발 간 등 록 번 호
11-1541000-001367-01

구아바의 염증개선활성을 이용한 항아토피 미용제품 및 기능성식품 개발 및 상품화

(Development and Industrialization of anti-atopic product and functional food using anti-allergy and anti-inflammation activity of Guava)

한국국제대학교

농 림 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “구아바의 염증개선활성을 이용한 항아토피 미용제품 및 기능성식품 개발 및 상품화” 과제의 보고서로 제출합니다.

2012년 4월 9일

주관연구기관명 : 한국국제대학교
총괄연구책임자 : 서 종 권
세부연구책임자 : 정 영 철
연 구 원 : 전 은 우
연 구 원 : 강 신 권
연 구 원 : 전 성 식
연 구 원 : 이 수 정
연 구 원 : 최 준 민
연 구 원 : 하 은 진
연 구 원 : 강 경 희
연 구 원 : 서 인 승
연 구 원 : 서 효 정
연 구 원 : 정 숙 안
협동연구기관명 : 충남대학교
협동연구책임자 : 정 혜 광
협동연구기관명 : 구아바코리아(주)
구아바영농법인
협동연구책임자 : 임흥섭/오영환

요 약 문

Ⅰ. 제 목

구아바의 염증개선활성을 이용한 항아토피 미용제품 및 기능성식품 개발 및 상품화

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

○ 본 연구는 구아바(Guava) 잎의 아토피 피부염 유발균주 생육억제 활성, NO 생성억제 활성을 포함한 항산화활성 및 항염증 억제활성 연구를 통해 항아토피 효능을 구명하고자 구아바 잎 유기용매별, 분획별, 추출용매 농도별, 구아바 잎 발효액 시료 등을 추출, 분리, 농축, 유기용매 재추출 및 동결건조 등의 과정을 거쳐 고농도의 천연물 소재를 제조하고, 각 시료를 분석하였으며, 또한 선정된 천연물 소재를 대식세포, 비만세포 및 피부 각질세포에 처리하여 *in vitro* 항염증, 항알러지 및 항아토피 효능의 과학적 근거를 마련하고, 아토피 피부염 동물모델을 이용한 구아바 잎 천연물소재의 아토피 염증 억제활성 검증을 통해 항아토피 미용제품(크림, 로션, 기능성화장품) 및 항아토피 기능성식품(다류)을 개발하여 상품화 함.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

구분 (연도)	연구개발의 내용	연구개발의 범위
1차 년도 (2009)	• 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재 개발, 분석 및 항균활성, 항산화활성 검증	• 구아바 잎을 이용한 항아토피용 천연물 소재 개발 • 피부미용 소재의 성분분석 • 천연물소재의 항아토피 항균활성 및 항산화 활성 검증
	• 항아토피, 항염증 제품화 기술 개발 및 제품의 규격화	• 항아토피 미용품의 제품화 기술개발 및 제품별 제조 공정 구축 • 개발제품의 관능평가, 기호도 평가 및 제품의 규격화 • 개발제품의 활성검증(기존제품과의 활성 비교)
	• 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vitro* 아토피 피부염 억제 활성 검증	• in vitro 아토피 피부염 억제활성 조사 • in vitro 염증 억제활성 조사 • in vitro 알러지 억제 활성 조사
	• 항아토피 시제품 개발	• 항아토피 미용제품 시제품 생산(크림 2종, 떡류 6종)
2차 년도 (2010)	• 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재, 항아토피 식품 소재, 의약품 소재 개발 및 생물활성 연구	• 추출용매별, 추출용매 농도별 항아토피 기능성식품 천연물소재 개발 • 개발소재의 성분분석 • 개발소재의 항아토피 균주에 대한 항미생물 활성 연구 • 용매별, 농도별 개발소재의 항산화 활성 연구 • 개발소재별 지표물질 함량 측정
	• 항아토피, 항염증 제품화 기술 개발 및 제품의 규격화	• 항알러지, 항염증용 기능성식품의 제품화기술 개발 • 항알러지 기능성식품 5건 11종 • 기능성식품의 관능평가, 기호도 조사 및 제품의 규격화
	• 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 검증	• *in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 조사
	• 항아토피 시제품 개발	• 항아토피 미용제품 시제품 생산(로션 2종, 제과류 6종, 아이스크림2종)
3차 년도 (2011)	• 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재, 항아토피 식품 소재, 의약품 소재 개발 및 생물활성 연구	• 저온발효공법을 활용한 식품의약소재화 기술 개발 • 개발소재의 성분분석 • 개발소재의 생물활성 연구(항산화활성)
	• 항아토피, 항염증 제품화 기술 개발 및 제품의 규격화	• 항염증 건강기능식품 첨가물 소재의 제품화 기술 개발 • 항아토피 식품의약 천연물소재의 제품화 기술 개발 • 개발제품의 평가 및 규격화
	• 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vitro* / *in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 검증	• 구아바 기능성 시제품의 in vitro 아토피 피부염 억제 활성 조사 • 구아바 기능성 시제품의 in vivo 아토피 피부염 억제 활성 조사
	• 항아토피 시제품 개발 및 산업화	• 건강기능식품 첨가물 소재 및 식품의약 소재의 제품화 기술을 이용한 시제품 생산 및 산업화(크림 2종, 로션 2종, 미백화장품1종, 다류1종)

Ⅳ. 연구개발결과

1. 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재, 항아토피 식품 소재, 의약품 소재 개발 및 생물활성 연구

○ 구아바 잎으로부터 항아토피 소재 천연물 소재를 추출하기 위하여 유기용매(물, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 1단계) 및 조건별(마이크로파 추출, 1단계), 7종의 유기용매 분획별(1~2단계), 5종의 유기용매 농도별(3단계), 구아바 잎 첨가 발효액 소재화(3단계) 연구를 통해 20여종의 천연물 시료를 제조함.

○ 추출용매별 추출 수율은 물 추출물이 29.2%로 가장 높았으며, 메탄올(26.1%), 에탄올(5.9%) 순으로 나타남. 유기용매 분획물(7종)에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 에탄올 농도별 추출조건에서는 50% 에탄올 추출물의 수율이 16.78%로 가장 높았으며, 추출시료의 pH는 대부분 약산성을 나타냄.

○ 구아바 잎 열수 추출물의 일반성분 중 탄수화물, 조지방, 조회분 및 조섬유는 미량 검출되었으며, 마이크로파 추출물이 다소 높게 나타남. 영양성분 중 포화지방, 트랜스지방 및 콜레스테롤은 검출되지 않았으며, 열량은 0.8 kaca/100g 이었고, 나트륨, 조단백은 미량 검출됨.

○ 마이크로파(microwave)를 이용한 소재개발 실험의 최적 추출조건은 85℃, 15분이었으며, 일반성분 중 carbohydrate와 칼륨(K)의 함량이 각각 15.7 mg/100g, 637.5 mg/kg으로 매우 높게 검출됨.

○ 제조된 각 단계별 천연물 소재의 지표물질 함량은 phenolic comound의 함량이 유의적으로 높았으며(에탄올 추출물의 총페놀 함량이 165.09 mg/100mL로서 가장 높음), 6종의 유기용매 분획물에서는 ethyl acetate(EtOAC) 층의 phenolic compound 함량이 가장 높게 나타남(186.65 mg/100ml).

○ 천연물소재의 항산화 활성을 비교 분석한 결과 DPPH radical 소거능, 환원력, ABTS radical 소거능은 물 > 에탄올 > 메탄올 순으로 높은 활성을 나타내었으며, NO 소거능, 아질산염(NO_2) 소거능은 에탄올 추출물의 활성이 유의적으로 높았음.

○ 유기용매 분획물의 항산화 활성은 농도가 증가할수록 소거능이 유의적으로 높게 나타났으며, ethyl acetate 층과 butanol 층에서는 250ppm 이상에서 50% 이상의 소거능을 보였음.

에탄올 농도별 항산화 활성은 모든 항목에서 50% 에탄올 추출물의 소거능이 가장 높게 나타남.

○ 구아바 잎 발효액의 항산화 활성은 5000ppm의 농도에서 DPPH radical 소거능이 93.39%로서 가장 높은 활성을 나타내었으며, 페놀화합물은 8.81 mg/100mL로 검출됨. 또한 발효액을 50% 에탄올로 재 추출하여 제조한 천연물 소재에서는 5000ppm 농도에서 가장 높은 항산화 활성을 나타냄.

○ 아토피 유발균주 1종, 염증 유발균주 2종, 무좀균 1종 및 대장균 1종에 대해 구아바 잎 각 조건별, 유기용매별, 분획별 및 에탄올 농도별 추출물의 항미생물 활성 연구 결과, 아토피 유발 균주인 *Staphylococcus aureus*에 대한 부탄올 및 물 추출물의 생육억제능이 매우 높게 나타났으며, *E. coli* 와 피부진균류인 *Trichophyton rubrum* 및 *Trichophyton mentagrophytes*에 대한 실험에서도 물 > 에탄올 > 메탄올 추출물 순으로 높은 항미생물 활성을 나타냄. 또한 유기용매 분획물 실험에서는 butanol 및 ethyl acetate 분획물에서 유의적으로 높은 활성을 보였으며, 에탄올 농도별 조건에서는 50% 에탄올 농도에서 아토피 유발균주의 생육억제활성이 가장 우수한 것으로 확인됨.

2. 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vitro* 아토피 피부염 억제 활성 조사

○ In vitro 항아토피 피부염 활성 조사 : 피부 각질 세포에 구아바 추출물을 처리한 결과 아토피 피부염 유발로 증가된 TARC/CCL17의 생성량 및 유전자 발현이 감소하였음. 항아토피 반응 관련 전사조절인자 NF-κB 및 상위신호전달 체계인 MAP kinases의 활성이 감소하였음.

○ In vitro 항염증 활성 조사 : 대식세포에 구아바 추출물을 처리한 결과 nitric oxide 생성량이 감소하였음. 염증 관련 COX-2와 iNOS의 발현 및 염증반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량이 억제되었음. 항염증 반응 관련 전사조절인자의 활성이 억제되었음.

○ In vitro 항알러지 활성 조사 : 비만세포에 구아바 추출물을 처리한 결과 알러지 유발 인자인 histamine의 생성 및 알러지 반응에 의해 일어나는 degranulation 양이 감소하였음. 과민성 면역 반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량이 감소하였음. 항알러지 반응 관련 전자조절인자의 활성이 억제되었음.

3. 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 조사

○ In vivo 항아토피 피부염 활성 조사 : 아토피 동물모델에 구아바 추출물을 처리한 결과 아토피 피부염 유발로 증가된 홍반, 출혈, 건조 등의 dermatitis scoring가 감소하였음. 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량이 감소하였음. 조직병리학적인 소견에서 피부조직의 두께와 염증세포의 침윤이 억제되었음.

4. 항아토피, 항염증 제품화 기술개발 및 제품의 규격화

○ 구아바잎 복합조성물을 Tween 80/saline(1:99, u/v)에 녹여 patch에 적신 후 1×1 inch 테스트 대상자 중 1명을 선정하여 손등에 부착시키고 24h, 48h, 72h 동안 방치하여 육안으로 관찰한 결과 뚜렷한 홍반 반응이 나타나지 않았으므로 피부에 전혀 무해한 것으로 확인됨.

○ 아토피 개선 미용제품의 기호도 조사를 실시한 결과 촉감, 윤기, 피부보습성은 전체적으로 양호한 것으로 나타났으나 제품의 원료인 구아바잎 복합조성물의 색도가 매우 짙어 제품의 색감이 다소 떨어지는 것으로 평가되었으며 전체적인 기호도 면에서는 8종 제품 모두 우수한 결과를 나타냄.

○ 구아바 잎 활용 기능성 제품의 활성을 검증하기 위해 자극성 실험용 반창고를 이용하여 실험제품 및, 비교제품 원료를 각각 거즈부분에 충분히 흡수시켜 팔에 붙이고 24hour 경과 후 반창고를 제거하여 1시간 후 피부를 관찰하여 피부 자극의 정도에 따른 심의 평가수치를 실시한 결과 피부에 전혀 자극성이 없는 것으로 나타남.

○ 미용제품의 유형에 따른 유사제품과의 비교평가에서 비교적 낮은 점수를 받은 색감 및 향은 한방 생약재의 향취가 거의 나지 않았으나 전체적인 향이 약하다는 평이 있었고 일부는 독특하고 은은한 생약재의 취를 지지하는 사람들도 있었으므로 본 실험의 경우 구체적이고 체계적인 데이터 확보를 위해 향후 확대실시 할 필요가 있을 것으로 사료됨.

○ 항알러지, 항염증 요구르트, 아이스크림, 제과류, 떡류의 관능평가 및 품질평가 결과 색(color), 향미(smell), 맛(taste), 조직감(texture), 전반적인 기호도(overall acceptability)면에서 모두 우수한 평가결과를 나타내었으며 유사제품과의 품질평가에서도 우수한 결과를 나타냄.

○ 피부단자실험(skin prick test)을 통한 항염증 기능성 제품의 알레르기 실험에서는 모두 음

성판정을 받음으로서 알레르기 반응은 없는 것으로 나타났으며 구아바 잎 발효농축물의 피부염에 대한 개선효과를 평가한 결과 피부염의 대표적인 증상인 각질, 홍반 등에 효과가 있는 것으로 나타남.

○ 항염증 기능성 제품의 기호도 조사를 실시한 결과 기능성 로션과 연고(크림)는 색감과 촉감에서 우수한 평가를 받았으나 유성(미끌거림)이 나타났으며 기능성 미스트의 경우 향, 윤기에서 우수한 평가를 받았으나 색감이 다소 떨어지는 것으로 평가되었다. 또한 피부보습성의 경우 기능성 미용제품 3종 모두 우수한 결과를 나타내었고 전체적인 기호도 면에서 개발제품 3종 모두 우수한 결과를 나타냄.

5. 항아토피 시제품 개발 및 산업화

○ 본 연구사업을 통하여 항아토피 제품 5종, 기능성 식품 1종을 개발하여 상품화 완료하였으며, 현재 참여기업을 통해 판매되고 있음. 또한 개발기술은 농림수산기술기획평가원의 도움을 받아 참여기업에 기술이전을 진행하고 있음.

제품명	개발완료시기	판매처	특허기술	용 도
ATOLL Cream (아톨크림)	2012.1월	구아바영농법인	기술: 특허출원 완료 상표: 특허등록 완료	항아토피 크림
ATOLL Lotion (아톨로션)	2012.1월	구아바영농법인		항아토피 보습 로션
JKstory100 (미백화장품)	2012.2월	구아바영농법인	상표출원 추진중	미백화장품 (식약청 등록)
I(아이)사랑 크림	2012.2월	구아바코리아(주)	기업 자체상표 등록	항아토피 크림
I(아이)사랑 로션	2012.2월	구아바코리아(주)	기업 자체상표 등록	항아토피 보습로션
구아바 차(茶)	2012.2월	구아바영농법인	기술: 특허등록 완료	구아바 잎의 면역활성 응용

Ⅴ. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 실용화 실적

	생산제품	실적	성과활용계획
1	ATOLL Lotion (항아토피 로션 제품)	1건	기술지도(생산 판매중)
2	ATOLL Cream (항아토피 크림 제품)	1건	기술지도(생산 판매중)
3	JKStory100 (기능성 미백화장품:식약청 등록)	1건	기술지도(생산 판매중)
4	구아바 잎 차(茶)	1건	기술지도(생산 판매중)
5	I 사랑 로션 (항아토피 보습로션)	1건	기술지도(생산 판매중)
6	I 사랑 크림 (항아토피 크림 제품)	1건	기술지도(생산 판매중)

2. 지식재산권 성과

출원된 특허의 경우(상표출원 포함)				등록된 특허의 경우			
출원 연도	특허명 (상표명)	출원인	출원번호	등록 연도	특허명	등록인	등록번호
2011	<①>	한국국제대 산학협력단	10-2010-0077298	2011	<②>	한국국제대 산학협력단	특허제10-1007929
	(아톨)	서종권	40-2010-0038352				
2011	(ATOLL)	서종권	40-2010-0038352				
2011	(아토사이언스 ATOSCIENCE)	서종권	40-2010-0018895		특허등록 : 1건 특허출원 : 2건 상표등록 : 3건		
2012	<③>	한국국제대 산학협력단	10-2012-0028695				

※ 특허명 : ① 구아바와 야콘을 이용한 항당뇨, 항산화 복합조성물과 기능성 건강음료의 제조방법
② 구아바로부터 항균활성 물질의 수득방법과 그 항균활성 물질을 포함하는 아토피 피부염, 무좀, 대장균 감염 억제용 조성물
③ 현미 구아바 잎 발효소재의 제조방법과 그 현미 구아바 잎 발효소재를 이용한 현미 구아바 잎 발효분말차 제조방법

3. SCI 논문게재 성과

NO	게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	구분	SCI 구분
			주저자	교신 저자	공동 저자				
1	2011	Psidium guajava extract inhibits thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production in human keratinocytes by inducing heme oxygenase-1 and blocking NF-κB and STAT1 activation.	한은희	정혜광	5명	Environ Toxicol Pharmacol	32 (2)	136 - 145	SCI
2	2011	Ethyl acetate extract of Psidium guajava inhibits IgE-mediated allergic responses by blocking FcεRI signaling.	한은희	정혜광	12명	Food Chem Toxicol	49 (1)	100 - 108	SCI
3	2012	Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity of *Psidium Guajava* Leaf Extracts depending on Extract Dissolvent	하은진	서종권	6	한국식품영양과학회 (4월 투고예정)	-	-	KCI
4	2012	Physico-chemical characteristic of *Psidium Guajava* Leaf extracts using microwave	이수정	서종권	6	한국식품영양과학회 (4월 투고예정)	-	-	KCI

4. 국내 및 국제학술발표 실적

NO	발표자	발표제목	발표일시	학술대회명	장소/국명
1	Eun-Hee Han	Psidium guajava down-regulates cyclooxygenase-2 expression in macrophages	2009. Nov. 12-13	한국독성학회	Seoul in Korea
2	Eun-Hee Han	Psidium guajava extract suppresses IgE-mediated allergic response by inhibiting multiple steps of FcεRI signaling in mast cells.	2010. Mar. 7-11	미국독성학회	SaltLake City / USA
3	Eun-Jin Ha, In-Sung Seo, Soo-Jung Lee, Hey-Gwang Jeong, Young-Chul Chung and Jong-Kwon Seo	Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity of *Psidium Guajava* Leaf Extracts depending on Extract Dissolvent	2010. Oct. 27~29	2010 International Symposium and Annual Meeting	Daegu in Korea
4	Hyo-Jung Seo, Kyoung-Hee Kang, Jung-Hye Shin, Min-Jung Kang, Young-Chul Chung and Jong-Kwon Seo	Physico-chemical characteristic of *Psidium Guajava* Leaf extracts using microwave	2010. Oct. 27~29	2010 International Symposium and Annual Meeting	Daegu in Korea
5	Eun-Hee Han	Ethyl acetate extract of Psidium guajava inhibits thymus- and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production by blocking NF-KB activation.	2010. Nov. 11-12	한국환경성 돌연변이 발암원학회	Busan in Korea
6	Ji-Hye Im	Psidium guajava inhibits IgE-mediated allergic responses by blocking FcεRI signaling in mast cells.	2011. Mar. 6-10	미국독성학회	Washington DC / USA
7	Gyeng-Hee Kang, Hyo-Jeong Seo, Dong-Hee Nam, Seong-Yong Jeong, Hyun-Jun Kang and Jong-Kwon Seo	Anti-microbial and Anti-oxidative Activities of Extract of Guajava Leaves (*Psidium guajava*) depending on Ethanol Concentration	2011. Jun. 08~10	2011 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology	Daegu in Korea
8	In-Seoung Seo, Eun-Jin Ha, Hong-Shil Jang,Dong-Gyu Lee, Min-Wook Ryu and Jong-Kwon Seo	Analysis on Index Material and Antibacterial Activity of Guajava Leaves (*Psidium guajava*) depending on Ordanic Solvent Fractions	2011. Jun. 08~10	2011 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology	Daegu in Korea
9	Eun-Hee Han	Effects of ethyl acetate extract of Psidium guajava on thymus and activation-regulated chemokine expression induced by IFN-ɣ and TNF-α in human keratinocytes	2011. Oct. 27-28	일본환경위생약학회	Kanazawa, Japan
10	Jae-Ho Choi	Effects of ethyl acetate extract of Psidium guajava on atopic dermatitis-like skin lesions induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in NC/Nga mice	2011. Oct. 27-28	일본환경위생약학회	Kanazawa, Japan
11	Gyeong-Hee Kang, Seong-Yong Jeong, Woo-bin Jeong, Hyo-Jeong Seo and Jong-Kwon Seo	Anti-oxidative and Anti-microbial Activities of fermented extract of Guajava Leaves (*Psidium guajava*)	2011. Oct. 31~ Nov. 2	2011 International Symposium and Annual Meeting	Busan in Korea
12	Jong-Kwon Seo	Inhibitory effects of *Psidium guajava* on atopic dermatitis-like skin lesions induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in NC/Nga mice	2012, Mar, 11-15	미국독성학회	San Francisco, CA / USA

5. 사업화 현황

사업화명	사업화내용	사업화 업체 개요				기매출액	당해연도 매출액	매출액 합계
		업체명	대표자	종업원수	사업화 형태			
창업	구아바 아토피 크림 및 로션 개발 기술이전 및 유통	아토사이언스	서종권	5	연구개발 기술이전 유통	-	10 (2012년도)	50
상품화	ATOLL 로션	구아바 법인	오영환	20	상품화 및 유통	-	50 (2012년도)	50
상품화	ATOLL 크림	구아바 법인	오영환	20	상품화 및 유통	-	50 (2012년도)	50
상품화	JKStory100 미백화장품	구아바 법인	오영환	20	상품화 및 유통	-	30 (2012년도)	30
상품화	I 사랑 로션	구아바 코리아 (주)	임홍섭	5	상품화 및 유통	-	30 (2012년도)	30
상품화	I 사랑 크림	구아바 코리아 (주)	임홍섭	5	상품화 및 유통	-	30 (2012년도)	30

6. 인력양성 실적

가. 인력지원 성과

지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
12	4	5	3	-	3	9	-	8	4

나. 장·단기 연수지원 성과

장기 (2월 이상)		단기 (2월 미만)	
국내	국외	국내	국외
-	-	-	1차(7일) : 미국 (The Florida state University,총괄책임자) 2차(30일) : 미국 (Department of Human Science, Florida state University,총괄책임자)

다. 산업기술인력 양성 성과

프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
산학연계 맞춤형인력양성사업	참여기업과 연계한 맞춤형 인력양성프로그램	한국국제대학교 국제식물자원연구소	16회	200 (실습포함)	11명 중 본사업 참여인원 2명

6. 언론보도 및 홍보실적

홍보실적(신문, 방송, 저널 등)				
번호	홍보유형	매체명	제목	일시
1	TV	KNN	생방송 금요일 N	2009.04.17
2	TV	KBS	6시 내고향	2009.10.14
3	TV	MBC	공감, 특별한 세상	2009.10.17
4	TV	MBC	그린실버, 고향이 좋다	2009.11.01
5	TV	KBS	VJ 특공대	2009.12.11
6	TV	KNN	생방송 N	2010.09.10
7	TV	MBC	공감, 특별한 세상	2010.10.23
8	TV	KBS	6시 내고향	2010.10.28
9	TV	KBS	생생투데이	2010.12.03
10	TV	KBS	참TV	2011.04.03
11	신문	한국소비자신문	신이 내린 신비의 식물 '의령 구아바'	2011.10.31
12	신문	농민신문	이사람	2011.11.16

전시회 등 참여(전시회, 박람회, 제품설명회 등)					
번호	유형	행사명칭	전시품목	장소	활용년도
1	박람회	2010건강의료박람회	구아바 항아토피 아이스크림	창원(CECO)	2010
2	전시회	2010인증농식품전시회	구아바 개발제품	창원(CECO)	2010
3	박람회	2010feel경남특산물박람회	구아바항아토피크림 외 7종	창원(CECO)	2010
4	전시회	Korea Food Expo 2010	구아바항아토피크림, 제과류	서울(COEX)	2010
5	박람회	LA한인박람회	구아바화장품, 구아바차	LA서울공원	2011
6	박람회	베트남 호치민 국제식품박람회	구아바화장품, 구아바차	사이공전시컨벤션센터	2011
7	박람회	2011세계유기농박람회	구아바잎, 열매, 발효액, 비누	경기도 남양주시	2011
8	상담회	동경수출상담회	구아바화장품, 구아바차	동경하얏트리젠씨호텔	2011
9	박람회	2011대한민국산림박람회	구아바잎, 열매, 발효액, 비누	창원 공설운동장	2011
10	박람회	제10차 세계한상대회	구아바화장품, 구아바차	부산 (BEXCO)	2011
11	박람회	2011feel경남특산물박람회	구아바화장품, 구아바차 구아바잎, 열매, 발효액, 비누	창원(CECO)	2011
12	박람회	진주국제농업박람회	구아바잎, 가루, 발효액, 비누	진주 종합경기장	2011

7. 기타홍보실적

번호	일자	행사명칭	내용	장소
1	2010.11.11.~14	연구발표회 및 세미나	구아바의 항알러지, 항아토피 효능결과 발표 및 세미나	창원(CECO) 3층 대회의실
2	2010.11.13	아토피 강좌 (경상남도, 창원 시민 대상)	구아바의 항알러지, 항아토피 효능과 연계한 아토피 관리방법 강좌	창원(CECO) 3층 대회의실
3	2011.11.04	외국 저명인사 초청특강 및 연구결과 홍보	구아바 연구결과 발표 및 국제공동연구 제안	한국국제대학교 다용도학습관(2층)

SUMMARY

In this study antioxidant activity and anti-microbial activity of *Psidium guajava*(Guaba) leaf were extracted by water, ethanol and methanol was compared and analyzed. Also investigated the influence of *Psidium guajava* leaf were extracted for each ethanol concentration of 0, 30, 50, 70, 90% on the *Staphylococcus aureus* and in addition measured the anti-oxidative activity of each extract.

In the extract by water and ethanol at the concentration of 500 ppm or over it showed DPPH radical scavenging abilities as high as 90% or over and in reduction abilities and ABTs radical scavenging abilities it showed high activity in the order of water > ethanol > methanol extracts. As a result of measurement of nitric oxide (NO) scavenging abilities of *Psidium guajava* leaf extracts, activity of extract in ethanol appeared the highest, and in extract in water it showed about 50% activity at the concentration of 2,000 ppm, and in extract in methanol which showed activity of 30% or lower meaningful difference depending on concentration did not appear. Also in experiment of nitrite scavenging abilities in all experimental group, activity increased following the concentration but meaningful difference among experimental groups did not appear.

As a result of study of antimicrobial activity of *Psidium guajava* leaf extracts, inhibition of growth of extract in water against atopy induction strain *Staphylococcus aureus* appeared very high, and in experiment on *E. coli* and dermatophyte *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophyte* it showed high antimicrobial activity in the order of water > ethanol > methanol extract.

Extraction yield of each extract and content of index material polyphenol appeared highest in 50% ethanol extract as 16.78%, 187.19 mg/100 mL respectively and the content of flavonoid appeared highest in water extract.

Anti-microbial activities against *Staphylococcus aureus* of atopy inducing strain appeared in all experiment group as the size of clear zone is 20 mm or more. Expecially in concentration 0.1g/2ml of ethanol extract of 50% and 70% they were the highest as 24 mm or over and in the experiment of anti-microbial activity against *E. coli* they showed similar tendency.

As a result of measuring DPPH and ABTs radical scavenging activity, there was tendency of scavenging activity increasing following the concentration of ethanol and in the concentration of higher than 250 μL/mL of concentration, high scavenging activity of more

than 90% was shown. In addition, reducing power showed tendency of increasing depending on the concentration.

Nitric oxide scavenging activities was showed the highest at the concentration of 100 μL/mL and scavenging activities of nitrite increased depending on the concentration of sample. In the comparative following the concentration of ethanol, It was highest activity at the 50% ethanol concentration.

Also the second purpose of this study was to research anti-allergy and anti-inflammation activities of *Psidium guajava* using different solvent.

Ethyl acetate extract (PGEA) have shown to reduced antigen (DNP - BSA)-induced release of β-hexosaminidase and histamine in IgE-sensitized RBL-2H3 cells.

In addition, it inhibited antigen-induced IL-4 and TNF-α mRNA expression and protein production in IgE-sensitized RBL-2H3 cells.

PGEA also suppressed antigen-induced COX-2 mRNA and protein expression in these cells, as well as antigen-induced activation of NF-AT and reactive oxygen species.

Moreover, it inhibited antigen-induced activation of NF-κB and degradation of IκB-α. To identify the mechanisms underpinning the inhibition of degranulation and cytokine production by PGEA, we examined the activation of intracellular FceRI signaling molecules.

PGEA suppressed antigen-induced phosphorylation of downstream signaling intermediates including MAP kinases.

PGEA suppressed the IFN-γ/TNF-α-co-induced production of thymus and activation-regulated chemokine (TARC) protein and mRNA in HaCaT cells.

Additionally, PGEA inhibited the TNF-α/IFN-γ-co-induced activation of NF-κB and STAT1.

Administration of PGEA onto DNCB-induced AD-like skin lesions in NC/Nga mice ameliorated lesion intensity scores, levels of IgE, thymus and activation-regulated chemokine (TARC), TNF-α, and IL-4 in serum and ears.

In contrast, PGEA increased level of the immunosuppressive cytokine IL-10. Histopathological examination showed reduced thickness of the epidermis/dermis and dermal infiltration of inflammatory cells in the ears.

Taken together, the in vitro/in vivo anti-allergic and anti-atopic effects of PGEA suggest possible therapeutic applications for this agent in allergic diseases through the inhibition of inflammatory and atopic dermatitis cytokines.

We observed the skin of subject, treated with 1×1 inch patch soaked in guava leaf extract dissolved by Tween 80/saline(1:99, u/v), for 24h, 48h and 72, and the erythema was not detected on the skin. The fact suggest that the product from guava leaf extract has non-toxicity to skin.

According to the result of the interest test for the advanced anti-atopic beauty product, it was recorded high scores generally in aspects of touch, oiliness and skin moisturization except color, which showed a deep color from guava leaf. Therefore, the overall acceptability was evaluated highly about all 8 products.

To determine the functional products using guava leaf, the stimulatory test was carried out for the materials of guava leaf product and other products. Gauzes were soaked in the two samples and attached to the subjects for 24hr. After 1hr from removing the gauzes from skins, the regions were evaluated by stimulatory levels and the results suggest that the guava leaf product has non-stimulating effect to skin.

According to the comparative test with the similar products, the functional products took low scores because of the deep color and weak flavor. But some respondent showed favor about the unique and delicate herbal scent, it suggest that the interest test should be conducted widely to obtain the specific and systematic data.

The result from the sensory and quality test for anti-atopic and anti-inflammatory yogurt, ice cream, snack and rice cake showed great evaluation. Comparing with the similar products, the functional products were competitive in product quality test.

The allergy experiment for anti-inflammatory products by skin prick test was negative and the fermented guava leaf extract showed an improvement effect for the dead skin cell and erythema.

According to the result from the interest test for anti-inflammatory functional product, the functional lotion and ointment were evaluated greatly but showed slipperiness. In case of functional mist, it showed great evaluation in scent and oiliness but in color. All 3 products showed great evaluation in moisturization and overall acceptability.

CONTENTS

Ⅰ. The object and necessity of the study ·· 25

Ⅱ. The present states of technology and development ···················· 31

Ⅲ. The research contents and results ·· 34

1. Development of natural material using by Guaba leaf ······················ 34
2. Analysis of proximate compositions of Guaba natural materials ····· 39
3. Analysis of phenolics and flavonoids of Guaba leaf natural materials ·· 42
4. Antioxidant activities of of Guaba leaf natural materials ······················ 47
5. Antimicrobiology activities of Guaba leaf natural materials ·················· 63
6. Anti-atopic activities of Guaba leaf natural materials in vitro ··········· 71
7. Anti-atopic activities of Guaba leaf natural materials in vivo ············ 89
8. Confirmation of anti-atopic activities by Guaba leaf natural materials in vitro/in vivo ··· 95
9. Development of product technique using by Guaba leaf natural materials ··· 106
10. Assessment of developed product ··· 145

Ⅳ. The attainment and contribution ·· 185

Ⅴ. The utilization and extension ··· 189

Ⅵ. The overseas information for scientific technology ························ 197

Ⅶ. Reference ··· 199

Supplement ··· 207

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 ······ 25

1. 연구개발의 목적 ······ 25
2. 연구개발의 필요성 ······ 25
3. 연구개발의 내용 및 범위 ······ 28

제 2 장 국내외 기술개발 현황 ······ 31

1. 국외 현황 ······ 31
2. 국내 현황 및 문제점 ······ 32

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과 ······ 34

제 1 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재 개발 ······ 34

1. 구아바 잎의 전처리 방법 개발 ······ 34
   가. 연구재료 ······ 34
   나. 시료의 조제 ······ 34
2. 구아바 잎 추출물의 수율 및 일반특성 ······ 36
   가. 추출용매별 수율 및 일반특성 ······ 36
   나. 에탄올 농도별 수율 및 일반특성 ······ 37
   다. 유기용매 분획별 수율 ······ 38
   라. 구아바 잎 발효액의 수율 및 일반특성 ······ 38

제 2 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재의 성분분석 ······ 39

1. 구아바 잎 추출물의 일반성분 함량 ······ 39
2. 구아바 잎 추출물의 무기성분 함량 ······ 40
3. 구아바 잎 추출물의 영양성분 함량 ······ 41

제 3 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재의 지표물질 함량 ··· 42

1. 추출용매별 지표물질 함량 ······ 42
2. 에탄올 농도별 지표물질 함량 ······ 43
3. 유기용매 분획별 지표물질 함량 ······ 45
4. 구아바 잎 발효액 지표물질 함량 ······ 46
제 4 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재의 항산화 활성 ······ 47
1. 추출용매별 항산화활성 ······ 47
가. DPPH radical 소거활성 측정 ······ 47
나. 환원력(Reducing power) 측정 ······ 48
다. ABT_S radical 소거활성 측정 ······ 48
라. Nitric oxide(NO) 소거활성 측정 ······ 49
마. 아질산염(NO_2) 소거활성 측정 ······ 50
2. 에탄올 농도별 항산화 활성 ······ 51
가. DPPH radical 소거활성 측정 ······ 51
나. 환원력(Reducing power) 측정 ······ 52
다. ABT_S radical 소거활성 측정 ······ 53
라. Nitric oxide(NO) 소거활성 측정 ······ 53
마. 아질산염(NO_2) 소거활성 측정 ······ 54
3. 유기용매 분획별 항산화 활성 ······ 55
가. DPPH radical 소거활성 측정 ······ 55
나. 환원력(Reducing power) 측정 ······ 56
다. ABT_S radical 소거활성 측정 ······ 57
라. Nitric oxide(NO) 소거활성 측정 ······ 57
마. 아질산염(NO_2) 소거활성 측정 ······ 58
4. 구아바 잎 발효액의 항산화 활성 ······ 59
가. DPPH radical 소거활성 측정 ······ 59
나. 환원력(Reducing power) 측정 ······ 60
다. ABT_S radical 소거활성 측정 ······ 61
라. Nitric oxide(NO) 소거활성 측정 ······ 61

마. 아질산염(NO_2) 소거활성 측정 ··· 62
제 5 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재의 항균활성 ··· 63
1. 추출용매별 항균활성 ··· 63
가. 추출용매별 항균활성 ··· 63
나. *S. aureus*에 대한 농도별 항균활성 ··· 64
다. *E. coli*에 대한 농도별 항균활성 ··· 65
라. 피부진균류에 대한 농도별 항균활성 ··· 66
2. 에탄올 농도별 항균활성 ··· 67
가. *S. aureus*에 대한 에탄올 농도별 항균활성 ··· 67
나. *E. coli*에 대한 에탄올 농도별 항균활성 ··· 68
3. 유기용매 분획별 항균활성 ··· 69
제 6 절 구아바 잎 천연물 소재의 *in vitro* 아토피 피부염 억제 활성 · 71
1. *in vitro* 아토피 피부염 억제활성 조사 ··· 71
가. TARC/CCL 17의 생성량 및 유전자 발현 변화 조사 ··· 72
2. *in vitro* 염증 억제 활성 조사 ··· 74
가. Nitric oxide 생성량 변화 조사 ··· 74
나. 염증 관련 유전자 COX-2, iNOS의 유전자 및 단백질 발현 변화 조사 ··· 76
다. 염증반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 ··· 78
라. 구아바의 항염증 반응 관련 전사조절인자 조사 ··· 81
3. *in vitro* 알러지 억제 활성 조사 ··· 83
가. 비만세포의 탈과립 방출량 및 히스타민 생성량 변화 조사 ··· 83
나. 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 ··· 85
다. 구아바의 항알러지 반응 관련 IL-4의 발현에 관여하는 전사조절인자 조사 ··· 88
제 7 절 구아바로부터 추출, 분리한 항아토피 기능성 식품 소재의 in vivo 아토피 피부염 억제 활성 검증 ··· 89
1. in vivo 아토피 피부염 억제 활성 조사 ··· 89
가. 아토피 동물모델인 NC/Nga 마우스에서의 홍반, 출혈, 건조, 찰상, 짓무름 등의 dermatitis scoring 결과 수집 ··· 91

나. 마우스 혈청에서의 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 ········· 92
다. Hematoxylin & eosin 염색 후 조직병리학적 방법을 이용하여 아토피 피부염 억제 여부 측정 ········· 94
제 8 절 항아토피용 구아바 천연물 소재의 *in vitro*/*in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 검증 ········· 95
1. 구아바 기능성 제품의 *in vitro* 아토피 피부염 억제 활성 조사 ········· 95
가. TARC/CCL 17의 생성량 및 유전자 발현 변화 조사 ········· 95
2. 구아바 기능성 제품의 *in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 조사 ········· 99
가. 아토피 동물모델인 NC/Nga 마우스에서의 홍반, 출혈, 건조, 찰상, 짓무름 등의 dermatitis scoring 결과 수집 ········· 101
나. 마우스 혈청에서의 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 ········· 102
다. Hematoxylin & eosin 염색 후 조직병리학적 방법을 이용하여 아토피 피부염 억제 여부 측정 ········· 104
제 9 절 항아토피·항알러지·항염증 개선 미용품, 식·의약품 및 첨가물 소재의 제품화 기술개발 ········· 106
1. 항아토피 미용품의 제품화 기술개발 ········· 106
가. 항아토피 개선활성을 가지는 구아바 잎의 추출 및 농축 ········· 106
나. 항아토피 소재의 선정 및 추출·농축 ········· 106
다. 최종 선정된 항아토피 개선 소재(한방 생약재)의 추출 및 농축 ········· 108
라. 항아토피 개선활성을 가지는 구아바잎 복합조성물의 조제 및 특성 ········· 113
마. 제품별 개발 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 구축 ········· 114
2. 항알러지·항염증용 기능성식품의 제품화 기술개발 ········· 122
가. 항알러지, 항염증 요구르트의 개발 ········· 122
나. 항알러지, 항염증 아이스크림의 개발 ········· 125
다. 항알러지, 항염증 쿠키의 개발 ········· 128
라. 항알러지, 항염증 떡의 개발 ········· 131

3. 항아토피·항염증 기능성식품 첨가물 및 식품의약 천연물 소재의 제품화 134
가. 항아토피·항염증 기능성식품 첨가물 및 식품의약 천연물 소재의 개발 ·········· 134
나. 의약품 첨가물용 구아바 잎 발효농축물 동결건조분말의 제조공정 확립 ········ 136
다. 소재의 제품화 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 구축 ··· 139
제 10 절 항아토피·항알러지·항염증 개선 개발제품의 유형별 평가 및 규격화 ··· 145
1. 구아바 잎 활용 기능성제품의 관능평가, 기호도 평가 및 제품의 규격화 · 145
가. 아토피 개선 구아바 잎 복합조성물의 1차 피부안전성 평가 ··························· 145
나. 8종 개발제품의 품질 및 기준·규격 확립 ··· 146
다. 아토피 개선 미용제품의 기호도 조사 ·· 154
2. 구아바 잎 활용 기능성제품의 활성 검증(기존제품과의 활성 비교) ·········· 155
가. 유사 목적성 제품과의 품질평가를 위한 세안·목욕제품의 선정 ······················ 155
나. 피부자극도에 의한 효능평가 ·· 155
다. 제품의 유형에 따른 관능평가 및 유사제품과의 비교 ······································· 156
라. 구아바 잎 활용 기능성 제품의 시제품 ·· 157
3. 항알러지·항염증용 기능성식품의 관능평가, 기호도 평가, 품질평가 및 제품의 규격화 ·· 159
가. 항알러지, 항염증 요구르트 ·· 159
나. 항알러지, 항염증 아이스크림 ··· 162
다. 항알러지, 항염증 쿠키 ·· 165
라. 항아토피 떡류 ·· 168
4. 기존제품과 항알러지·항염증용 기능성식품의 활성 비교분석 ····················· 172
가. 일반제과류, 기존 아토피 제과류와의 품질 비교분석 ······································· 172
5. 항아토피·항염증 기능성식품 첨가물 및 식품의약 천연물 소재의 제품의 관능평가, 기호도 평가 및 제품의 규격화 ··· 174
가. 항염증 기능성 제품의 알레르기 평가 ··· 174
나. 구아바 잎 발효농축물의 피부염에 대한 효능 평가 ·· 174
다. 항염증 기능성 제품의 피부염에 대한 효능 평가 ··· 175

라. 3종 개발제품의 품질 및 기준·규격 확립 ········ 177
마. 항염증 기능성 미용제품 기호도 조사 ········ 180
6. 개발제품의 활성 검증 (기존제품과의 시장성 비교) ········ 181
가. 개발제품과의 품질평가를 위한 타사제품 선정 ········ 181
나. 제품의 유형에 따른 관능평가 및 타사제품과의 비교 ········ 184

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 ········ 185
1. 목표달성도 ········ 185
2. 관련분야 기여도 ········ 188

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 ········ 189
1. 연구개발 성과 및 활용계획 ········ 189
가. 실용화 실적 ········ 189
나. 지식재산권 성과 ········ 190
다. SCI 논문게재 성과 ········ 191
라. 국내 및 국제학술발표 실적 ········ 192
마. 사업화 현황 ········ 193
바. 인력양성 실적 ········ 193
사. 언론보도 및 홍보실적 ········ 195
아. 기타홍보실적 ········ 196

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 ········ 197

제 7 장 참고문헌 ········ 199

부 록 ········ 207

제 1 장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적

○본 연구는 구아바(Guava) 잎의 아토피 피부염 유발균주 생육억제 활성, NO 생성억제 활성을 포함한 항산화활성 및 항염증 억제활성 연구를 통해 항아토피 효능을 구명하고자 구아바 잎 유기용매별, 분획별, 추출용매 농도별, 구아바 잎 발효액 시료 등을 추출, 분리, 농축, 유기용매 재추출 및 동결건조 등의 과정을 거쳐 고농도의 천연물 소재를 제조하고, 각 시료를 분석하였으며, 또한 선정된 천연물 소재를 대식세포, 비만세포 및 피부 각질세포에 처리하여 *in vitro* 항염증, 항알러지 및 항아토피 효능의 과학적 근거를 마련하고, 아토피 피부염 동물모델을 이용한 구아바 잎 천연물소재의 아토피 염증 억제활성 검증을 통해 항아토피 미용제품(크림, 로션, 기능성화장품) 및 항아토피 기능성식품(다류)을 개발하여 상품화 함.

2. 연구개발의 필요성

○ 면역계는 각종 이물 및 병원체의 침입에 대항하는 숙주의 기관, 조직, 세포 및 각종물질을 총칭하며, 기능적으로는 선천성 면역과 후천성 면역으로 분류되는데 외부에서 침입하는 각종 감염성미생물 (pathogenic bacteria, virus 등), 이물질 및 대기오염물질 등이 인체로 유입되면 이에 대한 생체의 면역반응이 과도하게 진행되어 염증, 알러지 및 아토피 피부염 등이 발생하게 됨.

○ 아토피, 천식, 알레르기 등을 흔히 환경성 질환이라 하는데, 이는 환경이 오염되면서 야기되거나, 악화되는 질병을 의미하며 불과 몇 년 사이 아토피는 우리 사회의 중요한 문제가 되었으며 아이들에게서 뿐 아니라, 성인에게서도 유의할 만한 증가세를 보이고 있음.

○ 서구화, 산업화에 따른 급격한 생활환경 변화로 아토피 및 천식 질환이 크게 증가 하고 있으며 이에 따른 사회 경제적 비용도 급증하고 있으며 아토피 피부염은 결석 및 결근, 의료비 증가, 사회활동 제약에 따른 삶의 질 저하 등 막대한 사회 경제적 부담을 낳고 있음.

○ 미국이나 영국의 경우 아토피 피부염으로 인한 진료비, 약제비 등의 직접 경비와 노동력 상실로 인한 사회 경제적 간접 경비지출이 연간 수십 억 달러이며, 독일의 경우 연간 약 7조원정도로 추산될 정도임.

○ 영아와 소아에서 가장 흔한 피부 질환 중 하나인 아토피피부염은 생후 6개월 동안에 45%, 생후 12개월 이전에 60%, 5세 이전에 적어도 85%에서 시작됨.

○ 미국 소아의 아토피피부염의 유병률은 17.2%, 유럽의 소아에서는 15.6%, 일본의 5-6세 소아의 유병률은 24%임. 아토피피부염은 전 세계적으로, 지속적으로 꾸준히 증가하고 있으며 이는 천식의 유병률의 증가와 평행을 이룸.

○ 또한 아토피 피부염 아동은 잦은 피부손상과 소양감으로 인해 신체적 문제와 사회 심리적 문제가 동반되는 경우가 많으며 소양감 때문에 수면장애를 경험하고, 그로 인해 짜증이 심하거나 집중력이 떨어지고 늘 피곤하여 삶의 질이 저하될 수 있음.

○ 사용되고 있는 아토피 피부염 치료제는 증상을 완화시키는 목적의 치료제로써, 근본적이며, 획기적인 치료제 개발이 절실한 상황임. 또한 현재 아토피피부염 치료제로 사용되고 있는 스테로이드제, 항히스타민제, 항생제, 면역억제제 등은 각각 인체에 심각한 부작용을 초래할 수 있어 지속적인 사용은 어려움.

○ 구아바는 식물분류학에 따르면 도금양목 도금양과의 관목 또는 교목으로 높이 3~7m이며 가지를 많이 치고 잎은 마주나며 잎을 누르면 강한 향기가 남. 꽃은 지름 3cm 정도로 꽃잎이 4개이며 잎겨드랑이에 달리고 대부분 하나씩 피지만 가끔 2~3개의 흰 꽃이 핌. 열매는 공 모양 또는 달걀을 거꾸로 세운 모양이며 길이 5~12cm, 지름 5~7cm 정도이고 연한 붉은빛으로 익어 향기를 풍기며 작고 단단한 종자가 여러 개 들어 있음. 과육은 즙이 많고 달콤하며 비타민을 많이 함유하고 있음. 재배하기 쉽고 기온 및 토양 조건에 대한 적응 범위가 비교적 넓으나 열대에서 아열대의 중간 조건이 가장 적당함.

○ 구아바의 효능으로는 식후 혈당치 상승 억제 효과가 있으며, 구아바 잎의 항 당뇨성 약리활성과 유효성분이 확인되었음 ((주) 야쿠르트 중앙연구소, 일본 <농예화학회지> 1998). 특히 구아바 잎에서만 확인된 폴리페놀 (polyphenol) 성분 중 스트릭티닌 (strictinin), 아이소스트릭티닌 (isostrictinin), 페턴클라진 (pedunculagin) 등이 인슐린과 같은 작용을 하는 것으로 확인되었음 (일본 <생약학 잡지>).

○ 최근 아토피 피부염이 생겼을 때 나타나는 과산화지질 량의 증가를 억제하는 작용이 밝혀졌으며 (일본 (주) 비전화성 연구 개발부), 이를 토대로 본 연구에서는 구아바의 아토피 피부염 억제 활성을 in vitro와 in vivo 실험을 동시에 수행하여 확인하고자 함.

○ 상기와 같은 구아바의 재배환경적 특성과 생리적 특성은 지구온난화로 인한 "기후변화에 대처할 수 있는 매우 적합한 대체작물"임.

○ 또한 고비용 시설하우스, 가온 등의 추가적인 시설을 전혀 필요로 하지 않는 "무가온 식물"로서 고비용 농산물의 생산환경을 획기적으로 개선할 수 있는 "저탄소 녹색성장에 적합한 친환경 식물"임.

○ 무가온 유기농재배가 가능한 구아바의 안정적 재배면적 확대를 위해 유기가공품류인 구아바의 기능성제품(아토피 미용제품, 아토피 기능성식품, 의약품 등)의 개발이 절실히 필요함.

표. 국내 구아바 재배현황

지 역	재배자수	재배면적(m^2)	주수(그루)
의령(경남)	30	65,178	120,330
서울,경기	19	13,540	71,550
충남,충북	6	3,800	18,782
부산,경상	5	3,600	8,530
광주,전남	3	1,300	10,200
제 주	20	9,950	39,254
계	83	97,368	268,646

(의령군 농정과, 2009)

○ 상기와 같이 의령군은 구아바를 지역특화 품목으로 선정하여 향토산업으로 육성할 계획으로 매년 구아바 재배면적을 확대 중에 있음. 이러한 구아바 잎과 열매를 기능성 제품으로 상품화 하고자 의령군 자체에서도 상품화 비용을 적극 지원하고 있으며, 이를 통해 개발, 생산된 아토피 미용제품과 기능성식품을 상품화 하고, 궁극적으로는 이들 제품을 활용한 아토피 캠프, 아토피 테마공원, 구아바 체험장, 구아바온실단지 등 아토피 관련 종합요양센터를 건립할 계획을 가지고 있음.(**2012년 3월 현재, 의령군에서는 구아바 체험센터 및 유통센터 건립 중에 있음**)

○ 또한 본 과제의 참여업체인 (주)구아바 코리아와 의령 구아바영농법인은 한국에서 재배되는 대부분의 구아바를 상품화 하는 대표기업으로서 본 과제의 상품화를 선도함으로서 구아바를 **고부가가치 친환경·녹색성장의 주력 농산물로 육성할 계획임**.

○ 본 연구를 통해 구아바의 아토피 피부염 억제 활성을 확인하고, 기능성 제품을 개발한다면 국민건강증진에 기여함은 물론, 농가소득 증대를 통해 지역경제발전, 나아가 국가경쟁력 제고에도 크게 기여할 것으로 사료됨.

3. 연구개발의 내용 및 범위

구분 (연도)	연구개발의 내용	연구개발의 범위
1차 년도 (2009)	• 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재, 항아토피 식품 소재, 의약품 소재 개발 및 생물활성 연구	• 구아바를 이용한 항아토피용 연물 소재 개발 - 구아바 열수추출, MAE 추출, EtOH 추출, MeOH 추출물을 이용한 항아토피 미용소재 개발 완료 - 구아바로부터 유기용매 분획별 천연물소재 추출,분리 완료 • 피부미용 소재의 성분분석 - 개발 천연물소재의 지표물질분석, 일반성분 및 영양성분 분석 완료 • 천연물소재의 항아토피 항균활성 및 항산화 활성 검증 - 전처리 조건별 구아바 미용소재(4종)의 항아토피 항균활성 및 항산화활성 검증 완료 - 유기용매 분획별 천연물소재의 항아토피 항균활성 및 항산화활성 검증 완료
	• 항아토피, 항염증 제품화 기술 개발 및 제품의 규격화	• 항아토피 미용품의 제품화 기술개발 및 제품별 제조공정 구축 - 항아토피 개선활성을 가지는 구아바잎의 추출 및 농축 - 항아토피 소재의 선정 및 추출·농축 - 항아토피 개선 구아바 잎 복합조성물의 조제 및 특성 - 제품별 개발 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 구축(8종 제품) • 개발제품의 관능평가, 기호도 평가 및 제품의 규격화 - 아토피 개선 구아바 잎 복합조성물의 1차 피부안전성 평가 - 협력병원을 연계한 아토피 환자의 선정 및 임상테스트 - 아토피 개선 미용제품의 기호도 조사 • 개발제품의 활성검증(기존제품과의 활성 비교) - 유사목적성 제품과의 품질평가를 위한 세안·목욕제품의 선정 - 피부자극도에 의한 효능평가 - 제품의 유형에 따른 관능평가 및 유사제품과의 비교
	• 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vitro* 아토피 피부염 억제 활성 검증	• in vitro 아토피 피부염 억제활성 조사 - 아토피 관련 지표인 TARC/CCL17, RANTES/CCL5의 생성량 및 유전자 발현 변화 조사 • in vitro 염증 억제활성 조사 - Nitric oxide 생성량 변화 조사 - 염증 관련 유전자 COX-2, iNOS의 유전자 및 단백질 발현 변화 조사 - 염증반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 • in vitro 알러지 억제 활성 조사 - 비만세포의 탈과립 방출량 및 히스타민 생성량 변화 조사 - 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 - 구아바의 항알러지 반응 관련 IL-4의 발현에 관여하는 전자조절인자 조사
	• 항아토피 시제품 개발 및 산업화	• 항아토피 미용제품 시제품 생산 및 산업화 - 패키지식 미용제품 생산

구분 (연도)	연구개발의 내용	연구개발의 범위
2차 년도 (2010)	• 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재, 항아토피 식품 소재, 의약품 소재 개발 및 생물활성 연구	• 추출용매별, 추출용매 농도별 항아토피 기능성식품 천연물 소재 개발 - 추출용매(열수,EtOH,MeOH)별, 추출용매 농도별 항아토피 기능성식품 천연물소재 개발 • 개발소재의 성분분석 - 추출용매별, 추출용매 농도별 추출물의 일반성분, 영양성분 및 지표물질 분석 • 개발소재의 항아토피 균주에 대한 항미생물 활성 연구 - 추출용매별, 추출용매 농도별 추출물의 E.coli, S.mutans에 대한 항미생물 활성 연구 및 항산화 연구 • 용매별, 농도별 개발소재의 항산화 활성 연구 - DPPH 전자공여능, 환원력, ABTs radical 소거능, Nitric oxide(NO) 및 Nitrite(NO_2) 소거능 측정 • 개발소재별 지표물질 함량 측정 - polyphenol, flavonoid
	• 항아토피, 항염증 제품화 기술 개발 및 제품의 규격화	• 항알러지, 항염증용 기능성식품의 제품화기술 개발 - 구아바의 항알러지, 항염증 활성에 기초한 기능성식품 제품화 기술 개발 (제품별 개발 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 구축) • 항알러지 기능성식품 5건 11종 - 항아토피 요구르트 1종, 항아토피 아이스크림1종, 항아토피 떡류 4종, 항아토피 제과류 4종, 다류1종 • 기능성식품의 관능평가, 기호도 조사 및 제품의 규격화 - 개발대상 기능성식품의 영양평가, 관능평가, 기호도 조사, 제품의 규격화 - 기존제품과의 활성 비교분석 (일반제과류, 기존 아토피 제과류와의 품질 비교분석)
	• 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 검증	• in vivo 아토피 피부염 억제 활성 조사 - 아토피 동물모델인 NC/Nga 마우스에서의 홍반 (erythema), 출혈 (hemorrhage), 건조 (dryness), 찰상 (excoriation), 짓무름 (erosin) 등의 dermatitis scoring 결과 수집 - 마우스 혈청에서의 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 - Hematoxylin & eosin 염색 후 조직병리학적 방법을 이용하여 아토피 피부염 억제 여부 측정
	• 항아토피 시제품 개발 및 산업화	• 개발시제품의 산업화 - 대량생산공정개발 - 상품화 및 마켓팅

구분 (연도)	연구개발의 내용	연구개발의 범위
3차 년도 (2011)	• 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재, 항아토피 식품 소재, 의약품 소재 개발 및 생물활성 연구	• 저온발효공법을 활용한 식품의약소재화 기술 개발 - 저온발효공법을 이용한 구아바 잎 전처리기술 개발 • 개발소재의 성분분석 - 구아바로부터 발효공정을 통해 수획한 천연물 식품의약소재의 성분분석 (일반성분, 영양성분, 특수성분, 지표물질 분석) • 개발소재의 생물활성 연구 (항산화활성) - 항산화활성 : DPPH 전자공여능, ABTs radical 소거능, 환원력, Nitric oxide(NO) 소거능, NO2 소거능 측정
	• 항아토피, 항염증 제품화 기술 개발 및 제품의 규격화	• 항염증 건강기능식품 첨가물 소재의 제품화 기술 개발 - 구아바의 항염증 활성에 기초한 건강기능식품 첨가물 및 식품의약 소재의 제품화 기술개발 (소재의 제품화 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 개발) - 항염증 식품의약 소재의 제품화 기술 개발 (제조공정, 포뮬러, 저장성, 품질평가) • 항아토피 식품의약 천연물소재의 제품화 기술 개발 - 항아토피, 항알러지 활성에 기초한 식품의약 소재의 제품화 기술개발 (소재의 제품화 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 개발) • 개발제품의 평가 및 규격화 - 개발제품의 유형별 평가, 기호도 조사, 시장성 조사 및 유형별 제품의 규격 설정
	• 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vitro* / *in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 검증	• 구아바 기능성 시제품의 in vitro 아토피 피부염 억제 활성 조사 - 아토피 관련 지표인 TARC/CCL 17의 생성량 및 유전자 발현 변화 조사 • 구아바 기능성 시제품의 in vivo 아토피 피부염 억제 활성 조사 - 아토피 동물모델인 NC/Nga 마우스에서의 홍반 (erythema), 출혈 (hemorrhage), 건조 (dryness), 찰상 (excoriation), 짓무름 (erosin) 등의 dermatitis scoring 결과 수집 - 마우스 혈청에서의 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 - Hematoxylin & eosin 염색 후 조직병리학적 방법을 이용하여 아토피 피부염 억제 여부 측정
	• 항아토피 시제품 개발 및 산업화	• 건강기능식품 첨가물 소재 및 식품의약 소재의 제품화 기술을 이용한 시제품 생산 및 산업화 - 건강기능식품 첨가물 소재의 시제품 생산 및 산업화 (항아토피용 첨가물소재 OEM 생산 및 상품화) - 식품의약 소재의 시제품 생산 및 산업화 (항염증 아토피 연고소재의 OEM 생산 및 상품화)

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국외 현황

○ 구아바잎의 성분에 대한 연구로는 polyphenol성 물질 외에 sesquiterpene, triterpenoid, flavonoid, coumarin, alkaloid등이 보고되었음.

○ 옛 잉카인과 볼리비아, 이집트, 인도, 중국 등에서는 정장작용, 설사방지, 위장기능강화, 감기 및 폐결핵 치료, 지혈제 등으로 사용하였는데 모두 polyphenol성 물질의 효능에 기인함.

○ 아토피 피부염은 발병원인이 명확치 않으며 다양한 요인에 의해 발생됨에 따라 현재 사용되고 있는 아토피 치료제는 주로 증상을 완화하기 위한 치료제들이 개발되어 있는 실정으로, 근본적인 치료제 개발이 절실함.

○ 일반적으로 아토피피부염 치료는 약물 투여타입에 따라 외용방법, 내복방법, 면역치료 및 기타방법으로 구분할 수 있으며, 사용하는 약물에 따라 스테로이드제, 항히스타민제, 면역억제제, 항생제 등으로 구분할 수 있음.

○ 현재 사용되고 있는 치료제는 스테로이드제와 항히스타민제가 주를 이루며, 극심한 환자의 경우 면역억제제를 사용하기도 함. 기 개발된 치료제들의 단점인 부작용을 최소화하며, 아토피증상 초기 '가려움' 단계에서 작용할 수 있으며, 효능이 뛰어난 새로운 약물(면역조절물질)을 개발하기 위한 다양한 노력들이 전 세계적으로 활발히 추진 중임.

○ 기 개발된 아토피 치료제 Topical Corticosteroids, Elidel, Protopic 등은 "가려움 긁기 더 가려움의 순환(itch-scratch-Itch cycle)"에서 긁기 후 염증반응 매개체(inflammatory chemicals) 분비를 억제하는 약물들로, 초기 '가려움' 단계를 억제하여 '긁기' 단계 및 이후의 피부손상이나 염증 반응을 막을 수 있는 약물을 개발하는 것은 아토피를 근본적으로 치료할 수 있는 방법임

○ 미국, 일본 등 선진국을 중심으로 아토피 피부염의 치료를 위한 치료제 개발이 활발히 진행되고 있으며 신규 고효능 합성 또는 생물유래물질의 개발 및 응용연구에 집중하고 있으며, 아토피 피부염의 발병 메카니즘 규명을 위한 많은 연구개발도 추진 중임.

2. 국내 현황 및 문제점

○ 아토피 피부염을 포함한 피부질환 치료제 개발은 전무한 실정으로, 치료제보다는 피부염을 개선하기 위한 화장품 및 식품 분야 집중되어 왔으나, 90년대 후반 이후 아토피 치료제를 개발하기 위한 연구가 제약회사나 벤처기업 등을 중심으로 추진되고 있음.

