved by the addition of several filter aids, fining agents and enzymes, followed by filtration and centrifugation. However, several fining agents, including chitosan, chitin, PVPP, gelatin and casein at 1% and combination of ultrafiltration with centrifugation at 8,000 rpm were not suitable for clarification of juice owing to strong adsorption of anthocyanin pigment. In contrast, combination of 0.01 μm membrane filtration with centrifugation at 8,000 rpm was effective for clarification of mulberry juice. Meanwhile, browning of minimally processed mulberry juice was inhibited significantly by addition of 200 ppm sodium hydrosulfite, and 0.1% L-ascorbic acid (L-AsA) and 0.1% citric acid (CA) also showed considerable browning inhibition. Combination of L-AsA and CA was effective moderately for browning inhibition of juice, and may be useful as a sulfite alternative for mulberry juice. The optimum sugar ($^{\circ}\text{Brix}$)/acid ratio and commercial sterilization of minimally processed mulberry juice is around 40, and 10 min at 85~90 $^{\circ}\text{C}$, respectively. On the base of these results, high quality mulberry additives can be made as following procedure: fresh mulberry fruits(1 kg) \rightarrow washed with 70% aq. EtOH and then ionized water \rightarrow homogenized with anti-browning agents(0.1% citric acid + 0.01% L-AsA) \rightarrow squeezed with cheese-cloth and then centrifuged at 8,000 rpm for 10 min \rightarrow supernatant \rightarrow adjusted to 40 of sugar/acid ratio \rightarrow sterilization(85~90 $^{\circ}\text{C}$) for 40 sec \rightarrow mulberry juice \rightarrow

(added lactose) → spray dry(or freeze-dry) & evaporated *in vacuo* (at 55 °C) → mulberry additives powder(60 g, yield: 6%) or mulberry additives extract(200 g, 40° Brix, yield: 20%)

- 6) To improve palatability and functionality of mulberry additives, water extracts from four different medicinal plants, such as Corni Fructus(Sansuyu), Lycii Fructus(Gugiza), Schizandrae Fructus(Omiza), and Rubi Fructus (Bokbunza), which are well-known to have antioxidant and antihyperglycemic activity, were added with mulberry additives, and their sensory evaluation was performed by panelists. As a result, the mulberry additives containing 2%(w/w) of three medicinal plant extracts and 0.2% Schizandrae Fructus extract showed the best quality mulberry additives.

- 7) Changes in physico-chemical properties of mulberry additives were investigated during storage at 5°C and 25°C. At 5°C storage, soluble solid and acidity were slightly increased during storage. However, shelf stability studies showed no microbial growth and stable pH, absorbance and colorimeter value during storage. Additionally, sensory analysis evaluated the mulberry additives at 5°C storage did not any changes in color, flavour and taste. In contrast, the changes of above physico-chemical properties during storage at 25°C showed greater somewhat when compared to storage at 5°C. Soluble solid and acidity were considerably increased at early storage, and then decreased slightly at late storage. However, pH, absorbance and colorimeter value were slowly decreased throughout storage. Sensory test revealed that the quality of mulberry additives slowly declined from the first week of storage, and especially flavour and taste except color greatly declined at late storage. Thus, shelf life of mulberry additives considered to be about one month at 5°C storage.

3. Preparation of high quality functional foods (granule tea, pill, capsule and drink) using mulberry fruits

1) Prior to preparation of high quality mulberry granule tea, granule powder of mulberry extract was first prepared from mulberry extract previously made, with dilution of water(2:1, w/w), and then highly mixed with purified glucose(4:1, w/w). Six test samples of mulberry granule tea were made by mulberry granule powder with addition of two sugars(sucrose and oligosaccharide) and acid(citric acid & sodium citrate), and then organoleptic test was carried out to choose the best formulation of mulberry granule tea. As a result, the best quality of mulberry granule tea attained when mixedly prepared with following materials: 81 g mulberry granule powder, 2 g mulberry powder, 3.39 g sucrose, 1.0 g oligosaccharide, 5 g lactose, 6.3 g L-ascorbic acid, 0.2 g citric acid, 0.01 g mulberry flavor, 1 g sodiumsilico-aluminate(SSA).

Meanwhile, changes in physico-chemical characteristics and organoleptic test of mulberry granule tea were determined during storage at 5°C and 25°C. As a result, soluble solid, acidity, pH and absorbance of mulberry granule tea did not significantly change during at 5 °C. Additionally, organoleptic test revealed that there is no significant changes in color, flavor and taste of granule tea during at 5°C storage. In contrast, soluble solid slightly increased somewhat throughout storage, but acidity increased slowly during storage, but pH decreased. "L" value decreased slowly, but "a" value increased during storage, suggesting some browning in granule tea occurred at late of storage. Sensory test revealed that color, flavor and taste of granule tea did not nearly change during three months of storage at 5°C, while those of granule tea incurred the disadvantages of palatability at late storage at 25°C.

2) At first, several test samples of mulberry pills were made according to following ratio; mulberry fruit powder:mulberry leaf powder:silkworm powder =1:1:1, 2:1:1, and 3:1:1(w/w), prior to preparation of high quality mulberry pill, and then organoleptic test was perform to choose the best formulation of mulberry pill. Additionally, the first research result indicated that the mixture pill composed of mulberry powder, mulberry leaf powder, and silkworm powder, with ratio of 1:1:1(w/w), showed potent anti-hyperglycemic activity in strepto- zotocin-induced diabetic rat. From the two above results, the best quality of mulberry pill obtained when prepared with following materials: 100 g mulberry powder, 100 g mulberry leaf powder, 100 g silkworm powder, with glutinous rice paste and ionized water or without their addition.

Meanwhile, changes in physico-chemical characteristics and organoleptic test of mulberry pills were determined during storage at 5°C and 25°C. As a result, souble solid, acidity, pH and absorbance of mulberry pills decreased slightly during at 5 °C, but a conspicuous quality changes did not occur. Additionally, organoleptic test revealed that there is no significant changes in color, flavor and taste of mulberry pills during storage at 5°C. In contrast, souble solid, acidity, pH and absorbance considerably decreased throughout storage, but a significant quality changes did not occur during storage at 25°C. Additionally, sensory test revealed that color, flavor and taste of granule tea did not significantly change during the second months of storage at 25°C, but some disadvantages of palatability incurred at the third storage at 25°C.

3) Mulberry capsule was made easily using the above formulation base of mulberry pill because of similar material composition of mulberry pill and

capsule. So, several test samples of mulberry capsule were made with addition of crystal cellulose and mannitol to basic mixture (mulberry fruit powder: mulberry leaf powder: silkworm powder: crystal cellulose: mannitol = 1:1:1, w/w), and then organoleptic test was performed to choose the best formulation of mulberry capsule. As a result, the best quality of mulberry capsule was prepared when mixed with following materials: 10 g mulberry powder, 100 g mulberry leaf powder, 10 g silkworm powder, 50 g crystal cellulose, 20 g mannitol.

Meanwhile, changes in physico-chemical characteristics and organoleptic test of mulberry pills were determined during storage at 5°C and 25°C. A similar quality change also occurred in mulberry capsule. There is no significant quality change in mulberry capsule during storage at 5°C, while a considerable quality deterioration of mulberry capsule occurred from the third month of storage at 25°C.

- 4) Mulberry drink was made using high quality mulberry extract (containing mulberry cake) previously prepared through control of quantity and composition of sugar and acid. There is no significant difference in color appearance of mulberry drink according to different kinds of sugars, but the best quality of mulberry drink was attained in mulberry juice added with sucrose powder by organoleptic test. Additionally, the mulberry juice added with pectin was much better, as compared to control. Several test samples of mulberry drink were made with addition of sugar (sucrose and oligosaccharide) and acid (citric acid & sodium citrate), and then organoleptic test was carried out to choose the best formulation of mulberry drink. As a result, the best quality of mulberry drink was attained when prepared with following materials: 20 g mulberry extract (containing mulberry cake), 7.35 g aqueous fructose, 5.5 g sugar, 0.15 g citric acid, 0.05 g sodium citrate,

0.023 g pectin, 0.12 g mulberry flavor(KMC-1087), 66.807 g D-H₂O].

Meanwhile, changes in physico-chemical characteristics and organoleptic test of mulberry drinks were determined during storage at 5°C and 25°C. As a result, soluble solid, acidity, pH and absorbance of mulberry drinks did not nearly change during at 5 °C, while soluble solid and acidity increased slightly, but pH and absorbance decreased somewhat during storage at 25°C. Additionally, organoleptic test revealed that there is no significant changes in color, flavor and taste of mulberry drinks during storage at 5°C. In contrast, flavor and taste except color of mulberry drinks decline slightly from the third months of storage at 25°C. Therefore, addition of natural food additives or synthetic additives in mulberry drinks is required to keep the best quality during storage.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	57
1-1. Objectives and necessity	57
1-2. Contents and scope	62
Chapter 2. Effect of mulberry fruit and sericultural products on preventing adult diseases	65
2-1. Introduction	65
2-2. Materials and methods	67
1. Effect of antidiabetic and physiology activity of extract from mulberry fruit and sericultural product (<i>in vitro</i>)	67
1) Assay of antidiabetic activity	67
2) Assay of antioxidative activity	67
3) Assay of activated partial thromboplastin times & thrombin times	67
4) Assay of anti-inflammatory activity	67
2. Effect of antidiabetic and prevention of adult disease by extract from of mulberry fruit and sericultural product (<i>in vivo</i>)	67
1) Animal breeding and diet	67
(1) Effect on antidiabetic of powder from mulberry juice and cake	67
(2) Concentration-dependent effect of mulberry fruit powder on antidiabetic activity	69
(3) Antidiabetic effect of mulberry fruit powder added with sericultural product	70
(4) Combination antidiabetic effect of mulberry fruit and sericultural extract	71

2) Sampling of blood and tissue	72
3) Blood glucose level	72
4) Assay of activities of maltase, sucrase and lactase in intestinal mucosa	73
5) Improving effect of lipid metabolism	73
(1) HMG-CoA reductase in liver	73
(2) Triglyceride in liver	73
(3) Cholesterol in liver	73
(4) Triglyceride in blood serum	73
(5) HDL-Cholesterol in blood serum	73
6) Assay of anti-aging activity	74
(1) Lipofuscin	74
(2) Carbonyl value	74
(3) TBARS	74
7) Assay of antioxidative activity	74
(1) SOD	74
(2) GSH-px	74
(3) Catalase	74
8) APTT & TT	74
9) Protein assay	75
10) Statistics analysis	75
2-3. Result and Discussion	76
1. Effect of antidiabetic and physiology activity of extract from mulberry fruit	76
1) Inhibitory effect against glucose-6-phosphatase in hepatic	76
(1) Comparison of glucose-6-phosphatase inhibitory effect of methanol extract from two different mulberry fruit	76
(2) Comparison of glucose-6-phosphatase inhibitory effect of methanol fractions from mulberry fruit	76

2) α -Glucosidase inhibition	77
(1) Comparison of α -glucosidase inhibitory effect methanol extract from two different mulberry fruit	77
(2) Comparative of α -glucosidase inhibition of methanol fractions from mulberry fruit	77
3) Inhibition of lipid peroxidation in hepatic microsome in rats	78
(1) Comparison of lipid peroxidative inhibitory effect methanol extract from two different mulberry fruit	78
(2) Comparative of lipid peroxidative inhibitory effect of methanol fractions from mulberry fruit	79
4) Activated partial thromboplastin time (APTT) & thrombin times (TT) ..	79
(1) Comparison of APTT effect methanol extract from two different mulberry fruit	79
(2) Comparative of APTT effect of methanol fractions from mulberry fruit	80
(3) Comparison of TT effect methanol extract from two different mulberry fruit	80
(4) Comparative of TT effect of methanol fractions from mulberry fruit ..	81
5) Soybean lipoxygenase (SLO) inhibitory activity	81
(1) Comparison of SLO inhibitory effect of methanol extract from two different mulberry fruit	81
(2) Comparative of SLO inhibitory effect of methanol fractions from mulberry fruit	82
6) DPPH radical scavenging activity	83
(1) Comparison of DPPH radical scavenging activity of methanol extract from two different mulberry fruit	83
(2) Comparative of DPPH radical scavenging activity of methanol fractions from mulberry fruit	83
2. Effect of antidiabetic and physiology activity of extracts mulberry fruit and	

sericultural produc (<i>in vitro</i>)	84
1) Inhibitory activity against glucose-6-phosphatase in hepatic of rats	84
(1) Comparison of glucose-6-phosphatase inhibitory activity of several sericultural product	84
2) α -Glucosidase inhibition	84
(1) Comparison of α -glucosidase inhibitory effect of several sericultural product	84
(2) Comparison of α -glucosidase inhibition effect with different mixing ratio of silkworm water extract	85
(3) Comparison of α -glucosidase inhibition effect with different mixing ratio of mulberry leave water extract	86
3) Inhibition of lipid peroxidation in hepatic microsome of rats	86
(1) Comparison of lipid peroxidation inhibition by several sericultural product	86
(2) Comparison of lipid peroxidation inhibition by different mixing ratio of silkworm water extract	87
(3) Comparison of lipid peroxidation inhibition by different mixing ratio of mulberry leave water extract	88
4) Activated partial thromboplastin time (APTT) & thrombin times (TT)	88
(1) Comparison of activated partial thromboplastin time (APTT) by several sericultural product	88
(2) Comparison of activated partial thromboplastin time (APTT) by different mixing ratio of silkworm water extract	89
(3) Comparison of activated partial thromboplastin time (APTT) by different mixing ratio of mulberry leave water extract	90
(4) Comparison of thrombin times (TT) by several sericultural product	91
(5) Comparison of thrombin times (TT) by different mixing ratio of silkworm water extract	91
(6) Comparison of thrombin times (TT) by different mixing ratio of mulberry	

leave water extract	91
5) Soybean lipoxygenase (SLO) inhibitory activity	93
(1) Comparison of soybean lipoxygenase (SLO) inhibitory activity by several sericultural product	93
(2) Comparison of soybean lipoxygenase (SLO) inhibitory activity by different mixing ratio of silkworm water extract	93
(3) Comparison of soybean lipoxygenase (SLO) inhibitory activity by different mixing ratio of mulberry leave water extract	94
6) DPPH radical scavenging activity	94
(1) Comparison of DPPH radical scavenging activity by several sericultural product	94
(2) Comparison of DPPH radical scavenging activity by different mixing ratio of silkworm water extract	95
(3) Comparison of DPPH radical scavenging activity by different mixing ratio of mulberry leave water extract	95
2-3. Effect of antidiabetic of extract from mulberry fruit and several sericultural produc (<i>in vivo</i>)	96
1) Effect of muberry juice and cake powder	96
(1) Body weight gain, food intake and FER	96
(2) Blood glucose level	97
(3) Inhibitory effect against absorption of glucose level in rat intestine	98
① Inhibitory effect of mulberry juice against absorption of glucose level in rat intestine	98
② Inhibitory effect of mulberry cake against absorption of glucose level in rat intestine	101
(4) Effect of improving lipid composition in blood	103
(5) Effect on antioxidative activity in erythrocyte	104
① Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) and catalase (CAT) in erythrocyte	104

② TBARS in erythrocyte	106
2) Effect of mulberry fruit powder	106
(1) Body weight gain, food intake and FER	107
(2) Blood glucose level	107
(3) Inhibitory effect against absorption of glucose level in rat intestine	108
(4) Effect of improvement of lipid composition in blood	111
(5) Effect on antioxidative activity in erythrocyte	112
① Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) and catalase (CAT) in erythrocyte	112
② TBARS in erythrocyte	112
3) Effect of mulberry fruit powder added with several sericultural product	113
(1) Body weight gain, food intake and FER	113
(2) Blood glucose level	114
(3) Inhibitory effect against absorption of glucose level in rat intestine	115
(4) Effect of improvement of lipid composition in blood	118
(5) Effect on antioxidative activity in erythrocyte	119
① Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) and catalase (CAT) in erythrocyte	119
② TBARS in erythrocyte	120
2-4. Effect of mulberry fruit and several sericultural extract on preventing adult diseases (<i>in vivo</i>)	121
1) Lipid metabolism	121
(1) HMG-CoA reductase	121
(2) Effect of control Triglyceride	122
(3) Effect of control Cholesterol	123
2) Effect of antiaging	124
(1) Lipofuscin	124
(2) Carbonyl value	125

(3) TBARS	125
3) Effect of antioxidative	126
(1) SOD	126
(2) GSH-px	127
(3) Catalase	128
4) APTT&TT	128
5) Establishment of effective reasonable dosage	129
Chapter 3. Development of high quality food additives using mulberry fruits ·	130
3-1. Introduction	130
3-2. Materials and method	132
1. Materials	132
2. Preparation of mulberry extract	132
1) Preparation of water and ethanol extracts from mulberry fruits	132
2) Preparation of water and methanol extracts of mulberry juice and cake prepared from mulberry fruits	132
3. Quantitative analysis of proximate compositions and functional components from mulberry fruit	133
1) Quantitative analysis of proximate composition of mulberry fruits	133
(1) Proximate components	133
(2) Souble solid, acidity and pH	133
(3) Free sugars and organic acids	135
(4) Souble phenolics	135
(5) L-ascorbic acid	135
2) Quantitative analysis of functional components from mulberry fruits	135
(1) Isolation, identification and quantitative analysis of phenolic compounds from mulberry fruits	135

(2) GABA and 1-DNJ	137
4. Development of stabilization of anthocyanins from mulberry fruits	139
1) Stability of anthocyanins from mulberry fruits against physical and chemical factors	139
2) Development of stabilization of anthocyanins from mulberry fruits	139
5. Preparation of high quality mulberry additives by minimal processing technology	139
1) Preparation of mulberry juice by minimal processing technology	139
(1) Washing of mulberry fruits by antimicrobial agents	139
(2) Preparation of mulberry juice and extracting yield of anthocyanins from mulberry fruits	139
(3) Effect of filtration on clarification of mulberry juice	140
(4) Effect of filter aids, fining agents and enzymes on clarification of mulberry juice	140
(5) Effect of anti-browning agents on browning in mulberry juice	141
(6) Sensory evaluation of mulberry juice in terms of control of sugar/acid ratio and sterilization method	141
(7) Statistical analysis	141
2) Preparation of high quality mulberry additives	142
3) Development of technology for improving functionality and palatability of mulberry additives	142
4) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry additives during storage	142
3-3. Results and Discussion	143
1. Preparation of mulberry extract	143
1) Yield of water and ethanol extracts from mulberry fruits	143
2) Yield of water and methanol extracts of mulberry juice and cake prepared from mulberry fruits, and phenolic contents	143

3) Comparison of radical scavenging activity of water and methanol extracts from mulberry juice and cake	144
2. Proximate compositions and functional components	145
1) Proximate compositions of mulberry fruits	145
2) Physio-chemical characteristics of mulberry fruits	145
3) Free sugars and organic acids	146
4) Anthocyanins, flavonoids and 2-arylbenzofuran derivatives	146
3. Development of stabilization of anthocyanins from mulberry fruits	152
1) Stability of anthocyanins from mulberry fruits against physical and chemical factors	152
2) Binding capacity of several polysaccharide against anthocyanins of mulberry fruits	152
4. Preparation of high quality mulberry additives by minimal processing technology	153
1) Preparation of mulberry juice by minimal processing technology	153
(1) Washing of mulberry fruits by antimicrobial agents	153
(2) Preparation of mulberry juice and extracting yield of anthocyanins from mulberry fruits	154
(3) Effect of filtration on clarification of mulberry juice	155
(4) Effect of filter aids, fining agents and enzymes on clarification of mulberry juice	157
(5) Effect of anti-browning agents on browning in mulberry juice	159
(6) Sensory evaluation of mulberry juice in terms of control of sugar/acid ratio and sterilization method	162
(7) Effect of heat treatment on colorimeter and absorbance of mulberry juice ..	163
2) Preparation of high quality mulberry additives	165
3) Development of technology for improving functionality and palatability of mulberry additives	166
4) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry additives during	

storage	167
 Chapter 4. Preparation of high quality functional foods using mulberry fruits	 168
4-1. Introduction	168
4-2. Materials and method	170
1. Materials	170
2. Method	170
1) Preparation of mulberry granule tea and changes in physio-chemical characteristics in mulberry granule tea during storage at 5°C and 25°C ..	170
(1) Preparation of mulberry fruit powder	170
(2) Preparation of mulberry fruit extract	170
(3) Preparation of mulberry granule tea	171
① Establishment of formulation of mulberry granule tea	171
② Preparation of mulberry granule tea	172
(4) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry granule tea during storage at 5°C and 25°C	173
2) Preparation of mulberry pill, and changes in physio-chemical characteristics in mulberry pill during storage at 5°C and 25°C	173
(1) Establishment of formulation of mulberry granule tea	173
(2) Preparation of mulberry pill	174
(3) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry pill during storage at 5°C and 25°C	175
3) Preparation of mulberry capsule, and changes in physio-chemical characteristics in mulberry pill during storage at 5°C and 25°C	175
(1) Preparation of mulberry capsule	175
(2) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry capsule during storage at 5°C and 25°C	176

4) Preparation of mulberry drink, and changes in physio-chemical characteristics in mulberry drink during storage at 5°C and 25°C	176
(1) Preparation of mulberry drink	176
(2) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry drink during storage at 5°C and 25°C	178
3-3. Results and discussion	179
1. Preparation of mulberry granule tea, and changes in physio-chemical characteristics in mulberry granule tea during storage at 5°C and 25°C	179
1) Preparation of mulberry granule tea	179
2) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry granule tea during storage at 5°C and 25°C	180
2. Preparation of mulberry pill, and changes in physio-chemical characteristics in mulberry pill during storage at 5°C and 25°C	182
1) Preparation of mulberry pill	182
2) Comparison of physio-chemical characteristics between new developed mulberry pill and conventional mulberry leaf pill	183
3) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry pill during storage at 5°C and 25°C	184
3. Preparation of mulberry capsule, and changes in physio-chemical characteristics in mulberry capsule during storage at 5°C and 25°C	187
1) Selection of optimum material combination ratio for preparation of mulberry capsule	187
2) Preparation of mulberry capsule	188
3) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry capsule during storage at 5°C and 25°C	188
4. Preparation of mulberry drink, and changes in physio-chemical characteristics in mulberry drink during storage at 5°C and 25°C	189
1) Selection of optimum material combination ratio for preparation of mulberry	

drink	189
2) Preparation of mulberry drink	190
3) Changes in physio-chemical characteristics in mulberry drink during storage at 5°C and 25°C	190
Chapter 5. Conclusion	193
References	201

목 차

제 출 문	1
요 약 문	2
SUMMARY	18
CONTENTS	36
목 차	48
제 1 장 서 론	57
제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성	57
1. 연구개발의 목적 및 필요성	57
2. 국내·외 관련기술의 현황과 문제점	61
제 2 절 연구개발 내용 및 범위	62
제 2 장 : 오디로부터 제조된 우수기능성 건강보조식품의 성인병 예방 효능 규명	65
제 1 절 서 설	65
제 2 절 재료 및 방법	67
1. 오디 추출물 및 잠상산물의 생리활성 및 항당뇨 효능 검정방법 (<i>in vivo</i>)	67
가. 항당뇨 효능 측정	67
나. 항산화 작용 측정	67
다. 항혈전 작용 측정	67
라. 항염증 작용 측정	67
2. 오디 및 잠상산물 추출물의 항당뇨 및 성인병 예방 효능 검정방법 (<i>in vivo</i>)	67
가. 동물 사육 및 식이	67
1) 오디즙 분말과 오디박 분말 효능 실험(제1실험)	67
2) 오디 분말 농도별 실험(제2실험)	69
3) 잠상산물의 첨가에 따라 혼합 제조된 물질 실험(제3실험)	70

4) 오디 및 잠상산물 추출물의 혼합비율에 따른 실험(제4실험)	71
나. 혈액 및 장기채취	72
다. 혈당 측정	72
라. 소장에서의 이당류 분해효소 활성 측정	73
마. 지질대사 개선 효과 측정	73
1) HMG-CoA reductase 활성 측정	73
2) 중성지질 저하 효과 측정	73
3) 콜레스테롤 저하 효과 측정	73
4) 혈청내 중성지방 측정	73
5) HDL-콜레스테롤 측정	73
바. 항노화 효과 측정	74
1) Lipofuscin 함량 측정	74
2) Carbonyl value 함량 측정	74
3) TBARS 함량 측정	74
사. 항산화 효과 측정	74
1) SOD 활성 측정	74
2) GSH-px 활성 측정	74
아. 항혈전 측정	74
자. 단백질 정량	75
차. 통계처리	75
제 3 절 결과 및 고찰	76
1. 오디추출물의 생리활성 효능 (<i>in vitro</i>)	76
가. 쥐 간조직 glucose-6-phosphatase 저해 활성	76
1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 glucose-6-phosphatase 저해 활성 비교	76
2) 오디 메탄올 분획물의 glucose-6-phosphatase 저해 활성 비교	76
나. α -Glucosidase 저해활성	77
1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 α -glucosidase 저해활성 비교	77
2) 오디 메탄올 분획물의 α -glucosidase 저해활성 비교	77

다. 쥐 간조직 microsome 지질과산화 억제 작용	78
1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 지질과산화 억제 효과 비교	78
2) 오디 메탄올 분획물의 쥐 간 마이크로솜 지질과산화 억제 효과 비교	79
라. Activated partial thromboplastin time(APTT) & Thrombin times	79
1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 APTT 비교	79
2) 오디 메탄올 분획물의 항혈전(APTT) 비교	80
3) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 항응고(TT) 비교	80
4) 오디 메탄올 분획물의 TT 비교	81
마. Soybean lipoxygenase(SLO) 저해 효과	81
1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 SLO 저해활성 비교	81
2) 오디 메탄올 분획물의 SLO 저해활성 비교	82
바. DPPH radical scavenging activity	83
1) 재배지역별 오디 메탄올 추출물의 DPPH radical scavenging activity 비교	83
2) 오디 메탄올 분획물의 DPPH radical scavenging activity 비교	83
2. 오디 및 잠상산물 추출물의 생리활성 효능 및 항당뇨 효능 (<i>in vitro</i>)	84
가. 쥐 간조직 glucose-6-phosphatase 저해 활성	84
1) 잠상물질(오디 물 추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수추출물)의 glucose-6-phosphatase 저해 활성 비교	84
나. α -Glucosidase 저해활성	84
1) 잠상물질의 α -glucosidase 저해활성 비교	84
2) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 α -glucosidase 저해활성 비교	85
3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 α -glucosidase 저해활성 비교	86
다. 쥐 간조직 microsome 지질과산화 억제 작용	86
1) 잠상물질(오디 물 추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수추출물)의 쥐 간 마이크로솜 지질과산화 억제 활성 비교	86
2) 누에 열수 추출물의 혼합비율에 의한 지질 과산화 억제 효과 비교	87
3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합비율에 의한 지질 과산화 억제 효과 비교	88
라. Activated partial thromboplastin time(APTT) & Thrombin times(TT)	88

1) 잠상물질(오디 물 추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수 추출물)의 APTT & TT 비교	88
2) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 APTT 비교	89
3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 APTT 비교	90
4) 잠상물질 및 혼합 비율에 의한 TT 비교	91
5) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 TT 비교	91
6) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 TT 비교	92
마. Soybean lipoxygenase(SLO) 저해 효과	93
1) 잠상물질(오디 물 추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수추출물)의 SLO 저해 활성 비교	93
2) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 SLO 저해 활성 비교	93
3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 따른 SLO 저해 활성 비교	94
바. DPPH radical scavenging activity	94
1) 잠상물질(오디 물 추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수 추출물)의 DPPH 저해 활성 비교	94
2) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 DPPH 포착활성 비교	95
3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 따른 DPPH 저해 활성 비교	95
3. 오디 및 잠상산물 추출물의 항당뇨 효능 (<i>in vivo</i>)	96
가. 제1실험 : 오디즙 분말과 오디박 분말 효능 실험	96
1) 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율	96
2) 혈당저하 효과	97
3) 소장에서 당 흡수 억제효과	98
가) 오디즙의 소장에서 당 흡수 억제효과	98
나) 오디박의 소장에서 당 흡수 억제효과	101
4) 혈중 지질조성 개선 효과	103
5) 적혈구의 항산화 효과	104
가) Superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) 및 catalase (CAT) 활성변화	104

나) 적혈구의 과산화지질 (TBARS) 함량	106
나. 제2실험 : 오디과실분말 농도별 실험	106
1) 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율	107
2) 혈당저하 효과	107
3) 소장에서 당 흡수 억제효과	108
4) 혈중 지질조성 개선 효과	111
5) 적혈구 항산화 효과	112
가) SOD, GSH-px, CAT 활성변화	112
나) 적혈구의 과산화지질 (TBARS) 함량	112
다. 제3실험 : 잠상물질의 첨가에 따른 혼합 제조된 물질 실험	113
1) 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율	113
2) 혈당저하 효과	114
3) 소장에서 당 흡수 억제효과	115
4) 혈중 지질조성 개선 효과	118
5) 적혈구 항산화 효과	119
가) SOD, GSH-px, CAT 활성 변화	119
나) 적혈구의 과산화지질 (TBARS) 함량	120
4. 오디 및 잠상산물 추출물의 성인병 예방 효능 (<i>in vivo</i>)	121
가. 지질대사 개선 효과 측정	121
1) 간조직중의 HMG-CoA reductase 활성	121
2) 간조직중의 중성지질 저하효과	122
3) 간조직중의 콜레스테롤 저하효과	123
나. 항노화 효과 측정	124
1) 간조직 lipofuscin 함량	124
2) 간조직 carbonyl value 함량	125
3) 간조직 TBARS 함량	125
다. 항산화 효과 측정	126
1) SOD 활성	126

2) GSH-px 활성	127
3) Catalase 활성	128
라. Activated partial thromboplastin times & Thrombin time 활성	128
마. 유효적정기준치 확립	129
제 3 장 오디를 이용한 식품첨가제의 제조기술 개발 및 제조	130
제 1 절 서 설	130
제 2 절 재 료 및 방 법	132
1. 공시재료	132
2. 오디 추출물의 제조 방법	132
가. 오디 물추출물 및 에탄올추출물의 제조 방법	132
나. 오디즙 및 오디박의 물 및 메탄올추출물의 제조	132
3. 오디의 일반성분 및 생리활성물질의 정량분석	133
가. 오디의 일반성분 정량	133
1) 일반성분 함량 측정	133
2) 당도, pH 및 산도 측정	133
3) 유리당 및 유기산 함량 측정	135
4) Souble phenol 함량 측정	135
5) 비타민 C 함량 측정	135
나. 오디의 생리활성물질의 정량분석	135
1) 오디로부터 페놀화합물의 분리, 동정 및 정량분석	135
2) GABA 및 1-DNJ의 정량분석	137
4. 오디 안토시아닌 색소의 안정화 기술 개발	139
가. 오디 안토시아닌 색소의 물리적 및 화학적인 요인에 대한 안정성 조사 ..	139
나. 오디 안토시아닌 색소의 안정화 기술 개발	139
5. 최소가공기술을 이용한 고품질의 오디 첨가물의 제조기술 개발 및 제조	139
가. 최소가공기술(minimal processing technology)을 이용한 오디주스 제조기술 개발	139

1) 항균제에 의한 오디과실의 수세	139
2) 오디 과실 주스의 제조 및 안토시아닌 색소의 추출 수율	139
3) 여과방법에 따른 오디 과즙의 청징 효과	140
4) 여과보조제, 청징제 및 효소처리에 따른 오디 과즙의 청징 효과	140
5) 갈변저해제 처리에 따른 오디 과즙의 색도 변화	141
6) 당/산 첨가에 따른 오디주스의 관능검사	141
7) 가열처리에 따른 오디 주스의 색도 및 흡광도 변화	141
8) 통계처리	141
나. 고품질의 오디 첨가물 제조기술 개발	142
다. 오디 첨가물의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발	142
라. 오디 첨가물의 저장 중 이화학적 품질 변화 조사	142
제 3 절 결과 및 고찰	143
1. 오디추출물의 제조	143
가. 오디 물추출물 및 에탄올추출물의 수율	143
나. 오디로부터 제조된 오디즙 및 오디박 추출물의 수율 및 페놀 함량	143
다. 오디즙 및 오디박 추출물의 라디칼 소거활성 비교	144
2. 오디의 일반성분 및 생리활성물질의 분석	145
가. 오디의 일반성분 함량	145
나. 오디의 이화학적 품질 특성	145
다. 유리당 및 유기산 함량	146
라. 안토시아닌 색소, 플라보노이드 및 2-arylbenzofuran 유도체 함량	146
3. 오디 안토시아닌 색소의 안정화 기술 개발	152
가. 오디 안토시아닌 색소의 여러 물리·화학적인 요인에 대한 안정성	152
나. 여러 다당류에 의한 오디 안토시아닌 색소의 흡착능	152
4. 최소가공기술(minimal processing technology)을 이용한 고품질의 오디첨가물의 제조기술 개발	153
가. 최소가공기술을 이용한 오디주스 제조기술 개발	153
1) 항균제에 의한 오디과실의 수세 효과	153

2) 오디 과즙의 수율 및 안토시아닌 색소 추출 수율	154
3) 여과방법에 따른 오디 과즙의 청징 효과	155
4) 여과보조제, 청징제 및 효소처리에 따른 오디 과즙의 청징 효과	157
5) 갈변저해제 처리에 따른 오디 과즙의 색도 변화	159
6) 당/산 첨가에 따른 오디주스의 관능검사	162
7) 가열처리에 따른 오디 주스의 색도 및 흡광도 변화	163
나. 고품질의 오디첨가물의 제조	165
다. 오디첨가물의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발	166
라. 오디첨가물의 저장 중 이화학적 품질 변화 조사	167
제 4 장 오디를 이용한 고품질의 기능성 건강보조식품 제조기술 개발 및 제조 ·	168
제 1 절 서 설	168
제 2 절 재료 및 방법	170
1. 공시재료	140
2. 실험방법	170
가. 오디 과립차의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정	170
1) 오디 건조분말 제조	170
2) 오디 과즙 엑기스의 제조	170
3) 오디 과립차 제조	171
가) 성분 배합비 설정	171
나) 오디 과립차의 제조 방법	172
4) 오디 과립차의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정	173
가) 경도 측정	173
나) 당도, 산도, pH, 색도 및 관능검사 측정	173
나. 오디 정제환의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정	173
1) 성분배합 비율	173
2) 오디 정제환의 제조 방법	174
3) 오디정제환의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정	175

다. 오디 캡슐의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화	175
1) 오디 캡슐의 제조	175
2) 오디 캡슐의 저장 중 이화학적 품질 변화	176
라. 오디 드링크 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정	176
1) 오디 드링크 제조	176
2) 오디 드링크의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정	178
제 3 절 결과 및 고찰	179
1. 오디 과립차의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화	179
가. 오디 과립차 제조	179
나. 오디 과립차의 저장 중 이화학적 품질 변화	180
2. 오디 정제환의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화	182
가. 오디 정제환의 제조	182
나. 오디 분말 첨가에 따라 제조된 신제품 오디 정제환과 기존의 빵잎 정제환의 이화학적 품질 특성 비교	183
다. 오디 정제환의 저장 중 이화학적 품질 변화	184
3. 오디 캡슐 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정	187
가. 오디 캡슐 제조를위한 최적 원료 배합비 선정	187
나. 오디 캡슐의 제조	188
다. 오디 캡슐의 저장 중 이화학적 품질 변화	188
4. 오디 드링크의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정	189
가. 오디 드링크 제조를위한 최적 원료 배합비 선정	189
나. 오디 드링크의 제조	190
다. 오디 드링크의 저장 중 이화학적 품질 변화	190
제 5 장 총 합 결 론	193
참 고 문 헌	201

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 급격한 경제성장, 생활의 서구화 및 노인인구의 증가로 암, 동맥경화, 고혈압, 심장질환, 뇌질환, 및 당뇨 등 각종 성인병이 크게 증가하고 있다. 현재 이러한 만성적인 질병을 치료하기위해 합성의약품이 널리 사용되고 있으나 독성 및 안전성이 문제시 되면서 소비자들은 식이의 섭취나 조절로 통해 이들 질병을 효과적으로 예방·치료할 수 있는 대체의학으로서 건강기능성식품에 대한 관심이 크게 고조되고 있다.

현재 식품산업에서는 특정한 영양소나 성분을 가감한 다양한 기능성 건강보조제품들이 생산, 판매되고 있으므로 이들 제품의 규격화, 품질의 고급화 및 다양화가 필요하다. 또한 식품의 기능성성분의 생리적작용과 효능에 대한 과학적인 규명이 필요하며 나아가 이들 결과를 토대로 각 질병의 예방 및 치료 목적에 부합할 수 있도록 생리활성물질이 다시 조절된 고품질의 기능성건강보조식품의 개발이 필요한 시점이다. 최근 빵잎, 누에, 상백피 및 동충하초를 비롯한 여러 잠상산물에 대한 기능성이 새롭게 평가되어지고 있다. 특히 빵잎, 상백피 및 누에가루의 혈당강하 및 혈압강하 효과가 밝혀지면서 양잠 본래의 목적인 “입는 양잠에서 먹는 양잠으로” 바뀌고 있으며, 이로인해 잠상산물이 기능성식품의 신소재로서 각광을 받고 있다. 따라서 오디 및 이들 잠상산물을 이용한 다양한 기능성 건강보조식품의 개발이 필요한 실정이다.

뽕나무 열매인 오디는 예로부터 대머리를 예방하고 머리를 검게하는 자양·보양제로서 뿐만 아니라 고혈압, 당뇨병, 및 노화를 예방하는 생약으로 사용되어져 왔다. 아울러 오디는 당산비가 적절하며, 특유한 안토시아닌 색소 및 향기를 지니고 있어 기능성 음료의 원료로서 적합하다. 그러나 오디는 다른 과실에 비해 크기가 작고 수분함량이 높아 저장성이 낮을 뿐만 아니라 불안정한 안토시아닌 색소를 다량 함유하고 있어 그를 이용한 기능성식품의 개발이 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 뽕나무 열매인 오디를 이용하여 식품첨가제로 개발한 후 여기

에 항당뇨, 항고혈압 및 항산화작용이 우수한 뽕잎을 비롯한 여러 잠상산물을 적절하게 혼합하여 기호성 및 기능성을 보다 강화시킨 고부가가치의 기능성건강보조식품을 개발하고자 한다. 본 연구의 필요성을 구체적으로 서술하면 다음과 같다.

가. 기술적 측면

오디 (뽕나무 열매, 상심자)는 독특한 맛과 향기 및 색깔을 지니고 있어 생식하거나 또는 상심주를 담그어 이용해 왔으며, 아울러 햇빛에 말려 달여 마시면 자양·강장 효과 뿐만 아니라 당뇨 및 관절통 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그리고 오디에는 당 (6.42-13.1%)과 유기산 (구연산으로 0.59-1.99%)이 풍부할 뿐 아니라 여러 정유성분과 색소를 함유하고 있어 식품첨가물 및 기능성 음료의 소재로 적합하여 외국에서는 오디를 이용한 잼, 젤리, 음료 및 술 등 여러 가공식품의 개발이 이루어지고 있으나 국내에서는 그 동안 오디의 연간 생산량이 그리 많지 않았고 또 가공상의 여러 가지 문제점이 많아 아직까지 오디 음료가 대중화되지 못하고 있는 실정이다. 따라서 오디의 과실적 특성 및 생리적 우수성을 이용하여 고부가가치 기능성건강보조식품의 개발이 필요하다.

오디에는 sanggenon, moracin, cyclomulberrin 및 kuwanon와 같은 항산화, 항고혈압 및 항노화성 활성을 지니고 있는 여러 플라보노이드 뿐만 아니라 albufuran, bergapten 등의 항균 및 항염증 물질이 함유되어 있음이 밝혀지고 있다. 또한, 오디에는 resveratrol, oxyresveratrol, oxydihydroresveratrol, 및 broussonin과 같은 phytoalexin을 함유하고 있어 암, 염증 및 고혈압 예방 효과를 지닌 기능성 신소재로서 최근 각광을 받고 있다. 그러나 아직까지 오디의 혈당강하 및 혈압강하 성분의 검색과 더불어 그들 추출물의 생리활성을 뒷받침해 줄 과학적인 증거가 부족하고 특히 제조된 건강보조식품에 대한 구체적인 효능 연구가 제시되지 못하여 소비자로부터 신뢰성과 홍보부족으로 그 이용도가 낮으므로 과학적인 효능규명이 절실히 요구된다.

한편, 뽕나무 (*Morus alba* L.)의 잎 및 뿌리에는 항고혈압성 플라보노이드 (kaempferol 및 quercetin 배당체, rutin)와 GABA (γ -aminobutyric acid) 뿐만 아니라 항당뇨 성분인 1-deoxynojirimycin (DNJ) 및 moran A 등이 함유되어 있음이 밝혀지고 있다. 또한 누에가루, 상백피, 동충하초 뿐만 아니라 오디 및 저실자 (꾸지뽕나무 열매) 추출물도 혈당강하 및 혈압강하작용이 있는 것으로 보고되고 있다. 그러나 오디 및

잠상산물 추출물을 혼합한 복합제제의 항당뇨, 항고혈압 및 항노화활성의 강화 효과에 대한 과학적인 연구와 더불어 이들 복합처방제를 이용하여 당뇨병 및 여러 성인병 예방용 고부가가치 기능성건강보조식품의 개발에 관한 연구가 미비하다.

오디에 다량 함유되어 있는 안토시아닌 색소 (18.84-328.7 mg/100g, fresh weight)는 최근 독성 및 발암 등의 안전성의 문제가 제기되고 있는 합성착색료를 대체할 수 있는 천연 착색료로 크게 각광을 받고 있다. 아울러 안토시아닌 색소는 천연항산화물질로써 뿐만 아니라 항균, 항염증 및 항경련 작용을 지니고 있어 기능성 식품, 화장품 및 의약품의 신소재로써 크게 주목을 받고 있다. 따라서 식이성 천연항산화성 안토시아닌 색소를 많이 함유하고 있는 오디를 이용한 고부가가치의 식품첨가물의 개발이 필요하다. 그러나 오디의 안토시아닌 색소는 대부분 cyanidin 배당체 (cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside 등)로 구성되어 있으며, 다른 식품(포도, 고구마, 및 양배추 등)의 안토시아닌 색소에 비해 열, pH, 금속 및 효소 등 여러 물리화학적인 요인에 대해 매우 불안정하여 식품의 가공 및 저장 중 쉽게 탈색 및 변색을 초래한다. 따라서 오디를 이용한 고품질의 기능성건강보조식품을 개발하기에 앞서 먼저 안토시아닌 색소의 특성을 조사하고 나아가 이들 색소를 안정화시킬 수 있는 기술개발이 필요하다.

이러한 기술적인 측면의 연구 필요성을 요약해 볼 때 오디의 맛과 기능성을 최대한 유지시키면서 첨가제로서 혹은 기능성식품으로서 개발하고 나아가 여기에 여러 잠상물질을 적절히 첨가하여 각 질병의 목적에 부합되게 그 효과를 상승시킨 복합처방의 고품질 기능성건강보조식품을 제조하는 기술을 개발하여 제품을 다양화시키고 그리고 이들 제품의 효능을 과학적으로 규명하여 규격화시키므로써 소비자로부터 신뢰도를 얻으므로써 소비의욕을 증대시킬수 있는 기술적 연구가 필요하다고 본다.

나. 경제·산업적 측면

오디 및 뽕잎으로부터 생리활성물질의 검색과 더불어 그를 이용한 기능성식품의 개발에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있으나 아직까지 기호면이나 가공면에서 품질을 향상시킨 이렇다할 기능성식품이 개발되지 못한 실정이며, 또한 오디 및 뽕잎의 효능에 대한 과학적인 근거가 부족하여 이들 제품의 이용도가 크게 증대되지 않고 있는 실정이다.

따라서 이러한 현시점에서 최근 영천지역에서 뽕잎이용을 목적으로한 YK-209 뽕잎

과 오디 이용을 목적으로 하는 오디용 청일뽕나무를 대량 재배하고 있으므로 오디의 가공적성과 기술을 개발하고 그를 근거로 하여 맛과 기능성이 강화된 우수한 신제품을 개발할 필요가 있다. 또한 다른 기능성 식품이 턱없이 고가이므로 이용하기가 어렵지만 영천양잠농업협동조합에서 직접 생산하고 있는 원료값이 저렴한 오디와 뽕잎, 동충하초, 누에 및 기타 잠상물질을 이용한 건강보조식품을 저렴한 가격으로 생산하여 많은 사람들이 쉽게 이용할 수 있게 되므로써 양잠농가의 소득증대 및 나아가 식품산업체의 산업화 발달로 국민소득이 증대되고 수입대체효과를 가져 올 것이다. 또 기능성을 강화시킨 다양한 잠상산물제품의 생리적 효능에 대해 동물실험을 통한 구체적이고 과학적인 data를 근거로 홍보하여 소비자의 신뢰도를 구축하여 소비자의 이용도를 증대시키므로써 양잠농가의 소득을 증대시킬 수 있는 연구가 필요하다.

최근 국외 뿐만 아니라 국내에서 식품 및 생약추출물을 이용한 기능성 건강보조식품의 판매가 급성장하고 있다. 따라서 외국산 오디가공품의 수입 대체품으로서 우리나라 오디가공품의 개발이 요구되고 있다. 만약 우리나라의 오디 및 잠상물질을 원료로 우수한 기능성건강보조식품을 개발하여 수입되는 건강보조식품의 절반만을 대체하더라도 연간 약 1,000만 달러의 귀중한 외화소비를 줄일 수 있을 것이다. 또 WTO 체제의 농산물 수입개방화에 대처하며, 아울러 향후 월드컵 및 아시안 게임 등에 대비하여 오디를 이용한 고부가가치의 가공식품 개발이 필요하다.

다. 사회·문화적 측면

생활수준의 향상과 의학의 발달로 수명이 연장되면서 노인인구가 크게 증가되고 있고 이에 동반하여 각종 성인병이 급격히 증가할 것으로 예상하고 있다.

통계청 발표에 따르면 고혈압, 동맥경화증, 뇌졸중 (중풍), 심장질환 등의 심혈관계 질환으로 인한 사망이 우리나라 사망요인 제 1순위로 지목되고 있다. 또한 당뇨병은 우리나라 성인인구의 약 8~10%로 날로 급증하고 있으며 당뇨병자에서는 이러한 고지혈증이나 동맥경화 및 심장질환과 같은 합병증을 동반하므로 심혈관계질환의 원인이 되고 또 이들 합병증으로 인해 결국 사망하게 된다. 따라서 향후 사회문제로 크게 대두될 수 있는 당뇨병과 그 합병증, 고지혈증 및 기타 성인병을 예방 및 치료할 수 있는 천연물 유래의 기능성 건강보조식품의 개발이 필요하다.

