

119013-03

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)
맞춤형 혁신식품 기술개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004059-01

제조 및 체중 조절 식품 개발
팥굴의 아임계수가수분해물

팥굴의 아임계수 가수분해물 제조 및 체중조절 식품 개발

2022. 04. 11.

2021

주관연구개발기관 / 제주농장 영농조합법인
공동연구개발기관 / 제주대학교 산학협력단

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “꽃굴의 아임계수 가수분해물 제조 및 체중조절식품 개발”(개발기간 : 2019. 05. 20. ~ 2021. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 04. 11.

주관연구기관명 : 제주농장 영농조합법인 (대표자) 김 영 선
협동연구기관명 : 제주대학교 산학협력단 (대표자) 이 영 돈



주관 연구책임자 : 유 석 규
협동1 연구책임자 : 임 상 빈
협동2 연구책임자 : 한 창 훈

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

| | | | | | | | | |
|------------------------|----------------|--|----|----------|--------------------|--------------------------|------------------------------|----------|
| 사업명 | | 맞춤형 혁신식품 기술개발사업 | | | | 총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성) | | - |
| 내역사업명 (해당 시 작성) | | - | | | | 연구개발과제번호 | | 119013-3 |
| 기술 분류 | 국가과학기술 표준분류 | 기능성 식품 | 50 | 맞춤형 영양식품 | 25 | 식품의 영양기능성평가 | | 25 |
| | 농림식품 과학기술분류 | 기능성 식품 및 소재 | 35 | 기타 식품공학 | 35 | 식품 품질관리 | | 30 |
| 연구개발과제명 | | 풋귤의 아임계수 가수분해물 제조 및 체중조절식품 개발 | | | | | | |
| 전체 연구개발기간 | | 2019.05.20. ~ 2021.12.31.(2년 8개월) | | | | | | |
| 총 연구개발비 | | 총 1,230,000 천원 (정부지원연구개발비: 984,000 천원, 기관부담연구개발비 : 246,100 천원) | | | | | | |
| 연구개발단계 | | 기초[<input checked="" type="checkbox"/>] 응용[<input type="checkbox"/>] 개발[<input type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[<input type="checkbox"/>] | | | 기술성숙도 (해당 시 기재) | | 착수시점 기준(1단계) 종료시점 목표(5단계) | |
| 연구개발과제 유형 (해당 시 작성) | | 자유공모 | | | | | | |
| 연구개발과제 특성 (해당 시 작성) | | - | | | | | | |
| 연구개발 목표 및 내용 | 최종 목표 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 풋귤로부터 체중조절 지표성분의 아임계수 가수분해 공정의 최적화 및 표준화 ○ Optimization and standardization of subcritical water hydrolysis of body weight control compounds from unripe citrus fruits | | | | | | |
| | 전체 내용 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 체중조절 지표 성분의 동정 및 감귤 품종별 함량 분석 ○ Identification and analysis of index compounds for body weight control in unripe citrus ○ 풋귤 품종별 in vitro 항산화 활성 평가 ○ Analysis of in vitro antioxidative activity of unripe citrus depending on different varieties ○ lab-scale의 풋귤을 이용한 가공식품 개발공정(제형화) 최적화 ○ Optimization of manufacturing food process using unripe citrus in lab-scale ○ 풋귤 추출 및 가수분해물의 항비만 효능 검증 (in vitro) ○ Testing anti-obesity effect of unripe citrus extract (in vitro) ○ 체중조절 지표 성분의 아임계수 추출 및 가수분해공정의 최적화 및 표준화 ○ Optimization and standardization of subcritical water extraction and hydrolysis process ○ 아임계수 추출물 및 가수분해물의 유효성분 분석 및 in vitro 항산화 활성 평가 ○ Analysis of active components and in vitro antioxidative activity of unripe citrus extract produce by subcritical water extraction and hydrolysis process ○ 체중조절 지표 성분의 주정 추출공정 최적화 및 표준화 | | | | | | |

| | | |
|--------|--|---|
| | | <ul style="list-style-type: none"> ○ Optimization and standardization of alcohol extraction process ○ Pilot-scale의 풋귤을 이용한 가공식품 개발공정(제형화) 최적화 ○ Optimization of manufacturing food process using unripe citrus in pilot-scale ○ 풋귤 추출 및 가수분해물의 항비만 효능 검증 (in vivo) ○ Testing anti-obesity effect of unripe citrus extract (in vivo) ○ 체중조절 지표 성분 추출 및 가수분해물 생산 ○ Mass production of crude extracts and hydrolysis of index compounds for body weight control ○ 대량생산공정별 및 최종제품의 유효성분 분석 및 in vitro 항산화 활성 검증 ○ Analysis of active components and in vitro antioxidative activity of unripe citrus products in factory-scale ○ 풋귤을 이용한 가공식품 개발공정(제형화) 대량생산공정 최적화 ○ Optimization of manufacturing food process using unripe citrus in factory-scale ○ 풋귤 추출 및 가수분해물의 항비만 효능 검증 (in vivo) ○ Testing anti-obesity effect of unripe citrus extract (in vivo -continued) ○ 풋귤 추출 및 가수분해물의 항비만 임상실험 ○ Clinical test of anti-obesity effect of unripe citrus extract |
| 연구개발성과 | | <ul style="list-style-type: none"> ○ 총 폴리페놀 함량 (TPC, tannic acid equivalents): 255 mg 이상 : 319~443mg ○ 추출 수율: 50% 이상 : 아임계 추출 74%(일부 고온 손실) ○ 가수분해 수율: 30% 이상 : 53% 달성 ○ Lab-scale의 풋귤을 이용한 가공식품 개발공정 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 풋귤, 풋귤 착즙액의 영양성분분석 - 풋귤착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 관능검사 - 풋귤원료의 분말화 및 입도에 따른 특성분석 ○ Pilot-scale 풋귤을 이용한 가공식품 개발공정 최적화 <ul style="list-style-type: none"> - 풋귤추출물 및 착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 최적 pilot-scale 제조공정 확립 - 최적 pilot-scale 제조공정으로 개발된 액상제형식품의 영양성분분석 및 관능검사 - 풋귤원료분말을 이용한 정제제형식품 제조공정 확립 및 특성분석 ○ Factory-scale 풋귤을 이용한 가공식품 개발공정 최적화 <ul style="list-style-type: none"> - 대량생산된 풋귤추출물을 이용한 factory-scale 액상제형 식품제조공정확립 - 대량생산된 풋귤추출물 함유 액상제형식품의 영양성분분석 및 유통기한설정 - 풋귤원료분말을 이용한 정제제형식품의 영양성분분석 및 유통기한설정 ○ 지방세포(3T3 cell) 내 AMPK/ACC의 효소 활성화도 및 인산화 변화 관찰 ○ 지방세포(3T3 cell) 내 HMG-CoA reductase 활성 억제를 통한 cholesterol 및 FA 합성 변화 관찰 ○ cDNA microarray analysis를 이용한 근육 및 지방세포 내 유전자 발현의 증감 관찰 ○ 간세포(HepG2 cell) 내 CPT-1 활성화에 의한 beta-oxidation 변화 관찰 ○ 풋귤 착즙액의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정 및 합성, 천연 항산화제와 비교 ○ 풋귤 착즙액의 in vitro 항산화 활성(DPPH, ABTS, Hydroden radical scavenging |

| | |
|------------------------------------|--|
| | <p>ctivity, 환원력) 평가 및 합성, 천연 항산화제와 비교</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 풋갈 추출물을 투여한 비만모델동물(ob/ob mouse)의 체중 및 체지방 변화 관찰 ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 혈액 내의 Total cholesterol, HDL/LDL, FA, TG, Apo A1, Apo B 등의 변화 관찰 ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 간세포 내 CPT-1 활성화에 의한 beta-oxidation 변화 관찰 ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 지방세포 내 HMG-CoA reductase 활성 억제를 통한 cholesterol 및 FA 합성 변화 관찰 ○ 급성 및 아급성 독성실험 ○ 풋갈 주정 추출물(착즙박, 착즙액)의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정 ○ 풋갈 주정 추출물(착즙박, 착즙액)의 flavonoid 함량 분석 ○ 풋갈 주정 추출물(착즙박, 착즙액)의 in vitro 항산화 활성(DPPH, ABTS, Hydroden radical scavenging activity, 환원력) 평가 ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 근육 및 지방세포 내 AMPK/ACC의 효소 활성도 및 인산화 변화 관찰 ○ cDNA microarray analysis를 이용한 비만모델동물(ob/ob mouse) 근육 및 지방세포 내 유전자 발현의 증감 관찰 ○ 풋갈 추출물의 in vitro 항산화 활성 검증 ○ 인체를 대상으로 체중 및 체지방 변화 관찰 임상실험 ○ 인체 혈액 내의 Total cholesterol, HDL/LDL, FA, TG, Apo, A1, Apo B 등의 변화 관찰 임상실험 ○ 풋갈 껍질의 아임계+가수분해 추출물의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정 ○ 풋갈 껍질의 아임계+가수분해 추출물의 in vitro 항산화 활성(DPPH, ABTS, Hydroden radical scavenging activity, Hydroxyl radical scavenging activity, SOD activity, 환원력) 검증 |
| <p>연구개발성과 활용계획 및 기대 효과</p> | <ul style="list-style-type: none"> ○ 제주 특산물의 아임계 가수분해는 고부가가치 제품 개발 및 건강식품 산업을 이끌 수 있는 차세대 성장의 원동력이라 할 수 있으며 나아가 국가 경쟁력 확보에 필수적으로 작용되어 국가 고유산업으로 성장할 가능성이 유망함. ○ 제주지역 농·특산물을 이용하여 가공·건강기능식품 등 다양한 상품 개발로 농산물 수급조절 안정화 및 제품의 브랜드화를 통해 지역경제 활성화 및 고부가가치를 창출하는 6차 산업을 통한 제주형 특화산업으로 육성할 것임. ○ 기능성식품 개발이라는 동일 목적 하에 생산공정 전체과정의 기술력과 기업의 기술 개발 역량을 강화시킬 수 있으며 비만율이 증가되는 사회 속에서 건강복지 문제 완화와 지역 균형 발전에도 기여할 것임. ○ 본 과제를 통하여 풋갈의 아임계수 가수분해 기술을 활용한 다양한 생리활성기능이 증진된 제품개발을 통해 이러한 우수한 기술을 활용하여 새로운 방식으로 접근할 수 있는 가능성을 보였고, 기능성 성분을 지닌 일반식품으로서 건강기능식품의 시장규모가 빠른 성장세를 보이고 있는 요즘시대에 폭넓은 시장을 확보하기 위하여 추후 건강기능식품으로 활용할 추가적인 연구와 기존 제품과 다른 형태의 제품을 개발할 필요성이 있다고 판단되며 이는 향후 산업발전 확대 및 기업성장에 큰 도움이 될 것으로 보임. |

| 연구개발성과의 비공개여부 및 사유 | - | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------|--------------|------------------------|-----------------|---|--------------|--------------------|--------------|--------------|-----|-----|----|
| 연구개발성과의 등록·기탁 건수 | 논문 | 특허 | 보고서 원문 | 연구 시설 ·장비 | 기술 요약 정보 | 소프트 웨어 | 표준 | 생명자원 | | 화합물 | 신품종 | |
| | 7 | 6 | - | - | - | - | - | 생명 정보 | 생물 자원 | | - | 정보 |
| 연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황 | 구입 기관 | 연구시설 ·장비명 | 규격 (모델명) | 수량 | 구입 연월일 | 구입가격 (천원) | 구입처 (전화) | 비고 (설치장소) | ZEUS 등록번호 | | | |
| | - | - | - | - | - | - | - | - | - | | | |
| 국문핵심어 (5개 이내) | 팥굴 | | 체중조절 | | 아임계수 추출 및 가수분해 | | 식품가공 | 항비만 | | | | |
| 영문핵심어 (5개 이내) | unripe citrus | | body weight control | | subcritical water extraction and hydrolysis | | food processing | anti-obesity | | | | |

| 최종보고서 | | | | | | | | | | 보안등급 | |
|-------------------------|----------------|-----------------|-------------------------------|--|--------------------------|--------------------|-------------|------------------|---------|---|-------------------|
| | | | | | | | | | | 일반[<input checked="" type="checkbox"/>], 보안[<input type="checkbox"/>] | |
| 중앙행정기관명 | | 농림축산식품부 | | | 사업명 | 사업명 | | 맞춤형 혁신식품 기술 개발사업 | | | |
| 전문기관명 (해당 시 작성) | | 농림식품기술기획평가원 | | | | 내역사업명 (해당 시 작성) | | - | | | |
| 공고번호 | | | | | 총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성) | | | 119013-3 | | | |
| | | | | | 연구개발과제번호 | | | | | | |
| 기술 분류 | 국가과학기술 표준분류 | | 기능성 식품 | 50 | 맞춤형 영양식품 | 25 | 식품의 영양기능성평가 | | 25 | | |
| | 농림식품과학기술분류 | | 기능성 식품 및 소재 | 35 | 기타 식품공학 | 35 | 식품 품질관리 | | 30 | | |
| 총괄연구개발명 (해당 시 작성) | | 국문 | | | | | | | | | |
| | | 영문 | | | | | | | | | |
| 연구개발과제명 | | 국문 | | 풋귤의 아임계수 가수분해물 제조 및 체중조절식품 개발 | | | | | | | |
| | | 영문 | | Subcritical Water Hydrolysis of Unripe Citrus and Development of Body Weight Control Foods | | | | | | | |
| 주관연구개발기관 | | 기관명 | 제주농장 영농조합법인 | | | 사업자등록번호 | | 616-81-48604 | | | |
| | | 주소 | (63309)제주특별자치도 제주시 첨단로 161 | | | 법인등록번호 | | 224171-0003532 | | | |
| 연구책임자 | | 성명 | | 유석규 | | 직위 | | 이사 | | | |
| | | 연락처 | 직장전화 | 064-702-6371 | | 휴대전화 | | | | | |
| | | | 전자우편 | | | 국가연구자번호 | | 11144330 | | | |
| 연구개발기간 | | 전체 | | 2019. 05. 20 - 2021. 12. 31(2년 8개월) | | | | | | | |
| | | 단계 (해당 시 작성) | 1단계 | 2019. 05.20. - 2019. 12. 31(08 개월) | | | | | | | |
| | | | 2단계 | 2020. 01. 01 - 2020. 12. 31(12 개월) | | | | | | | |
| | | | 3단계 | 2021. 01. 01 - 2021. 12. 31(12 개월) | | | | | | | |
| 연구개발비 (단위: 천원) | | 정부지원 | 기관부담 | | 그 외 기관 등의 지원금 | | | 합계 | | | 연구개발비 외 지원금 |
| | | 연구개발비 | 연구개발비 | 현물 | 지방자치단체 | 기타() | | 현금 | 현물 | 합계 | |
| | | 현금 | 현금 | 현물 | 현금 | 현물 | 현금 | 현물 | 현금 | 현물 | 합계 |
| 총계 | | 943,000 | 23,800 | 212,500 | | | | | 966,800 | 212,500 | 1,179,300 |
| 1단계 | 1년차 | 246,000 | 6,200 | 55,300 | | | | | 252,200 | 55,300 | 307,500 |
| 2단계 | 2년차 | 328,000 | 8,300 | 74,200 | | | | | 336,300 | 74,200 | 410,500 |
| 3단계 | 3년차 | 369,000 | 9,300 | 83,000 | | | | | 378,300 | 83,000 | 461,300 |
| 공동연구개발기관 등 (해당 시 작성) | | 기관명 | 책임자 | | 직위 | 휴대전화 | 전자우편 | 비고 | | | |
| | | 역할 | 기관유형 | | | | | | | | |
| 공동연구개발기관 | | 협동1 (제주대학교) | | 임상빈 | 교수 | | | 공동 | 대학 | | |
| | | 협동2 (제주대학교) | | 한창훈 | 교수 | | | 공동 | 대학 | | |
| 연구개발담당자 실무담당자 | | 성명 | | 박재완 | | 직위 | | 대리 | | | |
| | | 연락처 | 직장전화 | 070-8990-4609 | | 휴대전화 | | | | | |
| | | | 전자우편 | | | 국가연구자번호 | | 11809765 | | | |

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2022년 04월 11일

연구책임자: 유석규 (인)

주관연구개발기관의 장: 김 영 선 (직인)

공동연구개발기관의 장: 이 영 돈 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

| 최종보고서 | | | | | | 보안등급 | | |
|-------------------------|-----------------|-------------------------------|--|--------------------------|---------------------|------------------|---------|-------------------|
| | | | | | | 일반[√], 보안[] | | |
| 중앙행정기관명 | 농림축산식품부 | | | 사업명 | 사업명 | 맞춤형 혁신식품 기술 개발사업 | | |
| 전문기관명 (해당 시 작성) | 농림식품기술기획평가원 | | | 내역사업명 (해당 시 작성) | - | | | |
| 공고번호 | | | | 총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성) | / | | | |
| | | | | 연구개발과제번호 | | | | 119013-3 |
| 기술분류 | 국가과학기술 표준분류 | 기능성 식품 | 50 | 맞춤형 영양식품 | 25 | 식품의 영양기능성평가 | 25 | |
| | 농림식품과학기술분류 | 기능성 식품 및 소재 | 35 | 기타 식품공학 | 35 | 식품 품질관리 | 30 | |
| 총괄연구개발명 (해당 시 작성) | 국문 | | | | | | | |
| | 영문 | | | | | | | |
| 연구개발과제명 | 국문 | | 풋갈의 아임계수 가수분해물 제조 및 체중조절식품 개발 | | | | | |
| | 영문 | | Subcritical Water Hydrolysis of Unripe Citrus and Development of Body Weight Control Foods | | | | | |
| 주관연구개발기관 | 기관명 | 제주농장 영농조합법인 | | 사업자등록번호 | 616-81-48604 | | | |
| | 주소 | (63309)제주특별자치도 제주시 첨단로 161 | | 법인등록번호 | 224171-0003532 | | | |
| 연구책임자 | 성명 | 유석규 | | 직위 | 이사 | | | |
| | 연락처 | 직장전화 전자우편 | 064-702-6371 | 휴대전화 | 국가연구자번호 11144330 | | | |
| 연구개발기간 | 전체 | | 2019. 05. 20 - 2021. 12. 31(2년 8개월) | | | | | |
| | 단계 (해당 시 작성) | 1단계 | 2019. 05.20. - 2019. 12. 31(08 개월) | | | | | |
| | | 2단계 | 2020. 01. 01 - 2020. 12. 31(12 개월) | | | | | |
| | | 3단계 | 2021. 01. 01 - 2021. 12. 31(12 개월) | | | | | |
| 연구개발비 (단위: 천원) | 정부지원 연구개발비 | 기관부담 | | 그 외 기관 등의 지원금 | | | | 연구개발비 외 지원금 |
| | | 연구개발비 | 연구개발비 | 지방자치단체 | 기타() | | | |
| | 현금 | 현금 | 현물 | 현금 | 현물 | 현금 | 현물 | 합계 |
| 총계 | 943,000 | 23,800 | 212,500 | | | 966,800 | 212,500 | 1,179,300 |
| 1단계 1년차 | 246,000 | 6,200 | 55,300 | | | 252,200 | 55,300 | 307,500 |
| 2단계 2년차 | 328,000 | 8,300 | 74,200 | | | 336,300 | 74,200 | 410,500 |
| 3단계 3년차 | 369,000 | 9,300 | 83,000 | | | 378,300 | 83,000 | 461,300 |
| 공동연구개발기관 등 (해당 시 작성) | 기관명 | 책임자 | 직위 | 휴대전화 | 전자우편 | 비고 | | |
| | | 역할 | 기관유형 | | | | | |
| 공동연구개발기관 | 협동1 (제주대학교) | 임상빈 | 교수 | | | 공동 | 대학 | |
| | 협동2 (제주대학교) | 한창훈 | 교수 | | | 공동 | 대학 | |
| 연구개발담당자 실무담당자 | 성명 | 박재완 | | 직위 | 대리 | | | |
| | 연락처 | 직장전화 전자우편 | 070-8990-4609 | 휴대전화 | 국가연구자번호 11809765 | | | |

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2022년 04월 11일

연구책임자: 유석규



주관연구개발기관의 장: 김영선

공동연구개발기관의 장: 이영든



농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

목 차

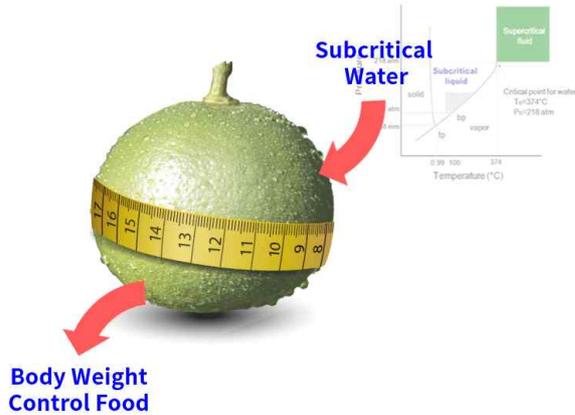
| | |
|-----------------------------------|-----|
| 1. 연구개발과제의 개요 | 1 |
| (1) 연구개발 과제의 개요 | 1 |
| (2) 연구개발 대상의 국내 · 외 현황 | 17 |
| 2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용 | 40 |
| 3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도 | 88 |
| (1) 연구수행 결과 | 88 |
| 1) 정성적 연구개발성과 | 88 |
| 2) 정량적 연구개발성과 | 177 |
| 3) 세부 정량적 연구개발성과 | 177 |
| (2) 목표 달성 수준 | 183 |
| 4. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도 | 185 |
| 5. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획 | 187 |

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발의 개요

가. 연구개발의 개요

1) 연구개요



“지역 특산물의 생산량 조절”
 “수입과일을 대체할 국내산 과일 탐구”
 “과일가공식품을 통한 현대인의
 체중조절”

- 제주의 특산자원 중 하나인 풋귤을 친환경 아임계수 가수분해공정을 이용하여 체중조절지표성분을 제조하고 기능성을 검증하며, 가공식품의 개발 및 산업화

2) 참여연구팀

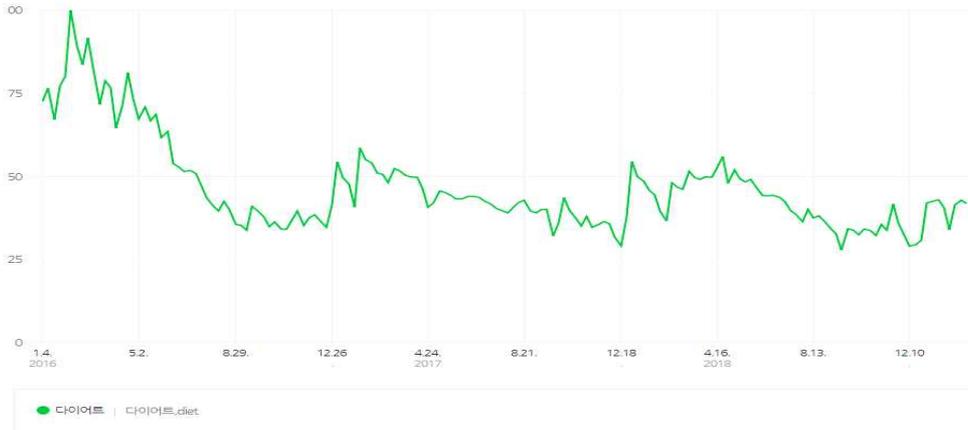
“지역자원(식물자원, 연구자원)의 효율적 이용을 통한 연구진행 및 사업성과의 극대화”



나. 연구개발의 필요성

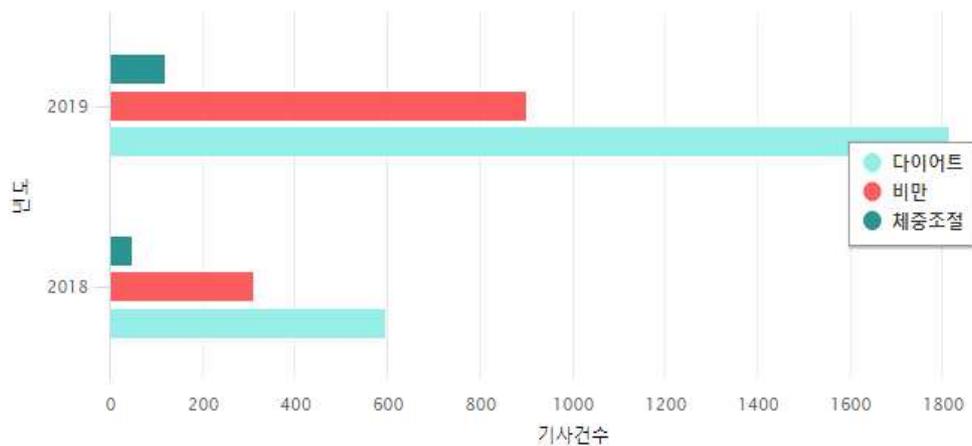
1) 결코 남의 일이 아닌 ‘비만’, 하지만 쉽지 않은 ‘살과의 전쟁’

- 2017년 시장조사전문기업 엠브레인 트렌드모니터의 자료에 따르면, 전국 만 13~59세 남녀 1,050명을 대상으로 ‘비만’ 및 ‘다이어트’ 관련 설문조사를 실시한 결과, 대부분의 사람들은 자신의 체중 상태에 만족을 하지 못하고 있으며, 다이어트의 필요성을 크게 느끼는 것으로 나타남.



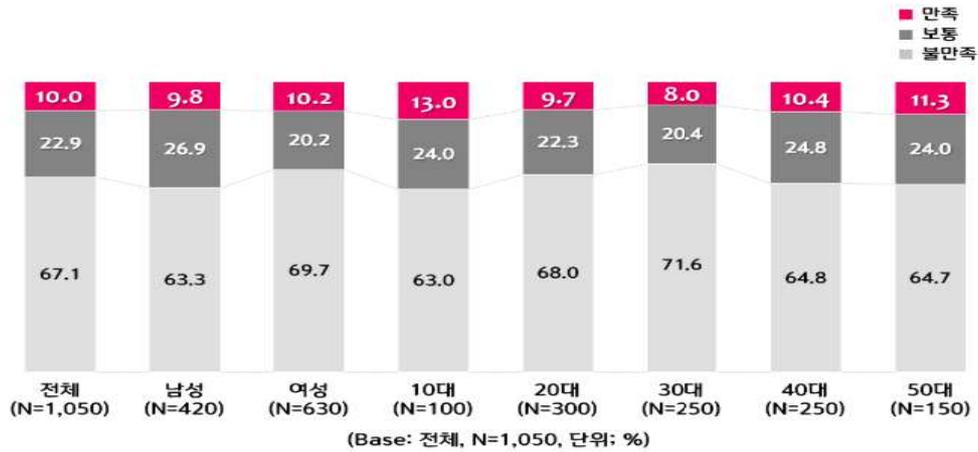
[그림] 네이버 시기별 검색 수 (검색어 : 다이어트)

- 검색사이트 네이버의 검색어트렌드를 통해 매년 다이어트와 관련한 검색이 꾸준히 이루어지고 있음을 확인할 수 있음.



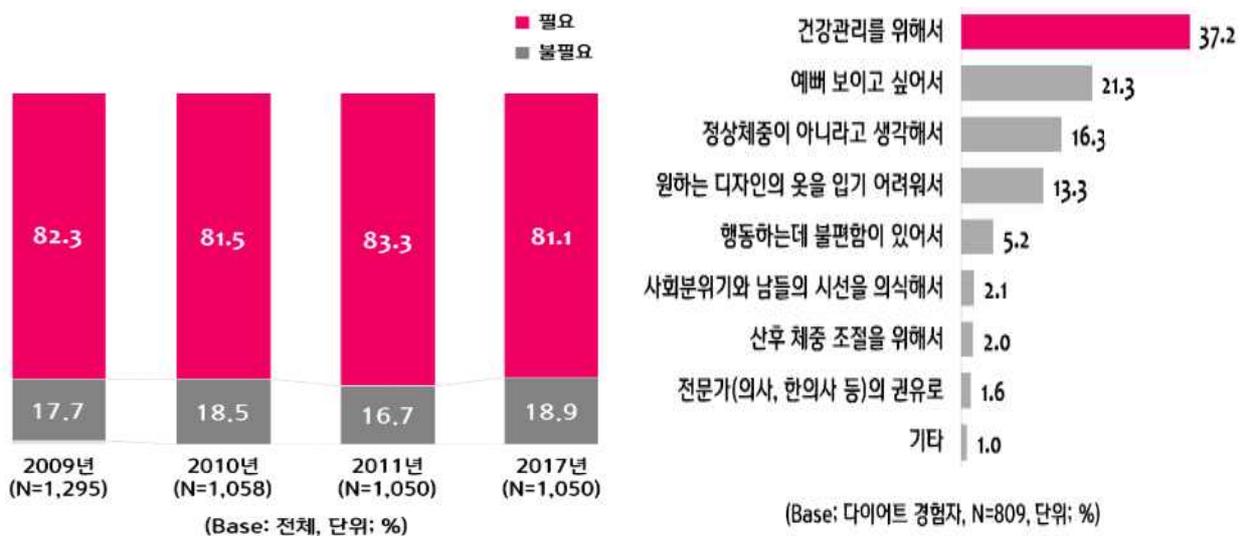
[그림] 빅카인즈, 연도별 기사 건수

- 빅카인즈를 통한 키워드트렌드를 분석한 결과 ‘다이어트’, ‘비만’, ‘체중조절’에 관한 뉴스량이 작년보다 높다는 결과를 확인할 수 있음.



[그림] 본인 체중 만족도

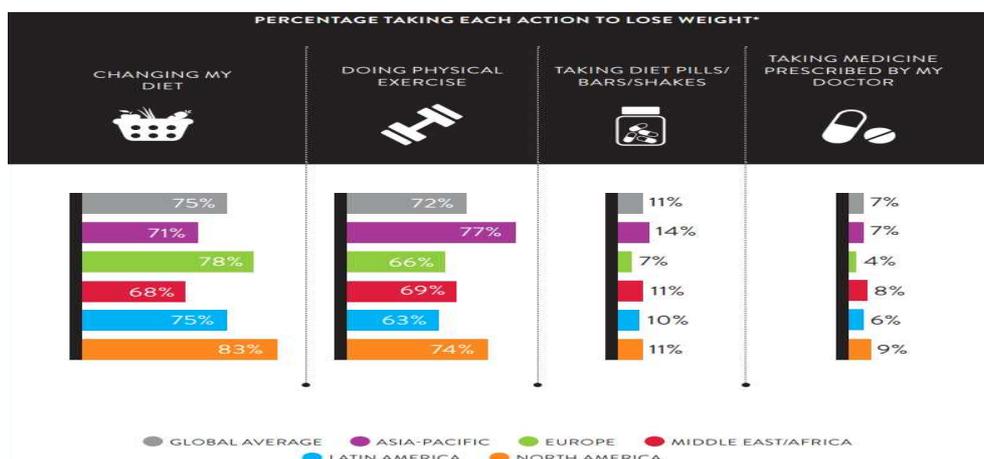
○ 전체 10명 중 1명(10%)만이 현재 자신의 체중에 만족한다고 응답한 것으로, 성별(9.8%, 여성 10.2%)과 연령(10대 13%, 20대 9.7%, 30대 8%, 40대 10.4%, 50대 11.3%)에 관계없이 자기 체중에 만족하는 사람은 찾아보기 어려웠음. 이런 태도는 예년과 비슷한 수준('09년 12.7%, ' 10년 12.6%, '11년 9.8%, ' 17년 10%)이었음.



[그림] 다이어트에 대한 소비자 인식

○ 체중에 대한 불만족은 '다이어트'에 대한 생각으로 이어지고 있으며, 전체 10명 중 8명(81.1%)이 현재 자신은 체중 조절이 필요한 상태라고 바라보고 있으며, 이는 앞서 스스로를 살이 찐 편이라고 평가한 응답자(56.3%)보다도 훨씬 많은 수준으로, 정상 체중인 경우에도 다이어트의 필요성을 느낄 만큼 한국사회가 '마른 몸매'를 선호하는 경향이 뚜렷하다는 해석을 가능케함. 다이어트의 필요성을 느끼는 사람들의 비중(09년 82.3%→10년 81.5%→11년 83.3%→17년 81.1%)은 예전과 비슷한 편이었으며, 상대적으로 남성(77.1%)보다는 여성(83.8%), 그리고 20~30대(10대 69%, 20대 84.7%, 30대 85.2%, 40대 79.2%, 50대 78.7%)가 체중 조절의 필요성을 보다 많이 느끼고 있으며, 감량하고 싶어하는 체중량으로는 대략 약 3kg(12.4%)~5kg(21.6%), 또는 10kg(12.6%) 정도를 많이 꼽았음.

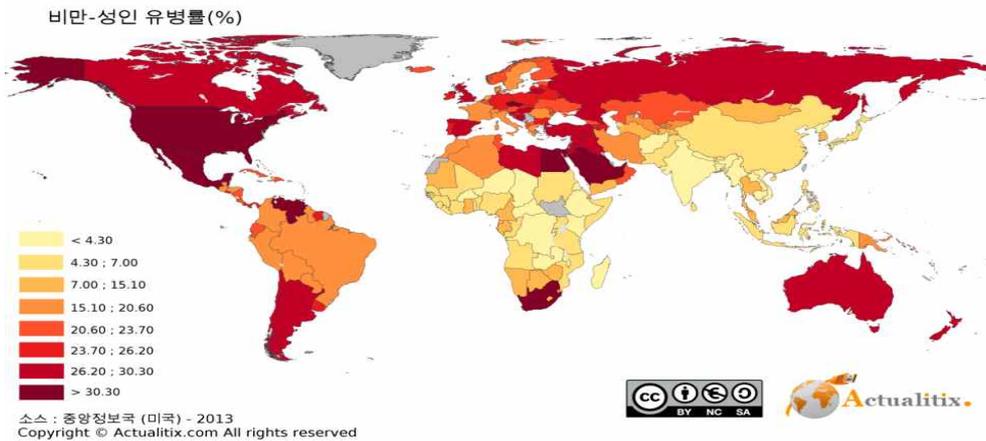
- 실제 전체 응답자의 77%가 최근 1년 동안 다이어트를 해 본 경험을 가지고 있었는데, 특히 여성(남성 68.8%, 여성 82.5%)과 20~30대 젊은 층(10대 63%, 20대 87%, 30대 81.6%, 40대 70.8%, 50대 69.3%)이 평소 다이어트를 좀 더 많이 시도하는 모습이었음.
- 다이어트를 시도하게 된 이유를 살펴보면 아무래도 ‘건강 관리’의 목적(37.2%)이 가장 큰 것으로 나타났으며, 체중 증가에 따른 건강상 문제를 염려하는 사람들이 그만큼 많은 것으로, 여성(29.6%)보다는 남성(50.9%), 그리고 중장년층(10대 15.9%, 20대 23.8%, 30대 30.9%, 40대 55.9%, 50대 64.4%)이 건강관리를 위해 다이어트를 시도해 본 경험을 훨씬 많이 가지고 있었음.
- 물론 다른 사람들에게 예뻐 보이고 싶어서(21.3%) 다이어트를 하는 사람들도 상당히 많은 편이었으며, 아름다움에 대한 욕망을 실현하기 위해 다이어트를 시도하는 사람들은 주로 여성(남성 7.3%, 여성 29%)과 10~20대(10대 36.5%, 20대 33%, 30대 23%, 40대 7.3%, 50대 2.9%)에서 많이 찾아볼 수 있었음
- 다른 한편으로 정상 체중이 아니라는 생각이 들거나(16.3%), 원하는 디자인의 옷을 입기 어려울 때(13.3%) 다이어트에 관심을 갖게 되는 사람들도 적지 않았음.
- 이는 한국에만 국한된 것이 아니다. 글로벌 정보분석 기업 닐슨이 발간한 ‘글로벌 식건강 트렌드 보고서’에 따르면 한국인 5명 중 3명(60%)이 자신이 과체중이라고 여기고 있으며, 응답자의 절반이 넘는 55%가 현재 다이어트 중이라고 밝혔음.
- 전세계 소비자들 역시 약 2명중 1명(49%)이 자신이 과체중이라고 생각하고 있으며, 절반에 이르는 50%의 전세계 소비자들 체중을 줄이려고 노력하고 있는 것으로 나타났음.



[그림] 글로벌 소비자들의 체중 조절 방법

- 대부분의 소비자들이 ‘식단 조절’과 ‘운동’을 꼽았으며 전체 응답자의 4분의 3에 해당하는 소비자들이 식사를 조절해 체중을 줄이려고 하는 것으로 나타났고, 운동을 선택한 응답자들도 72%나 되는 것으로 나타났음. 그 외에도 ‘다이어트 셰이크 등의 활용’이 11%, ‘전문 의약품복용’이 78%로 나타났음.

- 또한 소비자들은 건강한 식품 선택을 통해 건강을 유지하고자 하는 의향이 높은 것으로 나타났으며 75%의 글로벌 소비자들이 “내가 먹는 것이 곧 나를 대변한다” 고 생각할 만큼 음식이 매우 중요한 부분이라고 믿고 있었고, 80%가 음식을 통해 비만, 당뇨, 콜레스테롤 등의 많은 질병을 예방하고 있다고 응답했음.
- 비만한 사람은 질병에 대한 발생률이 높고 평균 수명도 감소되며, 비만도가 증가되면 건강위험도도 함께 증가되는데 국내 비만인구도 900만 명 정도로 업계에서는 추산하고 있음.
- 비만인구는 전 세계적으로 오는 2025년에 이르면 3억 명 이상이 될 것으로 예측하고 있음.



[그림] 세계 성인 비만 유병률(%)

- 국내에는 국민건강영양조사에 따르면, 비만인구(BMI:25-30)는 1995년 남녀 각각 전체 인구의 1.7%, 18.0%이었으나, 2017년에는 전체 인구의 42.4%(남자), 27.7%(여자)로 급증, 지속적인 증가 추세를 보이고 있음.
- 비만은 비만으로 그치는 것이 아니라 각종 질병의 원인이 될 수 있으며, 정신적인 질병까지 유발할 수 있음. 제 2형 당뇨병, 이상지질혈증, 고혈압, 지방간, 담낭질환, 관상동맥질환(협심증, 심근경색증), 뇌졸중, 수면무호흡증, 통풍, 골관절염, 월경이상, 대장암, 유방암 등이 대표적인 비만과 관련된 질병들임.
- 비만한 사람들은 비만하지 않은 사람에 비해 관상동맥질환-4배, 뇌졸중-6배, 고혈압-12배, 당뇨병-6배 발생위험이 높음.
- 소아비만에서도 무증상 관상동맥질환, 무증상 동맥경화증, 혈압증가, 지방간질환, 천식발병 및 악화, 당뇨병, 고인슐린혈증, 우울, 자존감 저하, 식이장애 등이 잘 동반됨.
- 특히 어린이 비만에도 동일한 합병증 발생이 가능하며 소아 비만은 잠재적 질병위험도가 더욱 높으므로 반드시 조기에 상담받고 관리하는 것이 중요. 비만과 관련된 동반질환은 후속연구에 의해 추가적으로 계속 밝혀지고 있으며, 비만은 신체적, 정신적, 심리적 및 사회적 건강 등 건강전반에 걸쳐 부정적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있음(출처:대한비만학회).

[표] 비만으로 인한 발생하는 질병

| 계통 | 성인 비만 | |
|--------|--|--|
| | 대사이상에 의한 질환 | 과도한 체중에 의한 질환 |
| 심뇌혈관계 | 관상동맥질환, 고혈압, 뇌경색(허혈성), 울형성심부전 | 폐색전증, 하지정맥류, 정맥혈전색전증 |
| 위장관계 | 담석, 비알코올성지방간질환 | 위식도역류, 탈장 |
| 호흡기계 | - | 천식, 수면무호흡증, 저환기증후군 |
| 대사내분비계 | 제2형 당뇨병, 인슐린저항성, 대사증후군, 이상지질혈증, 고요산혈증, 통풍 | - |
| 혈액증양 | 여자 : 유방암(폐경 후), 자궁내막암, 난소암, 자궁경부암 남자 : 전립샘암 남녀 공통 : 위암, 결장직장암, 간암, 췌장암, 담낭암, 신장암, 백혈병, 다발성골수암, 림프종 | - |
| 비뇨생식기계 | 생식샘저하증, 월경 장애, 다낭성난소증후군, 불임, 산모임신합병증(임신당뇨병, 임신고혈압, 임신중독증, 유산), 태아 기형(신경관 결손, 입술갈림증, 입천장갈림증, 뇌수종, 심혈관계 이상), 종팔 질환(신결석, 만성신질환, 말기신질환), 성조숙증, 여성형유방, 발기부전 | 스트레스 요실금, 산모임신합병증(난산, 제왕절개의 위험) |
| 근골격계 | - | 운동 제한, 허리 통증, 골관절염, 척수질환 |
| 신경계 | 특발성 두개뇌압상승, 치매 | 넓적다리 감각이상증 |
| 정신심리 | - | 우울증, 불안증, 자존감저하, 식이장애, 직무능력저하, 삶의 질 저하 |
| 기타 | 피부감염, 치주질환 | 마취위험 증가, 림프부종 |

2) 단순히 굶어서 빼는 다이어트보다 건강한 다이어트가 인기!



[그림] 빅카인즈 연관어분석(검색어 : 다이어트)

- 빅카인즈의 연관어분석을 보면 ‘다이어트’, ‘비만’, ‘체중조절’ 과 관련하여 단순히 굶는 것보다 먹으면서 체중조절을 하는 건강한 다이어트가 인기임을 확인할 수 있음.
- 2016년 한국농촌경제연구원의 ‘2016 식품산업 트렌드와 2017 식품산업 전망 보고서’ 에 따르면 건강/다이어트에 대한 관심이 지속적으로 중시되어지고 있다고 얘기하고 있음.
- MBC 스페셜 ‘지방의 누명’ 이 방영되면서 저탄수화물 고지방식 다이어트가 급속하게 전파, 아침방송과 SNS를 통한 성공사례가 급속하게 공유되고 있음. SNS를 통해 서로의 저탄수 고지방식 식단을 인증, 공유하는 문화가 확산되고 있으며, 삼겹살 소비 증가, 버터의 품귀현상, 방

탄커피가 등장하기도 하였음.

- 글로벌 정보분석 기업 닐슨이 발간한 ‘글로벌 식건강 트렌드 보고서’에 따르면 체중조절을 하기 위한 방법으로 약 11%가 가공식품을 구입하는 것으로 나타났으며, 한국농수산식품유통공사의 ‘가공식품 세분시장 현황-체중조절식품 시장편’에서는 체중조절을 위한 식품 선택에 관한 내용을 기술하고 있음.



[그림] 체중조절식품의 종류

- 체중 조절식품은 구입한 가장 큰 이유는 ‘오랫동안 늘어난 체중을 감량하려고’가 33.6%로 응답 비중이 가장 높음. 이어서 ‘갑자기 체중이 증가하여’와 ‘단순 관리 차원에서’ 응답이 각각 17.2%로 나타남.
- 상대적으로 연령이 많을수록 오랫동안 늘어난 체중 감량을 위해 식품을 구입했다는 응답 비중이 높은 경향을 나타내었고, 갑자기 체중이 증가하여 구입했다는 응답은 연령이 낮을수록 높게 나타난 경향을 보임.

[표] 체중조절식품 구입 목적

(단위: %)

| 구분 | 오랫동안 늘어난 체중을 감량하려고 | 갑자기 체중이 증가하여 | 단순 관리 차원에서 | 운동이나 식단 조절을 하기 어려워 | 기존 다이어트 방법으로 체중을 감량하지 못해서 | 연예인 등 몸짱 등을 보고 | 기타 | 합계 | |
|------------|--------------------|--------------|------------|--------------------|---------------------------|----------------|-----|-------|-------|
| 전체 (n=500) | 33.6 | 17.2 | 17.2 | 17.0 | 11.8 | 2.0 | 1.2 | 100.0 | |
| 성별 | 남성 (n=175) | 31.4 | 22.3 | 22.3 | 11.4 | 7.4 | 3.4 | 1.7 | 100.0 |
| | 여성 (n=325) | 34.8 | 14.5 | 14.5 | 20.0 | 14.2 | 1.2 | 0.9 | 100.0 |
| 연령별 | 20대 (n=108) | 25.0 | 21.3 | 18.5 | 19.4 | 11.1 | 2.8 | 1.9 | 100.0 |
| | 30대 (n=163) | 36.2 | 16.6 | 12.9 | 16.0 | 14.1 | 3.1 | 1.2 | 100.0 |
| | 40대 (n=106) | 35.8 | 17.9 | 17.0 | 17.0 | 11.3 | 0.9 | 0.0 | 100.0 |
| | 50대 (n=123) | 35.8 | 13.8 | 22.0 | 16.3 | 9.8 | 0.8 | 1.6 | 100.0 |

- 구입경험이 있는 체중조절식품은 분말타입 제품(49.2%)이 가장 많았으며, 이어서 알약 제품 (3

7.0%), 액상/음료타입 제품(31.6%) 순으로 응답 비중이 높게 나타남.

- 상대적으로 20대(59.3)가 분말타입 제품 구입 경험이 높음. 분말타입 제품은 쉐이크 형태로 물에 타서 먹는 제품이 다수임. 알약 제품은 여성과 30~40대에서 응답 비중이 높게 나타났는데, 대부분의 알약 제품은 건강기능식품 중 체지방감소용으로 나온 제품이 많음.

[표] 구입경험이 있는 체중조절식품

(단위: %)

| 구분 | | 분말타입 제품 | 알약 제품 | 액상/음료타입 제품 | 시리얼 제품 | 바(Bar) 타입 제품 | 기타 |
|------------|-------------|-------------|-------------|------------|--------|--------------|-----|
| 전체 (n=500) | | 49.2 | 37.0 | 31.6 | 30.8 | 20.8 | 0.4 |
| 성별 | 남성 (n=175) | 49.1 | 26.3 | 27.4 | 26.3 | 17.1 | 0.6 |
| | 여성 (n=325) | 49.2 | 42.8 | 33.8 | 33.2 | 22.8 | 0.3 |
| 연령별 | 20대 (n=108) | 59.3 | 26.9 | 31.5 | 32.4 | 23.1 | 0.9 |
| | 30대 (n=163) | 50.3 | 40.5 | 36.2 | 34.4 | 30.7 | 0.6 |
| | 40대 (n=106) | 43.4 | 40.6 | 31.1 | 30.2 | 10.4 | 0.0 |
| | 50대 (n=123) | 43.9 | 38.2 | 26.0 | 25.2 | 14.6 | 0.0 |

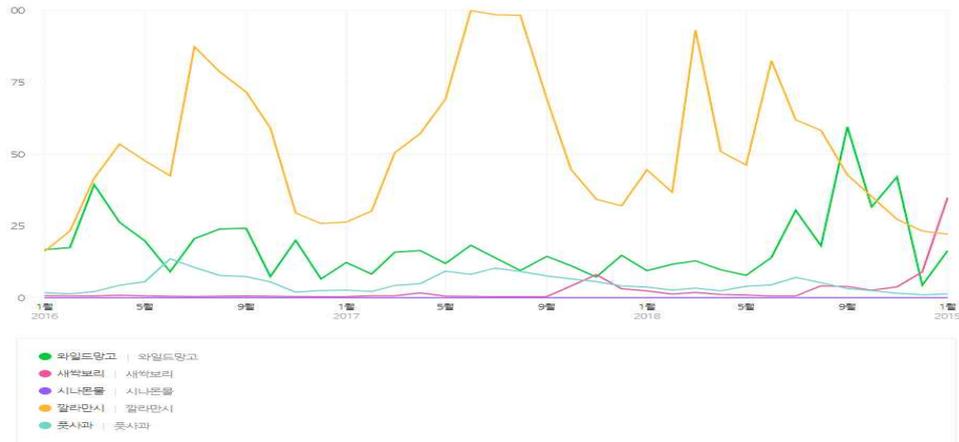
- 응답한 제품 중 체중 조절에 가장 도움이 되었던 제품은 분말타입 제품(35.6%)이라는 응답이 가장 많았으며, 이어서 알약 제품(26.8%), 액상/음료타입 제품(17.2%)으로 나타남. 해당 순서는 구입경험과 비례하여 나타난 특징이 있음.

[표] 체중 조절에 도움이 되었던 제품

(단위: %)

| 구분 | | 분말타입 제품 | 알약 제품 | 액상/음료타입 제품 | 시리얼 제품 | 바(Bar) 타입 제품 | 기타 | 합계 |
|------------|-------------|-------------|-------|------------|--------|--------------|-----|-------|
| 전체 (n=500) | | 35.6 | 26.8 | 17.2 | 14.6 | 5.6 | 0.2 | 100.0 |
| 성별 | 남성 (n=175) | 41.1 | 20.6 | 16.6 | 16.6 | 4.6 | 0.6 | 100.0 |
| | 여성 (n=325) | 32.6 | 30.2 | 17.5 | 13.5 | 6.2 | 0.0 | 100.0 |
| 연령별 | 20대 (n=108) | 45.4 | 17.6 | 18.5 | 13.0 | 4.6 | 0.9 | 100.0 |
| | 30대 (n=163) | 32.5 | 27.0 | 19.0 | 11.7 | 9.8 | 0.0 | 100.0 |
| | 40대 (n=106) | 34.0 | 30.2 | 14.2 | 18.9 | 2.8 | 0.0 | 100.0 |
| | 50대 (n=123) | 32.5 | 31.7 | 16.3 | 16.3 | 3.3 | 0.0 | 100.0 |

3) 풋사과 다이어트와 칼라만시 열풍



[그림] 네이버 시기별 검색 수 (검색어 : 와일드망고, 새싹보리, 시나몬물 등)

- 검색사이트 네이버의 검색어트렌드를 통해 지난 수년간 칼라만시에 대한 검색이 많이 되었음을 확인 할 수 있으며, 그 다음 와일드 망고, 풋사과, 새싹보리 순으로 나타났음.
- 칼라만시는 껍속 식물로써 금귤 간 교배를 통해 이루어진 키트로포르투넬라속으로 주로 관상용 나무로 사용되었으나 느끼한 음식이 많은 필리핀에서는 칼라만시를 이용한 각종 소스 또는 음식에 사용함.



[그림] 칼라만시(좌)와 풋사과(우)

- 2013년 이전까지는 필리핀 및 베트남 기념품 정도로 인식되어오다 2013년 블로거 및 바이럴 마케팅을 펼치면서 다이어스 및 디톡스에 좋다고 알려지면서 선풍적인 인기를 끌었음.
- 칼라만시의 주요 수출국인 베트남의 대남 수출규모는 2012년 58만달러에서 2016년 522만달러로 급증하였음.
- 풋사과의 경우 익기전의 사과로, 항산화 성분인 폴리페놀이 완숙과에 비해 10배가 높다고 알려져 있으며, 폴리페놀은 체지방 흡수를 방해하여 체지방감소에 도움을 줄 수 있는 식품으로 인정받아 개별인정원료로 등록되었음.
- 이러한 시장의 변화 뒤엔 FTA에 의한 농산물 시장의 변화로 인해 기인된 것으로 판단됨.

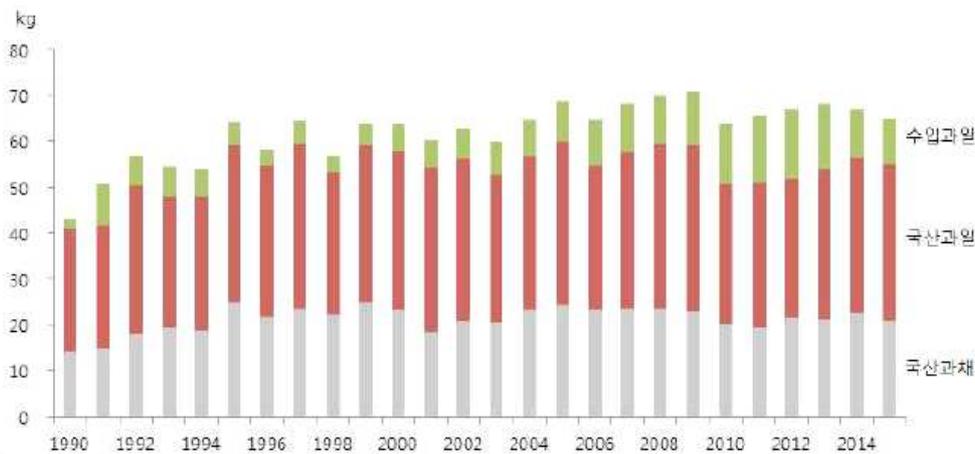
- 한국농촌경제연구원의 과일 소비트렌드 변화와 과실산업 대응방안 보고서에서는 과일 1인당 소비량은 1990년에 빠르게 증가하다가 2000년대 들어서는 정체되었으며, 2000년대 정체된 과일 1인당 소비량 중 수입과일 소비량만 연 3.6%씩 증가하면서 가공품을 포함한 과일 자급률은 70.3%로 하락하여 국산 과일의 입지가 좁아지고 있다고 보고있으며 2000년대 들어 FTA 체결 확대등으로 과일 수입량 증가와 품목 다양화로 소비자는 기호에 따라 과일을 수입할 수 있게 되었고, 인구·사회적 여건 변화에 따라 과일 소비트렌드도 변화되었음을 말하고 있음.

[표] 과일류 품목별 1인당 연간 소비량

(단위 : kg)

| 사과 | 배 | 단감 | 포도 | 복숭아 | 귤 | 유자 | 자두 | 참다래 | 바나나 |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 8.83 | 3.49 | 2.92 | 3.98 | 4.08 | 9.65 | 0.17 | 1.09 | 0.81 | 3.84 |
| 파인애플 | 오렌지 | 자몽 | 토마토 | 수박 | 참외 | 딸기 | 멜론 | 기타 | 총소비량 |
| 1.21 | 1.44 | 0.30 | 7.90 | 7.29 | 2.02 | 2.99 | 0.58 | 2.47 | 65.1 |

- 2015년 국산과일 소비량은 총 소비량의 52.6%인 34.2kg이며, 과채 소비량은 20.8kg(31.9%), 수입 과일 소비량은 10.1kg(15.5%)임.
- 다소비 과일은 국산과일 중에서는 귤과 사과, 과채는 토마토와 수박, 수입과일에서는 바나나 순이며, 귤의 소비량이 가장 높은 소비량은 보이고 있음.



주 : 국산과일(사과, 배, 단감, 포도, 복숭아, 귤, 유자, 자두), 국산과채(토마토, 수박, 참외, 딸기, 멜론), 수입과일(바나나, 파인애플, 오렌지, 자몽, 키위, 기타)

[그림] 과일류 1인당 연간 소비량 추이

- 그러나 과일류 1인당 연간 소비량 추이에서 보다시피 수입과일의 소비량이 증가하는 추세임.



[그림] 과일 및 과일가공품 1인당 1일 섭취량 변화

- 신선과일은 2001년 197.7g에서 2015년 185.6g으로 6.1% 감소한 반면, 과일가공품은 같은 기간 9.5g에서 12.7g으로 33.7% 증가하였음. 1인당 1일 과일가공품의 섭취량이 증가하는 만큼 과일가공품의 개발이 지속적으로 필요함.



[그림] 과일 및 과일 소비트렌드 검색어와의 연관어

- 빅카인즈 사이트를 통해 과일 소비트렌드의 특징을 알아보기 위해 검색키워드는 과일과 과일 소비트렌드로 하였음. 검색 기간은 최근의 과일 소비트렌드를 반영하기 위해 최근 1년으로 검색하였음.
- 최근 1년 기준 과일 검색어와의 연관어를 살펴보면, 당도, 식감, 고품질, 일조량과 같은 당도 선호, 주씨, 후룩칩과 같은 편이성, 체리, 칼라만시, 신제품 론칭과 같은 다양화, 비타민C, 영양소 같은 건강기능성 순서로 나타남.

[표] 과일 및 과일 소비트렌드 검색어와의 연관어 분석 결과(최근 1년)

| 소비트렌드 특징 | 검색 키워드의 연관어 | | 가중치 정보(%) | | |
|--------------|------------------------|--------------------|-----------|----------|------|
| | 과일 | 과일 소비트렌드 | 과일 | 과일 소비트렌드 | 소계 |
| 다양화 추구 | 바나나, 칼라만시, 체리, 여름철, 훈청 | 상품화, 신제품, 컬러농산물 | 20.8 | 14.9 | 35.7 |
| 건강기능성 추구 | 비타민C, 칼라만시, 영양소 | 컬러농산물, 슈퍼곡물, 신선농산물 | 16.3 | 16.8 | 33.1 |
| 당도 선호 | 당도, 식감, 고품질, 일조량 | 명절선물 | 32.8 | 8.4 | 41.2 |
| 편이성 추구 | 쭈쭈, 후춧컵, CJ제일제당, 해태제과 | 후춧컵, 편이성, 세븐일레븐 | 30.1 | 34.6 | 64.7 |
| 가성비 추구 (중소과) | - | 가성비, 등외품, 기계부, 가격대 | 0.0 | 25.3 | 25.3 |

○ 과일 소비트렌드의 특징으로 파악되는 다섯 가지와 관련된 키워드가 2000년 이후 뉴스나 기사에서 발견된 빈도를 살펴보면, 다양화와 건강기능성이 압도적으로 많이 발견되었음. 다음으로 당도, 편이성, 가성비 등의 순서로 나타났음.

[표] 성인과 청소년의 과일 선호 품목 선택 이유

단위: %, 명

| 구분 | 맛 | 건강기능성 | 품질 | 취급섭취 간편성 | 안전성 | 기타 | 응답수 |
|-----|------|-------|------|----------|-----|-----|--------|
| 전체 | 47.0 | 22.9 | 15.2 | 13.9 | 0.7 | 0.4 | 11,350 |
| 성인 | 46.1 | 24.6 | 14.3 | 13.9 | 0.7 | 0.4 | 9,714 |
| 청소년 | 51.8 | 12.6 | 20.5 | 13.9 | 0.6 | 0.6 | 1,636 |

[표] 과일 선호 품목의 선택 이유

| 구분 | 맛 | 건강기능성 | 취급섭취간편성 | 품질 | 안전성 |
|-----|------------|--------------|---------|---------------|--------|
| 국내산 | 복숭아, (멜론) | 사과, 홍시, 토마토 | 감귤, 자두 | 참외, 멜론, 복숭아 | (토마토) |
| 수입 | (망고, 파인애플) | 키위, 자몽, 블루베리 | 바나나, 체리 | 오렌지, 망고, 파인애플 | (블루베리) |

주: 선호 이유별 전체 평균에서 5%p 이상 높은 품목이며, () 안은 2.5~5%p 미만 높은 품목임.

○ 감귤류를 선호하는 이유는 취급 및 섭취가 간편한 것이 주요 이유. 특히 언론에서 기능성 성분이나 다이어트 식단, 요리법 등이 소개되면 해당 과일 소비가 크게 증가하는데, 최근에는 아보카도에 함유된 불포화지방산이 언론과 SNS에 자주 소개되면서 아보카도의 수입이 급격하게 증가하고 있음. 또한 디톡스 열풍으로 바나나와 자몽, 레몬, 칼라만시 등 생과와 건조칩, 과일원액 등의 수요가 증가하고 있음.

[표] 소비자가 구입 가능한 과일 품종의 다양화

| 2000년 | 2016년 |
|-------------------|----------------------------|
| 일반감귤, 한라봉, 금귤, 청견 | 천혜향, 레드향, 진지향, 황금향, 카라향 |
| 씨 있는 수입포도 | 씨 없는 수입청포도·적포도, 청포도(샤인머스켓) |
| 일반토마토, 방울토마토 | 대추토마토, 컬러토마토, 송이토마토 |
| 일반수박, 복수박 | 컬러수박, 애플수박 |
| 바나나 | 몽키바나나, 로즈바나나 |
| 그린키위 | 골드키위, 레드키위 |

○ 소비자들의 다양화 추구 : 같은 과종에서도 품종이 다양화됨에 따라 소비자가 선택할 수 있는 종류가 많아졌으며, 감귤류는 천혜향과 레드향 등 만감류 위주로 증가하고 있고, 토마토는 당도가 높은 대추토마토와 이색적인 컬러토마토, 송이토마토 등 모양과 색깔이 다양한 품종이 출하되고 있음. 수입포도도 과거에는 포도알은 크지만 씨가 있는 레드글로브가 주로 수입되었으나 최근에는 씨가 없고 당도가 높은 청포도와 적포도 수입비중이 크게 증가하고 있음.

4) 대체식품 필요성 대두, 대체식품으로 풋귤!

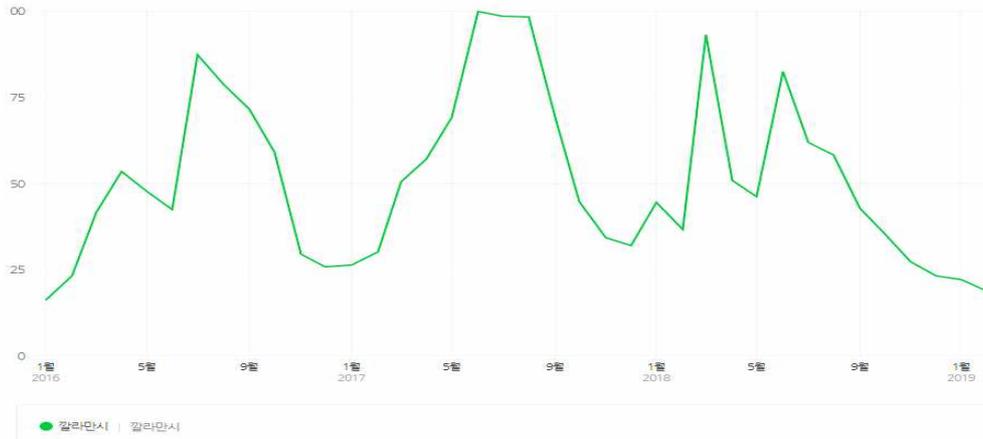
○ 앞서 설명하였듯이 살과의 전쟁을 하고 있는 현 시대에 많은 소비자들은 다양한 방법으로 다이어트 또는 건강해지기 위하여 체중조절식품을 섭취하고 있으며, 이에 따라 가공식품 시장은 변화를 하고 있음.

○ 이를 위해 건강하게 체중조절을 하려는 경향이 높아졌고 단순한 단식을 통한 체중조절이 아닌 먹으면서 뺄 수 있는 건강한 체중조절을 선호하고 있음

○ 때문에 가공식품 시장은 여기에 맞춰 다양한 상품들을 선보이고 있으며, 이에 활용되는 원료는 FTA로 인해 수입 원료가 많이 사용되어 졌으며, 더불어 신선 과일 또한 수입 과일의 비율이 높아지는 경향을 띄게 되었음

○ 그러나 이러한 실정으로 인해 국내 과일 소비 시장이 위축되는 등 국내 과일 업계의 변화가 필요한 실정이 되었음

○ 칼라만시의 경우 선풍적 인기뒤엔 지난해 식약처의 대대적인 단속으로 그 기세가 꺾이기 시작하였고, 그동안 칼라만시의 효능에 대해 검증된 바가 없으며 클렌징 효과가 없다는 발표 이후 그 기세는 꺾이기 시작하였음.



[그림] 네이버 시기별 검색 수 (검색어 : 갈라만시)

○ 실제로 식약처가 발표한 10월 이후부터 검색수가 줄어들었음을 확인 할 수 있음

[표] 성인과 청소년의 선호 과일 유형

단위: %

| 구분 | 달콤한 것 | 새콤한 것 | 신맛, 단맛 균형 | 향기 좋은 것 | 식감 좋은 것 |
|-----|-------|-------|-----------|----------|---------|
| 성인 | 44.7 | 27.5 | 26.0 | 16.3 | 27.3 |
| 청소년 | 58.8 | 34.1 | 33.5 | 19.4 | 26.1 |
| 구분 | 신선한 것 | 제철과일 | 먹기 쉬운 것 | 건강에 좋은 것 | |
| 성인 | 41.7 | 40.9 | 14.2 | 11.9 | |
| 청소년 | 28.0 | 31.7 | 16.2 | 5.1 | |

[표] 가구주 연령별 과일 지출액 순서

| 순위 | 20대 이하 | | 30대 | | 40대 | | 50대 | | 60대 | | 70대 | | 80대 이상 | |
|----|--------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| | 2010 | 2016 | 2010 | 2016 | 2010 | 2016 | 2010 | 2016 | 2010 | 2016 | 2010 | 2016 | 2010 | 2016 |
| 1 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 | 사과 | 사과 | 사과 | 사과 | 사과 | 사과 | 사과 | 사과 | 사과 | 사과 |
| 2 | 사과 | 사과 | 사과 | 사과 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 | 감귤류 |
| 3 | 수박 | 기타 과일 | 딸기 | 기타 과일 | 포도 | 기타 과일 | 포도 | 기타 과일 | 기타 과일 | 기타 과일 | 기타 과일 | 기타 과일 | 기타 과일 | 기타 과일 |
| 4 | 딸기 | 과일 가공품 | 포도 | 딸기 | 기타 과일 | 딸기 | 기타 과일 | 과일 가공품 | 포도 | 과일 가공품 | 포도 | 과일 가공품 | 수박 | 포도 |
| 5 | 기타 과일 | 딸기 | 기타 과일 | 수박 | 수박 | 과일 가공품 | 수박 | 딸기 | 수박 | 수박 | 수박 | 바나나 | 참외 | 과일 가공품 |

○ 더불어 건강을 위한 과일의 소비와 함께 제철과일이 몸에 좋다는 인식이 확산되었고, 가장 손쉽게 먹을 수 있는 감귤류는 그동안 가구별 과일 지출액의 상위권을 지속적으로 차지하고 있음

○ 여러 요인에 의하여 시장의 변화와 함께 특별히 제주도의 감귤사업은 육지의 쌀 사업과 견줄만큼 제주도의 우수한 자원임에도 불과하고, 가구당 과일 지출액의 상위권에 랭크될 정도로 많은 소비가 이루어지고 있으나, 실제 제주도 감귤시장은 위축되어져 가고 있으며, 지구 온난화의 여파로 제주에서만 재배될 수 있었던 감귤류가 육지부에서도 재배되는 등 제주 감귤 산업에 악

재가 되었음

- 이러한 실정에 도는 그동안 생산량 조절이라는 명목으로 익지 않은 궤를 미리 제거함으로써 궤 유통량을 조절하였으며, 2016년 궤생산 및 유통에 관한 조례의 내용을 수정하여, 미리 따는 궤를 궤궤이라 칭하고, 이에 따른 연구결과를 발표하는 등 궤궤에 대한 우수성을 홍보하고 있음



[그림] 노지온주말궤 궤궤(좌)와 제주재래 청궤(우)

- 2016년부터 처음으로 덜 익은 궤인 궤궤를 시장에 유통시킬 수 있는 조례를 마련함으로써 농가의 새로운 소득원으로써 자리매김 하고 있으며, 궤궤산업의 고질적 문제로 여겨졌던 특정 시기에 집중되었던 생산량을 분산시킴으로써 궤궤과 궤궤의 가격을 안정화 할 수 있었음



[그림] 궤궤생애주기 및 궤궤수확시기

- 이에 따라 궤궤가 2016년부터 궤궤청 등 식품원료나 가공소재로 이용되고 있으며, 2017년 처음으로 농협과 제주궤궤농업협동조합을 통해 생과일 형태로 소비지시장(하나로마트)에서 판매되었으며, 9월엔 NS홈쇼핑을 통해 홈쇼핑 라이브 방송을 진행하였음



[그림] 풋귤 흡쇼핑 방송 사진(NS흡쇼핑, 2017.09)

- 향후 풋귤을 이용한 가공식품 산업화가 이루어진다면 풋귤을 생산하기 위한 재배체계로 전환 될 가능성이 있으며, 감귤 생산과잉 조정으로 제 가격을 유지해 농가 소득 향상 효과를 기대할 수 있음



[그림] 풋귤과 완숙과의 영양성분 함량

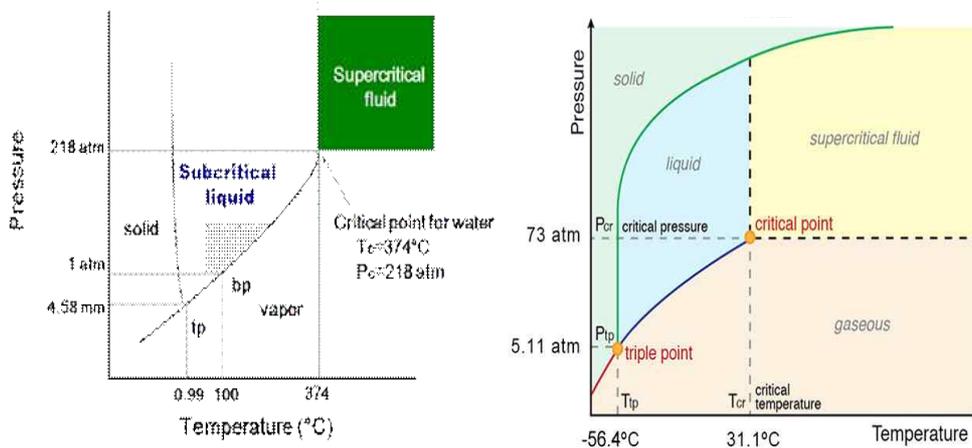
- 풋귤(덜 익은 은주밀감)은 고지혈증 예방과 노화억제, 비만 개선 등에 효과가 있는 플라보노이드 성분 함량이 높아 식품 및 기능성 원료로서 소비자 기호변화, 건강 기능성 식품에 대한 관심이 높아지면서 풋귤 생산을 주목적으로 재배하는 농가가 늘어나고 있음

5) 풋귤의 대량, 고효능, 친환경 추출공정

- 현재 사용되고 있는 다양한 기능소재의 추출은 대부분 유기용매를 사용하고 있는데, 유기용매는 독성이 있어 추출 후 증류 공정을 통하여 잔류용매를 제거하여야 하며, 추출수율이 낮고 추출시간이 긴 단점을 가지고 있음
- 아임계수 추출기술은 100℃ 이상에서 추출용매로 물을 사용하기 때문에 무독성이며 친환경적이며 추출수율이 높고 추출시간이 짧은 장점을 가지고 있음
- 감귤의 주요 기능성 성분인 플라보노이드류는 중간극성을 띠는 성분들로서 기존에는 주로 메탄올과 같은 유기용매를 사용하여 추출하였음
- 물의 온도를 높이면 유전상수(dielectric constant) 값이 낮아져서 메탄올, 에탄올과 같은 유기용매의 성질을 띠게 되므로 플라보노이드와 같은 중간극성의 성분을 추출할 수 있게 되므로 추출

용매로 유기용매를 사용하는 것일 피할 수 있는 장점이 있음

- 기존의 가수분해 공정에서는 주로 산이나 알카리를 첨가하여 실시하는데, 화학약품의 독성과 미량의 독성 성분의 잔류 가능성으로 인하여 식품소재의 제조에 문제가 있음
- 아임계수 가수분해법은 물의 온도가 100°C 이상으로 올라가면 물분자 사이의 수소결합이 붕괴되어 물의 수소이온농도가 높아지므로 이온상수가 높아져서 pH가 낮아지므로 가수분해 촉매로 역할을 하게 됨. 이산화탄소를 일부 첨가하면 가수분해를 더욱 촉진시킬 수 있게 됨. 따라서 100°C 이상의 물을 사용하면 친환경 공정으로 가수분해 효과를 얻을 수 있음
- 반응표면 분석법을 이용하여 아임계수 추출 및 가수분해 공정을 최적화 및 표준화하고 주정 추출 공정과 비교하여 경제성 있는 공정을 개발할 필요가 있음



[그림] 초임계와 아임계 영역(좌) 및 초임계 이산화탄소(우)의 임계 온도와 압력

1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

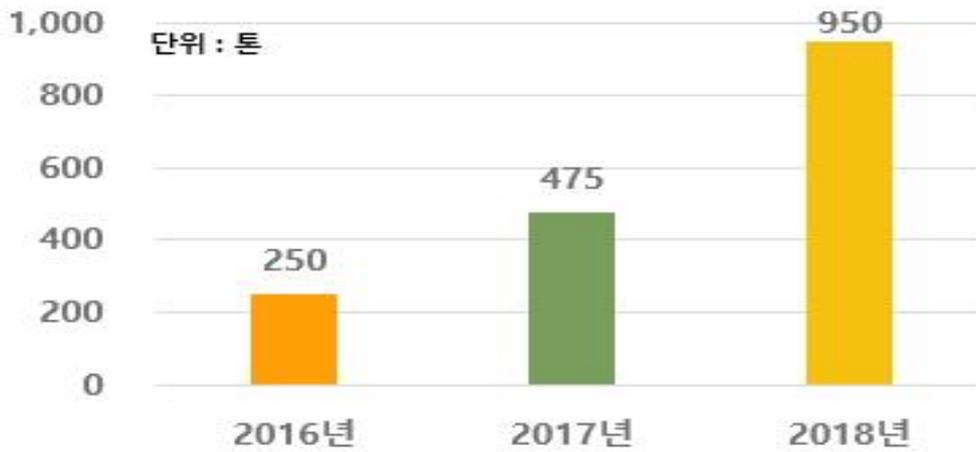
가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

1) 기술현황

- 아임계수를 이용하여 완속감귤과피로부터 narirutin과 hesperidin을 비연속식으로 소량 추출한 연구는 수행되었으나 기능성이 높은 polymethoxylated flavones(PMF)인 nobiletin, sinensetin, tangeretin을 연속식으로 다량 추출한 연구는 수행되어 있지 않음
- 또한 narirutin과 hesperidin의 가수분해물인 naringenin과 hesperitin은 기능성이 훨씬 높은데, 이들을 얻기 위한 가수분해 연구는 전혀 수행되어 있지 않음

2) 시장현황

- 2016년 제주특별자치도 감귤생산 및 유통에 관한 조례를 개정하여 풋귤의 출하를 허용하였음. 이에 따라 2016년에는 250톤, 2017년에는 475톤, 2018년에는 950톤이 출하되었음.



[그림] 뽕갈 연간 출하량

- 시장에서 판매되고 있는 체중조절식품은 크게 체중조절용 조제식품, 건강기능식품, 기타식품 등으로 나뉘어 볼 수 있음.
- 체중조절용 조제식품은 일반적으로 분말형 웨이크 형태가 가장 많으며, 최근에는 국수, 과자, 시리얼 등 다양한 형태로 확대됨.
- 건강기능식품 중 가르시니아캄보지아추출물, 녹차추출물 등이 들어간 체지방 감소에 도움이 되는 제품은 알약타입이 가장 많으며, 가루나 액상타입도 일부 있음.
- 기타 식품은 체중조절에 대한 별도의 제조 기준을 적용받지는 않았으나, 칼로리를 낮추거나 체중조절에 도움이 되는 성분 등을 일부 추가하며 체중조절식품으로 인식시키고 있음.

가) 체중조절용 조제식품

- 식품공전상의 체중조절용 조제식품은 시장에 분말 형태로 주로 출시되고 있으며, 시리얼, 국수 등 제품으로도 출시되며 그 형태가 다양해지고 있음.
- 식약처 기준 체중조절용 조제식품은 총 845건이 있으며 이중 대부분은 분말형 웨이크임.

[표] 주요 체중조절용 식품

| 제품형태 | 제품명 | 제조사 | 제품성분 | 제품사진 |
|------------|-----------------------------------|-----------------------|--|---|
| 분말형 쉐이크 | 경희 칼로리밸런스 | 콜라비엔에이치(주)푸드 팜사업부문 | 분리대두단백, 결정포도당, 결정과당, 말토덱스트린, 탈 지분유 등 |  |
| | 바이오휴이버 | 아미코젠퍼시픽 | 귀리화이버, 치커리뿌리추출 물, 대두식이섬유, 차전자피 분말, 펙틴 등 |  |
| | 팻클린밀 | 송인내추럴팜 주식회사 | 대두단백, 치커리화이버, 선 식가루, 고지베리팻클린, 가 르시아감보지아추출물 등 |  |
| | 다이어트쉐이크 쿠키 앤크림 | 콜라비엔에이치(주)푸드 팜사업부문 | 유당혼합분말, 분리대두단백, 혼합탈지분유, 유청분말, 결 정과당 등 |  |
| | 통통한 팔 다이어트 쉐이크 | (주)한미양행 | 분리대두단백, 귀리식이섬유, 결정과당, 치커리뿌리추출물 분말, 볶음팻분말 등 |  |
| | 올로프로시그니처카카 오 | (주)웰츄럴바이어 | 인스턴트농축유청단백, 포도 당, 카카오파우더, 결정과당, 혼합탈지분유, 유청분말 등 |  |
| HMR형태 | 더슬림 다이어트도시 락 곤약고구마밥과 바 삭불고기 | (주)다솜푸드 | 곤약야채현미볶음밥, 소불고 기, 비타프로 CWD, 미니후라 이, 그린콩씨앗 등 |  |
| | 다섯가지나물밥&큐브 어묵 | (주)씨케이케이 | 다섯가지나물밥, 큐브어묵, 혼합야채, 핫앤스파이스소서, 비타민미네랄믹스-SA |  |
| 과자형태 | 칼로리바란스 | 해태 | 밀가루, 기타설탕, 마가린, 팜 에스테르화유, 야자에스테르 화유 등 |  |
| 과자형태 | 바디키 바이뉴트리라 이트 뉴트리션 바 | (주)엄마사랑 | 프락토올리고당, 분리대두단 백너겟, 크리스피브라운라이 스, 건조코린베리바이츠 등 |  |
| 시리얼형태 | 스페셜K(고구마%바나 나) | 농심켈로그주식회사 | 범프드라이스, 통밀분, 설탕, 밀단백질, 바나나칩, 바나나, 코코넛오일, 설탕 등 |  |
| | 스페셜K 뉴트리핏 살 구&크린베리 | 농심켈로그주식회사 | 범프드라이스, 통밀가루, 설탕, 밀글루텐, 폴리덱스트로 스, 등 |  |
| 라면류 | 다이어트누들 곤약 잔치국수 | 청정원 | 정제수, 저감미당, 유청단백, 곤약분, 멸치엑기, 멸치추출 베이스 등 |  |

나) 건강기능식품 중 체지방감소에 도움이 되는 식품

○ 식품제조사 및 제약회사들에서 건강기능식품 중 체지방감소에 도움이 되는 제품 출시가 활발함. 현재 체지방 감소에 도움을 주는 원료는 총 32가지로, 개별인정형이 28가지, 고시형이 4가지임.