○ 구아바 관련 특허현황을 분석해 보면 항당뇨 발효 구아바 조성물, 구아바 활용 기능성식품 제조법, 구아바 발효조성물에 대한 특허가 대부분임. 규모는 2001년 85.4억 달러에서 2004년 107.9억 달러로 2005년 111.9억 달러로, 최근 5년간 31%의 성장률로 빠르게 관련 시장이 확대되고 있음.

○ 아토피 피부염을 포함한 피부질환의 세계 시장 규모는 2005년 기준 111.9억 달러로 2004년 107.9억 달러에 비해 3.7% 성장함. 환경오염, 식습관 및 스트레스 등으로 인해 세계 피부질환(특히, 아토피 피부염) 환자는 급속히 증가할 것으로 전망되고 있어, 관련 시장은 지속적으로 성장할 전망임.

○ 국내를 비롯한 전 세계 아토피 피부질환 발병률은 매년 증가하고 있으며, 대기오염 및 기타 유발 요인 등으로 증가추세는 지속될 것으로 전망되어 커다란 개인적 사회적 문제임.

○ 대다수의 환자들에서 호발연령이 어린 나이에 시작되며, 일생생활 중 특히 스트레스와 마찰 등의 자극, 알콜, 강한 자외선, 발한 등에 의해 쉽게 피부염이 유발될 수 있으며, 환경오염 및 급속한 산업화와도 밀접한 관계가 있음.

○ 아토피 피부염 환자는 타인과 어울리기 싫어하는 대인기피증과 사회와 학교생활에서의 부적응증을 갖기 쉬우며, 우울증, 소외감, 불안증, 수면장애 등 심각한 정신적 육체적 사회적 장애를 유발함.

○ 아토피 환자들은 천식 및 알레르기성 비염으로 발전하는 등 아토피는 피부뿐만 아니라 체내 면역질환까지 일으키는 큰 질환임. 현재 사용되고 있는 아토피 피부염 치료제는 증상을 완화시키는 목적의 치료제로써, 근본적이며 획기적인 치료제 개발이 절실한 상황임.

○ 또한 현재 아토피 피부염 치료제로 사용되고 있는 스테로이드제, 항히스타민제, 항생제, 면역억제제 등은 각각 인체에 심각한 부작용을 초래할 수 있어 지속적인 사용은 어려움.

○ 스테로이드 기반 물질들은 심각한 부작용 때문에 의약품 외에 사용이 극히 제한되고 있음. 실제로 일반적으로 널리 사용되고 있는 스테로이드계 아토피 치료제의 경우, 그 효과에 비해 높은 부작용 때문에 시장규모가 계속 축소되고 있음.

○ 면역억제제 Cyclosporin A는 고혈압, 신독성, 약물 상호작용 등의 심각한 부작용을 나타낼 수 있음. FK-506은 특별한 부작용은 없으나 호르몬 교란이 심히 염려됨. IFN-gamma의 경우 단가가 비싸고 발열, 몸살 등 부작용 때문에 실재적으로 사용이 극히 제한되고 있음.

○ 항생제의 경우 장기간 사용은 감염된 균의 내성을 키워주므로 감염이 더 이상 번져서는 안 될 정도의 응급 상황에서만 사용이 권고되고 있음.

○ 현재 사용되고 있는 치료제는 스테로이드제와 항히스타민제가 주를 이루며, 극심한 환자의 경우 면역억제제를 사용하기도 함.

○ 아토피피부염은 발병원인이 명확치 않으며 다양한 요인에 의해 발생됨에 따라 현재 사용되고 있는 아토피 치료제는 주로 증상을 완화하기 위한 치료제들이 개발되어 있는 실정으로, 근본적인 치료제 개발이 절실함.

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

제 1 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재 개발

1. 구아바 잎의 전처리 방법 개발

가. 연구재료

구아바 잎은 경남 의령군 소재 구아바영농법인 및 구아바코리아(주)에서 제공받아 40~50℃에서 열풍건조하여 시료로 사용하였다.

나. 시료의 조제

(1) 추출용매별 구아바 잎 추출물 제조

열수 추출은 시료 130 g에 증류수 2 L 를 가한 후 95℃에서 4시간 동안 추출하였으며, 추출액은 감압 농축 후 건고하였고, 에탄올 추출은 시료 130 g에 동일 비율의 에탄올을 가하여 90시간 동안 침지한 후 여과한 여액을 감압 농축하여 건고하였다. 또한 메탄올 추출은 시료 130 g을 메탄올에 90시간 침지하여 여과한 여액을 65℃에서 감압 농축하여 건고시료를 제조하였다.

(2) 에탄올 농도별 구아바 잎 추출물 제조

건조된 구아바 잎 시료를 추출용매 에탄올의 농도를 각각 달리하여 조건별 추출물을 제조하였다. 즉, 구아바 잎 500 g에 농도별(30%, 50%, 70%, 90%) 에탄올 4 L를 각각 가하여 6일간 침지한 후 여과한 여액을 65℃에서 감압 농축하고 동결건조하여 실험에 사용하였다.

EtOH 30%	EtOH 50%	EtOH 70%	EtOH 90%

Fig. 1 Procedure of the ethanol extract using *Psidium guajava* leaf.

(3) 유기용매 분획별 구아바 잎 추출물 제조

유기용매 분획법을 이용하여 구아바 MeOH 추출 농축액 50ml에 증류수를 1:3의 비율로 가한 다음 유기용매(Hexane, Chloroform, Butanol, EtOAc)를 극성에 따라 순차적으로 200ml씩 가한 후 분액여두에서 5회 반복 추출한 다음 65℃에서 감압 농축하여 건고한 시료를 제조하였다.

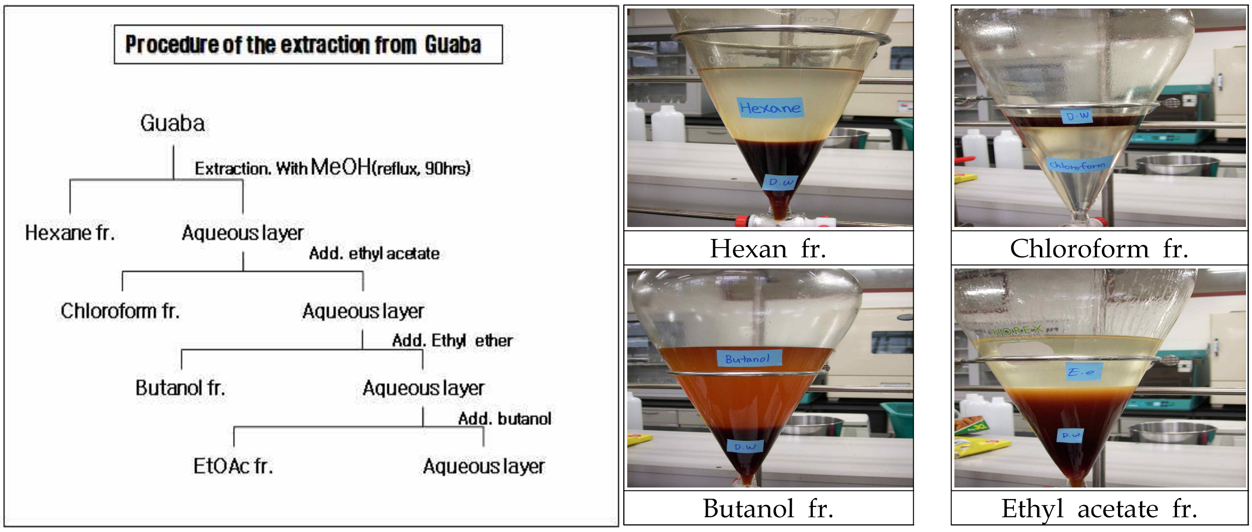


Fig. 2 Procedure of the purification using *Psidium guajava* leaf.

(4) 구아바 잎 발효액의 시료 제조

구아바 잎 발효액은 구아바영농법인에서 제공받아 동결건조하여 실험 시료로 사용하였다.

2. 구아바 잎 추출물의 수율 및 일반특성

가. 추출용매별 수율 및 일반특성

고형분 함량(Brix)은 각 추출물 시료 1 mL를 취한 후 당도계(ATAGO PR-201α, Japan)로 3회 반복 측정하였고, 추출 수율은 추출 전의 시료 무게에 대한 건고 후 추출물의 무게를 측정하여 백분율로 계산하였다. pH는 pH meter (model pH-220L, ㈜이스텍)로 실온에서 측정하였고, 총산 함량은 phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH 용액으로 중화 적정하여 그 때까지 소비된 용액의 양을 tartaric acid로 환산하여 나타내었다.

구아바 잎 각 용매별 추출물의 추출 수율 및 일반특성을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 총산은 열수>메탄올>에탄올 순으로 높게 나타났으며, 고형분(Brix) 함량은 에탄올 추출물에서 가장 높게 나타났다. 용매별 추출수율(%)은 물 추출물에서 29.2%로 가장 높은 수준을 보였으며, pH는 5.19~5.97로써 추출용매 모두에서 약산성을 나타내었다. 이러한 결과는 하고초의 용매별 추출물의 추출 수율을 비교한 결과(1), 유기용매 추출물 보다는 물 추출물에서 가장 높은 수율을 보인 결과와 동일한 결과였으며, 각 추출물의 pH 또한 약산성 수준으로 본 실험 결과와 유사하였다. 또한 Hwang 등(2)은 구기자의 용매별 추출물의 수율을 비교한 결과 열수>메탄올>에탄올 순으로 높은 수준임을 보고한 바 있다.

Table 1. Physicochemical characteristics of *Psidium guajava* leaf extract according to the extract solution

Solvent	Yield(%)	pH	Acidity	Brix
Hot water ext.	29.2	5.42	0.021	0.2
Ethanol ext.	5.98	5.19	0.003	20.6
Methanol ext.	2.61	5.97	0.006	ND

나. 에탄올 농도별 수율 및 일반특성

구아바 잎을 에탄올 농도별로 추출하여 수율 및 일반특성을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 에탄올 농도별 추출 수율은 에탄올 농도가 낮을수록 낮아지는 경향이었으나 수율이 가장 높은 것은 50% 에탄올 추출물로서 16.78%였다. 각 추출물의 pH는 실험군 모두 5.9~6.2로써 약산성을 보였으며, 산도 30% 에탄올 추출물이 다소 높게 나타났다. 또한 고형분 함량은 에탄올 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였다. Kim 등(3)은 감초의 경우 에탄올 농도가 낮아질수록 추출 수율이 증가한다고 하였으며, Cho 등(4)은 쌍화차가 에탄올 50% 까지는 고형분 함량이 증가하였으나, 그 이상의 농도에서는 오히려 감소되었다는 보고와는 다소 차이가 있으나 Oh 등(5)이 보고한 구기자, 오미자 등의 추출수율이 에탄올 농도가 높을수록 낮아졌다는 결과와는 일치하였다.

Table 2. Physicochemical characteristics of *Psidium guajava* leaf extract according to the ethanol concentration

Ethanol concentration (%)	Yield(%)	pH	Acidity	Brix
30	15.81	5.91	0.015	11.2
50	16.78	6.02	0.03	16.9
70	14.93	6.19	0.006	19.9
90	9.55	5.96	0.012	20.8

다. 유기용매 분획별 수율

구아바 잎 유기용매 분획물의 수율을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 수율은 Final water>Methanol>Butanol>Hexane>Chloroform>Ethyl acetate 순으로 높게 나타났다.

Table 3. Physicochemical characteristics of the *Psidium guajava* leaf extracts by the purification

Layer of purification	Yield(%)
Methanol fr.	0.87
Hexane fr.	0.42
Chloroform fr.	0.17
Butanol fr.	0.44
Ethyl acetate fr.	0.15
Final water fr.	1.28

라. 구아바 잎 발효액의 수율 및 일반특성

구아바 잎 발효액의 수율 및 일반특성을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 총산은 0.24로 높게 나타났으며, 고형분(Brix) 함량 또한 30으로 높게 나타났다. 수율은 53.84%, pH는 3.94로 산성을 나타내었다.

Table 4. Physicochemical characteristics of fermented extract from *Psidium guajava* leaf

Solvent	Yield(%)	pH	Acidity	Brix
GuF	53.84	3.94	0.24	30

제 2 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재의 성분분석

1. 구아바 잎 추출물의 일반성분 함량

일반성분은 AOAC법에 준하였고, 탄수화물(g/100 g) 함량은 총 중량에서 수분, 단백질, 지방 및 회분 함량을 제외한 함량으로 표시하였으며, 조단백질(g/100 g)은 micro-Kjeldahl법, 조지방(g/100 g)은 soxhlet법, 조회분(%)은 직접회화법으로 정량하였다.

구아바 잎 추출물의 일반성분을 분석한 결과(Table 5), 탄수화물은 열수 추출물과 M.W 추출물을 제외한 유기용매 추출물에서 97 g/100 g 이상으로 나타났으며, 조단백질과 조회분 함량은 열수 추출물에서 각각 1.3 g/100 g, 0.1 g/100 g으로서 다른 용매 추출물에 비해 높은 함량을 보였다. 또한 조지방 함량은 부탄올>에탄올>메탄올>열수, M.W 추출물 순으로 나타났다. Kim 등(6)은 비타민 나무의 용매별 추출물을 비교한 결과, 조단백질과 조회분 함량은 물 추출물에서 높게 나타났으며, 조단백질 함량은 에탄올 추출물에서만 검출되었다고 보고한 바 있으며, Kim 등(7)은 바나바 잎 추출물을 90% 에탄올 추출물, 열수에탄올 추출물 및 열수 추출물로 비교한 결과, 조단백질 함량은 열수>열수에탄올>90%에탄올 순으로 높았으며, 조지방 함량은 열수에탄올>에탄올>열수추출물 순으로 높은 수준임을 보고한 바 있다. 이와같이 대부분의 천연물 소재 추출물의 일반성분 분석 결과, 탄수화물과 조지방은 유기용매 추출물에서, 단백질과 조회분은 열수추출물에서 높은 함량을 보이는 것으로 사료된다.

Table 5. The proximate compositions of the water, ethanol and methanol and butanol and M.W extract using *Psidium guajava* leaf

Component	Content(g/100 g)				
	Hot water ext.	Ethanol ext.	Methanol ext.	Butanol ext.	M.W ext.
Carbohydrate	19.1	98.123	98.578	97.825	15.7
Crude protein	1.3	0.033	0.033	0.022	0.6
Crude lipid	0.2	0.551	0.462	0.842	0.2
Crude ash	0.1	0.012	0.019	0.012	0.1

2. 구아바 잎 추출물의 무기성분 함량

무기질(mg/100 g)은 시료 5 g을 취하여 500℃ 회화로에서 2시간 회화시켜 냉각한 후 HPLC용 증류수 0.5 mL와 질산용액(HNO_3:H_2O=1:1) 3 mL를 가하고 100℃의 열판에서 과량의 질산을 제거한 후 이를 다시 500℃ 회화로에서 1시간 동안 회화시킨 다음 염산용액(HCl:H_2O=1:1)으로 50 mL가 되게 정용하여 무기질 분석 시료로 사용하였다. 시료의 무기질 분석은 발광 플라스마 분석기를 이용하였다.

Table 6은 구아바 잎 추출물의 무기성분을 분석한 결과이다. 칼슘, 마그네슘, 칼륨의 함량은 열수 추출물에서 가장 높게 나타났으며, 수용성 비타민인 비타민 C는 열수 추출물에서 20.4 mg/100 g, M.W 추출물에서 18.4 mg/100 g이 검출되었고, niacin 함량은 열수 추출물에서 30.2 mg/100 g, M.W 추출물에서 86.6 mg/100 g 검출되었다. Shon 등(8)은 잠분 용매별 추출물의 무기성분 함량 분석 결과 열수, 에탄올, 메탄올 추출물 모두에서 칼륨의 함량이 가장 높게 나타남을 보고한 바 있으며, 특히 메탄올 추출물에서 칼륨의 함량이 가장 높았던 반면, 본 실험에서는 열수 추출에서 칼륨의 함량이 가장 높게 나타났다. 이상과 같이 구아바 잎 용매별 추출물에서는 열수 추출물의 무기성분 함량이 유의적으로 높게 검출됨을 알 수 있었다.

Table 6. The mineral and vitamin contents of the water, ethanol and methanol and butanol and M.W extract using *Psidium guajava* leaf

Component	Content(mg/100 g)				
	Hot water ext.	Ethanol ext.	Methanol ext.	Butanol ext.	M.W ext.
Ca	14.2	9.260	1.434	3.795	12.7
Mg	152.3	0.893	0.786	3.893	90.3
K	898.6	26.153	35.557	3.558	637.5
Vitamin C	20.4	-	-	-	18.4
Niacin	30.2	-	-	-	86.6

3. 구아바 잎 추출물의 영양성분 함량

구아바 잎 열수 추출물의 영양성분 분석 결과는 Table 7과 같다. 전반적으로 구아바 잎 열수 추출물에서는 포화지방, 트랜스지방 및 콜레스테롤은 검출되지 않았으며, 열량은 0.8 kcal/100 g, 나트륨은 0.5 mg/100 g, 조단백은 0.1 g/100 g으로 미량 검출되었다. 이러한 결과는 향후 구아바 잎차, 과립차 및 액상차 등 구아바 잎을 활용한 기능성식품의 상품화에 필요한 영양성분 표시기준으로 활용하고자 한다.

Table 7. The nutritional constituent from water extract of *Psidium guajava* leaf

Component	Yield
Calorie(kcal/100 g)	0.8
Total fat(g/100 g)	0.0
Saturated fat(g/100 g)	0.0
Trans fat(g/100 g)	0.0
Cholesterol(mg/100 g)	0.0
Sodium(mg/100 g)	0.5
Total carbohydrate(g/100 g)	0.1
Sugars(g/100 g)	0.0
Protein(g/100 g)	0.1

제 3 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재의 지표물질 함량

1. 추출용매별 지표물질 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(9)에 따라 각 추출물 1 mL에 Folin-Ciocalteu시약과 10% Na_2CO_3용액을 각 0.5 mL씩 차례로 가하여 충분히 혼합한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하고, gallic acid (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 사용하여 얻은 검량선으로부터 총 페놀 함량을 산출하였다. 플라보노이드 함량은 Moreno 등(10)의 방법에 따라 추출물 1 mL에 10% aluminum nitrate 및 1 M potassium acetate 각 0.1 mL, ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하고, quercetin (Sigma Co., USA)을 표준물질로 하여 얻은 검량선으로부터 플라보노이드 함량을 계산하였다.

3종의 추출용매로 추출한 구아바 잎 추출물의 지표물질은 구아바 잎에서 대표적인 활성을 나타내는 것으로 알려져 있는 polyphenol을 선정하여 그 함량을 측정한 결과(Fig.3), 열수추출물에서 총 폴리페놀 함량이 145.5 mg/100 mL로 가장 높은 함량을 보였다. 이러한 결과는 Cha 등(11)이 보고한 두릅 잎의 경우, 물 추출물 보다 70% 에탄올 메탄올 추출물에서 높은 polyphenol 함량을 보였다고 하는 결과와는 다소 차이를 보였다. Hsieh 등(12)은 구아바 잎 추출물의 주요 페놀화합물은 ferulic acid, gallic acid, quercetin이 각각 9.42 mg/g, 12.18 mg/g, 12.26 mg/g 으로 높은 함량을 나타낸다고 보고한 바 있으며, Chen 등(13)은 quercetin, gallic acid, ferulic acid, caffeic acid, chlorogenic acid 등 페놀화합물의 함량이 높을수록 라디칼 소거능 및 SOD 유사 활성도 높아지는 상관관계를 보고하고 있다.

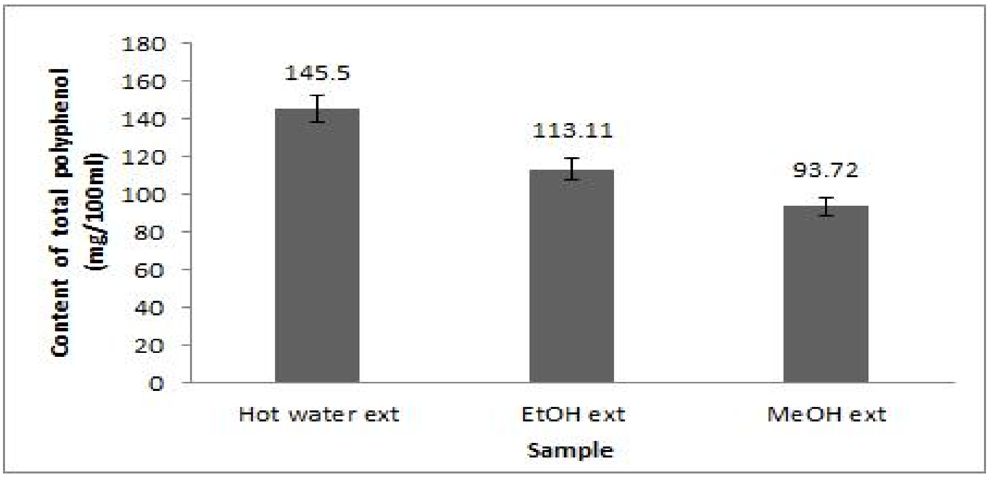


Fig. 3. Total phenolic compound of the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf.

구아바잎 용매별 추출물의 flavonoid 함량을 측정한 결과(Fig. 4)에서는 열수 추출물과 메탄올 추출물에서 플라보노이드 함량이 각각 49.93 mg/100 mL, 49.48 mg/100 mL로 높게 나타났다. 이러한 결과는 Lee 등(14)이 보고한 건조방법에 따른 와송의 열풍건조 에탄올 추출물에서 플라보노이드 함량이 높게 나타난 결과와는 차이를 보였으나 Jeong 등(15)이 보고한 조릿대 잎차의 영양성분 분석 결과 80% 메탄올 추출물과 열수추출물의 플라보이드 함량이 높게 검출된 결과와는 유사한 경향을 보였다. 이와 같은 총 페놀 및 플라보노이드 화합물은 천연물에 많이 함유되어 있는 성분으로서 이들의 주요 역할은 자유 라디칼을 소거하는 활성이 많이 보고되고 있다.

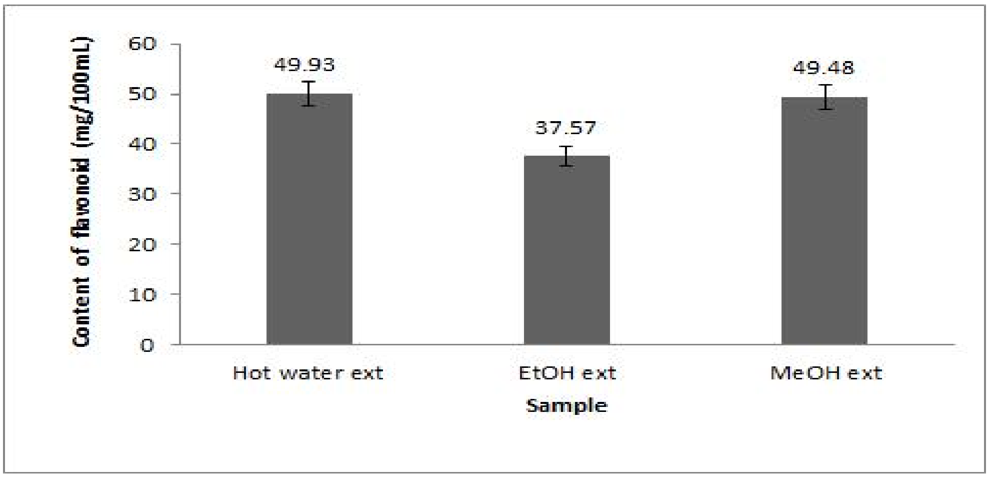


Fig. 4. Flavonoid contents of the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf.

2. 에탄올 농도별 지표물질 함량

에탄올 농도에 따른 구아바 잎 추출물의 Phenolic compound 함량을 분석한 결과(Fig.5), 50% 에탄올 농도에서 187.19 mg/100 mL로서 가장 높은 함량을 보인 반면 90% 에탄올 추출물에서는 가장 낮은 함량을 나타내었다. 이러한 결과는 Jeon(16)등이 보고한 발효 홍국마의 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량이 에탄올 농도가 50%에서 가장 높았다는 결과와 유사하였다.

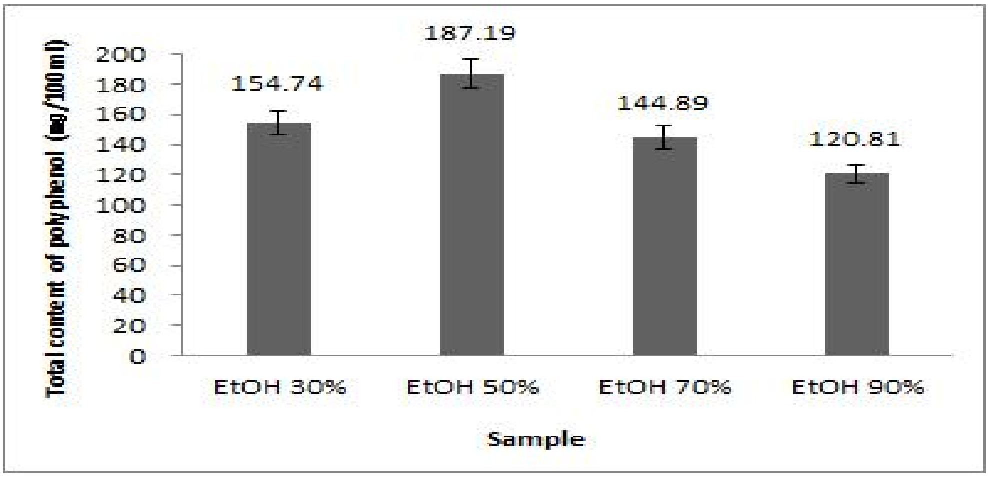


Fig. 5. Phenolic compound contents of the *Psidium guajava* leaf extracts by the ethanol concentration.

플라보노이드(flavonoid)류는 polyphenolic substance로서 화학구조에 따라 falvonls, flavones, catechins, isoflavones 등으로 분류되며(17), 항산화작용, 항염증, 항알레르기 및 면역 증강 작용 등이 있는 것으로 알려져 있다(18). 구아바 잎의 에탄올 농도별 추출물의 플라보노이드 함량을 분석한 결과(Fig. 6) 에탄올 농도가 증가할수록 플라보노이드의 함량이 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며, 70%와 90% 에탄올 농도간의 유의적인 차이는 없었으나 각각 26.77 mg/100 mL, 27.77 mg/100 mL으로 가장 높은 함량을 나타내었다. Kim 등(19)은 쇠비름 잎의 80% 에탄올 추출물에서의 플라보노이드 함량이 16.74 μg/mg으로 보고하였으며, Cho 등(20)의 연구에서는 산마늘의 94% 에탄올 추출물에서 21.1 mg/L의 플라보노이드를 함량을 보였으며, Heo 등(21)은 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기, 열매의 95% 에탄올 추출물에서 각각 0.75%, 0.09%, 0.04%, 0.2%의 플라보노이드 함량을 보고한 바 있다.

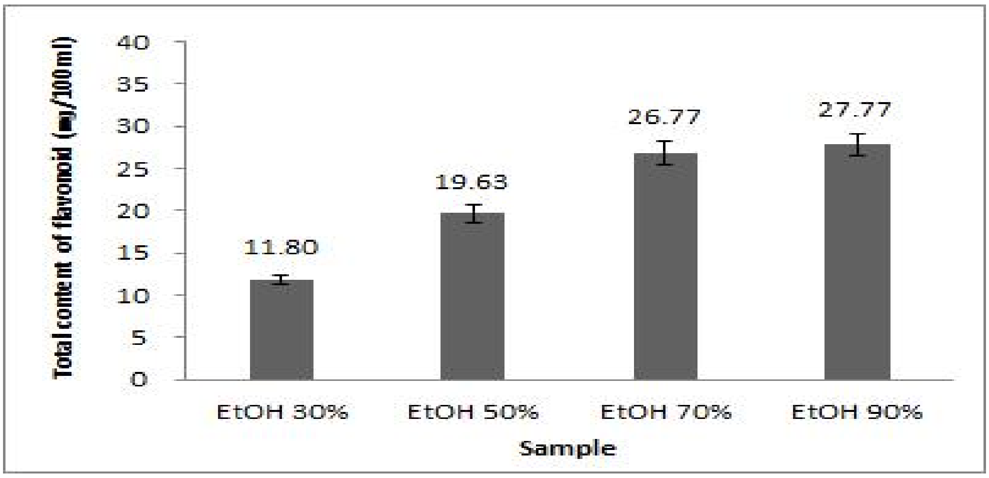


Fig. 6. Flavonoids contents of the *Psidium guajava* leaf extracts by the ethanol concentration.

3. 유기용매 분획별 지표물질 함량

6종의 유기용매를 이용하여 분획한 구아바 잎 추출물의 지표물질인 pheonolic compound와 flavonoid 함량을 분석한 결과(Fig. 7) ethyl acetate(EtOAC) 층의 phenolic compound 함량이 가장 높게 나타났으며(186.65 mg/100ml), 다음으로는 부탄올, 헥산 순으로 다소 낮아지는 경향을 보였다. 이러한 결과는 폴리페놀 화합물의 함량과 항염증 활성과의 연관성을 조사하기 위하여 협동과제 수행을 연구시료로 제공하였으며, *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 통해서 그 결과를 확인한 바 있다.

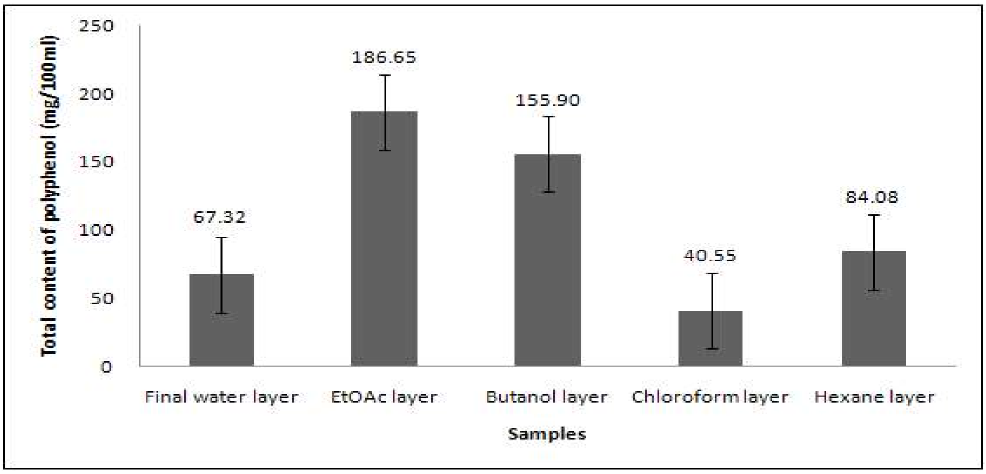


Fig. 7. Phenolic compound contents of the *Psidium guajava* leaf extracts by the solvent fractions

구아바 잎을 이용한 유기용매 추출물 분획의 flavonoid 함량을 측정한 결과(Fig. 8) 헥산 분획물에서 86.45 mg/100mL 로서 가장 높을 값을 나타내었다.

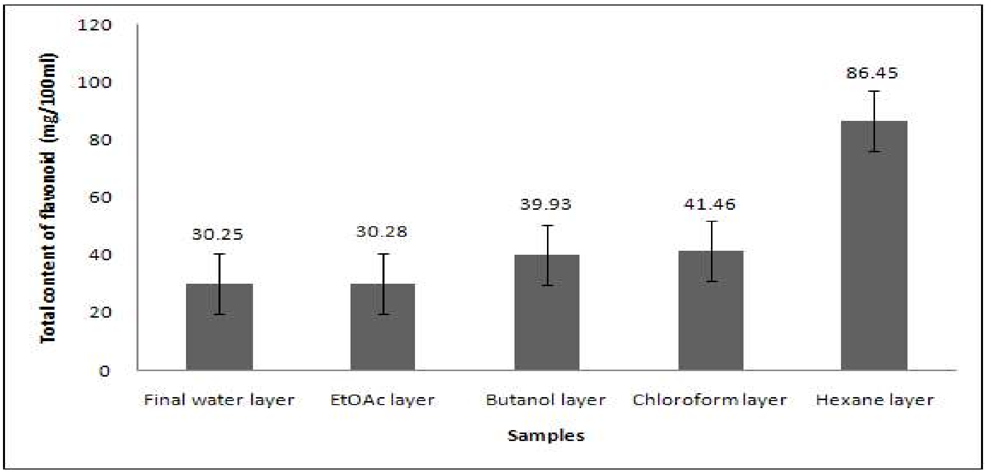


Fig. 8. Flavonoid content of the *Psidium guajava* leaf extractsby the solvent fractions.

4. 구아바 잎 발효액 지표물질 함량

구아바 잎의 지표물질로 알려져 있는 phenolic compound와 flavonoid를 선정하여 구아바 잎 발효액의 지표물질 함량을 각각 측정하였다. 그 결과(Table 8, Fig. 9), phenolic compound 함량은 8.81 mg/100mL, flavonoid 함량은 1.47 mg/100mL로 추출용매별 및 에탄올 농도별 구아바 잎의 지표물질 함량과 비교할 경우 다소 낮은 수준을 보였다.

Table 8. Phenolic compound and Flavonoid of fermented extract from *Psidium guajava* leaf

Component	Content(mg/100mL)
	GuF
Phenolic compound	8.81
Flavonoid	1.47

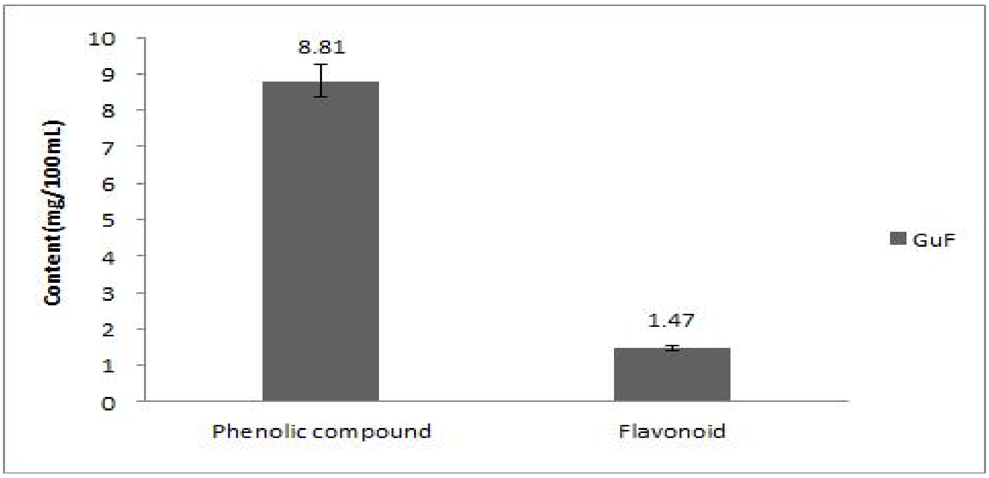


Fig. 9. Phenolic compound and Flavonoid of fermented extract from *Psidium guajava* leaf.

제 4 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재의 항산화 활성

1. 추출용매별 항산화활성

가. 추출용매별 DPPH radical 소거활성 측정

DPPH(2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl) radical 소거활성 측정은 Blois(22)의 방법에 따라, DPPH에 대한 전자공여활성으로 나타내었다. 즉, 일정농도의 시료 추출물과 DPPH 용액(10 mg/100 mL methanol)을 동량으로 혼합하여, 상온에서 10초간 진탕 교반한 후 20분간 반응시켜 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다. DPPH radical 소거활성은 아스코르빈산, 토코페롤, 방향족 아민류 등에 의하여 환원되어 짙은 보라색이 탈색됨으로서 항산화 물질의 전자공여능을 측정하는 방법으로 알려져 있다(23).

구아바 잎 용매별 추출물의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과(Table 9), 물, 에탄올 및 메탄올 추출물 모두 농도 의존적으로 소거활성이 증가하는 경향을 보였는데, 특히 물 추출물과 에탄올 추출물에서는 시료 농도가 500 ppm에서 소거능이 각각 93.86%, 92.78%의 높은 활성을 보였다. Kim 등(24)은 연잎 에탄올 추출물과 각 유기용매 분획물의 DPPH 라디칼 소거능이 100~0.10 μg에서 농도 의존적으로 감소하였다고 보고한 바 있으며, Hong 등(25)은 뜰보리수 열매의 메탄올 추출물에서 시료 농도가 0.5 mg/mL에서 DPPH 소거활성이 88.73%, 1.0 mg/mL에서는 95.33%의 활성을 보고하였다.

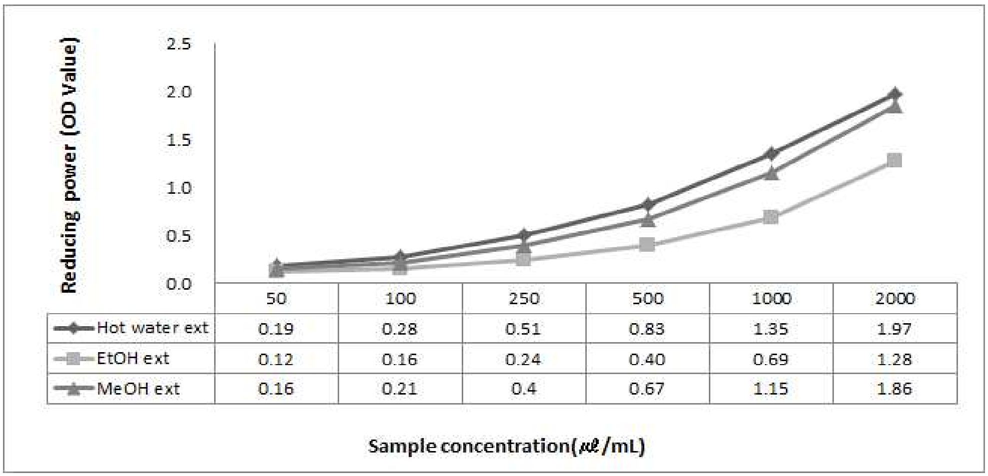
Table 9. DPPH radical scavenging activities according to the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf

Samples	Sample concentration(μg/mL) (%)					
	50	100	250	500	1000	2000
Hot water ext.	28.12	51.51	89.00	93.86	92.79	90.73
EtOH ext.	18.97	35.57	71.80	92.78	92.95	91.13
MeOH ext.	18.76	24.33	49.88	88.07	90.29	89.37

나. 추출용매별 환원력(Reducing power) 측정

Oyaizu(26)의 방법에 따라 시료액 1mL에 인산 완충액(200mM, pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide용액 각 1mL를 차례로 가한 다음 50℃의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA용액을 1 mL 가하여 5,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 상층액 0.5 mL에 증류수 1.5 mL 및 ferric chloride 1 mL를 가하여 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었다.

시료에 존재하는 reductone이 제공하는 수소원자가 활성 라디칼 사슬을 분해함으로써 나타나는 흡광도 수치를 측정하여 환원력의 정도를 나타내며 이러한 환원력의 정도는 항산화활성과 관련이 있는 것으로 알려져 있다(27). 구아바 잎 추출 용매별 환원력을 측정한 결과는 Fig. 10와 같다. 추출용매 비교에서는 물 > 메탄올 > 에탄올 추출물 순으로 높은 환원력을 보였으며 가장 높은 활성을 나타낸 추출용매는 열수추출물로 나타났다. Xu 등(28)은 해송이버섯을 4시간 동안 열수 추출한 경우 높은 환원력을 보고하였으며, Shin 등(29)은 유자 과피 열수추출물의 환원력이 시료 첨가 농도에 따라 유의적으로 증가됨을 보고하였으며 Kang 등(30)은 전자공여능이 페놀성 화합물에 대한 항산화작용의 지표라 하였으며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 보고한 바 있다.



	50	100	250	500	1000	2000
Hot water ext	0.19	0.28	0.51	0.83	1.35	1.97
EtOH ext	0.12	0.16	0.24	0.40	0.69	1.28
MeOH ext	0.16	0.21	0.4	0.67	1.15	1.86

Fig. 10. Reducing power according to the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf.

다. 추출용매별 ABT_S radical 소거활성 측정

ABT_S [2,2-azinobis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonate)] radical 소거활성은 Re 등(31)의 방법에 따라, 7 mM ABT_S 용액에 potassium persulfate를 2.6 mM이 되도록 용해시킨 다

음 암실에서 12~16시간 동안 반응시켰다. 이를 415 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 희석시킨 후 4 mL를 취하고, 시료액 0.3 mL를 가하여 실온에서 5분간 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABT_S radical 소거활성은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

구아바 잎 추출물의 ABTs radical 소거활성을 측정한 결과(Table 10) 물 추출물에서는 250 μg/mL 농도에서, 에탄올 추출물에서는 500 μL/mL 농도에서 각각 98.74%, 94.26%로 가장 높은 활성을 나타내었으며 그 이상의 농도에서는 오히려 활성이 감소되는 경향을 보였다. Kim 등(32)은 대추 열매와 잎 용매 분획물의 첨가 농도에 따라 ABTs radical 소거활성 역시 농도에 의존적임을 보고한 바 있어 본 연구 결과와는 다소 차이를 보였으나 Jeong 등(33)은 어성초 메탄올 추출물 5 mg/mL 농도에서 가장 높은 ABTs radical 소거활성을 보고한 바 있다.

Table 10. ABTs radical scavenging activities according to the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf

Samples	Sample concentration(μg/mL) (%)					
	50	100	250	500	1000	2000
Hot water ext.	37.17	64.27	98.74	98.29	97.18	94.56
EtOH ext.	21.12	41.05	81.01	94.26	91.27	83.83
MeOH ext.	16.25	25.89	50.17	82.22	85.09	70.60

라. 추출용매별 Nitric oxide(NO) 소거활성 측정

Nitric oxide 소거활성은 Song과 Moon(34)의 방법에 따라 시료액 0.5 mL에 10 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 mL를 가하여 25℃의 수욕상에서 240분간 반응시켰다. 여기에 0.3mL의 Griess reagent를 가한 후 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. Griess reagent는 1% sulfanilamide를 함유하는 5% 인산용액과 0.1% naphthylethylenediamide 용액을 사용직전에 1:1(v/v)로 혼합하여 사용하였다. 소거활성은 [1-(시료 첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)]×100으로 나타내었다.

NO는 혈액응고 및 혈압조절 기능, 암세포에 대한 면역기능 등이 있지만, 과량이 존재하면 인체에 유해한 영향을 미치게 되어 세포손상 뿐만 아니라 염증 반응을 비롯한 뇌막염, 알츠하이머병과 파킨슨병 같은 퇴행성 질환에 중요한 요인으로 작용하는 것으로 보고되고 있다(35).

추출용매별 구아바 잎 추출물의 NO 소거활성을 측정한 결과(Table 11) 열수 추출물에서는

시료농도 1,000 ppm 이상의 농도에서 35.20% 이상의 활성을 보였으나 에탄올 추출물에서는 거의 모든 시료 농도에서 30% 이상의 높은 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 Shin 등이 유자 과피 열수 추출물의 시료 농도가 10 mg/mL에서 34.71±2.55%의 nitric oxide 소거활성을 보고한 것에 비해 구아바 잎 열수 추출물과 에탄올 추출물에서는 시료 농도 2 mg/mL(2,000 ppm)의 농도에서 40% 이상의 소거활성을 보여 다소 대조적인 경향을 나타내었다.

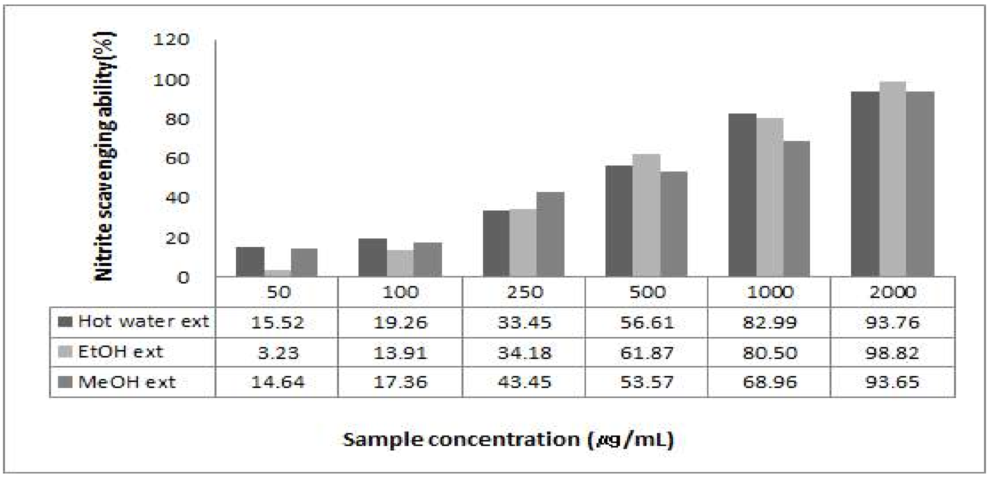
Table 11. Nitric oxide radical scavenging activities according to the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf

Samples	Sample concentration(μg/mL) (%)					
	50	100	250	500	1000	2000
Hot water ext.	12.54	14.45	18.05	27.32	35.20	48.89
EtOH ext.	41.67	39.76	27.29	36.22	34.62	40.33
MeOH ext.	28.63	35.44	29.38	25.33	29.56	31.79

마. 추출용매별 아질산염(NO_2) 소거활성 측정

아질산염 소거활성은 Kim 등(36)의 방법에 따라 1 mM $NaNO_2$ 용액 0.5 mL에 시료액 1 mL를 가하고 0.2 M HCl과 0.2 M 구연산 완충액으로 pH 2.5로 조정한 다음, 완충액을 가하여 총 부피를 3.5 mL로 하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간 반응시킨 후 반응액에 2% 초산용액 3 mL와 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent(1% sulfanilic acid 1% naphthylamine＝1:1) 0.4 mL를 차례로 가한 후 진탕 혼합하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아질산염 소거활성은 [1－(시료 첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)]×100으로 나타내었다.

구아바 잎 용매별 추출물의 아질산염 소거활성을 측정한 결과는 Fig. 11과 같이 시료 농도 의존적을 활성이 증가하였으며, 모든 추출용매에서 500 ppm 이상의 시료 농도에서는 50% 이상의 소거활성을 보였는데, 특히 에탄올 추출물에서 가장 높은 활성을 나타내었다. Park 등(37)은 솔잎 물 추출물의 아질산염 소거활성이 모든 pH 조건에서 농도 의존적으로 증가함을 보고하였으며, Bae 등(38)은 뽕잎차와 뽕잎 발효차의 조렉틴과 열수추출물에서 대체로 낮은 아질산염 분해 작용이 나타났으나 에탄올 추출물을 처리하였을 때에는 각각 20.89%, 14.85%의 활성을 보고한 바 있다.



	50	100	250	500	1000	2000
Hot water ext	15.52	19.26	33.45	56.61	82.99	93.76
EtOH ext	3.23	13.91	34.18	61.87	80.50	98.82
MeOH ext	14.64	17.36	43.45	53.57	68.96	93.65

Fig. 11. Nitrite scavenging ability according to the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf.

2. 에탄올 농도별 항산화 활성

가. 에탄올 농도별 DPPH radical 소거활성 측정

에탄올 농도를 달리하여 추출한 구아바 잎 추출물의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과(Fig. 12), 각 시료농도 250 ppm 까지는 50% 에탄올 추출물의 소거활성이 가장 높게 나타났으며, 시료 농도가 500 ppm 이상인 경우에는 실험군 모두 95% 이상의 높은 소거활성을 보였다. DPPH radical 소거활성 측정 실험에서 Kim 등(39)은 천연초 80% 에탄올 추출물의 시료 농도가 1,000 μg/mL 소거활성이 19.17%로 다소 낮게 나타났으며, Cho 등(40)은 60% 에탄올 복분자 추출물에서 93.9%의 소거활성을 보고하였고, Jeong 등은 60% 메탄올 추출물 농도 5 mg/mL에서 87.79%의 소거활성을 보고한 바 있다. 전자공여능의 작용은 자유라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되고 있으며(41), 식물체 추출물의 DPPH radical 소거에 의한 전자공여능이 페놀류나 플라보노이드 물질에 기인하여 항산화 활성을 나타내는 것(42)으로 볼 때 구아바 잎 50% 에탄올 추출물의 소거능이 높게 나타난 것은 50% 에탄올 추출물에서 높게 검출된 총 페놀 및 플라보노이드 함량에 기인된 것으로 판단된다.

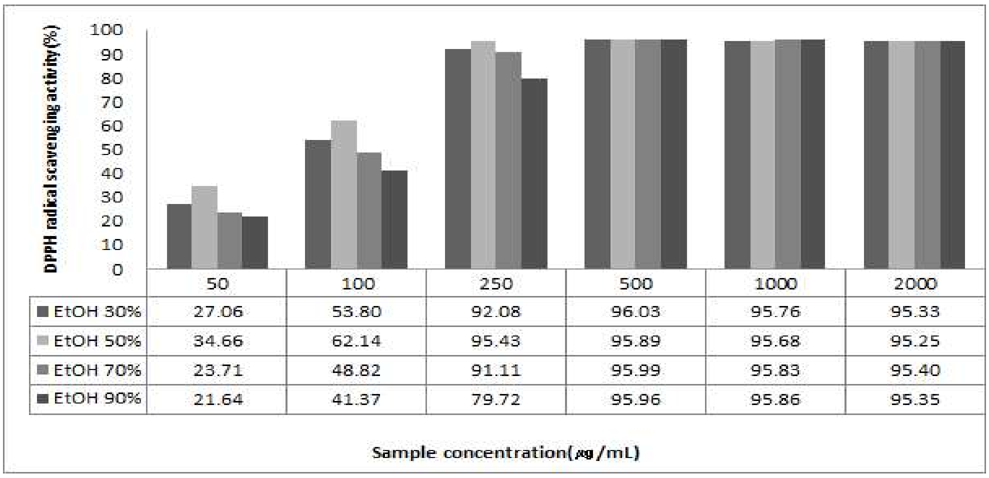


Fig. 12. DPPH radical scavenging of the *Psidium guajava* leaf extracts by the ethanol concentration.

나. 에탄올 농도별 환원력(Reducing power) 측정

에탄올 농도에 따른 구아바 잎의 환원력을 측정한 결과는 Fig. 13과 같다. 전반적으로 시료의 농도 의존적으로 환원력이 증가하는 경향을 보였는데, 시료농도가 500 μg/mL부터는 유의적인 증가 추세를 나타내었으며 특히 50% 에탄올 농도에서 가장 높은 환원력이 관찰되었다. 이러한 결과는 앞서 수행한 열수 추출물의 환원력과 비교할 경우에도 유의적으로 높은 환원력으로 판단되었다. Jeong 등(43)은 프로폴리스 에탄올 추출물의 농도가 증가함에 따라 환원력이 증가하는 경향을 보고 하였으며, Shin 등(44)은 흑마늘 에탄올 추출물의 시료 농도 20 mg/mL에서 1.65±0.01%의 환원력을 보고한 바 있다.

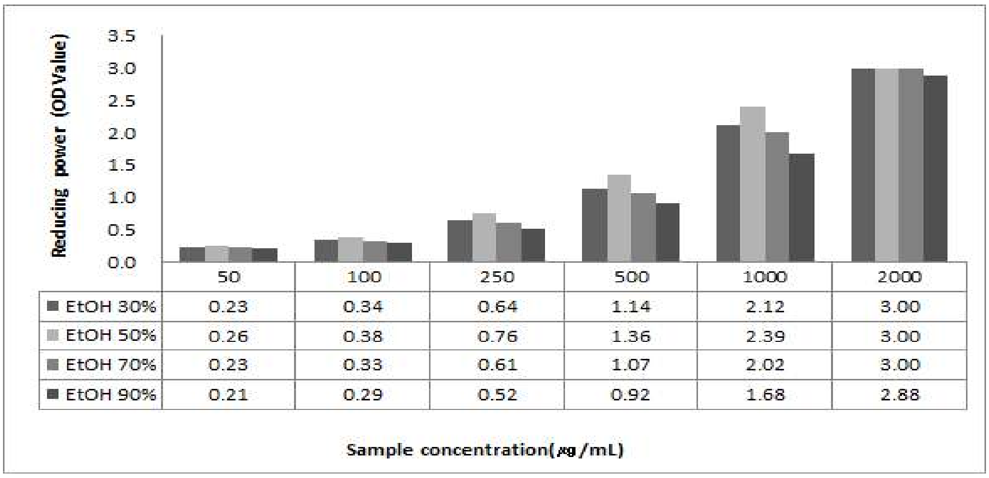


Fig. 13. Reducing power of the *Psidium guajava* leaf extracts by the ethanol concentration.

다. 에탄올 농도별 ABTs radical 소거활성 측정

에탄올 농도에 따른 구아바 잎 추출물의 ABTs radical 소거활성을 확인한 결과(Table 12), 모든 에탄올 농도 실험군에서 시료농도 250 μg/mL에서 가장 높은 활성(98.0% 이상)을 보였고 그 이상의 시료농도에서는 오히려 활성이 감소되는 경향이었으며, 특히 100 μg/mL 이하의 저농도에서는 50% 에탄올의 활성이 가장 높게 나타났다. Hwang 등(45)은 홍삼 에탄올 추출물의 시료 농도 50 mg/mL에서 85.20±0.13%의 ABTs radical 소거활성을 보고 한 바 있으며, Kim 등은 대추 잎 부탄올 분획물 1,000 μg/mL의 농도를 첨가하였을 때 98.33%의 소거활성을 보고하였다. 이러한 결과로 볼 때 구아바 잎 50% 에탄올 추출물은 비교적 낮은 농도에서도 유의적으로 높은 활성이 관찰됨을 알 수 있었다.

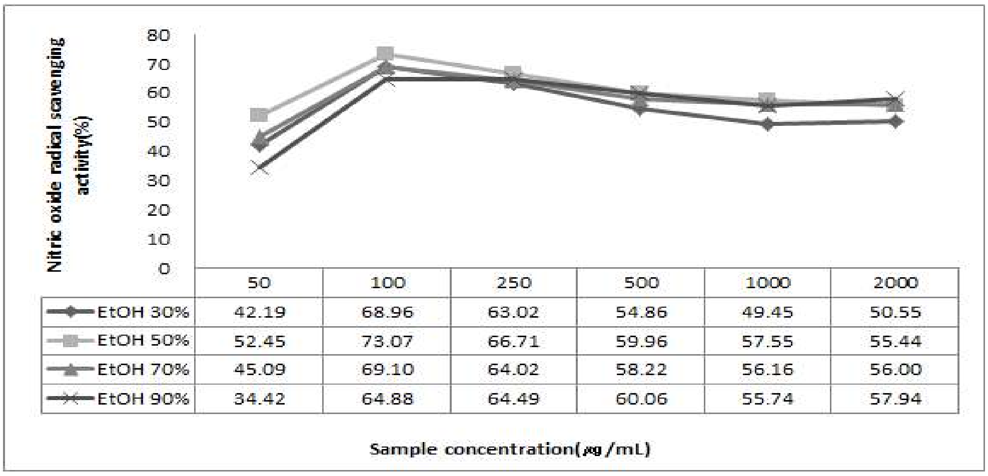
Table 12. ABTs radical scavenging of the *Psidium guajava* leaf extracts by the ethanol concentration

Samples	Sample concentration(μg/mL) (%)					
	50	100	250	500	1000	2000
EtOH 30%	41.90	73.44	98.21	98.07	97.91	97.66
EtOH 50%	47.48	84.49	98.21	98.07	97.79	97.29
EtOH 70%	38.59	68.57	98.62	98.41	97.82	96.55
EtOH 90%	32.39	58.53	96.88	97.36	96.28	93.29

라. 에탄올 농도별 Nitric oxide(NO) 소거활성 측정

구아바 잎의 nitric oxide 소거활성을 확인하기 위해 에탄올 농도에 따라 구아바 잎을 추출, 농축한 후 동결 건조한 시료를 이용하여 측정한 결과는 Fig. 14와 같다. 에탄올 농도별 비교에서는 50% 에탄올 추출물의 nitric oxide 소거활성이 유의적으로 높았으며, 시료 농도에 따른 활성 비교 결과, 시료농도 100 ppm에서는 가장 높은 소거활성(73.07%)을 나타내었다. Shin 등은 남해산 유자 과피 열수추출물 10,000 μg/mL 첨가시 41.53±1.60%의 nitric oxide 소거활성을 보고한 바 있다. 과량의 NO 생성은 염증반응을 일으키고 조직의 파괴 및 면역체계 이상을 일으킨다고 보고되고 있으며(46), Kim 등(47)은 수확시기별 감귤 과피의 NO 소거능 실험에서 NO 소거능이 총 폴리페놀의 함량과 상관성이 크지 않다고 보고한 바 있다. 하지만 본 실험 결

과에서와 같이 50% 에탄올 추출물에서 총 폴리페놀 함량, 항산화 활성 및 nitric oxide 활성이 다른 유기용매 추출물 및 에탄올 농도에 비해 유의적으로 높게 나타난 것은 상호 연관성이 있을 것으로 사료된다.

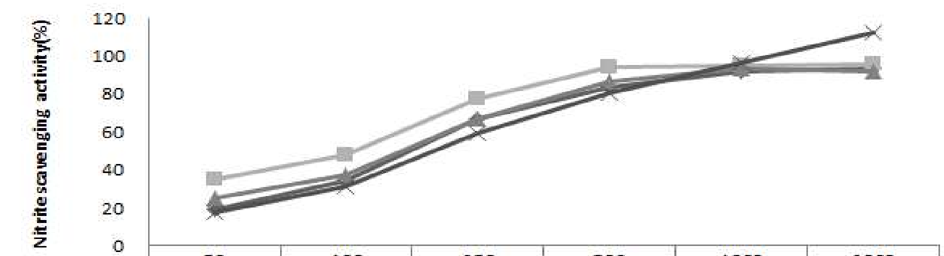


	50	100	250	500	1000	2000
EtOH 30%	42.19	68.96	63.02	54.86	49.45	50.55
EtOH 50%	52.45	73.07	66.71	59.96	57.55	55.44
EtOH 70%	45.09	69.10	64.02	58.22	56.16	56.00
EtOH 90%	34.42	64.88	64.49	60.06	55.74	57.94

Fig. 14. Nitric oxide radical scavenging of the *Psidium guajava* leaf extracts by the ethanol concentration.

마. 에탄올 농도별 아질산염(NO_2) 소거활성 측정

구아바 에탄올 농도별 추출물의 아질산염 소거활성은 전반적으로 시료의 농도에 비례적으로 증가하였으며, 에탄올 농도 50%의 농도에서 유의적으로 높은 활성을 보였다(Fig. 15). 또한 시료농도 500 ppm 이상에서는 90% 이상의 아질산염 소거활성을 나타내었다. Kim 등(48)은 산삼배양근 70% 에탄올 추출물 실험에서 시료농도 20 mg/mL에서 53.49%의 아질산염 소거활성이 있으며, Kim 등은 80% 에탄올 추출물 시료농도 250 μg/mL 이상 첨가 시 소거활성이 5.47～39.30%로 유의적으로 증가함을 보고하였는데, 이와 같이 에탄올 추출물의 아질산염 소거활성이 높은 것이 페놀화합물의 함량과도 관련이 있는 것으로 보고한 바 있다. 발암에 관련된 물질로 알려진 nitrite 및 nitrite로 전환이 가능한 nitrate는 일정농도 이상 섭취 시 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성하는 것으로 알려져 있으므로(49) 구아바 잎 50% 에탄올 추출물의 우수한 아질산염 소거활성은 구아바 잎을 활용한 건강기능식품 개발의 기초 자료로서 매우 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료된다.



	50	100	250	500	1000	2000
EtOH 30%	19.32	34.04	67.14	83.39	91.99	93.29
EtOH 50%	35.45	47.94	77.86	94.11	95.17	95.52
EtOH 70%	24.97	37.22	67.26	86.57	93.52	92.19
EtOH 90%	17.79	31.21	59.72	80.21	96.67	112.49

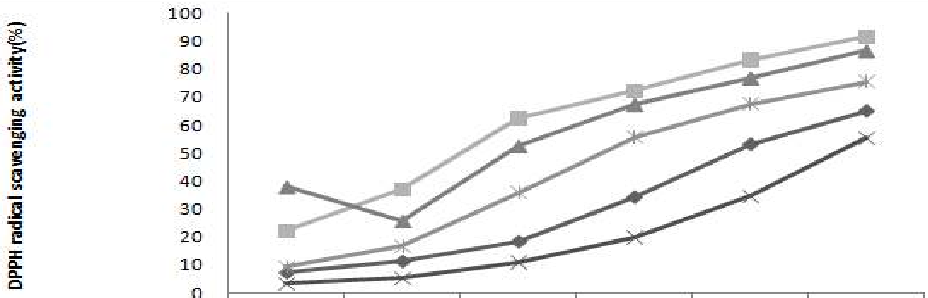
Fig. 15. Nitrite scavenging of the *Psidium guajava* leaf extracts by the ethanol concentration.