국민소득의 증대와 건강에 관심이 깊어지면서 천연물 유래 건강식품에 대한 소비자

의 기호성의 증대와 더불어 합성첨가물을 사용한 식품을 꺼리는 경향이 두드러지면서 보다 안전한 기능성 천연식품의 개발이 필요하다.

2. 국내·외 관련기술의 현황과 문제점

오디는 국내에서 생산되고 있는 생약 과실(산수유, 구기자, 산사자, 오미자 및 복분자 등)중 가장 생산량이 적은 과실로서 일부 가공용으로 이용되고 있으나 거의 생과 또는 건과류로서 약용으로 사용되고 있다. 현재 잼, 젤리 및 상심주 등 일부 가공되어 이용되고 있을 뿐 거의 대중화되어 있지 못한 형편이다. 그러나 최근 오디가 지니고 있는 음료 적합성 및 생리활성물질 때문에 국내에서 오디를 생산할 수 있는 뽕나무의 개발이 활발히 진행되고 있다. 특히 영천양잠농업협동조합에서는 그 동안 뽕잎용 YK-209 뽕나무와 오디용 청일뽕나무를 새로이 재배하여 올해부터 오디를 수확할 예정이다. 아울러 최근 매실음료의 큰 호황에 힘입어 국외로부터 다량의 오디가 수입될 전망이다. 따라서 현재 오디의 대량생산 및 수입 오디의 진출에 대비하여 우리나라 오디의 품질과 특성에 가장 적합한 가공법을 개발하여 효과적으로 제조할 수 있는 독특한 가공기술과 그를 이용한 가공식품의 개발이 필요하다.

오디는 여러 가지 당, 산, 아미노산 및 향기성분을 함유하고 있어 자양·강장효과가 우수할 뿐 아니라 당뇨 및 관절통 치료 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 그러나 anthocyanin 색소를 많이 함유하고 있어 가공 및 저장 중에 쉽게 변색 또는 퇴색되는 문제가 있다. 따라서 이런 문제점을 해결하기 위해 오디 가공산업에서는 현재 열처리 및 화학적 처리방법을 이용하여 건과류 및 가공식품을 개발하고 있으나 이로 인해 오디의 독특한 맛, 향기 및 색깔과 더불어 생리활성성분이 소실되거나 가공 후 변색 및 이취 등의 문제가 일어날 수 있다.

현재까지 오디의 일반성분, 색소, 향기 및 생리활성성분에 관한 연구와 더불어 오디의 생화학적 및 약리적작용에 관한 연구는 많은 반면, 오디를 이용한 알코올 및 비알코올성 음료의 개발에 관한 연구는 미흡하고 또 체계적인 비가열 가공방법이 확립되지 못한 상태이다. 특히 오디 품종마다 적당한 가공기술이 개발되어 있지 않는 실정이다.

최근 농촌진흥청 잠사곤충부에서 새로이 육종된 YK-209 뽕나무가 경북 영천지역 양잠농가와 영천양잠농업협동조합에서 시험 재배에 성공하여 현재 그를 이용한 뽕잎 액

기스 및 정제환을 제조 판매하고 있고 또한 오디 수확을 목적으로 새로이 청일 뽕나무 품종을 대량 재배하여 금년부터 수확할 예정이나 연구진이나 기타여건상 아직까지 이들 오디의 기능성성분에 대한 연구와 더불어 그를 이용한 가공품 제조 기술을 개발하지 못하고 있는 실정이므로 산학연공동으로 이러한 제품개발을 위한 체계적인 연구가 시급하고 절실한 상태이다.

또한 지금까지 개발된 건강보조식품들중에 많은 제품이 성분 함량 제시도 미비할 뿐만 아니라 과학적인 효능 규명도 없이 과대 광고로 소비자를 혼란케 하여 왔다. 따라서 오디 및 잠상산물의 생리적 기능에 대한 구체적이고 과학적인 규명으로 각종 성인병 예방 및 치료에 대한 사용 한계량을 제시하므로서 실제 소비자가 믿고 이용할 수 있는 방안을 제시할 필요가 있다.

제 2 절 연구개발 내용 및 범위

본 연구과제에서는 오디 이용 기능성 식품개발에 적합한 가공기술개발과 생리적 효능 규명 등 연구목적에 따라 2개의 세부과제로 나누어 오디를 이용한 기능성 식품 제조기술의 개발과 그 효능을 동물 실험을 통해 항당뇨와 항산화 효과를 규명하고자 한다. 수행한 주요 연구 내용 및 범위를 요약하면 다음과 같다.

▶세부과제1: 오디로부터 제조된 우수기능성 건강보조식품의 성인병 예방 효능 규명

구분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (2002)	오디추출물의 항당뇨 및 기타 생리활성 효능 검정 (<i>In vitro</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 오디추출물의 항당뇨 및 기타 생리활성 효능 검정 <ul style="list-style-type: none"> - 쥐 간조직 glucose-6-phosphatase 저해활성 측정 - 쥐 간조직 microsome 지질과산화 억제작용 측정 - Activated thromboplastin times & Thrombin times - Soybean lipooxygenase(SLO) 저해활성 측정 ○ 잠상산물의 첨가에 따른 성인병예방 상승효과 검정 <ul style="list-style-type: none"> - 쥐 간조직 glucose-6-phosphatase 저해활성 측정 - 쥐 간조직 microsome 지질과산화 억제작용 측정 - Activated thromboplastin times & Thrombin times - Soybean lipooxygenase(SLO) 저해활성 측정
2차년도 (2003)	오디 이용 우수 제조품의 동물실험을 통한 항당뇨 효능검증 (<i>In vivo</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 동물실험을 통한 오디추출물의 항당뇨 효능 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 혈당저하 효과 측정 - 소장에서 당 흡수 억제효과 측정 - 혈중 지질조성 개선 효과 측정 - 혈중 항산화 효과 측정 ○ 잠상산물 첨가에 따른 오디추출물의 항당뇨 개선 효과 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 혈당저하 효과 측정 - 소장에서 당분해 흡수 억제 관찰 - 혈중 지질조성 개선 효과 측정 - 혈중 항산화 효과 측정
3차년도 (2004)	오디 이용 우수 제조품의 동물실험을 통한 성인병 예방효능 검정 및 평가 (<i>In vivo</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 우수 오디 가공제품의 각종 성인병 예방 효과 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 지질대사 개선 효과 측정 <ul style="list-style-type: none"> -간조직중의 HMG-CoA reductase 활성 -간조직중의 중성지질 저하효과 -간조직중의 콜레스테롤 저하효과 - 항노화 효과 측정 <ul style="list-style-type: none"> -간조직 lipofuscin 함량 -간조직 carbonyl value 함량 -간조직 TBARS 함량 - 항산화 효과 측정 (SOD, GSH-px 활성) - Activated partial thromboplastin times & Thrombin times - 유효적정기준치 확립

▶ 세부과제2 : 오디를 이용한 식품첨가제 및 고품질의 기능성 건강보조식품 제조 기술 개발 및 제조

구 분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (2002)	오디를 이용한 식품첨가제의 제조기술 개발 및 제조	<ul style="list-style-type: none"> ○ 오디추출물의 제조 방법 확립 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 물, 에탄올 및 압착추출물 제조 - 오디추출물의 최소가공 조건 검토 ○ 오디추출물의 일반성분 및 생리활성물질의 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 일반성분의 분석 및 산도, 당도 및 pH 측정 - 비타민 C, GABA, 유기산 및 유리당의 분석 - 수용성 페놀 및 anthocyanin 색소의 분석 - Resveratrol 및 그 유도체의 분석 ○ 오디추출물 및 안토시아닌 색소의 안정화 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 여러 물리·화학적인 요인에 대한 안정성 조사 - 여러 유기산, 당 및 다당류에 의한 색소의 안정성 조사 - Chitosan, cyclodextrin 및 CMC를 이용한 안정화 기술 개발 ○ 오디 첨가물 (엑기스 및 분말) 제조방법 확립 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 추출물의 최적 건조, 농축 방법 확립 - 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 오디 추출물의 저장중 이화학적 품질변화 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 당도, 산도, 색도, 물성 및 pH 측정
2차년도 (2003)	오디를 이용한 고품질의 과립차와 정제환 제조 기술 개발 및 제조	<ul style="list-style-type: none"> ○ 오디를 이용한 과립차의 최적 제조조건 검토 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 잠상산물의 열수추출물 제조 및 농축 방법 확립 - 과립차 제조를 위한 제조 조건 검토, 성분배합비 및 건조 조건 확립 - 과립차의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 오디를 이용한 정제환의 최적 제조조건 검토 <ul style="list-style-type: none"> - 정제환 제조 조건 검토, 방법 확립 및 제조 - 정제환 제조를위한 성분배합비 및 건조조건 확립 - 정제환의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 제조품의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정 <ul style="list-style-type: none"> - 산도, 당도, 물성 및 색도 측정 - 수용성 페놀 및 anthocyanin 색소의 분석 ○ 품질 평가 및 규격화
3차년도 (2004)	오디를 이용한 고품질의 캡슐과 드링크 제조 기술 개발 및 제조	<ul style="list-style-type: none"> ○ 오디를 이용한 캡슐제조의 최적 제조조건 검토 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 캡슐 제조를 위한 적합성 조사, 주요 성분배합비 및 성형 조건 확립 및 제조 - 캡슐의 물성 측정 - 캡슐의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 오디를 이용한 드링크제조의 최적 제조조건 검토 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> - 드링크 제조를 위한 적합성 조사, 주요 성분배합비 및 살균 방법 확립 - 드링크의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발 ○ 제조품의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정 <ul style="list-style-type: none"> - 용해성, 산도, 당도 및 pH 측정 - 수용성 페놀, anthocyanin 색소 및 GABA의 분석 - 품질평가 및 규격화

제 2 장 : 오디로부터 제조된 우수기능성 건강보조식품의 성인병 예방 효능 규명

제 1 절 서 설

뽕나무(*Morus* spp., Moraceae) 열매인 오디(mulberry, *Mori Fructus*)는 한방에서 ‘상삼자’라하여 예로부터 대머리를 예방하고 머리를 검게하는 자양·보양제로서 뿐만 아니라 고혈압, 당뇨병, 및 노화를 치료하는 생약으로 사용되어져 왔다. 또한, 오디에는 항산화, 항고혈압 및 항노화성 활성을 지니고 있는 안토시아닌 색소를 비롯한 여러 플라보노이드 뿐만 아니라 항균 및 항염증 물질로 알려진 2-arylbenzofuran 유도체와 더불어 암, 염증 및 고혈압 예방 효과를 지닌 resveratrol 유도체 등의 여러 생리활성물질이 함유되어 있음이 밝혀지고 있다. 이와같이 지금까지 오디로부터 생리활성물질의 분리 및 동정 그리고 생리적작용에 관한 많은 연구가 이루어져 왔으나 아직까지 오디의 혈당강하 및 혈압강하 작용을 뒷받침해 줄 과학적인 증거가 부족하고 아울러 오디 및 잠상산물의 구체적인 효능 규명의 연구가 거의 없는 실정이다.

최근 생리활성기능에 대한 연구보고로는 오디의 항당뇨 효능(Kim 1996), 꾸지뽕나무의 과산화지질 억제효과(Park 1995), 뽕나무 오디 추출물의 항염증 및 항산화 작용에 대한 생리활성 검사(Kim 1998), 쥐 적출 대동맥의 수축 및 이완작용에 미치는 오디 품종간 안토시아닌 색소의 효과(Park 1997) 등의 많은 연구가 보고 되고 있다. 그러나 아직까지 동물실험을 통한 오디 분말 및 추출물의 항당뇨, 항고지혈증, 항응고 활성 및 항산화 등의 생리활성에 관한 구체적인 연구보고는 미비한 실정이며, 아울러 오디 및 잠상산물 혼합물의 여러 생리활성의 평가 및 특히 항당뇨 활성을 나타내는 잠상산물의 최적 재료 혼합비 선정에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 오디 및 잠상산물 추출물의 생리활성 효능을 검증하기 위하여 *in vitro* 실험으로 오디 및 잠상산물 추출물을 대상으로 항당뇨, 항산화, 항염증 및 항

혈전 생리활성을 측정하였다. 즉 오디 재배 지역별 (영천, 상주), 농도별, 오디추출물의 Diaion HP-20 칼럼 분획별 (10% MeOH, 20% MeOH, 40% MeOH 및 80% MeOH), 그리고 잠상산물 (누에 및 뽕잎 열수추출물) 혼합비율에 따라 생리활성을 비교 관찰하였다.

오디 및 잠상산물 추출물의 항당뇨 효능을 규명하기 위하여 *in vivo* 실험을 실시하였다. 동물사육은 아래와 같이 공급식이 종류에 따라 3차례로 구분하였다. 실험조건은 오디즙분말과 오디박분말 효능 실험(제1실험), 오디과실분말 농도별 실험(제2실험) 및 잠상물질의 첨가에 따른 혼합 제조된 물질 실험(제3실험) 등 3차례로 나누어 수행하여 이들의 항당뇨 및 항산화 기능과 그 작용기전을 규명하고자 하였다.

오디 및 잠상산물 추출물의 성인병 예방 효능을 규명하기 위하여 *in vivo* 실험을 실시하였다. 동물 사육은 오디, 뽕잎 및 누에의 혼합비율에 따른 실험(제4실험)으로 체내 지질조성, 체내 항노화 및 항산화 효과를 규명하고자 하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 오디 추출물 및 잠상산물의 생리활성 및 항당뇨 효능 검정 (*in vitro*)

가. 항당뇨 효능 측정

1) 각 시료의 항당뇨 활성은 쥐간의 glucose-6-phosphatase 저해 활성을 Alegre 등(1988)의 방법에 따라 측정하였다.

2) α -glucosidase inhibition 측정은 Kim 등(1997)의 방법에 따라 측정하였다.

나. 항산화 작용 측정

1) 쥐간 microsome을 Slater 등(1921)의 방법에 따라 조제한 후 Ohkawa 등(1979)의 방법에 따라 지질과산화억제 활성을 측정하였다.

2) DPPH radical의 소거 활성은 Tagashira 및 Ohtake(1998)의 방법에 따라 측정하였다.

다. 항혈전 (Activated partial thromboplastin times & Thrombin times)작용 측정은 Thompson 등(1983)의 방법에 따라 측정하였다.

라. 항염증 작용 측정은 Block 등(1974)의 방법에 따라 soybean lipoxygenase (SLO)를 이용하여 측정하였다.

2. 오디 및 잠상산물 추출물의 항당뇨 및 성인병 예방 효능 검정방법 (*in vivo*)

가. 동물 사육 및 식이

동물 사육은 다음과 같이 실시하였다. 오디 및 잠상산물 추출물의 항당뇨 효능을 알아보기 위한 오디즙분말과 오디박분말 효능 실험 (제1실험), 오디과실분말 농도별 실험 (제2실험) 및 잠상물질의 첨가에 따른 혼합 제조된 물질 실험 (제3실험)을 행하였고 오디 및 잠상산물 추출물의 성인병예방 효능을 알아보기 위하여 오디 및 잠상산물 추출물의 혼합비율에 따른 실험 (제4실험)을 행하였다.

1) 오디즙 분말과 오디박 분말 효능 실험(제1실험)

먼저 오디부위별 성분과 효능검정을 위해 오디즙분말과 오디박분말에서의 혈당강하활성을 비교하고자 하였다.

실험동물은 체중 100 ± 10 g내외의 Sprague-Dawley 종 숫컷을 구입하여 실험에 사용하였다. 환경에 적응시키기 위하여 일반 배합사료로 일주일간 예비 사육하여 난괴법 (randomized complet block design)에 의해 Table 1과 같이 당뇨를 유발하지 않은 정상군과 당뇨유발 실험군으로 나눈후 실험군을 다시 식이내 오디즙분말 및 오디박분말 급여 수준에 따라 식이내에 오디즙분말 및 오디박분말을 급여하지 않은 당뇨대조군 (DM group), 오디즙분말을 0.5% 급여한 군 (DM-0.5E group), 오디즙분말을 1% 급여한 군 (DM-1E group), 오디즙분말을 2% 급여한 군 (DM-2E group),과 그리고 오디박분말 0.25% 급여한 군 (DM-0.25P group), 오디박분말 0.5% 급여한 군 (DM-0.5P group), 오디박분말 1% 급여한 군 (DM-1P group) 및 오디박분말 2% 급여한 군 (DM-2P group)등 각 10마리씩 9군으로 나누어 4주간 사육한 후 당뇨 유발 실험동물로 사용하였다. 이때 사육실의 온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 였고, 습도는 $50 \pm 10\%$ 이었다. 당뇨 유발은 실험동물에 streptozotocin (STZ) 55 mg/kg B.W.을 신선한 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.3)에 녹여서 꼬리 정맥을 통하여 주사하여 유발시켰으며 혈당농도가 300 mg/dl이상인 동물만 희생하여 본 실험에 사용하였으며 당뇨 유발 후 9일째에 본 실험에 사용하였다.

Table 1. Composition of experimental diets. (g/kg diet)

Groups	Normal ¹⁾	DM ²⁾	DM-0.5E ³⁾	DM-1E ⁴⁾	DM-2E ⁵⁾	DM-0.25P ⁶⁾	DM-0.5P ⁷⁾	DM-1P ⁸⁾	DM-2P ⁹⁾
Ingredients									
Corn starch	698	698	693	688	678	695.5	693	688	678
Casein	150	150	150	150	150	150	150	150	150
DL-methionine	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Salt mix	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Vitamin mix	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Corn oil	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Cellulose	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Mulberry extract	-	-	5	10	20	-	-	-	-
Mulberry peel	-	-	-	-	-	2.5	5	10	20
Total(g)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

¹⁾Normal: no supplementation mulberry fruits extract or peel

²⁾DM: no supplementation mulberry fruits extract or peel

³⁾DM-0.5E: 0.5% supplementation mulberry fruits extract

⁴⁾DM-1E: 1% supplementation mulberry fruits extract

⁵⁾DM-2E: 2% supplementation mulberry fruits extract

⁶⁾DM-0.25P: 0.25% supplementation mulberry fruits peel

⁷⁾DM-0.5P: 0.5% supplementation mulberry fruits peel

⁸⁾DM-1P: 1% supplementation mulberry fruits peel

⁹⁾DM-2P: 2% supplementation mulberry fruits peel

2) 오디 분말 농도별 실험(제2실험)

실험(1) 오디부위별 결과에서 오디박분말에도 혈당강화 효과가 우수하였으므로 기능성식품개발 원료로는 오디박분말도 함께 이용하는 방안이 기대되므로 오디과실 전체를 냉동건조한 오디과실분말 시료를 제 2세부에서 공급받아 이용하였다.

전술한 실험(1)과 같은 방법으로 동물사육 하였다. 실험군은 Table 2와 같이 당뇨를 유발하지 않은 정상군과 당뇨유발 실험군으로 나눈후 실험군을 다시 식이내 오디과실분말 급여 수준에 따라 식이내에 오디과실분말을 급여하지 않은 당뇨대조군(DM group), 오디과실분말을 0.3% 급여한 군 (DM-0.3F group), 오디과실분말을 0.6% 급여한 군(DM-0.6F group)등 각 10마리씩 4군으로 나누어 4주간 사육한 후 당뇨 유발 실험동물로 사용하였으며 기타조건은 실험(1)과 같았다.

Table 2. Composition of experimental diets. (g/kg diet)

Groups				
Ingredients	Normal ¹⁾	DM ²⁾	DM-0.3F ³⁾	DM-0.6F ⁴⁾
Corn starch	698	698	695	692
Casein	150	150	150	150
DL-methionine	2	2	2	2
Salt mix	40	40	40	40
Vitamin mix	10	10	10	10
Corn oil	50	50	50	50
Cellulose	50	50	50	50
Mulberry fruits	-	-	3	6
Total(g)	1000	1000	1000	1000

¹⁾Normal: no supplementation mulberry fruits powder
²⁾DM: no supplementation mulberry fruits powder
³⁾DM-0.3F: 0.3% supplementation mulberry fruits powder
⁴⁾DM-0.6F: 0.6% supplementation mulberry fruits powder

3) 잠상산물의 첨가에 따라 혼합 제조된 물질 실험(제3실험)

실험 (1), (2)에서 오디즙분말 뿐만 아니라 오디박분말도 혈당강하 효과가 우수하여 기능성식품개발을 위해서는 오디박이 포함된 과실 성분 전체가 포함된 냉동건조 오디과실로 실험하는 것이 바람직하여 잠상산물첨가는 오디과실 건조 분말을 주된 base로 하여 여기에 잠상산물의 종류별로 첨가하여 실시하였다.

동물실험은 실험(1), (2)와 같은 방법으로 실시하였으며 실험군은 Table 3과같이 당뇨를 유발하지 않은 정상군과 당뇨유발 실험군으로 나눈후 실험군을 다시 식이내 잠상물질 급여 수준에 따라 식이내에 잠상산물을 급여하지 않은 당뇨대조군(DM group), 오디과실분말을 0.3% 급여한 군 (F group), 뽕잎을 0.3% 급여한 군(M group), 누에를 0.3% 급여한 군(S group), 오디과실분말 0.15% 와 뽕잎 0.15%을 혼합하여 급여 한 군(FM group), 오디과실분말 0.15% 와 누에 0.15%을 혼합하여 급여한 군(FS group) 및 오디과실분말 0.1%, 뽕잎 0.1% 및 누에 0.1% 씩 각각 혼합하여 급여한 군(FMS group)군 등 각 10마리씩 7군으로 나누었다. 기타 조건은 실험(1) 및 (2)와 동일하게 실시하였다.

Table 3. Composition of experimental diets.

(g/kg diet)

Ingredients	Groups						
	DM ¹⁾	F ²⁾	M ³⁾	S ⁴⁾	FM ⁵⁾	FS ⁶⁾	FMS ⁷⁾
Corn starch	698	695	692	692	692	692	692
Casein	150	150	150	150	150	150	150
DL-methionine	2	2	2	2	2	2	2
Salt mix	40	40	40	40	40	40	40
Vitamin mix	10	10	10	10	10	10	10
Corn oil	50	50	50	50	50	50	50
Cellulose	50	50	50	50	50	50	50
Mulberry fruits	-	3	-	-	1.5	1.5	1
Mulberry leaves	-	-	3	-	1.5	-	1
Silk worm	-	-	-	3	-	1.5	1
Total(g)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

¹⁾DM: no supplementation sericultural products powder

²⁾F: 0.3% supplementation mulberry fruits powder

³⁾M: 0.3% supplementation mulberry leaves powder

⁴⁾S: 0.3% supplementation silk worm powder

⁵⁾FM: 0.15% supplementation mulberry fruits powder + 0.15% mulberry leaves powder

⁶⁾FS: 0.15% supplementation mulberry fruits powder + 0.15% silk worm powder

⁷⁾FMS: 0.1% supplementation mulberry fruits powder + 0.1% mulberry leaves powder + 0.1% silk worm powder

4) 오디 및 잠상산물 추출물의 혼합비율에 따른 실험(제4실험)

동물실험은 실험(1), (2) 및 (3)과 같은 방법으로 실시하였으며 실험군은 Table 4와 같이 당뇨대조군(DM), 0.3% 오디 투여군(F), 0.3% 뽕잎 투여군(L), 0.3% 누에 투여군(S), 0.15% 오디 + 0.15% 뽕잎 혼합 투여군(FL), 0.15% 오디 + 0.15% 누에 혼합 투여군(FS), 0.1% 오디 + 0.1% 뽕잎 + 0.1% 누에 혼합 투여군(FLS), 0.8% 오디 + 0.6% 뽕잎 + 0.6% 누에 혼합 투여군(3FLS) 및 2.4% 오디 + 0.3% 뽕잎 + 0.3% 누에 혼합 투여군(4FLS) 군 등 각각 10마리씩 9군으로 나누었다. 기타 조건은 실험(1), (2) 및 (3)과 동일하게 실시하였다.

Table 4. Composition of diets in experiment groups. (g/kg diet)

Ingredients	Groups									
	DM ¹⁾	F ²⁾	L ³⁾	S ⁴⁾	FL ⁵⁾	FS ⁶⁾	FLS ⁷⁾	3FLS ⁸⁾	4FLS ⁹⁾	
Corn starch	698	695	695	695	695	695	695	695	695	
Casein	150	150	150	150	150	150	150	150	150	
DL-methionine	2	2	20	2	2	2	2	2	20	
Salt mix	40	40	40	40	40	40	40	40	40	
Vitamin mix	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
Corn oil	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
Cellulose	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
Mulberry fruits	-	3	-	-	1.5	1.5	1	1.8	2.4	
Mulberry leaves	-	-	3	-	1.5	-	1	0.6	0.3	
Silkworm powder	-	-	-	3	-	1.5	1	0.6	0.3	
Total(g)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	

¹⁾DM : Injection of streptozotocin + no supplementation mulberry fruit or mulberry leaves or silkworm powder

²⁾F : Injection of streptozotocin + 3g(3%) mulberry fruits

³⁾L : Injection of streptozotocin + 3g(3%) mulberry leaves

⁴⁾S : Injection of streptozotocin + 3g(3%) silkworm powder

⁵⁾FL : Injection of streptozotocin + 1.5g(1.5%) mulberry fruits + 1.5g(1.5%) mulberry leaves

⁶⁾FS : Injection of streptozotocin + 1.5g(1.5%) mulberry fruits + 1.5g(1.5%) silkworm powder

⁷⁾FLS : Injection of streptozotocin + 1g(1%) mulberry fruits + 1g(1%) mulberry leaves + 1g(1%) silkworm powder

⁸⁾3FLS : Injection of streptozotocin + 1.8g(1.8%) mulberry fruits + 0.6g(0.6%) mulberry leaves + 0.6g(0.6%) silkworm powder

⁹⁾4FLS : Injection of streptozotocin + 2.4g(2.4%) mulberry fruits + 0.3g(0.3%) mulberry leaves + 0.3g(0.3%) silkworm powder

나. 혈액 및 장기채취

사육기간 완료 후 12시간 절식시킨 실험 동물을 가벼운 에테르 마취하에서 22gauge 주사기로 복부 대동맥으로부터 혈액을 채혈하여 실온에서 30분간 방치한 후 1500×g에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 분석시까지 -80℃에서 냉동 보관하였다. 혈액을 채취한 후 즉시 장기들을 적출하여 생리 식염수로 헹군 후 가아제로 수분을 제거하고 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80℃에서 보관하였다.

다. 혈당 측정

혈당측정은 아산제약(Asan Co. Korea)의 enzymatic kit AM 201K를 사용하여 500nm에 비색 정량하였다.

라. 소장에서의 이당류 분해효소 활성 측정

Lactase, maltase, sucrase 활성은 Dahlqvist 방법(1974)에 의해 측정하였다.

마. 지질대사 개선 효과 측정

1) HMG-CoA reductase 활성 측정

간조직에서 microsime을 분리한 다음 Hulcher 등(1973)의 방법을 수정 보완하여 사용하였다.

2) 중성지질 저하 효과 측정

간조직 내 중성지방 측정은 표준 효소비색법에 의한 kit (Asan Co. Korea)를 사용하여 550nm에서 흡광도를 측정하여 중성지방 농도를 계산하였다.

3) 콜레스테롤 저하 효과 측정

간조직 내 콜레스테롤 측정은 표준 효소비색법에 의한 kit (Asan Co. Korea)를 사용하여 500nm에서 흡광도를 측정하여 콜레스테롤 농도를 계산하였다.

4) 혈청내 중성지방 측정

혈청내 중성지방 측정은 표준 효소비색법에 의한 kit (Asan Co. Korea)를 사용하여 550nm에서 흡광도를 측정하여 혈청 중성지방 농도를 계산한다. 혈청내 콜레스테롤 측정은 표준 효소비색법에 의한 kit (Asan Co. Korea)를 사용하여 500nm에서 흡광도를 측정하여 혈청 콜레스테롤 농도를 계산한다.

5) HDL-콜레스테롤 측정

HDL-콜레스테롤 측정을 위하여 2% dextran sulfate와 1M MgCl₂ 침전액 (1 : 1)을 가하여 그 상층액을 시료로 표준효소법에 의한 Kit (Asan co. Korea)을 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정한다. LDL-콜레스테롤은 Friedewald 식{Total cholesterol - (HDL cholesterol + TG/5)}에 의하여 계산하고, atherogenic index는 {Total

cholesterol - (HDL cholesterol)/ HDL cholesterol}식으로 산출한다.

바. 항노화 효과 측정

1) Lipofuscin 함량 측정

소모성 노화색소인 리포푸신의 측정은 Fletcher 등(1973)의 방법을 이용하여 측정하였다.

2) Carbonyl value 함량 측정

간 조직의 microsome중의 산화된 단백질의 함량은 Levin 등(1986)의 방법에 따라 측정하였다.

3) TBARS 함량 측정

과산화지질 측정은 Satoh법(1978)을 이용하였다.

사. 항산화 효과 측정

1) SOD 활성 측정

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund의 방법(1974)에 따라 측정하였다.

2) GSH-px 활성 측정

GSH-px 활성은 Lawrence 및 Burk의 방법(1976)에 따라 측정하였다.

3) Catalase 활성 측정

간조직의 catalase 활성은 Aebi 등의 방법(1974)으로 측정하였다.

아. 항혈전 측정

혈액 응고 기전인 Activated partial thromboplastin times & Thrombin times의 측정은 아산제약의 kit를 이용하여 측정하였다.

자. 단백질 정량

각 시료의 단백질량은 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하였으며, 각 효소의 단백질 정량은 Lowry 법(1951)을 이용하여 정량함.

차. 통계처리

모든 실험 결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석의 결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's-HSD test(1988)에 의해 분석하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 오디추출물의 생리활성 효능 (*in vitro*)

가. 쥐 간조직 glucose-6-phosphatase 저해 활성

1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 glucose-6-phosphatase 저해 활성 비교
 상주 및 영천 오디 메탄올 추출물의 항당뇨 효과를 알기위해
 glucose-6-phosphatase 저해활성을 측정한 결과 (Table 5.) 20mg/ml농도에서 재배
 지역에 따른 유의적인 차이는 없었다.

Table 5. Comparative of glucose-6-phosphatase impediment activity of mulberry fruit methanol extract.

Concentration (mg/ml)	Mulberry fruit from Yong-chun (%, Inhibition)	Mulberry fruit from Sang-ju (%, Inhibition)
20	41.16±4.83 ^{NS}	44.36±4.43

2) 오디 메탄올 분획물의 glucose-6-phosphatase 저해 활성 비교
 오디 분획별에 의한 glucose-6-phosphatase 저해활성을 측정한 결과는 (Table 6.)
 20 mg/ml농도에서 메탄올 20% 추출물이 다소 높은 경향이였다.

Table 6. Comparative of glucose-6-phosphatase impediment activity of mulberry fruit methanol fraction.

Concentration (mg/ml)	10% MeOH fr.	20% MeOH fr.	40% MeOH fr.	80% MeOH fr.
20	31.56±3.55 ^{NS}	38.87±3.09	33.07±2.69	32.30±4.41

All values are mean±SE (n = 10). Values within a column with different superscripts are significantly different each group at P<0.05 by Tukey's test. *오디 메탄올 추출물을 Diaion HP-20 C.C.에 의해 분리된 4가지 분획물(10%, 20%, 40%, & 80% MeOH fr.).

나. α -Glucosidase inhibition

1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 α -glucosidase inhibition 비교

영천 및 상주오디 메탄올 추출물의 α -glucosidase inhibition을 1,5,10,20 mg/ml의 농도에서 비교한 결과 Table 7.과 같이 농도가 증가 할수록 높은 저해활성을 나타내었으며 상주오디에 비하여 영천오디에 있어서의 저해활성도가 높았으나 유의적인 차이는 없었다.

Table 7. Comparative of α -glucosidase inhibition of several sericultural product.

Concentration (mg/ml)	Inhibition(%)	
	Mulberry fruit from Youngchun	Mulberry fruit from Sangju
1	14.86±0.68 ^{c,1}	12.92±2.04 ^{b,1}
5	21.02±1.94 ^{b,1}	17.24±1.51 ^{b,1}
10	21.18±1.80 ^{b,1}	16.51±1.46 ^{b,2}
20	28.04±0.76 ^{a,1}	27.65±0.61 ^{a,1}

All values are mean \pm SE(n=10). values within a column with(a,b,c,d) and a row with(1,2,3,4) different superscripts are significantly different at $P<0.05$ by Tukey's test.

2) 오디 메탄올 분획물의 α -glucosidase 저해 효과 비교

오디 메탄올 분획물(10%, 20%, 40% 및 80%)을 1, 5, 10 mg/ml로 농도를 달리하여 α -glucosidase inhibition을 비교한 결과 Fig. 1.과 같이 10%, 20% 및 40%에서는 농도가 증가 할수록 저해율이 높게 나타났으며, 80%는 유의적인 차이는 없었으나 마찬가지로 경향을 나타내었다. 오디 메탄올 분획물 간의 비교에서는 10% 메탄올 분획물이 20%, 40% 및 80% 메탄올 분획물에 비하여 유의적으로 높은 저해율을 나타내었다.

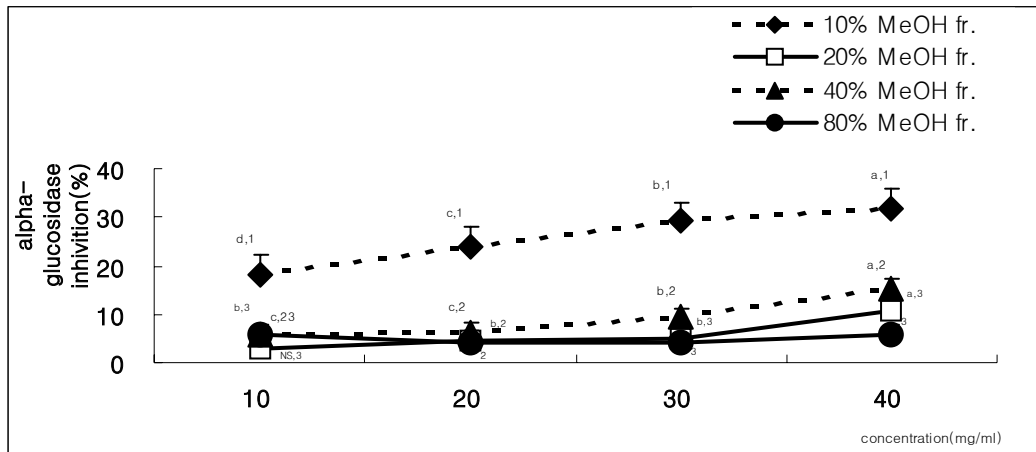


Fig. 1. Comparative of α -glucosidase inhibition of mulberry fruit methanol fraction

All values are mean \pm SE(n=10). values within a column with(a,b,c,d) and a row with(1,2,3,4) different superscripts are significantly different at $P < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant.

다. 쥐 간조직 microsome 지질과산화 억제 작용

1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 지질과산화 억제 효과 비교

영천 및 상주 오디 메탄올추출물의 항산화 효과를 알아보기위해 쥐 간 마이크로솜 지질과산화 억제 효과를 농도별로 측정 한 결과 (Table 8.) 10mg/ml 농도에서 가장 높은 항산화 효과를 나타내었으며, 영천오디와 상주오디 간의 차이는 거의 없었다.

Table 8. Control of lipid peroxidase of mulberry fruit methanol extract in hepatic microsome from cultured area.

Concentration (mg/ml)	Mulberry fruit from Young-chun	Mylberry fruit from Sang-ju
	(%, Inhibition)	(%, Inhibition)
1	39.35 \pm 9.48 ^{b,1}	18.74 \pm 5.75 ^{b,2}
5	69.10 \pm 3.09 ^{a,1}	65.89 \pm 1.25 ^{a,1}
10	74.13 \pm 4.88 ^{a,1}	71.51 \pm 3.90 ^{a,1}
20	72.03 \pm 1.47 ^{a,1}	65.24 \pm 2.39 ^{a,2}

All values are mean \pm SE (n=10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$ by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

2) 오디 메탄올 분획물의 쥐 간 마이크로솜 지질과산화 억제 효과 비교

오디 분획별 쥐 간 마이크로솜 지질과산화 억제 효과를 측정한 결과는 (Fig. 2.) 모든 오디 분획 10mg/ml농도에서 쥐 간 microsome 지질과산화는 크게 억제되었으며, 그중에서 특히 40% 메탄올 분획물에서 10%, 20% 및 80% 메탄올 분획물보다 억제 효과가 유의적으로 높아서 항산화 물질이 40% 메탄올 분획에 많이 존재하는 것으로 보인다.

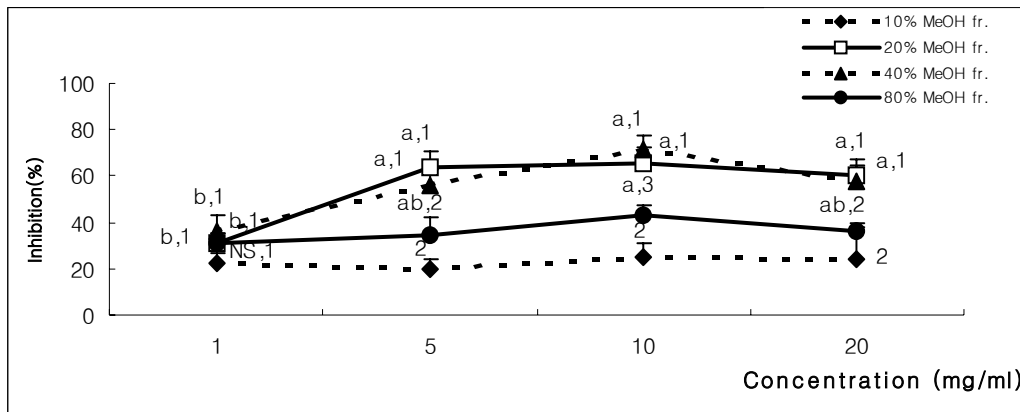


Fig. 2. Comparative of control of lipid peroxide of mulberry fruit methanol fraction in hepatic microsome.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and row(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant. *오디 메탄올 추출물의 diaion HP-20 c.c.에 분리된 4가지 분획물 (10%, 20%, 40%, 80% MeOH fr.).

라. Activated partial thromboplastin time(APTT) & Thrombin times

1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 APTT 비교

오디로부터 항혈전 물질을 찾기 위해 APTT를 측정하여 대조군보다 지연된 시간을 갖는 시료는 항응고제로서의 가능성이 있다. 지역별 오디 시료를 다양한 농도로 APTT를 측정한 결과 (Fig. 3.) 0.1 mg/ml 농도에서 가장 높은 지연시간을 나타내었다.

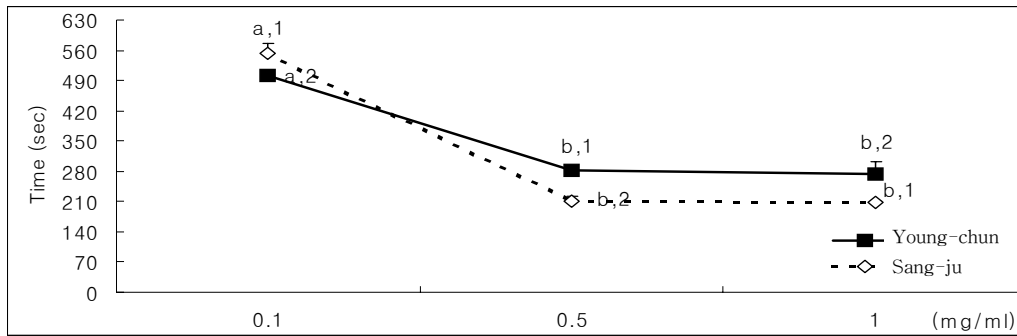


Fig. 3. Comparative of Activated partial thromboplastin time(APTT) of mulberry fruit methanol extract from cultured area.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and row(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant. *오디 메탄올 추출물의 diaion HP-20 c.c.에 분리된 4가지 분획물 (10%, 20%, 40%, 80% MeOH fr.).

2) 오디 메탄올 분획물의 항혈전(APTT) 비교

오디 메탄올 분획물의 APTT를 측정한 결과 (Table 9.) 1mg/ml 농도에서 80% 메탄올 분획물이 대조군(258.7초) 보다 258% 증가되어 가장 높은 항혈전 효과를 나타내었다. 따라서 항혈전물질이 80% 메탄올 분획에 주로 함유되어 있는 것으로 본다.

Table 9. APTT of methanol fraction of mulberry fruit.

Concentration (mg/ml)	10% MeOH fr.	20% MeOH fr.	40% MeOH fr.	80% MeOH fr.
0.1	372.95 \pm 21.57 ^{a,2}	500.75 \pm 15.06 ^{a,3}	433.20 \pm 23.20 ^{b,4}	727.80 \pm 26.40 ^{b,1}
1.0	412.07 \pm 47.23 ^{a,2}	292.03 \pm 28.69 ^{bc,3}	350.30 \pm 37.01 ^{c,2,3}	927.50 \pm 25.70 ^{a,1}
10	395.00 \pm 26.03 ^{a,2}	289.25 \pm 9.40 ^{b,3}	626.30 \pm 31.60 ^{a,1}	499.20 \pm 29.00 ^{c,4}
20	201.60 \pm 4.20 ^{b,2}	255.03 \pm 15.04 ^{c,3}	405.80 \pm 39.80 ^{bc,1,4}	395.70 \pm 27.70 ^{d,4}

All values are mean \pm SE (n = 10). All values are mean \pm SE (n = 10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$ by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

3) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 항응고(TT) 비교

혈액응고 작용 인자 중 섬유소원을 섬유소로 변환시키는 작용을 하는 트롬빈을 억제할 수 있으면 항응고제로서의 가능성이 있다. 영천오디는 10 mg/ml농도에서 81.5 초로서 대조군(62.9초) 보다 반응시간이 30% 증가되었다(Table 10.). 영천 오디와 상주오디는 각각 10mg/ml 농도에서 가장 높은 반응시간을 나타내었으며, 재배지 별로

는 상주 지역재배 오디가 1mg/ml 농도에서 10% 유의적으로 높았으나 그 외에는 비슷하였다.

Table 10. TT of methanol extract of mulberry fruit from cultured area.

Concentration (mg/ml)	Mulberry fruit from Young-chun (sec)	Mulberry fruit from Sang-ju (sec)
0.1	67.97±4.07 ^{b,1}	73.33±3.91 ^{NS,1}
1	72.47±3.82 ^{b,1}	79.60±0.82 ²
10	81.50±2.48 ^{a,1}	79.70±6.90 ¹
20	67.50±3.57 ^{b,1}	69.50±5.96 ¹

All values are mean±SE (n = 10). All values are mean±SE (n = 10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

4) 오디 메탄올 분획물의 TT 비교

오디 분획별 TT 실험결과는 10% 분획물 0.5mg/ml농도에서 대조군(62.9초) 보다 29% 증가되어, 가장 높은 반응시간을 나타내었다. 20%, 40%, 80% 분획물도 10%분획물과 유사한 경향이였다.

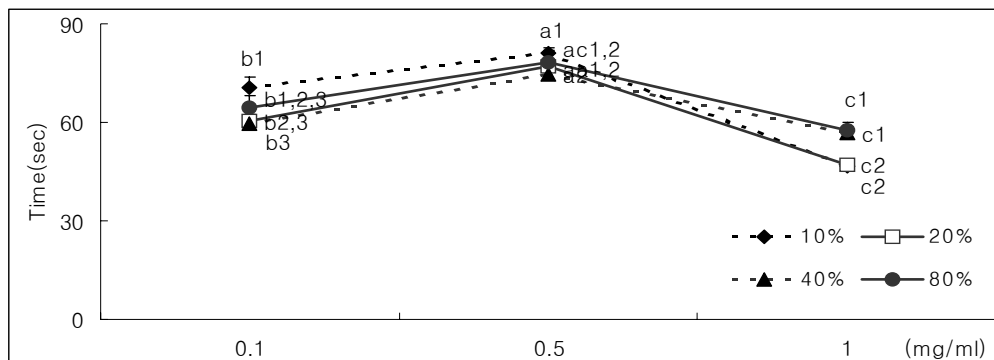


Fig. 4. Comparative of Thrombin times of mulberry fruit methanol fraction.

All values are mean ± SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and row(1,2,3,4) with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. NS : Not significant. *오디 메탄올 추출물의 diaion HP-20 c.c.에 분리된 4가지 분획물(10%, 20%, 40%, 80% MeOH fr.).

마. Soybean lipoxygenase(SLO) 저해 효과

1) 재배 지역별 오디 메탄올 추출물의 SLO 저해활성 비교

오디추출물의 항염증활성을 알아보하고자 soybean lipoxygenase (SLO)를 사용한 in vitro assay 시스템을 이용하여 오디 재배지역별 SLO 저해활성을 측정한 결과는 Table 11.과 같다. 영천오디와 상주오디 모두 1mg/ml농도에서 각각 59.76% 및 52%의 SLO 저해활성을 나타내었다.

Table 11. Impediment activity of SLO of methanol extract of mulberry fruit from cultured area.

Concentration(mg/ml)	Mulberry fruit from Young-chun (% Inhibition)	Mulberry fruit from Sang-ju (% Inhibition)
0.1	34.33±3.00 ^{a,1}	41.00±2.65 ^{b,1}
1	59.76±3.60 ^{b,1}	52.00±3.49 ^{a,1}
10	28.66±3.60 ^{a,1}	19.33±3.08 ^{c,2}

All values are mean±SE (n = 10). All values are mean±SE (n = 10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

2) 오디 메탄올 분획물의 SLO 저해활성 비교

오디 메탄올 분획별 SLO 저해활성은 각 분획물 모두 농도의존적으로 증가하는 경향이였다. 특히 40% 메탄올 분획물이 10 mg/ml농도에서 55%의 SLO 저해활성을 나타내었다. 따라서 항염증 물질은 40%메탄올 분획에 많이 존재하는 것으로 본다.

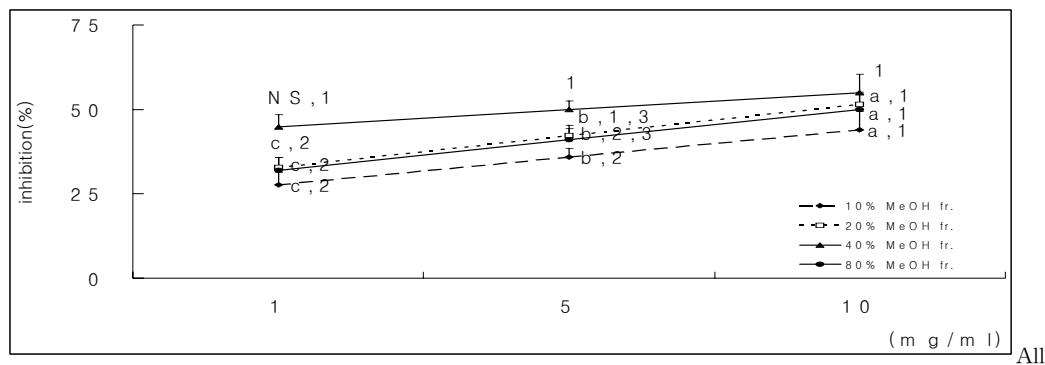


Fig. 5. Comparative of Soybean lipoxygenase(SLO) Impediment activity of mulberry fruit methanol fraction.

values are mean ± SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and rows(1,2,3,4) with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. NS : Not significant.