[표] 체지방감소에 도움이 되는 원료

| 원료명 | 구분 | 기능성내용 | 일일섭취량 |
|-----------------------------|-------|--|--|
| 히비스커스 등 복합 추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 히비스커스등복합추출물로서 2,079mg/일 |
| APIC대두베아열수추출물 등 복합물 | 개별인정형 | 체지방의 감소에 도움을 줄 수 있음 | APIC 대두베아열수추출물로서 700mg/일 |
| 중쇄지방산 함유유지 | 개별인정형 | 이 제품은 중쇄지방산을 함유하고 있어 다른 식용유와 비교하였을 때 체지방 증가가 적을 수 있음 | 일반 식용유 섭취방법과 동일 |
| 디글리세라이드 함유유지 | 개별인정형 | 이 제품은 디글리세라이드를 함유하고 있어 다른 식용유와 비교하였을 때 식후 혈중 중성지방과 체지방 증가가 적을 수 있음 | 일반 식용유 섭취방법과 동일 |
| 콜레우스 포스폴리 추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 콜레우스 포스폴리 추출물 500mg/일 |
| 깻잎추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 깻잎추출물(PF501)로서 2.7g/일 |
| 레몬 밤 추출물 혼합분말 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 레몬밤 추출물 혼합분말로서 1,380mg/일 |
| L-카르니틴 타르테이트 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | L-카르니틴으로서 2g/일 |
| 서목태(쥐눈이콩)펩타이드 | 개별인정형 | 혈당 조절에 도움을 줄 수 있음 혈압이 높은 사람에게 도움을 줄 수 있음 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 서목태(쥐눈이콩)펩타이드로서 4.5 g/일 |
| 돌외잎주정추출분말 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 돌외잎주정추출분말로서 450mg/일 |
| 마태열수추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있으나, 관련 인체적용시험이 미흡함 | 마태열수추출물로서 3g/일 |
| 핑거루트추출분말 | 개별인정형 | 자외선에 의한 피부손상으로부터 피부 건강을 유지하는 데 도움을 줄 수 있음 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 칭거루트추출분말로서 600mg/일 |
| 미역등복합추출물(진티젠) | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 미역 등 복합추출물(진티젠)로서 600mg/일 |
| 그린마테추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | Green Mate Extract EFILA® 920으로 3g/일 |
| 락토파린(우유정제단백질) | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 300 mg/일 |
| Lactobacillus gasseri BNR17 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | Lactobacillus gasseri BNR17로서 1.0 x 10 ¹⁰ CFU/일 |
| 중쇄지방산(MCFA) 함유유지 | 개별인정형 | 이 제품은 중쇄지방산을 함유하고있어 다른 식용유와 비교하였을 때 체지방증가가 적을 수 있음 | 일반식용유 섭취방법과 동일 |
| 보이차추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음 | 신청원료로서 1 g/일 |
| 발효식초석류복합물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 신청원료로서 22ml/일 |
| 와일드망고 종자추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 신청원료로서 300mg/일 |
| 그린커피빈추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 신청원료로서 400mg/일 |
| 발효식초석류복합물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 발효식초석류복합물로서 22ml/일 |
| 풋사과 추출물 애플페논 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 풋사과 추출물 애플페논로서 600mg/일 |
| 와일드 망고 종자추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 와일드 망고 종자추출물로서 300mg/일 |

| | | | |
|-----------------------------|--------|---|--|
| 핑거루트추출분말(판두리틴) | 개별인정형 | 자외선에 의한 피부손상으로부터 피부 건강을 유지하는데 도움을 줄 수 있음 체지방감소에 도움을 줄 수 있음 피부보습에 도움을 줄 수 있음 | 핑거루트추출분말로서 600 mg/일 |
| Lactobacillus gasseri BNR17 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | Lactobacillus gasseri BNR17로서 1 x 10 ¹⁰ CFU/일 |
| 그린커피빈주정추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 그린커피빈주정추출물로서 500mg/일 |
| 시서스추출물 | 개별인정형 | 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 시서스추출물로서 300mg/일 |
| 가르시니아캄보지아 추출물 | 가능성 원료 | 탄수화물이 지방으로 합성되는 것을 억제하여 체지방 감소에 도움을 줌 | 총(-)-Hydroxycitric acid로서 750~2,800 mg |
| 녹차추출물 | 가능성 원료 | 항산화·체지방 감소·혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음 | 카테킨으로서 0.3~1 g |
| 공액리놀레산 | 가능성 원료 | 과체중인 성인의 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 공액리놀레산으로 1.4~4.2 g |
| 키토산/키토올리고당 | 가능성 원료 | 혈중 콜레스테롤 개선·체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 | 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음 : 키토산 또는 키토올리고당으로서 1.2~4.5 g 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 : 키토산으로서 3.0~4.5g |

- 가장 대표적인 체지방 감소 기능성 원료는 ‘가르시니아캄보지아 추출물(HCA)’ 로 이를 주원료로 제품이 다이어트용으로서 가장 많이 시중에 유통되고 있음
- 시중에 유통되는 제품 중 체중조절식품으로 가장 많이 유통되는 것은 가르시니아캄보지아추출물로써 2017년 건강기능식품 총매출액 1조 9,924억 중 8번째인 294억원에 이릅니다. 이후 녹차추출물이 201억으로 10번째임. 개별인정원료 중 보이차 추출물은 184억, 풋사과추출폴리페놀은 114억원임

[표] 체중조절식품 원료별 매출액 [고시형(좌) 및 개별인정형(우)]

| 구 분 | 매출액(억원) | 비율(%) | 구 분 | 매출액(억원) | 비율(%) |
|---|----------|-------|--------------------|---------|-------|
| 계 | 19,924.3 | 100 | 계 | 2,449.6 | 100 |
| 홍삼 | 10,357.8 | 52.0 | HemoHIM 당귀등혼합추출물 | 581.7 | 23.7 |
| 비타민 및 무기질 | 2,259.4 | 11.3 | 뿔개나무과병추출분말 | 226.4 | 9.2 |
| 프로바이오틱스 | 2,173.9 | 10.9 | 초록입홍합추출오일복합물 | 193.5 | 7.9 |
| 밀크씨슬(카르두스 마리아누스) 추출물 | 1,041.9 | 5.2 | 보이차추출물 | 184.7 | 7.5 |
| EPA 및 DHA 함유 유지 | 625.1 | 3.1 | 폴리코사놀-사탕수수 왁스알코올 | 114.5 | 4.7 |
| 알로에 겔 | 375.9 | 1.9 | 풋사과추출폴리페놀 | 114.3 | 4.7 |
| 루테인 | 356.8 | 1.8 | 과채유래유산균 | 77.0 | 3.1 |
| 가르시니아캄보지아 추출물 | 294.3 | 1.5 | 미역 등 복합추출물(잔티젠) | 70.4 | 2.9 |
| 인삼 | 203.6 | 1.0 | 황기추출물 등 복합물(HT042) | 66.7 | 2.7 |
| 녹차추출물 | 200.7 | 1.0 | 저분자콜라겐펩타이드 | 59.5 | 2.4 |
| 차전자피식이섬유 | 178.9 | 0.9 | 석류농축액 | 54.9 | 2.2 |
| 알로에 전잎 | 151.4 | 0.8 | PME-88 메론추출물 | 44.5 | 1.8 |
| 쑥말매도 열매 추출물 | 133.6 | 0.7 | 백수오 등 복합추출물 | 39.8 | 1.6 |
| 프로폴리스추출물 | 118.5 | 0.6 | 강황추출물 | 39.7 | 1.6 |
| 난소화성말토덱스트린 | 114.9 | 0.6 | 대두배아열수추출물 등 복합물 | 38.9 | 1.6 |
| 염아스엔(MSM Methyl sulfonylmethane, 디메틸설파이드) | 110.2 | 0.6 | 핑거루트추출분말 | 38.1 | 1.6 |
| 클로렐라 | 103.4 | 0.5 | 보스웰리아 추출물 | 36.3 | 1.5 |
| 코엔자임Q10 | 99.7 | 0.5 | 루테인지아잔틴복합추출물20% | 33.8 | 1.4 |
| 대두이소플라본 | 94.1 | 0.5 | 돌외잎주정추출분말 | 31.8 | 1.3 |
| NGC(엔데지 N-아세틸글루코사민 N-Acetylglucosamine) | 91.3 | 0.5 | 나토배양물 | 22.9 | 0.9 |
| 스피루리나 | 82.6 | 0.4 | 콜레우스 포스콜리 추출물 | 20.1 | 0.8 |
| 은행잎 추출물 | 81.9 | 0.4 | 피카오프레토 분말 등 복합물 | 19.5 | 0.8 |
| 스쿠알렌 | 70.2 | 0.4 | 그린커피빈추출물 | 17.4 | 0.7 |
| | | | 회화나무 열매추출물 | 17.3 | 0.7 |
| | | | 피크노제놀-프랑스해안송김질추출물 | 17.1 | 0.7 |
| | | | 알로에추출물분말 | 16.9 | 0.7 |
| | | | 밀전분유래난소화성말토덱스트린 | 16.8 | 0.7 |
| | | | 피브로인추출물BF-7 | 14.9 | 0.6 |

- 품목별로는 2017년 기준 건강기능식품 총 제품 수는 21,500개이며, 이중 4번째로 가르시니아카보 보지아추출물이 1,211개로 가장 많은 제품 수를 나타냈으며, 이후로 키토산/키토올리고당이 234개, 녹차추출물이 201개, 공액리놀레산이 158개 순으로 나타났음. 개별인정형 제품 중 총 1,429개 제품 중 9번째인 미역 등 복합추출물(잔티젠)이 43개로 가장 많은 제품 수를 나타냈으며, 이후 레몬 밤 추출물 혼합분말이 34개, 돌외잎주정추출분말이 21개, 와일드망고 종차추출물이 20개, 풋사과추출폴리페놀이 18개 순으로 나타났음

[표] 지역별 건강기능식품 제품

(단위 : 개)

| 구분 | 총계 | 서울 | 부산 | 대구 | 인천 | 대전 | 울산 | 세종 | 경기 | 강원 | 충북 | 충남 | 전북 | 전남 | 경북 | 경남 | 제주 |
|--|--------|-----|----|-----|-----|-----|----|----|-------|-------|-------|-------|-----|-----|-----|-----|----|
| 계 | 21,500 | 142 | 30 | 144 | 133 | 123 | 11 | 62 | 6,304 | 1,649 | 8,470 | 2,103 | 563 | 936 | 277 | 509 | 44 |
| 비타민 및 무기질 | 5,917 | 32 | 15 | 9 | 14 | 3 | - | 30 | 1,676 | 538 | 2,519 | 340 | 123 | 474 | 28 | 114 | 2 |
| 홍삼 | 3,059 | 16 | - | 7 | 54 | 72 | - | 3 | 692 | 222 | 710 | 918 | 69 | 57 | 170 | 67 | 2 |
| 프로바이오틱스 | 2,403 | 14 | - | - | 2 | - | - | 2 | 1,071 | 329 | 657 | 66 | 88 | 53 | 2 | 119 | - |
| 개별인정형 | 1,429 | 25 | 2 | 14 | 4 | 24 | - | 6 | 324 | 47 | 812 | 54 | 36 | 23 | 9 | 48 | 1 |
| 가르시니아카보보지아 추출물 | 1,211 | - | 7 | 8 | 3 | - | - | - | 348 | 81 | 555 | 101 | 38 | 50 | 5 | 15 | - |
| EPA 및 DHA 함유 유지 | 980 | 1 | 3 | - | 1 | - | 9 | 1 | 290 | 20 | 523 | 69 | 16 | 40 | 1 | 6 | - |
| 프로폴리스추출물 | 484 | 14 | - | - | 3 | 20 | - | 2 | 162 | 31 | 150 | 22 | 54 | 16 | 4 | 6 | - |
| 밀크씨슬(카르두스 마리아누스) 추출물 | 473 | 8 | - | - | 2 | 1 | - | - | 140 | 46 | 196 | 45 | 5 | 15 | 6 | 9 | - |
| 루테인 | 427 | 10 | - | - | 2 | - | - | 1 | 134 | 6 | 221 | 33 | 3 | 11 | - | 6 | - |
| 엠에스엔(MSM, Methyl sulfonylmethane, 디메틸설폰) | 365 | - | - | 3 | - | - | - | - | 103 | 19 | 165 | 36 | 17 | 15 | 4 | 3 | - |
| 차전자피식이섬유 | 342 | 2 | - | - | 8 | - | - | 8 | 89 | 36 | 97 | 55 | 3 | 40 | 3 | 1 | - |
| 단백질 | 323 | - | - | 96 | - | - | - | - | 115 | 13 | 65 | 3 | 13 | 3 | 14 | 1 | - |
| 인삼 | 320 | - | - | - | 3 | 1 | - | - | 71 | 86 | 61 | 72 | 6 | 1 | 9 | 10 | - |
| 글루코사민 | 268 | 3 | 1 | - | 5 | - | - | - | 70 | 10 | 119 | 44 | 4 | 10 | - | 2 | - |

[표] 지역별 건강기능식품 제품 수(개별인정형 원료)

(단위 : 개)

| 구분 | 총계 | 서울 | 부산 | 대구 | 인천 | 대전 | 울산 | 세종 | 경기 | 강원 | 충북 | 충남 | 전북 | 전남 | 경북 | 경남 | 제주 |
|------------------------------|-------|----|----|----|----|----|----|----|-----|----|-----|----|----|----|----|----|----|
| 계 | 1,429 | 25 | 2 | 14 | 4 | 24 | - | 6 | 324 | 47 | 812 | 54 | 36 | 23 | 9 | 48 | 1 |
| 나토배양물 | 72 | 3 | - | - | - | - | - | - | 22 | - | 31 | 4 | - | 1 | - | 11 | - |
| 백수오 등 복합추출물 | 71 | - | - | - | - | - | - | - | 23 | - | 46 | - | - | - | - | 2 | - |
| 회향나무 열매추출물 | 58 | - | - | - | - | - | - | - | 4 | 4 | 45 | 2 | 1 | 2 | - | - | - |
| 헛개나무과병추출분말 | 56 | 3 | - | - | - | - | - | - | 5 | 1 | 42 | 4 | - | - | - | 1 | - |
| 루테인지아잔틴복합추출물20% | 55 | - | - | - | - | - | - | - | 4 | - | 51 | - | - | - | - | - | - |
| 표고버섯균사체 | 55 | - | - | - | - | - | - | - | 9 | 1 | 26 | 5 | 2 | 3 | 1 | 8 | - |
| 크레아틴 | 44 | - | - | 7 | - | - | - | - | 10 | 1 | 20 | 1 | 3 | 1 | 1 | - | - |
| 피브로인추출물BF-7 | 44 | - | - | - | - | - | - | - | 22 | - | 18 | - | - | 1 | - | 3 | - |
| 미역 등 복합추출물(잔티젠) | 43 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 42 | - | - | 1 | - | - | - |
| 볼레우스 포스콜리 추출물 | 36 | - | - | - | - | - | - | - | 8 | - | 22 | 4 | 1 | 1 | - | - | - |
| 레몬 밤 추출물 혼합분말 | 34 | - | - | - | - | 19 | - | - | 3 | 1 | 11 | - | - | - | - | - | - |
| L-카르니틴 타르트레이트 | 33 | - | - | 3 | - | - | - | - | 4 | - | 21 | 2 | - | - | 1 | 2 | - |
| 나토균배양분말 | 27 | 1 | - | - | - | - | - | - | 8 | 5 | 8 | 2 | - | 1 | 1 | - | - |
| 솔잎증류농축액 | 26 | - | - | - | - | - | - | - | 11 | - | 12 | 3 | - | - | - | - | - |
| MR-10민들레등복합추출물 | 23 | - | - | - | - | - | - | - | 6 | - | 13 | - | - | 1 | - | 3 | - |
| 다래추출물 | 22 | 2 | - | - | - | - | - | - | 7 | - | 11 | 1 | - | - | - | 1 | - |
| 돌외잎주정추출분말 | 21 | - | - | 1 | - | - | - | - | 4 | - | 15 | 1 | - | - | - | - | - |
| 와일드망고 종차추출물 | 20 | - | - | - | - | - | - | - | 5 | - | 13 | - | 1 | 1 | - | - | - |
| 피크노제놀-프랑스헤인송겍실추출물 | 20 | - | - | - | - | - | - | - | 4 | - | 15 | - | - | 1 | - | - | - |
| 참당귀 추출분말(Nutrigen) | 19 | - | - | - | - | - | - | - | 15 | 2 | 2 | - | - | - | - | - | - |
| 효모베타글루칸 | 19 | - | - | - | - | - | - | - | 5 | 3 | 11 | - | - | - | - | - | - |
| 강황추출물 | 18 | - | - | - | - | - | - | - | 11 | - | 7 | - | - | - | - | - | - |
| 초록잎혼합추출오일복합물 | 18 | 3 | - | - | - | - | - | - | 3 | - | 7 | 3 | - | - | - | 2 | - |
| 폴리코사놀-시탕수수 왁스알코올 | 18 | - | - | - | - | - | - | - | 4 | - | 14 | - | - | - | - | - | - |
| 풋사과추출폴리페놀 | 18 | - | - | - | - | - | - | - | 2 | - | 16 | - | - | - | - | - | - |
| 크랜베리추출물 | 17 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 14 | 1 | - | 2 | - | - | - |
| Lactobacillus sakei Probio65 | 16 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 15 | 1 | - | - | - |

○ 체지방 감소제품은 2016년 918억원에서 2017년 1,138억원으로 매년 증가추세임

[표] 기능성별 매출액

| 기능성 | 매출액(억원,%) | | | |
|--------|-----------|------|----------|------|
| | 2016년 | | 2017년 | |
| 계 | 64,685.2 | 100 | 68,821.4 | 100 |
| 면역기능 | 10,983.5 | 17.0 | 11,710.6 | 17.0 |
| 혈행개선 | 10,884.0 | 16.8 | 11,246.0 | 16.3 |
| 항산화 | 10,642.7 | 16.5 | 11,103.6 | 16.1 |
| 기억력개선 | 10,533.1 | 16.3 | 11,097.1 | 16.1 |
| 피로개선 | 10,487.1 | 16.2 | 10,807.8 | 15.7 |
| 장건강 | 2,788.0 | 4.3 | 3,109.0 | 4.5 |
| 관절/뼈건강 | 2,349.2 | 3.6 | 2,676.0 | 3.9 |
| 간건강 | 1,366.7 | 2.1 | 1,285.4 | 1.9 |
| 체지방감소 | 917.9 | 1.4 | 1,138.4 | 1.7 |
| 눈건강 | 356.0 | 0.6 | 1,029.4 | 1.5 |

다) 체중조절용 기타식품류

- 식품공전상의 체중조절용 조제식품에는 포함되지 않으나, 체중 조절에 효과적인 원료를 추가하거나 칼로리를 줄인 타 식품류 제품들도 다이어트 식품으로 분류됨
- 다이어트 식품으로 녹차와 마테차가 인기를 끌고 있음. 대표적인 다(茶)류 브랜드 오설록은 녹차의 핵심 성분인 카테킨을 함유한 다이어트 차 ‘워터플러스’를 출시했으며, 녹차원의 다이어트식품 브랜드인 비업은 마테차와 페퍼민트차를 결합한 ‘마테민트톡’을 출시함
- 시리얼바 및 시리얼도 대표적인 저칼로리 식품으로 인지도가 있으며, 식사대용으로 섭취할 수 있다는 점에서 체중조절에 이점이 있다고 인식됨. 오리온의 유명 과자브랜드 닥터유에서 ‘99 kcal 라이트바’를 출시하고 있으며, 세계적인 영양식 전문기업인 허벌라이프의 ‘프로틴바 디럭스’ 제품도 유통되고 있음
- 기존 차류, 과자류 등을 벗어나 즉석조리식품에서도 다이어트 제품이 출시되고 있으며, 풀무원의 ‘잇슬림 미니밀’은 다양한 종류의 볶음밥 형태로 섭취칼로리를 조절한 다이어트 제품임

[표] 기능성별 매출액

| 식품유형 | 제품명 | 제조사 | 제품성분 | 제품사진 |
|------|----------------------|--------|--|---|
| 고형차류 | 몸이 가벼워지는 물 오설록 워터플러스 | 아모레퍼시픽 | 차카테킨, 난소화성말토덱스트린2종, 효소처리스테비아, 에리스리톨, 구연산 등 |  |

| | | | | |
|--------|---------------------|---------|---|---|
| 침출차류 | 티젠 마테차 | 티젠 | 마테 |  |
| 액상차 | 잘빠진 하루 우영차 | 롯데칠성음료 | 볶은우영추출액, 정제수, 폴라덱스트로스, L-아스코르빈산나트륨, 탄산수소나트륨 |  |
| 과채주스 | 바디톡갈라만시 | 도투락 | 갈라만시원액 |  |
| 과자류 | 닥터유 99kcal라이트바 | 오리온 | 콘후레이크씨, 오토바SR, 물엿, 블랙비스킷, 건조크린베리, 백성당, 난소화성말토덱스트린 |  |
| 기타가공품 | 레몬디톡워터플러스 | 올댓다이아트 | 무수결정포도당, 레모과즙분말, 치커리화이버, 구연산, 메이플시럽분말, 콜라겐펩타이드 |  |
| 초콜릿가공품 | 프로틴바디력스 | 허벌라이프 | 농축유단백질, 포도당시럽, 과당시럽, 밀크초콜릿, 피넛페이스트 등 |  |
| 즉석조리식품 | 잇슬림 미니밀 양송이버섯통귀리리조또 | 풀무원 | 정제수, 쌀, 닭육수, 양송이큐부, 닭가슴살, 칠리토마토스파게티소스 등 |  |
| 혼합음료 | 레디톡 | 대상 웰라이프 | 정제수, 메이플시럽, 레몬농축액, 사과농축액, 난소화성말토덱스트린, 혼합제제 등 |  |

라) 감귤제품의 시장 현황

[표] 감귤제품 연도별 생산 통계

(단위 : 톤)

| 구분 | 2011년 | 2012년 | 2013년 | 2014년 | 2015년 | 2016년 |
|---------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|
| 감귤주스 | 99,117 | 45,651 | 82,668 | 145,633 | 81,598 | 40,943 |
| 음료 및 기타 | 4,640 | 33,659 | 8,847 | 8,067 | 3,574 | 28,055 |
| 넥타 | 0 | 0 | 0 | 250 | 530 | 436 |
| 통조림 | 460 | 400 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 잼 | 139 | 94 | 17 | 60 | 30 | 107 |
| 술 | 11 | 0 | 0 | 0 | 47 | 39 |
| 합계 | 104,367 | 79,804 | 91,532 | 154,010 | 85,779 | 69,580 |

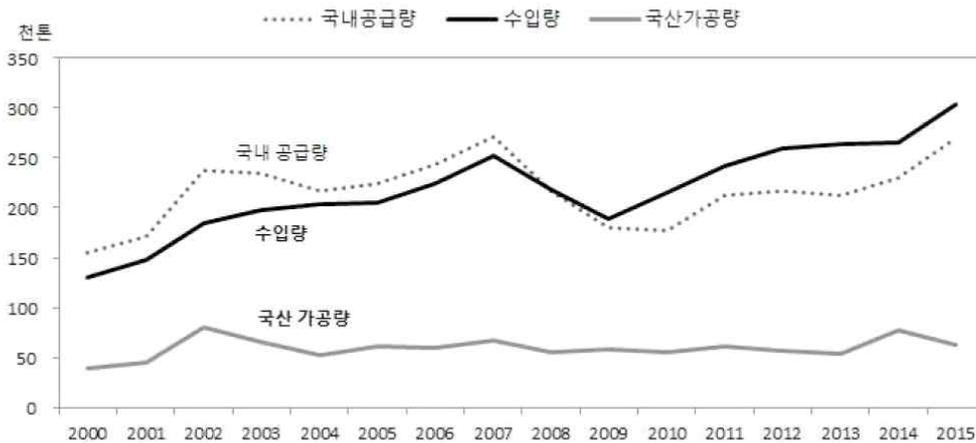
○ ‘2016 과실류 가공현황’ 에 의하면, 감귤주스 및 감귤음료의 2016년도 생산량 합은 약 68,998 톤으로 2011년의 103,757톤에 비해 33% 감소하였고, 2015년도의 85,172톤에 비해 19% 감소하

였음

- 반면 2016년도의 감귤넥타 및 감귤주의 생산량은 점차 증가 추세이며, 2016년도의 주스 이외의 감귤음료 생산량도 예년에 비하여 현저히 증가하였음
- 2011년부터 최근까지 가장 높은 생산량을 기록한 연도는 2014년도였고, 가장 낮은 생산량을 기록한 연도는 2016년도이었으나 점차 제품의 다변화가 이루어지고 있는 추세임
- 따라서 최근의 추세는 감귤주스 일변도의 제품화에서 벗어나 고부가가치 감귤제품들로 다변화되고 있는 추세임

마) 과일가공품 소비행태

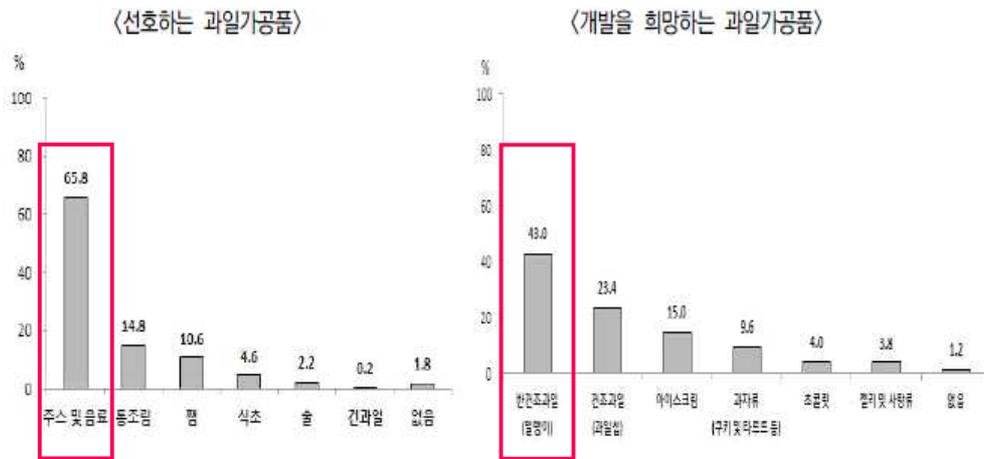
- 국내산 과일을 원료로 이용한 국산 과일 가공량은 2000년 이후 연평균 .1%로 완만하게 증가한 반면, 과일가공품 수입량은 같은 기간 동안 연평균 5.8%로 더 크게 증가
- 이는 국산 과일가공품이 국내의 과일가공품 수요를 충족하지 못해 과일가공품 수입으로 대체된 것으로 판단



[그림] 과일가공품의 국내 공급량 추이

- 국산 과일가공품이 국내 과일가공품에 대한 수요를 충족하지 못한 이유로는 첫째, 국내산 원료의 가격 경쟁력이 수입 원료보다 낮아 국산 원료를 이용한 국내산 과일가공품 가격이 비싸기 때문이며 둘째, 국내산 과일가공품이 수입품보다 다양하지 못하기 때문이며 셋째, 국내산 과일가공품의 품질이 수입품보다 떨어지기 때문
- 또 다른 특징은 국내산 과일가공품 생산량이 많지 않은 가운데, 과일가공품의 수출량이 증가세를 보인다는 것이다. 과일가공품 수출량은 2000년 1만 4,999톤에서 2015년 9만 5,617톤으로 연평균 13.1% 증가
- 과일가공품 중에서 소비자가 선호하는 제품은 주스 및 음료가 65.8%로 가장 높았으며, 다음은

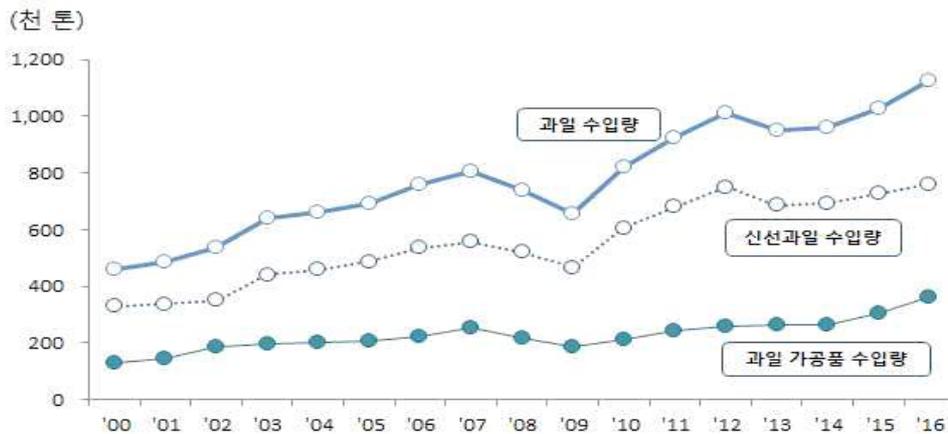
통조림, 썸 등의 순으로 나타남



[그림] 선호하는 과일가공품(좌)과 향후 개발을 희망하는 과일가공품 종류(우)

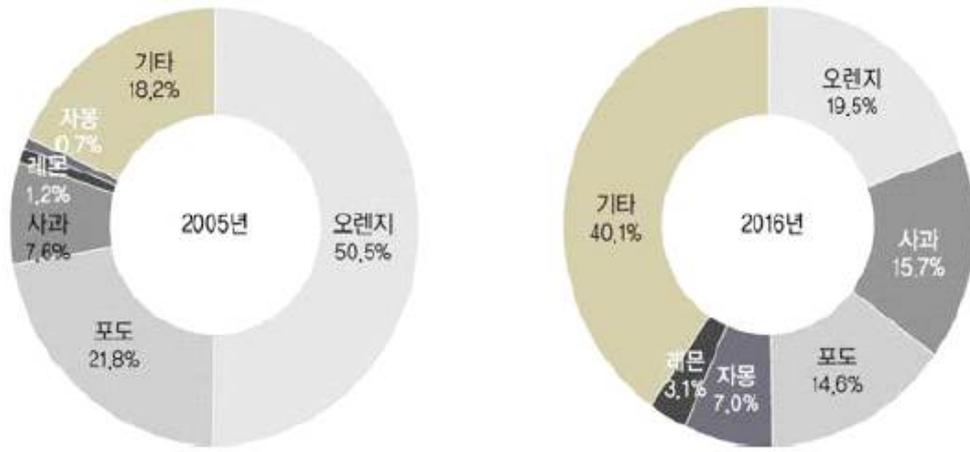
- 향후 어떤 과일가공품이 주로 개발되었으면 하는지에 대해 조사한 결과, 말랭이 형태의 반건조 과일가공품이 43.0%로 가장 높았고, 다음은 칩 형태의 건조과일 가공품(23.4%), 아이스크림(15.0%), 쿠키 및 타르트 등의 과자류(9.6%), 초콜릿(4.0%), 젤리 및 사탕류(3.8%) 등의 순으로 나타남

바) 과일가공품 수입 동향



[그림] 신선과일 및 과일가공품 수입량 추이

- 전체 과일 수입량은 2000년 46만 톤에서 2016년 112만 4천 톤으로 연평균(2000~2016년) 5.7% 증가, 이 중에서 신선과일 수입량은 2000년 33만 톤에서 2016년 76만 톤으로 연평균 5.4% 증가하였고, 과일가공품 수입량은 같은 기간 동안 13만 톤에서 37만 톤까지 연평균 6.4% 증가하여 과일가공품 수입량이 신선보다 더 빠르게 늘어나는 것으로 나타남.
- 과일가공품 수입량은 2000년 이후 꾸준히 증가하는 추세이며, 2016년 수입량은 2000년 대비 2.7배 수준인 36만 5천 톤이다.



[그림] 주스류 수입량 비중 변화

- 부류별 과일가공품 수입을 살펴보면, 주스류 수입량은 9만 톤 수준으로 2000년 이후 정체되어 있음
- 전체 과일주스 수입량 중 오렌지주스와 포도주스의 비중은 2005년 대비 2016년 각각 31.0%p, 7.2%p 하락한 반면, 사과주스, 자몽주스, 레몬주스의 비중은 비교적 크게 증가하였다. 시트러스(CITRUS)류 주스 가운데 소비량이 많았던 오렌지 주스는 감소한 반면, 자몽과 레몬주스는 증가하였으며, 기타 과일 주스 수입량 비중도 2005년 18.2%에서 2016년 40.1%로 2배 이상 증가하였음
- 오렌지의 경우 2000년대 초 4만 톤에 이르던 수입량이 2016년 1만 5천 톤까지 감소하여 오렌지 전체 과일가공품 수입량 중에서 오렌지 가공품이 차지하는 비중도 2000년 30.2%에서 2016년 4.2%로 크게 감소하였음
- 또한, 포도 가공품의 수입량은 2004년 이후 1만 5천 톤 내외에서 증감을 반복하고 있으며, 2016년 기준 전체 수입량 중에서 포도 가공품이 차지하는 비중은 4.4%로 2005년 대비 4.8%p 하락하였다. 반면, 사과의 경우 연평균(2000~2016년) 17.7% 증가하여 전체 과일가공품 수입량 가운데 사과 가공품이 차지하는 비중은 2000년 0.7%에서 2016년 3.4%로 늘었음
- 감귤은 소비트렌드에 맞춰 변화하고 있는 좋은 예라고 할 수 있음. 감귤은 온주밀감의 생산량 비중이 80% 이상이지만 연중생산체계를 갖추고 있어 소비자들이 시기별로 다양한 품종을 선택할 수 있다는 특징이 있음
- 또한 사과종이고 섭취도 간편하며, 10kg 단위의 상자에서 5kg, 3kg 단위로 소포장화되고 있어 핵가족화, 1인 가구 증가 등의 인구사회학적 변화에도 대응하고 있음
- 이와 더불어 일반 감귤에 비해 당도가 2~3배 높은 불로초 등의 브랜드 감귤의 가격이 높고, 한라봉, 천혜향, 레드향 등의 만감류는 일반 감귤에 비해 당도가 높음에도 가격은 높게 형성되고 있어 고당도를 선호하는 소비트렌드의 특징에도 부합하고 있는 것을 알 수 있음

- 특히 최근 풋갈에 대한 기능성분 함량이 높아 수요가 늘어나고 있어 제주도 지자체 내에서는 풋갈의 유통활성화를 위해 노력하고 있음. 이처럼 건강기능성의 소비트렌드 특징에도 일치하고 있음

3) 경쟁기관현황



[그림] 타사 풋갈 제품

- 풋갈 음료 ‘깨리꼬’ 개발, 농업회사법인(주)주영에서 개발된 제품 초록 감귤음료 ‘깨리꼬’는 2014년 서귀포 국제감귤박람회 공식음료로 선정되었으며, 현대백화점 등 250개 전매장에 납품 계약을 맺음
- 풋갈 음료 미오제주(MIO JEJU) 중국 시장 수출, 농업회사법인(주)주영은 2015년 첫 선적 물량 1컨테이너, 금액으로 약 2만5천 달러 중국 수출에 성공
- 청귤이라는 이름으로 유통되어오던 덜 익은 감귤이 2016년 풋갈로 정의됨
- 청귤의 명칭으로 품목신고된 제품은 총 122건이며, 풋갈의 명칭으로 품목신고된 제품은 17건임
- 청귤 명칭으로 품목신고된 제품 중 가장 많은 품목유형은 액상차로 총 54건이며, 그 다음으로 과채가공품이 18건, 과채음료가 10건 순으로 나타났음

[표] 청귤 명칭으로 품목신고된 제품 현황

| 업소명 | 품목유형 | 유통기한 | 제품명 | 사진 |
|---------------|-------|-------------|----------|----|
| (주)다정 | 음료베이스 | 제조일로부터 24개월 | 같이만든 청귤 | |
| 농업회사법인 (주)제주향 | 과채음료 | 2년 | 귤 하르방 청귤 | |

| | | | | |
|--------------------|-------|-------------|-------------|--|
| (주)꽃샘식품 | 액상차 | 제조일로부터 24개월 | 꿀청굴차 |  |
| 오케이에프 주식회사 | 혼합음료 | 제조일로부터 23개월 | 미오제주 |  *미오제주* 제품 사진. |
| 농업회사법인 (주)태인의 땅 제주 | 과채가공품 | 제조일로부터 1년 | 맛있는 철학자 청귤칩 |  |

○ 꿀청 명칭으로 품목신고된 제품 중 가장 많은 품목유형은 액상차로 총 8건이며, 그 다음으로 과채가공품이 4건 순으로 나타났음

[표] 꿀청 명칭으로 품목신고된 제품 현황

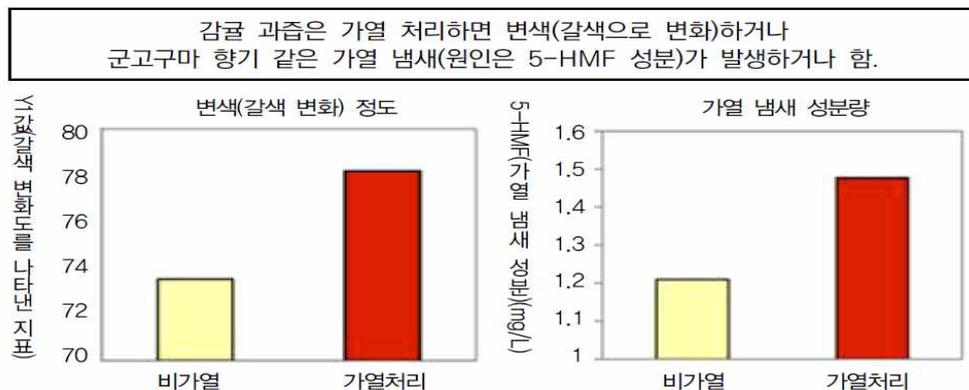
| 업소명 | 품목유형 | 유통기한 | 제품명 | 사진 |
|----------------------|-------|-------------|------------------|---|
| 편한커피 | 액상차 | 6개월 | 마음의 여유한잔-꿀청(청귤)청 |  |
| 영어조합법인숨비소리 | 액상차 | 제조일로부터 12개월 | 맛있는제주꿀청차 | - |
| 농업회사법인 주식회사 네이처팜(본사) | 과채가공품 | 해당없음. | 산들해 꿀청분말 |  |
| 두리인티내셔널 | 침출차 | 제조일로부터 2년 | 산들해 꿀청차 |  |
| (주)가온에프앤비 | 당절임 | 제조일로부터 36개월 | 산들해꿀청당절임 | - |
| (주)제주로얄식품 | 액상차 | 제조일로부터 24개월 | 설렘이가득한제주꿀청차 | - |
| 제주햇살애농원영농조합법인 | 액상차 | 1년 | 수제꿀청 |  |
| 유니온테크(주) | 과채가공품 | 24개월 | 오늘은 제주꿀청워터 |  |
| 영어조합법인제인 | 액상차 | 12개월 | 제주 꿀청 | - |
| 영어조합법인제인 | 액상차 | 12개월 | 제주 한라봉 꿀청 | - |
| 주식회사제주자연초농업 | 음료베이스 | 12개월 | 제주자연초 꿀청즙100% | - |

| | | | | |
|-----------|--------|-------------|----------|---|
| 회사법인 | | | | |
| 주식회사제키스 | 준초콜릿 | 제조일로부터 1년 | 풋굴 다크 |  |
| 주식회사담아요 | 액상차 | 6개월까지 | 풋굴(청귤)청 |  |
| (주)메이드인제주 | 과.채가공품 | 24개월 | 풋굴분말 | - |
| 달달하우스 | 액상차 | 제조일로부터6개월 | 풋굴청 | - |
| 주식회사 휴럼 | 과.채음료 | 제조일로부터 18개월 | 휴럼데이스틱풋굴 | - |

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

1) 기술현황

- 아임계수를 이용하여 완숙감귤과피로부터 narirutin과 hesperidin을 비연속식으로 소량 추출한 연구는 수행되었으나 기능성이 높은 polymethoxylated flavones (PMF)인 nobiletin, sinensetin, tangeretin을 연속식으로 다량 추출한 연구는 수행되어 있지 않음.
- 또한 narirutin과 hesperidin의 가수분해물인 naringenin과 hesperitin은 기능성이 훨씬 높은 데, 이들을 얻기 위한 가수분해 연구는 전혀 수행되어 있지 않음
- 일본의 와카야마현 공업기술센터에서는 열수처리 및 펙틴 분해 효소 처리를 함으로써 감 과피를 손쉽게 제거하는 기술을 개발. 일본의 사과 가공공장인 ‘JA아오렌’은 사과 착즙 후 주스가공 시 산소접촉을 방지하는 방법을 고안하여 변색이 없는 고품질 사과 스트레이트 과즙 주스를 생산하고 있음.



[그림] 감귤 과즙의 가열에 의한 변화



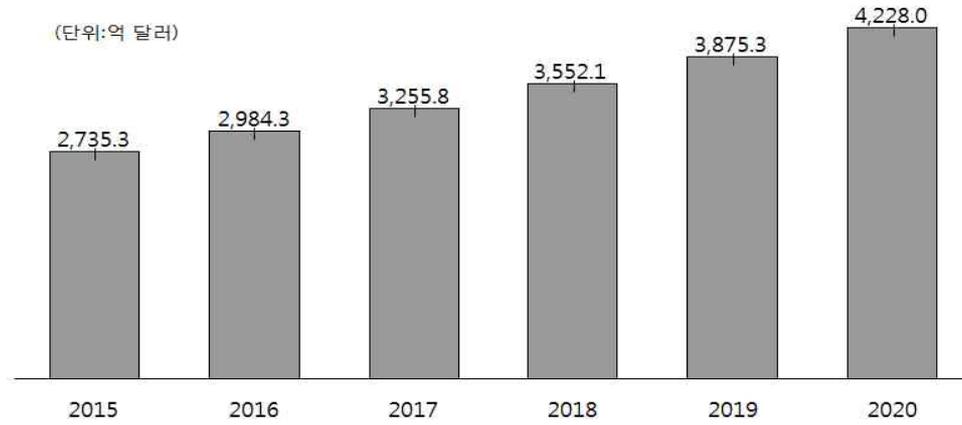
[그림] 고품질 과일 안정 생산기술 개발



[그림] 과일 품질 보존기술 개발

2) 시장현황

- 미국 시장조사기관 얼라이드 마켓 리서치 (Allied Market)의 ‘체중감량 및 체중조절용 식이요법 시장: 2014~2020년 기획 및 전망’에 따르면, 체중감량 및 체중조절용 식이요법 분야의 글로벌 마켓은 오는 2020년에 따르면 4,228억 달러 규모일 것이라는 전망이 나오고 있음. 이러한 수치가 나올 수 있었던 것은 2015년에서 2020년까지 연평균 9.1%의 성장세를 이어갈 것으로 보았기 때문임
- 현재 글로벌 체중감량 및 체중조절용 식이요법에 시장에서 가장 높은 점유율을 차지하고 있는 지역은 북미시장인 것으로 나타남. 비만인구의 비율이 상대적으로 높기도 한 미국은 세계 시장에서 가장 높은 점유율을 나타낼 것으로 예측됨
- 그러나 중국, 인도 및 브라질 등의 개발도상국도 2020년까지 연평균 11.5%의 빠른 성장세를 나타내며 시장이 커질 것으로 전망되고 있음



[그림] 체중감량 및 체중조절용 식이요법 시장 규모(추정)

- 세계보건기구(WHO)는 전 세계적으로 소아청소년 비만이 지속적으로 증가함에 따라 소아비만을 21세기 가장 심각한 공중보건 문제 중 하나라고 지정하고, 소아청소년 비만 예방을 위한 지침을 제시하고 있음. 과체중 및 비만아동들은 표준 체중 아동들보다 심혈관계 이상 등 다양한 성인병과 합병증으로 이어질 가능성이 높은 것으로 나타남. 미국 질병통제 예방센터에 따르면, 미국 소아비만율은 약 17%로 1980년 이후 약 3배 정도 증가한 것으로 조사됨
- 전 세계적으로 소아비만율이 증가함에 따라, 식품기업들은 소비자 요구에 맞춰 저당, 저 칼로리 식품을 개발하여 출시하고 있음
- 어린이 과일주스 브랜드인 어니스트키즈(Honest Kids)는 제품에 자당을 제거하고 주스원액의 함량을 30~42%로 증가시키는 등 당 함량과 칼로리를 줄인 제품을 출시함. 칼로리도 주스 한 개당 40칼로리 정도임
- 세계적으로 비만에 대한 우려가 확산됨에 따라, 대부분의 시리얼 제조업체들은 설탕 함유량을 줄인 제품들을 출시하고 있음. 2012년 네슬레(Nestle)와 제너럴 밀스(General Mills)는 2015년까지 어린이와 청소년들에게 인기 있는 20개의 시리얼 브랜드에 설탕과 소금을 각각 24%, 12%까지 줄인다고 발표함



[그림] 당저감 가공식품

- 체중감량을 목표로 고단백질 식료품 제품들이 많이 출시되고 있음

- ‘Oomf’사에서 출시된 ‘Bench Pressed Instant Oats’는 유청단백질 성분이 첨가된 아침식사용 시리얼로 1회 제공 당 단백질 20g(계란 세 개를 섭취하면 얻을 수 있는 단백질 양)을 함유하고 있어, 근육을 키우는 목적으로 운동하는 사람이나, 단백질을 추가로 필요로 하는 사람을 타겟으로 만들어진 제품임
- ‘HyVee’s Trim & Toned Low Fat Yogurt’는 근육 증가를 도와주는 체중조절 보조제로 체지방을 감소시키는데 도움을 줄 뿐만 아니라, 근력과 근육의 사이즈를 키우는데 도움이 되는 떠먹는 요구르트 제품임
- ‘Max Cookie’는 ‘Myprotein Inc.’사에서 출시한 단백질 보충 쿠키로 단백질 1회 권장량(37.5g) 50% 이상의 단백질 섭취를 할 수 있음
- ‘Protica’사에서 출시된 단백질케첩(Protein Ketchup)은 한 컵(1oz)당 15g의 단백질, 2g의 식이섬유와 2회 섭취분의 야채를 포함하고 있으며, 다른 식사나 스낵과 함께 곁들여 섭취했을 때, 더욱 포만감을 느낄 수 있도록 한 제품임
- 2010년 ‘Marks & Spencer’에서 출시된 체중조절 식사제품은 체중감량 연구 전문영양사와 과학자들이 만든 제품으로, 고단백질과 적정량의 탄수화물을 함유하고 있음. 한 달에 약 10파운드(약 4.5kg) 감량을 도와준다고 어필하고 있음

| | | | | |
|---|---|---|--|---|
|  |  |  |  |  |
| 유청단백질 성분이 첨가된 시리얼 | 근육 증가를 도와주는 떠먹는 요구르트 | 단백질 쿠키 | 단백질 케첩 | 고단백질 함유 체중조절 식사제품 |

[그림] 고단백질 가공식품

- 체중 감량을 위해 특정 다이어트 방법을 선택하여 다이어트를 하는 것보다 먹는 양을 줄여 체중 감량을 하는 사람들이 증가하고 있음
- 특히 절반 이상의 여성 및 장년층은 먹는 양을 줄여 체중 조절을 하는 것으로 조사되었으며, 영양적으로 균형 잡히고, 소량 포장된 식품에 대한 수요가 늘어나고 있음
- 소비자들은 정기적으로 먹는 식사량과 음식 사이즈에 큰 중요성을 두고 있으며, 특히 절반 이상의 여성들은 “항상” 혹은 “대부분” 적은 양의 음식을 섭취한다고 응답함. 또한 10명 중 3명의 소비자들만 체중조절을 위해 특정한 다이어트 방법을 선택한다고 응답함
- 네슬레(Nestle)는 체중에 예민한 여성들을 타겟으로 한 저지방·저칼로리 아이스크림을 개발

함. 네슬레의 'Skinny Cow' 저지방·저칼로리 아이스크림은 샌드위치, 콘, 컵 및 바(bar) 등 여러 가지 타입으로 출시되었으며, 모든 제품 들은 저지방 제품으로 3% 미만의 지방을 함유하고 있으며, 칼로리 또한 150kcal 미만임

- 'Snackwell' 은 소비자들이 맛있게 먹기 좋은 정량을 담은 팝콘, 'Cinnamon Creme Drizzled Caramel Popcorn' 을 출시함. 이 제품은 130kcal 열량으로 소비자들이 100kcal 열량의 일반 팝콘을 먹을 때보다 조금 더 마음껏 먹으면서 동시에 다이어트 플랜을 따를 수 있도록 하였음
- 벨기에에서 출시된 'Hero SteVita'는 설탕 대용품으로 많이 쓰이는 스테비아(Stevia)가 함유된 잼으로 칼로리는 60kcal 미만이며 1회 제공량 당 6.3g의 탄수화물을 함유하고 있음

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Skinny Cow 저지방 아이스크림 | 소량포장된 팝콘 | 저칼로리 잼 |

[그림] 저칼로리·소량포장 제품

- 국내에서도 인기가 있었던 치아씨드는 오메가-3, 마그네슘, 칼슘 등의 영양소를 포함한 슈퍼푸드로, 물에 넣어두면 자신의 부피보다 10배 정도 많은 수분을 흡수하여 적은 양으로도 포만감을 느끼게 하여, 체중감량에 도움을 주는 식품임. 특히 지방 분해 호르몬인 글루카곤의 분비를 촉진하고 식이섬유가 많아 변비 개선 및 노폐물 배출에 효과적임
- 'Xiomega 3 Chia' 는 치아씨드 음료로, 오메가-3, 철분, 식이섬유 등이 함유되어 있어 면역 강화에 좋은 식품임
- 미국에서 판매되고 있는 'Healthy Warrior Chia Bar'는 1회 제공량 당 약 100-110kcal의 저칼로리 에너지 바이며, 쉽게 포만감을 주어 손쉽게 허기를 달랠 수 있는 특징이 있음

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| 튀기지 않은 감자칩 | 100kcal 브라우니 | 저칼로리 식품들로 구성된 light box |

[그림] 체중감량을 위한 건강 스낵 제품

- 'PopChips' 은 합성착색료와 합성첨가물이 전혀 들어가지 않은 감자칩이며, 한 봉지 당 100kcal로 먹는 재미와 맛을 동시에 느낄 수 있게 하면서, 소비자들의 몸매관리를 도와주는 제품임

- ‘켈로그 스페셜 K’의 ‘Brownie Bite’는 한입 크기의 미니 브라우니로, 한 박스에 6개 봉지로 구성되어 있으며, 한 봉지 당 100kcal의 열량을 가지고 있어 체중 조절을 하는 소비자들이 부담 없이 즐길 수 있도록 한 제품임
- ‘Graze’사의 ‘light box’는 약 49~146kcal의 저열량 간식들로 이루어진 스낵박스로, 소비자들은 82가지 종류의 스낵 중 자신의 취향대로 선택하여 나만의 스낵 박스를 구성할 수 있음

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| 저칼로리 요거트 | Glucerna Hunger smart 셰이크 | Glucerna Hunger smart 스낵바 |

[그림] 당뇨병환자를 위한 체중조절식품

- 당뇨병으로 진단 받은 환자 중 90% 이상이 과체중인 것으로 조사되었고, 체중조절이 당뇨병 발생 위험성을 낮추는데 상당한 효과가 있는 것으로 입증됨. 특히 미국 당뇨병회(ADA)는 1일 1~2회 식사를 대용식으로 바꾸는 것이 성공적인 체중 조절 및 관리에 효과적이라고 강조함
- ‘Dannon’사에서 출시한 ‘Light & Fit Carb & Sugar Control Yogurts’는 당뇨병 환자를 타겟으로 한 요거트 제품으로, 타 저지방 요거트 제품보다 55%나 적은 칼로리와 85% 적은 당분을 함유하고 있어, 체중 조절이 필요한 당뇨병 환자들이 부담 없이 즐길 수 있도록 함
- ‘Abbott’사(社)는 당뇨병 환자들의 체중조절을 위한 ‘글루서나 형거 스마트(Glucerna Hunger Smart)’ 뉴트리션 셰이크 및 바(bars)타입의 식사 및 간식 대용식을 개발함. 이 제품은 ‘카브스테디(Carb Steady)’라는 특허를 받은 탄수화물을 함유하고 있어 혈당지수가 낮고, 탄수화물이 소화되는 속도를 늦춰 혈당 수치의 상승을 최소화시켜 주는 효과가 있음. ‘Glucerna Hunger Smart’ 셰이크의 경우 열량이 180kcal로 단백질 15g, 당분 6g 등을 함유하고 있고, 25가지의 각종 비타민과 미네랄 성분이 들어있음

가) 미국 시장

- 미국 건강·영양조사(NHNES)에 따르면, 2013~2014년 미국 성인 중 비만인 사람은 38%로, 앞서 2011~2012년 조사 때의 35%보다 3%p가 증가한 것으로 집계됨
- 미국 내 다이어터(Dieter)는 2013년 기준 약 1억 8천명 정도로 추정되며, 이중 82%는 셀프다이어트를 하는 것으로 조사됨
- 최근, 미국 다이어트 시장은 비만인구 증가와 건강에 대한 관심 증가로 매년 성장하고 있으며,

미국 시장조사 전문기관인 마켓앤마켓 (Market&Market)이 발표한 세계 다이어트시장 보고서에 따르면 미국 다이어트 시장 규모는 지난해에 비해 1.8% 성장한 605억 달러로 집계됨

[표] 미국 체중조절시장 규모

(단위: 10억 달러)

| 년도 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 |
|-----|------|------|------|------|
| 매출액 | 58.4 | 60.6 | 61.6 | 60.5 |

- 현재 미국 체중감량 및 다이어트시장은 크게 8개 분야로 구분되며, 그 중 체중조절식품과 관련된 분야는 다이어트음료(Diet Soft Drinks), 저칼로리 식품(Low cal/ diet food), 식사대용품(Meal Replacement)임
- 다이어트 청량음료 (Diet Soft Drinks) 시장은 지난 5년간 부진했으며, 앞으로도 하락세를 보일 것이라는 전망하고 있음. 첫 출시 이후 10년 만인 2009년에 총 시장 규모가 85억 달러 정도였으나, 그 이후 다이어트 청량음료는 감소세로 나타남. 유로모니터 자료에 의하면, 지난 5년간 다이어트 청량음료시장의 전체 판매량은 20% 이상 감소해 2014년 70억 달러 정도이며, 2015년에도 추가적으로 5% 더 하락할 것으로 예상하고 있음
- 식사대용품(Meal Replacement) 시장규모는 2013년 1.35백만 달러로, 전년대비 약 6% 정도 성장함
- 미국에서는 다이어트 식품의 가정 배달이 점차 인기를 얻고 있음. 다이어트 가정 배달업 서비스의 시장 규모는 2012년 8억 6,900만 달러였으며, 2013년에는 약 9억 400만 달러 규모의 시장을 형성하고 있음. 2017년에는 약 10억 8,000만 달러에 도달, 5%의 연평균 성장이 예측되고 있음
- 다이어트 식품 가정 배달업은 초기시장이 형성된 이래 10여개의 기업들이 이분야에서 경쟁하고 있으며, 향후 시장의 성장에 따라 세부 서비스에 따른 기업간의 통합화와 대형화 추세가 예측됨. 이 분야의 주요 업체로 존 체프(Zone Chefs), 뉴트리시스템(Nutrisystem), 제니 다이렉트(Jenny Direct), 뉴트로피아(Nutropia) 등이 있음
- 다이어트 가정 배달업의 주요 고객의 60~70%가 여성으로 조사되었으며, 이들 중 대부분의 고객들은 8~12주 프로그램을 구매하는 것으로 조사됨. 이들은 1일 기준 10달러에서 40달러 정도의 비용을 지출하고 있었으며, 한 달 최대 1,500달러까지 지출하는 것으로 조사됨

나) 일본 시장

- 일본 시장조사 기업 시드플래닝에 따르면 일본 다이어트 식품 시장규모는 2009년 약 1조 6,701억엔(약 159억 달러45))으로 건강, 다이어트에 대한 관심이 증가함에 따라 2015년에는 약 2조엔(약 182억 달러)에 다다를 것으로 전망되고 있음

- 일본 국민의 60%가 다이어트 식품 복용 경험이 있는 것으로 밝혀졌는데, 일본 국민 30% 이상이 2종류 이상의 다이어트 식품을 사용하고 약 24%는 다이어트 식품에 연간 1만 2000엔(114달러) 이상을 지출하는 것으로 나타남

[표] 일본 건강보조제, 영양제, 보충제, 기능성음료 및 과자 시장규모

(단위: 억엔)

| 년도 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015(f) |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| 시장규모 | 16,701 | 17,105 | 17,635 | 18,033 | 18,393 | 18,614 | 19,164 |

- 일본 다이어트 식품 시장은 남녀간, 세대간 시장 세분화에 따라 복잡·다양화 되고 있음
- 과거 다이어트 식품 시장은 20, 30대의 젊은 여성이 주요 타겟이었으나 미쓰비시 UFJ에서 실시한 소비자 조사 결과, 소비자의 연령대와 성별이 다양화되어 시장 세분화가 이루어지는 것으로 나타남
- 웹 분석 기업 SeeS의 조사 결과에 의하면 여성의 다이어트 관련 주요 키워드는 ‘집에서’, ‘간편하게’ 등으로 나타나 힘들게 운동하기보다는 식단과 보조 식품을 이용해 다이어트를 하고 싶은 욕구가 강한 것으로 보고 있음
- 반면, 남성은 다이어트 관련 정보 검색 시 다이어트 보조식품보다는 ‘근육’, ‘산소’, ‘내장 지방’ 등이 주요 키워드로, 여성에 비해 운동을 통한 다이어트를 하려는 경향이 강함
- 한편, 중·장년층에서도 여성(안티에이징, 미용), 남성(과체중 및 메타볼릭 신드롬46) 방지에 간에 다이어트를 시작하는 계기가 다른 것으로 나타나 성별·세대별로 시장이 나누어진 구조임
- 일본 소비자들은 안심하고 복용할 수 있는 다이어트 식품에 대한 관심이 높아짐
- ‘마음껏 먹고 운동은 하지 않아도 됩니다.’ 라는 캐치프레이즈를 걸고 광고하는 다이어트 식품이 인기를 끌었으나, 도쿄의 30대 여성이 해당 제품 복용 후 심한 구토 및 복통과 열 증세를 보였다는 부작용이 알려지면서 안심하고 복용하는 제품에 대한 관심이 높아짐
- 일본 소비자들은 맛있고, 간편한 다이어트 식품을 선호하는 것으로 조사됨
- 칼로리 섭취량을 줄여 살을 빼고 싶지만 간식을 포기하기 쉽지 않은 사람을 위해 각 기업에서 맛있지만 칼로리는 낮은, 간편하게 먹을 수 있는 스낵·음료를 앞 다투어 출시하고 있음
- 편의점 업계에서는 간편하게 닭가슴살 샐러드, 저칼로리 간식과 같은 다이어트에 도움을 되는 식품을 판매하고 있음

| 생산업체 | 제품명 | 제품설명 | 이미지 |
|-----------|----------|--|---|
| 삿포르 파인 푸드 | 포뿔카룻 | 기존의 포테이토 칩과 달리 기름에 튀기지 않고 굽는 방식으로 유분량은 72% 감소시키고 칼로리를 낮춤 |  |
| 패밀리마트 | 닭가슴살 샐러드 | - |  |
| 기린 | 메츠 콜라 | 식사 시 지방의 흡수를 낮추어 체지방을 감소시키는 효과가 있음 |  |

[그림] 일본 다이어트 스낵 및 음료 제품 현황

다) 중국 시장

- 중국 위생부 발표에 따르면 2012년도 중국의 비만인구는 3억 2,500만 명으로 중국인 4명당 한 명이 비만이며, 이 수치는 미국, 영국, 호주 등 보다 높은 수치임
- 중국 성인의 체중 증가 속도는 전 세계에서 멕시코에 이어 2위로 중국 인구의 약 25%가 과체중 혹은 비만으로 분류됨
- 2005년에서 2011년까지 정상체중을 초과하는 사람은 4배로 늘었으며, 중국 다이어트 대상의 인구 증가속도는 세계에서 가장 빠른 것으로 나타남
- 중국은 현재 빨라지는 생활리듬 때문에 인스턴트식품에 대한 소비가 늘어나고 있으며, 기름진 음식 및 고기류에 대한 지나친 편중은 중국인에게 다이어트를 각성시키는 계기가 되고 있음
- 중국 위생부의 조사에 따르면 과거에는 과체중, 비만 등의 이유로 다이어트를 하는 사람이 많았으나, 최근 10년 동안 미용을 위해 다이어트를 하는 사람의 수가 크게 늘었음
- 중국 사회가 점점 외모지상주의로 바뀌면서 사회생활에서 외모의 중요성이 커지자 정상체중의 젊은 여성도 미용과 외모를 위해 다이어트를 하고 있음
- 전체 다이어트 인구의 46%가 미용을 위해 정상체중임에도 다이어트를 하고 있음
- 중국 체중조절식품 시장 규모는 2014년 기준 약 120억 달러이며, 꾸준히 증가세를 나타내며 2016년에는 137억 달러로 성장할 것으로 전망됨
- 전체 시장에서 다이어트 티가 차지하는 비중이 7.6억 달러(63.1%)로 가장 크며, 이어서 식사대용품 1.9억 달러(16.2%)임
- 국가통계국(国家统计局)이 발표한 중국미용경제보고서(中国美容经济报告)에 따르면 2012년 말

기준 중국에 등록된 다이어트 관련 업체는 2만 5,000여 개임

- 그 중 1만 7,000여 개가 중국기업이고, 8,000여 개가 외국기업(합자기업 포함)임
- ‘2011~2015년 중국 다이어트업종 시장조사 및 기업투자 전망에 관한 보고’에 따르면 중국 다이어트시장에서 중국 로컬과 수입 브랜드가 차지하는 비중은 약 6:4 정도로 로컬 브랜드가 우세를 보이고 있음

[표] 중국 체중조절식품 시장 규모

(단위:백만\$)

| 구분 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015(f) | 2016(f) |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|
| weight management (Total) (전체 다이어트 및 체중조절식품 시장) | 1,088.9 | 1,120.6 | 1,199.5 | 1,282.5 | 1,370.4 |
| 식사대용품 (Meal replacement slimming) | 172.1 | 174.8 | 194.7 | 214.2 | 234.5 |
| Slimming teas (다이어트 티) | 649.1 | 690.0 | 756.3 | 825 | 895.9 |
| Weight loss supplements (체중감량보조제) | 163.6 | 154.9 | 150.4 | 147.2 | 145.3 |
| Other slimming products (기타) | 104.1 | 100.9 | 98.1 | 96.1 | 94.7 |

- 중국 다이어트시장은 이미 의료, 제약, 보건품, 식품, 기계, 미용, 운동 등 여러가지 영역에서 발전하고 있음
- 중국 다이어트넷(中国减肥网)에 따르면, 다이어트 산업 중 보건품(식품·차 등)과 약품이 시장의 약 51%로 가장 많은 시장 점유율을 차지하고 있으며, 몸매관리 전문 뷰티숍이 20%, 화장품·운동기기 등
- 다이어트 제품이 19%, 다이어트 의료기기 등이 10%를 차지하는 것으로 나타남. 그 중 손쉽게 저렴하게 접할 수 있는 보건품 시장의 경쟁이 가장 치열함
- 식품의 안전성과 해외브랜드를 선호하는 중국 소비자의 특성으로 비쌌에도 외국산 다이어트식품이 시장에서 큰 인기를 끌고 있음

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

[주관(제주농장 영농조합법인)]

가. 풋굴 농가 계약 진행

1) 풋굴 계약 시 아래의 조건으로 계약을 진행하였음.

- i) 변색이 안 된 초록색 감귤
- ii) 크기는 40mm 이상과
- iii) 자연낙과 및 병과는 수매 불가
- iv) 제주특별자치도 농업기술원에서 배포한 감귤의 주요농약 안전사용기준에 적합

- 특례사항

- i) 열매 숙은 감귤 등은 수매 불가, 밭 전체의 물량을 납품 할 것
- ii) 대표 농가를 선택하여 지속적으로 시료 채취에 임할 것

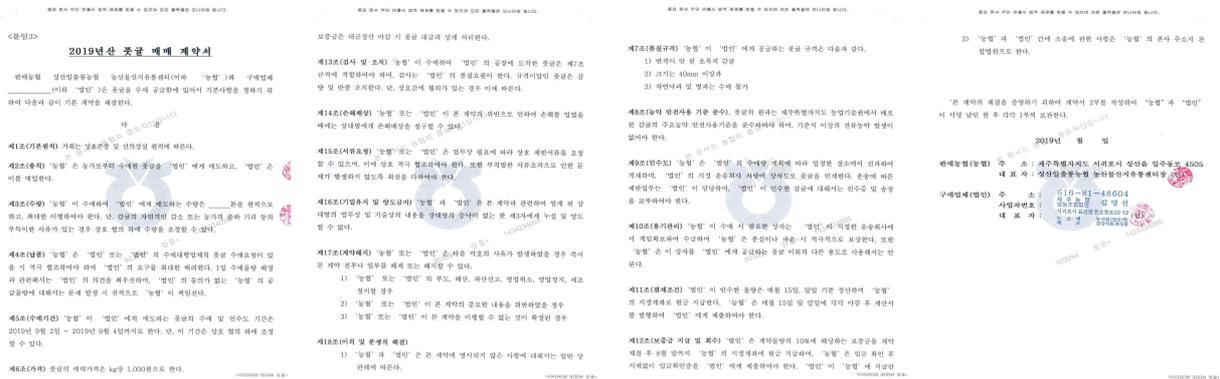


그림. 풋굴 매매 계약서

- 상기와 같은 조건으로 풋굴을 수매하였으며 그 농가 및 수는 아래와 같음.

| 농가명 | 주소 | 수매량(kg) | 비고 |
|------|-----------|---------|---------|
| 개인농가 | 납읍리1008 | 5,000 | 풋굴2년차 |
| 제주자연 | 함덕리2272 | 40,000 | 풋굴2년차 |
| 성산농협 | 오조리1930-1 | 60,000 | 풋굴 첫 수확 |
| | 토산리598-1 | | |



- 대표 농가를 선택하여 각 농가에서 3회에 걸쳐 샘플을 채취하였으며, 아래와 그림과 같음

나. 수매지별 가공 효율 분석

- 각 농가의 시기별 무게 및 외경, 내피는 아래 표00 및 그림00과 같음.

| 무게(g) | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 평균 |
|------------|---------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|-------|--------|
| 08월 07일 | 납읍리 1008 | 38.52 | 34.32 | 30.61 | 34.83 | 32.45 | 51.31 | 34.65 | 26.09 | 38.43 | 31.96 | 35.32 |
| | 함덕리 2259 | 38.40 | 44.01 | 39.31 | 48.79 | 48.66 | 34.48 | 37.70 | 41.00 | 34.19 | 32.80 | 39.93 |
| | 오조리 1930-1 | 54.95 | 47.66 | 55.25 | 48.36 | 40.70 | 42.57 | 36.63 | 36.08 | 39.38 | 32.24 | 43.38 |
| | 토산리 598-1 | 35.06 | 36.45 | 37.25 | 20.10 | 24.74 | 23.58 | 16.96 | 20.89 | 24.51 | 24.73 | 26.43 |
| 08월 19일 | 납읍리 1008 | 67.13 | 55.25 | 76.93 | 78.50 | 69.44 | 84.95 | 57.86 | 63.91 | 75.94 | 63.77 | 69.37 |
| | 함덕리 2259 | 79.92 | 74.47 | 81.79 | 84.66 | 76.48 | 62.29 | 67.84 | 70.48 | 88.56 | 58.59 | 74.51 |
| | 오조리 1930-1 | 58.18 | 63.62 | 99.64 | 60.28 | 53.40 | 59.26 | 54.67 | 52.34 | 61.05 | 83.21 | 64.57 |
| | 토산리 598-1 | 66.38 | 49.63 | 59.30 | 53.71 | 62.72 | 49.72 | 56.25 | 53.48 | 58.60 | 54.54 | 56.43 |
| 09월 03일 | 납읍리 1008 | 86.81 | 104.53 | 92.67 | 112.39 | 102.99 | 92.39 | 92.89 | 88.95 | 86.72 | 96.61 | 95.70 |
| | 함덕리 2259 | 82.85 | 138.68 | 105.93 | 102.09 | 97.30 | 110.11 | 92.83 | 108.56 | 82.26 | 98.54 | 101.92 |
| | 오조리 1930-1 | 76.67 | 88.41 | 102.79 | 112.43 | 78.88 | 115.05 | 83.57 | 105.22 | 78.44 | 90.46 | 93.19 |
| | 토산리 598-1 | 81.52 | 91.20 | 77.03 | 74.24 | 107.30 | 79.40 | 88.54 | 99.96 | 84.15 | 81.60 | 86.49 |

| 외경(mm) | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 평균 |
|------------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 08월 07일 | 납읍리 1008 | 44.28 | 45.04 | 42.02 | 42.71 | 42.01 | 49.05 | 44.76 | 41.58 | 45.47 | 40.52 | 43.74 |
| | 함덕리 2259 | 45.71 | 45.50 | 44.96 | 48.38 | 49.21 | 44.38 | 42.79 | 43.30 | 43.55 | 42.90 | 45.07 |
| | 오조리 1930-1 | 50.60 | 50.34 | 47.79 | 49.03 | 46.09 | 46.03 | 43.57 | 44.02 | 44.44 | 43.14 | 46.51 |
| | 토산리 598-1 | 43.57 | 44.22 | 44.40 | 37.44 | 39.14 | 39.95 | 34.84 | 38.90 | 37.56 | 39.43 | 39.95 |
| 08월 19일 | 납읍리 1008 | 54.67 | 50.32 | 56.06 | 56.60 | 52.66 | 58.30 | 51.01 | 52.18 | 55.29 | 49.46 | 53.66 |
| | 함덕리 2259 | 55.80 | 53.46 | 55.87 | 57.63 | 55.51 | 49.13 | 54.21 | 51.09 | 57.39 | 51.36 | 54.15 |
| | 오조리 1930-1 | 51.91 | 51.68 | 59.98 | 50.80 | 50.12 | 50.44 | 50.24 | 49.91 | 50.86 | 54.73 | 52.07 |
| | 토산리 598-1 | 53.26 | 48.14 | 49.92 | 48.13 | 50.51 | 48.56 | 48.66 | 50.67 | 51.81 | 49.72 | 49.94 |
| 09월 03일 | 납읍리 1008 | 57.27 | 62.37 | 60.01 | 63.24 | 61.40 | 59.54 | 60.72 | 59.52 | 58.44 | 62.30 | 60.48 |
| | 함덕리 2259 | 56.43 | 70.97 | 61.97 | 59.98 | 61.32 | 61.87 | 60.55 | 60.72 | 56.50 | 59.95 | 61.03 |
| | 오조리 1930-1 | 54.69 | 57.23 | 60.44 | 63.34 | 54.60 | 64.01 | 57.76 | 62.78 | 56.44 | 57.53 | 58.88 |
| | 토산리 598-1 | 55.90 | 59.26 | 56.18 | 55.97 | 62.49 | 56.59 | 58.94 | 64.07 | 59.86 | 58.41 | 58.77 |

| 내피(mm) | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 평균 |
|------------|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 08월 07일 | 납읍리 1008 | 2.86 | 2.79 | 2.49 | 2.35 | 2.39 | 2.59 | 1.50 | 1.49 | 2.30 | 2.11 | 2.29 |
| | 함덕리 2259 | 1.27 | 1.51 | 1.46 | 1.88 | 2.38 | 2.57 | 4.25 | 3.71 | 1.60 | 2.17 | 2.28 |
| | 오조리 1930-1 | 2.44 | 2.98 | 4.84 | 2.58 | 3.48 | 1.82 | 1.80 | 1.56 | 1.97 | 1.31 | 2.48 |
| | 토산리 598-1 | 1.49 | 1.98 | 2.06 | 1.70 | 1.39 | 1.33 | 1.26 | 1.16 | 1.47 | 1.23 | 1.51 |
| 08월 19일 | 납읍리 1008 | 2.14 | 2.59 | 2.59 | 2.46 | 2.39 | 3.34 | 2.70 | 2.75 | 2.89 | 3.62 | 2.75 |
| | 함덕리 2259 | 2.73 | 4.02 | 2.14 | 2.42 | 2.38 | 3.11 | 1.89 | 2.45 | 3.45 | 2.48 | 2.71 |
| | 오조리 1930-1 | 1.71 | 2.52 | 2.50 | 2.56 | 2.14 | 2.31 | 1.56 | 1.43 | 2.61 | 3.23 | 2.26 |
| | 토산리 598-1 | 2.85 | 3.05 | 2.44 | 3.14 | 3.31 | 1.71 | 2.32 | 1.63 | 2.20 | 3.16 | 2.58 |
| 09월 03일 | 납읍리 1008 | 3.30 | 2.91 | 3.58 | 3.17 | 3.52 | 3.34 | 3.11 | 3.01 | 3.26 | 3.00 | 3.22 |
| | 함덕리 2259 | 2.51 | 2.38 | 2.73 | 4.03 | 3.12 | 4.45 | 3.22 | 3.48 | 3.39 | 3.13 | 3.24 |
| | 오조리 1930-1 | 2.95 | 2.57 | 3.45 | 2.36 | 3.82 | 4.10 | 3.54 | 3.42 | 2.94 | 1.94 | 3.11 |
| | 토산리 598-1 | 2.55 | 1.94 | 2.20 | 2.51 | 2.89 | 2.87 | 2.38 | 2.70 | 2.74 | 1.96 | 2.47 |

다. 시기별 유효성분 분석 및 유전자 검증

1) 유효성분 분석

- 시료는 각 지역에서 채취한 것 중 가장 큰 사이즈와 작은 사이즈를 각각 선택하였으며 이후 파쇄 및 균질화 한 후 1g를 채취하여 80% 메탄올에 245rpm, 30℃, 3hr, shaking하였으며, 이후 원심분리하여 상층액을 0.45um filter로 필터 후 분석을 진행하였음.
- 기존 감귤의 영양성분 중 총 폴리페놀과 총 플라보노이드, Narirutin, Naringenin, Hesperidin, Hesperitin을 기준으로 하여 각각 실험하였음.
- Narirutin, Naringenin, Hesperitin 표준물질 3 종은 Methanol에 용해하여 0.5~500mg/L 농도의 표준 용액을 만들어 정량곡선을 작성.
- Hesperidin 표준물질은 Dimethyl sulfoxide 1차 용해 Methanol에 용해하여 0.5~500mg/L 농도의 표준용액을 만들어 정량곡선을 작성.

2) 원료 유전자 검증

- 개별 인정형 원료로 신청하기 위해서 원료에 대한 검증이 필요하기 때문에 사용한 원료가 무엇인지 정확하게 판별 받고자 유전자 검증을 시행하였으며 결과는 표00과 같으며 채취한 시료 모두 동일 유전자로 판단하였음. 분석조건은 아래 그림과 같음.

- 1) 기기 : Agilent 1290 Infinity (HPLC-DAD)
- 2) 컬럼 : Zorbax Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 5.0µm)
- 3) 컬럼온도 : 30 °C
- 4) 이동상 : Gradient
=> A : 0.1% H3PO4 in Water, B : 0.1% H3PO4 in Acetonitrile

| Time | A (%) | B (%) |
|------|-------|-------|
| 0.0 | 82 | 18 |
| 15.0 | 70 | 30 |
| 25.0 | 50 | 50 |
| 30.0 | 82 | 18 |

- 5) 분석시간 : 30 min
- 6) 유속 : 1.0 mL/min
- 7) 측정파장: 285 nm
- 8) 주입량 : 1 µL

그림. 유전자 검증 분석조건

라. 원료 및 부자재 안정성 검사

- 원료 및 부자재의 안전성 검사를 위해 각 원료에 적합한 병원성 미생물 검사를 통해 안전성 여부를 확인하였음.

1) *Listeria monocytogenes*

i) 배지제조

- BPW(Buffered Peptone Water)를 제조하여 5ml와 면봉을 Test tube에 넣어 Autoclave에서 멸균 한다.

ii) 접종 및 배양

- 시료에 면봉으로 swap 후 BPW에 접종하여 20°C 에서 1hr 배양한다. Vortex mixer를 사용하여 균질한 뒤 배양액 1ml와 멸균생리식염수 2ml를 혼합하여 균질한 뒤 균질 된 배양액 3ml를 3M Petrifilm Environmental Listeria Plate에 접종 후 35°C 에서 28hr 배양한다.

iii) 판독

- 진한 적자색 균체가 확인되면 양성으로 판정한다.

2) *Bacillus cereus*

i) 배지제조

- MYP agar 21.5g(450ml 기준)을 제조하여 Autoclave에서 멸균한다. Egg yolk Emulsion 50% 50ml와 Polymyxin B 5ml(Polymyxin B supplement 1vial과 5ml 멸균생리식염수 혼합)를 MY P agar에 혼합하여 Petri Dish에 균한다.

ii) 시료 전처리

- 시료 25g과 멸균생리식염수 225g을 멸균필터백에 혼합 및 균질한다.

iii) 접종 및 배양

- MYP agar에 백금이를 사용하여 배양액을 Streaking 후 30°C 에서 48hr 배양한다.

iv) 판독

- 진한 적색의 환의 균체가 확인되면 양성으로 판정한다.

3) *Salmonella spp.*

i) 배지제조

- BPW(Buffered Peptone Water)를 제조하여 Autoclave에서 멸균한다. RV Broth를 제조하여 Test tube에 10ml 넣어 Autoclave에서 멸균한다. XLD agar를 제조하여 가열살균 후 Petris h Dish에 굳힌다.

ii) 접종 및 배양

- 시료 25g과 BPW 225g을 멸균필터백에 혼합 및 균질 후 36°C 에서 24hr 배양한다. RV Broth에 배양액 0.1ml 을 접종한 후 42°C 에서 24hr 배양한다. XLD agar에 백금이를 사용하여 배양액을 Streaking 후 36°C 에서 24hr 배양한다.

iii) 판독

- 검붉은 집락의 균체가 확인되면 양성으로 판정한다.

4) *Staphylococcus aureus*

i) 배지제조

- TSB(Tryptic Soy Broth)에 10%의 NaCl을 가하여 제조하고 Autoclave에서 멸균한다.

ii) 접종 및 배양

- 시료 25g과 TSB 225g을 멸균필터백에 혼합 및 균질 후 36°C 에서 24hr 배양한다. 균질 된 배양액 1ml를 3M Petrifilm Staph Express Count Plate에 접종 후 36°C 에서 24hr 배양한다.

iii) 판독

- 적자색 균체가 확인되면 양성으로 판정한다.

5) *Coliform*

i) 시료 전처리

- 시료 25g과 멸균생리식염수 225g을 멸균필터백에 혼합 및 균질한다.

ii) 접종 및 배양

- 균질 된 배양액 1ml를 3M Petrifilm E.coil & coliform plate에 접종 후 35°C 에서 24hr 배양한다.

iii) 판독

- 적색 집락 주위에 기포를 형성하는 균체가 확인되면 양성으로 판정한다.

6) *Escherichia coli*

i) 시료 전처리

- 시료 25g과 멸균생리식염수 225g을 멸균필터백에 혼합 및 균질한다.

ii) 접종 및 배양

- 균질 된 배양액 1ml를 3M Petrifilm E.coli & coliform Count plate에 접종 후 35°C 에서 24hr 배양한다.

iii) 판독

- 푸른색 집락 주위에 기포를 형성하는 균체가 확인되면 양성으로 판정한다.

마. 풋굴을 이용한 착즙 및 추출농축

1) 풋굴착즙액 제조

- 2020년 풋굴 수매시점에 맞춰 제주시에 위치한 제주자연 영농조합법인을 통해 풋굴 착

즙액을 제조하였으며 이를 활용하여 “요망진 풋귤” 과 “풋귤 하영 콜라겐” 제품 2종을 개발하였음.

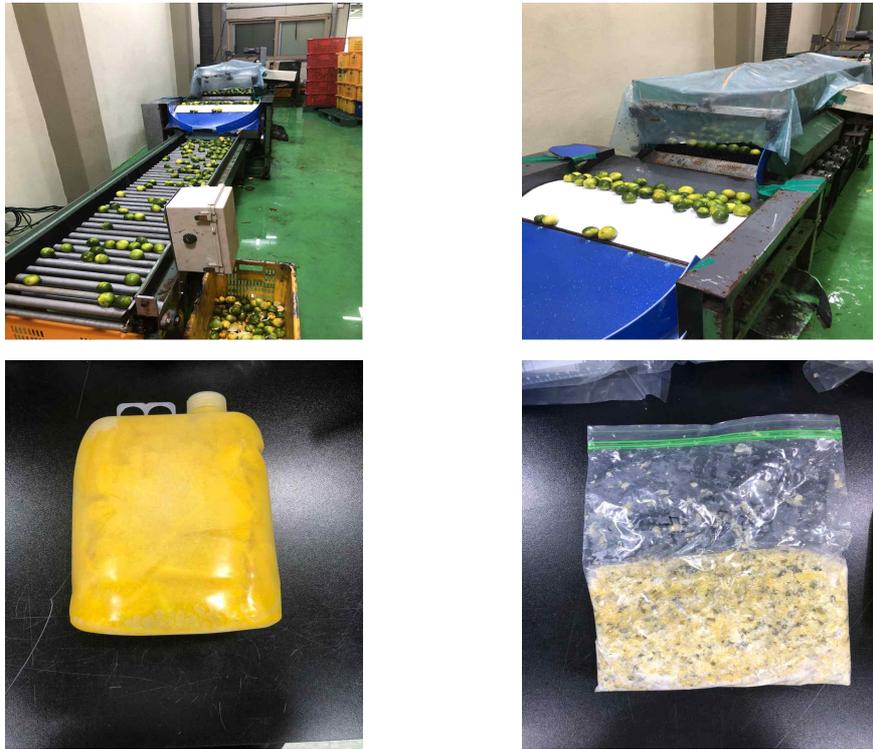
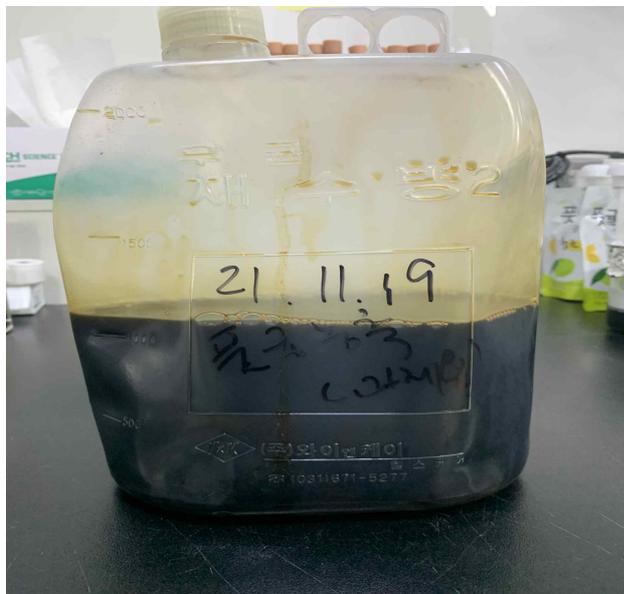


그림. 풋귤착즙액 제조

- 풋귤착즙액의 당도는 3.0 ± 0.5 brix % 이상이며 pH는 3.0 ± 0.2 로 나타났으며, 제조한 풋귤착즙액은 시제품 제조의 소재로 사용하였다.

2) 풋귤을 이용한 추출·농축방법은 다음과 같다.

- 풋귤 3.3%, 구연산 0.3%를 비율에 맞게 망입하여 정제수 96.4%를 혼합하여 추출기에서 $120^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 로 7시간동안 추출하고 여과포를 압착한 뒤 50 μm filter로 여과한다. 여과한 추출액을 $98^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 살균처리 후 100mesh filter로 여과 후 농축을 하였다. 풋귤추출농축액의 제조공정도는 아래 그림과 같다.



| 제조공정도 | | 제정일자 | 2021.09.25 |
|-------|--|------|------------|
| | | 개정일자 | - |
| | | 개정차수 | - |
| | | 작성일자 | 박재완 |
| 제품명 | 풋귤추출농축액 | 포장단위 | 1~300kg |
| 공정도 | 공정설명 | | |
| 원료일고 | 식품공전에 적합한 원료를 구입한다. | | |
| 보관 | | | |
| 계량 | 풋귤과 구연산을 배합비에 맞게 계량하여 부직포에 담는다. | | |
| 추출 | 정제수 96.4%를 투입하여 120°C 7시간 추출 한다. 추출액 -> Brix : 2.5 ± 0.5 , pH : 3.0 ± 0.1 | | |
| 압착 | 압착기로 압착한다. | | |
| 살균 | 90°C에서 20분 이상 살균한다. | | |
| 여과 | 100mesh filter / 7,000G 이상 여과한다. | | |
| 농축 | brix 26.0 이상, 온도 $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ | | |
| 포장 | 패럴론 또는 드림통 | | |
| 보관 | -18°C 이하에서 냉동보관한다. | | |

그림. 풋귤추출농축액 및 제조공정도

- 풋귤추출농축액의 당도는 26.0 brix % 이상이며 pH는 3.0 ± 0.1 , 고형분은 26.0% 이상으로 나타났으며, 제조한 풋귤추출농축액을 활용하여 시제품 “제주농장 탕글풋귤” 과 “제주농장 풋귤캔디” 2종을 개발하였음.

[제1협동(제주대학교 산학협력단)]

가. 풋귤 유효성분의 추출공정 최적화

1) 풋귤 중의 체중조절 기능성 성분(또는 지표 성분)의 동정 및 함량 분석

① 풋귤 착즙박 시료 및 시약

- 온주밀감 풋귤(*Citrus unshiu* Markovich)은 제주의 한 농가에서 입수해, 세척 후 믹서기로 90초간 분쇄한 후, 스크류형 주스 착즙기로 착즙하여 주스와 착즙박으로 분리하였다. 착즙 주스는 면 필터(공극 1 mm)로 여과하여 미세 입자를 회수하였고 착즙박과 혼합한 후 동결 건조 및 분쇄(14-50 메쉬)하여 $-20^{\circ}C$ 에 저장하면서 시료로 사용하였음
- Hesperidin, hesperetin, narirutin, naringenin, xanthine oxidase from bovine milk, xanthine, allopurinol, ρ -nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (ρ -NPG), acarbose, α -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*, ρ -nitrophenyl butyrate (ρ -NPB), lipase from porcine pancreas, orlistat, and 3-(N-Morpholino)propane sulfonic acid (MOPS)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), Hesperetin-7-O-glucoside, prunin는 Extrasynthese (Genay, France), Citric acid는 Junsei Chemical Co., Ltd (Chuo-ku, Tokyo, Japan), HPLC grade acetonitrile, methyl alcohol는 Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd (Shiheung, Gyeonggi, Korea)로부터 구입하여 사용하였음

② 완숙과와 미숙과(풋귤) 중의 플라보노이드 함량 측정 방법

- 온주밀감 완숙과와 미숙과를 각각 10개(약 700 g) 씩 취하여 믹서(신일산업주식회사)로 분쇄하였다. 5 g의 분쇄물에 메탄올을 30 mL 가한 후 실온에서 30분간 교반하면서 추출하였다. 혼합물을 원심분리(3,000×g, 10분)하고 상등액을 분리하였으며, 모든 플라보노이드가 정량적으로 회수될 때까지 4번 더 잔류물을 추출하였다. 추출물 혼합물은 메탄올을 증발농축한 후 일정부피로 정용하고 시린지 필터(0.45 μ m)로 여과한 후 액체크로마토그래피(HPLC)로 분석하였다. 시료 중의 수분 함량(%)은 105 $^{\circ}C$ 에서 건조시킨 후 측정하였다. 풋귤 착즙박 중의 플라보노이드의 함량도 동일한 추출법을 이용하여 측정하였음

표. 완숙과와 미숙과(풋귤) 시료

| | 완숙과 | 미숙과(풋귤) |
|------------------------------|---|--|
| Fruit picture |  |  |
| Harvest date | 2019. 11 | 2019. 9 |
| Juice brix($^{\circ}$ Brix) | 11.5 ± 0.4 | 9.5 ± 0.2 |

③ 액체크로마토그래피에 의한 개별 플라보노이드의 분석

- 아임계수 가수분해물 중의 헤스페리딘, 나리루틴, 헤스페레틴-7-O-글루코사이드, 프루닌, 헤스페레틴 및 나린제닌의 함량은 Alliance 2965 고성능 액체크로마토그래피(Waters Corp., MA, USA)로 측정하였음
- 불활성 ODS-3V 컬럼(4.6 mm × 250 mm, 5 μm 입자 크기, GL 사이언스, 도쿄, 일본)을 사용하여 각각의 플라보노이드를 분리하였다. 이동상은 0.5% 아세트산 용액(A상)과 아세트니트릴(B상)로 구성되었으며 유량은 분당 1.0 mL이었으며, 용매구배는 B상으로 0분 15%, 8분 25%, 15분 25%, 32분 65%, 33분 15%로 설정하였음
- 칼럼온도는 35° C, 시료 주입량은 10 μL, 평형시간은 2분이었다. 각 플라보노이드는 290 nm와 330 nm에서 검출하였으며, 각 플라보노이드의 체류 시간과 자외선 가시 스펙트럼으로부터 정성하였음

2) 체중조절 기능성 성분(또는 지표 성분)의 아임계수 추출 및 가수분해 공정 최적화 및 표준화

① 아임계수 추출 방법

- 풋굴 착즙박으로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 추출조건을 최적화하기 위하여, 본 연구실에서 제작한 반연속식 아임계수 추출 및 가수분해장치를 이용하여 오븐1을 사용하여 추출하였음

- (1) 먼저 온오프밸브(V1-V9)와 미터링밸브(MV)를 모두 잠근다.
- (2) 압력조절기(PR)는 50기압으로 미리 조절하여 둔다.
- (3) 용매 저장고(SR)에 탈기한 증류수를 채운다.
- (4) 추출기 뒷부분에 스테인리스강 필터(공극 5 μm)와 유리솜을 채우고 잠근다.
- (5) 동결건조 풋굴 착즙박 분말 1 g에 해사(14-20 메쉬)를 가하여 혼합한 후 스테인리스강 추출기(EV) 앞부분으로 충전한다.
- (6) 추출기 앞부분에 스테인리스강 필터(공극 5 μm)와 유리솜을 채우고 잠근다.
- (7) 추출기를 오븐1에 장착한다.
- (8) 오븐1(온도한계: 300° C)을 원하는 추출온도(140, 150, 160, 180° C)로 조절한다.
- (9) 온오프밸브(V1)를 열고 고압펌프(HPP)의 눈금을 원하는 유속에 맞게 조정하여 작동을 시작한다.
- (10) 온오프밸브(V1)에서 물이 나오는 것을 확인한 후 온오프밸브(V1)를 잠근다.
- (11) 압력게이지(P1)(압력한계: 200기압)를 주시하면서 압력이 50기압이 될 때 까지 기다린다.
- (12) 압력(P1)이 50기압이 되면 온오프밸브(V2)를 연다.
- (13) 열교환기(HE2)를 작동하여 온도(T3 온도한계: 250° C)를 약 90-95° C로 유지한다.
- (14) 압력(P1)이 50기압으로 다시 돌아오면 온오프밸브(V5와 V7)를 연다.
- (15) 압력(P2)이 50기압이 되면 온오프밸브(V9)를 열고, 다음으로 미터링밸브(MV)를 열어 추출물을 코니컬 튜브(15 mL)에 받는다.
- (16) 코니컬 튜브(15 mL)의 눈금을 확인하면서 미터링밸브(MV)의 눈금을 미세하게 조절하여 일정한 유속으로 추출한다.
- (17) 매 10분마다 코니컬 튜브(15 mL)를 교체하면서 30분간 추출한다.

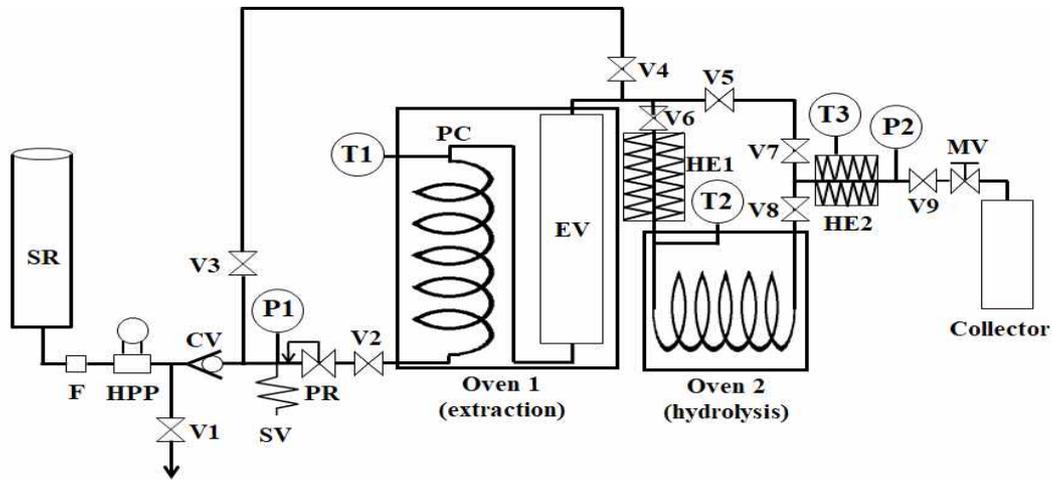


그림. 반연속식 아임계수 추출 및 가수분해 장치의 도식도(CV: 체크밸브, EV: 추출기, F: 인라인 필터, HE: 열교환기, HPP: 고압펌프, MV: 미터링밸브, P: 압력계이지, PC: 예비가열코일, PR: 압력조절기, SV: 안전밸브, SR: 용매 저장고, T: 온도 표시계, V: 온오프밸브)

② 아임계수 추출 및 연속식 가수분해 방법

- 아임계수 추출과 추출물의 연속식 가수분해는 오븐1(추출)과 오븐2(가수분해)를 이용하여 수행하였음
- 아임계수 추출 방법은 앞(1-13)과 같으며 아임계수 추출 및 연속식 가수분해 방법은 다음과 같다.
 - (1) 미리 오븐2(온도한계: 250° C)를 원하는 가수분해 온도(170, 180, 190° C)로 조절하여 둔다.
 - (2) 미리 열교환기(HE1)를 작동하여 온도(T2 온도한계: 300° C)를 원하는 가수분해 온도(170, 180, 190° C)로 조절하여 둔다.
 - (3) 온오프밸브(V6과 V8)를 연다(온오프밸브(V5와 V7))는 잠긴 상태임).
 - (4) 압력(P2)이 50기압이 되면 온오프밸브(V9)를 열고, 다음으로 미터링밸브(MV)를 열어 가수분해물을 코니컬 튜브(15 mL)에 받는다.
 - (5) 코니컬 튜브(15 mL)의 눈금을 확인하면서 미터링밸브(MV)의 눈금을 미세하게 조절하여 일정한 유속으로 가수분해한다.
 - (6) 매 10분마다 코니컬 튜브(15 mL)를 교체하면서 30분간 가수분해한다.
- 아임계수 추출은 오븐1에서 150° C, 1 mL/min에서 행하였고, 아임계수 가수분해는 연속적으로 오븐2에서 스테인리스강 관(외경 1/8 인치)의 길이(1, 2, 3 m)를 달리하여 여러 온도(170, 180, 190° C)에서 수행하였다. 오븐2에서의 체류시간은 다음 식을 이용하여 산출하였음.

$$\text{체류시간 (min)} = \frac{V_R P_R}{v_0 p_0}$$

- 여기서 V_R 은 관의 부피(m³), v_0 은 유속(mL/min), p_R 은 가수분해 온도와 압력(5 MPa)에서 물의 밀도(kg/m³), p_0 은 25° C와 5 MPa에서 물의 밀도(kg/m³)이다.

