

발 간 등 록 번 호

11-1541000-001248-01

자색고구마 안토시아닌을 활용한
항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화
(Industrialization of health functional materials
and foods using the antioxidant activity of
anthocyanin from purple sweet potato)

한국국제대학교 산학협력단

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “자색고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화” 과제의 보고서로 제출합니다.

2011년 12월 19일

주관연구기관명 : 한국국제대학교

주관연구책임자 : 정 영 철

연 구 원 : 전 성 식

연 구 원 : 강 신 권

연 구 원 : 서 종 권

연 구 원 : 최 준 민

연 구 원 : 진 순 우

연 구 원 : 김 세 종

연 구 원 : 조 명 제

연 구 원 : 박 준 범

협동연구기관명 : 충남대학교

협동연구책임자 : 정 혜 광

연 구 원 : 김 형 균

연 구 원 : 최 재 호

연 구 원 : 도민트롱

연 구 원 : 박 봉 환

연 구 원 : 양 지 혜

참 여 기 업 : 지산식품 김승교

참 여 기 업 : 영농법인 고운 하인수

요 약 문

I. 제 목

자색고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 농림기술개발과제(105016-3/2005~2008년)의 성공적 수행으로 자색고구마로부터 천연 안토시아닌 색소의 대량생산과 전용공장이 신축·가동(월 100톤 생산가능)됨에 따라 안토시아닌 색소의 다양한 기능성에 대한 선행 연구결과와 색소 대량생산 시에 파생되는 추출박을 이용하여 고기능성/고부가가치의 건강기능식품과 추출박 활용 산업화기술을 확립하고 그 메커니즘을 규명하여 이를 소재로 한 기능성 제품 개발에 관한 과학적인 근거를 마련하여 자색고구마 재배농가의 확대와 안정적 농가수입 증대에 기여하고자 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 자색고구마 및 추출박을 이용한 안토시아닌 함유 가공식품의 개발 및 상품화

- 자색고구마로부터 안토시아닌 물질의 대량 분리방법 확립(추출·농축)
- 추출 및 분리방법에 따른 지표물질 및 확인물질의 특성
- 지표물질 및 확인물질의 기준·규격 설정
- 자색고구마 추출박의 성분분석
- 자색고구마 추출박의 알콜 발효조건 최적화
- 자색고구마 막걸리의 특성 및 제품검사 표준화
- 자색고구마 식초의 초산발효조건 확립
- 자색고구마 식초의 초산발효조건 최적화
- 최적 발효조건에서의 제품특성 및 품질검사 표준화
- 초산발효에서의 안토시아닌 색소의 안정성 배가 실험
- 자색고구마 막걸리 및 자색고구마 식초의 대량생산공정 표준화
- 개발제품의 자가품질검사 기준·규격 확립
- 시제품 제작 및 포장디자인 개발
- 완제품 생산, 판매촉진을 위한 이벤트 공동추진 및 유통현황·시장조사

2. 자색고구마 안토시아닌의 항산화 기능성 검증 및 기능성 성분·원료의 *in vitro*, *in vivo* 기능성 조사

- ROS 소거능 및 superoxide 소거능 측정
- 세포사멸능 측정(MTT Assay, LDH) 및 GSH, 지질과산화 측정
- DNA 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과 조사
- 세포사멸 관련 Fas/FasL에 대한 자색고구마 안토시아닌의 영향 조사
- 자색고구마 안토시아닌의 항산화 효소계에 대한 영향 조사
- *in vivo* 실험동물에서 산화적 손상 물질에 의한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과 조사
- 산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 안토시아닌의 기능성 성분·원료의 영향
- 안토시아닌의 기능성 성분·원료의 항산화 효소계에 대한 영향

IV. 연구개발결과

1. 자색고구마 및 추출박을 이용한 안토시아닌 함유 가공식품의 개발 및 상품화

- 자색고구마 안토시아닌 색소의 추출정도는 색소추출액의 색소함량을 표시하는 지표로 사용되는 TOD(총 흡광도, TOD : Total Optical Density)값을 측정하여 조사한 결과 자색고구마 안토시아닌 색소의 최대 흡광도 값인 7에 대한 추출액의 TOD는 6.35 ± 0.50 으로 회수율은 약 90.7%로 나타났다.
- 자색고구마의 안토시아닌 색소는 peonidin의 기본구조에 ferulic acid와 caffeic acid가 아실화된 구조를 갖고 있어 매우 안정한 형태의 색소로 peonidin-3-diglucoside-5-glucoside의 구조로 자색고구마에 함유된 안토시아닌 중 peonidin계 색소가 가장 많이 함유되어 peonidin의 특성상 물에 매우 잘 녹아 식품으로 응용하기 매우 용이하므로 자색고구마 안토시아닌 색소의 기능성분을 peonidin으로 선정하였다.
- 지표물질에 관한 자료를 확립하기 위하여 자색고구마 주정추출물을 원료로 설정하였으며 기능성분의 경우 자색고구마로부터 주정 추출하여 농축한 peonidin-3-diglucoside-5-glucoside로 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정을 토대로 식용에 적합하도록 제조하여 기준·규격을 설정하였다.
- 안토시아닌 색소의 경우 자색고구마뿐만 아니라 다양한 식물체에 함유되어 있으므로 특정 품종에 관한 분석법의 표준화가 어려우므로 본 연구에서는 기존에 보고된 여러 가지 분석방법을 검토하여 가장 효율적인 분석방법인 A.O.A.C법과 HPLC법을 사용하여 표준화 하였다.
- 본 과제의 협동연구팀의 *in vitro* 항산화 기능성 평가의 결과에 따라 자색고구마의 지표물질(기능성분)인 안토시아닌 색소는 800ug/ml의 농도에서 세포독성이 나타나지 않았으며 ROS 소거능, Superoxide 소거능, 과산화활성, DPPH 등의 항산화 활성 실험에서는 50ug/ml부터 농도 의존적으로 유의성 있는 결과를 나타내었으며 이러한 연구결과는 *in vivo* 동물실험의 섭취량에 대한 기초 자료로 활용하였다.
- 자색고구마 추출박의 영양성분을 분석한 결과 열량은 330kcal/100g, 탄수화물은 81.7g/100g, 조단백질은 5.4g/100g, 당류는 4.4g/100g, 식이섬유는 22.7g/100g으로 나타났다.

- 자색고구마와 자색고구마 추출박으로 제조한 막걸리의 발효과정 동안 pH의 변화를 측정한 결과 발효 초기에 pH는 4.51로 유의적으로 감소하여 발효 최종일에 pH는 3.85를 나타내었다.
- 자색고구마와 자색고구마 추출박으로 제조한 막걸리의 발효 중 산도 변화는 담금 직후 0.3% 였으나, 발효 1일째에는 0.4%로 약간 증가한 후 점차적으로 증가하여 발효 15일째에는 4.2% 수준이었다.
- 자색고구마 및 자색고구마 추출박을 이용한 막걸리 발효 시에 발효초기 당도는 4.8 brix 였으나, 보통 알콜 발효가 진행됨에 따라 감소하는 당도가 오히려 증가하는 경향을 보였다. 이러한 현상은 자색고구마와 그 추출박에 함유된 전분이 연속적으로 당화가 촉진된 결과에 기인된 것이며, 발효 15일째에는 6.2 brix 까지 증가하였다.
- 자색고구마와 자색고구마 추출박으로 제조한 막걸리의 알콜함량은 발효 1일째에는 4.3% 였고, 발효 2일째에 알콜 함량은 6.0% 정도로 급격히 증가한 후 증감의 양상이 다소 있었으며, 그 이후부터는 알콜의 증가가 미미하여 발효 15일째 에는 6.5% 수준까지 도달하였다. 본 실험의 결과 자색고구마 막걸리의 알콜 생성속도는 다소 느리지만 최종 알콜 함량은 6.5% 정도로 약주의 보존성 및 향미가 적합한 것으로 사료된다.
- 자색고구마 막걸리 유래 야생 초산균을 순수분리 하기 위해서 1차년도에 선행 실험결과를 기초로 하여 최적 주모 및 종초의 담금 조건을 설정하고 자색고구마 추출박과 건조분말을 배합한 자색고구마 혼합물과 증류수를 1:20으로 혼합하고 설탕으로 20Brix 까지 보당한 뒤, 미리 만든 주모 0.1%를 다시 혼합하여 25℃, 250rpm으로 15일간 발효시킨 후 사용하였고 자색고구마 종초는 9.1 brix, pH 4.02, 총산 18%, alcohol 7.5%로 나타났다.
- 자색고구마 유래 야생 초산균의 1차 분리는 자색고구마를 15일간 발효시켜 제조한 종초로부터 초산균 분리용 배지에 접종하여 colony를 형성한 6개의 균주를 순수 분리하였고, 1차로 분리된 단일 colony를 YPM 액체 배지에서 30℃, 48시간 진탕배양한 후 2차 분리를 하였다.
- 자색고구마 유래 야생 초산균의 2차 분리는 GYP배지에 도말, 배양하여 얻은 6종의 자색고구마 유래 야생 초산균 중 WT-01, WT-02, WT-03 3종은 clear zone의 크기가 2.0 mm 이상으로 우수한 초산 생성능을 나타내었으며, 특히 WT-01은 4.8 mm의 clear zone을 형성하면서 가장 우수한 활성을 나타내었다.
- Paper disc법에 의한 초산균의 발효능은 초산 생성능 실험을 통해 2차 분리된 3종의 초산균 WT-01, WT-02, WT-03에 대하여 disc 주변에 생성된 여러 개의 환을 분석한 결과,

WT-01과 WT-02의 growth zone은 각 각 1.8 mm, 1 mm, clear zone은 3.4 mm, 2.4 mm, effect zone은 0.1 mm, 0.2 mm을 형성한 반면 WT-3의 경우 growth zone은 1.2 mm, clear zone은 1.8 mm, effect zone은 0.1 mm를 형성하여 우수한 초산 발효능을 나타내었다.

- 기질의 소비량 및 성분변화에 의한 초산균의 발효능을 조사하기 위하여 자색고구마 발효액에 2차 분리·선발한 3종의 초산균을 접종한 후 15일 동안 pH, 총산, brix, alcohol, 생균수(초산균)의 변화를 측정된 결과 3종의 발효액 brix는 모두 6 ± 0.5 으로 지속적인 증가를 보였고 alcohol 함량은 초산균 접종 후 2 ~ 3% 상승 하였다가 발효 후반 다시 감소하였다. 또한 pH는 초산균을 접종한 후 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었고, 각 균주간의 유의적인 차이는 없었으며, 총산은 초산균 접종 15일 후 접종전과 비교하여 4배 가량 증가하여 7.6% 이상의 초산 생성능을 보였고, 특히 WT-01를 접종한 발효액의 경우 9.0% 로 가장 높았다. 초산균의 생균수는 발효 7일째 변곡점이 나타나 생균수가 급격하게 상승하여 15일 이후 각 발효액에서 1.0×10^5 CFU/ml 이상 검출되었다.
- 원액-WT-01과 원액-KCTC 1010의 발효력을 비교한 결과 brix는 5.7 ± 0.2 , pH는 3.84 ± 0.06 로 초산균 접종 전과 후 변화가 거의 없었고, alcohol 함량은 초산균 접종 후 2 ~ 3% 상승 하였다가 발효 후반 다시 감소하였으며 총산은 초산균 접종 후 4배 가량 증가하였다. 이러한 결과로부터 자색고구마 유래 야생 초산균 WT-01은 *Acetobacter aceti*(KCTC 1010)와 비교하여 유사한 발효 특성을 가지고 있으며 발효기간 동안 0.5 ~ 1.0% 정도 더 많은 초산을 생산하였다.
- 자색고구마 유래 초산균 3종 중 가장 발효력과 품질이 뛰어난 WT-01과 미생물자원센터에서 분양받은 *Acetobacter aceti*(KCTC No.1010)를 배양하여 접종한 후 Brix, pH, 총산, Alcohol의 변화를 측정된 결과 원액-WT-01과 원액-KCTC, NO.1010의 Brix는 5.7 ± 0.2 , pH는 3.84 ± 0.06 로 초산균 접종 전과 후 변화가 거의 없었고, Alcohol은 초산균 접종 후 Alcohol 함량이 2~3% 상승 하였다가 발효 후반 다시 감소하였으며 총산은 초산균 접종 후 4배 가량 증가하였다.

2. 자색고구마 안토시아닌의 항산화 기능성 검증 및 기능성 성분·원료의 *in vitro*, *in vivo* 기능성 조사

- *in vitro* 세포내 산화적 스트레스에 대한 보호 효과를 조사하기 위하여 간세포를 이용하여 자색고구마 안토시아닌의 세포독성 실험한 결과 800 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서도 세포독성이 나타나지 않았다.
- 간세포에서 산화적 손상을 일으키는 t-BHP 에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간세포 보호 효과를 알아보기 위해 세포독성 측정 지표인 MTT assay 와 LDH leakage를 측정한 결과, t-BHP 에 의해서 증가된 세포독성이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 감소하였고 t-BHP 에 의해서 증가된 LDH leakage 가 자색고구마 안토시아닌에 의해서 간세포 독성이 감소하였다.
- 자색고구마 안토시아닌을 전 처리 한 경우 처리한 농도에 비례하여 간세포 내에 존재하는 ROS의 양이 유의성 있게 감소하였고(Fig. 5), 또한 자색고구마 안토시아닌의 항산화 효과를 DPPH bleaching 실험을 통해 확인한 결과 자색고구마 안토시아닌이 항산화 효과가 있는 것으로 나타났다.
- 간세포에서 t-BHP에 의한 산화적 스트레스에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간세포 보호효과를 알아보기 위해 GSH, 지질과산화물 측정한 결과, t-BHP의 처리에 의해서 감소한 세포내 GSH 함량이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 회복이 되었으며, t-BHP에 의해서 증가한 지질과산화 정도가 자색고구마 안토시아닌에 의해서 감소함을 확인하였다.
- 자색고구마 안토시아닌의 산화적 스트레스에 의한 세포 손상에 의한 보호효과를 연구하기 위해 DNA 손상의 중요 신호 매개체인 caspase 활성을 조사한 결과, 간세포의 손상을 유발하는 t-BHP에 의해서 caspase 활성 측정이 증가하였으며, 자색고구마 안토시아닌에 의해서 caspase 활성 측정이 감소 하는것을 확인하였다.
- 간 세포배양을 통한 간 기능 관련 항산화 효소계인 GST, NQO, HO-1의 유전자 및 단백질 발현을 측정한 결과 자색고구마 안토시아닌에 의해서 항산화 효소인 HO-1, GST, NQO1의 유전자 및 단백질 발현이 증가하는 것으로 나타났으며 GST, NQO, HO-1의 활성을 luciferase assay를 통해 확인 한 결과 자색고구마 안토시아닌에 의해서 항산화 효소인 HO-1, GST, NQO1의 promoter 활성이 증가함을 확인하였다.

- 자색고구마 안토시아닌에 의한 항산화 효소들의 발현이 Nrf2에 의한 조절을 조사한 결과 자색고구마 안토시아닌에 의해서 항산화 효소들의 발현을 조절하는 전사조절인자인 Nrf2의 핵 안으로의 이동이 증가함을 확인하였다.
- 간 기능 관련 항산화 효소 발현의 상위신호전달체계인 MAPK kinase 활성화에 대한 자색고구마 안토시아닌의 영향을 조사한 결과 자색고구마 안토시아닌에 의해서 3가지 MAPK (ERK1/2, JNK1/2, p38) 의 인산화가 증가되는 것으로 나타났다.
- *in vivo* 실험동물에서 DMN에 의한 산화적 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간보호 효과를 확인하기 위하여 혈청 및 간조직에서 ALT, LDH, 지질과산화를 측정한 결과, DMN에 의해서 증가한 혈청 ALT, AST 및 지질과산화 값이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 농도 의존적으로 감소함을 확인하였다.
- *in vivo* 실험동물에서 DMN에 의한 산화적 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간보호 효과를 확인하기 위하여 GSH 함량 및 GST 효소의 활성을 측정한 결과, DMN에 의해서 감소한 GSH 함량 및 GST 효소 활성이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 농도 의존적으로 회복됨을 확인하였다.
- *in vivo* 실험동물에서 DMN에 의한 산화적 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간보호 효과를 확인하기 위하여 항산화 효소 (HO-1, NQO1, GST)의 발현, Nrf2의 활성을 측정한 결과, DMN에 의해서 감소한 Nrf2 전사조절인자의 유전자발현 및 핵 내로의 이동이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 농도 의존적으로 Nrf2 유전자 발현은 증가하였으며, 핵 내로의 이동 또한 증가하는 것으로 나타났으며 또한 전사조절인자인 Nrf2의 조절을 받는 항산화 효소인 HO-1, NQO1, GST alpha의 유전자 발현 및 단백질발현이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 증가하였다.
- *in vivo* 실험동물에서 DMN에 의한 산화적 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간보호 효과를 확인하기 위하여 염증 관련 인자인 COX-2, iNOS의 발현을 측정한 결과, DMN에 의해서 증가한 COX-2, iNOS의 유전자 및 단백질 발현이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 농도 의존적으로 감소함을 확인하였다.
- *in vivo* 실험동물에서 간 손상유발 물질 (t-BHP)에 의한 자색고구마 안토시아닌의 간 손상 보호 효과를 조사하기 위하여 간 손상의 지표인 ALT 및 AST 효소의 활성을 측정한 결과, t-BHP에 의해서 증가한 ALT, AST 효소의 활성이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 감소함을 확인하였다.

- *in vivo*에서 간 손상유발 물질에 의한 간 손상 보호효과 조사하기 위하여 간 손상의 지표인 GSH 함량 및 지질과산화를 측정 한 결과, t-BHP만을 단독 처리한 군에서 감소한 GSH 함량이 자색고구마 안토시아닌 전처리에 의해서 GSH 함량이 회복되었으며 t-BHP만을 단독 처리한 군에서 증가한 지질과산화가 자색고구마 안토시아닌 전처리에 의해서 지질과산화 정도가 감소하는 것으로 나타났다.
- 간성상세포에서 간성상세포 성장인자인 PDGF-BB에 의한 안토시아닌의 간성상세포 증식억제 효과를 측정 한 결과, 안토시아닌 처리에 의해서 간성상세포의 세포 증식이 감소하는 것으로 나타났으며 PDGF-BB에 의해 증가된 간 성상세포의 alpha smooth muscle actin (α-SMA)의 발현이 안토시아닌 투여 농도 의존적으로 α-SMA의 발현이 감소하는 것을 western blotting을 통하여 확인하였다.
- 안토시아닌의 α-SMA의 발현을 조절하는 상위 신호 전달자인 Akt 및 MAPKs의 활성화에 미치는 영향을 조사한 결과 PDGF-BB에 증가한 Akt, ERK1/2, JNK1/2, p38 MAPKs의 인산화가 증가하였으며, 안토시아닌 처리에 의해서 증가한 Akt 와 ERK1/2의 인산화는 감소하는 것으로 나타났으나 JNK1/2 와 p38 MAPK의 활성화에는 영향이 없었다. 상기의 결과를 재 확인하기 위해 Akt 저해제인 LY294002와 ERK/12 저해제인 PD98059를 처리한 결과 PDGF-BB에 의해서 증가한 α-SMA의 단백질의 발현이 LY294002와 PD98059 처리에 의해서 감소하였고 세포 증식을 또한 LY294002와 PD98059 처리에 의해서 감소하는 것으로 나타났다.
- PDGF-BB의 수용체 (receptor)인 PDGFR의 활성화에 대한 안토시아닌의 영향을 측정 한 결과, PDGF-BB에 의해서 증가한 PDGFR의 인산화가 안토시아닌 처리에 의해서 감소하였으며 상기의 결과를 확인하기 위하여 PDGFR의 저해제를 처리 한 결과, PDGF-BB에 의해서 증가한 PDGFR의 인산화가 감소하였고 하위 신호전달자인 Akt 및 ERK1/2의 인산화도 감소시켰으며 또한 α-SMA의 발현 감소 및 간성상세포의 성장을 억제시키는 것으로 나타났다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 실용화 실적

	생산제품	실적	성과활용계획
1	자색고구마 진액	1건	기술지도(생산 판매중)
2	자색고구마 액상차	1건	기술지도(생산 판매중)
3	자색고구마 환	1건	기술지도(생산 판매중)
4	자색고구마 막걸리	1건	기술지도(생산 판매중)
5	자색고구마 알갱이 음료	1건	기술지도(생산예정)
6	자색고구마 분말(잡곡면용)	1건	기술지도(생산 판매중)
7	자색고구마 절편(잡곡밥용)	1건	기술지도(생산 판매중)
8	자색고구마 식초	1건	기술지도(생산예정)

2. 지식재산권 성과

	특허명	특허출원번호	실적	성과활용계획
1	자색고구마를 이용한 막걸리 제조방법	2009-0114371	1건	상품생산지도
2	자색고구마 알갱이 음료 제조방법	2009-0114372	1건	상품생산지도
3	자색고구마를 이용한 식초 제조방법	출원 중	1건	상품생산지도

3. SCI 논문 게재 성과

계재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	구분	SCI 구분	
		주저자	교신저자	공동저자					
1	2010.11.	Anti-fibrotic effects of the anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato on hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine in rats	최재호	정혜광	최철웅, 정영철	Food and chemical toxicology	48 (11), 3137 - 3143	국외	SCI
2	2011. 01	Anthocyanins from purple sweet potato attenuate dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats by inducing Nrf2-mediated antioxidant enzymes and reducing COX-2 and iNOS expression	황용필	정혜광	최재호, 윤효정, 한은희, 김형균, 김진영, 박봉환, 티락카날, 최준민, 정영철	Food and chemical toxicology	49(1):93-99	국외	SCI
3	2011.01	Anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuates the proliferation of hepatic stellate cells by blocking the PDGF receptor.	최재호	정혜광	최재호, 황용필, 박봉환, 최철웅, 정영철, 정혜광	Environmental Toxicology and Pharmacology	31(1):212-219.	국외	SCI
4	2010.07	Metformin inhibits PMA-induced matrix metalloproteinase-9 activation through a calcium and PKCa/ERK/AP-1-dependent pathway.	황용필	정혜광	황용필, 정혜광	British Journal of Pharmacology	160(5):1195-1211.	국외	SCI
5	2011.09	Protective mechanisms of anthocyanins from purple sweet potato against <i>tert</i> -butyl hydroperoxide-induced hepatotoxicity.	황용필	정혜광	황용필, 최재호, 최준민, 정영철, 정혜광	Environmental Toxicology and Pharmacology	49(9):2081-9.	국외	SCI

4. 국내·외 학술회의 논문 게재 성과

발표일	제 목	저 자			학술회의명	국내외 구분
		주저자	교신 저자	공동저자		
1 2010.3.7-11	Protective effects of the anthocyanin from Purple-Fleshed sweet potato on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Ji Hye Yang, YongPilHwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung	The 49h Annual Meeting of Society of Toxicology	국외 (미국)
2 2010.6.19-23	Inhibitory effects of the anthocyanin from Purple-Fleshed sweet potato on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats.	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Yong Pil Hwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung	XII International Congress of Toxicology	국외 (스페인)
3 2010.9.4-8	Anthocyanins from purple sweet potato regulates nuclear Nrf2 and NF-kB during prevention of oxidative liver injury in a dimethylnitrosamine model.	Yong Pil Hwang	Hye Gwang Jeong	Jae Ho Choi, Young Chul Chung	ISSX 9th International Meeting. Istanbul	국외 (터키)
4 2010.11.11-12	Prevention of hepatic fibrosis and hepatic stellate cells proliferation by anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Yong Pil Hwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung	한국독성학회 -추계	국내 (부산대)
5 2011.02.17-22	Protective mechanisms of anthocyanin-rich purple sweet potato extract against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage	Yong Pil Hwang	Hye Gwang Jeong	Choi Jae Ho, Young Chul Chung	The 21st Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL)	국외 (태국, 방콕)
6 2011.02.17-22	Anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuates hepatic fibrosis and hepatic stellate cells proliferation	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Yong Pil Hwang, Young Chul Chung	The 21st Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL)	국외 (태국, 방콕)

발표일	제 목	저 자			학술회의명	국내외 구분
		주저자	교신 저자	공동저자		
7 2011.04.21 -22	Protective Mechanisms of Anthocyanin-Rich Purple Sweet Potato Extract against <i>tert</i> -Butyl Hydroperoxide-Induced Hepatotoxicity	Yong Pil Hwang	Hye Gwang Jeong	CHOI Jae Ho , KIM Hyung Gyun, PARK, Bong Hwan, CHUNG Young Chul	대한약학회	국내
8 2011.03.06 -11	Anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato prevents hepatic fibrosis by DMN and hepatic stellate cells proliferation by PDGF-BB	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Yong Pil Hwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung	The 50h Annual Meeting of Society of Toxicology	국외 (미국)
9 2011.03.06 -11	Anthocyanins from purple sweet potato protects against <i>tert</i> -butyl hydroperoxide-induced oxidative stress by increasing expression of heme oxygenase-1 in a PI3K and ERK/Nrf2-dependent manner	Yong Pil Hwang	Hye Gwang Jeong	Hye Gwang Jeong	The 50h Annual Meeting of Society of Toxicology	국외 (미국)
10 2011.10.31 -11.02	Isolation of characteristics of acetobacter for purple-fleshed sweet potato fermentation	Jun Min Choi	Young Chul Chung	Sun Woo Jin	Functional Fusion and Systemic Approaches to Futuer Foods	국내 (BEXCO)

5. 인력양성 실적

가. 인력지원 성과

지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
9	3	4	2		4	5			9

나. 장·단기 연수지원 성과

장기 (2월 이상)		단기 (2월 미만)	
국내	국외	국내	국외
농림수산물식품부 주관 농수산물무역대학 (서울시 양재동 농수산물유통공사) ○ 연수기간 : 2009.7 ~ 2009. 12(6개월) ○ 내용 : 무역실무, 수출정책, 수출사례 ○ 참석자 : 영농조합법인 교운, 하인수		-	-

다. 산업기술인력 양성 성과

프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
Bio-Biz academy	생물융합분야 전문인력 양성	바이오21센터	주1회, 8시간	64시간 (이론 : 56시간 실습 : 8시간)	2
HACCP 팀장 기본과정	생산-제조-유통 전 과정의 위해요소중점 관리기준	경상대 HACCP 교육원 (식약청 지정 2호)	월 2회, 8시간	96시간	2
생물소재 분석 전문가과정	생물소재의 기기분석 방법	바이오21센터	주1회, 8시간	83시간 (이론 : 40시간 실습 : 43시간)	3

6. 언론보도 및 홍보실적

홍보실적(신문, 방송, 저널 등)					
번호	홍보유형	매체명	제목	일시	
1	TV	YTN	2009 내고향 신도불이	2009.05	
2	RADIO	KBS	시사매거진-진주투데이	2009.10	
3	신문	NEWSIS	한국국제대, 자색고구마 막걸리 공동개발	2009.10	
4	신문	데일리안	자색고구마 막걸리는 어떤맛일까	2009.10	
5	신문	서경방송	한국국제대-영농법인고운 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
6	신문	YN뉴스	붉은색 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
7	신문	연합뉴스	한국국제대, 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
8	신문	JJI 뉴스	한국국제대, 자색고구마 막걸리 개발해	2009.10	
9	신문	경남도민일보	간기능개선, 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
10	신문	경남매일	자색고구마 막걸리로 건강도 챙겨요	2009.10	
11	신문	경남신문	자색고구마 막걸리 나온다	2009.10	
12	신문	경남연합일보	몸에좋은 자색고구마 막걸리 나왔네	2009.10	
13	신문	경남일보	고구마 막걸리로 건강 챙겨요	2009.10	
14	신문	일간뉴스경남	한국국제대 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
15	신문	한남일보	자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
16	신문	경남도민일보	개성살리 고구마, 연잎, 산삼막걸리	2010.10	
17	시사주간지	Weekly people	함양을 대표하는 농산물로 만든 몸에 좋고 맛도좋은 건강주 이야기	2010.08	
18	신문	함양신문	영농조합법인 고운	2010.10	
19	TV	옥담미디어	몽뜨, IPTV, Qook, My LG TV 자색고구마 제품	2010.12	
전시회 등 참여(전시회, 박람회, 제품설명회 등)					
번호	유형	행사명칭	전시품목	장소	활용년도
1	전시회	토요문화제	자색고구마 가공제품	서울 국립극장	2009
2	박람회	참진주, 참음식 페스티벌	자색고구마 가공제품	진주시	2009
3	축제	산삼축제	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	함양군	2010
4	축제	물레방아축제	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	함양군	2010
5	박람회	Feel 경남	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	창원시	2010
6	축제	산삼축제	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	함양군	2011
7	축제	물레방아축제	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	함양군	2011
8	박람회	Feel 경남	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	창원시	2011

SUMMARY

This study was conducted to investigate the effect of the antioxidative activity and develop the processed food from anthocyanin of purple sweet potato(PSP).

The extraction yield of anthocyanin from purple-sweet potato was investigated by measuring TOD(Total Optical Density) and showed approximately 90.7%, which comparing 6.35 ± 0.50 in TOD with 7 as maximal optical density of anthocyanin at λ max from purple-sweet potato.

Anthocyanins from purple-sweet potato are greatly stable pigments including a structure of peonidin with acylated forms of ferulic acid and caffeic acid and, the pigments of peonidin ,which occupy the highest ratio as peonidin-3-diglucoside-5-glucoside, are water-soluble. So we determined peonidins as the functional substance.

To establish the database for the functional marker, we concentrated peonidin-3-diglucoside-5-glucoside from ethanol extracts of purple-sweet potato and established the manufacturing standards according to Law for Health Functional Foods.

Including purple-sweet potato, various plants contain anthocyanin pigments, which is the main obstacle to generalize an analysis method for a specific kind. In this study, we discussed different analysis methods, reported recently, and finally chose A.O.A.C analysis and HPLC analysis as the most effective method.

The antioxidant activities of anthocyanin extract in vitro, conducted by co-researching team for this study, exhibited non-cytotoxicity at 800ug/ml and antioxidant activities experiments with ROS scavenging activity, superoxide scavenging activity, lipid peroxidation and DPPH free radical scavenging activity showed significant results dose-dependantly from 50ug/ml. This results were applied to database for the dose of intake in vivo.

The nutritional properties of purple-sweet potato residues were investigated and exhibited 330kcal/100g, 81.7g/100g, 5.4g/100g, 4.4g/100g and 22.7g/100g in calorie, carbohydrate, crude protein, sugar and dietary fiber, respectively.

The pH and acidity during the rice wine fermentation using PSP and the residue of PSP extracts decreased significantly to 4.51 and 0.3% in early phase and showed 3.85 and 4.2% after 15 days, respectively. The sugar content was immediately 4.8 brix after inoculation. As the fermentation progressed, the sugar content tended to increase and showed 6.2 brix

after 15 days. The alcohol content during fermentation was 4.3% on the 1st day. After two days, the alcohol increased sharply to 6.0%. There was not significant difference with reaching to 6.5% after 15 days.

To isolate wild acetobacter from PSP, PSP vinegar starter fermented during 15 days was inoculated to culture media. First, 6 strains forming colonies were obtained, which were purified and inoculated to YPM broth for 48 hours at 30°C.

As high-productive acetobacter, WT-01, WT-02, WT-03 were selected among the isolated 6 strains by measuring clear zones in paper disc. The strains showed great acetic acid productivity forming over 2.0mm clear zone. In particular, WT-01 showed exclusive activity with 4.8mm clear zone.

The diverse zones surrounding the discs were analyzed in strains(WT-01, WT-02, WT-03) obtained by paper disc method. WT-01, WT-02 showed 1.8 mm and 1.0 mm in growth zone, 3.4 mm and 2.4 mm in clean zone and, 0.1 mm and 0.2 mm in effect zone, respectively. WT-03 showed great fermentability with 1.2 mm in growth zone, 1.8 mm in clear zone, 0.1 mm in effect zone.

To investigate fermentability by the substrate consumption and chemical change, the changes in pH, total acidity, sugar content, alcohol content and CFU were observed by standard analysis for 15 days after inoculating the strains to the PSP fermentation extracts. Sugar content tended to increase continuously to $6 \pm 0.5\%$. Alcohol content increased to 2 ~ 3% after inoculation, but was adversed in the late phase of fermentation. Also, pH tended to decrease continuously during fermentation and there is no significant difference among extracts fermented for 3 days. In total acidity, the content of acetic acid multiplied approximately 4 times compared to the content before inoculation, which produced over 7.6% acidity. In particular, the PSP fermentation extract by WT-01 showed the highest acidity producing 9.0% acidity. CFU for acetobacter increased sharply from 7th day and detected over 1.0×10^5 CFU/ml after 15 days.

The comparative experiment for fermentability between two different fermentation substrates by WT-01 and KCTC 1010, showed 5.7 ± 0.2 and 3.84 ± 0.06 in brix and pH, which indicated no significant difference before and after inoculating the acetobacter. Alcohol content increased to 2 ~ 3% after inoculating the acetobacter, but reduced in late phase of fermentation.

Here, we developed the functional food materials with cytoprotective effect and antioxidant activity against oxidative stress by using anthocyanin from PSP and identified its effect on

animal model *in vivo*. Also, we developed the functional rice wine(Makgeolli) and vinegar to establish scientific basis to promote antioxidative functional food using PSP anthocyanin by identifying the mechanism of the natural physiological antioxidant.

In the present work, we investigated the protective effects of anthocyanin fraction (AF) from purple sweet potato on *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BHP)-induced hepatotoxicity in HepG2 cell line and in rat liver. The result showed that the oral pretreatment of AF before *t*-BHP treatment significantly lowered the serum levels of the hepatic enzyme markers (ALT and AST) and reduced oxidative stress of the liver by evaluation of malondialdehyde and glutathione. Histopathological evaluation of the livers also revealed that AF reduced the incidence of liver lesions. The *in vitro* result showed that AF significantly reduced *t*-BHP-induced oxidative injury, as determined by cell cytotoxicity, intracellular glutathione content, lipid peroxidation, reactive oxygen species (ROS) levels, and caspases activation. Also, AF up-regulated antioxidant enzymes including heme oxygenase-1 (HO-1), NAD(P)H:quinone reductase, and glutathione S-transferase. Moreover, AF in Nrf2 nuclear translocation and Akt and ERK1/2 activation, pathways that are involved in inducing Nrf2 nuclear translocation.

We examined whether an anthocyanin fraction (AF) from purple sweet potato may prevent dimethylnitrosamine (DMN)-induced liver injury by inducing antioxidants via nuclear erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) pathways and by reducing inflammation. Treatment with AF attenuated the DMN-induced increased serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activities. It also prevented the formation of hepatic malondialdehyde and the depletion of glutathione and maintained normal glutathione-S-transferase (GST) activity in the livers of DMN-intoxicated rats. Furthermore, AF increased the expression of Nrf2, NADPH:quinone oxidoreductase-1, heme oxygenase-1, and GST α , which were reduced by DMN, and decreased the expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase. An increase in the nuclear translocation of nuclear factor kappa B (NF- κ B) was observed in the DMN-induced liver injury group, but AF inhibited this translocation.

In current study, we investigated the protective effects of the anthocyanin fraction (AF) obtained from the purple-fleshed sweet potato on hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine (DMN) administration in rats. Treatment with DMN for 4 weeks produced marked liver fibrosis as assessed by increased serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity and hepatic collagen content. These increases were inhibited by treatment with AF prior to the administration of DMN. In addition, AF

inhibited DMN-induced reductions in rat body and liver weights in a dose-dependent manner. Histopathological evaluation of the rat livers revealed that AF reduced the incidence of hepatic fibrosis lesions and inhibited DMN-induced increases in α -smooth muscle actin (α -SMA) and collagen type I and III expression levels. AF also decreased DMN-induced expression levels platelet-derived growth factor receptors-beta, tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta.

We also investigated the anti-proliferative effects of an anthocyanin fraction (AF), isolated from the purple-fleshed sweet potato, on platelet-derived growth factor (PDGF)-BB-dependent signaling pathways in HSC-T6 cells. HSC proliferation plays a pivotal role in liver fibrogenesis. The AF suppressed HSC activation, including PDGF-induced proliferation and α -smooth muscle actin (α SMA) expression. Additionally, AF inhibited PDGF-BB-induced Akt and ERK1/2 phosphorylation. AF inhibited the phosphorylation level of PDGF receptorb (PDGFR-b) following PDGF-BB stimulation, providing a mechanism for the inhibition of AF-mediated kinase.

Here, we developed the functional dietary materials with cytoprotective effect and antioxidant activity against oxidative stress by using anthocyanin from PSP and identified its effect on animal model *in vivo*. Also, we developed the functional rice wine(Makgeolli) and vinegar to establish scientific basis to promote antioxidative functional food using PSP anthocyanin by identifying the mechanism of the natural physiological antioxidant.

CONTENTS

I. The object and necessity of the study	26
II. The present states of technology and development	31
III. The research contents and results	33
1. The development and industrialization of functional foods containing anthocyanin using purple sweet potato and its residue	33
2. Determination of antioxidant effect with purple sweet potato and, characterization of its functional material in vitro and in vivo	93
IV. The attainment and contribution	133
V. The utilization and extension	137
VI. The overseas information for scientific technology	143
VII. Reference	144
Supplement	151

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	26
1. 연구개발의 목적	26
2. 연구개발의 필요성	26
3. 연구개발의 내용 및 범위	28
제 2 장 국내외 기술개발 현황	31
1. 국외 현황	31
2. 국내 현황 및 문제점	31
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과	33
제 1 절 자색고구마 및 추출박을 이용한 안토시아닌 함유 가공식품의 개발 및 상품화	33
1. 자색고구마 안토시아닌 색소의 기준·규격 확립 및 자색고구마 추출박을 이 용한 자색고구마 막걸리의 개발	33
가. 자색고구마 안토시아닌 색소의 기준·규격 확립	33
(1) 자색고구마 안토시아닌 색소의 대량 분리방법 확립	35
(가) 자색고구마 안토시아닌 색소의 추출정도	35
(나) 자색고구마의 안토시아닌 색소 함량	36
(다) Diaion HP-20 column chromatography에 의한 안토시아닌 색소의 분리	37
(2) 추출 및 분리방법에 따른 지표물질(기능성분) 및 확인물질의 특성	38
(가) 분리방법에 따른 원료의 특성	38
① 자색고구마 란?	38
② 안토시아닌(Anthocyanin)	38
(나) 자색고구마의 안토시아닌 색소의 특성 및 지표물질(기능성분)의 선정	39
(다) 지표물질(기능성분)의 기준·규격 설정	40
① 지표물질(기능성분)에 관한 자료 확립	40

㉞ 지표물질(기능성분)·원료명	40
㉟ 지표물질(기능성분)	40
㊱ 제조기준	40
② 지표물질(기능성분)의 규격	41
(라) 지표물질(자색고구마 안토시아닌)의 분석방법 표준화	42
① 자색고구마 안토시아닌의 분석방법	42
② 자색고구마 안토시아닌의 정량분석을 위한 HPLC 조건 설정	43
(마) 1일 섭취량과 기능성간의 상관관계 확립	44
나. 자색고구마 추출박의 성분분석	44
다. 자색고구마 추출박의 알콜발효 조건 최적화	45
(1) 자색고구마 추출박의 최적 당화조건 확립	45
(가) 자색고구마 추출박의 처리조건에 따른 특성변화	45
(나) 자색고구마 추출박 분말과 자색고구마 건조분말 첨가 비율에 따른 자색고구마 혼합물의 특성	46
(다) 자색고구마 추출박의 알콜 발효조건 최적화	47
라. 자색고구마 막걸리의 이화학적 특성분석	48
(1) 자색고구마 추출박을 이용한 막걸리제조	48
(2) pH 및 총산의 변화	50
(3) 당도의 변화	52
(4) 알콜의 변화	53
(5) 총 폴리페놀 함량	54
(6) 안토시아닌 색소 함량	55
(7) 관능검사	56
2. 자색고구마 추출박을 활용한 자색식초의 개발	57
가. 자색고구마 식초의 초산발효 조건 확립	57
(1) 주모 및 종초배양	57
(2) 자색고구마 유래 야생 초산균의 1차 분리	59
(3) 자색고구마 유래 야생 초산균의 2차 분리	61
(4) 초산 발효능 조사	63
(가) Paper disc법에 의한 초산균의 발효능 조사	64
(나) 기질의 소비량 및 성분변화에 의한 초산균의 발효능 조사	66

나. 자색고구마 식초의 초산발효 조건 최적화 및 제품특성·품질검사 표준화	69
(1) pH, 당도, 총산, 알콜, 초산균의 변화	69
(2) 관능검사	73
(3) 최적 발효조건에서의 제품특성 및 품질검사 표준화	74
다. 초산발효에서의 안토시아닌 색소의 안정성 배가 실험	75
3. 자색고구마 추출박을 활용한 자색고구마 막걸리 및 자색식초의 상품화 ...	76
가. 자색고구마 막걸리 및 자색식초의 대량생산공정 표준화	76
(1) 자색고구마 막걸리 및 자색식초의 대량생산공정 확립	76
① 자색고구마 막걸리의 대량생산공정	76
② 자색고구마 식초의 대량생산공정	79
(2) 자색고구마 막걸리·식초의 자가품질검사 기준·규격 확립 및 품질관리 표준화	83
(3) 자색고구마 막걸리 및 식초의 시제품 제작 및 포장디자인 개발	84
① 자색고구마 막걸리의 개요	84
② 자색고구마 막걸리의 시제품 및 상품화 현황	85
③ 자색고구마 식초의 개요	86
④ 자색고구마 식초의 상품화 현황	87
(4) 자색고구마 막걸리 및 식초의 유통현황·시장조사 및 전시회 참가	88
① 국내 시판 중인 자색고구마 막걸리·식초의 유통현황 및 시장조사	88
② 각종 전시회 및 지역축제 참가	89
③ 개발제품의 시판 활성화를 위한 마케팅 전략	90
제 2 절 자색고구마 안토시아닌의 항산화 기능성 검증 및 기능성 성분·	
원료의 in vitro, in vivo 기능성 조사	91
1. 자색고구마 안토시아닌 색소의 항산화 기능성 검증	91
2. in vivo 실험동물에서 tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)에 의한 산화적 간	
손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간 보호 효과 조사	111
3. in vivo 실험동물에서 dimethylnitrosamine (DMN)에 의한 산화적 간 손상	
에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간 보호 효과 조사	117
4. 자색고구마 안토시아닌의 간성상세포 (hepatic stellate cells) 증식 억제효과	
및 작용기전 규명	126

제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	133
1.	목표달성도	133
2.	관련분야 기여도	136
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	136
1.	연구개발 성과 및 활용계획	136
가.	실용화 실적	136
나.	지식재산권 성과	136
다.	논문게재 성과	137
라.	국내·외 학술회의 논문게재 성과	138
마.	인력양성 실적	139
(1)	인력지원 성과	139
(2)	장·단기 연수지원 성과	140
(3)	산업기술인력 양성 성과	140
바.	언론보도 및 홍보실적	141
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	142
제 7 장	참고문헌	143
부 록	150

제 1 장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적

- 농림기술개발과제(105016-3/2005~2008년)의 성공적 수행으로 자색고구마로부터 천연 안토시아닌 색소의 대량생산과 전용공장이 신축·가동(월 100톤 생산가능)됨에 따라 안토시아닌 색소의 다양한 기능성에 대한 선행 연구결과와 색소 대량생산 시에 파생되는 추출박을 이용하여 고기능성/고부가가치의 건강기능식품과 추출박 활용 산업화기술을 확립하고 그 메커니즘을 규명하여 이를 소재로 한 기능성 제품 개발에 관한 과학적인 근거를 마련하여 자색고구마 재배농가의 확대와 안정적 농가수입 증대에 기여하고자 한다.

2. 연구개발의 필요성

- 과학의 발달과 소득 향상에 따라 건강지향적 기능성 식품소재 및 식품에 대한 관심이 고조되면서 현대인의 각종 생활습관병(암, 당뇨, 혈액순환기계질환등) 과 노화가 체내 활성산소와 식품중의 과산화물에 의해 유발 또는 촉진된다는 것이 밝혀져, 부작용을 초래하는 의약품 보다는 무독성이면서 장기 복용이 가능한 천연식품소재로부터 이들 질병을 관리, 예방하는 건강기능성 식품 시장이 선진국을 중심으로 급속도로 성장하고 있다.
- 식품산업의 발전단계를 사회·문화적 측면에서 고려해 보면 1990년 이전에는 식품의 1차 기능인 영양과 제 2차 기능인 감각(기호)기능을 근거로 식품이 제조·가공·판매되어 왔으나, 1995년부터는 고령화시대 진입, 과학기술의 발전과 식생활습관의 급격한 변화에 따라 각종 퇴행성 난치성 질환의 급증으로 영양분손실을 현저히 줄인 최소가공품, 특히 각종 질환에 생리적 활성을 발휘하는 식품의 3차 기능인 기능성물질을 재조합하여 제조되는 건강기능식품이 2010년까지 식품산업을 주도할 것으로 예견되며, 2010년 이후부터는 인간 genome의 유전적 해석 및 규명에 따라 개인별 유전적 특성에 맞는 맞춤형 식품(nutrigenomics)이 출현하여 의약품과 기능성식품의 한계가 불명확한 시대가 도래 할 것으로 예측하고 있다.
- 최근 WTO 체제의 출범과 FTA 발효에 따라 세계 농산물이 무한 경쟁시대에 돌입함으로써 농산물의 개방화와 국제 경쟁상황에서 생존할 수 있는 가장 능동적인 대처방안의 하나가 고부가가치의 농산물을 지역특화 품목으로 육성함과 더불어 이들 농산물의 기능을 이용한 건강 지향적 가공식품의 개발 및 상품화를 과학적으로 검증하여 국내·외 시장에 많이 보급·확산시켜 우리 농산물의 안정적 수급 체계의 구축과 농산물의 고부가가치화를 실현하는 것

이 최적의 대안으로 지적되고 있다.

- 현재 자색고구마의 생산지역은 전남 무안과 해남, 전북 익산, 경남 함양에 집중되어 있으며, 재배 면적은 약 95ha이며 약 500여 농가에서 연간 1,400톤이 생산되고 있으나, 생체로만 판매되고, 가공식품 소재로는 사용이 거의 없는 실정 이어서 생산농가가 판로에 큰 애로를 겪고 있으며 자색고구마 활용 제품의 대량생산 후 파생되는 추출박 처리의 어려움을 겪고있다.
- 자색고구마에 대한 연구는 일본에서 일부 수행되어 안토시아닌색소의 분리·정제 및 구조분석, 그리고 사염화탄소 유발 흰쥐에 대한 간 손상 보호 활성이 주류를 이루고 있으며, 국내에서는 호남농업시험장 산하 목포시험장이 주축이 되어 안토시아닌 색소의 추출, 분리 및 특성 등을 수행한 과제는 있으나 기능성 또는 일반가공식품소재 개발 및 상품화를 위한 과학적·체계적 연구는 극히 미흡한 실정이다.
- 특히 함양군은 지자체의 추천으로 338농가가 자색고구마 작목반을 구성하여 128.822평 (42.9ha)에서 연간 750톤을 생산하고 있으나, 생체판매가 부진하여 현재 저온창고에 저장 중에 있어 일반가공식품 및 건강기능식품의 원료의 개발 및 상품화가 절실히 요구되고 있는 상황이다.
- 자색고구마는 안토시아닌색소를 생체 중량대비 약 3.8%함유하고 있어 표피층뿐만 아니라 육질 전체가 진한 자색을 띠고 있는데, 이 기능성 색소함량이 cranberry보다는 10~60배, 포도보다는 5~7배 높아 천연 기능성 색소 원뿐만 아니라 기능성 식품소재로서 가치가 우수하다.
- 농업신소재개발 등의 기술은 최근 세계 각국의 기술보호정책에 따라 그 도입이나 이용이 매우 어려우므로 우리나라에서 개발한 신규 농산물인 자미 고구마를 이용한 기능성 신소재의 개발과 이를 이용한 산업화는 기능성식품시대에 국제 경쟁력확보에 크게 기여 할 것으로 예상된다.
- 따라서 본 연구는 자색고구마 및 자색고구마 추출박을 이용하여 항산화, 항노화, 간보호 등의 기능성식품의 원료소재를 개발하고, 그 추출방법을 정립화 시켜, 기업에 기술이전을 통해 농가소득의 증진에 기여하고자 한다.

3. 연구개발의 내용 및 범위

구분 (연도)	연구개발의 내용	연구개발의 범위
1차 년도 (2009)	자색고구마 안토시아닌 색소의 기준·규격 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자색고구마로부터 안토시아닌 물질의 대량 분리 방법 확립(추출·농축) ○ 추출 및 분리 방법에 따른 지표물질 및 확인물 질의 특성 ○ 지표물질 및 확인물질의 기준·규격 설정 ○ 지표물질 및 확인물질의 분석방법 표준화 ○ 1일 섭취량과 기능성간의 상관관계 확립
	자색고구마 추출박의 성분분석	○ 자색고구마 색소 추출 후 남은 추출박의 전분, 당, 섬유소 등의 성분분석
	추출박의 알콜 발효조건 최적화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자색고구마 추출박의 당화조건 확립 ○ 자색고구마 추출박의 알콜발효조건 확립
	자색고구마 와인의 특성 및 제품검사 표준화	○ 자색고구마 막걸리의 이화학적 특성 분석 및 상 품화
	자색고구마 안토시아닌 색소의 기준·규격 확립 및 항산화 기능성 검정 (in vitro 항산화 기능성 평가)	<ul style="list-style-type: none"> ○ ROS 소거능, Superoxide 소거능, 과산화 활성 ○ 산화적 손상에 대한 보호효과 <ul style="list-style-type: none"> - 세포사멸능 측정(MTT assay, LDH) - GSH 및 지질과산화 측정 - DNA 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과 조사 (DNA ragmentation, caspase 활성측정) - 산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 자색고구마 안토시아닌의 영향 측정

구분 (연도)	연구개발의 내용	연구개발의 범위
2차 년도 (2010)	자색고구마 식초의 초산 발효조건 최적화	○ 자색고구마 식초의 초산발효 조건 확립
		○ 초산발효조건 최적화
	자색고구마 식초의 특성 및 품질검사 표준화	○ 최적 발효조건에서의 제품특성 및 품질검사 표준화
		○ 초산발효에서의 안토시아닌 색소의 안정성 배가 실험
	자색고구마 안토시아닌의 항산화 효소계에 대한 영향 조사	<ul style="list-style-type: none"> ○ 항산화 효소계 promoter cloning ○ 항산화 관련 효소계의 활성 및 유전자 발현 측정 ○ 항산화 관련 효소인 GST, NQO1, HO-1의 luciferase 활성 측정 ○ 항산화 효소계 발현 조절 관련 전사 조절인자인 Nrf2에 대한 영향 조사 ○ 상위 신호전달체계인 Akt, MAPK 활성조사
	<i>in vivo</i> 실험동물에서 산화적 손상물질에 의한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과 조사	<ul style="list-style-type: none"> ○ 혈청 ALT, LDH, 지질과산화, GSH 함량 측정 ○ 산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과 조사 ○ 세포사멸 관련 caspase 활성 측정 ○ <i>in vivo</i> 실험동물에서 항산화 효소의 발현 조사

구분 (연도)	연구개발의 내용	연구개발의 범위
3차 년도 (2011)	<p>자색고구마 추출박을 활용한 자색고구마 막걸리, 자색식초 및 가공식품의 상품화</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자색고구마 막걸리 및 식초의 대량생산공정 표준화 ○ 개발제품의 자가품질검사 기준·규격 확립 ○ 개발제품의 일반·영양성분 분석을 통한 품질 관리 표준화 ○ 시제품 제작 및 포장디자인 개발 ○ 완제품 생산, 판매촉진을 위한 이벤트 공동추진 및 유통현황·시장조사 (각종 전시회 및 지역축제 참가)
	<p>안토시아닌의 기능성 성분·원료의 <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> 기능성 평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 안토시아닌의 기능성 성분·원료의 영향 측정 <ul style="list-style-type: none"> - 세포사멸능 측정 (MTT assay, LDH)
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 안토시아닌의 기능성 성분·원료의 항산화 효소계에 대한 영향 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 항산화 관련 효소계의 활성 및 유전자 발현 측정 - 항산화 관련 효소인 GST, NQO1, HO-1의 luciferase 활성 측정 - 항산화 효소계 발현 조절 관련 전사 조절인자 인 Nrf2에 대한 영향 조사 ○ 상위 신호전달체계인 MAPK 활성조사 ○ 혈청 ALT, LDH, 지질과산화, GSH 함량측정. ○ <i>in vivo</i> 실험동물에서 항산화 효소의 발현 조사 ○ 혈청 ALT, LDH, 지질과산화, GSH 함량 측정 ○ 산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과 조사 ○ 세포사멸 관련 caspase 활성 측정 ○ <i>in vivo</i> 실험동물에서 항산화 효소의 발현 조사

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국외 현황

- 자색고구마(자미고구마, Purple fleshed sweet potato) 품종은 일본에서 최초로 육종에 성공하여 antocyanin 함량이 대량 함유된 “Ayamurasaki”를 규슈지방을 중심으로 일본 농가에 보급하여 재배되고 있으나, 그 외의 나라에서는 거의 재배되지 않고 있다.
- 일본에서 수행한 자색고구마에 대한 주요 연구는 안토시아닌 색소의 분리 정제 및 구조분석 등에 주류를 이루고 있는데, Odake 등은 자색고구마의 안토시아닌의 주 색소는 cyanidin과 peonidin의 3-caffeoylferuloylsophoroside-5-gluco-side라고 보고 하였고, Tsukui 등은 cyanidin-(3,6)-alpha-D-glucopyranosyl-(1,2)-beta-D-fructo-furanoside 와 cyanidin-(3,6)-alpha-D-glucopyranosyl-(5,1)-alpha-D-xyloside로서 caffeic acid나 ferulic acid가 acylation의 형태라고 보고하여, 자색고구마의 품종에 따라 주색소의 구조적 차이가 있는 것으로 밝혀졌다.
- 일본에서는 자색고구마의 안토시아닌 색소를 이용하여 사염화탄소 유발 흰쥐에 대한 간보호 효과를 GOT, GPT, LDH, TBA-RS등으로 조사한 결과 간보호 활성이 극히 일부 규명된 바 있으며, 최근에는 이들 색소를 이용한 음료개발에 대한 연구가 보고되고 있다.

2. 국내 현황 및 문제점

- 농촌진흥청 호남농업시험장 목포시험장에서 1993년 자색고구마를 토종고구마인 건미와 일본종인 야마카와무라사키를 교배하여 자색(목포 29호)를 육종에 성공하여 생산력 검정시험을 한 결과 자색색소는 많이 함유되어 있으나 단위 면적당 생산량이 보통의 고구마에 비해 60-70% 정도로 낮은 단점이 지적되어, 1994년부터 신미와 교배하여 다수성이면서 식미가 향상되고 자색 색소가 다량 함유된 보라미 (목포 35호)와 신자색 (목포 38호) 개발에 성공함에 따라 현재 전남, 전북, 경남 500여 농가에 보급하여 재배 중에 있다.
- 육종에 성공한 기능성 우량 구황식물인 자색고구마에 대한 국내 연구는 목포시험장을 중심으로 색소의 추출, 분석, 안정성, 광안정성, 가열에 대한 속도론적 연구 및 동정등 안토시아닌 색소에 대한 분리, 추출 및 특징에 한정되어 수행되어 왔고 가공, 상품화연구 및 산업화를 위한 필수 요건인 항산화 활성등에 대한 연구는 전무한 실정이다.

- 본 연구에서 추진할 일반식품 및 건강기능식품의 원료로서 활용할 항산화 활성과 항노화 활성 등에 대한 체계적·과학적 연구 수행실적은 극히 부진한 것으로 나타났다.
- 본 연구팀이 예비 실험에서 국산 자색 고구마에 대한 항산화, 항염증, 미백개선 및 간개선 활성을 극히 일부분 밝혔으므로 이들 선행연구 결과를 기초로 세부·협동 연구팀의 상호 협조 체계로 과제가 수행되면 자색고구마 유용 생리활성물질의 기능성 및 메커니즘 규명을 통한 다양한 항산화 기능성식품 및 원료에 관한 과학적인 근거가 마련될 것으로 사료된다.

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

제 1 절 자색고구마 및 추출박을 이용한 안토시아닌 함유 가공식품의 개발 및 상품화

1. 자색고구마 안토시아닌 색소의 기준·규격 확립 및 자색고구마 추출박을 이용한 자색고구마 막걸리의 개발

가. 자색고구마 안토시아닌 색소의 기준·규격 확립

자색고구마 추출물 중 기능성 물질(안토시아닌) 함량이 높은 기능성 소재를 제조하기 위해서는 추출 시 원료의 전처리가 매우 중요하다. 원료의 품질 및 세척방법, 절단크기, 건조방법 등에 큰 영향을 받는데 현재까지 보고된 자색고구마 안토시아닌 색소의 연구수행 결과를 요약하면 다음과 같다.