3. 유기용매 분획별 항산화 활성

가. 유기용매 분획별 DPPH radical 소거활성 측정

구아바 잎 유기용매별 분획물의 항산화능을 조사하기 위하여 1,1-di-phenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH)에 대한 전자공여 효과를 측정하였다. 일정농도의 구아바 시료액 1ml에 1×10^{4} DPPH용액 2ml를 가하여 혼합한 다음 30분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 전자공여능은 시료첨가구와 시료무첨가구의 흡광도의 감소율(%)로 나타내었다.

구아바 잎 추출물 분획의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과(Fig. 16) 각 분획물의 농도가 증가할수록 소거능이 유의적으로 높게 나타났으며, ethyl acetate 층과 butanol 층에서는 250ppm 이상에서 50% 이상의 소거능을 보였으며 특히 ethyl acetate 층의 농도가 2,000ppm 에서는 소거능이 91.61%로 매우 높게 나타났다.



	50	100	250	500	1000	2000
Final water layer	7.42	11.37	18.43	34.28	53.17	65.02
EtOAc layer	22.27	37.25	62.62	72.34	83.42	91.61
Butanol layer	38.04	25.85	52.62	67.41	76.93	86.57
Chloroform layer	3.26	5.11	10.85	19.83	34.44	55.31
Hexane layer	9.32	16.60	35.89	55.88	67.77	75.58

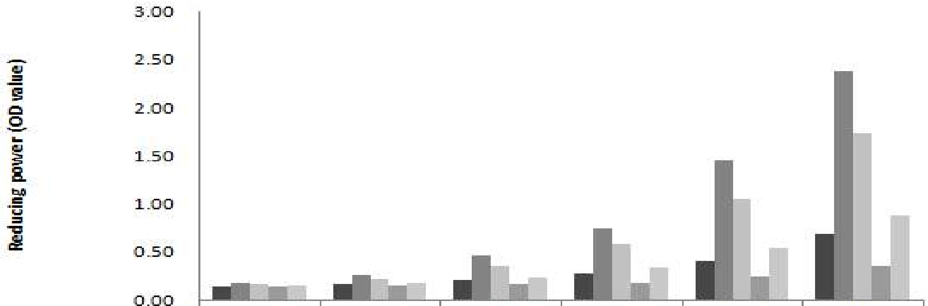
Sample concentration(㎕/㎖)

Fig. 16. DPPH radical scavenging ability by the solvent fractions of the *Psidium guajava* leaf.

나. 유기용매 분획별 환원력(Reducing power) 측정

항산화 반응은 reductone이 제공하는 수소원자가 free radical 사슬을 분쇄함으로써 시작되는데, 환원력은 반응조건에 첨가되는 시료의 농도에 따라 달라지며, 대부분이 시료 첨가량의 증가에 따라 환원력이 상승하는 경향을 나타내고 있다.

본 연구에서도 구아바 분획물의 환원력을 측정한 결과(Fig. 17) ethyl acetate 층과 butanol 층의 환원력이 유의적으로 높게 나타났으며, 특히 두 분획물의 농도가 1000ppm 이상에서는 1.0% 이상의 높은 환원력을 보였는데, 이러한 결과는 DPPH 라디칼 소거능 결과에서와 유사하게 나타났다.



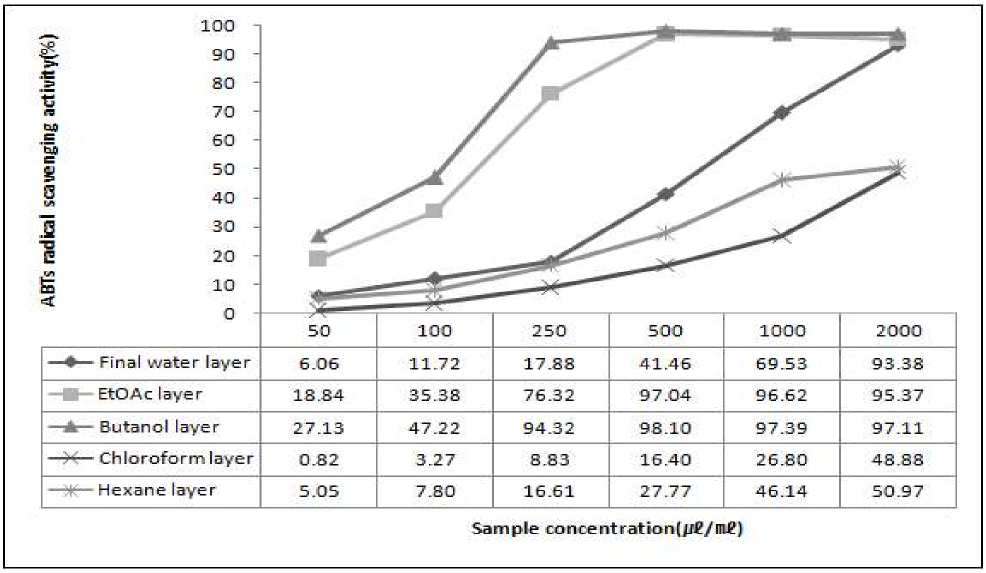
	50	100	250	500	1000	2000
Final water layer	0.15	0.17	0.21	0.29	0.42	0.70
EtOAc layer	0.19	0.27	0.47	0.76	1.46	2.39
Butanol layer	0.18	0.23	0.36	0.59	1.06	1.74
Chloroform layer	0.14	0.16	0.18	0.18	0.25	0.36
Hexane layer	0.16	0.18	0.24	0.35	0.55	0.88

Sample Concentration(㎕/㎖)

Fig. 17. Reducing power according by the solvent fractions of the *Psidium guajava* leaf.

다. 유기용매 분획별 ABTs radical 소거활성 측정

ABTs 라디칼 소거능은 7 mM ABTs 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16시간 동안 반응시키고, 이를 414 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정한 후 3 ㎖를 취하여 시료액 1 ㎖를 가한 후 실온에서 10분간 반응시켜 414 nm에서 흡광도를 측정한 결과(Fig. 18) 시료의 농도가 높을수록 전반적으로 높은 소거능을 나타내었다. 특히 Butanol 층과 ethyl acetate 층에서는 시료농도가 250 ppm 이상에서 매우 높은 소거능을 보였다.



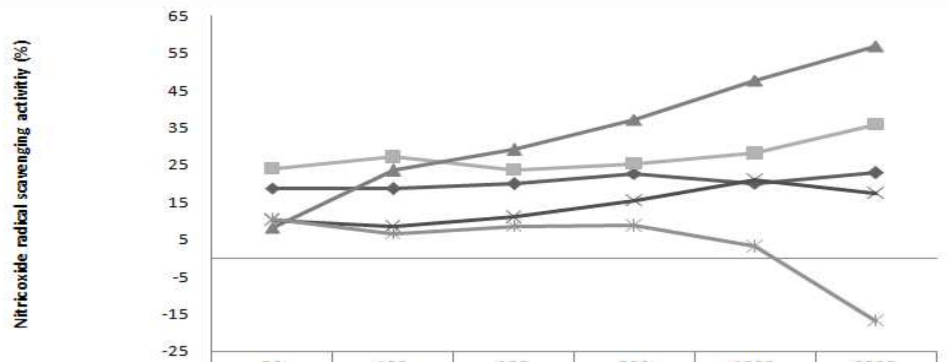
	50	100	250	500	1000	2000
Final water layer	6.06	11.72	17.88	41.46	69.53	93.38
EtOAc layer	18.84	35.38	76.32	97.04	96.62	95.37
Butanol layer	27.13	47.22	94.32	98.10	97.39	97.11
Chloroform layer	0.82	3.27	8.83	16.40	26.80	48.88
Hexane layer	5.05	7.80	16.61	27.77	46.14	50.97

Fig. 18. ABTs radical scavenging ability by the solvent fractions of the *Psidium guajava* leaf.

라. 유기용매 분획별 Nitric oxide(NO) 소거활성 측정

구아바 시료액 0.5 ㎖에 10 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 ㎖를 가하여 상온에서 150분간 반응시킨 후, 여기에 1 ㎖의 Griess reagent를 가한 다음 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. Griess reagent는 2% sulfanilamide를 함유하는 4% 인산용액과 0.2% naphthylethylenediamide용액을 사용직전에 1:1(v/v)로 혼합하여 사용하였으며, Nitric oxide 소거능은 〔1-(시료 첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)〕 × 100 으로 나타내었다.

구아바 잎을 이용한 유기용매 각 분획물의 nitric oxide 소거능을 측정한 결과(Fig. 19) hexan 층을 제외한 분획물에서는 시료의 농도가 증가할수록 소거활성도 다소 증가하는 경향을 보였는데, 특히 butanol 층의 소거능은 시료 농도에 비례적으로 유의적인 증가를 보였다.



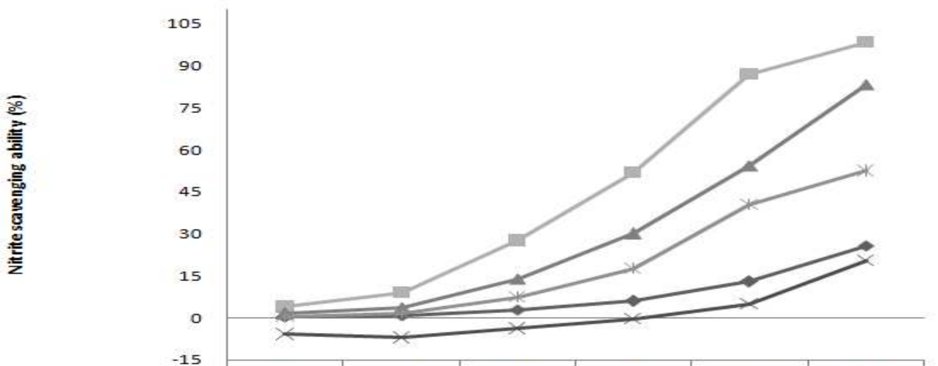
	50	100	250	500	1000	2000
Final water layer	18.75	18.53	19.91	22.74	20.13	22.87
EtOAc layer	24.10	27.19	23.77	25.39	28.08	35.82
Butanol layer	8.20	23.49	29.10	37.13	47.67	56.99
Chloroform layer	10.16	8.49	11.05	15.37	21.11	17.52
Hexane layer	10.32	6.64	8.43	8.65	3.09	-16.84

Sample concentration(㎍/㎖)

Fig. 19. Nitric oxide scavenging ability by the solvent fractions of the *Psidium guajava* leaf.

마. 유기용매 분획별 아질산염(NO_2) 소거활성 측정

아질산염의 소거능은 아질산염이 환원성 물질에 의하여 nitric oxide로 전환되기 때문에 관찰할 수 있는데, ascorbic acid, cysteine, hydroquinone 및 nicotinamide adenine dinucleotide, phenolic compounds 등이 주로 대표적인 환원성 물질로서 작용하는 것으로 알려져 있다. 아질산염 소거작용 측정은 1mM $NaNO_2$ 용액 1㎖에 각 시료 1㎖를 가하고 0.1 N HCl과 0.2 M 구연산 완충액으로 pH 2.5로 보정한 다음 완충액을 가하여 총 부피를 10㎖로 하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1㎖를 취하여 2% 초산용액 3㎖와 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent (1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine = 1:1) 0.4㎖를 순차적으로 가하여 진탕 혼합하고 실온에서 15분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Griess reagent 대신 증류수를 가하여 측정하였으며, 아질산염 소거능은 100-(시료 첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)×100] 으로 나타내었다. 그 결과(Fig. 20) 구아바 분획물의 nitrite 소거능은 전반적으로 농도가 증가할수록 활성이 높게 나타나는 경향을 보였으며 ethyl acetate 층에서는 가장 높을 활성을 나타내었다.



	50	100	250	500	1000	2000
Final water layer	0.34	0.94	2.88	5.92	12.89	25.62
EtOAc layer	3.95	8.97	27.57	51.83	87.00	98.44
Butanol layer	1.43	3.66	13.94	30.06	54.34	83.23
Chloroform layer	-5.84	-7.15	-3.77	-0.34	4.84	20.33
Hexane layer	0.35	1.63	7.37	17.48	40.54	52.47

Sample concentration(㎕/㎖)

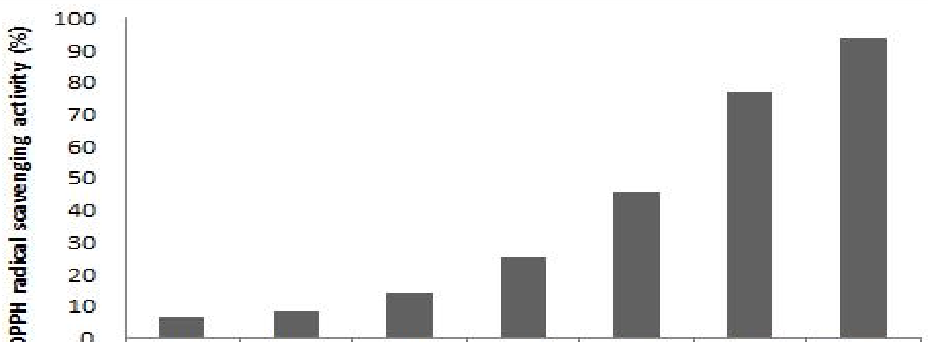
Fig. 20. Nitrite scavenging ability by the solvent fractions of the *Psidium guajava* leaf.

4. 구아바 잎 발효액의 항산화 활성

가. 구아바 잎 발효액의 DPPH radical 소거활성 측정

전자공여능 측정에 사용된 2,2-di-phenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH)는 안정한 자유 radical로서 그것의 비공유전자로 인해 525 nm 부근에서 최대 흡수치를 나타내며, 전자 또는 수소를 받으면 525 nm 부근에서 흡광도가 감소하며 발효액에서 이러한 radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성산소를 비롯한 다른 radical에 대하여 소거활성을 기대할 수 있으며 인체 내에서 활성 radical에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다.

구아바 잎 발효액의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과(Fig. 21) 시료의 농도가 높아질수록 소거활성도 증가하였으며, 5000ppm에서 93.39%로 가장 높은 소거활성을 보였다.

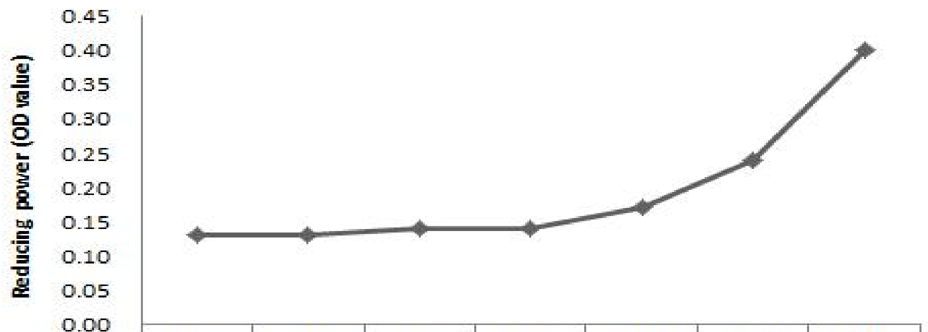


	50	100	250	500	1000	2000	5000
GuF	6.47	8.21	13.96	24.87	45.33	76.70	93.39

Fig. 21. DPPH radical scavenging activity of fermented extract from *Psidium guajava* leaf.

나. 구아바 잎 발효액의 환원력(Reducing power) 측정

구아바 잎 발효액의 환원력은 Oyaizy의 방법에 의해 농도별 시료에 pH 6.6으로 조정한 sodium phosphate buffer 1 mL, potassium ferricyanide 1 mL를 혼합한 후 혼합물을 50℃ water bath에서 20분 동안 incubation 시킨 후 trichloroacetaic acid(TCA) 1 mL 첨가하고 5,000 rpm에서 5분간 원심분리 시켰다. 상층액 0.5 mL에 증류수 1.5 mL와 1% ferric chloride 1 mL를 첨가 후, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과(Fig. 22) 전반적으로 1미만의 낮은 활성을 나타내었으며, 5000ppm에서 0.40으로 조금 높게 나타났다.



	50	100	250	500	1000	2000	5000
GuF	0.13	0.13	0.14	0.14	0.17	0.24	0.40

Fig. 22. Reducing power of fermented extract from *Psidium guajava* leaf.

다. 구아바 잎 발효액의 ABT_S radical 소거활성 측정

ABT_S radical 소거활성 측정은 ABT_S의 양이온 radical의 흡광도가 항산화제에 의해 감소되는 원리에 기초한 방법으로 potassium persulfate와 ABT_S의 산화에 의해 radical을 형성시킨 후 각각의 시료에 의한 radical 소거활성을 측정함으로써 시료의 항산화능을 확인할 수 있다.

구아바 잎 발효액의 ABTs radical 소거활성을 확인한 결과(Fig. 23) 시료의 농도가 높아질수록 소거활성이 증가하는 경향을 보였으며, 5000ppm에서 91.10%의 가장 높은 소거활성을 보였다.

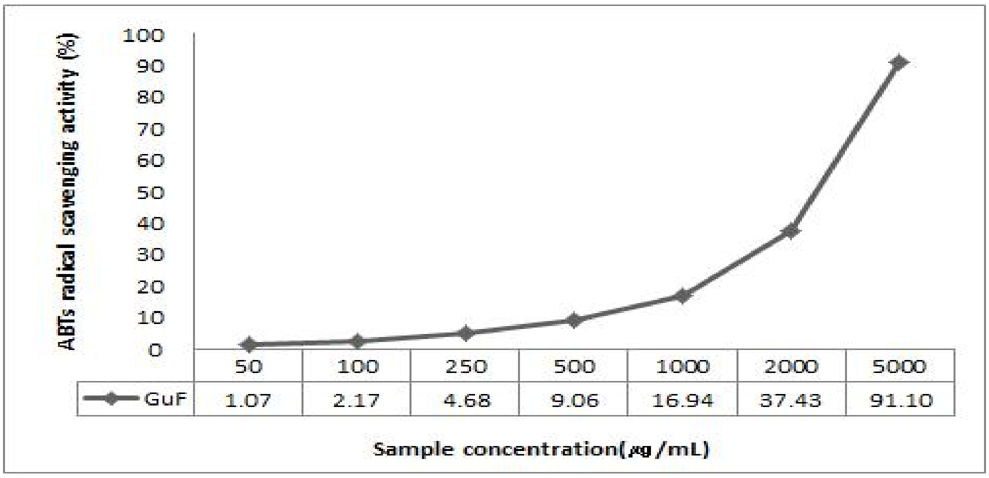


Fig. 23. ABTs radical scavenging activity of fermented extract from *Psidium guajava* leaf.

라. 구아바 잎 발효액의 Nitric oxide(NO) 소거활성 측정

Nitric oxide는 생체 내에서 NO synthase(NOS)라는 효소의 촉매작용을 통해 L-arginine으로부터 생성되는 반응성이 강한 자유라디칼이며, 생리적인 현상과 신경전달 매개체로 작용하고, 면역반응에 중추적인 역할을 하고 있다(Ding et al., 1988). 그러나 최근에 과량의 NO 생성이 염증반응을 일으키고, 조직의 파괴 및 면역체계의 이상을 일으킨다고 보고되었다.(Liang et al., 1999).

구아바 잎 발효액의 Nitric oxide 소거활성을 측정 결과(Fig. 24), 시료의 농도에 비례적으로 증가하여 1000ppm에서 62.27%로 가장 높을 활성을 보였으며, 차츰 활성이 비례적으로 감소하는 경향이 관찰되었다.

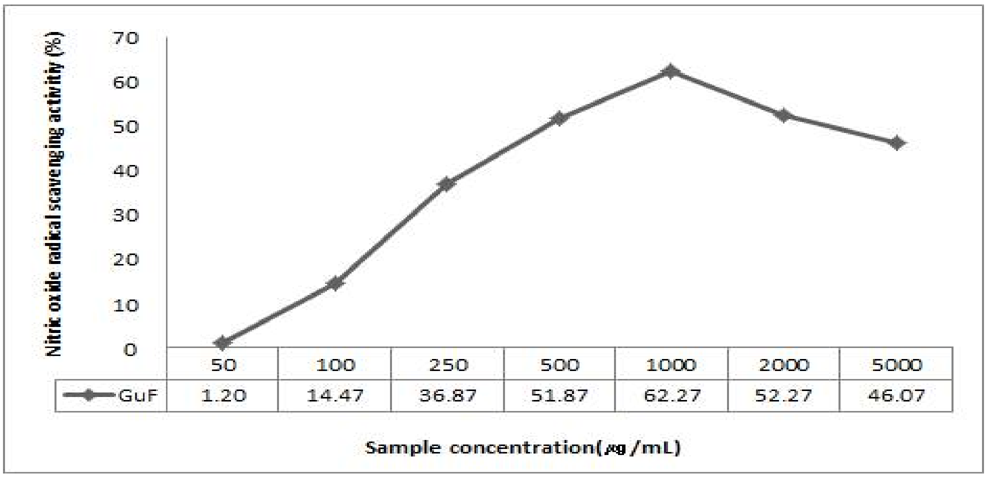


Fig. 24. Nitric oxide scavenging activity of fermented extract from *Psidium guajava* leaf.

마. 구아바 잎 발효액의 아질산염(NO_2) 소거활성 측정

아질산염은 수산물이나 식육제품에 첨가하여 독소 생성 억제와 발색, 산패방지제로 널리 이용되지만 그자체가 독성을 나타내어 과량 섭취 시 혈액중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 아민류와 아질산염이 반응하면 발암물질인 nitrosamine을 생성하므로 아질산염 소거활성은 항암작용을 간접적으로 알 수 있는 지표로 활용된다. 이러한 아질산염의 소거활성은 시료 첨가 농도의 증가에 따라 비례적으로 증가하여 시료농도를 50mg%에서 200mg%로 높임에 따라 아질산염 소거활성은 약 1.8배~5배 증가하다고 보고되어 있다.(Lee JM. 1997)

구아바 잎 발효액의 Nitrite 소거활성을 측정한 결과(Fig. 25) 시료의 농도가 높아질수록 소거활성도 다소 증가하는 경향을 보였으며, 5000ppm에서 40.12%로 가장 높은 활성을 나타내었다.

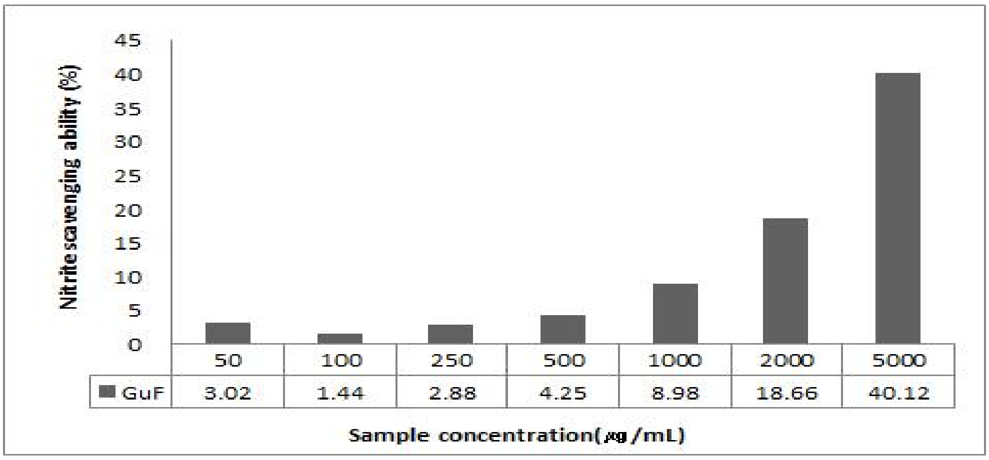


Fig. 25. Nitrite scavenging activity of fermented extract from *Psidium guajava* leaf

제 5 절 구아바 잎을 이용한 항아토피 천연물소재의 항균활성

1. 추출용매별 항균활성

가. 추출용매별 항균활성

구아바 잎 용매별 추출물의 항균활성을 측정한 결과(Table 13 및 Fig. 26) 가장 강한 항균활성을 보인 추출용매는 메탄올이었으며 아토피 유발 균주로 알려진 *Staphylococcus aureus* 균주에 대한 항균활성은 3종의 추출용매 모두에서 Clear zone의 크기가 15mm 이상이 될 만큼 높은 항균활성을 보였다. Sung 등(50)은 대장균을 이용한 은행잎 메탄올 추출물의 항균효과를 보고 하였으며, Park 등(51) 또한 은행잎 메탄올 추출물이 에탄올 추출물보다 높은 항균활성을 나타냄을 보고한 바 있다.

Table 13. Antimicrobial activity of the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf

Component	Dimeter of clear zone (mm)		
	Hot water ext. (W.E)	Ethanol ext. (E.E)	Methanol ext. (M.E)
Trichophyton mentagrophytes	13.0	-	-
Aspergillus niger	11.0	12.0	12.0
Aspergillus oryzae	9.0	11.0	10.0
Staphylococcus aureus	16.5	15.0	17.0
Escherichia coli	9.0	11.0	11.5

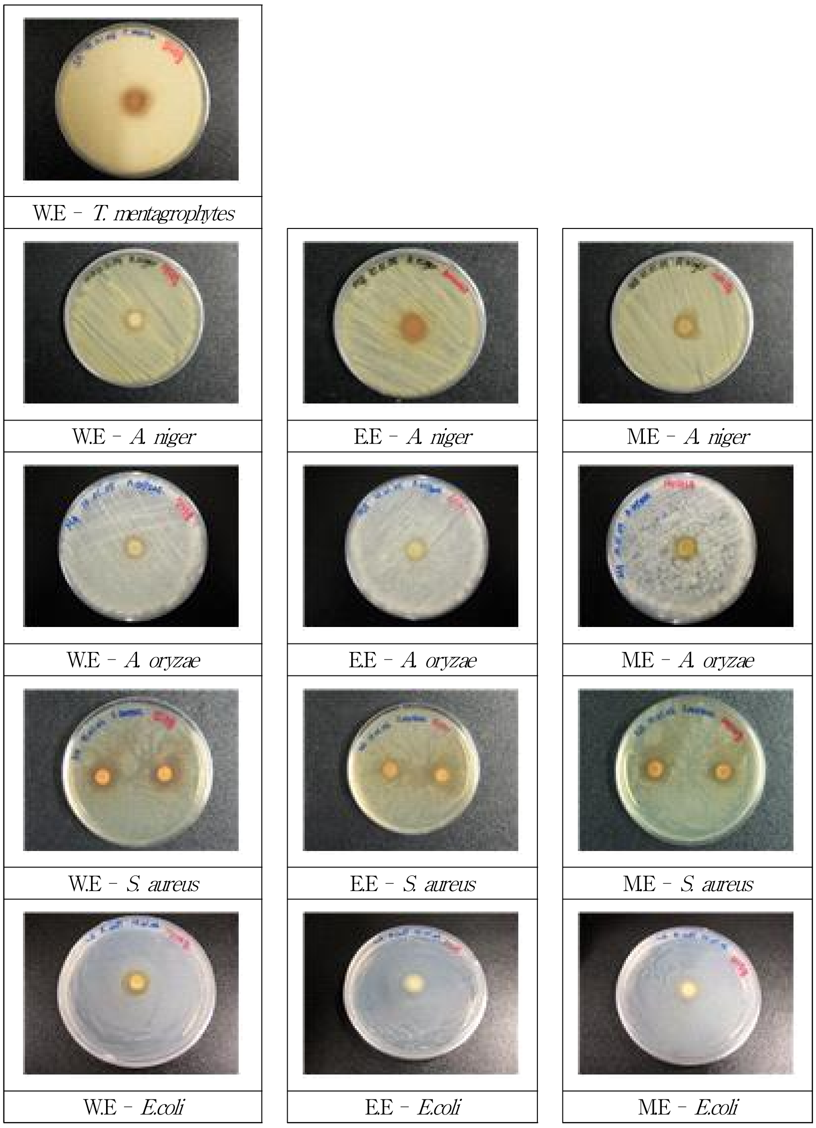


Fig. 26. Photography of antimicrobial activity against *T. mentagrophytes, A. niger, A. oryzae, S. aureus* and *E.coli* of the different solvent extracts from the *Psidium guajava* leaf. W.E; water extract, E.E; ethanol extract, M.E; methanol extract.

나. *S. aureus*에 대한 추출용매 농도별 항균활성

아토피 유발 균주(*Staphylococcus aureus*)에 대한 항아토피 항균활성 실험 결과(Table 14), 열수 추출물에서는 시료 농도가 0.1 g/2 mL이상의 농도에서는 생육 억제환(clear zone)의 크기가 15 mm 이상으로 높은 항균활성을 보였으며, 에탄올 추출물에서는 0.2 g/2 mL 이상의 농도에서 높은 항균활성을 보였다. 특히 에탄올 추출물의 농도가 1.0 g/2 mL의 농도에서는 생육 억제환의 크기가 27 mm로써 사용된 추출용매 중 가장 강력한 항균활성을 나타내었다. Jo 등(52)의 *S. aureus*에 대한 저해활성 연구에서는 과육의 아세톤 추출물을 비롯한 구아바 가지와

잎의 추출물이 큰 저해활성을 보였고, Gonçalves 등(53)은 구아바 잎의 메탄올 추출물의 *S. aureus*에 대한 높은 항균력을 보고하였다. 특히 Mahfuzul 등(54)은 구아바 잎 에탄올 추출물이 *S. aureus*에 대해 높은 항균력을 나타냄을 보고한 바 있다.

이러한 결과는 향후 구아바 잎 추출물을 활용한 아토피 크림 및 로션 개발을 위한 기초자료로 활용할 예정이며, 또한 본 실험에서 항아토피 활성이 가장 높게 나타난 에탄올 추출물의 경우에는 적정 농도를 선정하기 위한 추가 실험을 진행하였다.

Table 14. Antimicrobial activity according to the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf against *Staphylococcus aureus*

Samples	Dimeter of clear zone (mm)			
	0.1 g/2 mL	0.2 g/2 mL	0.5 g/2 mL	1.0 g/2 mL
Hot water ext.	15	18	22	25
EtOH ext.	14	15	24	27
MeOH ext.	12	14	18	21

다. *E. coli*에 대한 추출용매 농도별 항균활성

대장균에 대한 항균활성은 열수 추출물에서는 0.2 g/2 mL 이상의 농도에서, 에탄올 추출물과 메탄올 추출물에서는 0.5 g/2 mL 이상의 농도에서 15 mm 이상의 생육 억제환을 관찰할 수 있었다(Table 15). Mahfuzul 등(54)은 구아바 추출물은 그람 음성균 보다 그람 양성균에 높은 항균력을 보였고, *E. coli* O157:H7에는 항균력을 나타내지 않았다는 보고와 Singh 등(55)이 생강과에 속한 대표적인 식물인 정유를 활용한 항균 실험결과에서 *E. coli*에 대한 항균 활성이 나타나지 않았음을 보고한 결과와는 다소 차이를 보였다.

Table 15. Antimicrobial activity according to the different solvent extracts from *Psidium guajava* leaf against *Escherichia coli*

Samples	Dimeter of clear zone (mm)			
	0.1 g/2 mL	0.2 g/2 mL	0.5 g/2 mL	1.0 g/2 mL
Hot water ext.	14	15	16	12
EtOH ext.	10	14	23	20
MeOH ext.	12	12	18	18

라. 피부진균류에 대한 추출용매 농도별 항균활성

피부 진균류에 대한 구아바 잎 용매별 추출물의 항균활성은 Table 16, 17과 같다. *Trichophyton rubrum* 균주에 대해서는 열수 추출물 1.0 g/2 mL의 시료 농도에서만 항균활성을 보였고, 에탄올 추출물에서는 모든 시료농도에서도 유의성 있는 항균활성이 관찰되었으며 시료 농도 의존적으로 항균활성이 증가하였다. 또한 *Trichophyton mentagrophytes*에 대한 항균활성은 에탄올 추출물에서 가장 높은 항균활성을 보였고 열수 추출물에서는 0.2 g/2 mL 이상의 농도에서 15 mm 이상의 항균활성을 나타내었다. Ha 등(56)은 자몽 종자추출물과 법제유황수의 농도가 높을수록 투명환의 크기가 유의적으로 증가하는 것을 보고하였고, Rho 등(57)은 피부 진균류인 *Trichophyton rubrum*과 *Trichophyton mentagrophytes*에 대한 의성 개나리 과피 성분의 항균작용 결과로 열수 추출물보다 에탄올과 메탄올 추출물에서 높은 항균활성을 보고한 바 있다.

Table 16. Antimicrobial activity according to the different solvent extracts Guava leaf on the *Trichophyton rubrum*

Samples	Dimeter of clear zone (mm)			
	0.1 g/2 mL	0.2 g/2 mL	0.5 g/2 mL	1.0 g/2 mL
Hot water ext.	-	-	-	20
EtOH ext.	13	14	13	20
MeOH ext.	-	-	12	-

Table 17. Antimicrobial activity according to the different solvent extracts Guava leaf on the *Trichophyton mentagrophytes*

Samples	Dimeter of clear zone (mm)			
	0.1 g/2 mL	0.2 g/2 mL	0.5 g/2 mL	1.0 g/2 mL
Hot water ext.	13	15	20	23
EtOH ext.	-	19	23	30
MeOH ext.	-	13	16	17

2. 에탄올 농도별 항균활성

가. *S. aureus*에 대한 에탄올 농도별 항균활성

구아바 잎 에탄올 농도별 추출물이 아토피 유발균주(*staphylococcus aureus)*에 미치는 영향을 조사한 결과(Table 18, Fig. 27) 실험군 모두 시료농도 의존적으로 미생물 생육억제 활성이 증가하였는데, 특히 50% 및 70% 에탄올 추출물에서는 생육억제환(clear zone)의 크기가 최대 30~41 mm로서 매우 높은 항균특성을 보였다. Lee 등(58)은 포도상구균(*S.aureus*)에 대한 에탄올 농도별 은행잎 추출물 중 50%와 60% 에탄올 농도에서 가장 높은 항균활성(clear zone size : 18 mm)을 관찰하였으며, Shin 등(59)은 *S. aureus* 균주에 대해 56종의 생약재 에탄올 추출물이 미치는 항균특성을 검색한 결과 소목(*Caesalpinia sappan* L.)이 가장 높은 항균활성(clear zone size : 30 mm)이 있음을 보고한 바 있다.

Table 18. Antimicrobial activity according to ethanol concentration of *Psidium guajava* leaf against *Staphylococcus aureus*

Samples	Dimeter of clear zone (mm)			
	0.1g/2mℓ	0.2g/2mℓ	0.5g/2mℓ	1.0g/2mℓ
EtOH 30%	22	26	30	31
EtOH 50%	24	26	30	41
EtOH 70%	24	27	32	33
EtOH 90%	20	26	31	34

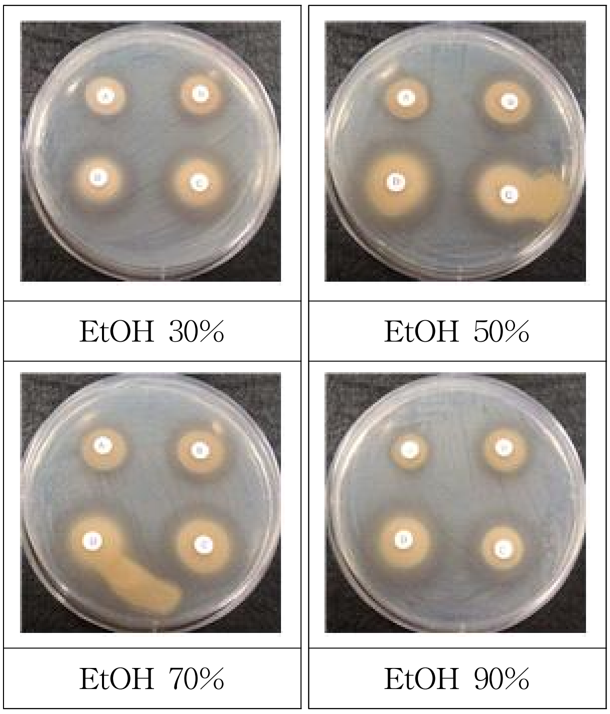


Fig. 27. Antimicrobial activity according to ethanol concentration of *Psidium guajava* leaf against *Staphylococcus aureus.*

나. *E. coli*에 대한 에탄올 농도별 항균활성

농도를 달리한 에탄올을 용매로 하여 대장균(*E.coli*)에 대한 구아바 잎 추출물의 항균활성을 측정한 결과(Table 19, Fig. 28), 시료농도에 의존적으로 생육억제환의 크기가 증가하였으며, 특히 50%와 70% 에탄올 추출물에서는 시료농도가 0.1 g/2 mL와 같이 낮은 경우에서도 생육억제환의 크기가 19 mm로서 높은 항균특성이 관찰되었다. Son 등(60)은 프로폴리스 100% 에탄올 추출물 0.01∼1 mg/mL를 대장균에 처리시에는 생균수의 감소 효과가 없었으나 시료농도를 3 mg/mL으로 높여 처리시에는 2 log 정도의 생균수 감소효과가 있음을 보고하였고, Lee 등(61)은 프로폴리스 에탄올 농도별 추출물의 항균활성이 50% 에탄올 추출물에서 가장 높게 나타남을 보고한 바 있다. 이상과 같이 구아바 잎 50% 에탄올 추출물은 항산화활성 뿐만 아니라 아토피 유발 균주 및 대장균에 대해 아주 높은 항균효과를 보임으로서 구아바 기능성식품 및 항아토피 제품 개발 및 상품화에 적극 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 19. Antimicrobial activity according to ethanol concentration of *Psidium guajava* leaf against *Escherichia coli*

Samples	Dimeter of clear zone (mm)			
	0.1 g/2 mL	0.2 g/2 mL	0.5 g/2 mL	1.0 g/2 mL
EtOH 30%	17	19	24	23
EtOH 50%	19	23	29	28
EtOH 70%	19	24	28	29
EtOH 90%	15	20	23	24

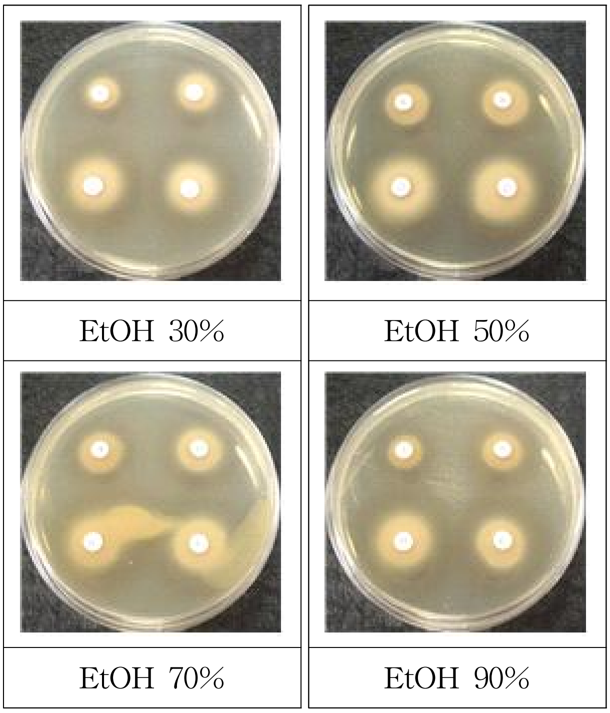


Fig. 28. Antimicrobial activity according to ethanol concentration of *Psidium guajava* leaf against *Escherichia coli.*

3. 유기용매 분획별 항균활성

아토피 유발균주, 염증 유발균주, 무좀균 및 대장균에 대한 구아바 잎 유기용매 분획별 항균활성을 측정한 결과(Table 20, Fig. 29) butanol 및 ethyl acetate 분획물에서 유의적으로 높은 활성이 관찰되었으며, 특히 무좀균과 아토피 유발균주에서는 clear zone이 무려 24~36mm 정도로 높게 나타났다. 이러한 결

과는 항아토피 크림 및 로션 개발에 butanol 및 ethyl acetate 추출물을 활용하기 위한 기반 기술로 활용할 수 있을 것으로 기대되었다.

Table 20. Antimicrobial activity of the *Psidium guajava* leaf extracts by the solvent fractions

Layer of purification	Dimeter of clear zone (mm)				
	Trichophyton mentagrophytes	*Aspergillus niger*	*Aspergillus oryzae*	*Staphylococcus aureus*	*Escherichia coli*
Methanol fr.	ND	12.0	10.0	17.0	11.5
Hexane fr.	ND	12.0	11.0	15.0	11.0
Chloroform fr.	19.0	12.0	11.0	18.0	9.0
Butanol fr.	28.0	12.0	12.0	24.3	13.0
Ethyl acetate fr.	36.0	11.0	10.0	28.0	9.0
Final water fr.	13.3	13.0	9.0	13.5	8.0

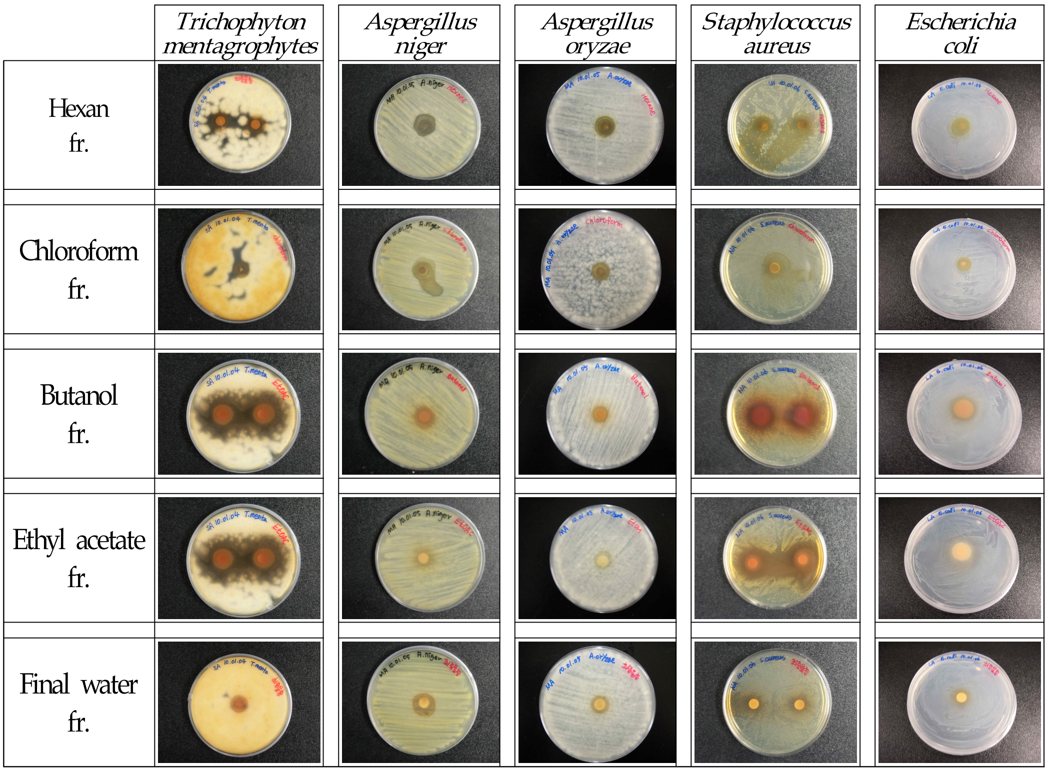


Fig. 29. Photography of antimicrobial activity of the *Psidium guajava* leaf extracts by the solvent fractions.

제 6 절 구아바 잎 천연물 소재의 *in vitro* 아토피 피부염 억제 활성

1. *In vitro* 아토피 피부염 억제활성 조사

○ 아토피 (Atopy)는 그리스어인 a-topos가 어원으로 ‘특이한’, ‘부적당한’ 또는 ‘비정상적인 반응’ 등의 뜻을 가지고 있으며, 알레르기 반응을 일으키게 하는 면역물질 (IgE, immunoglobulin E)을 쉽게 형성함으로써 천식, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염 등을 잘 일으키는 유전적 경향을 나타냄 (Liu et al., 2011).

○ 아토피 피부염의 발병 원인은 확실히 밝혀져 있지 않으나 유전적, 면역학적, 환경적 요인 등이 관여한다고 보고되고 있으며, 특히 면역학적 관점에서 많은 연구가 이뤄지고 있음.

○ 아토피 피부염의 임상적 특징은 크게 소양증 (국한성 또는 전신성 가려움), 발진, 만성적 재발 등을 들 수 있음. 혈청내 IgE 수치 향상, eosinophilia, basophilia의 자발적인 히스타민 분비 증가, CD23 발현 증가, CD8 suppressor 감소, Th2에 의한 IL-4, IL-5 분비 증가 등의 현상을 동반하기도 함 (Powe, et al., 2010).

아토피 피부염 발병 주기 : 가려움 → 긁기 → 더 가려움

○ 아토피 피부염은 연령대에 따라 유아형 (생후 2~24개월), 소아형 (3~4세에서 10세 전후의 소아), 사춘기 및 성인형 (만 12세 이후)으로 분류 아토피 피부염은 대부분 IgE와 연관된 면역기전에 의해 발병되는데 특정 알러젠에 대한 즉시형 면역반응보다는 T 세포 이상에 의한 지연형 면역 반응이 관여하는 것으로 보고됨 (Strid and Strobel, 2005.).

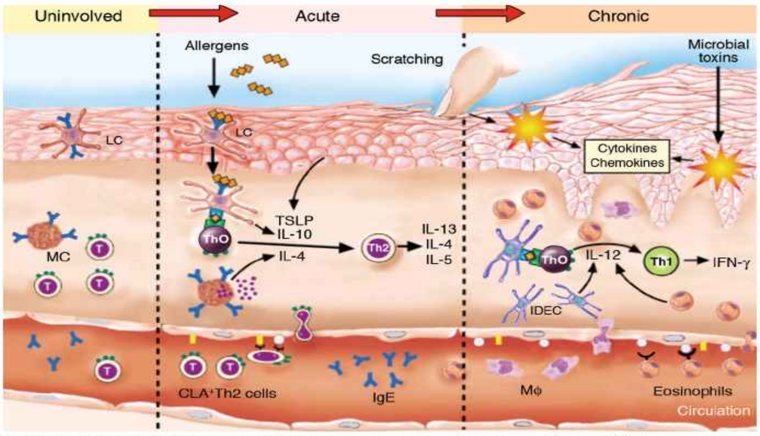
○ 이중 Th cell 중요한 역할을 함. 아토피 피부염 병변에서는 T 세포가 많이 발견되는데 이중 Th2에 의해 분비되는 사이토카인이 아토피 발병에 밀접한 관계를 함.

○ Th2는 IL-4, IL-5, IL-13을 분비하는데 이 중에서 IL-4은 IgE 생성을 촉진하고 IL-5는 호염구 (basophil) 반응을 증진시킴. 최근 보고에 의하면 아토피 피부염 상태에 따라 면역반응이 달라진다는 보고가 있음.

○ 급성 아토피 피부염에는 Th2가 관여하고, 만성 아토피 피부염에는 Th1이 관여함. 초기에는 Th2에서 분비하는 IL-4, IL-5가 중요하게 작용하며, 가려움이 생겨 긁기 시작하면 Th1 세포로 이동하게 됨 (Fietta and Delsante, 2009).

○ 아토피 피부염증으로 인한 흉선세포, 내피세포, 기관지 내포세포에서 생산되는 TARC (Thymus and activation regulated chemokine)/CCL17과 RANTES (Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted)/CCL5는 CC chemokines에 속하며 인체 T 세포에 화학주성을 일으키고 기억 T세포의 세포 간 유착에 인테그린 의존성 유착을 유도함 (Marsella, et al., 2006.).

<그림 1. 아토피 피부염의 발생기전>



MC: Mast cell, MØ: Monocyte, CLA: Cutaneous lymphocyte antigen, LC: Langerhans cell, IDEC: inflammatory dendritic epidermal cells, TSLP: human thymic stromal lymphopoietin

가. TARC/CCL 17의 생성량 및 유전자 발현 변화 조사

○ 인체 각질 세포에서 여러 가지 사이토카인 중 TNF-α와 IFN-γ에 의해 TARC/CCL17에 의해 생성이 증가하므로 인체 피부 각질 세포인 HaCaT 세포에 TNF-α를 처리하여 아토피 지표인 TARC/CCL17을 유도시킨 후 시료에 의한 TARC/CCL17의 생성에 대한 영향을 측정하였음. TNF-α에 의해 증가된 TARC의 유전자 발현과 단백질 생성량이 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml) 농도 의존적으로 감소하였음 (Fig. 30, 31).

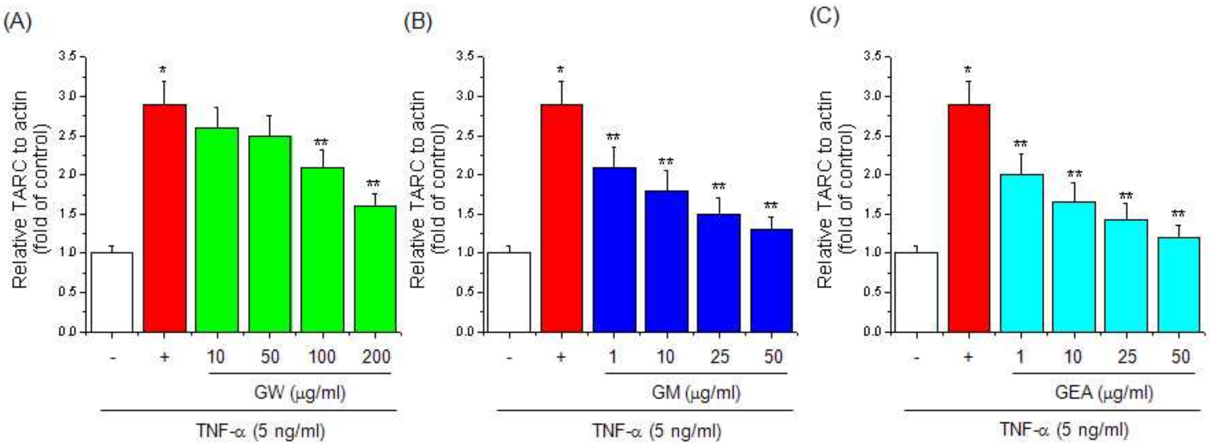


Fig. 30. Effect of guava on TARC gene expression in HaCaT cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or TNF-α (5 ng/ml) for 24 h. Cells were lysed and total RNA was

prepared for analysis of TARC gene expression. TARC mRNA expression in treated cells was compared to that in untreated cells at each time point by real-time PCR. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from TNF-α as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

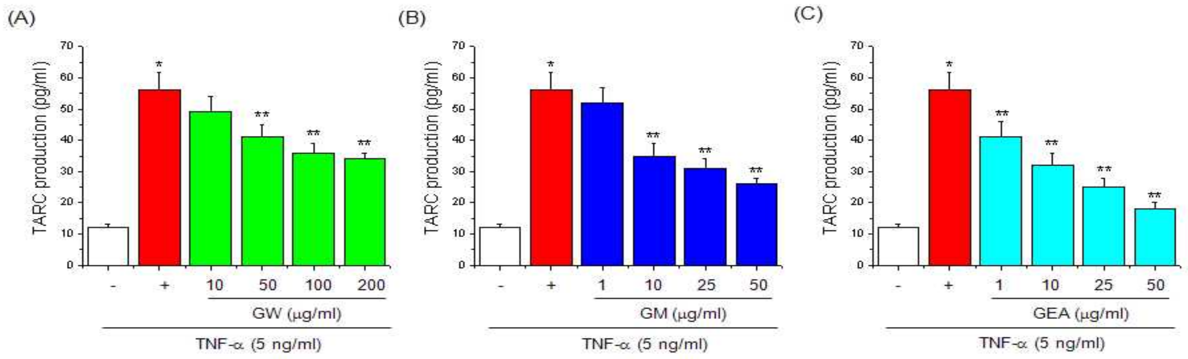


Fig. 31. Effect of guava on TARC production in HaCaT cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or TNF-α (5 ng/ml) for 24 h. The amounts of TARC released into the culture medium were measured by immunoassays. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from TNF-α as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

○ 또한 HacaT 세포에 TNF-α를 처리하여 구아바 열수 추출물 및 polyphenol 분획의 RANTES/CCL5 생성량에 대한 영향을 조사한 결과 TNF-α에 의해 증가된 RANTES의 생성량이 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml) 농도 의존적으로 감소하였음 (Fig. 32).

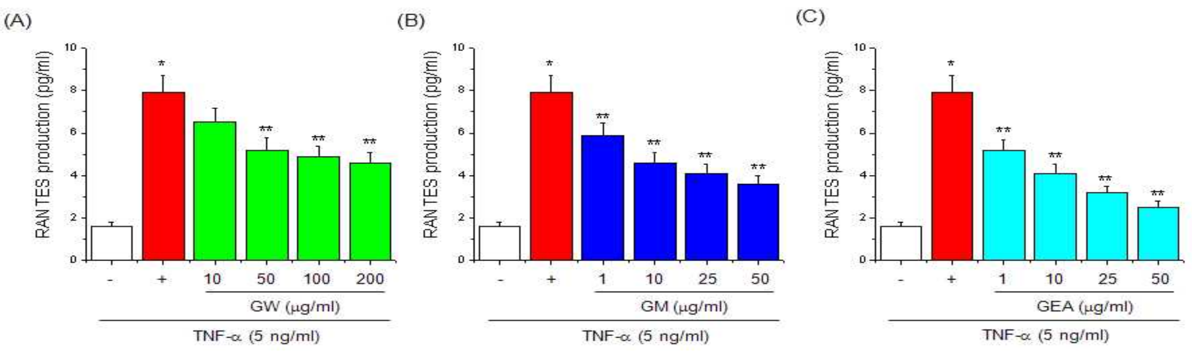


Fig. 32. Effect of guava on RANTES production in HaCaT cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or TNF-α (5 ng/ml) for 24 h. The amounts of RANTES

released into the culture medium were measured by immunoassays. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from TNF-α as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

2. *In vitro* 염증 억제 활성 조사

가. Nitric oxide 생성량 변화 조사

○ 면역반응은 감염성 질환으로부터의 인체를 보호하는 기작으로, 외부 물질과 자신을 구별하고 외부 물질을 중화 또는 제거하여 생체의 항상성을 유지시킴. 면역에 관여하는 장기, 세포 및 분자들이 면역계를 구성하며 이들이 서로 협동하고 집합적으로 작용하여 면역반응을 일으킴 (Littman and Pamer, 2011).

○ 인체의 면역계는 알러젠, 여러 가지 화학물질 또는 약물 등에 의해 생체의 다른 기관에 독성작용을 나타내지 않는 용량에서도 임파조직과 상호작용을 하여 면역계의 섬세한 균형에 변화를 일으킬 수 있음. 생명유지를 위해 필수적인 이러한 면역반응의 이상 증가 작용으로 인해 생체의 면역반응이 과도하게 진행되면 알러지, 아토피 피부염, 천식 등 여러 가지 염증 반응 등이 초래될 수 있음 (Jutel and Akdis, 2011).

○ 외부 물질에 의하여 활성화된 대식세포 (macrophages)는 반응성이 강한 O^{2-}, H_2O_2, OH^{-}, nitric oxide (NO), eicosanoids 및 inflammatory cytokines을 비롯한 여러 물질을 분비함으로서 염증 반응을 촉진시켜 숙주방어기전에 중요한 역할을 하고 있으며, 대식세포의 활성화에 의해 미생물, 감염체 및 종양세포의 성장을 억제함 (Minnicozzi, et al., 2011; Casserly, et al., 2010).

○ 자유-라디칼 중 NO는 대표적으로 대식세포의 inducible nitric oxide synthase (iNOS) 유전자에 의해 합성되며 면역반응, 혈관확장, 신경전달, 혈소판 응집억제, 세포외 matrix생성의 억제 등 다양한 기능을 매개함 (Greten, et al., 2011).

○ 구아바의 in vitro 염증 억제 효능 평가를 위하여 염증 반응 지표인 NO 생성량을 측정하였음. 마우스 대식세포주인 RAW 264.7 세포에 염증 유발원인 lipopolysaccaride (LPS)를 이용하여 실험법을 구축하였음. 구아바 열수 추출물 (GW), 메탄올 추출물 (GM), 에칠아세테이트 추출물 (GEA)을 농도별로 처리하여 세포독성을 측정한 다음, 세포독성이 없는 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)의 처리농도를 결정하였음 (Fig. 33).

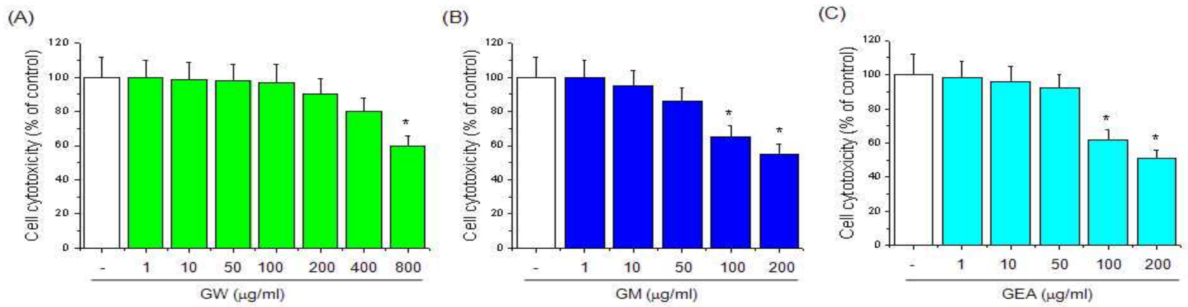


Fig. 33. Effect of guava on cytotoxicity in RAW 264.7 cells. Cells were treated with various concentrations of GW (1, 10, 50, 100, 200, 400 and 800 μg/ml), GM (1, 10, 50, 100 and 200 μg/ml) and GEA (1, 10, 50, 100 and 200 μg/ml) for 24 h. Cell viability was assessed using WST-1 assays. * $P < 0.01$, significantly different from control as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

○ 구축된 실험법을 통해 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)와 LPS를 동시 처리하여 NO 생성량을 측정한 결과, GW, GM, GEA의 처리농도에 의존적으로 LPS에 의해 증가된 NO 생성량이 감소하였음 (Fig. 34).

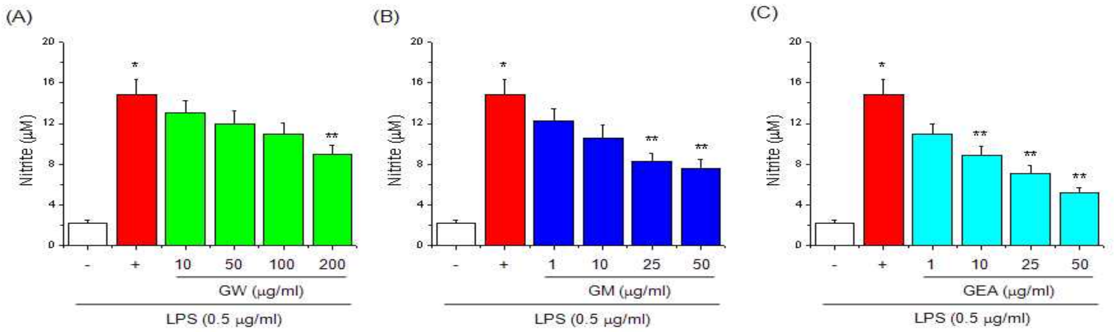


Fig. 34. Effect of guava on NO in RAW 264.7 cells. Cells were treated with various concentrations of GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 24 h. NO production was determined by measuring nitrite accumulation in the cultured medium. * $P <$ 0.01, significantly different from control and ** $P < 0.01$, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

○ NO 생성을 매개하는 유전자인 iNOS의 발현을 조사하였음. RAW 264.7 세포에 LPS와 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)를 6시간 처리하여 cDNA를 합성하여 유전자 발현 정도를 측정한 결과 GW, GM, GEA의 처리농도에 의존적으로 LPS에 의해 증가된 iNOS의 발현이 감소하였음 (Fig. 35).

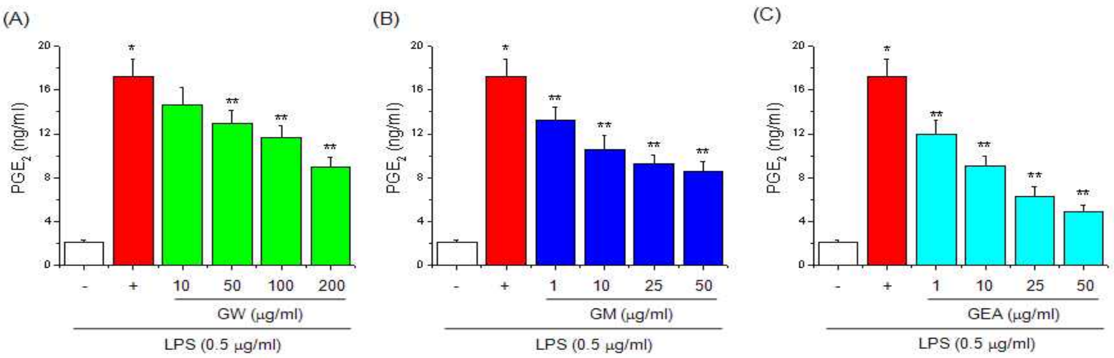


Fig. 35. Effect of guava on PGE_2 production in RAW 264.7 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 24 h. The medium was collected and assayed for PGE_2 production. PGE_2 levels were determined by enzyme immunoassay. * $P < 0.01$, significantly different from control and ** $P < 0.01$, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

나. 염증 관련 유전자 COX-2, iNOS의 유전자 및 단백질 발현 변화 조사

○ 또한 구아바의 in vitro 염증 억제 효능 평가를 위하여 염증 반응에 의해 생성되는 prostaglandin E_2 (PGE_2)의 생성량을 측정하였음. RAW 264.7 세포에 LPS와 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)를 24시간 처리하여 PGE_2 생성량을 측정한 결과, GW, GM, GEA의 처리농도 의존적으로 LPS에 의해 증가된 PGE_2 생성량이 감소하였음 (Fig. 36).

