

발간등록번호

11-1541000-000509-01

보안과제 (), 일반과제 (○) 과제번호 : 108055-2-1-CG000

국산 쑥 추출물의 기능성(비만개선 및 항산화성) 탐색 및
이를 활용한 관능성 개선 쑥 추출물 함유 식음료 제품
개발

(Development of new beverages containing worm-woods
extracts with anti-obesity, antioxidants, and modified
sensory quality)

쑥 추출물의 제조, 기능성 탐색 및 미세캡슐화
(Production of mugwort extract, search of anti-obesity
activity and other functionality about mugwort, and
microencapsulation containing mugwort extract)

관능성이 개선된 쑥 추출물 활용 식음료 제품 개발
(Development of new beverages containing worm-woods
extracts with modified sensory quality)

서울산업대학교 산학협력단

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “국산 쑥추출물의 기능성(비만개선 및 항산화성) 탐색 및 이를 활용한 관능성 개선 쑥추출물 함유 식음료 제품 개발에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2010 년 6 월 24 일

주관연구기관명 : 서울산업대학교

주관연구책임자 : 이 재 환

세부연구책임자 : 이 재 환

연 구 원 : 장 판 식

연 구 원 : 김 미 자

연 구 원 : 정 민 규

연 구 원 : 박 민 희

연 구 원 : 신 민 규

연 구 원 : 유 원 식

연 구 원 : 홍 세 영

협동연구기관명 : (주) 센소메트릭스

협동연구책임자 : 조 완 일

보고서 요약서

과 제 명	(국문) 국산 쑥 추출물의 기능성(비만개선 및 항산화성) 탐색 및 이를 활용한 관능성 개선 쑥 추출물 함유 식음료 제품 개발				
	(영문) Development of new beverages containing worm-woods extracts with anti-obesity, antioxidants, and modified sensory quality				
주관연구기관	서울산업대학교 산학협력단	주 관 연 구	(소속) 서울산업대학교 식품공학과		
참 여 기 업	(주) 센소메트릭스	책 임 자	(성명) 이재환		
총연구개발비 (240,000천원)	계	240,000	총 연 구 기 간	2008. 6. 25. ~ 2010. 6. 24.(2년 0월)	
	정부출연 연구개발비	180,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	24
	기업부담금	60,000		내부인원	24
	연구기관부담금			외부인원	

○ 연구개발 목표 및 내용

- 본 연구개발의 목표는 다양한 국산 쑥 추출물의 비만개선능 및 항산화 등의 기능성을 확인하고 미세캡슐화를 통한 쑥의 소재화를 달성, 쑥 추출물을 이용한 기능성 식음료 개발 및 제품화하는 것임.
- 본 연구개발의 내용은 다음과 같음.
강화도산 싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥을 70% 에탄올을 이용하여 내용물을 추출 하여 유리라디칼 소거능, 양이온 라디칼 소거능, 총 페놀함량 등의 **항산화성을 탐색**하였음. 쑥 추출물의 비만 세포주인 전지방세포주(3T3-L1) 분화 억제효과를 확인하여 **항비만효과의 in vitro** 연구를 수행하였으며 high fat diet로 비만이 유도된 모델실험동물을 이용하여 참쑥 분말 1%, 3%를 포함하는 처방 식이를 7주간 섭취시켜 **항비만성을 in vivo**로 확인하였음. 쑥 특유의 휘발성분 분석을 비유기 용매 추출법인 solid phase microextraction으로 분석하였으며 이들의 식품소재화를 위해 쑥 추출물의 **미세캡슐화 공정을 도입**하여 제조조건을 반응표면분석법으로 최적화 하였고 **분말로 제조**하였음. 또한 **저장성 및 in vitro 소화 모델에 적용**하여 미세캡슐의 안정성도 측정함. 2,30대 여성 500명(여대생 200명, 직장여성 100명, 주부200명)을 대상으로하여 소비자 기호도 조사하여 **쑥 음료에 대한 기호도를 확인** 후 쑥 추출물 함유 **기능성 음료를 2종류 제조** 하였고 음료의 항산화성 및 휘발성분을 분석하였음. 20대 여성 210명을 대상으로 제조 된 쑥음료에 대한 관능기호성을 평가하였음.

○ 연구결과

- 3종류 강화쑥 추출물은 모두 항산화성을 갖고 있었으며 **싸주아리쑥>참쑥>사자발쑥** 순으로 강했음. 독성검사에서 **참쑥**이 다른 2종류의 쑥보다 독성이 낮았기에 이를 항비만검사의 시료로 선정함. 참쑥은 *in vitro* assay법인 RT-PCR 지방축적관련 유전자 변화 및 지방세포분화억제 효과가 **70%이상의 중성지방 축적 억제능**이 있었음. *in vivo*의 경우 대조구의 체중증가율이 48.9%인데 비해, 참쑥 1% 섭취 그룹은 35.0%, 참쑥 3% 그룹은 27.6% 체중증가를 나타내었음. 이 밖에 혈중 지질 변화, 지방조직에서의 지방축적관련 유전자 발현 등에서 참쑥 처리군의 항비만효과를 확인할 수 있었음.
- SPME-GC/MS로 분석한 쑥 추출물은 주로 terpenoid가 주요 휘발성분이었으며 건조방법 및 처리법에 따라 휘발성분 profile 변화를 확인함. 쑥음료 및 미세캡슐 저장에 의해 쑥 휘발성분 변화를 확인함.
- 쑥 추출물의 미세캡슐화를 위해 **이중층 미세캡슐(W/O/W type)을 92.26% 수율로 제조**하였고 입자화 시켰음. 미세캡슐은 4℃, 20℃, 40℃에서 10일까지 95% 이상의 안정성을 보인 반면, 60℃에서 안정성이 급격히 감소함. 쑥 추출물 함유 이중층 미세캡슐은 경구 섭취 시, 위에서 상대적으로 안정하고, 장에서 중심물질을 방출함으로써 생체이용률이 높은 것으로 확인됨.
- 소비자조사에서 주부 및 대학생은 쑥 추출물 함유 음료에서 ‘여성병’, ‘피부미용’의 기능성을 기대하는 것으로 조사되었음. 2종류의 쑥음료를 제조 후 저농도 쑥 음료의 종합기호도가 더 높게 나타남.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 본 연구를 통해 3건의 논문이 발표되었으며 학술대회에서 5건의 결과를 발표함. 본 연구과제를 통해 6명의 학부생과 1명의 석사의 인력양성에 사용됨.
- 쑥 및 쑥추출물의 항비만성효과에 대한 논문을 3건 더 발표할 예정임.
- 쑥 추출물의 미세캡슐을 실제 식품에 소재화 하여 산업화에 활용할 계획임.
- 본 연구중 제조 된 쑥 음료의 제품화를 위해 노력할 계획임.

요 약 문

I. 제 목

국산 쑥 추출물의 기능성(비만개선 및 항산화성) 탐색 및 이를 활용한 관능성 개선 쑥 추출물 함유 식음료 제품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- FTA 체결로 국내 농산물의 가격 경쟁력 하락 및 농민의 소득 감소가 예측되나 국내 특용작물 혹은 고기능성이 알려진 농산물을 특화시켜 고부가가치 제품을 개발한다면 이러한 어려움을 해결할 수 있을 것으로 사료된다.
- 쑥의 다양한 생리활성이 보고되고 있으며, 특히 여성병이나 미용, 항산화·항암효과가 보고되었다. 특히 우리나라에서는 강원도나 지리산 부근에서 자생, 재배한 쑥을 사용하고 있으며, 이를 이용한 제품 또한 다양하다.
- 최근 웰빙 풍조로 인해 탄산음료나 과즙 음료 시장이 축소되고 있는 가운데 차(茶) 음료 시장규모가 급속도로 커지고 있다. 그러나 쑥을 이용한 기존 쑥 음료는 특유의 향과 맛에 의해 신세대에 대한 기호성을 맞추는 데 한계가 있어 음료시장에 정착하지 못한 실정이다.
- 국내·외적으로 쑥 함유 식음료 시장 진출에 충분한 경쟁력을 확보하기 위해서는 위와 같이 쑥 특유의 향미는 일부 소비자들이나 서구인들에게는 거부 될 가능성이 있기에 휘발성분 및 맛에 대한 과학적 접근법을 통해 관능적으로 문제가 되는 특유의 향미를 줄이고 비만억제 및 항산화성이 있는 생리활성물질을 효율적으로 제공할 필요성이 있다.
- 본 연구의 목적은 쑥 추출물의 항산화 및 항 비만성 기능성을 *in vitro*와 *in vivo* 실험을 통하여 평가하고 쑥 추출물을 함유한 가루형태의 미세캡슐을 제조하는 것이다. 또한 쑥 추출물과 쑥 음료의 관능성을 측정하는 것이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 다양한 쑥으로부터 선정된 용매로 추출물 얻고 이를 이용하여, 쑥 추출물의 항산화성 등의 기타 기능성 모니터링·비만 세포주 및 모델실험동물을 이용한 쑥 추출물의 항비만성 탐색을 진행할 것이다. 또한 쑥 특유의 휘발성분 분석하고, 쑥 추출물의 미세캡슐화 공정 도입을 통해 쑥 특유의 휘발성분 변화를 측정할 것이다. 뿐만 아니라 미세캡슐화 공정을 도입함으로써 식품 소재화를 도모할 것이다. 최종적으로는 기능성 쑥 함유 제품화 가능 품목 탐색 및 선정하여 선정된 쑥 함유 제품을 제조하고 이의 휘발성분 및 관능성을 개선할 것이다.

IV. 연구개발결과

- 강화도에서 재배되는 싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥의 3가지 종류를 분류하여 각각에 대한 항산화능과 항비만성을 측정하였다. 싸주아리쑥 사자발쑥, 참쑥의 항산화능은 총 페놀성 성분 함량과 라디칼 소거능을 측정함으로써 알아보았다. *In vitro* 실험 결과 참쑥은 낮은 세포독성을 나타내었고, PPAR γ , aP2, ACC, GPDH 유전자 발현 결과로 미루어 보아

항비만성이 좋은 것으로 관찰되었다.

- 쑥 정유성분의 휘발성 성분으로는 1,8-cineole, 1-octen-3-ol, terpineol, thujone, camphor, artemisia ketone 등이 동정되었다.
- 고 안정성의 유화액(W/O/W emulsion)은 쑥 추출물 함유 미세캡슐화를 제조하는데 사용하였다. 최적조건에 의해 제조된 미세캡슐화 수율은 92.26%로 확인되었고 건조 미세캡슐화는 0.86%의 수분을 함유하였다.
- 쑥과 쑥음료의 관능검사는 20-30대 여성 500명을 대상으로 시행되었다. 쑥 추출 음료에서 가장 기대되는 기능/효능은 피부미용과 여성병(생리통 등)이었으며, 쑥 추출 음료에서 가장 바라는 특성은 ‘깔끔함’, ‘향긋함’이 두드러졌다.
- *In vivo* 연구에서 비만을 유도한 실험동물에 쑥 추출물을 적용한 결과 고지방 섭취 동물군에 비해 쑥 추출물을 섭취한 동물군에서 체중 감소와 식이 섭취의 감소를 확인하였으며, 간과 지방세포의 무게가 감소함을 관찰하였다. 또한 쑥을 섭취한 동물군에서 혈당 감소를 보였고 지방세포의 크기가 작아졌으며, 혈중 지질이 감소하였다. 이러한 결과는 쑥이 항 비만성 기능을 나타내는 것을 시사한다.
- 미세캡슐을 위한 최적 조건은 반응표면분석(RSM)을 통해 이루어 졌으며, 2차 유화제의 첨가량이 184.4 μ mol, 2차 유화액의 조성비가 0.6([Cm2]/[Wm2]), 그리고 균질화 정도가 5,696.9rpm이 최적조건으로 확인되었다.
쑥 추출물 함유 이중층 미세캡슐은 4 $^{\circ}$ C, 20 $^{\circ}$ C, 40 $^{\circ}$ C에서 10일간 안정성이 95% 이상인 반면 60 $^{\circ}$ C에서의 안정성은 78.3% \pm 0.3까지 감소하였다. pH의 안정성 실험의 경우 pH 전구간에서 30일 동안 95% 상의 안정성을 나타내었다.
- 쑥 추출물 함유 미세캡슐화에서 방출된 휘발성 성분은 limonene, aldehydes, furans 이었다.
- *In vitro* 소화 모델에 적용된 미세캡슐의 중심물질(쑥 추출물) 방출률을 측정된 결과 위 조건에서는 중심물질을 10% 이하 방출하는 반면 장 조건하에서는 70% 이상 중심물질을 방출하였다. 이는 쑥 추출물 함유 이중층 미세캡슐은 경구 섭취 시, 위에서 상대적으로 안정하고 장에서 급속히 중심물질을 방출함으로써 생체이용률이 높은 것을 시사한다.
- 관능검사 결과 참쑥에 대한 선호도가 사자발쑥의 선호도보다 높은 것으로 나타났다 ($p < 0.20$). 쑥 추출물을 함유한 두가지 종류의 음료가 제조되었다. 쑥 추출물이 저농도로 함유된 음료가 고농도의 쑥 추출물 함유 음료보다 선호도가 높았다. 소비자 희망강도에 초점을 맞출 경우, 단맛>입안느낌>색상>신맛>쑥맛>쑥향 순으로 개선이 필요한 것으로 예상된다.
- 본 연구결과는 참쑥 및 참쑥의 추출물이 항산화능과 항비만 활성을 지니는 것을 명백히 보여준다. 휘발성 분석을 통해 처리 방법에 따른 쑥의 휘발성분 분포를 알 수 있었다. 이중층 미세캡슐화는 RSM을 이용하여 접근하였고, 미세캡슐된 쑥 추출물의 생체 이용률을 확인하였다. 두 가지 종류의 쑥 시제품 음료가 제조되었으며, 쑥 추출물을 저농도로 함유한 음료가 젊은 여성에게 선호적이었다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 본 연구는 산업적으로 쑥의 사용을 증가시킬 수 있고, 유익한 식물의 하나로써 쑥의 소득 증대를 늘리는데 도움이 될 것이다.

- 또한 썩 추출물생리활성물질 함유 비만개선 음료 개발을 통해 새로운 음료 시장 개척을 통한 식품산업 발전에 활용될 수 있을 것이다.

SUMMARY

(영문 요약문)

- The objectives of this study were to evaluate the antioxidant and anti-obesity functionality of mugwort extracts *in vitro* and *in vivo* system, to encapsulate mugwort extracts for powderforms, to produce beverage containing mugwort extracts, and to evaluate the sensory properties of mugwort extracts and beverages.

For the first year of research following results were obtained.

- Three kinds of mugworts from Ganghwa island including sajuarissuk, sajabalssuk, and chamssuk were selected and tested for their antioxidant and anti-obesity functionality. Antioxidant activity were in the order of sajuarissuk, sajabalssuk, and chamssuk based on their radical scavenging ability and total phenolic contents. Results of *in vitro* assay showed that chamssuk had less cell toxicity and good anti-obesity activity using gene expression results of PPAR γ , aP2, ACC, and GPDH.
- Volatile analysis showed that 1,8-cineole, 1-octen-3-ol, terpineol, thujone, camphor, and artemisia ketone from essential oil of mugwort.
- W/O/W emulsion system was adapted to produce microencapsulation for mugwort extracts and the encapsulation yield was **92.26%** and the **moisture content** of dried microcapsules was 0.86%
- Five hundred females ranging 20~30s were recruited and sensory analysis for mugwort and beverages were tested. Beauty on skin and female disease were major interest from mugwort beverages and "cleanness" and "sweetness" were expected attributes.

In the second year of research

- *In vivo* study using animal model showed that mugwort extract had significantly reduced the weight gain and amount of diet. Also, weight of liver and adipose tissue was also significantly reduced in model samples with mugwort diet. Glucose level in blood was also improved in model with mugwort diet. The size of adipose tissue in mugwort fed models was smaller and markers for triacylglycerol level were improved. The results strongly suggested that mugwort had anti-obesity physiological functionality and enhance.
- Optimum condition for the microencapsulation using response surface methodology (RSM) follows like this : **184.4 μ mol** of the amount of second emulsifier, **0.6** of **[[C_{m2}]]/[W_{m2}]**, and **5,696.9rpm** homogenization agitation. The microcapsules

were stable upto 95% at whole pH for 30 days and stable at 4°C, 20°C, and 40°C for 10 days upto 95% while the stability at 60°C decreased to 78.3±0.3%

- Released volatiles from encapsulated mugwort extract were **limonene, aldehydes, and furans**.
- *In vitro* bioavailability test showed that less than 10% of core materials were released in gastric model systems while more than 70% of core materials were released in intestine models within 2 hours, which indicate the double layers of microcapsules were relatively stable at stomach but dissolved quickly at intestine.
- Sensory evaluation showed that chamssuk had better preference than sajabalssuk at 80% significant level. Two food beverages using mugwort extracts were produced. Beverage with lower mugwort extract had higher preference than those with higher mugwort extract. Flavor attributes expected in mugwort beverages were "sweetness">"mouthfeel" >"color">"sourness">"mugwort taste">"mugwort odor"
- The results of this study clearly showed that chamssuk extract and chamssuk had antioxidant and anti-obesity activity. Volatile analysis showed that profiles of volatiles were affected by the treatment. Double layer microencapsulation was conducted using RSM and bioavailability of the encapsulated mugwort extract was also tested. Two kinds of beverages were produced and lower contents of mugwort extract was preferred by young females.
- This study can provoke the usage of mugwort in the industrial level and help to increase the harvest mugwort as one of profitable plants.
- Food industry can have chance to expand the functional beverage markets with anti-obesity functional mugwort extracts.

CONTENTS

(영 문 목 차)

Chapter 1	Outline of research and development	14
Section 1	The necessity of research and development	14
1.	Economical and industrial importance on this study	14
A.	Properties and present application condition of mugwort	14
B.	The problem of obesity and present condition of anti-obesity	14
(1)	The serious social problem of obesity	14
(2)	The market and present patent condition of anti-obesity	15
C.	Present condition of beverage market	15
(1)	Present condition of the domestic beverage market	15
(2)	Present condition of the world beverage market	16
2.	The necessity of functional beverage development containing mugwort extract	16
3.	The possibility of functional beverage development containing domestic mugwort extract and overseas expansion to the world market	17
Section 2	The objective and range of the research and development	17
1.	The objective of this research and development	17
A.	The anti-obesity activity and function of mugwort extract	17
B.	The analysis of volatile compounds from mugwort extract and food material of mugwort using encapsulation	17
C.	Development of food product improved sensory	17
2.	The object and range of research and development in order of year	18
A.	First year	18
B.	Second year	19
Chapter 2	Current status of technical development	20
Section 1	Present condition of the domestic research and development	20
Section 2	Present condition of the world research and development	22
Chapter 3	Contents and results of research development	23
Section 1	the contents of this study	23
1.	The production, anti-obesity ability and functionality of mugwort extract	23
2.	The analysis of volatile compounds of mugwort extract and development of food material	23
3.	Making mugwort extract into food material using encapsulation	23
4.	Development of food product improved sensory	23
Section 2	Results of this study in order of year	26
1.	Results of research for the first year	26

A. Production, anti-obesity, and microencapsulation of domestic mugwort extract	26
(1) The production, anti-obesity ability and functionality of mugwort extract	26
(A) The extraction condition of domestic mugwort	26
(B) Antioxidant activity of mugwort extract	26
(C) Anti-obesity activity of mugwort extract in the cell line	32
(2) The analysis of volatile compounds of mugwort extract and development of food material using encapsulation	38
(A) Investigation of extraction method of mugwort and mugwort extract	38
(B) Development of food material using encapsulation	45
b. Development of beverage product containing mugwort extract improved sensory	53
(1) Development of concept of beverage product containing mugwort extract	53
(A) Marketing research and analysis about beverage containing mugwort extract	53
(B) Research on the trend of beverage containing anti-obesity activity and other functionality	54
(C) Development of concept of beverage product containing mugwort extract	54
2. Results of research for the second year	63
A. Evaluating anti-obesity activity of selected mugwort extract through animal testing	63
(1) Establishment of the animal testing condition	63
(A) The type of rat and method inducing obesity	63
(2) Animal testing	63
(A) Study of anti-obesity using selected mugwort extract for induced obesity animals	63
B. Stability of encapsulated mugwort extract	75
(1) Optimization of microencapsulation for maximum of the encapsulation yield	75
(A) Production of W/O/W encapsulation containing mugwort extract	75
(B) Primarily experiment for selection of significant response variable and setting range of significant change	76
(C) Optimization of microencapsulation (W/O/W type) apparatus using response surface methodology (RSM)	81
(2) Evaluation of pH and thermal stability of capsulated mugwort extract	86
(A) Evaluation of pH and thermal stability of capsulated mugwort extract	86
(B) The changes of volatile compounds from capsulated mugwort extract with storage time and temperature	88
(3) Study of changes in release of core according to various <i>in vitro</i> digestion models	92
C. Improving sensory and developing beverage food containing mugwort extract	93
(1) Sensory evaluation of chamssuk and sajabalssuk	93
(2) Sensory evaluation with concentration of chamssuk extract	96

(3) Developing beverage food containing mugwort extract	103
(4) Sensory evaluation of developed beverage food containing mugwort extract	105
D. Analysis of volatile compound from beverage food containing mugwort extract	123
Chapter 4 Objective achievement scale and condition scale on related field	132
Section 1	132
Section 2	132
Chapter 5 Research performance and utilization plan	134
Section 1 Achievement of research and development	134
1. Achievement of paper	134
A. Published paper	134
B. The paper scheduled submission	134
2. The achievement about poster at symposium	134
3. Achievement by trained researcher/Training result	134
Section 2 The plan to use the achievement	135
Chapter 6 International scientific and technical information collected in the process of research development	137
Chapter 7 Reference	138

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	14
제1절	연구개발의 필요성	14
1.	연구개발대상 기술의 경제적·산업적 중요성	14
가.	쑥의 일반 특징 및 활용 현황	14
나.	비만의 문제점과 항비만 현황	14
(1)	비만의 심각한 사회적 문제점	14
(2)	항비만 시장 및 특허현황	15
다.	국내외 음료시장의 현황	15
(1)	국내 음료 시장의 현황	15
(2)	세계 음료 시장의 현황	16
2.	국산 쑥을 이용한 기능성 쑥 음료 생산 필요성	16
3.	국산 쑥 함유 식음료 시장 개발 및 세계 음료시장 진출화 가능성	17
제2절	연구개발의 목적 및 범위	17
1.	연구개발의 목적	17
가.	쑥 추출물의 비만억제능 및 기능성 탐색	17
나.	쑥 추출물의 향미성분 분석 및 미세캡슐화를 통한 쑥의 식품 소재화	17
다.	쑥 추출물 활용 관능성이 개선된 식음료 제품 개발	17
2.	연차별 연구개발의 목표 및 범위	18
가.	1차년도	18
나.	2차년도	19
제 2 장	국내외 기술개발 현황	20
제1절	국내 기술개발 현황	20
제2절	국외 기술개발 현황	22
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	23
제1절	연구개발수행 내용	23
1.	쑥 추출물의 제조 및 비만억제능 및 기능성 탐색	23
2.	쑥 추출물의 휘발성분 분석 및 제품 소재화 개발	23
3.	쑥 추출물의 미세캡슐화를 통한 쑥 추출물 소재화	23
4.	쑥 추출물 이용 관능성 개선 제품 개발	23
제2절	연차별 연구개발수행 결과	26
1.	1차년도 연구개발수행 결과	26
가.	국산 쑥 추출물 제조, 기능성 탐색 및 미세캡슐화	26
(1)	쑥 추출물의 제조, 비만억제능 및 기능성 탐색	26
(가)	국산 쑥을 이용한 추출 조건 탐색	26

(나) 유리라디칼 소거능, 양이온 라디칼 소거능, 총 페놀함량 등의 항산화성 탐색	26
(다) 세포주를 이용한 항비만성 탐색	32
(2) 쑥 추출물의 휘발성분 분석 및 미세캡슐화를 통한 쑥의 소재화	38
(가) 쑥 및 쑥 추출물의 추출방법 확립 및 휘발성 향미성분 분석	38
(나) 미세캡슐화를 통한 쑥의 소재화	45
나. 관능성이 개선된 쑥 음료 개발	53
(1) 쑥 추출물 활용 식음료 제품 컨셉 개발	53
(가) 쑥 음료 및 비만개선 시장조사 및 국산 쑥을 이용한 기존 제품 분석	53
(나) 비만개선 혹은 기능성을 지닌 식음료 시장 동향 분석	54
(다) 쑥 추출물 활용 식음료 제품 컨셉 개발	54
2. 2차년도 연구개발수행 결과	63
가. 선정된 쑥 추출물의 동물실험을 이용한 비만억제능 탐색	63
(1) 동물실험 조건 확립	63
(가) 쥐의 종류 및 비만유도 방법	63
(2) 동물실험 연구	63
(가) 선별된 쑥 추출물을 이용한 비만동물 대상 항비만성 연구	63
나. 미세캡슐화된 쑥 식품소재의 안정성	75
(1) 미세캡슐화 수율 극대화를 위한 반응조건 최적화	75
(가) 쑥 추출물 함유 이중층 미세캡슐 제조	75
(나) 유효한 반응변수 선정 및 유의적인 변화 범위 설정을 위한 예비실험	76
(다) 반응표면 분석법을 이용한 이중층 미세캡슐화(W/O/W type) 공정의 최적화	81
(2) 미세캡슐의 pH 및 저장온도에 따른 안정성 평가	86
(가) 쑥 추출물 함유 미세캡슐의 pH 및 저장온도에 따른 저장 안정성 평가	86
(나) 쑥 추출물 함유 미세캡슐의 저장온도와 저장기간에 따른 휘발성분 변화 분석	88
(3) 미세캡슐의 체내 복원성 확인	92
다. 쑥음료의 관능성 개선 및 제품개발	93
(1) 참쑥, 사자발쑥 추출물의 향 선호 관능성 검사	93
(2) 참쑥 추출물 함유 농도에 따른 관능성 검사	96
(3) 추출물 함유 쑥음료 시제품 개발	103
(4) 쑥 추출물 이용 식음료 제품의 관능성 검사	105
라. 쑥음료 시제품의 휘발성분 분석	123
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	132
제1절 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 목표달성도	132
제2절 관련분야의 기술발전예의 기여도	132
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	134
제1절 연구개발 성과	134
1. 논문게재 성과	134
가. 게재논문	134

나. 투고예정 논문	134
2. 학술대회 발표 성과	134
3. 인력활용/양성 성과	134
제2절 연구개발성과 활용 계획	135
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	137
제 7 장 참고문헌	138

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 필요성

1. 연구개발대상 기술의 경제적·산업적 중요성

- 국내산 쑥을 이용하여 농민의 소득 증대 기대
- 국내산 쑥 추출물의 비만개선능 등의 생리활성 규명
- 쑥 추출물생리활성물질 함유 비만개선 음료 개발을 통해 새로운 음료 시장 개척을 통한 식품산업 발전

가. 쑥의 일반 특징 및 활용 현황

- 쑥(worm-woods, mugwort)은 *Artemisia*종에 속하며 다년생 초본으로 국화과에 속하는 여러해살이 풀이다. 우리나라에서는 약 38여종이 분포하며 강원도나 지리산 부근에서 발견되는 인진쑥, 강화도, 백령도, 당진 등의 서해안 지역의 약쑥 및 강화도의 자생종인 사자발쑥 등이 있다.
- 쑥은 전통적으로 한방에서는 만성위장병, 구충, 악취제거, 하부복통, 천식 및 지혈 등에 효과가 있는 것으로 보고되어지고 있으며, 또한 소화를 돕고 피를 맑게 하며 이뇨작용, 강장작용 및 미용에 좋다고 알려져 있다. 이 밖에 쑥의 소염효과, 항균 및 항암효과, 혈중 에탄올 농도저하 효과, 항산화효과 등의 생리활성 작용이 보고되어 있으며, 인진쑥의 에탄올 추출물은 고혈압, 뇌졸중 등의 순환기계 질환에 효능을 보인다고 알려져 있다. 또한 쑥의 정유성분에 의한 항돌연변이 효과, 인진쑥의 간기능 보호효과, 항염증효과 등이 보고되었으며, 야세오시딘이나 세사민 등 쑥이 함유하는 다양한 성분들은 위궤양이나 암, 고지혈증 등에 특히 효과가 있다고 알려져 있으며, 넓게는 당뇨나 각종 간기능 장애에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다.
- 어린 쑥의 식물체 100g당 단백질 5.2g, 지질 0.8g, 당질 4.0g, 섬유 3.7g, 회분 2.0g이 들어있고, 무기물과 비타민으로 칼슘 93mg, 인 55mg, 철 10.9mg, 비타민 A 7940IU, 비타민 B1 0.44mg, 비타민 B2 0.16mg, 나이아신 4.5mg, 비타민 C 20mg 등이 함유된 것으로 보고되었다. 쑥은 영양성분 외에도 sesquiterpenes, flavonoids, coumarins, isoprenyl coumaric acid 유도체, sterol, methyl jasmonate, γ -tocopherol 등의 생리활성 물질이 함유되어 있다.
- 최근 쑥의 독특한 향기와 맛을 활용한 국수, 과자, 음료대용 식품이 개발되고 있으며, 쑥 첨가물에 의한 식품제조예를 보면 쑥 첨가에 의한 돈육 및 계육의 이화학적 변화, 빵과 떡에서의 저장성 향상, 소시지에서 품질 향상 및 아질산 잔류 농도 감소, 유산균음료에서 유산균의 증식 촉진 및 맛 개선 효과 등이 보고되어지고 있다.

나. 비만의 문제점과 항비만 현황

(1) 비만의 심각한 사회적 문제점

- 비만 인구는 전 세계적으로 급격하게 증가하고 있어 전 세계에 과체중, 비만인구가 10억 명으로 추산하고 있으며, 비만 관련 심혈관 질환으로 매년 약 1700만 명이 사망하고 있다.
- 비만은 대사성 증후군, 당뇨병, 암, 불임의 직·간접적인 원인으로, 세계보건기구는 2015년에는 이보다 50% 증가한 15억 명의 비만인구가 심각한 건강문제로 고통 받을 것이라고 경고하고 있다.
- 우리나라도 예외는 아니어서 40세 이상 우리나라 성인 인구의 약 30% 이상이 과체중 혹은 비만 인구이다. 특히 제2형 당뇨병, 고혈압, 고지혈증, 심혈관질환의 발생빈도는 체질량지수가 증가에 따라 함께 증가하기 때문에 비만의 증가는 향후 막대한 의료비 지출로 이어질 것으로 예상된다.
- 2006년 현재 우리나라의 비만인구는 32.4%로 나타나, 10년 전에 비해 1.6배나 증가한 수치로써, 연간 비만치료와 사망 등으로 1조 8000억원의 사회경제적 비용이 발생하고 있으며, 이러한 증가율은 비만인구의 증가와 함께 늘어날 전망이다.
- 최근 건강보험공단의 조사에 따르면 비만인 사람은 정상인보다 당뇨와 고혈압의 위험이 각각 2배, 1.5배 높은 것으로 보고되었다.

(2) 항비만 시장 및 특허현황

- 국내 연구개발 투자 현황 및 전망을 살펴보면, 우리나라의 경우 제약회사나 일부 실험실에서 천연물에서 비만 치료 효능을 가지는 물질을 발굴하는 연구가 진행되고 있으나, 비만의 발생 메커니즘에 대한 기초적인 연구는 활발히 이루어지지 않고 있는 실정이다. 이러한 이유로, 비만의 발생기전을 좀 더 과학적으로 연구하여 이들 천연물을 이용한 부작용이 없고, 지방축적 억제능을 보일 수 있는 소재를 개발하는 것이 무엇보다 중요하다
- 비만치료제 시장은 2000년 약 13억 달러 규모이었고, 연평균 20%에 가까운 고성장을 하고 있으며, 2010년이면 80억 달러에 이를 전망이다
- 현재 최종단계의 임상시험 중이거나 FDA의 승인을 기다리고 있는 비만치료제들이 10여종에 이르며, 이미 제니칼, 리덕틸 등은 미국 FDA에 의해서 승인을 받았고 국내에도 소개되어 급속히 확산되고 있다.
- 연도별 동향은 76-85년간 특허 출원건은 23건으로 연평균 2-3건에 불과하였으나, 90년 이후 연평균 11건으로 5배 증가하였고, 98-2000년 상반기까지는 155건이 출원됨으로써, 전체대비 49%를 차지하였다.
- 비만관련 특허출원관련 국가별 동향을 보면, 미국이 133건으로 출원의 43%를 차지하고 있으며, 그 다음으로 영국, 일본, 프랑스, 유럽, 한국 순으로 19개국에서 출원하였다.
- 이러한 비만관련 특허의 급증은 전 세계적으로 비만인구 증가로 인해 비만치료시장의 활성화와 더불어 안전성과 복용성이 향상된 소재에 대한 요구로 인한 새로운 활성물질 연구개발 및 특허출원이 급증하고 있다.

다. 국내외 음료시장의 현황

(1) 국내 음료 시장의 현황

- 통계청 자료에 따르면, 국내 가공차 시장은 최근 10년간의 연평균 성장률이 1995년부터 2006년까지의 연평균 성장률보다 증가하고 있으며, 2006년도 국내 가공차 생산량은 65,2281톤으로 1995년의 8,622톤에 비해 35.9% 증가하였고, 2002년도의 30,609톤에 비해 5.4% 증가하였다. 음료시장의 전반적인 경기침체에도 불구하고 이처럼 가공차 시장이 꾸준한 성장세를 보일 수 있었던 것은 가공차 시장 성장에 저해요인으로 작용되었던 관능적인 면을 극복하기 위한 다양한 가공차의 개발과 건강에 대한 소비자들의 관심증대에 기인한 것으로 고려된다.
- 웰빙 풍조를 타고 탄산음료와 과즙음료 시장이 축소되고 있는 가운데 차(茶) 음료 시장 규모가 급속도로 커지고 있다. 음료 업계에 따르면 차 음료 시장은 2004년 600억 원에서 해마다 성장하여 매출 규모가 1천억원(2005년), 1천900억원(2006년)으로 늘어났으며 2008년도에는 약 5천억원에 이를 것으로 전망된다. 반면 전체 음료 시장의 3분의 1 가량을 차지하는 탄산음료는 시장규모가 2002년에 1조 2천억원을 기록했으나 2005년에 1조700억원, 작년은 9천200억원대로 급감하였으며, 과즙음료시장도 8천억원(2002년)에서 작년까지 6천억원으로 감소하였다. 하지만 앞으로 소비자들의 건강 선호 경향이 지속될 것으로 보이면서, 가공차 제품개발 등 업체들의 노력여하에 따라 가공차 음료시장의 지속적인 성장이 기대되는 바이다.

(2) 세계 음료 시장의 현황

- 전 세계적으로 건강 또는 체중감량 기능을 주는 식품과 음료가 매년 두 자리 수 성장률을 기록하는 것으로 마케팅조사 전문기관 AC 닐슨이 발표하였으며, 2004년도에 가장 큰 성장률을 기록한 7가지 중 5가지 품목이 이와 같은 건강 기능성을 주는 제품이다. 이들 제품은 세계 인구의 77% 이상을 차지하는 아시아태평양, 신흥국가, 유럽, 라틴아메리카 및 북아메리카 지역을 대상으로 한 것으로 이와 같은 추세는 당분간 계속될 것으로 예상된다.

2. 국산 썩을 이용한 기능성 썩 음료 생산 필요성

- FTA 체결로 국내 농산물의 가격 경쟁력 하락 및 농민의 소득 감소가 예측된다. 이를 타개하는 방법 중 하나는 국내 특용 작물 혹은 고기능성이 알려진 농산물을 특화시켜 고부가가치 제품을 개발하는 것이다. 최근 약썩으로 FTA에 의한 농민의 어려움을 타개할 수 있는 방법이 될 수 있음이 언론에 보고되었다(이코노미스트 기사). 이는 강화지역 등의 약썩을 활용하여 고부가가치 제품을 생산하면 FTA에 의한 농민들의 소득 감소 등의 어려움을 해결할 수 있음을 의미한다.
- 소비자 특히 신세대 젊은 여성들의 비만에 대한 관심도가 증가하고 있어 최근 항비만 혹은 슬림화를 목적으로 하는 여러 식음료 제품이 성공적으로 시장에 정착되는 추세이다.
- 썩을 이용한 기존 썩 음료로는 CJ의 「썩의 순」과 남양유업에서 내놓은 「내몸에」라는 썩음료가 출시된 적이 있었으나 시장에 정착하지 못해 현재는 거의 판매되고 있지 않은 실정이다.
- 썩이 함유된 식제품은 특유의 향과 맛에 의해 신세대에 대한 기호성을 맞추는 데 한계가 있음에 따라 기존에 출시된 제품들이 시장에 정착하는 데 성공하지 못한 것으로 추측되어 진다.

3. 국산 쑥 함유 식품 시장 개발 및 세계 음료시장 진출화 가능성

- 국내·외적으로 항비만 및 항산화 등의 기능이 함유되고 관능성이 우수한 제품개발을 추진함으로써 새로운 국내 시장 창출 및 수출시장의 확대 가능성이 높을 것이다.
- 쑥 특유의 향미 때문에 일부 소비자들이나 서구인들에게는 거부 될 가능성이 있기에 휘발성분 및 맛에 대한 과학적 접근법을 통해 관능적으로 문제가 되는 특유의 향미를 줄이고 비만억제 및 항산화성이 있는 생리활성물질을 효율적으로 제공 할 수 있다면 쑥 함유 식품을 통한 세계시장 진출에 충분한 경쟁력을 확보해 나갈 수 있을 것이다.

제2절 연구개발의 목적 및 범위

1. 연구개발의 목적

가. 쑥 추출물의 비만억제능 및 기능성 탐색

- 국산 쑥 종류의 용매를 활용한 추출물 획득
- 세포주를 이용한 다양한 쑥 추출물의 항비만성 탐색
- 선정된 항비만물질 함유 추출물의 동물실험
- 항산화성 등의 기타 기능성 모니터링

나. 쑥 추출물의 향미 성분 분석 및 미세캡슐화를 통한 쑥의 식품 소재화

- 쑥 및 쑥 추출물의 휘발성분 분석
- 관능검사를 통한 쑥 추출물의 특유 향미 정도 측정
- 미세캡슐화 기법을 이용 쑥의 식품 소재화

다. 쑥 추출물 활용 관능성이 개선된 식품 제품 개발

- 기능성 쑥 함유 제품화 가능 품목 탐색 및 선정
- 쑥 추출물 활용 다양한 식품 개발
- 쑥 추출물 첨가를 통한 제품의 관능성 개선

표 1. 연차별 세부과제 목적 및 내용

연 도	2008년(1차년도)	2009년(2차년도)
세부과제 내용		
국산 쑥 추출물 제조, 기능성 탐색 및 미세캡슐화	쑥 추출물의 제조, 비만억제능 및 기능성 탐색, 미세캡슐 공정 개발	쑥 추출물의 동물실험을 이용한 비만 억제능 탐색
관능성이 개선 된 식품 제품 개발	쑥 추출물 활용 식품 제품 컨셉 개발	쑥 추출물의 관능성이 개선된 제품 개발

2. 연차별 연구개발의 목표 및 범위

가. 1차년도

연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
2008	다양한 쑥 추출물의 제조 및 비만억제능 및 기능성 탐색	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 국산 쑥을 이용한 열수 추출 조건 탐색 ○ 다양한 국산 쑥의 에탄올 이용 추출조건 탐색 ○ 각 열수 및 에탄올 추출물의 세포주를 이용한 항비만성 탐색 ○ 각 열수 및 에탄올 추출물의 항산화성, 전자공여능 등의 항산화성 탐색 	쑥 추출물의 제조 조건 확립 및 기능성 탐색
	쑥 추출물의 휘발성분 분석 및 미세캡슐화를 통한 쑥의 식품소재화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 쑥 및 쑥 추출물의 휘발성 향미 분석을 위한 추출방법 확립 <ul style="list-style-type: none"> - SPME, steam distillation, 동시용매증류추출법 등을 이용한 추출 방법 확립 및 최적화 ○ GC/MS, 내부표준물질 등을 이용한 정량 	쑥 추출물의 향미성분 추출법과 분석법 확립 및 제품 소재 형태 결정
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 쑥 추출물 미세캡슐화를 위한 에멀전 최적화 ○ 쑥 추출물 미세캡슐화 조건 최적화 	쑥 추출물 미세캡슐화 조건 확립
	쑥 추출물 활용 식음료 제품 컨셉개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 쑥을 이용한 시장 현황 조사 ○ 새로운 쑥 관련 음료제품의 기존 기능성 음료 시장에 대한 영향분석 ○ 국산 쑥을 이용한 기존 제품 분석 ○ 비만개선 혹은 기능성을 지닌 식음료 시장 동향 분석 	쑥 추출물 활용 식음료 주요 컨셉 개발

나. 2차년도

연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
2009	선정된 쑥 추출물의 동물실험을 이용한 비만억제능 탐색	<ul style="list-style-type: none"> ○ 동물실험 조건 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 쥐의 종류, 비만 유도방법 ○ 선별된 쑥 추출물을 이용한 비만 동물 대상 항비만성 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 식이 방법 ○ 동물 실험 연구 결과 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 분석 지표 	<i>In vivo</i> 쑥 추출물 항비만성
	미세캡슐화된 쑥 식품소재의 안정성	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미세캡슐화된 쑥 식품소재의 안정성 확인 <ul style="list-style-type: none"> - 장기 저장성 실험을 통한 잔류 휘발성분 측정 - SPME를 이용한 휘발성분 추출 및 GC/MS 이 용 정성 분석 	미세캡슐 소재의 휘발성분 안정성 측정
	쑥 음료의 관능성 개선 및 제품 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 쑥 추출물 이용 식음료 제품의 관능성 검사 <ul style="list-style-type: none"> - 묘사분석, 차이검사, 소비자 검사 ○ 추출물 함유 쑥음료 시제품 개발 	체계적 관능검사를 통한 쑥 추출물 함유 제품 개발

제2장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내 기술개발 현황

- 현재 ‘썩’이란 용어를 갖는 대한민국 특허는 특허실용 1260건, 디자인 164건 및 상표 107건이 검색된다.
- 이중 비만과 관련된 특허는 특허실용 총 13건이 검색된다. 이중 등록된 특허는 9종이며 썩 자체를 활용한 경우라기보다는 하나의 첨가물로 사용되는 경우이다. 또한 썩을 이용한 음료 및 식제품의 경우 모두 6건의 특허가 검색되었다. 다음 표는 본 연구와 유사 혹은 관련된 특허목록을 열거한 표이다

표 2. 본 연구와 관련된 특허목록

연구수행 기관	연구개발의 내용	본 연구와의 차별성
안지오랩	비만억제용 조성물(출원번호:10-2005-0093577). 벨리사업 추출물, 인진썩 추출물, 뽕나무잎 추출물을 유효성분으로 하는 비만 억제용 조성물 제조	다양한 원료가 아닌 썩만을 이용함
인제학원	인진썩올리고당 A I P 1을 함유한 항비만성 바이오헬스 소재(출원번호:10-2003-0002397).	썩의 비만 억제 가능성을 제함
(주)에스앤비	다슬기, 유황오리, 유근피, 송화가루, 산청목, 죽염, 인진썩, 도라지 및 흑두로 구성되는 복합제 추출물을 포함하는 비만 및 고 콜레스테롤증 예방 및 치료를 위한조성물(출원번호:10-2005-0081905).	다양한 원료가 아닌 썩만을 이용함
(주)김형민 한약연구소	비만 억제를 위한 알콜 발효 식품 또는 약학적 조성물 및 그의 제조방법(출원번호:10-2002-0023448).	
한중현	인진썩 추출물 함유 기능성 음료 및 그 제조방법(출원번호:10-2000-0086199). 인진썩 추출물 함유 기능성 음료 및 그 제조방법에 관한 것. 90~110℃의 온도로 인진과 정제수를 넣어 가열한 후 환류냉각장치를 이용하여 냉각시켜 인진썩 음료 제조법	추출물의 미세캡슐화를 통한 관능성 향상부분이 없음
한국식품연구원	썩을 주성분으로 함유한 가공치즈 및 그 제조방법(출원번호:10-2004-0103121).	.

- 썩에 대한 국내 논문 및 학술대회 초록 발표 건수는 약 220건이 검색되며, 이 중 썩의 기능성에 대한 결과는 8건이다. 다음 표는 썩에 대한 논문 결과를 열거한 표이다.

표 3. 쑥에 대한 기존 연구논문

연구자	논문제목	지널명, 호수, 쪽수
서효중, 서영준	Eupatilin, a pharmacologically active flavone derived from <i>Artemisia</i> plants, induces apoptosis in human promyelocytic leukemia cells	Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 496(1-2): 191-198, 2001
김병학, 이준영, 서지희, 이화용, 류시용, 안병우, 이충길, 황방연, 한상배, 김용수	Eupatilin, a pharmacologically active flavone derived from <i>Artemisia</i> plants, induces cell cycle arrest in ras-transformed human mammary epithelial cells	Biochemical and Biophysical Research Communications, 361(3):593-598, 2007
Rei Ogawa, Hiko Hyakusoku, Kano Ogawa, Chiyomi Nakao	Effectiveness of mugwort lotion for the treatment of post-burn hypertrophic scars	Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery, In press

- 쑥을 이용한 냄새 제거용 여성 용품은 개발되었으나, 향산화 및 음료에 대한 연구는 보고되어 있지 않으며, 쑥의 제조 공정에 따른 비만개선 및 관능성 개선 대한 연구 역시 보고되어 있지 않은 실정이다. 또한 쑥 향미성분의 미세캡슐공정에 대한 연구 역시 학술저널 및 특허에서 보고되어 있지 않았다.

표 4. 쑥 관련 연구개발 내용 및 활용현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
(주)고려식료 식품연구소	기능성 발효 음료 제조 및 관능적 특성	
서울여자대학교	인진쑥, 황해쑥, 사자발쑥의 정유성 분 및 항균효과	
한국식품연구원	쑥을 주성분으로 함유한 가공치즈 및 그 제조방법	
(주)바이오뉴트리젠	알코올 분해와 간해독 기능이 탁 월한 첨단 바이오 소재 'JBB 20'을 국내에서 재배되는 과채류에서 추 출	○ JBB 20은 쑥 등 10여종 이상의 식물체에서 추출된 강력한 항 산화 물질 추출 ○ 과음 후 나타나는 부작용을 제 거, 인체의 간기능 보호 및 지 질대사 개선에 큰 효능
(주)동아제약	Studies on protective effect of DA-9601, an artemisiae herb extract, against ethanol-induced gastric mucosal damage and its mechanism	위염 전문 치료제인 Stillen Tab 개발 판매

제2절 국외 기술개발 현황

- 동양에 비하여 서양에서는 쑥에 대한 연구 개발이 활성화 되어 있지 않았다.
- 식품 분야를 포함한 학문 전 분야에 걸쳐서 쑥의 향미성분 분석 및 대한 연구는 보고되어 있으나, 쑥을 이용한 비만개선 식음료 제조에 따른 향미성분 분석, 특유의 향미 특성 완화 연구 및 이를 통한 관능성 향상에 대한 연구성과는 미비한 실정이다.
- 쑥(mugwort)으로 검색된 국외논문은 약 69건이고 학명인 *Artemisia asiatica*로 검색된 국외 논문은 약 5건이며, 기능성 탐색에 관한 연구는 국내 저자에 의해 발표된 것이 많았다. 서양에서는 주로 알러지에 대한 연구가 진행되고 있는 반면에 항비만성 혹은 식음료 제품 개발을 위한 미세캡슐화 연구는 찾기 어려운 실정이다.