[자색고구마 안토시아닌 색소의 원료 표준화를 위한 최적 전처리 조건]

전 처 리	최 적 조 건
<p>원료의 품질 및 세척방법에 따른 안토시아닌 색소의 손실 최소화</p>	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 수확한 원료표면의 흙, 이물질을 제거하고 미생물과 곤충 등에 의해 부식·부패된 원료는 필히 선별하여 제거 ◦ 원료의 세척시 원료의 손상(외피)을 최소화 ◦ Ring Blower를 이용한 1차 와류 세척기와 2차 브러쉬 세척기를 이용한 이물질의 제거
<p>원료 절단 크기에 따른 안토시아닌 색소의 추출수율 최적화</p>	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 원료의 절단은 Chopping, Grinding, Slicing으로 크게 구분되며, 추출수율은 추출용매와 원료의 접촉빈도에 따라 변하므로 아래의 문제점을 최소화시키기 위해 원료의 크기는 2~3cm, 두께는 3~5mm로 slicing하는 것이 최적임 ◦ 원료의 Chopping : 추출수율은 높으나 Chopping을 위한 설비의 추가 도입 필요 ◦ 원료의 Grinding : 원료자체의 점성으로 인해 추출 시 엉킴 현상 발생
<p>건조방법 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 열풍건조, 증숙열풍건조, 동결건조에 따른 안토시아닌 함량을 동일조건에서 조사한 결과 동결건조 원료가 안토시아닌 함량 약 18%로 다른 건조방법 보다 높게 검출되었으므로 유용물질의 균일성 유지를 위해 반드시 동결건조를 행함 <ul style="list-style-type: none"> - 열풍건조 시 안토시아닌 함량 : 12.2% - 증숙열풍건조 시 안토시아닌 함량 : 7.1% - 동결건조 시 안토시아닌 함량 : 18.4% ◦ 동결건조 조건 : -40℃, 48시간

(1) 자색고구마 안토시아닌 색소의 대량 분리방법 확립

(가) 자색고구마 안토시아닌 색소의 추출정도

항 목	조 건
추출용매	ethanol
추출용매의 농도	20%
추출용매의 양	시료량의 10배
추출온도	30~40℃
추출시간	9hr

2005년 농림기술개발과제(105016-3/2005~2008년, 자미고구마의 유용 생리활성을 활용한 가공식품 개발 및 산업화, 한국국제대학교 정영철)에서 확립된 자색고구마 안토시아닌 물질의 대량 추출방법에 따라 추출된 색소액의 추출정도를 알아보기 위하여 색소액이 갖는 전체 흡광도로 색소추출액의 색소함량을 표시하는 지표로 사용되는 TOD(총 흡광도, TOD : Total Optical Density)값을 측정하여 조사하였고, 자색고구마 안토시아닌 색소의 최대 흡광도 값인 7에 대한 추출액의 TOD를 측정한 결과 6.35 ± 0.50 으로 회수율은 약 90.7%로 나타났다.

(나) 자색고구마의 안토시아닌 색소 함량

기 확립된 최적 전처리조건 및 추출·농축 조건에 따른 안토시아닌의 함량을 조사하기 위하여 diaion HP-20 column chromatography법에 의해 용출된 안토시아닌을 표준 안토시아닌 물질로 선정하여 각각 100배, 1,000배 희석하여 spectrophotometer을 사용하여 흡광도를 측정하였다 (Fig. 1). 또한 위의 실험결과에 나타낸바와 같이 각 조건별 안토시아닌 함량을 측정하기위해 시료별로 각각 125, 250, 500, 1,000ppm으로 희석하여 각각의 흡광도를 측정하고 희석배수만큼 곱하여 안토시아닌 함량을 구하였다(Table 1).

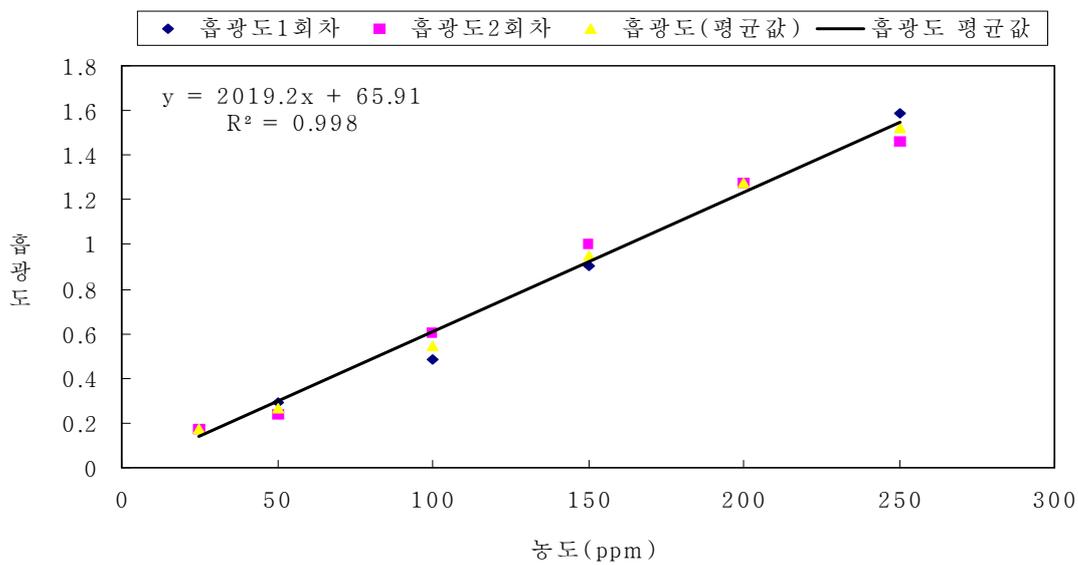


Fig. 1. Standard calibration-curve of anthocyanin pigment

Table 1. Changes of anthocyanin pigment compositions according to different extracting and concentrating conditions

Condition	Brix	pH	Anthocyanin pigment composition(mg/g)
Purple sweet potato extract	3.7	2.49	27
Purple sweet potato extract 1	20	3.83	76
Purple sweet potato extract 2	40	4.21	143
Purple sweet potato extract 3	60	4.84	221

(다) Diaion HP-20 column chromatography에 의한 안토시아닌 색소의 분리

확립된 최적 추출조건으로 확보된 안토시아닌 색소액은 diaion HP-20 column chromatography로 분리하였다. 즉, 자색고구마 색소 추출물을 일정 농도로 감압·농축하여 물을 일정량 첨가하여 diaion HP-20 chromatography를 실시하고 물, 에탄올(99%)을 순차적으로 추출한 분획물을 각각 회수하였다. 그 분획물을 여과한 후 감압·농축한 것을 자색고구마의 안토시아닌 색소 시료로 사용하였다.

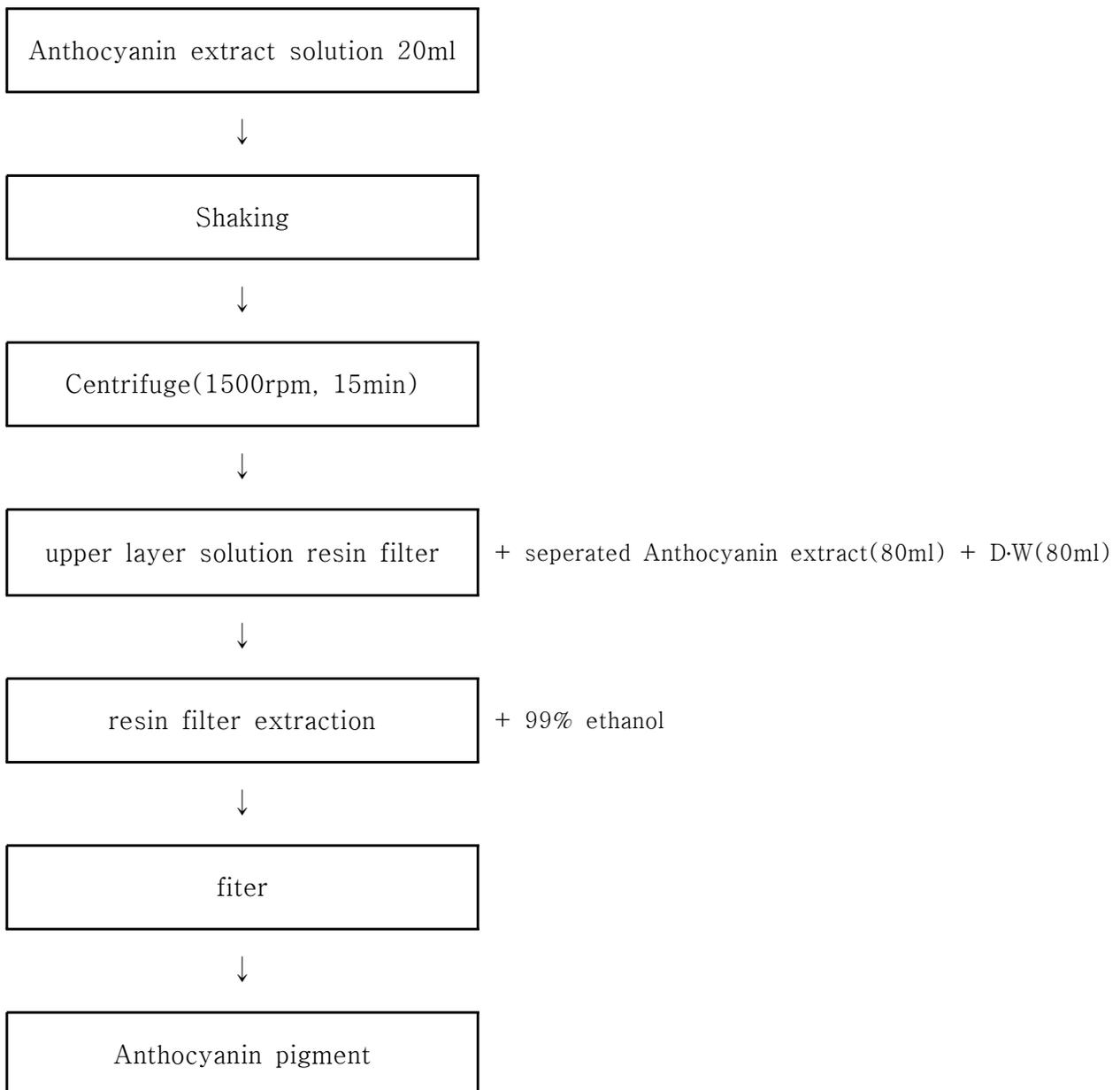


Fig. 2. Isolation method of anthocyanin pigment from purple sweet potato

(2) 추출 및 분리방법에 따른 지표물질(기능성분) 및 확인물질의 특성

(가) 분리방법에 따른 원료의 특성

① 자색고구마 란?

자색고구마는 일본 규슈지방에서 자생하던 산천자(山川紫)라고 알려진 품종을 군내에 도입하여 재배하기 시작한 것으로 일반 고구마와는 달리 표피층뿐만 아니라 육질전체가 진한 자색을 띠고 있는데, 이는 수용성 색소인 안토시아닌을 다량 함유하고 있기 때문이다. 원래의 자색고구마는 단위 면적당 생산량이 보통의 고구마에 비해 약 60% 정도이고, 색소함량도 높지 않아 경제적인 가치가 낮은 것으로 알려져 있으나 1998년 농촌진흥청 산하 호남농업시험장 목포시험장에서 단위생산량이 높은 건미를 모본으로하고 일본의 재래종 자색고구마인 산천자를 부분으로 교배한 육종 연구에 의하여 생산량이나 색소함량 면에서 우수한 품종을 개발하여 “자미”라는 품종명을 부여하였다.

② 안토시아닌(Anthocyanin)

안토시아닌은 식물의 꽃, 과일, 잎 등에 나타나는 수용성 색소로서 ‘화청소’라고도 하며 배당체로서 가수분해하면 aglycone인 anthocyanidin과 당으로 분해되면 2-phenyl-3,5,7-trihydroxy flavylum의 기본 구조를 가지고 있고, anthocyanidin은 phenyl기의 OH의 위치에 따라 cyanidin, delphinidin, pelargonidin으로 구별되며, 그 외에는 peonidin, petunidin, malvidin 등이 있다.

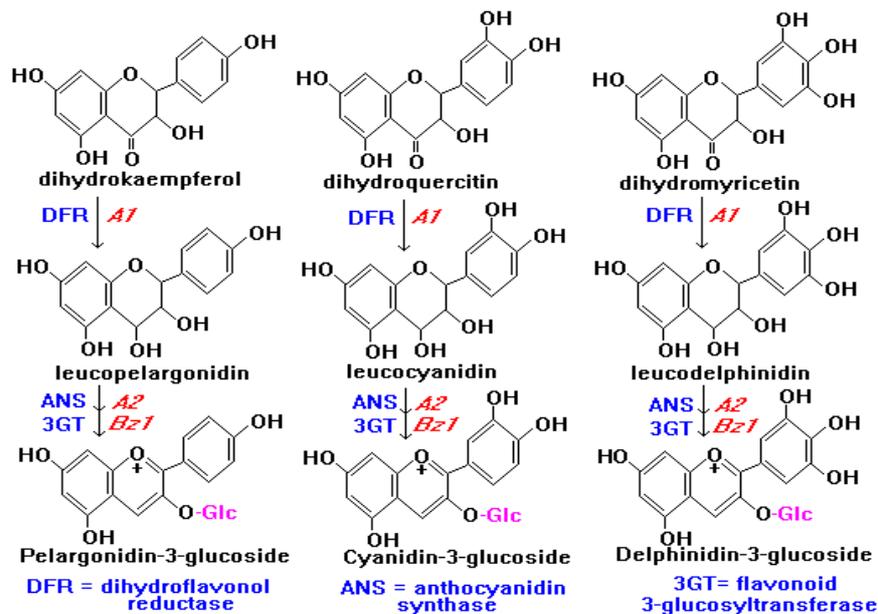


Fig. 3. Chemical structures of anthocyanins from purple sweet potato

(나) 자색고구마의 안토시아닌 색소의 특성 및 지표물질(기능성분)의 선정

자색고구마의 안토시아닌 색소는 peonidin의 기본구조에 ferulic acid와 caffeic acid가 아실화된 구조를 갖고 있어 매우 안정한 형태의 색소로 알려져 있으며, 보고된 자료에 의하면 연구자나 품종에 따라 각기 다른 자색고구마의 주색소의 구조를 갖고 있음을 알 수 있으나, 자색고구마의 안토시아닌 색소는 공통적으로 aromatic acyl group을 갖고 있기 때문에 안정성이 매우 높다. 이러한 자색고구마(품종명:자미)의 안토시아닌 색소는 최근 국내연구자에 의해 peonidin-3-diglucoside-5-glucoside의 구조를 나타내는 것으로 밝혀졌다.

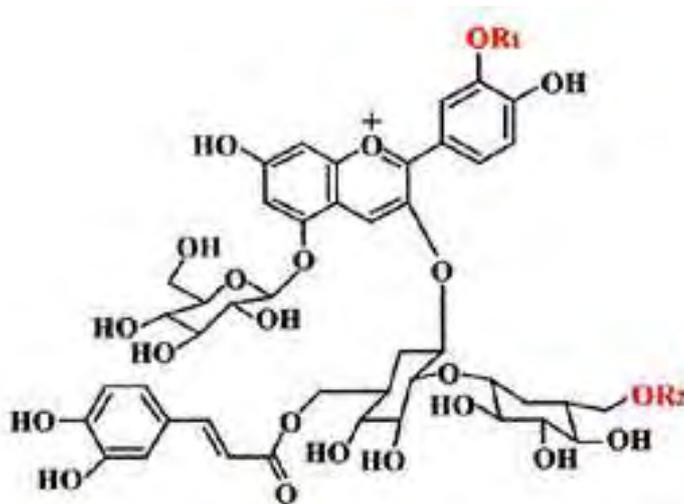


Fig. 4. Chemical structure of peonidin -3-diglucoside-5-glucoside in anthocyanins of purple sweet potato

이러한 연구결과에 따라 자색고구마에 함유된 안토시아닌 중 peonidin계 색소가 가장 많이 함유되어있으며 peonidin의 특성상 물에 매우 잘 녹아 식품으로 응용하기 매우 용이하므로 자색고구마 안토시아닌 색소의 기능성분을 peonidin으로 선정하였다.

② 지표물질(기능성분)의 규격

항 목	규 격	기 준
성상	진한 적자색의 농축액	식품공전 제10.일반시험법 19.성상 시험법(관능시험법)
고형분	60%±3%	식품공전 제10.일반시험법 1.일반성분시험법 1)수분에 따라 시험하고 100에서 수분(%)을 감하여 고형분으로 함
세균수	1g 당 100이하	제10.일반시험법 8.미생물시험법 2)세균수(일반세균수)
대장균군	음성	제10.일반시험법 8.미생물시험법 5)대장균군에 따라 시험
납	0.3ppm 이하	제10.일반시험법 6.유해성금속시험법 1)시험용액의 조제 2)측정 (2)ICP
카드뮴	0.1ppm 이하	제10.일반시험법 6.유해성금속시험법 1)시험용액의 조제 2)측정 (2)ICP

(라) 지표물질(자색고구마 안토시아닌)의 분석방법 표준화

① 자색고구마 안토시아닌의 분석방법

현재까지 보고된 안토시아닌 분석법에 관한 자료들에 따르면 국제화학분석집(A.O.A.C)에 따른 분석, PC, TLC, HPLC 방법들이 주로 사용되고 있다. 최근 시대적 변화에 따른 장비의 발달로 과거 중요시되었던 정확성 보다는 반복성, 편의성, 정확성, 경제성 등이 동시에 충족될 수 있는 기계적이고 정확한 데이터를 요구하고 있는 추세이다. 안토시아닌 색소의 경우 자색고구마뿐만 아니라 다양한 식물체에 함유되어 있으므로 특정 품종에 관한 분석법의 표준화가 어려우므로 본 연구에서는 기존에 보고된 여러 가지 분석방법을 검토하여 가장 효율적인 분석방법을 확립 (Fig. 6)하였으나 일부 세부조건의 변경이 요구되므로 향후 자색고구마 안토시아닌 분석법을 확립하고 표준화 할 예정이다.

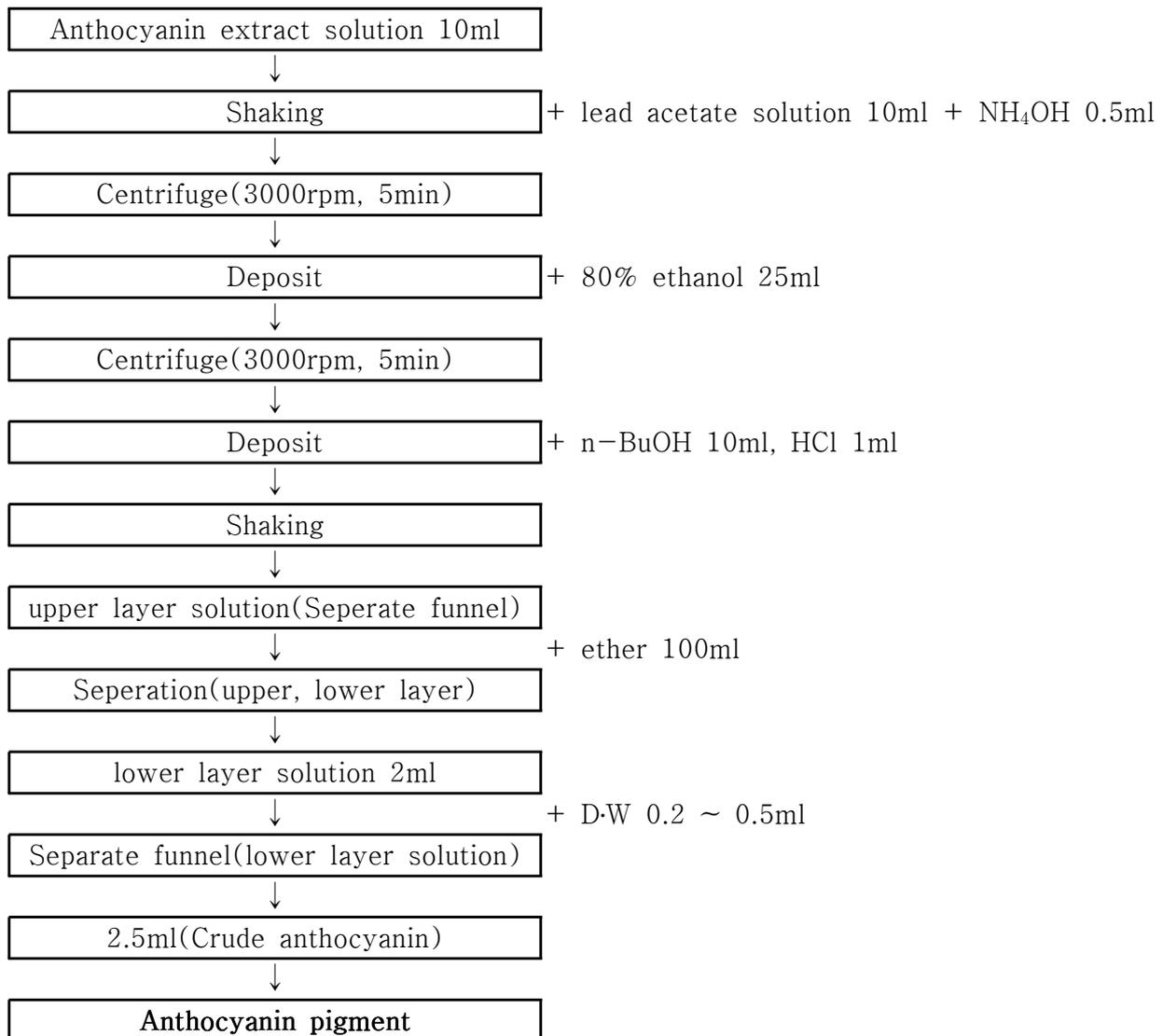


Fig. 6. Anthocyanin analysis by A.O.A.C method

② 자색고구마 안토시아닌의 정량분석을 위한 HPLC 조건 설정

상기 Fig. 6의 방법에 따라 용출된 자색고구마의 지표물질(기능성분)인 안토시아닌 색소는 정량분석을 위해 안토시아닌 색소 0.2g에 0.1% HCl이 첨가된 80% methanol 2ml을 혼합하여 Table 2에 나타낸 조건에 따라 안토시아닌 분석조건을 설정하였다.

Table 2. HPLC conditions fo anthocyanin pigments analysis

	Instrument	Waters HPLC system
	Detector	Waters 486 Turnable Absorbance Detector
	Wavelength	520nm
Anthocyanin analysis	Mobile phase	5 % formic acid in DW Acetonitrile : DW : Formic acid = 45 : 50 : 5
	Column	XTerra RP18 (5µm, 4.6 mm × 250 mm)
	Flow rate	0.8ml/min

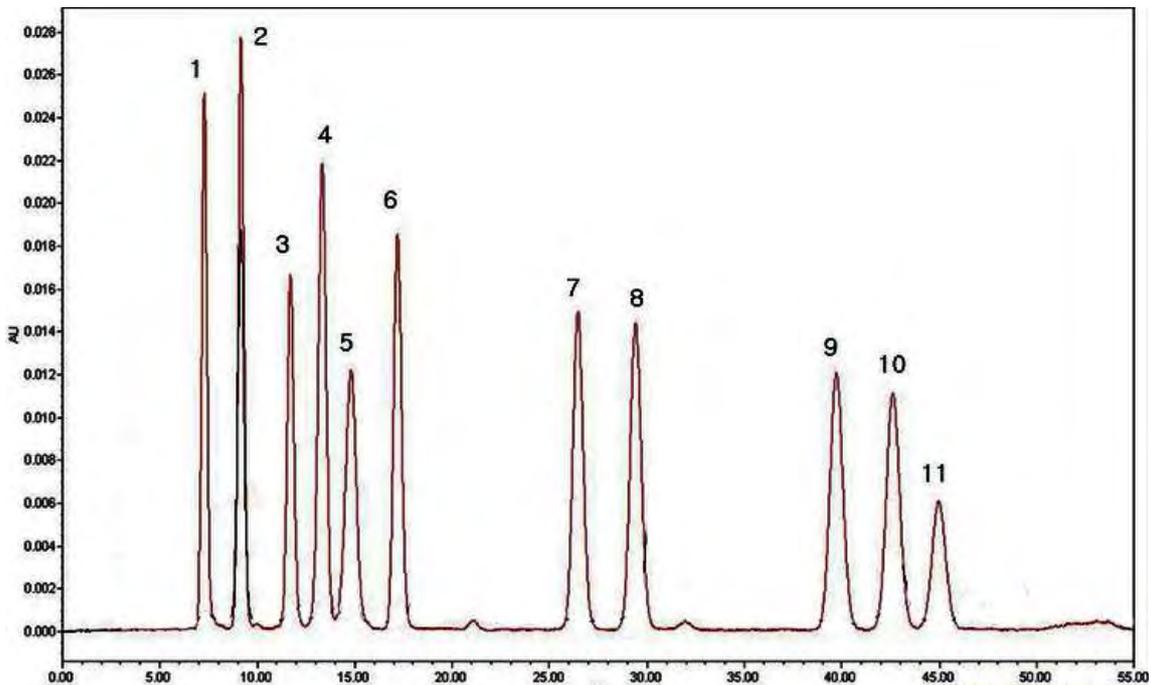


Fig. 7. HPLC chromatogram of standard anthocyanins

1 : Delphinidin-3-glucoside, 2 : Cyanidin-3-glucoside, 3 : Pelargonidin-3-glucoside,
 4 : Peonidin-3-glucoside, 5 : Malvidin-3-glucoside, 6 : Delphinidin, 7 : Cyanidin,
 8 : Petunidin, 9 : Pelargonidin, 10 : Peonidin, 11 : Malvidin

(마) 1일 섭취량과 기능성간의 상관관계 확립

본 과제의 협동연구팀의 *in vitro* 항산화 기능성 평가의 결과에 따라 자색고구마의 지표물질 (기능성분)인 안토시아닌 색소는 800ug/ml의 농도에서 세포독성이 나타나지 않았으며 ROS 소거능, Superoxide 소거능, 과산화활성, DPPH 등의 항산화 활성 실험에서는 50ug/ml부터 농도 의존적으로 유의한 결과를 얻었다. 이러한 연구결과는 2차년도에 수행할 *in vivo* 동물실험의 섭취량에 대한 기초 자료로 활용할 계획이며 향후 인체시험 시 섭취량에 대한 설정자료로 활용 할 예정이다.

나. 자색고구마 추출박의 성분분석

자색고구마 추출박의 영양성분을 분석한 결과는 아래와 같이 열량은 330kcal/100g, 탄수화물은 81.7g/100g, 조단백질은 5.4g/100g, 당류는 4.4g/100g, 식이섬유는 22.7g/100g으로 나타났으며, 본 결과를 토대로 자색고구마 추출박이 탄수화물 및 식이섬유를 다량 함유하고 있으므로 향후 이를 이용한 술, 동물사료 등 다양한 가공품의 개발이 용이하리라 사료된다.

시 험 항 목	결 과
열량(kcal/100g)	330.0
탄수화물(g/100g)	81.7
조단백질(g/100g)	5.4
당류(g/100g)	4.4
식이섬유(g/100g)	22.7

다. 자색고구마 추출박의 알콜발효 조건 최적화

최근 전통주에 관한 관심이 고조되면서 막걸리에 대한 수요가 급속히 증가하고 있다. 특히 막걸리에 대한 일본사람들의 선호도가 높아지면서 다양한 맛과 향을 내는 막걸리가 개발되고 젊은층을 겨냥한 칵테일 형태의 막걸리가 개발되고 있다. 막걸리에 함유된 유산균으로 인한 정장작용, 비타민 B₁의 다량 함유로 인한 피로회복, 피부개선, 시력증진 효과, 또한 다량의 식이섬유가 함유되어 정장작용 및 심혈관계 질환예방에 매우 뛰어난 효과를 나타낸다.

이러한 시대적인 흐름으로 본 연구팀은 발효·숙성기간이 긴 와인 보다는 효율성 측면에서 자색고구마의 간기능 개선, 항산화 활성, 노화방지 등 기능성이 더욱 강화된 기능성 칼라 막걸리를 제조하였다.

(1) 자색고구마 추출박의 최적 당화조건 확립

(가) 자색고구마 추출박의 처리조건에 따른 특성변화

자색고구마 추출박은 자색고구마를 추출한 뒤 4일간 자연건조하여 수분을 10.0이하 까지 건조하여 100mesh까지 파쇄한 후 분말화하여 사용하였다.

자색고구마 추출박의 발효당과 pH의 변화는 Table 3과 같이 분말화된 자색고구마 추출박 분말에 증류수를 5배 가한 뒤 stiller기에서 magnetic bar를 이용하여 100rpm으로 10분간 배합한 후 Autoclave를 이용하여 100℃에서 60분간 열처리를 하여 발효당과 pH를 측정하였으며 이때, 무처리는 Autoclaving하지 않고 실온에서 60분간 방치한 뒤 발효당과 pH를 측정하였다. 자색고구마 추출박 건조분말은 무처리 하였을 경우 발효당은 6.4, pH는 4.75 였으나 열처리를 한 자색고구마 추출박 건조분말은 발효당이 9.5로 무처리 분말 보다 3.1% 더 높게 나타났다. 이는 열처리로 인해 자색고구마 추출박의 전분이 당화되어 발효당 함량이 높아진 것을 볼 수 있다. pH는 4.75에서 5.46으로 상승하여 발효에 유익한 조건으로 전환된 것으로 나타났다.

Table 3. Characteristics of dry purple sweet potato residue powder by various treatment condition

Treatment	Fermentable sugar(%)	pH
room temp., 60 min., 5 times water by material	6.4	4.75
100℃, 60 min., 5 times water by material	9.5	5.46

(나) 자색고구마 추출박 분말과 자색고구마 건조분말 첨가 비율에 따른 자색고구마 혼합물의 특성

자색고구마 추출박을 이용하여 막걸리를 제조할 경우 자색고구마 추출박이 가지는 전분을 이용하여 당화 시킨 후 알콜발효를 할 수 있지만 자색고구마 추출박이 가지는 향미와 안토시아닌 색소 성분은 매우 적어 이를 막걸리로 생산할 경우 상품가치가 현저히 떨어지게 된다. 이를 보완하기 위해 자색고구마 추출박에 자색고구마를 slicing하고 4일간 자연건조하여 수분을 10.0 이하 까지 건조하였다. 또한, 100mesh까지 파쇄한 분말을 자색고구마 추출박과 적절히 배합하여 당화한 후 발효시켜 자색고구마의 향미와 안토시아닌 색소의 유용 생리활성을 함유함으로써 기능성 증대와 더불어 제조단가 절감을 꾀하였다. 자색고구마 추출박 분말과 자색고구마 건조분말을 Table 4와 같이 혼합하여 상기 자색고구마 추출박의 처리조건에 따른 특성변화와 동일한 방법으로 무처리 및 열처리하여 그 특성을 조사하였다.

자색고구마 추출박 분말과 건조분말을 10:90의 비율로 배합하여 원료대비 물을 5배 가한 다음 100℃에서 60분간 열처리한 E 혼합물의 발효당이 12.2%로 가장 높았으나 제조단가의 상승으로 타 막걸리에 비해 가격경쟁력이 저하되는 단점이 있으므로 50:50 혼합물 열처리군의 발효당 함량이 10.0%로 큰 차이를 보이지 않아 C 혼합물을 상품화를 위한 최적 배합비율로 선정하였다.

Table 4. Mixture ratio of dry purple sweet potato powder and its dry residue powder

	Mixture				
	A	B	C	D	E
dry purple sweet potato residue powder	90%	70%	50%	30%	10%
dry purple sweet potato powder	10%	30%	50%	70%	90%

Table 5. Characteristics of various mixtures according to ratio of dry purple sweet potato residue powder

Mixture	Fermentable sugar(%)	pH
A	9.6(6.3)	5.43(4.56)
B	9.7(6.8)	5.45(4.64)
C	10.0(6.2)	5.44(4.93)
D	10.9(6.0)	5.47(4.54)
E	12.2(6.5)	5.51(4.40)

() means values of groups treated at room temp. for 60 minutes.

(다) 자색고구마 추출박의 알콜 발효조건 최적화

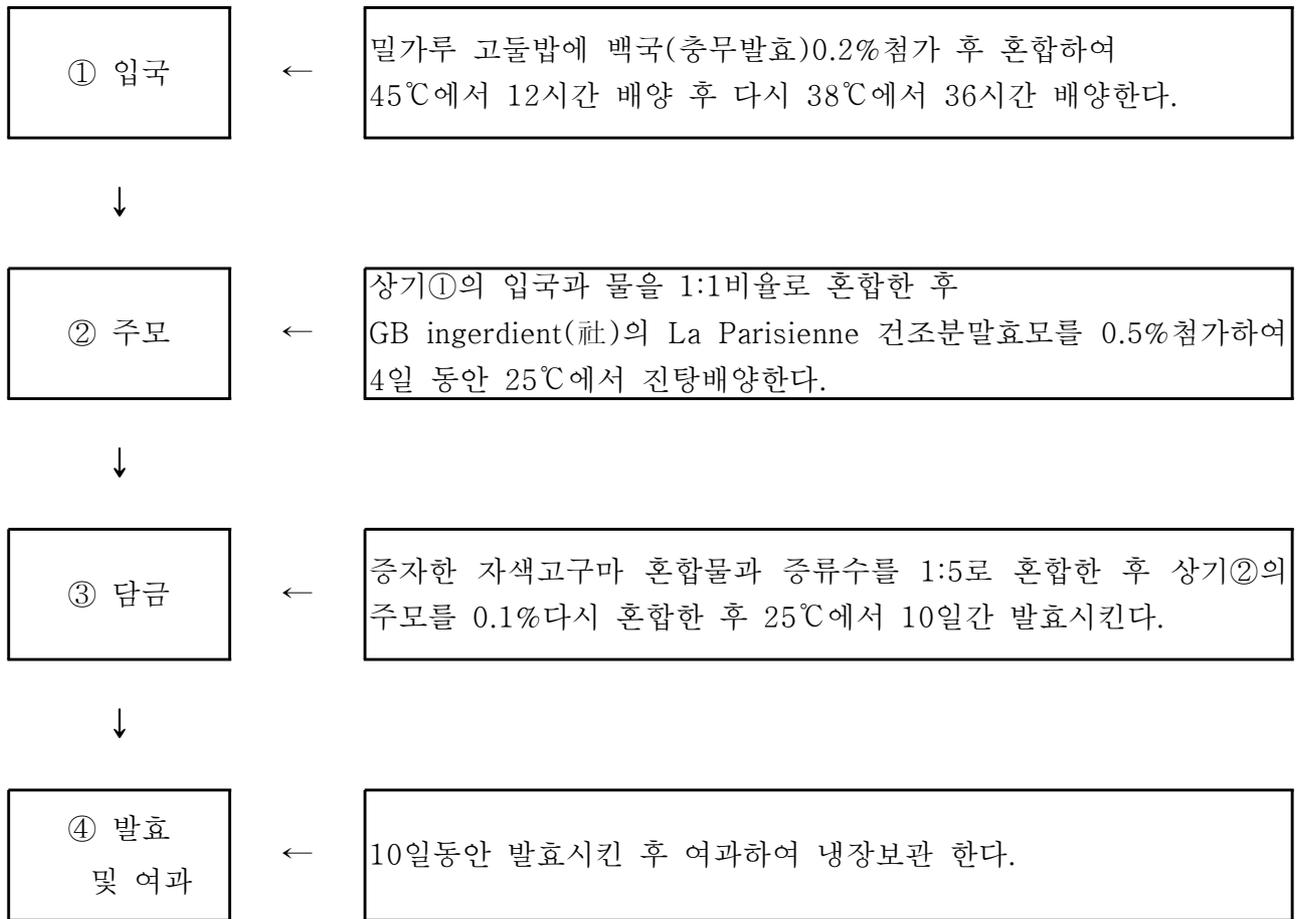


Fig. 8. Condition of alcohol fermentation in purple sweet potato residue.

자색고구마 추출박과 건조분말을 동량 혼합하여 100℃에서 1시간 열처리한 혼합물의 알콜발효를 위해 (주)총무발효의 백국(300sp)과 GB ingredient(社)의 La Parisienne제품을 사용하여 주모를 조제하였다. 주모는 백국을 이용하여 입국을 제조하고 밀가루를 증자시킨 고들밥에 백국 0.2%를 골고루 혼합한 다음 45℃에서 12시간 후 38℃에서 36시간 배양한 뒤 냉장보관 하였다. 이때 입국은 전분질을 당화시키고 향미를 부여하고 술덧의 오염을 방지하는 역할을 함으로서 주정에 큰 영향을 미친다. 완성된 입국을 물과 1:1의 비율로 혼합한 후 건조분말 상태의 효모를 0.5%첨가하여 4일 동안 25℃에서 진탕배양(100rpm)하여 주모를 만든 후 자색고구마 추출박과 건조분말을 50:50으로 배합한 자색고구마 혼합물과 증류수를 1:5로 혼합한 후 미리 만든 주모 0.1%를 다시 혼합하여 25℃에서 10일간 발효시켜 자색고구마 막걸리의 ethanol, Brix, pH, 총산 함량을 측정하였다.

다. 자색고구마 막걸리의 이화학적 특성분석

(1) 자색고구마 추출박을 이용한 막걸리제조

선행 실험결과를 기초로 하여 자색고구마 추출박을 이용한 막걸리 제조를 위한 최적 담금 조건을 설정하였다. 자색고구마 추출박과 자색고구마는 4일간 자연건조하여 수분을 10.0이하로 건조하여 100mesh까지 파쇄한 후 분말화 하여 사용하였으며 배합비율은 아래의 Table 6과 같이 30:70, 50:50, 70:30으로 배합하고 담금을 위한 주모의 제작은 (주)충무발효의 백국(300sp)과 GB ingredient(社)의 La Parisienne제품을 사용하여 병행발효를 하기 위한 주모를 조제하였다. 주모는 백국을 이용하여 입국을 제조하고 밀가루를 증자시킨 고들밥에 백국 0.2%를 곁들여 혼합한 다음 45℃에서 12시간 후 38℃에서 36시간 배양한 뒤 사용하였다.

완성된 입국을 물과 1:1의 비율로 혼합한 후 건조분말 상태의 효모를 0.5%첨가하여 4일 동안 25℃에서 진탕배양(100rpm)하여 주모를 조제한 후 자색고구마 추출박과 건조분말을 Table 5의 배합비율로 배합한 자색고구마 혼합물과 증류수를 1:20으로 혼합하고 설탕으로 20 brix 까지 보당한 뒤, 미리 만든 주모 0.1%를 다시 혼합하여 25℃에서 15일간 발효시킨 후(Fig. 8) 5일간격으로 자색고구마 추출박을 이용한 막걸리의 ethanol, brix, pH, 총산, 안토시아닌색소, 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.

Table 6. Mixing ratio of purple sweet potato dry powder with its residue dry powder

Type	A	B	C
Dry purple sweet potato residue powder	70%	50%	30%
Dry purple sweet potato powder	30%	50%	70%

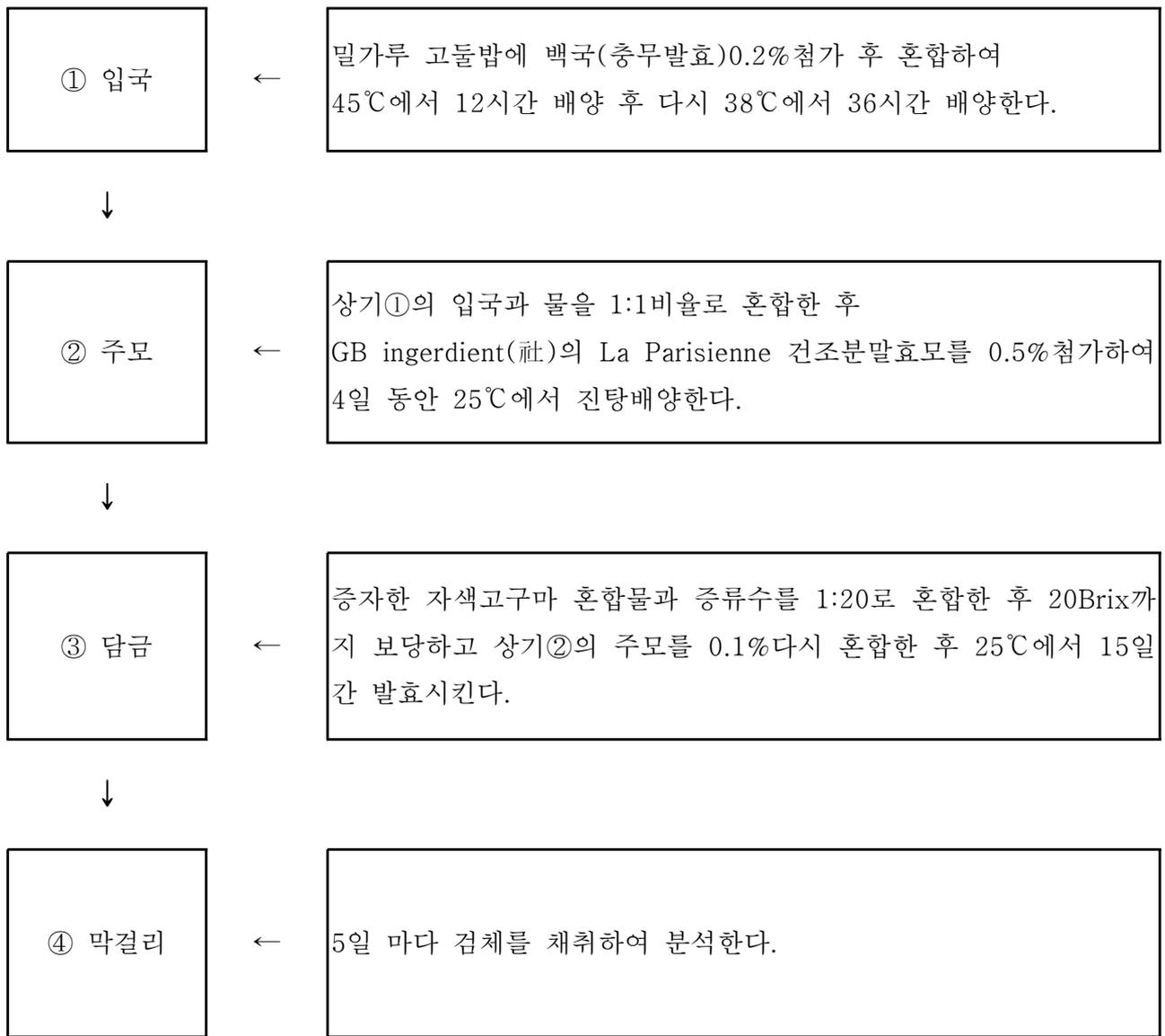


Fig. 9. Manufacturing process of rice wine(Makgeolli) from purple sweet potato residue

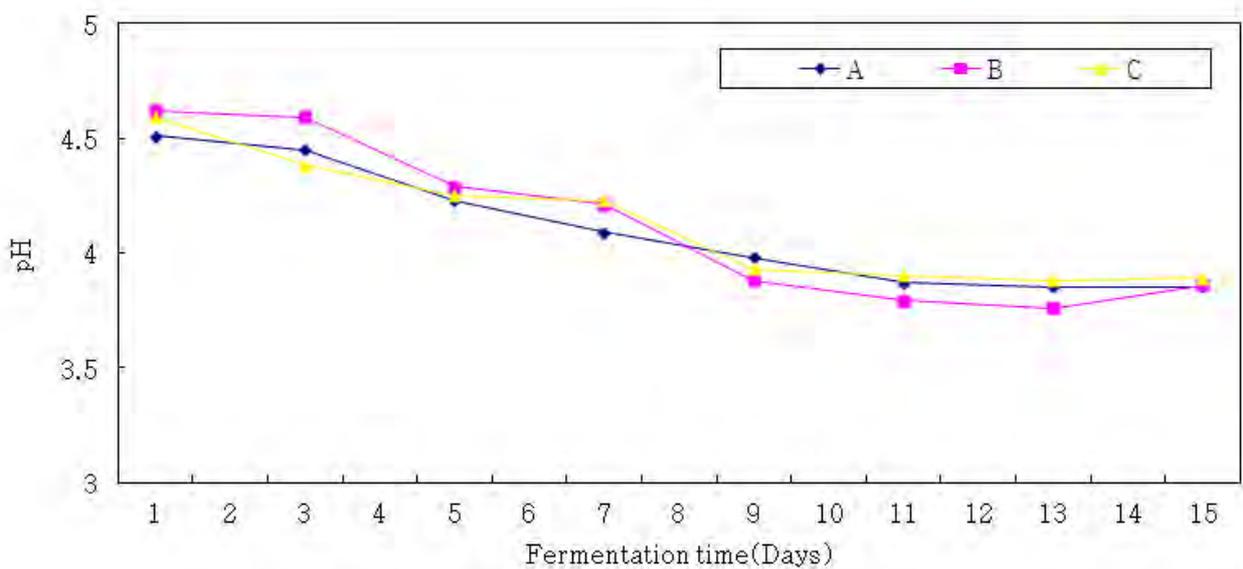
Table 7. Properties of purple sweet potato Makgeolli

Purple sweet potato Makgeolli	Ethanol(%)	Brix	pH	Total acidity
Dry purple sweet potato residue powder(50%) + Purple sweet potato powder(50%)	8.7	0.81	3.69	0.81

(2) pH 및 총산의 변화

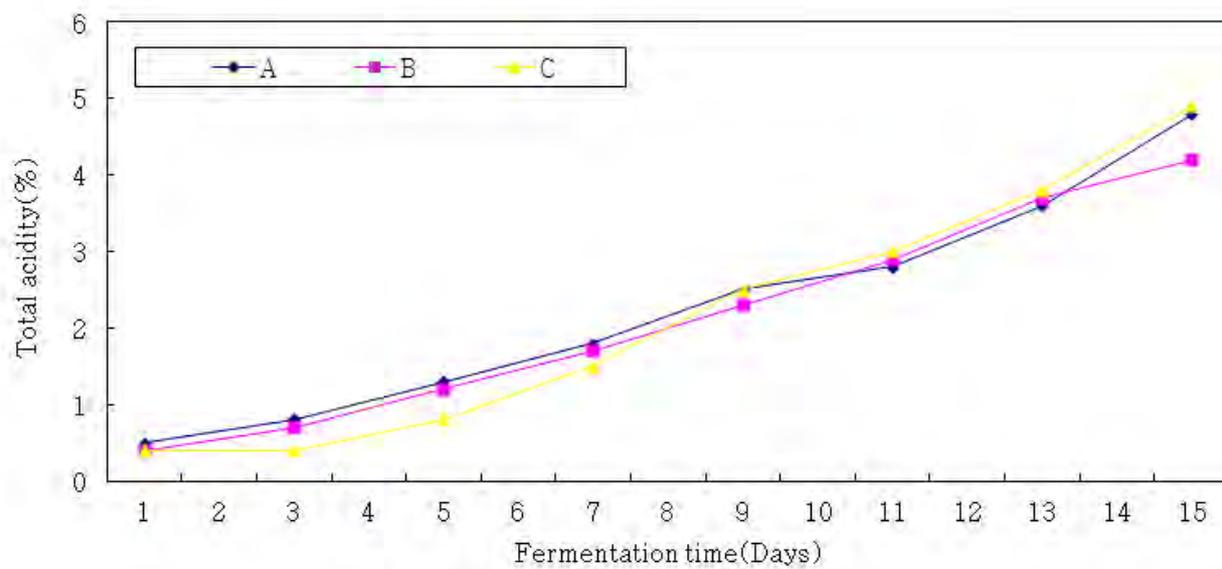
자색고구마 막걸리의 발효기간 중 pH의 변화는 Fig. 9와 같다. 포도주의 경우, pH가 3.6 이상이면 유리 아황산의 비율이 저하되어 야생 미생물에 대한 살균효과가 없어져 잡균이 발생할 가능성이 높고, 반대로 pH가 3.2 이하가 되면 지나치게 신맛이 난다는 연구보고와 자색고구마 추출박으로 발효한 것과는 유사한 경향을 보였으며, 자색고구마 추출박의 함량이 높을수록 pH가 평균적으로 3.6 정도로 높게 나타났다.

발효 중 총산의 함량을 측정한 결과, 담금 직후 산도는 0.3%였으나 발효 1일째에는 0.4%로 약간 증가하였다. 그 이후 산도는 점차적으로 증가하여 마지막 발효 15일째에는 4%를 넘는 4.2%를 나타내었다.



A : residue 70% + dry powder 30%, B : residue 50% + dry powder 50%,
C : residue 30% + dry powder 70%

Fig. 10. Changes in pH during rice wine(Makgeolli) fermentation

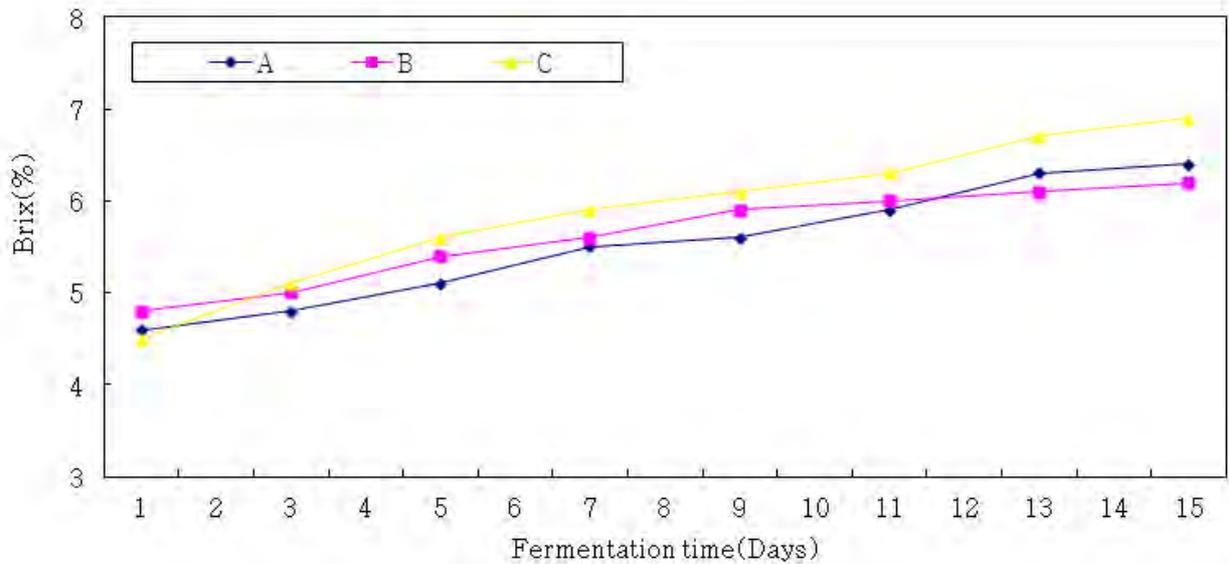


A : residue 70% + dry powder 30%, B : residue 50% + dry powder 50%,
 C : residue 30% + dry powder 70%

Fig. 11. Changes in total acidity during rice wine(Makgeolli) fermentation

(3) 당도의 변화

담금 직후 자색고구마 막걸리의 당도는 4.8 brix 로 나타났으며(Fig. 12) 발효가 진행됨에 따라 미생물에 의해 당화작용과 알콜 대사가 동시에 일어나면서 가용성 고형분의 함량을 증가시키는 요인들이 증가하게 되므로 당도는 점차 증가하는 경향을 나타내었는데, 발효 15일에 6.2 brix로 증가하였다.



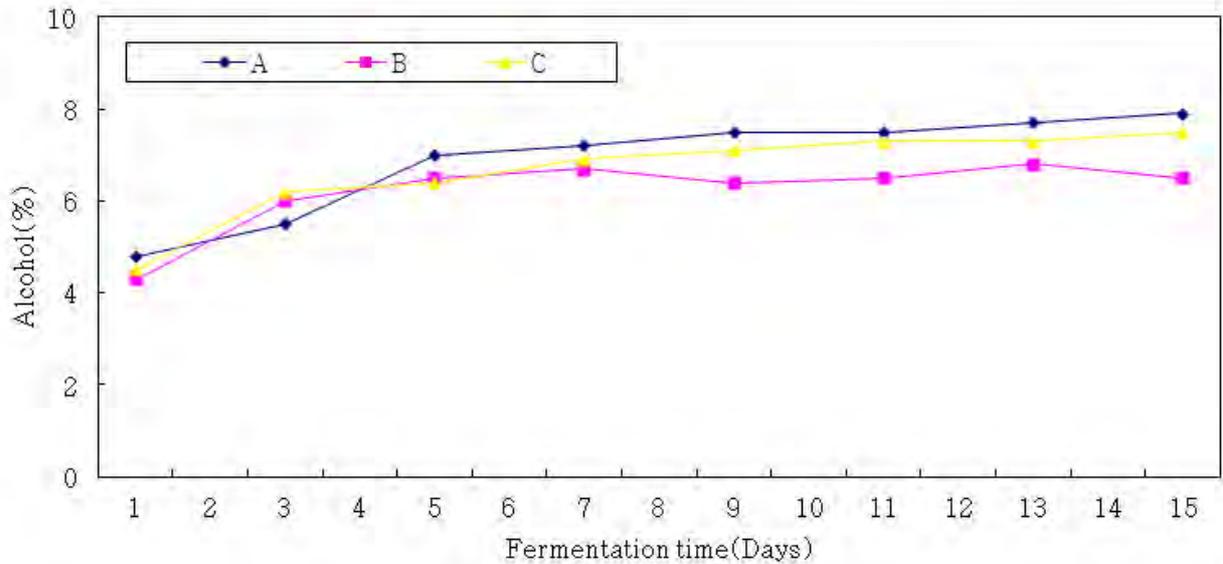
A : residue 70% + dry powder 30%, B : residue 50% + dry powder 50%,

C : residue 30% + dry powder 70%

Fig. 12. Changes in sugar content during rice wine(Makgeolli) fermentation

(4) 알콜의 변화

자색고구마와 자색고구마 추출박으로 제조한 막걸리의 알콜 함량은 Table 11과 같이 발효 1일째에는 4.3%를 나타내었다. 발효 2일째에 알콜 함량은 6.0%정도로 급격히 증가한 후 증감의 양상이 다소 있었으며, 그 이후부터는 알콜의 증가가 미미하여 발효 15일째에는 6.5% 수준에 도달하였다.



A : residue 70% + dry powder 30%, B : residue 50% + dry powder 50%,

C : residue 30% + dry powder 70%

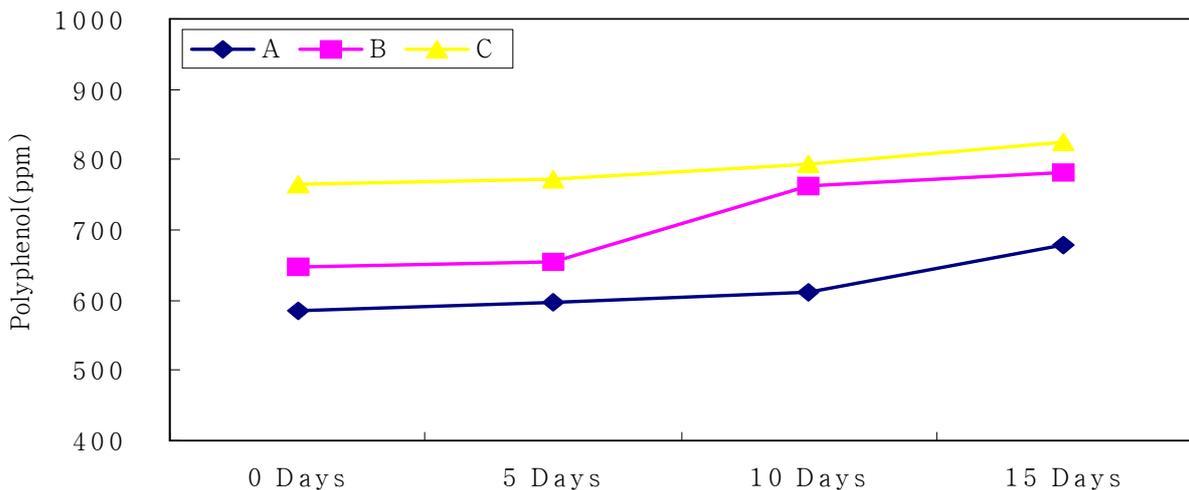
Fig. 13. Changes in alcohol content during rice wine(Makgeolli) fermentation

(5) 총 폴리페놀 함량

자색고구마에는 페놀계 물질이 다량 존재하여 다양하고 유용한 생리활성이 보고되고 있다. 이러한 폴리페놀계 물질들은 자색고구마 발효주의 숙성에 많은 영향을 미칠 뿐 아니라 발효주의 색, 향, 맛 등 관능적 특성면에서도 중요하게 다루어진다.

자색고구마는 발효 중 에탄올 생성과 함께 flavan-3-ols, flavan-3,4-diols, anthocyanin, anthocyanidin 및 flavonol 등과 같은 자색고구마의 페놀 성분이 에탄올에 용출되어 자색고구마 막걸리로 침출되면서 발효 초기 동안은 증가하는 경향을 보이다가 숙성을 거치면서 이들 성분이 서로 중합하여 고분자의 페놀성분으로 전환되어 더 이상의 증가는 없는 것으로 나타났다.

총 폴리페놀 함량(Fig. 13)은 모든 시험구에서 발효가 진행되면서 증가하는 경향을 보였으며, 자색고구마 추출박과 건조분말을 30:70으로 발효한 것이 총 폴리페놀 함량이 높은 경향을 나타내었다.