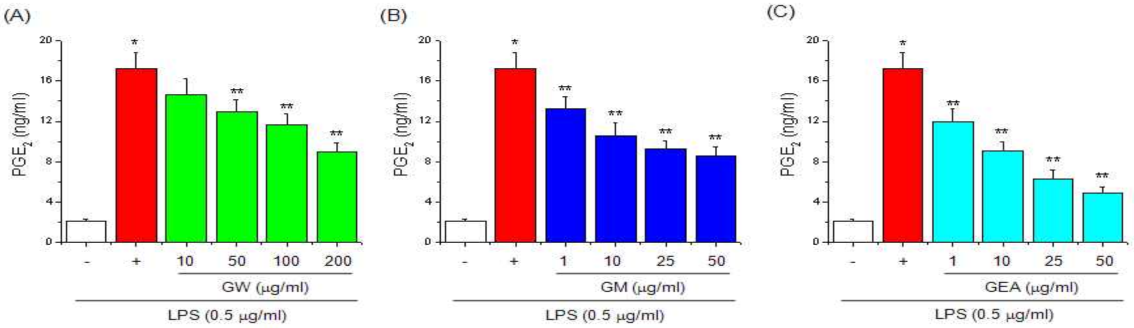


Fig. 36. Effect of guava on PGE_2 production in RAW 264.7 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 24 h. The medium was collected and assayed for PGE_2 production. PGE_2 levels were determined by enzyme

immunoassay. * $P < 0.01$, significantly different from control and ** $P < 0.01$, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

○ PGE_2의 생성을 매개하며, 염증 반응을 유발하는 유전자인 cyclooxygenase-2 (COX-2)의 유전자 및 단백질 발현을 조사하였음. RAW 264.7 세포에 LPS와 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)를 2시간 (유전자 발현) 및 16시간 (단백질 level) 처리하여 확인한 결과, GW, GM, GEA의 처리농도 의존적으로 LPS에 의해 증가된 COX-2의 유전자 및 단백질 발현이 감소하였음 (Fig. 37, 38).

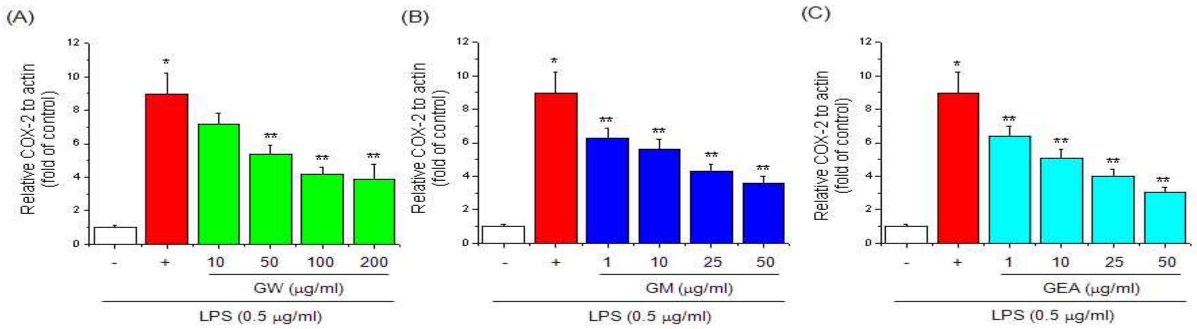


Fig. 37. Effect of guava on COX-2 gene expression in RAW 264.7 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 2 h. Cells were lysed and total RNA was prepared for analysis of COX-2 gene expression. COX-2 mRNA expression in treated cells was compared to that in untreated cells at each time point by real-time PCR. *$P < 0.01$, significantly different from control and **$P < 0.01$, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

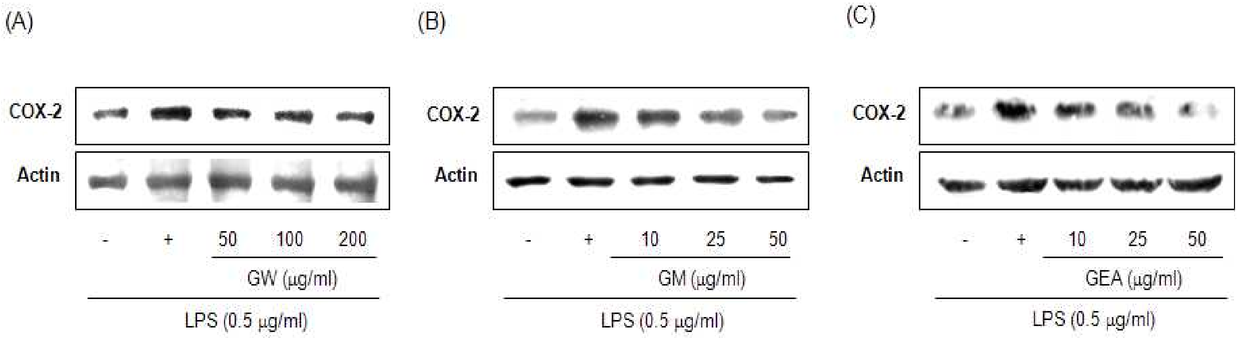


Fig. 38. Effect of guava on COX-2 protein expression in RAW 264.7 cells. Cells were cultured with GW (50, 100 and 200 μg/ml), GM (10, 25 and 50 μg/ml), GEA (10,

25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 16 h. The western blotting membrane was probed with COX-2 specific antibody. Each blot in this figure is representative of three independent experiments with similar results. The COX-2 protein level is compared with actin protein.

○ 또한 COX-2 발현에 관여하는 promoter의 활성을 확인하기 위해 COX-2 promoter를 세포에 형질전환 시킨 뒤 LPS와 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)를 처리하여 확인한 결과, GW, GM, GEA의 처리농도 의존적으로 LPS에 의해 증가된 COX-2의 promoter 활성이 감소하였음 (Fig. 39).

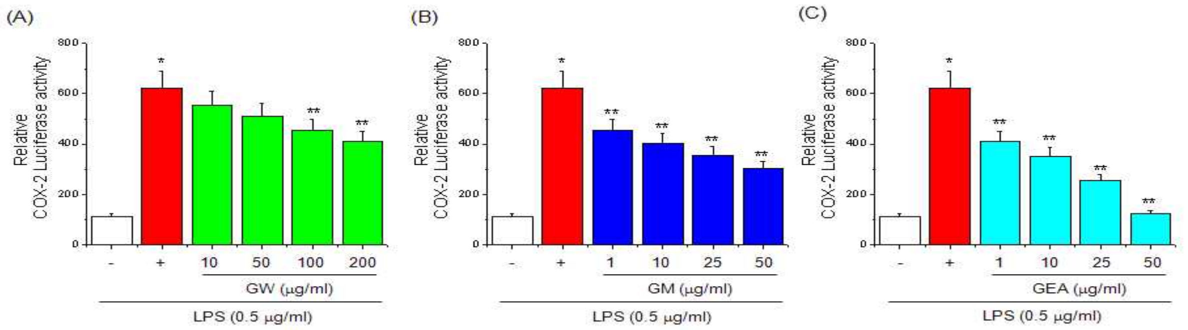


Fig. 39. Effect of guava on COX-2 luciferase activity in RAW 264.7 cells. Cells were transfected with COX-2-Luc and then treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 24 h. Cells were then harvested and assayed for luciferase activity. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

다. 염증반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사

○ COX-2와 iNOS 외에 염증 반응을 매개하는 사이토카인들의 생성량 및 유전자 발현에 대한 영향을 조사하였음. LPS와 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)를 시간별로 처리하여 대표적인 염증성 사이토카인으로 TNF-α, IL-6, IL-1β에 대한 영향을 측정하였음. GW, GM, GEA의 처리농도 의존적으로 LPS에 의해 증가된 TNF-α, IL-6, IL-1β 유전자 발현이 일괄적으로 감소하였음 (Fig. 40-42). 이들 염증성 사이토카인의 유전자 발현에 대한 영향을 측정한 결과 GEA에서 특이적으로 더욱 효과가 높은 것을 확인하였음.

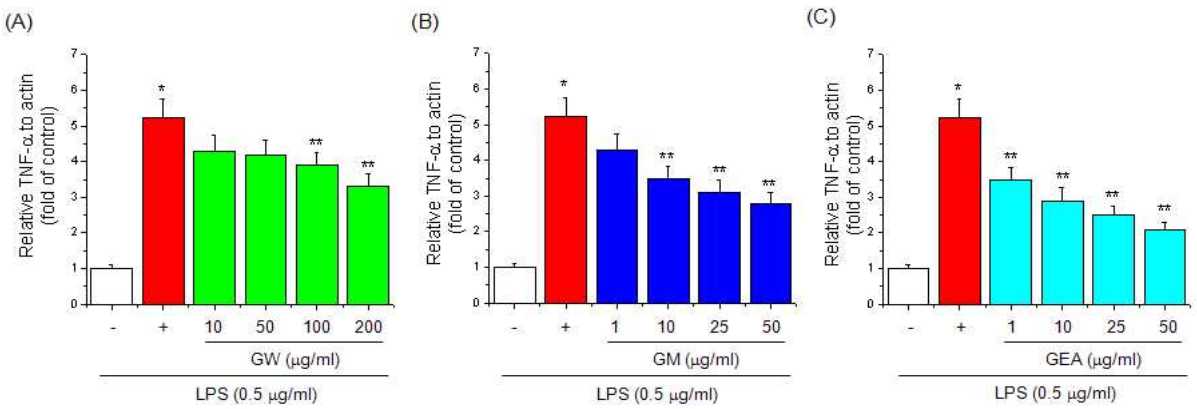


Fig. 40. Effect of guava on TNF-α gene expression in RAW 264.7 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 3 h. Cells were lysed and total RNA was prepared for analysis of TNF-α mRNA expression. TNF-α mRNA expression in treated cells was compared to that in untreated cells at each time point by real-time PCR. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

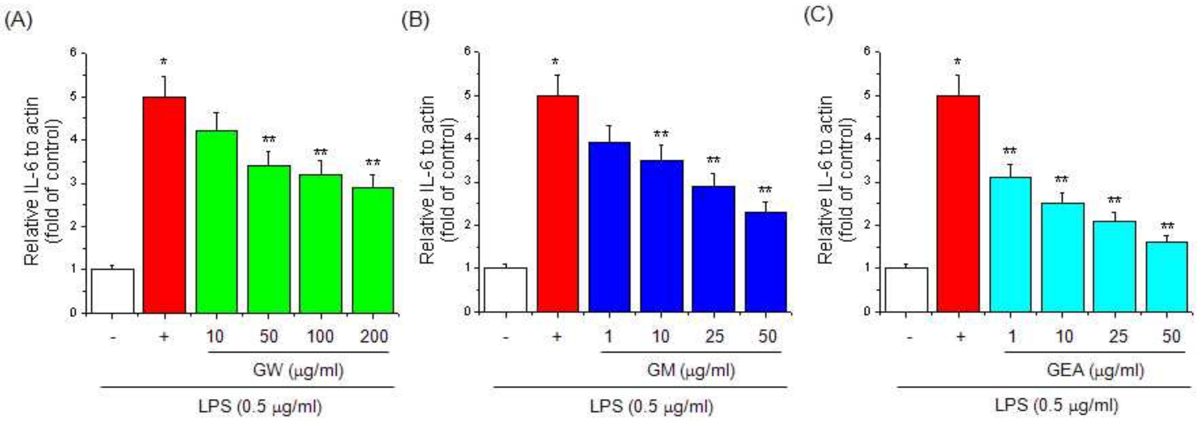


Fig. 41. Effect of guava on IL-6 gene expression in RAW 264.7 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 6 h. Cells were lysed and total RNA was prepared for analysis of IL-6 gene expression. IL-6 mRNA expression in treated cells was compared to that in untreated cells at each time point by real-time PCR. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

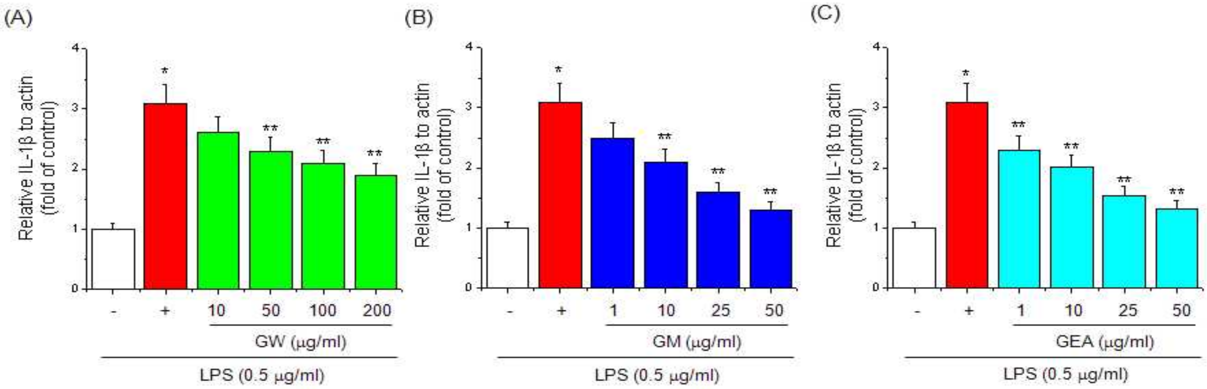


Fig. 42. Effect of guava on IL-1β gene expression in RAW 264.7 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 18 h. Cells were lysed and total RNA was prepared for analysis of IL-1β gene expression. IL-1β mRNA expression in treated cells was compared to that in untreated cells at each time point by real-time PCR. * P < 0.01, significantly different from control and ** P < 0.01, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

○ GW, GM, GEA의 처리농도 의존적으로 LPS에 의해 증가된 TNF-α, IL-6, IL-1β 단백질 생성량이 일괄적으로 감소하였음 (Fig. 43-45). 이들 염증성 사이토카인 단백질 생성량에 대한 영향을 측정한 결과 GEA에서 특이적으로 더욱 효과가 높은 것을 확인하였음.

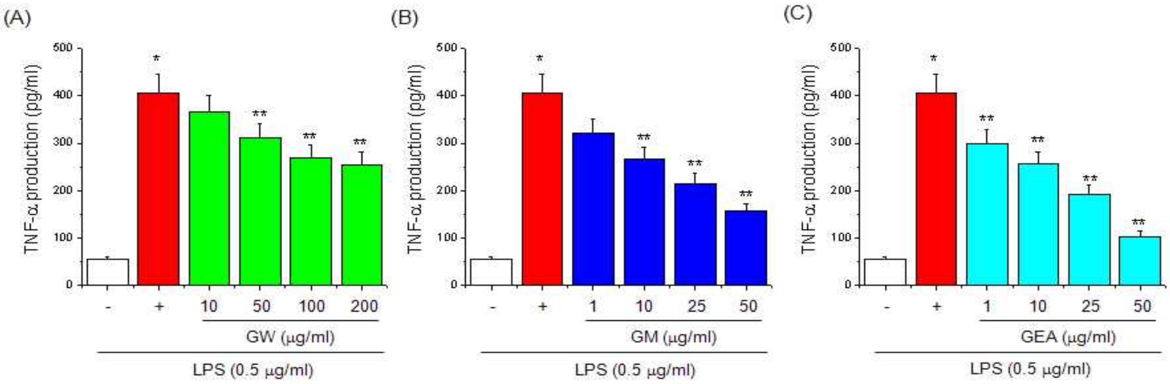


Fig. 43. Effect of guava on TNF-α production in RAW 264.7 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 6 h. The amounts of TNF-α released into the culture medium were measured by immunoassays. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

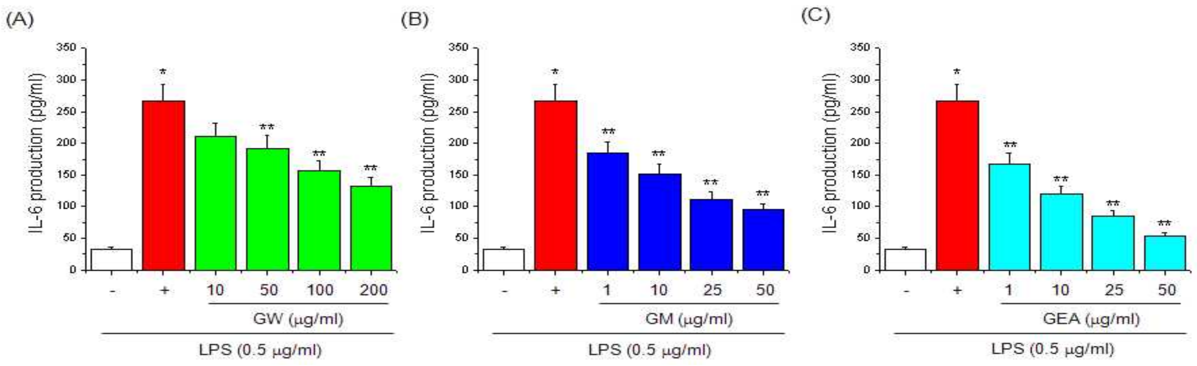


Fig. 44. Effect of guava on IL-6 production in RAW 264.7 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 *μ*g/ml), GM (1, 10, 25 and 50 *μ*g/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 *μ*g/ml) and/or LPS (0.5 *μ*g/ml) for 6 h. The amounts of IL-6 released into the culture medium were measured by immunoassays. **P* < 0.01, significantly different from control and ***P* < 0.01, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

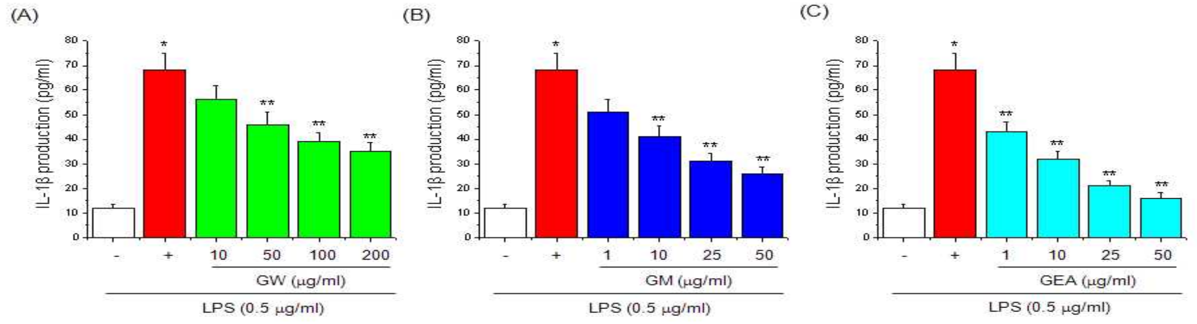


Fig. 45. Effect of guava on IL-1 production in RAW 264.7 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 *μ*g/ml), GM (1, 10, 25 and 50 *μ*g/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 *μ*g/ml) and/or LPS (0.5 *μ*g/ml) for 24 h. The amounts of IL-1 released into the culture medium were measured by immunoassays. **P* < 0.01, significantly different from control and ***P* < 0.01, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

라. 구아바의 항염증 반응 관련 전사조절인자 조사

○ 구아바 열수 추출물 및 polyphenol 분획의 COX-2 발현 조절은 대표적으로 NF-κB 전사조절인자에 의해 영향을 받으므로 이들 추출물의 NF-κB 전사활성에 대한 영향을 조사하였음. NF-κB luciferase vector를 세포에 형질전환 시킨 뒤 LPS와 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)를 처리하여 NF-κB 전사활성을 확인한 결과 GW,

GM, GEA의 처리농도 의존적으로 LPS에 의해 증가된 NF-κB 전사활성이 감소하였음 (Fig. 46, 47).

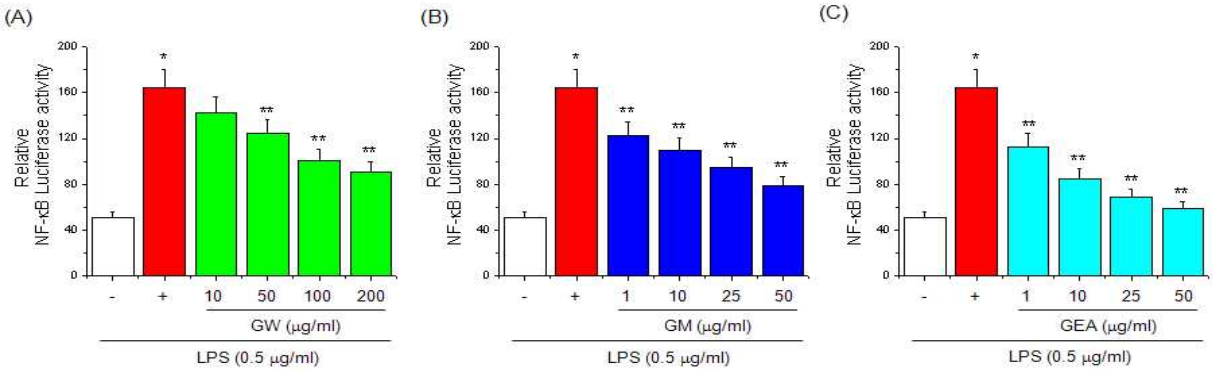


Fig. 46. Effect of guava on NF-B luciferase activity in RAW 264.7 cells. Cells were transfected with NF-B-Luc and then treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 24 h. Cells were then harvested and assayed for luciferase activity. **P* < 0.01, significantly different from control and ***P* < 0.01, significantly different from LPS as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

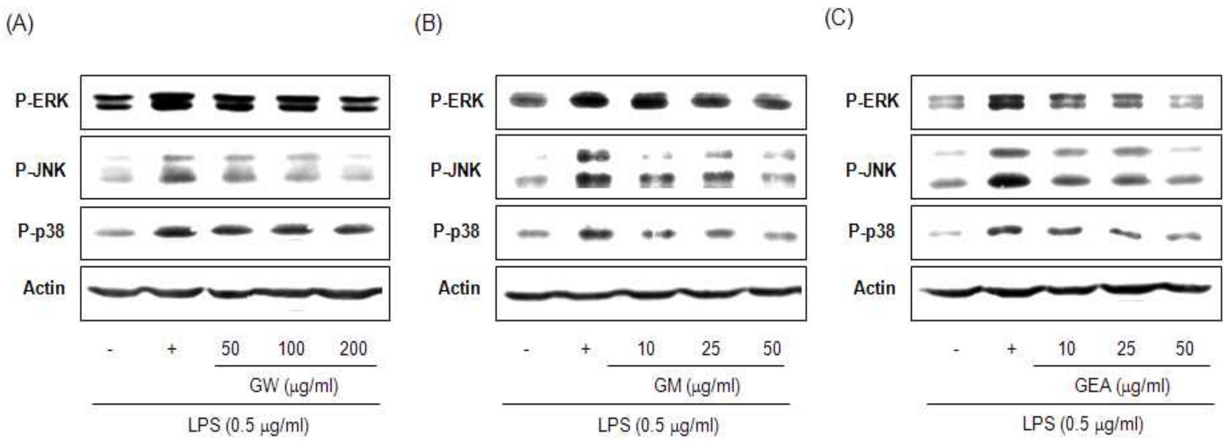
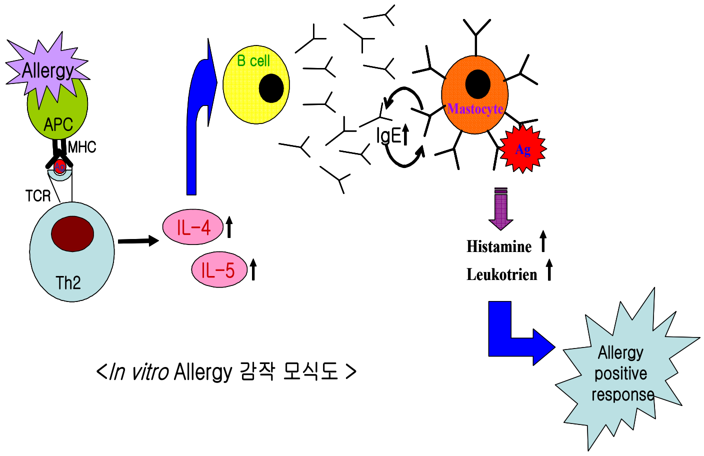


Fig. 47. Effect of guava on MAP kinases activation in RAW 264.7 cells. Cells were cultured with GW (50, 100 and 200 μg/ml), GM (10, 25 and 50 μg/ml), GEA (10, 25 and 50 μg/ml) and/or LPS (0.5 μg/ml) for 30 h. The western blotting membrane was probed with p-ERK, p-JNK, and p-p38 specific antibody. Each blot in this figure is representative of three independent experiments with similar results. The p-MAP kinases level is compared with actin protein.

3. *In vitro* 알러지 억제 활성 조사

○ 면역질환은 알러지 유발물질 (allergen)이 비만세포 (mast cell)나 호염기구 (basophil)의 세포막에 존재하는 Fc receptor에 매개되어 세포의 핵에서 phospholipaseA2나 lipoxigenase 등을 방출시키고 연쇄적으로 arachidonic acid를 생산하여 결과적으로 leukotriene의 세포외 방출, lysosome을 통하여 histamine이 외부로 방출되어 2차적인 면역이상 반응을 유도하거나 면역 관련의 세포에 손상을 일으킴 (Wesolowski and Paumet, 2011; Mukherjee and Zhang, 2011).

○ 과민성면역질환인 알러지 반응은 IgE 항체로의 class switch를 유도하는 cytokine인 IL-4 및 eosinophil의 증식 및 분화를 촉진시켜 eosinophilia를 초래하는 cytokine인 IL-5가 필수적으로 관여하여 근원적 원인인 IgE 항체를 생성함 (Sin and Togias, 2011.).



<*In vitro* Allergy 감작 모식도 >

가. 비만세포의 탈과립 방출량 및 히스타민 생성량 변화 조사

○ 생성된 IgE는 비만세포의 IgE receptor, FcεRI에 항원으로 작용하여 비만세포에서 면역반응을 일어나게 하여 탈과립이 일어나고 histamine이나 leukotrien 등의 protein을 분비되므로 탈과립 방출량과 분비된 histamine의 양을 조사하였음.

○ 비만세포주인 RBL-2H3 세포에 알러지 반응의 지표인 탈과립 (degranulation) 방출량과 히스타민 생성량을 측정하기 위하여 DNP-IgE로 세포를 감작시키고 알러젠인 DNP-BSA 처리하는 실험법을 구축하였음. 구아바 열수 추출물 (GW), 메탄올 추출물 (GM), 에칠아세테이트 추출물 (GEA)을 RBL-2H3 세포에 농도별로 처리하여 세포독성을 측정한 뒤 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)의 처리농도를 결정하였음 (Fig. 48).

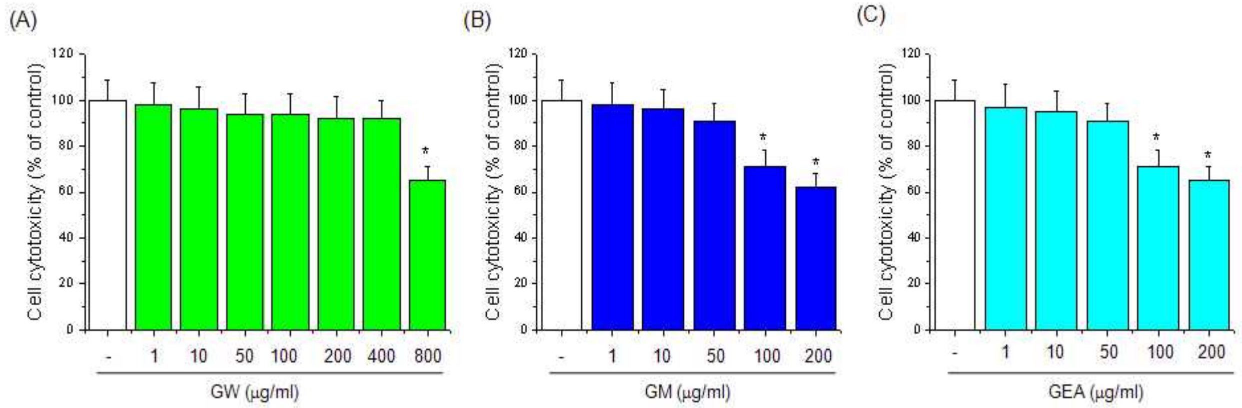


Fig. 48. Effect of guava on cytotoxicity in RBL-2H3 cells. Cells were treated with various concentrations of GW (1, 10, 50, 100, 200, 400 and 800 μg/ml), GM (1, 10, 50, 100 and 200 μg/ml) and GEA (1, 10, 50, 100 and 200 μg/ml) for 24 h. Cell viability was assessed using WST-1 assays. * P < 0.01, significantly different from control as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

○ 구축된 실험법을 이용하여 비만세포에서의 탈과립 방출량 및 히스타민 생성량 변화를 조사한 결과, GW, GM, GEA의 처리농도에 의존적으로 DNP-BSA에 의해 증가된 탈과립 방출량 (Fig. 49)과 히스타민 생성량 (Fig. 50)이 감소하였음.

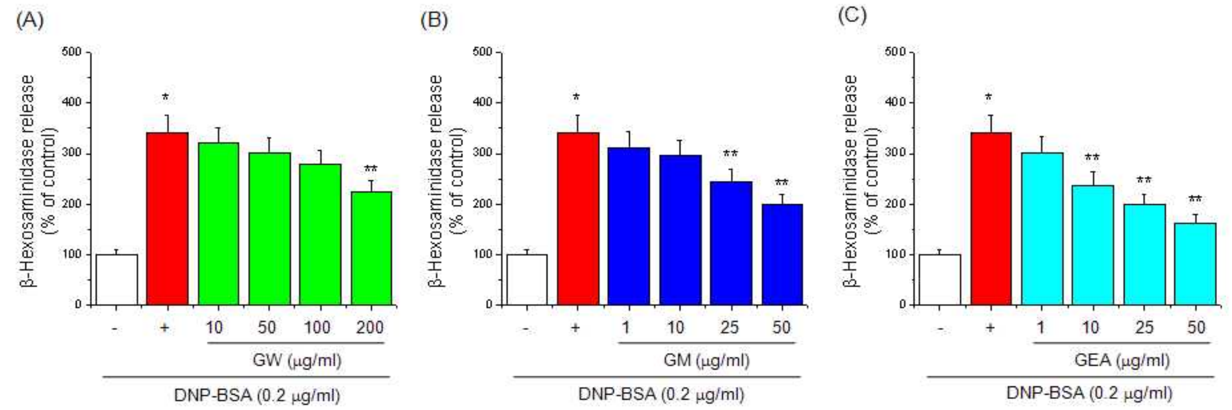


Fig. 49. Effect of guava on β-hexosaminidase activity in RBL-2H3 cells. Cells were treated in the presence of GW (10, 50, 100 and 100 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or DNP-BSA. *P < 0.01, significantly different from the control. **P < 0.01, significantly different from the DNP-BSA.

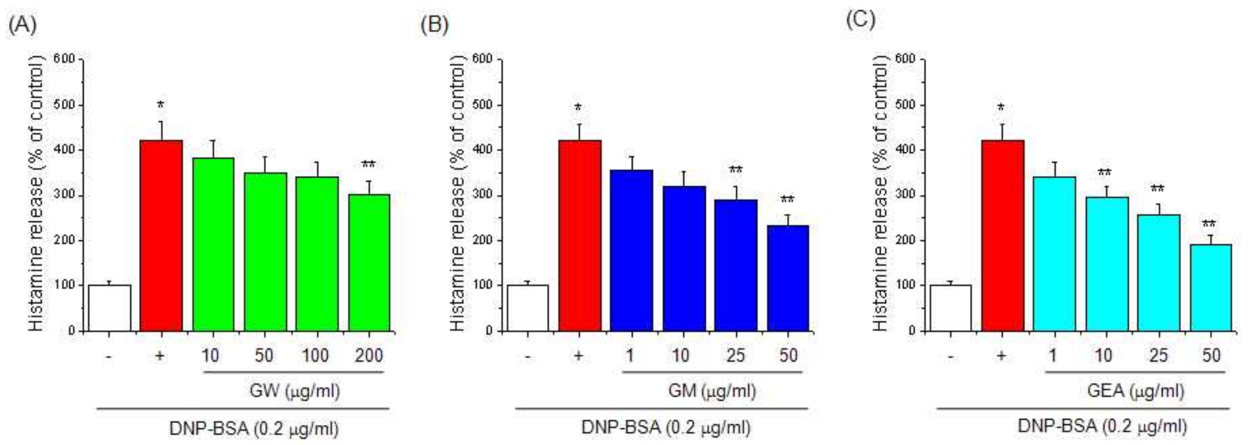


Fig. 50. Effect of guava on histamine production in RBL-2H3 cells. Cells were treated in the presence of GW (10, 50, 100 and 100 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or DNP-BSA. *P < 0.01, significantly different from the control. **P < 0.01, significantly different from the DNP-BSA.

나. 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사

○ 알러지성 질환은 IgE에 의해 매개되고 Type 2 T-helper (Th2) cell, 비만세포 및 eosinophil가 알러지 유발 과정에 중요한 역할을 하며 알러젠에 의해 활성화된 Stat6-매개신호경로를 통한 IL-4의 생성을 통해 Th2 세포들은 IL-4 및 IL-5 등의 알러지와 관련된 cytokine을 분비하게 됨.

○ IL-4 및 IL-5는 B세포에 의한 IgE 및 IgG의 생성을 유도하고, 골수에서의 산성백혈구의 발달을 자극하여, 염증이 생긴 조직으로 모이도록 유도하고 Th2 세포가 관여하는 Th2 면역반응에 대한 과민성 면역질환의 유도에 핵심적인 역할을 함.

○ 구아바 열수 추출물 및 polyphenol 분획의 알러지 반응을 매개하는 cytokine인 IL-4 및 eosinophil의 증식 및 분화를 촉진시켜 eosinophilia를 초래하는 cytokine인 IL-5에 대한 영향을 조사하였음. 비만세포에 DNP-IgE로 세포를 감작시키고 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)와 알러젠인 DNP-BSA를 처리하여 IL-4의 유전자 발현, 단백질 생성량 및 promoter 활성에 대한 영향을 측정하였음. DNP-BSA에 의해 증가된 IL-4의 유전자 발현, 단백질 생성량 및 promoter 활성이 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml) 농도 의존적으로 감소하였으며, GEA의 효과가 가장 강하였음 (Fig. 51-53).

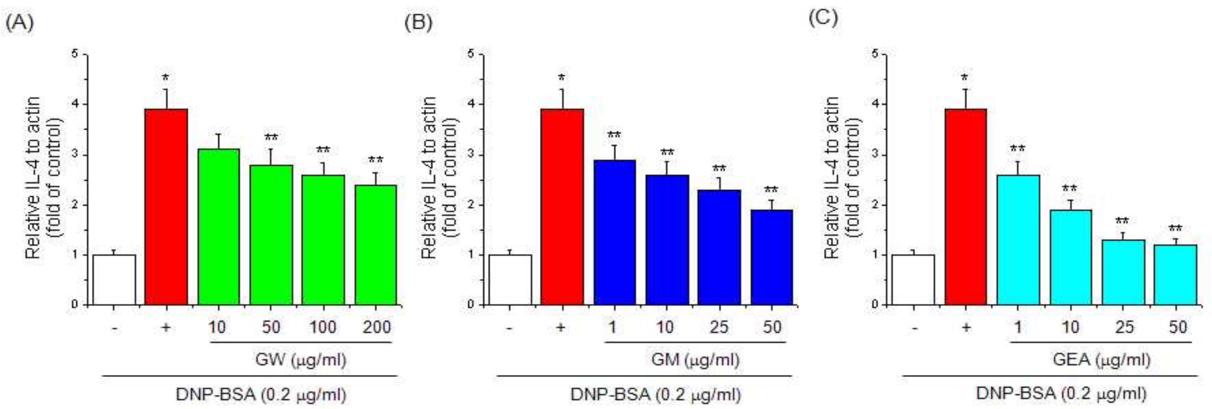


Fig. 51. Effect of guava on IL-4 gene expression in RBL-2H3 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or DNP-BSA for 24 h. Cells were lysed and total RNA was prepared for analysis of IL-4 gene expression. IL-4 mRNA expression in treated cells was compared to that in untreated cells at each time point by real-time PCR. $*P < 0.01$, significantly different from control and $**P < 0.01$, significantly different from DNP-BSA as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

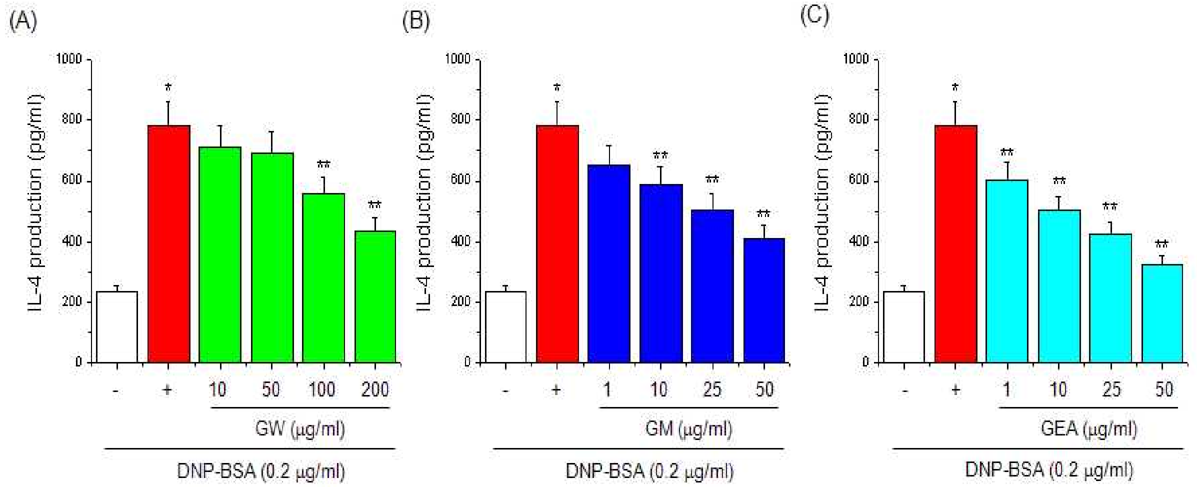


Fig. 52. Effect of guava on IL-4 production in RBL-2H3 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or DNP-BSA for 24 h. The amounts of IL-4 released into the culture medium were measured by immunoassays. $*P < 0.01$, significantly different from control and $**P < 0.01$, significantly different from DNP-BSA as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

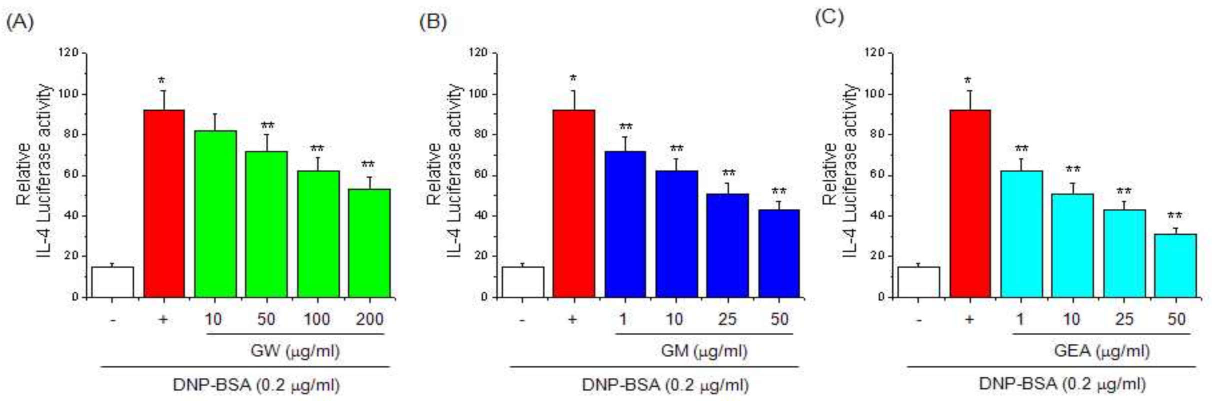


Fig. 53. Effect of guava on IL-4 luciferase activity in RBL-2H3 cells. Cells were transfected with IL-4-Luc and then treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or DNP-BSA for 24 h. Cells were then harvested and assayed for luciferase activity. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from DNP-BSA as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

○ 비만세포에 DNP-IgE로 세포를 감작시키고 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)와 알러젠인 DNP-BSA를 처리하여 IL-5의 유전자 발현에 대한 영향을 측정하였음. DNP-BSA에 의해 증가된 IL-5의 유전자 발현이 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml) 농도 의존적으로 감소하였으며, GEA의 효과가 가장 강하였음 (Fig. 54).

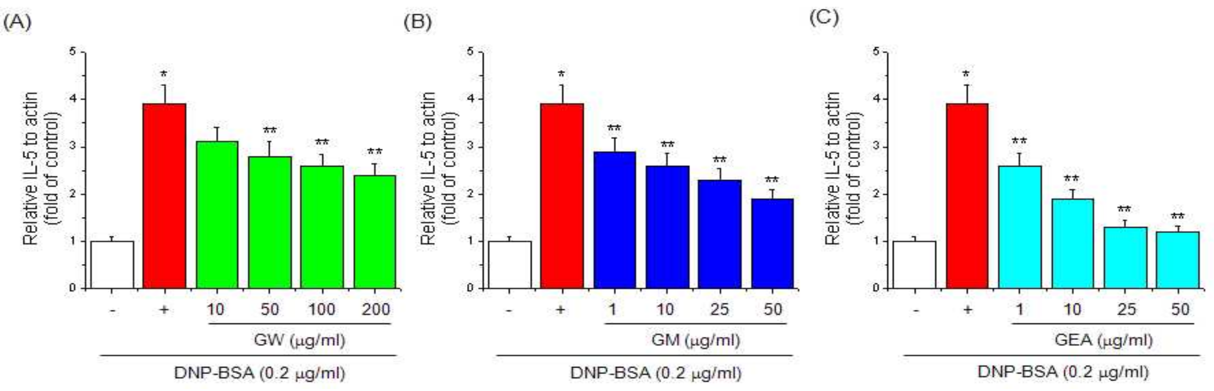


Fig. 54. Effect of guava on IL-5 gene expression in RBL-2H3 cells. Cells were treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or DNP-BSA for 24 h. Cells were lysed and total RNA was prepared for analysis of IL-5 gene expression. IL-5 mRNA expression in treated cells was compared to that in untreated cells at each time point by

real-time PCR. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from DNP-BSA as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

다. 구아바의 항알러지 반응 관련 IL-4의 발현에 관여하는 전사조절인자 조사

○ 구아바 열수 추출물 및 polyphenol 분획의 알러지 반응을 매개하는 cytokine인 IL-4 및 eosinophil의 증식 및 분화를 촉진시켜 eosinophilia를 초래하는 cytokine인 IL-5에 대한 영향을 조사하였음. 비만세포에 DNP-IgE로 세포를 감작시키고 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml)와 알러젠인 DNP-BSA를 처리하여 IL-4의 유전자 발현, 단백질 생성량 및 promoter 활성에 대한 영향을 측정하였음. DNP-BSA에 의해 증가된 IL-4의 유전자 발현, 단백질 생성량 및 promoter 활성이 GW (50-200 ug/ml), GM (10-50 ug/ml), GEA (10-50 ug/ml) 농도 의존적으로 감소하였으며, GEA의 효과가 가장 강하였음 (Fig. 55).

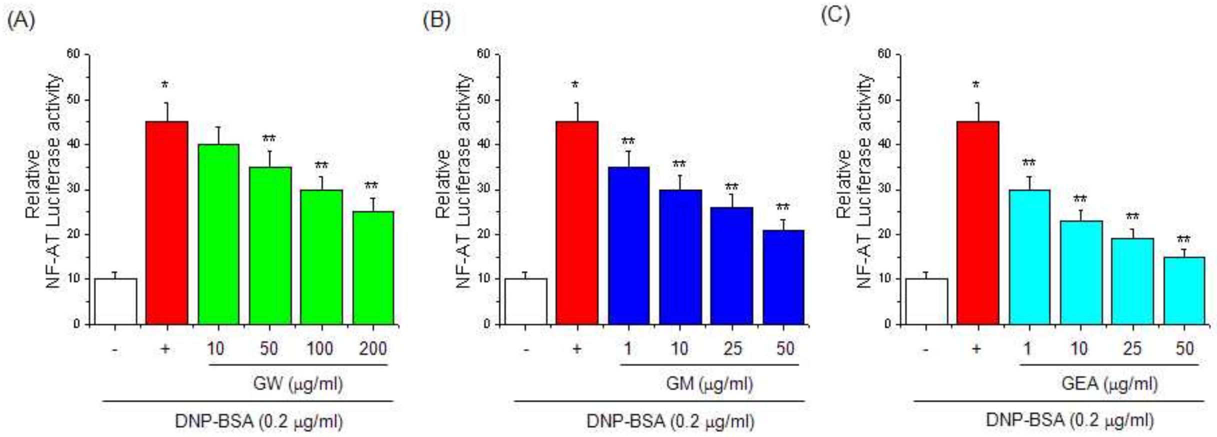


Fig. 55. Effect of guava on NF-AT luciferase activity in RBL-2H3 cells. Cells were transfected with NF-AT-Luc and then treated with GW (10, 50, 100 and 200 μg/ml), GM (1, 10, 25 and 50 μg/ml), GEA (1, 10, 25 and 50 μg/ml) and/or DNP-BSA for 24 h. Cells were then harvested and assayed for luciferase activity. *P < 0.01, significantly different from control and **P < 0.01, significantly different from DNP-BSA as determined by analysis of variance by Newman-Keuls test.

제 7 절 구아바로부터 추출, 분리한 항아토피 기능성 소재의 in vivo 아토피 피부염 억제 활성 검증

1. *In vivo* 아토피 피부염 억제 활성 조사

○ 현재까지 국내·외적으로 인체 아토피성 피부염과 동일한 질환 모델 동물은 없으며, 가장 유사한 모델로 많은 연구자들이 아토피성 피부염 연구에 NC/Nga mouse를 가장 보편적으로 사용하고 있음.

○ NC/Nga mouse는 자발적 아토피성 피부염 유발 모델로 잘 알려져 있으며, 그 원인으로는 JAK3 kinase의 과활성으로 인한 IgE의 생성이 항진되어 나타난 결과로 보고 된 바 있으나 현재까지도 정확한 기전은 알려져 있지 않음. 이런 기전상의 불분명성에도 불구하고 인간의 아토피성 피부염을 가장 잘 반영하는 실험모델로 약리실험에 널리 이용되고 있음 (Matsumoto, et al., 1999).

○ 일본에서는 hapten 형성 물질인 1-chloro 2,4,6-trinitro benzene (picryl chloride)을 이용하여 피부염을 인위적으로 유도하여 이러한 문제를 해결하고 있으나, picryl chloride의 경우 국내 반입이 금지되어 있으므로, 구조적으로 picryl chloride와 유사하여 같은 기전으로 작용하는 1-chloro 2,4-dinitrobenzene (DNCB)을 이용하여 시험을 진행하였음. DNCB를 이용하여 아토피성 피부염의 주된 증상들 (가려움, IgE증가, 피부염증)을 관찰할 수 있고, 아토피성 피부염의 치료제에 의해 증상이 감소되는 현상을 관찰할 수 있음 (Im, et al., 2011; Kim, et al., 2011).

○ 아토피피부염 유도 및 구아바 추출물 처치 방법

Nc/Nga mouse 제모 (제모기 및 제모크림 이용)

↓ 1 day

1% DNCB 처리 (200㎕/dorsal area in acetone : Olive Oil (3:1) 용매

↓ 4 day

0.2% DNCB 처리 (200㎕/dorsal area)

↓ 9 weeks

4주간 구아바 추출물 (100, 200 mg/ml) 도포

↓

피부조직 및 혈청 채취, 조직병리학전 관찰 (H&E staining)

○ 6주령 NC/Nga 마우스를 중앙실험동물로부터 구입하여 2주간 안정화 단계를 거친 후 실험하였으며, 1% 또는 0.2%의 DNCB는 등과 귀에 도포하여 아토피 피부염을 유발하였으며, 그 후 구아바에 대한 감소효과를 알아보기 위해 구아바를 농도별로 등과 귀에 도포하였음. 실험모식도는 아래와 같음 (Fig. 56).

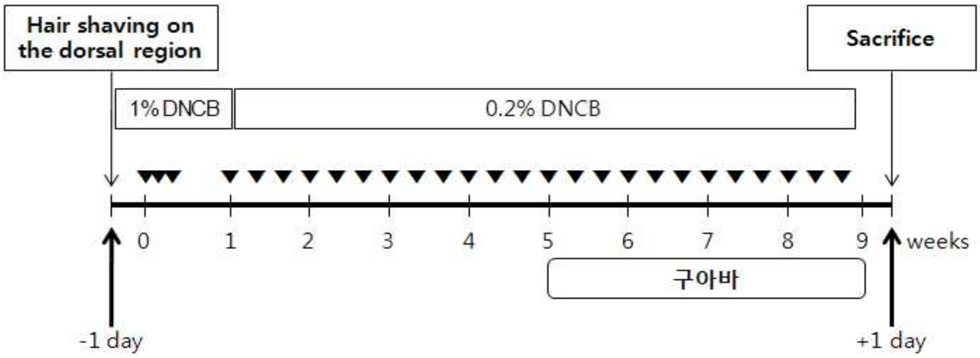


Fig. 56. The mice were divided into four groups. To induction of atopic dermatitis (AD)-like immunologic and skin disorders, DNCB was applied onto mice skin and ears. After complete removal of dorsal hairs in area, 200 μl of 1% DNCB was applied on their dorsal skin and ears to 3 consecutive days for sensitization. Four days after sensitization, the dorsal skin and ears were challenged with 200 μl of 0.2% DNCB solution 3 times per week for 8 weeks. DNCB was dissolved in a 3 : 1 mixture of acetone and olive oil. As soon as the challenge was completed, guava extract group was treated with lotion containing dose of 100 or 200 mg/kg (6 times per week for 4 weeks). The control and AD-treated groups were treated with lotion without drug administration. guava extract was dissolved in loation. Animals were sacrificed on the day of the experiment (on 64 days after first applying the DNCB). Blood was collected from the vena cava and the right ear was excised and subjected to histopathological examination. Each group consisted of five mice.

○ 구아바 화장수 제조: 구아바 도포용 제형은 화장수로 개발이 적당한 것으로 사료되어, 아래와 같이 제조하였음.

원료	단위 (중량 %)
구아바	100, 200 mg
폴리에틸렌글리콜(400)	40
에탄올	30
정제수	잔량
합계	100

가. 아토피 동물모델인 NC/Nga 마우스에서의 홍반, 출혈, 건조, 찰상, 짓무름 등의 dermatitis scoring 결과 수집

○ 아토피 피부염 동물모델에서 구아바 추출물에 의한 아토피 피부염 억제 효과를 측정하기 위하여 마우스에서 표피 두께, 진피 두께, 염증성 세포의 침윤 등의 결과를 측정하였음.

○ 아토피 피부염의 임상적 특징은 크게 소양증 (국한성 또는 전신성 가려움), 발진, 만성적 재발 등을 들 수 있음. 혈청내 IgE 수치 향상, eosinophilia, basophilia의 자발적인 히스타민 분비 증가, CD23 발현 증가, CD8 suppressor 감소, Th2에 의한 IL-4, IL-5 분비 증가 등의 현상을 동반하기도 함.

○ DNCB에 의한 아토피 피부염 유발에 의해 NC/Nga 마우스의 체중이 감소하였으며, 구아바 추출물 처리군의 마우스에서는 체중이 회복되었음 (Fig. 57). 또한 DNCB에 의해 증가된 귀의 두께는 구아바 추출물 처리에 의해 감소됨을 확인하였음 (Fig. 58).

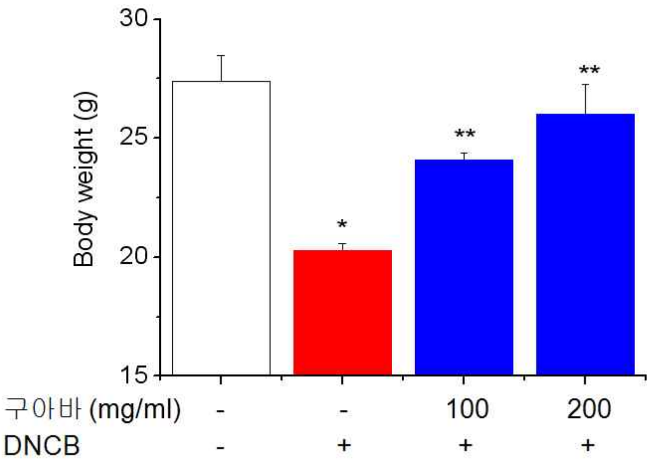


Fig. 57. Effect of guava extract on DNCB-induced body weight of Nc/Nga mice. The DNCB-induced body weight was measured by weighting balance. Each value represents the mean ± SD of five mice. * P<0.01, vs. negative control. ** P<0.01, vs. positive control.

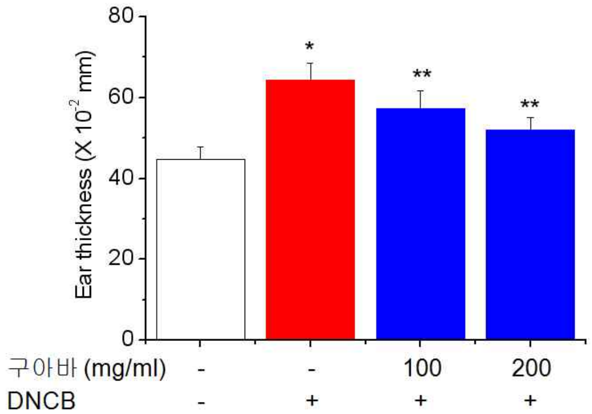


Fig. 58. Effect of guava extract on DNCB-induced ear thickness of Nc/Nga mice. Ear thickness was measured every time before HCWE and CKS treatment. Each value represents the mean ± SD of five mice. * P<0.01, vs. negative control. ** P<0.01, vs. positive control.

나. 마우스 혈청에서의 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사

○ 아토피 피부염 유발로 증가된 IgE양을 NC/Nga 마우스의 혈청을 분리하여 측정한 결과, DNCB에 의해 증가된 IgE 양이 구아바 추출물에 의해 유의적인 감소 효과를 나타내었음 (Fig. 59).

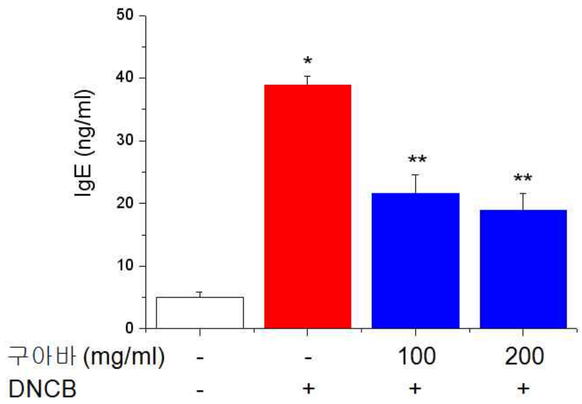


Fig. 59. Effects of guava extract on DNCB-induced serum IgE level in NC/Nga mice. The serum level of IgE was determined using mouse IgE specific ELISA kit. Each value represents the mean ± SD of five mice. #p < 0.05, compared to the control group; *p < 0.05, compared to the DNCB-treated group.

○ 아토피 피부염 유발에 의해 변화되는 IL-10 생성량을 NC/Nga 마우스 혈청에서 확인한 결과, DNCB에 의해 감소된 IL-10 생성량이 구아바 추출물에 의해 유의적인 증가 효과를 나타내었음 (Fig. 60, 61).

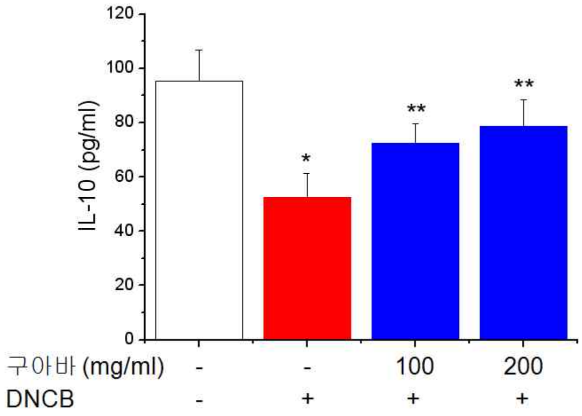


Fig. 60. Effects of guava extract on DNCB-induced serum IL-10 level in NC/Nga mice. The serum level of IL-10 was determined using mouse IL-10 specific ELISA kit. Each value represents the mean ± SD of five mice. #p < 0.05, compared to the control group; *p < 0.05, compared to the DNCB-treated group.

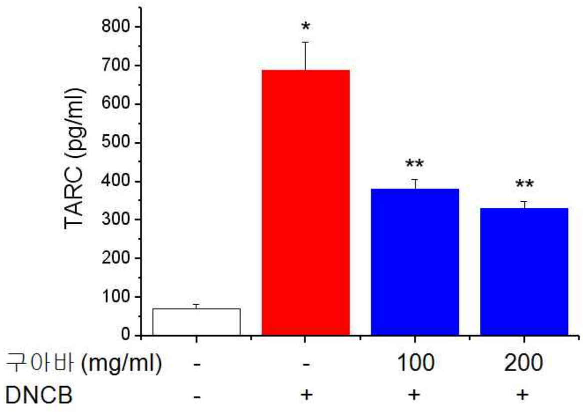


Fig. 61. Effects of guava extract on DNCB-induced serum TARC level in NC/Nga mice. The serum level of TARC was determined using mouse TARC specific ELISA kit. Each value represents the mean ± SD of five mice. #p < 0.05, compared to the control group; *p < 0.05, compared to the DNCB-treated group.

○ 아토피 피부염과 같은 면역반응의 유발에 의해 IL-4와 TNF-α 유전자 발현에 변화를 확인하기 위해 마우스 귀 조직에서 cDNA를 얻어 이를 확인하였음. DNCB 투여에 의한 IL-4와 TNF-α 유전자 발현이 구아바 추출물에 의해 감소하였음 (Fig. 62).

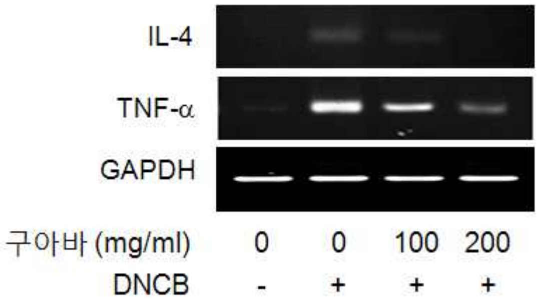


Fig. 62. Effect of guava extract on DNCB-induced TNF-α and IL-4 mRNA expression in NC/Nga mice. Total RNA was prepared and analyzed for the expression of TNF-α, IL-4 and GAPDH mRNA by RT - PCR. Results shown are representatives of five observations.

다. Hematoxylin & eosin 염색 후 조직병리학적 방법을 이용하여 아토피 피부염 억제 여부 측정

○ 아토피 피부염이 유발되었을 때 마우스 피부 조직의 변화를 관찰하기 위하여 마우스 귀를 hematoxylin과 eosin으로 염색하여 확인한 결과 DNCB에 의해 증가된 피부 조직 (위부터 각질, 표피, 진피, 연골 층)과 진피층에서 염증세포의 침윤이 구아바 분획 농도 의존적으로 피부조직의 두께와 진피층의 염증세포의 침윤이 감소하였음 (Fig.63).

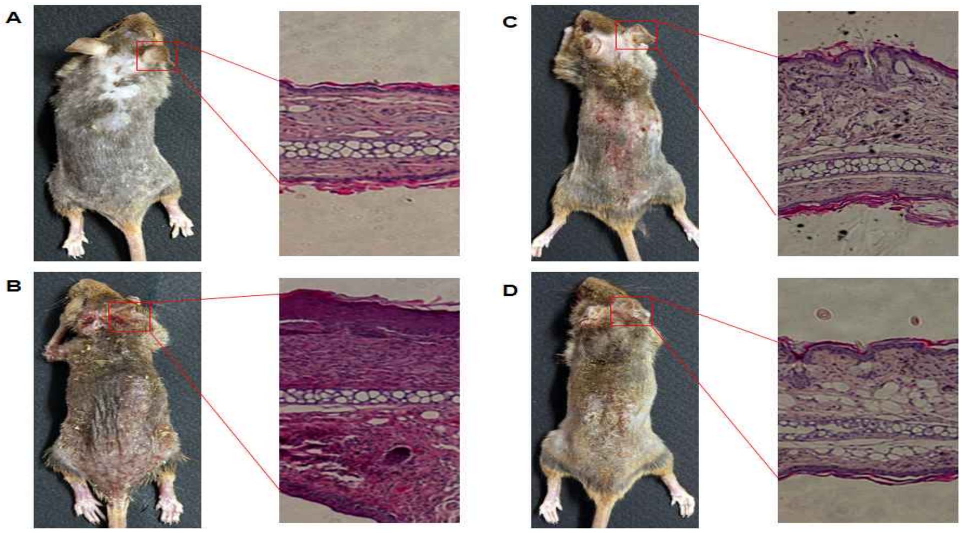


Fig. 63. Histopathological analysis. The ears of control (A), DNCB (B), DNCB plus guava extract (100 and 200 mg/kg C, D)-treated NC/Nga mice were excised, fixed with 10% formaldehyde, embedded in paraffin and thin sections were made. The skin sections were stained with hematoxylin and eosin.