- 플라바논 1배당체(헤스페리딘-7-O-글루코사이드와 프루닌)와 비배당체(헤스페레틴과 나린 제닌)의 가수분해 수율은 다음 식을 이용하여 계산하였음.

$$\text{가수분해 수율 } (\mu\text{g/g dry sample}) = \frac{Q_H \times (MW_{2G}/MW_H)}{Q_{2G}}$$

- 여기서 QH는 아임계수 가수분해물 중 플라바논 1배당체 또는 비배당체의 농도($\mu\text{g/g dry sample}$)이고, Q2G는 가수분해 전 풋굴 중 플라바논 2배당체의 농도($\mu\text{g/g dry sample}$)이고, MW2G는 플라바논 2배당체의 분자량이고, MWH는 플라바논 1배당체 또는 비배당체의 분자량임.

- 가수분해 반응 후 플라바논의 손실량은 다음 식을 이용하여 계산하였음.

$$\text{손실량 } (\%) = \left(\frac{Q_{2G} - (Q_{2GR} + Q_{1G} + Q_A)}{Q_{2G}} \right) \times 100$$

- 여기서 Q2G는 가수분해 전 풋굴 중 플라바논 2배당체의 농도($\mu\text{g/g dry sample}$)이고, Q2GR은 아임계수 가수분해물 중에 남아있는 플라바논 2배당체의 농도($\mu\text{g/g dry sample}$)이며, Q1G와 QA는 각각 아임계수 가수분해물 중의 플라바논 1배당체와 비배당체의 농도($\mu\text{g/g dry sample}$)를 가수분해 전 플라바논 2배당체의 농도($\mu\text{g/g dry sample}$)로 환산한 값임.

- 추출물과 가수분해물 중의 플라보노이드 함량은 HPLC를 이용하여 정량하였다. 추출수율(%)은 추출물 중의 헤스페리딘과 나리루틴의 함량을 추출 전 원 시료 중의 함량으로 나누어 산출하였음.

- 추출 전 풋굴 착즙박 중의 헤스페리딘과 나리루틴의 함량은 풋굴 착즙박 0.5 g에 메탄올 30 mL를 가하여 실온에서 교반하면서 30분간 추출한 후 원심분리(3,000×g, 10분)하여 상등액을 회수하였고, 헤스페리딘과 나리루틴이 모두 정량적으로 회수될 때까지 잔사를 4번 더 추출하였고, 3회 반복 실험의 결과를 평균하였음.

- 추출물과 가수분해물 중의 총고형분 함량은 105° C에서 건조한 후 측정하였음.

③ 효소 저해활성의 측정 방법

- 추출물과 가수분해물에 의한 췌장 리파아제(체중조절 효과), 알파-글루코시다제(항당뇨 효과), 크산틴 산화효소(항통풍 효과), 안지오텐신-I 변환효소(항고혈압 효과)의 저해활성을 측정하였다. 효소 저해활성 측정은 아임계수 가수분해물의 메탄올 2배 희석물을 사용하였음.

- 췌장 리파아제의 저해활성은 시료 0.05 mL에 0.025 mL의 췌장 리파아제 효소용액(1 mg/mL in (N-morpholino) propanesulfonic acid sodium salt buffer [10 mM MOPS and 1 mM ethylenediaminetetra acetic acid, pH 6.8])과 0.05 mL tris HCl 완충용액(100 mM tris HCl and 5 mM CaCl₂, pH 7.0)을 가하였다. 혼합물을 37° C에서 15분간 반응시킨 후 0.05 mL의 10 mM 4-니트로페닐 뷰티레이트를 첨가하였고 37° C에서 30분간 다시 반응시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였음.

- 알파-글루코시다제의 저해활성은 시료 0.025 mL를 알파-글루코시다제 효소용액(100 mL in 100 mM 인산 완충용액, pH 6.8) 0.025 mL와 0.1 mL 인산 완충용액(100 mM, pH 6.8)과 혼합한 후 25° C에서 15분 동안 반응시켰다. 여기에 3 mM 4-니트로페닐 β -D-글루코피라노사이드 0.05 mL를 첨가하여 25° C에서 5분간 다시 반응시킨 후 405 nm에서의 흡광도를 4분마다 총 10회 측정하였다. 효소 첨가 전후의 반응 속도로 효소 저해활성을 계산하였음.
- 잔틴산화효소의 저해활성은 시료 0.025 mL를 0.025 mL 잔틴산화효소 용액(0.5 U/mL, 50 mM phosphate buffer, pH 7.5)과 0.1 mL 인산 완충용액(50 mM, pH 7.5)과 혼합한 후 25° C에서 15분 동안 반응시켰다. 여기에 0.05 mL의 2 mM 잔틴 용액을 가한 후 25° C에서 5분간 다시 반응시킨 후 290 nm에서 흡광도를 4분마다 총 10회 측정하였다. 효소 첨가 전후의 반응 속도로 효소 저해활성을 계산하였다. 모든 효소저해활성 측정에서 50% 메탄올을 대조군으로 사용하였음.
- 안지오텐신-I 변환효소(angiotensin-I converting enzyme, ACE)의 저해활성은 다음과 같이 측정하였다. 시료 0.05 mL를 0.1 mL HHL 용액(12.5 mM)과 혼합한 후 37° C에서 5분간 배양하였다. 여기에 ACE 용액 0.15 mL(50 mM 인산염 완충용액, pH 7.3)를 가하고 37° C에서 60분간 재배양한 후 0.25 mL의 1 M HCl을 가하여 반응을 정지시켰다. 반응 생성물인 hippuric산은 에틸아세테이트 1.5 mL로 추출한 후 5분간 4,000×g에서 원심분리한 후 상등액 1.0 mL를 취하여 용매를 증발시킨 후 증류수 1 mL를 가하여 용해한 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였음.

3) 체중조절 기능성 성분(또는 지표 성분)의 주정 추출공정 최적화 및 표준화

① 주정에 의한 풋굴 착즙박의 추출 방법

- 삼각플라스크에 건조한 풋굴 착즙박(1 g)과 예열된 추출용매를 가한 후 응축기(유리관, 내경 2 mm × 길이 400 mm)를 연결하여 원하는 실험 조건에서 수욕조에서 진탕(120 rpm) 추출하였다. 일정시간 후 혼합물을 여과한 후 일정 부피로 정용하였다. 모든 추출물은 HPLC 분석 전에 시린지 필터(0.45 μ m)를 여과하였음.

② 단일 추출공정 변수의 실험 방법

- 개별 추출 변수(에탄올 농도, 온도, 용매와 시료의 비율, 추출 시간)가 풋굴 착즙박으로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 미치는 영향을 평가하였음.
- 에탄올 농도는 20, 40, 60, 80, 100%(v/v), 온도는 25, 35, 45, 60, 75, 85, 90° C, 용매와 시료의 비율은 20, 30, 40, 50, 60, 70 mL/g, 추출 시간은 10, 20, 30, 40, 50, 60분을 평가하였음.

③ 반응표면분석 방법

- 단일 추출공정 변수의 실험 결과로부터 3개의 독립변수와 범위를 선정하였는데, 온도(X1)는 60, 75, 90° C, 에탄올 농도(X2)는 40, 60, 80%(v/v), 용매와 시료의 비율(X3)은 20, 30, 40 mL/g이었음.

- Box-Behnken법에 의한 실험 설계는 각 독립 변수로 이루어진 12개의 실험군(1~12)과 중앙점에서 5개의 반복실험(13~17)으로 구성되었음.
- Design-Expert 11.0 소프트웨어(Trial 버전, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 실험 데이터를 모형 방정식에 적용하여 각 계수 값을 구하였음.

④ 추출 횟수의 실험방법

- 풋갈 착즙박으로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 대한 추출 횟수의 영향을 측정하기 위하여, 에탄올의 추출 최적 조건(80.3° C, 58.4%, 40 mL/g, 30분)에서 추출을 1, 2, 3회 실시하여 비교하였음.

⑤ 용매 종류의 실험방법

- 풋갈 착즙박으로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 수율에 미치는 추출 용매의 영향은 에탄올의 최적 조건(80.3° C, 58.4%, 40 mL/g, 30분)에서 메탄올과 아세톤을 사용하여 측정하였음.

나. 체중조절 기능성분(또는 지표성분)의 아임계수 추출 또는 가수분해물의 대량 생산

1) 유기산을 첨가한 아임계수로 풋갈 착즙박으로부터 가수분해물의 제조방법

① 저온(120° C)의 아임계수에 의한 가수분해

- 풋갈 착즙박 분말 1 g에 일정량의 유기산과 30 mL의 증류수를 가한 후 오토클레이브에서 120° C로 가열한 후 일정시간 동안 가수분해하였음.
- 가수분해물을 5A 여과지로 여과한 후 증류수를 가하여 50 mL로 정용하였으며 메탄올을 가하여 2배 희석하였고 0.45 μm 시린지 필터로 여과한 후 개별 플라보노이드와 효소 저해활성의 분석에 사용하였음.

② 단일 요인 실험

- 풋갈 착즙박으로부터 플라보노이드 1배당체와 비배당체의 가수분해 수율에 대한 가수분해 매개변수(구연산 농도 및 가수분해 시간)의 영향을 측정하였음.
- 구연산 농도의 영향은 풋갈 착즙박 분말 시료에 대하여 구연산의 농도를 4, 7, 10, 13, 16 및 19%(wt/wt)로 달리하여 120° C에서 8시간 가수분해하였으며, 가수분해 시간의 영향은 4, 6, 8, 10, 12, 14 및 16시간으로 달리하여 120° C에서 10%의 구연산을 첨가하여 가수분해하였음.

③ 반응표면분석법

- 중심 합성 설계는 120° C에서 두 개의 독립 변수를 5개의 수준(구연산 농도(X1, 1.51, 4, 10, 16, 18.48%), 가수분해 시간(X2, 2.35, 4, 8, 12, 13.65 시간))에서 실시하였음.
- 독립 변수의 조합을 달리하여 8개(1~8번)의 실험을 수행하였고 중심점에서는 5개(9~13번)의 반복실험을 수행하였다. 2차 다항식을 이용하여 독립 변수(구연산 농도와 가수분해 시간)와 종속 변수(1배당체와 비배당체의 수율, 전체 가수분해물의 수율, 전체 가수분해 수율(%)) 사이의 상관관계를 측정하였음.

④ 총 폴리페놀 함량 측정 방법

- (1) 탄닌산(tannic acid)으로 5~10 mg에 상당한 양을 취하여 50 mL 용량플라스크에 취한 후 증류수를 소량 가하여 30분 동안 초음파 추출.
- (2) 위의 용액을 증류수로 50 mL 정용한 후 적절히 희석하여 시험용액을 제조.(40, 60, 80, 100, 120, 140 mg/L)
- (3) 증류수 1.875 mL를 시험관에 각각 취함.
- (4) 각각의 시험관에 각각 표준용액, 시험용액 및 증류수(공시험용)를 0.25 mL씩 취함.
- (5) 각 시험관에 Folin-Denis 시약 0.125 mL을 가한 후 35% 탄산나트륨 0.250 mL을 넣어 혼합.
- (6) 25°C 암소에서 30분 방치한 후 760 nm에서 흡광도를 측정.

다. 풋갈을 이용한 식품 제형 개발

1) 실험방법

- 본 연구에서는 아래와 같은 방법들을 이용하여 실험을 진행하였으며, 특정 연구에서만 사용된 실험법에 대해서는 별도 표기하였음.

① 수분활성도(Water activity, Aw)

- 수분활성도측정기(AquaLab Pre Water Activity Meter, METER Group, Pullman, Washington, D.C., USA)를 이용하여 측정함.

② 색도

- 시료를 petri dish에 평평하게 담은 후 색차계(CR-210, Minolta Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 명도(lightness, L), 적색도(redness, a), 황색도(yellowness, b)를 측정하였으며, 결과값은 3회 반복측정한 것의 평균값으로 나타냄.

③ 당도

- 시료를 전자 당도계(PAL-BX, ATAGO CO.,LTD, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정해 Brix° 로 나타내었으며 결과값은 3회 반복하여 측정한 것의 평균값으로 나타냄.

④ pH

- pH는 pH meter(S470 SevenExcellenceTM, Inti Inc., Schwerzenbach, Switzerland)를 이용하여 측정하였으며 결과값은 3회 반복하여 측정한 것의 평균값으로 나타냄.

⑤ 총 페놀 함량

- 각 시료 200 μ L를 증류수 900 μ L와 혼합한 후 2 M Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 μ L를 가한 후 상온의 암소에서 5분간 반응시키고 2% Na₂CO₃ 300 μ L를 혼합하여 증류수로 2 mL를 정용하고 상온의 암소에서 60분간 반응 후 Microplate reader(EpochTM, Bio Tek Instruments, Inc., Winooski, USA)를 이용하여 760 nm의 파장에서 흡광도 측정함.

⑥ DPPH radical scavenging activity

- 각 시료 2 mL와 0.3 mM DPPH solution(in ethanol) 0.8 mL를 혼합하여 암소에서 30분간 반

응시킨 후 200 μ L씩 microplate reader(EpochTM, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도 측정함.

- 시료액 대신 증류수를 가한 대조군과 0.3 mM DPPH solution 대신 증류수를 가한 시료색의 흡광도를 함께 측정하여 계산식에 대입하여 활성도를 산출함.

라. 풋귤 원료의 품질 분석

1) 원료의 입고 및 전처리, 저장방법

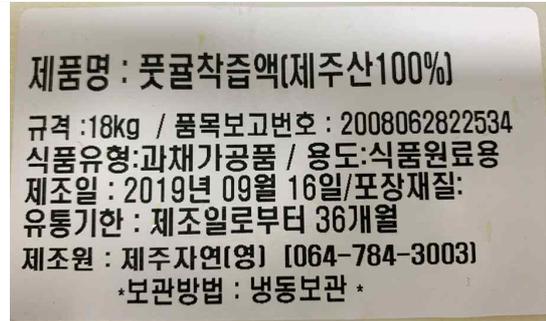
- 2019년 농장에서 구입한 풋귤은 3회 세척 및 건조 후 10 kg씩 진공포장하여 -20℃에서 냉동보관하며 50일마다 자체적으로 품질평가를 진행함.
- 주관기관으로부터 제공받은 풋귤착즙액은 -20℃에서 냉동보관하며 30일마다 자체적으로 품질평가를 진행함.



풋귤



풋귤착즙액



풋귤착즙액 제품 정보

그림. 풋귤 및 풋귤착즙액 정보

2) 원재료의 품질분석방법

- 풋귤과 풋귤착즙액의 입고 당시 품질은 국가공인인증시험기관에 분석 의뢰하였으며, 입고일 기준으로 각각 50일, 30일마다 자체적으로 이화학적 특성 변화를 관찰함.
- 건강기능성식품 등록을 위한 원재료의 표준화를 위해 공인기관의 시험성적서를 발급하고자 함.
- 국가공인인증기관 의뢰 분석항목: 영양성분, 중금속(납, 카드뮴), 보존료, 대장균, 일반세균수.
- 국가공인인증기관은 SGS KOREA이며 시험방법은 식품공전에 명시된 방법으로 실행하였음.
- 자체 품질분석항목: 외관, 색도, 당도, 산도, pH, DPPH radical scavenging activity, 총 페놀 함량.

① 외관

- 풋귤의 겉껍질, 과육, 속껍질 등을 사진 촬영하여 관찰함.

② 산도

- 풋귤의 껍질과 과육을 통째로 분쇄한 시료 3 g에 증류수 27 mL을 넣어 10배 희석해주고, 삼각플라스크 하나당 20 mL씩 넣고 1% phenolphthalein을 2~3방울 가하고 0.1 N NaOH로 적정하여 측정하였으며 결과값은 3회 반복측정한 것의 평균값으로 나타냄.

③ 총 페놀 함량

- 표준곡선은 gallic acid 용액으로 작성하였으며, 시료의 총 페놀 함량은 100 g 중의 mg gallic acid equivalents(GAE)로 나타냄.

마. 풋꿀 액상제형 가공식품 개발공정 최적화

1) 다양한 형태의 시판 젤리 품질 분석

- 본 연구에서는 풋꿀을 이용한 액상제형(젤리)을 제조하기에 앞서 시중에서 판매되고 있는 다양한 형태의 젤리에 대한 pH, 당도, 압착강도(Fracturability)를 측정하여 향후 젤리 제조 시의 갖추어야 할 조건을 확립하고자 함.
- 스틱형 3종, 컵형 3종, 파우치형 4종에 대하여 실험을 진행함.

| Type | Samples | | | |
|-------|---|--|---|---|
| Stick |  <p>큐원 상쾌환 스틱형 18 g</p> |  <p>파미니티 BF-7 메모리파워 20 g</p> |  <p>단양 아로니아 곤약젤리 20 g</p> | |
| Cup |  <p>동원 Dole 밀감 젤리 200 g</p> |  <p>폴무원 아임리얼 떠먹는 주스 푸딩 망고 130 g</p> |  <p>CJ제일제당 뿌띠첼 밀감 90 g</p> | |
| Pouch |  <p>동원 Dole 곤약젤리 얼그레이자몽 130 mL</p> |  <p>미닛메이드 쿠우젤리 복숭아 130 mL</p> |  <p>롯데 곤약젤리 청포도맛 130 g</p> |  <p>삼립 짜먹는 제리뽀 말강젤리 망고 130 g</p> |

그림. 시판 젤리의 외관

2) 시판 스틱형 젤리의 품질 분석

- 선행 연구를 통해 확인한 스틱형, 파우치형, 컵형 젤리들 중 간편성과 특유의 식감으로 인해 많은 소비자들의 관심을 받고 있는 스틱형 젤리의 이화학적 특성을 알아보고자 시판 스틱형 젤리의 품질 분석을 진행함.
- 국내 온라인 쇼핑몰에서 판매되고 있는 기능성 원료를 함유한 스틱 형태의 젤리 9종(석류 3종, 풋사과 3종, 홍삼 3종)에 대한 이화학적 특성과 항산화 활성을 분석함.
- 석류 3종은 기타가공품, 풋사과 3종과 홍삼 3종은 건강기능식품임.

표. 시판 스틱형 젤리 제품정보

| Main ingredient | Sample | Manufacturer | Product name | Weight |
|-----------------|--------|--------------|------------------------|--------|
| Pomegranate | P1 | GNM | 폼격있는 석류스티크 | 20 g |
| | P2 | 네이처드림 | 시크릿 석류콜라겐 스틱 | 20 g |
| | P3 | 닥터슈퍼베리 | 석류 콜라겐 젤리스틱 with 히비스쿠스 | 20 g |
| Green apple | G1 | DR.MOON | 내몸에 사과해 가르시니아 | 20 g |
| | G2 | 마더네스트 | 슬림핏 풋사과 젤리 | 20 g |
| | G3 | 스키니랩 | 애플페논 풋사과 다이어트 젤리 | 20 g |
| Red ginseng | R1 | 일동제약 | 키드큐 홍삼젤리 | 15 g |
| | R2 | 유유제약 | 뉴트리키즈 홍삼젤리 | 15 g |
| | R3 | 지앰팜 | 더징크디 홍삼젤리 | 20 g |

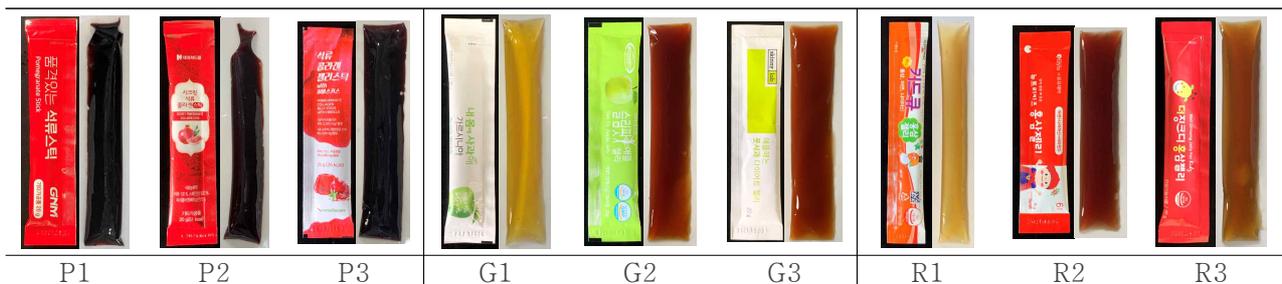


그림. 시판 스틱형 젤리의 외관

① 수분함량

- 105℃ 상압가열건조법을 이용하여 측정함
- 시료 3 g을 취하여 Dry oven(LO-FS250, LK LAB, Korea) 105℃에서 건조시켜 백분율로 표기함.

② 탁도

- 시료 3 g에 증류수 30 mL를 가하여 초고속 균질기(T-25D, IKA, Germany)를 이용하여 8,000 rpm에서 1분 30초간 균질한 후 원심분리기를 이용하여 4,000 rpm, 20℃에서 10분간 원심분리하여 얻어진 상층액을 시료로 사용함.
- 분광광도계(Optizen 2120UV, Mecasys Co., Daejeon, Korea)를 이용하여 500 nm에서 흡광도를

측정함.

③ 총산도

- 시료 1 g에 증류수 50 mL를 가한 후 8,000 rpm에서 1분간 균질한 액을 시료로 사용함
- pH meter의 전극을 이용하여 교반하면서 0.1 N NaOH로 pH 8.2가 될 때까지 적정하였으며, 이때 소비된 0.1 N NaOH의 양을 확인하여 citric acid (%)로 환산하여 계산함.

$$\text{총산 (w/w\%)} = \frac{0.0064 \times V \times f}{S} \times 100$$

V: 0.1 N NaOH의 소비량 (mL)

f: 0.1 N NaOH의 Factor

S: 검체량 (g)

④ 총 페놀 함량

- 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 만든 표준곡선을 통해 함량을 구했으며, 시료 1 g 중의 mg gallic acid equivalents(mg GAE/g)로 나타냄

⑤ Texture

- Texture analyzer(CT3 10K, Ametek brookfield, Middleborough, USA)를 이용하여 TPA(texture profile analysis)로 측정함.
- 시료는 10 × 10 × 5 mm의 직육면체 모양으로 절단하여 부서짐성(fracturability), 경도(hardness), 부착성(adhesiveness), 응집성(cohesiveness), 탄력성(springiness), 점착성(gumminess)을 측정함.

표. 시판 스틱형 젤리의 조직감 측정 조건

| Parameter | Condition |
|---------------|------------------|
| Test type | TPA |
| Target | 80% |
| Trigger Load | 0.02 N |
| Test speed | 2.00 mm/sec |
| Return speed | 2.00 mm/sec |
| Pretest Speed | 2.00 mm/sec |
| Data rate | 10.00 points/sec |
| Probe | TA25/1000 |
| Fixture | TA-BT-KIT |
| Load cell | 10,000 g |

3) 풋굴착즙액 액상제형 최적 제조공정 확립

- 풋굴착즙액을 이용하여 젤리를 만드는 경우, 젤리에 포함된 성분들의 배합비에 따라 겔화에 영향을 미치는 pH, Brix 등이 달라지며 겔화 유무 및 조직감 특성도 다양해짐.
- 따라서, 풋굴착즙액을 비롯한 여러 부재료들의 배합비를 달리한 젤리를 제조 및 분석하여 최적의 액상제형 제조 배합비를 확립하고자 함.

① pH

- 겔화제 첨가 전의 pH는 겔화제를 제외한 모든 재료를 첨가하여 용해시킨 후 pH meter를 이용하여 측정함. 겔화제 첨가 후의 pH는 모든 재료를 첨가하여 용해시킨 후 졸 상태의 용액을 pH meter를 이용하여 측정함

② 당도

- 겔화제 첨가 전의 당도는 겔화제를 제외한 모든 재료를 첨가하여 용해시킨 후 전자당도계를 이용하여 측정함
- 겔화제 첨가 후의 당도는 모든 재료를 첨가하여 용해시킨 후 졸 상태의 용액을 전자당도계를 이용하여 측정함

③ Texture

- 냉각 24시간 후 겔화 유무를 확인하여 겔화가 된 시료에 한해 각각의 젤리를 10 × 10 × 10 mm로 절단하여 측정함
- Texture Analyzer(CT3, Texture Analyzer, Brookfield, USA)를 이용하여 TPA의 방법으로 Fracturability(부서짐성), Hardness 1(경도 1), Hardness 2(경도 2), Adhesiveness(부착성), Cohesiveness(응집성), Springiness(탄력성), Gumminess(점착성), Chewiness(씹힘성), Resilience(순간복원력)를 시료 당 각 5회 이상 측정함

4) 풋굴착즙액의 전처리 조건 확립

- 본 실험에 사용된 풋굴착즙액은 2019년 9월 제조되어 냉동보관하였으며, 제주농장 영농조합법인에서 제공받았음
- 풋굴착즙액의 고형분이 가라앉는 현상으로 인해 시료가 균일하지 않으므로 다양한 여과 방법을 통해 전처리 조건을 확립하고자 함
- 전처리 조건에 따른 차이를 육안으로 확실하게 확인하기 위하여 물을 첨가하지 않고 풋굴착즙액만을 액체로 첨가하여 실험을 진행함
- 여과 공정을 거치지 않은 풋굴착즙액(원액), 100 mesh 체로 1회 여과한 여액(100 mesh), 100 mesh 체로 1회 여과 후 65 cmHg 조건에서 감압여과하여 얻어진 액(감압여과)을 이용하여 젤리를 제조함

표. 전처리 조건을 달리한 풋귤착즙액 젤리의 배합비

| 재료 | 원액 | 100 mesh | 감압여과 |
|---------------|------|----------|------|
| 풋귤착즙액 | 66.8 | 66.8 | 66.8 |
| 설탕 | 15 | 15 | 15 |
| 물엿 (70° Brix) | 17 | 17 | 17 |
| 로커스트빈검 | 0.6 | 0.6 | 0.6 |
| 카파 카라기난 | 0.6 | 0.6 | 0.6 |
| 합계 (중량%) | 100 | 100 | 100 |

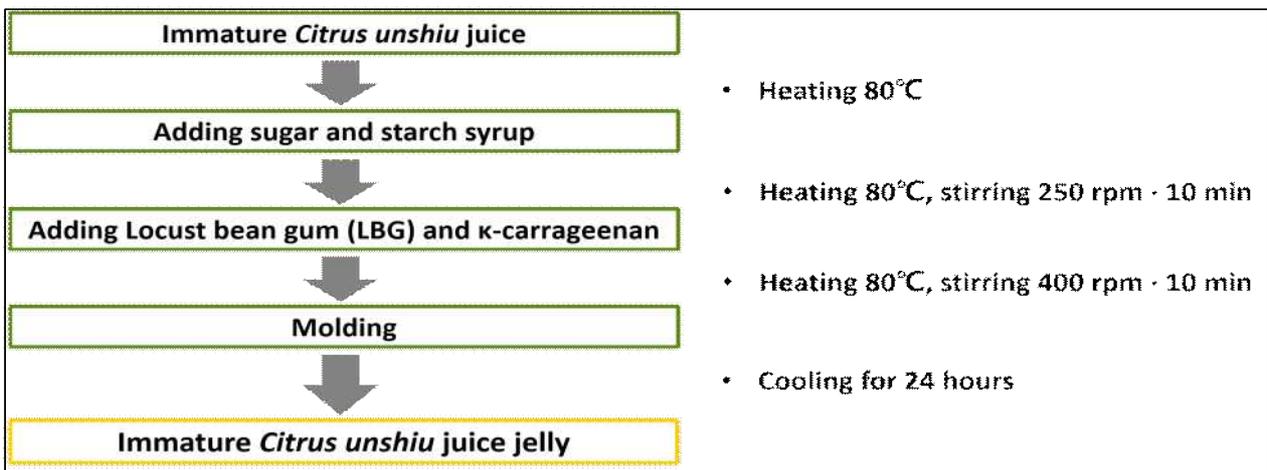
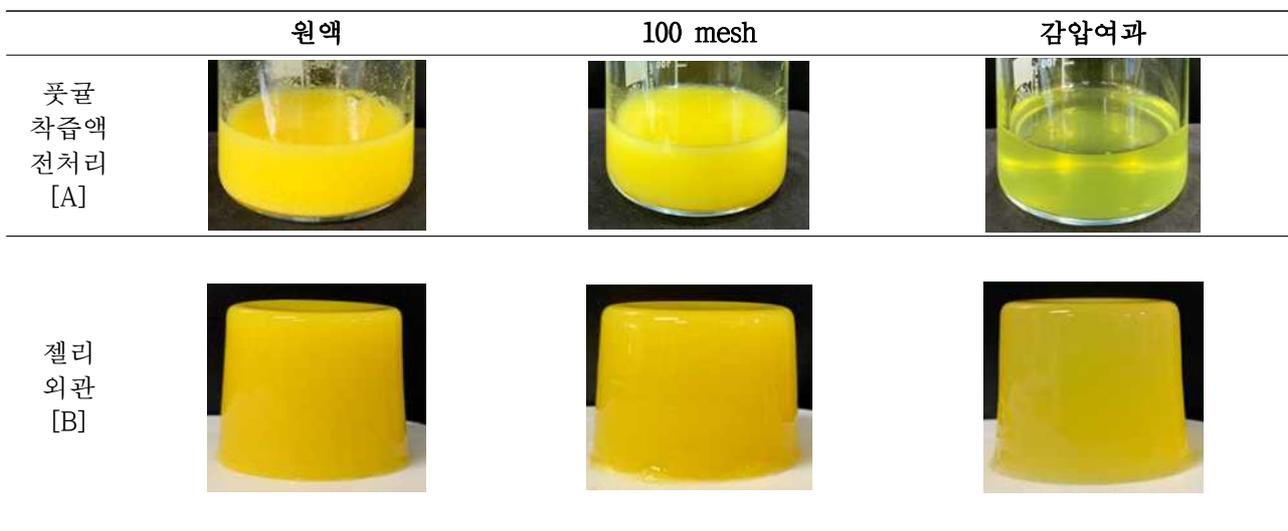


그림. 전처리 조건을 달리한 풋귤착즙액 젤리의 제조공정도

표. 전처리 조건을 달리한 풋귤착즙액 젤리의 겔화제 첨가 전후 pH와 당도

| 시료명 | 겔화제 첨가 전 | | 겔화제 첨가 후 | |
|----------|----------|--------|---------------|------------|
| | pH | ° Brix | pH | ° Brix |
| 원액 | 3.105 | 33.2 | 3.064 ± 0.011 | 35.3 ± 0.3 |
| 100 mesh | 3.098 | 33.2 | 3.146 ± 0.073 | 35.4 ± 0.1 |
| 감압여과 | 3.134 | 33.7 | 3.076 ± 0.027 | 34.8 ± 0.4 |



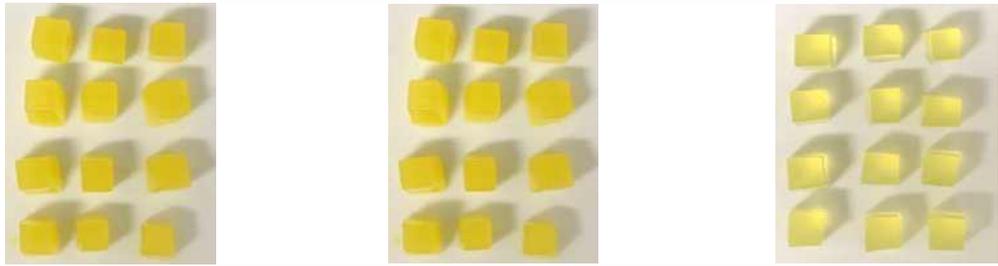


그림. 전처리 조건을 달리한 풋굴착즙액[A]과 젤리[B]의 외관.

- 전처리 방법에 관계없이 모든 시료가 겔화되었고 젤리의 조직감을 나타내는 것을 확인할 수 있었음.
- 풋굴착즙액 원액으로 제조한 젤리의 경우 가장 짙은 색을 띄었지만 슬러리가 육안으로 보이는 것을 확인할 수 있었음
- 풋굴착즙액을 감압여과하여 얻어진 액으로 제조한 젤리의 경우 상대적으로 굉장히 투명한 외관을 나타내었으나, 전처리 과정에 소요되는 시간이 너무 길고 향후 젤리 제조 시 물을 첨가할 경우 지나치게 옅은 색을 나타낼 가능성이 보였음
- 풋굴착즙액을 100 mesh 체를 이용하여 1회 여과하여 얻어진 여액으로 제조한 젤리의 경우 원액에 비해 약간 색이 연해지는 것을 확인할 수 있었으나 큰 차이를 보이지는 않았으며 젤리 제조 후 풋굴착즙액 슬러리를 육안으로 확인할 수 없었음
- 적은 시간으로 풋굴착즙액의 슬러리를 어느 정도 여과 가능한 100 mesh 1회 여과를 전처리 최적 조건으로 확립하였음

5) 풋굴착즙액 액상제형 제조를 위한 배합비 설정

- 풋굴착즙액과 물의 첨가량을 달리하고 다양한 식품첨가물을 첨가한 젤리의 겔화 유무 확인 및 품질 분석을 실시함
- 풋굴착즙액 액상제형의 제품화를 고려하여 고감미도 감미료(효소처리스테비아), 산미료(구연산, 비타민C), 산도조절제(구연산삼나트륨) 등의 식품첨가물을 첨가하고 풋굴착즙액과 음용수를 다양한 비율로 혼합하여 실험을 진행함
- 시판 스틱형 젤리에 주로 사용되는 겔화제인 로커스트빈검, 카파카라기난, 잔탄검을 첨가하여 실험을 진행함

표. 풋굴착즙액 젤리의 배합비

| 재료 | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 3 | 1 : 4 |
|-------|-------|-------|-------|-------|
| 풋굴착즙액 | 39 | 26 | 19.5 | 15.6 |
| 물 | 39 | 52 | 58.5 | 62.4 |
| 설탕 | 10 | 10 | 10 | 10 |

| | | | | |
|---------------|-----|-----|-----|-----|
| 물엿 (70° Brix) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 효소처리스테비아 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 구연산 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 비타민 C | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 구연산삼나트륨 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 로커스트빈검 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 카파 카라기난 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 잔탄검 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 합계 (중량%) | 100 | 100 | 100 | 100 |

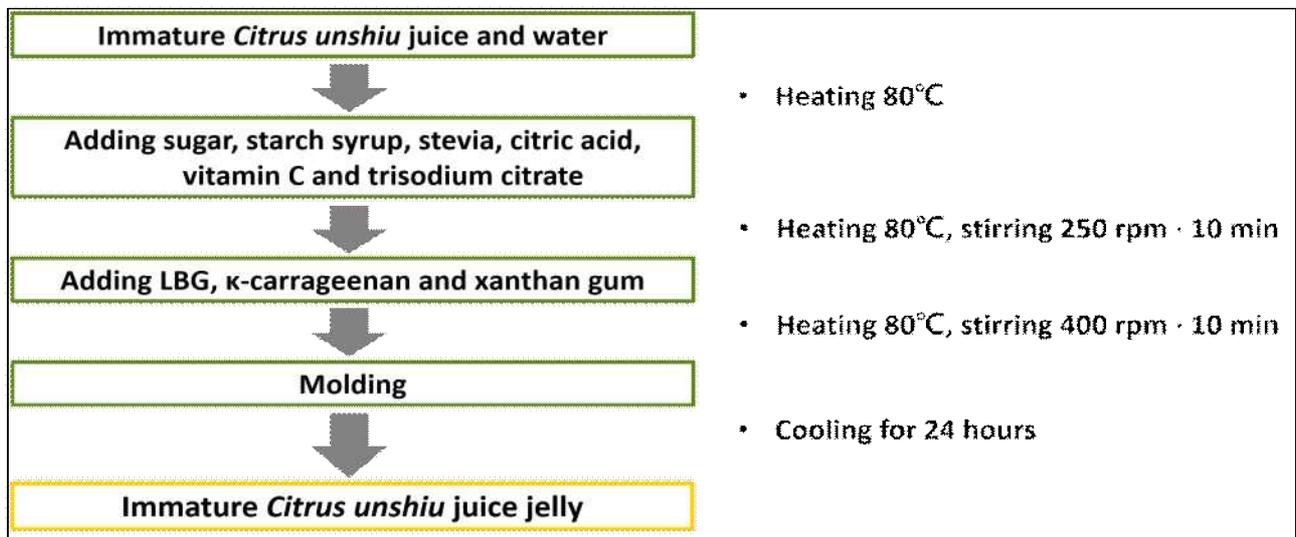


그림. 풋귤착즙액 젤리의 제조공정도

표. 풋귤착즙액 젤리의 겔화제 첨가 전후 pH와 당도

| 시료명 | 겔화제 첨가 전 | | 겔화제 첨가 후 | |
|-------|----------|--------|----------|--------|
| | pH | ° Brix | pH | ° Brix |
| 1 : 1 | 3.344 | 21.0 | 3.312 | 23.0 |
| 1 : 2 | 3.379 | 19.9 | 3.442 | 20.9 |
| 1 : 3 | 3.498 | 19.8 | 3.487 | 21.1 |
| 1 : 4 | 3.492 | 19.2 | 3.604 | 21.1 |

표. 풋귤착즙액 젤리의 조직감

| Texture | 시료명 | | | |
|------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 3 | 1 : 4 |
| Fracturability (N) (부서짐성) | 10.90 ± 1.10 | 14.82 ± 2.18 | 19.75 ± 3.48 | 21.44 ± 1.96 |
| Hardness 1 (N) (경도 1) | 25.34 ± 1.77 | 26.62 ± 2.09 | 35.58 ± 4.30 | 41.81 ± 11.92 |
| Hardness 2 (N) (경도 2) | 16.56 ± 1.38 | 17.83 ± 5.03 | 21.67 ± 5.62 | 22.81 ± 15.29 |

| | | | | |
|----------------------------|-------------|-------------|--------------|---------------|
| Adhesiveness (mJ) (부착성) | 2.25 ± 1.20 | 1.60 ± 0.36 | 1.90 ± 0.80 | 2.04 ± 1.88 |
| Cohesiveness (응집성) | 0.12 ± 0.06 | 0.10 ± 0.07 | 0.11 ± 0.05 | 0.13 ± 0.14 |
| Springiness (mm) (탄력성) | 2.50 ± 1.10 | 2.53 ± 0.91 | 3.75 ± 1.28 | 3.69 ± 1.19 |
| Gumminess (N) (점착성) | 3.05 ± 1.79 | 2.70 ± 1.94 | 3.77 ± 1.58 | 5.48 ± 4.93 |
| Chewiness (mJ) (씹힘성) | 8.60 ± 7.78 | 7.29 ± 5.63 | 13.36 ± 5.86 | 22.17 ± 22.97 |
| Resilience (순간복원력) | 0.04 ± 0.05 | 0.02 ± 0.02 | 0.04 ± 0.03 | 0.02 ± 0.02 |

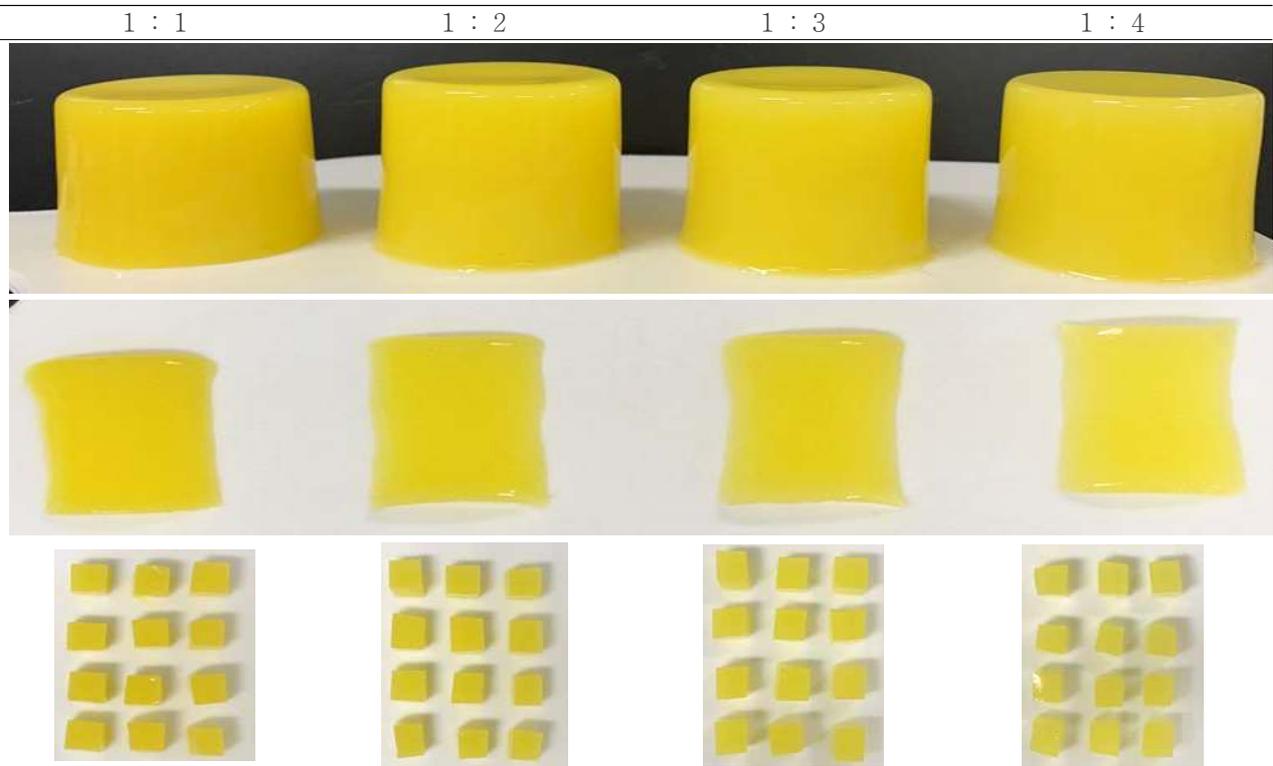


그림. 풋굴착즙액 젤리의 외관

- 모든 시료는 겔화되었으며 젤리의 느낌을 가지는 것을 확인할 수 있었음
- 외관상으로 풋굴착즙액 : 물의 비율이 1 : 1에서 1 : 4로 갈수록 색이 옅어지는 것을 확인할 수 있었음

6) 풋굴착즙액 젤리의 배합비 단순화 후 겔화 유무 확인 및 품질 분석

- 선행연구를 통해 구연산삼나트륨이 pH를 높여주는 역할을 하지만 맛에 있어서 인공적인 쓴맛을 느끼게 한다는 것을 알게 되어 구연산삼나트륨을 첨가하지 않았음
- 배합비의 단순화를 위하여 산미료인 구연산과 비타민 C 중 비타민 C는 첨가하지 않았으며, 겔화제 중 잔탄검을 제외한 나머지 2종의 겔화제(로커스트빈검, 카파카라기난)만 첨가하여 제조함

표. 풋귤착즙액 젤리의 배합비

| 재료 | 풋귤착즙액 30 |
|---------------|----------|
| 풋귤착즙액 | 30 |
| 물 | 48 |
| 설탕 | 10 |
| 물엿 (70° Brix) | 10 |
| 효소처리스티비아 | 0.2 |
| 구연산 | 0.2 |
| 로커스트빈검 | 0.8 |
| 카파 카라기난 | 0.8 |
| 합계 (중량%) | 100 |

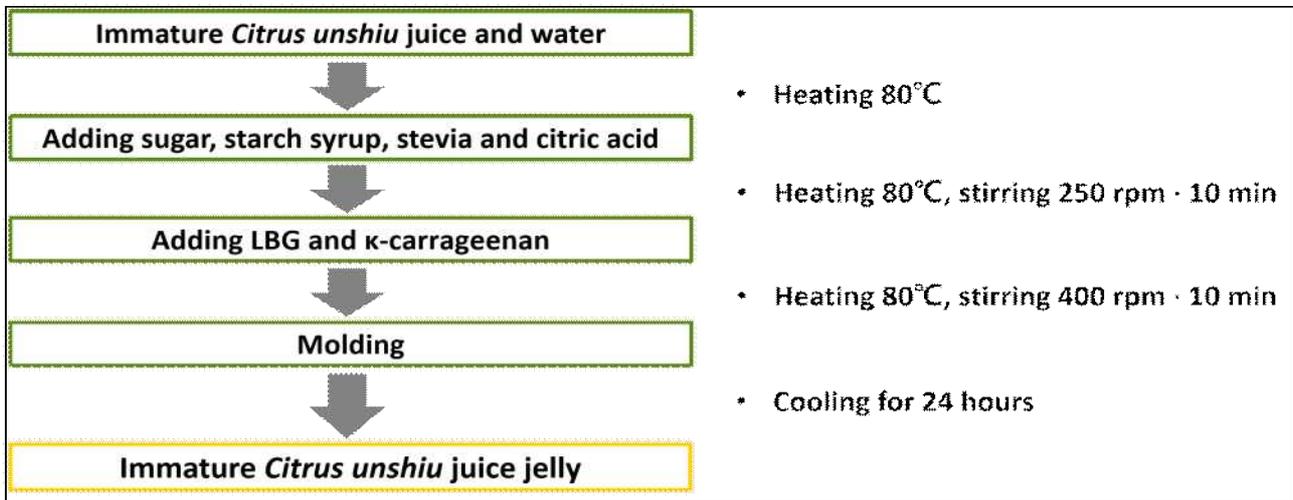


그림. 풋귤착즙액 젤리의 제조공정도

표. 풋귤착즙액 젤리의 겔화제 첨가 전 후 pH와 당도

| 시료명 | 겔화제 첨가 전 | | 겔화제 첨가 후 | |
|-----------|----------|--------|---------------|------------|
| | pH | ° Brix | pH | ° Brix |
| 풋귤 착즙액 30 | 2.998 | 20.0 | 3.054 ± 0.016 | 23.1 ± 0.1 |

표. 풋귤착즙액 젤리의 Texture

| Texture | 풋귤 착즙액 30 |
|--------------------------|--------------|
| Fracturability (부서짐성) | 36.27 ± 8.17 |
| Hardness 1 (경도 1) | 49.61 ± 7.95 |
| Hardness 2 (경도 2) | 25.64 ± 4.88 |
| Adhesiveness (부착성) | 1.62 ± 0.61 |

| | |
|-----------------------|---------------|
| Cohesiveness (응집성) | 0.10 ± 0.05 |
| Springiness (탄력성) | 2.32 ± 0.77 |
| Gumminess (점착성) | 4.96 ± 2.84 |
| Chewiness (씹힘성) | 12.87 ± 11.41 |
| Resilience (순간복원력) | 0.02 ± 0.01 |

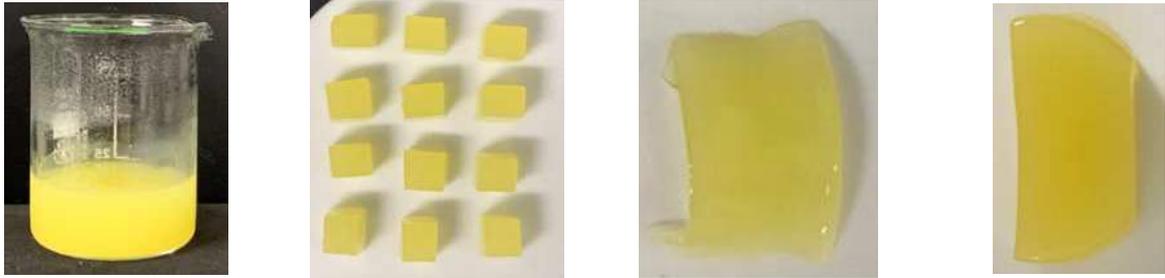


그림. 풋굴착즙액 30% 첨가 젤리의 외관.

- 냉각 후 겔화되는 것을 확인할 수 있었으며 시판 스틱형 젤리와 유사한 단맛, 신맛 그리고 조직감 등을 확인할 수 있었음

7) 풋굴착즙액 첨가량의 최적 조건을 찾기 위한 젤리 제조 및 품질 분석

- 풋굴착즙액을 제외한 재료들의 배합비는 4-3과 동일하게 진행하였으며 풋굴착즙액을 첨가하지 않은 대조구(풋굴착즙액 0)와 풋굴착즙액을 각각 10, 20, 30, 40% 첨가하여 젤리를 제조함으로써 최적의 풋굴착즙액 첨가량을 찾고자 함.

표. 풋굴착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 배합비

| 재료 (%) | 풋굴 착즙액 (%) | | | | |
|----------|------------|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 |
| 풋굴착즙액 | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 |
| 물 | 78 | 68 | 58 | 48 | 38 |
| 설탕 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 물엿 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 효소처리스테비아 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 구연산 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 로커스트빈검 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 |
| 카파카라기난 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 |
| Total | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

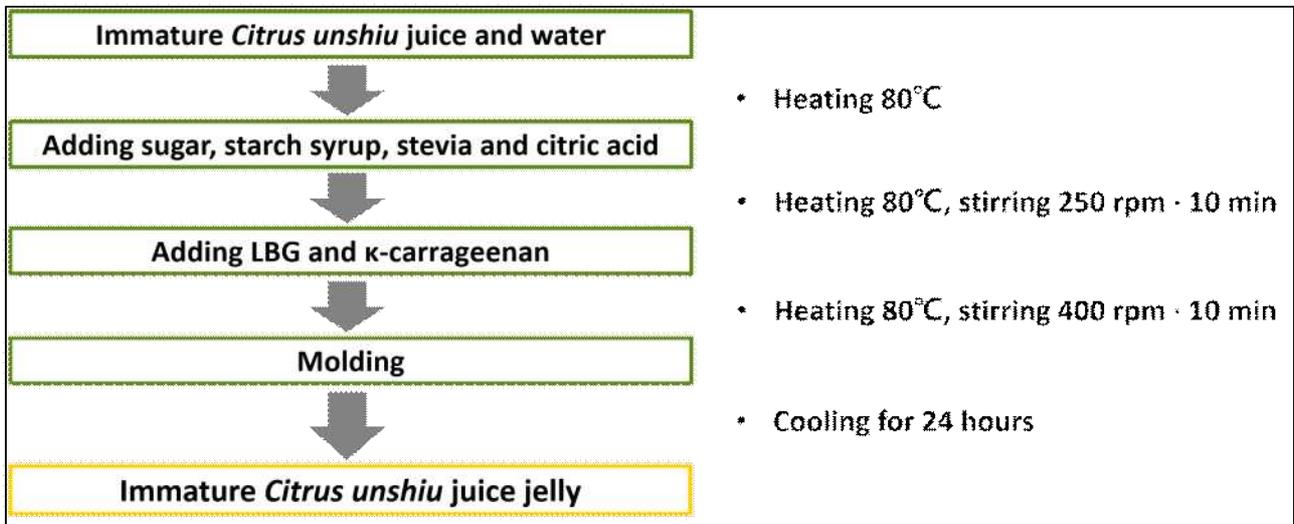


그림. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 제조공정도

표. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 겔화제 첨가 전후 pH와 당도

| 시료명 | 겔화제 첨가 전 | | 겔화제 첨가 후 | |
|-----------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | pH | ° Brix | pH | ° Brix |
| 풋귤 착즙액 0 | 2.638 ± 0.034b | 18.55 ± 0.07b | 2.828 ± 0.031c | 21.00 ± 0.66b |
| 풋귤 착즙액 10 | 2.866 ± 0.014a | 18.70 ± 0.28b | 2.929 ± 0.031b | 21.05 ± 0.15b |
| 풋귤 착즙액 20 | 2.973 ± 0.042a | 19.70 ± 0.28ab | 2.971 ± 0.026ab | 21.97 ± 0.49ab |
| 풋귤 착즙액 30 | 2.996 ± 0.030a | 20.60 ± 0.14a | 2.973 ± 0.017ab | 23.03 ± 0.23a |
| 풋귤 착즙액 40 | 2.979 ± 0.041a | 20.95 ± 0.64a | 2.986 ± 0.034a | 22.72 ± 1.46a |

표. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 Texture

| Texture | 풋귤 착즙액 (%) | | | | |
|--------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 |
| Fracturability (N) | 34.83±4.96a | 33.65±4.65a | 29.95±4.25a | 27.29±10.06a | 30.02±13.02a |
| Hardness 1 (N) | 61.99±13.32a | 51.36±10.52a | 55.16±10.75a | 57.11±10.98a | 56.06±8.21a |
| Hardness 2 (N) | 49.51±19.49a | 33.24±6.36a | 34.73±10.32a | 39.18±13.00a | 36.31±14.88a |
| Adhesiveness (mJ) | 4.16±2.51a | 3.50±2.44a | 2.42±1.73a | 3.36±2.90a | 2.55±1.66a |
| Cohesiveness | 0.23±0.06a | 0.17±0.04a | 0.15±0.08a | 0.23±0.05a | 0.18±0.10a |
| Springiness (mm) | 3.39±0.60a | 3.53±0.76a | 3.58±1.09a | 3.42±0.51a | 3.14±0.52a |
| Gumminess (N) | 14.19±5.06a | 8.57±2.59b | 7.84±3.90ab | 13.35±5.09ab | 10.13±6.27ab |
| Chewiness (mJ) | 48.08±19.11a | 30.52±11.33a | 29.30±18.02a | 45.81±18.31a | 33.41±21.96a |
| Resilience | 0.02±0.03a | 0.02±0.02a | 0.01±0.01a | 0.01±0.01a | 0.01±0.01a |

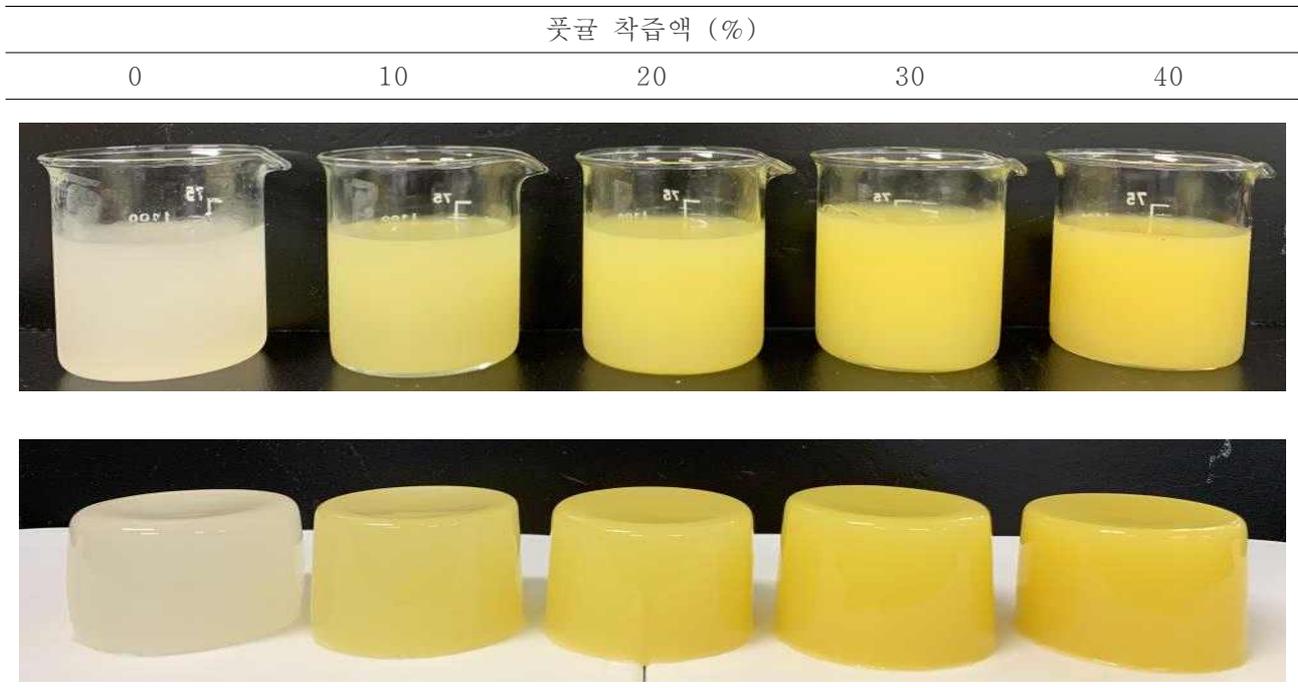


그림. 꽃굴착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 외관.

8) 기호도 평가 (순위법)을 통한 최적의 꽃굴착즙액 첨가량 확립

- 꽃굴착즙액 첨가량에 따른 pH, Brix, Texture의 유의적 차이가 없기 때문에 기호도 평가(순위법)를 이용하여 최적의 꽃굴착즙액 첨가량을 결정하기로 함

표. 꽃굴착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 기호도 평가 (순위법)

| 기호도 평가 (순위법) | 꽃굴 착즙액 (%) | | | | |
|-----------------|------------|----|----|----|----|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 |
| 투명도 | 4 | 1 | 2 | 3 | 5 |
| 꽃굴향 | 5 | 4 | 3 | 1 | 2 |
| 꽃굴색 | 5 | 4 | 3 | 1 | 2 |
| 전체적인 기호도 | 5 | 4 | 3 | 1 | 2 |

- 젤리의 외관에 있어서 중요한 특성 중 하나인 투명도의 경우 꽃굴착즙액을 적게 넣을수록 높은 기호도를 보였으나 꽃굴착즙액을 첨가하지 않은 시료의 경우 오히려 탁한 외관을 나타내어 높지 않은 기호도를 나타낸 것으로 생각됨
- 꽃굴향과 꽃굴색의 경우 꽃굴착즙액을 30% 첨가한 젤리가 가장 높은 기호도를 나타냄
- 꽃굴착즙액을 40% 첨가한 젤리의 경우 꽃굴의 향과 색이 너무 진해 꽃굴착즙액 30% 첨가 젤리보다 낮은 순위를 나타낸 것으로 생각됨
- 꽃굴착즙액 20, 10, 0% 첨가 젤리는 꽃굴의 향과 색이 점점 연해져 감에 따라 낮은 순위를 나타낸 것으로 생각됨
- 전체적인 기호도를 포함하여 모든 항목들의 순위를 고려하였을 때, 결과적으로 꽃굴착즙액을 30% 첨가한 젤리가 가장 높은 순위로 나타나 최적의 꽃굴착즙액 첨가량은 30%라는 결

과를 도출하게 됨

9) 겔화제 종류의 최적 조건을 찾기 위한 젤리 제조 및 품질 분석

- 젤리의 물성에 가장 영향을 주는 것은 겔화제의 종류와 양임

- 따라서, 예비실험을 통해 시판 스틱형 젤리와 유사한 물성을 가지는 것으로 확인된 로커스트빈검, 카파카라기난, 젤란검을 이중 혼합물의 조합으로 이용하여 최적의 조합을 찾고자 함

표. 겔화제의 종류를 달리한 풋굴착즙액 젤리의 배합비

| 재료 (g) | 시료명 | | |
|-----------|-----|-----|-----|
| | LC | LG | CG |
| 풋굴착즙액 | 30 | 30 | 30 |
| 물 | 48 | 48 | 48 |
| 설탕 | 10 | 10 | 10 |
| 물엿 | 10 | 10 | 10 |
| 효소처리스테비아 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 구연산 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 로커스트빈검(L) | 0.8 | 0.8 | 0 |
| 카파카라기난(C) | 0.8 | 0 | 0.8 |
| 젤란검(G) | 0 | 0.8 | 0.8 |
| Total | 100 | 100 | 100 |

표. 겔화제의 종류를 달리한 풋굴착즙액 젤리의 pH와 당도

| 시료명 | 겔화제 첨가 후 | |
|-----|----------------|----------------|
| | pH | ° Brix |
| LC | 2.973 ± 0.017b | 23.03 ± 0.23a |
| LG | 3.128 ± 0.058a | 21.92 ± 0.55ab |
| CG | 3.119 ± 0.045a | 21.33 ± 1.28b |

표. 겔화제의 종류를 달리한 풋굴착즙액 젤리의 Texture

| Texture | 시료명 | | |
|--------------------|----------------|---------------|--------------|
| | LC | LG | CG |
| Fracturability (N) | 27.29 ± 10.06a | 1.87 ± 0.18b | 3.93 ± 4.38b |
| Hardness 1 (N) | 57.11 ± 10.98a | 12.43 ± 2.14b | 7.41 ± 2.19b |
| Hardness 2 (N) | 39.18 ± 13.00a | 8.10 ± 2.15b | 5.01 ± 2.00b |
| Adhesiveness (mJ) | 3.36 ± 2.90a | 1.89 ± 0.56ab | 1.07 ± 0.45b |
| Cohesiveness | 0.23 ± 0.05a | 0.08 ± 0.04b | 0.05 ± 0.07b |
| Springiness (mm) | 3.42 ± 0.51a | 2.48 ± 0.40b | 0.94 ± 0.22c |
| Gumminess (N) | 13.35 ± 5.09a | 0.99 ± 0.41b | 0.41 ± 0.57b |
| Chewiness (mJ) | 45.81 ± 18.31a | 2.53 ± 1.36b | 0.35 ± 0.51b |
| Resilience | 0.01 ± 0.01a | 0.03 ± 0.03a | 0.05 ± 0.05a |

| 시료명 | | |
|---|---|---|
| LC | LG | CG |
|  |  |  |

그림. 겔화제의 종류를 달리한 풋귤착즙액 젤리의 외관

- 로커스트빈검, 카파카라기난, 젤란검을 각각 2종씩 조합하여 실험을 진행한 결과, 로커스트빈검과 카파카라기난 조합이 가장 매끈한 외관을 나타내었으며 쉽게 으깨지지 않는 물성을 띄어 스틱형 젤리와 유사한 조직감을 나타내는 것을 확인함
- 따라서, 로커스트빈검과 카파카라기난을 혼합하여 젤리를 제조하는 것이 가장 최적이라는 결과를 도출하게 됨

10) 풋귤착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 관능검사

- 풋귤착즙액을 첨가하지 않은 대조구(Control)와 풋귤착즙액을 15, 30, 45, 60% 첨가한 젤리의 이화학적 품질 특성을 비교·분석하고자 함
- 겔화제로는 겔 형성능이 우수하고 열가역성이 뛰어나 디저트 젤리의 겔화제로 주로 사용되는 카파카라기난과 다이어트 식품소재로도 널리 알려져 있는 곤약(글루코만난)을 사용함
- 이전의 실험에서는 100 g을 기준으로 제조하였으나, 향후 Scale-up과 다양한 실험을 진행하기 위해 500 g을 기준으로 제조함
- 실험에 사용된 풋귤(immature Citrus unshiu) 착즙액은 제주농장으로부터 제공받았으며 -20°C 냉동고에 보관하면서 사용함
- 풋귤착즙액은 사용 직전 해동한 후 슬러리를 걸러내기 위해 100 mesh 체를 이용하여 1회 여과한 액을 분석에 사용함

| Ingredients (%) | Immature Citrus unshiu juice (%) | | | | |
|------------------------------|----------------------------------|------|------|------|------|
| | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 |
| Immature Citrus unshiu juice | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 |
| Sugar | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Starch syrup (70° Brix) | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Citric acid | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Konjac | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 |
| α -carrageenan | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 |
| Water | 78.6 | 63.6 | 48.6 | 33.6 | 18.6 |
| Total | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

그림. 겔화제의 종류를 달리한 풋귤착즙액 젤리의 배합비(좌)와 제조공정도(우)

① 수분함량

- 105°C 상압가열건조법을 이용하여 측정함
- 시료 3 g을 취하여 Dry oven(LO-FS250, LK LAB, Korea) 105°C 에서 건조시켜 백분율로 표기함

② 보수력(Water holding capacity, WHC)

- 거즈를 넣은 원심분리관에 시료 약 0.5 g을 취하고 원심분리기(Microfuge 16, Beckman Coulter, USA)를 이용하여 8,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후 시료 제거 후의 원심분리관의 무게를 측정하여 아래의 계산식을 이용하여 계산함

$$\text{보수력 (\%)} = \frac{\text{시료 무게 (g)} - (\text{시료 제거 후 원심분리관 무게 (g)} - \text{빈 원심분리관 무게 (g)})}{\text{시료 무게 (g)}} \times 100$$

③ 총산도

- 풋귤착즙액은 착즙액 1 g에 증류수 50 mL를 넣고 200 rpm으로 30분간 교반하여 시료로 사용함
- 풋귤착즙액 젤리는 시료 1 g에 증류수 50 mL를 넣고 초고속 균질기(T25D, IKA, Germany)를 이용하여 8,000 rpm에서 1분간 균질한 액을 시료로 사용함
- 0.1 N NaOH를 이용하여 시료액의 pH가 8.2까지 도달하는데 소비되는 0.1 N NaOH의 양(mL)을 citric acid 함량 (%)으로 환산하여 아래의 계산식을 이용하여 계산함

$$\text{총산 (w/w\%)} = \frac{0.0064 \times V \times f}{S} \times 100$$

V : 0.1 N NaOH의 소비량 (mL)
 f : 0.1 N NaOH의 Factor
 S : 검체량 (g)

④ Texture

- 풋갈착즙액 젤리를 10 × 10 × 10 mm로 성형한 후 Texture analyzer(CT3 10K, Ametek brookfield, Middleborough, USA)를 사용하여 TPA(texture profile analysis)로 측정함
- 경도(hardness), 부착성(adhesiveness), 응집성(cohesiveness), 탄력성(springiness), 점착성(gumminess), Chewiness(씹힘성), Resilience(순간복원력)을 측정하였으며, 각 시료 당 5회 이상 반복 측정하여 그 평균값을 사용함
- 측정조건은 strain 80%, trigger load 0.02 N, test speed 2.00 mm/sec, return speed 2.00 mm/sec, pretest speed 2.00 mm/sec data rate 10.00 points/sec, probe TA25/1000, Fixture TA-BT-KIT, Load cell 10,000 g으로 하였음

⑤ 총 페놀 함량

- 표준곡선은 tannic acid 용액으로 작성하였으며, 시료의 총 페놀 함량은 100 g 중의 mg tannic acid equivalents(TAE)로 나타냄

11) 풋갈착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 최적 pilot-scale 제조공정 확립

- 선행연구를 통해 풋갈착즙액을 이용한 lab-scale 액상제형 제조공정은 최적을 확립하였으나, 실제 제품 생산을 위한 factory-scale 진행 시 가열 및 교반 조건 등과 같은 여러 외부 요인에 의해 액상제형의 품질이 변할 수 있으므로 이를 보완하고자 pilot-scale에서의 액상제형 제조 및 품질 분석을 진행함

표. Pilot-scale 풋갈착즙액 액상제형 배합비

| Ingredients (g) | Total volume (kg) | | |
|------------------------------|-------------------|-------|-------|
| | 500 | 1,000 | 5,000 |
| Immature Citrus unshiu juice | 150 | 300 | 1,500 |
| Sugar | 50 | 100 | 500 |
| Starch syrup (70° Brix) | 50 | 100 | 500 |
| Citric acid | 1 | 2 | 10 |
| Gum mix | 8.5 | 17 | 85 |
| Water | 240.5 | 481 | 2,405 |
| Total | 500 | 1,000 | 5,000 |

12) 대량생산된 풋갈추출물을 이용한 factory-scale 액상제형 식품제조공정확립

- 임상시험을 위해 대량생산된 풋갈추출물 젤리를 제조하였으며, 플라시보 제조를 위해 풋갈추출물과 감귤농축액 대신 구연산과 천연감귤향을 첨가하여 샘플과 유사한 맛과 향을 가지는 젤리를 제조함

| Ingredients (%) | Sample | Placebo | |
|--|--------|---------|--|
| Immature Citrus unshiu hydrolysated (26° brix) | 25 | 0 | |
| Citrus concentrate (60° brix) | 20 | 0 | |
| Starch syrup (70° brix) | 20 | 30 | |
| Enzymatically modified stevia | 0.5 | 0.3 | |
| Citric acid | 0 | 0.2 | |
| Natural citrus flavor | 0 | 0.5 | |
| Gum mix | 1.7 | 1.7 | |
| Water | 32.8 | 67.3 | |
| Total | 100 | 100 | |

그림. 대량생산 풋귤추출물, 플라시보 젤리 배합비(좌)와 제조공정도(우)

13) 대량생산된 풋귤추출물 함유 액상제형식품의 영양성분분석

- 실험실에서 풋귤추출물 젤리에 대한 배합비와 제조공정을 맞춘 후 주관기관에서 대량으로 생산하였으며, 대량생산된 젤리에 대한 영양성분과 비타민 C 함량을 분석기관에 의뢰함

바. 풋귤 정제제형 가공식품 개발공정 최적화

1) 풋귤원료의 분말화 및 입도에 따른 특성분석

- 풋귤원료 분말을 이용하여 정제제형식품을 제조하기 위해 풋귤착즙액을 pilot-scale의 분무건조기로 분말화 진행함
- 그러나, 분무건조기의 노후화로 인하여 온도(inlet temperature) 및 시료투입속도(sample flow rate) 조절이 정확하게 되지 않아 분말 품질이 일정하지 않았음
- 추후 추가연구가 필요하며, pilot-scale 분무건조기 대신 lab-scale 기기를 사용할 예정임
- 풋귤착즙액의 분무건조를 통해 풋귤 원료 분말화를 진행함
- nlet temperature를 150, 170, 190°C로 달리하여 진행함
- 분무건조를 통해 분말화된 풋귤착즙액 분말은 외관, 수율, 색도, 수분활성도, 당도, pH, 입도분석, DPPH radical scavenging activity, 총 페놀 함량을 측정하여 inlet temperature에 따른 차이를 비교·분석함

① 분무건조 예비실험 조건

- 착즙액: 40 mesh 체 1회 여과하여 사용
- 부형제: Maltodextrin
- 음용수
- 착즙액 : 음용수 : 부형제 = 45 : 40 : 15의 비율로 혼합
- 교반: 140 rpm, 25°C, 13 h

② 풋굴착즙액 분말화를 위한 전처리

- 풋굴착즙액과 부형제를 먼저 혼합한 후 음용수 혼합
- 듀럼병 2 L 기준 : 풋굴 착즙액 900 g, 음용수 800 g, 부형제 300 g

③ 수율

- 건조 전과 후의 무게를 측정하여 아래와 같은 계산식을 이용해 계산함

$$Yield(\%) = \frac{\text{건조 후의 무게 (g)}}{\text{건조 전의 무게 (g)}} \times 100$$

④ 입도분석

- 분말 0.1 g을 증류수 50 mL에 용해시켜 500배 희석한 후 측정함
- DelsaMax Pro(Beckman Coulter, USA)를 이용하여 Diameter, Zeta potential을 측정함

⑤ 총 페놀 함량

- 표준곡선은 gallic acid (Sigma-Aldrich) 용액으로 작성하였으며, 시료의 총 페놀 함량은 100 g 중의 mg gallic acid equivalents (GAE)로 나타냄

2) 풋굴원료를 이용한 분말 제조공정 확립 및 특성분석

- 선행연구를 통해 풋굴착즙액을 이용한 분말을 제조하였으나, 풋굴착즙액을 동일하게 샘플링하는데 어려움이 있었으며 제조공정을 확립하기에는 분석이 부족하였음
- 이를 보완하고자 반응표면분석법(Response surface methodology, RSM)을 이용하여 분무건조 조건(Inlet temperature, aspirator, maltodextrin concentration)을 달리한 여러 분말을 제조하고자 함



회전증발농축기



분무건조기



입도분석기

그림. 풋굴 분말 제조 관련 사용 기기.

① 풋굴 농축액 제조

- 풋굴 농축액은 풋굴 착즙액을 100 mesh 체로 1회 여과시켜 슬러리를 걸러낸 후 시료로 사용함
- 여과 후의 풋굴 착즙액을 초고속 균질기를 이용하여 10,000 rpm으로 3분간 균질하였으며,

이후 회전증발농축기()를 이용하여 풋귤 착즙액을 농축하였으며, 전자당도계를 이용하여 풋귤 착즙액의 가용성 고형분을 측정하며 50±0.5° brix가 될 때까지 농축하여 최종적인 시료로 사용함

② 분무건조 분말 제조

- 풋귤 농축액(50±0.5° brix)과 증류수를 아래와 같이 배합한 후 shaking incubator (SI-600R, JEIO TECH, Daejeon, Korea)를 이용하여 25°C 에서 30분간 140 rpm의 속도로 혼합함
- 혼합된 용액에 maltodextrin (DE 14-20)을 각각 12, 16, 20% 비율로 첨가한 후 동일한 온도와 속도로 1시간 동안 혼합하였으며, 이후 10,000 rpm으로 5분간 초고속 균질하였고, overnight 교반(25°C, 140 rpm, 14 h)을 하여 최종적인 분무건조용 시료로 제조함
- 분무건조기 (Mini spray dryer B-290, BUCHI Labortechnik AG, Flawil, Switzerland)를 이용하여 풋귤 분말을 제조하였으며, 분무건조는 각 시료의 조건에 따라 inlet temperature(°C)와 aspirator(%)를 달리하였음

표. 분무건조를 위한 풋귤 용액 조성비

| Ingredients (g) | Maltodextrin concentration (%) | | |
|---|--------------------------------|-----|-----|
| | 12 | 16 | 20 |
| Immature Citrus unshiu concentrate (ICUC) | 9 | 9 | 9 |
| Water | 255 | 243 | 231 |
| Maltodextrin | 36 | 48 | 60 |
| Total | 300 | 300 | 300 |

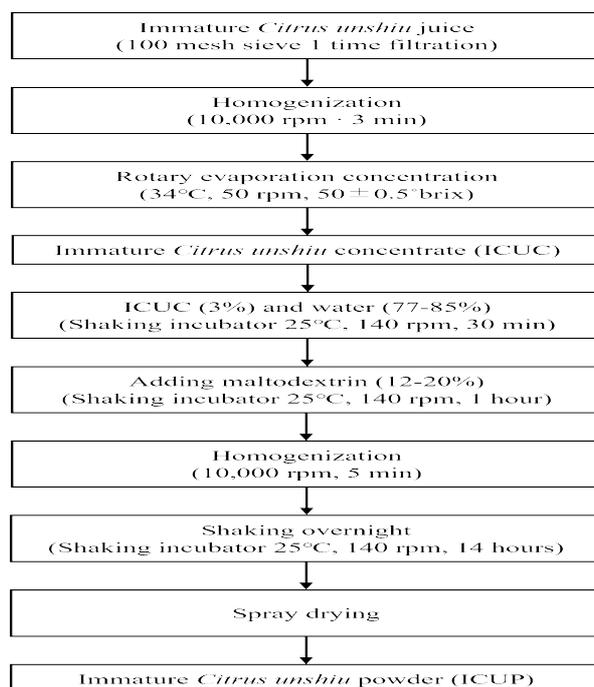


그림. 풋귤 농축액과 풋귤 분말의 제조공정도.

③ 분무건조공정 최적화를 위한 실험계획

- 풋갈 미세캡슐의 최적 분무건조 조건을 예측하기 위해 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 실시하였으며, 실험구는 예비실험 결과를 토대로 Box-behnken design (BBD)을 사용하여 설정함
- 풋갈 분말에 영향을 미치는 인자인 독립변수(Xn)는 분무건조조건인 inlet temperature(X1)와 aspirator(X2), 피막 물질로 사용한 maltodextrin concentration(%)으로 설정하였고, 독립변수에 대한 실험 범위는 3단계(-1, 0, +1)로 부호화하였다.

표. Box-Behnken 설계에 사용된 독립 변수의 수준

| Independent variable | Symbols | Factor levels | | |
|------------------------|---------|---------------|-----|-----|
| | | -1 | 0 | +1 |
| Inlet temperature (°C) | X1 | 160 | 180 | 200 |
| Aspirator (%) | X2 | 90 | 95 | 100 |
| Maltodextrin (%) | X3 | 12 | 16 | 20 |

④ 건조 수율

- 풋갈 분말의 건조 수율은 분무건조 전 용액의 무게와 분무건조 후의 분말의 무게를 측정 후 아래 계산식을 이용하여 구함

$$\text{수율}(\%) = \frac{\text{분무건조 후 분말의 무게 (g)}}{\text{분무건조 전 용액의 무게 (g)}} \times 100$$

⑤ 수분함량

- 풋갈 분말의 수분함량은 적외선 수분측정기 (MA50. X2. A., RADWAG, Torunska, Poland)를 이용하여 3회 반복 측정하였음

⑥ 입자크기, 제타전위, 입자분포도

- 풋갈 분말의 평균 입자크기와 입자분포도는 DelsaMax Pro (Beckman Coulter, USA)를 이용하여 dynamic light scattering (DLS) 원리에 의해 측정하였으며, 제타전위(ζ-potential) 측정은 DelsaMax Pro (Beckman Coulter, USA)를 이용하여 electrophoretic light scattering (ELS) 원리에 의해 측정함
- 풋갈 분말을 증류수에 100배 희석한 후 3회 반복 측정하였으며, 입자크기는 diameter (nm), 제타전위는 ζ-potential (mV), 입자분포도는 polydispersity index (PD Index)로 나타냄

⑦ 총 페놀 함량

- 풋갈 분말의 총 페놀 함량은 건강기능식품공전법을 일부 변형하여 측정함
- 풋갈 분말은 증류수에 용해시켜 50 mg/mL의 농도로 제조하였으며, 이후 이 용액 100 μL와

2M Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 50 μ L, 35% Na₂ CO₃ (Kanto Chemical Co., INC, Tokyo, Japan) 100 μ L와 증류수 750 μ L를 혼합하여 상온의 암소에서 30분간 반응시켰으며, microplate reader(Epoch™, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정함

- 총 페놀 함량은 tannic acid를 이용하여 만든 표준곡선을 통해 함량을 구했으며, 시료 1 g 중의 mg tannic acid equivalents(mg TAE/g)로 나타냄

⑧ 통계처리

- 반응표면분석은 분무건조기의 inlet temperature(X1)와 aspirator(X2), 미세캡슐화를 위해 사용된 부형제인 maltodextrin concentration(X3)을 독립변수로 설정하였고, 독립변수조건에 따른 분말의 건조 수율(Y1), 수분함량(Y2), 수분활성도(Y3), 총 페놀 함량(Y4), 입자크기(Y5)를 종속변수로 함
- 본 실험의 모든 통계분석과 최적화는 Design Expert Ver.13 software(Stat-ease, Minneapolis, MN, USA)를 이용함

[협동2 (제주대학교 산학협력단)]

가. 세포실험

1) 실험 재료

- 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), dexamethasone (Dex), 인슐린, Rosiglitazone, Oil Red O powder는 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)에서 구입함.
- Bovine serum (BS), Fetal bovine serum (FBS) Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), penicillin/streptomycin (P/S)는 Gibco (Grand Island, NY, USA)에서 구입함.
- AMPK α , pAMPK α , 아세틸-CoA 카르복실라제(ACC), pACC에 대한 항체는 Cell Signaling Technology, Inc. (Beverly, MA, USA)에서 구입함.
- β -actin 1차 항체는 Thermo fisher (USA)로부터 구입함.
- EZ-Western Lumi Pico와 EZ-Cytox는 Dogen Bio (Korea)에서 구입함.
- 본 실험에서 사용된 풋굴박 추출물은 제주농장에서 제공 받음. 풋굴박 착즙액은 80°C 에서 9 시간 동안 건조하였음. 건조한 착즙박은 분쇄하여 40 mesh 크기로 시료를 균일화 후, methanol을 이용하여 10% 농도로 추출하였음. 추출물은 40°C 이하에서 감압농축을 진행하여 용매를 완전히 제거 후 -80°C 에서 동결건조를 실시하였음.

2) 지방세포의 분화 및 시료처리

- 실험에 사용한 세포주는 KCLB (Korean Cell Line Bank, 대한민국)에서 분양받은 mouse fibroblast인 3T3-L1 전지방세포를 사용하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 96-well plate에 분주한

다음 10% BS (Bovine Serum), 1% Penicillin-Streptomycin (p/s)이 함유된 DMEM 배지에서 confluent 상태까지 incubator (5% CO₂, 37 °C)에서 배양하였다. 분화 전 Confluent 상태를 Day-0라 표기하고, 분화유도배지(0.5 mM IBMX, 1 μM DEX, 10 μg/mL 인슐린, 5 μM Rosiglitazone을 함유한 DIM)로 교체하여 3일간 세포를 배양하였다. 분화유도 후, 분화진행배지(10 μg/mL Insulin and complete media, DPM)로 교환하여 2일을 주기로 신선한 배지로 교체하면서 10일까지 세포를 배양하였다. 이 프로토콜에 따라 0일부터 10일까지 세포에 PCE (50, 100 μg/ml), 플라보노이드(5, 10, 20 μM), 양성대조군인 Simvastatin (4 μM)의 농도가 다르게 추가되었다. 정상대조군은 0일부터 10일까지 10% FBS로 보완된 DMEM에서 배양하였다.

3) 세포독성 실험

- 3T3-L1 세포를 96-well plates에 분주하고 PCE를 다양한 농도별로 제조한 다음 세포에 처리하여 48시간 동안 배양하였다. 세포생존율은 MTT 검사에 의해 측정되었다. 배지를 제거하고, 10% Ez-cytox를 넣고 37° C에서 3시간 동안 배양되었다. plates를 세척한 후 각 well에 형성된 formazan은 450nm 파장의 ELISA microplate reader (Gordig, Austria)로 측정하였다.

4) 지방축적 검사 (Oil-Red-O Staining)

- 세포내 지질 축적은 Oil-Red-O Staining을 사용하여 평가하였다. 대조군과 각기 다른 농도의 플라보노이드가 처리된 3T3-L1 지방세포를 대상으로 배지를 제거하고 PBS로 세척한 다음 10% formalin으로 1시간 동안 고정하였다. 고정이 끝난 후 증류수를 이용하여 세포를 세척한 다음 Oil Red O solution을 처리하여 실온에서 1시간 동안 염색을 실시하였다. 염색 후, Oil Red O solution을 제거하고 증류수로 4회 세척한 다음 IncuCyte Zoom System (Essen Bioscience)을 이용하여 관찰하고 사진 촬영 및 Total Red Object Integrated Intensity (RCU x μm² /Well)를 측정하였다.

5) 지방세포내의 triglyceride (TG) 측정

- 세포내 트리글리세라이드(TG) 함량은 triglyceride colourimetric assay kit (BioAssay Systems, CA, USA)와 그 사용방법에 따라 정량화하였다. 8일째 분화가 유도된 3T3-L1 세포를 PBS로 세척하고 5%의 Triton X100을 함유한 lysis buffer로 세포를 용해한 후 균질화하여 3000 ×g에서 5분간 원심분리하였다. 각 샘플의 단백질 농도는 Bradford assay 시약(Bio-Rad Laboratory Inc., Hercherlas, CA, USA)과 그 사용방법에 따라 정량하였다. TG 함량은 calibration standard로 bovine serum albumin이 검출한 각 단백질 농도에 의해 정량하였다.

6) 지방세포내 포도당 유입 측정 검사

- Glucose uptake 측정은 분화가 완료된 3T3-L1 지방세포를 대상으로 수행하였다. 3T3-L1 지방세포를 96-well plate에 배양하였고 위에서 설명한 바와 같이 DIM 프로토콜을 사용하여 분화되도록 유도하였다(2.2). 분화가 완료된 지방세포의 포도당을 고갈시키기 위하여 FBS만을 첨가하여 12시간 배양하였고 이후 24시간 동안 샘플을 처리하여 배양하였다. 지방세포는 37°C에서 30분간 100 nM 인슐린이 있거나 없는 40 μM 2-NBDG로 배양하였다. 그 후 지

방세포는 얼음처럼 차가운 PBS로 3번 세척한 다음 IncuCyte®ZOOM Fluorescent Microscope (Essen BioScience, Inc. USA)로 형광강도를 촬영하고 분석하였다.

7) 단백질의 인산화 및 발현 검사 (Western blot)

- 지방세포에 얼음처럼 차가운 RIPA (Radioimmunoprecipitation Assay) buffer를 첨가하여 반응시킨 다음 원심분리하여 상층액에 있는 총 단백질을 분리하였다. 상층액의 단백질 농도는 Bradford assay 시약 (Bio-Rad Laboratory Inc., Hercherlas, CA, USA)과 그 사용방법에 따라 정량하였다. 동일한 양(10 µg)의 총 단백질을 sodium dodecyl sulfate (SDS)-polyacrylamide gel (단백질 겔 크기 기준 10%)을 이용하여 분리한 다음 전기연동을 실시하여 분리된 단백질을 nitrocellulose (NC) membrane으로 전이시켰다. 단백질이 전이된 NC membrane을 5% skim milk를 처리하여 비특이적인 단백질에 대한 blocking을 실시하고 각각의 1차 및 2차 항체를 처리하여 반응시켰다. 반응이 끝난 후 관심 단백질의 발현 양은 Chemi-luminescence Bio imaging Instrument (NeoScienceCo.,Ltd.,Korea) 사용하여 분석하였다.

8) 분자 도킹 검사 (Molecular docking)

- 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin, Nobiletin, Sinensetin 및 Tangeretin)의 구조는 SDF format으로 PubChem database에서 다운로드하였고 쿠마린(PDB ID; 2ya3)이 결합된 수용체 AMPK는 PDB database에서 검색하였다. 분자 도킹을 위하여 PyRx software를 활용하였다. 반응점(Thr86, Thr88, Thr88, Lys126, Val129, His150, Arg151, Lys242)을 둘러싸고 각각 24.40, 27.79, 33.09 크기의 공간이 형성되고 이후 플라보노이드는 자동 Dock Vina module을 사용하여 AMPK와 결합하였다. AMPK-리간드 베스트 모델을 선정하여 분석하였으며, 수치 분석 및 작성에 Pymol, Chimera, ligplot software를 사용하였다.

9) 세포내 유전자 발현의 증감 측정

- 총 RNA는 Easy-blue RNA extraction kit (iNtRON 바이오테크놀로지, 한국)와 그 사용방법에 따라 간 조직으로부터 분리하였다. RNA quality는 Agilent 2100 bioanalyzer에 의해 RNA 6000 Nano Chip (Agilent Technologies, Netherlands)을 사용하여 측정되었다. RNA는 ND-2000 Spectrophotometer (ThermoFisher, USA)를 사용하여 정량화하였다. 대조군과 실험군 RNA를 위한 라이브러리는 Quantseq 3'mRNA-Seq Library Prep Kit (Lexogen, Austria)와 그 사용방법에 따라 구축하였다. High-throughput sequencing은 NextSeq 500 (Illumina, USA)을 이용하였고 QuantSeq 3' mRNA-Seq reads는 Bowtie2 version 2.1.0 (Langmead 2013)을 사용하였으며 Differentially expressed genes은 Bioconductor version 3.0 (R. et al. 2004).을 사용하였다. RT (Read count) 데이터는 Genewiz™ version 4.0.5.6 (OcimumBiosolutions, India)을 이용하여 처리하였고 Network diagrams 작성은 Cytoscape (version 2.7)을 사용하였으며 이는 유전자의 상관관계를 통계적으로 분석하여 Network을 작성해주는 분석 툴이다. Gene 분류는 Medline database (National Centre for Biology Information, USA)에 의해 진행하였다.