제3장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 연구개발수행 내용

1. 쑥 추출물의 제조 및 비만억제능 및 기능성 탐색
 - 문헌조사, 전문가와의 토론 및 쑥 음료 및 비만개선 시장 조사를 통해 시장 진입 타당성을 확인
 - 국산 쑥으로부터 열수 및 에탄올을 추출 용매로 활용하여 추출 온도 및 시간 조건을 탐색
 - 비만 세포주 유도 및 이를 이용한 쑥 추출물의 항비만성 탐색
 - 항산화성, 전자공여능 등의 항산화성 탐색
2. 쑥 추출물의 휘발성분 분석 및 제품 소재화 개발
 - 쑥 및 쑥 추출물의 휘발성 향미 분석을 위한 추출방법 확립
동시용매증류추출, SPME 등을 이용한 추출 방법 확립 및 최적화
 - GC/MS, 내부표준물질 등을 이용한 정량
3. 쑥 추출물의 미세캡슐화를 통한 쑥 추출물 소재화
 - 쑥 추출물 미세캡슐화를 위한 에멀전 공정조건 최적화
쑥 추출물 함유 2중층 에멀전 안정성 및 미세캡슐화 수율 극대화를 위한 다양한 조건들의 최적화(이때 Turbiscan을 사용하여 신속하면서도 정량적인 방법을 이용)
 - 쑥 추출물 2중층 미세캡슐화를 위한 1차 미세캡슐화 조건 최적화
4. 쑥 추출물 이용 관능성 개선 제품 개발
 - 가. 국산 쑥을 이용한 기존 제품 분석
 - (1) 묘사용어 도출: 국산 쑥을 이용한 다양한 제품에 대해 향미 프로파일, 텍스처 프로파일 검사를 실시하여 원료 가공형태에 따라 출현되는 관능적 특성의 차이를 분석
 - (2) 소비자 수용도 분석: 국산 쑥을 이용한 기존 제품의 주요 세부 특성에 대한 소비자 수용도 검사를 실시하고 요인분석(Factor Analysis)을 통해 소비자 기호에 긍정적, 부정적 영향을 끼치는 특성인자를 도출
 - 나. 비만개선 혹은 기능성을 지닌 식음료 시장 동향 분석
 - (1) 대표적 기능성 음료의 향미, 텍스처 프로파일 분석과 구매 빈도가 높은 일반 음료의 향미, 텍스처 프로파일 분석을 통해 기능성 음료 관능특성의 개선 포인트를 도출
 - (2) 건강에 대한 인식, 신체적 건강 상태, 기능성 음료에 대한 인식(지식) 수준에 따라 소비자를 segmentation하고 세부 그룹 속성 인자와 기능성 음료에 대한 수용도의 상관 분석을 통해 기능성 음료 시장에서의 소비자 수용도 변화를 파악
 - 다. 쑥의 열수 및 에탄올 추출물 각각을 이용한 다양한 형태의 시제품 개발
 - (1) 일반 음료 형태, 투명도, 분상 등을 고려하고 시 제품의 향미 프로파일 뿐만 아니라 점착성, 구강 코팅, 혀 움직임 저항, 뒷 느낌 등 세부적인 텍스처 프로파일 분석을 실시

국산 쑥추출물의 기능성(비만개선 및 항산화성) 탐색 및 이를 활용한 관능성 개선 쑥 추출 함유 식음료 제품 개발

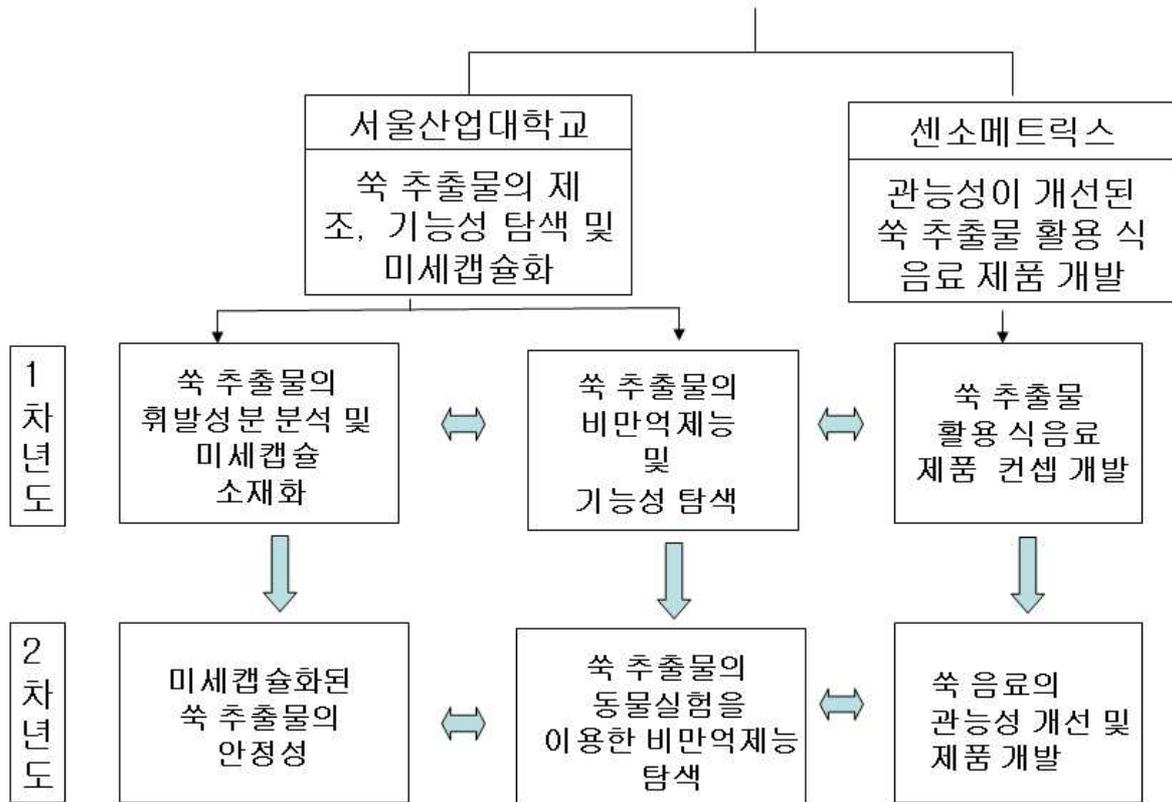


그림 1. 연구개발의 추진체계

표 5. 연차별 연구수행 내용 및 범위

연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
2008	다양한 쑥 추출물의 제조 및 비만억제능 및 기능성 탐색	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 국산 쑥을 이용한 열수 추출 조건 탐색 ○ 다양한 국산 쑥의 에탄올 이용 추출조건 탐색 ○ 각 열수 및 에탄올 추출물의 세포주를 이용한 항비만성 탐색 ○ 각 열수 및 에탄올 추출물의 항산화성, 전자공여능 등의 항산화성 탐색 	쑥 추출물의 제조 조건 확립 및 기능성 탐색
	쑥 추출물의 휘발성분 분석 및 미세캡슐화를 통한 쑥의 식품소재화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 쑥 및 쑥 추출물의 휘발성 향미 분석을 위한 추출방법 확립 - SPME, steam distillation, 동시용매증류추출법 등을 이용한 추출 방법 확립 및 최적화 ○ GC/MS, 내부표준물질 등을 이용한 정량 	쑥 추출물의 향미성분 추출법과 분석법 확립 및 제품 소재 형태 결정
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 쑥 추출물 미세캡슐화를 위한 에멀전 최적화 ○ 쑥 추출물 미세캡슐화 조건 최적화 	쑥 추출물 미세캡슐화 조건 확립
쑥 추출물 활용 식음료 제품 컨셉 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 쑥을 이용한 시장 현황 조사 ○ 새로운 쑥 관련 음료제품의 기존 기능성 음료 시장에 대한 영향분석 ○ 국산 쑥을 이용한 기존 제품 분석 ○ 비만개선 혹은 기능성을 지닌 식음료 시장 동향 분석 	쑥 추출물 활용 식음료 주요 컨셉 개발	
2009	선정된 쑥 추출물의 동물실험을 이용한 비만억제능 탐색	<ul style="list-style-type: none"> ○ 동물실험 조건 확립 - 쥐의 종류, 비만 유도방법 ○ 선별된 쑥 추출물을 이용한 비만 동물 대상 항비만성 연구 - 식이 방법 ○ 동물 실험 연구 결과 분석 - 분석 지표 	<i>In vivo</i> 쑥 추출물 항비만성
	미세캡슐화된 쑥 식품소재의 안정성	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미세캡슐화된 쑥 식품소재의 안정성 확인 - 장기 저장성 실험을 통한 잔류 휘발성분 측정 - SPME를 이용한 휘발성분 추출 및 GC/MS 이용정성 분석 	미세캡슐 소재의 휘발성분 안정성 측정
	쑥 음료의 관능성 개선 및 제품 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 쑥 추출물 이용 식음료 제품의 관능성 검사 - 묘사분석, 차이검사, 소비자 검사 ○ 추출물 함유 쑥음료 시제품 개발 	체계적 관능검사를 통한 쑥 추출물 함유 제품 개발

제2절 연차별 연구개발수행 결과

1. 1차년도 연구개발수행 결과

가. 국산 쑥 추출물 제조, 기능성 탐색 및 미세캡슐화

(1) 쑥 추출물의 제조, 비만억제능 및 기능성 탐색

(가) 국산 쑥을 이용한 추출 조건 탐색

① 쑥의 선정

강화도에서 대규모로 경작되는 쑥인 싸주아리쑥(*Artemisia herba*), 사자발쑥(*Artemisia princeps* Panpanini), 참쑥(*Artemisia lavandulaefolia* D.C)을 선정하여 연구를 진행하였다.



그림 2. 본 연구에 활용된 강화도산 사자발쑥, 싸주아리쑥, 참쑥

② 쑥의 추출조건 탐색

- 쑥의 에탄올 추출물이 500mg/L의 농도에서 열수 추출물보다 높은 전자공여능을 나타낸다는 보고를 바탕으로 에탄올 추출 조건 탐색하였다.
- 다양한 쑥(싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥)을 각각 48시간 동안 70% 에탄올 추출 후, 감압증발농축 및 동결건조하여 추출물을 얻었다. 이 추출물을 활용하여 항산화성, 항비만성 등의 기능성 탐색 및 미세캡슐 소재화에 응용하였다.

(나) 유리라디칼 소거능, 양이온 라디칼 소거능, 총 페놀함량 등의 항산화성 탐색

① 연구방법

다양한 쑥(싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥)의 유리라디칼 소거능 등의 항산화성을 탐색하기

위해 아래와 같은 방법을 사용하였다.

㉠ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능

0.1mM DPPH(methanol solution) 3.8mL과 다양한 쑥(싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥)의 에탄올 추출물을 100, 500, 1000mg/L의 농도로 희석하여 각각을 0.2mL 첨가 후 암실에서 30분간 반응시키고, UV-spectrophotometer를 이용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거능 결과는 EC₅₀(Effective Concentration)와 vitamin C 15, 30, 60mM을 제조하여 표준곡선을 작성한 뒤 비교하여 vitamin C equivalent로 나타내었다.

㉡ 2,2'-Azinobis-3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS) 양이온 소거능

ABTS 양이온 생성을 위해 7mM ABTS 수용액과 2.45mM potassium persulfate를 혼합하여 암실에서 16시간 반응 시킨 뒤, UV-spectrophotometer를 이용하여 734nm에서의 흡광도가 0.700±0.050이 되도록 ethanol에 희석하여 실험에 사용하였다. ㉠와 동일한 쑥 추출물 시료 0.05mL을 ABTS 양이온이 형성된 시약 1.9mL에 각각 첨가하여 상온정치 후, 6분 동안 반응시켜 UV-spectrophotometer를 이용하여 734nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 DPPH법과 동일하게 EC₅₀(Effective Concentration)와 vitamin C equivalent로 나타내었다.

㉢ 총 페놀함량 분석(Total Phenolic Content)

㉠와 동일한 쑥 추출물 시료 0.25mL와 증류수 4mL, 증류수와 1:1(v/v)로 희석한 Folin-Denis 시약 0.25mL을 첨가하여 30초간 혼합하고 5분간 반응시킨 뒤, 포화된 sodium carbonate 0.5mL을 첨가하여 30분간 정치시킨다. UV-spectrophotometer를 이용하여 725nm에서 흡광도를 측정한 후 EC₅₀(Effective Concentration)와 6, 29, 59 mM 농도의 tannic acid 표준곡선을 작성하여 비교하였다.

㉣ 통계분석

본 연구의 결과치는 mean±SD로 표시하였고, SPSS program을 이용하여 그룹간의 통계적 유의성은 ANOVA 분석으로, 사후검증은 Duncan multiple test로 실시하였으며 유의성이 0.05 이하인 것을 유의한 값으로 판정하였다.

② 연구결과

㉠ DPPH 라디칼 소거능

○ 다양한 종류의 쑥 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 그림 3에 나타내었다. 싸주아리쑥, 참쑥, 사자발쑥 순으로 DPPH 라디칼 소거능이 유의적으로 높았으며($p<0.05$), DPPH 흡광도가 0.50이 될 때의 쑥의 농도를 나타내는 EC₅₀는 싸주아리쑥이 676mg/L, 사자발쑥이 2031mg/L, 참쑥이 2021mg/L을 나타내었다.

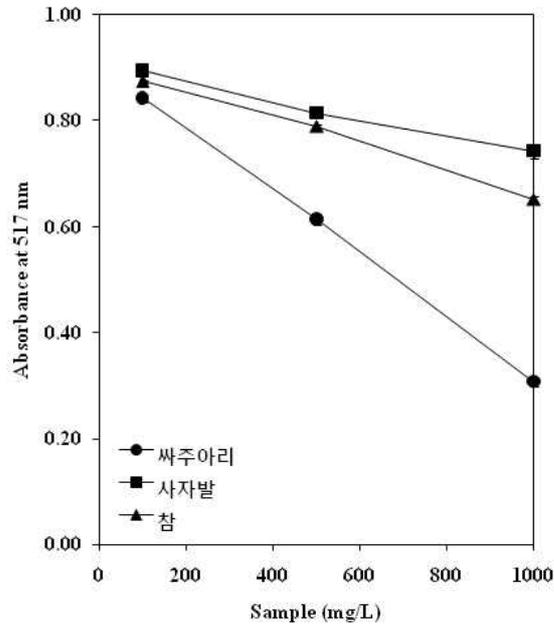


그림 3. 싸주아리쭈, 사자발쭈, 참쭈의 DPPH 라디칼 소거능

- DPPH와 vitamin C를 이용하여 작성된 표준곡선은 그림 4에 나타내었다. 본 연구결과 작성된 표준곡선의 regression equation은 $y = -0.007x + 0.951$ ($R^2 = 0.996$)을 나타내었다.

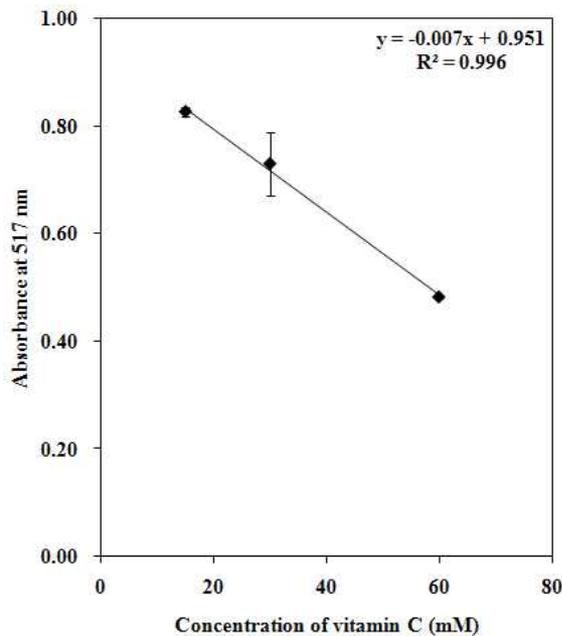


그림 4. Vitamin C의 DPPH 라디칼 소거능의 표준곡선

- 쑥의 유리라디칼 소거능 즉 전자공여능을 vitamin C와 비교한 결과는 표 5에 나타내었다. 1000mg/L 농도의 싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥은 각각 84, 25, 36mM의 vitamin C 효과를 나타내어 **싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥 순으로 DPPH 라디칼 소거능이 높은 것**을 알 수 있었다.

표 5. 싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥의 vitamin C equivalent

1000mg/L 농도의 시료	Vitamin C equivalent (mM)
싸주아리쑥	84
사자발쑥	25
참쑥	36

㉞ ABTS 양이온 소거능

- 다양한 쑥 추출물의 ABTS 양이온 소거능 실험 결과는 그림 5에 나타내었다. **싸주아리쑥, 참쑥, 사자발쑥 순으로 ABTS 라디칼 소거능이 유의적으로 높았으며** ($p < 0.05$), ABTS 흡광도가 0.35가 될 때의 쑥의 농도를 나타내는 EC_{50} 는 싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥이 각각 52, 1064, 1036mg/L을 나타내었다.

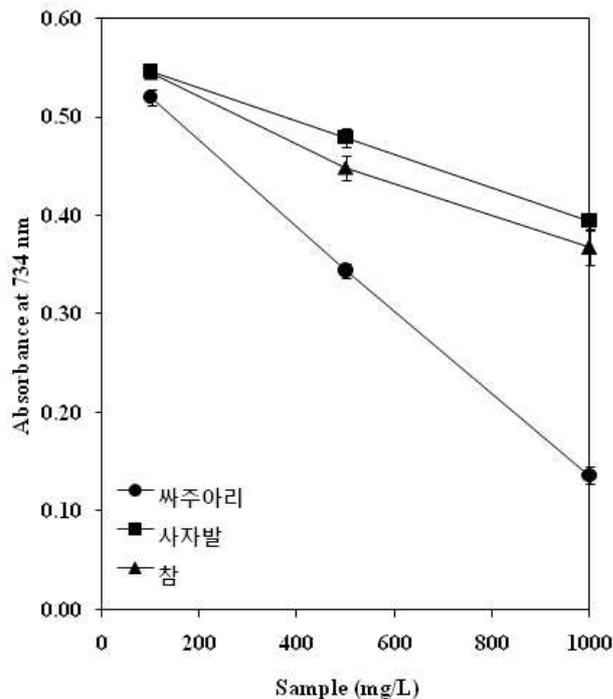


그림 5. 싸주아리쑥, 사자발쑥, 참쑥의 ABTS 양이온 라디칼 소거능의 표준곡선

- ABTS 양이온과 vitamin C를 이용하여 작성된 표준곡선은 그림 6에 나타내었다. Vitamin C의 ABTS 양이온 소거능 표준곡선의 regression equation은 $y = -0.010x$

+0.621 ($R^2=0.991$) 이었다.

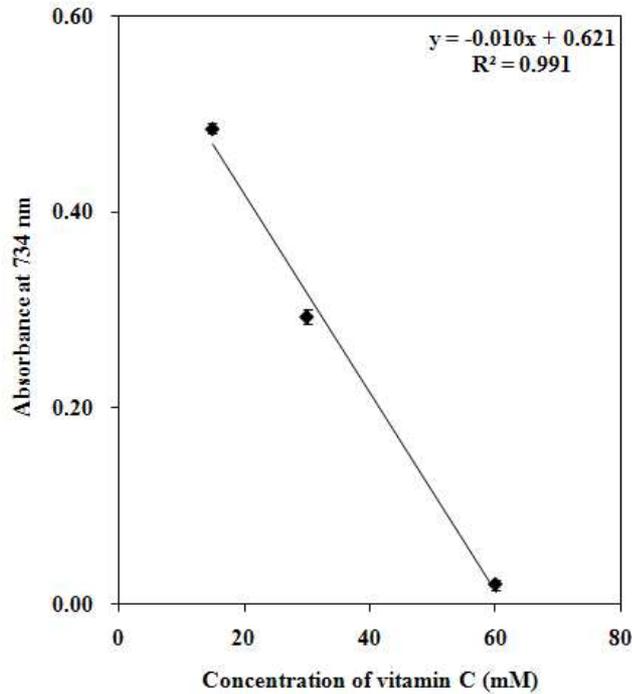


그림 6. Vitamin C의 ABTS 양이온 라디칼 소거능의 표준곡선

- 썩의 ABTS 양이온 소거능을 vitamin C에 비교한 결과는 표 6에 나타내었다. 1000mg/L 농도의 썩주아리썩, 사자발썩, 참썩은 각각 45, 21, 23mM의 vitamin C 효과를 나타내었다.

표 6. 썩주아리썩, 사자발썩, 참썩의 vitamin C equivalent

1000mg/L 농도의 시료	Vitamin C equivalent (mM)
썩주아리썩	45
사자발썩	21
참썩	23

㉔ 총 페놀함량 분석(Total Phenolic Content)

- 썩주아리썩, 참썩, 사자발썩 추출물의 총 페놀함량은 그림 7에 나타내었다. 썩주아리썩, 참썩, 사자발썩 순으로 페놀성 성분 함량이 유의적으로 높은 것으로 나타났다($p<0.05$).
- 총 페놀함량을 tannic acid를 이용하여 표준곡선을 작성한 결과는 그림 8과 같다. 표준곡선의 regression equation은 $y=0.006x-0.031$ ($R^2=0.990$) 이었다.

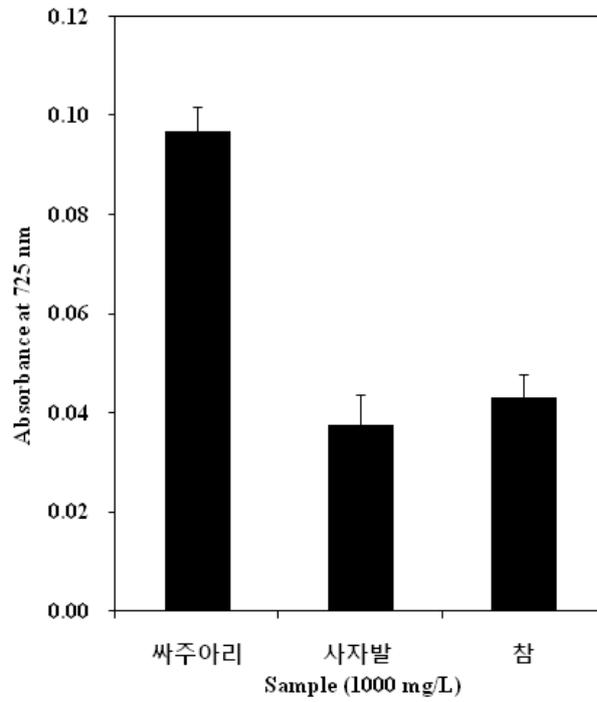


그림 7. 싸주아리썩, 사자발썩, 참썩의 총 페놀성 성분 함량

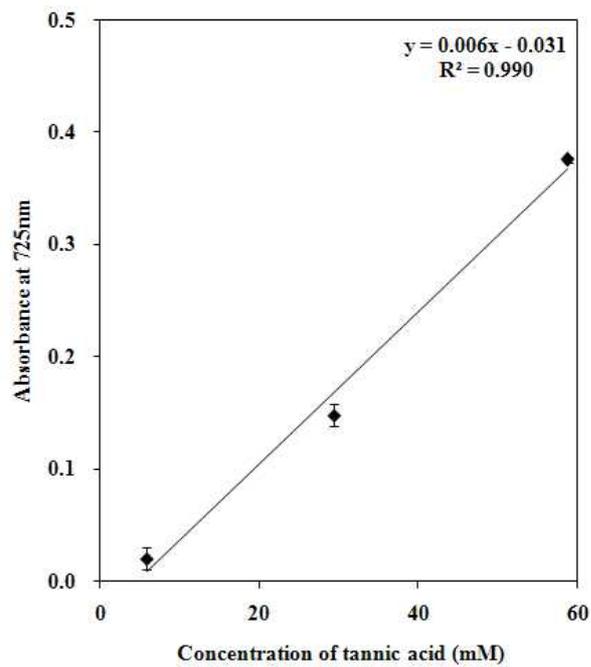


그림 8. Tannic acid의 총 페놀 함량 표준곡선

- 싸주아리쭉, 사자발쭉, 참쭉의 총 페놀성 성분 함량을 비교하여 표 7에 나타내었다. 1000mg/L 농도의 싸주아리쭉, 사자발쭉, 참쭉의 경우, 각각 79, 34, 42mM의 tannic acid에 해당하는 페놀 성분을 함유하고 있었다.

표 7. 싸주아리쭉, 사자발쭉, 참쭉의 tannic acid equivalent

1000mg/L 농도의 시료	Tannic acid equivalent (mM)
싸주아리쭉	79
사자발쭉	34
참쭉	42

- DPPH 라디칼 소거능, ABTS 양이온 라디칼 소거능 및 총 페놀함량 측정결과를 통해 **싸주아리쭉, 사자발쭉, 참쭉의 순으로 유의적으로 높은 전자공여능, 라디칼 소거능 및 페놀성 성분 함량을** 나타내었다.
- 따라서 항비만 세포주 실험은 위 3종의 시료 중 사자발쭉과 참쭉의 시료를 활용하기로 결정하였다.

(다) 세포주를 이용한 항비만성 탐색

① 연구방법

㉠ MTT 방법을 이용한 쭉 추출물의 독성검사

3T3-L1 전지방세포주를 96well plate에 분주하여 24시간 배양한 후, 사자발쭉과 참쭉을 농도별(0, 10, 25, 50, 100, 150, 200 μ g/mL)로 처리하여 24시간 배양하였다. 3-(4,5-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 시약을 10 μ L 처리하여 4시간 배양한 후, 배지와 MTT 시약을 제거하고, DMSO 시약 100 μ L를 가하여 570nm에서 ELISA reader를 이용하여 세포독성을 측정하였다.

㉡ 참쭉의 전지방세포주(3T3-L1) 분화 억제효과-세포주 형태 관찰

전지방세포인 3T3-L1 세포주를 American Type Culture Collection(ATCC)에서 구입하여 10% fetal bovine serum(FBS), 1% penicillin/streptomycin이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)배지에 2 \times 10⁵cells/mL 농도로 부유시켜 48시간 동안 배양하여 confluent 상태가 되게 37 $^{\circ}$ C 항온기에서 배양하였다. 분화배지(10% FBS, 1% penicillin/ streptomycin, 5 μ g/mL insulin, 1 μ M dexamethasone, 0.5mM 3-isobutyl-1-methylxanthine)로 교체하여 2일간 배양 후, 지방세포로의 분화를 촉진하기 위해 5 μ g/mL insulin이 포함된 DMEM 배지로 3일간 배양하였다. 참쭉 처리군은 각각 25, 50, 100 μ g/mL의 농도로 처리하여 분화 시에 같이 처리하였다. 또한 양성 대조군으로 비만에 효과가 있다는 약물인 theophylline 1mM을 처리하였고 세포관찰은 광학현미경을 이용하였다.

㉢ Oil Red O 염색법을 이용한 참쭉의 지방축적 억제효과

위의 지방세포 분화억제효과 측정실험과 동일한 방법으로 처리하여 중성지방이 존재하는 지방세포만을 염색할 수 있는 Oil Red O 염색액을 이용하여 염색한 후, isopropanol로 염색액을 추출하여 510nm 에서 ELISA reader를 이용하여 지방세포

내의 증성지질의 정도를 측정하였다.

㉔ RT-PCR법을 이용한 췌의 지방축적관련 유전자 변화 측정

세포에서 총 RNA의 추출을 위해, TRI-reagent를 이용하여 분리하였으며, 모든 실험은 RNase-free한 조건하에서 이루어졌다. 총 RNA 1 μ g에 oligo dT primer, dNTP (0.5 μ M), 1unit RNase inhibitor 그리고 reverse transcriptase(1Unit)로 70 $^{\circ}$ C 5min, 25 $^{\circ}$ C 5min, 42 $^{\circ}$ C에서 60min 반응시켰다. Polymerase chain reaction(PCR)을 2 μ L cDNA, 4 μ M의 5'과 3' primer, 10X buffer, 250 μ M dNTP, 1Unit taq polymerase (Promega, USA)를 섞고 PCR water로 최종 25 μ L로 맞춘 후, 각각의 유전자 PCR을 실시하였다. 각각 PPAR γ , ACC, aP2, GPDH 등의 지방축적관련 유전자들의 PCR 생성물은 1.5% agarose gel에서 전기영동을 실시하고, ethidium bromide로 염색을 하여 특정 band를 확인하였다. 확인 후 densitometer를 이용하여 이들 유전자들의 발현정도를 측정하였다. 각각 유전자의 PCR 조건은 다음의 표 8과 같다.

표 8. 본 연구에 사용된 유전자의 Primer Sequence

Gene Name	Primer Sequence	Anneal temperature	Size	Cycle Number
β -actin	senese primer:5'-aggtatcctgacacctgaagtacccc-3' antisense primer:5'-gttgccaatagtgtgacctggccg-3'	63	571	25
ACC	senese primer:5'-gggctacctctaattggtctt-3' antisense primer:5'-ctacctgatggtaaattggga-3'	57	439	35
PPAR γ	senese primer : 5'-aaagaccag ctctacaaca-3' antisense primer : 5'-tcgtagatga caaatggtga-3'	59	493	40
aP2	senese primer :5'-cctcgaaggtttacaaaatgtgtga -3' antisense primer:5'-aaactctgtggaagtacgccttt-3'	60	402	35
GPD 1	senese primer:5'-gaactaaggagcagctcaaaggttc-3' antisense primer:5'-cagttgactgactgagcaacatag-3'	57	596	30

㉕ 통계분석

본 연구의 결과치는 mean \pm SEM로 표시하였고, SPSS program을 이용하여 그룹간의 통계적 유의성은 ANOVA 분석으로, 사후검증은 Duncan multiple test로 실시하였으며 유의성이 0.05 이하인 것을 유의한 값으로 판정하였다.

② 연구결과

㉖ MTT 방법을 이용한 사자발췌와 참췌의 3T3-L1 세포주의 독성검사

○ 사자발췌와 참췌 추출물의 독성정도를 확인하는 MTT법의 결과는 그림 9, 그림 10 에 각각 나타내었다. 3T3-L1 세포주에 대한 사자발췌와 참췌의 독성농도를 알기 위하여 10, 25, 50, 100, 150, 200 μ g/mL의 농도로 처리한 결과, 사자발췌의 경우, 각각의 농도에서 세포생존율이 104.0 \pm 0.6, 95.2 \pm 2.9, 72.8 \pm 17.0, 29.9 \pm 15.0,

22.9±12.0, 4.7±10.2로 나타나, 50µg/mL의 농도 이상에서 70%이상의 세포독성을 관찰할 수 있었다(그림 9).

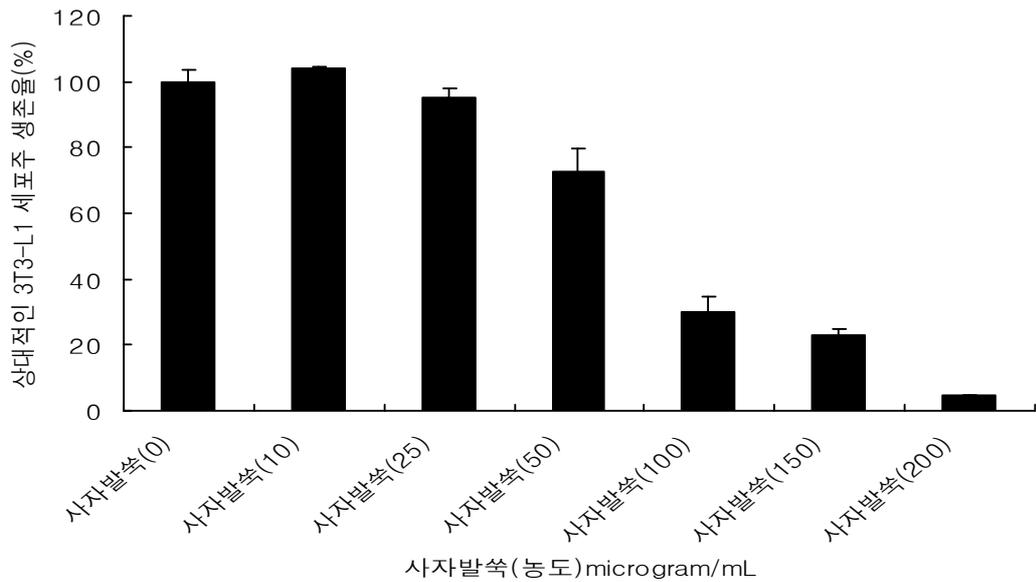


그림 9. 사자발쑃에 의한 3T3-L1 세포주에 대한 생존율

- 이에 반해 참쑃의 경우, 각각의 농도에서 세포 생존율이 101.4±1.8, 107.4±1.3, 111.3±1.7, 105.2±3.3, 98.6±1.5, 81.3±0.5로 나타나, 3T3-L1 세포주에 대한 세포독성이 작은 것으로 나타났다. 이에 본 실험에서는 3T3-L1 세포주에 독성을 나타내지 않는 참쑃을 선택하여, 적정 농도로 세포주가 90%이상 생존하는 농도인 25, 50, 100µg/mL를 사용하였다(그림 10).

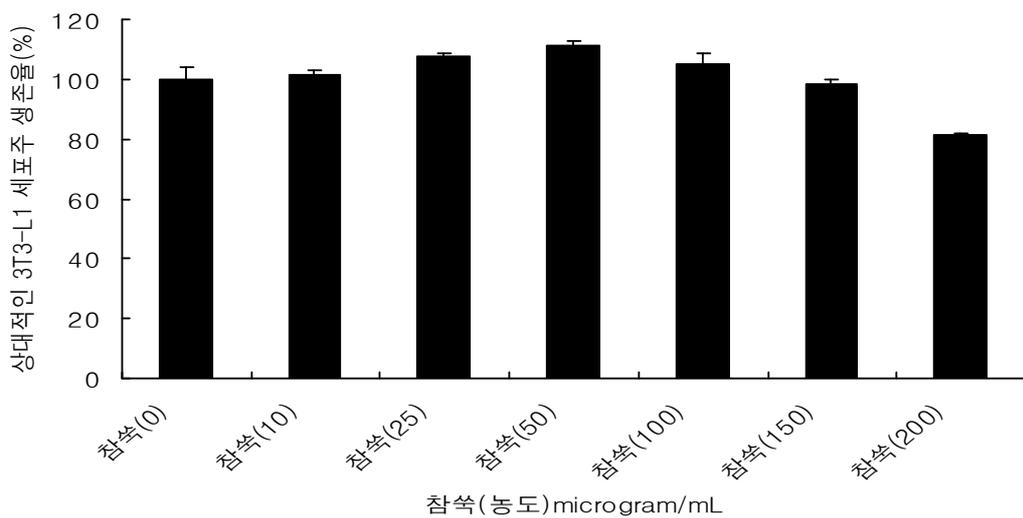


그림 10. 참쑃에 의한 3T3-L1 세포주에 대한 생존율

㉔ 참쭈의 농도별 처리가 지방 세포 분화에 미치는 영향

- 그림 11은 3T3-L1 지방세포가 지방세포로 분화하는 과정에서 지방세포가 되기 전인 전지방세포군, 지방세포로 분화된 지방세포분화군, 양성대조군인 지방세포 분화 시에 theophylline 1mM 처리군, 지방세포분화 시에 각각의 참쭈 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군의 세포 형태의 변화를 보여주고 있다.
- 전지방세포인 3T3-L1(그림 11A)에 분화 배지를 처리하게 되면 지방세포로 분화 되면서 중성지방이 고르게 축적되어 많은 원형모양의 중성지방입자가 관찰되었다(그림 11B). 이에 반해 양성대조군(그림 11C)이나 참쭈의 각각 다른 농도로 처리한 처리군(그림 11D, 11E, 11F)의 경우, 현저하게 지방세포내의 중성지방의 축적이 감소하여 세포의 모양이 지방세포군에 비해 원형모양이 감소함을 관찰할 수 있었다. 이와 같이 세포의 모양 관찰을 통해서도 참쭈 처리가 3T3-L1 전지방세포의 지방세포로의 분화를 억제하는 것으로 관찰되었다.

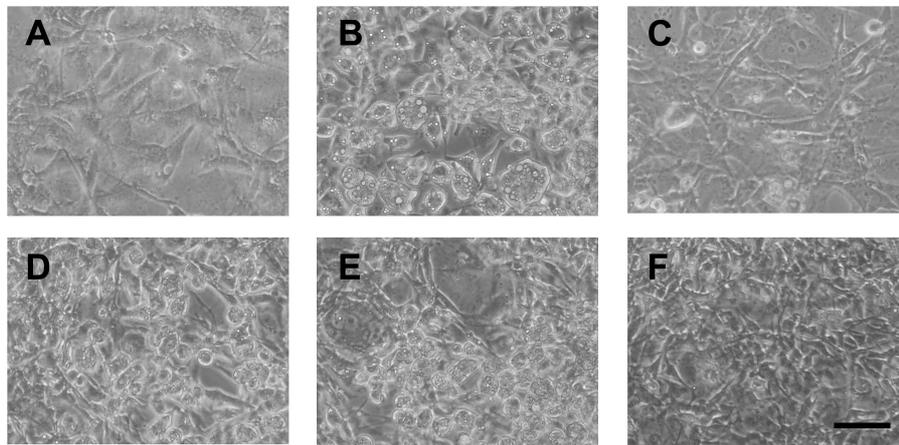


그림 11. 참쭈 처리에 의한 지방세포 분화 억제효과

A: 전지방세포, B: 지방세포분화군, C: 지방세포분화군+Theophylline 1mM처리군 (양성대조군), D: 지방세포분화군+참쭈 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군, E: 지방세포분화군+참쭈 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군, F: 지방세포분화군+참쭈 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군, Scale bar=50 μm

㉕ Oil Red O 염색법을 이용한 참쭈의 중성지방 억제능 관찰

- 그림 12은 전지방세포군, 지방세포분화군, 양성대조군인 지방세포분화군+Theophylline 1mM처리군, 지방세포분화군+각각의 참쭈 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군의 Oil Red O 염색법을 이용한 중성지방의 염색정도를 지방세포분화군을 100%로 하였을 때, 각각의 처리군의 염색정도를 측정된 결과이다.
- 결과적으로, 전지방세포군은 51.2%, Theophylline 1mM 처리군은 36.6%, 참쭈 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군은 36.7%, 참쭈 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군은 32.9%, 참쭈 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군은 29.0%로 나타나, 참쭈 처리군의 경우 각각의 농도 모두 지방세포 분화군에 비해 70%이상의 중성지방 축적 억제능을 유의적으로 보이는 것으로

관찰되었다 ($p < 0.05$).

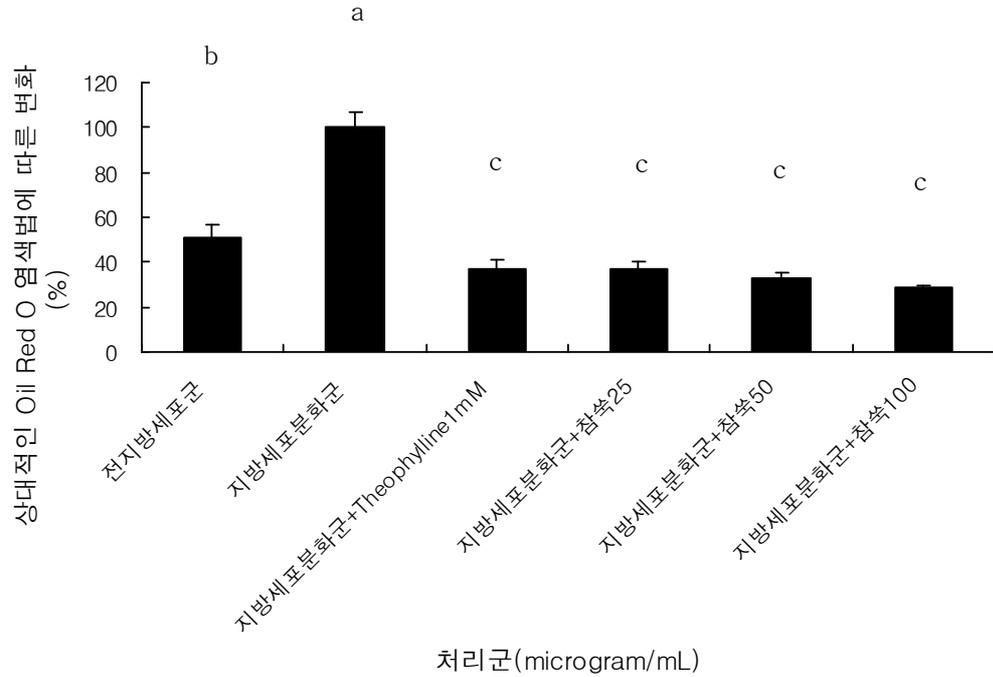


그림 12. Oil Red O 염색법에 의한 참죽의 중성지방축적 억제능
 그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임
 ($p < 0.05$)

㉔ 참죽의 지방세포에서 지방축적관련 유전자의 변화

- 지방세포분화시에 참죽을 농도별로 처리한 후, 지방축적관련 유전자인 PPAR γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma), aP2, ACC(acetyl CoA carboxylase), GPDH(glycerol-3-phosphate dehydrogenase) 등의 유전자들의 발현 변화를 RT-PCR법으로 검증한 결과는 그림 13 및 그림 14에 나타내었다.

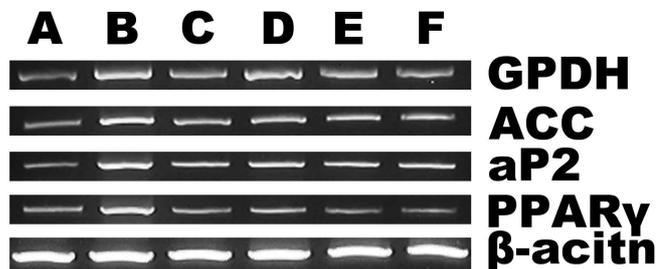


그림 13. 참죽 처리에 의한 지방축적관련 유전자의 변화

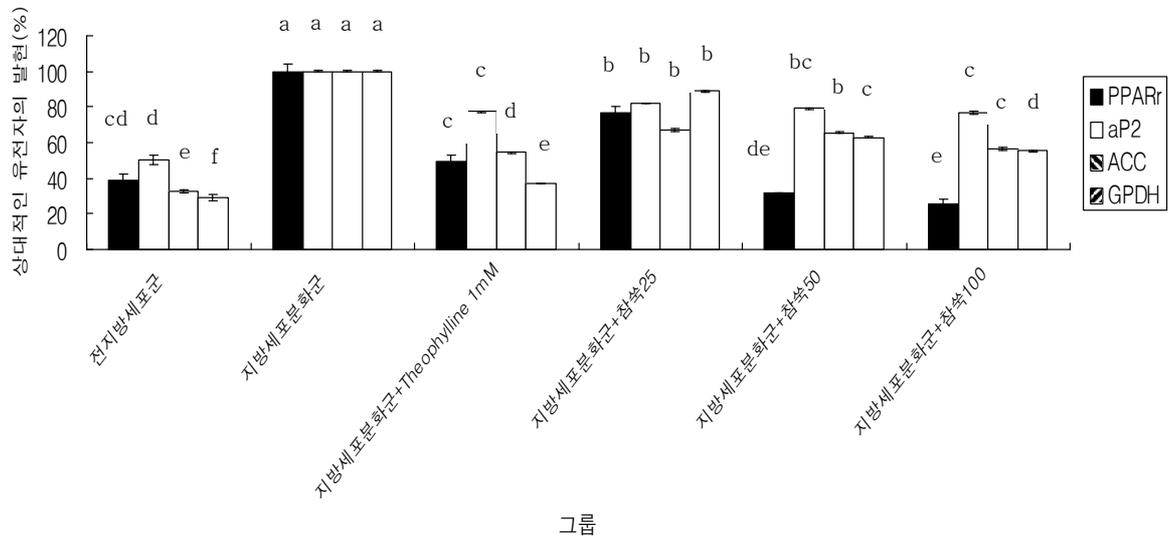


그림 14. 참죽 처리에 의한 지방축적관련 유전자의 상대적 발현
 그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임($p < 0.05$)

- 결과적으로, PPAR γ 유전자 발현의 경우, 전지방세포군 38.9, Theophylline 1mM 처리군 49.5%, 참죽 25 μ g/mL 처리군 76.8%, 참죽 50 μ g/mL 처리군 31.5%, 참죽 100 μ g/mL 처리군 25.7%로 발현되어서, 지방세포분화군에 각각의 참죽 25, 50, 100 μ g/mL 처리에 따라서 23.2, 68.5, 74.3%의 발현이 유의적으로 감소되는 것을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 본 연구결과 지방세포분화시에 필수적으로 필요한 전사 인자로 알려진 **PPAR γ 유전자 발현에 참죽이 영향을 미치며**, 처리 농도에 따라 유의하게 70% 이상의 지방세포분화에 관여하는 전사인자를 감소하는 것으로 나타나, **참죽 추출물이 지방세포분화 억제능이 있는 것으로 사료된다.**
- 또한 다른 전사인자인 aP2 유전자 발현의 경우, 전지방세포군 50.2%, Theophylline 1mM 처리군 77.2%, 참죽 25 μ g/mL 처리군 81.9%, 참죽 50 μ g/mL 처리군 79.0%, 참죽 100 μ g/mL 처리군 77.1%로 발현되어, 지방세포분화군에 각각의 참죽 25, 50, 100 μ g/mL 처리에 따라서 18.1, 21, 22.9%의 발현이 유의적으로 감소 되는 것을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 이와 같이 aP2 유전자의 경우는 PPAR γ 유전자의 발현 억제만큼은 아니나, 통계적으로 **유의적인 20% 이상의 유전자 발현의 감소를 참죽이 나타내는 것을 관찰할 수 있었다.**
- ACC 유전자 발현의 경우, 전지방세포군 32.4%, Theophylline 1mM 처리군 54.5%, 참죽 25 μ g/mL 처리군 67.2%, 참죽 50 μ g/mL 처리군 65.7%, 참죽 100 μ g/mL 처리군 56.4%로 발현되어, 지방세포분화군에 각각의 참죽 25, 50, 100 μ g/mL 처리에 따라서 32.8, 34.3, 43.6%의 발현이 유의적으로 감소되는 것을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 일반적으로 ACC 효소는 지방산 합성에 관여하는 효소로 잘 알려져 있고, ACC 효소의 유전자 발현이 참죽처리에 의해, **지방세포분화시에 30% 이상의 유의적인 감소를 관찰할 수 있어, 지방산 합성을 참죽이 억제함을 확인할 수 있었다.**
- 중성지방의 글리세롤을 형성할 수 있는 효소인 GPDH 유전자 발현의 경우,

전지방세포군 29.0%, Theophylline 1mM 처리군 36.9%, 참쭈 25 μ g/mL 처리군 88.9%, 참쭈 50 μ g/mL 처리군 63.0%, 참쭈 100 μ g/mL 처리군 55.3%로 발현되어, 지방세포분화군에 각각의 참쭈 25, 50, 100 μ g/mL 처리에 따라서 11.1, 37, 44.7%의 발현이 유의적으로 감소되는 것을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 이와 같이, 참쭈 100 μ g/mL 처리군의 경우 40%이상의 GPDH 유전자 발현감소를 나타내어, 중성 지방을 형성할 수 있는 글리세롤 합성에도 참쭈가 관여하여, 글리세롤의 합성을 감소시키는 것으로 관찰되었다.

(2) 쭈 추출물의 휘발성분 분석 및 미세캡슐화를 통한 쭈의 소재화

(가) 쭈 및 쭈 추출물의 추출방법 확립 및 휘발성 향미성분 분석

① 연구방법

㉞ 쭈 및 쭈 추출물의 추출방법 확립

쭈의 휘발성 향미 성분 분석을 위해 그림 15에 있는 steam distillation(SD) 장치와 steam distillation extraction(SDE) 장치를 이용하여 얻은 쭈 추출물의 휘발성 향미 성분을 무처리군의 성분과 비교하였다.

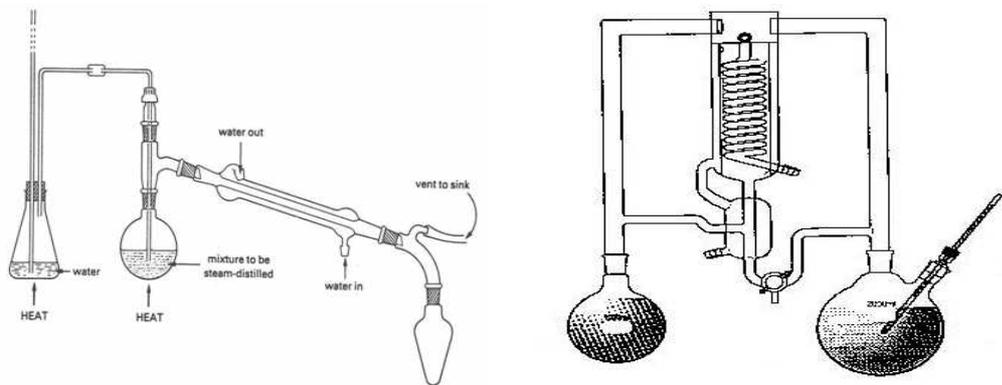


그림 15. Steam distillation 장치와 steam distillation extraction 장치

㉞ 쭈 추출물의 휘발성 향미성분 분석

다양한 쭈(사자발쭈, 참쭈)의 무처리군과 각각의 생쭈, 건조쭈를 SD하여 얻은 추출물의 휘발성 향미 성분을 그림 16과 같이 headspace-solid phase microextraction(HS-SPME) 방법으로 농축하여 gas chromatography mass spectrometry(GC-MS)로 분석하였다.