제 8 절 항아토피용 구아바 천연물 소재의 *in vitro/in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 검증

1. 구아바 기능성 제품의 *in vitro* 아토피 피부염 억제 활성 조사

가. TARC/CCL17의 생성량 및 유전자 발현 조사

○ 피부에서의 염증반응 과정은 Th2 chemokine들에 의존적으로 일어나며, chemokine 들은 면역세포들을 조절하는데 관여함. TARC는 Th2 유형의 chemokine으로 피부세포, 수지상세포, 내피세포, 상피세포 등에서 만들어짐 (Homey, et al., 2007).

○ Macrophage-derived chemokine (MDC/CCL22)은 TARC와 밀접하게 관련되어 있으며, 수지상세포, B 림프구, 대식세포, 피부세포, 내피세포 등에 의해 만들어짐. 최근의 연구들에 따르면 아토피 피부염 환자의 혈청내 TARC와 MDC chemokine의 양에 따라 아토피 피부염 유발이 결정된다고 알려져 있으며, 이들 chemokine들에 의해 여러 가지 질병들이 조절됨. Cutaneous T cell-attracting chemokine (CTACK/CCL27)는 피부에서 선택적으로 발현되며 아토피 피부염을 조절하는 chemokine임 (Yamashita and Kuroda, 2002).

○ 본 실험에서는 구아바 발효 에탄올 분획에 대한 아토피 피부염의 억제 효능을 평가하기 위해 구아바 에탄올 분획 (G-EtOH), 구아바 발효 에탄올 대조군 분획 (GF-C-EtOH) 및 구아바 발효 에탄올 분획 (GF-EtOH)에 대한 세포독성을 확인하였음. 구아바 에탄올 분획의 경우 10 ㎍/ml, 구아바 발효 에탄올 대조군 분획과 구아바 발효 에탄올 분획의 경우 100 ㎍/ml 까지 세포독성이 없는 것을 확인하였음 (Fig. 64).

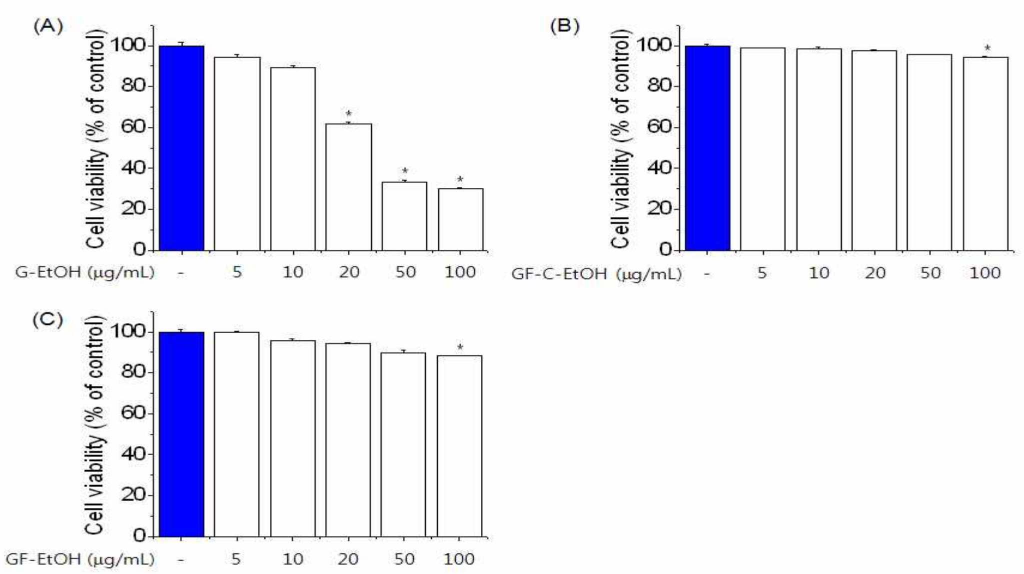


Fig. 64. Cytotoxicity of G-EtOH, GF-C-EtOH and GF-EtOH in HaCaT cells. Cells were treated with various concentrations of G-EtOH GF-C-EtOH, GF-EtOH for 24 h. Cell viability was assessed using a MTT assay. *P<0.01, vs. control.

○ 구아바 발효 분획이 인체 피부 각질 세포에서 아토피 피부염 관련 유전자 (TARC, MDC, CTACK)의 발현에 미치는 영향을 조사하였음. TNF-α와 IFN-γ에 의해 증가된 TARC, MDC 및 CTACK의 유전자 발현이 구아바 에탄올 분획과 구아바 발효 에탄올 분획의 처리 농도 의존적으로 감소하였음. 구아바 에탄올 분획의 경우 TNF-α와 IFN-γ에 의해 증가된 TARC, MDC 및 CTACK의 유전자 발현에 영향이 없었음 (Fig. 65).

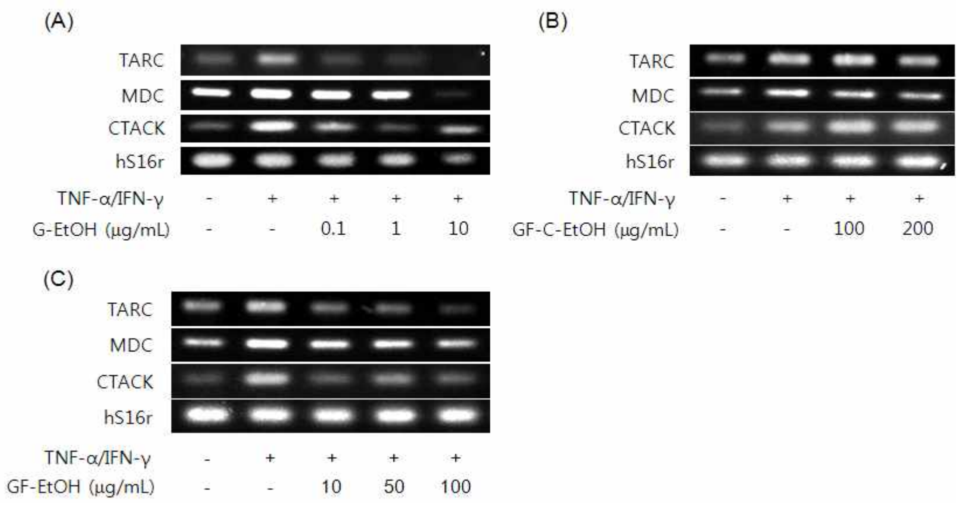


Fig. 65. Effects of G-EtOH, GF-C-EtOH or GF-EtOH on Th2 chemokine mRNA expression. Cells were pretreated with G-EtOH, GF-C-EtOH or GF-EtOH and incubated with TNF-α/IFN-γ for 24 h. Total RNA was prepared and analyzed for the expression of TARC, MDC, CTACK, and S16r mRNA by RT - PCR.

○ HaCaT 세포에 pGL3-NF-κB-Luc vector를 형질전환 시킨 뒤 구아바 발효 에탄올 분획(GF-EtOH)과 TNF-α와 IFN-γ을 24시간 처리한 뒤 NF-κB luciferase activity에 대한 영향을 조사한 결과, TNF-α와 IFN-γ에 의해 증가된 NF-κB 전사활성이 구아바 발효 에탄올 분획의 농도 의존적으로 감소하였음 (Fig. 66).

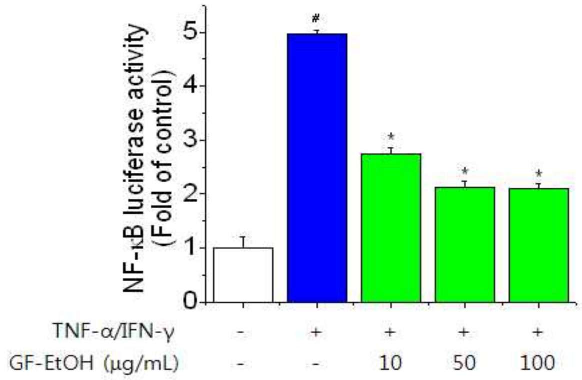


Fig. 66. Effects of GF-EtOH on the TNF-α/IFN-γ-co-induced transcriptional activity of NF-κB. Cells were transiently co-transfected with pCMV-β-gal and pGL3-NF-κB-Luc. Four hours post-transfection, cells were pre-treated with GF-EtOH and then treated with TNF-α/IFN-γ for 24 h. Luciferase activity in the cell lysates was then determined, normalized to β-galactosidase activity, and expressed relative to the normalized luciferase activity in the control. Each bar represents the mean of three independent experiments. * $P<0.01$, vs. TNF-α/IFN-γ.

○ 핵 내로 이동되는 NF-κB 단백질 양을 측정한 결과 TNF-α와 IFN-γ에 의해 증가된 NF-κB p65의 핵 내로의 translocation이 구아바 발효 에탄올 분획 (GF-EtOH)의 농도 의존적으로 감소하였음 (Fig. 67). 또한, IκB 단백질의 양의 경우 TNF-α와 IFN-γ에 의해 degradation 되어 감소하며 구아바 발효 에탄올 분획 (GF-EtOH)에 의해 회복됨을 확인하였음 (Fig. 68).

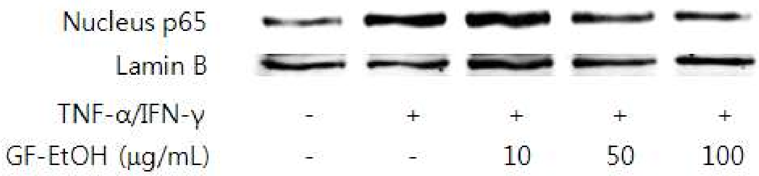


Fig. 67. Effects of GF-EtOH on TNF-α/IFN-γ-co-induced nuclear translocation of NF-κB. Nuclear proteins were extracted after cells were incubated for 15 min in the presence of TNF-α/IFN-γ and GF-EtOH and subjected to Western blot analysis using antibodies against NF-κB p65.

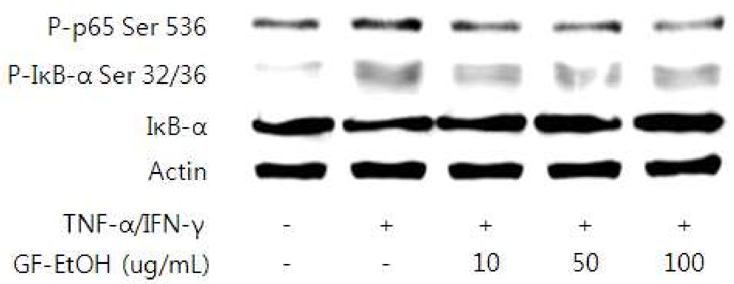


Fig. 68. Effects of GF-EtOH on TNF-α/IFN-ɣ-co-induced phosphorylation of NF-κB. Cells were incubated with TNF-α/IFN-ɣ in the presence of GF-EtOH. After 30 min, the total cell proteins were analyzed by Western blotting using antibodies against IκB-α, phospho-IκB-α, and phospho-p65.

○ 구아바 발효 에탄올 분획의 전사조절인자 NF-κB 조절 여부를 확인하기 위해 NF-κB inhibitor인 JSH-23을 처리하여 아토피 피부염 지표인 TARC 유전자 발현에 대한 영향을 측정하였음. TNF-α와 IFN-ɣ에 의해 증가된 TARC 유전자 발현이 구아바 발효 에탄올 분획 (GF-EtOH)과 JSH-23의 단독과 동시처리에 의해 감소하였음 (Fig. 69).

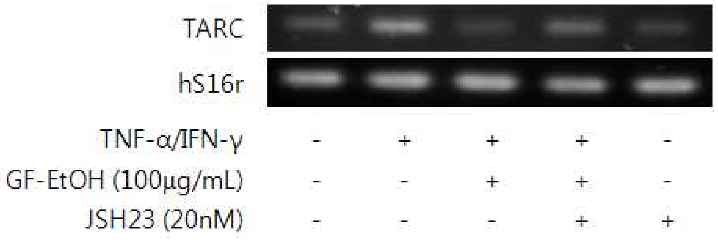


Fig. 69. Effect of JSH-23 on TARC mRNA expression in GF-EtOH and TNF-α/IFN-ɣ -treated cells. Cells were pretreated with JSH-23 and GF-EtOH and then incubated with TNF-α/IFN-ɣ for 24 h. Total RNA was prepared and analyzed for the expression of TARC and S16r using RT-PCR.

○ Signal transducers and activators of transcription 1 (STAT1)은 IFN-ɣ와 같은 사이토카인의 신호전달에 의해 활성화되어 각질세포에서 면역반응을 조절하는 핵심 전사조절인자임 (9). 구아바 발효 에탄올 분획 (GF-EtOH)의 TARC의 생성 및 유전자 발현 억제효능 조절기전을 조사하기 위하여 STAT1에 대한 영향을 조사하였음.

○ TNF-α와 IFN-ɣ에 의해 증가된 STAT1의 Tyr 701 잔기의 인산화가 구아바 발효 에탄올 분획 (GF-EtOH)의 농도 의존적으로 감소하였음 (Fig. 70).

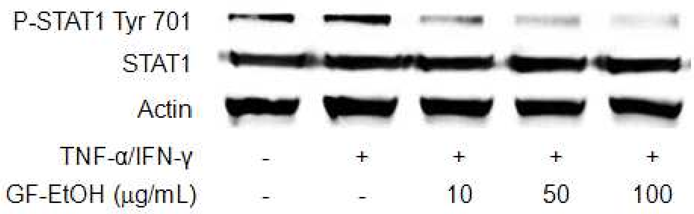


Fig. 70. Effects of GF-EtOH on TNF-α/IFN-ɣ-co-induced phosphorylation of STAT1. Cells were pretreated with GF-EtOH and then incubated with TNF-α/IFN-ɣ for 15 min. The total cell proteins were analyzed by Western blotting using antibodies against STAT1 or phospho-STAT1.

○ 구아바 발효 에탄올 분획의 전사조절인자 STAT1 조절 여부를 확인하기 위해 STAT1 inhibitor인 AG490을 처리하여 아토피 피부염 지표인 TARC 유전자 발현에 대한 영향을 측정하였음. TNF-α와 IFN-ɣ에 의해 증가된 TARC 유전자 발현이 구아바 발효 에탄올 분획 (GF-EtOH)과 AG490의 단독과 동시처리에 의해 감소하였음 (Fig. 71).

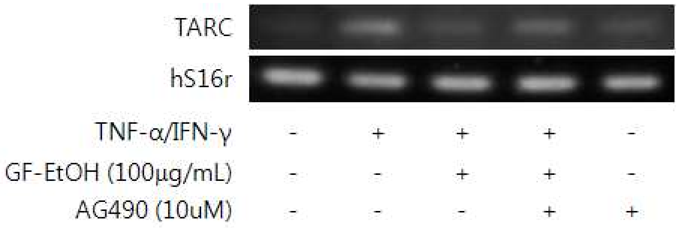


Fig. 71. Effect of AG 490 on TARC mRNA expression in GF-EtOH and TNF-α/IFN-ɣ -treated cells. Cells were pretreated with AG490 (10 μM) and GF-EtOH (100 μg/ml) and then incubated with TNF-α/IFN-ɣ for 24 h. Total RNA was prepared and analyzed for the expression of TARC and S16r using RT-PCR.

2. 구아바 기능성 제품의 *in vivo* 아토피 피부염 억제 활성 조사

○ 일본에서는 hapten 형성 물질인 1-chloro-2,4,6-trinitro benzene (picryl chloride)을 이용하여 피부염을 인위적으로 유도하여 이러한 문제를 해결하고 있으나, picryl chloride의 경우 국내 반입이 금지되어 있으므로, 구조적으로 picryl chloride와 유사하여 같은 기전으로 작용하는 1-chloro 2,4-dinitrobenzene (DNCB)을 이용하여 시험을 진행하였음. DNCB를 이용하여 아토피성 피부염의 주된 증상들 (가려움, IgE증가, 피부염증)을 관찰할 수 있고, 아토피성 피부염의 치료제에 의해 증상이 감소되는 현상을 관찰할 수 있음.

○ 아토피피부염 유도 및 구아바 발효 추출물 처치 방법

Nc/Nga mouse 제모 (제모기 및 제모크림 이용)

↓ 1 day

1% DNCB 처리 (200㎕/dorsal area in acetone : Olive Oil (3:1) 용매

↓ 4 day

0.2% DNCB 처리 (200㎕/dorsal area)

↓ 9 weeks

4주간 구아바 발효 추출물 (50, 100 mg/ml) 도포

↓

피부조직 및 혈청 채취, 조직병리학적인 관찰 (H&E staining)

○ 6주령 NC/Nga 마우스를 중앙실험동물로부터 구입하여 2주간 안정화 단계를 거친 후 실험하였으며, 1% 또는 0.2%의 DNCB는 등과 귀에 도포하여 아토피 피부염을 유발하였음. 그 후 구아바 발효 시료에 대한 억제 효능을 알아보기 위해 구아바 발효 시료를 농도별로 등과 귀에 도포하였음. 실험모식도는 아래와 같음 (Fig. 72).

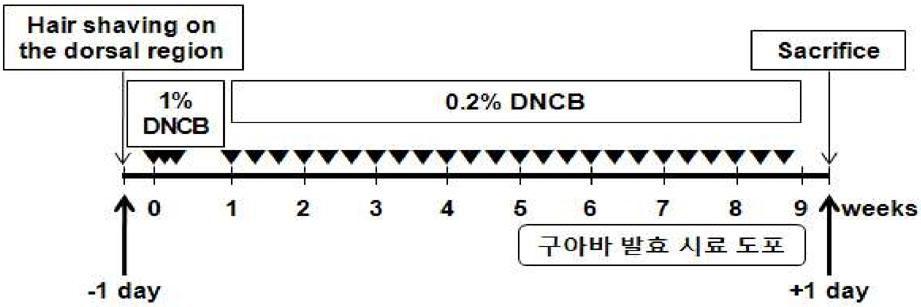


Fig. 72. Schematic diagram of the experimental protocol in mice. Mice were divided into four groups. To induction of atopic dermatitis (AD)-like immunologic and skin disorders, DNCB was applied onto mice skin and ears. After complete removal of dorsal hairs in area, the dorsal skin and ears were challenged with 200 µl of 0.2% DNCB solution 3 times per week for 9 weeks. DNCB was dissolved in a 3 : 1 mixture of acetone and olive oil. As soon as the challenge was completed, GF-EtOH group was treated with lotion containing dose of 50 or 100 mg/ml (6 times per week for 4 weeks). The control and AD-treated groups were treated with lotion without GF-EtOH. Animals were sacrificed on the day of the

experiment (on 64 days after first applying the DNCB) (Figure 4). Blood was collected from the vena cava and the right ear was excised and subjected to histopathological examination. Each group consisted of five mice.

○ 구아바 발효 시료의 화장수 제조: 구아바 발효 시료 도포용 제형은 화장수로 개발이 적당한 것으로 사료되어, 아래와 같이 제조하였음.

원료	단위 (중량 %)
구아바 발효시료	50, 100 mg/mL
폴리에틸렌글리콜(400)	40
에탄올	30
정제수	잔량
합계	100

가. 아토피 동물 모델인 NC/Nga 마우스에서의 홍반, 출혈, 건조 등의 dermatitis scoring 결과 수집

○ 아토피 피부염 동물모델에서 구아바 발효 시료에 의한 아토피 피부염 억제 효과를 측정하기 위해 마우스에서의 표피 두께, 진피 두께, 염증성 세포의 침윤 등의 결과를 측정하였음.

○ DNCB에 의한 아토피 피부염 유발에 의해 NC/Nga 마우스의 체중이 감소하였으며, 구아바 발효 시료 처리에 의해 마우스의 체중이 회복하였음 (Fig. 73). 또한 DNCB에 의해 증가된 귀의 두께는 구아바 발효 시료 처리에 의해 감소하였음 (Fig. 74).

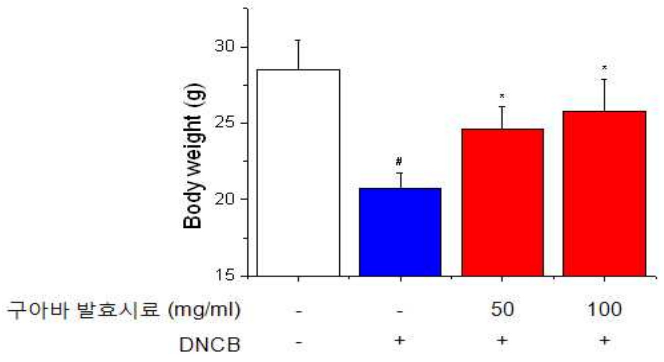


Fig. 73. Effect of GF-EtOH on DNCB-induced body weight of Nc/Nga mice. The DNCB-induced body weight was measured by weighting balance. Each value represents the mean ± SD of five mice. $^{\#}p < 0.05$, compared to the control group; $*p < 0.05$, compared to the DNCB-treated group.

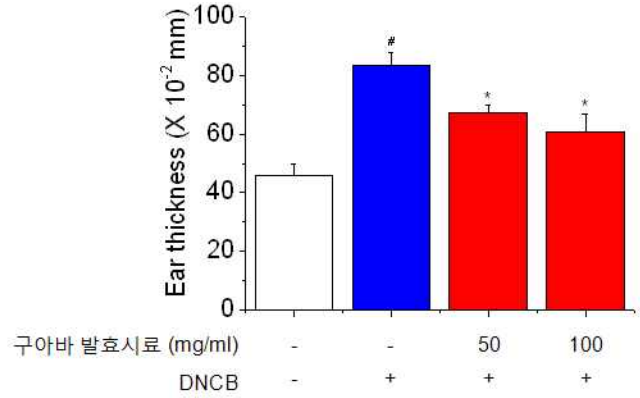


Fig. 74. Effect of GF-EtOH on DNCB-induced ear thickness of Nc/Nga mice. Ear thickness was measured every time before GF-EtOH treatment. Each value represents the mean ± SD of five mice. $^{\#}p < 0.05$, compared to the control group; $*p < 0.05$, compared to the DNCB-treated group.

나. 마우스 혈청에서의 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사

○ 아토피 피부염 유발로 증가된 IgE양을 NC/Nga 마우스의 혈청을 분리하여 측정한 결과, DNCB에 의해 증가된 IgE 양이 구아바 발효 시료에 의해 농도 의존적으로 감소하였음 (Fig. 75).

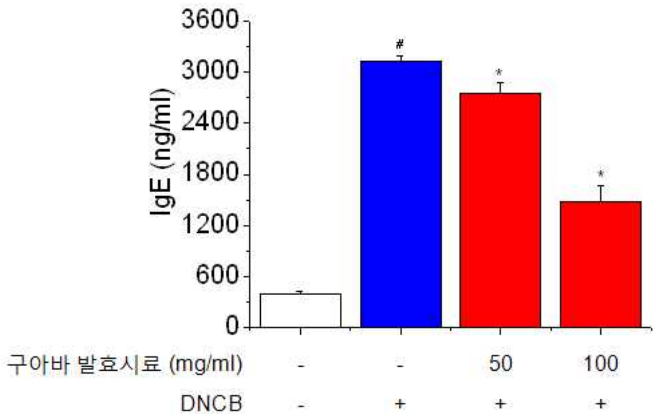


Fig. 75. Effects of GF-EtOH on DNCB-induced serum IgE level in NC/Nga mice. The serum level of IgE was determined using mouse IgE specific ELISA kit. Each value represents the mean ± SD of five mice. $^{\#}p < 0.05$, compared to the control group; $*p < 0.05$, compared to the DNCB-treated group.

○ 아토피 피부염 유발에 의해 변화되는 IL-10 생성량을 NC/Nga 마우스 혈청에서 확인한 결과, DNCB에 의해 감소된 IL-10 생성량에 대해 구아바 발효 시료는 영향이 없었음 (Fig. 76).

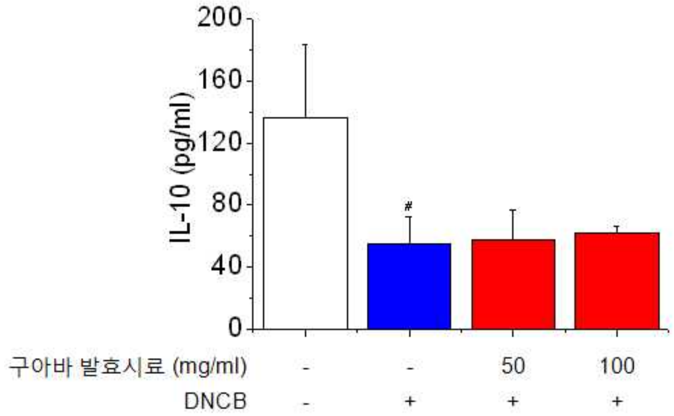


Fig. 76. Effects of GF-EtOH on DNCB-induced serum IL-10 level in NC/Nga mice. The serum level of IL-10 was determined using mouse IL-10 specific ELISA kit. Each value represents the mean ± SD of five mice. #p < 0.05, compared to the control group; *p < 0.05, compared to the DNCB-treated group.

○ 아토피 피부염 유발로 증가된 IgE 생성량을 마우스의 혈청에서 측정한 결과, DNCB에 의해 증가된 IgE 생성량이 구아바 발효 시료 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었음 (Fig. 77).

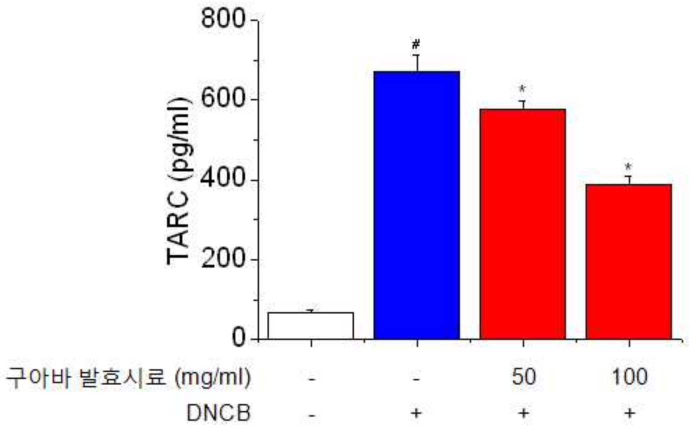


Fig. 77. Effects of GF-EtOH on DNCB-induced serum TARC level in NC/Nga mice. The serum level of TARC was determined using mouse TARC specific ELISA kit. Each value represents the mean ± SD of five mice. #p < 0.05, compared to the control group; *p < 0.05, compared to the DNCB-treated group.

○ 아토피 피부염과 같은 면역반응의 유발에 의해 IL-4와 TNF-α 유전자 발현에 변화를 확인하기 위해 마우스 귀 조직에서 cDNA를 얻어 이를 확인하였음. DNCB 투여에 의한 IL-4와 TNF-α 유전자 발현이 구아바 발효 시료에 의해 감소하였음 (Fig. 78).

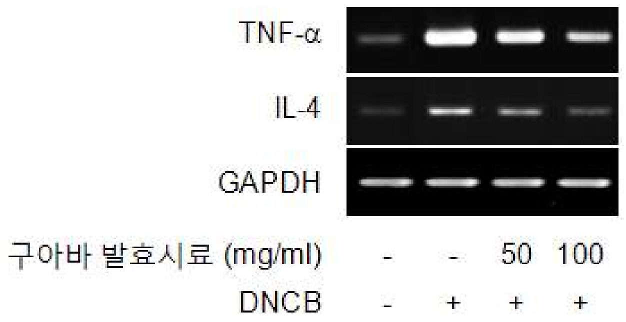


Fig. 78. Effect of GF-EtOH on DNCB-induced TNF-α and IL-4 mRNA expression in NC/Nga mice. Total RNA was prepared and analyzed for the expression of TNF-α, IL-4 and GAPDH mRNA by RT - PCR. Results shown are representatives of five observations.

다. Hematoxylin & eosin 염색 후 조직병리학적 방법을 이용하여 아토피 피부염 억제 여부 측정

○ 아토피 피부염이 유발되었을 때 마우스 피부 조직의 변화를 관찰하기 위하여 마우스 귀를 hematoxylin과 eosin으로 염색하여 확인한 결과 DNCB에 의해 증가된 피부 조직 (위부터 각질, 표피, 진피, 연골 층)과 진피층에서 염증세포의 침윤이 구아바 발효 시료 농도 의존적으로 피부조직의 두께와 진피층의 염증세포의 침윤이 감소하였음 (Fig. 79).

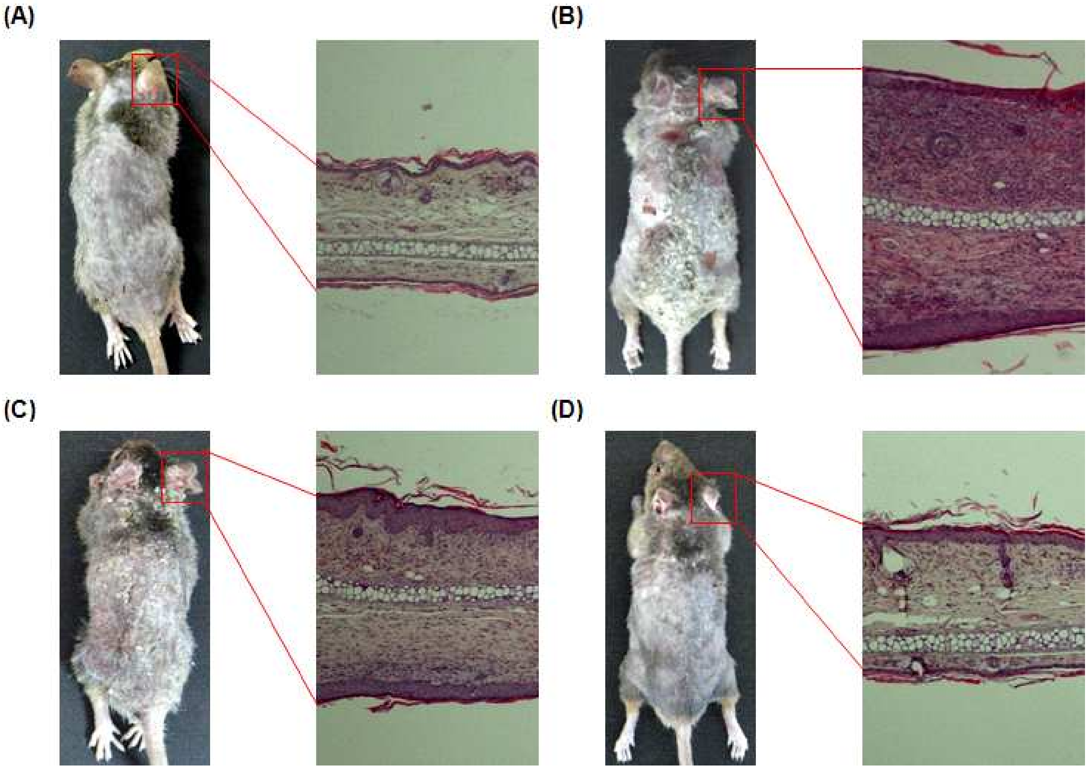


Fig. 79. Histopathological analysis. The ears of control, DNCB, DNCB plus GF-EtOH (50 and 100 mg/mL)-treated NC/Nga mice were excised, fixed with 10% formaldehyde, embedded in paraffin and thin sections were made. The skin sections were stained with hematoxylin and eosin.

제 9 절 항아토피·항알러지·항염증 개선 미용품, 식·의약품 및 첨가물 소재의 제품화 기술개발

1. 항아토피 미용품의 제품화 기술개발

가. 항아토피 개선활성을 가지는 구아바 잎의 추출 및 농축

구아바 잎을 40℃~50℃에서 열풍건조하여 수분함량이 10% 이하가 되게 하여 시료를 적당한 크기로 절단한 다음 물을 시료대비 5배 가한 후, 80℃에서 5시간 환류 추출하였다. 이 추출액을 여과한 후 60℃에서 감압농축을 행하여 최종농도를 40 Brix로 조절하여 사용하였다.

나. 항아토피 소재의 선정 및 추출·농축

국내외 연구논문, 보고서 및 특허 등 1,450여 종의 자료를 검색하여 아토피 질환에 효능이 우수하면서 독성이 적고, 상품화에 적용이 용이한 소재 5종을 최종 선정하였다.
이들 소재들은 식용(자초, 어성초, 녹차) 또는 의약품(유근피, 황련) 용도로 사용 중에 있으면서 아토피 개선 효과가 우수한 것으로 보고되었으며, 특히 국내에서 저렴하고 쉽게 구입할 수 있어 대량생산 시 부재료로 활용이 용이한 것이 특징이다.
또한, 구아바 잎 및 한방 생약재 5종은 화학구조 분석, 폴리페놀 화합물 함량, 항산화 활성 측정을 위한 생리활성물질의 분리는 유기용매 등에서 추출이 용이하나 화장품 소재로 사용할 경우 안전성의 문제를 야기시킬 수 있으므로 추출수율은 낮으나 안정성과 추출설비 및 제조단가 등에 장점이 많은 열수를 이용하여 Fig. 80과 같이 추출하였다.

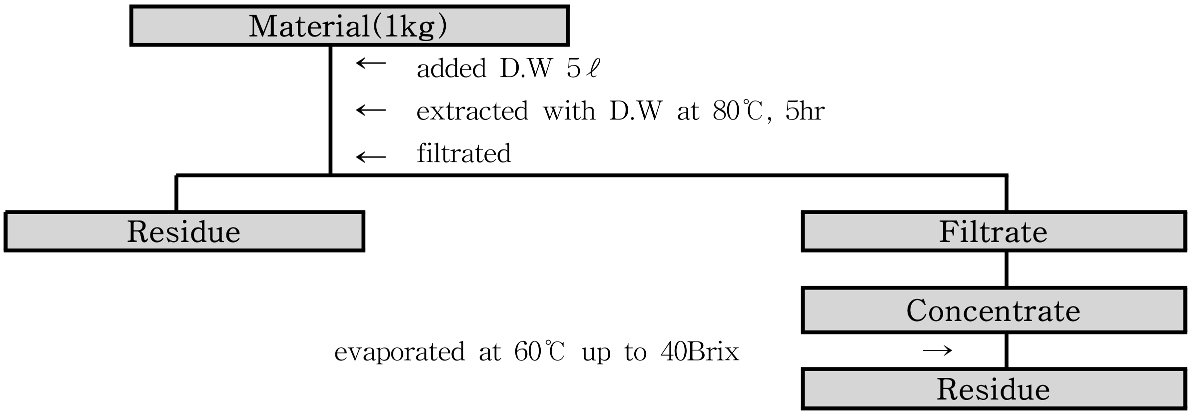


Fig. 80. Procedure for preparing of concentrate from traditional herb.

(1) 최종 선정된 한방 생약재 5종의 일반적 특징

<table>
<tr><th></th><th colspan="2">생약재 명</th><th>기능성</th></tr>
<tr><td>1</td><td>유근피</td><td> </td><td>- 치습(부종, 수종에 효과), 피부소독 작용
- 해독 작용(종기, 버짐 등 피부질환)
- 이뇨작용, 위장질환에 효과
- 종창이나 종기 치료에 효과</td></tr>
<tr><td>2</td><td>황련</td><td> </td><td>- 강심 작용, 항균 작용, 진정 작용, 항염 작용
- 진통 작용, 해열 작용
- 살균 작용(피부사상균, 흰색 칸디다균)
- 충혈 및 염증에 사용(장염, 폐결핵, 급성결막염 등의 치료)</td></tr>
<tr><td>3</td><td>자초</td><td> </td><td>- 혈액순환촉진 작용, 해독 작용, 항균 및 항염 작용
- 염증성 알러지 반응 저해</td></tr>
<tr><td>4</td><td>어성초</td><td> </td><td>- 항균 작용, 항바이러스 작용, 이뇨 작용
- 체중조절 작용, 체내독소 제거작용, 항염 작용
- 혈액정화 작용, 해독 작용</td></tr>
<tr><td>5</td><td>녹차</td><td> </td><td>- 항산화 및 항염 효과, 항암 효과
- 항균 및 살균 작용, 이뇨 작용,
- 피부탄력강화 작용, 모공수축 및 피부노화 예방
- 미백 및 보습 작용
- 동맥경화 및 고혈압 예방</td></tr>
</table>

다. 최종 선정된 항아토피 개선 소재(한방 생약재)의 추출 및 농축

(1) 한방 생약재 5종의 추출

(가) 유근피의 추출 및 농축

추 출 방 법	
추 출 조 건	80℃, 5시간
g	1kg
mℓ	5000mℓ
추 출 결 과	
mℓ	2850mℓ
Brix	23.4
pH	5.27
수율	6.66
농 축 조 건 및 결 과	
농 축 조 건	60℃, 감압농축
mℓ	975mℓ
Brix	40
pH	5.27

→

(나) 황련의 추출 및 농축

추 출 방 법	
추 출 조 건	80℃, 5시간
g	1kg
mℓ	5000mℓ
추 출 결 과	
mℓ	3500mℓ
Brix	20.2
pH	5.61
수율	12.8
농 축 조 건 및 결 과	
농 축 조 건	60℃, 감압농축
mℓ	797mℓ
Brix	40
pH	5.61

→

(다) 자초의 추출 및 농축

추 출 방 법	
추 출 조 건	80℃, 5시간
g	1kg
mℓ	5000mℓ
추 출 결 과	
mℓ	3100mℓ
Brix	24.5
pH	5.47
수율	12.6
농 축 조 건 및 결 과	
농 축 조 건	60℃, 감압농축
mℓ	1030mℓ
Brix	40
pH	5.47

→

(라) 어성초의 추출 및 농축

추 출 방 법	
추 출 조 건	80℃, 5시간
g	1kg
mℓ	5000mℓ
추 출 결 과	
mℓ	2550mℓ
Brix	20.4
pH	4.77
수율	8.67
농 축 조 건 및 결 과	
농 축 조 건	60℃, 감압농축
mℓ	780mℓ
Brix	40
pH	4.77

→

(마) 차의 추출 및 농축

추 출 방 법	
추 출 조 건	80℃, 5시간
g	1kg
㎖	5000㎖
추 출 결 과	
㎖	2700㎖
Brix	22.9
pH	5.60
수율	10.3
농 축 조 건 및 결 과	
농 축 조 건	60℃, 감압농축
㎖	876㎖
Brix	40
pH	5.60

→

라. 항아토피 개선활성을 가지는 구아바 잎 복합조성물의 조제 및 특성

구아바 잎 열수농축물을 주원료로 하여 5종의 한방 생약재가 첨가된 복합조성물의 비율과 기준·규격은 Table 21과 22와 같다.

Table 21. 항아토피 개선 구아바 잎 복합조성물

성 분	농도(Brix)	비율(%)
구아바잎 열수농축물	40	70
자초 열수농축물	40	10
어성초 열수농축물	40	5
녹차 열수농축물	40	5
유근피 열수농축물	40	5
황련 열수농축물	40	5

Table 22. 항아토피 구아바 잎 복합조성물의 기준·규격

항 목	규 격	기 준
성상	갈색의 농축액	식품공전 제10.일반시험법 19.성상시험법(관능시험법)
고형분	20%±2%	식품공전 제10.일반시험법 1.일반성분시험법 1)수분에 따라 시험하고 100에서 수분(%)을 감하여 고형분으로 함
세균수	1g 당 100이하	제10.일반시험법 8.미생물시험법 2)세균수(일반세균수)
대장균군	음성	제10.일반시험법 8.미생물시험법 5)대장균군에 따라 시험
납	0.3ppm 이하	제10.일반시험법 6.유해성금속시험법 1)시험용액의 조제 2)측정 (2)ICP
카드뮴	0.1ppm 이하	제10.일반시험법 6.유해성금속시험법 1)시험용액의 조제 2)측정 (2)ICP

마. 제품별 개발 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 구축

(1) 아토피 개선 크림 개발

상	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	정제수	00	Solvent
	Disodium EDTA	00	Preservative
	Glycerine	00	Humectant
	Allantoin	00	Skin Conditioning Agent
	Butylene Glycol	00	Emulsion stabilizer
	Betaine	00	Viscosity Agent
	Carbomer	00	Viscosity Agent
B	Bees wax	00	Bulking Agent
	Cyclomethicone	00	Skin Conditioning Agent
	Camellia Oleifera seed oil	00	Skin Conditioning Agent
	Almond Oil	00	Skin Conditioning Agent
	Stearic acid	00	Surfactant Cleansing Agent
	Polysorbate 60	00	Thickener
	Stearyl Alcohol	00	Emulsion stabilizer
	Shea Butter	00	Skin Conditioning Agent
	Squalane	00	Skin Conditioning Agent
	Jojoba Oil	00	Skin Conditioning Agent
	Tocopheryl Acetate	00	Skin Conditioning Agent
	Glyceryl Stearate and PEG-100 Stearate	00	Emulsifying Agent
	Lecithin	00	Skin Conditioning Agent
	Microcrystalline wax	00	Bulking Agent
C	Triethanolamine	00	Bulking Agent
D	Hyaluronic acid	00	Skin Conditioning Agent
	구아바잎 복합조성물	00	Skin Conditioning Agent
	Portulaca Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Calendula Extract	00	Skin Conditioning Agent
	차가버섯추출물	00	Skin Conditioning Agent
	당밀발효액	00	Skin Conditioning Agent
E	Methyl Paraben	00	Preservative
	Phenoxyethanol	00	Preservative

[제조방법]

1. A상의 성분을 가마에 투입하고 70℃로 가온하여 용해한다.
2. B상의 원료를 보조가마에서 용해하여 A상에 투입하여 유화한다.
3. C상의 원료를 A상에 투입한다.
4. D, E상을 순차적으로 투입하여 교반 혼합하고, 30℃까지 냉각하여 여과하여 배출한다.
(150메쉬 여과포 사용)

(2) 아토피 개선 바디로션 개발

상	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	정제수	00	Solvent
	Disodium EDTA	00	Preservative
	Glycerine	00	Humectant
	Allantoin	00	Skin Conditioning Agent
	Butylene Glycol	00	Emulsion stabilizer
	Betaine	00	Viscosity Agent
	Carbomer	00	Viscosity Agent
B	Bees wax	00	Bulking Agent
	Dimethicone	00	Skin Conditioning Agent
	Camellia Oleifera seed oil	00	Skin Conditioning Agent
	Jojoba oil	00	Skin Conditioning Agent
	Isopropyl Myristate	00	Surfactant Cleansing Agent
	Polysorbate 60	00	Thickener
	Cetyl Alcohol	00	Emulsion stabilizer
	Shea Butter	00	Skin Conditioning Agent
	Squalane	00	Skin Conditioning Agent
	Tocopheryl Acetate	00	Skin Conditioning Agent
	Glyceryl Stearate and PEG-100 Stearate	00	Emulsifying Agent
C	Triethanolamine	00	Emulsifying Agent
D	Hyaluronic acid	00	Skin Conditioning Agent
	구아바잎 복합조성물	00	Skin Conditioning Agent
	Portulaca Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Calendula Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Aloe Extract	00	Skin Conditioning Agent
	당밀발효액	00	Skin Conditioning Agent
E	Methyl Paraben	00	Preservative
	Phenoxyethanol	00	Preservative

[제조방법]

1. A상의 성분을 가마에 투입하고 70℃로 가온하여 용해한다.
2. B상의 원료를 보조가마에서 용해하여 A상에 투입하여 유화한다.
3. C상의 원료를 A상에 투입한다.
4. D, E상을 순차적으로 투입하여 교반 혼합하고, 30℃까지 냉각하여 여과하여 배출한다. (150메쉬 여과포 사용)

(3) 아토피 개선 폼클렌징 개발

상	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	정제수	00	Solvent
	Disodium EDTA	00	Preservative
	Butyl Hydroxy Toluene	00	Emulsion stabilizer
	Glycerine	00	Humectant
	Allantoin	00	Skin Conditioning Agent
	Butylene Glycol	00	Emulsion stabilizer
	Cocamidopropyl Betaine	00	Viscosity Agent
	Betaine	00	Viscosity Agent
B	Lauric Acid	00	Surfactant Cleansing Agent
	Myristic acid	00	Surfactant Cleansing Agent
	Stearic acid	00	Surfactant Cleansing Agent
	Isostearic acid	00	Surfactant Cleansing Agent
C	Potassium Hydroxide	00	pH Adjuster
D	Lauramide DEA	00	Surfactant Cleansing Agent
	Acyl Glutamate	00	Surfactant Cleansing Agent
E	Olive Oil	00	Skin Conditioning Agent
	Tocopheryl Acetate	00	Skin Conditioning Agent
	Shea Butter	00	Skin Conditioning Agent
F	구아바잎 복합조성물	00	Skin Conditioning Agent
	Portulaca Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Calendula Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Beta-Glucan	00	Skin Conditioning Agent
	당밀발효액	00	Skin Conditioning Agent
G	Methyl Paraben	00	Preservative
	Phenoxyethanol	00	Preservative
H	조합향료	00	Fragrance

[제조방법]
1. A상의 성분을 가마에 투입하고 70℃로 가온하여 용해한다.
2. B상의 원료를 보조가마에서 용해하여 A상에 투입한다.
3. C상의 원료를 소량의 정제수에 용해하여 A상에 투입하여 검화한다.
4. D, E, F, G, H 상을 투입하여 교반 혼합하고, 30℃에 배출한다.

(4) 아토피 개선 바디클렌저 개발

상	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	정제수	00	Solvent
	Disodium EDTA	00	Preservative
	Glycerine	00	Humectant
	Allantoin	00	Skin Conditioning Agent
	Sodium Laureth Sulfate,EO 3moles	00	Surfactant Cleansing Agent
	Disodium Laureth Sulfosuccinate	00	Surfactant Cleansing Agent
	Disodium Cocoamphodiacetate	00	Surfactant Cleansing Agent
	Lauric acid	00	Surfactant Cleansing Agent
	Myristic acid	00	Surfactant Cleansing Agent
	Cocamidopropyl Betaine	00	Viscosity Agent
	PEG-7 Glycerylcocoate	00	Emulsifying Agent
B	Cocamide DEA	00	Surfactant Cleansing Agent
	Shea Butter	00	Surfactant Cleansing Agent
	Olive Oil	00	Skin Conditioning Agent
C	Potassium Hydroxide(85%)	00	pH Adjuster
D	구아바잎 복합조성물	00	Skin Conditioning Agent
	Portulaca Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Calendula Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Beta-Glucan	00	Skin Conditioning Agent
	당밀발효액	00	Skin Conditioning Agent
E	Methyl paraben	00	Preservative
	Phenoxyethanol	00	Preservative
	조합향료	00	Fragrance

[제조방법]

1. A상의 성분을 가마에 투입하고 70℃로 가온하여 용해한다.
2. B상의 원료를 보조가마에서 용해하여 A상에 투입한다.
3. C상의 원료를 소량의 정제수에 용해하여 A상에 투입한다.
4. D, E상을 순차적으로 투입하여 교반 혼합하고, 30℃까지 냉각하여 여과하여 배출한다.
   (150메쉬 여과포 사용)

(5) 아토피 개선 바블바스 개발

상	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	정제수	00	Solvent
	Disodium EDTA	00	Preservative
	Glycerine	00	Humectant
	Allantoin	00	Skin Conditioning Agent
	Sodium Laureth Sulfate,EO 3moles	00	Surfactant Cleansing Agent
	Disodium Laureth Sulfosuccinate	00	Surfactant Cleansing Agent
	Disodium Cocoamphodiacetate	00	Surfactant Cleansing Agent
	Butylene Glycol	00	Emulsion stabilizer
	Ethylene Glycol Distearate	00	Surfactant Cleansing Agent
	Acyl Glutamate	00	Surfactant Cleansing Agent
B	Cocamide DEA	00	Surfactant Cleansing Agent
	Shea Butter	00	Surfactant Cleansing Agent
	Olive Oil	00	Skin Conditioning Agent
C	Citric acid	00	pH Adjuster
	Sodium Citrate	00	pH Adjuster
D	구아바잎 복합조성물	00	Skin Conditioning Agent
	Portulaca Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Calendula Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Beta-Glucan	00	Skin Conditioning Agent
	당밀발효액	00	Skin Conditioning Agent
E	Methyl paraben	00	Preservative
	Phenoxyethanol	00	Preservative
	조합향료	00	Fragrance

[제조방법]
1. A상의 성분을 가마에 투입하고 70℃로 가온하여 용해한다.
2. B상의 원료를 보조가마에서 용해하여 A상에 투입한다.
3. C상의 원료를 소량의 정제수에 용해하여 A상에 투입한다.
4. D, E상을 순차적으로 투입하여 교반 혼합하고, 30℃까지 냉각하여 여과하여 배출한다.
(150메쉬 여과포 사용)

(6) 아토피 개선 샴푸 개발

상	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	정제수	00	Solvent
	Disodium EDTA	00	Preservative
	Glycerine	00	Humectant
	Allantoin	00	Skin Conditioning Agent
	Sodium Laureth Sulfate,EO 3moles	00	Surfactant Cleansing Agent
	Ammonium Lauryl Sulfate	00	Surfactant Cleansing Agent
	Disodium Cocoamphodiacetate	00	Surfactant Cleansing Agent
	Polyquaternium-10	00	Emulsifying Agent
	Polyquaternium-7	00	Emulsifying Agent
	Sodium Coco PG-Dimonium Chloride Phosphorus	00	Emulsifying Agent
	Propylene Glycol	00	Humectant
	Ethylene Glycol Stearate	00	Humectant
	Alkyl Polyglucoside	00	Humectant
B	Cocamide DEA	00	Surfactant Cleansing Agent
	Dimethicone	00	Surfactant Cleansing Agent
	Silicone Emulsion	00	Surfactant Cleansing Agent
C	Citric acid	00	pH Adjuster
	Sodium Citrate	00	pH Adjuster
D	구아바잎 복합조성물	00	Skin Conditioning Agent
	Portulaca Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Calendula Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Aloe Extract	00	Skin Conditioning Agent
	당밀발효액	00	Skin Conditioning Agent
E	Methylchloroisothiazolinone /Methylisothiazolinone	00	Preservative
	Hydrolyzed Keratin	00	Preservative
	조합향료	00	Fragrance

[제조방법]
1. A상의 성분을 가마에 투입하고 70℃로 가온하여 용해한다.
2. B상의 원료를 보조가마에서 용해하여 A상에 투입한다.
3. C상의 원료를 소량의 정제수에 용해하여 A상에 투입한다
4. D, E상을 순차적으로 투입하여 교반 혼합하고, 30℃까지 냉각하여 여과하여 배출한다.
(150메쉬 여과포 사용)

(7) 아토피 개선 린스 개발

상	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	정제수	00	Solvent
	Disodium EDTA	00	Preservative
	Glycerine	00	Humectant
	Allantoin	00	Skin Conditioning Agent
	Butylene Glycol	00	Surfactant Cleansing Agent
	Cetrimonium Chloride	00	Surfactant Cleansing Agent
	Behentrimonium Chloride	00	Surfactant Cleansing Agent
	Polyquaternium-10	00	Emulsifying Agent
	Hydroxyethyl Cellulose	00	Emulsifying Agent
B	Camellia Oleifera seed oil	00	Skin Conditioning Agent
	Jojoba oil	00	Skin Conditioning Agent
	Isopropyl Myristate	00	Surfactant Cleansing Agent
	Stearyl Alcohol	00	Thickener
	Cetyl Alcohol	00	Emulsion stabilizer
	Shea Butter	00	Skin Conditioning Agent
	Squalane	00	Skin Conditioning Agent
	Tocopheryl Acetate	00	Skin Conditioning Agent
	Glyceryl Stearate and PEG-100 Stearate	00	Emulsifying Agent
C	Citric acid	00	pH Adjuster
	Sodium Citrate	00	pH Adjuster
D	구아바잎 복합조성물	00	Skin Conditioning Agent
	Portulaca Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Calendula Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Aloe Extract	00	Skin Conditioning Agent
	당밀발효액	00	Skin Conditioning Agent
E	Methylchloroisothiazolinone /Methylisothiazolinone	00	Preservative
	Hydrolyzed Keratin	00	Preservative
	Silicone Emulsion	00	Fragrance

[제조방법]

1. A상의 성분을 가마에 투입하고 70℃로 가온하여 용해한다.
2. B상의 원료를 보조가마에서 용해하여 A상에 투입하여 유화한다.
3. C상의 원료를 소량의 정제수에 용해하여 A상에 투입한다.
4. D, E상을 순차적으로 투입하여 교반 혼합하고, 30℃까지 냉각하여 여과하여 배출한다.
   (150메쉬 여과포 사용)

(8) 아토피 개선 비누 개발

상	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	정제수	00	Solvent
	Disodium EDTA	00	Preservative
	Sodium Metabisulfite	00	Humectant
	Allantoin	00	Skin Conditioning Agent
	ButylHydroxy Toluene	00	Humectant
	Betaine	00	Humectant
B	Lauric Acid	00	Surfactant Cleansing Agent
	Myristic acid	00	Surfactant Cleansing Agent
	Stearic acid	00	Surfactant Cleansing Agent
C	정제수	00	Solvent
	Potassium Hydroxide	00	pH Adjuster
D	Triethanolamine	00	pH Adjuster
E	Olive Oil	00	Skin Conditioning Agent
	Glycerine	00	Humectant
	Shea Butter	00	Skin Conditioning Agent
F	구아바잎 복합조성물	00	Skin Conditioning Agent
	Portulaca Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Calendula Extract	00	Skin Conditioning Agent
	Beta-Glucan	00	Skin Conditioning Agent
	당밀발효액	00	Skin Conditioning Agent
G	Octylmethoxycinnamate	00	Viscosity Agent
H	Cocamide MEA	00	Viscosity Agent

[제조방법]

1. A상의 성분을 가마에 투입하고 70℃로 가온하여 용해한다.
2. B상의 원료를 보조가마에서 용해하여 A상에 투입한다.
3. C상의 원료를 용해하여 A상에 투입하고, D상을 투입하여 검화한다.
4. E, F, G, H 상을 투입하여 교반 혼합하고, 55 - 60℃에 몰드에 부어 형태를 만든다.

2. 항알러지·항염증용 기능성식품의 제품화 기술개발

가. 항알러지, 항염증 요구르트의 개발

(1) 항알러지, 항염증 요구르트의 배합비율

요구르트 제조에 적합한 구아바 잎 열수 추출물의 제형을 선정하기 위하여 제품의 맛, 기호도, 배합비 등 예비실험을 실시한 후 호상 요구르트의 제조특성을 최종 비교하여 고형분 함량 25brix의 구아바 잎 열수 농축액으로 최종 선정하였다. 요구르트에 사용되는 기능성 복합소재는 건강기능식품공전 및 식품공전의 제조기준에 준하여 제조 적합성 여부를 확인하였다. 또한 시판 중인 기존 호상 요구르트에서 보편적으로 사용되는 복합소재의 종류를 분석한 결과 호상 요구르트의 조제 특성에 용이하고 구아바의 영양 및 기능성을 최대로 유지 할 수 있는 부원료로서 기능성 당으로 보고된 말티톨과 천연 당인 꿀을 사용하였으며 구아바 열수 농축액의 첨가 비율을 달리하여 제조한 요구르트의 품질을 평가하기 위하여 예비실험에 의한 관능평가 결과를 토대로 Table 23과 같이 전체 함량 300g을 기준으로 각각의 배합비율에 따라 5개의 sample을 제조하였다.

Table 23. 항알러지, 항염증 요구르트의 배합비율

Ingredients	Sample(g)				
	0%	1%	1.5%	2.0%	2.5%
Plain yogurt	270	267	265.5	264	262.5
Guava leaves concentrated extracts(25brix)	0	3	4.5	6	7.5
Maltitol	25	25	25	25	25
Honey	5	5	5	5	5

(2) 항알러지, 항염증 요구르트의 제조

항알러지, 항염증 요구르트 제조방법을 확립하기 위해 우유를 90℃에서 10분간 열처리하여 살균과정을 거친 후 40℃~ 43℃의 배양온도까지 냉각시킨 다음 우유와 발효유를 10 : 1 비율로 균일하게 혼합하고 배양온도 43℃, 3hour 조건에서 발효시켜 원료로 사용되는 플레인 요구르트를 제조하였다. 플레인 요구르트에 구아바잎 농축액의 쓴맛을 보완하기 위해 선정된 말티톨, 꿀 등의 첨가 비율을 Table 23에 따라 배합하고 균질처리(150rpm) 후 5~10℃에서 냉각시켜 포장 한 다음 5℃ 냉장 저장을 실시하였다. 상기의 제조방법에 따라 완성된 제품들은 각각 관능평가, 영양평가, 품질평가를 실시하고 전체적인 기호도 측면에서 가장 높게 평가된 제품을 최종 선정하여 항알러지, 항염증 요구르트 개발 매뉴얼 및 포뮬러를 구축하였다(Fig. 81).

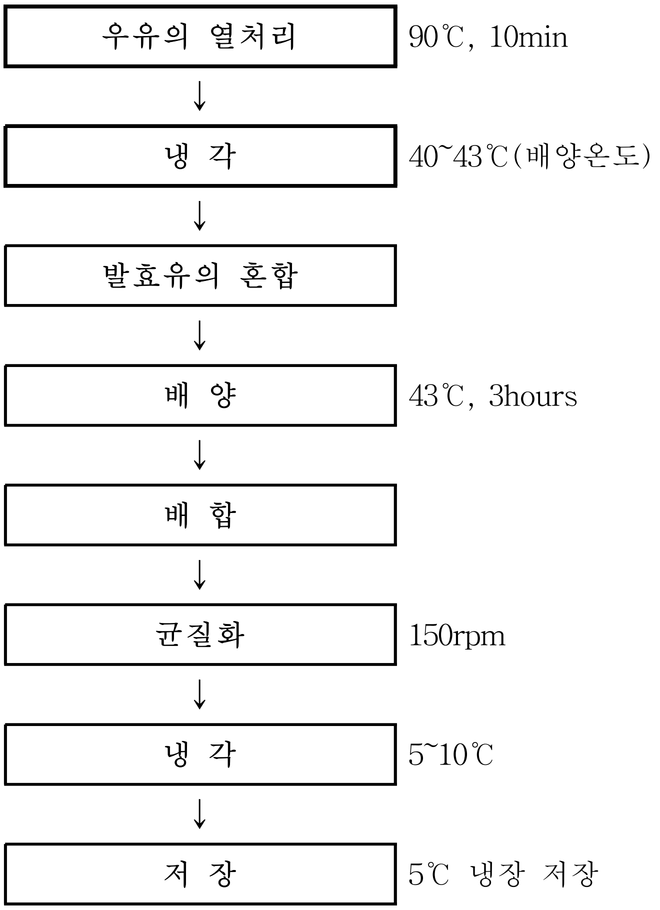


Fig. 81. 항알러지, 항염증 요구르트의 제조공정.

(3) 항알러지, 항염증 요구르트의 최종 매뉴얼 및 포뮬러 확립

상기의 실험결과에 따라 최종적으로 제조된 5개의 sample에 대한 관능평가, 기호도 평가, 품질평가를 실시한 결과 구아바 잎 열수 농축액 1.5%가 함유된 요구르트의 배합비가 가장 우수한 것으로 나타나 항알러지, 항염증 요구르트의 최종 배합비로 선정하였다(Table 24).

Table 24. 항알러지, 항염증 요구르트의 최종 포뮬러

Ingredients	Contents(%)	Function
Plain yogurt	88.5	Main ingredient
Guava leaves concentrated extracts(25brix)	1.5	Antiatiopic agent
Maltitol	8.3	Functional sugar
Honey	1.7	Sweet flavor

(4) 항알러지, 항염증 요구르트 개발 시제품

나. 항알러지, 항염증 아이스크림의 개발

(1) 항알러지, 항염증 아이스크림의 배합비율

구아바 잎을 활용한 항알러지, 항염증 아이스크림의 배합비율을 확립하고 아이스크림 제조에 적합한 제형으로 사용하기 위해 40℃ 이상에서 건조되어 함수율 10% 미만의 구아바 잎을 분쇄하여 사용하였다. 또한 소프트아이스크림 믹스 파우더 제조에 사용되는 기능성 복합소재를 선정하기 위해 식품공전 및 NDSL의 특허검색과 현재 시판 중인 제품에 대한 시장조사를 실시하였다. 항알러지, 항염증 아이스크림의 품질을 평가하기 위해 구아바 잎 건조 분말 첨가 비율을 달리하여 제조하였으며 관능평가 결과에 따라 Table 25와 같이 전체 함량 200g을 기준으로 각각의 배합비로 5개의 sample을 제조하였다.