10) 통계분석

- 모든 실험 결과는 3회 이상 반복하여 평균(mean)±표준편차(SD)로 나타내었다. SPSS Statistics (Ver.17.0; USA) 통계 프로그램의 one-way ANOVA를 사용하여 유의성 검정을 실시하였

다. 여러 군과의 비교를 위하여 Turkey's test를 실시하였으며, p값이 0.05 미만(*P < 0.05, **P < 0.005 및 ***P < 0.0005)일 때를 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

나. 풋굴박 착즙액의 in vitro 항산화 효능

1) 실험재료

- 본 실험에서 사용된 풋굴박 추출물은 제주농장에서 제공 받음. 풋굴박 착즙액은 80℃에서 9 시간 동안 건조하였음. 건조한 착즙박은 분쇄하여 40 mesh 크기로 시료를 균일화 후, methanol을 이용하여 10% 농도로 추출하였음. 추출물은 40℃ 이하에서 감압농축을 진행하여 용매를 완전히 제거 후 -80℃에서 동결건조를 실시하였음.

2) 실험방법

① 총 폴리페놀 함량

- 시료 100 μ L에 증류수 1.5 mL와 2N Folin-ciocalteu's reagent 100 μ L를 혼합한 뒤, 30초간 volting 하여 균질화 한다. 20% Sodium carbonate 300 μ L를 첨가하여 균질화 한다, 암소에서 1시간 동안 혼합한 시료를 반응시킨다. 반응시킨 시료를 분광광도계를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정한다. Gallic acid를 농도별로 동일하게 실험한 뒤, 표준곡선으로부터 phenolic 함량을 환산한다.

② 총 플라보노이드 함량

- 시료 200 μ L에 ethanol 800 μ L와 5% Sodium nitrite 60 μ L를 첨가한 후 vortexing하여 균질화한다. 혼합한 시료를 실온에서 5분간 반응시킨다. 10% Aluminum chloride 60 μ L 첨가하고 균질 후 5분간 반응시킨다. 1M Sodium hydroxide 400 μ L 첨가 후 1분간 반응하고 증류수 500 μ L를 첨가하여 혼합한다. Quercetin을 농도별로 동일하게 실험한 뒤, 표준곡선으로부터 flavonoid 함량을 환산한다.

③ DPPH free radical scavenging activity

- 시료 70 μ L와 DPPH 시약 140 μ L를 혼합한 뒤 암소에서 30분간 반응시킨다. ELISA를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{DPPH free radical scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

④ ABTS radical scavenging activity

- 시료 20 μ L와 ABTS 시약 180 μ L를 혼합한 뒤 암소에서 6분간 반응시킨다. ELISA를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{ABTS+ radical scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

⑤ Hydrogen peroxide scavenging activity

- 시료 100 μ L에 10 mM H₂O₂ 20 μ L과 phosphate buffer (pH 7.4) 100 μ L를 넣은 후 혼합한다. 37 °C에서 5분간 반응시키고 1.25 mM ABTS 30 μ L와 peroxidase 40 μ L를 넣고 혼합

한다. 37 °C에서 10분간 반응시켜 ELISA를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{Hydrogen peroxide scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

다. 동물실험

2) 실험재료

- Hesperidin은 LKT Labs (USA)에서 구입하여 사용함.
- PCE-J 풋굴박 추출물은 제주농장에서 제공 받음. 풋굴박 착즙액은 80°C에서 9 시간 동안 건조하였음. 건조한 착즙박은 분쇄하여 40 mesh 크기로 시료를 균일화 후, methanol을 이용하여 10% 농도로 추출하였음. 추출물은 40°C 이하에서 감압농축을 진행하여 용매를 완전히 제거 후 -80°C에서 동결건조를 실시하였음.
- PCE-L 풋굴 추출물은 제주대학교 임상빈교수님 실험실에서 풋굴박 추출물을 아임계 가수분해한 것을 제공받아 사용함,

2) 동물사육 및 시료의 적용

① 동물사육

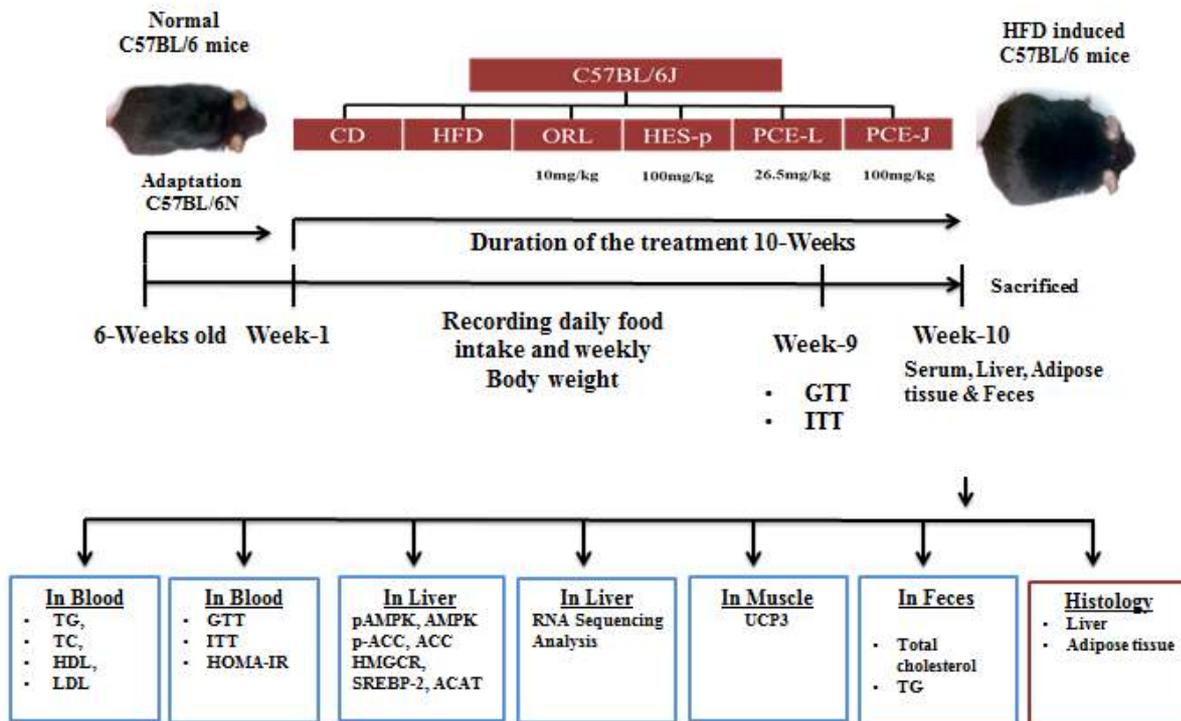
- 실험동물은 생후 5주령된 수컷 C57BL/6를 (주)오리엔탈바이오로부터 구입하여 1주간 제주대학교 수의과대학 실험동물센터(온도, 21±2°C; 습도, 45±10%; 명암주기, 12시간)에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다.
- 전 실험기간 동안 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였다.
- 식이 섭취량은 매일 기록하고 체중과 분변은 1주일 간격으로 측정하고 수집하였다.
- 모든 실험은 제주대학교 동물실험윤리위원회(ACUCC; Animal Care and Committee of Jeju National University)의 지침(Approval No. 2020-0047)에 따라 수행하였다.

② 시료의 적용

- 실험동물은 1주간 펠렛(Pellet) 형태의 식이(Chow diet)를 제공하여 사육환경에 적응시킨 후 난괴법(Randomized complete block design)에 의해 각 그룹으로 나누어 실험하였다(Scheme. 1).
- 자료분석 및 통계처리에 있어, 모든 실험 결과는 컴퓨터 통계 프로그램 중의 하나인 SPSS packate program (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago)을 사용하여 산출되었다.
- 각 군 간의 평균 차이에 대한 유의성 검정을 위해 일원분산분석[one-way analysis of varian

ce(ANOVA)]을 실시하였고 다군 간의 차이는 던칸의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)에 의해 $p < 0.05$ 이상의 수준에서 사후검정을 실시하였다. 모든 결과는 평균±표준오차 [mean±S.E(standard error)]로 표시하였다.

| 군 | | 시료적용 | 개체수 |
|-------|--------|--|-----|
| CD | 정상대조군 | 정상식이(Chow diet, 4.8% fat wt/wt) 급여 | 8 |
| HFD | 고지방사료군 | 고지방식이(High fat diet, 60% fat wt/wt) 급여 | 7 |
| ORL | 양성대조군 | HFD + Orlistat (10 mg/kg B.W) 급여 | 7 |
| HES-p | 실험군 | HFD + Hesperidin pure (100 mg/kg B.W) 급여 | 7 |
| PCE-L | | HFD + 풋갈추출물 (5.3 mg/0.2 mL per mouse) 급여 | 7 |
| PCE-J | | HFD + 풋갈추출물 (100 mg/kg B.W) 급여 | 7 |



〈Scheme. 1〉 The classification for each group using the C57BL/6 mouse

3) 항비만 효능평가

① 체중, 분변, 채혈 및 장기중량 측정

- 체중과 분변은 1주일 간격으로 일정한 시간에 측정하고 수집하였다.
- 실험이 종료되고 실험동물을 14시간 단식시킨 후 희생시켰다.
- 혈액은 원심 분리하여 혈청을 분리하였고, 조직(간, 근육 및 복막 백색 지방 조직)은 수집하여 추가 분석을 위해 -80°C 냉동 보관하였다.

② 혈액 내의 지질지표 변화 측정

- 혈청을 이용하여 지질인자인 중성지질(TG), 콜레스테롤(TC), high-density lipoprotein (HDL) 및 low-density lipoprotein (LDL)을 측정하였다.
- TG는 EnzyChrom™ Triglyceride assay kit (BioAssay Systems-ETGA-200, USA)를 사용하였고, TC, HDL 및 LDL은 EnzyChrom™ AF HDL, LDL and TG assay kit (BioAssay Systems-E2HL-100, USA)을 이용하여 각각의 실험을 진행하였으며, 흡광도는 흡수분광광도계를 이용하여 570nm에서 측정하였다.

③ 간세포 내의 중성지질(TG) 및 콜레스테롤(TC) 측정

- 간세포 내 콜레스테롤 및 중성지질 함량 측정은 Folch 등의 방법을 수정, 보완하여 측정하였다.
- 즉, 간조직 50 mg을 취한 후 0.5 mL PBS와 0.5 mL [Chloroform : Methanol (2:1)] 용액을 첨가하여 Tissue lyser를 사용하여 30Hz에서 2분 동안 균질화하였다.
- 균질액을 12,000rpm, 4°C에서 20분간 원심분리한 후 400 µl의 상층액을 취해 65°C heating block으로 2시간 동안 건조시킨 후 100 µl의 DMSO 용액으로 다시 용해시켜 콜레스테롤과 중성지질 정량에 사용하였다.

④ 분변 전처리

- 분변 내 콜레스테롤 및 중성지질 함량 측정은 Folch 등의 방법을 수정, 보완하여 추출하였다.
- 즉, 건조된 분변을 막자사발에 갈아 0.5 g을 취한 후 2.5 mL PBS를 첨가하여 잘 혼합한 후 여기에 2.5 mL [Chloroform : Methanol (2:1)] 용액을 첨가하여 추출하였다.
- 추출액을 2,000rpm, 상온에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취해 syringe filter로 여과하고 65°C heating block으로 6시간 동안 건조시킨 후 100 µl의 DMSO 용액으로 다시 용해시켜 콜레스테롤과 중성지질 정량에 사용하였다.

⑤ Western blot analysis

- 간(또는 근육) 조직을 50 mg 취한 후 단백질을 분해효소 억제제를 함유한 얼음처럼 차가운 500 µL의 RIPA buffer (20 mM Tris-HCl pH 7.5, 150 mM NaCl, 1 mM EGTA, 1 mM Na₂EDTA, 1% NP-40, 1% Sodium deoxycholate, 2.5 mM Sodium pyrophosphate, 1 mM NaVO₄, 1 µg/mL leupeptin) 용액을 첨가하여 Tissue lyser를 사용하여 30Hz에서 2분 동안 균질화하였다.
- 균질액을 12,000rpm, 4°C에서 20분간 원심분리하여 상층액에 있는 총 단백질을 분리하였다.
- 상층액의 단백질 농도는 Bio-Rad 단백질 정량 시약(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)과 그 사용 방법에 따라 정량한 다음 동량의 Laemmli sample buffer (Bio-Rad)를 섞어서 sample을 만들었다. 이렇게 만들어진 sample을 sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel을 이

용하여 전기영동으로 분자량에 따라 분리한 다음 electroblotting을 실시하여 분리된 단백질을 nitrocellulose membrane (Schleicher and Schuell, Keene, NH, USA)으로 전이시켰다.

- 단백질이 전이된 nitrocellulose membrane을 5% skim milk를 처리하여 비특이적인 단백질들에 대한 blocking을 실시하고 각각의 1차 및 2차 항체를 처리하여 반응시켰다.
- 반응이 끝난 후 Chemi-luminescence Bioimaging Instrument (Neo Science Co., Ltd., Korea)에서 Enhanced Chemiluminescence (ECL) solution(Amersham Life Science Corp.)을 적용시킨 다음 감광시켜 특정 단백질의 발현 양을 분석하였다.

4) 항당뇨 효능평가

- 혈당측정은 휴대용 혈당측정기(Lipidpro™, OSANG 의료, 한국)를 이용하여 측정하였다.

① 당부하도검사 (Glucose Tolerance Test; GTT)

- 당부하도검사(GTT)는 혈액 내 포도당이 세포 내로 유입되는 능력을 측정하기 위한 실험으로, 본 실험에서는 실험동물을 14시간 절식시킨 후 멸균중류수에 녹인 0.2 mL의 포도당 (1.0 g/kg, Sigma, USA)을 경구투여 후 30, 60, 90, 120분 간격으로 미정맥으로부터 채혈하여 혈당을 측정하였다.

② 인슐린 감수성 검사 (Insulin Tolerance Test; ITT)

- 인슐린 감수성 검사 (Insulin Tolerance Test; ITT)는 실험동물을 6시간 절식시킨 후 인슐린 (1 IU/kg, Sigma, USA)을 복강투여 후 30, 60, 90, 120분 간격으로 미정맥으로부터 채혈하여 혈당을 측정하였다.

③ 인슐린 저항성 검사 (HOMA-IR)

- 인슐린 저항성 검사는 mouse insulin ELISA kit (Crystal Chem, USA)를 사용하여 혈중 인슐린 농도를 정량한 후, the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)를 사용하여 측정하였다.

$$\text{HOMA-IR} = [(\text{glucose (mg/dL)} \times \text{insulin } (\mu\text{U/mL)})/405]$$

라. 풋굴 및 완속굴의 in vitro 항산화 효능

1) 실험재료

- 풋굴과 완속굴 착즙액은 풋굴 과육으로부터 착즙하였으며, 착즙액은 2700 x g에서 20분 동안 원심분리 후, 상층액을 whatman No. 2 여과지에 여과 후 -80°C에서 동결건조하였음.
- 풋굴박 착즙액은 80°C에서 9시간 동안 건조하였음. 건조한 착즙박은 분쇄하여 40 mesh 크기로 시료를 균일화 후, methanol을 이용하여 10% 농도로 추출하였음. 추출물은 40°C 이하에서 감압농축을 진행하여 용매를 완전히 제거 후 -80°C에서 동결건조를 실시하였음.
- Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 narirutin, naringenin, hesperidin, hesperetin을

구입하여 in vitro 항산화 활성 실험에 사용하였음.

2) 실험방법

① 총 폴리페놀 함량

- 시료 100 μ L에 증류수 1.5 mL와 2N Folin-ciocalteu's reagent 100 μ L를 혼합한 뒤, 30초간 volting 하여 균질화 한다. 20% Sodium carbonate 300 μ L를 첨가하여 균질화 한다, 암소에서 1시간 동안 혼합한 시료를 반응시킨다. 반응시킨 시료를 분광광도계를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정한다. Gallic acid를 농도별로 동일하게 실험한 뒤, 표준곡선으로부터 phenolic 함량을 환산한다.

② 총 플라보노이드 함량

- 시료 200 μ L에 ethanol 800 μ L와 5% Sodium nitrite 60 μ L를 첨가한 후 vortexing하여 균질화한다. 혼합한 시료를 실온에서 5분간 반응시킨다. 10% Aluminum chloride 60 μ L 첨가하고 균질 후 5분간 반응시킨다. 1M Sodium hydroxide 400 μ L 첨가 후 1분간 반응하고 증류수 500 μ L를 첨가하여 혼합한다. Quercetin을 농도별로 동일하게 실험한 뒤, 표준곡선으로부터 flavonoid 함량을 환산한다.

③ DPPH free radical scavenging activity

- 시료 70 μ L와 DPPH 시약 140 μ L를 혼합한 뒤 암소에서 30분간 반응시킨다. ELISA를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{DPPH free radical scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

④ ABTS radical scavenging activity

- 시료 20 μ L와 ABTS 시약 180 μ L를 혼합한 뒤 암소에서 6분간 반응시킨다. ELISA를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{ABTS+ radical scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

⑤ Hydrogen peroxide scavenging activity

- 시료 100 μ L에 10 mM H₂O₂ 20 μ L과 phosphate buffer (pH 7.4) 100 μ L를 넣은 후 혼합한다. 37 °C에서 5분간 반응시키고 1.25 mM ABTS 30 μ L와 peroxidase 40 μ L를 넣고 혼합한다. 37 °C에서 10분간 반응시켜 ELISA를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{Hydrogen peroxide scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

⑥ Hydroxyl radical scavenging activity

- 10 mM FeSO₄ · 7H₂O 200 μ L, 10 mM EDTA 200 μ L, 10 mM 2-deoxy-D-ribose 200 μ L를 넣는다. 시료 200 μ L와 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) 1 mL, 10 mM H₂O₂를 넣고 혼합한다. 37 °C에서 1시간 반응시킨다. 반응용액에서 1 mL를 따로 떼어낸 후 그 반응용액 1 mL에 2.8% trichloroacetic acid (TCA) 1 mL와 0.4% thiobarbituric acid (TBA) 1 mL를 넣어준 후 혼

합한다. 끓는 물에 10분간 반응시킨 후 실온에서 냉각시킨다. 395 xg에서 5분간 원심분리 시켜준 후 분광광도계를 이용해서 532 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{Hydroxyl radical scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs} / \text{blank abs})) \times 100$$

⑦ Superoxide dismutase activity (SOD) : SOD Assay kit-WST

- 96 well plate를 사용하여 시료 well과 blank 2 well에 각각 sample solution 20 μL를 넣고, blank 1과 blank 3 well에는 ddH₂O 20 μL를 넣어준다. 모든 well에 WST working solution 200 μL씩 넣어 피펫팅하여 혼합해준다. Blank 2와 3 well에는 각각 dilution buffer 20 μL씩 넣어 피펫팅으로 혼합해준다. Sample well과 blank 1 well에 enzyme working solution 20 μL를 넣어 혼합한다. 이때 enzyme working solution이 들어가자마자 superoxide anion이 생성되므로 주의해야한다. 혼합한 96 well plate를 incubator에서 37°C, 20분간 반응시켜준다. ELISA reader를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{SOD activity(\%)} = [(A \text{ blank1} - A \text{ blank3}) - (A \text{ sample} - A \text{ blank2})] / (A \text{ blank1} - A \text{ blank3}) \times 100$$

| SOD activity | Sample | Blank 1 | Blank 2 | Blank 3 |
|-------------------------|--------|---------|---------|---------|
| Sample solution | 20 μL | - | 20 μL | - |
| ddH ₂ O | - | 20 μL | - | 20 μL |
| WST working solution | 200 μL | 200 μL | 200 μL | 200 μL |
| Dilution buffer | - | - | 20 μL | 20 μL |
| Enzyme working solution | 20 μL | 20 μL | - | - |

⑧ Reducing power

- 시료 1 mL에 0.1M phosphate buffer 1 mL과 1% potassium ferricyanide 1 mL을 넣고 혼합해준다. Incubator에서 50°C, 20분간 반응시킨다. 반응시킨 시료에 10% trichloroacetic acid (TCA) 1 mL 첨가 후 혼합시킨다. 반응용액에서 상층액 2 mL에 d.w 2 mL와 0.1% ferric chloride 400 μL을 넣어 혼합한다. 암소에서 10분간 반응시킨 후 분광광도계를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정한다. L-ascorbic acid로 실험을 동일하게 진행하여 비교한다.

3) 풋굴 · 완속굴 추출물의 Flavonone 함량 분석

- 감귤류에서 가장 많이 검출되는 Hesperidin과 narirutin과 aglycone 형태인 hesperetin, naringenin을 분석

① 표준물질

- Hesperetin, hesperetin, narirutin, naringenin 표준물질을 DMSO를 이용하여 녹인 뒤, 일정 농도로 희석 후 사용함.

② 분석시료

- PMP, MP, PMJ, MJ 동결건조분말을 DMSO에 녹여 Stock solution을 제조하고, methanol을 이용하여 일정한 농도로 다시 희석하여 분석에 사용함.

③ 분석조건

| HPLC Conditions | |
|------------------------|---|
| HPLC | Agilent 1260 Infinity II HPLC |
| Column | Pursuit C18 (250 * 4.6 mm, I.d. 5 μm) |
| Detector wavelength | 280 nm |
| Mobile phase | A : 0.1% formic acid B : Acetonitrile (0.1% acetic acid) |
| Flow rate | 1 mL/min |
| Injection volume | 20 μL |
| Oven temperature | 35°C |
| Mobile phase condition | 0-10 min : A(78%), B(22%) 10-35 min : A(39%), B(61%) 35-40 min : A(0%), B(100%) → 분석 후 15분간 washing 후 다음 분석 진행 |

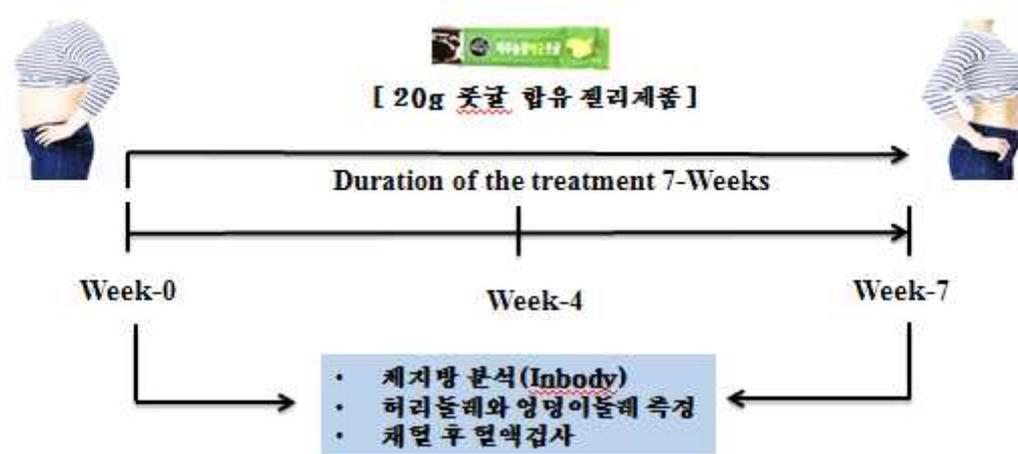
마. 임상실험

1) 실험재료

- 풋굴 함유 젤리제품(감귤농축액 20% 함유)과 풋굴 비함유 젤리제품(감귤농축액 비함유)은 제주농장에서 제공받아 사용하였다.

2) 실험대상 및 실험일정

- 본 연구의 대상자들은 풋굴 함유 젤리제품을 섭취한 집단 (실험군, 14명)과 풋굴 비함유 젤리제품을 섭취한 집단 (대조군, 13명)으로 총 27명을 무선배치 하였으며 모든 피험자들은 연구목적에 동의하고 자발적으로 연구에 참여하기를 희망하는 자들로 선정하였다.
- 실험 기간은 2021년 10월 30일 ~ 12월 18일까지, 총 7주간 진행되었으며 피험자들은 시작일 포함 4주, 7주에 참여하여 측정항목들을 측정하도록 하였다.
- 체성분 분석(Inbody), 체혈 및 복부지방을 판단하기 위한 허리둘레와 엉덩이 둘레는 제주대학교 건강증진센터에서 측정하였다.
- 풋굴 함유 젤리제품 또는 풋굴 비함유 젤리제품은 모두 20g으로, 섭취는 매일 아침 공복에 1개의 제품을 섭취하도록 하였다.



[Experiment design]

3) 항비만 효능평가

① 비만도 측정

- 신장, 체중 및 체지방량은 체성분 분석기(Inbody 570, Korea)를 이용하여 측정하였고 복부비만을 판단하기 위한 허리둘레와 엉덩이둘레는 줄자를 사용하여 동일한 측정자가 2번 측정하고 평균치를 기록하였다.

② 혈액검사

- 임상간호사가 피험자의 팔뚝정맥에서 혈액을 채취를 하였고, 채혈된 혈액은 (재)씨젠의료재단에 분석을 의뢰하였다.
- 혈액검사 항목으로는 혈중 지질지표(Total cholesterol, HDL/LDL-cholesterol, Fatty Acids, T tri-glycerides 등)와 혈중 단백질지표(Apo A1, Apo B 등)를 분석하였다.

③ 통계처리

- 본 실험에서 얻어진 모든 분석 자료는 평균±표준오차(mean±SE)로 나타내었으며, One-way analysis of variance (ANOVA)를 사용하여 유의성 검정을 실시하였다. 군과의 비교를 위하여 Turkey's test를 실시하였으며, p 값이 0.05 미만일 때를 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

마. 풫굴 껍질 아임계 + 가수분해 추출물의 in vitro 항산화 효능

1) 실험재료

- 풫굴 껍질 아임계 + 가수분해 추출물을 시료로 하였음.

2) 실험방법

① 총 폴리페놀 함량

- 시료 100 μ L에 증류수 1.5 mL와 2N Folin-ciocalteu's reagent 100 μ L를 혼합한 뒤, 30초간 volting 하여 균질화 한다. 20% Sodium carbonate 300 μ L를 첨가하여 균질화 한다, 암

소에서 1시간 동안 혼합한 시료를 반응시킨다. 반응시킨 시료를 분광광도계를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정한다. Gallic acid를 농도별로 동일하게 실험한 뒤, 표준곡선으로부터 phenolic 함량을 환산한다.

② 총 플라보노이드 함량

- 시료 200 μ L에 ethanol 800 μ L와 5% Sodium nitrite 60 μ L를 첨가한 후 vortexing하여 균질화한다. 혼합한 시료를 실온에서 5분간 반응시킨다. 10% Aluminum chloride 60 μ L 첨가하고 균질 후 5분간 반응시킨다. 1M Sodium hydroxide 400 μ L 첨가 후 1분간 반응하고 증류수 500 μ L를 첨가하여 혼합한다. Quercetin을 농도별로 동일하게 실험한 뒤, 표준곡선으로부터 flavonoid 함량을 환산한다.

③ DPPH free radical scavenging activity

- 시료 70 μ L와 DPPH 시약 140 μ L를 혼합한 뒤 암소에서 30분간 반응시킨다. ELISA를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{DPPH free radical scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

④ ABTS radical scavenging activity

- 시료 20 μ L와 ABTS 시약 180 μ L를 혼합한 뒤 암소에서 6분간 반응시킨다. ELISA를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{ABTS+ radical scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

⑤ Hydrogen peroxide scavenging activity

- 시료 100 μ L에 10 mM H₂O₂ 20 μ L과 phosphate buffer (pH 7.4) 100 μ L를 넣은 후 혼합한다. 37 °C에서 5분간 반응시키고 1.25 mM ABTS 30 μ L와 peroxidase 40 μ L를 넣고 혼합한다. 37 °C에서 10분간 반응시켜 ELISA를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{Hydrogen peroxide scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

⑥ Hydroxyl radical scavenging activity

- 10 mM FeSO₄ · 7H₂O 200 μ L, 10 mM EDTA 200 μ L, 10 mM 2-deoxy-D-ribose 200 μ L를 넣는다. 시료 200 μ L와 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) 1 mL, 10 mM H₂O₂를 넣고 혼합한다. 37 °C에서 1시간 반응시킨다. 반응용액에서 1 mL를 따로 떼어낸 후 그 반응용액 1 mL에 2.8% trichloroacetic acid (TCA) 1 mL와 0.4% thiobarbituric acid (TBA) 1 mL를 넣어준 후 혼합한다. 끓는 물에 10분간 반응시킨 후 실온에서 냉각시킨다. 395 xg에서 5분간 원심분리시켜준 후 분광광도계를 이용해서 532 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{Hydroxyl radical scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{sample abs}/\text{blank abs})) \times 100$$

⑦ Superoxide dismutase activity (SOD) : SOD Assay kit-WST

- 96 well plate를 사용하여 시료 well과 blank 2 well에 각각 sample solution 20 μ L를 넣고, blank 1과 blank 3 well에는 ddH₂O 20 μ L를 넣어준다. 모든 well에 WST working solution 200 μ L씩 넣어 피펫팅하여 혼합해준다. Blank 2와 3 well에는 각각 dilution buffer 20 μ L씩 넣어 피펫팅으로 혼합해준다. Sample well과 blank 1 well에 enzyme working solution 20 μ L를 넣어 혼합한다. 이때 enzyme working solution이 들어가자마자 superoxide anion이 생성되므로 주의해야한다. 혼합한 96 well plate를 incubator에서 37°C, 20분간 반응시켜준다. ELISA reader를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{SOD activity(\%)} = [(A \text{ blank1}-A \text{ blank3})-(A \text{ sample}-A \text{ blank2})]/(A \text{ blank1}-A \text{ blank3}) \times 100$$

| SOD activity | Sample | Blank 1 | Blank 2 | Blank 3 |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Sample solution | 20 μ L | - | 20 μ L | - |
| ddH ₂ O | - | 20 μ L | - | 20 μ L |
| WST working solution | 200 μ L | 200 μ L | 200 μ L | 200 μ L |
| Dilution buffer | - | - | 20 μ L | 20 μ L |
| Enzyme working solution | 20 μ L | 20 μ L | - | - |

⑧ Reducing power

- 시료 1 mL에 0.1M phosphate buffer 1 mL과 1% potassium ferricyanide 1 mL을 넣고 혼합해준다. Incubator에서 50°C, 20분간 반응시킨다. 반응시킨 시료에 10% trichloroacetic acid (TCA) 1 mL 첨가 후 혼합시킨다. 반응용액에서 상층액 2 mL에 d.w 2 mL와 0.1% ferric chloride 400 μ L을 넣어 혼합한다. 암소에서 10분간 반응시킨 후 분광광도계를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정한다. L-ascorbic acid로 실험을 동일하게 진행하여 비교한다.

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

■ 정성적 연구개발성과

[주관 (제주영농조합법인)]

가. 시기별 유효성분 분석 및 유전자 검증

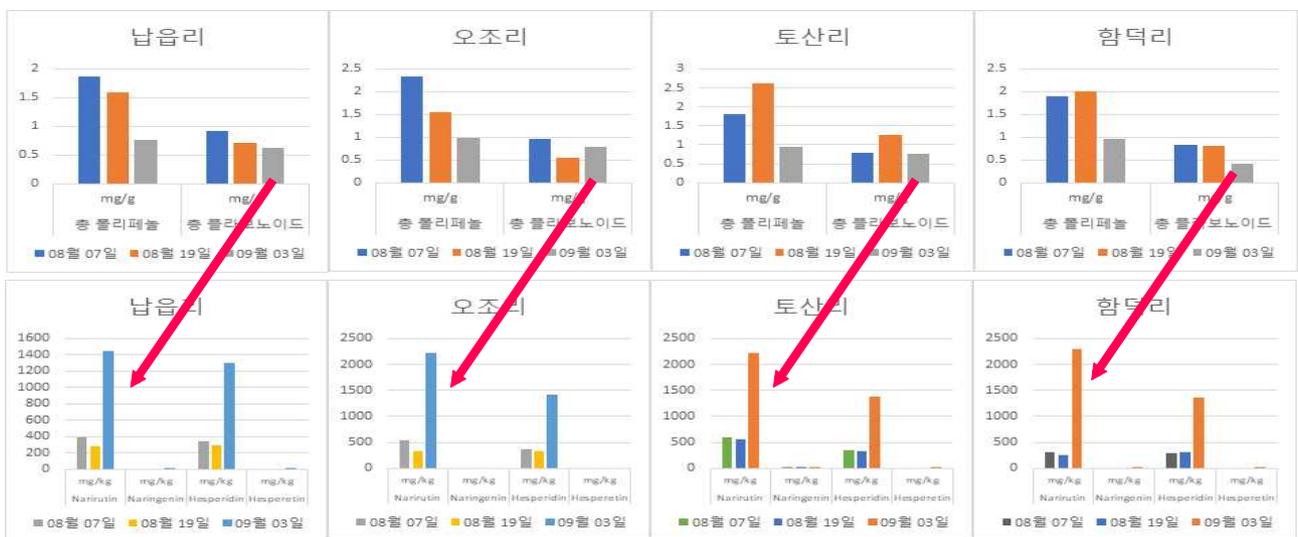
1) 유효성분 분석

- 각 지역별 풋굴의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드, Narirutin, Naringenin, Hesperidin, Hesperitin의 함량은 아래 표와 같음.

표. 시기별 풋굴의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드, Narirutin, Naringenin, Hesperidin, Hesperitin의 분석 결과

| | 총 폴리페놀(mg/g) | | 총 플라보노이드(mg/g) | |
|------------|--------------|---------|----------------|---------|
| | 08월 07일 | 08월 19일 | 08월 07일 | 08월 19일 |
| 납읍리 1008 | 1.87 | 1.59 | 0.92 | 0.72 |
| 함덕리 2259 | 1.89 | 2.01 | 0.83 | 0.8 |
| 오조리 1930-1 | 2.34 | 1.56 | 0.97 | 0.55 |
| 토산리 598-1 | 1.8 | 2.62 | 0.79 | 1.26 |

| | Narinrutin | | Naringenin | | Hesperidin | | Hesperitin | |
|------------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|
| | 08월 07일 | 08월 19일 |
| 납읍리 1008 | 388 | 282 | 0 | 0 | 342 | 299 | 0 | 0 |
| 함덕리 2259 | 304 | 255 | 0 | 0 | 300 | 316 | 0 | 0 |
| 오조리 1930-1 | 547 | 337 | 0 | 0 | 364 | 327 | 0 | 0 |
| 토산리 598-1 | 591 | 558 | 8 | 10 | 345 | 332 | 0 | 0 |

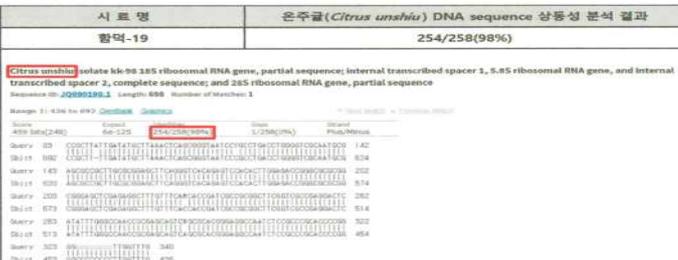
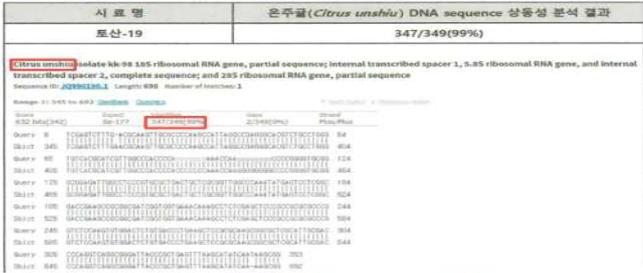
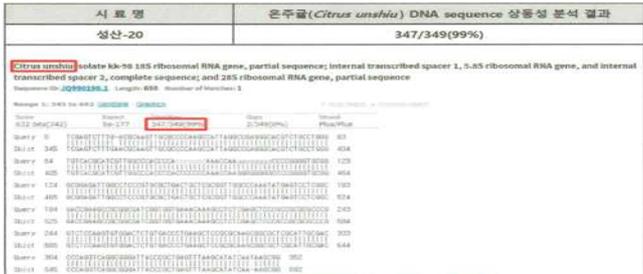


- 시기가 지남에 따라 주요 성분의 함량이 낮아짐을 확인할 수 있었으며, 주요 성분의 함량이 높은 시기에 수확하여 원료화하여야 높은 수율을 얻을 것으로 사료됨.

2) 원료 유전자 검증

- 유전자 검증 결과는 시료 모두 동일 유전자로 판단되며 그 결과는 표와 같음.

표. 유전자 검사 결과

| 시료 | 결과 | |
|------------------|--|----------------|
| 납읍리1008 |  | 344/346 99% |
| 함덕리2272 |  | 254/258 98% |
| 오조리1930-1 |  | 346/349 99% |
| 토산리598-1 |  | 347/349 99% |
| 20년 수매 (성산농협) |  | 347/349 99% |

나. 원료 및 부자재의 안정성 검사

- 원료 및 부자재의 안전성 검사를 위해 각 원료에 적합한 병원성 미생물 검사를 통해 안전성 여부를 확인하였음.

표 원료 및 부자재 안정성 검사 결과

| 발생건수 : 0건(L), 1건(M), 2건 이상(H) | | | | | | | | |
|-------------------------------|-----------|------|-------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------------|------|-----|
| NO | 원료명 | 검사횟수 | 실험 결과 | | | | | |
| | | | <i>Listeria monocytogenes</i> | <i>Bacillus cereus</i> | <i>Salmonella</i> spp. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 대장균군 | 대장균 |
| 1 | 꽃꿀착즙액 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 2회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 3회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 2 | 꽃꿀추출농축액 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 2회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | | | | | | - | - |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 3 | 감귤농축액 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 2회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 3회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 4 | 피쉬콜라겐 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 2회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 3회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 5 | 잡화꿀 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - |
| | | 2회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - |
| | | 3회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | L | - |
| 6 | 레몬착즙액 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 2회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 3회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 7 | 검믹스#39511 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 2회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 3회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 8 | 구연산 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 9 | 비타민c | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 10 | 천연레몬향 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 11 | 수크랄로스 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 2회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 3회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 12 | 프락토 올리고당 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 2회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | 3회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | 발생가능성 | | L | L | L | L | - | - |
| 13 | 효소처리 스테비아 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | | | | | | | | |

| | | | | | | | | |
|----|-------|----|----|----|----|----|----|---|
| | | | | | | | | |
| | 발생가능성 | L | L | L | L | - | - | |
| 14 | 상수 | 1회 | 음성 | 음성 | 음성 | 음성 | - | - |
| | 발생가능성 | L | L | L | L | - | - | |
| 15 | 포장재 | 1회 | - | - | - | - | 음성 | - |
| | 발생가능성 | - | - | - | - | - | L | - |

다. 풋귤 착즙액 및 풋귤추출농축액을 활용한 시제품 제작

1) 풋귤 착즙액을 활용한 시제품 제작

① 요망진 풋귤



발급번호 : 11P2-EXGY-H3MK-000A-0099

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

| | | |
|--------|--|--|
| 보고인 | 영양(법인명) 식품 주소 제주특별자치도 제주시 용담로 161(영평동) | 생년월일(법인명) 1999년 08월 02일 친필반출 출대번호 |
| 영양소 | 영양(상호) 제주농업농촌진흥안전제주지청 소재지 제주특별자치도 제주시 용담로 161(영평동) | |
| 제품정보 | 식품의 유형 | 과, 율무스 |
| | 제품명 | 요망진 풋귤 |
| | 유통기한 | 제조일로부터 24개월 |
| | 품질유지기한 | |
| | 원재료명 또는 성분명 및 배합비율 | 맛장애 기재 |
| | 첨도·용법 | 맛장애 기재 |
| 제품정보 | 포장방법 및 포장재질 | 복합계 기재 |
| | 포장량/단위 | 1~200ml |
| | 중량 | 이미지 없고 특유의 향이 있는 노란색의 액상 |
| 식품의 특성 | <ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []예 []아니오 [C]해당 없음 ■ 알·유아를 위해 해당 여부 []예 [C]아니오 ■ 알·유아를 위해 해당 여부 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 [C]아니오 | |
| 기타 | 「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. | |

제주시청 귀하

품목보고번호 : 20130608332-00
처리부서 : 복지위생국 위생관리과
처리자성명 : 조인봉
처리일자 : 2019년 12월 17일

2019년 12월 11일 보고인 김영선

그림. 요망진 풋귤 및 품목제조보고서

② 풋귤 하영 콜라겐



발급번호 : MAMB-AYAD-RYFU-STGL-AODE

식품·식품첨가물 품목제조보고서

| | | |
|--------|--|---------------------------------------|
| 보고인 | 영양(법인명) 김영선 주소 제주특별자치도 서귀포시 표선면 문호로로 53-19 | 생년월일 1999년 08월 02일 친필반출 출대번호 |
| 영양소 | 영양(상호) 제주농업농촌진흥안전제주지청 소재지 제주특별자치도 제주시 용담로 161(영평동) | |
| 제품정보 | 식품의 유형 | 기타가공품 |
| | 제품명 | 풋귤 하영 콜라겐 |
| | 유통기한 | 제조일로부터 24개월 |
| | 품질유지기한 | |
| | 원재료명 또는 성분명 및 배합비율 | 맛장애 기재 |
| | 첨도·용법 | 맛장애 기재 |
| 제품정보 | 포장방법 및 포장재질 | 맛장애 기재 |
| | 포장량/단위 | 맛장애 기재 |
| | 중량 | 이미지 없고 특유의 향이 있는 노란색의 물리 |
| 식품의 특성 | <ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []예 []아니오 []해당 없음 ■ 알·유아를 위해 해당 여부 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 []아니오 ■ 알·유아를 위해 해당 여부 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 []아니오 ■ 알·유아를 위해 해당 여부 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 []아니오 | |
| 기타 | 「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. | |

제주시청 귀하

품목보고번호 : 20130628332113
처리부서 : 복지위생국 위생관리과
처리자성명 : 이유크
처리일자 : 2021년 06월 02일

2020년 08월 19일 보고인 김영선

그림. 풋귤 하영 콜라겐 및 품목제조보고서

2) 풋귤추출농축액을 활용한 시제품 제작

① 제주농장 탱글풋귤



발급번호 : MAMB-AWAH-CWGP-XMGE-KIFD

식품 - 식품첨가물 품목제조보고서

| | | | | | | | | | | |
|------|--|---|----------|----------------|---------------|-------------|-------|-----|------|---------------|
| 보고인 | 성명 | 김영선 | 생년월일 | 1959년 09월 02일 | | | | | | |
| | 주소 | 제주특별자치도 서귀포시 표선면 돈오북로 53-19 | 전화번호 | 휴대전화 | | | | | | |
| 영업소 | 명칭(상호) | 제주농장 | 영입등록번호 | 20130628332 | | | | | | |
| | 소재지 | 제주특별자치도 제주시 현단로 161(영월동) | | | | | | | | |
| 제품정보 | 식품의 유형 | 기타가공품 | 품목제조보고번호 | 20130628332140 | | | | | | |
| | 제품명 | 제주농장 탱글풋귤 | | | | | | | | |
| | 유통기한 | 제조일로부터 24개월 | | | | | | | | |
| | 품질유지기한 | | | | | | | | | |
| | 원재료명 또는 성분명 및 배합비율 | 맛장애 기재 | | | | | | | | |
| | 용도 용법 | 맛장애 기재 | | | | | | | | |
| | 보관방법 및 포장재질 | 맛장애 기재 | | | | | | | | |
| | 포장방법 및 포장단위 | 맛장애 기재 | | | | | | | | |
| | 첨상 | 이미, 이취가 없는 주황색- 주갈색의 필라 | | | | | | | | |
| | 식품의 특성 | <ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []예 []아니오 []해당 없음 ■ 알·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 []아니오 ■ 고열천화식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 []예 []아니오 ■ 알콜·발효 제품의 해당 여부 []비발효 []발효 []알콜 | | | | | | | | |
| 기타 | <p>「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.</p> <p style="text-align: right;">2021년 09월 07일 보고인 김영선</p> <p style="text-align: center;">제주시장 귀하</p> <p>품목보고번호 : 20130628332140</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>처리부서</td> <td>복지위생국 위생관리과</td> <td>처리자성명</td> <td>이유경</td> <td>처리일자</td> <td>2021년 09월 08일</td> </tr> </table> | | | | 처리부서 | 복지위생국 위생관리과 | 처리자성명 | 이유경 | 처리일자 | 2021년 09월 08일 |
| 처리부서 | 복지위생국 위생관리과 | 처리자성명 | 이유경 | 처리일자 | 2021년 09월 08일 | | | | | |

그림. 제주농장 탱글풋귤 및 품목제조보고서

② 제주농장 풋귤캔디



발급번호 : MAMB-88MW-YAYG-DPWM-AIWS

식품 - 식품첨가물 품목제조보고서

| | | | | | | | | | | |
|------|--|---|----------|----------------|---------------|-------------|-------|-----|------|---------------|
| 보고인 | 성명 | 김영선 | 생년월일 | 1959년 09월 02일 | | | | | | |
| | 주소 | 제주특별자치도 서귀포시 표선면 돈오북로 53-19 | 전화번호 | 휴대전화 | | | | | | |
| 영업소 | 명칭(상호) | 제주농장 | 영입등록번호 | 20130628332 | | | | | | |
| | 소재지 | 제주특별자치도 제주시 현단로 161(영월동) | | | | | | | | |
| 제품정보 | 식품의 유형 | 캔디류 | 품목제조보고번호 | 20130628332148 | | | | | | |
| | 제품명 | 제주농장 풋귤캔디 | | | | | | | | |
| | 유통기한 | 제조일로부터 24개월 | | | | | | | | |
| | 품질유지기한 | | | | | | | | | |
| | 원재료명 또는 성분명 및 배합비율 | 맛장애 기재 | | | | | | | | |
| | 용도 용법 | 맛장애 기재 | | | | | | | | |
| | 보관방법 및 포장재질 | 맛장애 기재 | | | | | | | | |
| | 포장방법 및 포장단위 | 맛장애 기재 | | | | | | | | |
| | 첨상 | 이미, 이취가 없는 주황색의 점재 | | | | | | | | |
| | 식품의 특성 | <ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []예 []아니오 []해당 없음 ■ 알·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 []아니오 ■ 고열천화식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 []예 []아니오 ■ 알콜·발효 제품의 해당 여부 []비발효 []발효 []알콜 | | | | | | | | |
| 기타 | <p>「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.</p> <p style="text-align: right;">2021년 11월 26일 보고인 김영선</p> <p style="text-align: center;">제주시장 귀하</p> <p>품목보고번호 : 20130628332148</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>처리부서</td> <td>복지위생국 위생관리과</td> <td>처리자성명</td> <td>강승영</td> <td>처리일자</td> <td>2021년 11월 29일</td> </tr> </table> | | | | 처리부서 | 복지위생국 위생관리과 | 처리자성명 | 강승영 | 처리일자 | 2021년 11월 29일 |
| 처리부서 | 복지위생국 위생관리과 | 처리자성명 | 강승영 | 처리일자 | 2021년 11월 29일 | | | | | |

그림. 제주농장 풋귤캔디 및 품목제조보고서

[협동1(제주대학교 산학협력단)]

가. 풋갈 유효성분의 추출과정 최적화

1) 풋갈 중의 체중조절 기능성 성분(또는 지표 성분)의 동정 및 함량 분석

① 풋갈의 부위별 무게

- 풋갈 6 kg을 대상으로 크기별로 정렬한 후 3 그룹으로 나눔(각각 2 kg 씩)
- 과피와 과육을 분리한 후 각각의 무게 측정
- 풋갈 하나당 평균 무게는 85.1 ± 3.1 g이며, 그 중 과육은 65.9 ± 1.9 g(77.4%), 과피는 19.2 ± 1.3 g(22.6%)이었음
- 각 무게별 분포를 측정한 결과 60g 이하와 100g 이상을 제외하면, 60-99g 범위는 전체의 85%에 해당됨. 차후 실험 재료로 사용.

표. 과육과 과피의 무게

| No. | 1세트 무게(g) | | | 2세트 무게(g) | | | 3세트 무게(g) | | |
|-----|-----------|-------|---------|-----------|-------|---------|-----------|-------|---------|
| | 과육 | 과피 | 합계 | 과육 | 과피 | 합계 | 과육 | 과피 | 합계 |
| 1 | 45.8 | 13.6 | 59.4 | 52.0 | 13.2 | 65.2 | 51.8 | 13.7 | 65.5 |
| 2 | 47.0 | 17.3 | 64.3 | 53.2 | 16.3 | 69.5 | 53.7 | 16.0 | 69.7 |
| 3 | 50.5 | 14.0 | 64.5 | 53.9 | 14.8 | 68.7 | 54.4 | 16.0 | 70.4 |
| 4 | 54.3 | 12.1 | 66.4 | 55.5 | 15.4 | 70.9 | 58.3 | 17.3 | 75.6 |
| 5 | 54.6 | 17.0 | 71.6 | 55.9 | 13.5 | 69.4 | 59.3 | 22.6 | 81.9 |
| 6 | 55.4 | 12.4 | 67.8 | 56.2 | 15.7 | 71.9 | 59.8 | 16.4 | 76.2 |
| 7 | 57.8 | 18.9 | 76.7 | 57.7 | 17.2 | 74.9 | 59.9 | 14.4 | 74.3 |
| 8 | 57.8 | 14.2 | 72.0 | 57.9 | 20.5 | 78.4 | 60.6 | 17.4 | 78.0 |
| 9 | 59.8 | 17.4 | 77.2 | 59.5 | 15.8 | 75.3 | 60.9 | 21.3 | 82.2 |
| 10 | 61.3 | 18.8 | 80.1 | 60.6 | 16.6 | 77.2 | 61.1 | 19.8 | 80.9 |
| 11 | 61.7 | 21.3 | 83.0 | 62.4 | 15.3 | 77.7 | 61.2 | 18.8 | 80.0 |
| 12 | 62.9 | 21.9 | 84.8 | 63.4 | 15.3 | 78.7 | 62.5 | 18.8 | 81.3 |
| 13 | 65.1 | 17.4 | 82.5 | 64.1 | 19.2 | 83.3 | 62.6 | 19.7 | 82.3 |
| 14 | 66.4 | 14.3 | 80.7 | 65.1 | 22.3 | 87.4 | 64.4 | 18.0 | 82.4 |
| 15 | 67.1 | 17.5 | 84.6 | 65.6 | 19.3 | 84.9 | 66.4 | 19.1 | 85.5 |
| 16 | 67.6 | 17.8 | 85.4 | 65.7 | 17.2 | 82.9 | 66.6 | 20.1 | 86.7 |
| 17 | 68.4 | 18.2 | 86.6 | 66.7 | 20.8 | 87.5 | 68.3 | 17.2 | 85.5 |
| 18 | 70.6 | 21.3 | 91.9 | 69.6 | 17.4 | 87.0 | 69.1 | 22.5 | 91.6 |
| 19 | 71.1 | 16.6 | 87.7 | 73.4 | 26.9 | 100.3 | 70.2 | 24.3 | 94.5 |
| 20 | 72.7 | 20.7 | 93.4 | 74.8 | 19.8 | 94.6 | 72.1 | 20.5 | 92.6 |
| 21 | 74.4 | 19.6 | 94.0 | 84.3 | 34.5 | 118.8 | 72.3 | 27.9 | 100.2 |
| 22 | 76.1 | 19.0 | 95.1 | 99.8 | 30.2 | 130.0 | 88.0 | 25.4 | 113.4 |
| 23 | 81.0 | 22.4 | 103.4 | 104.9 | 28.9 | 133.8 | 99.8 | 28.3 | 128.1 |
| 24 | 90.9 | 24.8 | 115.7 | 110.7 | 37.3 | 148.0 | - | - | - |
| 합계 | 1,540.3 | 428.5 | 1,968.8 | 1,632.9 | 483.4 | 2,116.3 | 1,503.3 | 455.5 | 1,958.8 |
| 평균 | 64.2 | 17.8 | 82.0 | 68.0 | 20.1 | 88.1 | 65.4 | 19.8 | 85.2 |
| 편차 | 10.7 | 3.3 | 13.3 | 16.3 | 6.6 | 22.4 | 10.7 | 3.9 | 14.0 |

표. 과육과 과피의 평균 무게

| 세트 | 과육(g) | 과피(g) | 합계(g) |
|----|----------|----------|----------|
| 1 | 64.2 | 17.8 | 82.0 |
| 2 | 68.0 | 20.1 | 88.1 |
| 3 | 65.4 | 19.8 | 85.2 |
| 평균 | 65.9±1.9 | 19.2±1.3 | 85.1±3.1 |
| 비율 | 77.4% | 22.6% | 100% |

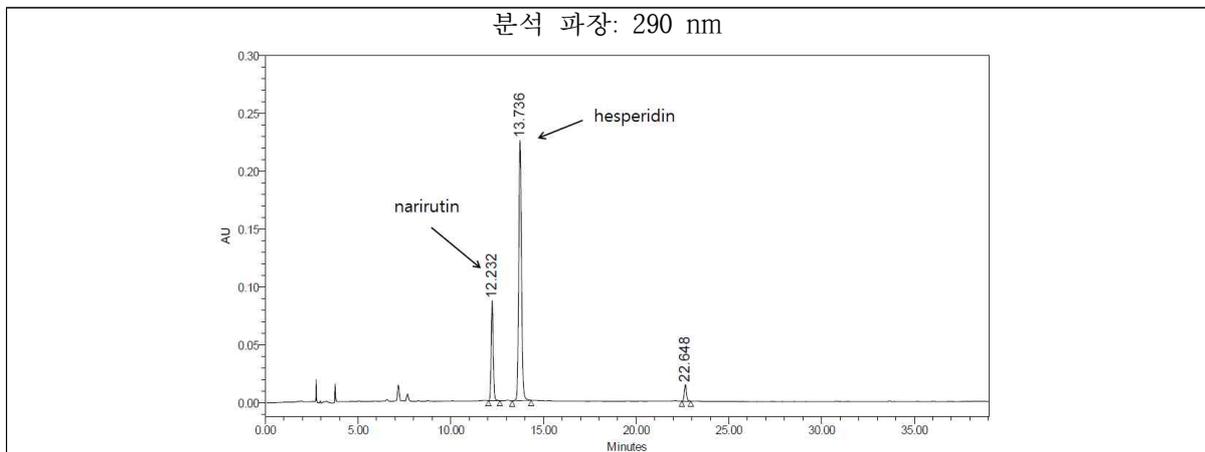
표. 각 무게별 분포(갯수)

| 무게 | 1세트 | 2세트 | 3세트 | 소계 | 분포% | | 갯수 | 갯수 |
|-----|--------|--------|--------|--------|------|-------|--------------------|--------------------|
| 50g | 1 | - | - | 1 | 1.4 | | XX | XX |
| 60g | 4 | 4 | 2 | 10 | 14.1 | 14.1 | 10 | XX |
| 70g | 4 | 8 | 5 | 17 | 23.9 | 23.9 | 17 | 17 |
| 80g | 9 | 6 | 10 | 25 | 35.2 | 35.2 | 25 | 25 |
| 90g | 4 | 1 | 3 | 8 | 11.3 | 11.3 | 8 | XX |
| 100 | 1 | 1 | 1 | 3 | 4.2 | | XX | XX |
| 110 | 1 | 1 | 1 | 3 | 4.2 | | XX | XX |
| 120 | - | - | 1 | 1 | 1.4 | | XX | XX |
| 130 | - | 2 | - | 2 | 2.8 | | XX | XX |
| 140 | - | 1 | - | 1 | 1.4 | | XX | XX |
| 합계 | 24개 | 24 | 23 | 71 | 99.9 | 84.5% | 60개/71중 (84.5%) | 42개/71중 (59.1%) |
| 평균 | 82.0 g | 88.1 g | 85.2 g | 86.3 g | | | | |

② 꽃갈의 부위별 플라보노이드 함량 분석

- 꽃갈을 손으로 과육과 과피로 분리: 과육 1.5 kg, 과피 0.5 kg
- 가정용 믹서기(신일산업(주))로 과육은 30초, 과피는 60초 분쇄

| | 부피(L) | 형태 |
|----|-------|---|
| 과육 | 약 2 | 알맹이의 섬유질이 분쇄된 형태-방치 중 내피 분쇄물 펄프가 상층에 뜸(액 분리됨) |
| 과피 | 약 1 | 생입자 분쇄 형태-수분이 분리되지 않음 |



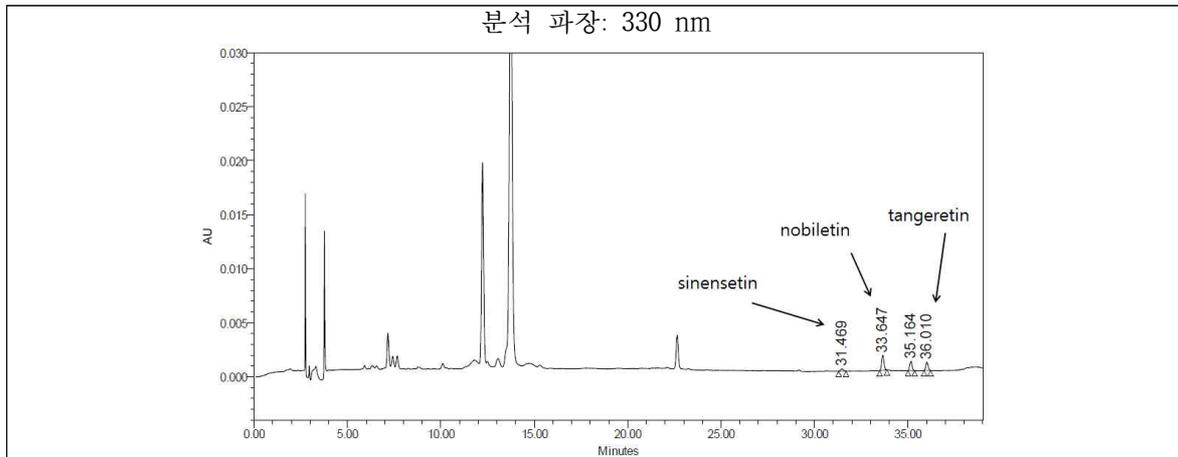


그림. 풋갈 원물의 HPLC 크로마토그램

- Narirutin이 전체 플라보노이드의 24.2%, hesperidin이 전체의 75.6%를 차지함
- PMF는 전체의 0.2%에 불과
- Narirutin과 hesperidin의 monoglucosides와 aglycons은 검출되지 않았음
- 과피 중의 총 플라보노이드 농도는 25,509 $\mu\text{g/g}$ fresh weight으로 과육의 2,125 $\mu\text{g/g}$ fresh weight에 비하여 12배 높음
- PMF(sinensetin, nobiletin, tangeretin)는 과피에서만 검출되었음

표. 풋갈 과육과 과피(생물) 중의 플라보노이드 함량

| 플라보노이드 | 플라보노이드 함량($\mu\text{g/g}$ fresh weight) | | |
|--------------|--|-------------|----------------|
| | 과육 | 과피 | 합계 |
| Narirutin | 797.4 | 5,197.3 | 1,790.1(24.2%) |
| Hesperidin | 1,328.5 | 20,242.2 | 5,595.7(75.6%) |
| Sinensetin | - | 8.2 | 1.85 |
| Nobiletin | - | 43.8 | 9.88 |
| Tangeretin | - | 18.0 | 4.06 |
| Total | 2,125.9 | 25,509.5 | 7,401.5(100%) |
| 풋갈 1개당 무게(g) | 65.9(77.4%) | 19.2(22.6%) | 85.1(100%) |

③ 풋갈 시료 중의 수분함량 측정

- 풋갈 시료의 수분함량 측정 결과, 풋갈 과육에서의 수분함량이 92.4%로 높았음
- 풋갈 과피의 수분함량은 풋갈 과육보다 4.7% 낮음

표. 풋귤 과육과 과피의 수분함량(%)

| | 과육 | 과피 | 원물 |
|---------|------|------|------|
| 수분함량(%) | 92.4 | 87.7 | 89.5 |

표. 풋귤 과육과 과피(건물) 중의 플라보노이드 함량(건물로 환산한 값)

| 플라보노이드 | 플라보노이드 함량($\mu\text{g/g}$ dry weight) | | |
|------------|--|-----------|-----------------|
| | 과육 | 과피 | 합계 |
| Narirutin | 10,492.1 | 43,311.8 | 17,905.5(26.0%) |
| Hesperidin | 17,480.3 | 164,794.0 | 50,755.8(73.7%) |
| Sinensetin | - | 66.8 | 15.1 |
| Nobiletin | - | 356.6 | 80.5 |
| Tangeretin | - | 146.5 | 33.1 |
| Total | 27,972.4 | 208,675.7 | 68,790.0(100%) |

④ 완숙과와 미숙과(풋귤) 중의 플라보노이드 함량

- 온주밀감 중의 주요 플라보노이드(플라바논 글리코사이드)는 hesperidin과 narirutin이었으며, 미량 성분으로는 sinensetin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone, tangeretin(polymethoxylated flavonoids)이었음
- Hesperidin과 narirutin의 함량은 완숙과 보다 풋귤이 각각 2.32배와 2.34배 높았다. 따라서 풋귤은 건강기능식품을 위한 플라보노이드 식이로서 우수한 재료가 될 수 있음
- 풋귤 착즙박의 hesperidin 함량은 풋귤과 같았으나, narirutin의 함량은 낮았는데, 이는 hesperidin에 비해 narirutin의 극성이 높아 스크류형 주스 착즙기로 착즙할 때 주스로 이동되었기 때문이었음

표. 완숙과와 미숙과(풋귤) 중의 플라보노이드 함량

| 플라보노이드 | 함량($\mu\text{g/g}$ dry sample) | | |
|-------------------------------------|---------------------------------|------------------|------------------|
| | 완숙과 | 풋귤 | 풋귤 착즙박 |
| Hesperidin | 21,898 \pm 108 | 50,822 \pm 662 | 49,731 \pm 808 |
| Narirutin | 7,841 \pm 92 | 18,359 \pm 275 | 12,969 \pm 165 |
| Sinensetin | 12.5 \pm 0.9 | 28.9 \pm 1.0 | 14.5 \pm 0.6 |
| Nobiletin | 58.8 \pm 2.3 | 138.5 \pm 4.9 | 77.1 \pm 1.0 |
| 3,5,6,7,8,3',4'-Heptamethoxyflavone | 54.4 \pm 3.9 | 108.7 \pm 3.0 | 69.3 \pm 0.8 |
| Tangeretin | 41.8 \pm 2.1 | 73.2 \pm 2.6 | 50.9 \pm 0.4 |
| Sum | 29,908 \pm 150 | 69,530 \pm 896 | 62,912 \pm 907 |

⑤ 꽃굴과 완숙과 과피 중의 플라보노이드 함량 비교

- 꽃굴 과피는 완숙과 과피보다 플라보노이드 함량이 3.50배 높음.
- Narirutin은 4.66배, hesperidin은 3.29배 높음
- PMF 합계: 569.9 > 178.2 (3.2배 높음)
- 꽃굴 과피의 개별 플라보노이드 함은 0.207 g/g dry weight로 건조중량의 20.7%에 해당되는 매우 높은 함량임. 반면 완숙과 과피에는 0.059 g/g dry weight로 건조중량의 5.9%에 해당됨

표. 꽃굴과 완숙과 과피 중의 플라보노이드 함량

| 플라보노이드 | 플라보노이드 함량($\mu\text{g/g dry weight}$) | | |
|------------|---|----------|--------|
| | 꽃굴 과피 | 완숙과 과피 | 꽃굴/완숙과 |
| Narirutin | 43,311.8 | 9,284.4 | 4.66배 |
| Hesperidin | 164,794.0 | 50,027.4 | 3.29배 |
| Sinensetin | 66.8 | 18.9 | 3.53배 |
| Nobiletin | 356.6 | 103.8 | 3.43배 |
| Tangeretin | 146.5 | 55.5 | 2.63배 |
| Total | 208,675.7 | 59,490 | 3.50배 |

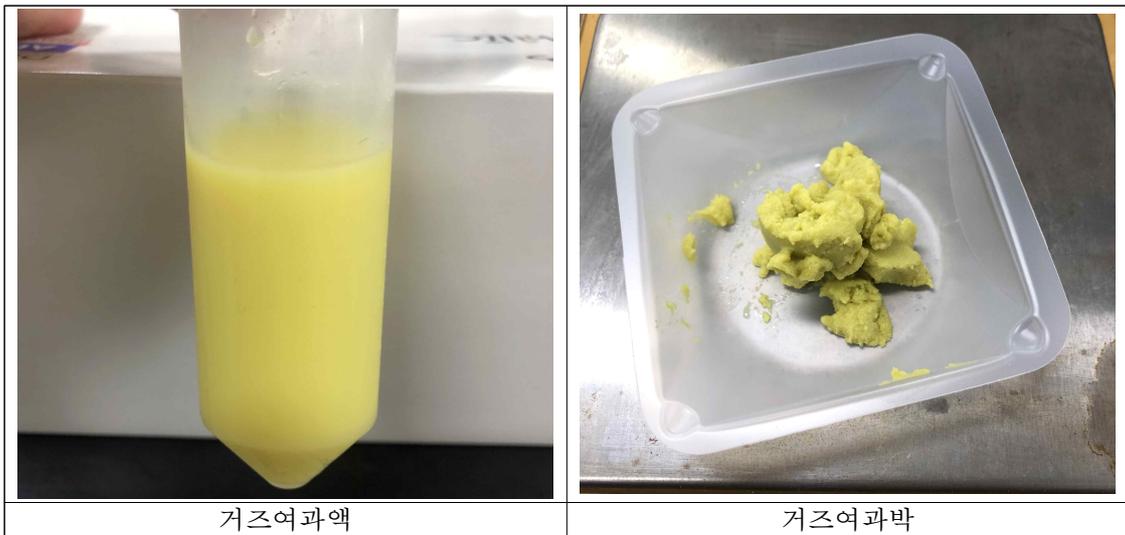
⑥ 꽃굴 착즙액과 착즙박 중의 플라보노이드 함량 분석

- 꽃굴 원물(60g<무게<100g) 약 3 kg을 1 kg씩 나누어(3 sets) 껍질체로 4등분
- 약 500 g 씩 가정용 믹서기(신일산업(주))로 분쇄(99초)
- 채소 녹즙기((주)태훈)로 스크류 압착 착즙하여 착즙액과 착즙박으로 분리
- 착즙액을 4겹의 거즈로 여과하여 미세입자 분리(거즈 여과박+거즈 여과액)

표. 꽃굴 원물, 착즙박, 착즙액, 거즈여과박, 거즈여과액의 회수량 및 회수율

| | 원물(g) | 착즙액(g) | 착즙박(g) | 거즈여과액(g) | 거즈여과박(g) |
|----|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1회 | 967 | 709 | 258 | 493 | 216 |
| 2회 | 968 | 674 | 294 | 472 | 202 |
| 3회 | 976 | 692 | 284 | 493 | 199 |
| 평균 | 970 \pm 6 | 692 \pm 18 | 278 \pm 19 | 486 \pm 12 | 206 \pm 9 |
| 비율 | 100.0 \pm 0.0 | 71.3 \pm 1.9 | 28.7 \pm 1.9 | 50.1 \pm 1.2 | 21.2 \pm 1.0 |

- 가정용 믹서기(신일산업(주))로 분쇄한 것은 죽 형태가 되었고, 감압 여과가 안됨
- 반면 스크류 착즙시 여과가 매우 잘됨-착즙액과 착즙박이 매우 잘 분리됨(분쇄시 물을 첨가할 필요가 없음). 착즙액은 연두색을 나타내며 clear하지 않음. 착즙액은 저장 보관시 액 분리가 이루어짐. 따라서 이 착즙액을 아임계수 추출실험 시료로 사용 불가(사유: 펌프로 펌핑이 불가하므로). 차후 한단계 더 여과 공정이 필요할 것임.



- ⑦ 풋귤 원물, 착즙액, 착즙박, 거즈여과박, 거즈여과액 중의 플라보노이드 분포
- 스크류 착즙 후 착즙박의 무게는 원물 중 28.7%에 불과하지만 플라보노이드 함량은 54.2%로 무게 대비 플라보노이드 함량이 높음
 - 거즈여과박(미세입자)은 회수량은 적으나 플라보노이드 함량은 높았으며, 특히 hesperidin이 많이 존재함. hesperidin은 물에 대한 용해도가 매우 낮기 때문에 미세입자에 많이 남아 있는 것으로 추정됨
 - 반면, 거즈여과액은 70.2% 회수되었지만 그 중 플라보노이드 회수량은 33.6%로 무게 대비 플라보노이드 함량은 낮음
 - 따라서 스크류 착즙 후 착즙액 중 미세 입자를 거즈여과하여 회수할 필요가 있음

표. 풋갈 원물, 착즙액, 착즙박, 거즈여과박, 거즈여과액 중의 플라보노이드 농도

| 플라보노이드 | 플라보노이드 함량 ($\mu\text{g/g}$ fresh sample) | | | | |
|------------|---|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| | 원물 | 착즙액 | 착즙박 | 거즈여과액 | 거즈여과박 |
| Narirutin | 1,614.3 \pm 52.9 | 1,314.8 \pm 65.0 | 1,733.7 \pm 62.2 | 945.9 \pm 43.7 | 1,587.6 \pm 79.7 |
| Hesperidin | 5,154.0 \pm 332.8 | 3,188.3 \pm 206.4 | 5,455.2 \pm 219.2 | 931.4 \pm 56.0 | 7,211.2 \pm 332.1 |
| Sinensetin | 2.5 \pm 0.0 | 1.9 \pm 0.5 | 4.0 \pm 0.7 | 1.7 \pm 0.1 | 2.9 \pm 0.5 |
| Nobiletin | 11.8 \pm 1.5 | 9.9 \pm 0.6 | 17.5 \pm 2.8 | 8.9 \pm 0.6 | 15.6 \pm 1.5 |
| Tangeretin | 4.9 \pm 0.4 | 3.4 \pm 0.4 | 9.3 \pm 1.1 | 2.9 \pm 0.1 | 6.3 \pm 0.4 |
| Total | 6,787.5 \pm 387.1 | 4,518.2 \pm 267.9 | 7,218.5 \pm 270.7 | 1,890.7 \pm 93.8 | 8,823.6 \pm 367.1 |

표. 풋갈 원물, 착즙액, 착즙박 중의 플라보노이드 함량

| 플라보노이드 | 플라보노이드 함량 (mg) | | |
|------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | 원물 | 착즙액 | 착즙박 |
| Narirutin | 1,566.3 \pm 46.1 | 909.8 \pm 62.0 (56.2%) | 707.7 \pm 29.7 (43.8%) |
| Hesperidin | 5,000.3 \pm 304.1 | 2,205.8 \pm 167.0 (42.6%) | 2,977.2 \pm 225.0 (57.4%) |
| Sinensetin | 2.4 \pm 0.0 | 1.3 \pm 0.3 | 1.2 \pm 0.2 |
| Nobiletin | 11.4 \pm 1.4 | 6.8 \pm 0.3 | 4.9 \pm 0.8 |
| Tangeretin | 4.7 \pm 0.4 | 2.4 \pm 0.3 | 2.6 \pm 0.3 |
| Total | 6,585.1 \pm 351.2 | 3,126.1 \pm 226.3 (45.8%) | 3,693.1 \pm 255.3 (54.2%) |
| 무게비율 % | 100 | 71.3 | 28.7 |

표. 거즈여과박, 거즈여과액 중의 플라보노이드 함량

| 플라보노이드 | 함량 (mg) | |
|------------|----------------------------|-------------------------|
| | 거즈여과박 | 거즈여과액 |
| Narirutin | 327.0 \pm 31.2(41.6%) | 459.9 \pm 30.4(58.4%) |
| Hesperidin | 1,484.0 \pm 111.2(76.6%) | 452.7 \pm 31.0(23.4%) |
| Sinensetin | 0.6 \pm 0.1 | 0.8 \pm 0.0 |
| Nobiletin | 3.2 \pm 0.3 | 4.3 \pm 0.2 |
| Tangeretin | 1.3 \pm 0.1 | 1.4 \pm 0.1 |
| Total | 1,816.1 \pm 138.7(66.4%) | 919.1 \pm 58.8(33.6%) |
| 무게비율 % | 29.8% | 70.2% |

⑧ 아임계수 추출시 풋갈 시료 제조방법 결정

(1) 풋갈 통째 동결건조물 사용방안

- 풋갈은 박피가 어려우므로 통째로 시료로 사용할 경우를 고려하여 완숙과 과피와 플라보노

이드 함량을 비교함.

- 꽃굴 통째(과육+과피)가 완숙과 과피(과육 제외) 보다 함량이 다소 높음
- narirutin은 1.92배 높음, hesperidin은 비슷, PMF는 낮음 128.7 < 178.2
- narirutin은 체중조절 효과가 없으므로 꽃굴의 장점이 될 수 없음
- PMF 함량이 낮음(0.72배)
- 꽃굴 과피 건물당 플라보노이드가 20.7%인 장점이 반영되지 못함(완숙과 과피 5.9%)
- 따라서 착즙을 통하여 착즙액으로 수분 함량을 줄이고, 수용성 고형분 함량을 줄일 필요가 있음

표. 꽃굴(과육+과피)과 완숙과 과피 중의 플라보노이드 함량

| 플라보노이드 | 플라보노이드 함량(μg/g dry weight) | | |
|------------|----------------------------|-----------|-------|
| | 꽃굴 과육+과피 합계(A) | 완숙과 과피(B) | A/B |
| Narirutin | 17,905.5 | 9,284.4 | 1.92배 |
| Hesperidin | 50,755.8 | 50,027.4 | 1.01 |
| Sinensetin | 15.1 | 18.9 | 0.80 |
| Nobiletin | 80.5 | 103.8 | 0.78 |
| Tangeretin | 33.1 | 55.5 | 0.60 |
| Total | 68,790 | 59,490 | 1.15 |

(2) 착즙박+거즈여과박 동결건조물 사용방안

- 착즙박+거즈여과박과 거즈여과액이 중량비로 약 반반으로 나누어짐
- 그러나 플라보노이드는 착즙박+거즈여과박에 전체의 86%가 분포하며, 거즈여과액에는 14.3%가 분포함
- 특히 극성이 아닌 hesperidin은 90% 이상이 박에 남아 있음.
- 비교적 극성인 narirutin은 약 70%가 박에 남아 있고 여과액으로 약 30%가 이전됨.
- 꽃굴(과육+과피)과 완숙과 과피 중의 플라보노이드 함량 비교시 narirutin은 꽃굴에 약 1.92배 많음. 따라서 약 30% 소실된다고 하여도 무시할 수 있음. 또한 narirutin은 체중조절 효과가 매우 낮으므로 무시 가능.
- 체중조절효과가 높은 hesperidin이 90% 이상 박에 잔존하는 것이 더 바람직함.
- 착즙박+거즈여과박과 거즈여과액으로 분리할 경우

- 거즈 여과액으로 전체 중량의 50%을 제거할 수가 있으므로, 박을 건조시 에너지 비용을 대폭 절감 가능
- hesperidin 회수율이 높음
- 결론적으로 착즙박+거즈여과박 동결건조물을 이용하여 추출하는 것이 바람직함

표. 착즙박+거즈여과박과 거즈여과액의 무게 및 플라보노이드 분포 비교

| | 착즙박 | 거즈여과박 | 착즙박+거즈여과박 | 거즈여과액 |
|-------|------|-------|-----------|-------|
| 무게(g) | 278 | 206 | 484 | 486 |
| 비율(%) | 28.7 | 21.2 | 49.9 | 50.1 |

| 플라보노이드 | 플라보노이드 함량 (mg) | | | |
|------------|----------------|---------|----------------|--------------|
| | 착즙박 | 거즈여과박 | 착즙박+거즈여과박 | 거즈여과액 |
| Narirutin | 707.7 | 327.0 | 1,034.7(69.2%) | 459.9(30.8%) |
| Hesperidin | 2,977.2 | 1,484.0 | 4,461.2(90.8%) | 452.7(9.2%) |
| Sinensetin | 1.2 | 0.6 | 1.8 | 0.8 |
| Nobiletin | 4.9 | 3.2 | 8.1 | 4.3 |
| Tangeretin | 2.6 | 1.3 | 3.9 | 1.4 |
| Total | 3,693.1 | 1,816.1 | 5,509.2(85.7%) | 919.1(14.3%) |

⑨ 풋갈 중 체중조절 기능성 성분(또는 지표 성분)의 확인

- 감귤 중에 함유되어 있는 어떠한 플라보노이드 성분이 어느 정도의 체중조절 효과가 있는지 알아보기 위하여, hesperidin, hesperetin-7-O-glucoside, hesperetin, narirutin, prunin, naringenin, sinensetin, nobiletin, tangeretin 등 표준물질을 대상으로 체중조절 효과(pancreatic lipase 저해 활성)를 측정하였음
- Hesperidin monoglucoside인 hesperetin-7-O-glucoside이 84.4 mg/L(IC50)으로 체중조절 효과가 가장 높았으며, 그 다음으로 hesperidin aglycon인 hesperetin이 104.6 mg/L, polymethoxy flavone인 tangeretin이 148.7 mg/L이었음
- Positive control인 orlistat의 체중조절 효과(54.4 mg/L)와 비교하여 볼 때 hesperetin-7-O-glucoside의 체중조절 효과(84.4 mg/L)가 높은 편임

표. 감귤 중 주요 플라보노이드 성분의 체중조절 효과(pancreatic lipase 저해 활성)

| Flavonoids | Pancreatic lipase 저해 활성 IC50(mg/L) |
|----------------------------|------------------------------------|
| Hesperidin | 418.4 ± 21.7 |
| Hesperetin-7-O-glucoside | 84.4 ± 4.2 |
| Hesperetin | 104.6 ± 5.2 |
| Narirutin | >2,000 |
| Prunin | >2,000 |
| Naringenin | >2,000 |
| Sinensetin | 301.4 ± 22.2 |
| Nobiletin | 426.4 ± 27.6 |
| Tangeretin | 148.7 ± 6.5 |
| Orlistat(positive control) | 54.4 ± 3.6 |

⑩ 풋갈 중 주요 플라보노이드 성분의 기타 기능성 평가 결과

- 통풍저해효과(xanthine oxidase 저해효과, IC50)는 naringenin이 129.3 mg/L로 가장 높았고, 그 다음이 hesperetin(275.4 mg/L)으로 flavonoid aglycons의 활성이 가장 높았음 Naringenin의 활성은 positive control인 allopurinol의 활성(116.7 mg/L)과 비슷하였음
- 항고혈압효과(ACE 저해효과: IC50)는 hesperetin-7-O-glucoside가 106.5 mg/L, prunin이 221.2 mg/L으로 flavonoid monoglucosides의 활성이 가장 높았고, 그 다음이 flavonoid aglycons의 활성이 높았다. 이들 flavonoids의 활성은 positive control인 captopril의 활성(6.97 mg/L) 보다는 낮았음
- 항당뇨효과(α -glucosidase 저해효과: IC50)는 naringenin이 72.2 mg/L로 가장 높았고, 그 다음이 hesperetin(131.8 mg/L)으로 flavonoid aglycons의 활성이 가장 높았다. Naringenin의 활성은 positive control인 acarbose(1,366 mg/L)보다 18.9배 높은 특이한 현상을 나타내었음
- Polymethoxy flavone인 sinensetin, nobiletin, tangeretin은 비교적 높은 항고혈압효과(ACE 저해효과)를 나타내었지만, 통풍저해효과(xanthine oxidase 저해효과)와 항당뇨효과(α -glucosidase 저해효과)는 미미하였음

표. 감갈 flavonoid 표준시약의 기타 기능성

| Flavonoids | 효소저해활성(IC50 value: mg/L) | | |
|--------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------------|
| | Xanthine oxidase (통풍저해효과) | ACE (항고혈압효과) | α -Glucosidase (항당뇨효과) |
| Hesperidin | >2,000 | 1,375.8±62.1 | >2,000 |
| Hesperetin-7-O-glucoside | >2,000 | 106.5±3.8f | 1,395.5±69.9 |
| Hesperetin | 275.4±17.7 | 358.2±7.8 | 131.8±7.3 |
| Narirutin | 1,104.7±40.7 | 1,937.1±42.5 | 1,004.0±42.6 |
| Prunin | 862.5±36.6 | 221.2±6.2 | 622.7±28.0 |
| Naringenin | 129.3±6.4 | 459.7±15.0 | 72.2±3.8 |
| Sinensetin | >2,000 | 364.0±13.4 | >2,000 |
| Nobiletin | >2,000 | 322.5±4.7 | >2,000 |
| Tangeretin | >2,000 | 352.0±8.9 | 1,763.1±66.6 |
| Positive control | 116.7±3.7 (allopurinol) | 6.9±0.2 (captopril) | 1,366.9±73.2 (acarbose) |

나. 체중조절 기능성 성분(또는 지표 성분)의 아임계수 추출 및 가수분해 공정 최적화 및 표준화

1) 추출온도에 따른 헤스페리딘과 나리루틴의 추출속도 곡선

- 추출온도가 헤스페리딘과 나리루틴의 추출속도에 미치는 영향은 일정 유속(1.5 mL/min)과 일정한 압력(5 MPa) 하에서 140, 150, 160° C의 온도 범위에서 측정하였음

- 헤스페리딘의 추출수율은 추출온도 140° C에서는 추출시간에 따라 서서히 증가하였지만 150° C에서는 추출시간 15분까지는 급격히 증가하였으며 그 이후에도 서서히 계속 증가하였다. 그러나 160° C에서는 추출시간 10분까지는 급격히 증가하였지만 그 이후에는 150° C에서 보다 추출수율이 작은 것으로 보아 열분해 되고 있는 것으로 추정되었다. 추출시간 30분 후의 추출수율은 150° C가 140° C 보다 1.69배 높았음
- 나리루틴의 추출수율은 추출온도 140° C와 150° C에서는 추출시간에 따라 급격히 증가하였지만 160° C에서는 추출시간 10분 후 부터는 증가폭이 크지 않은 것으로 보아 열분해 되고 있는 것으로 추정되었다. 나리루틴의 경우에는 추출온도에 따른 추출수율의 차이는 헤스페리딘에 비하여 크지 않았는데 이는 나리루틴이 헤스페리딘에 비하여 물에 대한 용해도가 높기 때문임
- 고온에서 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율이 더 높은 것은 고온에서 물의 유전 상수(극성)가 감소하였기 때문이다. 또한 추출온도가 높을수록 물의 점도와 표면 장력이 감소하였고 물의 확산도가 증가하여 추출수율이 증가하였음

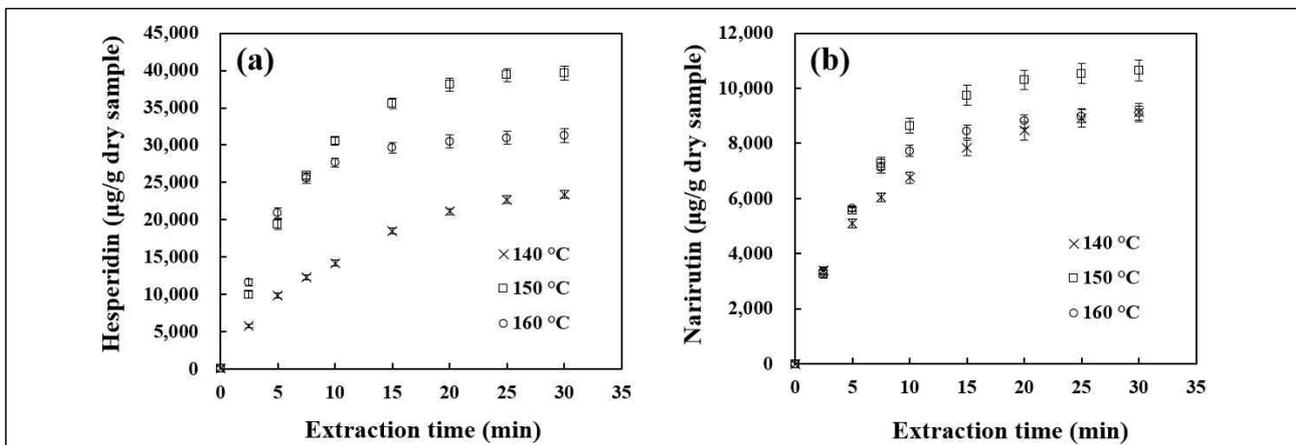


그림. 아임계수의 온도에 따른 풋굴 착즙박으로부터 플라바논의 추출곡선(유속 1.5 mL/min)
(a) hesperidin, (b) narirutin.

2) 아임계수의 유속에 따른 헤스페리딘과 나리루틴의 추출속도 곡선

- 유속이 헤스페리딘과 나리루틴의 추출속도에 미치는 영향은 일정 온도(150° C)와 일정한 압력(5 MPa) 하에서 1.0, 1.5, 2.0 mL/min의 유속 범위에서 측정하였음
- 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율은 모든 유속에서 추출시간에 따라 급격히 증가하였으나 아임계수의 유속에 따른 차이는 그다지 크지 않았으며, 2.0 mL/min에서의 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율은 1.0 mL/min에서의 1.12배, 1.10배에 불과하였음
- 유속 증가에 따라 추출수율이 증가하는 것은 시료와 용매인 아임계수 사이에 물질전달속도와 용매 농도 구배가 증가하였기 때문이다. 그러나 높은 유속은 추출물의 부피를 증가시켜 최종 추출물에서 원하는 성분의 농도를 낮추므로, 최종 제품에서 플라보노이드 화합물 농도가 희석되지 않도록 적절한 유량을 선택하는 것이 중요함

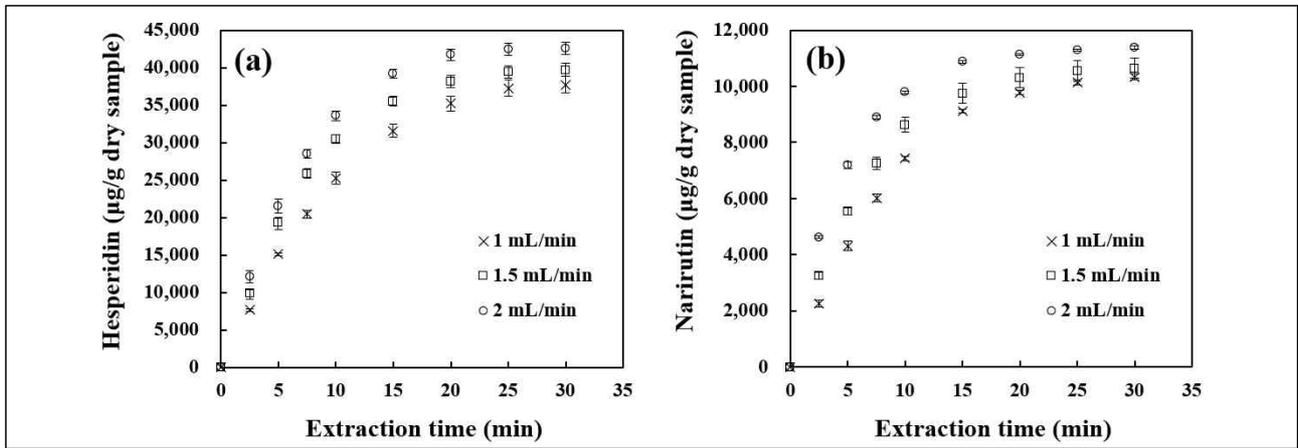


그림. 아임계수의 유속에 따른 풋갈 착즙박으로부터 플라바논의 추출곡선(온도 150° C)
 (a) hesperidin, (b) narirutin.