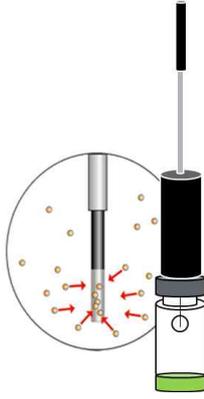


그림 16. SPME 방법과 GC-MS

② 연구결과

㉠ 쑥 및 쑥 추출물의 추출방법 확립

다양한 쑥(사자발쑥, 참쑥)의 무처리 군, SD처리군, SDE 처리군의 휘발성 향미 성분을 비교한 크로마토그램은 그림 17과 같다. SDE의 결과 가장 많은 휘발성 향미 성분을 나타내었지만, SDE와 SD 모두 무처리군보다 많은 휘발성 향미 성분을 나타내었고 식음료라는 점을 고려할 때 용매 잔류 가능성이 있는 SDE 방법보다는 SD 방법이 적합하다고 판단하였다.

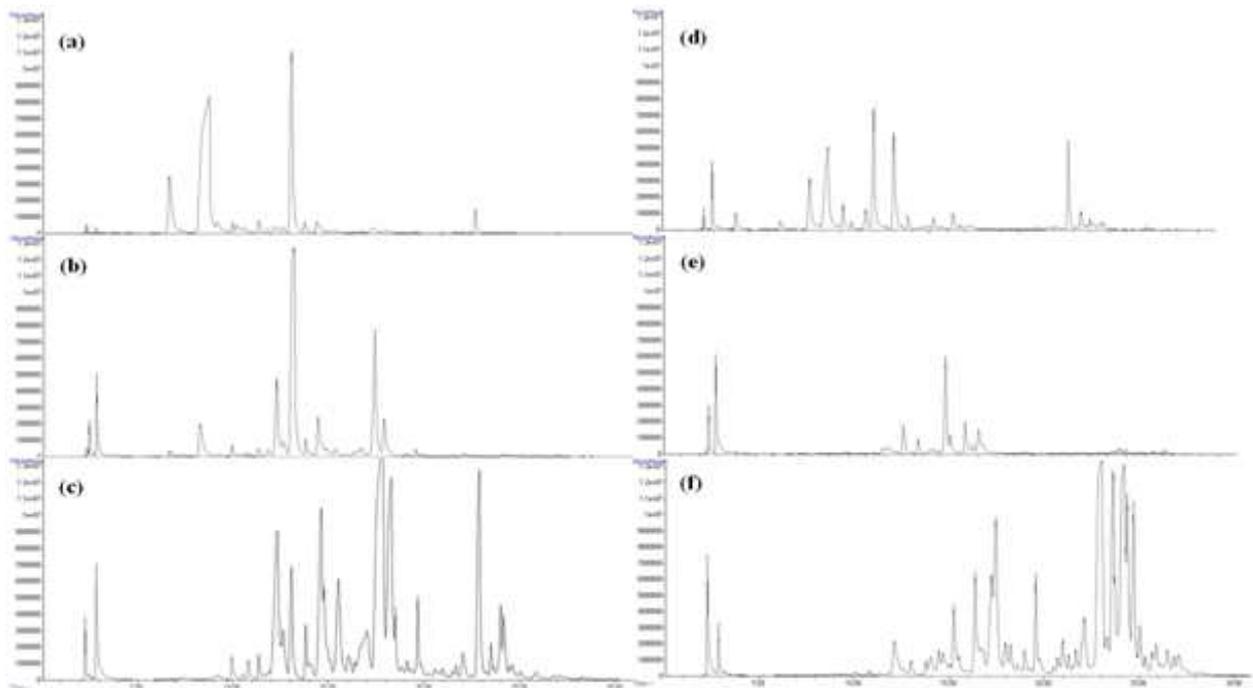


그림 17. 사자발쑥과 참쑥 각각의 무처리군, SD처리군, SDE 처리군의 휘발성 향미 성분
(a) 사자발쑥 무처리군, (b) 사자발쑥 SD 처리군, (c) 사자발쑥 SDE 처리군, (d) 참쑥 무처리군, (e) 참쑥 SD 처리군, (f) 참쑥 SDE 처리군

㉡ 쑥 추출물의 휘발성 향미성분 분석

○ 사자발쑥, 참쑥 각각의 무처리군, 생쑥을 SD 처리한 추출물과 건조쑥을 SD처리한

추출물의 휘발성 향미 분석한 GC-MS 크로마토그램 결과는 그림 18과 같다. 생쭈, 수증기증류(SD), 동결건조 후 수증기증류(FDSD)에 의한 사자발쭈의 휘발 성분은 각각 24, 26, 38가지가 동정되었으며, 참쭈는 각각 59, 41, 44가지의 휘발성 성분들이 동정 되었다.

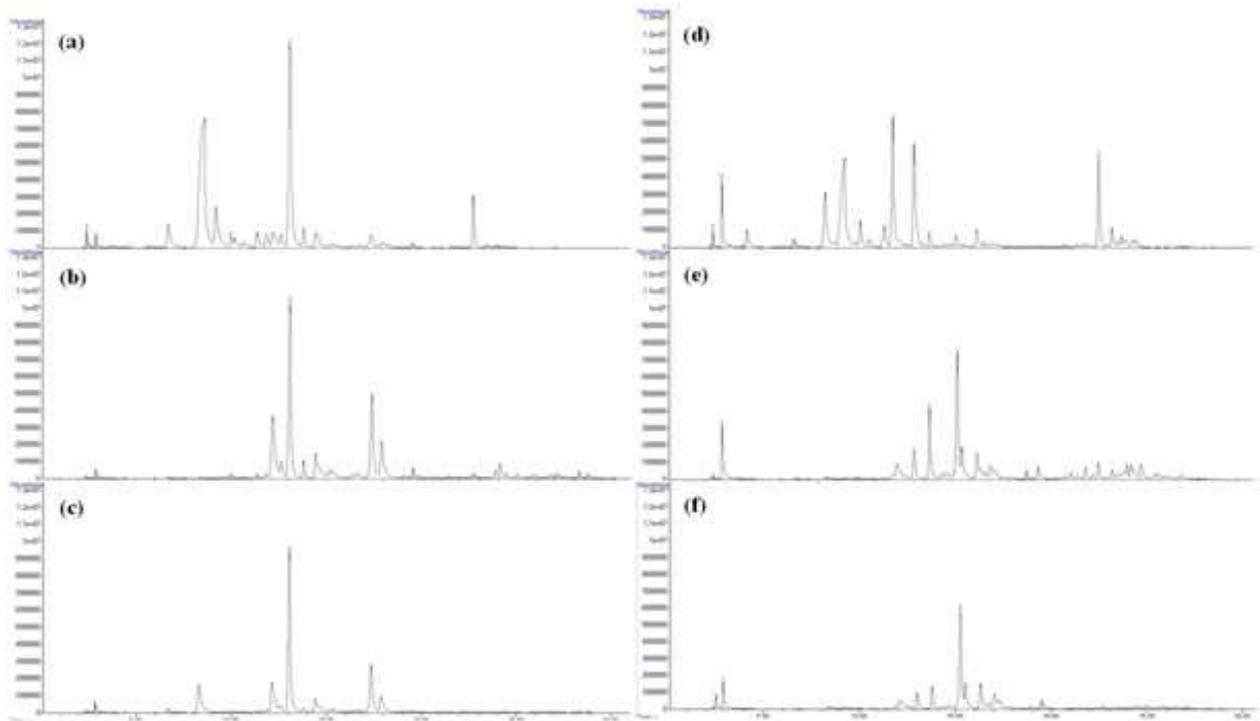


그림 18. 사자발쭈와 참쭈 각각의 무처리군, 생쭈 SD, 건조쭈SD 처리군의 휘발성 향미 성분 (a) 사자발쭈 무처리군, (b) 사자발 건조쭈 SD 처리군, (c) 사자발 생쭈 SD 처리군, (d) 참쭈 무처리군, (e) 참 건조쭈 SD 처리군, (f) 참 생쭈 SD 처리군

- 건조여부에 따른 사자발쭈, 참쭈 추출물의 총 휘발성분 함량은 그림 19와 같다. 생쭈, 수증기증류(SD), 동결건조 후 수증기증류(FDSD)에 의한 사자발쭈의 총 휘발성분은 각각 $.78 \pm 0.14$, 2.01 ± 0.06 , $3.19 \pm 0.21 (\times 10^9 \text{ ion counts})$ 로 생쭈의 휘발성분이 가장 많았으며 수증기 증류된 시료가 가장 적었다. 생쭈, 수증기증류(SD), 동결 건조 후 수증기증류(FDSD)에 의한 참쭈의 총 휘발성분은 각각 3.96 ± 0.29 , 1.89 ± 0.45 , $2.82 \pm 0.01 (\times 10^9 \text{ ion counts})$ 로 생쭈의 휘발성분이 가장 많았으며, 수증기 증류된 시료가 가장 적었다. 사자발쭈, 참쭈 각각을 건조하여 SD 처리한 추출물이 생쭈를 SD 처리하여 얻은 추출물에 비해 63%, 67% 높은 휘발성 성분을 나타내었다. 즉 생쭈의 휘발성분이 가장 많고 건조처리에 의해 상당량의 휘발성분이 감소하였으나 생쭈를 그대로 SD처리한 것보다는 건조 후 SD 처리하는 것이 휘발성분 함량을 유지하는 데 도움이 되었다.

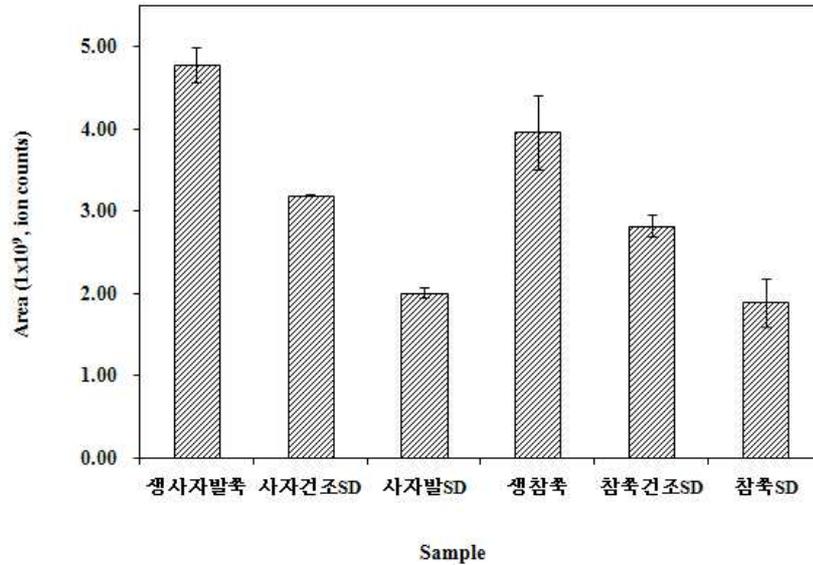


그림 19. 사자발쑥과 참쑥의 총 휘발성분 함량

- 건조여부에 따른 사자발쑥, 참쑥 추출물의 휘발성분의 동정 및 aroma description 은 각각 표 9와 표 10에 나타내었다.
- 생쑥, 수증기증류(SD), 동결건조 후 수증기증류(FDSD)에 의한 사자발쑥의 주요 휘발성분 변화는 표 9에 나타내었다. 생사자발쑥의 주요 휘발성분은 2-hexenal, 1,8- cineole, 1-octen-3-ol, hexanal 및 hexan-1-ol 이었다. 2-Hexenal, hexanal, hexan-1-ol과 1-octen-3-ol은 전형적인 지방산화 시 생성되는 휘발성분으로 주로 linoleic acid와 같은 불포화지방산이 lipoxygenase 등의 효소 처리에 의해 발생하는 것으로 보고되고 있다[18].
- 동결건조 후 수증기 증류된 사자발쑥의 주요성분으로는 1,8-cineole, 1-octen-3-ol, 4-terpineol α-terpineol이었고, 생쑥을 그대로 SD 처리한 시료에서도 동일한 휘발성분이 주로 검출되었다. 수증기증류 된 시료군에서는 무처리군에 비해 beta-selinene이 새롭게 검출되었고 4-terpineol 및 alpha-terpineol 등의 정유성분 (essential oil)이 상당량 발생하였으며 2-hexenal, hexanal, hexan-1-ol 등의 탄소 6개를 갖는 알코올이나 알데하이드의 함량은 감소하거나 검출되지 않았다. SD 즉 수증기 증류의 고온 처리에 의해 휘발성이 강한 2-hexenal 등이 상당 부분 휘발 하였으며 상대적으로 열에 안정한 정유성분이 증가함을 의미한다(표 9).
- 건조 후 SD 처리한 사자발쑥의 생쑥을 SD 처리한 시료보다 2-hexenal 함량이 유의적으로 감소하였으며 다른 정유성분인 1,8-cineole, α-terpineol이 SD만 처리한 시료보다 상대적으로 다량 검출되었다. 이는 동결 건조 처리에 의해 관능적으로 불리한 2-hexenal, hexanal, hexan-1-ol 계통의 휘발성분이 감소할 수 있음을 의미한다.
- 생쑥, 수증기증류(SD), 동결건조후 수증기증류(FDSD)에 의한 참쑥의 주요 휘발 성분 변화는 표 10에 나타내었다. 생참쑥 시료에서는 1-hexanol이 가장 많이 검출 되었고 다량의 hexane, 2-hexenal도 검출되었다. 이는 참쑥의 linoleic acid

산화에 의해 다량의 휘발성분이 생성되었음을 의미한다[18].

- 생참쑥을 그대로 SD 한 시료의 경우 생참쑥에서는 검출되지 않았던 thujone, artemisia ketone, borneol, 1-octen-3-ol, camphor, 1,8-cineole 등이 검출되었으며 1-octen-3-ol도 검출되었다. 참쑥을 건조 후 SD 한 경우 생쑥의 SD와 유사한 휘발성분 profile이 검출되었으며 사자발쑥과 동일하게 전체적으로 휘발성분 함량이 증가하여 정유성분인 thujone, 1,8-cineole이 더 증가 하는 경향을 나타내었다. 반면에 limonene 및 1-hexanol의 함량은 SD 처리에 의해 감소되어 검출되지 않았다.
- 처리조건에 따른 총 휘발성분 함량 및 각각의 휘발성분 분석을 통해 **참쑥을 건조 후 SD 처리**하는 것이 유기용매의 잔존가능성을 줄이고 쑥 특유의 정유 성분을 유지하면서 관능성을 감소시키는 leaf, fat, rancid 향을 지닌 휘발성분들을 최소화시킬 수 있는 것으로 판단된다.

표 9. 사자발쑥의 주요 휘발성 향미 성분의 peak area

RI	Volatile compound	Aroma descriptions	Peak area (1x10 ⁸ , ion counts)			ID
			Raw	FDS	SD	
601	<i>n</i> -Hexane	ethereal, kerosene-like	0.27±0.14	0.55±0.16	0.41±0.08	MS/RI
804	Hexanal	green, fruity, fishy, grassy, herbal, leafy	3.06±1.76	nd ^{d)}	0.27±0.00	MS/RI
865	2-Hexenal	apple, green, leaf, fat, rancid	20.77±4.42	0.08±0.11	2.23±0.17	MS/RI
896	Hexan-1-ol	resin, flower, green	1.53±1.78	nd	nd	MS/RI
924	alpha-Thujene	woody, herbal, green	0.38±0.09	0.31±0.02	0.04±0.06	MS/RI
933	alpha-Pinene	fruity, sweet, woody, pine, citrus, lime, camphoraceous	0.48±0.04	nd	0.05±0.07	MS/RI
976	Sabinene	fresh, citrus note, spicy, sweet, woody	0.77±0.09	0.26±0.00	0.10±0.01	MS/RI
995	beta-Myrcene	metallic, musty, fruity, soapy, lemon, spicy, woody	0.51±0.33	nd	nd	MS/RI
1007	1-Octen-3-ol	mushroom, soap, plastic	1.07±0.45	4.51±0.57	2.49±0.10	MS/RI
1024	alpha-Terpinene	gasoline-like, ethereal, fruity, lemon	0.48±0.26	1.01±0.03	0.40±0.01	MS/RI
1043	1,8-Cineole	mint, sweet	13.00±1.03	10.61±0.93	7.78±0.75	MS/RI
1070	gamma-Terpinene	citrus-like, terpeny, herbaceous, fruity, sweet	0.67±0.20	0.99±0.13	0.21±0.03	MS/RI
1095	trans-Sabinene hydrate	warm, balsamic-woody, mild	0.92±0.13	1.51±0.75	0.88±0.21	MS/RI
1210	4-Terpineol	pungent, woody, earthy	0.80±0.20	4.13±1.43	2.85±0.14	MS/RI
1233	alpha-Terpineol	oil, anise, mint	0.42±0.09	2.31±0.58	1.32±0.02	MS
1303	Borneol	camphoraceous, musty	0.21±0.21	0.51±0.25	0.07±0.00	MS
1450	trans-Caryophyllene	musty, green, spicy, woody, terpene-like, fruity, sweet	1.79±0.53	0.27±0.11	0.05±0.07	MS/RI
1513	trans-beta-Farnesene	oily, fruity, citrus-like, woody	nd	0.32±0.02	nd	MS/RI
1526	beta-Selinene	herbaceous	nd	0.73±0.05	0.04±0.06	MS/RI

표 10. 참쑥의 주요 휘발성 향미 성분의 peak area

RI	Volatile compound	Aroma descriptions	Area (1x10 ⁸ , ion counts)			ID
			Raw	FSDS	SD	
600	<i>n</i> -Hexane	ethereal, kerosene-like	2.01±0.34	1.36±0.77	2.59±0.06	MS/RI
864	2-Hexenal	apple, green, leaf, fat, rancid	3.07±2.07	0.18±0.01	0.01±0.12	MS/RI
901	<i>n</i> -Hexan-1-ol	resin, flower, green	6.83±5.93	nd	nd	MS/RI
901	Hexanal	green, fruity, fishy, grassy, herbal, leafy	2.96±5.13	nd	nd	MS/RI
925	alpha-Pinene	fruity, sweet, woody, pine, citrus, lime, camphoraceous	2.01±0.79	0.03±0.04	0.01±0.09	MS/RI
979	beta-Pinene	-	1.37±0.30	nd	nd	MS
994	beta-Myrcene	metallic, musty, fruity, soapy, lemon, spicy, woody	5.36±1.14	0.13±0.18	0.18±0.26	MS/RI
1005	1-Octen-3-ol	mushroom, soap, plastic	nd	1.83±0.43	0.92±0.09	MS/RI
1039	1,8-Cineole	mint, sweet	nd	1.52±0.18	1.28±0.60	MS/RI
1039	dl-Limonene	licorice, green, citrus-like, ethereal, fruity	4.71±1.72	nd	0.90±0.19	MS/RI
1070	Artemisia ketone	green, Herbal	0.50±0.30	3.36±0.03	4.78±0.07	MS/RI
1127	beta-Thujone	-	nd	6.67±0.72	1.21±0.16	MS
1137	alpha-Thujone	-	0.12±0.13	2.03±0.31	1.58±0.29	MS/RI
1168	Camphor	camphor, green, dry, leaf	0.37±0.47	1.45±0.43	0.34±0.11	MS/RI
1185	Pinocarvone	-	nd	0.30±0.04	1.22±0.56	MS/RI
1205	borneol	camphoraceous, musty	nd	1.45±0.03	0.50±0.40	MS/RI
1208	4-Terpineol	peach-like, anise, oily, fruity, floral, minty, toothpaste	0.11±0.19	nd	0.07±0.09	MS/RI
1276	Chrysanthenyl acetate	-	nd	0.47±0.10	0.27±0.20	MS/RI
1302	Neryl acetate	floral, rose, fruity, raspberry	0.11±0.18	0.50±0.05	nd	MS
1413	Beta-Elemene	waxy, herbaceous	nd	0.29±0.40	nd	MS/RI
1449	trans-Caryophyllene	musty, green, spicy, woody, terpene-like, fruity, sweet	2.60±1.00	0.52±0.22	0.05±0.08	MS/RI
1480	Germacrene	woody, spicy	0.03±0.06	0.49±0.05	nd	MS
1490	beta-Selinene	herbaceous	0.41±0.37	0.26±0.00	nd	MS/RI
1552	delta-Cadinene	herbaceous	0.25±0.06	0.13±0.19	0.19±0.04	MS/RI
>1575	Caryophyllene oxide	sweet, fruity, sawdust, herbaceous	nd	0.61±0.15	0.12±0.07	MS/RI

(나) 미세캡슐화를 통한 썬의 소재화

① 연구방법

㉠ 고 안정성의 1차 유화액(W/O emulsion) 제조

○ 1차 유화액의 조성비(중심물질:피복물질) 최적화

1차 유화액의 조성비를 설정하기 위해 썬추출물과 옥배경화유의 비율을 1:3(v/w)에서 1:0.5의 범위에서 전체 유화액에 대한 피복물질(옥배경화유, Wm1)의 상대적인 비율을 단계적으로 감소시켜 유화액을 제조하고 유화 안정성을 측정하였다. 유화 안정성은 다음의 유화안정지수(emulsion stability index, ESI)식에 측정값을 대입 하여 산출하였다[19].

$$ESI(\%) = \left[1 - \frac{\text{volume of separated layer}}{\text{total volume of emulsion}} \right] \times 100$$

○ 1차 유화제의 종류 선정

1차 유화액(W/O type)을 위한 최적의 유화제를 선정하기 위해 HLB(hydrophilic lipophilic balance) value가 상대적으로 낮은 5종의 유화제 즉, polyglycerol polyricinoleate, sorbitan oleate, glycerol monooleate, polyethylene glycol, 및 glycerol monostearate를 사용하여 각각의 유화액 제조 후 유화 안정지수를 측정하였다(표 11).

○ 1차 유화제의 최적농도 설정

위의 실험에서 선정된 유화제(polyglycerol polyricinoleate, HLB 0.6, PGPR)를 0.5~2.0%(w/v)의 농도범위에서 0.5% 단위로 농도를 단계적으로 증가시키며 제조한 유화액의 유화안정지수를 측정하였다.

표 11. 1차 유화에 사용될 유화제의 종류

HLB* value	Emulsifiers
0.6	polyglycerol polyricinoleate
1.8	sorbitan oleate
2.8	glycerol monooleate
3.4	polyethylene glycol
3.8	glycerol monostearate

*Hydrophilic-lipophilic balance

㉡ 고 안정성의 2차 유화액(W/O/W type) 제조

○ 2차 유화액(W/O/W emulsion)의 조성비 최적화

2차 유화액의 조성비를 설정하기 위해 중심물질(1차 유화액)과 피복물질(SPS와 isomalt 혼합액)의 비율[20, 21]을 1:3(v/v)에서 1:1의 범위에서 전체 유화액에 대한 피복 물질의 상대적인 비율을 단계적으로 감소시켜 유화액을 제조하고 유화안정성을 측정 하였다.

○ 2차 유화제의 종류 선정

2차 유화액(W/O/W type)을 위한 최적의 유화제를 선정하기 위해 HLB (hydrophilic lipophilic balance) value가 상대적으로 높은 4종의 유화제를 사용하여 각각의 유화액을 제조 후 유화안정지수를 측정하였다. 4종류의 유화제는 sugar ester, polyoxyethylene sorbitan monooleate, polyoxyethylene sorbitan monolauate 및 lecithin 이며 표 12에 나타내었다.

표 12. 2차 유화에 사용될 유화제의 종류

HLB value	Emulsifiers
11.0	sugar ester
15.0	polyoxyethylene sorbitan monooleate
16.7	polyoxyethylene sorbitan monolauate
19.0	lecithin

○ 2차 유화제의 농도 설정

위의 실험에서 선정된 유화제를 0.5~1.0%(w/v)의 농도범위에서 유화제의 농도를 단계적으로 증가시키며 첨가하여 제조한 유화액의 유화안정지수를 측정하였다.

㉔ 미세캡슐화 공정의 수율 분석

미세캡슐화 수율을 분석하기 위해 예비실험을 수행하였으며 미세캡슐공정에 안정한 내부표준물질로 oil red O를 선정하였으며, 1차 피복물질(옥배경화유)에 0.2% 농도로 첨가하여 미세캡슐화 공정을 수행하였다. 미세캡슐화 된 분산액으로부터 *n*-hexane에 용출된 oil red O를 분광광도계로 정량분석 하였으며, 510nm에서 측정된 흡광도를 다음의 식을 사용하여 미세캡슐화 수율로 환산하였다[22].

$$Yield\ of\ microencapsulation\ (\%) = \frac{B - A}{B} \times 100$$

A: Absorbance of oil red O isolated from non-encapsulated layer

B: Absorbance of oil red O added in hydrogenated corn oil

㉔ 미세캡슐화 분산액의 분말화

미세캡슐화 분산액의 분말화를 위한 dehydration 과정으로 18시간 동안 동결건조 (freeze drying)를 수행하였다.

② 연구결과

㉔ 고 안정성의 1차 유화액(W/O emulsion) 제조

○ 1차 유화액의 조성비(중심물질:피복물질) 최적화

1차 유화액의 조성비에 의한 유화안정지수는 그림 20에 나타내었다. 1차 유화액의 유화안정지수는 중심물질(쑥추출물, Cm1)과 피복물질의 비율이 1:3에서

1:1.5(v/w)로 피복물질의 농도가 상대적으로 감소하는 동안 100%를 유지하였으나, 이후 1:1, 1:0.75, 1:0.5로 피복물질의 농도를 줄이는 경우 68.4%까지 급격히 유화안정지수가 낮아지는 것으로 나타났다. 이러한 결과로부터 고 안정성을 유지하면서 중심물질을 최대로 함유할 수 있는 최적의 조성비는 1:1.5로 판단되었다.

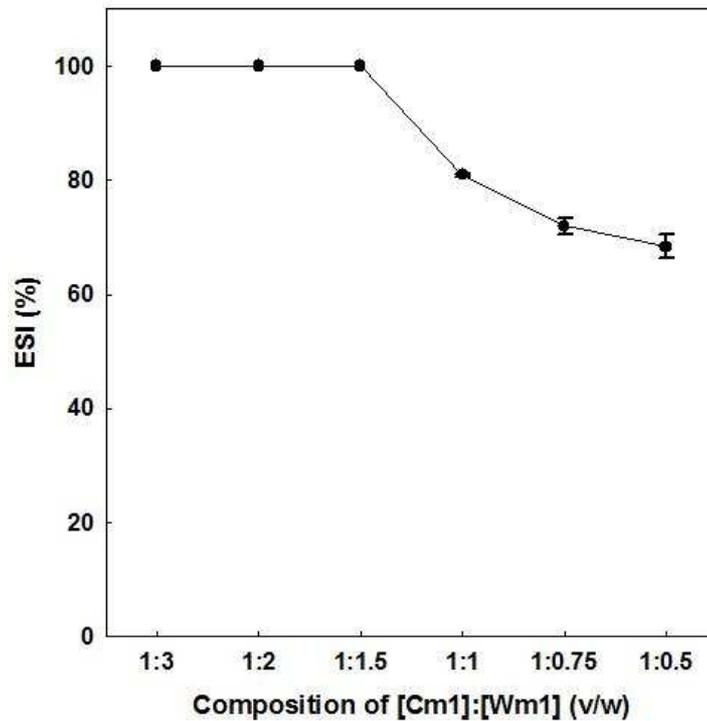


그림 20. 1차 유화액의 조성비에 의한 유화안정지수

○ 1차 유화제의 종류 선정

유화제 종류에 따른 유화안정지수 결과는 그림 21에 나타내었다. Polyglycerol polyricinoleate(HLB 0.6)를 사용했을 때 ESI가 98.3%로 가장 안정한 유화액을 형성하였고 polyethylene glycol(HLB 3.4)의 ESI가 80% 정도였다. 따라서 polyglycerol polyricinoleate을 1차 유화제로 선정하였다.

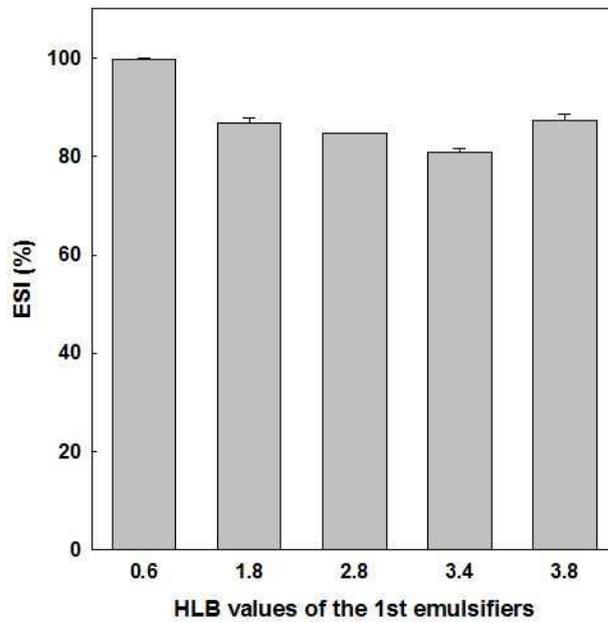


그림 21. 다양한 유화제에 의한 1차 유화액의 유화안정지수

○ 1차 유화제의 최적농도 설정

선정된 1차 유화제 농도에 따른 유화안정지수 결과는 그림 22에 나타내었다. 유화제 첨가 농도가 0.5에서 2.0%로 증가 시 유화안정성은 비례적으로 증가하였다. 경제성을 동시에 고려하여, **polyglycerol polyricinoleate**의 최적농도는 1%로 판단되었다.

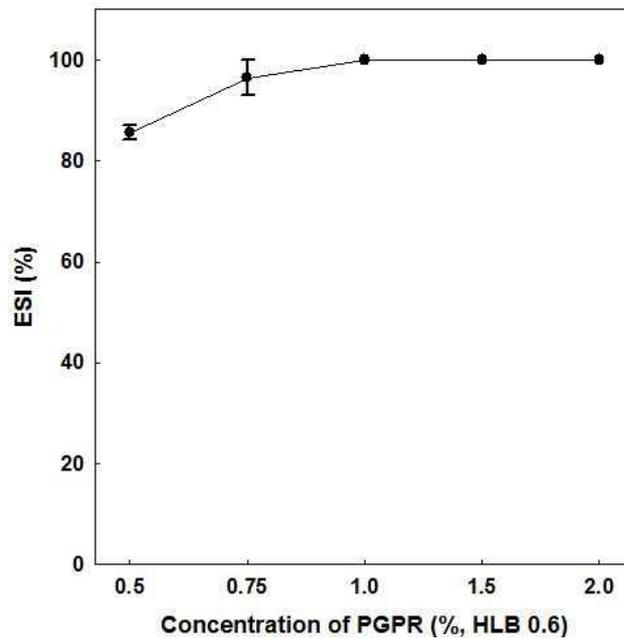


그림 22. 유화제 PGPR 농도에 따른 유화안정지수

㉔ 고 안정성의 2차 유화액(W/O/W type) 제조

○ 2차 유화액(W/O/W emulsion)의 조성비 최적화

중심물질(1차 유화액)과 피복물질(SPS와 isomalt 혼합액)의 비율에 따른 2차 유화액의 안정성은 그림 23에 나타내었다. 2차 유화액의 ESI 결과로부터 **중심물질과 피복물질의 비율이 1:3에서, 94.6%로 가장 안정한 것으로** 판단되었다.

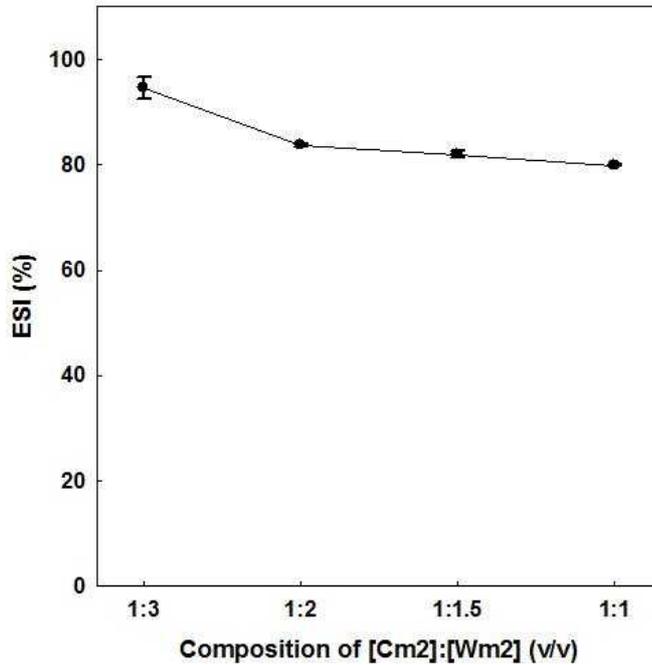


그림 23. 중심물질(1차 유화액)과 피복물질 비율에 따른 이차유화액의 유화안정지수

○ 2차 유화제의 종류 선정

유화제의 종류를 달리한 ESI(%) 측정결과를 그림 24에 나타내었다. 상대적으로 가장 안정한 유화액을 형성한(ESI 90.7%) **polyoxyethylene sorbitan mono lauate(HLB 16.7)**가 최적의 2차 유화제로 판단되었다.

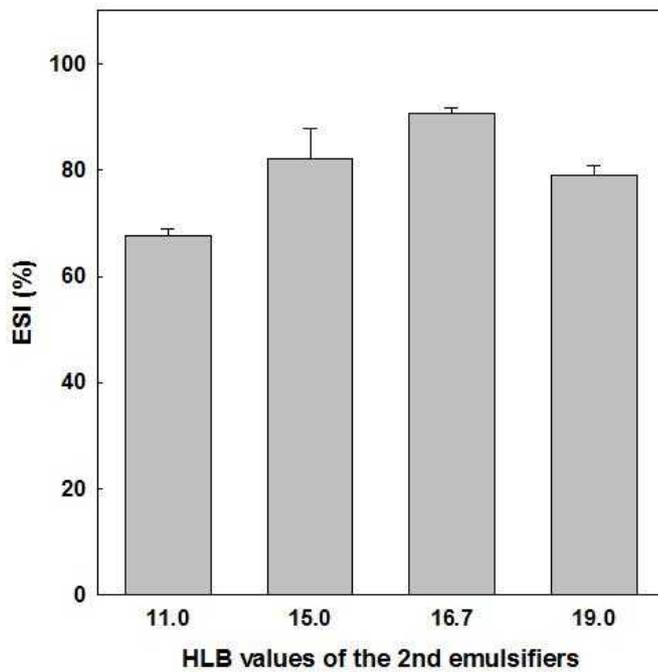


그림 24. 유화제의 종류에 따른 2차 유화액의 유화안정지수

○ 2차 유화제의 농도 설정

2차 유화제(polyoxyethylene sorbitan monolauate,PSML)의 농도에 따른 ESI (%)를 그림 25에 나타내었으며, 그 결과 0.67%를 사용하였을 때 ESI가 94.9%를 나타내어 0.67%가 최적농도임을 알 수 있었다.

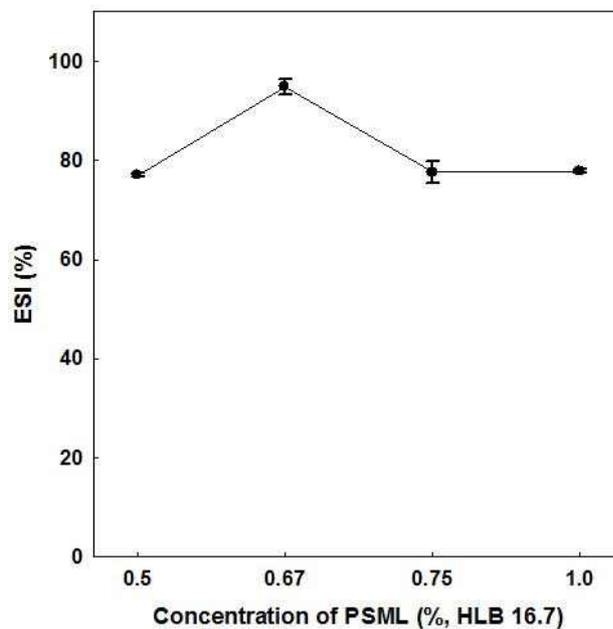


그림 25. PSML 농도에 따른 2차 유화액의 유화안정지수

예비실험결과, 1차 유화계(W/O type)의 피복물질로 옥배경화유(hydrogenated corn oil, melting point 46°C)가 유화안정성 및 경제성 측면에서 최적으로 판단되었으며, 2차 유화계 (W/O/W type)의 경우 유화안정성과 미세 캡슐화 분산액의 분말화 측면을 동시에 고려하여 15%(w/v) sweet potato starch(SPS)에 isomalt를 30%(w/v) 첨가한 혼합용액을 피복물질로 선정하고 미세캡슐화 공정에 사용하였다.

㉔ 미세캡슐화 공정의 수율 분석

- 미세캡슐화 수율을 분석하기 위해 예비실험을 수행한 결과는 그림 26에 나타내었다. Oil red O의 흡광도는 512nm가 358nm 보다 더 민감하게 반응하였기에 512nm를 흡광도로 결정하여 미세캡슐화 수율 측정에 사용하였다.

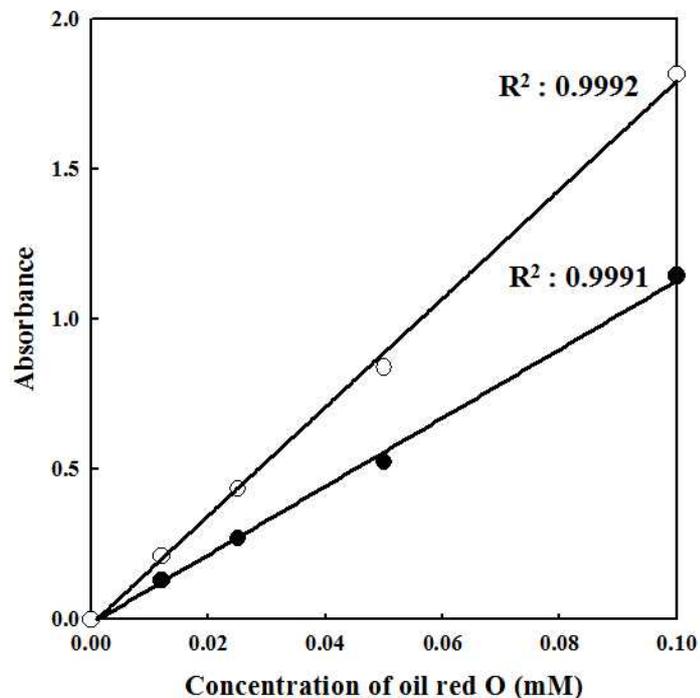


그림 26. hexan에서 oil red O의 흡광도 변화(●: Abs. at 358 nm, ○: Abs. at 512 nm)

- 본 연구에서 설정된 1차 유화액의 조성비(중심물질:피복물질), 1차 유화제의 종류 선정, 1차 유화제의 최적농도, 2차 유화액(W/O/W emulsion)의 조성비, 2차 유화제의 종류 선정 최적화, 및 2차 유화제의 농도 최적화 등에 의한 이중미세캡슐 조성방법은 그림 27에 나타내었다. 유화 최적조건에서 **썩 추출물의 미세캡슐화 수율은 92.26%**로 확인되었다.

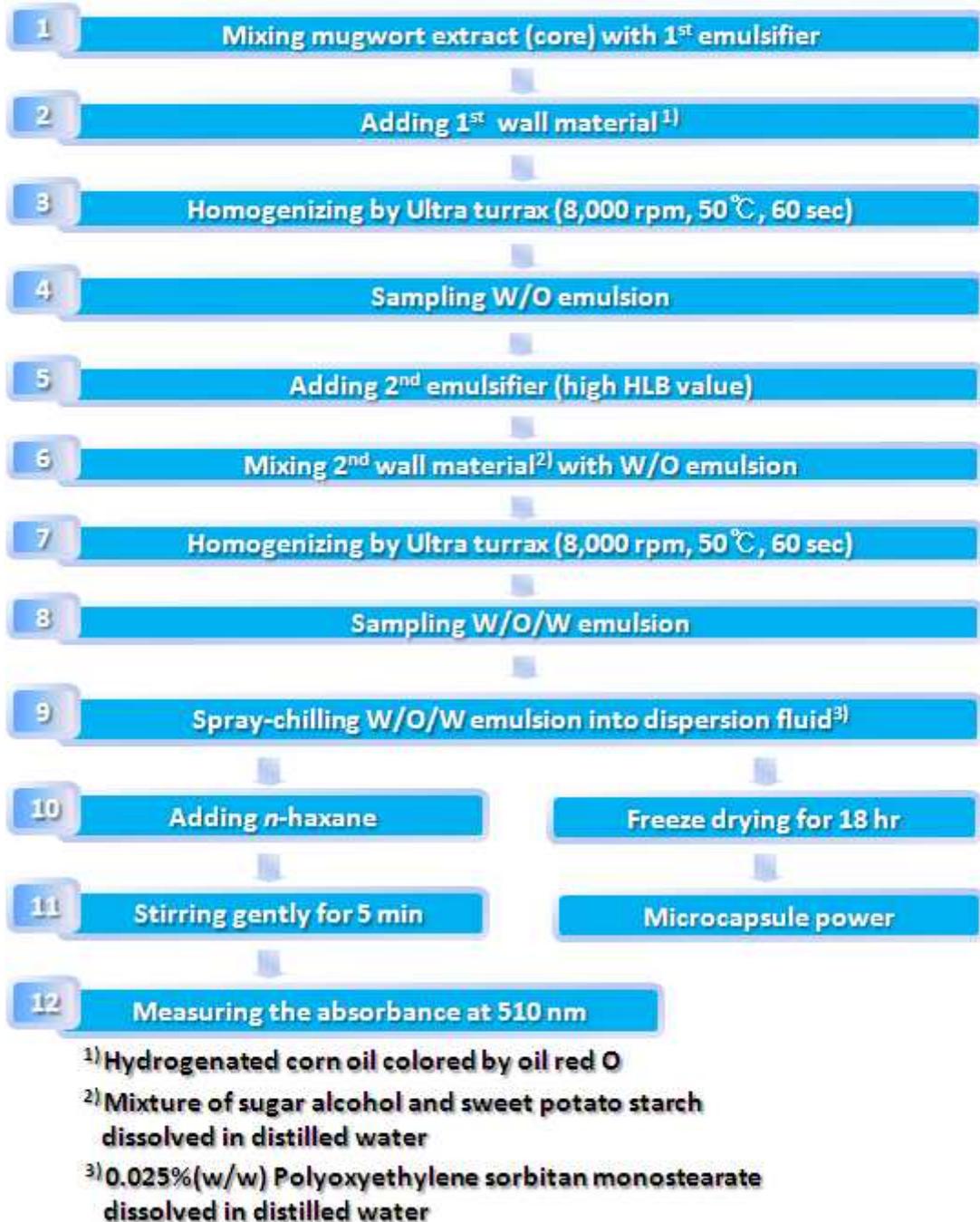


그림 27. 쑥 추출물 함유 이중미세캡슐 제조법

㉔ 미세캡슐화 분산액의 분말화

- 동결건조 결과 쑥 추출물 함유 미세캡슐 입자(microencapsulated particles)의 수분함량은 0.86%를 나타내었으며, 그림 28과 같이 입자형태가 균일하고 입자간의 응집이 없는 미세캡슐 분말이 제조되었다.



그림 28. 쑥 추출물 함유 이중미세캡슐의 건조 분말 사진

- 본 연구를 통해 1차, 2차 에멀전 제조를 활용한 이중미세캡슐 제조 조건이 최적화 되었으며, 동결건조 결과 수분함량이 낮고 입자가 균일한 미세캡슐 분말 제조가 가능하였다.

나. 관능성이 개선된 쑥 음료 개발

(1) 쑥 추출물 활용 식음료 제품 컨셉 개발

(가) 쑥 음료 및 비만개선 시장조사 및 국산 쑥을 이용한 기존 제품 분석

- ① 쑥을 이용한 식품으로는 쑥 엑기스, 쑥 환, 쑥 분말, 쑥 캔디가 시중에 판매되고 있으며 가정에 따라 쑥 차, 쑥 주 또는 쑥 발효음료를 만들어 음용하는 것으로 조사되었다.
- ② 쑥 엑기스는 쑥을 80% 함유시켜 쑥의 유효성분을 농축시킨 것으로 여기에 대추, 생강, 감초, 맥아를 첨가해 흡수율을 높인 제품이다.
- ③ 쑥 환은 쑥 그대로를 다량 섭취할 수 있는 형태로 조제한 것이며 분말은 음식 첨가물로 각종 음식 만들 때 쑥 분말을 일정량 혼합해 요리함으로써 쑥의 유효성분을 손쉽게 섭취할 수 있도록 한 제품이다.
- ④ 쑥 음료는 쑥과 미나리를 발효시킨 것으로 전라남도 지역의 가정에서 조제 음용하는 것으로 보고되었다. 쑥과 미나리를 깨끗이 손질하여 물기를 빼고 깨끗이 씻어 놓은 항아리에 쑥, 미나리, 흑설탕을 키키키로 차례차례 넣고 깨끗이 씻은 돌로 눌러 놓는다. 1주일 지나면 쑥이 발효되면서 갈색빛의 음료가 나옴. 보름쯤 지나서 쑥과 미나리를 건져 내고 다른 용기에 따로 담아 서늘한 곳에서 보관하고, 음용 시 한번 끓인 후 식혀서 먹는 것으로 조사되었다.
- ⑤ 쑥을 이용한 음료 제품으로는 20대 이상의 출산경험이 있는 주부층을 대상으로 했던 제일제당의 「쑥의 순」과 남양유업의 에서 내놓은 「내몸에」 그리고 웅진식품의

「쑥의 향기」가 있다. 「쑥의 향기」의 경우 쑥 엑기스 분말을 사용하여 봄쑥의 맛을 살린 제품이다. 비타민 A와 C, 무기질이 풍부해 피부미용과 비만해결에 유용하며, 기혈을 바로잡고 몸을 덥혀주는 기능이 있어 피부미용, 피로회복, 숙취해소는 물론 다이어트 보조음료로도 대용이 가능하다고 강조하였다.

⑥ 그러나 현재 시장에서 시장성을 인정받은 쑥 음료 제품은 없는 상태이다.

(나) 비만개선 혹은 기능성을 지닌 식음료 시장 동향 분석

- ① 시판중인 다이어트 음료는 식품의약품안전청에 개별 안정성 심사를 거쳐 등록된 성분을 사용하고 있다. 다이어트 제품에는 주로 식이섬유를 쓰며 첨가물로 체지방분해를 돕는 L-카르니틴이나 지방합성저해 기능이 있는 가르시니아 캄보지아껍질 추출물을 사용한다. 다이어트 음료의 주 재료인 식이섬유의 경우 CJ 팻다운이 폴리덱스트로스를, 남양유업 S-Line은 난소화성 말토덱스트린을, 웰시안 코리아 M2는 이눌린을 쓰고 있다.
- ② 2009년 기능성이 유망한 소재에 대한 조사 결과 (2009 농업전망대회 발표) ‘가르시니아 캄보지아 껍질 추출물’이 압도적인 1위를 차지했으며 2위 오메가 3, 3위 홍삼 순으로 나타났다. 이는 기능성 식품 업계가 2009년도 다이어트 시장에 주력할 것이라는 것을 단적으로 보여주는 실례이다.

(다) 쑥 추출물 활용 식음료 제품 컨셉 개발

① 조사목적

- ㉠ 쑥 추출물 활용 관능성이 개선된 음료 제품 개발을 위해 유사 제품군인 차 추출 음료의 소비 구매 빈도 및 구매 주요 이유를 파악하고 쑥 추출 음료에 대한 수용도, 기대하는 효능 및 쑥 추출 음료에 의해 연상되는 특성을 파악할 필요가 있다.
- ㉡ 또한 개발 될 쑥 음료 제품에 대해 소비자가 바라는 특성이 무엇인지를 조사하여 2차년도 제품 개발에 주요 관리 포인트를 도출하고자 하였다.