Table 25. 항알러지, 항염증 아이스크림의 배합비율

Ingredients		Samples(g)				
		0%	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%
Mix ice cream base powder	Non fat milk powder	11	11	11	11	11
	Whole milk powder	6	6	6	6	6
	Fresh cream	8	8	8	8	8
	Sorbitol	11	11	11	11	11
	Refined sugar	22	22	22	22	22
	Carrageenan	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
	Refined salt	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
	Guar gum	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
	Mono glyceride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
	Vanilla flavor	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Guava leaves powder		0	1	2	3	4
Water		140.86	139.86	138.86	137.86	136.86

(2) 항알러지, 항염증 아이스크림의 제조

항알러지, 항염증 아이스크림의 제조방법을 확립하기 위해 현재 가장 많이 통용되는 아이스크림 믹스 제조법에 따라 혼합 아이스크림 베이스 파우더, 구아바 잎 건조분말, 정제수를 각각 배합하고 살균기에서 80℃로 10초 동안 살균한 다음 균질화 하였으며 살균처리가 끝난 아이스크림 혼합물은 5℃ 이하로 냉각한 후 24시간 숙성시켜 아이스크림 믹스를 제조하였다. 상기와 같이 제조된 아이스크림 믹스를 -4℃로 동결하여 소프트 아이스크림형의 항알러지, 항염증 아이스크림을 제조하였다. 상기의 제조방법에 따라 완성된 제품들은 각각 관능평가, 영양평가, 품질평가를 실시하였으며 기호도적인 측면에서 가장 우수한 제품을 최종 선정하여 항알러지, 항염증 아이스크림 개발 매뉴얼 및 포뮬러를 구축하였다.

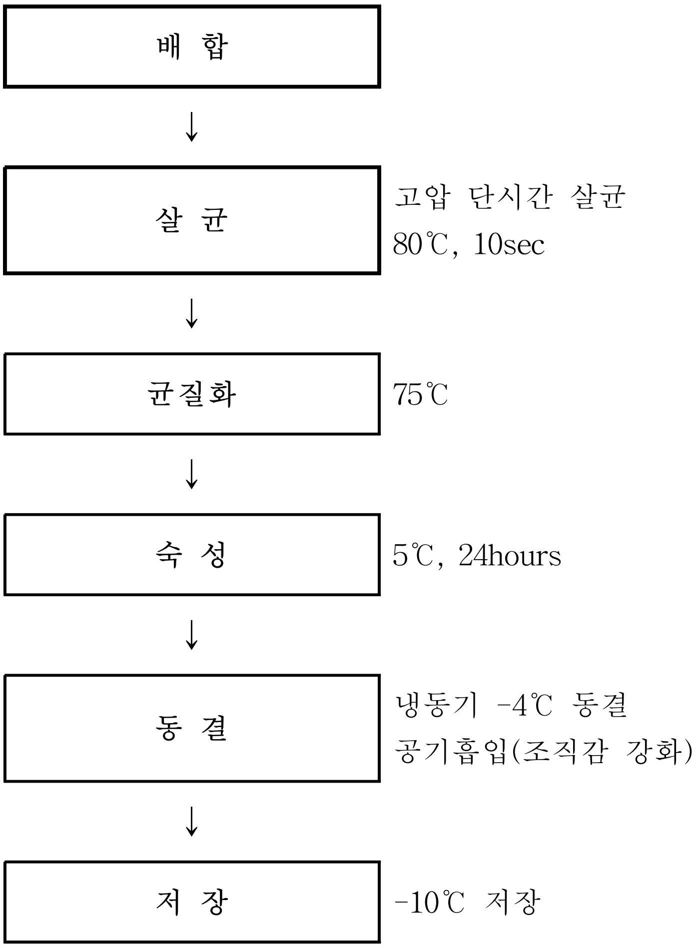


Fig. 82. 항알러지, 항염증 아이스크림의 제조공정.

(3) 항알러지, 항염증 아이스크림의 최종 매뉴얼 및 포뮬러 확립

상기의 실험결과에 따라 최종적으로 제조된 5개의 sample에 대한 관능평가, 기호도 평가, 품질평가를 실시한 결과 구아바 잎 건조분말이 1.5% 함유된 아이스크림의 배합비가 가장 우수한 것으로 나타나 항알러지, 항염증 아이스크림의 최종 배합비로 선정하였다(Table 26).

Table 26. 항알러지, 항염증 아이스크림의 최종 포뮬러

Ingredients		Contents(%)	Function
Mix icecream base powder	Non fat milk powder	11	Main ingredient
	Whole milk powder	6	Main-ingredient
	Fresh cream	8	Main-ingredient
	Sorbitol	11	Main-ingredient
	Refined sugar	22	Main-ingredient
	Carrageenan	0.02	Stabilizer
	Refined salt	0.02	Sub-ingredient
	Guar gum	0.6	Stabilizer
	Monoglyceride	0.2	Emulsifier
	Vanilla flavor	0.3	Flavor
Guava leaves powder		2	Anti-atopic substance
Refined water		138.86	Solvent

(4) 항알러지, 항염증 아이스크림 개발제품

다. 항알러지, 항염증 쿠키의 개발

(1) 항알러지, 항염증 쿠키의 배합비율

구아바 잎을 활용한 항알러지, 항염증 쿠키의 배합비율을 확립하고 쿠키 제조에 적합한 제형으로 사용하기 위해 40℃ 이상에서 건조되어 함수율 10% 미만의 구아바 잎을 분쇄하여 사용하였으며 쿠키의 제조는 일반적으로 사용되는 박력분, 버터, 설탕, 베이킹파우더, 슬라이스 아몬드, 계란, 소금을 사용하였다. 쿠키의 품질을 평가하기 위해 구아바 잎 건조분말 첨가 비율을 달리하여 관능평가 결과에 따라 Table 27과 같이 전체 함량 400g을 기준으로 하고 각각의 배합비에 따라 5개의 sample을 제조하였다.

Table 27. 항알러지, 항염증 쿠키의 배합비율

Ingredients	Samples(g)				
	0	1.0%	2.5%	4.0%	5.5%
Guava leaves powder	0	4	10	16	22
Flour	200	192	186	180	174
Slice amond	40	40	40	40	40
Butter	100	100	100	100	100
Sugar	60	60	60	60	60
Baking powder	2	2	2	2	2
Salt	2	2	2	2	2

(2) 항알러지, 항염증 쿠키의 제조

항알러지, 항염증 쿠키의 제조방법을 확립하기 위해 현재 가장 많이 통용되는 크림 제조법에 따라 계량된 마가린을 반죽기에 넣고 2단으로 1분간 부드럽게 한 후 소금, 설탕을 차례로 넣고 계란을 첨가하여 크림상태가 되도록 혼합하였으며, 구아바 잎 건조분말을 첨가하여 가볍게 혼합하여 반죽을 제조하였고, 쿠키반죽은 냉장고에서 3시간 동안 휴지시킨 뒤 반죽을 0.5~0.7cm 두께로 밀어 성형하였다. 성형된 반죽은 10분간 170℃에서 예열한 전기오븐에 일정한 간격으로 놓은 뒤 170℃에서 14분 동안 구워 완성하였다. 상기의 제조방법에 따라 완성된 제품들은 각각 관능평가, 영양평가, 품질평가를 실시하였으며 기호도적인 측면에서 가장 우수한 제품을 최종 선정하여 항알러지, 항염증 쿠키 개발 매뉴얼 및 포뮬러를 구축하였다.

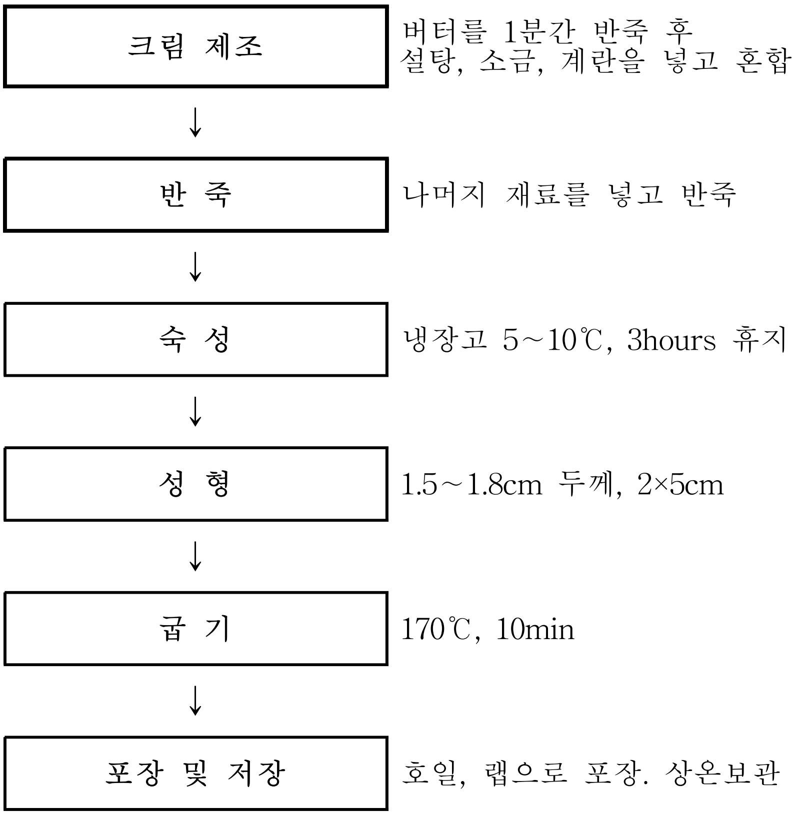


Fig. 83. 항알러지, 항염증 쿠키의 제조공정.

(3) 항알러지, 항염증 쿠키의 최종 매뉴얼 및 포뮬러 확립

상기의 실험결과에 따라 최종적으로 제조된 5개의 sample에 대한 관능평가, 기호도 평가, 품질평가를 실시한 결과 구아바 잎 건조분말이 2.5% 함유된 쿠키의 배합비가 가장 우수한 것으로 나타나 항알러지, 항염증 쿠키의 최종 배합비로 선정하였다(Table 28).

Table 28. 항알러지, 항염증 쿠키의 최종 포뮬러

Ingredients	Contents(%)	Function
Guava leaves powder	2.5	Anti-atopic substance
Flour	46.5	Main-ingredient
Slice amond	10	Flavor enhancer
Butter	25	Main-ingredient
Sugar	15	Sweet flavor
Baking powder	0.5	Sub-ingredient
Salt	0.5	Sub-ingredient

(4) 항알러지, 항염증 제과류(쿠키) 개발제품

라. 항알러지, 항염증 떡의 개발

(1) 항알러지, 항염증 떡의 배합비율

구아바 잎을 활용한 항알러지, 항염증 떡의 배합비율을 확립하고 떡의 제조에 적합한 제형으로 사용하기 위해 40℃ 이상에서 건조되어 함수율 10% 미만의 구아바 잎을 분쇄하여 사용하였다. 또한 떡류의 주원료가 되는 멥쌀은 구입 후 3회 수세하여 12시간 수침한 후 30분간 물기를 제거하고 분쇄한 후 20mesh에 2회 통과시켜 사용하였다. 떡의 품질을 평가하기 위해 구아바잎 건조 분말 첨가 비율을 달리하여 제조하였고 관능평가 결과에 따라 Table 29와 같이 전체 함량 250g을 기준으로 각각의 배합비에 따라 5개의 sample을 제조하였다.

Table 29. 항알러지, 항염증 떡의 배합비율

Ingredients	Samples(g)				
	0%	1.2%	2.4%	3.6%	4.8%
Rice powder	200	197	194	191	188
Guava leaves powder	0	3	6	9	12
Sugar	28	28	28	28	28
salt	2	2	2	2	2
Water	20	20	20	20	20

(2) 항알러지, 항염증 떡의 제조

항알러지, 항염증 떡의 제조방법을 확립하기 위해 백설기 제조법에 따라 쌀을 3회 수세한 후 12시간을 수침하여 30분간 물기를 제거하고 2회 분쇄하였다. 분쇄된 쌀가루에 구아바 잎 건조분말, 설탕, 소금, 물을 잘 혼합하여 40mesh에 혼합분말을 통과시켜 가로, 세로 40×40cm의 stainless steel 시루 안에 혼합한 재료를 넣고 젖은 면보를 덮어 12분간 찐 후 5분간 뜸을 들였다. 상기의 방법으로 제조된 떡을 찜통에서 꺼내어 15분간 식힌 후 가로, 세로, 높이가 20×20×2cm의 크기로 잘라 랩으로 포장하여 제품을 완성하였다. 상기의 제조방법에 따라 완성된 제품들은 각각 관능평가, 영양평가, 품질평가를 실시하였으며 기호도적인 측면에서 가장 우수한 제품을 최종 선정하여 항알러지, 항염증 떡 개발 매뉴얼 및 포뮬러를 구축하였다.

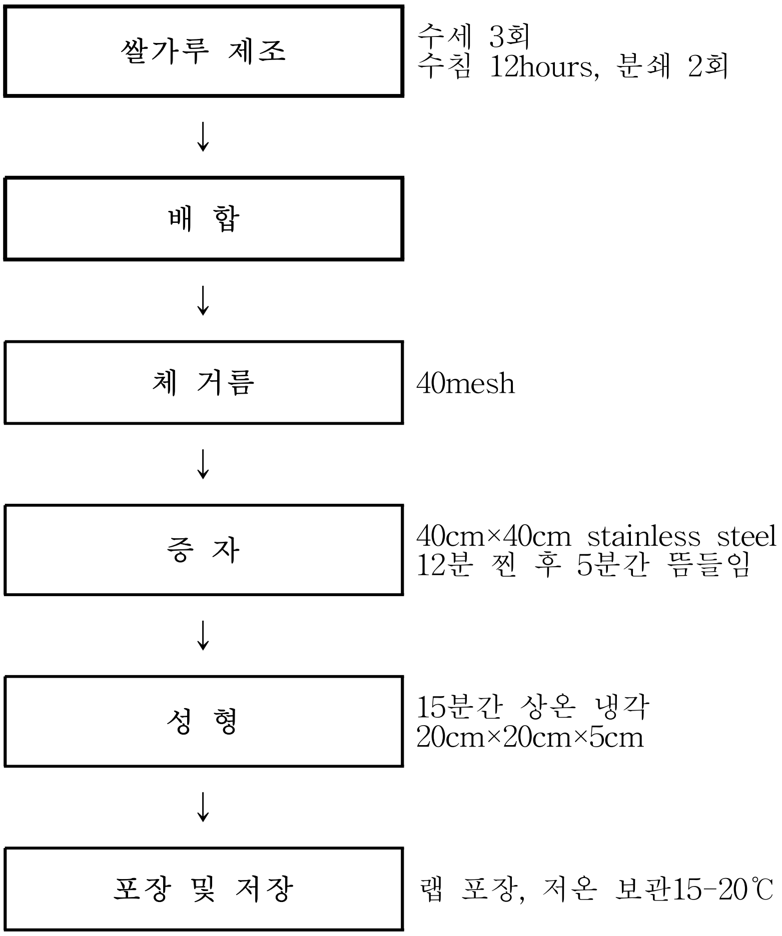


Fig. 84. 항알러지, 항염증 떡의 제조공정.

(3) 항알러지, 항염증 떡의 최종 매뉴얼 및 포뮬러 확립

상기의 실험결과에 따라 최종적으로 제조된 5개의 sample에 대한 관능평가, 기호도 평가, 품질평가를 실시한 결과 구아바 잎 건조분말이 1.2% 함유된 떡의 배합비가 가장 우수한 것으로 나타나 항알러지, 항염증 떡의 최종 배합비로 선정하였다(Table 30).

Table 30. 항알러지, 항염증 떡의 최종 포뮬러

Ingredients(g)	Contents(%)	Function
Rice powder	78.8	Main-ingredient
Guava leaves powder	1.2	Anti-atopic substance
Sugar	11.2	Sweet flavor
salt	0.8	Sub-ingredient
Water	8	Sub-ingredient

(4) 항알러지, 항염증 떡류 개발제품

3. 항아토피·항염증 기능성식품 첨가물 및 식품의약 천연물 소재의 제품화

가. 항아토피·항염증 기능성식품 첨가물 및 식품의약 천연물 소재의 개발

(1) 기능성식품 첨가물용 구아바 잎 발효농축물의 배합비율

수분함량이 10% 이하로 열풍건조가 완료된 구아바 잎을 분쇄하여 정제수, 패각분, 생강, 계피, 황설탕을 Table 31의 비율로 혼합하여 95℃에서 2시간 가열하여 실온에서 냉각하고 상대습도 60%의 조건에서 30rpm으로 30일간 교반하여 발효시켰다.

Table 31. 구아바잎 발효농축물의 배합비율

Ingredients(g)	Contents(%)	Function
Sugar	3.5	
Ginger	0.68	
Cinnamon	0.35	
Shell powder	1	
Guava leaf	30	
Water	64.47	

(2) 기능성식품 첨가물용 구아바 잎 발효농축물의 원료 품목제조보고서

품목제조보고대장

1. 품목제조보고사항 영업신고번호 제 67 호

품목보고번호	000002	제품명	구아바808발효액	업소명	의령군구아바영농조합법인
식품의 유형 (식품군)	기타발효음료 / 음료류 (기정)		보고일자	2009-09-30	
원재료 또는 성분명 및 배합비율	도담999(정제수67.5676%,황설탕30.4054%,패각분(소성)1.0135%,계피0.6757%,생강0.3378%)70%,구아바건잎(국산)30%				
성 상	진한 갈색이며 액체로서 제품 고유의 맛과 향이 있다.				
포장방법 (단위)	5㎖,17㎖,20㎖,50㎖,100㎖,1ℓ,10ℓ				
용도용법	음료용		유통기간	제조일로부터 1년(살균제품)	
품목제조조건			기재자	직 급	지방행정주사보
				성 명	석용욱
유통기간 설정사유	유통기한설정 사유서(기존 유통제품과의 비교)				
기타					

나. 의약품 첨가물용 구아바 잎 발효농축물 동결건조분말의 제조공정 확립

(1) 구아바 잎 발효농축물 동결건조 분말 제조공정

(가) 구아바 잎 발효농축물의 동결건조 분말 조건

본 연구에 사용한 동결건조 장치는 건조기와 응축기가 연결된 단일형으로서 이에 대한 외형은 Fig. 85과 같으며 그림에서 보는 바와 같이 원통형의 선반식의 건조실 내부에는 유체에 의해 온도가 조절되는 선반이 있고 유채를 가열 또는 냉각시키는 히터와 냉각기가 따로 연결되어 있어 이들의 상호작용으로 선반의 온도가 조절될 수 있도록 구성되어 있으며 응축기에는 진공시스템이 연결되어 있고 실험에 쓰인 tray의 크기는 1000㎖ 원통형(wide mouth freeze dry flask)이며 용액의 양은 100㎖가 되도록 하였다.

Fig 85. 구아바 발효농축물의 동결건조기 및 tray.

(나) 구아바 잎 발효농축물 동결건조 분말의 성상

구아바 잎 발효농축물(40Brix)을 급속 동결 조건으로 심온 동결기에서 -50℃로 72시간 동결건조 하였으며(Table 32) 구아바 잎 발효농축물(40Brix)의 성상은 Fig. 86과 같다.

Table 32. 구아바 잎 발효농축물의 동결건조 조건 및 성상변화

성상		Weight
구아바 잎 발효농축물 (40Brix)		100㎖
Condition	온도	-50℃
	시간	72hr
구아바 잎 발효농축물 동결건조분말		30g

Fig. 86. 구아바 잎 발효농축물 동결건조분말.

(다) 기준ㆍ규격의 표준화

상기 수행된 동결건조 조건에 따라 의약품 첨가물용 구아바 잎 발효농축물 동결건조분말의 기준·규격을 Table 33과 같이 확립하였다.

Table 33. 구아바 잎 발효농축물의 기준·규격

구 분	내 용
외관 및 성상	암갈색의 분말로서 고유의 향미가 있음
수분	6% 이하
분해도	10분 이하
이물	없음
대장균	불검출
일반세균	300CPU/g 이하

다. 소재의 제품화 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 구축

(1) 항염증 기능성 로션 및 연고(크림)의 개발

(가) 기능성 로션의 최적 배합비

	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	Shea Butter	00	Oil-base
	Evening Primrose oil	00	Oil-base
	Jojoba Oil	00	Oil-base
	Sweet Almond oil	00	Oil-base
	wheat germ oil	00	Oil-base
B	Emulsifying Wax	00	Emulsion stabilizer
	Olive Wax	00	Emulsion stabilizer
C	Camomile Floral water	00	Water-base
D	Lipidure PMB	00	Additive
	Propolis Extracts	00	Additive
	Centella Asiatice Extracts	00	Additive
	Vitamin E	00	Additive
	Grapefruit Seed Extract	00	Additive
	Camomile essential oil	00	Additive
	Lavendula officinalis	00	Additive
	Tea Tree essential oil	00	Additive
E	구아바 잎 발효농축물	00	Skin Conditioning Agent
	한방생약재 열수농축물	00	Skin Conditioning Agent

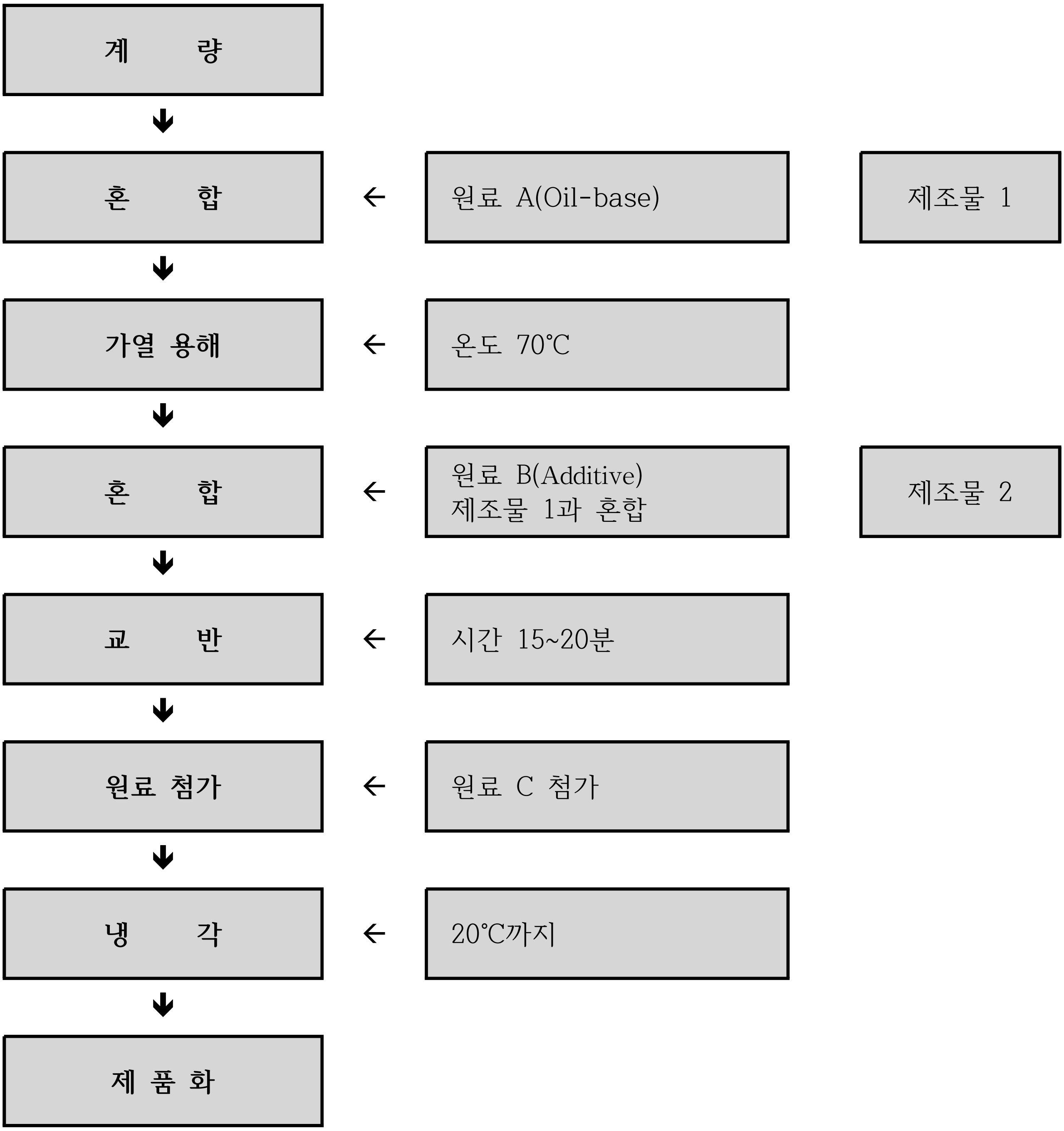
[제조방법]

계 량
혼 합
원료 A(Oil-base)
제조물 1
가열 용해
온도 65℃
혼 합
원료 C(Water-base)
제조물 1과 혼합
제조물 2
교 반
시간 15~20분
혼 합
원료 B(Emulsion stabilizer)
제조물 2와 혼합
제조물 3
유 화
시간 10분
혼 합
원료 D(Additive)
제조물 3과 혼합
원료 첨가
원료 E 첨가
냉 각
온도 20℃
제 품 화

(나) 기능성 연고(크림)의 최적 배합비

	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	Calendula officinalis Oil	00	Oil-base
	Jojoba Oil	00	Oil-base
	Shea Butter	00	Oil-base
	Evening Primrose oil	00	Oil-base
	Hempseed Oil	00	Oil-base
	Bees Wax	00	Oil-base
B	Vitamin E	00	Additive
	Camomile essential oil	00	Additive
	Lavendula essential oil	00	Additive
	Tea Tree essential oil	00	Additive
C	구아바 잎 발효농축물	00	Skin Conditioning Agent
	한방생약재 열수농축물	00	Skin Conditioning Agent

[제조방법]


계 량
혼 합
원료 A(Oil-base)
제조물 1
가열 용해
온도 70℃
혼 합
원료 B(Additive)
제조물 1과 혼합
제조물 2
교 반
시간 15~20분
원료 첨가
원료 C 첨가
냉 각
20℃까지
제 품 화

(2) 항염증 기능성 미스트 개발

(가) 최적 배합비

상	원료명(성분명)	함량(%)	비고
A	Tea Tree Water	00	Water-base
	Aloe Water	00	Water-base
B	Olive liquid	00	Emulsion stabilizer
C	Menthol	00	Additive
	Licorice Extract	00	Additive
	Centella Asiatica	00	Additive
	Houttuynia Cordata Thunb Extracts	00	Additive
	Anhydrous Ethanol	00	Additive
	Tea Tree essential oil	00	Additive
	Lavendula essential oil	00	Additive
	Geraniumessential oil	00	Additive
D	구아바 잎 발효농축물	00	Skin Conditioning Agent
	한방생약재 열수농축물	00	Skin Conditioning Agent

[제조방법]

계 량
혼 합
원료 A(Water-base)
Menthol 첨가
제조물 1
가열 용해
온도 60℃
혼 합
원료 B(Emulsion stabilizer)
제조물 1과 혼합
제조물 2
유 화
시간 10분
혼 합
원료 C(Additive)
제조물 2와 혼합
제조물 3
교 반
시간 15~20분
원료 첨가
원료 D 첨가
냉 각
20℃
제 품 화

제 10 절 항아토피·항알러지·항염증 개선 개발제품의 유형별 평가 및 규격화

1. 구아바 잎 활용 기능성제품의 관능평가, 기호도 평가 및 제품의 규격화

가. 아토피 개선 구아바 잎 복합조성물의 1차 피부안전성 평가

구아바 잎 복합조성물을 Tween 80/saline(1:99, u/v)에 녹여 patch에 적신 후 1×1 inch 테스트 대상자 중 1명을 선정하여 손등에 부착시키고 24h, 48h, 72h 동안 방치하여 육안으로 관찰 한 결과 뚜렷한 홍반 반응이 나타나지 않았으므로 피부에 전혀 무해한 것으로 확인되었다(Table 34).

Table 34. 구아바잎 복합조성물의 1차 자극성 index(P.I.I)

홍반	판정시간(hour)	평 점
구아바잎 복합조성물	24	0
	48	0
	72	1

※ P. I. I. = 4/4 = 1

P. I. I.는 최저 0, 최고 8점이 되어 Table 35와 같이 3개의 안전성으로 구분한다.

Table 35. 안전성 구분에 의한 1차 자극성 index

안전성 구분	1차 자극성 index
약한 자극물	0 ~ 2
중등도 자극물	3 ~ 5
강한 자극물	6 ~ 8

이러한 결과로 미루어 구아바 잎 복합조성물은 아토피와 관련된 피부질환을 개선하는 기능성 소재로서의 활용이 가능할 것으로 사료된다.

나. 8종 개발제품의 품질 및 기준·규격 확립

8종 개발 시제품은 한국 화장품 원료규격에 따라 각 제품별 성상, 향취, 안정성, pH, 미생물, 점도 시험검사를 수행하여 제품별 기준·규격을 확립하였다.

(1) 아토피 개선 크림

<table>
<tr><td>제품명</td><td colspan="5">아토피 개선 크림</td></tr>
<tr><td>제조일자</td><td>2009. 12. 22.</td><td>생산수량</td><td>60 ea</td><td>용량</td><td>65 g</td></tr>
<tr><td>시험일자</td><td colspan="5">2009. 12. 26.</td></tr>
<tr><td>검체채취량</td><td>100 g</td><td>채취장소</td><td>제조실</td><td>채취방법</td><td>Random sampling</td></tr>
<tr><td>시험항목</td><td colspan="2">시험기준</td><td>결과</td><td colspan="2">비고</td></tr>
<tr><td>성상</td><td colspan="2">황갈색의 불투명 크림상</td><td>적합</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>향취</td><td colspan="2">특이취 (표준품과 비교)</td><td>적합</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>안정성</td><td colspan="2">45℃ 3일 이상 안정</td><td>적합</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>p H</td><td colspan="2">6.0 ± 1.0</td><td>적합</td><td colspan="2">10% 수용액</td></tr>
<tr><td>미생물</td><td colspan="2">100 cfu/g 이하</td><td>적합</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>점 도</td><td colspan="2">25,000 - 65,000 c.p.s</td><td>적합</td><td colspan="2">25 ℃</td></tr>
</table>

(2) 아토피 개선 바디로션

제품명	아토피 개선 바디로션				
제조일자	2009. 12. 23.	생산수량	60 ea	용량	200 g
시험일자	2009. 12. 28.				
검체채취량	100 g	채취장소	제조실	채취방법	Random sampling

시험항목	시험기준	결과	비고
성상	황갈색의 불투명 로션상	적합	
향취	특이취 (표준품과 비교)	적합	
안정성	45℃ 3일 이상 안정	적합	
pH	6.0 ± 1.0	적합	원액
미생물	100 cfu/g 이하	적합	
점 도	3,500 - 8,500 c.p.s	적합	25 ℃

(3) 아토피 개선 폼클렌징

제품명	아토피 개선 폼클렌징				
제조일자	2009. 12. 28.	생산수량	60 ea	용량	140 g
시험일자	2009. 12. 31.				
검체채취량	100 g	채취장소	제조실	채취방법	Random sampling

시험항목	시험기준	결과	비고
성상	황갈색의 불투명 점성액상	적합	
향취	특이취 (표준품과 비교)	적합	
안정성	45℃ 3일 이상 안정	적합	
pH	9.0 ± 1.0	적합	원액
미생물	100 cfu/g 이하	적합	
점 도	5,000 – 15,000 c.p.s	적합	25 ℃

(4) 아토피 개선 바디클렌저

제품명	아토피 개선 바디클렌저				
제조일자	2009. 12. 18.	생산수량	60 ea	용량	200 g
시험일자	2009. 12. 24.				
검체채취량	100 g	채취장소	제조실	채취방법	Random sampling

시험항목	시험기준	결과	비고
성상	황갈색의 불투명 점성액상	적합	
향취	특이취 (표준품과 비교)	적합	
안정성	45℃ 3일 이상 안정	적합	
pH	9.0 ± 1.0	적합	원액
미생물	100 cfu/g 이하	적합	
점 도	2,500 – 6,000 c.p.s	적합	25 ℃

(5) 아토피 개선 바블바스

제품명	아토피 개선 바블바스				
제조일자	2009. 12. 17.	생산수량	60 ea	용량	200 g
시험일자	2009. 12. 24.				
검체채취량	100 g	채취장소	제조실	채취방법	Random sampling

시험항목	시험기준	결과	비고
성상	황갈색의 불투명 점성액상	적합	
향취	특이취 (표준품과 비교)	적합	
안정성	45℃ 3일 이상 안정	적합	
pH	6.0 ± 1.0	적합	원액
미생물	100 cfu/g 이하	적합	
점 도	2,500 - 6,000 c.p.s	적합	25 ℃

(6) 아토피 개선 샴푸

<table>
<tr><td>제품명</td><td colspan="5">아토피 개선 샴푸</td></tr>
<tr><td>제조일자</td><td>2009. 12. 21.</td><td>생산수량</td><td>60 ea</td><td>용량</td><td>20 g</td></tr>
<tr><td>시험일자</td><td colspan="5">2009. 12. 24.</td></tr>
<tr><td>검체채취량</td><td>100 g</td><td>채취장소</td><td>제조실</td><td>채취방법</td><td>Random sampling</td></tr>
<tr><td>시험항목</td><td colspan="2">시험기준</td><td>결과</td><td colspan="2">비고</td></tr>
<tr><td>성상</td><td colspan="2">황갈색의 불투명 점성액상</td><td>적합</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>향취</td><td colspan="2">특이취 (표준품과 비교)</td><td>적합</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>안정성</td><td colspan="2">45℃ 3일 이상 안정</td><td>적합</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>pH</td><td colspan="2">5.5 ± 1.0</td><td>적합</td><td colspan="2">원액</td></tr>
<tr><td>미생물</td><td colspan="2">100 cfu/g 이하</td><td>적합</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>점 도</td><td colspan="2">3,000 – 7,000 c.p.s</td><td>적합</td><td colspan="2">25 ℃</td></tr>
</table>

(7) 아토피 개선 린스

제품명	아토피 개선 린스				
제조일자	2009. 12. 21.	생산수량	60 ea	용량	20 g
시험일자	2009. 12. 24.				
검체채취량	100 g	채취장소	제조실	채취방법	Random sampling

시험항목	시험기준	결과	비고
성상	황갈색의 불투명 점성액상	적합	
향취	특이취 (표준품과 비교)	적합	
안정성	45℃ 3일 이상 안정	적합	
pH	5.0 ± 1.0	적합	원액
미생물	100 cfu/g 이하	적합	
점 도	3,500 - 7,500 c.p.s	적합	25 ℃

(8) 아토피 개선 비누

제품명	아토피 개선 비누				
제조일자	2009. 12. 24.	생산수량	60 ea	용량	10 g
시험일자	2009. 12. 28.				
검체채취량	100 g	채취장소	제조실	채취방법	Random sampling

시험항목	시험기준	결과	비고
성상	황갈색의 투명 고형상	적합	
향취	특이취 (표준품과 비교)	적합	
안정성	45℃ 3일 이상 안정	적합	
pH	10.0 ± 1.0	적합	10% 수용액
미생물	100 cfu/g 이하	적합	

다. 아토피 개선 미용제품의 기호도 조사

개발 시제품 8종의 기호도 조사를 위해 한국국제대학교 대학원 식품과학과 연구원 12명을 평가요원으로 선정하고 10일간 일정 사용하게 하여 색감, 향, 촉감, 윤기, 피부 보습성, 전체적인 기호도 등 6개의 항목으로 나누어 기호도를 평가하였다. 아토피 개선 미용제품의 기호도 조사결과는 Table 36과 같다.

Table 36. Acceptance of anti-atopic skincare products

Properties	Soap	Sampoo	Rinse	Bubble bath	Body Cleanser	Cream	Body lotion	Form cleansing
Color	5.8±0.4	5.7±0.2	5.6±0.4	5.8±0.2	5.6±0.2	5.4±0.2	5.7±0.2	5.6±0.2
Fragrance	6.1±0.3	6.1±0.2	5.9±0.2	6.2±0.4	6.1±0.3	5.8±0.2	6.0±0.3	6.3±0.2
Touch	6.1±0.3	6.2±0.2	5.9±0.3	6.3±0.3	6.2±0.2	6.0±0.3	6.2±0.2	6.3±0.3
Shining	6.6±0.2	6.6±0.4	6.5±0.2	6.2±0.2	6.1±0.3	6.3±0.4	6.4±0.3	6.1±0.1
Skin hydration effect	6.7±0.2	6.5±0.4	5.9±0.4	6.7±0.1	6.5±0.3	6.5±0.3	6.6±0.4	6.4±0.2
Overall	6.6±0.2	6.2±0.3	6.2±0.3	6.4±0.2	6.2±0.2	6.1±0.3	6.3±0.3	6.3±0.2

1. *1~ 7 scale : 7, very acceptable
1, very unacceptable

촉감, 윤기, 피부보습성은 전체적으로 양호한 것으로 나타났으나 제품의 원료인 구아바 잎 복합조성물의 색도가 매우 짙어 제품의 색감이 다소 떨어지는 것으로 평가되었다. 전체적인 기호도 면에서는 8종 제품 모두 우수한 결과를 나타내었다.

2. 구아바잎 활용 기능성제품의 활성 검증(기존제품과의 활성 비교)

가. 유사 목적성 제품과의 품질평가를 위한 세안·목욕제품의 선정

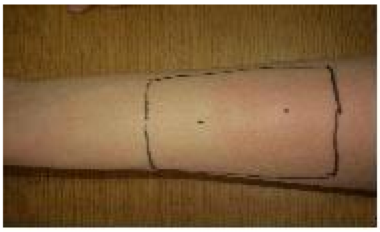
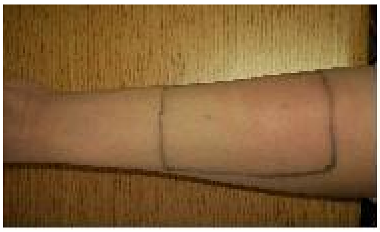
본 과제를 통해 개발된 아토피 개선 미용제품과 유사 목적성 목욕제품 및 세안제품의 활성을 비교하기 위해 비누, 바디클렌저, 폼클렌징 3종을 선정하였다. 비교 대상제품의 경우 피부미용개선 소재로 잘 알려진 ‘노니(noni)'를 주원료로 하는 제품 3종(비누, 바디클렌저, 폼클렌징)과 비교실험을 수행하였다.

제품명	회사명	주요성분	함유성분	특징
노니·한방 미용비누	IUK Biopharm	· 노니 · 상백피 · 오배자 · 녹차 · 어성초 · 오가피 추출물	· Catechin, saponin · sgringic acid · lignin-carbohydrate complex · galic acid · phenolics methyl gallate · decanoilacetaldehyd	· 피부 수렴 진정작용 · 멜라닌합성 저해 · 피부노화방지 · 자외선에 의한 피부손상 개선 · 항알러지, 항염증, 항여드름 · 미백효과 · 주름개선 · 피부 면역력개선
노니·한방 폼클렌져	IUK Biopharm			
노니· 한방 바디클렌징 워시	IUK Biopharm			

나. 피부자극도에 의한 효능평가

자극성 실험용 반창고를 이용하여 실험제품 및, 비교제품 원료를 각각 거즈부분에 충분히 흡수시켜 팔에 붙이고 24hour 경과 후 반창고를 제거하여 1시간 후 피부를 관찰하여 피부 자극의 정도에 따른 심의 평가수치를 실시한 결과, Fig 87와 같이 피부에 전혀 자극성이 없는 것으로 나타났다.

[노니 활용 미용제품]

		
실험 전	24hour 경과 후 패치 제거	패치 제거 후 1시간 경과

[아토피 개선 미용제품]

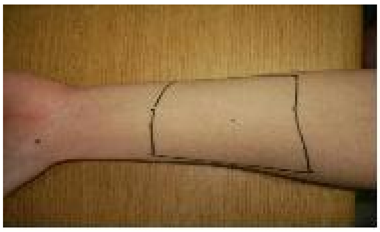
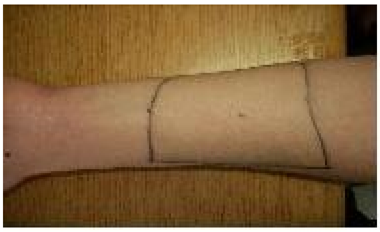
		
실험 전	24hour 경과 후 패치 제거	패치 제거 후 1시간 경과

Fig. 87. Evaluation of Skin irritability for patch test.

다. 제품의 유형에 따른 관능평가 및 유사제품과의 비교

앞서 수행한 기호도 평가의 기준에 따라 유사제품과 개발제품을 비교하고자 차이식별능력과 홍미도 조사에 따라 선발된 5명의 검사요원에게 실험의 목적과 방법을 주지시킨 다음 각각 제품의 색감, 향, 촉감, 윤기, 피부보습성, 전체적인 기호도, 구매가능성에 중점을 두어 6점 채점법으로 평가를 실시한 결과 Table 37과 같이 시판되는 제품과 거의 유사한 결과를 나타내었다.

Table 37. Sensory evaluation of noni product and atopic skincare product

Sensoty parameter	Soap		Form Cleansing		Body Cleanser	
	Control	Sample	Control	Sample	Control	Sample
Color	4.50	5.30	5.10	5.80	5.30	5.70
Fragrance	5.10	5.10	5.20	5.20	5.30	5.40
Touch	5.20	5.40	5.40	5.50	5.40	5.60
Shining	5.50	5.50	5.20	5.20	5.40	5.40
Skin hydration effect	5.70	5.60	5.50	5.40	5.40	5.50
Overall	5.30	5.50	5.30	5.50	5.20	5.40
Purchasing ability	5.20	5.40	5.50	5.70	5.30	5.40

유사제품과의 평가에서 비교적 낮은 점수를 받은 색감 및 향은 한방 생약재의 향취가 거의 나지 않았으나 전체적인 향이 약하다는 평이 있었고 일부는 독특하고 은은한 생약재의 취를 지지하는 사람들도 있었다. 본 실험의 경우 구체적이고 체계적인 데이터 확보를 위해 향후 확대실시 할 필요가 있을 것으로 사료된다.

라. 구아바 잎 활용 기능성 제품의 시제품

아토피 개선 크림	아토피 개선 바디로션
아토피 개선 폼클렌징	아토피 개선 바디클렌저
아토피 개선 바블바스	아토피 개선 샴푸

<table>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td>아토피 개선 린스</td><td>아토피 개선 비누</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td>Package set Ⅰ</td><td>Package set Ⅱ</td></tr>
<tr><td colspan="2"> </td></tr>
<tr><td colspan="2">아토피 개선 미용제품 8종</td></tr>
</table>

3. 항알러지·항염증용 기능성식품의 관능평가, 기호도 평가, 품질평가 및 제품의 규격화

가. 항알러지, 항염증 요구르트

(1) 관능평가 및 기호도 평가

항알러지, 항염증 요구르트의 관능검사는 2010년 11월 11일 ~ 14일 경남 창원시에서 개최된 "경남 필 특산물박람회"에 참가·전시하여 관람객 약 150명을 panel로 하여 본 평가의 목적과 평가 방법 및 측정 항목에 대해 잘 인지될 수 있도록 충분히 설명한 후 실시하였다. 평가 항목은 색(color), 향미(smell), 맛(taste), 조직감(texture), 전반적인 기호도(overall acceptability)로 선호도가 높을수록 7점, 선호도가 낮을수록 1점을 표시하도록 하였다. 3일간에 걸쳐 요구르트 시제품을 7점 채점법을 통해 관능평가 및 기호도 평가를 실시한 결과 구아바 잎 열수농축액(25brix) 1.5%를 첨가한 제품이 색(color)과 향미(smell) 부분에서 매우 높은 점수를 받았으며 조직감(texture) 대한 평가는 유의적인 차이가 없는 것으로 확인되어 구아바 잎 열수농축액(25brix) 1.5%를 첨가한 제품이 전반적인 기호도(overall acceptability) 측면에서 가장 선호하는 것으로 나타났다(Table 38).

Table 38. 항알러지, 항염증 요구르트 관능평가 및 기호도 평가

Standard(0~7)	Samples(%)				
	0	1.0	1.5	2.0	2.5
색(Color)	4.65	5.15	6.65	5.65	4.05
향미(Smell)	5.4	5.25	6.1	5.75	5.2
맛(taste)	5.25	4.75	5.75	5.05	4.1
조직감(texture)	5.45	4.75	5.6	5	4.1
전반적인 기호도 (overall acceptability)	5.8	5	6.15	5.85	4.15
계(0~35)	26.55	24.9	30.25	27.3	21.6

(2) 품질평가

구아바 잎 열수 농축액(25 Brix)을 0%, 1.0%, 1.5% 2.0% 2.5%을 첨가한 항알러지, 항염증 요쿠르트 제품의 pH 및 산도측정 결과는 Table 39과 같다. 첨가비율이 증가할수록 pH는 증가하고 산도는 감소하는 것으로 나타났으며, 이는 구아바 잎 추출물이 젖산균의 생육을 억제하여 pH와 산도 저하를 유발하는 것으로 나타나 선도유지에 기여할 것으로 사료된다. 산도는 무첨가구와 2.5%첨가 sample 간 최대 0.08의 수치차이로 보아 유의성이 미미한 것으로 나타났다.

Table 39. 항알러지, 항염증 요구르트의 pH 및 산도

Properties	Guava leaves powder(%)				
	0	1.0	1.5	2.0	2.5
pH	3.79	3.81	3.85	3.88	3.89
acidity	1.28	1.27	1.25	1.20	1.20

항알러지, 항염증 요구르트의 pH 및 산도 측정 후 기본적 물성을 테스트 하기위해 Table 40과 같이 색도를 측정한 결과 밝은 정도를 나타내는 L값은 무첨가구가 79.48으로 가장 밝게 평가되었고 그 다음으로는 구아바 잎 열수추출물 농축액을 1.0% 첨가한 시료군이 78.44로 높게 측정되었으며 첨가비율에 증가에 따라 L값의 수치가 저하되는 것이 확인되었다. 시료의 붉은 정도를 나타내는 a값은 2.5%를 첨가한 시료가 6.51로 다소 강하게 평가되었고 무첨가구가 1.27의 수치로 보여 비교적 낮은 a값을 보였으며 시료의 노란정도를 나타내는 b값에서는 2.5% 첨가 시료가 6.80으로 가장 높은 수치를 나타내었다.

Table 40. 항알러지, 항염증 요구르트의 색도

Hunter value	Guava leaves powder(%)				
	0	1.0	1.5	2.0	2.5
L	79.48	78.44	76.53	75.12	73.04
a	1.27	3.92	4.05	5.23	6.51
b	3.70	6.11	6.63	6.05	6.80

또한 구아바 잎 열수 농축액(25Brix)을 0%, 1.0%, 1.5% 2.0% 2.5%을 첨가한 항알러지, 항염증 요구르트의 점도측정 결과는 Table 41과 같다. 무첨가구의 점도가 -1,840으로 가장 높게 나타났으며 첨가량이 증가함에 따라 점도가 유의적으로 감소하는 것이 확인되었다. 1.0%와 1.5%첨가 시료의 점도 값은 무첨가구의 값과 차이가 미미하지만 그 이상부터는 유의적인 차이가 나타났다

Table 41. 항알러지, 항염증 요구르트의 점도

Properties	Guava leaves powder(%)				
	0	1.0	1.5	2.0	2.5
viscosity	-1,840	-1,830	-1,820	-1,780	-1,750

(3) 항알러지, 항염증 요구르트 제품의 규격화

상기 수행한 관능평가 및 기호도 평가, 품질평가의 결과를 토대로 Table 42와 같이 항알러지, 항염증 요구르트 제품의 규격을 설정하였다.

Table 42. 항알러지, 항염증 요구르트 제품의 규격

기 준	규 격
성상	고유의 향미를 가지고 이미ㆍ이취가 없는 녹색의 유산균 음료
pH	3.85
산도	1.25
색도	L = 76.53, a = 4.05, b = 6.63
점도	-1,820

나. 항알러지, 항염증 아이스크림

(1) 관능평가 및 기호도 평가

항알러지, 항염증 아이스크림의 관능검사는 2010년 11월 11일 ~ 14일 경남 창원시에서 개최된 "경남 필 특산물박람회"에 참가・전시하여 관람객 약 150명을 panel로 하여 본 평가의 목적과 평가 방법 및 측정 항목에 대해 잘 인지될 수 있도록 충분히 설명한 후 실시하였다. 평가항목은 색(color), 향미(smell), 맛(taste), 조직감(texture), 전반적인 기호도(overall acceptability)로 선호도가 높을수록 7점, 선호도가 낮을수록 1점을 표시하도록 하였다. 3일간에 걸쳐 항알러지, 항염증 아이스크림 시제품을 7점 채점법을 통해 관능평가 및 기호도 평가를 실시한 결과 구아바잎 건조분말 1.5%를 첨가한 제품이 모든 면에서 전반적으로 높은 평가를 받았다. 그러나 아이스크림에 함유된 유지방의 고유한 향 및 바닐라향으로 인해 향미에 대한 평가는 큰 차이를 보이지 않았다(Table 43).

Table 43. 항알러지, 항염증 요구르트의 관능평가 및 기호도 평가

Standard(0~7)	Samples(%)				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
색(Color)	5	6.6	6.15	5.75	5.85
향미(Smell)	5.55	5.65	6.1	6	5.95
맛(taste)	5.75	6.25	6.45	5.1	5.35
조직감(texture)	6.2	5.9	6.15	5.95	5.4
전반적인 기호도 (overall acceptability)	6.1	6.25	6.35	5.5	6.1
계(0~35)	28.6	30.65	31.2	28.3	28.65

(2) 품질평가

구아바잎 건조분말을 0%, 0.5%, 1.0%, 1.5% 2.0%를 첨가한 항알러지, 항염증 아이스크림 제품의 pH 및 산도측정 결과는 Table 44과 같다. 첨가비율이 증가할수록 pH는 증가하고 산도는 감소하는 것으로 나타났으며 이는 구아바 잎 추출물의 항균활성에 기인된 것으로 판단된다.

Table 44. 항알러지, 항염증 아이스크림의 pH 및 산도

Properties	Guava leaves powder(%)				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
pH	6.59	6.62	6.67	6.72	6.88
acidity	0.92	0.89	0.83	0.82	0.75

항알러지, 항염증 아이스크림의 pH 및 산도 측정 후 기본적 물성을 테스트 하기위해 Table 45와 같이 색도를 측정한 결과 밝은 정도를 나타내는 L값은 무첨가구가 74.02로 가장 밝게 평가되었고 그 다음으로는 구아바 잎 건조분말을 0.5% 첨가한 시료군이 70.37로 측정되었으며, 첨가비율에 증가에 따라 L값의 수치가 저하되는 것이 확인되었다. 시료의 붉은 정도를 나타내는 a값은 2.0%를 첨가한 시료가 9.21로 다소 강하게 평가되었고 무첨가구가 2.19의 수치를 보여 비교적 낮은 a값을 보였다. 시료의 노란정도를 나타내는 b값에서는 무첨가구가 18.43으로 가장 높은 수치를 나타내었으며 첨가비율에 따라 유의적으로 b값이 증가하는 것이 확인되었다. 이는 아이스크림 믹스 파우더의 황색 빛깔이 구아바잎 건조분말과 상쇄되어 저하되었다가 분말의 첨가량에 따른 변화를 보이는 것으로 판단된다.

Table 45. 항알러지, 항염증 아이스크림의 색도

Hunter value	Guava leaves powder(%)				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
L	74.02	70.37	69.37	66.56	63.68
a	2.19	6.98	7.54	8.43	9.21
b	18.43	11.42	12.93	13.35	14.02

또한 구아바 잎 건조분말을 0%, 0.5%, 1.0%, 1.5% 2.0%을 첨가한 항아토피 아이스크림의 점도측정 결과는 Table 46과 같다. 무첨가구의 점도가 -980으로 가장 높게 나타났으나 첨가농도별 점도차이는 근소하게 감소하는 경향을 보였으나 각 농도별 유의적인 차이는 없는 것으로 판단되며 구아바 잎 건조분말의 첨가농도별 melt-down 및 overrun을 측정한 결과는 각각 Table 47, Table 48와 같다. 아이스크림의 melt-down의 경우 구아바 잎 건조분말의 첨가비율이 증가함에 따라 값이 증가하는 경향을 보였고, 40분이 경과 후 급속히 녹기 시작하여 모든 시료에서 50%이상의 무게 감소가 일어났다. 그리고 무첨가구가 1시간이 지난 후 전체 무게의 13.22%가 남아있어 비교적 온전한 형태를 가장 오랫동안 유지한 반면 1.5%와 2.0% 첨가 제품에서는 10% 미만의 시료만 관찰되어 보존성에 대한 문제를 나타내는 것으로 확인되었다. overrun의 경우 구아바 잎 건조분말의 첨가농도가 증가함에 따라 값이 감소하는 경향을 보였으며 30분경과 후 모든 제품에서 overrun의 최대값이 측정되었다.

Table 46. 항알러지, 항염증 아이스크림의 점도

Properties	Guava leaves powder(%)				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
viscosity	-980	-920	-900	-890	-900

Table 47. 항알러지, 항염증 아이스크림의 melt-down

Time(min)	Guava leaves powder(%)				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
20	35.73	37.88	39.02	39.54	40.12
40	62.97	65.32	68.48	70.57	72.24
60	86.78	88.35	88.79	90.03	93.82

Table 48. 항알러지, 항염증 아이스크림의 overrun

Time(min)	Guava leaves powder(%)				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
10	21.22	18.61	17.64	16.54	15.27
20	37.38	29.17	28.53	27.76	25.60
30	41.05	39.89	38.09	37.43	36.12
40	31.22	25.43	24.87	24.15	24.04

(3) 항알러지, 항염증 아이스크림 제품의 규격화

상기 수행한 관능평가 및 기호도 평가, 품질평가의 결과를 토대로 Table 49과 같이 항알러지, 항염증 아이스크림 제품의 규격을 설정하였다.

Table 49. 항알러지, 항염증 아이스크림 제품의 규격

기 준	규 격
성상	고유의 향미를 가지고 이미·이취가 없는 연갈색의 아이스크림류
pH	6.6
산도	0.83
색도	L = 69.37, a = 7.54, b = 12.93
점도	-900
Melt-down	39.02 미만(20분 경과 후), 68.48 미만(40분 경과 후) 88.35 미만(60분 경과 후)
Overrun	38.09(30분)

다. 항알러지, 항염증 쿠키

(1) 관능평가 및 기호도 평가

항알러지, 항염증 쿠키의 관능검사는 2010년 11월 11일 ~ 14일 경남 창원시에서 개최된 "경남 필 특산물박람회"에 참가·전시하여 관람객 약 150명을 panel로 하여 본 평가의 목적과 평가 방법 및 측정 항목에 대해 잘 인지될 수 있도록 충분히 설명한 후 실시하였다. 평가 항목은 색(color), 향미(smell), 맛(taste), 조직감(texture), 전반적인 기호도(overall acceptability)로 선호도가 높을수록 7점, 선호도가 낮을수록 1점을 표시하도록 하였다. 3일간에 걸쳐 항알러지, 항염증 쿠키 시제품을 7점 채점법을 통해 관능평가 및 기호도 평가를 실시한 결과 구아바 잎 건

조분말 2.5%를 첨가한 제품이 모든 면에서 전반적으로 높은 평가를 받았으나 조직감에서는 유의적인 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다(Table 50).

Table 50. 항알러지, 항염증 쿠키의 관능평가 및 기호도 평가

Standard(0~7)	Samples(%)				
	0	1.0	2.5	5.0	10
색(Color)	4.9	5.6	6.4	6.05	6.1
향미(Smell)	5.7	5.75	6.1	5.25	5.65
맛(taste)	5.6	5.15	6.15	4.9	4
조직감(texture)	6.25	6.4	6.2	6.45	6.25
전반적인 기호도 (overall acceptability)	5.8	6.35	6.45	5.2	5.65
계(0~35)	28.25	29.25	31.3	27.85	27.65

(2) 품질평가

구아바 잎 건조분말을 0%, 1.0%, 2.5%, 5.0%, 10% 첨가한 쿠키 반죽의 밀도 및 pH측정 결과는 Table 51과 같다. 첨가비율이 증가할수록 밀도는 감소하고 pH는 증가하였는데 이는 구아바잎 건조분말의 pH 및 밀도에 의한 것으로 판단되며 밀도는 무첨가구와 10%첨가 sample 간에 최대 0.06의 차이로 보아 유의성이 약한 것으로 나타났다.

Table 51. 항알러지, 항염증 쿠키 반죽의 밀도 및 pH

Properties	Guava leaves powder(%)				
	0	1.0	2.5	5.0	10
Density(g/mL)	1.16	1.17	1.15	1.11	1.10
pH	6.96	7.04	7.10	7.15	7.22

항알러지, 항염증 쿠키반죽의 밀도 및 pH 측정 후 기본적 물성을 테스트 하기위해 Table 52와 같이 색도를 측정한 결과 밝은 정도를 나타내는 L값은 무첨가구가 58.60으로 가장 밝게 평가되었고 그 다음으로는 구아바 잎 건조분말을 1% 첨가한 시료군이 57.74로 측정되었으며, 첨가비율에 증가에 따라 L값의 수치가 저하되는 것이 확인되었다. 시료의 붉은 정도를 나타내는 a값은 10%를 첨가한 시료가 10.87로 다소 강하게 평가되었고 무첨가구가 8.74의 수치를 보여 비교적 낮은 a값을 보였다. 쿠키의 노란정도를 나타내는 b값에서는 10% 첨가 시료가 34.62으로 가장 높은 수치를 나타내었으며 5.0%와 2.5% 첨가한 시료가 각각 32.92 31.58의 값을 나타내어 무첨가구의 31.79보다는 노란정도가 큰 값을 나타내었다.

Table 52. 항알러지, 항염증 쿠키의 색도

Hunter value	Guava leaf powder(%)				
	0	1.0	2.5	5.0	10
L	58.60	57.74	56.40	55.98	55.58
a	8.74	8.90	9.56	9.80	10.87
b	31.79	30.56	31.58	32.92	34.62

또한 구아바 잎 건조분말을 0%, 0.5%, 1.0%, 5.0%, 10%을 첨가한 항알러지, 항염증 쿠키의 퍼짐성 및 경도을 측정한 결과는 Table 53과 같다. 퍼짐성은 무첨가구가 9.25로 가장 높았으며, 구아바 잎 건조분말의 첨가량이 증가할수록 직경은 감소하여 10%를 첨가한 쿠키가 5.28로 가장 낮게 나타났다. 이는 구아바 잎 건조분말 첨가로 인해 반죽 형성에 소요되는 수분량, 반죽의 pH, 식이섬유소의 증가 등이 무첨가구에 비해 낮아짐으로써 반죽의 유동성과 팽창 작용에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

Table 53. 항알러지, 항염증 쿠키의 퍼짐성 및 경도

Properties	Guava leaves powder(%)				
	0	1.0	2.5	5.0	10
Spread factor	9.25	8.87	7.57	6.74	5.28
Hardness	212.73	211	210.72	208.95	207.57

(3) 항알러지, 항염증 쿠키 제품의 규격화

상기 수행한 관능평가 및 기호도 평가, 품질평가의 결과를 토대로 Tabla 54과 같이 항알러지, 항염증 쿠키 제품의 규격을 설정하였다.

Table 54. 항알러지, 항염증 쿠키 제품의 규격

기 준	규 격
성상	고유의 향미를 가지고 이미·이취가 없는 녹갈색의 비스킷류
pH	7.04
밀도	1.15
색도	L = 56.40, a = 9.56, b = 31.58
퍼짐성	7.57
경도	210.72

라. 항아토피 떡류

(1) 관능평가 및 기호도 평가

항알러지, 항염증 떡의 관능검사는 2010년 11월 11일 ~ 14일 경남 창원시에서 개최된 "경남 필 특산물박람회"에 참가·전시하여 관람객 약 150명을 panel로 하여 본 평가의 목적과 평가 방법 및 측정 항목에 대해 잘 인지될 수 있도록 충분히 설명한 후 실시하였다. 평가 항목은 색(color), 향미(smell), 맛(taste), 조직감(texture), 전반적인 기호도(overall acceptability)로 선호도가 높을수록 7점, 선호도가 낮을수록 1점을 표시하도록 하였다. 3일간에 걸쳐 항알러지, 항염증 떡 시제품을 7점 채점법을 통해 관능평가 및 기호도 평가를 실시한 결과 구아바 잎 건조분말 2.5%를 첨가한 제품이 맛과 조직감 면에서 전반적으로 높은 평가를 받았으나 색 및 향미에서는 유의적인 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다(Table 55).

