

친환경농업연구사업단
(Environment-Friendly Agriculture Research Center)

제 2 핵심과제 친환경농산물 기능성 평가

[Theme II] Analysis of Biological Activity of Environment-Friendly
Cultivated Crops

전남대학교 산학협력단

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “친환경농업연구사업단” 과제(제 2 핵심과제 “친환경농산물 기능성 평가”
에 관한 연구)의 보고서로 제출합니다.

2010년 11월 1일

주관연구기관명 : 전남대학교 산학협력단

주관연구책임자 : 박 노 동

세부연구책임자 : 이 성 진

세부연구책임자 : 박 수 현

협동연구기관명 : 대전대학교 산학협력단

협동연구책임자 : 진 미 림

협동연구기관명 : 전라남도농업기술원

협동연구책임자 : 박 장 현

요 약 문

I. 제 목 : 친환경농산물 기능성 평가 [제 2 핵심]

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

- 전라남도는 친환경 농업을 지향하는 농도로서 전국에서 가장 친환경 재배 농가나 면적이 넓은 지역으로 다양한 친환경 농산물이 생산되고 있다.
- 친환경 농자재 개발이 급증하면서 검증되지 않은 농자재를 사용한 농산물 생산을 통해 친환경을 표방한 농산물이 안전한지, 기능성 면에서 관행재배 농산물보다 나은지에 대한 연구의 필요성이 제기되고 있다.
- 또한, 유기농 식품의 산업규모는 계속 확대될 추세이므로 이들의 영양 및 건강 기능적 측면은 더욱 부각될 것으로 전망하고 있어, 유기농 농산물에 대한 검증도 시급히 요청되고 있다.
- 본 연구팀은 친환경 농산물의 안전성 및 기능성을 실험 동물 모델과 세포주를 이용하여 분석함으로써, 친환경 농산물이 관행 재배 농산물과 비교하여 생체 활성의 기능적 우수성과 생리활성 증진 작용을 나타내는지에 대하여 다각도로 연구하고자 하였다. 이를 위하여 동일 재배 조건을 적용하여 재배하였으며, 전남대학교 친환경 연구사업단에서 개발한 농자재와 재배매뉴얼에 따라 재배한 무농약 재배 농산물과 유기재배 농산물을 관행재배 농산물과 생리활성을 비교 분석함으로써 친환경 농산물의 안전성과 기능성을 과학적으로 검증하고자 한다.
- 본 연구팀은 유용생리활성 물질 분석, 세포 생장에 미치는 영향, 항산화 활성과 질환모델 세포를 이용한 실험으로부터 생리활성에 미치는 영향을 비교분석하여 친환경 농산물의 안전성과 기능성에 대한 과학적 근거를 제시하고자 한다.
- 다양한 질병의 원인 물질로 알려진 세포내 유해산소를 제거할 수 있는 항산화 활성을 사람 간세포를 이용하여 다각도로 분석하였으며, 현대 사회에 문제가 되고 있는 대사성 질환 (당뇨 및 지방간)의 *in vitro* 모델을 이용하여 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 발병 억제 효과 검사 및 당뇨병성 비만증 (지방간) 억제 효과를 규명하여 친환경 농산물의 기능성을 밝히고자 하였다.
- 친환경 농산물의 면역 조절 작용을 다양한 각도에서 규명하고 세포 분자적 수준에서 이해하고자 하였으며, 친환경재배 농산물과 일반재배 농산물 중 원예작물인 고추, 배, 딸기, 토마토, 사과, 유자, 부지화과 식용 및 특용작물인 쌀, 녹차 그리고 쌈채류인 상추, 썩갯, 깻잎 등의 물리성, 기호성, 생리활성물질 등의 함량 비교 분석과 친환경농산물 중 차잎과 빵잎을 이용한 친환경 가공제품 제조를 통해 친환경 농산물에 대한 소비자 인식 전환과 친환경농업 확산을 위한 과학적 근거 제시를 위한 기초 자료를 확보하고자 하였다.

2. 연구개발의 필요성

- 친환경 농산물-무농약과 유기재배 농산물-에 대한 소비자의 관심이 증대되면서 친환경

농법을 하는 농민들 또한 증가하고 있다. 친환경 농산물이 관행재배 농산물과 비교해 안전하고 기능성이 더욱 우수하다면 농가의 수입 증대 및 우리농산물에 대한 소비 촉진으로 이어져, 결국 농업을 살리는 길이 될 것이지만 친환경 농산물과 관행 재배 농산물의 생리활성을 비교 분석한 연구가 매우 미미한 실정이다.

- 이를 위해 다각도로 친환경 농산물에 대한 검증이 필요하며, 축적된 데이터를 통해 친환경 농산물의 기능성 및 생리활성이 검증된다면 국민건강 증진에도 기여할 수 있다.
- 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 생리활성 물질을 분석함으로써 재배 방법에 따른 작물의 이차대사 산물 및 유용생리활성 물질 분포의 변화에 관한 과학적 결과를 얻게 됨으로서 식물체 재배 및 생육에 관한 전문 지식을 함양할 수 있다.
- 또한 대사질환 모델을 이용하여 친환경 농산물이 관행재배 농산물보다 기능성이 우월한지를 분석하고자 하였으며, 면역 활성화 및 증진에 기여하는지를 분석함으로써 현대사회에 급증하고 있는 다양한 만성질환의 개선 및 예방에 기여하는지 분석할 필요성이 있다.
- 이러한 연구는 현대 사회에서 가장 문제되고 있는 성인 질환에 대하여 친환경 농산물의 기능성 연구를 통한 기능적 우월성을 확보하여 친환경 농산물의 고부가가치 형성 및 친환경 농업 정책의 활성화를 유도할 수 있을 것으로 판단이 된다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 항산화 활성분석 [2-1세부과제]

- 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 항산화 활성 - ORAC 분석
- 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 유용생리활성 물질 분석- HPLC, GC-Mass 등
- 농산물 추출물이 사람 간세포 성장에 미치는 영향분석
- 항산화 활성 효소 CAT, SOD 발현에 미치는 영향분석
- 산화적 스트레스로부터 세포 보호활성 분석
- 세포내 유해산소(ROS) 생성 억제 활성 분석
- 지질과산화 억제 활성 분석
- 질환모델 이용 농산물 생리활성 분석

2. 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 항당뇨 생리 활성분석 [2-2세부과제]

- 대상 작물: 고추, 미강, 상추, 썩갓, 들깨잎 및 기타 작물
- 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 발병 억제 효과 검사
- 친환경 농산물의 비만성 지방간 예방효과
- 친환경 농산물의 당뇨신증 억제 및 지방간 예방 관련 단백질 규명

3. 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 면역조절 기능성 연구 [2-3세부과제]

○ 내용

- 친환경 농산물의 *in vitro* 면역 조절 기능 분석
- 친환경 농산물의 *in vivo* 및 *ex vivo* 면역조절 기능 분석

○ 범위

- 친환경 농산물의 *in vitro* 면역 조절 기능 분석
- 대식 세포주인 Raw 264.7 세포, 호염구성 비만세포인 RBL-2H3 세포와 EL-4 T 세포 배양 시스템을 이용하여서 친환경 농산물과 관행법으로 재배된 농산물의 염증성 매개 물질과 사이토카인 생성에 미치는 영향을 비교 분석
- 친환경 농산물의 *in vivo* 및 *ex vivo* 면역조절 기능 분석
- 친환경 농산물을 생쥐에게 경구투여하고 피어스판을 분리한 뒤 피어스판의 면역세포 활성화와 사이토카인 생성에 미치는 효과를 비교 분석
- 친환경 농산물의 Th1 면역 반응에 미치는 영향 분석
- 친환경 농산물의 Th2 면역 반응에 미치는 영향 분석

4. 친환경 농산물의 기호성 및 기능성 품질 평가 [2-4세부과제]

○ 친환경농산물과 일반농산물의 기호성 및 기능성 품질 평가

- 분석품목 : 12개 품목(고추, 배, 딸기, 토마토, 사과, 유자, 부지화, 쌀, 녹차, 상추, 숙갓, 깻잎)
- 분석성분
 - 물리성 : 경도, 색도 등
 - 기호성 : 당도, 총산, 엽록소, 총아미노산, 비타민 C 등
 - 기능성 : 생리활성물질, 총페놀, 항산화, 플라보노이드, 아질산 소거능 등

○ 친환경농산물 이용 가공제품 개발

- 가공재료 : 3종(친환경 차잎, 친환경콩잎, 친환경쌀)
- 개발제품 : 5종(가바녹차, 뒤음콩녹차, 콩옥녹차, 가바 콩잎가루차, 가바콩쌀)

IV. 연구개발결과

1. 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 항산화 활성 분석 [2-1세부과제]

가. 유용생리활성 물질 분석

- 무농약 농산물과 농약 농산물(고추, 쌈채류, 벼와 그 외 작물)의 총페놀함량과 플라보노이드 함량을 분석한 결과 항산화 활성과 유사하게 무농약 농산물에서 대부분의 성분이 높게 검출되었다. 무농약 농산물과 농약 농산물을 HPLC 분석법을 이용하여 유용생리활성 물질 가운데 바이오아민류와 바이오아민 유도체의 성분을 분석한 결과 무농약 토마토와 고추에서 세로토닌 성분이 2-4배 증가하였으며, 바이오아민 유도체인 FS의 함량 또한 2-6배 증가한 것을 관찰하였다.
- 무농약 청양고추와 농약 청양 고추를 70% 메탄올 추출한 후 GC Mass로 물질 분석 결과, 무농약 고추와 관행고추에서 다양한 물질이 분석되었으며, 이들 중 일부 물질 들은 무농약 혹은 관행재배에서만 발견되어 재배 방법에 따른 농산물 이차대사 산물의 프로파일이 달라짐을 알 수 있었다.
- 바이오아민 분석: 트립토판, 트립타민, 티라민, 세로토닌 등 바이오아민 함량을 HPLC 분석법을 이용하여 정량 분석하였다. 고추는 티라민 함량이 가장 높게 나타났다(127~333 µg/g dw), 트립토판이 86~211 µg/g dw, 트립타민이 23~34 µg/g

dw, 세로토닌이 7.8~12.3 $\mu\text{g/g dw}$ 으로 검출되었다.

- 무농약, 저농약, 농약 및 유기농 재배한 쌀 7종의 항산화 활성 및 성분 분석을 실시하였다. 분석결과 무농약과 저농약 재배한 쌀은 유사한 결과를 보였으며, 전반적으로 무농약재배 쌀이 항산화 활성 및 페놀함량 등 성분에서 비교적 높게 나타났다.

나. 고추의 항산화 활성 분석

(1) 산화적 스트레스로부터 세포 보호활성 분석

- 고추 추출물들을 처리 24시간 후 1mM H_2O_2 를 1시간 처리하여 XTT assay를 통하여 세포 성장을 측정된 결과 초기에 채집한 고추의 추출물은 무농약 고추, 관행재배 고추 모두 0.025~2.5 $\mu\text{g/mL}$ 추출물 농도에서 유해산소로 인한 세포 사멸을 효과적으로 차단하였다.

(2) 세포내 유해산소 생성 억제 활성 분석

- 세포에 1mM H_2O_2 를 처리하여 산화적 스트레스를 야기 시킬 경우 H_2O_2 만을 처리시 90% 이상 증가한 세포내 유해산소가 친환경 고추 추출물을 처리한 세포에서는 30% 정도로 유해산소를 생성을 억제하였다. 하지만 관행 고추 추출물에서는 저농도에서 60% 정도로 낮추었을 뿐 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 농도에서는 H_2O_2 처리시보다 더욱 높은 세포내 유해산소를 생성하였다.

(3) 지질과산화 억제 활성 분석

- 0.025 $\mu\text{g/mL}$ 와 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 친환경 및 관행 고추 추출물을 HepG2 세포에 처리한 후 지질과산화 수준을 측정된 결과 대조군에 비해 친환경 고추 추출물에서는 1.7배 와 1.4배, 관행 고추 추출물은 1.5배와 1.3배로 관행 고추 추출물에서 좀 더 나타났으며 높은 농도에서 더 지질과산화를 감소시키는 것으로 보인다.

다. 들깨잎의 항산화 활성 분석

(1) 관행재배/키턴퇴비/미생물처리 들깨잎의 간세포 생리활성 분석

- 들깨잎의 70% 메탄올을 이용한 추출물을 간세포에 처리하여 간세포 성장 및 항산화 활성 분석하였을 때 250 $\mu\text{g/mL}$ 농도까지 간세포 성장에 안정적이었으며, 1 mM H_2O_2 를 처리하여 간세포에 산화적 스트레스를 가했을 때 약 60%까지 간세포가 사멸하나 들깨잎 추출물 250 $\mu\text{g/mL}$ 을 처리하면 정상 수준까지 간세포 사멸을 억제하였다.

(2) 관행재배/키턴퇴비/미생물처리 들깨잎의 세포내 ROS 생성 억제 활성 분석

- 1mM H_2O_2 처리에 의해 간세포 내 ROS 생성이 약 2.5배 증가하였으며, 들깨잎 추출물은 세포내 ROS의 생성을 효과적으로 차단하였다.

(3)관행재배/키턴퇴비/미생물처리 들깨잎의 지질과산화 억제 활성 분석

- 1 mM H_2O_2 처리에 의해 간세포 지질과산화가 약 15% 증가하였으며, 들깨잎 추출물은 250 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 지질과산화를 약 30% 감소시켰다.

라. 유기재배 벼 미강 추출물을 이용한 항산화 활성 분석

(1) 산화적 스트레스로부터 간세포 보호활성 분석

- 산화적 스트레스로부터 세포를 보호하는 항산화활성을 분석하기 위하여 호품벼, 호

평벼, 운광벼 유기재배와 관행재배 미강 추출물을 제조하고 생리활성을 분석한 결과, 유기재배 호품벼 미강과 호평벼 미강은 산화적 스트레스로 인한 세포 사멸을 차단하는 항산화 활성이 관행재배 미강 벼보다 높게 나타났다. 그러나 운광벼 미강 추출물은 유기재배와 관행재배 사이에 큰 차이를 보이지 않았다.

(2) 세포내 ROS 억제 활성 분석

- 유기재배 호품벼 미강 추출물은 H₂O₂에 의해 생성된 ROS를 매우 효과적으로 제거하였다. 관행재배 호품벼 미강 역시 0.25 µg/mL 이상의 농도에서 세포내 ROS생성을 억제하는 효능이 높게 나타났다. 호평벼의 경우 유기재배 호평벼가 관행재배 호평벼 보다 세포내 ROS 생성을 보다 효과적으로 제거하였으며, 농도가 높을수록 ROS 제거활성이 증가하였다. 운광벼는 2.5 µg/mL 이상의 농도에서 세포내 ROS생성을 억제하는 효능이 나타났으며, 유기재배가 관행재배보다 효능이 높은 것으로 보였다.

라. 알코올에 의한 간세포 손상에 미치는 친환경 농산물의 영향 분석

(1) 알코올에 의한 간세포 손상과 ROS의 관련성 분석

- 고추 추출물 처리하였을 때 에탄올에 의한 간세포 사멸을 보호하고 세포내 ROS 발생을 억제시켰으며, 상추와 쑥갓 처리에 의한 효능 분석 결과 상추와 쑥갓 모두 간세포 보호 활성이 뛰어났으나, 관행과 무농약 간의 차이는 발생하지 않았다.
- 유기농 벼의 간세포 보호 활성을 조사하고자 호품벼와 호평벼 추출물을 간세포 처리하여 알코올에 의한 간세포 손상을 유도하여 효능을 분석한 결과 호품벼가 호평벼보다 간세포 보호활성이 높게 나타났으나, 유기농과 관행간의 차이는 나타나지 않았다.

(2) 알코올에 의한 세포 사멸 관련 유전자 발현에 미치는 영향 분석

- 상추와 키틴들겟있는 간세포 사멸에 의해 유도되는 유전자인 cleaved PARP의 생성량 분석 결과 상추에서는 cleaved PARP의 발현을 효과적으로 차단하였으나, 키틴들겟있에서는 효능이 없었다.
- 상추와 쑥갓 추출물을 0.8M 알코올을 처리한 간세포에 처리하였을 때 2.5 µg/ml의 농도에서 관행과 무농약 상추가 caspase3의 활성화를 억제하여 알코올에 의한 간세포 사멸을 보호하는 활성을 보였으며, 쑥갓의 경우 처리구 250 µg/ml에서 가장 좋은 활성을 보였다. 상추와 쑥갓 모두 무농약 처리구에서 보다 좋은 활성을 나타내었다.

2. 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 항당뇨 생리활성 분석 [2-2세부과제]

가. 고추의 항당뇨 생리활성 분석

(1) 고추의 항당뇨 신증 예방

- 고추의 경우 일부 시료 채집군에서 무농약 재배 고추 추출물이 관행 재배 고추 추출물에 비해서 고평도당 (또는 palmitic acid)에 의한 사구체 세포의 fibronectin, Akt 및 ERK 활성화를 억제하는 것으로 확인되었다.
- Proteomics를 이용하여 무농약 고추에 의한 당뇨 신증 예방 관련 단백질들 (moesin, pre-mRNA-splicing factor SLU7, gamma-glutamyltranspeptidase I precursor,

cathepsin L precursor, F-box only protein 6 및 transgelin)을 사구체 세포에서 분리 동정하였다.

(2) 고추의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석

- 대체적으로 고추의 경우 일부 용매 추출물에서 무농약 재배 고추 추출물이 관행 재배 고추 추출물에 비해서 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 효과가 차단되었다. Palmitic acid에 의한 간세포 사멸에 관련되는 단백질인 p38 MAPK, JNK 활성화, Bax, ER stress 유발 단백질인 PERK 발현이 증가하였으며 세포사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 경우는 감소하였다. 이러한 반응은 무농약 재배 고추추출물에서 차단되는 것으로 나타났다
- 일부 시료에서 무농약 고추 추출물이 관행 재배 고추추출물에 비해 지방산에 의한 지방간 축적을 억제하는 것으로 관찰되었다.
- Proteomics를 이용하여 무농약 고추에 의한 지방간 예방 관련 단백질들 (Collectin-12, UDP-glucose 6-dehydrogenase, glutaminase liver isoform, microtubule associated protein 6, WW domain-containing oxidoreductase, Zn finger protein 94 및 protein UXT)을 간세포에서 분리 동정하였다.

(3) 고추의 비만 관련 단백질 효능 비교 분석

- 지방 세포에 고추추출물을 처리하여 항비만 단백질인 adiponectin 및 PPAR gamma 발현을 측정된 결과 무농약 재배 고추 추출물이 관행 재배 고추 추출물에 비해서 이들 단백질 발현을 증가시키는 것으로 나타났다.

나. 미강의 항당뇨 생리활성 분석

(1) 미강의 항당뇨 신증 예방

- 미강의 경우 도널드의 경우는 무농약, 친환경, 관행 재배의 경우 고평도당에 의한 ERK, JNK, Akt 활성을 차단하였으나 군간에 차이는 인정이 되지 않았다. 이에 반해 palmitic acid에 의한 신장 세포 사멸은 차단효과가 인정이 되지 않았다.
- 운광 및 호평의 경우는 일부 용매 분획에서 고평도당에 의한 podocyte 사멸을 차단하였으나 관행재배군과 유기농 재배군간의 차이는 인정이 되지 않았으며 호평의 경우는 양군에서 차단효과가 인정이 되지 않았다.

(2) 미강의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석

- 운광, 호평 및 호평의 경우는 일부 용매 분획에서 palmitic acid에 의한 간세포 사멸을 차단하였으나 관행재배군과 유기농 재배군간의 차이는 인정이 되지 않았다.
- 호평의 경우 지방간 축적예방 효과가 유기농 재배군에서 크게 인정이 되었으나 운광 및 호평의 경우는 양군에서 차단효과가 인정이 되지 않았다.

다. 썩갯의 항당뇨 생리활성 분석

(1) 썩갯의 항당뇨 신증 예방 효과

- 썩갯의 경우 고평도당에 의한 podocyte 세포 사멸 차단효과가 관행재배 및 무농약 처리군에서 인정이 되지 않았다.

(2) 썩갯의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석

- 썩갯의 경우 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 차단의 경우 일부 용매 분획에서 인

정이 되었으며 다소 관행재배 군에 비해 무농약 재배군에서 효가가 강하게 인정이 되었다. 간세포 사멸 관련 단백질인 PERK, eIF-2 alpha, PARP, caspase-3, -9 및 Bcl-2 의 경우도 같은 양상을 볼 수 있었다.

- 간세포에 지방 축적의 경우도 무농약 재배 추출물에 의해서 차단되는 것으로 나타났다.

라. 상추의 항당뇨 생리활성 분석

(1) 상추의 항당뇨 신증 예방 효과

- 상추의 경우 고포도당에 의한 podocyte 세포 사멸 차단효과가 관행재배 및 무농약 처리군에서 인정이 되지 않았다.

(2) 상추의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석

- 상추의 경우 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 차단의 경우는 양군에서 인정이 되지 않았다. 간세포 사멸 관련 단백질인 PERK, eIF-2 alpha, PARP, caspase-3, -9 및 Bcl-2 의 경우도 양군에서 차단효과는 인정이 되지 않았다.
- 간세포에 지방 축적의 경우도 무농약 재배 추출물에 의해서 차단되는 것으로 나타났다.

바. 들깨잎의 항당뇨 생리활성 분석

(1) 들깨잎 항당뇨 신증 예방 효과

- 들깨잎의 경우 고포도당에 의한 podocyte 세포 사멸 차단효과가 관행재배 및 무농약 처리군에서 인정이 되지 않았다.

(2) 들깨잎의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석

- 들깨잎의 경우 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 차단 효과가 양군에서 인정이 되지 않았다.
- 간세포에 지방 축적의 경우도 무농약 재배 추출물에 의해서 차단되는 것으로 나타났다.

사. 기타 무농약 재배 작물과 관행재배 작물의 기능성 검증.

- 배의 경우 친환경 재배 추출물이 관행재배 추출물에 비해 간세포 성장, 간세포 ATP 생성, IGF-I 합성 및 세포 성장 단백질 발현 등에서 간세포 성장을 촉진하는 것으로 나타났음
- 딸기의 경우 친환경 재배 고추 추출물이 관행재배 추출물에 비해 고포도당에 의한 Akt, JNK, ERK 및 fibronectin 발현을 현저하게 억제하는 것으로 나타났으며 이들 관련 단백질을 분리 동정하였음.
- 한라봉, 사과 의 경우 역시 무농약 재배 추출물에서 항당뇨 신증 효과가 인정이 되었으나 토마토는 양쪽군에서 인정이 되지 않았다.

3. 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 면역조절 기능성 연구 [2-3세부과제]

- 친환경법에 의해 재배된 고추 추출물은 LPS로 활성화된 Raw 264.7 세포에서 NO의 형성을 유의적으로 감소시킬 수 있었으며 이러한 작용은 관행군에 비하여 우수한 것으로 확인하였으며, 운팡벼 추출물이 NO의 생성을 약간 감소시킬 수 있다는 것

을 확인하였다.

- 친환경법에 의해 재배된 고추 추출물은 PI로 활성화된 RBL-2H3 세포에서 발현되는 Th2 사이토카인인 IL-4 및 IL-13의 생성을 유의적으로 감소시켰으며 관행군에 비하여 우수한 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다. 호평벼, 운광벼 싹갓 추출물은 RBL-2H3 세포에서 발현되는 Th2 사이토카인인 IL-4 및 IL-13의 생성에 어떠한 효과도 나타내지 않았다.
- 호평벼, 운광벼, 싹갓 추출물은 PI로 활성화된 EL-4 T세포에서 발현되는 Th2 사이토카인인 IL-4의 생성을 감소시켰으며 처리군은 관행군에 비하여 우수한 효과를 나타낸다는 것을 확인하였고, 상추 관행군은 PI로 활성화된 T세포에서 발현되는 사이토카인인 IL-2의 생성을 유의적으로 증가시켰으며 싹갓 처리군에서는 IL-2의 생성이 감소하는 효과가 나타났다.
- 친환경법에 의하여 재배된 고추 추출물을 생쥐에 경구 투여하여 피어스판 면역세포 활성을 분석한 결과, 관행법에 의해 재배된 고추 추출물을 투여한 대조군에 비하여 Con A로 활성화된 피어스판 면역세포의 IL-2와 IFN- γ 생성이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 또한 CD3와 CD19+ 세포의 수를 증가시켰으며 IL-2+/CD4+ T 세포가 증가하는 것을 확인하였다.
- 친환경법에 의하여 재배된 고추 추출물의 피어스판 면역 세포 활성화를 증강시키는 물질을 규명하기 위하여 추출물의 성분을 HPLC로 분석한 결과 특정 피크가 유의적으로 증가한 것을 발견하였으며, 이를 분리하여 생쥐에 경구 투여하였을 때 Con A로 활성화된 피어스판 면역세포의 IL-2와 IFN- γ 생성이 유의적으로 증가하는 것을 확인한 바, 친환경법에 의하여 생성량이 증가되어 면역 활성을 증강시키는 물질로 판단하고 EF-1 이라 명명하였으며 구조 분석 중에 있다.

4. 친환경 농산물의 기호성 및 기능성 품질평가 [2-4세부과제]

가. 친환경 원예농산물의 품질특성 연구

친환경 및 일반 원예작물의 성분, 품질상의 차이를 비교한 결과

- 고추는 친환경이 일반에 비해 경도, 녹색도, 아미노산, 비타민 C 등 품질과 캡사이신, 총페놀, 항산화활성, 아질산소거능이 높게 나타났다.
- 친환경 배가 미량원소, 유리아미노산, 경도, 유리당, 총페놀, 항산화활성 등이 비교적 높게 나타났다.
- 친환경 딸기가 총질소, 유리아미노산, 당도, 적색도 및 유리당 함량, 경도가 높았고 항산화활성, 총페놀 함량도 양호하였다.
- 친환경 토마토가 총질소, 당도, 아미노산, 적색도, 경도가 높았으며 비타민 C, 카로틴, 라이코펜%, 항산화활성 및 총페놀 함량이 높게 나타났다.
- 친환경 사과가 당도, 산도, 경도 유리아미노산, 비타민 C, 항산화, 총페놀 함량이 높았다.
- 유기 유자가 황색도는 양호하였으나 당도, 경도 등 기호성, 물리성 차이는 크지 않았다. 헤스페리딘, 나린진, 총페놀, 항산화, 아질산소거능 등 기능성이 우수하게 나타났다.
- 친환경 부지화가 당도, 총산, 황색도, 경도가 높았고, 질산태질소함량이 낮았으며, 헤

스파라딘, 나린진, 비타민 C, 총페놀, 항산화, 지질산패방지율 등 기능성이 높게 나타났다.

나. 친환경재배 식용 및 특용작물 품질 분석 연구

친환경 및 일반 식용, 특용작물의 성분, 품질상의 차이를 비교한 결과

- 유기산이 단백질, 아밀로스함량 등이 낮고, 취반미윤기치가 높아 품질이 우수하였고, 피트산, 총페놀, 항산화활성, 아질산소거능, 지질산패방지율 등 기능성이 높았다.
- 무농약 녹차가 총질소, 감칠맛 주성분인 테아닌 등 유리아미노산 및 엽록소 함량이 높아 품질 및 관능평가 양호, 비타민 C, 항산화, 총페놀 및 카테킨 등 기능성도 우수하게 나타났다.

다. 다양한 성분 스크린을 통한 친환경재배 쌀채류의 품질 연구

- 친환경 및 일반재배 상추, 쑥갓, 깻잎의 성분, 품질상의 차이를 비교한 결과, 친환경 농산물에서 총페놀, 플라보노이드, 항산화활성, 아질산소거능 등 기능성이 높았다.
- 무농약 쑥갓이 경도, 질산태질소 함량 낮았고 총페놀, 플라보노이드, 항산화력 높게 나타났다.
- 무농약 깻잎이 녹색도 높고, 질산태질소 함량은 낮았으며, 아질산소거능 등 높게 나타났다.

라. 친환경 재배 농산물의 GABA 함량 증진 기술개발

- 차잎을 CO₂ 가스로 헹기처리 후 제다시 기호성과 기능성 GABA함량 10배 이상 증가하였다.
- 옥록차 제조법 이용 친환경 병녹차 개발은 증열(100℃ 60초)→조유(130℃ 60분)→비법 (15분)→건조 및 마무리(180℃,50분—130℃,60분—80℃,60분)시 제품수율 및 기호성이 양호하였다.
- 친환경 덪음 병녹차는 첫덪음(270℃,7분)→비법(20분)→건조 및 마무리(185±5℃, 55±5분—140℃,55±5분—70℃,40분)시 제품수율 및 기호성이 양호하였다.
- 식용접착제를 1±0.5%농도로 쌀 표면에 균일하게 살포한 후 GABA강화 병잎가루차를 0.25~1% 코팅처리하였다.
- 병잎을 글루탐산용액 0.025M에 1시간 헹기적으로 침적 후 100℃, 50~60초 증열처리, 105±5℃ 60±10분 열풍건조한 다음 분쇄기 이용 100µm이내 분말차를 제조하였다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 제 2핵심 과제 연구성과 총괄표

| 연구 책임자 | 학술논문 | | 술발표 | | 특허 | | 영농 활용 | 시책 건의 | 기술 이전 | 유전 자원 등록 | 상표 제각 | 산업 화 | 국제 협력 | 홍보 | 교육 지도 | 인력 양성 |
|-----------|------|--------|-----|----|----|----|----------|----------|----------|----------------|----------|---------|----------|----|----------|----------|
| | 국내 | SCI(E) | 국내 | 국외 | 출원 | 등록 | | | | | | | | | | |
| 이성진 | 1 | 3 | 12 | | | | | | | | | | | 1 | 2 | 8 |
| 박수현 | 5 | | 5 | | | | | | | | | | | 7 | 1 | 3 |
| 진미림 | 1 | 1 | 4 | | 1 | | | | | | | | | | | 2 |
| 빅장현 | 3 | | 6 | | 1 | | 3 | | | | | | | 17 | 2 | |
| 박영희 | 1 | | 2 | | 1 | | | | | | | | | | | |
| 은종방 | 2 | | 4 | 2 | | 2 | | | | | | | | | | |
| 박양원 | | | 1 | 1 | | | | | | | | | | | | |
| 2핵심소계 | 13 | 4 | 34 | 3 | 3 | 2 | 3 | | | | | | | 25 | 5 | 13 |

2. 성과활용계획

- 다양한 친환경 농자재의 안정성 검증하거, 친환경 농법과 관행농법에 의해 제배된 농산물의 항산화 활성 및 생리직 활성 분석을 통해 친환경 농산물의 안정성과 우수성에 관한 과학적 근거를 제시한다.
- 친환경 및 일반재배 농산물의 차별성 식별을 위한 성분 및 품질 평가를 통해 분석된 기호성, 영양성, 기능성 등 과학적 데이터를 바탕으로 친환경 농산물의 우월성 제시와 소비자 인식 전환을 통한 친환경 제배, 가공 농가의 소득 증대에 기여코자 한다.
- 소비패턴의 변화(양 → 질 → 건강)에 기인해 소비자에게 친환경 농산물 우수성에 대한 과학적 자료에 근거한 적극적 홍보로 판매 활성화 및 국내 농업경쟁력 강화에 기여한다.
- 친환경 유기농산물 정책에 반영할 기초 자료 데이터 베이스를 구축하고, 무농약 및 유기농 작물의 기능성 연구에 대한 기초 자료를 제공할 수 있다.
- 매일 섭취하는 과채류의 항산화 활성 분석을 통해 높은 항산화 활성을 갖는 농산물의 제배 조건 분석으로 우수한 농산물 재배조건 확립에 기여한다.
- 유용한 생리활성을 갖고 있는 농산물 분획을 이용하여 기능성 가공 식품 개발이 가능하다.
- 현대사회에서 식생활과 가장 밀접한 관련이 있는 질환인 당뇨와 지방간 등의 대사성 증후군 연구에 도움이 되며, 면역력 증강에 미치는 농산물의 영향 분석 등을 통해 기능성 식품 소재 및 약제 개발에 기초 자료를 제공한다.
- 한국인 호발성 암 질환을 예방 할 수 있는 식재료 개발 및 암 예방 및 치료에 응용이 가능하다.
- 친환경 농산물의 안정성 및 우월성 검증을 통해 친환경 생산 농가의 고수입 창출

에 기여한다.

- 농약 사용을 자제함으로써 토양의 건강성 회복 및 환경과 생태계 복원에 기여하고, 식생활을 위협하는 잔류 농약 문제를 해결할 수 있으며 고 기능성 농산물의 생산 및 보급을 통해 국민건강 증진에 기여한다.

SUMMARY

II. Analysis of Biological Activity of Environment-friendly Cultivated Crops <Theme II>

2-1. Analysis of biological activity of environment-friendly cultivated crops - Evaluation of antioxidant activities

The aim of study was to evaluate and compare the antioxidant activities between environment-friendly cultivated crops (EFC) and conventionally cultivated crops (CCC), and to measure useful bioactive compounds in the crops, which were grown in controlled conditions in Jeonnam Province. After harvesting, EFC and CCC crops were extracted with 70% methanol. Total phenolic compounds, flavonoid contents, biogenic monoamines, and serotonin derivatives were measured in EFC and CCC peppers extracts. EFC pepper had higher total phenolic compounds, flavonoid contents and showed higher radical scavenging activity than those of CCC pepper. The levels of serotonin and feruloylserotonin in EFC pepper were higher 2-4 fold than those of CCC pepper. Organic rice also had higher contents of phenolic compounds than conventional-cultivated rice. To compare the antioxidant activities between EFC pepper and CCC pepper, HepG2 cells were treated with various concentration of the extracts and followed by 1 mM H₂O₂ treatment. EFC pepper showed higher protective activity against oxidative stress induced-cell death and inhibition of intracellular ROS generation than those of CCC pepper. EFC pepper inhibited lipid peroxidation more effectively than those of CCC pepper. To analyze antioxidant activities of rice bran extracts, HepG2 cells were treated with various concentration of rice bran extracts. Organic Hopum and Hopyeong stimulated the cell growth and strongly prevented cell death induced by oxidative stress than those of CCC rice brans. To analyze the effects of crops on alcoholic derived liver disease, HepG2 cells were treated various concentration of ethanol and analyzed the cell toxicity and intracellular ROS generation. Pepper and green leafy extracts prevented ethanol induced cell death and reduced intracellular ROS generation, however, the difference between EFC and CCC crops was not detected. Organic Hopum and Hopyeong rice bran also showed the protective effects on ethanol induced cell death and reduced intracellular ROS generation, however, the difference between organic and CCC rice bran extracts was not detected. Lettuces extracts inhibited the activation of PARP and caspase3, which are involved in apoptosis, induced by ethanol treatment on HepG2 cells. Taken together, these results suggest that EFC showed stronger antioxidant activities than CCC, and thus represent evidence that EFA with biocontrol materials may improve the functional properties of crops and/or secondary metabolites with antioxidant activities when compared with conventional agricultural practices.

2-2. Analysis of biological activity of environment-friendly cultivated crops - Evaluation of anti-diabetic activities

This study was conducted to elucidate the anti-diabetic activities of environment-friendly agricultural products using *in vitro* model systems (mesangial cell, podocyte, hepatocyte) of metabolic syndrome (diabetic nephropathy & fatty liver) for the application to diabetic nephropathy and fatty liver. The extracts of environment-friendly cultivated pepper have more strong preventive effect against high glucose (or palmitic acid)-induced activation of fibronectin, Akt, and ERK in mesangial cells or podocytes than those of conventionally cultivated peppers. Using proteomics, proteins involved in the preventive effect of environment-friendly cultivated peppers *in vitro* model of diabetic nephropathy (i. e: moesin, pre-mRNA-splicing factor SLU7, gamma-glutamyltranspeptidase I precursor, cathepsin L precursor, F-box only protein 6 and transgelin) were elucidated. The extracts of environment-friendly cultivated peppers have more strong preventive effect against palmitic acid-induced apoptosis and alteration of p 38 MAPK, JNK, Bax, PERK, and Bcl-2 in hepatocytes than those of conventionally cultivated peppers. Proteins such as collectin-12, UDP-glucose 6-dehydrogenase, glutaminase liver isoform, microtubule associated protein 6, WW domain-containing oxidoreductase, Zn finger protein 94 and protein UXT were involved in the preventive effect of environment-friendly cultivated peppers *in vitro* model of fatty liver. But There was no general difference of physiological function between EFC rice and CCC rice in *in vitro* model system of diabetic nephropathy and fatty liver. Both the extracts of EFC lettuce and CCC lettuce did not prevent the dysfunction of *in vitro* model of diabetic nephropathy and fatty liver. There was no preventive effect of two groups of perilla leaves in *in vitro* model of diabetic nephropathy.

2-3. Analysis of biological activity of environment-friendly cultivated crops - Evaluation of immunomodulating activities

To examine whether environmentally friendly cultivated crops (EFC) provide greater beneficial effects on immune functions than conventionally cultivated crops (CCC), the immune modulating activities between the two groups were compared by using both *in vitro* and *in vivo* (ex vivo) experimental systems. EFC capsicum showed significant lowering effects on the production of IL-4 and IL-13 in PMA-ionomycin activated RBL-2H3 cells, a basophilic mast cell line, which was more potent than capsicum. In activated T cells, EFC Hopyong, Woonkwang and crown daisy reduced the production of IL-4, while lettuce significantly increased IL-2 production, and their effects were more potent than CCC crops. To evaluate the *in vivo* effects for immune cell activation of EFC, we examined the production of cytokines and immune cell activation in murine peyer's patches (PP) after oral administration with capsicum extracts. The levels of cytokines including IL-2 and IFN- γ were dramatically increased in the cells from mice treated with EFC capsicum. Data from

FACS analysis indicated that EFC capsicum significantly increased the CD3 positive and CD19 positive cells in PPs. Furthermore, the percentages of IL-2⁺/CD4⁺ T cells were significantly increased in the EFCC treated group. HPLC analysis revealed that the specific peak at 405 nm was increased by 4-5 folds in the extract from ECC capsicum compared with that of CCC. Oral administration of the isolated compound (EF-1) from the peak showed the same effects as demonstrated in EFC capsicum treated mice, indicating EF-1 might be an active compound. The production of IL-2 and IFN- γ as well as the percentages of IL-2⁺/CD4⁺ cells in peyer's patches were significantly increased compared with the control. Our data suggested that EFC has immune modulating activities and greater beneficial effects on immune cell activation as compared with CCC.

2-4. Quality evaluation of environment-friendly agricultural products with respect to their functionality and favour

Agricultural products collected from Jeonnam area were evaluated their physiological or functional properties like pH, hardness, total acidity or functional compounds content such as antioxidant compounds, polyphenols, or flavonoids for pepper, pear, strawberry, tomatoes, apple, citron, and Bujiwha. typically, EFC pepper showed higher values on hardness, chlorophyll, amino acid content, capsaicine, total phenol, antioxidants, NO scavenging activity, compared to conventional pepper. Organic rice showed higher quality with lower amount of protein or amylose, and lower pasterized value, and showed higher functional properties such as anti-lipid peroxidation, phytic acid content, NO scavenging activity or antioxidant activity. No pesticided lettuce showed higher product quality with higher content of sugar or, chlorophyll but safer with lower NO₃-N content, compared to conventional lettuce. It also showed better functional properties with anti-lipid peroxidation, catechin content, NO scavenging activity or antioxidant activity. No pesticided crown daisy and perilla leaves showed lower NO₃-N content, but higher NO scavenging activity, anti-lipid peroxidation or antioxidant activity. No pesticide-treated green tea showed higher amount of total nitrogen, theanine, free amino acids, chlorophyll as well as the better function with anti-lipid peroxidation, catechin content, NO scavenging activity or antioxidant activity, compared to conventional green tea. Green tea exposed to CO₂ gas contained 10 times higher amount of GABA than conventional green tea

CONTENTS

- I. Development of standard cultural practice for environment-friendly agriculture in major crop
 - 1-1. Development of cultivation technology for environment-friendly agriculture in rice
 - 1-2. Development of cultivation technology for environment-friendly agriculture in red pepper
 - 1-3. Development of Cultivation Technology for Environment-friendly Agriculture in "Ssam" Vegetable.
 - 1-4. Screening of functional ingredients and raw-material preparation for formulation of eco-friendly biofertilizer

제 1 장 친환경 농산물의 생리활성 분석

- 항산화 활성 분석 [2-1]

제 1 장 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 항산화 활성 분석 [2-1]

요 약 문

I. 제 목: 친환경 농산물의 생리활성 분석: 항산화 활성 분석

II. 연구개발의 목적 및 필요성

전남대학교 친환경 연구사업단에서 재배한 무농약 재배 농산물과 유기재배 농산물을 관행재배 농산물과 생리활성을 비교 분석함으로써 친환경 농산물의 안전성과 기능성을 과학적으로 검증하고자 한다. 이를 위해 같은 조건에서 재배된 친환경 농산물과 관행재배 농산물을 대상으로 유용생리활성 물질 분석, 세포 성장에 미치는 영향, 항산화 활성과 질환모델 세포를 이용한 실험으로부터 생리활성에 미치는 영향을 비교분석하여 친환경 농산물의 안전성과 기능성에 대한 과학적 근거를 제시하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 항산화 활성 -ORAC 분석
- 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 유용생리활성 물질 분석-HPLC, GC-Mass 등
- 농산물 추출물이 사람 간세포 성장에 미치는 영향분석
- 항산화 활성 효소 CAT, SOD 발현에 미치는 영향분석
- 산화적 스트레스로부터 세포 보호활성 분석
- 세포내 유해산소(ROS) 생성 억제 활성 분석
- 지질과산화 억제 활성 분석
- 질환모델 이용 농산물 생리활성 분석

IV. 연구개발결과

가. 유용생리활성 물질 분석

- 무농약 농산물과 농약 농산물(고추, 쌈채류, 벼와 그 외 작물)의 총페놀함량과 플라보노이드 함량을 분석한 결과 항산화 활성과 유사하게 무농약 농산물에서 대부분의 성분이 높게 검출되었다. 무농약 농산물과 농약 농산물을 HPLC 분석법을 이용하여 유용생리활성 물질 가운데 바이오아민류와 바이오아민 유도체의 성분을 분석한 결과 무농약 토마토와 고추에서 세로토닌 성분이 2-4배 증가하였으며, 바이오아민 유도체인 FS의 함량 또한 2-6배 증가한 것을 관찰하였다.
- 무농약 청양고추와 농약 청양 고추를 70% 메탄올 추출한 후 GC Mass로 물질 분석 결과, 무농약 고추와 관행고추에서 다양한 물질이 분석되었으며, 이들 중 일부 물질들은 무농약 혹은 관행재배에서만 발견되어 재배 방법에 따른 농산물 이차대사 산물의 프로파일이 달라짐을 알 수 있었다.

- 바이오아민 분석: 트립토판, 트립타민, 티라민, 세로토닌 등 바이오아민 함량을 HPLC 분석법을 이용하여 정량 분석하였다. 고추는 티라민 함량이 가장 높게 나타났다 (127~333 $\mu\text{g/g dw}$), 트립토판이 86~211 $\mu\text{g/g dw}$, 트립타민이 23~34 $\mu\text{g/g dw}$, 세로토닌이 7.8~12.3 $\mu\text{g/g dw}$ 으로 검출되었다.
- 무농약, 저농약, 농약 및 유기농 재배한 쌀 7종의 항산화 활성 및 성분 분석을 실시하였다. 분석결과 무농약과 저농약 재배한 쌀은 유사한 결과를 보였으며, 전반적으로 무농약재배 쌀이 항산화 활성 및 페놀함량 등 성분에서 비교적 높게 나타났다.

나. 고추의 항산화 활성 분석

(1) 산화적 스트레스로부터 세포 보호활성 분석

- 고추 추출물들을 처리 24시간 후 1mM H_2O_2 를 1시간 처리하여 XTT assay를 통하여 세포 성장을 측정된 결과 초기에 채집한 고추의 추출물은 무농약 고추, 관행재배 고추 모두 0.025~2.5 $\mu\text{g/mL}$ 추출물 농도에서 유해산소로 인한 세포 사멸을 효과적으로 차단하였다.

(2) 세포내 유해산소 생성 억제 활성 분석

- 세포에 1mM H_2O_2 를 처리하여 산화적 스트레스를 야기 시킬 경우 H_2O_2 만을 처리시 90% 이상 증가한 세포내 유해산소가 친환경 고추 추출물을 처리한 세포에서는 30% 정도로 유해산소를 생성을 억제하였다. 하지만 관행 고추 추출물에서는 저농도에서 60% 정도로 낮추었을 뿐 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 농도에서는 H_2O_2 처리시보다 더욱 높은 세포내 유해산소를 생성하였다.

(3) 지질과산화 억제 활성 분석

- 0.025 $\mu\text{g/mL}$ 와 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 친환경 및 관행 고추 추출물을 HepG2 세포에 처리한 후 지질과산화 수준을 측정된 결과 대조군에 비해 친환경 고추 추출물에서는 1.7배 와 1.4배, 관행 고추 추출물은 1.5배와 1.3배로 관행 고추 추출물에서 좀 더 나타났으며 높은 농도에서 더 지질과산화를 감소시키는 것으로 보인다.

다. 들깨잎의 항산화 활성 분석

(1) 관행재배/키턴퇴비/미생물처리 들깨잎의 간세포 생리활성 분석

- 들깨잎의 70% 메탄올을 이용한 추출물을 간세포에 처리하여 간세포 성장 및 항산화 활성 분석하였을 때 250 $\mu\text{g/mL}$ 농도까지 간세포 성장에 안정적이었으며, 1 mM H_2O_2 를 처리하여 간세포에 산화적 스트레스를 가했을 때 약 60%까지 간세포가 사멸하나 들깨잎 추출물 250 $\mu\text{g/mL}$ 을 처리하면 정상 수준까지 간세포 사멸을 억제하였다.

(2) 관행재배/키턴퇴비/미생물처리 들깨잎의 세포내 ROS 생성 억제 활성 분석

- 1mM H_2O_2 처리에 의해 간세포 내 ROS 생성이 약 2.5배 증가하였으며, 들깨잎 추출물은 세포내 ROS의 생성을 효과적으로 차단하였다.

(3) 관행재배/키턴퇴비/미생물처리 들깨잎의 지질과산화 억제 활성 분석

- 1 mM H_2O_2 처리에 의해 간세포 지질과산화가 약 15% 증가하였으며, 들깨잎 추출물은 250 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 지질과산화를 약 30% 감소시켰다.

라. 유기재배 벼 미강 추출물을 이용한 항산화 활성 분석

(1) 산화적 스트레스로부터 간세포 보호활성 분석

- 산화적 스트레스로부터 세포를 보호하는 항산화활성을 분석하기 위하여 호품벼, 호평벼, 운광벼 유기재배와 관행재배 미강 추출물을 제조하고 생리활성을 분석한 결과, 유기재배 호품벼 미강과 호평벼 미강은 산화적 스트레스로 인한 세포 사멸을 차단하는 항산화 활성이 관행재배 미강 벼보다 높게 나타났다. 그러나 운광벼 미강 추출물은 유기재배와 관행재배 사이에 큰 차이를 보이지 않았다.

(2) 세포내 ROS 억제 활성 분석

- 유기재배 호품벼 미강 추출물은 H₂O₂에 의해 생성된 ROS를 매우 효과적으로 제거하였다. 관행재배 호품벼 미가 역시 0.25 µg/mL 이상의 농도에서 세포내 ROS생성을 억제하는 효능이 높게 나타났다. 호평벼의 경우 유기재배 호평벼가 관행재배 호평벼 보다 세포내 ROS 생성을 보다 효과적으로 제거하였으며, 농도가 높을수록 ROS 제거활성이 증가하였다. 운광벼는 2.5 µg/mL 이상의 농도에서 세포내 ROS생성을 억제하는 효능이 나타났으며, 유기재배가 관행재배보다 효능이 높은 것으로 보였다.

마. 알코올에 의한 간세포 손상에 미치는 친환경 농산물의 영향 분석

(1) 알코올에 의한 간세포 손상과 ROS의 관련성 분석

- 고추 추출물 처리하였을 때 에탄올에 의한 간세포 사멸을 보호하고 세포내 ROS 발생을 억제시켰으며, 상추와 쑥갓 처리에 의한 효능 분석 결과 상추와 쑥갓 모두 간세포 보호 활성이 뛰어 났으나, 관행과 무농약 간의 차이는 발생하지 않았다.
- 유기농 벼의 간세포 보호 활성을 조사하고자 호품벼와 호평벼 추출물을 간세포 처리하여 알코올에 의한 간세포 손상을 유도하여 효능을 분석한 결과 호품벼가 호평벼보다 간세포 보호활성이 높게 나타났으나, 유기농과 관행간의 차이는 나타나지 않았다.

(2) 알코올에 의한 세포 사멸 관련 유전자 발현에 미치는 영향 분석

- 상추와 키턴들깨잎은 간세포 사멸에 의해 유도되는 유전자인 cleaved PARP의 생성량 분석 결과 상추에서는 cleaved PARP의 발현을 효과적으로 차단하였으나, 키턴들깨잎에서는 효능이 없었다.
- 상추와 쑥갓 추출물을 0.8M 알코올을 처리한 간세포에 처리하였을 때 2.5 µg/ml의 농도에서 관행과 무농약 상추가 caspase3의 활성화를 억제하여 알코올에 의한 간세포 사멸을 보호하는 활성을 보였으며, 쑥갓의 경우 처리구 250 µg/ml에서 가장 좋은 활성을 보였다. 상추와 쑥갓 모두 무농약 처리구에서 보다 높은 활성을 보였다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

(1) 연구 성과

| 논문게재 | | 학술 발표 | 특허 (출원 /등록) | 영농 활용 | 시책 건의 | 기술 이전 | 유전자원 등록 | 교육 지도 | 산업화 | 국제 협력 | 홍보 | 인력 양성 | 성과물 제작 |
|------|--------|-------|-------------|-------|-------|-------|---------|-------|-----|-------|----|-------|--------|
| 국내 | SCI(E) | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 3 | 12 | | | | | | 2 | | | 1 | 8 | |

(2) 연구결과 활용 계획

- 다양한 친환경 농자재의 안정성 검증하거, 친환경 농법과 관행농법에 의해 재배된 농산물의 항산화 활성 및 생리적 활성 분석을 통해 친환경 농산물의 안정성과 우수성에 관한 과학적 근거를 제시한다.
- 매일 섭취하는 과채류의 항산화 활성 분석을 통해 높은 항산화 활성을 갖는 농산물의 재배 조건 분석으로 우수한 농산물 재배조건 확립에 기여한다.
- 유용한 생리활성을 갖고 있는 농산물 분획을 이용하여 기능성 가공 식품 개발이 가능하다.
- 알콜성 간질환 모델을 이용하여 친환경 농산물이 간기능 개선에 미치는 영향을 분석함으로써 간기능 개선을 위한 기능성 식품 소재 및 약제 개발에 기초 자료를 제공한다.
- 한국인 호발성 암 질환을 예방 할 수 있는 식재료 개발 및 암 예방 및 치료에 응용이 가능하다.
- 친환경 농산물의 안정성 및 우월성 검증을 통해 친환경 생산 농가의 고수입 창출에 기여한다.
- 농약 사용을 자제함으로써 토양의 건강성 회복 및 환경과 생태계 복원에 기여한다.
- 식생활을 위협하는 잔류 농약 문제를 해결할 수 있으며 고 기능성 농산물의 생산 및 보급을 통해 국민건강 증진에 기여한다.
- 생리활성 분석을 통해 농산물의 우수성 입증으로 농가 수입증대 및 수출증진에 기여한다.

VI. SUMMARY

Title : Analysis of biological activity of environmental-friendly agricultural materials - Evaluation of antioxidant activity

The aim of study was to evaluate and compare the antioxidant activities between environmental-friendly cultivated crops (EFC) and conventionally cultivated crops (CCC) and to measure useful bioactive compounds of crops using HPLC and GC-MASS analysis. To obtain EFC pepper, lettuce, and sesame leaf, no fumigant or fungicide had been applied in any part of the greenhouse. All tested crops-pepper, sesame leaf, and rice-were cultivated in same environmental green house or fields in Jeonnam Province. After harvesting, we selected EFC and CCC crops that showed no physical defects or signs of pathogenic contamination and extracted with 70% methanol. To analyze antioxidant activities such as protective effects against oxidative stress induced-cell death, inhibition of intracellular reactive oxygen species (ROS) generation, lipid peroxidation, and activation of antioxidant enzymes, HepG2 cells were treated with various concentration of crops extracts and followed by 1 mM H₂O₂ treatment.

1) Evaluation of bioactive compounds

- To analyze the bioactive compounds in EFC pepper and CCC pepper, total phenolic compounds, flavonoid contents, biogenic monoamines, and serotonin derivatives were measured. EFC pepper had higher total phenolic compounds, flavonoid contents and showed higher radical scavenging activity than those of CCC pepper.
- The levels of serotonin and feruloylserotonin in EFC pepper were higher 2-4 fold than those of CCC pepper.
- Organic rice also had higher contents of phenolic compounds than conventional-cultivated rice.

2) Comparison of antioxidant activities between EFC pepper and CCC pepper

- To compare the antioxidant activities between EFC pepper and CCC pepper, HepG2 cells were treated with various concentration of pepper and followed by 1 mM H₂O₂ treatment. EFC pepper showed higher protective activity against oxidative stress induced-cell death and inhibition of intracellular ROS generation than those of CCC pepper.
- EFC pepper inhibited lipid peroxidation more effectively than those of CCC pepper.

3) Comparison of antioxidant activities between organic rice and CCC rice

- To compare the antioxidant activities between organic cultivated-rice and conventionally cultivated-rice, Hopum, Hopyeong, and Yungkwang rice bran were harvested and extracted with 70% methanol.
- To analyze antioxidant activities of rice bran extracts, HepG2 cells were treated with various concentration of rice bran extracts and analyzed antioxidant activities.
- Organic Hopum and Hopyeong stimulated the cell growth and strongly prevented cell

death induced by oxidative stress than those of CCC rice brans.

- Three kinds of organic rice brans also showed the inhibitory effects on intracellular ROS generation, however, did not inhibit lipid peroxidation.
- 4) Protective effects of crops on alcoholic-liver disease model
- To analyze the effects of crops on alcoholic derived liver disease, HepG2 cells were treated various concentration of ethanol and analyzed the cell toxicity and intracellular ROS generation.
 - Ethanol induced the cell toxicity and intracellular ROS generation over at concentration of 800 mM.
 - Pepper and green leafy extracts prevented ethanol induced cell death and reduced intracellular ROS generation, however, the difference between EFC and CCC crops was not detected.
 - Organic Hopum and Hopyeong rice bran also showed the protective effects on ethanol induced cell death and reduced intracellular ROS generation, however, the difference between organic and CCC rice bran extracts was not detected.
 - Lettuces extracts inhibited the activation of PARP and caspase3, which are involved in apoptosis, induced by ethanol treatment on HepG2 cells.

From the study, generally, EFC crops showed the strong antioxidant activities and had higher phenolic compounds and flavonoids contents than CCC crops. Taken together, these results suggest that EFC showed stronger antioxidant activities than CCC, and thus represent evidence that EFA with biocontrol materials may improve the functional properties of crops and/or secondary metabolites with antioxidant activities when compared with conventional agricultural practices. To better understand the physiological effects of EFC crop extracts on human cells, further studies are needed to investigate molecular markers defining the changes in antioxidant activities in EFC crops subjected to different cultivation conditions and practices.

목 차

| | | |
|-------|----------------------------------|----|
| 제 1 절 | 연구개발과제의 개요 | 1 |
| 제 2 절 | 국내의 기술개발 현황 | 2 |
| 1. | 국외 연구동향 및 수준 | 2 |
| 2. | 국내 연구동향 및 수준 | 2 |
| 제 3 절 | 연구개발수행 내용 및 결과 | 4 |
| 1. | 연구개발의 최종목표 | 4 |
| 2. | 연구개발의 내용 | 4 |
| 3. | 연구개발의 추진 전략·방법 | 6 |
| 4. | 연구결과 | 6 |
| 가. | 농산물의 ORAC활성 및 유용생리활성 물질 분석 | 11 |
| 나. | 농산물의 세포내 항산화 활성 분석 | 11 |
| 다. | 질환 모델을 이용한 농산물의 기능성 분석 | 20 |
| 제 4 절 | 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 | 26 |
| 제 5 절 | 연구개발 성과 및 성과활용 계획 | 28 |
| 1. | 연구개발성과 | 28 |
| 2. | 성과활용계획 | 29 |
| 3. | 기대성과 | 30 |
| 제 6 절 | 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 | 31 |
| 제 7 절 | 참고문헌 | 32 |

제 1 절 연구개발과제의 개요

- 가. 환경 친화적인 농산물의 재배 뿐 만 아니라 농산물의 질적, 기능적 향상에 세계적인 관심이 집중되고 있다. 저농약 재배 및 무농약 재배에 대한 인식 확대와 더불어 고부가 가치를 창출하는 고기능 농산물의 재배 및 품종 개발에 많은 연구 역량을 할애하고 있으나 아직 저농약 및 무농약 농산물에 대한 연구는 개념 정립 단계로 저농약 및 무농약 재배 농산물의 생리활성 증진 및 기능 검증에 관한 연구가 다각도로 이루어져야 하며 연구 활성화가 필요한 단계이다.
- 나. 최근 농산물 개방 압력이 드세 지면서 국내 농산물이 큰 위기를 맞고 있음. 이러한 위기를 극복하는 방법 가운데는 농산물의 안정성과 우수성을 확보하는 일이다.
- 다. 중국에서 수입되거나 다른 나라에서 수입된 농산물의 경우 과도한 농약 사용 및 허용치를 초과하는 보존제 처리 등의 문제를 야기하고 있음. 무역협정에 의해 농산물 수입을 자제할 수도 없는 지금의 상황을 타파하는 방법으로 우수 농산물의 개발이 절실한 상황이다.
- 라. 특히, 기능이 향상되거나 안정성 및 우월성이 확보된 농산물의 개발은 한국의 농업 뿐 만 아니라 경제 및 국민 보건을 책임지는 입장에서 반드시 필요하겠다.
- 마. 이러한 상황 인식하에 많은 무농약 농자재가 개발되고 있으나 이를 안정적으로 검정할 시스템이 아직 구축되어 있지 않으며, 우수 농자재 사용으로 인한 농산물 품질 향상을 검정하는 시스템도 규격화될 필요성이 대두되고 있다.
- 바. 본 연구 사업단에서 추진하는 무농약 연구 사업단의 취지는 이러한 현실을 감안하여 특히 사람의 생리활성에 어떠한 영향을 미치는 지 규명하고자 한다. 무농약 재배 농산물의 항산화 활성을 비교 분석함으로써 무농약 농자재의 우수성 검정 및 아직 규명되지 않은 일상적인 먹거리에 들어 있는 우수한 생리 활성 물질을 분석함으로써 기능이 향상된 농산물 개발에 기여하고자 한다.
- 사. 친환경 농산물의 항산화 활성 규명은 국민 건강을 지키고 증진시키는데 매우 중요하며 농산물의 안전성 및 기능성을 규명함으로써 농사 수입 창출에 기여한다.
- 아. 암, 당뇨, 고혈압, 심장질환 등 복합질환 발병 원인 중 상당 부분이 유해산소에 의한 세포 및 장기의 손상으로 발생하고 있으며, 현재 사회는 이러한 복합질환의 발병률이 급증하고 있음. 친환경 농산물 등 우리 농산물의 항산화 활성을 과학적으로 규명함으로써 만성 복합질환으로 인한 의료비의 절감 효과를 기대할 수 있다.

제 2 절 국내외 기술개발 현황

1. 국외 연구 동향 및 수준

| | | | | | |
|---------|---|--------|--|-----------|--|
| 개념정립 단계 | 0 | 기업화 단계 | | 기술 안정화 단계 | |
|---------|---|--------|--|-----------|--|

- 가. 현재 유기농업을 가장 많이 하는 지역은 남아메리카로 전세계 유기농업 농장 면적의 32%에 해당하며, 뒤를 이어 유럽이 28%, 아프리카가 24%, 아시아가 13%를 차지하고 있다(유세피와 손, 2006).
- 나. 유기농 재배한 농산물과 관행재배 농산물을 동물에게 먹여 동물 성장에 미치는 영향을 분석한 연구들이 진행되고 있으며, 대체로 유기재배 농산물을 섭취한 동물의 경우 증식력이나 면역반응이 증진되는 것으로 보고되고 있다(Velimirov et al., 2010).
- 다. 농업기술의 발달로 생산량의 증대가 비약적으로 이루어졌지만 그에 따른 다양한 부작용들에 대해 심도 깊은 연구가 진행되고 있으며, 환경에 미치는 영향, 인체에 미치는 영향 등에 대한 분석을 통해 기존 농업의 문제점들에 대한 연구 및 해결책을 가구하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다(Bhat, 2008; Hobbs et al., 2008; Lokupitiya and Paustian, 2006; Kreisberg, 2006).
- 라. 환경 친화적인 농산물의 재배 뿐 만 아니라 농산물의 질적, 기능적 향상에 세계적인 관심이 집중되고 있다. 저농약 재배 및 무농약 재배에 대한 인식 확대와 더불어 고부가 가치를 창출하는 고기능 농산물의 재배 및 품종 개발에 많은 연구 역량을 할애하고 있으나 아직 저농약 및 무농약 농산물에 대한 연구는 개념 정립 단계로 저농약 및 무농약 재배 농산물의 생리활성 증진 및 기능 검증에 관한 연구가 다각도로 이루어져야 하며 연구 활성화가 필요한 단계이다.

2. 국내 연구 동향 및 수준

- 1. 최근 농산물 개방 압력이 드세 지면서 국내 농산물이 큰 위기를 맞고 있다. 이러한 위기를 극복하는 방법 가운데는 농산물의 안정성과 우수성을 검증하는 연구가 필요하다.
- 2. 중국에서 수입되거나 다른 나라에서 수입된 농산물의 경우 과도한 농약 사용 및 허용치를 초과하는 보존제 처리 등의 문제를 야기하고 있다. 무역협정에 의해 농산물 수입을 자제할 수도 없는 지금의 상황을 극복하기 위해서 우수 농산물의 개발이 필요하다.
- 3. 특히, 기능성이 향상되거나 안정성 및 우월성이 확보된 농산물의 개발은 농업 분야의 활성화와 더불어 국민 건강을 증진시키는데 필요하다.
- 4. 친환경 농산물 생산에 관심과 소비자들의 요구가 증대되면서 다양한 친환경 농자재가 개발되고 있으나 이를 안정적으로 검증할 시스템이 아직 구축되어 있지 않으며, 우수 농자재 사용으로 인한 농산물 품질 향상을 검증하는 시스템도 규격화될 필요성이 대두되고 있

다.

5. 그러나 친환경 농자재에 대한 검증과 친환경 농산물의 안전성과 기능성에 관한 연구는 초기 단계로서 아직 기틀이 확립되어 있지 않다.
6. 본 연구 사업단에서 추진하는 친환경 연구 사업단의 취지는 이러한 현실을 감안하여 특히 사람의 생리활성에 어떠한 영향을 미치는 지 규명하고자 한다. 친환경 재배 농산물의 항산화 활성을 비교 분석함으로써 친환경 농자재의 우수성 검증 및 아직 규명되지 않은 일상적인 먹거리에 들어 있는 우수한 생리 활성 물질을 분석함으로써 기능이 향상된 농산물 개발에 기여하고자 한다.

제 3 절 연구개발수행 내용 및 결과

1. 연구개발의 최종목표

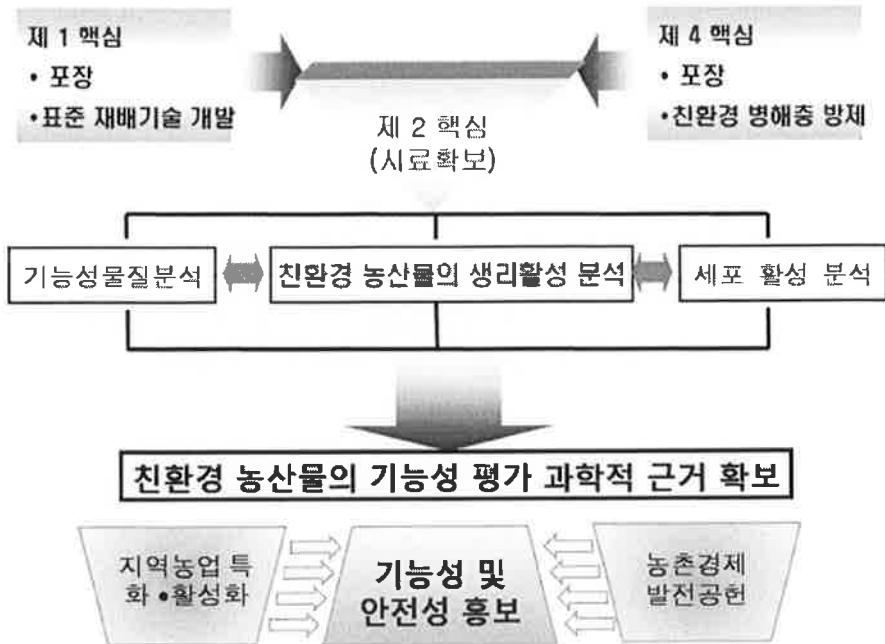
전남대학교 친환경 연구사업단에서 재배한 무농약 재배 농산물과 유기재배 농산물을 관행 재배 농산물과 생리활성을 비교 분석함으로써 친환경 농산물의 안전성과 기능성을 과학적으로 검증하고자 한다. 이를 위해 같은 조건에서 재배된 친환경 농산물과 관행재배 농산물을 대상으로 유용생리활성 물질 분석, 세포 생장에 미치는 영향, 항산화 활성과 질환모델 세포를 이용한 실험으로부터 생리활성에 미치는 영향을 비교분석하여 친환경 농산물의 안전성과 기능성에 대한 과학적 근거를 제시하고자 한다.

2. 연구개발의 내용

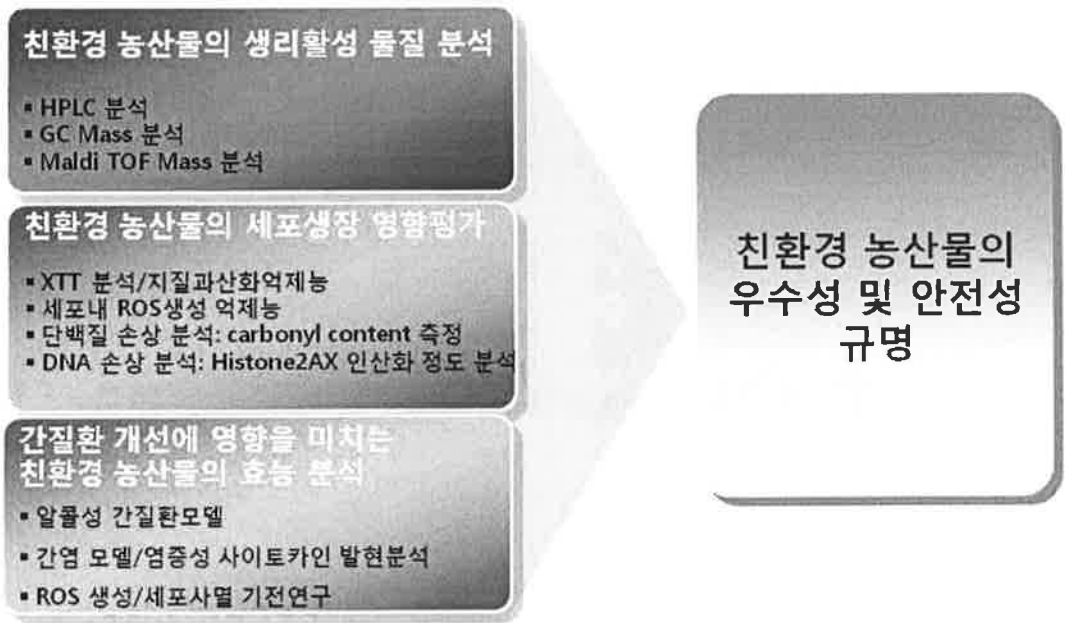
- 가. 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 항산화 활성 -ORAC 분석
- 나. 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 유용생리활성 물질 분석-HPLC, GC-Mass 등
- 다. 농산물 추출물이 사람 간세포 생장에 미치는 영향분석
- 라. 항산화 활성 효소 CAT, SOD 발현에 미치는 영향분석
- 마. 산화적 스트레스로부터 세포 보호활성 분석
- 바. 세포내 유해산소(ROS) 생성 억제 활성 분석
- 사. 지질과산화 억제 활성 분석
- 아. 질환모델 이용 농산물 생리활성 분석

3. 연구개발의 추진전략·방법

제1핵심과 제4핵심 연구팀들에 의해 재배된 친환경 농산물-무농약, 유기재배-과 관행재배 농산물의 생리활성 분석 및 기능성 물질 탐색을 통해 친환경 농산물의 안전성과 기능성을 비교분석하고자 한다. 본 사업단의 주력 작물인 고추, 상추와 들깻잎, 쪽갓 등의 쌈채류는 무농약 재배 농법을 이용하였으며, 벼는 유기재배 농법을 이용하여 재배한 것을 이용하여 본 실험을 수행하였다. 본 연구를 통해 농산물로부터 활성산소 제거 활성, 세포내 유해산소 발생 억제 및 세포 보호 활성, 지질과산화 억제 활성, 항산화효소 활성에 미치는 영향 등을 규명하였으며, HPLC, GC-MASS 등을 이용한 분석법으로 농산물에 존재하는 유용생리활성 물질을 정성, 정량 분석하였으며, 친환경 농산물과 관행재배 농산물 간의 차이도 비교 분석하였다. 특히, 본 연구를 통해 농산물에서 발견한 세로토닌과 세로토닌 유도체가 세포생장에 미치는 효능을 분석하였으며, 다양한 질환모델을 이용하여 농산물 추출물의 생리활성을 규명하고자 하였다.



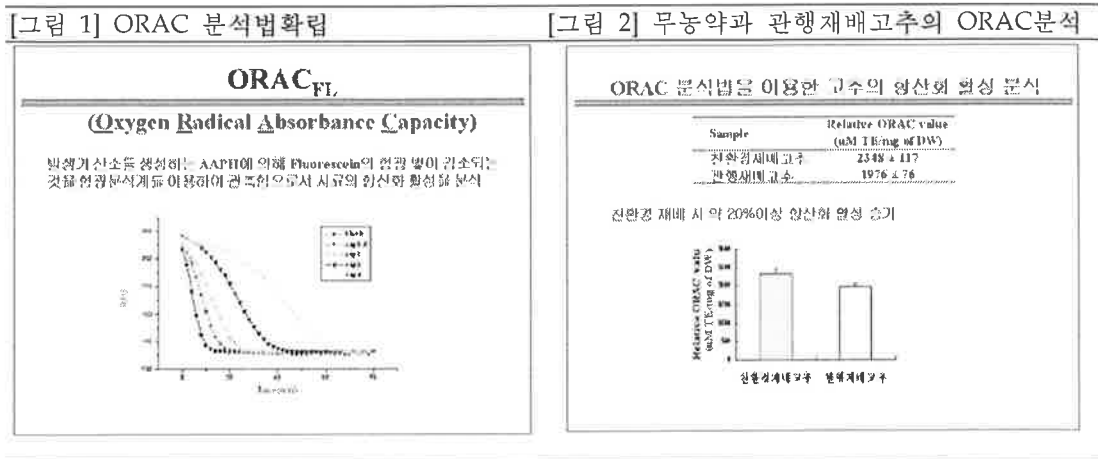
연구 내용 및 목표



4. 연구 결과

가. 농산물의 ORAC 활성 및 유용생리활성 물질 분석

(1) Oxygen radical absorbance capacity(ORAC)방법을 이용한 항산화 활성 분석법



- ORAC 분석법은(Ou et al., 2001) 활성산소에 의해 형광물질 fluorescein이 분해되는 것을 농산물 추출물이나 분석하고자 하는 시료에 의해 막아주는 정도에 따라 시료의 항산화 활성을 측정하는 분석법으로 (그림 1), 30여종의 과일 및 농산물의 항산화 활성을 분석한 결과 무농약 농산물에서 10~30% 항산화 활성이 관행재배 농산물보다 높게 나타났으며, 총페놀 함량과 플라보노이드 함량을 비교 분석 결과 무농약 농산물에서 총페놀 함량과 플라보노이드 함량이 높게 나타나, ORAC 분석에 의한 radical scavenging activity와 결과가 일치함을 보였다(그림 2, 표 1 참고).

[표 1] ORAC 방법을 이용하여 과실류 페놀함량분석 및 항산화 활성

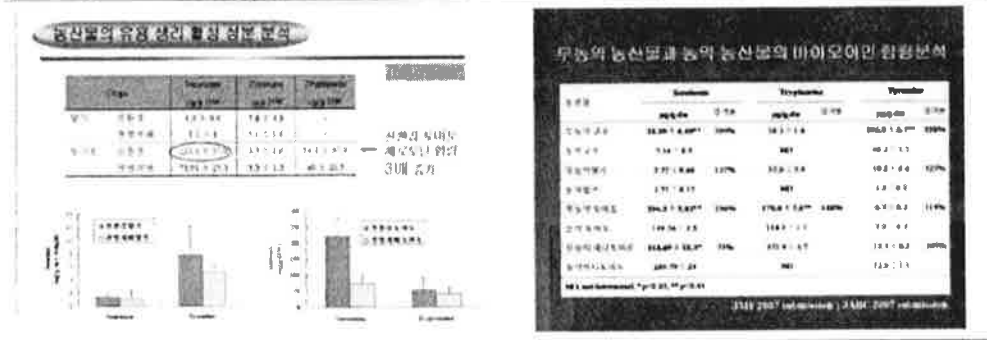
| 농산물 | 재배방법 | 총페놀함량 (mg GAE/g DW) | 플라보노이드 (mg RE/g DW) | 농산물 | 재배방법 | 항산화활성 (µM TE/g DW) | 수용성분 |
|-------|------|---------------------|---------------------|-------|------|--------------------|--------------|
| 고추 | 무농약 | 47 ± 5.2 | 2.67 ± 0.03 | 고추 | 무농약 | 109 ± 3.1 | 70% methanol |
| | 농약 | 44.8 ± 4.7 | 1.42 ± 0.10 | | 농약 | 88 ± 4.0 | 4539 ± 401.6 |
| 딸기 | 무농약 | 41.1 ± 1.0 | 6.91 ± 0.09 | 딸기 | 무농약 | 144 ± 4.8 | 70% methanol |
| | 농약 | 40.8 ± 1.9 | 6.42 ± 0.07 | | 농약 | 133 ± 6.9 | 9733 ± 554 |
| 토마토 | 무농약 | 9.9 ± 1.0 | 0.50 ± 0.04 | 토마토 | 무농약 | 25 ± 0.6 | 70% methanol |
| | 농약 | 7.5 ± 0.4 | 0.93 ± 0.01 | | 농약 | 23 ± 0.4 | 2160 ± 13 |
| 미니토마토 | 무농약 | 11.4 ± 0.4 | 2.26 ± 0.06 | 미니토마토 | 무농약 | 52 ± 2.3 | 70% methanol |
| | 농약 | 10.9 ± 0.3 | 1.88 ± 0.00 | | 농약 | 50 ± 2.5 | 7647 ± 153 |

(2) 무농약 농산물과 농약 농산물의 유용성분 비교

- 무농약 농산물과 농약 농산물의 총페놀함량과 플라보노이드 함량을 분석한 결과 항산화 활성과 유사하게 무농약 농산물에서 대부분의 성분이 높게 검출되었다. 무농약 농산물과 농약 농산물을 HPLC 분석법을 이용하여 유용생리활성 물질 가운데 바이오아민류와 바이오아민 유도체의 성분을 분석한 결과 무농약 토마토와 고추에서 세로토닌 성분이 2-4

배 증가하였으며, 바이오아민 유도체인 FS의 함량 또한 2-6배 증가한 것을 관찰하였다 (Ly et al., 2008a) (그림 3, 표 2 참고).

[그림 3] HPLC를 이용한 무농약농산물의 유용생리활성 물질 분석



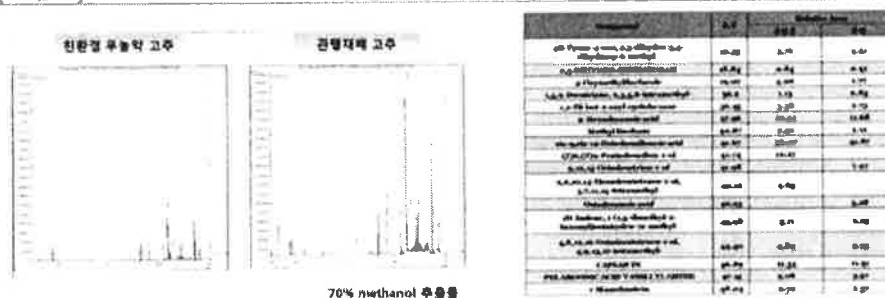
[표 2] HPLC 분석법을 이용한 바이오아민 유도체 함량 분석

| 농산물 | Ferromyberotonia | Coumaroyltyramine | Ferrocyltyramine |
|----------|------------------|-------------------|------------------|
| | μg/g dw | μg/g dw | μg/g dw |
| 무농약고추 | 0.35 | ND | 1.26 |
| 농약고추 | 0.86 | ND | ND |
| 무농약딸기 | ND | ND | ND |
| 농약딸기 | ND | ND | ND |
| 무농약포도 | 0.24 | 1.47 | ND |
| 농약포도 | 0.11 | 3.45 | ND |
| 무농약체리토마토 | 0.06 | 2.76 | ND |
| 농약체리토마토 | ND | 0.04 | 0.74 |

ND, not determined

(3) 고추의 유용생리활성 물질 분석: GC Mass

[그림 4] GC-MASS를 이용하여 무농약 고추와 관행재배 고추의 성분 비교분석



- 무농약 청양고추와 농약 청양 고추를 70% 메탄올 추출한 후 GC Mass로 물질 분석 결과, 무농약 고추와 관행고추에서 다양한 물질이 분석되었으며, 이들 중 일부 물질들은 무농약 혹은 관행재배에서만 발견되어 재배 방법에 따른 농산물 이차대사 산물의 프로파일의 달라짐을 알 수 있었다(Choi et al., 2010)(그림 4).