② 연구방법

㉠ 소비자 패널의 선발

- 중심지역검사(Central Location Test)로 진행하였으며 최근 3개월 내에 차 음료 구매 경험이 있는 20-30대 여성 (여대생, 직장인, 주부) 가운데 본인 또는 가족 중 음료 관련 회사, 또는 식품 유통 업체 등에 근무하지 않는 조건과 사례 내용을 안내판에 게시한 후 참여를 희망하는 소비자를 대상으로 하였다. 교육받은 면접원이 검사대상 조건 부합 여부를 재확인 한 후 총 500명의 소비자 패널을 선정하여 검사에 참여시켰다.
- 조사장소는 여대생의 경우 숙명여대, 직장여성은 여의도, 그리고 주부는 서울 시내 대형할인매장으로 하였으며 조사규모는 여대생 200명, 직장여성 100명, 주부 200명 이었다.

㉡ 검사수행

○ 평가 내용 및 절차

조사 참여자는 훈련된 진행요원의 안내에 따라 의자에 착석한 후 평가 진행순서 및 주의사항에 대해 안내받고 다음 내용의 설문에 대한 응답을 진행하였다.

- : 일반적인 차 추출 음료의 구매빈도
- : 일반적인 차 추출 음료의 주된 구매이유
- : 쪽 추출 음료에 대한 소비자 수용도 평가
- : 쪽 추출 음료에 대해 기대되는 기능(효능)
- : 쪽 추출 음료에 대해 가장 강하게 느껴질 것 같은 특성(맛, 질감, 냄새 등)
- : 쪽 추출 음료에서 가장 바라는 특성(맛, 질감, 냄새 등)

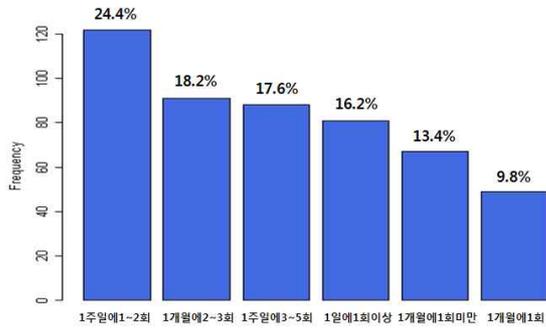
○ 통계분석

응답 간 차이 여부는 R-package (R Development Core Team (2006). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.)를 사용하여 유의성 검정을 실시하였다.

③ 연구 결과

㉠ 일반적인 차 추출 음료 구매빈도

- 소비자 패널의 일반적인 차 추출음료 구매 빈도에 대한 결과는 그림 29에 나타내었다. 응답자의 58.2%가 주 1,2회 이상 차 추출 음료를 섭취하는 것으로 조사되었다. 일반적인 차 추출 음료 구매빈도로 ‘1주일에 1~2회’가 24.4%로 가장 높은 응답을 보였으며, 그 다음으로 ‘1개월에 2~3회’, ‘1주일에 3~5회’의 응답으로 나타 나며, 매일 먹는 사람의 비율도 16.2%로 나타나 응답자 전체의 약 75%는 최소 한 달에 2~3번 이상은 구매해서 먹는 것으로 나타났다.
- 세부 그룹별 일반적인 차 추출 음료 구매빈도로 여대생의 경우 1주일에 1~2회가 가장 높으나 1주일에 3~5회와 거의 차이가 없으며, 직장여성 그룹도 여대생 그룹과 비슷한 경향을 보였다.
- 주부의 경우에는 1주일에 1~2회 26.5%로 가장 높으나, 그 다음으로는 1개월 1회 미만 19.5%로 나타나, 다른 집단과 달리 차 추출음료를 구매하는 비율이 낮은 사람들도 많은 편이었다.



62%: 1,2회 이상/주 섭취

64%: 1,2회 이상/주 섭취

52%: 1,2회 이상/주 섭취

여대생-200명

직장여성-100명

주부-200명

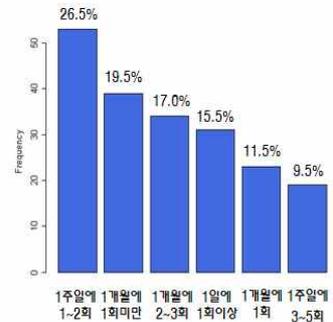
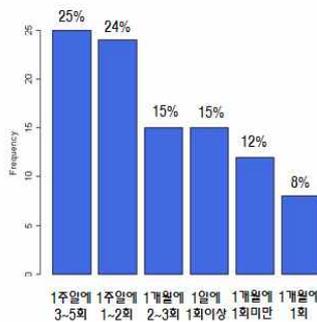
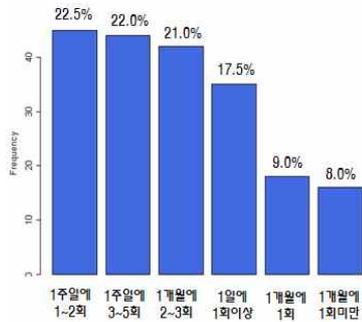
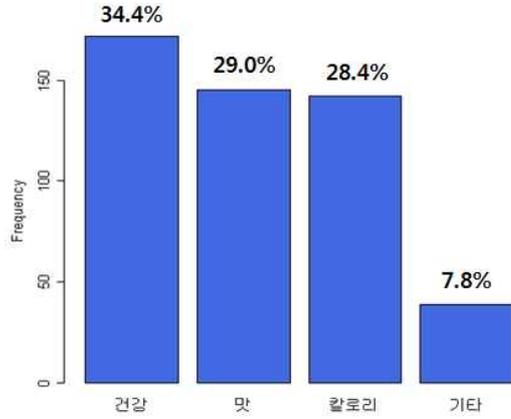


그림 29. 소비자 패널의 일반적인 차 추출음료 구매 빈도

㉠ 차 추출 음료를 구매하는 주된 이유

- 소비자 패널의 차 추출 음료를 구매하는 주된 이유는 그림 30에 나타내었다. 차 추출 음료 구매를 구매하는 주된 이유로는 ‘건강’이 34.4%로 가장 높은 응답을 보였으며, 그 다음으로 ‘맛’, ‘칼로리’의 응답으로 나타나 사람들이 주로 차 추출 음료를 몸에도 좋고, 맛도 좋으며 칼로리가 낮아서 주로 구매하는 것으로 생각된다. 기타의견으로 ‘물 대용으로’, ‘갈증해소’를 위해서 라는 응답도 있었다.
- 세부 그룹별 차 추출 음료를 구매하는 주된 이유로는 여대생의 경우에는 맛이 가장 높았으며, 그 다음으로 칼로리, 건강 순으로 나타나 젊은 여성에게는 건강 보다는 오히려 맛과 칼로리가 주된 구매이유로 나타났다.
- 직장인과 주부의 경우에는 건강을 가장 주된 이유라고 응답했으며, 특히 주부의 경우에는 맛을 선택한 비율이 다른 그룹에 비해 상대적으로 낮게 나타났다.



맛, 칼로리 > 건강

건강, 맛 > 칼로리

건강 >> 칼로리, 맛

여대생-200명

직장여성-100명

주부-200명

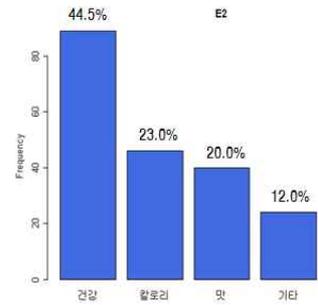
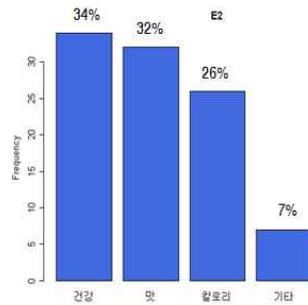
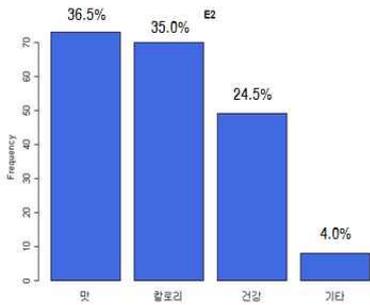


그림 30. 소비자 패널의 차 추출 음료를 구매하는 주된 이유

㉔) 썩 추출물과 음료형태의 어울림

- 썩 추출물과 음료형태의 어울림에 대한 응답결과는 그림 31에 나타내었다. 썩 추출물과 음료형태의 어울림에 대한 응답으로서 전체 평균이 5.49로서 20-38세 여성들은 '보통이다'라는 인식을 보였다. 여대생 그룹에서 썩 추출물과 음료형태의 어울림 평균은 5.5로서 전체 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.
- 직장인과 주부의 경우에도 각각 평균이 5.42, 5.52로서 전체결과와 비슷하며, 그래프 분포로 보면 가장 유사한 형태를 보이고 있다.

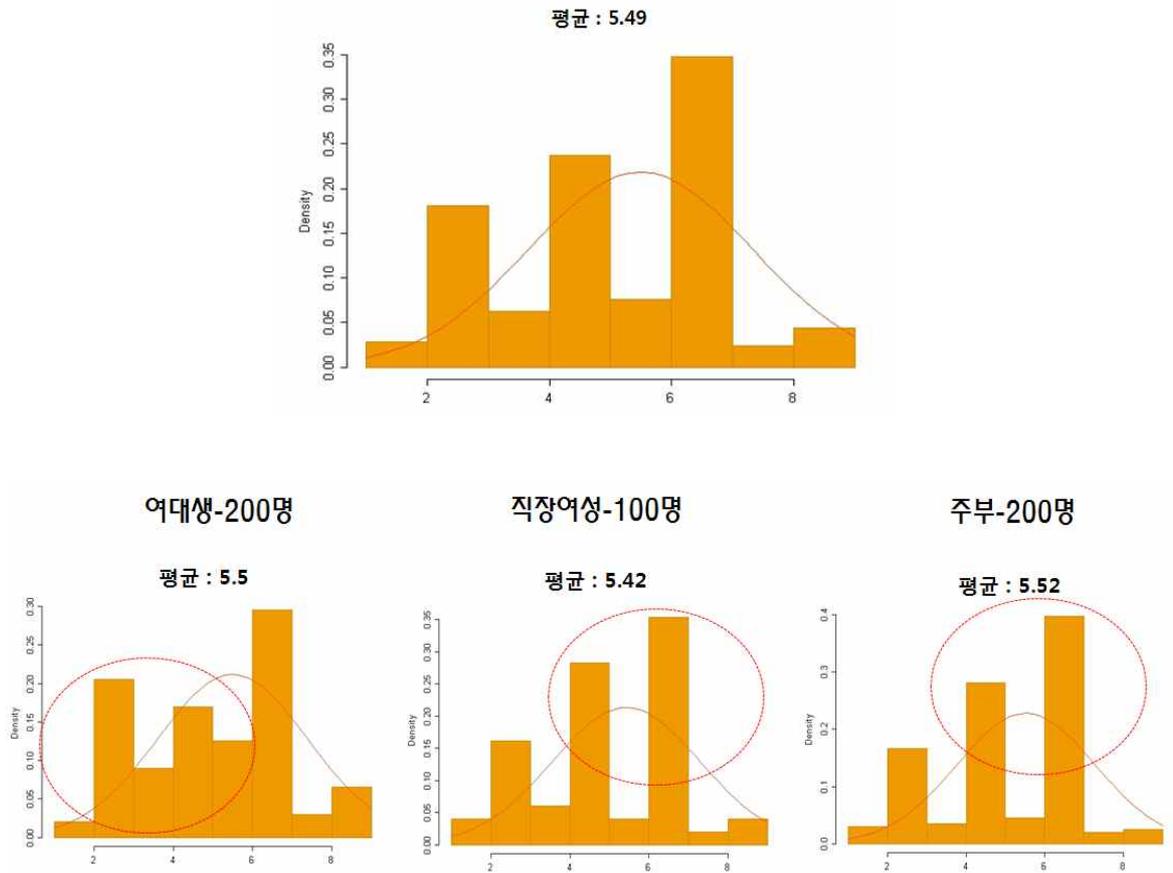


그림 31. 소비자 패널의 썬 추출물과 음료형태의 어울림에 대한 응답결과

㉠ 썬 추출 음료에서 가장 기대되는 기능/효능

- 썬 추출 음료에서 가장 기대되는 기능/효능에 대한 결과는 그림 32에 나타내었다. 썬 추출 음료에서 가장 기대되는 기능/효능으로는 '여성병(생리통 등)'이 31.6%로 가장 높은 응답을 보였으며, 그 다음으로 '피부미용', '비만개선'의 응답으로 나타나 여성들이 썬 추출 음료로부터 건강과 피부미용에 대한 기능/효능을 많이 기대하는 것으로 나타났다.
- 세부 그룹별 차 추출 음료를 구매하는 주된 이유로는 세 그룹 모두가 '여성병'을 가장 기대되는 기능/효능으로 선택하였으며, 그 다음으로 '피부미용', '비만개선'으로 세 집단 모두 썬 추출 음료에서 기대하는 기능/효능은 서로 비슷한 경향을 보였다.
- 특히 직장여성의 경우에는 다른 항목에 비해 '여성병', '피부미용'에 대해 기대하는 비율이 높은 편이었다.



여대생-200명

직장여성-100명

주부-200명

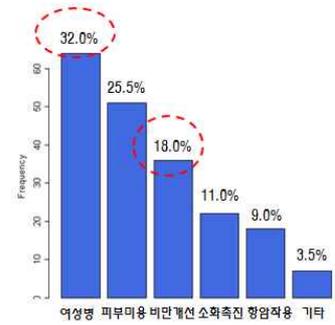
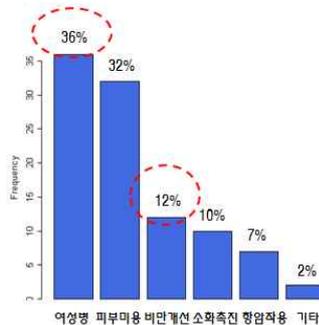


그림 32. 소비자패널의 쑥 추출 음료에서 가장 기대되는 기능/효능에 대한 결과

㉞ 쑥 음료에 대해 가장 강하게 느껴질 것 같은 특성

- 소비자패널들의 쑥 음료에 대해 가장 강하게 느껴질 것 같은 특성은 그림 33과 같다. 쑥 음료에 대해 가장 강하게 느껴질 것 같은 특성에서 모든 그룹에서 동일하게 ‘쑥 향’이 가장 많은 응답이 나왔으며, 그 다음으로 ‘쓴맛’, ‘쑥맛’에 대한 응답이 관찰되었다. 쓴 맛에 대한 우려가 가장 강한 것으로 판단되었다.

썩음료에 가장 강하게 느껴질 것 같은 특성	
썩향	250
쓴맛	131
썩맛	60
쌉쌀하다	36
텁텁하다	12
개운하다	6
덜다	5
질감이 거칠다	1
한약향	1

직장여성-100명

썩향	49
쓴맛	34
썩맛	11
쌉쌀하다	3
텁텁하다	2
개운하다	2
덜다	1

여대생-200명

썩향	92
쓴맛	61
썩맛	23
쌉쌀하다	16
텁텁하다	7
개운하다	2
덜다	2
질감이 거칠다	1

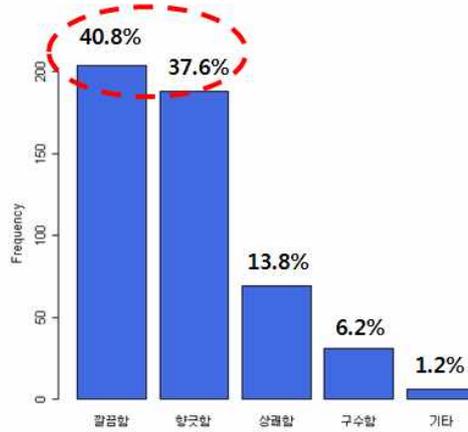
주부-200명

썩향	109
쓴맛	36
썩맛	26
쌉쌀하다	17
텁텁하다	3
덜다	2
개운하다	2
한약향	1

그림 33. 소비자 패널들의 썩 음료에 대해 가장 강하게 느껴질 것 같은 특성

㉞ 썩 추출 음료에서 가장 바라는 특성

- 썩 추출 음료에서 가장 바라는 특성에 대한 소비자들의 응답결과는 그림 34에 나타내었다. 썩 추출 음료에서 가장 바라는 특성으로는 ‘깔끔함’이 40.8%로 가장 높은 응답을 보였으며, 그 다음으로는 ‘향긋함’순으로 나타나 전체 응답자 중 약 78%가 썩 추출 음료를 마셨을 때, 깔끔하면서 썩 향의 향긋함이 전해지는 음료를 기대하는 것으로 나타났다.
- 세부 그룹별 썩 추출 음료에서 가장 바라는 특성으로는 여대생과 직장여성의 경우에는 ‘깔끔함’이 가장 높았으며, 그 다음으로 향긋함, 상쾌함의 순서로 나타났다.
- 주부의 경우에는 ‘향긋함’을 가장 바라는 특성이라고 응답했으며, 그 다음으로 깔끔함 순으로 나타나서 젊은 그룹(여대생, 직장여성)보다는 썩 추출음료의 향에 대한 기대비율이 높았다.



깔끔함 >> 향긋함 >> 상쾌함

깔끔함 > 향긋함 >> 상쾌함

향긋함 >> 깔끔함 >> 상쾌함

여대생-200명

직장여성-100명

주부-200명

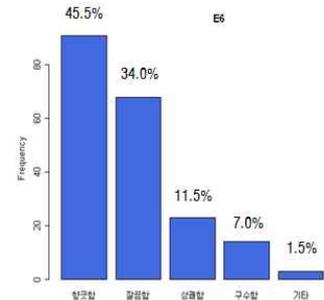
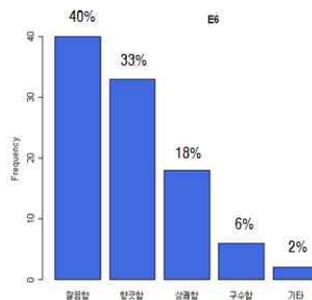
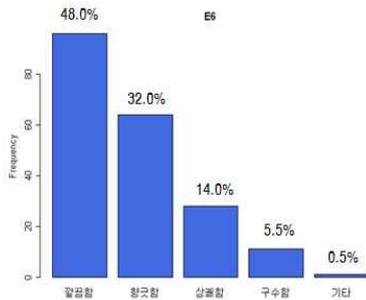


그림 34. 썩 추출 음료에서 가장 바라는 특성에 대한 소비자들의 응답결과

④ 썩 추출물 활용 식음료 제품 컨셉을 위한 소비자 설문조사 연구 결론

- ㉠ 20~30대 여성 500명을 대상으로 조사한 썩에 대한 인식조사에서 일반적인 차 추출 음료의 경우에는 여대생, 직장여성 그룹에서는 주1회 이상 구매 비율이 높았다.
- ㉡ 차 추출 음료의 주된 구매이유로는 '건강'을 선택한 비율이 가장 높아서 일반적인 탄산/이온음료와는 다르게 건강에 도움이 될 것이라는 인식이 강하였다. 비교적 나이 어린 그룹인 여대생은 '맛과 칼로리'를, 직장여성은 '건강과 맛'을, 30-38세 주부는 '건강'을 주 구매이유로 뽑았다. 여대생 35%, 직장여성 26%, 주부 23%가 주된 구매이유로 비만과 관련된 칼로리를 선택하였다.
- ㉢ 썩을 원료로 한 썩 추출물과 음료 형태의 어울림 정도는 평균 5.49로서 '보통이다'라는 인식을 가지고 있었다. 여대생 그룹이 직장여성이나 주부에 비해 다소 부정적이었다.
- ㉣ 썩 추출 음료에서 가장 기대되는 기능/효능은 '여성병(생리통등)'과 '피부미용'에 대한 기대가 가장 높으며, 여대생 22%, 직장여성 12%, 주부 18%가 비만개선에 대한 기대를 나타내었다.
- ㉤ 썩 추출 음료에서 가장 바라는 특성은 '깔끔함'이 가장 높으며, 그 다음으로 '향긋함' 순서이며, 나이가 상대적으로 많은 주부 그룹에서는 '향긋함'이 가장

바라는 특성으로 나타났다.

※ 1차년도 연구수행결과 요약

- 강화유래 사자발쑉, 사주아리쑉, 참쑉을 시료로 선정하여 쑉의 에탄올 추출물부터 라디칼소거능, 총 페놀함량 측정을 측정한 결과 **싸주아리쑉, 사자발쑉, 참쑉순으로 유의적으로 높은 전자공여능, 라디칼 소거능 및 페놀성 성분 함량**을 보유하고 있었다.
- 사자발쑉과 참쑉 추출물의 세포독성 및 *in vitro* 항비만 연구결과 참쑉 추출물이 사자발쑉 추출물에 비해 세포독성은 낮으면서 지방세포분화 억제능이 있는 것으로 판명되었다. 또한 지방축적관련 유전자 4종인 PPAR γ , aP2, ACC, GPDH의 발현에 영향을 미쳐 참쑉 추출물이 지방세포분화 억제능이 있음을 확인하였다.
- 처리 조건에 따른 휘발성분 분석을 통해 생쑉보다는 동결 건조 후 수증기 증류하는 것이 이취성분의 감소 및 해당 정유성분의 증가를 유도하였다. 사자발쑉의 주요 성분으로는 1,8-cineole, 1-octen-3-ol, terpineol이었고, 참쑉의 주요성분으로는 thujone, camphor, artemisia ketone, 1,8-cineole, 1-octen-3-ol 이었다.
- 쑉 추출물의 미세캡슐 소재화 연구를 통해 이중미세캡슐 제조를 위한 1차 유화액의 조성비 (중심물질:피복물질), 1차 유화제의 종류 선정, 1차 유화제의 최적농도, 2차 유화액(W/O/W emulsion)의 조성비, 2차유화제의 종류 선정 최적화, 및 2차 유화제의 농도 최적화 등을 결정하였다. 유화 최적조건에서 쑉 추출물의 미세캡슐화 수율은 92.26% 이었으며 수분함량이 0.86%인 입자형태가 균일하고 입자간의 응집이 없는 미세캡슐 분말이 제조되었다.
- 20~30대 여성 500명을 대상으로 조사한 쑉에 대한 인식조사에서 일반적인 차 추출 음료의 경우에는 여대생, 직장여성 그룹에서는 주1회 이상 구매 비율이 높았으며 차 추출 음료의 주된 구매이유로는 ‘건강’을 선택한 비율이 가장 높았다.
- 쑉을 원료로 한 쑉 추출물과 음료 형태의 어울림 정도는 평균 5.49로서 ‘보통이다’라는 인식을 가지고 있었으며 쑉 추출물 함유 음료에서 가장 기대되는 기능/효능으로는 ‘여성병(생리통등)’과 ‘피부미용’에 대한 기대가 가장 높았다.
- 쑉 추출 음료에서 가장 바라는 특성은 ‘깔끔함’이 가장 높으며, 그 다음으로 ‘향긋함’ 순서이었다.

2. 2차년도 연구개발수행 결과

가. 선정된 썩 추출물의 동물실험을 이용한 비만억제능 탐색

(1) 동물실험 조건확립

(가) 쥐의 종류 및 비만 유도 방법

① 지방식이섭취 비만 모델

4주령의 C57BL/6 mice를 구입(중앙실험동물)하여 1주일간 적응기를 가졌다.

② 비만사료

탄수화물, 단백질, 지방의 비율이 20%, 20%, 60%로 조제한 고지방食이를 이용하였다.

③ 식이방법

4주령의 C57BL/6 mice를 구입(중앙실험동물)하여 1주일간 적응한 후에, 조제된 standard diet(STD)을 섭취한 그룹과 high fat diet(HFD)를 섭취한 그룹으로 나누어 한 cage에 5마리를 넣어 동물실에서 4주간 비만유도를 하였다. 식이섭취량, 체중은 1주일에 한 번씩 체크하였다. 4주후에 HFD를 섭취한 그룹에서 체중이 증가된 실험동물을 선택적으로 취하여, HFD 그룹을 3그룹(그룹당 10마리)으로 나누었으며, 각각은 HFD, HFD+참썩분말 1%, HFD+참썩분말 3%을 의미한다. 대조군으로는 처음부터 standard diet를 준 그룹을 사용하였고, 그룹은 standard diet 그룹(STD), HFD, HFD+참썩분말 1%, HFD+참썩분말 3%로 총 4 그룹으로 나누어, 8주간 지방食이를 섭취시켰다[23].

(2) 동물실험 연구

(가) 선별된 썩 추출물을 이용한 비만 동물 대상 항비만성 연구

① 연구방법

㉠ 참썩의 섭취 유무에 따른 체중 및 식이섭취량 변화

각 실험동물의 체중은 저울을 이용하여, 1주일에 한 번씩 일정한 시간에 동일 순서로 측정하였다. 식이 섭취량은 이틀에 한 번씩 일정한 시간에 먹은 식이의 양을 측정하였으나, 자료는 1주일 단위로 처리하였다.

㉡ 장기 무게 측정

실험동물을 희생한 후, 간, 부고환지방을 적출하여 연결조직을 제거한 뒤 중량을 측정하였다.

㉢ 참썩 섭취에 따른 혈당 및 내당능 측정

○ 혈당 측정

간이 혈당계를 이용하여 동물 희생하는 날 12시간 공복 후, 혈당 측정하였다.

○ 내당능 측정

내당능 검사를 위해, 고농도의 포도당 용액 2g/kg의 농도를 복강 투여한 후, 0분, 30분, 60분 90분, 120분간의 혈당을 측정하였다.

㉣ 간 및 지방조직 H&E(hematoxyline & eosin) staining

간을 적출한 즉시 중심소엽을 적당한 크기로 절취하여 10% 중성 포르말린(neutral buffered formalin)에 고정시킨 후 4 μ m 파라핀 절편을 제작한 뒤, 알코올에 의한 수화단계를 거쳐 hematoxyline에 4분간 두어 핵을 염색하고 암모니아와 HCl 반응시킨 후 eosin에 1분 30초 동안 세포질을 염색하였다. 알코올과 xylene을 단계적으로

거치면서 여분의 염색약을 모두 제거한 후 permount로 봉입하여 광학현미경하에서 각 표본의 조직병리학적 특징을 관찰하였다[24].

㉓ 혈액 소견(중성지방, 총콜레스테롤, LDL, HDL, VLDL)

실험동물로부터 전혈을 얻은 후, 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 얻은 후, 혈장 내에 중성지방(Triglyceride: TG), 총콜레스테롤(Total Cholesterol: TC), HDL, VLDL을 발색법을 이용하여 측정하였다. 혈장지방 중 LDL은 다음의 계산식으로 계산하여 얻었다[25].

$$LDL\ cholesterol = TC - HDL - (TG/5)$$

㉔ 혈중 GOT, GPT 활성 측정

○ 간 기능 정도는 혈청에서 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamate pyruvate transaminase(GPT) 효소 활성을 GOT, GPT 측정용 kit를 사용하여 측정하였다.

○ 혈장의 GOT와 GPT 활성은 Reitman-Frankel법을 응용한 것으로 aspartic acid와 α -ketoglutaric acid 기질에 GOT, GPT가 작용하여 oxaloacetate 및 pyruvate가 생성되고 여기에 DNPH 발색액을 작용시켜 hydrazone을 생성하는 것에 NaOH 용액을 가해 등갈색으로 발색 되는 변화를 측정하는 것이다. GOT, GPT 각각 기질액 1.0mL을 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 다음, 혈청 0.2mL를 넣어 잘 혼합한 후 37°C에서 60분간 반응시킨 뒤 정색시액 1.0mL를 첨가하여 잘 혼합하여 실온에서 20분간 방치하여 반응을 종료시키고, 0.4 NaOH 용액 10mL을 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 약 10분간 방치하였다가 60분 이내에 505nm에서 ELISA reader로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청 중 GOT 활성도는 작성한 표준 검량곡선에서 산출 하였으며, 혈청 1mL당 karmen unit으로 나타내었다[26].

㉕ mRNA 측정(RT-PCR)

○ 총 RNA 분리

참쫂의 항비만 효과가 mRNA 수준에서도 변화하는지 알아보기 위해 부고환 지방을 취하였다. 부고환 지방에 TRIzol (Invitrogen Corporation, CA, USA) reagent 1mL를 첨가하여 균질화 시킨 후, 여기에 chloroform을 200 μ L 첨가하여 15초간 충분히 섞어준 후에 3분간 방치하고 4°C 12,000rpm에서 15분간 원심분리 하였다. 층이 분리가 되면 다른 튜브로 상층액을 옮겨 담고 isopropanol 500 μ L 첨가하여 상온에서 10분간 방치하고 다시 4°C 1,000rpm에서 15분간 원심분리 하여 상층액을 제거 하였다. Diethylpyrocarbonate(DEPC) water로 희석한 75% ethanol을 1mL 첨가하여 약하게 흔들어 섞고 4°C 1,000rpm에서 분리시켜 상층액을 버리고 pellet을 녹였다. 이를 RNase-free dH₂O/0.1mM EDTA용액으로 1:100으로 희석하여 260nm에서 흡광도를 측정하여 OD₂₆₀ ratio로 RNA의 순도를(1.7-2.0) 알아보고 OD₂₆₀ 값으로 RNA 농도를 계산하였다.

○ 역전사 PCR(Reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)

RNA로 준비된 sample 양이 2 μ g이 되도록 tube에 준비하고 oligo DT(0.5 μ g/ μ L-

Invitrogen Corporation) 1 μ L을 포함하여 총량이 10 μ L가 되도록 autoclave water를 첨가하였다. 이것을 65 $^{\circ}$ C에서 5분간 incubation 하고 여기에 reaction buffer (5X first standard buffer 4 μ L, 0.1M DTT 2 μ L, 10mM NTP 1 μ L) 5 μ L를 첨가하여 42 $^{\circ}$ C에서 5분간 incubation 하고 superscript II reverse transcriptase 0.5 μ L를 첨가하여 42 $^{\circ}$ C 에서 1시간 45분, 70 $^{\circ}$ C에서 15분간 incubation 하였다. 여기에 RNAsin 0.5 μ L를 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 incubation하여 80 μ L의 DEPC water를 넣어 -20 $^{\circ}$ C에서 보관하며 sample로 사용하였다.

- 지방형성관련 유전자 중합효소연쇄반응 (Polymerase chain reaction, PCR) 준비된 sample에 2.5 μ L mix buffer와 sense, antisense primer, taq polymerase를 혼합하여 GPDH, ACC, aP2, PPAR α 등의 지방형성관련 유전자를 PCR 하여, ethidium bromide로 염색한 후, 1% agarose gel로 전기영동을 실시하여 각각의 그룹의 유전자 변화를 확인하였다[27].

㉞ 통계 처리

본 연구의 통계학적 분석은 SPSS 14.0 for windows program을 이용하여 각 항목에 대한 평균 및 표준오차를 산출하였다. 집단 간 평균차 검증은 One-way ANOVA를 적용하였다. 각 군의 평균차에 대한 통계적 유의성 검정은 Duncan's test를 사용하였고, 각 분석 시 유의수준은 $p < 0.05$ 로 검정하였다.

② 연구결과

㉞ 참쭈의 섭취 유무에 따른 체중 및 식이섭취량 변화

- 그림 35와 같이 비만사료를 이용하여 4주간 비만을 유도한 후, 참쭈의 항비만 효과를 검증하기 위해 비만사료에 참쭈 분말 1%, 3%를 포함하는 처방식을 7주간 섭취시켰다.
- 7주 섭취 후, 체중의 변화는 고지방식을 섭취한 실험동물의 경우, 실험처음과 7주후의 체중증가율이 48.9%인데 비해, 참쭈 1%가 포함된 고지방식을 섭취한 그룹은 35.0%, 참쭈 3%인 경우는 27.6% 체중증가를 나타내어, 통계적으로 유의한 체중증가 감소를 나타내었다($p < 0.05$). 참쭈 섭취에 의한 체중증가 감소는 2주부터 나타났다.

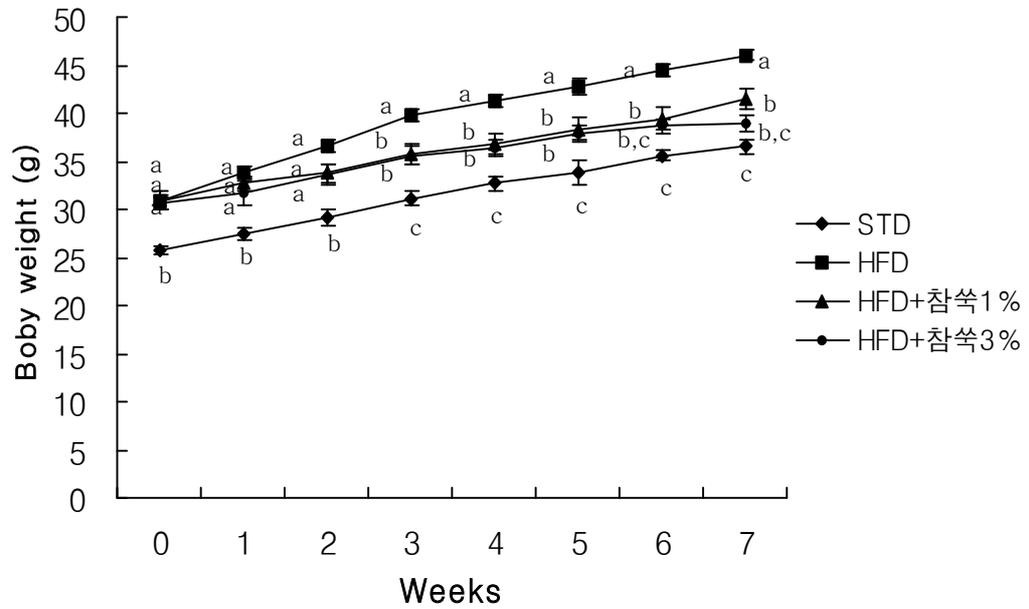


그림 35. 참숙 섭취에 따른 비만동물의 체중변화

STD:표준식이섭취군, HFD:고지방식이섭취군, STD:표준식이섭취군, HFD:고지방식이섭취군, HFD+참숙1%:고지방식이+참숙 분말1%, HFD+참숙3%:고지방식이+참숙 분말 3%

그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임($p < 0.05$)

- 그림 36은 7주째 식이섭취량을 나타낸 것으로, 표준식이를 섭취한 정상군의 경우 3.9g/day/animal을 고지방식이 섭취군의 경우 6.8g/day/animal을 섭취하였으며, 참숙 1% 섭취군은 4.4g/day/animal, 참숙 3% 섭취군은 4.0g/day/animal로 나타났다. 고지방식이 섭취군에 비해 참숙 1%, 3% 섭취함에 따라 각각 35.3%, 41.2% 감소하여 유의한 식이섭취량 감소를 관찰할 수 있었다($p < 0.05$).

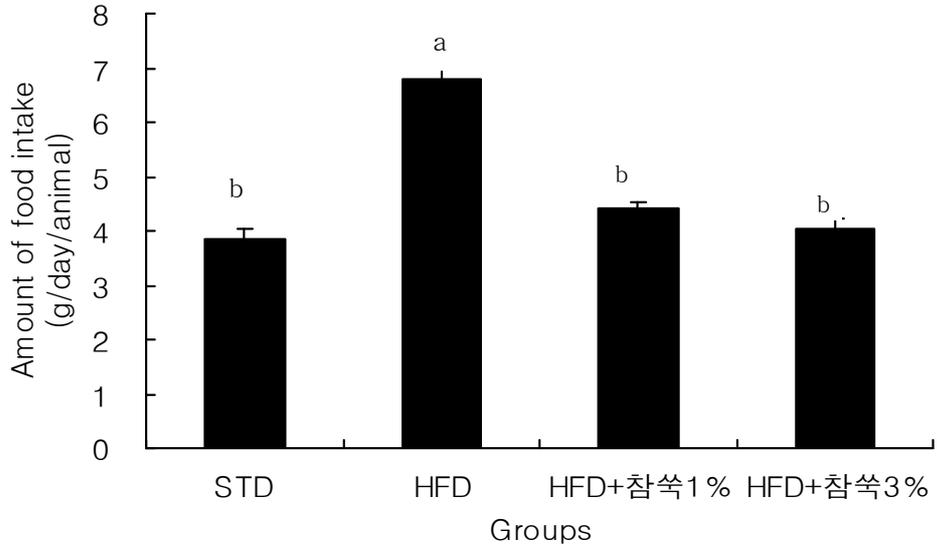


그림 36. 참죽의 섭취에 따른 식이섭취량 변화

STD:표준식이섭취군, HFD:고지방식이섭취군, STD:표준식이섭취군, HFD:고지방식이섭취군, HFD+참죽1%:고지방식이+참죽 분말1%, HFD+참죽3%:고지방식이+참죽 분말 3%

그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임 ($p < 0.05$)

㉔ 참죽 섭취에 따른 장기무게 변화

○ 참죽의 섭취에 따른 비만실험동물의 간, 지방조직의 무게 변화를 관찰한 결과는 그림 37에 나타내었다. 처방식이를 7주간 섭취시킨 후, 각각의 그룹의 간과 부고환 지방을 적출하여 이들의 무게를 비교한 결과, 간 무게의 경우는 표준식이섭취군은 36.6mg/body weight, 고지방식이섭취군은 45.2mg/body weight, 참죽 1% 섭취군은 39.0mg/body weight, 참죽 3% 섭취군은 38.1mg/body weight로 나타나, 고지방식이섭취군에 비해 참죽 섭취군이 감소함을 관찰할 수 있었으나, 통계적으로 유의적이지 않았다($p > 0.05$).

부고환지방 무게의 경우는 표준식이섭취군은 45.9mg/body weight, 고지방식이섭취군은 51.7mg/body weight, 참죽1% 섭취군은 49.6mg/body weight, 참죽3% 섭취군은 46.3mg/body weight로 나타나, 고지방식이섭취군에 비해 참죽 섭취군이 각각 감소하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의적이지 않았다($p > 0.05$).

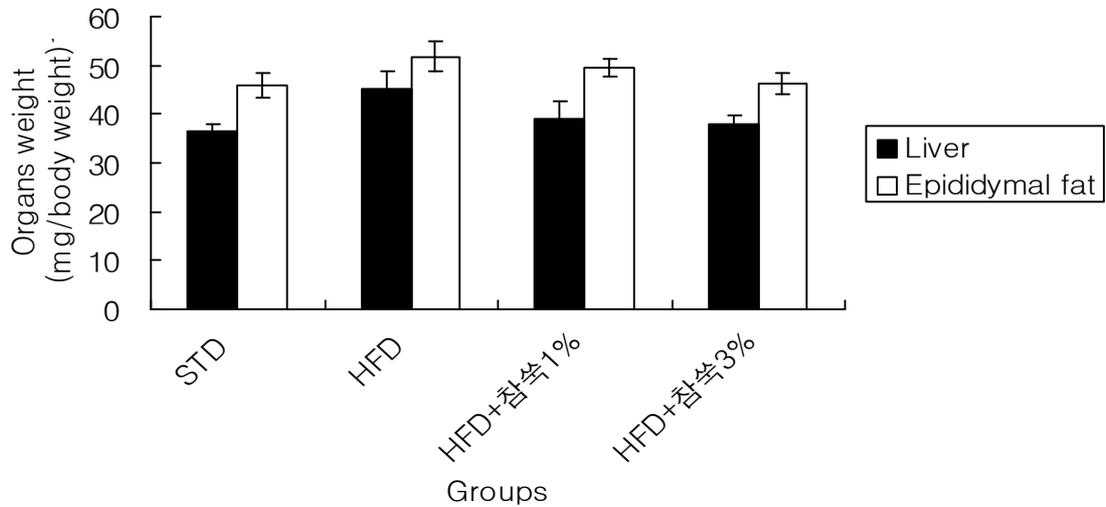


그림 37. 참쭈 섭취에 따른 장기무게 변화

STD:표준식이섭취군, HFD:고지방식이섭취군, STD:표준식이섭취군, HFD:고지방식이섭취군, HFD+참쭈1%:고지방식이+참쭈 분말1%, HFD+참쭈3%:고지방식이+참쭈 분말 3%

㉔ 참쭈 섭취에 따른 혈당 및 내당능 측정

○ 혈당 변화

참쭈 섭취에 따른 혈당 변화는 그림 38에 나타내었다. 처방식이를 7주간 섭취시킨 후 각 그룹의 혈당을 비교한 결과, 표준식이 섭취한 그룹에서는 174.1mg/dL, 고지방 식이를 섭취한 그룹에서는 222.9mg/dL, 참쭈 1% 섭취한 그룹에서는 191.7mg/dL, 참쭈 3% 섭취한 그룹에서는 187.1mg/dL로 나타났다. 이상과 같은 결과로, 고지방 식이 섭취 그룹에 비해, 참쭈 1% 섭취 그룹의 혈당은 14% 감소를, 참쭈 3% 섭취군의 혈당은 16% 감소를 나타내어 유의적인 차이를 관찰할 수 있었다 ($p < 0.05$)[28, 29].

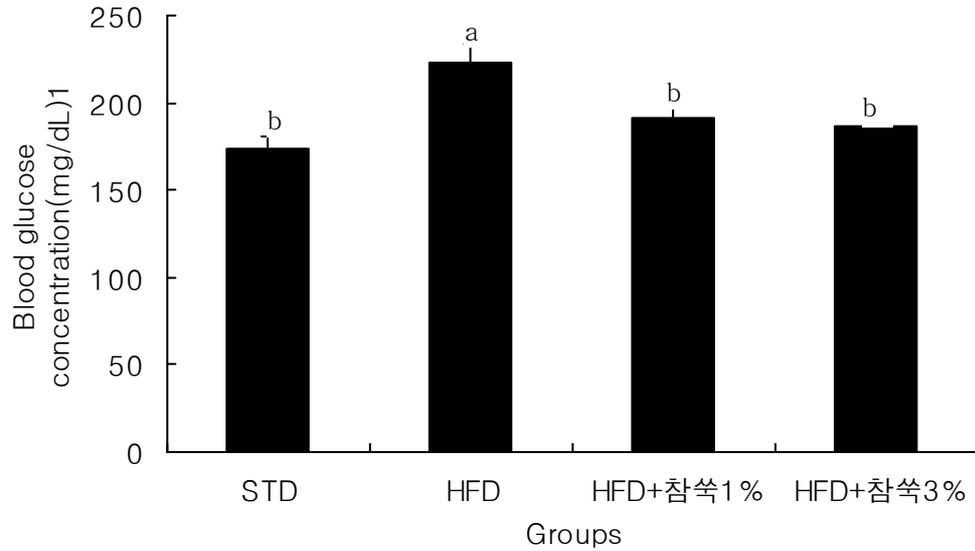


그림 38. 참쭈 섭취에 따른 혈당 변화

STD:표준식이섭취군, HFD:고지방식이섭취군, HFD+참쭈1%:고지방식이+참쭈 분말1%, HFD+참쭈3%:고지방식이+참쭈 분말 3%

그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임 ($p<0.05$)

○ 내당능 변화

일반적으로 혈당 개선을 관찰하기 위해 내당능 검사를 실시하였으며, 이는 그림 39에 나타내었다. 고농도의 포도당을 복강 내에 주입하고, 각각의 처리군의 혈당을 0분, 30분, 60분, 90분, 120분 간격으로 혈당을 측정된 결과, 고지방식이 섭취 그룹의 경우, 혈당의 변화가 30분에 최고조를 이루고, 시간이 지남에 따라 혈당 강하 현상이 나타나지 않았으나, 참쭈 1, 3% 섭취 그룹은 표준식이 섭취 그룹과 같이 30분에 최고조를 이루고, 시간이 지남에 따라 감소함을 관찰할 수 있었다. 이와 같은 결과로, 고지방식이 섭취에 의한 당에 대한 내성을 참쭈의 섭취에 의해 개선할 수 있음을 알 수 있었다.

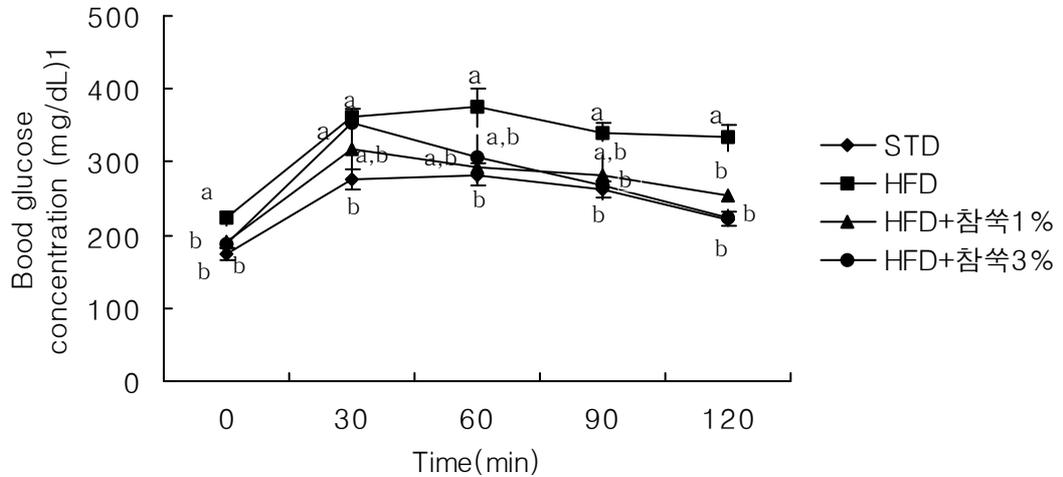


그림 39. 참쑥 섭취에 따른 내당능 변화

STD:표준식이섭취군, HFD:고지방식이섭취군, HFD+참쑥1%:고지방식이+참쑥 분말1%, HFD+참쑥3%:고지방식이+참쑥 분말 3%

그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임($p<0.05$)

㉔ 참쑥이 비만동물모델에서 지방세포크기에 미치는 영향

○ 부고환지방을 적출하여, 지방조직의 염색을 한 결과는 그림 40에 나타내었다. 고지방식이 섭취에 의한 지방세포의 증대(그림 40B)는 참쑥 1%(그림 40C), 3%(그림 40D) 섭취함에 따라 지방세포의 증대가 억제됨을 확인 할 수 있었다[30].

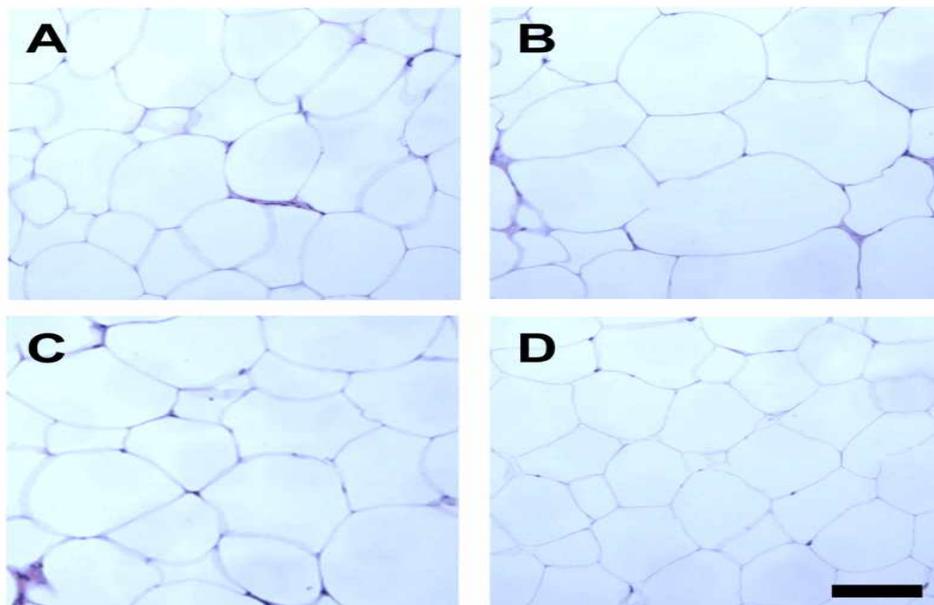


그림 40. 참쑥에 의한 비만동물모델에서 지방세포 세포증대 억제

A: 표준식이섭취군, B: 고지방식이섭취군, C:고지방식이+참쑥 분말1%, D: 고지방식이+참쑥 분말 3%. Scale bar = 50 μ m

- ㉔ 참쭉 섭취에 따른 혈중 지질 변화(중성지질, 총콜레스테롤, LDL, HDL, VLDL)
- 참쭉 섭취에 따른 비만 실험동물의 혈중 중성지질, 총콜레스테롤, HDL, LDL 등의 지질변화는 표 13에 나타내었다.

