

씨 적은 구기자의 저농약 재배기술과 기능성 물질 확인에 관한 연구

Studies on the Low Chemical Cultivation Techniques and
Identification of Functional Components of New *Lycium chinense*
Cultivars with Fewer Seeds

연구기관
가 톨 릭 대 학 교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “ 씨 적은 구기자의 저 농약 재배기술과 기능성 물질 확인에 관한 연구” 과제 (제 1협동과제: 씨 적은 구기자 품종 육성 및 저 농약 재배기술 연구, 세부과제: 씨 적은 구기자의 기능성 성분 분석 및 품질평가에 관한 연구, 제 2 협동과제: 씨 적은 구기자의 가공이용과 기능성 평가에 관한 연구)의 최종 보고서로 제출합니다.

2005년 11월 14일

주관연구기관명 : 가톨릭대학교
총괄연구책임자 : 고 경 희
협동연구기관명 : 청양구기자시험장
협동연구책임자 : 이 주 찬
세부연구기관명 : 가톨릭대학교
세부연구책임자 : 고 경 희
협동연구기관명 : 고려대학교
협동연구책임자 : 이 철 호

요 약 문

I. 제 목

씨 적은 구기자의 저 농약 재배 기술과 기능성 물질 확인에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

구기자는 인삼 다음으로 약효가 뛰어나고 체력을 보하며 항 노화 천연소재로 알려져 있다. 본 연구는 최근 중국산 구기자의 수입 증가로 가격이 생산비에 밀리는 상황에서 우리나라 구기자 생산 농가의 활로를 찾기 위하여 씨 적은 구기자 품종을 개발하고 이를 식품소재로 사용함으로써 구기자의 대량 소비를 촉진하려는 것이다.

기술적 측면에서 구기자의 병충해 방제와 저 농약 재배에 관한 연구는 그동안 많이 연구되었으나, 흰가루병, 뒷면곰팡이병 등은 현재 무 농약 방제법의 개발이 이루어지지 않아 이에 대한 연구가 절실히 요구되며, 건강 기능성 식품소재로 활용하기 위해서는 씨의 비중을 줄이고 과육과 과즙의 양을 늘이는 품종 개발이 선결과제이다.

씨 없는 구기자의 새로운 가공 기술에 대한 연구가 절실히 필요하다. 그리고 구기자의 주요 성분에 대한 연구는 많이 이루어 졌으나, 고 문헌에 언급되어 있는 노화방지, 간 기능 및 시력개선효과, 성인병 예방기능 등에 대한 검증은 이루어지지 않아 이에 대한 연구가 필요하다.

경제·산업적 측면에서 청양의 구기자는 전국 생산량의 80%를 차지하는 충남지역의 대표적인 특산물의 하나이며 청양지역의 주 소득원으로 최근 중국산의 수입으로 농가소득이 감소하고 있는 추세이다. 구기자는 유용한 효능이 많음에도 불구하고 홍보부족으로 소비가 활성화되지 않은 상태이다. 씨 적은 구기자 품종을 개발하여 다류, 음료, 주류 재료를 위한 기능성 식품 소재로 개발하면 그 수요가 크게 증가할 것으로 예상된다.

사회·문화적 측면에서 구기자는 농약을 많이 투입하는 작물로 인식되어 주로 한약재로 사용되고 있으며 식품으로 사용하는 것을 소비자들이 기피하고 있는데 저 농약 재배법의 개발로 소비자 인식전환 및 소비촉진을 꾀할 수 있으며 재

배농민의 자긍심을 높일 수 있다. 인삼이 전통 한약재에서 인삼차, 인삼주 등 건강 기호식품으로 개발된 것처럼 본 연구를 통하여 구기자를 이용한 전통 구기자주스 및 구기자주 개발로 건강 기호식품 다양화를 추구한다.

본 연구에서는 저 농약 구기자 재배법을 확립하고 수요확대를 위한 씨 적은 구기자 품종을 육성, 한약재가 아닌 식품가공 적합성과 기능성성분 분석과 품질 평가, 그리고 시력보호, 성인병에 관여하는 기능성성분을 검토하여 구기자를 이용한 고품질 건강식품을 개발하는 것을 목적으로 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 씨 적은 구기자 품종 육성 및 저 농약 재배기술 연구

- 육종재료로 이용하기 위한 국내외 유전자원과 배수체 계통의 열매특성 조사
- 인공교배에 의한 우량계통 선발
- 우량계통의 생산력검정 시험
- 비가림 시설 병해충 발생 실태조사 및 방제력 작성
- 병해충 저 농약 방제시험
- 구기자 저 농약 재배기술 농가실증

2. 씨 적은 구기자의 기능성 성분 분석 및 품질 평가에 관한 연구

- 구기 부위별 기능성 성분분석 및 라디칼 소거효과
- 구기 부위별 향기성분 분석
- 구기자즙의 기능성 성분 분석 및 라디칼 소거효과
- 구기자즙의 향기성분 분석 및 관능검사
- 구기주의 기능성 성분 분석 및 라디칼 소거효과
- 구기주의 향기성분 분석 및 관능검사

3. 씨 적은 구기자의 가공 이용과 기능성 평가에 관한 연구

- 추출조건에 따른 구기자의 기능성 성분함량 변화 측정
- 구기자와 포도의 양조특성에 관한 비교 연구
- 구기자 추출물과 구기주의 zeaxanthin, betaine함량 분석
- Cell/ 동물실험을 통한 구기자 추출물의 간 보호 효과 분석
- 동물실험을 통한 구기주 고형분의 혈중 콜레스테롤 저하효과 분석

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 씨 적은 구기자 품종 육성 및 저 농약 재배기술 연구

씨 적은 구기자 품종육성을 하기 위해 국내외 유전자원 97 품종 및 계통과 배수체 계통의 열매특성을 조사한 결과 유전자원에서는 중국수집 5계통이 과육비가 높았고 배수체 계통에서는 Y0148-24 계통이 과육비가 높았으며 과당 종자수와 종자 1000립중도 적었고 수량을 고려하여 B0148-43, C0148-94, D0148-62, Y0148-24 계통 등을 교배모본으로 이용가치가 높았다.

씨 적은 구기자 우량 계통을 육성하기 위하여 2002년부터 2004년까지 3개년간 인공교배 49조합, 3342계체를 육성하여 26조합에서 우량개체 57개체를 선발하였다.

우량 44계통에 대하여 생산력검정 예비선발 시험 결과 탄저병은 34계통이 중도이상의 저항성을 보였고 흑응애는 19계통이 강하게 나타났다. 100과 생중은 200g 이상 대과종은 3계통이었고 과육비율은 CBP03310-250 계통은 96.0%로 높게 나타났으며 과당 종자수는 10개미만인 계통은 7계통이었고 CBP03310-1계통이 6.3개로 가장 적었다. 열매의 베타인 함량이 1%이상인 계통은 8계통이었고 CBP03309-67계통은 1.24%로 베타인 함량이 높았다. 건과 수량은 불로보다 높은 계통이 13계통이었고 CBP02239-97, CBP03302-5, CBP03310-250 계통 등은 수량성이 높아 유망시 되었다.

생산력검정 본 시험 결과 무방제하에서의 병해충 저항성 검정결과 흑응애는 CBP02247-103 등 4계통이 10%이하로 강하였고 탄저병 이병과율은 육성계통들에서 강하였고 CBP02242-2 계통은 27.2%로 가장 낮게 나타났다. 100과 생중은 불로보다 무거운 계통은 CB00156-101 등 5계통이었고 CBP00156-101계통이 175g으로 가장 무거웠다. 과육비가 90%이상 계통은 7계통으로 CBP02234-49계통이 92.6%로 가장 높았다. 과당 종자수는 불로 21.9개로 불로보다 씨가 적은 계통은 7계통이었다. 열매의 베타인 함량은 청양재래가 0.52%로 가장 낮았고 불로가 0.83%이었으며 CBP02242-2계통은 1.0%로 베타인 함량이 높았다. 건과 수량은 B0148-43계통이 불로 대비 125% 증수되어 유망시 되었으며 기존의 구기자 육종과 다른 관점에서의 씨 적은 구기자 품종육성의 기초자료가 되었다.

병해충 발생실태를 조사한 결과 흰가루병 등 9종의 병해충이 조사되었고 이중 7종이 방제대상이었다. 흰가루병은 기계유유제인 디시트론 0.5%액을 살포하여 96.1%의 높은 방제가를 얻었으며 은나노 제품인 Bio Plus Safe는 76.6%의 방제가로 방제가 가능하였고 뒷면곰팡이병은 기계유유제인 디시트론 0.5%액을 살포하여 79.3%의 높은 방제가로 방제 가능 하였다. 총채벌레는 황색점착트랩

(670×250mm)을 2m 간격으로 설치하여 69.4%의 방제효과로 방제가능 하였고 열점 박이잎벌레는 진삼이플러스(*Bacillus subtilis*) 미생물제제로 방제하였을 때 78.6%의 방제가로 방제 가능하였으며 복숭아혹 진딧물은 콜레마니 진디벌과 무당벌레로 각각 60.4, 66.4%의 방제가로 방제할 수 있었다. 그리고 왕담배나방은 병원성선충과 솔빛채(*Bacillus thuringiensis*)로 각각 65.4, 77.8%의 방제가로 방제할 수 있었고 이러한 기술을 2개 농가에 접목시켜 저 농약 재배 실증시험에 성공하였다.

2. 씨 적은 구기자의 기능성 성분 분석 및 품질 평가에 관한 연구

씨 적은 구기자의 기능성 성분을 분석하고 품질을 평가하기 위하여 구기자 주스와 구기주의 화학 성분 및 품질 특성을 분석하였다. 구기의 뿌리, 잎, 열매 부위 에서 폴리페놀 화합물과 항산화력이 확인되었고, 생구기자보다 50℃에서 열풍 건조한 구기열매에서 총 페놀 및 플라보노이드함량과 향기성분이 더 높게 나타났다. 한편 생과와 건과를 이용하여 제조한 주스에서는 생구기자주스(FJ), 붉은 건과 구기자 주스(RJ), 붉지 않은 건과 구기자 주스(DJ) 모두에서 폴리페놀화합물과 항산화력 및 라디칼 소거력이 확인 되었고, 휘발성 향기성분 분석결과 63개의 성분이 확인 되었다. 관능검사 결과 10% 구기로 제조한 구기주스를 가장 선호하였다.

구기자 생과와 건과를 이용하여 제조한 구기주 연구에서 생구기 착즙 구기주(FKJ, Fresh *Kugi-Ju*), 생구기 껍질과 함께 발효한 구기주(FKJS, Fresh *Kugi-Ju* with skin), 건조구기를 물에 불려 착즙한 구기주(DKJ, Dried *Kugi-Ju*), 건조구기를 물에 불려 껍질과 함께 발효한 구기주(DKJS, Dried *Kugi-Ju* with skin)에서 폴리페놀화합물이 확인 되었다. 총 페놀 함량과 항산화력은 모두 건과가 생과보다 높게 나타났으며, 라디칼 소거력, 총페놀 함량과 폴리페놀 성분의 함량은 알코올 발효 후에 대체로 증가하는 경향을 나타내었다. 한편 구기주의 휘발성 향기성분 분석결과 총 84개의 향기 성분이 확인되었고, 관능검사 결과 종합적 평가에서 시료 간에 뚜렷한 차이는 없는 것으로 나타났다.

식품가공 적합성 연구에서 구기주스와 구기주 가공은 긍정적이었으며, 관능적 특징을 고려하여 소비자의 기호도를 높일 수 있도록 산업공정을 개발한다면, 우수한 기능성 전통 천연음료로서 발전될 수 있으리라 판단된다. 특히 요즘과 같은 건강과 안전성을 최우선시 하는 분위기에서 국내산 구기자 추출물과 그 가공품들의 수요는 폭발적으로 증가될 것으로 판단된다.

3. 씨 적은 구기자의 가공이용과 기능성 평가에 관한 연구

구기자의 성분중 zeaxanthin, betaine 함량을 보면 zeaxanthin의 경우는 구기자 추출물에 498.5 μ g/g을 함유하고 있고, betaine의 경우는 구기자 추출물에 2.11 mg/g, 구기주스에 2.04mg/g, 구기주에 0.94mg/g를 함유하고 있어, 다른 천연식품물질들과 비교시 높은 함량을 가지고 있었다. 이 물질들은 시력개선효과를 가진 물질들로써 구기자가 탁월한 효과가 있음을 입증하였다.

또한 구기자 추출물을 간세포 AML12에 CCl₄ 를 투여하여 간 독성을 야기시킨 cell에 투여하였을 경우 간세포 증식 억제 효과가 30~40%가 있음을 확인할 수 있었고, 동물실험결과 GOT/GPT활성, 과산화 지질함량변화, catalase활성 변화, Glutathione-S-Transferase 활성변화, CytochromeP-450 함량변화 측정값 모두에서 구기주스를 섭취시킨 Rats에서 효과가 있음을 확인하였다. 구기주 고형분의 혈중 콜레스테롤 저하효과를 확인하기 위한 동물실험에서도 비교군 대비 0.5g dry matter/kg b.w. ~ 1g dry matter/kg b.w.의 농도에서 총콜레스테롤, LDL콜레스테롤, 중성지방 함량에 있어서 뚜렷한 효과가 있었고, GOT/GPT활성 측정에서도 효과가 있었다. 이러한 효과들을 적극 홍보한다면 요즘과 같은 Well-being시대에 건강을 최우선시 하는 사회풍토상 구기자 추출물과 그 가공품들의 수요는 폭발적으로 증가될 것으로 판단된다.

SUMMARY

I . Title

Studies on the Low Chemical Cultivation Techniques and Identification of Functional Components of New *Lycium chinense* Cultivars with Fewer Seeds

II. Objectives and Significance

Lycium chinense is known to be an anti aging natural agent and the most efficacious invigorant second to ginseng. In response to the increasing import of *Lycium chinense* from China, the present study purposed to develop a variety of *Lycium chinense* with fewer seeds and promote its mass consumption as a food material as an effort to help Korean *Lycium chinense* farmers.

There have been many technical researches on preventing damage by diseases and insects and low chemical cultivation for *Lycium chinense* but currently there is no available chemical free cultivation method against powdery mildew, Hypophyllous mold, etc. Thus, relevant researches are required. Furthermore, in order to use *Lycium chinense* as a material of healthy functional food, we need to develop new varieties with fewer seeds and more flesh and juice.

Moreover, new technologies to process seedless *Lycium chinense* should be developed.

In addition, although many studies have been made on the elements of , we need to prove its effects on aging, liver functions, eyesight and other degenerative diseases, which have not been dealt with in previous researches.

In the economical and industrial aspects, *Lycium chinense* from Cheongyang is a representative product in Chungcheongnam do, which occupies 80% of domestic production, and is a main source of income in Cheongyang but farmers' income is decreasing because of increasing import from China. Although *Lycium chinense* has many useful efficacies, its

consumption is low due to lack of information. If a new variety with fewer seeds is developed and used as a material of functional foods such as tea, drink and wine, its demand will increase significantly.

In the social and cultural aspects, people believe that a lot of agricultural chemical is used in growing *Lycium chinense*. Thus they are reluctant to consume it except for medical use. Thus, the development of low chemical cultivation method may change consumers' idea and promote consumption and, moreover, can enhance farmers' pride. Like ginseng has expanded its use from traditional medicine to healthy favorite foods such as ginseng tea and ginseng wine, we need to diversify the uses of *Lycium chinense* by developing *Lycium chinense* juice and *Lycium chinense* wine.

Therefore, the present study purposed to establish a low chemical cultivation method of *Lycium chinense*, develop a variety of *Lycium chinense* with fewer seeds for the expansion of consumption, examine its fitness, functionality and quality as a material of food rather than of medicine, analyze its efficacies related to eyesight and adult diseases, and develop high quality healthy food using *Lycium chinense*.

III. Scope and Content of the Study

1. Studies on the development of new *Lycium chinense* cultivars with fewer seeds and low agricultural chemical cultivation techniques

- Survey on the characteristics of internal and external germplasm and tetraploid lines for breeding material utilization.
- Selection of high quality line by artificial crossing.
- Performance test for high quality line
- Investigation of diseases and pests occurrence and making control calendar in rain sheltered greenhouse.
- Research of diseases and pests management with low agricultural chemical cultivation techniques.
- Actual proof of low agricultural techniques in rain sheltered greenhouse of Chinese matrimony farm.

2. Studies on the functional component analysis and quality assessment of new *Lycium chinense* cultivars with fewer seeds

- Functional analysis and radical scavenging activities of different part of *Lycium chinense*.
- Volatile flavor compounds analysis of *Lycium chinense*.
- Functional analysis and radical scavenging activities of *Kugi*-juice.
- Volatile flavor compounds analysis and sensory evaluation of *Kugi*-juice
- Functional analysis and radical scavenging activities of *Kugi*-Ju.
- Volatile flavor compounds analysis and sensory evaluation of *Kugi*-Ju.

3. Studies on the processing conditions and functional properties of new *Lycium chinense* cultivars with fewer seeds

To implement the objectives the following researches were carried out.

- Effects of drying condition (hot-air drying and freeze drying) on the quality and reconstitution/extraction properties of the dried fruit.
- The compare the brewage methods of *Lycii fructus* with grape wine
- Hepatoprotective activities of the water extract and juice of *Lycium chinense* fruit with liver-cell culture and rat feeding test.
- Analysis of liver protective effects of fermented *Lycium chinense* liquor by cell and animal experiment.
- Effects of blood cholesterol level lowering and fat-liver prevention of fermented *Lycium chinense* liquor solid

IV. Major Results and Recommendation

1. Studies on the development of new *Lycium chinense* cultivars with fewer seeds and low agricultural chemical cultivation techniques

This study was carried out for development of boxthorn with fewer seeds and high yield. The fruit characteristics of the ninety seven

varieties, several lines and teraploid lines were surveyed. The flesh ratio was higher in 5 lines from China and Y0148-24, tetraploid line having fewer seeds and low 1000 seeds dry weight. B0148-43, C0148-94, D0148-62, and Y0148-24 were utilized for breeding materials with consideration of yield.

3342 plants in 49 artificial combinations were made and 57 plants were selected in 26 combinations from 2002 to 2004. In preliminary yield trial, 34 lines were over mid-resistance to anthracnose and 19 lines had higher resistance to *Eriophyid* mite. 100 fresh fruits weights of 21 lines were weightier than that of Bulro and 3 lines among them had big size fruits of 100 fresh fruits weights over 200g.

Flesh ratio was highest in CBP03310-250 as 96% and seeds per one fruit were smallest below 10 in 7 lines including CBP03310-1 of 6.3 seeds per a fruit. Betaine contents were over 1% in 8 lines including CBP03309-67 of 1.24%. 21 lines were greater in dry weight than Bulro and CBP02239-97, CBP03302-5 and CBP03310-250 were superior in yield and flesh ratio.

In advanced yield trial, the results of resistance test under no control to disease and pest were as follows.

4 lines including CBP02247-103 had higher resistance to *Eriophyid* mite with the infection rate below 10%. Fruit ratio infected with Anthracnose was lower in breeding lines than in Bulro and it was lowest in CBP02242-2 as 27.2%. 5 lines had weightier 100 fresh fruits weights including CB00156-101 of the fruit weights as 175g and flesh ratio was highest in CBP02234-49 as 92.6%. Seeds number per fruit was smaller in 7 lines than in Bulro. The content of betaine was lowest in Cheongyangjaerae as 0.52% and it was 0.83% and 1.0% in Bulro and in CBP02242-2 respectively. Dry weight of B0148-43 was increased as 125% compared with Bulro.

Occurrence of diseases and pests in rain sheltered greenhouse of Chinese matrimony farm was three diseases and six pests. Among these, two diseases and five pests must be controlled by non fungicides and pesticides for low agricultural chemical product. Powdery mildew could be controlled with 0.5% machine oil emulsion(DC-Tron) and 0.25% nano-silver colloid(Bio

Plus Safe) by control value 96.1% and 76.6% each. Hypophyllous mold was controlled by machine oil emulsion(DC-Tron) with control value 79.3%.

Thripidae could be controlled with 670×250mm yellow sticky trap installed 2m span by 69.4% control value and *Lema decempunctata* could be controlled by microbial product(*Bacillus subtilis*) with control value of 78.6%. Peach aphid was controlled by *Aphidius colemani* and *Harmonia axyridis* with control value 60.4 and 66.4% each. Corn earworm(*Helicoverpa armigera*) could be controlled with Entomopathogenic nematode and B.T. microbial product(*Bacillus thuringiensis*) by control value 65.4% and 77.8% each. Finally We could make come true actual proof of low agricultural chemical techniques in rain sheltered greenhouse at two farms.

2. Studies on the functional component analysis and quality assessment of new *Lycium chinense* cultivars with fewer seeds

This study was carried out for functional component analysis and quality assessment of new *Lycium chinense* cultivars with fewer seed and food processing products, such as *Lycium chinense* juice and alcohol beverage.

First, chemical and functional components of *Lycium chinense* fruit, leaf and root were compared. Fructose and glucose were detected in fruit and leaf, and sucrose in root, respectively. Citrate was the highest among organic acids in fruit, and malate in leaf and root. Total phenolic contents of fruit, leaf, and root were 1078.4 mg/l, 93.99 mg/l, 3792.2 mg/l and their flavonoids were 386.7 mg/l, 1952.9 mg/l and 425.3 mg/l, respectively. Main polyphenolic compounds were *p*-coumaric and syringic acids in fruit, *p*-coumaric, syringic and procatechuic acids in leaf, and *p*-coumaric, syringic, caffeic, and procatechuic acids in root.

The volatile flavor compounds were identified 128 compounds, including 22 acids, 15 alcohols, 12 aldehydes, 8 esters, 10 furans, 26 hydrocarbons, 4 phenols, 2 pyrroles, 1 pyrazine, and miscellaneous components, were identified by GC-MS. Main volatile compounds were hexadecanoic acid and 2-furancarboxyl aldehyde in hot air dried fruit at 50°C, hexadecanoic acid and 1-hexadecene in fresh fruit, 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecan-1-ol and hexadecanoic acid in leaf, and hexadecanoic acid in root. The highest

radical scavenging activities of superoxide anion and hydroxyl were found in leaf and root, respectively.

Second, chemical and functional components analysis of *Lycium chinense* fruit juices were performed. Fructose, glucose and hydroxy methyl furfural(HMF) were detected in fresh fruit juice(FJ), roasted and dried fruit juice(RJ), and dried fruit juice(DJ). Citrate and malate were major organic acids in fruit. Total phenolic contents of FJ, RJ, and DJ were 3468.3 mg/l, 585.0 mg/l, 896.1 mg/l, respectively. Main polyphenolic compounds in FJ were epigallocatechin gallate, chlorogenic acid, ferulic acid, catechin, procatechuic acid and rutin. In RJ, ferulic acid, rutin 4-methyl catechin, catechin and epicatechin were predominant. Ferulic acid, rutin and 4-methyl catechin were main polyphenolic compounds in RJ. The highest radical scavenging activities of superoxide anion and hydroxyl were found in FJ.

The volatile flavor compounds were identified 63 compounds, including 9 acids, 6 alcohols, 1 aldehydes, 5 esters, 5 furans, 18 hydrocarbons, 4 phenols, 1 pyrroles, and 14 miscellaneous components. Sensory test showed that the total evaluation of RJ was better than FJ, and 10% of *Lycium chinense* fruit juice was the preference concentration.

Third, chemical and functional components analysis of fresh *kugi-ju*(FKJ), fresh *kugi-ju* with skin(FKJS), dried *kugi-ju*(DKJ), and dried *kugi-ju* with skin(DKJS) were monitored during alcoholic fermentation. Sugar content were greatly decreased less than 0.2 g/l, and final alcohol content were 11.5–13.7%. The lightness(L), redness(a) and yellowness(b) were increased during alcohol fermentation. Total phenolic content of FKJ, FKJS, DKJ, and DKJS were 1493.3 mg/l, 1710.0 mg/l, 2460.0 mg/l, and 2468.3 mg/l, respectively. The correlation relationship between total phenolic content and antioxidant activity showed a positive. The highest radical scavenging activities of superoxide anion and hydroxyl were found in FKJ. Chlorogenic acid in FKJ and FKJS, and procatechuic acid in DKJ and DKJS were the main polyphenolic compounds.

The volatile flavor was analyzed, and identified 84 compounds, including 15 acids, 10 alcohols, 13 esters, 4 furans, 12 hydrocarbons, 6 phenols, and 24 miscellaneous components. Sensory test showed that the total evaluation

of FKJ, FKJS, DKJ and DKJS were not significantly different ($p<0.05$).

In the analysis of fitness for food processing, positive results were obtained with regard to *Lycium chinense* juice and *Lycium chinense* wine.

Thus, if we develop an industrial manufacturing process that meets consumers' taste in consideration of sensual characteristics, *Lycium chinense* products can be excellent functional natural drinks. Particularly in today's atmosphere stressing health and safety, demands for the extract of domestic *Lycium chinense* and its products will increase explosively.

3. Studies on the processing conditions and functional properties of new *Lycium chinense* cultivars with fewer seeds

The drying conditions of lycium fruit in hot-air drier and freeze drier were investigated and the rehydration characteristics and extraction rate of functional substances of the dried products were analyzed. The optimum condition for hot-air drying of lycii fructus was at 50°C for 48hrs, and for freeze drying at 10 mtorr vacuum with three step temperature increment. The rehydration value of dried lycium varied widely with the drying method and the temperature of rehydration water. The rehydration rate of freeze dried lycium was 95% of original fresh lycium at 90°C for 28min, while it was only 37% for hot-air dried lycium at the same rehyration condition.

The extraction rate of functional components of freeze dried lycium was higher than those of hot-air dried lycium. Especially, the extraction rate of betaine was 0.74, 1.30, and 3.75mg/ g solid in 20, 50, and 90°C water for hot-air dried sample, and 1.39, 2.18, and 4.85mg/ g solid in the same temperatures of water for freeze dried sample.

The hepatoprotective activities of the water extract and juice of *Lycium chinense* fruit were studied using carbon tetrachloride(CCl₄) induced liver injury model in rats. SD rats were treated with 1 mL/kg b.w. CCl₄(50% CCl₄/olive oil) after 5 days to induce acute chemical liver injury and all rats were sacrificed at 7 days. The total cholesterol contents of DFE(fed on dried fruit extract), RFE(fed on roasted fruit extract), and FFJ(fed on fresh fruit juice) groups were lower than that of CCl₄-treated control group. The triglyceride contents of DFE, RFE, and FFJ groups were higher than that of CCl₄-treated group. The GOT and GPT levels of RFE, FFJ and DFE groups

were lower than that of CCl₄-treated group.

The malondialdehyde(MDA) in the liver of RFE, FFE was lower than in the CCl₄-treated group. The catalase activities of DFE, RFE, FFJ were higher than in CCl₄-treated group. DFE, RFE, and FFJ administrated groups increase in the GST activity from 12 to 24%. The level of cytochrome P-450 of CCl₄-treated group was decreased but DFE, RFE, and FFJ groups were higher than that of CCl₄-treated group. In conclusion, RFE, FFE suppressed the necrosis of liver tissues and lipid peroxides in the liver damage by CCl₃[•] radical.