바. DPPH radical scavenging activity

1) 재배지역별 오디 메탄올 추출물의 DPPH radical scavenging activity 비교

영천 및 상주오디 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 포착활성을 측정한 결과(Table 12) 시료 모두 10 mg/ml 농도에서 가장 높은 항산화 효과를 나타내었으며 재배지역 별로 볼 때 5mg/ml 농도에서 상주오디가 영천오디보다 다소 높았다.

Table 12. DPPH radical scavenging activity of methanol extract of mulberry fruit from cultured area.

Concentration(mg/ml)	Inhibition (%)	
	Mulberry fruit from Young-chun	Mulberry fruit from Sang-ju
1	18.30 ± 3.02 ^{d,1}	18.64 ± 5.67 ^{d,1}
5	55.77 ± 1.06 ^{c,2}	68.78 ± 1.03 ^{a,1}
10	70.49 ± 1.86 ^{a,1}	72.14 ± 2.14 ^{a,1}
20	61.90 ± 1.06 ^{b,1}	57.83 ± 0.87 ^{b,2}
30	58.64 ± 1.55 ^{bc,1}	52.41 ± 1.57 ^{c,1}
40	54.03 ± 1.23 ^{c,1}	51.39 ± 2.61 ^{c,1}

All values are mean±SE (n = 10). All values are mean±SE (n = 10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

2) 오디 메탄올 분획물의 DPPH radical scavenging activity 비교

영천 오디 메탄올 분획물로부터 얻어진 4가지 분획물의 농도 차이에 의한 DPPH radical 포착율을 측정한 결과(Fig. 6) 10mg/ml 농도에서 40% 분획물의 포착율이 72.88%로 가장 높은 활성을 나타내었다. 따라서 radical 소거 능력은 40% 메탄올 분획물에 가장 많이 존재하는 것을 알 수 있으며 이러한 값은 쥐 간 마이크로솜의 지질과산화 억제 효과가 40%메탄올 분획물에서 가장 효과가 있는 것과 일치하여 항산화 물질이 40% 메탄올 분획물에 존재할 가능성을 시사한다.

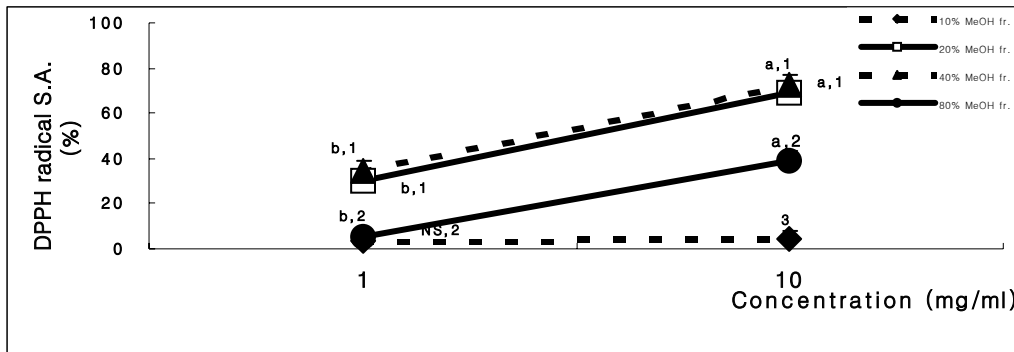


Fig. 6. Comparative of DPPH radical scavenging activity of mulberry fruit methanol fraction.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and rows(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant.

2. 오디 및 잠상산물 추출물의 생리활성 효능 및 항당뇨 효능 (*in vitro*)

가. 쥐 간조직 glucose-6-phosphatase 저해 활성

1) 잠상물질(오디 물 추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수추출물)의 glucose-6-phosphatase 저해 활성 비교

오디 및 잠상물질 추출물의 glucose-6-phosphatase 저해활성을 비교한 결과 Table 13과 같다. 20 mg/ml 농도에서 3가지 추출물 중 오디 물 추출물과 누에 열수 추출물의 저해율이 비슷하였으며 뽕잎 열수 추출물은 다소 낮았다.

Table 13. Comparative of glucose-6-phosphatase of several sericultural products.

Concentration (mg/ml)	Inhibition (%)		
	Mulberry fruit extract	Silkworm extract	Mulberry leaves extract
20	41.16 \pm 2.83 ^a	39.28 \pm 2.55 ^a	29.80 \pm 2.64 ^b

All values are mean \pm SE (n = 10). All values are mean \pm SE (n = 10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$ by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

나. α -Glucosidase 저해활성

1) 잠상물질의 α -glucosidase 저해활성 비교

오디 물 추출물, 누에 열수 추출물 및 뽕잎 열수 추출물을 1, 5, 10, 20 mg/ml로 농

도를 달리하여 α -glucosidase inhibition을 비교한 결과 Table 14.와 같이 각각 농도가 증가 할수록 저해율이 높게 나타났다. 추출물 간의 비교에서는 낮은 농도에서는 누에 열수 추출물이 뽕잎 열수 추출물 및 오디 물 추출물보다 높은 저해활성을 나타내었으나 농도가 높아질수록 유의적인 차이는 감소하였다.

Table 14. Comparative of α -glucosidase inhibition of several sericultural products.

Concentration (mg/ml)	Inhibition(%)		
	Mulberry fruit water extract	Silkworm water extract	Mulberry leaves water extract
1	14.86±0.68 ^{c,3}	31.06±0.37 ^{c,1}	27.34±0.44 ^{b,2}
5	21.02±1.94 ^{b,3}	32.80±0.25 ^{b,1}	29.05±0.64 ^{a,2}
10	21.18±1.80 ^{b,3}	33.22±0.38 ^{ab,1}	29.62±1.76 ^{a,2}
20	28.04±0.76 ^{a,2}	34.23±0.58 ^{a,1}	30.55±1.54 ^{a,2}

All values are mean ± SE(n=10). values within a column with(a,b,c,d) and a row with(1,2,3,4) different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's test. NS : Not significant.

2) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 α -glucosidase 저해활성 비교

오디 물 추출물과 누에 열수 추출물의 혼합비율에 따른 비교는 Table 15.와같다. 오디 물 추출물과 누에 열수 추출물의 혼합물을 1, 5, 10, mg/ml로 농도를 달리하여 α -glucosidase inhibition을 비교한 결과 농도가 증가 할수록 저해율이 높게 나타났다. 혼합비율에 의한 비교에서는 오디 물 추출물에 누에 열수 추출물의 혼합 비율을 증가 시킬수록 저해율이 높은 것으로 나타났으며 특히 오디 물 추출물1 : 누에 열수 추출물3 의 혼합 비율에서 저해율이 가장 높은 것으로 나타났으나 유의적인 차이는 없었다.

Table 15. Comparative of α -glucosidase inhibition with different mixing ratio of silkworm water extract.

Concentration (mg/ml)	Inhibition(%)				
	오디1:누에0	오디3:누에1	오디1:누에1	오디1:누에3	오디0:누에1
1	14.86±0.68 ^{b,4}	26.03±0.26 ^{b,3}	29.67±0.20 ^{b,2}	31.61±0.81 ^{b,1}	31.06±0.37 ^{b,1}
5	21.02±1.94 ^{a,3}	24.51±1.01 ^{b,2}	33.21±0.79 ^{a,1}	34.06±0.79 ^{a,1}	32.80±0.25 ^{a,1}
10	21.18±1.80 ^{a,4}	29.82±0.04 ^{a,3}	32.81±1.51 ^{a,2}	35.01±2.08 ^{ab,1}	33.22±0.38 ^{a,2}

All values are mean ± SE(n=10). values within a column with(a,b,c,d) and a row with(1,2,3,4) different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's test. NS : Not significant.

3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 α -glucosidase 저해활성 비교

오디 물 추출물과 잠상산물 뽕잎 열수 추출물의 혼합비율에 따른 비교는 Table 16과 같다. 오디 물 추출물과 뽕잎 열수 추출물의 혼합물을 1, 5, 10, mg/ml로 농도를 달리하여 α -glucosidase inhibition을 비교한 결과 누에 열수 추출물의 혼합의 경우와 마찬가지로 농도가 증가 할수록 저해율이 높게 나타났다. 혼합비율에 의한 비교에서는 오디 물 추출물에 잠상산물 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율을 증가 시킬수록 저해율이 높은 것으로 나타났으며 특히 오디 물 추출물1 : 뽕잎 열수 추출물3의 혼합 비율에서 저해율이 가장 높은 것으로 나타났으나 유의적인 차이는 없었다.

Table 16. Comparative of α -glucosidase inhibition with different mixing ratio of mulberry leaf water extract.

Concentration (mg/ml)	Inhibition(%)				
	Mulberry fruit 1 : Mulberry leaves 0	Mulberry fruit 3 : Mulberry leaves 1	Mulberry fruit 1 : Mulberry leaves 1	Mulberry fruit 1 : Mulberry leaves 3	Mulberry fruit 0 : Mulberry leaves 1
1	14.86±0.68 ^{b,4}	23.49±0.15 ^{b,3}	26.10±0.34 ^{b,2}	27.09±0.32 ^{b,1}	27.34±0.44 ^{b,1}
5	21.02±1.94 ^{a,3}	29.71±0.85 ^{a,2}	32.80±0.74 ^{a,1}	32.92±0.42 ^{a,1}	29.05±0.64 ^{a,2}
10	21.18±1.80 ^{a,3}	24.12±1.79 ^{b,3}	30.59±1.13 ^{a,2}	33.90±1.34 ^{a,1}	29.62±1.76 ^{ab,2}

All values are mean ± SE(n=10). values within a column with(a,b,c,d) and a row with(1,2,3,4) different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's test. NS : Not significant.

다. 쥐 간조직 microsome 지질과산화 억제 작용

- 1) 잠상물질(오디 물추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수추출물)의 쥐 간 마이크로솜 지질과산화 억제 활성 비교

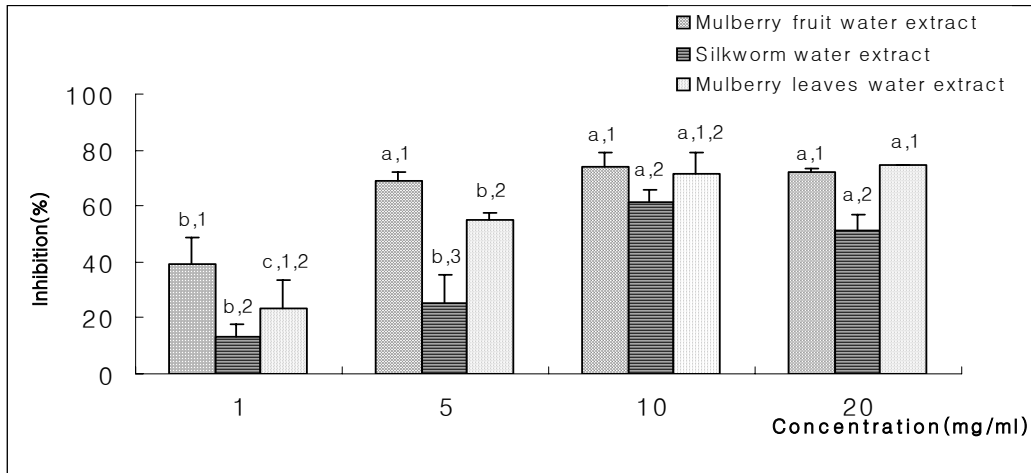


Fig. 7. Comparative of Control of lipid peroxide of several sericultural product.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and rows(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant.

잠상물질의 쥐간 microsome에서 지질과산화 저해활성을 농도별로 측정된 결과 (Fig. 7) 오디 물추출물, 누에 열수 추출물은 10 mg/ml에서 가장 억제 효과가 높았으며, 뽕잎 열수 추출물은 20mg/ml에서 억제 효과가 가장 높았다. 그리고 10 mg/ml 농도에서 오디 물 추출물은 누에 및 뽕잎 열수 추출물 보다 각각 20.69% 및 3.25% 씩 억제 효과가 높았다.

2) 누에 열수 추출물의 혼합비율에 의한 지질과산화 억제 효과 비교

앞서 실험결과 오디와 누에에서 가장 억제효과가 큰 농도를 비율적으로 섞어서 상대적으로 비교한 결과 Fig. 8.과 같다. 누에 열수 추출물 100%(A)에 비해 오디 물추출물 첨가량이 증가될수록 저해율이 각각 7%(D), 38%(C), 47%(B)씩 유의적으로 증가되었다. 따라서 누에 열수 추출물의 지질 과산화 저해 효과는 오디 물 추출물을 첨가함에 따라 증가하는 것을 알 수 있었다.

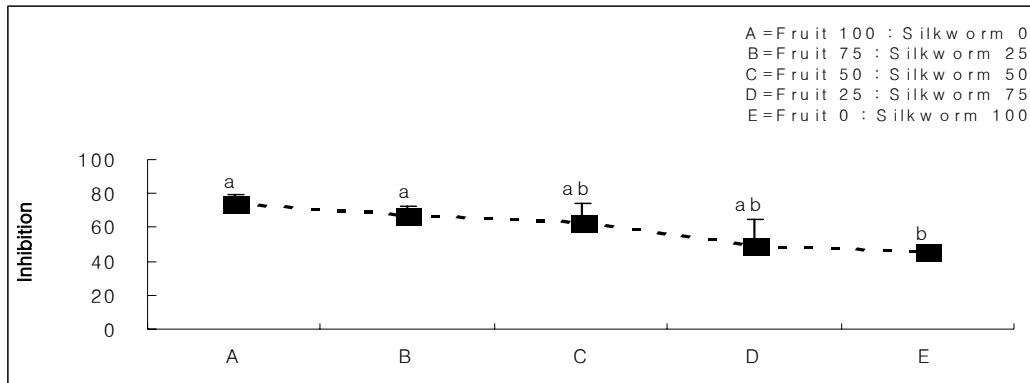


Fig. 8. Comparative of Control of lipid peroxide with different mixing ratio of silkworm water extract.

All values are mean ± SE(n=10). Bars(a,b,c,d) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test : Not significant.

3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합비율에 의한 지질 과산화 억제 효과 비교

오디와 뽕잎에서 지질 과산화 억제 효과가 가장 높은 농도를 비율적으로 섞어서 측정된 결과 Table 17와 같이 오디 100% 일 때 억제효과는 74.13%, 뽕잎 100%일때는 74.33%로 유의적인 차이는 없었다.

Table 17. Comparative of Control of lipid peroxide with different mixing ratio of mulberry leave water extract.

Mulberry fruit(%) : Mulberry leaves(%)	Inhibition (%)
Mulberry fruit 100 : Mulberry leaves 0	74.13±4.88 ^{NS}
Mulberry fruit 75 : Mulberry leaves 25	72.09±7.89
Mulberry fruit 50 : Mulberry leaves 50	69.54±9.70
Mulberry fruit 25 : Mulberry leaves 75	62.75±9.71
Mulberry fruit 0 : Mulberry leaves 100	74.33±1.07

All values are mean±SE(n=10). Values within a column(a,b,c,d) with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$ by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

라. Activated partial thromboplastin time(APTT) & Thrombin times(TT)

1) 잠상물질(오디 물 추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수 추출물)의 APTT & TT 비교

오디 물 추출물, 누에 열수추출물 및 뽕잎 열수추출물의 APTT 측정된 결과(Fig. 9) 이들 물질 중 0.5mg/ml 및 1mg/ml 농도에서 오디 > 누에 > 뽕잎 순으로 반응시간이

지연되었다.

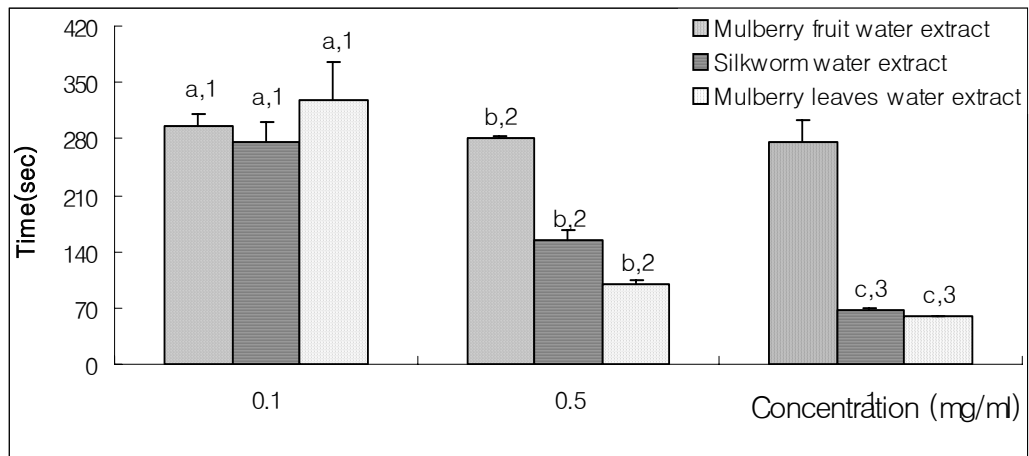


Fig. 9. Comparative of Activated partial thromboplastin time(APTT) of several sericultural product.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and rows(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant.

2) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 APTT 비교

앞선 실험결과 오디와 누에에서 가장 APTT활성이 높은 농도를 비율적으로 섞어서 control 값에 대해 상대적으로 비교한 결과 Fig. 10과 같이 오디 물 추출물 100%(A)에 비해 오디에 누에 열수 추출물의 첨가량이 증가될수록 각각 111%(B), 378%(c) 및 641%(D)씩 반응시간이 유의적으로 증가되었다. 따라서 오디를 제품화할 경우에 누에 추출물을 첨가함으로써 항혈전 효과를 증가시킬 수 있을 것으로 본다.

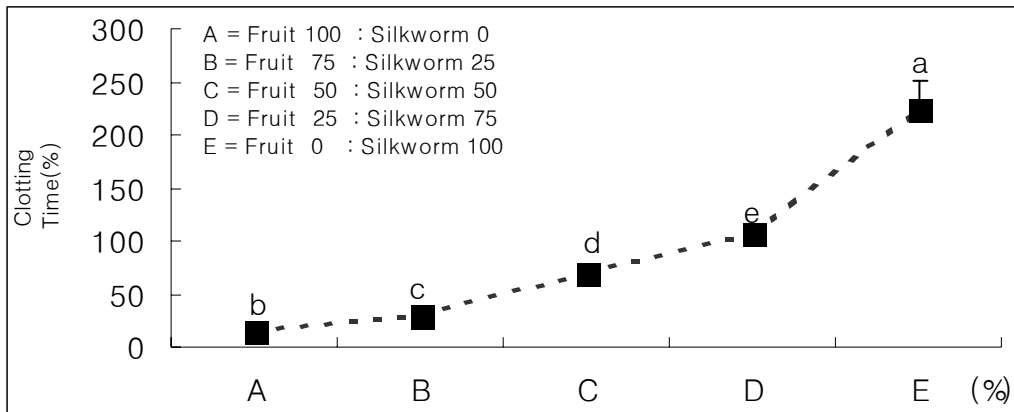


Fig. 10. Comparative of APTT with different mixing ratio of mulberry fruit water extract and silkworm water extract.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and rows(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant.

3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 APTT 비교

앞선 실험결과 오디와 뽕잎에서 가장 APTT활성이 높은 농도를 비율적으로 섞어서 control 값에 대해 상대적으로 비교한 결과 Fig. 11.과 같이 오디 물 추출물 (0.1mg/ml) 100%(A) 보다 뽕잎 열수 추출물의 첨가량이 증가될수록 각각 78%(B), 525%(c) 및 945%(D)씩 반응시간이 유의적으로 증가되었다.

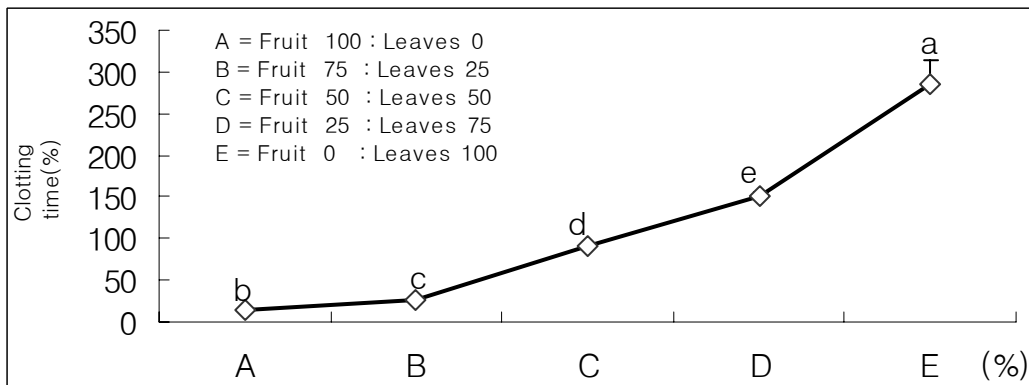


Fig. 11. Comparative of APTT with different mixing ratio of mulberry fruit water extract and mulberry leaf water extract.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and row(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

4) 잠상물질 및 혼합 비율에 의한 TT 비교

오디 물 추출물, 누에 열수 추출물 및 뽕잎 열수 추출물의 TT 실험결과는 (Fig. 12)와 같다. 오디 물 추출물은 1.0 mg/ml농도에서 반응시간이 가장 높았다. 누에와 뽕잎 열수추출물은 각각 0.1 mg/ml 농도에서 0.5 mg/ml 농도와 1.0 mg/ml 농도보다 유의적으로 증가되었다.

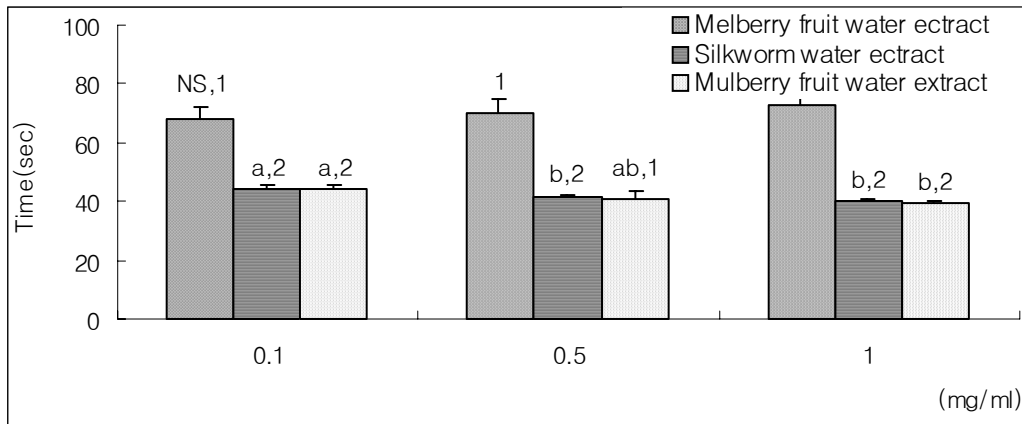


Fig. 12. TT of several sericultural products.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and rows(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant.

5) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 TT 비교

앞선 실험결과 오디와 누에에서 가장 TT활성이 높은 농도를 비율적으로 섞어서 control 값에 대해 상대적으로 비교한 결과 오디(mg/ml) 100%(A)로 실험했을시 누에(0.1mg/ml)이 100%(E)일때보다 반응시간이 유의적으로 증가되었다.

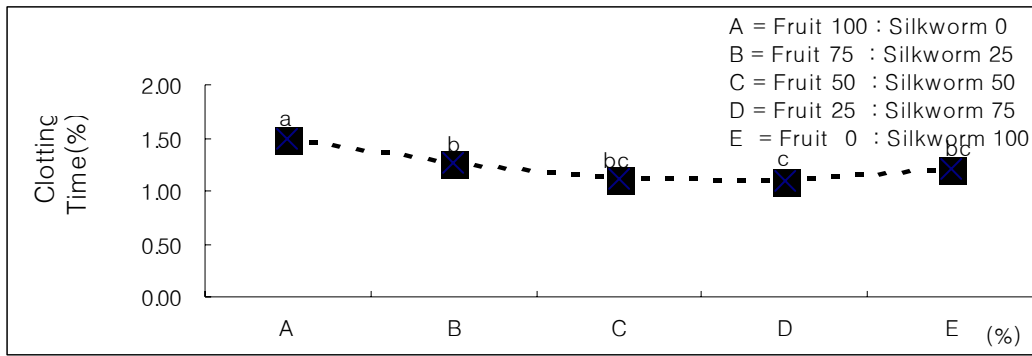


Fig. 13. Comparative of TT with different mixing ratio of mulberry fruit water extract and silkworm water extract.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and rows(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant.

6) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 TT 비교

앞선 실험결과 오디와 뽕잎에서 가장 TT활성이 높은 농도를 비율적으로 섞어서 실험해보았다. 오디(mg/ml) 100%(A)로 실험했을시 뽕잎(0.1mg/ml)이 100%(E)일때보다 응고시간이 지연되긴 했으나 유의적인 차이는 없었다.

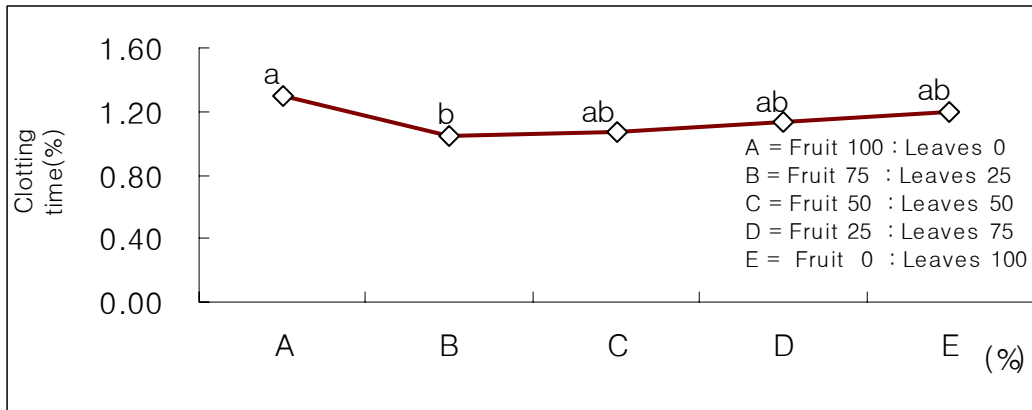


Fig. 14. Comparative of TT with different mixing ratio of mulberry fruit water extract and mulberry leaf water extract.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and rows(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. NS : Not significant.

마. Soybean lipoxygenase(SLO) 저해 효과

1) 잠상물질(오디 물 추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수추출물)의 SLO 저해 활성 비교

오디 물 추출물, 누에 열수추출물 및 뽕잎 열수추출물의 항염증 효과를 보기 위해 SLO 저해활성을 비교한 결과는 Fig. 15와 같다. 잠상산물들은 SLO 저해제로 잘 알려져 있는 NDGA(nordihydroguareatic acid)(100% 저해: 그림상 제외)보다 SLO 저해활성이 낮았지만 1 mg/ml 농도에서 오디 물 추출물은 59.76%, 뽕잎 열수추출물은 54.40%, 그리고 누에 열수 추출물은 19.92%씩 각각 저해함을 알 수 있었다.

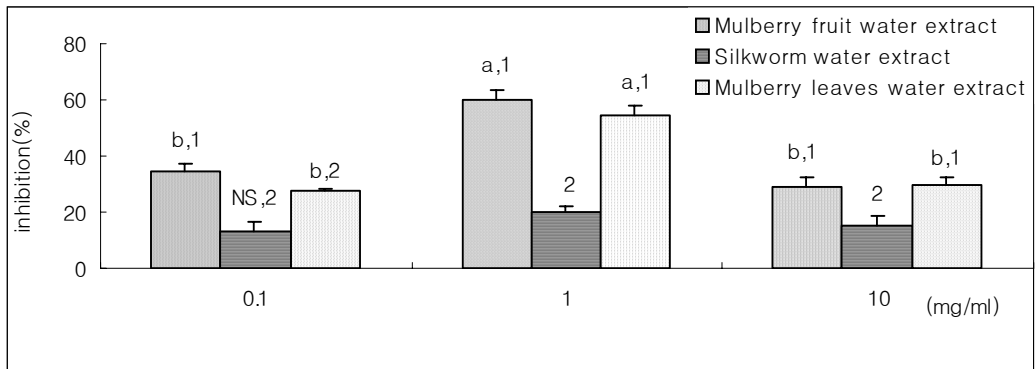


Fig. 15. Soybean lipoxygenase(SLO) Impediment activity of several sericultural products.

All values are mean \pm SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and row(1,2,3,4) with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

2) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 SLO 저해 활성 비교

오디와 누에에서 가장 SLO 저해활성이 높은 농도를 비율적으로 혼합한 후 측정된 결과 (Fig. 16.) 누에는 19.92%, 오디는 59.76%의 저해활성을 나타내었다. 오디와 누에를 50 : 50 비율로 혼합했을 때와 오디와 누에를 75 : 25 비율로 혼합했을시 누에 100% 보다 각각 29% 및 114%씩 유의적으로 증가함을 알 수 있었다. 따라서 누에 열수추출물의 SLO 저해활성은 오디 물 추출물을 첨가함에 따라 증가하는 것을 알 수 있었다.

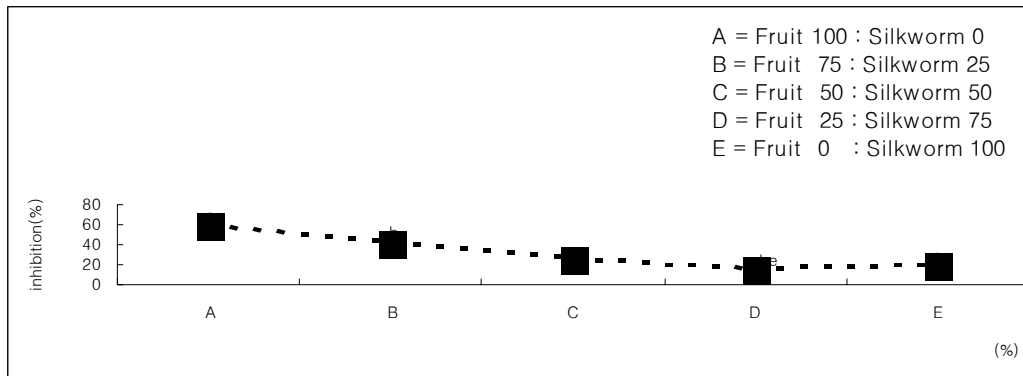


Fig. 16. Comparative of Soybean lipoxygenase(SLO) Impediment activity with different mixing ratio of mulberry fruit water extract and silkworm water extract.

All values are mean ± SE(n=10). Bars(a,b,c,d) and row(1,2,3,4) with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 따른 SLO 저해 활성 비교

오디와 뽕잎에서 가장 SLO 저해활성이 높은 농도를 비율적으로 섞어서 측정한 결과 Table 18.과 같이 오디 100% 일때 저해활성은 59.76%, 뽕잎 100%일 때는 54.4%로 유의적인 차이는 없었다.

Table 18. Comparative of Soybean lipoxygenase(SLO) Impediment activity with different mixing ratio of mulberry fruit water extract and mulberry leave water extract.

Mulberry fruit (%) : Mulberry leaves (%)	Inhibition (%)
Mulberry fruit 100 : Mulberry leaves 0	59.76 ± 3.48 ^a
Mulberry fruit 75 : Mulberry leaves 25	42.63 ± 3.69 ^b
Mulberry fruit 50 : Mulberry leaves 50	25.73 ± 1.97 ^c
Mulberry fruit 25 : Mulberry leaves 75	15.95 ± 2.23 ^d
Mulberry fruit 0 : Mulberry leaves 100	54.40 ± 4.18 ^a

All values are mean±SE (n = 10). All values are mean±SE (n = 10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

바. DPPH radical scavenging activity.

- 1) 잠상물질(오디 물 추출물, 누에 열수 추출물, 뽕잎 열수 추출물)의 DPPH 저해 활성 비교

오디 및 잠상산물추출물의 DPPH radical 포착활성을 측정한 결과 (Table 19) 모든 실험군이 10mg/ml 농도에서 가장 높았다. 잠상물질 간을 비교했을 때 뽕잎 메탄올추출물의 저해율이 76.19%로 가장 높았다.

Table 19. DPPH radical scavenging activity of several sericultural products.

Concentration (mg/ml)	Scavenging activity (%)		
	Mulberry extract	Silkworm extract	Mulberry leaves extract
1	18.30 ± 3.02 ^{d,1}	14.85 ± 7.19 ^{d,1}	19.45 ± 3.03 ^{c,1}
5	55.77 ± 1.06 ^{c,2}	57.47 ± 0.90 ^{b,2}	72.05 ± 0.99 ^{b,1}
10	70.49 ± 1.86 ^{a,2}	68.14 ± 3.85 ^{a,2}	76.19 ± 0.50 ^{a,1}
20	61.90 ± 1.06 ^{b,1*}	53.45 ± 3.25 ^{b,3}	71.70 ± 3.57 ^{abc,1}
30	58.64 ± 1.55 ^{bc,2*}	40.62 ± 1.91 ^{c,3}	66.28 ± 2.35 ^{c,1}
40	54.03 ± 1.23 ^{c*,2}	44.75 ± 1.91 ^{c,3}	58.72 ± 1.68 ^{d,1}

All values are mean±SE (n = 10). All values are mean±SE (n = 10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

2) 누에 열수 추출물의 혼합 비율에 의한 DPPH 포착활성 비교

오디 물 추출물과 잠상물질(누에 열수 추출물 및 뽕잎 열수 추출물)을 혼합비율로 DPPH radical 포착활성을 측정한 결과(Table 20) 10mg/ml 농도에서 오디 물 추출물 75%와 누에 열수 추출물 25%의 혼합비율에서 저해율이 73.82%로 가장 효과가 높았다.

Table 20. Comparative of DPPH radical scavenging activity with different mixing ratio of mulberry fruit water extract and silkworm water extract.

Mulberry fruit (%) : Silkworm (%)	Scavenging activity (%)
Mulberry fruit 100 : Silkworm 0	70.49 ± 1.86 ^c
Mulberry fruit 75 : Silkworm 25	73.82 ± 0.64 ^{ab}
Mulberry fruit 50 : Silkworm 50	71.46 ± 0.227 ^a
Mulberry fruit 25 : Silkworm 75	69.38 ± 1.83 ^{ab}
Mulberry fruit 0 : Silkworm 100	68.14 ± 3.85 ^b

All values are mean±SE (n = 10). All values are mean±SE (n = 10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's-HSD test. NS : Not significant.

3) 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 따른 DPPH 저해 활성 비교

오디 물 추출물과 뽕잎 열수 추출물의 혼합 비율에 따라 DPPH 포착활성을 측정 한 결과 (Table 21) 10 mg/ml 농도에서 오디 물 추출물 25%와 뽕잎 열수 추출물 75%의 혼합비율의 경우 저해활성이 75.01% 이었다. 따라서 오디의 DPPH radical 소거활성을 높이기 위해서는 뽕잎 추출물의 첨가가 효과적임을 볼 수 있었다.

Table 21. Comparative of DPPH radical scavenging activity with different mixing ratio of mulberry fruit water extract and mulberry leave water extract.

Mulberry fruit (%) : Mulberry leaves (%)	Scavenging activity (%)
Mulberry fruit 100 : Silkworm 0	70.49 ± 1.86 ^c
Mulberry fruit 75 : Silkworm 25	71.56 ± 0.41 ^b
Mulberry fruit 50 : Silkworm 50	73.38 ± 4.07 ^{ab}
Mulberry fruit 25 : Silkworm 75	75.01 ± 1.14 ^a
Mulberry fruit 0 : Silkworm 100	76.19 ± 0.71 ^a

All values are mean±SE (n = 10). All values are mean±SE (n = 10). Values within a column(a,b,c,d) and a row(1,2,3,4) with different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's-HSD test.NS : Not significant.

3. 오디 및 잠상산물 추출물의 항당뇨 효능 (*in vivo*)

가. 제1실험 : 오디즙분말과 오디박분말 효능 실험

1) 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

실험기간 동안 실험동물의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율은 Table 22와 같다. 체중증가량은 STZ를 투여한 후 DM군에 비해 오디즙 공급군이 유의적으로 감소되었다. 오디즙 공급군간에는 유의적인 차이가 없었다. 식이섭취량은 STZ를 투여한 후 DM군이 다른 실험군들에 비해 유의적으로 높았으며, 식이 효율은 STZ를 투여한 후에 정상군에 비해 모든 당뇨군이 현저하게 감소되었으며 오디즙 공급군인 DM-1E 및 DM-2E는 DM군에 비해 유의적으로 증가되었다.

Table 22. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER) of rats during 3 weeks before and 9 days after streptozotocin injection

Group	Body weight gains (g)	Food intake (g)	FER
During 4 weeks before STZ injection			
Normal	70.50±0.71 ^{NS}	172.00±0.01 ^{NS}	0.41±0.01 ^{NS}
DM	76.78±6.90	168.00±6.26	0.45±0.04
DM-0.5E	100.13±17.96	166.33±6.25	0.63±0.15
DM-1E	113.13±25.20	171.17±7.08	0.66±0.15
DM-2E	118.00±27.99	179.83±5.87	0.67±0.18
DM-0.25P	78.00±12.03	178.83±9.96	0.54±0.08
DM-0.5P	93.67±13.61	183.83±7.50	0.51±0.09
DM-1P	87.13±14.11	175.75±7.22	0.48±0.10
DM-2P	94.67±14.50	181.00±8.06	0.53±0.11
During 9 days after STZ injection			
Normal	15.50±6.36 ^a	103.00±0.01 ^b	0.15±0.06 ^a
DM	-58.10±8.68 ^b	116.75±0.29 ^{ac}	-0.50±0.08 ^b
DM-0.5E	-29.33±2.89 ^c	103.50±17.90 ^{bcd}	-0.31±0.08 ^{bc}
DM-1E	-24.33±15.04 ^c	107.00±14.48 ^{bcd}	-0.25±0.03 ^c
DM-2E	-32.33±8.08 ^c	110.67±19.23 ^{bcd}	-0.29±0.03 ^c
DM-0.25P	-42.00±24.12 ^{abc}	125.83±2.62 ^d	-0.28±0.14 ^{bc}
DM-0.5P	-39.40±13.54 ^{abc}	121.50±1.34 ^d	-0.32±0.11 ^{bc}
DM-1P	-35.00±30.64 ^{abc}	121.67±1.69 ^d	-0.29±0.23 ^{bc}
DM-2P	-37.40±14.66 ^{abc}	124.00±2.89 ^d	-0.24±0.13 ^{bc}

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 1.

2) 혈당저하 효과

오디즙 및 오디박의 혈당강하 효과를 비교 관찰하기 위하여 혈청중 포도당 함량을 측정된 결과 Fig. 17.과 같다. 정상군에 비해 DM군은 187% 증가 되었으며, DM군에 비해 오디즙 0.5%, 1% 및 2% 공급한 DM-0.5E, DM-1E 및 DM-2E군은 각각 35%, 34% 및 33% 씩 감소되었다. 오디박 0.25%, 0.5%, 1% 및 2% 공급한 DM-0.25P, DM-0.5P, DM-1P 및 DM-2P 군은 각각 28%, 31%, 39% 및 39% 씩 감소되어 오디박 1% 및 2% 공급군이 혈당강하효과가 가장 높았다.

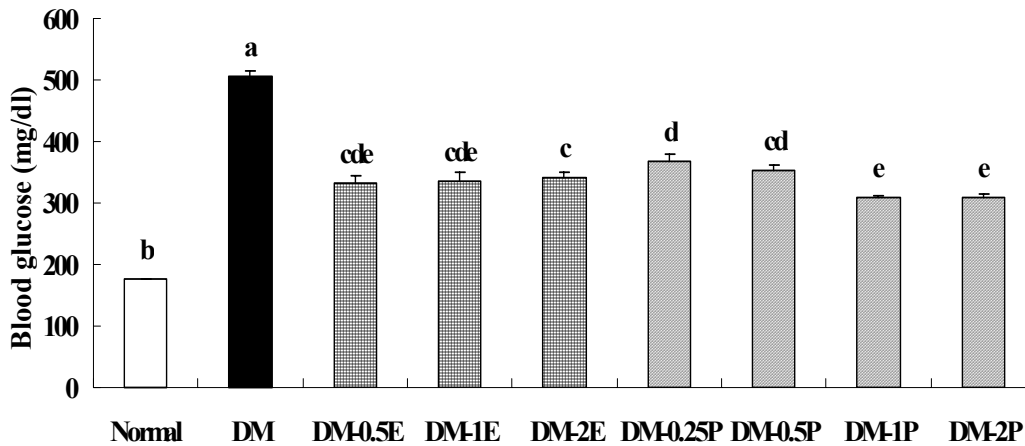


Fig. 17. Effects of mulberry extract and peel on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats.

All values are Mean±SE(n=10). Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's-HSD test. Experimental conditions are same as Table 1.

3) 소장에서 당 흡수 억제효과

가) 오디즙의 소장에서 당 흡수 억제효과

소장을 proximal, middle, distal의 세부분으로 동일하게 나누어, 소장 점막의 maltase, sucrase 및 lactase 등 disaccharidase의 활성을 측정된 결과는 Fig. 18과 같다. Maltase의 경우 proximal 부분에서 정상군과 오디즙 비공급군인 DM군 간에 유의적인 차이가 없었으나, 오디즙 공급군인 DM-0.5E, DM-1E 및 DM-2E군에서는 DM군에 비해 각각 44%, 47% 및 44%씩 유의적으로 감소되었다. Middle과 distal 부분에서는 DM 군에 비하여 오디즙 공급군에서 유의적으로 감소되었으며, 오디즙 공급군간에는 유의적인 차이가 없었다. (Fig. 18.-A). Sucrase의 경우 proximal 부분에서 정상군에 비하여 DM 군에서 효소 활성이 유의적으로 증가하였으며, 오디즙 공급군은 DM군에 비해 유의적으로 감소되었다. Middle과 distal의 경우 정상군에 비하여 당뇨군에서 유의적으로 높았다(Fig. 18.-B). Lactase의 경우에는 proximal 부분에서 정상군과 DM 군에서 유의적인 차이가 없었으며, 오디즙 공급군에서 효소활성이 유의적으로 낮아짐을 관찰할 수 있었다. Middle 및 distal에서는 실험군간에 유의적인 차이가 없었다(Fig. 18.-C).

각 부분 간 효소활성의 크기는 maltase의 경우 정상군 및 DM은 proximal > middle > distal 순이었고, 오디즙 공급군에서는 middle > distal > proximal 순으로 낮아졌다. Sucrase의 경우에는 정상군은 proximal > distal > middle 순이었고, 당뇨병군은 distal \geq middle > proximal 순으로 낮아졌다. 오디즙 공급군에서는 middle > distal > proximal 순으로 낮아졌다.

Lactase는 정상군 및 DM 군은 proximal > middle > distal 순이었고, 오디즙 공급군에서는 middle > distal > proximal 순으로 낮아졌다. 따라서 당뇨병에 있어서 오디즙의 공급은 소장 proximal 부분의 disaccharidase인 maltase, sucrase 및 lactase의 활성을 저해하여 급격한 혈당상승을 억제시킨다는 것을 관찰할 수 있었다.

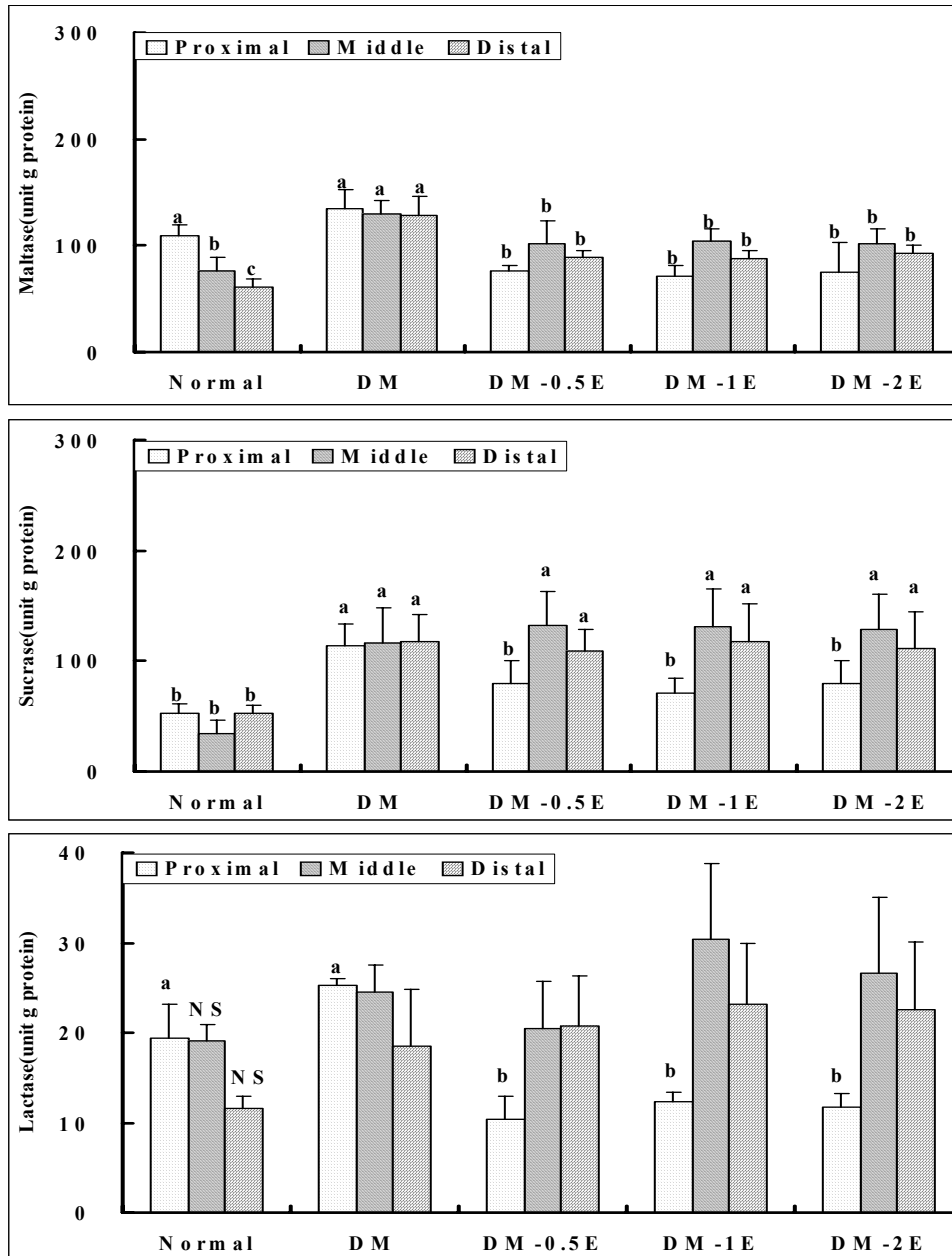


Fig. 18. Effects of mulberry extract on intestinal mucosa maltase (A), sucrase (B) and lactase (C) activities in STZ-induced diabetic rats.