표 13. 참쭉 섭취에 따른 혈중 지질 변화

	STD	HFD	HFD+참쭉1%	HFD+참쭉3%
TG	135.4±3.8 ^b	183.7 ±1.6 ^a	126.2±2.5 ^{b,c}	123.4±2.0 ^c
TC	126.2±4.2 ^{b,c}	199.3±2.5 ^a	136.3±2.6 ^b	119.1±3.3 ^c
LDL	55.7±4.2 ^b	125.7±2.5 ^a	62.8±2.6 ^b	43.1±3.3 ^c
HDL	43.4±1.9 ^b	36.8±1.0 ^c	48.2±1.5 ^{a,b}	51.3±0.9 ^a

STD:표준식이섭취군, HFD:고지방식이섭취군, HFD+참쭉1%:고지방식이+참쭉 분말 1%, HFD+참쭉3%:고지방식이+참쭉 분말 3%

그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임($p<0.05$)

- 중성 지질(TG)의 경우, 고지방식이를 섭취한 그룹은 183.7 ±1.6mg/dL이었고, 참쭉 1%를 포함한 식이를 섭취한 그룹은 126.2±2.5mg/dL로 나타났고, 참쭉 3%를 포함한 식이를 섭취한 그룹은 123.4±2.0mg/dL로 나타나, 통계적으로 유의한 수준으로 참쭉 섭취에 따라 유의적인 중성지질의 감소를 관찰할 수 있었다($p<0.05$).
- 총콜레스테롤(TC)의 경우, 고지방식이를 섭취한 그룹은 199.3±2.5mg/dL이었고, 참쭉 1%를 포함한 식이를 섭취한 그룹은 136.3±2.6mg/dL로 나타났고, 참쭉 3%를 포함한 식이를 섭취한 그룹은 119.1±3.3mg/dL로 나타나, 통계적으로 유의한 수준으로 참쭉 섭취에 따라 농도 유의적인 총콜레스테롤의 감소를 관찰할 수 있었다($p<0.05$).
- 혈중 LDL의 경우, 고지방식이를 섭취한 그룹은 125.7±2.5mg/dL이었고, 참쭉 1%를 포함한 식이를 섭취한 그룹은 62.8±2.6mg/dL로 나타났고, 참쭉 3%를 포함한 식이를 섭취한 그룹은 43.1±3.3mg/dL로 나타나, 통계적으로 유의한 수준으로 참쭉 섭취에 따라 농도 유의적으로 혈중 LDL의 감소를 관찰할 수 있었다($p<0.05$).
- 혈중 HDL의 경우, 고지방식이를 섭취한 그룹은 36.8±1.0mg/dL이었고, 참쭉 1%를 포함한 식이를 섭취한 그룹은 48.2±1.5mg/dL로 나타났고, 참쭉 3%를 포함한 식이를 섭취한 그룹은 51.3±0.9mg/dL로 나타나, 통계적으로 유의한 수준으로 참쭉 섭취에 따라 농도 유의적으로 혈중 HDL의 증가를 관찰할 수 있었다($p<0.05$).
- 이와 같이 고지방식이 유도 비만동물모델에서 참쭉의 섭취에 따른 중성지질, 총콜레스테롤, LDL 혈중 수준은 감소하였고, 유익한 콜레스테롤로 알려진 HDL의 혈중수준은 유의적으로 증가시키는 경향을 보여 참쭉의 혈중지질

개선의 우수성과 비만의 지표가 되는 혈중지질의 개선을 관찰할 수 있었다.

㉞ 참쭉의 고지방식이 섭취에 의한 간기능 이상 개선

- 혈장에서 간기능의 지표로 알려진 GOT와 GPT효소 활성을 측정한 결과는 그림 41과 그림 42에 각각 나타내었으며, 이는 참쭉의 고지방식이 섭취 시에 나타날 수 있는 지방간의 개선을 보여준다.
- GOT의 경우(그림 41) 고지방식이를 섭취한 그룹에서는 82.2Karmen unit, 참쭉 1% 섭취한 그룹에서는 58.9Karmen unit, 참쭉 3% 섭취한 그룹에서는 56.0 Karmen unit로 나타났다. 고지방식이섭취군의 경우, 표준식이섭취군에 비해 1.4배의 GOT 상승을 보였고, 참쭉 1% 섭취군은 고지방식이섭취군에 비해 1.4배 감소를 보였으며, 참쭉 3% 섭취군은 고지방식이섭취군에 비해 1.5배 감소를 보였다. 참쭉의 섭취가 고지방식이 섭취로 인한 혈중 GOT 상승을 유의적으로 억제함을 관찰할 수 있었다($p<0.05$).

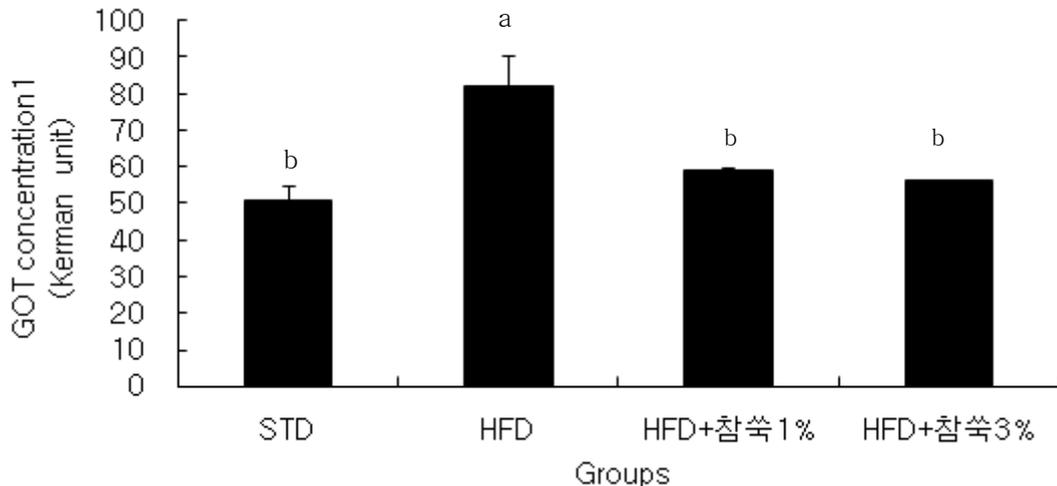


그림 41. 참쭉에 의한 혈중 GOT에 변화

그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임($p<0.05$)

- GPT의 경우(그림 42), 고지방식이를 섭취한 그룹에서는 24.4Karmen unit, 참쭉 1% 섭취한 그룹에서는 13.4Karmen unit, 참쭉 3% 섭취한 그룹에서는 11.2 Karmen unit로 나타났다. 고지방식이 섭취군의 경우, 표준식이섭취군에 비해 2.3배의 GPT 상승을 보였고, 참쭉 1% 섭취군은 고지방식이섭취군에 비해 1.8배 감소를 보였으며, 참쭉 3% 섭취군은 고지방식이섭취군에 비해 2.2배 감소를 보여 참쭉의 섭취가 고지방식이 섭취로 인한 혈중 GPT 상승을 유의적으로 억제함을 관찰할 수 있었다($p<0.05$).

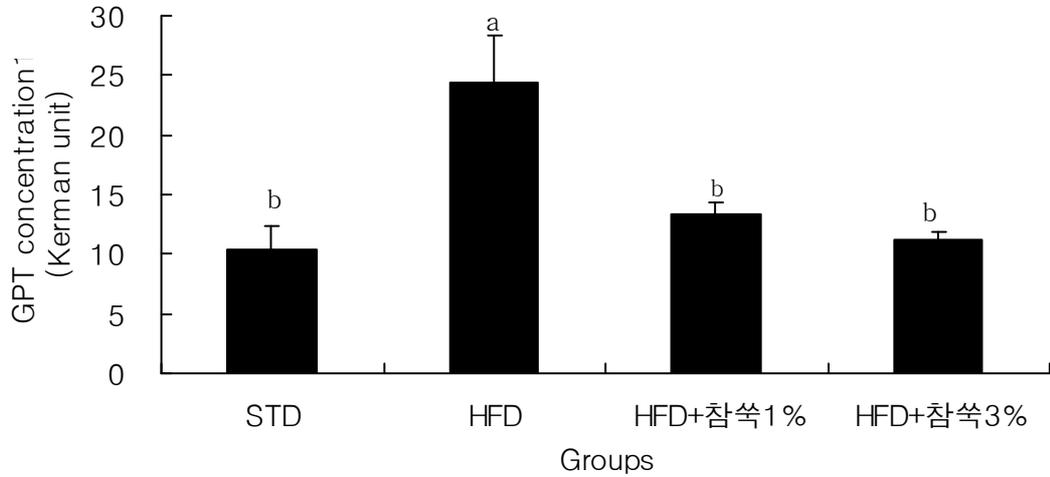


그림 42. 참쑥에 의한 혈중 GPT에 변화

그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임($p < 0.05$)

- 참쑥의 간기능 개선을 조직학적으로 관찰한 결과는 그림 43에 나타내었다. 그림 43B의 경우, 고지방식이섭취군의 간조직 사진으로, 조직학적으로 과도한 지방섭취로 인해, 생성된 지방덩어리가 간조직을 구성하는 세포에 침착되어 조직학적인 염색 과정에서 지방제거로 인해 세포내 공포를 만들고 있는 것을 관찰할 수 있었다. 반면 이러한 조직학적 현상은 고지방식이에 참쑥 1%(그림 43C), 3%(그림 43D)을 첨가하여 섭취한 경우에는 특히 간조직이 참쑥 3% 섭취군이 표준식이섭취군과 비슷한 간세포형태를 이루는 것을 관찰할 수 있었다.

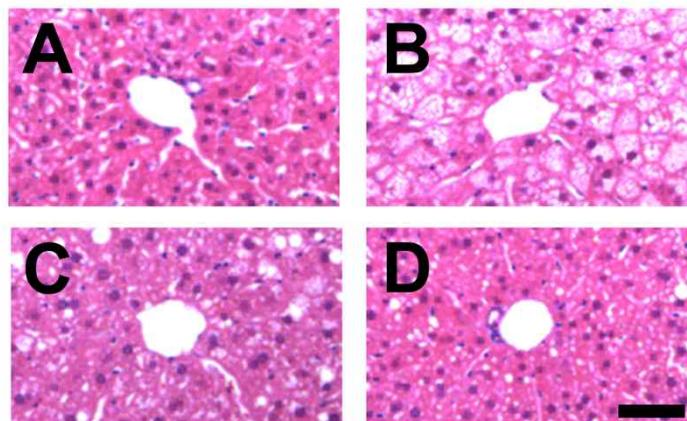


그림 43. 참쑥에 의한 조직학적 간조직 변화

A: 표준식이섭취군, B: 고지방식이섭취군, C:고지방식이+참쑥 분말1%, D: 고지방식이+참쑥 분말 3%. Scale bar = 50 μ m

㉔ 고지방식이 유도 비만동물의 부고환지방조직에서 지방축적관련 유전자의 변화

○ 그림 44은 고지방식이 유도 비만동물에게 참쭉을 농도별로 섭취시킨 후, 지방조직에서의 지방축적관련 유전자인 ACC(acetyl CoA carboxylase), GPDH (glycerol-3-phosphate dehydrogenase), PPAR γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma), aP2 등의 유전자들[31]의 발현변화를 RT-PCR법을 통해 관찰한 결과이다.

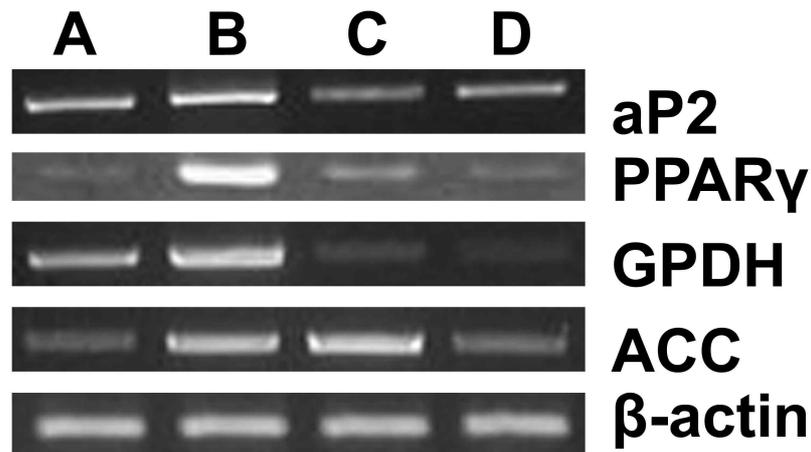


그림 44. 참쭉 섭취에 따른 고지방식이 유도 비만동물의 부고환 지방조직에서의 지방축적관련 유전자 발현

- 결과적으로, ACC 유전자 발현의 경우, 고지방식이섭취군이 β -actin을 기준으로 하였을 때, 1.24배 발현하였고, 참쭉 1% 섭취군에서는 1.26배, 참쭉 3% 섭취군에서는 0.68배 발현하여, 참쭉 3% 섭취군이 고지방식이섭취군에 비해 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). GPDH 유전자 발현의 경우는 고지방식이섭취군이 β -actin을 기준으로 하였을 때, 1.35배 발현하였고, 참쭉 1% 섭취군에서는 0.36배, 참쭉 3% 섭취군에서는 0.39배 발현하여, 참쭉 1%, 3% 섭취군 모두 고지방식이 섭취군에 비해 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 또한 지방세포에서 지방분화를 촉진한다고 알려진 대표적인 전사인자인 PPAR γ 유전자 발현의 경우는 고지방식이섭취군이 β -actin을 기준으로 하였을 때, 1.39배 발현하였고, 참쭉 1% 섭취군에서는 0.39배, 참쭉 3% 섭취군에서는 0.29배 발현하여, 참쭉 1%, 3% 섭취군 모두 고지방식이섭취군에 비해 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 마지막으로 aP2 유전자 발현의 경우는 고지방식이섭취군이 β -actin을 기준으로 하였을 때, 1.11배 발현하였고, 참쭉 1% 섭취군에서는 0.72배, 참쭉 3% 섭취군에서는 0.97배 발현하여, 참쭉 1%, 3% 섭취군 모두 고지방식이섭취군에 비해 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$).
- 이와 같이 참쭉 섭취에 의한 지방조직에서의 지방축적관련 유전자인 ACC, GPDH, PPAR γ , aP2 등의 유전자들의 발현감소를 관찰할 수 있었고,

이중에서도 가장 많이 감소한 유전자로는 체내에 지방을 만드는데 중요한 역할을 하는 GPDH의 50%이상의 감소가 참쭉 추출물에 의해 이루어질 수 있다는 것을 관찰할 수 있었다(그림 45).

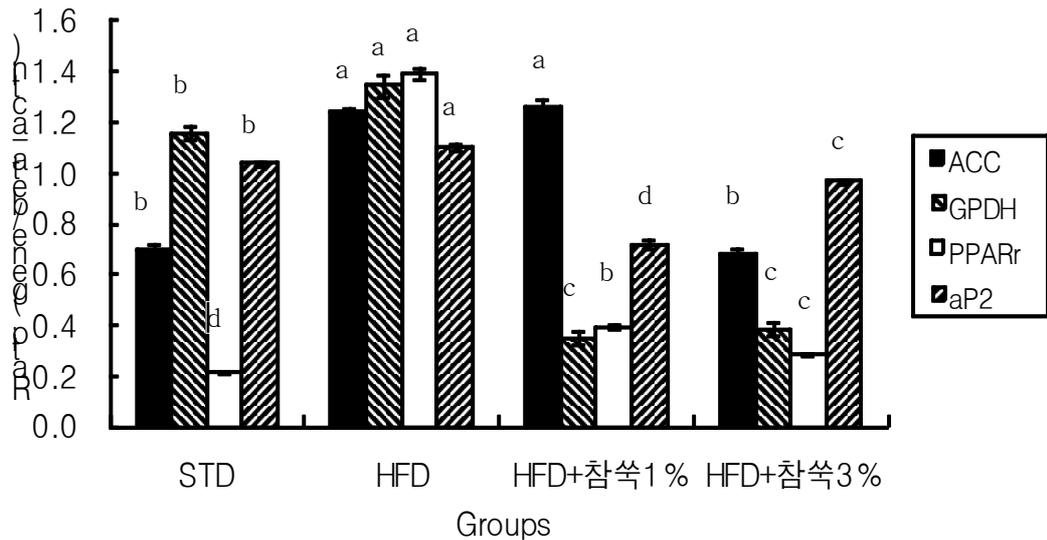


그림 45. 참쭉 섭취에 따른 지방조직에서의 지방축적관련 유전자 발현
 그래프 위의 다른 글자는 ANOVA통계 분석에서 서로 유의적인 경우임($p < 0.05$)

나. 미세캡슐화된 쭉 식품소재의 안정성

(1) 미세캡슐화 수율 극대화를 위한 반응조건 최적화

(가) 쭉 추출물 함유 이중층 미세캡슐 제조

① 이중층(W/O/W type) 미세캡슐 제조를 위한 spray-chilling 공정

㉞ 분산매의 제조

증류수에 0.025%(w/w)농도로 polyoxyethylene sorbitan monostearate(HLB 9.6, PSS)를 첨가하여 용해시킨 후 이중층 미세캡슐 형성을 위한 분산매로 사용하였다.

㉟ Spray-chilling 공정

본 연구에서 최적 조건으로 제조된 유화액 20mL을 4℃로 유지된 분산매 200mL내에 spray-gun을 사용하여 분사시킨 후[22, 32] 미세캡슐화 수율 분석법에 적용하였으며, 이는 그림 46에 나타내었다.

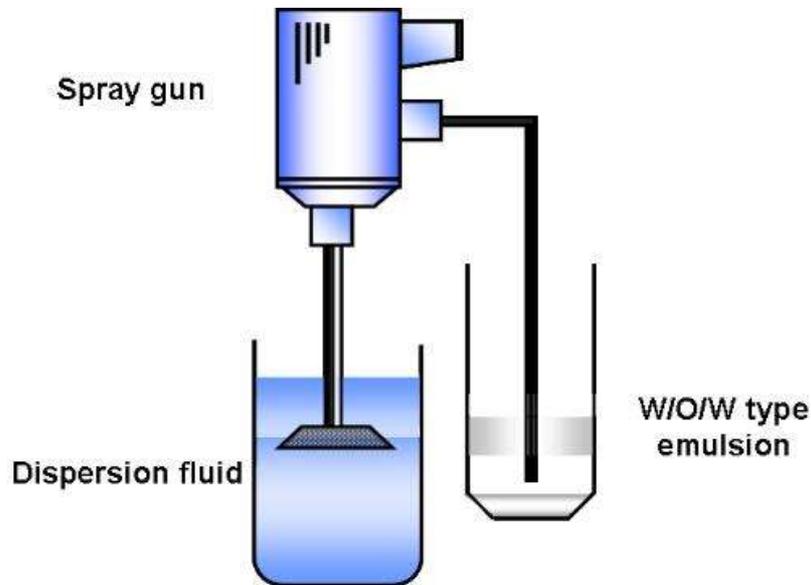


그림 46. 미세캡슐화 장치의 도식화

② 내부표준물질(Internal standard)을 이용한 미세캡슐화 수율 분석

미세캡슐공정[33-36]에 안정한 내부표준물질로 oil red O를 선정하였으며, 상대적인 민감도를 높이기 위해 1차 피복물질에 1.5mM 농도로 첨가하여 미세캡슐화 공정을 수행하였다. 미세캡슐화 된 분산액으로부터 20mL를 채취하여 비극성 유기용매인 *n*-hexane 10mL에 혼합하고 자석교반기를 이용하여 300rpm으로 5분간 교반하였다. 교반이 완료된 혼합액을 10분간 정지한 후, 상등액 2mL을 취하여 510nm 파장에서 측정된 흡광도를 다음의 식에 대입하여 미세캡슐화 수율(yield of microencapsulation, %)을 환산하였다.

$$Yield\ of\ microencapsulation\ (\%) = \frac{B - A}{B} \times 100$$

A: Absorbance of oil red O isolated from non-encapsulated layer

B: Absorbance of oil red O added in hydrogenated corn oil

(나) 유효한 반응 변수 선정 및 유의적인 변화 범위 설정을 위한 예비실험

① 연구방법

㉞ 1차 유화제(1st emulsifier)의 최적 첨가량 설정

1차 유화제의 최적 첨가량 설정을 위해 2차 유화액의 조성비와 2차 유화제의 첨가량을 각각 0.5([C_{m2}]/[W_{m2}]), 200μmol로 고정한 후, 예비실험 결과를 토대로 polyglycerol polyricinoleate(PGPR)를 1차 유화제로 선정하여 실험을 수행하였다. 1차 유화제의 첨가량은 10-50μmol의 범위에서 10μmol 단위로 단계적으로 증가시키며, 유화계를 형성시킨 후 spray-chilling 공정을 거쳐 미세캡슐화 수율을 측정하였다.

㉟ 1차 유화액(W/O type)의 최적 조성비([C_{m1}]/[W_{m1}]) 설정

1차 유화액의 조성비를 설정하기 위해 2차 유화계를 ㉞와 같이 고정한 조건에서

실험을 수행하였다. 1차 유화액의 조성비는 유화형성의 한계범위 내에서 0.1-0.9 ($[C_{m1}]/[W_{m1}]$) 비율로 설정하고 ㉠의 실험 결과를 토대로 PGPR를 20 μ mol 첨가하여 유화계를 형성시킨 후 spray-chilling 공정을 거쳐 미세캡슐화 수율 측정법을 이용하여 최적 조성비를 설정하였다.

㉡ 2차 유화제(2nd emulsifier)의 최적 첨가량 설정

2차 유화제의 최적 첨가량을 설정하기 위해 ㉠, ㉡의 실험 결과를 토대로 형성된 1차 유화계를 2차 중심물질(C_{m2})로 사용하였다. 2차 유화제는 예비실험결과를 토대로 polyoxyethylene sorbitan monostearate(HLB 14.9, PSMS)를 사용하여 2차 중심물질과 2차 피복물질(W_{m2})의 비율을 0.5($[C_{m2}]/[W_{m2}]$)로 고정한 조건에서 실험을 수행하였다. 2차 유화제의 첨가량을 40-200 μ mol 범위에서 40 μ mol 단위로 단계적으로 증가시키며 유화계를 형성하고 spray-chilling 공정을 거쳐 미세캡슐화 수율을 측정하였다.

㉢ 2차 유화액(W/O/W type)의 최적 조성비($[C_{m2}]/[W_{m2}]$) 설정

2차 유화액의 조성비를 설정하기 위해 예비실험결과를 토대로 유화형성의 한계범위 내에서 0.1-0.9($[C_{m2}]/[W_{m2}]$) 비율로 설정하고, ㉡의 실험 결과를 토대로 PSMS를 200 μ mol 첨가하여 유화계를 형성시킨 후 spray-chilling 공정을 거쳐 미세캡슐화 수율 측정법을 이용하여 최적 조성비를 설정하였다.

㉣ 균질화(homogenization) 공정 설정

균질화 공정의 최적 rpm을 선정하기 위해 rpm 범위를 1,000-10,000rpm에서 2,250 rpm 단위로 단계적으로 증가시키며 ㉢까지의 실험결과를 토대로 유화계를 형성시킨 후 spray-chilling 공정을 거쳐 미세캡슐화 수율 측정법을 이용하여 최적 rpm을 설정하였다.

② 연구결과

㉠ 1차 유화제(1st emulsifier)의 최적 첨가량 설정

○ 1차 유화제로 선정된 PGPR의 첨가량 선정을 위해 2차 유화계의 조성비와 2차 유화제 첨가량을 각각 0.5($[C_{m2}]/[W_{m2}]$), 200 μ mol로 고정한 조건에서 1차 유화제 (PGPR)의 첨가량을 10-50 μ mol의 범위에서 10 μ mol 단위로 단계적으로 증가시키며, 미세캡슐 제조 후 수율을 측정하였다.

○ 1차 유화제 첨가량에 따라 각각 86.2% \pm 0.6, 87.8% \pm 1.1, 84.2% \pm 1.4, 84.6% \pm 2.2, 86.6% \pm 2.1의 수율이 측정되었으며, 이는 그림 47에 나타내었다.

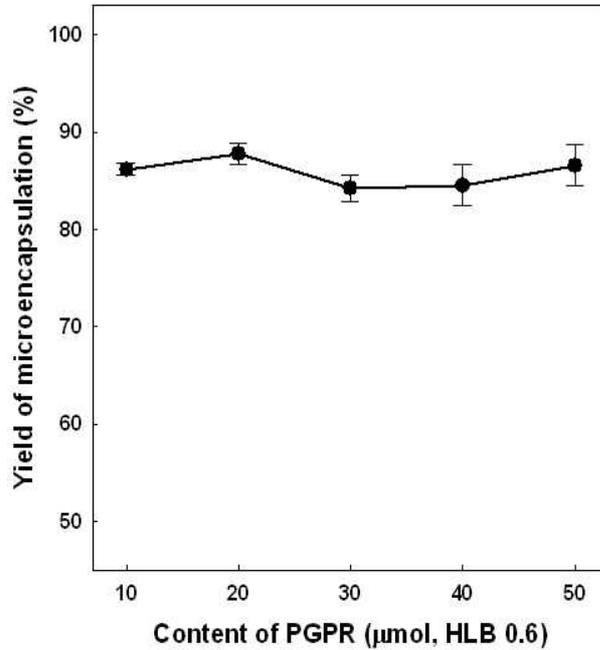


그림 47. PGPR 첨가량(1st emulsifier, μmol)에 따른 미세캡슐화 수율(%)

- 이러한 결과는 2차 유화계 형성 후 내부의 1차 유화제 첨가량의 변화는 미세 캡슐 수율에 큰 영향을 미치지 않는다고 판단하였으며, 1차 년도에 보고한 고 안정성의 유화계 형성을 위한 실험결과를 토대로, PGPR의 첨가량을 20μmol로 고정하여 이후의 실험을 수행하였다.
- ㉔ 1차 유화액(W/O type)의 조성비($[C_{m1}]/[W_{m1}]$) 선정
 - 1차 유화액의 조성비를 설정하기 위해 2차 유화액의 조성비와 2차 유화제의 첨가량을 각각 0.5($[C_{m2}]/[W_{m2}]$), 200 μmol로 고정한 후 유화형성의 한계범위 내에서 1차 유화액 조성비를 0.1($[C_{m1}]/[W_{m1}]$)부터 0.9까지 0.2 간격으로 증가시키며 유화계를 형성하여 미세캡슐 제조 후 수율을 측정하여 그림 48에 나타내었다.
 - 1차 유화액의 조성비에 따라 각각 82.0%±2.4, 91.8%±0.65, 90.3%±0.7, 92.8%±1.8, 86.7%±0.2로 측정되었으며, ㉔와 같이 2차 유화계 형성 후 내부의 1차 유화액 조성비의 변화는 미세캡슐 수율에 큰 영향을 미치지 않는다고 판단하였다.

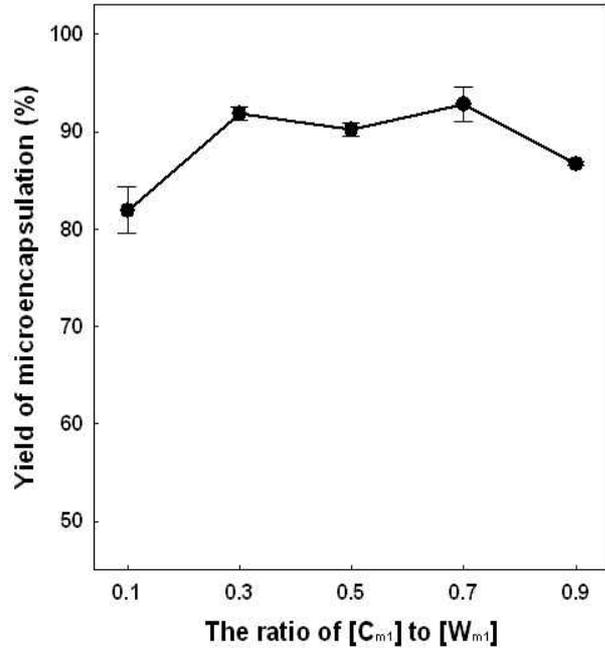


그림 48. 1차 중심물질과 1차 피복물질의 비율에 대한 미세캡슐화 수율(%)의 영향

㊤ 2차 유화제(2nd emulsifier)의 첨가량 선정

- 본 실험을 위해 1차 유화액을 2차 중심물질(C_{m2})로 사용하고 예비실험 결과를 토대로 2차 중심물질(C_{m2})과 2차 피복물질(W_{m2})의 비율을 $0.5([C_{m2}]/[W_{m2}])$ 로 고정한 조건에서 2차 유화제의 첨가량에 따른 미세캡슐화 수율을 측정하였다.
- 그림 49와 같이, PSMS의 첨가량이 $40\mu\text{mol}$ 부터 $160\mu\text{mol}$ 까지 증가할수록 미세캡슐화 수율도 비례적으로 증가하여, $160\mu\text{mol}$ 을 첨가하였을 때 $98.3\% \pm 1.4$ 의 수율을 보였다. 그 이상의 농도에서는 미세캡슐화 수율이 포화되는 양상을 나타내었다.

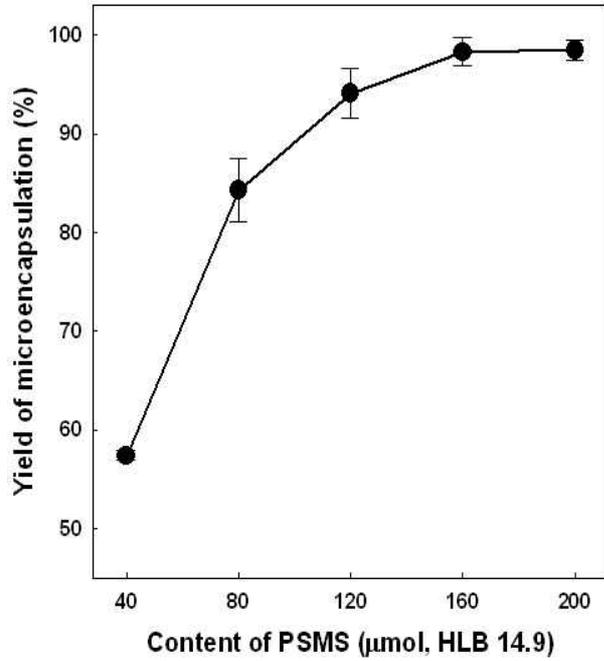


그림 49. PGPR 첨가량(2nd emulsifier, μmol)에 따른 미세캡슐화 수율(%)

㉔ 2차 유화액(W/O/W type) 조성비 범위 선정

- 1차 유화액을 2차 중심물질(C_{m2})로 사용하고 예비실험결과를 토대로 2차 유화액 첨가량을 160 μmol로 고정시킨 후 2차 유화액 조성비의 비율을 $0.1[C_{m2}]/[W_{m2}]$ 에서 0.9까지 설정하여 미세캡슐화 수율을 측정하여 그림 50에 나타내었다.

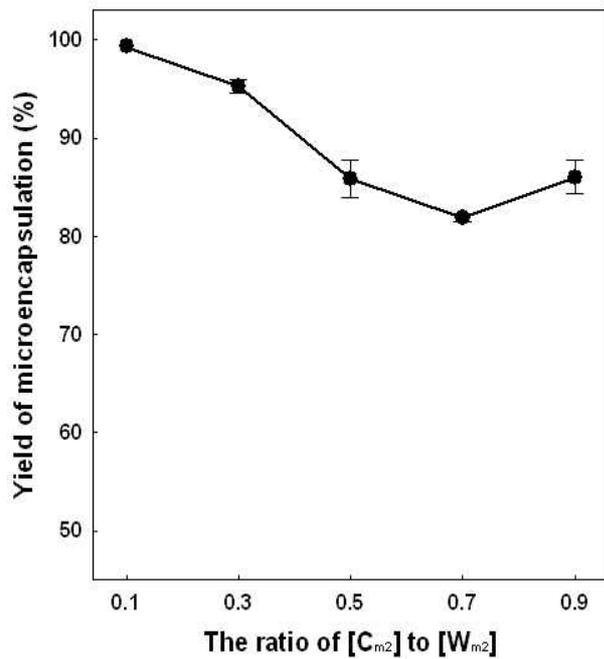


그림 50. 2차중심물질과 2차피복물질의 비율에 대한 미세캡슐화 수율(%)의 영향

- 2차 유화액의 조성비에 따라 각각 $99.3\% \pm 0.0$, $95.3\% \pm 0.7$, $85.9\% \pm 1.9$, $81.9\% \pm 0.4$, $86.1\% \pm 1.7$ 로 측정되었으며 비율이 0.1에서 0.7까지 증가할수록 미세캡슐화 수율은 비례적으로 감소하는 것으로 확인되었다.

㉞ 균질화(homogenization) 공정 설정

- Homogenization rpm 범위에 따른 미세캡슐 수율은 각각 $90.1\% \pm 2.0$, $91.7\% \pm 1.0$, $89.1\% \pm 2.3$, $88\% \pm 0.8$, $88.6\% \pm 1.6$ 으로 측정되었으며, 이는 그림 51에 나타내었다.

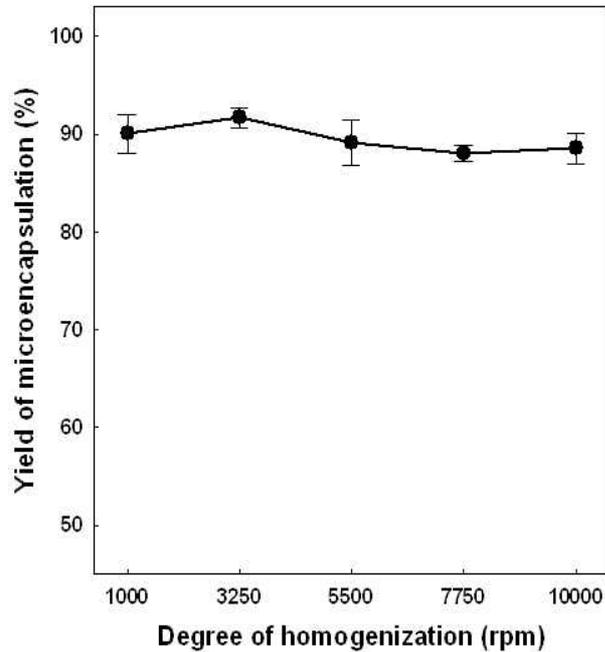


그림 51. 균질화 정도(rpm)에 따른 미세캡슐화 수율(%)

- Homogenization rpm 범위에 따라 미세캡슐 수율은 유의적인 차이가 없었으나 미세캡슐 공정 시 중요한 변수임을 고려하여 각 독립변수간의 상호관계를 확인하기 위하여 반응표면분석법의 독립변수로 선정하였다.

(다) 반응표면분석법을 이용한 이중층 미세캡슐화(W/O/W type) 공정의 최적화[37]

① 연구방법

㉞ 반응표면분석법을 위한 실험설계

반응표면분석을 위하여 MINITAB statistical software(version 15, Minitab Inc., State college, PA, USA)를 사용하였으며, 실험계획은 중심합성계획법(central composite design, CCD)에 따라 설계하였다. 미세캡슐화 공정의 최적화를 위한 독립변수는 예비실험 결과를 토대로 2차 유화제의 첨가량, 2차 유화액의 조성비, 및 degree of homogenization(rpm)을 선정하였다. 선정된 반응변수의 유의적인 변화 범위를 -1.68, -1, 0, +1, +1.68의 다섯 단계로 부호화하여(표 14) 중심합성계획에 따라 총 20개의 실험구간으로 설정하였다(표 15). 이들 독립변수에 의해 영향을 받는

종속변수는 미세캡슐화 수율로 선정하였고, 각각의 독립변수에 대한 실험영역은 예비실험 결과를 이용하여 설정하였다[38-40].

표 14. 유화제 형성 실험설계를 위한 독립변수의 부호화

Variables	Coded X_i	Coded level					ΔX
		-1.68	-1	0	+1	+1.68	
Content of 2 nd emulsifier (μmol)	X1	40	80	120	160	200	40
The ratio of $[C_{m2}]$ to $[W_{m2}]$	X2	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	0.2
Degree of homogenization (rpm)	X3	1,000	3,250	5,500	7,750	10,000	2,250

㉔ 반응표면분석을 이용한 조건 최적화

중심합성계획법에 따라 설계한 실험구에 의하여 도출한 결과인 미세캡슐화 수율을 RSREG(response surface regression)를 이용하여 통계 분석하였고, 3차원 분석을 통하여 미세캡슐화 수율 극대화를 위한 공정 최적화를 실시하였다. 썩 추출물 함유 미세캡슐화 공정 최적화에 관련된 독립변수인 2차 유화제의 첨가량(μmol , X_1), 2차 유화액의 조성비($[C_{m2}]/[W_{m2}]$, X_2), degree of homogenization(rpm, X_3)과 종속변수인 미세캡슐화 수율(YM, %)에 대한 표본회귀모형식은 다음과 같다. 여기서 Y 는 종속 변수, x_i , x_j 는 독립변수, β_0 는 절편, β_i , β_{ii} , β_{ij} 는 회귀계수를 의미한다.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} x_i x_j$$

② 연구결과

㉔ 반응표면분석법에 의한 미세캡슐 공정 변수간의 관계분석

○ 중심합성계획법에 의하여 설계된 20개의 실험 조건하에서 미세캡슐 수율을 측정 한 결과는 표 15에 나타내었다.

표 15. 미세캡슐화 최적화를 위한 중심합성계획법

Run No.	Coded variables			Process variables			Observed	Predicted
	X_1^a	X_2^b	X_3^c	X_1^a	X_2^b	X_3^c	YMd (%)	YM (%)
1	-1	-1	-1	80	0.3	3,250	88.67	88.65
2	1	-1	-1	160	0.3	3,250	98.21	96.95
3	-1	1	-1	80	0.7	3,250	77.97	75.77
4	1	1	-1	160	0.7	3,250	95.11	97.16
5	-1	-1	1	80	0.3	7,750	97.47	93.82
6	1	-1	1	160	0.3	7,750	99.11	99.70
7	-1	1	1	80	0.7	7,750	73.97	73.63
8	1	1	1	160	0.7	7,750	94.18	92.60
9	-1.68	0	0	40	0.5	5,500	68.99	71.30
10	1.68	0	0	200	0.5	5,500	99.28	98.58
11	0	-1.68	0	120	0.1	5,500	99.63	100.99
12	0	1.68	0	120	0.9	5,500	80.77	81.01
13	0	0	-1.68	120	0.5	1,000	88.64	88.56
14	0	0	1.68	120	0.5	10,000	87.47	89.16
15	0	0	0	120	0.5	5,500	92.79	94.34
16	0	0	0	120	0.5	5,500	96.09	94.34
17	0	0	0	120	0.5	5,500	93.82	94.34
18	0	0	0	120	0.5	5,500	93.30	94.34
19	0	0	0	120	0.5	5,500	93.46	94.34
20	0	0	0	120	0.5	5,500	95.00	94.34

a the ratio of [Cm2] to [Wm2]
 b content of 2nd emulsifier (μmol)
 c degree of homogenization (rpm)
 d yield of microencapsulation

- 표 15를 바탕으로 RSREG 통계 처리하여 나타낸 결과를 표 16에 나타내었으며, 세 가지 독립변수가 각각 변함에 따른 미세캡슐화의 수율 Y에 대한 회귀식은 다음과 같이 표현되었다. 종속변수의 상수, 일차항(X_1, X_2, X_3), 이차항(X_1^2, X_2^2, X_3^2), 그리고 교차항(X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3)중에서 상수($p < 0.001$), 일차항 X_1, X_3 ($p < 0.05$), 이차항 X_1^2, X_3^2 ($p < 0.05$), 및 교차항 X_1X_3, X_2X_3 ($p < 0.05$)이 유의성이 있는 것으로 확인되었다.

$$Y = 60.3433 + 0.3557X_1 - 30.7926X_2 + 0.0059X_3 - 0.0015X_1^2 - 20.8991X_2^2 + 0.4089X_1X_2 - 0.0041X_2X_3$$

표 16 예측된 다항식 모델의 회귀 계수

Parameter	Estimate	Standard error	<i>p</i> value
Intercept	60.3433	11.0220	0.000
X_1	0.3557	0.0927	0.003
X_2	-30.7926	18.2573	0.123
X_3	0.0059	0.0016	0.005
X_1^2	-0.0015	0.0003	0.000
X_2^2	-20.8991	10.6380	0.078
X_3^2	-0.0000	0.0000	0.009
X_1X_2	0.4089	0.0943	0.001
X_1X_3	-0.0000	0.0000	0.441
X_2X_3	-0.0041	0.0017	0.036

- 분산분석의 결과는 상수, 일차항, 이차항, 그리고 교차항은 유의성이 있는 것으로 나타났고($p < 0.05$) 결정계수(coefficient of determination, R^2)는 0.9689로 유의성이 5% 이내의 유의수준에서 인정되었으며, 이는 표 17에 나타내었다. 또한 lack of fit값이 0.051로서 유의성이 인정되지 않으므로 ($p > 0.05$) 모델이 반응표면을 적합 시킨 것으로 판단하였다.

표 17. 2차 반응 표면 모델을 위한 독립변수의 ANOVA분석

Source	DF ^a	Sum of square	Mean square	<i>F</i> value	<i>p</i> value
Total model	9	1418.66	157.629	34.62	0.000
Linear	3	1143.60	55.826	12.26	0.001
Square	3	159.78	53.259	11.70	0.001
Interaction	3	115.28	38.427	8.44	0.004
Total error	10	45.53	4.553		
Lack of fit	5	37.93	7.585	4.99	0.0051
Pure error	5	7.60	1.520		
R^2					0.9689

^adegree of freedom

- 각 독립변수에 따른 미세캡슐 수율 변화의 반응표면 분석 결과는 그림 52에 나타내었다. (a)는 2차 유화제 첨가량과 2차 유화액의 조성비 관계 그래프를 나타내었으며, 각각 160 μ mol 및 0.7([C_{m2}]/[W_{m2}]) 부근에서 미세캡슐 수율이 가장 높았다. (b)는 2차 유화제 첨가량과 homogenization rpm의 관계 그래프

를 나타내었으며, 각각 120 μ mol 및 7,750rpm 부근에서 미세캡슐 수율이 가장 높았다. (c)는 2차 유화액의 조성비와 homogenization rpm의 관계 그래프를 나타내었으며, 각각 0.1([C_{m2}]/[W_{m2}]) 및 5,500rpm 부근에서 미세캡슐 수율이 가장 높은 것으로 확인되었다.

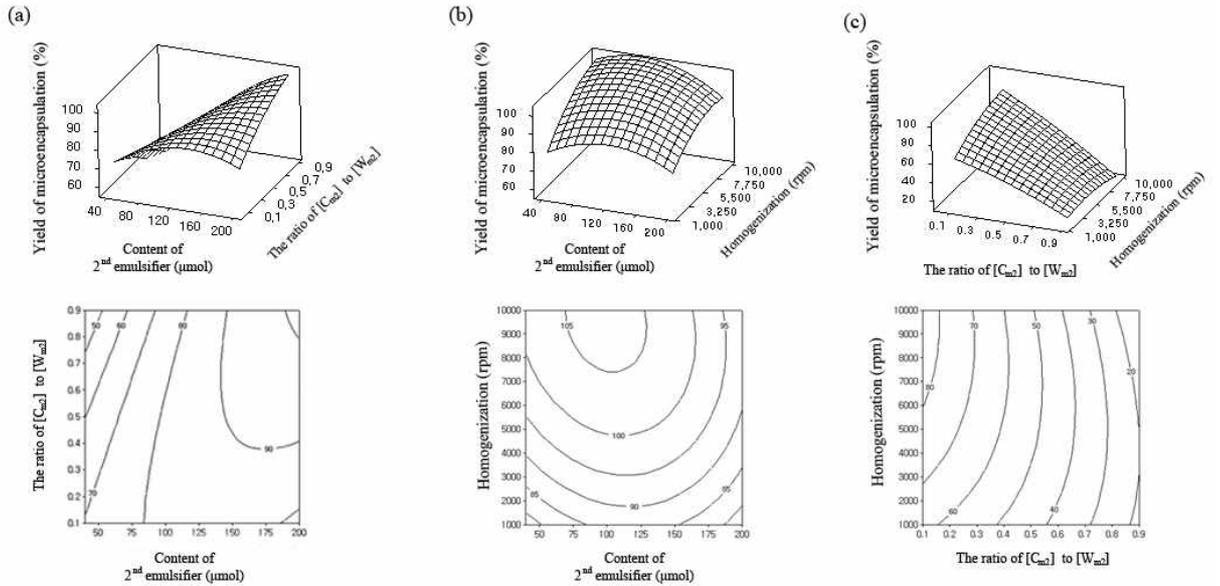


그림 52. 각 반응 변수에 따른 미세캡슐 수율(%)의 표면도 및 등고선도

(a): 2차 유화제(μ mol)와 2차유화액의 조성비, (b): 2차 유화제(μ mol)와 균질화 정도(rpm), (c): 2차유화액의 조성비와 균질화 정도(rpm)

㉠ 반응표면분석에 의한 미세캡슐화 공정의 최적 조건 확립

반응표면분석에 의한 미세캡슐화 공정의 최적 조건을 확립하기 위해 통계적 분석에서 선택된 결과를 곡선성을 가지는 그래프의 최적화점으로 표현하였으며, 이는 그림 53에 나타내었다. 미세캡슐 수율 극대화를 위한 최적 공정조건으로 2차 유화제의 첨가량은 184.4 μ mol, 2차 유화액의 조성비는 0.6([C_{m2}]/[W_{m2}]), 그리고 homogenization rpm은 5,696.9rpm이 각각 선정되었다.

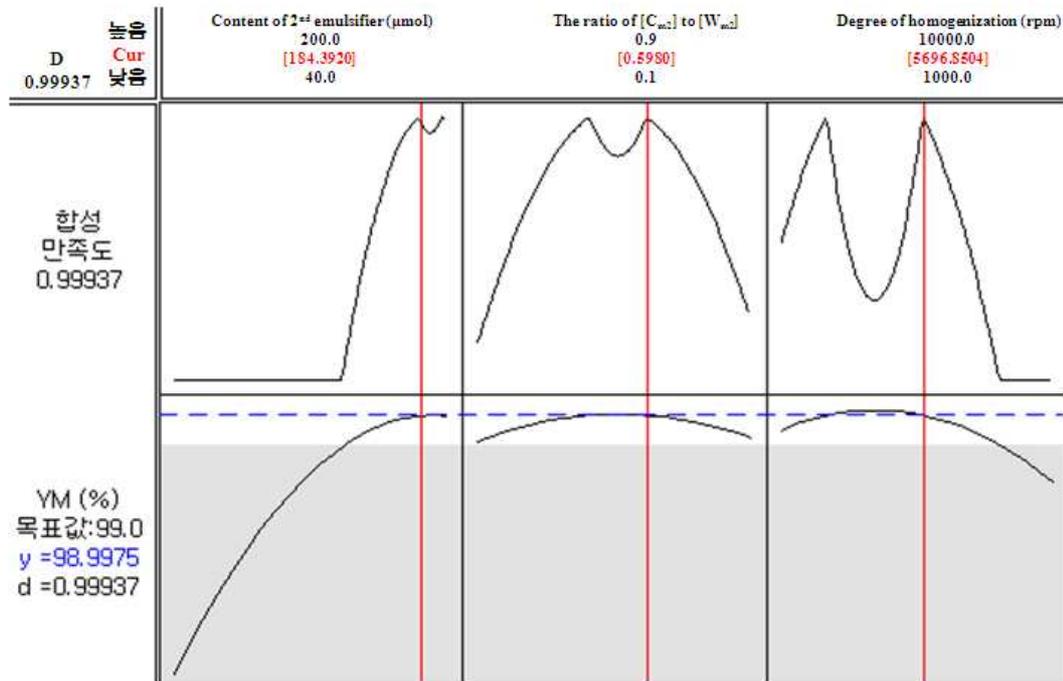


그림 53. 썩 추출물을 포함한 미세캡슐화 제조의 최적 조건 설정을 위한 반응 표면 방법

(2) 미세캡슐의 pH 및 저장온도에 따른 안정성 평가

(가) 썩 추출물 함유 미세캡슐의 pH 및 저장 온도에 따른 저장 안정성 평가

① 연구방법

㉞ pH에 따른 미세캡슐의 저장 안정성 확인

썩 추출물 함유 미세캡슐의 pH에 따른 저장 안정성을 평가하기 위해 미세캡슐의 pH 범위를 2.0-12.0에서 2.5 단위로 단계적으로 증가시키며 일정한 온도로(20℃) 유지한 항온기에 정치하여 저장기간에 따른 안정성을 측정하였다.