(4) 유용생리활성 물질 탐색 및 정량적 분석

(가) 바이오아민 분석: 트립토판, 트립타민, 티라민, 세로토닌 등 바이오아민 함량을 HPLC 분석법을 이용하여 정량 분석하였다(그림 5). 고추는 티라민 함량이 가장 높게 나타났으며 (127~333 µg/g dw), 트립토판이 86~211 µg/g dw, 트립타민이 23~34 µg/g dw, 세로토닌이 7.8~12.3 µg/g dw으로 검출되었다. 이러한 결과는 2008년에 Journal of Medicinal Food에 기재하였다(Ly et al., 2008a; 2008b).

[그림 5] 무농약 고추와 관행재배 고추의 바이오아민 함량 분석

| Sample (µg/g dw) | Tryptophan | Tryptamine | Serotonin | Tyramine |
|------------------|------------|------------|-----------|----------|
| 1차 처리구 | 129.5 | 29.5 | 7.8 | 286.8 |
| 관행구 | 112.3 | 33.3 | 9.3 | 332.2 |
| 3차 처리구 | 102.3 | 25.5 | 8.7 | 141.4 |
| 관행구 | 86.0 | 28.1 | 10.5 | 125.0 |
| 5차 처리구 | 160.0 | 34.2 | 9.4 | 111.1 |
| 관행구 | 137.6 | 30.3 | 11.3 | 156.6 |
| 6차 처리구 | 154.5 | 33.1 | 12.3 | 152.8 |
| 관행구 | 211.2 | 29.4 | 7.9 | 127.2 |

| Sample (µg/g dw) | Tryptophan | Tryptamine | Serotonin | Tyramine |
|------------------|------------|------------|-----------|-------------|
| 처리구 | 143.2±48.8 | 27.2±11.9 | 8.2±1.7 | 178.0±73.3 |
| 관행구 | 128.2±55.8 | 32.2±2.7 | 10.4±1.4 | 180.5±103.1 |

(나) Hydroxycinnamic acid amides (HCAAs) 정량분석: Coumaroylserotonin (CS), Feruloylserotonin (FS), coumaroyltyramine (CT), feruloyltyramine (FT) 4 종류의 HCAAs의 함량을 HPLC를 이용하여 정량분석 하였다(그림 6). 고추에는 CT가 가장 함량이 많았으며, FS, CS 순으로 검출되었다. 또한 FT도 검출되었으나 모든 고추 품종에서 검출되지 않고 시료간에 차이를 보였다.

[그림 6] 친환경 고추와 관행재배 고추의 HCAAs 함량 분석

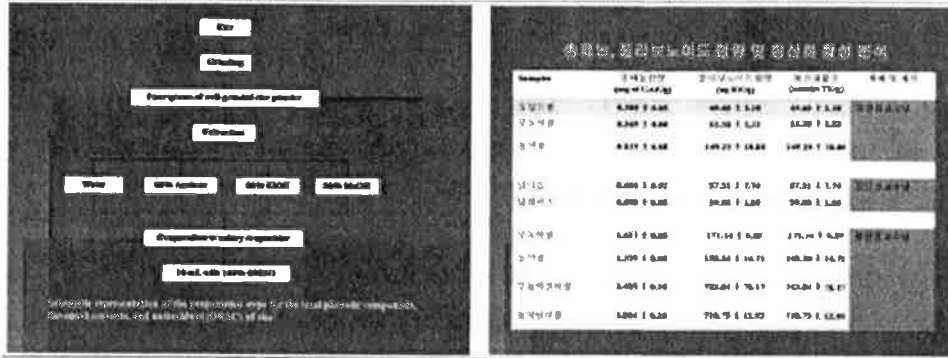
| Sample (µg/g dw) | CS | FS | CT | FT |
|------------------|------|------|------|------|
| 1차 처리구 | 0.09 | 0.30 | 0.22 | - |
| 관행구 | 0.10 | 0.35 | 0.21 | 0.32 |
| 3차 처리구 | 0.09 | 0.20 | 0.51 | - |
| 관행구 | 0.12 | 0.27 | 0.54 | - |
| 5차 처리구 | 0.10 | 0.57 | 0.23 | 0.13 |
| 관행구 | 0.07 | 1.27 | 0.25 | 0.59 |
| 6차 처리구 | 0.04 | 0.06 | 0.50 | 0.38 |
| 관행구 | 0.05 | 0.16 | 0.30 | 0.47 |

| Sample (µg/g dw) | CS | FS | CT | FT |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 처리구 | 0.08±0.02 | 0.48±0.53 | 0.32±0.13 | 0.58±0.08 |
| 관행구 | 0.09±0.04 | 0.31±0.21 | 0.37±0.17 | 0.28±0.13 |

(5) 무농약, 저농약, 농약제배 쌀의 향산화 활성분석

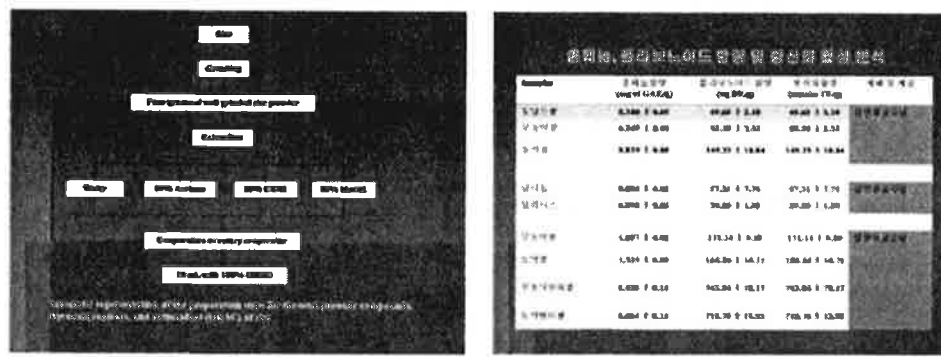
- 무농약, 저농약, 농약 및 유기농 제배한 쌀 7종의 향산화 활성 및 성분 분석을 실시하였다. 분석결과 무농약과 저농약 제배한 쌀은 유사한 결과를 보였으며, 전반적으로 무농약제배 쌀이 향산화 활성 및 페놀함량 등 성분에서 비교적 높게 나타났다(그림 7).

[그림 7] 4가지 추출법을 이용한 무농약, 저농약, 농약제배 쌀의 비교 분석



- 무농약, 저농약, 농약 및 유기농 제배한 쌀 7종의 향산화 활성 및 성분 분석을 실시하였다. 각기 제배된 쌀을 미세하게 분쇄한 후 각 1그램씩을 취하여 물, 80%에탄올, 80%메탄올, 80% 아세톤 용매를 이용하여 추출하였다. 추출된 용액은 rotary evaporator를 이용해 유기용매를 휘발시킨 후 물에 녹여 ORAC 분석법을 이용하여 향산화 활성을 분석하였다. 특히, 무농약 제배된 쌀 가운데 일부는 백미와 현미의 향산화 활성과 페놀함량, 플라보노이드 함량 등을 분석하였다. 분석결과 무농약과 저농약 제배한 쌀은 유사한 결과를 보였으며, 전반적으로 무농약제배 쌀이 향산화 활성 및 페놀함량 등 성분에서 비교적 높게 나타났다(그림 8).

[그림 8] 4가지 추출법을 이용한 무농약, 저농약, 농약제배 쌀의 비교 분석



(6) 친환경 농산물과 관행제배 농산물의 잔류 농약 분석

- 1, 3, 5, 6 차 샘플링한 고추 시료 8종에 대해 102종의 농약에 대한 잔류 농약을 분석하였다. 잔류 농약 분석 및 검증은 전남대학교 친환경 인증센터에 의뢰하여 실시하였으며, 검사 결과 친환경 및 관행 제배 고추 모두에서 잔류 농약이 검출되지 않았다(그림 9).
- 분석은 gas chromatography 방법을 이용한 GC-ECD, GC-NPD와 HPLC 분석법을 이

용한 HPLC-UVD. HPLC-FLD 방법을 통해 분석하였으며, 분석한 농약 리스트는 아래와 같다.

- 분석한 농약 102종: Azoxystrobin, Bifenthrin, Butchlor, Chlorfenapyr, Chlorfluazuron, Chlorothalonil, Cyfluthrin, Cypermethrin, Deltamethrin, Dichlofluanid, Dicofol, Difenconazole, Endosulfan, Fenarimol, Fenoxanil, Fenpropathrin, Fenvalerate, Fipronil, Flufenoxuron, Flutolanil, Fthalide, Halfenprox, Indoxacarb, Iprodione, Isoprothiolane, Kresoxim-methyl, L-Cyhalothrin, Lufenuron, Nuarimol, Paclobutrazole, Penconazole, Permethrin, Probenazole, Procymidone, Pyridaben, Pyridaryl, Tefluthrin, Tetraconazole, Tetradifon, Thifluzamid, Triadimefon, Vinclozolin, Bitertanol, Buprofezin, Cadusafos, Chlorpyrifos, Chlorpyrifos-methyl, Cyprodinil, Diazinon, Diniconazole, Edifenphos, EPN, Ethoprophos, Fenitrothion, Fenthion, Fludioxonil, Furathiocarb, Hexaconazole, Iprobenfos(IBP), Malathion, Metalaxyl, Methidathion, Parathion, Pendimethalin, Phenthoate, Phorate, Phosalone, Pirimiphos-methyl, Pyrazophos, Tebuconazole, Tebufenpyrad, Tebupirimfos, Terbufos, Tolclofos-methyl, Triflumizole, Acetamiprid, Boscalid, Carbendazim, Clothianidin, Cyazofamid, Cymoxanil, Diethofencarb, Diflubenzuron, Dimethomorph(E,Z), Imidacloprid, Mepanipyrim, Pencycuron, Pyraclostrobin, Pyrimethanil, Tebufenozide, Teflubenzuron, Thiachloprid, Tricyclazole, Trifloxystrobin, Carbaryl, Carbofuran, Fenobucarb(BPMC), Fluquinconazole, Isoprocarb, Methiocarb, Methomyl, Thiamethoxam

[그림 9] 잔류 농약 검사 성적서 및 분석 profile

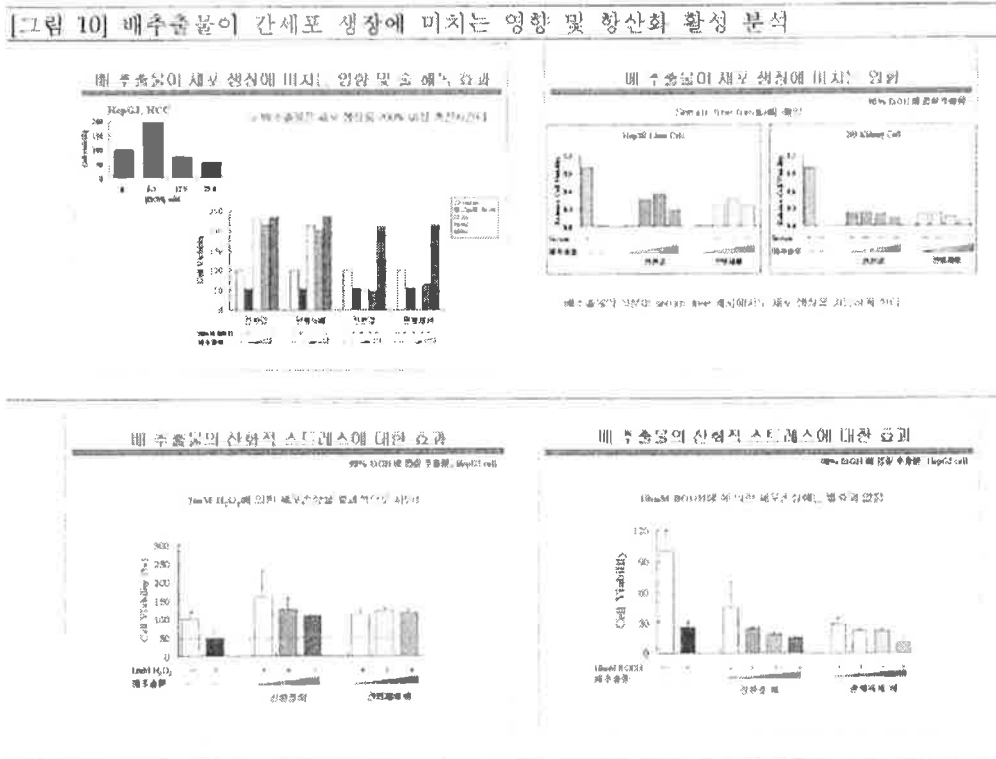
The image shows two documents side-by-side. The left document is a '시험성적서' (Test Report) from '진남대학교 산학협력단' (Jinnam University Industry-Academy Cooperation Center). It contains a list of 102 pesticides analyzed. The right document is an 'npd REPORT' showing a table of results for various pesticides, including columns for 'Concentration', 'Unit', 'Limit', 'Value', and 'Status'.

| # | Concentration | Unit | Limit | Value | Status |
|----|---------------|------|-------|-------|--------|
| 1 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |
| 2 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |
| 3 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |
| 4 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |
| 5 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |
| 6 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |
| 7 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |
| 8 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |
| 9 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |
| 10 | 0.000 | ppm | 0.01 | 0.000 | OK |

나. 농산물의 세포내 항산화 활성 분석

(1) 간세포주를 이용한 항산화 활성분석법 확립

농산물 추출물이 간세포 성장에 미치는 영향을 분석하기 위하여 간세포에 1mM H₂O₂를 처리하여 산화적 스트레스를 가하여 세포 사멸을 유도한 후에 배추출물이 간세포를 보호하는 효능을 분석한 결과 배 추출물은 간세포 보호 활성이 탁월하였으며, 무농약 농산물, 농약 농산물 모두 항산화 활성을 나타내었다(그림 10).

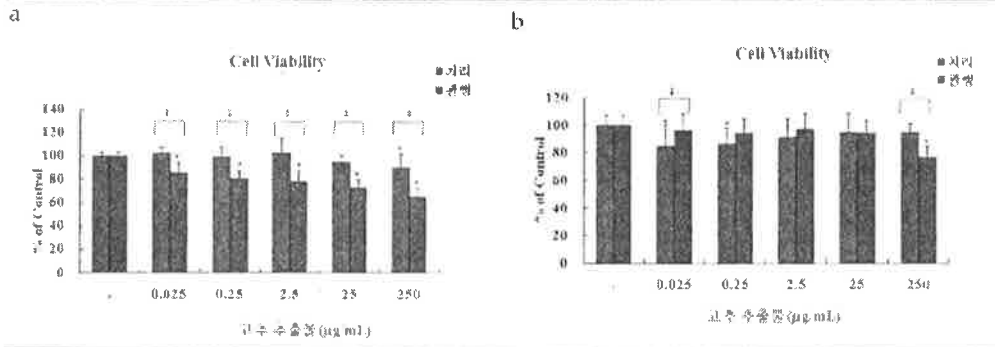


(2) 고추 추출물을 이용한 항산화 활성 분석

(가) 세포 독성 분석

- HepG2 세포에서 초기 고추(1, 2, 3차 채집 고추) 추출물을 처리한 결과 0.025 - 250 ug/ml 까지의 농도에서 세포생장에 영향을 미치지 않았다. 하지만 관행구에서는 25 ug/ml 이상에서 80% 이하로 세포생장이 억제 되었다(그림 11c).
- HepG2 세포에서 후기 고추(5, 6차 채집 고추) 추출물을 처리한 결과 0.025 - 250 ug/ml까지의 농도에서 대조군과 비교 하였을 시 80% 이상으로 세포생장에 안정적으로 나타났다. 하지만 관행구에서는 250 ug/ml에서만 80% 이하로 세포생장이 억제 하는 것으로 보인다 (그림 11b).

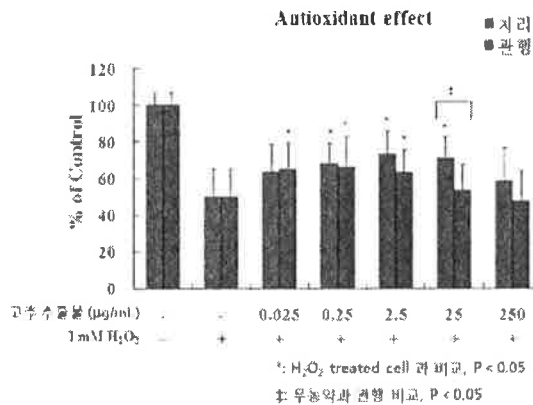
[그림 11] 무농약 고추와 관행재배 고추가 간세포 HepG2 성장에 미치는 영향 분석



(나) 산화적 스트레스로부터 세포 보호활성 분석

- 간세포에 1mM H₂O₂를 처리하면 간세포는 약 50% 가량 사멸하게 된다. 이는 산화적 스트레스로 인한 세포 사멸로 생체에 유해산소 발생량이 급증하게 되면 다양한 질병에 걸리게 되는데(Conley et al., 2007; Forman, 2007; Mounjaroen et al., 2006). 이러한 상황을 세포를 이용하여 실험하였으며, 농산물이 유해산소로 인한 세포사멸을 억제하는 항산화 활성을 보이는 지 알아보기 위하여 본 실험을 수행하였다.
- 산화적 스트레스로부터 간세포 보호 활성 분석을 위해 고추 추출물들을 처리 24시간 후 1mM H₂O₂를 1시간 처리하여 XTT assay를 통하여 세포 성장을 측정된 결과 초기에 채집한 고추의 추출물은 무농약 고추, 관행재배 고추 모두 0.025~2.5 µg/mL 추출물 농도에서 유해산소로 인한 세포 사멸을 효과적으로 차단하였다(그림 12).

[그림 12] 고추 추출물의 유해산소로부터 세포보호활성 분석

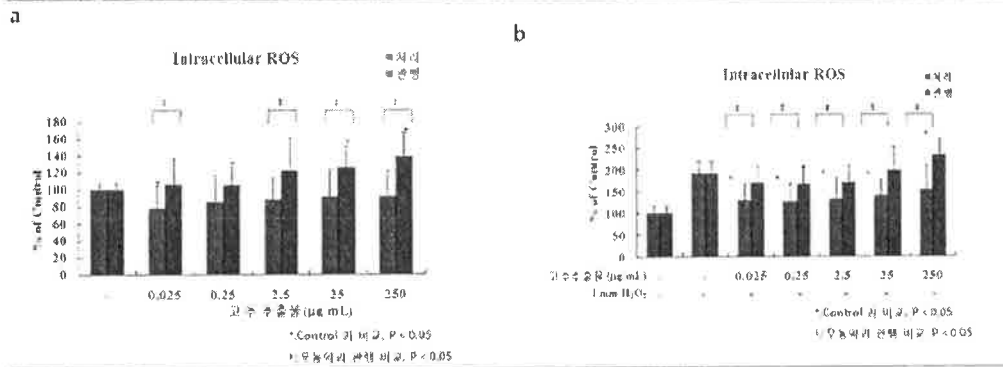


- 그러나 2.5~25 µg/mL 농도에서 무농약 고추가 관행재배고추보다 훨씬 높은 세포 사멸 보호활성을 보였으며, 이러한 차이는 고농도인 250 µg/mL까지 지속되었다. 본 연구는 2010년 한국환경농화학회에 논문 발표하였다(Choi et al., 2010).

(다) 세포내 유해산소(reactive oxygen species, ROS) 생성 억제 활성 분석

- 고추 추출물에 의한 세포내 유해산소 생성 억제 활성 분석 결과 대조군과 비교시 친환경 고추의 경우 0.025 - 250 µg/mL 농도에서 거의 대조군에 비해 세포내 ROS를 약 10-20% 감소시키는 것을 확인하였다. 하지만, 관행고추의 경우 0.25 µg/mL에서만 대조군과 유사하였을 뿐 2.5 µg/mL 이상에서는 dose-dependent하게 증가하는 양상을 보였으며 최대 40% 이상 증가 되었다(그림 13a).
- 또한 세포에 1mM H₂O₂를 처리하여 산화적 스트레스를 야기 시킬 경우 H₂O₂만을 처리시 90% 이상 증가한 세포내 유해산소가 친환경 고추 추출물을 처리한 세포에서는 30% 정도로 유해산소를 생성을 억제하였다. 하지만 관행 고추 추출물에서는 저농도에서 60% 정도로 낮추었을 뿐 2.5 µg/mL 이상의 농도에서는 H₂O₂ 처리시보다 더욱 높은 세포내 유해산소를 생성하였다(그림 13b).

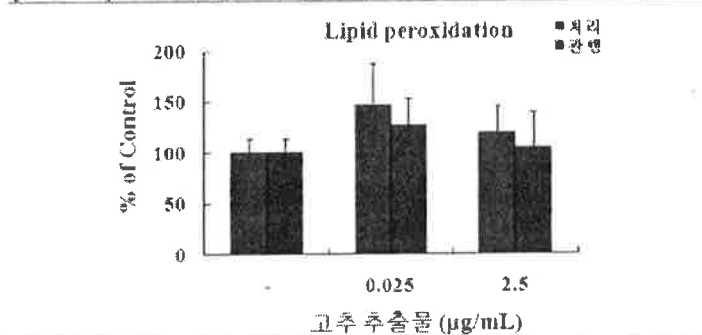
[그림 13] 고추 추출물이 세포내 ROS 생성에 미치는 영향 분석



(라) 지질과산화 억제 활성 분석

- 0.025 µg/mL 와 2.5 µg/mL의 농도로 친환경 및 관행 고추 추출물을 HepG2 세포에 처리한 후 지질과산화 수준을 측정된 결과 대조군에 비해 친환경 고추 추출물에서는 1.7배 와 1.4배, 관행 고추 추출물은 1.5배와 1.3배로 관행 고추 추출물에서 좀 더 나타났으며 높은 농도에서 더 지질과산화를 감소시키는 것으로 보인다(그림 14).

[그림 14] 고추 추출물에 의한 지질과산화 억제 활성 분석



(마) 항산화 활성 효소 CAT, SOD의 활성 분석

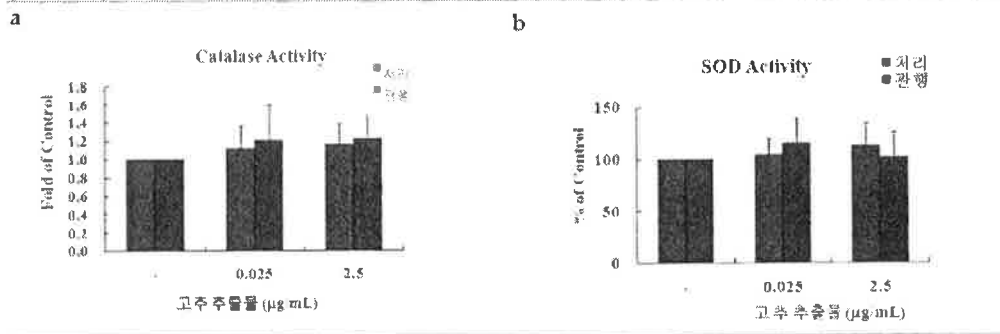
① CAT Activity

고추 추출물을 처리 후에 HepG2 세포의 항산화 효소중 하나인 Catalase의 활성을 측정결과 약 1.1 - 1.2배 정도의 Catalase 활성이 증가 되었다(그림 15a).

② SOD Activity

SOD 활성에 미치는 영향을 NBT의 formazan 형성으로 확인한 결과 대조군과 차이가 거의 나타나지 않았다. 다만 친환경 고추는 0.025 ug/ml 와 2.5 ug/ml에서 각 약 11%, 20% 정도로 증가하는 양상을 보였지만 관행 고추의 경우는 각 농도에서 약 25%, 12%로 감소하는 양상을 보였다(그림 15b).

[그림 15] 고추 추출물이 항산화 효소 활성에 미치는 영향 분석

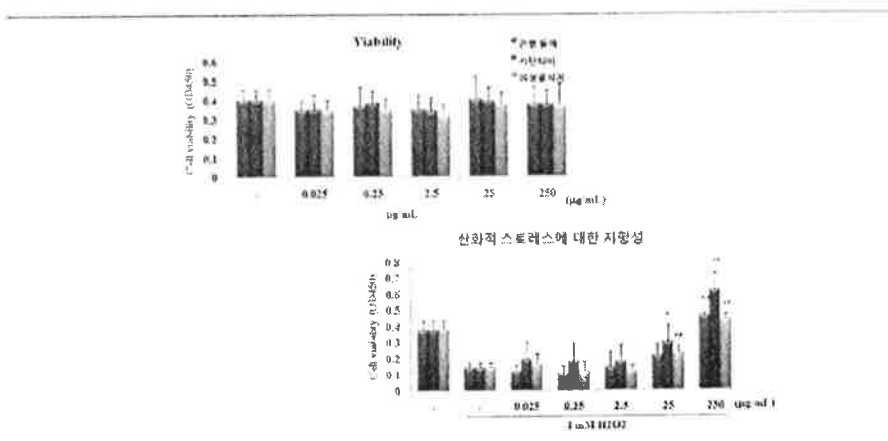


(3) 들깨잎의 항산화 활성 분석

(가) 관행재배/키턴퇴비/미생물처리 들깨잎의 간세포 생리활성 분석

- 70% 메탄올을 이용하여 추출한 들깨잎을 간세포에 처리하여 간세포 성장 및 항산화 활성 분석: 250 µg/mL 농도까지 간세포 성장에 안정적이었다(그림 16).
- 1 mM H₂O₂를 처리하여 간세포에 산화적 스트레스를 가했을 때 약 60%까지 간세포가 사멸하나 들깨잎 추출물 250 µg/mL을 처리하면 정상 수준까지 간세포 사멸을 억제함 (그림 16).

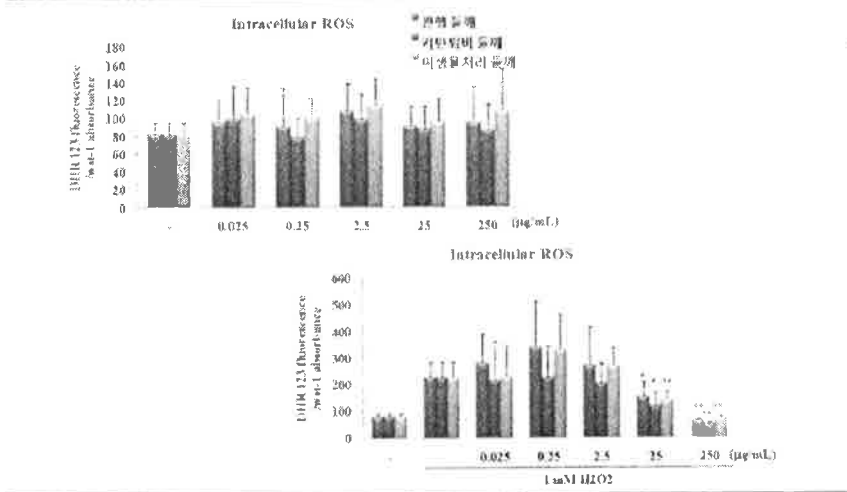
[그림 16] 들깨잎이 간세포 성장에 미치는 영향분석



(나) 관행재배/키티퇴비/미생물처리 들깨잎의 세포내 ROS 생성 억제 활성 분석

- 1mM H₂O₂ 처리에 의해 간세포 내 ROS 생성이 약 2.5배 증가하였으며, 들깨잎 추출물은 세포내 ROS의 생성을 효과적으로 차단하였다(그림 17).

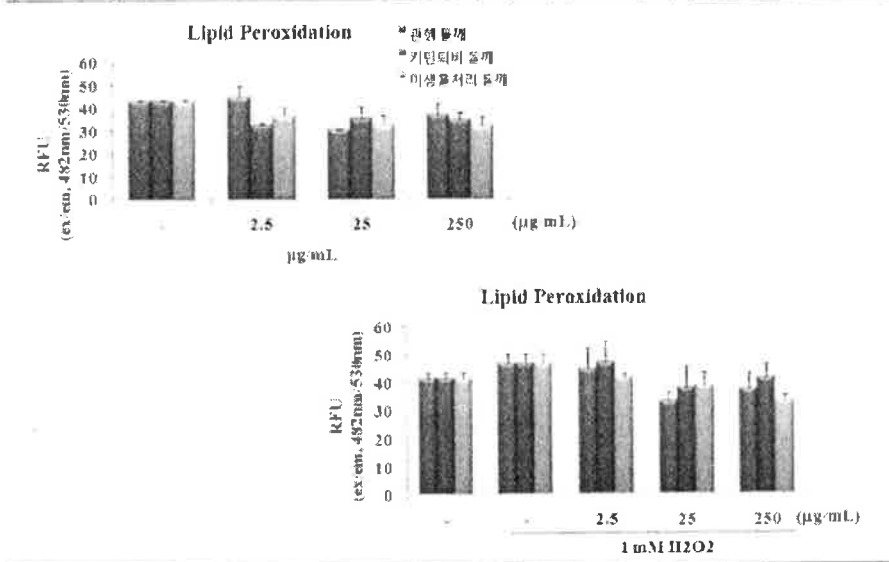
[그림 17] 들깨잎 추출물의 세포내 ROS 생성억제 활성 분석



(다) 관행재배/키티퇴비/미생물처리 들깨잎의 지질과산화 억제 활성 분석

- 1 mM H₂O₂ 처리에 의해 간세포 지질과산화가 약 15% 증가하였으며, 들깨잎 추출물은 250 µg/mL 농도에서 지질과산화를 약 30% 감소시켰다(그림 18).

[그림 18] 들깨잎의 지질과산화에 미치는 영향 분석



(4) 유기재배 벼 미강 추출물을 이용한 항산화 활성 분석

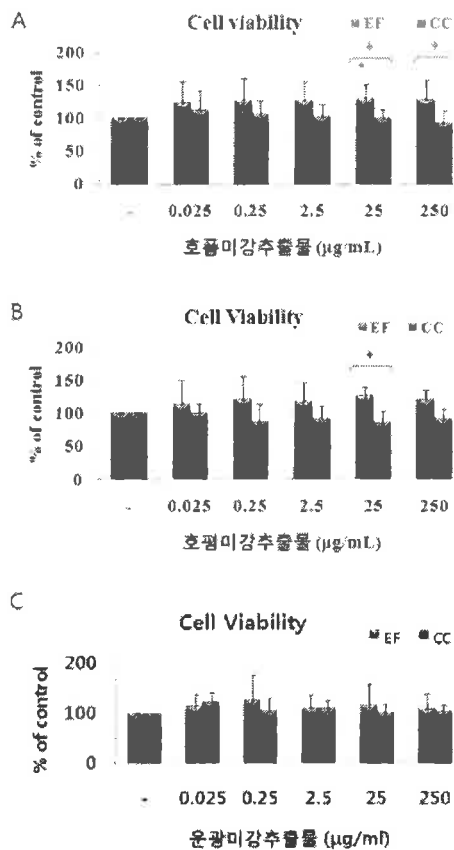
(가) 세포 성장에 미치는 영향 분석

- 전남 농업기술원 나주 포장을 이용하여 호품벼, 호평벼, 운광벼를 유기재배 하였으며, 동일 품종을 관행재배 후 도정과정을 통해 미강을 수득하였다.
- 수득한 미강을 70% 메탄올 용액을 이용하여 추출하였으며, 추출물을 Rotary Evaporator를 이용하여 유기용매를 제거하고 DW에 녹여 세포 실험에 사용하였다.
- 미강 추출물이 간세포 성장에 미치는 영향을 분석하기 위하여 HepG2 세포에 0.025~250 µg/mL 농도로 처리한 후 XTT 방법을 이용하여 세포 성장에 미치는 영향을 분석하였다(그림 19).

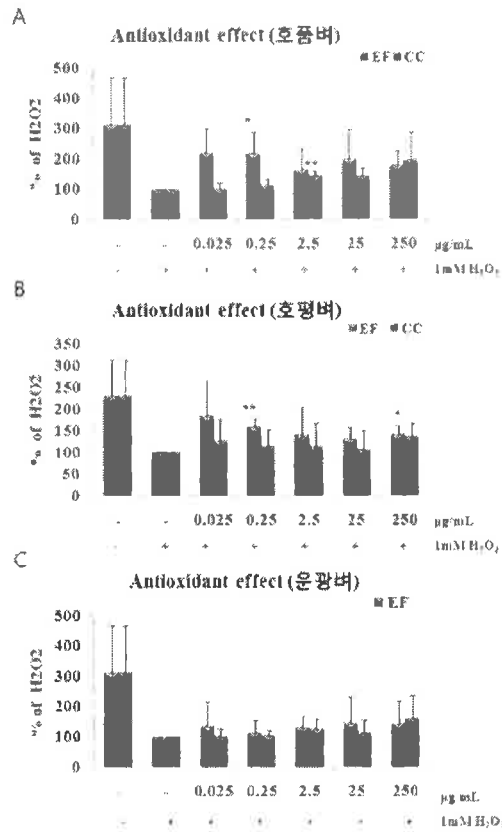
(나) 산화적 스트레스로부터 간세포 보호활성 분석

- 산화적 스트레스로부터 세포를 보호하는 항산화활성을 분석하기 위하여 미강 추출물을 1 mM H₂O₂를 처리하여 세포 사멸을 유도한 세포에 전처리하였다.
- 유기재배 호품벼 미강과 호평벼 미강은 산화적 스트레스로 인한 세포 사멸을 차단하는 항산화 활성이 관행재배 미강 벼보다 높게 나타났다. 그러나 운광벼 미강 추출물은 유기재배와 관행재배 사이에 큰 차이를 보이지 않았다(그림 20).

[그림 19] 미강 추출물이 간세포 성장에 미치는 영향 분석



[그림 20] 산화적 스트레스로부터 미강 추출물의 세포사멸 억제 활성 분석

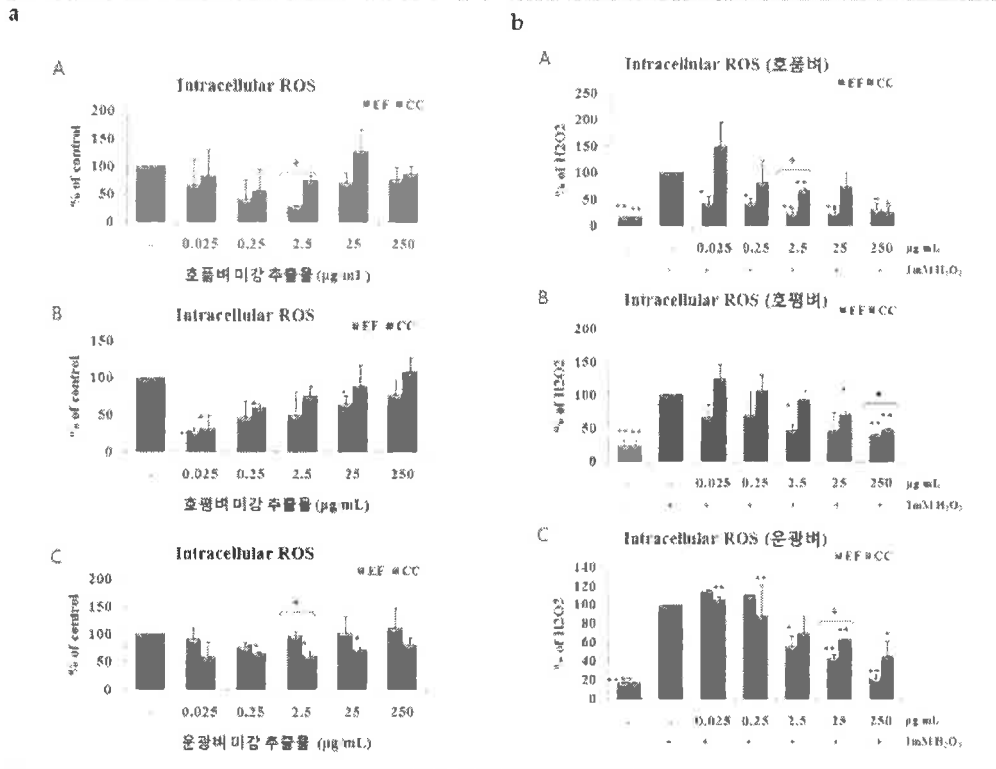


(다) 세포내 ROS 억제 활성 분석

- 미강 추출물을 처리하였을 때 HepG2 세포 ROS 생성에 어떠한 영향을 미치는 지 분석하였다(그림 21a). 분석 결과 유기제배 벼 호품벼와 호평벼 미강 추출물은 세포내 ROS 생성을 효과적으로 차단하는 것으로 나타났으나, 관행제배 미강 추출물은 25 µg/mL 이상의 농도에서 세포내 ROS 생성을 유도하였다(그림 21a).
- 운광벼 미강 추출물은 유기제배와 관행제배 모두 세포내 ROS 생성에 별 다른 영향을 미치지 않았다.
- HepG2 세포에 1 mM H₂O₂를 처리하여 산화적 스트레스를 가하면, 세포내 ROS 생성량이 5~7배 가량 증가한다. 유기제배 호품벼 미강 추출물은 H₂O₂에 의해 생성된 ROS를 매우 효과적으로 제거하였다. 관행제배 호품벼 미강 역시 0.25 µg/mL 이상의 농도에서 세포내 ROS 생성을 억제하는 효능이 높게 나타났다(그림 21b). 호평벼의 경우 유기제배 호평벼가 관행제배 호평벼 보다 세포내 ROS 생성을 보다 효과적으로 제거하였으며, 농도가 높을수록 ROS 제거효능이 증가하였다. 이는 ROS를 scavenging할 수 있는 파이토케미칼의 양이 고농도에서 생성된 ROS를 제거할 만큼의 양을 보정하는 것으로

로 사료된다. 운광버는 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 농도에서 세포내 ROS생성을 억제하는 효능이 나타났으며, 유기재배가 관행재배보다 효능이 높은 것으로 보였다.

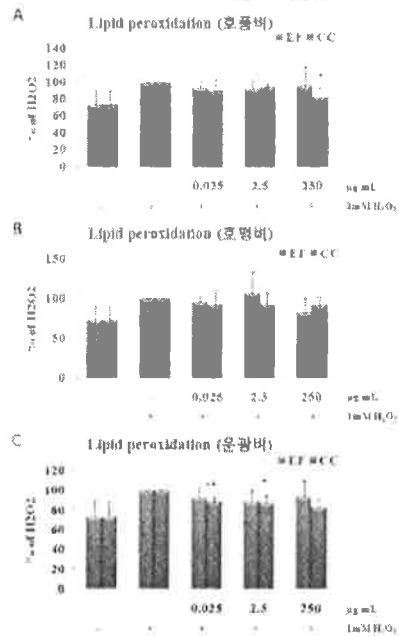
[그림 21] 미강 추출물의 세포내 ROS 생성에 미치는 영향 분석



(라) 세포 내 지질과산화 억제 활성 분석

- 산화적 스트레스는 세포내 지질과산화를 유도한다(Sevanian and Urisini, 2000). 1 mM H₂O₂를 처리하면 세포내 지질이 과산화되는 현상이 일어나며, 대조군과 비교해 약 30%의 지질 과산화가 일어나게 된다.
- 미강 추출물을 처리하였을 때 지질과산화 정도를 비교 분석한 결과, 유기재배 미강 추출물이나 간행재배 미강 추출물 모두 지질과산화를 억제하는 활성을 높지 않음을 알 수 있었다(그림 22.)

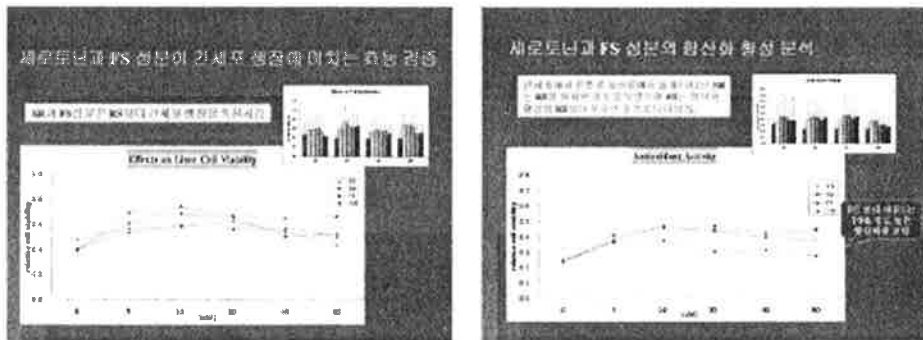
[그림 22] 미강 추출물의 지질과산화 억제 활성 분석



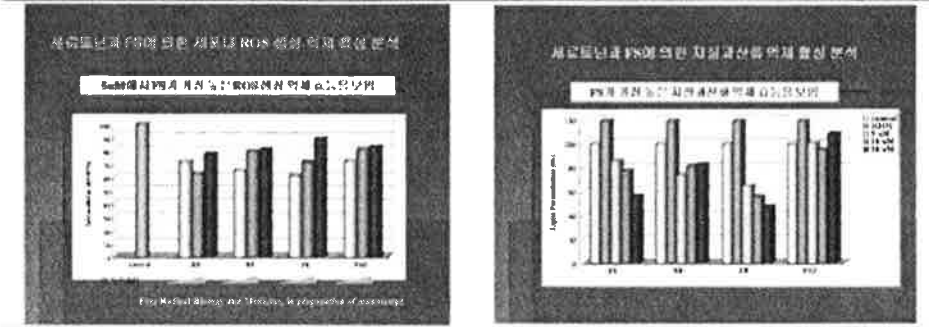
(5) 유용생리활성 물질 인 FS의 생리활성 분석

- HPLC 분석법을 이용하여 무농약 농산물에서 2-6배 이상 높게 검출된 FS의 생리학적 활성을 간세포를 이용하여 분석하였다. FS는 잘 알려진 항산화 물질인 레스베라트롤과 비교하여 보았을 때 상당히 높은 항산화 활성을 보였으며, 간세포 성장을 촉진시켰다(그림 23). 또한 세포내 ROS 생성과 지질 과산화도 억제하는 효능을 보였다(그림 24).
- 본 연구 내용은 2010년도 Fitoterapia 지에 게재하였다(Choi et al., 2010).

[그림 23] 세로토닌과 FS의 간세포 성장에 미치는 효능 분석



[그림 24] 세로토닌과 FS의 간세포 성장에 미치는 효능 분석

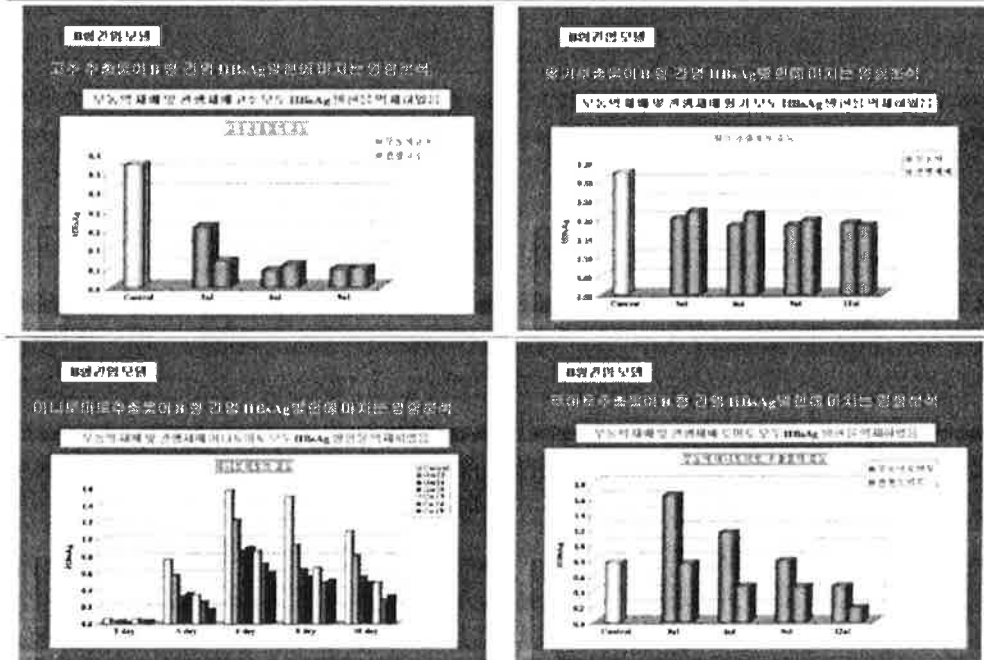


다. 질환 모델을 이용한 농산물의 기능성 분석

(1) 농산물 추출물이 B형 간염 개선 및 예방에 미치는 영향 분석

- 친환경 연구사업단에서 시취제배한 고추와 딸기, 미니토마토를 관행제배 농산물과 생리활성 가운데 약리활성이 있는지 분석하기 위하여 B형 간염 바이러스를 가지고 있는 Hep3B와 HepG2.2.15 세포를 이용하여 B형 간염 표면 항원의 발현에 어떠한 영향을 미치는 지 분석한 결과 농산물 추출물이 B형 간염 표면 항원 발현을 효과적으로 억제시킴을 알 수 있었다 (그림 25).

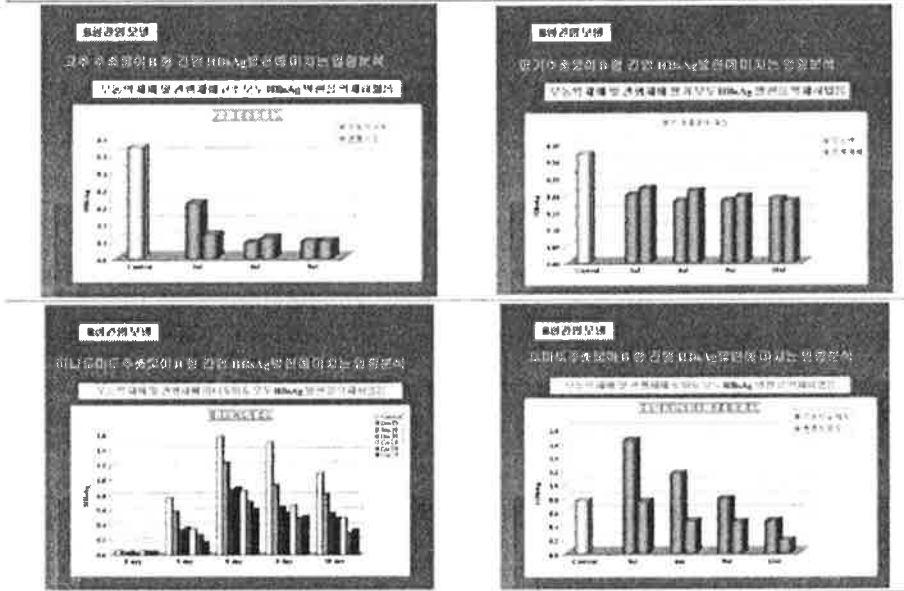
[그림 25] 농산물 추출물이 B형 간염 표면 항원 발현 억제 효능 분석



(2) 농산물 추출물이 B형 간염 개선 및 예방에 미치는 영향 분석

- 무농약과 농약 고추와 딸기, 미니토마토, 토마토로부터 만든 추출물을 농도별로 HBV DNA를 함유하고 있는 Hep3B 세포에 처리하여 배양한 후 ELISA 방법으로 B형 간염 표면 항원(HBsAg)의 발현을 분석하였다. 고추, 딸기, 미니토마토 추출물은 무농약, 농약 모두에서 HBsAg의 발현을 억제시켰으나 토마토의 경우 효과가 미비하였다(그림 26).

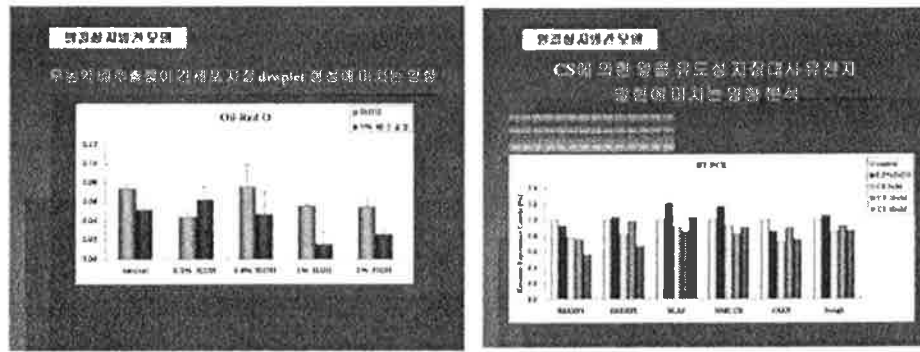
[그림 26] 농산물 추출물이 B형 간염 표면 항원 발현 억제 효능 분석



(3) 알콜성 지방간 모델 확립 및 배추추출물의 효능 분석

- 대표적 간질환 중의 하나인 알코올성 간질환에 농산물 추출물이 미치는 영향에 대해 분석하였다. 사람 간세포 HepG2에 알코올을 다양한 농도로 처리한 후 나타나는 변화를 관찰한 결과 세포 내 지질양이 증가함을 알 수 있었으며, 지질 대사에 관여하는 유전자의 발현이 증가됨도 관찰하였다.
- 알코올에 의한 간세포의 대사 변화를 정상적으로 유지시켜주는 효능이 농산물 추출물에 있는지를 알아보기 위하여, 배추추출물을 알코올에 노출된 간세포에 처리하여 어떠한 변화가 나타나는지 관찰하였다. 무농약 배추추출물은 알코올에 의해 유도되는 지질합성을 억제시키는 효능을 2% 알코올 농도에서도 나타남을 알 수 있었다.
- 또한 0.6% 이상의 고농도 알코올에 의해 유도되는 지질대사를 효과적으로 억제시키는 것을 관찰하였다. 또한 무농약 농산물에 많이 있는 것으로 판명된 바이오아민과 HCAA 유도제가 알코올성 간질환에 어떤 효능을 나타내는지도 분석하였다. FS와 더불어 FS와 같은 계열의 유도체인 CS도 알코올에 의해 유도되는 지질 대사에 영향을 미치는 것을 분석한 결과 알코올에 의해 발현이 유도된 유전자의 발현을 억제시킨다는 것을 관찰하였다(그림 27).

[그림 27] 알코올성 지방간 모델 확립 및 농산물 추출물의 효능 분석

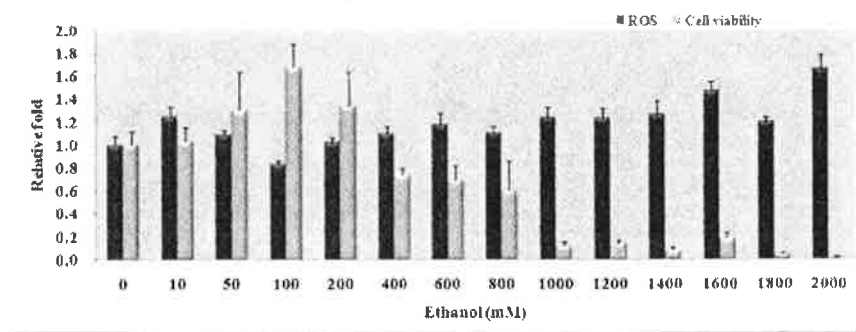


(4) 알코올에 의한 간세포 손상에 미치는 영향 분석

○ 알코올에 의한 간세포 손상과 ROS의 관련성 분석

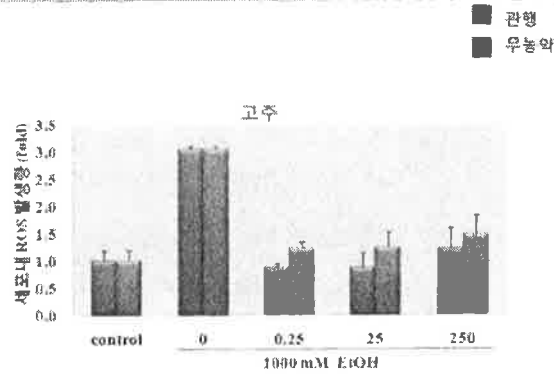
- 간세포에 에탄올의 농도를 높여 처리하면 간세포 사멸이 증가하고 사멸 양상과 역방향으로 세포내 ROS의 발생량이 증가하였다(그림 28).

[그림 28] 알코올 처리 간세포의 세포 독성 및 ROS 발생량 분석

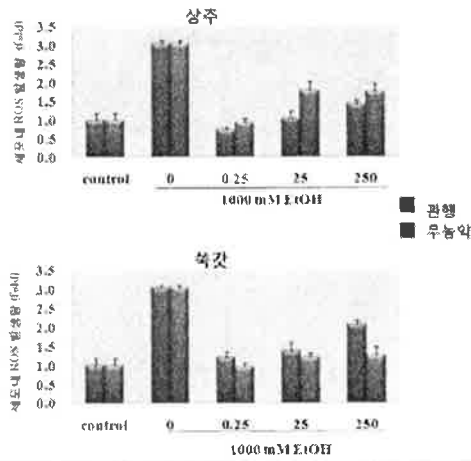


- 고추 추출물 처리하였을 때 에탄올에 의한 간세포 사멸을 보호하고 세포내 ROS 발생을 억제시켰다(그림 29).
- 상추와 썩갓 처리에 의한 효능 분석 결과 상추와 썩갓 모두 간세포 보호 활성이 뛰어났으나, 관행과 무농약 간의 차이는 발생하지 않았다(그림 30).
- 유기농 벼의 간세포 보호 활성 분석: 호품벼와 호평벼 추출물을 간세포 처리하여 알코올에 의한 간세포 손상으로 보호하는 활성 분석 결과 호품벼가 호평벼보다 효능이 좋았으나, 유기농과 관행간의 차이는 나타나지 않았다(그림 31).

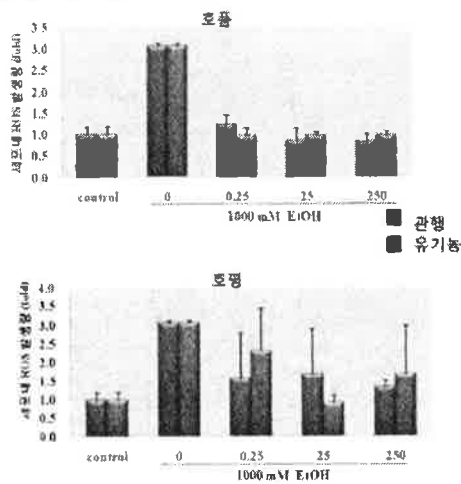
[그림 29] 알코올에 의한 간세포 손상에 고추 추출물의 영향 분석



[그림 30] 알코올에 의한 간세포 손상에 농산물 추출물의 영향 분석



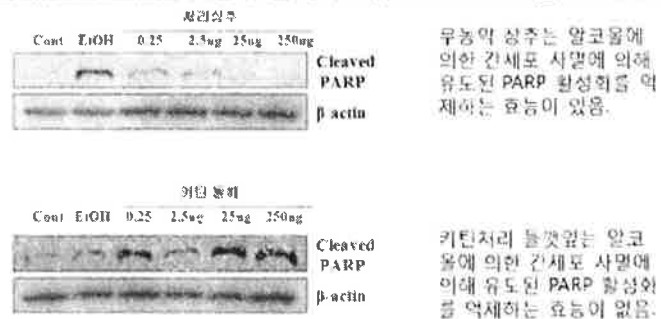
[그림 31] 호핑버와 호뽀버 미강 추출물의 알코올에 의한 간손상 보호활성 분석



○ 알코올에 의한 세포 사멸 관련 유전자 발현에 미치는 영향 분석

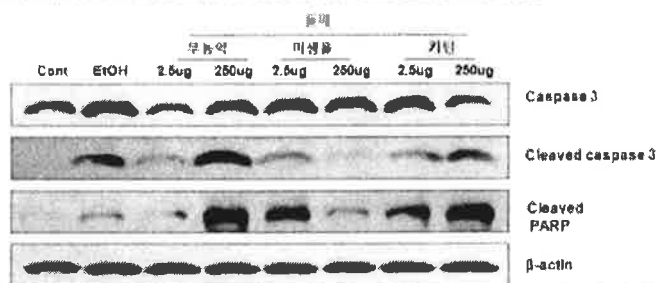
- 상추와 키틴들겟잎의 간독성 보호 활성 분석: 간세포 사멸에 의해 유도되는 유전자인 cleaved PARP의 생성량 분석 결과 상추에서는 cleaved PARP의 발현을 효과적으로 차단하였으나, 키틴들겟잎에서는 효능이 없었다(그림 32).
- 상추와 쑥갓 추출물을 0.8M 알코올을 처리한 간세포에 처리하였을 때 2.5 µg/ml의 농도에서 관행과 무농약 상추가 caspase3의 활성화를 억제하여 알코올에 의한 간세포 사멸을 보호하는 활성을 보였으며, 쑥갓의 경우 처리구 250 µg/ml에서 가장 좋은 활성을 보였다. 상추와 쑥갓 모두 무농약 처리구에서 보다 좋은 활성을 나타내었다(그림 33).

[그림 32] 농산물 추출물이 세포 사멸 유전자 cleaved PARP의 활성화에 미치는 영향 분석



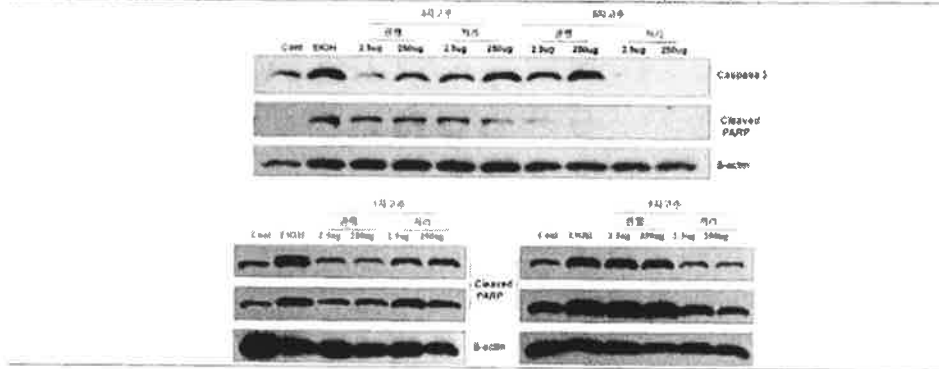
- 들겟잎 추출물의 경우 무농약/미생물처리/키틴처리 들겟잎을 각각 비교하였는데, caspase 활성을 억제시키는 효능은 무농약과 키틴 들겟잎에서 높게 나타났다(그림 33).

[그림 33] 알코올에 의한 간세포사멸에 들겟잎 추출물의 영향 분석



- 2008년도 고추 추출물을 이용하여 알코올에 의한 간세포 손상 방어 기전을 분석한 결과 5차 처리고추가 가장 탁월한 간세포 보호 활성을 보였다. 즉, caspase3의 활성을 완전히 억제하였으며 PARP의 활성 또한 억제 시켜 높은 간세포 보호 활성을 나타내었다(그림 35).

[그림 35] 알코올에 의한 간세포사멸에 고추 추출물의 영향 분석



제 4 절 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

| 구분 (연도) | 세부과제명 | 세부연구목표 | 달성도 (%) | 연구개발 수행내용 |
|-----------------------------|---|--|------------|--|
| 1차 연도 (2006) | 친환경 농산물의 우월성 증명 및 향상 성분 분석 | 항산화 활성 분석법 확립 | 100 | ORAC assay 분석법 확립 |
| | | 농산물의 항산화 활성 분석 | 100 | 사람 간세포에 다양한 스트레스 처리 후 농산물 추출물에 의한 효능 분석 |
| | | 유용생리활성물질분석 | 100 | 총페놀 함량 및 플라보노이드 |
| | | 세포주에서 항산화 활성 분석법 확립 | 100 | 산화적 스트레스를 가한 세포주에서 농산물 추출물에 의한 항산화 활성 분석 |
| 2차 연도 (2007) | 친환경 농산물의 우월성 증명 및 향상 성분 분석 | 농산물 항산화 활성 분석, 페놀성분 및 유용 성분분석 | 100 | 세로토닌 및 그 유도체 함량 HPLC 분석 |
| | | 무농약 농산물의 유용생리활성 물질의 기능 규명 | 100 | 세로토닌 및 그 유도체가 세포생장에 미치는 영향분석 |
| | | 친환경 농산물이 간세포생장에 미치는 영향분석 | 100 | ROS 생성에 미치는 영향분석: 지질과산화 분석 |
| | | 알코올성 간질환 모델에서 무농약 농산물의 효능분석 | 100 | 50% 간세포사멸을 유도하는 알콜 농도에서 친환경 농산물의 간세포 생장에 미치는 영향분석 |
| 3차 연도 (2008) | 친환경 농산물의 생리활성 분석: 항산화활성 분석 | 친환경 농산물이 간세포생장에 미치는 영향분석 | 100 | XTT 분석법을 이용하여 무농약 처리구와 관행재배 대조구의 고추추출물을 농도별로 처리한 후 24시간 배양하여 세포생장 분석 |
| | | 산화적 스트레스로부터 간세포 사멸로부터 활성 분석 | 100 | 무농약 처리구와 관행재배 대조구 고추추출물을 간세포에 농도별로 24시간 처리한 후 1mM H ₂ O ₂ 를 처리하였을 때 간세포 사멸을 억제시키는 활성을 분석 |
| | | 세포내 ROS (reactive oxygen species) 생성 분석 | 100 | 1mM H ₂ O ₂ 를 처리한 간세포에 무처리구와 관행처리구 고추추출물의 세포내 ROS 생성 억제 항산화 활성 분석 |
| | | 지질과산화 억제 활성 분석 | 100 | 산화적 스트레스를 가한 간세포는 지질과산화가 진행되어 MDA를 과생성하게 된다. 고추추출물이 MDA 생성을 억제하는 지 515nm excitation, 553nm emission에서 측정 |
| | | 간세포의 항산화 효소 발현에 미치는 영향 분석 | 100 | 무처리구와 관행구 고추추출물을 간세포에 처리한 후 SOD와 CAT 활성을 분석하였으며, 또한 1mM H ₂ O ₂ 를 처리한 간세포에서 고추추출물에 의한 간세포의 항산화 효소 활성을 분석 |
| | | 유용생리활성 물질인 바이오아민과 HCAAs 유도체 HPLC 정량 분석 | 100 | 고추로부터 바이오아민과 HCAA 유도체를 분리하기 위하여 Sep-Pak 칼럼을 이용하여 분리한 후 HPLC 분석을 통해 정량분석 |
| 무처리구와 관행처리구 고추 8종의 잔류 농약 분석 | 100 | 전남대학교 친환경 인증센터에 의뢰하여 102종의 농약에 대한 잔류성을 GC와 HPLC를 이용하여 분석한 결과 모든 시료에서 잔류 농약이 검출되지 않았음 | | |
| 4차 연도 (2009) | 친환경 농산물의 생리활성 분석: 항산화활성 분석 | 친환경 농산물이 간세포생장에 미치는 영향분석 | 100 | XTT 분석법을 이용하여 무농약 처리구와 관행재배 대조구의 고추, 쌈채류 및 유기농 벼추출물을 농도별로 처리한 후 24시간 배양하여 세포생장 분석 |

| | | | | |
|--------------------|---------------------------------------|--|-----|---|
| 4차 연도 (2009) | 친환경 농산물의 생리활성분석: 항산화활성분 석 | 무농약 농산물이 세포내 유해 산소 및 지질과산화 억제 효능 분석 | 100 | 1mM H ₂ O ₂ 를 처리한 간세포에 무처리구와 관행처리구 고추, 쌈채류 및 유기농 벼 추출물의 세포내 ROS 생성 억제 항산화 활성 분석/산화적 스트레스를 가한 간세포는 지질과산화가 진행되어 MDA를 과생성하게 된다. 고추 추출물이 MDA 생성을 억제하는 지 515nm excitation, 553nm emission에서 측정 |
| | | 항산화 효소 활성 분석: SOD, CAT | 100 | 세포내 항산화 효소인 SOD와 CAT 효소 활성 및 유전자 발현 분석 |
| | | 유용생리활성 물질인 바이오아민과 HCAAs 유도체 HPLC 정량 분석 | 100 | 트립토판, 트립타민, 세로토닌, 티라민 함량과 CS, FS, CT, FT 등 총 8종의 유용생리활성 물질의 함량을 HPLC를 이용하여 비교분석한 결과 트립토판의 경우 무처리구에서 증가하였으나 나머지는 관행구에서 약간 증가하는 경향을 보였으며, FS, FT는 무처리구에서 높게 나왔으며, CS, CT는 관행처리구에서 높게 검출되었음 |
| | | 알콜성 간질환 모델에서 농산물 추출물의 효능 분석 | 100 | 알코올을 고농도로 처리하면 간세포가 과도한 ROS를 생성하고 세포사멸이 일어나는데, 이때 다양한 농산물 추출물에 의한 세포사멸 방어기전 및 유전자 발현 분석 |
| 5차 연도 (2010) | 친환경 농산물의 생리활성분석: 항산화활성분 석 | 친환경 농산물의 안전성 분석 | | 친환경 농산물에 의한 간기능 지표 마커의 영향분석: 일부민 함량 등 ELISA 분석 |
| | | 친환경 농산물이 간세포생장에 미치는 영향분석 | | XTT 분석법을 이용하여 무농약 처리구와 관행재배 대조구의 고추, 쌈채류 및 유기농 벼추출물을 농도별로 처리한 후 24시간 배양하여 세포 성장 분석 |
| | | 친환경 농산물이 세포내 유해 산소 및 지질과산화 억제 효능 분석 | | 1mM H ₂ O ₂ 를 처리한 간세포에 무처리구와 관행처리구 고추, 쌈채류 및 유기농 벼 추출물의 세포내 ROS 생성 억제 항산화 활성 분석/산화적 스트레스를 가한 간세포는 지질과산화가 진행되어 MDA를 과생성하게 된다. 고추 추출물이 MDA 생성을 억제하는 지 515nm excitation, 553nm emission에서 측정 |
| | | 간세포의 항산화 효소 발현에 미치는 영향 분석 | | 세포내 항산화 효소인 SOD와 CAT 효소 활성 및 유전자 발현 분석 |
| | | 유용생리활성 물질 GC-MASS 분석 및 HPLC 분석 | | 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 유용생리활성 물질 비교 및 분석 |
| | | 알콜성 간질환 모델에서 농산물 추출물의 효능 분석 | | 알코올을 고농도로 처리하면 간세포가 과도한 ROS를 생성하고 세포사멸이 일어나는데, 이때 다양한 농산물 추출물에 의한 세포사멸 방어기전 및 유전자 발현 분석 |
| | | 친환경 농산물의 안전성 및 기능성분석에 관한 종합 안내책자 발간 | | 2핵심과제 전체 연구 내용을 농산물 별로 구분하여 안전성이 기능성에 관한 종합 소개 책자를 발간 |

제 5 절 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구개발 성과

가. 학술지 게재 논문 실적

| 연번 | 논문제목 | 게재학술지명 (약자) | 게재년도 | 권: 쪽수 | SCI 구분 | Impact Factor | 1저자 | 교신저자 | 공동저자 | 외국인 공동저자 |
|----|---|--|----------|----------------|--------|---------------|----------|---------|------------------------------|------------------|
| 1 | HPLC Analysis of Serotonin, Tryptamine, Tyramine, and the Hydroxycinnamic Acid Amides of Serotonin and Tyramine in Food Vegetables | J Med Food | 2008.06 | 11(2):38-5-389 | SCI | 1.288 | Dalin Ly | S G Lee | K Y Kang, J Y Chol, K H Back | Atsushi Ishihara |
| 2 | Evaluation of Antioxidant Activities and Levels of Biogenic Monoamines of Plants Grown in Soil Amended with Chitin-Enriched Compost Harboring Chitinase-Producing Bacteria (CECB) | Acta Agr Scand B-S P | 2008.12 | 58:379-384 | SCI | 0.407 | Dalin Ly | S G Lee | K H Back, I S Kim, K Y Kim | |
| 3 | Comparative Analysis of the Antioxidant Activities of Green Peppers Cultivated under Conventional and Environmental-Friendly Farming conditions | Kor Journal of Environmental Agriculture | 2010. 04 | 29(1) : 39-46 | KSCI | - | J Y Choi | S G Lee | Y J Choi | |
| 4 | Cytoprotective activities of hydroxycinnamic acid amides of serotonin against oxidative stress-induced damage in HepG2 and HaCaT cells | Fitoterapia | 2010.08 | accepted | SCIE | | J Y Choi | S G Lee | H R Kim, Y J Choi, K H Back | Atsushi Ishihara |

나. 학술대회 실적

| 연번 | 저자명 | 논문 제목 | 학술대회 명칭 | 학술대회 개최기간 및 장소 | 발표형태 |
|----|---------------------|---|--|---------------------------------|------|
| 1 | 최장열 이다린 이성진 | Comparison of antioxidant activities between environmentally-friendly cultivated crops and conventionally cultivated crops | The 89th International Symposium of the KSABC | 2006. 04. 21 천남대학교 | 포스터 |
| 2 | 최장열 이다린 문선욱 최여진 이성진 | Pear peel and pulp and their influence on antioxidant potentials and cell viability in HepG2 hepatocellular carcinoma | 2006 International symposium and annual meeting of the KSABC | 2006. 10. 26 - 27 경주 콘코트호텔 | 포스터 |
| 3 | 이다린 최장열 문선욱 최여진 이성진 | Comparisons of antioxidant activity and total phenolic compounds between environmental-friendly and conventionally cultivated crops | 2006 International symposium and annual meeting of the KSABC | 2006. 10. 26 - 27 경주 콘코트호텔 | 포스터 |
| 4 | 최장열 강기연 이다린 최여진 이성진 | Serotonin and its derivative detected in environmental-friendly cultivated pepper and showed strong protective effects on the oxidative stressed HepG2 cell | 19th FAOBMB Seoul Conference | 2007. 05. 27 - 30 서울 코엑스 | 포스터 |
| 5 | 최장열 이성진 | Inhibitory effects for intracellular ROS generation and lipid peroxidation by N-(p-coumaroyl)serotonin in the oxidative stressed HepG2 cell | 2007 한국응용생명화학학회 추계 국제학술대회 | 2007. 10. 11 - 13 경주, 교육문화회관 | 포스터 |
| 6 | 이성진 | Evaluation of Antioxidant Activities and Levels of Biogenic Monoamines of Eco-Friendly Agriculture Plant Crops | 2007 한국식품저장유통학회 학술발표회 | 2007. 11. 02 경상대학교 농업생명과학연구원 | 구두 |
| 7 | 이성진 | 친환경 농산물의 생리활성 및 항산화 효능연구 | 농림수산식품과학기술대진 학술행사, 한국유기농업학회 | 2008. 09. 26 aT센터 서울 | 구두 |
| 8 | 최장열 이성진 | Antioxidant activity of caffeoylserotonin: Inhibitory effects for intracellular ROS generation and lipid peroxidation in HepG2 cells | The 9th International congress on cell biology & The 20th annual conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology | 2008. 10. 07 - 10 COEX, 서울 | 포스터 |
| 9 | 최장열 이성진 | Comparison of antioxidant activities between environmental-friendly cultivated pepper and conventionally cultivated pepper | International symposium and annual meeting of the KSABC-New era of applied biological chemistry | 2008. 10. 23 - 25 EXCO, 대구 | 포스터 |
| 10 | 이성진 | 친환경 농산물의 생리활성 및 항산화 효능연구 | 친환경 원예발전방안 모색 | 2008. 12. 17 | 구두 |

| | | | 신포지움 | 전주산업대 | |
|----|-------------------------|--|------------------|-------------------------|-----|
| 11 | 최장열, 최여진, 고은혜, 함해진, 이성진 | Comparison of antioxidant activities between environmental-friendly cultivated lettuces and conventionally cultivated lettuces | 한국응용생명화학회 추계학술대회 | 2009.10.22-24. 제주 그랜드호텔 | 포스터 |
| 12 | 최여진, 최장열, 고은혜, 함해진, 이성진 | Comparison of antioxidant activities between environmental-friendly cultivated crown dairy | 한국응용생명화학회 추계학술대회 | 2009.10.22-24. 제주 그랜드호텔 | 포스터 |

다. 홍보실적

| 연번 | 홍보일자 | 홍보유형 | 매체명 | 제목 | 홍보내용 |
|----|------|------------|--------|---------------|--------------------------|
| 1 | 이성진 | 2007.02.02 | 중앙 방송국 | KBS | 무농약 고추, 간세포 산화 스트레스 줄인다 |
| 2 | 이성진 | 2007.03.04 | 지역일간지 | 전남대신문, 광주일보 등 | 무농약 고추 이용, 간세포 항산화 활성 실험 |

라. 교육실적

| 연번 | 교육일자 | 교육명 | 교재명 | 장소 | 참석대상 (인원/명) | 주요내용 | 기대효과 |
|----|------------|-------------------------------------|-------------------------|--------------|--------------------------|-------------------------|-----------------|
| 1 | 2010.07.27 | 고급유기농업연구프로그램 | 유기농농산물의 기능성 분석과 향후 연구전망 | 정읍 유기농포도웰빙센터 | 농업인 | 유기농농산물의 기능성 분석과 향후 연구전망 | 친환경농산물의 기능성 홍보 |
| 2 | 2010.08.11 | 친환경 생체 전남을 위한 *친환경농업연구사업단 기술개발* 보고회 | 친환경 농산물의 기능성 | 전남농업기술원 | 전라남도 지역 농업기술센터 관계관 (66명) | 친환경 농산물의 기능성 핸드북 소개 | 친환경 농업 기술핸드북 홍보 |

마. 인력양성

| 연번 | 인력양성연도 (졸업연도) | 인력양성내용 | 성명 | 학위 |
|----|---------------|--|-----|----|
| 1 | 2009 | 유용 생리활성물질의 항산화 활성 연구 | 최장열 | 박사 |
| 2 | 2009 | Anti-inflammatory and anti-oxidative activity of Acorus calamus L. leaves extract in keratinocyte HaCaT cells | 김혜리 | 석사 |
| 3 | 2009 | Effects of lotus (Nelumbo nucifera) leaves extracts and ginsenoside Rb2 on production of hepatitis B surface antigen in HepG2.2.15 cells | 이용희 | 석사 |
| 4 | 2008 | DEAD-box RNA helicase gene DDX3 interacts with DDX5 | 최여진 | 석사 |
| 5 | 2007 | Comparisons of antioxidant activities and contents of secondary metabolites between environmental-friendly and conventionally cultivated crops | 이다린 | 석사 |
| 6 | 2009 | 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 항산화 활성분석 (고추 추출물의 항산화 활성 분석) | 서형주 | 박사 |
| 7 | 2009 | 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 항산화 활성분석 (고추 추출물의 항산화 활성 분석) | 양승삼 | 박사 |
| 8 | 2009 | 친환경 농산물의 생리활성 분석 - 항산화 활성분석 (고추 추출물의 항산화 활성 분석) | 강이중 | 박사 |

2. 성과활용 계획

가. 연구개발결과의 활용방안

- (1) 다양한 친환경 농자재의 안정성 검증
- (2) 친환경 농법과 관행농법에 의해 재배된 농산물의 항산화 활성 및 생리적 활성 분석을 통해 친환경 농산물의 안정성과 우수성 검증
- (3) 매일 섭취하는 과채류의 항산화 활성 분석을 통해 높은 항산화 활성을 갖는 농산물의 재배 조건 분석으로 우수한 농산물 재배조건 확립
- (4) 유용한 생리활성을 갖고 있는 농산물 분획을 이용하여 기능성 가공 식품 제조

- (5) 알콜성 간질환 모델을 이용하여 친환경 농산물이 간기능 개선에 미치는 영향을 분석함으로써 간기능 개선을 위한 기능성 식품 소재 및 약제 개발에 기초 자료 제공
- (6) 한국인 호발성 암 질환을 예방 할 수 있는 식재료 개발 및 암 예방 및 치료에 응용가능

나. 기대성과

(1) 기술적 측면

- ① 농산물 추출물에서 항산화 활성 분석 기법 확립
- ② 간세포 생장에 미치는 영향 분석법 확립 및 생리 활성 분획 추출
- ③ 친환경 농법 및 관행 재배 농법에 따라 유용한 생리 활성 물질 분석을 통해 고기능성 농작물의 활용가능성 고찰

(2) 경제적·산업적 측면

- ① 친환경 농산물의 안정성 및 우월성 검증을 통해 친환경 생산 농가의 고수입 창출
- ② 농약 사용을 자제함으로써 토양의 건강성 회복
- ③ 식생활을 위협하는 잔류 농약 문제를 해결할 수 있으며 고 기능성 농산물의 생산 및 보급을 통해 국민건강 증진에 기여
- ④ 고기능 및 무농약 농산물의 수출 증진에 기여
- ⑤ 생리활성 분석을 통해 한국인 호발성 암 예방에 도움이 되는 농산물의 공급 및 가공 식품제조에 응용할 수 있어 고부가 가치 가공 농산물 생산 가능

제 6 절 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 본 과제를 수행하면서 친환경 농산물-무농약과 유기재배 농산물-에 관한 생리활성 분석 연구 동향을 분석해 본 결과 유기재배 농산물과 관행재배 농산물의 생리활성을 비교 분석한 연구들이 주를 이루고 있다.
2. 유기재배 농산물이 작물의 영양적인 측면에서 가치를 증진시키는 지에 대한 질문에 답하고자 많은 연구들이 수행되고 있다(Brandt and Mølgaard, 2001).
3. 유기재배 딸기와 관행재배 딸기를 이용하여 암세포 성장을 억제하는 항암 활성을 비교 분석한 결과 유기재배 딸기가 관행재배 딸기 보다 암세포 성장을 억제하는 활성이 높게 나타났다(Olsson et al., 2006).
4. 유기재배와 관행재배 블루베리를 비교 분석한 논문에서 과일의 질, 항산화 활성, 플라보노이드 함량 등을 비교 분석한 결과 유기재배 블루베리에서 항산화 활성, 플라보노이드 함량, 페놀 함량 등이 높게 검출되어 재배 방법에 따라 작물의 phytonutrient 함량에 차이를 보임을 발표하였다(Wang et al., 2008).
5. 재배 농법에 따라 과육의 색깔, 카로티노이드 함량, 미네랄 함량 등이 달라진다는 보고가 있어 재배 농법이 작물의 질과 파이토케미칼 함량 변화에 많은 영향을 미침을 증명하였다(Pérez-López et al., 2007).
6. 농산물에는 다양한 이차대사 산물이 존재하는 데 이들 물질들은 약리작용을 나타내어 항암 효능이나, 항염증, 항산화 등 질병 예방 효능이 보고되고 있다(Surh, 1999; Youdim and Joseph, 2001).
7. 농산물의 기능성 성분이 증가되면 이들 물질은 마치 의약품을 먹는 것과 같은 효능을 보일 수 있어 functional food에 관한 연구들이 증가하고 있다. 이러한 functional food에 관한 연구는 국민 건강 증진 및 의료수가 절감 등의 효과가 있어 우리도 많은 연구를 기울여야 할 부분이다(Milner, 1999; Halsted, 2003; Hu, 2003; Liu, 2004; Prior, 2003).