Incubation of injured hepatocytes with zeaxanthin and betaine , respectively, reduced levels of glutamic pyruvic transaminase (GPT) and glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) released from damaged cells. Treatment with the extracts of *Lycii fructus* on CCl₄-intoxicated culture of AML12 liver cell markedly reduced levels of GPT and GOT released from the injured hepatocytes. The results confirmed the hepatoprotective activities of zeaxanthin and betaine extracted from *Lycium fructus*.

A pilot-scale production of *Lycii* fruit wine samples were made and their chemical composition and sensory quality were evaluated in comparison with red wine The alcoholic contents of the *Lycii* fruit wine samples were in the range of 11.5~13.7% which were similar to those of red wines(12.4~13.5%). The contents of reducing sugar and sweetness were slightly high in I-cheon wine(11.6mg/ml, 15.4°brix). The pH in *Lycii* fruit wine samples were slightly higher than those of red wine samples.

Great differences in organic acid contents were observed. *Lycii* fruit wine samples had 10,597~33,435ppm of latic acid, that was most abundant organic acid, 680~3,630ppm of acetic acid, and 417~2,849ppm of citric acid respectively. Red wine samples contained tartaric acid and malic acid mainly. The contents of total phenolic compounds were the highest in dried *Lycii* fruit wines(2,460ppm) compared with imported red wine(2,206ppm)and fresh *Lycii* fruit wines(1,493~1,710 ppm). The total sensory preference score of *Lycii* fruit wines were generally lower(4.1~4.8, weak)than that of red wine(9.4, strong)

The blood cholesterol level lowering and fatty-liver prevention effects of

fermented *lycii* fructus(*Lycium chinense* Bulro) liquor solid were tested by rat feeding experiments using high fat(40% tallow) diet containing 1% cholesterol. The effects of *lycii* fructus juice and fermented liquor on blood cholesterol and liver GOT and GPT levels in high-fat diet rats were compared. The body weight, liver weight, blood total cholesterol, LDL, HDL and triglyceride concentrations, and GOT and GPT values in liver were measured.

The solid matter of fermented *lycii* fructus liquor was effective in lowering blood cholesterol level and preventing fatty-liver, while that of fresh juice did not show the same effects. The effectiveness was concentration dependent. It was effective in the ranges of 0.5-1.0g solid/kg body weight feeding daily. Feeding 0.1g solid did not show any blood cholesterol lowering and fatty-liver preventing effects, while feeding 2.0g solid resulted in adverse effects.

CONTENTS

Summary	9
Part 1 : Studies on the development of new <i>Lycium chinense</i> cultivars with fewer seeds and low agricultural chemical cultivation techniques	23
Part 2 : Studies on the functional component analysis and quality assessment of new <i>Lycium chinense</i> cultivars with fewer seeds	97
Part 3 : Studies on the processing conditions and functional properties of new <i>Lycium chinense</i> cultivars with fewer seeds	245

목 차

요약문	-----	3
제1협동과제 : 씨 적은 구기자 품종 육성 및 저농약 재배기술 연구	-----	23
세 부 과 제 : 씨 적은 구기자의 기능성 성분 분석 및 품질 평가에 관한 연구	---	97
제2협동과제 : 씨 적은 구기자의 가공이용과 기능성 평가에 관한 연구	-----	254

제1협동과제

씨 적은 구기자 품종 육성 및 저농약 재배기술 연구

Studies on the development of new *Lycium chinense* cultivars
with fewer seeds and low agricultural chemical
cultivation techniques

협동연구기관명 : 청양구기자시험장

협동연구책임자 : 이주찬

연 구 원 : 백승우

연 구 원 : 김수동

연 구 원 : 이보희

요 약 문

I. 제 목

씨 적은 구기자 품종 육성 및 저농약 재배기술 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구는 최근 중국산 구기자의 수입 증가로 가격대응이 어려운 상황에서 우리나라 구기자 생산 농가의 활로를 찾기 위하여 구기자의 대량 소비를 촉진할 수 있는 품종 육성 및 재배기술 개발을 실현하기 위한 것이다.

구기자를 대량 소비시키기 위해서는 한약재가 아닌 건강 식품소재로 개발해야 하는 데 그러기 위해서는 씨가 아주 작거나 없고 과육·과즙이 풍부한 가공적성 품종의 개발보급이 필요하며 농약을 적게 사용하는 재배기술이 필수적이다.

이러한 노력으로 만들어진 새로운 품종과 재배기술로 중국구기자와의 품질 경쟁력 우위를 확보하고 Well-being 시대의 국민건강에 이바지하는 건강 기능성 식품으로 다시 태어날 수 있는 기틀과 농가소득 보전이라는 두 마리 토끼를 잡기 위한 것이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 씨 적은 구기자 품종육성

- 1) 육종재료로 이용하기 위한 국내외 유전자원과 배수체 계통의 열매특성 조사
- 2) 인공교배에 의한 우량계통 선발
- 3) 우량계통의 생산력검정 시험

2. 구기자 비가림 저농약 재배기술 연구

- 1) 비가림시설 병해충 발생 실태조사 및 방제력 작성
- 2) 병(흰가루병, 뒷면곰팡이병) 방제시험
- 3) 해충(충채벌레, 열점박이잎벌레, 복숭아혹진딧물, 왕담배나방) 방제시험
- 4) 구기자 저농약 재배기술 농가실증

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 씨 적은 구기자 품종육성

가. 국내외 유전자원 및 배수체 계통의 열매 특성 조사

국내외 유전자원 97 품종 및 계통과 배수체 계통의 열매특성을 조사한 결과 유전자원에서는 중국수집 5계통이 과육비가 높았고 배수체 계통 Y0148-24가 과육비가 높았고 과당 종자 수 및 종자 1000립중도 적게 나타났으며 수량성을 고려할 때 B0148-43, C0148-94, D0148-62, Y0148-24계통이 육종모본으로서 유망시 되었다.

나. 계통육성 시험

씨 적은 구기자 우량 계통을 육성하기 위하여 2002년부터 2004년까지 3개년 49조합을 실시하였고 인공교배 49조합, 3342개체를 육성하여 26조합에서 우량 57개체를 선발하였다.

다. 생산력검정 시험

생산력검정 예비선발 시험 결과 탄저병은 34계통이 중도이상의 저항성을 보였고 흑응애는 19계통이 강하게 나타났다. 100과 생중은 불로보다 무거운 계통이 21계통이었고 그 중 3계통이 200g 이상 이었다. 과육비율은 CBP03310-250 계통은 96.0%로 높게 나타났고 과당 종자수는 10개 미만인 계통은 7계통이었고 CBP03310-1계통이 6.3개로 가장 적었다. 열매의 베타인 함량은 불로의 0.70%보다 높은 계통이 24계통으로 그 중 8계통이 1%이상이었으며 CBP03309-67계통이 1.24%로 베타인 함량이 높았다. 건과 수량은 불로보다 높은 계통이 21계통이었고 CBP02239-97, CBP03302-5, CBP03310-250 계통 등은 수량성이 높아 유망시 되었다.

생산력검정 본 시험 결과 무방제하에서의 병해충 저항성은 흑응애는 CBP02247-103 등 4계통이 흑응애 피해엽율이 10%이하로 강하였다. 탄저병 이 병과율이 육성계통은 불로 71.2% 보다 적었고 CBP02242-2 계통은 27.2%로 가장 낮게 나타났다. 100과 생중은 불로보다 무거운 계통은 CB00156-101 등 5계통이었고 CBP00156-101계통이 175g으로 가장 무거웠다. 과육비가 90%이상 계통은 7계통으로 CBP02234-49계통이 92.6%로 가장 높았다. 과당 종자수는 불로 21.9개로 불로보다 씨가 적은 계통은 7계통 이었다. 열매의 베타인 함량은 청양 재래가 0.52%로 가장 낮았고 불로가 0.83%이었으며 CBP02242-2계통은 1.0%로 베타인 함량이 높았다. 건과 수량은 B0148-43계통이 불로 대비 125% 증수

되어 유망시 되었다.

2. 구기자 비가림 저농약 재배기술 연구

가. 비가림시설 병해충 발생 실태조사 및 방제력 작성

병해충 발생실태를 조사한 결과 흰가루병 등 9종의 병해충이 발생되었고 이중 7종이 중요 방제대상이었으며 실태조사한 것을 바탕으로 방제력을 작성하여 방제적기를 추정하면 흰가루병은 8월과 10월 발생이 심한데 7월, 9월경 발생 초기가 방제적기로 판단되며, 뒷면곰팡이병(*Pseudocercospora chengtuensis*)은 10월 발병이 최성기로 9월경 발병초기에 방제하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

총채벌레류(Thripidae)는 5월부터 발생하여 꾸준히 밀도가 증가하여 8월 9월 최고의 밀도를 보이는데 8월초가 방제적기로 판단되고 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)은 6월과 9월 발생초기에 방제하는 것이 좋다. 열점박이잎벌레(*Lema decempunctata*)는 6월 9월 발생이 많은 데 발생초기를 놓치지 않고 방제하는 것이 중요하고 왕담배나방(*Helicoverpa armigera*)은 9월 10월 발생하는데 발생시 초기에 방제하는 것이 좋으며, 점박이응애(*Tetranychus urticae*)도 발생빈도가 많지 않지만 발생시 초기에 방제하는 것이 좋을 것으로 사료되었다.

나. 병(흰가루병, 뒷면곰팡이병) 방제시험

흰가루병은 기계유유제인 디시트론 0.5%액을 살포하여 96.1%의 높은 방제가를 얻었으며 하절기에 *Ampelomyces quisqualis* 와 *Paenibacillus polymyxa* 미생물제제를 살포하여 각각 72.5, 68.9%의 방제가를 얻었으나 온도가 낮은 가을철에는 방제효과가 떨어졌다. 엽면시비용 4종복비인 올그린1호, 올그린알파2호는 10월 살포시는 방제가가 각각 81.9, 89.5%로 뛰어났으나 6월 살포시에는 잎 끝이 마르는 약해증상을 보여 하절기 사용을 삼가는 것이 좋을 것으로 사료되었다. 또한 은나노 제품인 Bio Plus Safe는 76.6%의 방제가로 약효가 뛰어났다.

뒷면곰팡이병은 기계유유제인 디시트론 0.5%액을 살포하여 79.3%의 높은 방제가로 방제 가능 하였고, 올그린알파2호로는 69.4%의 방제가로 방제할 수 있었다.

다. 해충(총채벌레, 열점박이잎벌레, 복숭아혹진딧물, 왕담배나방) 방제시험

총채벌레는 황색점착트랩(670×250mm)을 2m 간격으로 설치하여 69.4%의 방제효과로 방제가능 하였고, 열점박이잎벌레는 미생물제제인 진삼이플러스(*Bacillus subtilis*)로 방제하였을 때 78.6%의 방제가로 방제가능하였다.

복숭아혹진딧물은 콜레마니진디벌과 무당벌레로 각각 60.4, 66.4%의 방제가
로 방제할 수 있었으며, 왕담배나방은 병원성선충과 솔빛채(*Bacillus
thuringiensis*)로 각각 65.4, 77.8%의 방제가로 방제할 수 있었다.

라. 구기자 저농약 재배기술 농가실증

구기자 저농약 재배에 관심이 있는 청양군 대치면 상갑리 S, M 농가를 선
정하여 6월부터 방제력을 바탕으로 병해충발생을 예찰하여 방제시기 등을 결
정 친환경경제재 및 천적 등을 투입하여 저농약 실증재배를 성공하였다.

Contents

Summary	-----25
Chapter 1. Outline of Research	-----37
Section 1. Necessities of research	-----37
1. Technical needs	-----37
2. Economic and Industrial needs	-----37
3. Social and cultural needs	-----38
Section 2. Contents and Scope of Research	-----39
Chapter 2. Current research in <i>Lycium chinense</i>	-----40
Section 1. Development of boxthorn with fewer seeds and high yield	-----40
Section 2. Research of low agricultural chemical cultivation for Chinese matrimony cultivated in rain sheltered greenhouse	-----40
Chapter 3. Major Results	-----41
Section 1. Development of boxthorn with fewer seeds and high yield	-----41
1. Materials and Methods	-----41
A. Fruit characteristics and yield in internal and external germplasm	41
B. Fruit characteristics and yield in tetraploid line	-----41
C. Pedigree selection	-----41
D. Performance test	-----42
E. Analysis of betaine	-----42
2. Results and Discussion	-----42
A. Fruit characteristics and yield in internal and external germplasm	42
B. Fruit characteristics and yield in tetraploid line	-----47

C. Pedigree selection	50
D. Performance test	53
1) Preliminary yield trial	53
2) Advanced yield trial	64
 Section 2. Research of low agricultural chemical cultivation techniques for Chinese matrimony cultivated in rain sheltered greenhouse	
1. Materials and Methods	68
A. Occurrence and control calendar of diseases and pests in rain sheltered greenhouse	68
1) Occurrence of diseases and pests	68
2) Control calendar	68
B. Control of disease	68
1) Powdery mildew	68
(1) Oil emulsion materials	68
(2) Pro-environmental materials	68
2) Hypophyllous mold	68
C. Control of Pests	69
1) Thripidae	69
2) <i>Lema decempunctata</i>	69
3) Peach aphid(<i>Myzus pericae</i>)	69
4) Corn earworm(<i>Helicoverpa armigera</i>)	69
D. Actual proof of low agricultural techniques in rain sheltered greenhouse at Chinese matrimony farm	69
2. Results and Discussion	70
A. Occurrence and control calendar of diseases and pests in rain sheltered greenhouse	70
1) Occurrence of diseases and pests	70
2) Control calendar of diseases and pests	72
B. Control of disease	74
1) Powdery mildew	74
(1) Oil emulsion materials	74
(2) Pro-environmental materials	75

2) Hypophyllous mold -----	79
C. Control of Pests -----	80
1) Thripidae -----	80
2) <i>Lema decempunctata</i> -----	81
3) Peach aphid(<i>Myzus persicae</i>) -----	85
4) Corn earworm(<i>Helicoverpa armigera</i>) -----	86
D. Actual proof of low agricultural techniques in rain sheltered greenhouse at Chinese matrimony farm -----	87
 Chapter 4. Degree of goal achievement and contribution to relative branch -----	89
 Chapter 5. Application of research results -----	91
 Chapter 6. Reference -----	92

목 차

요약문	-----25
제 1 장 연구개발과제의 개요	-----37
제 1 절 연구의 필요성	-----37
1. 기술적 측면	-----37
2. 경제·산업적 측면	-----37
3. 사회적·문화적 측면	-----38
제 2 절 연구의 내용 및 범위	-----39
제 2 장 국내외 기술개발 현황	-----40
제 1 절 씨 적은 구기자 품종 육성	-----40
제 2 절 구기자 비가림 저농약 재배기술 연구	-----40
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	-----41
제 1 절 씨 적은 구기자 품종 육성	-----41
1. 실험방법 및 내용	-----41
가. 유전자원의 열매 특성 조사	-----41
나. 배수체 계통의 열매 특성 조사	-----41
다. 계통육성 시험	-----41
라. 생산력검정 시험	-----42
마. 베타인 분석	-----42
2. 결과 및 고찰	-----42
가. 유전자원의 열매 특성 조사	-----42
나. 배수체 계통의 열매 특성 조사	-----47
다. 계통육성 시험	-----50
라. 생산력검정 시험	-----53
1) 생산력검정 예비선택 시험	-----53
2) 생산력검정 본 시험	-----64

제 2 절 구기자 비가림 저농약 재배기술 연구	68
1. 실험방법 및 내용	68
가. 비가림시설 병해충 발생 실태 조사 및 방제력 작성	68
1) 비가림시설 병해충 발생 실태 조사	68
2) 방제력 작성	68
나. 병 방제 시험	68
1) 흰가루병	68
(1) 기계유유제와 파라핀유제를 이용한 방제	68
(2) 친환경제재를 이용한 방제	68
2) 뒷면곰팡이병	68
다. 해충 방제 시험	69
1) 총채벌레	69
2) 열점박이잎벌레	69
3) 복숭아혹진딧물	69
4) 왕담배나방	69
라. 구기자 비가림 저농약 재배기술 농가 실증	69
2. 결과 및 고찰	70
가. 비가림시설 병해충 발생 실태 조사 및 방제력 작성	70
1) 비가림시설 병해충 발생 실태 조사	70
2) 방제력 작성	72
나. 병 방제 시험	74
1) 흰가루병	74
(1) 기계유유제와 파라핀유제를 이용한 방제	74
(2) 친환경제재를 이용한 방제	75
2) 뒷면곰팡이병	79
다. 해충 방제 시험	80
1) 총채벌레	80
2) 열점박이잎벌레	81
3) 복숭아혹진딧물	85
4) 왕담배나방	86
라. 구기자 비가림 저농약 재배기술 농가 실증	87
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	89

제 5 장	연구개발결과의 활용계획	-----91
-------	--------------	---------

제 6 장	참고문헌	-----92
-------	------	---------

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구의 필요성

1. 기술적 측면

한방에서 구기자는 인삼 다음으로 약효가 뛰어나고 체력을 보하며 항노화 천연소재로 알려져 있어 예로부터 많이 사용되어 왔고 현대에는 가공식품에 첨가되어 사용되고 있다 그런데 최근 중국산 구기자의 수입 증가로 가격이 생산비에 밀도는 상황에서 우리나라 구기자 생산 농가의 활로를 찾는 것이 시급한 실정인데 현재 중국에서는 씨 없는 구기자를 개발 보급하여 구기자차, 구기자 주스, 구기자 발효주의 원료로 대량 사용하고 있으며 우리나라에도 수출하고 있다. 이렇게 중국과의 경쟁력이 날로 떨어지고 있는 실정에서 기술적 우위를 확보하기 위하여 씨가 아주 작거나 없는 구기자 품종을 개발하고 저농약으로 재배하여 이를 식품소재로 사용함으로써 구기자의 대량 소비를 촉진하고 중국과의 경쟁력을 확보할 필요가 있다.

구기자를 건강 기능성 식품 소재로 활용하기 위해서는 씨의 비중을 줄이고 과육과 과즙의 양을 늘려 가공적성을 높이기 위한 품종개발이 필요한데 배수체계통에서 과육비가 높은 경향이 있어 이를 이용한 연구의 필요성이 있다.

구기자의 병해충 방제와 저농약 재배에 관한 연구는 그 동안 많이 연구되어 구기자 흑응애는 저항성 품종인 명안, 청대 등으로, 또한 탄저병과 역병 등은 비가림재배로서 어느 정도 발생을 피할 수 있으나 기타 흰가루병, 뒷면곰팡이병, 진딧물, 총채벌레, 열점박이잎벌레 등은 현재 저농약 방제법의 개발이 이루어지지 않아 이에 대한 연구가 절실히 요구되고 있다.

2. 경제·산업적 측면

청양의 구기자는 전국 생산량의 80%를 차지하는 충남지역의 대표적인 특산물의 하나이며 청양지역의 주 소득원인데 2001년도 중국산구기자의 수입물량은 의약용 4톤, 식품원료 544톤으로 국내구기자 생산량을 상회하여(2000년도 국내구기자 생산량 500톤) 이에 따른 가격하락으로 농가의 소득이 감소하고 있다.

최근 중국산 구기자에서 금지농약이 검출되어 구기자에 대한 불신이 증폭되고 있으므로 중국산 구기자와 차별화를 하기 위해서는 저농약재배로 고품질 구기자의 생산이 필수적이며 씨 없거나 적은 구기자를 식품소재로 활용하여 고부가가치의 제품을 대량생산하는 것이 요구되고 있다.

구기자는 유용한 효능이 많음에도 불구하고 홍보부족으로 소비가 활성화되지 않은 상태이고 씨 적은 구기자 품종을 개발하여 다류, 음료, 주류 재료를 위한 기능성 식품 소재로 개발하면 그 수요가 크게 증가할 것으로 예상 된다

3. 사회·문화적 측면

구기자는 농약을 많이 투입하는 작물로 인식되어 주로 한약재로 사용되고 있으며 식품으로 사용하는 것을 소비자들이 기피하고 있는 데 저농약 재배기술의 개발로 소비자 인식전환 및 소비촉진을 꾀할 수 있으며 재배농민의 자긍심을 높일 수 있을 것이다

본 연구에서는 중국 구기자와의 경쟁력을 갖추기 위하여 저농약 재배기술을 확립하고 수요 확대를 위하여 씨 적은 구기자 품종을 육성하며, 간기능과 시력보호, 성인병에 관여하는 기능성 성분을 타 생약과 비교 검토한 다음 고품질 구기자를 이용한 건강식품을 개발하여 보급할 필요가 있다.

제 2 절 연구의 내용 및 범위

구분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도	● 씨 적은 구기자 유전 자원 수집 조사 및 인공 교배 ● 저농약 재배기술 확립	● 국내외 유전자원 수집 및 열매 특성조사 ● 배수체 계통에 대한 특성 조사 ● 인공 교배 ● 비가림시설 병해충 발생 실태 조사 ● 흰가루병 방제법시험 ● 총채벌레, 열점박이잎벌레 방제법 시험
2차 년도	● 씨 적은 우량 계통 선발 ● 저농약 재배, 포장 실증 시험	● 인공 교배 ● 우량계통 선발 ● 우량계통 생산력검정 시험 ● 흰가루병, 뒷면곰팡이병 방제법 시험 ● 진딧물, 열점박이잎벌레, 왕담배나방 방제법 시험
3차 년도	● 씨 적은 구기자의 생산력 검정 ● 저농약 재배기술의 농가 실증 시험	● 인공 교배 ● 우량계통 선발 ● 우량계통 생산력검정 시험 ● 흰가루병 방제시험 ● 열점박이잎벌레 방제시험 ● 농가 실증시험

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 씨 적은 구기자 품종 육성

중국에서는 구기연구소가 1985년에 설립되어 신품종 육성 및 기능성 성분에 대한 동물 및 임상실험 등 연구체계가 기 확립되어 있어 기능성 식품가공 연구가 활발하게 진행되고 있는 실정이다. 우리나라의 경우 구기자에 대한 홍보부족 및 효능에 대한 연구와 더불어 구기를 이용한 가공식품 연구 및 그에 관련된 기능성연구의 뒷받침이 절실하게 부족하다.

중국에서는 씨 적은 구기자가 개발 보급되어 중국 영하지역에서 대량 생산되고 있으며 2001년 8월 Ningxia에서 “International Symposium on Lycium and Antiaging Agents.”를 개최하여 구기자를 새로운 기능성 식품으로 세계 시장에 내놓고 있다 한편 우리나라에서는 청양구기자시험장에서 구기자 5품종의 신품종 명안, 불로, 청대, 장명, 청운을 개발하였으나 주로 내병충, 대과, 다수성을 목적으로 하여 육성되었으며 가공적성에 적합한 씨 적은 구기자 육성에 대한 연구는 이루어져 있지 않은 실정이다.

제 2 절 구기자 비가림 저농약 재배기술 연구

중국구기자의 최대산지인 영하회족 자치구는 연간 강우량이 한국의 1/10정도로 병해충의 발생이 적어 고품질 구기자의 생산이 용이하고 인건비가 저렴하여 우리나라 구기자의 생산경쟁력을 위협하고 있다.

구기자 재배에서 가장 큰 수량감소 요인인 탄저병균은 *Colletotrichum acutatum* 과 *Colletotrichum dematium* 등의 4종으로 동정되었으며(이보희, 충남대석사논문) 7월부터 발생하여 8월하순 발생이 최고였고('01~'04 탄저병발생소장, 청양구기자시험장) 비가림 재배시 95%이상의 발생억제 효과가 있었다('98 청양구기자시험장).

구기자에 발생하여 큰 피해를 주는 흰가루병균은 *Arthrocladiella mougeotii* (lev.) Vassilkov으로(신현동, 한국식물병리학회지) 계면활성제인 Tween20을 200배 처리하면 방제가가 81.4%로 약효가 인정 되었으며, 소다 300배를 혼합처리 시는 92%의 높은 방제효과를 보여 주었다('04 청양구기자시험장).

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 씨 적은 구기자 품종 육성

1. 실험방법 및 내용

가. 국내외 유전자원의 열매특성 조사

씨 적은 구기자 육종자원으로 이용하기 위해 구기자시험장에서 유지, 보존하고 있는 유전자원 97 품종 및 계통에 대하여 열매특성을 조사하였다. 재식거리는 120×40cm로 하여 두둑을 형성한 후 배색비닐을 멀칭하고, 시비량은 N-P₂O₅-K₂O는 40-30-30kg/10a으로 질소는 기비 60%, 추비 20%씩 2회 분시하고, 인산은 전량 기비로 사용하였다. 퇴비는 10a당 3,000kg을 전량 기비로 사용하였다. 과육비는 과육 무게×100/생과중으로 하여 10과씩 조사하였고 과육무게는 열매의 씨를 제거한 후 무게를 평량하였다. 종자 무게는 열매에서 제거된 종자를 건조 후 1000립중을 조사하였고 특성조사는 농촌진흥청 농사시험연구조사 기준에 준하여 조사하였다.

나. 배수체 계통에 열매특성 조사

구기자시험장에서 육성한 신품종 볼로, 청대, 명안과 청양재래, 영하 수집종에서 유기한 배수체 9계통에 대하여 열매특성을 조사하였다. 재식거리 및 재배법은 유전자원 재배시험구와 동일하고 특성조사도 농촌진흥청 농사시험연구조사 기준에 준하여 조사하였다.

다. 계통육성 시험

인공교배는 8월~9월 사이 시험포장에서 실시하였으며 교배방법은 모본을 개화 1일전 화퇴 상태에서 제웅을 한 후 밀봉하여 다음날 부본을 인공 교잡시킨 후 유산지 봉투를 씌워 약 40일 후 열매가 성숙한 다음 수확을 하여 종자를 채취하였다.

F₁ 종자 과중은 2월 하순경에 유리온실 내에서 육묘상자에 1개체씩 과중하였으며, 본포 정식은 4월하순경에 재식거리 120×40cm로 두둑을 형성한 후 배색비닐을 멀칭하고 정식하였다. 시비량은 N-P₂O₅-K₂O = 40-30-30kg/10a으로 질소와 가리는 기비 60%, 추비 20%씩 2회 분시하고 인산은 전량 기비로 사용하였다. 퇴비는 10a당 3,000kg을 전량 기비로 사용하였으며 적심은 40cm정도 생장시 1차 적심을 하고 이후 30cm 생장시 2회 실시하였다. 기타 재배법은 청양구기자시험장 표준재배법에 준하여 실시하였으며 생육특성은 수형, 흑응애 등 선발에 필요한 특성을 조사하였다.

라. 생산력검정 시험

1) 생산력검정 예비선발시험

생산력검정 예비선발 시험은 계통육성에서 선발된 개체를 영양체로 선발하여 충실한 가지 15~20cm 정도의 삽수 채취하여 재식거리 120×40cm로 하여 두둑을 형성한 후 배색비닐을 멀칭하고 4월 상순경에 본포에 직접 삽식 하였다. 시비량 및 퇴비는 계통육성 시험에서와 같이 시용하였다. 적심은 5월, 6월, 7월 중순경 3회 실시하였으며 적심방법은 신초가 40cm 생장시 1차 적심하고 이후 30cm 생장시 적심을 하여 2회 실시하였다.