㉟ 저장 온도에 따른 미세캡슐의 저장 안정성 확인

저장 온도에 따른 안정성을 평가하기 위해 미세캡슐을 각각 4℃, 20℃, 40℃, 60℃로 설정한 항온기에 정치하여 저장기간에 따른 안정성을 측정하였다. 각각의 저장 안정성은 미세캡슐화 수율 측정법을 이용하여 환산되었다.

② 연구결과

㉞ pH에 따른 미세캡슐의 저장 안정성 확인

최적 조건에서 제조된 미세캡슐의 pH에 따른 저장 안정성은 그림 54에 나타내었다. 모든 pH조건에서 저장 후 30일까지 95% 이상으로 확인되어, pH에 따른 저장 안정성은 전 구간에서 안정한 것으로 판단하였다.

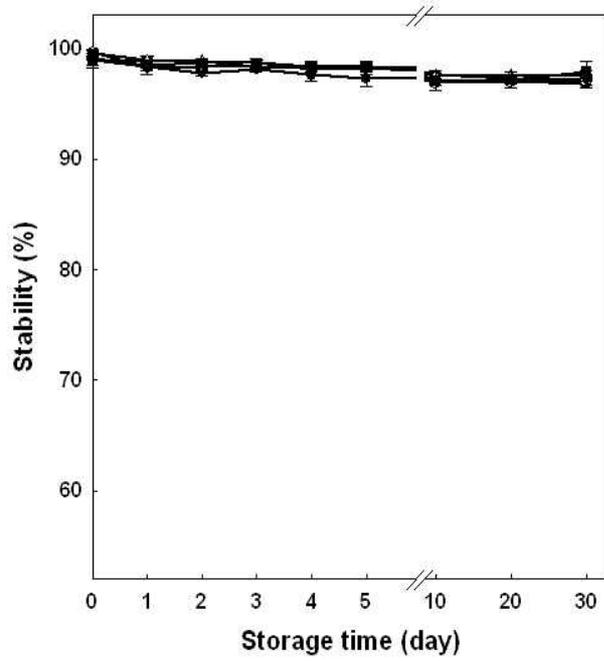


그림 54. 쑥 추출물 함유한 미세캡슐화의 pH 안정성(●, pH 2.0; ○, pH 4.5; ▼, pH 7.0; △, pH 9.5; ■, pH 12.0)

㉠ 저장 온도에 따른 미세캡슐의 저장 안정성 확인

쑥 추출물 함유 미세캡슐의 저장 온도에 따른 안정성은 그림 55에 나타내었으며, 4℃, 20℃, 40℃에서는 저장 후 10일까지 95% 이상의 고 안정성을 보였지만 60℃에서 저장된 미세캡슐의 경우 안정성이 급격히 감소되어 78.3%±0.3으로 나타났다.

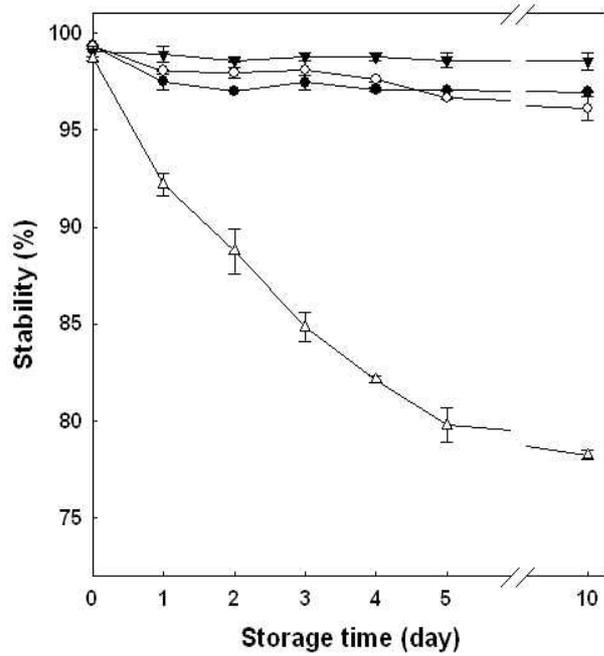


그림 55. 쑥 추출물 함유 미세캡슐의 온도에 대한 안정성(●, 4°C; ○, 20°C; ▼, 40°C; △, 60°C)

(나) 쑥 추출물 함유 미세캡슐의 저장 온도와 저장 기간에 따른 휘발성분 변화 분석

① 연구방법

㉠ 미세캡슐화 저장조건

미세캡슐화된 쑥을 시료병에 1g 채취하고 밀봉하여 대조군과 실험군을 만들었다. 대조군은 상온에서 저장하였으며, 실험군은 건식오븐(Sanyo, Japan)을 사용하여 60°C에서 저장하였다. 대조군과 실험군은 각각의 온도조건 하에서 0, 1, 3, 8일 동안 저장하였다.

㉡ 미세캡슐화된 쑥의 휘발성분 측정

○ 미세캡슐화된 쑥을 저장 조건에 따라 저장하면서 그 휘발성분을 headspace-solid phase microextraction(HS-SPME) 방법으로 농축하여 gas chromatography mass spectrometry(GC-MS)로 분석하였다. 이때, SPME fiber는 75µm carboxen/PDMS를 사용하였다.

○ CAR/PDMS SPME fiber에 농축된 휘발성 물질은 GC(Agilent 6890, Agilent Technology, Palo alto, CA, USA)-MS(Agilent 5973, Agilent technology)에 의해 분리 및 동정되었다. 고정상으로는 HP-5(30m × 0.32mm ID, 0.25µm film) 컬럼을, 이동상으로는 헬륨을 사용하였으며, 유속은 0.6mL/분 이었다. GC 오븐은 0에서 2분까지 40°C로 유지시킨 후, 6°C/분의 속도로 160°C까지 증가시키고 160°C에서 220°C까지 10°C/분의 속도로 증가시켰다. MS 분석 조건은 70eV와 150°C quadrupole, 230°C ion source 온도를 사용하였고, 주입구(injector)의 온도는 250°C 이었다. SPME fiber는 주입구에서 2분간 노출시켰다.

㉢ 휘발성분 동정

GC-MS로 분석한 휘발성분은 NIST Mass spectra library을 이용하여 동정하였다. 또한 *n*-paraffin과 Kovat index를 이용한 retention indices(RI)값 등을 비교하여 동정하였다.

㉠ 통계분석

본 연구의 결과치는 mean±SD로 표시하였고, SPSS program을 이용하여 그룹간의 통계적 유의성은 ANOVA 분석으로, 사후검증은 Duncan multiple test로 실시하였으며 유의성이 0.05 이하인 것을 유의한 값으로 판정하였다.

② 연구결과

㉠ 미세캡슐화된 쑥의 총 휘발성분 함량

- 미세캡슐화된 쑥의 휘발성분은 xylene, limonene, camphor 등의 terpenoid계 성분 4종과 미량의 기타 성분 8종이 검출되었다.
- 상온과 60°C에서 0, 1, 3, 8일 동안 저장한 미세캡슐화된 쑥의 총 휘발성분 함량은 그림 56에 나타내었다.

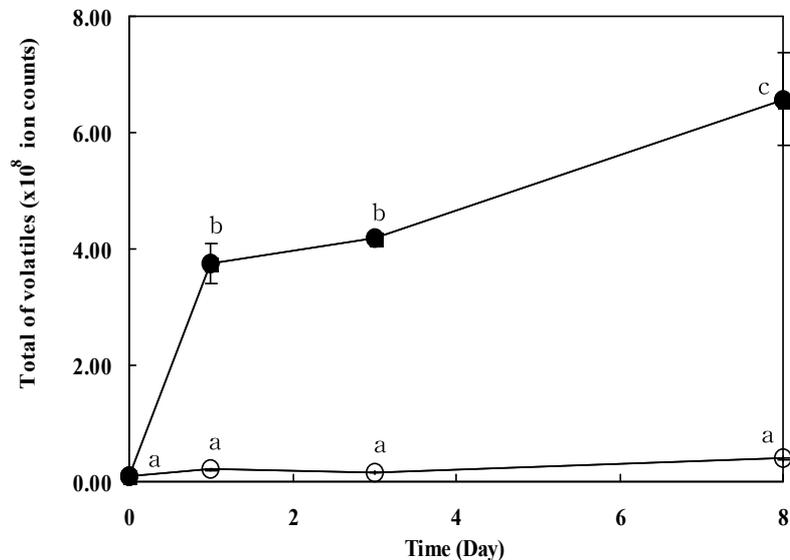


그림 56. 상온과 60°C에 저장한 미세캡슐화된 쑥의 휘발성분 변화(○: 상온저장, ● : 60°C저장)

- 저장하지 않은 미세캡슐화된 쑥의 총 휘발성분 함량은 0.09±0.01(×10⁸ ion counts) 이었고 상온과 60°C에서 8일간 저장한 시료의 총 휘발성분 함량은 각각 6.58±0.79, 0.40±0.06(×10⁸ ion counts)이었다. 상온 저장의 경우 총 휘발성분 함량 변화가 없었으나 60°C에서 저장한 시료는 저장 기간이 증가함에 따라 휘발성분 함량이 유의적인 증가를 보였다(*p*<0.05). 또한 8일간 60°C에서 저장한 시료는 상온에서 저장한 시료보다 약 16.5배정도 높은 휘발성분 함량을 나타내었다. 이는 미세캡슐화된 쑥을 상온에서 저장하는 경우 비교적 안정한 것으로 고려되며, 또한 60°C 시료의 휘발성분 함량이 상온보다 높은 것은 열에 의해 미세캡슐이 더 파괴되어 미세캡슐화한 쑥의 휘발성분이 방출된 것으로

판단된다. 정 등[19]은 참기름을 캡슐화 하여 37°C에서 3일간 저장한 뒤, 휘발성 향기성분의 잔존함량을 측정한 결과 37-42%의 휘발성 향기성분을 보유되었다고 보고한바 있다. 다시 말해 저장기간이 지남에 따라 캡슐화 되었던 휘발성 향기성분이 58-63% 방출되었음을 의미한다. 이는 본 연구와 유사한 실험 결과라 할 수 있다.

㉔ 미세캡슐화된 쑥의 주요 휘발성분 변화

- 상온과 60°C에서 저장한 미세캡슐화된 쑥의 휘발성분 동정 및 aroma description은 표 18에 나타내었다.
- 상온과 60°C에서 저장한 미세캡슐화된 쑥의 주요 성분은 1차년도에 생참쑥의 주요 성분 중 하나로 동정된 **limonene** 이었으며, limonene은 상온저장에서는 유의적인 변화가 보이지 않았으나 60°C 저장조건에서는 limonene양이 유의적으로 증가하였다($p<0.05$).
- 미세캡슐화된 쑥을 상온 저장하는 경우 저장하기 전의 휘발성분과 유사하였다. 반면 60°C에서 저장한 경우, 저장기간이 지남에 따라 hexanal, pentanal, octanal, heptanal, nonanal 등 **aldehyde**류 성분이 증가하였다. 이는 지방산화생성물에 기인한 것으로 사료된다[18]. 또한 60°C에서 저장한 시료에서만 **furan**류인 2-butylfuran, 2-pentylfuran이 검출되었으며, 60°C라는 약간의 열처리에 의해 분해, 산화되어 나타난 것으로 생각된다. Pentylfuran의 경우는 지방산화 생성물로 알려져 있다[41].

표 18. 미세캡슐화된 쑥의 주요 휘발성 향미 성분의 peak area

RI ¹⁾	Volatile compound	Aroma descriptions ²⁾	Peak area (x10 ⁷ ion counts)							ID ⁴⁾	
			Control	R-1	R-3	R-8	60-1 ³⁾	60-3	60-8		
< 646	Ethanol	ethanol-like, pungent, sweet	ND ⁵⁾	ND	ND	ND	ND	14.72±0.36	15.31±0.12	20.12±0.15	MS
646	3-Methylbutanal	fruity, almond, herbaceous, malty	ND	ND	ND	0.33±0.04	0.51±0.06	0.59±0.00	2.36±0.05		MS/RI
699	Pentanal	pungent, almond, herbal, malty	ND	ND	ND	ND	2.18±0.27	2.41±0.30	4.10±0.28		MS/RI
796	Hexanal	green, tallowy, fishy, grassy	ND	ND	ND	ND	1.26±0.48	1.77±0.36	4.38±0.50		MS/RI
869	Xylene	cold meat fat, oily, fat, pungent	0.20±0.04	0.12±0.03	0.10±0.02	ND	0.55±0.14	0.39±0.06	0.51±0.01		MS/RI
885	2-Butylfuran	-	ND	ND	ND	ND	ND	0.30±0.04	0.70±0.05		MS
899	Heptanal	dry fish, solvent, rancid, fruity	ND	ND	ND	ND	1.56±0.38	1.58±0.02	3.14±0.02		MS/RI
945	4,4-Dimethyl-2-pentene	-	ND	ND	ND	ND	0.97±0.12	1.44±0.02	2.92±0.13		MS
987	2-Pentylfuran	buttery, green bean-like	ND	ND	ND	ND	0.95±0.20	1.64±0.17	3.06±0.05		MS/RI
1003	Octanal	stew, boiled meat, rancid, fruit	ND	ND	ND	ND	ND	1.64±0.03	3.21±0.07		MS
1027	Limonene	licorice, green, citrus, ethereal, fruit	0.24±0.02	0.37±0.08	0.46±0.03	0.92±0.28	2.58±0.32	3.06±0.01	6.22±0.21		MS/RI
1114	Nonanal	green, fruity, waxy, soapy, fatty	ND	ND	ND	ND	0.72±0.27	0.82±0.14	2.18±0.47		MS/RI
1157	Camphor	camphor, green, dry, leaf	0.04±0.00	0.04±0.01	0.04±0.01	0.08±0.00	ND	ND	ND		MS/RI
1173	Massioalactone	-	0.05±0.02	0.10±0.00	0.08±0.11	0.43±0.01	1.37±0.20	2.67±0.03	7.33±0.17		MS

¹⁾ Retention indices (RI) were determined using *n*-paraffin(C5,6,7,8,10,12,14,16) as external references.

²⁾ Aroma description adapted from website of was accessed at May 20, 2010.

³⁾ Micro-encapsulation using *Artemisia princeps* pampan. stored at 60°C for 1day was designated as 60-1.

⁴⁾ Volatile identification was performed through a combination of NIST Mass spectra library(MS) and retention index(RI) from website of accessed at May 20, 2010.

⁵⁾ Not detected.

(3) 미세캡슐의 체내복원성 확인

(가) 썩 추출물 함유 미세캡슐의 중심물질 방출제어 및 체내복원률 분석

① 연구방법

본 연구에서는 *in vitro* 소화 모델을 이용하여 썩 추출물 함유 미세캡슐의 중심물질 방출제어 및 체내복원률을 평가하였다[42-44]. 각각 위(gastric stage) 조건, 장(intestinal stage) 조건으로 표 19와 같이 설계하였으며, 각 조건의 체내복원률을 비교하기 위해 대조군으로 증류수(distilled water, D.W.)를 사용하였다. 위 조건의 pH는 0.4N HCl을 사용하여 pH 2.0±0.1로 조정하였으며, 장 조건의 pH는 0.4N NaOH를 사용하여 pH 7.5±0.1로 조정하였다[45]. 각 조건에 따른 중심물질 방출률을 측정하기 위해 미세캡슐 10mL를 분주하고, 증류수, 위액(gastric juice), 장액(intestinal juice)을 각각 10mL씩 혼합한 후, 미세캡슐 수율분석을 위해 비극성 유기용매인 *n*-hexane 10mL을 첨가하였다. 혼합액을 37°C±0.1로 설정된 항온수조에서 200rpm으로 자석교반하며, 180분 동안 30분 간격으로 체내복원률을 측정하였다.

표 19. *In vitro* 소화 모델에서 사용된 합성 소화액의 구성요소와 농도

	Gastric Juice	Duodenal Juice
Inorganic solution	15.7mL NaCl 175.3g/L	40.0mL NaCl 175.3g/L
	3.0mL NaH ₂ PO ₄ 88.8g/L	40.0mL NaHCO ₃ 84.7g/L
	9.2mL KCl 89.6g/L	10.0mL KH ₂ PO ₄ 8g/L
	18.0mL CaCl ₂ · 2H ₂ O 22.2g/L	6.0mL KCl 89.6g/L
	10.0mL NH ₄ Cl 30.6g/L	10.0mL MgCl ₂ 5g/L
Organic solution	10.0mL glucose 65g/L	
	10.0mL glucuronic acid 2g/L	
	3.4mL urea 25g/L	4.0mL urea 25g/L
	10.0mL 33g/L glucoseamine hydrochloride	
Add to mixture	1.0g pepsin	9.0mL CaCl ₂ · 2H ₂ O 22.2g/L
	3.0g mucin	3.0g pancreatin
		0.5g lipase
The inorganic and organic solutions are augmented to 500mL with distilled water. After mixing of the inorganic and organic solutions, some further constituent are added and dissolved.		

② 연구결과

본 연구에서 *in vitro* 소화 모델을 이용한 썩 추출물 함유 미세캡슐의 중심물질 방출제어 및 체내복원률을 평가한 결과는 그림 57에 나타내었다. 위(gastric stage)

조건 및 대조군은 180분 동안 10% 이하의 중심물질 방출률을 보였으며, 장 (intestinal stage) 조건은 중심물질 방출률이 점진적으로 증가되어 반응시간 2시간 내에 중심물질 방출률이 70%에 도달하는 것을 확인하였다.

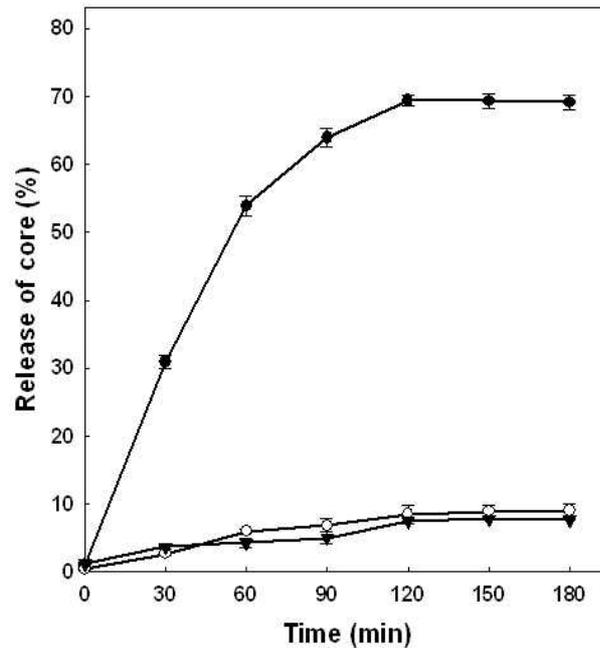


그림 57. *in vitro* 소화 모델에서 중심물질(썩 추출물)의 방출률(●: 장, ○: 위, ▼: 대조군)

다. 썩 음료의 관능성 개선 및 제품개발

(1) 참썩, 사자발썩 추출물의 향 선호 관능성 검사

(가) 조사목적

음료 개발에 사용할 썩 추출물을 선정하기 위해 주 타깃 층인 20대 여성을 대상으로 참썩 추출물과 사자발 썩 추출물의 향 선호 경향을 파악하고자 한다.

(나) 연구방법

① 소비자 패널의 선발[46]

중심지역검사(Central Location Test)로 동덕여대와 덕성여대에서 2009년 9월 5일 하루 동안 진행하였으며 최근 3개월 내에 차 음료 구매 경험이 있는 20대 여성 가운데 본인 또는 가족 중 음료 관련 회사, 또는 식품 유통 업체 등에 근무하지 않는 조건과 사례 내용을 안내판에 게시한 후 참여를 희망하는 소비자를 대상으로 하였다. 교육받은 면접원이 검사대상 조건 부합 여부를 재확인 한 후 총 210명의 소비자 패널을 선정하여 검사에 참여시켰다.

② 검사수행

㉑ 평가 내용 및 절차

조사 참여자는 훈련된 진행요원의 안내에 따라 의자에 착석한 후 평가 진행 순서 및 주의사항에 대해 안내받고 다음 내용의 설문에 대한 응답을 진행하였다.

- 두 가지 다른 쑥 향에 대한 선호
- 기존에 경험한 쑥 제품 가운데 향이 가장 좋았던 제품
- 기존 제품과 제시한 쑥 향의 만족도

㉒ 통계분석

응답 간 차이 여부는 R-package (R Development Core Team (2006). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.)를 사용하여 유의성 검정을 실시하였다.

(다) 연구결과

① 두 가지 다른 쑥 향에 대한 선호

참쑥의 향에 대한 느낌은 평균 5.94로서 보통정도이나, 좋다는 응답인 7점에 대한 비율도 높게 나타났다(그림 58(a)). 사자발의 향에 대한 느낌은 평균 5.65로서 보통정도이나, 참쑥에 비해서는 다소 낮았다(그림 58(b)). 두 제품간 평균차이 검정(독립 t-Test)결과 유의수준 20%내에서 유의한 차이를 보였다(p -value=0.1870).

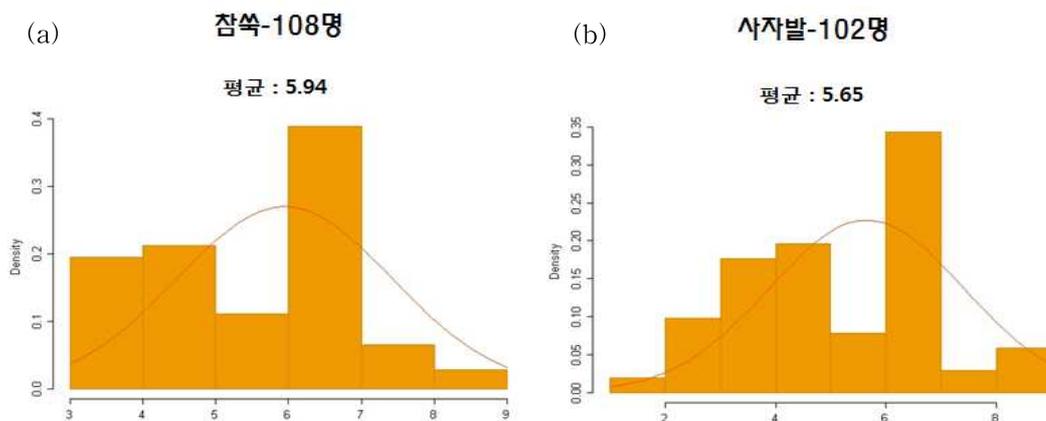


그림 58. 참쑥(a)과 사자발쑥(b) 향에 대한 선호도

② 기존에 경험한 쑥 제품 가운데 향이 가장 좋았던 제품

경험한 쑥 관련 제품 가운데, 향이 가장 좋았던 제품으로는 ‘쑥떡’이라고 응답한 사람이 131명으로서, 가장 높은 빈도를 보였으며, 그 다음으로 ‘쑥차’, ‘쑥비누’라고 응답하였다(그림 59). 쑥의 향과 관련하여 일반적인 인식이 떡, 차, 비누와 많이 관련되어 있다고 보여진다.

향이 가장 좋았던 제품	
썩떡	131
썩차	34
썩비누	32
썩쟁리대	6
썩국	4
썩세안폼클렌징	2
썩향	2
썩탕(썩욕)	1
썩세정제	1
썩부침개	1
썩뜸	1
썩아로마	1

그림 59. 썩 제품 중 향이 가장 좋았던 제품의 응답 결과

③ 기존 제품과 제시한 썩 향의 만족도

참썩의 경우에 사자발썩에 비해 ‘같다’의 비율과 ‘제시한 라벨의 제품이 더 호감’ 간다는 비율이 높았다. 사자발썩의 경우에는 눈에 띄게 높은 비율을 나타내는 것은 없으나, 사자발썩 제품과 비교 했을 때 내가 좋아하는 썩 향을 선호하는 비율이 높았다. 두 제품간 교차분석 검정결과 유의수준 20%내에서 선택한 비율의 차이는 없었다 (p -value=0.4143).

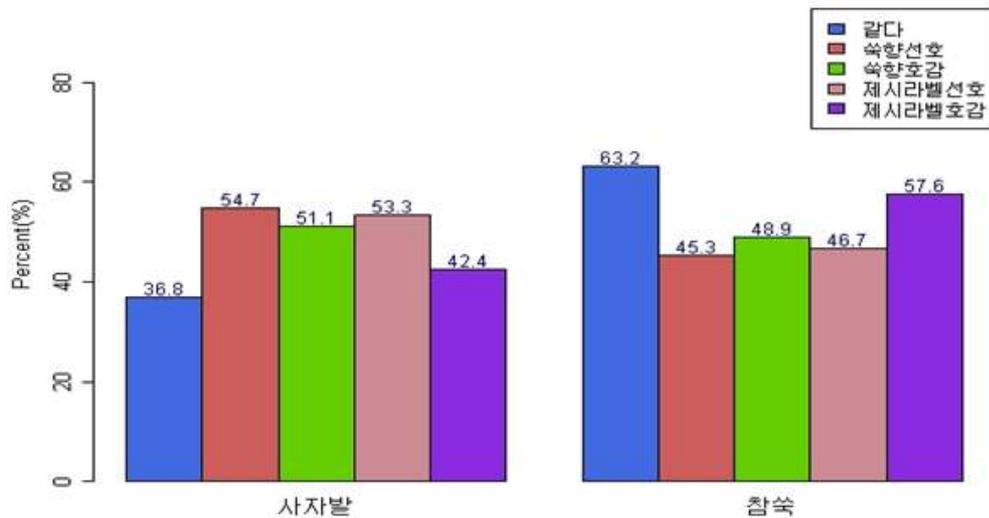


그림 60. 사자발썩과 참썩의 선호도

표 20. 사자발썩과 참썩, 두 제품간의 교차분석

	같다	썩향선호	썩향호감	제시라벨선호	제시라벨호감
사자발	14	35	23	16	14
참썩	24	29	22	14	19

(2) 참쭈 추출물 함유 농도에 따른 관능성 검사

(가) 조사목적

음료 개발 시 첨가할 참쭈 추출물의 농도 수준을 결정하기 위하여 음료 기본 레시피에 3가지 농도 수준의 추출물을 첨가 후 관능적 선호, 기호 차이를 파악하고자 하였다.

(나) 연구방법

① 패널의 선발

음료에 대한 기호 및 주요 특성 강도를 비교하기 위하여 일반 소비자 가운데 관능 수행 능력이 우수한 소비자를 평가요원으로 선발하기 위해 기본 맛 인지검사, 향 인식검사를 실시하였다.

㉠ 기본맛 인지검사

기본맛 인지검사에서 단맛, 짠맛, 신맛, 쓴맛의 4가지 기본맛을 식별할 수 있는 능력에 대해 짝짓기 검사를 실시하였다. 이 검사에 사용된 물질과 농도는 표 21에 나타내었으며, 이때 사용된 질문지는 그림 61와 같고 관능검사소프트웨어(센스마인)을 사용하였다.

표 21. 짝짓기 검사에 사용한 시료

맛	대표적인 물질	농도 (g/L)
단맛	Sucrose	0.50
짠맛	Sodium Chloride	0.50
신맛	Citric acid	0.01
쓴맛	Caffeine	0.05

㉡ 향 인식검사

향 인식검사는 15cm 투명 시험관에 슝을 3cm 두께로 넣고 향료를 1ppm를 떨어뜨린 후 뚜껑을 덮어 제시하였다. 이 검사에 사용된 향료는 코코넛향, 포도향, 바닐라향, 허브향 총 4가지였고, 사용된 질문지는 그림 61과 같았다.

이름	날짜
<p>당신의 앞에는 기본 맛을 나타내는 용액이 담긴 6개의 컵이 있는데, 이들 중 한 개 이상이 무미 혹은 똑같은 맛을 가지고 있을 수 있습니다. 컵에 담긴 용액의 주요한 맛이 무엇인지 아래의 빈칸에 적어 주시기 바랍니다.</p> <p>각 용액을 맛보시기 전에 물로 입안을 가신 후 아래에 적힌 순서대로 맛을 보십시오. 각 시료의 '맛 묘사'의 빈 칸에 맛 (단맛, 짠맛, 신맛, 쓴맛 혹은 무미)을 적어 주십시오.</p>	
시료번호	맛 묘사
723	
395	
489	
586	
251	
994	
<p>아래 적힌 번호의 향을 맡으신 후, 향의 이름 또는 향에 대해 묘사를 해 주세요.</p>	
시료번호	향 묘사
521	
814	
657	
785	

그림 61. 관능검사에 사용된 설문지의 예

- ㉔ 최종 패널요원 선정
- 패널 요원 선정을 위하여 실시한 기본맛 인지 검사, 향 인식검사 결과, 기본맛 인지 검사에서 66점 이상이며, 향 인식검사에서 50점 이상인 주부 64명을 패널요원으로 선발하였다. 선정된 패널요원들의 건강상태(빈번한 두통, 입안 및 코감염, 알러지 등)를 확인하여 60명을 최종 패널요원으로 선정하였다.
- ② 시료준비
- 참쭈 추출물의 함유량: 고농도(0.65%), 중농도(0.5%), 저농도(0.35%)
 - 기본 레시피: 액상과당 15%, 말토덱스트린 0.45%, 잔탄검 0.02%, 구연산 0.04%
- ③ 검사수행
- ㉕ 평가 내용 및 절차
- 평가 패널은 평가 진행 순서 및 주의사항에 대해 안내받고 다음 내용의 설문에 대한 응답을 진행하였다.
- 각각의 쭈음료에 대한 순차 평가
 - : 종합적 기호 평가
 - : 세부 기호 평가

: 주요특성 인지 강도 평가

: 주요특성 희망 강도 평가

㉔ 통계분석

응답 간 차이 여부는 R-package (R Development Core Team (2006). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.)를 사용하여 유의성 검정을 실시하였다.

(다) 연구 결과

① 종합적 기호 평가

고농도 제품과 저농도 제품의 기호품질은 차이가 없었으나 중농도 제품과 비교할 때 뚜렷하게 기호가 높게 나타남($p=0.05$).

○ 평균 요약 테이블

평균 표준오차 표준편차

고농도	5.72	0.20	1.56
저농도	5.71	0.19	1.44
중농도	5.26	0.21	1.58

○ 기호평균 유의차 검정 (Analysis of Variance: ANOVA)

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
F.Sample	2	8.08	4.04	2.8445	0.0623 .
B.Panel	57	238.81	4.19	2.9497	4.652e-07 ***
Residuals	114	161.92	1.42		

Signif. codes: 0 *** 0.001 ** 0.01 * 0.05 . 0.1 1

○ 다중비교 검정(Multiple Comparison Test)

Alpha 0.05

Duncans Minimum Significant Difference

range-1 range-2

MSD 0.44 0.46

Means with the same letter are not significantly different.

고농도 저농도 중농도 - g1 g2

고농도	-	ns	*	a
저농도	ns	-	*	a
중농도	*	*	-	b

평균 그래프 (Mean plot): 종합기호

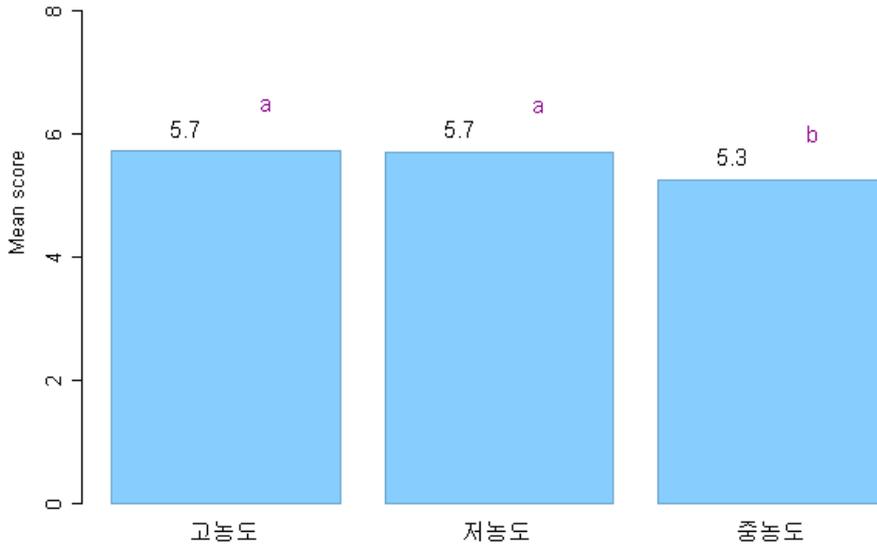


그림 62. 종합적 기호평가의 평균 그래프

② 세부 기호 평가

저농도 제품이 외관기호는 떨어지나 향미와 식감기호는 우수한 것으로 평가된다. 외관을 제외하면 고농도 제품 역시 중농도 제품에 비해서는 향미, 식감기호가 상대적으로 우수한 것으로 판단된다.

○ 기호도 요약 테이블

* 평균

	외관기호	향미기호	식감기호
고농도	5.34	5.64	5.71
저농도	5.09	5.72	6.10
중농도	5.69	5.00	5.43

* 표준편차

	외관기호	향미기호	식감기호
고농도	1.31	1.61	1.43
저농도	1.55	1.47	1.39
중농도	1.29	1.24	1.51

○ 제품 간 기호도 유의차 검정

(Vtest: 평균 차이의 크기 및 방향 / P-value: 유의성)

	Vtest	P-value
향미기호	2.705425	0.003410854
식감기호	2.636897	0.004183417
외관기호	2.092224	0.018209263

○ 개별 제품 주요 기호 [p-value < 0.05]

(Coeff: 영향력 / P-value: 유의성 / Vtest: 평균 차이의 크기 및 방향)

\$고농도

[1] Coeff Adjust mean P-value Vtest

<0 rows> (or 0-length row.names)

\$저농도

	Coeff	Adjust mean	P-value	Vtest
식감기호	0.3563218	6.103448	0.002472567	3.026679
향미기호	0.2701149	5.724138	0.043245576	2.021330
외관기호	-0.2873563	5.086207	0.019561706	-2.334650

\$중농도

	Coeff	Adjust mean	P-value	Vtest
외관기호	0.3160920	5.689655	0.0104136823	2.561781
식감기호	-0.3160920	5.431034	0.0070116826	-2.696289
향미기호	-0.4540230	5.000000	0.0008249022	-3.344301

③ 주요특성 인지 강도 평가

고농도 제품은 색상, 단맛, 미끈미끈한 입안느낌의 강도가 강한 것으로 평가됨.
저농도 제품은 단맛은 강하고 쭉향과 색상은 약한 것으로 평가됨. 중농도 제품은 색상은 강하나 단맛은 약한 것으로 평가됨.

○ 특성강도 요약 테이블

* 평균

	색상	신맛	단맛	쭉맛	쭉향	입안느낌
고농도	6.45	4.22	6.07	4.76	4.90	4.84
저농도	3.57	4.16	6.00	4.43	4.29	4.41
중농도	6.36	3.93	4.81	4.55	4.72	4.41

* 표준편차

	색상	신맛	단맛	쭉맛	쭉향	입안느낌
고농도	1.11	1.45	1.23	1.34	1.37	1.24
저농도	0.86	1.30	1.24	1.46	1.58	1.27
중농도	0.99	1.24	1.19	1.35	1.42	1.46

○ 제품 간 특성강도 유의차 검정

(Vtest: 평균 차이의 크기 및 방향 / P-value: 유의성)

	Vtest	P-value
색상	12.048676	9.854505e-34
단맛	6.431350	6.323787e-11
입안느낌	2.189690	1.427338e-02
쭉향	1.868120	3.087266e-02

○ 개별 제품 주요 특성 [p-value < 0.05]

(Coeff: 영향력 / P-value: 유의성 / Vtest: 평균 차이의 크기 및 방향)

\$고농도

	Coeff	Adjust mean	P-value	Vtest
색상	0.9885057	6.448276	1.030117e-15	8.023216
단맛	0.4425287	6.068966	6.965789e-05	3.977451
입안느낌	0.2873563	4.844828	3.626914e-03	2.908910

\$저농도

	Coeff	Adjust mean	P-value	Vtest
단맛	0.3735632	6.000000	6.980275e-04	3.390353
썩향	-0.3448276	4.293103	1.136400e-02	-2.531302
색상	-1.8908046	3.568966	8.789144e-35	-12.302428

\$중농도

	Coeff	Adjust mean	P-value	Vtest
색상	0.9022989	6.362069	7.767815e-14	7.474195
단맛	-0.8160920	4.810345	8.363457e-12	-6.832179

④ 주요특성 희망 강도 평가

○ 인지 및 희망 강도 평균 테이블

	색상	신맛	단맛	썩맛	썩향	입안느낌
고농도	6.45	4.22	6.07	4.76	4.90	4.84
Ideal	5.72	4.27	5.38	5.54	5.45	4.66
	색상	신맛	단맛	썩맛	썩향	입안느낌
저농도	3.57	4.16	6.00	4.43	4.29	4.41
Ideal	5.24	4.27	5.38	5.54	5.45	4.66
	색상	신맛	단맛	썩맛	썩향	입안느낌
중농도	6.36	3.93	4.81	4.55	4.72	4.41
Ideal	5.69	4.27	5.38	5.54	5.45	4.66

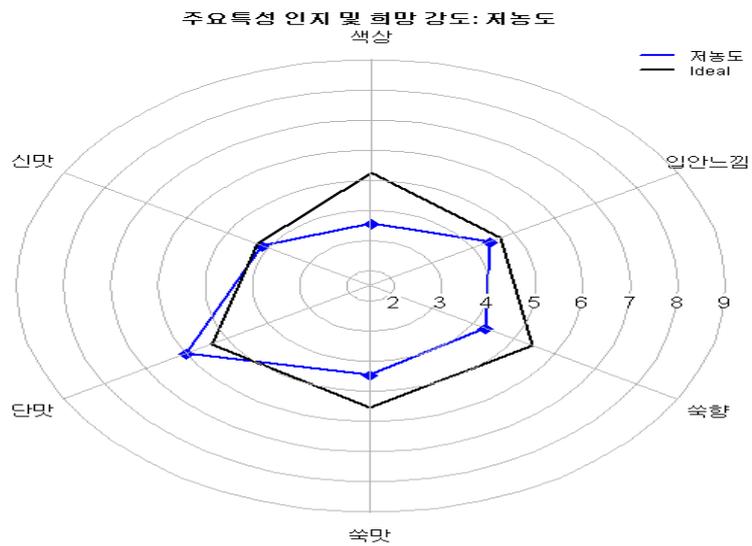
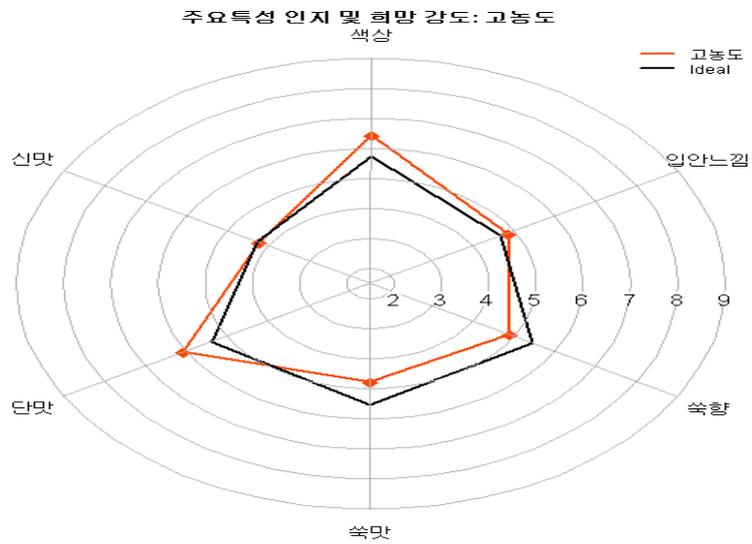
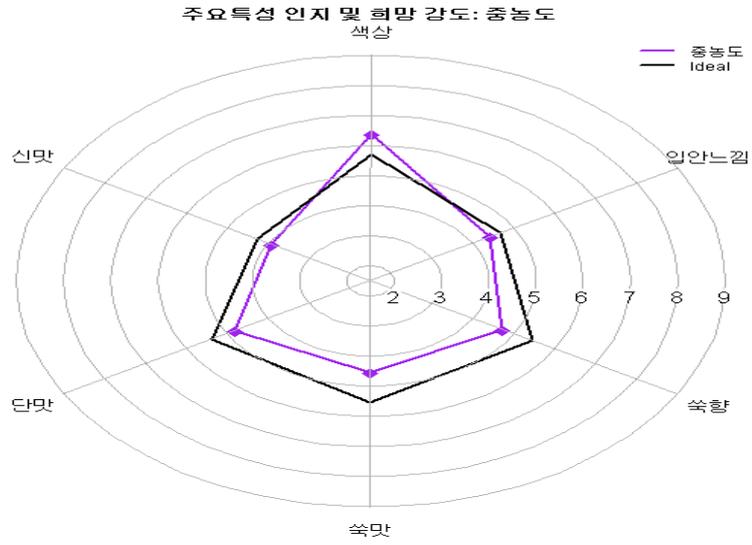


그림 63. 고농도, 저농도, 중농도에 대한 주요 특성 인자 및 희망강도

(3) 추출물 함유 썬음료 시제품 개발

- 1차 연구 소비자조사 결과, 전체 응답자 중 약 78%가 썬 추출 음료를 마셨을 때, 깔끔하면서 썬 향의 향긋함이 전해지는 음료를 기대하는 것으로 나타났다. 반면 쓴 맛에 대한 우려가 가장 강한 것으로 파악되었다.
- 썬 추출 음료에서 가장 기대되는 기능/효능으로는 ‘여성병(생리통 등)’이 가장 높은 응답을 보였으며, 그 다음으로 ‘피부미용’, ‘비만개선’의 응답으로 나타났다.
- 깔끔함과 향긋함 컨셉과 어울리면서 쓴맛을 잘 조절한 Light 한 타입을 썬 추출물 함량을 0.6% 수준의 고농도 제품과 0.3% (일반 시판음료의 추출물 함유 수준)의 저농도 제품으로 레시피를 개발하여 시제품을 완성하였다.

(가) 음료 제조

① 레시피

썬 추출물의 쓴 맛을 조절하기 위해 배농축 과즙을 사용하였으며, 참썬 추출물의 향 강도가 음료 원료로 사용하기에는 약하기 때문에 2종류의 썬향을 첨가하여 향을 보완하였다(표 22).

표 22. 썬 음료의 배합비

	저농도썬 추출액 0.32%함유(낮은것)	고농도썬 추출액 0.64%함유(높은것)
액상과당	14.3%	15.0%
벌꿀	1%	1%
말토텍스트린	0.45%	0.45%
배농축과즙	0.333%	0.333%
썬추출액	0.32%	0.64%
잔탄검	0.02%	0.02%
구연산	0.04%	0.04%
효소처리스테비아	0.0026%	0.0026%
썬향91131	0.04%	0.04%
썬향91132	0.08%	0.08%

② 조합공정

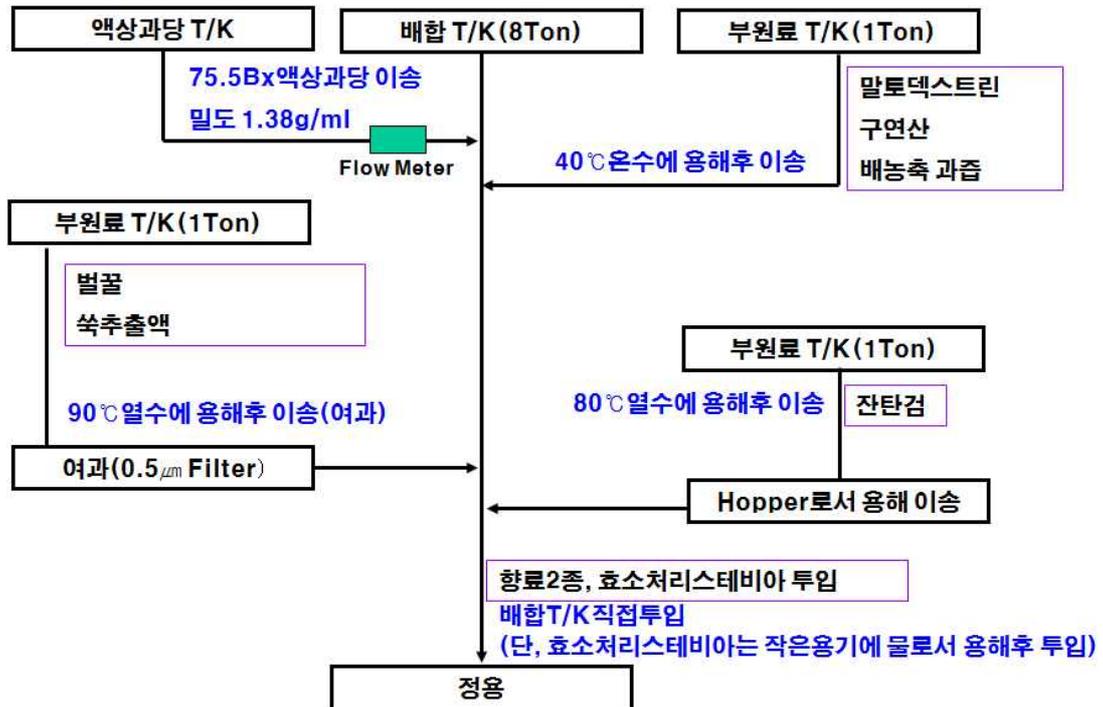


그림 64. 음료 조합 공정

③ 제조공정

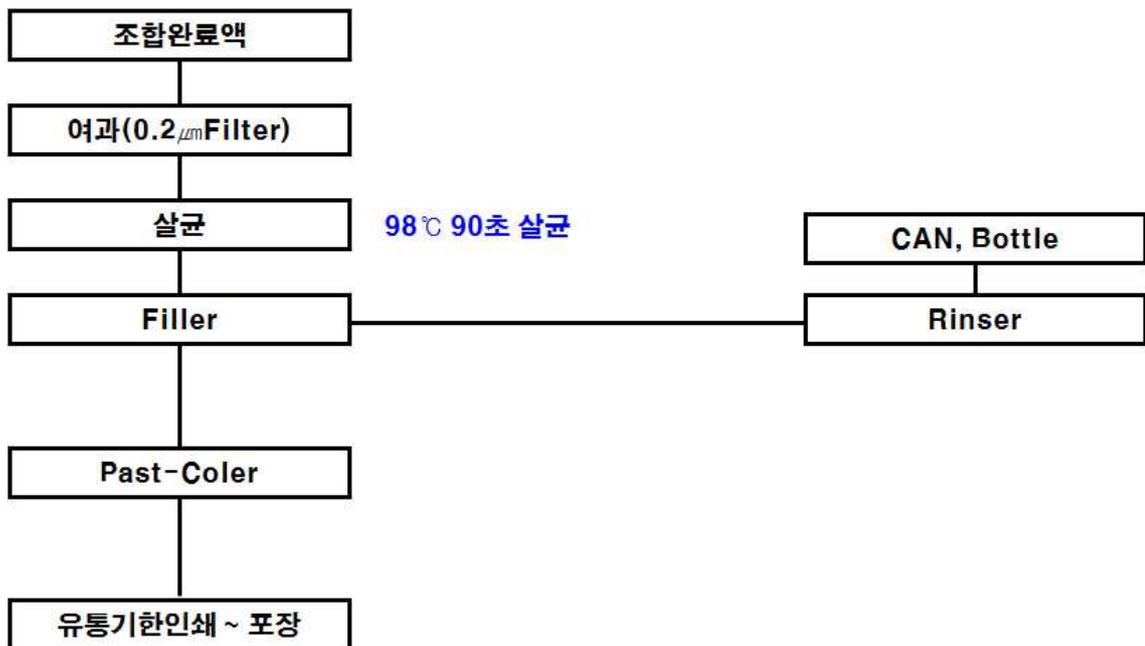


그림 65. 음료 제조 공정

상기와 같은 배합비와 제조공정을 거쳐 제조된 썬음료의 시제품에 관한 결과물은 사진으로 촬영하여 그림 66에 나타내었다.

