GOVP1200510364

최 종
연구보고서

YK-209 뽕잎을 이용한 고부가가치 건강보조식품 제조기술개발

The Development of Manufacturing Technique on Health Food with High Value Using YK-209 Mulberry Leaves

주 관 연 구 기 관
대구가톨릭대학교

위 탁 연 구 기 관
영천양잠농업협동조합

농 림 부

최 종 보 고 서

2000년도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 "YK-209 뽕잎을 이용한 고부가가치 건강보조식품 제조기술 개발"에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 10부

2. 최종보고서 디스켓 1매

2002 년 8 월 1 일

주관연구기관 : 대구가톨릭대학교

총괄연구책임자 : 이 순 재 (인)

주관연구기관장 : 최 한 선 총장

직 인

농 림 부 장 관 귀 하

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 "YK-209 뽕잎을 이용한 고부가가치 건강보조식품 제조기술 개발" 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2002 년 8 월 1 일

주관연구기관명 : 대구가톨릭대학교
총괄연구책임자 : 이 순 재
세부연구책임자 : 이 순 재
연 구 원 : 최 정 화
연 구 원 : 김 미 지
연 구 원 : 유 수 경
위탁연구기관명 : 영천양잠농업협동조합
위탁연구책임자 : 황 인 승
연 구 원 : 황보 득
연 구 원 : 최 필 환
연 구 원 : 조 영 호

요 약 문

Ⅰ. 제 목 : YK-209 뽕잎을 이용한 고부가가치 건강보조식품 제조기술 개발
(The Development of Manufacturing Technique on Health Food with High Value Using YK-209 Mulberry Leaves)

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

1995년 누에가루가 혈당강하 효과가 있는 것으로 밝혀진 이후 양잠은 본래의 목적인 고치 생산에서 벗어나 기능성 산물의 생산으로 전환되고 있는 추세이다.

특히 뽕잎의 경우에는 1985년 이미 잠사곤충부에서 차(茶)로의 이용 가능성을 검토한 후 1994년부터 본격적인 연구에 착수하여 여러 가지 기능성이 밝혀지면서 1996년부터는 뽕잎차가 상품화되기 시작하였다. 그러나 누에분말이나 동충하초와는 달리 최근에 오히려 퇴조하는 경향을 보이고 있다. 뽕잎은 양잠의 근간을 차지하며, 누에분말이 기능성을 갖는 근원이 되는 등 양잠산물의 기본을 이루고 있음에도 보급에 있어서나 소비자의 인식이 매우 희박한 형편이다. 양잠농가들의 수입원 다양화라는 명제에서 보면 뽕잎도 또 하나의 수입원이 될 수 있으며 뽕잎 그 자체로서의 고부가가치 상품생산이 가능하다고 본다. 또 보건향상을 위해 녹차 등과는 대조적으로 저렴한 원료로 이용할 수 있다는 점에서 뽕잎의 가치를 재조명할 필요가 있는 것이다.

뽕잎에 존재하는 성분은 크게 휘발성 성분과 비휘발성 성분으로 나눌 수 있다. 휘발성 성분으로는 guaiacol, eugenol, methyl salicylate, benzaldehyde 및 phenylacet-aldehyde 등이며 비휘발성 성분은 플라보노이드가 주류를 이루어 그 함량이 매우 높고 종류 또한 다양하다. 즉, rutin, quercetin, isoquercetin, astragalin,

quercetin-3,7-diglucoside 및 quercetin-3-triglucoside가 존재한다. 50여종의 각종 무기성분이 분석되어지고 있으며 특히 Ca, K과 Fe은 함량이 매우 높으며, 아미노산은 methionine등 21종이 있다. 또한 kuwanon 등 유기성분이 59종 검출되었다. 이들 유기성분은 뽕잎과 상백피에서 처음으로 확인된 것이 상당수에 이르며 아직도 그 기능성에 대해서 밝혀지지 않은 성분이 많다.

또한 뽕잎은 다양한 영양성분을 함유하고 있기 때문에 영양학적으로 완벽한 식품으로 응용할 수 있다. 그 성분 조성을 보면 조단백질(25~35%), 조지방(3.5%), 조섬유소(10.7%), 회분(7.2%), 가용성무기질 (54.4%), 조탄수화물(20.2%)을 함유하고 있다. 또 식물 중에서 콩 다음으로 다량의 단백질을 함유하고 있고, 섬유소도 많이 함유하고 있는데 이들은 주로 불용성 섬유소이기 때문에 체내에 존재하는 독성물질의 배설을 증가시켜 주고 장의 운동도 활발하게 한다. 뽕잎에 존재하는 단백질의 구성 아미노산은 매우 다양하고, 특히 glutamic acid 와 aspartic acid가 많이 함유되어 있다. 뽕잎 중의 지질함량은 3.5%이다. 특히 뽕잎에 존재하는 대부분의 지방산은 불포화지방산인 oleic acid, linoleic acid 및 linolenic acid이다. 또한 β-sitosterol과 같은 식물성 스테롤이 0.08% 함유되어 있는데 이들은 콜레스테롤의 배설을 증가시킴으로써 혈중 콜레스테롤 함량을 감소시키는 것으로 알려져 있다. 또한 뽕잎에는 친수성 인지질인 레시틴이 존재하여 천연유화제로 이용될 수 있다. 이와같이 일반 영양성분도 우수하지만 특히 GABA나 rutin의 함량이 높아서 기능성 식품으로의 이용도가 기대되므로 뽕잎을 이용한 다양한 제품 개발이 필요하다.

지금까지 다수의 건강식품들이 터무니없이 고가로 판매되고 있고 보신식품에 민감한 우리 국민들이 과신하고 오인할 우려가 있기 때문에 이러한 문제점도 꼭 해결해야 할 부분이다. 그러므로 본 연구과제에서는 다양한 건강보조가공식품을 개발하여 생리적 효능에 대한 동물실험과 임상실험을 통한 구체적이고 과학적인 data를 근거로 하여 소비자들에게 정확한 전달을 하여 믿고 이용할 수 있게 한다. 또한 다른 기능성

식품이 턱없이 고가이므로 이용하기가 어렵지만 뽕잎이용 건강보조식품은 저렴한 가격으로 많은 사람들이 쉽게 이용할 수 있게 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구과제에서는 뽕잎 이용 기능성 식품개발에 가장 적합한 품종으로 기대되는 YK-209를 이용하여 이에 적합한 가공기술개발과 생리적 효능 규명 등 연구 목적에 따라 1개의 세부과제와 1개의 위탁과제로 나누어 고부가가치 가공제품의 제조기술을 개발하고 또 그 효능을 소비자가 믿을 수 있도록 동물실험 뿐 만 아니라 사람을 대상으로 한 임상실험까지 실시하여 과학적으로 규명하고자 한다. 수행한 주요 연구 내용 및 범위를 요약하면 다음과 같다.

▶ 세부과제1: 뽕잎으로부터 제조된 건강보조식품의 생리적 효능

구분	연 구 개 발 목 표	연구개발 내용 및 범위
1차년도	◎ 동물실험을 통한 뽕잎과 제조된 엑기스 제품의 지질대사 개선효과 및 항노화 효과 규명	◉ YK-209 뽕잎 및 제조품의 기능성 검정 o YK-209 뽕잎의 혈중 지질대사 및 항산화·항노화 효과 - 혈중 중성지방 콜레스테롤 개선효과 - 지질과산화물 축적 감소효과 - 항산화계 강화효과 - 리포푸신 축적 감소 및 유해산소 생성 감소 효과 o 제조된 개발품의 효능검정 - 혈중 콜레스테롤 개선 기능 - 혈중 중성지질 저하 기능 - 지질과산화물 o 제조된 엑기스제의 사람이용 안전성 검정 - 안전성 및 독성검사 - 혈중 GOT, GPT 활성
2차년도	◎ 뽕잎으로 제조된 환제조품 및 드링크 건강보조식품의 동물실험을 통한 성인병 예방 효능검증 및 우수제품의 임상실험을 통한 효능검정	◉ 동물실험을 통한 제품의 기능성 검정 o 개발품의 성인병예방 효과 검증 - 혈당저하 효과 - 혈중 콜레스테롤 개선 효과 - 혈중 중성지방 저하 - 항노화 및 항산화효과 - 간조직중 지질조성 개선효과 o 제조된 제품의 이용 안전성 검증 - 독성검증 및 효용가치 기준확립 - 혈중 TBARS 수준 - 혈중 GOT, GPT 활성 ◉ 우수 건강보조식품의 사람 대상 임상실험 - 혈중 콜레스테롤 저하 효과 - 혈중 중성지방 저하 효과

▶위탁과제1 : 뽕잎을 이용한 고품질의 기능성 건강보조식품 기술 개발 (가공분야)

구분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도	◎ 뽕잎을 이용한 기능성 엑기스제의 제조기술개발	◉ YK-209 뽕잎의 건강보조식품 제조 적합성 조사 - 품종별 뽕잎 성분분석 - YK-209 뽕잎 처리 조건별 뽕잎의 엑기스제 제조 적합성 확립 ◉ 고품질 뽕잎 엑기스제의 제조기술 개발 - 뽕잎의 냄새제거를 위한 기술개발 - 맛, 기호도 상승 기술개발 - 기능성 상승 제조기술 개발 ◉ 고품질 뽕잎제품의 품질평가 - 제품의 품질 - 제품의 안전성 - 소비자 기호도 검사
2차년도	◎ 뽕잎을 이용한 뽕잎환 건강보조식품 및 기능성 드링크 제조기술개발	◉뽕잎 이용 건강보조식품제조 적합성 조사 - YK-209 뽕잎을 원료로한 환제조 적합성 - YK-209 뽕잎을 원료로한 드링크제조 적합성 ◉ 고품질 뽕잎 환 제조기술 개발 - 뽕잎의 냄새제거를 위한 기술 개발 - 맛과 기능성 향상 기술 개발 ◉ 고품질 뽕잎 드링크 제조기술 개발 - 냄새 제거를 위한 기술 개발 - 맛 및 기능성 향상 드링크 제조 ◉ 환 및 드링크제품의 품질평가 - 제품의 품질분석 - 제품의 안전성 - 제품의 소비자 기호도 조사

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

제 1 절 : 연구개발 결과

가. 제 1 위탁과제 1차년도 연구결과

① 뽕잎의 품종별, 시기별, 부위에 따른 기능성 성분은 YK-209 뽕잎, 5월산, 상위엽이 GABA 및 flavonoid 함량이 가장 풍부하여 건강보조식품 제조용으로 가장 적합하였다.

② YK-209 뽕잎을 이용하여 제조한 뽕잎 엑기스에는 솔잎과 쑥 추출물을 첨가하므로서 뽕잎의 풋냄새가 감소될 뿐만 아니라 기능성면에서도 상승되었다.

③ 제조된 고품질 뽕잎 제품의 품질과 안전성 평가 및 기호도 조사를 통하여 제품의 무독성을 확인하고 생체 이용 가능성을 확인하였다.

나. 제 1 위탁과제 2차년도 연구결과

① 뽕잎환 및 뽕잎 드링크는 기존의 제조방법인 알코올 분해방법과는 달리 물로 추출한 가수분해법으로 제조하였으며 기능성 향상을 위하여 뽕잎환에는 기능성 천연물질인 녹차를 0.5% 첨가하고 뽕잎 드링크에는 천화분을 0.8% 첨가하여 품질평가를 실시한 결과 인체에 무해하며 맛이 상승되었다.

다. 제 1 세부과제 1차년도 연구결과

① 고콜레스테롤 식이 흰쥐에 YK-209 뽕잎가루를 공급한 결과 혈액 및 간조직에서의 지질조성이 개선되었으며 항산화·항노화 효과가 현저하였다.

② 고콜레스테롤 식이 흰쥐에 뽕잎 엑기스제를 공급한 결과 혈중 GOT, GPT 활성이 감소됨으로써 생체 내 무독성이 확인되었다.

라. 제 1 세부과제 2차년도 연구결과

① Streptozotocin 유발 당뇨쥐에 YK-209 뽕잎에 녹차를 0.5% 첨가한 뽕잎환 및 천화분을 0.8% 첨가한 YK-209 뽕잎 드링크를 각각 공급한 결과 혈당 저하효과 및 항산화·항노화 효과가 증가되었으며 또한 지질 개선효과가 상승되었다.

② 정상인 및 당뇨환자(사람대상 임상실험)에게 한달동안 제조된 뽕잎환을 섭취시킨 결과 혈당과 혈중 콜레스테롤 및 중성지질이 다소 감소되었다.

결론적으로 기능성 성분 함량이 높은 YK-209 뽕잎 건강보조식품제조에 천연물의 부재료를 첨가함으로써 뽕잎 특유의 풋냄새가 감소되어 기호도가 상승되었다. 또한 뽕잎 제조식품을 이용하여 동물 및 임상 실험을 수행한 결과 콜레스테롤 대사 개선 및 혈당 저하 효과가 규명되었다.

제 2 절 : 활용에 대한 건의

본 연구 과제 수행으로 획득한 고품질 뽕잎 제품 개발을 위한 냄새 제거 기술, 맛, 기호도 상승기술, 기능성 상승 기술 등을 보다 효율적으로 활용하여 효과를 극대화시키기 위한 방안 및 활용 가능성은 다음과 같다.

① 뽕잎을 이용한 고부가가치 가공식품의 최적합 기술 시스템을 구축하여 양잠농가, 양잠업 관련 가공식품회사 및 기타 관련 산업체에서 기술을 활용하게 할 것이다.

② 다양한 뽕잎 건강보조식품 개발품중 기호적 측면에서나 기능성 측면에서 우수한 제품들을 선별하여 본과제의 위탁연구기관인 영천양잠농업협동조합에서 대량생산 공급체계를 구축하여 뽕잎이용 고부가가치 기능성 건강보조식품 산업화에 앞장설 방침이다.

제 3 절 : 본 과제와 관련된 발표실적

가. 학술회의 Proceding

1) 국외 학술회의

① J.Y.Chae, J.H.Hong, S.K.Yoo, I.K.Rhee, B.D.Whang, P.W.Choi, I.S.Hoang, Y.H.Cho, S.J.Rhee. 2001.08.27. Improvement of lipid metabolism in rats fed high cholesterol diets by dietary mulberry leaves(17th Interantional Congress of Nutrition). 261-261

2) 국내 학술회의

① 채영미, 황보득, 최필환, 황인승, 이순재. 2001.05.26. YK-209 뽕잎 엑기스의 제조 및 고콜레스테롤 식이 흰쥐에서의 혈중지질 개선효과. 한국영양학회, 한국식품영양과학회, 한국식생활문화학회, 한국운동영양학회 공동주최(2001년도 춘계연합학술대회). 316-316

② 홍정희, 이순재. 2001.12.07. YK-209 뽕잎이 Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 지질대사에 미치는 영향. The Korean Society of Food Science and Nutrition(International Symposium on Food, Nutrition and Health for 21st Century). 67-68,

③ 유수경, 이순재. 2001.12.07. YK-209 뽕잎이 Streptozotocin 유발 당뇨쥐 소장의 이당류분해 효소활성과 혈당강하에 미치는 영향. The Korean Society of Food Science and Nutrition(International Symposium on Food, Nutrition and Health for 21st Century). 68-68,

④ 유수경, 채주영, 이순재. 2002.06.01. YK-209 뽕잎에 녹차를 첨가하여 제조된 환이 Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 혈당강하 및 이당류 분해효소 활성에 미치는 영향. 한국식품영양과학회(제51차 학술발표회 및 임시총회). 132-132

⑤ 채주영, 황보득, 황인승, 최필환, 이순재. 2002.06.01. YK-209 뽕잎드링크가 Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 혈당강하 및 간조직에서의 산화적 손상에 미치는 영향. 한국식품영양과학회(제51차 학술발표회 및 임시총회). 132-132

⑥ 홍정희, 이순재. 2002.06.01. YK-209 뽕잎에 녹차를 혼합한 환이 Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 지질대사에 미치는 영향. 한국식품영양과학회(제51차 학술발표회 및 임시총회). 133-133

나. 특허

특허명	특허구분	출원/등록 구분	출원등록일	출원번호	국가명
뽕잎과 녹차를 함유한 항당뇨 조성물	국내특허	출원	2002.04.25	2002-22495	한국

SUMMARY

Ⅰ. TITLE

The Development of Manufacturing Technique on Health Food with High Value Using YK-209 Mulberry Leaves

Ⅱ. OBJECTIVE AND NECESSITY OF PROJECT

In a recent trend, the sericulture (silkworm raising) has been escaping from the cocoon production, its original purpose, and transforming to the functional produce production. Thus, the sericulture of Korea had rapidly declined from the peak in 1976 and almost reached the verge of collapse. Turning its direction from this emergency state, we concentrated on the research of sericultures functional produce and found a surprising result. Today, we can create a new industry while we continue the traditional industry. After 1995, the silkworm powder was announced to have a dropping effect of blood sugar level and soon after in 1998, the massive production of vegetable worms using silk worms was succeeded greatly. As the effects of mulberry leaves were discovered successively, its production amount is increased gradually and other derivative (secondary) industries are expected to be born continuously.

For mulberry leaves, the Korean Society of Sericultural Science had already investigated the possibility of using mulberry leaves as a drinking tea in 1985 and started the research in earnest from 1994. As many functions were discovered, the mulberry leaf tea started to commercialize in the market from 1996. However, unlike the silkworm powder or vegetable worms, the popularity of mulberry tea has been declined recently. The mulberry leaves are the basis of sericulture, giving the functionality to silkworm powders, but its distribution channel is not wide and people understand the importance of mulberry leaves only superficially. If

we look at this matter upon the diversification of income sources for sericulture households, the mulberry leaves can be another source of income and the mulberry leaves by themselves can be possibly a high value-added product. Also, they can be used for improving public health with a low cost in contrast with green teas. All these reasons suggest that we need to judge the values of mulberry leaves again.

The ingredients in mulberry leaves are largely classified as volatile ingredients and non-volatile ingredients. The volatile ingredients are guaiacol, eugenol, methyl salicylate, benzaldehyde and phenylacetaldehyde. The non-volatile ingredients are mostly flavonoids, whose concentrations are very high and existing in various kinds. They are rutin, quercetin, isoquercetin, astragalin, quercetin-3,7-diglucoside and quercetin-3-triglucoside.

About 50 kinds of inorganic ingredients are analyzed and especially Ca, K and Fe contents are very high. There exist about 21 kinds of amino acids such as methionine. Also, 59 kinds of organic ingredients such as Quanon were detected. As many as these organic ingredients found in mulberry leaves and white mulberry were noble compounds and their functions were not yet disclosed.

The mulberry leaves contain various nutrients so that they can be used as a nutritionally perfect food. The nutrient ingredientss are crude protein (25~35%), crude lipid(3.5%), crude fiber(10.7%), ash(7.2%), soluble minerals (54.4%), and crude carbohydrate(20.2%). It is the second best protein source after beans among plants, containing plenty of proteins. These contain plenty of fibers also. They are mostly insoluble fibers so that they can improve the excretion of poisonous material in our body and help the intestinal movement. The kinds of amino acids in mulberry leaves are various, but mostly glutamic acid and aspartic acid are contained. The lipid content in mulberry leaves is 3.5%. Especially the most fatty acids in mulberry leaves are unsaturated fatty acids such as oleic acid, linoleic acid and linolenic acid. Also, the content of plant sterol (steroid alcohol) such as â-sitosterol is 0.08%. This is known to improve the excretion of cholesterol so that it can lower the blood cholesterol content. The mulberry leaves contain hydrophilic phospholipids such as lecithin, which can be used as a natural

emulsifying agent. Thus, the mulberry leaves are expected as a functional food since they contain many nutrients as well as GABA or rutin in high contents. More products related to mulberry leaves need to be developed.

So far, many health food products have been sold at an absurdly high price. And our people are very sensitive to invigorant foods so that the mulberry product might be mistaken and over trusted. This problem must be solved beforehand. Therefore, this research project will concentrate on the development of various health supplementary and processed foods and show the physiological effects of them based on definite and scientific data from animal test and clinical trials. We will deliver correct information to our customers so that they can trust our products in their use. When other functional foods are absurdly high priced, the supplementary food for health using mulberry leaves will be sold at a reasonably low price so that many people can use it easily.

Ⅲ. CONTENTS AND SCOPE OF THE PROJECT

Using mulberry leaves, this research will focus on development of various functional foods that are supplementary foods for health. On the other hand, our research will examine the physiological effect of developed product in definite and scientific manner. The purpose of the research is to make clear the excellence of Korean mulberry leaves and to improve the usability of them. In our country, more than 130 kinds of mulberry trees are cultivated. The most important thing is to select the most suitable mulberry leaves for health supplementary foods among those trees. The Korean Society of Sericulture Science in Rural Development Administration bred a new mulberry tree that is suitable for using mulberry leaves and not for raising silkworms. Currently, we have YK-209 mulberry tree.

The YK-209 mulberry was made by crossbreeding Yongchun mulberry (Y) and Developed mulberry (K) in order to obtain the new species of mulberry that is strongly cold resistant and yielding a great number of leaves. From this new mulberry tree, we can get wide leaves in great numbers and the contents of rutin or GABA are higher than other mulberry species. That makes the use of these

new mulberry leaves satisfactory. We will use this new mulberry tree since they are cultivated in many model farms of Youngchun area currently.

Using the YK-209 mulberry tree that is the most highly expected specie for developing functional foods of mulberry leaves, we will carry out researches on the development of processing technology and a close examination of physiological effects. Based on the research purposes, we will divide the project into one detail assignment and one collaborative assignment. Thus we can develop the manufacturing technique for high value-added processed products and examine the effects through scientific studies such as animal test and clinical test focused on humans to make customers believe. The object and contents of this research and development are shown in the following table and outline.

1. Examine that the mulberry leaf product and manufactured extract product have an improving effect in lipid metabolism and anti-oxidant effect through conducting animal tests.

■ Improvement of YK-209 mulberry leaves and drink on serum lipid metabolism and anti-oxidatant, anti-aging
- Contents of serum triglyceride and cholesterol
- Contents of thiobarbituric acid reactive substances level
- Examine of antioxidative system
- Contents of lipofuscin and superoxide radical

■ Examination of effeton Yk-209 mulberry leaves product
- Contents of serum triglyceride and cholesterol
- Contents of serum thiobarbituric acid reactive substances level

■ Safety, toxicity of YK-209 mulberry leaves product
- Investigation of safety and toxicity
- Serum GOT and GPT activity

2. Verify that the pills manufactured with YK-209 mulberry leaves and drinks for health supplementary purpose have the prevention effect on adult diseases and verify the effect of our excellent products through clinical tests.

■ Effect of prevention on products : Assay of effect on disease of adult people for products

- Blood glucose level
- Contents of serum triglyceride and cholesterol
- Examine the antioxidative and antiaging system
- Hepatic lipid composition

■ Assay of YK-209 mulberry leaves product

- Investigation of safety
- Contents of serum thiobarbituric acid reactive substances level
- Serum GOT and GPT activity

■ Clinical test through of excellence food for health supplementary purpose

- Contents of serum triglyceride and cholesterol

3. Develop the manufacturing technique for functional extract products using YK-209 mulberry leaves.

■ Investigate the suitability of YK-209 mulberry leaves for supplementary food for health.

- Analyze the ingredients for each species of YK-209 mulberry leaves.
- Establish the suitability in manufacturing YK-209 mulberry extract products for each processing condition of YK-209 mulberry leaves.

■ Development the manufacturing technique for a high quality extract product of YK-209 mulberry leaves.

- Development of technique to remove the odor of YK-209 mulberry leaves.

- Development of technique to increase its taste and flavor.
- Development of technique to increase its functionality.

■ Evaluate the quality of this high-quality YK-209 mulberry product.
- Quality of the product.
- Safety of the product
- Test of the customer preference.

4. Development the manufacturing technique for YK-209 mulberry leaves pills as a supplement food for health and functional drinks using YK-209 mulberry leaves.