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 1.

나) 오디박의 소장에서 당 흡수 억제효과

당노유발 쥐에서 오디박이 소장 점막의 maltase, sucrase 및 lactase 활성에 미치는 영향을 관찰하고자 소장을 proximal, middle, distal의 세부분으로 동일하게 나누어 disaccharidase의 활성을 측정 한 결과는 Fig. 19와 같다. Maltase의 경우 proximal 부분에서 정상군과 DM 군에서는 유의적인 차이가 없었으나, 오디박 공급군 DM-0.25P, DM-0.5P, DM-1P 및 DM-3P군에서는 DM군에 비해 각각 44%, 47%, 42% 및 42%씩 유의적으로 감소되었으며 오디박 공급군간에 유의적인 차이는 없었다. Middle부분에서는 정상군에 비하여 당뇨 유발군에서 유의적으로 증가하였다. Distal 부분에서는 DM 군에 비하여 오디박 공급군에서 유의적으로 감소되었으며, 오디박 공급군간에는 유의적인 차이가 없었다. (Fig. 19-A). Sucrase의 경우 proximal 부분에서 정상군에 비하여 DM 군에서 효소 활성이 유의적으로 증가하였으며, 오디박 공급군은 DM군에 비해 유의적으로 감소되었다. Middle과 distal의 경우 정상군에 비하여 당뇨군에서 유의적으로 높았다(Fig. 19-B). Lactase의 경우에는 proximal 부분에서 정상군과 DM 군에서 유의적인 차이가 없었으며, 오디박 공급군에서 효소활성이 유의적으로 낮아짐을 관찰할 수 있었다. Middle 및 distal에서는 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다(Fig. 19-C).

각 부분 간 효소활성의 크기는 maltase의 경우 정상군 및 DM은 proximal > middle > distal 순이었고, 오디박 공급군에서는 middle > distal > proximal 순으로 낮아졌다. Sucrase의 경우에는 정상군은 proximal > distal > middle 순이었고, 당뇨군은 distal > middle > proximal 순으로 낮아졌다. 오디박 공급군에서는 distal > middle > proximal 순으로 낮아졌다.

Lactase는 정상군 및 DM 군은 proximal > middle > distal 순이었고, 오디박 공급군에서는 distal > middle > proximal 순으로 낮아졌다. 따라서 당뇨쥐에 있어서 오디박의 공급은 소장 proximal 부분의 disaccharidase인 maltase, sucrase 및 lactase의 활성을 저해하여 급격한 혈당상승을 억제시킨다는 것을 관찰할 수 있었다.

이와같이 당뇨대조군에 비해 오디즙 공급군인 DM-0.5E, DM-0.1E 및 DM-2E가 35%, 34% 및 33%씩 감소되었으며 오디박 공급군인 DM-0.25%, DM-0.5P, DM-1P 와 DM-2P는 각각 28%, 31%, 39% 및 39%씩 감소되어 오디박이 오디즙에 비해 혈

당강하 효과가 높았다.

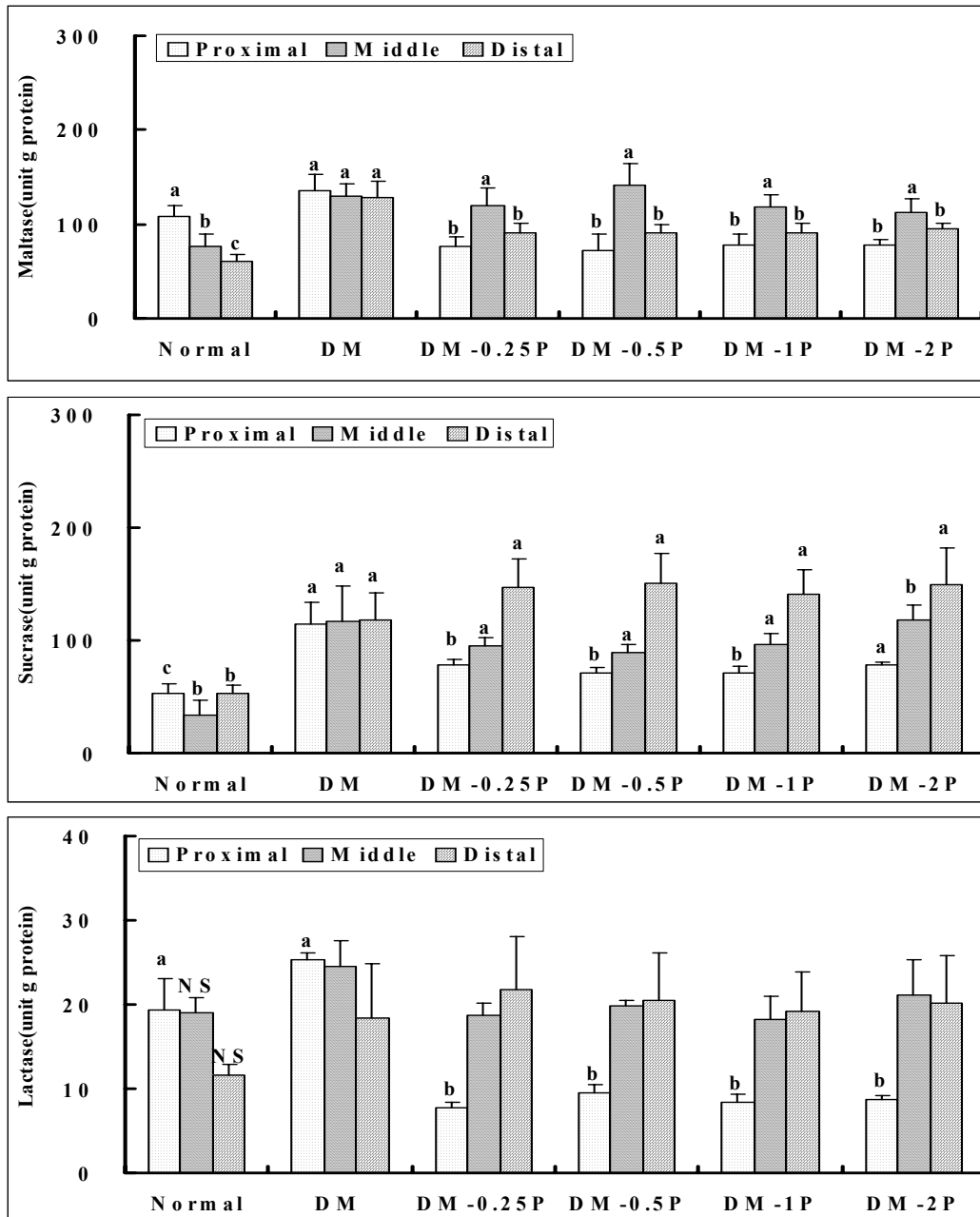


Fig. 19. Effects of mulberry peel on intestinal mucosa maltase (A), sucrase (B) and lactase (C) activities in STZ-induced diabetic rats.

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 1.

4) 혈중 지질조성 개선 효과

혈청 중성지방 함량 (Table 23)은 정상군에 비해 오디즙 및 오디박 비공급 당뇨군인 DM군에서 71% 증가되었으며 오디즙 공급군인 DM-0.5E군과 DM-1E군 및 DM-2E군에서는 DM군에 비해 각각 29%, 26% 및 27% 감소되었다. 오디박 공급군인 DM-0.25P군, DM-0.5P, DM-1P군 및 DM-2P군에서는 DM군에 비해 각각 20%, 21%, 23% 및 23% 감소되어 오디즙과 오디박의 중성지방 저하효과가 비슷하였다.

총 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 DM군은 65% 증가되었으며, 오디즙군인 DM-0.5E군과 DM-1E군 및 DM-2E군에서는 DM군에 비해 각각 13%, 15% 및 20% 감소되었다. 오디박 공급군인 DM-0.25P, DM-0.5P, DM-1P 및 DM-2P에서는 DM군에 비해 각각 13%, 16%, 17% 및 19%씩 감소되어 오디즙과 오디박의 총콜레스테롤 저하효과가 비슷하였다. 반면에 HDL-콜레스테롤은 정상군보다 당뇨 대조군인 DM군에서 33% 감소되었지만, 오디즙 및 오디박 공급 당뇨군은 모두 정상군 수준이었다. LDL-콜레스테롤은 DM-0.5E군과 DM-1E군 및 DM-2E군에서는 DM군에 비해 각각 36%, 44% 및 40%씩 감소되었다. 오디박을 공급한 DM-0.25P군, DM-0.5P, DM-1P군 및 DM-2P군에서는 DM군에 비해 각각 37%, 39%, 38% 및 40%씩 감소되었다.

동맥경화의 발생지표인 동맥경화지수 (atherogenic index)는(Fig. 20) 정상군이 1.25인데 비해 DM군이 2.83로서 126%까지 증가되었으며 오디즙을 공급한 DM-0.5E군과 DM-1E군 및 DM-2E군에서는 DM군에 비해 각각 41%, 46% 및 51%씩 감소되었다. 오디박을 공급한 DM-0.25P군, DM-0.5P, DM-1P군 및 DM-2P군에서는 DM군에 비해 각각 40%, 38%, 49% 및 48%씩 감소되었다. 이와같이 혈중 TG, cholesterol 류 및 AI등 지질개선 효과가 오디박보다 오디즙의 효과가 다소 좋은편이었다.

Table 23. Effects of mulberry extract and peel on serum levels of triglyceride (TG), total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol in streptozotocin-induced diabetic rats

Group	Triglyceride	Total cholesterol	HDL- cholesterol	LDL- Cholesterol
	(mg/ml)			
Normal	71.89±2.29 ^b	67.53±3.25 ^b	39.45±2.71 ^a	21.61±2.41 ^b
DM	123.15±8.39 ^a	111.50±10.52 ^a	26.48±2.48 ^b	57.48±5.52 ^a
DM-0.5E	100.16±9.33 ^c	97.02±5.42 ^{ac}	38.68±4.13 ^a	37.07±3.43 ^c
DM-1E	92.11±5.77 ^c	95.55±0.35 ^{ad}	36.69±1.26 ^a	32.50±3.57 ^c
DM-2E	90.43±7.03 ^c	89.88±1.35 ^c	37.18±5.68 ^a	34.70±2.45 ^c
DM-0.25P	99.68±7.52 ^c	97.11±11.89 ^{ac}	35.89±6.02 ^a	36.27±3.81 ^c
DM-0.5P	97.40±8.70 ^c	94.67±7.23 ^{ac}	34.15±1.60 ^a	35.24±1.89 ^c
DM-1P	95.83±4.23 ^c	92.84±5.67 ^{ac}	37.44±5.67 ^a	36.20±2.36 ^c
DM-2P	95.23±5.06 ^c	90.31±3.76 ^{cd}	37.31±4.45 ^a	35.00±2.31 ^c

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 1.

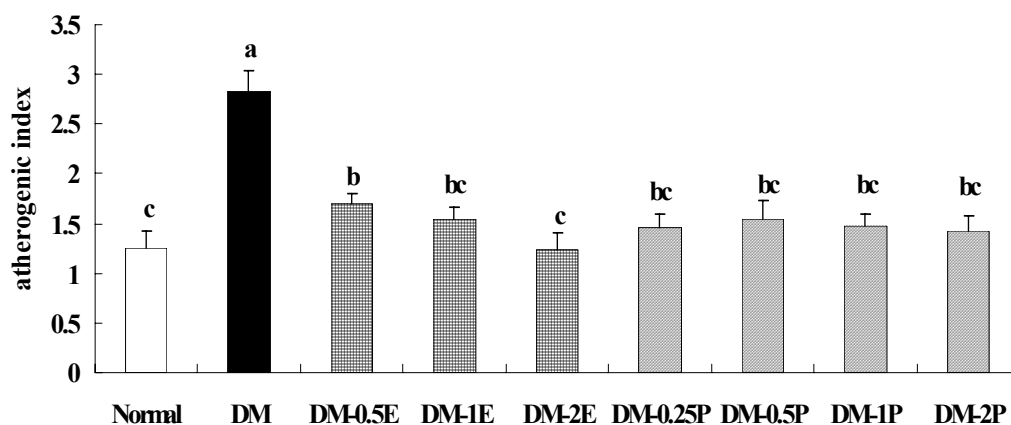


Fig. 20. Effects of mulberry extract and peel on serum levels of atherogenic index in streptozotocin-induced diabetic rats

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 1.

5) 적혈구의 항산화 효과

- 가) Superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) 및 catalase (CAT) 활성변화

생체내 항산화 방어기구중 효소적 방어계의 하나로써 superoxide radical를 환원시켜 H₂O₂로 환원시키므로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 SOD 활성은 Table 8과 같다. 정상군(Normal)에 비해 DM군, DM-0.5E군, DM-1E군 및 DM-2E군에서는 각각 17%, 10%, 10% 및 3% 감소되었다. DM-0.25P군, DM-0.5P, DM-1P군 및 DM-2P군에서는 정상군에 비해 각각 5%, 14%, 10% 및 10% 감소되었다. Selenium을 함유하는 항산화 효소로 비타민 E와 함께 과산화물을 제거함으로써 세포막의 손실을 방어하는 GSH-px의 활성은(Table 24.) 정상군에 비해 DM군은 61% 감소되었으나, DM-0.5E군, DM-1E군 및 DM-2E군에서는 DM군에 비해 각각 79%, 93% 및 95%씩 증가되었다. DM-0.25P군은 DM군에 비해 92% 증가되었지만, DM-0.5P, DM-1P, DM-2P와 DM군간에는 유의적인 차이가 없었다. 과산화수소 및 유기 과산화물을 제거시킴으로써 과산화적 손상을 방지하는 catalase 활성도(Table 24.)는 당뇨대조군(DM)에서 정상군보다 36% 감소(p<0.01)되었다. 그러나 DM-0.5E, DM-1E, DM-2E, 및 DM-0.25P군은 당뇨대조군(DM-C)에 비해 각각 26%, 28%, 6%, 및 8%씩 증가되었다. DM-0.5P, DM-1P 및 DM-2P군은 정상군 수준이었다.

Table 24. Effects of mulberry extract and peel on erythrocyte SOD, GSH-px and CAT activities in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	SOD (unit/min/g Hb)	GSH-px (μ mol NADPH/min/g Hb)	CAT (nmol/min/g Hb)
Normal	122.65±2.56 ^a	19.39±0.93 ^a	41.26±2.47 ^a
DM	101.95±3.39 ^e	7.59±0.42 ^b	26.53±2.25 ^{bd}
DM-0.5E	110.97±1.27 ^c	13.65±1.23 ^c	30.82±1.67 ^{ce}
DM-1E	110.97±2.13 ^{bc}	14.71±1.35 ^c	30.02±1.96 ^{ad}
DM-2E	119.61±3.43 ^{ab}	14.78±1.24 ^c	39.13±1.88 ^{ad}
DM-0.25P	116.83±1.51 ^b	14.63±1.98 ^c	38.15±1.15 ^e
DM-0.5P	106.36±0.06 ^{de}	8.28±0.25 ^b	36.56±1.46 ^a
DM-1P	111.53±4.93 ^{bc}	7.59±0.65 ^b	35.42±1.49 ^a
DM-2P	111.35±3.9 ^{bc}	8.10±0.21 ^b	32.05±1.61 ^a

All values are mean ± SE (n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 1.

나) 적혈구의 과산화지질 (TBARS) 함량

적혈구의 산화적 손상의 지표가 되는 지질과산화물 축적에 미치는 오디즙 및 오디박의 효과는 Table 25와 같다. DM군은 정상군에 비해 122% 증가되었으나, DM-0.5E, DM-1E 및 DM-2E군은 DM군에 비해 각각 15%, 20% 및 27% 감소되었다. DM-0.25P, DM-0.5P 및 DM-1P 및 DM-2P군은 DM군에 비해 각각 25%, 20%, 20% 및 20% 감소되었다. 따라서 지질과산화 억제효과는 오디즙 2%공급군(DM-2E)과 오디박 0.25%공급군(DM-0.25P)이 가장 높았다.

Table 25. Effects of mulberry extract and peel on erythrocyte thiobarbituric reactive substances (TBARS) values in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	TBARS (Unit nmol/min/g Hb)
Normal	76.46±5.76 ^b
DM	169.92±11.19 ^a
DM-0.5E	145.00±3.72 ^c
DM-1E	136.73±3.29 ^d
DM-2E	125.00±5.10 ^f
DM-0.25P	128.34±4.53 ^{ef}
DM-0.5P	137.46±2.36 ^d
DM-1P	137.56±5.46 ^{cde}
DM-2P	136.33±4.92 ^{de}

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 1.

이상의 동물 실험 (1)의 결과를 요약해 보면 다음과 같다. 동물실험을 통한 오디 과실부위별 추출물의 항당뇨 효능을 관찰한 결과 혈당강하작용은 오디박이 오디즙에 비해 우수함을 알 수 있었다. 혈중 지질조성개선효과 및 적혈구에서의 항산화 효과는 오디즙이 오디박보다 다소 우수하였다.

나. 제2실험 : 오디과실분말 농도별 실험

오디즙에 비해 오디박의 항당뇨 효과가 대체로 높은 결과를 얻었기에 기능성식품

개발 원료로는 오디즙만 이용하는 것보다 오디박을 함께 이용하는 방안이 더 효율적일 것으로 판단되어 오디과실 전체를 냉동건조하여 얻은 오디과실분말의 항당뇨 효과를 검증코저 하였다.

1) 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

체중증가량은 STZ를 투여한 후에는 당뇨유발군들은 현저하게 감소되었으며 실험군간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 식이 섭취량은 STZ 투여후 당뇨군에서 높았고 식이효율은 STZ 투여 후에는 정상군에 비해 모든 당뇨군이 현저하게 감소되었으며 당뇨군간에는 유의적인 차이가 없었다(Table 26).

Table 26. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER) of rats during 3 weeks before and 9 days after streptozotocin injection

Group	Body weight gains (g)	Food intake (g)	FER
During 4 weeks before STZ injection			
Normal	70.50±0.71 ^{NS}	300.97±0.00 ^{NS}	0.23±0.00 ^{NS}
DM	76.00±7.41	294.00±6.26	0.26±0.03
DM-0.3F	77.70±33.01	327.22±18.48	0.24±0.10
DM-0.6F	73.50±11.63	324.50±5.87	0.23±0.04
During 9 days after STZ injection			
Normal	15.10±6.36 ^a	154.51±0.00 ^a	0.10±0.04 ^a
DM	-58.10±22.77 ^b	175.13±0.29 ^b	-0.37±0.14 ^b
DM-0.3F	-46.50±16.97 ^b	172.51±19.41 ^b	-0.27±0.10 ^b
DM-0.6F	-42.34±2.35 ^b	174.76±12.12 ^b	-0.24±0.03 ^b

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 2.

2) 혈당저하 효과

오디과실분말의 혈당강하 효과를 관찰하기 위하여 혈청중 포도당 함량을 측정 한 결과(Fig. 21) 정상군에 비해 DM군은 187% 증가 되었으며, 오디 0.3% 및 0.6%를 투여한 DM-0.3F군 및 DM-0.6F군은 325.64 mg/dl, 314.41 mg/dl로 DM군에 비해 각각 36% 및 38%씩 감소되었다. 오디과실분말의 혈당강하 효과는 오디즙 보다는 다소

우수하였고 오디박과는 유사한 수준이었다. 이는 본 연구과제 2세부에서 밝혀낸 항당뇨 물질인 오디박에 함유되어 있는 4-prenyl-moracin, mulberrofuran F 및 mulberrofuran U 때문이라고 사료된다. 따라서 오디과실분말의 항당뇨 효과를 기대하기 위해서는 오디즙 자체만을 이용하기 보다는 오디박을 함께 이용하는 방안이 더 효율적일 것으로 판단된다.

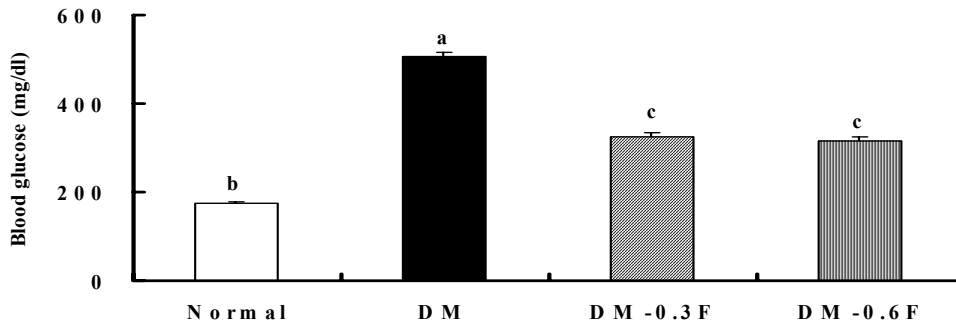


Fig. 21. Effects of mulberry fruit on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats.

All values are Mean±SE(n=10). Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's-HSD test. Experimental conditions are same as Table 2.

3) 소장에서 당 흡수 억제효과

Maltase의 경우 proximal 부분에서 정상군과 오디과실분말 비공급군인 DM 군에서는 차이가 없었으나, 오디과실분말 공급군인 DM-0.3F군 및 DM-0.6F군에서는 DM 군에 비하여 각각 47% 및 32%씩 유의적으로 감소되었다. Middle과 distal 부분에서는 DM 군과 오디과실분말 공급군에서 유의적인 차이가 없었다(Fig. 22-A). Sucrase의 경우 proximal 부분에서 정상군에 비하여 DM 군에서 효소 활성이 유의적으로 증가하였으며, 오디과실분말 공급군은 DM군에 비해 유의적으로 감소되었다. Middle과 distal의 경우 정상군에 비하여 당뇨군에서 유의적으로 높았으나(Fig. 22. B). Lactase의 경우에는 proximal 부분에서 정상군과 DM 군에서 유의적인 차이가 없었으며, 오디과실분말 공급군에서 효소활성이 유의적으로 낮아짐을 관찰할 수 있었다. Middle 및 distal에서는 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다(Fig. 22. C).

각 부분 간 효소활성의 크기는 maltase의 경우 정상군은 proximal > middle >

distal 순이었고, DM은 distal > proximal > middle 순이었으며, 오디과실분말 공급군에서는 distal ≥ middle > proximal 순으로 낮아졌다. Sucrase의 경우에는 정상군은 proximal ≥ distal > middle 순이었고, 당뇨군은 distal > middle > proximal 순으로 낮아졌다.

Lactase의 경우에는 정상군 및 DM 군은 proximal > middle > distal 순이었고, 오디과실분말 공급군에서는 middle > distal > proximal 순으로 낮아졌다. 따라서 당뇨쥐에 있어서 오디과실분말의 공급은 소장 proximal 부분의 disacchridase인 maltase, sucrase 및 lactase의 활성을 저해하여 급격한 혈당상승을 억제시킨다는 것을 관찰할 수 있었다.

이와 같이 동결건조한 오디과실 전체 분말을 이용한 결과 오디즙만 이용한 것보다 효율적일 것으로 본다.

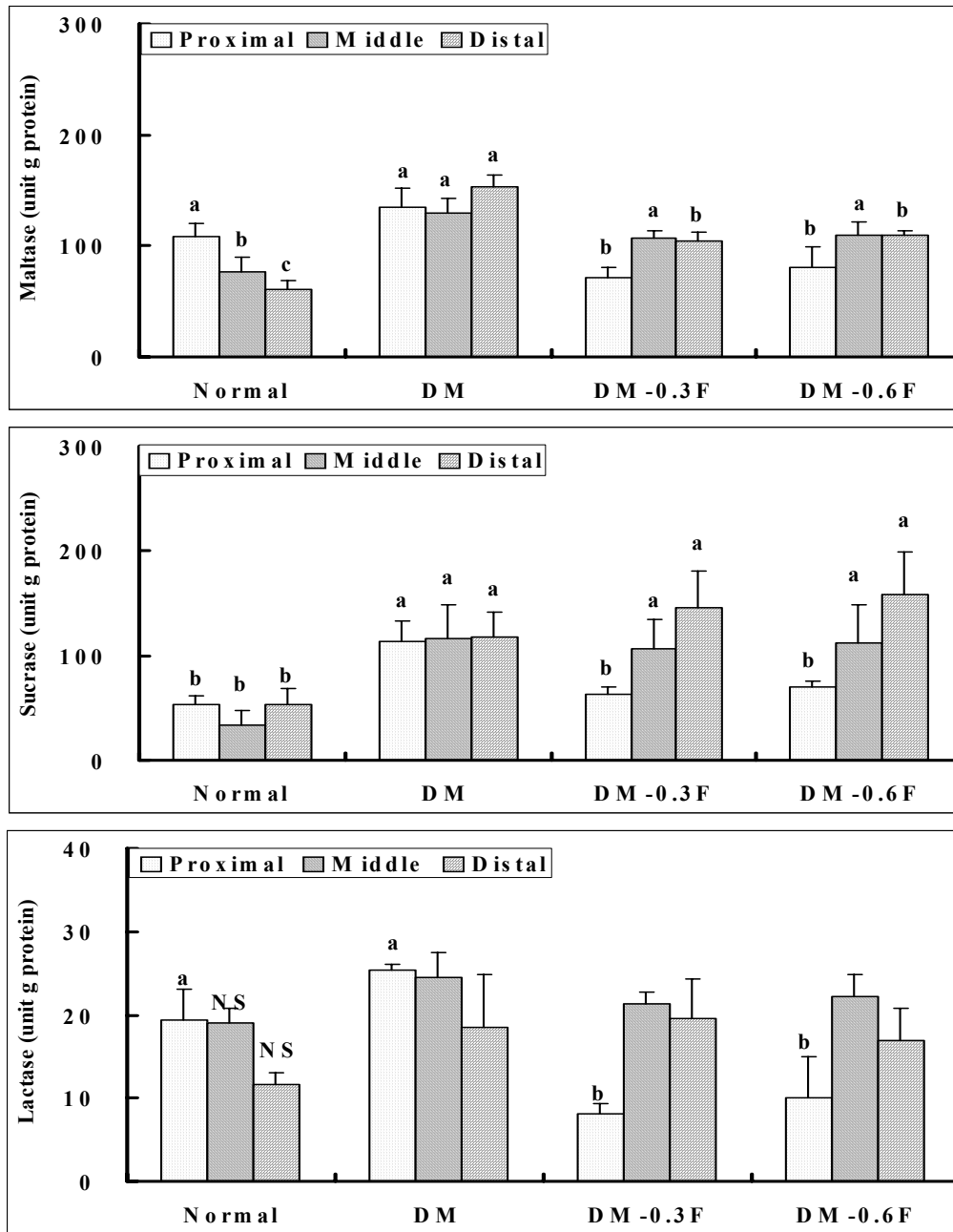


Fig. 5-6. Effects of mulberry fruit on intestinal mucosa maltase (A), sucrase (B) and lactase (C) activities in STZ-induced diabetic rats.

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 2.

4) 혈중 지질조성 개선 효과

혈청 중성지방 함량 (Table 27)은 정상군에 비해 오디 비공급 당뇨군인 DM군에서 71% 증가되었으며 오디 0.3% 및 0.6% 공급한 DM-0.3F군과 DM-0.6F군에서는 DM군에 비해 각각 23% 및 27% 감소되었다. 총 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 DM군은 65% 증가되었으며, 당뇨대조군과 오디과실분말공급 당뇨군간에 유의적인 차이는 없었다. 반면에 HDL-콜레스테롤은 정상군보다 당뇨 대조군인 DM군에서 33% 감소되었지만, 오디과실분말공급 당뇨군은 모두 정상군 수준이었다. LDL-콜레스테롤은 DM-0.3F군 및 DM-0.6F군에서 DM군에 비해 각각 24% 및 38% 감소되었다.

동맥경화지수인 AI는 정상군이 1.25인데 비해 DM군이 2.83로서 126%까지 증가되었으며 DM-0.3F군 및 DM-0.6F군에서는 DM군에 비해 각각 25% 및 31%씩 감소되었다(Fig. 23).

Table 27. Effects of mulberry fruit on serum levels of triglyceride (TG), total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	Triglyceride	Total cholesterol	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol
Normal	71.89±2.29 ^b	67.53±3.25 ^b	39.45±2.71 ^a	21.61±6.41 ^b
DM	123.15±8.39 ^a	111.50±10.52 ^a	26.48±2.48 ^b	57.48±7.52 ^a
DM-0.3F	95.95±5.73 ^c	105.40±4.99 ^a	36.76±2.87 ^a	44.23±3.77 ^{ac}
DM-0.6F	90.46±5.18 ^c	100.02±3.04 ^a	37.80±2.87 ^a	35.85±3.58 ^c

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 2.

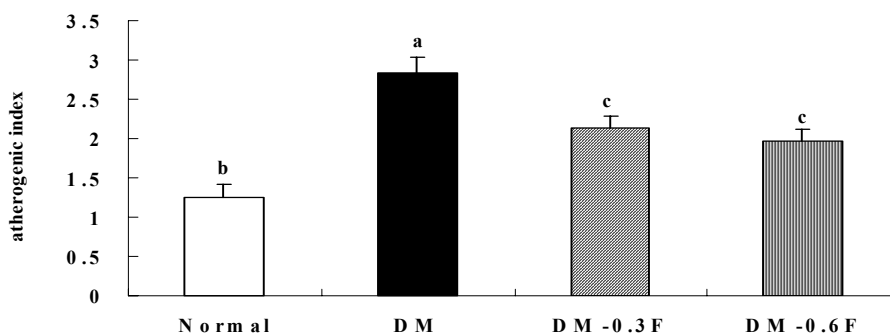


Fig. 23. Effects of mulberry fruit on serum levels of atherogenic index in streptozotocin-induced diabetic rats

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 2.

5) 적혈구 항산화 효과

가) SOD, GSH-px, CAT 활성변화

적혈구 SOD 활성은 (Table 28) 정상군에 비해 DM군과 DM-0.3F군 및 DM-0.6F군은 각각 17%, 14% 및 16%씩 감소되었으며, 당뇨군간에는 유의적인 차이가 없었다. GSH-px의 활성은 (Table 28) 당뇨대조군은 정상군에 비해 61% ($p < 0.05$)으로 감소되었으나, 오디과실분말 공급군인 DM-0.3F군 및 DM-0.6F군은 당뇨대조군 보다 각각 33% 및 69% 증가되었다. Catalase 활성도 (Table 28.)는 당뇨대조군에서 정상군보다 36% 감소 ($p < 0.01$)되었다. 그러나 오디과실분말 0.3%공급군인 (DM-0.3F)군은 22% 감소되었으며 오디과실분말 0.6% 공급 당뇨군인 (DM-0.6F)군은 정상군 수준이었다.

Table 28. Effects of mulberry fruit on erythrocyte SOD, GSH-px and CAT activities in streptozotocin-induced diabetic rats.

Groups	SOD (unit/min/g Hb)	GSH-px ($\mu\text{mol NADPH/min/g Hb}$)	CAT (nmol/min/g Hb)
Normal	122.65±2.56 ^a	19.39±0.93 ^a	41.26±2.47 ^a
DM	101.95±3.39 ^b	7.59±0.42 ^c	26.53±2.25 ^b
DM-0.3F	105.77±1.02 ^b	10.15±0.79 ^b	32.54±2.55 ^{ab}
DM-0.6F	103.99±4.21 ^b	12.83±1.70 ^b	39.95±3.78 ^a

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2.

나) 적혈구의 과산화지질 (TBARS) 함량

지질과산화물 축적에 미치는 오디과실분말 효과는 (Fig. 24) 당뇨대조군 (DM)은 정상군 (Normal)에 비해 122% 증가되었으나, 오디과실분말 공급 당뇨군인 DM-0.3F 및 DM-0.6F는 당뇨대조군 (DM)에 비해 각각 17% 및 28% 감소되었다.

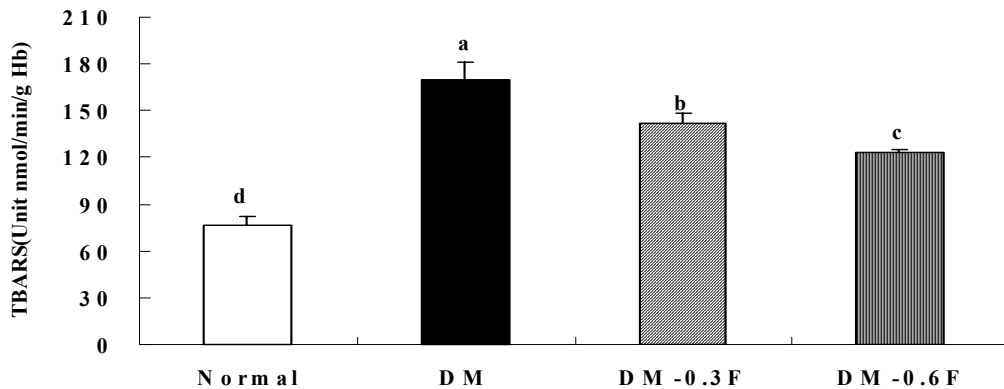


Fig. 24. Effects of mulberry fruit on erythrocyte thiobarbituric reactive substances (TBARS) values in streptozotocin-induced diabetic rats.

All values are mean \pm SE (n = 10) Bars within different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2.

동물실험 (1)과(2)의 결과를 요약하면 다음과 같다. 즉, 오디즙, 오디박 및 오디과실분말과의 효과를 비교해 보면 혈당강화작용은 오디박을 공급하였을 경우와 오디과실분말을 공급하였을 경우 유사한 수준이었으나 오디박이 다소 우수한 편이었다. 혈중개선 효과 및 적혈구에서의 항산화 효과는 오디즙을 공급했을 경우와 오디과실분말을 공급하였을 경우 cholesterol, LDL-cholesterol 및 AI의 저하 및 항산화 효과가 유사한 수준으로 오디박보다 다소 우수한 경향임을 알 수 있었다.

다. 제3실험 : 잠상물질의 첨가에 따른 혼합 제조된 물질 실험

실험 (1)과 (2)에서 오디즙 이용보다는 오디과실분말을 함께 이용함이 항당뇨 효과가 높고 또, 지질개선효과 및 항산화효과도 비슷하여 경제성이 있다고 본다. 따라서 실험(3)에서는 오디과실건조분말을 주된 base로하여 잠상산물을 첨가시켰을 때 가장 효과적인 혼합비율을 얻고져 시도하였다.

1) 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

실험동물의 체중증가량은 STZ를 투여한 후에 모든 실험군간에 유의적인 차이는

관찰되지 않았다. 식이 섭취량과 식이 효율도 모든 실험군간에 유의적인 차이는 없었다(Table 29).

Table 29. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER) of rats during 3 weeks before and 9 days after streptozotocin injection

Group	Body weight gains (g)	Food intake (g)	FER
During 4 weeks before STZ injection			
DM	76.78±6.90 ^{NS}	168.00±6.26 ^{NS}	0.46±0.04 ^{NS}
F	77.70±33.01	187.00±18.48	0.43±0.17
M	83.40±14.76	173.17±35.23	0.46±0.07
S	74.08±22.39	189.67±10.86	0.39±0.10
FM	101.70±22.51	181.67±10.05	0.57±0.11
FS	76.17±20.20	166.25±10.17	0.51±0.14
FMS	95.25±27.02	184.17±21.95	0.52±0.17
During 9 days after STZ injection			
DM	-58.10±22.77 ^{NS}	116.75±0.29 ^{NS}	-0.50±0.20 ^{NS}
F	-54.33±20.01	115.00±19.41	-0.41±0.14
M	-29.75±4.72	120.00±5.20	-0.25±0.04
S	-30.75±8.66	113.00±18.99	-0.27±0.07
FM	-37.75±23.51	110.25±6.64	-0.34±0.21
FS	-31.00±10.79	114.00±17.60	-0.29±0.11
FMS	-35.33±3.21	112.50±22.48	-0.37±0.06

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 3.

2) 혈당저하 효과

혈당강하 효과가 가장 좋은 잠상 혼합물의 비율을 알아내기 위하여 혈중 포도당 함량을 측정된 결과는 Fig. 25와 같다. 당뇨대조군인 DM군에 비해 오디과실분말, 빵잎 및 누에를 각각 단독으로 0.3%씩 공급한 F, M 및 S군은 각각 36%, 25% 및 37%씩 감소되었다. 오디과실분말과 빵잎을 1:1로 혼합하여 0.3%씩 공급한 FM군 및 오디과실분말과 누에를 1:1로 혼합하여 0.3%씩 공급한 FS군은 DM군에 비해 각각 30% 및 25%씩 감소되었으며 오디과실분말, 빵잎, 누에를 1:1:1의 비율로 혼합하여 0.3% 공급한 FMS군은 DM군에 비해 43% 감소되어, 잠상산물 공급군중 가장 효과적으로 혈당을 감소시키는 시너지 효과가 있는 것으로 나타났다.

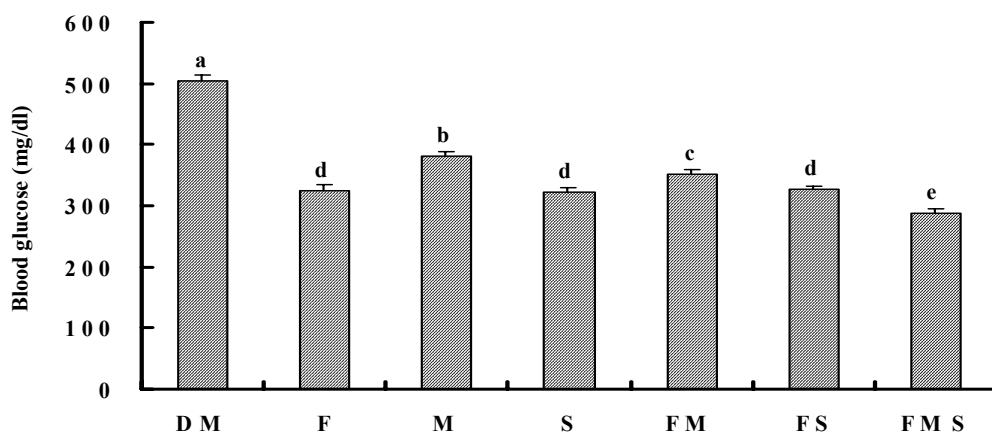


Fig. 25. Effects of several sericultural products on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats.

All values are Mean±SE(n=10). Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's-HSD test. Experimental conditions were same as in Table 3.

3) 소장에서 당 흡수 억제효과

Maltase의 경우 proximal 부분에서 잠상산물 공급군인 F군, M, S, FM, FS 및 FMS군에서는 DM군에 비해 각각 47%, 40%, 40%, 44%, 40% 및 55% 감소되어 오 디과실분말, 빵잎, 누에를 동일비율로 섞은 FMS군이 다른 잠상 산물 공급군보다 가장 높게 감소되었다. Middle 부분에서는 DM 군과 잠상 산물 공급군간에 유의적인 차이가 없었다. Distal 부분에서는 DM군에 비해 잠상산물 공급군에서 유의적으로 감소되었다(Fig. 26-A). Sucrase의 경우 maltase와 마찬가지로 proximal 부분에서 DM 군에 비하여 잠상산물 공급군에서 maltase와 비슷한 경향으로 감소되었으며, middle 과 distal부분에서도 실험군간에 유의적인 차이가 없었다(Fig. 26-B). Lactase의 경우에는 proximal 부분에서 DM 군에 비해 잠상산물 공급군에서 효소활성이 유의적으로 낮아짐을 관찰할 수 있었다. Middle과 distal 부위에서는 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다(Fig. 26-C).

각 부분 간 효소활성의 크기는 maltase 및 sucrase의 경우 실험군 모두 distal > middle > proximal 순으로 낮아졌다. Lactase의 경우에는 DM 군은 proximal >

middle > distal 순이었고, 잠상산물 공급군에서는 middle > distal > proximal 순으로 낮아졌다.

이와 같이 잠상산물을 공급함으로써 소장 proximal 부분의 maltase, sucrase 및 lactase 등의 disaccharidase의 활성을 저해하여 급격한 혈당상승을 억제시킨다는 것을 관찰할 수 있었으며, 특히, 오디, 빵잎 및 누에를 1:1:1로 혼합한 FMS군에서 높은 효과를 나타내었다.

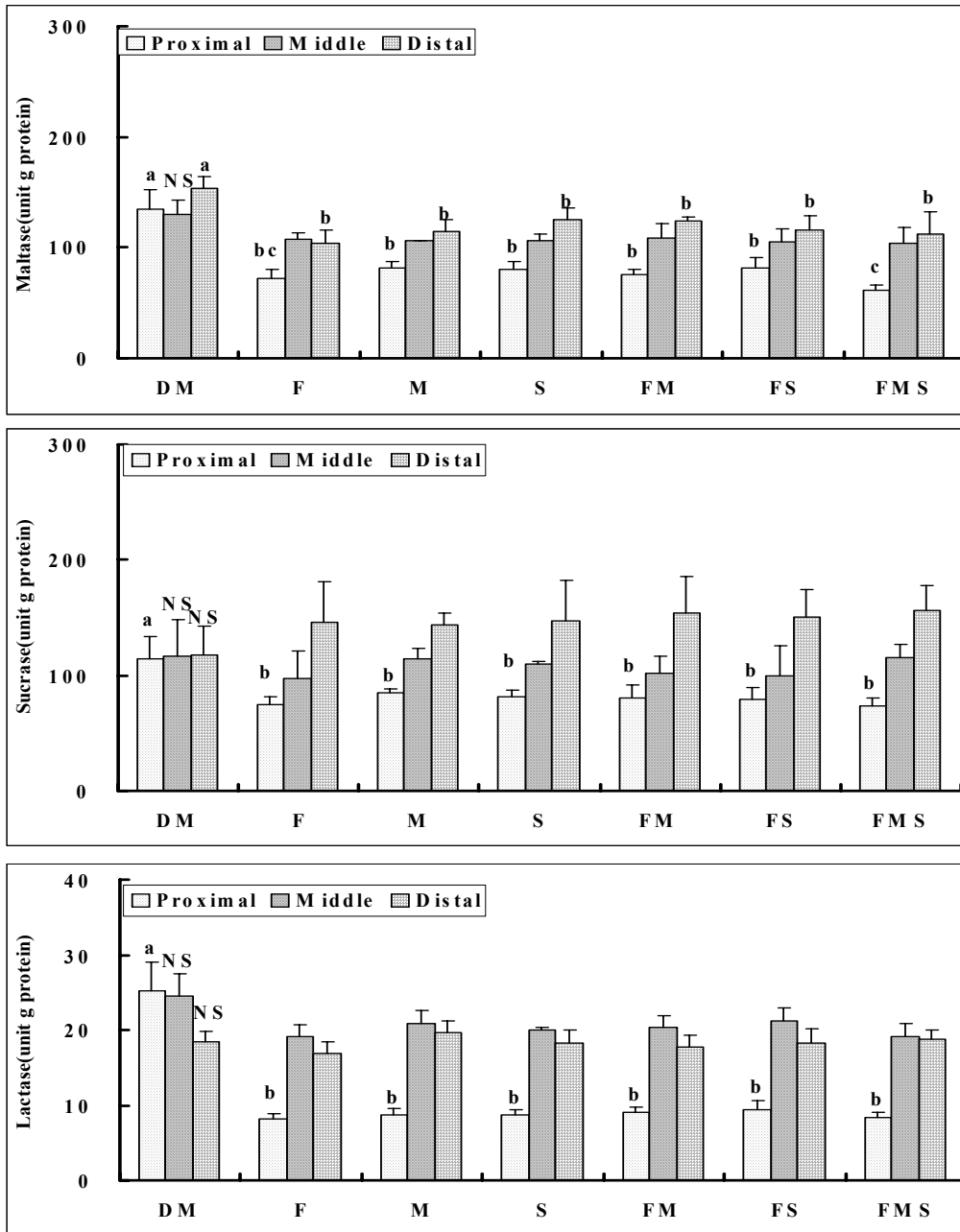


Fig. 5-10. Effects of several sericultural products on intestinal mucosa maltase (A), sucrase (B) and lactase (C) activities in STZ-induced rats.

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 3.

4) 혈중 지질구성 개선 효과

혈청 중성지방 함량 (Table 30)은 당뇨대조군인 DM군에 비해 오디과실분말, 뽕잎 및 누에를 각각 0.3%씩 공급한 F, M 및 S군은 각각 22%, 28% 및 26%씩 감소되었다. 오디과실분말과 뽕잎을 1:1로 혼합하여 0.3%씩 공급한 FM군 및 오디과실분말과 누에를 1:1로 혼합하여 0.3%씩 공급한 FS군, 오디과실분말, 뽕잎, 누에를 1:1:1의 비율로 혼합하여 0.3% 공급한 FMS군은 DM군에 비해 각각 28%, 24% 및 28%씩 감소되었다.

총 콜레스테롤 함량은 당뇨대조군인 DM군에 비해 F, M 및 S군은 각각 6%, 20% 및 17%씩 감소되었다. FM, FS 및 FMS군은 DM군에 비해 각각 13%, 11% 및 19%씩 감소되었다. 반면에 HDL-콜레스테롤은 당뇨 대조군인 DM군에 비해 잠상산물 공급 당뇨군 모두에서 유의적으로 감소되었다. LDL-콜레스테롤 함량은 당뇨대조군인 DM군에 비해 F, M 및 S군은 각각 23%, 35% 및 31%씩 감소되었다. FM, FS 및 FMS군은 DM군에 비해 각각 37%, 36% 및 44%씩 감소되었다.

동맥경화의 발생지표인 동맥경화지수 (atherogenic index)는 당뇨대조군인 DM군에 비해 F, M, S, FM, FS 및 FMS군은 각각 24%, 45%, 43%, 36%, 34% 및 42%씩 감소되어 잠상산물을 동일비율로 공급한 FMS군이 가장 효과적이었다(Fig. 27).

Table 30. Effects of several sericultural products on serum levels of triglyceride (TG), total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol in streptozotocin-induced diabetic rats

Groups	Triglyceride	Total cholesterol	HDL-cholesterol	LDL-Cholesterol
DM	123.15±8.39 ^a	111.50±10.52 ^a	26.48±2.48 ^a	57.48±7.52 ^a
F	95.95±5.73 ^{bc}	105.40±4.99 ^a	36.76±5.87 ^b	44.23±3.77 ^{ab}
M	88.53±2.10 ^b	89.53±9.50 ^{ab}	35.08±5.09 ^b	37.38±2.62 ^{bcd}
S	90.60±3.36 ^{bc}	93.04±6.08 ^{ab}	34.32±3.69 ^b	39.51±1.63 ^{bc}
FM	88.63±9.83 ^{bc}	97.21±9.36 ^{ab}	34.84±3.51 ^b	35.98±2.72 ^{cd}
FS	94.01±1.67 ^b	99.56±8.04 ^{ab}	35.45±1.81 ^b	36.63±1.03 ^{cd}
FMS	89.07±6.25 ^{bc}	90.74±3.68 ^b	38.70±7.76 ^b	32.19±3.12 ^d

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 3.