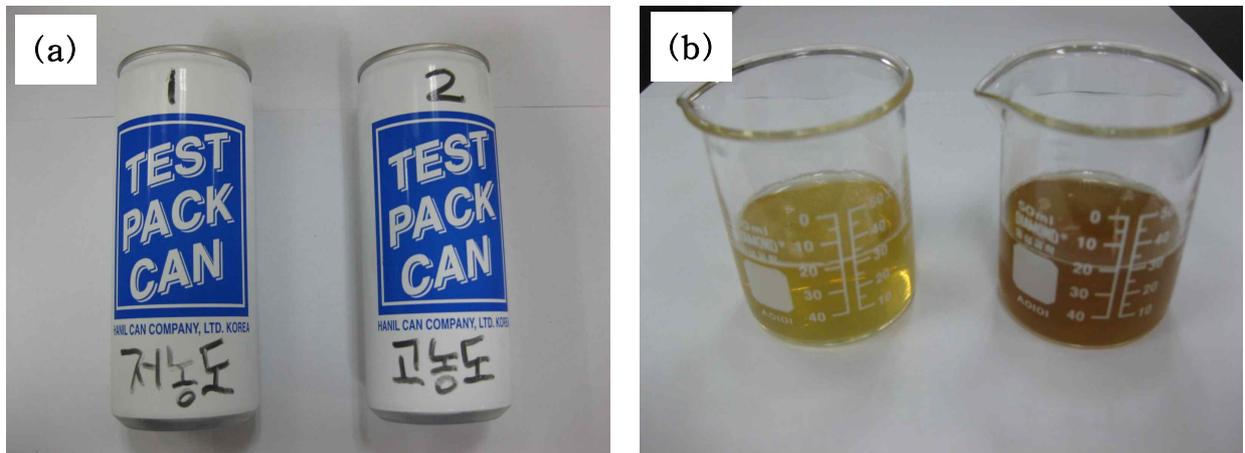


그림 66. 본 연구를 통해 제조된 쑥음료의 캔포장(a)과 음료액상(b)

(4) 쑥 추출물 이용 식음료 제품의 관능성 검사

(가) 조사 목적

쑥 추출물 활용하여 관능성을 개선한 음료 시제품 (캔 포장) 2 종류에 대해 주 타깃 층인 10 후반-30대 초반 여성의 관능반응을 파악하고자 하였다.

(나) 연구 방법

① 소비자 패널의 선발[46]

중심지역검사(Central Location Test)로 진행하였으며 최근 3개월 내에 차 음료 구매 경험이 있는 20-30대 여성 (여대생, 직장인, 주부) 가운데 본인 또는 가족 중 음료 관련 회사, 또는 식품 유통 업체 등에 근무하지 않는 조건과 사례 내용을 안내판에 게시한 후 참여를 희망하는 소비자를 대상으로 하였다. 교육받은 면접원이 검사대상 조건 부합 여부를 재확인 한 후 총 100명의 소비자 패널을 선정하여 검사에 참여시켰다. 조사는 강변 테크노마트에서 실시하였다.

② 검사수행

㉠ 평가 내용 및 절차

조사 참여자는 훈련된 진행요원의 안내에 따라 의자에 착석한 후 평가 진행 순서 및 주의사항에 대해 안내받고 다음 내용의 설문에 대한 응답을 진행하였다.

- “피부미용과 비만개선 효과가 있는 쑥 추출물 함유한 기능성 음료”라는 컨셉의 만족도
- 종합적 기호
- 외관, 향미, 식감, 뒷맛 기호
- 주요 특성의 인지강도 및 희망강도
- 컨셉 중 향긋함과 맛 본 제품의 어울림
- 2개 제품에 대한 선호

㉡ 통계분석

응답 간 차이 여부는 R-package (R Development Core Team (2006). R: A

language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.)를 사용하여 유의성 검정을 실시하였다.

(다) 연구 결과

① 기호도 (Acceptability) 분석

○ 종합기호 분석결과 저농도 쪽은 평균 5.23으로 나타났으며, 고농도 쪽은 평균 4.66으로 나타나 **저농도쪽이 고농도 쪽에 비해 종합기호가 더 높게 나타나며**, 유의수준 5%에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

- 종합기호 (Overall Acceptance) 분석

: 평균 요약 테이블

	평균	표준오차	표준편차
저농도쪽	5.23	0.18	1.80
고농도쪽	4.66	0.18	1.82

: 기호평균 유의차 검정 (Analysis of Variance: ANOVA)

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
F.Sample	1	16.08	16.08	6.3469	0.01334 *
B.Panel	100	400.90	4.01	1.5820	0.01137 *
Residuals	100	253.42	2.53		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1

- 평가 의견

 ※ 기호도: 고농도쪽 > 저농도쪽 (at $\alpha = 0.05$)

- 관능품질 수용도 지수(Consumer Acceptability Index: CAI)

 [Cutoff score: CAI > 0.9]

저농도쪽	고농도쪽
0.9987	0.6546

- 관능품질 선호도 지수 (Consumer Preference Index: CPI)

 [Cutoff score: CPI > 0.9]

저농도쪽	고농도쪽
0.5788	0.0000

- 관능품질 CCI (Chun & Cho Index: CCI)

저농도쭈 고농도쭈

64.7 27.6

(phobia)

저농도쭈 고농도쭈

0.1 0.0

[Category: Not positive, 30~50 / Not Negative, 50~70 / positive, 70~90 / Absolutely Positive, ≥90]

○ 수용도, 선호도, CCI 지수에 대한 해석

- 소비자 수용도 지수 (Consumer Acceptability Index: CAI) 는 종합적 기호평가에서 “좋지도 싫지도 않은 보통수준(5점)” 이상의 반응을 보인 소비자가 그렇지 않은 소비자보다 뚜렷하게 많은지에 대한 검정 유의확률을 1에서 뺀 값 (1 - 유의확률)이다. AI 값이 1-유의수준(0.1)을 뺀 값인 0.9 이상이 되면 90% 신뢰수준에서 “보통수준 이상의 반응을 보인 사람이 그렇지 않은 사람보다 뚜렷하게 많다”라고 할 수 있다. 즉 “수용도가 있다”라는 결론을 내릴 수 있다.

검정결과 저농도 쭈은 0.9987로 나타나고, 고농도 쭈은 0.6546으로 나타나 “저농도 쭈은 수용도가 있다”라고 볼 수 있지만 고농도 쭈은 수용도 지수 기준으로 0.9이하이므로 “수용도가 있다”라고 할 수 없다.

- 소비자 선호도 지수 (Consumer Preference Index: CPI) 는 9점 기호척도에서 6점부터를 소비자의 긍정반응으로 해석하였다. 긍정반응(6, 7, 8, 9점)이 보통을 포함한 부정반응(1-5점) 보다 뚜렷하게 관찰될 경우 관능적인 품질이 양호하다고 판단할 수 있다. 관능품질지표가 1이라는 것은 긍정반응이 부정반응보다 높다는 것을 100% 신뢰할 수 있음을 의미하며 0.9는 90%신뢰, 0.8은 80%신뢰를 의미한다. 그러므로 CPI 0.9 이상은 관능품질이 양호한 수준으로 해석할 수 있다.

검정결과 저농도 쭈은 0.5788로 나타나고, 고농도 쭈은 0.0000으로 나타나 두 제품 모두 0.9보다 낮아 신뢰수준 90%에서 소비자들이 선호할 수 없다는 반응을 보였다고 판단할 수 있다.

- 소비자 만족도 지수 (Consumer Satisfaction Index: CSI) 는 소비자 수용도 지수(CAI)와 소비자 선호도 지수(CPI) 값을 토대로 계산된 값으로, 소비자 만족도 지수는 [범주 : Not positive, 30~50 / Not Negative, 50~70 / positive, 70~90 / Absolutely Positive, ≥90] 로 등급화 하여 만든 지수이다.

- 검정결과 저농도 쭈은 64.7로 나타나 “결코 부정적이지는 않다”이며, 고농도 쭈은 27.6으로 나타나 “상당히 부정적이다”라고 나타났다(그림 67).

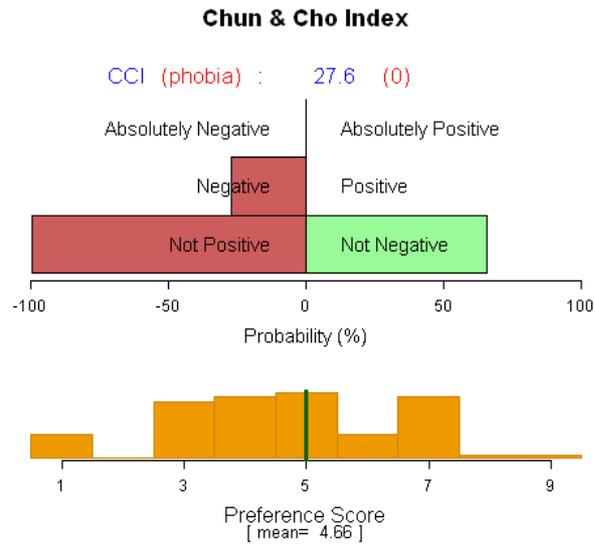
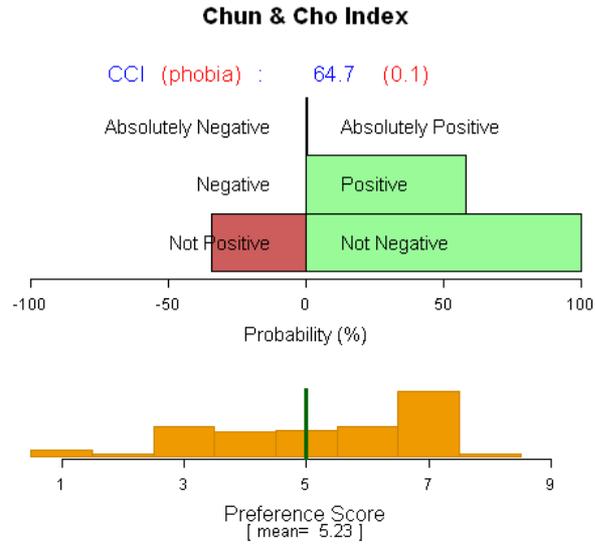


그림 67. 저농도 썩과 고농도 썩에 대한 소비자 만족도 지수

② 선호 선택 분석

종합선호 분석결과 총 응답자 101명 가운데 저농도 썩 선택이 61명, 고농도 썩 선택이 41명으로써, 저농도 썩에 대한 선호빈도가 높았으며, 유의수준 10%에서 검정결과 저농도 썩에 대한 선택빈도가 고농도 썩에 비해 뚜렷하게 많은 것으로 나타났다.

- 종합선호 (Overall Preference) 분석

: 선호 유의차 검정 (Exact Binomial Test)

	[저농도썩]	[고농도썩]	[합 계]
[선 택]	60	41	101

- 종합선호 (Overall Preference) 의견 분석

: 두 제품 가운데 어느 것을 더 선호하는지에 대한 이유로 저농도 쑥 제품의 경우 “쑥향이 적당하다”, “쑥맛이 적당하다”, “단맛이 적당하다”는 순으로 나타났으며, 고농도 쑥 제품의 경우에는 “단맛이 덜하다”, “쑥맛이 강하다”, “쑥향이 강하다”는 순으로 나타왔다(그림 68).

선택 이유

저농도[쑥] - 61명		고농도[쑥] - 41명	
쑥향이 적당하다	23	단맛이 덜하다	15
쑥맛이 적당하다	17	쑥맛이 강하다	12
단맛이 적당하다	17	쑥향이 강하다	11
색이 연하다	16	쑥향이 강하지 않다	9
		색이 진하다	5
		달다	1

그림 68. 쑥 음료의 선택 이유

③ 컨셉 만족도 및 맛과 향긋함 컨셉과의 어울림 분석

○ 제품 취식 전 컨셉에 대한 만족도 결과 평균 3.69로서 나타났으며, 컨셉 만족도 CCI 기준[47]으로 80으로 나타나 제품 컨셉에 대한 인식은 “대체로 긍정적”이었다. 또한, 긍정반응이 부정반응에 비해 뚜렷하게 많은 것으로 나타났다(그림 69).

- 컨셉 만족도 평균

3.69

- 컨셉 만족도 CCI (Chun & Cho Index: CCI)

80(phobia:0)

[Category: Not positive, 30~50 / Not Negative, 50~70 / positive, 70~90 / Absolutely Positive, ≥90]

- 분포 (빈도)

1 2 3 4 5

[컨셉만족도] 2 8 22 56 13

- 분포 (비율) 1 2 3 4 5

[컨셉만족도] 2 7.9 21.8 55.4 12.9

- 긍정 반응에 대한 유의차 검정 (p value)

0.0001479801

컨셉 만족도 분포

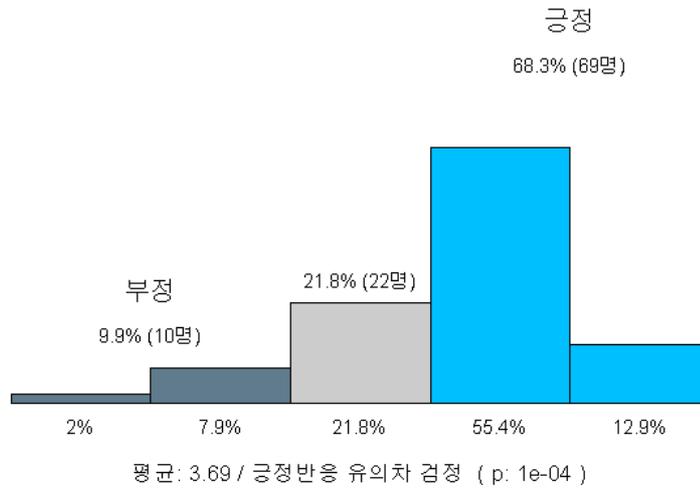


그림 69. 컨셉 만족도 분포

○ 맛과 컨셉 어울림 분석 - 저농도쭈

- 저농도 쭈 제품 취식 후 맛보신 제품의 “쭈의 향긋함”과 얼마나 어울리는 지에 대한 평가결과 평균 3.03으로서 나타났으며, 맛과 컨셉 어울림 만족도 CCI 기준 40.1로 나타나 맛과 “쭈의 향긋함”과의 어울림에 대한 인식은 “결코 긍정적이지는 않음”으로 나타났다. 또한, 긍정반응이 부정반응에 비해 뚜렷하게 많지 않았다(그림 70).

: 맛과컨셉어울림 평균

3.03

: 맛과컨셉어울림 CCI (Chun & Cho Index: CCI)

40.1(phobia:0)

[Category: Not positive, 30~50 / Not Negative, 50~70 / positive, 70~90 / Absolutely Positive, ≥90]

: 분포 (빈도)

1 2 3 4 5

[맛과컨셉어울림] 3 30 32 33 3

: 분포 (비율) 1 2 3 4 5

[맛과컨셉어울림] 3 29.7 31.7 32.7 3

: 긍정 반응에 대한 유의차 검정 (p value)

0.9986731

맛과 컨셉어울림 분포

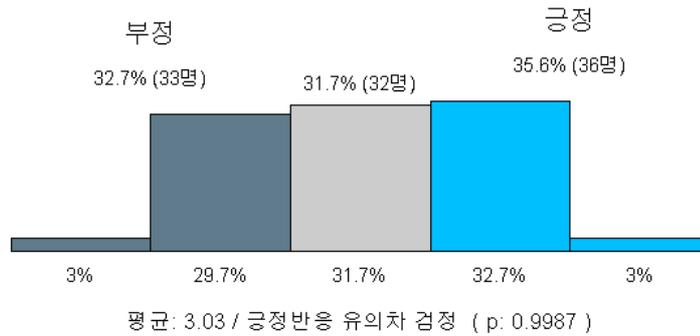


그림 70. 맛과 컨셉어울림 분포

○ 맛과 컨셉 어울림 분석 - 고농도쭈

- 고농도 쭈 제품 취식 후 맛보신 제품의 “쭈의 향긋함”과 얼마나 어울리는 지에 대한 평가결과 평균 3.16으로서 저농도쭈 평균 3.03보다는 다소 높게 나타났으나, 맛과 컨셉 어울림 만족도 CCI 기준 41.8로 나타나 맛과 “쭈의 향긋함”과의 어울림에 대한 인식은 “결코 긍정적이지는 않음”으로 나타났다. 또한, 긍정반응이 부정반응에 비해 뚜렷하게 많지 않았다(그림 71).

: 맛과컨셉어울림 평균

3.16

: 맛과컨셉어울림 CCI (Chun & Cho Index: CCI)

41.8(phobia:0)

[Category: Not positive, 30~50 / Not Negative, 50~70 / positive, 70~90 / Absolutely Positive, ≥90]

: 분포 (빈도)

1 2 3 4 5

[맛과컨셉어울림] 5 20 34 38 4

: 분포 (비율) 1 2 3 4 5

[맛과컨셉어울림] 5 19.8 33.7 37.6 4

: 긍정 반응에 대한 유의차 검정 (p value)

0.9636215

맛과 컨셉어울림 분포

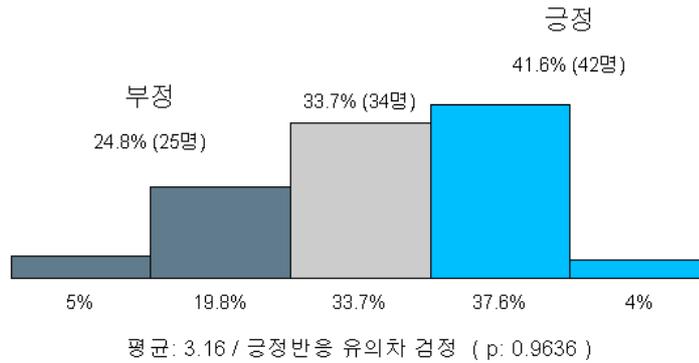


그림 71. 맛과 컨셉어울림 분포

④ 기호 반응 (종합, 외관, 식감, 향미, 뒷맛) 분석

○ 종합기호 및 세부기호 평균 분석

- 저농도 썩 제품의 경우 외관기호가 5.50으로 가장 높으나, 관능품질 지수로 살펴보면 42.7로 나타나 “결코 긍정적이지는 않다”라는 평가를 받았다. 즉 기호는 상대적으로 높으나 반대로 부정적 응답비율이 많다는 것을 알 수 있으며, 식감기호는 5.32로 외관기호 보다는 낮으나 관능품질 지수는 55.4로 나타나 “부정적이지는 않은 편이다”라고 할 수 있으며, 외관기호 품질지수보다는 높게 나타남을 확인 할 수 있다. 전반적으로 종합기호를 제외한 세부 기호 평가는 긍정적이지는 않은 수준으로 나타났다.

- 고농도 썩 제품의 경우 종합기호를 비롯한 세부기호 모두 5점 미만으로 나타나 관능품질 지수가 대부분 40미만이어서 관능품질이 “결코 긍정적이지는 않다”로 나타났다. 이는 소비자가 느끼기에 “맛을 비롯한 종합적인 개선이 반드시 필요하다”라고 인식되었다.

- 제품간 기호도 차이검정 결과는 평가 제품 간에 반응 차이가 유의한 특성들에 대해 제품 간 차이(V test)가 큰 특성을 보여주었다. 이번 제품에서는 외관기호의 차이가 가장 크게 나타났다. 나머지 세부 기호는 평가제품 간에 유의한 차이가 없었다.

- 개별 제품 주요 기호 평가에서는 개별 제품의 주요 특성을 다른 제품과 비교할 때 뚜렷하게 차이를 보이는 특성에 대해 뚜렷한 순서로 보여주고 있으며, 저농도 썩과 고농도 썩은 외관기호만이 뚜렷한 차이를 보이는 특성으로 나타나며, 저농도 썩은 외관기호 계수가 양의 값으로 (+) 영향을 주어 외관 기호도가 높게 나타나고, 고농도 썩은 외관기호 계수가 음의 값으로 (-) 영향을 주어 외관 기호도가 낮게 나타났다.

: 기호도 요약 테이블

* 평균

외관기호 식감기호 향미기호 뒷맛기호

저농도썩	5.50	5.32	5.15	5.23
고농도썩	4.74	4.98	4.84	4.95

: 제품 간 기호도 유의차 검정

(Vtest: 평균 차이의 크기 및 방향 / P-value: 유의성)

Vtest P-value

외관기호 3.533919 0.0002047236

: 개별 제품 주요 기호 [p -value < 0.05]

(Coeff: 영향력 / P-value: 유의성 / Vtest: 평균 차이의 크기 및 방향)

\$저농도썩

Coeff Adjust mean P-value Vtest

외관기호 0.3762376 5.49505 0.0002047236 3.713115

\$고농도썩

Coeff Adjust mean P-value Vtest

외관기호 -0.3762376 4.742574 0.0002047236 -3.713115

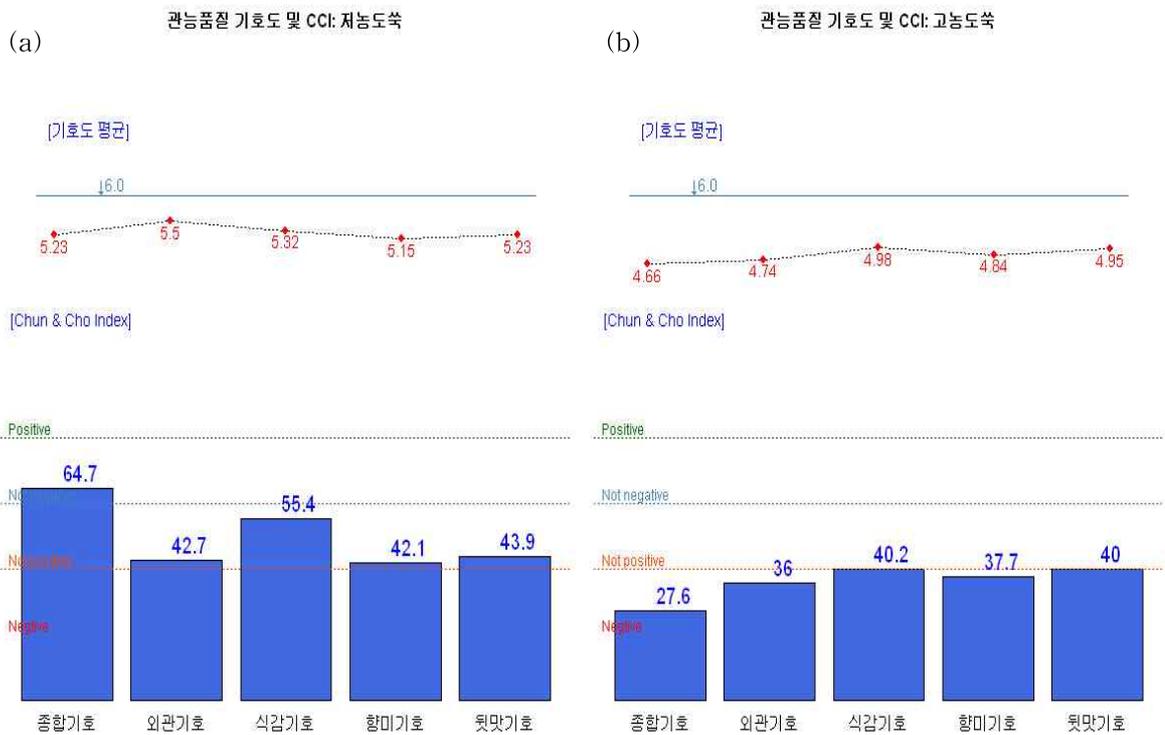


그림 72. 저농도 썩(a)과 고농도 썩(b)의 관능품질 기호도 및 CCI

⑤ 종합기호에 대한 세부기호 중요도 분석: Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) [48, 49]

○ 저농도축

- 저농도 축에 대해서 종합기호에 영향을 끼치는 세부기호도 분석결과 식감>향미>외관>뒷맛기호 순으로 나타났으며, 종합기호에 영향을 끼치지 못하는 특성은 없었다.
- 종합기호에 가장 큰 영향을 주는 요인은 식감기호로 나타났다.
- 외관기호와 향미기호간 그래프를 살펴보면 향미기호가 좋을 때는 외관기호와 상관없이 종합기호가 높게 나타나며, 식감기호와 향미기호간 그래프에서는 식감기호와 향미기호 모두 좋을 때 종합기호가 가장 높게 나타났다. 향미기호와 뒷맛기호간 그래프에서는 뒷맛기호가 다소 낮더라도 향미기호가 높을 때는 향미기호가 높을 시에는 종합기호가 높게 나타났다.

: R.종합기호.o =

5.731

- 1.617 * pmax(0, 4 - R.식감기호.a)
- + 0.5766 * pmax(0, R.향미기호.a - 5)
- 0.8064 * pmax(0, 4 - R.뒷맛기호.a)
- 0.6138 * pmax(0, 5 - R.외관기호.a) * pmax(0, 5 - R.향미기호.a)
- + 0.6904 * pmax(0, R.식감기호.a - 4) * pmax(0, R.향미기호.a - 7)
- 0.3784 * pmax(0, 5 - R.식감기호.a) * pmax(0, R.향미기호.a - 5)
- 0.4716 * pmax(0, R.식감기호.a - 5) * pmax(0, 5 - R.향미기호.a)
- 0.8022 * pmax(0, R.향미기호.a - 7) * pmax(0, R.뒷맛기호.a - 4)

Selected 9 of 21 terms, and 4 of 4 predictors

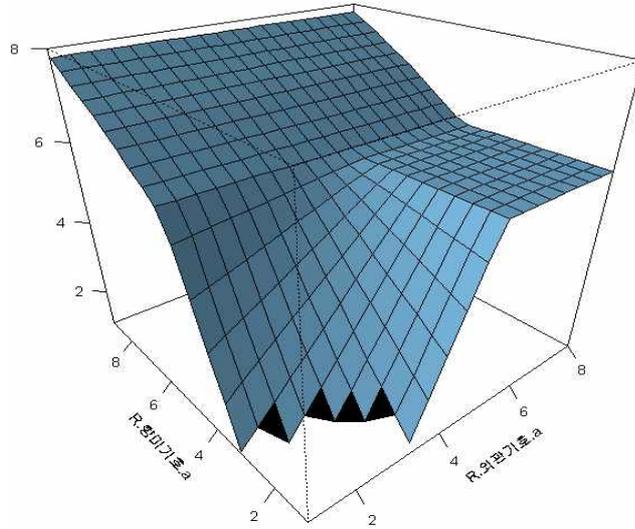
Importance: R.식감기호.a, R.향미기호.a, R.외관기호.a, R.뒷맛기호.a

GCV 1.421 RSS 90.01 GRSq 0.5656 RSq 0.722

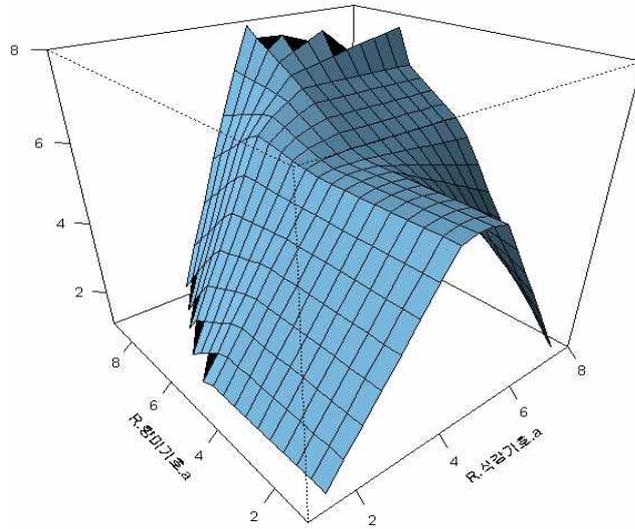
: Estimate variable importances

	col	used	nsubsets		gcv		rss
R.식감기호.a	2	1	8	100.00000	1	100.00000	1
R.향미기호.a	3	1	7	45.17076	1	52.32951	1
R.외관기호.a	1	1	6	28.80659	1	37.52034	1
R.뒷맛기호.a	4	1	5	11.41354	1	20.62469	1

R.외관기호.a:R.향미기호.a



R.식감기호.a:R.향미기호.a



R.향미기호.a:R.맛기호.a

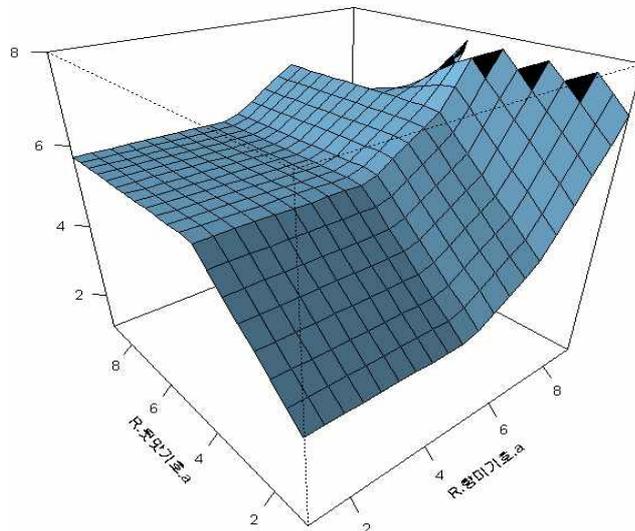


그림 73. 저농도 축의 종합기호에 대한 세부기호 중요도 분석

○ 고농도썩

- 고농도 썩에 대해서 종합기호에 영향을 끼치는 세부기호도 분석결과 식감>뒷맛>외관기호 순으로 나타났으며, 종합기호에 영향을 끼치지 못하는 특성은 향미기호로 나타났다.
- 종합기호에 가장 큰 영향을 주는 요인은 식감기호로 나타났다.
- 식감기호와 뒷맛기호간 그래프를 살펴보면 뒷맛기호가 높은 경우에는 식감기호와는 상관없이 종합기호가 높게 나타났다.

: R.종합기호.o =

5.973

- 0.3691 * pmax(0, 7 - R.외관기호.a)

+ 3.187 * pmax(0, R.뒷맛기호.a - 7)

- 0.1332 * pmax(0, 6 - R.식감기호.a) * pmax(0, 7 - R.뒷맛기호.a)

Selected 4 of 21 terms, and 3 of 4 predictors

Importance: R.식감기호.a, R.뒷맛기호.a, R.외관기호.a, R.향미기호.a-unused

GCV 2.495 RSS 211.3 GRSq 0.2528 RSq 0.3607

: Estimate variable importances

	col	used	nsubsets	gcv	rss
R.식감기호.a	2	1	3	100.00000	100.00000
R.뒷맛기호.a	4	1	3	100.00000	100.00000
R.외관기호.a	1	1	2	24.60564	36.07559

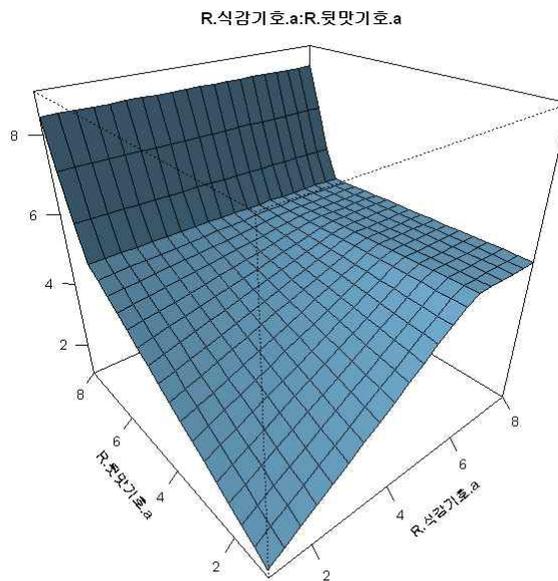


그림 74. 고농도 썩의 종합기호에 대한 세부기호 중요도 분석

⑥ 기존 선호제품에 대한 경쟁력

○ 저농도썩

- 응답자 전체 101명 가운데 17%가 맛 본 제품이 더 좋다는 반응을 보임, 비슷하다는 응답 14%까지 포함했을 때 응답자의 32%가 자신의 선호 제품에 대한 경쟁력을 인정하였다. 즉 경쟁력이 낮음을 의미하였다.

: 기존 선호제품과 비교 1

	기존제품선호		비슷 평가제품선호 [소계]	
17차	37	6	6	49
옥수수수염차	17	2	4	23
하늘보리	4	2	1	7
내몸에흐를류	2	1	1	4
보성녹차	1	0	3	4
블랙빈테라티	2	0	1	3
실론티	1	2	0	3
까만콩차	2	0	0	2
오늘의차	2	0	0	2
민들레영토차	0	1	0	1
설록차	1	0	0	1
소켄비차	1	0	0	1
팻다운	0	0	1	1

: 평가제품 선호에 대한 유의차 검정 (p value)

	기존제품선호		비슷 평가제품선호 [소계]	
[선택]	70	14	17	101
p value:	1			

■ 기존제품선호 ■ 비슷하다 ■ 평가제품선호

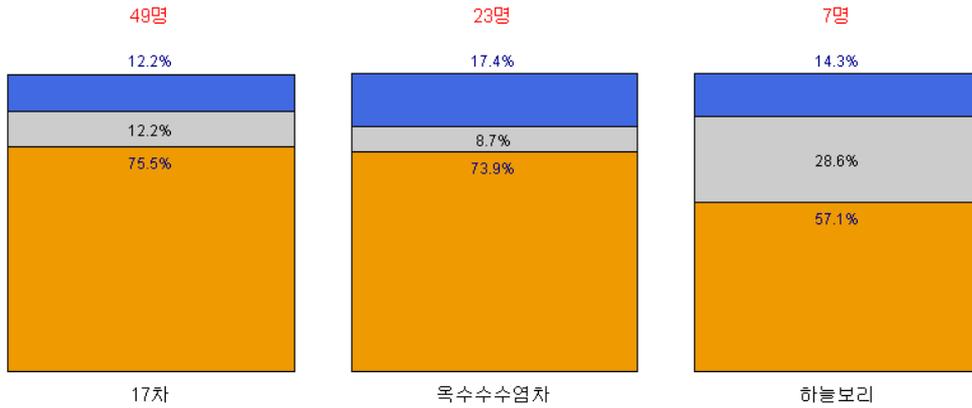


그림 75. 저농도 썬의 기존 선호제품에 대한 경쟁력

○ 고농도썬

- 응답자 전체 101명 가운데 14%가 맛 본 제품이 더 좋다는 반응을 보임, 비슷하다는 응답 9%까지 포함했을 때 응답자의 23%가 자신의 선호 제품에 대한 경쟁력을 인정하였다. 즉 경쟁력이 낮음을 의미하였다.

: 기존 선호제품과 비교 1

기존제품선호 비슷 평가제품선호 [소계]

17차	38	4	7	49
옥수수수엿차	17	3	3	23
하늘보리	6	0	1	7
내뭉에흐를류	3	1	0	4
보성녹차	1	1	2	4
블랙빈테라티	3	0	0	3
실론티	2	0	1	3
까만콩차	2	0	0	2
오늘의차	2	0	0	2
민들레영토차	1	0	0	1
설록차	1	0	0	1
소켄비차	1	0	0	1
팻다운	1	0	0	1

: 평가제품 선호에 대한 유의차 검정 (p value)

기존제품선호 비슷 평가제품선호 [소계]

[선택] 78 9 14 101

p value: 1

■ 기존제품선호 ■ 비슷하다 ■ 평가제품선호

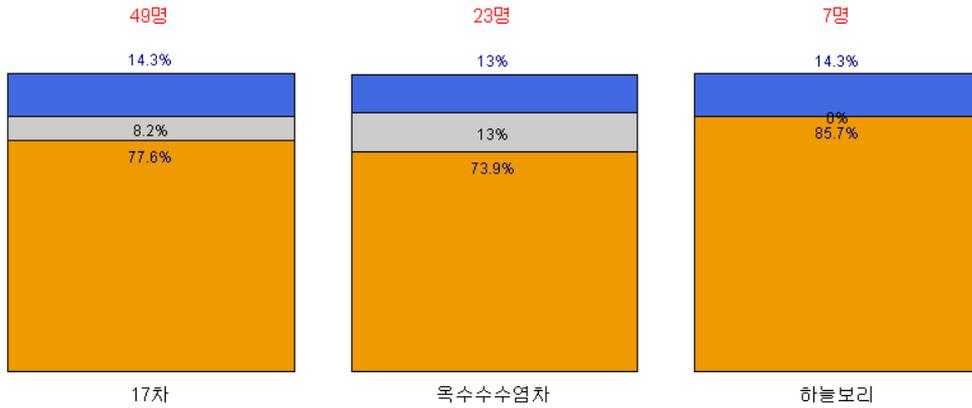


그림 76. 고농도 썩의 기존 선호제품에 대한 경쟁력

⑦ 주요 관능특성 강도 분석

○ 인지강도 평균분석

- 저농도 썩 제품의 경우 단맛강도가 7.06으로 나타나, 단맛이 강하다고 인지하고 있으며, 신맛이 3.21로써 신맛은 약한 수준으로 평가하였다. 고농도 썩 제품의 경우 썩향과 썩향이 저농도 썩보다 다소 강하다고 평가하고 있으며, 단맛은 저농도 썩보다는 다소 약하고, 신맛은 다소 강하게 느낀 것으로 나타났다.
- 제품간 특성강도 차이검정 결과는 평가 제품 간에 반응 차이가 유의한 특성 강도에 대해 제품 간 차이(V test)가 큰 특성을 보여주었다. 이번 제품에서는 색상>신맛>단맛>썩맛>썩향의 순서로 차이가 크게 나타났다. 나머지 입안느낌 강도는 평가제품 간에 유의한 차이가 없었다.
- 개별 제품 주요 특성강도 평가에서는 개별 제품의 주요 특성을 다른 제품과 비교할 때 뚜렷하게 차이를 보이는 특성에 대해 보여주고 있으며, 저농도 썩 제품에서는 단맛은 다소 강하고 그 외에 썩향, 썩맛, 신맛, 색상은 다소 약하게 느끼고 있으며, 고농도 썩 제품에서는 단맛을 제외한 색상, 신맛, 썩맛, 썩향에 대해서는 다소 강하게, 단맛에 대해서는 다소 약하게 느끼고 있었다.

: 특성강도 요약 테이블

* 평균

	색상	입안느낌	썩향	썩맛	단맛	신맛
저농도썩	5.50	5.18	5.16	5.18	7.06	3.21
고농도썩	6.81	5.15	5.75	5.73	6.45	3.96

* 표준편차

	색상	입안느낌	썩향	썩맛	단맛	신맛
저농도썩	1.32	1.48	1.73	1.64	1.44	1.68
고농도썩	1.09	1.40	1.77	1.57	1.72	1.83

: 제품 간 특성강도 유의차 검정

(Vtest: 평균 차이의 크기 및 방향 / P-value: 유의성)

	Vtest	P-value
색상	7.615922	1.309076e-14
신맛	4.054164	2.515698e-05
단맛	3.066328	1.083528e-03
썩맛	2.937057	1.656718e-03
썩향	2.556510	5.286403e-03

: 개별 제품 주요 특성 [p-value < 0.05]

(Coeff: 영향력 / P-value: 유의성 / Vtest: 평균 차이의 크기 및 방향)

\$저농도썩

	Coeff	Adjust mean	P-value	Vtest
단맛	0.3069307	7.059406	1.083528e-03	3.267889
썩향	-0.2970297	5.158416	5.286403e-03	-2.789043
썩맛	-0.2772277	5.178218	1.656718e-03	-3.145732
신맛	-0.3762376	3.207921	2.515698e-05	-4.213387
색상	-0.6534653	5.504950	1.309076e-14	-7.704937

\$고농도썩

	Coeff	Adjust mean	P-value	Vtest
색상	0.6534653	6.811881	1.309076e-14	7.704937
신맛	0.3762376	3.960396	2.515698e-05	4.213387
썩맛	0.2772277	5.732673	1.656718e-03	3.145732
썩향	0.2970297	5.752475	5.286403e-03	2.789043
단맛	-0.3069307	6.445545	1.083528e-03	-3.267889

○ 희망강도 분석

- 저농도 썩 제품에 대해서는 색상, 입안느낌, 썩향, 썩맛은 현재의 수준보다 다소 약해져야 한다고 평가하며, 신맛은 현재의 수준보다 다소 강해져야 한다고 평가하였다.
- 단맛은 인지강도와 희망강도의 차이가 커 가장 불만족스러운 특성으로 평가되었다.
- 고농도 썩 제품에 대해서는 색상, 단맛은 현재의 수준보다 다소 많이 약해져야 한다고 평가하고 있으며, 입안느낌, 썩향, 썩맛은 현재의 수준보다 다소 약해져야 한다고 평가하였다.
- 신맛은 인지강도와 희망강도가 거의 일치하여 현재의 수준이 알맞다고 평가하였다.

: 인지 및 희망 강도 평균 테이블

	색상	입안느낌	썩향	썩맛	단맛	신맛
저농도썩	5.50	5.18	5.16	5.18	7.06	3.21
Ideal	4.24	3.95	4.79	4.80	4.00	3.88

	색상	입안느낌	썩향	썩맛	단맛	신맛
저농도숙	6.81	5.15	5.75	5.73	6.45	3.96
Ideal	4.24	3.95	4.79	4.80	4.00	3.88

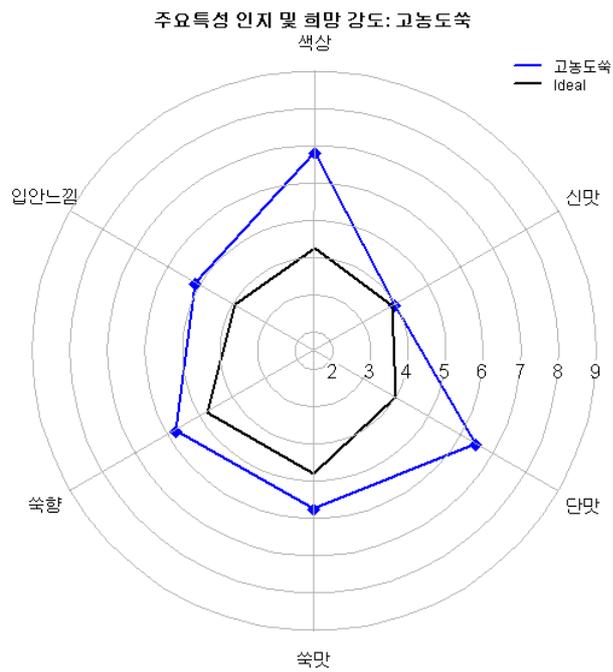
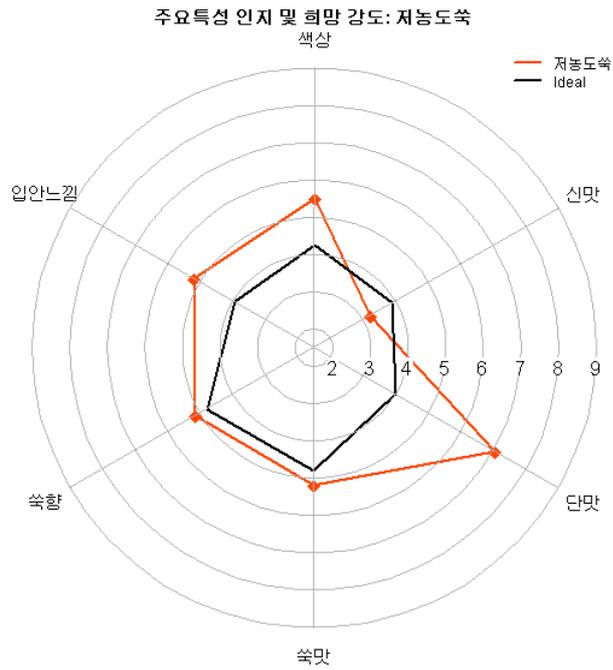


그림 77. 저농도 숙과 고농도 숙의 색상에 대한 주요 특성 인지 및 희망강도

⑧ 주요특성 개선점 분석 (Ideal Profile Method: IPM)

- 저농도 썩 제품에 대해서 개별 관능특성에 대한 소비자 희망강도에 초점을 맞출 경우, 단맛>입안느낌>색상>신맛>썩맛>썩향 순으로 개선시 기호도 상승 기대치가 높게 나타났다.
- 고농도 썩 제품에 대해서 개별 관능특성에 대한 소비자 희망강도에 초점을 맞출 경우, 단맛>색상>입안느낌>썩향>썩맛>신맛 순으로 개선시 기호도 상승 기대치가 높게 나타났다.

- 주요 특성의 기호도에 대한 영향력 분석

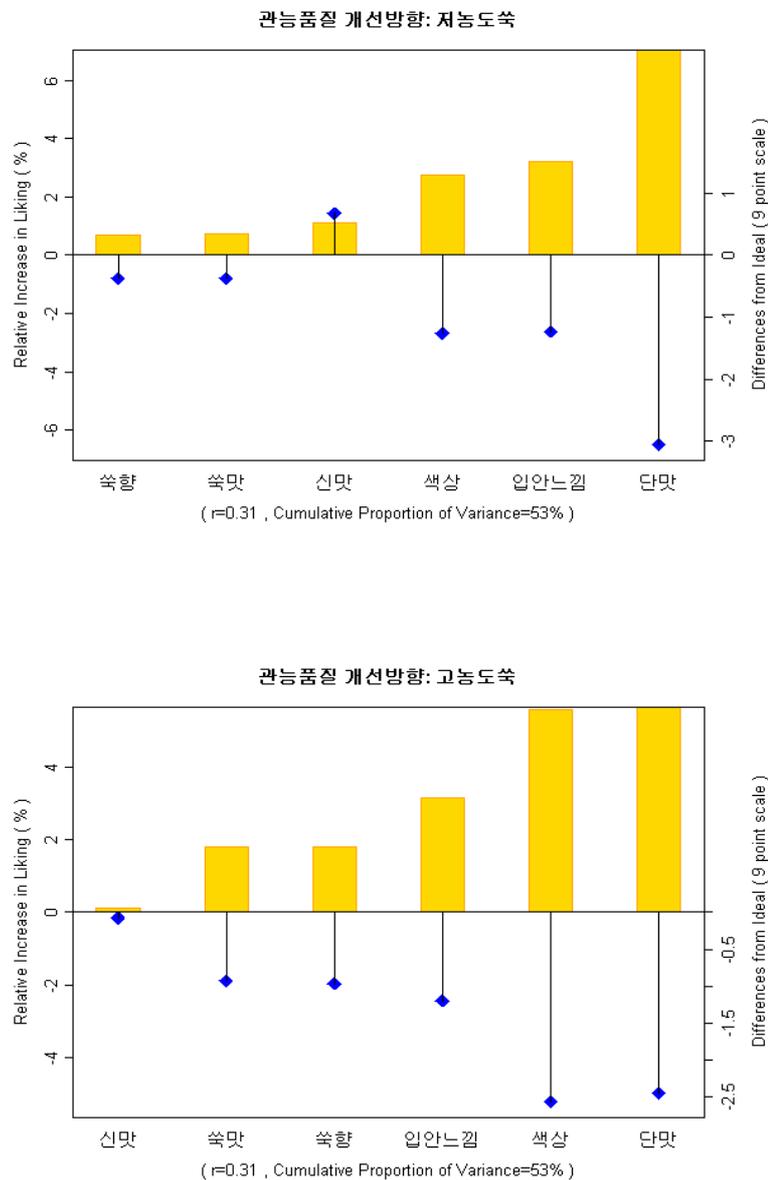


그림 78. 저농도 썩과 고농도 썩의 관능 품질 개선방향

라. 쑥음료 시제품의 휘발성분 분석

(1) 연구방법

(가) 쑥음료 시제품의 저장 조건

쑥음료 시제품 S1, S2를 각각 시료병에 50mL 채취하고 밀봉하여 대조군과 실험군을 제조하였다. 대조군은 상온에서 0, 1, 2, 4, 8주 동안 저장하였으며, 실험군은 건식오븐을 사용하여 60°C에서 0, 1, 2, 4, 8일 동안 저장하였다.

(나) 미세캡슐화된 쑥의 휘발성분 측정

- 미세캡슐화된 쑥을 저장 조건에 따라 저장하면서 휘발성분을 headspace-solid phase microextraction(HS-SPME) 방법으로 농축하여 gas chromatography mass spectrometry(GC-MS)로 분석하였다. 이때, SPME fiber는 75 μ m carboxen/PDMS를 사용하였다.
- CAR/PDMS SPME fiber에 농축된 휘발성 물질은 GC(Agilent 6890, Agilent Technology, Palo alto, CA, USA)-MS(Agilent 5973, Agilent technology)에 의해 분리 및 동정되었다. 고정상으로는 HP-5(30m \times 0.32mm ID, 0.25 μ m film) 컬럼을, 이동상으로는 헬륨을 사용하였으며, 유속은 0.6mL/분 이었다. GC 오븐은 0에서 2분까지 40°C로 유지시킨 후, 6°C/분의 속도로 160°C까지 승온시키고 160°C에서 220°C까지 10°C/분의 속도로 증가시켰다. MS 분석 조건은 70eV와 150°C quadrupole, 230°C ion source 온도를 사용하였고, 주입구(injector)의 온도는 250°C 이었다. SPME fiber는 주입구에서 2분간 노출 시켰다.