■ Investigate the suitability of YK-209 mulberry leaves in manufacturing supplementary foods for health.
- Suitability of YK-209 mulberry leaves as a raw material in manufacturing pill products.
- Suitability of YK-209 mulberry leaves as a raw material in manufacturing drink products.

■ Development of manufacturing technique for high quality pills of YK-209 mulberry leaves.
- Development of manufacturing technique to remove the odor of YK-209 mulberry leaves.
- Developmentp of manufacturing technique to increase its taste and flavor.

■ Development of manufacturing technique for high quality drinks of YK-209 mulberry leaves.
- Development of manufacturing technique to remove the odor of YK-209 mulberry leaves.
- Manufacture a drink to increase its taste and functionality.

■ Evaluate the quality of pill and drink YK-209 mulbery leaves products

- Analysis on the quality of YK-209 mulberry leaves product
- Safety on the YK-209 mulberry leaves product
- Test of the customer preference on the YK-209 mulberry leaves product

Ⅳ. RESULTS AND APPLICATIONS

1. The result of this study

1) Develope the munufacturing technique for functional extract product using YK-209 mulberry leaves

① Among four YK-209 mulberry cultivars, YK-209 YK-209 mulberry leaf had the highest GABA and flavonoid level. Additionally, levels of GABA and flavonoids were higher in YK-209 mulberry leaves harvested in the eariler growing season (MAY) than in the late growing seasons (June and August)

② The extract with YK-209 mulberry leaves was removed the smell of mulberry leaves and increased the functionality by additived the pine needle and mugwort extract

③ Confirmed the non-toxicity of high quality YK-209 mulberry leaves product throughout therest of quality safety and customer preference

2) Develop the manusfacturing technique for YK-209 mulberry leaf pills as supplement food for health and functional drinks using YK-209 mulberry leaves

① Develop the manusfacturing technique to remove the ordor of YK-209 mulberry leaves and manufacture pills and drink to increase its taste and functionality

3) Examine the YK-209 mulberry leaf product and manufactured extract product have an improving effect in lipid metabolism and antioxidant effect through conducting animal test

① YK-209 mulberry leaves has improving effect of the lipid and cholesterol metabolism in the serum and liver in fed high cholesterol diet
② YK-209 mulberry leaves fed group had more significant reduction the activity of GOT and GPT than the high cholesterol diet group

4) Verify that the pills manufactured with YK-209 mulberry leaves and drinks for health supplementary purpose have the prevention effect on disease of adult people and verify the effect of our excellent products through clinical test

① YK-209 mulberry leaves, the pills and drinks manusfactured with YK-209 mulberry leaves have the effect of anti-oxidant, anti-aging, reduction of blood glucose and improvement of lipid metabolism
② Through the clinical test, the pills manufactured with YK-209 mulberry leaves improved the blood glucose level and serum lipid composition

【 Suggestions for utilization 】

We will establish the most suitable technology system for high value-added processed products using YK-209 mulberry leaves and then we will transfer them to farming households, sericulture related food processing companies, drug manufacturing and other related industries. We will select some excellent products in the taste aspect and in the functionality aspect among various developed products. Then, we will have a massive production and distribution system at the Youngchun sericulture cooperative association, which is our collaborative research institute. Like this, after this project is successfully finished, we have plans to lead the industrialization of supplementary foods using YK-209 mulberry leaves.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction 39

1-1. Objective and necessity 39
1-2. Contents and scopes 42

Chapter 2. Investigation of the suitablity of YK-209 mulberry leaves in maKing health food 45

2-1. Investigation of the suitablity of YK-209 mulberry leaves 45
1. Gather of sample 45
2. Assay of functional ingredients in mulberry leaves 45
1) Assay of γ-aminobutyric acid (GABA) 45
2) Assay of flavonoid ingredients 46
3. Result : changes of functional ingredients in mulberry leaves 46
1) Assay of γ-aminobutyric acid (GABA) 46
2) Assay of flavonoid 47
2-2. Investigation of the suitablity of YK-209 mulberry leaves extract 48
1. Gather of sample 48
2. Assay of functional ingredients in mulberry leaves 49
1) Assay of γ-aminobutyric acid (GABA) 49
2) Assay of flavonoid ingredients 49
3) Assay of general composition mulberry leaves 49
(1) Moisture 49
(2) Crude protein 49
(3) Crude fat 49
(4) Crude Reducing sugars 49
(5) Crude Ash 49
(6) Minerals 49
4) Assay of ingredients of drying conditions 49
3. Result : changes of functional ingredients in mulberry leaves 49

1) Changes of ingredients by harvesting period of mulberry leaves 49
(1) Functional ingredients 49
① Assay of γ-aminobutyric acid (GABA) 49
② Assay of flavonoid ingredients 50
(2) General composition 51
2) Changes of ingredients by the parts of mulberry leaves 51
(1) Functional ingredients 51
① Assay of γ-aminobutyric acid (GABA) 51
② Assay of flavonoid ingredients 52
(2) General composition 52
3) Changes of ingredients by drying conditions by mulberry leaves 52
(1) Functional ingredients 53
① Assay of γ-aminobutyric acid (GABA) 53
② Assay of flavonoid ingredients 53
(2) General composition 54

Chapter 3. Development of the manufacturing technique for a high quality extract product of mulberry leaves 56

3-1. Development of the manufacturing technique for a high quality extract product of mulberry leaves 56
1. Development of the manufacturing technique for a high quality extract product of mulberry leaves 56
2. Development of a technique to increase its taste and flavor 56
3. Development of a technique to increase its functionality 56
4. Evaluation of the quality of this high-quality mulberry product 57
1) Quality of the product 57
2) Safety of the product 57
3) Test of the customer preference. 57
3-2. Result : development of the manufacturing technique for a high quality extract product of mulberry leaves 57
1. Development of the manufacturing technique for a high quality extract product of mulberry leaves. 57
2. Development of a technique to increase its taste and flavor 57

3. Development of a technique to increase its functionality 58
4. Evaluation of the quality of this high-quality mulberry product 59
1) Quality of the product 59
2) Safety of the product 60
3) Test of the customer preference 60

Chapter 4. Investigation of founction in YK-209 mulberry leaves 62

4-1. Introduction 62
4-2. Materials and methods 62
1. Animal 62
2. Body weight gain, food intake and FER 63
3. Sampling of blood and tissue 64
4. Serum triglyceride and cholesterol contents 64
5. Hepatic thiobarbituric acid reactive substances levels 64
6. Hepatic superoxide dismutase(SOD) and glutathione-S-transferase(GST) activity 64
7. Hepatic lipofuscin and superoxide radical 64
8. Protein 64
9. Statistics analysis 64
4-3. Result : Effect of improvement on lipid metabolism and control of antioxidative 65
1. Body weight gain, food intake and FER 65
2. Weight of tissue 65
3. Serum triglyceride and cholesterol contents 66
4. Hepatic thiobarbituric acid reactive substances levels 67
5. Hepatic superoxide dismutase(SOD) and glutathione-S-transferase(GST) activity 68
6. Hepatic lipofuscin and superoxide radical 69

Chapter 5. Effect of improvement of lipid metabolism and antiaging 71

5-1. Introduction 71

5-2. Materials and methods 71
1. Animal 71
2. Body weight gain, food intake and FER 73
3. Sampling of blood and tissue 73
4. Serum triglyceride and cholesterol contents 73
5. Safety, toxicity of using of product 73
1) Hepatic thiobarbituric acid reactive substances level and carbonyl value content 73
2) Serum glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) and glutamic pyruvic transaminase(GPT) activity 73
6. Protein 73
7. Statistics analysis 73
5-3. Result : investigation of lipid metabolism and safety of YK-209 mulberry leaves extract 73
1. Body weight gain, food intake and FER 73
2. Weight of tissue 74
3. Serum triglyceride and cholesterol contents 75
4. Safety, toxicity of using of product 76
1) Hepatic thiobarbituric acid reactive substances level and carbonyl value content 76
2) Serum glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) and glutamic pyruvic transaminase(GPT) actvity 77

Chapter 6. Evaluation of the quality of this high-quality mulberry product. 80

6-1. Development of a technique to remove the odor of mulberry leaves. 80
1. Preparation of mulberry leaves pill 80
2. Preparation of mulberry leaves drink 80
3. Development of a technique to increase its taste and flavor 80
4. Development of a technique to increase its functionality 81
5. Evaluation of the quality of this high-quality mulberry product 81
1) Quality of the product 81
2) Safety of the product 81

3) Test of the customer preference 81
6-2. Result : development of the manufacturing technique for a high quality extract product of mulberry leaves 81
1. Development of a technique to remove the odor of mulberry leaves 81
2. Development of a technique to increase its taste and flavor 81
3. Development of a technique to increase its functionality 81
4. Evaluation of the quality of this high-quality mulberry product 82
1) Quality of the product 82
2) Safety of the product 83
3) Test of the customer preference. 83

Chapter 7. Prevention effect on diseases of adults 84

7-1. Introduction 84
7-2. Materials and methods 85
1. Animal 85
2. Body weight gain, food intake and FER 86
3. Sampling of blood and tissue 86
4. Blood glucose 86
5. Serum triglyceride and cholesterol contents 86
6. Hepatic lipofuscin and superoxide radical content 87
7. Hepatic of antioxidative enzyme activity 87
8. Hepatic of triglyceride and cholesterol levels 87
9. Safety, toxicity of using of product 87
1) Hepatic thiobarbituric acid reactive substances level and carbonyl value content 87
2) Serum glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) and glutamic pyruvic transaminase(GPT) activity 87
10. Protein 87
11. Statistics analysis 87
7-3. Result : investigation of production of mulberry leaves drink 87
1. Body weight gain, food intake and FER 87
2. Weight of tissue 88
3. Blood glucose level 89

4. Serum triglyceride and cholesterol contents 90
5. Hepatic lipofuscin and superoxide radical content 91
6. Hepatic of xanthine oxidase activity 92
7. Hepatic of antioxidative enzyme activity 93
8. Hepatic of triglyceride and cholesterol levels 94
9. Safety, toxicity of product of using 95
1) Hepatic thiobarbituric acid reactive substances level and carbonyl value content 95
2) Serum glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) and glutamic pyruvic transaminase(GPT) activity 96

Chapter 8. The prevention effect on diseases of adults 98

8-1. Introduction 98
8-2. Materials and methods 99
1. Animal 99
2. Body weight gain, food intake and FER 101
3. Sampling of blood and tissue 101
4. Blood glucose level 101
5. Serum triglyceride and cholesterol contents 101
6. Hepatic lipofuscin and superoxide radical content 101
7. Hepatic of antioxidative enzyme activity 101
8. Hepatic of triglyceride and cholesterol levels 101
9. Safety, toxicity of product of using 101
1) Hepatic thiobarbituric acid reactive substances content and carbonyl value content 101
2) Serum glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) and glutamic pyruvic transaminase(GPT) activity 101
10. Protein 101
11. Statistics analysis 101
8-3. Result : investigation of production of mulberry leaves drink 101
1. Body weight gain, food inteke and FER 101
2. Weight of tissue 102
3. Blood glucose level 103

4. Serum triglyceride and cholesterol contents 104
5. Hepatic lipofuscin and superoxide radical content 105
6. Hepatic of xanthine oxidase activity 106
7. Hepatic of antioxidative activity 107
8. Hepatic of triglyceride and cholesterol levels 108
9. Safety, toxicity of using of product 109
1) Hepatic thiobarbituric acid reactive substances level and carbonyl value content 109
2) Hepatic glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) and glutamic pyruvic transaminase(GPT) activity 110

Chapter 9. Clinical tests of mulberry leaves pill 112

9-1. Clinical tests 112
1. Clinical Patients 112
2. Preparation of mulberry leaves pill 112
1) Preparation of mulberry leaves pill 112
2) Intake of day 112
3) Blood glucose, serum of triglyceride and cholesterol levels 113
9-2. Result : clinical tests of mulberry leaves pill 113
1. Effect of lowering blood glucose 113
2. Effect of serum of triglyceride and cholesterol levels 113

Chapter 10. General conclusions 115

References 119

목 차

제 출 문 1

요 약 문 2

Ⅰ. 제목 2

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성 2

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위 4

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의 7

SUMMARY 10

CONENTS 18

목 차 25

제 1장 서론 39

제 1절 연구개발의 목적 및 중요성 39

제 2절 연구개발 내용 및 범위 42

제 2장 YK-209 뽕잎을 이용한 건강보조식품의 적합성 조사 45

제1절 YK-209 뽕잎의 건강보조식품 제조 적합성 조사 45

1. 시료채취 45

2. 뽕잎의 기능성 성분 분석 45

가. γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 45

나. Flavonoid 성분 분석 46

3. 결과 : 뽕잎의 기능성 성분 변화 46

가. γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 46
나. Flavonoid 함량 47
제2절 YK-209 뽕잎의 엑기스 제조 적합성 조사 48
1. 시료채취 48
2. 뽕잎의 기능성 성분 분석 49
가. γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 49
나. Flavonoid 성분 분석 49
다. 뽕잎의 일반 성분 분석 49
1) 수분 함량 49
2) 조단백질 정량 49
3) 조지방 정량 49
4) 환원당 정량 49
5) 회분 정량 49
6) 무기질 함량 49
라. 뽕잎의 건조 처리 방법에 따른 성분 분석 49
3. 결과 : 뽕잎의 기능성 성분 함량변화 49
가. 뽕잎 채취 시기별 성분변화 49
1) 기능성 성분 49
가) γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 49
나) Flavonoid 함량 50
2) 일반 성분 51
나. 뽕잎 채취 부위별 성분변화 51
1) 기능성 성분 51
가) γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 51
나) Flavonoid 함량 52
2) 일반 성분 52
다. 뽕잎의 건조 처리 방법에 따른 성분변화 52
1) 기능성 성분 53

가) γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 53
나) Flavonoid 함량 53
2) 일반 성분 54

제 3장 고품질 뽕잎 엑기스 제품의 제조기술개발 56

제 1절 YK-209 뽕잎을 이용한 뽕잎 엑기스 제조기술개발 56
1. 뽕잎 엑기스 제조 공정과정 56
2. 맛, 기호도 상승 제조기술개발 56
3. 기능성 상승 제조기술개발 56
4. 제조된 뽕잎 엑기스 제품의 품질평가 57
가. 제품의 품질 57
나. 제품의 안정성 57
다. 소비자 기호도 검사 57
제 2절 결과 : 고품질 뽕잎 엑기스 제조기술개발 평가 57
1. 뽕잎 엑기스 제조 공정과정 기술개발 57
2. 맛, 기호도 상승 제조기술개발 57
3. 기능성 상승 제조기술개발 58
4. 제조된 뽕잎 엑기스 제품의 품질평가 결과 59
가. 제품의 품질 59
나. 제품의 안전성 60
다. 소비자 기호도 검사 60

제 4장 YK-209 뽕잎의 기능성 검정 62

제1절 서 설 62
제2절 재료 및 방법 62

1. 동물 사육 62
2. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 63
3. 혈액 및 장기채취 64
4. 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 64
5. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 측정 64
6. 간조직중의 항산화계 효소 활성 관찰 : superoxide dismutase(SOD) 및 glutathione-S-transferase(GST)활성 64
7. 간조직중의 리포푸신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량 측정 64
8. 단백질 정량 64
9. 통계처리 64
제3절 결과 : YK-209 뽕잎의 지질대사 개선효과 및 산화적 손상 완화효과 65
1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 65
2. 실험동물의 장기무게 66
3. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 66
4. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)함량 67
5. 간조직중의 항산화계 효소 활성 : superoxide dismutase(SOD) 및 glutathione-S-transferase(GST)활성 68
6. 간조직중의 리포푸신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량 69

제5장 제조된 뽕잎 엑기스 제품의 지질대사 개선 효과 및 항노화 효과 규명 71

제1절 서 설 71

제2절 재료 및 방법 71
1. 동물사육 71
2. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 73
3. 혈액 및 장기채취 73
4. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 73
5. 제조된 뽕잎 엑기스 이용 안전성 검정 및 독성검사 73
가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량 측정 73
나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성 측정 73
6. 단백질 정량 73
7. 통계처리 73
제3절 결과 : YK-209 뽕잎 엑기스의 지질대사 및 안전성 검정 73
1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 73
2. 실험동물의 장기 무게 74
3. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 75
4. 제조된 뽕잎 엑기스 이용 안전성 검정 및 독성검사 76
가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량 76
나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성 77

제6장 YK-209 뽕잎을 이용한 환 및 드링크 제품의 제조기술개발 79

제1절 뽕잎의 냄새제거를 위한 기술개발 79
1. 뽕잎환 제조 공정과정 79
2. 뽕잎드링크 제조 공정과정 79
3. 맛, 기호도 상승 제조기술개발 79

4. 기능성 상승 제조기술개발 80
5. 제조된 뽕잎환 및 드링크 제품의 품질평가 80
가. 제품의 품질 80
나. 제품의 안전성 80
다. 소비자 기호도 검사 80
제2절 결과 : 고품질 뽕잎환 및 뽕잎 드링크의 제조기술개발 평가 81
1. 뽕잎의 냄새제거를 위한 기술개발 81
2. 맛, 기호도 상승 제조기술개발 81
3. 기능성 상승 제조기술개발 81
4. 제조된 뽕잎환 및 드링크 제품의 품질평가 82
가. 제품의 품질 82
나. 제품의 안전성 83
다. 소비자 기호도 검사 결과 83

제7장 제조된 뽕잎환 건강보조식품의 성인병 예방 효능검증 84

제1절 서 설 84
제2절 재료 및 방법 85
1. 동물사육 85
2. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 86
3. 혈액 및 장기채취 86
4. 혈당 측정 86
5. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 86
6. 간조직중의 리포푸신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량 측정 87
7. 간조직중의 항산화계 효소 활성 관찰 87
8. 간조직중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 87
9. 제조된 뽕잎환이용 안전성 검정 및 독성검사 87

가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량 측정 87
나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성 측정 87
10. 단백질 정량 87
11. 통계처리 87
제3절 결과 : 제조된 뽕잎환의 효능 규명 87
1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 87
2. 실험동물의 장기무게 88
3. 혈당 저하 효과 89
4. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 90
5. 간조직의 리포푹신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량 91
6. 간조직중의 xanthine oxidase 활성 92
7. 간조직중의 항산화계 효소 활성 93
8. 간조직중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 94
9. 제조된 뽕잎환 이용 안전성 검정 및 독성검사 95
가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량 95
나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성 96

제8장 제조된 드링크 제조품의 건강보조식품의 성인병 예방 효능검증 98

제1절 서 설 98
제2절 재료 및 방법 99

1. 동물사육 99
2. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 101
3. 혈액 및 장기채취 101
4. 혈당 측정 101
5. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 101
6. 간조직중의 리포푸신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량 측정 101
7. 간조직중의 항산화계 효소 활성 관찰 101
8. 간조직중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 101
9. 제조된 뽕잎 드링크 이용 안전성 검정 및 독성검사 101
가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량 측정 101
나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성 측정 101
10. 단백질 정량 101
11. 통계처리 101
제3절 결과 : 제조된 뽕잎 드링크이 효능 규명 101
1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 101
2. 실험동물의 장기무게 102
3. 혈당 저하 효과 103
4. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 104
5. 간조직의 리포푹신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량 105
6. 간조직중의 xanthine oxidase 활성 106
7. 간조직중의 항산화계 효소 활성 107
8. 간조직중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 108
9. 제조된 뽕잎드링크 이용 안전성 검정 및 독성검사 109

가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량 109
나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성 110

제9장 제조된 뽕잎환의 임상실험을 통한 효능검정 112

제 1절 임상실험대상 및 실험방법 112
1. 임상실험대상 112
2. 실험방법 112
가. 검정대상 건강보조식품 뽕잎환 112
나. 하루 섭취량 112
다. 혈당 및 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 113
제 2절 결과 : 뽕잎환의 임상실험을 통한 효능검정 113
1. 혈당 저하 효과 113
2. 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 함량 113

제10장 종 합 결 론 115

제1절 뽕잎을 이용한 고품질의 기능성 건강보조식품 기술개발 115
제2절 뽕잎으로부터 제조된 건강보조식품의 생리적 효능 116

참 고 문 헌 119

List of Tables

Table 2-1. Contents of four different kinds of flavonoid of mulberry leaves with different varieties and cultivation region 48
Table 2-2. Harvest period variations in contents of four different kinds of flavonoid in YK-209 mulberry leaves 50
Table 2-3. Harvest period variations in proximate ingredients of material contents in YK-209 mulberry leaves 51
Table 2-4. Contents of four different flavonoid in YK-209 mulberry leaves on the different parts of steams 52
Table 2-5. Proximate ingredients of material contents in YK-209 mulberry leaves on the different parts of steams 52
Table 2-6. Contents of four different flavonoid in YK-209 mulberry leaves by dry treatment conditions 54
Table 2-7. Proximate ingredients of material contents in YK-209 mulberry leaves by dry treatment conditions 54
Table 3-1. Sensory evaluation of YK-209 mulberry leaves extract with mugwort 57
Table 3-2. Sensory evaluation of YK-209 mulberry leaves extract with pine needles 57
Table 3-3. Contents of γ-aminobutyric acid (GABA) of YK-209 mulberry leaves extract with pine needles and mugwort 59
Table 3-4. Contents of four different flavonoid of YK-209 mulberry leaves extract with pine needles and mugwort 59
Table 4-1. Classification of experimental groups according to different levels of mulberry leaves with fed high cholesterol rats 62

Table 4-2. Body weight gains, food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental rats 64
Table 4-3. Liver, kidney and intestine weight of experimental rats 65
Table 4-4. Effect of mulberry leaves on serum lipid composition of in rat fed high cholesterol diet 66
Table 4-5. Effect of mulberry leaves on hepatic thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level in rat fed high cholesterol diet 67
Table 4-6. Effect of mulberry leaves on hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione S-transferase (GST) activities in rat fed high cholesterol diet 68
Table 4-7. Effect of mulberry leaves extracts on lipofusin and superoxide radical contents of liver in rat fed high cholesterol diet 69
Table 5-1. Composition of experimental diet 71
Table 5-2. Classification of experimental groups according to additive of mulberry leaves extract water with fed high cholesterol 71
Table 5-3. Body weight gains, food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental rats 73
Table 5-4. Liver, kidney and intestine weight of experimental rats 74
Table 5-5. Effects of YK-209 mulberry leaves extract on hepatic carbonyl value and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level in rats fed high cholesterol diets. 76
Table 6-1. Sensory evaluation of YK 209 mulberry leaves drink with trichosanthes kirilowil Max. 80
Table 6-2. Contents of γ-aminobutyric acid (GABA) of YK-209 mulberry leaves drink 81
Table 6-3. Contents of four different kinds of flavonoid of YK-209 mulberry leaves drink 81

Table 7-1. Classification of experimental group according to different varieties of mulberry leaves with fed high cholesterol rats 86
Table 7-2. Body weight gains, food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental rats 88
Table 7-3. Liver, kidney and intestine weight of experimental rats 89
Table 7-4. Effect of mulberry leaves pill on serum lipid composition in STZ -induced diabetic rats 91
Table 7-5. Effect of mulberry leaves pill on the contents of lipofuscin and superoxide radical contents of liver in STZ-induced diabetic rats 92
Table 7-6. Effect of mulberry leaves pill on hepatic xanthine oxidase (XOD) activities in STZ-induced diabetic rats 93
Table 7-7. Effect of mulberry leaves pill on hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSHpx) and glutathione S-transferase (GST) activities in STZ-induced diabetic rats 94
Table 7-8. Effect of mulberry leaves pill on hepatic lipid composition in STZ -induced diabetic rats 95
Table 7-9. Effect of mulberry leaves pill on hepatic carbonyl value and thiobar -bituric acid reactive substances (TBARS) level in STZ-induced diabetic rats 96
Table 8-1. Composition of experimental diet 100
Table 8-2. Classification of experimental groups according to additive of mulberry leaves drink in STZ-induced diabetic rats 100
Table 8-3. Body weight gains, food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental rats 102
Table 8-4. Liver, kidney and small intestine weight of experimental rats 103
Table 8-5. Effect of mulberry leaves drink on serum lipid composition in STZ-induced diabetic rats 105

Table 8-6. Effect of mulberry leaves drink on the lipofusin and superoxide radical contents of liver in STZ-induced diabetic rats 106
Table 8-7. Effect of mulberry leaves drink on hepatic xanthine oxidase (XOD) activities in STZ-induced diabetic rats 107
Table 8-8. Effect of mulberry leaves drink on hepatic superoxide dismutase (SOD), gutathione peroxidase (GSHpx), glutathione-S-transferase (GST) activities in STZ-induced diabetic rats 108
Table 8-9. Effect of mulberry leaves drink on hepatic lipid composition in STZ-induced diabetic rats 109
Table 8-10. Effect of mulberry leaves drink on hepatic carbonyl value and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level in STZ -induced diabetic rats 110
Table 9-1. Effect of mulberry leaves pill on serum lipid composition in clinical experiment 114

List of Figures

Fig. 2-1. Contents of γ-aminobutyric acid (GABA) of mulberry leaves with different varieties and cultivation region 47
Fig. 2-2. Harvest period variations in contents of γ-aminobutyric acid (GABA) in YK-209 mulberry leaves 50
Fig. 2-3. Quantification of γ-aminobutyric acid (GABA) in YK-209 mulberry leaves on the different parts of steam 51
Fig. 2-4. Contents of γ-aminobutyric acid (GABA) in YK-209 mulberry leaves by dry treatment conditions 53
Fig 5-1. Effect of mulberry leaves extract on serum lipid composition in rat fed high cholesterol diet 75
Fig. 5-2. Effects of YK-209 mulberry leaves extract on serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) activities in rats fed high cholesterol diets. 77
Fig. 7-1. Effect of mulberry leaves pill on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats 90
Fig. 7-2. Effects of different mulberry leaves pill on serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) activities in STZ-induced diabetic rats 97
Fig. 8-1. Effect of mulberry leaves drink on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats 104
Fig. 8-2. Effects of different mulberry leaves drink on serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) activities in STZ-induced diabetic rats 111
Fig. 9-1. Effect of mulberry leaves pill of blood glucose in clinical experiment .. 113

제1장 서 론

제1절 연구개발의 목적 및 중요성

옛 의서에 뽕잎은 참으로 여러 가지에 쓰인다고 적혀있다. 桑白皮나 뽕잎은 後漢시대인 BC 250년경부터 약제로 이용되어 온 것이 장중경이 편찬한 「神農本草經」에 기록되어 있는 것으로 보아 3000년이란 긴 세월동안 이용되어온 것으로 추정된다. 그 후 소송(蘇頌), 신선복식방(神仙服食方), 끽다양생기(喫茶養生記), 오처경(吾妻鏡), 본초강목(本草綱目)등 중국과 일본의 한방서에 뽕잎의 효과와 먹는 방법 등이 기록되어 있다.