특성조사는 농촌진흥청 농사시험연구조사 기준에 준하여 조사하였고, 과장, 과경 및 과육비는 수확시 중용인 10과씩 조사하였다. 100과중은 수확시 100개의 열매를 60℃에서 26시간 열풍건조 후 무게는 평량하여 나타내었으며 착과수는 구당 중용인 3주씩 수확 시마다 성숙개체를 조사하였다. 열매 수량은 수확 후 물로 세척하여 열풍건조기를 이용하여 60℃에서 26시간 건조 후 평량하여 10a로 환산하였다. 병해충 조사는 포장에서 흑응애와 탄저병은 달관 조사하였다.

2) 생산력검정 본 시험

생산력검정 본시험은 생산력검정 예비선발시험에서 선발된 우량계통을 영양체로 선발하여 삽목, 시비량, 적심방법, 생육특성조사, 열매조사, 수량조사 등은 생산력검정예비 선발시험에서와 같은 방법으로 실시하였으며 병해충은 흑응애와 탄저병을 자연발생 무방제 상태에서 발생 최성기에 조사하였으며 시험구 배치는 난괴법 3반복으로 실시하였다.

마. Betaine 분석

분석용 열매는 8월에 수확하여 60℃ 26시간 건조 후 분쇄하여 사용하였다. 베타인 분석방법은 건조시료 10g에 증류수 100ml를 가하여 95℃ water bath에서 2회 추출한 후 추출액을 0.2μm membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다. 이때, 분석조건은 column은 Sugarpak I (waters), calcium cation exchange column 을 이용하였고, column 온도는 84℃로 하였다. 이동상은 HPLC grade water, 50mg/L calcium disodium EDTA이며 검출기는 굴절율 검출기(RI)로 유속은 0.6ml/min이었다. 이때, betaine의 함량 계산은 외부 표준법에 의하여 정량하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 유전자원의 열매특성 조사

1) 유전자원의 과육비 및 종자중 조사

시험장에서 유전자원으로 유지하고 있는 국내외 유전자원 97계통에 대하여 열

매 특성을 조사한 결과는 다음과 같다. 과육비는 90%이상이 2계통으로 2%이었고, 90~85%는 15계통, 85~80%는 32계통, 그리고 75%미만이 16계통이었다(표 1). 종자 1000립중 분포는 1g 미만이 1계통이었고, 1~2g은 2계통, 2~3g은 45계통이었고, 5g 이상은 1계통이었다(표 2).

Table 1. Germplasm distribution by flesh ratio.

Varieties and line	Flesh ratio (%)					Total
	90 >	90~85	85~80	80~75	75 <	
Number	2	15	32	32	16	97
Percentage	2.1	15.4	33.0	33.0	16.5	100

Table 2. Germplasm distribution by seed weight.

Varieties and line	1000 seeds dry weight (g)						Total
	1g >	1~2g	2~3g	3~4g	4~5g	5g <	
Number	1	2	45	43	5	1	97
Percentage	1.0	2.1	46.4	44.3	5.2	1.0	100

2) 유전자원 열매특성 조사

유전자원 중 과육비율이 높은 계통은 중국수집 5 계통이 93.0%로 가장 높았고 CL95-101계통은 92.9%, 중국수집 4 계통은 89.4%, CL70-177 계통이 89.3% 순으로 높았으나(표 3), 중국 수집종 11계통은 수량성이 대체로 낮게 나타났다.

Table 3. Fruit characteristics and yield in germplasm.

NO	Varieties and line	100 fruits fresh weight (g)	Seeds weight of 100 fruits (g)	Flesh ratio (%)	Number of seed per fruit	1000 seeds dry weight (g)	Yield (kg/10a)
1	Yuseong 1	59.8	13.0	78.3	13.4	3.53	190
2	Yuseong 2	112.4	23.0	79.5	32.5	3.01	275
3	Cheongyangjaerae	72.9	16.3	77.6	26.0	2.50	181
4	Jinbujarae	54.8	12.1	77.9	24.0	2.59	196
5	Jindojaerae	81.9	17.8	78.3	23.9	3.23	179
6	Kumsanjaerae	128.5	26.3	79.5	29.3	3.23	109
7	Haenamjaerae	103.9	20.9	79.9	26.1	3.33	224
8	China 1	60.9	14.5	76.2	27.6	2.21	223
9	China 1	72.5	14.7	79.7	24.6	3.02	255
10	Youngha	56.0	7.2	87.1	15.8	1.99	85
11	Japan 1	73.1	11.8	83.9	11.4	3.56	300
12	Myeoungan	78.7	20.8	73.6	30.3	3.17	197
13	Cheongyangjong	206.9	14.2	82.0	19.4	2.98	291
14	Bulro	100.5	17.9	82.2	27.9	2.52	406
15	Cheongdae	137.8	29.8	78.4	28.3	3.65	258
16	Jangmyeoung	150.9	23.7	84.3	28.6	3.77	225
17	Cheongun	67.0	11.1	83.4	15.2	2.90	281
18	Yuseong 2(S) ⁶⁰ Co6KR,E0.5	83.5	17.5	79.0	20.0	3.42	306
19	Yuseong 1(S) ⁶⁰ Co3KRE0.3	73.7	11.4	84.5	17.1	2.76	268
20	CY L1	77.1	15.6	79.8	29.0	2.21	397
21	Cheongyangjaerae 2	65.7	17.5	73.4	22.0	2.72	264
22	Yuseong 2(S) ⁶⁰ Co3KR-4	58.4	14.9	74.5	17.7	2.38	250
23	Cheongyangjaerae 2(S) ⁶⁰ Co3KR	84.1	19.6	76.7	22.0	2.92	204
24	Yuseong 2(S) ⁶⁰ Co3KR-2	133.1	22.9	82.8	39.6	2.70	244
25	Cheongyangjaerae 8	93.2	17.5	81.2	26.3	2.90	204
26	CL129-145	204.6	33.0	83.9	37.8	3.49	181
27	CL1-117	62.5	10.7	82.9	14.9	3.33	291
28	CL6-1	82.4	15.2	81.6	23.6	2.79	260
29	CL124-123	129.0	16.9	86.9	16.1	4.05	137
30	CL129-161	247.8	26.6	89.3	29.4	3.75	99

NO	Varieties and line	100 fruits fresh weight (g)	Seeds weight of 100 fruits (g)	Flesh ratio (%)	Number of seed per fruit	1000 seeds dry weight (g)	Yield (kg/10a)
31	CL5-8	45.7	12.7	72.2	23.2	2.59	330
32	Youngha(C) ⁶⁰ Co3KR	61.6	6.7	89.1	8.6	2.77	216
33	CL6-B-55	67.5	13.4	80.1	20.0	3.04	288
34	CL7-20	82.0	22.3	72.8	22.9	2.45	220
35	CL28-	69.9	13.6	80.5	20.5	2.90	332
36	CL24-	87.2	16.1	81.5	19.7	2.93	198
37	CL33-84	75.3	14.3	81.0	20.9	2.83	207
38	CL24-53	95.4	14.5	84.8	21.5	3.00	276
39	CL6-B-54	56.7	14.5	74.4	29.0	2.13	351
40	CL28-44	102.9	17.2	83.3	11.8	5.05	257
41	CL32	47.6	13.5	71.6	24.6	2.32	280
42	Yuseong 2(S) ⁶⁰ Co3KR-3	91.2	15.1	83.4	19.9	2.51	-
43	CL3-21	75.5	20.1	73.4	29.6	2.58	-
44	CL31-15	84.3	21.3	74.7	35.9	2.46	-
45	CL32-13	75.6	17.6	76.7	36.4	2.32	-
46	Cheongyangjaerae 5(S) ⁶⁰ Co6KR	119.3	26.2	78.0	27.1	3.38	145
47	Yuseong 1(S) ⁶⁰ Co6KR	90.1	19.8	78.0	26.8	3.03	20
48	CL28-225	85.1	18.0	78.8	26.0	3.04	341
49	CL54-58	69.2	16.1	76.7	23.5	2.75	461
50	CB00149-6	100.8	59.8	40.7	13.5	3.04	108
51	China native 1	70.0	8.5	87.9	9.4	3.28	3
52	China native 2	57.7	16.7	71.1	20.3	3.50	14
53	China native 3	69.0	9.6	86.1	10.3	2.07	234
54	China native 4	151.6	15.5	89.8	16.2	3.90	5
55	China native 5	44.5	3.1	93.0	17.5	0.95	-
56	China native 6	80.1	16.1	79.9	24.9	2.93	328
57	China native 7	66.0	14.3	78.3	21.8	2.42	106
58	China native 8	69.0	10.5	84.8	15.9	2.67	103
59	CL1-8	101.0	23.0	77.2	32.6	2.73	144
60	CL2-8	88.8	20.9	76.5	27.4	2.52	307
61	CL2-32	43.8	11.3	74.2	24.5	1.63	368
62	CL8-B-60	89.6	18.4	79.5	16.3	3.12	399
63	CL8-B-66	108.0	17.5	83.8	20.1	3.42	78
64	CL105-84	126.2	18.5	85.3	19.1	3.73	140
65	CL15-94	67.7	11.3	83.3	15.3	2.74	173

NO	Varieties and line	100 fruits fresh weight (g)	Seeds weight of 100 fruits (g)	Flesh ratio (%)	Number of seed per fruit	1000 seeds dry weight (g)	Yield (kg/10a)
66	CL15-106	96.2	18.2	81.1	18.8	3.00	339
67	CL31-83	90.3	23.6	73.9	25.2	4.01	386
68	CL33-B-11	104.9	18.1	82.7	22.6	3.54	246
69	CL34-B-78	87.4	20.0	77.1	30.5	2.94	99
70	CL34-50	120.2	18.5	84.6	26.9	3.26	261
71	CL35-55	103.1	18.0	82.5	23.5	3.14	193
72	CL37-4	94.3	17.6	81.3	20.9	3.21	116
73	CL38-77	112.3	22.5	80.0	28.6	3.36	229
74	CL38-111	121.8	34.6	71.6	38.5	3.70	100
75	CL42-17	102.4	21.6	78.9	25.6	3.53	333
76	CL123-575	132.2	26.7	79.8	30.5	3.39	123
77	B0148-10	124.1	21.4	82.8	25.9	3.51	214
78	CL54-36	98.1	15.1	84.6	21.3	3.05	306
79	CL54-82	68.6	14.8	78.4	16.8	2.30	345
80	CL58-39	68.9	14.0	79.7	23.8	2.40	337
81	CL58-83	86.5	19.9	77.0	28.8	2.90	380
82	CL58-95	51.7	14.3	72.3	27.0	2.27	428
83	CL55-54	75.9	16.9	77.7	13.8	2.80	306
84	CL57-157	123.6	15.7	87.3	14.6	4.02	312
85	CL58-114	95.0	20.1	78.8	27.9	3.17	362
86	CL60-1	110.5	15.4	86.1	25.2	2.70	228
87	CL63-202	84.6	21.3	74.8	21.7	4.30	300
88	CL70-21	123.6	18.0	85.4	17.2	4.18	254
89	CL70-177	110.2	11.7	89.4	13.5	3.29	366
90	CL74-50	110.6	19.5	82.4	24.2	3.81	352
91	CL81-30	83.6	9.2	89.0	15.1	2.87	338
92	CL89-55	127.2	27.8	78.1	30.7	2.94	231
93	CL89-123	123.0	15.4	87.5	21.3	2.44	123
94	CL89-124	146.1	22.0	84.9	25.6	3.24	262
95	99892	88.5	12.6	85.8	21.9	3.16	-
96	CL95-101	116.2	8.2	92.9	9.9	3.60	54
97	CL129-145	77.8	13.1	83.2	21.2	2.19	232

나. 배수체 계통의 열매특성 조사

시험장에서 육성한 신품종 불로, 청대, 명안과 청양재래, 영하 수집종으로 부터 유기한 배수체 9계통의 열매특성을 조사한 결과는 다음과 같다. 배수체 계통의 과장은 B0148-43 계통이 18.3mm로 길었고, 과경은 D0148-62 계통이 11.3mm로 가장 컸으며 100과중도 23.8g으로 무거웠고 수량도 223kg/10a로 청양재래 99kg/10a, 불로 203kg/10a보다 높아(표 4) 교배 모본으로 유용하였다.

Table 4. Fruit characteristics and yield in tetraploid line.

Varieties and line	Fruit		Number of fruits per plant	100 fruits dry weight (g)	Yield (kg/10a)	Parent
	Length (mm)	Diameter (mm)				
Cheongyangjaerae	16.1	8.9	251	15.2	99	Check
Bulro	17.7	9.1	917	16.6	208	Standard
99148-10	15.6	9.6	503	16.9	166	Cheongyang-jaerae
99412-1	15.7	9.8	584	15.5	133	Cheongyang-jaerae
B0148-43	18.5	9.2	727	17.8	209	Bulro
B0148-78	16.8	8.6	734	14.8	176	Bulro
C0148-94	14.2	10.6	868	20.9	219	Cheongyang
D0148-62	15.9	11.3	586	23.8	223	Cheongdae
D0148-72	15.4	11.2	709	21.3	206	Cheongdae
Y0148-2	15.3	9.5	329	15.6	125	Youngha
Y0148-24	15.9	9.2	359	15.1	118	Youngha

100과 생중은 불로 127.7g 보다 배수체 계통이 무거웠으며 불로에서 유기된 배수체 계통인 B0148-78과 B0148-43이 각각 195.3g, 185.7g 으로 가장 무거웠고, 과육비는 영하에서 유기된 계통인 Y0148-24이 97.5%로 가장 높았고 과당 종자수도 11.9개로 가장 적었고, 종자 1000립중도 3.28g으로 가장 낮게 나타났다. 배수체 9계통 중 7계통의 과육비가 90%이상으로 높게 나타났다. 수량성은 청양재래 99kg/10g보다 배수체 계통이 모두 높았고, D0148-62계통은 223kg/10a, C0148-94계통은 219kg/10a, B0148-43계통은 209kg/10a으로 다수성 품종인 불로 208kg/10a 보다 높게 나타났다(표 5). 따라서 신품종 불로에서 유기된 배수체 계통인 B0148-43은 과육비, 수량성이 모본인 불로와 비교할 때 높아 유망시 되었으며 영하종에서 유기된 배수체 Y0148-24 계통은 과육비가 97.5%로 가장 높아 교배 모본으로서 활용이 높다고 생각되었다.

Table 5. Flesh ratio and fruit characteristics in tetraploid line.

Varieties and line	100 fruits fresh weight (g)	Flesh ratio (%)	Number of seed per fruit	1000 seeds dry weight (g)
Cheongyangjaerae	96.2	82.4	25.2	3.75
Bulro	127.7	91.8	23.6	3.45
99148-10	174.7	95.2	19.4	4.46
99412-1	141.0	94.0	17.6	4.97
B0148-43	185.7	94.5	18.7	5.21
B0148-78	195.3	94.3	18.9	4.74
C0148-94	142.7	90.4	20.6	5.37
D0148-62	178.0	89.4	23.3	6.05
D0148-72	181.0	89.9	21.4	6.68
Y0148-2	128.3	94.5	15.3	3.75
Y0148-24	175.0	97.5	11.9	3.28



Cheongyangjaerae Bulro 99148-1 D0148-72 Y0148-24

Figure 1. Flowers and fruits of tetraploid line.



$2n=24(2X)$



$2n=48(4X)$

Fig. 2. Comparison of chromosome in Cheongyangjaerae and tetraploid line

다. 계통육성시험

씨적은 구기자 우량계통을 육성하기 위하여 2002년도 19조합, 2003년 16조합, 2004년 14조합 합계 49조합을 인공교배 하였으며 교배조합은 표 6과 같다.

Table 6. Artificial crossing combinations for fewer seeds and high yield of boxthorn from 2002 to 2004.

NO	2002	2003	2004
1	99412-1 / Y0148-2	99148-10 / CB00173-49	99148-10 / Cheongyang-jaerae
2	D0148-73 / Y0148-2	99424- 9 / CB00156-101	B0148-43 / Bulro
3	C0148-94 / Y0148-2	B0148-123 / CB00173-49	B0148-43 / Y0148-2
4	Y0148-2 / 99412-1	B0148-123 / CB00156-101	Y0148-2 / Youngha
5	Y0148-2 / B0148-78	Y0148-2 / CB00173-49	Youngha / Y0148-2
6	Y0148-2 / D0148-73	Y0148-2 / CB00156-101	Bulro / B0148-43
7	Y0148-2 / C0148-94	Cheongyang 6 / 99148-10	99148-10 / C0148-94
8	Bulro / B0148-78	Cheongyang 6 / Y0148-24	99148-10 / Y0148-2
9	Bulro / 99412-1	Cheongyang 5 / 99148-10	99412-1(S)
10	Y0148-2 / Cheongdae	Cheongyang 5 / Y0148-24	B0148-43(S)
11	Y0148-2 / Cheongyang 6	B0148-123 / Cheongyang 6	C0148-94(S)
12	Cheongyang 6 / Y0148-2	CBP02237-63 / B0148-123	D0148-62(S)
13	Cheongyang 5 / Y0148-2	CBP02239-97 / B0148-123	D0148-24(S)
14	B0148-78 / Y0148-2	CBP02239-97 / 99148-10	CBP03297-42(Balk)
15	Y0148-24 / B0148-124	CBP02234-84 / B0148-123	-
16	Y0148-24 / 99148-10	D0148-42(Balk)	-
17	9966-64 / 99412-1	-	-
18	Y0148-2(s)	-	-
19	Y0148-24(s)	-	-
19 combination			16 combination
			14 combination

인공교배 한 종자를 채취하여 조합별로 계통을 육성하여 수형, 열매크기, 착과 상태, 엽형, 크기, 색 등 선발에 필요한 특성을 조사한 후 우량개체를 선발하였는데 선발한 결과는 표 7에서와 같이 2002년에는 19조합에서 1,209개체를 공시하여 15개체, 2003년 16조합 1,177개체를 공시하여 29개체, 2004년 14조합 959개체를 공시하여 13우량개체를 선발하였다. 선발한 우량계통은 생산력검정 예비선발시험에 공시하였다.

Table 7. Selection from breeding line for fewer seeds and high quality line from 2002 to 2004.

Year	BN	Breeding combination	Number	Selection
2002	CBP02234	99412-1 / Y0148-2	62	3
	CBP02235	D0148-73 / Y0148-2	88	1
	CBP02236	C0148-94 / Y0148-2	96	-
	CBP02237	Y0148-2 / 99412-1	87	1
	CBP02238	Y0148-2 / B0148-78	1	-
	CBP02239	Y0148-2 / D0148-73	152	4
	CBP02240	Y0148-2 / C0148-94	88	1
	CBP02241	Bulro / B0148-78	5	-
	CBP02242	Bulro / 99412-1	2	1
	CBP02243	Y0148-2 / Cheongdae	4	-
	CBP02244	Y0148-2 / Cheongyang 6	6	-
	CBP02245	Cheongyang 6 / Y0148-2	4	-
	CBP02246	Cheongyang 5 / Y0148-2	1	-
	CBP02247	B0148-78 / Y0148-2	135	3
	CBP02248	Y0148-24 / B0148-124	70	1
	CBP02249	Y0148-24 / 99148-10	46	-
	CBP02250	9966-64 / 99412-1	16	-
	CBP02251	Y0148-2(s)	278	-
	CBP02252	Y0148-24(s)	68	-
Total			1,209	15

Year	BN	Breeding combination	Number	Selection
2003	CBP02295	99148-10 / CB00173-49	47	1
	CBP02296	99424- 9 / CB00156-101	44	1
	CBP02297	B0148-123 / CB00173-49	71	3
	CBP02298	B0148-123 / CB00156-101	4	-
	CBP02299	Y0148-2 / CB00173-49	111	-
	CBP02300	Y0148-2 / CB00156-101	76	-
	CBP02301	Cheongyang 6 / 99148-10	158	4
	CBP02302	Cheongyang 6 / Y0148-24	10	1
	CBP02303	Cheongyang 5 / 99148-10	2	-
	CBP02304	Cheongyang 5 / Y0148-24	114	3
	CBP02305	B0148-123 / Cheongyang 6	5	1
	CBP02306	CBP02237-63 / B0148-123	60	-
	CBP02307	CBP02239-97 / B0148-123	9	1
	CBP02308	CBP02239-97 / 99148-10	23	3
	CBP02309	CBP02234-84 / B0148-123	81	1
	CBP02310	D0148-42(Balk)	362	10
Total			1,177	29
2004	CBP04358	99148-10 / Cheongyangjaerae	30	-
	CBP04359	B0148-43 / Bulro	12	-
	CBP04360	B0148-43 / Y0148-2	2	-
	CBP04361	Y0148-2 / Youngha	0	-
	CBP04362	Youngha / Y0148-2	20	-
	CBP04363	Bulro / B0148-43	42	1
	CBP04364	99148-10 / C0148-94	43	1
	CBP04365	99148-10 / Y0148-2	52	1
	CBP04366	99412-1(S)	113	2
	CBP04367	B0148-43(S)	14	-
	CBP04368	C0148-94(S)	113	1
	CBP04369	D0148-62(S)	55	-
	CBP04370	D0148-24(S)	36	1
	CBP04371	CBP03297-42(Balk)	427	6
Total			959	13
Total(2002~2004)			3,342	57

라. 생산력검정시험

1) 생산력검정 예비선택시험

2004년도 생산력검정 예비선택 공시계통의 특성은 표 8과 같다. 개화기는 불로와 CB00173-49계통이 6월 21일로 가장 빨랐으며 6월 30일 이전 개화된 조생종이 4계통이었고, 7월 1일~7월 10일 사이에 개화한 중생종은 CB02240-59 등 5계통이며 7월 11일 이후에 개화한 만생종은 CBP02234-49 등 11계통이었다.

수형은 모두 반직립이었으며 엽형은 타원형이 13계통, 피침형이 7계통이었다. 흑응애 발생은 CB00173-49 등 10계통이 강한 편이었고 청양재래 등 7계통은 약하였다. 탄저병은 불로 등 6계통이 중정도 이었고 청양재래 등 2계통은 약하였다(표 8).

100과 생중은 불로 123g보다 큰 계통은 CBP02239-149 등 3계통이었고 CBP02239-149계통이 144g으로 가장 무거웠다. 과육비는 불로가 90%이었으며 과육비가 90%이상인 계통은 12계통으로 CBP02234-28계통은 93.2%로 가장 높았다. 과당 종자수는 청양재래 24.6개, 불로 21.3개로 육성계통에서 적게 나타났는데 CBP02234-28 계통은 11.1개로 과당 종자수가 가장 적었다. 종자 1000립중은 불로가 2.61g으로 청양재래 3.09g보다 적었으며 육성계통중 CBP02234-8 계통은 2.04g으로 가장 적었다(표 10).

과장은 CB00173-49계통이 22.4mm로 가장 컸고 과경은 CB00156-101 계통이 11.6mm로 컸다. 열매의 베타인 함량은 불로의 0.81%보다 높은 계통이 14계통이었으며 함량이 1%이상인 계통은 8계통으로 육성계통에서 베타인 함량이 높았다. 수량은 CBP02239-97 계통이 176kg/10a로 청양재래 85kg/10a보다 107%가 증수되었고 불로 117kg/10a 보다 수량이 높은 5계통이 유망시 되었다.

Table 8. Growth characteristics and flowering time of varieties and line in preliminary yield trial(2004).

Varieties and line	Flowering time	Plant shape	Leaf shape	Eriophyid mite (0~9) ^z	Anthraxnose (0~9)
Cheongyangjaerae	6. 23	Seniupright	Ellipsoidal	9	9
Bulro	6. 21	Seniupright	Lanceolate	7	5
CB00173-49	6. 21	Seniupright	Lanceolate	1	5
CB00156-101	7. 9	Seniupright	Ellipsoidal	5	5
CBP02234-49	7. 25	Seniupright	Ellipsoidal	1	5
CBP02237-46	7. 16	Seniupright	Ellipsoidal	3	7
CBP02239-32	7. 16	Seniupright	Ellipsoidal	3	7
CBP02239-97	7. 24	Seniupright	Ellipsoidal	1	7
CBP02239-143	7. 20	Seniupright	Ellipsoidal	9	9
CBP02239-149	7. 8	Seniupright	Ellipsoidal	5	5
CBP02240-59	7. 4	Seniupright	Lanceolate	1	7
CBP02242-2	7. 12	Seniupright	Ellipsoidal	9	7
CBP02247-11	7. 10	Seniupright	Lanceolate	9	7
CBP02247-44	7. 15	Seniupright	Lanceolate	9	5
CBP02247-103	7. 16	Seniupright	Lanceolate	3	7
CBP02248-3	7. 19	Seniupright	Ellipsoidal	1	7
CBP02234-28	7. 11	Seniupright	Lanceolate	1	7
CBP02235-5	7. 20	Seniupright	Ellipsoidal	9	7
CBP02234-84	7. 14	Seniupright	Ellipsoidal	1	7
B0148-43	6. 28	Seniupright	Ellipsoidal	9	7

^z : Infection degree ; 0. non infection, 1. less than 1%, 3. 2~10% infection,
5. 11~20% infection, 7. 21~41% infection, 9. over than 41%.

Table 9. Growth characteristics of varieties and line in preliminary yield trial(2004).

Varieties and line	Stem diameter (mm)	No. of stem per plant	No. of branch per plant		
			1st	2nd	3rd
Cheongyangjaerae	7.6	3.0	21.2	42.8	13.0
Bulro	11.8	2.2	23.0	76.0	28.4
CB00173-49	8.8	2.2	17.6	31.2	8.4
CB00156-101	9.2	4.2	25.6	56.8	18.0
CBP02234-49	9.7	2.4	23.6	59.8	10.6
CBP02237-46	11.9	2.2	15.8	36.0	22.4
CBP02239-32	8.8	2.0	22.2	44.4	14.6
CBP02239-97	9.7	2.8	18.6	58.2	16.0
CBP02239-143	8.1	1.4	9.8	18.0	4.0
CBP02239-149	10.4	2.2	18.4	49.8	13.0
CBP02240-59	10.2	2.2	22.2	27.8	2.8
CBP02242-2	10.3	1.8	15.4	25.4	8.2
CBP02247-11	9.7	2.4	21.0	59.8	14.0
CBP02247-44	9.9	2.0	20.4	68.8	18.4
CBP02247-103	8.9	2.4	18.4	50.8	10.6
CBP02248-3	10.3	3.0	17.6	52.6	10.0
CBP02234-28	9.2	1.8	16.2	50.0	5.8
CBP02235-5	11.8	1.4	18.2	30.4	14.2
CBP02234-84	9.5	2.4	41.2	104.2	26.8
B0148-43	9.5	2.8	22.8	63.4	20.6

Table 10. Fruit characteristics and yield of varieties and line in preliminary yield trial(2004).