(다) 휘발성분 동정

GC-MS로 분석한 휘발성분은 NIST Mass spectra library을 이용하여 동정하였다. 또한 *n*-paraffin과 Kovat index를 이용한 retention indices(RI)값 등을 비교하여 동정하였다.

(2) 연구결과

(가) 쑥음료 시제품인 S1과 S2의 휘발성분 분석

① 쑥음료의 총 휘발성분 함량

- 상온에서 8주 동안 저장한 쑥음료의 휘발성분은 그림 79(a)에 나타내었으며, 60°C에서 8일간 저장한 쑥음료의 휘발성분은 그림 79(b)에 나타내었다.
- 저장하지 않은 쑥음료 시제품 S1, S2의 총 휘발성분 함량은 각각 1.52 \pm 0.04, 3.13 \pm 0.08($\times 10^9$ ion counts)로, S2가 S1에 비해 약 2.05배 높았다. 이는 쑥음료 S2(추출물 0.64% 함유)가 S1(추출물 0.32% 함유)보다 쑥 추출물이 2배 더 첨가되어 쑥향의 주요 성분이 더 많은 양이 검출된 것으로 사료된다. S1과 S2를 상온에서 8주간 저장한 후의 총 휘발성분 함량은 각각 0.39 \pm 0.03, 0.58 \pm 0.00($\times 10^9$ ion counts)로 유의적인 감소를 보였다($p < 0.05$). 마찬가지로 S1과 S2를 60°C에서 8일간 저장한 경우 각각 0.41 \pm 0.10, 0.92 \pm 0.08($\times 10^9$ ion counts)의 휘발성분 함량을 나타내어 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다($p < 0.05$). 즉, 저장기간이 늘어남에 따라 쑥음료 시제품의 총 휘발성분 함량은 감소하는 경향을 나타내었다.

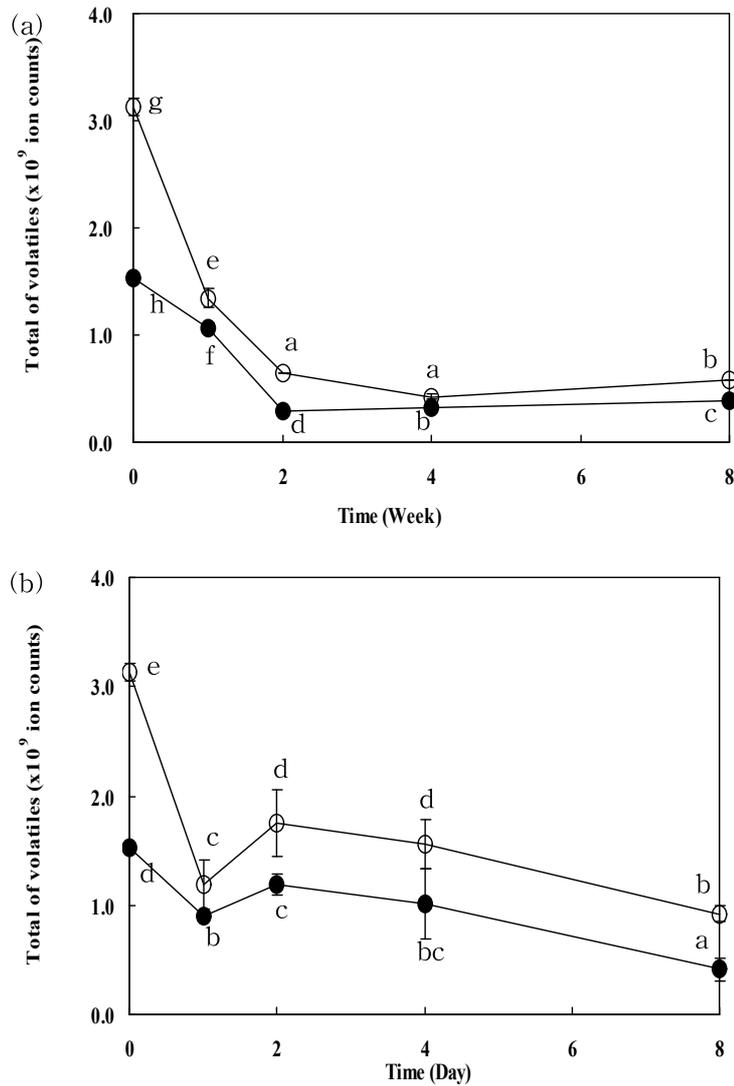


그림 79. 상온(a)과 60°C(b)에 저장한 쑥음료 시제품의 휘발성분 변화(● : S1, ○: S2)

② 쑥 음료의 주요 휘발성분 분석

- 상온과 60°C에서 저장한 쑥 음료 시제품의 휘발성분 동정 및 aroma description은 각각 표 23, 표 24에 나타내었다.
- 상온 및 60°C에서 저장한 쑥 음료 S1, S2의 주요 휘발성분은 유사하였으나, 음료 제조 시 쑥 추출물의 상이한 배합비로 인해 그 함량 차이만이 나타나는 것으로 보였다.
- S1 및 S2의 주요 휘발성분으로는 cymene이 가장 높게 검출되었으며, S2가 S1에 비해 2.3배 높은 함량을 나타내었다. 이는 앞서 말했듯이 S2(추출물 0.64% 함유)이 S1(추출물 0.32% 함유)보다 쑥 추출물 함유량이 높기 때문인 것으로 판단된다.
- Cymene 이외의 성분으로는 thujone, β-myrcene, bornyl acetate, γ-terpinene, α-terpinolene, *t*-β-ocimene, α-caryophyllene, *t*-caryophyllene, α-terpineol, α-pinene, camphene 등의 terpenoid계 물질이 동정되었으며, 그 함량은 위와 같은

순서로 높았다.

- Terpenoid계 성분 이외에 검출된 hexenyl caproate, ionone의 성분은 음료 제조 시 첨가된 첨가물에 의해 발생된 것으로 사료된다.
- 상온과 60°C에서 저장한 쑥 음료의 주요 휘발성분은 저장기간이 지남에 따라 주요 성분으로 검출된 terpenoid류의 성분들 및 첨가물에 의해 발생된 hexenyl caproate, ionone 등이 감소하는 경향을 보였다. 특히 60°C에서 저장한 쑥음료가 상온에서 저장한 쑥음료보다 짧은 저장기간에도 불구하고 그 감소량이 컸으며, 이는 대부분의 휘발성분이 열에 의해 불안정한 것으로 고려된다.
- 저장 조건이 60°C인 경우, S1과 S2 두 음료 제품군 모두 ethylfuran, vinylfuran, 2-fufural의 furan성분이 생성되었으며, 저장기간이 지남에 따라 그 양도 증가하였다.

표 23. 상온 저장에 따른 쪽음료 시제품(S1, S2)의 주요 휘발성 향미 성분의 peak area

RI ¹⁾	Volatile compound	Aroma descriptions ²⁾	Peak area (x10 ⁷ ion counts)										ID ⁴⁾
			S1-0	S1-1 ³⁾	S1-2	S1-4	S1-8	S2-0	S2-1	S2-2	S2-4	S2-8	
862	2-Hexenal	fruity, green, almond, herbal	3.3±0.1	ND	ND	ND	ND	6.0±0.1	ND	ND	ND	ND	MS/RI
923	α-Pipene	fruit, green, camphoraceous	1.0±0.1	0.9±0.1	0.1±0.0	ND	ND	6.1±0.2	2.4±0.3	0.6±0.0	0.4±0.1	0.5±0.0	MS/RI
940	Camphene	fruity, camphoraceous, oily	1.0±0.1	1.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	2.4±0.0	5.8±0.2	2.2±0.3	0.5±0.0	0.4±0.1	0.6±0.0	MS/RI
984	β-Myrcene	metallic, musty, fruity, soapy, spicy, woody	7.0±0.4	7.4±1.9	1.6±0.5	1.4±0.1	1.3±0.4	16.1±1.7	10.0±3.1	4.1±1.2	1.5±0.5	2.1±0.2	MS/RI
1000	α-Phellandrene	-	1.5±0.1	1.3±0.2	0.4±0.2	0.6±0.1	ND	3.0±0.1	1.6±0.2	0.8±0.2	0.5±0.1	ND	MS
1013	α-Terpinene	gasoline, ethereal, fruity	1.0±0.1	0.8±0.1	0.3±0.0	0.3±0.1	1.0±0.3	1.7±0.1	0.9±0.1	0.4±0.0	0.3±0.0	0.5±0.1	MS/RI
1028	Cymene	fruity, fuel-like, herbal, spicy	33.4±1.0	32.8±2.7	9.5±0.0	9.0±0.1	8.7±0.6	78.0±5.8	39.7±2.5	17.7±0.2	10.5±1.1	14.5±0.5	MS/RI
1046	<i>t</i> -β-Ocimene	herbaceous, mild, fruity	3.9±0.2	2.6±0.2	0.7±0.1	0.6±0.3	0.8±0.1	7.5±0.5	3.3±0.5	1.5±0.5	0.9±0.2	1.2±0.0	MS/RI
1059	γ-Terpinene	terpeny, herbaceous, fruity	4.0±0.1	2.7±0.2	0.6±0.1	ND	0.6±0.2	7.9±0.7	3.0±0.1	1.4±0.1	0.3±0.4	0.8±0.2	MS/RI
1090	α-Terpinolene	woody, fruity, slightly anisic	3.7±0.2	2.1±0.1	0.3±0.0	0.3±0.0	0.5±0.1	6.4±0.4	2.4±0.0	0.8±0.1	0.4±0.1	0.6±0.1	MS/RI
1105	ρ-Isopropenyl toluene	-	1.8±0.1	1.2±0.2	ND	ND	ND	2.9±0.1	1.4±0.2	0.6±0.1	ND	0.3±0.0	MS
1115	Thujone	-	23.8±0.5	23.7±0.4	8.0±0.4	7.9±1.2	9.7±0.5	50.8±0.4	24.9±1.1	15.9±0.9	17.1±1.5	21.3±0.2	MS/RI
1157	Camphor	camphor, green, dry, leaf	2.6±0.0	2.8±0.0	1.3±0.0	2.4±0.2	2.5±0.2	4.9±0.2	2.5±0.2	2.1±0.2	1.8±0.3	3.0±0.0	MS/RI
1223	α-Terpineol	anise, oily, fruity, minty	1.9±0.1	3.5±0.6	1.3±0.5	1.6±0.1	4.1±0.3	7.6±0.3	4.8±0.2	2.8±0.3	2.4±0.7	3.8±0.1	MS/RI
1291	Bornyl acetate	camphor, herbal, balsamic	4.2±0.0	2.9±0.0	1.0±0.1	1.3±0.1	0.9±0.1	8.7±0.0	3.2±0.1	1.9±0.1	0.6±0.2	0.9±0.0	MS/RI
1381	β-Hexenyl caproate	-	19.4±0.2	1.7±0.2	ND	ND	ND	29.3±0.1	5.7±0.7	1.5±0.0	ND	ND	MS
1434	<i>t</i> -Caryophyllene	green, spicy, terpene, fruity	2.6±0.0	0.7±0.0	0.1±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0	7.7±0.1	2.1±0.1	0.8±0.1	0.6±0.1	0.2±0.0	MS/RI
1459	3,7-Dimethyl-2,6-ocradienyl propionate	-	5.5±0.1	3.5±0.0	ND	ND	ND	6.8±0.3	2.0±0.2	ND	ND	ND	MS
1475	α-Caryophyllene	oily, fruity, woody	3.2±0.0	1.3±0.1	0.6±0.2	0.8±0.1	ND	5.9±0.0	1.6±0.1	0.7±0.1	0.5±0.1	0.3±0.0	MS/RI

표 23. 계속(상온 저장)

RI	Volatile compound	Aroma descriptions	Peak area (x10 ⁷ ion counts)										ID
			S1-0	S1-1	S1-2	S1-4	S1-8	S2-0	S2-1	S2-2	S2-4	S2-8	
1482	3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl acetate	-	9.2±0.1	1.2±0.0	ND	ND	ND	16.4±0.6	4.4±0.7	1.0±0.2	ND	ND	MS
1512	β-Ionone	-	7.7±0.1	0.7±0.0	0.5±0.0	ND	ND	9.5±0.3	4.6±0.5	1.3±0.0	ND	ND	MS

¹⁾ Retention indices (RI) were determined using *n*-paraffin(C5,6,7,8,10,12,14,16) as external references.

²⁾ Aroma description adapted from website of was accessed at May 20, 2010.

³⁾ S1, drink using *Artemisia princeps* pampan., stored at room temperature for 1day was designated as S1-1.

⁴⁾ Volatile identification was performed through a combination of NIST Mass spectra library(MS) and retention index(RI) from website of accessed at May 20, 2010.

⁵⁾ Not detected.

표 24. 60°C 저장에 따른 숙음료 시제품(S1, S2)의 주요 휘발성 향미 성분의 peak area

RI ¹⁾	Volatile compound	Aroma descriptions ²⁾	Peak area (x10 ⁷ ion counts)										ID ⁴⁾
			S1-0	S1-1 ³⁾	S1-2	S1-4	S1-8	S2-0	S2-1	S2-2	S2-4	S2-8	
701	2-Ethylfuran	rubber, pungent, acid, sweet	ND	ND	0.1±0.2	1.4±0.2	0.8±0.03	ND	0.2±0.0	0.5±0.1	0.5±0.1	0.3±0.1	MS/RI
726	2-Vinylfuran	-	ND	ND	1.9±0.2	1.3±0.6	0.6±0.0	ND	1.1±0.1	1.7±0.6	0.8±0.3	ND	MS
862	2-Hexenal	fruity, green, almond, herbal	3.3±0.1	1.8±0.1	ND	ND	ND	6.0±0.1	0.7±1.0	0.4±0.5	ND	ND	MS/RI
871	2-Furancarboxaldehyde	woody, almond, fruity	ND	ND	ND	ND	0.2±0.0	ND	ND	ND	ND	6.9±0.4	MS/RI
915	Artemesia triene	-	ND	ND	1.0±0.3	0.9±0.3	0.6±0.1	ND	0.7±0.2	1.5±0.1	3.4±0.3	3.0±0.0	MS/RI
923	α-Pipene	fruit, green, camphoraceous	1.0±0.1	ND	0.6±0.3	0.5±0.3	ND	6.1±0.2	1.7±0.2	1.6±0.0	2.2±0.1	1.3±0.0	MS/RI
940	Camphene	fruity, camphoraceous, oily	1.0±0.1	1.7±0.0	2.6±0.6	1.7±0.5	0.4±0.1	5.8±0.2	2.5±0.2	3.5±0.0	4.0±0.2	1.9±0.1	MS/RI
984	β-Myrcene	metallic, musty, fruity, soapy, spicy, woody	7.0±0.4	7.1±1.9	7.0±2.5	8.4±6.7	ND	16.1±1.7	9.4±0.9	15.5±7.3	12.8±5.3	5.9±1.7	MS/RI
1000	α-Phellandrene	-	1.5±0.1	1.5±0.3	2.0±0.6	1.9±1.0	ND	3.0±0.1	2.0±0.3	1.5±2.1	3.2±0.5	ND	MS
1013	α-Terpinene	gasoline, ethereal, fruity	1.0±0.1	1.2±0.1	1.7±0.5	1.7±0.7	0.7±0.0	1.7±0.1	1.4±0.2	2.1±0.2	2.3±0.4	1.4±0.1	MS/RI
1028	Cymene	fruity, fuel-like, herbal, spicy	33.4±1.0	25.7±1.6	35.6±5.2	26.3±12.0	11.2±2.7	78.0±5.8	33.6±7.0	49.1±8.4	42.3±7.5	21.1±2.9	MS/RI
1046	<i>t</i> -β-Ocimene	herbaceous, mild, fruity	3.9±0.2	2.9±0.2	3.8±0.9	3.2±1.7	0.4±0.6	7.5±0.5	3.5±0.5	5.1±1.6	4.7±1.3	2.1±0.3	MS/RI
1059	γ-Terpinene	terpeny, herbaceous, fruity	4.0±0.1	2.7±0.2	3.5±0.9	2.4±1.1	0.5±0.1	7.9±0.7	3.2±0.4	4.0±0.5	3.6±0.7	1.7±0.0	MS/RI
1090	α-Terpinolene	woody, fruity, slightly anisic	3.7±0.2	2.4±0.0	3.9±0.8	2.9±1.4	0.7±0.1	6.4±0.4	2.5±0.5	3.9±0.8	3.8±0.8	1.9±0.2	MS/RI
1105	ρ-Isopropenyl toluene	-	1.8±0.1	0.8±1.2	2.4±0.3	2.0±1.0	1.0±0.2	2.9±0.1	1.9±0.3	3.1±0.7	2.7±0.5	1.6±0.3	MS
1115	Thujone	-	23.8±0.5	12.6±1.2	18.3±2.7	12.8±0.8	7.1±1.1	50.8±0.4	12.8±4.8	15.4±0.3	18.3±1.0	14.0±0.1	MS/RI
1157	Camphor	camphor, green, dry, leaf	2.6±0.0	2.5±0.0	3.5±0.0	2.8±0.6	1.5±0.3	4.9±0.2	2.4±0.0	3.1±0.3	3.6±0.2	2.7±0.0	MS/RI
1220	α-Ionene	-	ND	3.0±0.1	6.2±0.1	5.7±2.0	2.7±0.5	ND	3.9±1.6	9.7±2.3	10.8±1.6	7.6±0.4	MS
1223	α-Terpineol	anise, oily, fruity, minty	1.9±0.1	ND	ND	ND	ND	7.6±0.3	ND	ND	ND	ND	MS/RI

표 24. 계속(60°C 저장)

RI	Volatile compound	Aroma descriptions	Peak area (x10 ⁷ ion counts)										ID
			S1-0	S1-1	S1-2	S1-4	S1-8	S2-0	S2-1	S2-2	S2-4	S2-8	
1291	Bornyl acetate	camphor, herbal, balsamic	4.2±0.0	1.6±0.1	1.9±0.1	ND	0.6±0.1	8.7±0.0	2.0±0.7	2.4±0.1	2.2±0.1	1.8±0.1	MS/RI
1381	β-Hexenyl caproate	-	19.4±0.2	5.7±0.7	ND	ND	ND	29.3±0.1	7.1±0.8	3.2±4.6	ND	ND	MS
1434	<i>t</i> -Caryophyllene	green, spicy, terpene, fruity	2.6±0.0	0.3±0.0	0.3±0.1	ND	ND	7.7±0.1	1.2±0.5	ND	ND	ND	MS/RI
1459	3,7-Dimethyl-2,6-octa dienyl propionate	-	3.7±0.0	0.4±0.0	ND	ND	ND	6.8±0.3	ND	ND	ND	ND	MS
1475	α-Caryophyllene	oily, fruity, woody	3.2±0.0	0.7±0.0	ND	ND	ND	5.9±0.0	3.6±0.6	3.9±0.2	0.4±0.0	0.8±0.2	MS/RI
1482	3,7-Dimethyl-2,6-octa dienyl acetate	-	9.2±0.1	1.3±0.1	ND	ND	ND	16.4±0.6	ND	ND	ND	ND	MS
1512	β-Ionone	-	7.7±0.1	2.6±0.0	2.6±0.1	1.4±0.3	0.8±0.0	9.5±0.3	3.6±1.0	3.6±0.2	1.7±0.0	1.0±0.1	MS

¹⁾ Retention indices (RI) were determined using *n*-paraffin(C5,6,7,8,10,12,14,16) as external references.

²⁾ Aroma description adapted from website of was accessed at May 20, 2010.

³⁾ S1, drink using *Artemisia princeps* pampan., stored at 60°C for 1day was designated as S1-1.

⁴⁾ Volatile identification was performed through a combination of NIST Mass spectra library(MS) and retention index(RI) from website of accessed at May 20, 2010.

⁵⁾ Not detected.

※ 2차년도 연구수행결과 요약

- 선정된 썩 추출물의 동물실험을 이용한 비만억제능 탐색 연구에서 썩이 포함된 식이를 섭취한 실험동물이 고지방식이를 섭취한 실험동물보다 유의적인 체중 감소를 나타내었고 식이섭취량 또한 감소하는 것을 확인하였다.
- 참썩의 섭취에 따른 비만실험동물의 간, 지방조직의 무게 변화를 관찰한 결과 고지방식이 섭취군에 비해 참썩 섭취군이 감소함을 관찰할 수 있었으나, 통계적으로 유의하지 않았다.
- 참썩 섭취에 따른 혈당과 내당능 변화를 관찰한 결과 고지방식이 섭취에 의한 당에 대한 내성을 참썩의 섭취에 의해 개선할 수 있음을 알 수 있었다.
- 참썩의 섭취함에 따라 비만동물모델에서 지방세포의 증대가 억제됨을 확인 할 수 있었다.
- 고지방식이 유도 비만동물모델에서 참썩의 섭취에 따른 중성지질, 총콜레스테롤, LDL 혈중 수준은 감소하였고, 유익한 콜레스테롤로 알려진 HDL의 혈중수준은 유의적으로 증가 시키는 경향을 보여 참썩의 혈중지질 개선의 우수성과 비만의 지표가 되는 혈중지질의 개선을 관찰할 수 있었다.
- 고지방식이 섭취로 인한 간기능 이상 지표로 알려진 GOT와 GPT 측정 실험에서 참썩의 섭취가 혈중 GOT 및 GPT 상승을 유의적으로 억제함을 관찰할 수 있었다.
- 간조직은 특히 참썩 3% 섭취군에서 표준식이 섭취군과 비슷한 간세포형태를 이루는 것을 관찰할 수 있었다.
- 참썩 섭취에 의한 지방조직에서의 지방축적관련 유전자인 ACC, GPDH, PPAR γ , aP2 등의 유전자들의 발현감소를 관찰할 수 있었고, 이중에서도 가장 많이 감소한 유전자로는 체내에 지방을 만드는데 중요한 역할을 하는 GPDH의 50%이상의 감소가 참썩 추출물에 의해 이루어질 수 있다는 것을 관찰할 수 있었다.
- 추출물 함유 이중층 미세캡슐(W/O/W type)을 제조하였고, 미세캡슐공정에 안정한 내부 표준물질인 oil red O를 첨가하여 미세캡슐화 수율(YM, %)을 분석하였으며, 반응표면 분석법을 이용하여 미세캡슐화를 위한 반응조건을 최적화한 결과, 2차 유화제의 첨가량은 184.4 μ mol, 2차 유화액의 조성비는 0.6([C $_{m2}$]/[W $_{m2}$]), 그리고 degree of homogenization은 5,696.9rpm이 최적조건으로 확인되었다.
- 썩 추출물 함유 미세캡슐의 pH 따른 저장 안정성은 pH 전구간에서 30일까지 95% 이상의 안정성을 나타내며 매우 안정한 것으로 평가되었다.
- 저장온도에 따른 안정성 평가에서는 4 $^{\circ}$ C, 20 $^{\circ}$ C, 40 $^{\circ}$ C에서 저장 후 10일까지 95% 이상의 고안정성을 보인 반면, 60 $^{\circ}$ C에서 저장된 미세캡슐의 경우 안정성이 급격히 감소되어 저장 후 10일이 경과되었을 때 78.3% \pm 0.3을 나타내었다.
- 미세캡슐화된 썩의 휘발성분 함량은 60 $^{\circ}$ C에서 저장한 경우 미세캡슐의 불안정성으로 인해 포집되어있던 휘발성분이 방출되는 것으로 보였으며, 주요 휘발성분은 limonene이 동정되었고 60 $^{\circ}$ C에서 저장하는 경우 추가적으로 aldehyde류, furan류가 생성되었다.
- *In vitro* 소화 모델에 적용된 미세캡슐의 중심물질 방출률은 위 조건 및 대조구에서 10% 이하를 나타내어, 상대적으로 안정한 것으로 평가되었으며, 장 조건에서는 2시간 안에 약 70%의 중심물질이 방출되는 것으로 확인되었다. 이는 썩 추출물 함유 이중층 미세캡슐은

경구 섭취시, 위에서 상대적으로 안정하고, 장에서 급속히 중심물질을 방출함으로써 생체 이용률이 높은 것으로 확인되었다.

- 참숙과 사자발숙에 대한 관능평가는 향에 대한 느낌은 참숙 5.94, 사자발숙 5.65로 95% 수준에서 뚜렷한 차이를 보이지는 않았으나 80% 신뢰수준에서는 참숙에 대한 선호가 높은 것으로 판단되어 음료개발 시 사자발숙 추출물 보다는 참숙 추출물 사용이 효과적인 것으로 판단되었다.
- 추출물이 저농도이거나 고농도의 경우는 너무 색상이 연하거나 진하여 기호를 낮추는 영향이 있는 것으로 판단되었다. 외관기호는 중농도 제품의 색상 정도를 유지하는 것이 가장 좋은 것으로 판단되나 향미, 식감 등의 기호 특성에서는 저농도이거나 고농도 제품이 중농도에 비해 기호가 높게 나타났다. 색상은 제품 상용화시 탈색등의 공정을 고려하더라도 관능만족도가 높은 제품을 개발하기 위해서는 추출물의 농도를 고농도로 유지하거나 반대로 저농도로 가져가는 것이 필요하다고 판단되어 2개 농도 수준의 시제품을 제조하기로 하였다.
- 저농도 썩 음료의 종합기호는 평균 5.23으로, 고농도 썩 평균 4.66 보다 더 높게 나타나며, 유의수준 5%에서 통계적으로 유의한 차이를 보여 비만음료에 관심이 있는 젊은 여성에게는 고농도 보다는 저농도 썩 추출물 함유 음료에 대한 기호가 높은 것으로 확인되었다. 저농도 썩 제품에 대한 좋은 점으로 주된 응답은 “향”, “단맛”, “맛”, “뒷맛” 순으로 나타났으나 싫은 점으로는 “단맛”, “향” 순으로 나타났다.
- 전체 응답자의 32%가 저농도 제품이 현재 주 섭취 기능성 차 음료와 비교할 때 비슷하거나 더 선호된다고 응답하여 현 관능품질 자체로의 경쟁력은 그리 높지 않은 것으로 나타났다.
- 저농도 썩 제품에 대해서 개별 관능특성에 대한 소비자 희망강도에 초점을 맞출 경우, 단맛>입안느낌>색상>신맛>썩맛>썩향 순으로 개선 시 기호도 상승 기대치가 높게 나타나 쓴맛을 감추기 위한 단맛 특성의 조절이 좀 세밀하게 조정될 필요가 있음을 확인하였다.

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 목표달성도

구분 (연도)	세부연구개발 목표	가중치	평가의 착안점 및 기준	달성도 (%)
1차년도 (2008년)	쑥 추출물의 제조, 비만억제 능 및 기능성 탐색	35%	쑥 종류, 추출조건 확립 및 쑥 추출물의 <i>in vitro</i> 항비만 성, 항산화성 확인	100%
	쑥 추출물의 휘발성분 분석 및 미세캡슐화를 통한 쑥의 소재화	35%	쑥 및 쑥 추출물의 휘발성분 확인 및 최적화 된 미세캡슐 화 조건 확립	100%
	쑥 추출물 활용 식음료 제품 컨셉 개발	30%	비만개선, 기능성을 지닌 식 음료의 기존 제품 및 시장조 사를 통한 제품 컨셉 정립	100%
2차년도 (2009년)	선정된 쑥 추출물의 동물실험을 이용한 비만억제능 탐색	30%	<i>In vivo</i> 쑥 추출물 항비만성 탐색	100%
	쑥 추출물 식품소재화를 위 한 미세캡슐 제조 조건 최적 화 및 안정성 측정	30%	최적화된 미세캡슐의 제조조 건 확립 및 pH, 열, 휘발성분 에 대한 안정성 확인	100%
	쑥 음료의 관능성 개선 및 제품 개발	40%	체계적 관능검사를 통한 쑥 추출물 함유 제품 개발	100%
최종 평가	쑥 추출물의 비만억제능 및 기능성 탐색	30%	쑥 추출물의 항비만성 및 항 산화성 확인	100%
	쑥 추출물의 향미성분 및 미 세캡슐화를 통한 쑥의 식품 소재화	30%	쑥 및 쑥 추출물의 휘발성분 확인 및 이를 활용한 최적의 미세캡슐 조건 확립	100%
	쑥 추출물 활용 관능성이 개 선된 식음료 제품 개발	40%	관능성이 개선된 쑥 추출물 함유 식음료 제품 개발	100%

제2절 관련분야의 기술발전예의 기여도

○ 쑥의 항비만성 및 쑥을 함유한 음료의 관능성 검사를 수행한 기존의 연구보고는 없었으며,

본 연구를 통해 확인된 쑥의 항비만성이나 최적화된 미세캡슐화 조건 혹은 쑥을 이용한 미량 휘발성분 분석법 확립 등은 학문적으로 널리 활용될 수 있을 것이라 생각되어 진다.

- 또한 아래와 같이 본 연구를 통해 얻어진 결과들은 관능성이 개선된 쑥 함유 식음료 개발 혹은 미세캡슐화 된 쑥의 식품 소재화에 있어 기초자료로써 활용될 수 있을 것이라 판단된다. 이는 고부가가치 제품 생산을 통해 식품업계의 수익창출은 물론 쑥 수요증가로 이어져 농가소득 증대 등의 산업적인 효과도 기대해 볼 수 있을 것이다.

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 쑥 용매 추출물의 항산화성	○ 짜주아리쑥>참쑥>사자발쑥 순의 항산화성 보임
② 비만 세포주 및 모델 실험동물을 이용한 쑥 추출물의 항비만성 탐색	○ 참쑥 추출물은 <i>in vitro</i>에서 70% 이상의 중성지방 축적 억제능 있음 ○ <i>In vivo</i> 의 경우 대조구의 체중증가율이 48.9%인데 비해, 참쑥 1% 섭취 그룹은 35.0%, 참쑥 3% 그룹은 27.6% 체중증가를 나타내었음. 이밖에 혈중 지질 변화, 지방조직에서의 지방축적관련 유전자 발현 등에서 참쑥 처리군의 항비만효과 확인
③ 쑥 특유의 휘발성분 분석	○ 주로 terpenoid가 주요 휘발성분이었으며 건조방법 및 처리법에 따라 휘발성분 profile 변화 확인
④ 쑥 추출물의 미세캡슐화 공정 도입을 통한 식품 소재화	○ 쑥 추출물의 미세캡슐화를 위해 이중층 미세캡슐(W/O/W type)을 92.26% 수율로 제조 하였고 입자화 시켰음. 미세캡슐은 40℃ 이하에서 10일까지 95% 이상의 안정성을 보인 반면, 60℃에서 안정성이 감소함 ○ 쑥 추출물 함유 이중층 미세캡슐은 경구 섭취시, 위에서 상대적으로 안정하고, 장에서 중심물질을 방출함
⑤ 기능성 쑥 함유 제품화 가능 품목 탐색 및 선정	○ 소비자조사에서 주부 및 대학생은 쑥 추출 음료에서 ‘여성병’, ‘피부미용’의 기능성을 기대하는 것으로 조사되었음
⑥ 선정된 쑥 함유 제품의 휘발성분 및 관능성 개선	○ 2종류의 쑥음료를 제조 후 저농도 쑥 음료의 종합기호도가 더 높게 나타남

제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제1절 연구개발 성과

1. 논문게재 성과

가. 게재논문

- 쑥의 처리조건에 따른 휘발성 성분 변화. 한국식품과학회지. 2009. 41(5), 587-591.
- Radical Scavenging Activity and *in vitro* Anti-obesity Ability in 3T3-L1 Preadipocyte Cells of *Artemisia princeps* Pampan. Extract. Food Science and Biotechnology. 2010, 19 (2):535-540.
- Comparing Antioxidant Effectiveness of Natural and Synthetic Free Radical Scavengers in Thermally-oxidized Lard using DPPH Method. Journal of Food Science. 2010, 75, C258-C262.

나. 투고예정 논문

- “쑥 추출물 함유 이중미세캡슐 제조 조건 최적화”라는 제목으로 “한국식품과학회지”에 투고를 하기 위하여 원고작성 중
 - 본 연구에서는 최적 조건을 통해 제조된 쑥의 미세캡슐에 대한 저장온도 및 pH 안정성을 확인하였다. 하지만 이는 10, 30일 간 관찰된 것으로 좀 더 장기간의 저장실험이 요구되는 바이다. 따라서 추가연구를 통해 장기간에서의 저장안정성을 확인하고 상기 결과를 논문에 첨부할 예정이다
- “참쑥 추출물의 미세캡슐 및 참쑥음료의 제조 및 저장 중 휘발성 성분 변화”라는 제목으로 “한국식품과학회지”에 투고를 하기 위하여 원고작성 중
 - 쑥음료의 저장 중 휘발성 성분 변화뿐만 아니라 쑥음료 자체의 각종 이화학 성분 및 항산화 활성에 관한 추가연구를 진행할 예정이며, 이는 상기 논문투고 시 첨부할 예정이다.
- “Anti-obesity effects of *Artemisia* in animal model”라는 제목의 논문을 SCI급 학술지에 게재 하기 위해 작성 중

2. 학술대회 발표 성과

- Antioxidative Abilities and Total Phenolic Contents of Mugwort Ethanol Extract : Ssajuari, Sajabal, and Cham Mugwort. KosFost. 대전, Korea, 2009. (제76회 식품과학회)
- Mugwort Ethanolic Extract Induces Changes in 3T3-L1 Adipocyte Differentiation. KosFost. 대전, Korea, 2009. (제76회 식품과학회)
- Optimization of conditions for the preparation of microcapsule powder containing mugwort extract. KosFost. 대전, Korea, 2009. (제76회 식품과학회)
- 쑥을 이용한 음료 및 미세캡슐의 SPME-GC/MS를 활용한 휘발성 성분 변화 연구. KosFost. 인천, Korea, 2010. (제77회 식품과학회)
- Storage stability and release properties of microcapsule containing mugwort extract.

3. 인력활용/양성 성과

- 홍성대, 2009년 8월 서울산업대학교 산업대학원 석사졸업
제목: 쑥 추출물 이중층 미세캡슐 분말화를 위한 조건 최적화 (Optimization of Conditions for the Preparation of Double-Layer Microcapsule Powder Containing Mugwort Extract)
- 장민우, 권진희, 장철환, 심건섭, 2010년 2월 서울산업대학교 학사졸업
제목: 쑥 추출물 함유 2중층 미세캡슐 분말을 위한 조건 최적화 (Optimization of conditions for the preparation of double-layer microcapsule powder containing mugwort extract)
- 최나영, 2010년 2월 서울산업대학교 학사졸업
제목: 쑥음료 제품개발을 위한 시장 연구 (Marketing study for mugwort food beverage)
- 오지은, 2010년 2월 서울산업대학교 학사졸업
제목: 강화 약쑥의 생산, 효능 및 이용 (The production, efficacy and utilization of Ganghwa medicinal mugwort)

제2절 연구개발 성과활용 계획

- 3건 이상의 국내외 학술잡지에 결과를 발표하였고 5건을 국내 정상급 학술대회에서 발표하여 본 연구 결과의 신뢰성을 높였으며, 향후 지속적으로 본 연구결과를 바탕으로 한 논문들을 투고할 예정이다.
- 본 연구에서는 쑥의 비만억제능 및 항산화 활성을 확인하고 이를 음료에 성공적으로 도입하였다. 이는 음료뿐 만 아니라 다양한 식품에의 적용에 대한 가능성을 충분히 제시하였다고 할 수 있으며, 추후 연구를 통해 본 연구의 결과가 다양한 식품에 활용 및 응용될 수 있을 것이라 기대하는 바이다.
- 본 연구에서 확립된 미세캡슐화 기술은 다양한 생리활성 물질의 저장안정성 및 생체이용률을 제고하는 방법으로 활용될 수 있을 것으로 사료되며, 쑥 음료의 관능 평가는 제품을 출시하는데 기초자료로 도움이 될 것으로 기대된다. 또한 쑥의 미세캡슐 제조 기술에 대한 특허를 출원할 예정이며, 이는 개발 소재에 대한 미세캡슐의 다양한 활용방안을 제시해 줄 수 있을 것이라 생각된다.
- 미세캡슐 소재화를 성공하였을 뿐 아니라 *in vitro* 위장 및 장에서의 bioavailability까지 조사하여 단순한 제조를 넘어 실제 인체에서 어떤 작용을 할지 예측하여 사람이 직접 섭취할 수 있는 식품소재로서의 가능성을 높일 수 있었다.
- 주요 소비자인 20-30대 여성을 대상으로 관능평가 및 기호도 조사를 수행함으로써 단순히

학문적인 접근이 아닌 실제 제품화가 가능한 단계까지 본 연구를 진행하였다. 산업화에 성공할 경우 기능성 쑥 음료의 수요가 증가하게 되고 쑥의 수요 역시 증가하여 농민들에게 새로운 고부가가치 작물로서 등장할 것으로 예상된다.

제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 본 연구를 진행하면서 확인한 결과 쑥을 이용한 항비만 효과 및 음료에 대한 관능성 평가 연구는 보고된바 없었다.
- 외국특허로서 기능성 차를 제조하는 데 쑥 추출물을 첨가하는 특허가 중국에서 출원되었지만(Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu (2010), CN 101720830 A 20100609.) 쑥만을 활용한 경우는 발표되지 않았다.

제7장 참고문헌

- [1] Rho TH, Seo GS. Growth characteristics and contents of chemical components in early cultured *Artemisia* sp. Korean J. Medicinal Crop Sci. 2(1): 95-100 (1994)
- [2] Kwon MC, Kim CH, Kim HS, Lee SH, Chio GP, Park UY, You SG, Lee HY. Optimal extract condition for the enhancement of anticancer activities of *Artemisia princeps* Pampanini. Korean J. Medicinal Crop Sci. 15(4): 223-240 (2007)
- [3] Lee SD, Park HH, Kim DW, Bang BH. Bioactive constituents and utilities of *Artemisia* sp. as medicinal herb and food stuff. Korean J. Food Nutr. 13(5): 490-505 (2000)
- [4] Yun KW, Jeong HJ, Kim JH. The influence of the growth season on the antimicrobial and antioxidative activity in *Artemisia princeps* var. *Orientalis*. Ind. Crops Prod. 27(1): 69-74 (2008)
- [5] Lee GD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in wormwood (*Artemisia montana* Pampan). Korean J. Food Nutr. 21(1): 17-22 (1992)
- [6] Choi YK, SK. Seasonal variation in allelopathic potential of *Artemisia princeps* var. *Orientalis* on plants and microbes. J. Plant Biol. 46: 105-110 (2003)
- [7] Jang SB, Chang SY, Inn MK, Jeong JH, Yook CS. Studies on the components of Essential oils in the aerial part of *Artemisia mongolica*. Bull. K. H. Pharma. Sci. 28: 45-49 (2000)
- [8] Kim YS, Lee JH, Kim MN, Lee WG, Kim JO. Volatile flavor compounds from raw mugwort leaves and parched mugwort tea. Korean J. Food Nutr. 23(2): 261-267 (1994)
- [9] Cho YH, Chiang MH. Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia capillaris*, *Artemisia argyi*, and *Artemisia princeps*. Korean J. Intl. Agri. 13(4): 313-320 (2001)
- [10] Cho YH, Park HS, Kim NG, Kim NS, Lee DS, Chiang MH. Analysis of essential oil in *Artemisia capillaries* Thumb., *Artemisia scoparia*, *Artemisia* spp. by GC/MS. Korean J. Hort. Sci. Technol. 18(5): 702(2000)
- [11] Deng C, Xu X, Yao N, Li N, Zhang X. Rapid determination of essential oil compounds

in *Artemisia selengensis* Turczby gas chromatography–mass spectrometry with microwave distillation and simultaneous solid–phase microextraction. *Analytica. Chimica. Acta.* 556(2): 289–294 (2006)

- [12] Deng C, Mao Y, Hu F, Zhang X. Development of gas chromatography–mass spectrometry following microwave distillation and simultaneous headspace single-drop microextraction for fast determination of volatile fraction in Chinese herb. *J. Chromatography A* 1152(1-2): 193–198 (2007)
- [13] Arthur CL, Pawliszyn J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.* 62(19): 2145–2148 (1999)
- [14] Foley DM, Pickett K, Varon J, Lee JH, Min DB, Caporaso F, Prakash A. Pasteurization of fresh orange juice using gamma irradiation: microbiological, flavor and sensory analyses. *J. Food Sci.* 67(4): 1495–1501 (2002)
- [15] Lee JH, Kang JH, Min DB. Optimization of solid phase microextraction on the headspace volatile compounds in kimchi, a traditional Korean fermented vegetable product. *J. Food Sci.* 68 (3):844–848 (2003)
- [16] Jelen HH, Obuchowska M, Zawirska–Wojtasiak R, Wasowicz E. Headspace solid–phase microextraction use for the characterization of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality. *J. Agr. Food Chem.* 48: 2360–2367 (2000)
- [17] Steenson DF, Lee JH, Min DB. Solid phase microextraction analysis of volatile compounds of soybean and corn oils. *J. Food Sci.* 67: 71–76 (2002)
- [18] Fu X, Xu S, Wang Z. Kinetics of lipid oxidation and off-odor formation in silver carp mince: the effect of lipoxygenase and hemoglobin. *Food Res. Int. Food Research International.* 42: 85–90 (2009)
- [19] Jeong MC, Lee MK, Lee HA, Park JY. Low-temperature microencapsulation of sesame oil using fluidized bed granulation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 41(1): 27–31 (2009)
- [20] Sheu TY, Rosenberg M. Microencapsulation by spray drying ethyl caprylate in whey protein and carbohydrate wall systems. *J. Food Sci.* 60: 98–103 (1995)
- [21] Shin IY, Kim HY, Kim CS. Effect of Sugar Alcohol on Wheat Starch Gelatinization and Retrogradation. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 28(6): 1251–1255 (1999)

- [22] Park BG, Lee JH, Shin HK, Lee JH, Chang PS. Optimization of conditions for the double layer microencapsulation of lactic acid bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38(6): 767-772 (2006)
- [23] Kim MJ, Kim HK. Perilla leaf extract ameliorates obesity and dyslipidemia induced by high-fat diet. *Phytother Res.* 23(12): 1685-90 (2009)
- [24] Chiu HK, Qian K, Ogimoto K, Morton GJ, Wisse BE, Agrawal N, McDonald TO, Schwartz MW, Dichek HL. Mice lacking hepatic lipase are lean and protected against diet-induced obesity and hepatic steatosis. *Endocrinology* 151(3): 993-1001 (2010)
- [25] Park KW, Lee JE, Park KM. Diets containing *Sophora japonica* L. prevent weight gain in high-fat diet-induced obese mice. *Nutr Res.* 29(11): 819-24 (2009)
- [26] Du XM, Irino N, Furusho N, Hayashi J, Shoyama Y. Pharmacologically active compounds in the *Anoectochilus* and *Goodyera* species. *J. Nat. Med.* 62(2): 132-48 (2008)
- [27] Lee MS, Kim CT, Kim Y. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate reduces body weight with regulation of multiple genes expression in adipose tissue of diet-induced obese mice. *Ann. Nutr. Metab.* 54(2): 151-7 (2009)
- [28] Tang T, Zhang J, Yin J, Staszkiwicz J, Gawronska-Kozak B, Jung DY, Ko HJ, Ong H, Kim JK, Mynatt R, Martin RJ, Keenan M, Gao Z, Ye J. Uncoupling of inflammation and insulin resistance by NF-kappaB in transgenic mice through elevated energy expenditure. *J. Biol. Chem.* 285(7): 4637-44 (2010)
- [29] De Melo CL, Queiroz MG, Fonseca SG, Bizerra AM, Lemos TL, Melo TS, Santos FA, Rao VS. Oleanolic acid, a natural triterpenoid improves blood glucose tolerance in normal mice and ameliorates visceral obesity in mice fed a high-fat diet. *Chem. Biol. Interact.* 185(1): 59-65 (2010)
- [30] Takemura N, Okubo T, Sonoyama K. *Lactobacillus plantarum* strain No. 14 reduces adipocyte size in mice fed high-fat diet. *Exp. Biol. Med(Maywood)* 235(7): 849-56 (2010)
- [31] Guri AJ, Hontecillas R, Si H, Liu D, Bassaganya-Riera J. Dietary abscisic acid ameliorates glucose tolerance and obesity-related inflammation in db/db mice fed high-fat diets. *Clin. Nutr.* 26(1): 107-16 (2007)
- [32] Chang PS, Ha JS. Optimization of fish oil microencapsulation by response surface methodology and its storage stability. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(3): 646-653

(2000)

- [33] Lee KW, Baick SC, Kim SK, Kim HU. Properties and yield of the microencapsules made with hydrogenated corn oil. *Korean J. Dairy Sci.* 20(3): 169–176 (1998)
- [34] Cho YH, Shin DS, Park JY. Microencapsulation technology in food industry. *Food Sci. Ind.* 30(4): 98–111 (1997)
- [35] Hwang SH, Youn KS. Microencapsulation characteristics depending on mixing ratio of wall materials and squid liver oil. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36(1): 100–104 (2007)
- [36] Lee SC, Rhim CH, Lee SC. Characteristics of spray dried polysaccharides for microencapsulation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29(6): 1322–1326 (1997)
- [37] Chang PS, Ha JS, Roh HJ, Choi JH. Optimization of conditions for the microencapsulation of α -Tocopherol and its storage stability. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(4): 843–850 (2000)
- [38] Box GEP, Wilson KB. On the experimental attainment of optimum conditions. *J. R. Stat. Soc.* 13: 1–45 (1951)
- [39] Lee JS, Song YB, Lee JY, Kim MK, Jun SJ, Lee HG. Optimization and oxidative stability of the microencapsulated conjugated linoleic acid. *Int. J. Biol. Macromol.* 45: 348–351 (2009)
- [40] Pierozan MK, Costa RJ, Antunes OAC, Oestreicher EG, Oliveira JV, Cansian RL, Treichel H, Oliveira D. Optimization of extraction of lipase from wheat seeds (*Triticum aestivum*) by Response surface methodology. *J. Agric. Food chem.* 57: 9716–9721 (2009)
- [41] Lee JM, Kim DH, Chang PS, Lee J H. Headspace–solid phase microextraction (HS–SPME) analysis of oxidized volatiles from free fatty acids (FFA) and application for measuring hydrogen donating antioxidant activity. *Food Chem.* 103: 414–420 (2007)
- [42] Oomen AG, Rompelberg CJM, Bruil MA, Dobbe CJG, Pereboom DPKH, Sips AJAM. Development of an *in vitro* digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Arch. Environ. Con. Tox.* 44: 281–287 (2003)
- [43] Luten J, Crews H, Flynn A, Dael PV, Kastenmayer P, Hurrell R, Deelstra H, Shen LH, Tait SF, Hickson K, Farre R, Schlemmer U, Frohlich W. Interlaboratory trial on the determination of the *in vitro* iron dialysability from food. *J. Food Sci.* 72: 415–424 (1996)

- [44] Wolters GE, Schreuder HAW, Heuvel GVD, Lonkhuijsen HJV, Hermus RJJ, Voragen AGJ. A continuous *in vitro* method for estimation of the bioavailability of minerals and trace elements in foods: application to breads varying in phytic acid content. *Brit. J. Nutr.* 69: 849–861 (1993)
- [45] Miller DD, Schriker BR, Rasmussen RR, Van campen D. An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 2248–2256 (1981)
- [46] Hough G, Wakeling I, Mucci A, Chambers E, Me´ndez Gallardo I, Alves LR. Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. *Food Quality Preference* 17: 522–526 (2006)
- [47] Chun JK, Lim SW, Cho WI. (In Press) Effect of pregnancy and consciousness factors on food related behavior. IN PREEDY, V. R., WATSON, R. R. & MARTIN, C. R. (Eds.) *International Handbook of Behavior, Diet, and Nutrition*. New York, Springer.
- [48] McEwan JA. Preference mapping for product optimization. In *Multivariate analysis of data in sensory science*, (Ed) Naes, T. & Risvik E, pp. 71–102, Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherlands 1996
- [49] Xiong R, Meullenet JF. Application of MARS to preference mapping of cheese sticks. *J. Food Sci.* 69(4): SNQ131–139 (2004)

주 의

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