제 7 절 참고문헌

- 미노우 유세피, 손상목 (2006) 세계 유기농 생산과 시장 동향. 식품과학과 산업. 39: 52-72.
- Bhat RV (2008) Human health problems associated with current agricultural food production. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 17 Supple 1: 91-94.
- Brandt K, Molgaard JP (2001) Organic agriculture: does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? *J Sci. Food Agric.* 81: 924-931.
- Choi JY, Choi YJ, Kim H, Ishihara A, Back K, Lee SG (2010) Cytoprotective activities of hydroxycinnamic acid amides of serotonin against oxidative stress-induced damage in HepG2 and HaCaT cells. *Fitoterapia*. (in press).
- Choi JY, Choi YJ, Lee SG (2010) Comparative Analysis of the Antioxidant Activities of Green Peppers Cultivated under Conventional and Environmental-friendly Farming conditions. *Korean J. Environ. Agric.* 29: 39-46.
- Conley KE, Marcinek DJ, Villarin J (2007) Mitochondrial dysfunction and age. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 10: 688-692.
- Forman HJ (2007) Use and abuse of exogenous H₂O₂ in studies of signal transduction. *Free Radic. Biol. Med.* 42: 926-932.
- Halsted CH (2003) Dietary supplements and functional foods: 2 sides of a coin? *AM. J. Clin. Nutr.* 77: 1001S-1007S.
- Hobbs PR, Sayre K, Gupta R (2008) The role of conservation agriculture in sustainable agriculture. *Philos. Trans. R. Soc. Lon. B. Biol. Sci.* 363: 543-555.
- Hu FB (2003) Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *Am. J. Clin. Nutr.* 78: 544S-551S.
- Kreisberg J (2006) Learning from organic agriculture. *Explore* 2: 450-452.
- Liu RH (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr.* 134: 3479S-3485S.
- Lokupitiya E, Paustian K (2006) Agricultural soil greenhouse gas emissions: a review of national inventory methods. *J. Environ. Qual.* 35: 1413-1427.
- Ly D, Kang K, Choi J-Y, Ishihara A, Back K, Lee SG (2008a) HPLC Analysis of Serotonin, Tryptamine, Tyramine, and the Hydroxycinnamic Acid Amides of Serotonin and Tyramine in Food Vegetables. *J. Med. Food* 11: 385-389.
- Ly D, Back K, Kim IS, Kim K-Y, Lee SG (2008) Evaluation of Antioxidant Activities and Levels of Biogenic Monoamines of Plants Grown in Soil Amended with Chitin-Enriched Compost Harboring Chitinase-Producing Bacteria (CECB). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science* 58: 379-384.
- Moungjaroen J, Nimmannit U, Callery PS, Wang L, Azad N, Lipipun V, Chanvorachote P, Rojanasakul Y (2006) Reactive oxygen species mediate caspase activation and apoptosis induced by lipoic acid in human lung epithelial cancer cells through BCL-2 down-regulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 319: 1062-1069.

- Olsson ME, Andersson CS, Oredsson S, Berglund RH, Gustavsson K (2006) Antioxidant levels and inhibition of cancer cell proliferation in vitro by extracts from organically and conventionally cultivated strawberries. *J. Agric. Food Chem.* 54: 1248-1255.
- Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL (2001) Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4619-4626.
- Pérez-López AJ, López-Nicolas JM, Núñez-Delgado E, del Amor FM, Carbonell-barrachina AA (2007) Effects of agricultural practices on color, carotenoids composition, and minerals contents of sweet peppers, cv. almuden. 55: 8158-8164.
- Prior RL (2003) Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am. J. Clin. Nutr.* 78: 570S-578S.
- Sevanian A, Ursini F (2000) Lipid peroxidation in membranes and low-density lipoproteins, similarities and differences. *Free Radic. Biol. Med.* 29: 306-311.
- Surh Y (1999) Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mut. Res.* 428: 305-327.
- Velimirov A, Huber M, Lauridsen C, Rembalkowska E, Seidel K, Bügel S (2010) Feeding trials in organic quality and health research. *J. Sci. Food Agric.* 90: 175-182.
- Wang SY, Chen C, Sciarappa W, Wang CY, Camp MJ (2008) Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. *J. Agric. Food Chem.* 56: 5788-5794.
- Youdim KA, Joseph JA (2001) A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurologic dysfunctions: a multiplicity of effects. *Free Rad. Biol. Med.* 30: 583-594.

제 2 장 친환경 농산물의 생리활성분석 - 항당뇨 생리활성 분석 [2-2]

제 2 장 친환경 농산물의 생리활성분석 - 항당뇨 생리활성 분석 [2-2]

요 약 문

I. 제 목 : 친환경 농산물 기능성 평가 - 친환경 농산물의 생리활성분석 : 항당뇨 생리활성 분석

II. 연구개발의 목적 및 필요성

가. 연구 개발의 목적

현대 사회에 문제가 되고 있는 대사성 질환 (당뇨 및 지방간)의 *in vitro* 모델을 이용하여 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 발병 억제 효과 검사 및 당뇨병성 비만증 (지방간) 억제 효과를 규명하여 친환경 농산물의 기능성을 밝히고자 하였다.

나. 연구개발의 필요성

- (1) 친환경 농법에 의해 재배되는 친환경 농산물과 관행 농법에 의해 재배되는 농산물의 생리활성 비교 분석 시 무농약 재배 농산물의 우월성을 인정해 줄 수 있는 기능성 효능 평가가 없는 실정이다.
- (2) 당뇨병은 만성 퇴행성 소모 질환으로 현저한 이병을 및 사망률을 일으키는 것으로 알려져 있으며 여러 합병증이 발생하여 국민과 사회 및 국가 전체의 관심과 대책이 필요한 시점에 있다.
- (3) 지방간은 모든 간질환 환자의 대부분을 담당하며 전체 인구의 3-20%에 해당되며 치료하지 않으면 지방간염 및 나아가 간경화를 유도하는 것으로 최근 밝혀지고 있다 (De Alwis & Day, 2008)
- (4) 현대 사회에서 가장 문제 되고 있는 성인 질환 중 가장 중요하고 의미있는 대사 증후군 중 당뇨에 대하여 친환경 농산물의 기능성 연구를 통한 기능적 우월성을 확보하여 친환경 농산물의 고부가가치 형성 및 친환경 농업 정책의 활성화를 유도할 수 있을 것으로 판단이 되어 이를 제안하고자 하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

가. 친환경 재배 작물의 다양한 생리 활성 지표 기능 검색 체계를 위한 실험 모델 확립

나. 대상 작물: 고추, 미강, 상추, 썩갯, 들깨잎 및 기타 작물

다. 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 발병 억제 효과 검사

라. 친환경 농산물의 비만성 지방간 예방효과

마. 친환경 농산물의 당뇨신증 억제 및 지방간 예방 관련 단백질 규명

IV. 연구개발결과

가. 고추의 항당뇨 생리활성 분석

- (1) 고추의 항당뇨 신증 예방

- 고추의 경우 일부 샘플 채집군 에서 무농약 재배 고추 추출물이 관행 재배 고추 추출물에 비해서 고포도당 (또는 palmitic acid)에 의한 사구체 세포의 fibronectin, Akt 및 ERK 활성화를 억제하는 것으로 확인되었다.
 - Proteomics를 이용하여 무농약 고추에 의한 당뇨 신증 예방 관련 단백질들 (moesin, pre-mRNA-splicing factor SLU7, gamma-glutamyltranspeptidase I precursor, cathepsin L precursor, F-box only protein 6 및 transgelin)을 사구체 세포에서 분리 동정하였다.
- (2) 고추의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석
- 대체적으로 고추의 경우 일부 용매 추출물에서 무농약 재배 고추 추출물이 관행 재배 고추 추출물에 비해서 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 효과가 차단되었다. Palmitic acid에 의한 간세포 사멸에 관련되는 단백질인 p38 MAPK, JNK 활성, Bax, ER stress 유발 단백질인 PERK 발현이 증가하였으며 세포사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 경우는 감소하였다. 이러한 반응은 무농약 재배 고추추출물에서 차단되는 것으로 나타났다
 - 일부 샘플에서 무농약 고추 추출물이 관행 재배 고추추출물에 비해 지방산에 의한 지방간 축적을 억제하는 것으로 관찰되었다.
 - Proteomics를 이용하여 무농약 고추에 의한 지방간 예방 관련 단백질들 (Collectin-12, UDP-glucose 6-dehydrogenase, glutaminase liver isoform, microtubule associated protein 6, WW domain-containing oxidoreductase, Zn finger protein 94 및 protein UXT)을 간세포에서 분리 동정하였다.
- (3) 고추의 비만 관련 단백질 효능 비교 분석
- 지방 세포에 고추추출물을 처리하여 항비만 단백질인 adiponectin 및 PPAR gamma 발현을 측정된 결과 무농약 재배 고추 추출물이 관행 재배 고추 추출물에 비해서 이들 단백질 발현을 증가시키는 것으로 나타났다.

나. 미강의 항당뇨 생리활성 분석

(1) 미강의 항당뇨 신증 예방

- 미강의 경우 도널드의 경우는 무농약, 친환경, 관행 재배의 경우 고포도당에 의한 ERK, JNK, Akt 활성을 차단하였으나 군간에 차이는 인정이 되지 않았다. 이에 반해 palmitic acid에 의한 신장 세포 사멸은 차단효과가 인정이 되지 않았다.
- 운광 및 호평의 경우는 일부 용매 분획에서 고포도당에 의한 podocyte 사멸을 차단하였으나 관행재배군과 유기농 재배군간의 차이는 인정이 되지 않았으며 호평의 경우는 양군에서 차단효과가 인정이 되지 않았다.

(2) 미강의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석

- 운광, 호평 및 호평의 경우는 일부 용매 분획에서 palmitic acid에 의한 간세포 사멸을 차단하였으나 관행재배군과 유기농 재배군간의 차이는 인정이 되지 않았다.
- 호평의 경우 지방간 축적예방 효과가 유기농 재배군에서 크게 인정이 되었으나 운광 및 호평의 경우는 양군에서 차단효과가 인정이 되지 않았다.

다. 쪽갯의 항당뇨 생리활성 분석

(1) 쪽갯의 항당뇨 신증 예방 효과

- 쪽갯의 경우 고폼도당에 의한 podocyte 세포 사멸 차단효과가 관행재배 및 무농약 처리군에서 인정이 되지 않았다.

(2) 쪽갯의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석

- 쪽갯의 경우 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 차단의 경우 일부 용매 분획에서 인정이 되었으며 다소 관행재배 군에 비해 무농약 재배군에서 효가가 강하게 인정이 되었다. 간세포 사멸 관련 단백질인 PERK, eIF-2 alpha, PARP, caspase-3, -9 및 Bcl-2 의 경우도 같은 양상을 볼 수 있었다.
- 간세포에 지방 축적의 경우도 무농약 재배 추출물에 의해서 차단되는 것으로 나타났다.

라. 상추의 항당뇨 생리활성 분석

(1) 상추의 항당뇨 신증 예방 효과

- 상추의 경우 고폼도당에 의한 podocyte 세포 사멸 차단효과가 관행재배 및 무농약 처리군에서 인정이 되지 않았다.

(2) 상추의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석

- 상추의 경우 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 차단의 경우는 양군에서 인정이 되지 않았다. 간세포 사멸 관련 단백질인 PERK, eIF-2 alpha, PARP, caspase-3, -9 및 Bcl-2 의 경우도 양군에서 차단효과는 인정이 되지 않았다.
- 간세포에 지방 축적의 경우도 무농약 재배 추출물에 의해서 차단되는 것으로 나타났다.

바. 들깻잎의 항당뇨 생리활성 분석

(1) 들깻잎 항당뇨 신증 예방 효과

- 들깻잎의 경우 고폼도당에 의한 podocyte 세포 사멸 차단효과가 관행재배 및 무농약 처리군에서 인정이 되지 않았다.

(2) 들깻잎의 비만성 지방간 예방 효능 비교 분석

- 들깻잎의 경우 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 차단 효과가 양군에서 인정이 되지 않았다.
- 간세포에 지방 축적의 경우도 무농약 재배 추출물에 의해서 차단되는 것으로 나타났다.

사. 기타 무농약 재배 작물과 관행재배 작물의 기능성 검증.

- 배의 경우 친환경 재배 추출물이 관행재배 추출물에 비해 간세포 성장, 간세포 ATP 생성, IGF-I 합성 및 세포 성장 단백질 발현 등에서 간세포 성장을 촉진하는 것으로 나타났다.
- 딸기의 경우 친환경 재배 고추 추출물이 관행재배 추출물에 비해 고폼도당에 의한 Akt, JNK, ERK 및 fibronectin 발현을 현저하게 억제하는 것으로 나타났으며 이들 관련 단백질을 분리 동정하였음.

- 한라봉, 사과외의 경우 역시 무농약 재배 추출물에서 항당뇨 신증 효과가 인정이 되었으나 토마토는 양쪽군에서 인정이 되지 않았다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1) 연구 성과

| 논문게재 | | 학술 발표 | 특허 (출원 /등록) | 영농 활용 | 시책 건의 | 기술 이전 | 유전 자원 등록 | 교육 지도 | 산업화 | 국제 협력 | 홍보 | 인력 양성 | 성과물 제작 |
|------|--------|-------|-------------|-------|-------|-------|----------|-------|-----|-------|----|-------|--------|
| 국내 | SCI(E) | | | | | | | | | | | | |
| 5 | | 5 | | | | | | 1 | | | 7 | 3 | |

2) 연구결과 활용 계획

- 향후 무농약 및 유기농 작물의 기능성 연구에 대한 기초자료를 제공할 수 있을 것으로 판단이 된다.
- 특히 현대사회에서 식생활과 가장 밀접한 관련이 있는 질환인 당뇨와 지방간 등의 대사성 증후군 연구에 큰 도움이 될 것으로 판단이 된다.

VI. Summary

Title : Analysis of biological activity of environmental-friendly cultivated crops - Evaluation of anti-diabetic activities

This study was conducted to elucidate the functional analysis of environmentally-friendly agricultural material using in vitro model systems (mesangial cell, podocyte, hepatocyte) of metabolic syndrome (diabetic nephropathy & fatty liver) for the application to diabetic nephropathy and fatty liver.

The results were as follows ;

(1) Anti-diabetic activities of peppers.

- The extracts of environmentally-friendly (pesticide-free) cultivated pepper have more strong preventive effect against high glucose (or palmitic acid)-induced activation of fibronectin, Akt, and ERK in mesangial cells or podocytes than those of conventionally cultivated peppers. This study elucidated proteins involved in the preventive effect of environmentally-friendly cultivated peppers in in vitro model of diabetic nephropathy (i. e. moesin, pre-mRNA-splicing factor SLU7, gamma-glutamyltranspeptidase I precursor, cathepsin L precursor, F-box only protein 6 and transgelin) using proteomics.
- The extracts of environmentally-friendly (pesticide-free) cultivated peppers have more strong preventive effect against palmitic acid-induced apoptosis and alteration of p 38 MAPK, JNK, Bax, PERK, and Bcl-2 in hepatocytes than those of conventionally cultivated peppers. This study elucidated proteins involved in the preventive effect of

environmentally-friendly cultivated peppers in *in vitro* model of fatty liver (i.e: collectin-12, UDP-glucose 6-dehydrogenase, glutaminase liver isoform, microtubule associated protein 6, WW domain-containing oxidoreductase, Zn finger protein 94 and protein UXT) using proteomics.

- The extracts of environmentally-friendly (pesticide-free) cultivated peppers stimulated the expression of adiponectin and PPAR gamma in adipocytes, compared to those of conventionally cultivated peppers.

(2) Anti-diabetic activities of rice

- There was no general difference of physiological function between environmentally-friendly cultivated rice (pesticide-free or organic) and conventionally cultivated rice in *in vitro* model system of diabetic nephropathy and fatty liver, although some solvent fraction of rice extract prevented the dysfunction of diabetic nephropathy and fatty liver.

(3) Anti-diabetic activities of crown daisy

- There was no preventive effect of two groups in *in vitro* model of diabetic nephropathy. However, some solvent fraction of the extracts of environmentally-friendly cultivated crown daisy have more strong preventive effect against fatty liver (palmitic acid-induced apoptosis and alteration of PERK, eIF-2 alpha, PARP, caspase-3, -9 and Bcl-2) than conventionally cultivated crown daisy.

(4) Anti-diabetic activities of lettuce

- Both the extracts of environmentally-friendly (pesticide-free) cultivated lettuce and those of conventionally cultivated peppers did not prevent the dysfunction of in *in vitro* model of diabetic nephropathy and fatty liver.

(5) Anti-diabetic activities of perilla leaf

- There was no preventive effect of two groups in *in vitro* model of diabetic nephropathy. Some solvent fraction of two groups prevented the palmitic acid-induced fatty liver. However there was no difference between two groups.

(6) Functional analysis of other environmentally-friendly cultivated agricultural materials

- In the pear, the extracts of environmentally-friendly cultivated pear have more stimulatory effect in the cell activities (i.e: cell proliferation, ATP synthesis, IGF-I synthesis, and protein expression) of hepatocytes than conventionally cultivated pear. In strawberry, hallabong, and apple, the extracts of environmentally-friendly (pesticide-free) cultivated agricultural materials have more strong preventive effect against diabetic nephropathy (i. e. : high glucose-induced activation of AKT, JNK, ERK, and fibronectin) than those of conventionally cultivated fruits.

목 차

| | |
|---|----|
| 제 1 절 연구개발과제의 개요 | 1 |
| 제 2 절 국내외 기술 개발 현황 | 3 |
| 제 3 절 연구개발 수행 내용 및 결과 | 5 |
| 1. 연구개발 수행 내용 | 5 |
| 2. 연구개발 수행 결과 | 7 |
| 가. 친환경 재배 작물의 기능 검색 체계를 위한 실험 모델 확립 | 7 |
| 나. 무농약 재배 고추와 관행재배 고추의 기능성 분석 | 9 |
| 다. 유기농 (무농약) 재배 미감과 관행재배 미감의 기능성 분석 | 24 |
| 라. 무농약 재배 썩갯 과 관행재배 썩갯 기능성 검증 | 32 |
| 바. 무농약 재배 상추와 관행재배 상추 기능성 검증 | 35 |
| 사. 무농약 재배 들깻잎과 관행재배 들깻잎 기능성 검증 | 37 |
| 아. 기타 무농약 재배 작물과 관행재배 작물의 기능성 검증 | 41 |
| 제 4 절 목표달성도 및 관련 분야에의 기여도 | 51 |
| 제 5 절 연구개발 성과 및 성과 활용 계획 | 55 |
| 제 6 절 연구개발 개발 과정에서 수집한 해외과학 기술정보 | 57 |
| 제 7 절 참고문헌 | 58 |

제 1 절 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적

가. 친환경 농산물의 다양한 생리활성 지표 기능 검색 체계를 위한 실험 모델 확립 및 친환경 농산물의 항당뇨 효능 검증을 실시하여 친환경 농산물의 우수성에 대한 과학적 근거를 제시하여 친환경 농산물 판매 증대 유도, 농가의 고 부가가치 창출 기여 및 친환경 농업정책 활성화를 유도하고자 하였다.

2 연구개발의 필요성

가. 환경 친화적이고 부가가치가 높은 유기농 및 무공해 농산물을 생산하는 친환경 농업의 발달이 중추적인 역할을 담당하는 시기가 도래되었다.

나. 현재까지, 국내적으로는 물론 국제적으로 친환경 농산물의 생물학적 평가 지표에 대한 연구는 극히 미미한 실정이다.

다. 최근 유기농으로 부터의 농산물의 질적 개선에 의해 생리활성 증가가 되는 것으로 세계 여러 나라에서 보고되고 있다 (Rembalkowska, 2007)

라. Corrlles 등 (2010)은 포도 껍질을 추출하여 실험하여본 결과 catechin 및 epicatechin 함량이 관행 재배 군이 유기농군에 비해 높았으며 quercetin 및 kaempferol의 양은 유기농 재배 군에서 높았다고 하여 국내에서 친환경 농산물에 대한 기능성 실험이 필요한 시점이다.

마. Velimirov 등 (2010) 역시 확실한 건강 표지 지표의 부재로 인하여 인간에서 기능성 생리활성에 대한 연구는 극히 미진한 현실이기 때문에 동물을 이용한 다양한 실험들이 선행되어야 한다고 피력하였다.

바. 친환경 농법에 의해 재배되는 친환경 농산물과 관행 농법에 의해 재배되는 농산물의 생리활성 비교 분석 시 무농약 재배 농산물의 우월성을 인정해 줄 수 있는 기능성 효능 평가가 없는 실정이다.

사. 친환경 농산물에 대한 생리활성 지표 기능 검색을 위한 적절한 실험동물 및 실험모델 확립이 절실히 필요하다.

아. 당뇨병은 세계적인 질환으로 우리나라의 경우 성인 7명중 1명꼴로 발병률이 높아 당뇨병 치료를 위한 국가적인 연구가 수행이 요구된다.

자. 당뇨병은 만성 퇴행성 소모 질환으로 현저한 이병을 및 사망률을 일으키는 것으로 알려져 있으며 여러 합병증이 발생하여 국민과 사회 및 국가 전체의 관심과 대책이 필요한 시점에 있다.

차. 당뇨병성 합병증은 당뇨병성 신경증, 망막증, 신증으로 분류되며 이 중 당뇨병성 신증이 당뇨병 환자의 주된 사망 원인으로 알려져 있어 당뇨병성 신증을 치료하기 위한 다양한 연구가 필요하다.

카. 당뇨병성 신증은 사구체 세포의 기질에 위치한 mesangial 세포 및 podocyte의 세포성장인자에 의한 사구체 경화에 의해서 야기된다 (Picken, 2009; Ziyadeh & Wolf, 2008)

타. 당뇨병성 신증의 발병에 관련되는 신호전달 물질로는 인산화 단백질인 ERK, JNK, Akt 등의 활성이 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다 (Kattla 등, 2008)

파. 지방간은 모든 간질환 환자의 대부분을 담당하며 전체 인구의 3-20%에 해당되며 치료하지

않으면 지방간염 및 나아가 간경화를 유도하는 것으로 최근 밝혀지고 있다 (De Alwis & Day, 2008)

- 하. 주로 포화 지방산인 palmitic acid 처리 시 간세포의 사멸에 의해서 유도되며 이와 관련된 신호전달계로는 p38 MAPK 및 JNK의 활성이 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다 (Joshi-Barve 등, 2007)
- 거. 이러한 지방간은 비만성 당뇨와 밀접한 관련이 있는 것으로 최근 보고되고 있다 (Watanabe 등, 2008)
- 너. 지방세포의 이상은 비만, 당뇨 및 혈관 질환과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있다 (Hajer 등, 2008)
- 더. 친환경 농산물이 관행재배에 비해 생체의 신장, 간 및 지방 세포에서 항당뇨 효과가 있는 것을 규명하는 것은 친환경 농산물의 우수성에 대한 평가 지표로 활용될 수 있을 것으로 추측된다.
- 러. 따라서 본 사업단에서 추진하는 친환경 농법에 의한 농산물 및 관행 재배에 의한 농산물에 대한 항당뇨 효과를 함께 분석하여 친환경 농산물의 우수성에 대한 홍보 자료 작성 및 책자 마련을 통해 친환경 농산물의 생체 내 생리활성 탁월성을 입증하고자 하였다.

3. 연구개발의 범위

- 가. 대상 작물: 고추, 벼(미강), 쑥갓, 쌈채, 들깨잎 및 기타 (딸기, 배, 사과, 한라봉, 토마토, 수박, 인삼)
- 나. 친환경 재배 작물의 생리활성 (주로 항당뇨 활성) 검색 체계를 위한 실험 모델 확립
- 다. 친환경 재배 작물의 당뇨병성 신증에 대한 방어효과 규명
 - (1) 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물 처리 시 고포도당에 의한 사구체 세포 (podocyte 또는 mesangial cell) 사멸 억제 효과 규명
 - (2) 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물 처리 시 고포도당에 의한 사구체 세포 (podocyte 또는 mesangial cell) 단백질 발현 차단효과 규명: fibronectin, p38 MAPK, ERK 등
 - (3) 친환경 농산물 및 관행 농산물 처리 시 palmitic acid에 의한 사구체 세포 (podocyte 또는 mesangial cell) 사멸 억제 효과 규명
 - (4) 친환경 농산물의 당뇨신증 억제 관련 단백질 규명
- 라. 친환경 재배 작물의 지방간에 대한 방어효과 규명
 - (1) 친환경 농산물 및 관행 농산물 처리 시 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 억제 효과 규명
 - (2) 친환경 농산물 및 관행 농산물 처리 시 palmitic acid에 의한 간세포 사멸관련 단백질 (p38 MAPK, JNK, Bcl-2, Bax) 단백질 발현 억제 효과 규명
 - (3) 친환경 농산물의 지방간 유발 억제 단백질 규명
- 마. 친환경 농산물의 항비만 단백질 발현 검사
 - (1) 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 지방세포의 항비만 단백질 발현

제 2 절 국내외 기술개발 현황

1. 연구/개발 기술 현황

- 가. 전세계적으로 경제적 여유가 있는 소비자층은 가급적 덜 가공된 제품을 선호하고 있다 (최대한 자연 상태에 가까운 것).
- 나. 환경 친화적이고 부가가치가 높은 유기농 및 무공해 농산물을 생산하는 친환경 농업 정책 활성화 및 친환경 농업의 발달에 도움을 주는 다양한 시스템 개발의 시기가 도래되었다.
- 다. 최근 유기농으로 부터의 농산물의 질적 개선에 의해 생리활성 증가가 되는 것으로 세계 여러 나라에서 보고되고 있다 (Rembalkowska, 2007).
- 라. Hecke 등(2006)은 일반 관행재배에서 재배한 사과보다 유기농으로 재배한 사과에서 phenol 함량이 높다고 하였다.
- 마. Corries 등 (2010)은 포도 껍질을 추출하여 실험하여본 결과 catechin 및 epicatechin 함량이 관행 재배 군이 유기농군에 비해 높았으며 quercetin 및 kaempferol의 양은 유기농 재배 군에서 높았다고 하였다.
- 바. Velimirov 등 (2010) 역시 확실한 건강 표지 지표의 부재로 인하여 인간에서 기능성 생리활성에 대한 연구는 극히 미진한 현실이기 때문에 동물을 이용한 다양한 실험들이 선행되어야 한다고 피력하였다.
- 사. 국내에서 최근 일부 연구자들에 의해서 기능성 유기농 친환경 농산물 및 식품 개발 등이 선보이고 있는 실정이다 (2010년 호서대학교 내추럴 초이스의 친환경, 유기농 농산물을 이용한 고기능성 프리미엄급 친환경 식품, 비타민 강화 쌀 및 리코펜 다량 함유 토마토 등).
- 아. 그럼에도 불구하고 친환경 농법에 의해 재배되는 친환경 농산물과 관행 농법에 의해 재배되는 농산물의 생리활성 비교 분석 시 무농약 재배 농산물의 우월성을 인정해 줄 수 있는 기능성 효능 평가가 없는 실정이다.

2. 연구결과가 국내외 기술개발 현황에 차지하는 위치

- 가. 친환경 농산물의 기능성에 관한 대국민 홍보로 국산 농산물에 대한 관심 및 소비 증대 효과를 가져올수 있다.
- 나. 친환경 및 무농약 (유기) 재배 농산물을 이용한 무농약 농산물의 우월성에 대한 과학적 근거 제시를 통한 친환경 농업 활성화를 유도 할수 있다.
- 다. 친환경 농산물의 기능성 확보를 위한 친환경 농법 메뉴얼 확립 필요가 있다.
- 라. 국내외 시장에 대해 객관적으로 비교할 수 있는 기준과 데이터를 확보 할 수 있다.
- 마. 당뇨병은 만성 퇴행성 소모 질환으로 현저한 이병을 및 사망률을 일으키는 것으로 알려져 있으며 여러 합병증이 발생하여 국민과 사회 및 국가 전체의 관심과 대책이 필요한 시점에 있다.
- 바. 지방간은 모든 간질환 환자의 대부분을 담당하며 전체 인구의 3-20%에 해당되며 치료하지 않으면 지방간염 및 나아가 간경화를 유도하는 것으로 최근 밝혀지고 있다. (De Alwis & Day, 2008)
- 사. 비만은 다양한 현대 성인병 발병을 일으키는 심각한 질환으로 지방세포의 비대 및 지방

산에 의한 지방세포 사멸에 의해 일어나며 현대인들의 가장 큰 질병 관심사로 대두되고 있다.

- 아. 현대 사회에서 가장 문제 되고 있는 성인 질환에 대하여 친환경 농산물의 기능성 연구를 통한 기능적 우월성을 확보하여 친환경 농산물의 고부가가치 형성 및 친환경 농업 정책의 활성화를 유도할 수 있을 것으로 판단이 되는 위치에 면하고 있다..

제 3 절 연구개발수행 내용 및 결과

1. 연구개발 수행 내용

| 구분 | 연구개발의 내용 | 연구범위 |
|------|---|---|
| 1차년도 | <ul style="list-style-type: none"> • 친환경 재배 작물의 다양한 생리 활성 지표 기능 검색 체계를 위한 실험 모델 확립 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 생리활성 물질의 추적자 제조 (IGF-I) ○ 초대배양한 검증 실험모델 세포의 조건 확립 |
| | <ul style="list-style-type: none"> • 친환경 농산물의 생리활성 물질 분비능 검사 | ○ 친환경 농법으로 재배한 농산물 (고추, 토마토, 딸기 및 배등)과 관행 농법으로 재배된 농산물의 생리활성 비교 분석 |
| | <ul style="list-style-type: none"> • 친환경 농산물의 물질 재흡수능 검사 | ○ 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 포도당, 인 및 Ca ²⁺ 재흡수 비교 분석 |
| | <ul style="list-style-type: none"> • 친환경 농산물의 세포내 ATP 생성 및 성장 효과 검사 | ○ 친환경 농산물과 관행재배 농산물의 세포내 ATP 생성도 및 IGF-I 분비 비교 분석 ○ [³ H]-thymidine incorporation 실험 비교 분석 |
| 2차년도 | <ul style="list-style-type: none"> • 친환경 재배 작물의 다양한 생리 활성 지표 기능 검색 체계를 위한 실험 모델 확립 | <ul style="list-style-type: none"> • 지방세포 배양법 확립 • Proteomics 기법 확립 |
| | <ul style="list-style-type: none"> • 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 발병 억제 효과 검사 | • 대상작물: 친환경 재배 농산물 (고추, 토마토, 사과 등) |
| | <ul style="list-style-type: none"> • 친환경 농산물의 항비만 및 물질 재흡수능 검사 | <ul style="list-style-type: none"> • 대상작물: 친환경 재배 농산물(고추, 상추, 들깻잎) • adipocyte에서 당뇨병시에 증가하는 비만 관련 단백질 발현 변화 및 차단효과 검증 |
| | <ul style="list-style-type: none"> • 친환경 농산물의 당뇨병신증 억제 관련 단백질 규명 | • 대상작물: 친환경 재배 농산물 (딸기) (proteomics) |

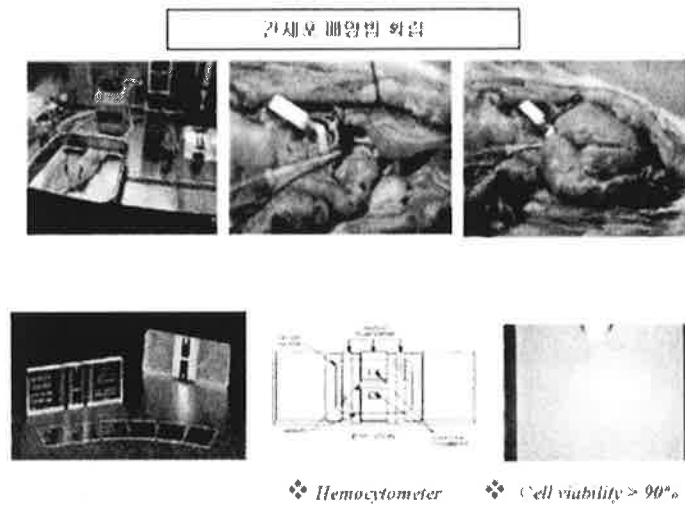
| 구분 | 연구개발의 내용 | 연구범위 |
|------|--|--|
| 3차년도 | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 발병 억제 효과 검사 | <ul style="list-style-type: none"> 대상작물: 친환경 재배 농산물(고추, 쌈채, 벼, 상추, 들깻잎) Podocyte를 초대배양하여 당뇨병성 신증시에 세포 apoptosis 효과 차단 검증 |
| | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 당뇨병성 지방간 예방 효과 검사 | <ul style="list-style-type: none"> 대상작물: 친환경 재배 농산물(고추, 쌈채, 벼, 상추, 들깻잎) Hepatocyte에서 당뇨병시에 증가하는 세포 사멸 차단 효과 및 지방간 예방 검증 |
| | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 재배 농산물의 지방간 예방 단백질 검증 | <ul style="list-style-type: none"> 대상작물: 친환경 재배 농산물(고추) 친환경 재배 농산물의 간세포에서 단백질 발현 profiling 검증 (proteomics) |
| | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 재배 농산물의 항비만 효과 검증 | <ul style="list-style-type: none"> 대상작물: 친환경 재배 농산물 항비만 효과 검증 (adipocyte) |
| 4차년도 | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 당뇨병성 신증 억제 효과 검색 | <ul style="list-style-type: none"> 대상작물: 친환경 재배 농산물(고추, 쌈채, 벼, 상추, 들깻잎) Podocyte를 초대배양하여 당뇨병성 신증시에 세포 apoptosis 효과 차단 검증 |
| | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 비만성 당뇨(지방간) 예방 효과 검색 | <ul style="list-style-type: none"> 대상작물: 친환경 재배 농산물(고추, 쌈채, 벼, 상추, 들깻잎) Hepatocyte에서 당뇨병시에 증가하는 세포 사멸 차단 효과 및 지방간 예방 검증 |
| 5차년도 | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 발병 억제 효과 검사 | <ul style="list-style-type: none"> 대상작물: 친환경 재배 농산물(고추, 쌈채, 벼, 상추, 들깻잎) Podocyte를 초대배양하여 당뇨병성 신증시에 세포 apoptosis 효과 차단 검증 |
| | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 당뇨병성 지방간 예방 효과 검사 | <ul style="list-style-type: none"> 대상작물: 친환경 재배 농산물(고추, 쌈채, 벼, 상추, 들깻잎) Hepatocyte에서 당뇨병시에 증가하는 세포 사멸 차단 효과 및 지방간 예방 검증 |
| | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 기능성 우수성 홍보 자료 작성 | <ul style="list-style-type: none"> 대상작물: 친환경 재배 농산물(1,2,3,4, 5차년도 사업단 농산물) 친환경 농산물 작목별, 기능별 계획서 작성 및 매뉴얼 작성 |

2. 연구 개발 수행 결과

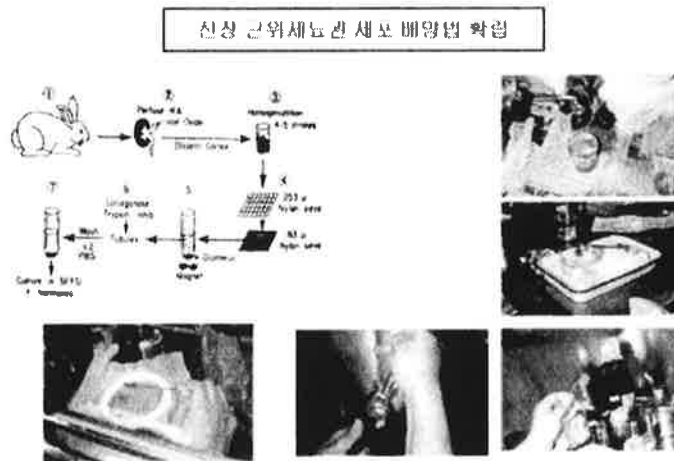
가. 친환경 제배 작물의 다양한 생리 활성 지표 기능 검색 체계를 위한 실험 모델 확립

(1) 간세포 배양법 확립 (그림 1).

- Sprague Dawley rat 이용하여 zoletil 마취제를 투여한후 복부를 절개하여 간문맥을 노출 시켰다.
- Peristaltic pump 조건 확립하였다
- HEPE buffer를 관류시켜 혈액을 제거한 후 0.05% collagenase를 투여하여 간세포를 분리하였다.
- Cell viability 율을 측정하여 세포 생존율이 90% 넘는 간세포를 확보하였다



[그림 1] 간세포 배양법의 모식도.



[그림 2] 신장 근위세뇨관세포 배양 모식도 및 방법

(2) 신장 근위세뇨관 세포 배양법 확립 (그림 2).

- Newzealand white rabbit을 희생하여 신장을 적출한 후 신장을 적출하여 신통맥에 needle을 삽입한 후 media로 관류를 시킨 후 피질과 수질을 분리하기위하여 iron oxide를 처리하였다
- 피질을 세척한 후 조직 homogenizer에 균질화를 유도한 후 nylon sieve (253 μm 및 84 μm)를 이용하여 원하는 신장 근위세뇨관과 사구체를 분리하였다.
- 이후 사구체는 magnetic bar를 이용하여 제거하였고 원하는 근위세뇨관세포를 7-10일정도 배양하여 친환경 제배 농산물의 기능을 평가하고자 하였다.

(3) 사구체 세포 배양법 확립 (그림 3).

- Sprague Dawley rat 이용하여 zoletil 마취제를 투여한 후 복부를 절개하여 신장을 적출하였다.
- 신장의 피질 부분을 분리하여 250, 100, 60 mesh를 이용하여 HBSS 배지에 사구체와 세뇨관을 분리하여 수확하였다.
- 사구체만을 분리하기 위하여 사구체 세포에 특이적인 D-valine RPMI 배지에 10% FBS를 함유시켜 배양된 사구체 세포만을 분리하여 실험 조건을 확립하였다.



[그림 3] 친환경 농산물의 생리활성 지표 기능 검색을 위한 확립된 실험 모델들.

(4) 지방세포 배양법 확립 (그림 3).

- mouse의 3T3 세포주를 이용하여 preadipocyte에서 adipocyte로의 최적 분화 조건을 확립하였다.
- DMEM 배지에 0.5 mM 1-methyl 3-isobutylxanthine, 0.25 μM dexamethasone, 및 10 $\mu\text{g/ml}$ insulin 의 조건을 잡아서 시간별로 처리하여 지방세포의 특징인 PPAR gamma 및 GLUT-4의 발현을 확인하였다.

(5) Proteomics 기법 확립 (그림 3).

- 세포에서 친환경 농산물의 특이 생리활성 조절 단백질을 발굴하기 위해서 2-D electrophoresis 를 이용한 proteomics 방법을 확립하였다.
- 10% TCA buffer를 이용해서 세포들을 수확 조건 세웠다
- 2-D 용 lysis buffer를 통한 최적 조건 확립 하였다

- 해당 stryp을 이용한 1-D 를 실시 조건 확립 하였다 (Loading buffer (rehydration buffer), 1 mM DTT, DTT 용액 및 indoaceton amide에 각각 15분간 반응)
- coomassie G 250 staining 조건 확립하였다
- 해당 soft ware scanner를 이용하여 분석하여 해당 spot를 동정하는 시스템 구축하였다.
- 변화된 단백질을 Madi-Tof를 이용하여 구조를 분석하는 과정 구축 하였다.

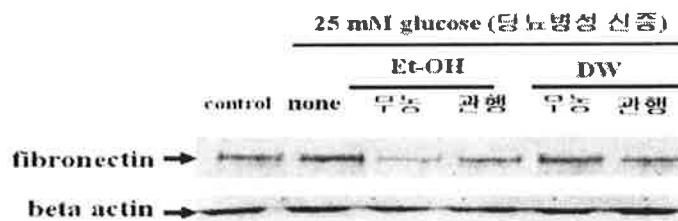
(6) IGF-I 호르몬 분석법 확립

- F-I assay를 위하여 column 25 cm를 제조 하였으며 이는 baronal buffer를 만들어 molecular weight대로 분리를 시도하였다. 이후 ¹²⁵I(1 mCi) 과 chloramin T를 conjugation 시켜서 gamma counter 측정하여 원하는 부분만을 수확하였다.

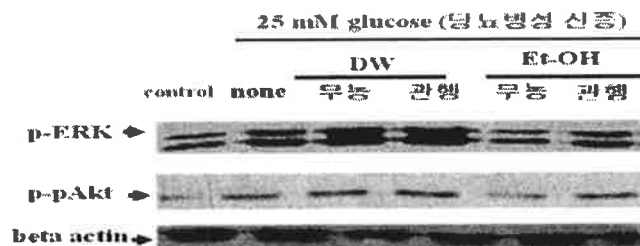
나. 무농약 재배 고추와 관행재배 고추의 기능성 분석

(1) 당뇨병 신증 모델에 있어서 무농약 재배 고추와 관행 재배 고추의 예방효능 비교 분석

- 당뇨병의 1/3에 해당하며 당뇨병으로 인한 사망원인의 주요인으로 알려져 있는 당뇨병성 신증의 발병 예방에 고추 추출물이 관여하는지를 확인하였다. 고평도당 처리 시 당뇨병성 신증의 주 표지 인자인 fibronectin 의 발현이 증가하였으며 이러한 작용은 관행재배 고추 추출물에 비해 무농약 고추 추출물에서 현저한 차단효과를 보였으며 무농약 추출물의 Et-OH 분획에서 효과가 강한 것으로 나타났다 (2007년도 고추 추출물). 아울러 당뇨병성 신증을 매개하는 ERK 및 Akt의 관계를 알아본 결과 역시 무농약 처리군의 Et-OH 분획에서 ERK 및 Akt의 활성이 억제되는 것으로 나타났다 (그림 4, 5).

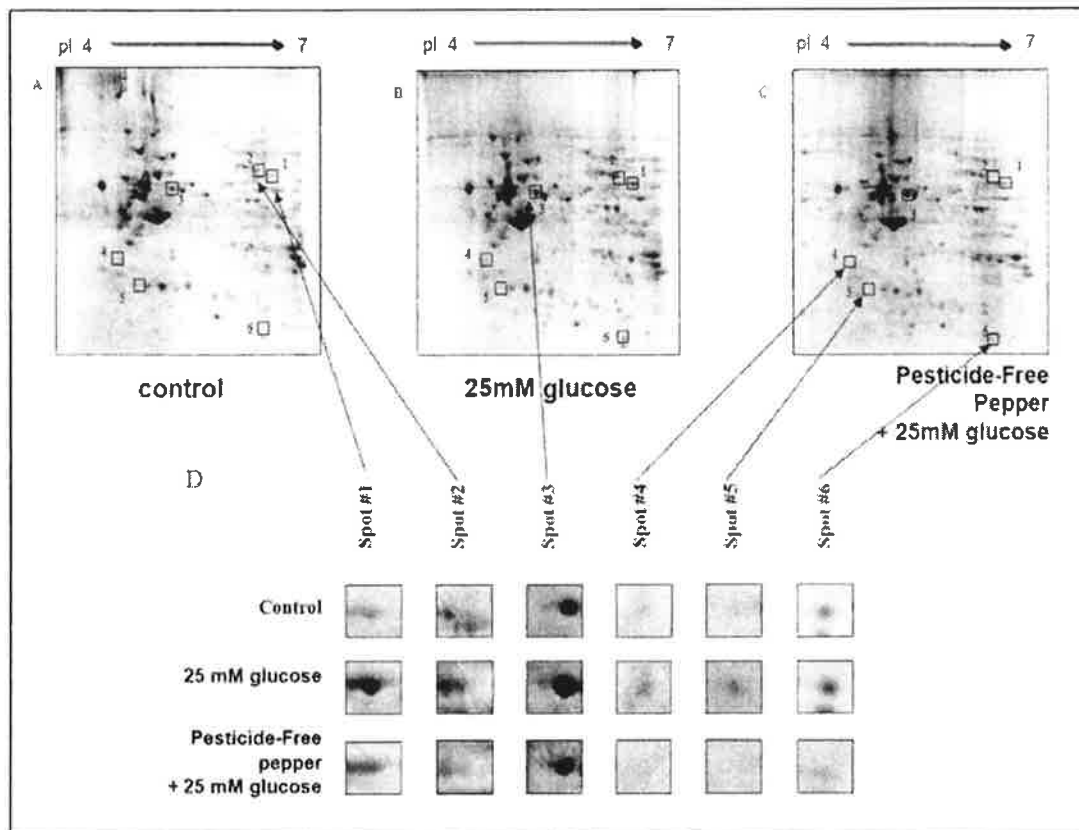


[그림 4] 신장의 사구체 세포에서 관행 재배 고추 및 친환경 재배 고추의 항당뇨병성 신증 효과.



[그림 5] 신장의 사구체 세포에서 관행 재배 고추 및 친환경 재배 고추의 당뇨병성 신증 매개 단백질의 차단효과.

- 무농약 고추 추출물의 *in vitro* 상의 항당뇨 단백질을 규명하기 위하여 mesangial 세포에 고포도당 처리 30분전에 무농약 고추 추출물 (2007년도) 을 처리한후 고포도당을 24시간 처리하여 실험(2-D electrophoresis 및 MALDI-TOF)을 실시하였다. 실험 결과 고포도당에 의한 단백질 발현을 차단하는 무농약 고추 추출물 처리군에서 단백질 6개를 동정하였다. 이들 단백질은 moesin, pre-mRNA-splicing factor SLU7, gamma-glutamyltranspeptidase I precursor, cathepsin L precursor, F-box only protein 6 및 transgelin 으로 밝혀졌다 (그림 6 & 표1)

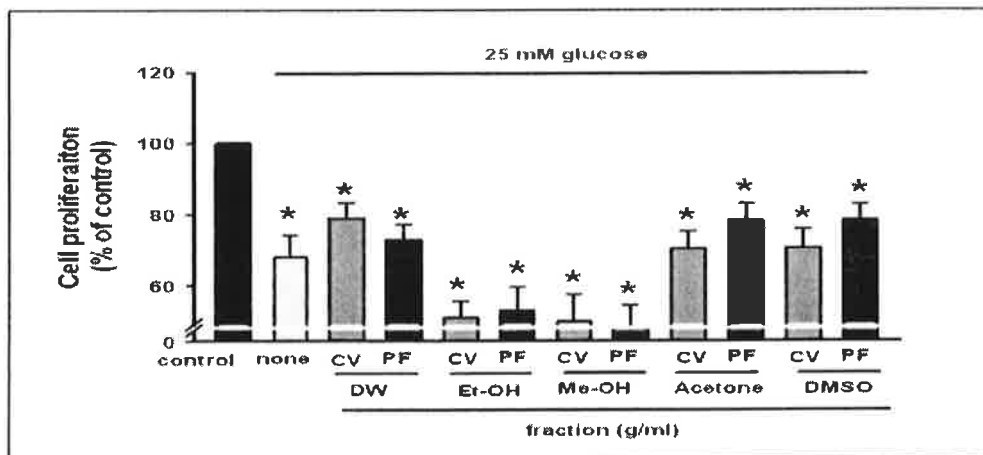


[그림 6] 신장의 mesangial 세포에서 무농약 재배 고추의 고포도당에 의한 단백질 발현 변화 차단효과의 proteomics 접근.

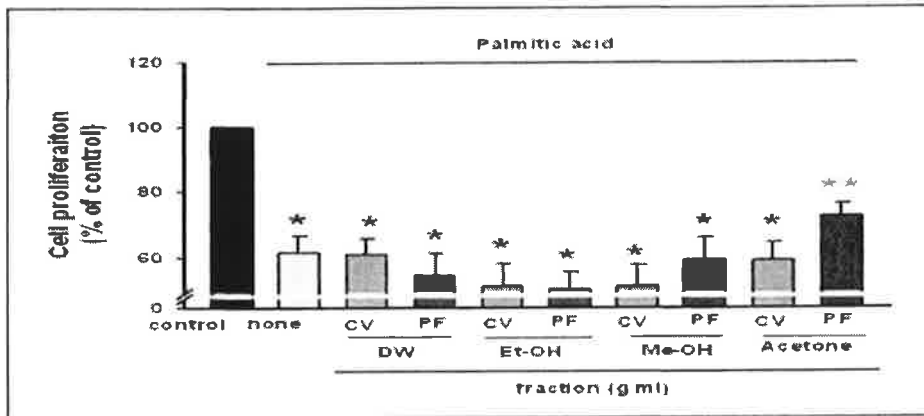
[표 1] 신장의 mesangial 세포에서 무농약 재배 고추의 고포도당에 의한 단백질 발현 변화 차단효과를 통해 동정된 단백질들.

| Spot # | Protein name | Access No. (NCBI Inc) | Theoretical pI/Mw (Da) | Mean Error (ppm) |
|--------|---|-----------------------|------------------------|------------------|
| 1 | Moesin | O35763 | 6.2 67737 | -2.7 |
| 2 | Pre-miRNA-splicing factor SLU7 | Q80ZG5 | 6.4 68336 | 1.81 |
| 3 | γ -glutamyltranspeptidase1 precursor | P07314 | 7.2 61608 | 6.87 |
| 4 | Cathepsin L precursor | P07154 | 6.4 37659 | 7.79 |
| 5 | F-box only protein 6 | Q923V4 | 6.4 32785 | -0.8 |
| 6 | Transgelin | P31232 | 8.9 22602 | 0.79 |

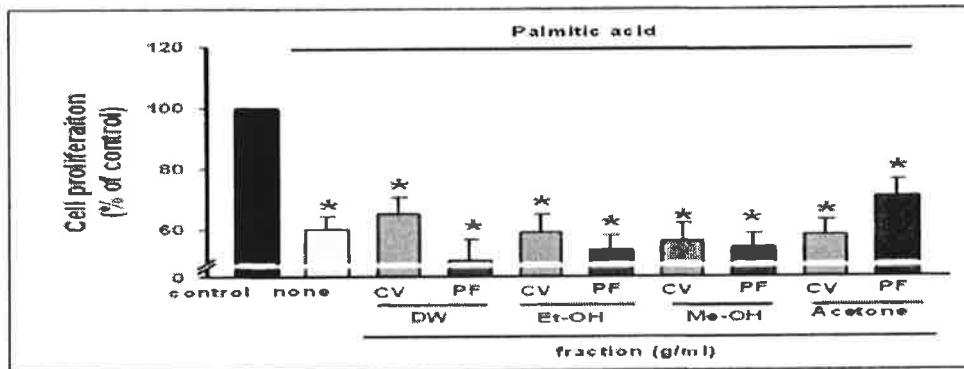
- 2008년 5월 26일 수확한 샘플의 해당노 신중 활성을 확인하기 위하여 고포도당 처리 30분 전에 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO)를 처리하였다. 실험 결과 고포도당 (25 mM glucose) 또는 palmitic acid 처리 시 podocyte 세포 사멸은 유의성 있게 증가하였으며 이러한 작용은 관행재배 고추 (5월 26일 및 29일 sample: DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO 용매 추출물) 및 무농약 재배 고추 (5월 26일 및 29일 sample: DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO 용매 추출물)에 의해서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 7, 8, 9).



[그림 7] 5월 26일 수확된 관행 재배 및 무농약 재배 고추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO)의 고포도당에 대한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.

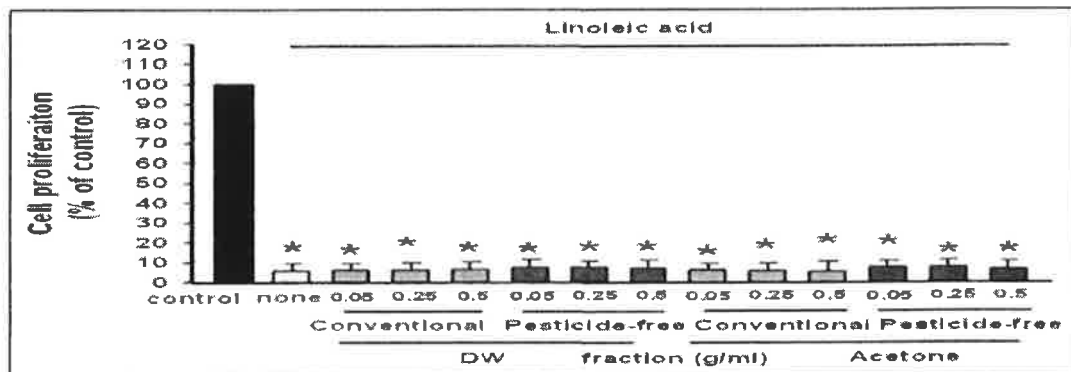


[그림 8] 5월 26일 수확된 관행 재배 및 무농약 재배 고추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p< 0.05 vs. palmitic acid.

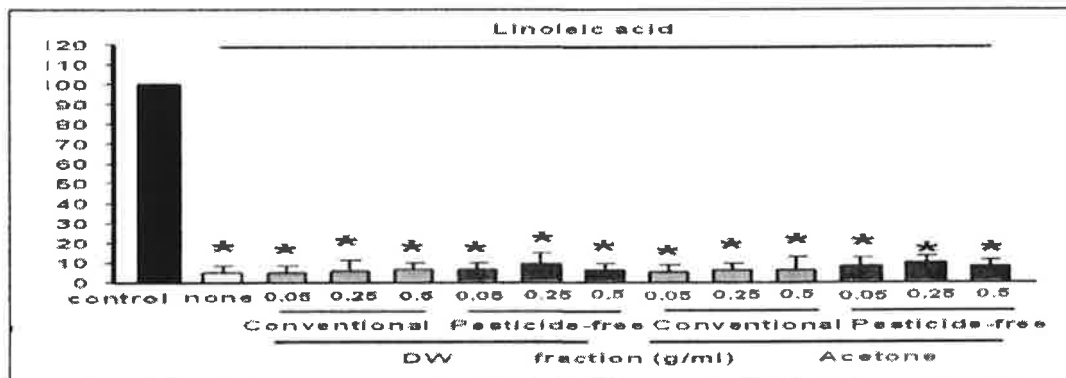


[그림 9] 5월 29일 수확된 관행 재배 및 무농약 재배 고추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control

- 불포화 지방산인 linoleic acid 처리 30분전에 고추 추출물 용매 분획 (DW 및 Acetone)을 농도별로 (0.05 ~ 0.5 g/ml) 처리하였다. 실험 결과 linoleic acid 처리 시 podocyte 및 mesangial 세포 사멸은 현저하게 증가하였으며 이러한 작용은 관행재배 고추 (2008년 5월 26일 sample) DW 및 Acetone 용매 추출물 및 무농약 재배 고추 (2008년 5월 29일 sample) DW 및 Acetone 용매 추출물에 의해서 농도에 관계없이 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 10 & 11).

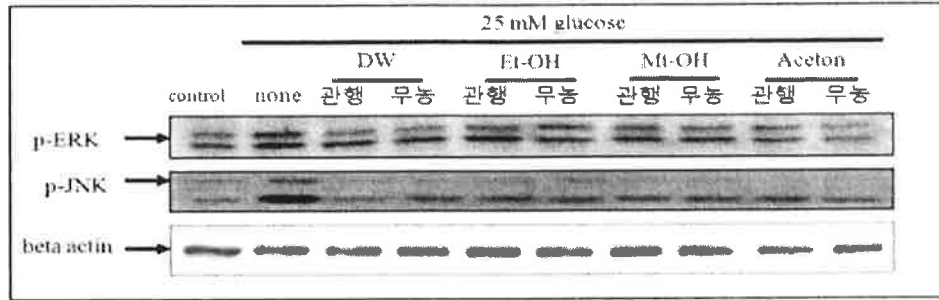


[그림 10] 5월 26일 수확된 무농약 고추 DW 및 Acetone 추출물의 linoleic acid에 대한 podocyte 사멸 작용 차단 효과를 위한 농도 설정. *p < 0.05 vs. control.

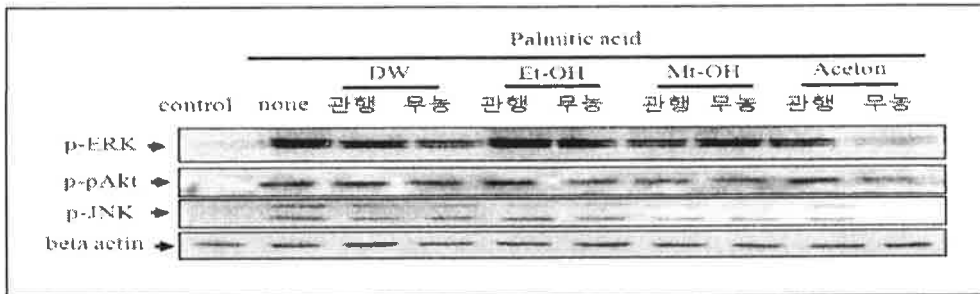


[그림 11] 5월 29일 수확된 무농약 고추 DW 및 Acetone 추출물의 linoleic acid에 대한 podocyte 사멸 작용 차단 효과를 위한 농도 설정. *p < 0.05 vs. control.

- 고포도당 처리 30분전에 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH 및 Acetone)을 처리 하였다. 실험 결과 고포도당 (25 mM glucose) 및 palmitic acid 처리 시 당뇨병성 신증 유발 물질인 ERK, JNK의 활성은 증가하였으며 이러한 작용은 관행재배 고추 (2008년 5월 26일 sample) DW, Et-OH, Me-OH 및 Acetone 용매 추출물 및 무농약 재배 고추 (2008년 5월 26일 sample) DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 용매 추출물 양군 모두에 의해서 차단되는 것으로 나타나 podocyte 세포 사멸에서의 결과와는 다른 양상을 보였다. 이는 podocyte 세포 사멸 작용에는 차단효과가 인정이 되지 않지만 다른 기능 이상의 경우 (예: 당뇨병성 신증의 발병에는 세포 사멸 및 세포 성장이 주축을 이루는데 이에 대한 부분도 생각해 볼수 있음)에 고추 추출물이 차단된다는 것을 시사해 주고 있다. Acetone 분획의 경우 무농약 분획의 차단효과가 약간 더 강한 것으로 보인다 (그림 12, 13).

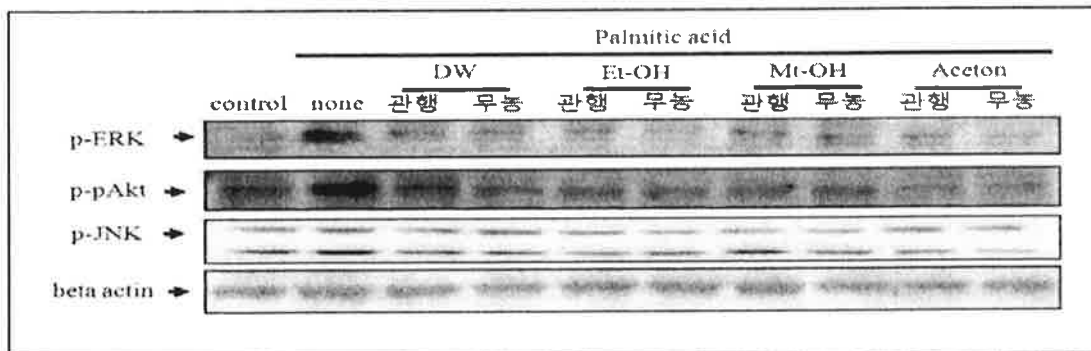


[그림 12] 신장의 podocyte에서 관행 재배 고추 및 무농약 재배 고추 (5월 26일 sample)의 고포도당에 의한 당뇨병성 신증 매개 단백질 (ERK 및 JNK)의 차단효과.

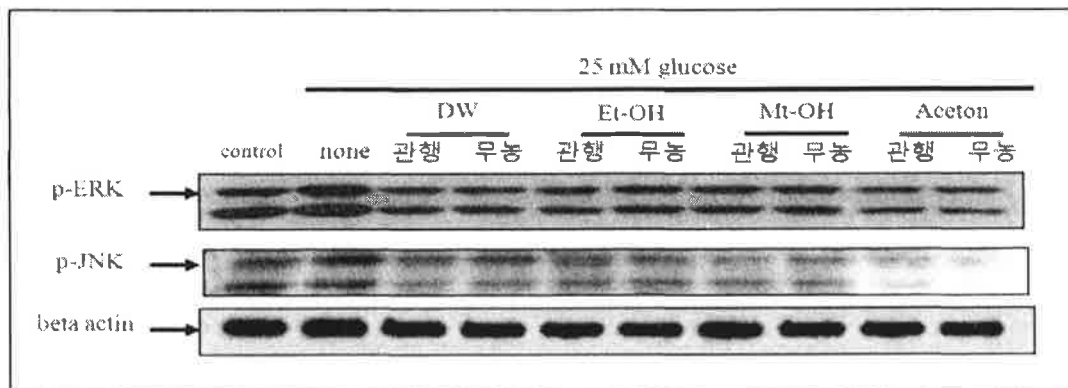


[그림 13] 신장의 podocyte에서 관행 재배 및 무농약 재배 고추 (5월 26일 sample)의 palmitic acid에 의한 당뇨병성 신증 매개 단백질 (ERK, Akt 및 JNK)의 차단효과.

- 6월 7일 sample의 경우도 5월 26일 sample 과 약간 비슷한 양상으로 관행재배 고추 (2008년 6월 7일 sample) DW, Et-OH, Me-OH 및 Acetone 용매 추출물 및 무농약 재배 고추 (2008년 6월 7일 sample) DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 용매 추출물 양군 모두에 의해서 고포도당 및 palmitic acid에 의한 ERK 및 JNK 활성을 차단되는 것으로 나타났다. (그림 14, 15). 양군간의 차이는 인정이 되지 않는 것으로 나타났다.



[그림 14] 신장의 podocyte에서 관행 재배 고추 및 무농약 재배 고추 (6월 7일 sample)의 palmitic acid에 의한 당뇨병성 신증 매개 단백질 (ERK, Akt 및 JNK)의 차단효과.



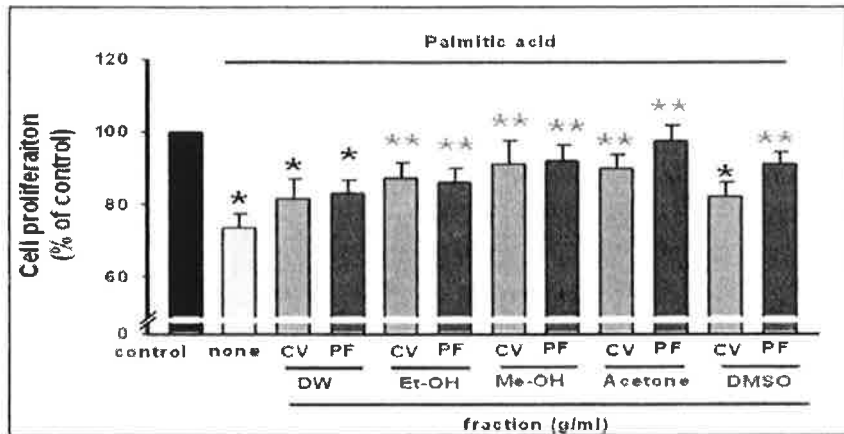
[그림 15] 신장의 podocyte에서 관행 재배 고추 및 무농약 재배 고추 (6월 7일 sample)의 고포도당에 의한 당뇨병성 신증 매개 단백질 (ERK 및 JNK)의 차단효과.

2007년도의 샘플 경우 무농약 재배 고추군이 관행재배 고추추출물에 비해 항당뇨 신증 효과가 강하게 인정되는 것으로 나타났다. 2008년도 무농약 고추 및 관행재배 고추 추출물의 경우 고포도당 및 palmitic acid에 의한 podocyte 세포 사멸이 일부 샘플에서 약하게 차단되는 것으로 보였지만 대체적으로는 차단효과가 인정이 되지 않았다. 한편 고포도당 및 palmitic acid에 의한 당뇨병성 신증 단백질의 발현은 양군에서 대체적으로 차단되는 것으로 나타났으나 이 역시 양군간의 차이는 인정이 되지 않는 것으로 나타났다.

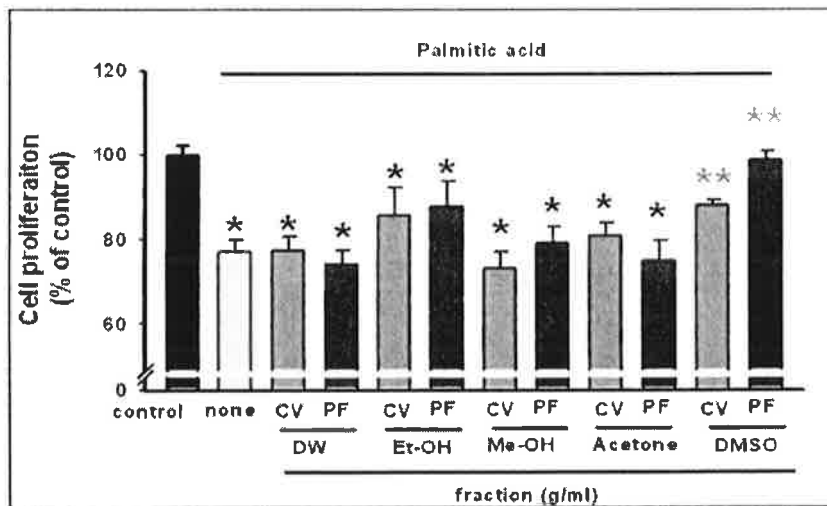
(2) 비만성 지방간 (비만성 당뇨 간증)에 있어서 무농약 재배 고추와 관행 재배 고추의 예방효능 비교 분석

- Palmitic acid 처리 30분전에 관행재배 및 무농약 재배 (2008년 5월 26일 sample) 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO)을 처리하였다. 실험 결과 palmitic acid 처리 시 간 세포 사멸이 유의성 있게 증가하였으며 DW를 제외한 모든 군에서 차단효과가 보이는 것으로 나타났다. 더욱이 Me-OH, acetone 및 DMSO의 경우 관행재배 군에 비해 palmitic acid에 의한 세포 사멸 효과 차단작용이 강한 것으로 나타났다 (그림 16).

- 6월 7일 sample의 경우 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 효과를 검사한 결과 D.W 분획을 제외한 관행재배 Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO 용매 추출물에 비해 무농약 재배 고추 Acetone 및 DMSO 용매 추출물 군에서 다소 높은 현저한 차단효과를 볼 수 있었다 (그림 17). 7월 14일의 경우는 DMSO 분획에서 인정이 되었다 (그림 18).



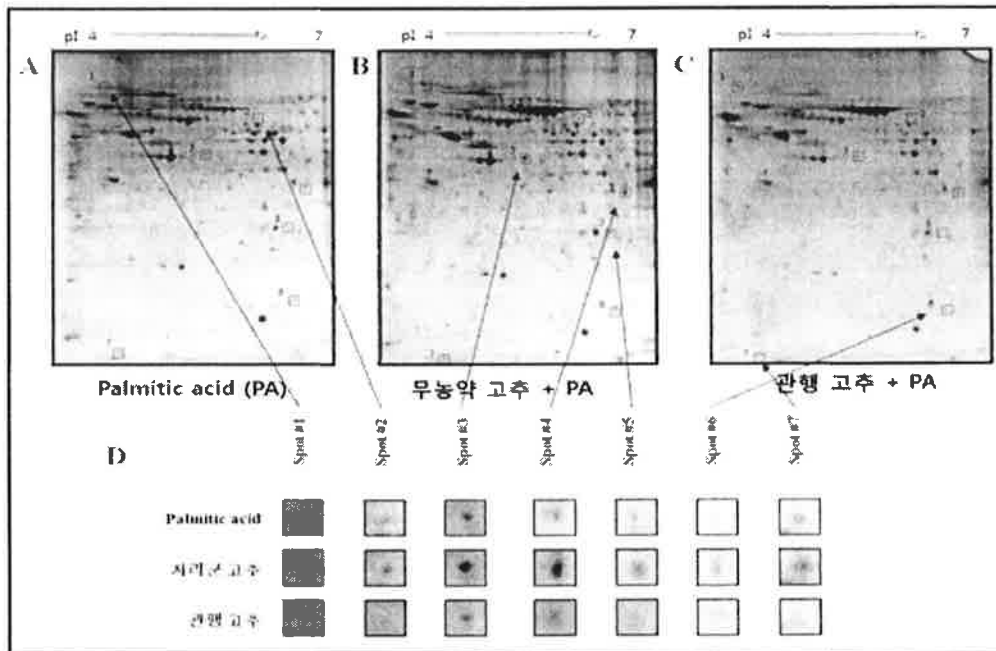
[그림 17] 6월 7일 수확된 관행 재배 및 무농약 재배 고추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p < 0.05 vs. palmitic acid.



[그림 18] 7월 14일 수확된 관행 재배 및 무농약 재배 고추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p < 0.05 vs. palmitic acid.

• 이들 6월 7일 sample을 이용하여 무농약 고추 추출물의 in vitro 상의 지방간 예방 단백질을 규명하기 위하여 hepatocyte에 palmitic acid 처리 30분전에 무농약 고추 추출물을 처리 한 후 palmitic acid를 24시간 처리하여 실험(2-D electrophoresis 및 MALDI-TOF)을 실시하였다. palmitic acid에 의한 단백질 발현에 대한 무농약 고추 및 관행 재배 고추를 비교한 결과 무농약 고추 추출물 처리 시에 palmitic acid 처리에 의해 변화했던 단백질의 발현 변화가 관행 재배 고추 추출물 처리 시에 차단되지 않는 것으로 나타났다. 이들 7개의 단백질을 살펴보면 Collectin-12은 탄수화물 잔기에 결합하며 만성 B 형 간염 바이러스 감염증 및 간 및 장질환에

관련되는 것으로 보고 (Yuen 등, 1999), UDP-glucose 6-dehydrogenase은 간세포의 cytochrome P450 대사 관련 효소 (Yuan 등, 2004), glutaminase liver isoform, mitochondria은 glutamine 항상성에 관련하며 당뇨병 등의 발병에 관여 (Curthoys & Watford, 1995), Microtubule associated protein 6은 간세포의 사멸에 관련되는 것으로 최근에 밝혀진 단백질 (Marsillach 등, 2008), WW domain-containing oxidoreductase 은 사람에게서 간암을 유발시키는 단백질 (Wang 등, 2009), Zn finger protein 94: 간 특이적 foxa등에 의한 간 질환 발병에 관련되는 단백질 (Lee 등, 2000), Protein UXT : 세포 생존율에 관여하는 단백질 (Zhao 등, 2005)로 알려져 있는 단백질 들이었다 (그림 18 & 표 2). 이러한 결과도 관행제배 고추 추출물에 비해 무농약 제배 고추 추출물 처리 시 차단효과들이 강하다는 것을 과학적으로 뒷받침 해주고 있다.

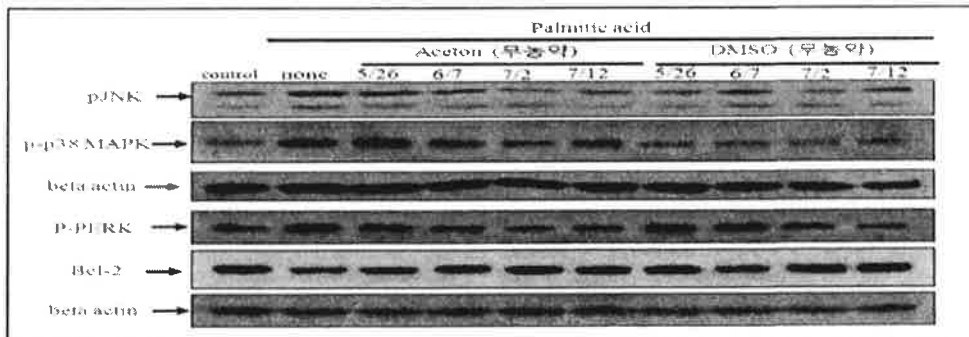


[그림 18] Rat 간세포에서 무농약 제배 고추의 고포도당에 의한 단백질 발현 변화 차단효과의 proteomics 접근(6월 7일 샘플).

[표 2] 간세포에서 무농약 제배 고추의 palmitic acid에 의한 단백질 발현 변화 차단효과를 통해 동정된 단백질들.

| Spot # | Protein name | Mw (Da) | theoretical pI | Sequence Coverage (%) |
|--------|--|---------|----------------|-----------------------|
| 1 | Collectin-12 | 81496 | 5.28 | 39 |
| 2 | UDP-glucose 6-dehydrogenase | 54857 | 7.48 | 43 |
| 3 | Glutaminase liver isoform, mitochondrial | 66205 | 7.07 | 45 |
| 4 | Microtubule-associated protein 6 | 47394 | 9.45 | 34 |
| 5 | WW domain-containing oxidoreductase | 40166 | 7.77 | 47 |
| 6 | Zinc-finger protein 94 | 32711 | 9.02 | 41 |
| 7 | Protein UXT(ubiquitously-expressed transcript) | 18166 | 5.4 | |

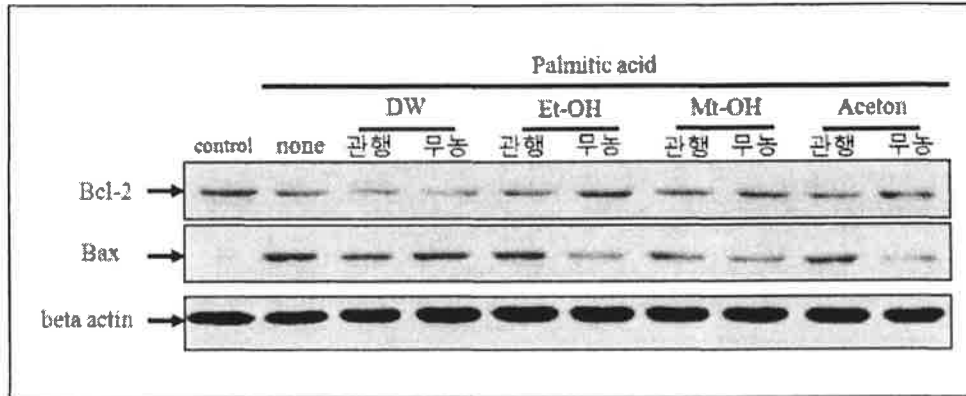
• 실제로 고추 추출물의 날짜별 활성을 측정하기 위하여 유효 분획인 날짜별 무농약 고추 acetone 및 DMSO 용매 추출물을 palmitic acid 처리 30분 전에 처리 한후 1시간 또는 12시간을 처리하여 최근 간세포에서 간세포 사멸에 직접 관련되는 것으로 알려져 있는 p38 MAPK 및 JNK 활성 (palmitic acid 1시간 처리 후 실험) 을 측정하였으며 아울러 ER stress 유발 단백질인 PERK 및 anti-apoptotic 단백질인 Bcl-2의 발현 (palmitic acid 12시간 처리 후 실험)을 살펴보았다. 실험결과 전체적으로 palmitic acid에 의한 작용이 차단되는 경향을 보였으며 이러한 작용은 7/2일 sample에서 가장 활성이 강한 것으로 나타났다 (그림 19).



[그림 19] 무농약 고추 Acetone 및 DMSO 추출물의 palmitic acid에 의한 간세포 사멸의 신호전달계 및 관련 단백질 발현에 대한 차단 효과에 대한 시기별 활성도 검사.