Varieties and line	100 fruits fresh weight (g)	Seeds weight of 100 fruits (g)	Flesh ratio (%)	Number of seed per fruit	1000 seeds dry weight (g)
Cheongyangjaerae	114	15.7	86.2	24.6	3.09
Bulro	123	12.3	90.0	21.3	2.61
CB00173-49	120	10.0	91.7	18.7	2.66
CB00156-101	141	11.3	91.9	20.3	2.87
CBP02234-49	90	9.7	89.3	13.8	3.29
CBP02237-46	62	7.3	88.1	16.4	2.51
CBP02239-97	123	11.0	91.1	15.0	3.65
CBP02239-143	123	12.7	89.7	13.5	3.72
CBP02239-149	144	13.3	90.8	15.3	4.47
CBP02240-59	95	7.7	92.0	12.1	3.30
CBP02242-2	112	10.3	90.8	14.3	3.61
CBP02247-11	96	9.3	90.3	13.9	3.88
CBP02247-44	89	8.3	90.6	11.8	3.34
CBP02247-103	86	7.7	91.1	13.7	3.15
CBP02248-3	135	9.7	92.8	12.1	3.22
CBP02234-28	78	5.3	93.2	11.1	2.66
CBP02235-5	120	8.7	92.8	12.5	3.42
CBP02234-84	75	8.7	88.4	22.5	2.04
B0148-43	123	13.0	89.5	21.0	2.99

Table 11. Fruit characteristics and yield of varieties and line in preliminary yield trial(2004).

Varieties and line	Fruit		Betaine content of fruit (%)	Yield((kg/10a)	
	Length (mm)	Diameter (mm)		Dry fruit weight	Index (%)
Cheongyangjaerae	18.0	9.2	0.75	85	86
Bulro	18.7	9.2	0.81	99	100
CB00173-49	22.4	9.1	1.17	49	50
CB00156-101	19.7	11.6	1.03	154	156
CBP02234-49	16.9	8.9	1.02	113	114
CBP02237-46	17.3	7.5	1.18	68	69
CBP02239-97	16.9	9.4	0.98	176	178
CBP02239-143	13.4	11.1	1.16	67	68
CBP02239-149	18.5	9.6	0.99	169	171
CBP02240-59	14.4	8.8	1.07	75	80
CBP02242-2	17.2	9.5	0.71	94	95
CBP02247-11	20.5	7.9	0.84	42	42
CBP02247-44	18.1	7.6	0.85	67	68
CBP02247-103	17.1	8.1	0.90	89	90
CBP02248-3	17.7	10.0	0.84	28	28
CBP02234-28	16.7	7.7	1.19	55	56
CBP02235-5	17.2	9.0	0.80	46	47
CBP02234-84	16.0	8.0	1.17	78	79
B0148-43	18.6	9.1	0.78	106	107



Figure 3. Fruit of quality line in preliminary yield trial(2004).

2005년도 생산력검정 예비선발 공시계통의 특성을 조사한 결과는 다음과 같다. 개화기는 불로가 6월 20일로 가장 빨랐으며 6월 30일 이전 개화된 조생종이 12계통이었고, 7월 1일~10일 사이에 개화한 중생종은 CBP03297-43 등 6계통이며 7월 10일 이후에 개화된 만생종은 13계통이었다. 수형은 CBP03295-6계통은 직립이었고 다른 계통은 반직립이었으며 엽형은 타원형이 19계통, 광타원형이 8계통, 피침형이 4계통이었다. 흑응애 발생은 CBP03304-41 등 12계통이 강한 편이었고 청양채래 등 19계통은 약하였다(표 12).

100과 생중은 불로 134g보다 큰 계통은 CBP03295-6 등 18계통이었고 CBP03305-5계통이 223g으로 가장 무거웠고 200g 이상 대과종인 계통은 3계통이었다. 과육비는 불로가 90.1%이었으며 과육비가 90%이상은 21계통으로 CBP03310-250계통은 96.0%로 가장 높았다. 과당 종자수는 청양채래 24.1개, 불로 17.9개로 불로보다 씨가 적은 계통은 22계통이었으며 과당 종수가 10개 미만 계통은 7계통으로 CBP03310-1이 6.3개로 가장 적었다(표 14).

과장은 CB03310-130계통이 23.5mm로 가장 컸고 과경은 CB03297-44계통이 12.46mm로 컸다. 열매의 베타인 함량은 불로의 0.70%보다 높은 계통이 24계통이었으며 함량이 1%이상인 계통은 8계통이었고 CBP03309-67계통은 1.24%로 베타인 함량이 높았다.

Table 12. Growth characteristics, flowering time and resistance to disease and pest of varieties and line in preliminary yield trial(2005).

Varieties and line	Flowering time	Plant shape	Leaf shape	<i>Eriophyid</i> mite (0~9) ^z	Anthracnose (0~9)
Cheongyang-jaerae	6. 22	Semiupright	Ellipsoidal	9	7
Bulro	6. 20	Semiupright	Lanceolate	9	3
CBP03295-6	7. 18	Upright	Wide-ellipsoidal	3	1
CBP03296-44	7. 15	Semiupright	Wide-ellipsoidal	9	3
CBP03297-42	6. 22	Semiupright	Ellipsoidal	7	3
CBP03297-43	7. 1	Semiupright	Ellipsoidal	7	1
CBP03297-44	7. 6	Semiupright	Wide-ellipsoidal	5	1
CBP03301-6	7. 18	Semiupright	Wide-ellipsoidal	9	1
CBP03301-21	7. 15	Semiupright	Ellipsoidal	9	1
CBP03301-41	7. 14	Semiupright	Ellipsoidal	7	3
CBP03301-130	7. 15	Semiupright	Ellipsoidal	7	3
CBP03302-5	7. 12	Semiupright	Ellipsoidal	9	3
CBP03304-41	7. 18	Semiupright	Wide-ellipsoidal	1	1
CBP03304-74	6. 24	Semiupright	Ellipsoidal	1	1
CBP03304-114	6. 25	Semiupright	Wide-ellipsoidal	1	3
CBP03305-5	7. 3	Semiupright	Wide-ellipsoidal	1	3
CBP03307-45	7. 14	Semiupright	Ellipsoidal	7	1
CBP03308-19	7. 4	Semiupright	Ellipsoidal	7	1
CBP03308-20	7. 11	Semiupright	Ellipsoidal	1	1
CBP03308-22	6. 25	Semiupright	Lanceolate	3	3
CBP03309-67	6. 23	Semiupright	Ellipsoidal	1	3
CBP03310-1	6. 23	Semiupright	Lanceolate	1	3
CBP03310-7	6. 24	Semiupright	Ellipsoidal	1	3
CBP03310-83	7. 13	Semiupright	Lanceolate	1	1
CBP03310-84	6. 30	Semiupright	Ellipsoidal	1	1
CBP03310-113	6. 24	Semiupright	Ellipsoidal	1	1
CBP03310-114	7. 4	Semiupright	Ellipsoidal	1	3
CBP03310-130	7. 18	Semiupright	Ellipsoidal	7	1
CBP03310-155	7. 4	Semiupright	Ellipsoidal	7	1
CBP03310-175	6. 25	Semiupright	Lanceolate	7	3
CBP03310-250	7. 12	Semiupright	Ellipsoidal	5	1

^z : Infection degree ; 0. non infection, 1. less than 1%, 3. 2~10% infection, 5. 11~20% infection, 7. 21~41% infection, 9. over than 41%.

Table 13. Growth characteristics of varieties and line in preliminary yield trial(2005).

Varieties and line	Stem diameter (mm)	No. of stem per plant	No. of branch per plant		
			1st	2nd	3rd
Cheongyangjaerae	9.6	3.3	20.7	36.7	5.7
Bulro	10.4	3.7	21.3	42.0	14.3
CBP03295-6	9.0	2.7	23.3	13.3	6.7
CBP03296-44	10.9	3.7	13.7	15.7	6.0
CBP03297-42	13.1	3.0	19.7	49.3	46.3
CBP03297-43	9.5	4.0	25.0	53.0	13.0
CBP03297-44	10.5	2.7	22.0	45.0	13.7
CBP03301-6	11.7	4.0	38.3	47.0	29.7
CBP03301-21	9.7	4.7	22.0	41.7	34.7
CBP03301-41	9.9	4.3	30.0	46.3	19.3
CBP03301-130	10.2	3.0	13.7	34.3	14.0
CBP03302-5	8.8	3.7	27.0	36.3	20.7
CBP03304-41	13.3	4.0	23.7	63.0	39.3
CBP03304-74	10.6	3.3	25.7	42.7	30.3
CBP03304-114	10.1	4.3	24.3	43.3	29.3
CBP03305-5	9.2	2.7	18.7	35.7	26.0
CBP03307-45	9.8	3.0	15.7	43.7	19.7
CBP03308-19	11.1	2.0	10.0	52.7	18.0
CBP03308-20	11.2	2.0	11.7	29.3	32.3
CBP03308-22	10.7	3.3	11.3	57.0	13.0
CBP03309-67	8.8	3.3	15.3	41.7	18.7
CBP03310-1	8.5	3.0	21.0	35.0	15.0
CBP03310-7	8.1	4.0	21.0	71.1	10.3
CBP03310-83	11.0	3.7	11.7	35.7	19.0
CBP03310-84	8.1	3.7	19.7	26.7	12.3
CBP03310-113	10.2	3.3	22.7	80.0	19.3
CBP03310-114	8.4	2.3	21.0	35.3	13.7
CBP03310-130	8.4	3.0	14.0	48.0	5.0
CBP03310-155	7.8	3.3	32.0	54.3	7.3
CBP03310-175	7.9	3.0	29.0	83.3	3.0
CBP03310-250	9.8	4.7	33.7	63.0	10.7

Table 14. Fruit characteristics and yield of varieties and line in preliminary yield trial(2005).

Varieties and line	100 fruits fresh weight (g)	Seeds weight of 100 fruits (g)	Flesh ratio (%)	Number of seed per fruit	1000 seeds dry weight (g)
Cheongyangjaerae	94	12.2	87.0	24.1	3.27
Bulro	134	14.30	89.3	17.9	3.11
CBP03295-6	138	11.54	91.6	14.9	3.12
CBP03296-44	103	7.22	93.0	9.2	3.03
CBP03297-42	147	10.56	92.8	11.7	4.19
CBP03297-43	157	9.48	94.0	12.7	3.85
CBP03297-44	215	13.80	93.6	13.7	4.39
CBP03301-6	115	12.14	89.4	18.6	3.04
CBP03301-21	151	14.14	90.6	27.1	2.48
CBP03301-41	126	14.80	88.3	20.6	2.91
CBP03301-130	133	18.92	85.8	21.8	3.14
CBP03302-5	150	12.54	91.6	19.6	3.02
CBP03304-41	107	7.18	93.3	15.7	2.81
CBP03304-74	132	17.18	87.0	15.9	4.30
CBP03304-114	161	16.86	89.5	14.4	4.57
CBP03305-5	223	25.62	88.5	17.1	5.61
CBP03307-45	209	22.14	89.4	19.1	4.61
CBP03308-19	155	12.86	91.7	14.8	3.67
CBP03308-20	128	14.24	88.9	14.5	3.84
CBP03308-22	150	13.04	91.3	12.9	4.19
CBP03309-67	178	10.40	94.2	17.4	2.79
CBP03310-1	123	5.76	95.3	6.3	2.36
CBP03310-7	114	7.20	93.7	8.4	2.77
CBP03310-83	146	7.96	94.5	9.2	2.95
CBP03310-84	154	8.66	94.4	12.8	2.96
CBP03310-113	89	6.92	92.2	11.6	2.80
CBP03310-114	156	14.34	90.8	17.6	3.79
CBP03310-130	186	15.26	91.8	18.2	4.11
CBP03310-155	162	8.04	95.0	9.0	3.19
CBP03310-175	134	6.68	95.0	8.2	2.74
CBP03310-250	140	5.54	96.0	8.9	2.51

Table 15. Fruit characteristics and yield of varieties and line in preliminary yield trial(2005).

Varieties and line	Fruit		Betaine content of fruit (%)	Yield((kg/10a)	
	Length (mm)	Diameter (mm)		Dry weight	Index (%)
Cheongyangjaerae	16.4	9.1	0.52	56	37
Bulro	18.8	10.2	0.70	188	100
CBP03295-6	16.4	11.3	0.93	96	51
CBP03296-44	14.5	10.6	1.08	143	76
CBP03297-42	18.5	10.8	0.89	121	64
CBP03297-43	19.8	11.0	0.81	212	113
CBP03297-44	21.9	12.4	0.58	213	114
CBP03301-6	17.1	10.4	1.06	230	122
CBP03301-21	19.2	11.6	1.13	221	118
CBP03301-41	17.7	10.7	0.95	273	145
CBP03301-130	16.3	11.1	1.02	226	120
CBP03302-5	18.2	11.4	0.72	304	162
CBP03304-41	14.9	9.6	0.71	217	115
CBP03304-74	17.8	11.4	0.95	306	163
CBP03304-114	18.7	11.8	0.95	239	127
CBP03305-5	19.4	12.2	0.69	241	128
CBP03307-45	19.8	12.4	0.79	223	119
CBP03308-19	18.6	11.4	0.64	232	124
CBP03308-20	18.2	10.5	0.97	258	137
CBP03308-22	19.4	10.5	0.77	130	69
CBP03309-67	20.5	12.2	1.24	52	27
CBP03310-1	18.2	10.8	0.54	148	79
CBP03310-7	18.9	10.5	0.86	175	93
CBP03310-83	18.7	11.0	1.12	139	74
CBP03310-84	18.3	11.1	0.92	150	80
CBP03310-113	16.7	9.1	1.01	173	92
CBP03310-114	20.3	10.7	0.86	133	71
CBP03310-130	23.5	11.3	1.04	144	77
CBP03310-155	21.7	10.8	0.76	206	110
CBP03310-175	16.7	11.4	0.89	94	50
CBP03310-250	19.8	10.9	0.70	234	124

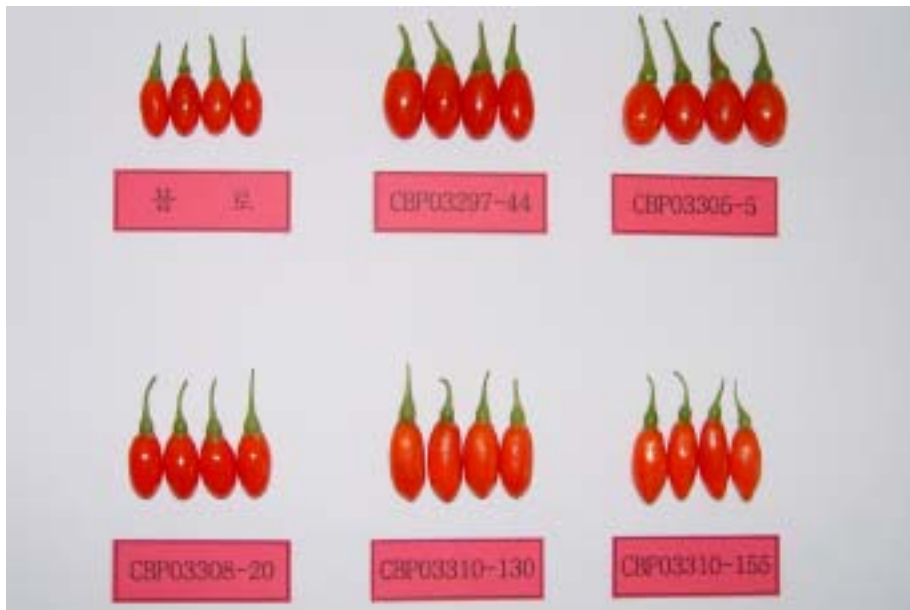


Figure 4. Fruits of quality line in preliminary yield trial(2005).

수량은 CBP03304-74계통이 306g/10a로 블로 188kg/10a 보다 163%가 증수되었고 블로보다 과육비와 수량이 높은 8계통이 유망시 되었다. 이들 계통들을 지속적인 연구로 품종으로 육성 하겠다.

2) 생산력 검정 본시험

2005년도 생산력검정 본시험 결과는 표 16~19와 같다. CB00156-101 등 10품종 및 계통을 공시하였다. 개화기는 불로가 6월 20일로 가장 빨랐으며 CBP02242-2계통은 7월 18일로 가장 늦었다. 수형은 공시계통 모두 반직립이었으며 엽형은 불로 청양재래는 타원형이었고 CBP00156-101 등 3계통은 광타원형이었으며 CBP02239-149 등 5계통은 피침형이었다.

무방제하에서의 병해충 저항성검정 결과 흑응애는 CBP02247-103 등 4계통이 10%이하로 강하였다. 탄저병 이병과율은 청양재래 90.6%로 아주 약하였고 육성계통은 불로 71.2% 보다 모두 강하였으며 CBP02242-2 계통은 27.2%로 가장 저항성이 강하였다(표 16).

100과 생중은 불로 139g보다 큰 계통은 CB00156-101 등 5계통이었고 CBP00156-101계통이 175g으로 가장 무거웠다. 과육비는 불로가 90.0%이었으며 과육비가 90%이상 계통은 7계통으로 CBP02234-49계통이 92.6%로 가장 높았다. 과당종자수는 불로가 21.9개 이었고 CBP02247-103계통이 16.1개로 가장 적었으며 불로보다 씨가 적은 계통은 7 계통이었다(표 18).

과장은 불로와 CB00156-101 계통이 18.9mm로 가장 컸고 과경은 CBP02247-103 계통이 19.2mm로 가장 컸다. 열매의 베타인 함량은 청양재래가 0.52%로 가장 낮았고 불로가 0.83%이었으며 베타인 함량이 불로보다 높은 계통은 5계통이었으며 CBP02242-2계통은 1.0%로 베타인 함량이 높았다. 수량은 불로 106kg/10a 대비 B0148-43 계통이 132kg/10a로 125%로 증수되어 유망시 되었다.

Table 16. Growth characteristics and resistance to disease and pest of varieties and line in advanced yield trial(2005).

Varieties and line	Flowering time	Plant shape	Leaf shape	<i>Eriophyid</i> mite (%)	Anthraxnose (%)
Cheongyang-jaerae	6. 22	Semiupright	Ellipsoidal	50.5	90.6
Bulro	6. 20	Semiupright	Ellipsoidal	14.7	71.2
CB00156-101	6. 19	Semiupright	Wide-ellipsoidal	6.6	30.0
CBP02234-49	7. 15	Semiupright	Wide-ellipsoidal	16.2	71.0
CBP02239-97	7. 14	Semiupright	Wide-ellipsoidal	11.2	39.4
CBP02239-149	7. 3	Semiupright	Lanceolate	10.0	34.6
CBP02242-2	7. 18	Semiupright	Lanceolate	23.1	27.2
CBP02247-103	6. 24	Semiupright	Lanceolate	0.0	30.1
CBP02234-84	7. 1	Semiupright	Lanceolate	4.9	64.3
B0148-43	6. 23	Semiupright	Lanceolate	30.2	43.9

Table 17. Growth characteristics of varieties and line in advanced yield trial(2005).

Varieties and line	Stem diameter (mm)	No. of stem per plant	No. of branch per plant		
			1st	2nd	3rd
Cheongyangjaerae	10.9	3.4	20.8	37.1	5.0
Bulro	11.0	3.1	25.2	51.8	12.8
CB00156-101	11.6	3.0	20.8	33.7	8.4
CBP02234-49	15.4	2.4	11.0	33.5	12.2
CBP02239-97	13.4	3.4	19.0	33.8	10.5
CBP02239-149	13.1	3.6	16.9	50.1	8.5
CBP02242-2	14.4	2.8	16.8	31.3	7.5
CBP02247-103	15.0	2.3	19.7	34.3	5.2
CBP02234-84	13.3	2.7	27.7	44.1	18.0
B0148-43	13.9	3.5	31.0	77.7	16.3

Table 18. Fruit characteristics and yield of varieties and line in advanced yield trial(2005).

Varieties and line	100 fruits fresh weight (g)	Seeds weight of 100 fruits (g)	Flesh ratio (%)	Number of seed per fruit	1000 seeds dry weight (g)
Cheongyangjaerae	94d ^z	15.1a	84.0b	25.3a	3.35bc
Bulro	139bc	14.0ab	90.0a	21.9ab	3.14c
CB00156-101	175a	15.0a	91.4a	17.9ab	3.87bc
CBP02234-49	166ab	12.2ab	92.6a	18.2ab	4.41ab
CBP02239-97	121cd	13.2ab	89.1ab	19.1ab	3.56bc
CBP02239-149	149bc	14.8a	90.1a	17.6ab	5.24a
CBP02242-2	152bc	15.0a	90.1a	18.2ab	4.74ab
CBP02247-103	138bc	12.6ab	90.9a	16.1b	4.54ab
CBP02234-84	145bc	13.6ab	90.6a	23.7ab	3.57bc
B0148-43	130c	11.9b	90.8a	18.3ab	3.42bc

^z : Means separation within columns by Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

Table 19. Fruit characteristics and yield of varieties and line in advanced yield trial(2005).

Varieties and line	Fruit		Betaine content of fruit (%)	Yield((kg/10a)	
	Length (mm)	Diameter (mm)		Dry weight	Index (%)
Cheongyangjaerae	16.4	9.1	0.52	51c ^z	48
Bulro	18.9	10.0	0.83	106ab	100
CB00156-101	18.9	12.1	0.65	125ab	118
CBP02234-49	16.9	11.6	0.86	42c	40
CBP02239-97	16.8	9.5	0.85	58c	55
CBP02239-149	18.8	10.4	0.91	101b	95
CBP02242-2	18.0	10.6	1.00	113ab	107
CBP02247-103	18.4	19.2	0.58	56c	53
CBP02234-84	16.6	10.4	0.82	127ab	120
B0148-43	18.7	9.5	0.77	132a	125

^z : Means separation within columns by Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

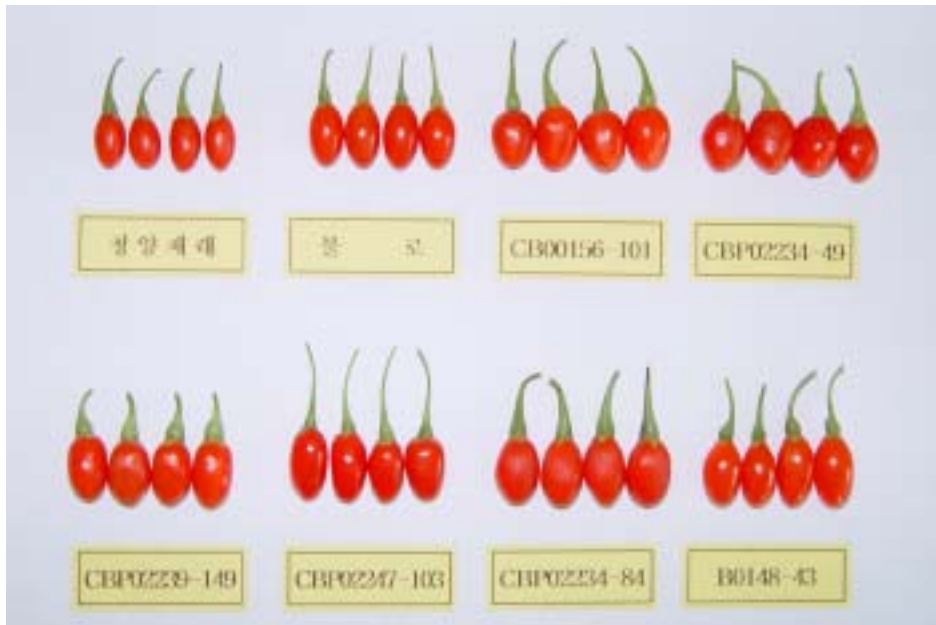


Figure 5. Comparison of fruit in quality line of advanced yield trial(2005).

제 2 절 구기자 비가림 저농약 재배기술 연구

1. 실험방법 및 내용

가. 비가림시설 병해충 발생 실태조사 및 방제력 작성

1) 비가림시설 병해충 발생 실태 조사

비가림시설의 저농약 재배 실현을 위한 병해충 발생실태 조사를 비가림재배 3개 지역 2개소 씩을 선정하여 6월부터 10월까지 월 2회 조사하였으며, 대상은 구기자에 주로 발생하는 병해충으로 발생밀도, 이병과율, 이병엽율, 피해엽율 등을 병해충 조사 기준에 준하여 조사하였다.

2) 방제력 작성

비가림시설 병해충 발생 실태조사를 바탕으로 발병도를 그린 후 방제적기를 판단하여 방제력을 작성하였다.

나. 병 방제 시험

1) 흰가루병

(1) 기계유유제와 파라핀유제를 이용한 방제

(주)신젠타코리아에서 판매하고 있는 디시트론 기계유유제와 중앙프라자에서 판매하고 있는 파라핀계유제인 아비온을 200배의 농도, 3반복으로 10일간격 2회 살포한 10일후 시험구당 10가지를 취하여 이병엽율을 조사하였다. 약제살포는 고압동력분무기를 사용하였다.

(2) 친환경제제를 이용한 방제

미생물농약 3종 탐시드, 쉼러스, 큐펙트를 (주)그린바이오텍에서 구입하여 사용하였고, 엽면시비용 4중복합비료 올그린1호, 올그린알파2호를 (주)바이오셀에서 견본을 받아 시험하였으며, 식용전지분유는 (주)서울우유의 제품을 구입하였다. 그리고 은나노 제품인 바플세프는 (주)나노플러스에서 구입하여 시험하였다.

2) 뒷면곰팡이병

(주)신젠타코리아의 디시트론 기계유유제와 4중복합비료인 올그린1호와 올그린알파2호를 7일간격 2회 경엽살포하여 7일후 조사하였다.

다. 해충 방제 시험

1) 총채벌레

670×250mm 크기의 황색점착트랩을 2m 간격으로 설치하고 디시트론 기계유유제를 10일간격 2회 경엽 살포한 10일 후 77×128mm 밀도조사용 황색점착트랩으로 총채벌레밀도를 조사하였다.

2) 열점박이잎벌레

주)신젠타코리아에서 판매하고 있는 디시트론 기계유유제와 중앙프라자에서 판매하고 있는 파라핀계유제, 목초액, 제충국 즙액 및 제충국 에탄올 추출액, 은행잎 추출액, 고려바이오 연구소의 미생물제재인 진삼이플러스, (주)세실의 병원성선충 등을 경엽 살포하여 방제 시험하였다.

3) 복숭아혹진딧물

진딧물의 천적인 콜레마니진디벌과 무당벌레 등을 (주)세실에서 구매하여 진딧물 발생 중기에 방사한 20후 진딧물 밀도를 조사 시험하였다.

4) 왕담배나방

병원성선충인 *Steinernema carpocapsae*을 (주)세실에서 구입하였고, B.T.미생물제재인 솔빛채(*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* GB413)를 (주)그린바이오텍에서 구입하여 왕담배나방 유충에 살포하여 방제효과를 시험하였다.