A : residue 70% + dry powder 30%, B : residue 50% + dry powder 50%,

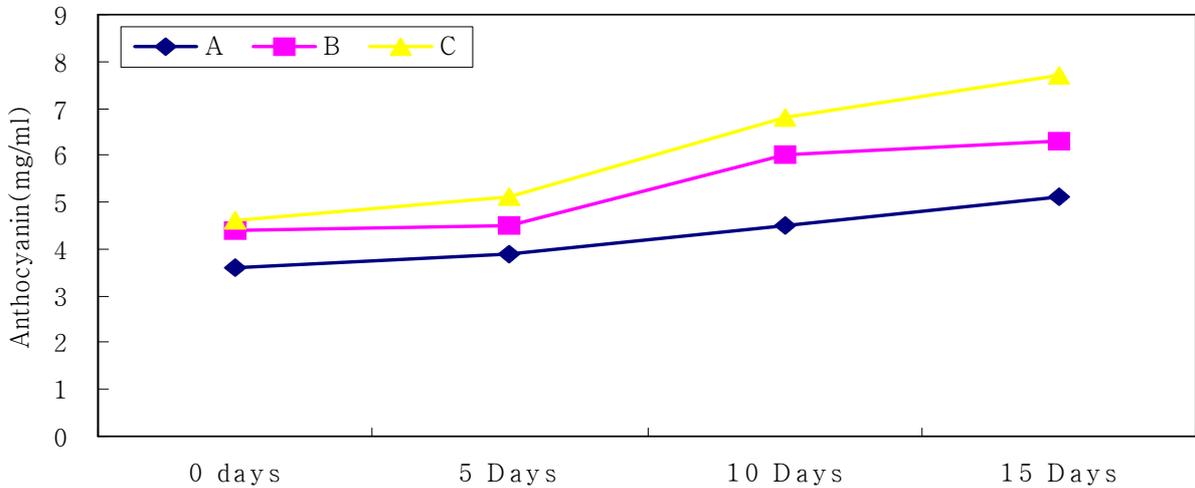
C : residue 30% + dry powder 70%

Fig. 14. Changes in polyphenol content during rice wine(Makgeolli) fermentation

(6) 안토시아닌 색소 함량

자색고구마 유래의 안토시아닌 색소는 강력한 항산화 활성뿐만 아니라 알콜에 의한 간 손상, 간염, 간 섬유화 등을 효과적으로 개선하는 효능이 검증된 바 있어, 자색고구마 막걸리 제조 시 안토시아닌 함량은 막걸리의 기능성 부여 및 색감증진에도 매우 중요한 요소로 작용하므로 발효기간에 따른 색소생성 패턴을 조사하였다.

Fig. 14.에서 보는바와 같이 알콜발효가 왕성하게 진행되는 발효 5일째 까지 모든 실험군에서 3.5~4.5mg/ml까지 생성된 후 발효 10일째에 5mg/ml로 상승하고 그 이후로는 완만하게 증가하였다. 이러한 결과는 알콜 최대 생성시간과 안토시아닌 최대 생성시간이 거의 일치하는 결과로써 발효기간을 최종 설정하는데 유용한 자료로 사료된다.



A : residue 70% + dry powder 30%, B : residue 50% + dry powder 50%,
C : residue 30% + dry powder 70%

Fig. 15. Changes in Anthocyanin content during rice wine(Makgeolli) fermentation

(7) 관능검사

최종 선정된 A, B, C 자색고구마 막걸리의 색상, 향기, 맛의 조화, 전체적인 기호도 등에 대하여 12명의 학생을 대상으로 관능평가를 실시하였다. A의 경우 전체적인 모든 평가기준에서 미흡한 결과를 나타내었으며, B와 C의 경우 색상과 맛의 평점이 거의 유사한 수준이었으나 향기와 전체적인 기호도 면에서 B가 월등히 우수한 결과를 나타내었다.

Table 8. Sensory test of purple sweet potato Makgeolli

Sensory properties	Samples		
	A	B	C
Color	2.8±0.3	6.6±0.4	6.2±0.5
Flavor	2.7±0.5	6.4±0.6	5.3±0.3
Taste	3.7±0.5	6.5±0.5	6.4±0.2
Overall acceptability	3.5±0.2	6.6±0.1	5.5±0.4

1~7 scale : 7, very acceptable ; 1, very unacceptable

A : residue 70% + dry powder 30%, B : residue 50% + dry powder 50%, C : residue 30% + dry powder 70%

2. 자색고구마 추출박을 활용한 자색식초의 개발

가. 자색고구마 식초의 초산발효 조건 확립

(1) 주모 및 종초배양

자색고구마 막걸리 유래 야생 초산균을 순수분리 하기 위해서 1차년도에의 선행 실험결과를 기초로 하여 최적 주모 및 종초의 담금 조건을 설정하였다. 자색고구마 추출박과 자색고구마는 4일간 자연건조하여 수분을 10.0이하로 건조하여 100mesh까지 파쇄한 후 분말화 하여 각각 50:50으로 배합하여 사용하였으며 담금을 위한 주모의 제작은 (주)충무발효의 백국(300sp)과 GB ingredient(社)의 La Parisienne제품을 사용하여 병행발효를 하기 위한 주모를 조제하였다. 주모는 백국을 이용하여 입국을 제조하고 밀가루를 증자시킨 고두밥에 백국 0.2%를 골고루 혼합한 다음 45℃에서 12시간 후 38℃에서 36시간 배양한 뒤 사용하였다. 완성된 입국을 물과 1:1의 비율로 혼합한 후 건조분말 상태의 효모를 0.5%첨가하여 4일 동안 25℃에서 진탕배양(100rpm)하여 주모를 조제한 후 자색고구마 추출박과 건조분말을 배합한 자색고구마 혼합물과 증류수를 1:20으로 혼합하고 설탕으로 20Brix 까지 보당한 뒤, 미리 만든 주모 0.1%를 다시 혼합하여 25℃, 250rpm으로 15일간 발효시킨 후 사용하였고 자색고구마 종초는 9.1 Brix, pH 4.02, 총산 18%, Alcohol 로 다음 Table 9과 같다.

Table 9. Properties of purple sweet potato vinegar starter

Properties	Purple sweet potato vinegar starter
Brix	9.1
pH	4.02
Total acidity(%)	2.8
Alcohol(%)	7.5

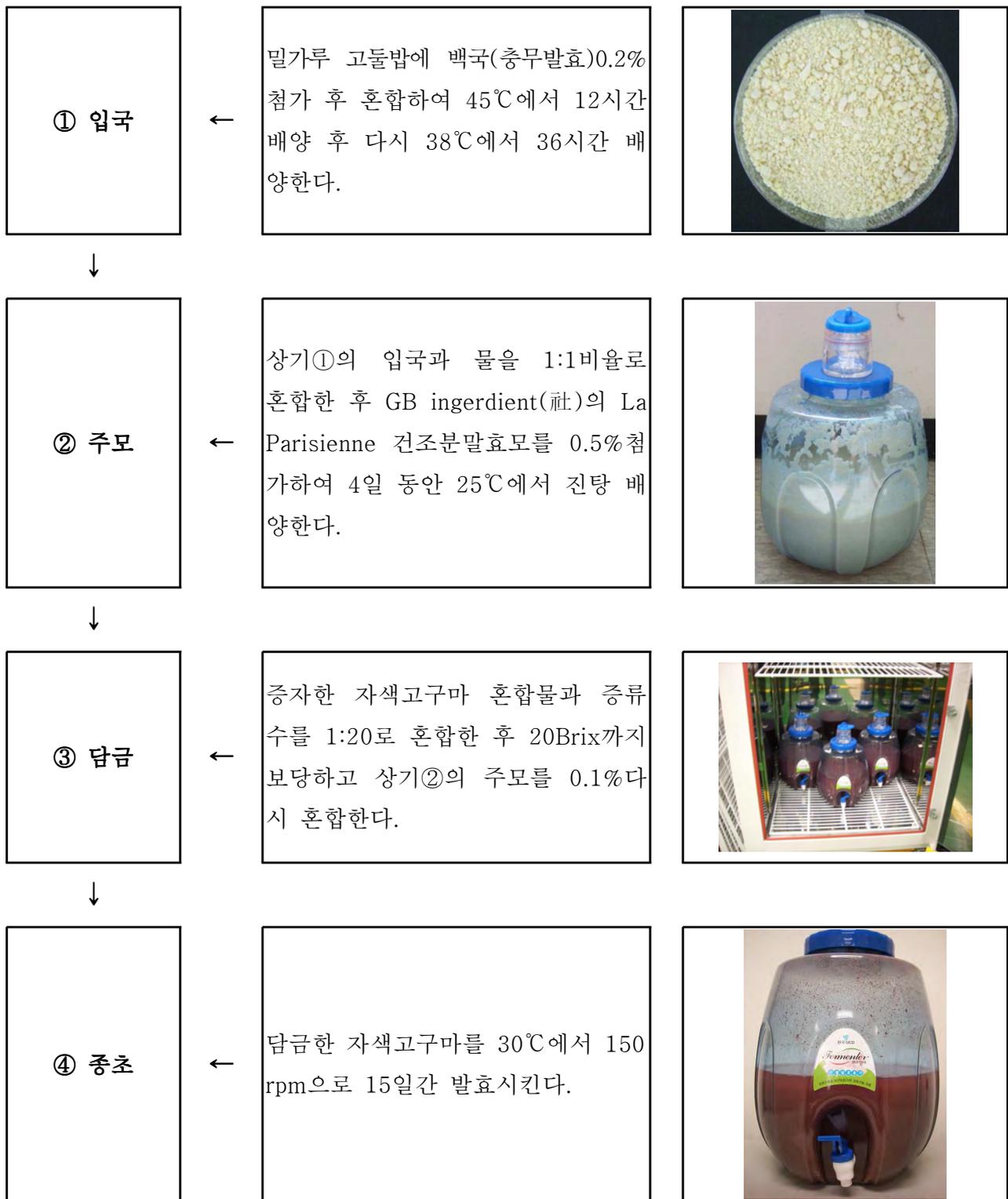


Fig. 16. Cultivation method of seed mash and vinegar starter using purple sweet potato

(2) 자색고구마 유래 야생 초산균의 1차 분리

자색고구마로부터 초산균을 순수분리하기 위해 사용한 배지조성은 Glucose 1.5%, Peptone 0.3%, Yeast extract 0.2%, EtOH 3.0%, Acetate 1.0%, Agar 1.5%로 Table 10과 같으며 Ethanol과 초산을 뺀 나머지 성분을 121℃에서 15분간 15lb psi로 고압멸균하여 55℃ 항온수조에 정치한 다음 ethanol과 초산을 무균적으로 첨가하여 한천 평판배지를 제조하였다. 발효가 끝난 상기 (가)의 종초를 고체배지에 신속히 도말하고 30℃ Incubator에 배양하여 생성된 초산균의 단일 colony를 동일한 배지에 반복하여 계대배양하여 1차 분리하였다(Fig. 17, 18, 19).

Table 10. Medium composition for isolation of acetic acid bacteria

GYP medium	
Glucose	15 g
Yeast extract	2 g
Peptone	3 g
Agar	15 g
Acetate	10 ml
Ethanol	30 ml
Distilled water	1 L

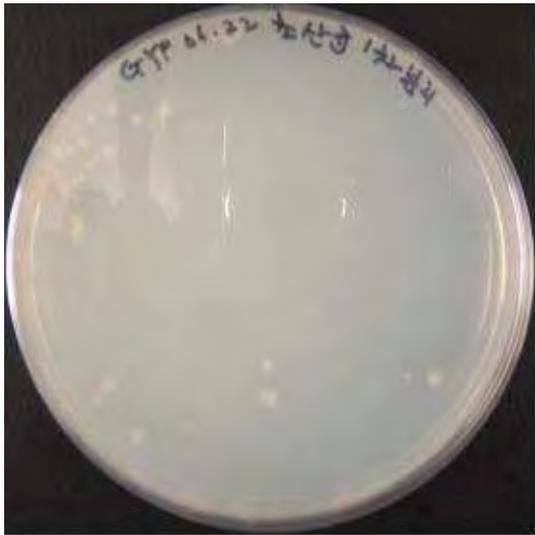


(WT-01)

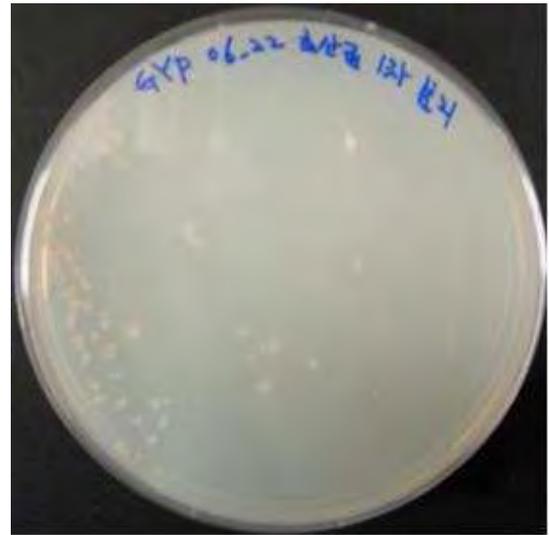


(WT-02)

Fig. 17. Isolation of acetobacter from purple sweet potato(WT-01, 02)

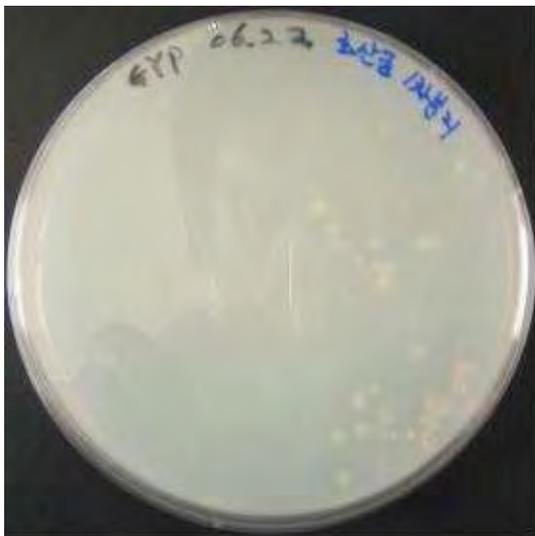


(WT-03)

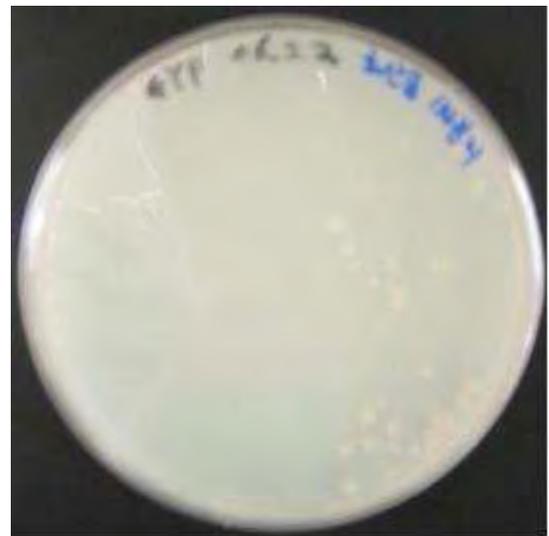


(WT-04)

Fig. 18. Isolation of acetobacter from purple sweet potato(WT-03, 04)



(WT-05)



(WT-06)

Fig. 19. Isolation of acetobacter from purple sweet potato(WT-05, 06)

(3) 자색고구마 유래 야생 초산균의 2차 분리

GYP배지에 도말, 배양하여 얻은 자색고구마 유래 초산균 6종의 초산 생성능을 알아보기 위해 Agar hole법을 사용하였다. Yeast extract 0.2%, Peptone 0.3%, CaCO₃ 2%, Agar 1.5%, Ethanol 2%의 배지조성을 가지는 Ethanol medium배지(Table 11)에 멸균된 cork bore(φ 3mm)를 이용하여 원형의 hole을 만든 후 1차 분리한 초산균 배양액을 일정량 투여 하였다. 그런 다음 30℃에서 5일간 평판 배양한 후 생성된 투명환(clear zone)의 크기를 확인하였다(Fig. 20, 21, 22). 6종의 초산균 중 WT-01, WT-02, WT-03의 초산균의 Clear zone의 크기(Table 12)는 각각 4.8mm, 2.4mm, 2.2mm로 WT-01이 초산 생성력이 가장 우수하였다.

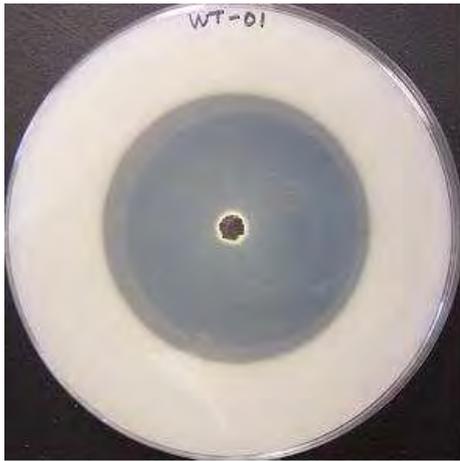
Table 11. Medium composition for isolation of acetic acid bacteria

Ethanol medium	
Yeast extract	2 g
Peptone	3 g
Agar	15 g
CaCO ₃	20 ml
Ethanol	20 ml
Distilled water	1 ℓ

Table 12. Acetic acid productivities of acetobacter isolated from purple sweet potato

(unit : width mm)

Sample	WT-01	WT-02	WT-03	WT-04	WT-05	WT-06
Clear zone	4.8	2.4	2.2	1.6	1.4	1.6



(WT-01)



(WT-02)

Fig. 20. Producibility of acetic acid from acetobacter isolated(WT-01, 02)



(WT-03)



(WT-04)

Fig. 21. Producibility of acetic acid from acetobacter isolated(WT-03, 04)



(WT-05)



(WT-06)

Fig. 22. Producibility of acetic acid from acetobacter isolated(WT-05, 06)

(4) 초산 발효능 조사

자색고구마로부터 1차 분리한 초산균 6종 중 가장 초산 생성능이 뛰어난 초산균 3종(WT-01, WT-02, WT-03)의 발효력과 성분변화를 평가하기 위해 상기 Fig. 1의 방법과 동일하게 자색고구마를 담금하여 7일간 알콜발효 시킨 후 2차 분리된 초산균을 GYP 액체배지에 48시간 배양한 배양액을 각 각 2%씩 첨가해 자색고구마 식초를 제조하였다(Fig. 23).

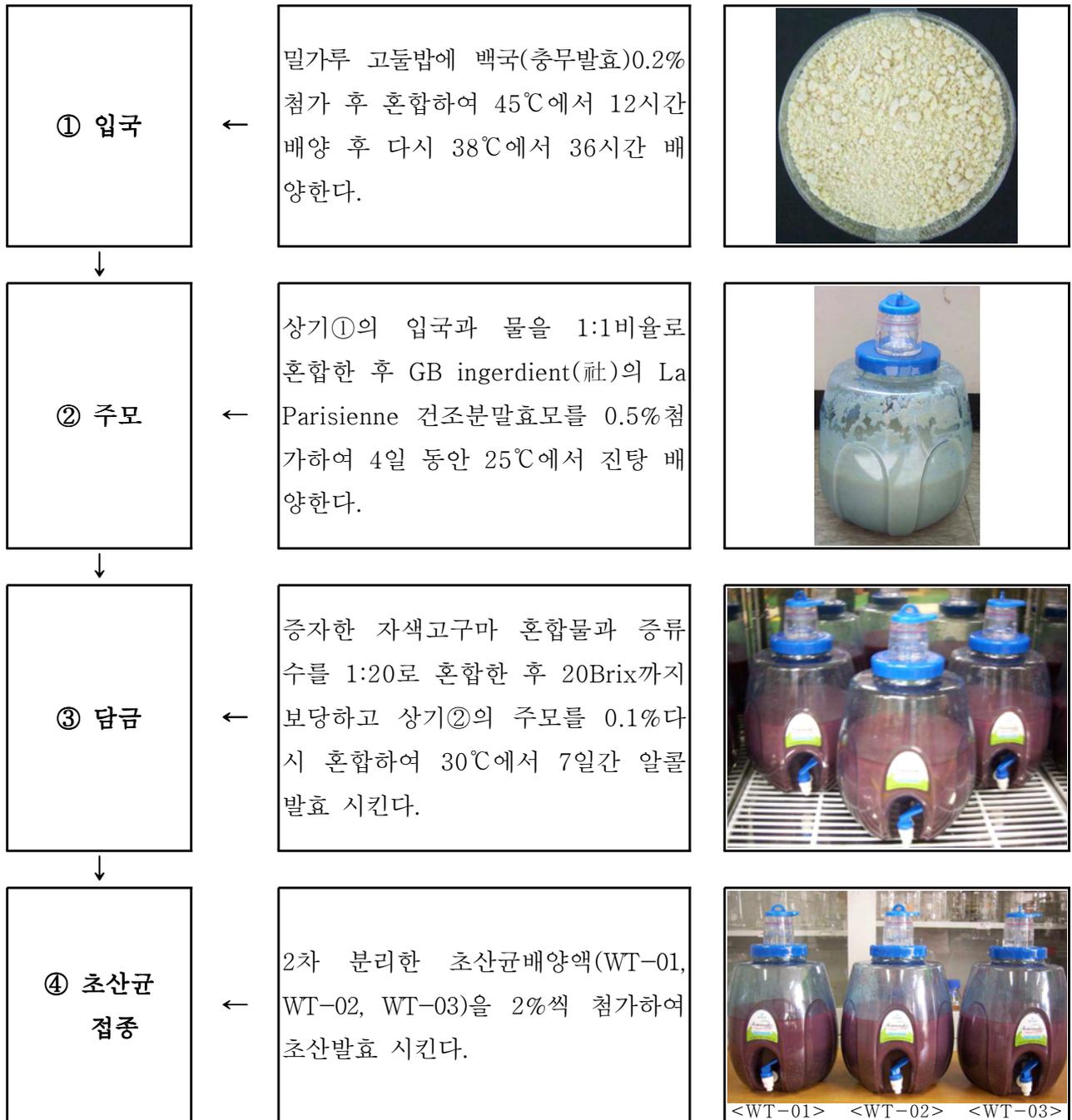


Fig. 23. Manufacturing method of purple sweet potato vinegar

(가) Paper disc법에 의한 초산균의 발효능 조사

2차 분리·선별한 초산균 3종의 초산균을 Paper disc법에 의해 발효능을 조사하기 위해서 자색고구마 발효액에 초산균을 접종한 후 15일간 발효한 발효액 0.1ml를 Ethanol배지에 직경 $\phi 8.0\text{mm}$ 의 멸균한 paper disc에 추가하고 30°C 에서 48시간 배양 한 후 disc 주변에 형성된 growth zone, clear zone 및 effect zone의 폭을 측정하였다. 각 zone은 통상의 방법에 따라 Fig. 24과 같이 설정한 결과 자색고구마 유래 초산균 WT-02와 WT-03의 Growth zone은 각각 1mm, 1.2mm, Clear zone은 2.4mm, 1.8mm, Effect zone은 0.2mm, 0.1mm을 형성한 반면 WT-01의 Growth zone은 1.8mm, Clear zone은 3.4mm, Effect zone은 0.1mm를 형성하여 뛰어난 초산 발효능을 나타내었다(Table 13), (Fig. 25).

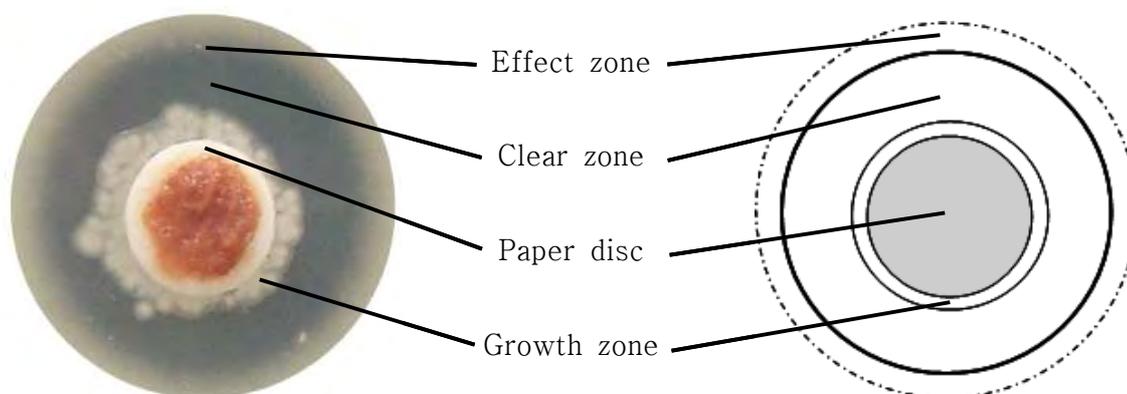


Fig. 24. Clear zone formation by paper disc test and partition of related zones

Table 13. Clear zone forming abilities of bacterial strains isolated

(unit : width mm)

Sample	WT-01	WT-02	WT-03
Growth zone	1.8	1	1.2
Clear zone	3.4	2.4	1.8
Effect zone	0.1	0.2	0.1

* Paper discs inoculated with purple sweet potato vinegar were incubated for 48 hour at 30°C .



→



(WT-01)



→



(WT-02)



→



(WT-03)

Fig. 25. Clear zone formed by acetobacter isolated

(나) 기질의 소비량 및 성분변화에 의한 초산균의 발효능 조사

자색고구마 발효액에 2차 분리·선별한 초산균 3종의 초산균을 접종한 후 15일 동안 pH, 총산, brix, alcohol, 생균수(초산균)의 변화를 조사한 결과 3종의 발효액 모두 brix는 6 ± 0.5 으로 지속적인 증가를 보였고(Fig. 26), alcohol은 초산균 접종 후 alcohol 함량이 2 ~ 3 % 상승 하였다가 발효 후반 다시 감소하였다(Fig. 27). Yae 등⁷⁰⁾은 석류식초 발효에서 당도는 알콜 함량과 반대의 경향으로 발효 3일까지 감소하다가 3일 이후는 유지되는 경향을 보고가 있어 차이가 있었고, Lee 등⁷¹⁾은 감식초 발효 중 10일 발효까지 유리당의 함량이 전체적으로 증가한다는 결과와 유사한 경향을 보였다. 이는 자색고구마 내에 존재하는 효소의 작용이나 누룩의 당화작용에 의해 다당류가 단당류인 포도당, 과당 등으로의 분해에 의해 증가되는 것으로 판단된다.

pH는 초산균을 접종한 후 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었고, 각 균주간의 유의적인 차이는 없었다(Fig. 28), 총산은 초산균 접종 15일 후 접종전과 비교하여 4배 가량 증가하여 7.6 % 이상의 식초산을 생성하였고, 특히 WT-01를 접종한 발효액의 경우 9.0 %로 가장 높았다(Fig. 29). Lee 등⁷²⁾이 감식초 발효의 속성배양에서 적정산도가 7일째까지 지속적으로 증가됨에 따라 pH도 점차 감소하여 pH 3.3~3.4를 나타내었다고 보고한 것과 유사한 경향이었다.

초산균의 생균수는 발효 7일째 변곡점이 나타나 생균수가 급격하게 상승하여 15일 이후 각 발효액에서 1.0×10^5 CFU/ml 이상 측정되었다(Fig. 30). 이는 Lee 등⁷¹⁾의 40일 이후 초산균이 1.0×10^5 CFU/ml 측정된 결과와 비교하여, 발효용량 및 방법 등에 차이는 있으나 본 실험에서 분리한 초산균의 증식속도가 우수한 것으로 판단된다.

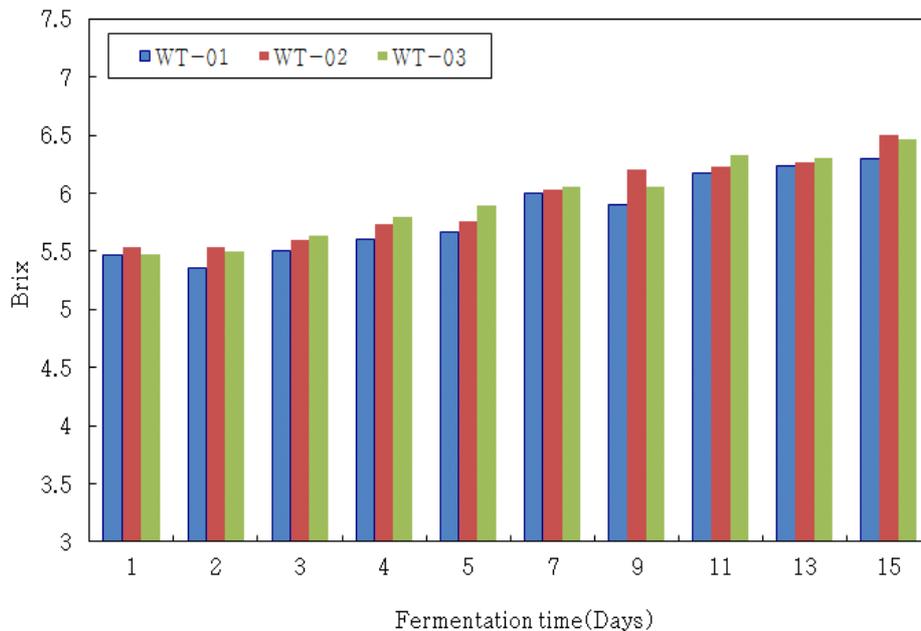


Fig. 26. Changes in sugar content during acetate fermentation of purple sweet potato extract.

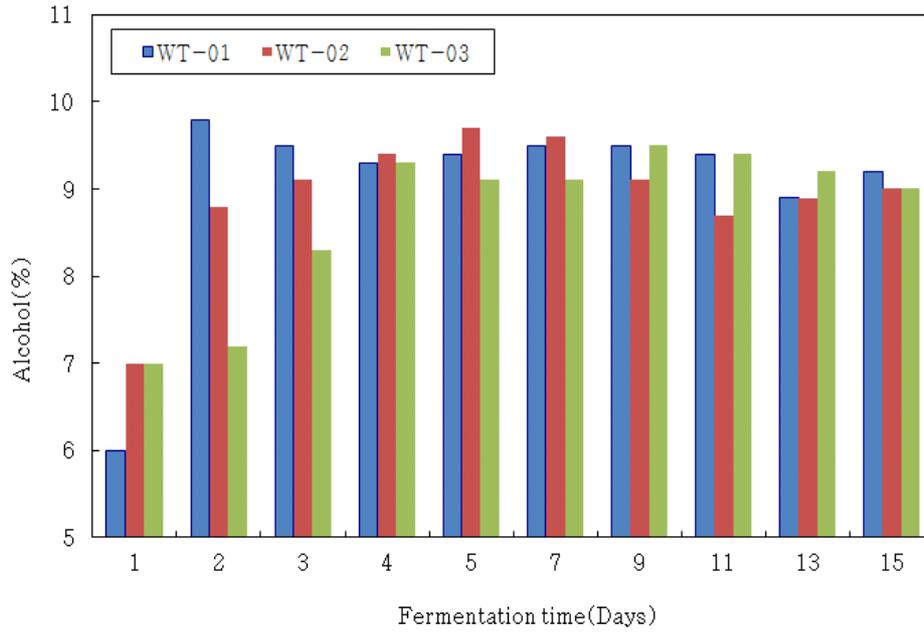


Fig. 27. Changes in ethanol contents during acetate fermentation of purple sweet potato extract.

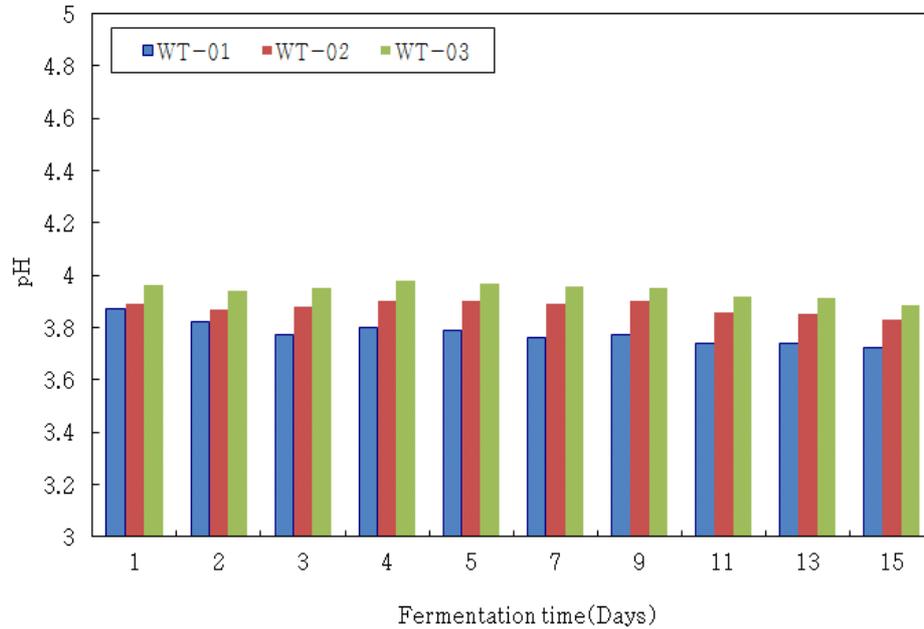


Fig. 28. Changes in pH during acetate fermentation of purple sweet potato extract.

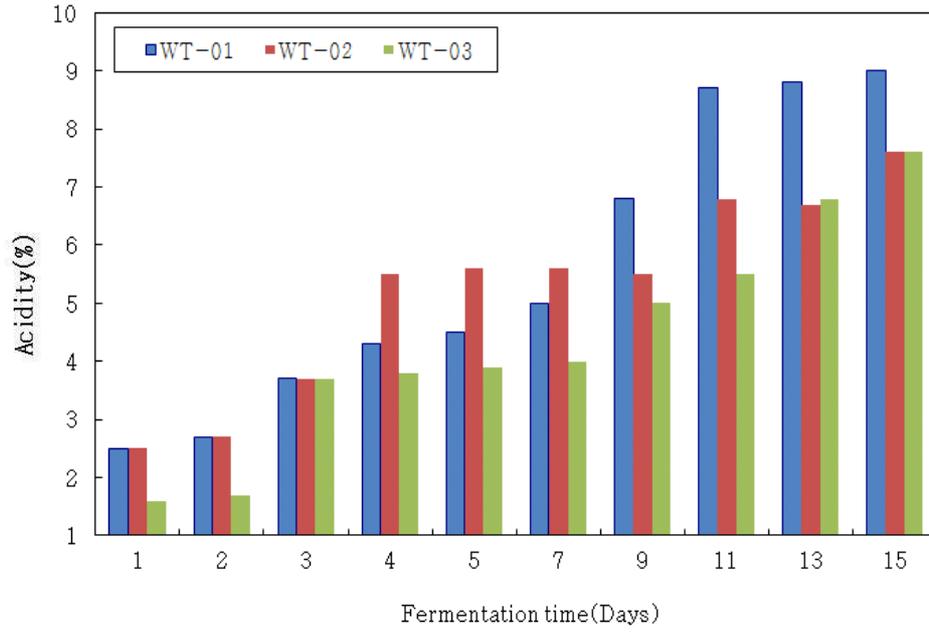


Fig. 29. Changes in acidity during acetate fermentation of purple sweet potato extract.

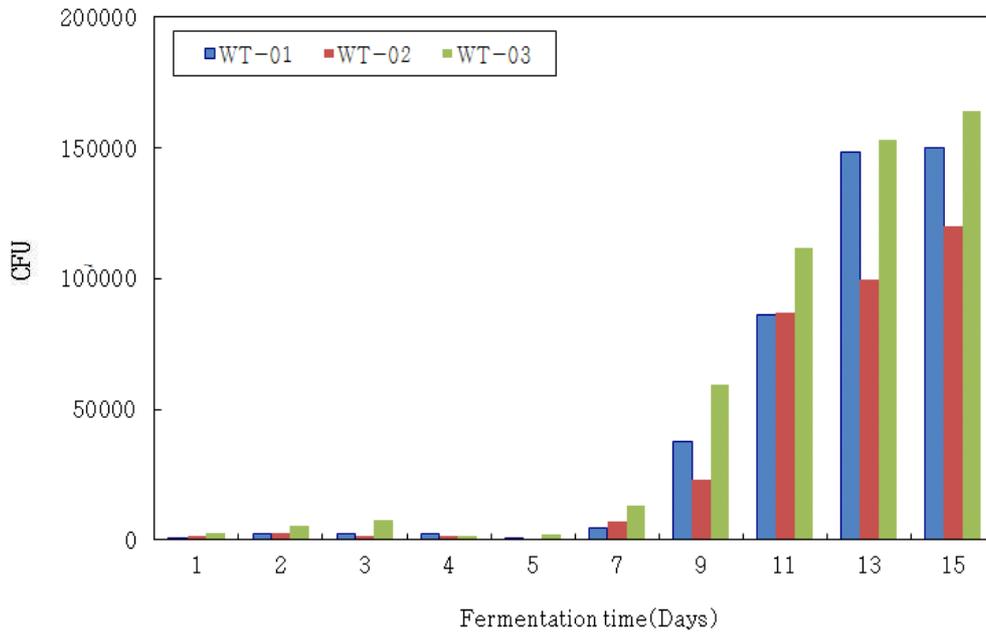


Fig. 30. Changes in growth during acetate fermentation of purple sweet potato extract.

나. 자색고구마 식초의 초산발효 조건 최적화 및 제품특성·품질검사 표준화

(1) pH, 당도, 총산, 알콜, 초산균의 변화

상기 Fig. 8에서 제조한 자색고구마 발효액에 다음 Table 14과 같이 멸균수와 혼합하여 초산생성에 가장 적합한 조건을 만들어 2차 분리·선별한 초산균 3종 중 가장 발효력과 품질이 뛰어난 WT-01과 미생물자원센터에서 분양받은 *Acetobacter aceti*(KCTC No.1010)를 Table 15의 배지조성에서 배양하여 접종한 후 Brix, pH, 총산, Alcohol의 변화를 측정하였다.

원액-WT-01과 원액-KCTC, NO.1010의 brix는 5.7 ± 0.2 , pH는 3.84 ± 0.06 로 초산균 접종 전과 후 변화가 거의 없었고(Fig. 31, 32), alcohol은 초산균 접종 후 alcohol 함량이 2~3 % 상승하였다가 발효 후반 다시 감소하였으며(Fig. 33), 총산은 초산균 접종 후 4배 가량 증가하였다(Fig. 34). 이상의 결과로부터 자색고구마 유래 야생 초산균 WT-01은 *Acetobacter aceti*(KCTC No.1010)와 비교하여 유사한 발효 특성을 가지고 있으며, 발효기간 동안 0.5~1.0 % 더 많은 식초산을 생산하여 자색고구마 식초용 발효균으로서 적합한 성상을 지닌 것으로 판정된다.

현행의 식품위생법 상 4.0 % 이상의 식초산을 함유하면 조미용 식초로 사용가능하며, 세계적으로도 조미 식초의 규격이 4 ~ 6 %의 범위에 속하는 바, 분리균을 이용한 감귤식초 생산이 가능한 것으로 판단된다. 또한 주정을 첨가하지 아니한 천연원료를 이용한 식초는 식초산 농도가 5 %를 넘기 어려운 것으로 알려져 있으나 자색고구마 유래 야생 초산균으로 발효한 자색고구마 식초는 4.0 ~ 9.0%의 높은 산도에 도달하였다는 점에서 우수한 발효균으로 사료된다. 다만, 산업 생산을 위해서는 자색고구마 식초의 관능적 특성과 유기산 조성 및 저장성 등의 품질 특성과 아울러 발효기간을 단축시키는 방안이 강구되어야 할 것으로 분석된다.

Table 14. Optimal fermented condition of purple fermented sweet potato extract

Type	Fermented purple sweet potato extract (%)	Sterilized water(%)	Properties			
			Brix	pH	Acid	Alcohol
원액-WT-01	100%	-	5.93	3.91	5.4	6.4
원액-KCTC, NO.1010	100%	-				
희석-WT-01	70%	30%	4.23	3.86	4.6	4.5
희석-KCTC, NO.1010	70%	30%				

Table 15. Medium composition for cultivation of *Acetobacter aceti*

YPM MEDIUM	
Yeast extract	5 g
Peptone	3 g
Agar	15 g
Mannitol	25 g
Distilled water	1 L

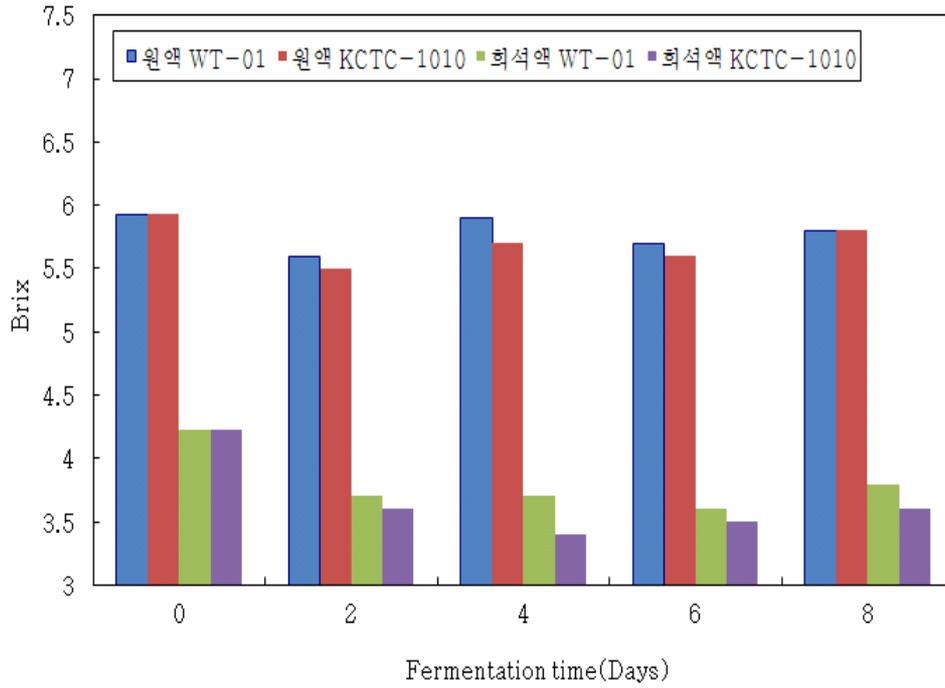


Fig. 31. Changes in sugar contents during acetate fermentation by WT-01 and KCTC 1010.

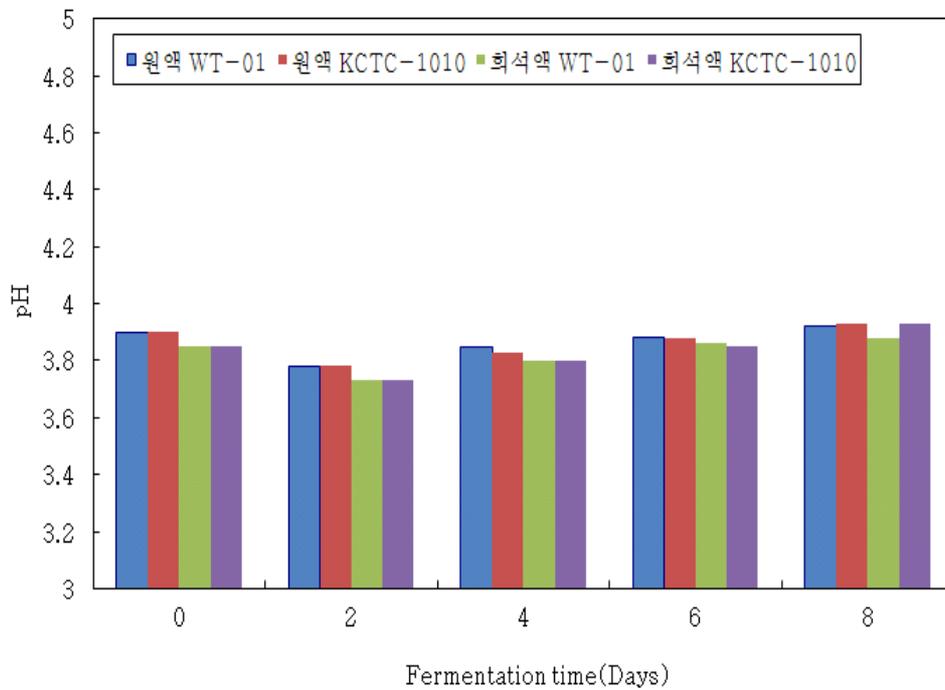


Fig. 32. Changes in pH during acetate fermentation by WT-01 and KCTC 1010.

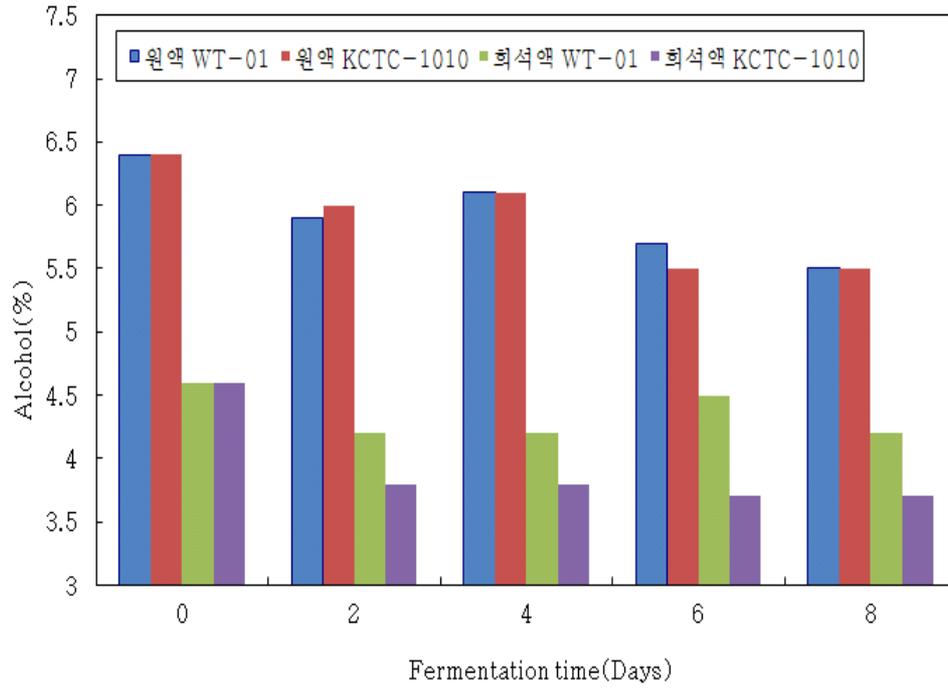


Fig. 33. Changes in ethanol content during acetate fermentation by WT-01 and KCTC 1010.

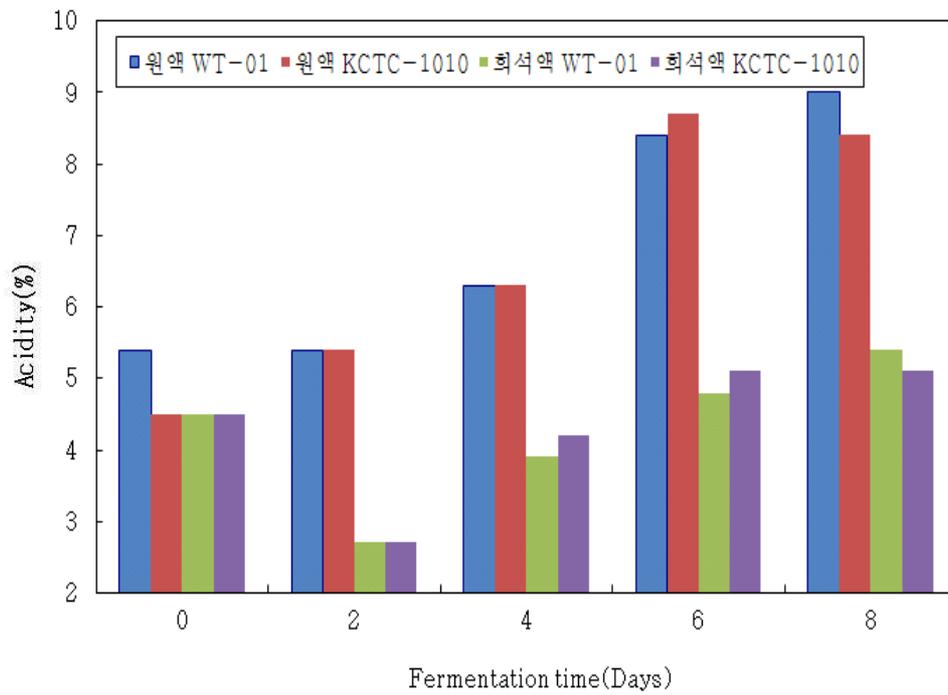


Fig. 34. Changes in acidity during acetate fermentation by WT-01 and KCTC 1010.

(2) 관능검사

관능평가는 자색고구마 식초의 기호성을 맛, 향, 색감으로 나누어 20대, 30대, 40대의 성인 남녀 30명을 대상으로 다음 Table 16과 같이 관능평가표를 작성하여 평균값을 나타내었다.

균주를 달리한 자색고구마식초 모두 색감은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 WT-01 균주가 KCTC1010에 비해 향미와 맛에서 모두 뛰어났다(Table 17).

Table 16. Sensory test questionnaire for preference

구 분	평 가 점 수
1. 색상의 기호도	아주좋다(5), 좋다(4), 보통(3), 미흡(2), 아주미흡(1)
2. 맛의 기호도	아주좋다(5), 좋다(4), 보통(3), 미흡(2), 아주미흡(1)
3. 향미의 기호도	아주좋다(5), 좋다(4), 보통(3), 미흡(2), 아주미흡(1)
4. 종합평가	아주좋다(5), 좋다(4), 보통(3), 미흡(2), 아주미흡(1)

Table 17. Results of sensory test of vinegars according to different strains

	원액-WT-01				원액-KCTC1010				희석액-WT-01				희석액-KCTC1010			
	색	맛	향	계	색	맛	향	계	색	맛	향	계	색	맛	향	계
아주 좋다	14	11	11	36	12	9	11	32	9	7	9	25	5	4	4	13
좋다	13	13	8	34	12	8	9	29	8	8	11	27	6	7	4	17
보통	3	5	8	16	10	7	4	22	13	8	15	36	14	8	6	28
미흡	0	1	3	4	4	2	2	8	3	5	4	12	4	8	4	16
아주 미흡	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	3	0	5	5	10

(3) 최적 발효조건에서의 제품특성 및 품질검사 표준화

앞서 수행한 실험결과에 따라 자색고구마로부터 분리한 WT-01 균주를 막걸리 담금액에 접종하여 제조한 식초가 색감과 맛, 향이 가장 좋으며 자색고구마 식초의 제품특성은 Table 18과 같다.

Table 18. Properties of purples sweet potato vinegar product

구 분	제품특성	기준 및 규격
외관 및 성상	자주색의 액체	자가기준
Brix	5	자가기준
pH	4	자가기준
안토시아닌색소(mg/10ml)	1.0 이상	자가기준
총산(w/v%)	9.0	4.0~29.0 미만
타르색소	-	미검출
보존료(g/l)	-	0.1이하(파라옥시안향산)

Table 19. List of general quality test

검 사 항 목	검 사 기 준
열량	식품공전 에트워드트 계수법
단백질	식품공전 킬달법 정량
지방	식품공전 에테르추출법 및 산분해법
당질	여지크로마토그래피에 의한 정성
섬유질	식품공전 헨네베르크 스토만 개량법 정량
회분	식품공전 회화법
칼슘	식품공전 과망간산칼륨 및 원자흡광도법
인	식품공전 폴리브덴청 비색법
철분	식품공전 올토페난트로닌 비색법 및 원자흡광도

다. 초산발효에서의 안토시아닌 색소의 안정성 배가 실험

자색고구마 식초의 안토시아닌색소 함량은 평균 $0.9869425 \pm 0.11(\text{mg/ml})$ 로 발효 전·후로 약간 감소하였으나 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다(Fig. 35).

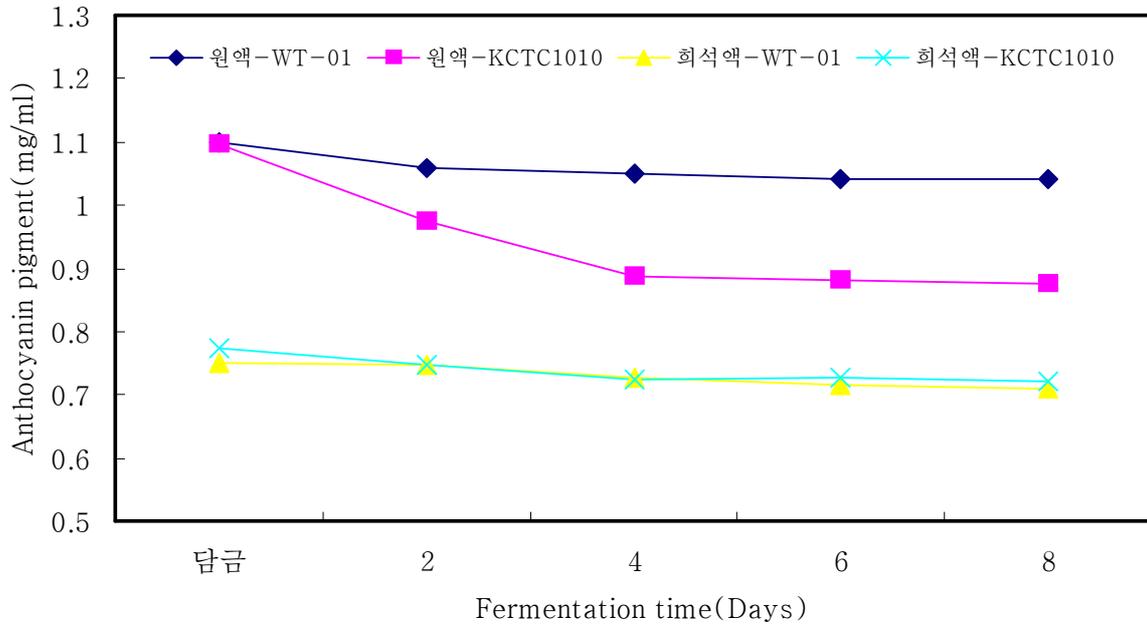


Fig. 35. Changes in anthocyanin content during acetate fermentation by WT-01 and KCTC 1010.