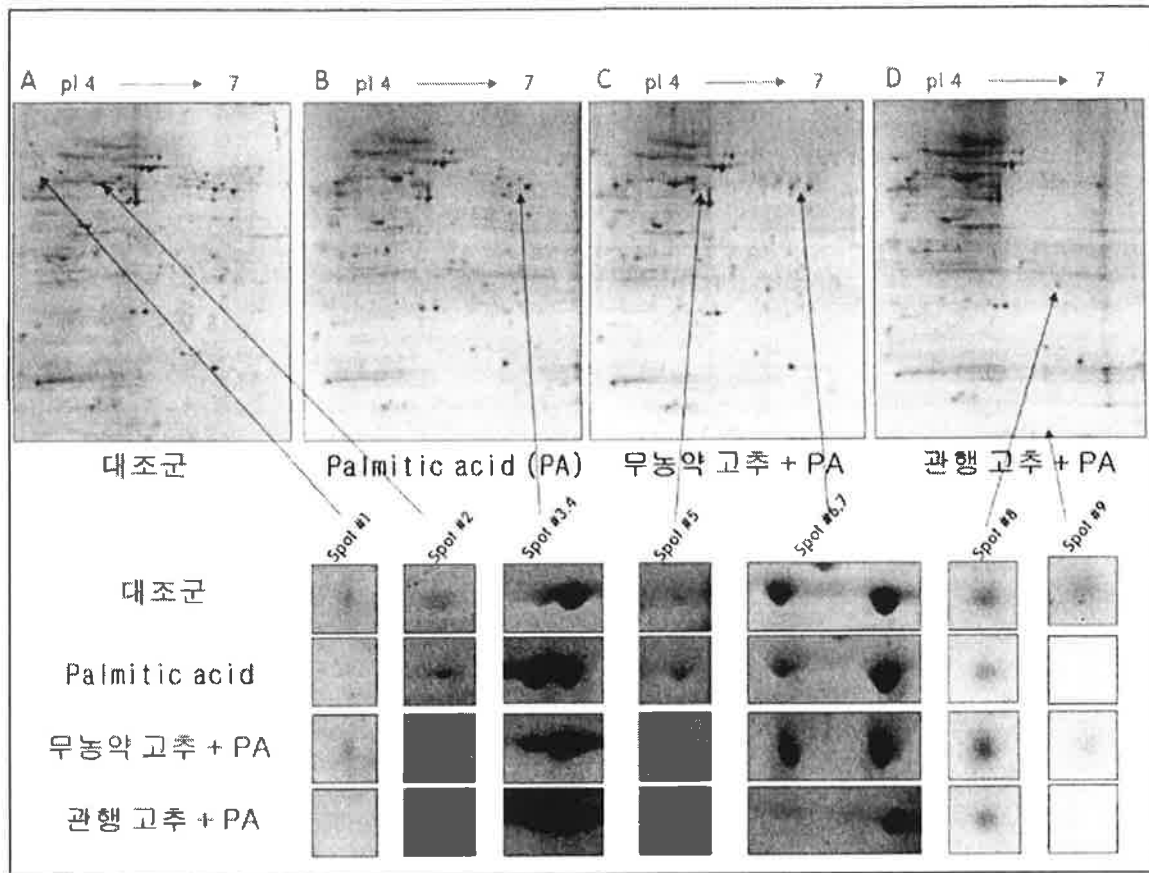
• 전형적 pattern을 보이고 있는 2008년 7월 2일 sample의 경우를 상대로 anti-apoptotic 단백질인 Bcl-2 및 pro-apoptotic 단백질인 Bax를 western blotting을 이용하여 실험한 결과 palmitic acid 처리 시 Bcl-2 단백질은 감소하였으며 Bax 단백질은 증가하였다. 이러한 작용은 D.W 분획을 제외한 관행재배 Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO 용매 추출물에 비해 무농약 제배 고추 Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO 용매 추출물 군에서 현저한 차단효과

를 볼 수 있었다 (그림 20).



[그림 20] 7월 2일 수확된 관행 재배 및 무농약 재배 고추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 세포 사멸에 관여하는 Bcl-2 및 Bax 단백질 작용 차단 효과.

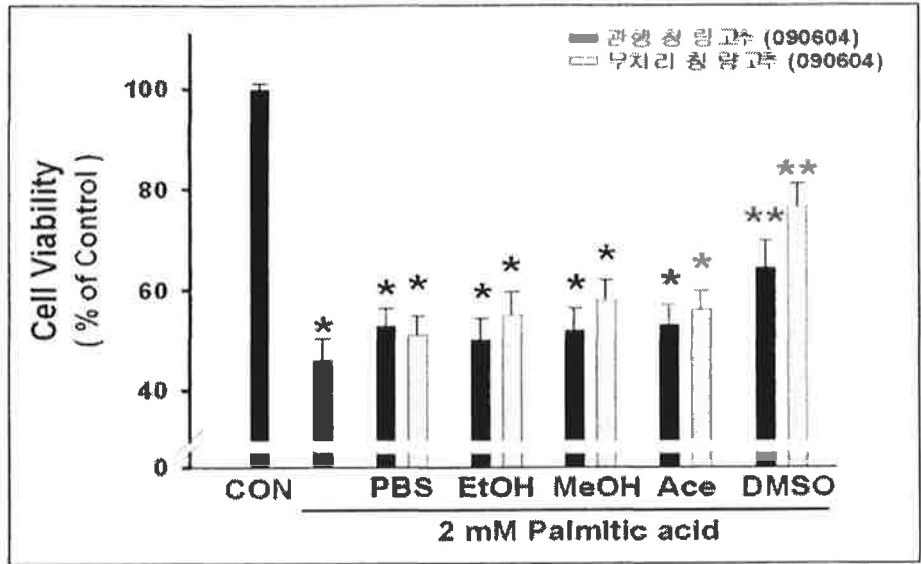
- 이들 7월 2일 sample을 이용하여 무농약 고추 추출물의 in vitro 상의 지방간 예방 단백질을 규명하기 위하여 rat hepatocyte에 palmitic acid 처리 30분전에 무농약 고추 추출물을 처리한 후 palmitic acid를 24시간 처리하여 실험(2-D electrophoresis 및 MALDI-TOF)을 실시하였다. 실험 결과 대조군에 비해 palmitic acid에 의한 단백질 발현에 대한 무농약 고추 및 관행 재배 고추를 비교한 결과 무농약 고추 추출물 처리 시에 palmitic acid 처리에 의해 변화했던 단백질의 발현 변화가 관행재배 고추 추출물 처리 시에 차단되지 않는 것으로 나타났다. 이들관련 단백질을 9개 동정하였다 (그림 21). 이 역시 관행 재배 고추추출물에 비해 무농약 고추추출물 처리시 palmitic acid에 의한 지방간 유도를 억제하고 있음을 시사해준다.



[그림 21] Rat 간세포에서 무농약 재배 고추의 고포도당에 의한 단백질 발현 변화 차단효과의 proteomics 접근(7월 2일 샘플). 일부 단백질은 palmitic acid에 의해 감소된 단백질이 보이며 일부 단백질은 palmitic acid에 의해 증가되는 것이 보인다. 이러한 변화는 주로 무농약 고추 추출물에 의해서는 차단되었으나 관행재배 고추 추출물에 의해서는 차단되지 않는 것으로 보아 양군 추출물에 의한 생리활성 기능이 확실히 다르다는 것을 시사해 주고 있다. 이는 아울러 앞에서 살펴본 palmitic acid에 의한 간세포 사멸 차단효과와 같다는 것을 말해주고 있다.

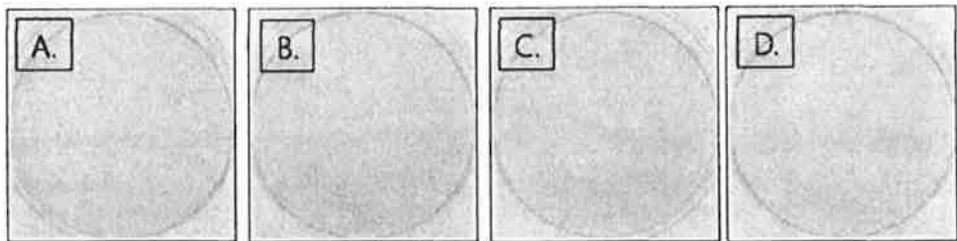
무농약 고추 및 관행재배 고추 추출물의 경우 palmitic acid에 의한 간세포 사멸작용이 무농약 처리 고추추출물에 의해서 대체적으로 차단되는 것으로 나타났으며 전형적인 경우는 7월 2일 샘플에서 보이는 것으로 나타났다. 세포 사멸 관련 단백질에서도 비슷한 양상을 볼수 있었다. 분획에서는 Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO 분획에서 효능이 인정이 되었다.

- Palmitic acid 처리 30분전에 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone)을 처리하였다. 실험 결과 palmitic acid 처리 시 간 세포 사멸은 증가하였으며 이러한 작용은 관행재배 고추 추출물에 비해 무농약 재배 고추추출물의 DMSO 분획에서 효과가 약간 미약하게 인정되는 경향을 나타냈으나 다른 용매 분획에서는 차이가 인정이 되지 않았다 (그림 22).



[그림 22] 관행 재배 고추 및 무농약 재배 고추 (DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과.
*p < 0.05 vs. control, **p < 0.05 vs. palmitic acid alone.

- 포화지방산 처리 시 지방간 지표인 Oil Red staining 시 지방 합성이 증가하였으며 이러한 작용은 관행 재배 청양 고추(2009년 6월 4일 샘플)에 비해 무농약 재배 청양 고추 추출물에 의해 차단되는 것으로 나타났다 (그림 23).

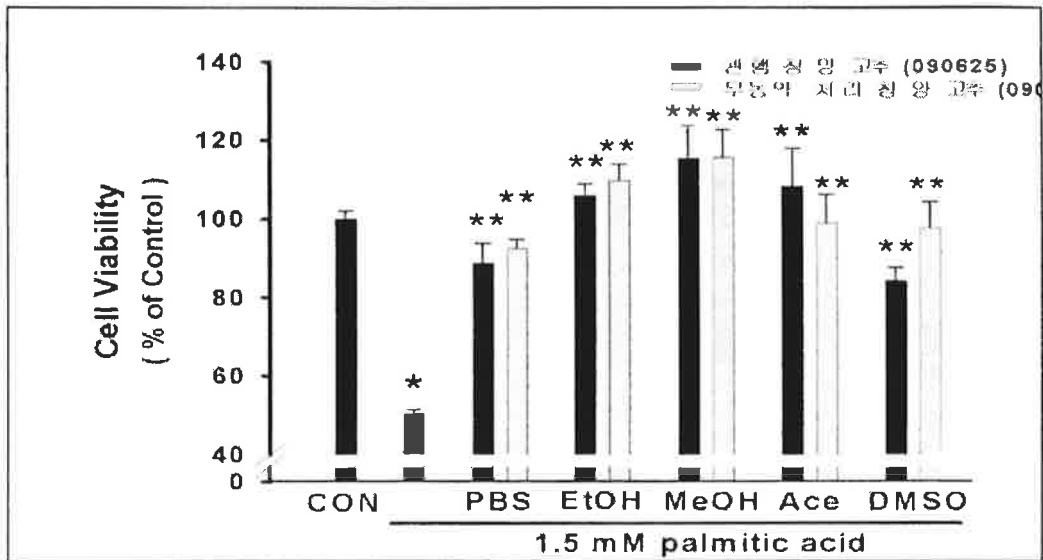


- A. Control
- B. FFAs 1mM
- C. 5mg/ml pretreatment of 관행청양고추 DMSO + FFAs
- D. 5mg/ml pretreatment of 처리청양고추 DMSO + FFAs

[그림 23] 관행재배 고추 및 무농약 재배 고추 추출물의 간세포 지방 축적 차단효과

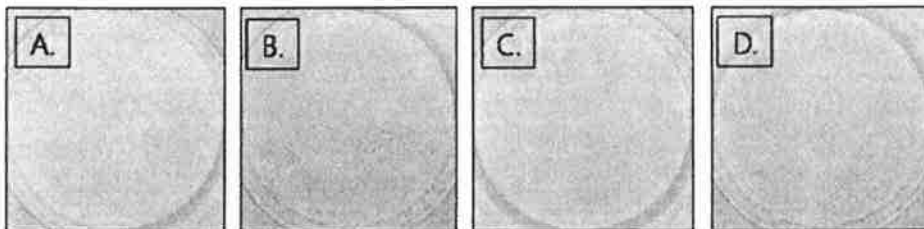
- 2009년 6월 25일 샘플의 경우 Palmitic acid 처리 30분전에 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone)을 처리하였다. 실험 결과 palmitic acid 처리 시 간 세포 사멸은 증가하였으며 이러한 작용은 관행 재배 고추 추출물 및 무농약 재배 고추추출물 처리군에

의해서 유의성있게 차단되었지만 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 24).



[그림 24] 관행 재배 고추 및 무농약 재배 고추 (DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, **p < 0.05 vs. palmitic acid alone.

• 포화지방산 처리 시 지방간 지표인 Oil Red staining 시 지방 합성이 증가하였으며 이러한 작용은 관행 및 무농약 재배 청양 고추(2009년 6월 25일 샘플)군에 의해 차단되는 것으로 나타났으나 양군간 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 25).

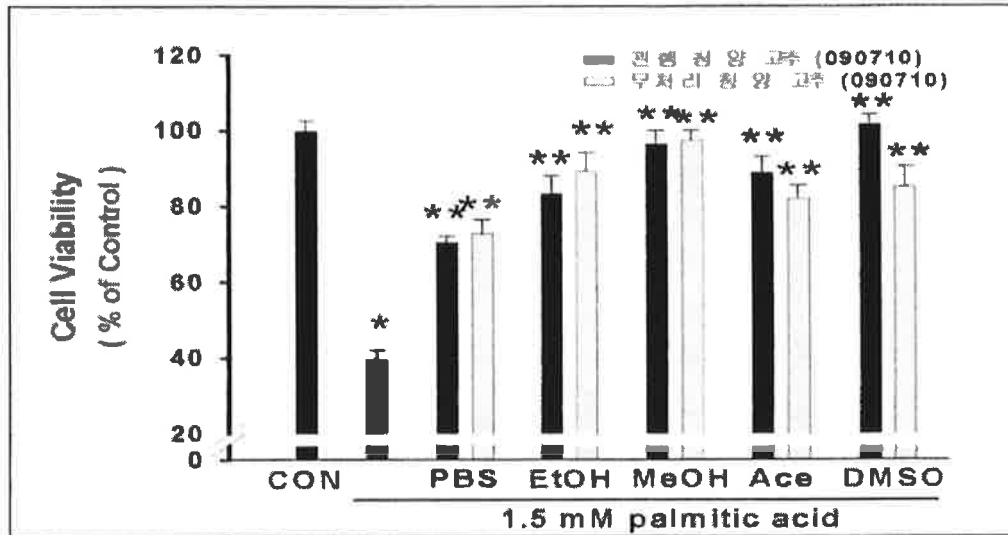


- A. Control
- B. FFAs mixture (palmitic acid+Oleic acid) 1mM
- C. 1mg/ml pretreatment of 관행청양고추(06/25) DMSO + FFAs mixture
- D. 1mg/ml pretreatment of 무농약 재배 고추(06/25) DMSO + FFAs mixture

[그림 25] 관행재배 고추 및 무농약 재배 고추 추출물의 간세포 지방 축적 차단효과

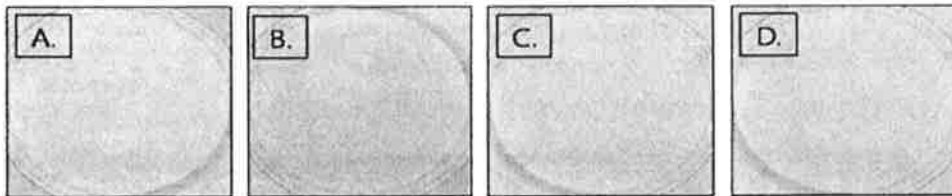
• Palmitic acid 처리 30분전에 고추 추출물 (7월 10일 샘플) 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone)을 처리하였다. 실험 결과 palmitic acid 처리 시 간 세포 사멸은 증가하였으며 이러한 작용은 관행 재배 고추 추출물 및 무농약 재배 고추추출물 처리군에 의해서 유의성있게 차단

되었지만 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 26).



[그림 26 관행 재배 고추 및 무농약 재배 고추 (DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, **p < 0.05 vs. palmitic acid alone.

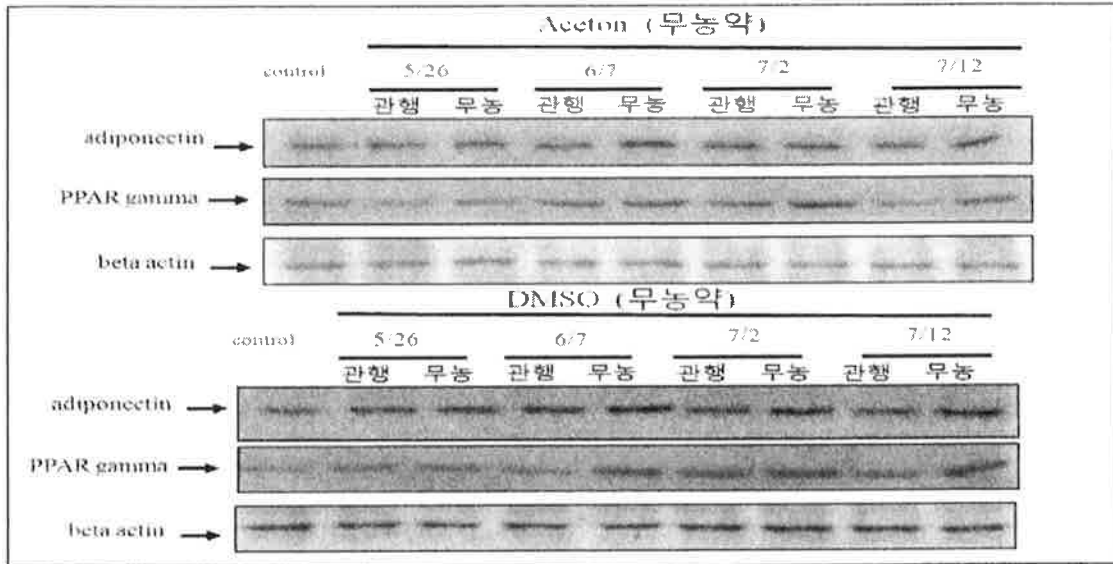
- 포화지방산 처리 시 지방간 지표인 Oil Red staining 시 지방 합성이 증가하였으며 이러한 작용은 관행 및 무농약 재배 청양 고추(7월 10일 샘플)군에 의해 차단되는 것으로 나타났으나 양군간 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 27).



- A. Control
- B. FFAs mixture (palmitic acid+Oleic acid) 1mM
- C. 1mg/ml pretreatment of 관행청양고추(07/10) DMSO + FFAs mixture
- D. 1mg/ml pretreatment of 무처리청양고추(07/10) DMSO + FFAs mixture

[그림 27] 관행재배 고추 및 무농약 재배 고추 추출물의 간세포 지방 축적 차단효과

(3) 지방세포에 있어서 무농약 재배 고추와 관행 재배 고추의 항비만 단백질 발현 변화 비교 분석



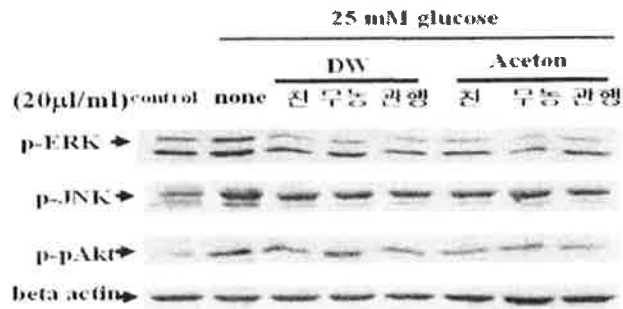
[그림 28] 지방세포에서 고추 수확 시기별 관행 및 무농약 고추 추출물에 의한 항비만 단백질인 adiponectin 및 PPAR gamma의 발현 변화. Acetone 및 DMSO 분획에서 비슷한 효과를 보이는 것으로 나타났다.

- 실제로 고추 추출물의 날짜별 활성을 측정하기 위하여 유효 분획인 날짜별 무농약 고추 acetone 및 DMSO 용매 추출물을 48시간을 처리하여 지방세포에서 항비만 단백질로 알려져 있는 adiponectin 및 PPAR gamma의 발현 변화를 측정하였다. 실험결과 대체적으로 무농약 재배 고추 추출물에서 adiponectin 및 PPAR gamma의 발현이 상대적으로 증가하는 것으로 나타났다 (그림 28).

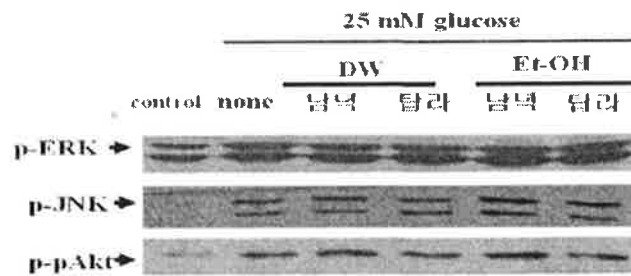
다. 유기농 (무농약) 재배 미강과 관행재배 미강의 기능성 분석

(1) 당뇨병 신증 모델에 있어서 유기농 (무농약) 미강과 관행 재배 미강의 예방효능 비교 분석

- 친환경 (도널드), 무농약 및 관행재배 쌀 추출물을 처리하여 검사한 결과 세 군간의 해당노 유발 단백질의 차단 효과를 알아본 결과 친환경, 무농약, 및 관행재배 모든 군의 DW 분획 및 Acetone 분획에서 차단 효과를 보이는 것으로 나타났으나 군간의 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 29). 아울러 무농약 쌀인 남덕들 쌀과 탐라이스 쌀을 비교 분석한 결과 세군 모두 차단하지 않는 것으로 나타났다 (그림 30). 이는 재배환경 및 토지 등의 조건에 의한 것으로 사료되며 향후 연구를 해야 할 사항으로 여겨진다.

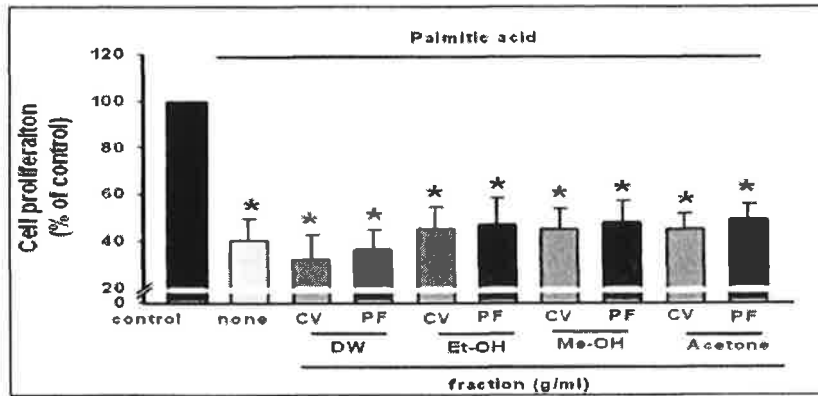


[그림 29] 친환경, 무농약, 및 관행 재배 쌀 추출물의 당뇨병성 신증 매개 단백질에 미치는 효과.

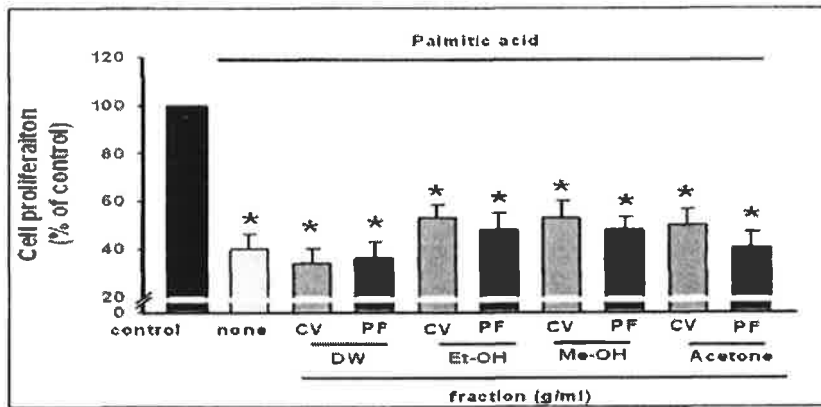


[그림 30] 친환경, 무농약, 및 관행 재배 쌀 추출물의 당뇨병성 신증 매개 단백질에 미치는 효과.

- Palmitic acid 처리 30분전에 쌀 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone)을 처리하였다. 실험 결과 palmitic acid 처리 시 podocyte 세포 사멸은 유의성있게 억제 되었으며 이러한 작용은 관행재배 쌀 (남덕들 쌀, 오리농법 쌀) DW, Et-OH, Me-OH 및 Acetone 용매 추출물 및 무농약 재배 고추 (남덕들 쌀, 오리농법 쌀) DW, Et-OH, Me-OH, 및 Acetone 용매 추출물에 의해서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 31 & 32).

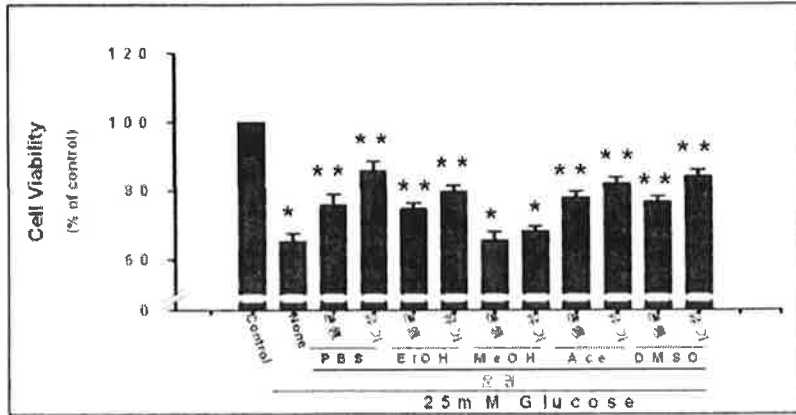


[그림 31] 관행 제배 및 무농약 (남녘들쌀) 제배 쌀 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.



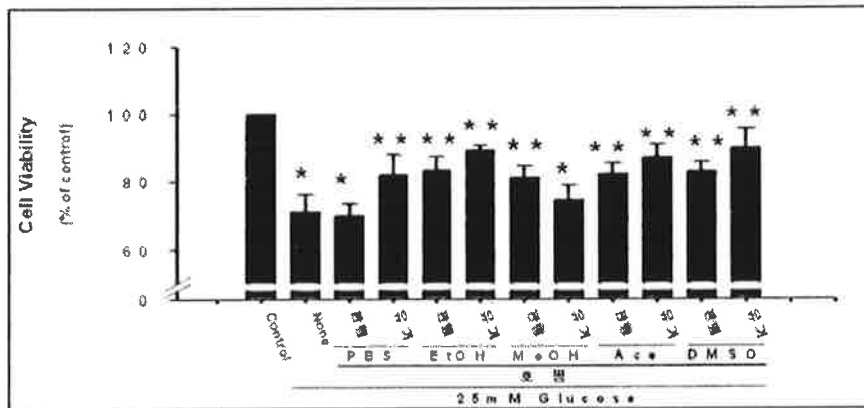
[그림 32] 관행 제배 및 무농약 (오리농법) 제배 쌀 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.

- 먼저 유기 제배 운광 향당뇨 신증 활성을 확인하기 위하여 고폠포도당 처리 30분전에 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO)를 처리하였다. 실험 결과 고포도당 (25 mM glucose) 처리 시 podocyte 세포 사멸은 유의성있게 증가 하였으며 이러한 작용은 관행제배 운광에 비해 유기 제배 운광 추출물 (PBS, Et-OH, acetone 및 DMSO 용매 추출물)에서 차단효과가 강한 것으로 나타났다 (그림 33).

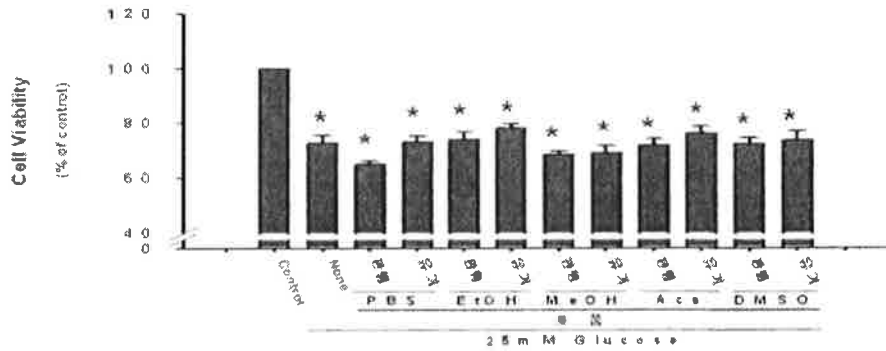


[그림 33] 관행 재배 운광 및 유기농 운광 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 고포도당에 의한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p < 0.05 vs. 25 mM glucose alone.

- 관행재배 유기 재배 호평 향당뇨 신증 활성을 확인하기 위하여 고포도당 처리 30분전에 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO)를 처리하였다. 실험 결과 고포도당 (25 mM glucose) 처리 시 podocyte 세포 사멸은 유의성있게 증가 하였으며 이러한 작용은 관행재배 호평에 비해 유기 재배 호평 추출물 (PBS, Et-OH, acetone 및 DMSO 용매 추출물)에서 차단효과가 강한 것으로 나타났다 (그림 34). 호평의 경우는 고포도당에 의한 podocyte 세포 사멸을 양군에서 다 차단하지 못했다 (그림 35)



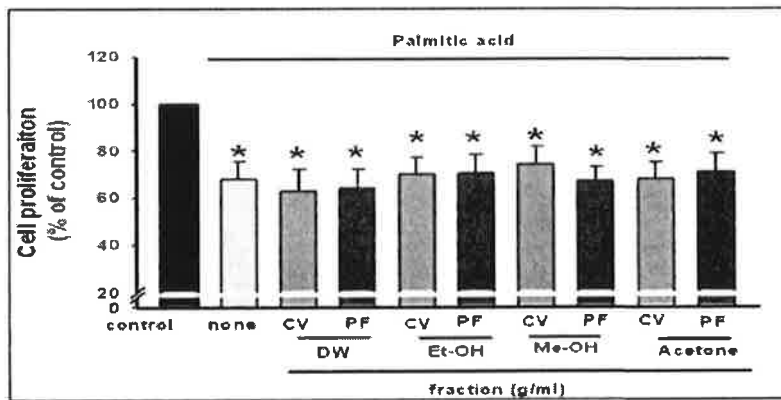
[그림 34] 관행 재배 호평 및 유기농 호평 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 고포도당에 의한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p < 0.05 vs. 25 mM glucose alone.



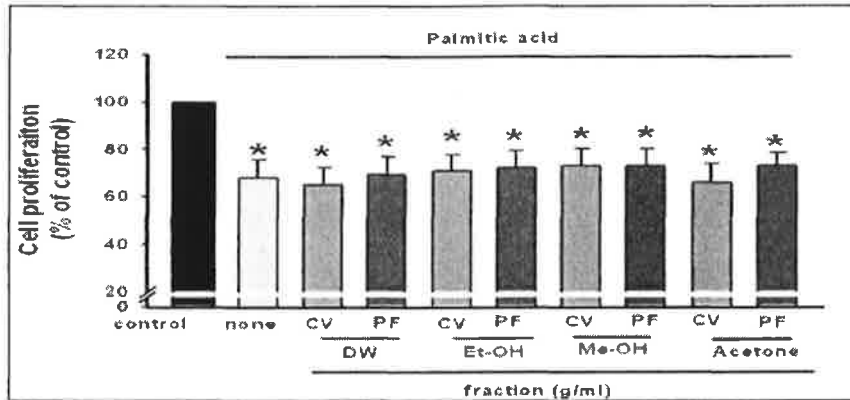
[그림 35] 관행 제배 호풍 및 유기농 호풍 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 고폠평도당에 의한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.

(2) 지방간 모델에 있어서 유기농 (무농약) 미강과 관행 제배 미강의 예방효능 비교 분석

- Palmitic acid 처리 30분전에 쌀 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone)을 처리하였다. 실험 결과 palmitic acid 처리 시 간세포 사멸은 유의성있게 증가 하였으며 이러한 작용은 관행제배 쌀 (남녘들 쌀, 오리농법 쌀) DW, Et-OH, Me-OH 및 Acetone 용매 추출물 및 무농약 제배 고추 (남녘들 쌀, 오리농법 쌀) DW, Et-OH, Me-OH, 및 Acetone 용매 추출물에 의해서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 36 & 37).

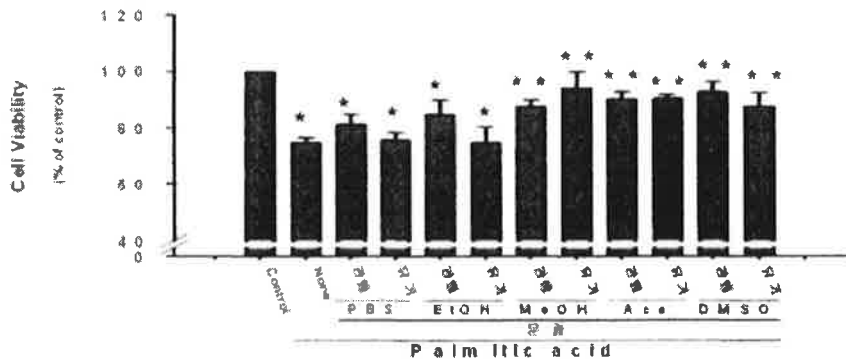


[그림 36] 관행 제배 및 무농약 (오리농법) 제배 쌀 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.

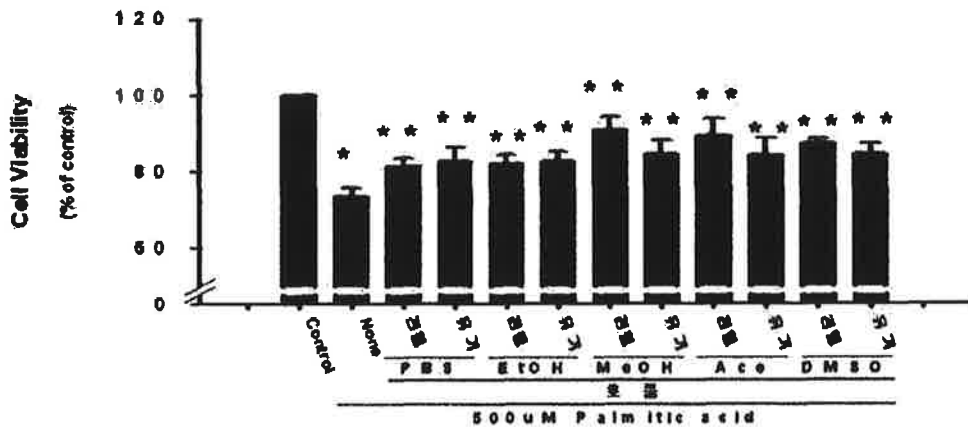


[그림 37] 관행 제배 및 무농약 (남녁들쌀) 제배 쌀 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.

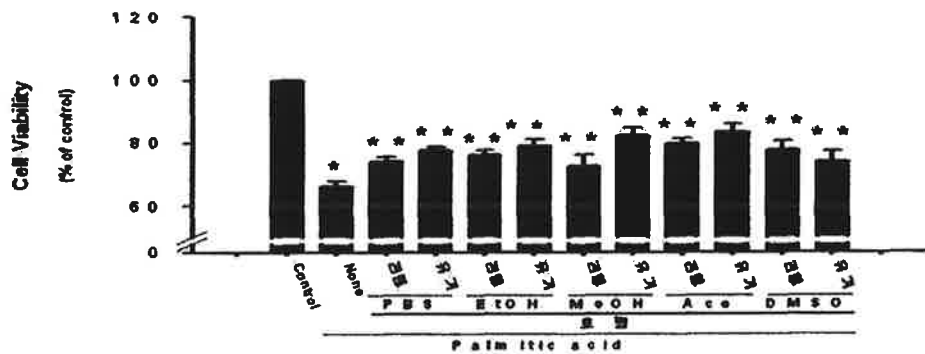
- Palmitic acid 처리 30분전에 관행제배 및 무농약 제배 벼 윤광 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO)을 처리하였다. 실험 결과 palmitic acid 처리 시 간세포 사멸이 유의성 있게 증가하였으며 윤광 추출물 처리시 Me-OH, acetone 및 DMSO 분획에서 palmitic acid에 의한 간세포 사멸이 차단되는 것으로 나타났으나 관행 제배 및 유기제배의 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 38). 호풍 및 호평의 경우도 관행제배 및 유기제배 양군 모두에서 palmitic acid에 의한 세포 사멸이 차단되었으나 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 39, 40).



[그림 38] 관행 제배 윤광 및 유기농 제배 윤광 추출물 1: 500의 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p < 0.05 vs. palmitic acid alone.

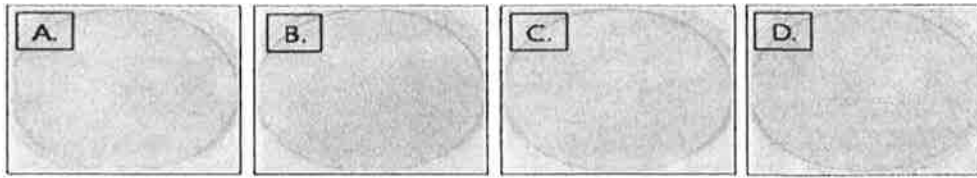


[그림 39] 관행 재배 호품 및 유기농 재배 호품 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p< 0.05 vs. palmitic acid alone.



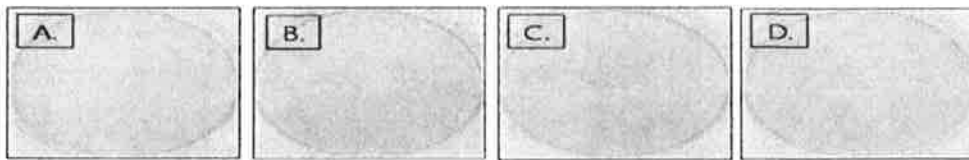
[그림 40] 관행 재배 호품 및 유기농 재배 호품 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p< 0.05 vs. palmitic acid alone

- 직접적으로 간세포의 지방 축적에 대한 효과를 보기 위해 포화지방산 처리 시 지방간 지표인 Oil Red staining 시 지방 합성이 증가하였으며 이러한 작용은 호품에 의해서는 차단되었으나 운광 및 호평 추출물 처리 시에는 차단되지 않는 것으로 나타났다. 특히 호품의 경우는 유기재배군이 관행재배군에 비해 지방 축적 억제 현상이 더 큰 것으로 나타났다 (그림 41, 42, 43).



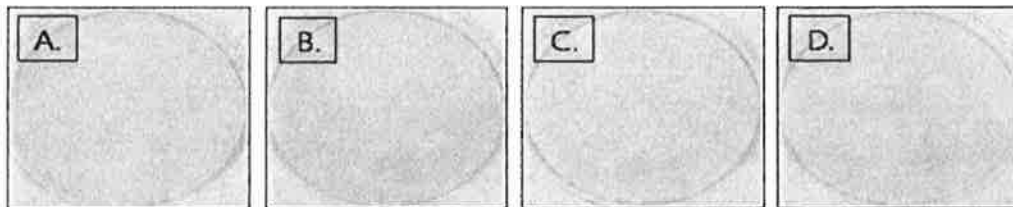
- A. Control
- B. FFAs 1mM
- C. 5mg/ml pretreatment of 관행운광 PBS + FFAs
- D. 5mg/ml pretreatment of 유기운광 PBS + FFAs

[그림 41] 관행재배 운광 및 유기재배 운광 추출물의 간세포 지방 축적 차단효과



- A. Control
- B. FFAs 1mM
- C. 5mg/ml pretreatment of 관행호평 PBS + FFAs
- D. 5mg/ml pretreatment of 유기호평 PBS + FFAs

[그림 42] 관행재배 및 유기재배 호평 추출물의 간세포 지방 축적 차단효과



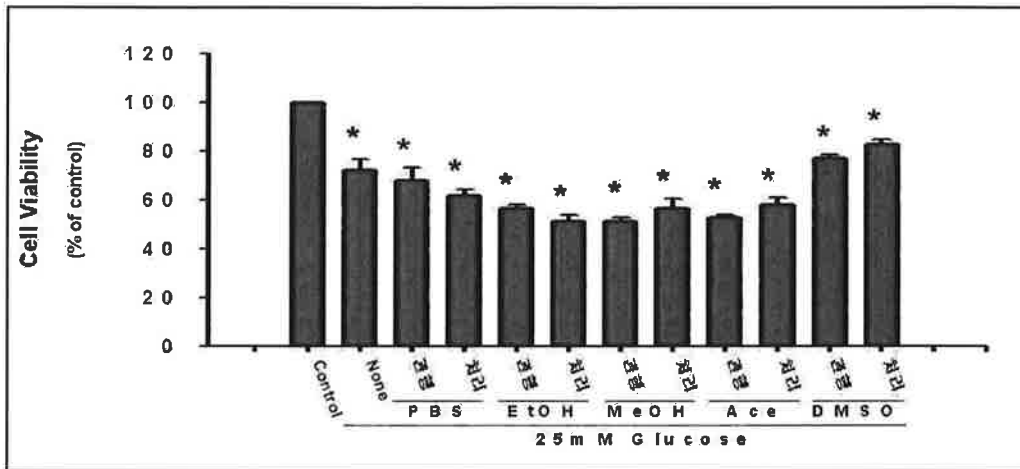
- A. Control
- B. FFAs 1mM
- C. 5mg/ml pretreatment of 관행호품 PBS + FFAs
- D. 5mg/ml pretreatment of 유기호품 PBS + FFAs

[그림 43] 관행재배 운강 및 유기재배 호품 추출물의 간세포 지방 축적 차단효과

라. 무농약 재배 쑥갓 과 관행재배 쑥갓 기능성 검증.

(1) 당뇨병 신증에 있어서 무농약 재배 쑥갓과 관행 재배 쑥갓의 예방효능 비교 분석

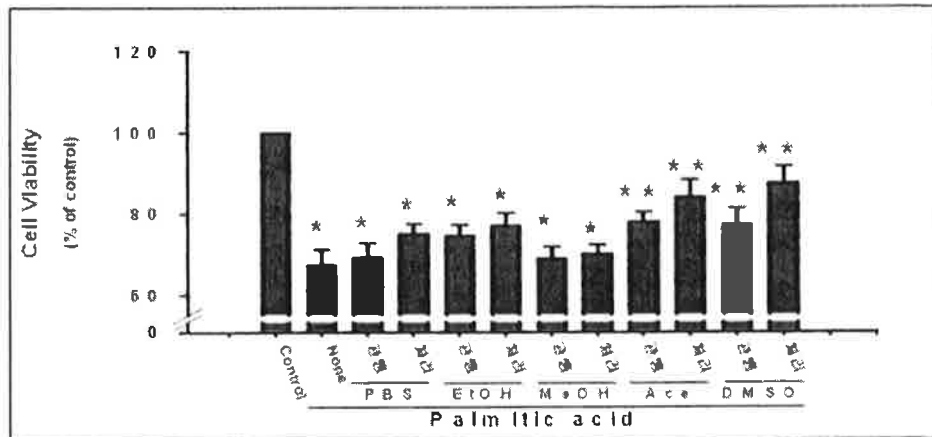
○ 먼저 관행 재배 및 무농약 재배 쑥갓 활성을 확인하기 위하여 고평도당 처리 30분전에 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO)를 처리하였다. 실험 결과 고평도당 (25 mM glucose) 처리 시 podocyte 세포 사멸은 유의성있게 증가 하였으며 이러한 작용은 관행재배 및 무농약 재배 쑥갓 추출물에 의해서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 44).



[그림 44] 관행 재배 쑥갓 및 무농약 재배 쑥갓 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 고평도당에 의한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.

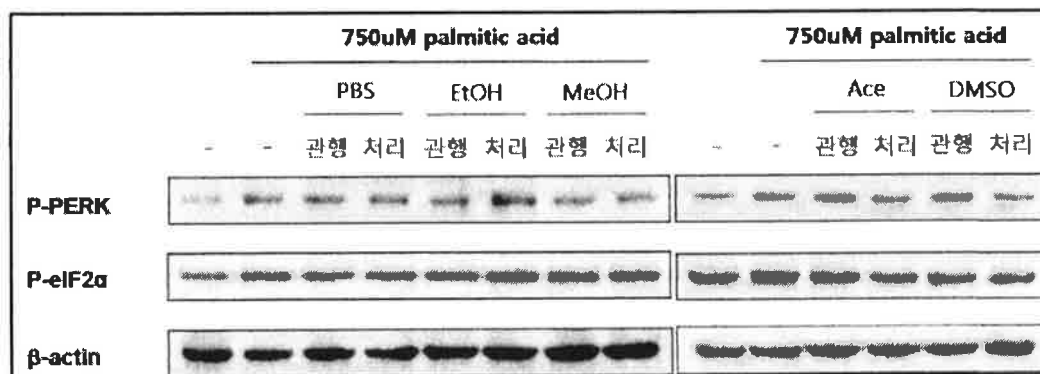
(2) 비만성 지방간 (비만성 당뇨 간증)에 있어서 무농약 재배 쑥갓과 관행 재배 쑥갓의 예방효능 비교 분석

- Palmitic acid 처리 30분전에 쑥갓 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone)을 처리하였다. 실험 결과 palmitic acid 처리 시 간 세포 사멸은 증가하였으며 이러한 작용은 쑥갓 추출물 일부 분획에서 차단되는 것으로 나타났다. 전반적으로 관행재배 쑥갓 추출물에 비해 무농약 쑥갓 추출물(Aceton 및 DMSO 용매 분획)에 의해 더 차단효과가 강하게 인정되는 것으로 나타났다 (그림 45).



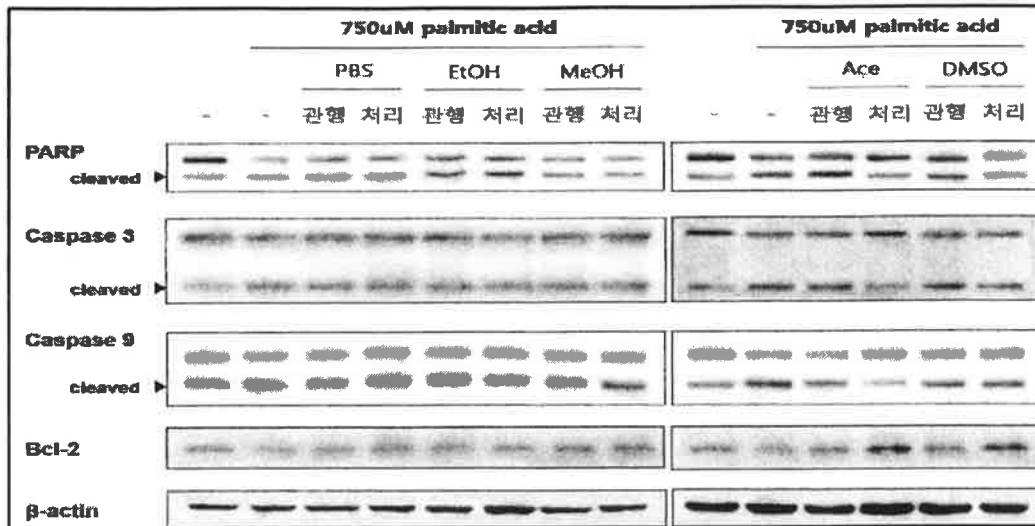
[그림 45] 관행 제배 쑥갓 및 무농약 제배 쑥갓 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p < 0.05 vs. palmitic acid alone.

- 실제로 쑥갓 추출물을 처리하여 ER stress 유발 단백질인 PERK 및 eIF-2 alpha의 발현 (palmitic acid 12시간 처리 후 실험)을 살펴보았다. 실험결과 간세포에서 보였던 acetone 및 DMSO 분획에서 차단효과가 인정이 되었다 (그림 46).



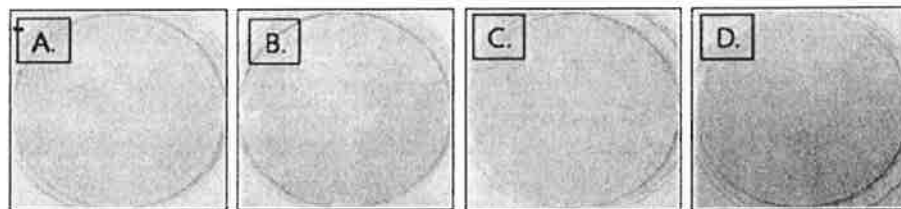
[그림 46] 관행 제배 및 무농약 제배 쑥갓 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 세포 사멸에 관여하는 ER stress 단백질 작용 차단 효과.

- 쑥갓 추출물을 처리하여 세포 사멸 단백질인 PARP, caspase-3, caspase-9의 활성형 form을 측정된 결과 palmitic acid 처리 시 PARP, caspase-3, caspase-9의 활성형 form인 cleaved form이 증가하였으며 이러한 반응은 일부 acetone 분획 및 DMSO 용매 분획에서 무농약 처리군에서 차단되는 것으로 나타났으나 관행제배 처리군에 의해서는 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 47). 세포 사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 경우 palmitic acid 처리 시 감소하였으며 이러한 반응은 일부 acetone 분획 및 DMSO 용매 분획에서 관행 제배 처리군에 비해 무농약 처리군에서 약간 더 차단되는 것으로 나타났다 (그림 47).



[그림 47] 관행 재배 및 무농약 재배 썩갓 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 세포 사멸에 관여하는 PARP, caspase-3, caspase-9 및 Bcl-2 단백질 발현 차단 효과

• 포화지방산 처리 시 지방간 지표인 Oil Red staining 시 지방 합성이 증가하였으며 이러한 작용은 관행 재배 썩갓에 의해서는 차단되지 않았으나 무농약 썩갓 처리 시 차단되는 것으로 나타났다 (그림 48).



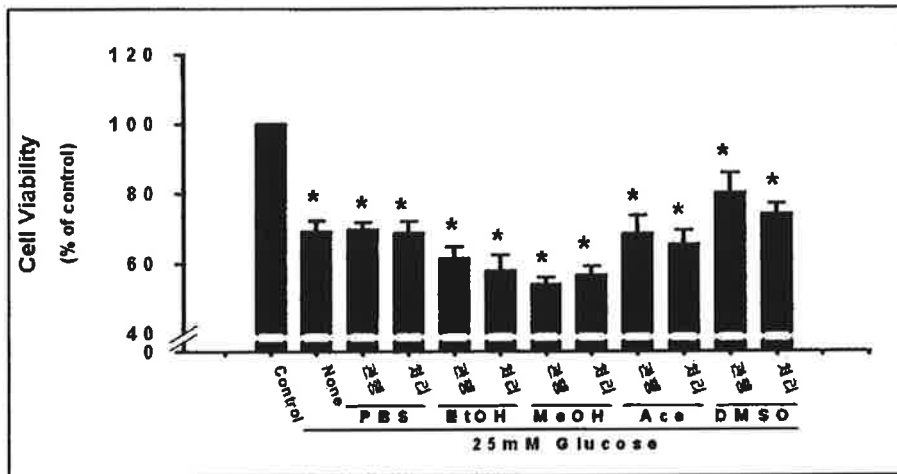
- A. Control
- B. FFAs 1mM
- C. 5mg/ml pretreatment of 관행썩갓 DMSO + FFAs
- D. 5mg/ml pretreatment of 처리썩갓 DMSO + FFAs

[그림 48] 관행재배 썩갓 및 무농약 재배 썩갓 추출물의 간세포 지방 축적 차단효과

바. 무농약 재배 상추와 관행재배 상추 기능성 검증.

(1) 당뇨병 신증에 있어서 무농약 재배 상추와 관행 재배 상추의 예방효능 비교 분석

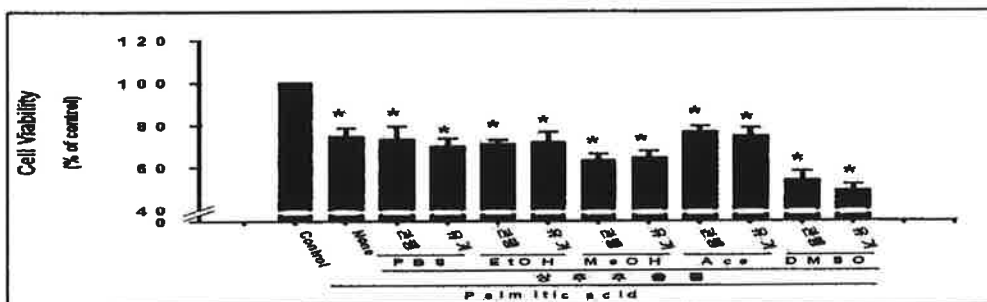
- 먼저 관행 재배 및 무농약 재배 상추 활성을 확인하기 위하여 고포도당 처리 30분전에 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO)를 처리하였다. 실험 결과 고포도당 (25 mM glucose) 처리 시 podocyte 세포 사멸은 유의성있게 증가 하였으며 이러한 작용은 관행재배 및 무농약 재배 상추 추출물에 의해서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 49).



[그림 49] 관행 재배 상추 및 무농약 재배 상추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 고포도당에 의한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.

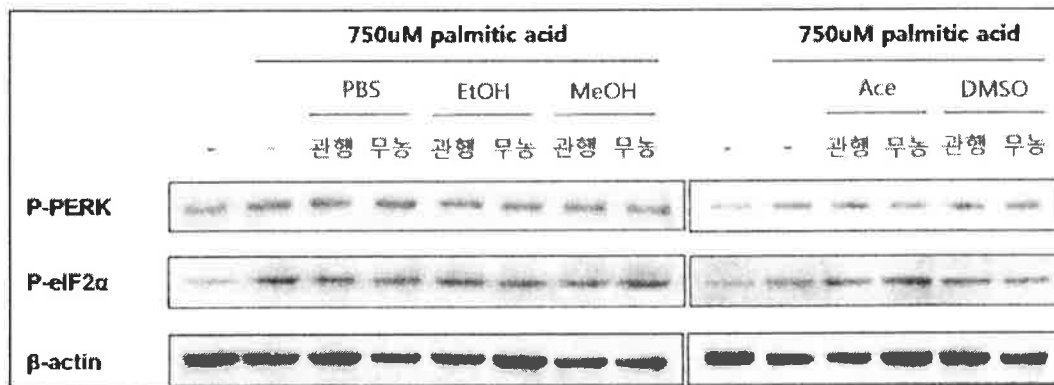
나) 비만성 지방간 (비만성 당뇨 간증)에 있어서 무농약 재배 상추와 관행 재배 상추의 예방효능 비교 분석

- Palmitic acid 처리 30분전에 상추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone)을 처리하였다. 실험 결과 palmitic acid 처리 시 간 세포 사멸은 증가하였으며 이러한 작용은 관행 재배 상추 및 무농약 재배 상추 추출물에 의해서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 50).



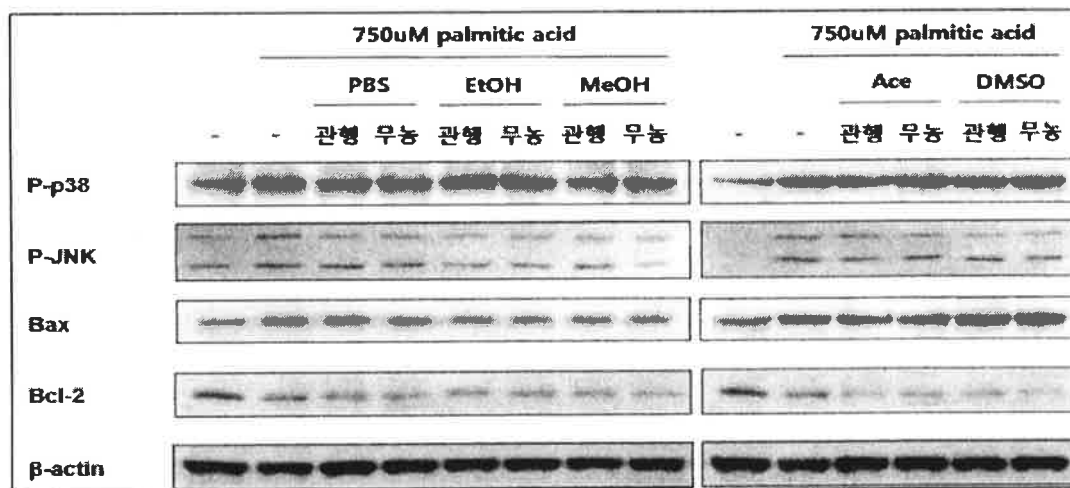
[그림 50] 관행 재배 상추 및 유기 재배 상추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, 및 acetone)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, ** p < 0.05 vs. palmitic acid.

- 실제적으로 상추 추출물을 처리하여 ER stress 유발 단백질인 PERK 및 eIF-2 alpha의 발현 (palmitic acid 12시간 처리 후 실험)을 살펴보았다. 실험결과 관행재배 및 무농약 재배 상추 추출물 처리시 palmitic acid에 의한 ER stress 발현은 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 51).



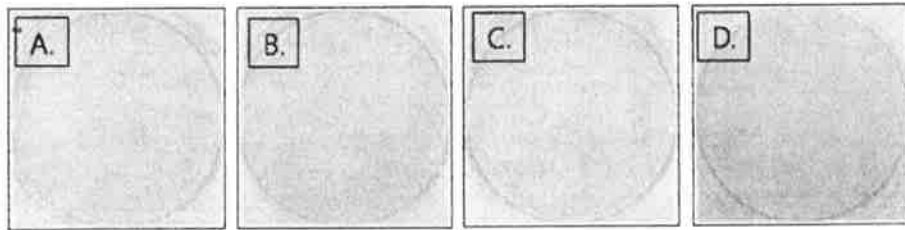
[그림 51] 관행 재배 및 무농약 재배 상추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 세포 사멸에 관여하는 ER stress 단백질 작용 차단 효과.

- 상추 추출물을 처리하여 간세포 사멸 단백질인 p38 MAPK, JNK 활성화 form을 측정된 결과 palmitic acid 처리 시 p38 MAPK, JNK 활성화 form이 증가하였으며 세포 사멸 촉진 단백질인 Bax의 발현은 증가, 세포 사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 발현은 감소하였으며 이러한 작용은 관행 및 무농약 상추 추출물에 의해서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 52).



[그림 52] 관행 재배 및 무농약 재배 상추 추출물 (DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 세포 사멸에 관여하는 p38, JNK, Bax 및 Bcl-2 단백질 발현 차단 효과.

- 포화지방산 처리 시 지방간 지표인 Oil Red staining 시 지방 합성이 증가하였으며 이러한 작용은 관행 제배 상추 추출물에 의해서는 차단되지 않았으나 무농약 상추 추출물에 의해서는 차단되는 것으로 나타났다 (그림 53).



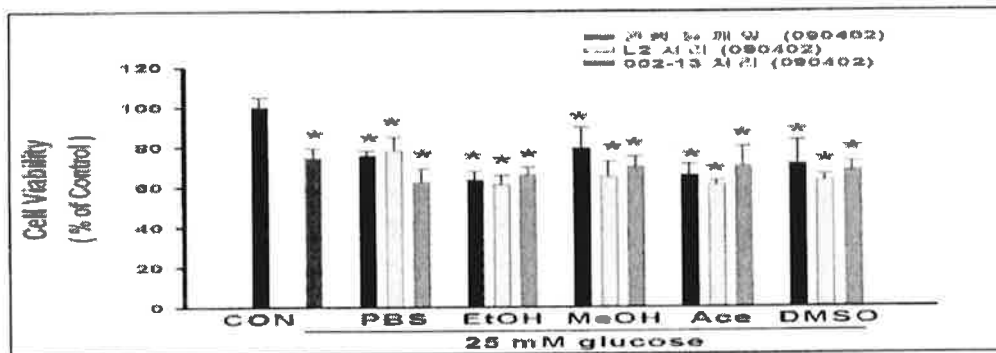
- A. Control
- B. FFAs 1mM
- C. 5mg/ml pretreatment of 관행상추 PBS + FFAs
- D. 5mg/ml pretreatment of 처리상추 PBS + FFAs

[그림 53] 관행제배 상추 및 무농약 제배 상추 추출물의 간세포 지방 축적 차단효과

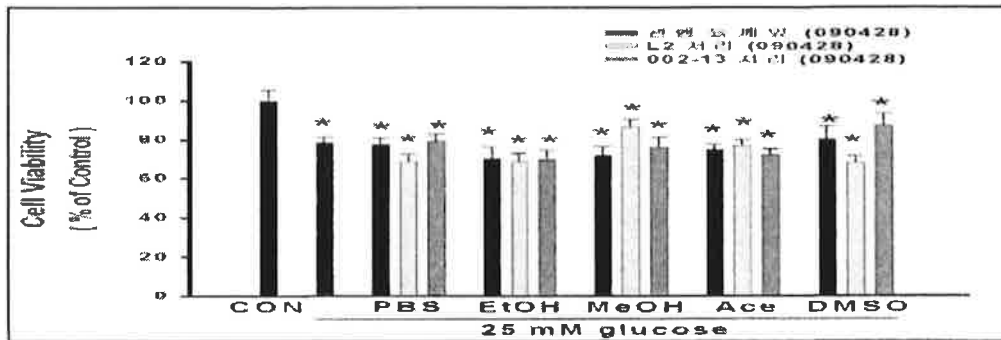
사. 무농약 제배 들깨잎과 관행제배 들깨잎의 기능성 검증.

(1) 당뇨병 신증에 있어서 무농약 제배 들깨잎과 관행 제배 들깨잎의 예방효능 비교 분석

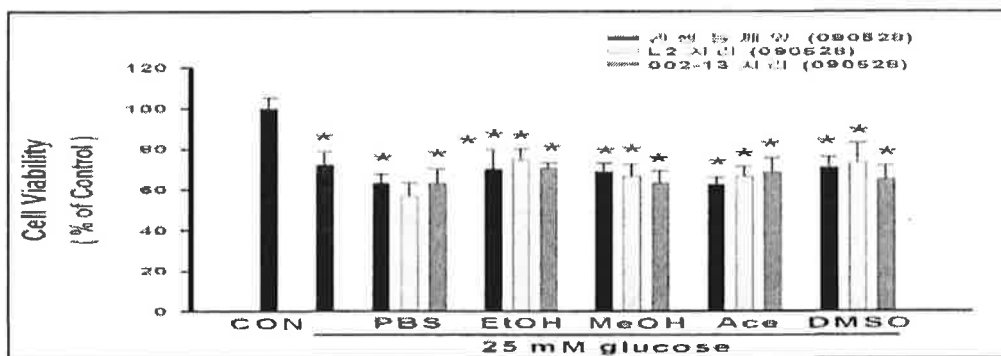
- 먼저 관행 제배 및 무농약 제배 들깨잎 활성을 확인하기 위하여 고폠평도당 처리 30분전에 고추 추출물 용매 분획 (DW, Et-OH, Me-OH, Acetone 및 DMSO)를 처리하였다. 실험 결과 고평도당 (25 mM glucose) 처리 시 podocyte 세포 사멸은 유의성있게 증가 하였으며 이러한 작용은 수확 날짜에 관계없이 관행제배 및 무농약 제배 들깨잎 추출물에 의해서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 54, 55, 56).



[그림 54] 관행 제배 들깨잎 및 무농약 제배 들깨잎 추출물 (L2, 002-13; DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 고평도당에 의한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.



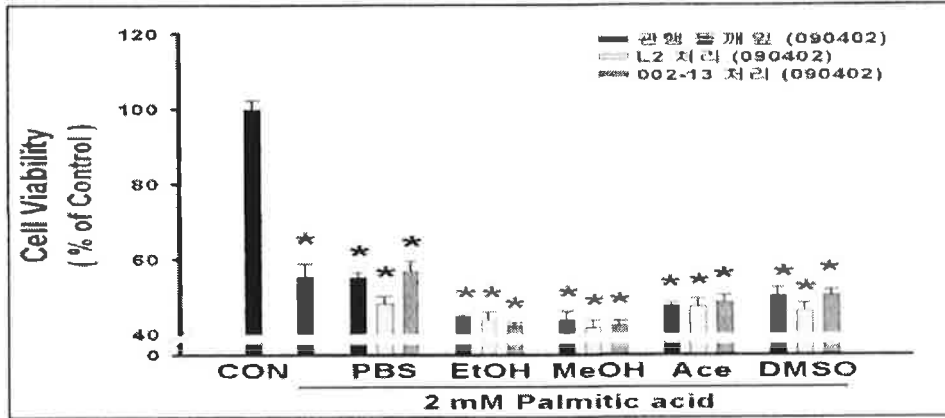
[그림 55] 관행 재배 들깨잎 및 무농약 재배 들깨잎 추출물 (L2, 002-13; DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 고포도당에 의한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.



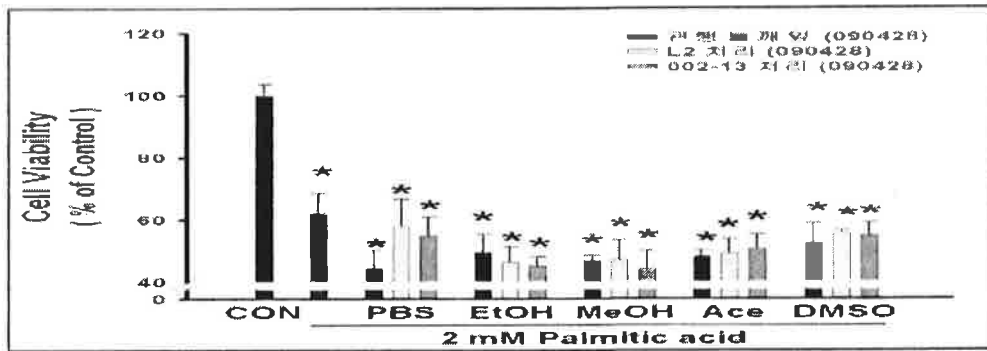
[그림 56] 관행 재배 및 무농약 재배 들깨잎 추출물 (L2, 002-13; DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 고포도당에 의한 podocyte 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.

(2) 비만성 지방간 (비만성 당뇨 간증)에 있어서 무농약 재배 들깨잎과 관행 재배 들깨잎의 예방효능 비교 분석

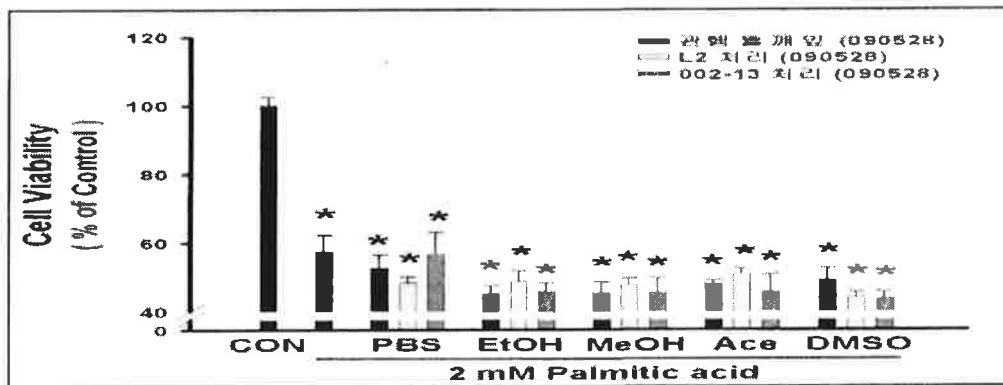
- Palmitic acid 처리 시 간 세포 사멸은 증가하였으며 이러한 작용은 관행 재배 들깨잎 및 무농약 재배 들깨잎 추출물(4월 2일, 4월 28일, 5월 28일)에 의해서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 57, 58, 59). 이에 비해 7월 10일 및 20일의 경우는 모든군에서 차단효과가 인정이 되었으나 군간의 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 60, 61).



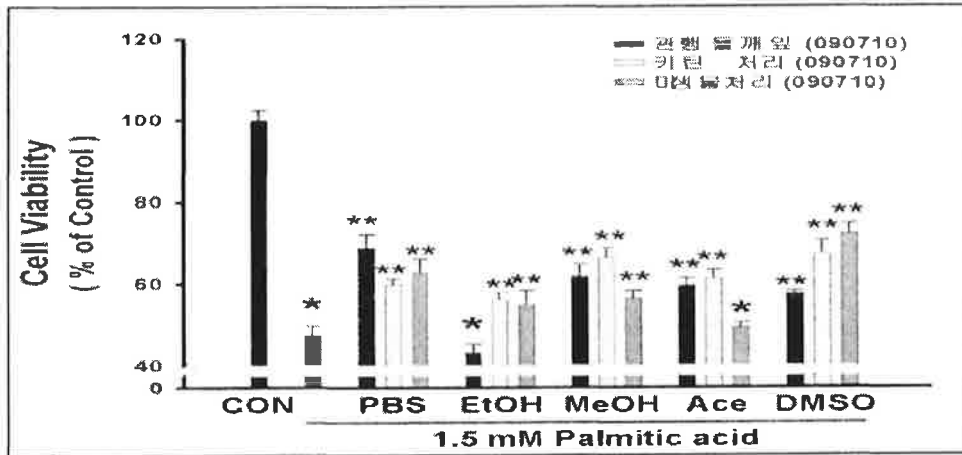
[그림 57] 관행 재배 들깨잎 및 무농약 재배 들깨잎 추출물 (L2, 002-13 처리 DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.



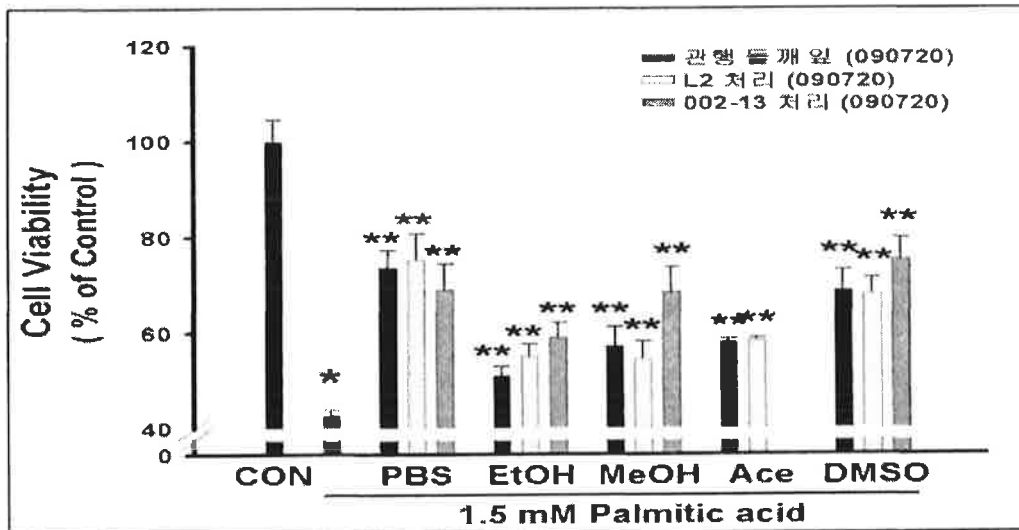
[그림 58] 관행 재배 들깨잎 및 무농약 재배 들깨잎 추출물 (L2, 002-13 처리 DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.



[그림 59] 관행 재배 들깨잎 및 무농약 재배 들깨잎 추출물 (L2, 002-13 처리 DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control.

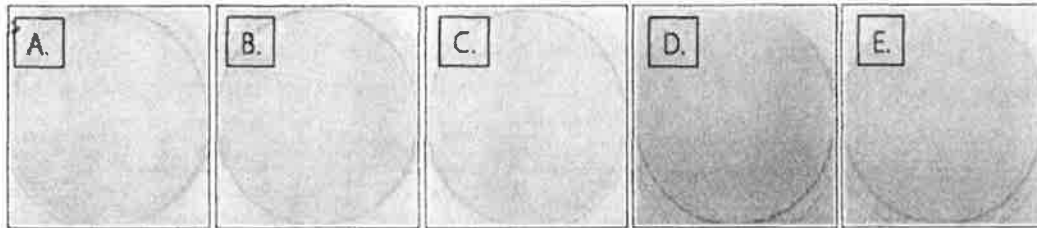


[그림 60] 관행 재배 들깨잎 및 무농약 재배 들깨잎 추출물 (L2, 002-13 처리 DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, **p < 0.05 vs. palmitic acid alone.



[그림 61] 관행 재배 들깨잎 및 무농약 재배 들깨잎 추출물 (L2, 002-13 처리 DW, Et-OH, Me-OH, acetone 및 DMSO)의 palmitic acid에 대한 간세포 사멸 작용 차단 효과. *p < 0.05 vs. control, **p < 0.05 vs. palmitic acid alone.

- 포화지방산 처리 시 지방간 지표인 Oil Red staining 시 지방 합성이 증가하였으며 이러한 작용은 관행 재배 들깨잎에 의해서는 차단되지 않았으나 무농약 들깨 추출물 (L2 및 002-13 PBS 분획)처리 시 차단되는 것으로 나타났다 (그림 62).



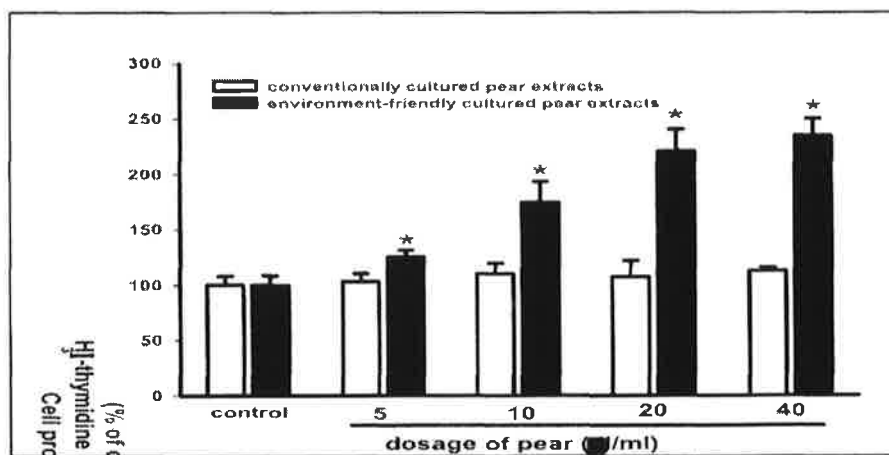
- A. Control
- B. FFAs 1mM
- C. 5mg/ml pretreatment of 들깨잎 PBS + FFAs
- D. 5mg/ml pretreatment of 들깨잎 L2 PBS + FFAs
- E. 5mg/ml pretreatment of 들깨잎 002-13 PBS + FFAs

[그림 62] 관행재배 들깨잎 및 무농약 재배 들깨잎 추출물의 간세포 지방 축적 차단효과

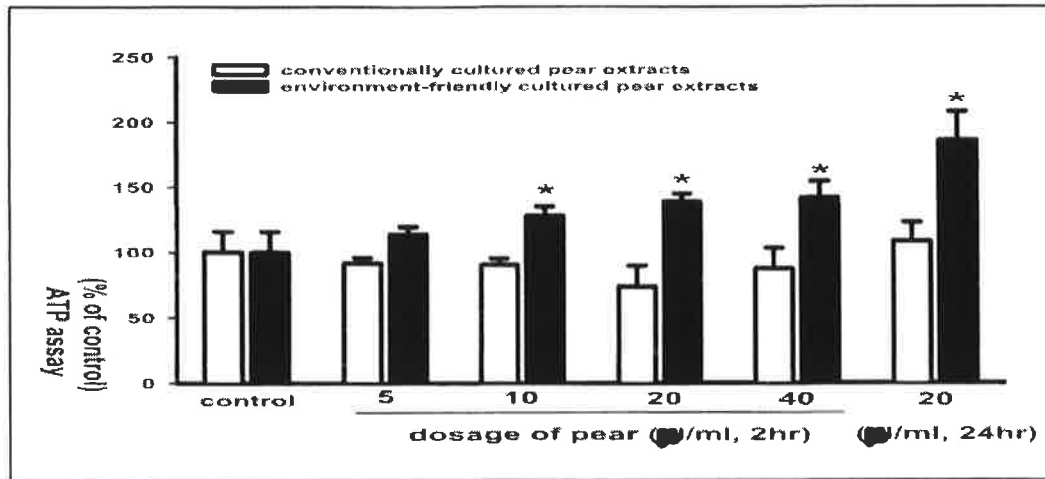
아. 기타 무농약 재배 작물과 관행재배 작물의 기능성 검증.

(1) 친환경 배의 생리활성 기능 평가

- 배의 경우 친환경 농산물의 경우 생체 대사 주요한 장기인 간장에서 간세포에 처리하였을 때 간세포의 간세포 성장 및 ATP 생성율은 현저하게 증가하였으나 관행재배 배의 경우는 대조군과 차이는 있지 않았다 (그림. 63 & 64).

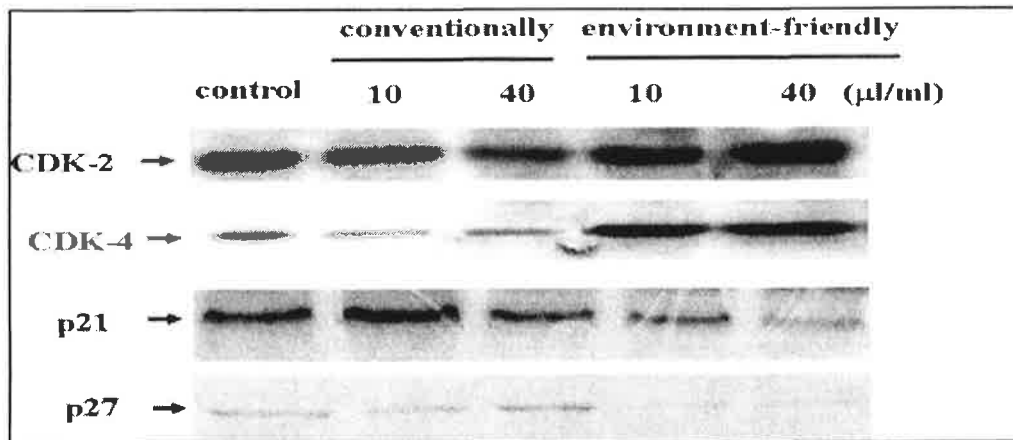


[그림 63] 관행 재배 배 및 친환경 재배 배의 간세포의 세포 성장에 대한 효과. *p < 0.05 vs. control.