Table 55. 항알러지, 항염증 떡의 관능평가 및 기호도 평가

Standard(0~7)	Samples(%)				
	0	1.0	2.5	5.0	10
색(Color)	4.25	6.2	6.4	6.3	6.1
향미(Smell)	5.4	6.05	6.25	6.1	6.35
맛(taste)	5.6	5.85	6.45	5.4	4.75
조직감(texture)	6.3	6	6.2	5.75	5.55
전반적인 기호도 (overall acceptability)	5.7	5.9	6.25	5.75	5.95
계(0~35)	27.25	30	31.55	29.3	28.7

(2) 품질평가

구아바 잎 건조분말을 0%, 1.0%, 2.5%, 5.0%, 10% 첨가한 떡의 색도측정 결과는 Table 56과 같다. 명도를 나타내는 L값은 무첨가구가 69.42로 가장 높은 값을 나타내었으며 구아바 잎 건조분말의 농도가 높을수록 L값의 수치가 감소하는 경향을 보였다. 또한 시료의 붉은 정도를 나타내는 a값과 노란정도를 나타내는 b값은 4.8% 첨가제품에서 2.51, 23.75로 가장 높은 것으로 나타났으며 각각의 값은 구아바 잎 건조분말의 첨가량에 비례하여 증가하는 것으로 나타났다.

Table 56. 항알러지, 항염증 떡의 색도

Hunter value	Guava leaves powder(%)				
	0	1.2	2.4	3.6	4.8
L	69.42	55.19	51.09	44.21	39.92
a	0.27	1.92	2.05	2.23	2.51
b	9.28	19.74	23.01	23.18	23.75

또한, 구아바 잎 건조분말을 0%, 1.2%, 2.4%, 3.6%, 4.8% 첨가한 항알러지, 항염증 떡을 실온에 저장하면서 제조 직후 1일, 2일, 3일 동안 각각 수분함량의 변화를 측정한 결과는 Table 57와 같다. 수분함량은 항알러지, 항염증 떡의 제조 직후 무첨가구가 47.11%였고, 구아바 잎 건조분말 첨가농도가 증가 할수록 낮아지는 경향을 보여 6.0% 첨가구가 37.01%로 가장 낮게 나타났다. 이는 분말의 수분과 쌀가루의 수분함량에 의한 차이로 판단되며 저장기간에 따른 떡의 수분함량 변화는 분말의 첨가량이나 저장기간에 따라서 유의적인 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. 또한 떡의 물성을 측정한 결과 구아바 잎 건조분말 첨가비율이 증가함에 따라 견고성은 비교적 증가하는 경향이 있었으며 반대로 부착성, 응집성, 검성, 씹힙성은 첨가비율에 따라 감소하는 경향이 나타났다. 그러나 탄력성 경우 sample 간의 차이가 거의 없어 첨가비율과의 관계가 거의 없는 것으로 판단된다(Table 58).

Table 57. 항아토피 떡의 시간에 따른 수분함량의 변화

Guava leaves powder(%)	Storage period (days)			
	0	1	2	3
0%	47.11	45.95	43.26	43.07
1.2%	46.94	44.25	42.54	41.13
2.4%	44.42	43.67	43.05	39.29
3.6%	43.97	40.89	39.21	37.41
4.8%	37.01	35.68	34.09	34.63

Table 58. 항알러지, 항염증 떡의 물성

Properties	Guava leaves powder(%)				
	0	1.2	2.4	3.6	4.8
견고성(hardness)	379.30	384.51	495.13	538.03	559.46
부착성(adhesiveness)	-118.67	-115.90	-114..35	-100.98	-90.34
탄력성(springiness)	0.94	0.95	0.99	0.91	0.99
응집성(cohesiveness)	0.81	0.70	0.66	0.65	0.62
검성(gumminess)	288.23	288.20	257.30	250.91	242.74
씹힘성(chewiness)	277.23	275.49	257.78	254.32	239.83

(3) 항아토피 떡류의 규격화

상기 수행한 관능평가 및 기호도 평가, 품질평가의 결과를 토대로 Table 59과 같이 항알러지, 항염증 떡의 규격을 설정하였다.

Table 59. 항알러지, 항염증 떡의 규격

기 준	규 격	
성상	고유의 향미를 가지고 이미・이취가 없는 녹색의 떡류	
색도	L = 51.09, a = 2.05, b = 23.01	
수분함량	44.42%(제작 직후)	
물성	견고성(hardness)	495.13
	부착성(adhesiveness)	-114.35
	탄력성(springiness)	0.99
	응집성(cohesiveness)	0.66
	검성(gumminess)	257.30
	씹힘성(chewiness)	257.78

4. 기존제품과 항알러지·항염증용 기능성식품의 활성 비교분석

가. 일반제과류, 기존 아토피 제과류와의 품질 비교분석

(1) 일반 제과류, 기존 아토피 제과류 소재의 검색 및 선정

상기의 연구수행 결과에 따라 개발된 쿠키의 품질 특성을 확인하기 위하여 일반 제과류 및 기존의 아토피 개선 활성을 가진 쿠키를 검색하여 선정하였다. 검색의 기준은 기능성 원료의 종류와 함량의 유사성, 제조공정 및 보관방법의 동일성 여부를 판단하였고 과학기술정보서비스 NDSL 및 각종 문헌을 통한 검색과 시장조사를 통해 일반 제과류는 쌀 쿠키, 아토피 제과류는 인삼 쿠키로 최종 선정하였다.

(2) 일반 제과류, 아토피 제과류와의 품질비교

일반 제과류, 기존 아토피 제과류, 구아바 쿠키에 대한 품질비교를 위해 각각의 제품에 공기와 수분이 접촉되지 않도록 처리하여 실온에 24시간 보관 후 동일한 조건에서 품질평가를 실시하였다. 각각의 비교분석 방법은 상기 수행된 쿠키의 일반 품질평가 과정과 동일한 방법으로 진행하였으며 쿠키의 pH, 색도, 퍼짐성, 조직감, 경도, 기호도 및 관능평가를 측정하여 비교하였다(Table 60). 쿠키의 부드러움을 나타내는 지표인 퍼짐성의 경우 쌀 쿠키가 11.53으로 가장 높게 측정되었고 구아바 쿠키, 인삼 쿠키의 순으로 나타났으며 쌀 쿠키 퍼짐성은 주원료인 쌀의 점성에 영향을 받은 것으로 판단된다. 색도의 경우 구아바 쿠키가 쌀 쿠키와 인삼 쿠키보다 비교적 낮은 수치를 보여 제품 자체의 색이 짙은 경향을 나타내었으며 각각의 경도를 측정한 결과 구아바 쿠키가 가장 높은 수치를 나타내어 섭취 시 조직감(바삭함) 측면에서 우수한 것으로 나타났다.

Table 60. 일반 제과류, 아토피 제과류, 구아바 쿠키의 품질비교

항 목		일반 제과류 (쌀 쿠키)	아토피 제과류 (인삼 쿠키)	구아바 쿠키
pH		8.04	6.53	7.04
퍼짐성		11.53	4.95	7.57
색도	L	63.06	64.41	56.40
	a	10.84	13.56	9.56
	b	31.66	35.61	31.58
경도		147.67	206.8	210.72

(3) 일반 제과류, 아토피 제과류와의 기호도 조사 및 관능평가

기호도 조사 및 관능평가는 한국국제대학교 식품과학부 학부생 및 대학원생 20명을 panel로 선정하여 본 실험의 목적과 평가 방법 및 측정 항목에 대해 잘 인지될 수 있도록 충분히 설명한 후 실시하였다. 평가 항목은 색(color), 향미(smell), 맛(taste), 조직감(texture), 전반적인 기호도(overall acceptability)로 매우 선호도가 높을수록 7점, 매우 선호도가 낮을수록 1점을 표시하도록 하였다. 7점 채점법에 의한 관능평가 결과 Table 61과 같이 구아바 쿠키는 향미, 맛, 조직감, 전반적인 기호도 면에서 쌀 쿠키와 유사하게 평가되었으며 인삼 쿠키의 경우 특유의 향과 맛으로 비교적 낮게 평가되었다. 결론적으로 상기 개발된 구아바 쿠키의 경우 일반 제과류인 쌀 쿠키와 흡사한 품질특성과 기존 아토피 제과류인 인삼 쿠키에 비해 모든 측면에서 우수함이 나타나 기능성 쿠키로서의 맛과 영양은 제과류 시장에서 충분한 경쟁력이 있으리라 판단된다.

Table 61. 일반 제과류, 아토피 제과류, 구아바 쿠키의 관능평가 및 기호도 평가

Standard(0~7)	일반 제과류 (쌀 쿠키)	아토피 제과류 (인삼 쿠키)	구아바 쿠키
색(Color)	3.95	3.72	5.94
냄새(Smell)	5.69	6.45	5.58
맛(taste)	6.14	4.92	6.02
조직감(texture)	5.48	4.17	5.35
전반적인 기호도 (overall acceptability)	6.06	4.98	5.79
계(0~35)	27.32	24.24	28.68

5. 항아토피·항염증 기능성식품 첨가물 및 식품의약 천연물 소재의 제품의 관능평가, 기호도 평가 및 제품의 규격화

가. 항염증 기능성 제품의 알레르기 평가

피부단자실험(skin prick test)을 통한 항염증 기능성 제품의 알레르기 실험에서는 본 실험의 대상자들은 팽진과 발적의 크기를 관찰한 결과 모두 음성판정을 받음으로서(Fig. 88) 항염증 기능성 제품에 대한 알레르기 반응은 없는 것으로 판정되어짐.

Fig 88. Skin Prick Test 결과.

나. 구아바 잎 발효농축물의 피부염에 대한 효능 평가

구아바 잎 발효농축물의 피부염에 대한 개선효과를 평가 결과는 다음의 Table 62 에 나타내었으며 구아바 잎 발효농축물은 피부염의 대표적인 증상인 각질, 홍반 등에 효과가 있는 것으로 나타났다(Fig 89).

Table 62. 구아바 잎 발효농축물의 피부염 개선효과 판정

피부증상 정도	A			B	
	부종	홍반	찰상	소양감	수면장애
전	2.4	2.8	3.0	8.0	5.0
후	1.5	0.8	2.1	6.0	3.0

* 배점: A(홍반, 부종, 찰상) 배점: 0~3점(0=없음, 1=경도, 2=중등도, 3=중도)

B (소양감, 수면장애) 배점: 0(없음) ~10(매우 심함)

Fig 89. 구아바 잎 발효농축물의 피부염 개선효과 판정.

다. 항염증 기능성 제품의 피부염에 대한 효능 평가

상기의 방법으로 제조된 기능성 제품의 피부염에 대한 개선효과를 평가하기 위하여 피부염을 가진 환자 20명을 대상으로 임상평가를 수행하였으며 평가는 4주간 1일 3회 환부에 부드럽게 펴서 바르도록 하고 사용 후 사용자가 직접 5점 만족 척도로 평가하도록 하였다. 임상평가가 종료후 평가를 실시한 결과 제조된 항염증 기능성 제품은 피부염의 대표적인 증상인 각질, 가려운, 염증에 효과가 있음을 확인 할 수 있었다. 사례1의 경우 염증성 뾰루지 및 염증후색소 침착의 소견이 또렷이 개선됨이 보였으며 사례2의 경우 두터운 각질층과 염증소견이 개선되어 정상적인 피부로 회복되는 것으로 나타났다. 또한 사례3의 경우 만성습진 및 태선화 반응이 현저히 개선되었으며 사례4의 경우 찰상으로 인한 각질탈락과 염증반응이 뚜렷하게 개선된 것으로 나타났다.

Table 63. 피부염 개선효과 판정

피부증상 정도	A			B	
	부종	홍반	찰상	소양감	수면장애
전	2.6	1.3	1.6	7.6	4.0
후	1.3	1.0	3.0	5.0	3.0

* 배점: A(홍반, 부종, 찰상) 배점: 0~3점(0=없음, 1=경도, 2=중등도, 3=중도)
B (소양감, 수면장애) 배점: 0(없음) ~10(매우 심함)

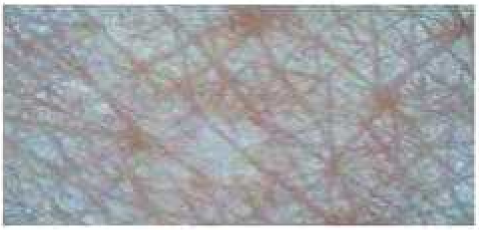
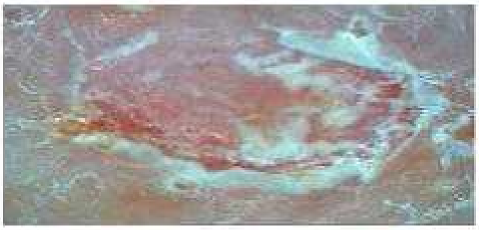
	전	후
사례1		
사례2		
사례3		
사례4		

Fig 90. 아토피 개선효과 판정.

라. 3종 개발제품의 품질 및 기준·규격 확립

3종 개발 시제품은 한국 화장품 원료규격에 따라 각 제품별 성상, 향취, 내용량, pH, 안정성, 메탄올 (GC-FID), 납, 비소, 수은 시험검사를 수행하여 제품별 기준·규격을 확립하였다.

(1) 항염증 기능성 로션

제품명	항아토피 기능성 로션		
제조일자	2012. 1. 16	시험일자	2012. 1. 25
생산수량	50 EA	내용량	60 g
검체채취량	100 g (random sampling)	채취장소	제조실
시험항목	기준	결과	비고
성상	황갈색의 불투명 로션상	적합	
향취	특이취	적합	표준품과 비교
내용량	표기량의 97%이상	적합	제품 3개의 평균량
pH	3.0 ~ 9.0	적합	
미생물	100 cfu/g 이하	적합	
점도	3,500 – 8,500 c.p.s	적합	·25 ℃
안정성	45℃ 3일 이상 안정	적합	
메탄올(GC-FID)	0.2 (v/v)%이하	적합	
납	20ppm이하	적합	
비소	10ppm이하	적합	
수은	1ppm이하	적합	

(2) 항아토피 기능성 연고(크림)

제품명	항아토피 기능성 연고(크림)		
제조일자	2012. 1. 16	시험일자	2012. 1. 25
생산수량	50 EA	내용량	20 g
검체채취량	100 g (random sampling)	채취장소	제조실
시험항목	기준	결과	비고
성상	황갈색의 불투명 크림상	적합	
향취	특이취	적합	표준품과 비교
내용량	표기량의 97%이상	적합	제품 3개의 평균량
pH	3.0 ~ 9.0	적합	
미생물	100 cfu/g 이하	적합	
점도	25,000 – 65,000 c.p.s	적합	25 ℃
안정성	45℃ 3일 이상 안정	적합	
메탄올(GC-FID)	0.2 (v/v)%이하	적합	
납	20ppm이하	적합	
비소	10ppm이하	적합	
수은	1ppm이하	적합	

(3) 항아토피 기능성 미스트

제품명	항아토피 기능성 미스트		
제조일자	2012. 1. 16	시험일자	2012. 1. 25
생산수량	50 EA	내용량	180 ㎖
검체채취량	100 g (random sampling)	채취장소	제조실
시험항목	기준	결과	비고
성상	황갈색의 투명 액상	적합	
향취	특이취	적합	표준품과 비교
내용량	표기량의 100%이상	적합	제품 3개의 평균량
pH	3.0 ~ 9.0	적합	
미생물	100 cfu/g이하	적합	
안정성	45℃ 3일 이상 안정	적합	
메탄올(GC-FID)	0.2 (v/v)%이하	적합	
납	20ppm이하	적합	
비소	10ppm이하	적합	
수은	1ppm이하	적합	

마. 항염증 기능성 미용제품 기호도 조사

개발 시제품 3종의 기호도 조사를 위해 한국국제대학교 대학원생과 식품의약학과 연구원 10명을 평가요원으로 선정하고 10일간 일정 사용하게 하여 색감, 향, 부드러움, 유성(미끌거림), 윤기, 피부보습성, 전체적인 기호도 등 7개의 항목으로 나누어 기호도를 평가하였다. 항아토피 기능성 미용제품의 기호도 조사 결과는 Table 64과 같다.

Table 64. Aceeptance of anti-atopic skincare products

Properties	Lotion	Ointment (Cream)	Mist
Color	4.1±0.3	4.2±0.4	3.3±0.3
Fragrance	3.8±0.4	3.9±0.3	4.1±0.2
Silkiness	4.3±0.2	4.0±0.4	3.8±0.3
Oiliness	3.6±0.2	3.5±0.2	4.6±0.2
Shining	3.8±0.5	4.1±0.3	4.3±0.2
Skin hydration effect	4.1±0.2	3.9±0.2	4.4±0.2
Overall	4.0±0. 2	4.0±0.3	4.1±0.3

* 1~5 scale : 5, very acceptable
1, very unacceptable

기능성 로션과 연고(크림)는 색감과 촉감에서 우수한 평가를 받았으나 유성(미끌거림)이 나타났으며 기능성 미스트의 경우 향, 윤기에서 우수한 평가를 받았으나 색감이 다소 떨어지는 것으로 평가되었다. 또한 피부보습성의 경우 기능성 미용제품 3종 모두 우수한 결과를 나타내었고 전체적인 기호도 면에서 개발제품 3종 모두 우수한 결과를 나타내었다.

6. 개발제품의 활성 검증 (기존제품과의 시장성 비교)

가. 개발제품과의 품질평가를 위한 타사제품 선정

본 과제를 통해 개발된 아토피 개선 미용제품과 시중에 판매하고 있는 타사 미용제품의 활성을 비교하기 위하여 로션, 연고(크림), 미스트를 구입하여 비교실험을 수행하였다.

(1) 로션

	제품명	아토팜 MLE 로션
	제품형태	로션
	내용량	120㎖
	판매가격	24,000원
	주요성분	마치현추출물, 잇꽃씨오일, 포도씨오일, 정제수, 글리세린, 향료
	효능 및 특징	MLE 피부보호막 형성, 피부진정 및 보습효과, 부드럽고 산뜻한 사용감

	제품명	아토피아이 로션
	제품형태	로션
	내용량	120g
	판매가격	22,000원
	주요성분	베타글루칸, 당귀추출물, 시호추출물, 맥문동추출물, 병풀추출물, 휴먼올리고펩타이드-1, 정제수
	효능 및 특징	피부건조에 의한 가려움 완화, 피부보호, 수분공급, 피부진정, 저자극

	제품명	아토프라덤 로션
	제품형태	로션
	내용량	100㎖
	판매가격	28,000원
	주요성분	알로에베라잎추출물, 황금추출물, 감초추출물, 휴먼올리고펩타이드-1,3, 정제수
	효능 및 특징	건조하고 민감한 피부 관리, 2중 피부 보호막효과, 영양과 수분 공급

(2) 연고(크림)

제품명	아토팜 MLE 크림
제품형태	크림
내용량	65㎖
판매가격	24,000원
주요성분	호호바씨오일, 마치현추출물, 올리브오일, 포도씨오일, 정제수, 향료
효능 및 특징	민감하고 건조함이 심한 피부 완화, MLE 피부보호막 형성, 국소집중보습, 피부진정 및 보습효과

제품명	아토피아이 크림
제품형태	크림
내용량	120g
판매가격	31,000원
주요성분	병풀추출물, 시호추출물, 맥문동추출물, 당귀추출물, 베타글루칸, 휴먼올리고펩타이드-1, 정제수
효능 및 특징	피부건조에 의한 가려움 완화, 피부보호, 수분공급, 피부진정, 저자극

제품명	아토랩 크림
제품형태	크림
내용량	60㎖
판매가격	19,500원
주요성분	상황버섯추출물, 자소엽추출물, 황금추출물, 인삼추출물, 갈근추출물, 갈근추출물, 정제수
효능 및 특징	수분증발억제 및 피부 보습막 형성, 피부트러블 완화

<table>
<tr><td rowspan="6">
</td><td>제품명</td><td>아토프라덤 크림</td></tr>
<tr><td>제품형태</td><td>크림</td></tr>
<tr><td>내용량</td><td>50㎖</td></tr>
<tr><td>판매가격</td><td>24,000원</td></tr>
<tr><td>주요성분</td><td>알로에베라잎추출물, 황금추출물, 감초추출물,
휴먼올리고펩타이드-1,3, 정제수</td></tr>
<tr><td>효능 및 특징</td><td>건조하고 민감한 피부 관리, 2중 피부 보호막효과,
영양과 수분 공급</td></tr>
</table>

(3) 미스트

<table>
<tr><td rowspan="6">
</td><td>제품명</td><td>아토피아이 미스트</td></tr>
<tr><td>제품형태</td><td>미스트</td></tr>
<tr><td>내용량</td><td>150㎖</td></tr>
<tr><td>판매가격</td><td>18,000원</td></tr>
<tr><td>주요성분</td><td>베타인, 베타글루칸, 위치하젤잎추출물, 병풀추출물,
휴먼올리고펩타이드-1, 알로에베라잎즙, 정제수</td></tr>
<tr><td>효능 및 특징</td><td>수분증발방지 및 수분공급, 피부보호,
피부진정, 저자극</td></tr>
</table>

나. 제품의 유형에 따른 관능평가 및 타사제품과의 비교

앞서 수행한 기호도 평가의 기준에 따라 타사제품과 개발제품을 비교하고자 차이식별능력과 흥미도 조사에 따라 선발된 5명의 검사요원에게 실험의 목적과 방법을 주지시킨 다음 각각 제품의 색감, 향, 부드러움, 유성(미끌거림), 윤기, 피부보습성, 전체적인 기호도, 구매가능성에 중점을 두어 5점 채점법으로 평가를 실시한 결과 Table 65와 같이 시판되는 제품과 거의 유사한 결과를 나타내었다.

Table 65. Sensory evaluation of atopy-i product and atopic skincare product

Sensoty parameter	Lotion		Ointment (Cream)		Mist	
	Control	Sample	Control	Sample	Control	Sample
Color	4.20	4.30	4.30	4.20	4.50	3.50
Fragrance	3.90	4.10	4.00	3.90	4.10	4.20
Silkiness	4.20	4.10	4.10	4.10	4.10	4.20
Oiliness	3.50	3.50	3.60	3.50	4.70	4.60
Shining	4.50	4.60	3.80	3.90	4.20	4.10
Skin hydration effect	4.90	4.70	4.60	4.20	4.40	4.00
Overall	4.50	4.50	4.00	4.00	4.20	4.10
Purchasing ability	4.20	4.20	4.00	3.90	4.30	4.30

관능평가 결과 색과 향은 구아바 잎 복합조성물로 인해 옅은 암갈색과 한방 생약재의 향취로 인해 타사제품들 보다 약간 낮은 기호도를 보였으나 촉감, 윤기 등의 항목에서는 더 높은 점수를 받았다. 그리고 로션·크림의 가장 중요한 요소인 피부보습성이 기존의 타사제품보다 효과가 더 뛰어난 것으로 나타나 타사제품들과도 충분히 경쟁력이 있을 것으로 판단되며 본 실험의 경우 좀 더 구체적이고 체계적인 데이터 확보를 위해 향후 확대실시 할 필요가 있을 것으로 사료된다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 목표달성도

구분(연도)	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도(%)
1차 년도 (2009)	• 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재, 항아토피 식품 소재, 의약품 소재 개발 및 생물활성 연구	• 구아바를 이용한 항아토피용 연물 소재 개발 - 구아바 열수추출, MAE 추출, EtOH 추출, MeOH 추출물을 이용한 항아토피 미용소재 개발 완료 - 구아바로부터 유기용매 분획별 천연물소재 추출,분리 완료 • 피부미용 소재의 성분분석 - 개발 천연물소재의 지표물질분석, 일반성분 및 영양성분 분석 완료 • 천연물소재의 항아토피 항균활성 및 항산화 활성 검증 - 전처리 조건별 구아바 미용소재(4종)의 항아토피 항균활성 및 항산화활성 검증 완료 - 유기용매 분획별 천연물소재의 항아토피 항균활성 및 항산화 활성 검증 완료	100
	• 항아토피, 항염증 제품화 기술 개발 및 제품의 규격화	• 항아토피 미용품의 제품화 기술개발 및 제품별 제조공정 구축 - 항아토피 개선활성을 가지는 구아바잎의 추출 및 농축 - 항아토피 소재의 선정 및 추출·농축 - 항아토피 개선 구아바 잎 복합조성물의 조제 및 특성 - 제품별 개발 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 구축(8종 제품) • 개발제품의 관능평가, 기호도 평가 및 제품의 규격화 - 아토피 개선 구아바 잎 복합조성물의 1차 피부안전성 평가 - 협력병원을 연계한 아토피 환자의 선정 및 임상테스트 - 아토피 개선 미용제품의 기호도 조사 • 개발제품의 활성검증(기존제품과의 활성 비교) - 유사목적성 제품과의 품질평가를 위한 세안·목욕제품의 선정 - 피부자극도에 의한 효능평가 - 제품의 유형에 따른 관능평가 및 유사제품과의 비교	100
	• 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vitro* 아토피 피부염 억제 활성 검증	• in vitro 아토피 피부염 억제활성 조사 - 아토피 관련 지표인 TARC/CCL17, RANTES/CCL5의 생성량 및 유전자 발현 변화 조사 • in vitro 염증 억제활성 조사 - Nitric oxide 생성량 변화 조사 - 염증 관련 유전자 COX-2, iNOS의 유전자 및 단백질 발현 변화 조사 - 염증반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 • in vitro 알러지 억제 활성 조사 - 비만세포의 탈과립 방출량 및 히스타민 생성량 변화 조사 - 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 - 구아바의 항알러지 반응 관련 IL-4의 발현에 관여하는 전자조절인자 조사	100
	• 항아토피 시제품 개발	• 항아토피 미용제품 시제품 생산 완료 - 항아토피 크림 및 구아바 제과류 시제품 생산	100

<table>
<tr><th>구분
(연도)</th><th>연구개발의 목표</th><th>연구개발의 내용</th><th>달성도
(%)</th></tr>
<tr><td rowspan="4">2차
년도
(2010)</td><td>• 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재, 항아토피 식품 소재, 의약품 소재 개발 및 생물활성 연구</td><td>• 추출용매별, 추출용매 농도별 항아토피 기능성식품 천연물 소재 개발
- 추출용매(열수,EtOH,MeOH)별, 추출용매 농도별 항아토피 기능성식품 천연물소재 개발
• 개발소재의 성분분석
- 추출용매별, 추출용매 농도별 추출물의 일반성분, 영양성분 및 지표물질 분석
• 개발소재의 항아토피 균주에 대한 항미생물 활성 연구
- 추출용매별, 추출용매 농도별 추출물의 E.coli, S.mutans에 대한 항미생물 활성 연구 및 항산화 연구
• 용매별, 농도별 개발소재의 항산화 활성 연구
- DPPH 전자공여능, 환원력, ABTs radical 소거능, Nitric oxide(NO) 및 Nitrite(NO_2) 소거능 측정
• 개발소재별 지표물질 함량 측정
- polyphenol, flavonoid</td><td>100</td></tr>
<tr><td>• 항아토피, 항염증 제품화 기술 개발 및 제품의 규격화</td><td>• 항알러지, 항염증용 기능성식품의 제품화기술 개발
- 구아바의 항알러지, 항염증 활성에 기초한 기능성식품 제품화 기술 개발 (제품별 개발 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 구축)
• 항알러지 기능성식품 5건 11종
- 항아토피 요구르트 1종, 항아토피 아이스크림1종, 항아토피 떡류 4종, 항아토피 제과류 4종, 다류1종
• 기능성식품의 관능평가, 기호도 조사 및 제품의 규격화
- 개발대상 기능성식품의 영양평가, 관능평가, 기호도 조사, 제품의 규격화
- 기존제품과의 활성 비교분석
(일반제과류, 기존 아토피 제과류와의 품질 비교분석)</td><td>100</td></tr>
<tr><td>• 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 in vitro 아토피 피부염 억제 활성 검증</td><td>• in vivo 아토피 피부염 억제 활성 조사
- 아토피 동물모델인 NC/Nga 마우스에서의 홍반 (erythema), 출혈 (hemorrhage), 건조 (dryness), 찰상 (excoriation), 짓무름 (erosin) 등의 dermatitis scoring 결과 수집
- 마우스 혈청에서의 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사
- Hematoxylin & eosin 염색 후 조직병리학적 방법을 이용하여 아토피 피부염 억제 여부 측정</td><td>100</td></tr>
<tr><td>• 항아토피 시제품 개발</td><td>• 항아토피 시제품 생산
- 항아토피 로션 시제품 생산
- 구아바 잎 전통식품류, 아이스크림류 시제품 생산</td><td>100</td></tr>
</table>

구분 (연도)	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
3차 년도 (2011)	• 구아바 잎을 이용한 아토피 피부염 억제 소재, 항아토피 식품 소재, 의약품 소재 개발 및 생물활성 연구	• 저온발효공법을 활용한 식품의약소재화 기술 개발 - 저온발효공법을 이용한 구아바 잎 전처리기술 개발 • 개발소재의 성분분석 - 구아바로부터 발효공정을 통해 수획한 천연물 식품의약소재의 성분 분석 (일반성분, 영양성분, 특수성분, 지표물질 분석) • 개발소재의 생물활성 연구 (항산화활성) - 항산화활성 : DPPH 전자공여능, ABTs radical 소거능, 환원력, Nitric oxide(NO) 소거능, NO2 소거능 측정	100
	• 항아토피, 항염증 제품화 기술 개발 및 제품의 규격화	• 항염증 건강기능식품 첨가물 소재의 제품화 기술 개발 - 구아바의 항염증 활성에 기초한 건강기능식품 첨가물 및 식품의약 소재의 제품화 기술개발 (소재의 제품화 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 개발) - 항염증 식품의약 소재의 제품화 기술 개발 (제조공정, 포뮬러, 저장성, 품질평가) • 항아토피 식품의약 천연물소재의 제품화 기술 개발 - 항아토피, 항알러지 활성에 기초한 식품의약 소재의 제품화 기술개발 (소재의 제품화 매뉴얼, 포뮬러, 제조공정 개발) • 개발제품의 평가 및 규격화 - 개발제품의 유형별 평가, 기호도 조사, 시장성 조사 및 유형별 제품의 규격 설정	100
	• 구아바 천연물소재 및 개발 제품의 *in vitro* 아토피 피부염 억제 활성 검증	• 구아바 기능성 시제품의 in vitro 아토피 피부염 억제 활성 조사 - 아토피 관련 지표인 TARC/CCL 17의 생성량 및 유전자 발현 변화 조사 • 구아바 기능성 시제품의 in vivo 아토피 피부염 억제 활성 조사 - 아토피 동물모델인 NC/Nga 마우스에서의 홍반 (erythema), 출혈 (hemorrhage), 건조 (dryness), 찰상 (excoriation), 짓무름 (erosin) 등의 dermatitis scoring 결과 수집 - 마우스 혈청에서의 과민성 면역반응 관련 사이토카인의 발현 및 생성량 변화 조사 - Hematoxylin & eosin 염색 후 조직병리학적 방법을 이용하여 아토피 피부염 억제 여부 측정	100
	• 항아토피 시제품 개발 및 산업화	• 개발 소재를 이용한 제품 개발 및 산업화 완료 - 항아토피 크림 2종 생산 및 판매 중 - 항아토피 로션 2종 생산 및 판매 중 - 기능성 미백화장품 1종 생산, 식약청 등록 및 판매중 - 기능성식품(다류1종) 생산 및 판매 중	100

2. 관련분야 기여도

○ 항아토피 천연물소재 개발기술의 우위확보

○ 항아토피 천연물소재 개발기술의 산업재산권 확보를 통한 산업기반기술 구축(기술우위선점)

○ 구아바 잎 추출물의 항아토피 활성용 제품 개발기술 및 천연물소재화 기술 확보

○ 항알러지 효능이 우수한 기능성식품 개발기술 및 제조방법 확보

○ 구아바 잎의 항염증 활성을 이용한 기능성 피부크림 소재 및 제조기술 확보

○ 구아바 잎의 아토피 피부염 억제활성 연구결과를 국내외 학술지에 발표함으로서 개발 제품의 기능성 및 우수한 활성에 대한 과학적 근거 마련

○ 상품화 및 산업화 기술 확보를 통한 국민보건 증진에 기여

○ 구아바 잎의 항아토피, 항알러지, 항염증활성에 기초한 분야별 제품개발 기술의 기술이전을 통한 산업경쟁력 향상

○ 구아바 잎 천연물소재의 고부가가치 상품화를 통한 농가소득 증대, 지역경제발전 견인

○ 만성 아토피 피부염 예방 및 개선을 위한 천연물소재화 기술 확보를 통한 국민보건 증진에 기여

○ 지역 관광 상품화를 통한 고부가가치 창출

○ 연구결과에 의해 개발된 구아바 기능성제품의 패키지화(미용,식품,관광), "의령군 관광 상품"으로 집중 육성, 구아바 재배농가 확대(6만5천m^2→33만m^2)및 고부가가치 창출, 지역경제 활성화에 기여, 국가경쟁력 제고

○ 구아바 체험농장 운영, 구아바 전용쇼핑몰 및 구아바 테마공원 운영을 통한 관광 상품화

○ 개발제품의 산업화를 통한 일자리 창출, 재배농가 확대, 연구개발 인력 보강, 생산인력 확대, 유통・수출 전문가 참여

○ 항아토피 기능성원료로서의 국내외 핵심기술 우위 확보, 핵심기술의 수출상품화, 핵심기술 및 개발제품의 수입대체효과 증대, 기술경쟁력 우위 확보 가능

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구개발 성과 및 활용계획

가. 실용화 실적

	생산제품	실적	성과활용계획
1	ATOLL Lotion (항아토피 로션 제품)	1건	기술지도(생산 판매중)
2	ATOLL Cream (항아토피 크림 제품)	1건	기술지도(생산 판매중)
3	JKStory100 (기능성 미백화장품:식약청 등록)	1건	기술지도(생산 판매중)
4	구아바 잎 차(茶)	1건	기술지도(생산 판매중)
5	I 사랑 로션 (항아토피 보습로션)	1건	기술지도(생산 판매중)
6	I 사랑 크림 (항아토피 크림 제품)	1건	기술지도(생산 판매중)

나. 지식재산권 성과

출원된 특허의 경우(상표출원 포함)				등록된 특허의 경우			
출원 연도	특허명 (상표명)	출원인	출원번호	등록 연도	특허명	등록인	등록번호
2011	<①>	한국국제대 산학협력단	10-2010-00 77298	2011	<②>	한국국제대 산학협력단	특허제10-1007929
	(아톨)	서종권	40-2010-00 38352				
2011	(ATOLL)	서종권	40-2010-00 38352				
2011	(아토사이언스 ATOSCIENCE)	서종권	40-2010-00 18895		특허등록 : 1건 특허출원 : 2건 상표등록 : 3건		
2012	<③>	한국국제대 산학협력단	10-2012-00 28695				

※ 특허명 : ① 구아바와 야콘을 이용한 항당뇨, 항산화 복합조성물과 기능성 건강음료의 제조방법
② 구아바로부터 항균활성 물질의 수득방법과 그 항균활성 물질을 포함하는 아토피 피부염, 무좀, 대장균 감염 억제용 조성물
③ 현미 구아바 잎 발효소재의 제조방법과 그 현미 구아바 잎 발효소재를 이용한 현미 구아바 잎 발효분말차 제조방법

다. SCI 논문게재 성과

NO	게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	구분	SCI 구분
			주저자	교신 저자	공동 저자				
1	2011	Psidium guajava extract inhibits thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production in human keratinocytes by inducing heme oxygenase-1 and blocking NF-κB and STAT1 activation.	한은희	정혜광	5명	Environ Toxicol Pharmacol	32 (2)	136 - 145	SCI
2	2011	Ethyl acetate extract of Psidium guajava inhibits IgE-mediated allergic responses by blocking FcεRI signaling.	한은희	정혜광	12명	Food Chem Toxicol	49 (1)	100 - 108	SCI
3	2012	Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity of *Psidium Guajava* Leaf Extracts depending on Extract Dissolvent	하은진	서종권	6	한국식품영양과학회 (4월 투고예정)	-	-	KCI
4	2012	Physico-chemical characteristic of *Psidium Guajava* Leaf extracts using microwave	이수정	서종권	6	한국식품영양과학회 (4월 투고예정)	-	-	KCI

라. 국내 및 국제학술발표 실적

NO	발표자	발표제목	발표일시	학술대회명	장소/국명
1	Eun-Hee Han	Psidium guajava down-regulates cyclooxygenase-2 expression in macrophages	2009. Nov. 12-13	한국독성학회	Seoul in Korea
2	Eun-Hee Han	Psidium guajava extract suppresses IgE-mediated allergic response by inhibiting multiple steps of FcεRI signaling in mast cells.	2010. Mar. 7-11	미국독성학회	SaltLake City / USA
3	Eun-Jin Ha, In-Sung Seo, Soo-Jung Lee, Hey-Gwang Jeong, Young-Chul Chung and Jong-Kwon Seo	Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity of *Psidium Guajava* Leaf Extracts depending on Extract Dissolvent	2010. Oct. 27~29	2010 International Symposium and Annual Meeting	Daegu in Korea
4	Hyo-Jung Seo, Kyoung-Hee Kang, Jung-Hye Shin, Min-Jung Kang, Young-Chul Chung and Jong-Kwon Seo	Physico-chemical characteristic of *Psidium Guajava* Leaf extracts using microwave	2010. Oct. 27~29	2010 International Symposium and Annual Meeting	Daegu in Korea
5	Eun-Hee Han	Ethyl acetate extract of Psidium guajava inhibits thymus- and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production by blocking NF-KB activation.	2010. Nov. 11-12	한국환경성 돌연변이 발암원학회	Busan in Korea
6	Ji-Hye Im	Psidium guajava inhibits IgE-mediated allergic responses by blocking FcεRI signaling in mast cells.	2011. Mar. 6-10	미국독성학회	Washington DC / USA
7	Gyeng-Hee Kang, Hyo-Jeong Seo, Dong-Hee Nam, Seong-Yong Jeong, Hyun-Jun Kang and Jong-Kwon Seo	Anti-microbial and Anti-oxidative Activities of Extract of Guajava Leaves (*Psidium guajava*) depending on Ethanol Concentration	2011. Jun. 08~10	2011 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology	Daegu in Korea
8	In-Seoung Seo, Eun-Jin Ha, Hong-Shil Jang,Dong-Gyu Lee, Min-Wook Ryu and Jong-Kwon Seo	Analysis on Index Material and Antibacterial Activity of Guajava Leaves (*Psidium guajava*) depending on Ordanic Solvent Fractions	2011. Jun. 08~10	2011 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology	Daegu in Korea
9	Eun-Hee Han	Effects of ethyl acetate extract of Psidium guajava on thymus and activation-regulated chemokine expression induced by IFN-γ and TNF-α in human keratinocytes	2011. Oct. 27-28	일본환경위생약학회	Kanazawa, Japan
10	Jae-Ho Choi	Effects of ethyl acetate extract of Psidium guajava on atopic dermatitis-like skin lesions induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in NC/Nga mice	2011. Oct. 27-28	일본환경위생약학회	Kanazawa, Japan
11	Gyeong-Hee Kang, Seong-Yong Jeong, Woo-bin Jeong, Hyo-Jeong Seo and Jong-Kwon Seo	Anti-oxidative and Anti-microbial Activities of fermented extract of Guajava Leaves (*Psidium guajava*)	2011. Oct. 31~ Nov. 2	2011 International Symposium and Annual Meeting	Busan in Korea
12	Jong-Kwon Seo	Inhibitory effects of *Psidium guajava* on atopic dermatitis-like skin lesions induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in NC/Nga mice	2012, Mar, 11-15	미국독성학회	San Francisco, CA / USA

마. 사업화 현황

사업화명	사업화내용	사업화 업체 개요				기매출액	당해연도 매출액	매출액 합계
		업체명	대표자	종업원수	사업화 형태			
창업	구아바 아토피 크림 및 로션 개발 기술이전 및 유통	아토사이언스	서종권	5	연구개발 기술이전 유통	-	10 (2012년도)	50
상품화	ATOLL 로션	구아바 법인	오영환	20	상품화 및 유통	-	50 (2012년도)	50
상품화	ATOLL 크림	구아바 법인	오영환	20	상품화 및 유통	-	50 (2012년도)	50
상품화	JKStory100 미백화장품	구아바 법인	오영환	20	상품화 및 유통	-	30 (2012년도)	30
상품화	I 사랑 로션	구아바 코리아 (주)	임홍섭	5	상품화 및 유통	-	30 (2012년도)	30
상품화	I 사랑 크림	구아바 코리아 (주)	임홍섭	5	상품화 및 유통	-	30 (2012년도)	30

바. 인력양성 실적

(1) 인력지원 성과

지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
12	4	5	3	-	3	9	-	8	4

(2) 장·단기 연수지원 성과

장기 (2월 이상)		단기 (2월 미만)	
국내	국외	국내	국외
-	-	-	1차(7일) : 미국 (The Florida state University,총괄책임자) 2차(30일) : 미국 (Department of Human Science, Florida state University,총괄책임자)

(3) 산업기술인력 양성 성과

프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
산학연계 맞춤형인력양성사업	참여기업과 연계한 맞춤형 인력양성프로그램	한국국제대학교 국제식물자원연구소	16회	200 (실습포함)	11명 중 본사업 참여인원 2명

사. 언론보도 및 홍보실적

홍보실적(신문, 방송, 저널 등)				
번호	홍보유형	매체명	제목	일시
1	TV	KNN	생방송 금요일 N	2009.04.17
2	TV	KBS	6시 내고향	2009.10.14
3	TV	MBC	공감, 특별한 세상	2009.10.17
4	TV	MBC	그린실버, 고향이 좋다	2009.11.01
5	TV	KBS	VJ 특공대	2009.12.11
6	TV	KNN	생방송 N	2010.09.10
7	TV	MBC	공감, 특별한 세상	2010.10.23
8	TV	KBS	6시 내고향	2010.10.28
9	TV	KBS	생생투데이	2010.12.03
10	TV	KBS	참TV	2011.04.03
11	신문	한국소비자신문	신이 내린 신비의 식물 '의령 구아바'	2011.10.31
12	신문	농민신문	이사람	2011.11.16

전시회 등 참여(전시회, 박람회, 제품설명회 등)					
번호	유형	행사명칭	전시품목	장소	활용년도
1	박람회	2010건강의료박람회	구아바 항아토피 아이스크림	창원(CECO)	2010
2	전시회	2010인증농식품전시회	구아바 개발제품	창원(CECO)	2010
3	박람회	2010feel경남특산물박람회	구아바항아토피크림 외 7종	창원(CECO)	2010
4	전시회	Korea Food Expo 2010	구아바항아토피크림, 제과류	서울(COEX)	2010
5	박람회	LA한인박람회	구아바화장품, 구아바차	LA서울공원	2011
6	박람회	베트남 호치민 국제식품박람회	구아바화장품, 구아바차	사이공전시컨벤션센터	2011
7	박람회	2011세계유기농박람회	구아바잎, 열매, 발효액, 비누	경기도 남양주시	2011
8	상담회	동경수출상담회	구아바화장품, 구아바차	동경하얏트리젠씨호텔	2011
9	박람회	2011대한민국산림박람회	구아바잎, 열매, 발효액, 비누	창원 공설운동장	2011
10	박람회	제10차 세계한상대회	구아바화장품, 구아바차	부산 (BEXCO)	2011
11	박람회	2011feel경남특산물박람회	구아바화장품, 구아바차 구아바잎, 열매, 발효액, 비누	창원(CECO)	2011
12	박람회	진주국제농업박람회	구아바잎, 가루, 발효액, 비누	진주 종합경기장	2011

아. 기타홍보실적

번호	일자	행사명칭	내용	장소
1	2010.11.11.~14	연구발표회 및 세미나	구아바의 항알러지, 항아토피 효능결과 발표 및 세미나	창원(CECO) 3층 대회의실
2	2010.11.13	아토피 강좌 (경상남도, 창원 시민 대상)	구아바의 항알러지, 항아토피 효능과 연계한 아토피 관리방법 강좌	창원(CECO) 3층 대회의실
3	2011.11.04	외국 저명인사 초청특강 및 연구결과 홍보	구아바 연구결과 발표 및 국제공동연구 제안	한국국제대학교 다용도학습관(2층)

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

○ 일본 후지사의 FK 506(프로토픽, 타크로리므스)과 노바티스의 SDZ-ASM 981(엘리텔, ascomycin 유도체)은 부작용이 경미한 비스테로이드 제제인 면역억제제로 염증과 관련된 사이토카인 방출억제로 임상에서도 높은 효과를 나타낸 새로운 치료제이나 100g에 165달러 정도의 고가의 약품이어서 경제성에 문제가 있음.

○ 미국 뿐만 아니라 중국, 캄보디아 등에서도 한류열풍의 분위기에 따라 한국의 기능성 화장품 시장이 급성장 하고 있음. 유통되고 있는 대부분의 기능성화장품은 건강한 피부를 유지하기 위한 피부 건강 기능 식품 또한 이와 같은 만성 피부 질환의 예방 및 치료에 대한 기대 심리에 부응하여 다양한 제품이 개발, 시판되고 있음. 이들 제품의 주요 소재로 ɣ-linolenic acid(GLA: 18:3n-6)를 함유하고 있는 달맞이꽃 기름, 보라지유, blackcurrant oil, 또는 항산화 효능을 갖는 비타민과 무기질 및 피부 노폐물 제거에 효능이 알려진 여러 식물 추출물이 사용되고 있음.

○ 미국에서는 GLA함유 유지 섭취에 의한 아토피 피부염의 개선 효과가 여러 연구 결과에 의해 구체적으로 보고되면서 GLA의 급원 유지를 건강한 피부를 위한 건강 기능 식품의 주요 소재로 개발하고 있고 여러 회사들이 GLA의 함유량이 높고 섭취 후 생체 이용율이 큰 형태로 GLA가 존재하는 유지 개발에 치열한 경쟁을 하고 있음. 또한 항염, 항균 및 항산화 작용과 함께 피부의 보습력을 높여주는 식물 추출물의 개발에도 박차를 가하여 이중 Echinacea 식물 추출물은 피부를 위한 건강기능 식품 뿐 아니라 기능성 화장품 및 의약품의 소재로도 개발되어 유럽 뿐 아니라 우리나라에도 수입되고 있음. 그 외 민들레뿌리, 우엉, 황기, 쇠뜨기풀 등도 항염 및 항산화 효능 보고와 함께 미국에서 건강한 피부를 위한 건강 기능 식품의 주요 소재로 개발되었음.

○ 세계 건강시장의 18%를 점유하고 있는 일본에서는 건강한 피부를 위한 건강 기능 식품이 젊은층을 비롯하여 중장년층에서도 수요가 급증하고 있는데 이들 제품의 주요 소재로는 대두레시틴, 은행잎 추출물, 어유, 달맞이꽃 종자유, 항산화 비타민 및 무기질 등이 사용되고 있음. 미국에서와 같이 일본에서도 ɣ-linolenic acid(GLA: 18:3n-6)를 함유한 달맞이꽃 종자유, 보라지유 등이 소재로 사용되고 있는데 이는 피부에서의 GLA의 항염 및 항증식 효능에 대한 국제적인 인정에 의한 것이나 일본에서 개발된 소재는 아님. 타 국가와 구분되어 섬나라인 일본은 식물 추출물보다는 해양자원에서의 소재 개발에 경쟁력이 높아 상어 연골추출물이나 어유를 건강한 피부를 위한 건강 기능 식품 소재로 개발하여 사용하나 이에 대한 구체적인 효능은 아직 국제적으로 논란이 많음. 또한 중국에서는 면역계에 영향을 미치는 한약제제인 TDM(treditional chinese medicine)이 있으나 효능이 불확실함.

○ 국내외의 피부기능 개선 제품현황을 살펴보면, 건강식품 형태로는 화분제품으로 국내 몇몇 양봉원에서 양봉 부산물로 생산하는 다래화분, 참나무 화분 (허니팜), 도토리화분(안상규 벌꿀) 등이 있고, 수입품으로 정제화분 (Nature's Goodness, 호주) 과립과 캡슐형태의 화분 제품 (Comvita. New Zealand) 등이 있음. 스쿠알렌 제품으로는 국내 제품들 [스쿠알렌(세모)]. 샤크-오일[(한미약품)]과 수입품들(Harmex, Fumax, Nature's Gold, Nature's Qneen Mothemest)등의 호주제품과 Good Health 등의 뉴질랜드 제품)이 경쟁을 하고 있음. 앞으로 인터넷과 홈쇼핑을 통한 이들 건강기능식품 판매가 더욱 활성화 될 것임.

○ 외국에서는 유산균의 Toll-like receptor signaling pathway를 통한 면역 관련 분자생물학적 연구와 임상실험을 통해 아토피 개선 및 치료 프로바이오틱스를 개바하여 유산균을 이용한 아토피 및 알레르기의 새로운 치료법을 제시하고 있음.

제 7 장 참고문헌

1. Seo JK. Kang MJ, Shin JH, Lee SJ, Jeong HG, Sung NJ, Chung YC. 2010. Antibacterial and Antioxidant activities of solvent extracts from different parts of Hagocho. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1425-1432.

2. Hwang EY, Hong JH, Choi JH, Lee EJ, Lee IS. 2009. Study on Anti-obesity and hypoglycemic effects of *Lycium chinense* Mill extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1528-1534.

3. Kim SJ, Shin JY, Park YM, Chung KM, Lee JH, Kweon DH. 2006. Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of licorice root. *Korean J Food Sci Technol* 38: 241-248.

4. Cho KY. 1989. Studies on the extraction condition of SSANG WHA tea. *J. Korean Soc Food Nutr* 18: 34-39

.

5. Oh SL, Kom SS, Min BY, Chung DH. 1993. Composition of free sugar, free amino acids, non-volatile organic acids and tannins in the extracts of *L. chinensis M., A. acutiloba K., Schizandra chinensis B. and A. sessiliflorum S. Korean J Food Sci Technol* 22: 76-81.

6. Kim KM, Park MH, Kim KH, Im SH, Park YH, Kim YN. 2009. Analysis of chemical composition and *in vitro* anti-oxidant properties of extracts from Sea Buckthorn *(Hippophae rhamnoides). J Appl Biol Chem.* 52: 58-64.

7. Kim KH, Roh SG, Li CR, Jin CF, Kim A, Choi WC. 2008. Anti-diabetic effects of banaba leaf extracts *(Lagerstroemia speciosa Pers.)* through solvents. *J Life Sci* 18: 1305-1311.

8. Shon BH, Chung WT, Kang PD, Ryu KS, Jung IY, Kim YS, Kim KY, Kim MJ, Chung IS. 2007. Analysis of general ingredient and amino acid contents in silkworm feces with different extracting methods and collecting time. *Korean J Seric Sci* 49: 43-46.

9. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.

10. Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Enthropharmacol* 71: 109-114.

11. Cha JY, Ahn HY, Eom KE, Park BK, Jun BS, Cho YS. 2009. Antioxidative activity of *Aralia elata* shoot and leaf extracts. *J Life Sci* 19: 652-658.

12. Hsieh CL, Lin YC, Yen GC, Chen HY. 2007. Preventive effects of guava leaves and its active compounds against α-dicarbonyl compounds-induced blood coagulation. *Food Chem* 103: 528-535.

13. Chen HY, Yen GC. 2007. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava leaves. *Food Chem* 101: 686-694.

14. Lee SJ, Seo JK, Shin JH, Lee HJ, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of Wa-song (*Orostachys japonicus* A. Berger) according to drying methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 605-611.

15. Jeong CH, Choi SG, Heo HJ. 2008. Analysis of nutritional components and evaluation of functional activities of borealis leaf tea. *Korean J. Food Sci Technol* 40: 586-591.

16. Jeon CP, Lee JB, Choi CS, Kwon GS. 2011. Biological activities of ethanol extracts from monascus-fermented Chinese yam. *J Life Sci* 21: 1142-1148.

17. Middleton EJ, Kandaswami C. 1994. Potential health promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technol* 48: 115.

18. Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K, Uchino K. 1997. Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 102-104.

19. Kim MJ, Lee SJ, Kim RJ, Jeong BY, Sung NJ. 2011. Mineral content and antioxidants activity of *Portulaca oleracea*. *J Life Sci* 21: 1393-1400.

20. Cho JY, Park YJ, Oh DM, Rhyu DY, Kim YS, Chon SU, Kang SS, Heo BG. 2011.

Amino acid contents and various physiological activities of *Allium victorialis*. *Korean J Plant Res* 24: 150-159.

21. Heo SJ, Ahn HY, Kang MJ, Lee JH, Cha JY, Cho YU. 2011. Antioxidative activity and chemical characteristics of leaves, roots, steams and fruits extracts from *Acanthopanax senticosus*. *J Life Sci* 21: 1502-1509.

22. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.

23. Swain T, Hillis WE, Oritega M. 1959. Phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 10: 83-88.

24. Kim KS, Shin MK, Kim HY. 2008. Nutritional composition and antioxidant activity of the white lotus(*Nelumbo nucifera* Gaertn) leaf. *J East Asian Soc Dietary Life* 18: 499-506.

25. Hong JY, Nam HS, Lee YS, Yoon KY, Kim NW, Shin SR. 2006. Study on the antioxidant activity of extracts from the fruit of *Elaeagnus multiflora* Thunb. *Korean J Food Preserv* 13: 413-419.

26. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr* 44: 307-315.

27. Gordon MH. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. In *Food antioxidant. Hudson BJF,* ed. *Elsevier Applied Science, London, UK*. p 1-8.

28. Xu MX, Jun JY, Jeong IH. 2007. A Study on the antioxidant activity of *Hae-Songi* mushroom(*Hypsizigus marmoreus*) hot water extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1351- 1357.

29. Shin JH, Yang SM, Kang MJ, Kim SH, Sung NJ. 2010. Biological activities of hot water extracts made from Yuza(*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) peel cultivated in namhae. *Korean J. Food Cookey Sci* 26: 79-87.

30. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korea J Food Sci Technol* 27: 978-984.

31. Re R, Pellegrini N, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTs radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.

32. Kim IH, Jeong CH, Park SJ, Shim KW. 2011. Nutritioal components and antioxidative activities of Jujube (*Zizyphus jujuba*) fruit and leaf. *Korean J Food Preserv* 18: 341-348.

33. Jeong HR, Kwak JH, Kim JH, Choi GN, Jeong CH, Heo HJ. 2010. Antioxidant and neuronal cell protective effects of an extract of *Houttuynia cordata* Thunb (a culinary herb). *Korean J Food Preserv* 17: 720-726.

34. Song HS, Moon KY. 2006. In vitro antioxidant activity profiles of β-glucans isolated from yeast *Saccharomyces cerevisiae* and mutant *Saccharomyces cerevisiae* IS2. *Food Sci Biotechnol* 15: 437-440.

35. Chung, HT, Pae HO, Choi BM, Billiar TR, Kim YM. 2001. Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 282: 1075-1079.

36. Kim DS, Ahn BW, Yeum DM, Lee DW, Kim ST, Park YH. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. *Bull Korean Fish Soc* 20: 463-468.

37. Park CS, Kwon CJ, Choi MA, Park GS, Choi KH. 2002. Antioxidative and nitrite scavenging activities of mugwort and pine needle extracts. *Korean J Food Preserv* 9: 248-252.

38. Bae MJ, Ye EJ. 2010. Antioxidant activity and vitro for anticancer effects of manufactured fermented mulberry leaf tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 796-804.

39. Kim DJ, Jung JH, Kim SG, Lee HK, Lee HK, Lee SK, Hong HD, Lee BY, Lee OH.

2011. Antioxidants and Anti-obesity Activities of Hot Water and Ethanolic Extracts from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). *Korean J Food Preserv* 18: 366-373.

40. Cho YJ, Chun SS, Kwon HJ, Kim JH, Yoon SJ, Lee KH. 2005. Comparison of physiological activities between hot-water and ethanol extracts of Bokbunja (*Rubus coreanum* F.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 790-795.

41. Ahn EY, Shin DH, Oh JA, Beak NI. 1998. Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Glycyrrhiza uralensis* FISCH. *Korean J Food Sci Technol* 30: 680-687.

42. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavanging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 624-630.

43. Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum L.*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 965-971.

44. Jeong CH, Shin CS, Bae YI, Shim KH. 2010. Antioxidant activities of ethanol and water extracts from propolis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1725-1730.

45. Hwang SY, Ahn SH. 2011. Biological activities and cell proliferation effects of red ginseng ethanol extracts. *J Pharmacopuncture* 14: 55-61.

46. Liang YC, Husang YT, Tsai SH, Lin-Shiau SY, Chen CF, Lin JK. 1999. Suppression of inducible cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse macrophases. *Carcinigensis* 20: 1945-1952.

47. Kim YD, Mahinda S, Koh KS, Jeon YJ, Kim SH. 2009. Reactive oxygen species scavenging activity of Jeju native citrus peel during maturation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 462-469.

48. Kim JW, Lee SH, No HK, Hong JH, Youn KS. 2010. Antioxidant properties of cultured wild ginseng roots extracts. *Korean J Food Preserv* 17: 861-866.

49. Na GM, Han HS, Ye SH, Kim HK. 2004. Physiological activity of medicinal plant

extracts. *Korean J Food Preserv* 11: 388-393.

50. Sung KO. 2005. Antimicrobial activities of the extract of Gingo biloba L. leaves on the food-borne pathogens. *MS Thesis. Sungshin Women's University, Seoul, Korea.* p 14-34.

51. Park SB, Cho GS. 2011. Antimicrobial activity of extracts and fractions of ginkgo biloba leaves, seed and outer seedcoat. *J Korean Soc Food Nutr* 40: 7-13.

52. Jo YH, Ok DL, Lee SC. 2009. Antimicrobial characteristics of different parts of Guava against food-borne bacteria. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1773-1778.

53. Gonçalves FA, Andrade NM, Bezerra JN, Macrae A, Sousa OV, Fonteles-Filho AA, Vieira RH. 2008. Antibacterial activity of guava, *Psidium guajava* Linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from Seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 50: 11-15.

54. Mahfuzul HMD, Bari ML, Inatsu Y, Juneja VK, Kawamoto S. 2007. Antibacterial activity of guava (*Psidium guajava L.*) and Neem (Azadirachta indica A. Juss.) extracts against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Foodborne Pathog Dis* 4: 481-488.

55. Singh G, Kapoor IPS, Singh P, Heluani CS, Lampasona MP, Catalan CAN. 2008. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zinger officinale. Food Chemical Toxicol* 46: 3295-3302.

56. Ha YM, Lee BB, Bae HJ, Je KM, Kim SR, Choi JS, Choi IS. 2009. Anti-microbial activity of grapefruit seed extract and processed sulfur solution against human skin pathogens. *J Life Sci* 19: 19-100.

57. No YS. 1975. Antifungal studies on components from the pericarp of Forsythia viridissima (I). *J Kor Pharmacog* 6: 143-147.

58. Lee IH, Shim Y, Choi SH, Park JY. Han SW, Song JY, Yoon SJ. 2006. A study on the antimicrobial effect of ginkgo biloba leaves extracts according to concentrations of

ethanol for *staphylococcus aureus*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 312-316.

59. Shin DH, Kim MS, Han JS. 1997. Antimicrobial effect of ethanol extracts from medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. *Korean J Food Sci Technol* 29: 808-816.

60. Son YR. 2003. Studies on the antimicrobial effect of extracts of propolis. *J Fd Hyg Safety* 18: 189-194.

61. Lee HJ, Bae YI, Jeong HC, Shim KH. 2005. Biological activities of various solvent extracts from propolis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1-7.

62. Liu, F.T., Goodarzi, H., Chen, H.Y., 2011. IgE, mast cells, and eosinophils in atopic dermatitis. Clin Rev Allergy Immunol. 41, 298-310.

63. Powe, D.G., Bonnin, A.J., Jones, N.S., 2010. 'Entopy': local allergy paradigm. Clin Exp Allergy. 40, 987-997.

64. Strid, J., Strobel, S., 2005. Skin barrier dysfunction and systemic sensitization to allergens through the skin. Curr Drug Targets Inflamm Allergy. 4, 531-541.

65. Fietta, P., Delsante, G., 2009. The effector T helper cell triade. Riv Biol. 102, 61-74.

66. Marsella, R., Olivry, T., Maeda, S., 2006. Cellular and cytokine kinetics after epicutaneous allergen challenge (atopy patch testing) with house dust mites in high-IgE beagles. Vet Dermatol. 17, 111-120.

67. Littman, D.R., Pamer, E.G., 2011. Role of the commensal microbiota in normal and pathogenic host immune responses. Cell Host Microbe. 10, 311-323.

68. Jutel, M., Akdis, C.A., 2011. T-cell subset regulation in atopy. Curr Allergy Asthma Rep. 11, 139-145.

69. Minnicozzi, M., Sawyer, R.T., Fenton, M.J., 2011. Innate immunity in allergic disease. Immunol Rev. 242, 106-127.

70. Casserly, B.P., Sears, E.H., Gartman, E.J., 2010. The role of natriuretic peptides in inflammation and immunity. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov. 4, 90-104.

71. Greten, T.F., Manns, M.P., Korangy, F., 2011. Myeloid derived suppressor cells in human diseases. Int Immunopharmacol. 11, 802-807.

72. Wesolowski, J., Paumet, F., 2011. The impact of bacterial infection on mast cell degranulation. Immunol Res. 51, 215-226.

73. Mukherjee, A.B., Zhang, Z., 2011. Allergic asthma: influence of genetic and environmental factors. J Biol Chem. 286, 32883-32889.