라. 구기자 비가림 저농약 재배기술 농가 실증

구기자 저농약 재배에 관심이 있는 청양군 대치면 상갑리 S, M 두 농가를 선정하여 6월부터 현지에서 흰가루병, 진딧물, 열점박이잎벌레 등을 대상으로 비가림 저농약 재배 실증시험을 실시하였다. 사전에 실증농가에 방문하여 주의사항과 병해충 밀도조사 방법 등을 교육시켰고 수시로 방문하여 병해충 밀도를 조사하여 병해충 방제여부를 결정하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 비가림시설 병해충 발생 실태 조사 및 방제력 작성

1) 비가림시설 병해충 발생 실태 조사

병해충 발생실태는 충남 청양, 예산, 홍성 등지의 구기자 비가림재배 농가를 대상으로 6월 4일부터 10월 21일 까지 월 2회 조사한 결과 Table 20.에서 볼 수 있듯이 총채벌레류(Thripidae), 흰가루병, 진딧물 등 9종의 병해충이 조사되었고 농가의 병해충 관리 정도에 따라 발생정도가 달랐다.

탄저병(Anthracnose)은 비가림 재배시 5%미만으로 발생하는 게 일반적이지만 일부농가의 비가림시설 관리소홀인 누수, 빗물 들이침 등의 영향으로 8월 5%이상의 발병율을 보였고, 흰가루병은 8월과 10월 발생이 많은 경향을 보여 주었으며, 뒷면곰팡이병(Hypophyllous mold, *Pseudocercospora chengtuensis*)은 9월 10월 발생이 많았다.

총채벌레류(Thripidae)는 꽃노랑총채벌레(*Frankliniella occidentalis*)가 주종으로 8월 9월 발생이 가장 많았고 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*, Peach aphid)은 6월과 9월 발생이 많았으며, 구기자혹응애(*Eriophys macrodonis*)는 8월 발생이 최고였다. 열점박이잎벌레(*Lema decempunctata*)는 6월과 9월 발생이 많았고 왕담배나방(*Helicoverpa armigera*)은 9월 10월 발생이 많았으며 점박이응애(*Tetranychus urticae*)는 9월 10월 일부 발생하였다.

Table 20. Occurrence of diseases and pests in rain sheltered greenhouse of Chinese matrimony farms 2003.

Diseases & Pests	Unit	Date									
		6.4	6.25	7.8	7.29	8.4	8.20	9.3	9.19	10.6	10.21
Anthraxnose	Diseased fruit(%)	0.0	0.0	0.0	0.5	8.1	6.5	2.8	1.9	2.2	0.9
Powdery mildew	Diseased leaf(%)	0.0	0.0	3.1	5.0	9.4	5.0	1.9	1.9	5.9	5.6
Hypophyllous mold	Diseased leaf(%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.9	4.1	12.2	9.1
Thripidae	Number of Insect ^a	4.8	8.4	13.3	23.3	32.3	35.5	29.1	30.3	19.3	7.9
<i>Myzus pericae</i> (Peach aphid)	Growing points with aphid(%)	3.3	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3	4.4	1.3	0.0
<i>Eriophys macrodonis</i>	Damaged leaf(%)	1.9	2.9	3.8	6.9	9.4	9.7	7.5	7.2	4.4	3.4
<i>Lema decempunctata</i>	Damaged leaf(%)	4.4	1.9	0.0	0.0	0.0	0.6	1.6	1.3	0.0	0.0
<i>Helicoverpa armigera</i> (Common earworm)	Pests per plant(%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.09	0.06
<i>Tetranychus urticae</i> (Spider mite)	Damaged leaf(%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	3.8	2.5	1.6

^aThe number of Thripidae dropped on plate(230×160mm) when hit with a stick four times at three spots.

2) 방제력 작성

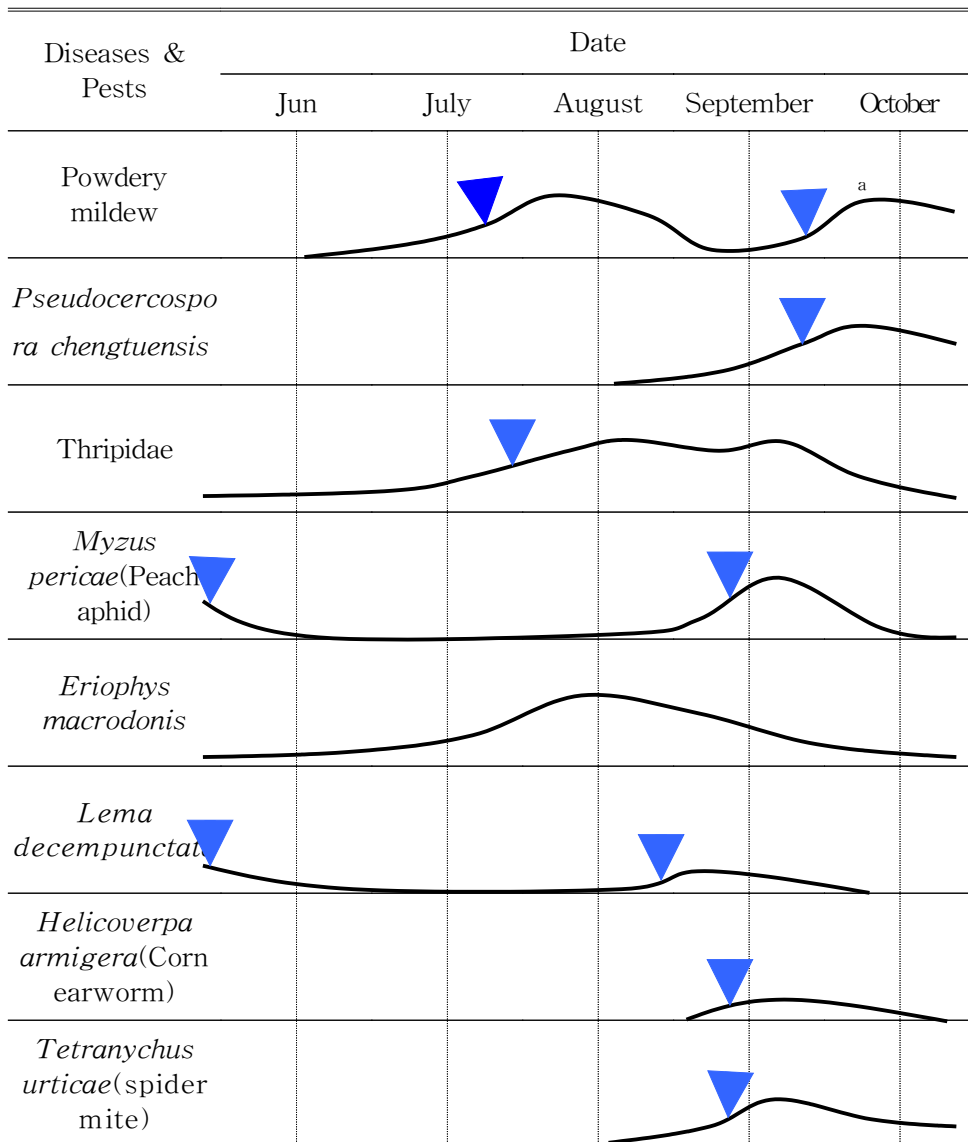


Fig. 6. Control calendar of diseases and pests of Chinese matrimony in rain sheltered greenhouse.

^aThe right time to control

Fig. 6.의 방제력은 구기자병해충 발생소장을 기초로 하여 간단하게 작성되었다. 흰가루병은 8월과 10월 발생이 최고로 조사되었는데 7월과 9월 발생 초기에 방제하는 것이 좋으며, 뒷면곰팡이병(*Hypophyllous mold*, *Pseudocercospora chengtuensis*)은 10월 발병이 최고이어서 9월경 발병초기에 방제하는 것이 좋다.

충채벌레류(*Thripidae*)는 5월부터 발생하여 꾸준히 밀도가 증가하여 8월 9월 최고의 밀도를 보여 8월초 방제하는 것이 좋고 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)은 6월과 9월 발생초기에 방제하는 것이 좋다. 열점박이잎벌레(*Lema decempunctata*)도 6월, 9월 발생이 많은 데 발생초기를 놓치지 않고 방제하는 것이 중요하고 왕담배나방(*Helicoverpa armigera*)은 9월, 10월 발생하는 데 발생시 초기에 방제하는 것이 좋으며, 점박이응애(*Tetranychus urticae*)도 발생빈도가 많지는 않지만 발생시 초기에 방제하는 것이 좋을 것으로 사료되었다.

나. 병 방제 시험

1) 흰가루병

(1) 기계유유제 와 파라핀유제를 이용한 방제

흰가루병은 비가림 저농약재배에서 가장 문제되는 병해인데 이병을 방제하기 위하여 기계유유제인 디시트론(DC-Tron)과 파라핀계유제(Paraffin oil emulsion)를 0.5% 농도로 희석하여 10일간격 2회 살포한 10후 방제효과를 조사하였다. 그 결과 디시트론에서 96.1%의 뛰어난 방제효과를 보여주었으나 파라핀계유제는 약효가 미약하였다.

Table 21. Effect of oil emulsion materials for the control of Powdery mildew of Chinese matrimony 2003.

Materials	Concentration(%)	Rate of diseased leaf(%) ^b				Control value(%) ^a
		A	B	C	Average	
Machine oil emulsion (DC-Tron)	0.5	4.8	0.2	3.4	2.8 ^c	96.1
Paraffin oil emulsion	0.5	57.1	44.4	51.8	51.1 ^b	29.5
Untreated	-	75.8	71.8	70.0	72.5 ^a	-

^aControl value was calculated by the following formular

Control value (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Rate of diseased leaf in treated plot}}{\text{Rate of diseased leaf in untreated plot}}\right) \times 100$$

^bSprayed at 11 and 21 July, Investigated at 31 July

^cDMRT 5%



Fig. 7. Effect of materials for the control of Powdery mildew of Chinese matrimony, A: Machine oil emulsion (DC-Tron), B: Paraffin oil emulsion, C: Untreated.

(2) 친환경제재를 이용한 방제

Table 22. Effect of pro-environmental materials for the control of Powdery mildew of Chinese matrimony 2004.

Treatment	Concentration(%)	Rate of diseased leaf(%) ^a				Control value(%)
		A	B	C	Average	
<i>Paenibacillus ploymyxa</i>	0.50	29.9	46.2	53.4	43.2cd ^b	48.5
<i>Bacillus subtilis</i>	0.33	51.9	46.3	39.9	46.0cd	45.2
<i>Ampelomyces quisqualis</i>	0.10	52.1	36.5	53.9	47.5bc	43.4
powdered milk	0.25	50.8	27.6	39.6	39.3cde	53.2
All green No. 1.	0.13	34.5	3.4	7.7	15.2de	81.9
All green ∞ No. 2	0.13	14.6	6.0	5.8	8.8e	89.5
Water	-	67.8	88.8	77.9	78.2ab	6.8
Untreated	-	88.5	91.5	71.6	83.9a	-

^aSprayed at 8, 19 October, Investigated at 29 October.

^bDMRT 5%

구기자에 발생하는 흰가루병(Powdery mildew)은 2종류(*Erysiphe polygonide*, *Arthrocladiella mougevtii*)가 보고되어 있는데 현재 흰가루병에 적용할 수 있는 미생물 농약 등의 친환경제재들이 많이 판매되고 있어 이에 대한 효과의 검증이

필요하다. 미생물농약으로 탑시드는 *Paenibacillus polymyxa*를 배양 제형화한 것이고 쉼러스는 *Bacillus subtilis*를, 큐팩트는 *Ampelomyces quisqualis*를 이용한 미생물농약이다. 올그린1호, 올그린알파2호는 엽면시비용 4종복합비료로 등록된 제제이고 전지분유는 잎 표면 코팅으로 흰가루병 억제효과를 기대하고 시험하였다. 이들을 10일간격 2회 살포한 10일 후 약효를 조사한 결과 올그린1호와 올그린알파2호가 각각 81.9, 89.5% 로 높은 방제효과를 보여주어 약효가 뛰어났으며 미생물농약 3종은 40~50%의 방제가를 보여주어 약효가 미약하였는데 그 원인은 10월 평균기온이 12℃로 미생물농약에 필요한 25℃이상의 온도조건을 충족하지 못한데서 기인한 것으로 보인다. 전지분유는 방제가가 53.2%로 약효가 약하였다.



Fig 8. Effect of All green non-fungicides materials for the control of Powdery mildew. A: All green No. 1, B: All green ∞ No. 2

Table 23. Effect of pro-environmental materials for the control of Powdery mildew of Chinese matrimony 2005

Treatment	Concentration(%)	Rate of diseased leaves(%) ^a				Control value(%)	Note
		A	B	C	Average		
<i>Paenibacillus ploymyxa</i>	0.50	18.2	16.8	14.3	16.4b ^b	68.3	
<i>Bacillus subtilis</i>	0.33	9.6	52.2	7.7	23.2b	55.1	
<i>Ampelomyces quisqualis</i>	0.10	3.6	25.9	12.9	14.2b	72.5	
Bio Plus Safe (Nano-silver)	0.25	9.5	20.0	6.8	12.1b	76.6	
All green No. 1.	0.13	4.0	2.1	1.9	2.7b	94.8	Damaged on leaves
All green ∞ No. 2	0.13	0.2	2.4	0.3	1.0b	98.1	Damaged on leaves
Untreated	-	42.2	53.5	59.4	51.7a	-	

^aSprayed at 21, 28 Jun, 5 July, Investigated 12 July.

^bDMRT 5%

Table 22.의 실험에서 미생물농약의 방제효과가 좋지 않은 것이 낮은 기온(12℃) 때문인 것으로 사료되어 2005년 6월 다시 방제시험을 하였는데. 은나노 제품인 Bio Plus Safe(Nano-silver)를 새로이 시험에 추가하였다.

시험결과 올그린1호와 올그린알파2호는 90%이상의 높은 방제가를 보여주었으나 잎 끝이 갈색으로 마르는 약해 현상을 보여 고온기 사용은 위험할 것으로 생각되었다. 은나노제품인 Bio Plus Safe(Nano-silver)는 76.6%, 큐팩트 72.5%의 방제가를 보여주어 친환경제재로서 약효가 뛰어났고 탐시드(*Paenibacillus ploymyxa*)는 68.3%의 방제가를 보여주어 어느 정도 약효가 인정되었다.



Fig. 9. Control of Powdery mildew with pro-environmental materials. A: All green ∞ No. 2, B: All green No. 1, C: Untreated, D: *Paenibacillus ploymyxa*, E: *Ampelomyces quisqualis*, F: Bio Plus Safe(Nano-silver)

2004년 10월 실험에서 미생물농약이 낮은 온도로 인해 약효가 좋지 않게 나온 것과는 대조적으로 하절기 미생물제제는 좋은 약효를 보여준 반면 4종복합비료인 올그린 1호와 올그린알파 2호는 약해를 보여 하절기 사용은 위험한 것으로 사료되었다.

2) 뒷면곰팡이병

Table 24. Effect of pro-environmental materials for the control of Hypophyllous mold(*Pseudocercospora chengtuensis*) of Chinese matrimony 2004.

Materials	Concentration(%)	Rate of diseased leaf(%) ^b				Control value(%) ^a
		A	B	C	Average	
Machine oil emulsion (DC-Tron)	0.5	7.0	6.5	10.9	8.1b ^c	79.3
All green No. 1.	0.13	24.9	17.2	13.6	18.6b	52.6
All green ∞ No. 2	0.13	11.4	11.3	13.4	12.0b	69.4
Untreated	-	41.3	39.7	36.7	39.2a	-

^aControl value was calculated by the following formular

Control value (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Rate of diseased leaf in treated plot}}{\text{Rate of diseased leaf in untreated plot}}\right) \times 100$$

^bSprayed at 13 and 20 October, Investigated at 27 October.

^cDMRT 5%

뒷면곰팡이병은 주로 9월 10월 발생이 되는 데 구기자 잎 뒷면에 검은 반점이 생기면서 앞면은 황변하여 낙엽된다. 병반이 잎 뒷면에 있기 때문에 병이 발생한 것을 모르는 경우가 많고 약제를 살포해도 약액이 잘 묻지 않는 경우가 많다. 그래서 흰가루병에 효과가 좋았던 기계유유제 디시트론(DC-Tron)과 4중복합비료로 등록된 올그린1호와 올그린알파2호를 2회 살포한 결과 디시트론이 79.3%의 방제가로 효과가 좋았으며 올그린1호 와 올그린알파2호도 52.6%와 69.4%로 어느 정도의 효과가 있었다.

나. 해충 방제 시험

1) 총채벌레

구기자에 발생하는 총채벌레는 주로 꽃노랑총채벌레이고 다음으로 대만총채벌레인데 꽃과 열매에 피해를 많이 주고 있어 황색 점착트랩과 기계유유제를 사용하여 방제 시험하였다. 황색점착트랩(670×250mm)을 2m 간격으로 비가림 하우스에 설치하고 기계유유제인 디시트론(DC-Tron) 0.5% 희석액을 10일간격 2회 살포하여 최종처리 10일 후 밀도조사용 트랩(77×128mm)을 사용하여 밀도변화를 조사한 결과 점착트랩에서 69.4%의 방제가가 조사되어 어느 정도의 방제효과가 인정되었다.

Table 25. Effect of oil emulsion and sticky yellow trap for the control of Thripidae of Chinese matrimony 2003.

Material	Concentration(%)	Density of Thripidae(Number/trap) ^a				Control value(%) ^b
		A	B	C	average	
Yellow sticky trap (670×250mm)	-	78	80	65	74.3b ^c	69.4
Machine oil emulsion (DC-Tron)	0.5	201	184	151	178.7ab	26.4
Untreated	-	173	328	227	242.7a	-

^aTrap was 77×128mm sticky yellow trap

^bControl value was calculated by the following formular

Control value (%) =

$$(1 - \frac{\text{Density of Thripidae of treated plot}}{\text{Density of Thripidae of untreated plot}}) \times 100$$

Installed sticky yellow trap at 28 Jun, Sprayed Machine oil emulsion at 28 Jun and 8 July, Investigated density of Thripidae at 18 July

^cDMRT 5%



Fig. 10. Installation of Sticky yellow traps in rain sheltered greenhouse.

총채벌레 방제를 위해 2004년 애꽃노린재(*Orius spp.*)를 방사하였으나 처리효과가 없었는 데 이에 대한 추가연구는 더욱 해야 할 필요성이 있다.

2) 열점박이잎벌레

열점박이잎벌레는 구기자 잎을 가해하는 해충으로 한번 발생하면 세대교체가 빨라 급격하게 수가 증가하여 잎을 가해 전혀 남기지 않는데 유충 때는 몸이 점액질이어서 기계유유제와 파라핀유제, 목초액으로 호흡을 저해시켜 방제하고자 기계유유제인 디시트론(DC-Tron)과 파라핀유제 0.5%액, 목초액 1%액을 3일간격 3회 살포한 결과 살충효과는 없었으나 유충의 활동을 저해하여 단용으로 살충효과를 볼 수는 없지만 다른 제제와 혼용하여 사용할 수 있을 것으로 판단되었다..

Table 26. Effect of pro-environmental materials for the control of *L. decempunctata* of Chinese matrimony 2003.

Materials	Concentration(%)	Rate of damaged leaf(%) ^b				Control value(%) ^a
		A	B	C	Average	
Machine oil emulsion (DC-Tron)	0.5	36.5	34.2	45.3	38.7b ^c	52.9
Paraffin oil emulsion	0.5	54.4	49.8	31.8	45.3b	44.8
Wood vinegar	1	50.6	49.6	51.1	50.4b	38.6
Untreated	-	80.4	78.6	87.3	82.1a	-

^aControl value was calculated by the following formular

Control value (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Rate of damaged leaf in treated plot}}{\text{Rate of damaged leaf in untreated plot}}\right) \times 100$$

^bSprayed at 20, 23, 26 May and Investigated at 30 May

^cDMRT 5%

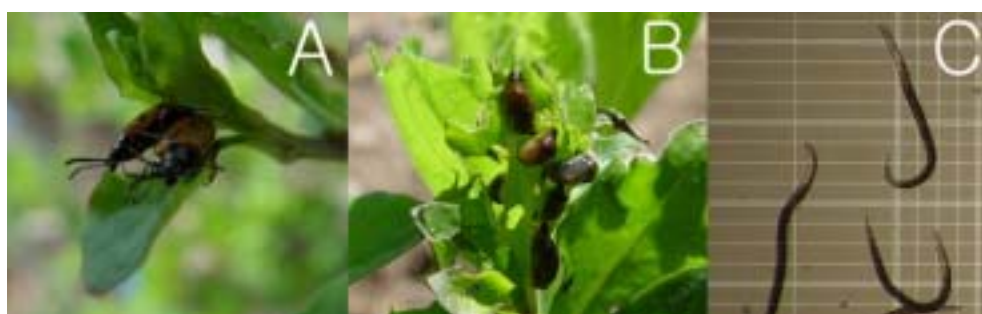


Fig 11. *L. decempunctata* imagoes(A), larvae(B) on Chinese matrimony leaves and Entomopathogenic Nematode(C).

열점박이잎벌레는 대발생하는 해충으로 저농약 재배에서는 우선 해결해야하나 방제가 쉽지 않은 해충이다. 그래서 곤충병원성선충(*Steinernema carpocapsae*)을 열점박이잎벌레 유충발생 초기에 2회 살포하였으나 유충과 성충에 대한 살충

효과는 볼 수 없었고, 유충의 섭식 활동이 둔화되는 경향을 보였다. 유충을 해부하여 현미경관찰 하였으나 선충의 체내 침입을 확인 할 수 없었다.

열점박이잎벌레가 기계유유제, 병원성선충으로도 방제하기가 어려워 제충국과 은행잎, 미생물제제 등을 사용하여 방제시험을 2005년 실시하였다. 열점박이잎벌레 발생 중기에 은행잎 즙액 100배, 제충국(*Chrysanthemum cineræfolium*)즙액 100배, 에탄올추출 제충국(*Chrysanthemum cineræfolium*) 400배, 100배, 미생물제제(*Bacillus subtilis*) 1000배를 경엽살포 하여 3일 후와 7일 후 조사하였다.

Table 27. Control of *L. decempunctata* with pro-environmental materials 2005

Treatment	Concentration(%)	3 days after treatments ^b		7 days after treatments	
		Percent of <i>L. decempunctata</i> survived(%)	Control value (%)	Percent of <i>L. decempunctata</i> survived(%)	Control value (%)
Pyrethrum juice	1.0	92.4a ^a	8.8	94.7a	2.7
Gingko leaf juice	1.0	95.1a	6.1	93.8a	3.6
Pyrethrum ethanol extract	0.25	93.5a	7.7	91.4a	6.1
	1.0	61.5b	39.3	62.6a	35.7
microbial product (<i>Bacillus subtilis</i>)	0.1	21.4c	78.9	20.8b	78.6
Untreated	-	101.3a	-	97.3a	-

^aDMRT 5%

^bSprayed at 1 July, Investigated at 4, 8 July.

처리결과 미생물제제가 처리 후 7일에 78.6%의 방제가로 가장 좋은 결과를 얻었으나 성충과 알에 대한 살충효과는 뛰어나지 않았다. 제충국은 에탄올 추출 100배액이 35.7%의 방제가를 보여 기대에 못 미치는 성적이었다. 은행잎즙액과 제충국 즙액은 효과가 전혀 없어서 실효성이 없는 것으로 판단된다.



Fig. 12. *L. decempunctata* imagoes and larvae on Chinese matrimony leaves.
2005

3) 복숭아혹진딧물

구기자에 주로 발생하는 진딧물은 복숭아혹진딧물로 6월과 9월 발생이 많은 데 천적인 콜레마니진디벌과 무당벌레를 방사하여 방제 시험하였다. 진딧물발생 중기에 머미 상태의 콜레마니진디벌(*Aphidius colemani*)과 성충상태의 무당벌레(*Harmonia axyridis*)를 주당 10마리 정도의 밀도로 방사하여 20일 후 조사한 결과 무당벌레는 66.4%의 방제가를 보였으며 콜레마니 진디벌은 60.4%의 방제가를 보여 어느 정도의 방제효과가 있었다.

Table 28. Control of Peach aphid with two natural enemies 2004.

Natural enemy	release (heads/ plant)	Density of Peach aphid(aphid/plant) ^b				Control value(%)
		A	B	C	Average	
<i>Aphidius colemani</i>	10	342	216	224	260.7b ^a	60.4
<i>Harmonia axyridis</i>	10	248	218	196	220.7b	66.4
Untreated	-	782	648	543	657.7a	-

^aDMRT 5%

^bTreated at 30 April, Investivated at 20 May.

이 실험에서 방사시기가 발생 중기인 점을 감안하면 발생초기에 처리하였을 경우 더 높은 방제효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.



Fig. 13. Peach aphid and two natural enemies released 20 days earlier. A: Untreated Peach aphid, B: larvae of *Harmonia axyridis* C: Mummied Peach aphid by *Aphidius colemani*

4) 왕담배나방

왕담배나방(*Helicoverpa armigera*)은 9월과 10월 발생이 많고 열매를 주로 가해하는 해충으로 방제가 어려워 최근 많이 사용되는 병원성선충제와 B.T.미생물제제를 살포하여 방제시험하였다. B.T.미생물제제는 *Bacillus thuringiensis* sp. *aizawai*를 제형화한 미생물농약이고 병원성선충은 *Steinernema carpocapsae*를 배양하여 만든 천적이다. 병원성선충은 300마리/ml로 희석하였고 B.T.미생물제제는 0.25%의 농도로 희석하여 9월 17일 살포하여 7일후인 9월 24일 조사한 결과 B.T. 미생물제제가 77.8%의 방제로 효과가 뛰어났으며 병원성선충 또한 65.4%의 방제가로 효과가 인정되었다.

Table 29. Control of Corn earworm(*Helicoverpa armigera*) with microbial products 2004.

Treatment	Concentration(%)	Rate of damaged fruit ^a				Control value(%)
		A	B	C	Average	
Entomopathogenic Nematode	300 heads /ml	15.0	12.9	19.0	15.6b ^b	65.4
B.T. microbial product	0.25	13.4	8.5	8.0	10.0b	77.8
Untreated	-	39.0	48.7	47.6	45.1a	-

^aSprayed at 17 September, Investigated at 24 September.

^bDMRT 5%



Fig. 14. Corn earworm(*Helicoverpa armigera*) treated with microbial products. A: Corn earworm treated with Entomopathogenic Nematode, B: Corn earworm treated with B.T. microbial product.

라. 구기자 비가림 저농약 재배기술 농가 실증

구기자는 비가림 재배를 한다하더라도 저농약으로 재배하기 어려운 작목으로 전에 시도하였던 농가들도 많은 어려움으로 중도에 포기하는 사례가 많았다. 그러던 중 2004년 청양군 대치면 상갑리 S농가에서 적지 않은 수확의 손실을 감수하며 비가림 저농약재배로 첫 농산물을 판매하였고 2005년 M농가가 합세하여 이들 2개 농가를 실증 농가로 선정하였다.