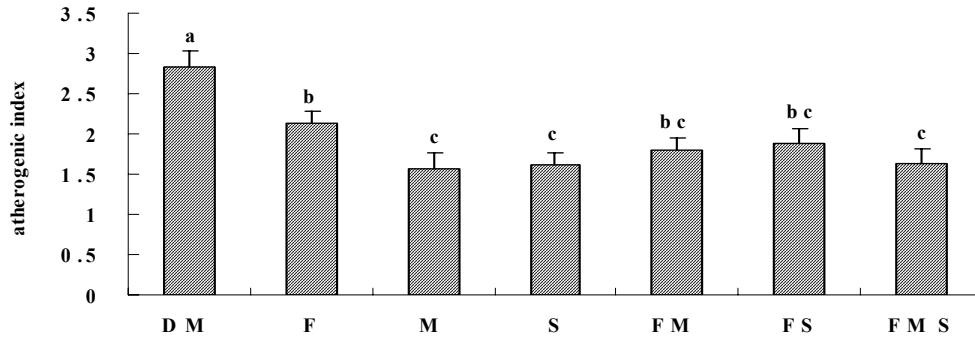


Fig. 27. Effects of several sericultural products on serum levels of atherogenic index in streptozotocin-induced diabetic rats

All values are mean±SE ($n=10$). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's. Experimental conditions are same as Table 3.

5) 적혈구 항산화 효과

가) SOD, GSH-px, CAT 활성 변화

적혈구 SOD 활성은(Table 31) DM군과 F, M 및 S군은 유의적인 차이가 없었다. FM, FS 및 FMS군은 DM군에 비해 각각 유의적으로 증가되었다. GSH-px의 활성은(Table 31) DM군에 비해 F, M 및 S군은 각각 33%, 68% 및 46%씩 증가되었다. FM, FS 및 FMS군은 DM군에 비하여 각각 56%, 47% 및 160% 증가되어 오디과실분말, 뽕잎 및 누에를 함께 공급할 경우 잠상 산물을 단독 혹은 두개씩 혼합하여 공급할때보다 GSH-px 활성이 현저하게 증가되었다. Catalase 활성도(Table 31)는 DM군에 비해 F, M, S군에서 각각 22%, 42% 및 40%씩 증가되었다. FM, FS 및 FMS군은 DM군에 비해 각각 49%, 37% 및 42%씩 증가되었다.

Table 31. Effects of several sericultural products on erythrocyte SOD, GSH-px and CAT activities in streptozotocin-induced diabetic rats.

Groups	SOD (unit/min/g Hb)	GSH-px (μ mol NADPH/min/g Hb)	CAT (nmol/min/g Hb)
DM	101.95 \pm 3.39 ^{ac}	7.59 \pm 0.42 ^a	26.53 \pm 2.25 ^b
F	105.77 \pm 1.02 ^{ab}	10.15 \pm 0.79 ^b	32.54 \pm 1.55 ^c
M	101.69 \pm 2.59 ^c	12.82 \pm 1.57 ^b	37.89 \pm 0.72 ^{ac}
S	106.10 \pm 0.86 ^c	11.09 \pm 1.02 ^b	37.36 \pm 0.39 ^{ac}
FM	112.50 \pm 12.39 ^{bd}	11.88 \pm 2.02 ^b	39.71 \pm 0.36 ^a
FS	114.25 \pm 2.22 ^d	11.17 \pm 1.51 ^b	36.43 \pm 1.29 ^{ac}
FMS	114.08 \pm 3.53 ^d	19.80 \pm 1.61 ^c	37.82 \pm 1.27 ^c

All values are mean \pm SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions are same as Table 3.

나) 적혈구의 과산화지질 (TBARS) 함량

적혈구의 산화적 손상의 지표가 되는 지질과산화물 축적에 미치는 잠상산물의 효과는 Table 32와 같다. F, M, S군은 DM군에 비해 17%, 23% 및 15%씩 감소되었다. 잠상산물 혼합물 공급군인 FM, FS 및 FMS군에서는 DM군에 비해 각각 25%, 26% 및 26%씩 감소되었다.

이와같이 잠상산물중 누에와 뽕잎을 오디과실분말에 첨가시켰을 때 잠상산물을 각각 단독으로 공급하였을 때보다 당뇨쥐 적혈구의 지질과산화 함량이 더 현저하게 감소됨을 관찰하였다.

Table 32. Effects of several sericultural products on erythrocyte thiobarbituric reactive substances (TBARS) values in streptozotocin-induced diabetic rats.

Groups	TBARS (Unit nmol/min/g Hb)
DM	169.92±11.19 ^a
F	142.29±5.68 ^b
M	132.33±6.82 ^{bc}
S	144.78±4.75 ^b
FM	127.65±5.23 ^c
FS	126.41±2.91 ^c
FMS	127.03±0.87 ^c

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 3.

동물실험 (3)의 결과를 요약해 보면 다음과 같다. 즉, 항당뇨, 지질개선효과 및 항산화 효과는 잠상산물을 단독 혹은 다른 혼합비로 공급했을때보다 오디과실분말, 뽕잎 및 누에를 1:1:1로 혼합하여 공급했을때 현저한 시너지 효과를 나타내었다.

4. 오디 및 잠상산물 추출물의 성인병 예방 효능 (*in vivo*)

가. 지질대사 개선 효과 측정

1) 간조직중의 HMG-CoA reductase 활성

콜레스테롤 생합성의 조절효소로 알려진 간조직 중의 HMG-CoA reductase 활성은 다음과 같다(Fig. 28). 오디, 뽕잎 및 누에를 각각 0.3%씩 공급한 F군, M군, S군은 당뇨대조군인 DM군에 비해 각각 35%, 20%, 32%씩 증가($p < 0.05$)되었다. 오디와 뽕잎을 각각 0.15%씩 혼합하여 공급한 FM군 및 오디와 누에를 각각 0.15%씩 혼합하여 공급한 FS군은 DM군에 비해 각각 25% 및 22% 증가($p < 0.05$)되었으나 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 큰 차이가 없었다. 오디, 뽕잎, 누에를 각각 0.1%씩 혼합하여 공급한 FMS군은 DM군에 비해 45% 증가($p < 0.05$)되었고 오디, 뽕잎, 누에를 각각 1.8%, 0.6%, 0.6%씩 혼합한 3FMS군 및 오디, 뽕잎, 누에를 2.4%, 0.3%, 0.3%씩 혼합한 4FMS군은 각각 DM군에 비해 47%씩 증가($p < 0.05$)되었으며, 잠상산물을 각각 두가지씩 공급한 FM군 및 FS군에 비하여 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었다. 그러나 FMS, 3FMS, 4FMS군 사이의 유의적인 차이는 없었다.

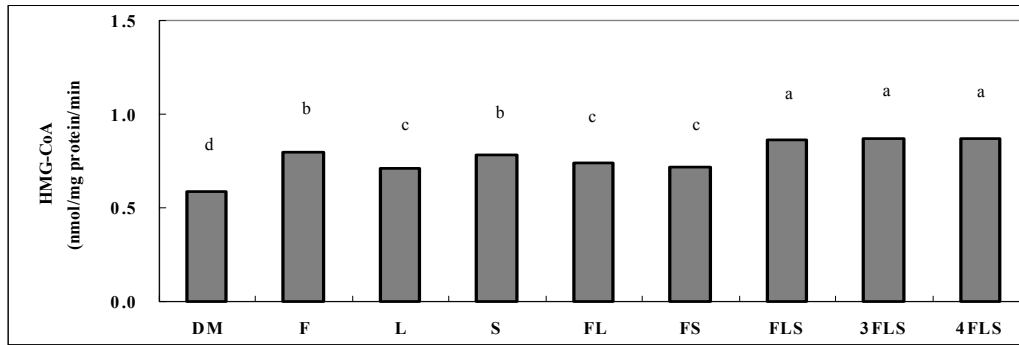


Fig. 28. Effect of several sericultural products on HMG-CoA reductase activities in streptozotocin-induced diabetic rats.

All values are mean \pm SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

2) 간조직중의 중성지방 저하효과

간조직의 중성지방 함량은 DM군에 비하여 F군, M군 및 S군은 각각 55%, 41% 및 51% 증가($p < 0.05$)되었으며 이들 사이의 유의적인 차이는 없었다. FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각 82% 및 55% 증가되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적인 차이는 없었다. 그러나 FMS군, 3FMS군 및 4FMS군은 DM군에 비해 각각 87%, 93% 및 87% 증가되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었다(Table 33).

Table 33. Effect of several sericultural products on hepatic triglyceride(TG) in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	Triglyceride
	(mg/g)
DM	8.12±1.13 ^c
F	12.55±1.03 ^b
L	11.47±1.37 ^b
S	12.30±1.08 ^b
FL	14.80±2.66 ^{ab}
FS	12.61±1.71 ^{ab}
FLS	15.18±1.08 ^a
3FLS	15.64±1.10 ^a
4FLS	15.20±1.05 ^a

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

3) 간조직중의 콜레스테롤 저하효과

간조직의 콜레스테롤 함량을 측정된 결과 DM군에 비하여 F군, M군 및 S군은 각각 10%, 9% 및 6% 감소($p < 0.05$)되었다. FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각 6% 및 7% 감소되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적인 차이는 없었다. 그러나 FMS군, 3FMS군 및 4FMS군은 DM군에 비해 각각 36%, 41% 및 45% 감소되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었다(Table 34).

Table 34. Effect of several sericultural products on hepatic cholesterol in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	Cholesterol (mg/g)
DM	2.64±0.05 ^a
F	2.38±0.13 ^b
L	2.41±0.10 ^b
S	2.47±0.08 ^b
FL	2.48±0.07 ^b
FS	2.46±0.06 ^b
FLS	1.70±0.02 ^c
3FLS	1.55±0.04 ^c
4FLS	1.46±0.03 ^c

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

나. 항노화 효과 측정

1) 간조직 lipofuscin 함량

생체 노화의 중요한 지표로 사용되고 있는 lipofuscin의 간조직에서의 함량은 다음과 같다(Fig 29). DM군에 비하여 F군, M군 및 S군은 각각 13%, 25% 및 24% 감소되었으며 이들 사이의 유의적인 차이는 없었다. FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각 33% 및 29% 감소($p < 0.05$)되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적인 차이는 없었다. FMS군, 3FMS군, 4FMS군은 DM군에 비해 각각 40%, 39%, 41% 감소($p < 0.05$)되었다.

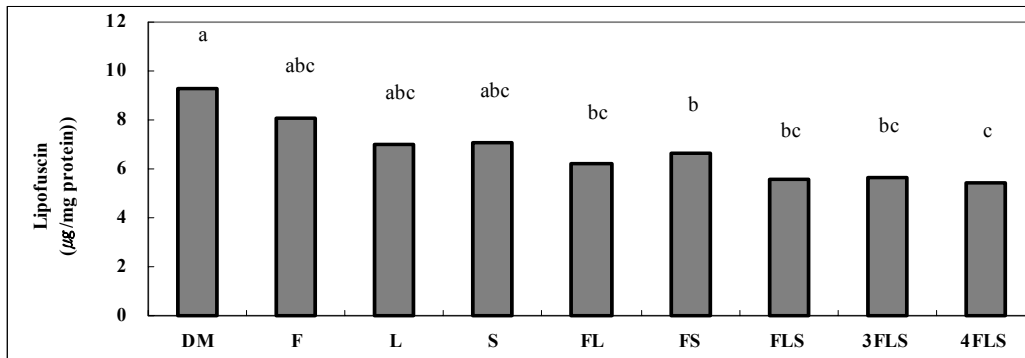


Fig . 29. Effect of several sericultural products on hepatic lipofuscin contents in streptozotocin-induced diabetic rats.

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

2) 간조직 carbonyl value 함량

활성산소에 의해서 지질뿐만 아니라 단백질 또한 쉽게 산화되는데 산화단백질의 생성지표인 carbonyl value의 함량을 간 조직의 mitochondria에서 측정된 결과 DM군에 비하여 F군, M군, S군은 각각 28%, 24%, 28% 감소되었으며 이들 사이의 유의적인 차이는 없었다. FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각 29% 및 28% 감소되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적인 차이는 없었다. FMS군, 3FMS군 및 4FMS군은 DM군에 비해 각각 31%, 33% 및 32% 감소($p < 0.05$)되었다.

Carbonyl value의 함량을 간 조직의 microsomes에서 측정된 결과 DM군에 비하여 F군, M군 및 S군은 각각 13%, 14% 및 22% 감소($p < 0.05$)되었으며 이들 사이의 유의적인 차이는 없었다. FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각 21% 및 23% 감소($p < 0.05$)되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적인 차이는 없었다. FMS군, 3FMS군, 4FMS군은 DM군에 비해 각각 29%, 29%, 28%씩 감소($p < 0.05$)되었다.

Table 35. Effect of several sericultural products on hepatic carbonyl value in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	Mitochondria	Microsome
	(nmol/mg protein)	
DM	139.99±4.18 ^a	128.51±4.38 ^a
F	101.24±0.78 ^b	112.08±7.30 ^b
L	105.90±7.51 ^{bd}	109.99±6.40 ^b
S	100.33±5.51 ^{bc}	100.22±4.41 ^{bcd}
FL	99.76±7.32 ^{bc}	101.20±4.93 ^{bd}
FS	100.45±4.00 ^{bc}	98.72±6.35 ^{bcd}
FLS	95.90±2.99 ^{bc}	91.73±4.89 ^{cd}
3FLS	93.67±3.48 ^{cd}	90.69±3.23 ^c
4FLS	94.77±4.58 ^{bc}	92.43±4.55 ^{cd}

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

3) 간조직 TBARS 함량

체내 지질과산화의 지표가 되는 지질과산화물가를 간조직에서 관찰한 결과 DM군

에 비하여 F군, M군 및 S군은 각각 8%, 12% 및 6%씩 감소되었으며 FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각 15% 및 14%씩 감소되었다. FMS군, 3FMS군, 4FMS군은 DM군에 비해 각각 12%, 18% 및 20% 감소되었으나 당뇨 실험군간의 유의적인 차이는 없었다.

Table 36. Effect of several sericultural products on hepatic TBARS values in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	TBARS
	(MDA nmol/mg protein)
DM	11.59±0.75 ^{NS}
F	10.71±2.93
L	10.25±2.30
S	10.86±1.30
FL	9.82±0.89
FS	9.93±4.45
FLS	10.17±2.38
3FLS	9.53±0.94
4FLS	9.26±1.20

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

다. 항산화 효과 측정

1) SOD 활성

생체내 항산화 방어기구 중 효소적 방어계의 하나로써 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 환원시킴으로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 SOD 활성은 다음과 같다. DM군에 비하여 F군, M군 및 S군은 각각 5%, 2% 및 7% 감소되었다. FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각 13% 및 17% 감소되었으며 FMS군, 3FMS군 및 4FMS군은 DM군에 비해 각각 18%, 17% 및 17% 감소되었으나 당뇨 실험군간의 유의적인 차이는 없었다.

Table 37. Effect of several sericultural products on hepatic superoxide dismutase (SOD) activities in streptozotocin-induced diabetic rats

Group	SOD
	(unit/mg protein/min)
DM	6.85±1.59 ^{NS}
F	6.53±0.71
L	6.74±1.22
S	6.37±0.48
FL	5.98±1.16
FS	5.66±1.02
FLS	5.61±0.54
3FLS	5.68±0.29
4FLS	5.70±0.70

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

2) GSH-px 활성

Selenium을 함유하는 항산화 효소로 비타민 E와 함께 과산화물을 제거함으로써 세포막의 손실을 방어하는 GSH-px의 활성은 DM군에 비하여 F군, M군 및 S군은 각각 2%, 11% 및 13% 증가되었으며 FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각 14% 및 22% 증가($p < 0.05$)되었다. FMS군, 3FMS군, 4FMS군은 DM군에 비해 각각 38%, 37%, 39% 증가되었다.

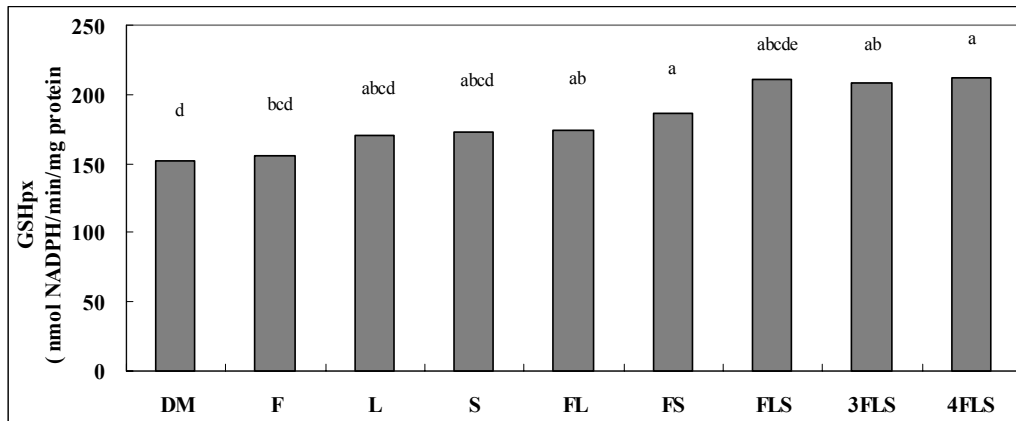


Fig. 30. Effect of several sericultural products on hepatic glutathione peroxidase (GSH-px) activities in streptozotocin-induced diabetic rats.

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

3) Catalase 활성

Catalase는 조직 세포 속에 존재하여 대사산물인 H₂O₂를 순간적으로 산화시켜 H₂O와 O₂로 분해함으로써 생체를 산소독으로부터 보호한다. 본 실험 결과 Table 37과 같이 오디, 뽕잎 및 누에의 혼합식이을 투여한 군에서 당뇨대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 특히 FMS군, 3FMS군, 4FMS군은 DM군에 비해 각각 59%씩 증가되었다.

Table 38. Effect of several sericultural products on hepatic catalase activities in streptozotocin-induced diabetic rats

Group	catalase
	(nmol/min/mg protein)
DM	4.09±0.48 ^c
F	4.96±0.78 ^{bc}
L	5.42±0.77 ^{bc}
S	5.29±0.55 ^{bc}
FL	6.08±0.83 ^b
FS	6.07±0.49 ^{ab}
FLS	6.92±0.28 ^a
3FLS	6.90±0.24 ^a
4FLS	7.00±0.37 ^a

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

라. Activated partial thromboplastin times & Thrombin time 활성

혈액 응고 기전 중 내인성 인자경로에 이상 유무를 판단하는데 사용되는 APTT 실험 결과 DM군에 비하여 F군, M군 및 S군은 각각 5%, 9% 및 5%씩 증가되었으며 이들 실험군간의 유의적인 차이는 없었다. FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각 15% 및 19% 증가($p < 0.05$)되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적 ($p < 0.05$)으로 증가되었다. FMS군, 3FMS군 및 4FMS군은 DM군에 비해 각각 21%, 22% 및 21% 증가($p < 0.05$)되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적 ($p < 0.05$)으로 증가되었다.

TT 실험 결과는 DM군에 비하여 F군, M군, S군은 각각 6%, 6%, 7% 증가되었으며 이들 실험군간의 유의적인 차이는 없었다. FM군 및 FS군은 DM군에 비해 각각

18% 및 19% 증가($p < 0.05$)되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적인 차이는 없었다. 그러나 FMS군, 3FMS군 및 4FMS군은 DM군에 비해 각각 26%, 27% 및 28% 증가($p < 0.05$)되었으며 잠상산물을 단독으로 공급한 군에 비해 유의적 ($p < 0.05$)으로 증가되었다.

Table 39. Effect of several sericultural products on plasma clotting factors in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	APTT	TT
	(sec)	
DM	22.24±1.32 ^b	20.54±1.24 ^b
F	23.34±0.18 ^b	21.67±1.04 ^{bc}
L	24.14±1.14 ^b	21.85±1.1 ^{bc}
S	23.31±0.5 ^b	22±1.2 ^{bc}
FL	25.55±0.78 ^a	24.14±1.14 ^{ac}
FS	26.5±0.87 ^a	24.44±1.56 ^{ac}
FLS	26.9±1.71 ^a	25.8±1.8 ^a
3FLS	27.2±2.12 ^a	26±1.2 ^a
4FLS	27±2.1 ^a	26.2±0.2 ^a

All values are mean ± SE (n = 10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

마. 유효적정기준치 확립

오디 복합제제는 농도의존적으로 여러 생리활성(항당뇨, 항노화, 및 항산화)의 촉진 효과를 나타내었기 때문에 유효적정기준치를 확립하기 어려웠다(data 생략).

제 3 장 오디를 이용한 식품첨가제의 제조기술 개발 및 제조

제 1 절 서 설

오디(Mulberry)는 뽕나무과 (Moraceae)에 속하는 낙엽교목인 뽕나무 (*Morus alba* L.)의 열매로서 5월부터 6월에 걸쳐 과실의 색이 검은색 또는 자홍색을 나타낼 때 채취하여 식용하거나 건조한 후 한약제로 사용하고 있다. 한방에서 오디는 ‘상삼자’로 불리며 백발을 검게하며 소갈(당뇨)을 덜어주고 오장을 이롭게하는 자양·강장 효과 뿐만 아니라 빈혈, 고혈압, 관절통 및 대머리 치료에 사용되고 있다.

오디는 당, 유기산 뿐만 아니라 다량의 안토시아닌 색소를 함유하고 있을 뿐만 아니라 항당뇨, 항산화, 항염증 및 항고지혈증 등의 여러 생리활성을 지니고 있어 기능성식품의 소재로써 각광을 받고 있다.

한편, 오디 과실은 무르고 다량의 수분을 함유하고 있어 수확 후 품질 저하가 쉽게 초래되어 생과로서의 이용이 어려울 뿐만 아니라 안토시아닌 색소는 여러 물리·화학적인 요인에 대해 매우 불안정하기 때문에 오디를 이용한 가공식품의 개발이 크게 제한을 받고 있다. 따라서 오디 과실의 영양성 및 기능성을 유지하면서 안토시아닌 색소의 변화를 최소한으로 줄일 수 있는 새로운 가공기술 개발이 필요하다.

현재 식품가공에서 사용되고 있는 열처리공정은 식품의 부피를 줄이고 유해균의 생육을 억제시킬 뿐만 아니라 식품의 품질에 악영향을 미치는 여러 산화효소를 불활성화시킴으로서 식품의 가공 및 저장중에 일어나는 부패, 변패 및 변색을 방지하여 식품가공품의 안정성을 확보하고 저장수명을 연장하기 위한 수단으로 널리 사용되고 있다. 그러나 이러한 열처리 공정은 식품이 지니고 있는 고유한 색, 맛과 향기를 소실시킬 뿐만 아니라 여러 가지 영양성분 및 기능성성분의 손실, 이취의 발생 및 이상물질의 생성을 초래할 수 있으며, 특히 에너지의 대량소비를 유발시키는 단점을 지니고 있다. 따라서 현재 열처리 가공공정을 극복할 수 있는 최소한의 가열 또는 비(가)열 가공법인 최소가공기술 (minimal processing technology)이 식품가공산업에

서 각광을 받고 있다.

최근 식품가공산업에서 주목을 받고 있는 최소가공기술에는 막여과, 마이크로파를 이용한 전자레인지, 방사선 처리, 초고압 및 고전압펄스 자기장 등의 물리적인 처리 방법과 오존, NaOCl, 유기산 및 방부제 등의 여러 화학적인 처리방법이 사용되고 있다. 이 중 막여과 기술은 과일주스의 청정화, 효소적갈변현상 억제 수단으로서 뿐만 아니라 열처리에 매우 민감한 액상식품의 제균, 고분자물질의 분획 및 분리, 저온·저에너지 농축 등에 이용되고 있는 최소가공기술로서 식품가공산업에서 그 응용이 크게 확대되고 있다.

한편, 식품의 효소적갈변현상은 외관의 변색에 따른 소비자의 기호성 및 상품성을 저하시킬 뿐 아니라 영양가의 손실 및 독성물질의 생성 등을 초래하기에 현재 식품가공산업에서 다루기 힘든 문제 중의 하나이다. 현재 이러한 식품의 효소적갈변 현상을 억제하기위한 수단으로 가장 널리 사용되고 있는 방법이 바로 sulfite류의 첨가이다. 그러나 sulfite류는 인체에 독성을 유발시키는 안정성이 문제시되고 있어 현재 이를 대체할 수 있는 여러 갈변저해제 즉, 환원제, 유기산류, 착염제, PPO 저해제, 무기염 및 효소 등이 개발되어 사용되고 있다. 그런데 이러한 sulfite류 대체제의 처리에 따른 식품의 효소적갈변 억제효과는 사용하는 식품의 종류, 품종 및 PPO의 특성에 따라 상당히 차이가 있다.

지금까지 오디를 이용한 잼, 주스 및 오디주 등의 가공식품의 개발에 관한 연구가 수행되어 온 반면, 최소가공 기술을 이용한 오디 주스 제조에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

본 연구는 뽕나무 열매 오디 과실을 이용한 고부가가치의 기능성건강보조식품을 개발하기위한 연구의 일환으로 먼저 오디로부터 오디분말 및 오디추출물의 제조방법을 조사하였으며, 아울러 오디의 일반성분 및 생리활성성분을 분석하였다. 또한, 오디 안토시아닌 색소의 안정화방안 모색과 더불어 최소가공기술을 이용하여 고품질의 오디첨가물 제조방법을 개발하고 나아가 저장 중 이화학적 품질 변화를 조사하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 공시재료

본 연구에 사용한 오디는 2002년 및 2003년 5월말부터 6월 중순까지 뽕나무 주산지인 경북의 상주 및 영천 지역에서 재배하고 있는 청일뽕나무로부터 수확한 오디를 공시재료로 사용하였다. 그리고 수확한 오디는 즉시 수세한 후 탈수하여 동결건조 또는 5℃ 냉장고에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 오디추출물의 제조 방법

제 1과제에서 오디추출물의 항당뇨, 항산화, 항혈전 및 항산화활성을 측정하기위한 (*in vitro* assay) 오디 물추출물 및 에탄올추출물의 제조는 다음과같이 실시하였다.

가. 오디 물추출물 및 에탄올추출물의 제조 방법

생체 오디(1 kg)에 증류수(3 L)를 가하여 믹서(1 분)한 후 착즙(면포)하여 얻어진 착즙액(3 L)을 원심분리하여(2,000 rpm, 30분) 얻은 상등액(2.6 L)을 동결건조하여 분말 오디 물추출물(60 g)을 제조하였다.

다음, 생체 오디(1 kg)에 80% 에탄올수용액(3 L)을 첨가하여 믹서한 후 착즙(면포)하여 얻어진 착즙액(4.3 L)을 원심분리하여(2,000 rpm, 30분) 얻은 상등액(3.6 L)을 rotary evaporator로 감압농축(50℃ 이하)하여 분말 오디 에탄올추출물(130 g)을 제조하였다.

나. 오디즙 및 오디박의 물 및 메탄올추출물의 제조

오디과실의 가공 중 얻어지는 오디즙 및 오디박의 생리활성물질 및 생리활성작용을 비교하기위해 오디과실로부터 오디즙 및 오디박의 제조는 Fig. 1과 같이 실시하였다. 동결건조 오디(50 g)을 0.5% trifluoroacetic acid (TFA) 함유 증류수로 파쇄한 후 가재로 착즙 여과하여 착즙액과 잔사를 얻었다. 다음, 잔사에 잔존하는 안토시아닌 색소를 제거하기위해 위와 같은 용매로 반복하여 수세한 후 원심분리(5,000 rpm,

20 min)하여 오디 주스와 잔사(cake)를 얻었다. 다음, 주스와 잔사를 각각 감압농축 및 동결건조하여 얻어진 잔사에 증류수(1 L)와 80% EtOH 수용액(1 L)을 가하여 sonicator 하면서 2시간 동안 추출한 후 여과 및 농축하여 오디즙 및 오디박의 물추출물과 메탄올추출물을 각각 얻었다.

3. 오디의 일반성분 및 생리활성물질의 정량분석

가. 오디의 일반성분 정량

1) 일반성분 함량 측정

오디의 수분은 상압가열건조법, 단백질은 Kjeldahl법, 지방은 Soxhlet 추출법, 회분은 직접회화법 그리고 탄수화물은 시료의 총무게에서 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분의 함량을 뺀 값으로 환산하였다.

2) 당도, pH 및 산도 측정

당도(°Brix, %)는 굴절당도계(N-50E, Atago, Japan)로, pH는 pH meter(Seven Easy, Mettler Toledo, China)로, 그리고 산도는 오디를 증류수로(오디:물=1:2, w/w) 믹서한 후 얻어진 오디주스 일정량을 취해 0.1 N NaOH로 중화적정법을 이용하여 pH 8.2까지 소비되는 ml수를 측정한 후 malic acid (%)로 환산하였다.

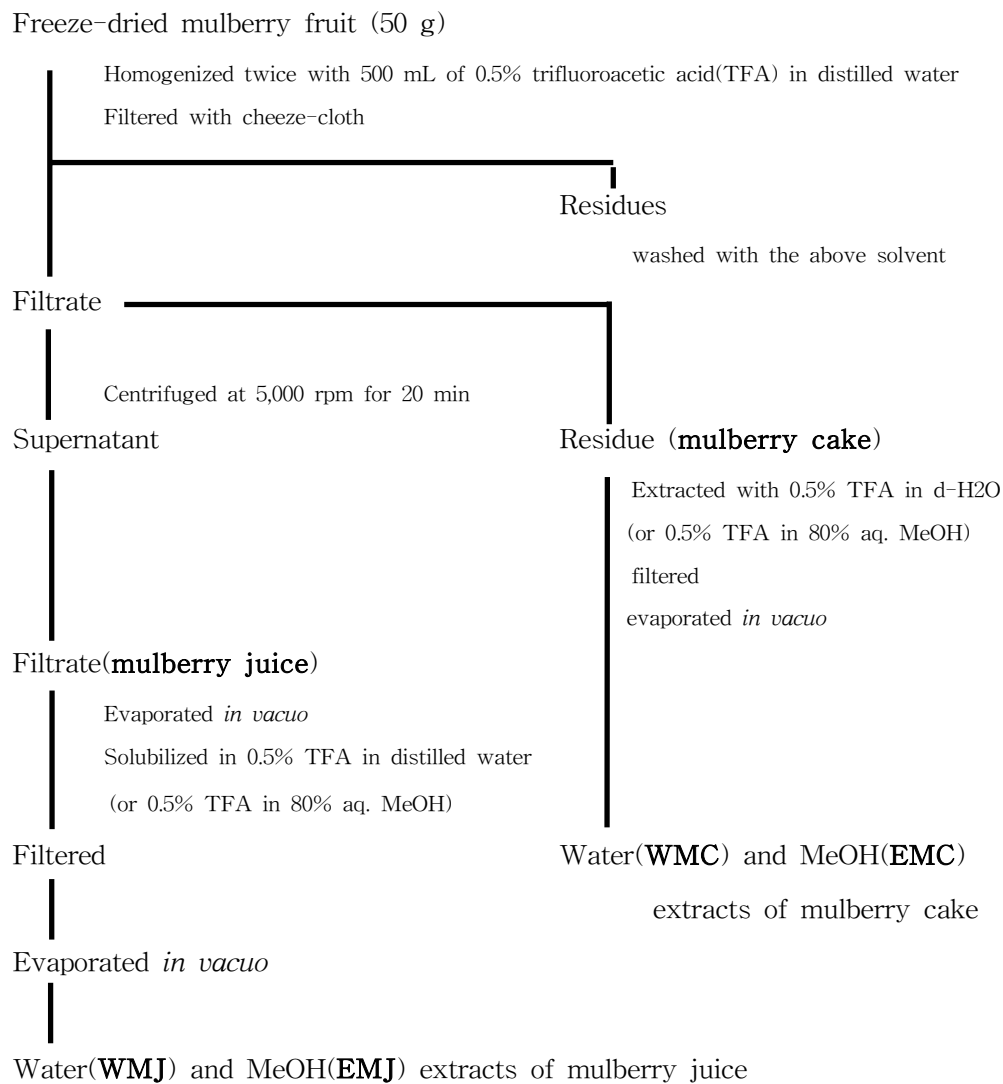


Fig. 1. Schematic procedure for preparation of the water and methanol extracts of mulberry juice and cake prepared from mulberry fruits.

3) 유리당 및 유기산 함량 측정

건조 오디(1.0 g)에 80% 에탄올(100 ml)를 가하여 가열 추출한 후 여과 및 농축한 다음 증류수로 정용한 다음 유리당은 Sep-Pak C₁₈ cartridge를 통과시킨 후 Ion chromatography로 분석하고, 반면 유기산은 시료를 Dowex 50-B 음이온 수지로 정제한 후 Bio-LC Ion chromatography (Dionex Co., USA)를 이용하여 유기산 조성 및 그 함량을 측정하였다.

4) Souble phenol 함량 측정

오디의 souble phenol 함량은 Singleton & Rossi 방법(1965)에 따라 시료를 80% 에탄올로 추출한 후 Folin 시약을 사용하여 발색한 후 760 nm에서 흡광도를 측정한 후 catechin으로 환산하였다.

5) 비타민 C 함량 측정

오디를 3% metaphosphoric acid 용액으로 추출한 후 Wimalasiri & Wills 방법(1983)을 사용하여 HPLC로 정량하였다.

나. 오디의 생리활성물질의 정량분석

1) 오디로부터 페놀화합물의 분리, 동정 및 정량분석

오디로부터 페놀화합물(페놀산, 안토시아닌 색소, 플라보노이드 및 2-aryl-benzofuran 유도체)의 분리 및 동정은 최등의 방법(2004, 2005)에 따라 Fig. 2와 같이 실시하였다. 동결건조 오디(100 g)을 분쇄기로 분쇄한 후 0.5% trifluoro-acetic acid (TFA)가 함유된 80% 에탄올수용액(1.5 L)로 2회 반복 믹서한 후 ultrasonic cleaner (Bransonic 5210R-DTH, USA)에서 연속적으로 추출한 후 여과·농축하였다. 다음, 메탄올추출물(50.4 g) 중 일부(12.6 g)를 20% 메탄올 수용액으로 녹여 Diaion HP-20 (Mistubishi Chem. Co., Japan) column (5.5 × 55 cm)에 충전시킨 후 물-메탄올 혼합용액으로 시작하여 점차 메탄올 농도를 증가시키면서 순차적으로 용리하여 각각 20% MeOH fr.(12.26 g), 40% MeOH fr.(2.46 g), 60% MeOH fr.(0.66 g), 80% MeOH fr.(0.22 g) 및 100% MeOH fr.(0.26 g)을 각각 얻었다. 이 중 40%

MeOH fr.을 제외한 각 분획물은 모두 silica gel(70-230 mesh, Merck, Darmstadt, Germany), Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) column chromatography 그리고 Prep-TLC(0.5 mm, Merck, Darmstadt, Germany) 및 Prep-HPLC(Waters Delta Prep 4000, Milford, MA., USA)를 각각 실시하여 20% MeOH 분획으로부터 2가지 페놀산(procatechuic acid, 12.2 mg 및 caffeic acid, 18.2 mg), 60% MeOH 분획으로부터 3가지 flavonoid 화합물 (rutin, 79.1 mg; isoquercitrin, 21.3 mg 및 astragalinal, 14.5 mg)과 80% MeOH 분획으로부터 3가지 flavonoid 화합물 (quercetin 60.1 mg, dehydroquercetin, 21.4 mg 및 morin, 11.6 mg)을, 마지막으로 100% MeOH 분획으로부터 3가지 2-arybenzofuran 유도체 (4-prenylmoracin, 14.4 mg; mulberrofuran F, 9.5 mg; mulberrofuran U, 8.9 mg)를 각각 순수 분리한 다음 UV, NMR 및 MS를 이용하여 각 페놀화합물의 화학구조를 동정하였다.

한편, 40% MeOH fr.은 메탄올과 증류수로 활성화시킨 Polyamide C-200 (75~150 μm , Wako Pure Chem, Ind. Ltd., Japan) column (3 \times 20 cm)에 흡착시킨 후 d-H₂O, 20% MeOH, 40% MeOH, 60% MeOH, 80% MeOH 및 100% MeOH 용액 순으로 용리하여 자외선 검출기를 통해 유효성분이 검출된 40% 및 60% 분획물은 다시 Sephadex LH-20 column (2.5 \times 80 cm)에 시료를 충전시킨 후 0.5% TFA가 함유된 80% 메탄올수용액을 이동상으로 하여 주된 안토시아닌 색소를 분리하였다. 각 안토시아닌 색소는 재증류수와 CH₃CN으로 활성화시킨 Sep-Pak C₁₈ cartridges에 흡착시킨 다음 재증류수로 세척한 후 50% CH₃CN 수용액으로 흡착된 색소를 용출시켜 최종적으로 preparative-HPLC)를 사용하여 2가지 주된 안토시아닌 색소 (cyanidin 3-O- β -D-glucoside, 189.1 mg 및 cyanidin 3-O- β -D-rutinoside, 47.2 mg)를 순수 분리한 다음 NMR 및 MS를 이용하여 색소의 화학구조를 동정하였다. 이때 HPLC 분석조건은 다음과 같다: column; YMC-Pack Pro C₁₈(5 μm , 46 mm i.d. \times 250 mm, YMC Inc., USA), linear gradient elution from 1.5% H₃PO₄ to 1.5% H₃PO₄ in CH₃CN-HOAc-H₂O for 50 min; UV detection; UV₅₃₅ nm, flow rate; 5 m/min.

다음, 오디과실에 함유된 이들 페놀화합물의 정량분석을 위해 먼저 페놀산, 플라보

노이드 및 2-arylbenzofuran 유도체의 정량은 다음과같이 실시하였다. 즉, 건조 오디 (5 g)을 80% 메탄올수용액으로 상온에서 ultrasonic cleaner로 2회 반복 추출한 후 여과·농축한 다음 최 등의 방법(2004, 2005)에 따라 HPLC를 이용하여 위의 11가지 페놀화합물을 정량분석하였다. 이때 위에서 분리된 11 가지 페놀화합물을 이용하여 작성된 표준용액곡선으로부터 각 시료의 페놀화합물의 함량을 측정하였다. 이때 HPLC 조건은 다음과 같다; column: YMC Pro C₁₈(4.6 × 250 mm), mobile phase: gradient elution(solvent A; 0.5% H₃PO₄ in 10% CH₃CN → 90% CH₃CN); detector; UV_{270, 310, 350nm}, flow rate; 1.0 mL/min.

다음, 오디의 두 가지 안토시아닌 색소를 정량하기 위해 먼저 동결건조 오디 시료 (0.5 g)를 0.5% TFA 함유 50% MeOH로 ultrasonic cleaner로 2회 반복 추출한 후 여과 및 농축한 다음 Sep-Pak C₁₈ cartridge를 통과시킨 후 최 등의 방법(2004)에 따라 HPLC를 이용하여 안토시아닌 색소를 정량하였다. 이때 위에서 분리된 두 가지 안토시아닌 색소를 이용하여 작성된 표준용액곡선으로부터 각 시료의 안토시아닌 색소 함량을 측정하였으며, 이때 HPLC 분석조건은 다음과 같다: column: YMC Pro C₁₈(4.6 × 250 mm), mobile phase: isocratic elution(1.0% H₃PO₄ in CH₃CN-H₂O-HOAc (7.5:85.5:7, v/v), detector; UV_{520nm}, flow rate; 1.0 mL/min.

2) GABA 및 1-DNJ의 정량분석

오디에 함유되어 있는 GABA(γ -aminobutyric acid) 및 1-deoxynojirinmycin (1-DNJ) 함량 측정은 김등의 방법(1999, 2002)에 따라 실시하였다.

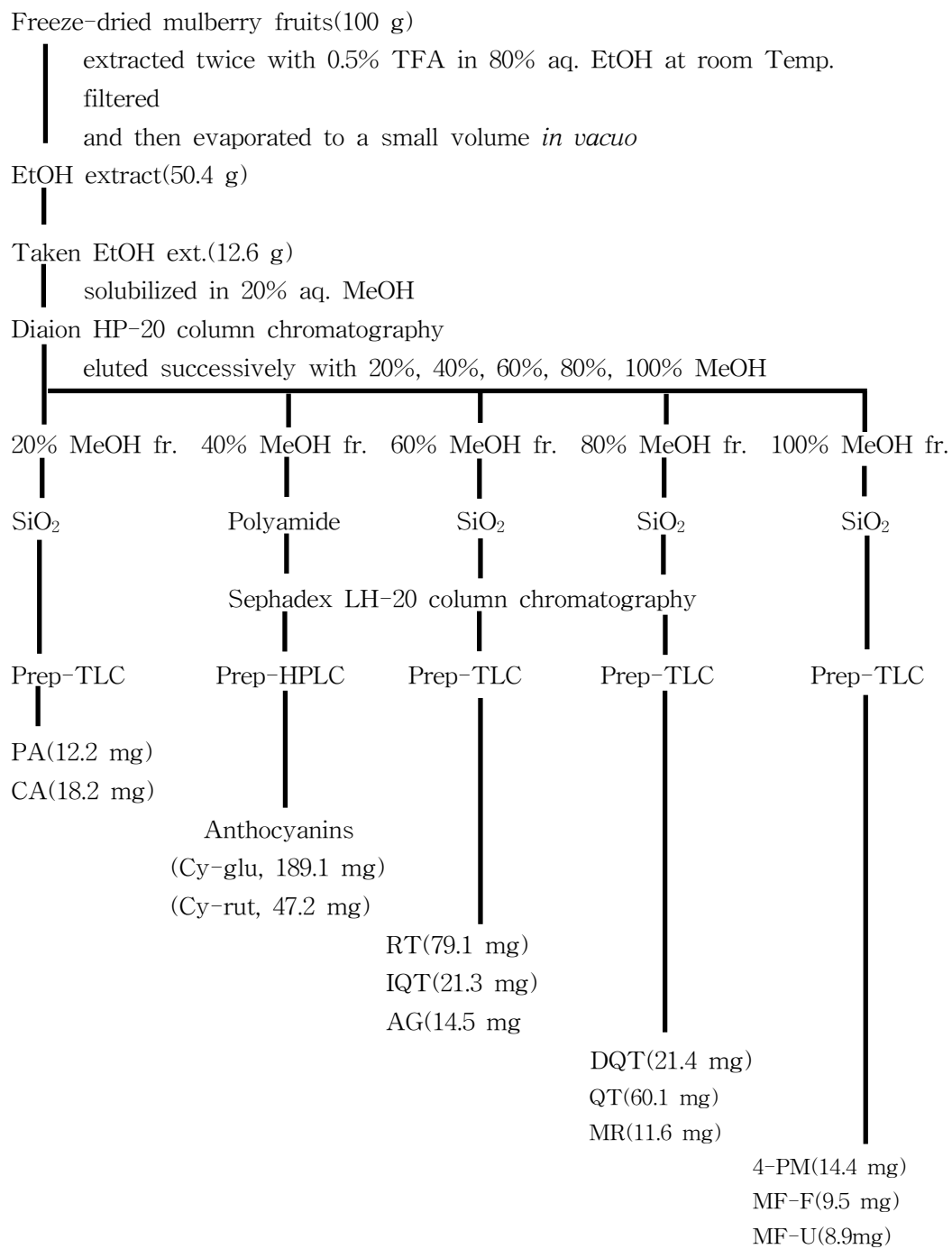


Fig. 2. Schematic procedure for isolation and purification of phenolic compounds from mulberry fruits.

4. 오디 안토시아닌 색소의 안정화 기술 개발

가. 오디 안토시아닌 색소의 물리적 (열, 온도 및 금속 등) 및 화학적인(산, 알칼리 및 효소 등) 요인에 대한 안정성 조사

앞서 Fig. 2에서 polyamide column chromatography에 의해 분리된 오디 안토시아닌 색소에 여러 물리·화학적 요소를 첨가한 후 최등의 방법(2000)에 따라 UV-vis spectrophotometer를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 오디 색소추출물의 안정성을 조사하였다.

나. 오디 안토시아닌 색소의 안정화 기술 개발

오디 색소추출물의 안정화 기술 개발의 일환으로 흡착제에 의한 색소 흡착력을 최등의 방법(2000)에 따라 측정하였다. 즉, 오디 색소추출물을 chitosan, chitin, cyclodextrin 및 CMC와 같은 다당류 흡착제에 흡착시킨 후 그대로 또는 pH를 달리 하여 용출되는 색소량을 UV-vis spectrophotometer를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 각 흡착제의 색소 흡착능을 조사하였다.

5. 최소가공기술을 이용한 고품질의 오디 첨가물의 제조기술 개발 및 제조

가. 최소가공기술(minimal processing technology)을 이용한 오디주스 제조기술 개발

1) 항균제에 의한 오디과실의 수세

먼저 생체 오디를 2 ppm NaOCl (regular, 유한락스) 및 70% 에탄올 용액에 각각 침지하여 탈수한 후 각 처리구별로 *E. coli* 수 및 곰팡이의 발생여부를 petrifilm (3M, USA)과 육안으로 각각 확인하였다.

2) 오디 과실 주스의 제조 및 안토시아닌 색소의 추출 수율

생체 오디과실 (5 g)에 증류수 (10~50 ml)를 각각 가하여 homogenizer (Iuchi CM- 100, Japan)로 2분간 마쇄한 후 여기에 증류수를 다시 가하여 100 ml로 정용하

여 오디 과즙을 얻었으며, 나아가 이 액을 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 오디주스로 사용하였다. 다음, 오디주스 중 안토시아닌 색소의 추출 수율을 알아보기 위해 이 주스액을 0.1% HCl 용액으로 5배 희석한 다음 UV-vis spectrophotometer(Jasco, Japan)를 사용하여 파장 300~800 nm 범위에서 흡수스펙트럼을 scanning하여 오디 anthocyanin 색소의 최대흡수파장인 510 nm에서 흡광도(O.D.)를 측정하였다.

3) 여과방법에 따른 오디 과즙의 청정 효과

생체오디 (5 g)에 증류수 (50 ml)를 가하여 homogenizer로 2분간 마쇄한 후 증류수를 가하여 100 ml로 정용하였다. 이 액을 면포착즙, 감압여과 (Whatman No. 4 filter paper를 이용하여), 원심분리 (8,000 rpm, 10분간) 및 원심분리 후 한외여과 장치(Sunkyung, Korea)를 이용하여 막여과 (0.01 μ m membrane filtration, 30,000 및 10,000 dalton MWCO ultrafiltration)를 각각 실시한 후 얻어진 오디 과실주스의 색도 (Hunter scale에 의한 L , a , b 값, 이때 기준이되는 표준판의 색도는 $L=98.47$, $a=0.57$, $b=-0.63$ 이었다)는 색차계 (Color JC 801, Color Techno System Co. Ltd., Japan)로 그리고 흡광도는 위와 동일하게 측정하였다.