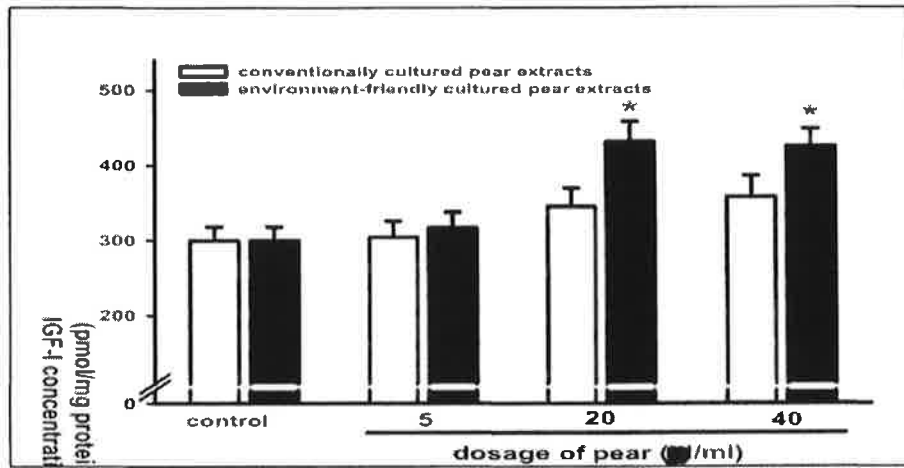


[그림 64] 친환경 재배 배의 간세포의 ATP 생성에 대한 효과. *p < 0.05 vs. control.

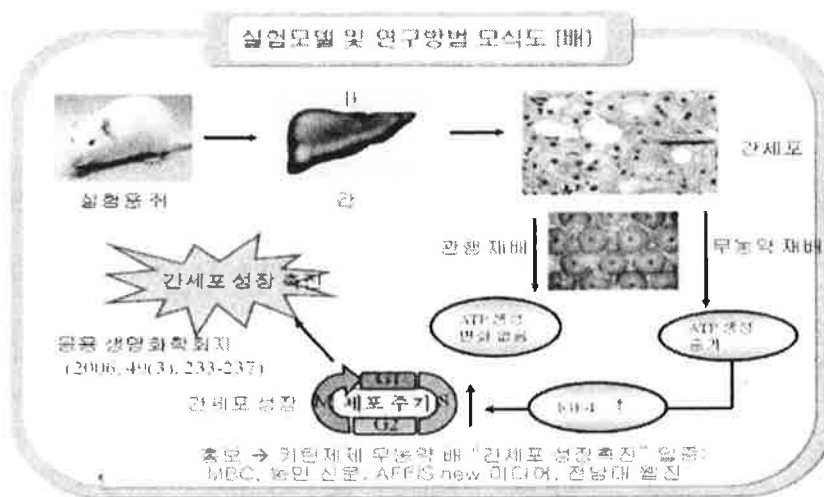
- 친환경 재배 배 추출물을 간세포에 투여 시 관행 재배 배 추출물에 비해 세포 성장주기중 G1기에서 작용하는 성장 유도 촉진 단백질인 CDK-2 및 CDK-4의 경우 증가하였으며 세포 성장주기 억제 단백질인 p27 Cip 및 p21 Kip의 경우는 감소하는 것으로 나타나 친환경 재배 배 추출물 투여 시 G1기의 시간을 줄여서 세포 성장을 촉진하는 것으로 나타났다. 아울러 친환경 재배배 추출물 처리시 세포 성장 촉진 단백질인 IGF-I 분비도 증가하는 것으로 나타났다 (그림 65 & 66)



[그림 65] 관행 재배 배 및 친환경 재배 배의 간세포의 세포 성장 주기 단백질에 대한 효과. *p < 0.05 vs. control.



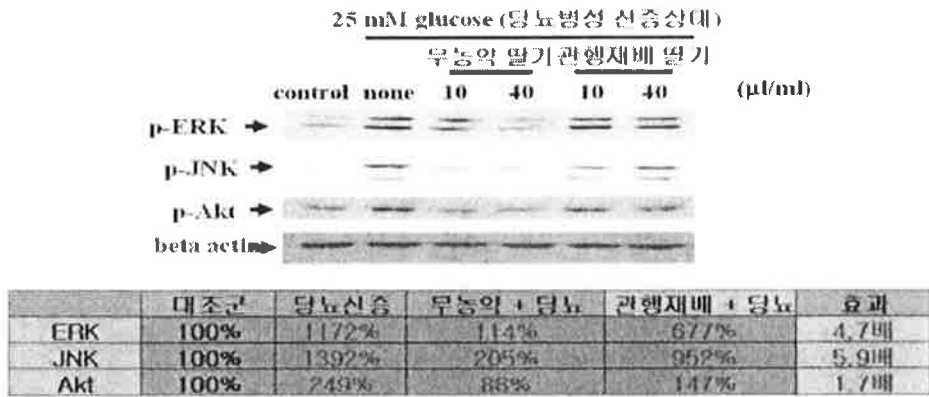
[그림 66] 관행 재배 배 및 친환경 재배 배추출물의 간세포의 IGF-1 분비 기능. *p < 0.05 vs. control.



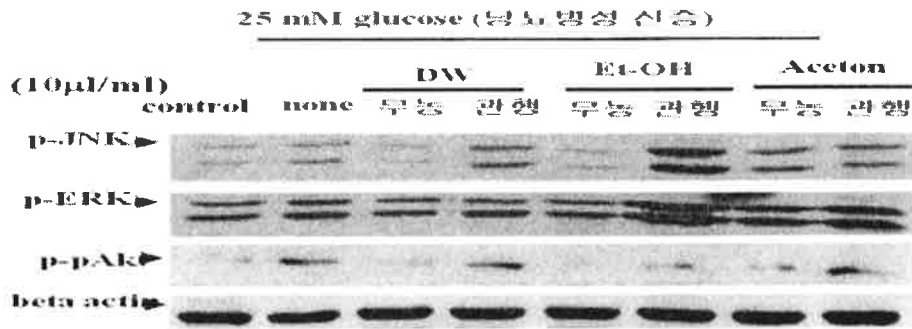
[그림 67] 친환경 배의 간세포 활성화 홍보 및 모식도

(2) 친환경 딸기의 항당뇨 신증 기능 평가

- 고포도당 처리 시 당뇨병성 신증을 매개하는 ERK, JNK 및 Akt의 관계를 알아본 결과 당뇨병성 신증 상태에서 현저한 증가 현상을 볼 수 있었으며 이러한 작용은 관행재배 딸기 추출물에 비해 무농약 딸기 추출물 처리 시 현저하게 ERK, JNK 및 Akt의 활성이 억제되는 것으로 나타났다 (그림 68). 이러한 항당뇨 신증 효과에 관행재배 및 친환경 딸기 추출물의 어떠한 성분이 효과가 있는지를 알아보기 위한 실험에서 DW 분획 및 Et-OH분획에서 현저하게 ERK, JNK 및 Akt의 활성이 억제되는 것으로 효과가 인정되는 것으로 나타났다 (그림 69).

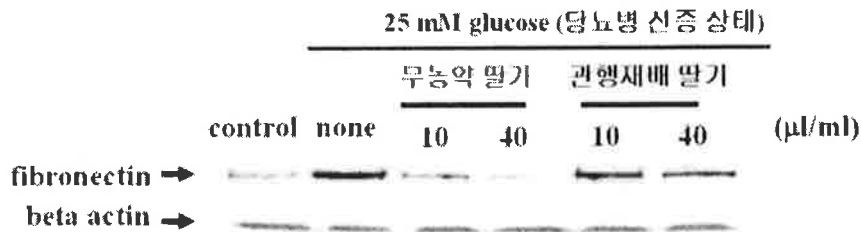


[그림 68] 관행 재배 및 친환경 재배 딸기 추출물의 당뇨병성 신증 매개 단백질 차단효과.



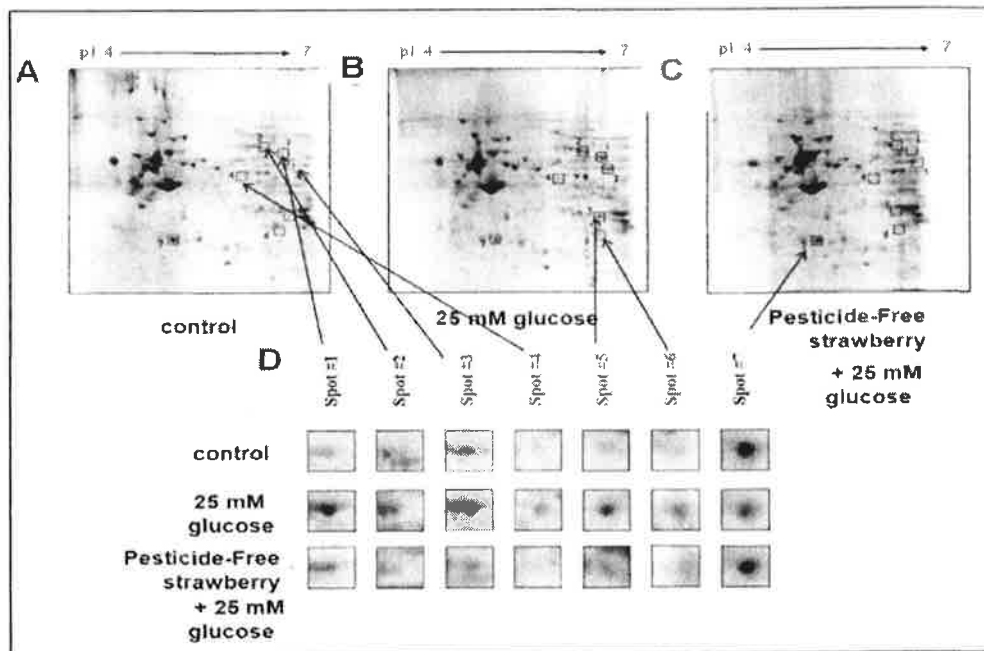
[그림 69] 관행 재배 딸기 및 친환경 재배 딸기 추출물의 당뇨병성 신증 매개 단백질 차단효과에 대한 분획별 비교.

- 고포도당 처리 시 당뇨병성 신증의 주 표지 인자인 fibronectin 의 발현이 증가하였으며 이러한 작용은 관행재배 딸기 추출물에 비해 무농약 딸기 추출물에서 현저한 차단효과를 보였다 (그림 70).



[그림 70] 신장의 사구체 세포에서 관행 재배 고추 및 무농약 재배 딸기의 fibronectin 단백질 발현에 대한 항당뇨병성 신증 효과.

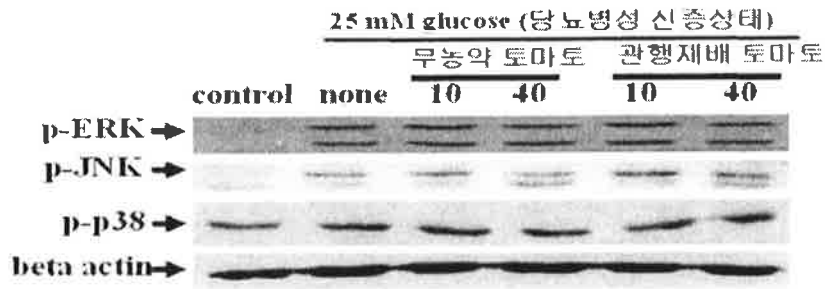
- 무농약 딸기 추출물의 in vitro 상의 항당뇨 단백질들을 규명하기 위하여 mesangial 세포에 고포도당 처리 30분전에 무농약 딸기 추출물을 처리한후 고포도당을 24시간 처리하여 실험 (2-D electrophoresis 및 MALDI-TOF)을 실시하였다. 실험 결과 고포도당에 의한 단백질 발현을 차단하는 무농약 고추 추출물 처리군에서 단백질 7개를 동정하였다. 이들 단백질은 moesin, pre-mRNA-splicing factor SLU7, 26S protease regulatory subunit 6A, General receptor for phosphoinositides 1-associated scaffold protein, PIPAS, microtubule-associated protein RP/EB family member2 및 galectin-9 으로 밝혀졌다 (그림 71).



[그림 71] 신장의 mesangial 세포에서 무농약 재배 딸기의 고포도당에 의한 단백질 발현 변화 차단효과의 proteomics 접근.

[Table 3] Identified anti-diabetic proteins in the preventive effect of strawberry extracts cultivated in pesticide-free condition (chitin degrading microbes mixture of *Bacillus cereus*, *Paenibacillus illinoisensis*, *Bacillus subtilis* extracted from soil) in mesangial cells.

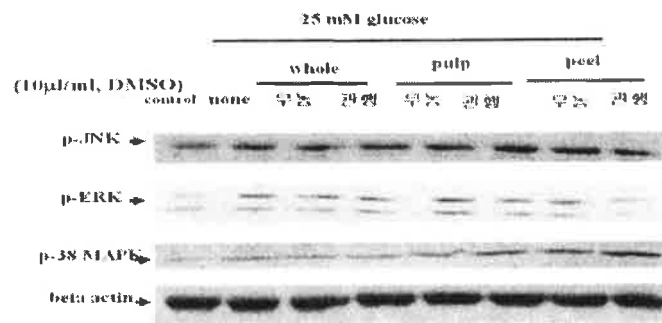
| Spot # | Protein name | Access No. (NCBI Inr) | Theoretical pI/Mw (Da) | Mean Error (ppm) |
|--------|--|-----------------------|------------------------|------------------|
| 1 | Moesin | Q35763 | 6.2 67737 | -2.7 |
| 2 | Pre-mRNA-splicing factor SLU7 | Q80ZG5 | 6.4 68336 | 1.81 |
| 3 | 26S protease regulatory subunit 6A | Q63569 | 5.1 49159 | -6.0 |
| 4 | General receptor for phosphoinositides 1-associated scaffold protein | Q8R4T5 | 9.2 42320 | -9.27 |
| 5 | PIPAS | Q80WX6 | 5.4 440174 | 3.42 |
| 6 | Microtubule-associated protein RP/EB family member2 | Q3B8Q0 | 5.2 36987 | -4.81 |
| 7 | Galectin-9 | P97840 | 9.4 39945 | -4.97 |



[그림 74] 관행 재배 토마토 및 친환경 재배 토마토 추출물의 당뇨병성 신증 배개 단백질에 미치는 효과.

(4) 무농약 및 관행재배 사과 추출물의 생리활성 기능 평가

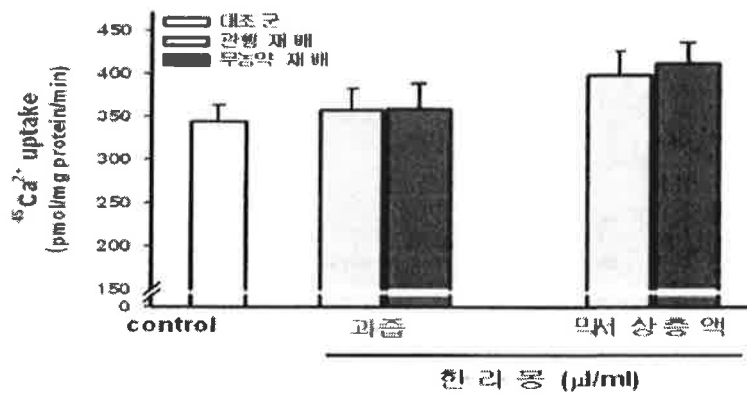
- 무농약 및 관행재배 사과 추출물 (혼합, 과육, 과피)을 처리하여 검사한 결과 두 군간의 항 당뇨 유발 단백질의 차단 효과를 알아본 결과 모든 군에서 차단되지 않는 것으로 나타났다 (그림 75).



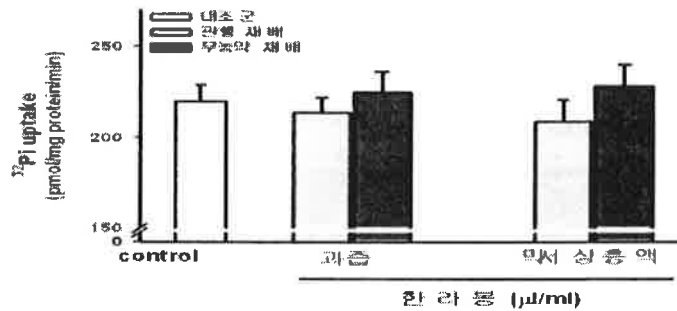
[그림 75] 무농약 및 관행 재배 사과 추출물의 당뇨병성 신증 배개 단백질에 미치는 효과.

(5) 관행 및 무농약 재배 한라봉의 생리활성 기능 평가

- Ca²⁺ 및 Pi이온의 생체내 흡수율을 알아보기 위하여 신장 근위세뇨관 세포에 무농약 및 관행재배 한라봉 추출물을 처리한 결과 두 군간의 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 76, 77).

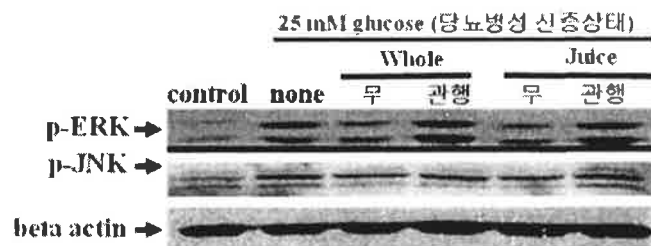


[그림 76] 관행, 친환경, 무농약 재배 한라봉의 Ca^{2+} 흡수 효과.



[그림 77] 관행, 친환경, 무농약 재배 한라봉의 Ca^{2+} 흡수 효과.

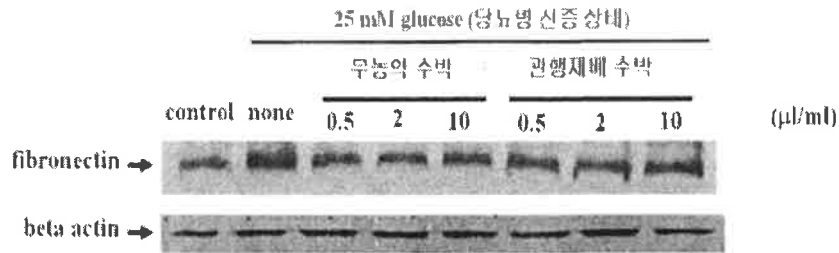
고포도당 처리 시 당뇨병성 신경 매개하는 ERK 및 JNK의 관계를 알아본 결과 당뇨병성 신경 상태 시 현저한 증가 현상을 볼 수 있었으며 이러한 작용은 관행 재배 한라봉 추출물에 비해 무농약 한라봉 처리시 과육 및 과즙에서 현저하게 억제되는 것으로 나타났다 (그림 78)



[그림 78] 무농약 및 관행 재배 한라봉 추출물의 당뇨병성 신경 매개 단백질 차단 효과.

(6) 관행 및 무농약 재배 수박의 생리활성 기능 평가

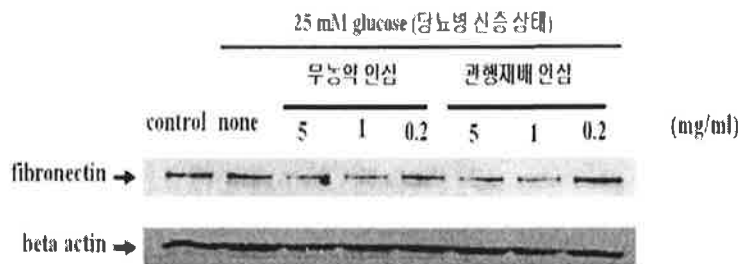
- 고포도당 처리 시 당뇨병성 신증의 주 표지 인자인 fibronectin 의 발현이 증가하였으며 이러한 작용은 관행재배 수박 추출물 및 무농약 수박 추출물에서 약간의 차단작용은 있었으나 두군간의 차이는 인정이 되지 않는 것으로 나타났다 (그림 79).



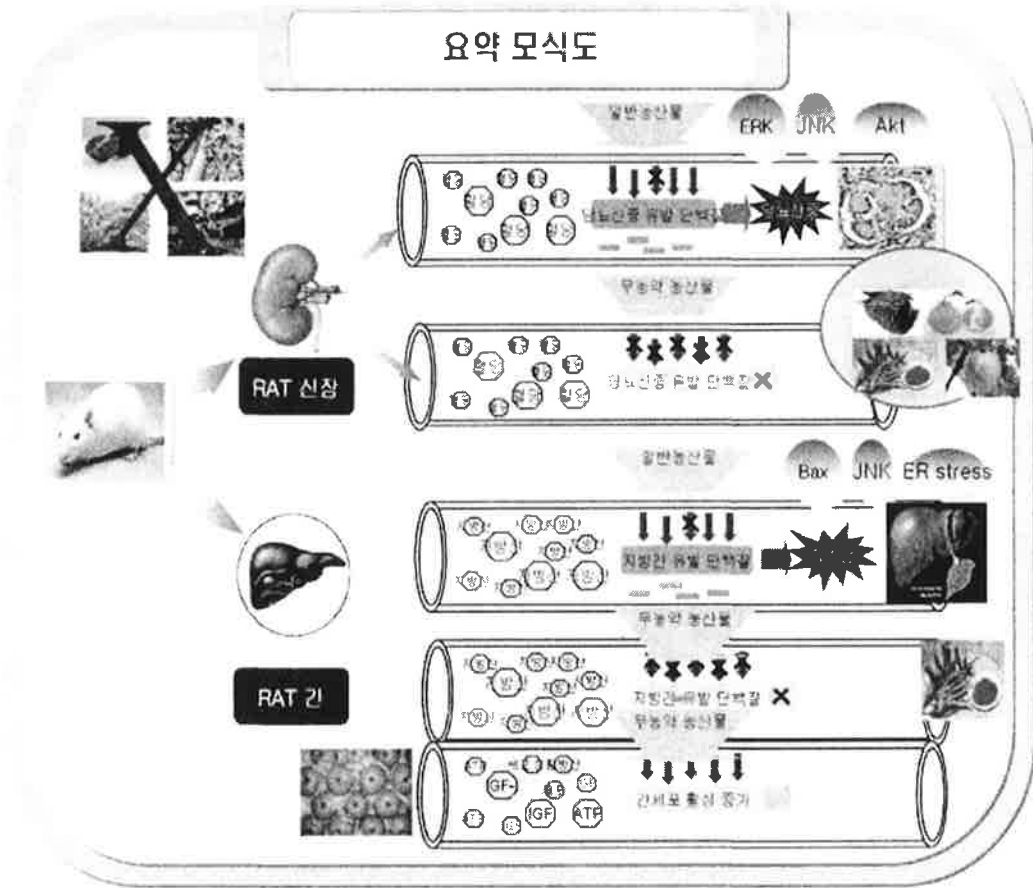
[그림 79] 신장의 사구체 세포에서 관행 재배 수박 및 무농약 재배 수박 추출물의 fibronectin 단백질 발현에 대한 항당뇨병성 신증 효과.

(7) 관행 및 무농약 재배 인삼의 생리활성 기능 평가

- 관행재배 인삼 추출물 및 무농약 인삼 추출물 처리시 고포도당에 의해서 증가되었던 fibronectin은 인삼의 농도가 증가함에 따라 차단되는 것으로 나타났으나 두군간의 차이는 인정이 되지 않았다 (그림 80).



[그림 80] 신장의 사구체 세포에서 관행 재배 인삼 및 무농약 재배 인삼 추출물의 fibronectin 단백질 발현에 대한 항당뇨병성 신증 효과.



[그림 81] 본 세부연구과제의 연구결과에 대한 모식도

무농약 및 유기농에 대한 다양한 기능성 실험의 연구가 진행되어야 할것으로 판단되지만 본 세부 연구과제의 연구결과를 종합하여 보면 위 모식도와 같은 결과를 제시할 수 있다고 하겠다 (그림 81).

제 4 절 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 평가의 착안점 및 기준

| 구분 | 연도 | 세부연구목표 | 가중치 | 평가의 착안점 및 기준 |
|----------|-------------------|---|------|---|
| 1차 연도 | 2005 -200 6 | • 친환경 재배 작물의 다양한 생리 활성 지표 기능 검색 체계를 위한 실험 모델 확립 | 25 % | ◦ 친환경 재배 작물의 다양한 생리 활성 검사를 위한 실험 모델을 확립 |
| | | • 친환경 농산물의 세포내 ATP 생성 및 성장 효과 검사 | 40 % | ◦ 친환경 재배 작물의 물질 ATP 생성 및 성장효과 검사 및 우월성 검증 |
| | | • 친환경 농산물의 물질 재흡수능 검사 | 20 % | ◦ 친환경 재배 작물의 물질 재흡수능검사 실시 및 우월성 검증 |
| | | • 친환경 농산물의 생리활성 물질 분비능 검사 | 15 % | ◦ 친환경 재배 작물의 생리활성 분비능 검사 실시 및 우월성 검증 |
| 2차 연도 | 2006 -200 7 | • 친환경 재배 작물의 다양한 생리 활성 지표 기능 검색 체계를 위한 실험 모델 확립 | 25 % | ◦ 친환경 재배 작물의 다양한 생리 활성 검사를 위한 실험 모델을 확립 |
| | | • 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 발병 억제 효과 검사 | 25 % | ◦ 친환경 재배 작물의 물질의 당뇨병성 억제 효과 규명 및 우월성 검증 |
| | | • 친환경 농산물의 항비만 및 물질 재흡수능 검사 | 20 % | ◦ 친환경 재배 작물의 항비만 단백질 발현 검사 실시 및 우월성 검증 |
| | | • 친환경 농산물의 당뇨신증 억제 관련 단백질 규명 | 10 % | ◦ 친환경 재배 작물의 당뇨 유발 억제 단백질 규명 |

| 구분 | 연도 | 세부연구목표 | 가중치 | 평가의 착안점 및 기준 |
|----------|---------------|---|------|---|
| 3차 년도 | 2007-20 08 | • 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 당노병성 신증 억제 효과 검색 | 30 % | ◦ 친환경 재배 작물의 당노병성 신증 억제 효과 규명 및 우월성 검증 |
| | | • 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 비만성 당노(지방간) 예방 효과 검색 | 30 % | ◦ 친환경 재배 작물의 비만성 당노 예방(지방간) 효과 우월성 검증 |
| | | • 친환경 재배 농산물의 항당노 및 지방간 단백질 검증 | 30 % | ◦ 친환경 재배 작물의 당노병억제 및 지방간 억제 효과 단백질 규 명 |
| | | • 친환경 재배 농산물의 항비만 효과 검증 | 10 % | ◦ 친환경 재배 작물의 항비만 효과 검증 |
| 4차 년도 | 2008-20 09 | • 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 당노병성 신증 억제 효과 검색 | 50 % | ◦ 친환경 재배 작물의 물질의 당노 병성 신증 억제 효과 규명 및 우월성 검증 |
| | | • 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 비만성 당노(지방간) 예방 효과 검색 | 50 % | ◦ 친환경 재배 작물의 물질의 비만 성 당노 예방(지방간) 효과 우월 성 검증 |
| 5차 년도 | 2009-20 10 | • 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 당노병성 신증 억제 효과 검색 | 30 % | ◦ 친환경 재배 작물의 물질의 당노 병성 신증 억제 효과 규명 및 우월성 검증 |
| | | • 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 비만성 당노(지방간) 예방 효과 검색 | 30 % | ◦ 친환경 재배 작물의 물질의 비만 성 당노 예방(지방간) 효과 우월 성 검증 |
| | | • 친환경 농산물의 기능성 헨 드북 작성 | 40 % | ◦ 친환경 재배 작물의 항당노 및 항 지방간 효과 기능성 메뉴월 작 성 |
| 최종 평가 | | • 친환경 재배 작물의 생리 활성 지표 기능 검색 체계를 위한 다양한 실험 모델 확립 | 5 % | ◦ 친환경 재배 작물의 다양한 생리활 성 검사를 위한 실험 모델을 확립 |
| | | • 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 당노병성 신증 억제 효과 검색 | 40 % | ◦ 친환경 재배 작물의 물질의 당노 병성 신증 억제 효과 규명 및 우월성 검증 |
| | | • 친환경 재배 농산물 및 관행 재배 농산물의 비만성 당노(지방간) 예방 효과 검색 | 40 % | ◦ 친환경 재배 작물의 물질의 비만 성 당노 예방(지방간) 효과 우월 성 검증 |
| | | • 친환경 농산물의 기능성 헨 드북 작성 | 15 % | ◦ 친환경 재배 작물의 항당노 및 항 지방간 효과 기능성 메뉴월 작 성 |

2. 연구개발목표의 달성도

| 목 표 | 연구개발 수행내용 | 달 성 도(%) |
|---|--|----------|
| <ul style="list-style-type: none"> 친환경 재배 작물의 다양한 생리 활성 지표 기능 검색 체계를 위한 실험 모델 확립 | <ul style="list-style-type: none"> 신장 사구체 세포 배양법 확립 간세포 배양법 확립 지방 세포 배양법 확립 사구체 세포 (mesangial, podocyte) 배양법 확립 Proteomics 기법확립 IGF-I 분석법 확립 | 100% |
| <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 발병 억제 효과 검사 | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물 및 관행 농산물 처리 시 고포도당에 의한 신장세포 사멸 차단효과 효과 규명 친환경 농산물 및 관행 농산물 처리 시 고포도당에 의한 fibronectin 단백질 발현 억제 효과 규명 친환경 농산물 및 관행 농산물 처리 시 고포도당에 의한 당뇨병성 신증 매개 단백질 (Akt, ERK, p38 MAPK, JNK) 단백질 발현 억제 효과 규명 친환경 농산물의 당뇨병성 신증 억제 단백질 규명 | 100% |
| <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 물질 재흡수능 검사 | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물 및 관행 농산물의 Ca²⁺ 및 Pi 흡수 기능검사 실시 | 75% |
| <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 비만성 지방간 예방효과 | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물 및 관행 농산물 처리 시 지방산에 의한 간세포 사멸 예방효과 규명 친환경 농산물 및 관행 농산물 처리 시 간세포 사멸 단백질 발현 변화 규명 친환경 농산물 및 관행 농산물 처리 시 간세포에 지방 축적 예방 효과 규명 | 100% |
| <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 항비만 단백질 발현 검사 | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물 및 관행 농산물의 지방세포의 항비만 단백질 발현 | 75% |
| <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물의 당뇨신증 및 지방간 억제 관련 단백질 규명 | <ul style="list-style-type: none"> 친환경 농산물 및 관행 농산물의 당뇨 신증 및 지방간 억제 단백질 발굴 | 100% |

3. 관련분야의 기술발전 기여도

환경오염의 심화, 새로운 질병의 확산, 고령화 사회의 진입에 따라 한국인들의 건강과 행복 추구에 대한 관심이 지속적으로 증가할 것으로 판단이 되며 이에 따라 웰빙의 개념이 적극적으로 고려되고 있다. 지금 까지 추구해 오던 환경 친화적 이미지에 '건강'이라는 기능성 개념을 덧붙여 다양한 문화로 변화 가치를 추구하고 있는 실정이다. 지금까지 친환경 농산물에 대한 기능성 연구는 극히 미약하였다. 세계적으로 살펴 보면 유기 농산물에 의해 생리활성 증가가 되는 것으로 세계 여러 나라에서 보고되고 있다 (Rembalkowska, 2007). Hecke 등(2006)은 일반 관행재배에서 재배한 사과보다 유기농으로 재배한 사과에서 phenol 함량이 높다고 하여 본 연구과제의 기술의 중요성을 인식시켜주고 있다. Velimirov 등 (2010) 역시 확실한 건강 표지 지표의 부재로 인하여 인간에서 기능성 생리 활성에 대한 연구는 극히 미진한 현실이기 때문에 동물을 이용한 다양한 실험들이 선행되어야 한다고 피력하였다. 국내에서 최근 일부 연구자들에 의해서 기능성 유기농 친환경 농산물 및 식품 개발 등이 선보이고 있는 실정이다 (2010년 호서대학교 내추럴 초이스의 친환경, 유기농 농산물을 이용한 고기능성 프리미엄급 친환경 식품, 비타민 강화 쌀 및 리코펜 다량 함유 토마토 등). 따라서 친환경에 기능성 단어의 조합은 향후 친환경 농산물의 부가가치 형성에도 매우 큰 도움이 될 것으로 판단이 된다. 예를 들어 현재 기능성 쌀 시장 규모는 연간 150억~200억원 규모로 전문가들 중에는 2~3년 내에 1000억원대 시장으로 급성장할 것으로 내다보고 있다. 이러한 상황에 맞추어 유기농 및 친환경 작물의 기능성 획득에 도움을 줄 수 있으면, 친환경 농산물의 우수성 홍보로 국산 친환경 농산물 판매 증대를 유도할 수 있으며 농가의 고부가가치 창출에 기여할 수 있을 것으로 판단이 된다. 아울러 유기농 및 무농약 농산물의 기능성 확보를 통해 나아가 기능성 식품으로 등록이 가능하다고 할수 있겠다. 이러한 친환경 농산물의 기능적 우월성 검증의 확보는 보다 나은 친환경 농업정책 활성화 유도에 도움이 될것으로 판단이 된다.

제 5 절 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

가. 학술지 게재 논문 실적

| 연번 | 논문제목 | 게재학술지명 (약자) | 게재년도 | 권: 쪽수 | SCI 구분 | Impact Factor | 제1저자 | 교신저자 | 공동저자 | 외국인 공동저자 |
|----|---|-----------------------------------|---------|-----------------|--------|---------------|----------|----------|--|----------|
| 1 | Effects of Pear Extracts Cultured Under Conventional and Environment-friendly Conditions on Cell Proliferation in Rat Hepatocytes | J Kor Soc Appl Biol Chem | 2006.09 | 49(3) : 233-237 | KSCI | - | B C Yoon | S H Park | K Y Kim | |
| 2 | Comparative analysis of pepper extracts cultured in conventional and pesticide-free condition on cell viability in rat hepatocytes | Agricultural Science & Technology | 2006.12 | 41:1-7 | KSCI | - | S K Lim | S H Park | B C Yoon, K Y Kim | |
| 3 | Comparative analysis of agricultural products cultured in conventional and pesticide-free condition: An approach to diabetic nephropathy <i>in vitro</i> | Lab Anim Res | 2008.06 | 24(2):201-207 | KSCI | - | S H Park | S H Park | K Y Kim, R D Park | |
| 4 | Comparative Analysis of Strawberry Extracts Cultured in Conventional and Pesticide-Free Condition: Anti-diabetic Effect in Mesangial Cells | Lab Anim Res | 2008.09 | 24(3):387-394 | KSCI | - | M J Park | S H Park | SKLim,SYJeong,RD Park, H J Han | |
| 5 | The protective effect of ginseng saponin against high glucose-induced secretion of insulin-like growth factor(IGF)-I in primary cultured rabbit proximal tubule cells | J Ginseng Res | 2009.03 | 33(1):19-25 | KSCI | - | H K Jung | S H Park | SK Lim, M J Park, C S Bae, K C Yoon, H J Han | |

나. 학술대회 실적

| 연번 | 저자명 | 논문 제목 | 학술대회 명칭 | 학술대회개최기간 및 장소 | 발표형태 |
|----|-------------------------|--|---|------------------------|------|
| 1 | 박수현, 김동일, 이성진, 김길용 | 간세포의 세포 생존율에 미치는 친환경 고추 및 관행재배 고추의 효과에 대한 비교분석 | The 89th International Symposium of the KSABC | 2006.04.21 전남대학교 | 포스터 |
| 2 | 김동일, 이성진, 김길용, 박수현 | 친환경배 및 관행재배가 간세포 성장에 미치는 효과. | The 89th International Symposium of the KSABC | 2006.04.21 전남대학교 | 포스터 |
| 3 | 박민정, 임슬기, 이성진 | Preventive effects of peppers cultivated in pesticide-free condition in the <i>in vitro</i> model of diabetic nephropathy | 한국응용생명화학회 춘계학술대회 | 2008.05.16 건국대학교 | 포스터 |
| 4 | 박민정, 임슬기, 이성진 | Comparative analysis of strawberry extracts cultivated in pesticide-free condition and conventional condition in the anti-diabetic effect in primary cultured rat mesangial cells. | 한국응용생명화학회 춘계학술대회 | 2008.05.16 건국대학교 | 포스터 |
| 5 | 임슬기, 박민정, 임제정, 정우진, 박노동 | Anti-lipotoxicity activity of <i>Chrysanthemum coronarium</i> L. var. <i>spatosum</i> extracts cultured in conventional and pesticide-free condition in rat hepatocytes | the 66th KSBMB Annual Meeting 2009 | 2009.05.12-13 서울코엑스 | 포스터 |

다. 홍보실적

| 연번 | 홍보일자 | 홍보유형 | 매체명 | 제목 | 홍보내용 |
|----|------------|------------|-------------------|--------------------------|--|
| 1 | 2006.03.20 | 지방방송 및 일간지 | 식품환경신문, 뉴시스 | 기린재배 무농약 배"간세포 성장 촉진"입증 | 관행재배 배 추출물에 비해 무농약 재배 (기린배 배) 추출물을 간세포에 처리시 간세포 IGF-1, ATP 합성 및 세포성장 등이 더욱 증가하였음 |
| 2 | 2007.04.17 | 일간지 | 뉴시스, 불교방송, 전남대 웰전 | 무농약 딸기 "당뇨병 신증 억제 효과" 입증 | 친환경농업 연구사업단의 매뉴얼대로 재배된 무농약 딸기와 시설하우스에서 재배한 일반딸기를 대상으로 당뇨병 신증 억제 효과에 대한 실험을 실시 무농약으로 재배된 딸기가 당뇨병 신증을 억제하는데 탁월한 효과가 있는 것으로 확인됐다. |
| 3 | 2007.04.29 | 방송 | YTN | 친환경딸기"당뇨병신증억제효과" | 친환경농업 연구사업단의 매뉴얼대로 재배된 무농약 딸기와 시설하우스에서 재배한 일반딸기를 대상으로 당뇨병 신증 억제 효과에 대한 실험을 실시 무농약으로 재배된 딸기가 당뇨병 신증을 억제하는데 탁월한 효과가 있는 것으로 확인됐다. |

| | | | | | |
|---|------------|-------|--------|----------------------|----------------------------------|
| 4 | 2009.05.06 | | 이비뉴스 | 담양 '쑥미나리 딸기' 당뇨신증 예방 | 담양 '쑥미나리 딸기' 당뇨신증 예방 |
| 5 | 2009.05.06 | 지방일간지 | 매일리안 | 담양 '쑥미나리 딸기' 당뇨신증 예방 | 담양 '쑥미나리 딸기' 당뇨신증 예방 |
| 6 | 2009.05.07 | 지방일간지 | 광남일보 | 유기농 쑥미나리 딸기 재배 성공 | 유기농 쑥미나리 딸기 재배 성공 |
| 7 | 2009.05.08 | 지방일간지 | 광주배일신문 | 유기농 '쑥미나리 딸기' 나왔다 | 유기농 '쑥미나리 딸기' 재배 성공 -당뇨신증 예방에 효과 |

라. 교육실적

| 연번 | 교육일자 | 교육명 | 교재명 | 장소 | 참석대상 (인원:명) | 주요내용 | 기대효과 |
|----|------------|------------------------|-------------------|------------------|------------------------|---|---------------------------------|
| 1 | 2009.04.09 | 친환경 농업사업단 우수 기술 발표회 | 친환경 농산물 과 대사질환 | 전남대 특성 화 센터강당 | 친환경관련전문가 및농가 (100명) | 친환경 농산물의 대사질환 억제 기능 효과 분석 결과 고찰 및 방향성 모색 | 친환경 농산물 고부가가치 창출 및 친환경 정책 홍보 |

마. 인력양성

| 연번 | 인력양성연도 (졸업연도) | 인력양성내용 | 성명 | 학위 |
|----|------------------|---------------------------|-----|----|
| 1 | 2010 | 친환경농산물의 당뇨병성 비만증 억제 효과 검사 | 고아라 | 박사 |
| 2 | 2010 | 친환경농산물의 당뇨병성 비만증 억제 효과 검사 | 송진호 | 박사 |
| 3 | 2010 | 친환경농산물의 당뇨병성 비만증 억제 효과 검사 | 윤수정 | 박사 |

2. 성과활용계획

향후 무농약 및 유기농 작물의 기능성 연구에 대한 기초자료를 제공할 수 있을것으로 판단이 됨. 특히 현대사회에서 식생활과 가장 밀접한 관련이 있는 질환인 당뇨와 지방간 등의 대사성 중후군 연구에 큰 도움이 될 것으로 판단이 된다.

가. 실용화·산업화 계획(기술실시 등)

향후 본 사업단의 메뉴월에 의한 작물의 재배 이력 확립시 이들 친환경 재배 기능성 강화 식품 개발등에 활용할수 있을것으로 판단이 된다.

나. 교육·지도·홍보 등 기술확산 계획 등

친환경 농산물의 기능성 강화에 대한 홍보 등을 통해 향후 친환경 재배 농산물의 소비 촉진 및 친환경 농업정책 추진에 이바지 할 것으로 판단이 된다.

다. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등

친환경 농산물의 기능성에 대한 논문 투고 및 발표 등을 계획

- 친환경 고추의 capsaicin 함량에 의한 항 당뇨 신증 효과
- 친환경 고추의 지방간 예방 및 단백질 발현 변화

제 6 절 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 최근 유기농으로 부터의 농산물의 질적 개선에 의해 생리활성 증가가 되는 것으로 세계 여러 나라에서 보고되고 있다 (Rembalkowska, 2007).
2. Charles 등 (2002)은 유기농재배에서 추출한 농작물이 관행재배 농작물에 의해서 추출한 농작물보다 독성이 작은 것으로 보고하였다.
3. Hecke 등(2006)은 일반 관행재배에서 재배한 사과보다 유기농으로 재배한 사과에서 phenol 함량이 높다고 하였다.
4. Corrles 등 (2010)은 포도 껍질을 추출하여 실험하여본 결과 catechin 및 epicatechin 함량이 관행 재배 군이 유기농군에 비해 높았으며 quercetin 및 kaempferol의 양은 유기농 재배 군에서 높았다고 하였다.
5. Velimirov 등 (2010) 역시 확실한 건강 표지 지표의 부재로 인하여 인간에서 기능성 생리활성에 대한 연구는 극히 미진한 현실이기 때문에 동물을 이용한 다양한 실험들이 선행되어야 한다고 피력하였다.

제 7 절 참고문헌

- Charles GD, Linscombe VA, Tornesi B, Mattsson JL, Gollapudi BB (2002) An in vitro screening paradigm for extracts of whole foods for detection of potential toxicants. *Food Chem Toxicol.* 40(10): 1391-402.
- Corrales M, Fernandez A, Vizoso Pinto MG, Butz P, Franz CM, Schuele E, Tauscher B (2010) Characterization of phenolic content, in vitro biological activity, and pesticide loads of extracts from white grape skins from organic and conventional cultivars. *Food Chem Toxicol.* (in press)
- Curthoys NP, Watford M (1995) Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annu Rev Nutr.* 15:133-59.
- de Alwis NM, Day CP (2008) Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears. *J Hepatol.* 48: S104-12.
- Hajer GR, van Haefen TW, Visseren FL (2008) Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J.* 29(24): 2959-71.
- Hecke K, Herbinger K, Veberic R, Trobec M, Toplak H, Stampar F, Keppel H, Grill D (2006) Sugar-, acid- and phenol contents in apple cultivars from organic and integrated fruit cultivation. *Eur J Clin Nutr.* 60(9): 1136-40.
- Joshi-Barve S, Barve SS, Amancherla K, Gobejishvili L, Hill D, Cave M, Hote P, McClain CJ (2007) Palmitic acid induces production of proinflammatory cytokine interleukin-8 from hepatocytes. *Hepatology.* 46(3): 823-30.
- Kattla JJ, Carew RM, Heljic M, Godson C, Brazil DP (2008) Protein kinase B/Akt activity is involved in renal TGF-beta1-driven epithelial-mesenchymal transition in vitro and in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol.* 295(1): F215-25
- Lee M, Yu S, Park JS (2000) Characterization of a nuclear factor that binds to AP1-like element in the rat p53 promoter during liver regeneration. *J. Cell Biochem.* 80(1):124-32.
- Marsillach J, Ferre N, Camps J, Rull A, Beltran R, Joven J. (2008) Changes in the expression of genes related to apoptosis and fibrosis pathways in CCl4-treated rats. *Mol Cell Biochem.* 308(1-2): 101-9
- Picken MM (2009) The role of mesangial homeostasis in glomerular injury progression: hope for mesangial sclerosis reversal. *Kidney Int.* 75(6):574-6
- Rembialkowska E (2007) Quality of plant products from organic agriculture. *J. Sci. Food Agri.* 87: 2757-2762.
- Velimirov A, Huber M, Lauridsen C, Rembiałkowska E, Seidel K, Bugel S (2010) Feeding trials in organic food quality and health research. *J Sci Food Agric.* 90(2): 175-82.
- Wang M, Gu J, Wang Y, Gong B (2009) Loss of WWOX expression in human extrahepatic cholangiocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 135(1): 39-44.
- Watanabe S, Yaginuma R, Ikejima K, Miyazaki A (2008) Liver diseases and metabolic syndrome. *J Gastroenterol.* 43(7): 509-18

- Yuan J, Liu L, Shimada M, Wang A, Ruhnke M, Heeckt P, Muller AR, Nussler NC, Neuhaus P, Nussler A (2004) Induction, expression and maintenance of cytochrome P450 isoforms in long-term cultures of primary human hepatocytes. ALTEX. 2004;21 Suppl 3:3-11.
- Yuen MF, Lau CS, Lau YL, Wong WM, Cheng CC, Lai CL (1999) Mannose binding lectin gene mutations are associated with progression of liver disease in chronic hepatitis B infection. 29(4): 1248-51.
- Ziyadeh FN, Wolf G (2008) Pathogenesis of the podocytopathy and proteinuria in diabetic glomerulopathy. Curr Diabetes Rev. 4(1): 39-45.

제 3 장 친환경 농산물의 생리활성분석 - 면역조절기능성 연구 [2-3]

제 3 장 친환경 농산물의 생리활성분석 - 면역조절기능성 연구 [2-3]

요 약 문

I. 제 목 : 친환경 농산물의 생리활성분석 -면역조절기능성 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

안전성과 좋은 맛이 확보되고 기능성이 증가된 친환경 농산물이 각광받고 있으나, 친환경 농산물이 관행 재배 농산물과 비교하여 생체 활성의 기능적 우수성과 생리활성 증진 작용을 나타내는지에 대하여는 심도 있는 연구가 필요하다. 유기농 식품의 산업규모는 계속 확대될 추세이므로 이들의 영양 및 건강 기능적 측면은 더욱 부각될 것으로 전망하고 있어, 이에 대한 연구가 시급히 요청되고 있다. 본 연구에서는 친환경 농산물의 면역 조절 작용을 다양한 각도에서 규명하고 세포 분자적 수준에서 이해하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

친환경 농산물의 *in vitro* 면역 조절 기능 분석하기 위해서 대식 세포주인 Raw 264.7 세포, 호염구성 비만세포인 RBL-2H3 세포와 EL-4 T 세포 배양 시스템을 이용하여서 친환경 농산물과 관행법으로 재배된 농산물의 염증성 매개 물질과 사이토카인 생성에 미치는 영향을 비교 분석하였으며 친환경 농산물의 *in vivo* 및 *ex vivo* 면역조절 기능 분석하기 위하여 친환경 농산물을 생쥐에게 경구투여하고 피어스판을 분리한 뒤 피어스판의 면역세포 활성화와 사이토카인 생성에 미치는 효과를 비교 분석함으로써 친환경 농산물의 Th1 면역 반응과 Th2 면역 반응에 미치는 영향을 분석 하였다.

IV. 연구개발결과

- ▶친환경법에 의해 재배된 고추 추출물은 LPS로 활성화된 Raw 264.7 세포에서 NO의 형성을 유의적으로 감소시킬 수 있었으며 이러한 작용은 관행군에 비하여 우수한 것으로 확인 하였으며, 운광벼 추출물이 NO의 생성을 약간 감소시킬 수 있다는 것을 확인하였다.
- ▶친환경법에 의해 재배된 고추 추출물은 PI로 활성화된 RBL-2H3 세포에서 발현되는 Th2 사이토카인인 IL-4 및 IL-13의 생성을 유의적으로 감소시켰으며 관행군에 비하여 우수한 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다. 호평벼, 운광벼, 삭갓 추출물은 RBL-2H3 세포에서 발현되는 Th2 사이토카인인 IL-4 및 IL-13의 생성에 어떠한 효과도 나타내지 않았다.
- ▶호평벼, 운광벼, 삭갓 추출물은 PI로 활성화된 EL-4 T세포에서 발현되는 Th2 사이토카인인 IL-4의 생성을 감소시켰으며 처리군은 관행군에 비하여 우수한 효과를 나타낸다는 것을 확인하였고, 상추 관행군은 PI로 활성화된 T세포에서 발현되는 사이토카인인 IL-2의 생성을 유의적으로 증가시켰으며 삭갓 처리군에서는 IL-2의 생성이 감소하는 효과가 나타났다.

- ▶친환경법에 의하여 재배된 고추 추출물을 생쥐에 경구 투여하여 피어스판 면역세포 활성을 분석한 결과, 관행법에 의해 재배된 고추 추출물을 투여한 대조군에 비하여 Con A로 활성화된 피어스판 면역세포의 IL-2와 IFN- γ 생성이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 또한 CD3와 CD19+ 세포의 수를 증가시켰으며 IL-2+/CD4+ T 세포가 증가하는 것을 확인하였다.
- ▶친환경법에 의하여 재배된 고추 추출물의 피어스판 면역 세포 활성화를 증강 시키는 물질을 규명하기 위하여 추출물의 성분을 HPLC로 분석한 결과 특정 피크가 유의적으로 증가한 것을 발견하였으며, 이를 분리하여 생쥐에 경구 투여하였을 때 Con A로 활성화된 피어스판 면역세포의 IL-2와 IFN- γ 생성이 유의적으로 증가하는 것을 확인한 바, 친환경법에 의하여 생성량이 증가되어 면역 활성을 증강시키는 물질로 판단하고 EF-1 이라 명명하였으며 구조 분석 중에 있다.

V. 연구개발 성과 및 성과 활용 계획

1. 연구성과

| 논문게재 | | 학술 발표 | 특허 (출원 /등록) | 영농 활용 | 시책 건의 | 기술 이전 | 유전 자원 등록 | 교육 지도 | 산업화 | 국제 협력 | 홍보 | 인력 양성 | 성과물 제작 |
|------|--------|-------|-------------|-------|-------|-------|----------|-------|-----|-------|----|-------|--------|
| 국내 | SCI(E) | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 1 | 4 | (1/0) | | | | | | | | | 2 | |

2. 활용계획

친환경 농산물의 면역 조절 기능성 규명으로 국민 건강에 기여하고, 친환경 농산물의 면역 조절 기능성 규명으로 농가 수입 증대에 기여 할 것이며 연구 과정을 통하여 우수 인재 양성

VI. Summary

Title : Analysis of biological activity of environmental-friendly agriculture materials - Evaluation of immune-modulating activities

To examine whether environmentally friendly cultivated crops (EFC) provide greater beneficial effects on immune functions than conventionally cultivated crops (CCC), we compared the immune modulating activities between the two groups by using both the *in vitro* and the *in vivo* (*ex vivo*) experimental systems. environmentally friendly cultivated capsicum (EFCC) showed significant lowering effects on the production of IL-4 and IL-13 in PMA-ionomycin activated RBL-2H3 cells, a basophilic mast cell line, which was more potent than capsicum cultured by the conventional method (CCCC). In activated T cells, environmentally friendly cultivated Hopyong, Woonkwang and crown daisy reduced the production of IL-4, while lettuce significantly increased IL-2 production, and their effects were more potent than crops cultivated by the conventional method. To evaluate the *in vivo* effects for immune cell activation of EFCC, we examined the production of cytokines

and immune cell activation in murine peyer's patches (PP) after oral administration with capsicum extracts. The levels of cytokines including IL-2 and IFN- γ were dramatically increased in the cells from mice treated with EFCC. Data from FACS analysis indicated that EFCC significantly increased the CD3 positive and CD19 positive cells in PPs. Furthermore, the percentages of IL-2⁺/CD4⁺Tcells were significantly increased in the EFCC treated group. HPLC analysis revealed that the specific peak at 405 nm was increased by 4-5folds in the extract from ECCC compared with that of CCCC. Oral administration of the isolated compound (EF-1) from the peak showed the same effects as demonstrated in EFCC treated mice, indicating EF-1 might be an active compound. The production of IL-2 and IFN- γ as well as the percentages of IL-2⁺/CD4⁺cells in peyer's patches were significantly increased compared with the control. Our data suggested that EFC has immunomodulating activities and greater beneficial effects on immune cell activation as compared with CCC.

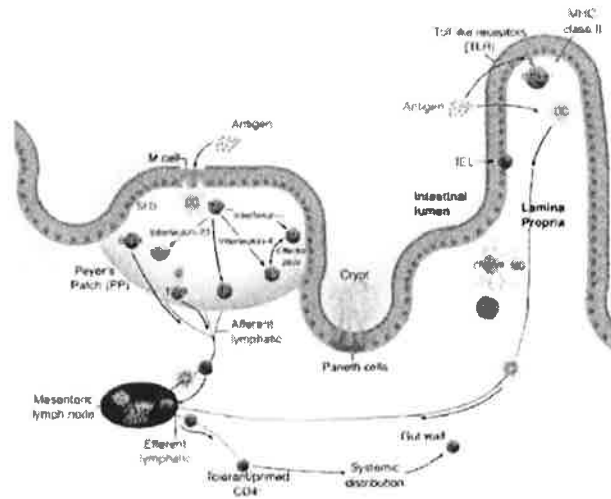
목 차

| | | |
|-------|--|----|
| 제 1 절 | 연구개발과제의 개요 | 1 |
| 1. | 연구개발의 목적 및 필요성 | 1 |
| 2. | 연차별 연구목표 | 2 |
| 3. | 연구내용 추진전략 | 2 |
| 제 2 절 | 국내의 기술개발 현황 | 4 |
| 1. | 국내 기술개발 현황 | 4 |
| 2. | 국외 기술개발 현황 | 5 |
| 제 3 절 | 연구개발 수행 내용 및 결과 | 6 |
| 1. | 친환경 농산물 기능성 평가 | 6 |
| 가. | 연구수행방법 | 6 |
| 나. | 연구수행결과 | 6 |
| (1) | 친환경 농산물 추출물의 제조 | 6 |
| (2) | 친환경 농산물 추출물이 cell Viability에 미치는 효과 | 7 |
| (3) | 친환경 농산물 추출물이 대식세포의 염증성 면역 반응에 미치는 효과 | 9 |
| (4) | 친환경 농산물이 면역세포들의 사이토카인 생성에 미치는 영향 | 12 |
| (5) | 친환경 고추 추출물의 경구 투여가 피어스판의 면역세포 활성화에 미치는 효과 | 15 |
| (6) | 친환경 고추 추출물 경구 투여에 의한 피어스판 면역세포군에 미치는 효과 | 17 |
| (7) | 친환경 고추 추출물 경구 투여에 의한 피어스판에서 사이토카인 생성 세포 규명 | 19 |
| (8) | 친환경 재배법에 의해 증가된 면역 활성 물질의 규명 | 22 |
| (9) | 분리된 화합물인 EF-1의 경구 투여가 피어스판의 면역세포 활성화에 미치는 효과 | 24 |
| (10) | 고추씨에 존재하는 리놀렌산이 전사인자에 미치는 영향 | 26 |
| 제 4 절 | 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 | 28 |
| 1. | 평가의 착안점 및 기준 | 28 |
| 2. | 연구개발목표의 달성도 | 29 |
| 제 5 절 | 연구개발 성과 및 성과활용 계획 | 30 |
| 제 6 절 | 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 | 31 |
| 제 7 절 | 참고문헌 | 33 |

제 1 절 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적 및 필요성

- 가. 안전성과 좋은 맛이 확보되고 기능성이 증가된 친환경 농산물이 각광받고 있으나, 친환경 농산물이 관행 재배 농산물과 비교하여 생체 활성의 기능적 우수성과 생리활성 증진 작용을 나타내는지에 대하여는 심도 있는 연구가 필요하다.
- 나. 인체의 면역체계는 병원성 감염원과 독소에 대하여 인체를 보호하는 장막으로서 외부 항원을 제거하기 위한 체계일 뿐 아니라 자가 항원에 대한 관용을 나타내는 체계이며, 면역체계의 기능이 저하되거나 과도하게 활성화되면 항상성을 잃고 다양한 질환이 발생 할 수 있다.
- 다. 면역 체계는 크게 2가지로 나누어지는데 선천성 면역계(innate immune system)와 특이적 면역계(specific immune system)이다. 이들 체계는 모두 골수로부터 유래한 면역 세포들이 기능을 나타내는 체계이며 다양한 면역 세포들은 혈액, thymus, 비장, 임파절, 임파기관, 장관임파절 (gut-associated lymphoid tissue)등에 퍼져서 활동한다.
- 라. 선천성 면역은 감염원에 대항하는 초기 방어체계로서 과립구 (granulocytes), 단핵구(monocytes), 대식세포(macrophage)와 같은 식작용 (phagocytosis)을 나타내는 세포가 담당한다. 특정 감염원을 인지하는 것이 아니라 감염원에 일반적인 특징을 인지하여 대식작용을 하거나 superoxide radicals나 hydrogen peroxide와 같은 독성 물질을 분비하여 감염원을 파괴한다. 자연살해(natural killer)세포 또한 세포독성단백질을 분비하여 침입한 감염원을 제거 할 수 있다.
- 마. 특이적 면역 체계는 임파구에 의해서 수행된다. 이들은 특정 단일 항원에 대한 수용체를 지녀서 특정 항원을 제거하는 능력이 있으며, 면역학적 기억을 가지고 있어 다시 같은 항원에 노출되었을 때 이를 효과적으로 제거 할 수 있다. 세균과 같은 수용성 항원에 대해서는 B세포가 항체를 만들어서 항원을 제거하게 되는데 우리는 이 면역계를 체액성 면역(humoral immunity)라 하며, 바이러스에 감염된 세포는 세포독성 T 세포(cytotoxic T cells)에 의해서 제거되어야만 하는데, 세포성 면역계 (cellular immunity)가 이를 담당한다. 세포성 면역계와 체액성 면역계는 각각 Th1 보조세포와 Th2 보조세포에 의해 분비되는 사이토카인들에 의해 조절된다. IL-2, IFN-g, IL-12는 대표적인 Th1 사이토카인으로 대식세포, 자연살해세포, 세포독성 T 세포를 활성화시킨다. 반면에 IL-4와 IL-5와 같은 Th2 사이토카인은 항체 형성과 비만세포 (mast-cell)나 중성구와 같은 염증세포를 활성화시킴으로서 해충(helminth)에 대항하게 한다. 최근에는 다른 두 종의 조절 T 세포 (regulatory T cell) subset이 발견되었는데 IL-10을 분비하는 세포와 IL-17을 분비하는 세포로서 이들이 immune response를 조절하거나 염증반응을 억제하는 작용이 있음이 알려지고 있다.
- 바. 우리의 연구 대상인 친환경 농산물은 인체에 경구로 투여하게 되어 장관에 존재하는 임파구의 면역 세포들과 만나게 되고 수용성 성분은 혈액으로 흡수된다. 장관의 면역 체계에 대한 최신 연구 결과는 다음과 같은 면역 체계의 존재를 보여주고 있다.



[그림 1] 장관의 면역 체계

사. 친환경 농산물인 고추와 쌈채류의 추출물 및 이들이 함유하고 있는 기능성 물질들의 다양한 면역 조절 작용에 대한 이해는 부족하다. 본 연구에서는 친환경 농산물의 면역 조절 작용을 다양한 각도에서 규명하고 세포 분자적 수준에서 이해하고자 한다.

2. 연차별 연구 목표

친환경 농산물의 면역세포 활성화 작용, 염증성 면역 반응 제어 작용, Th1/Th2 면역 반응에 미치는 영향을 *in vitro*와 *in vivo*에서 조사 분석하고, 그 작용의 메커니즘을 연구하여 면역조절 기능성을 과학적으로 규명한다.

가. 3년차 :

- 친환경 농산물 추출물의 면역세포 활성화 작용 분석
- 친환경 농산물 추출물의 면역세포 염증반응 제어 작용 분석
- 친환경 농산물 추출물의 Th1/Th2 면역 활성 조절능 분석

나. 4년차 :

- 친환경 농산물(고추 및 쌈채)의 면역세포 염증반응 제어 작용 분석
- 친환경 농산물(고추 및 쌈채)의 Th1/Th2 면역 활성 조절능 분석

다. 5년차 :

- 세포신호전달물질 활성화 조절 메커니즘 연구
- 전사조절인자 활성화 조절 메커니즘 연구
- 면역 활성 또는 저하 동물 모델에서 나타내는 면역 조절 메커니즘 연구

3. 연구내용 추진전략

가. 관행의 방법과 친환경 방법으로 재배한 친환경 농산물을 수확, 건조한 후, 추출물을 제조한다.

나. 면역 조절능의 평가 체계는 *in vitro*와 *in vivo* 체계를 이용한다.

다. *in vitro* 연구 체계는 대식세포주 (Raw 264.7)와 호염기구 세포주 (RBL-2H3) 를 이용한 세포 배양 시스템으로 추출물 처리에 의하여 염증성 물질(NO, PGE2, LTBs)과 사이토카인 발

- 현(TNF-a, IL-6, IFN-g, IL-4 및 IL-13) 양상의 변화를 조사한다.
- 라. *in vivo* 연구 체계는 생쥐에 고추 추출물을 경구로 투여한 뒤 파이어스 패치 및 비장의면역 세포에서의 사이토카인 발현 변화 양상을 분석한다.

제 2 절 국내외 기술개발 현황

1. 국내 기술 개발 현황

가. 연구 제목 : 친환경농산물의 성분함량 및 품질상의 차별성 연구(한국식품연구원)

연구 내용 및 결과 : 국내에서 생산되는 친환경농산물(유기농) 중 다빈도 농산물인 쌀, 감귤, 케일, 신선초, 상추, 파 등 주요품목을 대상으로 생리활성물질, 항영양소, 폴리페놀화합물, 플라라 보노이드, 항산화 물질들을 일반농산물과 비교 분석함으로써 차별성 연구연구 결과 : 연구결과를 종합해 보면, 쌀, 감귤, 케일, 상추, 신선초 그리고 파의 경우, 전반적으로 유기농으로 재배된 농산물에 함유된 생리활성물질, 항영양소, 폴리페놀화합물, 플라보노이드, 항산화제 등의 함량이 풍부함을 알 수 있었다. 따라서 농약살포 및 화학비료를 시비한 일반관행 재배한 곡류나 야채에 비해 유기농으로 재배된 곡류 및 야채들에서 각종 무기물 및 비타민 함량이 상대적으로 높게 측정되어 일반 소비자들이 비싼 가격에도 불구하고 유기농 곡류 및 야채를 선택하는 것이 영양학적으로 기능성적으로 볼 때 충분한 설득력이 있을 것으로 생각된다. (2006. 11. 7. 농림부 연구 과제 최종 보고서)

나. 연구 제목 : 참덕거리에 대한 지역사회접근

연구 내용 및 결과 : 우리나라의 먹거리 사정은 매우 열악하다. 우리가 먹는 먹거리의 대부분을 외국농산물에 의존하고 있다. 우리나라에서 생산된 농산물 그리고 외국에서 수입한 농산물의 대부분이 이른바 화학 농법으로 재배된 것이다. 따라서 우리가 먹는 먹거리 대부분은 우리의 건강, 환경, 사회관계 등에 좋지 않은 영향을 미치고 있다. 우리나라에서도 참덕거리 생산을 위한 친환경 농업이 행해지고 있지만, 아직은 그 비중이 매우 낮다. 친환경 농업에 종사하는 농민들은 생산부터 판매에 이르기까지 많은 어려움을 겪고 있다. 참덕거리는 먹는 사람에게도 좋지만, 생산자, 그리고, 지역사회에도 좋은 결과를 가져온다. 참덕거리를 안정적으로 확보하기 위해서는 산업형 농업이 아니라 생산자와 소비자가 함께하는 농업, 세계 식량체계가 아닌 지역 식량체계가 자리해야 한다. 참덕거리의 안정적 확보를 위해 우리나라에서도 지역식량체계에 대한 본격적인 논의와 검토가 이루어져야 할 것이다. (한국지역사회생활과학회지. 15(4): 165-175, 2004)

다. 연구 제목 : 친환경 배 및 관행재배 배 추출물이 간세포 성장에 미치는 효과

연구 내용 및 결과 : Sprague-Dawley 랫트(실험용 쥐)에서 간을 적출하여 Collagen coating 된 세포 배양 접시에 간세포 배양을 하여 친환경 재배 배 추출물과 일반 관행 재배 배 추출물의 간세포 기능성을 분석하였다. 3일간 적응 시킨 후 관행 재배배 추출물과 친환경 재배 배 추출물을 농도 별(동결 건조된 5 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml) 처리하여 간세포의 에너지원인 ATP assay를 실시한 결과 관행 재배 배 추출물의 경우는 대조군과 유의한 차이는 인정이 되지 않았으나 친환경 재배 배 추출물의 경우 농도 의존적으로 정상군에 비해 180%까지 증가하는 것으로 나타났다. 한편 세포 성장의 경우도 DNA의 특유 염기 구성성분중의 하나인 thymine의 전구체인 [3H]-thymidine을 간세포에 처리하여 DNA 합성을 알아본 결과 친환경 재배 배추출물을 농도별로 처리하였을 때 관행재배 배 추출물에 비해 간세포의 세포 성장율이 증가하는 것으로 나타났다(40 µg/ml 투여 시 관행 재배 배 추출물 112% vs.친환경 재배 배 추출물은 234%; p < 0.05). 아울러 세포성장 단백질인

CDK-2,CDK-4의 경우도 친환경 배추출물 처리 시 현저하게 증가하는 것으로 나타났으며 세포성장 억제 단백질인 p21WAF1/Cip1 및 p27 Kip1의 경우는 억제시키는 것으로 나타났다. (J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 49(3): 233-237, 2006)

2. 국외 기술 개발 현황

가. 연구 제목 : Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables, and grains.

나. 연구 내용 및 결과 : OBJECTIVES - To survey existing literature comparing nutrient content of organic and conventional crops using statistical methods to identify significant differences and trends in the data. DESIGN: Published comparative measurements of organic and conventional nutrient content were entered into a database for calculation. For each organic-to-conventional comparison, a percent difference was calculated: $(\text{organic} - \text{conventional}) / \text{conventional} \times 100$. For nutrients where there was adequate data, the Wilcoxon signed-rank test was used to identify significant differences in nutrient content as represented by the percent difference. Mean percent difference values were also calculated for each significant nutrient by study and by vegetable for the most frequently studied vegetables. The nutrient content of the daily vegetable intake was calculated for both an organic and conventional diet. RESULTS: Organic crops contained significantly more vitamin C, iron, magnesium, and phosphorus and significantly less nitrates than conventional crops. There were nonsignificant trends showing less protein but of a better quality and a higher content of nutritionally significant minerals with lower amounts of some heavy metals in organic crops compared to conventional ones.

▶ 위와 같이 연구결과를 종합해 보면, 유기농의 과실류, 곡류 및 채소류 등과 같은 식품의 산업규모는 계속 확대될 추세이므로 이들의 영양 및 건강 기능적 측면은 더욱 부각될 것으로 전망하고 있어, 이에 대한 연구가 시급히 요청되고 있음.

제 3 절 연구개발수행 내용 및 결과

1. 연구개발수행 방법

| 연구범위 | 연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법) | 구체적인 내용 |
|---|--|--|
| 친환경 농산물 (고추 2종 및 쌈채)의 면역세포 염증반응 제어 작용 분석 | 세포에 독성을 나타내지 않는 농도를 MTT 방법으로 설정하여 LPS 등으로 활성화된 Raw 264.7 세포에서는 TNF- α 와 IL-6와 같은 염증성 사이토카인 (proinflammatory cytokines), NO, 프로스타글란딘(PGEs)과 같은 염증성 매개 물질의 분비를 억제하는지를 ELISA 방법으로 조사한다. | LPS 등으로 활성화된 Raw 264.7 세포에서는 TNF- α 와 IL-6와 같은 염증성 사이토카인 (proinflammatory cytokines), NO, 프로스타글란딘(PGEs)과 같은 염증성 매개 물질의 분비를 억제하는지를 조사한다. |
| 친환경 농산물 (고추 2종 및 쌈채)의 Th1과 Th2 면역 활성 조절능 분석 | - C57BL/6J 생쥐에 연속 4일 동안 다양한 용량의 농산물 유효성분을 각 그룹의 생쥐에 경구로 투여하고 소장의 Peyer's patch로부터 임파구를 분리하여 배양하면서 ConA를 처리하여 72시간 후에 IL-2와 IFN- γ 와 같은 Th1 사이토카인 및 IL-4, IL-13 과 같은 Th2 사이토카인의 생산이 대조군과 비교하여 어떤 변화를 나타내는지 ELISA 방법으로 측정하고 면역세포 구성 변화를 FACs로 분석한다. (T 세포 특이적 마커를 이용) | - 생쥐에 연속 4일 동안 다양한 용량의 농산물 유효성분을 각 그룹의 생쥐에 경구로 투여하고 소장의 Peyer's patch로부터 임파구를 분리하여 배양하면서 ConA를 처리하여 72시간 후에 IL-2와 IFN- γ 와 같은 Th1 사이토카인 및 IL-4, IL-13 과 같은 Th2 사이토카인의 생산이 대조군과 비교하여 어떤 변화를 나타내는지 측정하고 면역세포 구성 변화를 분석한다. |
| chlorophyll (고추 추출물 처리군에서 분리)의 면역세포 활성 조절능 분석 | - C57BL/6J 생쥐에 연속 4일 동안 처리군 고추 추출물에서 분리한 EF-1을 각 그룹의 생쥐에 경구로 투여하고 소장의 Peyer's patch로부터 임파구를 분리하여 배양하면서 ConA를 처리하여 72시간 후에 IL-2와 IFN- γ 와 같은 Th1 사이토카인 생산이 대조군과 비교하여 어떤 변화를 나타내는지 ELISA 방법으로 측정한다. | - 생쥐에 연속 4일 동안 처리군 고추 추출물에서 분리한 EF-1을 각 그룹의 생쥐에 경구로 투여하고 소장의 Peyer's patch로부터 임파구를 분리하여 배양하면서 ConA를 처리하여 72시간 후에 IL-2와 IFN- γ 와 같은 Th1 사이토카인 생산이 대조군과 비교하여 어떤 변화를 나타내는지 측정한다. |

2. 연구개발수행 결과

가. 친환경 농산물 추출물의 제조

(1) 고추 추출물의 제조

사업단으로부터 제공 받은 고추를 이용하여 약전의 추출법에 의거 하여 추출물을 제조하였다. 삼각 플라스크에 고추 7 g에 80% 에탄올 150 ml을 가하고 밀봉한 다음 때때로 흔들면서 2일간 상온에서 침출하고 면포로 여과한 다음, 다시 잔류물에 80% 에탄올 150 ml을 가하여 흔들면서 상온에서 1일간 더 추출하였다. 모든 여액을 합하여 60-80℃에서 감압 농축하고 건조

엑스를 얻었으며 10 mg을 1 ml의 에탄올이나 DMSO에 녹여 -20℃에 보관하였다. Table 1 은 추출 횟수와 수득률을 정리한 것이다.

[Table 1] The yield of capsicum extraction

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 80602 | 80616 | 80707 | 80714 | 80721 | 80805 |
| 관행군 | 8g | 8g | 7g | 7g | 4g | 7g |
| 처리군 | 7g | 7g | 7g | 7g | 4g | 7g |
| 수득률 | 14.3% | 14.3% | 14.3% | 14.3% | 14.3% | 14.3% |

(2) 쌈채 추출물의 제조

사업단으로부터 제공 받은 썩갯, 상추, 호핑벼 미강, 호품벼 미강, 운광벼 미강을 환류추출법으로 각각의 샘플을 추출하였다. 등근 플라스크에 상추 2g에 50% 에탄올 200ml을 가하여 충분히 젖도록 한 다음 환류추출장치에 걸고 80℃에서 2시간 동안추출한 후 면포로 여과하였다. 나머지 샘플 또한 기본적인 추출방법은 동일하며 상추는 2g, 호핑벼 미강, 호품벼 미강, 운광벼 미강은 21g을 각각의 등근 플라스크에 넣고 환류추출을 하였다. 여과한 액을 60 ℃에서 감압 농축하고 연조 엑스를 얻었으며 10mg을 1ml의 에탄올이나 DMSO에 녹여 -20℃에 보관하였다. Table 2는 수득률을 정리한 것이다.

[Table 2] The yield of environmentally friendly cultivated crop extracts

| | | 호핑벼 | 상추 | 썩갯 | 호핑벼 | 운광벼 |
|---------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|
| | 무게 (g) | 21 g | 2 g | 2 g | 21 g | 21 g |
| 수득률 (%) | 관행 | 9.38% | 42.50% | 23.50% | 3.81% | 4.76% |
| | 처리 | 9.71% | 35% | 28% | 1.43% | 9.52% |

나. 친환경 농산물 추출물이 cell viability에 미치는 효과

In vitro 실험 체계에서 친환경 농산물 추출물이 cell viability에 어떠한 영향을 나타내는지 MTT assay를 이용하여 조사하였다.

(1) 고추 추출물이 cell viability에 미치는 효과

Raw 264.7 세포를 이용하여 세포에 독성을 나타내지 않는 고추 추출물의 농도를 결정하였다. 실험 결과 관행군과 처리군의 시료들은 50 ug/ml의 농도 이하로 24시간 처리하였을 때 세포의 성장 및 사멸을 유도하지 않는 것을 확인 할 수 있었다 (Table 3). 이러한 실험 결과를 바탕으로 12.5, 25, 50 ug/ml의 농도를 사용하여 *in vitro* 실험을 수행하기로 결정하였다. 또한 대조군으로 사용한 capsaicin이 cell viability에 어떠한 영향을 나타내는지 MTT assay를 이용하여 조사하였을 때도 50 uM 이하의 농도에서 세포 성장에 어떠한 영향도 나타내지 않는 것 (Table 3)으로 확인되어 그 이하의 농도를 이용하여 실험하였다.

[Table 3] Effects of capsaicin and capsicum extracts on the cell viability of RAW264.7 macrophage cell line

| Sample | Concentration (µg/ml) | Cell viability (%) | | | | | |
|--------|-----------------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | Capsaicin | 3번 관행 | 3번 처리 | 5번 관행 | 5번 처리 | 6번 관행 |
| 0 | 100±0.12 | 100±0.06 | 100±0.06 | 100±0.15 | 100±0.15 | 100±0.15 | 100±0.15 |
| 1.5 | | 109.89±0.49* | 98.75±0.35 | 93.19±0.13 | 92.19±0.12 | 94.06±0.16 | 98.02±0.12 |
| 3.12 | 115.32±0.11* | 91.43±0.15 | 98.28±0.41 | 88.87±0.1 | 95.47±0.11 | 92.32±0.11 | 95.58±0.25 |
| 6.25 | 94.38±0.33 | 98.28±0.37 | 92.49±0.16 | 80.17±0.09* | 93.92±0.16 | 93.3±0.2 | 102.8±0.18 |
| 12.5 | 87.57±0.28 | 105.31±0.24 | 101.91±0.65 | 80.56±0.04 | 86.1±0.16 | 88.31±0.27 | 88.27±0.31 |
| 25 | 97.84±0.45 | 103.68±0.26 | 102.81±0.59 | 90.2±0.09 | 93.64±0.18 | 63.34±0.13* | 81±0.13* |
| 50 | 94.63±0.13 | 103.22±0.22 | 100.69±0.26 | 89.35±0.11 | 89.99±0.16 | 62.66±0.31* | 85.15±0.24 |
| 100 | 94.11±0.47 | 74.61±0.1** | 75.54±0.25* | 85.45±0.1 | 82.51±0.06* | 67.24±0.03* | 83.22±0.07* |

The cells were cultured with capsicum extracts and capsaicin at the indicated concentrations for 24 h and cell viability were measured by MTT method (n=3) **p<0.05, *p<0.01

(2) 싹채 추출물이 cell viability에 미치는 효과

① RBL-2H3 세포를 이용하여 세포에 독성을 나타내지 않는 친환경 농산물 추출물의 농도를 결정하였다. 실험 결과 관행군과 처리군의 시료들은 50 µg/ml의 농도 이하로 24시간 처리하였을 때 세포의 성장 및 사멸을 유도하지 않는 것을 확인 할 수 있었다 (Table 4). 이러한 실험 결과를 바탕으로 25, 50 µg/ml의 농도를 사용하여 in vitro 실험을 수행하기로 결정하였다.

[Table 4] Effects of environmentally friendly cultivated crop extracts on the cell viability of RBL-2H3 cell line

| Sample | Concentration (µg/ml) | Cell viability (%) | | | | |
|--------|-----------------------|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | 호평벼 | 윤광벼 | 호풍벼 | 삼주 | 속갓 |
| 관행 | 0 | 100.00 ± 3.33 | 100.00 ± 3.33 | 100.00 ± 3.33 | 100.00 ± 3.33 | 100.00 ± 3.33 |
| | 25 | 98.15 ± 1.37 | 107.38 ± 0.59 | 110.33 ± 0.59 | 93.91 ± 0.39 | 90.77 ± 0.20 |
| | 50 | 98.52 ± 0.20 | 99.45 ± 0.00 | 102.21 ± 0.98 | 83.95 ± 0.39 | 82.66 ± 0.59 |
| | 100 | 94.46 ± 0.20 | 95.02 ± 1.57 | 97.79 ± 0.20 | 80.81 ± 2.16 | 80.81 ± 1.37 |
| 처리 | 0 | 100.00 ± 3.33 | 100.00 ± 3.33 | 100.00 ± 3.33 | 100.00 ± 3.33 | 100.00 ± 3.33 |
| | 25 | 100.18 ± 0.00 | 100.92 ± 1.18 | 103.69 ± 1.37 | 93.91 ± 0.39 | 94.65 ± 0.78 |
| | 50 | 102.95 ± 1.37 | 96.31 ± 0.20 | 105.35 ± 0.78 | 83.21 ± 1.18 | 88.93 ± 0.98 |
| | 100 | 97.97 ± 0.00 | 98.71 ± 0.00 | 108.30 ± 0.78 | 80.81 ± 1.77 | 85.79 ± 0.39 |

The RBL-2H3 cells were cultured with environment-friendly cultivated crop extracts at the indicated concentrations for 24 h and cell viability were measured by MTT method (n=3) **p<0.05, *p<0.01

② EL4 세포를 이용하여 세포에 독성을 나타내지 않는 친환경 농산물 추출물의 농도를 결정하였다. 실험 결과 관행군과 처리군의 시료들은 50 µg/ml의 농도 이하로 24시간 처리하였을 때 세포의 성장 및 사멸을 유도하지 않는 것을 확인 할 수 있었다 (Table 5). 이러한 실험 결

과를 바탕으로 25, 50 ug/ml의 농도를 사용하여 *in vitro* 실험을 수행하기로 결정하였다.