6월 9일 S농가에 진딧물이 다량 발생하여 6월 14일 천적과 유기농인증 살충제를 투입하였다. 천적은 진디혹파리(*Aphidoletes aphidimyza*), 콜레마니진디벌(*Phidius colemani*)을 천적업체에서 구매 사용하였고 유기농살충제는 친환경 님(Neem)살충비누를 사용하였는데 님(Neem)이란 아열대 지역의 나무이름으로 천연곤충기피 물질인 아자드라크틴을 함유하여 유기농업에 해충구제에 주로 이용되는 식물로 열매에서 기름을 추출하여 이용하는 식물이다. 비가림 하우스 3개동에 진디혹파리+님(Neem)비누, 콜레마니진디벌+진디혹파리+님비누, 님비누를 각각 처리한 바 진디혹파리+님비누 처리는 달관적으로 5%의 생충율로 방제효과가 좋았고, 콜레마니진디벌+진디혹파리+님비누 처리에서는 약 10%의 생충율을 보여 어느 정도 방제효과가 인정되었다. 님비누 단용처리에서는 약 40%의 생충율을 보여주어 방제효과가 뛰어나지 않았다.

반면 M농가에 6월 14일 콜레마니진디벌, 진디혹파리, 무처리 3개처리를 3개 비가림하우스에 예방적으로 각각 처리한 바 콜레마니진디벌 방사와 진디혹파리 방사구에서는 진딧물이 발생하지 않았고 무처리에서 약 5% 발생주율로 발생하였다.

6월 28일 S농가에 흰가루병이 발생하여 은나노제품인 바플세이프를 6월 30일과 7월 3일 3일간격 2회 살포하여 어느 정도 방제하였으며 추가적으로 탐시드, 큐펙트, 쉘러스 3종류의 미생물제제를 3개 비가림 하우스에 각각 살포하였다.

7월 14일 M농가에 열점박이잎벌레가 발생하여 미생물제제(*Bacillus subtilis*)를 살포하여 방제하였다.



Fig. 15. Control of Peach aphid with two natural enemies in Actual proof greenhouse of Chinese matrimony farm.

9월 6일 S농가와 M농가에 왕담배나방 방제용 B.T.미생물제제와 큐펙트, 썰러스, 탑시드, 바플세이프 등의 흰가루방제용 제제를 발병초기에 방제하였고 열점박이잎벌레 방제를 위해서 미생물제제(*Bacillus subtilis*)를 살포하였다.

9월 23일 뒷면곰팡이병이 발생하여 기계유유제, 바플세이프, 미생물제제 등의 약제를 살포하였다.

이로써 완전하지는 않지만 비가림 시설내에서 저농약 재배를 농가에서 실현함으로써 저농약재배 기술의 발판을 어느 정도 마련할 수 있었다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

○ 씨 적은 구기자 품종육성을 하기 위해 국내외 유전자원 97 품종 및 계통과 배수체 계통의 열매특성을 조사한 결과 유전자원에서는 중국수집 5계통이 과육비가 높았고 배수체 계통에서는 Y0148-24 계통이 과육비가 높았으며 과당 종자수와 종자 1000립중도 적었고 수량을 고려하여 B0148-43, C0148-94, D0148-62, Y0148-24 계통 등을 교배모본으로서 활용 하였다.

○ 씨 적은 구기자 우량 계통을 육성하기 위하여 2002년부터 2004년까지 3개년간 인공교배 49조합, 3342개체를 육성하여 26조합에서 우량 57개체를 선발하였다.

○ 우량 44계통에 대하여 생산력검정 예비선발 시험 결과 탄저병은 34계통이 중정도 이상의 저항성을 보였고 흑응애는 19계통이 강하게 나타났다. 100과 생중은 200g 이상 대과종은 3계통이었고 과육비율은 CBP03310-250 계통은 96.0%로 높게 나타났으며 과당 종자수가 10개 미만은 7계통이었고 CBP03310-1계통이 6.3개로 가장 적었다. 열매의 베타인 함량이 1%이상은 8계통이었고 CBP03309-67계통은 1.24%로 베타인 함량이 높았다. 건과 수량은 볼로보다 높은 계통이 21계통이었고 CBP02239-97, CBP03302-5, CBP03310-250 계통 등은 수량성, 과육비율이 높아 유망시 되었다.

○ 생산력검정 본 시험 결과 무방제하에서의 병해충 저항성 검정결과 흑응애는 CBP02247-103계통 등 4계통이 피해율이 10%이하로 강하였고 탄저병 이병과율은 육성계통들에서 강하였고 CBP02242-2 계통은 27.2%로 가장 낮게 나타났다. 100과 생중은 볼로보다 무거운 계통은 CB00156-101 등 5계통이었고 CBP00156-101 계통이 175g으로 가장 무거웠다. 과육비가 90%이상 계통은 7계통으로 CBP02234-49계통이 92.6%로 가장 높았다. 과당 종자수는 볼로 21.9개로 볼로보다 씨가 적은 계통은 7계통 이었다. 열매의 베타인 함량은 청양재래가 0.52%로 가장 낮았고 볼로가 0.83%이었으며 CBP02242-2계통은 1.0%로 베타인 함량이 높았다. 건과 수량은 B0148-43계통이 볼로 대비 125%로 증수되어 유망시 되었으며 기존의 구기자 육종과 다른 관점에서의 씨 적은 구기자 품종육성의 기초자료가 되었다.

○ 비가림 시설내에서 저농약 방제해야할 병해는 2종류로 흰가루병과 뒷면곰팡이병인 데 흰가루병은 기계유유제인 디시트론 0.5%액을 살포하여 96.1%의 높은 방제가를 얻었으며 하절기에 *Ampelomyces quisqualis* 와 *Paenibacillus polymyxa* 미생물제제를 살포하여 각각 72.5, 68.9%의 방제가를 얻었으나 온도가 낮은 가을철에는 방제효과가 떨어졌다. 엽면시비용 4중복비인 울그린1호, 울그린알파2호는 10월 살포시는 방제가가 각각 81.9, 89.5%로 뛰어났으나 6월 살포시에는 잎 끝이 마르는 약해증상을 보여 하절기 사용을 삼가는 것이 좋을 것으로 사료되었다. 또한 온나노 제품인 Bio Plus Safe는 76.6%의 방제가로 약효가 뛰어났다. 또한 뒷면곰팡이병은 기계유유제인 디시트론 0.5%액을 살포하여 79.3%의 높은 방제가로 방제 가능 하였고, 울그린알파2호로는 69.4%의 방제가로 방제할 수 있었다. 그러므로 비가림 시설내 병해는 모두 방제가능 하게 되었다.

○ 충해는 총채벌레, 열점박이잎벌레, 복숭아혹진딧물, 왕담배나방, 점박이응애 5종류가 방제해야할 해충인데 총채벌레는 황색점착트랩(670×250mm)을 2m 간격으로 설치하여 69.4%의 방제효과로 방제가능 하였고 열점박이잎벌레는 진삼이플러스(*Bacillus subtilis*) 미생물제제로 방제하였을 때 78.6%의 방제가로 방제 가능 하였으며, 복숭아혹진딧물은 콜레마니진디벌과 무당벌레로 각각 60.4, 66.4%의 방제가로 방제할 수 있었다. 그리고 왕담배나방은 병원성선충과 솔빛채(*Bacillus thuringiensis*)를 살포하여 각각 65.4, 77.8%의 방제가로 방제할 수 있었으나 점박이 응애는 발생이 되지 않아 방제시험하지 못하여 목표를 완전히 달성하지는 못하였으나 저농약 방제할 수 있는 발판을 마련할 수 있었다..

○ 구기자 저농약재배 실증시험을 위해서 구기자 저농약 재배에 관심이 있는 청양군 대치면 상갑리의 S, M 농가를 선정하여 6월부터 방제력을 바탕으로 병해충 발생을 예찰하여 방제시기 등을 결정 친환경제제 및 천적 등을 투입하여 저농약 재배에 성공하였다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 씨 적은 구기자 품종육성을 위해 선발된 우량계통의 지속적인 연구와 자원 수집 및 품종 육성을 통하여 육성된 품종의 구기자 건강식품 및 상품화 이용 및 고품질 구기자 생산을 통한 소비확대와 소득증대에 기여토록 농가에 보급할 계획입니다.
- 지난 3년간 이루어진 구기자 비가림 저농약 재배기술을 더욱 연구하여 완전한 방제체계와 노우하우를 비가림 작목반 등에 교육하여 일반화시킴으로서 비가림 구기자 상품의 가치를 더한층 높여 농가의 소득을 보전해주고 중국산에 대한 경쟁력을 갖출 수 있도록 보급 활용할 계획입니다.

제 6 장 참고문헌

제 1 절 씨 적은 구기자 품종 육성

1. 김창효. 1995. 구기자 흑응애의 가해상태. 한국식물보호학회지 4 : 65-68.
2. 김동찬, 정해준, 민병훈, 양덕춘, 김수동, 이봉춘. 2002. 구기자나무의 엽절편체에 서 유도된 재분화식물체의 포장생육 특성. 한국식물조직배양학회 29(2) : 129-134.
3. 김제환, 양해봉, 박현기. 1985. 구기자나무 육종의 기초연구 I. *Lycium chinense*의 응성배우체 형성과 응성불임화의 화분퇴화에 관한 세포조직학적 관찰. 전북대 농대논문집 제16집 25~30.
4. 김기청. 1988. 구기자 탄저병에 대한 저항성 및 감수성 과실에 있어서 병원균 침입부위의 병태조직학적 관찰. 한식병지 4(3) : 226-233.
5. 이봉춘, 곽태순, 박종상, 유기원. 1997. 구기자 돌연변이 계통의 작물학적 특성과 RAPD로 본 유전적 변이. 한국육종학회 29(4) : 453~460.
6. 이봉춘, 1998. 구기자품종의 생리생태적 특성과 성분 함량. 상지대학교 박사학위 논문
7. 이상계, 유재기, 최인후, 박경하, 이정운. 1996. 구기자 흑응애(*Eriophys macrodonis* Keifer)의 피해 및 방제. 농업논문집 36(1) : 362-365.
8. 이은정, 김영창, 최재을. 2000. 주요 구기자 품종의 탄저병 저항성 검정. 한국육종학회지 32(2) : 142-145
9. 이상래. 1982. 한국 구기자 품종의 재배연차에 따른 주요 형질의 변화에 관한 연구. 순천대학교 논문집 (자연과학편) 1 : 171~198.
10. 이상래, 전일두. 1984. 구기자 나무의 성숙에 관한 연구 I. 성숙과정에 있어서 과실의 형태적 변화. 순천대학교 논문집 제 3편 25~34.
11. 이유식, 이종일, 권병선, 이상래, 박희진. 1986. 구기자 품종의 수량형질에 대한 유전통계량의 연차간변동. 한국작물학회 31(2) : 179-185
12. 농촌진흥청. 1995. 농사시험연구조사기준
13. 서관석, 이정일. 1987. 국내외 구기자 수집종의 생리생태적 특성차이. 육종학회지 19(1) : 81~90.

14. Wolff SD, Yancez PH, Stanton TS, Balaban RS: A simple HPLC method for quantitating major organic solutes of renal medulla. *Am J Physiol* 256: F954 - F956, 1989

제 2 절 구기자 비가림 저농약 재배기술 연구

1. 김기청. 1988. 구기자 탄저병에 대한 저항성 및 감수성 과실에 있어서 병원균 침입부위의 병태조직학적 관찰. *한식병지* 4(3) : 226-233.
2. 김남재, 윤황금, 황남두. 1994. 구기자 나무의 약물활성. *생약학회지* 35(3) : 264-271.
3. 김선려. 1996. 구기자의 간세포 보호활성 성분 및 그 작용기전. 서울대학교대학원 박사학위논문.
4. 김성훈, 채우석. 1996. 구기의 열매, 잎 및 뿌리의 약침이 보건작용과 면역반응에 미치는 영향(구기자, 구기약 및 지골피의 약침이 손상간에 미치는 영향) 농업논문집('95 산악협동) 38 : 59-70.
5. 김수정, 김일혁. 1994. 구기류 생약의 항당뇨 비교 효과, 약학논총 8 : 5-14.
6. 김창효. 1995. 구기자 흑응애의 가해상태. *한국식물보호학회지* 4 : 65-68.
7. 남명현. 1996. *Colletotrichum gloeosporioides* 와 *Glomerella cingulata*의 VCG 및 RFLP와 병원성과의 관련 분석. *충남대석사논문*.
8. 남명현. 2003. 우리나라 딸기탄저병의 병원, 생태학적 특성 및 방제. *충남대박사논문*.
9. 박만기, 박정일, 김종문, 1993. HPLC에 의한 구기자중의 Betaine의 량. *서울대 약학논문집* 18 : 20-27.
10. 신현동. 1989. 한국산 흰가루병균의 미기록 기주식물 보고. *한국식물병리학회지* 5(3) : 250-256
11. 이상계, 유재기, 최인후, 박경하, 이정운. 1996. 구기자 흑응애(*Eriophyes macrodonis* Keifer)의 피해 및 방제. *농업논문집* 36(1) : 362-365.
12. 이제현, 유승현, 박종성. 1986. 구기자 탄저병균의 재배적 성질, 영양 및 탄저병 발생에 미치는 약제의 영향. *충남대농업과학연구* 13(1) : 52-61.

13. 지형진, 곽용범, 이봉춘, 조원대, 1998. *Phytophthora nicotianae*와 *P. drechsleri*에 의한 구기자 역병의 발생. 학국식물병리학회지. 14(4) : 294-298
14. 최병준, 한승호 한광섭, 주정일, 이봉춘, 문창식. 구기자 비가림 방실재배가 생육 및 수량에 미치는 영향. 약작지 4(1) : 58-63.
15. Du Hyung Lee. 1993. Effect of Temperature on the Conidium Germination and Appressorium Formation of *Colletotrichum acutatum*, *C. dematium* and *C. gloeosporioides*. The Korean Journal of Mycology. 21: 224-229.
16. Du Hyung Lee. 1994. Etiological Characteristics of *Colletotrichum acutatum*, *C. gloeosporioides* and *Glomerella cingulata* Isolated from Apples. Korean J. Plant pathol. 10(2): 105-111.
17. Je Hyen Lee, Seung Hun Yu, Moon Ki Back, Kwang Suk Kim. 1986. Two species of *Colletotrichum* Associated with Anthracnose of *Lycium chinense*. Korean J. plant pathol. 2(1): 31-36.
18. Kyung Seok Park and Choong Hoe Kim. 1992. Identification, Distribution and Etiological Characteristics of Anthracnose Fungi of Red Pepper in Korea. Korea J. Plant pathol. 8(1): 61-69.
19. Stanley Freeman, Talma Katan, Ezra Shabi. 1996. Characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates from Avocado and Almond fruits with Molecular and Pathogenicity tests. Applied and Environmental Microbiology. 62: 1014-1020.
20. Stanley Freeman, Talma Katan, Ezra Shabi. 1998. Characterization of *Colletotrichum* Species Responsible for Anthracnose Diseases of various Fruits. Plant disease. 82: 596-605.
21. Stanley Freeman, Dror Minz, Edward Jurkevitch, Marcel Maymon, Ezra Shabi. 2000. Molecular Analyses of *Colletotrichum* Species from Almond and other Fruits. Phytopathology. 90: 608-614.
22. Stanley Freeman. Dror Minz, Marcel Maymon, Aida Zveibil. 2001. Genetic diversity within *Colletotrichum acutatum sensu* Simmonds. Phytopathology. 91: 586-592.

23. Wan Gyu Kim, Eui Kyoo Cho, Eun Jong Lee. 1986. Two strains of *Colletotrichum gloeosporioides* penz. Causing Anthracnose on Pepper Fruits. Korean J.Plant Pathol. 2(2): 107-113.

세부과제

씨 적은 구기자의 기능성 성분 분석 및 품질 평가에 관한 연구

Studies on the Functional Component Analysis and
Quality Assessment of New *Lycium chinense* cultivar
with Fewer Seeds

주관연구기관명 : 가톨릭대학교

세부연구책임자 : 고 경 희

연 구 원 : 김 현 위

연 구 원 : 김 은 혜

연 구 원 : 심 연 정

요 약 문

I. 제 목

씨 적은 구기자의 기능성 성분 분석 및 품질 평가에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 우리나라의 경우 구기자를 주로 한방 차원에서 사용하고 있는 형편이다. 다양한 가공식품이 제조되나 주로 건조구기자를 이용하여 제조하므로 구기 가공식품이 식품인지 한약인지의 정체성에 미약하였다. 본 실험에서 생구기와 건조구기를 원료로 가공하여 적합성, 건강기능성, 관능평가 등을 통하여 식품으로의 적합성을 타진하였다.
- 경제수준과 수명이 연장되고 웰빙 문화로 건강에 대한 관심이 증가하게 되면서 건강기능성이 높고 안전성이 확보된 천연의 기능성물질에 대한 연구의 필요성이 높아지고 있다. 따라서 구기자의 식품가공 가능성과 건강 기능성 성분 및 품질의 분석을 통해 이의 우수성을 입증할 필요성이 있다.
- 구기자를 건강 기능성 식품 소재로 활용함으로써 소비자의 다양한 요구를 충족 시키는 물론 구기자의 대량 소비를 촉진하여 우리나라 전통 식품을 건강 기호 식품화 하고 새로운 구기자 시장을 창출하여 원료 생산의 효율성 및 농가의 소득 증대에 기여하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 건조방법을 달리한 구기열매의 기능성 성분 분석에 관한 연구

- 구기 부위별 화학적·기능성 성분 분석
- 구기 부위별 향기성분 분석

2. 씨 적은 구기자즙의 기능성 성분분석 및 품질평가에 관한 연구

- 구기자즙의 기능성 성분 분석 및 라디칼 소거효과
- 구기자즙의 향기성분 분석 및 관능검사

3. 구기자즙액의 발효과정 기능성 성분 분석 및 품질평가에 관한 연구

- 구기주의 기능성 성분 분석 및 라디칼 소거효과
- 구기주의 향기성분 분석 및 관능검사

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 건조방법을 달리한 구기열매의 기능성 성분 분석에 관한 연구

불로 구기자의 건조방법 및 부위에 따른 성분 및 품질특성을 비교하기 위해, 생구기자와 열풍건조 및 동결건조 처리한 구기자를 비교하는 한편, 구기자의 열매, 잎, 뿌리의 성분을 분석하였다. 그 결과 가장 낮은 온도(50℃)에서 열풍 건조한 구기자가 육안, 일반성분 분석 및 건조 효율성 측면에서 가장 우수한 것으로 나타났으며, 불로 구기 부위별 화학적 기능성 성분분석 결과, 당분 분석에서는 fructose와 glucose가 구기 열매와 잎에서 검출되었으며, sucrose는 뿌리에서 검출되었다. Citrate는 구기 열매에서 유기산중 가장 많은 함량을 차지하였으며, 구기 잎과 구기 뿌리에서는 malate가 검출되었다.

구기 열매와 구기 잎, 구기 뿌리의 총 페놀 함량은 각각 1078.4mg/L, 93.99mg/L를 얻으며, flavonoid는 386.7mg/L, 1952.9 mg/L, 425.3mg/L가 각각 검출되었다. 주요 polyphenolic compound는 구기 열매에서는 *p*-coumaric acid 와 syringinic acid였고, 잎에서는 *p*-coumaric, syringic, procathechuic acid 였으며 뿌리에서는 *p*-coumaric , syringic, caffeic , procatechuic acid이었다.

불로 구기의 부위별 superoxide radical scavenging activity는 잎, 뿌리, 열매가 각각 60.8±0.1%, 47.7±0.1%, 21.6±0.1%의 순으로 잎에서 가장 높은 소거효과를 나타내었으며($p<0.0001$), 부위별 hydroxyl radical scavenging activity는 잎과 뿌리에서 각각 7.4±0.1%, 34.6±0.1%로 뿌리에서 가장 높은 소거효과가 있는 것으로 나타났다($p<0.0001$).

한편, 휘발성 향기성분 분석결과 총 128개의 화합물이 확인되었으며, 그 화합물에는 22개의 acid류, 12개의 aldehyde류, 8개의 ester류, 1개의 pyrazine, 그 외의 성분이 GC-MS로 확인되었다. 50℃에서 열풍 건조한 구기열매에서 주요 향기성분으로는, hexadecanoic acid, 2-furancarboxyl aldehyde이었고, 생 구기열매에서는 hexadecanoic과 1-hexadecanoic, 잎에서는 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecan-1-ol, hexadecanoic acid, 뿌리에서는 hexadecanoic acid가 주요 향기성분 이었다.

2. 씨 적은 구기자즙의 기능성 성분분석 및 품질평가에 관한 연구

불로 구기자 생과와 건과를 이용하여 생불로 구기자주스(Fresh Fruit Juice, FJ), 볶은 건과 불로 구기자 주스(Roasted and dried fruit juice, RJ), 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(dried fruit juice, DJ)를 제조하여, 일반 성분 및 기능성 성분을 테스트 하고 향기 성분 분석 및 관능 검사를 실시 하였다.

Fructose, glucose, hydroxy methyl furfural(HMF)가 FJ, RJ, DJ에서 확인되었으며, 주요 유기산은 citrate이었다. 총 페놀함량은 FJ, RJ DJ에서 각각 3468.3 mg/L, 585.0 mg/L, 896.1 mg/L 이었으며, 주요 폴리페놀화합물은 FJ에서는 epigallocatechin gallate, chlorogenic acid, ferulic acid, catechin, procatechuic acid, rutin이었고, RJ에서는 ferulic acid, rutin, 4-methyl catechin, catechin, epicatechin , DJ에서는 ferulic acid, rutin, 4-methyl catechin 이었다..

구기자주스의 superoxide anion radical scavenging activity는 FJ, RJ, DJ가 25 μ L/mL의 농도에서 각각 96%, 44%, 37%를 나타내었고, hydroxyl radical scavenging activity은 FJ, RJ, DJ가 100 μ L/mL의 농도에서 각각 100%, 29%, 64%의 소거효과를 나타내었으며 가장 높은 superoxide anion과 hydroxyl radical scavenging activity는 FJ인 것으로 나타났다.

휘발성 향기성분 분석결과, 총 63개의 화합물이 발견되었고, 9개의 acid류, 6개의 alcohol류, 1개의 aldehyde, 5개의 ester류, 5개의 furan류, 18개의 hydrocarbon류, 4개의 phenol류, 1개의 pyrrol과 기타 화합물로 확인되었다.

관능검사 결과는 total evaluation에서 RJ가 FJ보다 더 우수한 것으로 나타났고, 10%의 구기자주스가 가장 선호 되었다.

3. 구기자즙액의 발효과정 기능성 성분 분석 및 품질평가에 관한 연구

불로 구기자의 생과와 건과를 이용하여 FKJ(Fresh *Kugi-Ju*), FKJS(Fresh *Kugi-Ju* with skin), DKJ(Dried *Kugi-Ju*), DKJS(Dried *Kugi-Ju* with skin)를 제조하여, 발효 과정에 따른 일반 성분 및 기능성 성분과 품질 특성을 분석하였다.

FKJ, FKJS, DKJ, DKJS의 화학적 및 기능성 성분 분석이 알코올 발효 동안에 조사 되었다. Sugar content는 0.2g/L이하로 크게 감소하였고, 최종 알코올 함량은 11.5-13.7% 였으며, Lightness(L), redness(a), yellowness(b)는 알코올 발효 후에 감소하였다.

FKJ, FKJS, DKJ, DKJS의 총 페놀 함량은 알코올 발효 후에 각각 1493.3 mg/L , 1710.0 mg/L, 2460.0 mg/L , 2468.3 mg/L 이었으며, 총 페놀 함량과 항산화력 간에는 양의 상관관계가 있었고, 주요 폴리페놀화합물은 FKJ와

FKJS 에서는 chlorogenic acid, procatechuic acid였고, DKJ, DKJS에서는 procatechuic acid이었다.

구기주의 superoxide anion radical scavenging activity는 FKJ, FKJS, DKJ, DKJS가 각각, 500ppm의 농도에서 86.5%, 76.5%, 45%, 43.4% 의 효과를 나타내었고, hydroxyl radical scavenging activity은 FKJ, FKJS, DKJS 각각 1000ppm농도일때 61.4%, 5.9%, 4.7% 인 것으로 나타났으며 DKJ의 소거효과는 없는 것으로 나타났다.

휘발성 향기성분 분석에서는 총 84개의 화합물이 발견되었고, 15개의 acid류, 10개의 alcohol류, 13개의 ester류, 4개의 furan류, 12개의 hydrocarbon류, 6개의 phenol류, 기타 24개의 성분인 것으로 확인되었으며 관능검사 결과에서는 FKJ, FKJS, DKJ, DKJS가 total evaluation에 있어서 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

본 실험을 통해 구기자의 각 부위별 성분 및, 이를 이용하여 제조한 음료 및 주류의 품질 특성 과 항산화성을 확인 할 수 있었으며, 관능적 특징을 고려하여, 소비자의 수용도를 높일 수 있는 제품을 개발한다면, 구기자를 원료로한 가공제품들이 효과적인 기능성 식품으로 발전될 수 있으리라 판단된다.