우리나라에서의 기록은 조선조 선조때 허준의 동의보감(東醫寶鑑)에 있다. 뽕잎에 대해 '따뜻하고 독이 없으며 각기(脚氣)와 수종(水腫)을 없애주고 대·소장을 이롭게 하며 하기(下氣)하고 풍통(風痛)을 없앤다 (桑葉暖 無毒除脚氣水腫 利大小腸 下氣除風痛)'라고 기록되어 있다. 중국의 의서에 기록된 뽕잎의 기능은 '풍을 쫓아 주고 폐의 열을 없애 준다. 감기로 오는 열과 두통, 기침을 치료해 주고 가래를 없애 준다. 또 눈과 간을 깨끗하게 해주고 음허(陰虛)와 풍열로 생긴 눈병을 치료해주고, 눈의 충혈, 건조, 통증 등을 치료해 준다'고 했다.

실제로 최근의 과학적인 연구결과에 의해 뽕잎에 살균성분, 혈액순환을 좋게 하는 성분, 알레르기에 좋은 성분이 있음이 하나하나 밝혀지고 있으니 옛 사람들의 식견에 놀랄 뿐이다. 그러나 아직은 분자수준에서 구조와 기능을 밝히지 못하였을 뿐만 아니라, 古醫書 에 나와 있는 사실의 검증조차도 다 이루어지지 못한 형편이다. 그러므로 조상들의 축적된 경험을 토대로 하여 과학적인 접근방법으로 더 많은 새로운 연구를 하므로서 뽕에 대한 높은 기능성이 속속 밝혀져 새로운 식품소재로서 그 이용이 확대되어져야 된다고 본다.

최근 양잠이 본래의 목적인 고치 생산에서 벗어나 기능성 산물의 생산으로 전환되

고 있는 경향인데 이것은 1995년 누에가루가 혈당강하 효과가 있는 것으로 밝혀진 이후의 일이다. 60년대 중반부터 산업화가 점차 가속화되면서 농촌인력의 도시로 유출, 인건비의 상승, 양잠농가의 상대적 소득 감소 등과 함께 값싼 중국산 고치의 수입이라는 악재에 눌려 1976년을 정점으로 양잠은 급격한 쇠퇴를 거듭하여 붕괴직전의 상황까지 도달되었다. 이러한 위급한 상황에서 탈출구를 찾기 위해 방향을 전환하여 양잠산물의 기능성 산물화에 대한 연구가 의외의 결실을 얻어 오늘과 같이 새로운 산업을 창출하고 전통산업의 맥을 이어갈 수 있게 되었다. 즉 1995년 누에분말의 혈당강하 효과가 발표되고, 이어서 1998년 누에를 이용한 동충하초의 대량 생산 방법이 큰 성공을 거두고 그 기능성이 하나 둘 밝혀지면서 점차 생산량이 증가하고 있으며 이것들로부터 파생되는 새로운 산업이 계속 창출될 것으로 전망된다.

뽕잎의 경우에는 1985년 이미 잠사곤충부에서 차(茶)로의 이용 가능성을 검토한 바 있고 1994년부터 본격적인 연구에 착수하여 여러 가지 기능성이 밝혀지면서 1996년부터는 뽕잎차가 상품화되기 시작하였다. 그러나 앞의 누에분말이나 동충하초와는 달리 최근에 오히려 퇴조하는 경향을 보이고 있다. 뽕잎은 양잠의 근간을 차지하며, 누에분말이 기능성을 갖는 근원이 되는 등 양잠산물의 기본을 이루고 있음에도 보급에 있어서나 소비자의 인식이 매우 희박한 형편이다. 양잠농가들의 수입원 다양화라는 명제에서 보면 뽕잎도 또 하나의 수입원이 될 수 있으며 뽕잎 그 자체로서의 고부가가치 상품생산이 가능하다고 본다. 또 보건향상을 위해 녹차 등과는 대조적으로 저렴한 원료로 이용할 수 있다는 점에서 뽕잎의 가치를 재조명할 필요가 있는 것이다.

뽕잎에 존재하는 성분은 크게 휘발성 성분과 비휘발성 성분으로 나눌 수 있다. 휘발성 성분으로는 guaiacol, eugenol, methyl salicylate, benzaldehyde 및 phenylacet-aldehyde 등이며 비휘발성 성분은 플라보노이드가 주류를 이루어 그 함량이 매우 높고 종류 또한 다양하다. 즉, rutin, quercetin, isoquercetin, astragalin, quercetin-3,7-diglucoside 및 quercetin-3-triglucoside가 존재한다. 50여종의 각

종 무기성분이 분석되어지고 있으며 특히 Ca, K과 Fe은 함량이 매우 높으며, 아미노산은 methionine등 21종이 있다. 또한 kuwanon 등 유기성분이 59종 검출되었다. 이들 유기성분은 뽕잎과 상백피에서 처음으로 확인된 것이 상당수에 이르며 아직도 그 기능성에 대해서 밝혀지지 않은 성분이 많다.

또한 뽕잎은 다양한 영양성분을 함유하고 있기 때문에 영양학적으로 완벽한 식품으로 응용할 수 있다. 그 성분 조성을 보면 조단백질(25~35%), 조지방(3.5%), 조섬유소(10.7%), 회분(7.2%), 가용성무기질(54.4%), 조탄수화물(20.2%)을 함유하고 있다. 또 식물 중에서 콩 다음으로 다량의 단백질을 함유하고 있고, 섬유소도 많이 함유하고 있는데 이들은 주로 불용성 섬유소이기 때문에 체내에 존재하는 독성물질의 배설을 증가시켜 주고 장의 운동도 활발하게 한다. 뽕잎에 존재하는 단백질의 구성 아미노산은 매우 다양하고, 특히 glutamic acid 와 aspartic acid가 많이 함유되어 있다. 뽕잎 중의 지질함량은 3.5%이다. 특히 뽕잎에 존재하는 대부분의 지방산은 불포화지방산인 oleic acid, linoleic acid 및 linolenic acid이다. 또한 β-sitosterol과 같은 식물성 스테롤이 0.08% 함유되어 있는데 이들은 콜레스테롤의 배설을 증가시킴으로써 혈중 콜레스테롤 함량을 감소시키는 것으로 알려져 있다. 또한 뽕잎에는 친수성인지질인 레시틴이 존재하여 천연유화제로 이용될 수 있다. 이와같이 일반 영양성분도 우수하지만 특히 GABA나 rutin의 함량이 높아서 기능성 식품으로의 이용도가 기대되므로 뽕잎을 이용한 다양한 제품 개발이 필요하다.

지금까지 다수의 건강식품들이 터무니없이 고가로 판매되고 있고 보신식품에 민감한 우리 국민들이 과신하고 오인할 우려가 있기 때문에 이러한 문제점도 꼭 해결해야 할 부분이다. 그러므로 본 연구과제에서는 다양한 건강보조가공식품을 개발하여 생리적 효능에 대한 동물실험과 임상실험을 통한 구체적이고 과학적인 data를 근거로 하여 소비자들에게 정확한 전달을 하여 믿고 이용할 수 있게 한다. 또한 다른 기능성 식품이 턱없이 고가이므로 이용하기가 어렵지만 뽕잎이용 건강보조식품은 저렴한 가

격으로 많은 사람들이 쉽게 이용할 수 있게 한다.

제2절 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 뽕잎을 원료로 각종의 기능성 건강보조식품을 개발하는 한편 개발식품의 생리적 효능을 구체적이고 과학적으로 규명하여 우리나라 뽕잎의 우수성을 밝히고 뽕잎의 이용도를 높이는데 그 목적이 있다. 특히 우리나라에서 130여종의 다양한 뽕나무 품종이 재배되고 있는데 그 중에서 잎을 이용한 건강보조식품 개발에 가장 적합한 품종을 선별하는 것이 우선적으로 중요하겠다. 현재 누에 사육이 목적이 아니라 뽕잎의 이용목적에 적합하도록 농촌진흥청 잠사곤충부에서 새로이 육종된 것이 바로 YK-209 뽕이다.

YK-209 뽕잎은 내한성이 강하고 잎 수량이 많은 품종을 육성하기 위하여 용천뽕(Y)과 개량뽕(K)을 교배하여 얻은 것으로 잎이 넓고 많아서 잎 이용에 좋을 뿐 아니라 rutin이나 GABA의 함량이 다른 품종들에 비해 상당히 높다. 현재 영천 지역에 많이 시범 재배되고 있으므로 이를 이용하면 된다.

그러므로 뽕잎 이용 기능성 식품개발에 가장 적합한 품종으로 기대되는 YK-209를 이용하여 이에 적합한 가공기술개발과 생리적 효능 규명 등 연구 목적에 따라 1개의 세부과제와 1개의 위탁과제로 나누어 고부가가치 가공제품의 제조기술을 개발하고 또 그 효능을 소비자가 믿을 수 있도록 동물실험 뿐 만 아니라 사람을 대상으로 한 임상실험까지 과학적으로 규명하고자 한다. 연구개발목표와 내용은 다음의 표 및 개략도에 나타낸 바와 같다.

▶ 세부과제1: 뽕잎으로부터 제조된 건강보조식품의 생리적 효능

구분	연 구 개 발 목 표	연구개발 내용 및 범위
1차년도	◎ 동물실험을 통한 뽕잎과 제조된 엑기스 제품의 지질대사 개선효과 및 항노화 효과 규명	◉ YK-209 뽕잎 및 제조품의 기능성 검정 o YK-209 뽕잎의 혈중 지질대사 및 항산화·항노화 효과 - 혈중 중성지방 콜레스테롤 개선효과 - 지질과산화물 축적 감소효과 - 항산화계 강화효과 - 리포푸신 축적 감소 및 유해산소 생성 감소 효과 o 제조된 개발품의 효능검정 - 혈중 콜레스테롤 개선 기능 - 혈중 중성지질 저하 기능 - 지질과산화물 o 제조된 엑기스제의 사람이용 안전성 검정 - 안전성 및 독성검사 - 혈중 GOT, GPT 활성
2차년도	◎ 뽕잎으로 제조된 환제조품 및 드링크 건강보조식품의 동물실험을 통한 성인병 예방 효능검증 및 우수제품의 임상실험을 통한 효능검정	◉ 동물실험을 통한 제품의 기능성 검정 o 개발품의 성인병예방 효과 검증 - 혈당저하 효과 - 혈중 콜레스테롤 개선 효과 - 혈중 중성지방 저하 - 항노화 및 항산화효과 - 간조직중 지질조성 개선효과 o 제조된 제품의 이용 안전성 검증 - 독성검증 및 효용가치 기준확립 - 혈중 TBARS 수준 - 혈중 GOT, GPT 활성 ◉ 우수 건강보조식품의 사람 대상 임상실험 - 혈중 콜레스테롤 저하 효과 - 혈중 중성지방 저하 효과

▶위탁과제1 : 뽕잎을 이용한 고품질의 기능성 건강보조식품 기술개발 (가공분야)

구분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도	◎ 뽕잎을 이용한 기능성 엑기스제의 제조기술개발	◉ YK-209 뽕잎의 건강보조식품 제조 적합성 조사 - 품종별 뽕잎 성분분석 - YK-209 뽕잎 처리 조건별 뽕잎의 엑기스제 제조 적합성 확립 ◉ 고품질 뽕잎 엑기스제의 제조기술 개발 - 뽕잎의 냄새제거를 위한 기술개발 - 맛, 기호도 상승 기술개발 - 기능성 상승 제조기술 개발 ◉ 고품질 뽕잎제품의 품질평가 - 제품의 품질 - 제품의 안전성 - 소비자 기호도 검사
2차년도	◎ 뽕잎을 이용한 뽕잎환 건강보조식품 및 기능성 드링크 제조기술개발	◉뽕잎 이용 건강보조식품제조 적합성 조사 - YK-209 뽕잎을 원료로한 환제조 적합성 - YK-209 뽕잎을 원료로한 드링크제조 적합성 ◉ 고품질 뽕잎 환 제조기술 개발 - 뽕잎의 냄새제거를 위한 기술 개발 - 맛과 기능성 향상 기술 개발 ◉ 고품질 뽕잎 드링크 제조기술 개발 - 냄새 제거를 위한 기술 개발 - 맛 및 기능성 향상 드링크 제조 ◉ 환 및 드링크제품의 품질평가 - 제품의 품질분석 - 제품의 안전성 - 제품의 소비자 기호도 조사

제2장 YK-209 뽕잎을 이용한 건강보조식품의 적합성 조사

제1절 YK-209 뽕잎의 건강보조식품 제조 적합성 조사

1. 시료채취

본 연구과제는 1차년도 제1위탁과제로써 YK-209 뽕잎의 건강보조식품의 제조 적합성을 조사하기 위하여 YK-209 뽕잎의 기능성 성분 조사를 실시하였다. 뽕잎은 본 과제에서 연구대상인 신품종 YK-209 뽕잎을 영천양잠농업협동조합에서 재배하고 있는 것을 채취하였으며 또 기존의 품종과 비교하기 위하여 청일뽕도 채취하였다. 또 본 연구의 주시료가 되는 YK-209 뽕잎을 재배 지역별로 비교하기 위해 영천양잠농업협동조합뿐만 아니라 경상북도 농업기술연구 상주잠사곤충사업장에서 재배되고 있는 것을 채취하였으며 또한 YK-209 뽕잎의 육종전 교배 품종인 용천뽕과 개량뽕도 상주에서 재배되고 있는 것을 채취하였다. 채취한 뽕잎은 수세한 후 목적에 따라 이용하였으며 채취시기는 5월 중순이었다.

2. 뽕잎의 기능성 성분 분석

가. γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 : 뽕잎의 혈압강하물질인 GABA 함량 측정은 방 등의 방법에 따라 다음과같이 실시하였다. 즉, 마쇄한 뽕잎 1 g에 4% sulfosalicylic acid 용액 20 mL을 가하여 30℃에서 1시간 동안 초음파 추출하였다. 추출한 시료는 4℃에서 60분 동안 방치한 후 원심분리 (12,000 rpm, 5℃, 15 min)하여 단백질을 침전시켰다. 여기서 얻어진 상등액과 동량의 Uriprep (contain lithium ion)을 혼합하여 실온에서 5분간 방치한 후 침전되는 단백질을 다시 원심분리(13,000 rpm, 4℃, 5 min)하여 제거하였다. 원심분리하여 얻은 상등액을 syringe filter(0.45

μm)로 여과하여 적당히 희석한 후 아미노산 자동분석기 (Pharmacia Biotech Co., Biochrom 20, Swiss)를 사용하여 GABA 함량을 측정하였다.

나. Flavonoid 성분 분석 : 뽕잎의 항산화성분인 flavonoid 함량 측정은 윤 및 이의 방법을 약간 변형하여 다음과같이 실시하였다. 즉, 건조뽕잎 1g에 80% 수용성메탄올 100 mL를 가하여 상온에서 magnetic stirrer로 12시간 동안 2회 반복 추출하여 여과한 후 rotary vacuum evaporator (N-N series, Eyela, Japan)로 농축하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이것을 다시 20% 수용성메탄올 10 mL로 현탁시킨 후 여기에 CH_2Cl_2 (50 mL)를 가하여 분획하여 탈지 및 탈색한 다음 다시 *n*-BuOH (50 mL)를 가하여 2회 반복하여 분획한 다음 얻어진 상층을 농축하여 부탄올추출물을 얻었다. 다음, 이를 80% 수용성메탄올 4 mL로 다시 용해한 후 0.45μm membrane filter (Gelman, USA)에 통과시켜 얻어진 시료 용액의 플라보노이드의 성분을 HPLC로 분석하였다.

3. 결과 : 뽕잎의 기능성 성분 변화

가. γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 : 혈압 강하제로 알려진 기능성 물질인 GABA 함량을 뽕잎의 품종에 따라 측정한 결과 품종별로는 영천지역의 YK-209 뽕잎의 GABA 함량이 용천뽕, 개량뽕 및 청일뽕잎보다 높은 함량을 보였으며 재배 지역별로는 영천산 YK-209 뽕잎이 상주산 YK-209 뽕잎보다 더 높았다(Fig.2-1).

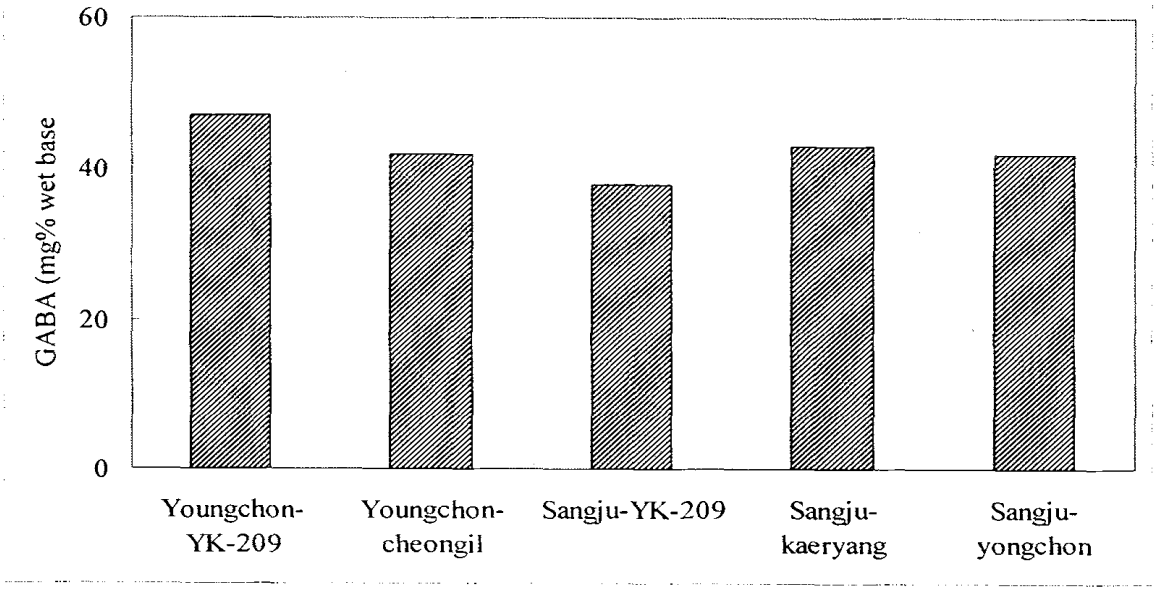

Fig. 2-1. Contents of γ-aminobutyric acid (GABA) of mulberry leaves with different varieties and cultivation region

나. Flavonoid 함량 : 모세혈관을 튼튼하게 하여 뇌출혈을 예방하는 기능성 물질인 rutin 함량을 품종별로 분석한 결과(Table 2-1) 영천지역의 YK-209 뽕잎은 용천뽕, 개량뽕 및 청일뽕잎보다 현저하게 높았다. 또한 뽕잎의 rutin, kaempferol-3-*O*-rutinoside 및 total-flavonoid의 함량은 영천지역의 YK-209 뽕잎이 용천뽕, 개량뽕 및 청일뽕잎에 비해 함량이 높았다. Isoquercitrin 및 astragalin 함량은 영천지역의 YK-209 뽕잎이 다른 품종에 비해 다소 높은 경향을 보였다. 또한 재배 지역별로 비교해 보았을 때 영천산 YK-209 뽕잎이 상주산에 비해 rutin 함량이 현저하게 더 높은 결과를 나타내었다. 또 flavonoid 화합물 즉, isoquercitrin, kaempferol-3-*O*-rutinoside 및 astragalin의 함량 역시 영천지역의 YK-209 뽕잎의 함량이 상주지역의 YK-209 뽕잎의 함량보다 높았으며 total-flavonoid 함량 역시 같은 경향이었다.

Table 2-1. Contents of four different kinds of flavonoid of mulberry leaves with different varieties and cultivation region (mg% dry base)

Cultivars	Rutin	Isoquercitrin	Kaempferol-3-*O*-rutinoside	Astragalin	Total Flavonoid
Youngchon-YK-209	230.3	127.0	82.6	19.0	458.9
Youngchon-cheongil	117.6	147.3	18.9	37.7	321.5
Sangju-YK-209	46.1	102.9	7.6	28.3	184.9
Sangju-kaeryang	49.9	97.9	10.9	21.5	180.2
Sangju-yongchon	69.7	98.6	7.4	16.3	182.0

이와 같이 신품종 YK-209 뽕잎은 기존의 타뽕잎에 비해 잎이 넓을 뿐 아니라 잎의 수효도 많고 GABA나 flavonoid 등의 기능성 성분 함량이 높아서 잎을 이용하는 제품 개발에 가장 우수한 품종임이 규명되었으며, 또 특히 본 연구과제 대상인 영천산 YK-209 뽕잎은 그 기능성 성분함량이 타지역 재배산보다 가장 많기 때문에 뽕잎 엑기스 제조 시료로서 우수함이 규명되었다.