[Table 5] Effects of environmentally friendly cultivated crop extracts on the cell viability of EL4 cell line

| Sample | Concentration (µg/ml) | Cell viability (%) | | | | |
|--------|-----------------------|--------------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| | | 호평벼 | 윤광벼 | 호풍벼 | 상주 | 쑥갓 |
| 관행 | 0 | 100.00 ± 3.83 | 100.00 ± 3.83 | 100.00 ± 3.83 | 100.00 ± 3.83 | 100.00 ± 3.83 |
| | 25 | 108.70 ± 0.51 | 103.82 ± 0.44 | 99.81 ± 0.07 | 98.51 ± 0.29 | 101.95 ± 0.47 |
| | 50 | 103.71 ± 0.00 | 100.89 ± 1.97 | 100.19 ± 2.48 | 94.47 ± 0.98 | 100.38 ± 0.47 |
| | 100 | 108.48 ± 0.00 | 100.76 ± 2.95 | 100.03 ± 0.51 | 94.28 ± 0.29 | 98.65 ± 1.06 |
| 처리 | 0 | 100.00 ± 3.83 | 100.00 ± 3.83 | 100.00 ± 3.83 | 100.00 ± 3.83 | 100.00 ± 3.83 |
| | 25 | 110.40 ± 0.18 | 91.17 ± 0.47 | 111.24 ± 0.15 | 98.94 ± 1.09 | 100.24 ± 2.70 |
| | 50 | 110.40 ± 0.18 | 95.85 ± 0.80 | 98.78 ± 2.84* | 95.94 ± 0.62 | 97.13 ± 0.62 |
| | 100 | 103.01 ± 1.60 | 99.16 ± 1.53 | 106.39 ± 2.37* | 93.44 ± 0.62 | 91.68 ± 0.95 |

The EL4 cells were cultured with environmentally friendly cultivated crop extracts at the indicated concentrations for 24 h and cell viability were measured by MTT method (n=3) **p<0.05, *p<0.01

③ Raw 264.7 세포를 이용하여 세포에 독성을 나타내지 않는 친환경 농산물 추출물의 농도를 결정하였다. 실험 결과 관행군과 처리군의 시료들은 50 ug/ml의 농도 이하로 24시간 처리하였을 때 세포의 성장 및 사멸을 유도하지 않는 것을 확인 할 수 있었다 (Table 6). 이러한 실험 결과를 바탕으로 25, 50 ug/ml의 농도를 사용하여 *in vitro* 실험을 수행하기로 결정하였다.

[Table 6] Effects of environmentally friendly cultivated crop extracts on the cell viability of RAW 264.7 cell line

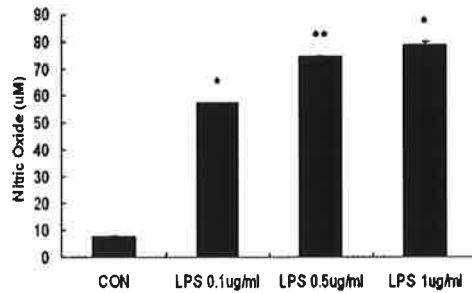
| Sample | Concentration (µg/ml) | Cell viability (%) | | | | |
|--------|-----------------------|--------------------|----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| | | 호평벼 | 윤광벼 | 호풍벼 | 상주 | 쑥갓 |
| 관행 | 0 | 100.00 ± 0.94 | 100.00 ± 0.94 | 100.00 ± 0.94 | 100.00 ± 0.94 | 100.00 ± 0.94 |
| | 25 | 95.85 ± 3.13 | 106.86 ± 0.42* | 95.09 ± 1.77* | 118.29 ± 0.10** | 109.91 ± 1.25 |
| | 50 | 94.33 ± 1.04 | 105.59 ± 1.15 | 109.48 ± 1.98* | 114.73 ± 6.98 | 102.54 ± 0.10 |
| | 100 | 90.01 ± 4.06 | 108.04 ± 2.29* | 117.10 ± 0.73*** | 121.51 ± 0.52* | 111.43 ± 5.63 |
| 처리 | 0 | 100.00 ± 0.94 | 100.00 ± 0.94 | 100.00 ± 0.94 | 100.00 ± 0.94 | 100.00 ± 0.94 |
| | 25 | 95.34 ± 3.75 | 107.71 ± 4.79 | 102.37 ± 2.19 | 118.63 ± 0.31* | 92.80 ± 0.83*** |
| | 50 | 98.73 ± 1.67 | 111.26 ± 3.75 | 106.44 ± 0.73 | 119.98 ± 9.28 | 98.56 ± 1.67 |
| | 100 | 94.33 ± 3.54 | 102.71 ± 4.90 | 104.40 ± 4.06 | 122.02 ± 1.56** | 96.36 ± 0.83 |

The RAW 264.7 cells were cultured with environment-friendly cultivated crops extracts at the indicated concentrations for 24 h and cell viability were measured by MTT method (n=3) ***p<0.001, **p<0.05, *p<0.01

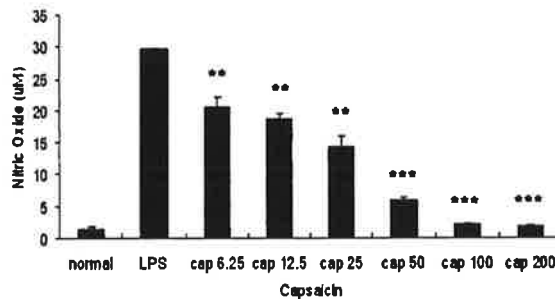
다. 친환경 농산물 추출물이 대식세포의 염증성 면역 반응에 미치는 효과
 대식세포가 LPS에 의해서 활성화되면 NO를 발생하게 된다. NO는 외부 침입자에 대하여 방어 작용을 나타내는 작용을 하지만 과도하게 생성 될 경우 염증 반응을 확장하게 된다. 친환경 농산물 추출물이 NO 생성에 어떠한 영향을 나타내는지 조사하였다.

(1) 고추 추출물이 NO 생성에 미치는 효과

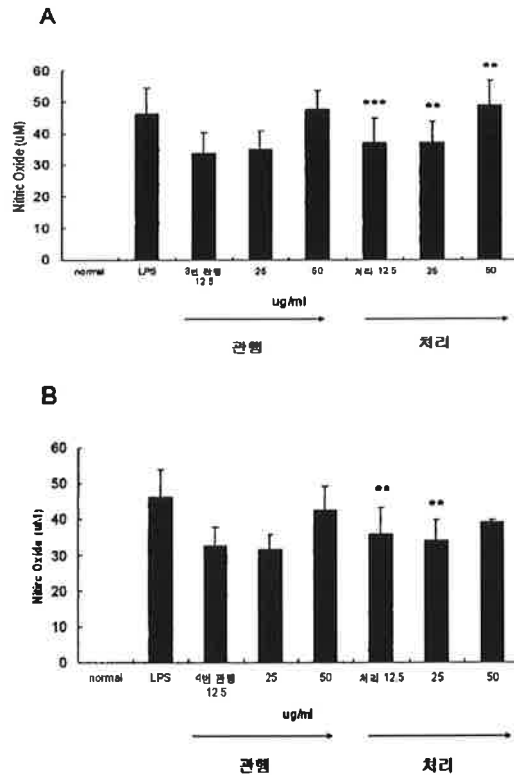
LPS를 대식세포주인 Raw 267.4 세포에 처리하였을 때 농도 의존적으로 NO의 생성이 증가하는 것을 확인하였으며(그림 1), 1 ug/ml농도로 세포를 활성화하여 고추 추출물의 NO에 미치는 영향을 조사하였다. 대조군으로 사용한 capsaicin은 농도 의존적으로 NO의 생성을 낮추는 것을 확인하였으며, 3번과 4번 관행군과 처리군의 고추 추출물을 처리한 경우 처리군에서 농도 의존적으로 NO의 발생이 감소하는 것을 알 수 있었으나 관행군에서는 유의적인 감소를 확인 할 수 없었다. 5번 추출물과 6번 추출물에서는 NO 생성의 감소 작용을 확인 할 수 없었다.



[Fig 1] Effects of LPS on the production of NO in RAW 264.7 cells. The cells were treated with indicated concentrations for 24 h and the levels of NO in the supernatant were determined by Griess Reagents **p<0.05, *p<0.01



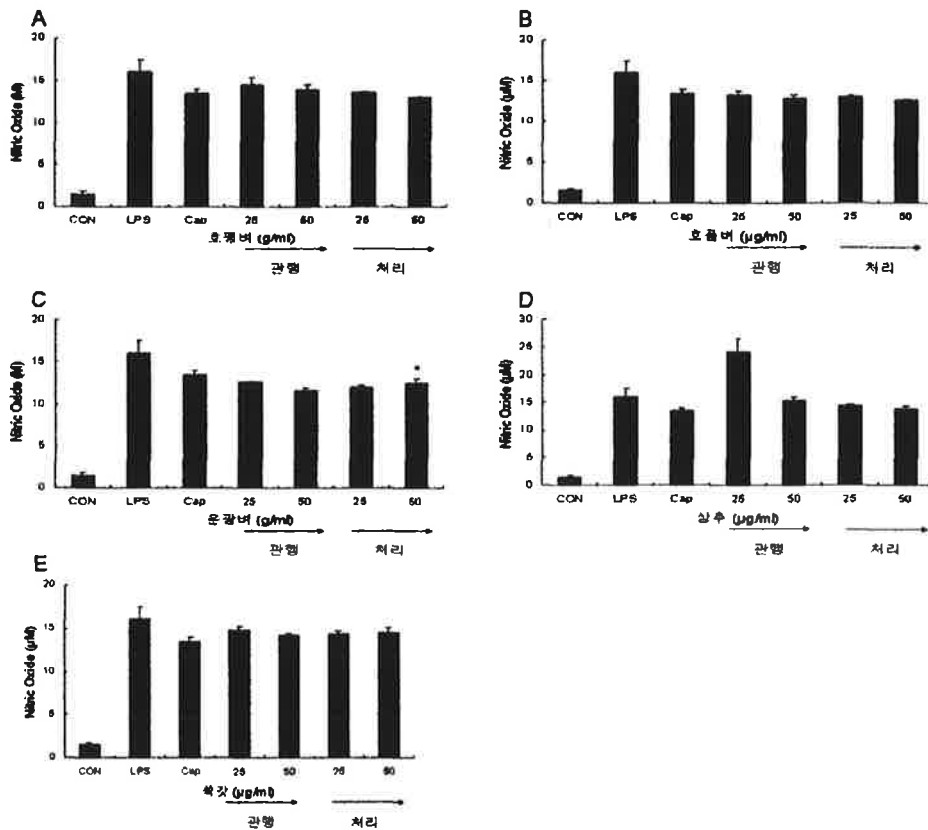
[Fig 2] Effects of capsaicin on the LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells. The cells were treated with indicated concentrations for 24 h and the levels of NO in the supernatant were determined by Griess Reagents **p<0.05, *p<0.01



[Fig 3] Effects of capsicum extracts No. 3 (A) and No. 4 (B) on the LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells. The cells were treated with indicated concentrations for 24 h and the levels of NO in the supernatant were determined by Griess Reagents **p<0.05, *p<0.01

(2) 참깨 추출물이 NO 생성에 미치는 효과

참깨 추출물 중 운광벼 처리는 LPS로 활성화된 대식세포에서 발현되는 NO의 생성을 약간 감소시키는 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다.



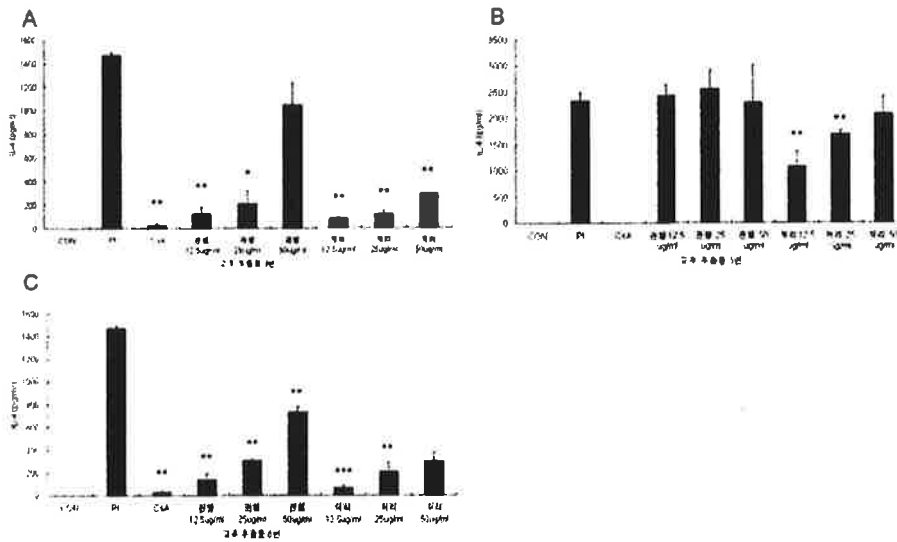
[Fig 4] Effects of environmentally friendly cultivated crop extracts on the LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells. The cells were treated with indicated concentrations for 24 h and the levels of NO in the supernatant were determined by Griess Reagents **p<0.05, *p<0.01 (A) 호평벼, (B), 호품벼, (C), 운광벼, (D) 상추, (E) 썩갯

라. 친환경 농산물이 면역세포들의 사이토카인 생성에 미치는 효과

우리 몸의 면역 체계는 세균과 같은 항원에 대하여는 체액성 면역계가 활성화되어 항체를 형성함으로써 항원을 제거하고 바이러스와 같이 세포를 침입하는 항원의 경우에는 세포성 면역 체계가 활성화되어 바이러스에 감염된 세포를 제거하게 된다. 체액성 면역은 Th2 세포들에 의해 조절되는데 이들은 IL-4, IL-13과 같은 사이토카인을 생성하여 면역 반응을 활성화하게 되고 세포성 면역은 Th1 세포들에 의하여 분비되는 IFN-g에 의하여 활성화된다. 이러한 면역 체계는 정상인에서는 서로 균형을 맞추어 견제 보완하고 있으나 어떤 질병 상태에서는 Th1 면역 반응이 우세하거나 또는 Th2 면역 반응이 우세하다. 예를 든다면 알러지성 질환에서는 Th2 면역반응이 우세하다. 환자의 말초 혈액에는 IL-4, IL-5, IL-13 과 같은 Th2 사이토카인의 발현이 증가하는데 IL-4와 IL-13은 미성숙 항체를 IgE로 변환시키는 작용을 나타내고 IgE에 의한 비만 세포 활성화를 유도 할 뿐 아니라 기관지 경축을 유도 할 수 있게 때문에 Th2 사이토카인의 질환 발병에 중요한 역할을 하게 된다. 그러므로 아토피 피부염이나 천식과 같은 알레르기성 질환을 조절하기 위하여 IL-4나 IL-13과 같은 Th2 사이토카인의 발현을 하향 조절 하는 것이 치료 전략으로 제안되고 있다.

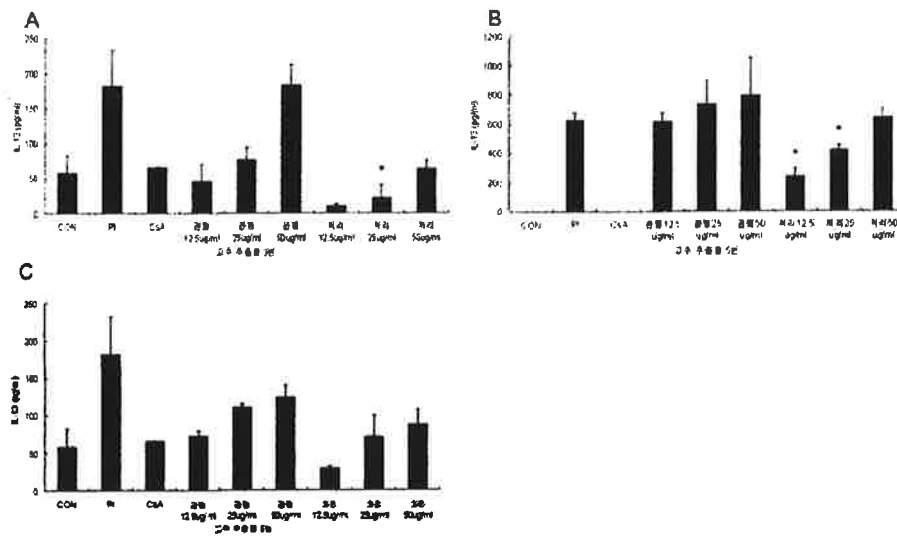
(1) 고추 추출물이 RBL-2H3 세포에서 IL-4 및 IL-13 사이토카인 생성에 미치는 효과
 고추 추출물은 PI로 활성화된 호염구에서 발현되는 Th2 사이토카인인 IL-4 및 IL-13의 생성을 유의적으로 감소시켰으며 처리군은 관행군에 비하여 우수한 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다.

< IL-4 >



[Fig 5] Effects of capsiocm extracts No. 3 (A), No. 5 (B) and No. 6 (C) on the PI-induced IL-4 production in RBL-2H3 cells. The cells were treated with the indicated concentrations and PI (PMA and ionomycin) for 16 h and the levels of IL-4 in the supernatant were determined by IL-4 ELISA kit. **p<0.05, *p<0.01

< IL-13 >

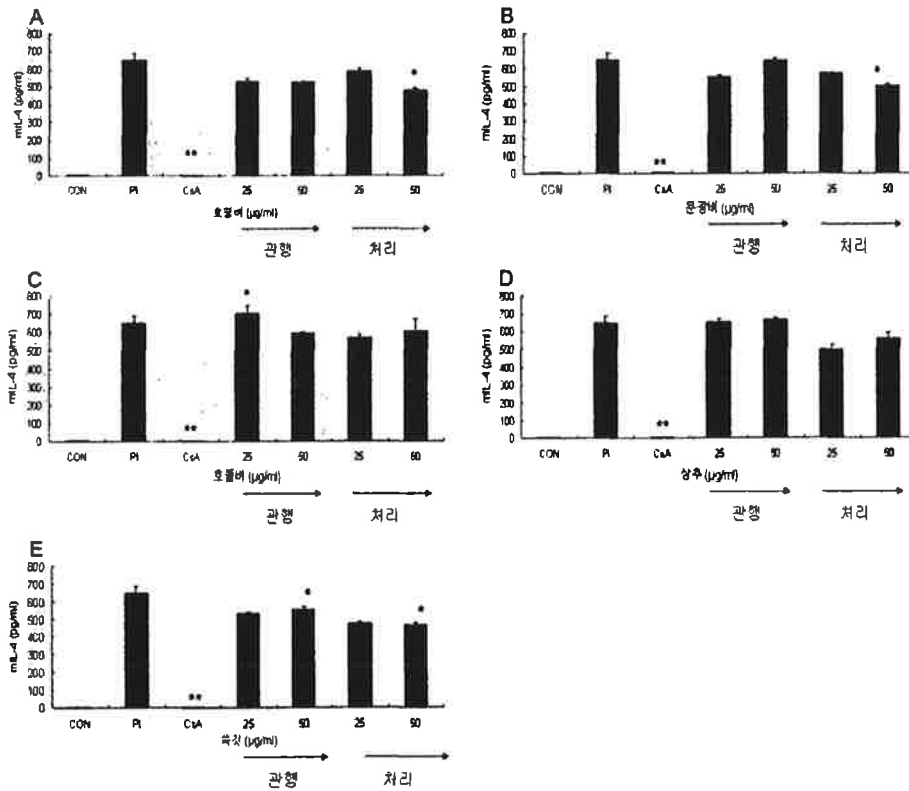


[Fig 6] Effects of capsiocm extracts No. 3 (A), No. 5 (B) and No. 6 (C) on the PI-induced IL-13 production in RBL-2H3 cells. The cells were treated with the indicated concentrations

and PI (PMA and ionomycin) for 16 h and the levels of IL-13 in the supernatant were determined by IL-13 ELISA kit. **p<0.05, *p<0.01

(2) 쌈채 추출물이 RBL-2H3 세포에서 IL-4 사이토카인 생성에 미치는 효과
 쌈채 농산물 추출물은 PI로 활성화된 RBL-2H3 세포에서 발현되는 Th2 사이토카인인 IL-4에 대한 면역 활성 효과가 없는 것을 확인하였다.

<IL-4>

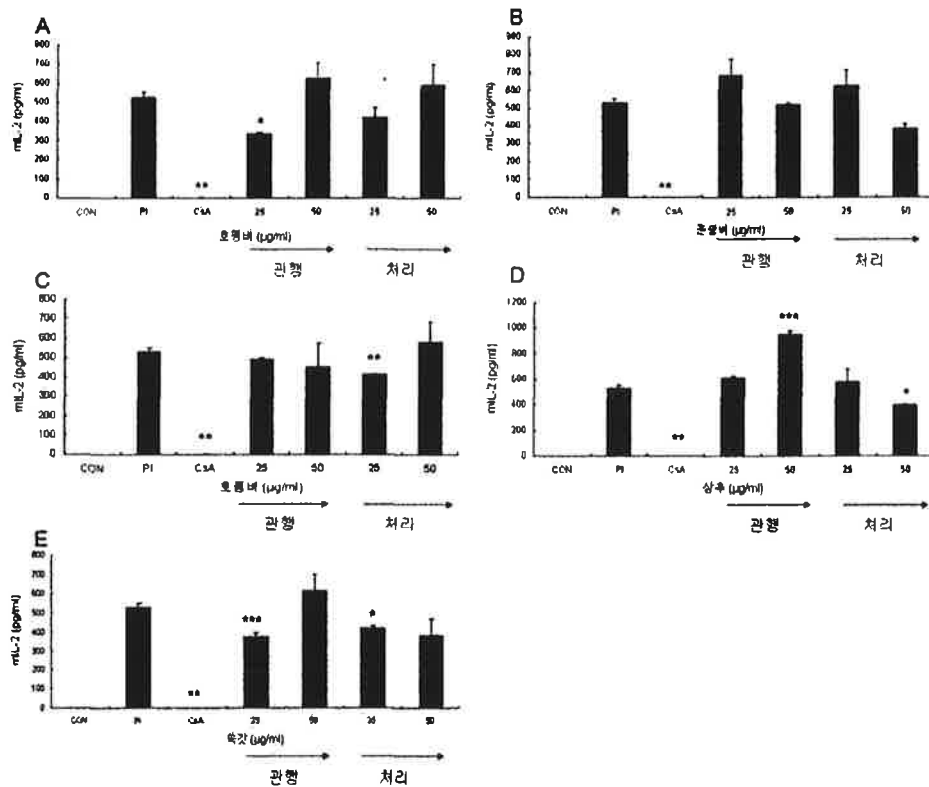


[Fig 7] Effects of environmentally friendly cultivated crop extracts on the PI-induced IL-4 production in RBL-2H3 cells. The cells were treated with the indicated concentrations and PI (PMA and ionomycin) for 16 h and the levels of IL-4 in the supernatant were determined by IL-4 ELISA kit. **p<0.05, *p<0.01

(3) 쌈채 추출물이 EL4 세포에서 IL-4 사이토카인 생성에 미치는 효과

쌈채 추출물 중 호평벼, 운광벼, 쪽갓은 PI로 활성화된 T세포에서 발현되는 Th2 사이토카인인 IL-4의 생성을 감소시켰으며 처리군은 관행군에 비하여 우수한 효과를 나타낸다는 것을 확인하였고, 상추 관행군은 PI로 활성화된 T세포에서 발현되는 사이토카인인 IL-2의 생성을 유의적으로 증가시켰으며 쪽갓 처리군은 감소시키는 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다.

<IL-2>

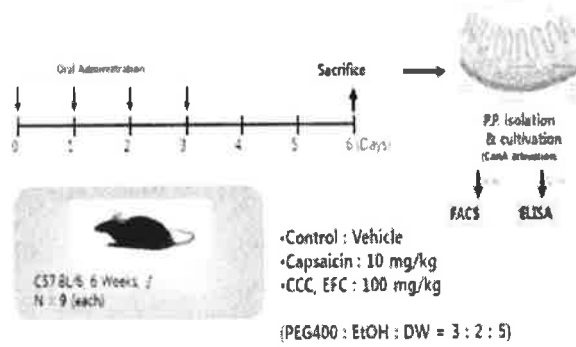


[Fig 8] Effects of environment-friendly cultivated crops extracts on the PI-induced IL-2 production in EL4 cells. The cells were treated with the indicated concentrations and PI (PMA and ionomycin) for 16 h and the levels of IL-2 in the supernatant were determined by IL-2 ELISA kit. **p<0.05, *p<0.01

마. 고추 추출물의 경구 투여가 피어스판의 면역세포 활성화에 미치는 효과

고추 추출물의 경구 투여가 장관에 존재하는 피어스판의 면역 세포에 어떤 효과를 나타내는 지 조사하기 위하여 5주령 C57BL/6 생쥐를 이용하여 실험하였다. C57BL/6 생쥐를 일주일 동안 안정시킨 후 capsaicin (200ug/mouse/day) 혹은 고추 추출물 (2mg/mouse/day)을 4일 동안 경구 투여 하였다. 투여 후 이틀간 안정시킨 후 생쥐를 치사하고 소장부터 대장 까지 분리하고 Peyer's patch를 찾아 (Peyer's patch는 대략 1마리에 10개정도) 분리하였다. Peyer's patch를 strainer를 이용하여 cell로 분리하였다. (생쥐 당 약 $1\sim 3 \times 10^7$ /mouse로 분리된다) 10% FBS와 antibiotics가 들어있는 RPMI 1640 media로 cell을 1×10^6 /ml로 맞추어 12well culture plate에서 배양하였다. Concanavalin A 5ug/ml로 처리한 그룹과 처리 안한 그룹으로 나누어 72 h 동안 배양하고 배양액을 얻은 후 IL-2 와 IFN- γ 를 측정 하였다.

<Experimental Procedure>

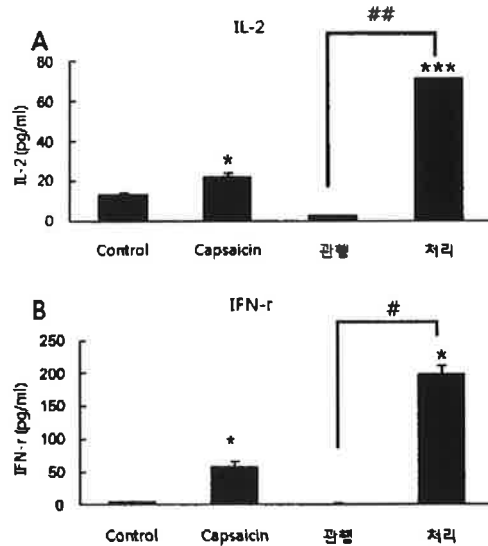


(1) 고추 추출물의 경구 투여가 IL-2 생성에 미치는 효과

대조군의 피어스판에서 분리된 면역 세포들은 Con A의 자극에 상관없이 감지할 만한 IL-2를 생성할 수 없었으나 고추 추출물을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 면역세포에서는 Con A로 인한 자극에 의해 IL-2 생성이 유의적으로 증가하였다. 처리군을 투여한 군에서는 71.31 pg/ml, 캡사이신을 투여한 군에서는 21.86 pg/ml의 IL-2가 생산된 것을 확인하였고 관행군을 투여한 군에서는 IL-2 생성이 감지되지 않았다 (그림 9. A).

(2) 고추 추출물의 경구 투여가 IFN-γ 생성에 미치는 효과

대조군의 피어스판에서 분리된 면역 세포들은 Con A의 자극에 상관없이 감지할 만한 IFN-γ를 생성할 수 없었으나 고추 추출물을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 면역세포에서는 Con A로 인한 자극에 의해 IFN-γ 생성이 유의적으로 증가하였다. 처리군을 투여한 군에서는 199.01 pg/ml, 캡사이신을 투여한 군에서는 57.92 pg/ml의 IFN-γ가 생산된 것을 확인하였고 관행군을 투여한 군에서는 IL-2 생성이 감지되지 않았다 (그림 9. B).



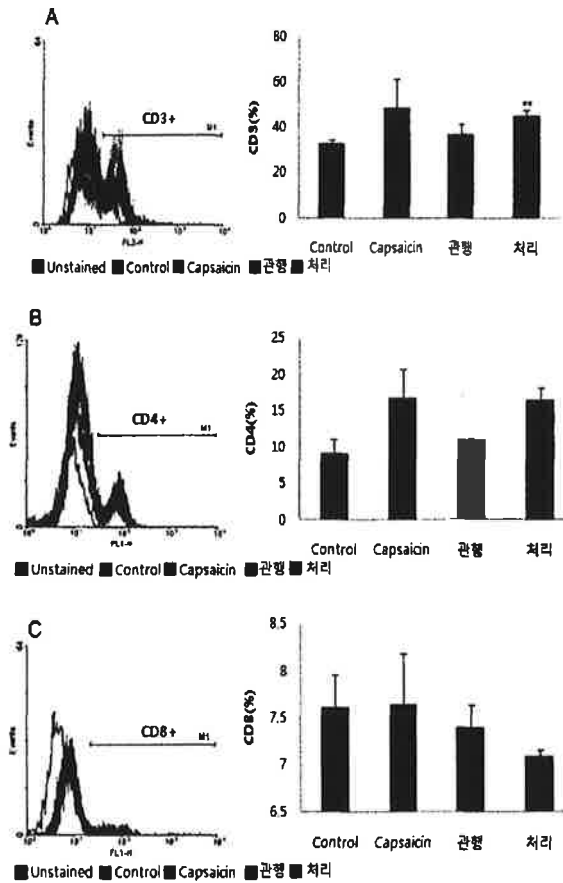
[Fig 9] Effects of capsaicin and capsicum extracts on IL-2 and IFN- γ production in cultured PP cells ex vivo. Mice were treated orally with vehicle (control), capsaicin and capsicum extracts as the indicated dose once a day for 4 consecutive days, and the PP cells were collected on day 6 after the first day of treatment and cultured in the presence of ConA stimulation. A : IL-2 production in PP cells with Con A stimulation, B : IFN- γ production in PP cells with Con A stimulation. All data are expressed as the mean \pm SD of three-independent experiments. (* : $p < 0.05$. *** : $p < 0.001$ compared with the control mice. # : $p < 0.05$, ## : $p < 0.01$ compared between 관행 and 처리)

바. 고추 추출물 경구 투여에 의한 피어스판 면역세포군에 미치는 효과

▶ 고추 추출물의 경구투여가 피어스판 면역세포군에 어떠한 영향을 주는지 알아보기 위해서 C57BL/6 생쥐에 고추 추출물과 캡사이신을 각각 100 mg/kg/day, 10 mg/kg/day의 용량으로 4일 동안 경구투여하고 2일 후 피어스판 세포들을 분리하여 Con A (5 μ g/ml) 로 자극을 주고 24시간 후에 anti-CD3-PE 항체, anti-CD19-FITC 항체, anti-CD4-FITC 항체, anti-CD8-FITC 항체, anti-CD11b 항체로 염색하여 각각 CD3⁺ T세포, CD4⁺ T 세포, CD8⁺ T 세포, CD19⁺ B 세포 및 대식 세포군의 변화를 유세포 분석기를 이용하여 조사하였다.

(1) T 세포군에 미치는 효과

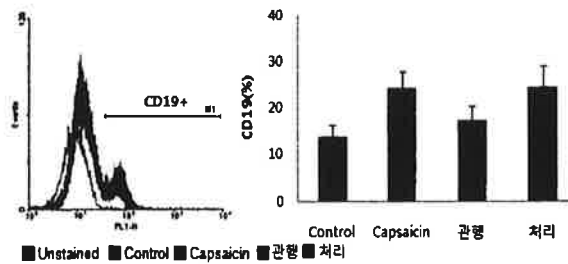
처리군을 투여한 생쥐의 피어스판 면역세포에서 CD3⁺ T세포군은 대조군에서 비하여 12.05%, 캡사이신을 투여한 군에서는 15.86% 가 증가하였고 관행군을 투여한 군은 대조군에 비해 크게 증가하지 않았다 (그림 10. A). CD4⁺ 보조 T 세포군은 처리군을 투여한 경우에는 대조군에 비하여 7.34%, 캡사이신을 투여한 군에서는 약 7.57% 증가하였고 관행군을 투여한 군은 대조군에 비해 크게 증가하지 않았다(그림 10. B). CD8⁺ 살해 T 세포군은 고추 추출물을 투여한 군과 캡사이신을 투여한 군 모두 대조군과 비슷한 정도로 유지되었다 (그림 10. C).



[Fig 10] Effects of capsicum extract on T cell populations in PP cells. Mice were orally treated with capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : ethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were collected and cultured in the presence of Con A for 24 hr. Panel (A) The cells were stained with anti-CD3-PE antibody. Histograms are showing population of CD3⁺ cells, Panel (B) The cells were stained with anti-CD4-FITC antibody. Histograms are showing population of CD4⁺ cells, Panel (C) Cells were stained with anti-CD8-FITC antibody. Histograms are showing population of CD8⁺ cells. Values are expressed as the mean \pm SD from three-independent experiments. (*: p <0.05, **: p <0.01, ***: p <0.001)

(2) B 세포군에 미치는 효과

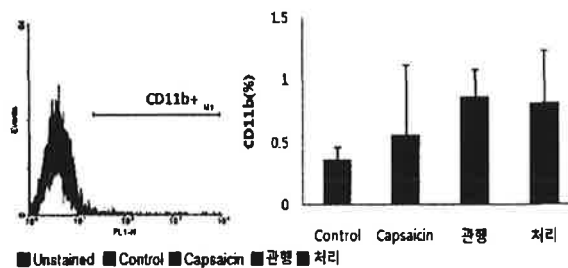
고추 추출물을 투여한 생쥐의 피어스판 면역세포에서 CD19+ B 세포군은 대조군에서 비하여 10.52%, 캡사이신을 투여한 군에서는 3.42% 가 증가하였고 관행군을 투여한 군은 대조군에 비해 크게 증가하지 않았다 (그림 11).



[Fig 11] Effects of capsicum extract on B cell populations in PP cells. Mice were orally treated with capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : ethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were cultured in the presence of Con A for 24 hr. The cells were stained with anti-CD19-FITC antibody. Histograms are showing population of CD19⁺ cells. Values are expressed as the mean \pm SD from three-independent experiments. (*: p <0.05, **: p <0.01, ***: p <0.001)

(3) 대식 세포군에 미치는 효과

고추 추출물 및 캡사이신을 투여한 생쥐에서 분리된 피어스판 면역세포에서 CD11b⁺ 대식세포군은 Con A로 인한 자극에 상관없이 모두 대조군과 비슷한 정도로 나타났다 (그림 12).



[Fig 12] Effects of capsicum extract on Macrophage cell populations in PP cells. Mice were orally treated with capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : ethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were collected and cultured in the presence of Con A for 24 hr. The cells were stained with anti-CD11b-FITC antibody. Histograms are showing population of Macrophage⁺ cells. Values are expressed as the mean \pm SD from three-independent experiments. (*: p <0.05, **: p <0.01, ***: p <0.001).

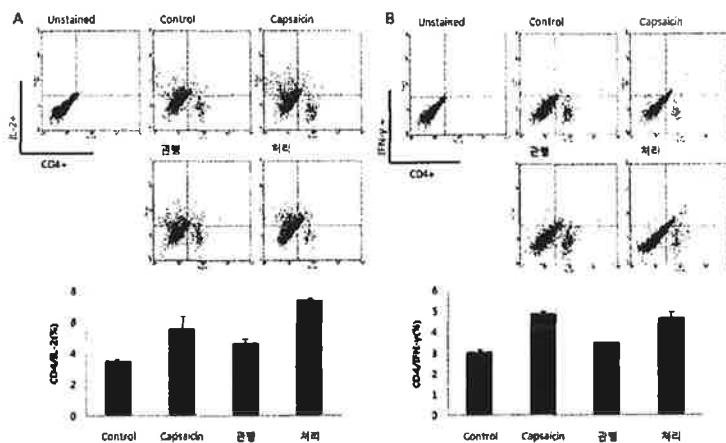
사. 고추 추출물 경구 투여에 의한 피어스판에서 사이토카인 생성 세포 규명

▶ 고추 추출물의 경구 투여에 의하여 피어스판에서 활성화되어 사이토카인을 생성하는 세포를 규명하기 위하여 고유의 세포막 표지인자와 사이토카인 표지인자에 대한 이중 염색을 한 후 유세포 분석을 하여 조사하였다. T 세포 표지인자로는 CD3, 보조 T 세포와 세포 독성 T 세포 표지인자로는 각각 CD4와 CD8을 사용하였으며, 대식세포 표지인자로는 CD11b를 사용하였

다. 고추 추출물 (100 mg/kg/day)과 캡사이신 (10 mg/kg/day)을 4일 동안 경구투여하고 2일 후 피어스판 면역 세포들을 분리하여 Con A (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 로 자극한 뒤 20시간 후에 사이토카인이 세포 밖으로 분비되는 것을 억제하기 위하여 골지스탐 (0.7 μl) 을 각 well에 넣고 4시간 후에 anti-CD4-FITC 항체와 anti-IL-2-PE, anti-CD4-FITC 항체와 anti-IFN- γ -PE 항체 또는 anti-CD11b-FITC항체와 anti-IL-2-PE, anti-CD11b-FITC항체와 anti-IFN- γ -PE 항체를 이용하여 이중 염색을 시행하고 유세포 분석기를 이용하여 조사하였다.

(1) CD4+ T 세포의 사이토카인 생성에 미치는 효과

대조군의 생쥐에서 분리한 CD4+ T 세포 중 IL-2와 IFN- γ 를 생성하는 세포군은 Con A의 자극과 상관없이 유세포 분석기에 의해 감지 할 수 없었다. 반면 고추 추출물과 캡사이신을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 면역세포를 Con A로 인한 자극하면 IL-2을 생산하는 CD4+ T 세포가 각각 4.57%와 2.44% 증가하였으며 IFN- γ 를 생성하는 CD4+ T세포는 각각 1.66%와 1.83% 증가하였고 관행군을 투여한 군은 대조군에 비해 크게 증가하지 않았다 (그림 13).

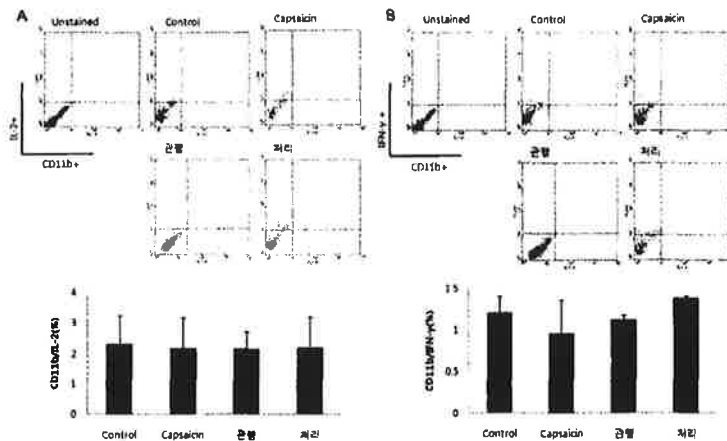


[Fig 13] Effects of capsicum extract on IL-2 and IFN- γ production in the PP CD4+ cells. Mice were orally treated with capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : ethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were collected and cultured in the presence of Con A for 24 hr. Golgistop was treated for last 4h of incubation. The cells were then stained with anti-CD4-FITC, fixed and stained with anti-IL-2-PE or anti-IFN- γ -PE. The dot plots show the co-expression of CD4, IL-2 or CD4, IFN- γ . Numbers inside quadrants represent percentages of gated lymphocytes. Panel (A) Percentages of co-expressed of CD4 and IL-2, panel (B) Percentages of co-expressed of CD4 and IFN- γ . Values are expressed as the mean \pm SD from three-independent experiments. (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$)

(2) 대식세포의 사이토카인 생성에 미치는 효과

대조군의 생쥐에서 분리한 CD 11b+ 세포 중 IL-2와 IFN- γ 를 생성하는 세포군은 Con A의 자

극과 상관없이 유세포 분석기에 의해 감지 할 수 없었다. 고추 추출물과 캡사이신을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 CD 11b+ 세포를 Con A로 자극하였을 때 IL-2나 IFN- γ 를 생성하는 세포군이 증가하지 않았다 (그림 14).



[Fig 14] Effects of capsicum extract on IL-2 and IFN- γ production in the PP CD11b+ cells. Mice were orally treated with capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : ethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were collected and cultured in the presence of Con A for 24 hr. Golgistop was treated for last 4h of incubation. The cells were then stained with anti-CD11b-FITC, fixed and stained with anti-IL-2-PE or anti-IFN- γ -PE. The dot plots show the co-expression of CD11b, IL-2 or CD11b, IFN- γ . Numbers inside quadrants represent percentages of gated lymphocytes. Panel A: Percentages of co-expressed of CD11b and IL-2, panel B: Percentages of co-expressed of CD11b and IFN- γ . Values are expressed as the mean \pm SD from three-independent experiments. (*: p <0.05, **: p <0.01, ***: p <0.001)

[Table 7] Contents of polyphenols and capsaicin in CCC and EFC

| Agricultural Product | AOA ¹⁾ (%) | | TPC ²⁾ (mg 100g ⁻¹) | Capsaicin (mg 100g ⁻¹) |
|------------------------|-----------------------|-----------|--|------------------------------------|
| | Water(%) | Metano(%) | | |
| Conventional | 14.14 | 96.31 | 11.62 | 6.4 |
| Environmental-friendly | 20.71 | 88.09 | 20.36 | 52.6 |

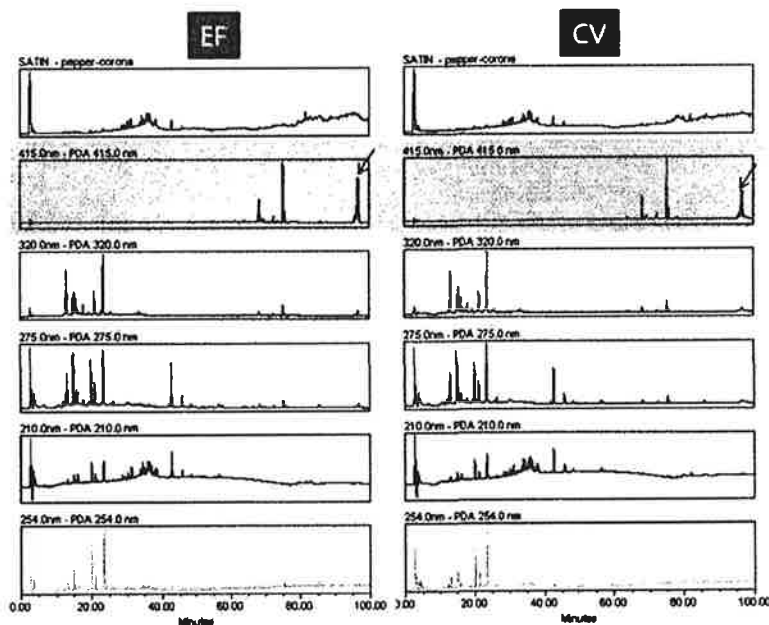
Samples of hot paper were crushed after lyophilized. Samples of hot pepper were homogenized 30 minutes with 10ml acetone in the 60°C water bath and concentrated with vacuum evaporator after repeating three times. The extract(1 μ l) was put on the TLC plate and developed in Chloroform : triethylamine(4:1). ¹⁾AOA : anti-Oxidant activity ²⁾TPC : Total PhenolicCompound

아. 친환경 재배법에 의해 증가된 면역 활성 물질의 규명

▶ 동결 건조된 고추 87.6 g을 추출용기에 넣고 100% methanol을 첨가하여 가열한 후 추출액을 얻었다. 위의 추출액을 여과하고, 감압 농축하여 고추의 methanol 추출물을 얻었다. 추출 효율을 높이기 위하여 상기 과정을 3회 반복하여 17.4 g의 methanol extract를 얻었다. 5.0 g의 methanol extract를 silica flash 크로마토그래피를 실행하였다. 용매 hexane : ethylacetate = 10:1, hexane : ethylacetate = 5:1, hexane : ethylacetate = 2:1, ethylacetate 단독, methylene chloride:methanol = 20:1, methylene chloride 단독, methylene chloride : methanol = 50:1, methanol 단독으로 총 8개의 fraction을 400 ml 씩 얻었다. 이들을 각각 건조 하여 분석 HPLC에서 1 mg/ml 의 농도로 acetonitrile과 물을 용매로 하여 acetonitrile의 농도가 30분 동안 10% ~ 100% (0.1 % trifluoroacetic acid 함유) gradient 조건으로 분석하여 목적인 물질이 함유되어있는 fraction을 415 nm 파장에서 관찰하였다.

(1) 친환경 재배법에 의해 증가된 물질 확인

고추 추출물의 HPLC chromatograms 결과 90분대에 나오는 피크가 두 시료 간에 차이가 보이나 보다 많은 시료를 분석하여 확인할 필요가 있고, 415 nm에서 검출이 되는 것으로 보아 색소일 것으로 추정된다.



[Fig 15] HPLC chromatograms of pepper extracts.

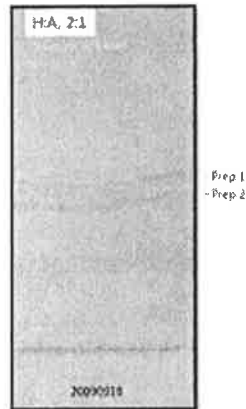
EF : 친환경적으로 재배된 고추의 추출물

CV : 관행적인 방법으로 재배된 고추의 추출물

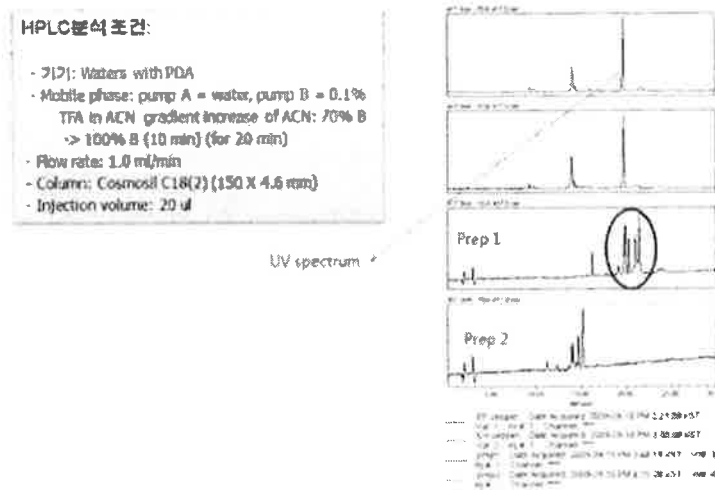
= 빨간 화살표 부분이 수치 적으로 차이가 남

Prep TLC로부터 분리한 두 물질중 비극성물질(색소)이 EF와 CV고추 간에 차이가 나는

물질로 나타난다. 하지만, 두 물질 모두 상온에서 매우 불안정한 물질로서 chlorophyll or chlorophyll catabolite로 추정된다.

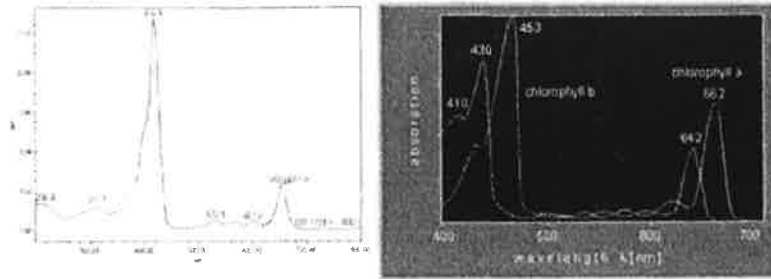


[Fig 16] Isolation of the pigment from pepper ext.



[Fig 17] HPLC analysis of the isolated fractions.

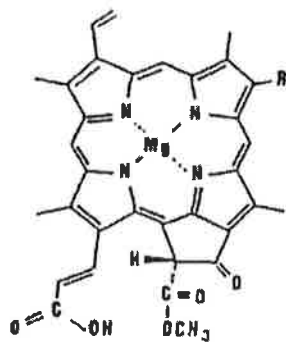
- 오른쪽 4개 그래프에서 첫번째:EF, 두번째:CV
- 3,4번째 그래프는 앞에서 prep-TLC로 분리한 prep1과 prep2를 비교한 그래프
- Prep1에서 빨간 원 부근이 EF와 CV 에서 차이가 났던 피크라고 생각됨
- 왼쪽은 차이가 나는 피크의 UV spectrum을 나타냄



[Fig 18] UV spectrum.

기존 존재하는 chlorophyll a,b와 EF, CV에서 차이가 났던 피크의 스펙트럼을 비교 하였을 때, UV파장이 비슷하고 스펙트럼 패턴도 유사하여 클로로필 계열로 판단된다.

Silica flash 크로마토그래피의 결과로 얻어진 8개의 fraction을 위에서 언급한 조건에서의 분석 HPLC의 결과, hexane:ethylacetate = 5:1, hexane:ethylacetate=2:1의 fraction에서 목적인 물질이 함유되어 있는 것을 확인하였다. 이 후 Gilson 321 HPLC system을 사용하여 흡광도 415 nm에서 Luna C18(2) column (250 x 10.00 mm, 10 micron) column을 사용하여 0~15 min까지 acetonitrile과 물을 용매 (0.1% trifluoroacetic acid 함유)로 하여 acetonitrile의 농도를 점차 증가시키는 gradient 조건과 15 min ~ 30min까지 100% acetonitrile을 유지하는 조건으로 하여 물질을 분리 하였다 (56.5 mg). 분리한 단일물질은 핵자기공명기 (Varian 500 MHz NMR)를 이용하여 ¹H 스펙트럼 분석과 LC-MS를 이용하여 단일물질의 UV pattern, MS 값을 토대로 그 구조를 기존의 reference와 비교하여 chlorophyll 계열의 물질이라는 것을 알 수 있었다 (이하 EF-1 이라 명명) (Saitoh et al. 1993).



Structure of CHL-c₁ (R = ethyl) and -c₂ (R = vinyl).

Chlorophyll c2

C₃₅H₂₈O₅N₄Mg

Chemical Formula:

C₃₅H₂₈MgN₄O₅

Exact Mass: 608.19

Molecular Weight: 608.93

Journal of Chromatography A, 653 (1993) 247-251

[Fig 19] Structure of CHL-c₁ and -c₂

자. 분리된 화합물인 EF-1의 경구 투여가 피어스판의 면역세포 활성화에 미치는 효과

▶ EF-1의 경구 투여가 장관에 존재하는 피어스판의 면역 세포에 어떤 효과를 나타내는지 조사하기 위하여 5주령 C57BL/6 생쥐를 이용하여 실험하였다. C57BL/6 생쥐를 일주일 동안 안정시킨 후 capsaicin (200ug/mouse/day), chlorophyll B (2mg/mouse/day), pepper stem

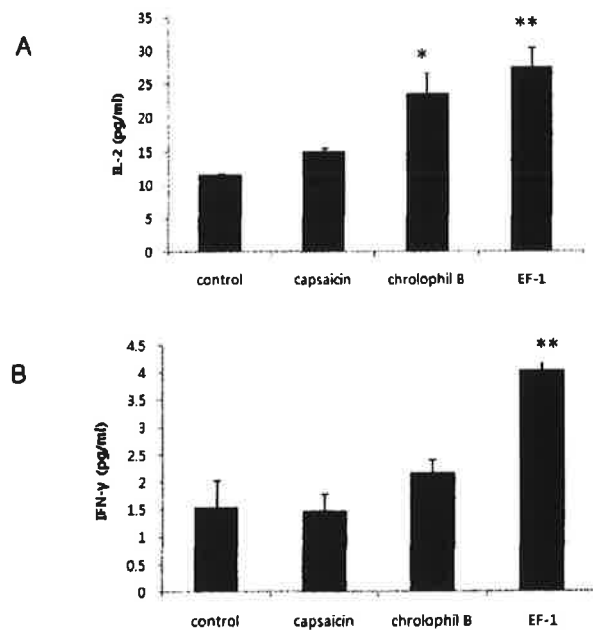
(2mg/mouse/day) 그리고 EF-1 (2mg/mouse/day)을 4일 동안 경구 투여 하였다. 투여 후 이틀간 안정시킨 후 생쥐를 치사하고 소장부터 대장 까지 분리하고 Peyer's patch를 찾아 (Peyer's patch는 대략 1마리에 10개정도) 분리하였다. peyer's patch를 strainer를 이용하여 cell로 분리하였다. (생쥐 당 약 $1\sim 3\times 10^7$ /mouse로 분리된다). 10% FBS와 antibiotics가 들어있는 RPMI 1640 media로 cell을 1×10^6 /ml로 맞추어 12 well culture plate에서 배양하였다. Concanavalin A 5ug/ml로 처리한 그룹과 처리 안한 그룹으로 나누어 72 h 동안 배양하고 배양액을 얻은 후 IL-2 와 IFN-g를 측정 하였다.

(1) EF-1의 경구 투여가 IL-2 생성에 미치는 효과

대조군의 피어스판에서 분리된 면역 세포들은 Con A의 자극에 상관없이 감지할 만한 IL-2를 생성할 수 없었으나 EF-1을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 면역세포에서는 Con A로 인한 자극에 의해 IL-2 생성이 유의적으로 증가하였다. EF-1을 투여한 군에서는 양성 대조군인 capsaicin을 투여한 군에 비하여 IL-2 생성을 증가시키는 효과를 나타내는 것을 확인하였으며, chlorophyll B와 비슷한 효과를 나타내었다 (그림 20. A).

(2) EF-1의 경구 투여가 IFN- γ 생성에 미치는 효과

대조군의 피어스판에서 분리된 면역 세포들은 Con A의 자극에 상관없이 감지할 만한 IFN- γ 를 생성할 수 없었으나 EF-1을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 면역세포에서는 Con A로 인한 자극에 의해 IFN- γ 생성이 유의적으로 증가하였다. EF-1을 투여한 군에서는 양성 대조군인 capsaicin을 투여한 군에 비하여 IFN- γ 생성을 증가시키는 효과를 나타내는 것을 확인하였으며, chlorophyll B 보다 큰 효과를 나타내었다 (그림 20. B).

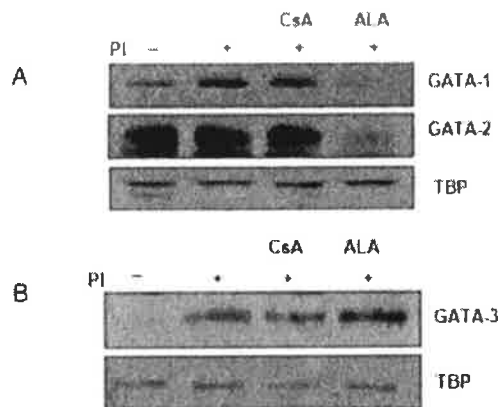


[Fig 20] Effects of capsaicin and chlorophyll on IL-2 and IFN- γ production in cultured PP cells ex vivo. Mice were treated orally with vehicle (control), capsacin, chlorophyll B, EF-1

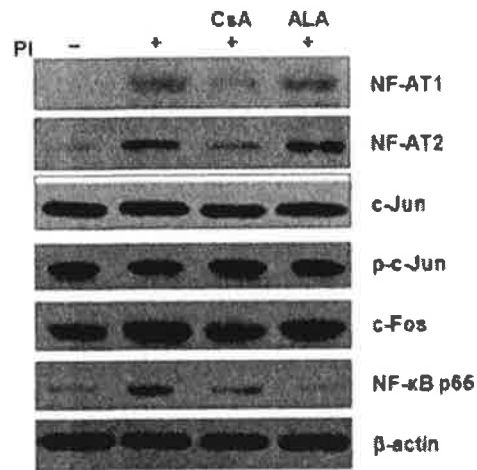
as the indicated dose once a day for 4 consecutive days, and the PP cells were collected on day 6 after the first day of treatment and cultured in the presence of I BA stimulation. (A) IL-2 production in PP cells with I B, stimulation, (B) IFN- γ production in PP cells with I B, stimulation., II data are expressed as the mean \pm SD of three-independent experiments. (* : $p < 0.05$. ** : $p < 0.01$ compared with the control mice.)

차. 고추씨에 존재하는 리놀렌산이 전사인자에 미치는 영향

고추의 성분인 리놀렌산이 비만세포 특이적 전사 인자인 GATA 단백질 발현을 억제함을 확인하였다. 리놀렌산은 비만세포 특이적으로 발현되어 IL-4와 IL-13의 발현을 조절하는 전사인자인 GATA-1과 GATA-2의 핵 내 발현을 억제하는 작용이 있었으며 (그림 21. A), T 세포의 GATA-3 전사인자에 대해서는 어떠한 작용도 나타내지 않았다(그림 21. B). 또한 NF-kB의 발현을 감소시키는 효과를 나타낸 반면 NF-AT나 AP-1의 발현에는 어떠한 영향도 나타내지 않은 것을 확인하였다(그림 22). 이러한 결과는 고추 추출물이 비만세포 특이적 전사인자나 특정 전사인자들을 조절하는 신호 전달체계에 작용함으로써 Th2 사이토카인의 발현을 조절할 가능성을 나타내었다.



[Fig 21] Effects of ALA and EPA on expression of GATAs. (A) RBL-2H3 mast cells and (B) EL-4 T cells were pretreated with 100 μ M of ALA and EPA for 1 hr, and then stimulated with PI for 6 hr. Nuclear extracts were isolated and separated by SDS-PAGE. The levels of nuclear GATA proteins were determined by western blot analysis. TBP was used as a loading control.



[Fig 22] Effects of ALA and EPA on activation of various transcription factors in RBL-2H3 mast cells. The cells were pretreated with 100 μ M of ALA and EPA for 1 hr, and then stimulated with PI for 6 hr. Total cellular lysates were harvested and separated by SDS-PAGE. The level of each transcription factor was determined by western blot analysis. β -actin was used as a loading control.

제 4 절 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 평가의 착안점 및 기준

| 구분 | 연도 | 세부연구목표 | 가중치 | 평가의 착안점 및 기준 |
|----------|------|---|------|---|
| 3차 년도 | 2007 | 친환경 농산물 추출물의 면역세포 활성화 작용 분석 | 25 % | 친환경 농산물 추출물의 면역세포 활성화 작용이 분석되었는가 |
| | | 친환경 농산물 추출물의 면역세포 염증반응 제어 작용 분석 | 25 % | 친환경 농산물 추출물의 면역세포 염증반응 제어 작용이 분석되었는가 |
| | | 친환경 농산물 추출물의 Th1, Th2 면역 활성 조절능 분석 | 50 % | 친환경 농산물 추출물이 Th1 사이토카인 생성에 미치는 영향이 분석되었는가 |
| 4차 년도 | 2008 | 친환경 농산물(고추 2종 및 쌈채)의 면역세포 염증반응 제어 작용 분석 | 40 % | 친환경 농산물 성분의 면역세포 염증반응 제어 작용이 분석되었는가 |
| | | 친환경 농산물(고추 2종 및 쌈채)의 Th1 면역 활성 조절능 분석 | 30 % | 친환경 농산물 성분이 Th1 사이토카인 생성에 미치는 영향이 분석되었는가 |
| | | 친환경 농산물(고추 2종 및 쌈채)의 Th2 면역 활성 조절능 분석 | 30 % | 친환경 농산물 성분이 Th2 사이토카인 생성에 미치는 영향이 분석되었는가 |
| 5차 년도 | 2009 | 세포신호전달물질 활성화 조절 메커니즘 연구 | 30 % | 세포신호전달물질의 활성화조절 메커니즘이 분석되었는가 |
| | | 전사조절인자 활성화 조절 메커니즘 연구 | 30 % | 전사조절인자의 활성화조절 메커니즘이 분석되었는가 |
| | | 면역 활성 또는 저하 동물 모델에서 나타내는 면역 조절 메커니즘 연구 | 40 % | 면역조절작용이 동물모델에서 분석되었는가 |

2. 연구개발목표의 달성도

| 목 표 | 연구개발 수행내용 | 달성도(%) |
|---|--|--------|
| 친환경 농산물의 <i>in vitro</i> 면역 조절 기능 분석 | <ul style="list-style-type: none"> - 관행 재배와 친환경 재배에 의하여 생산된 고추추출물을 시료로하여 세포에 독성을 나타내지 않는 농도에서 LPS 등으로 활성화된 Raw 264.7 대식세포주의 염증성 활성 제어 작용 분석 - 관행 재배와 친환경 재배에 의하여 생산된 고추추출물을 시료로하여 세포에 독성을 나타내지 않는 농도에서 PMA와 ionomycin (PI)에 의하여 활성화된 RBL-2H3 호염기구 세포주의 활성 제어 작용 분석 | 100 |
| 친환경 농산물의 <i>in vivo</i> 및 <i>ex vivo</i> 면역조절 기능 분석 | <ul style="list-style-type: none"> - 관행 재배와 친환경 재배에 의하여 생산된 고추추출물을 생쥐에 경구 투여하여 면역 조절능을 분석 | 100 |

제 5 절 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구개발 성과

가. 학술지 게재 논문 실적

| 연번 | 논문제목 | 게재학술지명 (약자) | 게재 년도 | 권: 쪽수 | SCI 구분 | Impact Factor | 제1저자 | 교신저자 | 공동저자 | 외국인 공동저자 |
|----|---|--|----------|-----------------|--------|---------------|----------|---------|---|----------|
| 1 | Development of an <i>in vitro</i> Test System Measuring Transcriptional Down-Regulatory Activities on IL-13 | J Microbiol Biotechnol | 2009.06 | 19(3):331-337 | SCIE | 2.06 | J J Choi | M R Jin | BKPark, SYPark, CYun, DHKim, J S Kim, E S Hwang | |
| 2 | Immunomodulatory Effects of Orally Administrated Capsicum Extract on Peyer's Patches | Koream Journal of Oriental Phsiology & Pathology | 2010. 06 | 24(3) : 446-451 | KSCJ | | M Y Park | M L Jin | D H Kim | |

나. 특허 출원,등록 실적

| 연번 | 출원인 | 제목 | 국가 및 출원/등록 구분 | 출원/등록번호 (출원/등록날짜) | 제1발명자 (공동발명자) |
|----|-------------|--|---------------|------------------------------|-----------------------|
| 1 | 대전대학교 산학협력단 | 7,8,4' - 트리하이드록시플라본 화합물을 유효 성분으로 함유하는 알리지 질환의 예방 및 치료용 조성물 | 대한민국/출원 | 10-2009-0089608 (2009.09.22) | 진미림 (김동희 표명순 조양구 이용등) |

다. 학술대회 실적

| 연번 | 저자명 | 논문 제목 | 학술대회 명칭 | 학술대회개최기간 및장소 | 발표형태 |
|----|---------------------|--|---|-----------------------|------|
| 1 | 박민영 최정준 박보경 박선영 진미림 | Enhancement of Immune Cell Activation by Environmental - Friendly Cultivated Capsicums in Murine Peyer's Patches | 2009 한국응용생명화학회 춘계학술대회 | 2009.04.24 광주과학기술원,한국 | 포스터 |
| 2 | 박보경 최정준 진미림 | Omega-3 Fatty Acids Down-regulate Th2 Cytokines and Selective Transcription Factors in Mast Cells | 2009 한국응용생명화학회 춘계학술대회 | 2009.04.24 광주과학기술원,한국 | 포스터 |
| 3 | 박보경 최정준 진미림 | Omega-3 Fatty Acids Down-regulate Th2 Cytokines and Selective Transcription Factors in Mast Cells | The Fall International Convention 2009대한약학회 | 2009.05.07-08 대전컨벤션센터 | 포스터 |
| 4 | 박민영 최정준 박보경 박선영 진미림 | Enhancement of Immune Cell Activation by Environmental - Friendly Cultivated Capsicums in Murine Peyer's Patches | The Fall International Convention 2009대한약학회 | 2009.05.07-08 대전컨벤션센터 | 포스터 |

라. 인력양성

| 연번 | 인력양성연도 (졸업연도) | 인력양성내용 | 성명 | 학위 |
|----|---------------|---------------------------------------|-----|----|
| 1 | 2009 | 알파리놀렌산에 의한 비만세포 Th2 사이토카인 발현 하향 조절 작용 | 박보경 | 석사 |
| 2 | 2010 | 다중불포화지방산의 비만세포 Th2 사이토카인 발현 하향 조절 작용 | 박민영 | 석사 |

2. 성과활용 계획

가. 실용화·산업화 계획

향후 본 사업단의 메뉴월에 의한 작물의 재배 이력 확립 시 면역 활성 물질이 증강된 고 추가 재배되고 기능성 식품 개발 등에 활용할 수 있을 것이다.

나. 홍보 계획

친환경 고추의 면역 기능성 증가에 대한 홍보 등을 통해 향후 친환경 재배 농산물의 소비 촉진 및 친환경 농업정책 추진에 이바지 할 것으로 판단이 된다.

다. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등

친환경 고추에서 면역 증강 작용을 나타내는 물질의 구조가 동정되면 재배 방법 및 물질에 대한 특허를 확보하고 이에 대한 논문을 출판 할 것이다.

라. 추가연구, 타 연구에 활용계획 등

장관 면역계에 대한 작용뿐 만 아니라 감염에 대한 방어 작용 및 그 기전에 대한 연구가 계속 진행될 것이다.

제 6 절 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보[2-3]

1. 재배 방법에 따라 과실이나 식물에 축적되는 화학물질이나 항산화 물질의 양, 구성 등이 변화한다는 것이 보고되고 있다. Serrano 등 (2005)은 체리의 재배 방법이나 채취한 시기에 따라 항산화 물질의 양과 구성이 변화하였음을 보고하였고, 공기 오염이 있는 지역이나 오염된 토지에서 자라는 망고 나무 과실에 다양한 중금속과 오염 물질이 축적됨을 보고 하였다 (Klumpp et al, 2003). Rapatsa 등 (2010)은 사용한 비료의 종류와 양에 따라서 고추의 수확량과 크기에서 유의적인 차이가 발생 할 수 있다는 것을 보고하였다.
2. 장관 면역계의 피어스판은 음식으로 인한 면역 반응을 조절하는 중요 면역기관이며 이에 Th1 사이토카인이 핵심 역할을 한다는 것이 지속적으로 연구되고 있을 뿐 아니라 (Temblay et al., 2007), 식품이나 식물로부터 기원한 다양한 기능성 물질들이 장관 면역체계를 통하여 전신적 면역 조절 작용을 나타낸다는 것이 보고되고 있다. 고추 추출물이 장관 면역계에 존재하는 피어스판 면역세포를 활성화하여 IL-2와 IFN- γ 의 생성을 증가시킨다는 것이 보고되었으며 (Takano et al., 2007) 고추 추출물에 존재하는 카로테노이드가 피어스판 면역 세포수의 변화를 유도하지 않으면서 IL-2의 생성을 촉진한다는 것이 최근에 알려졌다 (Yamachuchi et al., 2010). 또한 인삼 추출물은 장관 면역계를 통하여 회장에 존재하는 IgA를 생산하는 세포의 수를 증가시킬 수 있다는 것이 보고되었다 (Biondo et al., 2008). 버섯에 존재하는 단백다당체가 장관 면역계에서 TNF- α 와 IL-10을 증가시킴으로서 면역조절 작용을 나타낸다는 것을 보고하였다 (Zhao et al., 2010).

제 7 절 참고문헌

- 농촌진흥청 농업생명공학연구원 (2004) 유전자원 특성조사 및 관리요령 REP PEPPER 고추, 3, 중약대사전편찬위원회 (1997) 완역중약대사전 권2. 서울, 정담, p. 668-670
- 박재승, 최두영, 하현주, 임선영, 하대유 (1998) Capsaicin이 Cytokines과 Nitric Oxide 생산, *Salmonella* 감염 및 NF- κ B 활성화에 미치는 영향. *Korean J. Immunol*, 20(3): 349-363.
- Chiang GH (1986) HPLC analysis of capsaicins and simultaneous determination capsaicins and piperine by HPLC-ECD and UV. *J. Food Sci*, 51: 499.
- Mowat AM (2003) Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol*, 3(4): 331-341.
- Takano F, Yamaguchi M, Takada S, Shoda S, Yahagi N, Takahashi T, Ohta T (2007) Capsicum ethanol extracts and capsaicin enhance interleukin-2 and interferon-gamma production in cultured murine Peyer's patch cells ex vivo. *Life Sci*, 80(17): 1553-1563.
- Cerutti A, Rescigno M (2008) The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity*, 28(6): 740-750.
- Nilsson G, Alving K, Ahlstedt S (1991) Effects on immune responses in rats after neuromanipulation with capsaicin. *Int J Immunopharmacol*, 13(1): 21-26.
- Diepvens K, Westerterp KR, Westerterp-croscenga MS (2007) Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 292(1): 77-85.
- Kim JD, Kim JM, Pyo JO, Kim SY, Kim BS, Yu R, Han IS (1997) Capsaicin can alter the expression of tumor forming-related genes which might be followed by induction of apoptosis of a Korean stomach cancer cell line. *SNU-1, Cancer Lett*, 9;120(2): 235-241.
- Gertsch J, Güttinger M, Sticher O, Heilmann J (2002) Relative quantification of mRNA levels in Jurkat T cells with RT-real time-PCR (RT-rt-PCR): new possibilities for the screening of anti-inflammatory and cytotoxic compounds. *Pharm Res*, 19(8): 1236-1243.
- Fischer BS, Qin D, Kim K, McDonald TV (2001) Capsaicin inhibits Jurkat T-cell activation by blocking calcium entry current I(CRAC). *J Pharmacol Exp Ther*, 299(1): 238-246.
- Yoshida T, Hachimura S, Ishimori M, Kinugasa F, Ise W, Totsuka M, Ametani A, Kaminogawa S (2002) Antigen presentation by Peyer's patch cells can induce both Th1- and Th2-type responses depending on antigen dosage, but a different cytokine response pattern from that of spleen cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66(5): 963-969.
- David M, Jonathan B, David BR, Ivan R (2006) Immunology seventh edition. USA, Mosby. p 157, 160, 197, 224, 235, 247, 267, 522, 523.
- Cerutti A, Rescigno M (2008) The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity*, 28(6): 740-750.

제 4 장 친환경농산물의 기호성 및 기능성 평가 [2-4]

제 4 장 친환경농산물의 기호성 및 기능성 평가 [2-4]

요 약 문

I. 제목 : 친환경농산물 기호성 및 기능성 평가

II. 연구개발의 목적 및 필요성

본 과제는 친환경재배 농산물과 일반재배 농산물 중 원예작물인 고추, 배, 딸기, 토마토, 사과, 유자, 부지화과 식용 및 특용작물인 쌀, 녹차 그리고 쌈채류인 상추, 쑥갓, 깻잎 등의 물리성, 기호성, 생리활성물질 등의 함량 비교 분석과 친환경농산물 중 차잎과 뿌리를 이용한 친환경 가공제품 제조를 통해 친환경 농산물에 대한 소비자 인식 전환과 친환경농업 확산을 위한 과학적 근거 제시를 위한 기초 자료를 확보하고자 하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

국내 생산 농산물 가운데 우리 식생활에 많이 접하는 친화경농산물(무농약, 유기)과 일반농산물 중 고추, 배, 딸기, 토마토, 사과, 유자, 부지화, 쌀, 녹차, 상추, 쑥갓, 깻잎 등을 대상으로 기호성, 생리활성 및 항산화 물질, 폴리페놀화합물, 플라보노이드 등의 상호 비교 분석을 통한 차별성 연구와 친환경 뿌리, 가바녹차 등의 친환경 제품의 개발

1. 친환경농산물과 일반농산물의 기호성 및 기능성 품질 평가

가. 분석품목 : 12개 품목

(고추, 배, 딸기, 토마토, 사과, 유자, 부지화, 쌀, 녹차, 상추, 쑥갓, 깻잎)

나. 분석성분

(1) 물리성 : 경도, 색도 등

(2) 기호성 : 당도, 총산, 엽록소, 총아미노산, 비타민 C 등

(3) 기능성 : 생리활성물질, 총페놀, 항산화, 플라보노이드, 아질산소거능 등

2. 친환경농산물 이용 가공제품 개발

가. 가공재료 : 3종 (친환경 차잎, 친환경뿌리, 친환경쌀)

나. 개발제품 : 5종 (가바녹차, 덕음뿌리, 뿌리녹차, 가바 뿌리가루차, 가바뿌리쌀)

IV. 연구개발 결과

1. 친환경 원예작물의 품질특성 연구

가. 친환경 및 일반 원예작물의 성분, 품질상의 차이를 비교한 결과

(1) 고추는 친환경이 일반에 비해 경도, 녹색도, 아미노산, 비타민 C 등 품질과 캡사이신, 총페놀, 항산화활성, 아질산소거능이 높음

(2) 친환경 배가 미량원소, 유리아미노산, 경도, 유리당, 총페놀, 항산화활성 등 함량 양호

(3) 친환경 딸기가 총질소, 유리아미노산, 당도, 적색도 및 유리당 함량, 경도가 높았고 항산화활성, 총페놀 함량도 양호하였음

(4) 친환경 토마토가 총질소, 당도, 아미노산, 적색도, 경도가 높았으며 비타민 C, 카로

- 틴, 라이코펜%, 항산화활성 및 총페놀 함량이 우수하였음
- (5) 친환경 사과가 당도, 산도, 경도 유리아미노산, 비타민 C, 항산화, 총페놀 함량이 높음
 - (6) 유기 유자가 황색도는 양호하였으나 당도, 경도 등 기호성, 물리성 차이는 크지 않았음. 헤스페리딘, 나린진, 총페놀, 항산화, 아질산소거능 등 기능성은 우수
 - (7) 친환경 부지화가 당도, 총산, 황색도, 경도가 높았고, 질산태질소함량이 낮았으며, 헤스파라딘, 나린진, 비타민 C, 총페놀, 항산화, 지질산패방지율 등 기능성이 높음

2. 친환경재배 식용 및 특용작물 품질 분석 연구

- 가. 친환경 및 일반 식용, 특용작물의 성분, 품질상의 차이를 비교한 결과
- (1) 유기쌀이 단백질, 아밀로스함량 등이 낮고, 취반미윤기치가 높아 품질이 우수하였고, 피트산, 총페놀, 항산화활성, 아질산소거능, 지질산패방지율 등 기능성이 높음
 - (2) 무농약 녹차가 총질소, 감칠맛 주성분인 데아닌 등 유리아미노산 및 엽록소 함량이 높아 품질 및 관능평가 양호, 비타민 C, 항산화, 총페놀 및 카테킨 등 기능성도 우수

3. 다양한 성분 스크린을 통한 친환경재배 쌈채류의 품질 연구

- 가. 친환경 및 일반재배 상추, 쑥갓, 깻잎의 성분, 품질상의 차이를 비교한 결과
- (1) 무농약상추가 당도, 녹색도가 높고, 질산태질소가 낮아 품질 및 안전성이 양호하였고 총페놀, 플라보노이드, 항산화활성, 아질산소거능 등 기능성이 높았음
 - (2) 무농약쑥갓이 경도, 질산태질소 함량 낮았고 총페놀, 플라보노이드, 항산화력 높음
 - (3) 무농약깻잎이 녹색도 높고, 질산태질소 함량은 낮았으며, 아질산소거능 등 높음

4. 친환경 재배 농산물의 GABA 함량 증진 기술개발

- 가. 차잎을 CO₂ 가스로 혐기처리 후 제다시 기호성과 기능성 GABA함량 10배 이상 증가
- 나. 옥류차 제조법 이용 친환경 병녹차 개발은 증열(100℃ 60초)→조유(130℃ 60분)→비법 (15분)→건조 및 마무리(180℃,50분-130℃,60분-80℃,60분)시 제품수율 및 기호성 양호
- 다. 친환경 튀음 병녹차는 첫튀음(270℃,7분)→비법(20분)→건조 및 마무리 185±5℃, 55±5분분-140℃,55±5분-70℃,40분)시 제품수율 및 기호성이 양호
- 라. 식용접착제를 1±0.5%농도로 쌀 표면에 균일하게 살포한 후 GABA강화 병잎가루차를 0.25~1% 코팅
- 마. 병잎을 글루탐산용액 0.025M에 1시간 혐기적으로 침적 후 100℃, 50~60초 증열처리, 105±5℃ 60±10분 열풍건조한 다음 분쇄기 이용 100μm이내 분말차 제조

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

| 논문게재 | | 학술 발표 | 특허 (출원 /등록) | 영농 활용 | 시책 건의 | 기술 이전 | 유전 자원 등록 | 교육 지도 | 산업화 | 국제 협력 | 홍보 | 인력 양성 | 성과물 제작 |
|------|--------|-------|-------------|-------|-------|-------|----------|-------|-----|-------|----|-------|--------|
| 국내 | SCI(E) | | | | | | | | | | | | |
| 3 | | 6 | (1/0) | 3 | | | | 2 | | | 17 | | |

2. 활용에 대한 건의

- 가. 친환경 및 일반재배 농산물의 차별성 식별을 위한 성분 및 품질 평가를 통해 분석된 기호성, 영양성, 기능성 등 과학적 데이터를 바탕으로 친환경 농산물의 우수성 제시와 소비자 인식 전환을 통한 친환경 재배, 가공 농가의 소득 증대에 기여코자 함
- 나. 소비패턴의 변화(양→질 →건강)에 기인해 소비자에게 친환경 농산물 우수성에 대한 과학적 자료에 근거한 적극적 홍보로 판매 활성화 및 국내 농업경쟁력 강화에 기여
- 다. 친환경 유기농산물 정책에 반영할 기초 자료 데이터 베이스화
- 라. 친환경농업 확산을 위한 과학적 근거 제시 및 친환경 농산물 우수성 검증 자료 확보

VI. Summary

1. Title : Quality evaluation of environmental-friendly agricultural products with respect to their functionality and favority

2. Object and necessity

This study was to give the consumer the information related to many beneficial functions as well as to obtain scientific data about environmental friendly harvested agricultural products. Many agricultural products were cultivated conventional or environmental friendly and investigate the their physical properties, functional compounds or physio-chemical functions. There were pepper, pear, strawberry, tomatoes, apple, citron, Bujiwha for horticultural products and rice, green tea, lettuce, crown daisy, sesame leaf for major crops or cash crops. Among them, organic green tea leaf and/or mulberry leaf were processed for favorable teas and evaluated their physiological or functional properties.