Contents

Summary	-----99
Chapter 1. Outline of Research	-----111
Section 1. Necessities of research	-----111
1. Technical needs	-----111
2. Economic and Industrial needs	-----111
3. Social and cultural needs	-----111
Section 2. Contents and Scope of Research	-----112
Chapter 2. Current research in <i>Lycium chinense</i>	-----113
Chapter 3. Major Results	-----114
Section 1. Studies on the functional component analysis of <i>Lycium chinense</i> as drying method	-----114
1. Materials and Methods	-----114
A. Drying experiment of <i>Lycium chinense</i>	-----114
B. Chemical component analysis on the different parts of <i>Lycium chinense</i>	-----114
C. Antioxidant activity analysis on the different parts of <i>Lycium chinense</i>	-----115
D. Polyphenolic compounds analysis on the different parts of <i>Lycium chinense</i>	-----117
E. Volatile flavor compounds analysis on the different parts of <i>Lycium chinense</i>	-----117
2. Results and Discussion	-----117
A. Drying experiment of <i>Lycium chinense</i>	-----117
B. Chemical component analysis	-----118
1) General component analysis	-----118
2) Sugar analysis	-----120
3) Organic acid analysis	-----121

4) Capsaicin analysis	123
C. Antioxidant activity and radical scavenging effect	125
1) Total phenolic and flavonoid contents	125
2) Antioxidant activity (Ferric thiocyanate method)	125
E. Polyphenol compounds analysis	130
F. Volatile flavor compounds analysis	131
Section 2. Studies on the functional component analysis and quality assessment of <i>Lycium chinense</i> juice with fewer seeds	136
1. Materials and Methods	136
A. Juice making procedure	136
B. Chemical component analysis of <i>Kugi</i> -juic	136
C. Antioxidant activity analysis of <i>Kugi</i> -juice	137
D. Polyphenolic compounds analysis of <i>Kugi</i> -juice	141
E. Volatile flavor component of <i>Kugi</i> -juice	141
F. Sensory evaluation of <i>Kugi</i> -juice	141
2. Results and Discussion	144
A. Chemical component analysis	144
1) pH, total acidity, brix	144
2) Hue, intensity, chromaticity, transmittance	145
3) Sugar analysis	146
4) Organic acid analysis	148
B. Antioxidant activity analysis	150
1) Total phenolic and flavonoid contents	150
2) Antioxidant test (Ferric thiocyanate method)	151
3) Superoxide radical scavenging activity	156
4) Hydroxyl radical scavenging activity	159
C. Polyphenolic compounds analysis	163
D. Volatile flavor component	166
E. Sensory evaluation	170
1) Character note selection	170
2) Quantitative descriptive analysis(QDA)	170
3) Acceptability test	177

Section 3. Studies on the functional component analysis and quality assessment of juice of <i>Lycium chinense</i> wine with fewer seeds	178
1. Materials and Methods	178
A. <i>Kugi-Ju</i> making	178
B. Chemical component analysis of <i>Kugi-Ju</i>	179
C. Yeast viable cell count during alcohol fermentation	180
D. Antioxidant activity analysis of <i>Kugi-Ju</i>	182
E. Polyphenolic compounds analysis of <i>Kugi-Ju</i>	183
F. Volatile component of <i>Kugi-Ju</i>	183
G. Sensory evaluation of <i>Kugi-Ju</i>	184
2. Results and Discussion	186
A. Chemical component analysis	186
1) pH	186
2) Brix, sugar content, sugar analysis	186
3) Hue, Intensity, chromaticity	187
4) Ethanol content	191
5) Organic acid analysis	192
B. Viable cell number	195
C. Antioxidant activity measurement	195
1) Total phenolic contents	195
2) Antioxidant activity	197
3) Superoxide radical scavenging activity	199
4) Hydroxyl radical scavenging activity	201
D. Polyphenolic compounds analysis	208
E. Volatile component and fragrance pattern analysis	209
F. Sensory evaluation	226
1) Character note selection	226
2) Quantitative descriptive analysis	227
Chapter 4. Degree of goal achievement and contribution to relative branch	230
Chapter 5. Application of research results	231
Chapter 6. References	233

목 차

요약문	99
제 1 장 연구개발과제의 개요	111
제 1절 연구의 필요성	111
1. 기술적 필요성	111
2. 경제 및 산업적 필요성	111
3. 사회 및 문화적 필요성	111
제 2 절 연구의 내용 및 범위	112
제 2 장 국내외 기술개발 현황	113
제 1 절 구기자의 기능성 성분 분석 및 연구현황	113
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	114
제 1 절 건조방법을 달리한 구기열매의 기능성 성분분석에 관한 연구	114
1. 실험방법 및 내용	114
가. 구기자 건조실험	114
나. 구기자의 부위별 화학적 성분 분석	114
다. 구기자의 부위별 항산화 및 라디칼 소거효과 분석	115
라. 구기자의 부위별 polyphenolic compounds 분석	117
마. 구기자의 부위별 향기분석 분석	117
바. 구기자의 부위별 품질 평가	117
2. 결과 및 고찰	117
가. 구기자 건조실험	117
나. 구기자의 부위별 화학적 성분 분석	118
1) 일반성분 분석	118
2) 당 분석	120
3) 유기산 분석	121
4) Capsaicin 분석	123
다. 항산화력 및 라디칼 소거효과	125
1) 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량	125
2) 항산화력 (Ferric thiocyanate method)	125

3) Superoxide 와 hydroxide 라디칼 소거효과	126
라. Polyphenol compounds 분석	130
마. 향기성분분석	131
바. 색도 품질 평가	134
제 2 절 씨 적은 구기자즙의 기능성 성분분석 및 품질평가에 관한 연구	136
1. 실험방법 및 내용	136
가. 시료 제조	136
나. 화학적 성분 분석	136
다. 항산화력 분석	137
라. Polyphenolic compounds 분석	141
마. 향기성분 및 향기패턴 분석	141
바. 관능검사 및 통계처리	141
2. 연구결과 및 고찰	144
가. 시료 제조	144
나. 화학적 성분 분석	144
1) pH, 총산도, 당도	144
2) Hue, Intensity, 색도, 투광도	145
3) 당 분석	146
4) 유기산분석	148
다. 항산화력 분석	150
1) 총 페놀함량과 총 플라보노이드 함량	150
2) 항산화 효과	151
3) Superoxide radical 소거효과	156
4) Hydroxyl radical 소거효과	159
라. Polyphenolic compounds 분석	163
마. 향기성분 및 향기패턴 분석	166
바. 관능검사 및 통계처리	170
1) Character note의 선정	170
2) 정량묘사분석 (QDA : Quantitative descriptive analysis)	170
3) 기호도 조사 (Acceptability test)	177

제 3 절 구기자즙액의 발효과정 기능성 성분 분석 및 품질 평가에	
관한 연구 -----	178
1. 실험방법 및 내용 -----	178
가. 실험 재료 -----	178
나. 구기주 제조 -----	178
다. 화학적 성분 분석 -----	179
라. 효모의 생균수 -----	180
마. 항산화력 분석 -----	182
바. Polyphenolic compounds 분석 -----	183
사. 휘발성 향기 성분 분석 -----	183
아. 관능검사 및 통계처리 -----	184
2. 결과 및 고찰 -----	186
가. 화학적 성분 분석 -----	186
1) pH -----	186
2) 당도(Brix), 당 함량, 당 분석 -----	186
3) Hue, Intensity, 색도 -----	187
4)에탄올 함량 -----	191
5) 유기산 분석 -----	192
다. 생균수 측정 -----	195
라. 항산화력 측정 -----	195
1) 총 페놀 함량 -----	195
2) 항산화 효과 -----	197
3) Superoxide radical scavenging activity -----	199
4) Hydroxyl radical scavenging activity -----	201
마. Polyphenolic compounds 분석 -----	208
바. 향기성분 및 향기패턴 분석 -----	209
사. 관능검사 -----	226
1) Character note의 선정 -----	226
2) 정량묘사 분석 (Quantitative descriptive analysis) -----	227
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	230
제 5 장 연구개발결과의 활용계획-----	231
제 6 장 참고문헌-----	233

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구의 필요성

1. 기술적 측면

구기자나무는 낙엽송 소관목으로 아시아지방이 원산지 이고 우리나라의 전 지역에서 재배가 가능하다. 고 문헌에는 구기자의 다양한 효능에 대해 언급이 이루어 졌으나, 실제로 기능성 성분 및 품질특성에 관한연구는 미비한 실정이다. 또한 우리나라는 구기자를 주로 한약 재료에 사용하고 있는 형편으로, 구기자를 원료로 하는 가공식품의 연구가 부족한 상황이므로, 구기자를 원료로한 가공식품의 개발과 이의 품질특성 및 기능성 성분에 관한 연구가 절실히 요구된다고 할 수 있다.

2. 경제·산업적 측면

경제수준과 수명이 연장되고 웰빙 문화로 건강에 대한 관심이 증가하게 되면서 건강기능성이 높고 안전성이 확보된 천연의 기능성물질에 대한 연구의 필요성이 높아지고 있다. 따라서 구기자의 식품가공 가능성과 건강 기능성 성분 및 품질의 분석을 통해 이의 우수성을 입증하여, 관능적으로 우수한 가공 식품의 개발과 함께 구기자를 건강 기능성 식품 소재로 활용함으로써 구기자의 대량 소비를 촉진하고 새로운 구기자 시장을 창출하여 원료 생산의 효율성 및 농가의 소득 증대에 기여하고자 한다.

3. 사회·문화적 측면

식생활이 서구화 되면서 전통 식품의 우수성이 서구의 인스턴트 식품에 가려져 조금씩 잊혀져 가고 있다. 구기자는 농약을 많이 투입하는 작물로 인식되어 주로 한약재로 사용되고 있으며 식품으로 사용하는 것을 소비자들이 기피하고 있는 실정이다. 따라서 기능성 및 품질의 우수성이 입증된 구기자를 이용하여 소비자들의 건강 지향성 욕구를 충족시킬 수 있는 건강 기호 식품을 개발하고, 이를 다양화 함으로써 소비자의 인식 전환을 꾀한다.

제 2 절 연구의 내용 및 범위

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1 차 년도	● 구기자 건조실험 ● 화학적 분석 및 총 페놀 함량 측정 ● Polyphenolic compounds 분석 ● 구기자 즙의 향기성분분석 ● 건조구기 열매의 품질평가	● 구기자를 열풍건조 및 동결건조방법에 따른 최적의 건조조건을 수립 ● 기능성 성분 및 라디칼 소거효과 분석 ● 구기열매를 유기용매로 추출하여 향기 성분 분석
2 차 년도	● 구기자즙 제조 ● 화학적 분석 및 총페놀함량 측정 ● Polyphenolic compounds 분석 ● 구기자즙의 향기성분 분석 ● 관능검사	● 구기자즙의 색도개선 연구 ● 기능성 성분 및 라디칼 소거효과 분석 ● 향기 성분 분석 ● 정량 묘사 분석 및 선평도 조사
3차 년도	● 구기자 발효즙 제조 ● 화학적 미생물학적 분석 ● 구기자 발효즙의 기능성 성분 분석 ● 구기자 발효즙 향기성분 분석 ● 관능검사	● 과실주 제조방법을 응용 ● Pour plate counting method로 발효 과정 중 생균수를 측정 ● 폴리페놀 성분과 라디칼 소거효과 분석 ● 향기 성분 분석 ● 정량 묘사 분석 및 선평도 조사

제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 구기자에 대한 최근의 연구를 국내로 나누어 살펴보면, 국내에서는 2000년에 윤 등의 연구결과에서 구기자 알코올 추출물이 oxygen free radical 및 alcohol대사 효소 활성화에 미치는 영향을 연구하였고, 2001년에는 윤 등이 흰 쥐의 구기자 추출물 첨가식이 간조직의 유해산소 및 알코올 대사 효소에 미치는 영향을 분석하였다. 한편 2002년에는 박 등이 구기자 추출성분의 항 발암 효과 및 비타민 C 첨가에 의한 상승효과를 규명하였으며, 2004년에는 김 등에 의해서, 구기자 추출물의 추출 특성 및 항산화 효과에 관한 연구가 이루어 졌고, 2005년에는 김 등이 불로 구기의 부위별 free radical 소거효과 및 화학적 성분 분석에 대해 연구를 수행 하였다 (본 과제 연구 결과).
- 한편 국외 에서는 1997년에 Terauchi 등에 의해 구기자의 항산화 성분의 검출 및 확인이 이루어 졌고, 1998년에는 Jang 등에 의해 *Lycium chinense*의 hepatoprotective cerebroside의 형성에 대한 연구가 이루어 졌다. 2000년도에 와서는 Yaoong 등이 *Lycium chinense*의 잎에서 flavonoid성분을 확인하였고, 2003년에는 Chin등이 *Lycium chinense* fruit의 hepatoprotective pyrrole derivatives에 관한 연구를 통하여 구기자 열매의 간 보호효과를 규명 하였으며, Wei 등은 *Lycium chinense* root bark 의 화학 분석을 수행 하였다. 2004년도에는 Qian등이 *Lycium chinense* fruit의 극성 추출물에서 flavonoid의 free radical 소거의 효율을 연구함으로써 구기자의 항산화성을 연구 하였다.

이상과 같이 free radical이라고 불리는 지질 산화 생성물은 암, 심혈관 질환, 알츠하이머병과 같은 뇌세포 질병 및 노화와 관련되어 있고, 항산화제는 산화 손상에 의해 야기된 질병을 보호하는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 이에 따라서 본 연구에서 얻은 구기자의 라디칼 소거력을 비롯한 항산화력의 연구가 웰빙 시대의 도래한 현실의 상황에서 중요한 의의를 갖게 될 것이라고 사료된다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 건조방법을 달리한 구기열매의 기능성 성분 분석에 관한 연구

1. 실험방법 및 내용

가. 불로 구기자 건조실험

본 실험에 사용된 구기자는 2002년 충남 청양군 운곡면에서 수확한 불로 구기자를 열풍건조와 냉동건조 처리하여 사용하였다. 열풍건조는 페트리디쉬를 칭량한 뒤, 일정량(100g)의 불로 생구기자를 놓는다. 이 때 불로 생구기자는 깨끗이 세척하여 이물질이 제거되어있는 상태이다. 건조기를 각각의 온도(50℃, 60℃, 70℃)로 설정하고, 구기자를 넣는다. 일정시간 단위로 중량의 감소 상태를 확인하며, 건조구기자의 수분함량이 15%내외가 되면 육안으로 상태를 확인한 후 건조를 끝냈다.

동결건조는 일정량의 불로 생구기자를 동결 건조를 위한 접시에 넣고 칭량을 실시한 후 -70℃의 냉동고에서 동결한다. 이때 구기자는 깨끗이 세척하여 이물질을 제거하고, 수분을 최대한 제거한다. 건조에 사용한 동결건조기는 SAMWON사의 SFDSM06를 사용하였다. 동결건조기를 청소한 후 온도를 -70℃까지 내린 후, 동결된 구기자를 건조기에 넣고 압력을 떨어뜨린다. 압력은 10m torr를 설정하였으며, 72시간동안 건조를 실시하였다.

나. 화학적 성분 분석

1) 일반성분 분석

수분함량과 회분함량은 AOAC방법에 의해 측정하였고, 조지방은 Soxhlet's 추출법(식품공전 참조)으로 측정하였다. 환원당 함량은 DNS법에 의해 측정하였다.

2) 당 분석

Sucrose, maltose, glucose, fructose(Sigma Co. MO, USA)를 농도별로 희석하여 표준용액으로 하고, 불로 구기자(열풍건조열매, 생열매, 잎, 뿌리)는 증류수로 5배 희석해서 HPLC(Hewlett Packed 1100, USA)로 분석하였다. 분석 조건은 HPLC 1100 Series, 컬럼은 Kromasil KR100-10NH₂ (250×5mm), 30℃이며, 이동상은 75% Acetonitrile, 검출기는 RI(50℃), 유속은 1.6mL/min, 주입

량은 10 μ l로 하였다.

3) 유기산분석

균질화한 불로 구기자(열풍건조열매, 생열매, 잎, 뿌리) 일정량을 증류수로 5배 희석하여 시료로 사용하였다. Oxalate, tartarate, malate, lactate, acetate, citrate, succinate, fumarate 표준품(Sigma Co.)을 농도별로 희석하여 표준용액을 제조한 후 HPLC(Hewlett Packard 1100, U.S.A)로 분석, 정량하였다. 분석조건은 컬럼 Prevail Organic acid 5u (250 $\times$ 4.6 mm), 25 $^{\circ}$ C이며, 이동상은 25mM KH₂PO₄(pH 2.1 with Phosphoric acid), 검출기는 DAD(210 nm), 유속은 1.0 mL/min, 주입량은 10 μ l로 하였다.

4) Capsaicin 분석

Kenneth *et al.*(1986)과 Patrick *et al.*(1983)의 방법에 의해 불로 구기자(열풍건조열매, 생열매, 잎, 뿌리)를 homogenizer(Ace, nihonseiki kaisha ltd. Japan)로 처리한 다음, 약 10g을 정확히 달고 추출용매로서 클로로포름을 사용하여 130 $^{\circ}$ C에서 2시간동안 Soxhlet추출한 후 Whatman No.2로 여과한다. 여과물을 Rotary Evaporator(50 $^{\circ}$ C)로 농축한 후 이를 클로로포름 소량에 녹인 다음 다시 메탄올에 재용해하여 HPLC(HewlettPacked 1100, USA)분석하였다. 컬럼은 HP Hypersil ODS(200 $\times$ 4.6mm)이었고, Acetonitrile/1% citric acid in H₂O = 45/55(v/v) 혼합용매를 이동상(1mL/min)으로 하여 DAD(Diode array detector)로 파장 280nm에서 분리하였다.

다. 항산화력 분석

1) 총 페놀함량

Folin-Ciocalteu 법을 사용하여 불로 구기자(열풍건조열매, 생열매, 잎, 뿌리)의 총 페놀 함량을 측정하였다. Zoecklein *et al.*(1990)의 방법에 따라 시료 1ml에 증류수 60ml를 가하고, Folin-Ciocalteu's reagent 5ml를 첨가해 30초간 반응시킨다. 15ml의 포화 탄산나트륨 용액을 혼합하여 실온에서 2시간 방치한 뒤, 765nm에서 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 mg/L GAE로 환산하였다.

2) 총 플라보노이드 함량

불로 구기자를 Maria *et al.*(2000)의 방법으로 부위별(열풍건조열매, 생열매, 잎, 뿌리) 추출물 0.1ml에 80% ethanol 0.9ml를 더한다. 이 혼합물 0.5ml에 10% aluminium nitrate 0.1ml와 1M potassium acetate 0.1ml를 더하고, 80% ethanol 4.3ml를 첨가한 후 40분 방치한다. 415nm에서 흡광도를 측정하고, 측

정된 흡광도는 quercetin을 이용하여 구한 검량곡선으로부터 mg/L quercetin으로 환산하였다.

3) 항산화 실험 (Ferric thiocyanate method)

불로 구기자를 Z. Mohd Zin *et al.*(2002)의 방법에 따라 시료(열풍건조열매, 생열매, 잎, 뿌리) 4ml에 ethanol에 녹인 2.51% linoleic acid 4.1ml를 더하고, 0.05M phosphate buffer 8ml (pH 7.0), 증류수 3.9ml를 더한다. 이를 screw tube에 넣어 뚜껑을 닫고 45 의 암소에서 보관한다. 위 용액 0.1ml와 75% ethanol 9.7ml와 30% ammonium thiocyanate 0.1ml를 더한다. 3.5% HCl에 녹인 0.02M ferrous chloride 0.1ml를 넣은 후 정확히 3분 뒤에 500nm에서 흡광도를 측정한다. Control의 흡광도가 최대에 도달할 때까지 24시간마다 흡광도를 측정한다. 항산화력은 200ppm의 BHT와 α -tocopherol의 항산화제를 사용하여 비교 측정하였다.

4) Superoxideradical소거실험

불로 구기의 항산화 효과를 측정하기 위해 Lissi *et al* (1995), Mitsuta *et al* (1990) 의 방법에 따라 hypoxanthin-xanthin oxidase(HPX-XOD) 체계에서 electron spin resonance spectroscopy (ESR, Model JEOL-JES-TE 200, Japan)로 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4) 186 L, 50 μ M DTPA (diethylenetriaminepentaacetic acid) 2 L, 180 mM DMPO (5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide) 4 L, 1 mM Xanthine 4 L, xanthine oxidase 2 L, 65 unit catalase 2L 와 시료를 microtube에 넣어 잘 혼합하여 1분 후에 ESR로 측정하였다. 각 radical peak가 control peak에 비해 작아진 정도의 비를 계산하여 나타내었다.

$$\text{Scavenging activity (\%)} = [100 \times \{(\text{sample peak height} / \text{control peak height}) \times 100\}]$$

5) Hydroxylradical소거실험

불로 구기의 hydroxyl radical scavenging activity를 측정하기 위해 Lissi *et al* (1995), Mitsuta *et al* (1990) 의 방법에 따라 0.1 M Kpi buffer (pH 7.4) 188 L, 10 mM EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) 4 L, 90 mM DMPO 2 L, 200 μ M FeSO₄ 2 L, 100 μ M H₂O₂ 4 L와 시료를 microtube에 넣어 잘 혼합하여 1분 후에 ESR(Model JEOL-JES-TE 200, Japan)로 측정하였다.

라. Polyphenolic compounds 분석

구기자액 30g과 동량의 ethyl acetate를 혼합한 후 분별 깔대기에서 ethyl acetate층을 분리, 추출하였으며 이 과정을 3회 반복하여 ethyl acetate 추출물을 합한 후 무수황산나트륨을 가하고 여과하여 회전 진공농축기 50으로 완전히 농축한 후 시액(0.2M 인산완충액, pH 3.0 : 메탄올 : 물 = 2 : 3 : 15, v/v/v) 6배로 잘 희석한 용액을 0.45 μ m로 여과한 후 HPLC(Hewlett Packed 1100, USA)로 측정하였다.

마. 향기분석 분석

불로 구기자(열풍건조열매, 생열매, 잎, 뿌리)를 균질화하여 일정량(건조열매 190g, 생열매 10g, 잎 60g, 뿌리 40g)을 취한 후 이들 중의 향기성분을 Nickerson & Likens Method에 따라 SDE(Simultaneous Distillation Extraction Apparatus) 장치를 이용하여 dichloromethane 100mL씩으로 4시간 추출한 다음, Kuderna-danish Concentrator로 0.2mL로 농축 후 α -pinene 100ppm 0.1mL를 첨가하여 GC/MS로 분석하였다.

바. 품질평가

색도는 균질화한 불로 구기자(열풍건조열매, 생열매, 잎, 뿌리) 정확히 30g을 색차계 cell에 담아 Colorimeter (Hunter Lab Dp-9000, Reston, USA)를 사용하여 L , a , b 값을 측정하였으며, 이 때 표준편은 $L=91.81$, $a=-1.92$, $b=-0.63$ 이었다.

2. 결과 및 고찰

가. 구기자건조실험

열풍건조의 경우 Fig. 1에서 고온인 70℃에서의 최초 4시간의 수분의 증발량이 31.24g/100g으로 가장 높았으며, 저온인 50℃에서는 18.55g/100g으로 초기의 수분 증발량이 적었고, 60℃에서는 그 중간 값인 29.33g/100g이 되었다. 이에 따라 저온일수록 건조시간이 더 소요되었는데, 50℃에서는 48시간, 60℃에서는 44시간 70℃에서는 36시간이 소요됨을 알 수 있었다. Fig. 2에서 50℃ 불로 건조구기자가 선흥빛으로 육안으로 가장 좋았으며, 70℃에서 건조한 구기자의 경우 검붉은 색을 나타내었고, 50℃ 불로 건조구기자에 비해 쪼그라져 있었으며, 간혹 검은색으로 완전히 쪼그라든 것도 볼 수 있었다. 이에 따라 육안으로 식별 시에는 건조시간이 다소 걸리더라도 저온인 50℃에서 건조하는 것이 가장 좋은 것으로 판단되었으며, 차후의 일반성분분석에서도 50℃ 불

로 건조구기자가 가장 좋은 상태로 판명되었다. 동결건조 시 불로 생구기자에 대해 평균 18.93%의 불로 건조구기자를 획득할 수 있었으며, 81.07g/100g이 수분으로 제거됨을 알 수 있었다.

동결건조의 경우, 건조 후의 형태가 최초 불로 생구기자와 동일하게 유지하여 육안으로 관측 시 매우 좋은 상태를 보였으나, 당이 많은 관계로 쉽게 동결건조가 되지 않고, 건조 간 표면에 기포가 생겨 완전히 건조가 되지 않는 경우가 많았다. 열풍건조와 대비해 불로 생구기자의 원형이 그대로 보존되어 일반 성분도 더 많이 보존되리라는 추측을 할 수 있었다.

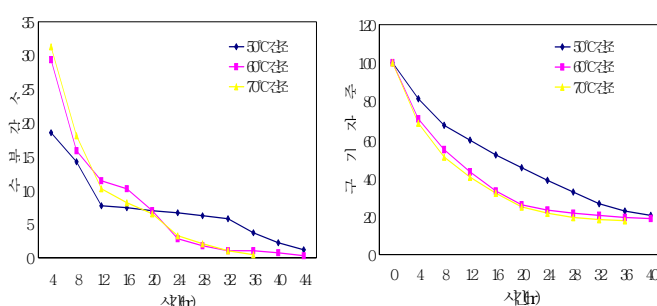


Fig. 1. Weight and water decrease contents of *Lycii fructus*.

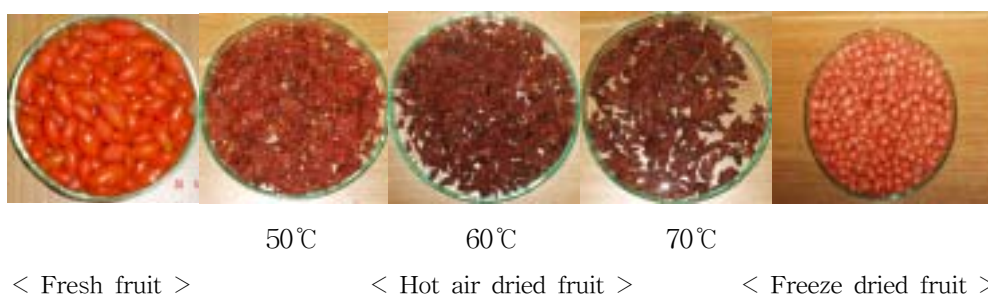


Fig. 2. Appearance of hot air and freeze dried *Lycii fructus*.

나. 화학적 성분 분석

1) 일반성분 분석

Fig. 3에서 불로 생구기자의 조지방 함량은 평균 1% 미만으로 높지 않은 것으로 나타났으며, 불로 동결건조구기자가 5.75%, 50°C 불로 열풍건조구기자

가 4.35%를 함유하였다. 회분 함량을 보면, 불로 생구기자는 1.3% 정도로 높지 않은 것으로 나타났으며, 불로 동결건조구기자가 5.11%, 50℃ 불로 열풍건조구기자가 4.77%이었다. DNS법에 의한 환원당의 함량은 불로 생구기자의 환원당이 521.7mg/solid g으로 아주 높은 것을 알 수 있었으며, 이 때문에 열풍건조기간 동안 끈적끈적한 상태가 되며, 천일건조의 애로가 많음을 알 수 있었다. 특히 동결건조구기자가 432mg/solid g으로 열풍건조구기자의 393mg/solid g에 비해 다소 환원당량이 많은 것을 알 수 있었다. 수분의 함량은 불로 동결건조구기열매는 18.93%이었다. 불로 열풍건조구기자는 열풍온도에 따라 50℃ 22.30%, 60℃ 23.46%, 70℃ 20.45%로 나타났으나, 이것은 건조시간을 조정함으로써 충분히 조절할 수 있을 것으로 예상되었으며, 50℃ 불로 건조구기자의 상태가 가장 좋았던 것으로 보아 평균 22~23% 정도의 수분을 함유한 것이 적절하다고 판단되었다. 이에 열풍건조 구기자의 경우 상태가 가장 좋았던 50℃ 불로 열풍건조구기자를 사용하여 분석하였다. Fig. 4에서 수분의 함량은 생구기열매와 잎이 각각 83.00%, 79.36%로 비슷하게 나타났고, 뿌리는 32.95%의 수분함량을 보였으며, 불로 열풍건조구기열매는 22.30%으로 가장 낮게 나타났다. 이는 이 등(Lee *et al.* 1996)의 연구결과에서 생구기열매의 수분함량이 93.00% 인 것에 비해 다소 적은 수치였다. 이러한 결과가 나온 것은 구기자의 품종간의 차이나, 재배과정 중의 차이 때문인 듯하다.

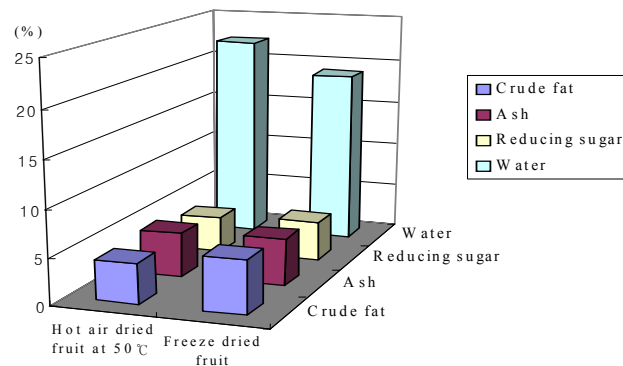


Fig. 3. Contents of crude fat, ash, reducing sugar and water of hot air and freeze dried *Lycii fructus*.