제2절 YK-209 뽕잎의 엑기스 제조 적합성 조사

1. 시료채취

본 연구과제는 YK-209 뽕잎의 엑기스제의 이용 적합성을 조사하고자 본 연구에서 사용되는 시료인 YK-209 뽕잎의 기능성 성분 및 일반성분 조사를 실시하였다. 뽕잎은 본 과제에서 연구해야 하는 신품종인 YK-209 뽕잎을 영천양잠농업협동조합에서 재배하고 있는 것을 채취하였다. 채취한 뽕잎은 수세한 후 목적에 따라 이용하였으며 채취시기는 5월중순, 6월중순 및 8월중순이었다.

2. 뽕잎의 기능성 성분 분석

가. γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 : 전술한 방법과 동일

나. Flavonoid 성분 분석 : 전술한 방법과 동일

다. 뽕잎의 일반 성분 분석

1) 수분 함량 : 수분측정기 (HG53 Moisture Analyzers)를 사용하여 측정하였다.

2) 조단백질 정량 : Kedahl 법에 의하여 analyzer를 이용하여 측정하였다.

3) 조지방 정량 : Soxhlet 추출법에 의하여 에테르로 추출하였다.

4) 환원당 정량 : Somogyi-Nelson 비색법에 의하여 정량하였다.

5) 회분 정량 : A.O.A.C. 법에 의해 정량하였다.

6) 무기질 함량 : 원자 흡광분광계를 이용하여 Ca, Fe, Na 및 K을 측정하였

라. 뽕잎의 건조 처리 방법에 따른 성분 분석

뽕잎의 냄새 제거를 위한 처리 방법에 따른 기능성 성분 변화를 조사하기 위하여 3가지 뽕잎 건조 처리 방법을 달리해 보았다. 즉, 생잎을 채취하여 바로 열풍 건조기로 건조시키는 법, 생잎을 3초간 데친 후 건조시키는 방법 그리고 건조시킨 뽕잎을 다시 데쳐서 건조시키는 방법으로 각각 처리하여 기능성 성분을 비교 실험하였다.

3. 결과 : 뽕잎의 기능성 성분 함량변화

가. 뽕잎 채취 시기별 성분변화

본 연구는 YK-209 뽕잎의 엑기스 제조 적합성을 조사하기 위해 영천양잠농업협동조합에서 재배한 YK-209 뽕잎을 비교 분석하여 실험하였다.

1) 기능성 성분

가) γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 : 영천에서 재배되고 있는 YK-209 뽕잎을 5월 중순, 6월 중순 및 8월 중순 등 시기별로 채취하여 GABA의 함량을 관찰한 결과 5월 중순에 채취한 YK-209 뽕잎에서 가장 높은 함량을 보였으며 이후 약간의 진폭을 나타내며 채취후기로 갈수록 감소하는 경향이었다(Fig.2-2).

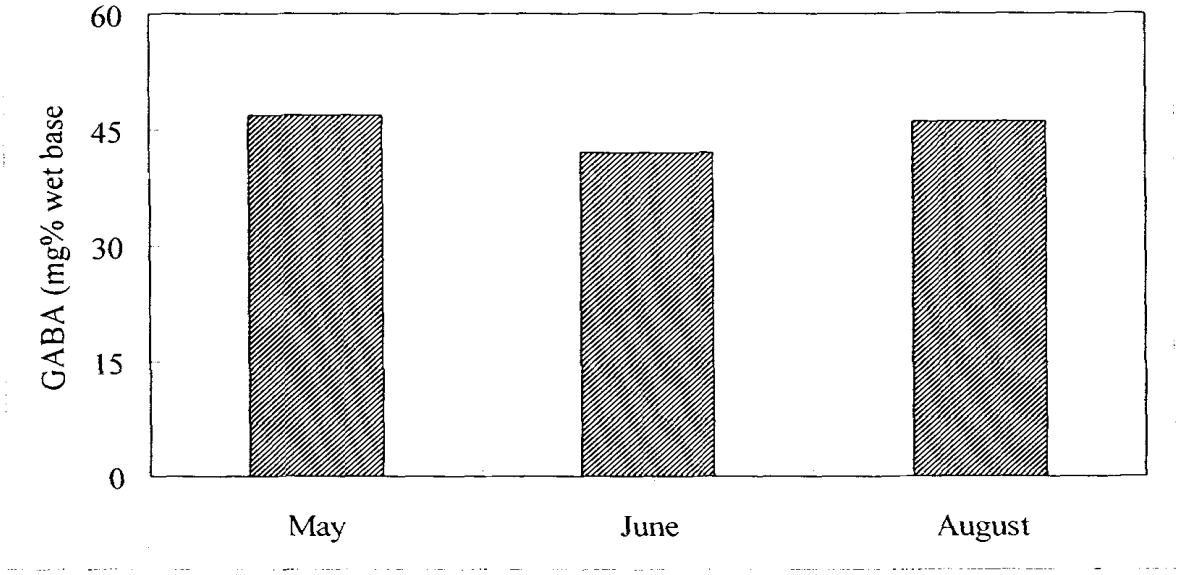

Fig. 2-2. Harvest period variations in contents of γ-aminobutyric acid (GABA) in YK-209 mulberry leaves

나) Flavonoid 함량 : 뽕잎의 채취시기에 따른 rutin 함량은 Table 2-2와 같이 5월 중순에 채취한 YK-209 뽕잎이 청일뽕잎보다 높은 경향이었지만 6월, 8월산과 크게 차이는 없었다. 또한 YK-209 뽕잎의 채취시기별 flavonoid 화합물 즉, isoquercitrin, kaempferol-3-*O*-rutinoside 및 astragalin의 함량은 5월 중순에 채취한 뽕잎이 6월, 8월산보다 높은 함량을 보였다.

Table 2-2. Harvest period variations in contents of four different kinds of flavonoid in YK-209 mulberry leaves *(mg% dry base)*

Harvest period	Rutin	Isoquercitrin	Kaempeferol-3-*O*-rutinoside	Astragalin	Total Flavonoid
YK May	230.3	127.0	82.6	19.0	458.9
YK June	124.5	171.0	24.6	25.1	345.2
YK August	117.8	195.5	18.2	47.8	379.3

2) 일반 성분 : 뽕잎 채취 시기에 따른 YK-209 뽕잎의 일반성분은 큰 차이가 없었다(Table 2-3).

Table 2-3. Harvest period variations in proximate composition of material contents in YK-209 mulberry leaves *(D.W)*

Harvest period	Moisture (%)	Protein (%)	Ash (%)	Reducing sugar (%)	Lipid (%)	L-ASA (mg/g D.W.)
YK May	5.95	21.1	9	4.0	3.5	1.3
YK June	3.51	19.2	9	3.2	3.8	0.9
YK August	8.39	22.3	9	4.8	4.0	1.0

나. 뽕잎 채취 부위별 성분변화

1) 기능성 성분

가) γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 : 뽕잎의 채취 부위별에 따른 GABA 함량을 관찰한 결과는 Fig 2-3과 같다. GABA 함량은 YK-209 뽕잎에서 상위엽이 성숙된 노화엽인 중, 하위엽보다 다소 많았다.

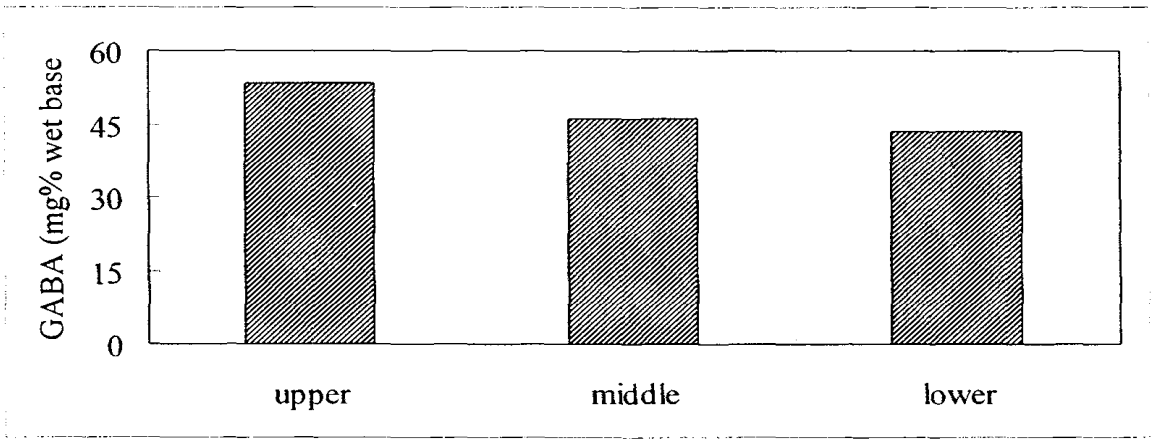

Fig. 2-3. Quantification of γ-aminobutyric acid (GABA) in YK-209 mulberry leaves on the different parts of steam

나) Flavonoid 함량 : YK-209 뽕잎의 채취 부위별에 따른 rutin의 함량은 Table 2-4와 같이 상위엽에서 채취한 뽕잎에서 가장 높은 함량을 보였으며 rutin외 flavonoid 화합물 즉, isoquercitrin, kaempferol-3-*O*-rutinoside 및 astragalin의 함량은 상위엽에서 중·하위엽에 비해 다소 많았다.

Table 2-4. Contents of four different flavonoid in YK-209 mulberry leaves on the different parts of steams *(mg% dry base)*

Parts of steam	Rutin	Isoquercitrin	Kaempeferol-3 -*O*-rutinoside	Astragalin	Total Flavonoid
YK upper	419.4	201.4	163.7	36.0	820.5
YK middle	229.5	146.0	69.5	16.4	461.4
YK lower	41.9	33.6	14.5	4.5	94.5

2) 일반 성분 : YK-209 뽕잎 채취 부위별에 따른 일반성분중(Table 2-5) 상위엽에서 조단백질 및 비타민 C함량이 다소 높았으나 다른 일반성분에서는 큰 차이가 나타나지 않았다.

Table 2-5. Proximate ingredients of material contents in YK-209 mulberry leaves on the different parts of steams *(D.W)*

Parts of steam	Moisture *(%)*	Protein *(%)*	Ash *(%)*	Reducing sugar *(%)*	Lipid *(%)*	L-ASA (mg/g D.W.)
YK upper	6.59	24.5	8	4.0	2.9	1.3
YK miuddle	5.56	21.8	9	3.2	4.6	0.9
YK lower	13.0	20.6	10	4.8	4.4	1.0

다. 뽕잎의 건조 처리 방법에 따른 성분변화

뽕잎의 냄새 제거를 위한 처리 방법에 따른 기능성 성분 변화를 조사하기 위하여 3가지 뽕잎 건조 처리 방법을 달리해 보았다. 즉, 생잎을 채취하여 바로 열풍 건조기로 건조시키는 법, 생잎을 3초간 데친 후 건조시키는 방법 그리고 건조시킨 뽕잎을

다시 데쳐서 건조시키는 방법으로 각각 처리하여 비교 실험하였다.

1) 기능성 성분

가) γ-aminobutyric acid (GABA) 함량 : 뽕잎건조 처리방법에 따른 GABA 함량에서는(Fig. 2-4) 생잎채취 후 바로 열풍 건조기로 건조한 것이 가장 높음을 알 수 있다.

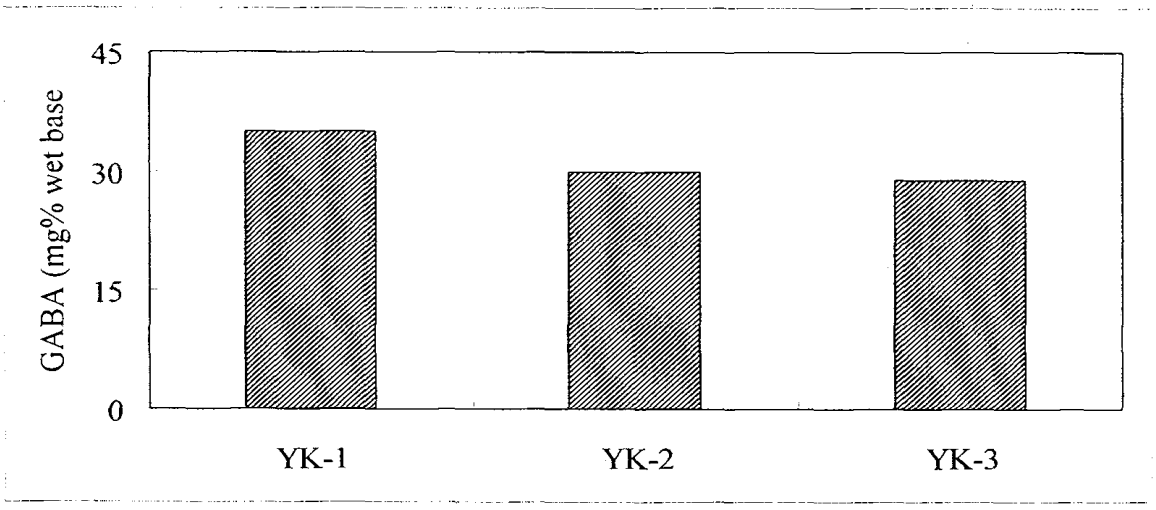

Fig. 2-4. Contents of γ-aminobutyric acid (GABA) in YK-209 mulberry leaves by dry treatment conditions

YK-1 : mulberry leaves → dry →cut → roast
YK-2 : mulberry leaves → blanching → dry →cut → roast
YK-3 : mulberry leaves → dry → blanching → dry →cut → roast

나) Flavonoid 함량 : YK-209 뽕잎 처리 방법에 따른 rutin의 함량은(Table 2-6) 생잎을 바로 열풍 건조기로 건조한 것이 가장 높았으며 rutin외 flavonoid 화합물 즉, isoquercitrin, kaempferol-3-*O*-rutinoside 및 astragalin의 함량 역시 바로 건조한 것에서 가장 많았다.

Table 2-6. Contents of four different flavonoid in YK-209 mulberry leaves by dry treatment conditions *(mg% dry base)*

Mulberry leaves	Rutin	Isoquercitrin	Kaempeferol-3-*O*-rutinoside	Astragalin	Total Flavonoid
YK-1[1)]	210.5	128.6	57.2	12.3	408.6
YK-2[2)]	7.7	4.7	3.8	1.1	17.3
YK-3[3)]	10.6	5.9	3.9	1.0	21.4

1) YK-1 : mulberry leaves → dry →cut → roast
2) YK-2 : mulberry leaves → blanching → dry →cut → roast
3) YK-3 : mulberry leaves → dry → blanching → dry →cut → roast

2) 일반 성분 : YK-209 뽕잎의 건조 처리방법에 따른 일반성분의 함량을 관찰한 결과(Table 2-7) 성분간의 큰 차이는 없었으나 비타민 C 함량은 바로 건조한 것이 높았다.

Table 2-7. Proximate ingredients of material contents in YK-209 mulberry leaves by dry treatment conditions *(D.W)*

Mulberry leaves	Moisture (%)	Protein (%)	Ash (%)	Reducing sugar (%)	Lipid (%)	L-ASA (mg/g D.W.)
YK-1[1)]	4.09	23.7	10.0	1.07	4.0	0.85
YK-2[2)]	3.14	25.0	8.9	0.74	3.3	0.19
YK-3[3)]	3.31	22.7	10.3	1.02	3.7	0.16

1) YK-1 : mulberry leaves → dry →cut → roast
2) YK-2 : mulberry leaves → blanching → dry →cut → roast
3) YK-3 : mulberry leaves → dry → blanching → dry →cut → roast

결론적으로 1차년도 위탁과제 연구로 뽕잎엑기스 제조 적합성을 조사한 결과 신품종 YK-209 뽕잎 5월산의 상위엽에서 기능성성분이 우수하였으며 뽕잎채취후 즉시 열풍건조한 후 사용하는 것이 기능성 성분의 파괴를 최소화할 수 있었다.

따라서 고품질 뽕잎엑기스 제조기술개발에 있어서 영천산 YK-209 뽕잎을 이용하는 것이 기존의 타뽕잎에 비해 잎을 이용하는 제품개발에 가장 우수한 품종으로 규명되었다.

제3장 고품질 뽕잎 엑기스 제품의 제조기술개발

제1절 YK-209 뽕잎을 이용한 엑기스 제조기술개발

1. 뽕잎 엑기스 제조 공정과정

상기 뽕잎 엑기스 제조 적합성 연구에서 엑기스 제조에 가장 우수한 뽕잎 품종으로는 YK-209 뽕잎으로, 재배지역으로는 영천산, 채취 시기별로는 5월산, 그리고 채취 부위별로는 상위엽이 가장 좋았으므로 이러한 조건을 갖춘 뽕잎을 이용하였다. 뽕잎의 건조 처리 방법은 앞에서 3가지 처리 방법중 기능성 성분의 파괴가 가장 적은 방법인 생잎을 바로 열풍기로 건조한 뽕잎을 이용하였다. 위와같은 조건으로 선택된 고품질 건조 뽕잎을 정제수로 85-90℃에서 4시간동안 추출하여 여과한 후 60-62℃에서 10시간동안 52진공도에서 농축하여 뽕잎 엑기스를 제조하였다.

2. 맛, 기호도 상승 제조기술개발

뽕잎 엑기스제의 향기와 전체적인 기호도의 변화에 대한 맛, 기호도 상승을 관찰하기 위한 방법으로 뽕잎 엑기스에 부재료로 기능성 물질로 알려져 있고 우리나라 사람들이 선호하는 향기와 맛을 지닌 쑥과 솔잎을 엑기스로 만든 후 농도별로 첨가하였다. 이렇게 만든 뽕잎 엑기스의 관능검사를 실시하였으며, 관능검사는 대구가톨릭대학교 식품영양학과 3학년 30명을 관능검사 요원으로 선정하여 교육한 후 향기, 색상, 맛, 전체적인 기호도를 9가지 항목으로 나누어 7점 채점법으로 측정하였고, 기호도가 높을수록 7점에 가까운 점수를 주었다.

3. 기능성 상승 제조기술개발

일차적으로는 뽕잎 엑기스제의 맛, 기호도를 높이면서 이차적으로 기능성 상승을

위해서 뽕잎 엑기스에 부재료로 천연물인 솔잎과 쑥을 첨가하여 뽕잎 엑기스를 제조하였다.

4. 제조된 뽕잎 엑기스 제품의 품질평가

가. 제품의 품질 : 시제품으로 제조된 뽕잎 엑기스의 기능성 생리활성 성분과 솔잎, 쑥의 첨가에 따른 맛의 변화, 기능성 생리활성 성분 및 강화된 생리활성 성분을 평가하고 포장용기, 내용물 함량, 맛, 냄새, 색, 저장성, 수송성 및 살균기술 등을 자체 평가하였다.

나. 제품의 안전성 : 뽕잎 엑기스에 함유된 농약의 잔류유무, 천연독소 유무, 중금속류 유무, 유해미생물 유무, 미생물 독소 유무등을 조사하였다.

다. 소비자 기호도 검사 : 뽕잎 엑기스에 대한 소비자 기호도를 검사하였다. 조사 대상자 인식 및 기호도의 검사 항목으로 먹어본 경험, 질병유무, 질병종류, 먹게된 동기, 선호도 유무, 선호도 이유 및 섭취시기를 검사하였으며, 기호특성 항목으로 온도, 첨가품질에 따른 맛, 색깔, 냄새 및 외관모양에 대한 검사를 실시하였다.

제 2절 결과 : 고품질 뽕잎 엑기스 제조기술개발 평가

1. 뽕잎 엑기스 제조 공정과정 기술개발

뽕잎 엑기스 공정과정은 상기방법과 동일하며 이러한 제조방법은 기존의 제조방법인 알코올 분해방법과는 달리 물로 추출한 가수분해법을 이용한 방법으로 기능성 성분의 파괴를 최소화시키며 또한 인체의 무해성, 맛의 상승이 기대된다.

2. 맛, 기호도 상승 제조기술개발

뽕잎 엑기스제의 향기와 전체적인 기호도의 변화에 대한 관능검사의 결과(Table 3-1 & 3-2) 뽕잎 엑기스의 풋냄새를 제거하는데 솔잎, 쑥의 순으로 전체적인 기호도

가 높게 나타내었고 솔잎의 함량은 7% 첨가한 것이, 쑥의 함량은 3%씩 첨가한 것에서 전체적인 기호도가 높게 나타났다.

Table 3-1. Sensory evaluation of YK-209 mulberry leaves extract with mugwort

Mulberry leaves extract[1)]	Flavor	Color	Sweet taste	Astringent taste	Delicate taste	Overall taste	Overall quality
EM1	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
EM2	3.8	3.6	3.4	3.2	3.6	3.6	4.0
EM3	5.4	4.2	3.8	4.4	3.8	5.0	5.0
EM4	3.2	3.4	3.2	3.4	4.2	4.8	4.6

[1)] 1~4 : Content of additive in mulberry leaves extract
1: 0% additive 2: 1% additive 3: 3% additive 4: 5% additive

Table 3-2. Sensory evaluation of YK-209 mulberry leaves extract with pine needles

Mulberry leaves extract[1)]	Flavor	Color	Sweet taste	Astringent taste	Delicate taste	Overall taste	Overall quality
EP1	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
EP2	3.8	3.6	3.4	3.2	3.6	3.6	4.0
EP3	4.2	4.0	3.2	3.0	3.8	3.0	3.8
EP4	5.4	4.2	3.8	4.4	3.8	5.0	5.0

[1)] 1~4 : Content of additive in mulberry leaves extract
1: 0% additive 2: 3% additive 3: 5% additive 4: 7% additive

3. 기능성 상승 제조기술개발

고품질 YK-209 뽕잎에 기능성 천연물질을 부재료로 첨가하며 기능성 성분이 우수한 뽕잎 엑기스를 제조하고자 함과 더불어 풋냄새를 최대한 약화시키는데 제조 가공기술을 확립하였다.

천연 부재료를 첨가하여 강화된 기능성 생리활성 성분을 측정해 보면 먼저 솔잎에는 terpene, glucokin, rutin, apigenic acid 및 tannin 같은 성인병 예방에 탁월한 성분이 함유되어 있으며 쑥을 부재료로 첨가한 엑기스에는 cineol, caryophllen, coumarin, comphor, cubebene, borneol 및 linalool 등의 여러 기능성 성분이 강화된 것이 측정되었다.

4. 제조된 뽕잎 엑기스 제품의 품질평가 결과

가. 제품의 품질 : 고품질 뽕잎제품의 품질평가를 위하여 위탁과제에서 제조한 뽕잎 엑기스를 공급받아 세부과제에서 생리적인 효능이 가장 좋을뿐 아니라 관능테스트에서 맛이 좋으며 전체적인 기호도가 높은 농도로 제조하였다. 즉, 고형분 60%인 뽕잎 엑기스를 9.3%(고형분 6%) 함유시켜 용량이 100 ml인 시제품을 제조하였다. 시제품으로 제조된 엑기스에는 기능성 생리활성 물질로 GABA(Table 3-3)와 4종의 flavonoid 성분으로 rutin, isoquercitrin, kampferol-3-*O*-rutinoside 및 astragalin 이 있음이 평가되었다(Table 3-4). 그리고 솔잎을 첨가한 EP에서는 솔잎의 기능성분인 terpene, glucokin 및 rutin 등이 함유되어 있으며 쑥을 첨가한 EM에서는 쑥의 기능성분인 cineol, coumarin 및 cubebene 등이 더 함유되어 있었다. 또한 기능적 특성으로는 품질평가의 지표인 색상의 우수성과 외관형상, 크기, 두께 균일성, 내부형태가 구매의욕을 고취시키는 것으로 평가되었으며 맛과 향기의 기호성이 평가되었다. 또한 부가 특성으로 저장성과 수송성이 합리적이고 경제적인 우수제품으로 평가되었으며 가공 및 포장관련에서는 레토르트 식품으로서의 우수한 조건이 갖추어졌으며 진공, 가압 및 산화방지를 위한 기술력과 무균포장과 무균저장을 위한 기술력도 우수하게 평가되었다.