4) 여과보조제, 청정제 및 효소 처리에 따른 오디 과즙의 청정 효과

생체 오디 (5 g)에 증류수 (50 ml)를 가하여 homogenizer로 2분간 마쇄한 후 100 ml로 정용한 액에 여러 여과보조제 및 청정제 각각 1.0 g을 가하여 magnetic stirrer로 상온에서 1시간 동안 교반한 후 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 10배 희석한 다음 색차계 및 UV-vis spectrophotometer를 사용하여 색도 및 흡광도를 각각 측정하였다. 그리고 homogenizer로 파쇄한 오디추출액을 면포로 착즙한 후 여기에 4가지 효소 [α -amylase (최적온도 70~80°C, 역가 30,000 RAU/g), glucoamylase(최적온도 60~70°C, 역가 350 GAU/g), cellulase(최적온도 60~70°C, 역가 700 EGU/g) 및 pectinase (최적온도 45~55°C, 역가 5,000 FDU), Genencor International, Inc (USA) 및 Novozyme (Denmark)] 0.1 ml를 가한 후 shaking water bath (100 rpm, 50°C)에서 2시간 동안 교반한 후 다시 8,000 rpm에서 10 분간

원심분리하여 얻은 상등액을 10배 희석하여 위와 동일하게 색도 및 흡광도를 측정하여 오디 과즙의 청징효과를 조사하였다.

5) 갈변저해제 첨가에 따른 오디 과즙의 갈변 억제효과 측정

갈변저해제 처리에 따른 최소가공한 오디 과즙의 효소적갈변 억제 효과를 측정하기 위해 위의 오디 과실주스 제조시 증류수 (control구) 대신에 여러 갈변저해제 (sodium hydrosulfite, L-ascorbic acid, citric acid 및 NaCl)를 0.1% 농도 (단 0.02% sodium hydrosulfite 제외)로 사용하여 오디 주스를 만든 후 상온에서 1일 보관한 후 오디 주스의 색도 변화를 위와 동일하게 측정하였다.

6) 당/산 비율에 따른 오디 주스의 관능검사

당/산비 (30~60)를 달리하여 제조된 오디 주스의 맛, 향 및 색깔에 대한 관능 검사는 훈련받은 관능요원 10명을 대상으로 3회 반복 실시하였다. 즉, 제조된 오디 과실 주스를 유리잔에 넣어 형광조명이 있고 개인 검사대가 설치된 관능검사실에서 각 오디주스의 맛, 향 및 색깔에 대하여 아주좋음(5), 좋음(4), 보통(3), 나쁨(2), 아주나쁨(1)의 5점 시험법으로 평가를 실시하여 그 값에 대한 평균치 결과를 나타내었다. 한 개의 시료를 평가한 후 반드시 물로 입안을 헹구어낸 후에 다음 시료를 평가하도록 하였다.

7) 가열처리에 따른 오디 주스의 색도 및 흡광도 변화

오디 주스를 살균하기위한 방법으로 가열처리(상업적살균 온도, 85~90℃로 조절된 shaking water bath에서 5~30분간 처리하면서)에 따른 시료의 색도 및 흡광도의 변화는 앞의 방법에 따라 측정하였다.

8) 통계처리

모든 시험군은 3번 반복하여 측정한 후 평균값으로 나타내었으며, 이때 표준편차는 생략하였다. 그리고 각 시험구간의 유의성은 Duncan multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 범위에서 측정하였다.

나. 고품질의 오디 첨가물 제조기술 개발

앞서 확립된 오디과실의 최소가공기술(minimal processing technology)을 이용하여 고품질의 오디첨가물 (엑기스 및 분말)은 다음과같이 제조하였다. 즉, 오디 과실을 먼저 2 ppm NaOCl 함유 청정수로 간단히 씻은 후 꺼내어 물기를 제거하고 다시 70% 에탄올용액에 5분간 침지한 후 꺼내어 탈수하였다. 다음, 갈변저해제 및 색소안정제로 구성된 첨가제(0.1% 구연산, 0.1% NaCl, 5% 설탕 및 5% 올리고당 또는 물엿)를 가하여 세밀하게 믹서한 다음 이 액을 먼저 면포로 압착여과한 후 다시 원심분리(8000 rpm, 10분)하여 얻어진 상등액에 산과 당을 적당히 혼합하여 맛을 조정한 후 spray dry 하거나 동결건조하여 분말 오디 첨가물 또는 오디 엑기스를 제조하였다.

다. 오디 첨가물의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발

오디 첨가물의 항산화 및 항당뇨 효능을 증가시키는 동시에 맛을 향상시킬 수 있는 방안으로 과실의 특성을 지니고 있으며 특히 항산화 및 항당뇨 효능을 지니고 있는 것으로 알려진 4가지 생약(복분자, 구기자, 오미자 및 산수유)의 물추출물의 첨가에 따른 오디 첨가물의 기능성 및 기호성(맛, 색깔 및 향)의 개선 효과는 1차년도 제1과제의 *in vitro* 상의 항산화 및 항당뇨 효능 측정방법과 앞의 관능검사와 동일하게 측정하였다. 이때 4가지 생약의 물추출물의 조제는 다음과같이 실시하였다. 즉, 각 생약(100 g)에 물(1.5 L)을 가하여 환류냉각기가 부착된 추출관에서 2시간 동안 2회 반복 열탕추출한 후 여과 및 농축하여 각 생약 엑기스(복분자, 20 °Brix, 30 g; 구기자, 15 °Brix, 22 g; 오미자 13 °Brix, 24 g; 산수유 20 °Brix, 26 g)를 제조하였다.

라. 오디 첨가물의 저장 중 이화학적 품질 변화 조사

앞서 제조된 오디첨가물의 저장 (5°C, 25°C) 중 이화학적 품질 (당도, 산도, pH 및 색도) 변화 및 색, 향 및 맛에 대한 종합적인 관능검사는 앞과 동일한 방법으로 측정하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 오디추출물의 제조

가. 오디 물추출물 및 에탄올추출물의 수율

오디 과실의 물 및 에탄올추출물을 앞의 방법에 따라 제조하였으며, 특히 최종단계에서 물추출물은 동결건조를, 그리고 에탄올추출물은 감압농축하여 분말 오디 물 및 에탄올추출물을 각각 제조하였다. 이때, 각 추출물의 수율, 색도 및 최대 흡수스펙트럼을 관찰한 결과는 Table 1과 같다. 즉, 물추출물의 수율은 약 6.0%인 반면, 에탄올추출물의 수율은 약 13.0%로서 에탄올추출물의 수율이 물추출물 보다 2배 이상 높았다. 그리고 색도는 물추출물이 $L(70.2)$, $a(13.8)$, $b(20.2)$ 이었으며, 에탄올추출물은 $L(68.4)$, $a(17.4)$, $b(21.3)$ 이었으며, 또한 UV-vis 최대 흡수스펙트럼 (λ_{max})은 520 nm에서 공히 흡광도 0.1(100배 희석시)를 나타내었다.

Table 1. Yield, maximum absorbance, and colorimeter values of the water and ethanol extracts from mulberry

Mulberry ext.	Yield(%)	Absorbance ¹ ($\lambda_{520\text{ nm}}$)	Colorimeter value ²		
			L	a	b
Water	6.0	0.1	70.2	13.8	20.2
EtOH	13.0	0.1	68.4	17.4	21.3

All data were average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹Determined after diluted 100 time of sample.

²L: Lightness, a: redness, b: yellowness.

나. 오디로부터 제조된 오디즙 및 오디박 추출물의 수율 및 페놀화합물의 함량

먼저 오디 과실을 이용한 고부가가치의 오디 과립차 및 정제환을 제조하기에 앞서 오디 부위별 생리활성물질의 함량 및 생리적작용의 차이를 알아보려고 오디 과실의 물추출액으로부터 얻어진 오디즙 및 오디박의 물 및 메탄올추출물의 수율 및 페놀 함량을 조사한 결과는 Table 2와 같다.

오디즙의 물 및 메탄올추출물의 수율은 각각 70.01 및 65.38% 이었으나 오디박의 물 및 메탄올추출물의 수율은 각각 1.68 및 1.82% 이었다. 따라서 오디추출물은 거

의 오디즙액의 추출물로 간주할 수 있다. 다음, 각 추출물의 수용성페놀화합물의 함량을 조사한 결과 오디박 메탄올추출물(4.48 %)의 함량이 가장 높았으며, 그 다음으로 오디박 물추출물(2.30%) > 오디즙 메탄올추출물(2.17%) > 오디즙 물추출물(1.61%) 순으로 나타났다. 이와같이 오디즙 추출물에 비해 오디박추출물의 수율은 낮으나 페놀함량은 높았다.

Table 2. Yield and phenolic content of acidified water and methanol extracts from mulberry juice and cake

Mulberry	Extraction solvent	Yield (%) [*]	Phenolics (g/100g, dried extract) [*]
Mulberry juice	0.5% TFA in distilled water	70.01 ± 1.30 ^a	1.61 ± 0.14 ^c
	0.5% TFA in 80% aq. MeOH	65.38 ± 1.07 ^b	2.17 ± 0.27 ^b
Mulberry cake	0.5% TFA in distilled water	1.68 ± 0.21 ^c	2.30 ± 0.31 ^b
	0.5% TFA in 80% aq. MeOH	1.82 ± 0.19 ^c	4.48 ± 0.47 ^a

^{*}Dry base of mulberry fruit

Values are mean ± S.D. of triplicate analyses.

Values with the different superscript letter are significantly different at $P < 0.05$.

다. 오디즙 및 오디박 추출물의 라디컬 소거활성 비교

오디로부터 제조된 오디즙 및 오디박의 물 및 메탄올추출물의 3가지 라디컬 (DPPH, superoxide 및 hydroxyl) 소거활성을 측정한 결과는 Table 3와 같다. 4가지 추출물 중 오디박 메탄올추출물의 DPPH, superoxide 및 hydroxyl 라디컬 소거활성이 가장 높았으며, 그 다음으로 오디박 물추출물 > 오디즙 메탄올추출물 > 오디즙 물추출물 순으로 나타났다. 이와같이 오디박 메탄올추출물은 오디즙 추출물이 비해 페놀 함량 및 라디컬 소거활성이 높음을 알 수 있었다. 따라서 오디를 이용한 가공 식품 및 기능성식품에 제조에 있어 오디 전체를 이용하는 것이 바람직하며, 또한 오디주스의 제조공정에서 부산물로 나오는 오디박을 향노화용 기능성 화장품 소재로 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

Table 3. DPPH, superoxide and hydroxyl radical scavenging activity (IC₅₀) of the water and methanol extracts from mulberry juice and cake

Mulberry Extraction solvent		IC ₅₀ (µg/mL)*		
		DPPH	Superoxide	Hydroxyl
Mulberry juice	0.5% TFA in distilled water	407.52 ± 23.51 ^a	183.28 ± 18.81 ^a	987.60 ± 36.12 ^a
	0.5% TFA in 80% aq. MeOH	317.16 ± 21.48 ^b	165.49 ± 15.91 ^a	920.20 ± 31.23 ^a
Mulberry cake	0.5% TFA in distilled water	278.02 ± 16.83 ^b	102.21 ± 13.42 ^b	714.86 ± 21.42 ^b
	0.5% TFA in 80% aq. MeOH	167.45 ± 13.74 ^c	36.18 ± 3.65 ^c	467.08 ± 17.62 ^c

*IC₅₀ represents the concentration of a sample required for 50% inhibition of the hydroxyl radical. Values are mean ± S.D. of triplicate analyses. Values with the different superscript letter are significantly different at $P < 0.05$.

2. 오디의 일반성분 및 기능성물질의 분석

가. 오디의 일반성분 함량

상주 및 영천에서 수확한 오디의 일반성분의 함량을 측정한 결과는 Table 4과 같다. 상주 오디는 영천 오디 보다 수분 함량이 다소 적었으나 그 외 단백질, 지방, 당 및 무기질의 함량은 영천 오디 보다 약간 높았다.

Table 4. Proximate composition of mulberry fruits from two cultivation areas

Mulberry	Proximate composition(%)				
	Moisture	Protein	Lipid	Sugar	Ash
Sangju	84.2	2.1	1.1	11.7	0.9
Youngcheon	86.4	1.6	0.5	10.8	0.7

*The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

나. 오디의 이화학적 품질 특성

상주 및 영천에서 수확한 오디의 이화학적 품질 특성 (무게, 당도, pH, 산도, 비타

민 C 및 수용성 페놀)을 비교 측정된 결과는 Table 5와 같다. 상주 오디 과실이 영천 오디 보다 무게, 경도, 당도 및 페놀 함량이 전반적으로 높았으나 그 반면, 산도가 높고 pH는 낮았다.

Table 5. Contents of physico-chemical properties of mulberry fruits from two cultivation areas

Mulberry	Chemical component					
	Weight (g/mulberry)	Souble solid (°Brix)	pH	Acidity (%)	L-AsA (mg%, DW)	Soluble phenol (% DW)
Sangju	1.4	13.2	4.7	0.52	26	1.22
Youngcheon	1.3	13.0	3.9	0.71	23	0.94

*The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

다. 유리당 및 유기산 함량

상주 및 영천에서 수확한 오디의 주요 당성분을 조사한 결과는 Table 6와 같다. glucose와 fructose로서 그 함량은 상주오디가 각각 2.6% 및 2.5% 이었으며, 그리고 영천오디는 2.1% 및 2.0% 로서 상주오디가 약간 높았다. 그리고 sucrose 및 maltose 등은 거의 미량으로 존재하였다.

한편, 오디의 주요 유기산은 citric acid, malic acid 및 oxalic acid로서, 당조성 함량과 달리 영천오디가 상주 오디 보다 약간 높았다.

Table 6. Levels of free sugars and organic acids of mulberry fruits from two cultivation areas

Mulberry	Free sugar(% DW)		Organic acid(% DW)		
	Glucose	Fructose	Citric acid	Malic acid	Oxalic acid
Sangju	2.6	2.5	0.31	0.03	0.02
Youngcheon	2.1	2.0	0.41	0.05	0.01

*The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

라. 안토시아닌 색소, 플라보노이드 및 2-arylbenzofuran 유도체 함량

앞의 실험방법에 따라 오디로부터 분리된 2 가지 안토시아닌 색소 (cyanidin

3-O-β-D-glucoside 및 cyanidin 3-O-β-D-rutinoside) 및 6가지 플라보노이드 화합물 및 3가지 2-arylbenzofuran의 함량을 분석한 결과는 Table 7과 같다. 먼저 오디로부터 분리된 2가지 anthocyanin 색소의 UV-vis 흡수스펙트럼과 HPLC의 스펙트럼은 Fig. 3 및 Fig. 4이며 그리고 그들의 FABMS spectra는 Fig. 5와 같다. 그리고 오디로부터 분리된 페놀산, 플라보노이드 및 2-arylbenzofuran 유도체의 HPLC spectra 및 자세한 NMR 및 MS spectra는 최등이 이미 보고(2004, 2005)한 것과 같으며 여기서는 생략하였다.

먼저 안토시아닌 색소의 함량을 보면 두 가지 색소 중 cyanidin 3-O-β-D-glucoside가 색소의 80% 이상을 차지하고 있으며, 상주 오디 품종이 영천 오디보다 약 30% 가량 cyanidin 3-O-β-D-glucoside 함량이 높은 반면, cyanidin 3-O-β-D-rutinoside 함량은 유사하였다.

한편, 앞의 실험방법에 따라 오디로부터 분리된 6가지 flavonoid 화합물 (rutin, isoquercitrin, astragaln, quercetin, morin 및 dihydroquercetin)을 분리 및 동정하였으며(최등 2004, 2005), 그 함량을 측정한 결과는 Table 8과 같다. 두 가지 품종의 플라보노이드 함량은 rutin(14-16 mg%) > quercetin(9-10 mg%) > isoquercitrin(7-9 mg%) > astragaln(5 mg%) ≥ dehydroquercetin(5 mg%) ≥ morin(5 mg%) 순으로 낮았으며, 안토시아닌 색소와 같이 상주 오디가 영천 오디보다 각 flavonoid 화합물의 함량이 대체로 높았다.

다음, 뽕나무의 항당뇨성분으로 잘 알려진 3가지 2-arylbenzofuran 유도체의 함량을 측정한 결과 Table 9에서 보는 바와같이 3가지 성분(4-prenylmoracin, mulberrofuran F & mulberrofuran U) 모두 그 함량이 거의 3-4 mg%로서 비슷하게 존재하였으며, 대체로 상주 오디의 함량이 영천 오디보다 높은 경향이였다.

한편, 뽕나무의 항고혈압 및 항당뇨성분으로 잘 알려진 GABA(γ-aminobutyric acid) 및 1-DNJ(1-deoxynojirimycin)의 함량을 측정한 결과 Table 10에서 보는 바와같이 두 가지 성분 함량이 10~40 mg% 범위로서 영천 오디의 함량이 상주 오디보다 높은 경향이였다.

Table 7. Levels of two anthocyanins in mulberry fruits from two different cultivation areas

Mulberry fruit	Anthocyanin(mg%, DW)	
	Cyanidin 3- <i>O</i> - β -D-glucose	Cyanidin 3- <i>O</i> - β -D-rutinoside
Sangju	332.6 \pm 29.3	82.8 \pm 19.4
Youngcheon	231.8 \pm 25.3	80.6 \pm 10.1

*Values are mean \pm S.D. of duplicate analyses.

Table 8. Levels of six different flavonoids in mulberry fruits from two different cultivation areas

Mulberry fruit	Flavonoid(mg%, DW)					
	Rutin	Isoquercitrin	Astragaln	Quercetin	Morin	Dehydroquercetin
Sangju	16.13 \pm 4.22	9.66 \pm 2.43	5.6 \pm 1.76	10.11 \pm 1.63	4.76 \pm 0.27	4.98 \pm 1.34
Youngcheon	14.13 \pm 2.54	7.21 \pm 2.02	5.4 \pm 0.98	9.92 \pm 1.83	4.95 \pm 1.02	4.79 \pm 1.62

*Values are mean \pm S.D. of duplicate analyses.

Table 9. Levels of three 2-arylbenzofuran derivatives in mulberry fruits from two different cultivation areas

Mulberry fruit	2-Arylbenzofuran derivatives (mg%, DW)		
	4-Prenylmoracin	Mulberrofuran F	Mulberrofuran U
Sangju	4.51 \pm 0.32	3.22 \pm 0.42	3.24 \pm 0.29
Youngcheon	4.45 \pm 0.24	3.01 \pm 0.24	3.12 \pm 0.52

*Values are mean \pm S.D. of duplicate analyses.

Table 10. Levels of GABA and DNJ in mulberry fruits from two different cultivation areas

Mulberry fruit	Content (mg%, DW)	
	GABA	DNJ
Sangju	10.71 \pm 1.72	28.38 \pm 2.12
Youngcheon	12.32 \pm 2.54	35.76 \pm 3.15

*Values are mean \pm S.D. of duplicate analyses.

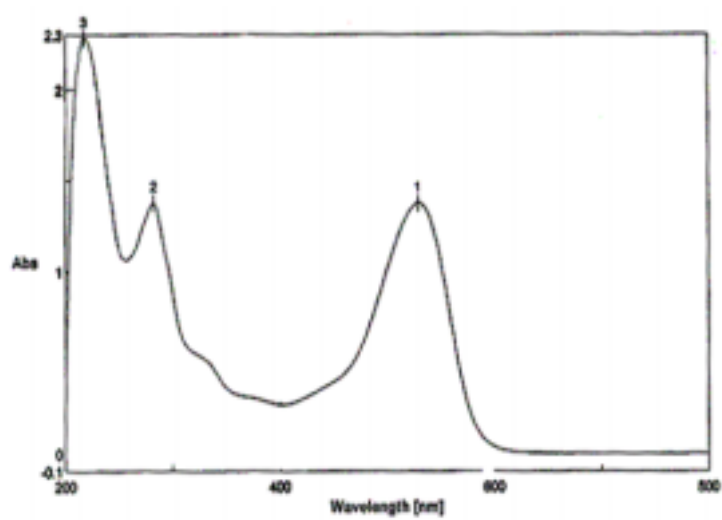
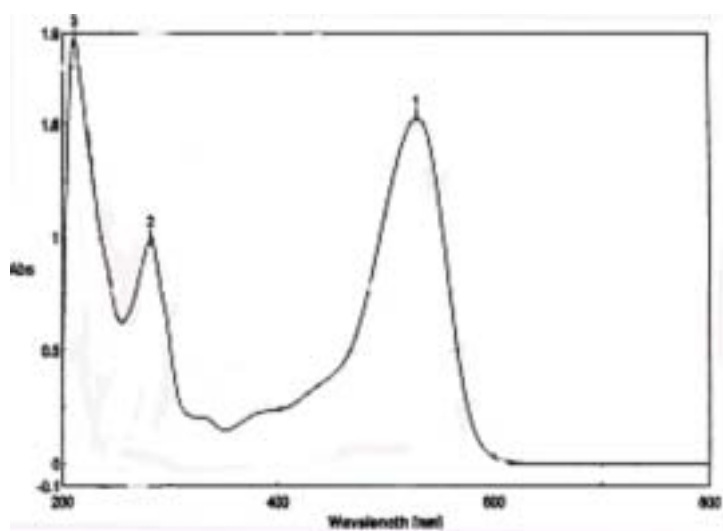


Fig. 3. UV-Vis absorption spectra of two anthocyanins isolated from mulberry fruits.

A: cyanidin 3-*O*- β -D-glucoside, B: cyanidin 3-*O*- β -D-rutinoside

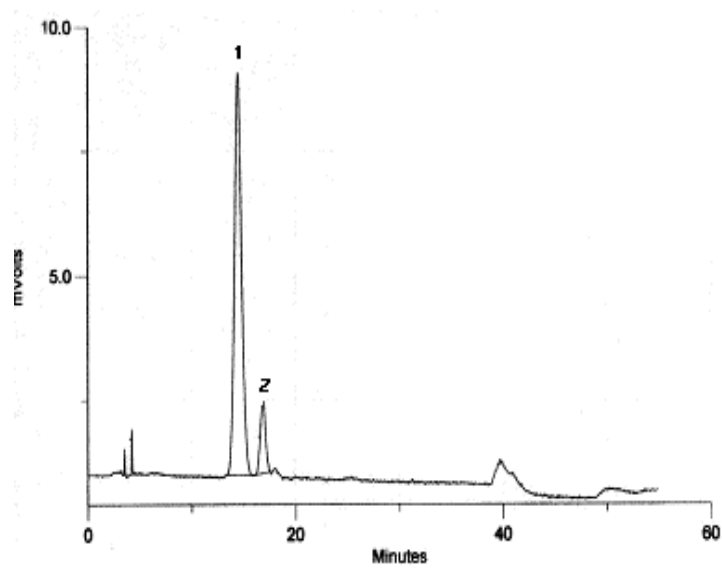
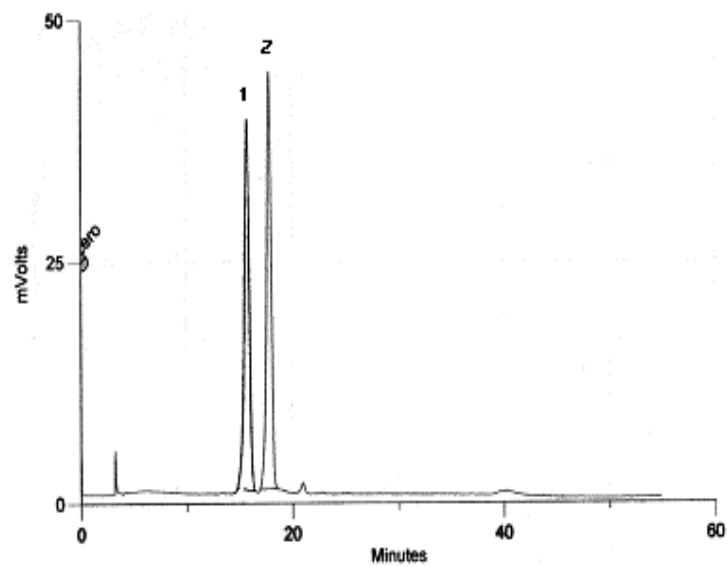


Fig. 4. HPLC chromatograms of two anthocyanin standards (A) and mulberry extract (B).

1: cyanidin 3-*O*- β -D-glucoside (t_R : 15.72), 2: cyanidin 3-*O*- β -D-rutinoside (t_R : 17.80).

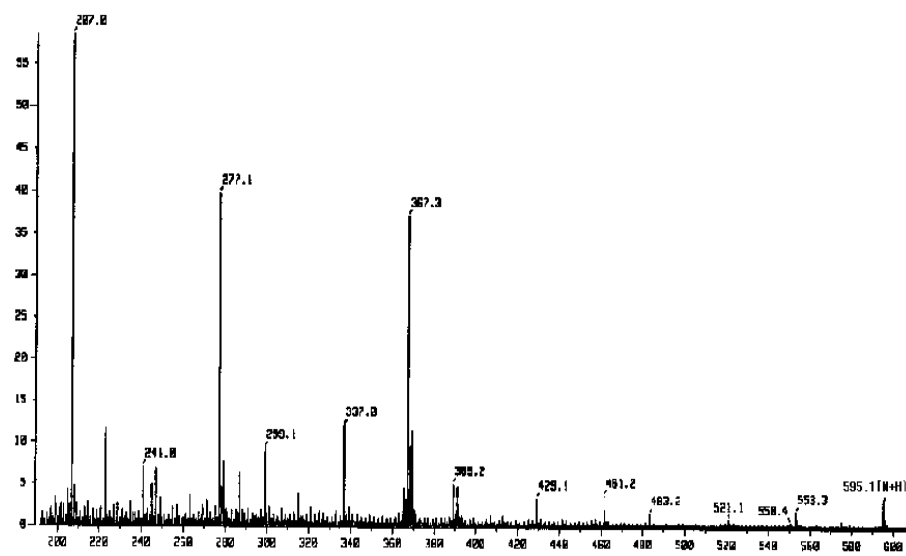
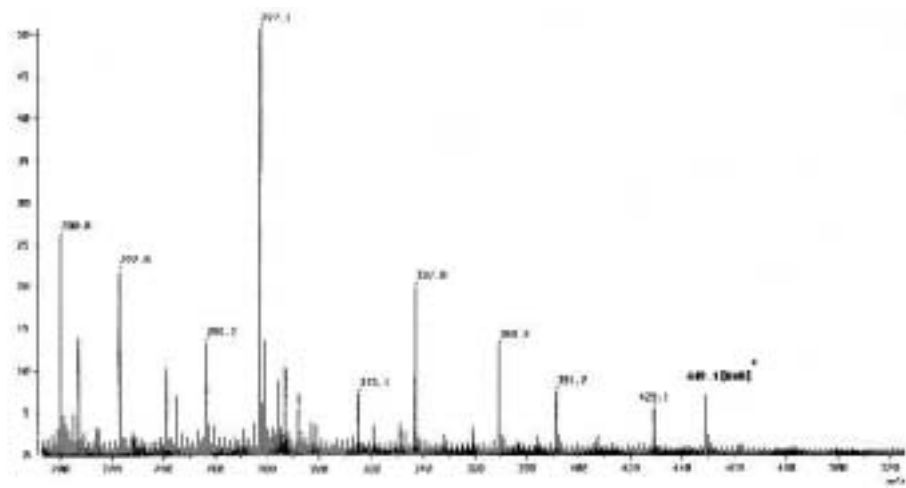


Fig. 5. FABMS spectra of two anthocyanins isolated from mulberry fruits.
 A: cyanidin 3-*O*- β -D-glucoside, B: cyanidin 3-*O*- β -D-rutinoside.

3. 오디 안토시아닌 색소의 안정화 기술 개발

가. 오디 안토시아닌 색소의 여러 물리·화학적인 요인에 대한 안정성

오디로부터 분리된 부분 정제된 색소의 용해성 및 여러 물리·화학적인 요인에 대한 안정성을 조사한 결과는 Table 11과 같다. 오디 물추출액 및 알코올추출액 모두 물과 알코올수용액에 잘 용해되었으며, 그리고 온도 및 열안정성은 우수하나 pH, 금속이온 및 효소에 대해서는 매우 불안정하였다.

Table 11. Solubility and stability of mulberry extract against several physico-chemical factors

Mulberry ext.	Solubility					Stability		
	H ₂ O	EtOH	Oil	Temp	Metal	pH	Heating	Enzyme*
Water ext.	◎	○	×	○	×	Red~black green	○	×
EtOH ext.	○	◎	×	○	×	Red~black green	○	×

◎: Very good, ○: moderate, △: poor, ×: very poor

*Pectinase & cellulase.

나. 여러 다당류에 의한 오디 안토시아닌 색소의 흡착능

오디 안토시아닌 색소의 4가지 다당류 수지[(chitosan, chitin, cyclodextrin, 및 carboxymethylcellulose(CMC)]에 대한 흡착력을 시험한 결과는 Table 12와 같다. 4가지 다당류 수지 중 계껍질의 주성분인 chitosan의 흡착력이 약 80% 이상으로서 가장 강한 흡착력을 나타내었으며, 그 다음으로 chitin (약 70%)이 양호한 흡착력을 나타내었으나 α-cyclodextrin 및 CMC는 거의 색소를 흡착하지 못했다. 이와같이 여러 물리·화학적인 요인에 대해 불안정한 오디 안토시아닌 색소는 dietary fiber 일종으로서 압, 고혈압 및 피부노화 예방 등의 여러 가지 생리활성을 지니고 있는 chitosan와 병행처리하여 흡착시킴으로서 어느정도 색소를 안정화시킬 수 있어 향후 기능성 식품이나 화장품 등의 신소재로 사용할 수 있을 것으로 생각된다. 향후 이에 대한 보다 제세한 연구가 요망된다.

Table 12. Adsorption capacity of mulberry anthocyanin extract against several polycarbohydrates

Mulberry ext	Chitosan			Chitin			Cyclodextrin			CMC		
	λ_{max} (nm)	O.D.	AC ²	λ_{max} (nm)	O.D.	AC	λ_{max} (nm)	O.D.	AC	λ_{max} (nm)	O.D.	AC
Water ¹	517	0.14	81.6	516	0.24	68.4	516	0.85	-11.8	518	0.85	-11.8
EtOH ext. ¹	517	0.13	82.9	516	0.21	72.4	516	0.84	-10.5	518	0.83	-9.2

¹Partially purified anthocyanin pigments in water and ethanol extracts were obtained from by Diaion HP-20 column chromatography. An original concentration of the water and EtOH extracts was 0.5 mg/ml, and Uv-vis maximum (λ_{max}) absorbance at 516 nm was 0.76.

²Adsorption capacity(AC) of anthocyanin pigment = O.D. of original anthocyanin - O.D. of anthocyanin after adsorption/O.D. of original anthocyanin × 100

4. 최소가공기술(minimal processing technology)을 이용한 고품질의 오디첨가물의 제조기술 개발

가. 최소가공기술을 이용한 오디주스 제조기술 개발

1) 항균제에 의한 오디과실의 수세 효과

오디 과실의 최소가공 조건을 검토하기위해 항균제에 의한 오디과실의 수세 효과를 측정된 결과는 Table 13과 같다. 수확한 오디를 먼저 NaOCl 용액(레굴러, 유한락스, 10 ml/5 L 물)과 70% 수용성 에탄올 용액에 5분간 침지 후 꺼내어 물을 뺀 다음 상온에서 보관하면서 3일 후 *E. coli* 수와 곰팡이 성장 유무를 petrifilm 배지와 육안으로 각각 관찰하였다. 그 결과 NaOCl 처리구는 3일 후 *E. coli* 수가 15개로 나타났으며, 아울러 오디 표면에 곰팡이가 증식하는 것을 확인할 수 있었다. 반면, 70% 에탄올용액 처리구는 *E. coli* 뿐만 아니라 오디 표면에 곰팡이 증식을 확인할 수 없었다. 따라서 오디 과실을 최소가공 처리 이전에 NaOCl 처리 보다 70% 에탄올로 씻는 것이 양호한 처리방법으로 생각된다.

Table 13. Inhibition of microbial growth in mulberry fruits by NaOCl and 70% ethanol treatment

Treatment	<i>E. coli</i> number	Microbial growth
Control (d-H ₂ O)	N.D.	+++++
NaOCl (2 ppm)	N.D.	++
70% EtOH	N.D.	-

*All data were average of triplicate experiments.

ND; not detected.

Microbial growth : +++++: severe, ++ : intermediate, - : not detected

2) 오디 과즙의 수율 및 안토시아닌 색소 추출 수율

오디 과실로부터 주스를 제조하기에 앞서 먼저 오디 과즙의 최적 수율 조건을 알아보기 위해 앞서 실험방법에 따라 얻어진 오디 과즙에 함유된 안토시아닌 색소의 최대 흡수파장인 510 nm에서 흡광도를 측정한 결과는 Table 14과 같다. 오디 과실 (5 g)에 증류수를 10 ml를 가하여 추출할 경우 흡광도 값이 0.78이었으나 증류수를 증가함에 따라 흡광도가 증가하여 증류수를 40 ml를 가하여 추출했을 때 흡광도 값이 1.14로 최대에 도달한 후 그 후 약간 감소함을 알 수 있었다. 그리고 위에서 얻어진 오디 물추출액을 증류수로 100~500 ml로 각각 정용한 후 흡광도를 측정한 결과 100 ml로 정용했을 때 가장 높은 흡광도를 나타내었다 (data 생략). 따라서 위의 실험결과를 바탕으로 이 후 모든 실험에서는 오디 과실 (5 g)에 증류수를 적당히 가하여 마쇄한 후 100 ml로 정용한 오디 추출액을 사용하였다.

Table 14. Extracting efficiency of anthocyanin pigments from mulberry fruits in relation to addition of distilled water prior to manufacturing of mulberry juice

Mulberry (g)	Distilled water addition (ml)	Absorbance (at 510 nm) ¹
5.0	10	0.78 ^c
	20	0.80 ^c
	30	0.89 ^c
	40	1.14 ^a
	50	1.06 ^b

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$.

¹Absorbance of mulberry juice was determined as described in Materials and Methods.

3) 여과방법에 따른 오디 과즙의 청징 효과

여러 가지 여과방법에 따른 오디 과즙의 청징 효과를 측정된 결과는 Table 15와 같다. 앞서 방법으로 제조된 오디 물추출액을 면포여과, 감압여과 (Whatman No. 4 여과지에서) 및 원심분리 (8,000 rpm에서 10 분간)를 각각 실시한 결과 3가지 방법 중 원심분리가 가장 높은 'L'값 (80.23)과 낮은 'a'값 (15.04)를 나타내어 가장 높은 청징 효과를 나타내었으며, 그 다음으로 감압여과 및 면포여과 순으로 나타났다.

다음, 원심분리 속도 (2,000~10,000 rpm, 10분간)에 따른 오디 과즙의 청징 효과를 조사한 결과 Table 16에서 보는 바와 같이 2,000 rpm에서의 흡광도는 0.54이었으나 원심분리 속도를 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 반면, 2,000 rpm에서의 'L'값은 72.42인 것이 원심분리 속도를 증가함에 따라 'L'값이 증가하여 8,000 rpm에서는 'L'치 80.48로 거의 최대에 도달한 후 그 보다 높은 10,000 rpm에서는 'L' 치가 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 오디 과즙은 8,000 rpm에서 10분간 원심분리 할 때 색소는 다소 침전되나 청징 효과는 거의 최고로 도달함을 알 수 있었다.

한편, 원심분리한 오디 과즙을 다시 한외여과장치를 이용한 막여과 (0.01 μm filtration 및 ultrafiltration)를 실시한 결과 (Table 15) 먼저 0.01 μm membrane filtration 경우 'L'값은 92.40, 'a'값 5.67 및 'b'값 4.20로서 원심분리때 보다 'L'값이 증가한 반면, 'a' 값 및 'b'값은 감소하여 청징 효과가 크게 증가하였으며, 아울러 오디 주스가 지니고 있는 본래의 풀냄새가 상당히 제거되는 효과를 가져왔다 (data 생략). 그러나 원심분리한 오디 과즙을 ultrafiltration (30,000 및 10,000 dalton MWCO membrane)를 각각 실시한 결과 'L'값이 크게 증가한 반면, 'a'값 및 'b'값은 크게 감소하여 청징효과가 크게 나타났으나 흡광도의 큰 감소로 오디 과실 주스의 주된 색소인 안토시아닌이 상당히 제거되는 문제가 야기되었다. 또한 HPLC를 이용하여 원심분리 및 막여과에 따른 오디 주스의 성분을 분석한 결과, 원심분리 한 오디주스에서는 2가지 안토시아닌 색소를 분명히 확인할 수 있었으나, 10,000 ultrafiltration으로 여과한 오디주스에서는 안토시아닌 색소가 검출되지 않았다. 따라서 최소가공기술로서 여러 과실 주스의 제조시 비열처리에 의한 미생물 제거, 쓴맛 및 떫은맛의 제거에 의한 맛의 향상 기술로 각광을 받고 있는 membrane filtration 방법은 고품질의 오디 주스의 제조 방안의 하나로 활용할 수 있으나 ultrafiltration 방법은 오디주스의

안토시아닌 색소의 제거가 문제되었다. 따라서 이러한 결과로부터 원심분리 방법이 오디 과즙의 여과 방법으로서 가장 적절함을 알 수 있었다.

Table 15. Effect of filtration and centrifugation on browning in mulberry juice¹

Treatment	Absorbance (510 nm) ¹	Colorimeter value		
		L	a	b
Filtered through cheeze cloth	0.62 ^a	45.71	17.97	13.97
Filtered through Whatman No. 4 paper ²	0.48 ^b	70.12	16.26	14.39
Centrifuged at 8,000 rpm for 10 min	0.45 ^b	80.23	15.04	11.01
Filtered through 0.01 μm membrane ³	0.33 ^c	92.40	5.67	4.20
Filtered through 30,000 MWCO dalton membrane ³	0.25 ^d	94.45	3.71	2.64
Filtered through 10,000 MWCO dalton membrane ³	0.04 ^e	98.88	0.18	-0.58

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity. Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$.

¹Absorbance at 510 nm was determined by five time dilution with 0.1% HCl

²Filtered through Whatman No. 4 paper with suction.

³Precentrifuged at 8,000 rpm for 10 min before membrane filtration.

Table 16. Effect of centrifugation speed on browning in mulberry juice

Speed (rpm) ¹	Absorbance (510nm) ²	Colorimeter value		
		L	a	b
2,000	0.54 ^a	72.42 ^c	14.72	15.44
4,000	0.52 ^a	76.28 ^b	14.16	15.24
6,000	0.49 ^{ab}	79.51 ^a	15.04	13.32
8,000	0.45 ^b	80.48 ^a	13.56	11.79
10,000	0.44 ^b	80.16 ^a	13.95	11.05

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity. Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$.

¹Juices centrifuged for 10 min at room temperature.

²Absorbance at 510 nm was determined by five time dilution with 0.1% HCl.

4) 여과보조제, 청징제 및 효소처리에 따른 오디 과즙의 청징 효과

여러 여과보조제 (filter aids), 청징제 (fining agents) 및 효소 처리에 따른 오디 과즙의 청징 효과를 조사한 결과는 Table 17 와 같다.

여러 여과보조제를 1.0 g을 처리한 결과 모두 'L'값과 'b'값은 거의 변함이 없는데 반해 'a'값이 약간 감소하여 오디의 안토시아닌 색소가 일부 흡착됨을 알 수 있었다. 그러나 2.0 g을 처리한 결과 'L'값의 증가에 비해 'a'값 및 'b'값은 감소하여 청징 효과가 나타났으나 이 역시 색소 흡착에 따른 결과임을 알 수 있었다. 따라서 여과보조제에 의한 오디과실 주스의 청징 효과는 기대할 수 없었다.

Table 17. Control of browning in mulberry juice by filter aids¹ addition and centrifugation²

Treatment	Colorimeter value		
	L	a	b
Control (centrifuged at 8,000 rpm)	79.66 ^a	15.02	11.76
Centrifuged with Celite 545	78.82 ^a (82.23)	13.46 (12.24)	10.99 (8.85)
Centrifuged with talc	79.33 ^a (83.64)	12.94 (11.08)	11.03 (10.72)
Centrifuged with silicagel (TLC)	79.90 ^a (84.33)	13.98 (10.94)	11.92 (8.31)
Centrifuged with bentonite	79.58 ^a (82.88)	6.80 (5.17)	11.63 (10.58)

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$.

¹Concentration of filter aids used was 1%.

²Juices centrifuged at 8,000 rpm for 10 min at room temperature.

Values in parenthesis represent when concentration of filter aids used was 2%.

다음, 여러 청징제 처리에 따른 오디과실주스의 청징 효과를 측정된 결과 Table 18에서 보는 바와 같이 starch, CMC, β -cyclodextrin, agar 및 arabic gum 처리구의 'L', 'a' 및 'b'값 모두 대조구와 거의 유사한 색도를 나타내어 청징 효과가 거의 나타나지 않았으나 casein, gelatin, chitin, chitosan 및 PVPP 처리구는 'L'값이 크게 증가한 반면, 'a'값 및 'b'값은 크게 감소하여 청징 효과가 크게 나타났으나 이 또한 오디 안토시아닌 색소의 흡착에 기인된 것이었다. 따라서 청징제에 의한 오디 과실

주스의 청징 효과는 위의 여과보조제 경우와 유사하게 기대할 수 없었으며, 오히려 그들 청징제에 의한 안토시아닌 색소의 흡착을 이용하여 색소의 안정성을 향상시키고 아울러 흡착된 색소에 의해 청징제 자체의 기능성을 향상시킴으로서 그를 이용한 여러 가지 기능성 가공식품의 개발이 전망된다.

Table 18. Control of browning in mulberry juice by fining agents¹ addition and centrifugation²

Treatment	Colorimeter value		
	L	a	b
Control (centrifuged at 8,000 rpm)	80.98 ^d	13.95	11.45
Centrifuged with starch	80.67 ^d (81.15)	13.82 (11.79)	12.12 (10.26)
Centrifuged with CMC	78.39 ^d (80.65)	12.97 (13.57)	12.34 (11.41)
Centrifuged with β -cyclodextrin	81.75 ^d (69.44)	13.20 (13.84)	11.62 (11.27)
Centrifuged with agar	78.91 ^d (82.72)	14.31 (10.50)	12.67 (10.50)
Centrifuged with arabic gum	80.48 ^d (80.52)	14.03 (13.56)	11.02 (11.43)
Centrifuged with casein	89.14 ^c (92.46)	7.36 (9.69)	6.34 (7.55)
Centrifuged with gelatin	87.13 ^c (90.12)	8.04 (10.19)	8.16 (9.92)
Centrifuged with chitin	88.54 ^c (93.31)	5.84 (6.20)	6.31 (4.88)
Centrifuged with chitosan	92.41 ^b (95.73)	3.23 (1.94)	4.76 (2.12)
PVPP ³	93.95 ^a (99.34)	2.70 (0.2)	4.92 (1.32)

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$.

¹Concentration of fining agents used was 1%.

²Juices centrifuged at 8,000 rpm for 10 min at room temperature.

³Polyvinylpyrrolidone.

Values in parenthesis represent when concentration of filter aids used was 2%.

한편, 효소 처리에 따른 오디 과즙의 청징 효과를 알아보기 위해 4가지 효소 (α -amylase, glucoamylase, cellulase 및 pectinase)를 면포여과 한 오디 과즙 100 ml에 0.1 ml를 가하여 50°C에서 2시간 동안 처리한 결과 Table 19에서 보는 바와 같이 4

가지 효소 처리구 모두 'L'값이 control 구와 비슷하여 청징 효과가 거의 나타나지 않았다. 그러나 효소를 1.0 ml를 처리한 결과 위와 달리 모든 처리구에서 청징 효과가 나타났으며, 특히 α -amylase 및 pectinase 처리구에서 'L'값이 증가한 반면, 'a'값이 감소하여 청징 효과가 뚜렷이 나타났다. 그러나 과실의 청징 처리제로 가장 널리 사용되고 있는 pectinase 처리시 오디 과즙의 갈변현상의 초래로 'b'값이 control구보다 크게 증가함을 알 수 있었다. 따라서 현재 과실주스의 청징 처리시 pectinase의 적정 농도로 권장하고 있는 0.1~2.5 ml/100 L 농도 범위에서는 오디 과실주스의 청징 효과는 거의 기대하기 어려웠다.

Table 19. Clarification of mulberry juice by enzyme addition and centrifugation¹

Treatment	Colorimeter value		
	L	a	b
Control (centrifuged at 8,000 rpm)	81.22 ^a	12.52	15.10
Centrifuged with α -amylase	80.60 ^a (84.40)	12.40 (10.56)	15.13 (12.12)
Centrifuged with glucoamylase	79.81 ^a (81.19)	13.40 (11.91)	15.20 (14.64)
Centrifuged with cellulase	78.98 ^a (80.16)	13.51 (10.26)	16.78 (15.12)
Centrifuged with pectinase	80.61 ^a (83.74)	11.80 (5.48)	18.28 (34.92)

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity. Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$.
¹Juices centrifuged at 8,000 rpm for 10 min at room temperature after enzymes (0.1 ml) addition. Values in parenthesis represent when concentration of enzymes used was 1.0 ml.

5) 갈변저해제 처리에 따른 오디 주스의 갈변 억제 효과

여러 갈변저해제 처리에 따른 오디 과즙의 색도 변화를 측정하기에 앞서 먼저 여러 갈변저해제 중 안토시아닌 색소를 함유하고 있는 과실주스의 갈변저해제로 현재 널리 사용되고 있는 sodium hydrosulfite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, SHS)를 농도별 (50-300 ppm)로 처리한 결과 50 ppm 처리구에서의 'L'값 (80.95)는 control구의 'L'값 (80.84)과 유사

하였으나 처리농도를 증가함에 따라 'L'값이 증가하여 200 ppm 처리시 'L'값이 85.12로 최고에 도달하였고, 그 보다 높은 농도에서는 'L'값은 거의 변함이 없는 반면, 'a'값은 오히려 크게 감소하여 색소의 탈색 효과가 나타남을 알 수 있었다. 다음, SHS 처리 1일 후 오디 과즙의 'L'값을 측정된 결과 50 ppm 농도 처리시 72.83으로 크게 감소한 반면 100 ppm 이상 처리한 경우 'L'값이 제조 당일과 거의 변함이 없는 것을 알 수 있었다 (data 생략). 따라서 오디 과실주스의 제조시 갈변저해제로서 SHS의 처리 농도는 100-200 ppm 사이가 적당함을 알 수 있었으며, 이 농도는 현재 식품첨가물 공전에서 sodium hydrosulfite의 과실주스 허용치 150 ppm (SO₂ 농도로서)에 적합하나 자체가 지니고 있는 불쾌한 맛과 독성 때문에 현재 식품가공산업에서 그 사용이 크게 제한을 받고 있다. 따라서 오디 과실주스 제조시 sulfite 사용을 대체할 수 있는 갈변저해제의 개발이 필요하다.