3. Research content and scope

Among Jeonnam major agricultural crops, conventional or environmental friendly (no pesticide or organic) products were selected and compared their physical properties like pH, hardness, total acidity or functional compounds content such as antioxidant compounds, polyphenols, or flavonoids. There were pepper, pear, strawberry, tomatoes, apple, citron, Bujiwha for horticultural products and rice, green tea, lettuce, crown daisy, sesame leaf for major crops or cash crops. Organic green tea leaf and/or mulberry leaf were processed

가. Flavor or functional evaluation of conventional or environmental friendly products

(1) Selected items : 12 products

pepper, pear, strawberry, tomatoes, apple, citron, Bujiwha, rice, green tea, lettuce, crown daisy, sesame leaf

(2) Analyzed factors

(가) Physical property : hardness, color etc

(나) Flavor compounds : sweetness, total acidity, chlorophyll, total amino acid, vitamin C etc

- Functionality : physiological function, total phenol, antioxidant, flavonoids, NO scavenging activity

나. Processed product development using environmental friendly products

- (1) Processed materials : three (organic green tea, mulberry leaf, rice)
- (2) Developed products : five (GABA green tea, roasted green tea, steam and roasted mulberry green tea, GABA powdered mulberry tea, GABA mulberry rice)

4. Research results

가. Quality evaluation of horticultural products cultivated environmental friendly

- (1) Environmental friendly cultivated horticultural products were analyzed on physical or chemical properties.
- (2) Environmental friendly pepper showed higher values on hardness, chlorophyll, amino acid content, capsaicine, total phenol, antioxidants, NO scavenging activity, compared to conventional pepper.
- (3) Environmental friendly pear contained higher amount of minerals, free amino acid, total phenol, or antioxidant activity.
- (4) Environmental friendly strawberry showed higher amount of total nitrogen, free amino acid, or free sugar and similar at antioxidant activity, total phenol content.
- (5) Environmental friendly tomatoes showed higher amount of total nitrogen, free amino acid, sugar, redness, or hardness and similar amount of Vit. C, carotenoides, lycopene, total phenol or antioxidant activity.
- (6) Environmental friendly apple showed higher amount of sugar, acidity, hardness free amino acid, Vit. C, total phenol or antioxidant activity.
- (7) Environmental friendly citron showed similar at sugar content, or hardness lower at yellowness but higher with total nitrogen, hesperinidin, naringin, total phenol or antioxidant activity.
- (8) Environmental friendly Bujiwha showed higher physical properties like sugar content, acidity, yellowness or hardness but lower at $\text{NO}_3\text{-N}$ content. It showed higher functional properties such as anti-lipid peroxidation, hesperinidin, naringin, total phenol or antioxidant activity.

나. Quality evaluation of major or cash crops cultivated environmental friendly

- (1) Environmental friendly cultivated major or cash products were analyzed their physical or functional properties.
- (2) Organic rice showed higher quality with lower amount of protein or amylose, and lower pasterized value. It showed higher functional properties such as anti-lipid peroxidation, phytic acid content, NO scavenging activity or antioxidant activity.
- (3) No pesticided green tea showed higher amount of total nitrogen, theanine, free amino acids, chlorophyll as well as the better function with anti-lipid peroxidation, catechin content, NO scavenging activity or antioxidant activity, compared to conventional green tea

다. Quality analysis of pressian vegetables cultivated environmental friendly

- (1) Environmental friendly cultivated pressian vegetables were compared to their physical or functional compounds.
- (2) No pesticided lettuce showed higher product quality with higher content of sugar or, chlorophyll but safer with lower $\text{NO}_3\text{-N}$ content, compared to conventional lettuce. It also showed better functional properties with anti-lipid peroxidation, catechin content, NO scavenging activity or antioxidant activity.
- (3) No pesticided crown daisy showed lower the hardness, $\text{NO}_3\text{-N}$ content, but higher NO scavenging activity, anti-lipid peroxidation or antioxidant activity.
- (4) No pesticided sesame leaf showed lower $\text{NO}_3\text{-N}$ content, but higher NO scavenging activity, chlorophyll content.

라. Increasing technique development of environmental friendly cultivated products

- (1) Green tea was exposed to CO_2 gas and tea manufactured with 10 times higher amount of GABA than conventional green tea
- (2) Optimum steam and roasted green tea was developed by steaming($100^\circ\text{C}, 60\text{sec}$)→blending ($130^\circ\text{C}, 60\text{min}$)→rolling(15min)→drying&roasting($180^\circ\text{C}, 50\text{min}$ — $130^\circ\text{C}, 60\text{min}$ — $80^\circ\text{C}, 60\text{min}$)
- (3) Environmental friendly muberry-green tea was manufactured by first roasting($270^\circ\text{C}, 7\text{min}$)→rolling (20min)→drying & roasting ($185\pm 5^\circ\text{C}, 55\pm 5\text{min}$ — $140^\circ\text{C}, 55\pm 5\text{min}$ — $70^\circ\text{C}, 40\text{min}$)
- (4) Edible glue ($1\pm 0.5\%$) was spread uniformly on the surface of rice and coated with GABA fortified powdered mullberry tea ($0.25\sim 1\%$)
- (5) Mullberry tea was soaked at 0.025M glutamic acid solution for 1h under anaerobic condition, steamed for 50~60 sec at 100°C and followed by drying at $105\pm 5^\circ\text{C}$ $60\pm 10\text{min}$, crushed within $100\mu\text{m}$ particle size.

목 차

| | |
|---|----|
| 제 1 절 연구개발과제의 개요 | 1 |
| 1. 연구개발의 필요성 | 1 |
| 2. 연구개발의 목표 및 범위 | 2 |
| 제 2 절 국내외 기술개발 현황 | 3 |
| 1. 국외 기술개발 현황 | 3 |
| 2. 국내 기술개발 현황 | 3 |
| 제 3 절 연구개발수행 내용 및 결과 | 4 |
| 1. 연구개발수행 방법 | 4 |
| 2. 연구개발수행 결과 | 4 |
| 가. 실험재료 | 4 |
| 나. 분석방법 | 5 |
| 다. 연구결과 | 8 |
| (1) 친환경 원예작물의 품질 특성 연구 | 8 |
| (2) 친환경재배 식용 및 특용작물 품질 분석 연구 | 14 |
| (3) 다양한 성분 스크린을 통한 친환경재배 쌈채류의 품질 연구 | 21 |
| (4) 친환경 재배 농산물의 GABA함량 증진 기술개발 | 24 |
| 제 4 절 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 | 35 |
| 1. 평가의 착안점 및 기준 | 35 |
| 2. 연구개발 목표의 달성도 | 36 |
| 3. 관련분야의 기술발전 기여도 | 36 |
| 제 5 절 연구개발 성과 및 성과활용 계획 | 37 |
| 1. 연구성과 | 37 |
| 2. 연구성과 활용 방안 | 39 |
| 제 6 절 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 | 40 |
| 제 7 절 참고문헌 | 41 |

제 1 절 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 필요성

가. 기술적 측면

- (1) 우리나라 농업은 양적성장을 목표로 화학비료, 농약 등 화학합성물질 다량사용, 생력화를 위한 농기계 적극도입, 경제성작목 중심 선택적 확대 등 생산효율, 수익성을 과도하게 추구
- (2) 소비자의 친환경농산물 선택 기준은 겉모양, 향, 영양가, 신선도, 맛, 안전성, 재배방법 등이지만, 겉모양과 향 이외의 정보는 친환경농산물 구입시 모두 비대칭성 상태임
- (3) 친환경 유기농산물이 소비자의 신뢰를 높이고, 생산자 품질향상 노력도 촉진시켜 가격차별화를 가능케하기 위해서는 작물학적, 식품영양학적 연구가 수반 되어야함.
- (4) 친환경 유기농산물과 일반농산물의 차별성은 어떤 지표성분 함유로 평가되는 것이 아니고 인체와 환경에 유해한 성분의 미포함에 대한 기대 등으로 평가되는 것이므로 품질 및 영양성, 기능성 관련 성분 연구가 절실함
- (5) 국가 식량수급계획, 국민영양조사·평가, 영양교육, 급식관리 및 국가 각종 영양 개선시책 수립을 위한 과학적 기초자료의 제공 측면에서 그 필요성이 절실함
- (6) 친환경농산물을 원료로 가공식품 개발 및 상품화 필요(필요한 세계 혜택, 가공시설 및 가공기술 지원, 포장재 제작 지원 등과 같은 정책지원프로그램을 마련해야 함)
- (7) 친환경 및 일반농산물의 다양한 성분 비교 분석을 통한 과학적 근거에 기초한 차별성을 부각시켜 친환경농산물의 우수성, 신뢰성 확보 및 친환경 농업에 대한 올바른 정책 입안을 위한 기초 자료 제공

나. 경제·산업적 측면

- (1) WTO, FTA 시스템과 농산물 무역 자유화라는 큰 흐름속에서 우리 농업과 농촌은 급변하는 조류에 편승하도록 내몰리고 있음
- (2) 국내 친환경 유기농산 시장이 2003년 3,900억원, 2006년 7,800억원으로 추정되며, 친환경 유기농식품 시장 규모는 2010년 1조 5,700억원으로 추정됨.
- (3) 1990년에 중반부터 소비자 소득수준 향상과 건강 및 식품안전성에 대한 사회적 관심 증대, 농약과다 사용에 대한 위험성 고조, 환경에 대한 소비자 의식수준 향상 등에 힘입어 친환경농산물 수요는 매년 40%씩 증
- (4) 현대인은 식품첨가물, 농약, 화학비료, 의약품 등 각종 오염물질로 인해 고혈압, 당뇨, 비만과 같은 만성성인병 뿐 아니라 암, 아토피, 알레르기 등이 증가되어 연간 35조원 이상의 국민 의료비는 지속적으로 증가해 장래 국민 경제에 큰 부담이 되리라 생각됨

다. 사회·문화적 측면

- (1) 친환경 유기 농산물에 대한 생산과 수요가 빠르게 증가 함에도 불구하고 안정된 판로부족, 친환경 유기농산물 생산기술의 미정착, 소비자의 인식부족, 품질 및 안전성에 대한 신뢰성 결여 등 다양한 문제점들이 산재하고 있음
- (2) 친환경 농산물의 생산, 출하만으로는 친환경 농업생산의 안전성과 지속성을 전망할 수 없으므로 생산자 및 소비자 조직이 친환경 유기 농산물 품질 우수성, 건강지향성, 친환경성 및 고부가가치성 등에 대한 인식 전환이 필요.

- (3) 농산물 시장개방이라는 큰 흐름 속에서 해외에서 들어오는 농산물도 계속 증가되면서 각종 수입농산물이 비안전성 문제에 대한 사회적 불신이 팽배해지고 있음
- (4) UR 협상 타결, WTO 체제 출범과 더불어 1996년 유통시장의 전면 개방으로 인해 국내 농산물 시장 환경이 급변하고 있으며, 더욱 폭 넓은 시장개방을 원하는 WTO 뉴라운드의 발효로 인해 국내 농산물 시장은 전세계와 무한경쟁 시대에 돌입하게 됨

2 연구개발의 목표 및 범위

가. 연구개발 목표

본 과제는 국내에서 생산되는 친환경재배 농산물과 일반재배 농산물 중 고추, 배, 딸기, 토마토, 사과, 유자, 부지화, 쌀, 녹차, 상추, 쪽갓, 깻잎 등의 물리성, 기호성, 생리활성물질 등의 함량 비교 분석과 친환경농산물 중 차잎과 빵잎을 이용한 친환경 가공제품 제조를 통해 친환경 농산물에 대한 소비자 인식 전환과 친환경농업 확산을 위한 과학적 근거 제시를 위한 기초 자료를 확보하는 것이 본 연구의 목표이다.

나. 연구개발의 내용

(1) 친환경농산물과 일반농산물의 기호성 및 기능성 품질 평가

(가) 분석품목 : 12개 품목

(고추, 배, 딸기, 토마토, 사과, 유자, 부지화, 쌀, 녹차, 상추, 쪽갓, 깻잎)

(나) 분석성분

- 물리성 : 경도, 색도 등
- 기호성 : 당도, 총산, 엽록소, 총아미노산, 비타민 C 등
- 기능성 : 생리활성물질, 총페놀, 항산화, 플라보노이드, 아질산소거능 등

(2) 친환경농산물 이용 가공제품 개발

(가) 가공재료 : 3종(친환경 차잎, 친환경빵잎, 친환경쌀)

(나) 개발제품 : 5종(가바녹차, 덕음빵녹차, 빵옥녹차, 가바 빵잎가루차, 가바빵쌀)

제 2 절 국내외 기술개발 현황

1. 국 외

- 가. 카로티노이드와 폴리페놀 함량이 일반 토마토에 비해 유기재배 토마토가 함량이 더 높은 것으로 나타남(Caris 와 Borel, 2004)
- 나. 유기포도주가 일반포도주에 비해 기능성성분인 레스베라트롤 함량이 평균 26% 더 많이 함유하고 있다고 보고하였다(Levite 등, 2000)
- 다. EU가 주관이 되었던 QLIF (Quality Low Input Food) 프로젝트에 참여한 Carlo Leifert 교수에 의하면, 유기재배농산물이 관행보다 40% 더 높은 항산화성분을 포함하였으며, 유기농 우유는 비유기농 우유보다 60%가 더 많은 항산화 성분과 불포화지방산을 함유하는 것으로 조사되었음 (Sunday times. 2007. 10. 28).
- 라. Phenolic acids, flavonoids와 같은 페놀화합물 및 카로티노이드 등과 같은 생리활성이 있는 phytochemicals는 식물의 이차대사와 관련되어있으며, 이러한 이차대사산물은 식물의 면역체계, 병해충, 영양부족 및 환경스트레스로부터 식물을 보호하기 위해 수반 되어지는 물질로 인식되어진다(Brandt 와 Molgaard, 2001)
- 마. 비타민 C 함량은 유기농 야채가 89.2 mg/100g으로 일반 야채 67.9 mg/100g 보다 함량이 많았다고 보고하였다(Mary, 2001)

2. 국 내

- 가. 유기재배 쌀의 경우 단백질 함량이 6.8%였고 외관, 맛, 점도 등 식미관능평가치는 0.07로 일반재배 쌀 단백질 함량 7.7%와 식미관능평가 -0.27에 비해 품질이 우수하였음(한 등, 1999)
- 나. 유기 및 관행재배 현미의 질소, 아밀로스, Mg/(K, N)비 등을 비교 분석한 결과 유기재배 시 각각 1.31%, 26.1%, 1.25% 였고 관행재배는 1.36%, 26.1%, 1.18%로 유기재배 현미 품질이 양호하였다고 보고하였음(김 등, 1990)
- 다. 유기재배 쌀이 일반 쌀에 비해 메탄올과 물 추출물에서 항산화 효과가 높았다고 보고 하였다(나 등, 2001)
- 라. 유기농 채소인 케일, 신선초, 샐러리, 상추, 파 등에 대한 무기물 및 비타민 함량에 관한 분석을 실시하였음(김 등, 2004)
- 마. 유기농산물을 이용한 신 기능성 식품개발을 위해 유기농산물의 일반성분, 잔류 농약 및 중금속 함량에 관한 연구가 이루어졌음(박 등, 2003)

제 3 절 연구개발수행 내용 및 결과

1. 연구개발수행 방법

| 연구 범위 | 연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법) | 구체적인 내용 |
|-------------------------------------|---|--|
| 1. 친환경 원예작물의 품질 특성 연구 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 물리성 및 기호성성분 분석 ○ 기능성 성분 분석 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 물리성 및 기호성성분 분석 ○ 기능성성분 및 항산화력 분석 |
| 2. 친환경재배 식용 및 특용 작물의 품질 분석 연구 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 물리성 및 관능평가 <ul style="list-style-type: none"> - 물리성 - 관능평가 - 식미평가 ○ 무기, 유기 성분 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 단백질, 아밀로스 - 총질소 - 총아미노산 - tannin - caffeine - 엽록소 - 비타민 C - 유리아미노산 ○ 기능성물질 및 항산화력 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 쌀 : 파이티산 - 녹차 : 카테킨 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 물리성 및 관능평가 ○ 무기, 유기 성분 분석 ○ 기능성물질 및 항산화력 분석 |
| 3. 다양한 성분 스크린을 통한 친환경 재배 쌈채류의 품질 연구 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 물리성 및 기능성성분분석 <ul style="list-style-type: none"> - 플라보노이드 - 비타민 C - 총페놀화합물 ○ 물리성 및 기호성성분 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 총질소 - 총아미노산 - tannin - caffeine - 엽록소 - 유리아미노산 - 비타민 C ○ 기능성성분 및 항산화력 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 총페놀성 - 항산화력 측정 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 물리성 및 기능성성분분석 ○ 물리성 및 기호성성분 분석 ○ 기능성성분 및 항산화력 분석 |
| 4. 친환경 재배 농산물의 GABA함량 증진 기술 개발 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성성분 및 항산화력 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 총페놀성 - 항산화력 측정 | |

2. 연구개발수행 결과

가. 실험재료

본 실험에 사용한 유기농 또는 무농약 및 일반재배 농산물 중 고추는 전남 나주시 남평읍

에서 10월에 생산된 청양 및 녹팥을, 배시료는 영암 월출농장에서 9월 하순에 수확한 신고배를, 딸기는 4월 중순에 담양 고서에서 실향을, 토마토는 전남 장성 학사농장에서 5월 중순에 호용을 구입하였고, 사과는 전남 장성군 황룡면에서 10월 상순에 수확한 후지를, 유자는 전남 고흥군 풍양면에서 11월 중순에 수확한 고흥재래를, 부지화는 전남 고흥군 풍향면에서 1월 하순에 수확한 과일, 버는 10월 상순에 전남 나주시 산포면 소재 농업기술원에서 수확한 운광, 호평, 호품, 일미, 온누리, 동진1호를, 녹차는 보성군 보성읍에서 재배된 재래종으로 제다한 찻물차를 구입해 사용하였으며, 상추는 전남 나주시 남평읍에서 9월 상순에 적토마상추를, 쪽갓은 전남 나주시 남평읍에서 9월 상순에 싹채쪽갓을, 깻잎은 전남 나주시 산포면에서 4월 상순에 만추를 구입해 실험에 사용하였고, 가공에 이용한 차잎은 보성군 보성읍 소재 녹차연구소에서 뽕잎은 화순군 남면에서 5월 하순에 구입해 실험에 사용하였다.

나. 분석방법

(1) 일반성분 및 무기성분

각 분석시료의 물리성은 Texture Analyser을 이용 TPA방법으로 경도, 씹힘성 등을 분석하였고, 색도는 Colorimeter를 이용 분석시료 표면 중의 Lab 값을 측정하였으며, pH 및 총산은 시료 10g에 20ml 증류수 첨가해 균질화 후 여과한 여액을 이용했는데, pH는 pH meter로 총산은 0.1N-NaOH용액을 이용, citric acid로 환산하였고, 총당은 시료 10g에 20ml 증류수를 첨가 후 균질화하여 여과 한 여액을 brix 당도계로 측정하였다. 유리당 분석은 과육에 증류수를 첨가해 균질화하여 여과한 후 10~40배 희석하여 0.45 μ m membrane filter 통과 후 HPLC을 이용해 fructose, glucose, sucrose 등을 분석하였고, 유리아미노산은 과육을 증류수 첨가후 균질화하여 여과한 후 10~20배 희석해 3000 xg 에서 10분간 원심분리된 상등액을 sample buffer [pH 2.2]로 5배 희석 후 HPLC(Jasco LC-900, Japan)를 이용 OPA precolumn system으로 유도화 시킨후 NH₃ column (AECpakII, Tokyo, Japan) 이용 분석하였으며(Choe, 2002). 질산태질소는 시료를 착즙하여 5~20배로 희석한 후 원심분리를 통하여 상등액을 채취하여 IC로 분석하였고, 무기성분(Inorganic compounds)은 식품시험공전법을 기초로 하여 ICP(Ion Coupled Plasma, Spectro Plame, Germany)를 사용해 분석하였다. 쌀의 단백질 함량은 Micro Kjeldahl법을 이용하였고, 아밀로스 함량은 Juliano(12)의 방법을 변형하여 분석하였는데, 쌀가루 100 mg을 플라스크에 넣고 에틸알콜, 1N-NaOH를 가하고 20 분간 방치후 비등수욕조에서 10분 호화시켰다. 방냉후 증류수 100 mL로 mass up 하고 이용액 5 mL를 메스플라스크에 옮기고 1N-CH₃COOH와 요오드용액을 넣어 증류수로 정용하여 30℃에서 20분간 반응시켰으며 UV-VIS spectrophotometer (UV-1201, Shimadzu, Tokyo, Japam)로 흡광도를 측정하였다. 취반미 윤기특성은 토요시험용 정미기 Toyo Midometer (MA-900, Tokyo, Japan)를 이용해 도정후 쌀 33 g 을 측정하여 토요식미계 부속장치에 넣은후 항온수조의 물이 적정온도에 도달하면 부속장치를 토요식미계 식미 측정 장치에 넣어 식미지수를 컴퓨터상에서 측정하였다. 알칼리붕괴도(Alkali digestive value) 측정 은 나 등(8)의 방법에 따라, 시료 6립을 15 mL 용량의 사가 플라스크에 넣고 1.4% KOH 용액 10 ml를 넣은후 30℃ 항온기에 23시간 정치 후 붕괴도(퍼짐도)와 투명도를 1-7등급으로 조사하였다. 산가(acid value)는 남궁 과 황(13) 방법으로 시료 1 g 취해 증류수 10 mL에 잘 현탁한후 페놀프탈레인을 두세방울 첨가, 0.1N NaOH를 첨가시 적색을 나타내는 시점의 소비된 NaOH 양으로 적정 산도를 계산하였다. 차의 Tannin, Caffeine, Vit. C는 茶の公定分析法(Ikegaya 등, 1990)에 준해 측정하였고, 총질소 정량은 비색법(IAS, 1989)에 따라 측정하였으며 표준물질로

(NH₄)₂SO₄를 사용하였다. 총아미노산은 신간이비색정량법(Ikegaya and Nasuda, 1986)에 따라 측정하였고, 엽록소는 Yoshida 등(1976)의 방법에 준해 측정하였다.

(2) 기능성 성분

캡사이신은 고추를 동결건조 통해 수분을 제거한 후 아세톤 또는 hexan을 첨가하여(고추 1g당 10mL 용매) 16시간 동안 200 rpm, 16°C, 암실에서 추출함. 원심분리(10,000 xg, 4°C, 20 min) 통해 찌꺼기를 제거한 후 물을 첨가해 상등액을 분획 추출함. 상등액을 건어낸 후 10배 농축해 성분을 TLC 이용 정제효율을 확인, 정량을 위해 HPLC 분석에 사용했다. 순도 확인은 Whatman K5 TLC plate에 점적 후 전개 용매(Choroform: triethylamine, 4:1 v/v)에 전개한 후 UV-lamp (245 nm)에 조사하거나 5% 황산과 N-(1-naphthyl)-ethylenediamine이 녹아있는 용매에 담근 후 121 °C에서 발색 정도를 확인. 각 분획의 농도는 densitometry(NIHprogram)통해 표준물질 이용 정량 분석함. HPLC 이용 분리 조건은 역상컬럼인 C₁₈컬럼(4.6*150mm, 5um), 이동상 acetonitrile: 0.5% formic acid water=85:15로 유속은 1ml/min, 컬럼온도는 35°C, 자외/가시선 검출기 280nm에서 분석하였다.

카로틴은 카로틴 농도가 10~20 IU/ml이 되도록 시료를 취하여 균질기에 넣은 다음 시료가 들어 있는 균질기에 유기용매를 사용해 카로틴을 추출한 후 감압농축으로 유기용매를 제거하고 메탄올로 정용해 0.45µm membrane filter 통과 후 HPLC을 이용해 분석하였다.

라이코펜은 토마토를 동결건조 후 hexan:아세톤:에탄올=1:1:1나 다이클로메탄을 첨가(10 ml 용매/토마토 1g) 8시간 동안 200 rpm, 16°C, 암실에서 추출함. 원심분리(10,000 xg, 4°C, 20 min) 상등액을 분획 추출. 상등액을 건어낸 후 10배 농축해 성분을 TLC (thin layer chromatography)이용 정제효율을 확인, 정량을 위해 HPLC 분석에 사용했다. 조추출물내 순도 확인은 Whatman K5 TLC plate에 점적후 ethyl acetate/acetic acid/water (3:1:1, v/v/v) solvent systems에 전개한 후 5% 황산과 N-(1-naphthyl)- ethylenediamine이 녹아있는 용매에 담근 후 121 °C 로 발색 후 UV-lamp (245nm)에 조사 확인. HPLC조건은 C₁₈컬럼(4.6*150mm, 5um), 이동상 MeOH:THF=95:5로 유속은 1 ml/min, 컬럼온도는 35C, 자외/가시선 검출기 450nm에서 분석.

피트산은 Wheeler와 Ferrel(16)의 변형된 방법으로 시료 0.5 g에 3% TCA (trichloroacetic acid)용액 25 mL를 가하고 45분간 진탕한 후 상등액을 취해 FeCl₃, sodium sulfate, 1.5N KSCN 용액 등을 첨가해 480 nm에서 ferric nitrate를 표준물질로 이용 피트산 함량을 측정.

헤스피리딘 및 나린진은 착즙한 여액을 원심분리한 후 상등액을 분석시료로 사용하였다. 여액 1 ml + diethyleneglycol 10ml + 1 N NaOH 1ml를 혼합해 헤스피리딘은 30°C, 10분 방치한 다음 360 nm에서 나린진은 30°C, 10분 방치 후에 420 nm에서 흡광도를 측정.

카테킨은 나 등(1992) 분석법에 따라 분쇄한 시료 100 mg + 내부표준물질 10 mg 물식자산을 100 ml 정량플라스크에 넣고 일수 80 ml를 가한 후 80 °C, 30분 항온수조에서 추출함. 여액 25 ml + 클로로포름 25 ml를 넣고 3회 반복 추출하여 카페인을 제거한 다음 물용액 + 에틸아세테이트 25 ml를 넣고 3회 반복 추출한 후 회전진공농축기로 농축, 메탄올 5 ml로 최종량을 맞추고 0.45µm membrane filter로 여과해 HPLC 분석용액으로 사용함.

플라보노이드는 시료 2 g + 80 % 메탄올 200 ml/300 ml 삼각플라스크에 넣고 혼합 후 80 °C 수욕상에서 1시간 환류 냉각 추출한 다음 여과해 여액으로 사용. 여액 0.2 ml + diethyleneglycol 2 ml를 잘 섞어 1 N NaOH 0.02 ml 혼합해 37 °C, 1시간 incubating하여 420 nm에서 측정. 표준물질로 rutin을 사용함

항산화력 검정은 DPPH(1,1-diphenyl -2-picrylhydrazyl)법을 이용 측정했는데, 일정무게 과일을 착즙하여 여과한 여액 1.0ml에 60 μ m DPPH 2ml와 대조구로 0.01%BHT, ascorbic acid, α -tocopherol 각각 2ml를 가해 5분간 섞고 37°C에서 30분 방치 후 VERSA MAX microplate reader(Molecular Device, USA)를 이용해 분광광도계 515nm에서 측정.

총페놀 함량은 Choi 등(17)의 방법에 준해, Folin-Denis 시약을 사용, 시료에 sodium carbonate(7.5%) 첨가, 100분간 암상태에서 반응 시킨후 760 nm에서 흡광도를 측정했다. 표준물질로는 sodium gallic acid를 검량곡선을 얻은후 시료내 총페놀 함량을 측정.

아질산소거능은 10mM sodium nitroprusside 수용액 2mL에 0.01M phosphate buffer (pH 7.4)0.5 ml와 시료 용액 0.5 ml를 가하여 25°C에서 100 분간 반응시킨 후 이반용액1 ml 취해 sulfanilic acid (0.33% in 20% acetic acid) 1 ml와 혼합한후 5분간 방치한 다음 여기에 0.1 % (w/v)naphthylethylene-diamine dihydrochloride용액(in 20% acetic acid)를 1 ml 가하여 30분간 방치 후 540 nm에서 흡광도 측정함.

지질산패방지 효과는 99.9 % 에탄올에 녹인 2.51 % linoleic acid 0.4 ml, 0.04M phosphate buffer (pH 7), 0.8 ml, 증류수 0.77 ml 그리고 최종농도가 25 ug/ml이 되도록 조제된 시료 0.03 ml로 만들어 암실에서 40°C에서 반응시키면서 매 24마다 0.1 ml를 취해 75 % ethanol 2.7 ml, 30 % ammonium thiocyanate 0.1 ml, 3.5 % HCl에 녹인 0.02M ferrous chloride 0.1 ml 와 혼합한 후 500 nm에서 흡광도를 측정하여 산화양상을 관찰해 반응 5일째의 흡광도를 기준으로해 저해율로 나타내며 용매만을 사용한 대조군의 흡광도에서 시료 첨가군의 흡광도를 뺀 값을 대조군의 흡광도로 나눈값을 백분율로 하여 산출.

(3) 관능검사

식미 검사를 위해 30 g 쌀을 잘 씻어 30분간 불린 후 36 mL 물을 넣고 전기밥솥에서 20분 가열하고 10분간 뜸을 들인 다음 외부로 꺼내 실온에서 30분 동안 방치한 다음 시료로 사용하였다. 관능검사는 10명의 패널 (전남농업기술원, 식품연구소 나이 30세 전후, 여성 85%, 남성 15%)에 의해 외관, 향기, 맛, 경도, 점도, 종합평가 등의 항목을 -3~3까지 점수를 부여해 평가하였다.

녹차 관능검사는 시료 2g을 백색자기(\varnothing 90 \times 100mm)에 넣고 80°C 물 150ml를 부어 다선로 휘저어 10명의 검사원들에 의해 실시되었으며, 茶 審査法(Takeo, 1988)을 응용해 외관의 형상, 내적형질에는 수색, 향, 맛, 우려낸 차잎 등 5항목에 대해 총합 100점 만점으로 하였다.

(4) 통계처리

실험에서 얻어진 결과는 SAS 프로그램 (Package relwase 8.01)을 이용하여 평균±표준편차로 표시하였고, 평균값의 통계적 유의성은 p<0.05수준에서 Duncan의 다중검정법 (multiple range test)에 의해 검정 하였다.

다. 연구결과

(1) 친환경 원예작물의 품질특성 연구

일반 및 무농약재배 녹광고추의 물리성과 기호성은 표 1에서 볼 수 있다. 물리성을 나타내는 경도는 무농약 녹광고추가 563로 일반재배 544에 비해 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 가용성당과 총산, 총아미노산은 무농약과 일반재배 간에 차이가 크지 않았으나, 엽록소와 비타민 C는 무농약이 각각 344 mg 100g⁻¹와 57 mg 100g⁻¹로 일반재배 274 mg 100g⁻¹와 45 mg 100g⁻¹에 비해 함량이 많았다. 표면색상에서 밝기를 나타내는 L값과 황색의 b값은 일반재배와 무농약 녹광고추간에 통계적 유의성이 없었으나, 녹색을 나타내는 a값은 무농약이 -17.9로 일반재배 -16.9에 비해 표면녹색이 양호하였다.

[표 1] 일반 및 무농약재배 고추의 품질 비교(녹광)

| 재배유형 | 경도 (g) | 당도 (°brix) | 총산 (%) | 총아미노산 (mg 100g ⁻¹) | 엽록소 (mg 100g ⁻¹) | 비타민 C (mg 100g ⁻¹) | 색도 | | |
|------|-----------|---------------|-----------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------|--------------------|------|
| | | | | | | | L | a | b |
| 일 반 | 544 | 4.9 | 0.274 | 594 | 274 ^b | 45 ^b | 35.4 | -16.9 ^b | 26.1 |
| 무농약 | 563 | 5.1 | 0.292 | 597 | 344 ^a | 57 ^a | 36.1 | -17.9 ^a | 27.7 |

일반 및 무농약재배 부지화의 기능성함량 비교는 표 2와 같다. 항암, 노화억제, 심혈관 질환예방, 콜레스테롤 저하 등 기능성을 나타내는 캡사이신은 무농약이 20.4 mg 100g⁻¹으로 일반재배 15.0 mg 100g⁻¹보다 함량이 많았으며, 총페놀은 무농약 녹광고추가 89.0 mg 100g⁻¹으로 일반재배 68.0 mg 100g⁻¹에 비해 30.9 % 함량이 많았고, 항산화력은 무농약이 42.2 %였으며, 일반재배는 30.5 %로 무농약 녹광고추 활성이 높았다. 생리활성을 나타내는 아질산소거능은 무농약 53.8 %로 일반재배 33.0 %에 비해 양호하였으며 지질산패방지율도 무농약(25.7 %)이 일반재배 (20.8 %)보다 우수하였다.

[표 2] 일반 및 무농약재배 고추의 기능성성분 비교(녹광)

| 재배유형 | 캡사이신 (mg 100g ⁻¹) | 총페놀 (mg 100g ⁻¹) | 항산화활성 (%) | 아질산소거능 (%) | 지질산패방지율 (%) |
|------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 일 반 | 15.0 ^b | 68.0 ^b | 30.5 ^b | 33.0 ^b | 20.8 ^b |
| 무농약 | 20.4 ^a | 89.0 ^a | 42.2 ^a | 53.8 ^a | 25.7 ^a |

표 3은 일반 및 무농약재배 청양고추의 물리성과 기호성을 나타냈다. 물리성을 나타내는 경도는 무농약 청양고추가 604로 일반재배 553에 비해 높았으며, 가용성당과 총산, 엽록소는 무농약과 일반재배 간에 차이가 크지 않았고, 총아미노산은 무농약(633 mg 100g⁻¹)이 일반재배(490 mg

100g⁻¹)에 비해 함량이 많은 경향이였다. 비타민 C는 무농약이 67 mg 100g⁻¹, 일반재배가 51 mg 100g⁻¹으로 무농약 청양고추가 31 % 함량이 많았다. 표면색상에서 밝기를 나타내는 L값과 황색의 b값은 일반재배와 무농약 청양고추간에 차이가 없었으나, 녹색을 나타내는 a값은 무농약이 -16.5로 일반재배 -15.3에 비해 표면녹색이 양호하였다.

[표 3] 일반 및 무농약재배 고추의 품질 특성 비교(청양)

| 재배유형 | 경도 (g) | 당도 (°brix) | 총산 (%) | 총아미노산 (mg 100g ⁻¹) | 엽록소 (mg 100g ⁻¹) | 비타민 C (mg 100g ⁻¹) | 색도 | | |
|------|------------------|---------------|-----------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------|--------------------|------|
| | | | | | | | L | a | b |
| 일 반 | 553 ^b | 6.1 | 0.320 | 490 ^b | 270 | 51 ^b | 32.9 | -15.3 ^b | 21.8 |
| 무농약 | 604 ^a | 6.1 | 0.328 | 633 ^a | 274 | 67 ^a | 33.1 | -16.5 ^a | 23.3 |

일반 및 무농약재배 청양고추의 기능성함량 비교는 표 4에서 볼 수 있는데 항암, 노화억제, 심혈관 질환예방, 콜레스테롤 저하 등 기능성을 나타내는 캡사이신은 무농약이 24.8 mg 100g⁻¹으로 일반재배 15.0 mg 100g⁻¹보다 함량이 많았으며, 총페놀은 무농약 청양고추가 99.9 mg 100g⁻¹으로 일반재배 84.5 mg 100g⁻¹에 비해 18.2 % 함량이 많았고, 항산화력은 무농약이 39.6 %였으며, 일반재배는 27.4 %로 무농약 녹광고추 활성이 높았다. 발암물질인 나이트로스아민 생성을 억제하는 아질산소거능은 무농약 59.4 %로 일반재배 40.8 %에 비해 양호하였으며 고혈압, 혈관 질환 발생원인인 지방의 산패 방지와 관련된 지질산패방지율도 무농약(29.1 %)이 일반재배(17.1 %)보다 우수하였다.

[표 4] 일반 및 무농약재배 고추의 기능성성분 비교(청양)

| 재배유형 | 캡사이신 (mg 100g ⁻¹) | 총페놀 (mg 100g ⁻¹) | 항산화활성 (%) | 아질산소거능 (%) | 지질산패방지율 (%) |
|------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 일 반 | 15.0 ^b | 84.5 ^b | 27.4 ^b | 40.8 ^b | 17.1 ^b |
| 무농약 | 24.8 ^a | 99.9 ^a | 39.6 ^a | 59.4 ^a | 29.1 ^a |

일반 및 무농약재배 배의 미량원소는 표 5에서 볼 수 있는데 무농약 배가 일반 배에 비해 붕소(B) 27 %, 망간(Mn) 30 %, 철(Fe) 20 %, 구리(Cu) 22 % 함량이 많았고 크롬(Cr)과 아연(Zn) 함량은 큰 차이를 보이지 않았다.

[표 5] 일반 및 무농약재배 배의 미량원소 함량(신고)

| 재배유형 | 미량원소 함량(ppm) | | | | | |
|------|--------------------|--------|-------------------|-------------------|-------------------|--------|
| | B(붕소) | Cr(크롬) | Mn(망간) | Fe(철) | Cu(구리) | Zn(아연) |
| 일 반 | 24.78 ^b | 1.88 | 3.48 ^b | 7.24 ^b | 5.94 ^b | 1.9 |
| 무농약 | 31.56 ^a | 2.56 | 4.52 ^a | 8.72 ^a | 7.22 ^a | 2.3 |

일반 및 무농약재배 배의 유리아미노산은 표 6에서와 같은데 무농약 배가 아스파틱산, 발린, 이소류신, 라이신, 히스티딘 함량이 많았으나 세린, 글루타민, 알라닌 함량은 적었고 류신 함량

은 차이가 없는 경향이였다.

[표 6] 일반 및 무농약재배 배의 아미노산 함량 비교

| 재배유형 | 유리아미노산 함량(mg 100g ⁻¹) | | | | | | | | |
|------|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----|------------------|------------------|
| | 아스파티산 | 세린 | 글루타민 | 알라닌 | 발린 | 이소류신 | 류신 | 라이신 | 히스티딘 |
| 일 반 | 1560 ^b | 410 ^a | 225 ^a | 290 ^a | 233 ^b | 169 ^b | 211 | 123 ^b | 210 ^b |
| 무농약 | 1675 ^a | 328 ^b | 193 ^b | 253 ^b | 250 ^a | 203 ^a | 208 | 148 ^a | 249 ^a |

일반 및 친환경재배 배의 품질 비교는 표 7에서 보는 것처럼 무농약재배 배가 일반재배 배에 비해 가용성당 함량이 약 0.6 % 더 높았으며, 산도 차이는 크지 않았고, 경도는 10.3 % 더 강해 저장시 유리하다 생각된다. 무농약이 일반재배 배에 비해 유리당 중 프락토스, 솔비톨은 함량이 많았고, 글루토스와 슈크로스는 큰 차이가 없었으며, 기능성을 나타내는 항산화활성은 55 %, 총페놀 19.5 % 높았음

[표 7] 일반 및 무농약재배 품질 및 기능성 비교

| 재배유형 | 당도 (%) | 산도 (%) | 경도 (g) | 유리당 함량(%) | | | | 항산화활성 (%) | 총페놀 (mg 100g ⁻¹) |
|------|--------|--------|------------------|-----------|-------------------|------|-------------------|-----------------|------------------------------|
| | | | | 글루코스 | 프락토스 | 슈크로스 | 솔비톨 | | |
| 일 반 | 12.8 | 0.16 | 729 ^b | 1.00 | 3.62 ^b | 0.10 | 1.58 ^b | 40 ^b | 78.3 ^b |
| 무농약 | 13.4 | 0.18 | 804 ^a | 1.18 | 4.09 ^a | 0.13 | 1.87 ^a | 62 ^a | 93.6 ^a |

일반 및 무농약재배 딸기의 무기성분함량은 표 8에서 보는 것 처럼 무농약재배가 일반재배에 비해 K₂O, Mn, Fe 함량이 많았으나, Na₂O는 적었고 T-N, CaO, MgO는 차이가 거의 없었다.

[표 8] 일반 및 무농약재배 딸기의 무기성분 함량(설향)

| 재배유형 | 무기성분 함량 | | | | | | | |
|------|---------|---------------------|--------|--------|----------------------|-------------------|-------------------|--|
| | T-N(%) | K ₂ O(%) | CaO(%) | MgO(%) | Na ₂ O(%) | Mn(ppm) | Fe(ppm) | |
| 일 반 | 0.84 | 1.13 ^b | 0.08 | 0.08 | 0.15 ^a | 6.9 ^b | 16.7 ^b | |
| 무농약 | 0.91 | 1.54 ^a | 0.08 | 0.08 | 0.02 ^b | 11.3 ^a | 19.1 ^a | |

일반 및 무농약재배 딸기의 유리아미노산은 표 9와 같은데 무농약 딸기가 프로린, 이소류신, 라이신, 아르기닌 함량이 많았고 아스파티산, 세린, 알라닌, 발린, 메티오닌 함량은 차이가 크지 않는 경향이였다.

[표 9] 일반 및 무농약재배 딸기의 유리아미노산 함량 비교

| 재배유형 | 유리아미노산 함량(mg 100g ⁻¹) | | | | | | | | |
|------|-----------------------------------|-----|------------------|-----|-----|------------------|------|------------------|------------------|
| | 아스파틱산 | 세린 | 프로린 | 알아닌 | 발린 | 이소류신 | 메티오닌 | 라이신 | 아르기닌 |
| 일 반 | 950 | 137 | 295 ^b | 195 | 163 | 105 ^b | 103 | 159 ^b | 580 ^b |
| 무농약 | 955 | 153 | 388 ^a | 223 | 185 | 157 ^a | 115 | 198 ^a | 615 ^a |

표 10은 일반 및 무농약재배 딸기의 품질로 무농약재배가 일반재배에 비해 가용성당, 경도 등이 양호하였고, 표면색의 적색(a값)도 강한 경향이였다. 유리당 중 글루코스, 프락토스, 슈크로스는 무농약이 일반재배에 비해 함량이 약간 많았으나 통계적 유의성은 없었다. 항산화는 무농약이 일반재배에 비해 16 % 활성이 높았다. 총페놀화합물은 무농약이 일반재배에 비해 24 % 함량이 높았다.

[표 10] 일반 및 무농약재배 딸기의 품질 및 기능성 비교

| 재배유형 | 당도 (%) | 산도 (%) | 경도 (g) | 적색도 (a값) | 유리당 함량(%) | | | 항산화력 (%) | 총페놀 (mg 100g ⁻¹) |
|------|-------------------|--------|------------------|-------------------|-----------|------|------|-------------------|------------------------------|
| | | | | | 글루코스 | 프락토스 | 슈크로스 | | |
| 일 반 | 9.7 ^b | 0.33 | 180 ^b | 36.5 ^b | 2.20 | 2.60 | 1.11 | 67.3 ^b | 106 ^b |
| 무농약 | 10.4 ^a | 0.38 | 194 ^a | 38.3 ^a | 2.41 | 2.91 | 1.16 | 77.9 ^a | 131 ^a |

표 11은 일반 및 무농약재배 토마토의 무기성분으로 친환경이 일반재배에 비해 K₂O, Mn 함량이 많았으며, T-N, CaO, MgO, Na₂O, Fe는 함량 차이가 크지 않았다.

[표 11] 일반 및 무농약재배 토마토의 무기성분 함량 비교(호용)

| 재배유형 | 무기성분 함량 | | | | | | |
|------|---------|---------------------|--------|--------|----------------------|-------------------|---------|
| | T-N(%) | K ₂ O(%) | CaO(%) | MgO(%) | Na ₂ O(%) | Mn(ppm) | Fe(ppm) |
| 일 반 | 1.48 | 4.38 ^a | 0.14 | 0.29 | 0.14 | 5.49 ^b | 31.8 |
| 무농약 | 1.55 | 3.37 ^b | 0.07 | 0.21 | 0.11 | 7.93 ^a | 33.5 |

일반재배 및 무농약재배 토마토의 품질은 표 12와 같은데, 무농약 토마토의 가용성당은 5.5 %로 일반재배 4.7 %에 비해 함량이 많았고, 아미노산도 무농약 토마토가 7,298 mg 100g⁻¹으로 일반재배 6,903 mg 100g⁻¹ 보다 함량이 많았다. 경도도 무농약 980에 비해 일반재배는 913이었고, 표면의 적색도도 무농약이 일반재배에 비해 적색이 선명하여 외적품질이 양호하였음.

[표 12] 일반 및 무농약재배 토마토의 품질 비교

| 재배유형 | 당도(%) | 아미노산(mg 100g ⁻¹) | 경도(g) | 적색도(a) |
|------|------------------|------------------------------|------------------|-------------------|
| 일 반 | 4.7 ^b | 6,903 ^b | 913 ^b | 18.1 ^b |
| 무농약 | 5.5 ^a | 7,298 ^a | 980 ^a | 18.9 ^a |

일반 및 무농약재배 토마토의 기능성함량 비교는 표 13에서처럼 비타민 C는 무농약 토마토 350 mg 100g⁻¹으로 일반재배 200 mg 100g⁻¹에 비해 함량이 75%, 고혈압, 항암(위암, 대장암, 폐암), 당뇨 등 성인병 예방 우수한 카로틴은 무농약 5.1 mg 100g⁻¹으로 일반재배 2.6 mg 100g⁻¹보다 함량이 96 %, 라이코펜은 무농약 12.2 mg 100g⁻¹로 일반재배 7.1 mg 100g⁻¹에 비해 함량이 72 % 많았다. 항산화력은 무농약이 82 %였으며, 일반재배는 65%로 무농약재배 토마토에서 활성이 높았고, 총페놀은 무농약재배에서 2.19 %로 일반재배 1.74 %에 비해 함량이 높은 경향이였다.

[표 13] 일반 및 무농약재배 토마토의 기능성함량 비교

| 재배유형 | 비타민 C (mg 100g ⁻¹) | 카로틴 (mg 100g ⁻¹) | 라이코펜 (mg 100g ⁻¹) | 항산화력 (%) | 총페놀 (%) |
|------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------|-------------------|
| 일반 | 200 ^b | 2.6 ^b | 7.1 ^b | 65 ^b | 1.74 ^b |
| 무농약 | 350 ^a | 5.1 ^a | 12.2 ^a | 82 ^a | 2.19 ^a |

표 14는 일반 및 무농약재배 사과 품질과 기능성에 관한 표로 총질소는 무농약재배가 1.82 %로 일반재배 2.03 %에 비해 함량은 낮았으나 통계적 유의성은 없었다. 가용성당과 산도는 무농약과 일반재배 간에 차이가 크지 않았으며, 경도는 무농약이 1,319로 일반재배 809에 비해 양호하였으나 씹힘성은 일반재배가 약간 우수한 경향이였다. Vit. C는 무농약이 159 mg 100g⁻¹로 일반재배 142 mg 100g⁻¹에 비해 함량이 많았고, 항산화는 무농약이 일반재배에 비해 16 % 정도 활성이 높았으며, 총페놀화합물은 무농약이 일반재배에 비해 함량이 48 mg 100g⁻¹ 높았다.

[표 14] 일반 및 무농약재배 사과의 품질 및 기능성 특성 비교(후지)

| 재배유형 | 총질소 (%) | 당도 (%) | 산도 (%) | 경도 (g) | 씹힘성 | 비타민 C (mg 100g ⁻¹) | 항산화 (%) | 총페놀 (mg 100g ⁻¹) |
|------|------------|-----------|-----------|--------------------|-----|-----------------------------------|-------------------|---------------------------------|
| 일반 | 2.03 | 14.2 | 0.19 | 809 ^b | 105 | 142 ^b | 63.2 ^b | 79 ^b |
| 무농약 | 1.82 | 14.4 | 0.21 | 1,319 ^a | 97 | 159 ^a | 77.4 ^a | 127 ^a |

일반 및 무농약재배 사과의 유리아미노산은 표 15에서 볼 수 있는데, 무농약 사과가 일반 사과에 비해 아스파티산, 발린, 이소류신, 메치오닌, 페린알라닌, 히스티딘 함량이 많았고 쓰레오닌, 글루타민, 라이신은 함량 차이가 크지 않는 경향이였다.

[표 15] 일반 및 무농약재배 사과와의 아미노산 함량 비교

| 재배유형 | 유리아미노산 함량(mg 100g ⁻¹) | | | | | | | | |
|------|-----------------------------------|------|------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----|------------------|
| | 아스파티산 | 쓰레오닌 | 글루타민 | 발린 | 이소류신 | 메치오닌 | 페릴알라닌 | 라이신 | 히스티딘 |
| 일반 | 1975 ^b | 149 | 565 | 185 ^b | 175 ^b | 73 ^b | 140 ^b | 240 | 100 ^b |
| 무농약 | 2105 ^a | 160 | 570 | 210 ^a | 205 ^a | 101 ^a | 185 ^a | 250 | 125 ^a |

표 16은 일반 및 무농약재배 유자의 품질을 나타내는데, 당도, 총산, 경도는 일반재배와 유기재배간 유의적 차이가 없었으나, 총아미노산은 일반재배가 2543 mg 100g⁻¹로 유기재배 2330 mg 100g⁻¹보다 함량이 많았다. 표면색상에서 L값은 유기재배가 72.71로 일반재배 70.77보다 높았고, a값도 높은 경향이었으나 통계적 유의성은 없었으며, b값은 유기 유자가 일반재배 유자보다 높아 표면 황색이 진하다는 것을 알 수 있었다.

[표 16] 일반 및 유기재배 유자의 품질 비교(고홍재래)

| 재배유형 | 당도 (°brix) | 총산 (%) | 경도 (g) | 총아미노산 (mg 100g ⁻¹) | 헌터측색치 | | |
|------|---------------|-----------|-----------|-----------------------------------|-------|------|--------------------|
| | | | | | L | a | b(황색도) |
| 일반 | 2.3 | 3.1 | 1,212 | 2546 ^a | 70.77 | 5.86 | 76.12 ^b |
| 유기 | 2.0 | 2.5 | 1,139 | 2330 ^b | 72.71 | 8.02 | 79.12 ^a |

일반 및 유기재배 유자의 기능성함량 비교는 표 17에서와 같은데, 총페놀은 유기 유자 270mg 100g⁻¹으로 일반재배 205 mg 100g⁻¹에 비해 함량이 32 % 많았고, 항산화력은 유기가 49.4 %였으며, 일반재배는 32.5 %로 유기재배 유자에서 활성이 높았다. 발암물질인 나이트로스아민 생성을 억제하는 아질산소거능은 유기 57.9 %, 일반재배 41.9 %, 고혈압과 혈관질환 발생 원인인 지방의 산패 방지와 관련된 지질산패방지율은 유기 33.8 %, 일반재배 19.6 %로 유기재배가 높았다. 항산화, 항고지혈증, 항암, 급성간독성보호효과, 정균 및 항균작용을 나타내는 헤스피리딘은 유기 유자가 일반재배 보다 66 %, 나린진은 29 % 기능성이 양호하였음.

[표 17] 일반 및 유기재배 유자의 기능성 비교

| 재배유형 | 총페놀 (mg 100g ⁻¹) | 항산화력 (%) | 아질산 소거능(%) | 지질산패 방지율(%) | 헤스피리딘 (mg 100g ⁻¹) | 나린진 (mg 100g ⁻¹) |
|------|---------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| | | | | | | |
| 유기 | 270 ^a | 49.4 ^a | 57.9 ^a | 33.8 ^a | 465 ^a | 154 ^a |

일반 및 무농약재배 부지화의 품질은 표 18에서 볼 수 있는데 무농약이 일반재배에 비해 당도, 총산, 경도, 씹힘성이 양호하였고, 탄성은 일반재배와 무농약재배간 유의적 차이가 없었으며, 질산태질소는 무농약이 65.1 ppm으로 일반재배 80.3 ppm에 비해 함량이 낮았다. 표면색상에서 밝기를 나타내는 L값, 적색을 나타내는 a값, 황색의 b값 등은 일반재배와 유기 부지화간에 통계적 유의성이 없었다.

[표 18] 일반 및 무농약재배 부지화의 이화학적 품질 비교(고흥종)

| 재배유형 | 당도 (%) | 총산 (%) | 경도 (g) | 씹힘성 | 탄성 | 질산태질소 (ppm) | 현터측색치 | | |
|------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------|-------------------|-------|------|------|
| | | | | | | | L | a | b |
| 일반 | 14.4 ^b | 0.59 ^b | 825 ^b | 144 ^b | 0.146 | 80.3 ^a | 67.1 | 25.6 | 71.9 |
| 무농약 | 17.2 ^a | 0.88 ^a | 1110 ^a | 356 ^a | 0.072 | 65.1 ^b | 69.4 | 23.4 | 74.1 |

일반 및 무농약재배 부지화의 기능성함량 비교는 표 19에서 보는 것 처럼, 비타민 C는 무농약이 68 mg 100g⁻¹으로 일반재배 59 mg 100g⁻¹보다 함량이 많았으나 통계적 유의성은 없었다. 총페놀은 무농약 부지화가 140 mg 100g⁻¹으로 일반재배 129 mg 100g⁻¹에 비해 함량이 8.5 % 많았고, 항산화력은 무농약이 16.6 %였으며, 일반재배는 12.7 %로 무농약 부지화가 활성이 높았다. 발암물질인 나이트로스아민 생성을 억제하는 아질산소거능은 무농약 55.6 %로 일반재배 47.8 %에 비해 양호하였으나 고혈압, 혈관질환 발생원인인 지방의 산패 방지와 관련된 지질산패방지율은 무농약 43.3 %, 일반재배 41.4 %로 유의적 차이가 인정되지 않았다. 동맥경화억제, 항균, 노화방지, 혈관계질환치료 등 을 나타내는 헤스피리딘은 무농약 부지화가 일반재배 보다 10 %, 나린진은 13 % 기능성이 양호하였음.

[표 19] 일반 및 무농약재배 부지화의 기능성성분 비교

| 재배유형 | 비타민 C (mg 100g ⁻¹) | 총페놀 (mg 100g ⁻¹) | 항산화력 (%) | 아질산 소거능(%) | 지질산패 방지율(%) | 헤스피리딘 (mg 100g ⁻¹) | 나린진 (mg 100g ⁻¹) |
|------|--------------------------------|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------|--------------------------------|------------------------------|
| 일반 | 59 | 129 ^b | 12.7 ^b | 47.8 ^b | 41.4 | 260 ^b | 309 ^b |
| 무농약 | 68 | 140 ^a | 16.6 ^a | 55.6 ^a | 43.3 | 286 ^a | 349 ^a |

(2) 친환경재배 식용 및 특용작물 품질 분석 연구

쌀 품위분석기를 이용한 일반 쌀과 유기재배 쌀의 품질 분석 결과는 표 20과 같다. 분석 결과 완전미 비율은 일반 쌀이 87.4~96.4 %로 유기재배 쌀 80.9~87.8 %에 비해 완전미 비율이 높았고, 일반 쌀 중에서는 일미 96.4 %가 유기 쌀 에서는 호평이 87.8 %로 완전미 비율이 가장 높았다. 쇠미, 미숙미, 동할미, 사미 등 불완전미 비율은 일반 쌀이 유기재배 쌀보다 적은 경향이였다. 이는 유기재배의 경우 곤충 등에 의한 공격을 받을 확률이 높아져 쌀이 상해를 입을 확률이 높을 것으로 여겨진다. 나 등(8)과 김 등(18)은 완전립 비율이 유기농 쌀은 95 %, 관행재배는 92%로 비슷하였다고 보고한 내용은 본 연구 결과와 상이하였는데, 이는 품종과 재배방법 및 환경에 따른 결과로 생각된다.

[표 21] 쌀 품종별 외관상 품위

| 품 종 | 재배법 | 백미 외관상 품위(%) | | | | |
|------|-----|--------------|------|-----|-----|-----|
| | | 완전미 | 분상질립 | 쇄립 | 피해립 | 기타 |
| 운 광 | 일 반 | 87.4 | 7.1 | 3.9 | 1.2 | 0.4 |
| | 유 기 | 80.9 | 10.4 | 6.5 | 1.5 | 0.7 |
| 호 평 | 일 반 | 93.8 | 0.9 | 4.4 | 0.5 | 0.4 |
| | 유 기 | 87.8 | 2.1 | 7.9 | 1.5 | 0.7 |
| 호 품 | 일 반 | 93.2 | 0.9 | 5.1 | 0.4 | 0.4 |
| | 유 기 | 83.8 | 3.5 | 9.9 | 2.0 | 0.8 |
| 일 미 | 일 반 | 96.4 | 1.1 | 1.9 | 0.5 | 0.1 |
| | 유 기 | 86.3 | 3.7 | 8.8 | 0.9 | 0.3 |
| 온누리 | 일 반 | 94.0 | 2.3 | 2.4 | 0.8 | 0.5 |
| | 유 기 | 86.7 | 4.2 | 6.5 | 2.1 | 0.5 |
| 동진1호 | 일 반 | 94.4 | 1.5 | 2.4 | 1.1 | 0.6 |
| | 유 기 | 85.4 | 4.0 | 9.0 | 1.8 | 0.8 |

쌀 품종별 호화 후 물리적 특성 비교는 표 21에서 볼 수 있는데, 경도는 일반 쌀이 20.7~49.4로 호평이 49.4로, 유기 쌀 39.2~63.2 범위로 호품이 63.2로 가장 높았으며, 일반 쌀에 비해 유기 쌀의 경도가 더 높은 경향이였다. 부착성은 일반 쌀이 -9.4~-22.1이였고, 유기 쌀은 -7.5~-36.0이였으며, 탄력성은 일반 쌀 0.49~0.64, 유기 쌀 0.43~0.77로 일반 쌀과 유기 쌀간에 큰 차이가 없었다. 응집성도 일반 쌀 0.26~0.44, 유기 쌀 0.24~0.39로 일반과 유기 쌀간에 차이가 크지 않았으며, 껍성은 일반 쌀 8.56~15.9로 호평이 15.9로, 유기 쌀은 9.09~24.78로 호품이 가장 높았다. 씹힘성은 일반 쌀이 4.54~ 9.77로 동진 1호가 9.77로, 유기 쌀은 4.16~16.67로 호품이 가장 높았다.

[표 21] 쌀 품종별 호화 후 물리적 특성 비교 분석

| 품 종 | 재배법 | 경도 (g) | 부착성 | 탄력성 | 응집성 | 겉성 | 씹힘성 |
|------|-----|--------|-------|------|------|-------|-------|
| 운 광 | 일 반 | 45.3 | -14.5 | 0.54 | 0.26 | 11.99 | 7.25 |
| | 유 기 | 39.2 | -7.5 | 0.43 | 0.24 | 9.48 | 4.16 |
| 호 평 | 일 반 | 49.4 | -22.1 | 0.58 | 0.33 | 15.90 | 9.11 |
| | 유 기 | 52.6 | -36.0 | 0.77 | 0.39 | 20.44 | 15.73 |
| 호 품 | 일 반 | 29.1 | -10.3 | 0.49 | 0.29 | 8.56 | 4.54 |
| | 유 기 | 63.2 | -29.8 | 0.67 | 0.39 | 24.78 | 16.67 |
| 일 미 | 일 반 | 44.4 | -20.3 | 0.59 | 0.26 | 11.75 | 7.05 |
| | 유 기 | 42.9 | -16.2 | 0.60 | 0.29 | 12.40 | 7.34 |
| 온누리 | 일 반 | 20.7 | -9.4 | 0.64 | 0.44 | 9.13 | 5.99 |
| | 유 기 | 54.9 | -22.0 | 0.70 | 0.31 | 17.56 | 12.30 |
| 동진1호 | 일 반 | 38.9 | -14.6 | 0.57 | 0.35 | 14.35 | 9.77 |
| | 유 기 | 33.8 | -10.0 | 0.52 | 0.27 | 9.09 | 5.14 |

※ 쌀12g+물18ml 30분 불린 후

일반 쌀과 유기재배 쌀의 이화학적 특성은 쌀의 단백질, 아밀로스 함량, 백도, 취반미 윤기 특성, 산가 및 알칼리 붕피도(표 21)를 분석하였는데, 표 21에서 보는 것처럼 쌀의 단백질 함량은 6~7% 수준으로 7%이하면 식미가 양호하다고 보고되어 왔는데(9), 표 2에서 처럼 단백질은 일반 쌀이 6.43~6.72%로 유기 쌀 6.19~6.67%보다 함량이 약간 높은 편이었다. 아밀로스 함량 비교시 일반 쌀은 18.49~18.85%로 유기재배 쌀 18.24~18.47% 보다 함량이 다소 높은 편이며, 일반적으로 아밀로스 함량이 낮은 쌀이 밥이 찰기가 많고 부드러우며 탄력이 우수하다고 알려져 있다. 우리나라 쌀의 대부분 아밀로스 함량은 17~20% 수준으로 17~18%의 정도 함량이 쌀이 식미가 우수하다고 하며(19), 나 등(8)도 아밀로스는 추청벼 유기재배시 18.5%, 일반재배 시 19.2% 보다 함량이 낮았다고 보고하였는데, 본 실험과 유사한 경향이였다. 백도는 일반 쌀이 34.92~37.99 범위였고, 유기 쌀이 36.02~38.34로 일반 쌀 중에서는 일미가 37.99, 유기 쌀에서는 호평이 38.34로 백도가 가장 높았다. 취반미 윤기 특성은 일반 쌀이 76.1~84.3로 유기재배 쌀 76.9~86.6 보다 약간 낮은 경향이였는데, 일반적으로 밥의 윤기는 취반 중 밥 내부에서 나오는 용출물이 밥알 표면에서 윤기 있는 보수 막을 형성하는데, 이 보수막 양이 밥의 기호성에 큰 영향을 끼친다는 보고가 있어 유기 쌀 밥맛이 약간 우수하리라 생각된다. 나 등(8)도 취반미 윤기특성에서 유기재배 쌀인 화영, 오대 쌀이 각각 67.4와 70.8로 일반 쌀 58.0과 61.3에 비해 특성이 양호하다고 보고하였다. 식미를 좌우하는 인자로 알려져

있는 산가는 쌀에 함유량이 낮을수록 식미가 우수하다고 하는데 일반 재배 쌀은 6.8~7.8로 유기재배 쌀 5.8~7.0보다 높았다. 남궁 등(13)은 쌀 산가 측정 시 유기농 쌀은 5.5~9.5분포를 나타냈고, 일반 쌀은 8.5~14.6이었다고 보고한 내용과 분석치 차이는 있으나 유사한 경향을 나타냈다. 쌀을 1.4% KOH 알칼리용액에 침지시 쌀 전분이 용해되는데, 이는 호화온도와 높은 부의 상관을 나타내는 중요한 미질 특성으로 일반 쌀과 유기 쌀의 알칼리붕괴도를 측정된 결과 각각 6.0~6.4과 5.6~6.1로 뚜렷한 차이를 볼 수 없었다. 나 등(8)도 유기재배 및 일반재배 쌀인 추청의 알칼리 붕괴도 측정시 각각 5.9와 6.0으로 뚜렷한 경향을 볼 수 없었다고 보고한 내용과 본 실험 결과도 유사한 경향을 나타냈다. 김 등(20)은 알칼리붕괴도는 등숙 환경과 밀접한 관계가 있는데, 퇴비 등 유기질 비료를 사용한 유기재배와 화학비료를 사용한 일반재배 간 토양특성에 의한 차이로 생각할 수 있다고 하였는데, 앞으로 이에 대한 연구 필요성이 크다고 생각된다.

[표 21] 일반 및 유기재배 쌀의 기호성 비교

| 품종 | 재배법 | 단백질 (%) | 아밀로스 (%) | 백도 | 취반미 윤기치 | 산가 | 알칼리 붕괴도(1-7) |
|------|-----|---------|----------|-------|---------|-----|--------------|
| 운광 | 일 반 | 6.43 | 18.49 | 35.98 | 79.5 | 7.5 | 6.2 |
| | 유 기 | 6.41 | 18.36 | 36.02 | 79.6 | 7.0 | 5.9 |
| 호평 | 일 반 | 6.72 | 18.81 | 36.46 | 82.1 | 6.8 | 6.1 |
| | 유 기 | 6.40 | 18.45 | 38.34 | 84.7 | 6.1 | 5.9 |
| 호품 | 일 반 | 6.58 | 18.68 | 35.76 | 84.3 | 6.9 | 6.0 |
| | 유 기 | 6.19 | 18.24 | 37.93 | 86.6 | 5.8 | 5.6 |
| 일미 | 일 반 | 6.72 | 18.52 | 37.99 | 82.7 | 7.3 | 6.2 |
| | 유 기 | 6.67 | 18.42 | 38.26 | 82.4 | 6.6 | 6.1 |
| 온누리 | 일 반 | 6.82 | 18.82 | 35.65 | 76.1 | 7.8 | 6.4 |
| | 유 기 | 6.44 | 18.47 | 36.84 | 76.9 | 7.0 | 6.1 |
| 동진1호 | 일 반 | 6.58 | 18.85 | 34.92 | 81.7 | 7.1 | 6.1 |
| | 유 기 | 6.37 | 18.38 | 36.88 | 84.0 | 6.5 | 5.9 |

최근에 유기재배 농산물과 일반 농산물의 2차 대사산물에 대한 활발한 연구가 행해지고 있으나 일반화하기는 자료가 상당히 부족하다고 볼 수 있다. 피트산(phytic acid)은 쌀, 밀 등에서 외부막과 과피에 존재하는 비영양소 혹은 체내대사 저해성분으로 최근에는 지방산화 억제, 대장암 억제 등 항산화 및 항암작용과 담석증치료제로서 이용성 등 생리활성적 측면에서 관심이 증가되고 있는데(25), 표 5에서 나타내듯이 일반 쌀과 유기재배 쌀의 phytic acid은 일반쌀이 42.7~89.6 mg 100g⁻¹, 유기재배 쌀 47.6~98.6 mg 100g⁻¹로 유기재배 쌀에서 함량이 7~16 % 더 많았

으며, 품종 중에서는 일반쌀과 유기쌀 모두 호품에서 함량이 가장 높았다. 남궁 과 황(13)도 phytic acid 함량이 유기농 쌀에서 0.86~1.04%, 일반 쌀에서 0.76~0.85%로 유기재배 쌀에서 함량이 더 많았다고 보고 하였다. 총페놀화합물은 일반 쌀의 경우 30.1~40.5 mg 100g⁻¹였으나 유기재배쌀 은 36.7~47.9 mg 100g⁻¹로 유기 재배쌀이 총페놀 화합물 함량이 높았다. Caris 와 Borel(23)도 카로티노이드와 폴리페놀 함량이 일반 토마토에 비해 유기재배 토마토가 함량이 더 높다고 보고하였으며, Levite 등(24)도 유기포도주가 일반포도주에 비해 기능성성분인 레스베라트롤 함량이 평균 26% 더 많이 함유하고 있다고 보고하였다. 일반 쌀과 유기재배 쌀의 항산화 효과 분석 결과를 보면 일반 쌀 11.1~13.2 %에 비해 유기재배 쌀 14.4~20.8 %로 활성이 높았고, 품종간에는 일반과 유기 쌀 모두 호평이 활성이 가장 높은 경향이였다. 나 등 (8)도 유기재배 쌀이 일반 쌀에 비해 메탄올과 물 추출물에서 항산화 효과가 높았다고 보고 하였다. 발암물질인 나이트로스아민 생성을 억제하는 아질산소거능은 일반 쌀이 26.73~37.08 %로 유기쌀 32.85~46.99 %에 비해 낮았으며, 품종간 비교시 일반 쌀, 유기 쌀 모두 호평이 가장 우수하였다. 고혈압, 혈관질환 발생원인인 지방의 산패 방지와 관련된 지질산패방지율은 일반 쌀 23.79~53.20 %에 비해 유기 쌀 37.93~63.23 %이 높았고, 품종간 비교시 일반 쌀, 유기 쌀 모두 온누리가 가장 우수하였다.

[표 22] 일반 및 유기재배 쌀의 기능성함량 비교

| 품종 | 처리 | 피트산 (mg 100g ⁻¹) | 총페놀 (mg 100g ⁻¹) | 항산화력 (%) | 아질산소거능 (%) | 지질산패방지율 (%) |
|------|-----|---------------------------------|---------------------------------|-------------|---------------|----------------|
| 운광 | 일 반 | 42.7 | 40.5 | 11.2 | 36.41 | 33.94 |
| | 유 기 | 47.6 | 36.7 | 15.2 | 38.19 | 37.93 |
| 호평 | 일 반 | 81.3 | 37.9 | 13.2 | 37.08 | 23.79 |
| | 유 기 | 91.4 | 47.5 | 20.8 | 46.99 | 42.30 |
| 호품 | 일 반 | 89.6 | 38.6 | 11.2 | 26.73 | 50.97 |
| | 유 기 | 98.8 | 47.9 | 18.4 | 33.51 | 62.83 |
| 일미 | 일 반 | 76.3 | 37.5 | 12.1 | 35.99 | 40.02 |
| | 유 기 | 83.3 | 37.9 | 14.4 | 36.19 | 44.68 |
| 온누리 | 일 반 | 79.2 | 30.1 | 11.1 | 26.95 | 53.20 |
| | 유 기 | 95.2 | 46.7 | 14.4 | 32.85 | 63.23 |
| 동진1호 | 일 반 | 82.9 | 32.7 | 12.8 | 31.76 | 42.01 |
| | 유 기 | 88.2 | 42.2 | 16.0 | 37.41 | 49.07 |

친환경 및 일반재배 녹차의 기호성 특성은 표 23에서 볼 수 있는데, 차의 감칠맛 성분인 총질소는 친환경 녹차와 일반재배 녹차가 각각 5.0%와 4.83%, 총아미노산은 친환경 2,657 mg/100g에 비해 일반 녹차 2,301 mg/100g로 함량이 많았는데, 이는 Karasuyama(1988)가 과량 시비시 식물체에는 최고 50% 정도 흡수되고 나머지는 토양에 잔존, 용탈, 휘산 등에 의해 많은 양이 손실된다는 보고하였는데, 일반재배 녹차가 이와 같은 이유로 총질소 및 총아미노산 함량이 적었다고 추정된다. 친환경 및 일반재배 녹차의 탄닌 함량은 각각 13.7%와 13.2%로 유의적 차이를 볼 수 없었는데, Muramas(1994)의 보고에서도 탄닌은 시비량의 증감에 따라 함량이 크게 좌우되지 않고 일장 길이나 일광의 세기에 비례한다고 하였다. 카페인 함량도 친환경이 2.97%로 일반재배 2.94%와 유의적인 차이가 없었다. 엽록소는 친환경이 405 mg/100g로 일반재배 345 mg/100g 보다 함량이 많았는데, Wada 등(1988)이 질소 시비량에 따라 엽록소 함량이 다르며, 시비량 증가에 비례해 함량이 증가하였다고 보고한 내용과는 상이한 결과를 보였다. 비타민 C 함량은 친환경이 198 mg/100g로 일반재배 183 mg/100g에 비해 함량이 많았는데, 이는 퇴비 등 유기질 비료를 사용한 친환경재배와 화학비료를 사용한 일반재배 간 토양특성에 의한 차이로도 생각할 수 있는데, 앞으로 이에 대한 연구 필요성이 크다고 생각된다. Mary(2001)도 유기농 야채가 89.2 mg/100g으로 일반 야채 67.9 mg/100g 보다 함량이 많았다고 보고하였다.

최근에 유기재배 농산물과 일반 농산물의 2차 대사산물에 대한 활발한 연구가 행해지고 있으나 일반화하기는 자료가 상당히 부족하다고 볼 수 있다. 친환경과 일반재배 녹차의 항산화효과 분석을 위해 DPPH radical에 대한 전자공여능을 비교 분석한 결과를 보면 무농약이 96.9%, 일반재배가 85.1%로 나타났는데 이상의 결과를 토대로 친환경 녹차가 일반 녹차에 비해 전자공여능이 높음을 알 수 있었다. Na 등(2001)도 유기재배 쌀이 일반 쌀에 비해 메탄올과 물 추출물에서 항산화 효과가 높았다고 보고 하였다. 친환경 녹차와 일반재배 녹차의 총페놀화합물은 친환경 녹차의 경우 11,258 mg/100g로 일반재배 10,592 mg/100g 보다 함량이 높았다. Caris 와 Borel(2004)도 카로티노이드와 폴리페놀 함량이 일반 토마토에 비해 유기재배 토마토가 함량이 더 높다고 보고하였으며, Levite 등(2000)도 유기포도주가 일반포도주에 비해 기능성성분인 레스베라트롤 함량이 평균 26% 더 많이 함유하고 있다고 보고하였다.

[Table 23] Quality and functional properties of Environmental-friendly or conventional Green Tea

| Agricultural product ¹⁾ | T-N ²⁾ (%) | T.A.A ³⁾ (mg 100g ⁻¹) | Tannin (%) | Caffeine (%) | Chlorophyll (mg 100g ⁻¹) | Vitamin C (mg 100g ⁻¹) | EDA ⁴⁾ (%) | T.P.C ⁵⁾ (mg 100g ⁻¹) |
|------------------------------------|--------------------------|---|------------|--------------|---|---------------------------------------|--------------------------|---|
| Environmental-friendly | 5.00 ^a | 2,657 ^a | 13.7 | 2.97 | 405 ^a | 198 ^a | 96.9 ^a | 11,258 ^a |
| Conventional | 4.83 ^b | 2,301 ^b | 13.2 | 2.94 | 345 ^b | 185 ^b | 85.1 ^b | 10,592 ^b |

¹⁾Means in the same column with the same letters are not significantly different(*t*-test, *p* < 0.05)

²⁾T-N : Total Nitrogen ³⁾T.A.A : Total Amino Acid ⁴⁾Total Phenolic Compound(%)

⁵⁾EDA : Electron donating activities

친환경 녹차와 일반 녹차의 무기성분 함량을 조사한 결과(표 24), 다량원소 인 K, Ca, Mg 등

은 친환경 녹차와 일반 녹차간에 함량 차이가 없었다. Lee 등(2005)도 유기 및 관행재배 작물의 무기성분인 P, K, Mg, Ca 등의 함량차이가 인정되지 않았다고 보고하였다. 미량원소인 B, Cr, Al, Mn, Fe, Cu, Zn 등을 분석해본 결과 B, Al은 친환경재배에서 Mn, Zn은 일반재배에서 함량이 약간 많았고, 그외 미량성분인 Cr, Fe, Cu 등이 함량차이가 거의 없었는데, 이는 Lee 등(2005)이 보고한 내용과 유사한 경향을 볼 수 있었다.

[Table 24] Inorganic compounds of Environmental-friendly or conventional Green Tea

| Agricultural product ¹⁾ | K ₂ O | CaO | MgO | N ₂ O | B | Cr | Al | Mn | Fe | Cu | Zn |
|------------------------------------|------------------|------|------|------------------|-------------------|-----|------------------|------------------|----|------|-------------------|
| | % | | | | ppm | | | | | | |
| Environmental-friendly | 2.6 | 0.11 | 0.39 | 0.1 | 17.7 ^a | 1.3 | 409 ^a | 801 ^b | 93 | 10.6 | 37.4 ^b |
| Conventional | 2.7 | 0.14 | 0.34 | 0.1 | 13.8 ^b | 2.3 | 379 ^b | 937 ^a | 96 | 11.7 | 42.1 ^a |

¹⁾Means in the same column with the same letters are not significantly different(*t*-test, *p* < 0.05)

친환경 녹차와 일반재배 녹차의 유리아미노산 함량을 표 25에서 비교 하였는데, 유리아미노산 중 Val, GABA, Lys, His은 친환경과 일반재배 녹차 간에 함량차이가 거의 없었으나 Asp, Thea, Glu, Phe, Arg은 친환경 녹차가 일반재배 녹차 보다 함량이 많은 경향을 볼 수 있었다. 작물은 상이하지만 남궁과 황(2006)도 일반 쌀에 비해 유기농 쌀이 필수아미노산 중 Asp, Thr, Glu, Met, Ile, Leu, Phe, Arg 함량이 다소 높은 경향을 나타냈다고 보고하였다. Song 등(1988)도 유리아미노산 함량은 유기재배와 관행재배 쌀의 비교시 품종에 따라 함량 대소 차이가 존재한다고 보고한 것 처럼 이에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. 아미노산 함량별로는 친환경, 일반 쌀 모두 Thea > Arg > Glu > Asp > Val ≥ Phe ≥ GABA ≥ Lys ≥ His 순이었고 Thea과 Arg이 아미노산중 가장 많이 함유되었다.