3) 아임계수 추출조건의 최적화

- 아임계수의 온도(140, 150, 160° C)와 유속(1, 1.5, 2 mL/min)에 따른 풋갈 착즙박으로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율을 측정하였음
- 헤스페리딘의 추출수율은 140° C에서 원료 중 함량의 45.2-57.6%이었지만 150° C에서는 74.9-85.2%로 증가한 반면 160° C에서는 56.4-70.6%로 감소하였음
- 나리루틴의 추출수율도 140° C에서 55.0-75.4%이었지만 150° C에서는 78.1-87.0%로 증가한 반면 160° C에서는 64.9-69.6%로 감소하였음
- 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율이 150° C에서 보다 160° C에서 낮은 것은 열분해가 더 많이 되었기 때문이다. 따라서 과도한 열처리는 원하는 성분의 추출수율을 감소시킬 뿐만 아니라 시료 매트릭스로부터 원하지 않는 성분의 가수분해 및 용출을 유발하므로 과도한 추출온도를 피하는 것이 바람직하였음

표. 아임계수의 추출온도와 유속에 따른 풋갈 착즙박으로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율

| 번호 | 온도 (° C) | 유속 (mL/min) | 추출수율(µg/g dry sample) | |
|----|----------|-------------|-------------------------|-----------------------|
| | | | Hesperidin | Narirutin |
| 1 | 140 | 1.0 | 22,502 ± 307g (45.2%) | 7,140 ± 217g (55.0%) |
| 2 | | 1.5 | 22,692 ± 523g (45.6%) | 8,912 ± 330d (68.7%) |
| 3 | | 2.0 | 28,656 ± 1,335f (57.6%) | 9,788 ± 311c (75.4%) |
| 4 | 150 | 1.0 | 37,282 ± 1,049c (74.9%) | 10,141 ± 87bc (78.1%) |
| 5 | | 1.5 | 39,405 ± 898b (79.2%) | 10,534 ± 396b (81.2%) |
| 6 | | 2.0 | 42,409 ± 819a (85.2%) | 11,284 ± 37a (87.0%) |
| 7 | 160 | 1.0 | 28,097 ± 814f (56.4%) | 8,419 ± 157e (64.9%) |
| 8 | | 1.5 | 30,968 ± 837e (62.2%) | 8,988 ± 244d (69.3%) |
| 9 | | 2.0 | 35,114 ± 2,339d (70.6%) | 9,027 ± 436d (69.6%) |

- 풋갈 착즙박으로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 최적 추출조건을 찾기 위하여 반응표면분석을 수행하였음

- 헤스페리딘과 나리루틴에 대한 회귀 모형의 분산 분석(ANOVA) 결과 낮은 p-값($p < 0.05$), 높은 R2 값($R^2 \geq 0.9471$), 비유의적인 적합성 결여($p > 0.05$), 그리고 낮은 분산 계수 값($CV \leq 5\%$)으로 인하여 모델 방정식이 실험 데이터에 잘 부합되었음

표. 아임계수의 온도와 유속에 따른 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율의 회귀 모형에 대한 분산분석 결과

| Source | Hesperidin | | Narirutin | |
|-------------|------------|------------------|-----------|------------------|
| | F value | p-value (Prob>F) | F value | p-value (Prob>F) |
| Model | 155.09 | <0.0001 | 75.15 | <0.0001 |
| X1 | 132.91 | <0.0001 | 1.85 | 0.1880 |
| X2 | 107.68 | <0.0001 | 101.68 | <0.0001 |
| X12 | 527.76 | <0.0001 | 237.42 | <0.0001 |
| X22 | 6.74 | 0.0168 | 2.00 | 0.1718 |
| X1X2 | 0.3592 | 0.5554 | 32.82 | <0.0001 |
| Lack of fit | 2.47 | 0.0951 | 2.89 | 0.0641 |
| R2 | 0.9736 | | 0.9471 | |
| pred R2 | 0.9548 | | 0.9121 | |
| adj R2 | 0.9674 | | 0.9345 | |
| C.V.% | 3.91 | | 3.30 | |

X₁: temperature (°C), X₂: flow rate (mL/min), pred R²: predicted R², adj R²: adjusted R², C.V.: coefficient of variance.

- 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율을 최대화하기 위한 최적의 추출 조건을 추정하기 위해 다음과 같은 2차 다항식이 제안되었음

$$Y(\text{hesperidin}) = 38,817 + 3,388X_1 + 3,409X_2 - 11,693X_1^2 + 1,321X_2^2 - 215X_1X_2$$

$$T(\text{narirutin}) = 10,772 + 98X_1 + 733X_2 - 1,914X_1^2 - 178X_2^2 - 510X_1X_2$$

- 여기서 X₁, X₂는 각각 온도와 유속이다.
- 각 변수에 대한 회귀 계수 값의 크기는 각 변수가 추출수율에 미치는 영향을 나타낸다. 또한 아래 반응표면도는 각 변수가 각 성분의 추출수율에 미치는 영향을 시각적으로 추정하는데 도움을 줌
- 헤스페리딘의 경우 유의성이 있는 p-값($p < 0.05$)을 갖는 선형 항(X₁과 X₂)의 양의 계수와 2차 항(X₁₂)의 음의 계수는 추출수율이 온도의 증가에 따라 증가하였고 정점에 이른 후 감소한다는 것을 의미하였음
- 나리루틴의 경우에는 온도에 의한 영향이 헤스페리딘보다 크지 않았음

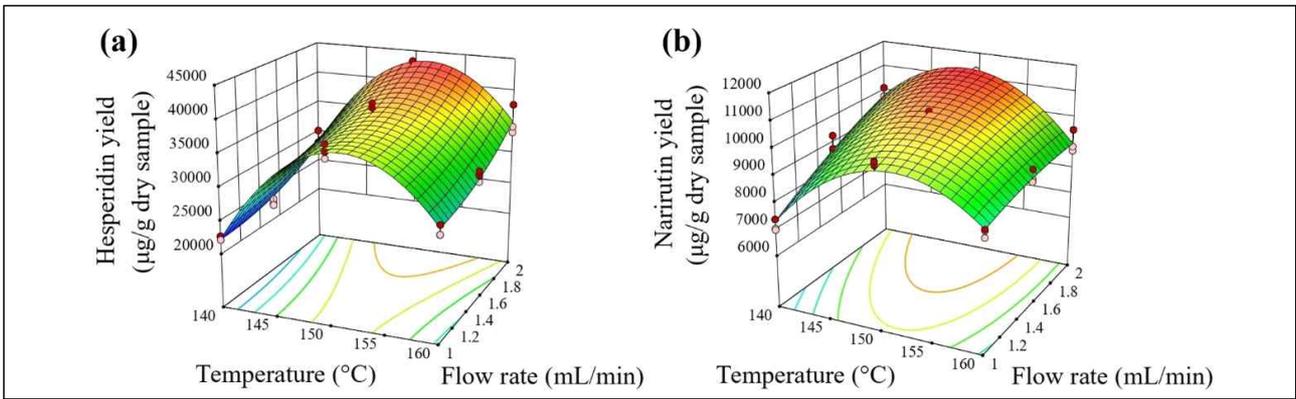


그림. 아임계수의 온도와 유속에 따른 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 대한 3차원 반응표면 도식도 (a) hesperidin and (b) narirutin.

- 최적 추출온도와 유속은 헤스페리딘이 151.3°C, 2.0 mL/min이었고 나리루틴이 149.0°C, 2.0 mL/min이었으며 최대 추출수율은 헤스페리딘이 86.7%(43,122 µg/g dry sample)이었고 나리루틴이 87.4%(11,338 µg/g dry sample)이었음
- 헤스페리딘과 나리루틴을 동시에 추출하기 위한 최적 추출온도와 유속은 150.3°C, 2.0 mL/min이었으며, 최대 추출수율은 헤스페리딘이 87.0%(43,295 µg/g dry sample), 나리루틴이 87.2%(11,311 µg/g dry sample)이었다. 이로부터 상온(25°C)의 물에서는 용해도가 매우 낮은 (4.95 mg/L) 헤스페리딘을 아임계수로 대부분 추출할 수 있음을 알 수 있었음

표. 아임계수에 의한 헤스페리딘과 나리루틴의 최적 추출조건과 추출수율

| | 온도 (°C) | 유속 (mL/min) | 예측 추출수율 (µg/g dry sample) | 적합도 |
|----------------|---------|-------------|---------------------------|-----|
| Hesperidin (H) | 151.3 | 2.0 | 43,122 | 1 |
| Narirutin (N) | 149.0 | 2.0 | 11,338 | 1 |
| H+N | 150.3 | 2.0 | H: 43,295, N: 11,311 | 1 |

4) 아임계수 가수분해 조건의 최적화

- 투오븐 시스템에 의해 풋갈 착즙박으로부터 아임계수에 의한 헤스페리딘과 나리루틴 추출물의 가수분해 수율을 측정하였다. 아임계수 추출은 오븐1에서 온도 150°C, 유속 1 mL/min에서 행하였고, 이 추출물을 연속적으로 오븐2에서 온도와 체류시간을 달리하여 가수분해 하였음
- 초기 풋갈 착즙박 중의 헤스페리딘 함량은 49,731 µg/g dry sample이었는데, 가수분해 후에는 170°C, 1.9분에서 30,597 µg/g dry sample(61.4%)이었고, 190°C, 5.7분에서는 9,850 µg/g dry sample(19.8%)만이 남아 38.6-80.2%가 가수분해 되었음
- 초기 원료 중의 나리루틴 함량은 12,696 µg/g dry sample이었는데, 가수분해 후에는 170°C, 1.9분에서 9,763 µg/g dry sample(76.8%)이었고, 190°C, 5.7분에서는 2,349 µg/g dry sample (18.5%)만이 남아 23.2-81.5%가 가수분해되었음
- 헤스페리딘으로부터 헤스페레틴-7-O-글루코사이드로의 가수분해 수율은 170°C에서는 1

9.0-27.6%이었으나 180° C에서는 32.8-35.8%로 증가한 반면 190° C에서는 23.2-30.3%로 감소하였는데, 이는 hesperetin-7-O-글루코사이드가 hesperetin으로 가수분해가 더 진행되었기 때문이었음

- hesperetin-7-O-글루코사이드로부터 hesperetin으로의 가수분해 수율은 170° C에서 11.6-19.2%이었으나 190° C에서 33.1-36.6%로 증가하였다. 이로부터 가수분해 수율은 hesperetin-7-O-글루코사이드가 180° C에서 가장 높은 반면, hesperetin은 더 높은 온도인 190° C에서 가장 높았음
- narirutin으로부터 prunin으로의 가수분해 수율도 가수분해 온도가 170°C에서 6.3-12.3%에 불과하였지만 190°C에서 28.0-32.3%로 크게 증가하였으며, prunin으로부터 naringenin으로의 가수분해 수율도 170°C에서 7.5-15.3%이었지만 190°C에서 26.6-34.5%로 크게 증가하였음
- hesperetin-7-O-글루코사이드는 가수분해 수율이 온도가 180° C에서 190° C로 증가함에 따라 감소하였지만 hesperetin, prunin, naringenin은 증가하는 것으로 보아, hesperetin, prunin, naringenin으로의 가수분해에 필요한 열에너지는 hesperetin-7-O-글루코사이드로의 가수분해에 필요한 열에너지 보다 높음을 알 수 있었음

표. 아임계수의 온도와 체류시간에 따른 hesperetin-7-O-glucoside, hesperetin, prunin, naringenin의 가수분해 수율

| 온도 (°C) | 체류 시간 (min) | hesperetin과 가수분해물 (µg/g dry sample) | | | narirutin과 가수분해물 (µg/g dry sample) | | | 가수분해물 합계 (µg/g dry sample) |
|---------|-------------|-------------------------------------|--------------------------|----------------------|------------------------------------|---------------------|----------------------|----------------------------|
| | | Hesperidin | Hesperetin-7-O-glucoside | Hesperetin | Narirutin | Prunin | Naringenin | |
| 170 | 1.9 | 30,597 ± 1,161a | 7,193 ± 167f(19.0%) | 2,853 ± 164h(11.6%) | 9,763 ± 451a | 610 ± 27g(6.3%) | 457 ± 10f(7.5%) | 11,114 ± 311e |
| | 3.8 | 25,587 ± 1,058b | 8,961 ± 300e(23.7%) | 3,951 ± 163g(16.0%) | 9,014 ± 515b | 971 ± 26f(10.0%) | 794 ± 39e(13.1%) | 14,678 ± 342d |
| | 5.7 | 24,577 ± 1,167b | 10,431 ± 189d(27.6%) | 4,736 ± 291f(19.2%) | 8,292 ± 384c | 1,190 ± 41e(12.3%) | 933 ± 136e(15.3%) | 17,292 ± 91c |
| 180 | 1.9 | 21,773 ± 105c | 12,413 ± 760b(32.8%) | 6,047 ± 436e(24.6%) | 7,338 ± 162d | 2,004 ± 16d(20.7%) | 1,170 ± 15d(19.2%) | 21,636 ± 1,204b |
| | 3.8 | 17,286 ± 1,378d | 13,532 ± 709a(35.8%) | 6,896 ± 263d(28.0%) | 5,692 ± 172e | 2,432 ± 72c(25.1%) | 1,527 ± 25c(25.1%) | 24,388 ± 1,040a |
| | 5.7 | 13,810 ± 606e | 12,486 ± 123b(33.0%) | 8,154 ± 162c(33.1%) | 4,568 ± 287f | 2,596 ± 54bc(26.8%) | 1,733 ± 55b(28.5%) | 24,970 ± 281a |
| 190 | 1.9 | 17,474 ± 163d | 11,477 ± 222c(30.3%) | 8,221 ± 280c(33.1%) | 5,084 ± 219f | 2,714 ± 134b(28.0%) | 1,618 ± 100bc(26.6%) | 24,032 ± 441a |
| | 3.8 | 12,389 ± 340e | 10,404 ± 371d(27.5%) | 9,020 ± 330b(33.4%) | 3,379 ± 157g | 3,134 ± 248a(32.3%) | 2,098 ± 150a(34.5%) | 24,657 ± 520a |
| | 5.7 | 9,850 ± 825f | 8,767 ± 300e(23.2%) | 10,690 ± 336a(36.6%) | 2,349 ± 69h | 2,979 ± 27a(30.7%) | 2,020 ± 93a(33.2%) | 24,458 ± 108a |

- 풋갈 착즙박의 아임계수 추출물로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 최적 가수분해 조건을 찾기 위하여 반응표면분석을 수행하였음
- Hesperetin-7-O-glucoside, hesperetin, prunin, naringenin에 대한 회귀 모형의 분산 분석(A NOVA) 결과 낮은 p-값($p < 0.05$), 높은 R² 값($R^2 \geq 0.9608$), 비유의적인 적합성 결여($p > 0.05$), 그리고 낮은 분산 계수 값($CV \leq 7\%$)으로 인하여 모델 방정식이 실험 데이터에 잘 부합되었음

표. 아임계수의 온도와 체류시간에 따른 hesperetin-7-O-glucoside, hesperetin, prunin, naringenin의 가수분해 수율의 회귀 모형에 대한 분산분석 결과

| Source | Hesperetin-7-O-glucoside | | Hesperetin | | Prunin | | Naringenin | |
|---------------------|--------------------------|------------------|------------|------------------|----------|------------------|------------|------------------|
| | F value | p-value (Prob>F) | F value | p-value (Prob>F) | F value | p-value (Prob>F) | F value | p-value (Prob>F) |
| Model | 102.89 | <0.0001 | 363.70 | <0.0001 | 329.36 | <0.0001 | 162.87 | <0.0001 |
| X1 | 42.16 | <0.0001 | 1,557.53 | <0.0001 | 1,464.78 | <0.0001 | 672.75 | <0.0001 |
| X2 | 0.9233 | 0.3476 | 241.82 | <0.0001 | 82.33 | <0.0001 | 110.83 | <0.0001 |
| X12 | 328.04 | <0.0001 | 14.34 | 0.0011 | 80.96 | <0.0001 | 15.68 | 0.0007 |
| X22 | 7.79 | 0.0110 | 1.80 | 0.1935 | 12.78 | 0.0018 | 14.65 | 0.0010 |
| X1X2 | 135.52 | <0.0001 | 2.99 | 0.0986 | 5.96 | 0.0236 | 0.45 | 0.5090 |
| Lack of fit | 2.07 | 0.1394 | 1.49 | 0.2505 | 2.55 | 0.0881 | 2.95 | 0.0605 |
| R ² | 0.9608 | | 0.9886 | | 0.9874 | | 0.9749 | |
| pred R ² | 0.9391 | | 0.9811 | | 0.9798 | | 0.9578 | |
| adj R ² | 0.9514 | | 0.9859 | | 0.9844 | | 0.9689 | |
| C.V.% | 4.16 | | 4.36 | | 5.40 | | 7.05 | |

X₁: temperature (°C), X₂: residence time (min), pred R²: predicted R², adj R²: adjusted R², C.V.: coefficient of variance.

- Hesperetin-7-O-glucoside, hesperetin, prunin, naringenin의 가수분해 수율을 최대화하기 위한 최적의 가수분해 조건을 추정하기 위해 다음과 같은 2차 다항식이 제안되었음

$$Y(\text{hesperetin-7-O-glucoside}) = 13,146 + 677X_1 + 100X_2 - 3,271X_1^2 - 504X_2^2 - 1,486X_1X_2$$

$$Y(\text{hesperetin}) = 6,925 + 2,732X_1 + 1,076X_2 - 454X_1^2 + 161X_2^2 + 146X_1X_2$$

$$Y(\text{prunin}) = 2,453 + 1,009X_1 + 239X_2 - 410X_1^2 - 163X_2^2 - 78X_1X_2$$

$$Y(\text{naringenin}) = 1,577 + 591X_1 + 240X_2 - 156X_1^2 - 151X_2^2 - 18X_1X_2$$

- 여기서 X₁, X₂는 각각 온도와 유속이다.

- 각 변수에 대한 회귀 계수 값의 크기는 각 변수가 추출수율에 미치는 영향을 나타낸다. 또한 아래 반응표면도는 각 변수가 각 성분의 추출수율에 미치는 영향을 시각적으로 추정하는데 도움을 줌

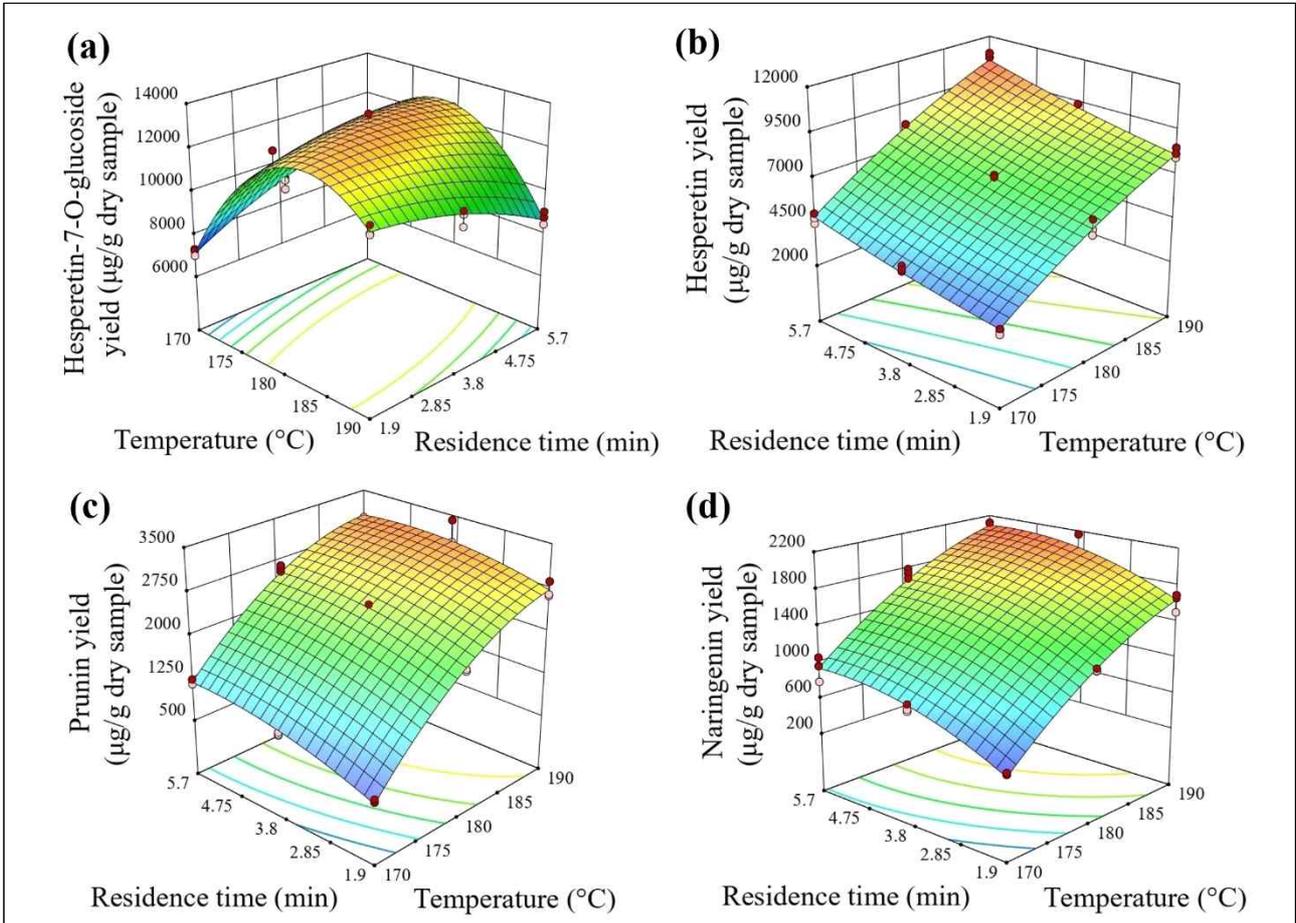


그림. 아임계수의 온도와 체류시간에 따른 hesperetin-7-O-glucoside, hesperetin, prunin, naringenin의 가수분해 수율에 대한 3차원 반응표면 도식도

- 헤스페레틴-7-O-글루코사이드와 헤스페레틴의 최적 가수분해 온도와 체류시간은 181 $^{\circ}\text{C}$, 4.0분이었고 최대 가수분해 수율은 각각 34.7%(13,136 $\mu\text{g/g}$ dry sample)과 30.6%(7,531 $\mu\text{g/g}$ dry sample)이었고, 가수분해 수율의 합은 65.3%이었음
- 프루닌과 나린제닌의 최적 가수분해 온도와 체류시간은 190 $^{\circ}\text{C}$, 5.0분이었고 최대 가수분해 수율은 각각 31.8%(3,087 $\mu\text{g/g}$ dry sample)과 34.4%(2,092 $\mu\text{g/g}$ dry sample)이었고, 가수분해 수율의 합은 66.2%이었음
- 4가지 성분(헤스페레틴-7-O-글루코사이드, 헤스페레틴, 프루닌, 나린제닌) 모두를 동시에 최대로 얻기 위한 최적 가수분해 온도와 체류시간은 184 $^{\circ}\text{C}$, 4.51분이었고 최대 가수분해 수율은 각각 32.7%(12,386 $\mu\text{g/g}$ dry sample), 35.0%(8,626 $\mu\text{g/g}$ dry sample), 29.9%(2,897 $\mu\text{g/g}$ dry sample), 31.2%(1,897 $\mu\text{g/g}$ dry sample)이었는데, 이 때 헤스페레틴-7-O-글루코사이드와 헤스페레틴의 가수분해 수율의 합은 67.7%이었고, 프루닌과 나린제닌의 가수분해 수율의 합은 61.1%이었음

표. 아임계수에 의한 hesperetin-7-O-glucoside, hesperetin, prunin, naringenin의 최적 가수분해 조건과 가수분해 수율

| 플라보노이드 | 온도 (°C) | 체류시간 (min) | 예측 가수분해 수율 | | 적합도 |
|--------------------------------|---------|------------|---|------------------------|-------|
| | | | ($\mu\text{g/g dry sample}$) | (%) | |
| Hesperetin-7-O-glucoside (H7G) | 181 | 3.6 | 13,183 | 34.9 | 1 |
| Hesperetin (HT) | 190 | 5.7 | 10,587 | 43.0 | 1 |
| Prunin (P) | 190 | 4.7 | 3,090 | 31.9 | 1 |
| Naringenin (NG) | 190 | 5.2 | 2,094 | 34.4 | 1 |
| H7G+HT | 181 | 4.0 | H7G: 13,136/ HT: 7,531 | 34.7/ 30.6 | 0.796 |
| P+NG | 190 | 5.0 | P: 3,087/ NG: 2,092 | 31.8/ 34.4 | 0.909 |
| H7G+HT+P+NG | 184 | 4.5 | H7G: 12,386/ HT: 8,626, P: 2,897/ NG: 1,897 | 32.7/ 35.0/ 29.9/ 31.2 | 0.767 |

5) 메탄올 추출물, 아임계수 추출물, 아임계수 추출 및 가수분해물의 플라보노이드의 함량 및 손실량과 총고형분 함량

- 메탄올 추출물에서는 플라바논 2배당체인 헤스페리딘과 나리루틴만이 검출되었으나, 플라바논 2배당체의 가수분해물인 1배당체와 비배당체는 전혀 검출되지 않았다. 반면 아임계수 추출물과 아임계수 추출 및 가수분해물에서는 플라바논 2배당체의 가수분해물이 다량 검출되었음
- 150° C와 180° C 아임계수 추출물에서 가수분해물(헤스페레틴-7-O-글루코사이드, 헤스페레틴, 프루닌, 나린제닌)의 함은 각각 6,104와 12,640 $\mu\text{g/g dry sample}$ 이었으나, 150° C 추출 및 180° C, 3.8분 가수분해물에서 가수분해물의 함은 24,388 $\mu\text{g/g dry sample}$ 로 각각 3.99배와 1.92배 높았음
- 특히 체중조절 효과가 헤스페리딘보다 약 4.95배 높은 헤스페레틴-7-O-글루코사이드의 수율은 아임계수 추출 및 가수분해물이 13,532 $\mu\text{g/g dry sample}$ 로 150° C와 180° C 아임계수 추출물의 4,072와 3,830 $\mu\text{g/g dry sample}$ 에 비하여 각각 3.32배와 3.53배 높았음.
- 또한 체중조절 효과가 헤스페리딘보다 약 4배 높은 헤스페레틴의 수율은 아임계수 추출 및 가수분해물이 6,896 $\mu\text{g/g dry sample}$ 로서 150° C와 180° C 아임계수 추출물의 1,389와 6,280 $\mu\text{g/g dry sample}$ 에 비하여 각각 4.96배와 1.09배 높았음
- 아임계수 추출 및 가수분해물 중의 총고형분 함량은 44.4 g/100 g dry sample로 150° C 아임계수 추출물의 45.3 g/100g dry sample과 비슷하였다. 그러나 180° C 아임계수 추출물은 68.2 g/100 g dry sample로 아임계수 추출 및 가수분해물보다 1.53배 높았는데, 이는 고온에서 플라바논 이외의 성분들도 열분해되어 용출되었기 때문이었음
- 180° C 아임계수 추출물에서 플라바논의 손실율은 헤스페리딘과 나리루틴이 각각 53.3%와 32.1%로 매우 높은 반면 아임계수 추출 및 가수분해물의 손실율은 헤스페리딘과 나리루틴

이 각각 1.5%와 5.9%로 매우 낮았다. 따라서 180° C와 같은 고온에서의 추출은 원하는 성분의 과도한 열분해에 의한 손실뿐만 아니라 시료 매트릭스로부터 원하지 않는 성분의 열분해 및 용출을 촉진시키므로 바람직하지 않았음

- 반면에 아임계수 추출 및 가수분해물은 원하는 성분인 가수분해물의 함은 높으면서 총고형분의 함량은 낮으므로 원하는 성분의 농도가 높은 가수분해물을 얻을 수 있었으며, 원하는 성분의 손실도 최소화할 수 있었다. 따라서 가능한 저온에서 원하는 성분을 추출한 후 추출물을 고온에서 연속적으로 가수분해하는 공정이 바람직하였음

표. 풋갈 착즙박의 메탄올 추출물, 아임계수 추출물, 아임계수 추출 및 가수분해물의 플라보노이드의 조성($\mu\text{g/g}$ dry sample) 및 손실량과 총고형분 함량

| 플라보노이드 | 메탄올 추출물 | 아임계수 추출물 (150°C, 1 mL/min) | 아임계수 추출물 (180°C, 1 mL/min) | 아임계수 추출 (150°C, 1 mL/min) 및 가수분해물 (180°C, 3.8 min) |
|--|-------------------|----------------------------|----------------------------|--|
| Hesperidin(H) | 49,731 \pm 808a | 37,732 \pm 1,123b | 5,537 \pm 220d | 17,286 \pm 1,378c |
| Hesperetin-7-O-glucoside (H7G) | N.D. | 4,072 \pm 49c | 3,830 \pm 254b | 13,532 \pm 709a |
| Hesperetin(HT) | N.D. | 1,389 \pm 33c | 6,280 \pm 294b | 6,896 \pm 263a |
| Narirutin(N) | 12,969 \pm 165a | 10,331 \pm 105b | 4,293 \pm 319d | 5,692 \pm 172c |
| Prunin(P) | N.D. | 270 \pm 2c | 1,102 \pm 48b | 2,432 \pm 72a |
| Naringenin(NG) | N.D. | 371 \pm 11b | 1,426 \pm 87a | 1,527 \pm 25a |
| Total | 67,700 \pm 904a | 54,168 \pm 1,272b | 22,470 \pm 105d | 47,367 \pm 2,248c |
| H7G+HT+P+NG | N.D. | 6,104 \pm 90a | 12,640 \pm 104a | 24,388 \pm 1,040a |
| Total soluble solid (g/100 g dry sample) | 34.3 \pm 0.1c | 45.3 \pm 1.9b | 68.2 \pm 0.3a | 44.4 \pm 2.0b |
| Flavanone loss(%) | --- | H: 7.7, N: 11.5 | H: 53.3, N: 32.1 | H: 1.5, N: 5.9 |

6) 메탄올 추출물, 아임계수 추출물, 아임계수 추출 및 가수분해물의 효소 저해활성 비교

- 췌장 지방분해효소, 알파-글루코시다제, 크잔틴 산화효소, 안지오텐신-1 전환효소의 저해활성은 각각 체중조절 효과, 항당뇨, 항통풍, 항고혈압에 대한 활성을 나타내는 지표임
- 아임계수 추출 및 가수분해물은 메탄올 추출물(가수분해 전)에 비하여 체중조절 효과는 2.05배, 항당뇨 효과는 1.95배, 항통풍 효과는 8.97배, 항고혈압 효과는 7.54배 높았으며, 150° C 아임계수 추출물에 비해서는 각각 1.42배, 1.51배, 2.22배, 2.09배 높았음
- 특히 아임계수 추출 및 가수분해물은 체중조절 효과는 양성대조군인 orlistat 100 mg/L과 비슷하였고, 항당뇨 효과는 양성대조군인 acarbose 2,000 mg/L보다 높았으며, 항통풍 효과는 양성대조군인 allopurinol 200 mg/L과 비슷하였고, 항고혈압 효과는 양성대조군인 captopril 50 mg/L보다 다소 낮았음

- 이와 같이 아임계수 추출 및 가수분해물의 효소 저해활성이 높은 것은 풋굴 착즙박으로부터 아임계수에 의해 추출된 플라바논 2배당체가 플라바논 1배당체와 비배당체로 60% 이상이 가수분해가 되었기 때문이다. 한편 180° C 아임계수 추출물의 효소 저해활성도 높았는데, 이는 고온에서 열분해된 미지의 성분들이 관여하였기 때문인 것으로 추정되었으며, 차후 미지의 열분해 산물들에 의한 인체 독성에 대하여 검정할 필요가 있음

표. 풋굴 착즙박의 메탄올 추출물, 아임계수 추출물, 아임계수 추출 및 가수분해물의 효소 저해 활성

| 효소 종류 | 효소 저해 활성(%) | | | | 기존 약물 |
|---|-------------|----------------------------|----------------------------|--|------------------------------------|
| | 메탄올 추출물 | 아임계수 추출물 (150°C, 1 mL/min) | 아임계수 추출물 (180°C, 1 mL/min) | 아임계수 추출 (150°C, 1 mL/min) 및 가수분해물 (180°C, 3.8 min) | |
| Pancreatic lipase (체중조절 효과) | 35.7 ± 2.6c | 51.4 ± 2.8b | 75.0 ± 1.8a | 73.4 ± 1.9a | 76.2 ± 1.3a (orlistat 100 mg/L) |
| α-Glucosidase (항당뇨 효과) | 34.6 ± 1.5d | 44.5 ± 1.8c | 69.5 ± 1.6a | 67.6 ± 1.3a | 50.4 ± 1.3b (acarbose 2,000 mg/L) |
| Xanthine oxidase (항통풍 효과) | 7.6±1.2c | 30.6±2.6b | 72.8±3.7a | 68.2±2.4a | 71.5 ± 1.2a (allopurinol 200 mg/L) |
| Angiotensin-I converting enzyme (항고혈압 효과) | 9.4±0.2e | 33.9±2.5d | 67.8±0.4c | 70.9±1.3b | 88.1 ± 0.6a (captopril 50 mg/L) |

다. 체중조절 기능성 성분(또는 지표 성분)의 주정 추출공정 최적화 및 표준화

1) 단일 추출공정 변수의 실험 결과

- 각 추출 변수(에탄올 농도, 온도, 용매와 시료의 비율, 추출 시간)가 풋굴 착즙박으로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 미치는 영향을 개별적으로 평가하였음
- 60° C, 30 mL/g, 30분에서 헤스페리딘 및 나리루틴 추출수율에 대한 에탄올 농도(20-100% (v/v))의 영향을 측정하였다. 헤스페리딘과 나리루틴의 수율은 에탄올 농도가 20%에서 60%로 증가함에 따라 증가했으나 그 이상의 농도에서는 감소하였다. 따라서 에탄올 농도로는 40, 60, 80%를 반응표면분석을 위한 에탄올 농도의 범위로 선정하였다. 일반적으로 에탄올과 물을 혼합하면 용매의 유전상수가 감소하며 용질의 용해도와 확산도가 증가하여 추출수율이 증가함
- 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 대한 온도(25-90° C)의 영향을 60%, 30mL/g, 30분에서 측정하였다. 헤스페리딘의 추출수율은 온도가 25° C에서 75° C로 증가하면서 크게 증가하였으나, 90° C에서 약간 감소하였다. 나리루틴도 헤스페리딘과 거의 같은 경향을 보였다. 따라서 60, 75, 90° C를 반응표면분석을 위한 온도 범위로 선정하였다. 일반적으로 고온은 용질의 용해도를 증가시키며, 용매의 점도와 표면 장력을 감소시켜 플라보노이드의 추출수율을 증가시킨다. 그러나 페놀성 화합물은 너무 고온에서는 분해될 수도 있음
- 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 대한 용매와 시료의 비율(20-70 g/mL)의 영향도 6

0%, 60° C, 30분에서 측정하였다. 용매와 시료의 비율이 20에서 40 mL/g로 증가하면서 두 성분 모두의 수율이 증가하였고, 40 mL/g 이상에서는 수율의 변화가 없었다. 일반적으로 용매와 시료의 비율이 높으면 시료와 추출용제 사이의 농도 구배가 증가하므로 물질전달이 증가되어 플라보노이드의 추출수율이 증가한다. 그러나 높은 용매와 시료의 비율은 추출물이 희석되므로 차후 농축하는 단계를 거쳐야 하므로 높은 에너지 소비로 인해 비경제적이다. 따라서 추출 조건을 최적화할 때 적절한 용매와 시료의 비율 범위를 선택하는 것이 중요하다. 따라서 반응표면분석을 위한 용매와 시료의 비율로는 20, 30, 40 mL/g를 선정하였음

- 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 대한 추출시간(10-60분)의 영향은 60%, 60° C, 30 mL/g에서 측정하였다. 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율은 각각 30분과 20분에서 가장 높았고, 그 이후에는 큰 차이가 없었다. 이러한 현상은 Fick의 제2확산법칙으로 설명될 수 있는데, 일정 추출시간 후에는 결국 샘플 매트릭스와 추출용매 사이에 용질의 농도가 평형을 이루게 된다는 것이다. 헤스페리딘이나 나리루틴은 30분 이상의 추출 시간이 필요하지 않기 때문에 추출 시간은 30분으로 고정하였음

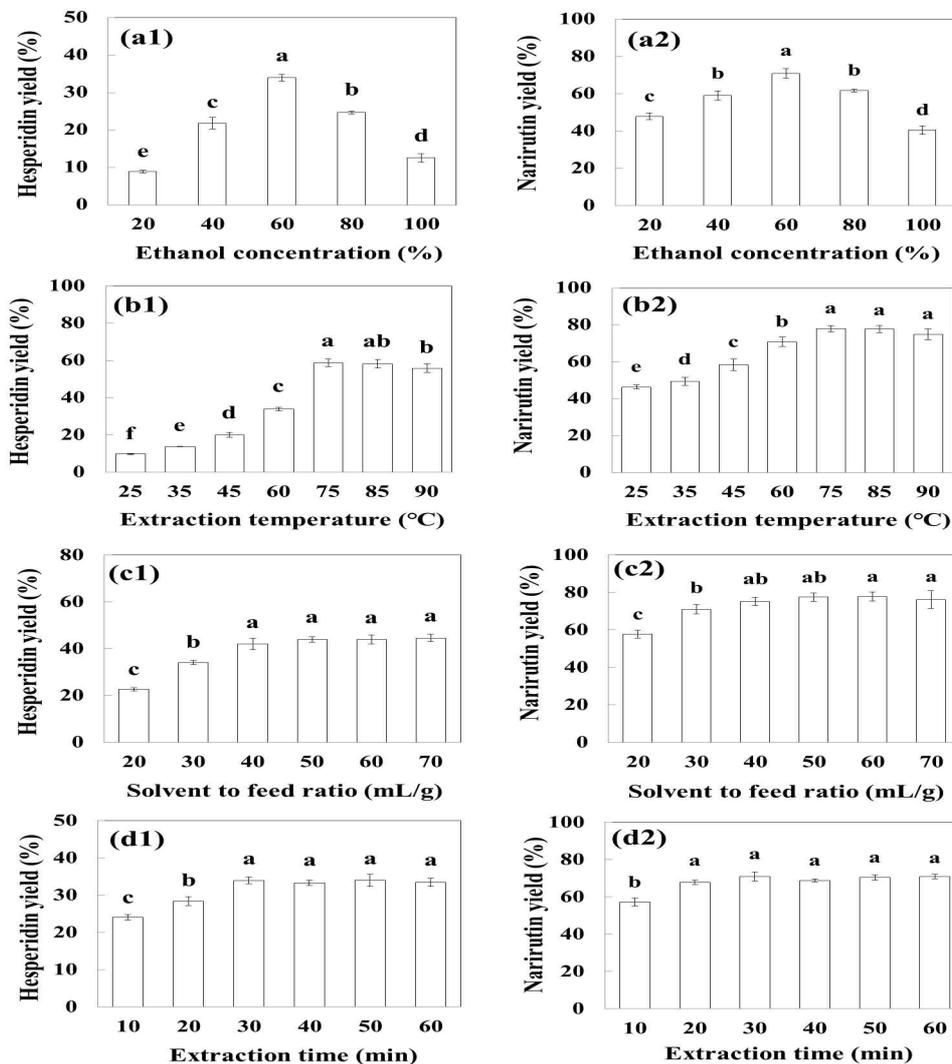


그림. 주정추출 변수에 따른 헤스페리딘(a1-d1)과 나리루틴(a2-d2)의 추출수율 (a) 에탄올 농도, (b) 온도, (c) 용매와 시료의 비율, (d) 추출시간. 추출수율은 추출물의 각 성분의 함량을 원료 중의 함량으로 나누어 산출

2) 표면반응분석에 의한 주정 추출조건 최적화

- 감귤 착즙박으로부터 헤스페리딘과 나리루틴의 최대 수율을 얻기 위한 추출변수(추출 온도, 에탄올 농도, 용매와 시료의 비율)는 반응표면분석법에 의하여 최적화하였음

표. Box-Behnken 설계와 그에 따른 헤스페리딘과 나리루틴의 주정추출 수율

| 번호 | 온도 (X1, °C) | 에탄올 농도 (X2, %, v/v) | 용매와 시료의 비율 (X3, mL/g dry sample) | 추출수율(%) | |
|----|----------------|------------------------|--|---------|------|
| | | | | 헤스페리딘 | 나리루틴 |
| 1 | 60 | 40 | 30 | 21.8 | 59.2 |
| 2 | 60 | 80 | 30 | 24.7 | 61.8 |
| 3 | 90 | 40 | 30 | 43.8 | 68.4 |
| 4 | 90 | 80 | 30 | 38.1 | 69.4 |
| 5 | 60 | 60 | 20 | 22.6 | 57.7 |
| 6 | 60 | 60 | 40 | 42.0 | 75.1 |
| 7 | 90 | 60 | 20 | 37.0 | 64.6 |
| 8 | 90 | 60 | 40 | 63.1 | 80.2 |
| 9 | 75 | 40 | 20 | 25.7 | 58.8 |
| 10 | 75 | 40 | 40 | 48.6 | 77.2 |
| 11 | 75 | 80 | 20 | 31.5 | 64.7 |
| 12 | 75 | 80 | 40 | 47.4 | 75.4 |
| 13 | 75 | 60 | 30 | 56.5 | 76.9 |
| 14 | 75 | 60 | 30 | 60.0 | 79.8 |
| 15 | 75 | 60 | 30 | 59.9 | 77.5 |
| 16 | 75 | 60 | 30 | 60.7 | 77.4 |
| 17 | 75 | 60 | 30 | 59.3 | 76.8 |

- 헤스페리딘과 나리루틴에 대한 회귀 모형의 분산 분석(ANOVA) 결과 낮은 p-값($p < 0.05$), 높은 R2 값($R^2 \geq 0.989$), 비유의적인 적합성 결여($p > 0.05$), 그리고 낮은 분산 계수 값($CV \leq 5\%$)으로 인하여 모델 방정식이 실험 데이터에 잘 부합되었음

표. 주정추출 조건에 따른 hesperidin과 narirutin의 추출수율의 회귀 모형에 대한 분산분석 결과

| Source | Hesperidin | | Narirutin | |
|-------------|------------|----------|-----------|----------|
| | F value | p-value | F value | p-value |
| Model | 117.8 | < 0.0001 | 71.5 | < 0.0001 |
| X1 | 193.3 | < 0.0001 | 66.1 | < 0.0001 |
| X2 | 0.11 | 0.7450 | 4.67 | 0.0674 |
| X3 | 272.0 | < 0.0001 | 305.7 | < 0.0001 |
| X12 | 190.6 | < 0.0001 | 105.8 | < 0.0001 |
| X22 | 292.3 | < 0.0001 | 119.2 | < 0.0001 |
| X32 | 45.9 | 0.0003 | 10.28 | 0.0149 |
| X1X2 | 5.54 | 0.0508 | 0.40 | 0.5453 |
| X1X3 | 3.46 | 0.1011 | 0.53 | 0.4900 |
| X2X3 | 3.72 | 0.0953 | 9.30 | 0.0186 |
| Lack of fit | 1.53 | 0.3365 | 1.09 | 0.4498 |
| R2 | 0.993 | | 0.989 | |
| Adj R2 | 0.985 | | 0.975 | |
| Pred R2 | 0.939 | | 0.913 | |
| %C.V. | 4.13 | | 1.78 | |

X₁: temperature (°C), X₂: ethanol concentration (% v/v), X₃: solvent to feed ratio (mL/g dry sample), pred R²: predicted R², adj R²: adjusted R², C.V.: coefficient of variance

- 따라서 hesperidin과 narirutin의 추출수율을 최대화하기 위한 최적의 추출 조건을 추정하기 위해 다음과 같은 2차 다항식이 제안되었음

$$Y(\text{hesperidin}) = 59.29 + 8.88X_1 + 0.21X_2 + 10.53X_3 - 12.15X_1^2 - 15.04X_2^2 - 5.96X_3^2 - 2.13X_1X_2 + 1.70X_1X_3 - 1.74X_2X_3$$

$$Y(\text{narirutin}) = 77.68 + 3.61X_1 + 0.96X_2 + 7.76X_3 - 6.30X_1^2 - 6.68X_2^2 - 1.96X_3^2 - 0.39X_1X_2 - 0.45X_1X_3 - 1.92X_2X_3$$

- 여기서 X₁, X₂, X₃은 각각 온도, 에탄올 농도, 용매와 시료의 비율이다.
- 각 변수에 대한 회귀 계수 값의 크기는 각 변수가 추출수율에 미치는 영향을 나타낸다. 또한 아래 반응표면도는 각 변수가 각 성분의 추출수율에 미치는 영향을 시각적으로 추정하는데 도움을 줌
- 유의성이 있는 p-값(p < 0.05)을 갖는 선형 항(X₁과 X₃)의 양의 계수와 2차 항(X₁₂와 X₃₂)의 음의 계수는 추출수율이 온도와 용매와 시료의 비율의 증가에 따라 증가하였고 정점에 이른 후 더 이상 증가하지 않음을 의미하였음
- 반면, 에탄올 농도인 경우 선형 항(X₂)은 비유의적이며 양의 값을 나타내었고 2차 항(X₂₂)은 유의적이며 음의 값을 나타내었는데, 이는 두 화합물의 추출수율 곡선이 에탄올 농도의 증가에 따라 이대칭 2차 함수(bisymmetry quadratic function)의 형태를 나타내었으며, 추출수율이 최대에 이른 후 그 이상의 에탄올 농도에서는 감소한다는 것을 보여주고 있음

- 나리루틴인 경우 에탄올 농도와 용매와 시료의 비율 사이의 상호작용 항(X2X3)만 유의적이었으며($p < 0.05$) 이 두 변수가 서로 상호적으로 추출수율에 지대한 영향을 미쳤음

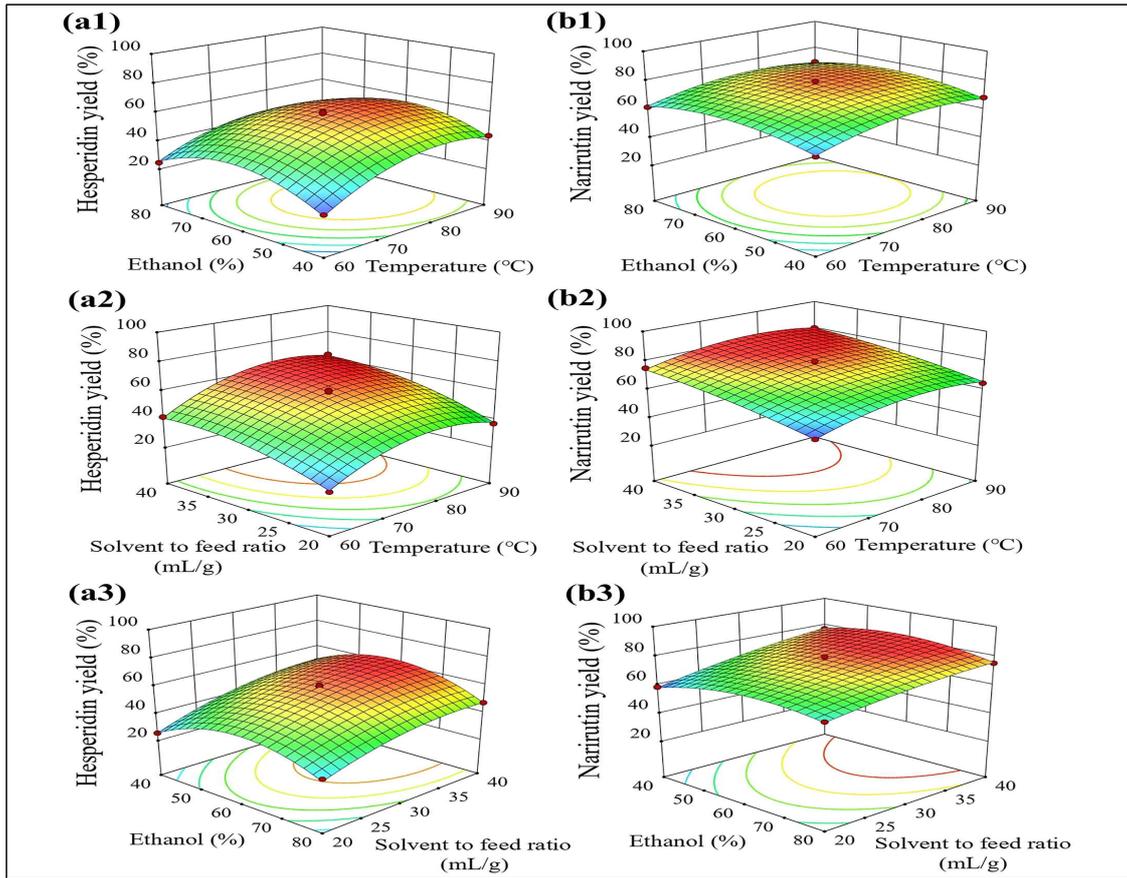


그림. 주정추출 조건에 따른 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 대한 3차원 반응표면 도식도

3) 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율의 회귀 모형에 대한 분산분석 결과

- 최적화된 회귀모델에서 가장 만족도가 높은 조건(1.0)에서의 최적 추출조건은 헤스페리딘의 경우 81.5°C, 58.4%, 39.6 mL/g, 나리루틴의 경우 78.8°C, 58.4%, 40.0 mL/g이었음
- 헤스페리딘의 최적 온도는 나리루틴보다 2.7° C 높았는데, 이는 헤스페리딘이 나리루틴 보다 물의 용해도가 낮기 때문임
- 헤스페리딘과 나리루틴 동시 추출에 대한 최고 만족도(> 0.977)에서의 최적 추출조건은 80.3°C, 58.4%, 40.0 mL/g로, 헤스페리딘과 나리루틴의 예측 최대 수율은 각각 66.2%, 83.7%로 나타났음

표. 헤스페리딘과 나리루틴의 최적 주정추출 조건과 추출수율

| | 온도 (°C) | 에탄올 농도 (% v/v) | 용매와 시료의 비율 (mL/g dry sample) | 예측 추출수율 (%) | 적합도 |
|---------------|---------|----------------|------------------------------|-----------------------------|-------|
| Hesperidin(H) | 81.5 | 58.4 | 39.6 | 66.3 ± 1.1 | 1 |
| Narirutin(N) | 78.8 | 58.4 | 40.0 | 83.9 ± 0.8 | 1 |
| H+N | 80.3 | 58.4 | 40.0 | H: 66.2 ± 1.1 N: 83.7 ± 0.8 | 0.977 |

4) 모델 방정식의 적절성 검사 결과

- 모델 방정식에 의해 예측된 추출수율의 적합성을 입증하기 위하여, 최적의 추출 조건(80.3°C, 58.4%, 40 mL/g)에서 3회 추출하여 비교하였음
- 이 조건에서 헤스페리딘과 나리루틴의 수율은 각각 $66.6 \pm 0.9\%$ 와 $82.3 \pm 1.6\%$ 로, 5%의 유의성 수준에서 모델 방정식에 의한 예측값과 잘 일치하였음
- 따라서 모델 방정식은 실험한 추출 변수의 범위 내에서 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율을 정확하게 예측할 수 있었음

표. 헤스페리딘과 나리루틴의 주정추출 수율의 실험치와 예측치의 비교

| 온도 (°C) | 에탄올 농도 (% v/v) | 용매와 시료의 비율 (mL/g dry sample) | 성분 | 예측치(%) | 실험치(%) |
|---------|----------------|------------------------------|------------|-----------------|-----------------|
| 80.3 | 58.4 | 40 | Hesperidin | $66.2 \pm 1.1a$ | $66.6 \pm 0.9a$ |
| | | | Narirutin | $83.7 \pm 0.8a$ | $82.3 \pm 1.6a$ |

S/F ratio: solvent to feed ratio (mL/g dry sample). The mean values with the same letter (a) in each row are not significantly different ($p < 0.05$ by Student's t-test)

5) 추출 횟수의 영향

- 추출 횟수가 꽃갈 착즙박으로부터 각 화합물의 추출수율에 미치는 영향을 측정하였음
- 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율은 1회의 추출에서 각각 67.6%와 82.4%이었고, 2회의 추출에서 각각 24.5%와 14.8%이었음
- 2회의 추출로 꽃갈 착즙박 원료 중의 헤스페리딘(92.1%)과 나리루틴(97.2%)이 대부분 추출되어, 최적의 추출 횟수는 2회로 하였음(평균 $(92.1+97.2)/2=94.6\%$)

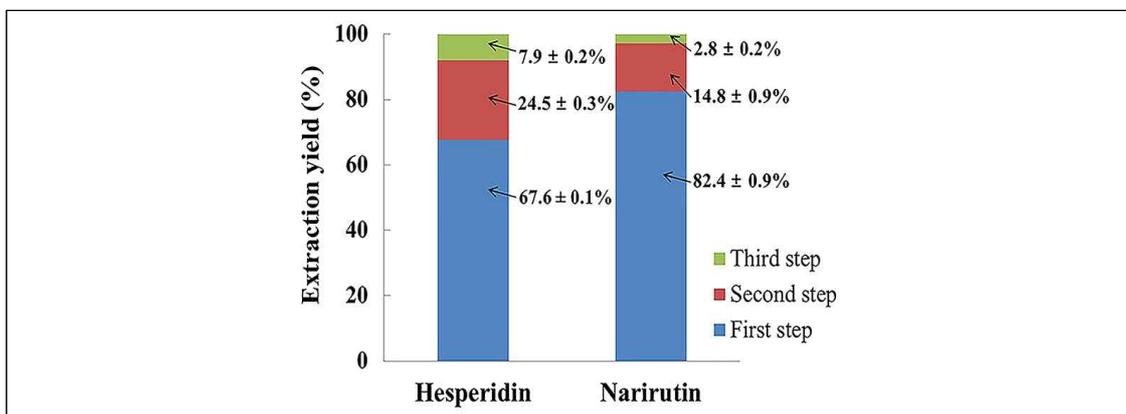


그림. 추출횟수가 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 미치는 영향.

6) 추출 용매의 영향

- 일반적으로 폴리페놀 추출에 이용되는 유기용매가 헤스페리딘과 나리루틴의 수율에 미치는 영향을 비교하기 위해, 에탄올 추출의 최적조건(80.3°C, 58.4%, 30분, 40 mL/g)에서 메탄올 또는 아세톤을 이용하여 꽃갈 착즙박을 추출하였음

- 헤스페리딘의 수율은 에탄올이 66.6%로 가장 높았고 메탄올이 57.3%, 아세톤이 37.7% 순이었음
- 나리루틴의 추출수율은 에탄올이 82.3%로 메탄올(82.5%)과 통계적으로 같았고 아세톤(75.1%)에서 가장 낮았다. 에탄올은 메탄올과 아세톤보다 헤스페리딘과 나리루틴을 추출하는데 더 효과적이었음
- 일반적으로 에탄올은 플라보노이드와 그 글리코사이드, 카테콜, 타닌에, 메탄올은 페놀산, 카테킨에, 아세톤은 프로안토시아니딘, 탄닌과 같은 고분자량의 폴리페놀의 추출에 적합한 용제로 알려져 있음

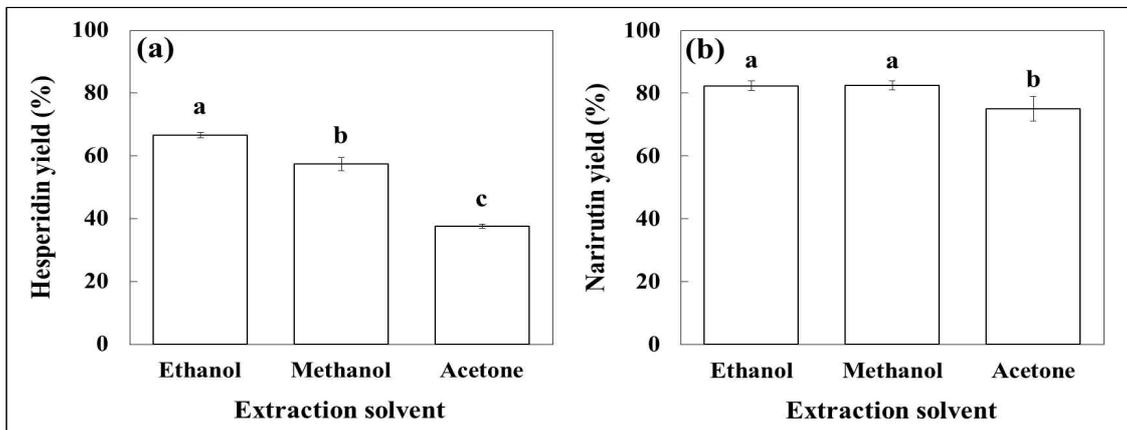


그림. 추출용매의 종류가 헤스페리딘과 나리루틴의 추출수율에 미치는 영향.

7) 항산화 활성

- 식물성 천연 항산화제의 항산화 작용은 매트릭스의 다중성과 이질성에 기초한 반응기작과 친유성과 친수성 여부에 따라 결정된다. 따라서 식물 추출물의 항산화 작용은 한 가지 방법만으로는 제대로 평가할 수가 없음.
- 본 연구에서는 에탄올, 메탄올, 아세톤 추출물의 항산화 활성을 종합적으로 평가하기 위해 10가지 분석 방법을 사용하였으며, 자유라디칼 소거활성(DPPH, ABTS, nitric oxide, hydroxyl, superoxide anion, ORAC), 아질산과 과산화수소의 소거활성, 그리고 환원력(FRAP, reducing power)을 측정하였음
- DPPH와 ABTS의 자유라디칼 소거 활성은 라디칼의 안정성이 높으며, 방법이 간단하므로 천연 항산화제의 항산화 활성을 측정하는데 많이 사용된다. DPPH 분석방법은 친유성 시스템에 적용이 가능하지만, ABTS 분석방법은 친수성과 친유성 시스템 모두에 적용이 가능함
- DPPH와 ABTS의 자유라디칼 소거 활성은 메탄올과 아세톤 추출물보다 에탄올 추출물에서 더 높았다. 에탄올 추출물에서 ABTS의 자유라디칼 소거 활성은 DPPH의 자유라디칼 소거 활성 보다 4.06배 높았으며, 이는 ABTS의 자유라디칼 소거 활성이 친수성 시스템에 더 잘 적용된다는 것을 보여줌
- RNS와 ROS는 산화 스트레스에 직접 관여하며, 동맥경화증, 당뇨병, 만성 염증, 신경퇴행성 질환을 포함한 여러 질병의 발병과 밀접한 관련이 있다. 아질산염과 산화질소는 대표적인

RNS이다. RNS 자유라디칼 소거 활성은 메탄올과 아세톤 추출물보다 에탄올 추출물에서 더 높았음

- 에탄올 추출물의 아질산염의 자유라디칼 소거 활성은 산화질소의 자유라디칼 소거 활성 보다 4.26배 높았다. ROS 자유라디칼 소거 활성(ORAC, hydroxyl radical, superoxide anion radical)은 에탄올 추출물이 메탄올과 아세톤 추출물보다 높았지만 에탄올과 메탄올 추출물의 과산화수소 자유라디칼 소거 활성에는 차이가 없었음
- 에탄올 추출물은 RNS 자유라디칼 소거 활성(nitrite: 17.9, nitric oxide: 4.2 mg TE/g dry sample)에 비하여 매우 높은 ROS 자유라디칼 소거 활성(ORAC: 237.5, hydroxyl radical: 206.1, superoxide anion radical: 394.5, and hydrogen peroxide: 74.5 mg Trolox equivalents (TE)/g dry sample)을 나타내었음
- 대부분의 ROS는 반감기가 짧고 ROS의 농도가 높으면 지질, 단백질, DNA에 산화성 손상을 유발한다. 따라서 에탄올 추출물의 강하고 빠른 ROS 자유라디칼 소거 활성은 실제로 식품의 산화를 방지하고 ROS로 인한 인간의 질병을 예방하는데 도움을 줄 수 있음
- 각 추출물의 환원 능력은 천연 항산화제의 환원력을 측정하는데 주로 사용되는 2가지 방법(reducing power assay, FRAP assay)으로 측정하였음
- 환원력(reducing power)과 FRAP는 메탄올과 아세톤 추출물보다 에탄올 추출물에서 더 높았다. FRAP는 에탄올 추출물의 환원력 보다 약 1.85배 높았다. 두 방법 사이의 이러한 차이는 서로 다른 환원기작 때문인데, FRAP에서는 항산화제가 Fe-TPTZ complex에서 Fe³⁺를 Fe²⁺로 환원하는 반면, 환원력 측정에서는 항산화제가 ferricyanide을 ferrocyanide로 환원함
- 에탄올 추출물은 산소만(ROO•, •O₂⁻) 또는 수소를 가진 산소만(•OH, H₂O₂)을 함유한 자유라디칼에 대한 소거 활성은 매우 높았으며, 질소만(DPPH•, ABTS•) 또는 자유 라디칼을 함유한 질소(NO₂⁻, NO•)에 대한 소거 활성은 비교적 낮았다. 또한 질소를 함유한 Fe-complex(Fe(CN)₆³⁻, [Fe(III)(TPTZ)₂]₃⁺)에 대한 환원활성도 비교적 낮았음

표. 에탄올, 메탄올, 아세톤 추출물의 항산화 활성

| 추출용매 | 항산화 활성(mg Trolox equivalents/g dry sample) | | | | | | | | | |
|----------|--|-------------|---|--------------------|---------------|------------------------|--|--|--------------------|-------------|
| | Nitrogen radicals | | RNS | | ROS | | | | Reducing abilities | |
| | DPPH | ABTS | Nitrite (NO ₂ ⁻) | Nitric oxide (NO•) | ORAC (ROO•) | Hydroxyl radical (•OH) | Superoxide anion (•O ₂ ⁻) | Hydrogen peroxide (H ₂ O ₂) | Reducing power | FRAP |
| Ethanol | 4.4 ± 0.2a | 17.9 ± 0.3a | 17.9 ± 0.6a | 4.2 ± 0.1a | 237.5 ± 8.8a | 206.1 ± 11.3a | 394.5 ± 13.3a | 74.5 ± 1.7a | 7.8 ± 0.2a | 14.5 ± 0.8a |
| Methanol | 3.5 ± 0.1b | 16.5 ± 0.3b | 15.1 ± 0.8b | 3.4 ± 0.2b | 197.6 ± 8.7b | 128.1 ± 9.4b | 327.8 ± 10.8b | 69.8 ± 2.0a | 7.2 ± 0.3b | 12.9 ± 0.5b |
| Acetone | 2.9 ± 0.1c | 15.0 ± 0.2c | 9.8 ± 0.3c | 3.0 ± 0.1c | 174.8 ± 11.1c | 77.0 ± 5.9c | 235.6 ± 5.5c | 57.3 ± 3.2b | 7.2 ± 0.2b | 11.6 ± 0.3c |

RNS: reactive nitrogen species, ROS: reactive oxygen species.

- 에탄올, 메탄올, 아세톤 추출물의 항산화 활성과 헤스페리딘 및 나리루틴의 함량과의 관계를 나타내는 피어슨 상관 계수를 계산하였음
- 환원력을 제외한 모든 항산화 활성은 나리루틴 함량(0.741-0.958) 보다 헤스페리딘 함량이 높은 상관관계(0.923-1.000)를 나타내었는데, 이는 추출물 내에 헤스페리딘의 함량이 높고 헤스페리딘 분자의 B-ring에 존재하는 catechol group 때문임

표. 추출물의 항산화 활성과 플라바논 함량 사이의 피어슨 상관 계수

| Flavonoids | DPPH | ABTS | Nitrite (NO ₂ ⁻) | Nitric oxide (NO•) | ORAC (ROO•) | Hydroxyl radical (•OH) | Superoxide anion (•O ₂ ⁻) | H ₂ O ₂ | Reducing power | FRAP |
|----------------------|-------|-------|---|--------------------|-------------|------------------------|--|-------------------------------|----------------|-------|
| Hesperidin+Narirutin | 0.941 | 0.978 | 0.999 | 0.913 | 0.927 | 0.940 | 0.991 | 1.000 | 0.730 | 0.959 |
| Hesperidin | 0.949 | 0.983 | 1.000 | 0.923 | 0.935 | 0.947 | 0.994 | 0.999 | 0.746 | 0.965 |
| Narirutin | 0.789 | 0.865 | 0.932 | 0.741 | 0.764 | 0.787 | 0.899 | 0.958 | 0.481 | 0.822 |

라. 체중조절 기능성분(또는 지표성분)의 아임계수 추출 또는 가수분해물의 대량 생산 (유기산을 첨가한 아임계수로 풋굴 착즙박으로부터 가수분해물의 제조방법)

1) 유기산 종류별 가수분해 효과

- 유기산 8종을 대상으로 풋굴 착즙박에 10% 되게 첨가하여 120° C에서 8시간 동안 가수분해한 결과 전체 가수분해물(플라보노이드 1배당체와 비배당체의 합)의 수율은 구연산(pKa 3.14)이 25.41 mg/g dry sample)로 가장 높았고, 타르타르산(pKa 2.98) 23.21, 개미산(3.7) 21.09, 말릭산(3.40) 20.26, 아스코르빅산(4.19) 16.15, 숙신산(4.16) 14.82, 초산(4.76) 11.96이 뒤를 이었음

표. 유기산 종류에 따른 풋굴 착즙박으로부터 플라보노이드 1배당체와 비배당체의 가수분해 수율

| 플라보노이드 | 원물 | 가수분해 수율(mg/g dry sample) | | | | | | |
|-------------------------------|------------|--------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 구연산 | 아스코르빅산 | 개미산 | 초산 | 타르타르산 | 말릭산 | 숙신산 |
| Hesperidin(H) | 59.29±2.13 | 18.67 | 28.45 | 18.99 | 29.19 | 11.90 | 18.94 | 28.70 |
| Hesperetin-7-O-glucoside(H7G) | | 13.73 | 9.02 | 12.11 | 7.04 | 13.00 | 11.93 | 8.92 |
| Hesperetin(HT) | | 6.09 | 3.66 | 4.45 | 2.30 | 5.25 | 4.02 | 2.69 |
| Narirutin(N) | 15.79±0.56 | 4.17 | 7.34 | 4.07 | 7.53 | 2.50 | 4.13 | 7.05 |
| Prunin(P) | | 3.92 | 2.62 | 3.35 | 2.13 | 3.52 | 3.28 | 2.61 |
| Naringenin(NG) | | 1.67 | 0.85 | 1.18 | 0.49 | 1.44 | 1.03 | 0.60 |
| 전체 가수분해물 | | 25.41 | 16.15 | 21.09 | 11.96 | 23.21 | 20.26 | 14.82 |

전체 가수분해물: H7G+PR+HT+NG

2) 단일 요인 효과

- 아임계수에 의한 가수분해 매개변수(구연산 농도와 가수분해 시간)가 플라보노이드 1배당체와 비배당체의 가수분해 수율에 미치는 영향을 측정하였다. 그림은 120° C와 8시간에서 구연산 농도(4~19% [wt/wt])를 달리하여 꽃굴 착즙박으로부터 플라보노이드 1배당체와 비배당체의 가수분해 수율을 나타내고 있음
- 구연산의 농도가 증가함에 따라 플라보노이드 1배당체(헤스페레틴-7-O-글리코사이드 및 프루닌)의 가수분해 수율은 구연산 농도 0~7%에서는 증가하였지만 구연산 농도 7~13%에서는 일정하여 변화가 없었는데, 이는 높은 구연산 농도에서는 플라보노이드 1배당체가 비배당체로 더 전환이 되었기 때문이다. 반면 플라보노이드 비배당체(헤스페레틴 및 나린제닌)의 수율은 구연산 농도가 0%에서 19%로 증가할수록 증가하였는데 이는 높은 구연산 농도에서 플라보노이드 1배당체가 비배당체로 더 전환이 되었기 때문임

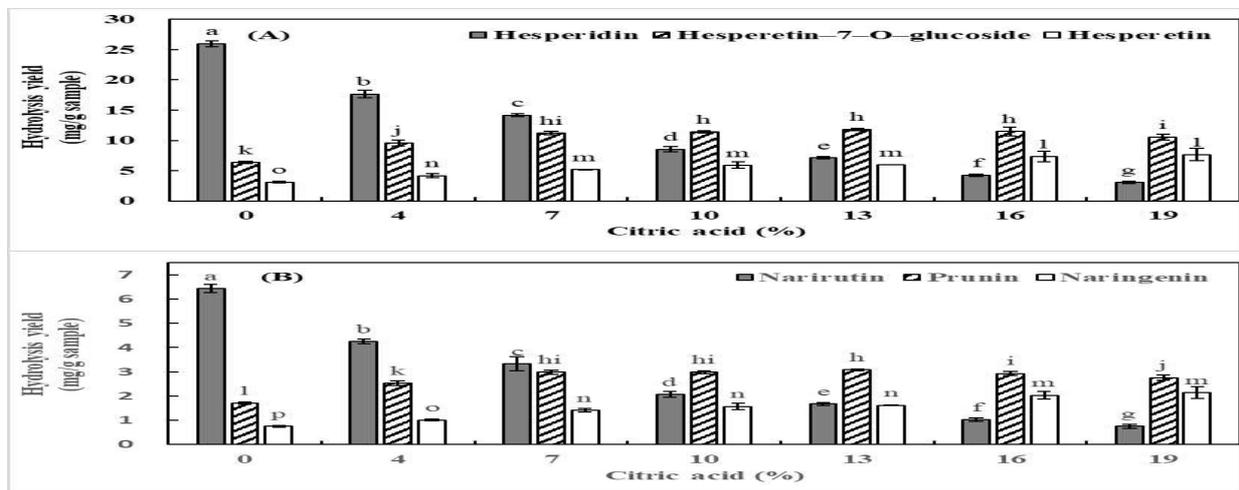


그림. 구연산 농도를 달리하여 120° C에서 8시간 동안 꽃굴 착즙박을 가수분해하였을 때 헤스페레틴-7-O-글루코사이드 및 헤스페레틴의 가수분해 수율(A)과 프루닌 및 나린제닌의 가수분해 수율(B).

- 그림은 120° C와 구연산 농도 10%에서 가수분해 시간(4~16시간)을 달리하여 꽃굴 착즙박으로부터 플라보노이드 1배당체와 비배당체의 가수분해 수율을 나타내고 있다. 플라보노이드 1배당체(헤스페레틴-7-O-글리코사이드와 프루닌)의 가수분해 수율은 가수분해 시간이 4시간에서 8시간으로 증가할수록 증가하였지만, 그 이상의 가수분해 시간에서는 감소하였다. 플라보노이드 비배당체(헤스페레틴과 나린제닌)의 가수분해 수율도 가수분해 시간이 4시간에서 12시간으로 증가함에 따라 증가하였으나, 그 이후에는 감소하였다. 이는 고온에서 산성 용액에 장기간 노출되어 플라보노이드가 더 저분자 화합물로 분해되었기 때문이다. 이와 같은 결과는 구연산 농도와 가수분해 시간을 변화시키면 꽃굴 착즙박에 함유된 플라보노이드 2배당체로부터 1배당체와 비배당체의 생성을 조절할 수 있음을 나타내고 있음

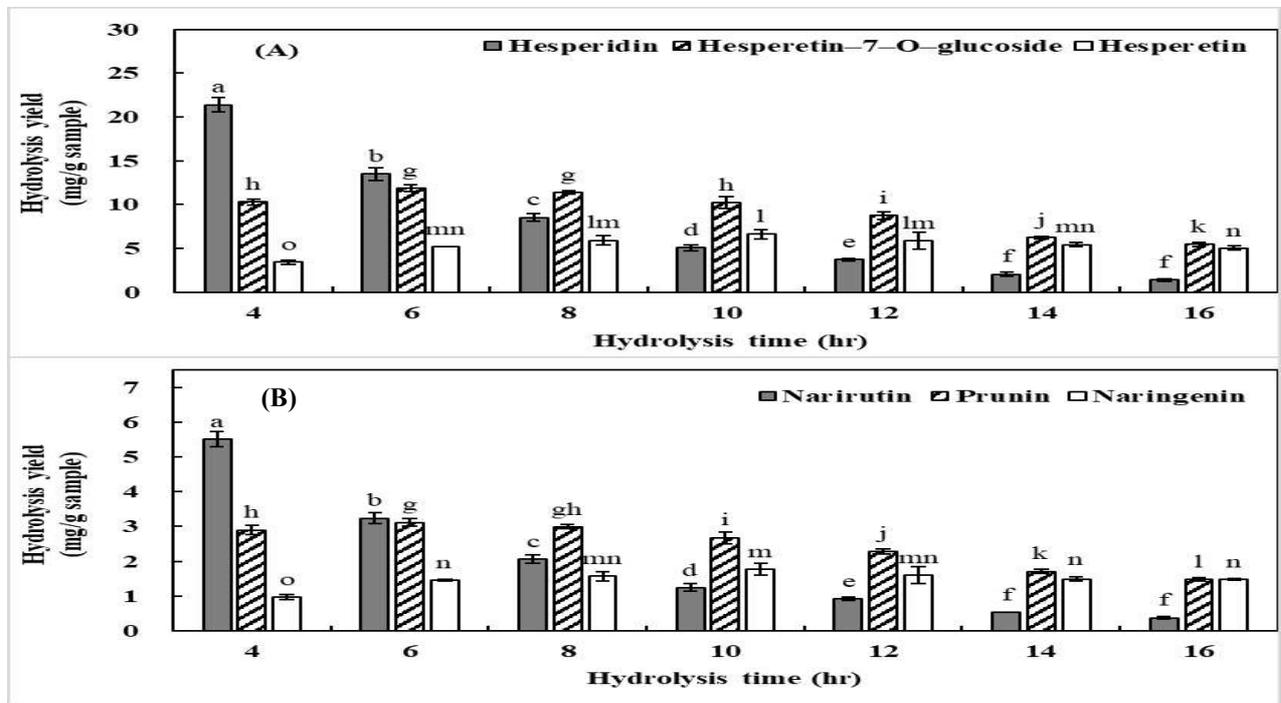


그림. 가수분해 시간을 달리하여 120° C와 구연산 농도 10%에서 꽃굴 착즙박을 가수분해하였을 때 헤스페레틴-7-O-글루코사이드 및 헤스페레틴의 가수분해 수율(A)과 프루닌 및 나린제닌의 가수분해 수율(B).

3) 반응표면분석법에 의한 가수분해 변수의 최적화

- 120° C에서 구연산 농도가 1.51~18.48%, 가수분해 시간이 2.35~13.65시간에서 꽃굴 착즙박으로부터 가수분해 수율은 헤스페레틴-7-O-글루코사이드가 6.47~12.09 mg/g, 헤스페레틴이 1.99~8.05 mg/g, 프루닌이 2.05~3.45 mg/g, 나린제닌이 0.53~2.20 mg/g이었으며, 플라보노이드 1배당체는 8.52~15.54 mg/g, 비배당체는 2.52~10.25 mg/g이었고, 전체 가수분해물(플라보노이드 1배당체와 비배당체의 합)은 11.44~24.60 mg/g이었고, 전체 가수분해 수율은 2.9~53.1%이었음

표. 중심 합성 설계에 따른 아임계수에 의한 꽃굴 착즙박으로부터 플라보노이드의 가수분해 수율

| 실험번호 | 변수(코드) | | 가수분해 수율(mg/g sample) | | | | | |
|------|---------------|-----------------|----------------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 구연산 농도(X1, %) | 가수분해 시간(X2, hr) | HD | H7G | HT | NT | PR | NG |
| 1 | 4(-1) | 4(-1) | 26.87±0.20 | 6.47±0.06 | 2.32±0.04 | 7.70±0.00 | 2.05±0.00 | 0.60±0.00 |
| 2 | 4(-1) | 12(+1) | 16.60±0.41 | 12.09±0.21 | 4.48±0.00 | 4.33±0.10 | 3.45±0.04 | 1.28±0.02 |
| 3 | 16(+1) | 4(-1) | 10.34±0.09 | 9.33±0.05 | 4.83±0.26 | 2.72±0.10 | 2.47±0.01 | 1.35±0.07 |
| 4 | 16(+1) | 12(+1) | 1.68±0.13 | 7.99±0.09 | 6.59±0.03 | 0.38±0.03 | 2.11±0.00 | 1.91±0.00 |
| 5 | 1.51(-1.41) | 8(0) | 25.13±0.26 | 8.10±0.15 | 3.87±0.01 | 6.23±0.31 | 2.13±0.04 | 0.96±0.00 |
| 6 | 18.48(+1.41) | 8(0) | 4.19±0.32 | 11.40±0.00 | 8.05±0.02 | 0.99±0.02 | 2.95±0.01 | 2.20±0.01 |
| 7 | 10(0) | 2.35(-1.41) | 24.08±0.14 | 6.88±0.11 | 1.99±0.12 | 7.55±0.21 | 2.32±0.04 | 0.53±0.02 |
| 8 | 10(0) | 13.65(+1.41) | 2.63±0.27 | 7.86±0.49 | 5.11±0.69 | 0.69±0.12 | 2.11±0.11 | 1.48±0.14 |
| 9 | 10(0) | 8(0) | 10.38 | 12.07 | 6.59 | 2.45 | 3.13 | 1.69 |
| 10 | 10(0) | 8(0) | 10.23 | 11.86 | 6.38 | 2.47 | 3.14 | 1.67 |

| | | | | | | | | |
|----|-------|------|-------|-------|------|------|------|------|
| 11 | 10(0) | 8(0) | 10.23 | 11.93 | 6.33 | 2.39 | 3.15 | 1.67 |
| 12 | 10(0) | 8(0) | 8.89 | 12.01 | 5.46 | 2.38 | 3.12 | 1.67 |
| 13 | 10(0) | 8(0) | 8.94 | 11.64 | 6.08 | 2.17 | 3.05 | 1.60 |

| 실험 번호 | 변수(코드) | | 가수분해 수율(mg/g sample) | | | | | Total hydrolysis yield (%) | loss(%) |
|----------|------------------|--------------------|----------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------------------|-------|----------------------------------|---------|
| | 구연산 농도(X1, %) | 가수분해 시간(X2, hr) | H7G+HT | Monogluco sides (H7G+PR) | Aglycons (HT+NG) | Total hydrolysis products | Total | | |
| 1 | 4(-1) | 4(-1) | 8.79 | 8.52 | 2.92 | 11.44 | 46.01 | 22.9 | 31.0 |
| 2 | 4(-1) | 12(+1) | 16.57 | 11.80 | 6.18 | 17.98 | 42.23 | 37.6 | 45.1 |
| 3 | 16(+1) | 4(-1) | 14.16 | 15.54 | 5.76 | 21.31 | 31.04 | 43.0 | 29.1 |
| 4 | 16(+1) | 12(+1) | 14.58 | 10.10 | 8.50 | 18.60 | 20.66 | 40.9 | 56.4 |
| 5 | 1.51(-1.41) | 8(0) | 11.97 | 10.23 | 4.83 | 15.07 | 46.42 | 31.1 | 27.1 |
| 6 | 18.48(+1.41) | 8(0) | 19.45 | 14.35 | 10.25 | 24.60 | 29.78 | 53.1 | 40.1 |
| 7 | 10(0) | 2.35(-1.41) | 8.87 | 9.20 | 2.52 | 11.71 | 43.35 | 23.0 | 34.9 |
| 8 | 10(0) | 13.65(+1.41) | 12.97 | 9.97 | 6.59 | 16.56 | 19.88 | 35.5 | 60.1 |
| 9 | 10(0) | 8(0) | 18.66 | 15.20 | 8.28 | 23.48 | 36.31 | 49.2 | 33.7 |
| 10 | 10(0) | 8(0) | 18.24 | 15.00 | 8.05 | 23.05 | 35.75 | 48.3 | 34.8 |
| 11 | 10(0) | 8(0) | 18.26 | 15.08 | 8.00 | 23.08 | 35.7 | 48.3 | 34.9 |
| 12 | 10(0) | 8(0) | 17.47 | 15.13 | 8.13 | 23.26 | 33.53 | 48.7 | 35.0 |
| 13 | 10(0) | 8(0) | 17.72 | 14.69 | 7.68 | 22.37 | 33.48 | 46.7 | 38.5 |

HD: 헤스페리딘, H7G: 헤스페리딘-7-O-글루코사이드, HT: 헤스페레틴, NT: 나리루틴, PR: 프루닌, NG: 나린제닌, H7G+PR: 1배당체, HT+NG: 비배당체, H7G+PR+ HT+NG: 전체 가수분해물.

- 풋쿨 착즙박으로부터 플라보노이드 1배당체와 비배당체의 수율을 최대로 얻기 위한 아임계수 가수분해 매개변수(구연산 농도 및 가수분해 시간)의 최적 조건을 반응표면분석법에 의한 중심 합성 설계법으로 산출하였음
- 표는 회귀 계수의 분산 분석 결과로, 1배당체와 비배당체의 수율, 전체 가수분해물의 수율 및 전체 가수분해 수율(%)에 대한 회귀 모델은 낮은 p-값($p < 0.05$)과 높은 R² 값($R^2 \geq 0.9761$)으로 실험 데이터와 잘 일치하였음

표. 회귀 모형에 대한 분산 결과 분석

| Source | 1배당체 (H7G+PR) | | 비배당체 (HT+NG) | | 전체 가수분해물 | | 전체 가수분해 수율(%) | |
|--------|------------------|---------|-----------------|---------|----------|---------|---------------|---------|
| | F value | p-value | F value | p-value | F value | p-value | F value | p-value |
| Model | 57.19 | 0.000 | 78.43 | 0.000 | 108.05 | 0.000 | 114.76 | 0.000 |
| X1 | 51.29 | 0.000 | 133.97 | 0.000 | 157.26 | 0.000 | 178.93 | 0.000 |
| X2 | 0.47 | 0.513 | 112.57 | 0.000 | 31.28 | 0.001 | 55.20 | 0.000 |
| X12 | 34.58 | 0.001 | 3.97 | 0.087 | 35.18 | 0.001 | 29.43 | 0.001 |

| | | | | | | | | |
|-------------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
| X22 | 152.86 | 0.000 | 144.98 | 0.000 | 290.90 | 0.000 | 295.38 | 0.000 |
| X1X2 | 62.78 | 0.000 | 0.44 | 0.528 | 46.85 | 0.000 | 33.99 | 0.000 |
| Lack of fit | 16.62 | 0.010 | 5.96 | 0.059 | 4.82 | 0.081 | 4.18 | 0.100 |
| R2 | 0.9761 | | 0.9825 | | 0.9872 | | 0.9879 | |
| Pred R2 | 0.8399 | | 0.8931 | | 0.9244 | | 0.9305 | |
| Adj R2 | 0.9590 | | 0.9699 | | 0.9781 | | 0.9793 | |

X1: 구연산 농도(%), X2: 가수분해 시간(hr), pred R2: 예측 R2, adj R2: 조정 R2. H7G: 헤스페리딘-7-O-글루코사이드, PR: 프루닌, HT: 헤스페레틴, NG: 나린제닌. 전체 가수분해물: H7G+PR+HT+NG.

- 아래의 2차 다항식 모델은 아임계수 가수분해 변수와 각 플라보노이드의 가수분해 수율과의 상관관계를 나타내고 있음

1배당체의 수율 $y = 15.02 + 1.39X_1 - 0.13X_2 - 1.22X_1^2 - 2.57X_2^2 - 2.18X_1X_2$

비배당체의 수율 $y = 8.02 + 1.60X_1 + 1.46X_2 - 0.29X_1^2 - 1.78X_2^2 - 0.13X_1X_2$

전체 가수분해물의 수율 $y = 23.04 + 2.99X_1 + 1.33X_2 - 1.52X_1^2 - 4.37X_2^2 - 2.31X_1X_2$

전체 가수분해 수율(%) $y = 48.24 + 6.81X_1 + 3.78X_2 - 2.96X_1^2 - 9.38X_2^2 - 4.20X_1X_2$

- 여기서 X1과 X2는 각각 구연산 농도와 가수분해 시간이다.