한편, sulfite 대체제로서 현재 식품가공산업에서 갈변저해제로 널리 사용되고 있는 3가지 [L-ascorbic acid (L-AsA), citric acid (CA) 및 NaCl] 저해제를 이용하여 오디 과실주스의 갈변억제 효과를 측정된 결과는 Table 20과 같다. 먼저 3가지 갈변저해제를 0.1%로 단일 처리했을 경우 L-AsA 및 CA 처리구의 'L'값이 각각 83.74 및 82.45로서 control구 보다 'L'값 (80.84)이 다소 높아 갈변억제 효과가 있었으나, NaCl는 거의 효과가 없었다. 또한, 3가지 갈변저해제를 처리한 주스를 1일 동안 상온에서 교반하면서 방치한 후 'L'값을 측정된 결과 CA 처리구의 'L'값이 77.85로서 가장 높았으며, 그 다음으로 L-AsA (73.15) 및 NaCl (65.83) 순으로 'L'값이 감소하였다. 특히 NaCl 처리구는 'L'값이 감소하는 동시에 'a'값과 'b'값은 크게 증가하여 갈변이 크게 진전되었음을 알 수 있었다. (여기서 L-AsA 및 CA 처리구의 'a'값이 control구 보다 큰 것은 산에 의한 안토시아닌 색소의 흡광 증가에 기인된 것임). 그리고 L-AsA 처리구에서 색도의 변화가 시간이 경과함에 따라 약간 뚜렷하게 나타났으며, 이는 L-AsA의 자동산화에 의해 생성되는 ketone 화합물이 안토시아닌 색소의 갈변을 오히려 촉진할 수 있다는 보고와 유사하였다.

Table 20. Effect of anti-browning agents on browning in minimally processed mulberry juice

Anti-browning agent ¹	Colorimeter value		
	L	a	b
Control	80.84 ^c (68.92)	13.74 (21.02)	10.83 (25.99)
L-Ascorbic acid (L-AsA)	83.74 ^b (73.15)	17.16 (26.35)	5.76 (12.94)
Citric acid (CA)	82.45 ^b (77.85)	22.45 (28.64)	6.64 (10.15)
NaCl	80.99 ^c (65.83)	13.93 (30.67)	10.57 (23.62)
Na ₂ S ₂ O ₄	86.65 ^a (81.63)	12.73 (13.21)	6.75 (9.23)

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$.

¹Concentration of anti-browning agents used was 0.1% with exception of 200 ppm Na₂S₂O₄.

Values in parenthesis represent when colorimetry values of mulberry juice were determined after one day stand at room temperature.

다음, 3가지 갈변저해제 중 두 가지를 혼합 병행 처리하여 오디주스의 갈변억제 효과를 측정된 결과 Table 21과 같다. 3가지 처리구 (L-AsA + CA, CA + NaCl 및 NaCl + L-AsA) 중 L-AsA + CA 및 CA + NaCl 처리구의 'L'값이 각각 81.88 및 81.33으로서 control구 (80.84)와 유사하였으나 NaCl + L-AsA 처리구의 'L'값은 73.79로서 다소 낮았다. 그리고 혼합 병행 처리한 오디주스를 1일 동안 상온에서 방치한 후 'L'값을 측정된 결과 NaCl + L-AsA 처리구를 제외한 나머지 2가지 처리구의 'L'값이 control구의 'L'값 보다 높은 동시에 'b'값은 오히려 크게 낮아 갈변억제 효과가 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 L-AsA + CA 복합 병행 처리는 오디 과일주스의 갈변억제 효과뿐만 아니라 색소 안정 효능을 지니고 있어 sulfite 대체제로서 이용할 수 있음을 시사한다.

Table 21. Effect of combination of anti-browning agents on browning in minimally processed mulberry juice

Anti-browning agent ¹	Colorimeter value		
	L	a	b
Control	80.84 ^b (68.92)	13.74 (21.02)	10.83 (25.99)
L-AsA + CA	81.88 ^a (75.97)	25.62 (33.21)	6.46 (9.59)
CA + NaCl	81.33 ^b (74.41)	24.74 (30.70)	6.55 (12.11)
NaCl + L-AsA	73.79 ^c (63.56)	22.30 (24.86)	11.98 (14.83)

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity. Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$.

¹Concentration of each anti-browning agent used was 0.1%.

Values in parenthesis represent when colorimetry values of mulberry juice were determined after one day stand at room temperature.

6) 당/산 첨가에 따른 오디 주스의 관능검사

오디 주스의 맛과 기호성을 증가시키기 위해 당 (고과당)과 산 (citric acid 및 sodium citrate)을 적절히 가하여 당/산 비를 20-60으로 조절한 후 맛, 향 및 색깔에 대해 관능검사를 실시한 결과 Table 22와 같다. 오디과실의 색깔은 당/산 비가 20일 경우 가장 좋은 평가를 받았으며 맛은 당/산 비가 40-50일 때 그리고 향은 당/산 비가 40-60일 때 가장 양호한 평가를 받아서 전체적으로 당/산 비가 40 및 50일 때 관능평가 점수가 각각 12.7 및 12.5로서 맛, 향 및 색깔이 우수한 오디 과실주스를 얻을 수 있었다.

현재 시중에서 나오는 여러 과실주스의 당/산 비를 조사한 결과 오렌지 주스는 20, 포도 및 사과 주스는 30, 매실 주스는 35 및 망고 주스 50 부근을 각각 나타내었다. 이와 같이 과실의 숙도와 기호성의 척도가 될 뿐 아니라 과실주스의 맛을 좌우하는 당/산 비는 과실의 종류 및 과실 주스 제조 시 첨가하는 당과 산의 조성에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다.

Table 22. Table 22. Sensory evaluation of minimally processed mulberry juice prepared by control of sugar/acid ratio

Sugar (°Brix)/acid ratio	Sensory test		
	Flavor	Taste	Color
20	3.5 ^b	3.1 ^c	4.5 ^a
30	3.6 ^b	3.5 ^c	4.3 ^b
40	4.0 ^a	4.7 ^a	4.0 ^b
50	4.0 ^a	4.5 ^a	4.0 ^b
60	4.0 ^a	4.1 ^b	4.0 ^b

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity. Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$. 5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant.

7) 가열처리에 따른 오디 주스의 색도 및 흡광도 변화

앞서 방법에 따라 제조한 오디 주스의 가열처리에(상업적살균 온도인 85~90℃로 조절된 shaking water bath에서 30~60초간 처리하면서 경시적으로 시료를 꺼내어) 따른 색도 및 흡광도를 측정 한 결과는 Table 23과 같다. 오디 주스의 색도는 열처리 시간이 증가하면서 'L'값은 감소한 반면, 'a'값과 'b'값은 증가하여 열처리에 따른 오디 과일주스의 갈변현상이 초래됨을 알 수 있었다. 반면, 흡광도는 열처리 시간에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며, 특히 40초까지 0.77에서 1.29로 크게 증가한 후 거의 일정하거나 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 그런데 40초 이내의 열처리는 주스의 색도에 큰 영향을 주지 않았으며, 오히려 흡광도의 증가현상을 나타내어 열처리가 과일주스의 갈변효소 또는 산화효소의 불활성화를 유도할 뿐만 아니라 특히 안토시아닌 색소 고정화 효과에 유효함을 알 수 있었다. 또한, 40~60초 이내의 열처리는 오디 자체가 지니고 있는 풀냄새와 같은 off-flavor를 제거하는 데 도움을 줄 수 있음을 관능검사로 알 수 있었다 (data 생략). 이러한 결과로부터 오디 과실을 착즙하기 전에 미리 증기처리 같은 열처리를 실시함으로써 오디 색소의 고정화 및 안정화를 유도할 수 있을 것이다.

Table 23. Changes of colorimetry and absorbance of mulberry juice in relation to different heating time¹

Heating time (sec)	Colorimeter value			Absorbance (at 510 nm)
	L	a	b	
Control	80.71 ^a	14.28	11.20	0.77 ^c
30	78.94 ^b	14.91	11.37	1.15 ^b
40	77.55 ^b	15.03	12.20	1.29 ^a
50	73.38 ^c	18.08	18.32	1.23 ^a
60	69.75 ^d	19.87	21.25	1.26 ^a

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

Values in each column with similar superscript letter are not significantly different at $P < 0.05$.

¹Mulberry juice was prepared by centrifugation at 8,000 rpm for 10 min after heating treatment.

이상의 결과로부터 얻어진 오디의 최소가공기술 조건을 토대로 하여 아래 Fig. 6 와 같이 오디 과일주스 제조공정을 도출할 수 있었다. 즉, 생체 오디과실을 선별, 수 세하여 파쇄 (오디:0.1% CA 및 0.01% L-AsA 함유 증류수=1:10, w/w)한 후 착즙 (가재) 및 원심분리 (8,000 rpm, 10분)하여 얻어진 상등액에 당 (고과당)과 산 (citric acid 및 sodium citrate)를 가하여 당/산비를 40으로 조절한 후 상업적살균 (85~90°C, 40초)하여 오디주스 (수율 약 90%)를 제조하는 과정이다. 향후 membrane filtration 방법을 이용한 고품질의 오디과실 주스 제조방법에 관한 연구가 필요하다.

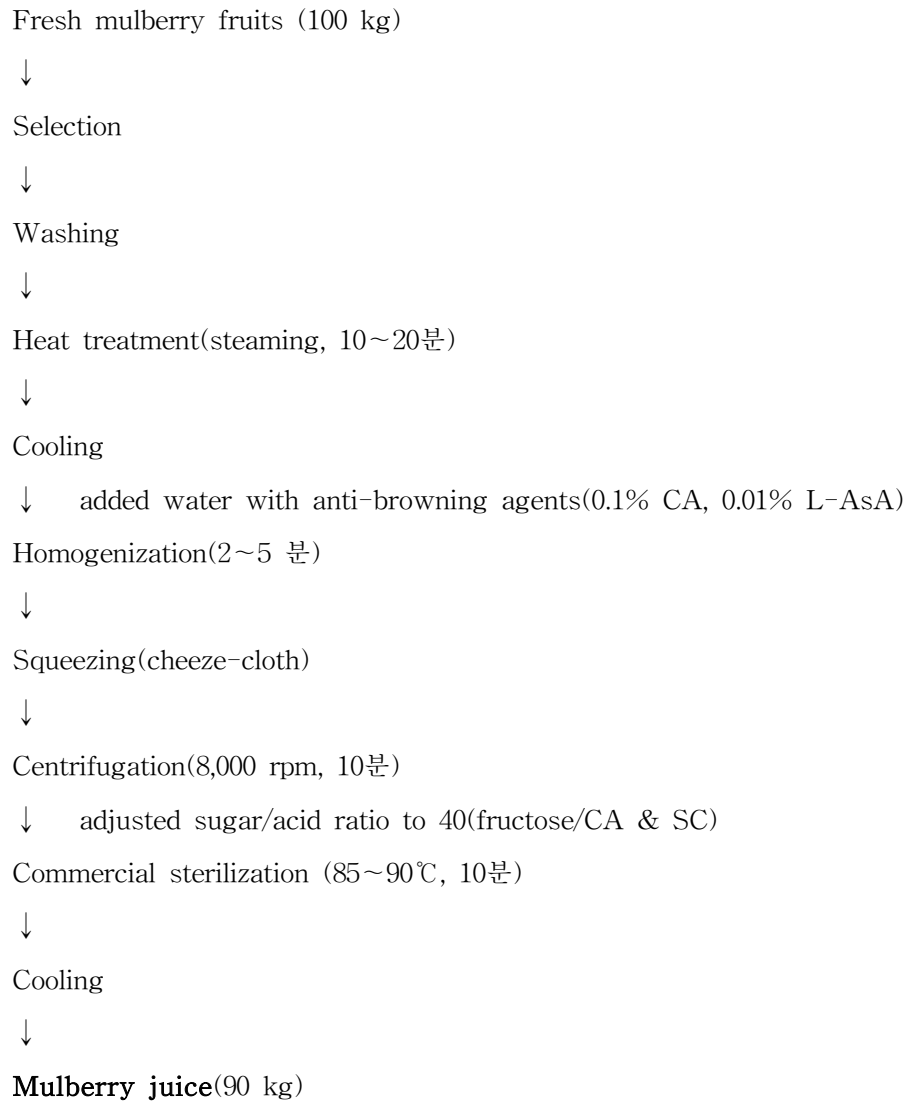


Fig. 6. Schematic procedure for preparation of mulberry juice (or mulberry powder or mulberry extract) by minimal processing technology.

나. 고품질의 오디 첨가물의 제조

오디로부터 고품질의 오디 첨가물 (분말 및 엑기스)의 제조는 앞서 Fig. 6에서 수립된 최소가공기술을 이용하여 제조된 최종 오디주스에 유당을 0.25% 첨가하여 spray dry 또는 동결건조하거나 감압농축함으로써 최종 분말 오디 첨가물 (60 g, 수율:

6%) 또는 오디 엑기스(200 g, 40° Brix, 수율: 20%) 제조방법을 확립하였다.

다. 오디 첨가물의 기능성 및 맛의 향상 기술 개발

오디 첨가물의 항산화 및 항당뇨 효능 등의 기능성을 상승시키고 나아가 오디첨가물의 맛을 개선시키고자 과실의 특성을 지니고 있으면서 특히 항산화 및 항당뇨 효능을 지니고 있는 것으로 알려진 4가지 생약(산수유, 구기자, 오미자 및 복분자) 물 추출물의 첨가에 따른 오디첨가물의 기능성 및 기호성(맛, 색깔 및 향)의 증대 효과를 측정하여 Table 24과 같다. 오디첨가물에 4가지 생약추출물의 농도를 1~5%(오미자는 제외 0.1~0.5%) 서서히 증가하여 첨가할수록 항산화활성은 증가하였으나 반면, 항당뇨 효능은 증가 후 감소하는 경향을 나타내었다. 반면, 색, 향 및 맛 등의 기호성은 4가지 생약추출물의 농도를 서서히 증가하여 첨가할수록 색상은 점점 밝아지나 향은 생약추출물의 농도를 2%까지 첨가하였을 때는 약간 증가하였으나 이후 감소하는 경향을 나타내었으며, 맛은 각 생약추출물의 농도를 2% 까지 첨가할 때는 약간 증가하였으나 그 이후 농도를 증가시켜 첨가하였을 때는 크게 감소함을 알 수 있었다. 이와같이 기능성 및 기호성을 감안하면 오디 첨가물에 각 생약추출물을 2% 첨가구가 가장 양호한 기능성과 기호성을 나타냄을 알 수 있었다.

Table 24. Effects of four different medicinal herb extracts on improving functionality and palatability of mulberry additives

Sample	MA ¹	Herbal extract					Functionality		Palatability ⁸		
		CF ²	LF ³	SF ⁴	RF ⁵	Antioxidant activity ⁶	Anti-Hyperglycemic activity ⁷	Color	Flavor	Taste	
Control	100	0	0	0	0	35.45	56.45	4.0	4.0	4.0	
1	96.9	1	1	0.1	1	36.48	64.75	4.1	4.2	4.3	
2	93.8	2	2	0.2	2	46.76	75.34	4.2	4.3	4.5	
3	91.7	3	3	0.3	3	74.59	74.65	4.3	3.8	3.8	
4	87.6	4	4	0.4	4	78.65	54.54	4.5	3.0	2.6	
5	84.5	5	5	0.5	5	89.67	34.75	4.6	2.3	2.1	

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹MA: Mulberry additives(60 °Brix), ²Corni Fructus(Sansuyu), ³Lycii Fructus(Gugiza)

⁴Schizandrae Fructus(Omiza), ⁵Rubi Fructus(Bokbunza)

⁶DPPH radical scavenging activity(%) at 1.0 mg/ml

⁷Inhibition(%) of glucose-6-phosphatase at 10.0 mg/ml

⁸Sensory analysis: 5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant.

라. 오디 첨가물의 저장 중 이화학적 품질 변화 조사

앞서 제조된 오디 첨가물의 저장수명(shelf life)을 알아보기 위해 저장 (5℃, 25℃) 중 이화학적 품질 변화를 측정한 결과는 Table 25와 같다. 저온 저장의 경우 오디 첨가물의 당도 및 산도는 약간 증가하였으나 pH, 흡광도(안토시아닌 색소 척도) 및 색도는 거의 변화가 없었다. 그리고 색, 향 및 맛에 대한 관능검사를 실시한 결과 저장 기간 중 종합적인 관능은 약간 감소하였으나 별다른 품질의 변화를 감지할 수 없었다. 반면, 상온 저장의 경우 당도 및 산도는 저장 초기 증가한 후 말기에는 감소하는 경향을 나타내었으나 pH, 흡광도 및 색도("L")는 저장 전반에 걸쳐 감소하였다. 그리고 관능검사 결과 저장 1주일부터 품질의 변화가 일어나기 시작하였으며, 저장 말기에는 색을 제외하고 향과 맛의 크게 변함을 알 수 있었다. 따라서 오디 첨가물은 저온저장이 필수이며 저장 기간은 약 1개월로 추정된다.

Table 25. Changes of physicochemical properties and sensory test of mulberry additives during storage at 5℃ and 25℃

Quality index	Storage(day, 5℃)						Storage(day, 25℃)					
	0	3	7	13	21	31	0	3	7	13	21	31
Soluble solid (°Brix)	30.0	30.2	30.5	30.8	31.0	31.3	30.0	30.3	32.4	34.9	35.3	32.2
Acidity (%)	1.50	1.52	1.54	1.55	1.57	1.59	1.50	1.55	1.63	1.72	1.78	1.56
pH	3.65	3.64	3.60	3.59	3.56	3.55	3.65	3.50	3.33	3.24	3.02	2.67
Absorbance ¹ (515 nm)	0.34	0.34	0.35	0.34	0.36	0.33	0.34	0.36	0.38	0.30	0.29	0.20
Colorimeter ²	80.12	81.80	78.45	77.53	77.13	77.01	80.12	74.72	65.63	62.91	60.76	59.83
	25.34	23.34	21.63	21.54	20.45	20.04	25.34	23.91	20.65	17.92	13.32	14.81
Sensory analysis ³	15.43	16.53	17.52	17.20	18.12	18.83	15.43	16.82	24.53	32.54	33.46	34.24
	5.0	4.9	4.5	4.3	4.3	4.3	5.0	4.1	4.0	3.7	3.2	3.0
	5.0	4.8	4.6	4.3	4.1	4.0	5.0	4.2	3.7	3.2	2.5	2.0
	5.0	4.9	4.5	4.3	4.0	4.0	5.0	4.0	3.3	3.0	2.3	1.8

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹Determined absorbance at 515 nm after a sample was diluted ten time with 0.1N HCl.

²L: Lightness, a: Redness, b: Yellowness

³Color, flavor, taste; 5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant.

제 4 장 오디를 이용한 고품질의 기능성 건강보조 식품 제조기술 개발 및 제조

제 1 절 서 설

상심자(오디)는 뽕나무과 (Moraceae)에 속하는 낙엽교목인 뽕나무 (*Morus alba* L.)의 열매가 자홍색을 나타낼 때 채취하여 식용하거나 건조한 후 한약제로 사용되며 한방에서는 어지러움과 이명, 구갈 및 소갈 등의 치료에 이용하는 것으로 알려져 있으며, 일본에서는 양혈거풍의 효능과 풍열을 다스리며 강장, 진통약, 불면증, 이명, 어지러움, 요통, 변비 등의 치료에 응용하는 것으로 알려져 있다. 동의보감에는 소갈을 다스리고 오장을 이롭게하며 뽕나무의 정이 모여 있다고 적고 있다.

뽕나무 관련 잠상물질로는 상업, 상백피, 잠노, 상심자, 상지 및 백강잠 등이 있으며, 본초강목 등의 동양의약서에는 소갈증 (지금의 당뇨)을 예방·치료하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 아울러 잠상산물은 소염, 해열, 거담 및 진해작용 등의 여러 가지 생리활성작용이 있어 한방에서는 상국음(桑菊飲)으로 처방되고 있다.

한편, 오디, 뽕잎 및 누에 등의 잠상산물에는 당, 단백질, 아미노산, 비타민, 미네랄 및 다량의 식이성 섬유소를 함유하고 있을 뿐 아니라 anthocyanins, flavonoids, glycoprotein, steroids 및 triterpenes와 같은 항암, 항당뇨, 항고혈압, 항고지혈증 및 항산화활성을 지닌 여러 가지 생리활성물질을 함유하고 있어 우리나라에서는 기능성 식품으로서 널리 사용되고 있을 뿐만 아니라 그 추출물 및 가공산물은 기능성화장품의 신소재로서 크게 각광을 받고 있다.

지금까지 오디 및 잠상산물의 일반성분 및 생리활성성분의 분석과 더불어 그들의 생리활성작용에 관한 많은 연구가 수행되어져 왔으나 오디 및 잠상산물을 이용한 가공식품 및 기능성식품의 개발에 관한 연구는 미비한 실정이다. 오디는 주로 지금까지 잼, 주스, 푸레 및 술 등의 가공식품의 개발이 주로 이루어져 왔으며, 뽕잎 및 누에는 주로 아이스크림, 차, 음료, 환 및 엑기스 등의 가공식품과 누에 견사단백질을

이용한 실크비누, 화장품 등의 개발이 주로 이루어져 왔으나, 오디 및 잠상산물을 이용한 향당노용 과립차, 캡슐, 정제환 및 알약 등의 여러 기능성식품의 개발 및 제조에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 제1과제에서 밝혀진 오디(오디박 포함)의 향당노 및 항산화 효능과 더불어 오디분말에 빵잎 및 누에분말을 가하여 제조된 복합제제 중 향당노 효능이 있는 것으로 밝혀진 잠상산물의 복합제제(오디:빵잎:누에=1:1:1, w/w)를 이용하여 고부가가치의 향당노용 오디 과립차, 정제환, 캡슐 및 드링크의 제조기술을 개발하였으며, 아울러 그들 시제품을 제조하여 그들의 저장 중 이화학적 품질 변화를 조사하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 공시재료

본 실험에 사용한 오디(*Morus alba* L.) 엑기스 및 분말은 경북 영천 소재 영천양잠협동조합 과수원에서 노지 재배한 청일뽕나무로부터 수확된 오디를 앞서 개발된 고품질의 오디엑기스 및 분말 제조방법에 따라 제조된 것을 사용하였으며, 뽕잎 및 누에 분말은 영천양잠협동조합에서 직접 수확한 뽕잎과 누에(5령 3일된)를 동결건조 후 Z-mill을 사용하여 80~150 mesh로 분쇄한 것을 각각 사용하였다.

다음, 오디 과립차, 정제환, 캡슐과 오디 드링크 제조에 이용된 부재료는 식품첨가물로 판매중이거나 시중에서 시판되고 있는 것을 직접 구입하여 사용하였으며, 그 외 시약은 특급 또는 일급을 각각 사용하였다.

2. 실험방법

가. 오디과립차의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정

1) 오디 건조분말 제조

청일뽕나무로부터 수확한 완숙된 생체 오디과실(10 kg)을 흐르는 수돗물에 수세하여 이물질을 제거한 후 일야 방치하여 자연탈수하고 난 후 찜통에 넣어 10분간 증기 열처리한 후 방냉한 다음 (주)해농식품의 pilot 시설(25 × 30 m, -45°C, 10 mmHg)에서 24시간 동결건조한 후 얻어진 건조오디를 분쇄기(coffee maker)로 분쇄한 후 체(50 mesh)를 통과시켜 오디 분말(수율 약 15%)을 제조하였다.

2) 오디과즙 엑기스의 제조

생체 오디(10 kg)을 위와 동일하게 찜통에서 열처리하여 방냉한 오디 과실에 오디 무게의 약 2배 가량의 가미액(0.3% 구연산 함유 용액)을 가하고 믹서기로 파쇄한 후 망사로 착즙·여과하여 과즙 및 잔사를 각각 얻었다. 다음, 잔사에 가미액을 2배 가하여 다시 추출 및 여과하여 얻어진 과즙을 앞의 것과 합하여 8,000 rpm에서 10분간

원심분리한 후 얻어진 상등액을 90℃에서 1~5분간 살균한 다음 rotary evaporator로 60℃ 이하에서 감압농축하여 오디 과즙 엑기스(30 °Brix, 4 kg)를 제조하였다.

3) 오디과립차 제조

가) 성분 배합비 설정

2차년도 세부과제 1의 연구결과에서 얻어진 향당뇨 효능을 지닌 오디분말(과육 함유) 및 오디 과즙 엑기스와 그 외 여러 부형재를 혼합하여 오디과립차를 제조한 후 관능검사를 실시하여 최적 성분 배합비를 수립한 다음 오디과립차를 제조하였다.

먼저 오디과즙에 포도당을 가하여 과립화한 것과 오디분말을 기본 base로하여 여기에 설탕 및 올리고당 함량을 조절하여 첨가하고 나머지 부형재는 유당 5%, 비타민C 6.3%, 무수구연산 0.2%, 오디향 0.01% 및 SSA(Sodiumsilicoaluminate, caking 방지제) 1%의 성분배합 비율로 혼합한 후 6가지의(Table 1) 오디과립차를 다음과같이 제조하였다.

Table 1. Formulations of mulberry granule tea

Granule tea	Material(%)								
	MP ¹	MG ²	Suc	Oligosa	Lac	L-AsA	CA	MF ³	SSA ⁴
1	2	81	4.49	0	5	6.3	0.2	0.01	1
2	2	81	3.39	1	5	6.3	0.2	0.01	1
3	2	81	2.29	2	5	6.3	0.2	0.01	1
4	2	81	1.19	3	5	6.3	0.2	0.01	1
5	2	81	0.19	4	5	6.3	0.2	0.01	1
6	2	81	0	4.49	5	6.3	0.2	0.01	1

¹Mulberry fruit powder

²Mulberry fruit granule

³Mulberry flavor

⁴Sodiumsilicoaluminate(SSA)

나) 오디 과립차의 제조 방법

오디분말, 과즙 엑기스 및 여러 부형재를 이용하여 다음과같이 오디과립차를 제조하였다.

(1) 1차 배합 :

먼저 오디과립차를 제조하기 이전에 오디과즙 농축액의 과립을 다음과같이 제조하였다. 즉, 오디과즙 농축액을 정제수에 희석한 [오디과즙 농축액(30 °Brix) : 정제수 = 2 kg : 1.2 kg] 다음, 여기에 정제포도당을 가하여 고속배합기상에서 배합한다(정제포도당 : 오디과즙 농축액 희석분 = 4.0 kg : 1.0 kg).

(2) 성형 :

성형기에 배합된 원료를 투입하여 과립 성형을 한다. 과립 성형의 규격은 지름이 0.1~0.5 파이의 크기로 성형을 한다.

(3) 건조 :

건조판 밑면에 공기가 잘 통과하는 시아 천 등을 깔아서 위에서 제조된 오디과립을 3~5 센티 두께로 골고루 깔아서 열풍건조기(55~65℃)에서 수분이 5% 이하가 되도록 건조한다.

(4) 분쇄 :

건조된 과립은 분쇄기로 분쇄한 후 일정 크기(약 16 mesh pass)로 과립화한다.

(5) 2차 배합(본 배합) :

앞서 제조된 오디과즙 과립에 설탕, 올리고당, 유당, 무수구연산 및 SSA 등을 넣어서 배합기에 넣어서 2차 배합을 한 다음 비타민 C 및 오디향을 넣어서 최종 배합을 한다.

(6) 보관 :

분쇄된 제품은 일정한 중량으로 담아서 방습제 등을 넣고 5℃ 미만의 냉장고에 보관한다.

4) 오디 과립차의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정

가) 경도측정

5 mm tip이 부착된 Rheometer(RE-3305, Yamaden Co., Japan)를 이용하여 제품의 경도를 측정하였다.

나) 당도, 산도, pH, 색도 및 관능검사 측정

앞서 제조된 오디 과립차, 정제환, 캡슐 및 드링크의 당도, 산도, pH 및 맛, 향 및 색깔에 대한 관능검사는 이미 실시한 오디 주스의 경우와 동일하게 실시하였다.

나. 오디 정제환의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정

1) 성분배합 비율

먼저 2차년도 세부과제 1의 연구결과에서 얻어진 항당뇨 효능을 지닌 잠상산물 혼합비 즉, 오디분말:뽕잎분말:누에분말(1:1:1, w/w)를 이용하여 오디 정제환의 최적 제조조건을 수립하였다.

오디정제환은 Table 2와 같은 배합비율로 5가지 정제환을 제조하였다. 즉, 오디 분말 0.1~1 Kg, 건조 누에 분말 1 Kg, 건조 뽕잎 분말 1 Kg 및 찹쌀풀 0.1 Kg 및 이온수 0.15 Kg을 성분 배합 비율로 혼합한 후 오디 정제환을 제조하였다.

Table 2. Formulations of mulberry pill

Mulberry pill	Material (Kg)				
	MP ¹	SW ²	ML ³	GRG ⁴	Ionized water
1	0.2	1.0	1.0	0.1	0.15
2	0.4	1.0	1.0	0.1	0.15
3	0.6	1.0	1.0	0.1	0.15
4	0.8	1.0	1.0	0.1	0.15
5	1.0	1.0	1.0	0.1	0.15

¹Mulberry fruit powder

²Silk worm powder

³Mulberry leaf powder

⁴Glutinous rice paste

2) 오디 정제환의 제조방법

오디 분말, 뽕잎 분말 및 누에 가루에 찹쌀풀과 물을 가하여 다음과같이 오디정제환을 제조하였다.

가) 배합: 뽕잎, 누에 및 오디 분말을 원료로하여 부형제인 찹쌀풀과 물을 Table 2.와 같은 혼합 비율로 배합기에 넣어서 골고루 혼합하여 반죽한다.

나) 사출: 배합된 것을 환 가공 사출기에 넣어서 우동 굵기의 크기로 길게 사출한다. 이때 굵기 및 크기는 5.5~6.0 mm 크기로 한다.

다) 절환: 사출된 원료를 규정된 크기로 절단한다. 이때 절단면에 붙는 것을 방지하기위해서는 뽕잎분말을 살짝살짝 뿌려준다.

라) 성형: 절환된 원료를 장환기에 넣어서 둥근 모양이 되도록 회전시키며 둥근 모양을 만든다. 여기에 살균된 물을 분무기를 이용하여 살짝 뿌려준다.

마) 건조: 열풍건조기에 넣어서 60~65℃의 온도에서 12시간 정도 건조하여 수분을 5% 이하가 되도록 줄인다.

바) 선별: 선별기에 넣어서 규격외품을 제거한다.

사) 보관: 냉암소에 보관한다.

3) 오디 정제환의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정

오디정제환의 저장 중 이화학적 품질 변화는 앞서 오디과립차의 경우와 동일하게 실시하였다.

다. 오디 캡슐의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화

1) 오디 캡슐의 제조

항당뇨용 오디캡슐은 Fig. 1와 같이 제조하였다. 즉, 앞서 2차년도 세부과제 1에서 확인된 항당뇨 활성이 우수한 잠상산물 혼합비(오디분말:뽕잎분말:누에분말=1:1:1)를 이용하여 여기에 캡슐 부형제로써 널리 사용되고 있는 결정 셀룰로오즈 및 만니톨을 표 3과같이 적절히 혼합하여 5가지의 그룹으로 나누어 제조한 후 10명의 관능요원의 5점 채점법으로 맛, 색 및 조직감에 대해 평점하여 이 중 품질이 가장 우수한 그룹을 선별하였다.

다음, 캡슐 조성물을 50~60℃ 건조기에서 수분함량이 5% 미만이 되도록 건조한 후 방냉하여 원료를 제조한 후 미리 캡슐(1호, 0.08 g)이 채워진 반자동 캡슐제조기(동성화학, 한국)로 오디캡슐(0.4 g)을 제조하였다.

시료(오디분말:뽕잎분말:누에분말=1:1:1, w/w)

↓

조합[시료 + 부형제(결정 cellulose + mannitol)]

↓

건조(50~60℃)

↓

방냉(상온)

↓

캡슐 충전

↓

오디캡슐

Fig. 1. Schematic procedure for preparation of mulberry capsule.

Table 3. Formulations of mulberry capsule

Sample	Material(w/w)					Total
	Mulberry powder	Mulberry leaf powder	Silkworm powder	Crystal Cellulose	Mannitol	
1	10	10	10	60	10	100
2	10	10	10	55	15	100
3	10	10	10	50	20	100
4	10	10	10	45	25	100
5	10	10	10	40	30	100

2) 오디 캡슐의 저장 중 이화학적 품질 변화

오디캡슐의 저장(5℃ 및 25℃) 중 당도, 산도, pH, 및 색도 등의 이화학적 품질 변화 측정과 관능검사는 앞서 오디과립차 및 정제환의 경우와 동일하게 실시하였다.

라. 오디 드링크 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정

1) 오디 드링크 제조

먼저 2차년도 세부과제 1의 연구결과에서 얻어진 항당뇨 효능을 지닌 오디과즙(과육 함유)을 이용하여 항당뇨용 오디드링크의 최적 제조조건을 확립하였으며, 아울러 Fig. 2와 같이 항당뇨용 오디드링크를 제조하였다.

즉, 앞서 2차년도 세부과제 1에서 확인된 항당뇨 활성이 우수한 오디 과육이 포함된 오디과즙을 상법(생체 오디를 0.3% 구연산이 함유된 이온수로 믹서한 후 80~8

5℃에서 10~20분 가열하여 오디의 갈변효소를 불활성화시키는 동시에 안토시아닌 색소를 고정시킨다)에 따라 먼저 제조한 후 당 및 산을 표 4와같이 적절히 혼합하여 5가지의 그룹으로 나누어 제조한 후 10명의 관능요원의 5점 채점법으로 맛, 색 및 향기에 대해 평점하여 이 중 품질이 가장 우수한 그룹을 선별하여 과즙을 조합한 후 균질화(100 bar)한 다음 탈기(진공 28인치, 16℃ 이하), 살균(85~90℃,에서 30~40 초), 충전·밀봉 및 냉각(40℃)하여 오디드링크를 제조하였다.

생체오디

↓

세척 및 선별(식물성 세제 및 물, 2회)

↓

파쇄(오디:이온수=1:2, 0.3% 구연산이 함유된 이온수로 믹서함, 1~2 분)

↓

열처리(80~85℃, 10~20 분)

↓

조합(액상과당, 설탕, 당도: 12 °Brix, 산도: 0.24, pH: 3.5)

↓

균질화(100 bar)

↓

탈기(진공 28인치 이상, 16℃ 이하)

↓

순간살균(88~93℃, 20~30초)

↓

충전·밀봉

↓

냉각(40℃)

↓

오디 드링크

Fig. 2. Schematic procedure for preparation of mulberry drink.

Table 4. Formulations of mulberry drink

Sample	Concentration(w/w)								
	Mulberry ext (pulp)	Liquid fructose	Sugar	Citric acid	Sodium citrate	Pectin	Flavor (KMC-1087)	Water	Total
1	20	9.35	3.5	0.15	0.05	0.023	0.12	66.807	100
2	20	8.35	4.5	0.15	0.05	0.023	0.12	66.807	100
3	20	7.35	5.5	0.15	0.05	0.023	0.12	66.807	100
4	20	7.35	5.4	0.23	0.07	0.023	0.12	66.807	100
5	20	7.35	5.3	0.30	0.10	0.023	0.12	66.807	100

2) 오디 드링크의 저장 중 이화학적 품질 변화 측정
 오디 드링크의 저장 중 당도, 산도, pH, 및 색도 등의 이화학적 품질 변화 측정과 관능검사는 앞서 오디과립차 및 오디정제환의 경우와 동일하게 실시하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 오디 과립차의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화

가. 오디 과립차 제조

오디 과립차를 제조하기에 앞서 오디과즙 엑기스의 과립화를 먼저 시도하였다. 즉, 오디과즙 엑기스를 정제수로 적절히 희석한(과즙 엑기스:정제수=1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1) 다음 여기에 포도당을 (정제포도당:오디과즙 농축액 희석분=2:1, 4:1 및 6:1) 적절히 가하여 배합기상에서 배합하였다. 그 결과 과즙 엑기스:정제수=2:1 비율로 희석한 구에 포도당을 4:1 비율로가하여 제조한 오디추출물이 가장 양호한 과립이 형성되었다.

다음, 오디 과립차 원료 중 최종 제품의 맛을 좌우하는 당/산 비를 조정하기위해 당(설탕 및 올리고당, 0-5%)과 산(구연산, 0-0.5%)의 비를 적절히 조정한 후 제조한 과립차의 이화학적 품질 특성 및 관능검사를 실시한 결과, 당의 농도를 5%로 산의 농도를 0.2로 조정한 것이 가장 양호한 맛을 나타내었다(data 생략). 그리고 여기에 향당노 효능을 지니고 있는 오디분말(오디박 포함)을 1~5%로 조정한 후 맛, 색 및 향에 대해 관능평가를 실시한 결과 색도(L) 및 흡광도(520 nm 에서)는 오디분말 2% 첨가한 시료구부터 크게 증가하였으나, 맛과 향은 2% 이상부터 오히려 떨어지는 경향을 나타내어 오디분말 2% 첨가구에서 가장 양호한 맛을 나타내었다. 이러한 결과를 종합해볼 때 오디과즙 과립분말 81%에 오디분말을 2%, 당 5%, 산 0.2%를 첨가하여 제조한 오디 과립차가 가장 양호한 품질을 나타내었다.

따라서 이러한 사전 연구를 바탕으로 Table 1과 같이 오디 과립차 재료 혼합비에 따라 제조된 5가지 종류의 오디 과립차의 이화학적 품질특성을 조사한 결과는 Table 5와 같다.

먼저 최종 제조된 5가지 오디 과립차 10 g를 100 mL 비이커에 취하고 비등수(또는 찬물) 100 mL를 가하여 스푼으로 저어면서 녹인 후 여과(Whatman No. 2 filter paper)하여 얻은 여액을 정용한 다음 이액의 당도 (°Brix), 산도, 용해도, 색도, 흡광

도 및 수율 등을 측정하였고, 또한 잘 훈련된 관능검사요원 10명으로 하여금 5점 척도법에 따라 오디 과립차의 색, 향, 맛 및 종합적인 기호도를 평가하였다. 그 결과 오디 과립차의 당도, 산도, 용해도, 색도 및 수율 등은 재료 혼합비율에 따라 큰 차이를 보이지 않았으나 sample 1 및 2구에서는 다소 흡습이 증가하는 경향을 나타내었다. 그리고 관능검사 결과 첨가하는 당성분이 올리고당 보다 설탕의 첨가량이 증가할수록 기호도가 증가하였으며, 특히 sample 2 및 3구가 맛, 색 및 향에서 가장 양호한 종합적인 기호도를 나타내었다. 따라서 과립형성이 양호하며 저장 중 흡습이 적을 뿐만 아니라 색, 맛 및 향의 종합적인 기호도가 우수한 sample 2구를 오디과립차의 제조 배합비로 선정하게 되었으며, 그로부터 오디 과립차 시제품을 제조하였다.

Table 5. Quality characteristics of mulberry granule tea

Mulberry granule tea	Soluble solid (°Brix)	Acidity (%)	Solubility (sec)	Colorimeter ¹			Yield (%)	Absorption	Sensory analysis ²			
				L	a	b			Color	Flavor	Taste	Total
1	8.4	0.43	5	76.95	24.98	18.07	90	mediate	4.3	3.5	4.3	4.03
2	8.4	0.42	5	76.60	28.16	18.12	90	low	4.3	3.6	4.8	4.23
3	8.2	0.42	5	76.58	25.74	18.47	90	low	4.3	3.4	3.6	3.77
4	8.2	0.43	5	76.51	26.14	18.48	90	low	4.2	3.5	3.4	3.70
5	8.2	0.42	5	76.68	25.47	17.92	90	low	4.2	3.5	2.5	3.40

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹L: Lightness, a: Redness, b: Yellowness

²5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant.

나. 오디 과립차의 저장 중 이화학적 품질 변화

앞서 수립된 오디 과립차의 최적 배합비에 따라 제조된 오디 과립차의 저장(5℃ 및 25℃) 중 당도, 산도, 색도, 및 흡광도(오디의 안토시아닌 색소 변화 지표가 됨) 등의 이화학적 품질 변화 측정과 더불어 색, 맛 및 향에 대한 종합적인 관능검사를 실시한 결과는 Table 6와 같다.

먼저 저온(5℃) 저장 경우 저장 전반에 걸쳐 당, 산도 및 pH는 거의 변화가 없었으며, 색도 또한 다소 감소하나 큰 변화가 없었다. 그리고 색, 맛 및 향에 대한 관능

검사를 실시한 결과 저장 기간 동안 품질 저하가 거의 없었다. 반면, 상온(25℃) 저장시 당도는 저장 기간이 경과함에 따라 다소 증가한 후 감소하는 경향을 나타낸 반면, 산도는 저장 전반에 걸쳐 서서히 증가함에 따라 pH는 감소하는 경향을 나타내었다. 그리고 색도 “L”치는 저장 중 서서히 감소한 반면, “a”치는 증가하는 경향을 나타내었다. 다음, 관능검사 결과 상온 저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 저온 저장과 유사한 관능을 나타내었으나 저장 후반기에는 맛, 향 및 색깔이 다소 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. 이와같이 본 연구에서 수립된 재료 혼합비에 따라 제조된 오디 과립차는 상온 저장시 다소 품질 변화가 일어날 것으로 예측할 수 있으나 저온저장의 경우 이화학적 품질 변화가 그렇게 뚜렷하게 나타나지 않을 것으로 예상되며, 향 후 오디 과립차의 품질변화를 계속적으로 측정하여 적정 저장 온도 및 유효기간을 정할 예정이다.

Table 6. Changes of physico-chemical properties of mulberry granule tea during storage at 5℃ and 25℃

Quality Index	Storage(day, 5℃)				Storage(day, 25℃)			
	0	30	60	90	0	30	60	90
Soluble solid(°Brix)	8.4	8.3	8.2	8.3	8.4	8.6	8.9	8.4
Acidity(%)	0.43	0.41	0.41	0.40	0.43	0.45	0.48	0.51
pH	2.54	2.54	2.52	2.52	2.54	2.51	2.43	2.31
Colorimeter ¹	76.60	75.80	74.82	74.02	76.60	74.52	71.52	69.91
	26.16	25.51	24.41	24.01	26.16	27.94	28.14	28.82
	18.12	17.21	17.82	17.91	18.12	23.70	24.83	22.01
Absorbance ² (520 nm)	0.60	0.60	0.57	0.55	0.60	0.53	0.51	0.47
Sensory analysis ³	5.0	4.7	4.7	4.5	5.0	4.5	4.0	3.5
	5.0	4.6	4.5	4.4	5.0	4.5	4.1	3.2
	5.0	4.7	4.5	4.3	5.0	4.1	3.6	3.0

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹L: Lightness, a: Redness, b: Yellowness

²Absorbance at UV_{515nm}

³Color, flavor, taste(5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant).

2. 오디 정제환의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화

가. 오디 정제환의 제조

고품질의 오디 정제환 제조를 위한 최적 재료 혼합비를 알아내고자 앞서 Table 2의 재료 혼합비에 따라 제조된 5가지 종류의 오디 정제환의 이화학적 품질 특성을 조사한 결과는 Table 7과 같다. 이때 오디 정제환을 6 g를 200 mL 비이커에 취하고 비등수 100 mL를 가하여 스푼으로 저어면서 녹인 후 여과(Whatman No. 2 filter paper)하여 얻은 여액의 당도 ($^{\circ}$ Brix), 산도, 색도 및 pH 등을 측정하였고, 또한 잘 훈련된 관능검사요원 10명으로 하여금 5점 척도법에 따라 오디 정제환의 색, 향, 맛 및 종합적인 기호도를 평가하였다.

빵잎 분말 및 누에가루에 오디를 0.2-1.0% 첨가하여 제조된 5가지 오디 정제환의 당도 및 산도는 오디첨가에 따라 증가한 반면 pH는 감소하였다. 그리고 색도 중“L”치는 오디 첨가에 따라 감소한 반면, “a”치는 서서히 증가하였고 “b”치는 크게 변화하지 않았다. 한편, 관능검사의 결과 오디 분말의 첨가량이 증가할수록 색, 향 및 맛의 기호도가 증가하였으며, 특히 sample 5구가 가장 양호한 종합적인 기호도를 나타내었다. 이와같이 앞서 제 1과제에서 선정된 향당뇨 효능이 있는 잠상산물의 적정 혼합비(빵잎분말:누에가루:오디분말=1:1:1, w/w)와 위에서 측정된 5가지 오디정제환의 이화학적 품질 특성과 색, 맛 및 향의 종합적인 측면에서 평가하여 기호도가 우수한 복합제제(빵잎분말:누에가루:오디분말=1:1:1, w/w)의 적정비율로 첨가하여 제조된 sample 5구를 오디정제환의 제조 배합비로 선정하여 새로운 오디 정제환을 제조하였다.

Table 7. Quality characteristics of mulberry pill

Pill	Souble solid (°Brix)	Acidity (%)	Colorimeter ¹			pH	Sensory analysis ²			
			L	a	b		Color	Flavor	Taste	Total
1	0.76	0.53	65.12	11.23	66.01	6.67	3.3	3.0	3.2	3.17
2	0.78	0.59	62.54	12.64	65.94	6.60	3.5	3.3	3.4	3.40
3	0.82	0.63	58.34	14.86	65.73	6.54	3.7	3.5	3.6	3.60
4	0.86	0.67	54.75	16.34	65.47	6.48	3.9	3.8	3.8	3.83
5	0.93	0.69	52.82	18.30	65.27	6.40	4.0	4.0	4.0	4.00

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹L: Lightness, a: Redness, b: Yellowness

²5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant.

나. 오디 분말 첨가에 따라 제조된 신제품 오디 정제환과 기존의 뽕잎 정제환의 이화학적 품질 특성 비교

오디 분말 첨가에 따라 새로이 제조된 오디 정제환[오디분말(mulberry fruit powder, MFP):뽕잎분말:누에가루=1:1:1, w/w)과 기존의 뽕잎 정제환[누에 가루(silk worm powder, SWP):뽕잎분말(mulberry leaf powder, MLP)=50:50]의 이화학적 품질 특성을 비교한 결과는 Table 8과 같다.