74. Sin, B., Togias, A., 2011. Pathophysiology of allergic and nonallergic rhinitis. Proc Am Thorac Soc. 8, 106-114.

75. Im, L.R., Ahn, J.Y., Kim, J.H., Xin, M., Kwon, S.U., Kim, Y.K., Kim, D.K., Lee, Y.M., 2011. Inhibitory effect of kyungohkgo in the development of 2,4-dinitrochlorobenzene -induced atopic dermatitis in NC/Nga mice. Arch Pharm Res. 34, 317-321.

76. Kim, M.S., Hur, Y.G., Kim, W.G., Park, B.W., Ahn, K.S., Kim, J.J., Bae, H., 2011. Inhibitory effect of Platycodon grandiflorum on T(H)1 and T(H)2 immune responses in a murine model of 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesions. Ann Allergy Asthma Immunol. 106, 54-61.

77. Matsumoto, M., Ra, C., Kawamoto, K., Sato, H., Itakura, A., Sawada, J., Ushio, H., Suto, H., Mitsuishi, K., Hikasa, Y., Matsuda, H., 1999. IgE hyperproduction through enhanced tyrosine phosphorylation of Janus kinase 3 in NC/Nga mice, a model for human atopic dermatitis. J Immunol. 162, 1056-1063.

78. Homey, B., Meller, S., Savinko, T., Alenius, H., Lauerma, A., 2007. Modulation of chemokines by staphylococcal superantigen in atopic dermatitis. Chem Immunol Allergy. 93, 181-194.

79. Yamashita, U., Kuroda, E., 2002. Regulation of macrophage-derived chemokine (MDC, CCL22) production. Crit Rev Immunol. 22, 105-114.

부 록

1. 기술교육 및 기술이전에 따른 상품화 현황

2. 언론보도 및 홍보실적

3. 기타홍보실적(연구발표회, 세미나 및 아토피 강좌)

4. 논문게재 성과, 국내 및 국제학술발표 실적

5. 특허출원 및 등록현황

6. 사업화 현황

1. 기술교육 및 기술이전에 따른 상품화 현황

	생산제품	실적	성과활용계획
1	ATOLL Lotion (항아토피 로션 제품)	1건	기술지도(생산 판매중)
2	ATOLL Cream (항아토피 크림 제품)	1건	기술지도(생산 판매중)
3	JKStory100 (기능성 미백화장품:식약청 등록)	1건	기술지도(생산 판매중)
4	구아바 잎 차(茶)	1건	기술지도(생산 판매중)
5	I 사랑 로션 (항아토피 보습로션)	1건	기술지도(생산 판매중)
6	I 사랑 크림 (항아토피 크림 제품)	1건	기술지도(생산 판매중)

ATOLL Care Lotion

ATOLL Care Cream

JK Story Lotion

JK Story Toner Mist

구아바 잎 차(茶)	구아바 잎 차(茶)
i 사랑 로션	i 사랑 크림

2. 언론보도 및 홍보실적

홍보실적(신문, 방송, 저널 등)				
번호	홍보유형	매체명	제목	일시
1	TV	KNN	생방송 금요일 N	2009.04.17
2	TV	KBS	6시 내고향	2009.10.14
3	TV	MBC	공감, 특별한 세상	2009.10.17
4	TV	MBC	그린실버, 고향이 좋다	2009.11.01
5	TV	KBS	VJ 특공대	2009.12.11
6	TV	KNN	생방송 N	2010.09.10
7	TV	MBC	공감, 특별한 세상	2010.10.23
8	TV	KBS	6시 내고향	2010.10.28.
9	TV	KBS	생생투데이	2010.12.03
10	TV	KBS	참TV	2011.04.03
11	신문	한국소비자신문	신이 내린 신비의 식물 '의령 구아바'	2011.10.31
12	신문	농민신문	이사람	2011.11.16.

전시회 등 참여(전시회, 박람회, 제품설명회 등)					
번호	유형	행사명칭	전시품목	장소	활용년도
1	박람회	2010건강의료박람회	구아바 항아토피 아이스크림	창원(CECO)	2010
2	전시회	2010인증농식품전시회	구아바 개발제품	창원(CECO)	2010
3	박람회	2010feel경남특산물박람회	구아바항아토피크림 외 7종	창원(CECO)	2010
4	전시회	Korea Food Expo 2010	구아바항아토피크림, 제과류	서울(COEX)	2010
5	박람회	LA한인박람회	구아바화장품, 구아바차	LA서울공원	2011
6	박람회	베트남 호치민 국제식품박람회	구아바화장품, 구아바차	사이공전시컨벤션센터	2011
7	박람회	2011세계유기농박람회	구아바잎, 열매, 발효액, 비누	경기도 남양주시	2011
8	상담회	동경수출상담회	구아바화장품, 구아바차	동경하얏트리젠씨호텔	2011
9	박람회	2011대한민국산림박람회	구아바잎, 열매, 발효액, 비누	창원 공설운동장	2011
10	박람회	제10차 세계한상대회	구아바화장품, 구아바차	부산 (BEXCO)	2011
11	박람회	2011feel경남특산물박람회	구아바화장품, 구아바차 구아바잎, 열매, 발효액, 비누	창원(CECO)	2011
12	박람회	진주국제농업박람회	구아바잎, 가루, 발효액, 비누	진주 종합경기장	2011

가. 홍보실적(신문, 방송, 저널 등)

고소득 작물인 구아바의 영양성분, 항아토피 효능 및 노화방지 효과에 대한 연구결과는 참여기업(구아바코리아(주), 구아바영농조합법인)과 공동으로 신문, 전국방송(KNN 생방송 금요일 N, KBS 6시 내고향, MBC 공감 특별한 세상, KBS VJ특공대, SBS 고향이 보인다 등 10회)에 홍보함으로서 농가소득 증대는 물론 지역경제에도 크게 기여한 바 있음.

□ 방 송 명 : **KNN 생방송 금요일 N**

□ 일　　시 : 2009. 04. 17

□ 촬영장소 : 구아바코리아(주) 구아바 재배농장

□ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

□ 주요내용 : 파릇파릇 **구아바 잎** 봄미인 유혹하네

□ 방 송 명 : **KBS 6시 내고향**

□ 일　　시 : 2009. 10. 14

□ 촬영장소 : 구아바코리아(주)- 본 사업 참여기업

□ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

□ 주요내용 : 맛의 유혹, 구아바

□ 방 송 명 : MBC 공감, 특별한 세상

□ 일　　시 : 2009. 10. 17

□ 촬영장소 : 구아바영농조합법인 - 본 사업 참여기업

□ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

□ 주요내용 : Made in Korea! 열대과일 한국 상륙기! “구아바”

<홍보내용>

열대 과일 구아바를 직접 재배하는 경남 의령 구아바 농장을 찾았다. 품종에 따라 샛노란 구아바부터 빨간색 구아바까지 다양하다. 하우스에서 재배하기에 열대 과일을 키울 수 있었지만, 구아바는 다른 열대과일보다 추위에 강하기 때문에 재배할 수 있다고 한다. 구아바는 고대 잉카인들이 고산지대에서 재배해 먹었다는 **'신이 내린 선물'**이라고 불렸다. 한여름 뜨거운 태양을 잘 견디고 결실 맺은 구아바는 지금이 한창 수확 철이다. 바쁘게 수확하다가도 하나씩 입에 안 넣고는 못 배길 정도로 달콤새콤한 맛을 자랑한다.

☐ 방 송 명 : **MBC 그린실버, 고향이 좋다**

☐ 일　　시 : 2009. 11. 01

☐ 촬영장소 : 구아바코리아(주)- 본 사업 참여기업

☐ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

☐ 주요내용 : 달콤한 유혹~ 구아바를 아시나요?

<홍보내용>

경남 의령의 구아바 농장, 달달한 향기가 코끝을 자극하고 빨갛고 노란 탐스런 열매에 눈이 즐겁다! 비타민 C가 레몬의 3배로 비타민의 보고이자 폴리페놀이 풍부해 당뇨에도 탁월한 열대건강과일!! 더구나 농약 한 방울 치지 않아 바닥엔 지렁이가 바글바글~ 청개구리와 메뚜기를 벗 삼아 자라는 친환경 과일이다 보니 믿고 먹을 수 있는 게 크나큰 장점이라고!! 구아바 잎으로 양념해 기름은 쏙~ 빠지고 담백해진 삼겹살과 아삭하게 되살아난 김치겉절이, 보슬보슬한 구아바 밥까지~ 지금까지 맛 본 과일의 모습은 잊어라!! 물 건너온 구아바의 색다른 이야기~

□ 방 송 명 : KBS VJ 특공대

□ 일 시 : 2009. 12. 11

□ 촬영장소 : 구아바코리아(주)- 본 사업 참여기업

□ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

□ 주요내용 : 잘 키우면 대박! 新블루오션 총집합

<홍보내용>

물만 주면 황금이 주렁주렁?! 돈 되는 나무 구아바가 떴다!

경남 의령의 한 시설하우스, 열대 나무로 알려진 구아바가 오랜 세월 우리 땅에 토착해, 쌀쌀한 초겨울에도 탐스러운 열매를 맺는데. 고소득 특작목으로 떠오른 구아바는 묘목, 열매, 잎 어디 하나 버릴 것 없이 없다! 열매는 1kg에 2만 5천 원 선으로 과일 중에선 최고단가! 잎으론 차와 미용용품으로 2차 가공이 가능하고 묘목 역시 공기정화 능력이 뛰어나 개당 2만원씩 전국 각지로 팔려나가고 있으니 잘 키운 구아바 덕에 대박 났단다!

□ 방 송 명 : KNN 생방송N

□ 일 시 : 2010. 9. 10

□ 촬영장소 : 구아바코리아(주) 구아바 재배농장

□ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

□ 주요내용 : 새콤달콤 신의 과일 “의령 구아바”

□ 방 송 명 : MBC 공감, 특별한 세상

□ 일 시 : 2010. 10. 23

□ 촬영장소 : 구아바코리아(주)- 본 사업 참여기업

□ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

□ 주요내용 : 황금알을 낳는다! 新 부농백서

□ 방 송 명 : KBS 6시 내고향

□ 일　　시 : 2010. 10. 28

□ 촬영장소 : 구아바코리아(주)- 본 사업 참여기업

□ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

□ 주요내용 : 오늘의 新 명인 - 구아바 구아바~ 건강을 유혹하네~

□ 방 송 명 : KBS 생생투데이

□ 일　　시 : 2010. 12. 3 (금) 방송

□ 촬영장소 : 구아바영농조합법인 - 본 사업 참여기업

□ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

□ 주요내용 : 지역색으로 승부한다. 마셔酒- 구아바 막걸리 개발

□ 방 송 명 : KBS 네트워크 참TV

□ 일　　시 : 2011. 4. 3

□ 촬영장소 : 구아바코리아(주)- 본 사업 참여기업

□ 촬영지원 : 한국국제대학교 (주관기관)

□ 주요내용 : 아낌없이 주는 나무 - 구아바

한국소비자신문 - 2011년 10월 31일

신이 내린 신비의 식물 '의령 구아바'

청정지역으로 이름난 경남 의령군의 구아바스토리 농장

아열대지방에서만 볼 수 있던 구아바가 2년 전부터 국내에서도 재배되기 시작했다. 구아바의 잎과 열매, 나무의 효능이 알려지면서 구아바 나무를 기르는 농장이 늘어나고 있는 것.

청정지역으로 이름난 경남 의령군 칠곡면 산남리 238번지 '구아바스토리 농장'(www.guavakorea.co.kr)도 그 중의 하나다. 1천500여평 대지위의 시설하우스에서 10년생 이상의 구아바를 대량 재배하고 있다.

구아바 나무, 과일, 차에서부터 시작해 바디, 미용제품까지 다양한 용도로 생활 속에 다가서고 있다.

구아바는 영양이 풍부한 약용과일이다. 비타민C가 사과보다 60배 이상 많고 비타민A, B도 풍부해 과일 중의 '비타민제왕'이라 불린다. 섬유질도 사과보다 5배 이상 많고 철분, 칼슘 등도 풍부하다.

또 구아바 열매 속의 폴리페놀은 항산화 물질로, 몸의 면역력을 증대시켜 질병을 예방할 수 있다. 특히 심혈관질환(당뇨, 고혈압, 고지혈증 등), 중금속 제거, 발암 억제, 노화 및 비만 예방에 도움을 줄 수 있다고 알려져 있다.

구아바스토리 농장의 구아바 과일과 차는 무농약 친환경 농법으로 재배해 씻지 않고 바로 먹을 수 있다.

구아바 열매는 즙을 내 먹거나 과육을 이용해 요구르트나 우유, 사이다 등과 함께 먹는 것이 좋다. 아이스크림으로 만들면 상큼하고 부드러운 맛이 이색적이다.

붉은색 구아바는 딸기·포도·망고가 섞인 듯 한 새콤달콤한 맛을 내고, 노란색 구아바는 조금 더 달고 향이 좋은 것이 특징이다.

이 농장은 1년 중 영양이 가장 풍부한 시기에 구아바 잎을 채취, 잘 말려서 소비자들에게 판매하고 있다. 구아바 잎은 당뇨환자들이 즐겨 찾고 있는데. 끓여서 마시면 당을 낮추는데 효과가 크기 때문이다.

구아바 나무는 공기정화 능력이 탁월하고 포름알데히드(아토피 유발물질) 제거 능력이 뛰어나다. 특히 실내에서 쉽게 기를 수 있다.

한편 경남 의령군은 구아바 나무를 군목 중의 하나로 장려할 정도로 농민들이 농가 수입을 올리는데 기여하는 나무로 자리매김 됐다.

편집국 edit@koreasobija.com

농민신문 최종편집일 : 2011-11-16

[이사람]열대작물 구아바 재배 임흥섭씨<경남 의령>

“구아바 가공품만 20가지 넘어요”

구아바를 대량재배하면서 유기인증을 눈앞에 둔 구아바코리아 임흥섭 대표가 수확을 앞둔 열매를 보여주고 있다.

중남미가 원산지인 열대작물 구아바가 건강기능식품으로서뿐 아니라 공기정화식물로서도 각광 받고 있다.

경남 의령 칠곡에서 5년 전부터 친환경 농사법으로 구아바를 재배하고 있는 구아바코리아_ 임흥섭 대표는 현재 과일용으로는 물론, 구아바 추출물을 이용한 화장품과 샴푸·비누·마스크팩과 구아바 잎차·환·가루·발효액 등 총 21가지의 제품을 생산, 판매하고 있다.

최근에는 구아바가 소나무 다음으로 공기정화능력이 탁월한 것으로 알려지면서 가정 화분용 묘목도 인기가 많다.

구아바는 아직 대중화 되지 않은 데다 생산량이 적어 과일의 경우 일반 소비자가 맛보기 쉽지 않은 실정이다. 그러나 최근 구아바는 항산화물질인 폴리페놀 성분과 함께 비타민C 함량이 사과보다 60배 이상 높고 여러 가지 기능 성분을 함유한 것으로 밝혀지면서 새로운 소득작물로 급부상하고 있다. 구아바 잎(건잎)은 현재 1㎏에 30만원, 열매는 5~6만원선에 판매되고 있다.

현재 4,959㎡(1,500평)의 시설에 이를 재배하면서 유기인증을 눈앞에 두고 있는 임대표는 “구아바는 묘목을 심은 후 5년차부터 열매를 수확할 수 있고 겨울철 시설 내부가 영하로 내려가지 않도록 관리하면 재배에 큰 어려움이 없다”고 말했다.

열매는 10월 초부터 11월 말까지 수확할 수 있으나 저장성이 약하기 때문에 즉시 유통해야 한다. 기능성 가공제품으로 잎 추출물을 활용하려면 2~3월 가지치기할 때 발생하는 잎을 이용하면 된다.

임대표는 대량재배를 통해 현재 구아바 건잎의 경우 1㎏에 10만원, 열매는 2만5,000원까지 가격을 낮췄으며, 최근에는 몇몇 대학과 산학협력으로 잎 추출물을 이용한 아토피 질환 치료 연구도 하고 있다.

현재 의령지역에서는 8농가에서 약 2만6,400㎡(8,000여평)의 구아바를 시설재배하고 있으며, 각종 가공제품 생산·판매로 부가가치를 높이고 있다. ☎ 055-574-5025

의령=박종명 기자 jmpark@nongmin.com

나. 전시회 등 참여(전시회, 박람회, 제품설명회 등)

구아바를 이용한 항아토피 제품개발에 대한 연구결과 및 개발제품은 각종 전시회 및 박람회(2010건강의료박람회, 2010인증농식품 전시회, feel경남특산물박람회, Korea Food Expo 2010 등 12회)에 참가하여 구아바의 항아토피 효능 및 연구결과를 홍보함.

□ 전시회명 : 2010건강의료박람회
□ 일　　시 : 2010. 9. 3 ~ 9. 5
□ 장　　소 : 경남창원컨벤션홀(CECO)
□ 주관/주최 : 경상남도, MBC, 창원한마음병원, 한국국제대학교 식품과학과
□ 주요내용 : 구아바 항아토피 아이스크림 시식회 및 관능평가 실시

□ 전시회명 : 2010인증농식품전시회
□ 일　　시 : 2010. 11. 5
□ 장　　소 : 경남창원컨벤션홀
□ 주관/주최 : 국립농산물품질관리원
□ 주요내용 : 인증농산물 명품(친환경) 부분 인증

□ 전시회명　: 2010 feel경남특산물박람회

□ 일　　시　: 2010. 11. 11 ~ 11. 14

□ 장　　소　: 창원컨벤션센터(CECO)

□ 주관/주최 : (주)경남무역, 경상남도

□ 주요내용 : 연구개발 제품 (<u>구아바 항아토피 크림 외 7종</u>) 전시 홍보

□ 전시회명　: KOREA FOOD EXPO 2010

□ 일　　시　: 2010. 11. 18 ~ 11. 22

□ 장　　소　: 서울국제무역전시장 (COEX)

□ 주관/주최 : 농림수산식품부, 농산물유통공사, COEX

□ 주요내용 : 연구개발 제품 (구아바 항아토피 크림, 제과류) 전시 홍보

□ 전시회명 : **LA한인박람회**

□ 일　　시 : 2011. 9. 20 ~ 9. 26

□ 장　　소 : LA서울공원

□ 주관/주최 : LA한인연합회

□ 주요내용 : 연구개발 제품 (구아바 화장품, 구아바 차) 전시 홍보

□ 전시회명 : **베트남 호치민 국제식품박람회**

□ 일　　시 : 2011. 9. 27 ~ 10. 1

□ 장　　소 : 사이공전시컨벤션센터

□ 주관/주최 : 싱가포르 전시 서비스 VCCI Exhibition Servuces/베트남 Local

□ 주요내용 : 연구개발 제품 (구아바 화장품, 구아바 차) 전시 홍보

□ 전시회명 : **2011세계유기농박람회**

□ 일 시 : 2011. 9. 28 ~ 10. 2

□ 장 소 : 경기도 남양주시

□ 주관/주최 : 남양주시/(사)IFOAM

□ 주요내용 : 구아바 잎, 열매, 발효액, 비누 등 전시 홍보

□ 전시회명 : **동경수출상담회**

□ 일 시 : 2011. 10. 11 ~ 10. 14

□ 장 소 : 동경하얏트리젠씨호텔

□ 주관/주최 : ㈜경남무역

□ 주요내용 : 연구개발 제품 (구아바 화장품, 구아바 차) 전시 홍보

□ 전시회명 : **2011대한민국산림박람회**

□ 일　　시 : 2011. 10. 13 ~ 10. 19

□ 장　　소 : 창원시스포츠파크 만남의 광장 일원

□ 주관/주최 : 경상남도/산림청

□ 주요내용 : 구아바 잎, 열매, 발효액, 비누 등 전시 홍보

□ 전시회명 : **제10차 세계한상대회**

□ 일　　시 : 2011. 11. 2 ~ 11. 4

□ 장　　소 : 부산(BEXCO)

□ 주관/주최 : 재외동포재단, 부산광역시, 매일경제신문/재외동포 경제단체

□ 주요내용 : 연구개발 제품 (구아바 화장품, 구아바 차) 전시 홍보

□ 전시회명 : **2011 feel경남특산물박람회**

□ 일 시 : 2011. 11. 3 ~ 11. 6

□ 장 소 : 창원컨벤션센터(CECO)

□ 주관/주최 : ㈜경남무역/경상남도

□ 주요내용 : 연구개발 제품 (구아바 화장품, 구아바 차) 전시 홍보

□ 전시회명 : **진주국제농업박람회**

□ 일 시 : 2011. 11. 9 ~ 11. 12

□ 장 소 : 진주종합경기장 일원

□ 주관/주최 : MBC경남, ㈜지엔에이인터내셔날, K.FAIRS(주)/진주시

□ 주요내용 : 구아바 잎, 열매, 발효액, 비누 등 전시 홍보

3. 기타홍보실적(연구발표회, 세미나 및 아토피 강좌)

본 연구 사업을 통해 도출된 연구결과는 연구발표회, 세미나 및 아토피 강좌를 통해 구아바의 항아토피 효능을 홍보하고자 하였으며, 연구발표회 및 세미나는 항아토피, 항알러지, 항염증 활성에 대해 창원컨벤션센터에서 실시하였으며, 아토피 강좌는 구아바 잎 추출물을 이용하여 개발된 상품(아톨크림, 아톨로션)을 한방병원을 통해 임상평가한 내용을 중심으로 한의학 전문가를 초청하여 유아, 청소년 및 학부모를 대상으로 아토피 강좌를 실시하였다. 아토피 강좌의 초청장은 경남지역 5,000여명의 학부모에게 발송하였으며, 그 결과 약 500여명이 참석한 가운데 창원컨벤션센터에서 개최하였음.

【연구발표회 및 세미나】

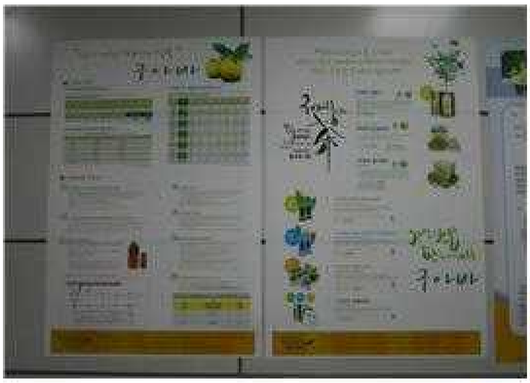
□ 전시회명 : 2010feel경남특산물박람회

□ 일 시 : 2010. 11. 11 ~ 11. 14

□ 장 소 : 창원컨벤션센터(CECO) 3층 대회의실(301,302호)

□ 주관/주최 : (주)경남무역, 경상남도

□ 주요내용 : 구아바의 항알러지, 항아토피 효능결과 발표 및 세미나



【아토피 강좌】

☐ 강 좌 명 : “우리아이 아토피 관리방법”

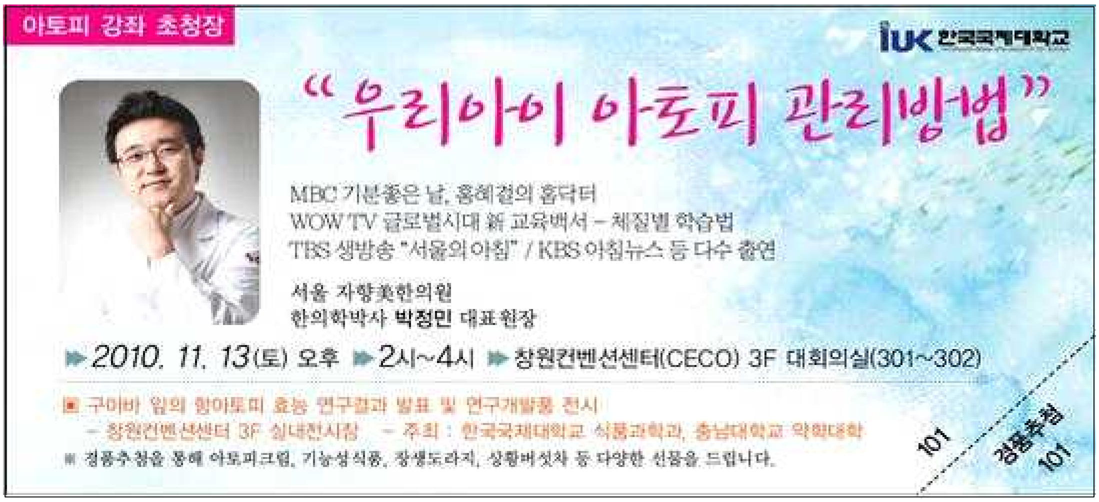
☐ 강　　사 : 서울 자향미한의원 박정민 대표원장

☐ 일　　시 : 2010. 11. 13(토) 14:00 ~ 16:00

☐ 장　　소 : 창원컨벤션센터(CECO) 3층 301,302호

☐ 주관/주최 : 한국국제대학교 식품과학과, 충남대학교 약학대학
구아바코리아(주), 구아바영농조합법인

☐ 주요내용 : 구아바의 항알러지, 항아토피 효능과 연계한 아토피 관리방법 강좌



아토피 강좌 초청장
IUK 한국국제대학교
"우리아이 아토피 관리방법"
MBC 기분좋은 날, 홍혜걸의 홈닥터
WOW TV 글로벌시대 新 교육백서 – 체질별 학습법
TBS 생방송 "서울의 아침" / KBS 아침뉴스 등 다수 출연
서울 자향美한의원
한의학박사 박정민 대표원장
2010. 11. 13(토) 오후 2시~4시 창원컨벤션센터(CECO) 3F 대회의실(301~302)
■ 구아바 잎의 항아토피 효능 연구결과 발표 및 연구개발품 전시
– 창원컨벤션센터 3F 실내전시장 – 주최 : 한국국제대학교 식품과학과, 충남대학교 약학대학
※ 경품추첨을 통해 아토피크림, 기능성식품, 장생도라지, 상황버섯차 등 다양한 선물을 드립니다.
101
경품추첨
101

아토피
강 좌

IUK 한국국제대학교
아토피
강 좌

아토피 강좌 "우리아이 아토피 관리방법"

4. 논문게재 성과, 국내 및 국제학술발표 실적

가. SCI 논문게재 성과

NO	게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	구분	SCI 구분
			주저자	교신저자	공동저자				
1	2011	Psidium guajava extract inhibits thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production in human keratinocytes by inducing heme oxygenase-1 and blocking NF-κB and STAT1 activation.	한은희	정혜광	5명	Environ Toxicol Pharmacol	32 (2)	136 - 145	SCI
2	2011	Ethyl acetate extract of Psidium guajava inhibits IgE-mediated allergic responses by blocking FcεRI signaling.	한은희	정혜광	12명	Food Chem Toxicol	49 (1)	100 - 108	SCI
3	2012	Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity of *Psidium Guajava* Leaf Extracts depending on Extract Dissolvent	하은진	서종권	6	한국식품영양과학회 (4월 투고예정)	-	-	KCI
4	2012	Physico-chemical characteristic of *Psidium Guajava* Leaf extracts using microwave	이수정	서종권	6	한국식품영양과학회 (4월 투고예정)	-	-	KCI

1편

ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND PHARMACOLOGY 32 (2011) 136–145

available at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

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

Psidium guajava extract inhibits thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production in human keratinocytes by inducing heme oxygenase-1 and blocking NF-κB and STAT1 activation

Eun Hee Han[a], Yong Pil Hwang[a], Jae Ho Choi[a], Ji Hye Yang[a], Jong Kwon Seo[b], Young Chul Chung[b], Hye Gwang Jeong[a,*]

[a] Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Republic of Korea
[b] Division of Food Science, Korea International University, Jinju, Republic of Korea

ARTICLE INFO

Article history:
Received 13 January 2011
Received in revised form
30 March 2011
Accepted 9 April 2011
Available online 17 April 2011

Keywords:
Psidium guajava
Atopic dermatitis
TARC
Heme oxygenase-1

ABSTRACT

Psidium guajava (*P. guajava*) is a food and medicinal plant with antioxidant, anti-inflammatory, and anti-allergic activities that support its traditional uses. The aim of this study was to determine the effects of *P. guajava* ethyl acetate extract (PGEA) on atopic dermatitis and to investigate the possible mechanisms by which PGEA inhibits cytokine-induced Th2 chemokine expression in HaCaT human keratinocyte cells. We found that PGEA suppressed the IFN-γ/TNF-α-co-induced production of thymus and activation-regulated chemokine (TARC) protein and mRNA in HaCaT cells. Additionally, PGEA inhibited the TNF-α/IFN-γ-co-induced activation of NF-κB and STAT1 and increased the expression of heme oxygenase-1 (HO-1) protein and mRNA. HO-1 inhibitor enhanced the suppressive effects of PGEA on TNF-α/IFN-γ-co-induced TARC production and gene expression. Collectively, these data demonstrate that PGEA inhibits chemokine expression in keratinocytes by inducing HO-1 expression and it suggests a possible therapeutic application in atopic dermatitis and other inflammatory skin diseases.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Atopic dermatitis is a complex eczematous skin disease, accompanied by severe itching, that is affected by both genetic and environmental factors (Lee et al., 2007). Atopic dermatitis is estimated to affect approximately 8–25% of the human population worldwide, and its incidence is increasing (Weston and Howe, 2008). The inflammatory infiltrates in skin lesions consist not only of lymphocytes, but also of macrophages, eosinophils, mast cells, and Langerhans cells (Rudikoff and Lebwohl, 1998; Breuer et al., 2006).

Skin inflammatory processes are highly dependent on Th2 chemokine family (Pivarcsi and Homey, 2005). The chemokines are a superfamily of small cytokines that regulate trafficking of various types of leukocytes (Qi et al., 2009). Thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17), a Th2-type CC chemokine, is constitutively expressed in the thymus and is also produced by keratinocytes (Vestergaard et al., 1999), dendritic cells (Imai et al., 1996; Sallusto et al., 1998), endothelial cells (Campbell et al., 1999), bronchial epithelial cells (Sekiya et al., 2000), and fibroblasts (Yu et al., 2002). TARC is a ligand for CCR4, which is predominantly expressed on Th2 lymphocytes, basophils, and natural killer cells (Sallusto

* Corresponding author. Tel.: +82 42 821 5936.
E-mail address: hgjeong@cnu.ac.kr (H.G. Jeong).
1382-6689/$ – see front matter © 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.etap.2011.04.004

2편

Food and Chemical Toxicology 49 (2011) 100–108

Contents lists available at ScienceDirect

Food and Chemical Toxicology

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

Ethyl acetate extract of *Psidium guajava* inhibits IgE-mediated allergic responses by blocking FcεRI signaling

Eun Hee Han[a], Yong Pil Hwang[a], Hyung Gyun Kim[a], Jin Hee Park[a], Jae Ho Choi[a,b], Ji Hye Im[a,b], Tilak Khanal[a], Bong Hwan Park[a], Ji Hye Yang[a], Jun Min Choi[c], Sung-Sik Chun[c], Jong Kwon Seo[c], Young Chul Chung[c], Hye Gwang Jeong[a,*]

[a] Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, South Korea
[b] Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju, South Korea
[c] Division of Food Science, Korea International University, Jinju, South Korea

ARTICLE INFO

Article history:
Received 24 July 2010
Accepted 2 October 2010

Keywords:
Psidium guajava
Anti-allergic activity
Mast cells
IL-4
NF-κB
Syk

ABSTRACT

Psidium guajava (*P. guajava*) is an important food crop and medicinal plant with antioxidant, anti-inflammatory, and anti-allergic activities, supporting its traditional uses. However, its precise effects remain unknown. We investigated the effects of *P. guajava* ethyl acetate extract (PGEA) on IgE-mediated allergic responses in rat mast RBL-2H3 cells. PGEA reduced antigen (DNP-BSA)-induced release of β-hexosaminidase and histamine in IgE-sensitized RBL-2H3 cells. In addition, it inhibited antigen-induced IL-4 and TNF-α mRNA expression and protein production in IgE-sensitized RBL-2H3 cells. PGEA also suppressed antigen-induced COX-2 mRNA and protein expression in these cells, as well as antigen-induced activation of NFAT and reactive oxygen species. Moreover, it inhibited antigen-induced activation of NF-κB and degradation of IκB-α. To identify the mechanisms underpinning the inhibition of degranulation and cytokine production by PGEA, we examined the activation of intracellular FcεRI signaling molecules. PGEA suppressed antigen-induced phosphorylation of Syk, LAT, Gab2, and PLCγ2 but not Lyn, and inhibited antigen-induced phosphorylation of downstream signaling intermediates including MAP kinases and Akt. Collectively, the anti-allergic effects of PGEA *in vitro* suggest its possible therapeutic application to inflammatory allergic diseases, in which its inhibition of inflammatory cytokine production and FcεRI-dependent signaling events in mast cells may be hugely beneficial.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Mast cells are secretory cells that are central to specific and innate immunity, allergic responses, and inflammation (McDermott et al., 2003; McLachlan et al., 2003). They also play an important role in initiating and perpetuating inflammatory responses in allergic reactions by secreting large amounts of cytokines such as interleukin-4 (IL-4) and tumor necrosis factor (TNF)-α (Bradding et al., 1994). In response to antigen stimulation, naive T helper cells differentiate into at least two types of effector cells, classified according to their distinct patterns of cytokine expression, as well as their different effects on ongoing immune responses (Kiani et al., 1997). The hallmark of T helper 1 (Th1) cells is the secretion of interferon-γ (IFNγ), which primarily promotes cell-mediated immunity, while Th2 cells secrete IL-4, IL-5, IL-10, and IL-13 and activate immunoglobulin E (IgE) and mediate eosinophilic responses. IL-4 is essential for IgE production (Kuhn et al., 1991) and promotes the differentiation of naive T cells into Th2 cells (Hines, 2002). It also acts as a mast cell growth factor *in vitro* and down-regulates high-affinity IgE receptor (FcεRI) expression on mouse bone marrow-derived mast cells (Bischoff et al., 1999). The activation of mast cells by antigen is partially realized through the induction of nuclear factor κB (NF-κB) and nuclear factor of activated T-cells (NFAT) (Saito et al., 2009). NF-κB is thought to play an important role in the regulation of proinflammatory cytokines, notably TNF-α, IL-6, and IL-8 (Salamon et al., 2005). It is a transcription factor that regulates the expression of genes involved in immune and inflammatory responses that involve inflammatory cytokine production (Marquardt and Walker, 2000). NFAT is a transcription complex believed to mediate the final step in the signal transduction pathway linking T-cell receptor engagement with the expression of IL-2 (Hutchinson and McCloskey, 1995).

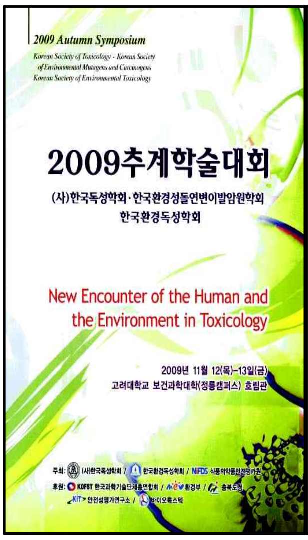
In cultured mast cells, including the well-studied RBL-2H3 cell line, free arachidonic acid is rapidly metabolized to prostaglandin by cyclooxygenase (COX) during allergic reactions (Hundley

* Corresponding author. Address: Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, South Korea. Tel.: +82 42 821 5936.
E-mail address: hgjeong@cnu.ac.kr (H.G. Jeong).
0278-6915/$ - see front matter © 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.fct.2010.10.003

나. 국내 및 국제학술발표 실적

NO	발표자	발표제목	발표일시	학술대회명	장소/국명
1	Eun-Hee Han	Psidium guajava down-regulates cyclooxygenase-2 expression in macrophages	2009. Nov. 12-13	한국독성학회	Seoul in Korea
2	Eun-Hee Han	Psidium guajava extract suppresses IgE-mediated allergic response by inhibiting multiple steps of FcεRI signaling in mast cells.	2010. Mar. 7-11	미국독성학회	SaltLake City / USA
3	Eun-Jin Ha, In-Sung Seo, Soo-Jung Lee, Hey-Gwang Jeong, Young-Chul Chung and Jong-Kwon Seo	Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity of *Psidium Guajava* Leaf Extracts depending on Extract Dissolvent	2010. Oct. 27~29	2010 International Symposium and Annual Meeting	Daegu in Korea
4	Hyo-Jung Seo, Kyoung-Hee Kang, Jung-Hye Shin, Min-Jung Kang, Young-Chul Chung and Jong-Kwon Seo	Physico-chemical characteristic of *Psidium Guajava* Leaf extracts using microwave	2010. Oct. 27~29	2010 International Symposium and Annual Meeting	Daegu in Korea
5	Eun-Hee Han	Ethyl acetate extract of Psidium guajava inhibits thymus- and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production by blocking NF-KB activation.	2010. Nov. 11-12	한국환경성 돌연변이 발암원학회	Busan in Korea
6	Ji-Hye Im	Psidium guajava inhibits IgE-mediated allergic responses by blocking FcεRI signaling in mast cells.	2011. Mar. 6-10	미국독성학회	Washington DC / USA
7	Gyeng-Hee Kang, Hyo-Jeong Seo, Dong-Hee Nam, Seong-Yong Jeong, Hyun-Jun Kang and Jong-Kwon Seo	Anti-microbial and Anti-oxidative Activities of Extract of Guajava Leaves (*Psidium guajava*) depending on Ethanol Concentration	2011. Jun. 08~10	2011 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology	Daegu in Korea
8	In-Seoung Seo, Eun-Jin Ha, Hong-Shil Jang,Dong-Gyu Lee, Min-Wook Ryu and Jong-Kwon Seo	Analysis on Index Material and Antibacterial Activity of Guajava Leaves (*Psidium guajava*) depending on Ordanic Solvent Fractions	2011. Jun. 08~10	2011 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology	Daegu in Korea
9	Eun-Hee Han	Effects of ethyl acetate extract of Psidium guajava on thymus and activation-regulated chemokine expression induced by IFN-ɣ and TNF-α in human keratinocytes	2011. Oct. 27-28	일본환경위생약학회	Kanazawa, Japan
10	Jae-Ho Choi	Effects of ethyl acetate extract of Psidium guajava on atopic dermatitis-like skin lesions induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in NC/Nga mice	2011. Oct. 27-28	일본환경위생약학회	Kanazawa, Japan
11	Gyeong-Hee Kang, Seong-Yong Jeong, Woo-bin Jeong, Hyo-Jeong Seo and Jong-Kwon Seo	Anti-oxidative and Anti-microbial Activities of fermented extract of Guajava Leaves (*Psidium guajava*)	2011. Oct. 31~ Nov. 2	2011 International Symposium and Annual Meeting	Busan in Korea
12	Jong-Kwon Seo	Inhibitory effects of *Psidium guajava* on atopic dermatitis-like skin lesions induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in NC/Nga mice	2012, Mar, 11-15	미국독성학회	San Francisco, CA / USA

1편



P-050

PSIDIUM GUAJAVA SUPPRESSES DOWN-REGULATES CYCLOOXYGENASE-2 EXPRESSION IN MACROPHAGES

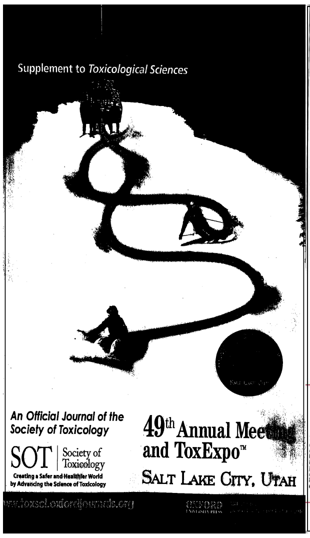
Eun Hee Han[1,2], Jine Hee Park[1,2] and Hye Gwang Jeong[1]

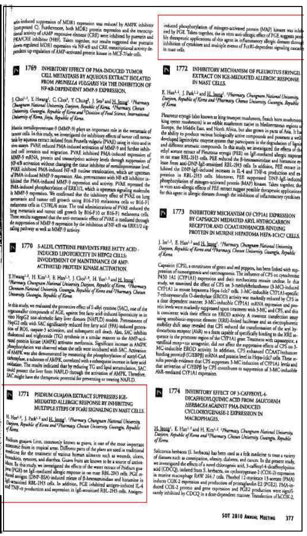
[1]College of Pharmacy, Chungnam National University,
[2]College of Pharmacy, Chosun University

Psidium guajava Linn is a semi deciduous tropical tree commonly known as guava and is widely grown throughout India for its fruits. *Psidium guajava* is an important food crop and medicinal plant in tropical and subtropical countries is widely used like food and in folk medicine around of the world. Guava fruits are known to be a source of antioxidant. In this study, we investigated the effects of *Psidium guajava* on COX-2 expression in mouse macrophage RAW 264.7 cells. *Psidium guajava* extracts reduced PMA-induced COX-2 protein and gene expression in RAW 264.7 cells. In addition, Psidium guajava extract inhibited PMA-induced prostaglandin E2 production in dose-dependent manner. *Psidium guajava* extract also inhibited PMA-induced COX-2 transcriptional activity. Moreover, proinflammatory cytokines production and gene expression were reduced by *Psidium guajava* extract. Taken together, the in vitro anti-inflammatory effect of *Psidium guajava* extract suggests possible therapeutic applications of this agent in inflammatory diseases through inhibition of cytokines and COX-2 in macrophages.

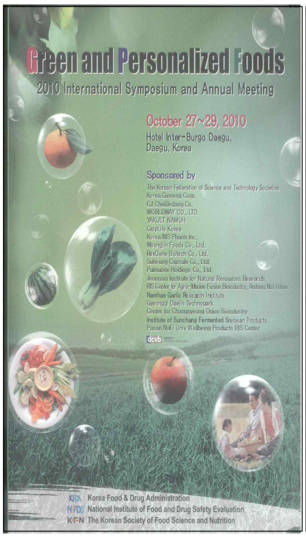
Keyword : *Psidium guajava*, COX-2, Prostaglandin E2, proinflammatory cytokines

2편

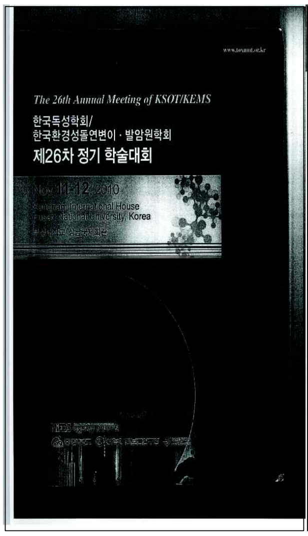


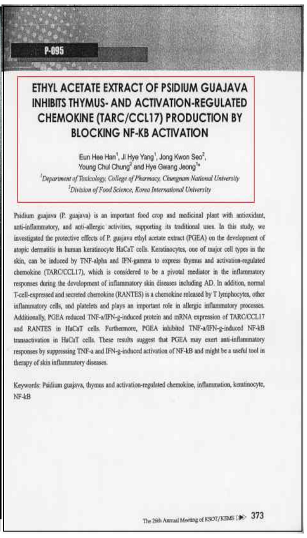

SOT 2010 Annual Meeting 377

3편, 4편



5편




P-095

ETHYL ACETATE EXTRACT OF PSIDIUM GUAJAVA INHIBITS THYMUS- AND ACTIVATION-REGULATED CHEMOKINE (TARC/CCL17) PRODUCTION BY BLOCKING NF-KB ACTIVATION

Eun Hee Han[1], Ji Hye Yang[1], Jong Kwon Seo[2], Young Chul Chung[2] and Hye Gwang Jeong[1*]

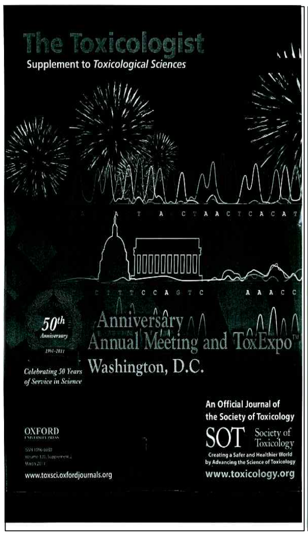
[1]Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University
[2]Division of Food Science, Korea International University

Psidium guajava (P. guajava) is an important food crop and medicinal plant with antioxidant, anti-inflammatory, and anti-allergic activities, supporting its traditional uses. In this study, we investigated the protective effects of P. guajava ethyl acetate extract (PGEA) on the development of atopic dermatitis in human keratinocyte HaCaT cells. Keratinocytes, one of major cell types in the skin, can be induced by TNF-alpha and IFN-gamma to express thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17), which is considered to be a pivotal mediator in the inflammatory responses during the development of inflammatory skin diseases including AD. In addition, normal T-cell-expressed and secreted chemokine (RANTES) is a chemokine released by T lymphocytes, other inflammatory cells, and platelets and plays an important role in allergic inflammatory processes. Additionally, PGEA reduced TNF-a/IFN-g-induced protein and mRNA expression of TARC/CCL17 and RANTES in HaCaT cells. Furthermore, PGEA inhibited TNF-a/IFN-g-induced NF-kB transactivation in HaCaT cells. These results suggest that PGEA may exert anti-inflammatory responses by suppressing TNF-a and IFN-g-induced activation of NF-kB and might be a useful tool in therapy of skin inflammatory diseases.

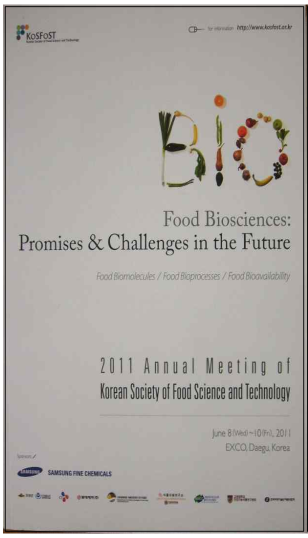
Keywords: Psidium guajava, thymus and activation-regulated chemokine, inflammation, keratinocyte, NF-kB

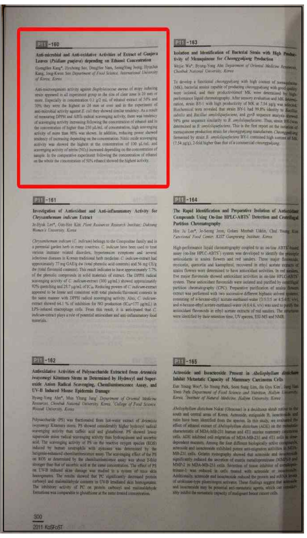
The 26th Annual Meeting of KSOT/KEMS 373

6편

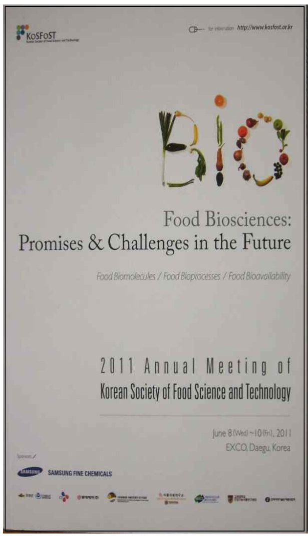


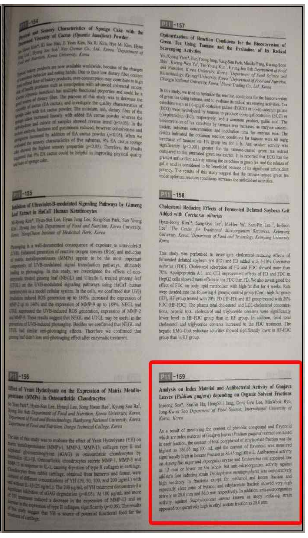
7편



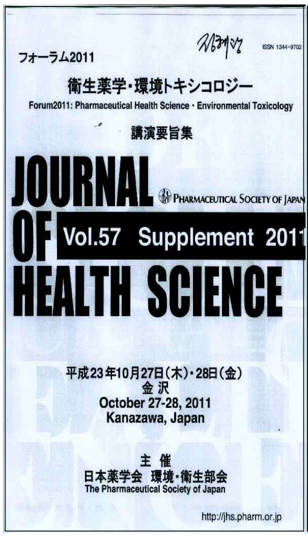


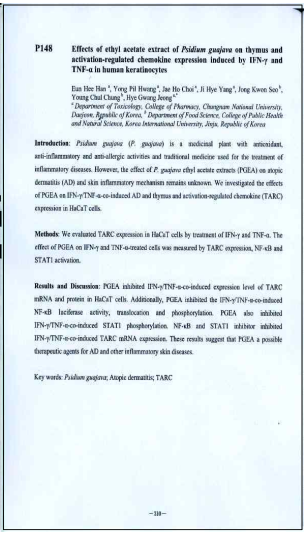
8편





9편





P148 Effects of ethyl acetate extract of *Psidium guajava* on thymus and activation-regulated chemokine expression induced by IFN-γ and TNF-α in human keratinocytes

Eun Hee Han[a], Yong Pil Hwang[a], Jae Ho Choi[a], Ji Hye Yang[a], Jong Kwon Seo[b], Young Chul Chung[b], Hye Gwang Jeong[a,*]
[a] *Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea,* [b] *Department of Food Science, College of Public Health and Natural Science, Korea International University, Jinju, Republic of Korea*

Introduction: *Psidium guajava* (*P. guajava*) is a medicinal plant with antioxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities and traditional medicine used for the treatment of inflammatory diseases. However, the effect of *P. guajava* ethyl acetate extracts (PGEA) on atopic dermatitis (AD) and skin inflammatory mechanism remains unknown. We investigated the effects of PGEA on IFN-γ/TNF-α-co-induced AD and thymus and activation-regulated chemokine (TARC) expression in HaCaT cells.

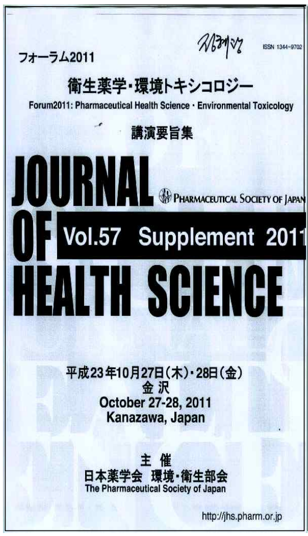
Methods: We evaluated TARC expression in HaCaT cells by treatment of IFN-γ and TNF-α. The effect of PGEA on IFN-γ and TNF-α-treated cells was measured by TARC expression, NF-κB and STAT1 activation.

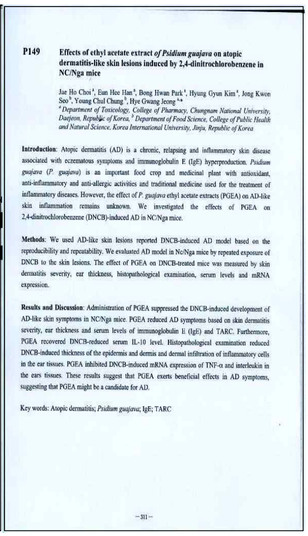
Results and Discussion: PGEA inhibited IFN-γ/TNF-α-co-induced expression level of TARC mRNA and protein in HaCaT cells. Additionally, PGEA inhibited the IFN-γ/TNF-α-co-induced NF-κB luciferase activity, translocation and phosphorylation. PGEA also inhibited IFN-γ/TNF-α-co-induced STAT1 phosphorylation. NF-κB and STAT1 inhibitor inhibited IFN-γ/TNF-α-co-induced TARC mRNA expression. These results suggest that PGEA a possible therapeutic agents for AD and other inflammatory skin diseases.

Key words: *Psidium guajava*; Atopic dermatitis; TARC

—310—

10편





P149 Effects of ethyl acetate extract *of Psidium guajava* on atopic dermatitis-like skin lesions induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in NC/Nga mice

Jae Ho Choi[a], Eun Hee Han[a], Bong Hwan Park[a], Hyung Gyun Kim[a], Jong Kwon Seo[b], Young Chul Chung[b], Hye Gwang Jeong[a,*]
[a] *Department of Toxicology, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea,* [b] *Department of Food Science, College of Public Health and Natural Science, Korea International University, Jinju, Republic of Korea*

Introduction: Atopic dermatitis (AD) is a chronic, relapsing and inflammatory skin disease associated with eczematous symptoms and immunoglobulin E (IgE) hyperproduction. *Psidium guajava* (*P. guajava*) is an important food crop and medicinal plant with antioxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities and traditional medicine used for the treatment of inflammatory diseases. However, the effect of *P. guajava* ethyl acetate extracts (PGEA) on AD-like skin inflammation remains unknown. We investigated the effects of PGEA on 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB)-induced AD in NC/Nga mice.

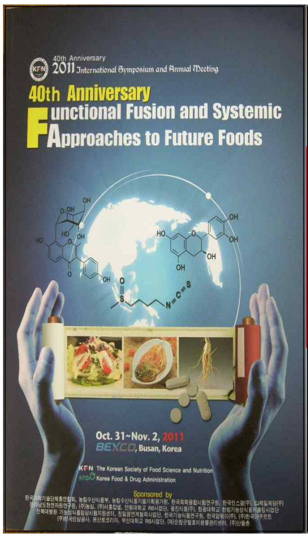
Methods: We used AD-like skin lesions reported DNCB-induced AD model based on the reproducibility and repeatability. We evaluated AD model in Nc/Nga mice by repeated exposure of DNCB to the skin lesions. The effect of PGEA on DNCB-treated mice was measured by skin dermatitis severity, ear thickness, histopathological examination, serum levels and mRNA expression.

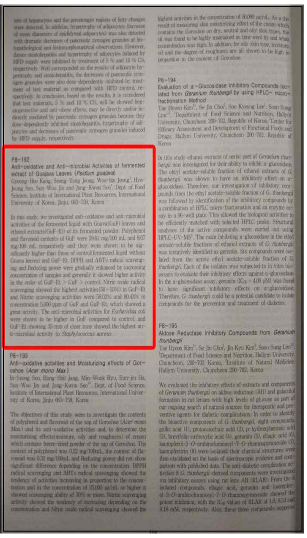
Results and Discussion: Administration of PGEA suppressed the DNCB-induced development of AD-like skin symptoms in NC/Nga mice. PGEA reduced AD symptoms based on skin dermatitis severity, ear thickness and serum levels of immunoglobulin E (IgE) and TARC. Furthermore, PGEA recovered DNCB-reduced serum IL-10 level. Histopathological examination reduced DNCB-induced thickness of the epidermis and dermis and dermal infiltration of inflammatory cells in the ear tissues. PGEA inhibited DNCB-induced mRNA expression of TNF-α and interleukin in the ears tissues. These results suggest that PGEA exerts beneficial effects in AD symptoms, suggesting that PGEA might be a candidate for AD.

Key words: Atopic dermatitis; *Psidium guajava*; IgE; TARC

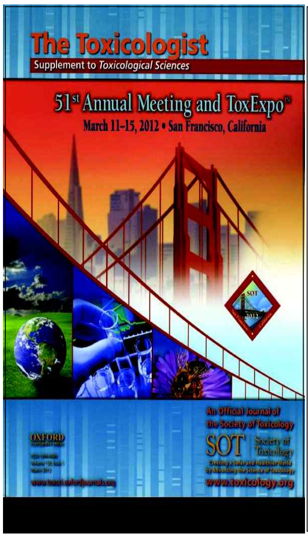
—311—

11편





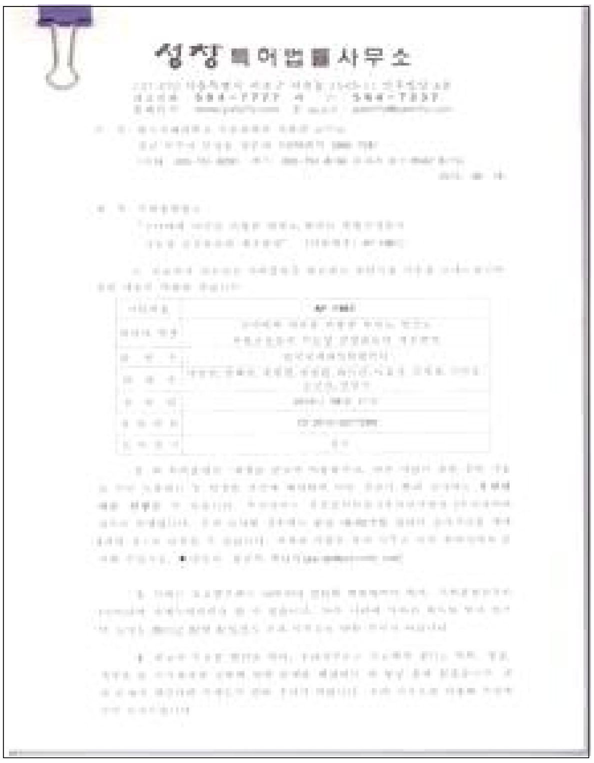
12편



5. 특허출원

<table>
<tr><th colspan="4">출원된 특허의 경우(상표출원 포함)</th><th colspan="4">등록된 특허의 경우</th></tr>
<tr><th>출원 연도</th><th>특허명 (상표명)</th><th>출원인</th><th>출원번호</th><th>등록 연도</th><th>특허명</th><th>등록인</th><th>등록번호</th></tr>
<tr><td>2011</td><td><①></td><td>한국국제대 산학협력단</td><td>10-2010-00 77298</td><td>2011</td><td><②></td><td>한국국제대 산학협력단</td><td>특허제10-1007929</td></tr>
<tr><td></td><td>(아톨)</td><td>서종권</td><td>40-2010-00 38352</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2011</td><td>(ATOLL)</td><td>서종권</td><td>40-2010-00 38352</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2011</td><td>(아토사이언스 ATOSCIENCE)</td><td>서종권</td><td>40-2010-00 18895</td><td></td><td colspan="3" rowspan="2">특허등록 : 1건
특허출원 : 2건
상표등록 : 3건</td></tr>
<tr><td>2012</td><td><③></td><td>한국국제대 산학협력단</td><td>10-2012-00 28695</td><td></td></tr>
</table>

※ 특허명 : ① 구아바와 야콘을 이용한 항당뇨, 항산화 복합조성물과 기능성 건강음료의 제조방법
② 구아바로부터 항균활성 물질의 수득방법과 그 항균활성 물질을 포함하는 아토피 피부염, 무좀, 대장균 감염 억제용 조성물
③ 현미 구아바 잎 발효소재의 제조방법과 그 현미 구아바 잎 발효소재를 이용한 현미 구아바 잎 발효분말차 제조방법


성창 특허법률사무소

성창 특허법률사무소
아톨
ATOLL

특 허 증
CERTIFICATE OF PATENT
특 허 제 10-1007929 호
Method for obtaining antibacterial substance from gourd and uses of the substance
International University of Korea Industry & Academy Cooperation Foundation
등록사항란에 기재
위의 발명은 「특허법」에 의하여 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)
2011년 01월 12일
특 허 청

등 록 사 항
특 허 등록 제 10-1007929 호
SEO, JONG KWON
JEONG, HYE CHANG
CHUNG, YOUNG CHUL
CHUNG, WON CHEOL
SEO, IN SEUNG
CHUN, SUNG SIK

6. 사업화 현황

■ 창업 현황 : 총괄책임자 창업 완료(연구개발 및 기술이전)

사업화명	사업화내용	사업화 업체 개요			
		업체명	대표자	종업원수	사업화형태
창업	구아바 아토피 크림 및 로션 개발 기술이전 및 유통	아토 사이언스	서종권	5	연구개발 기술이전 유통

사 업 자 등 록 증

(일반과세자)

등록번호 : 613-20-46926

상 호 : 아토사이언스 (ATOSCIENCE)

성 명 : 서종권 생 년 월 일 : 1970년 10월 28일

개업 년월일 : 2010 년 10 월 10 일

사업장소재지 : 경상남도 진주시 문산읍 상문리 산 270
한국국제대학교국제식물자원연구소201호

사업의 종류 : 업태 서비스 종목 연구개발
소매 식품
도소매 화장품
도소매 연구용기자재,실험기구,용기

교 부 사 유 : 업종추가

공동 사업자 :

사업자단위과세 적용사업자 여부: 여( ) 부(V)

2010 년 10 월 08 일

진주 세무서장 (인)

국세청

▣ 개발제품의 사업화 현황

- 제품개발: 총 25 종(아토피 크림 3종, 로션 3종, 미백화장품 1종, 비누 2종, 전통 식품류 6종, 아이스크림류 3종, 제과류 6종, 다류 1종)
- **사업화 성공: 총 6 종(아토피크림2종, 로션2종, 미백화장품1종, 다류1종)**

	생산제품	판매업체	판매현황(천원) (2012년2월~현재)
1	ATOLL Lotion (항아토피 로션 제품)	구아바법인	10,000천원
2	ATOLL Cream (항아토피 크림 제품)	구아바법인	10,000천원
3	JKStory100 (기능성 미백화장품:식약청 등록)	구아바법인	5,000천원
4	구아바 잎 차(茶)	구아바법인	5,000천원
5	I 사랑 로션 (항아토피 보습로션)	구아바코리아 (주)	1000세트 생산
6	I 사랑 크림 (항아토피 크림 제품)	구아바코리아 (주)	1000세트 생산

ATOLL Care Lotion

ATOLL Care Cream

구아바 잎 차(茶)

구아바 잎 차(茶)

JKStory100 Lotion

JKStory100 Toner Mist

i 사랑 로션

i 사랑 크림

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 식품기술개발사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 식품기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.