[Table 25] Free amino acids contents of Environmental-friendly or conventional Green Tea

| Agricultural product ¹⁾ | Contents of free amino acids(mg 100g ⁻¹) | | | | | | | | | |
|------------------------------------|--|-------------------|------------------|-----|-----------------|------|-----|-----|------------------|--|
| | Asp ²⁾ | Thea | Glu | Val | Phe | GABA | Lys | His | Arg | |
| Environmental-friendly | 96 ^a | 1268 ^a | 355 ^a | 31 | 35 ^a | 30 | 29 | 26 | 472 ^a | |
| Conventional | 85 ^b | 1130 ^b | 328 ^b | 25 | 22 ^b | 28 | 24 | 20 | 435 ^b | |

¹⁾Means in the same column with the same letters are not significantly different(*t*-test < 0.05)

²⁾Asp : Aspartic acid, Thea : Theanine, Glu : Glutamic acid, Val : Valine, Phe : Phenylalanine, GABA : γ-aminobutyric acid, Lys : Lysine, His : Histidine, Arg : Arginine

카테킨類는 綠茶의 중요한 품질평가 및 기능성 성분으로 유리형과 ester형에 따라 삼미가 다르며 C₆-C₃-C₆골격을 가진 물질로서 차나무에는 ECg, EC, EGC, EGCg, C, GC등 6종이 존재하

며, C와 GC는 주로 茶의 製造중 加熱時 EC와 EGC의 이성체로 생성되며 주요 형태는 EC, EGC와 EGCg, ECg 등 4성분으로 알려져 있다(Muramas, 1994). Catechin 함량은 표 26에서와 같은데, 친환경 녹차에서 12.43%, 일반재배 녹차 11.71%로 함량 차이는 약간 있었으나, 통계적 유의성은 없었는데, Muramas(1994)도 catechin은 시비량의 증감에 따라 함량이 크게 좌우되지 않고 일장 길이나 일광의 세기에 비례한다고 보고하였다 친환경 및 일반재배 녹차에 함유된 catechin류를 분류해 보면 EGCg가 51~54%, EGC 20~21%, ECg 16~17%, EC 6~7%, C 2% 순이었는데, Tetsuhisa 등(1996)이 재배별, 품종별, 다기별 약간의 차이는 있으나 catechin 중 EGCg가 60~65%, EGC 15~18%, ECg 11~14%, EC 1~5%, C 1%를 점유한다고 보고하였다.

[Table 26] Catechin contents of Environmental-frendly or conventional Green Tea

| Agricultural product ¹⁾ | Contents of Catechin(%) | | | | | Total |
|------------------------------------|-------------------------|------|-------------------|-------------------|------|--------------------|
| | ECg ²⁾ | C | EC | EGCg | EGC | |
| Environmental -frendly | 2.01 | 0.28 | 0.85 ^a | 6.75 ^a | 2.54 | 12.43 ^a |
| Conventional | 1.97 | 0.26 | 0.72 ^b | 6.28 ^b | 2.48 | 11.71 ^a |

¹⁾Means in the same column with the same letters are not significantly different(*t*-test, $p < 0.05$)

²⁾ECg:EpiCatechingallate, C:Catechin, EC:EpiCatechin, EGCg:EpiGalloCatechingallate, EGC:EpiGalloCatechin

製茶品質에 관한 관능검사는 茶의 외적형질과 내적형질에 의해 평가되고, 茶의 외적형질로는 제품의 형상, 내적형질에는 수색, 향, 맛, 우려낸 차잎 등으로 구성되어 있는데, 친환경 녹차와 일반재배 녹차의 관능평가 결과는 표 27에서 볼 수 있다. 외적형질인 제품의 형상은 친환경이 15.8점으로 일반재배 녹차의 15.3점보다 형태가 약간 양호하였고, 친환경과 일반재배 녹차의 내적형질을 비교해 보면 수색은 16.9점과 16.4점, 향은 20.8점과 20.2점, 맛은 20.8점과 20.0점, 우려낸 차잎은 8.4점과 8.0점으로 친환경 녹차가 일반재배 녹차에 비해 내적형질도 약간 우수한 경향을 볼 수 있었다.

[Table 27] Sensory evaluation of Enviromental-frendly or conventional Green Tea

| Agricultural product ¹⁾ | Shape (20) | Liquor color(20) | Aroma (25) | Taste (25) | Infused leaf(10) | Total (100) |
|------------------------------------|------------|------------------|------------|------------|------------------|-------------------|
| Environmental -frendly | 15.8 | 16.9 | 20.8 | 20.8 | 8.4 | 82.7 ^a |
| Conventional | 15.3 | 16.4 | 20.2 | 20.0 | 8.0 | 79.9 ^b |

¹⁾Means in the same column with the same letters are not significantly different(paired *t*-test, $p < 0$)

(3) 다양한 성분 스크린을 통한 친환경재배 쌈채류의 품질 연구

일반 및 무농약재배 상추의 품질은 표 28에서와 같은데 경도는 일반재배 815가 무농약 722에

비해 높았고 pH, 당도, 총산은 유의적 차이가 없었으며, 녹색도는 무농약 -3.94로 일반재배 -1.58에 비해 표면녹색이 짙은 경향이였다. 총아미노산은 무농약 10,970mg 100⁻¹에 비해 일반재배 11,950 mg 100⁻¹가 함량이 많았으며, 질산태질소는 무농약이 1,973 ppm으로 일반재배 3,320 ppm에 비해 함량이 낮았다.

[표 28] 일반 및 무농약재배 상추의 품질 특성 비교(적토마상추)

| 재배유형 | 경도 (g) | pH | 당도 (°brix) | 총산 (%) | 녹색도 (a) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 질산태질소 (ppm) |
|------|------------------|------|---------------|-----------|--------------------|----------------------------------|--------------------|
| 일 반 | 815 ^a | 5.92 | 3.7 | 0.163 | -1.58 ^b | 11,950 ^a | 3,320 ^a |
| 무농약 | 722 ^b | 6.01 | 3.9 | 0.144 | -3.94 ^a | 10,970 ^b | 1,973 ^b |

일반 및 무농약재배 상추의 기능성함량 비교는 표 29에서 보는 것 처럼, 총페놀은 무농약 상추가 20.08 mg 100⁻¹로 일반재배 18.65 mg 100⁻¹에 비해 함량이 많았고 노화억제, 항균, 항암, 항바이러스, 항염증, 항아토피 등 효능이 있는 플라보노이드는 무농약이 87.03 mg 100⁻¹으로 일반재배 66.15 mg 100⁻¹보다 함량이 많았다. 항산화력은 무농약이 89.25 %였으며, 일반재배는 75.19 %로 무농약 상추가 14 % 정도 활성이 높았다. 발암물질인 나이트로스아민 생성을 억제하는 아질산소거능은 무농약 47.22 %로 일반재배 40.20 %에 비해 양호하였으며 고혈압, 혈관질환 발생원인인 지방의 산패 방지와 관련된 지질산패방지율은 무농약 72.00 %로 일반재배 28.38 %에 비해 2.5배 높았다.

[표 29] 일반 및 무농약재배 상추의 품질 기능성 비교

| 재배유형 | 총페놀 (mg 100 ⁻¹) | 플라보노이드 (mg 100 ⁻¹) | 항산화력 (%) | 아질산소거능 (%) | 지질산패방지율 (%) |
|------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 일 반 | 18.65 ^b | 66.15 ^b | 75.19 ^b | 40.20 ^b | 28.38 ^b |
| 무농약 | 20.08 ^a | 87.03 ^a | 89.25 ^a | 47.22 ^a | 72.00 ^a |

표 30은 일반 및 무농약재배 쪽갓의 품질 분석을 보여주는데, 경도는 일반재배(552)가 무농약(507)에 비해 높은 경향이었고 pH, 당도, 총산은 통계적으로 유의적인 차이가 인정되지 않았다. 총아미노산은 일반재배 6,294 mg 100⁻¹에 비해 무농약 5,605 mg 100⁻¹가 함량이 적었으며, 질산태질소는 무농약이 6,240 ppm으로 일반재배 6,826 ppm에 비해 함량이 낮았다.

[표 30] 일반 및 무농약 쪽갓의 품질 특성 비교(쌈채쪽갓)

| 재배유형 | 경도(g) | pH | 당도 (brix) | 총산 (%) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 질산태질소 (ppm) |
|------|------------------|-----|--------------|-----------|----------------------------------|--------------------|
| 일 반 | 552 ^a | 6.1 | 3.9 | 0.16 | 6,294 ^a | 6,826 ^a |
| 무농약 | 507 ^b | 6.2 | 4.0 | 0.17 | 5,605 ^b | 6,240 ^b |

일반 및 무농약재배 쪽갯의 기능성함량 비교는 표 31에서 볼 수 있는데, 총페놀은 무농약 상추가 19.77 mg 100⁻¹로 일반재배 12.29 mg 100⁻¹에 비해 61 % 정도 함량이 많았고 노화억제, 항균, 항암, 항바이러스, 항염증, 항아토피 등 효능이 있는 플라보노이드는 무농약이 64.67 mg 100⁻¹으로 일반재배 58.25 mg 100⁻¹보다 11 % 함량이 많았다. 항산화력은 무농약이 70.81 %였고, 일반재배는 43.47 %로 무농약 쪽갯이 27 % 정도 활성이 높았다. 발암물질인 나이트로스아민 생성을 억제하는 아질산소거능은 무농약 65.81 %로 일반재배 60.58 %에 비해 함량이 약간 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 고혈압, 혈관질환 발생원인인 지방의 산패 방지와 관련된 지질산패방지율은 무농약 41.89 %로 일반재배 16.90 %에 비해 2.48배 높았다.

[표 31] 일반 및 무농약 쪽갯의 기능적 특성 비교

| 재배유형 | 총페놀 (mg 100 ⁻¹) | 플라보노이드 (mg 100 ⁻¹) | 항산화력 (%) | 아질산소거능 (%) | 지질산패방지율 (%) |
|------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------|---------------|--------------------|
| 일반 | 12.29 ^b | 58.25 ^b | 43.47 ^b | 60.58 | 16.90 ^b |
| 무농약 | 19.77 ^a | 64.67 ^a | 70.81 ^a | 65.81 | 41.89 ^a |

일반 및 무농약재배 갯잎의 품질은 표 32에서와 같다. 경도는 무농약재배 27.87로 일반재배 23.35에 비해 높았으나 통계적 유의성은 없었고 pH, 당도, 총산은 상호간 큰차이를 볼 수 없었으며, 녹색도는 무농약 -11.51로 일반재배 -10.78에 비해 표면녹색이 짙은 경향이였다. 질산태질소는 무농약이 1,764 ppm으로 일반재배 2,620 ppm에 비해 함량이 낮았다.

[표 32] 갯잎의 물리화학적 품질 특성(만추)

| 재배유형 | 경도 (g) | pH | 당도 (%) | 총산 (%) | 녹색도 (a) | 질산태질소 (ppm) |
|------|-----------|------|-----------|-----------|---------------------|--------------------|
| 일반 | 23.35 | 6.11 | 5.7 | 0.252 | -10.78 ^b | 2,620 ^a |
| 무농약 | 27.87 | 5.94 | 5.5 | 0.246 | -11.51 ^a | 1,764 ^b |

표 33은 일반 및 무농약재배 갯잎의 기능성함량 비교인데, 총페놀은 무농약 갯잎이 46.5 mg 100⁻¹로 일반재배 19.0 mg 100⁻¹에 비해 함량이 많았고 노화억제, 항균, 항암, 항바이러스, 항염증, 항아토피 등 효능이 있는 플라보노이드는 무농약이 919 mg 100⁻¹으로 일반재배 650 mg 100⁻¹보다 함량이 41 % 정도 많았다. 항산화력은 무농약이 91.7 %였으며, 일반재배는 52.6 %로 무농약 갯잎이 39 % 정도 활성이 높았다. 발암물질인 나이트로스아민 생성을 억제하는 아질산소거능은 무농약 33.42 %로 일반재배 17.09 %에 비해 양호하였으며 고혈압, 혈관질환 발생원인인 지방의 산패 방지와 관련된 지질산패방지율은 무농약 75.49 %로 일반재배 35.61 %에 비해 2.1 배 높았다.

[표 33] 깻잎의 기능성성분 특성(만추)

| 재배유형 | 총페놀 (mg 100g ⁻¹) | 플라보노이드 (mg 100g ⁻¹) | 항산화력 (%) | 아질산소거능 (%) | 지질산패방지율 (%) |
|------|---------------------------------|------------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| 일 반 | 19.0 ^b | 650 ^b | 52.6 ^b | 17.06 | 35.61 ^b |
| 무농약 | 46.5 ^a | 919 ^a | 91.7 ^a | 33.42 ^a | 75.49 ^a |

(4) 친환경 재배 농산물의 GABA 함량 증진 기술개발

(가) 녹차 GABA 함량 증진을 위한 CO₂ 처리효과

각 처리별 기호성성분은 표 34에서 볼 수 있는데, 총질소는 무처리가 5.01%로 처리구 5.08~5.24%에 비해 함량이 낮았으며, CO₂처리구간 비교시에는 T₆처리가 5.24%로 함량이 가장 높은 경향이었다. 총아미노산은 무처리 2674 mg/100g에 비해 CO₂처리에서 2698~2840 mg/100g으로 함량이 많았으며, T₆처리에서 2840 mg/100g으로 함량이 가장 많았다. 탄닌은 무처리 14.08%에 비해 CO₂ 처리가 13.74~13.95%로 함량이 약간 적었는데, 이는 Chang 등(1992)이 탄닌은무처리 10.8%에 비해 N₂gas와 진공처리시 각각 9.6~10.3%와 9.6~10.1%로 함량이 적었다고 보고한 내용과 함량차이는 있으나 유사한 경향이었다. 카페인도 무처리 2.99% 대비 처리는 2.81~3.03으로 유의적인 차이가 인정되지 않았으나 T₅처리가 3.03%로 함량이 가장 많았다. 엽록소는 무처리 447 mg/100g에 비해 처리는 455~490 mg/100g로 모든 처리구에서 함량이 많았는데, 이는 차잎을 험기처리 했을 때 CO₂gas가 차잎 산화에 관여하는 chlorophyll oxidase의 활성을 억제해 차잎 산화를 지연시켰으리라 생각된다. 비타민 C는 CO₂gas 처리시 313~345 mg/100g으로 T₃ 처리가 345 mg/100g으로 함량이 가장 많았으나, 모든 CO₂gas 처리가 무처리 350 mg/100g에 비해 함량이 적었다. 비타민 C는 상온에서 쉽게 산화가 일어나는데, 수 시간 처리에도 비타민 C 함량 변화가 적은 것은 CO₂gas로 험기처리시 비타민 C 산화효소인 ascorbic oxidase의 활성을 억제시킴으로써 함량 변화가 적었다고 생각된다.

[Table 34] Chemical composition of CO₂ gas treated green teas

| Treatment | T-N ¹⁾ (%) | T.A.A ²⁾ (mg 100g ⁻¹) | Tannin (%) | Caffeine (%) | Chlorophyll (mg 100g ⁻¹) | Vitamin C (mg 100g ⁻¹) |
|----------------|--------------------------|---|--------------------|--------------------|---|---------------------------------------|
| T ₁ | 5.06 ^c | 2,689 ^b | 13.81 ^a | 2.81 ^b | 480 ^{ab} | 350 ^a |
| T ₂ | 5.17 ^{ab} | 2,783 ^a | 13.79 ^a | 2.89 ^{ab} | 478 ^{ab} | 320 ^{bc} |
| T ₃ | 5.08 ^{bc} | 2,709 ^b | 13.83 ^a | 2.84 ^b | 466 ^{bc} | 345 ^a |
| T ₄ | 5.20 ^a | 2,814 ^a | 13.74 ^a | 2.93 ^{ab} | 482 ^{ab} | 313 ^c |
| T ₅ | 5.08 ^c | 2,698 ^b | 13.95 ^a | 3.03 ^a | 455 ^c | 306 ^c |
| T ₆ | 5.24 ^a | 2,840 ^a | 13.75 ^a | 2.81 ^b | 490 ^a | 338 ^{ab} |

¹⁾T-N : Total Nitrogen ²⁾T.A.A : Total Amino Acid ³⁾T₁ : Control, T₂ : anaerobic 3 time, T₃ : anaerobic 1-aerobic 0.5-anaerobic 1time, T₄ : anaerobic 2-aerobic 1-anaerobic 2 time, T₅ : anaerobic 3-aerobic 1.5-anaerobic 3 time, T₆ : anaerobic 1-aerobic 0.5-anaerobic 1-aerobic 0.5-anaerobic 1 time

차 생잎을 채취해 CO₂ gas로 혐기처리하여 제조한 차의 GABA와 주요 유리아미노산의 함량변화를 측정된 결과는 표 35와 같다. GABA는 CO₂ gas 처리시 219~351 mg/100g으로 무처리 31 mg/100g에 비해 함량이 7~11배 증가하였다. Knight 등(1991)도 유리아미노산 함량은 생합성 경로 특성 때문에 혐기상태에서 크게 변하는데, 혐기상태에서 glutamate decarboxylase의 활성이 증가하기 때문에 GABA가 다량 생산된다고 보고하였다. 또 GABA함량을 CO₂ gas 처리방법별로 비교해 보면 연속처리시 219 mg/100g에 비해 처리와 증단을 교호로 했을 때는 237~351 mg/100g으로 함량이 8~60% 증가하였다. Alanine은 무처리 78 mg/100g에 비해 3시간 혐기처리가 139 mg/100g으로 함량이 78%, 혐기 및 호기 교호처리 150~199 mg/100g으로 함량이 92~255% 증가하였다. Aspartic acid는 무처리 142 mg/100g에 비해 CO₂ gas 혐기처리시 함량이 40~76%정도 감소된 34~86 mg/100g 이었으며, Glutamic acid도 무처리 356 mg/100g에 비해 CO₂ gas 혐기처리시 함량이 40~63%정도 감소된 130~215 mg/100g이었다. Toshinobu 등(1987)이 차잎을 N₂ gas를 이용해 혐기처리 했을때 GABA와 alanine함량이 증가하고 glutamic acid함량은 감소했다고 보고하였다. theanine은 무처리가 1389 mg/100g에 비해 CO₂ gas 처리별로 각각 1335~1370 mg/100g으로 함량이 약간 감소했으며, arginine도 유사한 경향을 나타냈다. 차잎 중 GABA함량의 효과적인 증가를 위해 질소가스, 탄산가스, 진공 등을 이용한 혐기처리 방법이 이용되었으나, 본실험에서는 혐기와 호기 교호처리 방법을 통해 보다 많은량의 GABA를 생성할 수 있는 효율적인 방법을 제시했다고 생각된다. Konomi 등(1999)도 혐기처리 단일처리에 비해 혐기처리와 호기처리를 반복함으로써 차 잎의 GABA함량이 크게 증가시킬 수 있다고 보고하였다.

[Table 35] Free amino acid distribution of CO₂ gas treated green teas

| Treatment | Content of free amino acid(mg 100g ⁻¹) | | | | | |
|----------------|--|---------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | Asp ¹⁾ | Thea | Glu | Ala | GABA | Arg |
| T ₁ | 143 ^a | 1,389 ^a | 356 ^a | 78 ^d | 31 ^d | 578 ^a |
| T ₂ | 86 ^b | 1,370 ^{ab} | 215 ^b | 139 ^c | 219 ^c | 576 ^a |
| T ₃ | 75 ^b | 1,363 ^{ab} | 200 ^b | 150 ^c | 237 ^c | 563 ^{ab} |
| T ₄ | 58 ^c | 1,357 ^{ab} | 166 ^c | 175 ^b | 304 ^b | 562 ^{ab} |
| T ₅ | 40 ^d | 1,343 ^{ab} | 143 ^{cd} | 183 ^{ab} | 336 ^a | 549 ^{ab} |
| T ₆ | 34 ^d | 1,335 ^b | 130 ^d | 199 ^a | 351 ^a | 540 ^b |

¹⁾Asp : Aspartic acid, Thea : Theanine, Glu : Glutamic acid, Ala : Alanine, GABA : γ-aminobutyric acid, Arg : Arginine

표 36에서 CO₂ gas처리별 녹차의 색택변화를 살펴보면 표면색의 밝기를 나타내는 L값은 무처리에서 51.85이었는데 CO₂ gas시 52.27~53.95로 표면색이 밝기가 약간 증가하였으며, CO₂ gas 처리간에는 T₆처리에서 L값이 가장 높았다. 적색과 녹색을 나타내는 a값은 무처리에서 -10.90이었으나 CO₂ gas 처리시에는 -10.80~-11.33으로 T₅처리를 제외하고 모든 처리에서 표면의 녹색이 높은 경향이었고, 황색을 나타내는 b값은 무처리 26.56에 비해 CO₂ gas 처리시에는 26.52~26.79로 표면의 황색이 유의적 차이가 없었다. a/b는 표면의 색상을 표시해주는 것으로

“-값”이 클수록 표면의 녹색이 진함을 나타내는데 무처리 -0.410에 비해 CO₂ gas 처리시에는 -0.407~-0.423으로 T₅처리를 제외하고 표면의 녹색이 약간 진한편이었다. $\sqrt{a^2+b^2}$ 는 무처리 28.71에 비해 CO₂ gas 처리는 28.63~29.07로 차이가 크지 않았다.

[Table 36] Color changes of CO₂ gas treated green teas

| Treatment | L value | a value | b value | a/b value | $\sqrt{a^2 + b^2}$ |
|----------------|---------|---------|---------|-----------|--------------------|
| T ₁ | 51.85 | -10.90 | 26.56 | -0.410 | 28.71 |
| T ₂ | 52.62 | -11.06 | 26.79 | -0.413 | 28.98 |
| T ₃ | 52.27 | -10.98 | 26.63 | -0.412 | 28.80 |
| T ₄ | 53.00 | -11.09 | 26.68 | -0.416 | 28.89 |
| T ₅ | 52.52 | -10.80 | 26.52 | -0.407 | 28.63 |
| T ₆ | 53.95 | -11.33 | 26.77 | -0.423 | 29.07 |

처리별 관능평가는 표 37에서 볼 수 있다. 제품형상은 무처리 16점에 비해 CO₂ gas 처리가 17~18점으로 외적형태가 약간 우수하였다. 내적형질인 수색은 무처리 17점에 비해 T₅처리를 제외하고 차이가 없었으며, 향은 무처리 22점에 비해 CO₂ gas 처리가 T₃처리를 제외하고 23~25점으로 약간 양호하였고, 맛도 무처리 20점에 비해 gas 처리가 21~23점으로 양호하였는데, 이는 차잎이 CO₂ gas 처리 중 발효에 의해 향과 맛이 향상되었으리라 생각된다. Hatanaka 등(1976)도 차향기성분은 차잎 세포 중에 축적된 불휘발성 전구물질에서 차아 적체 후 차잎효소에 의해 생합성되거나 열화학반응에 의해 형성된다고 보고하였다. 우려낸 차잎은 무처리 8점에 비해 CO₂ gas 처리는 T₂처리를 제외하고 9점이었다. 관능평가 결과 무처리는 83점에 비해 험기처리만 했을 때는 86점, 험기와 호기 교호처리시는 87점~92점으로 험기와 호기 교호처리한 제품이 보다 우수한 평가를 받았으며, 그 중에서도 특히 T₆처리가 가장 우수하였다.

[Table 37] Sensory evaluation of CO₂ gas treated green tea

| Treatment | Shape (20) | Liquor color(20) | Aroma (25) | Taste (25) | Infused leaf(10) | Total (100) |
|----------------|------------|------------------|------------|------------|------------------|------------------|
| T ₁ | 16 | 17 | 22 | 20 | 8 | 83 ^c |
| T ₂ | 17 | 17 | 23 | 21 | 8 | 86 ^{bc} |
| T ₃ | 18 | 17 | 22 | 21 | 9 | 87 ^b |
| T ₄ | 17 | 17 | 24 | 21 | 9 | 88 ^b |
| T ₅ | 18 | 16 | 24 | 22 | 9 | 89 ^{ab} |
| T ₆ | 18 | 17 | 25 | 23 | 9 | 92 ^a |

(나) 옥룩차 제조법을 이용한 뽕녹차 제조공정

증열처리에 따른 뽕녹차의 제품 품질은 표 38과 같은데, 제품수율은 100℃ 60초 증열시 20.51로 가장 높았으며, 증열시간이 길어질수록 제품수율이 낮았는데, 이는 생체조직내의 수분 이동기구가 단순하지 않아서 감속건조 속도가 재료 내부의 수분이동 속도에 크게 의존하므로 내부수분의 보

유상태, 물과 고형분과의 친화성 등에 따른 차이라고 생각된다. 총질소는 100℃ 50초 증열시 3.63 % 였으며 60초 증열시는 3.80 %로 함량이 가장 많았고, 증열시간이 길어질수록 함량이 감소하였다. 총아미노산은 60초 증열시 2,278 mg 100g⁻¹으로 타처리에 비해 함량이 약간 많은 경향이였다. 탄닌은 50초 증열시 6.75 %에서 증열시간이 길어질수록 함량이 증가하였으며, 증열시간에 따른 엽록소함량은 100℃ 50초에서 614 mg 100g⁻¹으로 다른 증열조건보다 함량이 많았고 증열시간이 증가할수록 함량이 감소하였다. 각 처리별 제다품질은 100℃ 60초 증열처리가 차 외적형태, 수색, 향, 맛 등 우수하였으며, 증열시간이 길어질수록 외적, 내적형질이 열악해져 품질이 감소하는 경향이였다.

[표 38] 증열처리에 따른 뽕녹차 제품 품질

| 증열조건 (℃, 초) | 제품수율 (%) | 총질소 (%) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 탄닌 (%) | 엽록소 (mg 100 ⁻¹) | 관능평가 (점) |
|----------------|-------------|------------|----------------------------------|-----------|--------------------------------|-------------|
| 100, 50 | 19.45 | 3.63 | 2,183 | 6.75 | 614 | 88 |
| 100, 60 | 20.51 | 3.80 | 2,278 | 6.84 | 608 | 92 |
| 100, 70 | 20.13 | 3.75 | 2,249 | 6.90 | 578 | 89 |
| 100, 80 | 19.35 | 3.48 | 2,115 | 6.99 | 546 | 86 |

※ 뽕잎 : 차잎 = 50 : 50(V/V)

※ 조유 130℃,60분 ⇒ 유념 15분 ⇒ 건조 180℃ 30분—130℃ 30분—80℃ 30분

조유처리에 따른 뽕녹차의 제품 품질은 표 39에서 볼 수 있는데, 제품수율은 130℃ 60분 처리시 20.84로 가장 높았으며, 총질소는 90℃ 60분 처리시 3.42 %로 함량이 가장 적었으며, 110℃ 60분 처리시 3.75 %로 함량이 가장 많았고 처리온도가 높아질수록 함량이 감소하였다. 총아미노산은 110℃ 60분 처리시 2,239 mg 100g⁻¹으로 타처리에 비해 함량이 약간 많은 경향이였고, 탄닌도 110℃ 60분 처리시 6.90 %로 함량이 많았으며, 엽록소함량은 130℃ 60분에서 617 mg 100g⁻¹으로 다른 조유조건보다 함량이 많았다. 각 처리별 제다품질은 130℃ 60분에서 92점으로 차 외적형태, 수색, 향, 맛 등이 우수하였다.

[표 39] 조유처리에 따른 뽕녹차 제품 품질

| 조유조건 (℃, 분) | 제품수율 (%) | 총질소 (%) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 탄닌 (%) | 엽록소 (mg 100 ⁻¹) | 관능평가 (점) |
|----------------|-------------|------------|----------------------------------|-----------|--------------------------------|-------------|
| 90, 60 | 18.32 | 3.42 | 2,048 | 6.78 | 601 | 83 |
| 110, 60 | 20.23 | 3.75 | 2,239 | 6.90 | 609 | 89 |
| 130, 60 | 20.84 | 3.69 | 2,218 | 6.73 | 617 | 92 |
| 150, 60 | 19.49 | 3.57 | 2,131 | 6.81 | 586 | 85 |

※ 증열 100℃,60초 ⇒ 유념 15분 ⇒ 건조 180℃ 30분—130℃ 30분—80℃ 30분

표 40은 유념처리에 따른 뽕녹차의 제품 품질을 표시하였는데, 제품수율은 10분 처리시 21.02 %,

15분 처리시 20.91 %였으며, 처리시간이 길어지면 수율이 감소하였다. 총질소는 15분 처리시 3.77 %로 함량이 가장 높았으며, 처리시간이 길어질수록 함량이 감소하는 경향이였다. 총아미노산은 10분과 15분 처리시 2,328 mg 100g⁻¹와 2,269 mg 100g⁻¹으로 타처리에 비해 함량이 약간 많았으며, 탄닌은 25분 처리시 6.91 %로 함량이 많았다. 엽록소는 15분에서 623 mg 100g⁻¹으로 다른 처리보다 함량이 많았다. 각 처리별 제다품질은 유념 15분에서 92점으로 차 외적형태, 수색, 향, 맛 등이 양호하였다.

[표 40] 유념처리에 따른 뽕녹차 제품 품질

| 유념조건 (분) | 제품수율 (%) | 총질소 (%) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 탄닌 (%) | 엽록소 (mg 100 ⁻¹) | 관능평가 (점) |
|-------------|-------------|------------|----------------------------------|-----------|--------------------------------|-------------|
| 10 | 21.02 | 3.73 | 2,328 | 6.85 | 611 | 90 |
| 15 | 20.91 | 3.77 | 2,269 | 6.71 | 623 | 92 |
| 20 | 19.68 | 3.60 | 2,158 | 6.73 | 581 | 87 |
| 25 | 19.32 | 3.65 | 2,205 | 6.91 | 562 | 86 |

※ 증열 100℃,60초 ⇒ 조유 130℃,60분 ⇒ 건조 180℃ 30분—130℃ 30분—80℃ 30분

건조처리에 따른 뽕녹차의 제품 품질을 표 41에서 볼 수 있는데, 제품수율은 180℃, 30분→130℃, 30분→80℃, 30분 처리시 20.96 %로 함량이 가장 높았고, 녹차의 감칠맛과 밀접한 관계가 있는 총질소도 180℃, 30분→130℃, 30분→80℃, 30분 처리에서 3.86 %로 함량이 가장 높았다. 총아미노산은 180℃, 30분→130℃, 30분→80℃, 30분 처리가 2,293 mg 100g⁻¹으로 타처리에 비해 함량이 약간 많았으며, 탄닌은 150℃, 30분→130℃, 30분→80℃, 30분 처리에서 6.91 %로 함량이 많았고 엽록소는 180℃, 30분→130℃, 30분→80℃, 30분 처리에서 628 mg 100g⁻¹으로 다른 처리보다 함량이 많았다. 각 처리별 제다품질은 180℃, 30분→130℃, 30분→80℃, 30분 처리에서 90점으로 차 외적형태, 수색, 향, 맛 등이 양호하였다.

[표 41] 건조처리에 따른 뽕녹차 제품 품질

| 건조조건 (℃, 분) | 제품수율 (%) | 총질소 (%) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 탄닌 (%) | 엽록소 (mg 100 ⁻¹) | 관능평가 (점) |
|------------------------|-------------|------------|----------------------------------|-----------|--------------------------------|-------------|
| 150, 30→130, 30→80, 30 | 20.22 | 3.81 | 2,268 | 6.91 | 621 | 85 |
| 180, 30→130, 30→80, 30 | 20.96 | 3.86 | 2,293 | 6.80 | 628 | 90 |
| 210, 30→130, 30→80, 30 | 19.48 | 3.65 | 2,183 | 6.77 | 565 | 82 |

※ 증열 100℃,60초 ⇒ 조유 130℃,60분 ⇒ 유념 15분

(다) 뒤음뽕녹차 제조공정 확립

첫 뒤음처리에 따른 뽕녹차 제품품질은 표 42에서 보는 것 처럼, 제품 수율은 270℃ 7분 처리시 20.83 %로 타처리 보다 높았다. 총질소는 270℃ 7분 처리에서 함량이 3.65 %로 다른 처리에 비해 0.08~0.41% 더 많았다. 총아미노산 270℃ 7분 처리에서 2,109 mg 100⁻¹으로 다른 처리에

비해 함량이 약간 많았다. 탄닌을 분석한 결과 6.50~6.89 %로 290℃ 7분 처리에서 6.89 %로 다른 처리에 비해 함량이 약간 많은 경향이였다. 엽록소는 230℃ 7분 처리에서 454 mg 100⁻¹이었고, 첫 뒤음온도가 증가할수록 함량은 감소하였는데, 이는 세포내에 존재하는 휘발성 및 비휘발성 유기산들이 유리되어 엽록소를 pheophytin으로 전환시켜 색깔을 황색으로 변하게 함으로써 엽록소 함량을 감소시켰다고 생각된다. 각 처리별 제다품질은 270℃ 7분 처리에서 86.6점으로 차 외적형태, 수색, 향, 맛 등이 양호하였다.

[표 42] 첫뒤음처리(살청)에 따른 뽕녹차 제품 품질

| 첫뒤음조건 (℃, 분) | 제품수율 (%) | 총질소 (%) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 탄닌 (%) | 엽록소 (mg 100 ⁻¹) | 관능평가 (점) |
|-----------------|-------------|------------|----------------------------------|-----------|--------------------------------|-------------|
| 230, 7 | 19.55 | 3.53 | 1,983 | 6.75 | 454 | 81.9 |
| 250, 7 | 20.01 | 3.57 | 2,028 | 6.59 | 428 | 84.9 |
| 270, 7 | 20.83 | 3.65 | 2,109 | 6.50 | 431 | 86.6 |
| 290, 7 | 19.05 | 3.16 | 1,895 | 6.89 | 366 | 79.6 |

※ 뽕잎 : 차잎 = 50 : 50(V/V), 생엽 10kg

※ 비빔 20분 ⇒ 건조 및 마무리 185±5℃ 55±5분—130℃ 55±5분—80℃ 40분

표 43은 비빔처리에 따른 뽕녹차 제품품질로, 제품 수율은 15분 처리시 21.02 %로 타처리 보다 약간 높았으며, 처리시간이 길어질수록 수율은 감소하였다. 총질소는 20분 처리에서 함량이 3.61%로 다른 처리에 비해 함량이 약간 많은 경향이였고, 총아미노산은 20분 처리에서 2,139 mg 100⁻¹으로 다른 처리에 비해 함량이 약간 많았다. 탄닌은 6.33~6.92 %로 15분 처리에서 6.33 %로 다른 처리에 비해 함량이 약간 적었으나, 처리시간이 길어질수록 함량은 증가하는 경향이였다. 엽록소는 15분 처리에서 471 mg 100⁻¹이었고, 처리시간이 길어질수록 함량은 감소하는 경향이였다. 각 처리별 관능평가는 80.1~85.9점이었는데, 20분 처리가 85.9점으로 차 외적형태, 수색, 향, 맛 등이 양호하였다

[표 43] 비빔처리에 따른 뽕녹차 제품 품질

| 비빔조건 (분) | 제품수율 (%) | 총질소 (%) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 탄닌 (%) | 엽록소 (mg 100 ⁻¹) | 관능평가 (점) |
|-------------|-------------|------------|----------------------------------|-----------|--------------------------------|-------------|
| 15 | 21.02 | 3.48 | 2,009 | 6.33 | 471 | 84.8 |
| 20 | 20.91 | 3.61 | 2,139 | 6.51 | 459 | 85.9 |
| 25 | 19.68 | 3.56 | 2,058 | 6.77 | 441 | 82.6 |
| 30 | 19.32 | 3.45 | 1,965 | 6.92 | 418 | 80.1 |

※ 첫뒤음(살청) 270℃, 7분 ⇒ 건조 및 마무리 185±5℃ 55±5분—130℃ 55±5분—80℃ 40분

건조처리에 따른 뽕녹차 제품품질은 표 44에서 볼 수 있는데, 제품 수율은 185±5℃, 55±5분→130℃, 55±5분→80℃, 40분 처리시 20.93 %로 타처리 보다 약간 높았다. 총질소는 185±5℃, 55±5분→130℃, 55±5분→80℃, 40분 처리에서 함량이 3.66 %로 다른 처리에 보다 함량이 약간 많았으며,

총아미노산도 185±5℃, 55±5분→130℃, 55±5분→80℃, 40분 처리에서 2,227 mg 100⁻¹으로 다른 처리에 비해 함량이 약간 많았다. 탄닌은 6.04~6.83 %로 155±5℃, 55±5분→130℃, 55±5분→80℃, 40분 처리에서 6.83 %로 다른 처리에 비해 함량이 약간 많았으며, 건조온도가 올라갈수록 함량은 감소하였다. 엽록소는 185±5℃, 55±5분→130℃, 55±5분→80℃, 40분 처리에서 468 mg 100⁻¹이었고, 건조온도가 증가할수록 함량은 감소하였는데, 이는 세포내에 존재하는 휘발성 및 비휘발성 유기산들이 유리되어 엽록소를 pheophytin으로 전환시켜 색깔을 황색으로 변하게 함으로써 엽록소 함량을 감소시켰다고 생각된다. 각 처리별 제다품질은 75.2~86.1점이었는데, 185±5℃, 55±5분→130℃, 55±5분→80℃, 40분 처리가 86.1점으로 차의 외적형태, 수색, 향, 맛 등이 양호하였다.

[표 44] 건조처리에 따른 뽕녹차 제품 품질

| 건조조건 (℃, 분) | 제품수율 (%) | 총질소 (%) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 탄닌 (%) | 엽록소 (mg 100 ⁻¹) | 관능평가 (점) |
|-------------------------------|-------------|------------|----------------------------------|-----------|--------------------------------|-------------|
| 155±5, 55±5,→130, 55±5→80, 40 | 19.32 | 3.51 | 2,141 | 6.83 | 463 | 77.8 |
| 185±5, 55±5→130, 55±5→80, 40 | 20.93 | 3.66 | 2,227 | 6.68 | 468 | 86.1 |
| 215±5, 55±5→130, 55±5→80, 40 | 19.08 | 3.25 | 2,101 | 6.41 | 375 | 83.4 |
| 245±5, 55±5→140, 55±5→70, 40 | 19.48 | 3.18 | 1,948 | 6.04 | 316 | 75.2 |

※ 첫더움처리(살청) 270℃, 7분 ⇒ 비빔 20분

(라) GABA 강화 기능성 뽕잎가루차 제조법

표 45는 글루탐산 처리에 의한 뽕녹차의 기호성성분을 나타내고 있는데, 총질소는 침지 0.5, 1, 2시간에 침지농도가 0.005M일때 각각 1.92, 1.96, 1.90 %로 1시간 침지시 함량이 약간 높았고 무처리 1.89 %에 비해 함량 차이가 크지 않았다. 0.025M에서는 2.03, 2.09, 1.97 %로 1시간 침지까지 함량이 증가하다 2시간부터 함량이 감소하는 경향이었고, 모든 처리구에서 무처리에 비해 함량이 약간 많은 편이었다. 0.05M은 2.00, 2.03, 1.85 %로 2시간 침지처리에서 함량이 1.85 %로 가장 낮은 경향이였다. 총아미노산은 글루탐산용액 0.005, 0.025, 0.05M로 차잎 0.5시간 침지시 1685, 1749, 1730 mg 100g⁻¹으로 침지농도가 0.025M까지 함량이 증가하다 0.05M에서 함량이 감소하였으며 1시간 침지에서는 1703, 1800, 1738 mg 100g⁻¹으로 0.025M까지는 함량이 증가하다 0.05M에서 함량이 감소하였고, 2시간 침지는 1679, 1711, 1630 mg 100g⁻¹이었는데, 무처리 1672 mg 100g⁻¹에 비해 글루탐산 처리는 1630~1800 mg 100g⁻¹으로 함량이 많았다. 탄닌은 농도 별 글루탐산 0.5시간 처리시 1.89~1.99 %를 나타냈으며, 1시간은 1.90~1.97 %, 2시간은 1.63~1.84 %로 침지시간이 길어질수록 함량은 감소하였으며, 무처리 1.98 %에 비해 처리가 탄닌 함량이 낮은 경향이였다. 엽록소는 무처리에서 795 mg 100g⁻¹이었으나 침지 0.5시간에는 799~811 mg 100g⁻¹이었고, 침지 1시간에는 783~804 mg 100g⁻¹, 침지 2시간에는 691~765 mg 100g⁻¹이었다. 엽록소 함량은 침지시간이 길어질수록 함량이 감소하는 경향이었고, 침지시간 별로는 처리농도 대부분에서 1시간 침지 이후부터 엽록소 함량이 감소함을 알 수 있었다.

[표 45] 글루탐산 처리에 따른 기호성 성분 변화

| 처리 (시간) | 처리농도 (M) | 총질소 (%) | 총아미노산 (mg 100 ⁻¹) | 탄닌 (%) | 엽록소 (mg 100 ⁻¹) |
|------------|-------------|------------|----------------------------------|-----------|--------------------------------|
| - | 무처리 | 1.89 | 1,672 | 1.98 | 795 |
| 0.5 | 0.005 | 1.92 | 1,685 | 1.99 | 803 |
| | 0.025 | 2.03 | 1,749 | 1.95 | 811 |
| | 0.05 | 2.00 | 1,730 | 1.89 | 799 |
| | 0.005 | 1.96 | 1,703 | 1.97 | 797 |
| 1 | 0.025 | 2.09 | 1,800 | 1.90 | 804 |
| | 0.05 | 2.03 | 1,738 | 1.90 | 783 |
| | 0.005 | 1.90 | 1,679 | 1.84 | 751 |
| 2 | 0.025 | 1.97 | 1,711 | 1.79 | 765 |
| | 0.05 | 1.85 | 1,630 | 1.63 | 691 |

글루탐산 처리조건별 뽕잎가루차의 유리아미노산 함량 변화는 표 46과 같은데, aspartic acid는 무처리 205 mg 100g⁻¹에 비해 글루탐산 처리조건에서 140~180 mg 100g⁻¹으로 처리농도가 증가할 수록 함량이 감소하는 경향이였다. glutamic acid는 무처리 598 mg 100g⁻¹에 비해 글루탐산 처리조건에서 607~630 mg 100g⁻¹으로 처리농도 증가와 함량 증가와는 일정한 경향이 없었다. 律志 등(1990)이 차잎을 혐기적 조건으로 처리하면 차잎속에서 glutamic acid는 glutamate decarboxylase의 작용에 의해 GABA와 alanine을 증가시키고 반면에 glutamic acid는 감소된다고 보고하였는데, 본실험에서 glutamic acid증가는 glutamic acid 전구물질인 글루탐산 침지에 의한 결과로 생각된다. glycine은 무처리 117 mg 100g⁻¹에 비해 처리는 101~115 mg 100g⁻¹로 함량이 약간 감소하였다. alanine은 무처리 136 mg 100g⁻¹에 비해 글루탐산 처리조건에서 140~178 mg 100g⁻¹으로 함량이 증가하였다. GABA는 무처리 38 mg 100g⁻¹에 비해 처리농도별로 침지 0.5 시간에 61~108 mg 100g⁻¹, 침지 1시간에 75~132 mg 100g⁻¹, 침지 2시간 68~121 mg 100g⁻¹으로 처리농도 및 침지시간별로 고찰했을때 농도는 0.025M과 시간은 1시간 처리에서 GABA함량이 가장 많이 증가되었다. 白木(1998)도 차잎을 글루탐산 0.01~0.1M 처리시 GABA생성량은 무처리 30 mg 100g⁻¹에 비해 0.01M 150, 0.02M 180, 0.05M 230, 0.1M 300 mg 100g⁻¹로 농도가 증가할수록 함량이 증가했다고 보고하였다. arginine은 무처리 110 mg 100g⁻¹에 비해 처리조건에서는 95~103 mg 100g⁻¹으로 처리조건간에 큰차이를 볼 수 없었다.

[표 46] 글루탐산 처리별 뽕잎차의 아미노산 함량

| 처리 (시간) | 처리농도 (M) | 아미노산 함량(mg 100 ⁻¹) | | | | | | | |
|------------|-------------|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|
| | | Asp ¹⁾ | Glu | Gly | Ala | Leu | GABA | Lys | Arg |
| - | 무처리 | 205 | 598 | 117 | 136 | 105 | 38 | 112 | 110 |
| 0.5 | 0.005 | 180 | 610 | 115 | 140 | 103 | 61 | 110 | 100 |
| | 0.025 | 163 | 612 | 110 | 163 | 100 | 97 | 108 | 103 |
| | 0.05 | 158 | 607 | 101 | 169 | 102 | 108 | 102 | 98 |
| 1 | 0.005 | 175 | 623 | 110 | 145 | 98 | 75 | 105 | 99 |
| | 0.025 | 140 | 630 | 105 | 178 | 90 | 132 | 103 | 95 |
| | 0.05 | 149 | 628 | 108 | 173 | 95 | 125 | 101 | 95 |
| 2 | 0.005 | 177 | 615 | 109 | 143 | 100 | 68 | 108 | 103 |
| | 0.025 | 154 | 621 | 106 | 159 | 95 | 121 | 105 | 100 |
| | 0.05 | 150 | 619 | 105 | 151 | 98 | 114 | 100 | 98 |

관능평가에 따른 제품품질은 표 47에서 볼 수 있는데, 외적형질 중 형상은 처리농도 0.005~0.5M에서 침지 0.5시간은 16~17점, 1시간은 16~17점, 2시간은 15점으로 침지시간이 길어질수록 형상이 약간 열악했으며, 색택은 침지 0.5시간에 16~17점, 침지 1시간 16~17점, 침지 2시간 13~14점으로 침지 2시간부터 색택 감소가 발생하였는데 이는 침지시간이 길어질수록 엽록소를 산화시키는 chlorophyll oxidase의 활성이 증가되었기 때문으로 생각된다. 내적형질 중 향은 무처리 16점에 비해 처리는 14~17점인데, 침지시간이 길어질수록 차잎 중의 특유의 향들이 감소되는 경향이였다. 수색은 무처리 16점에 비해 글루탐산 처리조건에서는 14~17점인데, 침지시간이 길어지면 차잎 중의 polyphenoloxidase에 의한 산화가 일어나 수색이 열악해지는 경향이였다, 맛은 침지 2시간때부터 급격한 감소가 일어남을 알 수 있었다. 관능평가 결과 처리농도 0.025M에서 1시간 침지한 후 제다한 제품이 가장 우수한 평가를 받았다.

[표 47] 글루탐산 처리별 뽕잎차의 관능평가

| 처리 (시간) | 처리농도 (M) | 외적형질(40) | | 내적형질(60) | | | 총점 (100) |
|------------|-------------|----------|--------|----------|--------|-------|-------------|
| | | 형태(20) | 색택(20) | 향(20) | 수색(20) | 맛(20) | |
| - | 무처리 | 17 | 16 | 16 | 16 | 16 | 81 |
| 0.5 | 0.005 | 17 | 16 | 16 | 16 | 17 | 82 |
| | 0.025 | 17 | 17 | 17 | 16 | 17 | 84 |
| | 0.05 | 16 | 17 | 17 | 17 | 17 | 84 |
| 1 | 0.005 | 16 | 16 | 17 | 16 | 17 | 82 |
| | 0.025 | 17 | 17 | 18 | 17 | 18 | 87 |
| | 0.05 | 16 | 16 | 17 | 16 | 18 | 83 |
| 2 | 0.005 | 15 | 14 | 15 | 15 | 14 | 73 |
| | 0.025 | 15 | 14 | 16 | 15 | 15 | 75 |
| | 0.05 | 15 | 13 | 15 | 14 | 13 | 70 |

(마) GABA함유 기능성 뽕쌀 제조법

GABA 뽕잎가루차의 특성은 표 48에서 볼 수 있는데, 맛과 밀접한 관계가 있는 총질소 함량은 2.09%였으며, 감칠맛의 주성분으로 차 음용시 부드러운 맛을 느끼게하는 총아미노산은 1,800 mg 100g⁻¹이었다. 탄닌 함량은 1.90%였고, 엽록소는 804 mg 100g⁻¹이었으며, 기능성 GABA함량은 132 mg 100g⁻¹이었고, 비타민 C함량은 121 mg 100g⁻¹이었다.

[표 48] GABA 빵잎 가루차의 일반 성분 조성

| 처리내용 | 총질소 (%) | 총아미노산 (mg 100g ⁻¹) | 탄닌 (%) | 엽록소 (mg 100g ⁻¹) | GABA (mg 100g ⁻¹) | 비타민 C (mg 100g ⁻¹) |
|------------|---------|--------------------------------|--------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| GABA 빵잎가루차 | 2.09 | 1,800 | 1.90 | 804 | 132 | 121 |

GABA 빵잎가루차 코팅처리별 완전립 비율은 표 49에서 볼 수 있는데, 무처리 90.08%에 비해 GABA 빵잎가루차 코팅시 90.23~92.45%로 완전립 비율이 약간 증가함을 알 수 있었으며, 단백질함량은 코팅 0.5%까지 함량이 약간 감소하다 0.75%부터 함량이 증가하는 경향이었고, 무처리 6.47%에 비해 코팅 2%를 제외하고 6.20~6.40%로 함량이 약간 적은 편이었다. 아밀로스함량도 단백질과 비슷한 경향으로 코팅 0.5%까지 함량이 감소하였고, 무처리 18.29%에 비해 코팅 2%를 제외하고 18.01~18.21%로 함량이 약간 적은 경향이었으며, 도요식미값은 무처리한 일반쌀은 77.43점에 비해 코팅쌀은 78.01~79.35점으로 일반쌀의 식미보다 약간 양호하였다.

[표 49] 코팅처리 농도별 GABA빵쌀의 품질 특성

| 코팅농도(%) | 완전립(%) | 단백질함량(%) | 아밀로스함량(%) | 도요식미값 (점) |
|---------|--------|----------|-----------|-----------|
| 0 | 90.08 | 6.47 | 18.29 | 77.43 |
| 0.01 | 90.23 | 6.40 | 18.21 | 78.21 |
| 0.25 | 91.35 | 6.35 | 18.17 | 79.04 |
| 0.5 | 92.05 | 6.23 | 18.01 | 80.24 |
| 0.75 | 91.80 | 6.26 | 18.10 | 79.11 |
| 1.0 | 92.13 | 6.20 | 18.03 | 79.35 |
| 2.0 | 92.45 | 6.62 | 18.54 | 78.01 |

GABA 빵잎가루차가 코팅된 쌀의 아미노산 함량은 표 50에서 볼 수 있다. 코팅쌀의 aspartic acid 함량은 무처리 557 mg 100g⁻¹에 비해 558~580로 mg 100g⁻¹ 함량이 약간 많았고, threonine, proline, glutamic acid은 무처리와 처리별 코팅쌀의 함량 차가 크지 않았다. valine, leucine도 무처리가 각각 336 mg 100g⁻¹, 450 mg 100g⁻¹였으며 코팅쌀은 335~349mg 100g⁻¹, 453~468 mg 100g⁻¹으로 함량 차이가 거의 없었다. arginine은 무처리 503 mg 100g⁻¹에 비해 코팅쌀은 505~531 mg 100g⁻¹으로 함량이 약간 많았다. GABA는 무처리에는 없는 아미노산으로 코팅시 0.28~3.64% 함유되며, 코팅량이 증가할수록 함량이 증가하나 기호성 등을 고려할 때 0.5%코팅이 무난하리라 생각된다. 특히 GABA는 일반쌀에는 없는 다양한 기능성을 갖는 성분으로 0.5% 코팅쌀에 100g당 1.09 mg의 GABA성분이 들어 있어 코팅쌀로 하루 3회 식사만해도 GABA를 3.27mg 섭취 할 수 있어 녹차 7~8잔을 음용한 것과 동일한 효능을 갖는 장점이 있다.

[표 50] 코팅처리별 GABA콩쌀의 아미노산 함량

| 코팅농도 (%) | 아미노산 함량(mg 100g ⁻¹) | | | | | | | |
|----------|---------------------------------|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|
| | Asp ¹⁾ | Tre | Pro | Glu | Val | Leu | GABA | Arg |
| 0 | 557 | 182 | 235 | 1270 | 336 | 450 | - | 503 |
| 0.1 | 558 | 180 | 230 | 1273 | 335 | 455 | 0.28 | 505 |
| 0.25 | 562 | 183 | 236 | 1277 | 339 | 453 | 0.53 | 509 |
| 0.5 | 574 | 187 | 243 | 1279 | 345 | 459 | 1.09 | 515 |
| 0.75 | 575 | 185 | 247 | 1284 | 341 | 465 | 1.48 | 517 |
| 1.0 | 580 | 186 | 249 | 1283 | 347 | 468 | 1.88 | 520 |
| 2.0 | 569 | 181 | 246 | 1280 | 349 | 465 | 3.64 | 531 |

GABA 가루녹차가 코팅된 녹차쌀의 표면색상은 표 51에서 볼 수 있는데, 표면색의 밝기를 나타내는 L은 무처리에서 70.29이었는데 코팅쌀은 45.22~64.28로 가루녹차로 코팅시 표면의 밝기가 점점 감소하였고, 쌀에 코팅량이 많아질수록 표면색이 밝기가 급격히 감소하였다. a는 표면의 적색과 녹색을 나타내 주는 것으로 무처리는 -1.87로 표면의 녹색이 희미했으나 코팅쌀의 경우는 -5.48~-17.89로 표면의 녹색이 선명하였으며 코팅량이 증가할수록 표면 녹색은 증가하는 경향이었다. b값은 표면의 황색을 나타내는 것으로 무처리 16.78에 비해 쌀에 가루녹차를 코팅했을때 26.63~45.02 표면의 황색이 진해지는 경향을 볼 수 있었다. a/b는 무처리 -0.11에 비해 코팅쌀이 -0.21~-0.40로 표면의 녹색이 진해짐을 알 수 있었다.

[표 51] 코팅처리별 GABA 콩쌀의 표면색상

| 코팅농도(%) | Hunter 측색치 | | | |
|---------|------------|--------|-------|-------|
| | L | a | b | a/b |
| 0 | 70.29 | -1.87 | 16.78 | -0.11 |
| 0.1 | 64.28 | -5.48 | 26.63 | -0.21 |
| 0.25 | 54.08 | -8.53 | 30.86 | -0.28 |
| 0.5 | 52.76 | -10.62 | 32.79 | -0.32 |
| 0.75 | 51.13 | -12.18 | 35.99 | -0.34 |
| 1.0 | 49.29 | -14.33 | 38.75 | -0.37 |
| 2.0 | 45.22 | -17.89 | 45.02 | -0.40 |

제 4 절 목표달성도 및 관련분야 기여도

1. 평가의 착안점 및 기준

| 구분 | 연도 | 세부연구목표 | 가중치 | 평가의 착안점 및 기준 |
|-------|------|--------------------------------|------|-------------------------------|
| 1차 연도 | 2005 | 친환경 및 일반재배 원예작물 품질 평가 | 35 % | 배, 딸기 토마토 물리성 기호성성분 차이 비교 분석 |
| | | 친환경 및 일반재배 식용 및 특용작물 품질 평가 | 35 % | 쌀, 녹차 물리성 기호성성분 차이 비교 분석 |
| | | 친환경 녹차의 GABA함량 증진 기술 개발 | 30 % | GABA강화를 위한 최적조건 설정 |
| 2차 연도 | 2006 | 친환경 및 일반재배 원예작물 품질 차이 평가 | 35 % | 배, 딸기, 토마토 기능성성분 차이 비교 분석 |
| | | 친환경 및 일반재배 식용 및 특용작물 품질 평가 | 35 % | 쌀, 녹차의 기능성성분 차이 비교 분석 |
| | | 친환경 녹차의 GABA함량 증진 기술 개발 | 15 % | CO2가스 이용 GABA함량 증진 |
| | | GABA강화 가공제품 개발 | 15 % | 빵잎가루차, 빵쌀 제조공정 확립 |
| 3차 연도 | 2007 | 친환경 및 일반재배 원예작물 품질 차이 평가 | 35 % | 배, 딸기, 토마토 생리활성 차이 비교 분석 |
| | | 친환경 및 일반재배 식용 및 특용작물 품질 평가 | 35 % | 쌀, 녹차 생리활성 차이 비교 분석 |
| | | GABA강화 가공제품 개발 | 30 % | GABA차, GABA빵잎가루차, GABA 빵쌀 제조 |
| 4차 연도 | 2008 | 친환경 원예작물 품질 우수성 평가 | 30 % | 고추 사과 부지화의 물리성 기호성성분 비교 분석 |
| | | 친환경 식용 및 특용작물의 품질 비교 평가 | 30 % | 유기벼6종 및 녹차의 기호성 기능성 성분 비교 분석 |
| | | 친환경 쌈채류 2종의 품질 비교 분석 | 20 % | 상추, 깻잎의 물리성, 기호성성분 비교 분석 |
| | | 친환경 가공제품 개발 | 20 % | 옥록차 제조법 이용 빵녹차 제조법 확립 |
| 5차 연도 | 2009 | 친환경 원예작물 품질 우수성 평가 | 30 % | 고추 유자 부지화 기능성 및 생리활성 비교 분석 |
| | | 친환경 식용작물의 품질 비교 평가 | 25 % | 유기재배 쌀6종에 대한 기능성 및 생리활성 비교 분석 |
| | | 친환경 쌈채류의 품질 비교 분석 | 30 % | 상추, 숙갓, 깻잎의 기호성 및 생리활성 분석 |
| | | 친환경 가공제품 개발 | 15 % | 뒤음 빵녹차 제조법 확립 |
| 최종 평가 | | 친환경 원예작물의 품질평가 기준 설정은? | 30% | 물리성, 기능성, 기호성 및 생리활성 상호 비교 분석 |
| | | 친환경 식용 및 특용작물의 품질 우수성이 실증되었는가? | 25 % | 품질관련성분 및 기능성성분의 상호 비교 분석 |
| | | 품질 비교 분석결과 친환경 쌈채류가 우수한가? | 25 % | 쌈채류의 품질 상호 비교 분석 |
| | | GABA강화 제품 및 친환경 가공식품은 개발되었는가? | 20 % | GABA녹차 등 5종 개발 |

2. 연구개발목표의 달성도

| 목 표 | 연구개발 수행내용 | 달 성 도(%) |
|------------------------------------|--|----------|
| 제4세부과제 -친환경농산물의기호 성 및 기능성 평가 | - 친환경 및 일반재배 원예작물 품질 평가 - 친환경 및 일반재배 식용 및 특용작물 품질 평가 - 다양한 성분스크린을 통한 친환경재배 쌈채류의 품질 연구 - 친환경농산물 GABA함량 증진 기술 및 가공제품개발 | 100 % |

3. 관련분야의 기술발전 기여도

- 가. 유기재배, 무농약재배, 일반재배 농산물의 판정 기준 설정에 앞서 단순히 일반농산물에 비해 무농약, 유기농산물이 우리 몸에 좋을 것이라는 추측에 대한 과학적 분석자료로 결과를 확인시켜 주었음. 추후에는 무농약이 아닌 유기농산물 더 나아가서 많은 종류의 유기농산물에 대해 과학적이고 체계적으로 품질 및 기능성, 생리활성 관련 연구가 수행되어 보다 확실한 평가기준이 확립되었으면 함.
- 나. 지금까지 분석한 친환경 및 일반농산물 12개 품목(고추, 배, 딸기, 토마토, 사과, 유자, 부지화, 쌀, 녹차, 상추, 쪽갓, 깻잎)의 경우 친환경으로 재배된 농산물이 캡사이신, 라이코펜, 피트산, 카테킨, 폴리페놀화합물, 플라보노이드 등 생리활성물질과 항산화활성, 질산염소거능, 지질산패방지 등 기능성이 우수하였다. 따라서 친환경 농법으로 재배한 농산물이 화학비료 시비 및 농약살포에 의존하는 일반재배 과일, 야채, 곡류 및 특용작물에 비해 각종 무기성분, 비타민 및 생리활성물질이 상대적으로 높게 측정되어 영양학적, 기능학적으로 일반소비자에게 충분히 어필할 수 있다고 판단됨.

제 5 절 연구개발 결과의 활용계획

1. 연구성과

가. 학술지 게재 논문 실적

| 연번 | 논문제목 | 게재학술지명 (약자) | 게재 년도 | 권: 쪽수 | SCI 구분 | Impact Factor | 제1저 자 | 교신저자 | 공동저자 | 외국인 공동저자 |
|----|---|---|----------|-----------------|-----------|------------------|----------|----------|------------------------------------|-------------|
| 1 | Comparison of Quality, Physiochemical and Functional Property between Organic and Conventional Rice | Journal of Korean Society Food Science Nutrient | 2010. 05 | 39(5) : 725-730 | KSCI | - | J H Park | | S H Nam, Y O Kim, O D Kwon, K N An | |
| 2 | Comparison of Component Content between Environmental-Friendly or Conventional Green Tea | Korean Journal Of Tea Society | 2010.12 | 16(3): accepted | KSCIE | | J H Park | J H Park | S H Nam, J J Choi, H S Hwang | |
| 3 | Quality Improvement of Organic Green Tea by CO2 Treatments | Korean Journal Of Tea Society | 2011.04 | 17(1) accepted | KSCIE | | J H Park | J H Park | S H Nam, J J Choi, H S Hwang | |

나. 특허 출원,등록 실적

| 연번 | 출원인 | 제목 | 국가 및 출원/등록 구분 | 출원/등록번호 (출원/등록날짜) | 제1발명자 (공동발명자) |
|----|------|--------------------------------|------------------|---------------------------------|---------------------------|
| 1 | 전라남도 | 가바농밀 가루차와 이를 이용한 기능성 쌀 및 그 제조법 | 대한민국/출원 | 10-2007-0134027 (2007.12.20) | 박장현 (류인섭 최형국 김정근 김영육 남승희) |

다. 학술대회 실적

| 연번 | 저자명 | 논문 제목 | 학술대회 명칭 | 학술대회개최기간 및장소 | 발표형태 |
|----|--------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|------|
| 1 | 박장현 남승희 김영육 | 친환경 및 일반재배 쌀의 품질 특성 비교 | 한국식품과학회 제 75차 정기총회 및 국제학술대회 | 2008.06.18-20 광주김대중컨벤션센터 | 포스터 |
| 2 | 박장현 남승희 김영육 | 친환경 및 일반재배 녹차의 성분함량 비교 | 한국식품과학회 제 75차 정기총회 및 국제학술대회 | 2008.06.18-20 광주김대중컨벤션센터 | 포스터 |
| 3 | 박장현 남승희 김영육 | 친환경 및 일반재배 고추의 특성 비교 | 2008 한국식품영양과학회 | 2008.10.13-15 라마다플라자제주호텔 | 포스터 |
| 4 | 박장현 남승희 김영육 | 친환경 및 일반재배 무지화외 물리적 특성과 기능성 비교분석 | 2008 한국식품영양과학회 | 2008.10.13-15 라마다플라자제주호텔 | 포스터 |
| 5 | 박장현, 김영육, 남승희 | GABA성분이 강화된 친환경 쌀의 가루차 코팅법에 관한 연구 | 한국식품과학회 2009 학술대회 및 정기총회 | 2009.05.27-29 대전컨벤션센터 | 포스터 |
| 6 | 박장현, 남승희, 김영육, 이유석 | CO2가스 주입과 중단 반복처리에 따른 친환경 녹차 기호성 및 기능성함량 변화 | 한국식품과학회 2009 학술대회 및 정기총회 | 2009.05.27-29 대전컨벤션센터 | 포스터 |

라. 홍보실적

| 연번 | 홍보일자 | 홍보유형 | 매체명 | 제목 | 홍보내용 |
|----|------------|-------|--------|-------------------------|---|
| 1 | 2008.09.11 | 중앙일간지 | 뉴스시스 | 친환경토마토 함양, 성인병 예방 효과 탁월 | 친환경토마토 함양, 성인병 예방 효과 탁월 |
| 2 | 2008.09.12 | 지방일간지 | 전남매일 | 친환경토마토 성인병 예방 효과 탁월 | 성인병 예방 효과 탁월 |
| 3 | 2008.09.12 | 지방일간지 | 광주매일신문 | 친환경 토마토 소비자에 인기짱 | 친환경 토마토 소비자에 인기짱 |
| 4 | 2008.09.16 | 지방일간지 | 광주매일신문 | 친환경토마토소비자에 인기 | 친환경재배 토마토는 일반토마토 경도보다 약 10% 더 단단하고, 당함량 5.5%, 산함량 0.52%로 기호성 및 저장성이 양호하며, 비타민 C 함량도 40-50% 더 높아 소비자의 선호도가 날로 높아지고 있다. |
| 5 | 2008.09.18 | 중앙일간지 | 농촌진흥일보 | 친환경 토마토 소비자에 인기폭발 | 친환경 토마토 소비자에 인기폭발 |

| | | | | | |
|----|------------|-------|---------------|----------------------------|--|
| 6 | 2008.09.18 | 지역일간지 | 초록소리 | 친환경 토마토 소비자에 인기폭발 | 친환경 토마토 소비자에 인기폭발 |
| 7 | 2008.10.08 | 지방일간지 | 농민신문 | 친환경농법 재배 토마토 성인병 예방효과 등 탁월 | 친환경 토마토 함양 노화억제 성인병 예방에 탁월한 효과 |
| 8 | 2008.11.19 | 중앙일간지 | 농촌진흥일보 | 기능성 가바뿌잎차 개발로 농가소득증대 기대 | 기능성 가바뿌잎차 개발로 농가소득증대 기대 |
| 9 | 2008.11.20 | 지방일간지 | 광남일보 | 도 농기원 가바뿌잎차 개발 | 도 농기원 가바뿌잎차 개발 |
| 10 | 2008.11.21 | 지방일간지 | 남도일보 | 기능성 가바뿌잎차 개발 | 기능성 가바뿌잎차 개발 |
| 11 | 2008.11.21 | 지방일간지 | 광주 CBS-R 종합뉴스 | 혈압 내장암 효능 뿌잎차 개발 | 혈압 내장암 효능 뿌잎차 개발 |
| 12 | 2009.03.17 | 라디오 | BBS | 친환경 고추 기능성물질 다량 함유 | 친환경 고추 기능성물질 다량 함유 |
| 13 | 2009.03.17 | 중앙일간지 | 연합뉴스 | 친환경 재배 고추 건강기능성도 최고 | 친환경 고추가 일반 고추보다 기능성물질이 더 많다 |
| 14 | 2009.03.17 | 중앙일간지 | 뉴스스 | 친환경고추기능성물질40%더많아 | 친환경 고추가 일반 고추보다 기능성물질이 더 많다 |
| 15 | 2009.03.19 | 신문 | 전남일보 | 친환경고추, 함양 등 성인병예방 탁월 | 일반고추 보다 캡사이신, 비타민 C 등 함량이 많고, 단단한건도 5.4%, 당 4.2%, 표면녹색 6.9% 증가 |
| 16 | 2009.03.25 | 신문 | 원예산업신문 | 친환경고추, 기능성물질 다량 함유 | 일반재배 고추에 비해 친환경고추 캡사이신, 비타민 C 함량이 30-40% 많고, 함유율증 및 간기능개선 효과가 있는 세로토닌 4배, 페루로일세로토닌 5.8배 증가 |
| 17 | 2009.03.27 | 중앙일간지 | 농민신문 | 고추기능성물질함유량 | 고추 기능성 물질 함유량 무늬약 재배>관행재배 |

마. 교육실적

| 연번 | 교육일자 | 교육명 | 교재명 | 장소 | 참석대상 (인원:명) | 주요내용 | 기대효과 |
|----|------------|--------------------|---------------|----|--------------------|----------------------|-------------|
| 1 | 2008.05.01 | 2008 지역농업 특성화 교육 | 농산가공브랜드개발 | 순천 | 친환경가공농가 (40명) | 과채류 및 차의 가공과 이용 | 친환경 교육 및 홍보 |
| 2 | 2008.10.14 | 2008년 남도 맛 아카데미 운영 | 친환경농산물에 대한 이해 | 강진 | 친환경 재배 및 가공농가(65명) | 일반및친환경재배농산물의품질,기농성관련 | 친환경 교육 및 홍보 |

바. 영농활용실적

| 연번 | 제목 | 현황 및 문제점 | 영농활용기술 | 기대효과 | 성과발생기준 |
|----|------------------------------|--|---|--|--------|
| 1 | 유목차 제조법을 이용한 팽죽차 제조공정 확립 | 차잎이나 뿌잎만을 이용한 기존의 유목차, 유목차, 가루차 제조에 대한 것을 향상시킨 차잎과 뿌잎을 혼합한 팽죽차 제조 기술 개발 | 1. 5월 중, 하순에 생산되는 뿌잎을 채취해 잎을 3-5등분으로 절단한 다음 잎과 뿌잎 비율(50:50)로 혼합 2. 차잎이나 뿌잎 채취 후 가공시간이 길어지면 잎과 뿌잎의 C 및 일록소, 기호 성분 함량 변화가 우려되므로 냉장고에 보관 3. 첫머음(270도 7분) → 비빔(20분) → 건조 및 마무리(185±5도, 55±5분 → 70도, 40분)시 제품 수율과 기호성이 우수함. | 경제적으로 뿌잎 구입이, 뿌잎 절단비 등 뿌잎 준비 비용은 증가되나 이익적 요소로 증가되는 수입이 더 많을 것으로 예상 | 2008 |
| 2 | 녹차 GABA함량 증진을 위한 CO2가스 처리 효과 | 1. 차 소비는 단순 기호성 식품으로 대부분 한정되어 있으므로 다양한 신음도 제품 및 기능성차 제조 필요함 2. 국내에서는 아직까지 농산물을 이용한 기능성 GABA함유 제품들에 관한 개발이 미흡함 | 1. 차잎을 밀폐된 용기에 담고 10도 냉장 조건에 용기를 위치해 12.5±2.5psi/로 1시간 흘려주고 30분 중단을 2-3회 반복함 2. GABA는 글루탐산탈탄산효소에 의해 상온에서는 글루탐산으로 환원되므로 열기처리된 차잎에 의해 차를 제조해야 됨. 3. 차잎을 꺼내 즉시 증착차, 유목차, 덩유차 제다공정을 통해 기호성이 양호할 뿐 아니라 기능성 GABA함량도 무처리 10배 이상 증가 | 1. 녹차의 기호성 및 기능성에 미치는 CO2 gas 처리 효과를 높인다. | 2007 |
| 3 | 팽 녹차 유목 차 제조 공정 | 1. 차 재배면적 및 생산량 급증과 반비례해 차 산업 위축 2. FTA, DDA 협상 타결 대비 및 차 소비확대를 위한 다양한 신음도 차제품 개발 필요 | 1. 녹차 및 뿌잎차 가공농가에서 5월 중, 하순경에 뿌잎을 채취해 3-5등분으로 절단한 다음 차잎과 동일한 비율(50:50)로 혼합한 후 첫머음 온도와 시간, 비빔, 건조 및 마무리 등 제다공정을 고려해 팽죽차를 제조 | 차산업 발전 도모 | 2009 |

2. 활용방안

- 가. 유기 및 관행재배 농산물의 품질 및 기능성에 관한 학술발표 및 논문게재
- 나. 유기농산물 우수성에 대한 적극적인 홍보
- 다. 유기재배 농가 교육자료 활용
- 라. 친환경 가공제품에 대한 영농활용 및 기술이전

제 6 절 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 유기재배, 무농약, 일반재배 농산물의 영양학적, 기능성 관련 비교 연구에 대한 해외 연구 동향 분석 결과 무농약 보다는 유기재배와 일반재배 농산물의 품질, 기능성에 관한 비교 연구가 활발히 이루어지고 있었음.
2. 유기재배가 일반재배 토마토에 비해 카로티노이드와 폴리페놀 함량이 더 높은 것으로 나타남(Caris 와 Borel, 2004)
3. 포도주에서 유기재배 포도가 일반포도에 비해 기능성성분인 레스베라트롤 함량이 평균 26% 더 많이 함유하고 있었음(Levite 등, 2000)
4. EU가 주관이 되었던 QLIF (Quality Low Input Food) 프로젝트에 참여한 Carlo Leifert 교수에 의하면, 유기재배농산물이 관행보다 40% 더 높은 항산화성분을 포함하였으며, 유기농 우유는 비유기농 우유보다 60%가 더 많은 항산화 성분과 불포화지방산을 함유하는 것으로 조사되었음 (Sunday times. 2007. 10. 28).
5. Phenolic acids, flavonoids와 같은 페놀화합물 및 카로티노이드 등과 같은 생리활성이 있는 phytochemicals는 식물의 이차대사와 관련되어있으며, 이러한 이차대사 산물은 식물의 면역체계, 병해충, 영양부족 및 환경스트레스로부터 식물을 보호하기 위해 수반되어지는 물질로 인식되어진다(Brandt 와 Molgaard, 2001)
6. 비타민 C는 유기농 야채가 89.2 mg/100g으로 일반 야채 67.9 mg/100g보다 함량이 21.3 mg/100g 많았다(Mary, 2001)

제 7 절 참고문헌

- 나효환, 백순옥, 한상빈, 복진영 (1992) 녹차의 카테킨류 분석법 개선. 한국농화학회 35(4): 276-280.
- 남궁배, 황진봉 (2006) 친환경농산물의 성분함량 및 품질상의 차별성 연구. pp. 81-82. 한국식품연구원. 한국.
- 律志田, 勝二郎 (1990) 茶 生葉における アミノ 酸 代謝の 解明と 利用による 新製品(ギャバロン茶)の開発. 茶研報 72: 43-45.
- 白木与志也 (1998) γ -아미노酪酸의 效率的 蓄積方法의 開發. 茶研報 87: 128-129.
- Brandt K, Molgaard JP (2001) Organic agriculture does it enhance or reduce the nutritional value or plant food. J. Sci. Food Agri. 81: 924-931.
- Caris VC, Borel P (2004) Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomato and derived purees. J. Agric. Food Chem. 52: 21-26.
- Chang JS, Lee BS, Kim YG (1992) Change in γ -aminobutyric acid (GABA) and main constituents by treated condition and of anaerobically treated green tea leaves. Kor. J. Food Sci. Tech. 24(4): 315-319.
- Choe JS, Ahn HH, Nam HJ (2002) Comparison of nutritional composition in Korean rices. J. Korean Soc Food Sci Nutr 31: 885-892.
- Han LZ, Koh HJ, Won YJ, Choi HC, Nan ZH (1999) Comparison of grain quality characteristics between japonica rices of Korea and Jilin province of china. Korean J. Breeding 31: 48-56.
- Hatanaka A, Kajiwara T, Sekija J (1976) Biosynthesis of trans-2-hexenal in chloroplast from thea sinensis. Phytochemistry. 15: 1125~1130.
- Ikegaya K, Nasuda M (1986) A new simple determination method of total amino acid in green tea. Tea Res. J. 63: 35-36.
- Ikegaya K, Takayamagi H, Aman T (1990) Quantitative analysis of tea constituent. Tea Res. J. 71: 43-73.
- Institute of Agriculture Science (1989) Methodology of soil chemical analysis. pp. 68-77. Rural Development Administration. Korea.
- Juliano BO. 1971. A simplified assay for milled rice amylose. Cereal Sci. Today 16: 334-340.
- Karasuyama M (1988) New technology in Kyushu area. Sizuoka Prof. Tea Exp. Stn. 46: 17-37.
- Kim KH, Joo HK (1990) Variation of grain quality of rice varieties grown at different locations. I. Locational variation of quality-related characteristics of rice grain. Korean J. Crop Sci 35: 137-145.
- Kim YD, Ha KY, Lee JH, Shin HT, Cho SY (1998) Relationship between palatability evaluation and its related to major characteristics of Korean developed Japonica rice. Korean J. Breeding 30: 62-63.

- Kim KJ, Kim KH (1987) Study on the physico chemical properties of rice grain harvested from different regions. Korean J. Crop Sci 32: 234-242.
- Knight MR, Campbell AK, Smith SM (1991) Transgenic Plant aeguorin reports the effects of touch and cold shock and elicitors on cytoplasmic calcium. Nature 352: 524-52
- Konami. T, Sawai Y, Daka YO, Takeuchi A (1999) Repeating treatment of anaerobic acid and aerobic incubating increases the amount of γ -aminobutyric acid in shoot. Nippom Shokuhin Kagaku Kogaku 46: 462-466.
- Lee SJ, Sohn SM (2005) Review on nutritional value of organic plant products. Trends in Agric and Life Sci 3: 35-42.
- Levite D, Adrian M, Tamm L. (2000) Preliminary results of resveratrol in wine of organic and conventional vineyards. Proceeding 6th International Congress on Organic Horticulture. pp. 256-257.
- Mary AL (2001) Nutritional Quality of Organic Versus Conventional Fruits, Vegetables, and Grains. The J. of Alter. and Comp. Med. 7(2): 161-173.
- Muramas KI (1994) The Science of Tea. pp. 185-188. Jochang Bookstore. Japan.
- Na GS, Lee SK, Kim SY (2001) Antioxidative effects and quality characteristics of the rice cultivated by organic farming and ordinary farming. J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem. 50: 36-41.
- Park DK, Hwang SK, Kim JJ (2003) The development of new functional food using agricultural products, MAF final report.
- Park YH, Kang YS, Lee JH (1995) Marketable value and quality of rice produced by rice-duck farming system. Korean J. Intl. Agri. 10: 107-112.
- Rickar SE, Thompsin LU(1997) Interaction and biological effects of phytic acid. pp. 294-312. In Antinutrient and Phytochemicals in food ACS Symposium Series 662.
- Song BH, Kim DY, Kim SK, Kim YD, Choi KS (1988) Distribution of amino acids and fatty acids within the degermed brown rice kernel. J. Korean Agric. Chem. 31: 7-21
- Takeo T, Tkegaya K. Nakgawa M. (1988) The sensory evaluation and brewing condition of tasty of green tea. Kompendium of Tea work. pp. 393-412. Sizuoka. Japan.
- Tetsuhisa G, Hitoshi N (1996) Contents of individual tea catechins and caffeine in Japanese Green Tea. Tea Res. J. 83: 21-28.
- Toshinobu M, Tsusbida T (1987) Conversion of glutamic acid to γ -aminobutyric acid in tea leaves under anaerobic conditions. Agric. Biol. Chem. 51: 2865.
- Wada K, Nakada N, Hanjo Y, Kayumi S, Okada F (1988) Chlorophyll content of tea leaves and green tea product in relation to quality control. Tea Res. J. 68: 22-32.
- Wheeler BL, Ferrel RE. 1971. A method for phytic acid determination in wheat and wheat fractions. Cereal Chem. 48: 312.
- Yoshida S, Forno DA, Cook JH, Gomez KA (1976) Laboratory manual for physiological studies of rice. pp. 83-84. International Rice Reserech Institute.