Table 3-3. Contents of γ-aminobutyric acid (GABA) of YK-209 mulberry leaves extract with pine needles and mugwort

Mulberry leaves extract	GABA *(mg% wet base)*
E[1]	4873.2
EP[2]	7440.0
EM[3]	7216.8

[1] E : Extract of YK-209 mulberry leaves
[2] EP : Extract of YK-209 mulberry leaves with 7% pine needles
[3] EM : Extract of YK-209 mulberry leaves with 3% mugwort

Table 3-4. Contents of four different flavonoid of YK-209 mulberry leaves extract with pine needles and mugwort *(mg% dry base)*

Mulberry leaves extract	Rutin	Isoquercitrin	Kaempeferol-3-*O*-rutinoside	Astragalin	Total Flavonoid
E[1]	117.18	1372.68	9.77	62.775	1562.41
EP[2]	114.39	1237.37	8.37	51.615	1411.75
EM[3]	107.42	1307.12	11.16	40.455	1466.16

[1] E : Extract of YK-209 mulberry leaves
[2] EP : Extract of YK-209 mulberry leaves with 7% pine needles
[3] EM : Extract of YK-209 mulberry leaves with 3% mugwort

나. 제품의 안전성 : 제조된 뽕잎 엑기스 제품의 안전성을 조사한 결과 제품내 잔류농약은 없었으며, 천연 독소, 중금속류, 유해미생물, 미생물 독소등은 없는것으로 나타나서 인체에 해가 없는 것으로 사람이 먹기에 안정한 것으로 나타났다.

다. 소비자 기호도 검사

연령별로 기호도 검사를 한 결과 연령에 관계없이 뽕잎 엑기스를 먹어본 경험은

노년층에서 젊은층에 비해 뽕잎 엑기스를 먹어본 적이 많다고 대답하였다. 젊은층은 주위사람의 권유나 우연한 계기로 먹어보았다고 답하였으며 노년층은 TV나 언론매체의 광고로 먹어보았다고 답하였다. '지금 엑기스가 있다면 먹기를 원하십니까?' 라는 질문에 대다수의 노년층은 '예'를 젊은층은 '아니오'를 답하였다. 먹고자 하는 이유는 연령에 관계없이 단순히 건강을 위해서라고 답하였다. 뽕잎 엑기스 섭취는 식후가 좋다고 답하였으며 섭취시 뽕잎 엑기스의 온도는 5℃의 것을 선호하였다. 첨가한 물질의 종류에 따른 맛은 뽕잎 엑기스에 비해 솔잎과 쑥을 첨가한 엑기스의 맛을 더 선호하였다.

결론적으로 뽕잎 엑기스는 기존의 제조방법인 알코올 분해방법과는 달리 물로 추출한 가수분해법으로 제조하였으며 뽕잎특유의 풋냄새 제거 및 기능성 향상을 위하여 천연물질인 솔잎 및 쑥을 각각 7%, 3%씩 첨가하여 품질평가를 실시한 결과 맛이 상승되었다.

제4장 YK-209 뽕잎의 기능성 검정

제1절 서 설

본 연구는 YK-209 뽕잎을 이용하여 현재 급증하고 있는 심장 순환계 질환의 주요 요인이 되는 고지혈증을 감소시키는데 그 목적이 있다. 따라서 YK-209 뽕잎의 혈중 지질조성 및 체내 지질대사 개선작용기전을 규명하고 또한 항산화·항노화 효과를 규명하고자 뽕잎의 사용농도를 규정코져 하였다.

흰쥐에 고콜레스테롤 식이를 공급하면서 YK-209 뽕잎을 농도별로 실험군을 나누어 사육한 후 혈중 중성지방, 콜레스테롤, 지질과산화물 축적을 관찰하였다. 또한 조직중의 항산화 효과를 관찰하기 위하여 superoxide dismutase(SOD) 및 glutathione -s-transferase(GST) 활성을 관찰하였으며 항노화 효과를 관찰하기 위하여 리포푸신(lipofuscin) 축적 및 유해산소(superoxide radical) 생성을 관찰하였다.

제2절 재료 및 방법

1. 동물 사육

본 연구는 YK-209 뽕잎의 체내 콜레스테롤 저하 효능을 규명하고져 하였다. 실험동물은 체중 100 g 내외의 Sprague-Dawley 종 숫컷을 환경에 적응시키기 위해 일주일간 예비 사육한 후 난괴법 (randomized complete block design)에 의해 정상군과 1% 콜레스테롤을 급여한 고콜레스테롤 실험군으로 나누었다. 1% 고콜레스테롤을 급여한 실험군은 다시 YK-209 뽕잎 가루 첨가함량에 따라 Table 4-1과 같이 각각 10마리씩 8군으로 나누어 4주간 사육한 후 희생시켰다. 뽕잎은 YK-209 뽕잎을 건조시켜 분말로 만들어 이용하였다.

Table 4-1. Classification of experimental groups according to different levels of mulberry leaves with fed high cholesterol rats

groups / composition	Normal*	High cholesterol diet						
		HC	0.1 MLP	0.2 MLP	0.5 MLP	1.0 MLP	2.0 MLP	4.0 MLP
Starch	65	63.8	63.7	63.6	63.3	62.8	61.8	59.8
Casein	15	15	15	15	15	15	15	15
Salt mixture	4	4	4	4	4	4	4	4
Vitamin mixture	1	1	1	1	1	1	1	1
Corn oil	5	5	5	5	5	5	5	5
Sucrose	5	5	5	5	5	5	5	5
Cellulose	5	5	5	5	5	5	5	5
Sodium Cholate	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	-	1	1	1	1	1	1	1
mulberry leave	-	-	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0	4.0
Total(%)	100	100	100	100	100	100	100	100

* Normal : basal diet

HC : basal diet + 1% cholesterol

0.1 MLP : basal diet + 1% cholesterol + 0.1% YK-209 mulberry leaves

0.2 MLP : basal diet + 1% cholesterol + 0.2% YK-209 mulberry leaves

0.5 MLP : basal diet + 1% cholesterol + 0.5% YK-209 mulberry leaves

1.0 MLP : basal diet + 1% cholesterol + 1.0% YK-209 mulberry leaves

2.0 MLP : basal diet + 1% cholesterol + 2.0% YK-209 mulberry leaves

4.0 MLP : basal diet + 1% cholesterol + 4.0% YK-209 mulberry leaves

2. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 : 체중은 실험기간 동안 3일에 한번씩 측정하였고 식이섭취량은 전 실험기간동안 매일 일정시간에 측정하였다. 사육실의 온도는 22±3℃였고 습도는 50±10%였다. 식이효율 (Food Efficiency Ratio, FER)은 전 체중증가량을 같은 기간동안의 식이섭취량으로 나누어 줌으로써 계산하였다.

3. 혈액 및 장기채취 : 사육기간 완료 후 12시간 절식시킨 실험 동물을 가벼운 에테르 마취하에서 22 gauge의 주사기로 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하여 실온에서 30분간 방치한 후 1,500×g에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 분석시까지 -80℃에서 냉동 보관하였다. 혈액을 채취한 후 즉시 장기들을 적출하여 생리 식염수로 헹군 후 가아제로 수분을 제거하고 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80℃에서 냉동 보관하였다.
4. 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 : 혈청 TG와 총 콜레스테롤 측정은 표준 효소비색법에 의한 kit(아산제약, 한국)를 각각 사용하여 550 nm와 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.
5. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 측정 : Satoh 방법을 이용하였다.
6. 간조직중의 항산화계 효소 활성 관찰 : Superoxide dismutase(SOD)활성 및 glutathione S-transferase(GST) 활성 측정 : SOD 활성은 Marklund와 Marklund의 방법에 따라 측정하였으며 GST 활성도 측정은 Habig의 방법에 따라 측정하였다.
7. 간조직중의 리포푸신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량 측정 : 소모성 노화색소인 리포푹신의 측정은 Fletcher 등의 방법을 이용하였으며 superoxide radical (O_2^-)함량 측정은 Azzi 등의 방법에 550 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 함량을 산정하였다.
8. 단백질 정량

   각 시료의 단백질량은 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하여 각 효소의 단백질 정량은 Lowry법을 이용하여 정량하였다.
9. 통계처리

   모든 실험결과에 대한 통계처리는 분산분석을 수행하였으며 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다.

제3절 결과 : YK-209 뽕잎의 지질대사 개선 및 산화적 손상 완화효과

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

실험기간 동안 흰쥐의 체중증가량(Table 4-2)은 정상군에 비해 뽕잎 비공급 고콜레스테롤군(HC군)에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎공급군에서는 정상군 수준이었다. 식이 섭취량과 식이효율은 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

Table 4-2. Body weight gains, food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental rats

Groups	Body weight gain *(g)*	Food intake *(g/body wt)*	FER
Normal	216.5 ± 12.5^{a}	22.95 ± 0.11^{NA}	0.33 ± 0.03^{NS}
HC	223.5 ± 7.77^{b}	23.11 ± 0.84	0.34 ± 0.17
0.1 MLP	188.0 ± 8.52^{a}	22.24 ± 0.60	0.28 ± 0.01
0.2 MLP	203.6 ± 6.72^{a}	25.41 ± 0.40	0.30 ± 0.02
0.5 MLP	197.5 ± 5.33^{a}	23.88 ± 0.41	0.30 ± 0.02
1.0 MLP	204.6 ± 5.56^{a}	23.69 ± 0.12	0.32 ± 0.01
2.0 MLP	203.2 ± 7.92^{a}	25.37 ± 0.20	0.30 ± 0.02
4.0 MLP	199.2 ± 5.95^{a}	24.77 ± 0.06	0.30 ± 0.08

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 4-1.

2. 실험동물의 장기무게

단위 체중당 간장, 신장 및 소장의 무게 관찰 결과 간장무게(Table 4-3)는 정상군에 비해 고콜레스테롤군 실험군 모두에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으며, HC군에 비해 뽕잎공급군이 다소 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 신장 및 소장의 무게는 실험군간에서 유의적인 차이가 없었다.

Table 4-3. Liver, kidney and intestine weight of experimental rats

(g/100g body wt)

Groups	Liver	Kidney	Intestine
Normal	4.03 ± 0.01^{a}	0.926 ± 0.045^{NS}	4.422 ± 0.225^{NS}
HC	4.32 ± 0.07^{b}	1.042 ± 0.024	4.524 ± 0.310
0.1 MLP	4.29 ± 0.15^{b}	0.982 ± 0.098	4.537 ± 0.255
0.2 MLP	4.17 ± 0.19^{b}	1.010 ± 0.007	4.745 ± 0.159
0.5 MLP	4.28 ± 0.07^{b}	1.042 ± 0.024	4.524 ± 0.310
1.0 MLP	4.23 ± 0.20^{b}	1.082 ± 0.088	4.537 ± 0.255
2.0 MLP	4.31 ± 0.25^{b}	1.010 ± 0.007	4.745 ± 0.159
4.0 MLP	4.35 ± 0.06^{b}	1.053 ± 0.020	4.846 ± 0.161

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 4-1.

3. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량

혈청 중성지방의 농도는 Table 4-4와같이 정상군에 비해 HC군이 현저하게 높았으나 HC군에 비해 뽕잎 공급군에서 감소되었다. 혈청 총 콜레스테롤 농도는 정상군에 비해 고콜레스테롤 공급군인 HC군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 HC군에 비해 뽕잎 공급군 모두에서는 유의적으로 감소되었다. 뽕잎 농도에 따라 비교했을 때 유의

적인 차이는 없었다. 이와같이 뽕잎의 생리적 효능을 나타내는 적절한 함량은 0.2%의 적은 양에서도 효과적이었으며 그 이상의 농도에서도 같은 효과를 나타내었다.

Table 4-4. Effect of mulberry leaves on serum lipid composition of in rat fed high cholesterol diet

(mg/dl)

Groups	Triglyceride	Cholesterol
Normal	74.4 ± 2.32^{a}	85.5 ± 8.0^{a}
HC	131.0 ± 19.0^{b}	284.8 ± 36.5^{b}
0.1 MLP	78.6 ± 11.4^{ac}	169.4 ± 21.1^{c}
0.2 MLP	93.0 ± 11.0^{ab}	168.5 ± 16.9^{c}
0.5 MLP	92.0 ± 13.5^{ab}	183.5 ± 12.9^{c}
1.0 MLP	96.0 ± 13.0^{ab}	199.0 ± 28.2^{c}
2.0 MLP	81.0 ± 7.0^{ac}	204.6 ± 28.1^{c}
4.0 MLP	88.0 ± 15.0^{ab}	192.8 ± 18.3^{c}

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 4-1.

4. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)함량

조직의 산화적 손상의 지표가 되는 간조직중의 지질과산화물 축적에 미치는 뽕잎의 영향은(Table 4-5) 뽕잎 비공급군(HC군)에 비해 뽕잎 공급군 모두에서 효과적으로 감소되었다. 이러한 결과는 뽕잎 첨가가 조직의 손상을 감소시키는 의미와 더불어 본 연구의 뽕잎 첨가함량 수준범위에서는 생체에 독성이 없음을 뜻하므로 안심하고 섭취할 수 있음을 의미한다.

Table 4-5. Effect of mulberry leaves on hepatic thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level in rat fed high cholesterol diet

Groups	TBARS (*MDA nmol/mg protein*)
Normal	1.62 ± 0.23^{a}
HC	3.37 ± 0.33^{b}
0.1MLP	2.19 ± 0.27^{c}
0.2MLP	2.09 ± 0.27^{c}
0.5MLP	2.28 ± 0.24^{c}
1.0MLP	2.41 ± 0.25^{c}
2.0MLP	2.52 ± 0.24^{c}
4.0MLP	2.63 ± 0.11^{c}

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 4-1.

5. 간조직중의 항산화계 효소 활성 : superoxide dismutase(SOD) 및 glutathione S-transferase(GST)활성

생체내 항산화 방어기구 중 효소적 방어계의 하나로서 superoxide radical (O_2^-)를 환원시켜 H_2O_2로 환원시키므로써 산소 독으로부터 생체를 보호하는 SOD 활성은 Table 4-6과 같이 고콜레스테롤군(HC군)에 비해 뽕잎 공급군에서도 유의적($p<0.05$)으로 증가되었다. 변이원성물질, 발암물질, 독성물질의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질등에 환원형 glutathione(GSH)을 포함시켜 glutathione thioester(R-S-G)을 형성하는 반응을 촉매하는 GST활성은 고콜레스테롤군(HC군)에 비해 뽕잎 공급군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었다.

Table 4-6. Effect of mulberry leaves on hepatic superoxide dismutse (SOD), glutathione S-transferase (GST) activities in rat fed high cholesterol diet

Groups	SOD	GST
	(unit/mg protein/min)	*(nmol DNCB/mg protein/min)*
Normal	3.83 ± 0.01^{a}	134.5 ± 2.2^{a}
HC	2.52 ± 0.01^{b}	107.3 ± 5.2^{b}
0.1 MLP	3.58 ± 0.47^{a}	122.7 ± 4.4^{c}
0.2 MLP	3.45 ± 0.13^{a}	127.7 ± 1.6^{c}
0.5 MLP	3.58 ± 0.38^{a}	125.5 ± 2.5^{c}
1.0 MLP	3.53 ± 0.19^{a}	121.7 ± 3.5^{c}
2.0 MLP	4.33 ± 0.26^{a}	118.7 ± 6.9^{c}
4.0 MLP	3.35 ± 0.20^{a}	123.5 ± 2.7^{c}

All values are mean±SE (n=10)
Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 4-1.

6. 간조직중의 리포푹신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량

생체 노화의 중요한 지표로 사용되고 있는 리포푹신의 생성은(Table 4-7) 고콜레스테롤군(HC군)에 비해 뽕잎 공급군에서 그 함량이 현저하게 감소되었다. 노화나 성인병의 원인물질중의 하나인 superoxide radical (O_2^-) 생성은 고콜레스테롤군(HC군)에 비해 뽕잎 공급군에서는 유의적으로 감소됨을 알 수 있었다.

Table 4-7. Effect of mulberry leaves extracts on lipofusin and superoxide radical contents of liver in rat fed high cholesterol diet

Groups	Lipofuscin (μg/mg protein)	Superoxide radical (nmol/mg protein/min)
Normal	1.69±0.05[a]	8.52±0.23[a]
HC	2.32±0.21[b]	9.83±0.23[b]
0.1MLP	1.93±0.04[c]	8.93±0.51[c]
0.2MLP	1.94±0.07[c]	8.82±0.89[c]
0.5MLP	1.91±0.07[c]	8.96±0.86[c]
1.0MLP	1.94±0.07[c]	8.82±0.89[c]
2.0MLP	1.90±0.07[c]	8.96±0.86[c]
4.0MLP	1.94±0.11[c]	8.92±0.81[c]

All values are mean±SE (n=10)
Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 4-1.

YK-209 뽕잎의 지질대사 개선효과 및 항산화적 해독기능을 관찰한 결과 YK-209 뽕잎가루는 혈액 및 간조직에서의 지질조성이 개선되었다. 또한 콜레스테롤군에 YK-209 뽕잎을 공급하였을 때 간조직의 SOD, GSHpx 및 GST 활성을 증가시키고 XOD 활성은 감소됨으로써 항산화계가 강화되고 조직손상이 완화됨을 관찰하였다.

결론적으로 뽕잎의 생리적 효능을 나타내는 적절한 함량은 0.2%의 적은 양에서도 효과적이었으며 그 이상의 농도에서도 같은 효과를 나타내었다.

제5장 제조된 뽕잎 엑기스 제품의 지질대사 개선 효과 및 항노화 효과 규명

제1절 서 설

본 연구는 제1위탁과제에서 제조한 YK-209 뽕잎 엑기스를 이용하여 콜레스테롤 대사 개선효능을 규명하는데 그 목적이 있다. 따라서 YK-209 뽕잎을 이용하여 제조된 뽕잎 엑기스의 혈중 지질조성 개선작용 및 안전성을 관찰하고자 하였다.

고콜레스테롤 식이 흰쥐에 천연물질을 첨가한 뽕잎 엑기스를 공급하여 사육한 후 혈중 중성지방, 콜레스테롤 함량을 관찰하였다. 아울러 제조된 뽕잎 엑기스의 안전성을 관찰하기 위하여 간조직에서의 carbonyl value 함량과 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 함량, 혈청중의 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT) 활성을 관찰하였다.

제2절 재료 및 방법

1. 동물사육

본 연구에서는 YK-209 뽕잎을 이용한 제조된 뽕잎 엑기스제의 지질대사 개선 효능을 규명하고져 하였다. 정상군과 1% 고콜레스테롤을 급여한 실험군으로 나눈 후 1% 콜레스테롤을 급여한 실험군은 다시 뽕잎 엑기스 종류에 따라 Table 5-1과 같이 각각 10마리씩 5군으로 나누어 4주간 사육하였다. 뽕잎 엑기스의 공급방법은 위탁과제에서 제조한 수율이 66%인 제조된 뽕잎 엑기스를 사용하였다. 실험동물의 뽕잎섭취량은 제4장의 YK-209 뽕잎가루 농도별 실험시 결과가 가장 좋았던 0.2%의 뽕잎 분말량을

엑기스량으로 환산하여 뽕잎 엑기스 음료를 만들어 자유로이 섭취시켰다.

Table 5-1. Composition of experimental diet

groups / composition	Normal*	High cholesterol diet
Starch	65	63.8
Casein	15	15
Salt mixture	4	4
Vitamin mixture	1	1
Corn oil	5	5
Cellulose	5	5
Sucrose	5	5
Cholesterol	-	1
Sodium cholate	-	0.2
Total(%)	100	100

Table 5-2. Classification of experimental groups according to additive of mulberry leaves extract water with fed high cholesterol

Groups[1)]	Cholesterol (1% of diet)	Drink water
Normal	—	D-H_2O
HC	+	D-H_2O
EB	+	Extract of 0.2 % YK-209
EP	+	Extract of 0.2 % YK-209 + 7% pine needles extract
EM	+	Extract of 0.2 % YK-209 + 3% mugwort extract

1) Normal : basal diet group fed the drinking water
HC : 1% cholesterol diet group fed the drinking water
EB : 1% cholesterol diet group fed the drinking extract which prepared with 0.2% YK-209 mulberry leaves only
EP : 1% cholesterol diet group fed the drinking extract which prepared with 0.2% YK-209 mulberry leave contained 7% pine needles extract
EM : 1% cholesterol diet group fed the drinking extract which prepared with 0.2% YK-209 mulberry leave contained 3% mugwort extract

2. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 : 전술한 방법과 동일

3. 혈액 및 장기채취 : 전술한 방법과 동일

4. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 : 전술한 방법과 동일

5. 제조된 뽕잎 엑기스 이용 안전성 검정 및 독성검사

   가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량 측정 : 간조직중의 지질과산화물 방법은 전술한 방법과 동일하며, 간조직 microsome중의 산화단백질의 함량은 Levin등의 방법에 따라 carbonyl group의 생성량을 측정하였다.

   나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성 측정 : Reitman과 Frankel의 방법을 변형한 아산제약(한국)의 Kit를 사용하여 측정하였다.

6. 단백질 정량 : 전술한 방법과 동일

7. 통계처리 : 전술한 방법과 동일

제3절 결과 : YK-209 뽕잎 엑기스의 지질대사 및 안전성 검정

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

실험기간 동안 흰쥐의 체중증가량(Table 5-3)은 정상군에 비해 뽕잎 비투여 고콜레스테롤군인 HC군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎 엑기스 공급군에서는 정상군 수준이었다. 식이섭취량과 식이효율은 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

Table 5-3. Body weight gains, food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental rats

Groups	Body weight gain (g)	Food intake (g/body wt)	FER
Normal	168.0±7.0[a]	24.50±0.61[NS]	0.29±0.03[NS]
HC	185.2±5.3[b]	25.93±0.28	0.29±0.02
EB	171.0±8.1[a]	26.70±0.37	0.29±0.01
EP	173.2±5.2[a]	27.29±0.73	0.30±0.02
EM	170.0±6.1[a]	25.80±0.27	0.29±0.01

All values are mean±SE (n=10)
Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 5-1 & 5-2.

2. 실험동물의 장기무게

단위 체중당 간장, 신장 및 소장의 무게 관찰결과(Table 5-4) 간장무게는 정상군에 비해 고콜레스테롤군 실험군 모두에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으며, 뽕잎 엑기스 비공급군인 HC군에 비해 뽕잎공급군이 다소 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 신장 및 소장의 무게는 실험군간에서 유의적인 차이가 없었다.

Table 5-4. Liver, kidney and intestine weight of experimental rats

(g/100g body wt)

Groups	Liver	Kidney	Intestine
Normal	4.03±0.01[a]	0.926±0.045[NS]	4.422±0.225[NS]
HC	4.28±0.07[b]	1.042±0.024	4.524±0.310
EB	4.20±0.15[b]	0.982±0.088	4.537±0.255
EP	4.16±0.19[b]	1.010±0.007	4.745±0.159
EM	4.15±0.21[b]	1.032±0.078	4.657±0.205

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 5-1 & 5-2.

3. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량

혈청 중성지방 농도는 Fig. 5-1과 같이 HC군에 비해 뽕잎 엑기스 공급군 모두에서는 유의적으로 감소되었다. 혈청 콜레스테롤의 농도 역시 같은 경향으로 뽕잎 엑기스의 효과가 관찰되었으며 부재료 첨가 종류에 따른 차이는 없었다.