3. 자색고구마 추출박을 활용한 자색고구마 막걸리 및 자색식초의 상품화

가. 자색고구마 막걸리 및 자색식초의 대량생산공정 표준화

(1) 자색고구마 막걸리 및 자색식초의 대량생산공정 확립

① 자색고구마 막걸리의 대량생산공정

㉞ 원료수확 · 정선 · 세척 · 절단공정

세부공정	주요내용	기준 및 규격	판정 (적/부)
원료수확 (Harvesting)	<ul style="list-style-type: none"> • 자미고구마는 서리가 내리기 전에 수확 (10월말 이전) • 수확된 원료는 5℃부근에 저장 	<ul style="list-style-type: none"> • 원료의 동결여부 	
원료정선 (Selecting)	<ul style="list-style-type: none"> • 원료표면의 흙, 이물질을 1차로 제거(세척 용이) • 미생물·곤충 등에 의해 부식·부패된 원료는 선별하여 제거 	<ul style="list-style-type: none"> • 원료표면의 청결도 • 부식·부패원료의 유무 	
원료세척 (Washing)	<ul style="list-style-type: none"> • 1차 와류세척기 : Ring Blower를 이용하여 세척수 내부에 강력한 공기를 혼입, 와류를 발생시켜 굴곡이 심한 원료표면의 이물질을 제거 • 2차 브러쉬 세척기: PE세척기를 이용하여 굴곡이 심한부분과 손상된 부분의 이물질을 제거 	<ul style="list-style-type: none"> • 굴곡이 심한 구석에 있는 이물질 제거정도 • 원료표면의 청결도 	
원료절단 (Slicing)	<ul style="list-style-type: none"> • Rotary slicer로 3~5mm 두께로 슬라이스함 • 절단전에 원료표면에 있는 미생물을 제거하기 위해 미생물 살균제 또는 0.1% 구연산 용액으로 spray하면 효과적임 	<ul style="list-style-type: none"> • 크기: 2×3cm • 두께: 3~5mm 	



추출 (Extracting) 및 여과 (Filtering), 농축(concentration)

세부공정	주요내용	기준 및 규격	판정 (적/부)
추출 (Extracting)	<ul style="list-style-type: none"> • 추출방법 절단원료의 계량 ↓ 20% ethanol (0.7%구연산 포함) 첨가 / 원료대비10배 ↓ 30℃, 4시간 이상 추출 (용매순환) 	<ul style="list-style-type: none"> • 고형물함량 : 7.0~7.2Brix • pH : 3.2~3.3이하 • 색깔 : 적자미 	
여과 (Filtering)	<ul style="list-style-type: none"> • 진동스크린에 의한 1차 여과 • Microfilter에 의한 2차 여과 	<ul style="list-style-type: none"> • 침전물이 없이 투명할 것 	
농축	<ul style="list-style-type: none"> • 진공증발농축기에 의한 자연순환 농축 (Natural Circulation Evaporating) • 농축조건 : 50℃ 미만에서 4시간, 30~35 Brix까지 농축 (저온일수록 색소파괴 적음) • 증발된 알콜은 회수하여 재사용 (알콜 농도 측정) 	<ul style="list-style-type: none"> • 고형물함량 : 35~50Brix • pH : 3.0~3.3 • 색상 : 강한 적자미 • 맛 : 고구마 고유의맛 • 향미 : 고구마향 	

세부공정	주요내용	기준 및 규격	판정 (적/부)
입국	<ul style="list-style-type: none"> • 밀가루 고들밥에 백국(충무 발효) 0.2%를 첨가 후 혼합하여 45℃에서 12시간 배양 후 다시 38℃에서 36시간 배양 	<ul style="list-style-type: none"> • 백국 첨가량 : 0.2% • 온도 및 발효조건 : <ul style="list-style-type: none"> - 1차 : 45℃, 12시간 - 2차 : 38℃, 36시간 	
주모배양	<ul style="list-style-type: none"> • 입국과 물을 1:1비율로 혼합한 후 GB ingerdient(社)의 La Parisienne 건조분말효모를 0.5% 첨가하여 4일 동안 25℃에서 진탕배양 	<ul style="list-style-type: none"> • 효모 첨가량 : 0.5% • 배양조건 : 25℃, 4일 	
담금	<ul style="list-style-type: none"> • 증자한 자색고구마 혼합물과 증류수를 1:20로 혼합한 후 20brix까지 보당하고 배양된 주모 0.1%를 다시 혼합한 후 25℃에서 15일간 발효 	<ul style="list-style-type: none"> • 자색고구마 혼합물 비율 • 보당조건 : 20brix • 알콜발효조건 : 25℃, 15일 	

② 자색고구마 식초의 대량생산공정

원료수확 · 정선 · 세척 · 절단공정

세부공정	주요내용	기준 및 규격	판정 (적/부)
원료수확 (Harvesting)	<ul style="list-style-type: none"> • 자미고구마는 서리가 내리기 전에 수확 (10월말 이전) • 수확된 원료는 5℃부근에 저장 	<ul style="list-style-type: none"> • 원료의 동결여부 	
원료정선 (Selecting)	<ul style="list-style-type: none"> • 원료표면의 흙, 이물질을 1차로 제거(세척 용이) • 미생물·곤충 등에 의해 부식·부패된 원료는 선별하여 제거 	<ul style="list-style-type: none"> • 원료표면의 청결도 • 부식·부패원료의 유무 	
원료세척 (Washing)	<ul style="list-style-type: none"> • 1차 와류세척기 : Ring Blower를 이용하여 세척수 내부에 강력한 공기를 혼입, 와류를 발생시켜 굴곡이 심한 원료표면의 이물질을 제거 • 2차 브러쉬 세척기: PE세척기를 이용하여 굴곡이 심한부분과 손상된 부분의 이물질을 제거 	<ul style="list-style-type: none"> • 굴곡이 심한 구석에 있는 이물질 제거정도 • 원료표면의 청결도 	
원료절단 (Slicing)	<ul style="list-style-type: none"> • Rotary slicer로 3~5mm 두께로 슬라이스함 • 절단전에 원료표면에 있는 미생물을 제거하기 위해 미생물 살균제 또는 0.1% 구연산 용액으로 spray하면 효과적임 	<ul style="list-style-type: none"> • 크기: 2×3cm • 두께: 3~5mm 	



추출 (Extracting) 및 여과 (Filtering), 농축(concentration)

세부공정	주요내용	기준 및 규격	판정 (적/부)
추출 (Extracting)	<ul style="list-style-type: none"> • 추출방법 절단원료의 계량 ↓ 20% ethanol (0.7%구연산 포함) 첨가 / 원료대비10배 ↓ 30℃, 4시간 이상 추출 (용매순환) 	<ul style="list-style-type: none"> • 고형물함량 : 7.0~7.2Brix • pH : 3.2~3.3이하 • 색깔 : 적자미 	
여과 (Filtering)	<ul style="list-style-type: none"> • 진동스크린에 의한 1차 여과 • Microfilter에 의한 2차 여과 	<ul style="list-style-type: none"> • 침전물이 없이 투명할 것 	
농축 (concentration)	<ul style="list-style-type: none"> • 진공증발농축기에 의한 자연순환 농축 (Natural Circulation Evaporating) • 농축조건 : 50℃ 미만에서 4시간, 30~35 Brix까지 농축 (저온일수록 색소파괴 적음) • 증발된 알콜은 회수하여 재사용 (알콜 농도 측정) 	<ul style="list-style-type: none"> • 고형물함량 : 35~50Brix • pH : 3.0~3.3 • 색상 : 강한 적자미 • 맛 : 고구마 고유의맛 • 향미 : 고구마향 	

세부공정	주요내용	기준 및 규격	판정 (적/부)
입국	<ul style="list-style-type: none"> • 밀가루 고들밥에 백국(충무발효) 0.2%를 첨가 후 혼합하여 45℃에서 12시간 배양 후 다시 38℃에서 36시간 배양 	<ul style="list-style-type: none"> • 백국 첨가량 : 0.2% • 온도 및 발효조건 : <ul style="list-style-type: none"> - 1차 : 45℃, 12시간 - 2차 : 38℃, 36시간 	
주모배양	<ul style="list-style-type: none"> • 입국과 물을 1:1비율로 혼합한 후 GB ingredient(社)의 La Parisienne 건조분말효모를 0.5% 첨가하여 4일 동안 25℃에서 진탕배양 	<ul style="list-style-type: none"> • 효모 첨가량 : 0.5% • 배양조건 : 25℃, 4일 	
담금	<ul style="list-style-type: none"> • 증자한 자색고구마 혼합물과 증류수를 1:20로 혼합한 후 20brix 까지 보당하고 배양된 주모 0.1%를 다시 혼합한 후 25℃에서 15일간 발효 	<ul style="list-style-type: none"> • 자색고구마 혼합물 비율 • 보당조건 : 20brix • 알콜발효조건 : 25℃, 15일 	

세부공정	주요내용	기준 및 규격	판정 (적/부)
분리 및 여액	<ul style="list-style-type: none"> 알콜발효 후 70% 수율로 분리 알콜 함량은 5% 전후로 조절을 위해 가수 	<ul style="list-style-type: none"> 수율 : 70% 알콜함량 : 5% 	
종초첨가 및 초산발효	<ul style="list-style-type: none"> 자색고구마 종초의 첨가량은 30~50% 비율로 조절 초기 초산농도 3.0~3.5%, 최종 초산농도 6% 발효초기 산도 2% 이상을 유지, 2% 이하일 경우 산막효모 번식하여 초산균 생육 저해 27~30℃에서 2~4일간 발효시 초산균막 형성되어 초화 시작 담금 용기는 용적에 대하여 액의 깊이가 얕을수록, 각형발효조인 경우 발효기간이 짧음 	<ul style="list-style-type: none"> 종초 첨가량 : 30~50% 배양조건 : 25℃, 4일 초산농도 : <ul style="list-style-type: none"> - 초기 : 3.0~3.5% - 최종 : 6% 온도 및 산소 공급조건 : 27~30℃, 2~4일 	
후숙·여과·살균	<ul style="list-style-type: none"> 품온을 5~10℃로 유지, 매일 1~2회 교반하여 균막의 형성 저해 숯(이취나 불순물 흡착), 숯(탈색), 규조토(균체나 불용해물 흡착), bentonite (부유물 응고) 등을 첨가하여 여과 유리 용기에 넣고 열탕하여 서늘한 곳에 보관 	<ul style="list-style-type: none"> 품온 및 후숙기간 : 5~10℃, 2~3개월 살균조건 : 80℃, 5분 또는 60~65℃, 30분 	

(2) 자색고구마 막걸리·식초의 자가품질검사 기준·규격 확립 및 품질관리 표준화

상기의 실험결과를 토대로 상품화가 가능한 자색고구마 막걸리 및 식초의 자가품질검사 기준·규격을 설정한 결과는 Table 20, 21와 같으며 막걸리의 경우 생산되는 제품에 대한 품질관리 기준으로 이용되고 있다.

Table 20. Quality control standard of purple sweet potato Makgeolli

구 분	제품특성	기준 및 규격
외관 및 정상	자주색의 액체	자가기준
Brix	5	자가기준
pH	2.3	자가기준
안토시아닌색소(mg/100ml)	1.0 이상	자가기준
알콜(w/v%)	6.5	자가기준
타르색소	-	미검출
보존료(g/l)	-	0.1이하(파라옥시안향산)

Table 21. Quality control standard of purple sweet potato vinegar

구 분	제품특성	기준 및 규격
외관 및 정상	자주색의 액체	자가기준
Brix	8	자가기준
pH	2.3~3	자가기준
안토시아닌색소(mg/100ml)	1.0 이상	자가기준
총산(w/v%)	6.0 이상	4.0~29.0 미만
타르색소	-	미검출
보존료(g/l)	-	0.1이하(파라옥시안향산)

(3) 자색고구마 막걸리 및 식초의 시제품 제작 및 포장디자인 개발

① 자색고구마 막걸리의 개요

자색고구마 추출박을 이용한 안토시아닌 함유 웰빙 막걸리는 현재 참여기업인 영농조합법인 고운에서 생산 및 판매되고 있다.

구 분	내용 및 특징
목 적	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 자색고구마 추출시 폐기되는 추출박의 재사용으로 인한 환경오염 방지 및 원료비 절감에 따른 기업의 경영환경 개선 및 고기능성 전통주의 개발 및 상품화
주요성분 및 첨가량	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 국내산 백미 79%, 자색고구마분말 + 자색고구마 추출박분말 20% ◦ 안토시아닌 추출물(국내산, 고품분 10%) 1%
기준 및 규격	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 알콜분(v/v%) : 6.5% ◦ 총산(w/v%) : 0.4 ◦ 보존료 : 불검출 ◦ 삭카린나트륨 : 불검출 ◦ 메탄올(mg/ml) : 0.29 ◦ 일반세균 및 대장균 : 불검출

② 자색고구마 막걸리의 시제품 및 상품화 현황



③ 자색고구마 식초의 개요

구 분	내용 및 특징
목적	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 자색고구마 추출시 폐기되는 추출박의 재사용으로 인한 환경오염 방지 및 원료비 절감에 따른 기업의 경영환경 개선 및 고기능성 가공식품의 개발 및 상품화
주요성분 및 첨가량	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 국내산 백미 79%, 자색고구마분말 + 자색고구마 추출박분말 20% ◦ 안토시아닌 추출물(국내산, 고형분함량 10%) 1%
기준 및 규격	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 정상 : 고유의 색택과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다. ◦ 총산(초산으로서 w/v%) : 4.0~19.0 미만 ◦ 보존료 : 불검출

④ 자색고구마 식초의 상품화 현황



자색초 외부 박스 시안

180*80



자색초 병라벨 시안

(4) 자색고구마 막걸리 및 식초의 유통현황·시장조사 및 전시회 참가

① 국내 시판 중인 자색고구마 막걸리·식초의 유통현황 및 시장조사

최근의 시대의 흐름은 원료 자체의 차별성과 품격을 추구하고 원료의 차별성으로부터 원료가 소비자에게 주고자 하는 가치를 인식하고 소비자는 필요 시 원료로부터 그 가치를 찾으려는 소비성향이 매우 뚜렷하다. 따라서 본 연구팀은 개발제품의 포지셔닝 적합성 여부를 판단하는 “가치”, “차별성”, “신뢰성”, “지속성”, “적합성”의 판단 기준을 설정하여 국내 자색고구마 산지의 지역적 특성을 비교한 결과 제품의 포지셔닝에서 가장 큰 비중을 차지하는 “차별성” 즉, 함양산 자색고구마의 경우 청정환경과 비옥한 토질, 게르마늄 토양에서 재배되어 타지역과는 전략적인 차별화가 가능한 것으로 나타났다. 또한 소비자의 관점에서 소비자의 욕구 및 소비성향을 분석하여 경쟁지역과의 차별화 할 수 있는 부분을 재 포지셔닝하고 지속적인 분석 및 검증을 통해 일반가공식품 및 주류 제품의 시장진입 및 판로개척을 추진 해 나갈 예정이다.

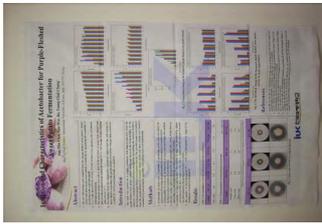
	제품명	부자 자색고구마 막걸리
	제조사	배혜정누룩도가
	판매원	배혜정누룩도가
	원료명	백미, 자색고구마
	제품명	자주빛 고운님
	제조사	함라양조사(익산)
	판매원	함라양조사(익산)
	원료명	쌀, 자색고구마
	제품명	해남땅끝 자색고구마와인 막걸리
	제조사	블두막식품
	판매원	블두막식품
	원료명	쌀, 자색고구마

원료 및 기능성의 유사성을 검색하여 현재 시판 중인 자색고구마 막걸리는 위의 3종 이외에 약 10여종의 제품이 유통되고 있으며 막걸리의 이화학적 특성 중 가장 취약한 유통기한으로

인해 생막걸리의 경우 지역적인 한계를 벗어나지 못하는 것으로 조사되었고 살균막걸리의 경우 제조단가의 문제점으로 인해 전통주 전문 제조업체가 주를 이루는 것으로 나타났다. 또한 자색고구마 식초의 경우 현재 국내에서는 음료베이스 유형의 제품만이 유통되고 있으며 판매 실적 또한 저조하여 일부 대형마트에서는 판매를 하지 않는 것으로 조사되었다. 이에 따라 본 연구팀에서 개발한 자색고구마 막걸리와 식초는 상기 제품들과의 차별성을 부여하기 위해 자색고구마 추출박과 자색고구마 분말을 사용하여 시장성 및 경제성 측면에서 경쟁우위를 점할 수 있으리라 사료되며 향후 자색고구마 살균막걸리 및 양조식초 유형의 제품 제조공정 개발을 통해 점진적으로 상품화를 추진할 예정이다.

② 각종 전시회 및 지역축제 참가

자색고구마를 활용한 막걸리 및 식초는 함양 산삼축제(2011. 7. 29 ~ 8. 2), 함양 물레방아축제(2011. 9. 23 ~ 25), 한국식품영양과학회(2011. 10. 31 ~ 11. 2), feel 경남 특산물박람회(2011. 11. 3 ~ 6) 등에 참가하여 자색고구마의 효능과 연구결과를 홍보하였다.

	
함양 산삼축제 1	함양 산삼축제 1
	
함양 물레방아축제 1	함양 물레방아축제 1
	
한국식품영양과학회 1	한국식품영양과학회 2
	
feel 경남 특산물박람회 1	feel 경남 특산물박람회 2

③ 개발제품의 시판 활성화를 위한 마케팅 전략

최근 Lohas, well-being 등 건강지향적이고 천연지향적인 소비자의 행태 분석을 통한 마케팅 타겟을 설정하고 제품 형태별 구매자 현황 및 특성을 파악하여 제품별 판매전략을 수립할 계획이다. 또한 ATL(Above the line ; TV, 신문, 라디오, 잡지 4대 매체와 인터넷, CA-TV 등의 뉴미디어를 통한 마케팅) 마케팅을 최소화하고 최근 마케팅 전략의 시장 주도권 변화를 감안한 특화된 BTL(Below the line ; 전시 및 매장 디스플레이, 다이렉트 메일(DM), 홍보, 이벤트, 스포츠 마케팅, 텔레마케팅(TM), 간접광고(PPL) 등과의 판촉 활동) 마케팅 및 뉴미디어 마케팅 강화전략으로 소비자와의 쌍방향 커뮤니케이션 극대화를 통한 차별화된 마케팅을 점진적으로 추진해 나갈 계획이다.

제 2 절 자색고구마 안토시아닌의 항산화 기능성 검증 및 기능성 성분·원료의 *in vitro*, *in vivo* 기능성 조사

1. 자색고구마 안토시아닌 색소의 항산화 기능성 검증(*in vitro* 항산화 기능성 평가)

○ 본 연구는 자색고구마 천연색소 안토시아닌의 산화적 스트레스에 의한 세포 손상 보호 및 항산화 건강기능성 식품 소재를 발굴하고 그 메커니즘을 규명하여 이를 소재로 항산화 기능 개선 기능성 식품 개발에 관한 과학적인 근거를 마련하고자 하였음.

○ 산화적 스트레스에 의한 reactive oxygen species (ROS)의 생성은 간섭유화, 신장염, 피부 질환, 당뇨병 등의 여러 가지 질환의 원인이 될 수 있으며, 특히, free radical (NO^- , OH^- , O^2)은 분자상 산소가 활성산소로 변하여 다른 분자들과 반응하면서 생성되어 노화, 염증, 발암, 동맥경화와 관련이 있는 것으로 알려져 있음.

○ 불포화 지방산이 풍부한 세포막은 생성된 free radical에 의해서 지질과산화의 표적이 되어 세포소기관들이 정상적인 구조 및 기능을 잃게 되며, 국소적인 손상은 물론 알데하이드와 같은 지질과산화 분해산물이 생성부위에서 멀리 떨어진 부위로 이동하여 세포손상을 일으키게 됨.

○ *in vitro* 세포내 산화적 스트레스에 대한 보호 효과를 조사하기 위하여 간세포를 이용하여 자색고구마 안토시아닌의 세포독성 실험한 결과 800 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서도 세포독성이 나타나지 않았음 (Fig. 36 and 37). 따라서 세포 독성이 나타나지 않는 농도 (800 $\mu\text{g/ml}$ 이하)에서 *in vitro* 세포내 산화적 스트레스에 대한 간세포 보호 효과를 측정하였음.

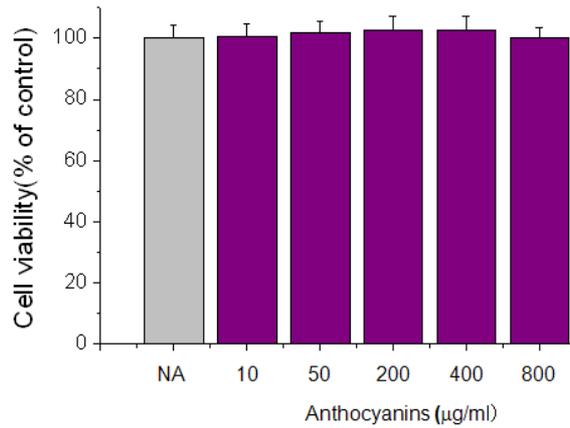


Fig. 36. Effects of anthocyanins on MTT assay in human hepatocytes. The HepG2 cells were treated with different concentrations of anthocyanins for 24h. Cellular cytotoxicity was measured by a MTT-based colorimetric assay kit.

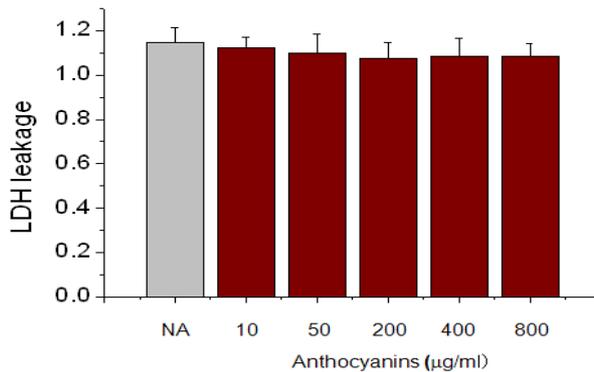


Fig. 37. Effects of anthocyanins on leakage of lactate dehydrogenase (LDH) in hepatocytes. The cells were treated with different concentrations of anthocyanins for 24h. LDH activity was measured by a LDH kit.

○ 지질과산화물을 일으키는 대표적인 물질인 tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)는 간세포에서 cytochrome P-450 효소에 의해 세포 구성물들을 산화시킬 수 있는 alkoxy- (RO \cdot)나 peroxy (ROO \cdot)로 분해되며, 이러한 산물들이 DNA의 손상을 가져와 결국 세포를 죽이는 결과를 초래한다. 또한 t-BHP는 간세포에서 ALT, AST, LDH leakage, MDA형성 및 GSH의 결손을 초래한다고 보고하였음.

○ 간세포에서 산화적 손상을 일으키는 t-BHP 에 대한 색고구마 안토시아닌의 간세포 보호 효과를 알아보기 위해 세포독성 측정 지표인 MTT assay 와 LDH leakage를 측정한 결과(Fig. 38 and 39) t-BHP 에 의해서 증가된 세포독성이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 감소하였고 (Fig. 38) 또한 t-BHP 에 의해서 증가된 LDH leakage 가 자색고구마 안토시아닌에 의해서 간세포 독성이 감소하였음 (Fig. 39).

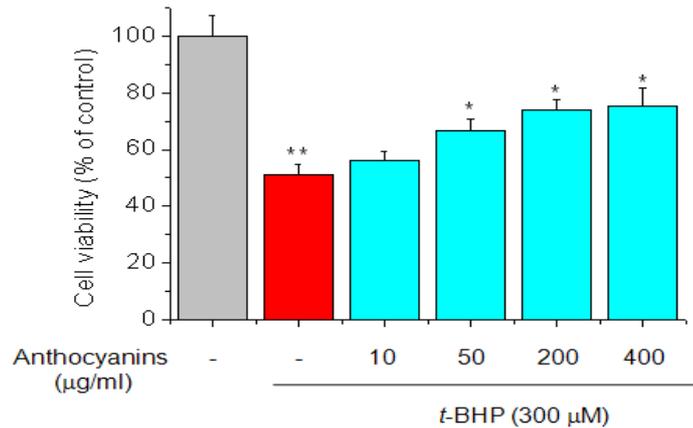


Fig. 38. Hepatoprotective effects of anthocyanins on the tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative cytotoxicity. The cells were treated with anthocyanins (10, 50, 200 and 400 mg/ml) for 24 h, then incubated with tBHP (300 mM) for a further 24 h. Cell viability was measured with an MTT assay. ** $P < 0.01$, significantly different from the control. * $P < 0.005$, significantly different from the t-BHP treated cells.

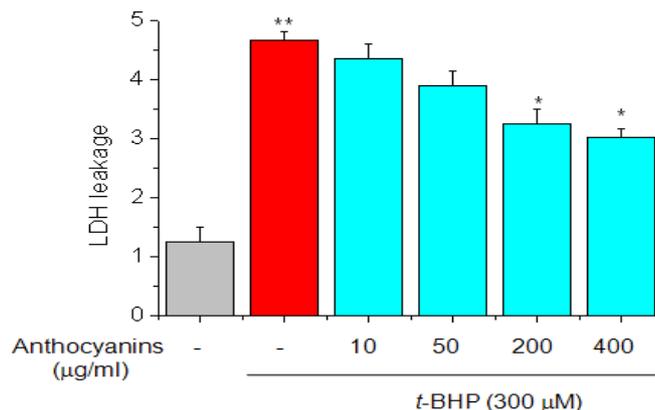


Fig. 39. Hepatoprotective effects of anthocyanins on the tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative cytotoxicity. The cells were treated with anthocyanins (10, 50, 200 and 400 µg/ml) for 24 h, then incubated with tBHP (300 µM) for a further 24 h. Cell viability was measured with an LDH leakage assay. ** $P < 0.01$, significantly different from the control. * $P < 0.005$, significantly different from the t-BHP treated cells.

○ 본 연구에서는 자색고구마 안토시아닌의 항산화력을 검증하기 위하여 t-BHP에 의한 ROS 제거능, Superoxide 소거능을 조사하였음.

○ t-BHP에 의해 산화적 스트레스가 유도된 일차배양 간세포내 ROS에 의해 DCF-DA가 발색하여 형광을 띄는 원리를 이용하여 간 세포내 자색고구마 안토시아닌의 ROS scavenging activity를 측정하였음. 자색고구마 안토시아닌을 전 처리 한 경우 처리한 농도에 비례하여 간세포 내에 존재하는 ROS의 양이 유의성 있게 감소하였고(Fig. 40), 또한 자색고구마 안토시아닌의 항산화 효과를 DPPH bleaching 실험을 통해 확인한 결과 자색고구마 안토시아닌이 항산화 효과가 있는 것으로 나타났음 (Fig. 41).

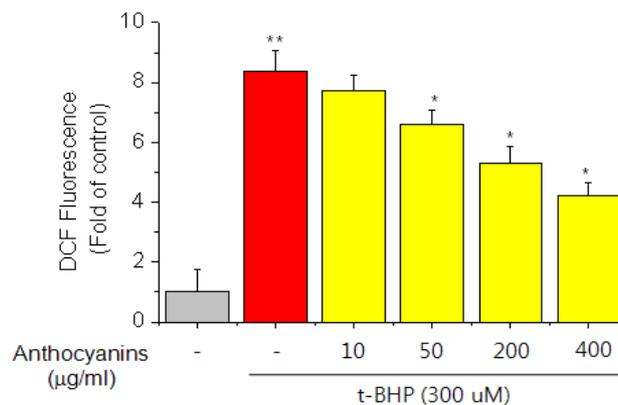


Fig. 40. Effect of anthocyanins on the intracellular ROS formation induced by tBHP. Cells were pretreated with anthocyanins(10-400 µg/ml) or vehicle for 24 h. After the medium was removed, HepG2 cells were exposed to t-BHP (300 µM) for 6 h and fluorescence was then measured using fluorescence spectrophotometer. **Significantly different from control ($P<0.01$). *Significantly different from the tBHP treated cells ($P<0.01$).

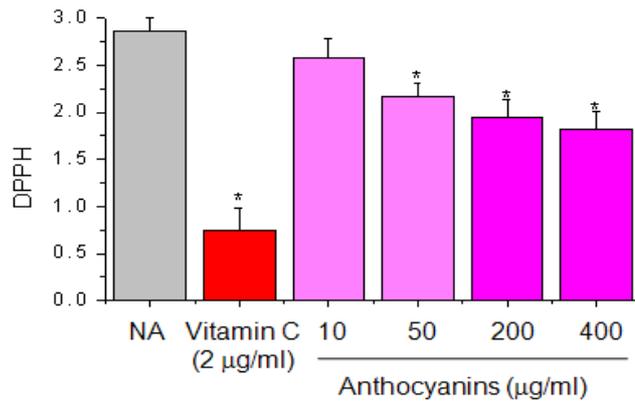


Fig. 41. Free radical-quenching activity of anthocyanins on the DPPH. Anthocyanins were mixed with DPPH (10 mM, 30ml) in methanol (3 ml). The reaction mixtures were then colored by the addition of toluene, and read at 517 nm against a blank without anthocyanins. *significantly different from the control (P<0.01).

○ 외부 자극에 의해 고농도로 발생하는 유해성 활성산소종 (ROS)은 세포손상의 원인이 되며, 간세포 손상 및 간장 질환과 암등의 발병 원인이 되기도 하며, 히드록실 라디칼이나 superoxide, hydrogen peroxide (H₂O₂) 등의 물질은 DNA의 손상을 유발하기도 함.

○ 세포 내 물질 대사계인 Phase I에서 발생하는 유해 성분들은 대부분이 Phase II 효소에 의해 무독화 되어 몸 밖으로 배출되게 되며 Phase II 효소의 활성이나 발현을 증가시키는 물질은 산화적 스트레스 등의 자극을 통해 몸 안에서 발생하는 유해물질을 효과적으로 무독화 시켜 몸 밖으로 빠르게 배출 할 수 있도록 함.

○ 이물질의 일부는 N-acetylcystein(mercapturic acid 포함체)과의 포함형태로 배설되고 이러한 포함체는 일반적으로 이물질에 glutathione이 일차적으로 포함되고 glutamyl과 glyciny기가 대사되어 떨어진 후 cyctein 부위가 caetyl화됨으로써 형성되며, 초기 포함반응은 glutathione-S-transferase에 의해 촉매 하게 됨.

○ Glutathione(GSH)포함은 mercapturic acid로 대사되기 전에 변화되지 않은 상태로 담즙 속에 배설되며, 방향족 및 지방족 화합물은 대사를 받아 화학적으로 반응성이 있는 중간물질이 생성되면 glutathione과의 포함반응이 일어나고, 따라서 반응성 친 전자가 제거되어 효과적인 무독화가 일어남.

○ GSH는 유해성 활성산소종 (ROS)에 의해 야기되는 산화적 스트레스에 대항하여 세포방어에 관여하며, 촉매작용을 하는 heavy subunit(γ-GCSH)와 조절작용을 하는 light chain으로 구성되어 있는 γ-glutamylctstein synthetase (γ-GCS)에 의해 합성되며 이는 GSH level을 적절하게 지속시키는데 중요한 역할을 하며 세포내 GSH가 산화 환원반응의 조절에 중요한 역할을 함.

○ 본 연구에서는 자색고구마 안토시아닌의 산화적 스트레스에 의한 세포 손상에 의한 보호효과를 연구하기 위해 GSH 및 지질과산화를 조사하였음.

○ 간세포에서 t-BHP에 의한 산화적 스트레스에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간세포 보호효과를 알아보기 위해 GSH, 지질과산화를 측정된 결과, t-BHP의 처리에 의해서 감소한 세포내 GSH 함량이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 회복이 되었으며, t-BHP에 의해서 증가한 지질과산화 정도가 자색고구마 안토시아닌에 의해서 감소함을 확인하였음 (Fig. 42, 43).

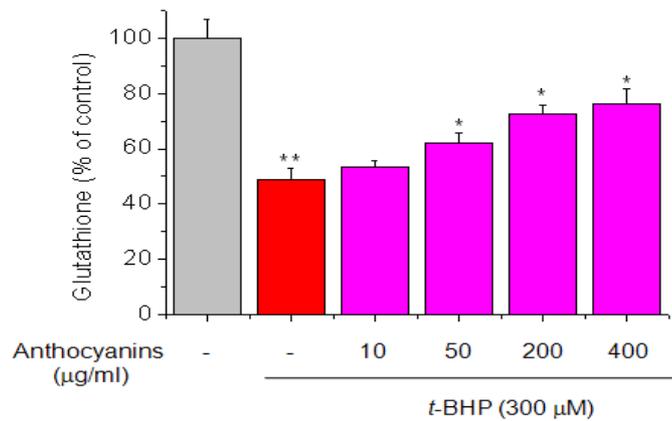


Fig. 42. Effect of the anthocyanins on the glutathione (GSH) content in hepatocytes. The cells were treated with anthocyanins (10, 50, 200 and 400 µg/ml) for 24 h, then incubated with tBHP (300 µM) for a further 24 h. GSH content was determined spectrophotometrically. **Significantly different from control ($P<0.01$). *Significantly different from the t-BHP treated cells ($P<0.01$).

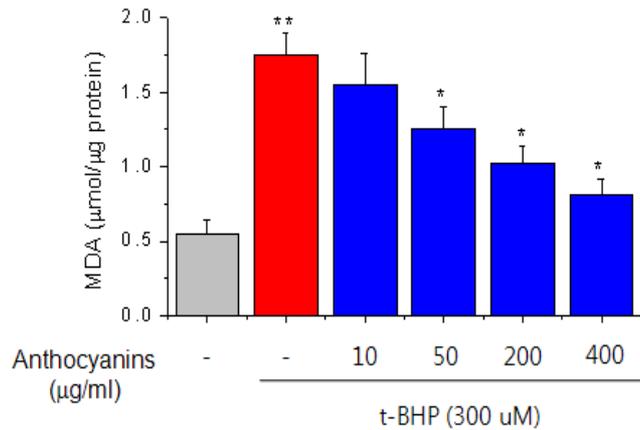


Fig. 43. Effects of anthocyanins on t-BHP-induced lipid peroxidation. The lipid peroxidation damage of hepatocytes was determined by the rate of production of MDA in the presence of thiobarbituric acid. The cell were pretreated with anthocyanins (10, 50, 200 or 400 μ g/ml) and then treated with 300 μ M t-BHP for 6 hours. Each value represents the mean \pm S.D. of three independent experiments, performed in triplicate. ** $P < 0.01$ Significantly different from control. * $P < 0.005$, significantly different from the t-BHP.

○ Caspase는 세포사멸기작 (apoptosis)에서 실행자역할을 하는 단백질로서, caspase 효소간의 신호전달 체계에서 마지막 죽음실행 역할자로서 작용하여 그 목표물인 기질들을 분해시킴. caspases의 기질로서 nuclease는 nucleosome 사이의 DNA를 잘라 약 180 베이스 가량의 여러 DNA 조각을 생산하며, 이 DNA 절편의 존재는 apoptosis에 의한 세포죽음의 표시로서 광범위하게 사용되어지고 있음. DNA ladder nuclease, 지금은 CAD로 알려져 있는 이 단백질은 ICAD라 명명된 저해물질과 붙어 불활성화 된 형태로, 살아있는 세포내에 미리 존재하고 있으며, apoptosis 중에 의해 Caspase가 ICAD를 절단하여 불활성화 시킴으로써 CAD가 활성화되고 이로 인해 DNA 절단이 이루어 짐 (Fig. 44).

○ 본 연구에서는 자색고구마 안토시아닌의 산화적 스트레스에 의한 세포 손상에 의한 보호효과를 연구하기 위해 DNA 손상의 중요 신호 매개체인 caspase 활성을 조사하였음. 실험결과, 간세포의 손상을 유발하는 t-BHP에 의해서 caspase 활성 측정이 증가하였으며, 자색고구마 안토시아닌에 의해서 caspase 활성 측정이 감소 하는것을 확인하였음 (Fig. 45).

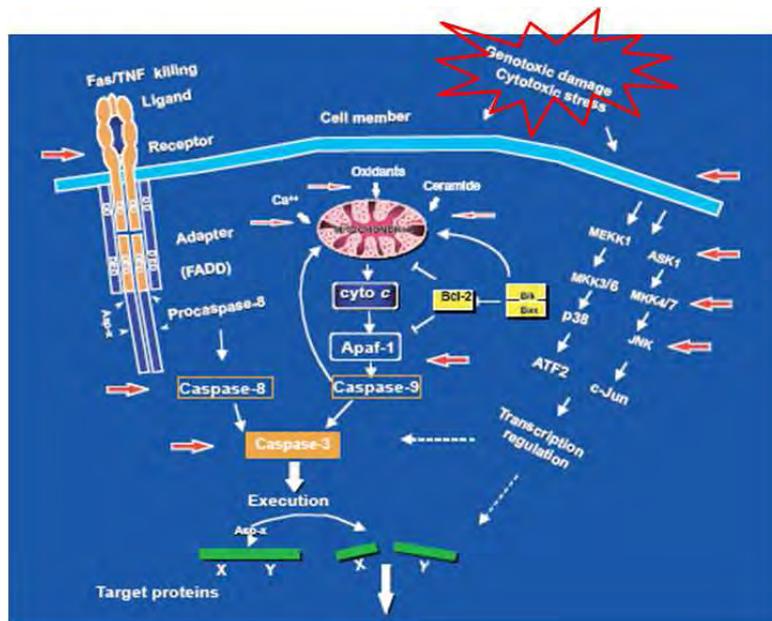


Fig. 44. A simplified schematic diagram of the apoptotic death pathways. Current Opinion in Chemical Biology 1999, 3:474-480.

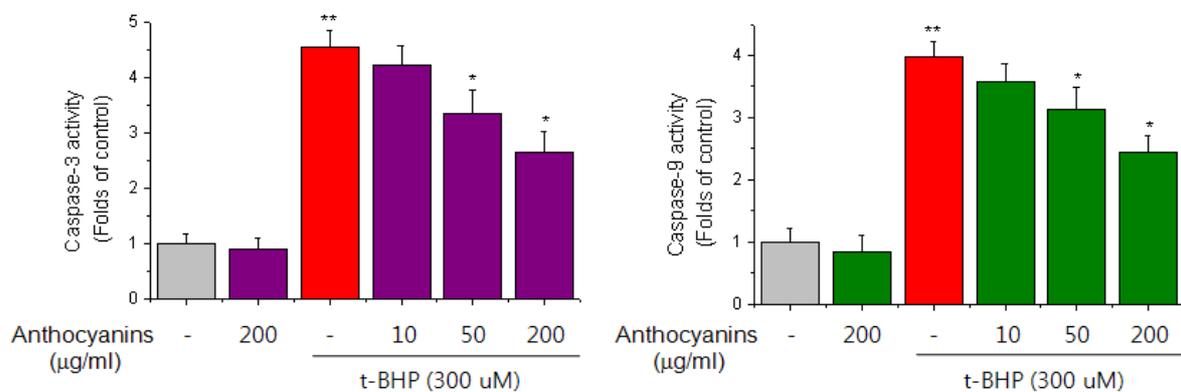


Fig. 45. Effects of anthocyanins on *t*-BHP-induced caspase-3 and -9 activities. The catalytic activity of caspase-3 and -9 in cell lysates was assayed using the specific substrate DEVD-pNA or LEHD-pNA. *Significantly different from *t*-BHP-treated cells ($P < 0.01$). **significantly different from the control ($P < 0.01$).

○ 세포사멸 및 세포 보호효과에 관여하는 인자인 Bax, caspase-2 및 Bcl-2의 단백질 발현을 측정된 결과, 자색고구마 추출물에 의해서 세포 사멸 유발인자인 Bax 및 caspase-3의 단백질 발현은, t-BHP에 의해서 증가한 단백질 발현 및 활성이 자색고구마 추출물에 의해서 감소하였으며, Bcl-2 경우, t-BHP에 의해서 감소한 단백질 발현이 자색고구마 추출물에 의해서 증가하였음 (Fig. 46). 또한 TUNEL 염색을 통해 세포사멸 정도를 측정된 결과 자색고구마 추출물에 의해서 세포사멸이 감소하였음 (Fig. 47)

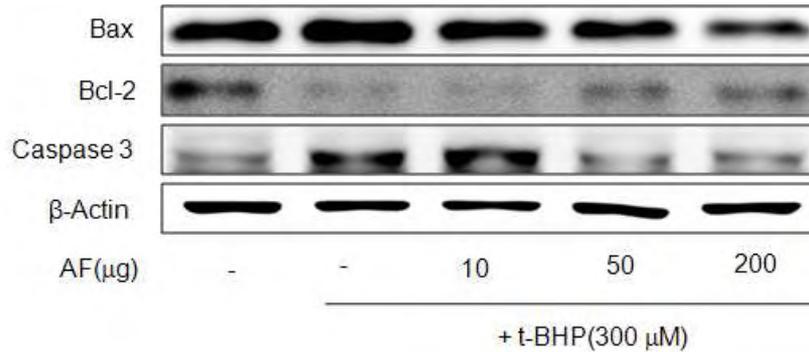


Fig. 46. Effects of anthocyanins on Bcl-2 family and caspase-3 activity in HepG2 cells. The cells were treated with anthocyanins (10, 50, and 200 μ g/ml) for 24 h, then incubated with tBHP (300 μ M) for a further 24 h. Western blotting analyses of Bax, Bcl-2, and cleaved-caspase-3 family proteins in HepG2 cells.

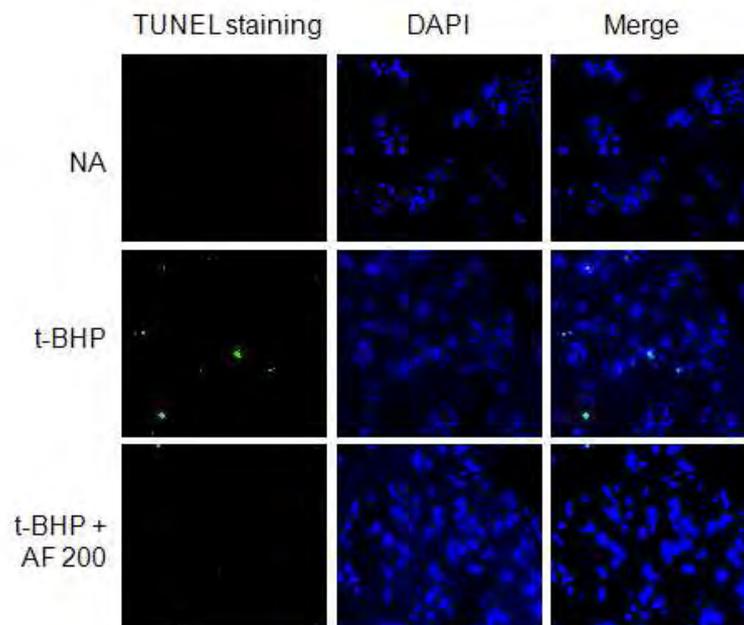


Fig. 47. Anthocyanins reduces t-BHP-induced apoptosis. HepG2 cells were pretreated with the indicated amounts of anthocyanins for 24 h before challenge with 300 μ M t-BHP for 24 h. TUNEL assays were performed according to the manufacturer's instructions.

- 본 연구는 자색고구마 천연색소 안토시아닌의 산화적 스트레스에 의한 세포 손상 보호 및 항산화 건강기능성 식품 소재를 발굴하고 그 메커니즘을 규명하여 이를 소재로 항산화 기능 개선 기능성 식품 개발에 관한 과학적인 근거를 마련하고자 함.
- 본 과제의 목표를 달성하기 위한 2차년도 과제의 내용은 1 차년도에서 밝힌 자색고구마 천연색소 안토시아닌의 산화적 스트레스에 의한 세포 손상 보호에 대한 작용기전을 규명하고, 아울러 *in vitro* 활성을 *in vivo* 동물 실험 모델에서 그 효능을 확인하고자 하였음.
- 1차년도 결과를 요약하여 보면, 간세포에서 산화적 손상을 일으키는 t-BHP 에 대한 색고구마 안토시아닌의 간세포 보호 효과 측정한 결과, t-BHP 에 의해서 증가된 세포독성이 자색고구마 안토시아닌에 위해서 감소하였으며 t-BHP 에 의해서 증가된 LDH leakage 가 자색고구마 안토시아닌에 의해서 간세포 독성이 감소하였음. 또한 t-BHP에 의해 증가한 ROS의 양이 유의성 있게 감소하였으며, 또한 자색고구마 안토시아닌의 항산화 효과를 DPPH bleaching 실험을 통해 자색고구마 안토시아닌이 항산화 효과를 확인하였음.
- 또한 1차년도 결과에서 t-BHP의 처리에 의해서 감소한 세포 내 GSH 함량이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 회복이 되었으며, t-BHP에 의해서 증가한 지질과산화 정도가 자색고구마 안토시아닌에 의해서 감소함을 확인하였음. 또한 자색고구마 안토시아닌에 의해서 caspase 활성 측정이 감소함을 확인하였음.
- 본 연구진을 자색고구마 안토시아닌 색소의 항산화 효능의 작용기전을 규명하기 위하여 항산화력 증가에 관여하는 내인성 인자인 항산화 효소계의 활성 및 유전자 발현을 측정하였으며, 항산화 효소의 활성을 조절에 관여하는 Nrf2 전사조절인자의 활성 및 상위 신호전달 체계를 항산화 유전자의 luciferase 활성측정, PCR, western blotting기법 등을 활용하여 측정하였음.
- Phase I에서 발생하는 유해 성분들은 대부분이 Phase II 효소에 의해 무독화 되어 몸 밖으로 배출되게 되며 Phase II 효소의 활성이나 발현을 증가시키는 물질은 산화적 스트레스 등의 자극을 통해 몸 안에서 발생하는 유해물질을 효과적으로 무독화 시켜 몸 밖으로 빠르게 배출할 수 있도록 함 (Fig. 48).
- 이물질의 일부는 N-acetylcystein(mercapturic acid 포함체)과의 포함 형태로 배설되고 이러한 포함체는 일반적으로 이물질에 glutathione이 일차적으로 포함되고 glutamyl과 glycinyl기가 대사되어 떨어진 후 cyctein 부위가 aetyl화됨으로써 형성되며, 초기포함반응은 glutathione-S-transferase (GST)에 의해 촉매 하게 됨.
- Glutathione (GSH) 포함은 mercapturic acid로 대사되기 전에 변화되지 않은 상태로 담즙 속에 배설되며, 방향족 및 지방족 화합물은 대사를 받아 화학적으로 반응성이 있는 중간물질이 생성되면 glutathione과의 포함반응이 일어나고, 따라서 반응성 친 전자가 제거되어 효과적인 무독화가 일어남.
- GSH는 ROS에 의해 야기되는 산화적 스트레스에 대항하여 세포방어에 관여하며, 촉매작용을 하는 heavy subunit(γ -GCSH)와 조절작용을 하는 light chain으로 구성되어 있는 γ

-glutamylcystein synthetase (γ -GCS)에 의해 합성되며 이는 GSH level을 적절하게 지속시키는데 중요한 역할을 하며 세포내 GSH가 산화 환원반응의 조절에 중요한 역할을 함.

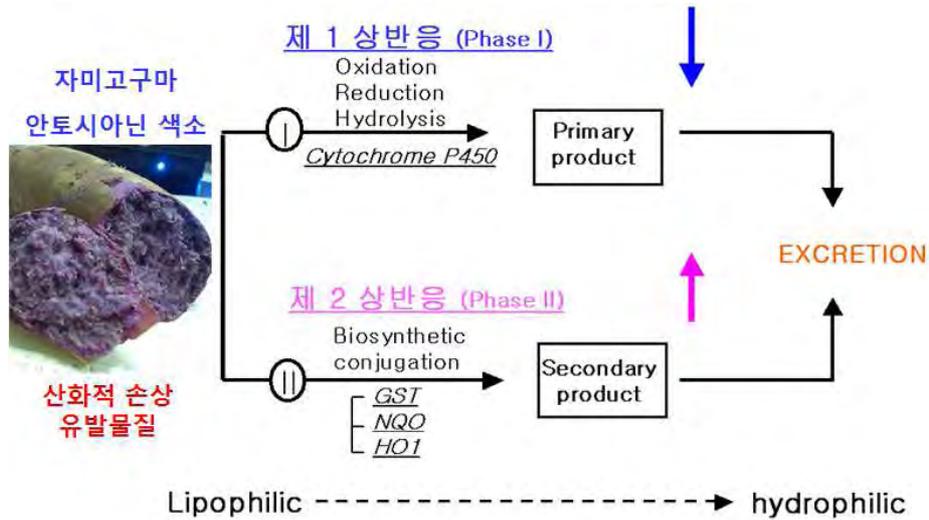


Fig. 48. Mechanism of the activation of the detoxification pathway by chemopreventive blocking agents.

○ Heme oxygenase-1 (HO-1) 세포내 항산화 효소로 알려져 있으며, 그 기작은 세포내에 존재하는 Heme 을 분해하는 효소로 분해 시 생산되는 부산물이 세포내 여러 가지 역할을 수행함. HO-1 에 의한 Heme 의 분해로 Fe(II), Bilirubin 및 CO 강 생성되는데 Fe(II) 는 cytoprotection 효과가 있으며, Bilirubin은 항산화 효과가 있으며, CO는 염증반응 및 세포 사멸을 억제하는 기능이 알려져 있음 (Fig. 49).

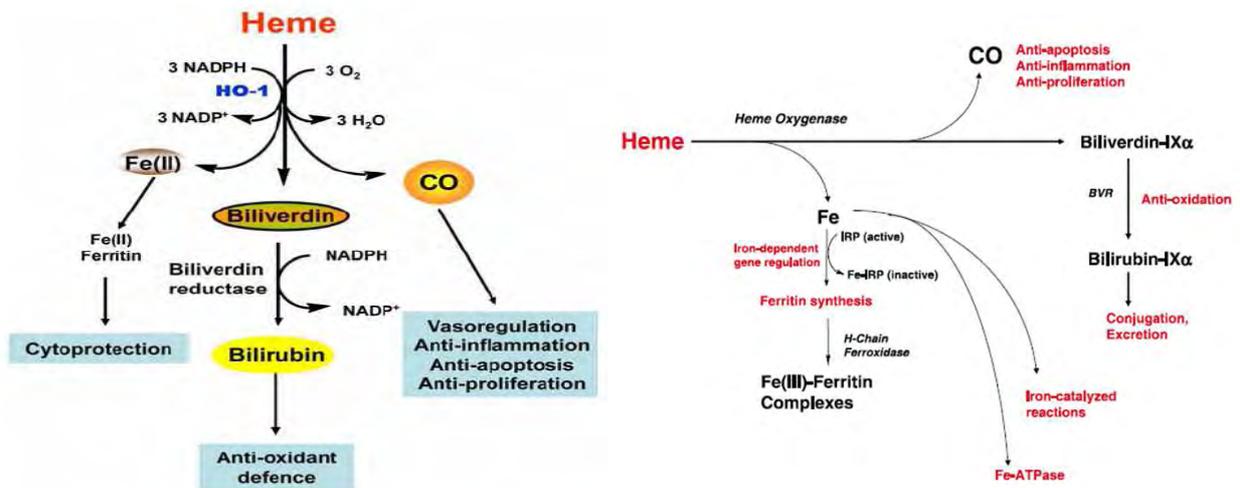


Fig. 49. Functional consequences of HO activity related to the three principle reaction products, bilirubin, iron, and carbon monoxide (CO).

○ NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) 은 Phase I의 대사 활성화에 의해서 생성되는 활성 quinone 체나 활성 산소를 제거하여 무독화 시키는 효소로 알려져 있음. 산화적 스트레스나 chemopreventive inducer 에 의해서 발현이 증가하며 세포내에서 산화적 손상에 대한 세포 방어 기능을 수행하고 있음 (Fig. 50).

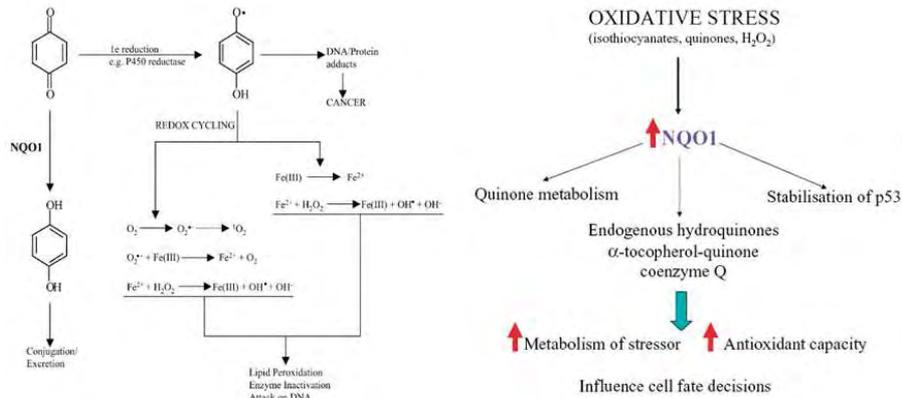


Fig. 50. Consequences of quinone metabolism.

○ 여러 외부 자극에 의해 고농도로 발생하는 유해성 활성산소종 (ROS)은 세포손상의 원인이 되며, 신경세포질환과 암등의 발병 원인이 되기도 하며, 히드록실 라디칼이나 superoxide, hydrogen peroxide (H₂O₂) 등의 물질은 DNA의 손상을 유발하며 결국 세포사멸을 유도함. 그러나 세포는 이런 산화적 스트레스에 대한 방어기작을 가지고 있으며, 대표적인 물질로 위에서 설명한 GST, HO-1 과 NQO1 등이 있음. 따라서, 이런 항산화 효소의 발현을 증가시키는 물질은 세포보호 효과를 나타낼 수 있음.

○ 본 연구에서는 자색고구마 안토시아닌의 항산화 효소계 활성화 및 발현에 대한 영향을 조사 하고자함.

○ 본 실험에서는 간 세포배양을 통한 간 기능 관련 항산화 효소계인 GST, NQO, HO-1의 유전자 (Fig. 51) 및 단백질 발현 (Fig. 52)을 측정하였음. 실험 결과 자색고구마 안토시아닌에 의해서 항산화 효소인 HO-1, GST, NQO1의 유전자 및 단백질 발현이 증가하였음 (Fig. 51 and 52). 또한 GST, NQO, HO-1 의 활성을 luciferase assay를 통해 확인 한 결과 자색고구마 안토시아닌에 의해서 항산화 효소인 HO-1, GST, NQO1의 promoter 활성이 증가함을 확인하였 음 (Fig. 53).

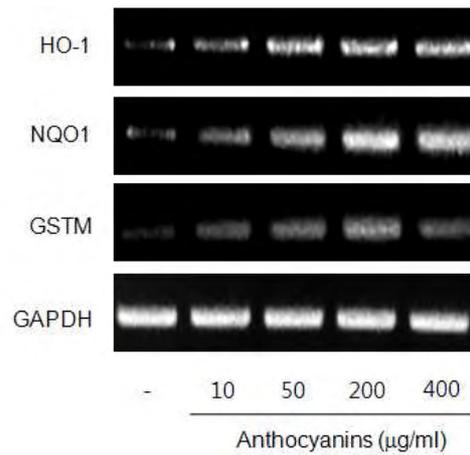


Fig. 51. Effect of anthocyanins on antioxidant enzyme gene expression. The cells were treated with anthocyanins(10-400 mg/ml). After 24 h of treatment total RNA was extracted at the times indicated. Antioxidant enzyme gene was analyzed by semi-quantitative RT-PCR.

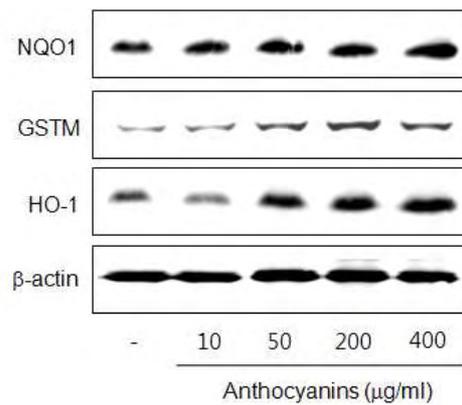


Fig. 52. Effect of anthocyanins on antioxidant enzyme protein expression. The cells were treated with anthocyanins(10-400 mg/ml). After 24 h of treatment total cell lysates was extracted at the times indicated. Antioxidant enzyme was analyzed by Western blotting.

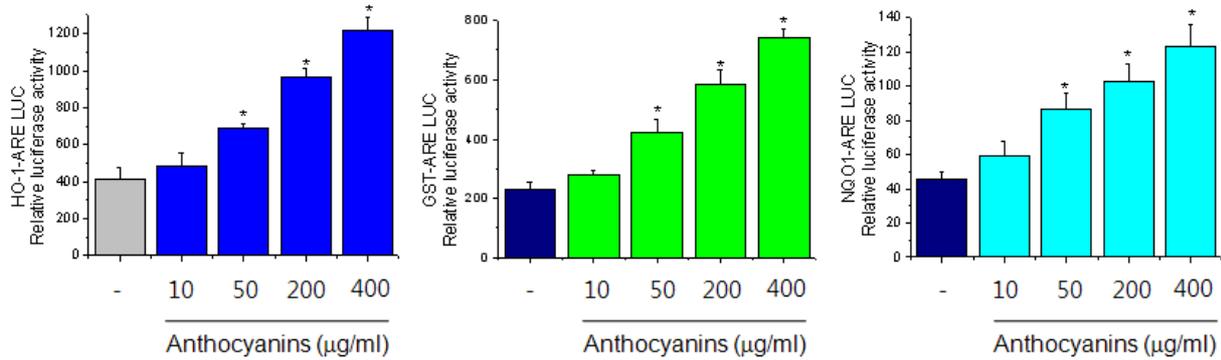


Fig. 53. Effect of anthocyanins on the transcriptional activity of HO-1, GST and NQO1. Cells were transfected with the HO-1-ARE, GST-ARE and NQO1-ARE reporter plasmid and treated with anthocyanins (10-400 mg/ml). After 18 hr, the cells were harvested and luciferase activities were measured. *Significantly different from untreated cells (P<0.01).

○ 산화적 스트레스 억제기능 관련 항산화 효소계인 phase II계 효소의 전사조절은 대부분의 연구가 mitogen-activated protein과 관련된 세포성장과 자극에 그 초점이 맞추어 지고 있으나, 정확한 기작은 알려져 있지 않음. 대표적인 phase II 효소인 HO-1의 경우 AP-1 관련 부위가 산화적 스트레스에 의해 촉진되어진 MAPK 경로를 통해 유전자가 발현하는 것으로 알려져 있음 (Fig. 54).

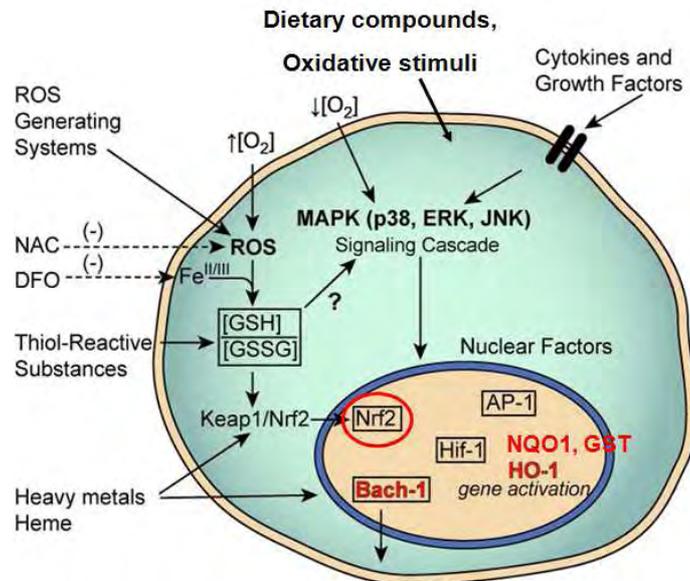


Fig. 54. Signaling pathways leading to antioxidant enzyme activation (Physiol Rev 86: 583-650, 2006).

○ 이러한 AP-1 관련 부위를 stress response elements나 AREs로 부르며, 이들은 Nrf2에 의해 조절되어 짐. Nrf2는 정상시에 Keap1과 결합되어 세포질 안에 존재하지만, 산화적 스트레스 등의 몇몇 자극에 의해 이들의 결합이 분리되고, 분리된 Nrf2는 핵 안으로 이동하여, Maf나 Jun등과 결합함. Maf등과 결합한 Nrf2는 Phase II효소의 promoter 부위의 AREs 부위에 결합하여 효소의 유전자 발현을 증가시킴.