- 표의 각 항에 대한 회귀 계수는 가수분해 수율에 대한 두 변수(구연산 농도 X1과 가수분해 시간 X2)의 영향을 나타내고 있다. 전체 가수분해물과 전체 가수분해 수율(%)에 대한 모델은 두 변수의 선형 항(X1과 X2)에 대한 유의한 양의 계수와 2차 항(X12와 X22)에 대한 유의한 음의 계수(p < 0.05)를 보여주고 있는데, 이는 구연산 농도와 가수분해 시간의 증가에 따라 가수분해 수율이 증가하다가 정점에 도달한 후 감소함을 나타내었다. 또한 구연산 농도와 가수분해 시간 사이의 상호 관계(X1X2)도 유의하여(p < 0.05) 두 변수 사이의 상호작용이 전체 가수분해물과 전체 가수분해 수율(%)에 유의미한 영향을 미쳤다. 한편 플라보노이드 1배당체의 수율에 대한 모델에서는 가수분해 시간의 선형 항(X2)을 제외한 모든 항이 유의한 반면(p < 0.05), 플라보노이드 비배당체의 수율인 경우 선형 항(X1 및 X2)과 2차 항(X22)(P < 0.05)만이 유의성이 있었음

- 그림은 3차원 반응 표면도로서 각 플라보노이드의 가수분해 수율에 대한 각 변수의 영향을 시각적으로 보여 주고 있다. 최적화된 회귀 모델에 따르면 플라보노이드 1배당체에 대한 최적의 가수분해 조건은 구연산 농도 및 가수분해 시간이 각각 13.34%와 7.94시간이었으며 최대 수율은 15.41 mg/g이었다. 플라보노이드 비배당체에 대한 최적의 가수분해 조건은 구연산 농도와 가수분해 시간이 각각 18.48%와 9.65시간이었으며 최대 수율은 10.00 mg/g이었다. 비배당체의 생산을 위한 최적의 구연산 농도와 가수분해 시간은 1배당체에 비해 구연산 농도는 5.14%, 가수분해 시간은 1.71시간 높았는데, 이는 더 높은 구연산 농도와 더 긴 가수분해 시간에서 플라보노이드 1배당체가 분자량이 작은 비배당체로 전환되었기 때문이었다. 플라보노이드 1배당체와 비배당체의 동시 생산을 위한 최적의 가수분해 조건은 구연산 농도 15.91%, 가수분해 시간 8.62시간에서 최대 수율은 24.62 mg/g이었음

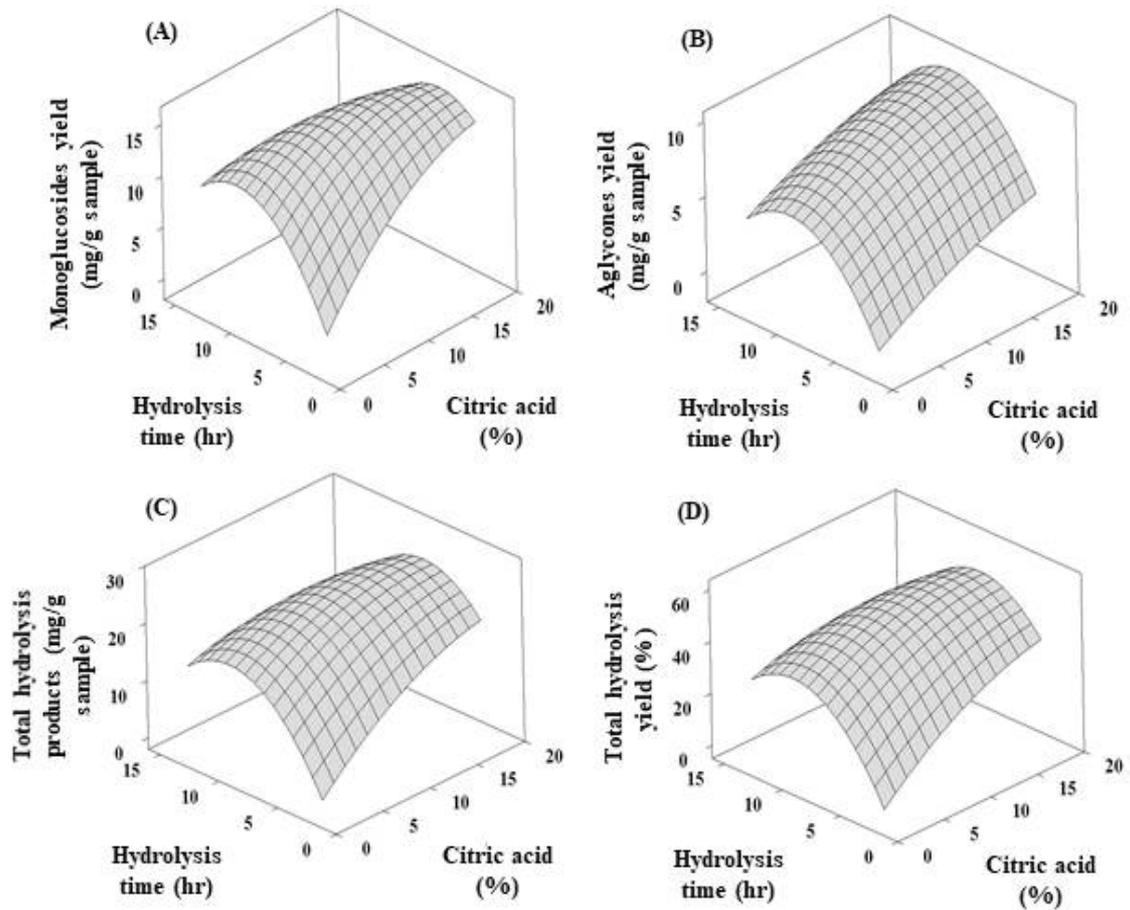


그림. 구연산 농도와 가수분해 시간에 따른 플라보노이드 1배당체와 비배당체의 수율, 전체 가수분해물의 수율 및 전체 가수분해 수율(%)의 3차원 반응 표면도

표. 플라보노이드 1배당체와 비배당체의 최적 가수분해 조건과 최대 예측 수율

| | 목표 | 구연산 농도 (%) | 가수분해 시간(hr) | 최대 예측 수율 (mg/g sample) | 적합성 |
|-----------------------|-----|------------|-------------|------------------------|--------|
| 1배당체 H7G+PR | 최대치 | 13.34 | 7.94 | 15.41 | 0.9824 |
| 비배당체 HT+NG | 최대치 | 18.48 | 9.65 | 10.00 | 0.9683 |
| 전체 가수분해물 H7G+PR+HT+NG | 최대치 | 15.91 | 8.62 | 24.62 | 1 |
| 전체 가수분해 수율(%) | 최대치 | 16.94 | 8.85 | 52.53 | 0.9813 |

H7G: 헤스페리딘-7-O-글루코사이드, PR: 프루닌, HT: 헤스페레틴, NG: 나린제닌.

4) 효소저해활성

- 췌장 리파아제, 알파-글루코시다제, 잔틴산화효소에 대한 아임계수 가수분해물의 저해활성을 측정하였다. 췌장 리파아제, 알파-글루코시다제, 잔틴산화효소의 저해활성은 각각 체중 조절, 당뇨예방, 통풍방지 효과와 관련이 있다. 효소 저해활성 분석에 사용한 메탄올로 2배 희석한 가수분해물에서의 구연산의 농도는 1% 미만이었으며, 효소저해활성에는 전혀 영향을 미치지 않았음

표. 풋갈 착즙박의 아임계수 가수분해물의 효소저해활성

| 구연산 농도 (%) | 가수분해 시간(hr) | 췌장 리파아제 (%) | 알파-글루코시다제(%) | 잔틴산화효소 (%) |
|------------|-------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 1.51 | 8 | 33.8 ± 1.6f | 40.1 ± 1.7e | 42.2 ± 7.2c |
| 4 | 4 | 37.0 ± 1.6f | 23.3 ± 2.6f | 27.1 ± 3.0d |
| 4 | 12 | 45.7 ± 2.0e | 40.8 ± 0.8e | 55.7 ± 2.1b |
| 10 | 2.35 | 60.9 ± 1.4d | 19.5 ± 1.9g | 21.5 ± 2.4d |
| 10 | 13.65 | 65.7 ± 2.1c | 41.5 ± 3.9de | 69.8 ± 3.3a |
| 10 | 8 | 64.7 ± 3.3cd | 48.6 ± 0.8c | 57.0 ± 4.7b |
| 10 | 8 | 66.9 ± 3.9c | 48.5 ± 2.1c | 56.6 ± 0.4b |
| 10 | 8 | 65.2 ± 3.1c | 45.9 ± 1.9cd | 54.1 ± 5.4b |
| 10 | 8 | 66.2 ± 3.9c | 45.7 ± 3.7cd | 51.1 ± 7.4bc |
| 10 | 8 | 65.5 ± 5.2c | 46.6 ± 2.4cd | 22.7 ± 2.8d |
| 16 | 4 | 81.4 ± 0.6b | 45.1 ± 2.3cd | 28.7 ± 1.0d |
| 16 | 12 | 83.6 ± 3.2b | 53.0 ± 3.3b | 72.8 ± 8.2a |
| 18.48 | 8 | 88.2 ± 0.5a | 62.7 ± 2.0a | 57.3 ± 4.2b |
| 대조구 | | Orlistat 100 ppm 78.8% | Acarbose 1,000 ppm 51.9% | Allopurinol 100 ppm 78.2% |

- 췌장 리파아제에 대한 아임계수 가수분해물의 저해활성은 고농도의 구연산에서 가수분해한 시료가 높은 저해활성을 나타내었으며, 잔틴산화효소에 대한 저해활성은 가수분해 시간이 긴 가수분해물일수록 높은 저해활성을 나타내었음
- 동일 가수분해 시간에서 고농도의 구연산으로 가수분해한 가수분해물의 효소 저해활성은 췌장 리파아제가 가장 높았고 이어서 알파-글루코시다제, 잔틴산화효소 순이었다. 가수분해 시간 4시간과 12시간에서 구연산 농도를 4%에서 16%로 증가하였을 때 췌장 리파아제의 저해활성은 각각 2.2배(37.0에서 81.4%)와 1.8배(45.7에서 83.6%) 증가하였다. 반면 잔틴산화효소에 대한 저해활성은 각각 1.1배(27.1에서 28.7%)와 1.3배(55.7에서 72.8%) 증가하는 데 그쳤음
- 일정한 구연산 농도에서 가수분해 시간의 증가에 따라 잔틴산화효소가 가장 많이 저해되었고, 그 다음으로 알파-글루코시다제와 췌장 리파아제 순이었음
- 구연산 농도가 4%와 16%에서 가수분해 시간을 4시간에서 12시간으로 증가시키면 잔틴산화효소에 대한 가수분해물의 저해활성은 각각 2.0배(27.1에서 55.7%)와 2.5배(28.7에서 72.8%) 증가하였다. 이에 반해 췌장 리파아제에 대한 저해활성은 각각 1.2배(37.0에서 45.7%)와 1.0배(81.4에서 83.6%)만 증가하는 데 그쳤음
- 췌장 리파아제와 알파-글루코시다제에 대한 저해활성은 구연산 농도와 가수분해 시간이 18.48%와 8시간에서 각각 88.2%와 62.7%이었으며, 잔틴산화효소에 대한 저해활성은 구연산 농도 16%와 가수분해 시간 12시간에서 72.8%이었다. 기억력개선 효과와 관련된 아세틸콜린에스테라아제에 대한 아임계수 가수분해물의 저해활성도 측정하였으나 저해효과는 발견되지 않았음

5) 효소저해활성과 각 플라보노이드의 수율과의 상관관계

- 아임계수 가수분해물의 효소저해활성에 미치는 각 플라보노이드의 영향을 측정하기 위하여 효소저해활성과 각 플라보노이드 수율 사이의 관계를 나타내는 피어슨 상관 계수를 계산하였음
- 아임계수 가수분해물의 효소저해활성은 각 플라보노이드의 수율과 밀접한 상관관계를 가지고 있었다. 퀘장 리파아제의 저해활성은 나린제닌($r = 0.721$), 전체 가수분해물($r = 0.691$), 비배당체 및 헤스페레틴($r = 0.675$)과 밀접한 상관관계가 있었음
- 알파-글루코시다제의 저해활성은 헤스페레틴($r = 0.973$), 비배당체($r = 0.973$) 및 나린제닌($r = 0.966$)과 밀접한 상관관계가 있었음
- 잔틴산화효소의 저해활성은 나린제닌($r = 0.7777$), 비배당체($r = 0.750$) 및 헤스페레틴($r = 0.742$)과 밀접한 상관관계가 있었다. 특히 비배당체의 수율은 구연산 농도와 가수분해 시간에 따라 더 크게 달라지기 때문에 퀘장 리파아제, 알파-글루코시다제, 잔틴산화효소의 효소저해활성과 밀접한 상관관계가 있었음

표. 풋갈 착즙박의 아임계수 가수분해물의 효소저해활성과 각 플라보노이드의 수율과의 피어슨 상관 계수(* $p < 0.05$)

| 플라보노이드 | 퀘장 리파아제 | 알파-글루코시다제 | 잔틴산화효소 |
|-------------------------------|---------|-----------|---------|
| Hesperidin(H) | -0.691* | -0.799* | -0.785* |
| Hesperetin-7-O-glucoside(H7G) | 0.551 | 0.635 | 0.379 |
| Hesperetin(HT) | 0.675* | 0.973* | 0.742* |
| Narirutin(N) | -0.653 | -0.858* | -0.820* |
| Prunin(P) | 0.537 | 0.365 | 0.185 |
| Naringenin(NG) | 0.721* | 0.966* | 0.777* |
| 1배당체(H7G+PR) | 0.553 | 0.589 | 0.345 |
| 비배당체(HT+NG) | 0.686* | 0.973* | 0.750* |
| 전체 가수분해물 (H7G+PR+HT+NG) | 0.691* | 0.607 | 0.607 |
| 전체 가수분해 수율(%) | 0.705* | 0.654 | 0.654 |

6) 풋갈을 이용한 건강기능식품의 지표성분(기능성 성분) 및 규격 설정

- (1) 지표성분(기능성 성분): hesperetin-7-glucoside와 hesperetin의 합
- (2) 지표성분(기능성 성분)의 규격
- (3) 시판중인 건강기능식품인 Orlistat의 PL 저해활성과 유사한 hesperetin-7-glucoside와 hesperetin의 양

| | Pancreatic lipase 저해 활성, IC50(mg/L) | 꽃굴 1g의 가수분해물 중 함량 (mg/g)(120°C, 16%, 4 hr) |
|----------------------------|--|---|
| Hesperetin-7-O-glucoside | 84 | 9.3 |
| Hesperetin | 104 | 4.8 |
| Orlistat(positive control) | 54.4 | |

- Hesperetin-7-O-glucoside와 hesperetin(H7G+HT)의 평균 IC50 = $[(9.3 \times 84) + (4.8 \times 104)] / (9.3 + 4.8) = 90.8$ ppm
- Orlistat의 1회 복용량인 60 mg/capsule에 해당하는 H7G+HT의 양 = $90.8 \text{ mg} \times (60 \text{ mg} / 54 \text{ mg}) = 100.8 \text{ mg}$
- 가수분해물로서 H7G+HT을 100.8g 얻으려면 필요한 건조 꽃굴 원물의 양 = $100.8 \text{ mg} / 14 \text{ mg} = 7.2$, 즉 8 g (생물로는 80g)(꽃굴 생물 1개의 평균 무게 85g) (꽃굴 1 g 가수분해물에는 H7G+HT이 14 mg 함유)

시판중인 Orlistat 건기식

alli Diet Weight Loss Supplement Pills,
Orlistat 60mg Capsules Starter Pack, 60
count, \$39.94
\$39.94/60 Capsule = \$0.665/Capsule = 800원
/Capsule



시판중인 Orlistat 약

Orlistat 120mg 42 Capsules
£19.78



- orlistat는 지방 분해 효소의 작용을 억제하여 먹은 지방의 흡수율을 떨어뜨린다.

표. 기능성(지표) 성분의 기준

| 기능성(지표) 성분 | 건조 원물 1g의 가수분해물 기준 | 건조 원물 9g의 가수분해물 기준 (1회 제품) |
|---|--------------------|----------------------------|
| Hesperetin-7-O-glucoside와 hesperetin의 합 | 14 mg | 126 |
| Hesperidin, hesperetin-7-O-glucoside, hesperetin의 합 | 24 mg | 216 |
| 전체 가수분해물의 합 | 21 m | 189 |
| 전체 플라보노이드의 합 | 31 mg | 279 |

풋갈 건강기능식품 제품 규격
 ○ 원료명 : 풋갈 아임계수 가수분해 폴리페놀(Citruspolyphenol)
 ○ 기능성내용 : 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음 (생리활성기능 2등급)
 ○ 일일섭취량 : 풋갈 아임계수 가수분해 폴리페놀로서 378 mg/일
 (제품 1개당 126 mg*3개/일 = 378 mg/일)
 ○ 섭취량/섭취 방법: 1일 3회, 1회 1개를 섭취하십시오.
 ○ 총 폴리페놀(hesperetin-7-O-glucoside과 hesperetin의 합): 표시량(126 mg/제품)의 80~120%

표. 구연산 첨가 아임계수 가수분해물의 총 폴리페놀(TPC) 함량

| 시료 | RSM3 | RSM4 | RSM6 | RSM9 |
|---|-------|-------|--------|-------|
| 가수분해 조건 (구연산%/ 시간) | 16/4 | 16/12 | 18.4/8 | 10/8 |
| 풋갈 분말 1g의 가수분해물 중 총폴리페놀(TPC) 함량 (mg TAE/g dry sample) | 35.5 | 42.5 | 49.3 | 36.4 |
| 풋갈 분말 9g의 가수분해물 중 총폴리페놀(TPC) 함량 (mg TAE/9 g dry sample) | 319.5 | 382.5 | 443.7 | 327.6 |

표. 목표 달성도

| 정량적 목표 항목 | 목표 | 성과 |
|---|-----------|---|
| 총 폴리페놀 함량 (TPC, tannic acid equivalents) | 255 mg 이상 | 319~443 mg |
| 1일 섭취 제품당 총 폴리페놀 함량 (hesperetin-7-O-glucoside과 hesperetin의 합) | --- | 378 mg |
| 추출 수율 | 50% | 아임계수 추출: 32~74%(일부 고온 손실) 주정 추출: 94.6% |
| 가수분해 수율(대량 생산) | 30% | 23~53% |

마. 풋갈을 이용한 식품 제형 개발

1) 풋갈 원료의 품질 분석

① 시험 분석 항목

SGS
시험성적서 #K-FR00101-E-CT5A7919-3670
검역부: 2019.10.08 | 품질부: 1/1/1

검역 목적: 한국농수산식품유통공사(농수축산물) | 품목: 풋갈(영양성분) | 용량: 100g (중량) | 100g 기준

SGS 품질 번호: K-FR00101-E-CT5A7919-3670
발행 일자: 2019.10.08
유효 기간: 2019.10.08 ~ 2019.10.08

| 시험 항목 | 단위 | 시험결과 | 검정일자 | 검정자 | 비고 |
|----------------------------|------|--------|------------|-----|-------|
| 총 폴리페놀 | mg/g | 319.00 | 2019.10.08 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin | mg/g | 7.80 | 2019.10.08 | 김민준 | 0.00% |
| hesperidin | mg/g | 0.44 | 2019.10.08 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucoside | mg/g | 0.00 | 2019.10.08 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucuronide | mg/g | 0.00 | 2019.10.08 | 김민준 | 0.00% |

풋갈 (영양성분)

SGS
시험성적서 #K-FR00101-E-CT5A7919-3670
검역부: 2019.11.11 | 품질부: 1/1/1

검역 목적: 한국농수산식품유통공사(농수축산물) | 품목: 풋갈(영양성분) | 용량: 100g (중량) | 100g 기준

SGS 품질 번호: K-FR00101-E-CT5A7919-3670
발행 일자: 2019.11.11
유효 기간: 2019.11.01 ~ 2019.11.11

| 시험 항목 | 단위 | 시험결과 | 검정일자 | 검정자 | 비고 |
|----------------------------|------|-------|------------|-----|-------|
| 총 폴리페놀 | mg/g | 35.84 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin | mg/g | 0.86 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperidin | mg/g | 0.05 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucoside | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucuronide | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |

풋갈착즙액 (영양성분)

SGS
시험성적서 #K-FR00101-E-CT5A7919-3670
검역부: 2019.11.11 | 품질부: 1/1/1

검역 목적: 한국농수산식품유통공사(농수축산물) | 품목: 풋갈(보존료) | 용량: 100g (중량) | 100g 기준

SGS 품질 번호: K-FR00101-E-CT5A7919-3670
발행 일자: 2019.11.11
유효 기간: 2019.11.01 ~ 2019.11.11

| 시험 항목 | 단위 | 시험결과 | 검정일자 | 검정자 | 비고 |
|----------------------------|------|------|------------|-----|-------|
| 총 폴리페놀 | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperidin | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucoside | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucuronide | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |

풋갈착즙액 (보존료)

SGS
시험성적서 #K-FR00101-E-CT5A7919-3670
검역부: 2019.11.11 | 품질부: 1/1/1

검역 목적: 한국농수산식품유통공사(농수축산물) | 품목: 풋갈(대장균) | 용량: 100g (중량) | 100g 기준

SGS 품질 번호: K-FR00101-E-CT5A7919-3670
발행 일자: 2019.11.11
유효 기간: 2019.11.01 ~ 2019.11.11

| 시험 항목 | 단위 | 시험결과 | 검정일자 | 검정자 | 비고 |
|----------------------------|------|--------|------------|-----|-------|
| 총 폴리페놀 | mg/g | 320.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin | mg/g | 7.80 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperidin | mg/g | 0.44 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucoside | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucuronide | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |

풋갈착즙액 (대장균)

SGS
시험성적서 #K-FR00101-E-CT5A7919-3670
검역부: 2019.11.11 | 품질부: 1/1/1

검역 목적: 한국농수산식품유통공사(농수축산물) | 품목: 풋갈(납, 카드뮴) | 용량: 100g (중량) | 100g 기준

SGS 품질 번호: K-FR00101-E-CT5A7919-3670
발행 일자: 2019.11.11
유효 기간: 2019.11.01 ~ 2019.11.11

| 시험 항목 | 단위 | 시험결과 | 검정일자 | 검정자 | 비고 |
|----------------------------|------|-------|------------|-----|-------|
| 총 폴리페놀 | mg/g | 35.84 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin | mg/g | 0.86 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperidin | mg/g | 0.05 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucoside | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucuronide | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |

풋갈착즙액 (납, 카드뮴)

SGS
시험성적서 #K-FR00101-E-CT5A7919-3670
검역부: 2019.11.11 | 품질부: 1/1/1

검역 목적: 한국농수산식품유통공사(농수축산물) | 품목: 풋갈(일반세균수) | 용량: 100g (중량) | 100g 기준

SGS 품질 번호: K-FR00101-E-CT5A7919-3670
발행 일자: 2019.11.11
유효 기간: 2019.11.01 ~ 2019.11.11

| 시험 항목 | 단위 | 시험결과 | 검정일자 | 검정자 | 비고 |
|----------------------------|------|--------|------------|-----|-------|
| 총 폴리페놀 | mg/g | 320.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin | mg/g | 7.80 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperidin | mg/g | 0.44 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucoside | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |
| hesperetin-7-O-glucuronide | mg/g | 0.00 | 2019.11.11 | 김민준 | 0.00% |

풋갈착즙액 (일반세균수)

그림. 풋갈과 풋갈착즙액의 영양성분, 기준 및 규격에 대한 시험성적서

- 풋굴의 영양성분 분석 의뢰 결과 100 g당 열량 31.16 kcal, 탄수화물 7.26 g, 단백질 0.44 g, 지방 0.04 g, 수분 92.01 g, 회분 0.25 g으로 측정되었으며, 풋굴착즙액은 100 g당 열량 25.94 kcal, 탄수화물 5.89 g, 단백질 0.55 g, 지방 0.02 g, 수분 93.37 g, 회분 0.17 g으로 분석됨
- 풋굴착즙액은 풋굴에 비해 수분함량, 단백질, 회분은 높으며 열량, 지방, 탄수화물은 낮게 측정됨
- 보존료, 대장균, 납, 카드뮴, 일반세균수 모두 식품공전에 제시된 식품규격에 만족하는 결과로 측정됨
- 따라서, 본 연구에서 사용한 풋굴 착즙액은 식품가공품 제조를 위한 원료로써 적합한 것으로 보여짐

② 냉동 저장 기간에 따른 풋굴, 풋굴착즙액의 이화학적 특성 변화

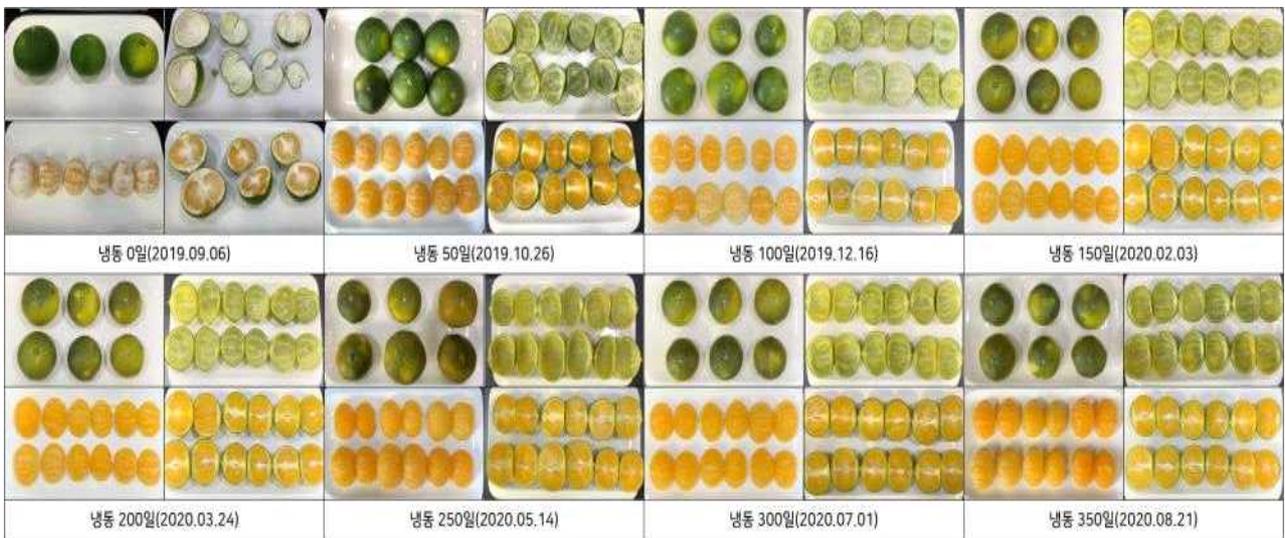


그림. 풋굴의 냉동저장기간에 따른 외관 변화

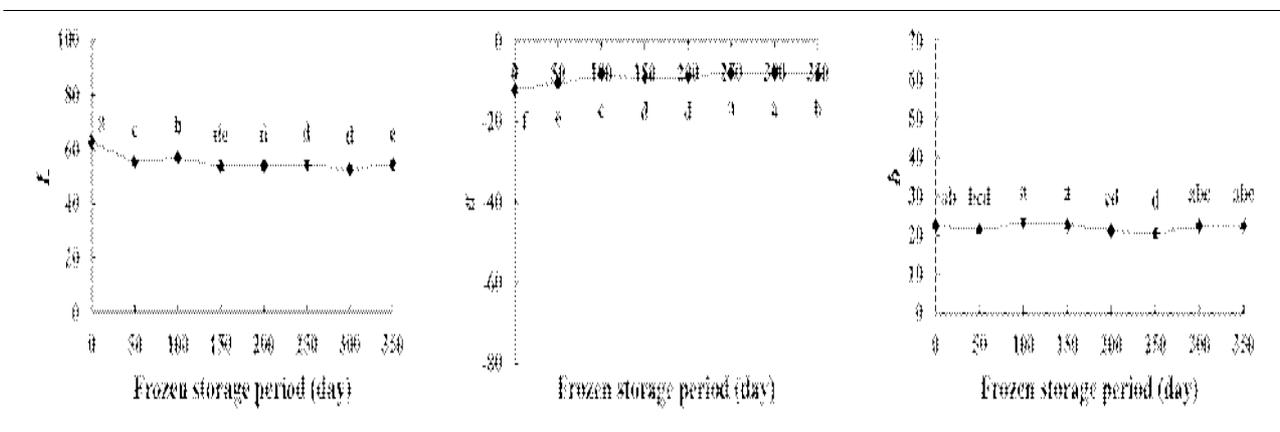


그림. 풋굴의 냉동저장기간에 따른 색도 변화

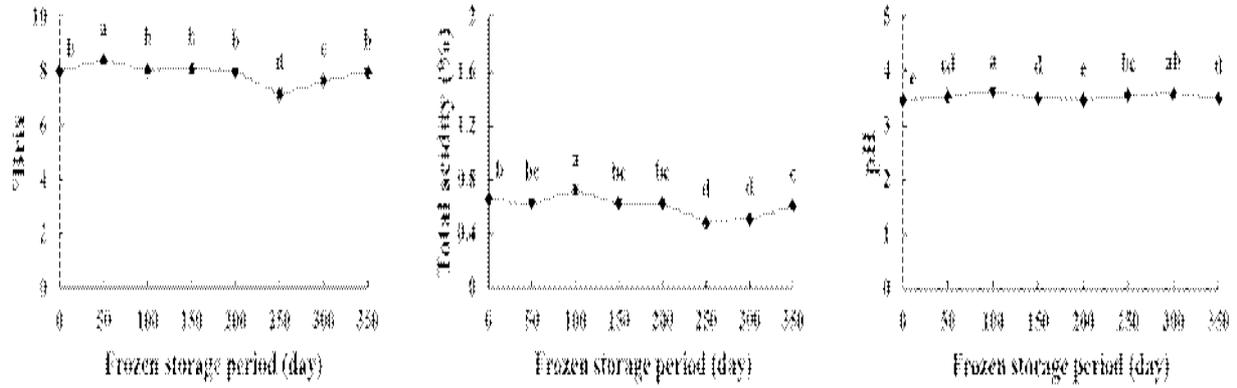


그림. 꽃굴의 냉동저장기간에 따른 당도, 산도, pH 변화

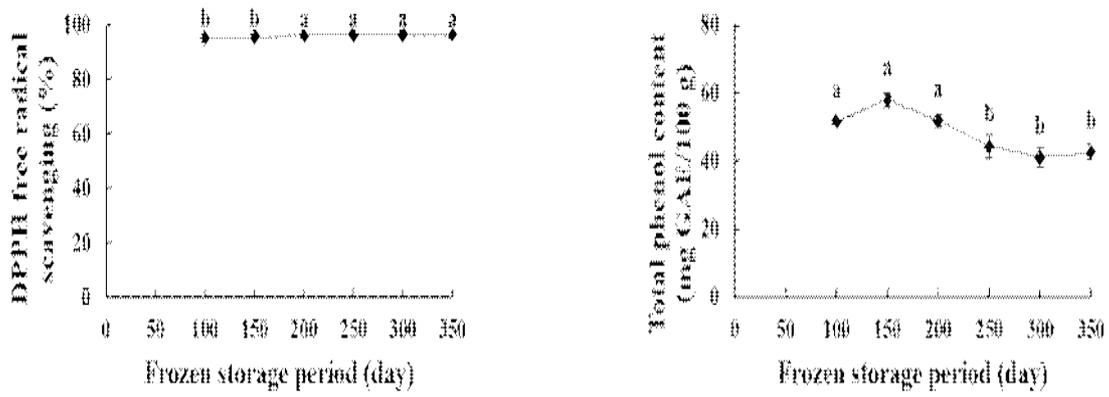


그림. 꽃굴의 냉동저장기간에 따른 DPPH, TPC 변화

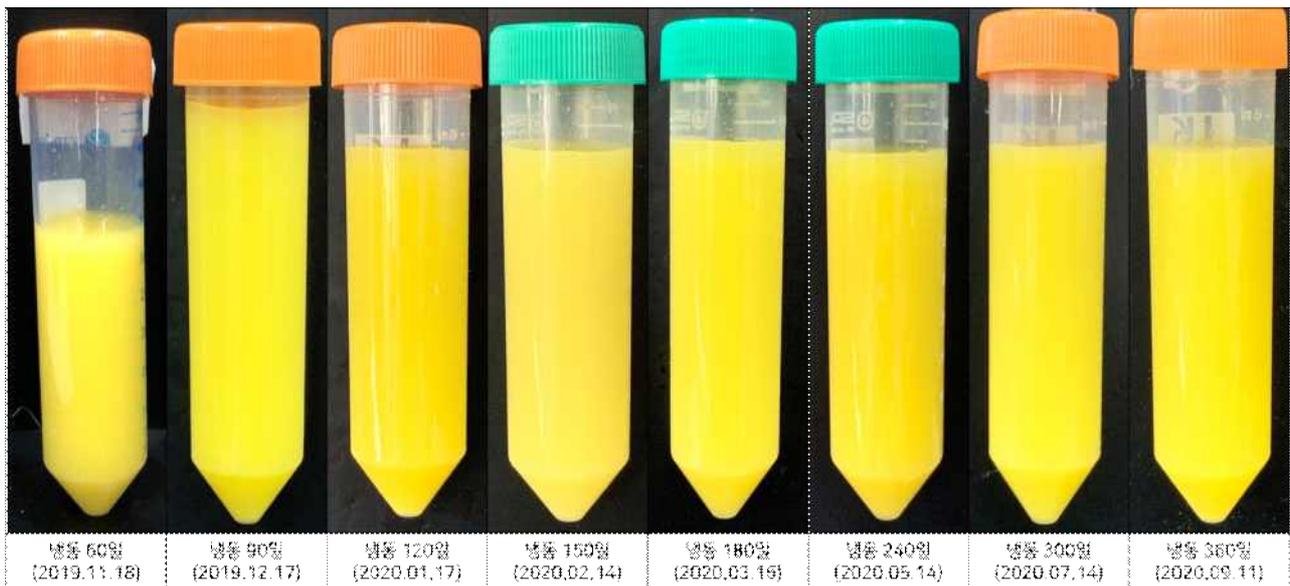


그림. 꽃굴착즙액의 냉동저장기간에 따른 외관 변화

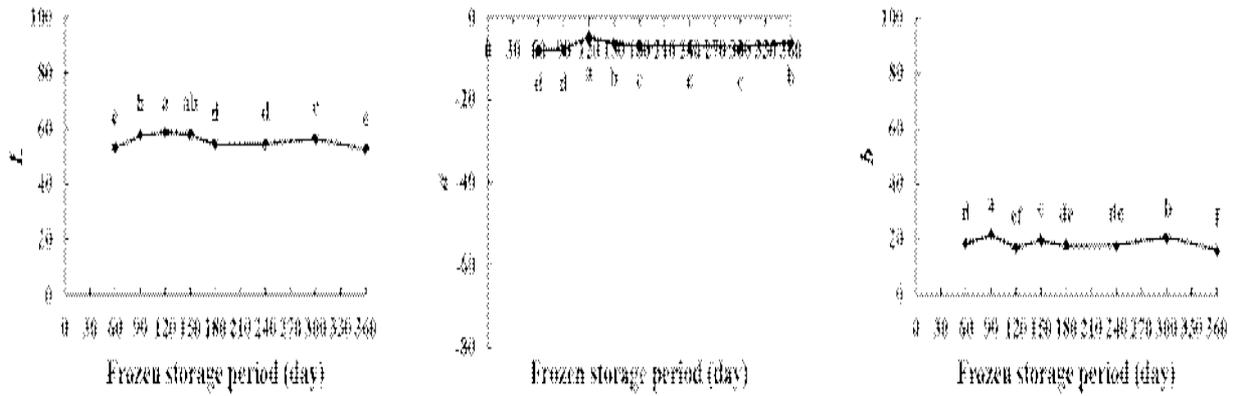


그림. 뽕잎착즙액의 냉동저장기간에 따른 색도 변화

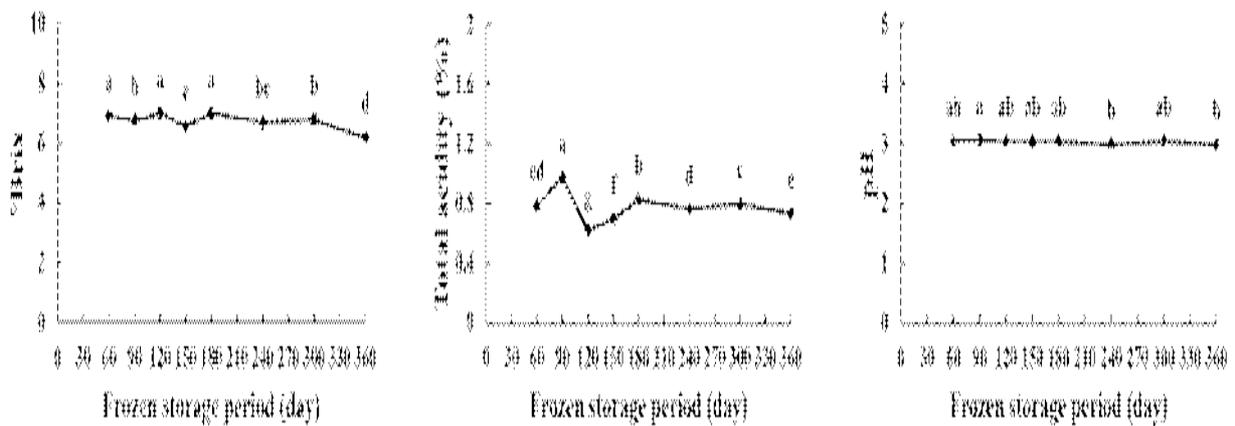


그림. 뽕잎착즙액의 냉동저장기간에 따른 당도, 산도, pH 변화

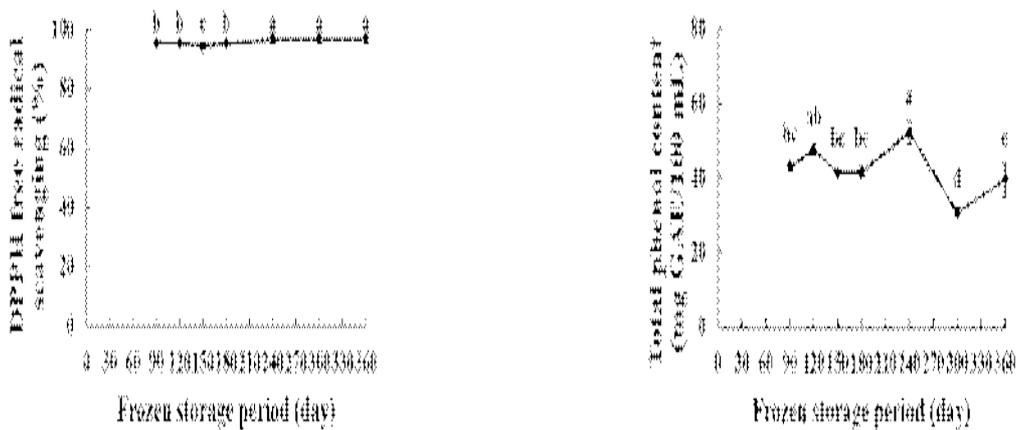
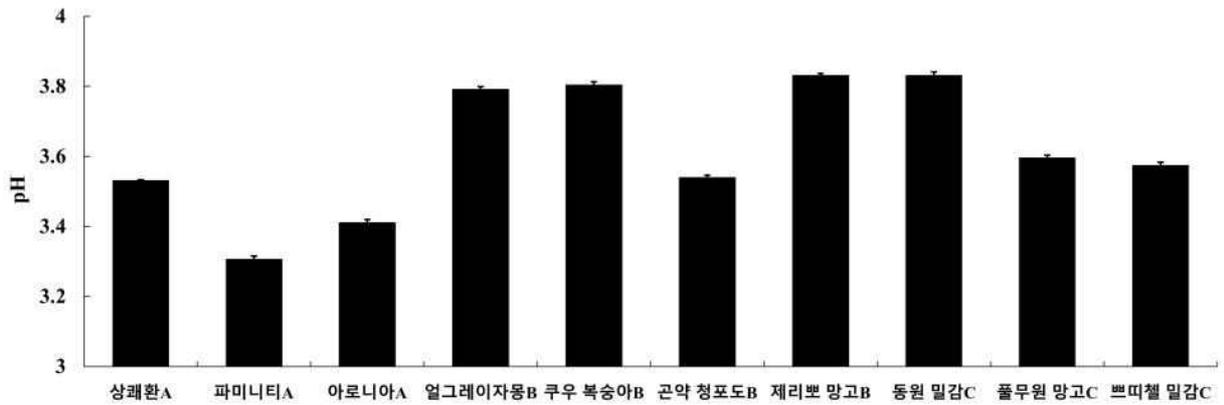


그림. 뽕잎착즙액의 냉동저장기간에 따른 DPPH, TPC 변화

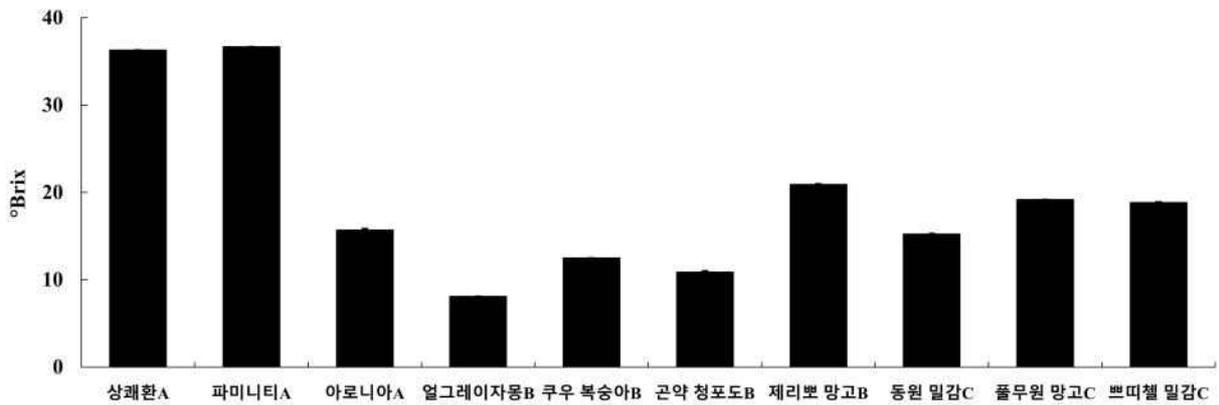
- 뽕잎은 냉동 약 140일경 냉동고의 고장으로 인해 몇 일간 온도가 급격하게 상승함에 따라 과피의 색이 변하였으나 이 밖에는 큰 변화를 보이지 않았음
- 뽕잎착즙액의 경우 모든 실험 항목들에서 냉동 저장 기간 동안 큰 변화를 보이지 않아 1년 간은 냉동보관하면서 사용하여도 품질에는 크게 무리가 없을 것이라 생각됨

바. 풋갈 액상제형 가공식품 개발공정 최적화

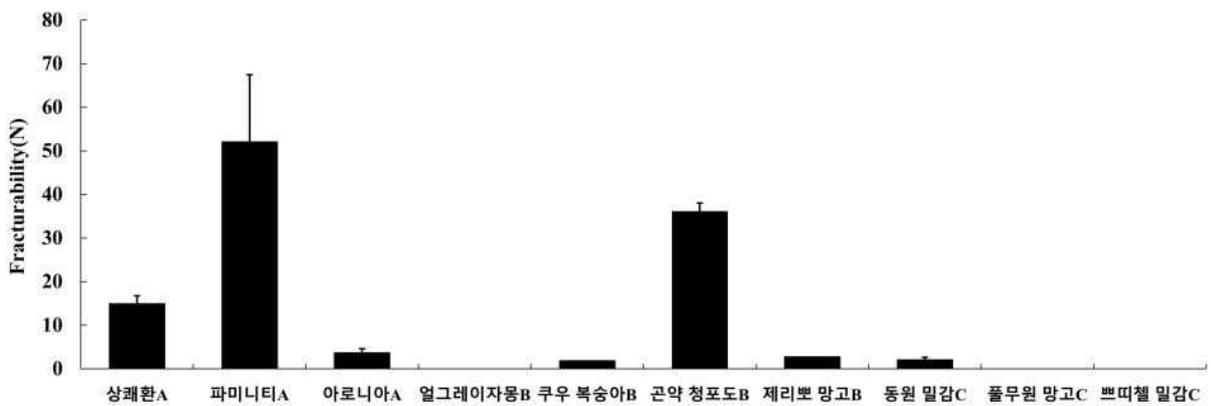
1) 다양한 형태의 시판 젤리 품질 분석



* A : 스틱형, B : 파우치형, C : 컵형



* A : 스틱형, B : 파우치형, C : 컵형



* A : 스틱형, B : 파우치형, C : 컵형

그림. 시판 젤리의 pH, 당도, 압착강도

① pH

- 10종의 젤리 중 가장 낮은 pH를 나타낸 것은 ‘파미니티 BF-7 메모리파워 20 g’ 으로 그 값은 3.307이었으며 가장 높은 pH를 나타낸 것은 ‘삼립 짜먹는 제리뽀 말캉젤리 망고 130 g’ 과 ‘동원 Dole 밀감 젤리 200 g’ 으로 그 값은 3.832로 나타남

- 스틱형 파우치의 경우 다른 형태의 젤리보다 대체로 낮은 pH를 나타냄

② 당도

- 10종의 젤리 중 가장 낮은 Brix를 나타낸 것은 ‘동원 Dole 곤약 젤리 얼그레이자몽 130 mL’ 로 그 값은 8.1이었으며 가장 높은 Brix를 나타낸 것은 ‘파미니티 BF-7 메모리파워 20 g’ 으로 그 값은 36.7로 나타남
- 스틱형 젤리인 ‘큐원 상쾌환 스틱형 18 g’ 과 ‘파미니티 BF-7 메모리파워 20 g’ 의 경우 다른 젤리에 비해 굉장히 높은 Brix를 나타냄
- 이는 실험 과정에서 젤리만 취하여 실험을 진행하였는데 스틱형 젤리의 경우 젤리 외의 물기가 거의 없지만 파우치형과 컵형의 경우 형태의 특성상 젤리 외에도 액체가 많이 있어 그에 따른 결과라고 생각됨

③ 압착강도

- 10종의 젤리 중 가장 낮은 깨짐성을 나타낸 것은 ‘미닛메이드 쿠우 젤리 복숭아 130 mL’ 로 그 값은 1.94 N이었으며 가장 높은 깨짐성을 나타낸 것은 ‘파미니티 BF-7 메모리파워 20 g’ 로 그 값은 52.18 N으로 나타남
- 파우치형 젤리 중 ‘롯데 곤약 젤리 청포도맛 130 g’ 의 경우 파우치형의 다른 젤리에 비해 굉장히 높은 깨짐성을 나타냈는데 이는 곤약이 첨가되어 나타난 결과라고 생각됨

2) 시판 스틱형 젤리의 품질 분석

표. 시판 스틱형 젤리에 사용된 겔화제의 종류

| Gelling agent | P1 | P2 | P3 | G1 | G2 | G3 | R1 | R2 | R3 |
|-----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Locust bean gum | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| Carrageenan | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | - | ○ | - |
| Konjac | - | - | - | - | ○ | ○ | - | ○ | ○ |
| Xanthan gum | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| Agar | ○ | ○ | ○ | ○ | - | - | ○ | - | ○ |
| Tamarind gum | ○ | ○ | ○ | ○ | - | - | ○ | - | ○ |
| Arabian gum | - | - | - | - | ○ | - | ○ | - | ○ |

- 시판 스틱형 젤리 9종은 공통적으로 로커스트빈검, 잔탄검을 겔화제로 사용한다는 것을 확인할 수 있었으며, 카라기난, 한천, 타마린드검 등도 많이 사용한다는 것을 확인함

표. 시판 스틱형 젤리의 수분함량과 색도

| Main ingredient | Product name | Moisture (%) | Color | | |
|-----------------|--------------|------------------|---------------|--------------|-------------|
| | | | L | a | b |
| Pomegranate | P1 | 45.99±0.53Cf1) | 24.40±0.18Bf | -0.41±0.20Ce | 1.23±0.64Ae |
| | P2 | 46.95±0.41B2)e3) | 25.56±0.27Aef | 3.16±0.35Ad | 0.80±0.51Ae |
| | P3 | 71.14±0.35Ab | 21.82±0.15Cg | 1.09±0.27Be | 0.99±0.71Ae |

| | | | | | |
|-------------|----|---------------|---------------|--------------|--------------|
| Green apple | G1 | 69.63±0.27Acd | 50.09±1.50Aa | 3.57±0.79Bd | 25.17±2.61Aa |
| | G2 | 69.62±0.42Ad | 27.39±0.55Cd | 14.42±0.90Ab | 3.71±1.51Be |
| | G3 | 70.04±0.51Ac | 29.79±0.89Bc | 14.32±0.67Ab | 6.78±2.02Bd |
| Red ginseng | R1 | 70.48±0.48Bbc | 43.91±1.47Ab | 7.10±0.69Cc | 16.92±1.73Ab |
| | R2 | 69.27±0.65Cd | 26.06±0.62Cde | 14.90±1.79Bb | 1.58±1.76Ce |
| | R3 | 83.16±0.36Aa | 31.42±0.95Bc | 17.41±0.80Aa | 11.15±1.06Bc |

¹⁾ All values are mean±SD.

²⁾ Values with different capital letters (A-C) among commercial stick type jelly with same main ingredient are significantly different at p<0.05 based on Tukey's multiple range test.

³⁾ Values with different small letters (a-g) among same column are significantly different at p<0.05 based on Tukey's multiple range test.

- 시판 스틱형 젤리 9종은 45.99~83.16%의 수분함량을 나타내었으며, 특히 석류농축액이 90% 이상 첨가된 P1과 P2는 유의적으로 낮은 값을 나타내는 것을 확인함

- 색도의 경우 젤리의 주재료에 따라 다양한 값을 가지는 것으로 생각됨

표. 시판 스틱형 젤리의 당도와 탁도

| Main ingredient | Product name | Sugar content (° Brix) | Turbidity (O.D. at 500 nm) |
|-----------------|--------------|------------------------|----------------------------|
| Pomegranate | P1 | 5.95±0.05Aa1) | 0.72±0.15Bb |
| | P2 | 6.00±0.06A2)a3) | 1.00±0.07Aa |
| | P3 | 3.18±0.04Bb | 0.23±0.01Cc |
| Green apple | G1 | 3.17±0.05Ab | 0.01±0.00Cd |
| | G2 | 3.03±0.05Bc | 0.09±0.00Ad |
| | G3 | 3.00±0.00Bc | 0.09±0.00Bd |
| Red ginseng | R1 | 2.90±0.00Bd | 0.02±0.01Cd |
| | R2 | 3.00±0.00Ac | 0.20±0.01Ac |
| | R3 | 1.60±0.00Ce | 0.06±0.01Bd |

¹⁾ All values are mean±SD.

²⁾ Values with different capital letters (A-C) among commercial stick type jelly with same main ingredient are significantly different at p<0.05 based on Tukey's multiple range test.

³⁾ Values with different small letters (a-e) among same column are significantly different at p<0.05 based on Tukey's multiple range test.

- P1과 P2에서 유의적으로 높은 당도와 탁도 값을 가지는 것으로 확인됨에 따라, 젤리의 주재료 형태가 농축액일 경우 높은 당도와 탁도를 가진다는 것을 확인함

표. 시판 스틱형 젤리의 pH와 총산도

| Main ingredient | Product name | pH | Total acidity (%) |
|-----------------|--------------|-----------------|-------------------|
| Pomegranate | P1 | 3.40±0.02Be1) | 4.60±0.08Aa |
| | P2 | 3.38±0.03B2)e3) | 4.23±0.08Bb |
| | P3 | 3.61±0.02Ad | 2.10±0.02Cc |

| | | | |
|-------------|----|-------------|-------------|
| Green apple | G1 | 4.72±0.03Ab | 0.71±0.01Be |
| | G2 | 3.59±0.07Bd | 0.95±0.01Ad |
| | G3 | 3.64±0.08Bd | 0.95±0.02Ad |
| Red ginseng | R1 | 4.14±0.05Bc | 0.51±0.01Af |
| | R2 | 4.20±0.05Bc | 0.31±0.00Cg |
| | R3 | 4.96±0.07Aa | 0.37±0.01Bg |

¹⁾ All values are mean±SD.

²⁾ Values with different capital letters (A-C) among commercial stick type jelly with same main ingredient are significantly different at p<0.05 based on Tukey's multiple range test.

³⁾ Values with different small letters (a-g) among same column are significantly different at p<0.05 based on Tukey's multiple range test.

- 시판 스틱형 젤리 9종은 pH 3.38~4.96의 범위를 가졌으며, 0.31~4.60의 총산도를 나타내었음
- 식품공전에서 규정하고 있는 캔디류의 총산은 구연산으로서 6.0 미만이므로 실험에 사용된 시판 스틱형 젤리 9종은 모두 규정에 충족된다는 것을 확인할 수 있었음

표. 시판 스틱형 젤리의 조직감

| Product name | Fracturability (N) | Hardness (N) | Adhesiveness (mJ) | Cohesiveness | Springiness (mm) | Gumminess (N) |
|--------------|--|---------------|-------------------|---------------|------------------|---------------|
| P1 | - | 77.18±21.48Aa | 3.21±1.04Aa | 0.16±0.06Aa | 1.93±0.49Aab | 11.71±4.62Aa |
| P2 | - | 67.19±11.22Aa | 3.33±1.08Aa | 0.15±0.03Aa | 1.78±0.26Aabc | 10.27±2.47Aa |
| P3 | - | 44.40±3.73Bb | 1.14±0.62Bc | 0.09±0.02Bbcd | 1.65±0.15Aabcd | 3.84±1.13Bbc |
| G1 | - | 45.13±9.82Ab | 1.49±0.38Abc | 0.05±0.01Acd | 1.46±0.53Aabcd | 2.14±0.65Abcd |
| G2 | 10.63±1.61Aa ¹⁾ | 12.13±3.14Bc | 1.06±0.52Ac | 0.06±0.04Acd | 1.33±0.49Acd | 0.78±0.59Bd |
| G3 | 7.53±2.33B ²⁾ b ³⁾ | 10.27±2.00Bc | 1.04±0.34Ac | 0.08±0.03Abcd | 1.40±0.45Abcd | 0.83±0.38Bd |
| R1 | - | 35.59±2.89Bb | 0.88±0.35Bc | 0.09±0.02Bbc | 2.02±0.42Aa | 3.09±0.54Bbcd |
| R2 | - | 38.49±2.92ABb | 0.63±0.43Bc | 0.12±0.03Aab | 1.83±0.24Aabc | 4.52±1.02Ab |
| R3 | - | 42.25±4.95Ab | 2.13±0.68Ab | 0.04±0.02Cd | 1.11±0.30Bd | 1.84±0.92Ccd |

¹⁾ All values are mean±SD.

²⁾ Values with different capital letters(A-C) among commercial stick type jelly with same main ingredient are significantly different at p<0.05 based on Tukey's multiple range test.

³⁾ Values with different small letters(a-d) among same column are significantly different at p<0.05 based on Tukey's multiple range test.

- Hardness가 유의적으로 낮게 측정된 G2와 G3에서만 fracturability가 측정됨에 따라 높은 경도를 가지는 젤리의 경우 쉽게 깨지지 않는다는 것을 확인함
- Hardness가 유의적으로 높게 나타난 P1과 P2는 adhesiveness, cohesiveness, springiness, gu

mminess에서도 높은 값을 가짐에 따라 경도가 높은 스틱형 젤리는 다른 항목들에서도 높은 값을 가진다는 것을 확인함

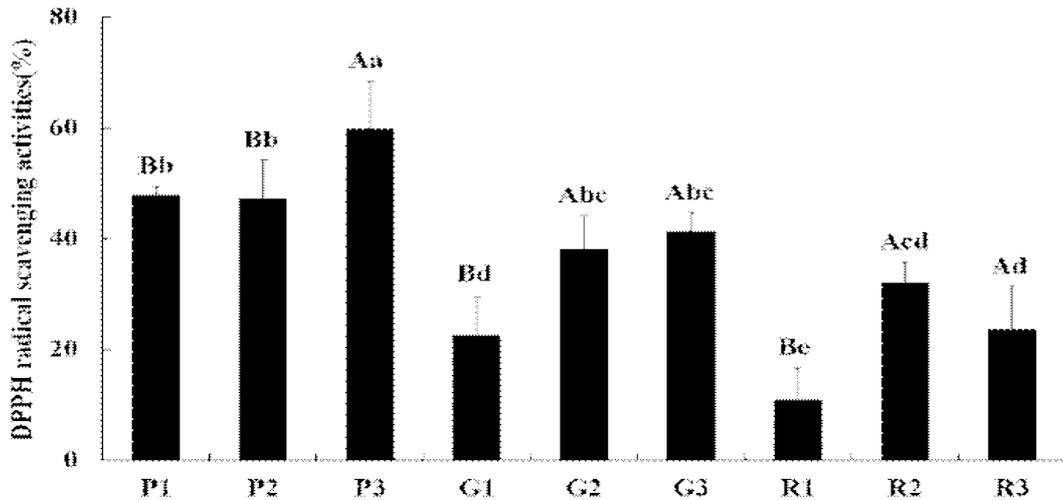


그림. 시판 스틱형 젤리의 DPPH 라디칼 소거 활성. Values with different capital letters (A-C) among commercial stick-type jelly with same main ingredient are significantly different at $p < 0.05$ based on Tukey's multiple range test. Values with different small letters (a-e) among commercial stick-type jelly are significantly different at $p < 0.05$ based on Tukey's multiple range test.

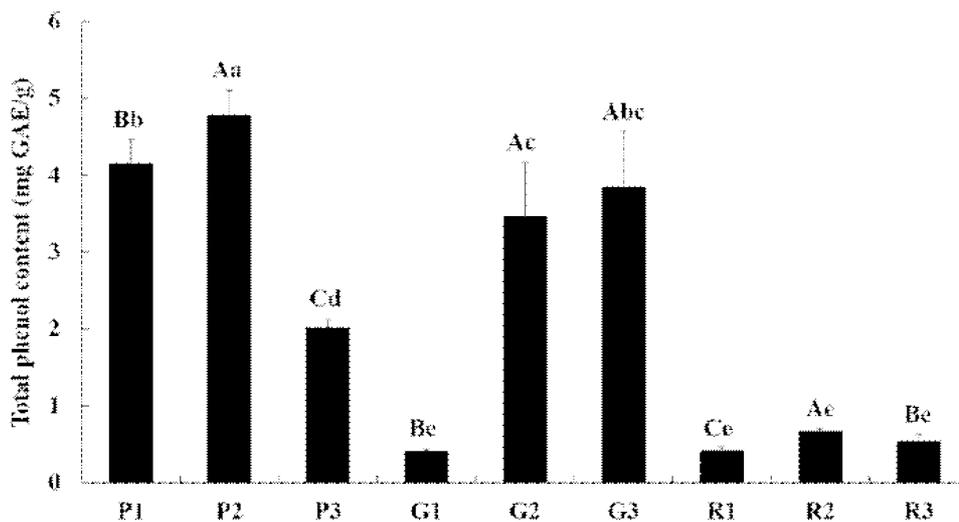


그림. 시판 스틱형 젤리의 총 페놀 함량. Values with different capital letters (A-C) among commercial stick-type jelly with same main ingredient are significantly different at $p < 0.05$ based on Tukey's multiple range test. Values with different small letters (a-e) among commercial stick-type jelly are significantly different at $p < 0.05$ based on Tukey's multiple range test.

- 항산화능의 경우 기타가공품인 석류군이 건강기능식품인 풋사과군, 홍삼군에 비해 높은 값을 가짐에 따라 식품유형보다도 항산화능을 가지는 원료가 어느 정도 첨가되었는지에 따라 제품의 항산화능 정도가 달라진다는 것을 확인함

3) 풋굴착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 관능검사

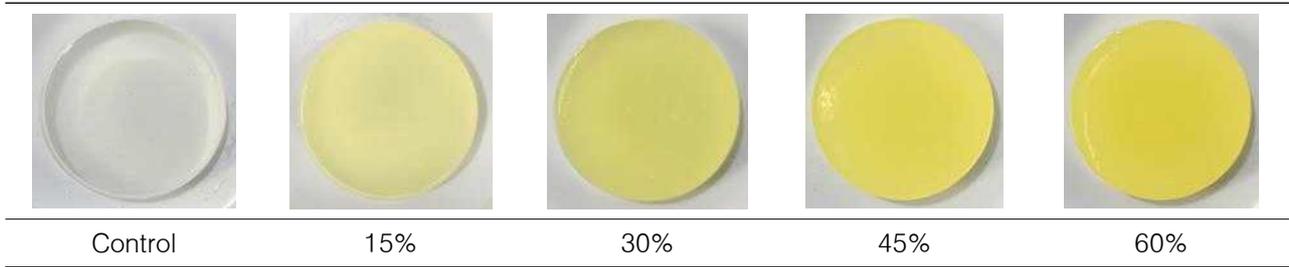


그림. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 외관.

표. 풋귤착즙액의 품질 분석

| Parameters | Immature Citrus unshiu juice | |
|---------------------------------------|------------------------------|------------|
| Water activity (Aw) | 0.994±0.001 | |
| pH | 3.189±0.012 | |
| Sugar contents (° Brix) | 0.50±0.00 | |
| Total acidity (%) | 1.33±0.01 | |
| Total phenolic content (mg TAE/100 g) | 68.82±6.76 | |
| Color values | L | 47.43±0.20 |
| | a | -6.40±0.12 |
| | b | 14.43±0.50 |

Data are expressed as the mean±standard deviation (n=3).

표. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 색도

| | Immature Citrus unshiu juice (%) | | | | |
|---|----------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Control | 15 | 30 | 45 | 60 |
| L | 54.66±1.41a | 47.32±1.20b | 44.02±1.59c | 42.04±0.89d | 41.82±0.69d |
| a | -4.53±0.21a | -4.98±0.40a | -4.99±0.35a | -5.60±0.46b | -6.17±0.29c |
| b | -10.38±0.22c | 4.65±0.71b | 11.88±1.27a | 12.74±1.32a | 12.54±0.64a |

Data are expressed as the mean±standard deviation (n=3).

a-dThe means followed by the same letter are not significantly by Tukey' s multiple range test at P<0.05.

- 풋귤착즙액의 첨가량이 증가함에 따라 젤리의 b(황색도)값은 증가하는 경향을 나타내었으며 L(명도)값과 a(적색도)값은 감소하는 경향을 나타냄
- 이는 풋귤착즙액의 상대적으로 높은 b값이 영향을 미친 것으로 생각됨

표. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 수분함량, 수분활성도, 보수력

| | Immature Citrus unshiu juice (%) | | | | |
|----------------------------|----------------------------------|--------------|-------------------|-------------------|--------------|
| | Control | 15 | 30 | 45 | 60 |
| Moisture (%) | 80.76±1.36a | 79.74±0.67ab | 79.17±0.52bc | 78.44±0.72cd | 77.93±0.49d |
| Water activity (Aw) | 0.986±0.003a | 0.985±0.002a | 0.984±0.001a b | 0.983±0.001b c | 0.981±0.001c |
| Water holding capacity (%) | 72.42±2.86NS | 72.06±1.25 | 72.72±0.78 | 70.70±1.39 | 70.75±0.83 |

Data are expressed as the mean±standard deviation (n=3).

a-dThe means followed by the same letter are not significantly by Tukey' s multiple range test at P<0.05.

NS: not significant

- 풋귤착즙액의 첨가량이 증가함에 따라 젤리의 수분함량과 수분활성도는 감소하는 경향을 나타내었는데, 이는 풋귤착즙액이 물에 비해 고형분을 상대적으로 다량 함유하고 있기 때문인 것으로 생각됨
- 젤리의 보수력은 풋귤착즙액의 첨가량이 증가해도 유의적인 차이를 보이지 않고 약 70%대를 유지하였는데 이는 풋귤착즙액의 양이 젤리의 보수력에는 크게 영향을 미치지 않는다는 것을 보여주는 것이라 생각됨

표. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 pH, 당도, 총산도

| | Immature Citrus unshiu juice (%) | | | | |
|-------------------------|----------------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| | Control | 15 | 30 | 45 | 60 |
| pH | 3.247±0.073a | 3.172±0.062ab | 3.141±0.063b | 3.111±0.073b | 3.092±0.072b |
| Sugar contents (° Brix) | 1.93±0.05c | 2.12±0.08b | 2.13±0.05b | 2.24±0.09a | 2.33±0.10a |
| Total acidity (%) | 0.24±0.02e | 0.42±0.01d | 0.64±0.02c | 0.86±0.03b | 1.06±0.04a |

Data are expressed as the mean±standard deviation (n=3).

a-eThe means followed by the same letter are not significantly by Tukey' s multiple range test at P<0.05.

- 풋귤착즙액 첨가량이 증가함에 따라 젤리의 총산도는 유의적으로 증가하여 풋귤착즙액 60% 첨가 젤리는 1.06%의 총산도를 나타냄
- 젤리의 pH는 풋귤착즙액 첨가량이 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었고 당도는 증가하는 경향을 나타냄

표. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 조직감

| | Immature Citrus unshiu juice (%) | | | | |
|-------------------|----------------------------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| | Control | 15 | 30 | 45 | 60 |
| Hardness 1 (N) | 24.10±5.40b | 33.30±3.01a | 31.57±6.26a | 31.68±3.17a | 30.92±4.49a |
| Hardness 2 (N) | 11.24±3.09c | 16.15±4.00b | 19.17±4.03ab | 19.77±3.81ab | 20.90±4.40a |
| Adhesiveness (mJ) | 1.30±0.37ab | 1.59±0.57a | 1.13±0.52ab | 0.93±0.56b | 0.74±0.68b |
| Cohesiveness | 0.10±0.04b | 0.12±0.04ab | 0.13±0.03ab | 0.15±0.04a | 0.14±0.03ab |
| Springiness (mm) | 1.96±0.29a | 1.60±0.19b | 1.75±0.27ab | 1.68±0.26b | 1.66±0.22b |
| Gumminess (N) | 2.58±1.19b | 3.94±1.27a | 4.15±1.19a | 4.77±1.33a | 4.30±1.35a |
| Chewiness (mJ) | 5.29±3.05b | 6.33±2.16ab | 7.28±2.41ab | 8.17±3.01a | 7.26±2.98ab |
| Resilience | 0.08±0.04b | 0.16±0.07a | 0.08±0.05b | 0.09±0.06b | 0.06±0.04b |

Data are expressed as the mean±standard deviation (n=3).

a-cThe means followed by the same letter are not significantly by Tukey' s multiple range test at P<0.05.

- 풋귤착즙액을 첨가하지 않은 대조군에 비해 풋귤착즙액을 15% 첨가한 젤리의 경도는 유의적으로 높은 값을 나타내었으나, 풋귤착즙액의 첨가량이 증가하여도 젤리 경도의 유의적인 차이는 보이지 않음
- 이는 젤리의 조직감에 있어서 풋귤착즙액이 첨가될 시 유의적인 변화를 가지지만 첨가량에 따른 차이는 크지 않는 것으로 생각됨

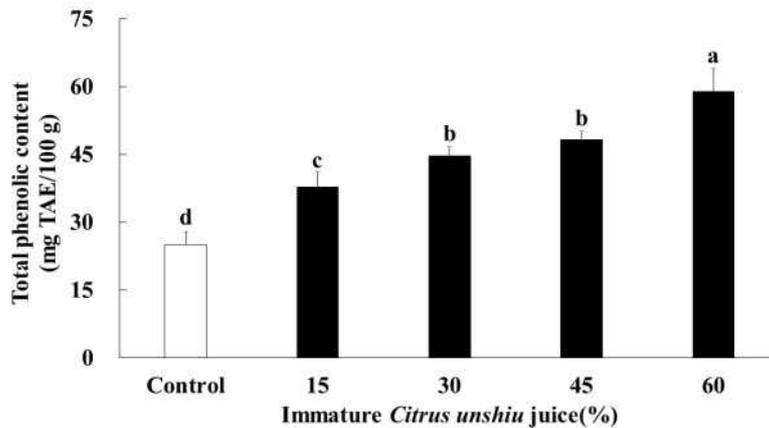


그림. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 총 페놀 함량. Data are expressed as the mean±standard deviation (n=3). a-dThe means followed by the same letter are not significantly by Tukey' s multiple range test at P<0.05.

- 풋귤착즙액의 첨가량이 증가함에 따라 젤리의 총 페놀 함량은 증가하는 경향을 나타내는 것을 확인함
- 하지만 풋귤착즙액 첨가량 증가에 따른 총 페놀 함량의 증가 폭이 그리 높지는 않았는데,

이는 풋귤착즙액의 대부분이 수분으로 이루어져 있어 높은 활성을 보이지는 못한 것으로 생각됨

표. 풋귤착즙액 첨가량을 달리한 젤리의 관능검사

| | Immature Citrus unshiu juice (%) | | | | |
|-----------------------|----------------------------------|------------|-------------|-------------|------------|
| | Control | 15 | 30 | 45 | 60 |
| Appearance | 5.15±1.27c | 5.05±1.00c | 5.35±1.09bc | 6.15±0.81ab | 6.30±0.73a |
| Color | 5.10±1.21bc | 4.60±1.35c | 4.90±1.41bc | 5.70±1.17ab | 6.25±0.97a |
| Sweetness | 3.75±1.12NS | 4.05±1.43 | 3.40±1.10 | 4.45±1.32 | 3.75±1.48 |
| Sourness | 4.00±1.26NS | 4.60±1.39 | 4.00±1.49 | 4.10±1.25 | 3.75±1.68 |
| Bitterness | 4.46±1.10ab | 4.65±1.27a | 4.00±1.17ab | 4.10±1.25ab | 3.45±1.67b |
| Citrus flavor | 3.70±1.56b | 4.95±0.95a | 5.55±1.43a | 5.10±1.37a | 5.55±1.50a |
| Springiness | 5.15±1.63NS | 5.60±1.05 | 5.80±1.01 | 5.70±1.22 | 5.45±1.43 |
| Hardness | 5.25±1.48NS | 5.45±1.15 | 5.55±1.32 | 5.50±1.15 | 5.55±1.15 |
| Moisture | 6.10±0.91NS | 5.70±0.92 | 5.55±1.43 | 5.70±1.13 | 5.30±1.46 |
| Overall acceptability | 4.15±1.09NS | 4.75±1.48 | 4.65±1.35 | 5.50±1.10 | 4.60±1.79 |

Data are expressed as the mean±standard deviation (n=3).

a-cThe means followed by the same letter are not significantly by Tukey' s multiple range test at P<0.05.

NS: not significant.

- 관능검사 결과 전체적인 기호도에서 가장 높은 점수를 받은 풋귤 착즙액 45% 첨가군은 모든 항목에서 대체로 높은 점수를 받았으며, 총 페놀 함량에서도 비교적 높은 값 (48.22 mg TAE/100g)을 나타내었기에 본 연구에서는 풋귤 착즙액 45% 첨가 젤리가 관능적으로 우수한 최적이라 생각됨

4) 풋귤착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 최적 pilot-scale 제조공정 확립

표. Pilot-scale 풋귤착즙액 액상제형 이화학적 품질 분석

| Parameters | Total volume (g) | | |
|------------------------|------------------|--------------|--------------|
| | 500 | 1,000 | 5,000 |
| pH | 2.87 ± 0.00 | 2.79 ± 0.00 | 2.65 ± 0.05 |
| Sugar content (° Brix) | 22.67 ± 0.06 | 22.97 ± 0.12 | 23.33 ± 0.45 |
| Viscosity (cP) | 50 rpm | 6,438 ± 324 | 4,769 ± 66 |
| | 100 rpm | 4,131 ± 132 | 3,187 ± 214 |
| Color | L | 60.60 ± 0.70 | 51.20 ± 0.50 |
| | a | -3.70 ± 0.20 | -4.60 ± 0.10 |
| Fracturability (N) | b | 9.80 ± 0.30 | -0.30 ± 0.80 |
| | | 7.83 ± 1.33 | 5.95 ± 0.84 |

Data are expressed as the mean±standard deviation (n=3).

- Pilot scale 범위 내에서 풋굴착즙액 액상제형의 총 무게를 500, 1,000, 5,000 g으로 다르게 하여 제조한 결과 총 양이 증가할수록 pH와 당도는 각각 감소, 증가하는 경향을 나타내었으며 점도의 경우 5,000 g을 제조하였을 때 급격히 높은 값을 나타냄
- 명도와 황색도의 경우 500 g 젤리에서의 값이 다른 시료들에 비해 높은 것으로 나타났으며 압착가오는 시료 간의 큰 차이를 보이지 않았음
- Lab scale에서는 겔화제 2종(곤약과 카파카라기난)을 혼합하여 사용하였으나, pilot scale에서는 액상 제형 대량생산 시 주로 사용되는 검믹스를 사용함에 따라 겔의 물성이 변화하였으며, 첨가량 조정이 필요했음
- Lab scale에서는 hot plate(HS-10, LK Labkorea, Korea)를 이용하여 자력 교반을 진행하였으나, pilot scale 공정에서는 overhead stirrer(OSD-30, LK Labkorea, Korea)를 이용하여 교반을 진행함에 따라 동일한 교반 속도(rpm)라 하더라도 시료가 교반되는 정도의 차이가 있었음
- Overhead stirrer를 이용하여 Lab scale에 비해 더 높은 교반 속도로 시료 교반을 진행하였으나, 5 kg 이상의 시료를 균일하게 교반하기에는 어려움이 있었음

5) 대량생산된 풋굴추출물을 이용한 factory-scale 액상제형 식품제조공정확립



그림. 대량생산 풋굴추출물 젤리(좌)와 플라시보 젤리(우)의 외관

- 풋굴추출물 젤리와 플라시보 젤리는 외관상으로는 큰 차이를 보였으나, 유사한 단맛과 시트러스향을 가지도록 제조하였으며 물엿과 효소처리스테비아 비율을 달리하여 최대한 유사한 물성을 가지도록 제조하였음
- 풋굴추출물 젤리는 pH 3.06, 당도 38.6° brix를 나타내었으며, 플라시보 젤리는 pH 2.68, 당도 28.3° brix를 나타내어 풋굴추출물 젤리가 플라시보 젤리에 비해 조금 더 높은 pH와 당도를 가지는 것으로 나타남
- Pilot scale까지는 풋굴 착즙액을 이용하여 액상제형을 제조하였으나 factory scale을 위한 배합비 설정에서는 풋굴 추출물을 사용함에 따라 관능적 특성이 변화하였으며 이를 보완하고자 감귤 농축액을 추가로 사용하였음
- 생산 단가를 고려하여 감미료로 사용한 설탕을 효소처리스테비아로 변경하는 등 배합비의 변화가 있었음
- 플라시보 젤리의 경우 풋굴 혹은 감귤류가 직접적으로 첨가되지 않으면서도 유사한 맛과 향을 가지는 젤리를 제조해야 하므로 샘플과 유사한 물성을 위해 물엿의 첨가량을 높여 최종적인 제품의 당도를 맞췄으며, 구연산과 천연감귤향을 추가로 첨가함에 따라 샘플 특유의 신맛과 감귤향이 유사한 플라시보 젤리를 제조함

표. 대량생산 풋갈추출물 젤리의 이화학적 특성 및 항산화 활성

| Parameters | | ICUH stick jelly |
|---|---|------------------|
| pH | | 3.38 ± 0.03 |
| Total acidity (%) | | 2.53 ± 0.01 |
| Sugar content (° Brix) | | 36.10 ± 0.00 |
| Fracturability (N) | | 8.58 ± 2.19 |
| Color | L | 36.16 ± 0.49 |
| | a | 6.76 ± 0.06 |
| | b | 18.16 ± 0.62 |
| Total phenol content (mg TAE/20 g) | | 55.99 ± 5.98 |
| Total flavonoid content (mg QE/20 g) | | 97.93 ± 0.15 |
| DPPH radical scavenging ability (IC50, mg/mL) | | 24.38 ± 0.43 |

Data are expressed as the mean ± standard deviation (n=3).

TAE: tannic acid equivalent.

QE: quercetin equivalent.

- 대량생산된 풋갈추출물 젤리는 pH 3.38, 총산도 2.53%, 당도 36.10° brix, 깨짐성 8.58 N, 명도 36.16, 적색도 6.76, 황색도 18.16, 총 페놀 함량 55.99 mg TAE/20g, 총 플라보노이드 함량 97.93 mg QE/20g, DPPH 라디칼 소거 활성 IC50 24.38 mg/mL를 가지는 것으로 나타남

6) 대량생산된 풋갈추출물 함유 액상제형식품의 영양성분분석

참고용 시험성적서

| 본 성적서는 식품의약품안전처 「식품의약품안전법 시행령」 제 104조 제 2항 제 1호에 따른 것입니다. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------------------------|------------|----------------------------|-------|------------|-------|---------------|--|-------|--------------|--|------|-------|--|------|-------|--|-----|-------------|--|-----|------------|--|-----|------------|--|------|--------------|--|-----|---------------|--|-----|----------------|--|-----|--------------|--|------|
| 발행번호 | 820211203-0001 | 검수번호 | 일만-21-0140-1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 발사일자 | 2021. 12. 3. | 검수일자 | 2021. 11. 22. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 제품명 | 제주특산물 | 유형 | 유형제형 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| (등록)제조번호 | - | (등록)제조번호 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 유형-제조번호명 | - | 유형-제조번호명 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 제조수입명 | - | 유형(제조수입)기타 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 원산지 | 도양읍 | 업체명 | 제주대학교 산학협력단 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 의뢰자 | 제주특별자치도 제주시 제주시 102 (여의달동) 102(24) | 의뢰처 | 제주대학교 산학협력단 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 소재지 | 제주특별자치도 제주시 제주시 102 (여의달동) 102(24) | 소재지 | 제주특별자치도 제주시 제주시 102 (여의달동) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 제조원 | 업체명 | 제조원 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 소재지 | 제주특별자치도 제주시 제주시 102 (여의달동) 102(24) | 소재지 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 시험목적 | 연구개발용 | 시험목적 | 연구개발용 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>시험 항목</th> <th>시험 방법 및 명료</th> <th>시험 결과</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>열량(kcal/100g)</td> <td></td> <td>120.8</td> </tr> <tr> <td>탄수화물(g/100g)</td> <td></td> <td>28.9</td> </tr> <tr> <td>수분(%)</td> <td></td> <td>69.3</td> </tr> <tr> <td>회분(%)</td> <td></td> <td>0.7</td> </tr> <tr> <td>단백질(g/100g)</td> <td></td> <td>0.9</td> </tr> <tr> <td>지방(g/100g)</td> <td></td> <td>0.2</td> </tr> <tr> <td>당류(g/100g)</td> <td></td> <td>20.6</td> </tr> <tr> <td>포화지방(g/100g)</td> <td></td> <td>0.1</td> </tr> <tr> <td>트랜스지방(g/100g)</td> <td></td> <td>0.0</td> </tr> <tr> <td>콜레스테롤(mg/100g)</td> <td></td> <td>0.0</td> </tr> <tr> <td>나트륨(mg/100g)</td> <td></td> <td>15.7</td> </tr> </tbody> </table> | | | | 시험 항목 | 시험 방법 및 명료 | 시험 결과 | 열량(kcal/100g) | | 120.8 | 탄수화물(g/100g) | | 28.9 | 수분(%) | | 69.3 | 회분(%) | | 0.7 | 단백질(g/100g) | | 0.9 | 지방(g/100g) | | 0.2 | 당류(g/100g) | | 20.6 | 포화지방(g/100g) | | 0.1 | 트랜스지방(g/100g) | | 0.0 | 콜레스테롤(mg/100g) | | 0.0 | 나트륨(mg/100g) | | 15.7 |
| 시험 항목 | 시험 방법 및 명료 | 시험 결과 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 열량(kcal/100g) | | 120.8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 탄수화물(g/100g) | | 28.9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 수분(%) | | 69.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 회분(%) | | 0.7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 단백질(g/100g) | | 0.9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 지방(g/100g) | | 0.2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 당류(g/100g) | | 20.6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 포화지방(g/100g) | | 0.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 트랜스지방(g/100g) | | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 콜레스테롤(mg/100g) | | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 나트륨(mg/100g) | | 15.7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 시험장소명 | 김하나, 이만희, 조은빛 | 시험장소재지 | 이주연 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 비고 | | 비고 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| (입제상태) | (표시사항) | (판매사명) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 소분 | 표시사항 없음 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 질문 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 의향발문 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

2021년 12월 3일

제주대학교생명과학기술혁신센터

6324 제주특별자치도 제주시 제주시 102
TEL : 064-754-2135 FAX : 064-750-3339

참고용 시험성적서

| 본 성적서는 식품의약품안전처 「식품의약품안전법 시행령」 제 104조 제 2항 제 1호에 따른 것입니다. | | | | | | | | | |
|--|------------------------------------|------------|----------------------------|-------|------------|-------|----------------|--|-----|
| 발행번호 | 820211203-0002 | 검수번호 | 일만-21-0140-2 | | | | | | |
| 발사일자 | 2021. 12. 3. | 검수일자 | 2021. 11. 22. | | | | | | |
| 제품명 | 제주특산물 | 유형 | 유형제형 | | | | | | |
| (등록)제조번호 | - | (등록)제조번호 | - | | | | | | |
| 유형-제조번호명 | - | 유형-제조번호명 | - | | | | | | |
| 제조수입명 | - | 유형(제조수입)기타 | - | | | | | | |
| 원산지 | 도양읍 | 업체명 | 제주대학교 산학협력단 | | | | | | |
| 의뢰자 | 제주특별자치도 제주시 제주시 102 (여의달동) 102(24) | 의뢰처 | 제주대학교 산학협력단 | | | | | | |
| 소재지 | 제주특별자치도 제주시 제주시 102 (여의달동) 102(24) | 소재지 | 제주특별자치도 제주시 제주시 102 (여의달동) | | | | | | |
| 제조원 | 업체명 | 제조원 | - | | | | | | |
| 소재지 | 제주특별자치도 제주시 제주시 102 (여의달동) 102(24) | 소재지 | - | | | | | | |
| 시험목적 | 연구개발용 | 시험목적 | 연구개발용 | | | | | | |
| <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>시험 항목</th> <th>시험 방법 및 명료</th> <th>시험 결과</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>비타민C (mg/100g)</td> <td></td> <td>8.7</td> </tr> </tbody> </table> | | | | 시험 항목 | 시험 방법 및 명료 | 시험 결과 | 비타민C (mg/100g) | | 8.7 |
| 시험 항목 | 시험 방법 및 명료 | 시험 결과 | | | | | | | |
| 비타민C (mg/100g) | | 8.7 | | | | | | | |
| 시험장소명 | 조은빛 | 시험장소재지 | 이주연 | | | | | | |
| 비고 | | 비고 | | | | | | | |
| (입제상태) | (표시사항) | (판매사명) | | | | | | | |
| 소분 | 표시사항 없음 | | | | | | | | |
| 질문 | | | | | | | | | |
| 의향발문 | | | | | | | | | |

2021년 12월 3일

제주대학교생명과학기술혁신센터

6324 제주특별자치도 제주시 제주시 102
TEL : 064-754-2135 FAX : 064-750-3339

영양성분

비타민 C

그림. 대량생산 풋갈추출물 함유 액상제형식품의 영양성분.

- 풋갈추출물 젤리의 영양성분 분석 결과 열량 120.8 kcal/100g, 탄수화물 28.9g/100g, 수분 69.3%, 회분 0.7%, 단백질 0.9g/100g, 지방 0.2g/100g, 당류 20.6g/100g, 포화지방 0.1g/100g, 나트륨 15.7mg/100g으로 나타났으며, 트랜스지방과 콜레스테롤은 검출되지 않았음
- 풋갈추출물 젤리의 비타민 C 함량은 8.7mg/100g으로 나타남

사. 풋갈 정제제형 가공식품 개발공정 최적화

1) 풋갈원료의 분말화 및 입도에 따른 특성분석

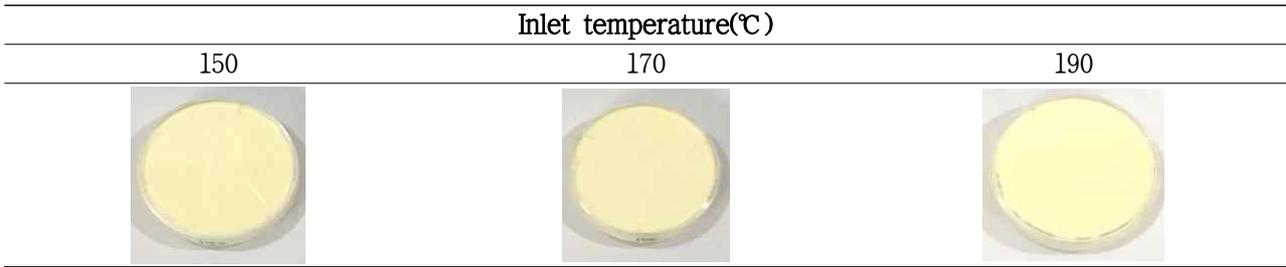


그림. Inlet temperature에 따른 풋갈착즙액 분말의 외관

- Inlet temperature가 높아짐에 따라 풋갈착즙액 분말의 색이 약간 짙어지는 것을 확인함

표. Inlet temperature에 따른 풋갈착즙액 분말의 이화학적 특성

| Parameters | Inlet temperature (°C) | | | |
|--------------------------------------|------------------------|----------------|---------------|--------------|
| | 150 | 170 | 190 | |
| Dry yield (%) | 15.49 | 13.02 | 10.16 | |
| Color values | L | 92.56 ± 0.14 | 90.52 ± 0.21 | 92.21 ± 0.09 |
| | a | 2.71 ± 0.17 | 2.19 ± 0.08 | 2.85 ± 0.03 |
| | b | 8.21 ± 0.13 | 7.98 ± 0.05 | 7.78 ± 0.01 |
| Water activity (Aw) | 0.239 ± 0.006 | 0.205 ± 0.006 | 0.191 ± 0.005 | |
| Sugar content (° Brix) | 9.13 ± 0.06 | 9.35 ± 0.06 | 9.43 ± 0.06 | |
| pH | 3.067 ± 0.008 | 3.102 ± 0.007 | 3.123 ± 0.022 | |
| Particle size (nm) | - | 543.30 ± 41.66 | 458.12 ± 9.80 | |
| Zeta potential (mV) | - | -14.72 ± 0.90 | -14.56 ± 0.43 | |
| DPPH radical scavenging activity (%) | - | 39.24 ± 0.77 | 39.96 ± 1.77 | |
| Total phenol content (mg GAE/100 g) | 37.47 ± 5.44 | 38.21 ± 1.91 | 36.57 ± 4.78 | |

Data are expressed as the mean ± standard deviation (n=3).

- Inlet temperature가 높아짐에 따라 풋갈착즙액 분말의 수율은 감소함
- Inlet temperature가 높아짐에 따라 풋갈착즙액 분말의 적색도는 증가하였고 황색도는 감소하였으며, 이는 풋갈착즙액의 높은 황색도가 고온에서 파괴되어 감소하면서 상대적으로 적색도는 증가한 것으로 생각됨
- Inlet temperature가 증가함에 따라 수분활성도는 감소하는 경향을 보임
- Inlet temperature가 증가함에 따라 당도는 높아지는 경향을 보였으며, 이는 주입구의 온도가 높아짐에 따라 수분이 더 많이 제거된 것에 따른 결과로 보여짐
- Inlet temperature가 증가함에 따라 분말의 pH는 증가하는 경향을 나타내었으며 대체적으로 pH 3 초반대를 나타냄

- Inlet temperature가 높아짐에 따라 분말의 입자크기는 500 nm대에서 400 nm대로 감소하는 것을 확인하였으며, 분말의 제타전위는 큰 차이를 보이지 않았으며 -14 mV대의 값을 나타냄
- Inlet temperature가 증가하여도 풋굴착즙액 분말은 큰 변화를 나타내지 않았으며 DPPH radical scavenging activity는 39%, 총 페놀 함량은 36~40 mg GAE/100 g을 나타냄

2) 풋굴원료를 이용한 분말 제조공정 확립 및 특성분석



풋굴 농축액 (50±0.5°brix)



분무건조용 풋굴 용액



풋굴 분말

그림. 풋굴 농축액 분말화.