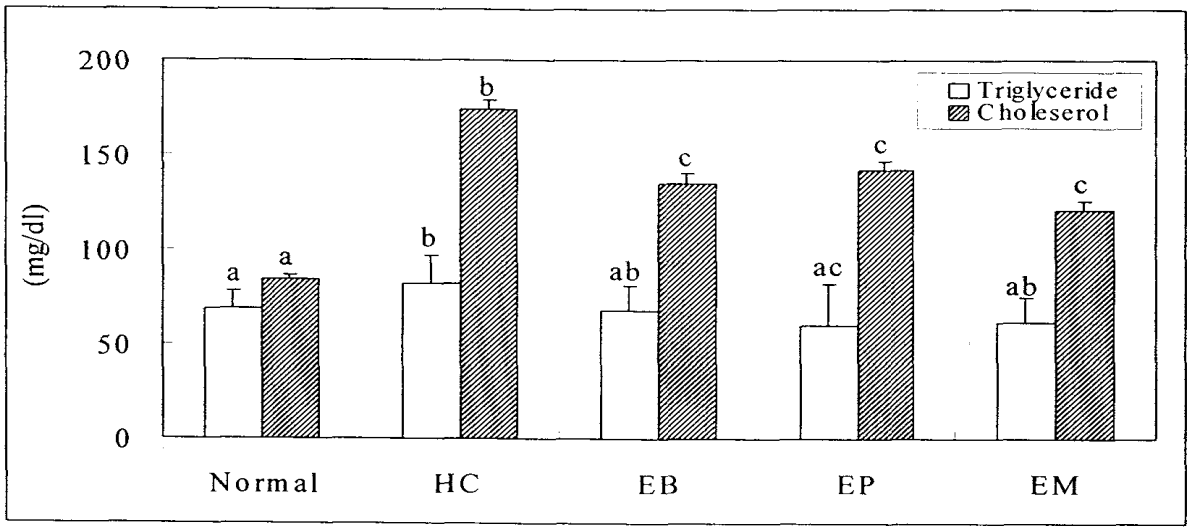

Fig 5-1. Effect of mulberry leaves extract on serum lipid composition in rat fed high cholesterol diet

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 5-1 & 5-2.

4. 제조된 엑기스의 이용 안전성 검정 및 독성검사

가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량

단백질의 산화 정도를 알 수 있는 carbonyl 함량은(Table 5-5) 간조직에서 고콜레스테롤군(HC군)에 비해 EB, EP 및 EM군 등 뽕잎 엑기스 공급군에서 각각 유의적으로 감소되어 뽕잎 엑기스에 의해 carbonyl value 함량이 현저하게 감소됨을 알 수 있었다. 조직의 산화적 손상의 지표가 되는 간조직 중의 지질과산화물 축적 역시 같은 경향이었다. 그러나 YK-209 뽕잎 엑기스의 부재료 첨가 종류에 따른 유의적인 차이는 없었다.

Table 5-5. Effects of YK-209 mulberry leaves extract on hepatic carbonyl value and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levle in rats fed high cholesterol diets.

Groups	Carbonyl value (*nmol/mg protein*)	TBARS (*MDA nmol/mg protein*)
Normal	75.45 ± 5.91^{a}	1.311 ± 0.378^{a}
HC	100.72 ± 2.80^{b}	3.972 ± 0.440^{b}
EB	87.90 ± 2.53^{c}	2.180 ± 0.250^{c}
EP	88.40 ± 1.59^{c}	2.191 ± 0.140^{c}
EM	89.89 ± 1.09^{c}	2.309 ± 0.160^{c}

All values are mean±SE (n=10). Bars within different letters are significantly different at $p<0.05$ by Turkey's test. The experimental conditions are the same as Table 5-1 & 5-2.

나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성

간조직의 괴사를 반영하는 GOT와 간조직의 비대화와 간조직의 상태를 반영하는 GPT의 활성은 Fig. 5-2와 같다. GOT 활성은 고콜레스테롤군(HC군)에 비해 뽕잎 엑기스 공급군이 정상군 수준이 되었으며 GPT 활성 역시 같은 경향이었다. 따라서 제조된 뽕잎 엑기스는 전혀 독성이 없을 뿐 아니라 오히려 고콜레스테롤 섭취로 인한 간조직의 손상을 해독시킴을 알 수 있었다.

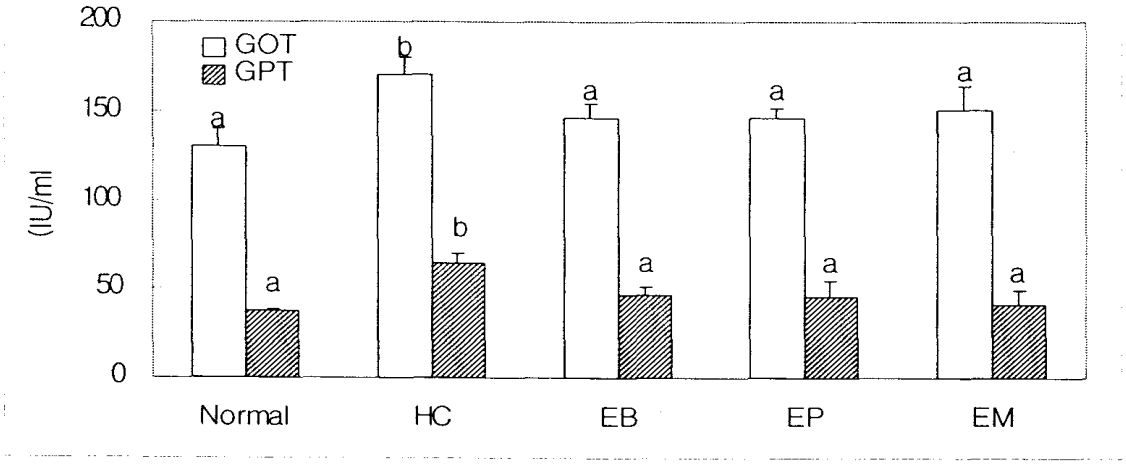

Fig. 5-2. Effects of YK-209 mulberry leaves extract on serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvi transaminase (GPT) activities in rats fed high cholesterol diets.

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 5-1 & 5-2.

결론적으로 고콜레스테롤 식이에서 YK-209 뽕잎 엑기스의 지질대사 개선 효과를 관찰한 결과 혈액 및 간조직중의 지질조성이 YK-209 뽕잎 엑기스 공급군에서 비공급군에 비해 감소되었다. 또한 엑기스 공급군에서는 간조직의 항산화 효소계를 활성화시켜 조직산화적손상을 완화시켰다.

제6장 YK-209 뽕잎을 이용한 환 및 드링크 제품의 제조기술개발

제1절 뽕잎의 냄새제거를 위한 기술개발

1. 뽕잎환 제조 공정과정

상기 뽕잎 환 제조 적합성 연구에서 환 제조에 가장 우수한 뽕잎인 영천산 YK-209 뽕잎으로, 채취 시기별로는 5월산, 그리고 채취 부위별로는 상엽을 이용하였으며, 뽕잎의 건조 처리 방법은 채취한 생잎을 바로 열풍기로 건조한 방법을 이용하였다. 위와같은 조건으로 선택된 건조 고품질 뽕잎을 원료로 하여 검수 및 계량하여 30L 통에 재료를 넣어 배합하여 반죽 후 국수면같이 자른후(장환기) 일정한 크기로 잘라(절환기) 완전한 환모양으로 만들어(정환기) 60℃에서 4시간 열풍건조하여 수분함량이 5~8%이 되도록 하여 환을 제조하였다.

2. 뽕잎드링크 제조 공정과정 : 1차년도에서 제조된 뽕잎 엑기스에 천연물질을 첨가하여 탈기과정을 거친 후 밀봉, 살균, 냉각 과정을 거쳐서 제조하였다.

3. 맛, 기호도 상승 제조기술개발

뽕잎 드링크제의 향기와 전체적인 기호도의 변화에 대한 맛, 기호도 상승을 관찰하기 위한 방법으로 드링크 제조에는 한의학에서 당뇨병으로 인한 심한 갈증과 합병증으로 염증, 종양 등이 생긴 경우 효과가 있다고 알려진 천화분을 첨가하였다. 이렇게 만든 뽕잎 드링크를 관능검사를 실시하였으며, 관능검사는 대구가톨릭대학교 식품영양학과 3학년 30명을 관능검사 요원으로 선정하여 교육한 후 향기, 색상, 맛, 전체적인 기호도를 9가지 항목으로 나누어 7점 채점법으로 측정하였고, 기호도가 높을수

록 7점에 가까운 점수를 주었다.

4. 기능성 상승 제조기술개발

일차적으로는 환의 맛, 기호도를 높이면서 이차적으로 기능성 상승을 위해서 뽕잎환에 본 실험실에서 효과가 규명된 녹차를 첨가하여 환을 제조하였다. 그리고 환제조는 상기(1. 환제조 공정과정) 제조공정에서 기술한 방법으로 행하였다. 드링크 제조에는 한의학에서 당뇨병으로 인한 심한 갈증과 합병증으로 염증, 종양 등이 생긴 경우 효과가 있다고 알려진 천화분을 첨가하였다. 드링크제조는 상기(2. 드링크 제조 공정과정) 제조공정에서 기술한 방법으로 행하였다.

5. 제조된 뽕잎환 및 드링크 제품의 품질평가

가. 제품의 품질 : 시제품으로 제조된 뽕잎환 및 뽕잎 드링크의 기능성 생리활성 성분과 녹차 및 천화분 첨가에 따른 맛의 변화, 기능성 생리활성 성분 및 강화된 생리활성 성분을 평가하고 포장용기, 내용물 함량, 맛, 냄새, 색, 저장성, 수송성 및 살균기술 등을 자체 평가하였다.

나. 제품의 안전성 : 뽕잎환 및 드링크에 남아있는 농약의 잔류유무, 천연독소 유무, 중금속류 유무, 유해미생물 유무, 미생물 독소 유무등을 조사하였다.

다. 소비자 기호도 검사 : 뽕잎 드링크에 천화분을 첨가한 시제품을 만든 후 관능검사를 실시하였다. 조사 대상자 인식 및 기호도의 검사 항목으로 먹어본 경험, 질병유무, 질병종류, 먹게된 동기, 선호도 유무, 선호도 이유 및 섭취시기를 검사하였으며, 기호특성 항목으로 온도, 첨가품질에 따른 맛, 색깔, 냄새 및 외관모양에 대한 관능검사를 실시하였다.

제2절 결과 : 고품질 뽕잎환 및 뽕잎 드링크의 제조 기술개발 평가

1. 뽕잎의 냄새제거를 위한 기술개발 (환 및 드링크 제조 공정과정)

환제조방법은 상기방법과 동일하며 환제조시 녹차를 첨가하였으며 드링크제조방법은 상기방법과 동일하며 천화분을 0%, 0.4%, 0.8% 및 1.2% 첨가하여 제조하였다.

2. 맛, 기호도 상승 제조기술개발

환제조에 향기와 뽕잎 특유의 풋냄새를 제거하는데 녹차를 첨가한 결과 풋냄새도 감소되고 기능성도 다소 우수한 것으로 나타났다. 드링크제의 향기와 전체적인 기호도의 변화에 대한 관능검사 결과(Table 6-1) 뽕잎 특유의 풋냄새를 제거하는데 천화분의 함량을 0.8%씩 첨가한 것에서 전체적으로 높게 나타났다.

Table 6-1. Sensory evaluation of YK-209 mulberry leaves drink with trichosanthes kirilowil Max.

Mulberry leaves extract[1)]	Flavor	Color	Sweet taste	Astringent taste	Delicate taste	Overall taste	Overall quality
EP1	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
EP2	4.8	3.2	2.9	3.5	3.6	3.6	4.3
EP3	4.3	4.6	3.7	3.1	3.9	4.9	4.9
EP4	4.3	3.4	3.2	4.3	3.9	4.3	3.8

[1)] 1~4 : Content of additive in mulberry leaves extract

1: 0% additive 2: 0.4% additive 3: 0.8% additive 4: 1.2% additive

3. 기능성 상승 제조기술개발

일차적으로는 환의 맛, 기호도를 높이면서 이차적으로 기능성 상승을 위해서 뽕잎

환에 본 실험실에서 효과가 규명된 녹차를 첨가하여 상기(1. 환제조 공정과정) 제조공정에서 기술한 방법으로 행하므로서 기능성 성분 파괴를 최소화하였다. 드링크 제조에는 한의학에서 당뇨병으로 인한 심한 갈증과 합병증으로 염증, 종양 등이 생긴 경우 효과가 증명된 천화분을 첨가하였다. 드링크제조는 상기(2. 드링크 제조 공정과정) 제조공정에서 기술한 방법으로 행하므로서 기능성 성분 파괴를 최소화하였다.

4. 제조된 뽕잎환 및 드링크 제품의 품질평가

가. 제품의 품질 : 고품질 뽕잎제품의 품질평가를 위하여 위탁과제에서 제조한 뽕잎 엑기스를 공급받아 세부과제에서 생리적인 효능이 가장 좋을뿐 아니라 관능테스트에서 맛이 좋은 농도로 제조하였다. 즉, 고형분 60%인 뽕잎 엑기스를 1.0%(고형분 0.6%) 함유시켜 용량이 100 mL인 시제품을 제조하였다. 기능성 물질을 실험한 결과 제조된 환에는 기능성 생리활성 물질로 GABA(Table 6-2)와 4종의 flavonoid 성분으로 rutin, isoquercetin, kampferol-3-*O*-rutinoside 및 astragalin이 있음이 평가되었다 (Table 6-3). 또한 기능적 특성으로는 품질평가의 지표인 색상의 우수성과 외관형상, 크기, 두께 균일성, 내부형태가 구매의욕을 고취시키는 것으로 평가되었다. 또한 맛과 향기의 기호성이 우수한 것으로 평가되었으며 부가특성으로 저장성과 수송성이 합리적이고 경제적인 우수제품으로 평가되었다. 또한 가공 및 포장관련에서는 레토르트 식품으로서의 우수한 조건이 갖추어졌으며 진공, 가압 및 산화방지를 위한 기술력과 무균포장과 무균저장을 위한 기술력도 우수하게 평가되었다.

Table 6-2. Contents of γ-aminobutyric acid (GABA) of YK-209 mulberry leaves drink

Cultivar	GABA *(mg% wet base)*
YK[1)]	524

[1)] YK : YK-209 mulberry leaves extract drink

Table 6-3. Contents of four different kinds of flavonoid of YK-209 mulberry leaves drink *(mg% dry base)*

Cultivar	Rutin	Isoquercetin	Kaempeferol-3-O-rutinose	Astragalin	Total Flavonoid
YK![1)]	12.6	147.6	1.051	6.75	168.0

[1)] YK : YK-209 mulberry leaves extract drink

나. 제품의 안전성 : 제조된 환 및 드링크제품의 안전성을 조사한 결과 제품내 잔류농약은 없었으며, 천연 독소, 중금속류, 유해미생물, 미생물 독소등은 없는것으로 나타나서 인체에 해가 없는 것으로 사람이 먹기에 안정한 것으로 나타났다.

다. 소비자 기호도 검사 결과

연령별로 기호도 검사를 한 결과 연령에 관계없이 뽕잎환 및 뽕잎 드링크에 대해서 들어본 적이 있으나 노년층에서 젊은층에 비해 뽕잎환을 먹어본 적이 많다고 대답하였다. 젊은층은 주위사람의 권유나 우연한 계기로 먹어보았다고 답하였으며 노년층은 TV나 언론매체의 광고로 먹어보았다고 답하였다. '지금 환이나 드링크가 있다면 먹기를 원하십니까?' 라는 질문에 대다수의 노년층은 '예'를 젊은층은 '아니오'를 답하였다. 먹고자 하는 이유는 연령에 관계없이 단순히 건강을 위해서라고 답하였으며 환 섭취는 식후가 좋다고 답하였다.

뽕잎환 및 뽕잎 드링크는 기존의 제조방법인 알코올 분해방법과는 달리 물로 추출한 가수분해법으로 제조하였으며 기능성 향상을 위하여 뽕잎환에는 기능성 천연물질인 녹차를 0.5% 첨가하고 뽕잎 드링크에는 천화분을 0.8% 첨가하여 품질평가를 실시한 결과 인체에 무해하며 맛이 상승되었다.

제7장 제조된 뽕잎환 건강보조식품의 성인병 예방 효능검증

제1절 서 설

본 연구는 2차년도중 제1위탁과제로써 제조된 뽕잎환을 이용하여 현재 성인병중 하나로 그 병태의 다양성과 심각한 합병증으로 말미암아 전세계적으로 심각한 문제로 대두되는 당뇨병을 대상으로 하여 그 효과를 규명하고자 하였다.

당뇨병은 췌장 랑게르한스섬 β-세포의 인슐린 분비 장애나 인슐린에 대한 말초조직의 저항성에 의해 초래되는 고혈당을 특징으로 하는 대사성 질환으로서 혈당농도의 증가와 함께 당이 뇨로 배설되는 등의 탄수화물 대사 이상 뿐만 아니라 단백질과 지질대사 및 전해질의 대사에 이상을 초래한다. 이러한 당뇨병으로 인한 대사이상과 합병증을 예방하기 위하여 고혈당 상태를 교정하여 정상 혈당수준에 근접하게 유지하는 것과 산화적 스트레스에 대한 방어능력을 향상시키는 것이 당뇨병 치료에는 필수적이라 할 수 있다.

이에 본 연구에서는 streptozotocin으로 당뇨유발된 흰쥐에 뽕잎환을 식이로 공급하여 사육한 후 혈당 검사 및 혈중 및 간조직에서의 TG, Cholesterol 을 관찰하였다. 또 조직중의 해독기전에 관여하는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidease(GSHpx), glutathione-S-transferase(GST), xanthine oxidase(XOD)활성과 간조직의 손상을 관찰하기 위하여 혈중 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 함량, 혈청중의 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT) 활성을 관찰하였으며 또한 제조된 뽕잎환의 안전성을 검증하였다.

제2절 재료 및 방법

1. 동물사육

2차년도에는 YK-209 뽕잎으로 위탁과제에서 제조한 뽕잎환 제품의 성인병 예방 효과를 규명하기 위하여 동물실험을 실시하였다. 실험동물은 체중 100 g 내외의 Sprague-Dawley 종 수컷을 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료(삼양사)로 일주일간 예비 사육한 후 난괴법(randomized complete block design)에 의해 정상군과 당뇨유발군으로 나눈 후 당뇨 유발군은 다시 첨가물질 종류에 따라 Table 7-1과 같이 각각 10마리씩 5군으로 나누어 4주간 사육하였다. 실험동물을 희생하기 9일전에 STZ, 55mg/kg B.W.을 신선한 0.1M sodium citrate buffer(pH 4.3)에 녹여서 꼬리 정맥을 통하여 주사하여 유발시켰으며 STZ 주사후 9일째에 혈당농도가 300mg/dl 이상인 동물만 실험에 사용하였다. 뽕잎환의 혈당강하 효과와 지질대사 개선 효과를 관찰하기 위하여 혈당수준, 중성지방 및 콜레스테롤 함량을 관찰하였고 그리고 산화적 손상완화 작용을 보기위해 항산화 효소활성 및 지질과산화물의 함량을 관찰하였으며 제조된 제품이용의 안전성 검증을 실시하였다.

Table 7-1. Classification of experimental group according to different varieties of mulberry leaves with fed high cholesterol rats

groups / composition	Normal[*1]	Streptozotocin injection[*2]			
		DM	ML	GT	MGT
Starch	70	69.8	68.8	68.8	68.8
Casein	15	15	15	15	15
Salt mixture	4	4	4	4	4
Vitamin mixture	1	1	1	1	1
Corn oil	5	5	5	5	5
Sucrose	5	5	5	5	5
DL-methionine	-	0.2	0.2	0.2	0.2
Mulberry leaves powder	-	-	1.0	-	0.5
Greent tea powder	-	-	-	1.0	0.5
Total(%)	100	100	100	100	100

[*1] Normal : basal diet
DM : injection of streptozotocin + YK-209 mulberry leaves free diet
ML : injection of streptozotocin + 1.0% YK-209 mulberry leaves diet
GT : injection of streptozotocin + 1.0% Green tea diet
MGT : injection of streptozotocin + 0.5% YK-209 mulberry leaves diet + 0.5% Green tea diet

[*2] Intravenous injection of streptozotocin (55mg/kg of body weight) in 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.3) via tail vein.

2. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 : 전술한 방법과 동일

3. 혈액 및 장기채취 : 전술한 방법과 동일

4. 혈당 측정 : 아산제약 Kit(enzymatic kit AM 201K, 한국)를 사용하여 500nm에 비색 정량하였다.

5. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 : 전술한 방법과 동일

6. 간조직중의 리포푸신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량 측정 : 전술한 방법과 동일
7. 간조직중의 항산화계 효소 활성 관찰 : Superoxide dismutase (SOD)활성은 Marklund와 Marklund의 방법에 따라 측정하였으며 glutathione peroxidase (GSHpx) 활성은 Lawerence 및 Burk의 방법에 따라 측정하였다. Glutathione S-transferase (GST) 활성은 Habig의 방법에 따라 측정하였으며 Xanthine oxidase (XOD) 활성은 Stipe와 Della Corte의 방법을 이용하였다.
8. 간조직중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 : 간조직의 지질은 Folch등의 방법에 의해 추출하여 중성지방과 콜레스테롤 함량을 혈청에서와 같은 방법으로 분석하였다.
9. 제조된 뽕잎환의 이용 안전성 검정 및 독성검사
   가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량 측정: 전술한 방법과 동일
   나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성 측정 : 전술한 방법과 동일
10. 단백질 정량 : 전술한 방법과 동일
11. 통계처리 : 전술한 방법과 동일

제3절 결과 : 제조된 뽕잎환의 효능 규명

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

실험기간 동안 흰쥐의 체중증가량은 STZ 투여하기 전까지는 정상군과 각 실험군간의 차이는 없었으나 STZ를 투여한 후에는 당뇨 유발군들은 현저하게 감소되었으며 실험군간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 식이 섭취량은 STZ를 투여하기 전까지는 실험군간에 차이가 없었으나 STZ 투여후 정상군에 비해 당뇨 유발군에서 현저하게 증

가되었으나 식이효율(Table 7-2)은 정상군에 비해 당뇨군이 현저하게 감소되었다. 그러나 실험군간에는 차이가 없었다.

Table 7-2. Body weight gains, food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental rats

Group	Body weight gains (g)	Food intake (g)	FER
	During 4 weeks before STZ injection		
Normal	105±14.90^{NS}	577±19.62^{NS}	0.19±0.08^{NS}
DM	112± 2.62	564± 9.18	0.20±0.01
ML	107± 1.08	544±16.6	0.21±0.01
GT	101± 4.75	522± 8.44	0.19±0.01
MGT	104± 2.06	524± 6.42	0.20±0.01
	During 9 days after STZ injection		
Normal	24.6±13.0^{a}	114± 3.29^{a}	0.33±.24^{a}
DM	-67.2±5.85^{b}	165±15.34^{b}	-0.71±0.13^{b}
ML	-62.1±4.87^{b}	134± 9.30^{b}	-0.46±0.09^{b}
GT	-60.2±4.72^{b}	139±10.33^{b}	-0.49±0.14^{b}
MGT	-62.2±7.78^{b}	139±10.6^{b}	-0.64±0.07^{b}

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

2. 실험동물의 장기무게

단위 체중당 간장, 신장 및 소장의 무게는(Table 7-3) 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

Table 7-3. Liver, kidney and intestine weight of experimental rats

(g/100g body wt)

Groups	Liver	Kidney	Intestine
Normal	4.26±0.01^{NS}	0.926±0.045^{NS}	4.422±0.225^{NS}
DM	4.28±0.07	1.042±0.024	4.524±0.310
ML	4.20±0.15	0.982±0.088	4.537±0.255
GT	4.06±0.19	1.010±0.007	4.745±0.159
MGT	4.07±0.06	1.053±0.020	4.846±0.161

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

3. 혈당 저하 효과

혈당수준을 관찰하기 위하여 6시간 절식시킨 후 희생하여 혈당을 측정한 결과(Fig. 7-1) 정상군에 비해 당뇨 유발군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으며 모든 뽕잎환 첨가군이 비공급 당뇨군에 비해 유의적($p<0.05$)으로 감소되었다. 특히 녹차 및 YK-209 뽕잎을 첨가한 군(MGT군)이 현저하게 감소되었다.