○ 본 연구에서는 자색고구마 안토시아닌에 의한 항산화 효소들의 발현이 Nrf2에 의해서 조절되는 지 조사하고자 함. 또한 이러한 Nrf2의 활성을 검증 할 수 있는 항산화계 효소의 promoter를 cloning 하고자함. 또한 전사조절인자를 조절하는 상위 신호전달 과정을 조사하고자함.

○ 실험 결과 자색고구마 안토시아닌에 의해서 항산화 효소들의 발현을 조절하는 전사조절인자인 Nrf2의 핵안으로의 이동이 처리 농도 및 시간에 따라 증가함을 확인하였음 (Fig. 55). 또한 HO-1ARE, GST-ARE, NQO1-ARE luciferase 활성을 측정한 결과 3가지 항산화효소의 luciferase 활성이 안토시아닌 처리 농도 의존적으로 증가하였음 (Fig. 56)

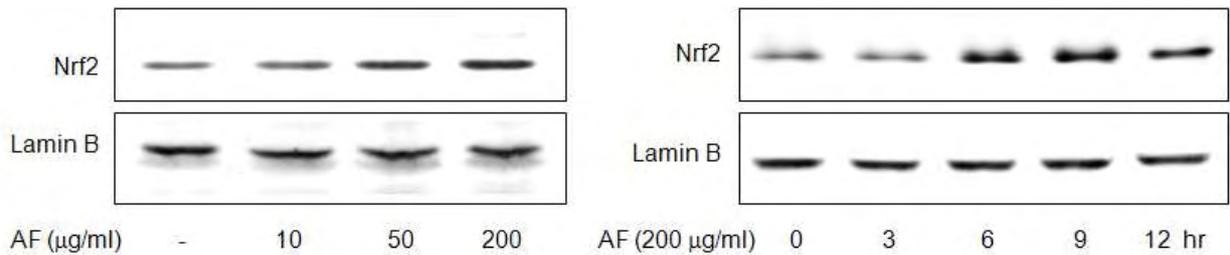


Fig. 55. Effect of AF on the protein levels of nuclear Nrf2. HepG2 cells were treated with AF for the indicated time and concentrations. Thenuclear extracts were prepared for Western blotting.

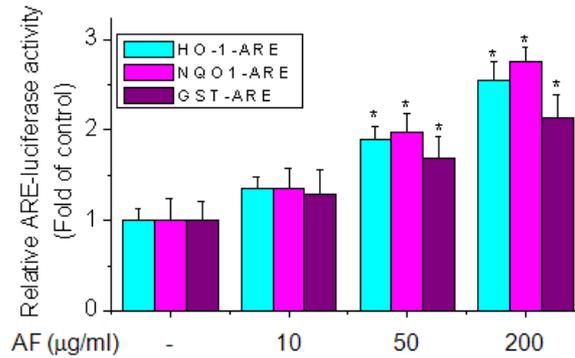
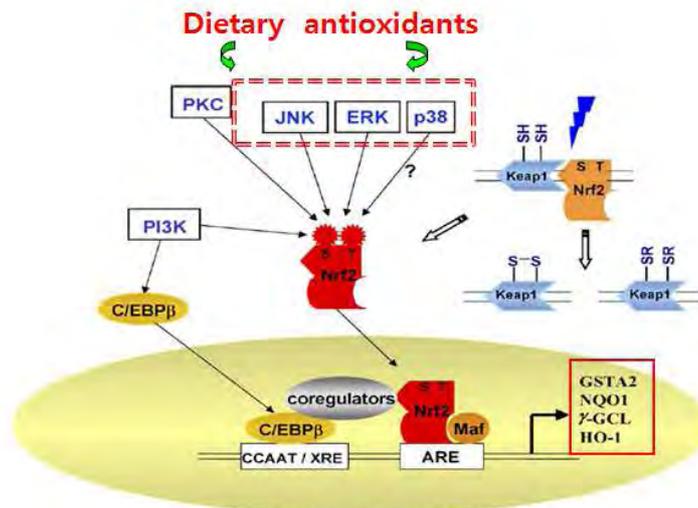


Fig. 56. Effect of AF on the transcriptional activity of HO-1, NQO1 and GST. HepG2 cells were transfected with the HO-1-ARE, NQO1-ARE, and GST-ARE reporter plasmid and treated with AF (10, 50, or 200 µg/ml). After 18 hr of treatment, luciferase activities were determined. Values represent means ± SD of three independent experiments performed in triplicate. *Significantly different from control($p < 0.05$).

○ 간 기능 관련 항산화 효소계인 Phase II계 효소 NQO1, GST, HO-1 유전자의 발현은 Nrf2 등의 전사인자의 활성화에 의하여 조절되며, 이들의 활성화는 MAPK의 일종인 ERK, P38, JNK 등을 경유한 신호전달 경로를 거치는 것으로 알려져 있음. 대표적인 항산화 효소인 HO-1의 경우 AP-1 관련 부위가 산화적 스트레스에 의해 촉진되어진 MAPK 경로를 통해 유전자가 발현하는 것으로 알려져 있음 (Fig. 57).

○ 본 연구에서는 간 기능 관련 항산화 효소 발현의 상위신호전달체계인 MAPK kinase 활성화에 대한 자색고구마 안토시아닌의 영향을 조사하였음. 실험 결과 자색고구마 안토시아닌에 의해서 3가지 MAPK (ERK1/2, JNK1/2, p38) 의 인산화가 증가되었음(Fig. 58). 안토시아닌 처리에 의해서 증가한 HO-1 발현 및 Nrf2 활성이 AKT 및 MAPKs의 활성화에 의해 조절되는지 확인하기 위해서 Akt 및 MAPKs의 저해제를 처리 하여 확인하였음. 실험결과, AKT와 ERK1/2 활성이 안토시아닌에 의해서 증가한 HO-1 및 Nrf2 활성을 억제함을 확인하였음 (Fig. 59-, 61). 위의 결과는 안토시아닌에 의한 증가한 HO-1 발현 증가 및 Nrf2 활성 증가는 AKT와 ERK1/2 활성을 통해 이루어짐을 알 수 있음.



Lee and Surh Cancer Letters 224 (2005) 171–184

Fig. 57. Signaling pathways involved in the ARE-mediated gene transcription through activation of Nrf2 (Lee and Surh Cancer Letters 224 (2005) 171–184).

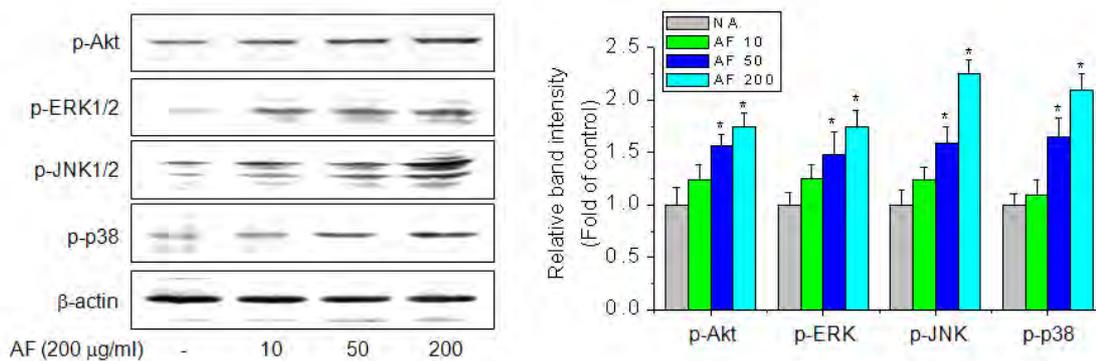


Fig. 58. Effect of AF on the phosphorylation of Akt and MAPKs. HepG2 cells were stimulated with various concentrations of AF for 30 min and then immunoblotted with activation-specific antibodies that recognize p-Akt, p-ERK1/2, p-p38 MAPK and p-JNK1/2.

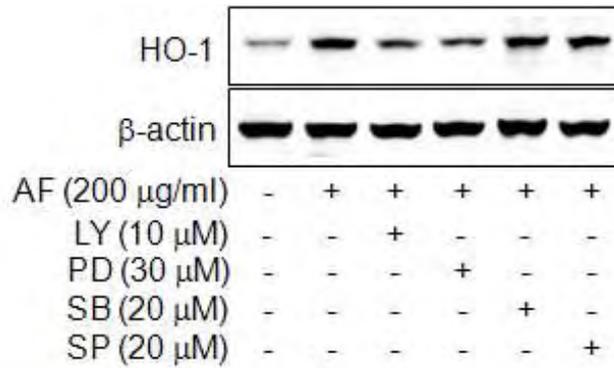


Fig. 59. Effect of PI3K/Akt and MAPK inhibitors on AF-induced HO-1 expression. HepG2 cells were pre-incubated with 10 μ M LY294002, 30 μ M PD98059, 20 μ M SB203580 or 20 μ M SP600125 for 1 hr and then incubated with 200 μ g/ml AF for 24hr. Whole cell lysates were subjected to Western blotting analysis with anti-HO-1 and anti- β -actin antibodies.

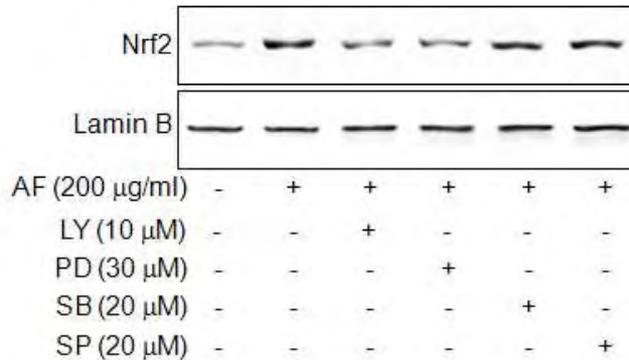


Fig. 60. Effect of PI3K/Akt and MAPK inhibitors on AF-induced Nrf2 translocation. HepG2 cells were pre-incubated with 30 μ M PD98059, 20 μ M SB203580 or 20 μ M SP600125 for 1 hr and then incubated with 200 μ g/ml AF for 6 hr. Nuclear extracts were subjected to Western blotting analysis with anti-Nrf2 and anti-lamin B antibodies.

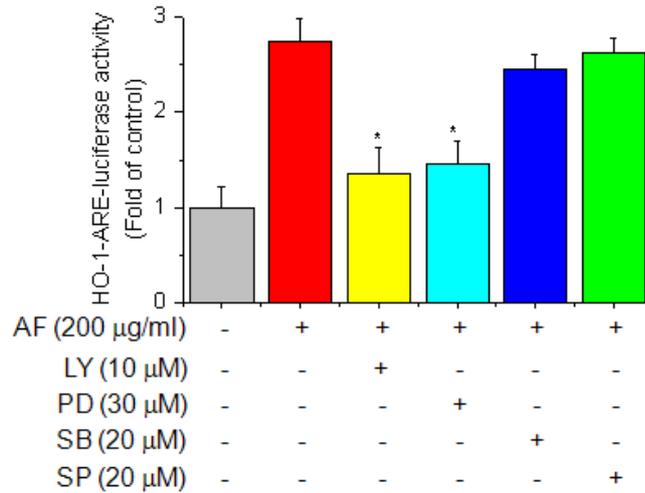


Fig. 61. Effect of PI3K/Akt and MAPK inhibitors on AF-induced HO-1-ARE-luciferase activity. HepG2 cells were transfected with the HO-1-ARE-luciferase plasmid construct. After overnight incubation, cells were treated with 200 µg/ml AF for 18 hr in the presence or absence of 10 µM LY294002, 30 µM PD98059, 20 µM SB203580 or 20 µM SP600125 cell lysates were then mixed with luciferase substrate. The luciferase activity was measured by luminometer. Values represent means ±SD of three independent experiments performed in triplicate. *Significantly different from AF-treated cells ($p < 0.05$).

○ 안토시아닌 처리에 의해서 증가한 세포보호 효과가 HO-1 발현의 증가로 인한 것인지를 확인하기 위해서 HO-1 저해제인 ZnPP를 처리하여 확인한 결과, ZnPP에 의해서 안토시아닌의 세포 보호효과가 감소하였음 (Fig. 62). 또한, 안토시아닌에 의한 세포보호 효과가 AKT 및 ERK1/2 활성이 관여 하는지 확인하기 위해서, AKT와 ERK1/2 저해제인 LY294002 (LY)와 PD98059(PD)를 처리한 결과, AKT와 ERK1/2 저해제 처리에 의해서 안토시아닌의 세포보호효과가 감소되는 것을 확인하였음 (Fig. 62). 위의 결과는 안토시아닌의 세포보호효과에 HO-1의 활성 및 AKT, ERK1/2 활성이 직.간접적으로 관여하고 있음을 알 수 있음.

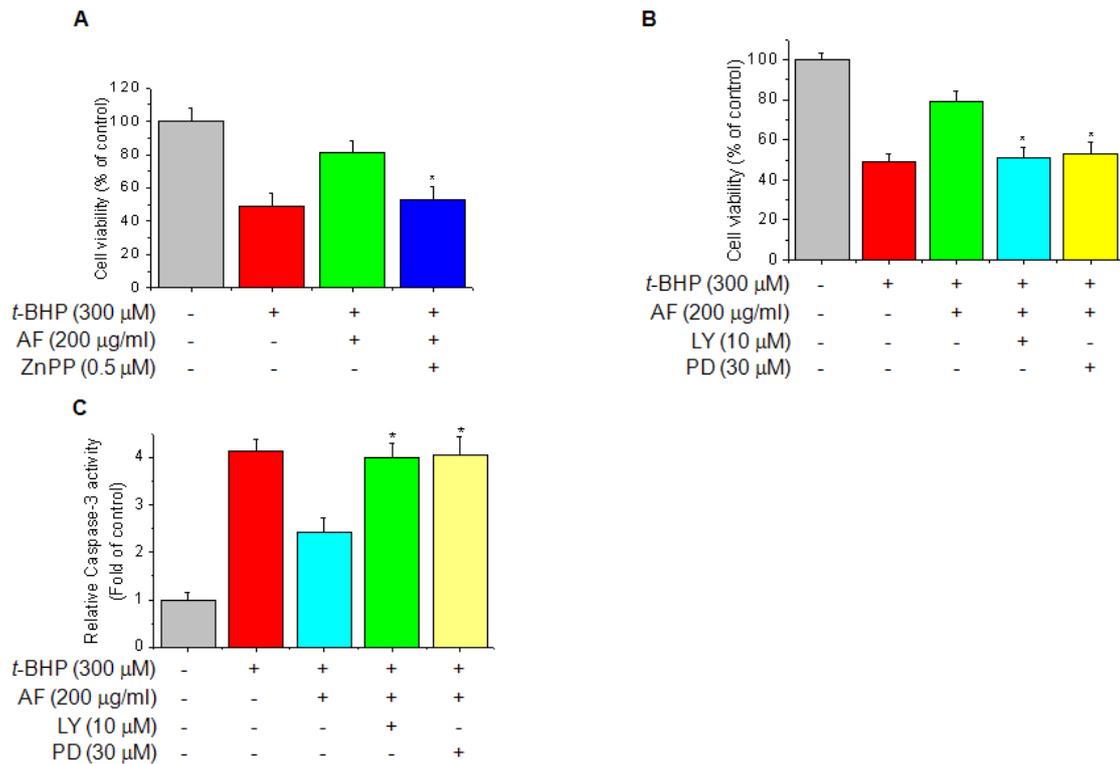


Fig. 62. PI3K/Akt and ERK inhibitors attenuate the anti-apoptotic effect of AF. (A) HO-1 enzyme inhibitor ZnPP reversed the protective effect of AF against *t*-BHP-induced cell death. HepG2 cells were treated with AF (200 μg/ml) for 24 hr and then incubated with ZnPP (1 μM) for 1 hr *t*-BHP (300 μM) was then added to the cells for a further 24 hr. Cell viability was detected by the MTT assay. *Significantly different from AF plus *t*-BHP-treated cells ($p < 0.05$). (B) HepG2 cells were pretreated for 1 hr with 10 μM LY294002 and 30 μM PD98059 prior to addition of AF. Following 24-hr incubation with AF, cells were treated with *t*-BHP for 24 hr. Cell viability was assessed by the MTT assay after *t*-BHP treatment. *Significantly different from AF plus *t*-BHP-treated cells ($p < 0.05$). (C) The catalytic activity of caspase-3 in cell lysates was assayed using the specific substrate DEVD-pNA. Values represent means ± SD of three independent experiments performed in triplicate. *Significantly different from AF plus *t*-BHP-treated cells ($p < 0.05$).

2. *in vivo* 실험동물에서 tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)에 의한 산화적 간 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간 보호 효과 조사

○ 산화적 스트레스에 의한 reactive oxygen species (ROS)의 생성은 간섬유화, 신장염, 피부 질환, 당뇨병 등의 여러 가지 질환의 원인이 될 수 있으며, 특히, free radical (NO^- , OH^- , O^{2-})은 분자상 산소가 활성산소로 변하여 다른 분자들과 반응하면서 생성되어 노화, 염증, 발암, 동맥경화와 관련이 있는 것으로 알려져 있음.

○ 불포화 지방산이 풍부한 세포막은 생성된 free radical에 의해서 지질과산화의 표적이 되어 세포소기관들이 정상적인 구조 및 기능을 잃게 되며, 국소적인 손상은 물론 알데하이드와 같은 지질과산화 분해산물이 생성부위에서 멀리 떨어진 부위로 이동하여 세포손상을 일으키게 됨.

○ 이러한 지질과산화를 일으키는 대표적인 물질인 tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)는 간세포에서 cytochrome P-450 효소에 의해 세포 구성물들을 산화시킬 수 있는 alkoxy- (RO^\cdot)나 peroxy (ROO^\cdot)로 분해되며, 이러한 산물들이 DNA의 손상을 가져와 결국 세포를 죽이는 결과를 초래함. 또한 t-BHP는 간세포에서 ALT, AST, LDH leakage, MDA 형성 및 GSH의 결손을 초래한다고 보고됨.

○ 안토시아닌 기능성 물질의 *in vivo* 항산화 활성을 측정하기 위해서 간손상 유발 물질인 t-BHP에 대한 안토시아닌의 간보호 손상효과를 *in vivo* 동물모델에서 확인하였음. *in vivo*에서 간 손상유발 물질인 t-BHP에 의한 간 손상 보호효과를 조사하기 위하여 간 손상의 지표인 ALT 및 AST 효소의 활성을 측정하였음. 실험 결과, t-BHP만을 단독 처리한 군에 비해 안토시아닌을 전 처리한 군들의 처리 농도에 의존적으로 ALT 및 AST 효소 활성이 감소하였음 (Table 22). 또한, t-BHP에 의해서 증가한 지질과산화는 안토시아닌 처리에 의해서 감소하였으며, 감소한 GSH 함량은 안토시아닌 처리에 의해서 회복되었음 (Table 22). 또한, 간조직 손상 정도를 확인하기 위해서 H&E 염색을 통해 확인한 결과, t-BHP 처리에 의해서 증간 염증인자의 유입 및 세포괴사가 안토시아닌 투여에 의해서 감소하였음 (Table 23 and Fig. 63).

Table 22. Effects of AF on *t*-BHP-induced hepatotoxicity in rats

Treatment	Serum ALT (U/liter)	Serum (U/liter)	AST (nmol/g liver)	TBARS content	GSH (nmol/mg protein)
Control	22 ± 3.2 ^c	45 ± 2.7 ^c	6 ± 0.3 ^c	6 ± 0.3 ^c	85 ± 6.55 ^c
AF 200	17 ± 4.5 ^c	45 ± 4.5 ^c	5.4 ± 0.3 ^c	5.4 ± 0.3 ^c	126 ± 15.3 ^{a,c}
<i>t</i> -BHP	42 ± 3.5 ^{a,b}	106 ± 2.5 ^{a,b}	11.5 ± 0.4 ^{a,b}	11.5 ± 0.4 ^{a,b}	47 ± 14.3 ^{a,b}
AF 10 + <i>t</i> -BHP	33 ± 4.7 ^{a,b}	86 ± 7.8 ^{a,b}	8.6 ± 0.5 ^{a,b}	8.6 ± 0.5 ^{a,b}	61 ± 10.3 ^{a,b}
AF 50 + <i>t</i> -BHP	28 ± 2.8 ^{a,b,c}	75 ± 5.1 ^{a,b,c}	7.8 ± 1.1 ^{a,b,c}	7.8 ± 1.1 ^{a,b,c}	67 ± 6.5 ^{a,b,c}
AF 200 + <i>t</i> -BHP	23 ± 3.9 ^{a,b,c}	73 ± 5.8 ^{a,b,c}	6.8 ± 0.3 ^{a,b,c}	6.8 ± 0.3 ^{a,b,c}	85 ± 9.2 ^{a,b,c}

Rats were pretreated with AF (10, 50 or 200 mg/kg, i.g.) once daily for 3 consecutive days. Control rats were given saline. Three hr after the final treatment, the rats were treated with *t*-BHP (0.2 mmol/kg, i.p.). Hepatotoxicity was determined 24 hr later by quantifying the serum activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) as well as hepatic lipid peroxidation. Values are expressed as mean ± SD for five rats. Means within the same column bearing different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$) as determined by analysis of variance by Tukey-Kramer test. ^a Significantly different from control ($p < 0.05$). ^b Significantly different from AF ($p < 0.05$). ^c Significantly different from *t*-BHP ($p < 0.05$).

Table 23. Histological injury score of liver under AF in rats treated with *t*-BHP

	Injury Score ^a		
	Leukocyte infiltration	Cell necrosis	Ballooning degeneration
Control	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
AF 200 ^b	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
<i>t</i> -BHP	3.2 ± 0.4 [#]	3.8 ± 0.3 [#]	3.7 ± 0.4 [#]
<i>t</i> -BHP + AF 200	1.1 ± 0.3*	1.1 ± 0.2*	1.2 ± 0.2*

^a Livers were scored for hepatic injury via light microscopy: 0 = no visible cell damage; 1 = focal hepatocyte damage on < 25% of tissue; 2 = focal hepatocyte damage on < 25-50% of the tissue; 3 = extensive, but focal, hepatocyte lesion; 4 = global hepatocyte necrosis. Data represent mean ± SD from five rats. ^b AF was dissolved in 0.85 % NaCl solution.

[#] Significantly different from control ($p < 0.05$). * Significantly different from *t*-BHP ($p < 0.05$).

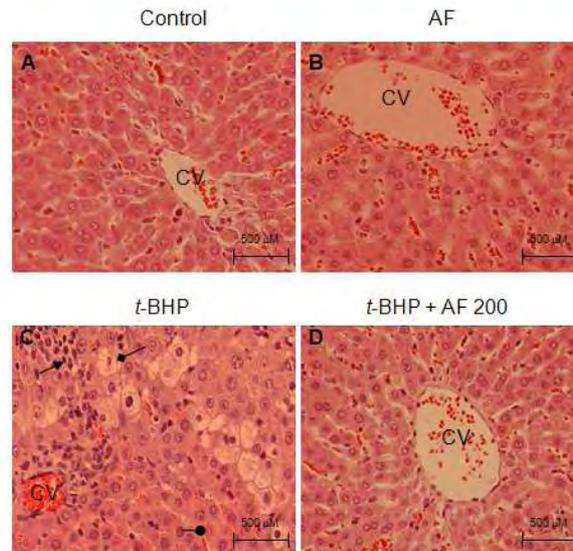


Fig. 63. Effect of AF on *t*-BHP-induced liver damage in rats. The rats were pretreated with AF (10, 50 or 200 mg/kg, i.g.) once daily for 3 consecutive days. Control rats were given saline. Three hr after the final treatment, the rats were treated with *t*-BHP (0.2 mmol/kg, i.p.). Rats were sacrificed 24 hr after *t*-BHP administration. (A) Vehicle control group; (B) animals treated with 200 mg/kg AF (C) animals treated with *t*-BHP (0.2 mmol/kg) showed severe coagulative necrosis (circle head), ballooning changes (diamond head) and leukocyte infiltration (arrowhead); (D) animals treated with 200 mg/kg AF and then with *t*-BHP showed normal morphology: hematoxylin/eosin staining; magnification X 400. Scale bar represents 500 μm.

○ 간조직에서 안토시아닌 투여에 의한 간 기능 관련 항산화 효소계인 GST, NQO, HO-1의 단백질 발현을 측정된 결과, 자색고구마 안토시아닌에 의해서 항산화 효소인 HO-1, GST, NQO1의 단백질 발현이 안토시아닌 처리 농도 의존적으로 증가하였음 (Fig. 64).

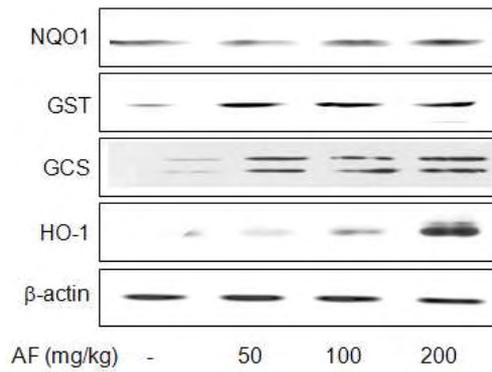


Fig. 64. Effect of AF on antioxidant enzymes expression in liver tissue. Liver tissue were treated to various concentrations of AF for three days and liver lysate were extracted. HO-1, GSTA, and NQO1 protein expression were analyzed by Western blotting, respectively.

○ 간조직에서 안토시안 투여에 의한 간 기능 관련 항산화 효소계인 GST, NQO, HO-1의 효소 활성도를 측정한 결과, 자색고구마 안토시아닌에 의해서 항산화 효소인 HO-1, GST, NQO1 단백질의 효소 활성이 안토시아닌 처리 농도 의존적으로 증가하였음 (Fig. 65-67). 또한, tBHP 투여에 의해서 감소한 GSH 함량이 안토시안 투여에 의해서 증가하였음 (Fig. 68).

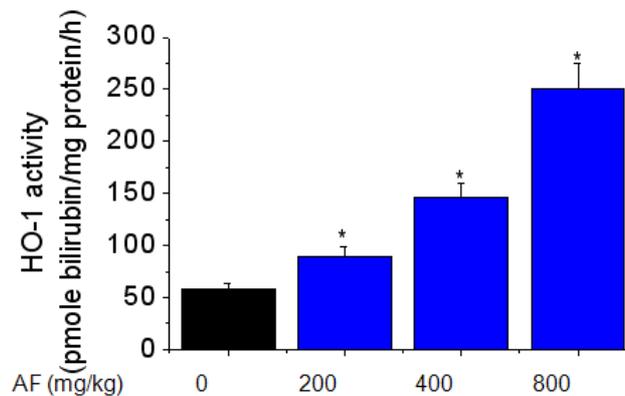


Fig. 65. Effects of AF on the hepatic HO-1 activity in mice. The mice were pretreated with AF (10, 50 or 200 mg/kg, i.g.) once daily for 3 consecutive days. The control mice were given saline. The hepatic HO-1 activity was measured. Results are expressed as the mean \pm S.E.M. of three independent experiments. * $p < 0.001$, compared to the control group.

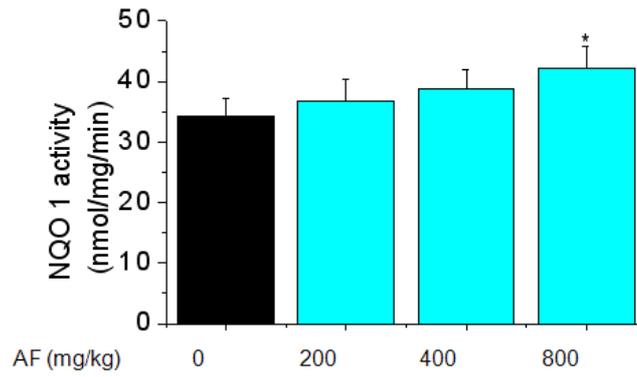


Fig. 66. Effects of AF on the hepatic NQO1 activity in mice. The mice were pretreated with AF (10, 50 or 200 mg/kg, i.g.) once daily for 3 consecutive days. The control mice were given saline. The hepatic NQO activity was measured. Results are expressed as the mean \pm S.E.M. of three independent experiments. * $p < 0.001$, compared to the control group.

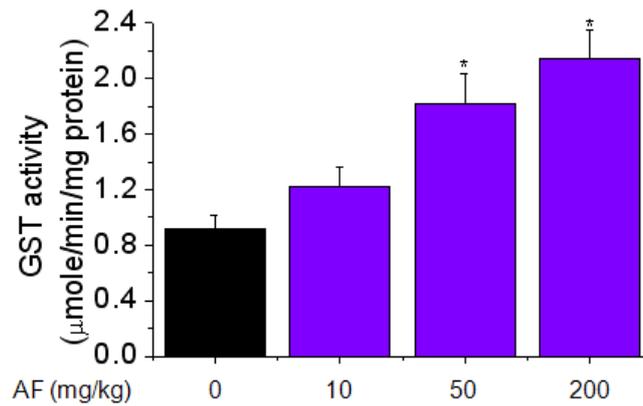


Fig. 67. Effects of AF on the hepatic GST activity in mice. The mice were pretreated with AF (10, 50 or 200 mg/kg, i.g.) once daily for 3 consecutive days. The control mice were given saline. The hepatic GST activity was measured. Results are expressed as the mean \pm S.E.M. of three independent experiments. * $p < 0.001$, compared to the control group.

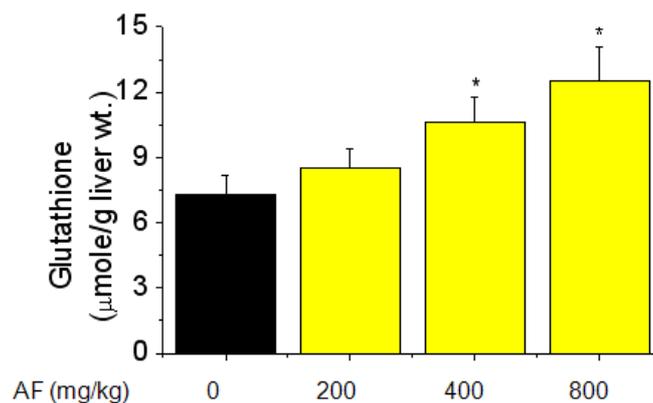


Fig. 68. Effects of AF on the hepatic GSH contents in mice. The mice were pretreated with AF (10, 50 or 200 mg/kg, i.g.) once daily for 3 consecutive days. The control mice were given saline. The hepatic GSH contents were measured. Results are expressed as the mean \pm S.E.M. of three independent experiments. * $p < 0.001$, compared to the control group.

3. *in vivo* 실험동물에서 dimethylnitrosamine (DMN)에 의한 산화적 간 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간 보호 효과 조사

- 지금까지 간 섬유화 및 간경변은 불치병으로 인식되어 왔으나 최근 과도한 섬유생성이 특징인 간 섬유화의 연구가 분자수준에서 밝혀짐에 따라 간 섬유화 및 간경변증은 불가역적인 질환이 아닌, 간 섬유생성의 억제 또는 용해촉진 등에 의해 가역적인 질환으로 개념이 변화되고 있음.
- 간 섬유화는 음주, 화학물질이나 바이러스 등과 같은 생물학적 요인으로 인한 자극 \Rightarrow 지속적인 간세포 손상 및 염증 유발 \Rightarrow 간세포 주변의 간 성상세포 (Hepatic Stellate Cells)의 과다 증식 및 활성화 \Rightarrow 간 섬유화 과정을 거치게 됨.
- 적절히 치료되지 않은 만성 간질환의 대부분은 간암으로 발전하게 되므로 이들 간 섬유화 억제 소재가 간암 예방효과를 갖고 있으면 만성 간질환 같은 질병 진행억제에 매우 효과적임.
- 산화적 스트레스에 의한 reactive oxygen species (ROS)의 생성은 간섬유화, 신장염, 피부 질환, 당뇨병 등의 여러 가지 질환의 원인이 될 수 있으며, 특히, free radical (NO^- , OH^- , O^{2-})은 분자상 산소가 활성산소로 변하여 다른 분자들과 반응하면서 생성되어 노화, 염증, 발암, 동맥경화와 관련이 있는 것으로 알려져 있음.
- 불포화 지방산이 풍부한 세포막은 생성된 free radical에 의해서 지질과산화의 표적이 되어 세포소기관들이 정상적인 구조 및 기능을 잃게 되며, 국소적인 손상은 물론 알데하이드와 같은 지질과산화 분해산물이 생성부위에서 멀리 떨어진 부위로 이동하여 세포손상을 일으키게 됨
- 간질환은 Fig. 69 에서와 같이 virus, toxins, 약물 등과 같은 산화적 스트레스 유발 물질에 의하여 생성된 ROS에 의해서 간손상을 받기 시작하여 간염, 간섬유화, 간경화, 간암이나 hepatic failure 등으로 진행됨. 간손상 초기 단계인 간염 등의 손상은 virus, 술, 약물, 독성물질 등의 원인이 다양함. 그리고 초기 간독성에서 나타나는 염증반응이나 세포독성을 매개하는 것들은 virus나 간독성물질 대사에 의하여 생성되는 free radical이나 TNF alpha와 같은 cytokines, 염증관련 인자인 Cyclooxygenase-2 (COX-2) 나 nitric oxide synthase (iNOS) 등이 추가 되어 간독성을 유발하는 것으로 알려져 있음.

Cellular events in hepatic fibrosis

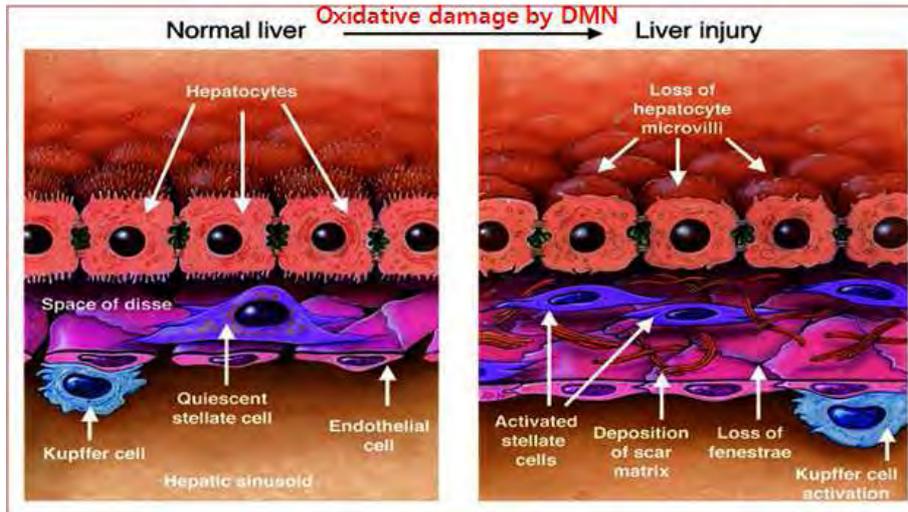


Fig. 69. Cellular events in hepatic fibrosis by DMN (J Clin Invest. 2005.115.29-32).

○ 본 연구에서 산화적 손상을 유도하는 물질로 Dimethylnitrosamine (DMN)을 사용하였으며, DMN은 간손상 중 간 섬유화를 유도하는 잘 알려진 간독성 유발 물질로 간대사효소인 cytochrome P450 2E1 (CYP2E1)에 의해서 대사가 이루어지며, 이때 산화적 손상을 일으키는 매개체인 활성산소종이 생성되며, 이러한 활성산소종의 증가는 염증 유발인자인 TNF alpha와 같은 cytokines, COX-2 나 iNOS 등의 발현을 증가시킴.

○ 본 연구에서는 *in vivo* 실험동물에서 산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과를 확인하기 위하여 혈청 및 간조직에서 ALT, LDH, 지질과산화, GSH 함량 등을 측정하였으며 항산화 효소 (HO-1, NQO1, GST)의 발현 및 염증 관련 인자인 COX-2, iNOS의 발현을 측정하였음.

○ 본 연구에서는 DMN에 의한 간손상 유발 동물모델을 확립하기 위하여 일주일에 6일을 자색고구마 안토시아닌을 50, 100 and 200 mg/kg/day의 농도로 경구 투여하였으며, DMN은 일주일에 3번을 복강투여 하였음. 총 실험은 4주 동안 시행하였음 (Fig. 70).

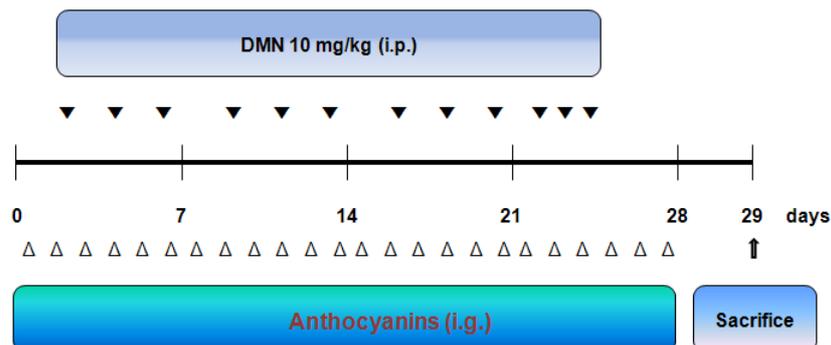


Fig. 70. Schematic diagram of the experimental protocol in rats. To induce liver fibrosis, DMN was intraperitoneal (i.p.) injection, dissolved in sterile saline three times per week for 4 weeks. Rats were intragastrically (i.g.) administered 50, 100 and 200 mg/kg/day of anthocyanins, six times per week for 4 weeks. The control and DMN treated groups were administered saline (i.g.) without drug administration. The animals were sacrificed on day 29. Each group consisted of five rats.

○ *in vivo* 실험동물에서 DMN에 의한 산화적 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간보호 효과를 확인하기 위하여 혈청 및 간조직에서 ALT, LDH, 지질과산화를 측정하였음. 실험 결과에 의하면, DMN에 의해서 증가한 혈청 ALT, AST 및 지질과산화 값이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 농도 의존적으로 감소함을 확인하였음 (Table 24).

Table 24. Effects of anthocyanins on serum parameters in rats with DMN-induced liver injury.

Treatment	Serum ALT (U/liter)	Serum AST (U/liter)	Malondialdehyde (nmole/mg protein)
Control	42 ± 4.1 ^c	73 ± 5.4 ^c	0.191 ± 0.0021 ^c
anthocyanins 200	39 ± 4.1 ^c	68 ± 5.9 ^c	0.188 ± 0.0023 ^c
DMN	118 ± 9.1 ^{a,b}	160 ± 13.8 ^{a,b}	0.235 ± 0.0025 ^{a,b}
DMN + Anthocyanins 50	110 ± 8.9 ^{a,b}	148 ± 10.4 ^{a,b}	0.231 ± 0.0021 ^{a,b}
DMN + Anthocyanins 100	97 ± 9.4 ^{a,b,c}	136 ± 9.9 ^{a,b,c}	0.228 ± 0.0025 ^{a,b,c}
DMN + Anthocyanins 200	91 ± 7.4 ^{a,b,c}	117 ± 8.9 ^{a,b,c}	0.215 ± 0.0024 ^{a,b,c}

To induce hepatic fibrosis, DMN dissolved in sterile saline (10 mg/kg body weight) was administered by intraperitoneal (i.p.) injection three times per week for 4 weeks. Rats were intragastrically (i.g.) administered 50, 100, or 200 mg/kg/day of anthocyanins (dissolved in saline) six times per week for 4 weeks. The control and DMN-treated groups were administered saline alone (i.g.) without anthocyanins. Hepatotoxicity was determined by quantifying the serum activity of ALT and AST, and malondialdehyde formation of fibrotic rats. Values are expressed as means ± SD for five rats. ^a Significantly different from control. ^b Significantly different from anthocyanins. ^c Significantly different from DMN

○ *in vivo* 실험동물에서 DMN에 의한 산화적 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간보호 효과를 확인하기 위하여 GSH 함량 및 GST 효소의 활성을 측정하였음. 실험 결과에 의하면, DMN에 의해서 감소한 GSH 함량 및 GST 효소 활성이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 농도 의존적으로 회복됨을 확인하였음 (Fig. 71, 72).

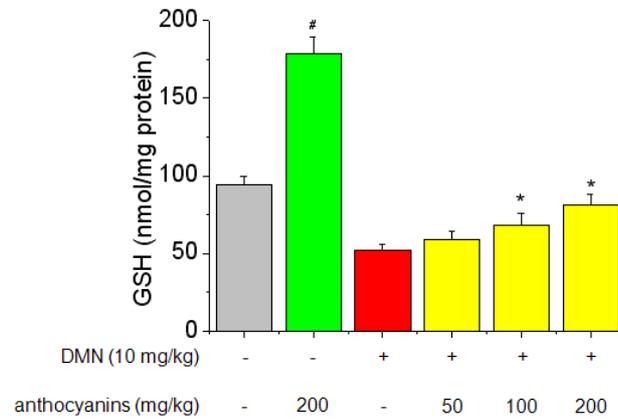


Fig. 71. Effects of anthocyanins on hepatic GSH contents. Rats were administered DMN by intraperitoneal (i.p.) injection three times per week for 4 weeks, and intragastrically (i.g.) administered anthocyanins six times per week for 4 weeks. The control and DMN-treated groups were administered saline alone (i.g.) without drug. The animals were sacrificed on day 29. Hepatic GSH levels were estimated colorimetrically using Ellman's reagent. Values are expressed as means \pm SD for five mice. [#] $P < 0.01$ denotes a significant difference from the control group. ^{*} $P < 0.05$ denotes a significant difference from the DMN-treated group.

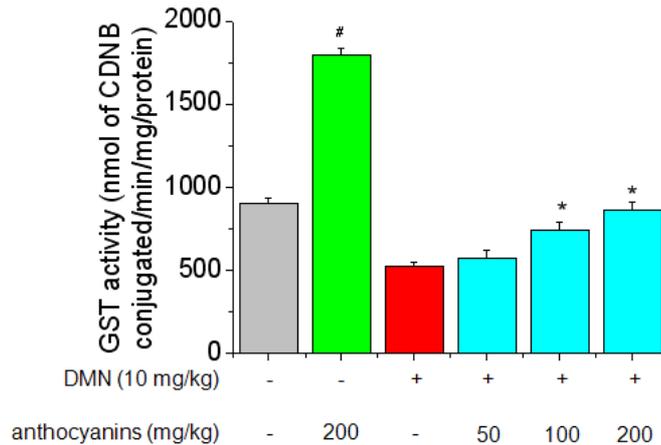


Fig. 72. Effects of anthocyanins on hepatic GST activity. Rats were administered DMN by intraperitoneal (i.p.) injection three times per week for 4 weeks, and intragastrically (i.g.) administered anthocyanins six times per week for 4 weeks. The control and DMN-treated groups were administered saline alone (i.g.) without drug. The animals were sacrificed on day 29. The activity of GST was determined by using 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) as the substrate. Values are expressed as means \pm SD for five mice. [#] $P < 0.01$ denotes a significant difference from the control group. ^{*} $P < 0.05$ denotes a significant difference from the DMN-treated group.

○ *in vivo* 실험동물에서 DMN에 의한 산화적 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간보호 효과를 확인하기 위하여 항산화 효소 (HO-1, NQO1, GST)의 발현, Nrf2의 활성을 측정하였음. 실험 결과에 의하면, DMN에 의해서 감소한 Nrf2 전사조절인자의 유전자발현 및 핵 내로의 이동이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 농도 의존적으로 Nrf2 유전자 발현은 증가하였으며, 핵 내로의 이동 또한 증가하였음 (Fig. 73, 74). 또한 전사조절인자인 Nrf2의 조절을 받는 항산화 효소인 HO-1, NQO1, GST alpha의 유전자 발현 및 단백질발현이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 증가하였음 (Fig. 75, 76).

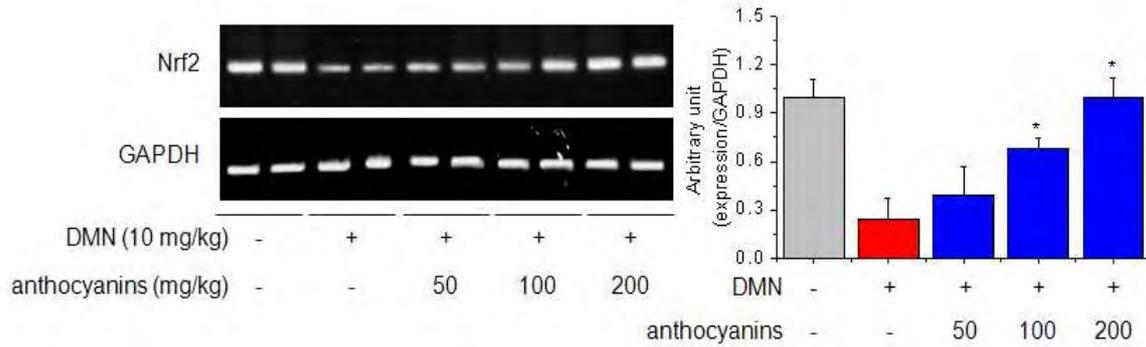


Fig. 73. Effects of anthocyanins on Nrf2 expression in rats with DMN-induced liver injury. The mRNA levels of Nrf2 in rats with DMN-induced liver injury, as determined by semi-quantitative RT-PCR. Each value represents the mean \pm SD of at least three independent experiments. * P < 0.01 denotes a significant difference from the DMN-treated group.

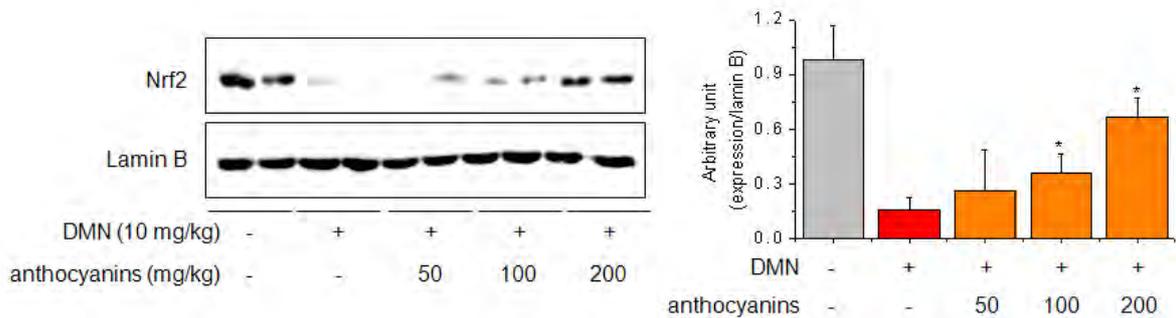


Fig. 74. Effects of anthocyanins on the nuclear translocation of Nrf2 in rats with DMN-induced liver injury. (B) Nuclear Nrf2 expression in injured rats, assessed via Western blot analysis. Each value represents the mean \pm SD of at least three independent experiments. * P < 0.01 denotes a significant difference from the DMN-treated group.

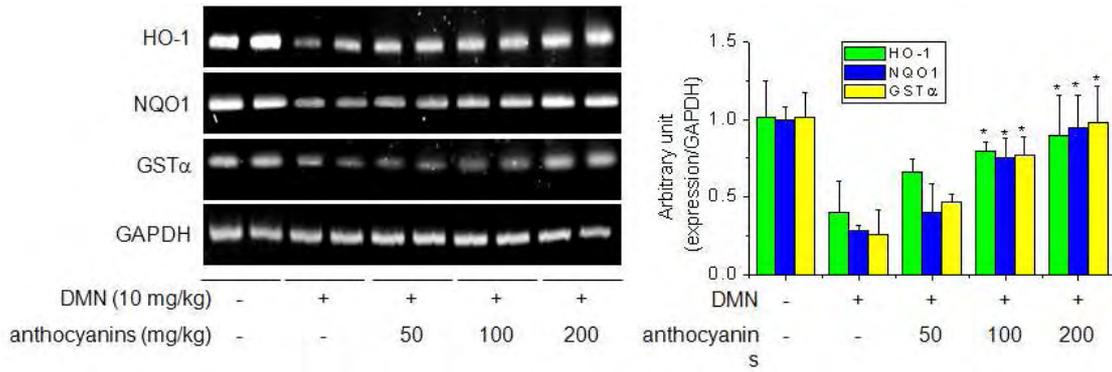


Fig. 75. Effects of anthocyanins on the gene expression of antioxidant enzymes in rats with DMN-induced liver injury. mRNA expression of HO-1, NQO1, GSTα, and GAPDH following anthocyanins treatment of rats with DMN-induced liver injury was measured by semi-quantitative RT-PCR. Each value represents the mean ± SD of at least three separate experiments. * P < 0.01 denotes a significant difference from the DMN-treated group.

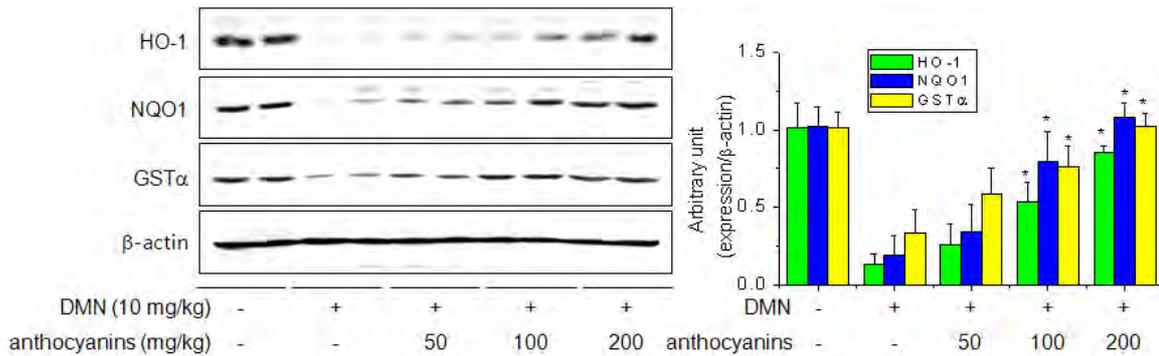


Fig. 76. Effects of anthocyanins on the protein expression of antioxidant enzymes in rats with DMN-induced liver injury. Expression of HO-1, NQO1, GSTα, and β-actin anthocyaninster anthocyanins treatment of injured rats, measured by Western blot analysis. Blots were quantified via densitometry analysis. Each value represents the mean ± SD of at least three separate experiments. * P < 0.01 denotes a significant difference from the DMN-treated group.

○ *in vivo* 실험동물에서 DMN에 의한 산화적 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 간보호 효과를 확인하기 위하여 염증 관련 인자인 COX-2, iNOS의 발현을 측정하였음. 실험 결과에 의하면, DMN에 의해서 증가한 COX-2, iNOS의 유전자 및 단백질 발현이 자색고구마 안토시아닌에 의해서 농도 의존적으로 감소함을 확인하였음 (Fig. 77, 78).

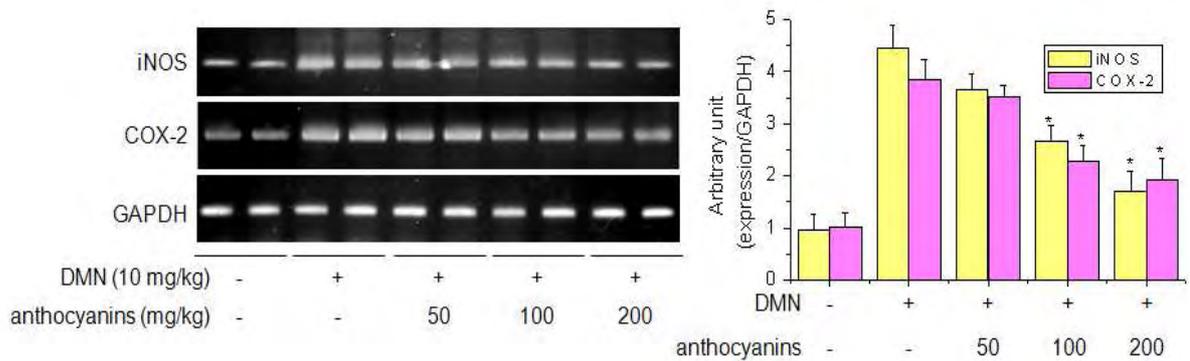


Fig. 77. Inhibitory effects of anthocyanins on DMN induced COX-2 and iNOS gene expression in the rat liver. mRNA levels of COX-2 and iNOS following anthocyanins treatment in rats with DMN-induced liver injury, measured by semi-quantitative RT-PCR. Quantification was performed via densitometry analysis. Each value represents the mean \pm S.E.M. of at least three separate experiments. * $P < 0.01$ denotes a significant difference from the DMN-treated group.

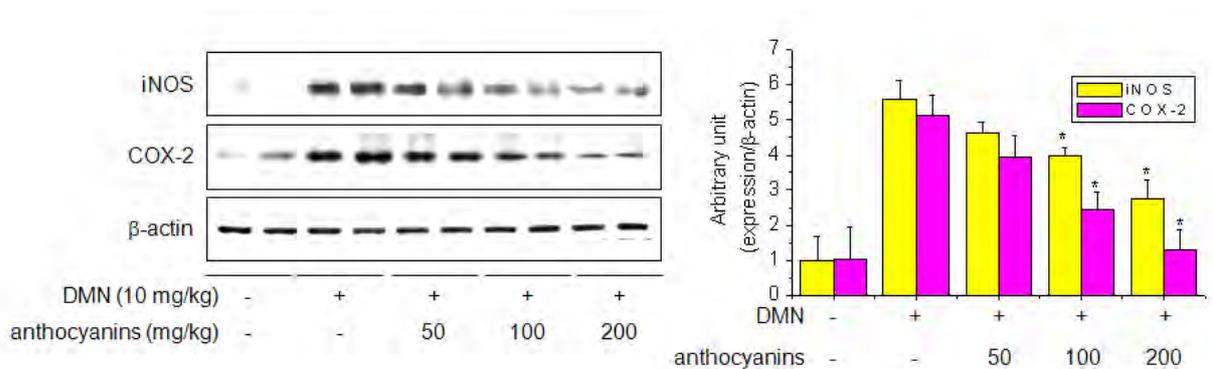


Fig. 78. Inhibitory effects of anthocyanins on DMN induced COX-2 and iNOS protein expression in the rat liver. Protein levels of COX-2 and iNOS following anthocyanins treatment in rats with DMN-induced liver injury were measured by Western blot analysis (B). Quantification was performed via densitometry analysis. Each value represents the mean \pm SD of at least three separate experiments. * $P < 0.01$ denotes a significant difference from the DMN-treated group.

○ 염증인자인 COX-2 및 TNF- α 의 발현은 전사조절인자인 NF- κ B의 활성화에 의해서 조절된다고 알려져 있음. 간조직에서 DMN 처리에 의해서 증가한 NF- κ B의 핵내로의 이동이 안토시아닌 처리에 의해서 감소하였으며 (Fig. 79), DMN 처리에 의해서 감소한 I κ Ba 단백질량이 안토시아닌 처리에 의해서 증가하였음 (Fig. 80). 위의 결과는 안토시아닌이 DMN에 의해서 증가한 염증 유발 유전자 발현의 중요한 전사조절인자인 NF- κ B활성을 억제하는 활성이 있음을 알 수 있음.

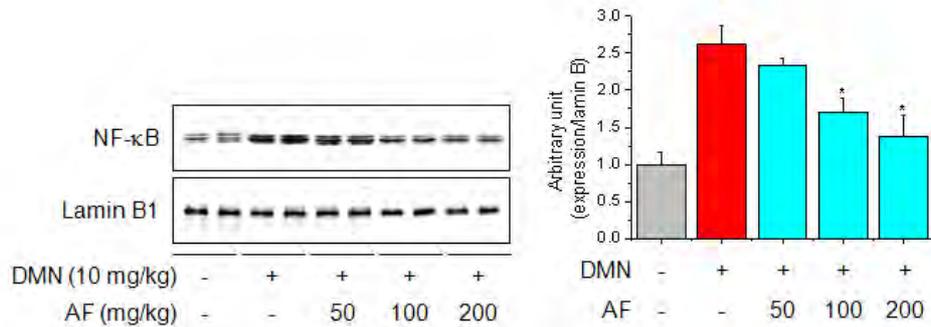


Fig. 79. Inhibitory effects of AF on DMN-induced activation of NF- κ B in rat liver. The effects of AF on DMN-induced NF- κ B nuclear translocation in rat liver. Nuclear extracts were subjected to SDS PAGE, followed by probing with NF- κ B and anti-lamin B antibodies.

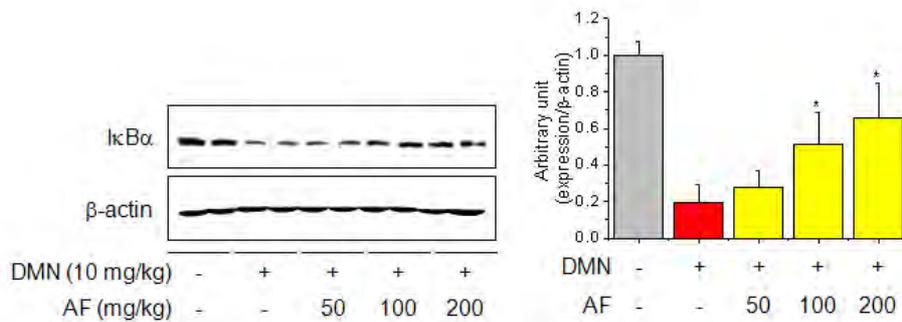


Fig. 80. Effects of AF on DMN-induced I κ Ba degradation in rat liver. Liver homogenates were subjected to SDS PAGE, followed by probing with anti-I κ Ba and anti- β -actin antibodies. Protein expression was quantified by densitometry analysis. Each value represents the mean \pm SD of at least three separate experiments. * P < 0.01 denotes a significant difference from the DMN-treated group.