- 풋굴 착즙액을 50° brix까지 농축하자 착즙액에 비해 짙은 주황색을 나타내었으며, 어느 정도의 점도를 가지나 흐름성은 있는 성상이 만들어짐
- 초고속 균질 후의 착즙액을 농축하여 시료로 사용하였으므로 최종적인 풋굴 용액에서도 기존 착즙액의 슬러리가 보이지 않았으며, 침전물 없는 투명한 외관을 나타냄
- 분무건조를 통해 얻어진 분말은 굉장히 고운 성상을 나타내었으며 말토덱스트린 함량에 따른 색의 변화는 뚜렷하게 나타나지 않았음

표. 실험설계 및 독립변수가 풋굴 분말에 미치는 영향

| No | Independent variables | | | Responses | | | | |
|----|-----------------------|--------|--------|---------------|-------------------|---------------------|------------------------------------|--------------------|
| | X11) (°C) | X2 (%) | X3 (%) | Dry yield (%) | Water content (%) | Water activity (Aw) | Total phenolic content (mg TAE2)/g | Particle size (nm) |
| 1 | 160 | 90 | 16 | 12.59 | 3.544 | 0.120 | 1.50 | 496.40 |
| 2 | 200 | 90 | 16 | 13.02 | 2.463 | 0.079 | 1.53 | 506.30 |
| 3 | 160 | 100 | 16 | 13.08 | 3.261 | 0.109 | 1.48 | 526.05 |
| 4 | 200 | 100 | 16 | 12.83 | 2.463 | 0.087 | 1.42 | 479.05 |
| 5 | 160 | 95 | 12 | 8.97 | 5.410 | 0.335 | 1.85 | 527.33 |
| 6 | 200 | 95 | 12 | 9.22 | 4.781 | 0.321 | 1.88 | 509.80 |
| 7 | 160 | 95 | 20 | 15.88 | 3.879 | 0.171 | 1.32 | 356.00 |

| | | | | | | | | |
|----|-----|-----|----|-------|-------|-------|------|--------|
| 8 | 200 | 95 | 20 | 15.89 | 3.195 | 0.140 | 1.29 | 328.83 |
| 9 | 180 | 90 | 12 | 6.76 | 5.749 | 0.385 | 1.86 | 516.40 |
| 10 | 180 | 100 | 12 | 10.62 | 4.760 | 0.286 | 1.95 | 528.80 |
| 11 | 180 | 90 | 20 | 15.23 | 3.628 | 0.166 | 1.33 | 372.17 |
| 12 | 180 | 100 | 20 | 16.24 | 3.145 | 0.122 | 1.28 | 383.78 |
| 13 | 180 | 95 | 16 | 14.21 | 3.044 | 0.135 | 1.70 | 471.08 |
| 14 | 180 | 95 | 16 | 13.58 | 3.378 | 0.157 | 1.72 | 494.30 |
| 15 | 180 | 95 | 16 | 13.56 | 3.854 | 0.189 | 1.72 | 484.18 |
| 16 | 180 | 95 | 16 | 12.89 | 4.291 | 0.220 | 1.63 | 507.00 |
| 17 | 180 | 95 | 16 | 12.69 | 4.426 | 0.236 | 1.72 | 480.80 |

1) X1: Inlet temperature (°C), X2: Aspirator (%), X3: Maltodextrin concentration (%)

2) TAE: tannic acid equivalents

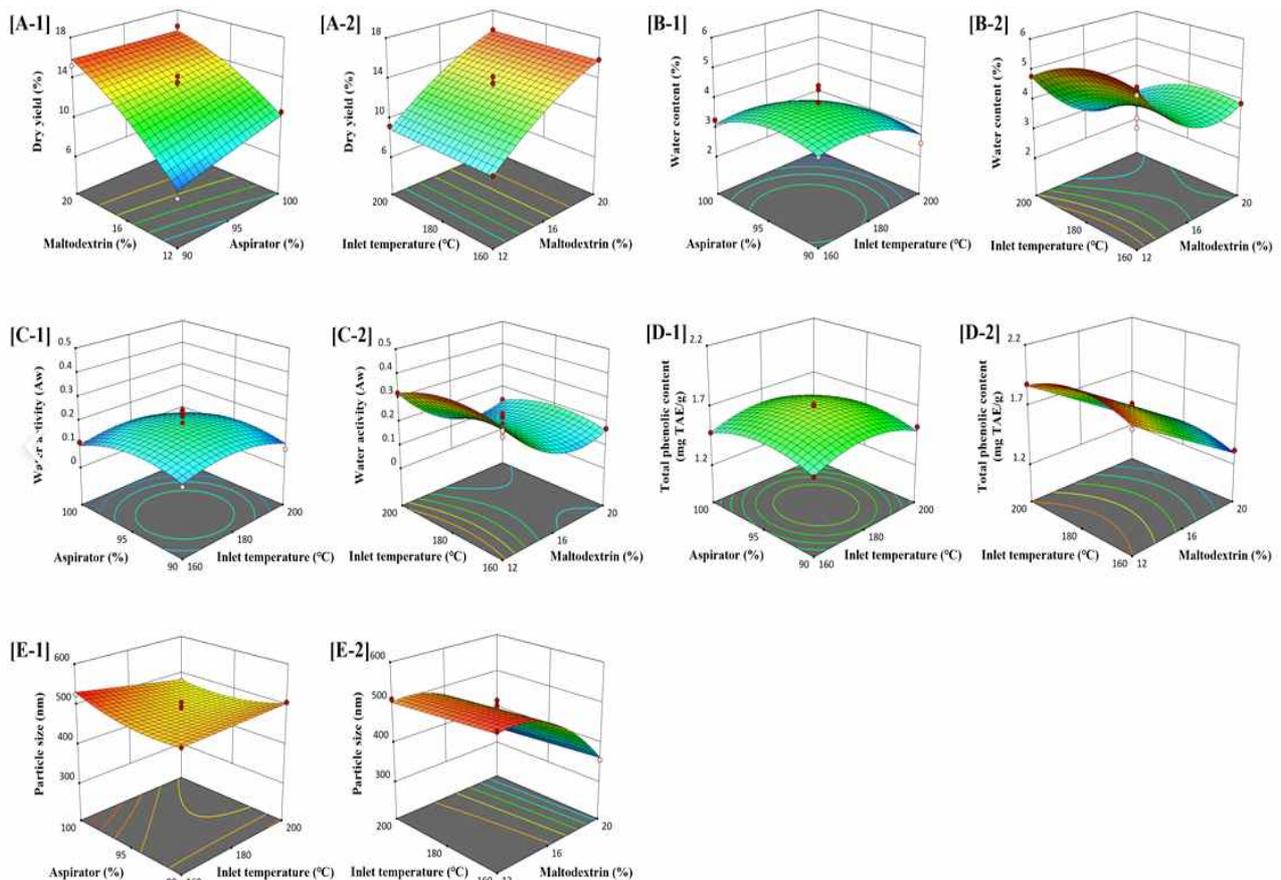


그림. Inlet 온도 (°C), aspirator 세기 (%), 말토덱스트린 함량 (%)에 따른 A: 건조 수율 (%), B: 수분 함량 (%), C: 수분 활성도 (Aw), D: 총 페놀 함량 (mg TAE/g), E: 입자크기 (nm)에 대한 반응표면분석 결과.

- 분무건조를 통한 풋꿀 분말화 진행 후 반응표면분석법을 이용하여 최적 조건 확립 및 예측 값을 얻음

표. 만족도 함수에 따른 풋갈 미세캡슐화를 위한 최적 조건 값

| | IT (°C) | Asp (%) | MD (%) | Predicted value | Desirability |
|---|---------|---------|--------|---|--------------|
| Dry yield max. | 180.00 | 90.00 | 20.00 | 15.88% | 0.9618 |
| Water content min. | 199.77 | 99.18 | 17.15 | 2.332% | 1 |
| Water activity min. | 199.96 | 99.99 | 15.56 | 0.079 | 1 |
| Total phenolic content max. | 178.69 | 95.02 | 12.35 | 1.96 mg TAE/g | 1 |
| Particle size min. | 200.00 | 96.60 | 20.00 | 339.72 nm | 0.9456 |
| Dry yield max. + water activity min. + particle size min. | 200.00 | 99.75 | 20.00 | Dry yield 15.75% Water activity 0.079 Particle size 346.44 nm | 0.9527 |

- 건조수율의 경우 inlet 온도 180°C, aspirator 90%, 말토덱스트린 20% 조건에서 15.88%를 얻을 수 있을 것으로 예측됨
- 수분활성도는 inlet 온도 199.96°C, aspirator 99.99%, 말토덱스트린 15.56% 조건에서 0.079로 예측됨
- 입자 크기는 inlet 온도 200.00°C, aspirator 96.60%, 말토덱스트린 20.00% 조건에서 339.72 nm로 예측됨
- 높은 건조수율과 낮은 수분활성도, 입자 크기를 가지는 분말을 제조하기 위해서는 inlet 온도 200.00°C, aspirator 99.75%, 말토덱스트린 20.00% 조건으로 분무건조 하는 것이 최적으로 나타남

표. 독립 변수에 따른 풋갈 분말의 제타 전위, PDI, 색도

| No | Zeta potential (mV) | polydispersity index | Color | | |
|----|---------------------|----------------------|-------|-------|-------|
| | | | L* | a* | b* |
| 1 | -11.43 | 0.571 | 92.76 | 2.66 | -6.81 |
| 2 | -11.54 | 0.571 | 92.21 | 2.35 | -6.88 |
| 3 | -11.11 | 0.571 | 85.43 | -0.12 | -6.36 |
| 4 | -10.91 | 0.571 | 85.47 | -0.08 | -6.39 |
| 5 | -10.81 | 0.571 | 92.71 | 2.89 | -4.73 |
| 6 | -11.09 | 0.571 | 94.04 | 3.51 | -5.26 |
| 7 | -12.77 | 0.571 | 95.20 | 3.73 | -7.65 |
| 8 | -12.99 | 0.571 | 93.80 | 3.04 | -7.38 |
| 9 | -11.11 | 0.571 | 85.96 | 0.34 | -3.16 |
| 10 | -10.66 | 0.571 | 94.61 | 3.60 | -6.00 |
| 11 | -11.16 | 0.571 | 94.59 | 3.42 | -7.49 |
| 12 | -12.65 | 0.571 | 93.87 | 3.01 | -7.68 |

| | | | | | |
|----|--------|-------|-------|------|-------|
| 13 | -11.48 | 0.571 | 94.64 | 3.63 | -6.94 |
| 14 | -11.40 | 0.571 | 94.03 | 3.39 | -6.69 |
| 15 | -11.72 | 0.571 | 94.35 | 3.55 | -6.72 |
| 16 | -11.52 | 0.571 | 94.60 | 3.61 | -6.94 |
| 17 | -10.74 | 0.571 | 94.52 | 3.62 | -6.72 |

- 풋갈 분말의 제타전위값은 -12.99 ~ -10.66의 범위를 가지는 것으로 나타났으며, 입자 크기의 분산도를 나타내는 PDI값은 모두 0.571로 나타나 다분산인 것으로 나타남
- 풋갈 분말은 명도 85.43 ~ 95.20, 적색도 -0.12 ~ 3.73, 황색도 -7.68 ~ -3.16의 범위를 가지는 것으로 나타남

3) 풋갈원료분말을 이용한 정제제형식품 제조

- 대량생산된 풋갈추출물(26° brix)을 이용한 정제제형식품 제조를 위한 분말 제조를 진행함
- 주관기관에서 보유하고 있는 타블렛 제조기를 이용하기 위해서는 최소 3 kg의 분말이 필요하며, 이를 제조하기 위해서는 약 20 kg 정도의 풋갈추출물 함유 용액을 제조해야 함

① 풋갈추출물

- 풋갈추출물은 주관기관으로부터 제공받은 26° brix의 것을 사용하였음

② 풋갈추출물 용액 제조

- 풋갈추출물과 수돗물을 혼합 후 shaking incubator를 이용하여 25°C에서 140 rpm의 속도로 30분간 혼합함
- 말토덱스트린을 첨가한 후 shaking incubator를 이용하여 25°C에서 140 rpm의 속도로 2시간 동안 혼합함
- 이후 초고속 균질기를 이용하여 10,000 rpm으로 5분간 균질함
- Shaking incubator를 이용하여 overnight 교반함 (140 rpm, 25°C, 14 h)

③ 풋갈추출물 용액 동결건조

- 교반이 완료된 풋갈추출물 용액은 동결건조를 위해 -80°C 냉동고에서 24시간 이상 예냉함
- Freeze dryer (LP-20, ilShinBioBase, Heestereng, Netherlands)를 이용하여 72시간 동결건조를 진행함

④ 풋갈추출물 분말 제조

- 동결건조가 끝난 풋갈추출물 용액을 모두 회수하여 믹서기로 분쇄한 후 100 mesh (150 μm) 체로 1회 여과하여 분말 사이즈를 균일하게 만듦
- 타블렛 제조 시 분말들이 잘 뭉칠 수 있게 하기 위해 1% HPMC 용액을 5% 첨가 후 혼합함

- HPMC 용액의 에탄올을 날리기 위해서 분말을 50°C Dry oven에서 3시간 동안 방치함
- 100 mesh 체 1회 여과를 거쳐 최종적인 분말을 제조함



그림. 꽃갈추출물 분말 제조과정.

⑤ 꽃갈추출물 정제제형 식품 제조

- 위와 같이 제조된 분말을 이용하여 주관기관에서 타블렛을 제조하여 시제품 생산을 진행함

[협동2(제주대학교 산학협력단)]

가. 세포실험

- 세포실험에서는 체지방감소 기능성 확인을 위한 바이오마커로서 지방세포내 지방축적, 중성지방, AMPK, ACC 등의 변화를 관찰하였다.

1) 꽃갈박 추출물 지표성분들의 세포독성 실험결과

- 본 연구에 사용된 플라보노이드 (i) hesperidin, (ii) narirutin, (iii) nobiletin, (iv) sinensetin 및 (v) tangeretin의 화학 구조(Fig. 1A)이다. PCE의 MTT assay에 대한 세포 독성을 관찰한 결과, 3T3-L1 지방세포에서는 1~100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 세포 독성의 효과는 보이지 않음을 확인하였다 (Fig. 1B). 추후 본 연구의 모든 실험에서 추출물 농도는 10과 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 수행하였다.

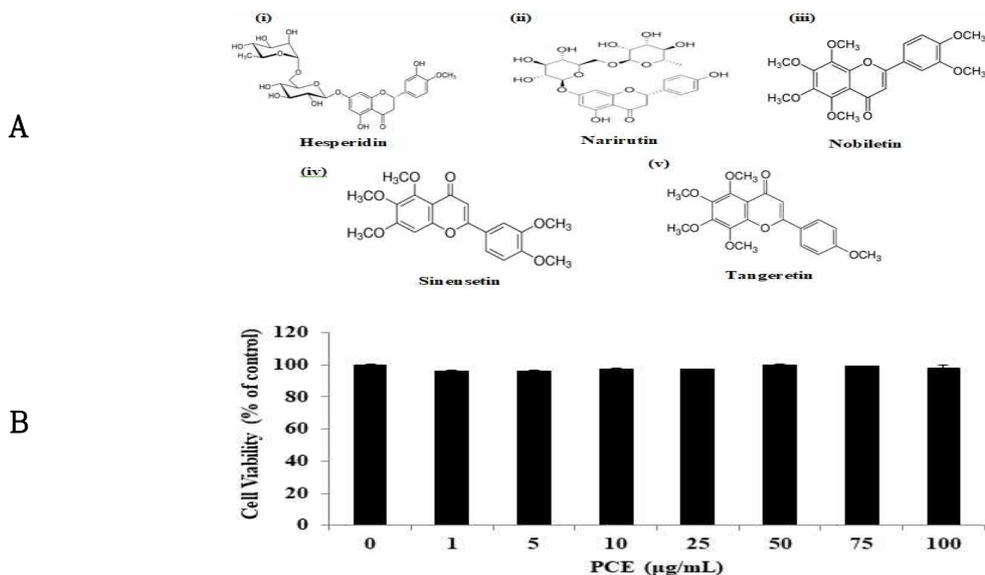


Fig.1 꽃갈박 추출물 유효성분들의 세포독성 실험 결과. (A) Chemical structure of flavonoids, (i) Hesperidin, (ii) Narirutin, (iii) Nobiletin, (iv) Sinensetin and (v) Tangeretin. (B) Effect of PCE on 3T3-L1 cell viability. 3T3-L1 cells were cultured at a density of 1×10^5 in 96well plates, after reaching the cell confluence were treated with 0-100 $\mu\text{g/mL}$ of PCE for 48hrs and cell viability was measured by the MTT assay. Data are the mean \pm SE of three replicates. Results were statistically significant differences versus control (**P < 0.005 ***P < 0.0005).

2) 지표성분들의 지방축적 및 TG 생성 억제에 미치는 효능

- PCE가 3T3-L1 지방세포에서 세포내 지질 축적과 TG 함량에 미치는 영향은 Oil Red O staining과 TG assay을 통하여 관찰하였다. 양성대조군인 Simvastatin과 플라보노이드(hesperidin, narirutin, nobiletin, sinensetin 및 tangeretin), PCE (10과 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)의 처리 모두 3T3-L1 지방세포에서 세포내 지질 축적($P < 0.0005$)과 TG 함량($P < 0.005$)을 유의적으로 감소시켰으며, PCE와 플라보노이드로 3T3-L1 지방세포의 분화가 억제되었을 때, 지질 방울의 크기는 더 작아짐을 관찰하였다(Fig. 2). 또한 PCE가 3T3-L1 지방세포의 세포내 지질 축적과 TG 함량을 농도의존적으로 억제한다는 것을 확인하였다.

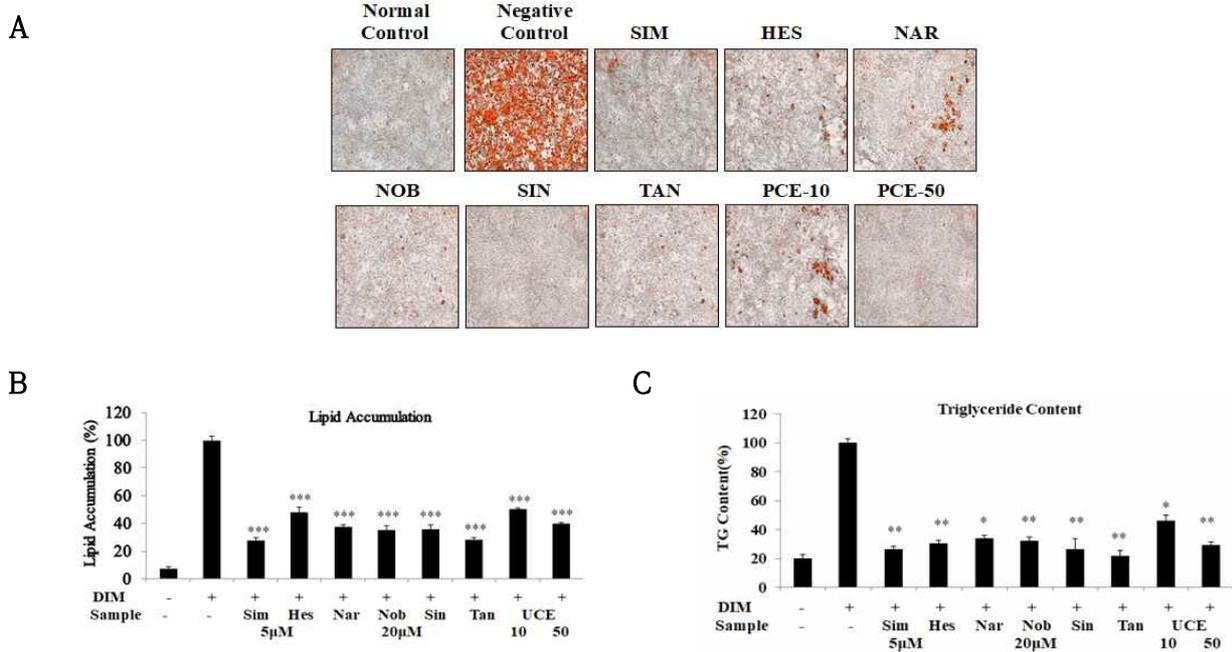


Fig.2 풋굴박 추출물 유효성분들이 세포내 지방축적 및 TG생성 억제에 미치는 영향.

Confluent 3T3-L1 preadipocytes were treated with differentiation initiation media (DIM) with or without PCE (10 and 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and flavonoids (20 μM) for 48 hrs (Day 0). Then the cell medium was replaced to a normal medium containing 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ insulin with different concentration of PCE and its flavonoids for another 48hrs (Day 2). After 48 hrs media was changed to normal growth media with or without PCE and its flavonoids changed every 2 days until day 8. The lipid accumulation was measured by Oil-Red O staining on day 8. (A) Representative images were captured using the IncuCyte Zoom at 10X magnification. (B), Quantitative measurement of lipid accumulation in 3T3-L1 adipocyte was calculated by IncuCyte ZOOM® fluorescence processing software. (C), Effect of PCE and its flavonoids on triglyceride accumulation in 3T3-L1 adipocytes. Total intracellular TG concentration was determined using commercial kits. All data are expressed as mean \pm S.E. (** $p < 0.05$ and *** $p < 0.0005$ compared with the DIM treated control).

3) 지표성분들이 지방세포내로의 포도당 유입에 미치는 효능

- 3T3-L1 지방세포에서의 당 흡수에 미치는 PCE의 효과는 2-NBDG uptake를 통하여 관찰하였다. Simvastatin (1.7배)과 대부분의 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin, Nobiletin, 및 Tangeretin)는 유의적으로 당 흡수를 증가시켰지만, Sinensetin은 대조군에 비해 유의미한 효과를 나타내지 못하였다(Fig. 3A). PCE는 농도 의존적으로 세포내로 유입되는 당의 양을 증가시켰으며 대조군에 비해 PCE 농도 10 $\mu\text{g/mL}$ 에서 1.17배, 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 1.69배 증가함을 확인하였다(Fig. 3B). 따라서 PCE와 플라보노이드가 3T3-L1 지방세포에서 당 흡수 촉진활성을 가지고 있음을 확인하였다.

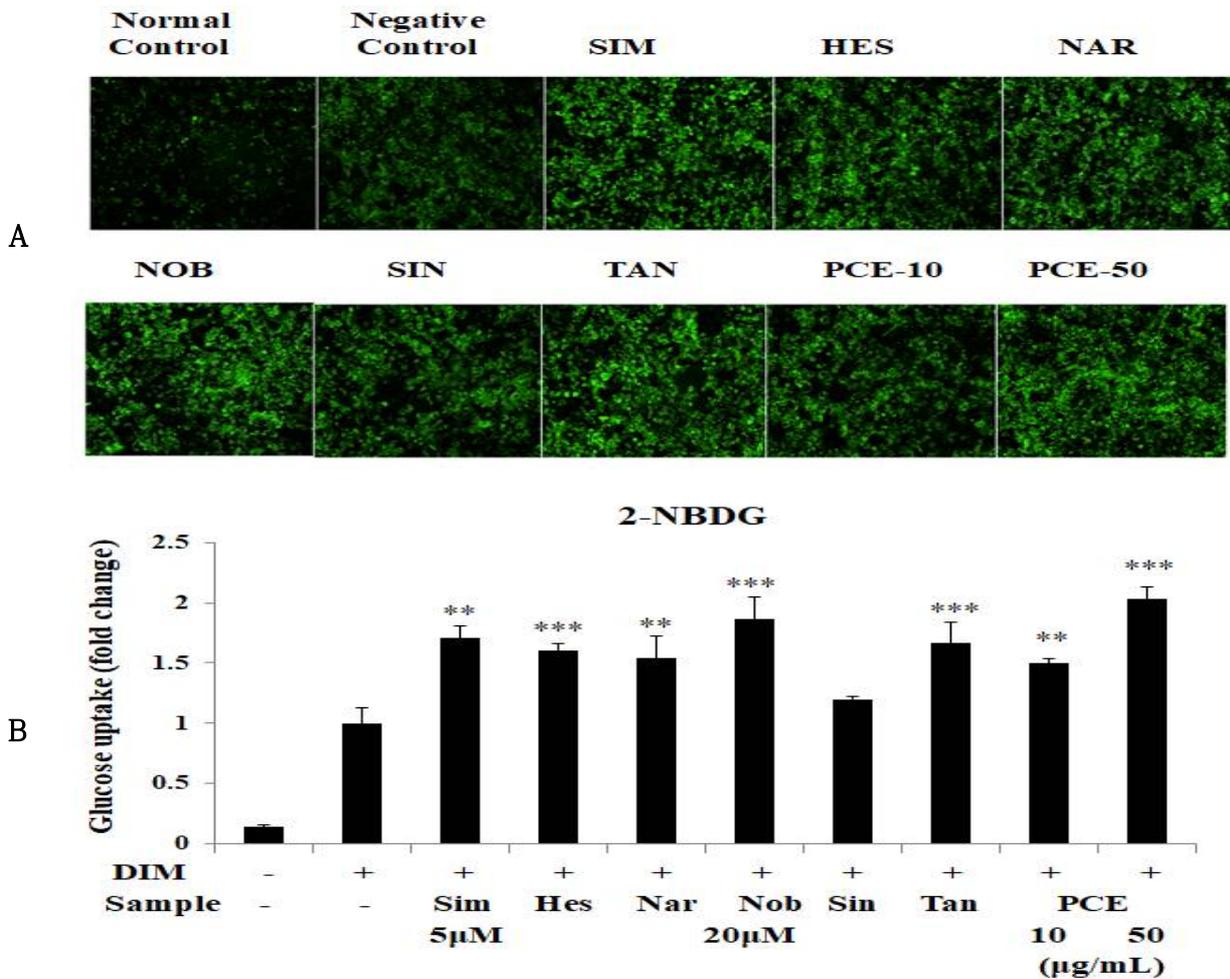


Fig.3. 꽃굴박 추출물 유효성분들이 세포내 포도당 유입에 미치는 영향. Differentiated 3T3-L1 cells were incubated with PCE and its flavonoids for 24hrs. Then incubated 2-NBDG (40 μM) for 30 min. (A) Cells were washed with PBS for 3 times, and images were taken from IncuCyte ZOOM® fluorescence microscope at 20X magnification. (B) Total fluorescent intensity calculated using IncuCyte ZOOM® fluorescent processing software. Values are mean \pm SE, n=3, *p < 0.05 vs control.

4) 지표성분들이 세포내 AMPK 신호전달에 미치는 효능

- PCE와 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin, Nobiletin, Sinensetin 및 Tangeretin)의 지방세포 분화 억제 효과가 AMPK와 연이은 ACCR의 인산화, HMGCR의 발현에 어떠한 연관이 있는지를 확인하기 위하여 western blot으로 분석하였고, 그 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 분석 결과 Simvastatin과 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin, Nobiletin, Sinensetin 및 Tangereti

n), PCE (10, 50 $\mu\text{g/mL}$)의 처리는 AMPK와 ACC 양쪽의 인산화 수치를 유의미하게 증가시켰으며, 3T3-L1 지방세포에서 HMGCR의 발현 수치를 감소시켰다. 더욱이 PCE와 플라보노이드는 p-ACC (Fig. 4B)의 수준을 증가시킴으로써 ACC의 단백질 수치를 유의미하게 억제시켰다. 이러한 연구결과는 PCE와 플라보노이드가 AMPK 신호전달경로를 통하여 지방세포 분화를 억제한다는 것을 확인시켜 주었다.

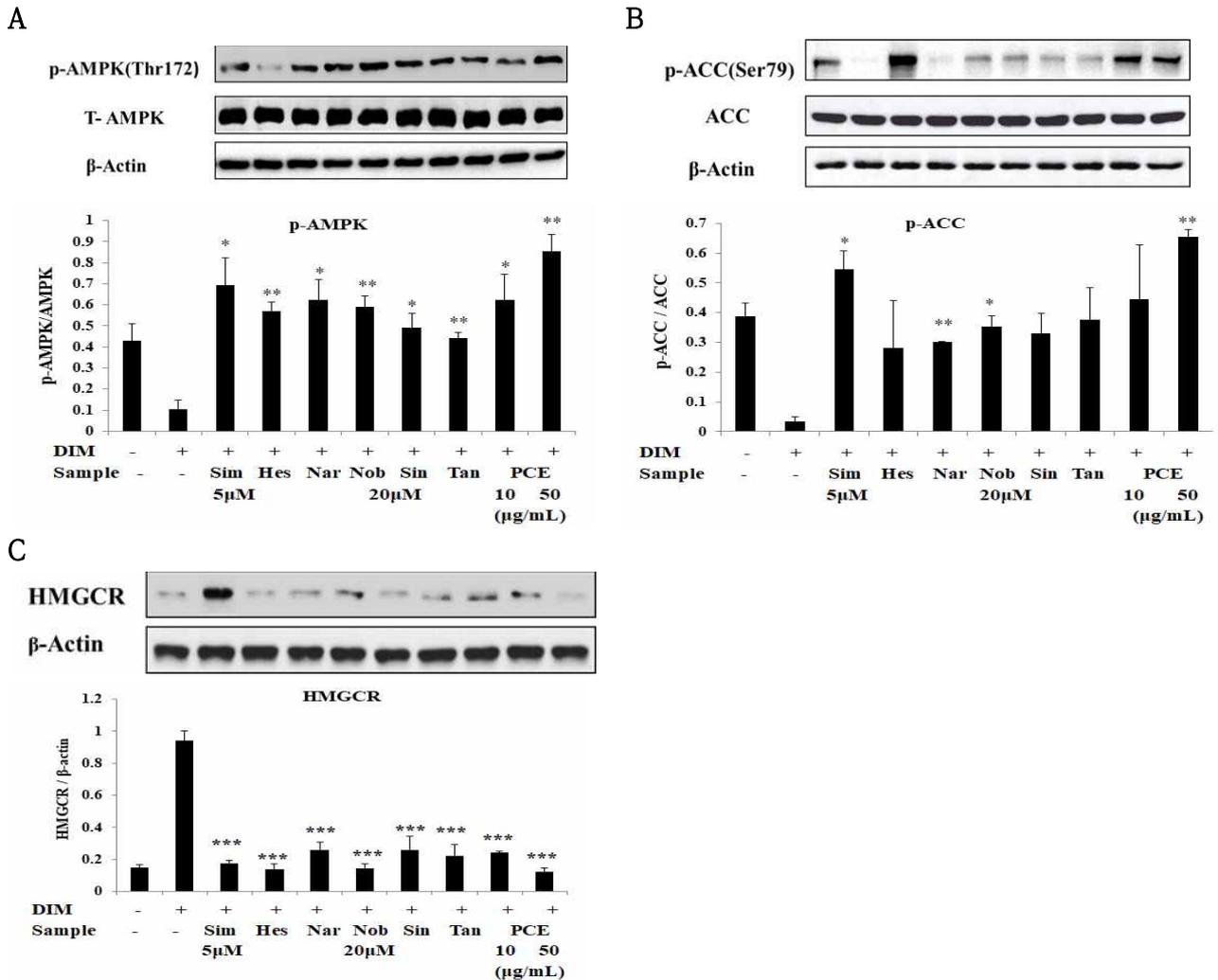


Fig.4. 꽃갈락 추출물 유효성분들이 AMPK, ACC의 인산화 및 HMGCR 발현에 미치는 효능.

3T3-L1 preadipocytes were differentiated in the absence or in the presence of flavonoids (20 μM) and PCE (10 & 50 $\mu\text{g/mL}$) for 8 days. The phosphorylation levels of AMPK and ACC and HMGCR expression were evaluated by Western blotting. (A) Phosphorylation levels of AMPK (Thr172). (B) The phosphorylation levels of pACC (Ser79). (C) The expression levels of HMGCR. Relative protein levels were quantified using densitometry analysis and normalized to β -actin. The experiments were repeated three times with similar results. The results are normalized to the DIM treated control group.* $P<0.05$, ** $P<0.005$ compared to the DIM treated control group.

5) 플라보노이드와 AMPK 간의 분자 도킹 연구 결과

- 분자 도킹으로 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin, Nobiletin, Sinensetin 및 Tangeretin)와 AMPK의 결합 친화도와 메커니즘을 확인하였다. 도킹 전후 플라보노이드의 형태를 비교한 결과 플라보노이드의 결합은 AMPK γ -소단위의 유도 적합에 의해 영향을 받은 것으로 확인되었다(Fig. 5). Hesperidin (-9.0 kcal/mol)과 Narirutin (-9.6 kcal/mol)의 결합 친화력이 다른 플라보노이드인 Nobiletin (-7.3 kcal/mol), Sinensetin (-8.1 kcal/mol), Tangeretin (-7.8 kcal/mol)에 비해 높았다.

al/mol)보다 높은 경향을 나타내었다(Table 3). Hesperidin의 Lys126, Lys148, Tyr120, Arg151, Ile149, Ile145, His150, His168, Val224, Thr88이 소수성 상호작용에 참여하고, Arg223, Asp89, Thr86, Met84는 수소결합을 형성하였다. Narirutin의 Lys148, His168, His150, Ile145, Gln319가 소수성 상호작용에 참여하고, Asn92, Thr86, Thr88, Lys242, Lys126, Arg223, His168, Ser315가 수소결합을 형성하였다. AMPK-플라보노이드(Hesperidin, Narirutin)의 결합 친화력은 AMPK-DCA와 유사하였으며, 소수성 상호작용과 수소결합에 의하여 AMPK의 γ 소단위 반응점에 매우 안정적으로 결합한다는 것을 확인하였다.

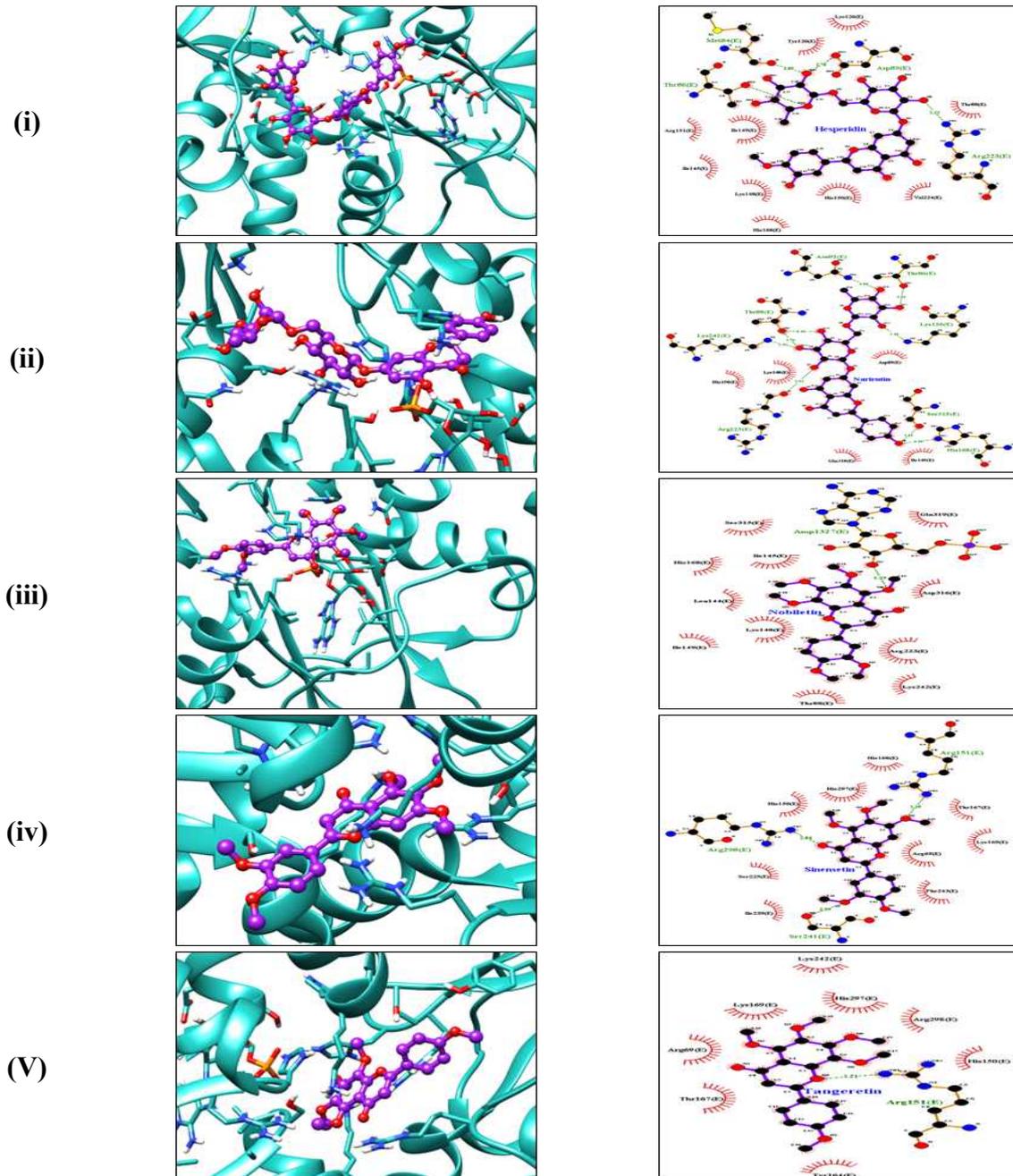


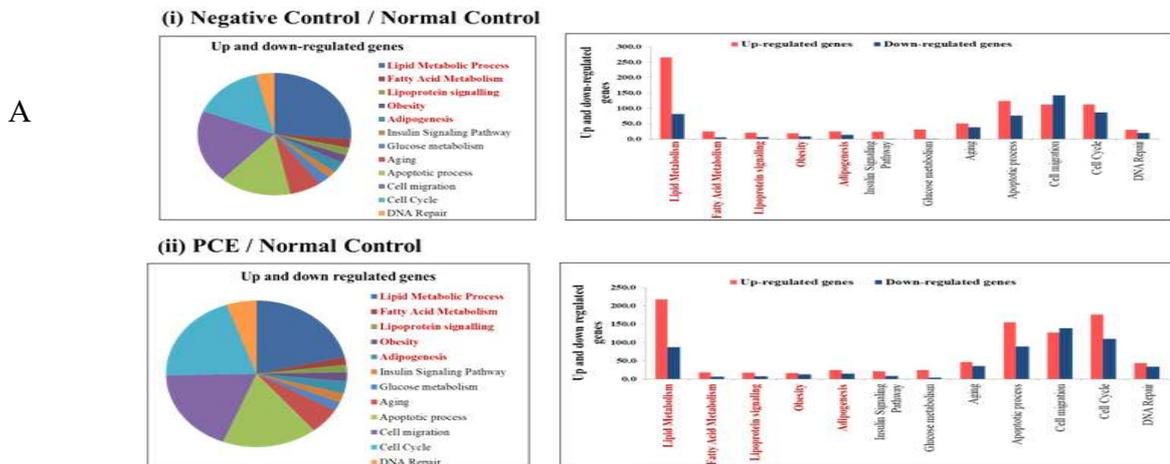
Fig.5. 꽃굴박 추출물 유효성분들과 AMPK와의 분자 도킹 모델. (A) Interactions of Flavonoids and γ -subunit of AMPK. (B) Interaction bonds such as hydrogen and hydrophobic bonds between Flavonoids and γ -subunit of AMPK and analyzed by the Ligplot program where half red circles indicate the residues participating in hydrophobic interactions and the dot lines show hydrogen bonds.

Table.3 Binding affinity profiles of Flavonoids and γ -subunit of AMPK

| Target | Ligand | Binding affinity (in kcal/mol) | Interaction bonds | |
|--|------------|--------------------------------|--|--|
| | | | Hydrophobic | Hydrogen bond |
| AMPK (Adenosine monophosphate-activated protein kinase) | Hesperidin | -9 | Lys126,Lys148,Tyr120,Arg151, Ile149, Ile145,His150,His168,Val224,Thr88 | Arg223,Asp89,Thr86, Met84 |
| | Narirutin | -9.7 | Lys148, His168, His150, Ile145, Gln319. | Asn92, Thr86, Thr88, Lys242, Lys126 Arg223,His168,Ser315, |
| | Nobiletin | -7.3 | Lys242,Lys148,Leu144,Arg223, Ile149, Ile145,Gln319,His168,Asp316, Ser315, Thr88. | Amp1327 |
| | Sinensetin | -8.1 | Arg69, Lys169, Thr167, Phe243, Ile239, Ser225,His150, His297,His168 | Arg151,Arg298,Ser241, |
| | Tangeretin | -7.8 | Lys242,Lys169,His297,Arg298,Arg69,Thr167,His150,Tyr164 | Arg151 |
| | DCA | -9.6 | Lys126,Asp89,Ile149,Tyr120,Leu121,Arg223,Ile145, Amp1327,Gln319,Asp316,Ser315 | Lys148,His150,Lys242, Thr86,Thr88, Arg151 |

6) 지표성분들이 지방세포의 유전자 발현에 미치는 효능

- PCE와 플라보노이드가 3T3-L1 지방세포의 지질대사 관련 유전자들의 발현에 어떠한 영향을 미치는지를 확인하기 위하여 RNA 염기서열을 분석하였다(Fig. 6A). Gene Ontology (GO) 분석 결과, PCE 처리한 실험군에서 상향조절(2.0배 이상)된 55개의 유전자와 하향조절(0.5배 미만)된 9개의 유전자가 대조군 수준으로 회복되는 것을 관찰하였다(Table 1, 2). 지방세포 내에서 지질대사 관련 단백질들의 긴밀한 상호관계를 알아보기 위하여 STRING 분석을 한 결과, Fasn, Mogat2, Elovl3, Dhrs4, Hmgcs1, Hmgcl1, Decr1, Nshdl, Oxsm, Acadv1, Aclly, Cers4, Lrp5, Gba 및 Snca 유전자가 핵심 유전자로 확인되었다(Fig. 6B). 이러한 결과는 3T3-L1 지방세포에서 PCE가 지질대사 관련 유전자들의 발현을 조절하여 항비만 효능을 나타냄을 시사한다.



B

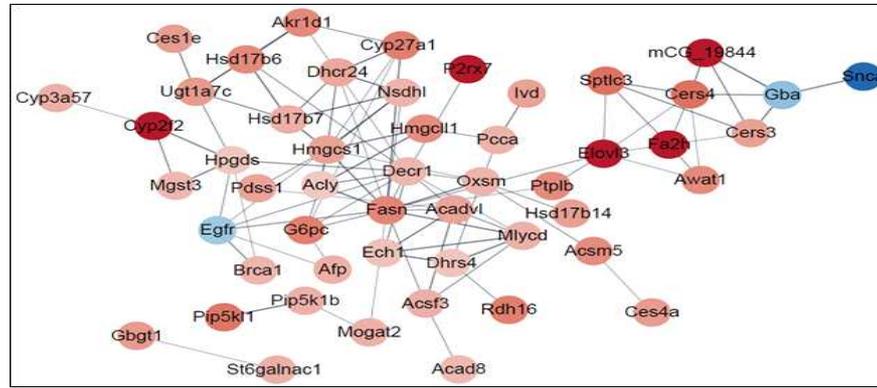


Fig.6. 꽃갈박 추출물 유효성분들이 지방세포내 유전자 발현에 미치는 효능. GO analysis of 3T3-L1 adipocytes compared to the undifferentiated cells (A) The pie chart indicates functional categorization of the differentially expressed genes in 3T3-L1 adipocytes, and the bar graph represents the number of genes up and down-regulated. (B) PPI network of normalized genes related to lipid metabolism in PCE treated 3T3-L1 adipocytes. Red circles represent up-regulated genes, and blue circles represent down-regulated genes in 3T3-L1 adipocytes

Table.1 Up-regulated genes normalized by PCE

| Gene symbol | Negative /Normal | Positive /Normal | HES /Normal | NAR /Normal | NOB /Normal | SIN /Normal | TAN /Normal | PCE-10 /Normal | PCE-50 /Normal |
|-------------|------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------|----------------|
| Cyp27a1 | 5.512 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.023 | 1.028 | 3.319 | 1.033 |
| Ugt1a7c | 3.730 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.011 | 1.013 | 1.014 | 1.015 |
| Mgst3 | 2.534 | 2.013 | 0.569 | 0.452 | 2.122 | 0.773 | 0.575 | 3.064 | 1.013 |
| Hsd17b7 | 2.853 | 3.566 | 0.949 | 0.623 | 1.542 | 1.309 | 0.826 | 2.027 | 1.206 |
| Rdh16 | 5.475 | 4.566 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.029 | 1.034 | 1.038 | 1.040 |
| Hsd17b6 | 4.646 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.014 | 1.017 | 1.018 | 1.020 |
| Apon | 2.811 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.007 | 1.009 | 1.010 | 1.010 |
| Alox8 | 7.021 | 7.048 | 7.233 | 1.836 | 6.855 | 2.255 | 2.310 | 1.095 | 1.101 |
| Acadv1 | 3.291 | 2.604 | 0.739 | 0.727 | 1.292 | 1.060 | 0.752 | 2.562 | 1.210 |
| Acly | 2.016 | 1.529 | 0.842 | 0.736 | 1.024 | 1.017 | 0.918 | 1.584 | 0.983 |
| G6pc | 5.434 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.035 | 1.042 | 7.794 | 1.049 |
| Fasn | 5.018 | 3.173 | 0.572 | 0.664 | 1.511 | 1.137 | 1.078 | 2.419 | 0.883 |
| Akr1c12 | 3.154 | 1.943 | 3.137 | 3.318 | 2.656 | 2.191 | 1.812 | 1.847 | 0.876 |
| Hmgcs1 | 3.380 | 4.001 | 0.506 | 0.397 | 1.376 | 0.915 | 0.866 | 1.776 | 1.204 |
| Oxsm | 2.670 | 2.264 | 0.791 | 1.165 | 1.545 | 2.150 | 1.150 | 1.249 | 1.293 |
| Dhrs4 | 2.191 | 2.559 | 1.087 | 0.993 | 1.059 | 0.926 | 1.086 | 1.744 | 0.936 |
| Pcca | 2.685 | 2.794 | 0.584 | 0.702 | 1.103 | 0.982 | 0.991 | 2.097 | 0.896 |
| Hacd2 | 4.586 | 4.129 | 0.609 | 0.364 | 1.018 | 0.514 | 0.498 | 1.583 | 1.082 |
| Pip5k1b | 2.795 | 1.872 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.011 | 1.013 | 1.014 | 1.015 |
| Elov13 | 98.167 | 66.758 | 1.000 | 1.000 | 1.941 | 1.154 | 1.188 | 3.736 | 1.224 |

Table.2 Down-regulated genes normalized by PCE

| Gene symbol | Negative /Normal | Positive /Normal | HES /Normal | NAR /Normal | NOB /Normal | SIN /Normal | TAN /Normal | PCE-10 /Normal | PCE-50 /Normal |
|-------------|------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------|----------------|
| Egfr | 0.347 | 0.278 | 0.810 | 0.695 | 0.576 | 0.283 | 0.546 | 0.512 | 0.841 |
| Scpep1 | 0.439 | 0.539 | 1.336 | 1.325 | 1.008 | 1.048 | 1.102 | 0.638 | 1.021 |
| Scpep1 | 0.439 | 0.539 | 1.336 | 1.325 | 1.008 | 1.048 | 1.102 | 0.638 | 1.021 |
| Efr3b | 0.440 | 0.293 | 0.610 | 0.626 | 0.112 | 0.202 | 0.139 | 1.036 | 1.118 |
| Lrp5 | 0.408 | 0.352 | 0.596 | 0.609 | 0.493 | 0.809 | 0.679 | 0.799 | 0.800 |
| Gba | 0.289 | 0.383 | 0.870 | 0.638 | 0.522 | 0.718 | 0.707 | 0.718 | 0.847 |
| Snca | 0.113 | 0.196 | 0.505 | 0.113 | 0.113 | 0.635 | 0.521 | 0.659 | 0.927 |
| Gdpd3 | 0.438 | 0.991 | 0.726 | 0.496 | 0.837 | 0.716 | 0.555 | 0.379 | 0.801 |
| Plscr1 | 0.422 | 0.600 | 2.626 | 2.879 | 1.268 | 1.711 | 1.751 | 0.541 | 1.131 |

7) 세포실험 고찰

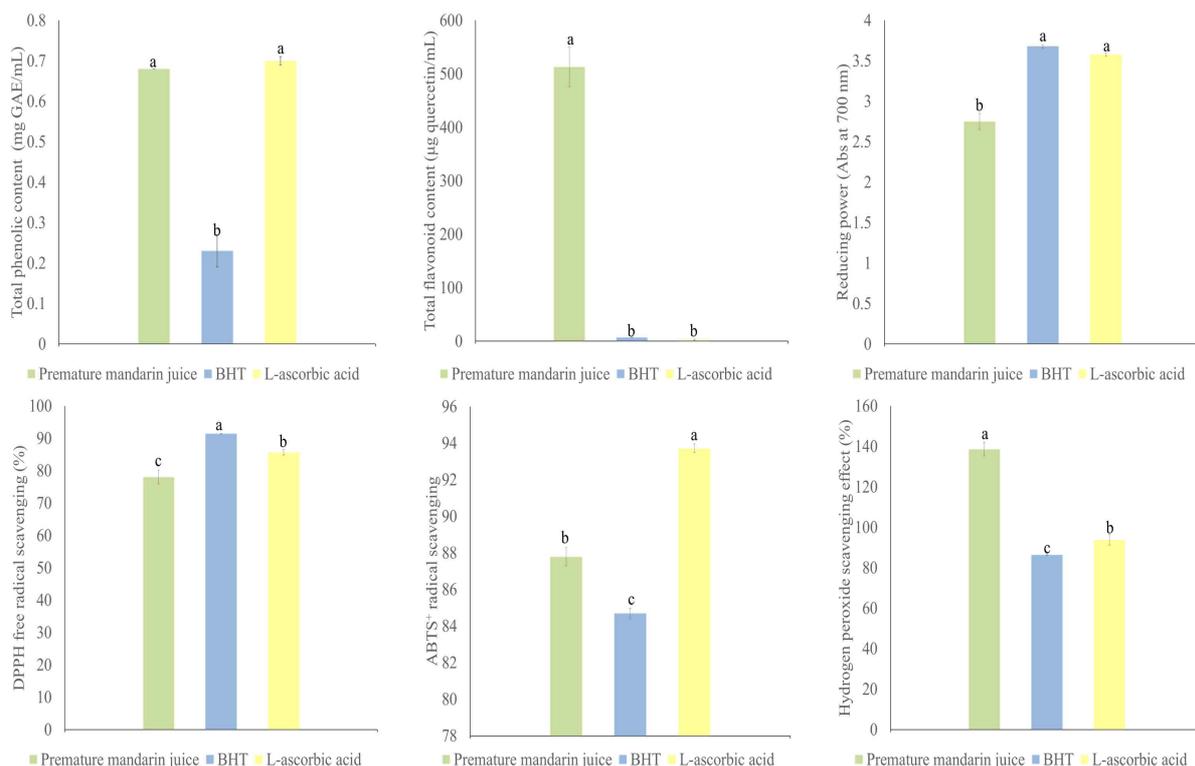
- 본 연구는 3T3-L1 지방세포에서 풋귤 추출물(PCE)과 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin, Nobiletin, Sinensetin, Tangeretin)의 항비만 효과를 평가하기 위해 수행되었다. 실험 결과, PCE와 플라보노이드는 3T3-L1 지방세포에서 세포내 지질 축적과 TG 함량을 억제했으며 AMPK와 ACC 인산화를 증가시켰고 HMGCR의 발현을 감소시켰으며 지질대사 관련 유전자인 Fasn, Mogat2, Elovl3, Dhhrs4, Gba and Snca Hmgcs1, Hmgcll1, Decr1, Nshdl, Oxsm, Acadvl 및 Acly 유전자들의 발현을 조절하여 항비만 효능을 나타내었다. 이전 연구에서 3T3-L1 지방세포에 Citrus aurantium Linné와 플라보노이드를 처리하면 세포내 지질 축적과 TG 함량이 농도 의존적으로 억제된다는 내용이 보고된 바 있다(21, 22). 최근 연구에 따르면 Hesperidin은 C/EBP α 와 PPAR γ 의 발현을 조절하여 지질 축적을 억제함으로써 3T3-L1 전지방세포의 분화를 억제한다고 보고되고 있다(23). 이 결과들은 PCE와 플라보노이드가 3T3-L1 지방세포에서 세포내 지질 축적과 TG 함량을 억제하는 데 중요한 역할을 하고 있음을 시사한다. 본 연구 결과, PCE와 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin, Nobiletin, Tangeretin)가 3T3-L1 지방세포에서 당 흡수 촉진활성을 가지고 있음을 확인하였다. 최근 Citrus aurantium이 3T3-L1 지방세포에서 Glut4의 발현을 촉진시켜 당 흡수를 증가시키고 당 분해를 촉진시키는 활성에 대한 내용이 보고된 바 있다(24). 또한 3T3-L1 지방세포에서 Nobiletin과 Tangeretin의 당 흡수 촉진활성이 보고되고 있다(25). 이러한 연구 결과는 PCE와 플라보노이드가 3T3-L1 지방세포에서 당 흡수 촉진활성이 있다는 것을 시사한다. 본 연구에서 PCE와 플라보노이드의 처리는 AMPK, ACC의 인산화 수준을 증가시키고 3T3-L1 지방세포에서 HMGCR의 발현을 억제하는 것을 관찰하였다. 이전 연구에서는 Citrus aurantium L. 추출물과 플라보노이드가 ACC를 활성화하여 인산화 및 SREBP-1억제를 통하여 간접적으로 ACC 수치를 감소시켰다고 보고된 바 있다(26, 27). ACC는 acetyl-CoA가 malonyl-CoA로 전환되는 것을 촉진하며 지방산의 새로운 합성에 사용된다(27). AMPK는 비만 및 관련 대사질환을 조절하는 중요한 조절자(27)로서 포도당과 지질대사에 직접적인 영향을 미쳐 포도당 흡수를 개선하고 ACC와 같은 수많은 신호 성분의 조절을 통해 지질 축적을 억제한다(28). 이전 보고에 따르면 Citrus aurantium L.는 비만과 제2형 당뇨병(26) 등 대사질환에 유익한 효과가 있다는 내용이 보고된 바 있다. PCE와 플라보노이드에 의한 AMPK의 활성화는 HMGCR 발현을 억제함으로써 3T3-L1 지방세포의 콜레스테롤 합성을 더욱 감소시켰다. 이전 연구에서 플라보노이드가 HMGCR의 발현 억제를 통하여 세포내 지질 축적과 TG 함량의 감소를 초래한다는 사실이 밝혀졌으며 HMGCR 또한 콜레스테롤 생합성을 조절한다고 보고되고 있다(29).

한편 PCE와 플라보노이드의 하나인 Simvastatin을 양성 대조군으로 사용한 실험군에서도 지질 및 TG 축적을 감소시키는 동시에 AMPK, ACC의 인산화 수준을 증가시켰으며 3T3-L1 지방세포의 HMGCR 발현을 억제하는 것으로 나타났다. 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin)와 AMPK 사이의 결합 상호작용을 이해하기 위하여 분자 도킹을 수행함으로써 이들의 결합 친화도와 메카니즘을 알아보았다. 보고된 바와 같이 플라보노이드는 DCA (ADP 아날로그)와 유사하기 때문에 7-diethylaminochmarin- 3-carbonyl amino-ADPs (DCA)를 가진 AMPK의 3D 구조가 기질로 발견되었다. 3D 영상을 비교해 본 결과 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin)-AMPK 복합체와 DCA-AMPK 복합체의 도킹 포즈가 서로 유사하였다. 도킹 결과는 플라보노이드(Hesperidin, Narirutin)가 분자 수준에서 AMPK 활성제의 소재로 사용될 수 있는 가능성을 보여주었다. RNA 염기서열 분석 결과 PCE 및 플라보노이드가 Pasn, Mogat2, Elovl3, Dhrr4, Gba와 Snca Hmgcs1, Hmgll1, Decr1, Nshdl, Oxsm, Acv1 및 Acly 유전자를 포함한 지질대사 관련 유전자들의 발현을 조절한다는 것을 확인하였다. 이전 연구에서 지방산 합성효소가 acetyl-CoA, malonyl-CoA, NADPH에서 나오는 긴 사슬 지방산의 형성을 촉진한다고 보고되었다. fasn은 acyl 운반체 단백질로 7개의 촉매 작용을 가진 다기능성 단백질이다(30). Mogat2는 2-monoacylglycerol과 지방 acyl-CoA로부터 diacylglycerol의 형성을 촉진하며 불포화 지방산을 함유한 모노아실글리세롤을 선호한다(31). 최근의 연구는 Mogat2가 장내세포에서 triacylglycerol의 resynthesize를 촉진함으로써 소장 식이지방 흡수에 중요한 역할을 한다고 제시하고 있다(32). Elovl3는 지방산 신장주기를 구성하는 4가지 반응의 첫 번째와 속도제한 반응을 촉진하며, 세포막 지질 및 지질 매개체의 전구체로서 다수의 생물학적 과정에 관여하는 서로 다른 길이의 포화 및 단일불포화 VLCFA의 생성과 활성이 더 높은 포화 및 불포화 acyl-CoA 기질에 대한 활성도를 보이는 효소이다(33, 34). dhrr4은 all-trans-retinal과 9-cis retinal을 감소시킨다. 또한 NADP를 공동 인자(co-factor)로 하여 All-trans-retinol의 산화를 촉진할 수 있지만 효율은 훨씬 낮으며, pyrimidine-4-aldehyde, 3-benzoylpyridine, 4-benzoylpyridine, menadione 및 4-hexanoylpyridine과 같은 방향성 고리를 가진 alkyl phenyl ketones과 alpha-dicarbonyl compounds를 감소시킨다(35, 36). gba는 복합 지질의 감소와 세포막의 회전에 중심적인 역할(37)을 하며, 콜레스테롤 대사에도 큰 역할(38)을 한다. 또한 glucosyl ceramide에서 콜레스테롤로 포도당을 전달하는 transglucosylation reaction을 통해 콜레스테롤의 glycosylation를 촉매한다(39). snca는 synuclein 계열의 alpha-synuclein으로 베타시뉴클레인과 감마시뉴클레인을 가지고 있으며 synaptic vesicle trafficking와 그에 따른 신경전달물질 방출(40)과 같은 시냅스 활동에서 많은 부분을 담당하는 뉴런 단백질이다. Hmgcs1 (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA Synthase 1)은 아세틸-CoA의 응결을 촉매하여 HMG-CoA를 형성하고, HMG-CoA reductase (HMGCR)에 의하여 mevalonate로 변화하는 과정을 촉진한다(41, 42). Hmgcll1 (3-hydroxy-3-Methydroxy-3-Methyl-CoA Lyase Lyase 1)은 (S)-3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA의 cation-dependent cleavage를 아세틸-CoA와 ketogenesis의 핵심 단계인 acetoacetate로 촉매하여 non-hepatic animal tissues에서의 에너지 생산을 조절한다(43, 44) Decr1 (2,4-Dienoyl-CoA Reductase 1)은 불포화지방 enoyl-CoA esters의 베타산화 및 신진대사에 참여하는 효소다(45). Decr1은 미토콘드리아에서 짝수와 홀수 위치 모두에서 이중 결합을 갖는 불포화 지방 enoyl-CoA esters의 신진대사를 조절하며, NADP-dependent reduction of 2,4-dienoyl-CoA를 촉매로 하여 Trans-3-enoyl-CoA를 생산한다(46). NADHL은 NAD(P)H steroid dehydrogenase와 유사하게, post-squalene cholesterol biosynthesis에서 두 개의 C-4 메틸 그룹의 순차 제거에 관여하는 sterol dehydrogenase 또는 decarboxylase을 암호화한다(48). OXSM (3-Oxoacyl-ACP Synthase, Mitochondrial)은 미토콘드리아 기능에 필요한 긴 체인 지방산뿐만 아니라 리포산의 생합성에도 관

여를 하며, OXSM과 관련된 경로 역시 지방산 생합성 및 palmitate 생합성이다(49, 50). ACA DVL은 Acyl-CoA 탈수소효소로, palmitoyl-CoA, myristoyl-CoA 및 stearoyl-CoA와 같은 매우 긴 체인의 지방산을 에스테르한다(51). ACLY (ATP Citrate Lyase)는 주로 옥살로아세테이트와 아세틸-CoA로 citrate 분열을 촉진하는데, 후자는 novo cholesterol과 지방산 합성의 공통 기질 역할을 한다(52). 따라서 3T3-L1 지방세포에서 PCE에 의한 지질 축적은 Fasn, Mogat2, Elovl3, Dhcr4, Hmgcs1, Hmgcll1, Dhcr24 및 Decr1 유전자의 발현정도에 따라 결정된다고 할 수 있다. 결론적으로, 본 연구에서는 PCE와 플라보노이드들이 3T3-L1 지방세포에서 AMPK 신호 경로를 활성화함으로써 지질 축적과 TG 함량을 억제한다는 것을 확인하였다. 또한 PCE와 플라보노이드는 세포내 포도당 흡수를 증가시켰고, 이것은 PCE가 3T3-L1 지방세포에서 포도당 대사에 영향을 미친다는 것을 나타내는 것이다. PCE의 처리는 3T3-L1 지방세포에서 지질대사와 관련된 Pasn, Mogat2, Elovl3, Dhcr4, Gba와 Snca Hmgcs1, Hmgcll1, Decr1, Nshdl, Oxsm, Acv1 및 Acly 유전자들의 발현을 조절하였다. 이러한 결과들은 PCE가 비만억제제 또는 치료제의 소재로 사용될 수 있는 가능성을 제시하는 것으로서 향후 지속적인 연구를 위한 귀중한 자료로서의 그 가치가 매우 높을 것으로 사료된다.

나. 풋갈박 착즙액의 in vitro 항산화 효능

1) 풋갈박 착즙액, 합성 항산화제 Butylated hydroxytoluene (BHT), 천연항산화제 L-ascorbic acid (AA)의 항산화 성분과 in vitro 항산화 활성 측정



[그림] 풋갈박 착즙액의 in vitro 항산화 효능 평가 (In vitro antioxidant activity of premature mandarin juice (PMJ), BHT, and L-ascorbic acid (AA). Solid content of PMJ was 7.17%. Concentrations of BHT and AA were used as 1000 ppm in this experiment. Each bar represents mean \pm SD of three replicates. a, b, and c indicate statistical significant difference ($p < 0.05$.)

- 꾀 착즙액의 in vitro 항산화 효능을 식품에서 주로 사용하는 합성항산화제인 Butylated hydroxytoluene (BHT)과 천연항산화제인 L-ascorbic acid을 positive control로 비교하였음.
- 꾀밭 착즙액의 총 폴리페놀 함량은 0.68 mg GAE/mL 이고, positive control로 사용된 1000 ppm 농도의 BHT와 L-ascorbic acid의 경우 0.23 ± 0.01 , 0.70 ± 0.04 mg GAE/mL로 나타났음. 꾀밭 착즙액의 경우 BHT 보다 높은 폴리페놀 함량을 나타냈으며, L-ascorbic acid와는 유의적인 차이가 없었음.
- 꾀밭 착즙액의 총 플라보노이드 함량은 512.89 ± 36.92 μ g QE/mL로 나타났으며, BHT와 L-ascorbic acid는 각각 7.07 ± 1.45 , 2.30 ± 0.62 μ g QE/mL로 나타났음. 꾀밭 착즙액이 positive control인 BHT와 L-ascorbic acid보다 높은 플라보노이드 함량을 보였으며, 꾀밭 착즙액의 페놀류는 대부분 플라보노이드류임을 확인할 수 있었음.
- 꾀밭 착즙액의 DPPH free radical scavenging activity는 $78.04 \pm 2.17\%$, BHT와 L-ascorbic acid의 경우 85.65 ± 0.81 , $91.42 \pm 0.19\%$ 로 나타났고 꾀밭 착즙액의 경우 DPPH free radical scavenging activity가 50% 이상으로 높은 free radical 소거 활성을 보였음.
- 꾀밭 착즙액의 ABTS+ radical scavenging activity는 $87.79 \pm 0.50\%$, BHT와 L-ascorbic acid의 경우 84.69 ± 0.23 , $93.72 \pm 0.30\%$ 로 나타났음. 꾀밭 착즙액의 경우 합성 항산화제인 BHT보다 높은 ABTS+ radical 소거 활성을 보였음.
- 꾀밭 착즙액의 hydrogen peroxide scavenging activity는 $138.66 \pm 3.33\%$, BHT와 L-ascorbic acid는 86.37 ± 2.68 , $93.86 \pm 0.13\%$ 로 나타났음. 꾀밭 착즙액의 흡광도가 405 nm에서 높아 100%가 넘는 활성을 보인 것으로 예상됨.
- 꾀밭 착즙액의 reducing power는 2.75 ± 0.10 , BHT와 L-ascorbic acid는 각각 3.68 ± 0.02 , 3.58 ± 0.02 로 나타나 BHT와 L-ascorbic acid보다 꾀밭 착즙액의 reducing power가 유의적으로 낮게 나타났음.

다. 동물실험

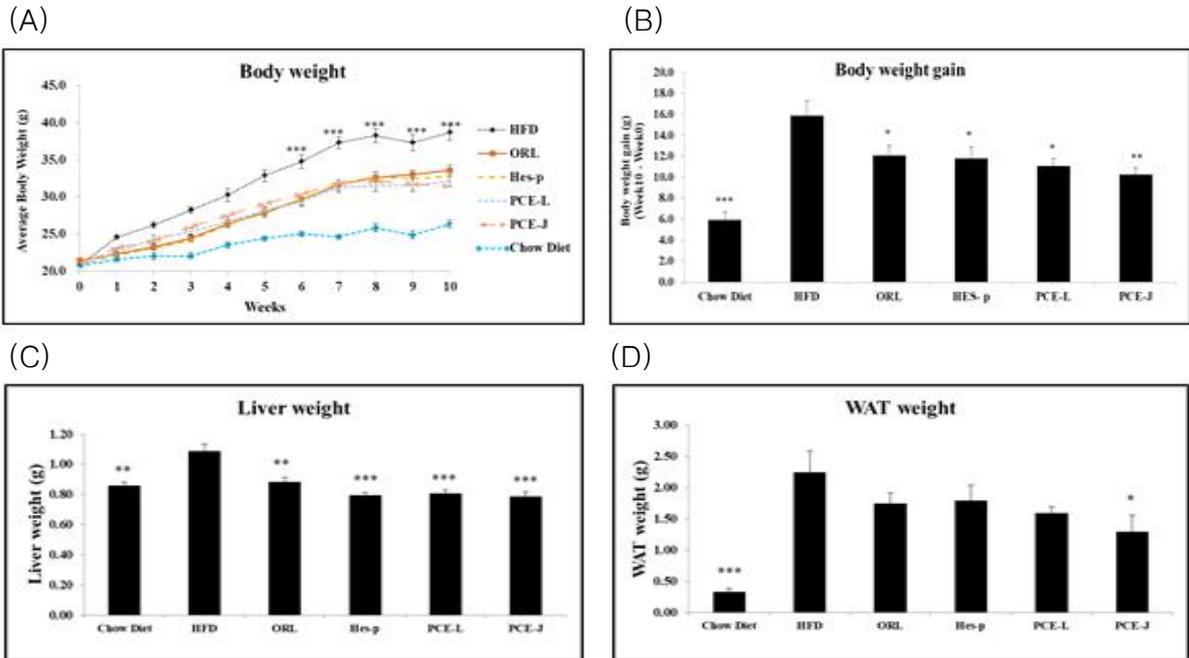
- 동물실험에서는 체지방감소 기능성 확인을 위한 바이오마커로서 중성지방, 체지방량, 변지방량, 인슐린, AMPK, ACC, SREBP, UCP 등의 변화를 관찰하였다. 또한 콜레스테롤관련 기능성 평가를 위한 바이오마커로서 HMGCR, ACAT, Total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, SREBP-2 등의 변화를 관찰하였다.

1) 항비만 효능평가 결과

① 체중 및 장기중량 변화

- 고지방사료(HFD)를 먹인 군에서의 체중, 간의 무게 및 체지방(WAT) 무게는 정상대조군(CD)에 비하여 유의성 있게 증가하였으며, 이는 HFD가 실험동물의 비만을 유도했음을 나타내며 그 결과는 <Fig. 1>에 나타내었다.

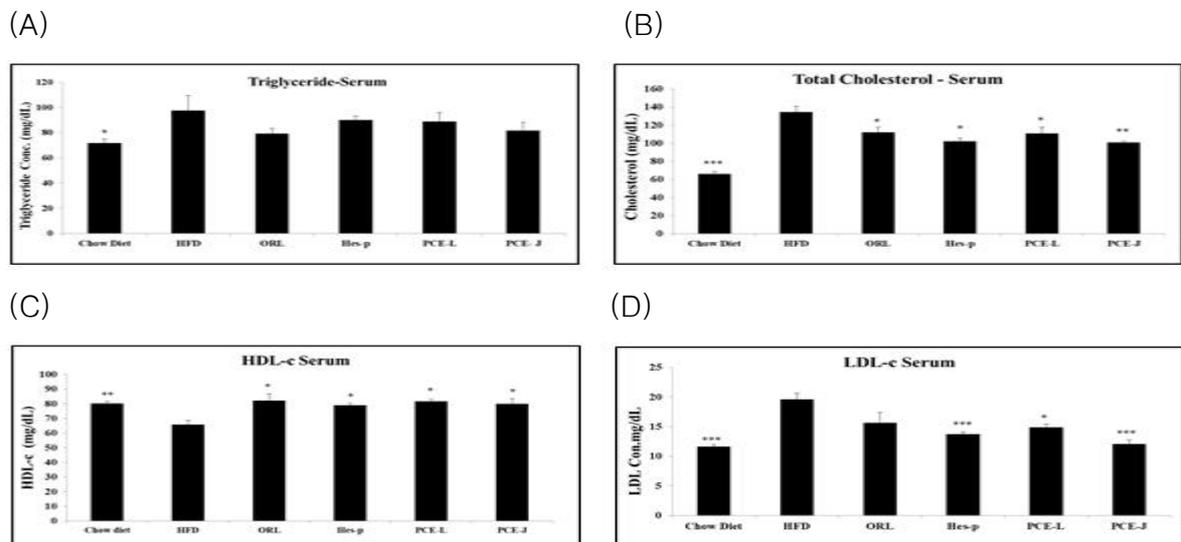
- 실험군에서의 체중, 간의 무게 및 체지방(WAT) 무게는 고지방사료군(HFD)에 비하여 유의성 있게 감소하였으며 이는 Hes과 PCE가 항비만 효능이 있음을 나타낸다.



〈Fig. 1〉 Effect of PCE on body weight (gain), liver and WAT weight of HFD-fed C57BL/6 mice. (A) Average body weight of chow Diet, high fat diet (HFD), Orlistat (ORL), Hesperidin (Hes), PCE Lim and PCE Jeju farm fed animals were measured weekly. (B) Body weight gain (Week10 - Week 0).(C) The liver weight (D) WAT weight. Values are mean \pm SEM (n=7). ***p < 0.0005 and **p < 0.005 and * p < 0.05

② 혈청 내의 지질지표의 변화

- 실험군에서의 혈청 내 TG, TC 및 LDL의 농도는 고지방사료군(HFD)에 비하여 유의성 있게 감소하였으며, 혈청 내 HDL의 농도는 유의성 있게 증가됨을 나타내었다 〈Fig. 2〉 .

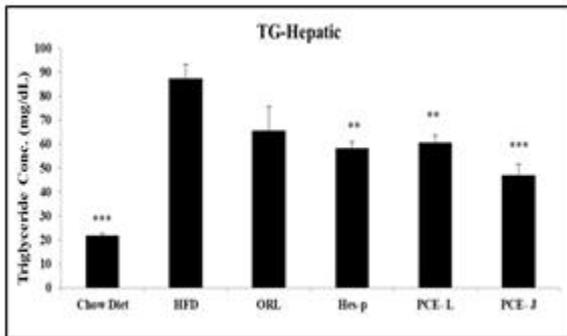


〈Fig. 2〉 Effects of PCE on serum biochemical parameters in HFD mice. (A) Triglyceride (TG); (B) Total cholesterol (TC); (C) High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) (D) Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C). Values are mean \pm SEM (n=7). ***p < 0.0005 and **p < 0.005 and * p < 0.05

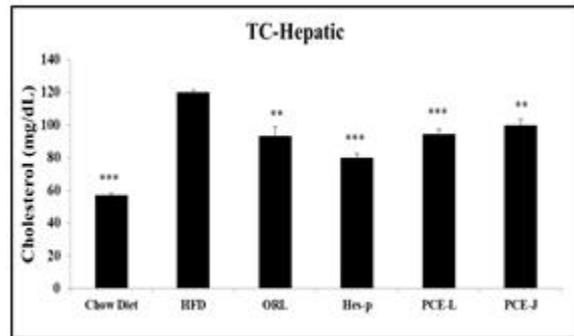
③ 간세포 내의 지질지표의 변화

- 고지방사료(HFD)를 먹인 비만군에서의 간세포 내 TG 및 TC의 농도는 정상대조군(CD)에 비하여 유의성 있게 증가하였으며, 실험군에서의 간세포 내 TG 및 TC의 농도는 HFD군에 비하여 유의성 있게 감소됨을 확인하였다 <Fig. 3> .

(A)



(B)



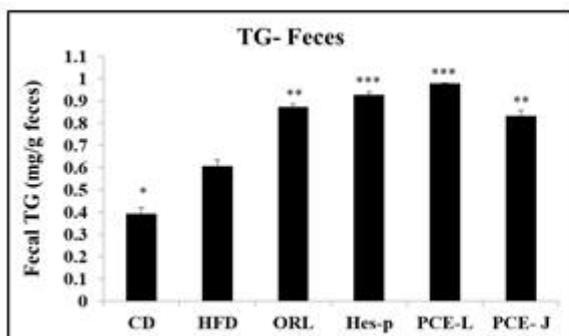
<Fig. 3> Effects of PCE on hepatic TG and TC in HFD mice. (A) Triglyceride (TG); (B) Total cholesterol (TC); Values are mean \pm SEM (n=7). ***p < 0.0005 and **p < 0.005 and * p < 0.05

④ 분변 내의 지질지표의 변화

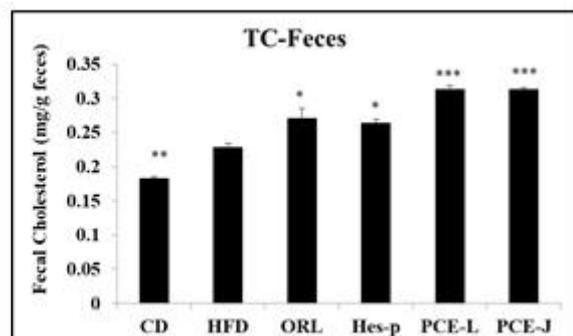
- 고지방사료(HFD)를 먹인 비만군에서의 분변 내 TG 및 TC의 농도는 정상대조군(CD)에 비하여 유의성 있게 증가하였으며, HFD군에 비하여 실험군에서의 분변 내 TG 및 TC의 농도 또한 유의성 있게 증가함을 확인하였다 <Fig. 4> .

- 이러한 결과는 Hes과 PCE가 TG 및 TC의 분변으로 배출을 증대함으로써 낮은 혈중 TG 및 TC 농도를 유지하는 것으로 사료된다.

(A)



(B)

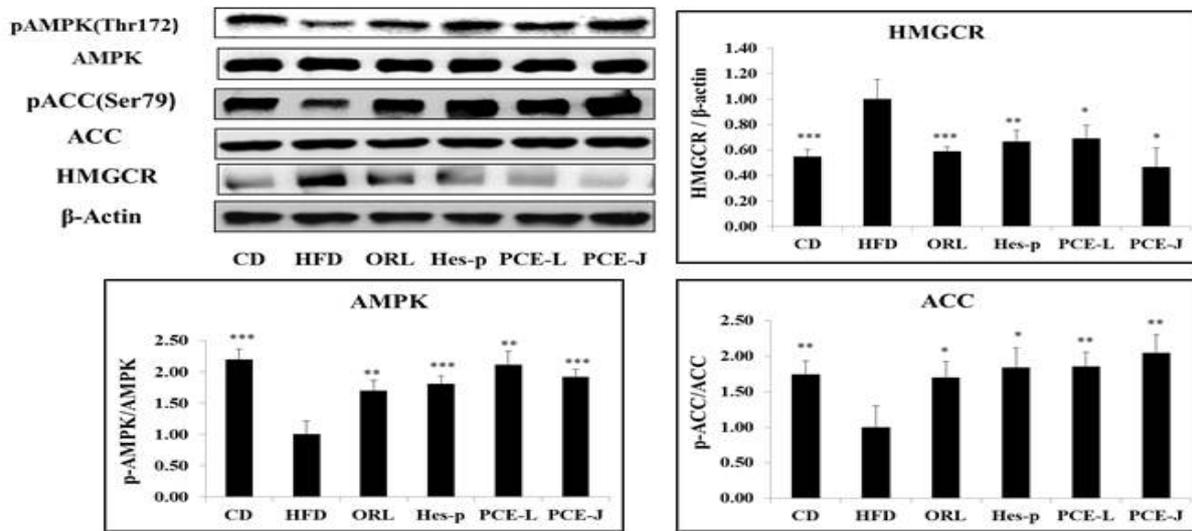


<Fig. 4> Effects of PCE on Fecal TG and TC in HFD mice. (A) Triglyceride (TG); (B) Total cholesterol (TC); Values are mean \pm SEM (n=7). ***p < 0.0005 and **p < 0.005 and * p < 0.05

⑤ 간세포 내에서 실험물질이 AMPK와 ACC 신호전달경로에 미치는 효과

- 간세포 내에서 실험군은 고지방사료군(HFD)에 비하여 지방합성을 억제하는 AMPK와 ACC의 인산화가 현저하게 증가하는 것으로 나타났으며, 콜레스테롤 합성효소인 HMGCR의 발현은 감소됨을 확인하였다 <Fig. 5> .

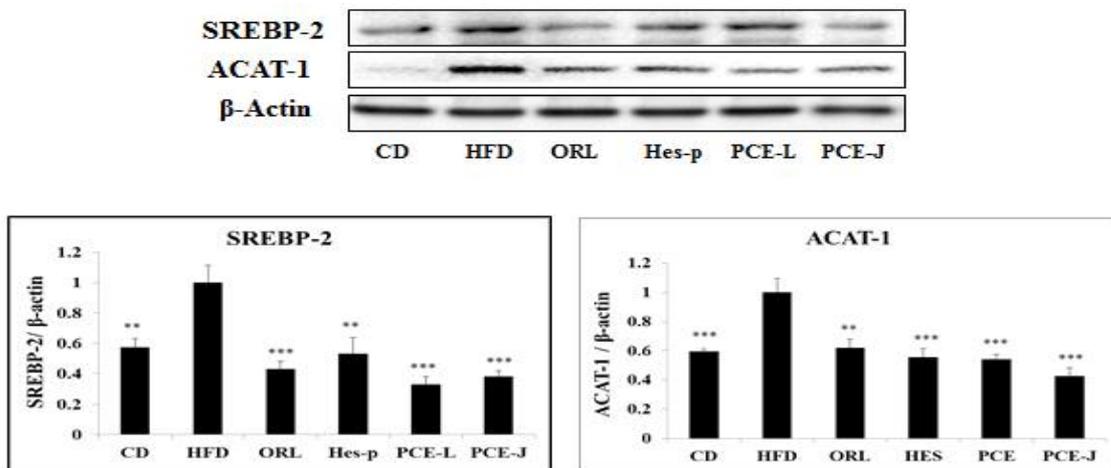
- 이러한 결과는 Hes과 PCE가 AMPK 기능을 활성화시키고 ACC 활성을 억제하며 HMGCR의 발현을 억제함으로써 항비만 효능을 갖는 것으로 사료된다.



〈Fig. 5〉 Effects of PCE on phosphorylation of the AMPK signaling pathway in liver tissue of HFD-fed obesity mice. The phosphorylation of AMPK, ACC and the expression HMGCR proteins were detected by western blot analysis with specific antibodies. Phosphorylation of AMPK and ACC protein expressions were normalized to β -actin, respectively. β -actin was used as internal control. Densitometry analysis was done with Image J Software. Fold-change in comparison with that of the HFD group.

⑥ 간세포 내에서 실험물질이 SREBP-2와 ACAT-1 발현에 미치는 효과

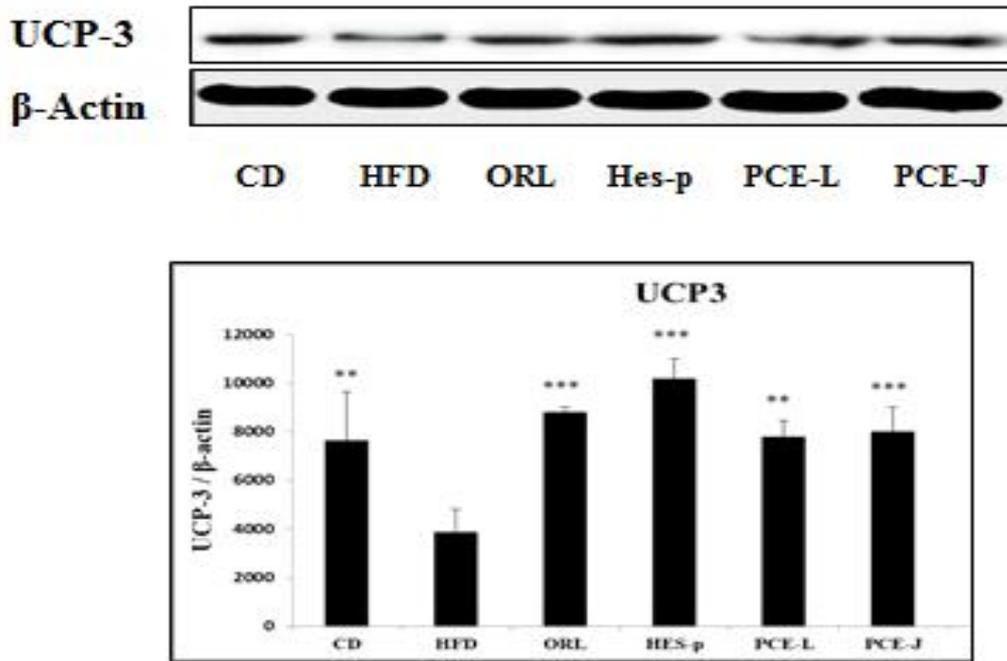
- 간세포 내에서 실험군은 고지방사료군(HFD)에 비하여 콜레스테롤 합성을 조절하는 인자인 SREBP-2와 ACAT-1의 발현이 현저하게 감소됨을 확인하였다 〈Fig. 6〉.
- 이러한 결과는 Hes과 PCE가 SREBP-2의 발현을 억제하여 HMGCR의 발현을 저해하고 Acetate-CoA를 합성하는 ACAT-1의 활성을 억제함으로써 콜레스테롤 합성 억제효능을 갖는 것으로 사료된다.



〈Fig. 6〉 Effects of PCE, HES and LEC on SREBP-2 and ACAT-1 expression in liver tissue of HFD-fed obesity mice. The expression of SREBP-2 and ACAT-1 proteins were detected by western blot analysis with specific antibodies. β β -actin was used as internal control. Densitometry analysis was done with Image J Software. Fold-change in comparison with that of the HFD group. Data were triplicated

⑦ 근육조직 내에서 실험물질이 UCP-3 발현에 미치는 효과

- 근육조직 내에서 실험군은 고지방사료군(HFD)에 비하여 UCP-3의 발현이 유의성 있게 증가함을 확인하였다 <Fig. 7> .
- 이러한 결과는 Hes과 PCE가 근육조직 내에서 미토콘드리아 막 사이 공간(Intermembrane Space)의 Proton gradient를 붕괴시킴으로써 ATP 합성을 저해하여 항비만 효능을 갖게 하는 것으로 사료된다.

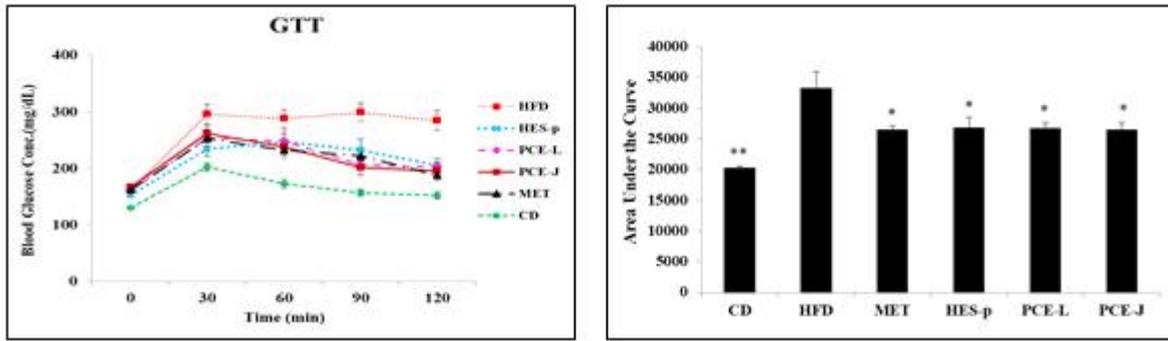


<Fig. 7> Effects of PCE, HES and LEC on UCP-3 expression in muscle tissue of HFD-fed obesity mice. The expression of UCP-3 proteins were detected by western blot analysis with specific antibodies. β -actin was used as internal control. Densitometry analysis was done with Image J Software. Fold-change in comparison with that of the HFD group. Data were triplicated.

2) 항당뇨 효능평가 결과

① 당부하도검사 (Glucose Tolerance Test; GTT)

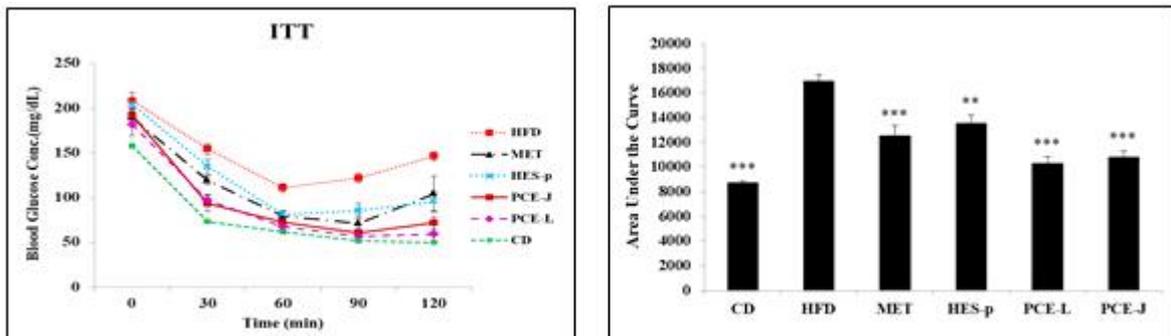
- 당부하 30분 후 비만군의 혈당 수치가 크게 상승했으며 특히 고지방사료군(HFD)의 혈당 수치가 가장 높았다 <Fig. 8> .
- 실험군의 혈당 농도는 HFD군에 비하여 시간이 경과함에 따라 감소하였으며, 당부하 120분 후 실험군의 혈당 농도는 HFD군에 비하여 현저히 감소하여 전체적인 Area Under the Curve (AUC)가 유의성 있게 감소하였다.
- 따라서 실험군은 HFD군에 비하여 혈중 당 저해능력이 우수한 것으로 나타났다.