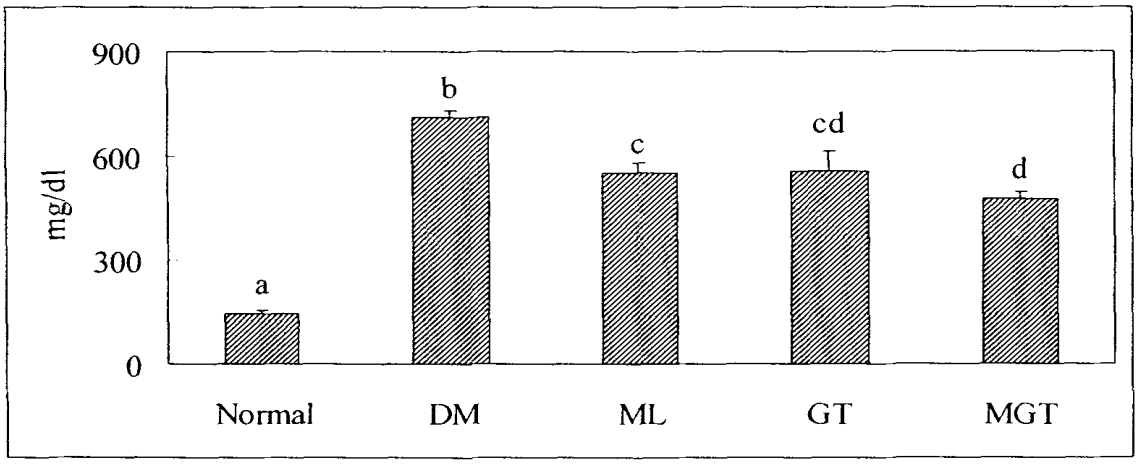

Fig. 7-1. Effect of mulberry leaves pill on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

4. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량

혈청 중성지방의 농도는 정상군에 비해 당뇨군이 유의적($p<0.05$)으로 높았으나 뽕잎환 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎환 공급군에서 정상군 수준으로 감소되었다. 혈청 총 콜레스테롤 농도는 정상군에 비해 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎환 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎환 공급군 모두에서는 유의적($p<0.05$)으로 감소되었다(Table 7-4). 특히 녹차 및 YK-209 뽕잎을 첨가한 군(MGT군)에서 혈중 지질조성이 뽕잎환 비공급 당뇨군에 비해 현저히 감소됨을 알 수 있었다.

Table 7-4. Effect of mulberry leaves pill on serum lipid composition in STZ-induced diabetic rats *(mg/dl)*

Groups	Triglyceride	Cholesterol
Normal	71.21± 8.86[a]	69.11±4.35[a]
DM	146.11± 8.36[b]	90.16±2.71[b]
ML	75.95±12.16[a]	79.57±3.90[c]
GT	76.33±15.88[a]	76.46±9.94[abc]
MGT	64.99± 5.52[a]	76.37±5.06[ac]

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

5. 간조직의 리포푹신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량

생체 노화의 중요한 지표로 사용되고 있는 리포푹신의 생성은(Table 7-5) 정상군에 비해 뽕잎환 비공급 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎환군 모두에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었다. 노화나 성인병의 원인물질중의 하나인 superoxide radical (O_2^-) 생성은 정상군에 비해 뽕잎환 비공급 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎환을 공급하므로서 유의적($p<0.05$)으로 감소됨을 알 수 있었다.

Table 7-5. Effect of mulberry leaves pill on the contents of lipofuscin and superoxide radical contents of liver in STZ-induced diabetic rats

Group	Lipofuscin (μg/mg protein)	Superoxide radical (nmol/mg protein/min)
Normal	1.93 ± 0.02^{a}	14.14 ± 0.60^{a}
HC	2.26 ± 0.02^{b}	19.18 ± 1.15^{b}
ML	1.29 ± 0.09^{c}	12.73 ± 0.36^{c}
GT	1.25 ± 0.17^{c}	12.98 ± 1.01^{d}
MGT	1.32 ± 0.16^{c}	11.55 ± 0.41^{abc}

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

6. 간조직중의 xanthine 활성

Xanthine을 기질로 하여 요산을 생성하는 과정에서 superoxide radical을 생성하는 효소 즉, free radical 생성계 효소로 알려진 XOD의 활성은(Table 7-6) 정상군에 비해 뽕잎환 비공급 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎환을 공급하므로서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었다. 뽕잎환 공급 당뇨군간에서는 유의적인 차이는 없었다.

Table 7-6. Effect of mulberry leaves pill on hepatic xanthine oxidase (XOD) activities in STZ-induced diabetic rats

Groups	XOD (*nmol/mg protein/min*)
Normal	2.941±0.010[a]
DM	3.426±0.112[b]
ML	2.674±0.454[a]
GT	2.752±0.349[a]
MGT	3.075±0.091[a]

All values are mean±SE (n=10)
Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

7. 간조직중의 항산화계 효소 활성

생체내 항산화 방어기구 중 효소적 방어계의 하나로서 superoxide radical (O_2^-)를 환원시켜 H_2O_2로 환원시키므로써 산소 독으로부터 생체를 보호하는 SOD 활성은(Table 7-7) 정상군에 비해 비공급 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었으나 뽕잎환 공급군에서 유의적으로 증가되었다. 체내에서 활성산소(H_2O_2)에 의한 조직의 과산화적 손상을 방지하는 GSHpx활성은 정상군에 비해 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었으나 YK-209 뽕잎환을 공급하므로서 정상군수준이 되었으며 녹차를 첨가한 군(GT)과 녹차 및 YK-209 뽕잎을 첨가한 군(MGT)이 유의적으로 감소되었다. 변이원성물질, 발암물질, 독성물질의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질 등에 환원형 glutathione(GSH)을 포함시켜 glutathione thioester(R-S-G)을 형성하는 반응을 촉매하는 GST은 뽕잎환 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎환 공급군 모두에서 정상군수준이었다.

Table 7-7. Effect of mulberry leaves pill on hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSHpx) and glutathione S-transferase (GST) activities in STZ-induced diabetic rats

Groups	SOD *(unit/mg protein/min)*	GSHpx *(nmol NADPH/min/mg protein)*	GST *(nmol DNCB/mg protein/min)*
Normal	4.14 ± 0.06^{a}	160.44 ± 1.35^{a}	136.34 ± 7.822^{a}
DM	3.13 ± 0.13^{b}	148.72 ± 2.11^{b}	110.65 ± 28.452^{b}
ML	3.84 ± 0.10^{c}	160.89 ± 5.95^{a}	128.63 ± 29.204^{a}
GT	4.00 ± 0.38^{c}	163.34 ± 4.39^{c}	135.88 ± 17.934^{a}
MGT	3.83 ± 0.28^{c}	160.04 ± 2.94^{c}	147.28 ± 20.569^{a}

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

8. 간조직중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량

간조직의 중성지방의 농도(Table 7-8)는 정상군에 비해 뽕잎환 비공급 당뇨군이 유의적($p<0.05$)으로 낮았으며 뽕잎환 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎환 공급군에서 유의적으로 증가되었다. 간조직의 콜레스테롤 농도는 정상군에 비해 뽕잎환 비공급 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎환을 공급하므로서 정상군 수준이 되었다. 특히 녹차와 YK-209 뽕잎을 함께 첨가한 군(MGT군)에서 조직중의 지질조성의 뚜렷한 개선 효과를 알 수 있었다.

Table 7-8. Effect of mulberry leaves pill on hepatic lipid composition in STZ-induced diabetic rats *(mg/dl)*

Groups	Triglyceride	Cholesterol
Normal	4.04 ± 0.35^{a}	0.83 ± 0.18^{a}
DM	1.64 ± 0.07^{b}	2.16 ± 0.25^{b}
ML	2.43 ± 0.27^{c}	1.07 ± 0.13^{a}
GT	2.43 ± 0.97^{c}	1.34 ± 0.42^{a}
MGT	2.01 ± 0.54^{c}	0.96 ± 0.06^{a}

All values are mean±SE (n=10)
Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

9. 제조된 뽕잎환 이용 안전성 검정 및 독성 검사

가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량

간조직의 microsome 획분을 분획하여 carbonyl기의 함량을 비교한 결과(Table 7-9) 실험군간에 차이가 없었다. 조직의 과산화적 손상의 지표가 되는 혈청중의 지질과산화물 축적에 미치는 뽕잎환의 영향을 관찰한 결과 정상군에 비해 뽕잎환 비공급 당뇨군이 유의적($p<0.05$)으로 높았으나 뽕잎환 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎환 공급군 모두에서 정상군 수준으로 감소되었다.

Table 7-9. Effect of mulberry leaves pill on hepatic carbonyl value and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level in STZ-induced diabetic rats

Groups	Carbonyl value (*nmol/mg protein*)	TBARS (*MDA nmol/mg protein*)
Normal	78.288±4.020^{NS}	1.33±0.58^{a}
DM	80.901±3.060	3.29±0.80^{b}
ML	80.187±5.843	1.63±0.14^{a}
GT	79.628±4.504	1.70±0.45^{a}
MGT	86.582±3.106	1.49±0.38^{a}

All values are mean±SE (n=10)
Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성

간조직의 괴사를 반영하는 GOT와 간조직의 비대화와 간조직의 상태를 반영하는 GPT의 활성을 측정한 결과는 Fig. 7-2와 같다. GOT활성은 정상군에 비해 뽕잎환 비공급 당뇨군에서 유의적으로 증가되었으나, 뽕잎환을 공급하므로서 뽕잎환 비공급군에 비해 유의적으로 감소되었다. GPT 활성 역시 동일한 경향을 보였으나 뽕잎환 공급군내에서는 유의적은 차이가 없었다.

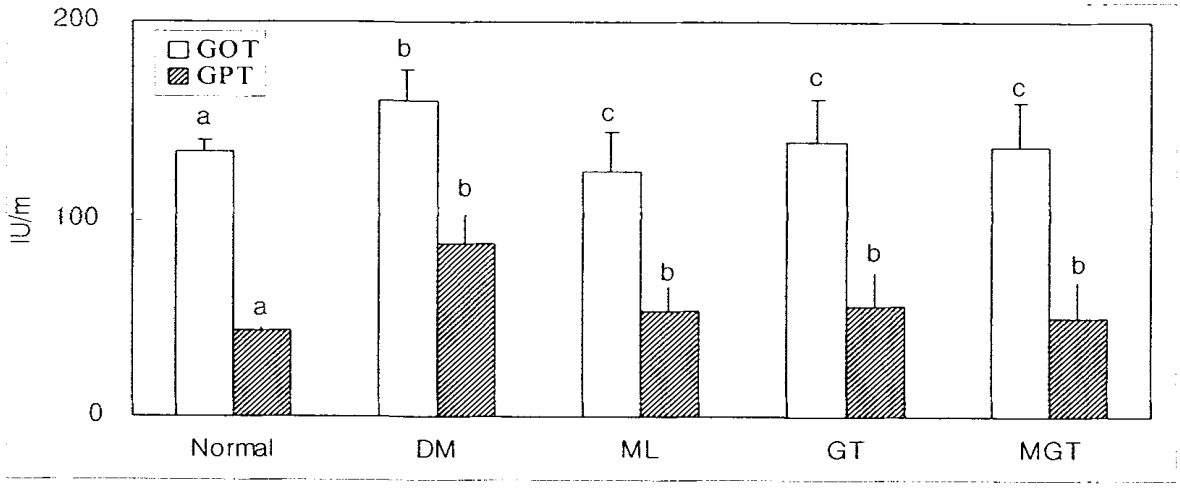

Fig. 7-2. Effects of different mulberry leaves pill on serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) activities in STZ-induced diabetic rats

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 7-1.

결론적으로 Streptozotocin 유발 당뇨쥐에 YK-209 뽕잎에 녹차를 0.5% 첨가한 뽕잎환 공급한 결과 혈당 저하효과 및 항산화·항노화 효과가 증가되었으며 또한 지질 개선효과가 상승되었다.

제8장 제조된 드링크 제조품의 건강보조식품의 성인병 예방 효능검증

제1절 서 설

본 연구는 2차년도중 제1위탁과제로써 제조된 뽕잎 드링크를 이용하여 현재 성인병 중의 하나로 그 병태의 다양성과 심각한 후유증으로 말미암아 전세계적으로 심각한 문제로 대두되는 당뇨병을 대상으로 하여 그 효과를 규명하고자 하였다.

당뇨병은 췌장 랑게르한스섬 β-세포의 인슐린 분비 장애나 인슐린에 대한 말초조직의 저항성에 의해 초래되는 고혈당을 특징으로 하는 대사성 질환으로서 혈당농도의 증가와 함께 당이 뇨로 배설되는 등의 탄수화물 대사 이상 뿐만 아니라 단백질과 지질대사 및 전해질의 대사에 이상을 초래한다. 이러한 당뇨병으로 인한 대사이상과 합병증을 예방하기 위하여 고혈당 상태를 교정하여 정상혈당수준에 근접하게 유지하는 것과 산화적 스트레스에 대한 방어능력을 향상시키는 것이 당뇨병 치료에는 필수적이라 할 수 있다.

이에 본 연구에서는 streptozotocin으로 당뇨 유발된 쥐에 뽕잎 드링크를 공급하여 사육한 후 혈당 검사 및 혈중 및 간조직에서의 TG, Cholesterol 을 관찰하였다. 또 조직중의 해독기전에 관여하는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx), glutathione-S-transferase(GST), xanthine oxidase(XOD)활성과 간조직의 손상을 관찰하기 위하여 간조직중의 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 함량, 혈청중의 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT) 활성을 관찰하므로서 제조된 뽕잎 드링크의 안전성을 검증하였다.

제2절 재료 및 방법

1. 동물사육

2차년도에는 YK-209 뽕잎으로 위탁과제에서 제조한 뽕잎 드링크제품의 성인병 예방 효과를 규명하기 위하여 본 실험을 행하였다. 실험동물은 체중 100 g 내외의 Sprague-Dawley 종 수컷을 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료(삼양사)로 일주일간 예비 사육한 후 난괴법(randomized complete block design)에 의해 정상군과 당뇨 유발군으로 나눈 후 당뇨 유발군은 다시 첨가물질 종류에 따라 Table 8-1과 같이 나누어 각각 10마리씩 4군으로 나누어 4주간 사육하였다. 실험동물을 희생하기 13일전에 STZ, 55mg/kg B.W.을 신선한 0.1M sodium citrate buffer(pH 4.3)에 녹여서 꼬리 정맥을 통하여 주사하여 유발시켰으며 STZ 주사후 9일째에 혈당농도가 300mg/dl 이상인 동물만 실험에 사용하였다. 뽕잎 드링크의 혈당강하 효과와 지질대사 개선 효과를 관찰하기 위하여 혈당수준, 콜레스테롤 함량 및 중성지방 함량을 관찰하였고 그리고 산화적 손상완화 작용을 보기위해 항산화 효소활성 및 지질과산화물의 함량을 관찰하였으며 제조된 제품의 안전성 검증을 행하였다.

Table 8-1. Composition of experimental diet

composition \ groups	Basal diet[*1]
Starch	64.8
Casein	15
Salt mixture	4
Vitamin mixture	1
Corn oil	5
Cellulose	5
Sucrose	5
DL-methionine	0.2
Total(%)	100

Table 8-2. Classification of experimental groups according to additive of mulberry leaves drink in STZ-induced diabetic rats

Groups	STZ injection[1)]	Drink water[2)]
Normal	—	D-H_2O
DM	+	D-H_2O
E	+	Drinking water of 0.02% YK-209 extract
EC	+	Drinking water of 0.02% YK-209 extract + 0.8% Trichosanthes kirilowil Max. extract

1) Intravenous injection of streptozotocin (55mg/kg of body weight) in 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.3) via tail vein.

2) Normal : basal diet group fed the drinking water
DM : basal diet group fed the drinking water + injection of streptozotocin
E : basal diet group fed the drinking water which prepared of 1% YK-209 mulberry leaves only + injection of streptozotocin
EC : basal diet group fed the drinking water which prepared of 1% YK-209 mulberry leaves contained 0.8% trichosanthes kirilowil Max. extract + injection of streptozotocin

2. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 : 전술한 방법과 동일

3. 혈액 및 장기채취 : 전술한 방법과 동일

4. 혈당 측정 : 전술한 방법과 동일

5. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 : 전술한 방법과 동일

6. 간조직의 리포푸신(lipofuscin) 함량 및 유해산소(superoxide radical) 생성량 측정 : 전술한 방법과 동일

7. 간조직중의 항산화계 효소 활성 관찰 :전술한 방법과 동일

8. 간조직중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 : 전술한 방법과 동일

9. 제조된 뽕잎 드링크 이용 안전성 검정 및 독성검사 : 전술한 방법과 동일

   가. 간조직중의 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량 측정: 전술한 방법과 동일

   나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성 측정 : 전술한 방법과 동일

10. 단백질 정량 : 전술한 방법과 동일

11. 통계처리 : 전술한 방법과 동일

제3절 결과 : 제조된 뽕잎 드링크의 효능 규명

1. 체중 증가량, 식이섭취량 및 식이효율

실험기간 동안 흰쥐의 체중 증가량은 STZ 투여하기 전까지는 정상군과 각 실험군간의 차이는 없었으나 STZ를 투여한 후에는 당뇨 유발군들은 현저하게 감소되었으며 실험군간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 식이 섭취량은 정상군에 비해 당뇨 유발군에서 현저하게 높았으나 식이효율(Table 8-3)은 당뇨군이 현저하게 감소되었으나 실험군간에는 차이가 없었다.

Table 8-3. Body weight gains, food intake and food efficiency ratio (FER) of experimental rats

	Body weight gains (g)	Food intake (g)	FER
	During 4 weeks before STZ injection		
Normal	105±14.90[NS]	577±19.62[NS]	0.19±0.08[NS]
DM	112± 2.62	564± 9.18	0.20±0.01
E	107± 1.08	544±16.6	0.21±0.01
EC	104± 2.06	524± 6.42	0.20±0.01
	During 9 days after STZ injection		
Normal	24.6±13.0[a]	114± 3.29[a]	0.33±.24[a]
DM	-67.2±5.85[b]	165±15.34[b]	-0.71±0.13[b]
E	-62.1±4.87[b]	134± 9.30[b]	-0.46±0.09[b]
EC	-62.2±7.78[b]	139±10.6[b]	-0.64±0.07[b]

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

2. 실험동물의 장기무게

단위 체중당 간장, 신장 및 소장의 무게는(Table 8-4) 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

Table 8-4. Liver, kidney and small intestine weight of experimental rats

(g/100g body wt)

Groups	Liver	Kidney	Intestine
Normal	4.26±0.01^{NS}	0.926±0.045^{NS}	4.422±0.225^{NS}
DM	4.28±0.07	1.042±0.024	4.524±0.310
E	4.20±0.15	0.982±0.088	4.537±0.255
EC	4.06±0.19	1.010±0.007	4.745±0.159

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

3. 혈당 저하 효과

혈당수준을 관찰하기 위하여 6시간 절식시킨 후 희생하여 혈당을 측정한 결과 정상군에 비해 당뇨 유발군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으며 뽕잎 드링크 공급군이 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에 비해 감소되었다(Fig. 8-1). 특히 YK-209 뽕잎 엑기스에 천화분을 첨가한 군(EC군)에서 혈당이 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에 비해 현저히 감소함을 알 수 있었다.

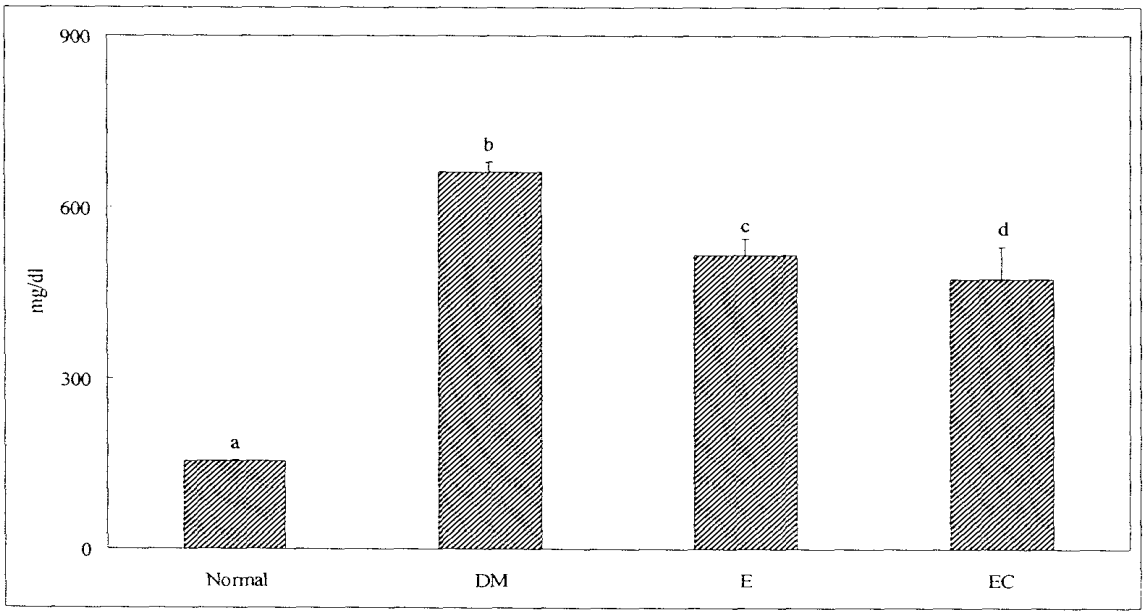

Fig. 8-1. Effect of mulberry leaves drink on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

4. 혈중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량

혈청 중성지방의 농도(Table 8-5)는 정상군에 비해 당뇨군이 유의적($p<0.05$)으로 높았으나 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎 드링크 공급군은 정상군 수준이었다. 혈청 총 콜레스테롤 농도는 정상군에 비해 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎 드링크 공급군 모두에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었다.

Table 8-5. Effect of mulberry leaves drink on serum lipid composition in STZ-induced diabetic rats *(mg/dl)*

Groups	Triglyceride	Cholesterol
Normal	71.21± 8.86[a]	69.11± 8.53[a]
DM	168.11±31.36[b]	98.54± 5.04[b]
E	70.54±14.37[a]	75.54±10.91[a]
EC	87.75±15.64[a]	78.45± 7.27[a]

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

5. 간조직의 리포푹신 (lipofuscin) 함량 및 간조직의 유해산소 (superoxide radical) 생성량

생체 노화의 중요한 지표로 사용되고 있는 리포푹신의 생성은(Table 8-6) 정상군에 비해 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎 드링크 공급군에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었다. 노화나 성인병의 원인물질중의 하나인 superoxide radical (O_2^-) 생성 역시 동일한 경향을 보였다. YK-209 뽕잎에 천화분을 첨가한 군(EC군)에서 항노화 효과가 뚜렷함을 알 수 있었다.

Table 8-6. Effect of mulberry leaves drink on the lipofusin and superoxide radical contents of liver in STZ-induced diabetic rats

Groups	Lipofuscin (μg/mg protein)	superoxide radical (nmol/mg protein/min)
Normal	1.93±0.02[a]	14.14±0.60[a]
DM	2.26±0.02[b]	19.18±1.15[b]
E	1.49±0.06[c]	15.09±0.24[a]
EC	1.43±0.08[c]	14.32±0.62[a]

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

6. 간조직중의 xanthine 활성

Xanthine을 기질로 하여 요산을 생성하는 과정에서 superoxide radical을 생성하는 효소 즉, free radical 생성계 효소로 알려진 XOD의 활성은(Table 8-7) 정상군에 비해 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎 드링크 공급군이 유의적으로 감소되었다.