4. 자색고구마 안토시아닌의 간성상세포 (hepatic stellate cells) 증식 억제 효과 및 작용기전 규명

- 최근 간장 섬유화 과정의 형태학 및 생리학적 원인이 분자수준에서 규명되기 시작하면서 펩타이드에 연결된 proline 잔기를 4-hydroxyproline으로 전환하는 hydroxylation과정을 촉매하는 prolyl 4-hydroxylase는 간 섬유증식과 간 경화 진행을 차단하기 위한 중요한 목표가 되고 있음.
- 최근의 *in vitro*와 *in vivo* 연구결과 간의 상처와 섬유증은 간세포와 간엽세포, 그리고 서로 다른 비실질세포 사이에 강한 상호작용이 있다는 것이 알려지기 시작하였음. (Fig. 81).
- 섬유형성 과정은 간세포의 괴사로 인한 염증반응, 대식세포의 활성화, fibrogenic mediator의 방출, fat-storing cell의 활성화, 세포외기질 합성의 촉진과 matrix 축적에서 matrix 분해의 감소 등의 기작이 역동적으로 일어남.
- 간섬유증에서는 세포외기질 matrix가 정상상태보다 3-6배정도로 증가되며, 간장내의 fat-storing 세포가 이러한 matrix의 생성에 주로 관련함. 간세포 손상과 괴사의 첫 시작은 괴사염증지역에서 혈액대식세포의 유입과 혈소판의 응집에 의해 Fat-storing cell과 Kupffer cell 등의 부분적인 증식과 함께 이들 세포의 표현형이 변환 (myofibroblast)되어 matrix 단백질 합성을 촉진하는 proinflammatory, fibrogenic cytokine과 TGF β 1, TGF- α 등의 유전자 발현과 분비를 촉진하게 됨 (Fig. 81)

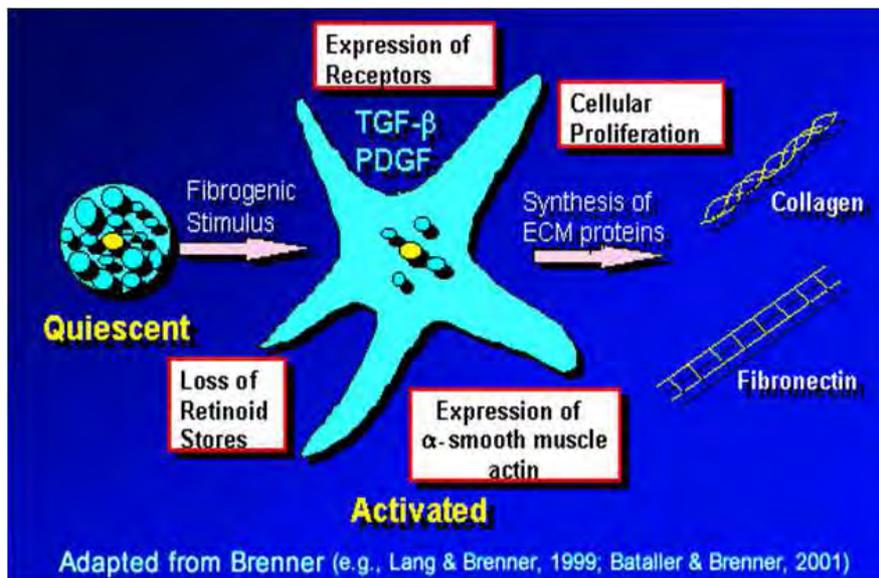


Fig. 81. Hepatic stellate cells activation.

- 본 연구에서는 간성상세포 (Hepatic stellate cells; HSCs) 활성화 인자인 platelet-derived growth factor (PDGF)-BB에 의한 안토시아닌의 간성상세포 증식억제 효과 및 작용기전에 대

하여 연구하였음. 먼저, 간성상세포 (Hepatic stellate cells; HSCs)에서 안토시아닌의 세포독성을 측정된 결과, 고농도인 200 ug/ml 처리시에도 독성이 나타나지 않았음 (Fig. 82). 따라서, 본 연구에서는 안토시아닌 처리 농도를 50, 100, 200 ug/ml의 농도로 처리하였음.

○ 간성상세포에서 간성상세포 성장인자인 PDGF-BB에 의한 안토시아닌의 간성상세포 증식억제 효과를 측정된 결과, 안토시아닌 처리에 의해서 간성상세포의 세포 증식이 감소하였음 (Fig. 83).

○ PDGF-BB에 의해 증가된 간성상세포의 alpha smooth muscle actin (α-SMA)의 발현이 안토시아닌 투여 농도 의존적으로 α-SMA의 발현이 감소하는 것을 western Blotting을 통하여 확인하였음(Fig. 84).

○ PDGF-BB에 의한 α-SMA의 발현의 증가를 조절하는 신호 경로로서, PDGF receptor를 통한 Akt 및 MAPKs의 활성화가 잘 알려져 있음. 본 연구에서는 안토시아닌의 α-SMA의 발현을 조절하는 상위 신호 전달자인 Akt 및 MAPKs의 활성화에 미치는 영향을 조사하였음.

○ 실험 결과 PDGF-BB에 증가한 Akt, ERK1/2, JNK1/2, p38 MAPKs의 인산화가 증가하였으며, 안토시아닌 처리에 의해서 증가한 Akt와 ERK1/2의 인산화는 감소하였음 (Fig. 85). 그러나 JNK1/2와 p38 MAPK의 활성화에는 영향이 없었음 (Fig. 85). 위의 결과를 재확인하기 위해 Akt 저해제인 LY294002와 ERK1/2 저해제인 PD98059를 처리하였음. 실험 결과 PDGF-BB에 의해서 증가한 α-SMA의 단백질 발현이 LY294002와 PD98059 처리에 의해서 감소하였음 (Fig. 86). 마찬가지로 세포 증식을 또한 LY294002와 PD98059 처리에 의해서 감소하였음 (Fig. 87). 위의 결과는 안토시아닌이 간성상세포 활성화를 증가시키는 Akt 및 ERK1/2의 활성을 안토시아닌이 억제하여 세포 증식 및 α-SMA의 단백질 발현을 억제함을 알 수 있음.

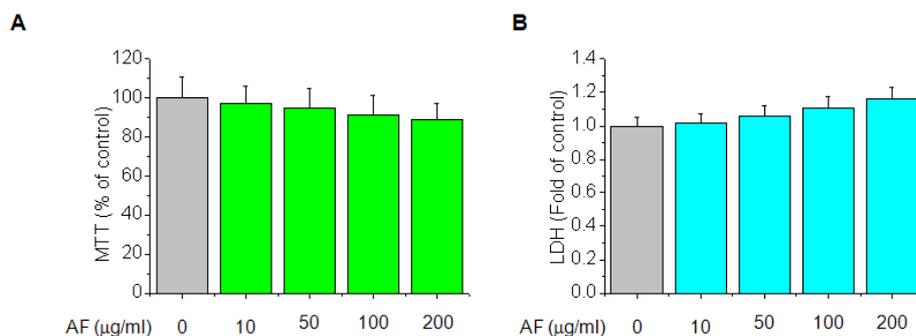


Fig. 82. Effects of AF on cell cytotoxicity in HSCs. Cells were treated with various AF concentrations for 24 h. Cell cytotoxicity was estimated by a MTT reduction assay (A) and a LDH release assay (B).

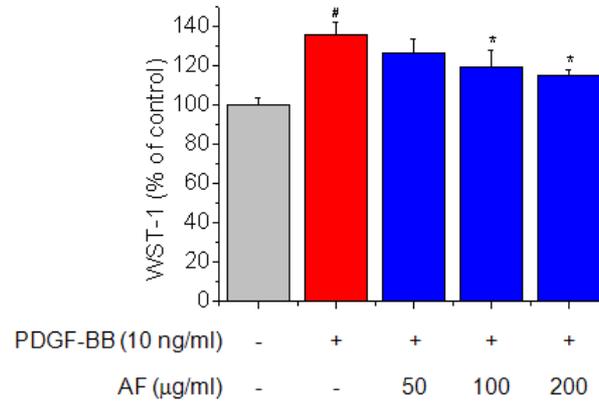


Fig. 83. Effects of AF on PDGF-BB-induced cell proliferation in HSCs. Cells were pretreated with various AF concentrations for 1 h, and then stimulated with PDGF-BB (10 ng/mL) for 24 h to investigate cell proliferation. [#] $p < 0.05$, compared with the control group. ^{*} $p < 0.05$, compared with the PDGF-BB-treated group.

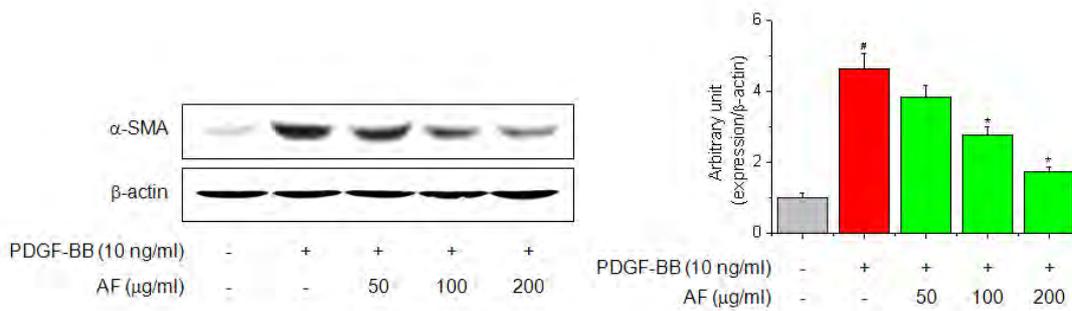


Fig. 84. Effects of AF on PDGF-BB-induced α -SMA expression in HSCs. Cells were treated with PDGF-BB (10 ng/mL) in the presence of AF (50, 100, 200 mg/mL) in serum-free medium for 24 h. Expression of α -SMA was determined by Western blotting. [#] $p < 0.05$, compared with the control group. ^{*} $p < 0.05$, compared with the PDGF-BB-treated group.

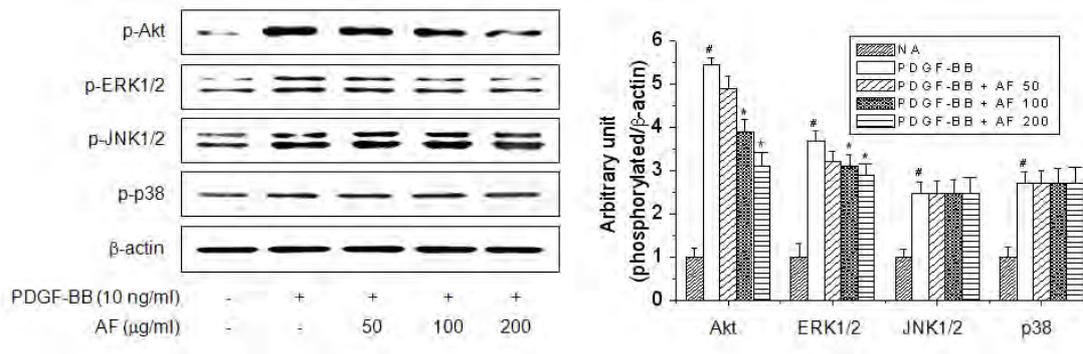


Fig. 85. Effects of AF on PDGF-BB-induced Akt and MAPK phosphorylation in HSCs. Cells were pretreated with AF (50, 100, 200 mg/mL) for 1 h and subsequently stimulated with PDGF-BB (10 ng/mL) in serum-free medium for 10 min. Phosphorylation of Akt and MAPK were determined by Western blotting. [#] $p < 0.05$, compared with the control group. ^{*} $p < 0.05$, compared with the PDGF-BB-treated group.

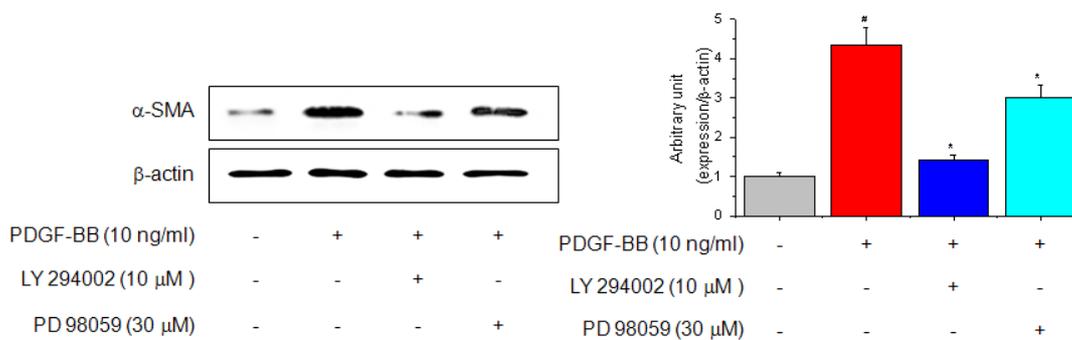


Fig. 86. Effects of Akt and ERK1/2 inhibitors on PDGF-BB-induced α-SMA expression in HSCs. Cells were treated with PDGF-BB (10 ng/mL) in the presence of LY294002 or PD98059 in serum-free medium for 24 h. (A) Expression of α-SMA was determined by Western blotting. PDGF-BB-treated group.

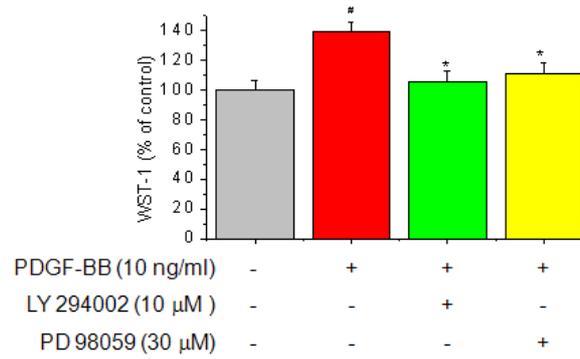


Fig. 87. Effects of Akt and ERK1/2 inhibitors on PDGF-BB-induced proliferation in HSCs. HSC proliferation was determined by a WST-1 assay.

○ 본 연구에서는 PDGF-BB의 수용체 (receptor)인 PDGFR의 활성화에 대한 안토시아닌의 영향을 측정하였음. 실험결과, PDGF-BB에 의해서 증가한 PDGFR의 인산화가 안토시아닌 처리에 의해서 감소하였음 (Fig. 88). 또한 위의 결과를 확인하기 위하여 PDGFR의 저해제를 처리한 결과, PDGF-BB에 의해서 증가한 PDGFR의 인산화가 감소하였으며 (Fig. 89), 하위 신호전달자인 Akt 및 ERK1/2의 인산화도 감소시켰음 (Fig. 90). 또한 α -SMA의 발현 감소 (Fig. 91) 및 간성상세포의 성장을 억제시켰음 (Fig. 92).

○ 위의 연구 결과를 종합하면, 안토시아닌의 간성상세포의 세포 증식억제 및 α -SMA의 단백질 발현 억제 효과는 PDGF 수용체의 인산화 억제 및 그 하위 신호 전달자인 Akt 및 ERK1/2의 인산화 억제를 통해 이루어짐을 확인하였음.

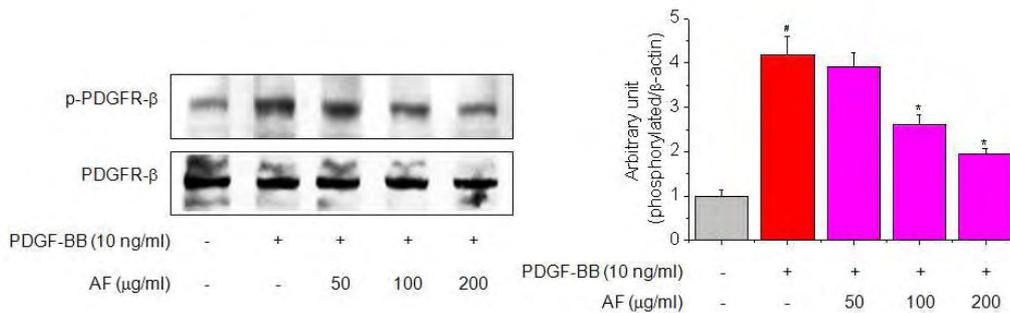


Fig. 88. AF inhibits PDGF-BB-induced PDGFR- β phosphorylation in HSCs. Effects of AF on PDGF-BB-induced PDGFR- β phosphorylation in HSCs. Cells were pretreated with AF (50, 100, 200 μg/mL) for 1 h and then stimulated with PDGF-BB (10 ng/mL) in serum-free medium for 2 min.

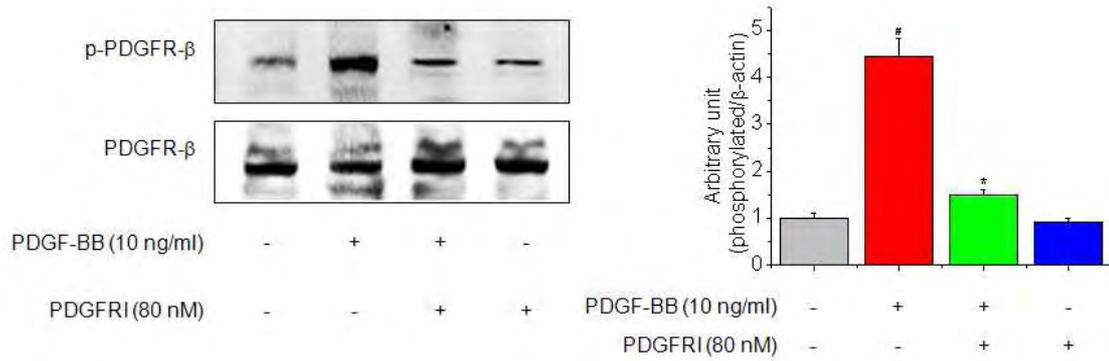


Fig. 89. AF inhibits PDGF-BB-induced PDGFR- β phosphorylation in HSCs. Cells were pretreated with PDGFRI for 1 h and then stimulated with PDGF-BB (10 ng/mL) in serum-free medium for 2 min. [#] $p < 0.05$, compared with the control group. ^{*} $p < 0.05$, compared with the PDGF-BB-treated group.

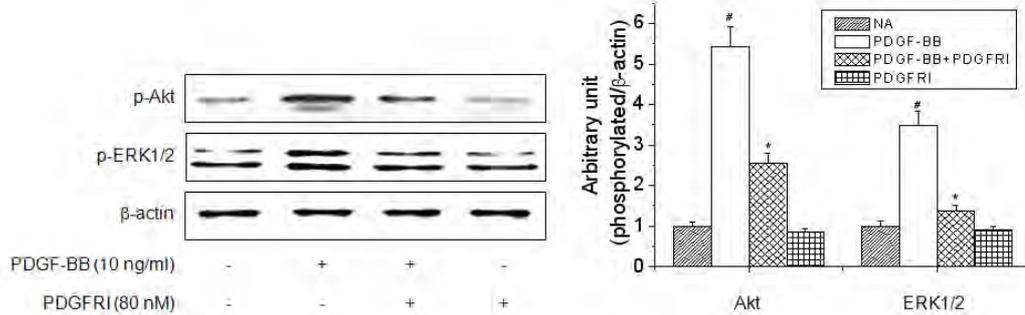


Fig. 90. Effects of PDGFR tyrosine kinase inhibitor (PDGFRI) on PDGF-BB-induced the phosphorylation of Akt and ERK1/2. Cells were pretreated with PDGFRI for 1 h and then stimulated with PDGF-BB (10 ng/mL) in serum-free medium for 10 min. [#] $p < 0.05$, compared with the control group. ^{*} $p < 0.05$, compared with the PDGF-BB-treated group.

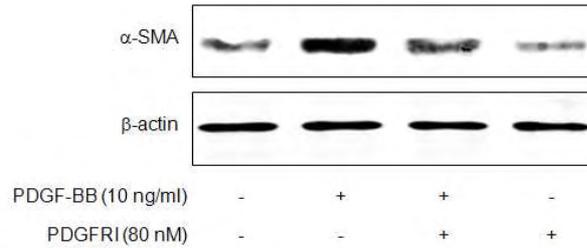


Fig. 91. Effects of PDGFR tyrosine kinase inhibitor (PDGFRI) on PDGF-BB-induced α -SMA expression. Cells were pretreated with PDGFRI for 1 h and then stimulated with PDGF-BB (10 ng/mL) in serum-free medium for 24 hr. # $p < 0.05$, compared with the control group. * $p < 0.05$, compared with the PDGF-BB-treated group.

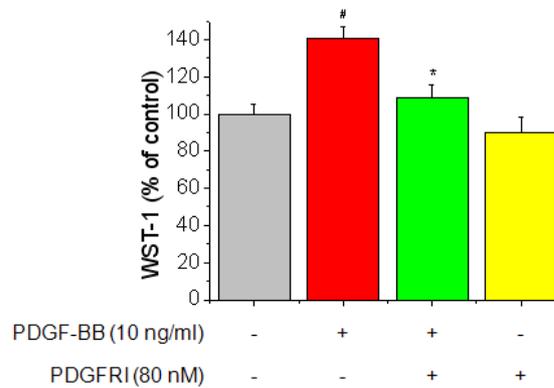


Fig. 92. Effects of PDGFR tyrosine kinase inhibitor (PDGFRI) on PDGF-BB-induced the cell proliferation. Cells were pretreated with PDGFRI for 1 h and then stimulated with PDGF-BB (10 ng/mL) in serum-free medium for 2, 10 min or 24 hr. # $p < 0.05$, compared with the control group. * $p < 0.05$, compared with the PDGF-BB-treated group.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 목표달성도

구분 (연도)	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도(%)
1차 년도 (2009)	자색고구마 안토시아닌 색소의 기준·규격 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자색고구마로부터 안토시아닌 물질의 대량 분리방법 확립(추출·농축) ○ 추출 및 분리 방법에 따른 지표물질 및 확인물질의 특성 ○ 지표물질 및 확인물질의 기준·규격 설정 ○ 지표물질 및 확인물질의 분석방법 표준화 ○ 1일 섭취량과 기능성간의 상관관계 확립 	100
	자색고구마 추출박의 성분분석	○ 자색고구마 색소 추출 후 남은 추출박의 전분, 당, 섬유소 등의 성분분석	100
	추출박의 알콜 발효조건 최적화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자색고구마 추출박의 당화조건 확립 ○ 자색고구마 추출박의 알콜발효조건 확립 	100
	자색고구마 와인의 특성 및 제품검사 표준화	○ 자색고구마 막걸리의 이화학적 특성 분석 및 상품화	100
	자색고구마 안토시아닌 색소의 기준·규격 확립 및 항산화 기능성 검정 (in vitro 항산화 기능성 평가)	<ul style="list-style-type: none"> ○ ROS 소거능, Superoxide 소거능, 과산화활성 ○ 산화적 손상에 대한 보호효과 <ul style="list-style-type: none"> - 세포사멸능 측정(MTT assay, LDH) - GSH 및 지질과산화 측정 - DNA 손상에 대한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과 조사 (DNA fragmentation, caspase 활성측정) - 산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 자색고구마 안토시아닌의 영향 측정 	100

구분 (연도)	연구개발의 내용	연구개발의 범위	달성도(%)
2차 년도 (2010)	자색고구마 식초의 초산 발효조건 최적화	○자색고구마 식초의 초산발효 조건 확립	100
		○초산발효조건 최적화	100
	자색고구마 식초의 특성 및 품질검사 표준화	○최적 발효조건에서의 제품특성 및 품질검사 표준화	100
		○초산발효에서의 안토시아닌 색소의 안정성 배가 실험	100
	자색고구마 안토시아닌의 항산화 효소계에 대한 영향 조사	○항산화 효소계 promoter cloning ○항산화 관련 효소계의 활성 및 유전자 발현 측정 ○항산화 관련 효소인 GST, NQO1, HO-1의 luciferase 활성 측정 ○항산화 효소계 발현 조절 관련 전사 조절 인자인 Nrf2에 대한 영향 조사 ○상위 신호전달체계인 Akt, MAPK 활성조사	100
	<i>in vivo</i> 실험동물에서 산화적 손상물질에 의한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과 조사	○혈청 ALT, LDH, 지질과산화, GSH 함량 측정 ○산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 자색 고구마 안토시아닌의 보호효과 조사 ○세포사멸 관련 caspase 활성 측정 ○ <i>in vivo</i> 실험동물에서 항산화 효소의 발현 조사	

구분 (연도)	연구개발의 내용	연구개발의 범위	달성도(%)
3차 년도 (2011)	자색고구마 추출박을 활용한 자색고구마 막걸리, 자색식초 및 가공식품의 상품화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자색고구마 막걸리 및 식초의 대량생산 공정 표준화 ○ 개발제품의 자가품질검사 기준·규격 확립 ○ 개발제품의 일반·영양성분 분석을 통한 품질관리 표준화 ○ 시제품 제작 및 포장디자인 개발 ○ 완제품 생산, 판매촉진을 위한 이벤트 공동추진 및 유통현황·시장조사 (각종 전시회 및 지역축제 참가)	100
	안토시아닌의 기능성 성분·원료의 <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> 기능성 평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 안토시아닌의 기능성 성분·원료의 영향 측정 - 세포사멸능 측정 (MTT assay, LDH) 	100
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 안토시아닌의 기능성 성분·원료의 항산화 효소계에 대한 영향 조사 - 항산화 관련 효소계의 활성 및 유전자 발현 측정 - 항산화 관련 효소인 GST, NQO1, HO-1의 luciferase 활성 측정 - 항산화 효소계 발현 조절 관련 전사 조절인자인 Nrf2에 대한 영향 조사 	100
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 상위 신호전달체계인 MAPK 활성조사 ○ 혈청 ALT, LDH, 지질과산화, GSH 함량 측정. ○ <i>in vivo</i> 실험동물에서 항산화 효소의 발현 조사 ○ 혈청 ALT, LDH, 지질과산화, GSH 함량 측정 ○ 산화적 손상 관련 세포사멸에 대한 자색고구마 안토시아닌의 보호효과 조사 ○ 세포사멸 관련 caspase 활성 측정 ○ <i>in vivo</i> 실험동물에서 항산화 효소의 발현 조사 	100

2. 관련분야 기여도

- 농촌진흥청에서 전락육종품목으로 개발되어 전국 500여 농가에서 연간 14,000여 톤 생산되고 있는 자색고구마의 고부가가치화를 위하여 주요 생리활성물질인 안토시아닌 천연색소를 이용하여 범용·기능성식품의 원료 소재를 개발함과 아울러 항산화 활성, 간기능 개선 활성을 규명한 결과를 기초로 다양한 가공식품을 개발 및 상품화함으로써 우량농작물의 건강기능식품화를 통한 농가소득증대, 기능성 대체 작물의 발굴 및 재배 확대, 토종농산물의 국제 경쟁력제고, 국민건강 증진이 기대된다.
- 최근 산소를 소비하는 모든 생물체와 식품들은 반응성이 매우 큰 유독성 활성산소와 반응시 지질·단백질·DNA 등에 대하여 비선택적, 비가역적 산화반응을 촉진하여 암, 노화, 간장 질환뿐만 아니라 식품의 산패를 유발시키는 데, 이를 제어할 수 있는 방법으로는 인체 내 항산화제 효소 생성을 활성화시키거나 인위적으로 항산화제를 섭취 또는 첨가하면 되나, 상업적으로 사용할 수 있는 무독성 고효율성 이면서 저가 천연항산화제는 상용화되지 못하고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 상기에서 언급한 선행연구의 결과와 항산화활성이 우수하면서 저가로 분리 가능한 자색고구마의 안토시아닌 색소를 이용한 다양한 생리활성을 검증한 후 이들 소재를 활용한 범용·기능성 식품 원료 및 상품 개발에 따라 재배농가의 소득증대와 함께 농가 기술경쟁력 확보가 가능할 것으로 판단된다.
- 농산물을 이용한 기능성 소재에 대한 세계시장은 시장은 2000년대 1,380억 달러 이상으로 높은 성장을 보이고 있고 2010년 이후에는 자동차 시장규모로 성장할 것으로 예상되고 있으며, 특히 농산물에서의 항산화물질은 독성이 적어, 장기적 사용이 가능함으로 식품산업, 의약품산업, 화장품산업 등 다양한 분야에서 이용될 수 있기 때문에 국가의 경제적·산업적 측면에서 매우 큰 파급효과를 기대할 수 있다.
- 농업신소재개발 등의 기술은 최근 세계 각국의 기술보호정책에 따라 그 도입이나 이용이 매우 어려우므로 우리나라에서 개발한 신규 농산물인 자미 고구마를 이용한 기능성 신소재의 개발과 이를 이용한 산업화는 기능성식품시대에 국제 경쟁력확보에 크게 기여 할 것으로 예상된다.
- 이와 같은 상황에서 자미고구마의 기능성 소재는 간편화, 최소화, 기능성, 맞춤형 식품시대에 매우 부합되는 항산화(천연항산화식품소재), 항노화 소재, 미백소재, 간보호 개선소재로서 각광을 받을 것으로 기대되며, 이들 소재를 활용한 다양한 가공식품 (고추대용 김치 및 고추장 제조, 항산화용 기능성 면류 및 제과제조, 적색 술 제조등 다수)과 기능성 식품, 그리고 화장품 및 의약품 제조에까지 활용범위가 대폭 확대될 것으로 전망된다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구개발 성과 및 활용계획

가. 실용화 실적

	생산제품	실적	성과활용계획
1	자색고구마 진액	1건	기술지도(생산 판매중)
2	자색고구마 액상차	1건	기술지도(생산 판매중)
3	자색고구마 환	1건	기술지도(생산 판매중)
4	자색고구마 막걸리	1건	기술지도(생산 판매중)
5	자색고구마 알갱이 음료	1건	기술지도(생산예정)
6	자색고구마 분말(잡곡면류)	1건	기술지도(생산 판매중)
7	자색고구마 절편(잡곡밥용)	1건	기술지도(생산 판매중)
8	자색고구마 식초	1건	기술지도(생산예정)

나. 지식재산권 성과

	특허명	특허출원번호	실적	성과활용계획
1	자색고구마를 이용한 막걸리 제조방법	2009-0114371	1건	상품생산지도
2	자색고구마 알갱이 음료 제조방법	2009-0114372	1건	상품생산지도
3	자색고구마를 이용한 식초 제조방법	12월 출원예정	1건	상품생산지도

다. 논문게재 성과

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	구분	SCI 구분	
		주저자	교신저자	공동저자					
1	2010.11.	Anti-fibrotic effects of the anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato on hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine in rats	최재호	정혜광	최철웅, 정영철	Food and chemical toxicology	48 (11), 3137 - 3143	국외	SCI
2	2011. 01	Anthocyanins from purple sweet potato attenuate dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats by inducing Nrf2-mediated antioxidant enzymes and reducing COX-2 and iNOS expression	황용필	정혜광	최재호, 윤효정, 한은희, 김형균, 김진영, 박봉환, 티락카날, 최준민, 정영철	Food and chemical toxicology	49(1):93-99	국외	SCI
3	2011.01	Anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuates the proliferation of hepatic stellate cells by blocking the PDGF receptor.	최재호	정혜광	최재호, 황용필, 박봉환, 최철웅, 정영철, 정혜광	Environmental Toxicology and Pharmacology	31(1):212-219.	국외	SCI
4	2010.07	Metformin inhibits PMA-induced matrix metalloproteinase-9 activation through a calcium and PKCa/ERK/AP-1-dependent pathway.	황용필	정혜광	황용필, 정혜광	British Journal of Pharmacology	160(5):1195-1211.	국외	SCI
5	2011.09	Protective mechanisms of anthocyanins from purple sweet potato against <i>tert</i> -butyl hydroperoxide-induced hepatotoxicity.	황용필	정혜광	황용필, 최재호, 최준민, 정영철, 정혜광	Environmental Toxicology and Pharmacology	49(9):2081-9.	국외	SCI

라. 국내·외 학술회의 논문게제 성과

발표일	제 목	저 자			학술회의명	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자		
1 2010.3.7-11	Protective effects of the anthocyanin from Purple-Fleshed sweet potato on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Ji Hye Yang, YongPilHwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung	The 49th Annual Meeting of Society of Toxicology	국외 (미국)
2 2010.6.19-23	Inhibitory effects of the anthocyanin from Purple-Fleshed sweet potato on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats.	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Yong Pil Hwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung	XII International Congress of Toxicology	국외 (스페인)
3 2010.9.4-8	Anthocyanins from purple sweet potato regulates nuclear Nrf2 and NF- κ B during prevention of oxidative liver injury in a dimethylnitrosamine model.	Yong Pil Hwang	Hye Gwang Jeong	Jae Ho Choi, Young Chul Chung	ISSX 9th International Meeting. Istanbul	국외 (터키)
4 2010.11.11-12	Prevention of hepatic fibrosis and hepatic stellate cells proliferation by anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Yong Pil Hwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung	한국독성학회 -추계	국내 (부산대)
5 2011.02.17-22	Protective mechanisms of anthocyanin-rich purple sweet potato extract against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage	Yong Pil Hwang	Hye Gwang Jeong	Choi Jae Ho, Young Chul Chung	The 21st Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL)	국외 (태국, 방콕)
6 2011.02.17-22	Anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuates hepatic fibrosis and hepatic stellate cells proliferation	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Yong Pil Hwang, Young Chul Chung	The 21st Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL)	국외 (태국, 방콕)

발표일	제 목	저 자			학술회의명	국내외 구분
		주저자	교신 저자	공동저자		
7 2011.04.21 -22	Protective Mechanisms of Anthocyanin-Rich Purple Sweet Potato Extract against <i>tert</i> -Butyl Hydroperoxide-Induced Hepatotoxicity	Yong Pil Hwang	Hye Gwang Jeong	CHOI Jae Ho, KIM Hyung Gyun, PARK, Bong Hwan, CHUNG Young Chul	대한약학회	국내
8 2011.03.06 -11	Anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato prevents hepatic fibrosis by DMN and hepatic stellate cells proliferation by PDGF-BB	Choi Jae Ho	Hye Gwang Jeong	Yong Pil Hwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung	The 50h Annual Meeting of Society of Toxicology	국외 (미국)
9 2011.03.06 -11	Anthocyanins from purple sweet potato protects against <i>tert</i> -butyl hydroperoxide-induced oxidative stress by increasing expression of heme oxygenase-1 in a PI3K and ERK/Nrf2-dependent manner	Yong Pil Hwang	Hye Gwang Jeong	Hye Gwang Jeong	The 50h Annual Meeting of Society of Toxicology	국외 (미국)
10 2011.10.31 -11.02	Isolation of characteristics of acetobacter for purple-fleshed sweet potato fermentation	Jun Min Choi	Young Chul Chung	Sun Woo Jin	Functional Fusion and Systemic Approaches to Future Foods	국내 (BEXCO)

마. 인력양성 실적

(1) 인력지원 성과

지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
9	3	4	2	-	4	5	-	-	9

(2) 장·단기 연수지원 성과

장기 (2월 이상)		단기 (2월 미만)	
국내	국외	국내	국외
농림수산물식품부 주관 농수산물무역대학 (서울시 양재동 농수산물유통공사) ○ 연수기간 : 2009.7 ~ 2009. 12(6개월) ○ 내용 : 무역실무, 수출정책, 수출사례 ○ 참석자 : 영농조합법인 교운, 하인수		-	-

(3) 산업기술인력 양성 성과

프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
Bio-Biz academy	생물융합분야 전문인력 양성	바이오21센터	주1회, 8시간	64시간 (이론 : 56시간 실습 : 8시간)	2
HACCP 팀장 기본과정	생산-제조-유통 전 과정의 위해요소중점 관리기준	경상대 HACCP 교육원 (식약청 지정 2호)	월 2회, 8시간	96시간	2
생물소재 분석 전문가과정	생물소재의 기기분석 방법	바이오21센터	주1회, 8시간	83시간 (이론 : 40시간 실습 : 43시간)	3

바. 언론보도 및 홍보실적

홍보실적(신문, 방송, 저널 등)					
번호	홍보유형	매체명	제목	일시	
1	TV	YTN	2009 내고향 신도블이	2009.05	
2	RADIO	KBS	시사매거진-진주투데이	2009.10	
3	신문	NEWSIS	한국국제대, 자색고구마 막걸리 공동개발	2009.10	
4	신문	데일리안	자색고구마 막걸리는 어떤맛일까	2009.10	
5	신문	서경방송	한국국제대-영농법인고운 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
6	신문	YN뉴스	붉은색 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
7	신문	연합뉴스	한국국제대, 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
8	신문	JJI 뉴스	한국국제대, 자색고구마 막걸리 개발해	2009.10	
9	신문	경남도민일보	간기능개선, 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
10	신문	경남매일	자색고구마 막걸리로 건강도 챙겨요	2009.10	
11	신문	경남신문	자색고구마 막걸리 나온다	2009.10	
12	신문	경남연합일보	몸에좋은 자색고구마 막걸리 나왔네	2009.10	
13	신문	경남일보	고구마 막걸리로 건강 챙겨요	2009.10	
14	신문	일간뉴스경남	한국국제대 자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
15	신문	한남일보	자색고구마 막걸리 개발	2009.10	
16	신문	경남도민일보	개성살리 고구마, 연잎, 산삼막걸리	2010.10	
17	시사주간지	Weekly people	함양을 대표하는 농산물로 만든 몸에 좋고 맛도좋은 건강주 이야기	2010.08	
18	신문	함양신문	영농조합법인 고운	2010.10	
19	TV	옥담미디어	몽뜨, IPTV, Qook, My LG TV 자색고구마 제품	2010.12	
전시회 등 참여(전시회, 박람회, 제품설명회 등)					
번호	유형	행사명칭	전시품목	장소	활용년도
1	전시회	토요문화제	자색고구마 가공제품	서울 국립극장	2009
2	박람회	참진주, 참음식 페스티벌	자색고구마 가공제품	진주시	2009
3	축제	산삼축제	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	함양군	2010
4	축제	물레방아축제	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	함양군	2010
5	박람회	Feel 경남	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	창원시	2010
6	축제	산삼축제	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	함양군	2011
7	축제	물레방아축제	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	함양군	2011
8	박람회	Feel 경남	자색고구마 가공제품 및 기능성 막걸리	창원시	2011

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 식품산업의 발전단계를 사회·문화적 측면에서 고려해 보면 1990년 이전에는 식품의 1차 기능인 영양과 제 2차 기능인 감각(기호)기능을 근거로 식품이 제조·가공·판매되어 왔으나, 1995년부터는 고령화시대 진입, 과학기술의 발전과 식생활습관의 급격한 변화에 따라 각종 퇴행성 난치성 질환의 급증으로 영양분손실을 현저히 줄인 최소 가공품, 특히 각종 질환에 생리적 활성을 발휘하는 식품의 3차 기능인 기능성물질을 재조합하여 제조되는 건강기능식품이 2010년까지 식품산업을 주도할 것으로 예견되며, 2010년 이후부터는 인간 genome의 유전적 해석 및 규명에 따라 개인별 유전적 특성에 맞는 맞춤형 식품(nutrigenomics)이 출현하여 의약품과 기능성식품의 한계가 불명확한 시대가 도래 할 것으로 예측하고 있다.

제 7 장 참고문헌

1. Mazza G, Miniati E. 1993. Anthocyanin in Fruits, Vegetables and Grains. *CRC Press Boca Raton Florida* 1-23
2. Francis FJ. 1989. Anthocyanins. *Crit Rev Food Sci and Nutr* 28: 273-314
3. Fuleki T, Francis FJ. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *J Food Sci* 33: 72-77
4. Skrede G, Wrolstad RE, Lea P, Enersen G. 1992. Color stability of strawberry and blackcurrent syrups. *J Food Sci* 57: 172-177
5. Skrede G. 1985. Color quality of blackcurrent syrups during storage evaluated by Hunter L', a', b' values. *J Food Sci* 57: 514-517
6. Cemeroglu B, Velioglu S, Isik S. 1994. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *J Food Sci* 58: 1216-1218
7. Giusti MM, Wrolstad RE. 1996. Characterization of red radish anthocyanins. *J Food Sci* 61: 322-326
8. Giusti MM, Wrolstad RE. 1996. Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for maraschino cherries. *J Food Sci* 61: 688-694
9. Shi Z, Nassa IA, Gabriel SL, Francis FJ. 1992. Anthocyanin pigments of sweet potatoes-*Ipomoea batatas*. *J Food Sci* 57: 755-757
10. Odake K, Terahara N, Sato N, Honda T. 1992. Chemical structures of two anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas*. *Phytochem* 31: 2127-2130

11. Rodriguez-Saona LE, Giusti MM, Wrolstad RE. 1998. Anthocyanin pigment composition of red-fleshed potatoes. *J Food Sci* 66: 458-465
12. Rhim JW, Kim SJ. 1999. Characteristics and stability of anthocyanin pigment extracted from purple fleshed potato. *Korean J Food Sci Technol* 31: 348-358
13. Kim SJ, Rhim JW, Lee LS, Lee JS. 1996. Extraction and characteristics of purple sweet potato pigment. *Korean J Food Sci Technol* 28: 345-351
14. Tsukui A, Kuwano K, Mitamura. 1983. Anthocyanin pigment isolated from purple root of sweet potato. *Kaisegaku Zasshi* 34, 153
15. Lee LS, Rhim JW, Kim SJ, Chung BC. 1996. Study on the stability of anthocyanin pigment extracted from purple sweet potato. *Korean J Food Sci Technol* 28: 352-359
16. Lee HH, Lee JW, Rhim JW. 2000. Characteristics of anthocyanins from various fruits and vegetables. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7: 285-290
17. Lee LS, Chang EJ, Rhim JW, Ko BS, Choi SW. 1997. Isolation and identification of anthocyanins from purple sweet potatoes. *Korean J Food Sci Nutr* 2: 83-88
18. Lee LS, Kim SJ, Rhim JW. 2000. Analysis of anthocyanin pigments from purple-fleshed sweet potato(Jami). *J Korean Soc Food Sci Nutri* 29: 555-560
19. Hong JS, Lee KS, Chei DS. 1989. Fermentation science and engineering. Hagemunsa. 98-99
20. Son SM. 1992. Study on the alcohol fermentation and subsequent vinegar production by immobilized cells from saccharified potato starch. M. S. Thesis, Konkuk University, Seoul
21. Oh YJ. 1996. A study on cultural conditions for acetic acid production employing pear juice. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 21: 377-380
22. Kim CJ, Park YJ, Lee SK, Oh MJ. 1981. On the organic acids composition of apple wine vinegar. *Kor. J. Appl. Microbiol Bioeng.* 9: 139-143

23. Entani E, Ohmori S, Masai H, Suzuki KI. 1985. *Acetobacter polyoxogenes* sp. nov. a new species of an acetic bacterium useful for producing vinegar with high acidity. *J Gen Appl Microbiol* 31: 475-490
24. Cha YJ, Park KJ, Kim DK, Chun HS, Lee BK, Kim KH, Lee SY, Kim SJ. 1994. Isolation and characterizaion of cellulose producing *Acetobacter xylinum* KI strain. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 22: 571-576
25. Sokolles SJ, Hertel C, Hammes WP. 1998. Cultivation and preservation of vinegar bacteria. *J Baiotechnol* 60: 195-206
26. Persoon, CH. 1822. *Mycologia Europaea*. 1: 96(1822)
27. Lee GD, Kim SK, Lee JM. 2003. Optimization of the acetic acid fermentation condition for preparation of strawberry vinegar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 812-817
28. Park HP, Kim SJ, Ryu JC, Pyo BS, Kim SW. 1993. Some properties of *Acetobacter* sp. isolated from traditional fermented vinegar. *Kor. J. Biotech. Bioeng.* 8: 397-401(1993)
29. Yang HC, Choi DS. 1979. Physiological characteristics of acetic acid bacteria isolated from clover flower vinegar. *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* 22: 150-159
30. Lee YC, Park MS, Kim HC, Park KB, Yoo YJ, Ahn IK, Son SH. 1993. Production of high acetic acid vinegar by single stage fed-batch culture. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 21: 511-512(1993)
31. Kim HJ, Park SH, Park CH. 1985. Studies on the production of vinegar from barley. *Korean J. Food Sci. Technol.* 17: 350-354
32. Jang JR, Hwang SY, and Lim SY. 2010. Effects of extracts from dried Yam on antioxidant and growth of human cancer cell lines. *Journal of Life Science* 1365-1372
33. Kim HJ, HwangBo MH, Lee JW, Im HG, Lee IS. 2007. Antioxidant effects of ginseng powder on liver of benzo(a)pyrene-treated mice. *Korean J Food Sci Technol* 39: 217-221

34. Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN. 1987. Are inducers of free radical damage related to exercise intensity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 6: 313-316
35. Williams GM, Jeffrey AM. 2000. Oxidative DNA damage: endogenous and chemically induced. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 32, 283-292
36. Rush GF, Groski JR, Ripple MG, Sowinski J, Bugelski F, Hewitt WR. 1985. Organic hydroperoxide-induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 78, 473-483
37. Minotti G, Borrello S, Palombini G, Galeotti T. 1986. Cytochrome P-450 deficiency and resistance to t-butyl hydroperoxide of hepatoma microsomal lipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta* 876, 220-225
38. Masaki N, Kyle ME, Serroni A, Farber JL. 1989. Mitochondrial damage as a mechanism of cell injury in the killing of cultured hepatocytes by tert-butyl hydroperoxide. *Arch Biochem Biophys.* 270, 672-680
39. Martin C, Martinez R, Navarro R, Ruiz-sanz JI, Lacort M, Ruiz-Larrea MB. 2001. Tert-Butyl hydroperoxide-induced lipid signaling in hepatocytes: involvement of glutathione and free radicals. *Biochem. Pharmacol.* 62, 705-712
40. George J, Rao KR, Stern R, Chandrakasan G. 2001. Dimethyl- nitrosamin induced liver injury in rats: the early deposition of collagen. *Toxicology* 156, 129-138
41. Yamazaki H, Inui Y, Yun CH, Guengerich FP, Shimada T. 1992. Cytochrome P450 2E1 and 2A6 enzymes as major catalysts for metabolic activation of N-nitrosodialkylamines and tobacco-related nitrosamines in human liver microsomes. *Carcinogenesis* 13, 1789-1794
42. Teufelhofer O, Parzefall W, Kainzbauer E, Ferk F, Freiler C, Knasmuller, S, Elbling L, Thurman R, Schulte-Hermann R. 2005. Superoxide generation from Kupffer cells contributes to hepatocarcinogenesis: studies on NADPH oxidase knockout mice. *Carcinogenesis* 26, 319-329

43. Chen B, Choi, GH, Nuss DL. 1993. Mitotic stability and nuclear inheritance of integrated viral cDNA in engineered hypovirulent strains of the chestnut blight fungus. *EMBO J.* 12, 2991-2998
44. Banerjee B.D, Seth V, Bhattacharya A, Pasha ST, Chakraborty AK. 1999. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol. Lett.* 107, 33-47
45. Lee LS, Kim S.J, Rhim JW. 2000. Analysis of anthocyanin pigments from purple fleshed sweet potato (Jami). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29, 555-560
46. Lee LS, Chang EJ, Rhim JW, Ko BS, Choi SW. 1997. Isolation and identification of anthocyanins from purple sweet potatoes. *J. Food Sci. Nutr.* 2, 83-88
47. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 26: 1199-1200
48. Lee KJ, Choi CY, Chung YC, Kim YS, Ryu SY, Roh SH, Jeong HG. 2004. Protective effect of saponins derived from roots of *Platycodon grandiflorum* on tert-butyl hydroperoxide- induced oxidative hepatotoxicity. *Toxicol. Lett.* 147, 271-282
49. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249, 7130-7139
50. Satho K. 1978. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new metric method. *Clinica Chemica Acta* 90: 37-43
51. Datta SR, Dudek H, Tao X, Masters S, Fu H, Gotoh Y, Greenberg ME. 1997. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell* 91, 231-241
52. Reitman S, Frankel S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63

53. NTS Liquors licence Aid center. 2009. Requisition analysis of alcoholic liquors. 9th Method 365-369. NTS Liquors Licence Aid Center, Mapo, Seoul, Korea
54. Kim ML, Choi KH. 2005. Sensory characteristics of citrus vinegar fermented by *Gluconacetobacter hansenii* CV1. *Kor. J. Food Cookery SCI.* 21: 243-249
55. Kwon LB, Chun HS, Kim SJ. 1993. Isolation and characterization of *Acetobacter* sp. CS strain from Haenam vinegar. *Kor. J. Microbiol.* 31: 99-104
56. Jeong YJ, Seo KI, Kim KS. 1996. Physicochemical properties of marketing and intensive persimmon vinegars. *J East Asian Soc Dietary Life* 6: 355-363
57. Lee DS, Ryu IH, Lee KS, Shin YS, Chun SH. 1999. Optimization in the preparation of Aloe vinegar by *acetobacter* sp. and inhibitory effect against lipase activity. *J Kor Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 105-110
58. Seo JH, Jeong YJ, Kim JN, Woo CJ, Yoon SR, Kim TH. 2001. Quality comparison of potato vinegars produced by various *Acetobacter* bacteria. *Kor J Postharvest Sci Technol* 8: 60-65
59. Noh WS. 1978. Studies on the acetic acid fermentation. *Kor J Appl Microbiol Bioeng* 6: 115-120(1978)
60. Steel RGB Torrie JH. 1990. Principles and procedures of statistics McGraw Hill, New York, USA
61. Luo JC, Hwang SJ, Lai CR, Lu CL, Li CP, Tsay SH, Wu JC, Chang FY, Lee SD. 1998. Relationships between serum aminotransferase levels, liver histologies and virological status in patients with chronic hepatitis C in Taiwan. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 13, 685-690
62. Vendemiale G, Grattagliano I, Caruso ML, Serviddio G, Valentini AM, Pirrelli M, Altomare E. 2001. Increased oxidative stress in dimethylnitrosamineinduced liver fibrosis in the rat: effect of N-acetylcysteine and interferon- α . *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 175, 130-139

63. Surh YJ, Chun KS, Cha HH, Han SS, Keum YS, Park KK, Lee SS. 2001. Molecular mechanism underlying chemopreventive activities of antiinflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-kappa B activation. *Mutat. Res.* 480 - 481, 243-268
64. Surh YJ. 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat. Rev. Cancer* 3, 768 - 780
65. Kim CA, Lee WG, Lee IS, Wang MH. 2008. Changes of physicochemical, sensory, and antioxidant activity characteristics in rice wine, yakju added with different ratio of *Codonopsis lanceolata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 40: 201-206
66. Jang JH. 1989. History of Korean traditional rice wine. *Korean J Dietary Culture* 4: 271-274
67. Joung EJ, Paek NS, Kim YM. 2004. Studies on Korean takju using the by-product of rice milling. *Korean J Food Sci Technol* 17: 199-205
68. Song JC, Park HJ, Shin WC. 1997. Changes of takju qualities by addition of cyclodextrin during the brewing and aging. *Korean J Food Sci Technol* 29: 895-900
69. Jin TY, Chung HJ, Eun JB. 2000. The effect of fermentation temperature on the quality of jinyangju, a Korean traditional rice wine. *Korean J Food Sci Technol* 38: 414-418
70. Yae MJ, Lee GH, Nam KH, Jang SY, Woo SM, Jeong YJ. 2007. Establishment of quality control standardization for pomegranate vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 36: 1425-1430
71. Lee SW, Kwon JH, Yoon SR, Woo SM, Jang SY, Yeo SH, Choi JH, Jeong YJ. 2010. Quality Characteristics of Brown Rice Vinegar by Different Yeasts and Fermentation Condition. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 39: 1366-1372
72. Lee SH, Kim JC. 2009. A Comparative Analysis for Main Components Change during Natural Fermentation of Persimmon Vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 372-376

부 록

1. 기술교육 및 지도에 따른 상품화 현황
2. 정책자료 제출
3. 언론홍보자료
4. 기타(각종 축제 전시 및 홍보)
5. 특허출원, 논문게재 및 학술회의 발표

1. 기술교육 및 지도에 따른 상품화 현황



[자색고구마 기능성 칼라 막걸리]



[자색고구마 액상제품(액상차)]



[자색고구마 액상제품(진액)]



[자색고구마 기능성 환]



[자색고구마 기능성 식초]



[자색고구마 잡곡밥용 절편]



[자색고구마 잡곡면류 분말]

2. 정책자료 제출

-농림수산식품부-

자미고구마의 유용생리활성을 활용한 가공식품 개발 및 산업화

- 한국국제대학교 식품과학부 정영철 교수 연구팀 -

최근 WTO체제의 출범, FTA 발효 등 세계 농산물 시장이 무한경쟁시대에 돌입함에 따라 토종 농산물의 경쟁력 확보 및 대처 방안이 사회의 큰 이슈로 지적되고 있다. 이러한 시대의 흐름으로 각 지자체에서는 지역 특산물의 고부가가치화 방안으로 다양한 가공식품 개발에 연구역량을 집중 투자하고 있는 실정이다. 자미고구마의 경우 농산물의 고부가가치화를 높이기 위해 전략적으로 육종한 우량품종으로, 항산화 활성 등 다양한 기능성이 보고된 안토시아닌 색소가 다량 함유되어 있어 식품첨가물 및 기능성식품 소재로 그 활용가치가 매우 높은 것으로 알려져 있다. 자미고구마는 전남 무안과 해남, 전북 익산, 경남 함양에서 주로 생산되고 있고, 특히 함양군에서 생산된 자미고구마의 경우 유용 생리활성물질인 안토시아닌 색소를 다량 함유하고 있음에도 불구하고 생체판매의 부진으로 자미고구마 수익성 제고를 위한 기능성 제품 및 가공식품의 개발이 절실하였다.



[자미고구마 가공식품]

자미고구마는 안토시아닌 색소를 생체 중량대비 약 3.8 % 함유하고 있어 표피층뿐만 아니라 육질 전체가 진한 자색을 띠고 있으며 이 기능성색소 함량이 cranberry 보다는 10 ~ 60배, 포도보다는 5 ~ 7배 높아 천연 기능성 색소원 뿐만 아니라 기능성 식품 소재로서 가치가 우수함이 밝혀지고 있다. 본 연구팀은 이러한 자미고구마의 천연 안토시아닌 색소의 대량생산공정을 확립하고, 색소의 항산화, 항노화, 간장장애 개선활성 등을 규명한 결과를 기초로 다양한 가공식품을 개발하여 산업화를 완성시켰다. (특허 3건 등록, SCI논문 1편 게재, 3편 발표)



[자미고구마 가공공장 및 시설]

본 연구를 통해 참여업체인 지산식품은 자미고구마 가공공장을 신축하고 추출·농축시설 및 열풍 건조 설비를 완비하여, 현재 9종의 제품이 상품화가 완료되어 시판되고 있으며 천연 안토시아닌 색소를 활용한 기능성 화장품 및 기능성식품 10여종이 개발·완료 되었고 상품화를 추진 중에 있다. 또한 자미고구마 천연 안토시아닌 색소의 강력한 항산화 활성의 결과를 토대로 안토시아닌 색소 건강기능식품의 산업화 과제를 추진하고 있다.