먼저 기존의 뽕잎 정제환의 산도, pH, 및 당도는 각각 0.51, 6.62 및 0.73 이었으나 오디 분말을 첨가하여 만든 신제품 오디 정제환은 각각 0.69, 6.40, 및 0.93으로서 기존의 정제환 제품 보다 당도와 산도가 증가함으로서 이화학적 품질 특성이 다소 개선됨을 알 수 있었다. 또한, 기존 뽕잎 정제환 제품의 색도(68.06, 10.40, 66.26) 보다 신제품의 색도(52.82, 18.30, 65.27)의 “L”치가 감소함으로서 더욱 색상이 진한 제품을 얻을 수 있었으며, 아울러 기존의 제품의 경도(262664597) 보다 신제품의 경도(175893291)가 낮아 다소 제품이 부드러워졌다. 마지막으로 관능검사를 실시한 결과 신제품 경우가 기존 제품 보

다 맛, 색깔 및 향기 면에서 다소 양호함을 알 수 있었다. 이와같이 기존의 빵잎 정제환에 오디 분말을 첨가함에 따라 이화학적 품질 특성이 개선됨을 알 수 있었으며, 아울러 오디분말이 지니고 있는 항당뇨 효능의 부가에 따라 기능성 또한 증가함을 알 수 있었다.

Table 8. Comparison of quality characteristics of the conventional and new developed mulberry pills

Quality index	Conventional mulberrypill (SWP:MLP=1:1, w/w)	New developed mulberry pill (MFP:SWP:MLP=1:1:1, w/w)
Acidity	0.51	0.69
pH	6.62	6.40
Souble solid(°Brix)	0.73	0.93
Colorimeter ¹	68.06, 10.40, 66.26	52.82, 18.30, 65.27
Hardness ²	262	175
Sensory analysis ³	Taste(3), Color(3), Flavor(3)	Taste(4), Color(4), Flavor(4)

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹L: Lightness, a: Redness, b: Yellowness

²Dyne/cm²(× 10⁶)

³5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant.

다. 오디 정제환의 저장 중 이화학적 품질 변화

앞서 확립된 최적 조건에서 제조된 오디 정제환의 저장수명을 측정하기위해 저장 (5℃ 및 25℃) 중 이화학적 품질 변화 및 관능검사를 실시한 결과는 Table 9와 같다.

먼저 저온(5℃) 저장 경우 저장 전반에 걸쳐 당도, 산도, pH 및 색도가 미비하게 감소하는 경향을 나타내었으나 뚜렷한 이화학적 성분의 변화는 거의 없었다. 아울러 색, 향 및 맛에 대한 관능검사에서도 저장 전반에 걸쳐 뚜렷한 품질 저하현상을 볼 수 없었다. 반면, 상온 저장의 경우 당도, 산도, pH 및 색도가 저온 저장보다 다소 크게 감소하는 현상이 보였으나 뚜렷한 품질 변화는 나타나지 않았다. 그리고 관능

검사에서는 저온 저장의 경우와 달리 저장 2개월부터 다소 품질이 저하됨을 알 수 있었으며, 저장 말기에는 누에가루에서 발생하는 것으로 예측되는 불쾌한 냄새를 다소 감지할 수 있었다. 이와같이 오디 정제환은 앞서 오디과립차와 유사하게 저온 저장의 경우 품질 변화가 거의 일어나지 않음을 알 수 있었으나 상온 저장의 경우 저장 3개월째 품질의 저하가 나타남을 확인할 수 있었다.

Table 9. Changes in physico-chemical properties of mulberry pill during storage at 5°C and 25°C

Quality Index	Storage(day, 5°C)				Storage(day, 25°C)			
	0	30	60	90	0	30	60	90
Soluble solid (°Brix)	2.8	2.6	2.4	2.4	2.8	2.4	2.3	2.2
Acidity(%)	0.77	0.65	0.61	0.60	0.77	0.67	0.60	0.58
pH	6.52	6.38	6.43	6.40	6.52	6.38	6.40	6.36
Absorbance (520 nm) ¹	0.95	0.82	0.79	0.75	0.95	0.75	0.70	0.61
Hardness ²	175	177	180	178	175	173	169	160
Sensory analysis ³	5.0	4.8	4.5	4.5	5.0	4.6	4.0	3.8
	5.0	4.7	4.6	4.3	5.0	4.5	3.7	3.5
	5.0	4.7	4.3	4.0	5.0	4.3	3.5	3.3

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹Absorbance at 520 nm after sample was diluted ten time with 0.1N HCl.

²Dyne/cm²(× 10⁶)

³Color, flavor, taste(5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant).

마지막으로 앞의 제조방법에 따라 최종 제조된 오디 과립차 및 오디 정제환은 Fig. 3과 같다.



Fig. 3. Photograph of mulberry granule tea and pill.

3. 오디 캡슐 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정

가. 오디 캡슐 제조를 위한 최적 원료 배합비 선정

앞서 2차년도 세부과제 1의 연구결과에서 밝혀진 항당뇨 효능이 우수한 잠상산물 원료 배합비(오디분말:뽕잎분말:누에분말=1:1:1, w/w)를 base로 활용하여 여기에 현재 캡슐 부형제로 널리 사용되고 있는 결정 cellulose 및 mannitol의 혼합비율을 Table 3과같이 달리하여 제조된 5개의 오디캡슐 중 최적 오디 캡슐 재료 혼합비를 결정하기 위해 각 시료의 맛, 색도 및 조직감에 대해 관능검사를 실시한 결과는 표 10과 같다.

오디 캡슐내의 원료의 색도는 결정 셀룰로오스 및 만니톨의 첨가량에 따라 큰 차이를 보이지 않는 반면, 맛은 상당히 달다졌다. 즉, 결정 셀룰로오스 감소와 만니톨의 첨가 비율을 증가시키면 오디캡슐의 맛 및 조직감의 상승을 초래하였으나 고가의 만니톨의 사용량 증가에 따른 경제성이 떨어지는 단점이 있다. 그리고 셀룰로오스 및 만니톨의 증가는 간혹 소화 불량 및 설사를 유발할 수 있기에 앞서 5가지 시험구 중 시료 3구의 색, 맛 및 조직감이 가장 양호한 종합적인 관능을 나타내었다. 따라서 시료 3구의 혼합비율에 따라 오디캡슐을 제조하였다.

Table 10. Sensory analysis of five different mulberry capsules

Sample	Sensory analysis*			
	Color	Taste	Texture	Total
1	3.5	3.0	3.5	3.3
2	3.5	3.0	3.7	3.4
3	3.6	3.5	3.8	3.6
4	3.4	3.8	4.0	3.7
5	3.4	4.0	4.2	3.9

*5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant.

나. 오디 캡슐의 제조

앞서 Table 3의 3번째 원료 혼합비율에 따라 오디분말, 팥잎분말, 누에분말 및 기타 부형제(셀룰로오스 및 만니톨)를 이용하여 고품질의 오디 캡슐을 Fig. 1과같이 제조하였다.

다. 오디 캡슐의 저장 중 이화학적 품질 변화

오디 캡슐의 저장수명(shelf life)을 측정하기위해 저장 온도별 (5℃ 및 25℃) 이화학적 품질 변화 및 관능검사를 실시한 결과는 Table 11와 같다.

먼저 저온 저장의 경우 당도, 산도, pH 및 흡광도는 저장 전반에 걸쳐 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 그렇게 뚜렷한 성분 변화를 감지할 수 없었다. 반면, 상온 저장의 경우 저장 기간이 경과함에 따라 흡광도를 제외하고 당도, 산도 및 pH는 다소 크게 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 저장 중 오디 캡슐의 색, 향 및 맛에 대한 종합적인 관능검사를 실시한 결과 저온 저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 별다른 색, 맛 및 향의 변화를 감지할 수 없었으나 상온저장의 경우 저장 2개월부터 품질의 변화를 감지할 수 있었으며 특히 저장 3개월째 색을 제외한 맛과 향에 대해 상당히 품질 저하를 관찰할 수 있었다.

Table 11. Changes in physico-chemical properties of mulberry capsule during storage at 5°C and 25°C

Quality Index	Storage(day, 5°C)				Storage(day, 25°C)			
	0	30	60	90	0	30	60	90
Soluble solid(°Brix)	2.0	2.0	1.8	1.8	2.0	1.9	1.7	1.5
Acidity (%)	0.38	0.32	0.32	0.30	0.38	0.34	0.36	0.40
pH	6.52	6.39	6.35	6.33	6.52	6.29	6.20	6.12
Absorbance (520 nm) ¹	0.49	0.44	0.43	0.40	0.49	0.46	0.47	0.42
Sensory analysis ²	5.0	5.0	4.8	4.5	5.0	4.4	4.0	3.4
	5.0	4.9	4.5	4.5	5.0	4.5	3.8	2.7
	5.0	4.8	4.5	4.3	5.0	4.4	3.7	2.5

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹Absorbance at 520 nm after sample was diluted ten time with 0.1N HCl.

²Color, flavor, taste; 5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant).

4. 오디 드링크의 제조 및 저장 중 이화학적 품질 변화 측정

가. 오디 드링크 제조를위한 최적 원료 배합비 선정

앞서 2차년도 세부과제 1의 연구결과에서 밝혀진 항당뇨 효능이 우수한 오디박을 함유한 오디과즙 엑기스를 이용하여 최적 오디 드링크 재료 혼합비를 결정하기위해 Table 4와같이 오디과즙(과육 포함)에 당과 산의 혼합비율을 달리하여 제조한 5개구 오디 드링크의 맛, 색도 및 향에 대해 관능검사를 실시한 결과는 Table 12와 같다.

오디 드링크의 색도는 당의 첨가와 관계없이 산의 첨가에 따라 증가하여 밝은 진 보라색을 띄었으며, 맛은 당의 첨가에 따라 증가하다가 감소하는 경향을 나타내었다. 반면, 오디 드링크 향은 모든 구에서 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과로부터 앞서 5가지 오디드링크 시험구 중 시료 3구의 색, 맛 및 향이 가장 양호한 종합적인 관능을 나타내었다. 따라서 시료 3구의 혼합비율에 따라 오디드링크를 제조하였다.

Table 12. Sensory analysis of five different mulberry drinks

Drink	Soluble solid (°Brix)	Acidity (%)	Absorbance (520 nm) ¹	pH	Sensory analysis ²			
					Color	Flavor	Taste	Total
1	10.54	0.30	0.06	3.78	3.8	3.8	3.5	3.70
2	11.04	0.30	0.07	3.78	3.8	3.8	3.7	3.77
3	12.01	0.31	0.07	3.79	3.8	3.8	4.2	3.93
4	12.03	0.34	0.09	3.80	4.0	3.8	3.7	3.83
5	12.05	0.37	0.12	3.80	4.2	3.8	3.6	3.87

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations were omitted for simplicity.

¹Determined absorbance of sample solution added 0.1N HCl at 520 nm

²5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant.

나. 오디 드링크의 제조

앞서 Table 4의 3번째 원료 혼합비율에 따라 오디과즙(오디 과육 포함)에 당과 산을 적절히 첨가한 후 여기에 펙틴과 향을 첨가하여 고품질의 오디 드링크를 Fig. 2와같이 제조하였다.

다. 오디 드링크의 저장 중 이화학적 품질 변화

오디 드링크의 저장수명(shelf life)을 측정하기위해 저장 온도별(5℃ 및 25℃) 오디 드링크의 이화학적 품질 변화 및 관능검사를 실시한 결과는 Table 13과 같다.

먼저 저온 저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 당도, 산도, 색도 및 pH의 변화가 거의 없었으나 반면, 상온저장에서는 저장 중 당도 및 산도는 약간 증가하였으나 pH 및 흡광도는 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 저장 중 오디 드링크의 관능검사를 실시한 결과 저온저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 색, 향 및 맛의 뚜렷한 변화를 감지할 수 없었으나 상온저장의 경우 저장 초기에는 품질 변화를 거의 감지할 수 없었으나 저장 말기에는 색도는 큰 변화가 없었으나 향과 맛은 저장 초기에 비해 다소 변하여

품질 저하를 감지할 수 있었다. 따라서 오디 드링크는 저온 저장이 바람직하며, 상온 저장의 경우 저장 3개월부터 다소 품질 저하가 일어날 수 있으므로 천연보존료 또는 합성보존료의 사용이 요구된다.

Table 13. Changes in physico-chemical properties of mulberry drink during storage at 5°C and 25°C

Quality Index	Storage(day, 5°C)				Storage(day, 25°C)			
	0	30	60	90	0	30	60	90
Soluble solid(°Brix)	12.10	12.10	12.09	12.08	12.10	12.27	12.33	12.35
Acidity (%)	0.30	0.30	0.32	0.32	0.30	0.33	0.40	0.45
pH	3.83	3.80	3.79	3.77	3.83	3.73	3.63	3.51
Absorbance ¹ (520 nm)	0.15	0.14	0.13	0.11	0.15	0.16	0.13	0.14
Sensory analysis ²	5.0	4.8	4.7	4.5	5.0	4.7	4.3	4.0
	5.0	4.7	4.5	4.4	5.0	4.6	4.4	3.7
	5.0	4.6	4.5	4.5	5.0	4.8	4.6	3.7

The data was average of triplicate experiments. Standard deviations and statistical analysis were omitted for simplicity.

¹Absorbance of sample solution added with 0.1N HCl at 520 nm.

²Color, flavor, taste(5: very good, 4: good, 3: moderate, 2: bad, 1: very unpleasant).

마지막으로 앞의 제조방법에 따라 최종 제조된 오디 캡슐 및 오디 드링크는 Fig. 4 과 같다.



Fig. 4. Photograph of mulberry capsule and drink.

제 8 장 종합 결론

오디의 항당뇨, 항고지혈, 항산화 및 항노화작용을 평가하고 나아가 잠상산물의 첨가에 따른 오디의 생리활성의 상승작용을 밝힘으로서 오디 뿐만 아니라 오디 함유 잠상산물 복합제제를 이용한 고부가가치의 오디 가공품 및 기능성식품의 제조기술을 개발하고 그 시제품을 제조하기위하여 2개의 세부과제로 연구를 수행하였다. 제1세부과제에서는 오디 추출물의 항당뇨, 항혈전, 항염증 및 항산화활성을 *in vitro* assay를 이용하여 측정하였으며, 아울러 잠상산물(빵잎 및 누에가루)의 첨가에 따른 오디추출물의 생리활성의 상승작용을 평가하였다. 다음, 오디추출물의 항당뇨 효능을 동물실험을 통해 검증하였으며, 아울러 잠상산물 첨가에 따른 오디추출물의 항당뇨 개선 효과도 검증하였다. 마지막으로 오디추출물과 빵잎 분말 및 누에가루로 제조된 복합제제의 지질대사 개선 효과, 항노화 및 항산화 효과를 동물실험을 통해 평가한 후 그로부터 오디 복합제제의 유효적정기준치 및 활용방안을 확립하였다. 이상의 결과를 세부과제별로 나누어 정리하면 다음과 같다.

세부과제 1 : 오디로부터 제조된 우수기능성 건강보조식품의 성인병 예방 효능 규명

1. 오디추출물의 항당뇨 및 기타 생리활성 효능 검증 (*in vitro*)

1) 오디 추출물의 혈당저하 효과를 알아보기위해 쥐 간조직 glucose-6-phosphate 저해활성을 측정한 결과 오디 물 및 에탄올추출물은 효소 저해활성 우수하였으며, 또한 오디박추출물이 오디즙보다 효소 저해활성이 우수하였다. 또한, 잠상산물 혼합에 의한 오디추출물의 혈당강하 시너지 효과는 오디:빵잎:누에(1:1:1, w/w) 비율일 때 가장 효과적임이 밝혀졌다.

2) 오디추출물의 항산화 효과를 관찰하기위해 쥐 간조직의 microsome 지질과산화 억제작용 및 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과 오디 40% 메탈올 분획물이 우수하였다. 또한, 적혈구의 항산화 방어계는 오디즙, 오디박, 오디 과실분말 및 잠상산

물 혼합물에 의해 개선됨을 확인하였다.

3) 오디추출물의 항혈전 및 항응고 효과를 관찰한 결과 오디 80% 메탄올 분획물이 항혈전 및 항응고 효과가 가장 우수하였으며, 아울러 오디 물추출물도 항혈전 및 항응고 효과가 우수하였다. 오디추출물의 항혈전 및 항응고 효과는 잠상산물의 첨가에 따라 농도의존적으로 증가하였다.

4) 오디추출물의 soybena lipoxygenase 저해활성을 측정한 결과 오디 80% 메탄올 분획물이 가장 저해효과가 우수하였고, 또한 오디 물추출물이 뽕잎 및 누에 열수추출물보다 lipoxygenase 저해활성이 우수하였다.

2. 오디 이용 우수제조품의 동물실험을 통한 항당뇨 효능 검증 (*in vivo*)

1) 오디의 소장에서 당 흡수 억제효과 측정한 결과 오디박추출물이 proximal 부분에서 maltase 활성을 저해하였으며, 아울러 잠상산물의 혼합에 의한 당흡수의 저해 상승효과 관찰되었다.

2) 오디의 혈중 지질조성 개선효과를 관찰한 결과 오디즙 및 오디박추출물 모두 지질개선 효과 우수하였으며, 아울러 오디 과실분말의 혈중 TG, LDL-Cholesterol 및 AI 저하 효과도 우수하였다.

3. 오디이용 우수제조품의 동물실험을 통한 성인병 예방 효능 검증 및 평가 (*in vivo*)

1) 오디 복합제제(뽕잎 + 누에)의 지질대사 개선 효과를 측정한 결과 간조직 HMG-CoA reductase 활성저해, 간조직의 중성지질 저하 효과 및 간조직 콜레스테롤 저하효과가 우수하였으나 혼합그룹 사이의 유의성은 없었다.

2) 오디 복합제제의 항노화 효과를 관찰한 결과 간조직 lipofuscin 함량, 간조직 carbonyl value 함량 및 간조직 TBARS 함량을 저하했으나, 혼합그룹 사이의 유의성은 없었다.

3) 오디 복합제제의 항산화 효과 측정된 결과 SOD 활성과 GSH-px 활성 저해 효과가 있었으나 유의적인 차이는 없었다.

세부과제 2: 오디를 이용한 식품첨가제 및 고품질의 기능성 건강보조식품 제조기술 개발 및 제조

1. 오디를 이용한 고품질의 식품첨가물의 제조

1) 오디로부터 얻어진 에탄올추출물의 수율은 물추출물 보다 2배 이상 높았으며, 또한 오디로부터 제조된 오디즙의 물 및 메탄올추출물의 수율은 오디박 보다 약 30~40배 높았다. 한편, 페놀 함량은 오디즙보다 오디박추출물이 높았으며, 아울러 3가지 라디칼(DPPH, superoxide & hydroxyl) 소거활성도 오디박추출물이 오디즙보다 높았다.

2) 상주 및 영천에서 수확된 오디(청일뽕)의 일반성분 및 기능성성분을 분석한 결과, 상주 오디는 영천 오디 보다 수분 함량이 다소 적었으나 그 외 단백질, 지방, 당 및 무기질의 함량은 영천 오디 보다 약간 높았다. 또한, 상주 오디 과실이 영천 오디 보다 무게, 경도, 당도, 산도 및 페놀 함량이 전반적으로 높았으나, pH는 낮았다. 오디의 주요 당 성분은 glucose와 fructose이며, 미량의 sucrose 와 maltose 등이 존재하였으며, 그 함량은 상주오디가 영천오디 보다 약간 높았다. 오디의 주된 유기산은 citric acid, malic acid 및 oxalic acid로서, 당조성 함량과 달리 영천오디가 상주 오디 보다 약간 높았다. 한편, 오디로부터 2가지 주된 anthocyanin 색소[cyanidin 3-O-β-D-glucoside(P1) & cyanidin 3-O-β-D-rutinoside(P2)]를 분리 및 동정하였으며, 그 함량을 측정된 결과 상주 오디(P1: 332.6 ± 29.3mg%, & P2: 82.8

± 19.4 mg%)가 영천 오디(A: 231.8 ± 25.3 mg%, B: 80.6 ± 10.1 mg%) 보다 약 30% 가량 cyanidin 3-O-β-D-glucoside 함량이 높은 반면, cyanidin 3-O-β-D-rutinoside 함량은 거의 유사하였다. 오디로부터 6가지 flavonoid 화합물(rutin, isoquercitrin, astragalin, dehydroquercetin, morin 및 quercetin)을 분리 및 동정하였으며, 그 함량은 rutin(14-16 mg%) > quercetin(9-10 mg%) > isoquercitrin(7-9 mg%) > astragalin(5 mg%) ≥ dehydroquercetin(5 mg%) ≥ morin(5 mg%) 순으로 낮았다. 그리고 상주 오디가 영천 오디 보다 각 flavonoid 화합물의 함량이 대체로 높았다. 또한, 오디로부터 3가지 2-arylbenzofuran 유도체(4-prenylmoracin, mulberrofuran F, mulberrofuran U)를 분리 및 동정하였으며, 그 함량은 3~4 mg%로서 상주 오디가 영천 오디 보다 대체로 함량이 높았다. 마지막으로 GABA 및 DNJ의 함량은 10~40 mg% 범위로서 색소 및 플라보노이드와 달리 영천 오디가 상주 오디 보다 대체로 함량이 높았다.

3) 오디의 안토시아닌 색소의 안정성을 조사한 결과, 온도 및 열안정성은 우수하나 pH, 금속이온 및 효소에 대해서는 매우 불안정하였다. 열처리(10~15분)에 의해 오디 안토시아닌 색소의 고정화가 유도되었으며, 유기산 및 비타민 C 처리에 의해 색소 안정화를 도모할 수 있었다. 여러 다당류에 의한 오디 색소의 흡착력을 조사한 결과 chitosan의 흡착력이 약 80% 이상으로서 가장 강한 흡착력을 나타내었으며, 그 다음으로 chitin (약 70%) 나타내었으나 α-cyclodextrin 및 carboxymethylcellulose (CMC)는 거의 색소를 흡착하지 못했다.

4) 최소가공기술을 이용한 고품질의 오디첨가물(액기스 및 분말)의 제조기술 개발하기 위해 먼저 최소가공기술을 이용한 오디 주스 제조방법을 조사하였다. 먼저 오디 과실을 70% 에탄올로 수세한 후 과쇄하여 얻어진 오디의 추출액을 면포여과, 감압여과 및 원심분리를 각각 실시한 결과 원심분리가 가장 좋은 청징효과를 나타내었다. 그리고 여러 여과보조제 및 청징제를 첨가한 후 원심분리하여 얻은 오디 과실즙의 색의 변화는 처리한 여과보조제, 청징제 및 청징효소의 종류에 따라 차이가 있었으며, 특히 casein, gelatin, chitin, chitosan 및 PVPP는 오디 색소를 강하게 흡착

하였으며, 그리고 청징효소 중 α -amylase 처리구가 가장 좋은 청징 효과를 나타내었다. 다음, 오디 과즙을 원심분리 한 후 0.01 μm membrane filter를 실시한 결과 오디주스의 청징 효과가 매우 우수하였으나 ultrafiltration 처리방법은 오디 색소의 강한 흡착으로 적절하지 않았다. 한편, 4가지 갈변저해제 처리에 따른 오디 과실주스의 갈변억제 효과를 측정한 결과 200 ppm sodium hydrosulfite 처리구가 가장 갈변억제 효과가 우수하였으며, 아울러 0.1% L-ascorbic acid (L-AsA) 및 citric acid (CA)도 갈변 억제 효과가 있었다. 그리고 위의 3가지 갈변저해제를 2중 복합 병행 처리한 결과 0.1% L-AsA + 0.1% CA 처리구가 가장 좋은 갈변억제 효과를 나타내었다. 마지막으로 당산비를 조절하여 오디주스의 관능검사를 실시한 결과 오디주스의 최적 당/산비는 40~50 이었으며, 또한 상업적살균 온도 (85~90°C)에서 처리시간은 10분이 가장 적합함을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 다음과같이 오디 첨가물의 제조방법을 확립하였다. 즉, 생체 오디과실(1 kg)을 선별, 수세한 후 갈변저해제를 함유한 조미액 (오디:0.1% CA 및 0.01% L-AsA 함유 증류수=1:10, w/w)을 가하여 파쇄한 후 착즙 및 원심분리하여 (8,000 rpm, 10분) 얻어진 상등액에 당 (고과당)과 산 (citric acid 및 sodium citrate)를 가하여 당/산비를 40으로 조절한 후 열처리 (85~90°C, 30~60초)하여 오디주스(수율 약 90%)를 제조하고 난 후 spray dry 또는 동결건조하거나 감압농축하여 최종 분말 오디 첨가물 (60 g, 수율 6%) 또는 오디 엑기스 (200 g, 40° Brix, 수율 20%)를 제조함.

5) 오디 첨가물의 항산화 및 항당뇨 효능을 상승시키고 나아가 오디첨가물의 기호성을 개선시키고자 과실의 특성을 지니고 있으면서 특히 항산화 및 항당뇨 효능을 지니고 있는 4가지 생약 (복분자, 구기자, 오미자, 산수유) 물추출물의 첨가에(3가지 생약은 1~5%, 오미자는 0.1~0.5%) 따른 오디첨가물의 기능성 및 기호성 (맛, 색깔 및 향)의 증대 효과를 측정한 결과는 오디 첨가제에 각 생약추출물을 2%(오미자 0.2%) 첨가구가 가장 양호한 기능성과 기호성을 나타냄을 알 수 있었다.

6) 오디 첨가물의 저장 (5°C, 25°C) 중 이화학적 품질 특성(당도, pH, 산도, 색도, 및 흡광도)의 변화 및 관능검사를 실시한 결과, 저온 저장의 경우 오디 첨가물의 당

도 및 산도는 약간 증가하였으나 pH, 흡광도(안토시아닌 색소 척도) 및 색도는 거의 변화가 없었다. 그리고 색, 향 및 맛에 대한 관능검사를 실시한 결과 저장 기간 중 종합적인 관능은 약간 감소하였으나 별다른 품질의 변화를 감지할 수 없었다. 반면, 상온 저장의 경우 당도 및 산도는 저장 초기 증가한 후 말기에는 감소하는 경향을 나타내었으나 pH, 흡광도 및 색도("L")는 저장 전반에 걸쳐 감소하였다. 그리고 관능검사 결과 저장 1주일부터 품질의 변화가 일어나기 시작하였으며, 저장 말기에는 색을 제외하고 향과 맛의 크게 변함을 알 수 있었다. 따라서 오디 첨가물은 저온저장이 필수이며, 저장 기간은 약 1개월로 추정된다.

2. 오디를 이용한 고부가가치의 기능성건강보조식품의 제조

1) 고품질의 오디 과립차를 제조하기 위해 먼저 오디과즙 엑기스를 물로 희석한 후 여기에 정제포도당을 가하여 오디 과립분말을 제조하였다. 다음 오디과립 81%에 오디분말과 당 및 산의 농도를 조절하면서 제조한 과립차의 이화학적 품질 특성 및 관능검사를 실시한 결과, 오디 과립 81%에, 오디분말 2%, 설탕 3.39%, 올리고당 1.0%, 유당 5%, 비타민 C 6.3%, 구연산 0.2%, 오디향 0.01% 및 sodiumsilico-aluminate 1.0% 비율로 첨가하여 제조한 오디과립차가 가장 양호한 품질을 얻을 수 있었다.

한편, 위에서 제조된 오디 과립차의 저장(5℃, 25℃) 중 이화학적 품질 변화 측정 및 관능검사를 실시한 결과 먼저 저온(5℃) 저장 경우 저장 전반에 걸쳐 당, 산도 및 pH는 거의 변화가 없었으며, 색도 또한 다소 감소하나 큰 변화가 없었다. 그리고 색, 맛 및 향에 대한 종합적인 관능검사를 실시한 결과 저장 기간 동안 맛 과 색 품질의 저하가 거의 없었다. 반면, 상온(25℃) 저장시 당도는 저장 기간이 경과함에 따라 다소 증가한 후 감소하는 경향을 나타낸 반면, 산도는 저장 전반에 걸쳐 서서히 증가함에 따라 pH는 감소하는 경향을 나타내었다. 그리고 색도 "L"치는 저장 중 서서히 감소한 반면, "a"치는 증가하는 경향을 나타내었다. 다음, 관능검사 결과 상온 저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 저온 저장과 유사한 품질변화를 나타내었으나 저장 후반기에는 맛, 향 및 색깔이 다소 떨어지는 것을 확인할 수 있었다.

2) 고품질의 오디 정제환을 제조하기위해 먼저 오디분말에 뽕잎 분말 및 누에가루를 1:1:1, 2:1:1, 및 3:1:1(w/w) 비율로 혼합하여 제조한 후 색, 맛, 및 향 등의 이화학적 품질특성을 조사함과 동시에 제1세부과제에서 확인된 해당노용 오디정제환의 재료 혼합비를 감안하여 최적 오디정제환의 혼합비율(뽕잎:누에가루:오디=1:1:1, w/w)을 결정한 후 그로부터 찹쌀풀과 물을 가하거나 아니면 가하지 않고 그대로 고품질의 오디정제환을 제조하였다.

한편, 위에서 제조된 오디 정제환의 저장수명(shelf life)을 측정하기위해 저장 온도별(5℃ 및 25℃) 이화학적 품질 변화 측정 및 관능검사를 실시한 결과 저온(5℃) 저장 경우 저장 전반에 걸쳐 당도, 산도, pH 및 색도가 미비하게 감소하는 경향을 나타내었으나 뚜렷한 이화학적 품질 변화는 거의 없었다. 아울러 색, 향 및 맛에 대한 관능검사에서도 저장 전반에 걸쳐 뚜렷한 품질 저하현상을 볼 수 없었다. 반면, 상온 저장의 경우 당도, 산도, pH 및 색도가 저온 저장보다 다소 크게 감소하는 현상이 보였으나 뚜렷한 품질 변화는 나타나지 않았다. 그리고 관능검사에서는 저온 저장의 경우와 달리 저장 2개월부터 다소 품질이 저하됨을 알 수 있었으며, 저장 말기에는 누에가루에서 발생하는 것으로 예측되는 불쾌한 냄새를 다소 감지할 수 있었다.

3) 고품질의 오디 캡슐을 제조하기위해 먼저 오디분말에 뽕잎 분말 및 누에가루를 여러 비율로 혼합하여 제조한 후 이화학적 품질특성을 조사함과 동시에 제1세부과제에서 확인된 해당노용 오디 함유 잠상산물의 재료 혼합비(뽕잎:누에가루:오디=1:1:1, w/w)에 오디캡슐의 맛 및 조직감을 상승시키는 셀룰로오즈 및 만니톨을 부형제로 첨가하여(오디분말 10%, 뽕잎 분말 10%, 누에분말 10%, 결정셀룰로오즈 50%, 만니톨 20%) 오디캡슐을 제조하였다.

한편, 위에서 제조된 오디 캡슐의 저장수명(shelf life)을 측정하기위해 저장 온도별(5℃ 및 25℃) 이화학적 품질 변화 측정 및 관능검사를 실시한 결과, 저온 저장의 경우 당도, 산도, pH 및 흡광도는 저장 전반에 걸쳐 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 그렇게 뚜렷한 성분 변화를 감지할 수 없었다. 반면, 상온 저장의 경우 저장 기

간이 경과함에 따라 흡광도를 제외하고 당도, 산도 및 pH는 다소 크게 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 저장 중 오디 캡슐의 색, 향 및 맛에 대한 종합적인 관능검사를 실시한 결과 저온 저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 별다른 색, 맛 및 향의 변화를 감지할 수 없었으나 상온저장의 경우 저장 2개월부터 품질의 변화를 감지할 수 있었으며 특히 저장 3개월째 색을 제외한 맛과 향에 대해 상당히 품질 저하를 관찰할 수 있었다.

4) 고품질의 오디드링크를 제조하기위해 먼저 앞서 수립된 최소가공기술을 이용한 오디 주스 제조방법을 그대로 이용하되 제1세부과제에서 확인된 향당노 효능이 있는 오디박을 함유한 오디 즙액을 오디 착즙액 대신에 사용하여 여러 개의 시험구를 제조한 후 관능검사를 실시한 결과 다음의 재료비율 [오디즙(오디박 함유) 20%, 액상과당 7.35%, 설탕 5.5%, 구연산 0.15%, 구연산나트륨 0.05%, 펙틴 0.023%, 향료(KMC-1087) 0.12%, 이온수 66.807%]로 혼합하여 오디드링크를 제조하였다.

한편, 오디 드링크의 저장(5℃, 25℃) 중 이화학적 품질 변화 측정 및 관능검사를 실시한 결과 저온 저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 당도, 산도, 색도 및 pH의 변화가 거의 없었으나 반면, 상온저장에서는 저장 중 당도 및 산도는 약간 증가하였으나 pH 및 흡광도는 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 저장 중 오디 드링크의 관능검사를 실시한 결과 저온저장의 경우 저장 전반에 걸쳐 색, 향 및 맛의 뚜렷한 변화를 감지할 수 없었으나 상온저장의 경우 저장 초기에는 품질 변화를 거의 감지할 수 없었으나 저장 말기에는 색도는 큰 변화가 없었으나 향과 맛은 저장 초기에 비해 다소 변하여 품질 저하를 감지할 수 있었다.

참 고 문 헌

- Aebi H, Wyss SR, Scherz B, Skvaril F. 1974. Heterogeneity of erythrocyte catalase II. Isolation and characterization of normal and variant erythrocyte catalase and their subunits. *Eur J Biochem* 48(1): 137-145.
- Alegre M, Ciudad CJ, Fillat C, Guinovart JJ. 1988. Determination of glucose-6-phosphatase activity using the glucose dehydrogenase coupled reaction. *Anal. Biochem.* 173: 185-189.
- Asano N, Oseki K, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. 1994. N-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities. *Carbohydr. Res.* 259: 243-255.
- Block E, Lyer R, Grison S, Saha C, Belaman S, Lossing FP. 1988. Lipoxygenase inhibitor from the essential oil of galic. Markovnikov addition of the allyldithid radical to olefins. *J. Amer, Chem, Soc.,* 110(23): 7813-7819.
- Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Kor Soc Food Sci Nutr.* 28: 1310-1315.
- Chang EJ, Choi SW, No HK. 2000. Binding capacity of chitin and chitosan to anthocyanin pigment isolated from purple perilla leaves. *J Food Sci Nutr.* 5: 1-6.
- Chen F, Nakashima N, Kimura I, Kimura M. 1995. Hypoglycemic activity and mechanism of extracts from mulberry leaves (*folium mori*) and cortex *mori radicis* in streptozotocin-induced diabetic mice. *Yakugaku Zasshi* 115: 476-482.
- Chen F, Nakashima N, Kimura I, Kimura M, Asano N, Koya S. 1995. Potentiating effects on pilocarpine-induced saliva secretion, by extracts and N-containing sugars derived from mulberry leaves, in streptozotocin-diabetic mice. *Biol Pharm Bull* 18: 1676-1680.
- Choi JH, KIm DI, Park SH, KIm DW, Lee JS, Ryu KS, Lee WC, 1999, Effects of

- mulberry leaf extract on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of rats. *Kor J Seric Sci.* 41: 135-140.
- Chung SH, Kim MS, Ryu KS. 1997. Effect of silkworm extract on intestinal α -glucosidase activity in mice administrated with a high carbohydrate-containing diet. *Kor J Seric Sci* 39: 86-92.
- Dahlqvist A. 1974. Disaccharidase in "Method of enzymatic analysis" 2nd ed. Academic press 2: 916.
- Fletcher BL, Dillard CJ, Tappel AL. 1973. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Analytical Biochemistry*, 52(1): 1-9.
- Gerasopoulos, D, Stavroulakis, G. 1997. Quality characteristics of four mulberry (*Morus* spp) cultivars in the area of Chania, Greece. *J Sci. Food Agric* 73: 261-264.
- Harborne JB, *Advance in Flavonoids, Chapter 2, Anthocyanins*, Chapman & Hill, New York (1976)
- Havsteen B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* 32: 1141-1145.
- Hikino H, Mizuno T, Oshima Y, Konno C. 1985. Isolation and hypoglycemic activity of moran A, a glycoprotein of *Morus alba* root barks. *Planta Med* 51: 159-160.
- Hong V, R.E. Wrolstad. 1990 b. Use of HPLC separation/photodiode array detection for characterization of anthocyanin. *J Agric Food Chem* 38: 708-715.
- Hulcher FH, Oleson WH. 1973. "Simplified spectrophotometric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme A". *J Lipid Res* 14: 625-31.
- Hong, JH, Ahn JM, Choi SW, Rhee SJ. 2004. The effects of mulberry on the antioxidative defense system and oxidative stress in erythrocytes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutritional Sciences.* 7: 127-132.

- Hong JH, Kim SW, Choi KH, Choi SW, Rhee SJ. 2004. Effects of Mulberry Fruits on Disaccharidase Activities of Small Intestine and Blood Glucose-Lowering in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Food Sci and Nutr. (submitted)
- Hong JH, Kim SW, Choi KH, Choi SW, Rhee SJ. 2004. Inhibitory effects of mulberry fruit on intestinal disaccharidase activity and hyperglycemia in streptozotocin -induced diabetic rats. Nutritional Sciences 7(4): 201-207.
- Kim TY, Kwon YB. 1996. A study on the antidiabetic effect of mulberry fruits. Kor. J Seri Sci. 38: 100-107.
- Kim SY, Park KJ, Lee WC. 1998. Antiinflammatory and antioxidative effects of Morus spp. fruit extract. Kor J Med Crop Sci. 6: 204-209.
- Kim HB, Bang HS, Lee HW, Seuk YS, Sung GB. 1999. Chemical characteristics of mulberry syncarp. Kor. J. Seri Sci. 41: 123-128.
- Kim HB. 2000. Sensory characteristics of mulberry fruit jam and wine. Kor. J. Seri Sci. 42: 73-77.
- Kim HB, Kim AJ, Kim S. 2003. The analysis of functional materials in mulberry fruit and food product development trends. Food Science and Industry 36(3): 49-60.
- Kim HB, Lee YW, Lee YJ, Moon JY. 2001. Physiological effects and sensory characteristics of mulberry fruit wine with Chongilpong. Kor. J. Seri Sci. 43: 16-20.
- Kim HB, Kim SY, Ryu KS, Lee WC, Moon JY. 2001. Effect of methanol extract from mulberry fruit on the lipid metabolism and liver function in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. Kor. J. Seri Sci. 43: 104-108.
- Kim HY. 1997. In vitro inhibitory on rat intestinal mucosa α -glucosidase by rice hull extract. Korean J Food SCI Technol 29(3): 601-608.
- Kim SK. Bonchohak, Chapter 17, Beneficial medicine, Mulberry fruit, Younglim Press pp 598 (1991)

- Kim SY, Gao JJ, Lee WC, Ryu KS, Lee KR, Kim TC. 1999. Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba*. *Arch Pharm Res* 22: 81-85.
- Kim SY, Ryu KS, Lee WC, Ku HO, Lee HS, Lee KR. 1999. Hypoglycemic effect of mulberry leaves with anaerobic treatment in alloxan-induced diabetic mice. *Kor J Pharmacogn* 30: 123-129.
- Kim SY, Park KJ, Lee WC. 1998. Antiinflammatory and antioxidative effects of *Morus Spp.* fruit extract. *Korean J. Medicinal Crop Sci* 6(3): 204-209.
- Kim TW, Kwon YB, Lee JH, Yang IS, Youm JK, Lee HS, Moon JY. 1996. A study on the antidiabetic effect of mulberry fruits. *Korean J. Seric. Sci.* 38(2): 100-107.
- Kimura M, Chen FJ, Nakashima N, Kimura I, Asano N, Koya S. 1995. Antihyperglycemic effects of N-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozocin-induced diabetic mice. *J Trad Med* 12: 214-219.
- Kimura Y, Okuda H. 1986. Effects of phenolic constituents from the mulberry tree on arachidonate metabolism in rat platelets. *J Nat Prod.* 49: 639-644.
- Kimura Y, Okuda H, Nomura T, Fukai T, Arichi S. 1986. Effects of flavonoids and related compounds from mulberry tree on arachidonate metabolism in rat platelet homogenates. *Chem Pharm Bull.* 34: 1223-1227.
- Ko KC. Production and utilization of mulberry. 1997. Final Report of Ministry of Agriculture and Fishery, School of Agricultural Bioscience, Seoul National University
- Kwon YJ, Rhee SJ, Chu JW, Choi SW. 2005. Comparison of Radical Scavenging Activity of Extracts of Mulberry Juice and Cake Prepared from Mulberry(*Morus spp.*) Fruit. *J Food Sci & Nutr* 10: 111-117.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47(3): 469-474.
- Lawrence RA, Burk RF. 1976. Glutathione peroxidase activity in

- selenium-deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 71(4): 952-958.
- Lee JS, Choi MH, Chung SH. 1995. Blood glucose-lowering effects of Mori Folium. *Yakhak Hoeji* 39: 367-372.
- Lee HW, Shin DH, Lee WC. 1998. Morphological and chemical characteristics of mulberry (*Morus*) fruit with varieties. *Kor J Seric Sci.* 40: 1-7.
- Lee JY, Moon SO, Kwon YJ, Rhee SJ, Park HR, Choi SW. 2004. Identification and quantification of anthocyanins and flavonoids in mulberry (*Morus* sp.) cultivars. *Food Sci Biotechnol* 13(2): 176-184.
- Levin RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn B, Shaltiel S, Stadtman ER. 1986. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 464-478.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Nomura T, Fukai T, Hano Y, Urano S. 1983. Constituents of the Chinese crude drug "Sang-Bai-Pi" (*Morus* root bark). *Plant Med.* 47: 95-99.
- Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351.
- Park JC, Choi JS, Choi JW. 1995. Effect of the Fractions from the leaves, fruits, stems and roots of *Cudrania tricuspidata* and flavonoids on lipid peroxidation. *Korean J. Pharmacogn* 26(4): 377-384.
- Park KJ, Lee YK. 1996. Difference in morphological and quality characteristics of mulberry fruit by ploidy levels of mulberry tree. *RDA J Agric Sci.* 38: 307-317.
- Park KJ, Sung KB, Lee YK. 2001. Fertility and characteristics of mulberry fruits on Daejappong and Garmbaeppong (*Morus* spp.). *Kor J Seric Sci.* 43: 93-98.
- Park KJ. 2001. Characteristics of mulberry fruits on Daeseongppong, Daebungppong, Daeokppong and Shingwangppong (*Morus* spp.). *Kor J Seric*

- Sci. 43: 99-103.
- Park KJ, Sung GB, Lee YK. 2002. The fertility and the characteristics of mulberry fruit on the Suwonppong for silkworm rearing (*Morus* spp.). *Kor J Seric Sci.* 44: 19-21.
- Park SW, Jung YS, Ko KC. 1997. Quantitative analysis of anthocyanins among mulberry cultivars and their pharmacological screening. *J Kor Soc Hort Sci* 38: 722-724.
- Park WJ, Lee HJ, Yang SG, 1990, The inhibitory effect of sanggenon C from the root-bark of *Morus alba* L. on the growth and the cellular adherence of *Streptococcus mutans*. *Yakhak Hoeji* 34: 434-438.
- Ryu KS, Lee HS, Chung SH, Kang PD. 1997. An activity of lowering blood-glucose levels according to preparative conditions of silkworm powder. *Kor J Seric Sci* 39: 79-85.
- Ryu JW, Yook CS, Chung SH, 1998, Effect of *Mori Folium* ethanol soluble fraction on mRNA expression of glucose transporters, acetyl-CoA carboxylase and leptin. *Yakhak Hoeji* 42: 589-597.
- Satoh K. 1978. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chimica Acta* 90(1): 37-43.
- Sharma R, Sharma A, Shono T, Takasugi M, Shirata A, Fujimura T, Machii H. 2001. Mulberry moracins: Scavengers of UV stress-generate free radicals. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 1402-1405.
- Shin YW, Lee SK, Kwon YJ, Rhee SJ, Choi SW. 2005. The Isolation of Phenolic Compounds from Mulberry (*Morus* spp.) Cake and the Evaluation of Their Radical Scavenging Activity. *J Food Sci & Nutr* (submitted)
- Slater TF, Sawyer BC. 1971. The stimulatory effects of carbon tetrachloride and other halogenoalkanes on peroxidative reactions in rat liver fractions in vivo. *Biochem J* 123: 805.
- Tagashira M, Ohtake Y. 1998. A new antioxidative 1,3-benzodioxole from *Melissa*

- officinalis. *Planta Medica* 64: 555-558.
- Thrompson AR, Harker LA. 1983. In *Manual of hemostasis and thrombosis*. 3rd ed. Philadel[hia UAS 178-185.
- Wimalasiri P, Wills RBH. 1983. Simultaneous analysis of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in fruit and vegetables by high-performance liquid chromatography. *J. Chrom* 246: 368-371.
- Yamatake Y, Shibata M, Nagai M. 1976. Pharmacological studies of root bark of mulberry tree (*Morus alba* L.). *Jap J Pharmacol* 26: 461-469.
- Yen GC, Wu SC, Duh PD. 1996. Extraction and identification of antioxidant components from the leaves of mulberry (*Morus alba* L.). *J Agric Food Chem* 44: 1687-1690.
- Yun S.J. Lee WC. 1995. Studies on the utilization of pharmacologically active constituents in mulberry. 1. Varietal and seasonal variations of flavonoid glycoside content in leaves. *RDA. J Agri Sci. (Post Doc.)* 37: 201-205.
- 강경수. 1999. 본초학, 오디향. 영림출판사.
- 강소신의학원. 1985. 중약대사전, 소학관 p. 3717.
- 권은혜, 이순재, 최상원, 조성희. 오디, 뽕잎 및 누에의 혼합비율에 따른 streptozotocin 유발 당뇨쥐에서의 항산화 효과 및 지질대사개선 효과. 한국영양학회(2005) 논문 투고
- 고광출. 1994. 뽕나무과실의 과수화와 이용기술연구(I) 뽕나무 과수화 기초연구 농업특정연구개발사업보고서. 농촌진흥청.
- 김상운, 이순재. 오디즙 및 오디박이 Streptozotocin 유발 당뇨쥐 간조직의 항산화 효소 활성과 지질 및 단백질 과산화에 미치는 영향, 한국식품영양과학회(2005) 논문 투고
- 김인숙, 이준영, 이순재, 윤광섭, 최상원. 2004. 최소가공기술을 이용한 오디 과실주스의 제조. *한국식품과학회지*. 36(2): 321-328.
- 박광재, 이영균. 1997. 한반도에서 자생하는 뽕나무 3품종이 자연교잡된 때의 유성과 오디의 과실 특성. *한국잠사학지* 39: 106-113.

- 유선미, 장창문. 1996. 오디를 이용한 가공식품개발. 농촌생활과학연구소.
- 이순재, 최상원. 2004. 잠상산물을 포함하는 향당뇨 조성물, 국내특허, 특허출원일 (2004. 8. 11), 출원번호(10-2004-0063307).
- 이창복, 대한식물도감, Plant in Korea, Haingmun Press, p. 280 (1985)
- 채서일, 김범룡. SPSS/PC를 이용한 통계분석. 법문사, 1988.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.