Table 8-7. Effect of mulberry leaves drink on hepatic xanthine oxidase (XOD) activities in STZ-induced diabetic rats

Groups	XOD (*nmol/mg protein/min*)
Normal	2.941±0.010[a]
DM	3.426±0.112[b]
E	3.194±0.018[c]
EC	3.198±0.047[c]

All values are mean±SE (n=10)
Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

7. 간조직중의 항산화계 효소 활성

생체내 항산화 방어기구 중 효소적 방어계의 하나로서 superoxide radical (O_2^-)를 환원시켜 H_2O_2로 환원시키므로써 산소 독으로부터 생체를 보호하는 SOD 활성은(Table 8-7)는 정상군에 비해 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었으나 뽕잎 드링크를 공급하므로서 유의적으로 증가되었다. 항산화 효소로써 체내에서 활성산소(H_2O_2)에 의한 조직의 과산화적 손상을 방지하는 GSHpx활성은(Table 8-8) 정상군에 비해 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었으나 YK-209 뽕잎 드링크를 공급하므로서 정상군수준이 되었다. 변이원성물질, 발암물질, 독성물질의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질등에 환원형 glutathione(GSH)을 포함시켜 glutathione thioester(R-S-G)을 형성하는 반응을 촉매하는 GST활성을 측정한 결과 정상군에 비해 당뇨군이 유의적으로 감소되었으나 당뇨군에서는 유의적인 차이가 없었다.

Table 8-8. Effect of mulberry leaves drink on hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidas (GSHpx) and glutathione-S-transferase (GST) activities in STZ-induced diabetic rats

Groups	SOD *(unit/mg protein/min)*	GSHpx *(nmol NADPH/min/mg protein)*	GST *(nmol DNCB/mg protein/min)*
Normal	4.14±0.06[a]	160.44±1.35[a]	136.34± 7.822[a]
DM	3.13±0.13[b]	148.72±2.11[b]	110.65±28.450[b]
E	3.41±0.11[c]	168.24±5.04[a]	109.90±18.209[b]
EC	3.64±0.12[c]	162.05±3.61[a]	108.66±26.459[b]

All values are mean±SE (n=10)
Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

8. 간조직중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량

간조직의 중성지방의 농도(Table 8-9)는 정상군에 비해 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군이 유의적($p<0.05$)으로 낮았으며 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎 드링크 공급군에서 유의적으로 증가되었다. 간조직의 콜레스테롤 농도는 정상군에 비해 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎 드링크 공급군 모두에서는 유의적으로 감소되었다.

Table 8-9. Effect of mulberry leaves drink on hepatic lipid composition in STZ-induced diabetic rats *(mg/dl)*

Groups	Triglyceride	Cholesterol
Normal	4.04±0.35[a]	0.83±0.07[a]
DM	1.64±0.07[b]	2.16±0.15[b]
E	2.25±0.05[c]	0.66±0.02[c]
EC	2.51±0.04[a]	0.82±0.07[a]

All values are mean±SE (n=10)
Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

9. 제조된 뽕잎환 이용 안전성 검정 및 독성 검사

가. 간조직중의 지질과산화물 (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 및 carbonyl value 함량

간조직의 microsome 획분을 분획하여 carbonyl기의 함량을 비교한 결과(Table 8-10) 실험군간에 차이가 없었다. 조직의 과산화적 손상의 지표가 되는 혈청중의 지질과산화물 축적에 미치는 뽕잎 드링크의 영향을 관찰한 결과는 정상군에 비해 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군이 유의적($p<0.05$)으로 높았으나 뽕잎 드링크 비공급 당뇨군에 비해 뽕잎 드링크 공급군 모두에서 각각 유의적($p<0.05$)으로 감소되었다.

Table 8-10. Effect of mulberry leaves drink on hepatic carbonyl value and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level in STZ-induced diabetic rats

Groups	Carbonyl value *(nmol/mg protein)*	TBARS *(MDA nmol/mg protein)*
Normal	78.288±4.02^{NS}	1.53±0.06^{a}
HC	80.901±3.06	3.74±0.13^{b}
E	83.563±4.371	2.12±0.25^{c}
EC	82.871±3.927	2.38±0.07^{c}

All values are mean±SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

나. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)와 glutamic pyruvic transaminase (GPT)의 활성

간조직의 괴사를 반영하는 GOT 활성은 정상군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 증가되었으나, 뽕잎 드링크를 공급하므로서 정상군 수준이 되었다. 간조직의 비대화와 간조직의 상태를 반영하는 GPT 활성 역시 동일한 경향을 보였다(Fig. 8-2).

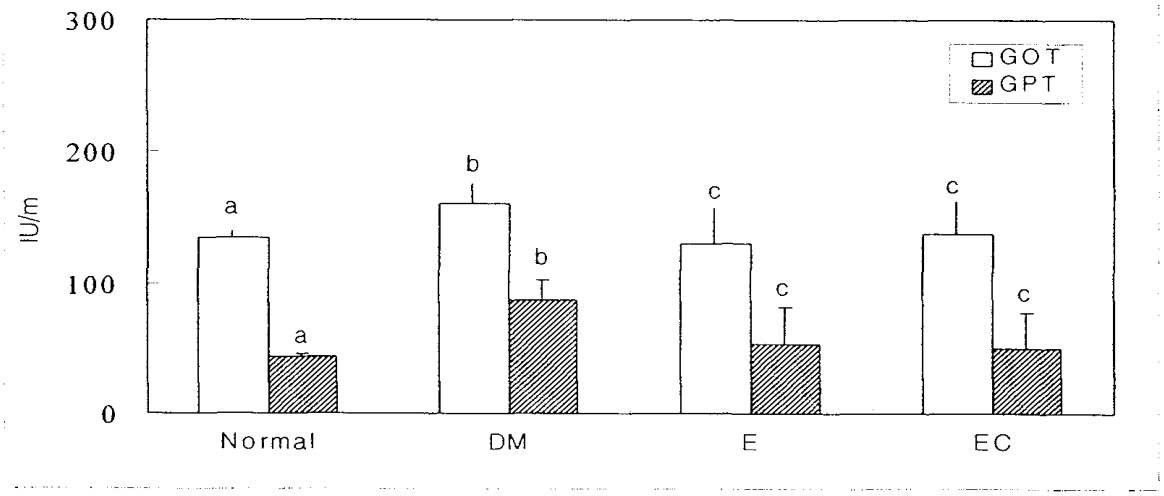

Fig. 8-2. Effects of different mulberry leaves drink on serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) activities in STZ-induced diabetic rats

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 8-1 & 8-2.

결론적으로 Streptozotocin 유발 당뇨쥐에 천화분을 0.8% 첨가한 YK-209 뽕잎 드링크를 공급한 결과 혈당 저하효과 및 항산화·항노화 효과가 증가되었으며 또한 지질 개선효과가 상승되었다.

제9장 제조된 뽕잎환의 임상실험을 통한 효능검정

제1절 임상실험 대상 및 실험방법

YK-209 뽕잎을 이용하여 제조된 뽕잎환이 동물실험을 통하여 효능이 증명되었으므로 이에 당뇨환자에게 뽕잎제품을 공급하여 혈당 및 혈중의 콜레스테롤과 중성지질에 미치는 영향을 관찰하였다.

1. 임상실험대상

임상환자는 정상인 10명과 당뇨환자 20명을 대상으로 하여 실험하였다.

2. 실험방법

가. 검정대상 건강보조식품 뽕잎환

뽕잎환은 제조 방법에서 전술한 바 있는 환 제조에 가장 우수한 뽕잎인 영천산 YK-209 뽕잎으로, 채취 시기별로는 5월산, 그리고 채취 부위별로는 상위엽을 이용하였으며, 뽕잎의 건조 처리 방법은 채취한 생잎을 바로 열풍기로 건조한 뽕잎을 이용하였다. 위와같은 조건으로 선택된 건조 고품질 뽕잎을 원료로 하여 검수 및 계량하여 30L 통에 재료를 넣어 배합하여 반죽 후 국수면같이 자른후(장환기) 일정한 크기로 잘라(절환기) 완전한 환모양으로 만들어(정환기) 60℃에서 4시간 열풍건조하여 수분함량이 5~8%이 되도록 하여 환을 제조하였다.

나. 하루 섭취량

하루 섭취량은 동물실험을 통하여 가장 효과가 좋은 농도로 환산하여 1회 4.5g 씩 하루 3번씩 식사섭취후 바로 섭취하도록 하였다.

다. 혈당 및 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정

뽕잎환 섭취전과 섭취 한달후의 혈당 및 혈중 중성지방 및 콜레스테롤을 측정하였다.

제2절 결과 : 뽕잎환의 임상실험을 통한 효능검정

1. 혈당 저하 효과 : 정상군은 뽕잎환 섭취전과 섭취 한달후의 혈당은 차이가 없었으나 당뇨환자에서는 다소 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 9-1).

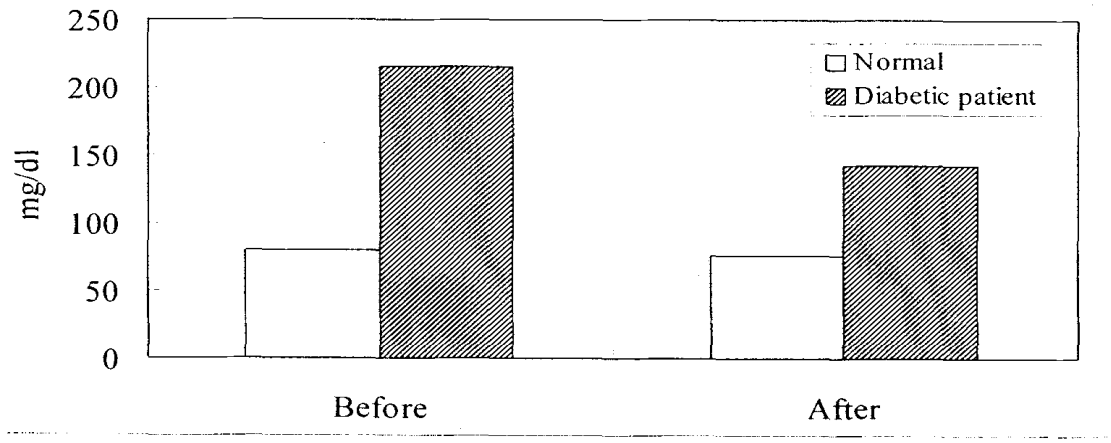

Fig. 9-1. Effect of mulberry leaves pill of blood glucose in clinical experiment

2. 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 함량

혈중 중성지질 함량은 당뇨환자에서 증가되었으나 뽕잎환 공급후 현저하게 감소되었다. 또한 콜레스테롤 역시 정상인에 비해 당뇨환자에서는 현저하게 증가되었으나 뽕잎환 공급후 다소 감소하였다(Table 9-1).

Table 9-1. Effect of mulberry leaves pill on serum lipid composition in clinical experiment *(mg/dl)*

Group	Triglyceride		Cholesterol	
	before	after	before	after
Normal	135.84	130.34	178.0	155.88
Diabetic patient	179.29	168.54	241.72	169.04

결론적으로 정상인 및 당뇨환자(사람대상 임상실험)에게 한달동안 제조된 뽕잎환을 섭취시킨 결과 혈당과 혈중 콜레스테롤 및 중성지질이 다소 감소되었다.

제10장 종 합 결 론

제1절 뽕잎을 이용한 고품질의 기능성 건강보조식품 기술 개발

1. YK-209 뽕잎의 기능성 건강보조식품 적합성 조사

가. 뽕잎의 품종별, 시기별, 부위에 따른 기능성 성분은 YK-209 뽕잎, 5월산, 상위엽이 GABA 및 flavonoid 함량이 가장 풍부하여 건강보조식품 제조용으로 가장 적합하였다.

나. 뽕잎 엑기스는 기존의 제조방법인 알코올 분해방법과는 달리 물로 추출한 가수분해법으로 제조하였으며 뽕잎특유의 풋냄새 제거 및 기능성 향상을 위하여 천연물질인 솔잎 및 쑥을 각각 7%, 3%씩 첨가하여 품질평가를 실시한 결과 맛이 상승되었다.

다. 제조된 고품질 뽕잎 제품의 품질과 안전성 평가 및 기호도 조사를 통하여 제품의 무독성을 확인하고 생체 이용 가능성을 확인하였다.

2. YK-209 뽕잎을 이용한 환 및 드링크 제품의 제조기술개발

가. 뽕잎환 및 뽕잎 드링크는 기존의 제조방법인 알코올 분해방법과는 달리 물로 추출한 가수분해법으로 제조하였으며 기능성 향상을 위하여 뽕잎환에는 기능성 천연물질인 녹차를 0.5% 첨가하고 뽕잎 드링크에는 천화분을 0.8% 첨가하

여 품질평가를 실시한 결과 인체에 무해하며 맛이 상승되었다.

제2절 제조된 뽕잎 제품의 지질대사 개선 효과 및 항산화·항노화 효과 규명

1. YK-209 뽕잎의 혈중, 간조직중의 지질대사 개선 효과 및 항산화·항노화 효과 규명

가. YK-209 뽕잎의 지질대사 개선효과 : YK-209 뽕잎가루는 혈액 및 간조직에서의 지질조성이 개선되었다.

나. YK-209 뽕잎의 항산화적 해독기능 관찰 : 콜레스테롤군에 YK-209 뽕잎을 공급하였을 때 간조직의 SOD, GSHpx 및 GST 활성을 증가시키고 XOD 활성은 감소됨으로써 항산화계가 강화되고 조직손상이 완화됨을 관찰하였다.

결론적으로 뽕잎의 생리적 효능을 나타내는 적절한 함량은 0.2%의 적은 양에서도 효과적이었으며 그 이상의 농도에서도 같은 효과를 나타내었다.

2. 제조된 뽕잎 엑기스의 지질대사 개선효과 및 항산화·항노화 효과 규명

가. 고콜레스테롤 식이에서 YK-209 뽕잎 엑기스의 지질대사 개선 효과를 관찰한 결과 혈액 및 간조직중의 지질조성이 YK-209 뽕잎 엑기스 공급군에서 비공급군에 비해 감소되었다. 또한 엑기스 공급군에서는 간조직의 항산화 효소계를 활성화시켜 조직산화적손상을 완화시켰다.

2. 제조된 뽕잎환 건강보조식품의 성인병 예방 효능검증

가. 당뇨병에서의 혈당강하효과 : Streptozotocin 유발 당뇨쥐에서 뽕잎환은 혈당강하효과가 있었다.

나. 제조된 뽕잎환의 항산화적 해독기능 관찰 : 당뇨군에 뽕잎환을 공급하였을 때 간조직의 SOD, GSHpx, GST 활성이 증가되며 XOD 활성은 감소됨으로써 항산화계가 강화되고 조직손상이 완화됨을 관찰하였다.

다. 제조된 뽕잎환의 항노화 효과 : 간조직에서의 노화색소인 lipofuscin 및 superoxide radical (O_2^-) 생성은 정상군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 증가되었으나 뽕잎환을 공급하므로서 유의적으로 감소됨을 알수 있었다.

라. 제조된 뽕잎환의 독성검증 : 간조직의 microsome 획분을 분획하여 carbonyl기의 함량을 비교한 결과 실험군간에 차이가 없었다.

4. 제조된 뽕잎드링크 건강보조식품의 성인병 예방 효능검증

가. 당뇨병에서의 혈당강하효과 : streptozotocin 유발 당뇨쥐에서의 혈당강하효과가 관찰되었다.

나. 제조된 뽕잎드링크의 항산화적 해독기능 관찰 : 뽕잎드링크를 공급한 군에서 비공급 당뇨군에 비해 GSHpx, GST 같은 항산화 효소 활성이 증가되고 XOD 활성이 감소됨으로써 항산화계가 강화되고 조직손상이 완화됨을 관찰하였다.

다. 제조된 뽕잎드링크의 항노화 효과 : 간조직에서의 노화색소인 lipofuscin 및 superoxide radical (O_2^-) 생성은 정상군에 비해 비공급 당뇨군에서 유의적으로 증가되었으나 뽕잎드링크를 공급하므로서 유의적으로 감소되었다.

라. 제조된 뽕잎드링크의 독성검증 : 간조직의 microsome 획분을 분획하여 carbonyl기의 함량을 비교한 결과 실험군간에 차이가 없었으므로 독성이 없음을 알 수 있었다.

5. 제조된 뽕잎환 건강보조식품의 임상실험을 통한 효능검정

정상인 및 당뇨환자(사람대상 임상실험)에게 한달동안 제조된 뽕잎환을 섭취시킨 결과 혈당과 혈중 콜레스테롤 및 중성지질이 다소 감소되었다.

결론적으로 기능성 성분 함량이 높은 YK-209 뽕잎 건강보조식품제조에 천연물의 부재료를 첨가함으로써 뽕잎 특유의 풋냄새가 감소되어 기호도가 상승되었다. 또한 뽕잎 제조식품을 이용하여 동물 및 임상 실험을 수행한 결과 콜레스테롤 대사 개선 및 혈당 저하 효과가 규명되었다.

참 고 문 헌

1) 김선여, 이완주, 김현복, 김애정, 정순경 : 뽕잎추출물이 콜레스테롤 투여 흰쥐의 혈청지질에 미치는 영향. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27(6) : 1217-1222 (1998)

2) Sun Yeou Kim, Jian Jun Gao, Won-Chu Lee, Kang Sun Ryu, Kang Ro Lee and Young Choong Kim : Antioxidative Flavonoids from the Leaves of Morus alba. Arch. Pharm. Res. 22(1) : 81-85 (1999)

3) 김현복, 이완주, 김선여, 이용기, 방혜선 : 뽕잎차에 의한 음용수중 Cd과 Pb의 제거효과. Korean J. Seric. Sci. 40(1) : 17-22 (1998)

4) 김선여, 박광준, 이완주 : 뽕나무 오디추출물의 항염증·항산화 작용에 대한 생리활성 검사. Korean J. Medicinal Crop Sci. 6(3) : 204-209 (1998)

5) 뽕잎함유 생체활성화성분의 식품이용전망. 한국잠사학회, 심포지엄 1999.10

6) 이희삼, 김선여, 이용기, 이완주, 이상덕, 문재유, 류강선 : 누에분말, 뽕잎 및 상백피 투여가 흰쥐의 장관기능에 미치는 영향. *Korean J. Seric. Sci.* 41(1) : 29-35 (1999)

7) Dohg-Il Jang, Byeong-Gon Lee, Che-Ok Jeon, Nam-Suk Jo, Jong-Ho Park, Soo-Yeon Cho, Ho Lee and Jae-Sook Koh : Melanogenesis Inhibitor from Paper Mulberry. *Cosmetics & Toiletries magazine*, 112:59-62, (1997)

8) Naoki Asano, Kengo Oseki, Emiko Tomioka, Haruhisa Kizu, Katsuhiko Matsui N-Containing sugars from Morus alba and their glycosidase inhibitory activities. Carbohydrate Research, 259 : 243-255, (1994)

9) Eun-Sun Kim, Sung-Jean Park, Eun-Ju Lee, Bak-Kwang Kim, Hoon Huh and Bong-Jin Lee : Purification and Characterization of Moran 20K from Morus alba. Arch. Pharm. Res. 22(1) : 9-12, (1999)

10) Nam-Ho Shin, Shi-Yong Ryu, Eun-Ju Choi, Seh-Hoon Kang, IL-Moo Chang : Oxyresveratrol as the Potent Inhibitor on Dopa Oxidase Activity of Mushroom Tyrosinase. Biochemical and Biophysical Research Communications, 243 : 801-803, (1998)

11) Fujun CHEN, Noboru NAKASHIMA, Ikuko KIMURA and Masayasu KIMURA : Hypoglycemic Activity and Mechanisms of Extracts from Mulberry Leaves(Folium Mori) and Cortex Mori Radicis in Streptozotocin-induced Diabetic Mice. Yakugaku Zasshi, 115(6) 476-482 (1995)

12) 박종철, 최재수, 최종원 : 꾸지뽕나무 잎, 열매, 줄기 및 뿌리의 분획물과 플라보노이드 화합물이 흰쥐의 과산화지질 함량에 미치는 영향. Kor. J. Pharmacogn. 26(4) : 377-384, (1995)
13) Yagi, K.A. : Simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. Biochem. Mes.15, 212, 1976
14) Reitman, S. and Frankel, S. : A colocrimetric method for the determination of serum goutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am J Clin Pathol, 28, 56, 1957.
15) Shepherd, J., Packard, C. J., Grundy, S. M., Yeshumin, P., Gotto, A. M., Taunton, O.D. :Effect of saturated and polyunsaturated fat diet in the chemical composition and metabolism of low density lipoprotein in man. J. lipid Res., 21 : 91~99, 1980.
16) Bonanome, A. and Grundy, S. M., Effect of dietary stearic acid on plasma Cholesterol and lipoprotein level. N. Eng. J. Med. 318:1244~1248. 1988.
17) Clifton, P.M., Kestin, M., Abbey, M., Drysadale, M. and Nestel, P.J. Relationing between sensitivity to dietary fat and dietary cholesterol. Arteriosclerosis 10:394~491. 1990.
18) Grundy, S.M., Denke, M.A. : Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. J. lipid Res. 31: 1149~1171, 1990.
19) Castelli, W.P., Wilson, P.F., Levy, D., Anderson, K. : Serum lipids and risk of coronary atery disease. Atherosclerosis Rev. 21: 7~19, 1990.
20) Gow, B.S., Mccaskill, M.E., Legg, M.J. : Tender loving care and atheroma in cholesterol fed N.Z. white rabbits. Atherosclerosis, 44 : 121, 1982.
21) Mogandy, R.B., Hegosted, D.M., Myers, M.L. : Use of semisynthetic fats in determining effects of specific dietary fatty acids on serum lipids in man. Am. J. Clin. Nutr. 23 : 1285~1288, 1970.
22) Steinberg D, parthasarathy S, Carew TE. : Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoproteins that increase its atherogenicity. N Engl J. Med 320 : 915-923, 1989
23) Judd, J.T., Clevidence, B.A., Meusing R.A. : Dietary trans fatty acid : effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and woman. Am J Clin Nutri 59 : 861-868, 1994.
24) Mclntosh, G.H., Whyte, J.O., Arthur, R.M., Nestel, P.J. : Barley and wheat foods influence on plasma cholesterol concentrations in hyper-cholesterolemic men. Am.J.Clin.Nutr. 53:1205-1209, 1991.

25) Yagi, K. : Lipid peroxides and human disease. Chem. Phys Lipids, 45, 337, 1987.
26) Brenner, R.R. : Effect of unsaturated fatty acids on membrane structure and enzyme kinetics. Prog. Lipid Res., 23, 68. 1984.
27) Dietschy, J.M. and Wilson, J.D. Regulation of cholesterol metabolism. N. Engl. J. Med. 282 : 1128~1138, 1241~1249. 1970.
28) Chen, W.L., Anderson, J.W. and Jenning. D. 1984. propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol-fed rats. Proc. Soc.Exp. Biol. Med. 175:215~218.
29) Friedwald, W.T., Levy, R. I., and Fedreison, D.S. : Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 18: 499(1972)
30) Omodeo Sale, F., Marchesini, S., Fishman, P.H., and Berra B. : A sensitivie enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts. *Analytical Biochem.*142, 347(1984)
31) Reitman, S. and Frankel, S. : A colocrimetric method for the determination of serum goutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol*, 28, 56(1957)
32) Lawrence, R.A., Bruk, R.F. : Glutathione peroxidase: acyivity in selenium deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71, 952(1976)
33) Marklund, S., Marklund, G. : Involvement of the superoxide anion redical in antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J Biochem* , 47, 469(1974)
34) Kayden, H. J., Chow, C.K., Jornson, L. K. : Spectrophometric method for determination of α-tocopherol in red cell. *J Lipid Res,* 14, 553(1973)
35) Sato, K. : Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colcrmetric method. *Clinica. Chemica. Acta.*,90,37(1978)
36) Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol. Chem.*, 226,497(1957)