[기술요약정보]

(1) 기술명

국문	자색고구마 유래 안토시아닌 색소의 산업적 활용을 위한 기능성 소재화 및 제품화 원천기술
영문	Technology on the commercialization of functional material and general· functional food of anthocyanin pigment from <i>purple sweet potato</i> for its industrial application

(2) 기술분류

기술분류	농림·수산 / 식품가공기술 / 기능성식품·신소재
------	----------------------------

(3) 기술 개요 및 특징

기술의 정의	본 기술은 최근 천연지향적·건강지향적인것을 추구하는 소비 형태에 발맞추어 무독성이며 인체에 무해한 천연물로부터 유용 생리활성 성분을 분리하여 제공함으로써 식품산업, 의약산업, 화장품 산업 등 다양한 분야에서 광범위한 활용이 가능한 기술
기술의 내용 및 특장점	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기술의 핵심내용 자색고구마의 유용 생리활성 성분인 안토시아닌 색소는 항산화 소재로 검토된 다양한 기능성 소재보다 저가로 분리가 가능하여 색소의 대량생산이 이루어짐으로서 최근 유해성이 지적되고 있는 합성 항산화제를 대체할 수 있는 천연 항산화제로서 다양한 산업에서 활용 가능성이 매우 높음 ○ 완성도 본 기술은 2005년 농림기술개발과제(2005~2008년)의 성공적 수행으로 참여기업에서 설비를 완비하여 다양한 제품이 상품화 되고 있음 ○ 해당기술의 연구개발 동향 자색고구마 안토시아닌 색소에 대한 연구는 일본에서 일부 수행되어 안토시아닌 색소의 분리·정제 및 구조분석 등이 주류를 이루고 있으며 국내 다수의 기업체 및 연구소에서도 안토시아닌 색소의 산업화 연구를 수행하고 있으나 기능성 소재 및 상품화 원천기술 개발을 위한 과학적이고 체계적인 연구는 극히 드문 실정임 ○ 기술의 특장점 생체로만 판매되었던 자색고구마의 기능성 소재화 및 제품화 원천기술개발로 농산물의 고부가가치화 실현, 지역경제 활성화 및 가공업체의 국내·외 시장진입을 위한 기술경쟁력 확보가 가능함

[4] 적용분야

적용분야	본 기술은 기능성·맛츄식 식품 시대에 매우 부합되는 천연 항산화식품소재, 항노화 소재, 미백소재, 간보호 개선소재의 원료 소재를 생산하는 기술로 범용·기능성식품 산업, 화장품 및 의약품 산업의 기초기술로서 적용 가능
적용제품의 예	<ul style="list-style-type: none"> ○ 항산화 소재 및 원료 : 안토시아닌 색소 분말, 추출액, 농축액 ○ 범용 및 기능성식품 : 추출·농축액, 차, 음료, 잼, 떡, 야쿠르트, 우유, 환, 파우치, 캡슐 등 ○ 기능성 화장품 : 비누, 샴푸, 바디워시, 폼클렌징, 마스크팩, 필링 ○ 의약품 소재 : 항노화 관련 의약품, 간기능 개선 의약품

[5] 색인어

국문	자색고구마, 안토시아닌, 항산화, 기능성 소재, 기능성식품
영문	purple sweet potato, anthocyanin, antioxidant, functional material, functional food

[6] 기술완성도

<p>해당 기술의 현재 개발 상태를 기술완성도 측면에서 작성함.</p> <p>1) 아이디어 창안 ()</p> <p>2) 특허만 신청·등록 ()</p> <p>3) 기술개발진행중 ()</p> <p>4) 기술개발완료 ()</p> <p>5) 시제품단계 ()</p> <p>6) 실용화단계 ()</p> <p>7) 시장개척단계 (○)</p>

[7] 지식재산권을 포함한 권리확보 현황

지식재산권 유형*	명 칭	국가명	등록일	등록번호	비고
특허	천연 안토시아닌 색소를 첨가한 새송이 버섯 스낵의 제조방법	대한민국	2007.5.23	0723619	등록
특허	자색고구마로부터 분리된 자색 색소를 함유하는 통풍예방 및 치료용 조성물	대한민국	2007.9.11	0759468	등록
특허	자미고구마를 주요성분으로 함유하는 음료 조성물의 제조방법	대한민국	2007.9.13	0760263	등록
특허	자색고구마 색소 추출물을 포함하는 간질환의 예방 및 치료용 조성물	대한민국	2007.12.28	0792029	등록

[8] 관련 연구과제 1

과제명	자미고구마의 유용생리활성을 활용한 가공 식품의 개발 및 산업화		부처과제고유 번호	10501603
주관부처명	농림기술관리센터		국가과제고유 번호	10501603
주관기관명	한국국제대학교			
과제수행기간	2005년 4월 ~ 2008년 4월(연구종료)			
연구비총액	330,000천원 (정부 : 240,000천원, 민간 : 90,000천원)			
공개여부	①국내일반공개 ②국외공개가능 ③연구개발자보호 ④부처간공개 ⑤국가차원의 기술보호(비공개)			
연구자정보	성명	정 영 철	직위(직급)	교수
	전화	055-751-83	이메일	fnjung@hanmail.net

[9] 관련 연구과제 2

과제명	자색고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건 강기능식품의 원료 및 제품의 산업화		부처과제고유 번호	10815903
주관부처명	농림기술관리센터		국가과제고유 번호	10815903
주관기관명	한국국제대학교			
과제수행기간	2008년 12월 ~ 2011년 12월(당해연도 차수 : 총 3년 중 1차년도)			
연구비총액	570,000천원 (정부 : 420,000천원, 민간 : 120,000천원)			
공개여부	①국내일반공개 ②국외공개가능 ③연구개발자보호 ④부처간공개 ⑤국가차원의 기술보호(비공개)			
연구자정보	성명	정 영 철	직위(직급)	교수
	전화	055-751-83	이메일	fnjung@hanmail.net

촬영협조문

안녕하세요. 농림수산식품부 산하 기관 한국농림수산정보센터입니다.
2010년 프로그램 개편으로 저희 센터에서는 '농어촌 체험 프로그램'을 기획, 제작 중입니다. 우리 농어촌의 생생한 현장을 화면에 담아 농어촌 체험마을을 소개하는 이 프로그램은 올 맞아 프로그램 개편으로 저희 센터에서는 농업 전문 다큐멘터리를 기획, 제작 중입니다. 2010년 농림수산식품부의 화두인 농업의 '매력'을 농업인을 비롯한 소비자들에게 알리고 성공 농업의 구체적인 사례와 그들의 이야기를 통해 농업의 희망찬 미래를 조명해 보고자 합니다. 주요 내용은 다음과 같습니다.

제목 : 농업다큐 '매력(魅力)'

기획의도 : 같은 면적에 재배할 때 부양가능 인구가 가장 많고 미래 식량위기에 대처할 수 있는 최후의 보루로 인식되고 있는 고구마! 하지만 평범한 고구마는 가라! 이제는 컬러 고구마 시대! 그리고 컬러푸드 바람을 타고 귀한 대접 받으며 특히 인기를 끌고 있는 고구마가 있다. 바로 자색고구마! 노화예방과 암 예방 물질로 알려진 안토시아닌이 풍부해 성인병 예방, 간 기능 개선, 노화 방지 등 다양한 효능을 갖고 있는 자색고구마! 이에 본 프로그램에서는 자색고구마를 활용한 다양한 가공식품 연구, 개발에 박차를 가한 한국국제대학교의 정영철 교수를 만나 자색고구마의 영양, 효능 등 자색고구마 관련 전문 정보를 제공하고자 한다.

기획 및 제작 : 농림수산정보센터 옥답미디어

방송 : 옥답미디어 홈페이지 및 IPTV, 쿵티브이, my LG tv 등 다수 케이블 TV, 프랑스 국영방송 TV5몽프 방송 예정

촬영일 : 2010.10월 4일(월) 오후 1시 한국국제대학교

농림수산정보센터 제작 내역

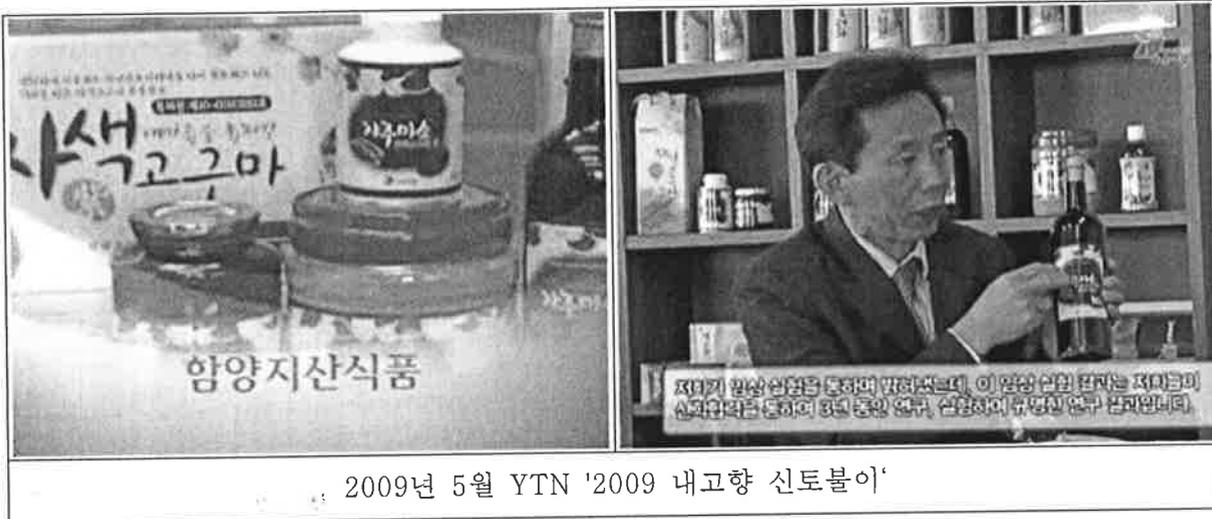
KTV 정책방송 [농식품 희망매거진] / QOOK TV [레인보우 농어촌]

농식품부 관련 다양한 홍보 영상 및 농협개혁 영상

<http://www.okdab.com/main.jsp> / <http://www.okdabceo.com/>

한국농림수산정보센터

3. 언론홍보자료



제 목 : 전화인터뷰 요청

수 신 : 한국국제대학교 식품과학부 조성진
(751-8316 / C _ _ _)
* 홍보실 방성철 실장 751-8065 / (

발 신 : 진주 KBS 라디오 프로그램 시사매거진-진주 투데이
담당 PD : 김해천 , 진행 : 김하희
담당 작가 : 신미연 :
(740-7363 / /
mail : kbs7407363@hanmail.net)

방송 일시 : 2009년 10월 15일 목요일 오후 3시 40분

2009년 10월 진주KBS 시사매거진 인터뷰

한국국제대, 자색고구마 막걸리 공동개발

기사등록 일시 : [2009-10-13 13:30:10]
 newsis.com All rights reserved



【진주=뉴스시스】박경조 기자 = 최근 전통술인 막걸리가 건강식품으로 각광받고 있는 가운데 지역의 대학과 영농조합법인이 공동으로 '자색 고구마 막걸리'를 개발, 벤처창업경진대회서 입상하면서 상품화를 추진하고 있어 관심을 모으고 있다.

한국국제대학교는 함양 영농조합법인 '고운'과 함께 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 공동 개발해 제2회 전국학생발명 및 벤처창업아이디어 경진대회 출품, 장려상을 받았으며 산업화 기반기술도 구축해 조만간 상품화될 것으로 보인다고 13일 밝혔다.

특히 자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화 장애요인으로 지적돼온 청징화(淸澄化)와 기능성 강화, 비가열제균 기술 등의 문제를 해결함으로써 전국학생발명 및 벤처창업대회에서 좋은 평가를 받은 것으로 알려졌다.

또 이 기술은 농림수산식품부가 지원하는 '자색 고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제'(총괄책임 식품과학부 정영철 교수) 수행으로 얻은 결과의 일부로 함양 영농조합법인 고운에서 상품화를 추진하고 있어 조만간 붉은 색 자색 고구마 막걸리가 출시될 것으로 기대된다.

이 막걸리의 주요 성분인 자색 고구마의 기능성 물질인 안토시아닌 색소는 간기능 개선효과가 높아 특히술원 중에 있으며 항산화 활성이 매우 뛰어나 음주로 인한 간기능 저하를 개선하고 암과 노화, 치매를 예방하는 효과가 입증돼 일본 등으로 수출도 추진하고 있다.

정영철 교수는 "건강기능성 효과가 전 세계적으로 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많이 함유돼 건강주로 각광받는 막걸리에 착안해 몸매 더 좋은 막걸리를 개발하게 됐다"며 "자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화에 기여할 수 있는, 한국을 대표하는 건강주로 각광받을 것으로 확신한다"고 말했다.

unijinju@newsis.com

자색 고구마 '막걸리'는 어떤 맛일까?

한국국제대, 함양 영농조합과 공동 개발

2009년 10월 13일 (화) 17:19:07

이주형 기자

최근 우리의 전통술 막걸리가 건강식품으로 각광 받고 있는 가운데 지역의 대학과 영농조합법인이 공동으로 '자색 고구마 막걸리'를 개발해 벤처창업경진대회서 입상도 하면서 상품화를 추진하고 있어 귀추가 주목되고 있다.

바이오산업의 건강기능식품분야에 강세를 보이고 있는 한국국제대학교(총장 고영진)와 함양 영농조합법인 고운은 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발해 제2회 전국학생발명 및 벤처창업아이디어 경진대회에서 한국국제대 식품과학부 조성진, 하인수 학생이 장려상을 받았으며, 산업화 기반기술도 구축해 조만간 상품화될 것으로 보인다.

특히 자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화 장애요인으로 지적돼온 청징화(淸澄化)와 기능성 강화, 비가열제균 기술 등의 문제를 해결해 전국학생발명 및 벤처창업대회에서 좋은 평가를 받은 것으로 알려졌다.

또 이 기술은 농림수산식품부가 지원하는 '자색 고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제(총괄책임 한국국제대 식품과학부 정영철 교수)' 수행으로 얻은 결과의 일부로 함양 영농조합법인 고운에서 상품화를 추진하고 있어 조만간 붉은 색 자색 고구마 막걸리가 출시될 것으로 기대된다.

이 막걸리의 주요 성분인 자색 고구마의 기능성 물질인 안토시아닌 색소는 간기능 개선효과가 높아 특허출원 중에 있으며, 항산화 활성이 매우 뛰어나 음주로 인한 간기능 저하를 개선하고, 암과 노화, 치매를 예방하는 효과가 입증돼 일본 등으로 수출도 추진하고 있다.

한국국제대 식품과학부 정영철 교수는 "건강기능성 효과가 전 세계적으로 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많이 함유돼 건강주로 각광받는 막걸리에 착안해 몸에 더 좋은 막걸리를 개발하게 됐다"면서 "자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화에 기여할 수 있는, 한국을 대표하는 건강주로 각광받을 것으로 확신한다"고 강조했다.

(한컷뉴스) 한국국제대-영농조합 고운, 자색고구마 막걸리 개발



한국국제대학교와 함양 영농조합법인 고운이 자색고구마 막걸리를 개발했습니다. 사진은 벤처창업경진대회에서 자색고구마 막걸리로 입상한 장면입니다.

구석찬 기자(gooone79@iscs.co.kr)

붉은색 자색고구마 막걸리 개발

한국국제대 · 함양 영농조합 고운 공동개발

2009년 10월 13일 (화) 15:02:16

지정원 기자 ✉ webmaster@ynnews.kr



“이제 붉은 색 자색 고구마 막걸리로 술 마시면서 건강도 챙기세요”

최근 들어 전통술인 막걸리가 건강식품으로 각광받으면서 세계적인 관심을 불러일으키고 있는 가운데 지역의 대학과 영농조합법인이 공동으로 ‘자색 고구마 막걸리’를 개발해 벤처창업경진대회서 입상도 하면서 상품화를 추진하고 있어 귀추가 주목되고 있다.

바이오산업의 건강기능식품분야에 강세를 보이고 있는 한국국제대학교(총장 고영진)와 함양 영농조합법인 고운은 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발해

제2회 전국학생발명 및 벤처창업아이디어 경진대회에서 한국국제대 식품과학부 조영철, 하인수 학생이 장려상을 받았으며 산업화 기반기술도 구축해 조만간 상품화될 것으로 보인다.

특히 자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화 장애요인으로 지적돼온 청징화(淸澄化)와 기능성 강화, 비가열제균 기술 등의 문제를 해결해 전국학생발명 및 벤처창업대회에서 좋은 평가를 받은 것으로 알려졌다.

또 이 기술은 농림수산식품부가 지원하는 ‘자색 고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제(총괄책임 한국국제대 식품과학부 정영철 교수) 수행으로 얻은 결과의 일부로 함양 영농조합법인 고운에서 상품화를 추진하고 있어 조만간 붉은 색 자색 고구마 막걸리가 출시될 것으로 기대된다.

이 막걸리의 주요 성분인 자색 고구마의 기능성 물질인 안토시아닌 색소는 간기능 개선효과가 높아 특허출원 중에 있으며 항산화 활성이 매우 뛰어나 음주로 인한 간기능 저하를 개선하고 암과 노화, 치매를 예방하는 효과가 입증돼 일본 등으로 수출도 추진하고 있다.

한국국제대 식품과학부 정영철 교수는 “건강기능성 효과가 전 세계적으로 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많이 함유돼 건강주로 각광받는 막걸리에 착안해 몸에 더 좋은 막걸리를 개발하게 됐다”면서 “자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화에 기여할 수 있는 한국을 대표하는 건강주로 각광받을 것으로 확신한다”고 강조했다.

한국국제대, 자색 고구마 막걸리 개발

(진주=연합뉴스) 지성호 기자 = 전통 술 막걸리가 건강식품으로 주목받는 가운데 지방 대학과 영농법인이 '자색(紫色) 고구마 막걸리'를 개발해 눈길을 끈다.

경남 진주 한국국제대학교(총장 고영진)는 13일 함양 영농조합법인 '고운'과 공동으로 자색 고구마를 활용한 기능성 막걸리 제조 기술을 개발했다고 밝혔다. 국제대가 활용한 고구마는 속과 겉이 모두 자색(자줏빛)이다.

이 기술은 최근 서울에서 열린 '제2회 전국 학생 발명 및 벤처창업 아이디어 경진대회'에서 장려상을 받았다.

자색 고구마 막걸리는 술을 맑고 깨끗하게 만들 수 있고 가열하지 않고도 균을 없앨 수 있는 등 막걸리의 세계화 장애 요인을 해결했다는 점이 높은 점수를 받았다.

자색 고구마의 주요 성분인 안토시아닌 색소는 간 기능 개선 효과가 높고 항산화 활성이 뛰어나 음주로 인한 간 기능 저하를 방지하는 것으로 알려졌다.

이 대학은 농림수산식품부의 '자색 고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제'를 수행하면서 제조기술을 개발했다. 대학과 영농조합법인은 산업화할 수 있는 기반기술도 구축해 조만간 상품으로 출시할 계획이다.

과제를 맡은 식품과학부 정영철 교수는 "건강 기능이 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균을 더 많이 함유해 건강 주(酒)로 주목받는 막걸리에 착안해 자색 고구마 막걸리 제조 기술을 개발하게 됐다"고 말했다.

shchi@yna.co.kr

(끝)

<저작권자(c)연합뉴스. 무단 전재-재배포 금지.>

[2009-10-13 15:53 송고]

한국국제대, 자색고구마 막걸리 개발해



▲ 자색고구마 막걸리 시제품

최근 전종술 막걸리가 건강식품으로 각광받으면서 세계적 관심을 불러 일으키는 가운데 지역대학과 영농조합법인이 공동개발한 '자색 고구마 막걸리'가 지난 9일(금) 벤처창업경진대회에서 입상하는 등 본격적인 상품화를 앞두고 있어 화제가 되고 있다.

한국국제대학교(총장 김영진)는 함양 영농조합법인 고운과 함께 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발했으며 제2회 전국학생발명 및 벤처창업아이디어 경진대회에서 식품과학부 조성진, 하인수 학생이 장려상을 받았다고 오늘(13일) 밝혔다.



▲ 제2회 전국학생 발명·벤처창업아이디어대회에서 장려상을 받은 한국국제대 식품과학부 하인수(좌), 조성진(우) 학생

특히 자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화 장애요인으로 지적되어 온 청정화(淸淨化)와 기능성 강화, 비가열제조 기술 등의 문제를 해결한 점이 좋은 평가를 받아 수상하게 됐다고 한다.

이 기술은 농림수산식품부가 지원하는 '자색 고구마 안토시아닌을 활용한 향산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제(총괄책임 한국국제대 식품과학부 정영철 교수)' 수행으로 얻은 결과의 일부로 함양 영농조합법인 고운에서 상품화를 추진해 붉은 색 자색 고구마 막걸리가 곧 출시될 예정이라고 한다.

또한 한국국제대학교는 자색 고구마의 기능성 물질인 안토시아닌 색소가 간 기능 개선효과가 높아 현재 특허출원 중에 있으며 일본 등에 수출도 할 계획이라고 밝혔다.

정영철 한국국제대 교수는 "건강기능성 효과가 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많은 막걸리에 착안해 개발하게 됐다"며 "자색 고구마 막걸리는 막걸리 세계화에 기여할 수 있는 한국 대표 건강주로 각광받을 것"이라고 강조했다.



▲ 막걸리 원료인 자색 고구마는 안토시아닌이 풍부해 항산화효과가 있다

-Copyrights@진주인터넷뉴스 www.jjinews.asia 무단전제 및 재배포 금지-
 <한국지역인터넷포럼회 뉴스 이용규칙에 따른 저작권을 행사합니다.>
 → 이 기사는 진주인터넷뉴스에서 100년간 언제든 지 볼수 있습니다.

권성숙기자(koolherb@naver.com)

간기능 개선 '자색 고구마 막걸리' 개발

한국국제대-함양 영농법인 공동 개발...일본 등 국외수출 추진

2009년 10월 14일 (수)

장명호 기자 ☞ jangcoog@idomin.com

"이제 자색 고구마 막걸리로 술 마시면서 건강도 챙기세요."

최근 전통술인 막걸리가 건강식품으로 각광을 받는 가운데 지역 대학과 영농조합법인이 공동으로 개발한 '자색 고구마 막걸리'가 조만간 상품화될 것으로 보여 관심이 쏠리고 있다.

13일 한국국제대학교에 따르면 함양 영농조합법인 '고운'과 한국국제대학교가 공동으로 개발한 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술이 제2회 전국학생발명 및 벤처창업아이디어 경진대회에서 장려상을 받았다.

이번 대회에서 자색 고구마 막걸리는 심사위원들로부터 막걸리의 세계화에 가장 큰 장애요인으로 지적된 청징화와 기능성 강화, 비가열제균 기술 등의 문제가 해결된 것으로 보인다는 등 좋은 평가를 받은 것으로 알려졌다.

- ▶ 사망시→3억 + 살아선→8천=가족애드림
- ▶ ★여성 부부관계 개선법? 여<性>성형★
- ▶ 유기농~ 3040 해독 다이어트!
- ▶ 삼성명품클론전자보험 계산/견적확인

LIG 손해보험
LIG의료실비 보험!
최저가가입!!





함양 영농조합법인 '고운'과 한국국제대학교가 공동으로 개발한 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 시제품. /한국국제대 제공

특히, 함양 영농조합법인 '고운'이 한국국제대학교가 농림수산식품부의 '자색 고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화'라는 과제를 수행하면서 개발한 자색 고구마 막걸리 제조기술을 바탕으로 상품화를 추진하고 있다.

이 막걸리의 주요 성분인 자색 고구마의 기능성 물질인 안토시아닌 색소는 간 기능 개선 효과가 높아 특허출원 중이며, 항산화 활성이 매우 뛰어나 음주로 인한 간 기능 저하를 개선하고, 암과 노화, 치매를 예방하는 효과가 입증돼 일본 등 국외수출도 추진하고 있다.

한국국제대학교는 상품성으로서 가치가 높은 것은 물론 산업화 기반도 구축돼 술을 마시면서도 건강을 챙길 수 있는 자색 고구마 막걸리가 조만간 시중에 출시될 것으로 전망하고 있다.

“자색 고구마 막걸리로 건강도 챙겨요”

한국국제대·함양 영농조합 고운 공동개발 ‘주목’

“이제 자색 고구마 막걸리로 술 마시면서 건강도 챙기세요”

최근 들어 전통술인 막걸리가 건강식품으로 각광받으면서 세계적인 관심을 불러일으키고 있는 가운데 지역의 대학과 영농조합법인이 공동으로 ‘자색 고구마 막걸리’를 개발해 벤처창업경진대회서 입상도 하면서 상품화를 추진하고 있어 귀추가 주목되고 있다.

바이오산업의 건강기능식품 분야에 강세를 보이고 있는 한국국제대학교(총장 고원진)와 함양 영농조합법인 고운은 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발해 제2회 전국학생발명 및 벤처창업 아이디어 경진대회에서 한국국제대 식품과학부 조성진, 하인수 학생이 장려상을 받았다.

특히 자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화 장애요인으로 지적돼 온 청정화(淸淨化)와 기능성 강화, 비가열제균 등에서 좋은 평가를 받은 것으로 알려졌다.

또 이 기술은 농림수산식품부가 지원하는 ‘자색 고구마 안토시아닌을 활용한 향신화 건강기



한국국제대의 함양 영농조합법인 고운이 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발, 상품화에 박차를 가하고 있다. 사진은 자색 고구마 막걸리 시제품.

능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제(총괄책임 한국국제대 식품과학부 장영철 교수) 수행으로 얻은 결과의 일부로, 산업화 기반기술도 구축해 조만간 붉은 색 자색 고구마 막걸리가 출시될 것으로 기대된다.

이 막걸리의 주요 성분인 자색 고구마의 기능성 물질인 안토시아닌 색소는 간기능 개선효과가 높아 특히출원 중에 있으며, 항산화 활성이 매우 뛰어나 음주로 인한 간기능 저하를 개선하고, 임파 노화, 치매를 예방

하는 효과가 입증돼 일본 등으로 수출도 추진하고 있다.

장영철 교수는 “건강기능성 효과가 정 세계적으로 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많이 함유돼 건강주로 각광받는 막걸리에 착안해 몸에 더 좋은 막걸리를 개발하게 됐다”면서 “자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화에 기여할 수 있는, 한국을 대표하는 건강주로 각광받을 것으로 확신한다”고 강조했다.

(최지훈 기자)

자색고구마 막걸리 나온다

한국국제대-함양 영농조합법인 고운 공동 개발

최근 막걸리가 건강식품으로 세계적인 관심을 끌고 있는 가운데 진주지역의 대학과 영농조합법인이 공동으로 '자색 고구마 막걸리'를 개발, 출시를 앞두고 주목받고 있다.

한국국제대와 함양 영농조합법인 고운은 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발해 제2회 전국학생발명 및 벤처창업아이디어 경진대회에서 장려상을 수상했다. 특히 자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화 장애 요인으로 지적되던 청징화(淸澄化)와 기능성 강화, 비가열제균 기술 등의 문제를 해결해 전국학생발명 및 벤처창업대회에서 좋은 평가를 받은 것으로 알려졌다.

이 기술은 농림수산식품부가 지원하는 '자색 고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제(총괄책임 한국국제대 식품과학부 정영철 교수)' 수행으로 얻은 결과의 일부로 함양 영농조합법인 고운에서 상품화를 추진하고 있어 조만간 자색 고구마 막걸리가 출시될 것으로 기대된다.

막걸리의 주요 성분인 자색 고구마의 기능성 물질 '안토시아닌 색소'는 간 기능 개선효과가 높아 특허출원 중에 있으며, 항산화 활성이 매우 뛰어나 음주로 인한 간 기능 저하를 개선하고, 암과 노화, 치매를 예방하는 효과가 입증돼 일본 등으로 수출도 추진하고 있다.

정영철 교수는 "건강기능성 효과가 전 세계적으로 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많이 함유돼 건강주로 각광받는 막걸리에 착안해 몸에 더 좋은 막걸리를 개발하게 됐다"고 말했다.

정경규기자

몸에 좋은 자색 고구마 막걸리 나왔네

한국국제대·함양 영농조합법인 고운 제조기술 개발
벤처창업경진대회서 장려상 입상...상품 출시 예정



“이제 붉은색 자색 고구마 막걸리로 술 마시면서 건강도 챙기세요.”

한국국제대학교(총장 고영진)는 13일 ‘자색 고구마 막걸리’를 개발해 벤처창업경진대회서 입상했다고 밝혔다.

최근 전통술인 막걸리가 건강식품으로 각광받으면서 세계적인 관심을 불러일으키고 있는 가운데 지역의 대학과 영농조합법인이 공동으로 ‘자색 고구마 막걸리’를 개발해 벤처창업경진대회서 장려상을 받고 상품화를 추진하고 있어 주목받고 있다.

특히 바이오산업의 건강기능식품분야에 강세를 보이고 있는 한국국제대학교와 함양 영농조합법인 고운은 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발해 제2회 전국학생발명 및 벤처창업아이디어 경진대회에서 한국국제대 식품과학부 조성진, 하인수 학생이 장려상을 받았으며, 산업화 기반기술도 구축해 놓은 것으로 알려져 조만간 상품화될 것으로 보인다.

이번에 개발한 자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화 장애요인으로 지적돼온 청징화(淸澄化)와 기능성 강화, 비가열제균 기술 등의 문제를 해결해 전국학생발명 및 벤처창업대회에서 좋은 평가를 받은 것으로 알려졌다.

또 이 기술은 농림수산식품부가 지원하는 ‘자색 고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제(총괄책임 한국국제대 식품과학부 정영철 교수)’ 수행으로 얻은 결과의 일부로 함양 영농조합법인 고운에서 상품화를 추진하고 있어서 ‘붉은색 자색 고구마 막걸리’가 출시될 것으로 기대된다.

이 막걸리의 주요 성분인 자색 고구마의 기능성 물질인 안토시아닌 색소는 간기능 개선효과가 높아 특허출원 중에 있으며, 항산화 활성이 매우 뛰어나 음주로 인한 간기능 저하를 개선하고, 암과 노화, 치매를 예방하는 효과가 입증됐다.

한국국제대 식품과학부 정영철 교수는 “건강기능성 효과가 전 세계적으로 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많이 함유돼 건강주로 각광받는 막걸리에 착안해 몸에 더 좋은 막걸리를 개발하게 됐다”면서 “자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화에 기여할 수 있는 한국을 대표하는 건강주로 각광받을 것으로 확신한다”고 말했다.

최관호기자ckh@gnynews.co.kr (2009-10-14)

“고구마 막걸리로 건강 챙겨요”

한국국제대·함양 영농조합 고운 공동개발

강민중 기자



“붉은 색 자색 고구마 막걸리로 술 마시면서 건강도 챙겨요.”

지역의 대학과 영농조합법인이 공동으로 ‘자색 고구마 막걸리’를 개발해 벤처창업경진대회서 입상도 하면서 상품화를 추진하고 있어 관심을 모으고 있다.

한국국제대와 함양 영농조합법인 고운은 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발해 제2회 전국학생발명 및 벤처창업아이디어 경진대회에서 한국국제대 식품과학부 조성진, 하인수 학생이 장려상을 받았으며, 산업화 기반기술도 구축해 조만간 상품화할 것이라고 13일 밝혔다.

자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화 장애요인으로 지적돼온 청징화(淸澄化)와 기능성 강화, 비가열제균 기술 등의 문제를 해결해 전국학생발명 및 벤처창업대회에서 좋은 평가를 받은 것으로 알려졌다.

이 기술은 농림수산식품부가 지원하는 ‘자색 고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제(총괄책임 한국국제대 식품과학부 정영철 교수) 수행으로 얻은 결과의 일부로 함양 영농조합법인 고운에서 상품화를 추진하고 있어 조만간 붉은 색 자색 고구마 막걸리가 출시될 것으로 기대된다.

이 막걸리의 주요 성분인 자색 고구마의 기능성 물질인 안토시아닌 색소는 간기능 개선효과가 높아 특허출원 중에 있으며, 항산화 활성이 매우 뛰어나 음주로 인한 간기능 저하를 개선하고, 암과 노화, 치매를 예방하는 효과가 입증돼 일본 등으로 수출도 추진하고 있다.

한국국제대 식품과학부 정영철 교수는 “건강기능성 효과가 전 세계적으로 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많이 함유돼 건강주로 각광받는 막걸리에 착안해 몸에 더 좋은 막걸리를 개발하게 됐다”면서 “자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화에 기여할 수 있는, 한국을 대표하는 건강주로 각광받을 것으로 확신한다”고 강조했다.

사진설명=자색 고구마 막걸리 시제품,

Write : 2009-10-14 09:00:00 | Update : 2009-10-14 09:00:00



한국국제대 자색고구마 막걸리 개발

트랙백

글쓴이 : 최고관리자

조회 11



<사진>자색 고구마 막걸리 시제품

한국국제대 자색고구마 막걸리 개발

한국국제대-함양 영농조합 고운 공동개발
전국학생 발명 벤처창업대회 장려상 수상

이제 막걸리 세계도 원료의 다양화와 컬러의 시대가 다가왔다.

최근 들어 전통술인 막걸리가 건강식품으로 각광받고 있는 가운데 지역 대학과 영농조합법인이 공동으로 '자색 고구마 막걸리'를 개발해 주목을 받고 있다. 특히 자색 고구마 막걸리가 벤처창업경진대회서도 입상도 하면서 상품화까지 추진되고 있어 귀추가 주목되고 있다.

한국국제대학교는 함양 영농조합법인 고운과 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발해 '제2회 전국학생 발명 및 벤처창업아이디어 경진대회'에서 장려상(한국국제대 식품과학부 조성진, 하인수 학생)을 차지했다고 13일 밝혔다.

자색 고구마 막걸리는 특히 막걸리의 세척화 장애요인으로 지적돼온 청징화(淸澄化)와 기능성 강화, 비가열제균 기술 등의 문제를 해결한 것으로 알려졌다.

이에 공동개발한 함양 영농조합법인 고운에서 상품화를 추진하고 있어 조만간 붉은 색 자색 고구마 막걸리가 출시할 계획이다.

한국국제대 식품과학부 정영철 교수는 "건강기능성 효과가 전 세계적으로 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많이 함유돼 건강주로 각광받는 막걸리에 착안해 몸에 더 좋은 막걸리를 개발하게 됐다"면서 "자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화에 기여할 수 있는, 한국을 대표하는 건강주로 각광받을 것으로 확신한다"고 강조했다./정희성 기자

자색 고구마 막걸리 개발

2009년 10월 14일 (수) 18:07:24

김동수 기자 ☞ kds@hannamilbo.com

“이제 붉은 색 자색 고구마 막걸리로 술 마시면서 건강도 챙기세요.”

최근 들어 전통술인 막걸리가 건강식품으로 각광받으면서 세계적인 관심을 불러일으키고 있는 가운데 지역의 대학과 영농조합법인이 공동으로 ‘자색 고구마 막걸리’를 개발해 벤처창업경진대회서 입상도 하면서 상품화를 추진하고 있어 귀추가 주목되고 있다.



바이오산업의 건강기능식품분야에 강세를 보이고 있는 한국국제대학교(총장 고영진)와 함양 영농조합법인 고운은 자색 고구마를 활용한 기능성 컬러 막걸리 제조기술을 개발해 제2회 전국학생발명 및 벤처창업아이디어 경진대회에서 한국국제대 식품과학부 조성진, 하인수 학생이 장려상을 받았으며, 산업화 기반기술도 구축해 조만간 상품화될 것으로 보인다.

특히 자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화 장애요인으로 지적돼온 청징화(淸澄化)와 기능성 강화, 비가열제균 기술 등의 문제를 해결해 전국학생발명 및 벤처창업대회에서 좋은 평가를 받은 것으로 알려졌다.

또 이 기술은 농림수산식품부가 지원하는 ‘자색 고구마 안토시아닌을 활용한 항산화 건강기능식품의 원료 및 제품의 산업화 과제(총괄책임 한국국제대 식품과학부 정영철 교수)’ 수행으로 얻은 결과의 일부로 함양 영농조합법인 고운에서 상품화를 추진하고 있어 조만간 붉은 색 자색 고구마 막걸리가 출시될 것으로 기대된다.

이 막걸리의 주요 성분인 자색 고구마의 기능성 물질인 안토시아닌 색소는 간기능 개선효과가 높아 특허출원 중에 있으며, 항산화 활성이 매우 뛰어나 음주로 인한 간기능 저하를 개선하고, 암과 노화, 치매를 예방하는 효과가 입증돼 일본 등으로 수출도 추진하고 있다.

한국국제대 식품과학부 정영철 교수는 “건강기능성 효과가 전 세계적으로 입증된 안토시아닌 색소와 요구르트보다 유산균이 더 많이 함유돼 건강주로 각광받는 막걸리에 착안해 몸에 더 좋은 막걸리를 개발하게 됐다.”며 “자색 고구마 막걸리는 막걸리의 세계화에 기여할 수 있는, 한국을 대표하는 건강주로 각광받을 것으로 확신한다.”고 말했다.

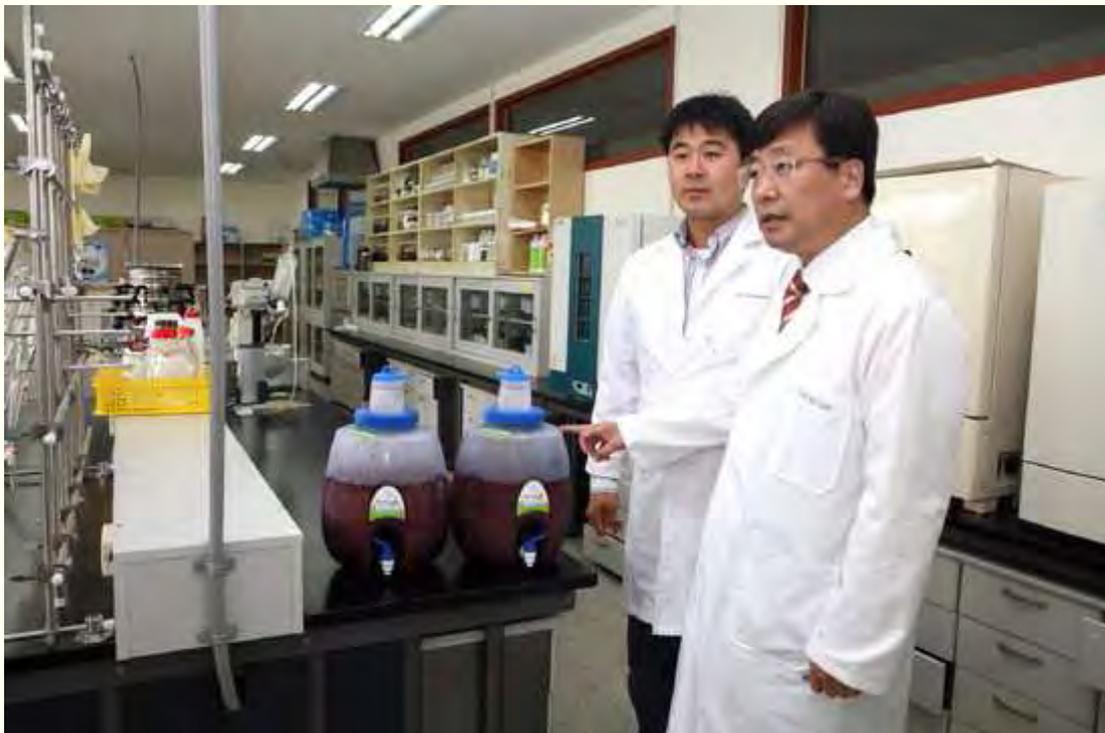
개성 살린 고구마·연잎·산삼 막걸리

마셔酒 경남 술 (4) 한국국제대·함양 영농조합 고운 공동개발 이색막걸리 3종

3대를 이어온 **경험**과 **과학적** 이론이 만나 3가지 색깔의 **막걸리**가 탄생했다. 여기에 **지역 특산물**까지 더하니 말 그대로 '이색' 3총사가 만들어졌다.

함양 **영농조합** 고운과 한국**국제대**가 공동 개발한 **자색고구마** 막걸리와 연잎 막걸리, 그리고 **산삼** 막걸리.

현재 한국**국제대** 식품과학과에서 박사과정을 밟고 있는 함양영농조합 고운의 하인수(30) 대표는 3대째 이어온 양조인이다.



한국국제대 실험실에서 정영철 교수(오른쪽)와 하인수 대표가 자색고구마 추출액을 설명하고 있다. /한국국제대
할아버지가 1970년대부터 함양양조장을 **운영**했으며, 1993년에는 아버지가 양조업을 이어받았다. 이후 2007년 지리산함양복분자 **영농조합법인**으로 **이름**을 변경한 것을 하 대표가 2008년 다시 영농조합법인 고운으로 변경하며 3대 양조인이 됐다.

"예전부터 경험으로 술을 만들었지만, 술이 상하거나 **문제**가 생겨도 그 **이유**를 몰랐습니다. 하지만, **대학**에서 **공부**하며 술이 상하거나 맛이 안 맞는 이유, **숙취** 원인 등을 배웠습니다. **재료**들의 효능과 이들을 섞어서 술을 만드는 방법도 배웠지요. 이색 막걸리는 그래서 탄생할 수 있었습니다."

3종의 이색 막걸리는 함양 지역에서 생산되는 **좋은** 재료로 즐기기 위한 술뿐 아니라 몸에 좋은 술을 만들자는 취지에서 개발됐다.

특이작물을 이용한 상품화를 제안하며 공동개발에 나선 한국국제대 정영철(52) 식품과학부 **교수**는 "농촌이 잘 살려면 그 지역 **농산물**을 **가공**·판매해서 수익을 올려야 한다"며 "생산과 가공·판



때, 이를 합치면 6차 산업이 되는데, 기업 혼자서는 어려우므로 대학과 손잡고 정부의 자금을 받아서 진행한 이색 막걸리 개발은 6차 산업 발전에 좋은 모델이 된다"고 설명했다.

자색고구마 막걸리는 3종의 막걸리 중 하 대표가 "개인적으로 제일 좋아하는 막걸리"로 꼽았다. 고구마의 자연스러운 단맛이 술에 녹아있는 것이 특징이라고. 자색고구마에서 안토시아닌을 추출한 후 남은 추출박을 쌀 대신 주원료로 한 기능성 막걸리로, 안토시아닌 색소와 고구마의 영양 성분·향미를 그대로 이용했다. 당뇨와 고지혈증에 효과가 있는 것으로 알려진 연잎 분말을 첨가한 '백연 막걸리'의 맛을 설명하며 하 대표는 적당한 단어를 떠올리지 못해 잠시 머뭇거렸다. "풀 맛이라고 해야 하나, 녹차의 산뜻한 맛이 풍긴다고 할 수 있습니다."

붉은 자색고구마 막걸리와 연녹색을 띠는 연잎 막걸리는 모두 특히 출원했으며, 자색고구마 막걸리로 지난해 전국학생 발명·벤처창업대회 장려상을 받기도 했다.

소규모 지역 주류 회사의 최대 난관은 바로 유통망이다. 자색고구마 막걸리와 연잎 막걸리를 1년쯤 전에 개발했지만 제대로 유통망을 갖추지 못해 현재까지는 각종 행사 등에서 홍보용으로 사용하고 있다. 다른 막걸리와 같이 알코올 도수 7도로 생산했지만, 산삼 기운 때문인지 맛을 본 사람들이 "독하다"고 말을 많이 해 5도와 6도 시제품을 만들어 향과 맛 등을 테스트하는 관능시험 중이다. 산삼막걸리는 지식경제부 주관 2010년도 지역 연고산업 육성사업(함양기능성 식품 전략화 사업)으로 선정돼 최근 개발했다. 함양 산양삼 추출 농축액을 넣어 만든 기능성 쌀막걸리로 올해 내 특히 출원 예정이다.

유통망 확보를 위해 하 대표가 추진하는 것은 바로 시설 현대화다. 이달 중순 공장 신축 공사를 시작해 HACCP(위해요소 중점관리기준) 인증을 받을 수 있는 공장을 내년 초 완공할 계획이다. HACCP 인증 시설을 갖추면 비록 브랜드 파워에서는 밀려도 안전성이 입증되므로 경쟁력이 있기 때문에 대형 마트 입점이 가능할 것이라는 판단이다. 또 이달 내 신규법인을 설립해 내달 일부 제품을 시판하며, 살균 막걸리를 개발해 수출할 예정이다. 현재는 주문생산만 하고 있다. 자색고구마 막걸리와 연잎 막걸리는 병당 각 2000원(750ml)이며, 산삼 막걸리는 시제품 홍보기간이라 1200ml에 5000원을 받고 있다. 문의 055-963-9911





[한국농림수산정보센터] - 자색고구마 가공제품

경남교육감
고영진 책임감을 가지고 도민들에게 교육으로 봉사할 터

HWANG 2010.08.18 vol.693

Weekly People

국내 최초 인물 시사주간지 - 주간인물

창간 19주년

경기도의회
강백수 의원

충청시의회
박근배 의장

영농조합법인 고운
하인수 대표

녹색사업으로서 성공을 이루다
우리나라 최고 연잎밥 가공업체 '백련가'
이아이자 함양상림연영농조합 대표

₩ 6,000원

함양을 대표하는 농산물로 만든 몸에 좋고 맛도 좋은 건강주 이야기

하인수 영농조합법인 고운 대표

최근 막걸리 시장이 활성화되고 있다. 지방 중소기업들의 수익이 아닌 일부 대기업들의 수익이기 때문에 지방 중소기업가들이 막걸리 하나만으로 큰 회사와 경쟁을 해야 한다는 것은 무리수다. 하지만 지역의 농산물을 이용하여 막걸리에 관한 새 제품연구에 노력을 다하고 있는 영농조합법인 고운 하인수 대표를 만나 함양을 자랑하는 막걸리에 대한 이야기를 들어보았다. _박유진 기자

“본래 전공이 식품과학과는 아니었습니다. 하지만 편입으로 식품과학과를 졸업한 후, 지금은 대학원을 다니면서 여전히 식품에 대한 공부를 하고 있습니다.”

하 대표는 선대로부터 물려받은 40년 전통의 양조장을 운영하는 아버지를 보면서 ‘언젠가는 이어져 내려오는 일을 해야겠다’고 생각했지만 급히 일을 서두르지는 않았다. 아버지가 하시는 사업이 확장되다보니 아버지의 힘만으로는 부족한 것 같아 아버지를 돕기 시작하면서 지금까지 오게 된 것이라고 그는 시기가 빨라진 것 뿐, 전혀 생각지 않았던 일은 아니라고 말했다.

● '고운'의 '자색고구마 막걸리'





보통 막걸리를 보게 되면 밑에 효모가 가라앉아 있고 흔들어서 마시게 되어 있다. 하지만 '자색고구마 막걸리'는 효모의 밍푼한 맛 때문에 흔들어서 먹지 않는 사람들의 기호성을 생각해 발효를 오랫동안 시킨 결과, 술이 맑고 깔끔하다. 하 대표는 "팅푼한 맛 때문에 막걸리를 먹지 않았던 분들도 막걸리를 맛보게 되고, 자색고구마의 붉은 빛 때문에 색깔도 좋은 것 같습니다"라며 '자색고구마 막걸리'에 대한 애정을 표현했다.

건강을 생각하는 성인층을 겨냥해 만들어진 '자색고구마 막걸리'는 건강에 도움을 줄 수 있는 음식이다. 하 대표는 '자색고구마 막걸리'가 만들어지는 과정과 함께 '고운'만의 특이성에 대한 이야기도 전했다.

"술을 빚을 때, 쌀의 점분을 강화하기 위해 쌀을 찌고 자색고구마를 슬라이스로 얇게 만들어 찌쳐된 고구마를 찹니다. 그리고 발효통에 넣어 발효를 시작하게 되죠. 그리고 저희는 술을 만들 때 향을 첨가하거나 액기스를 첨가하지 않고 자색고구마를 처음부터 쌀과 같이 발효시키고 있습니다." 막걸리의 종류도 많고 과일주도 많지만 '고운'은 자색고구마를 직접 첨가하여 막걸리를 생산하고 있다는 것이다.

그는 '자색고구마 막걸리' 외에도 복분자주, 아이스와인을 개발하였으나 2, 3년이 지난 후 다시 계획할 예정이라고 전했다. 뿐만 아니라 함양 대표적 농산물인 인삼과 산삼을 이용한 연잎막걸리, 산삼막걸리를 함양의 특산물로 만들고 있다.

○ 앞으로의 계획

하 대표는 아버지가 운영하고 있는 양조장과 영농조합법인 '고운'을 합쳐 사업을 확장할 계획이라고 밝혔다. 빠른 시일 내 완벽하게 끝낸 후, 제품 연구에 더 많은 시간을 보내고 '자색고구마 막걸리'를 대외적으로 알릴 수 있는 방안을 마련할 것이라고 한다. 보통 막걸리의 유통기한은 냉장보관하는 경우에는 열흘정도 밖에 안된다. 하 대표는 이러한 한계점을 알고

막걸리의 유통기한을 늘리는 방법을 연구 중이다. 그 결과 전국창업아이디어 경진대회에서 장려상을 수상했다. 그는 이와 관련된 연구를 지속적으로 진행할 계획을 가지고 있으며 일본 수출을 통해 '자색고구마 막걸리'를 대대적으로 알리는데 만전을 기하고 있다.

하 대표는 할아버지부터 이어져 내려온 40년 전통의 양조장을 이어나가며 전통과 오늘날의 좋은 것들을 결합해 당장의 이익보다는 미래를 위해 사업을 성장시키겠다고 말했다. **이민**



자색고구마 막걸리 효능

자색고구마 안토시아닌 색소는 알코올에 의한 간 손상, 간염, 간석유화, 개선효과가 동물실험으로 검증되어 '자색고구마 색소추출물'을 포함하는 간질환 예방 및 치료용 조성물'이라는 이름으로 특허 출원 중에 있다. (2008년 농림수산식품 과학기술대전에서 우수특허기술로 선정)

자색고구마 안토시아닌 색소는 암, 노화 저해의 발병을 억제하는 항산화활성이 매우 우수한 것으로 충남대 약대의 공동 동물실험을 통해 검증되고 있다.

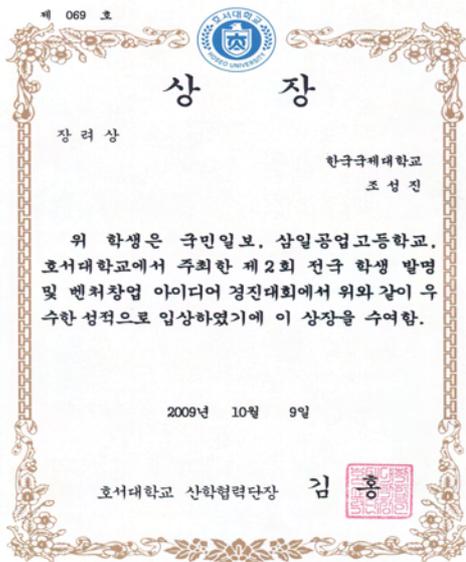
4. 기타(각종 축제 전시 및 홍보)



2009년 5월 서울 국립극장 ‘토요문화제’ 부스설치 및 제품홍보(지산식품)



2009년 5월 ‘참진주 참음식 페스티벌’ 산학협동 우수상품 전시(지산식품)



2009년 10월 국민일보 주관 ‘벤처창업경진대회’ 장려상 수상(영농조합법인 고운)



[함양 산삼축제] - 지산식품



[함양 산삼축제] - 영농조합법인 고운



[함양 물레방아축제] - 지산식품



함양 산삼축제 1



함양 산삼축제 1



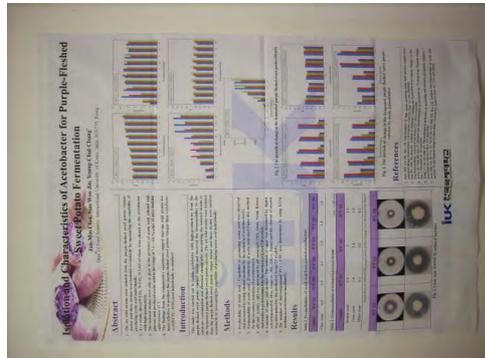
함양 물레방아축제 1



함양 물레방아축제 1



한국식품영양과학회 1



한국식품영양과학회 2



feel 경남 특산물박람회 1



feel 경남 특산물박람회 2

5. 특허출원, 논문게재 및 학술회의 발표

산업재산권(발명특허, 실용신안, 의장, 규격 등), 신품종, 프로그램개발					
번호	출원등록명	출원등록자명	구분	산업재산권 종류	출원등록일
1	자색고구마를 이용한 막걸리 제조방법	한국국제대학교 산학협력단	출원	발명특허	2009.11.25
2	자색고구마 알갱이 음료 제조방법	한국국제대학교 산학협력단	출원	발명특허	2009.11.25
3	자색고구마를 이용한 식초 제조방법	한국국제대학교 산학협력단	출원	발명특허	2011.12월 예정
논문(국내외 전문학술지) 게재					
번호	논문명	학술지명	주저자명	학술지게재일	SCI구분
1	Anti-fibrotic effects of the anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato on hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine in rats	Food and chemical toxicology	최재호	2010.11.	SCI
2	Anthocyanins from purple sweet potato attenuate dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats by inducing Nrf2-mediated antioxidant enzymes and reducing COX-2 and iNOS expression	Food and chemical toxicology	황용필	2011. 01	SCI
3	Anthocyanins isolated from the purple-fleshedsweet potato attenuates the proliferation of hepatic stellate cells by blocking the PDGF receptor.	Environmental Toxicology and Pharmacology	최재호	2011.01	SCI
4	Metformin inhibits PMA-induced matrix metalloproteinase-9 activation through a calcium and PKCa/ERK/AP-1-dependent pathway.	British Journal of Pharmacology	황용필	2010.07	SCI
5	Protective mechanisms of anthocyanins from purple sweet potato against <i>tert</i> -butyl hydroperoxide-induced hepatotoxicity.	Environmental Toxicology and Pharmacology	황용필	2011.09	SCI

국내 및 국제 학술회의 발표				
번호	발표자	발표제목	발표일시	장소, 국명
1	Choi Jae Ho	Protective effects of the anthocyanin from Purple-Fleshed sweet potato on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats	2010.3.7-11.	국외 (미국)
2	Choi Jae Ho	Inhibitory effects of the anthocyanin from Purple-Fleshed sweet potato on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats.	2010.6.19-23	국외 (스페인)
3	Yong Pil Hwang,	Anthocyanins from purple sweet potato regulates nuclear Nrf2 and NF- κ B during prevention of oxidative liver injury in a dimethylnitrosamine model.	2010.9.4-8	국외 (터키)
4	Choi Jae Ho	Prevention of hepatic fibrosis and hepatic stellate cells proliferation by anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato	2010.11.11-12	국내 (부산대)
5	Yong Pil Hwang	Protective mechanisms of anthocyanin-rich purple sweet potato extract against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage	2011.02.17-22	국외 (태국, 방콕)
6	Choi Jae Ho	Anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuates hepatic fibrosis and hepatic stellate cells proliferation	2011.02.17-22	국외 (태국, 방콕)
7	Yong Pil Hwang	Protective Mechanisms of Anthocyanin-Rich Purple Sweet Potato Extract against tert-Butyl Hydroperoxide-Induced Hepatotoxicity	2011.04.21-22	국내
8	Choi Jae Ho	Anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato prevents hepatic fibrosis by DMN and hepatic stellate cells proliferation by PDGF-BB	2011.03.06-11	국외 (미국)
9	Yong Pil Hwang	Anthocyanins from purple sweet potato protects against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress by increasing expression of heme oxygenase-1 in a PI3K and ERK/Nrf2-dependent manner	2011.03.06-11	국외 (미국)
10	Jun Min Choi	Isolation of characteristics of acetobacter for purple-fleshed sweet potato fermentation	2011.10.31-11.2	국내 (BEXCO)

관인생략 출원번호통지서

출원일자 2009.11.25
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
 출원번호 10-2009-0114371 (접수번호 1-1-2009-0723740-95)
 출원인명칭 영농조합법인 고운(1-2008-031723-1) 외 1명
 대리인성명 특허법인다인(9-2005-100001-1)
 발명자성명 정영철 황영정 하인수 최준민 조성진 서천성 정혜광 황용필
 발명의명칭 자색고구마를 이용한 막걸리 제조방법

특 허 청 장

- 출원번호통지서 출원 이후 심사진행 상황 등을 확인하실 때에는 출원번호가 필요하오니 출원번호 통지서는 출원절차가 종료될 때까지 보관하시기 바랍니다.
- 2-가. 특허 및 실용신안 출원은 심사청구 후 평균 16개월에 1차 심사처리가 이루어지고, 상표 및 디자인은 출원 후 평균 10개월에 1차 심사처리가 이루어집니다.
 - 2-나. 특허 및 실용신안은 특허청 홈페이지(<http://www.patent.go.kr>)의 “고객지원서비스-인원처리과정 통지 서비스” 코너에서 1차 심사결과통지 예고서비스를 신청하시면, 1차 심사처리 약 1개월 전에 해당 출원 건의 1차 심사결과통지 예정시기를 SMS 또는 E-mail 서비스로 제공 받을 수 있습니다.
 - 2-다. 상표 및 디자인은 특허청 홈페이지(공지사항)에 류별 1차 심사결과통지 예정시기를 매월 게시하고 있으며, 특허정보검색서비스 시스템(<http://www.kipris.or.kr>)을 통해 개별 출원건에 대한 1차 심사결과통지 예정시기를 알려드립니다. 또한, 출원시 1차 심사결과통지 예정시기 알림 서비스를 신청하시면, SMS 또는 E-mail 서비스로 제공해 드립니다.

※ 상기 1차 심사결과통지 예정시기는 사정에 의해 다소 늦거나 빨라 질 수 있습니다.
 2-라. 1차 심사결과통지서(심사관이 특허결정의 등본을 송달하기 전 또는 심사관이 최초로 거절 이유를 통지한 후 출원인이 그 거절이유를 받기 전 중 빠른 때)까지 귀하께서는 특허출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 명세서 또는 도면을 보정할 수 있습니다.
 특허출원은 출원일로부터 5년 이내에 특허법시행규칙 별지 제24호서식에 의거 심사청구를 하지 않으면 그 출원은 출원취하된 것으로 간주하여 처리됨을 알려드립니다.
- 우선심사 특허(실용신안등록)출원 또는 디자인등록출원, 상표등록출원에 대해 조기에 심사를 원하시면 “우선심사제도”를 이용하실 수 있습니다.
- 주소 등 변경신고 출원인의 주소 등을 변경하고자 하는 경우에는 특허법 시행규칙 별지 제4호의 2 서식에 의한 출원인 정보변경(경정) 신고서를 제출하여야 합니다.
- 산업재산권 표시, 광고요령 특허 등 산업재산권을 출원 중에 있는 경우에는 해당 산업재산이 출원 상태를 다음과 같이 표시하여야 하며, 이를 위반할 경우 특허법 제224조 및 제227조에 의거 처벌 받게 됩니다.
 예) 특허출원 10-2001-0000001, 실용신안등록출원 20-2001-0000001, 디자인등록출원 30-2001-0000001, 상표등록출원 40-2001-0000001
- 미성년자 미성년자인 출원인이 만20세에 도달하는 경우 출원인의 부모 등 법정대리인의 대리권은 소멸하게 되므로, 출원인은 직접 또는 대리인을 새로이 선임하여 특허에 관한 절차를 밟을 수 있습니다.
- 문의처 기타 문의사항이 있으시면 특허고객 콜센터(1544-8080)에 문의하시거나 특허청 홈페이지(www.kipo.go.kr)를 참고하시기 바랍니다.
- 특허청 주소 302-701 대전광역시 서구 선사로 139 정부대전청사 4동
 특허청 서울사무소 주소 135-911 서울특별시 강남구 역삼동 647-9 한국지식센터
 FAX) 대전 : 042-472-7140, 서울 : 02-566-8454

관인생략
출원번호통지서

출원일자 2009.11.25
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
 출원번호 10-2009-0114372 (접수번호 1-1-2009-0723745-12)
 출원인 성명 김승교(4-1998-041734-1) 외 1명
 대리인 성명 특허법인다인(9-2005-100001-1)
 발명자 성명 정영철 김승교 황영정 하인수 최준민 조성진 정혜광 황용필
 발명의 명칭 자색고구마 알갱이 음료의 제조방법

특 허 청 장

1. 출원번호통지서 출원 이후 심사진행 상황 등을 확인하실 때에는 출원번호가 필요하오니 출원번호 통지서는 출원절차가 종료될 때까지 보관하시기 바랍니다.
2.
 - 2-가. 특허 및 실용신안 출원은 심사청구 후 평균 16개월에 1차 심사처리가 이루어지고, 상표 및 디자인은 출원 후 평균 10개월에 1차 심사처리가 이루어집니다.
 - 2-나. 특허 및 실용신안은 특허청 홈페이지(<http://www.patent.go.kr>)의 "고객지원서비스-민원처리과정 통지 서비스" 코너에서 1차 심사결과통지 예고서비스를 신청하시면, 1차 심사처리 약 1개월 전에 해당 출원 건의 1차 심사결과통지 예정시기를 SMS 또는 E-mail 서비스로 제공 받을 수 있습니다.
 - 2-다. 상표 및 디자인은 특허청 홈페이지(공지사항)에 유별 1차 심사결과통지 예정시기를 매월 게시하고 있으며, 특허정보검색서비스 시스템(<http://www.kipris.or.kr>)을 통해 개별 출원건에 대한 1차 심사결과통지 예정시기를 알려드립니다. 또한, 출원사 1차 심사결과통지 예정시기 알림 서비스를 신청하시면, SMS 또는 E-mail 서비스로 제공해 드립니다.