〈Fig. 8〉 Effect of PCE on glucose tolerance in High-fat diet fed obese mice. GTT was performed after 9 weeks of samples administration to High-fat diet fed mice. Mice were fasted for 16 hrs and blood glucose levels were measured at 0, 30, 60, 90, and 120 min after administration of glucose (1g/kg BW).

② 인슐린 감수성 검사 (Insulin Tolerance Test; ITT)

- 인슐린 투여 후 혈당변화는 고지방사료군(HFD)과 비교하여 볼 때 실험군 및 양성대조군(MET)에서 120분간 혈당이 유의성 있게 감소하여 HFD군에 비하여 전반적인 AUC가 유의성 있게 감소하였다. 〈Fig. 9〉 .
- 따라서 실험군의 인슐린 감수성은 HFD군에 비하여 현저히 증가되는 것으로 나타났다.



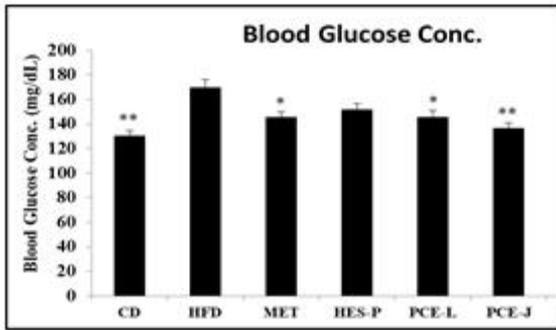
〈Fig. 9〉 Effect of PCE on Insulin tolerance in High-fat diet fed obese mice. ITT was performed after 9 weeks of samples administration to High-fat diet fed mice. Mice were fasted for 6 hrs and insulin (1U/kg BW) was injected intraperitoneally. Blood glucose levels were measured at 0, 30, 60, 90, and 120 min after insulin injection.

③ 인슐린 저항성 검사 (HOMA-IR)

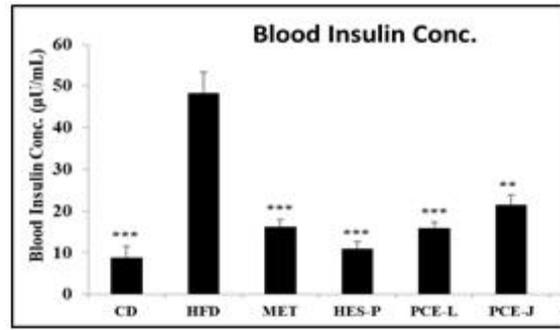
- 고지방사료(HFD)를 먹인 비만군은 정상대조군(CD)에 비하여 높은 공복혈당을 나타내었다 〈Fig. 10A〉 .
- 실험 종료 후 측정된 공복혈당 인슐린 농도는 정상대조군(CD)에 비하여 HFD를 먹인 비만군에서 현저히 증가하였다 〈Fig. 10B〉 .
- 실험군에서의 혈당, 인슐린 및 HOMA-IR의 수준은 HFD군에 비하여 유의성 있게 감소됨을 확인하였다.

- 따라서 실험군은 HFD군에 비하여 인슐린 저항성이 현저히 개선되는 것으로 나타났다.

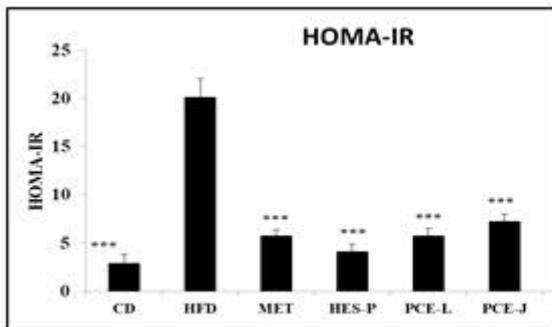
(A)



(B)



(C)



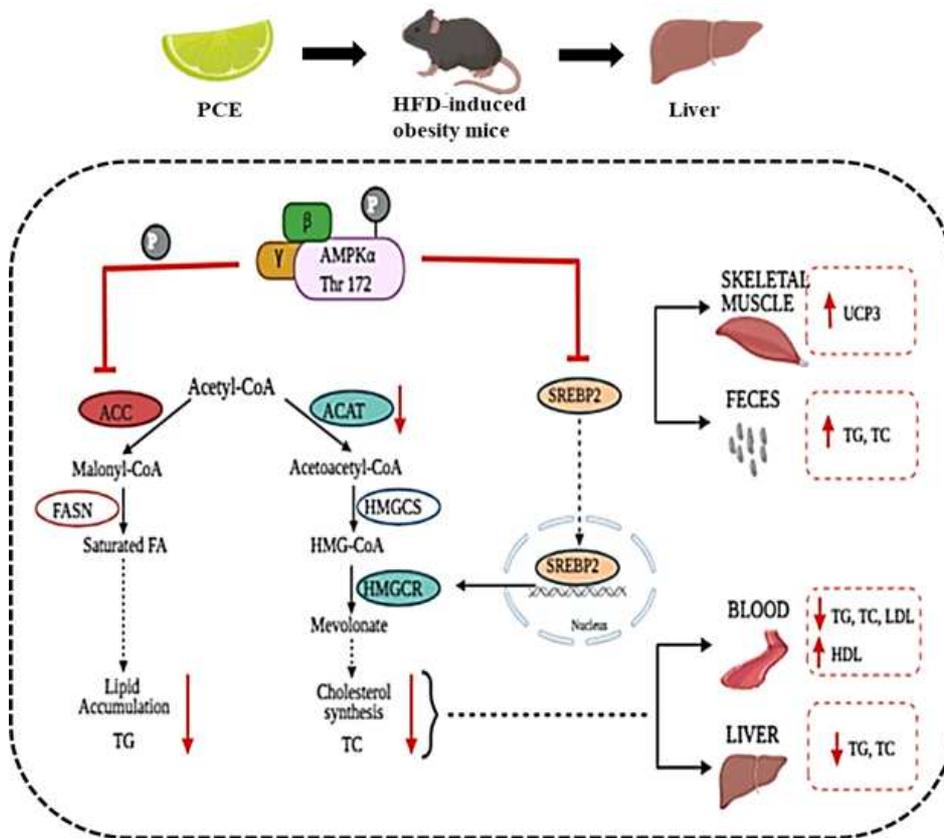
❖ Insulin Resistance Index

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Glucose (mg/dL)} \times \text{Insulin (}\mu\text{U/mL)}}{405}$$

<Fig. 10> Effect of PCE on Insulin tolerance in High-fat diet fed obese mice. ITT was performed after at the end of samples administration to High-fat diet fed mice. Mice were fasted for 6 hrs and insulin (1U/kg BW) was injected intraperitoneally. Blood glucose levels were measured at 0, 30, 60, 90, and 120 min after insulin injection.

3) 동물실험 고찰

- Hes과 PCE은 실험군의 체중, 간의 무게 및 체지방(WAT) 무게를 고지방사료군(HFD)에 비하여 유의성 있게 감소시켰으며 이는 Hes과 PCE가 항비만 효능에 효과가 있음을 나타낸다. 이는 Hes과 PCE가 간세포 내의 AMPK 기능을 활성화시키고 ACC 활성을 억제하여 지방의 합성을 억제함으로써 항비만 효능을 갖는 것으로 사료된다.
- 또한 Hes과 PCE은 간세포 내의 SREBP-2의 발현을 억제하여 HMGCR의 발현을 저해하고 Acetateacety-CoA를 합성하는 ACAT-1의 활성을 억제함으로써 콜레스테롤 합성을 억제하는 것으로 사료된다. 따라서 이는 혈청 내 TG, TC 및 LDL의 농도 및 간세포 내 TG 및 TC의 농도를 낮추어 주는 효과로 나타났다. 또한 Hes과 PCE은 TG 및 TC의 분변 배출을 증대함으로써 낮은 혈중 TG 및 TC 농도를 유지하는 것으로 사료된다.
- Hes과 PCE은 근육조직 내에서 미토콘드리아 막 사이 공간(Intermembrane Space)의 Proton gradient를 붕괴시킴으로써 ATP 합성을 저해함으로써 지방의 산화를 촉진시킴으로써 항비만 효능을 갖게 하는 것으로 사료된다. 아울러 Hes과 PCE은 인슐린 감수성 및 인슐린 저항성을 현저히 개선하는 것으로 나타났는데, 이는 이들 화합물들이 항당뇨와 항비만 모두에 관여하는 AMPK 활성화의 효능에 기인하는 것으로 사료된다.



<Scheme. 2> Anti-obesity effect of PCE

라. 풋귤 및 완숙귤의 in vitro 항산화 효능

[표] 풋귤 및 완숙귤의 부위별(착즙박, 착즙액) 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량

| | PMP3) | PMJ | MP | MJ |
|---------------------------------------|-------------------|---------------|---------------|---------------|
| Total phenolic contents (mg GAE/g) | 94.04 ± 6.251)a2) | 37.05 ± 4.16c | 79.15 ± 2.38b | 31.20 ± 3.29c |
| Total flavonoid contents (mg QE/g) | 43.99 ± 3.73a | 4.20 ± 1.04c | 23.51 ± 0.81b | 0.09 ± 0.46d |

1) Each value is meanstandard deviation.

2) Means with different letters (a-d) in the same row are significantly different by Duncan' s multiple range test (p<0.05).

3) PMP: premature mandarin peel, PMJ: premature mandarin juice, MP: mandarin peel, MJ: mandarin juice

- 풋귤의 총 폴리페놀 함량은 착즙박에서 94.04, 착즙액에서 37.05 mg GAE/g으로 나타났으며, 그 중 플라보노이드 함량은 착즙박 43.99 mg QE/g, 착즙액 4.20 mg QE/g으로 나타났음.

- 완숙귤의 총 폴리페놀 함량은 착즙박에서 79.15 mg GAE/g, 착즙액에서 31.20 mg GAE/g으로 나타났으며, 플라보노이드 함량은 착즙박, 착즙액에서 각각 23.51, 0.09 mg QE/g으로 나타남.

- 풋귤은 완숙귤보다 높은 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량이 나타났으며, 껍이 완숙될수록 기능성 성분의 감소가 일어남.

- 착즙액보다 착즙박에 더 많은 기능성 성분이 함유됨.

[표] 풋귤 및 완숙귤의 부위별(착즙박, 착즙액) flavonoid 함량 분석

| Mandarin extract | Narirutin (mg/g) | Hesperidin (mg/g) | Naringenin (mg/g) | Hesperetin (mg/g) |
|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|
| PMP ³⁾ | 51.35±3.961 ^{a2)} | 76.81±7.32 ^a | ND | ND |
| PMJ | 6.84±0.30 ^c | 3.48±0.20 ^c | ND | ND |
| MP | 24.00±1.49 ^b | 62.12±4.28 ^b | ND | ND |
| MJ | 3.08±0.01 ^c | 2.25±0.01 ^c | ND | ND |

1) Each value is mean standard deviation.

2) Means with different letters (a-d) in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

3) PMP: premature mandarin peel methanol extract, PMJ: premature mandarin juice, MP: mandarin peel methanol extract, MJ: mandarin juice, HD: hesperidin, HT: hesperetin, NT: narirutin, NG: naringenin

- 껍에 많이 분포하는 flavonoid인 narirutin과 hesperidin 그리고 그 비배당체 형태인 naringenin, hesperetin 함량을 분석하였음.

- 풋귤과 완숙귤 모두 비배당체 형태인 naringenin과 hesperetin은 검출되지 않았음.

- 풋귤 착즙박에서 narirutin이 51.35 mg/g, 착즙액에서 6.84 mg/g으로 검출되었으며, 완숙귤 착즙박, 착즙액에서 각각 24.00, 3.08 mg/g으로 검출됨.

- 껍의 hesperidin 함량은 풋귤 착즙박과 착즙액에서 각각 76.81 mg/g, 3.48 mg/g, 완숙귤 착즙박 62.12 mg/g, 완숙귤 착즙액에서 2.25 mg/g이 검출됨.

- 완숙귤은 풋귤 대비 narirutin 함량이 약 50% 정도 감소, hesperidin은 20-35% 정도 감소하였음.

- 껍의 착즙박은 narirutin 함량보다 hesperidin 함량이 높게 검출되었으며, 착즙액에서는 narirutin이 hesperidin보다 높은 함량이 검출되었으나, 전반적으로 착즙박에 더 많은 narirutin과 hesperidin이 검출되었음.

[표] 풋귤 및 완숙귤의 부위별(착즙박, 착즙액) in vitro 항산화 활성 평가

| Mandarin extract | DPPH radical scavenging activity (%) | ABTS+ radical scavenging activity (%) | Hydrogen peroxide scavenging activity (%) | Hydroxyl radical scavenging activity (%) | SOD activity (%) | Reducing power |
|-------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---|--|-------------------------|------------------------|
| PMP ³⁾ | 30.39±1.70 ^{1a2)} | 24.91±0.73 ^b | 81.52±1.00 ^c | 92.74±0.23 ^a | 44.31±1.11 ^a | 0.93±0.05 ^a |
| PMJ | 26.52±1.53 ^b | 8.77±0.72 ^e | 51.39±2.56 ^f | 14.35±1.83 ^d | 11.05±0.67 ^d | 0.38±0.02 ^c |
| MP | 27.67±0.99 ^b | 24.03±0.77 ^b | 93.24±0.43 ^b | 92.13±1.24 ^{ab} | 34.07±1.31 ^b | 0.82±0.03 ^b |
| MJ | 16.74±0.53 ^c | 5.82±1.08 ^f | 44.90±0.26 ^g | 16.84±2.26 ^c | 4.87±1.40 ^e | 0.23±0.02 ^e |
| HD | 13.65±1.03 ^d | 19.49±1.38 ^c | 98.20±0.17 ^a | 90.97±1.23 ^{ab} | 25.34±0.68 ^c | 0.26±0.03 ^d |

| | | | | | | |
|----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|
| HT | 24.95±2.01 ^b | 36.63±0.67 ^a | 96.41±0.43 ^a | 90.07±1.03 ^b | 33.83±1.33 ^b | 0.34±0.04 ^c |
| NT | 4.32±0.39 ^e | 2.99±0.07 ^g | 74.64±1.02 ^d | 91.78±0.78 ^{ab} | 25.58±1.00 ^c | 0.19±0.01 ^e |
| NG | 5.34±0.37 ^e | 12.12±0.12 ^d | 61.49±0.63 ^e | 92.16±0.67 ^{ab} | 26.69±0.44 ^c | 0.20±0.01 ^e |

1) Each value is mean standard deviation.

2) Means with different letters (a-g) in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

3) PMP: premature mandarin peel methanol extract, PMJ: premature mandarin juice, MP: mandarin peel methanol extract, MJ: mandarin juice, HD: hesperidin, HT: hesperetin, NT: narirutin, NG: naringenin

- 풋귤과 완숙귤의 in vitro 항산화 활성을 평가하고 껍에 많이 포함되는 2가지 flavanone과 비배당체 형태의 flavanone의 항산화 활성을 평가하여 비교하고자 함.
- DPPH radical 소거 활성은 풋귤 착즙박이 가장 높았으며, 풋귤 착즙액과 완숙귤 착즙박은 유의적인 차이가 없었음. Flavanone 물질 중 hesperetin이 24.95%로 가장 높은 DPPH radical 소거 활성을 나타냈으며, hesperidin이 13.65%, naringenin과 narirutin은 각각 5.34, 4.32%로 나타남. hesperidin이 narirutin보다 높은 소거 활성을 보였으며, 비배당체 형태가 더 높은 소거 활성을 보였으나 narirutin과 naringenin은 유의적으로 차이가 없었음.
- 껍의 ABTS+ 소거 활성은 풋귤 착즙박과 완숙귤 착즙박이 각각 24.91, 24.03%로 유의적인 차이가 없었으며, 풋귤 착즙액이 8.77%, 완숙귤 착즙액이 5.82%로 풋귤 착즙액이 유의적으로 높은 소거 활성을 나타냄. Hesperetin이 36.63%로 flavonoid 물질 중 가장 높은 소거 활성을 보였으며, hesperidin이 19.49%, naringenin이 12.12%, narirutin이 2.99%로 나타남. DPPH radical 소거 활성과 마찬가지로 hesperidin과 hesperetin이 더 높은 소거 활성을 나타냈음. ABTS+ 소거 활성은 배당체의 불질을 비배당체 형태로 전환될 시, 소거 활성이 약 2배, 4배 높아졌음.
- Hydrogen peroxide는 feton 반응에 의해 반응성이 높은 hydroxyl radical을 생성하기 때문에 반드시 제거해야 하는 물질임. 풋귤 및 완숙귤의 착즙박에서 각각 81.52%, 93.24%로 높은 hydrogen peroxide 소거 활성을 나타냈으며, 풋귤 및 완숙귤 착즙액에서는 51.39, 44.90%로 나타남. 완숙귤 착즙박이 풋귤 착즙박보다 더 높은 hydrogen peroxide 소거 활성을 보였음. 4종의 flavanone 물질 역시 60% 이상의 높은 소거 활성을 나타냈음. 특이적으로 비배당체 형태보다 배당체 형태일 때, 더 높은 소거 활성을 보였음.
- Hydroxyl radical은 매우 높은 반응성을 갖기 때문에 이를 소거하는 능력을 갖는 것이 매우 중요하다. 풋귤과 완숙귤의 착즙박에서는 92.74, 92.13%의 매우 높은 소거 활성 능력을 보였으며, 착즙액은 14.35, 16.84%로 낮은 소거 활성을 나타냄. 4종의 flavanone 물질 역시 90% 이상의 높은 소거 활성을 보였으며, 이들 간의 유의적인 차이는 없었음.
- SOD (superoxide dismutase) 활성은 superoxide anion radical을 소거하는 능력을 in vitro 방법으로 측정하는 것이다. 풋귤 착즙박이 44.31%로 가장 높은 활성을 보였으며, 완숙귤 착즙박이 34.07%, 풋귤 착즙액이 11.04%, 완숙귤 착즙액이 4.87%로 가장 낮은 활성을 보였다. 4종의 flavanone 물질은 hesperetin이 33.83%로 가장 높은 활성을 나타냈고, 그 외 flavanone의 SOD 활성은 유의적인 차이를 나타내지 않았음.

- 환원력은 다른 물질에게 전자를 공여할 수 있는 능력으로 풋갈 착즙박의 환원력이 0.93으로 가장 높았으며, 완숙갈 착즙박의 환원력이 0.23으로 가장 낮았다. 갈의 착즙박에서는 착즙액보다 높은 환원력을 갖는 것으로 나타났다. Flavanone 물질의 환원력을 평가한 결과 hesperetin이 가장 높은 환원력을 가졌으며, 이는 배당체 형태가 되면 감소하였음. Narirutin과 naringenin의 환원력은 0.19와 0.20으로 나타났으며, 유의적인 차이는 없었음.

마. 임상실험

- 임상실험에서는 체지방감소 기능성 확인을 위한 바이오마커로서 체중, 체질량지수(BMI), 체지방량, 체지방률, 허리둘레, 엉덩이둘레, 기초대사량 등의 변화를 관찰하였다.

1) 비만지표의 변화

- 7주간 풋갈 함유 젤리제품 또는 풋갈 비함유 젤리제품을 섭취한 피험자들의 비만지표의 변화는 [Table 1], [Fig. 1]과 같다.
- 체중 : 7주 후 대조군의 평균체중은 0.74 ± 0.48 kg 감소하였으나, 실험군은 0.26 ± 0.08 kg 증가하였으며 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1A].
- BMI : 7주 후 대조군의 평균 BMI는 0.28 ± 0.22 kg/m 감소하였고, 실험군 역시 0.01 ± 0.04 kg/m 감소하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1B].
- 체지방량 : 7주 후 대조군의 평균 체지방량은 1.97 ± 0.36 kg 감소하였고, 실험군 역시 1.06 ± 0.00 kg 감소하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1C].
- 체지방률 : 7주 후 대조군의 평균 체지방률은 $2.85 \pm 0.06\%$ 감소하였고, 실험군 역시 $1.87 \pm 0.03\%$ 감소하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1D].
- 허리둘레 : 7주 후 대조군의 평균 허리둘레는 1.69 ± 0.67 cm 감소하였고, 실험군 역시 0.43 ± 0.04 cm 감소하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1E].
- 엉덩이둘레 : 7주 후 대조군의 평균 엉덩이둘레는 2.46 ± 0.62 cm 감소하였고, 실험군 역시 1.86 ± 0.12 cm 감소하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1F].
- 골격근량 : 7주 후 대조군의 평균 골격근량은 0.87 ± 0.02 kg 증가하였고, 실험군 역시 0.85 ± 0.10 kg 증가하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1G].
- 기초대사량 : 7주 후 대조군의 평균 기초대사량은 26.69 ± 0.50 kcal이 증가하였고, 실험군 역시 27.79 ± 3.61 kcal이 증가하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1H].
- 복부지방률 : 7주 후 대조군의 평균 복부지방률은 0.01 ± 0.00 증가하였으나 실험군의 복부지방률은 0.00 ± 0.00 로 변함이 없었으며 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1I].

[Table 1] The changes of body composition

| Parameters | Placebo | | | Sample | | |
|--------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Week 0 (n=13) | Week 4 (n=13) | Week 7 (n=13) | Week 0 (n=14) | Week 4 (n=14) | Week 7 (n=14) |
| Body weight (kg) | 57.01±2.91 | 56.75±2.75 | 56.27±2.43 | 57.89±2.39 | 58.09±2.32 | 58.14±2.47 |
| Body mass index (kg/m) | 22.01±1.23 | 21.78±1.13 | 21.72±1.02 | 21.79±0.74 | 21.72±0.73 | 21.77±0.78 |
| Body fat mass (kg) | 19.57±2.17 | 17.91±1.91 | 17.60±1.80 | 18.00±1.54 | 16.83±1.50 | 16.94±1.54 |
| Percent body fat (%) | 33.30±1.77 | 30.65±1.67 | 30.45±1.71 | 30.57±1.51 | 28.65±1.48 | 28.70±1.53 |
| Waist circumference (cm) | 71.62±3.50 | 71.15±3.14 | 69.92±2.83 | 72.29±2.48 | 73.07±2.30 | 71.86±2.52 |
| Hip circumference (cm) | 94.08±2.32 | 93.65±2.14 | 91.62±1.70 | 96.07±1.79 | 93.32±1.58 | 94.21±1.66 |
| Skeletal muscle mass (kg) | 20.13±0.51 | 21.13±0.59 | 21.00±0.49 | 21.56±0.74 | 22.48±0.77 | 22.41±0.84 |
| Basic metabolic rate (kcal) | 1178.69±17.84 | 1209.08±20.79 | 1205.38±17.34 | 1231.50±26.83 | 1261.00±28.01 | 1259.29±30.44 |
| Abdominal fat rate | 0.86±0.02 | 0.86±0.02 | 0.86±0.01 | 0.87±0.02 | 0.88±0.02 | 0.95±0.07 |

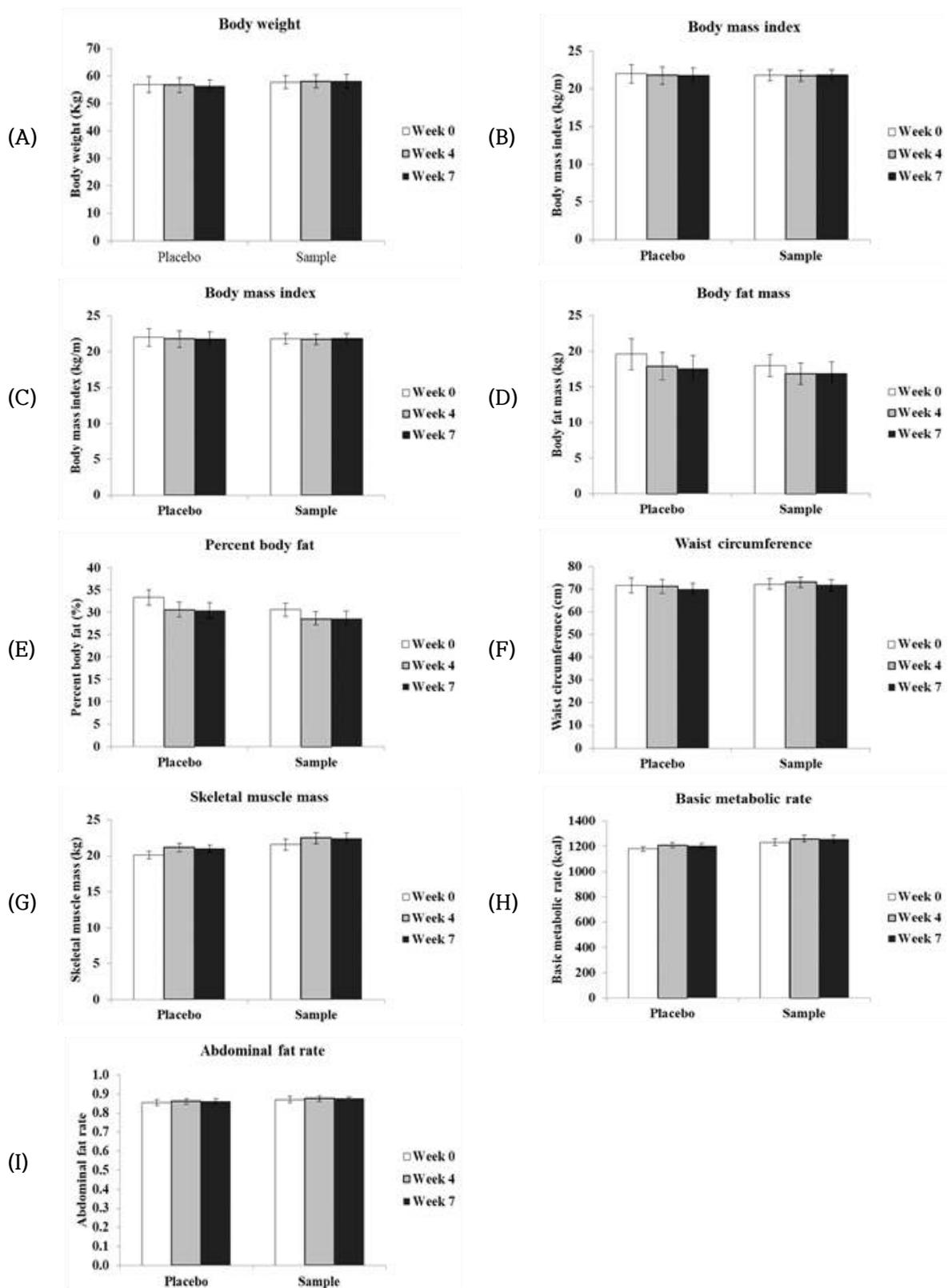


Fig 1. Anthropometric parameters of the placebo and the sample groups. At 0, 4 and 7weeks of the treatment, the anthropometric parameters including body weight (A), body mass index (B), body fat mass (C), percent body fat (D), waist circumference (E), hip circumference (F), skeletal muscle mass (G), basic metabolic rate (H), and abdominal fat rate (I) were measured in placebo and sample groups.

2) 혈중지표의 변화

- 7주간 풋쿨 함유 젤리제품 또는 풋쿨 비함유 젤리제품을 섭취한 피험자들의 혈중지표의 변화는 [Table 2], [Fig. 2]와 같다.
- Total cholesterol : 7주간 실험군의 TC 혈청 수치는 대조군에 비하여 전반적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 7주 후 대조군의 평균 TC 혈청 수치는 0.69 ± 1.36 mg/dL 감소하였고, 실험군 역시 12.14 ± 4.02 mg/dL 감소하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1A].
- Tri-glycerides : 7주 후 대조군의 평균 TG 농도는 14.77 ± 6.75 mg/dL 감소하였고, 실험군 역시 1.71 ± 0.79 mg/dL 감소하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1B].
- HDL-cholesterol : 7주 후 대조군의 평균 HDL-C 혈청 수치는 0.85 ± 0.83 mg/dL 증가하였으나 실험군은 0.64 ± 0.89 mg/dL 감소하였으며 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1C].
- LDL-cholesterol : 7주간 실험군의 평균 LDL-C 혈청 수치는 대조군에 비하여 전반적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 7주 후 대조군의 평균 LDL-C 혈청 수치는 0.92 ± 0.18 mg/dL 감소하였고, 실험군 역시 10.21 ± 2.70 mg/dL 감소하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다 [Fig. 1D].
- Fatty Acids : 7주간 실험군의 평균 FA는 대조군에 비하여 전반적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 7주 후 대조군의 평균 FA는 191.15 ± 32.56 μ Eq/L 감소하였고, 실험군 역시 142.36 ± 5.67 μ Eq/L 감소하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1E].
- Apolipoprotein A1 : 7주 후 대조군의 평균 Apo A1은 3.85 ± 0.81 g/L 감소하였으나 실험군은 0.07 ± 0.33 g/L 증가하였으며 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1F].
- Apolipoprotein B : 7주간 실험군의 평균 Apo B는 대조군에 비하여 전반적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 7주 후 대조군의 평균 Apo B는 0.15 ± 0.26 g/L 증가하였으나, 실험군은 8.14 ± 1.27 g/L 감소하였으며 유의적인 차이는 관찰되지 않았다[Fig. 1G].

[Table 2] The changes of Blood profiles

| Parameters | Placebo | | | Sample | | |
|---------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | Week 0 (n=13) | Week 4 (n=13) | Week 7 (n=13) | Week 0 (n=14) | Week 4 (n=14) | Week 7 (n=14) |
| Total Cholesterol (mg/dL) | 186.23±5.53 | 196.62±6.65 | 185.54±6.89 | 191.36±10.65 | 183.93±7.33 | 179.21±6.62 |
| Triglycerides (mg/dL) | 76.15±11.88 | 82.23±13.32 | 61.38±5.13 | 74.36±7.49 | 71.43±6.95 | 72.64±6.70 |
| HDL-C (mg/dL) | 61.69±3.70 | 62.46±4.44 | 62.54±4.54 | 63.43±4.41 | 62.43±3.81 | 62.79±3.52 |

| | | | | | | |
|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------|----------------------------|-----------------|
| LDL-C (mg/dL) | 110.08 ± 3.75 | 119.08 ± 4.90 | 109.15 ± 3.92 | 111.938.42 | 107.50 ± 6.53 | 101.71 ± 5.72 |
| free fatty acids (μEq/L) | 678.69 ± 89.0 ₃ | 484.31 ± 69.0 ₁ | 487.54 ± 56.4 ₇ | 619.5796.50 | 511.71 ± 77.9 ₄ | 477.21 ± 102.17 |
| Apolipoprotein A1 (g/L) | 158.00 ± 4.91 | 159.54 ± 4.54 | 154.15 ± 5.72 | 161.717.32 | 165.29 ± 7.85 | 161.79 ± 6.98 |
| Apolipoprotein B (g/L) | 86.69 ± 2.77 | 91.46 ± 3.43 | 86.85 ± 3.03 | 90.505.53 | 86.29 ± 4.56 | 82.36 ± 4.26 |

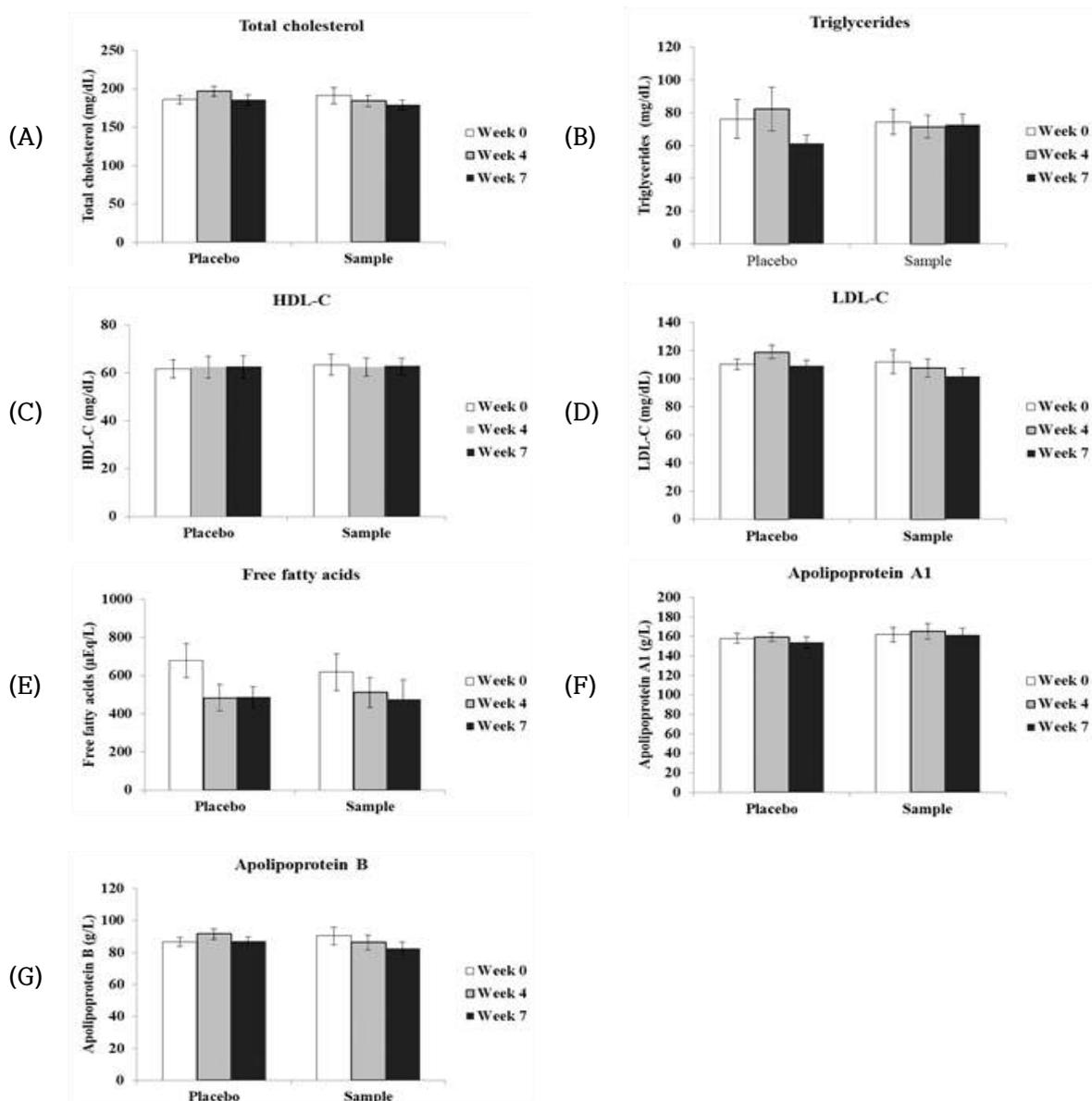


Fig 2. Blood profile of the placebo and the sample groups. At 0, 4 and 7 weeks of the treatment, the blood profiles including total cholesterol (A), triglycerides (B), HDL-C (C), LDL-C (D), free fatty acids (E), apolipoprotein A1 (F), and apolipoprotein B (G) were measured in placebo and sample groups.

3) 결과요약

- 비만비표의 변화 : 대조군과 실험군 모두 7주 후 BMI, 체지방량, 체지방률, 허리둘레 및 엉덩이둘레가 감소하였고, 골격근량과 기초대사량은 증가하였다. 체중은 대조군에서는 감소하였으나 실험군은 오히려 증가하였으며, 복부지방률은 대조군에서는 증가하였으나 실험군에서는 수치의 변화가 없었다.
- 혈중지표의 변화 : 대조군과 실험군 모두 7주 후 혈청 내 Total cholesterol, Tri-glycerides, LDL-cholesterol 및 Fatty Acids가 감소하였다. HDL-cholesterol, Apo B는 대조군에서는 증가하였으나 실험군은 감소한 반면 Apo-A1은 대조군에서는 감소하였으나 실험군은 증가하였다.

4) 임상시험 고찰

- 본 연구는 인간을 대상으로 그동안 세포실험 및 동물실험에서 확인된 Flavonoid들의 항비만 효능을 검증하고자 수행하였다.
- 7주간 풋귤 함유 젤리제품 또는 풋귤 비함유 젤리제품을 섭취한 후 비만지표와 혈중지표들의 변화를 관찰한 결과 대조군과 실험군 모두 유의성은 관찰되지 않았다.
- 그러나 피험자들의 BMI, 체지방량, 체지방률, 허리둘레 및 엉덩이둘레가 감소하였고 혈청 내 TC, TG, LDL-C 및 FA가 감소하였다. 이는 풋귤 속에 함유하고 있는 Flavonoid들과 플라시보 효과가 피험자들의 비만지표와 혈중지표들을 긍정적으로 변화시킨 것으로 사료된다.

마. 풋귤 껍질 아임계 + 가수분해 추출물의 in vitro 항산화 효능

[표] 풋귤 껍질 아임계 + 가수분해 추출물의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량

| | Total phenolic contents (mg GAE/g) | Total flavonoid contents (mg QE/g) |
|---------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| SWE+H ¹⁾ | 815.16±21.86 ²⁾ | 141.51±2.28 |

¹⁾ SWE+H: subcritical water extract and hydrolysis extract of premature mandarin peel

²⁾ Each value is mean±standard deviation.

- 2차년도 실험 결과에서 풋귤의 착즙액과 착즙박의 항산화 성분 함량과 in vitro 항산화 활성을 비교하였을 때 착즙액보다 착즙박에서 높은 항산화 성분 함량과 활성을 나타내었음. 따라서 풋귤의 항산화 성분은 껍질에 많이 함유되어 있음을 확인하였음.
- 풋귤 껍질 아임계 + 가수분해 추출물의 총 폴리페놀 함량은 815.16 mg GAE/g으로 나타났으며, 플라보노이드 함량은 141.51 mg QE/g으로 나타났음.
- 풋귤 껍질에서는 기존 추출방법보다 아임계 + 가수분해 추출방법에서 총 폴리페놀 함량은 약 8.7배 높게 측정되었으며, 총 플라보노이드 함량은 약 3.2배 높은 함량을 나타냈음.
- 풋귤 껍질 추출의 경우 아임계 + 가수분해 추출 방법에서 항산화 성분이 더 많이 추출되는 것을 확인할 수 있었음.

[표] 풋굴 껍질 아임계 + 가수분해 추출물의 in vitro 항산화 활성 평가

| | DPPH radical scavenging activity (%) | ABTS+ radical scavenging activity (%) | Hydrogen peroxide scavenging activity (%) | Hydroxyl radical scavenging activity (%) | SOD activity (%) | Reducing power |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---|--|------------------|----------------|
| SWE+H ¹⁾ | 37.24±1.34 ²⁾³⁾ | 28.32±1.52 | 69.42±2.46 | 6.62±1.25 | 29.52±6.14 | 0.84±0.01 |

¹⁾ SWE+H: subcritical water extract and hydrolysis extract of premature mandarin peel

²⁾ Each value is mean±standard deviation.

³⁾ 20x dilution

- 풋굴 껍질의 아임계+가수분해 추출물(SWE+H)의 in vitro 항산화 활성을 평가하였음.
- SWE+H 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 37.24±1.34%, ABTS+ 라디칼 소거 활성은 28.32±1.52%, Hydrogen peroxide(H₂O₂) 소거 활성은 69.42±2.46%, Hydroxyl radical(OH) 소거 활성은 6.62±1.25%, SOD 활성은 29.52±6.14%, 환원력은 0.84±0.01로 측정되었음.
- SWE+H 추출물의 in vitro 항산화 활성 측정에서는 예비 실험 중 활성이 높게 나타나 20배 희석하여 실험에 사용하였음. 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량이 높게 나타난 것과 같이 in vitro 항산화 활성 또한 풋굴 껍질의 아임계+가수분해 추출공정에서 풋굴 껍질 내의 항산화 성분을 추출해내는 것을 확인하였음.

■ 정량적 연구개발성과

< 정량적 연구개발성과표(예시) >

(단위 : 건, 백만원)

| 성과지표명 | | 연도 | (2019 ~ 2021) | 가중치 (%) |
|-------------------------------|------|---------|---------------|---------|
| 전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾ | 특허 | 목표(단계별) | 2 | 20 |
| | | 실적(누적) | 6 | |
| | 논문 | 목표(단계별) | 12 | 20 |
| | | 실적(누적) | 10 | |
| 연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾ | 제품화 | 목표(단계별) | 3 | 30 |
| | | 실적(누적) | 5 | |
| | 고용창출 | 목표(단계별) | 3 | 20 |
| | | 실적(누적) | 4 | |
| | 매출액 | 목표(단계별) | 850 | 10 |
| | | 실적(누적) | 145 | |

■ 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

| 번호 | 논문명 | 학술지명 | 주저자명 | 호 | 국명 | 발행기관 | SCIE 여부 (SCIE/비SCIE) | 게재일 | 등록번호 (ISSN) | 기여율 |
|----|--|--------------------|------------|-----------|-------------|--------|----------------------|------------|-------------|------|
| 1 | Semi-continuous subcritical water extraction of flavonoids from Citrus unshiu peel: their antioxidant and enzyme inhibitory activities | Antioxidants | Lim SB | 9(5), 360 | Switzerland | MDPI | SCIE (IF 6.313) | 2020.04.25 | 2076-3921 | 100% |
| 2 | Extraction of flavanones from immature Citrus unshiu pomace: process optimization and antioxidant evaluation | Scientific Reports | Lim SB | 10,19950 | Germany | Nature | SCIE (IF 4.380) | 2020.11.17 | 2045-2322 | 100% |
| 3 | Organic acid-catalyzed subcritical water hydrolysis of immature Citrus unshiu pomace | Foods | Lim, S.-B. | 10, 18 | Switzerland | MDPI | SCIE (IF 4.350) | 2021.12.22 | 2304-8158 | 100% |

| | | | | | | | | | | |
|----|---|---|----------------------------------|-------|-------|--|-------|------------|----------------------------------|------|
| 4 | Physicochemical and Texture Properties of Commercial Stick-Type Jelly | Food Engineering Progress | Yi HY, Kang S, Chun JY | 25 | Korea | Korean Society for Food Engineering | 비SCI | 2021.02.28 | 1226-4768 | 100% |
| 5 | Quality Characteristics of Immature <i>Citrus unshiu</i> Juice Jelly | Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition | Yi HY, Cha ES, Chun JY | 50 | Korea | The Korean Society of Food Science and Nutrition | 비SCI | 2021.04.30 | 1226-3311 | 100% |
| 6 | Physicochemical Properties of Various Commercial Dried Tangerine Peel Tea Products | Food Engineering Progress | Han JH, Lee SA, Kim DR, Chun JY | 25 | Korea | Korean Society for Food Engineering | 비SCI | 2021.08.31 | 1226-4768 | 100% |
| 7 | Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Yogurt with Immature <i>Citrus unshiu</i> | Resources Science Research | Yi HY, Seo JG, Jeong SE, Chun JY | 3 | Korea | Resources Science Research | 기타학술지 | 2021.12.31 | 2713-7872 | 100% |
| 8 | Restoration of the adipogenic gene expression by naringenin and naringin in 3T3-L1 adipocytes | Journal of Veterinary Science | LAKSHI AYODYA DAYARATH NE | 22(4) | korea | The Korean Society of Veterinary Science | SCIE | 2021.07.30 | pISSN 1229-845X· eISSN 1976-555X | 100 |
| 9 | The effects of naringenin and naringin on the glucose uptake and AMPK phosphorylation in high glucose treated HepG2 cells | Journal of Veterinary Science | LAKSHI AYODYA DAYARATH NE | 22(6) | korea | The Korean Society of Veterinary Science | SCIE | 2021.11.30 | pISSN 1229-845X· eISSN 1976-555X | 100 |
| 10 | Anti-adipogenic effect of the flavonoids through the activation of AMPK in palmitate (PA)-treated HepG2 cells | Journal of Veterinary Science | PRIYANKA RAJAN | 23(1) | korea | The Korean Society of Veterinary Science | SCIE | 2022.1.30 | pISSN 1229-845X· eISSN 1976-555X | 100 |

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

| 번호 | 회의 명칭 | 발표자 | 발표 일시 | 장소 | 국명 |
|----|---|--|------------|---------------------------------------|-------|
| 1 | 2019 KFN International Symposium and Annual Meeting | Kim DS, Lim SB | 2019.10.23 | ICC JEJU, Jeju | Korea |
| 2 | 2020 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting | Kim DS, Lim SB | 2020.07.02 | Kimdaejung Convention Center, Gwangju | Korea |
| 3 | 2020 KFN International Symposium and Annual Meeting | Yi HY, Kang S, Chun JY | 2020.10.22 | ICC JEJU, Jeju | Korea |
| 4 | 2021 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting | Han JH, Lee JH, Lim SB | 2021.07.09 | Daejeon Convention Center, Daejeon | Korea |
| 5 | 2020 KFN International Symposium and Annual Meeting | Yi HY, Cha ES, Chun JY | 2020.10.22 | ICC JEJU, Jeju | Korea |
| 6 | 2021 KFN International Symposium and Annual Meeting | Cha ES, Yi HY, Han CH, Park JW, Yu SK, Chun JY | 2021.10.28 | Busan Bexco, Busan, Korea | Korea |
| 7 | 2021 KFN International Symposium and Annual Meeting | Yi HY, Chun JY | 2021.10.28 | Busan Bexco, Busan, Korea | Korea |
| 8 | 2020 KALAS International Symposium | LAKSHI AYODYA DAYARATHNE | 2020.07.15 | 강원도 평창 알펜시아 컨벤션센터 | korea |
| 9 | 2020 KALAS International Symposium | LAKSHI AYODYA DAYARATHNE | 2020.07.15 | 강원도 평창 알펜시아 컨벤션센터 | korea |
| 10 | 2020 KALAS International Symposium | PREMKUMAR NATRAJ | 2020.07.15 | 강원도 평창 알펜시아 컨벤션센터 | korea |
| 11 | 2020 KALAS International Symposium | PRIYANKA RAJAN | 2020.07.15 | 강원도 평창 알펜시아 컨벤션센터 | korea |
| 12 | 대한수의학회 2021년 춘계 학술대회 : Core Strategy of Veterinary Medicine in 4th Industrial Revolution | LAKSHI AYODYA DAYARATHNE | 2021.05.27 | 충남대학교 정심화국제회관 백마홀 | korea |
| 13 | 대한수의학회 2021년 춘계 학술대회 : Core Strategy of Veterinary Medicine in 4th Industrial Revolution | LAKSHI AYODYA DAYARATHNE | 2021.05.27 | 충남대학교 정심화국제회관 백마홀 | korea |
| 14 | 대한수의학회 2021년 춘계 학술대회 : Core Strategy of Veterinary Medicine in 4th Industrial Revolution | PRIYANKA RAJAN | 2021.05.27 | 충남대학교 정심화국제회관 백마홀 | korea |
| 15 | 대한수의학회 2021년 춘계 학술대회 : Core Strategy of Veterinary Medicine in 4th Industrial Revolution | PRIYANKA RAJAN | 2021.05.27 | 충남대학교 정심화국제회관 백마홀 | korea |
| 16 | 대한수의학회 2021년 추계 학술대회 : Core Roles of Veterinary Medicine in the Era of Post COVID-19 | PRIYANKA RAJAN | 2021.10.28 | 군산새만금컨벤션센터 | korea |
| 17 | 대한수의학회 2021년 추계 학술대회 : Core Roles of Veterinary Medicine in the Era of Post COVID-19 | PRIYANKA RAJAN | 2021.10.28 | 군산새만금컨벤션센터 | korea |
| 18 | 2019 KFN International Symposium and Annual Meeting (In Vitro Antioxidant Activity of Premature Mandarin Juice) | Lee SG, Kim HJ. | 2019.10.25 | ICC JEJU, Jeju | Korea |
| 19 | 2020 KoSFoST Interational Symposium and Annual Meeting | Lee SG, Kim HJ. | 2020.07.01 | Kimdaejung Convention Center, Gwangju | Korea |

[기술적 성과]

□ 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

| 번호 | 지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재) | 국명 | 출원 | | | | 등록 | | | 기여율 | 활용 여부 |
|----|--|------|----------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------------------|-----|-----|-------|-----|----------|
| | | | 출원인 | 출원일 | 출원 번호 | 등록 번호 | 등록인 | 등록일 | 등록 번호 | | |
| 1 | 포장용 상자 | 대한민국 | 제주농장 영농조합 법인 | 2019.11 .27. | 30-2019 -005690 5 | | | | | 50 | |
| 2 | 풋굴 착즙액을 유효성분으로 포함하는 건강 젤리 및 이의 제조방법 | 대한민국 | 제주대학 교 산학협력 단 | 2020.10 .07 | 10-2020 -012933 6 | | | | | 100 | |
| 3 | 투오븐시스템을 이용한 풋굴 착즙박으로부터 플라바논 성분 의 아임계수 추출물의 가수분해 방법 | 대한민국 | 임상빈, 김동신 | 2020. 10. 21 | 10-2020 -013666 5 | | | | | 100 | |
| 4 | 풋굴 착즙박 가수분해물, 그 제조방법 및 이의 용도 | 대한민국 | 임상빈 | 2021. 12. 22 | 10-2021 -018462 4 | | | | | 100 | |
| 5 | 헤스페레딘을 포함하는 항비만용 조성물 | 대한민국 | 제주대학 교산학협 력단, 한창훈 | 2020.10 .29 | 10-2020 -014240 1 | 1-1-202 0-11547 17-46 | | | | 100 | |
| 6 | 풋굴 추출물을 포함하는 항비만용 조성물 | 대한민국 | 제주대학 교산학협 력단, 한창훈 | 2020.10 .29 | 10-2020 -014249 8 | 1-1-202 0-11552 35-19 | | | | 100 | |

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

| 번호 | 시제품명 | 출시/제작일 | 제작 업체명 | 설치 장소 | 이용 분야 | 사업화 소요 기간 | 인증기관 (해당 시) | 인증일 (해당 시) |
|----|-----------------|--------|----------------|-------|-------|--------------|----------------|---------------|
| 1 | 풋굴착즙액 | 2020 | 제주농장 영농조합법인 | - | - | 1년 | - | - |
| 2 | 제주농장 요망진 풋굴 | 2020 | | - | - | 2년 | - | - |
| 3 | 제주농장 풋굴하영콜라겐 | 2020 | | - | - | 2년 | - | - |
| 4 | 제주농장 탱글풋굴 | 2021 | | - | - | 3년 | - | - |
| 5 | 제주농장 풋굴캔디 | 2021 | | - | - | 3년 | - | - |

□ 사업화 현황

| 번호 | 사업화 방식 ¹⁾ | 사업화 형태 ²⁾ | 지역 ³⁾ | 사업화명 | 내용 | 업체명 | 매출액 | | 매출 발생 연도 | 기술 수명 |
|----|-------------------------|----------------------|------------------|--------------|----|------|------------|------------|-------------|----------|
| | | | | | | | 국내 (천원) | 국외 (달러) | | |
| 1 | 자기실시 | 소재 | 국내 | 풋굴 착즙액 | | 제주농장 | 2,700 | | 2020 | |
| 2 | 자기실시 | 신제품 개발 | 국내 | 요망진 풋굴 | | 제주농장 | 98,090 | | 2020 | |
| 3 | 자기실시 | 소재 | 국내 | 풋굴 착즙액 | | 제주농장 | 13,500 | | 2021 | |
| 4 | 자기실시 | 신제품 개발 | 국내 | 요망진 풋굴 | | 제주농장 | 9,048 | | 2021 | |
| 5 | 자기실시 | 신제품 개발 | 국내 | 풋굴 하영 콜라겐 | | 제주농장 | 21,643 | | 2021 | |

□ 매출 실적(누적)

| 사업화명 | 발생 연도 | 매출액 | | 합계 | 산정 방법 |
|-----------|-------|---------|--------|---------|-------|
| | | 국내(천원) | 국외(달러) | | |
| 풋골 착즙액 | 2020 | 2,700 | - | 2,700 | |
| 요망진 풋골 | 2020 | 98,090 | - | 98,090 | |
| 풋골 착즙액 | 2021 | 13,500 | - | 13,500 | |
| 요망진 풋골 | 2021 | 9,048 | - | 9,048 | |
| 풋골 하영 콜라겐 | 2021 | 21,643 | - | 21,643 | |
| 합계 | | 144,981 | - | 144,981 | |

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

| 성과 | | 제주 특수자원인 풋골을 활용하여 아임계 가수분해를 통해 추출농축소재를 개발하였고, 이 소재를 활용하여 젤리 및 정제제형의 시제품을 개발하였음. | | | | |
|--------------------------------|-------------|---|---------|---------|------|--|
| 사업화 계획 | 사업화 소요기간(년) | 3년 | | | | |
| | 소요예산(천원) | 1,178,800 | | | | |
| | 예상 매출규모(천원) | 현재까지 | 3년 후 | 5년 후 | | |
| | | 144,981 | 350,000 | 500,000 | | |
| | 시장 점유율 | 단위(%) | 현재까지 | 3년 후 | 5년 후 | |
| | | 국내 | 1.5% | 3.0% | 5.0% | |
| 국외 | | - | 0.5% | 1.0% | | |
| 향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획 | | 다른 제주 특수자원을 아임계 추출기술을 활용해 나아갈 것이며, 이러한 기술을 활용하여 일반식품에서 건강기능식품 개발로 확대해 나갈 것임. | | | | |
| 무역 수지 개선 효과(천원) | 수입대체(내수) | 현재 | 3년 후 | 5년 후 | | |
| | | - | - | - | | |
| | 수출 | - | 50,000 | 100,000 | | |

□ 고용 창출

| 순번 | 사업화명 | 사업화 업체 | 고용창출 인원(명) | | | 합계 |
|----|-----------------|-------------|------------|-------|-------|----|
| | | | 2019년 | 2020년 | 2021년 | |
| 1 | 맞춤형 혁신식품 기술개발사업 | 제주농장 영농조합법인 | 1 | 2 | 1 | 4 |
| 합계 | | | 1 | 2 | 1 | 4 |

□ 고용 효과

| 구분 | | | 고용 효과(명) |
|-------|------|------|----------|
| 고용 효과 | 개발 전 | 연구인력 | 3 |
| | | 생산인력 | 13 |
| | 개발 후 | 연구인력 | 5 |
| | | 생산인력 | 15 |

[사회적 성과]

□ 전문 연구 인력 양성

| 번호 | 분류 | 기준 연도 | 현황 | | | | | | | | | | |
|----|-----|-------|-----|----|----|----|----|---|-----|-----|-----|-----|----|
| | | | 학위별 | | | | 성별 | | 지역별 | | | | |
| | | | 박사 | 석사 | 학사 | 기타 | 남 | 여 | 수도권 | 충청권 | 영남권 | 호남권 | 기타 |
| 1 | 협동1 | 2020 | 1 | 1 | | | 1 | 1 | | | | 2 | |
| 2 | | 2021 | | 1 | | | | 1 | | | | 1 | |
| 3 | 협동2 | 2021 | 2 | 2 | | | 1 | 3 | | | | 4 | |

□ 홍보 실적

| 번호 | 홍보 유형 | 매체명 | 제목 | 홍보일 |
|----|-------|-------|---------------------------------|------------|
| 1 | 중앙일간지 | 한국일보 | 디지털 이노베이션 제주농장영농조합법인 | 2020.10.30 |
| 2 | 중앙일간지 | 더파워뉴스 | 제주농장, 제주형 미래 먹거리로 제 2의 도약 준비 | 2021.10.21 |

□ 포상 및 수상 실적

| 번호 | 종류 | 포상명 | 포상 내용 | 포상 대상 | 포상일 | 포상 기관 |
|----|----------|--------------|---|-------------------|------------|-----------------------|
| 1 | 수상 | 우수포스터 발표상 | <p>귀하께서 발표하신 논문이 2021년도 한국식품영양과학회 제72차 학술발표회에서 "우수포스터 발표논문"으로 선정되었기에 이 상을 드립니다.</p> <p>제목: Optimization of Spray Drying Parameters for Immature Citrus unshiu Concentrate Powder Using Response Surface Methodology</p> | 제주대학교 이혜윤 | 2021.10.29 | 사단법인 한국식품영양과 학회 |
| 2 | 학술 대회 | 우수포스터상 | <p>귀하께서 발표하신 논문이 대한수의학회 2021년 추계학술대회에서 "우수포스터 발표논문"으로 선정되었기에 이 상을 드립니다.</p> <p>제목: Anti-adipogenic effect of the flavonoids through the activation of AMPK in palmitate (PA)-treated HepG2 cells</p> | PRIYANKA RAJAN | 2021.10.29 | 대한수의학회 |

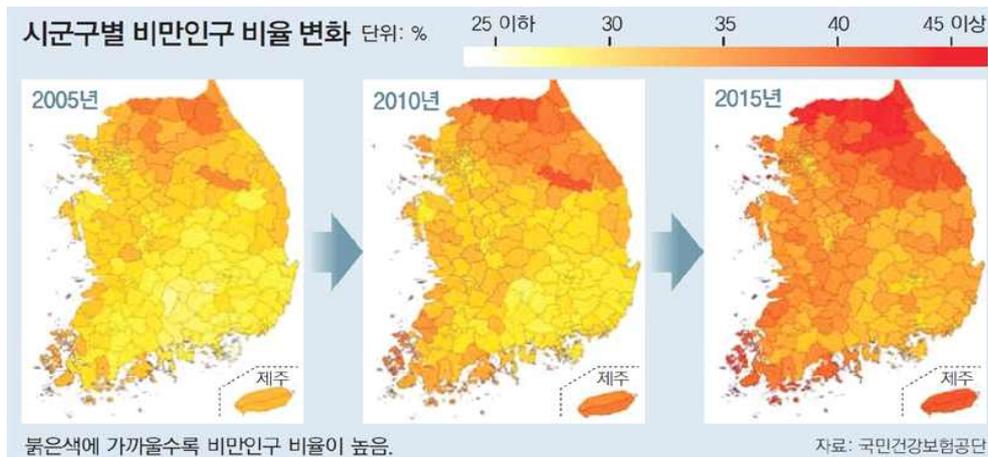
2) 목표 달성 수준

| 추진 목표 | 달성 내용 | 달성도(%) |
|---|---|-------------------------|
| ○ 풋굴 품질분석 및 유효성분 분석 및 공정별 안정성 분석 | ○ 원료 및 제조공정별 안정성 분석 ○ 산지별, 시기별 유효성분 분석 | ○ 100 |
| ○ 풋굴을 활용한 시제품 개발 | ○ 액상 1건, 젤리 1건, 정제 1건 총 3건 - 요망진 풋굴(액상), 풋굴 하영 콜라겐(젤리), 제주농장 풋굴캔디(정제) | ○ 100 |
| ○ 총 폴리페놀 함량 (TPC, tannic acid equivalents): 255 mg 이상 | ○ 319 ~ 443 mg | ○ 100 |
| ○ 추출 수율: 50% 이상 | ○ 아임계수 추출: 74%(일부 고온 손실) | ○ 100 |
| ○ 가수분해 수율: 30% 이상 | ○ 53% | ○ 100 |
| ○ Lab-scale의 풋굴을 이용한 가공 식품 개발공정 개발 | ○ 풋굴, 풋굴 착즙액의 영양성분분석 ○ 풋굴착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 관능검사 ○ 풋굴원료의 분말화 및 입도에 따른 특성분석 | ○ 100 ○ 100 ○ 100 |
| ○ Pilot-scale 풋굴을 이용한 가공식품 개발공정 최적화 | ○ 풋굴추출물 및 착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 최적 pilot-scale 제조공정 확립 ○ 최적 pilot-scale 제조공정으로 개발된 액상제형식품의 영양성분분석 및 관능검사 ○ 풋굴원료분말을 이용한 정제제형식품 제조공정 확립 및 특성분석 | ○ 100 ○ 100 ○ 100 |
| ○ Factory-scale 풋굴을 이용한 가공식품 개발공정 최적화 | ○ 대량생산된 풋굴추출물을 이용한 factory-scale 액상제형 식품 제조공정확립 ○ 대량생산된 풋굴추출물 함유 액상제형식품의 영양성분분석 및 유통기한설정 ○ 풋굴원료분말을 이용한 정제제형식품의 영양성분분석 및 유통기한설정 | ○ 100 ○ 90 ○ 90 |
| ○ 풋굴 추출 또는 가수분해물의 항비만 효능 검증 (<i>in vitro</i>) | ○ 지방세포(3T3 cell) 내 AMPK/ACC의 효소 활성도 및 인산화 변화 관찰 ○ 지방세포(3T3 cell) 내 HMG-CoA reductase 활성 억제를 통한 cholesterol 및 FA 합성 변화 관찰 ○ cDNA microarray analysis를 이용한 근육 및 지방세포 내 유전자 발현의 증감 관찰 ○ 간세포(HepG2 cell) 내 CPT-1 활성화에 의한 beta-oxidation 변화 관찰 ○ 풋굴 착즙액의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정 및 합성, 천연 항산화제와 비교 ○ 풋굴 착즙액의 <i>in vitro</i> 항산화 활성(DPPH, ABTS, Hydrogen radical scavenging activity, 환원력) 평가 및 합성, 천연 항산화제와 비교 | ○ 100 |
| ○ 풋굴 추출 또는 가수분해물의 항비만 효능 검증 (<i>in vitro</i>) | ○ 풋굴 추출물을 투여한 비만모델동물(ob/ob mouse)의 체중 및 체지방 변화 관찰 ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 혈액 내의 Total cholesterol, HDL/LDL, FA, TG, Apo A1, Apo B 등의 변화 관찰 ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 간세포 내 CPT-1 활성화에 의한 beta-oxidation 변화 관찰 ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 지방세포 내 HMG-CoA reductase 활성 억제를 통한 cholesterol 및 FA 합성 변화 관찰 ○ 급성 및 아급성 독성실험 ○ 풋굴 주정 추출물(착즙박, 착즙액)의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노 | ○ 100 |

| | | |
|--|--|--------------|
| | <p>이드 함량 측정</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 풋갈 주정 추출물(착즙박, 착즙액)의 flavonoid 함량 분석 ○ 풋갈 주정 추출물(착즙박, 착즙액)의 in vitro 항산화 활성(DPPH, ABTS, Hydroden radical scavenging activity, 환원력) 평가 | |
| <ul style="list-style-type: none"> ○ 풋갈 추출 또는 가수분해물의 항비만 효능 검증 (<i>in vivo</i>) ○ 풋갈 추출 또는 가수분해물의 항비만 임상실험 | <ul style="list-style-type: none"> ○비만모델동물(ob/ob mouse) 근육 및 지방세포 내 AMPK/ACC의 효소 활성도 및 인산화 변화 관찰 ○cDNA microarray analysis를 이용한 비만모델동물(ob/ob mouse) 근육 및 지방세포 내 유전자 발현의 증감 관찰 ○풋갈 추출물의 in vitro 항산화 활성 검증 ○인체를 대상으로 체중 및 체지방 변화 관찰 임상실험 ○인체 혈액 내의 Total cholesterol, HDL/LDL, FA, TG, Apo, A1, Apo B 등의 변화 관찰 임상실험 ○풋갈 껍질의 아임계+가수분해 추출물의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정 ○ 풋갈 껍질의 아임계+가수분해 추출물의 in vitro 항산화 활성(DPPH, ABTS, Hydroden radical scavenging activity, Hydroxyl radical scavenging activity, SOD activity, 환원력) 검증 | <p>○ 100</p> |

4. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 제주의 특산 자원 중 풋귤을 친환경 아임계수 가수분해 공정을 기반으로 식품 중 처음으로 시도되는 도전이며 건강기능식품 분야가 가장 빠르게 성장하고 있어 국내의 아임계 추출공정으로 생산하는 곳으로는 최초로 볼 수 있음.
- 현재 국내의 트렌드를 보면 지난 수년간 만감류에 대한 검색이 많이 되었음을 확인하였고 특히 풋사과의 경우 익기전의 사과로 항산화 성분이 많이 함유되었으며, 애플페놀은 체지방 흡수를 방해하여 체지방감소에 도움을 줄 수 있는 식품으로 인정받아 개별인정원료로 등록되어 있음.
- 국내에서는 과거부터 현재까지 비만인구 비율변화가 끊임없이 증가하고 있으며 현재까지 지속적인 증가 추세를 보이고 있음.



[그림] 시군구별 비만인구 비율 변화(출처 : 국민건강보험공단)

- 비만은 각종 질병의 원인이 될 수 있는 가능성이 있으며 정신적인 질병까지 유발할 수 있으며, 제 2형 당뇨, 고혈압, 뇌졸중, 수면무호흡증 등이 대표적인 비만과 밀접한 관련이 있는 질병이라 볼 수 있음.
- 본 과제를 진행하면서 제주의 풋귤의 신 맛을 다른 식품 원료의 배합으로 인해 소비자의 기호도에 맞게 시제품을 개발을 하였고 풋귤을 통해 체중조절에 도움을 주는 기능성이 있는 것 뿐만 아니라 항산화, 면역력 개선 등의 기능성에도 초점을 맞춘 제품으로 나아갈 수 있다고 사료 됨.

- 풋갈의 아임계 가수분해 공정을 활용한 시제품은 현재 시장에 판매되고 있지 않으므로 앞으로는 소비자의 기호도와 기능성을 동시에 증진시킨 제품으로 시장에서의 경쟁력을 키워나갈 수 있으며 이러한 지역 특산품을 활용한 가공식품의 개발은 지역농업활성화의 고부가 가치형 가공식품 개발에 기여할 것 임.

5. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 제주 특산물의 아임계 가수분해는 고부가가치 제품 개발 및 건강식품 산업을 이끌 수 있는 차세대 성장의 원동력이라 할 수 있으며 나아가 국가 경쟁력 확보에 필수적으로 작용되어 국가 고유산업으로 성장할 가능성이 유망함.
- 현재 풋菓를 활용한 제품은 시중에 흔하지 않으며 본 과제의 연구결과를 통해 제주산 풋菓를 활용한 공정개발 분야의 기초데이터로 사용 할 것이며 미래식품 트렌드에 응용할 수 있을 것임.
- 제주지역 농·특산물을 이용하여 가공·건강기능식품 등 다양한 상품 개발로 농산물 수급조절 안정화 및 제품의 브랜드화를 통해 지역경제 활성화 및 고부가가치를 창출하는 6차 산업을 통한 제주형 특화산업으로 육성할 것임.
- 이러한 기술개발을 통해 해외 시장 진입을 기획, 기존 시장에서 부각이 어려웠던 풋菓의 고유 효과를 적극 어필 할 수 있을 것이며, 이를 통하여 향후 홈쇼핑 등 시장 진입을 기획하고 있음.
- 도내 홈쇼핑, 온라인 마케팅 전문기업과의 협력을 통해 개발되는 제품의 OEM 및 홈쇼핑을 활용하여 온라인 활성화를 통해 국내시장 개척 및 판로를 확보시킬 것이고 식품기업의 육성에 새로운 인프라를 구축할 것임.
- 기능성식품 개발이라는 동일 목적 하에 생산공정 전체과정의 기술력과 기업의 기술개발 역량을 강화시킬 수 있으며 비만율이 증가되는 사회 속에서 건강복지 문제 완화와 지역 균형 발전에도 기여할 것임.
- 본 과제를 통하여 풋菓의 아임계수 가수분해 기술을 활용한 다양한 생리활성기능이 증진된 제품개발을 통해 이러한 우수한 기술을 활용하여 새로운 방식으로 접근할 수 있는 가능성을 보였다. 기능성 성분을 지닌 일반식품으로서 건강기능식품의 시장규모가 빠른 성장세를 보이고 있는 요즘시대에 폭넓은 시장을 확보하기 위하여 추후 건강기능식품으로 활용할 추가적인 연구와 기존 제품과 다른 형태의 제품을 개발할 필요성이 있다고 판단되며 이는 향후 산업발전 확대 및 기업성장에 큰 도움이 될 것으로 보임.

〈 연구개발성과 활용계획표 〉

| 구분(정량 및 정성적 성과 항목) | | 연구개발 종료 후 5년 이내 |
|--------------------|-------|--------------------|
| 국외논문 | SCIE | 1건 |
| | 비SCIE | - |
| | 계 | 1건 |
| 국내논문 | SCIE | - |
| | 비SCIE | - |
| | 계 | - |
| 특허출원 | 국내 | 1건 |
| | 국외 | - |
| | 계 | 1건 |
| 특허등록 | 국내 | 1건 |
| | 국외 | - |
| | 계 | 1건 |
| 인력양성 | 학사 | 2명 |
| | 석사 | 1명 |
| | 박사 | - |
| | 계 | 3명 |
| 사업화 | 상품출시 | 시제품 개발에 의한 상품출시 예정 |
| | 기술이전 | - |
| | 공정개발 | 매년 목표치 |
| 제품개발 | 시제품개발 | 상시 시제품 개발 |

자체평가의견서

1. 과제현황

| | | | | | |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------------|----------|--------|------------|
| | 과제번호 | | 119013-3 | | |
| 사업구분 | 맞춤형 혁신식품 기술개발사업 | | | | |
| 연구분야 | | | | 과제구분 | 단위 |
| 사업명 | 맞춤형 혁신식품 기술개발사업 | | | | 주관 |
| 총괄과제 | 기재하지 않음 | | | 총괄책임자 | 기재하지 않음 |
| 과제명 | 풋글의 아임계수 가수분해물 제조 및 세종조질식품 개발 | | | 과제유형 | (기초,응용,개발) |
| 연구개발기관 | 제주농장 영농조합법인 | | | 연구책임자 | 유석규 |
| 연구기간 연구개발비 (천원) | 연차 | 기간 | 정부 | 민간 | 계 |
| | 1차년도 | 2019.05.20.~ 2019.12.31. | 246,000 | 61,500 | 307,500 |
| | 2차년도 | 2020.01.01.~ 2020.12.31. | 328,000 | 82,500 | 410,500 |
| | 3차년도 | 2021.01.01.~ 2021.12.31. | 369,000 | 92,300 | 461,300 |
| 참여기업 | 제주대학교 산학협력단(협동1, 협동2) | | | | |
| 상대국 | 상대국연구개발기관 | | | | |

2. 평가일 : 2022. 02. 07

3. 평가자(연구책임자) : 유 석 규

| | | |
|-------------|----|-----|
| 소속 | 직위 | 성명 |
| 제주농장 영농조합법인 | 이사 | 유석규 |

4. 평가자(연구책임자) 확인 : 유 석 규

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

| | |
|----|---|
| 확약 |  |
|----|---|

1. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

제주도 특산자원 중 하나인 풋굴을 친환경 아임계수 가수분해 공정을 이용하여 체중조절 지표 성분을 제조하고 기능성 식품을 만들고자 하였으며 현 시대에 많은 소비자들은 다양한 방법으로 건강을 위해 체중조절식품을 섭취하고 있으며 이에 따른 가공식품 시장 변화를 주도하고자 하였음. 따라서 본 연구를 통해 시대에 발맞춰 풋굴이라는 소재를 활용하여 차별화된 가공공정으로 다양 상품들을 선보이고자 하였음. 이에 향후 풋굴을 이용한 가공식품 산업화가 본격적으로 이루어질 시 풋굴을 생산하기 위한 재배체계로 전환될 가능성이 있으며, 감귤 과잉생산 조정으로 가격을 유지해 농가 소득 향상 효과를 볼 수 있는 win-win전략이 가능하다고 판단됨.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

아임계 가수분해 풋굴의 차별화된 표준화 소재를 활용하여 식약처에서 풋굴에 관련한 항비만 효과를 과학적으로 효능을 검증 및 규명할 수 있었던 계기가 되었으며 이를 바탕으로 추가적인 연구가 진행될 시 제주도 특산물인 풋굴의 기능성에 대해 인정한다면 대한민국 식품 업체가 활용할 수 있는 소재로 나아가 지역 브랜드에 이바지 할 것으로 판단 됨. 또한, 이러한 연구자료는 추후 제주도 풋굴의 마케팅 자료로 활용되어 글로벌 경쟁력 확보에 기여할 것으로 판단 됨.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

과제를 통하여 풋굴의 아임계수 가수분해 기술을 활용한 다양한 생리활성기능이 증진된 제품개발을 통해 이러한 우수한 기술을 활용하여 새로운 방식으로 접근할 수 있는 가능성을 보였고, 기능성 성분을 지닌 일반식품으로서 건강기능식품의 시장규모가 빠른 성장세를 보이고 있는 요즘시대에 폭넓은 시장을 확보하기 위하여 추후 건강기능식품으로 활용할 추가적인 연구와 기존 제품과 다른 형태의 제품을 개발할 필요성이 있다고 판단되며 이는 향후 산업발전 확대 및 기업성장에 큰 도움이 될 것으로 보임.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

제주도 풋굴에 관련한 제품 개발을 하기 위해 풋굴의 기능성에 대해 홍보가 필요하다고 판단되어 국내 한국식품영양과학회 등 2곳에서 총 19건의 포스터 발표를 진행하였고, 우수포스터 발표상을 2건을 받은 성과를 나타냄. 풋굴의 기능성 검증을 하기 위하여 국내 제주대학교 학생들을 대상으로 2021년부터 임상시험 수행을 계획하였지만 코로나-19 증상이나 시간이 지남에 따라 증가하여 임상시험 수행이 매우 곤란한 상황이었으나 어려운 상황 속에서도 무사히 임상시험을 마칠 수 있었음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지식소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

제주도 풋굴을 활용한 소재 관련 논문 10편(sci 6건, 비sci4편)과 지식재산권(특허출원 5건, 디자인 출원 1건), 국내외 학술발표 19건, 국내외 홍보 2건 등을 바탕으로 5개의 제품을 출시하였으며 홈쇼핑 등 온라인마켓을 통하여 매출효과를 보고 있음.

II. 연구목표 달성도

| 세부연구목표 (연구계획서상의 목표) | 비중 (%) | 달성도 (%) | 자체평가 |
|---|-----------|------------|---|
| ○ 풋굴 품질분석 및 유효성분 분석 및 공정별 안정성 분석 | 5 | 100 | ○ 원료 및 제조공정별 안정성 분석 ○ 산지별, 시기별 유효성분 분석 |
| ○ 풋굴을 활용한 시제품 개발 | 5 | 100 | ○ 액상 1건, 젤리 1건, 정제 1건 총 3건 - 요망진 풋굴(액상), 풋굴 하영 콜라겐(젤리), 제주농장 풋굴캔디(정제) |
| ○ 총 폴리페놀 함량 (TPC, tannic acid equivalents): 255 mg 이상 | 5 | 100 | ○ 319 ~ 443 mg |
| ○ 추출 수율: 50% 이상 | 5 | 100 | ○ 아임계수 추출: 74%(일부 고온 손실) ○ 주정 추출: 94.6% |
| ○ 가수분해 수율: 30% 이상 | 10 | 100 | ○ 53% |
| ○ Lab-scale의 풋굴을 이용한 가공식품 개발공정 개발 | 10 | 100 | ○ 풋굴, 풋굴 착즙액의 영양성분분석 ○ 풋굴착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 관능검사 ○ 풋굴원료의 분말화 및 입도에 따른 특성분석 |
| ○ Pilot-scale 풋굴을 이용한 가공식품 개발공정 최적화 | 10 | 100 | ○ 풋굴추출물 및 착즙액을 이용한 액상제형 식품제조 및 최적 pilot-scale 제조공정 확립 ○ 최적 pilot-scale 제조공정으로 개발된 액상제형식품의 영양성분분석 및 관능검사 ○ 풋굴원료분말을 이용한 정제제형식품 제조공정 확립 및 특성분석 |
| ○ Factory-scale 풋굴을 이용한 가공식품 개발공정 최적화 | 10 | 100 | ○ 대량생산된 풋굴추출물을 이용한 factory-scale 액상제형 식품제조공정확립 ○ 대량생산된 풋굴추출물 함유 액상제형 식품의 영양성분분석 및 유통기한설정 ○ 풋굴원료분말을 이용한 정제제형식품의 영양성분분석 및 유통기한설정 |
| ○ 풋굴 추출 또는 가수분해물의 항비만 효능 검증 (in vitro) | 10 | 100 | ○ 지방세포(3T3 cell) 내 AMPK/ACC의 효소 활성도 및 인산화 변화 관찰 |

| | | | |
|---|----|-----|---|
| | | | <ul style="list-style-type: none"> ○ 지방세포(3T3 cell) 내 HMG-CoA reductase 활성 억제를 통한 cholesterol 및 FA 합성 변화 관찰 ○ cDNA microarray analysis를 이용한 근육 및 지방세포 내 유전자 발현의 증감 관찰 ○ 간세포(HepG2 cell) 내 CPT-1 활성화에 의한 beta-oxidation 변화 관찰 ○ 풋굴 착즙액의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정 및 합성, 천연 항산화제와 비교 ○ 풋굴 착즙액의 in vitro 항산화 활성(DPPH, ABTS, Hydroden radical scavenging activity, 환원력) 평가 및 합성, 천연 항산화제와 비교 |
| <ul style="list-style-type: none"> ○ 풋굴 추출 또는 가수분해물의 항비만 효능 검증(<i>in vitro, in vivo</i>) | 10 | 100 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 풋굴 추출물을 투여한 비만모델동물(ob/ob mouse)의 체중 및 체지방 변화 관찰 ○ 비만모델 동물(ob/ob mouse) 혈액 내의 Total cholesterol, HDL/LDL, FA, TG, Apo A1, Apo B 등의 변화 관찰 ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 간세포 내 CPT-1 활성화에 의한 beta-oxidation 변화 관찰 ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 지방세포 내 HMG-CoA reductase 활성 억제를 통한 cholesterol 및 FA 합성 변화 관찰 ○ 급성 및 아급성 독성실험 ○ 풋굴 주정 추출물(착즙박, 착즙액)의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정 ○ 풋굴 주정 추출물(착즙박, 착즙액)의 flavonoid 함량 분석 ○ 풋굴 주정 추출물(착즙박, 착즙액)의 in vitro 항산화 활성(DPPH, ABTS, Hydroden radical scavenging activity, 환원력) 평가 |
| <ul style="list-style-type: none"> ○ 풋굴 추출 또는 가수분해물의 항비만 효능 검증 (<i>in vivo</i>) ○ 풋굴 추출 또는 가수분해물의 항비만 임상 실험 | 20 | 100 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 비만모델동물(ob/ob mouse) 근육 및 지방세포 내 AMPK/AOC의 효소 활성도 및 인산화 변화 관찰 ○ cDNA microarray analysis를 이용한 비만모델 동물(ob/ob mouse) 근육 및 지방세포 내 유전자 발현의 증감 관찰 ○ 풋굴 추출물의 in vitro 항산화 활성 검증 ○ 인체를 대상으로 체중 및 체지방 변화 관찰 임상실험 ○ 인체 혈액 내의 Total cholesterol, HDL/LDL, FA, TG, Apo, A1, Apo B 등의 변화 관찰 임상실험 ○ 풋굴 껍질의 아임계+가수분해 추출물의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정 ○ 풋굴 껍질의 아임계+가수분해 추출물의 in vitro 항산화 활성(DPPH, ABTS, Hydroden radical scavenging activity, Hydroxyl radical scavenging activity, SOD activity, 환원력) 검증 |

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

꽃굴은 완숙과보다 플라바논 2배당체(di-glucosides)인 hesperidin과 narirutin의 함량이 2배이상 높으며 플라바논 2배당체를 가수분해하면 플라바논 1배당체(mono-glucosides)와 비배당체(aglycones)가 생성되는데, 이들은 플라바논 2배당체보다 높은 체중조절 효과를 나타내며 이를 활용하여 꽃굴을 활용하여 친환경 공정인 아임계수 추출 및 가수분해 공정을 통해 다이어트 식품 개발하였음. 이러한 연구결과를 바탕으로 논문 10편(SCI 6편, 비SCI 4편) 지식재산권 6건(특허출원 5건, 디자인특허 1건), 국내외 학술발표 19건, 국내 신문등 홍보 2건 등의 우수한 성과를 이루어 내었으며 지속적인 제품개발로 제주도 특산품인 꽃굴을 홍보하고 수출을 주도하는 기업이 되도록 할 것임.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

o 해당사항 없음

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

꽃굴의 아임계수 가수분해 기술을 활용한 다양한 생리활성기능이 증진된 제품개발을 통해 이러한 우수한 기술을 활용하여 새로운 방식으로 접근할 수 있는 가능성을 보였고, 기능성 성분을 지닌 일반식품으로서 건강기능식품의 시장규모가 빠른 성장세를 보이고 있는 요즘시대에 폭넓은 시장을 확보하기 위하여 추후 건강기능식품으로 활용할 추가적인 연구와 기존 제품과 다른 형태의 제품을 개발할 필요성이 있다고 판단되며 이는 향후 산업발전 확대 및 기업성장에 큰 도움이 될 것으로 보임.

IV. 보안성 검토

o 해당사항 없음

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

o 해당사항 없음

2. 연구개발기관 자체의 검토결과

o 해당사항 없음

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

| 성과 목표 | 사업화지표 | | | | | | | | | | | 연구기반지표 | | | | | | | | | | |
|------------|-----------|----------|----------|---|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------------|------------------|-------------|------------------|----------------------------|------------------|----------|----------|------------------|------------------|-------------------|---|---|
| | 지식 재산권 | | | | 기술 실시 (이전) | | 사업화 | | | | | 기술 인증 | 학술성과 | | | 교육 지도 | 인력 양성 | 정책 활용· 홍보 | | 기타 (타연구 활용) | | |
| | 특허 출원 | 특허 등록 | 품종 등록 | S M A R T P R O T E C T I O N | 건 수 | 기술 료 | 제 품 화 | 매 출 액 | 수 출 액 | 고 용 창 출 | 투 자 유 치 | | 논 문 | | 학 술 발 표 | | | 정 책 활 용 | 홍 보 전 시 | | | |
| | | | | | | | | | | | | S C I | 비 S C I | 논 문 평 관 I F | | | | | | | | |
| 단위 | 건 | 건 | 건 | 건 | 건 | 백 만 원 | 건 | 백 만 원 | 백 만 원 | 명 | 백 만 원 | 건 | 건 | 건 | 명 | 건 | 건 | | | | | |
| 가중치 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 최종 목표 | 2 | - | - | - | - | - | 3 | 850 | - | 3 | - | - | 5 | 7 | - | 13 | 3 | 6 | - | 3 | - | |
| 연구 기간 | 목표 | 2 | - | - | - | - | - | 3 | 850 | - | 3 | - | - | 5 | 7 | - | 13 | 3 | 6 | - | 3 | - |
| | 실적 | 6 | - | - | - | - | - | 5 | 145 | - | 4 | - | - | 6 | 4 | - | 19 | 1 | 5 | - | 2 | - |
| 달성률 (%) | 300 | - | - | - | - | - | 160 | 17 | - | 130 | - | - | 120 | 57 | - | 146 | 33 | 83 | - | 66 | - | |

4. 핵심기술

| 구분 | 핵심기술명 |
|----|---|
| ① | 제주산 원료의 안정성 및 유효성분(TPC,TFC) 원료 표준화 |
| ② | 팻글 및 팻글착즙액, 팻글추출물을 활용한 대량생산 조건의 제품 제형화 및 제품화 기술 |
| ③ | 팻글 및 팻글 추출물의 항비만 효능평가 기술 |
| ④ | 팻글 및 팻글추출물을 투여한 비만모델동물 항비만 효능평가 기술 |
| ⑤ | 인체를 대상으로 항비만 효능평가 기술 |

5. 연구결과별 기술적 수준

| 구분 | 핵심기술 수준 | | | | | 기술의 활용유형(복수표기 가능) | | | | |
|-------|----------|----------|----------------|---------------|---------------|-------------------|----------------|----------------|----------|----|
| | 세계 최초 | 국내 최초 | 외국기술 복 제 | 외국기술 소화·흡수 | 외국기술 개선·개량 | 특허 출원 | 산업체이전 (상품화) | 현장애로 해 결 | 정책 자료 | 기타 |
| ①의 기술 | | | | | | | V | | | |
| ②의 기술 | | V | | | | V | V | | | |
| ③의 기술 | | | V | | | V | | | | |
| ④의 기술 | | | V | | | V | | | | |
| ⑤의 기술 | | | V | | | V | | | | |

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

| 핵심기술명 | 핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과 |
|-------|--|
| ①의 기술 | 제주지역 농산물을 수급함에 따라 농원과 기업 간 win-win 효과를 볼 수 있으며 본 과제가 성공적으로 수행될 시 확보되는 기술은 기업의 근본적인 기술이 될 것이며 제품을 출시함으로써 매출효과를 기대할 수 있으며 그로인한 제주지역 인재 채용을 통해 지역경제에 이바지 할 것으로 기대됨. 또한, 체중조절의 B2C 제품은 현재 다양하게 출시되고 있으나 제주 특산물인 풋갈을 활용한 제품은 없으며 다이어트 제품을 찾는 소비자의 needs를 반영한 기능성 강화효과를 부여하여 국내 소비자의 기호에 맞춘 제품개발로 인해 매출증대효과를 기대해 볼 수 있으며, 다수의 기능성 식품제조 분야에 본 기술을 활용할 수 있을것이라 판단됨. |
| ②의 기술 | |
| ③의 기술 | |
| ④의 기술 | |
| ⑤의 기술 | |

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

| 성과 목표 | 사업화지표 | | | | | | | | | | | 연구기반지표 | | | | | | | | | |
|---------------|--------|-------|-------|-------|------------|-----|----------|-----|-----|----------|------|--------|--------|---------|-----------|-------|-------|----------|-------|-------------|-------|
| | 지식 재산권 | | | | 기술 실시 (이전) | | 사업화 | | | | | 기술 인증 | 학술성과 | | | 교육 지도 | 인력 양성 | 정책 활용·홍보 | | 기타 (타연구활용등) | |
| | 특허 출원 | 특허 등록 | 품종 등록 | SMART | 건수 | 기술료 | 제품화 | 매출액 | 수출액 | 고용 창출 | 투자유치 | | 논문 SCI | 논문 비SCI | 논문 평균 IIF | | | 학술 발표 | 정책 활용 | | 홍보 전시 |
| 단위 | 건 | 건 | 건 | 건 | 건 | 백만원 | 건 | 백만원 | 백만원 | 명 | 백만원 | 건 | 건 | 건 | 건 | 명 | 건 | 건 | | | |
| 가중치 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 최종목표 | 2 | - | - | - | - | - | 3 | 850 | - | 3 | - | - | 5 | 7 | - | 13 | 3 | 6 | - | 3 | - |
| 연구기간내 달성실적 | 6 | - | - | - | - | - | 5 | 145 | - | 4 | - | - | 6 | 4 | - | 19 | 1 | 5 | - | 2 | - |
| 연구종료후 성과창출 계획 | | | | | | | <u>1</u> | | | <u>1</u> | | | | | | | | | | <u>1</u> | |

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

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

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 맞춤형 혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업의 최종보고서이다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 맞춤형 혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.