※ 상기 1차 심사결과통지 예정시기는 사정에 의해 다소 늦거나 빨라 질 수 있습니다.

 - 2-라. 1차 심사결과통지서(심사관이 특허결정의 등본을 송달하기 전 또는 심사관이 최초로 거절이유를 통지한 후 출원인이 그 거절이유를 받기 전 중 빠른 때)까지 귀하께서는 특허출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 명세서 또는 도면을 보정할 수 있습니다.

특허출원은 출원일로부터 5년 이내에 특허법시행규칙 별지 제24호서식에 의거 심사청구를 하지 않으면 그 출원은 출원취하된 것으로 간주하여 처리함을 알려드립니다.
3. 우선심사 특허(실용신안등록)출원 또는 디자인등록출원, 상표등록출원에 대해 조기에 심사를 원하시면 "우선심사제도"를 이용하실 수 있습니다.
4. 주소 등 변경신고 출원인의 주소 등을 변경하고자 하는 경우에는 특허법 시행규칙 별지 제4호의 2 서식에 의한 출원인 정보변경(경정) 신고서를 제출하여야 합니다.
5. 산업재산권 표시, 광고요령 특허 등 산업재산권을 출원 중에 있는 경우에는 해당 산업재산이 출원상태임을 다음과 같이 표시하여야 하며, 이를 위반할 경우 특허법 제224조 및 제227조에 의거 처벌 받게 됩니다.

예) 특허출원 10-2001-0000001, 실용신안등록출원 20-2001-0000001, 디자인등록출원 30-2001-0000001, 상표등록출원 40-2001-0000001
6. 미성년자 미성년자인 출원인이 만20세에 도달하는 경우 출원인의 부모 등 법정대리인의 대리권은 소멸하게 되므로, 출원인은 직접 또는 대리인을 새로이 선임하여 특허에 관한 절차를 밟을 수 있습니다.
7. 문의처 기타 문의사항이 있으시면 특허고객 콜센터(1544-8080)에 문의하시거나 특허청 홈페이지(www.kipo.go.kr)를 참고하시기 바랍니다.
8. 특허청 주소 302-701 대전광역시 서구 선사로 139 정부대전청사 4동
 특허청 서울사무소 주소 135-911 서울특별시 강남구 역삼동 647-9 한국지식센터
 FAX) 대전 : 042-472-7140, 서울 : 02-566-8454

1. Jae Ho Choi, Yong Pil Hwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung and Hye Gwang Jeong (2010). Anti-fibrotic effects of the anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato on hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine administration in rats. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2010. Nov) 3137 - 3143.

Food and Chemical Toxicology 48 (2010) 3137–3143

Contents lists available at ScienceDirect



Food and Chemical Toxicology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchemtox



Anti-fibrotic effects of the anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato on hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine administration in rats

Jae Ho Choi^{a,b}, Yong Pil Hwang^a, Chul Yung Choi^c, Young Chul Chung^{d,*}, Hye Gwang Jeong^{a,*}

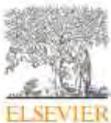
^a Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Daejeon 305-764, Republic of Korea
^b College of Pharmacy, Chosun University, 375 Seosuk-dong, Gwangju 501-759, Republic of Korea
^c Department of Pharmaceutical Engineering, College of Public Health and Natural Science, Korea International University, Jinju 660-759, Republic of Korea
^d Department of Food Science, College of Public Health and Natural Science, Korea International University, Jinju 660-759, Republic of Korea

<p>ARTICLE INFO</p> <hr/> <p><i>Article history:</i> Received 1 June 2010 Accepted 15 August 2010</p> <hr/> <p><i>Keywords:</i> Purple sweet potato Anthocyanins Dimethylnitrosamine Hepatic fibrosis α-SMA Collagen</p>	<p>ABSTRACT</p> <hr/> <p>In current study, we investigated the protective effects of the anthocyanin fraction (AF) obtained from the purple-fleshed sweet potato on hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine (DMN) administration in rats. Treatment with DMN for 4 weeks produced marked liver fibrosis as assessed by increased serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity and hepatic collagen content. These increases were inhibited by treatment with AF prior to the administration of DMN. In addition, AF inhibited DMN-induced reductions in rat body and liver weights in a dose-dependent manner. Histopathological evaluation of the rat livers revealed that AF reduced the incidence of hepatic fibrosis lesions and inhibited DMN-induced increases in α-smooth muscle actin (α-SMA) and collagen type I and III expression levels. AF also decreased DMN-induced expression levels platelet-derived growth factor receptors-beta, tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta. This study demonstrates that AF administration can effectively improve liver fibrosis caused by DMN, and may be used as a therapeutic option and preventive measure against hepatic fibrosis.</p> <p style="text-align: right;">© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.</p>
---	---

2. Yong Pil Hwang, Jae Ho Choi, Hyo Jeong Yun, Eun Hee Han, Hyung Gyun Kim, Jin Young Kim, Bong Hwan Park, Tilak Khanal, Jun Min Choi, Young Chul Chung, Hye Gwang Jeong (2011). Anthocyanins from purple sweet potato attenuate dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats by inducing Nrf2-mediated antioxidant enzymes and reducing COX-2 and iNOS expression. *Food and Chemical Toxicology* 2011 Jan;49(1):93-99.

Food and Chemical Toxicology 49 (2011) 93–99

Contents lists available at ScienceDirect



Food and Chemical Toxicology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchemtox



Anthocyanins from purple sweet potato attenuate dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats by inducing Nrf2-mediated antioxidant enzymes and reducing COX-2 and iNOS expression

Yong Pil Hwang^{a,1}, Jae Ho Choi^{a,b,1}, Hyo Jeong Yun^{a,b}, Eun Hee Han^a, Hyung Gyun Kim^a, Jin Young Kim^{a,b}, Bong Hwan Park^a, Tilak Khanal^a, Jun Min Choi^c, Young Chul Chung^c, Hye Gwang Jeong^{a,*}

^a Department of Toxicology, College of Pharmacy, Changnam National University, 220 Gung-dong, Daejeon 305-764, Republic of Korea
^b College of Pharmacy, Chosun University, 375 Seosuk-dong, Gwangju 501-759, Republic of Korea
^c Department of Food Science, College of Public Health and Natural Science, Korea International University, Jinju 660-759, Republic of Korea

<p>ARTICLE INFO</p> <p>Article history: Received 3 August 2010 Accepted 2 October 2010</p> <hr/> <p>Keywords: Purple sweet potato Anthocyanins DMN Inflammation Antioxidant enzymes Nrf2</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>Anthocyanins of the purple sweet potato exhibit antioxidant and hepatoprotective activities via a multitude of biochemical mechanisms. However, the signaling pathways involved in the actions of anthocyanin-induced antioxidant enzymes against chronic liver injury are not fully understood. We examined whether an anthocyanin fraction (AF) from purple sweet potato may prevent dimethylnitrosamine (DMN)-induced liver injury by inducing antioxidants via nuclear erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) pathways and by reducing inflammation. Treatment with AF attenuated the DMN-induced increased serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activities. It also prevented the formation of hepatic malondialdehyde and the depletion of glutathione and maintained normal glutathione-S-transferase (GST) activity in the livers of DMN-intoxicated rats. Furthermore, AF increased the expression of Nrf2, NADPH:quinone oxidoreductase-1, heme oxygenase-1, and GSTα, which were reduced by DMN, and decreased the expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase. An increase in the nuclear translocation of nuclear factor kappa B (NF-κB) was observed in the DMN-induced liver injury group, but AF inhibited this translocation. Taken together, these results demonstrate that AF increases the expression of antioxidant enzymes and Nrf2 and at the same time decreases the expression of inflammatory mediators in DMN-induced liver injury. These data imply that AF induces antioxidant defense via the Nrf2 pathway and reduces inflammation via NF-κB inhibition.</p> <p style="text-align: right; font-size: x-small;">© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.</p>
---	--

3. Jae Ho Choi, Yong Pil Hwang, Bong Hwan Park, Chul Yung Choi, Young Chul Chung and Hye Gwang Jeong (2011). Anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuates the proliferation of hepatic stellate cells by blocking the PDGF receptor. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 31 (2011) 212–219.

ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND PHARMACOLOGY 31 (2011) 212–219

available at www.sciencedirect.com

 ScienceDirect 

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/etap

Anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuate the proliferation of hepatic stellate cells by blocking the PDGF receptor

Jae Ho Choi^a, Yong Pil Hwang^a, Bong Hwan Park^a, Chul Yung Choi^b, Young Chul Chung^{c,*}, Hye Gwang Jeong^{a,**}

^a Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Republic of Korea
^b Natural Resources Research Institute, Jangheung-gun, Jeollanam-do, Republic of Korea
^c Department of Food Science, College of Public Health and Natural Science, Korea International University, Jinju 660-759, Republic of Korea

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article history: Received 1 September 2010 Received in revised form 29 October 2010 Accepted 29 October 2010 Available online 9 November 2010</p> <p>Key words: Purple-fleshed sweet potato Anthocyanin fraction Hepatic stellate cells PDGF Proliferation Alpha-SMA</p>	<p>During the process of liver fibrosis, hepatic stellate cells (HSCs) play a critical role in the increased formation and reduced degradation of extracellular matrix in the liver. We investigated the anti-proliferative effects of an anthocyanin fraction (AF), isolated from the purple-fleshed sweet potato, on platelet-derived growth factor (PDGF)-BB-dependent signaling pathways in HSC-T6 cells. HSC proliferation plays a pivotal role in liver fibrogenesis. The AF suppressed HSC activation, including PDGF-induced proliferation and α-smooth muscle actin (α-SMA) expression. Additionally, AF inhibited PDGF-BB-induced Akt and ERK1/2 phosphorylation. AF inhibited the phosphorylation level of PDGF receptor-β (PDGFR-β) following PDGF-BB stimulation, providing a mechanism for the inhibition of AF-mediated kinase. These results suggest that AF suppresses HSC proliferation by blocking PDGFR-β signaling, inhibiting Akt and ERK1/2 activation and α-SMA expression.</p> <p>© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.</p>

4. Yong Pil Hwang, Jae Ho Choi, Jun Min Choi, Young Chul Chung, Hye Gwang Jeong (2011). Protective mechanisms of anthocyanins from purple sweet potato against *tert*-butyl hydroperoxide-induced hepatotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*. 2011 Sep;49(9):2081–9.

Food and Chemical Toxicology 49 (2011) 2081–2089



Contents lists available at ScienceDirect

Food and Chemical Toxicology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchemtox



Protective mechanisms of anthocyanins from purple sweet potato against *tert*-butyl hydroperoxide-induced hepatotoxicity

Yong Pil Hwang^a, Jae Ho Choi^a, Jun Min Choi^b, Young Chul Chung^b, Hye Gwang Jeong^{a,*}

^a Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Daejeon 305-764, Republic of Korea

^b Department of Food Science, College of Public Health and Natural Science, Korea International University, Jinju 660-759, Republic of Korea

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 April 2011

Accepted 21 May 2011

Available online 25 May 2011

Keywords:

Purple sweet potato

Anthocyanins

tert-butyl hydroperoxide

Nrf2

Hepatoprotection

ABSTRACT

Anthocyanins have been shown to exert anti-proliferative, anti-inflammatory effects and anti-carcinogenic activity. In the present work, we investigated the protective effects of anthocyanin fraction (AF) from purple sweet potato on *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BHP)-induced hepatotoxicity in HepG2 cell line and in rat liver. The result showed that the oral pretreatment of AF before *t*-BHP treatment significantly lowered the serum levels of the hepatic enzyme markers (ALT and AST) and reduced oxidative stress of the liver by evaluation of malondialdehyde and glutathione. Histopathological evaluation of the livers also revealed that AF reduced the incidence of liver lesions. The *in vitro* result showed that AF significantly reduced *t*-BHP-induced oxidative injury, as determined by cell cytotoxicity, intracellular glutathione content, lipid peroxidation, reactive oxygen species (ROS) levels, and caspases activation. Also, AF up-regulated antioxidant enzymes including heme oxygenase-1 (HO-1), NAD(P)H:quinone reductase, and glutathione S-transferase. Moreover, AF induced Nrf2 nuclear translocation and Akt and ERK1/2 activation, pathways that are involved in inducing Nrf2 nuclear translocation. Taken together, these results suggest that the protective effects of AF against *t*-BHP-induced hepatotoxicity may, at least in part, be due to its ability to scavenge ROS and to regulate the antioxidant enzyme HO-1 via the Akt and ERK1/2/Nrf2 signaling pathways.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

5. Yong Pil Hwang, Hye Gwang Jeong (2010). Metformin inhibits PMA-induced matrix metalloproteinase-9 activation through a calcium and PKC α /ERK/AP-1-dependent pathway. *British Journal of Pharmacology*. 2010 July;160:1195-1211.



RESEARCH PAPER

Metformin blocks migration and invasion of tumour cells by inhibition of matrix metalloproteinase-9 activation through a calcium and protein kinase C α -dependent pathway: phorbol-12-myristate-13-acetate-induced/extracellular signal-regulated kinase/activator protein-1

Yong P Hwang and Hye G Jeong

Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, Korea

Background and purpose: Population studies have revealed that treatment with the anti-diabetic drug metformin is significantly associated with reduced cancer risk, but the underlying mode of action has not been elucidated. The aim of our study was to determine the effect of metformin on tumour invasion and migration, and the possible mechanisms, using human fibrosarcoma HT-1080 cells.

Experimental approach: We employed invasion, migration and gelatin zymography assays to characterize the effect of metformin on HT-1080 cells. Transient transfection assays were performed to gene promoter activities, and immunoblot analysis to study its molecular mechanisms of action.

Key results: Metformin inhibited migration and invasion by HT-1080 cells at sub-toxic concentrations. In these cells, metformin also suppressed phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA)-enhanced levels of matrix metalloproteinases-9 (MMP-9) protein, mRNA and transcription activity through suppression of activator protein-1 (AP-1) activation. In addition, metformin strongly repressed the PMA-induced phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase (ERK), c-Jun N-terminal kinase (JNK) and protein kinase C (PKC) α , whereas the phosphorylation of p38 mitogen-activated protein kinase was not affected by metformin. Metformin decreased the PMA-induced Ca²⁺ influx. Furthermore, treatment with an intracellular Ca²⁺ chelator (BAPTA-AM) or a selective calmodulin antagonist (W7) markedly decreased PMA-induced MMP-9 secretion and cell migration, as well as activation of ERK and JNK/AP-1.

Conclusions and implications: Metformin inhibited PMA-induced invasion and migration of human fibrosarcoma cells via Ca²⁺-dependent PKC α /ERK and JNK/AP-1-signalling pathways. Metformin therefore has the potential to be a potent anti-cancer drug in therapeutic strategies for fibrosarcoma metastasis.

British Journal of Pharmacology (2010) **160**, 1195–1211; doi:10.1111/j.1476-5381.2010.00762.x

- ② Jae Ho Choi, Yong Pil Hwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung, Hye Gwang Jeong (2010). Inhibitory effects of the anthocyanin from *Purple-Fleshed sweet potato* on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. XII International Congress of Toxicology, 19–23, July 2010. Barcelona, Spain.



S308

Abstracts / Toxicology Letters 198S (2010) S37–S38

P206-012
The effect of chromium (VI) on the redox homeostasis and the activity of selenoenzymes thioredoxin reductase and glutathione peroxidase in rat liver and kidneys

A. Hodzová, D. Kotyžová, V. Eýbl

Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University in Prague, Czech Republic

Hexavalent chromium (CrVI) is a toxic metal which induces oxidative injury of various organs. It is a nephrotoxic, hepatotoxic and carcinogenic element. It also attacks respiratory tract. Despite intensive studies of its prooxidative effects less attention has been paid to its influence on selenoenzymes thioredoxin reductase (TrxR) and glutathione peroxidase (GPx) – important components of the antioxidant defence system.

In this study the effect of CrVI on the activity of antioxidant defences, inclusive those selenoenzymes, was investigated in an acute experiment in rats.

The experiment was performed in male Wistar rats (130–140 g b.w.), which were randomly divided into 2 groups of 8 animals each: I – control, II – Cr treated. Rats were injected ip with a single dose of K₂Cr₂O₇ (7 mg Cr/kg b.w.). The experiment was finished at the 24th h after Cr administration. The level of reduced glutathione (GSH), lipid peroxidation (LP; MDA concentration) and the activities of following enzymes: GPx-1, TrxR-1 and glutathione reductase (GR) were estimated in the liver and kidneys homogenates.

In the liver the LP and GSH level and GPx-1 activity were increased by CrVI by 70.5% ($p < 0.01$), 12.6% ($p < 0.01$) and 25.3% ($p < 0.01$) respectively. TrxR-1 activity was decreased by CrVI by 22.8% ($p < 0.01$). The activity of GR was not changed. In the kidneys the LP level was increased by CrVI by 15.5% ($p < 0.05$). GPx-1 and TrxR-1 activities were decreased by CrVI by 20.8% ($p < 0.01$) and 34.8% ($p < 0.01$) respectively. The level of GSH and the activity of GR were not changed.

Chromium significantly impaired the redox homeostasis. The inhibitory effect of chromium on the activity of TrxR-1 was proved in both organs. This finding represents the important result. The effect of chromium on the activity of GPx-1 and GSH level depends on the properties of the organ examined.

Supported by the Grant MSM 0021620819.

doi:10.1016/j.toxlet.2010.03.701

P206-013
Inhibitory effects of the anthocyanin from purple-fleshed sweet potato on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats

H.G. Jeong¹, J.H. Choi¹, Y.P. Hwang¹, C.Y. Choi², Y.C. Chung²

¹ Chungnam National University, South Korea, ² Korea International University, South Korea

Liver fibrosis is a chronic hepatic disease with high mortality rate and results from the excessive accumulation of extracellular matrix proteins. In this study, we investigated the inhibitory effects of the anthocyanin fraction (AF) obtained from purple-fleshed sweet potato on hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine (DMN) administration in rats and platelet derived growth factor (PDGF)-dependent signaling pathways in hepatic stellate cells. AF significantly inhibited the DMN-increased serum enzymatic activities of ALT and AST, and hepatic collagen content. Histopathological changes evaluation of the livers also revealed that AF

reduced the incidence of hepatic fibrosis lesions. In addition, RT-PCR and western blotting analyses revealed that AF inhibited the DMN-increased expression levels of the alpha-smooth muscle actin (α -SMA), collagen types I and III. Pretreatment with AF increased the DMN-reduced body and liver weights. Furthermore, AF inhibited the PDGF-induced proliferation, α -SMA expression and phosphorylation of MAPK and PDGFR-beta in hepatic stellate cells. These results suggested that AF plays a critical protective role in DMN-induced liver fibrosis and PDGF-stimulated fibrogenesis signaling pathways.

doi:10.1016/j.toxlet.2010.03.702

P206-014
Functional prediction analysis based on global gene expression by using Nr1f2 knockout mouse liver exposed to TCDD

H. Sato¹, M. Matsumoto¹, K. Itoh², M. Yamamoto³, Y. Aoki¹

¹ National Institute for Environmental Studies, Japan, ² Hiroaki University School of Medicine, Japan, ³ Tohoku University School of Medicine, Japan

Nr1f2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) is an essential transcription factor for antioxidant responsive element (ARE) – mediated expression of phase II enzyme genes. TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin) induces not only AhR (aryl hydrocarbon receptor) – mediated gene expression (e.g. CYP1A1), but also phase II enzymes such as NQO1 (NAD(P)H dehydrogenase 1) in mammalian tissues and cells. However, presently, the mechanism underlying the induction of phase II enzymes by TCDD is not well understood. Here, we performed comprehensive analysis of the gene expression induced by TCDD in the livers of male Nr1f2-knockout (–/–) mice (KO) to identify the effects of TCDD on mice livers in the presence or absence of Nr1f2. Nr1f2-KO and wild-type (+/+) mice (WT) were orally administered a single dose of 40 μ g of TCDD, and DNA microarray analysis of extracted mRNA was performed; this was followed by cluster and network analysis. Gene expression of CYP1A1 and I31 were significantly upregulated more than 2-fold in both WT and KO mice treated with TCDD as expected; however, TCDD-induced upregulation of NQO1 were significant only in the WT mice. It was demonstrated that in the absence of Nr1f2, TCDD exposure resulted in the upregulation of genes involved in the lipoprotein regulation, atherogenesis, and sodium and potassium balance. Furthermore, gene expression specifically induced by TCDD in the Nr1f2-deficient condition was suggested to be under control of E2F transcription factor. In this study, the network analysis of the altered gene expression in the absence of Nr1f2 shows possible functions of Nr1f2 for preventing disturbance of lipid metabolism caused by TCDD in the liver.

doi:10.1016/j.toxlet.2010.03.703

P206-015
Amilorone-induced phospholipidosis and steatosis in human hepatoma HepaRG cells

S. Anthérieu, B. Fromenty, M.A. Robin, A. Guillouzo

INSERM U991 - Université de Rennes 1, France

Drug-induced hepatotoxicity occurs in general after several weeks and is often unpredictable; it is characterized by various lesions involving many mechanisms. Some drugs such as amilorone have been reported to cause both phospholipidosis and steatosis

- ③ Yong Pil Hwang, Jae Ho Choi, Young Chul Chung, Hye Gwang Jeong (2010). Anthocyanins from purple sweet potato regulates nuclear Nrf2 and NF- κ B during prevention of oxidative liver injury in a dimethylnitrosamine model. ISSX 9th International Meeting. Istanbul, Turkey, September 4-8, 2010.



September 4 — 8, 2010
Istanbul, Turkey

PROGRAM & ABSTRACTS

ISSX would like to thank:

Turkish Ministry of Culture and Tourism

Co-Sponsor of the Short Course Programs:



EUROPEAN FEDERATION FOR PHARMACEUTICAL SCIENCES



Middle East Technical University
Orta Doğu Teknik Üniversitesi



Türkiye Bilimler Akademisi
Turkish Academy of Sciences



LB52. NEPHROTOXICITY INDUCED BY CHROMIUM (VI) IN ADULT RATS AND THEIR PROGENY

Nejla Soudani¹, Ben Amara Ibtissem¹, Bouaziz Hanen¹, Troudi Afef¹, Tahia Boudawara² and Zeghal Najiba¹

¹Life Science, Animal Physiology Laboratory., Sfax, Tunisia, ²Anatomopathology Laboratory, Sfax, Tunisia

To assess kidney damages in pregnant and lactating rats and in their suckling pups, wistar female rats were given, through drinking water, 700 ppm of $K_2Cr_2O_7$ from the 14th day of pregnancy until day 14 after delivery. Toxicity was objectified by a significant increase in malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) levels in kidney of chromium-treated mothers and their suckling pups. Moreover, LDH (lactate dehydrogenase) was increased in kidney and decreased in plasma of $K_2Cr_2O_7$ -treated rats. Activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) were increased in dams and decreased in their pups. Interestingly, these biochemical modifications were accompanied by higher plasma and lower urinary levels of creatinine, a specific indicator of glomerular function, and of urea than those of controls. Significant increase in creatinine clearance was also found in treated mothers and in their progeny. Histological studies showed an infiltration of mononuclear cells, necrosis and vascular congestion in kidney of pups and dams. Based on the present findings, $K_2Cr_2O_7$ administered to female rats during late pregnancy and early postnatal periods, provoked kidney damages in dams and their offspring.

LB53. NEPHROTOXICITY INDUCED BY COBALT IN ADULT RATS AND THEIR PROGENY: ALLEVIATION BY PROPOLIS

El Mouldi Garoui

Life Department, Faculty of Sciences, Sfax, Tunisia

The aim of this study was to add further evidence to the biochemical changes produced in cobalt-exposed rats and to investigate the potential role of Tunisian propolis against the cobalt-induced renal damages. Pregnant Wistar rats were divided into four groups as follows: Group 1 (control group) received distilled water, Group 2 (Co group) received by drinking water 350 ppm of $CoCl_2$, Group 3 (Co+Propolis group) consumed both orally 350 ppm $CoCl_2$ and propolis supplemented in their diet (1g/100g of diet). Dams in group 4 (Propolis group) consumed propolis alone at a dose of 1g/100 g of diet. Exposure of rats to cobalt from the 14th day of pregnancy until day 14 after delivery elevated levels of renal MDA, decreased both renal GSH content and the antioxidant enzyme activities (CAT, SOD, GPx) and altered the renal function as assessed by the increased plasma of urea and creatinine levels. It caused also histopathological damages in the kidney of lactating rats and pups compared to control group. Co-administration of propolis in the diet of cobalt-exposed rats reduced the elevated MDA value, increased the antioxidant enzyme activities and normalized kidney morphology. The data suggested that administration of propolis during late pregnancy and early postnatal periods might be a potential candidate agent against cobalt-induced nephrotoxicity in adult rats and their offspring.

LB54. ANTHOCYANINS FROM PURPLE SWEET POTATO REGULATES NUCLEAR NRF2 AND NF-KB DURING PREVENTION OF OXIDATIVE LIVER INJURY IN A DIMETHYLNITROSAMINE MODEL

Hye Gwang Jeong¹, Yong Pil Hwang², Jae Ho Choi³ and Young Chul Chung³

¹Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, South Korea,

²Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, South Korea, ³Division of Food Science, International University of Korea, Jinju, South Korea

In this study, we examined whether an anthocyanin fraction (AF) from purple sweet potato may prevent dimethylnitrosamine (DMN)-induced liver injury by inducing antioxidants via nuclear erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) pathways, and reducing inflammation. Treatment with AF prior to administering DMN significantly attenuated the increased serum ALT and AST activity observed in untreated groups. It also prevented the formation of hepatic malondialdehyde and the depletion of glutathione, and maintained normal glutathione-S-transferase (GST) activity in the livers of DMN-intoxicated rats. Furthermore, AF increased the expression of Nrf2, NADPH: quinone oxidoreductase-1, heme oxygenase-1, and GSTalpha, which were reduced by DMN, and decreased the expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase. An increase in the nuclear translocation of NF-kB was observed in the DMN-induced liver injury group, but AF inhibited this translocation. Taken together, these results demonstrate that AF increases the expression of antioxidant enzymes and Nrf2, and at the same time decreases the expression of inflammatory mediators in DMN-induced liver injury. These data imply that AF induces antioxidant defense via the Nrf2 pathway, and reduces inflammation via NF-kB inhibition.

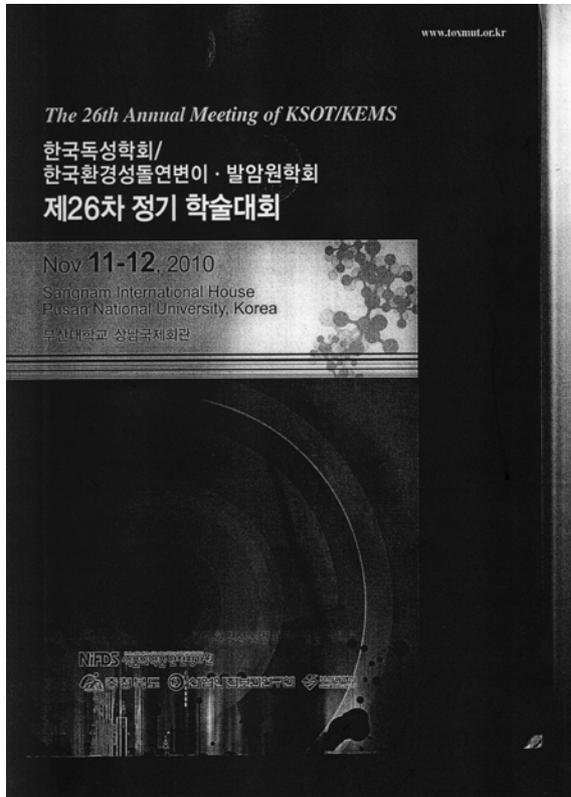
LB55. EVALUATION OF SURVIVAL IN SIMULATED GASTROINTESTINAL CONDITIONS OF ALGINATE-CHITOSAN-ALGINATE ARTIFICIAL MICROCAPSULES

Farzaneh Lotfipour and Maryam Maghsoudi

Pharmaceutics, School of pharmacy, Tabriz University Of Medical Sciences, Tabriz, Iran, Tabriz, Iran

Oral administration of artificial cell microcapsules entrapping live bacterial cells is a promising approach in disease therapy. However, the current technology of microcapsules limits this approach. In this study, alginate-chitosan-alginate (ACA) microcapsules entrapping live bacterial cells were prepared with the purpose of oral delivery for therapy, and their in vitro properties were investigated. *Lactobacillus casei* were used as the model bacterial strain. ACA microcapsules remained intact and stable in simulated gastrointestinal fluid and the entrapped bacteria cells survived and grew normally. Moreover, ACA microcapsules were more stable than alginate-polylysine-alginate

- ④ Jae Ho Choi, Yong Pil Hwang, Chul Yung Choi, Young Chul Chung, Hye Gwang Jeong (2010). Prevention of hepatic fibrosis and hepatic stellate cells proliferation by anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato. The 26th Annual Meeting of KSOT/KEMS (한국 독성학회. 한국환경성 들연변이 발암원학회). November 11-12. 부산대.



P-094

PREVENTION OF HEPATIC FIBROSIS AND HEPATIC STELLATE CELLS PROLIFERATION BY ANTHOCYANIN ISOLATED FROM THE PURPLE-FLESHED SWEET POTATO

Jae Ho Choi¹, Yong Pil Hwang¹, Chul Yung Choi²,
Young Chul Chung² and Hye Gwang Jeong^{1*}

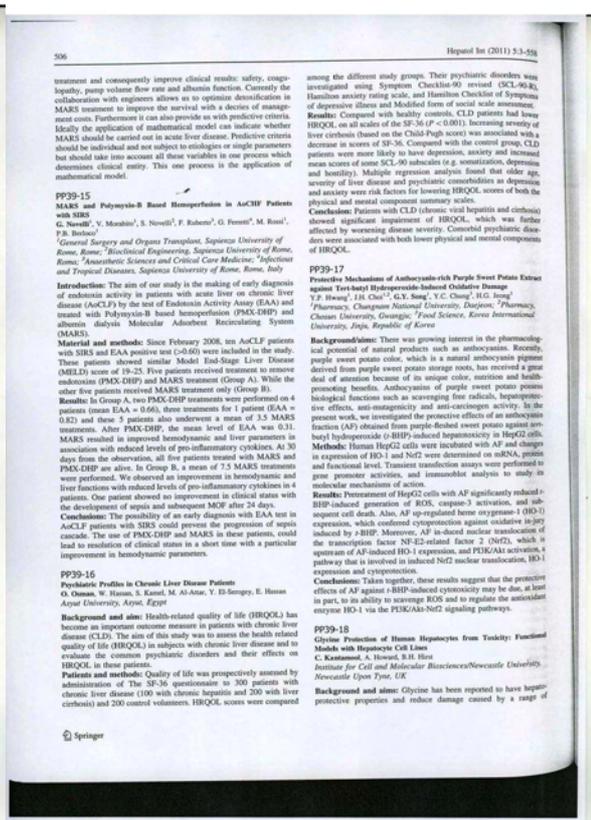
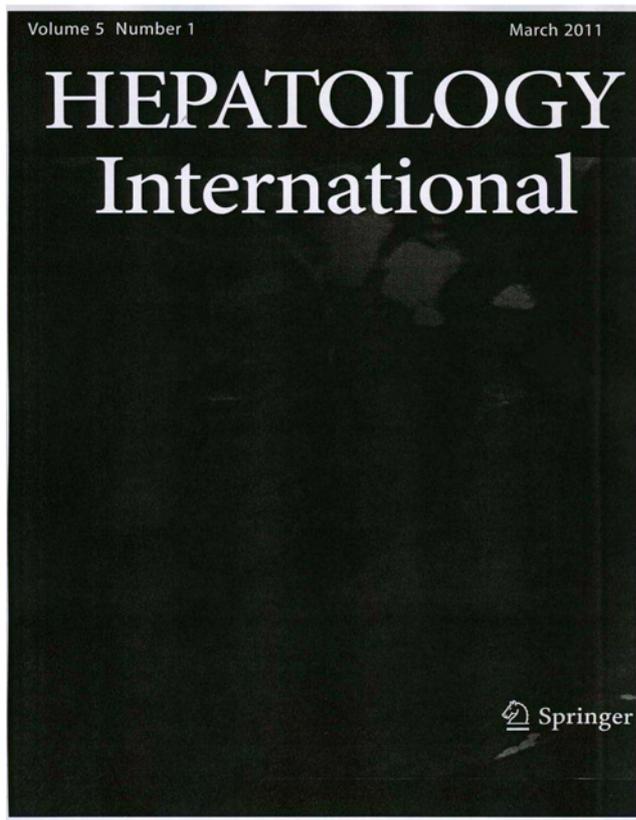
¹Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University
²Department of Food Science, Korea International University

Liver fibrosis is characterized by an abnormal hepatic accumulation of extracellular matrix (ECM) that results from both increased deposition and reduced degradation of collagen fibers. It is a complex dynamic process and reflects the balance between ECM synthesis and degradation. Hepatic injury is associated with both increased autocrine PDGF signalling and up-regulation of PDGF receptor. The purpose of the present study was to investigate the in vivo and in vitro effects of anthocyanin fraction (AF) isolated from the purple-fleshed sweet potato on dimethylnitrosamine (DMN)-induced hepatic fibrosis and PDGF-BB-induced HSCs proliferation. AF reduced the DMN-induced serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activities and elevated DMN-reduced body and liver weights. AF reduced the DMN-induced histopathological changes and collagen contents. Also, AF reduced the DMN-induced expression of alpha-smooth muscle actin (α-SMA), type I and III collagen, PDGF receptor-beta (PDGFR-β), tumor necrosis factor-α and transforming growth factor-β. The proliferation of HSCs is a critical step in hepatic fibrogenesis. AF reduced the PDGF-BB-induced proliferation as well as α-SMA expression by PDGF-BB-induced Akt and ERK1/2 activation. Also, AF reduced the activation of PDGFR-β following PDGF-BB stimulation, providing a mechanism for the inhibition of AF-mediated tyrosine kinase. In summary, our results suggest that AF exerted similar actions against PDGF-induced anti-proliferation in HSCs and ameliorated hepatic fibrosis in DMN-treated rats.

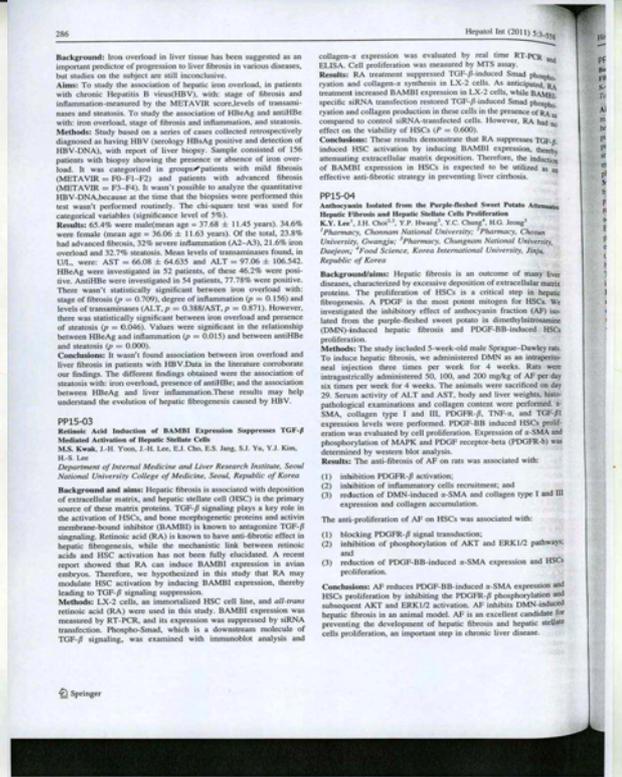
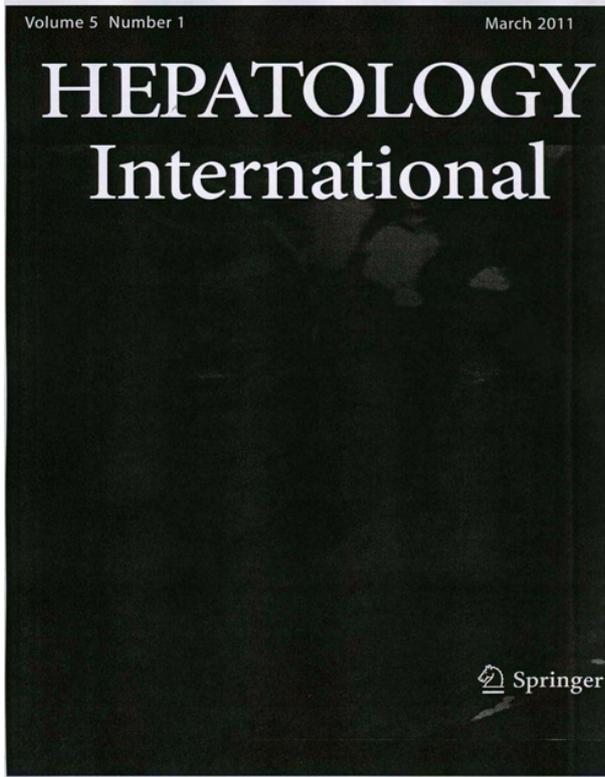
Keywords: Anthocyanin, Purple-fleshed sweet potato, Hepatic fibrosis, Hepatic stellate cells, α-SMA, DMN, PDGF-BB

372 ◀◀

- ⑤ Yong Pil Hwang, Jae Ho Choi, Young Chul Chung, Hye Gwang Jeong (2011). Protective mechanisms of anthocyanin-rich purple sweet potato extract against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage.



⑥ Kwang Youl Lee, Jae Ho Choi, Yong Pil Hwang, Young Chul Chung, Hye Gwang Jeong (2011). Anthocyanin isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuates hepatic fibrosis and hepatic stellate cells proliferation.



- ⑧ Yong Pil Hwang, Jae Ho Choi, Hye Gwang Jeong (2011). Anthocyanins from purple sweet potato protects against *tert*-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress by increasing expression of heme oxygenase-1 in a PI3K and ERK/Nrf2-dependent manner. The 50h Annual Meeting of Society of Toxicology, Washington D.C, USA. Mar 6-10. (미국 독성학회).

The Toxicologist
Supplement to *Toxicological Sciences*

50th Anniversary
Annual Meeting and ToxExpo™
Washington, D.C.

Celebrating 50 Years of Service in Science

An Official Journal of
the Society of Toxicology

SOT Society of Toxicology
Creating a Safer and Healthier World
by Advancing the Science of Toxicology
www.toxicology.org

OXFORD
UNIVERSITY PRESS

ISSN 1527-0824
Volume 120, Supplement 2,
March 2011
www.toxicol.oxfordjournals.org

2213. **PI3K/AKT AND ERK1/2 SIGNALING PATHWAYS ARE INVOLVED IN THE PROTECTIVE EFFECTS OF ANTHOCYANIN AGAINST TERT-BUTYL HYDROPEROXIDE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN HEPG2 CELLS**

Y. Choi, J. Choi, J. Han, H. Choi, Y. Hwang, and H. Jeong
Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea and Yonsei University, Seoul, Republic of Korea

Anthocyanin, a natural polyphenolic compound, is known to have various biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, and anti-cancer effects. In this study, we investigated the protective effects of anthocyanin against tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative stress in HepG2 cells. t-BHP treatment induced oxidative stress, as measured by increased levels of reactive oxygen species (ROS) and decreased levels of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). Anthocyanin treatment significantly reduced ROS levels and increased SOD and CAT levels. Western blot analysis showed that anthocyanin treatment increased the expression of heme oxygenase-1 (HO-1), a known antioxidant enzyme. The protective effect of anthocyanin was abolished by the PI3K inhibitor LY294002 and the ERK1/2 inhibitor PD184053. These results suggest that PI3K and ERK1/2 signaling pathways are involved in the protective effect of anthocyanin against t-BHP-induced oxidative stress in HepG2 cells.

2214. **ANTHOCYANIN FROM PURPLE SWEET POTATO PROTECTS AGAINST TERT-BUTYL HYDROPEROXIDE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN HEPG2 CELLS**

Y. Hwang, J. Choi, H. Choi, H. Jeong, and H. Jeong
Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea

Anthocyanin, a natural polyphenolic compound, is known to have various biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, and anti-cancer effects. In this study, we investigated the protective effects of anthocyanin against tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative stress in HepG2 cells. t-BHP treatment induced oxidative stress, as measured by increased levels of reactive oxygen species (ROS) and decreased levels of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). Anthocyanin treatment significantly reduced ROS levels and increased SOD and CAT levels. Western blot analysis showed that anthocyanin treatment increased the expression of heme oxygenase-1 (HO-1), a known antioxidant enzyme. The protective effect of anthocyanin was abolished by the PI3K inhibitor LY294002 and the ERK1/2 inhibitor PD184053. These results suggest that PI3K and ERK1/2 signaling pathways are involved in the protective effect of anthocyanin against t-BHP-induced oxidative stress in HepG2 cells.

2215. **ANTHOCYANIN FROM PURPLE SWEET POTATO PROTECTS AGAINST TERT-BUTYL HYDROPEROXIDE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN HEPG2 CELLS**

J. Choi, Y. Hwang, J. Choi, and H. Jeong
Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea

Anthocyanin, a natural polyphenolic compound, is known to have various biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, and anti-cancer effects. In this study, we investigated the protective effects of anthocyanin against tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative stress in HepG2 cells. t-BHP treatment induced oxidative stress, as measured by increased levels of reactive oxygen species (ROS) and decreased levels of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). Anthocyanin treatment significantly reduced ROS levels and increased SOD and CAT levels. Western blot analysis showed that anthocyanin treatment increased the expression of heme oxygenase-1 (HO-1), a known antioxidant enzyme. The protective effect of anthocyanin was abolished by the PI3K inhibitor LY294002 and the ERK1/2 inhibitor PD184053. These results suggest that PI3K and ERK1/2 signaling pathways are involved in the protective effect of anthocyanin against t-BHP-induced oxidative stress in HepG2 cells.

2216. **ANTHOCYANIN FROM PURPLE SWEET POTATO PROTECTS AGAINST TERT-BUTYL HYDROPEROXIDE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN HEPG2 CELLS**

J. Choi, Y. Hwang, J. Choi, and H. Jeong
Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea

Anthocyanin, a natural polyphenolic compound, is known to have various biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, and anti-cancer effects. In this study, we investigated the protective effects of anthocyanin against tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative stress in HepG2 cells. t-BHP treatment induced oxidative stress, as measured by increased levels of reactive oxygen species (ROS) and decreased levels of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). Anthocyanin treatment significantly reduced ROS levels and increased SOD and CAT levels. Western blot analysis showed that anthocyanin treatment increased the expression of heme oxygenase-1 (HO-1), a known antioxidant enzyme. The protective effect of anthocyanin was abolished by the PI3K inhibitor LY294002 and the ERK1/2 inhibitor PD184053. These results suggest that PI3K and ERK1/2 signaling pathways are involved in the protective effect of anthocyanin against t-BHP-induced oxidative stress in HepG2 cells.

2217. **ANTHOCYANIN FROM PURPLE SWEET POTATO PROTECTS AGAINST TERT-BUTYL HYDROPEROXIDE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN HEPG2 CELLS**

J. Choi, Y. Hwang, J. Choi, and H. Jeong
Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea

Anthocyanin, a natural polyphenolic compound, is known to have various biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, and anti-cancer effects. In this study, we investigated the protective effects of anthocyanin against tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative stress in HepG2 cells. t-BHP treatment induced oxidative stress, as measured by increased levels of reactive oxygen species (ROS) and decreased levels of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). Anthocyanin treatment significantly reduced ROS levels and increased SOD and CAT levels. Western blot analysis showed that anthocyanin treatment increased the expression of heme oxygenase-1 (HO-1), a known antioxidant enzyme. The protective effect of anthocyanin was abolished by the PI3K inhibitor LY294002 and the ERK1/2 inhibitor PD184053. These results suggest that PI3K and ERK1/2 signaling pathways are involved in the protective effect of anthocyanin against t-BHP-induced oxidative stress in HepG2 cells.

- ⑨ HWANG Yong Pil, CHOI Jae Ho, KIM Hyung Gyun, PARK, Bong Hwan, JEONG Hye Gwang. Protective Mechanisms of Anthocyanin-Rich Purple Sweet Potato Extract against *tert*-Butyl Hydroperoxide-Induced Hepatotoxicity. 대한약학회, Drug Discovery and Development as a New Growth Engine. April 21 (Thu) ~ 22 (Fri), 2011 (BEXCO).

ISSN 1598-8047

2011

PROCEEDINGS

of the Spring International Convention of The Pharmaceutical Society of Korea

April 21 (Thu) ~ 22 (Fri), 2011

Busan Exhibition & Convention Center (BEXCO)

Drug Discovery and Development as a New Growth Engine



P2-31 Suppressive Effect of JB30 on Lipopolysaccharide-Induced Nitric Oxide Synthesis

Ji-Daean, LEE In-fu, KIM Yong-Jae¹, KIM Taek-Young^{1*}
¹Division of Proprietary Science Education, Jonyoung University, Wajin 220-720, Korea; ²Division of Biological Science and Technology, Hanyang University, Wajin 220-749, Korea
 Presenting author: kjd@jonyoung.ac.kr
 *Corresponding author: kjd@jonyoung.ac.kr

Inflammation is a multi-step process which plays a key role in response to infection and injury. However, overexpression of pro-inflammatory mediators, such as iNOS, COX-2, and other cytokines can contribute to the pathogenesis of various diseases. The present study was undertaken to examine whether JB30 has a suppressive activity on these factors by inhibiting iNOS degradation in LPS-stimulated macrophage RAW 264.7 cells. The result showed that JB30 inhibited the mRNA and protein expression of iNOS and COX-2 in a dose-dependent manner. In addition, the mRNA level of pro-inflammatory cytokines, such as IL-1 β , IL-6, were reduced by JB30. Molecular analysis demonstrated that JB30 suppressed LPS-stimulated degradation of I κ B α in a concentration-dependent manner which is related to the nuclear translocation of NF- κ B. Moreover, JB30 clearly suppressed the phosphorylation of mitogen-activated protein kinases (MAPKs; JNK, ERK and p38), whereas it did not exhibit the suppression of phosphotyrosine-Akt protein expression. Taken together, these results suggest that JB30 can be a potential modulator in anti-inflammatory mechanism in macrophage RAW 264.7 cells.

P2-32 Characteristic of Prenatal Valproate Exposure-Induced Autistic Symptoms in Sprague-Dawley Rats

Kim Ki-Chan, KIM Min¹, GO Hyeo-Sung, CHOI Chang-Son¹, CHEONG In-Hoon², SHIN Chan-Young³, JO Kwang-Hy^{4*}
¹College of Pharmacy, Seoul National University, Korea; ²Center for Neurotoxicology Research, EBSU, Kailin University, Korea; ³Department of Pharmacy, Sahlgrenska University, Seoul, Korea; ⁴Department of Toxicology, School of Medicine, Kyungil University, Korea; ⁵College of Pharmacy, Chon University, Korea
 Presenting author: kch@snu.ac.kr
 *Corresponding author: kch6123@snu.ac.kr

Prenatal exposure to valproic acid (VPA) induces neural tube defects and impairment in social behaviors related to autistic spectrum disorder in newborn, which make it a useful animal model of autism. In this study, we compared the effects of different H99 window of prenatal valproic acid exposure for inducing the altered social behaviors relevant to autism from embryonic day 7 to embryonic day 15 in Sprague-Dawley rats to determine the critical periods for the impairment. Compared to E7, E9.5 and E15 exposure, VPA exposure at E12 showed most significant changes in behavior over control animals with reduced sociability and social preference. E9.5 exposure to valproic acid showed strong reproductive toxicity including decrease in the number of live births. In general, exposure at E15 showed only marginal effects on reproduction and social behaviors. Finally, VPA-exposed rats at E12 were more sensitive to electric shock than VPA-exposed rats at any other periods. These results suggested that E12 is the critical period in rats when valproate exposure has prominent effects for inducing the altered social behavior similar to human autistic behavior.

P2-33 Effect against Mercury Chloride-Induced Nephrotoxicity by Activated Curcuminoid-Walid Ginseng in Rats

JUNG Tae-Sung, JANG Do-Kyun, KIM Won-Tae, KANG Jae-Seon^{*}
 Department of Pharmacy, Kyungpook University, Korea;
 Presenting author: taesung@kpu.ac.kr
 *Corresponding author: jkang8551002@kpu.ac.kr

Curcuminoid ginseng (CWG) is the roots of *Panax ginseng* C. A. Meyer (Asteraceae) used for traditional medicine as a tonic and as a remedy for a variety of pathological conditions. There have been many reports of the great pharmacological activities including anti-inflammation, lowering blood pressure, lowering blood lipid, and antioxidant activity. We previously established activation conditions of CWG activated antioxidant-walid ginseng (ACWG) for increasing bioavailability. In this study, we reported protective effects of ACWG against nephrotoxicity induced by mercury chloride (HgCl₂) in the rats. The Sprague-Dawley rats were used in the present experiment and divided into four groups: one group was orally given saline and served as a control group, two groups of rats were either CWG (50 mg/kg) or ACWG (50 mg/kg), once daily oral dose for 5 days prior to HgCl₂ (3 mg/kg, i.p.) injection, and the last group of rats was orally treated i.p. with HgCl₂. Blood samples for the biochemical analysis were obtained from all rats and specimens of kidney were removed and prepared for histochemical study. The results revealed that the rats exposed with only HgCl₂ showed increase in levels of blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine, serum urea nitrogen (ALT), aspartate aminotransferase (AST), BUN that were given CWG and ACWG group showed a significant decrease in BUN, serum creatinine, ALT, and AST levels or compared with only HgCl₂ group. Especially, ACWG group also showed significant decrease and structural pathologically less changes in kidney tissue than CWG group and HgCl₂ only. We can conclude that ACWG is considered to have some beneficial effect on the protection of kidney from the nephrotoxicity.

P2-34 Protective Mechanisms of Anthocyanin-Rich Purple Sweet Potato Extract against *tert*-Butyl Hydroperoxide-Induced Hepatotoxicity

HWANG Yong-Pil, CHOI Jae-Ho, KIM Hyung-Gyun, PARK Bong-Hwan, CHUNG Young-Chul, JEONG Hye-Gwang^{*}
 Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, Korea; ²Department of Food Science, College of Public Health and Natural Science, Korea International University, Jeju, Korea
 Presenting author: hgyang@knu.ac.kr
 *Corresponding author: hgyang@knu.ac.kr

Antioxidants of purple sweet potato possess biological functions such as scavenging free radicals, hepatoprotective effects, anti-inflammatory and anti-carcinogenic activity. In the present work, we investigated the protective effects of an anthocyanin fraction (AF) obtained from purple-fleshed sweet potato on *tert*-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced hepatotoxicity in a cultured HepG2 cell line and in rat liver. Treatment with AF prior to the administration of t-BHP significantly prevented the increase in serum levels of hepatic enzyme markers (ALT, AST) and lipid peroxidation and reduced oxidative stress, as measured by glutathione content, in the liver. Histochemical evaluation of the liver also revealed that AF reduced the incidence of liver lesions. The *in vivo* study showed that AF significantly reduced t-BHP-induced oxidative injury in HepG2 cells, as determined by cell cytotoxicity, intracellular glutathione content, lipid peroxidation, reactive oxygen species (ROS) levels, and caspase-3 activation. Also, AF up-regulated phase II genes including heme oxygenase-1 (HO-1), NQO1, and GSH S-transferase, and glutathione S-transferase. Moreover, AF induced NAD(P)H nuclear translocation and PDK/Akt activation, pathways that are involved in inducing NAD nuclear translocation. Taken together, these results suggest that the protective effects of AF against t-BHP-induced hepatotoxicity may, at least in part, be due to its ability to scavenge ROS and to regulate the antioxidant enzyme HO-1 via the PDK/Akt and Nrf2 signaling pathways.

⑩ Jun Min Choi, Sun Woo Jin, Young Chul Chung. Isolation of characteristics of acetobacter for purple-fleshed sweet potato fermentation. October 31 ~ November 2i), 2011 (BEXCO).

Isolation and Characteristics of Acetobacter for Purple-Fleshed Sweet Potato Fermentation

Jun-Min Choi, Sun-Woo Jin, Young-Chul Chung^{*}
Dept. of Food Science, International University of Korea, Inju, 660-730, Korea

Abstract

- The six wild strains were isolated from the purple-fleshed sweet potato vinegar extract and these strains were isolated individually by increasing the capability of producing acetic acid individually.
- All 6 strains, three (KT-81, WT-82, NT-83) of them were chosen as the acetobacter with high productivity.
- The isolated strains were able to grow in the presence of acetic acid, ethanol and glucose, and produced acetic acid in the range of 7.4 ~ 50.8 % after 15 days of static cultivation at 25 °C.
- The findings from the comparative experiment suggest that the wild strains are more effective to produce the purple-fleshed sweet potato vinegar than acetobacter strain (KCTC 11010) used industrially as standard.

Introduction

This study was carried out to isolate acetobacter with high productivity from the purple-fleshed sweet potato vinegar extract and observed the fermentability in the substrate composition and chemical change after inoculating the isolated strains to the fermented purple-fleshed sweet potato extracts. The six wild strains were isolated from the purple-fleshed sweet potato vinegar extract and these strains were isolated individually by increasing the capability of producing acetic acid individually.

Methods

- Productivity of acetic acid - Capability of producing acetic acid was observed and measured by using ethanol medium for the isolation of acetobacter(1).
- Fermentability of acetic acid - Productivity of acetic acid used Paper disc method for the secondary isolation of acetobacter(2).
- pH and Acidity - pH was measured by pH meter(YSI 2201, Yock, Seoul, Korea) and acidity was determined by the method of Kawan TB (14)(3).
- Content of sugar and alcohol - The content of sugar was measured by optical refractometer(TO 242a, Aomori Co., Ltd, Tokyo, Japan) and the content of alcohol was determined by the method of Jeong U et al.(4).
- The number of microorganism(CFU) - CFU was determined by using GUM medium as acetobacter medium(5).

Results

Table 1. Productivities of acetic acid from isolated acetobacters

Strain	KT-81	WT-82	NT-83	WT-84	WT-85	WT-86
Final conc.	8.8	2.8	3.2	1.9	2.4	1.4

Table 2. Fermentability of isolated bacterial strains

Strain	KT-81	WT-82	WT-83
Growth conc.	0.4	1	1.2
Final conc.	0.4	2.4	1.4
Final conc.	0.3	0.2	0.1

Fig. 3. Clear zone formed by isolated bacteria

Fig. 2. The periodical change in the fermented purple-fleshed sweet potato extracts

Fig. 4. The periodical change in the fermented purple-fleshed sweet potato extracts by seven acetobacter

References

- Park SH, Kim SH, Kim JH. Characterization of high acetic acid-producing strains and various quality parameters of vinegar. *Journal of Applied Microbiology*. 2009;106(1):100-108.
- Kim JY, Park SH, Kim JH. Isolation of acetobacter strains by the selection of acetic acid-producing strains. *Journal of Applied Microbiology*. 2010;108(1):100-108.
- Kim JY, Park SH, Kim JH. Isolation and characterization of acetobacter sp. 73-0001. *Journal of Applied Microbiology*. 2010;108(1):100-108.
- Jeong U, Kim JH, Kim JH. Fermentability of purple-fleshed sweet potato vinegar extract by acetobacter strains. *Journal of Applied Microbiology*. 2010;108(1):100-108.
- Kim JY, Park SH, Kim JH. Isolation and characterization of acetobacter sp. 73-0001. *Journal of Applied Microbiology*. 2010;108(1):100-108.

IUK **인제대학교**

주 의

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