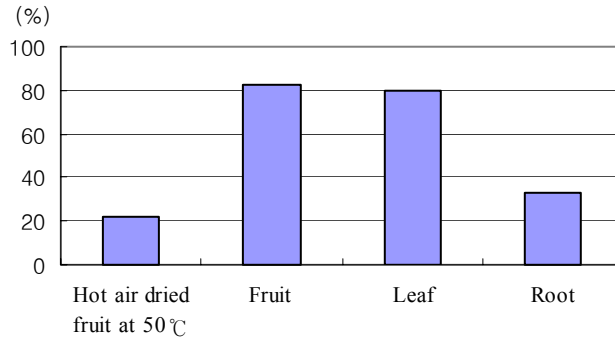


Fig. 4. Water content of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

2) 당 함량

블로 구기자의 50℃ 열풍건조열매, 생열매, 잎, 뿌리에서의 당의 함량은 Fig. 5에 나타내었다. 열매와 잎에서는 fructose와 glucose의 함량이 높았고 sucrose는 검출되지 않았으며, 뿌리에서는 sucrose의 함량이 4.92g으로 대부분이고 fructose, glucose, maltose의 함량은 매우 낮았다. 이 들(Lee *et al.* 1995)과 오 들(Oh *et al.* 1990)의 실험에서는 열매에서 fructose와 glucose만 검출되고 sucrose가 검출되지 않은 점이 본 실험과 일치한다. Dried fruit에서는 100g당 fructose가 19.3g, glucose가 18.45g, sucrose가 1.91g, maltose가 1.62g으로 검출되었다. 그에 관련한 chromatogram은 Fig. 6에 제시하였다.

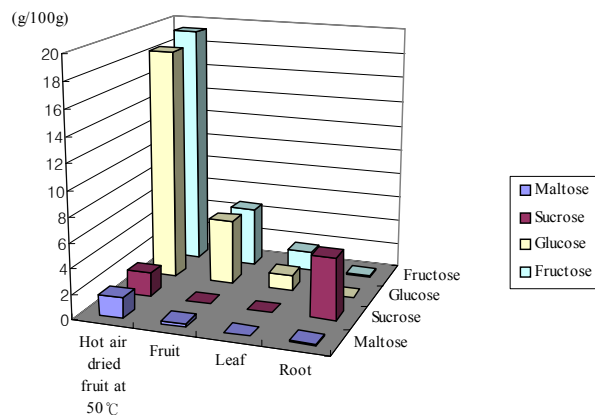


Fig. 5. Sugars content of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

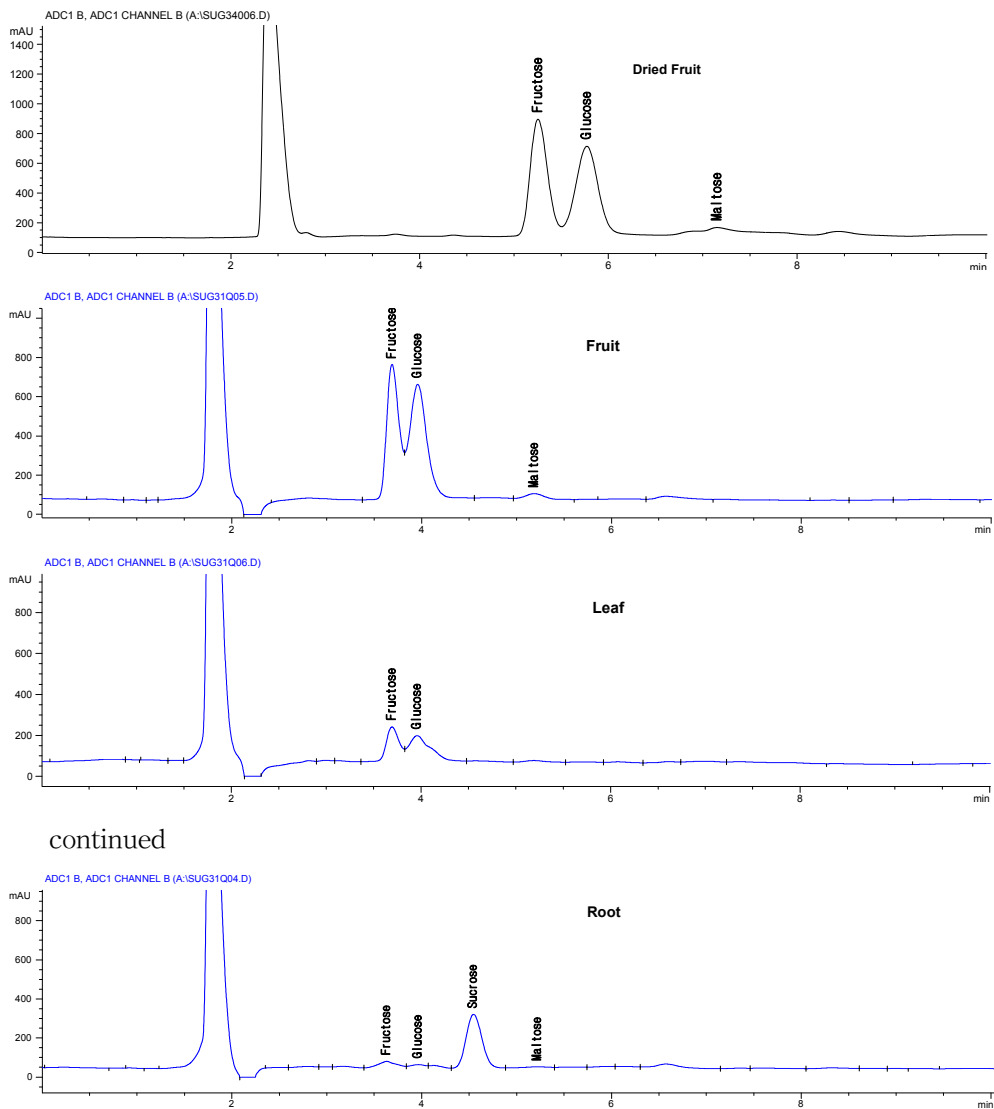


Fig. 6. HPLC chromatogram of sugar in *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

3) 유기산 함량

Fig. 7은 유기산의 함량을, 그리고 Fig. 8은 불로 구기자 부위별 관련 chromatogram을 나타내었다. 불로 구기자 열매의 유기산의 함량은 citrate가 100g 당 1013.23mg으로 가장 높게 나타났으며, 잎과 뿌리는 malate가 각각 100g 당 712.53mg, 382.41mg로 검출되었다. Oxalate는 뿌리에서 199.40mg 검

출되었고, lactate는 239.59mg이 앞에서 검출되었다. Succinate는 열매에서 12.38mg이 나타났다. Acetate는 앞에서 나타나지 않았으며, tartarate의 함량은 열풍건조 열매, 열매, 잎, 뿌리 모든 부위에서 검출되지 않았다. 이는 오 등(Oh et al. 1990)의 연구 결과에서 lactate와 malate의 함량이 가장 많이 검출되고 citrate는 다소 적게 검출된 것과 조금 다른 결과를 보였다. 이는 매 해 재배되는 구기자의 환경에 따른 차이 때문인 듯 하다. 50℃에서 열풍건조한 dried fruit의 경우 주요 유기산이 lactate, citrate, acetate, malate로 100g당 867.00mg, 762.00mg, 370.00g, 301.90mg으로 나타났다.

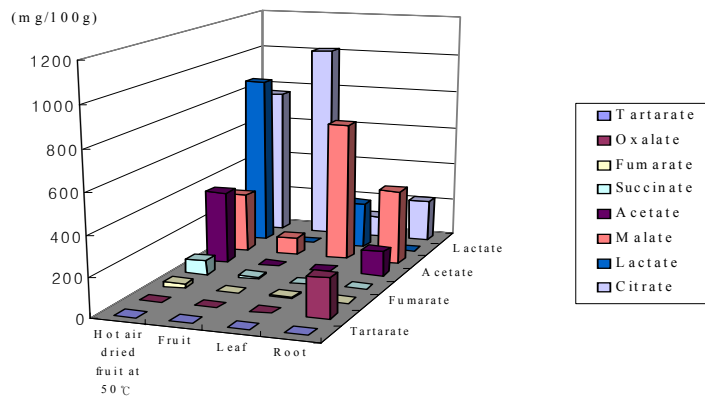
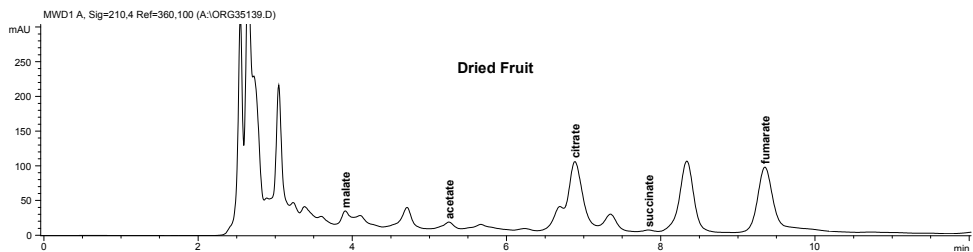


Fig. 7. Organic acids content of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.



continued

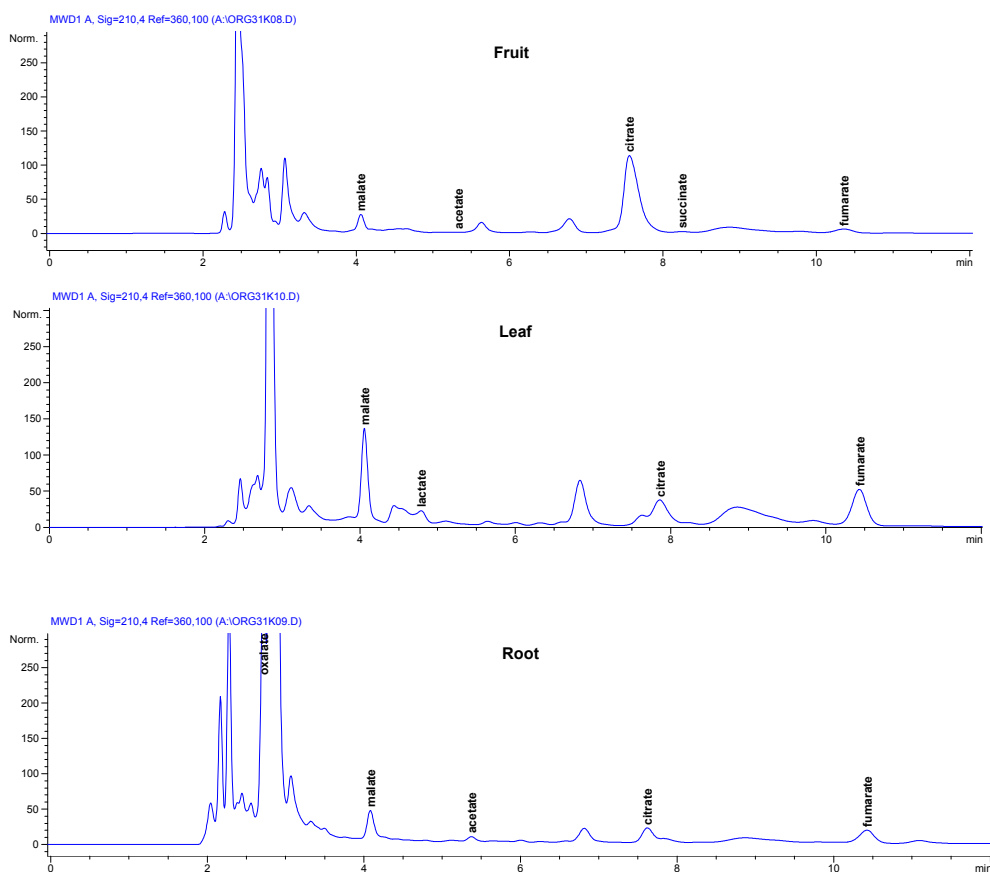


Fig. 8. HPLC chromatogram of organic acid in *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

4) Capsaicin 분석

Fig. 9에서 불로 구기자의 capsaicin 함량으로 뿌리는 100g 당 2.78mg, 잎은 1.18mg의 함량을 보였으며, 열매에서는 검출되지 않았고, 열풍건조한 dried fruit는 0.24 mg/100g으로 검출되었다. Fig. 10에서 불로 구기자 부위별 capsaicin chromatogram을 제시하였다.

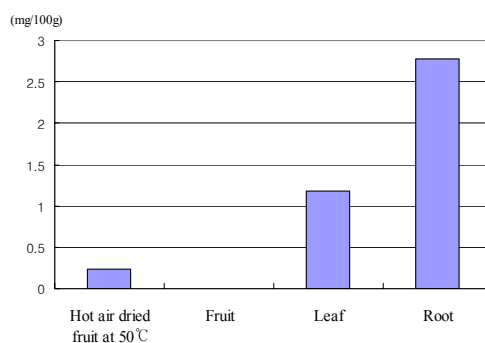
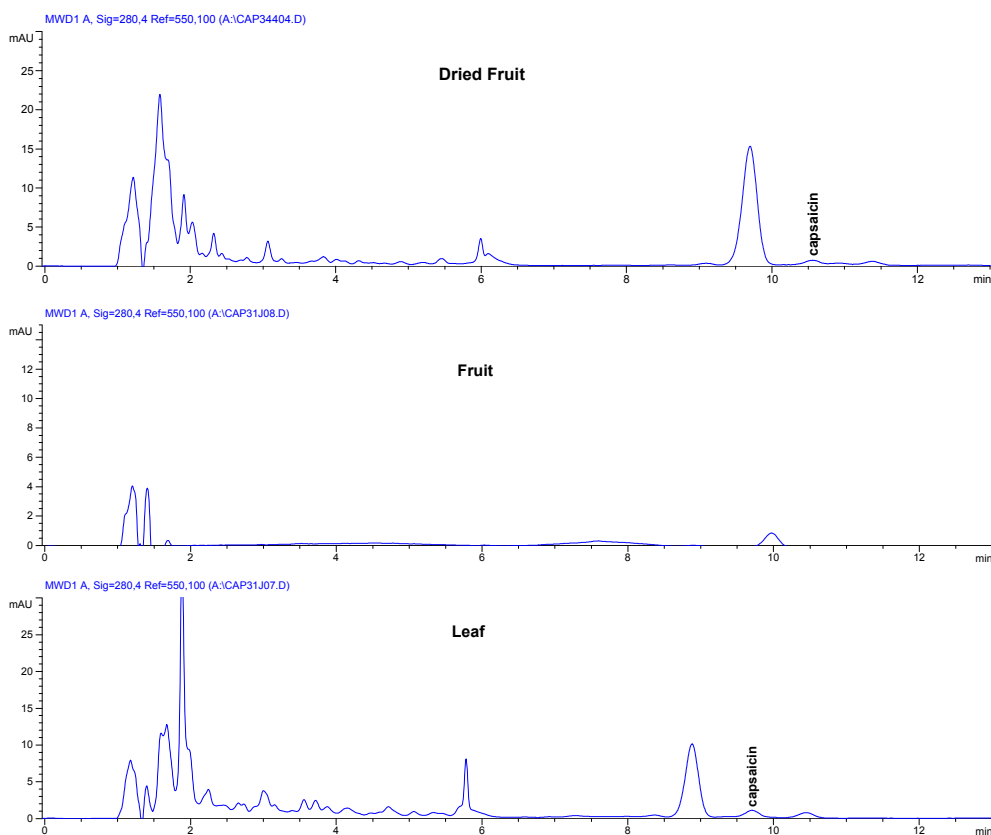


Fig. 9. Capsaicin content of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.



continued

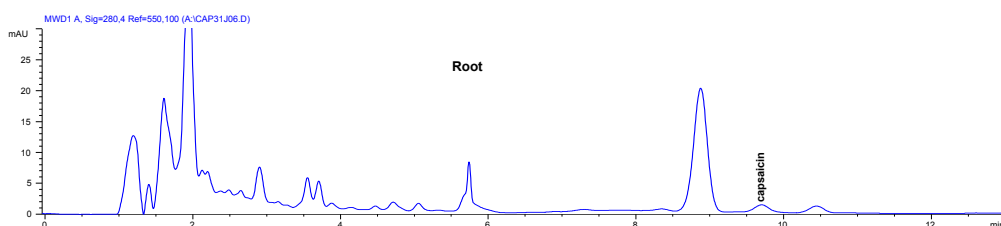


Fig. 10. HPLC chromatogram of capsaicin in *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

다. 항산화력 및 라디칼 소거효과

1) 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량

Fig. 11에서 총 페놀 함량은 불로 열풍건조 구기열매에 1L당 4950.55mg, 열매에 1078.39mg이 검출되었으며, 잎에는 939.93mg, 뿌리에는 3792.18mg의 함량을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량은 열풍건조 구기열매의 경우 1952.18mg을 나타내었고, 열매는 396.73mg, 잎과 뿌리는 각각 1952.94mg, 425.29mg의 함량을 나타내었다.

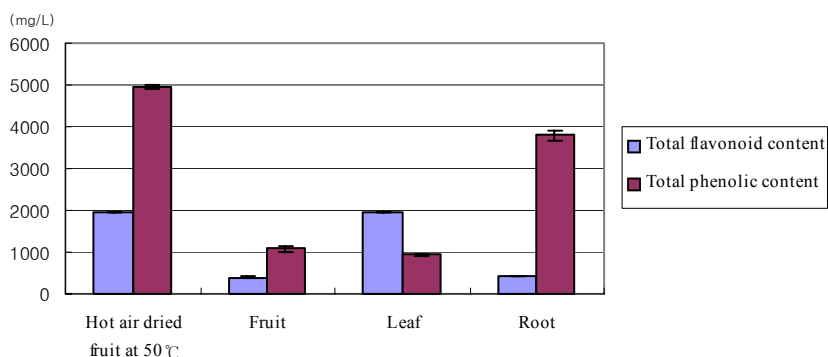


Fig. 11. Total phenolics and total flavonoid contents of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

2) 항산화력 (Ferric thiocyanate method)

Fig. 12에 불로 구기자의 항산화력에 대해 나타내었다. 불로 생구기열매의 경우, 총 페놀함량이 0.5g/L일때 항산화력이 75.89%로 나타났으며, 1.0g/L, 1.5g/L, 2.0g/L일때 각각 97.20%, 99.04%, 99.57%로 나타났다. 총 페놀함량이 0.5g/L, 1.0g/L, 1.5g/L, 2.0g/L일때, 잎은 각각 98.85%, 99.98%, 99.02%,

98.60%로 높은 항산화력을 나타냈으며, 뿌리의 경우 56.40%, 98.57%, 99.55%, 99.62%로 농도가 높을수록 항산화력이 크게 나타났다. Mau 등(Mau *et al.* 2002)의 연구에서는 버섯의 항산화력에 대해 실험한 결과, 시료추출물의 농도가 높을수록 항산화력은 크게 나타났다. 200ppm의 BHT는 99.46%의 항산화력을 나타내어, 총 페놀함량 1.5g/L, 2.0g/L의 열매, 1.0g/L, 1.5g/L의 잎, 1.5g/L, 2.0g/L의 뿌리와 비슷한 항산화력을 보였다. 200ppm의 α -tocopherol은 90.51%의 항산화력을 나타내어 총 페놀함량이 0.5g/L의 열매와 뿌리보다는 높은 항산화력을 보였다. Mohd Zin 등(Mohd Zin *et al.* 2002)의 실험에서 뽕나무의 부위별(열매, 잎, 뿌리) 항산화력을 나타낸 결과를 보면, ethyl acetate 추출물의 경우, 뽕나무의 모든 부위가 α -tocopherol이나 BHT와 비교하여 높은 항산화력을 나타내었다. 50℃에서 열풍건조한 불로 구기열매는 실험 중에 있다.

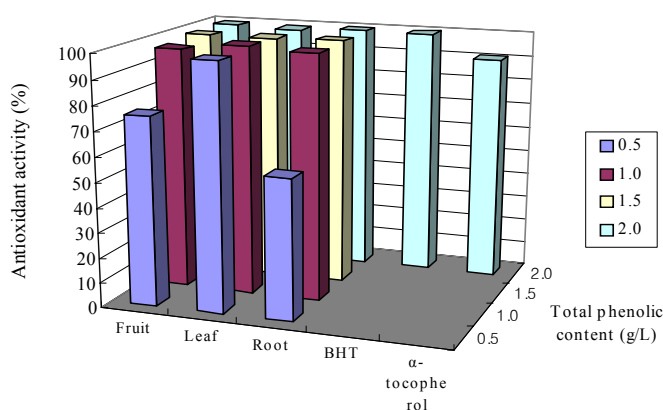


Fig. 12. Antioxidant activity of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

3) Superoxide radical 소거효과

Fig. 13 은 불로구기 부위별 superoxide anion radical 소거효과를 나타내었다. Superoxide anion radical을 xanthin/xanthin oxidase로 생성시켜 반응속도가 매우 빠르므로 불안정하므로 DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide)를 이용해서 생성된 radical을 안정하게 trapping해주므로 ESR을 이용해 이 신호를 탐지하고, 이때 생성되는 금속이온을 제거하기 위해서 DTPA(diethylenetriaminepentaacetic acid)를 첨가하여, superoxide radical은 시간이 지남에 따라 과산화수소도 생성하므로 이를 제거시키기 위해

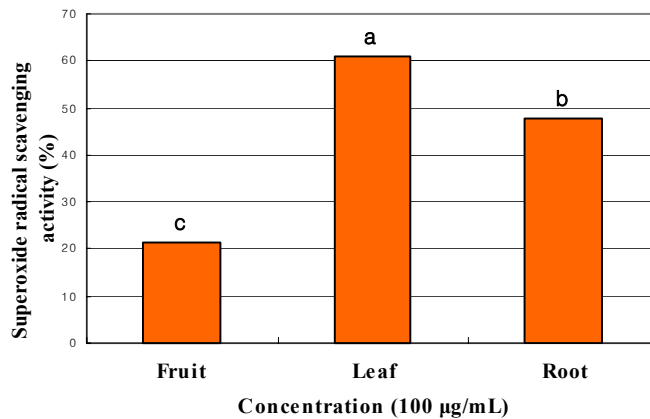


Fig. 13. Superoxide anion ESR spectra and radical scavenging activity of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

The conditions of ESR analysis : Microwave frequency 9.416270 [GHz], microwave power 1.00 [mW], modulation amplitude 0.1 [mT]

For abbreviations see Fig. 11.

4) Hydroxy 라디칼 소거효과

Fig. 14는 불로 구기별 hydroxyl radical 소거효과에 관한 결과이다. Hydroxyl radical은 fenton reaction에 의해서 생성이 되며, 이 라디칼을 (5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide)로 trapping하여 ESR로 그 신호를 탐지한다. 불로 구기의 부위별 시료의 hydroxyl radical 소거 능력은 superoxide anion radical 소거 능력에 비해 효과가 낮으나, 잎과 뿌리에서 각각 $7.4 \pm 0.1\%$, $34.6 \pm 0.1\%$ 로 뿌리에서 가장 높은 소거효과가 있는 것으로 나타났다($p < 0.001$).

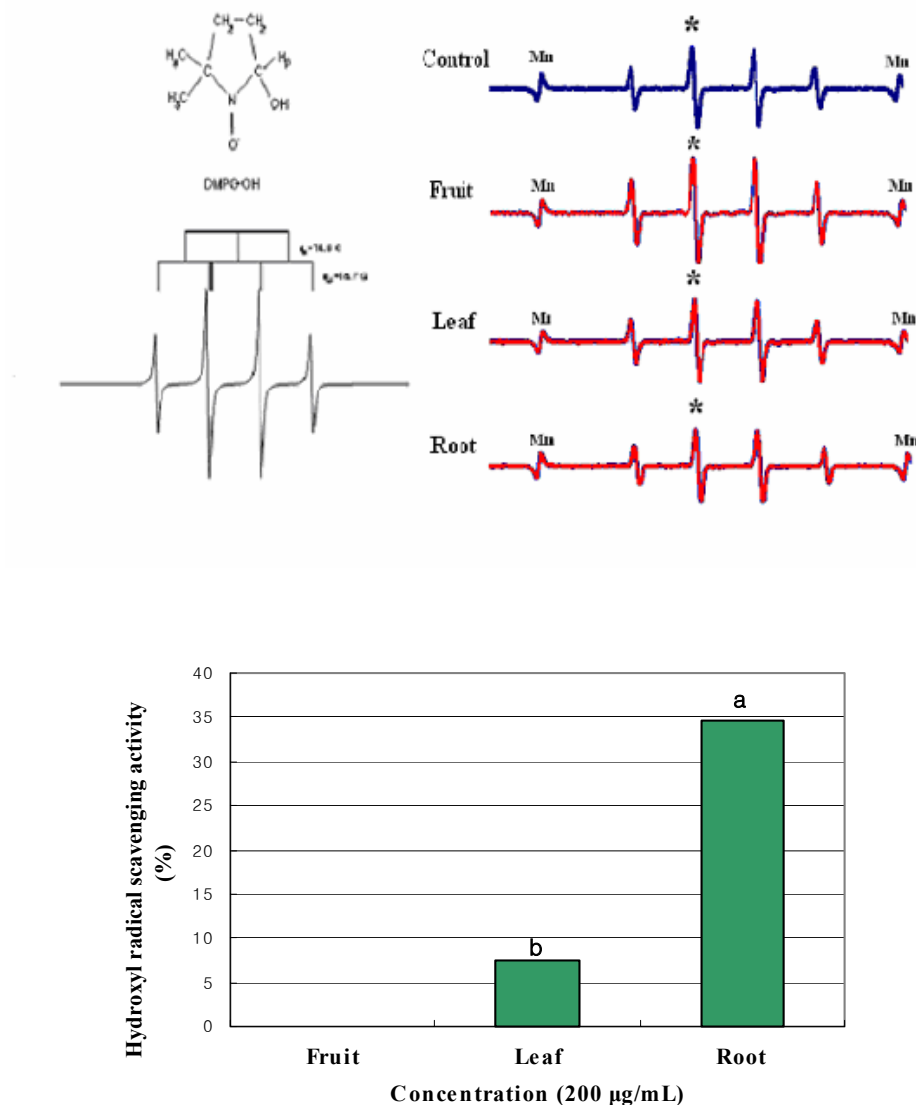


Fig. 14. Hydroxyl ESR spectra and radical scavenging activity of *Lycii-fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

The conditions of ESR analysis : Microwave frequency 9.416270 [GHz], microwave power 1.00 [mW], modulation amplitude 0.1 [mT]

For abbreviations see Fig. 11.

라. Polyphenol compounds 분석

불로 구기열매의 붉은 색소에서 polyphenol compound가 많이 함유하리라 생각하였으나 Fig. 15에서와 같이 미량의 성분이 함유되어 있었다. Dried fruit의 경우 100g당 0.098mg의 syringic acid가 검출되었고, fruit의 경우는 0.006mg의 syringic acid, 0.018mg *p*-coumaric acid가 검출되었다. Root의 경우 0.022mg의 procatechuic acid, 0.043mg의 caffeic acid, 0.046mg의 syringic acid, *p*-coumaric acid가 0.178mg이 검출되었다. Fig. 16에서 polyphenolic compounds chromatogram을 제시하였다.

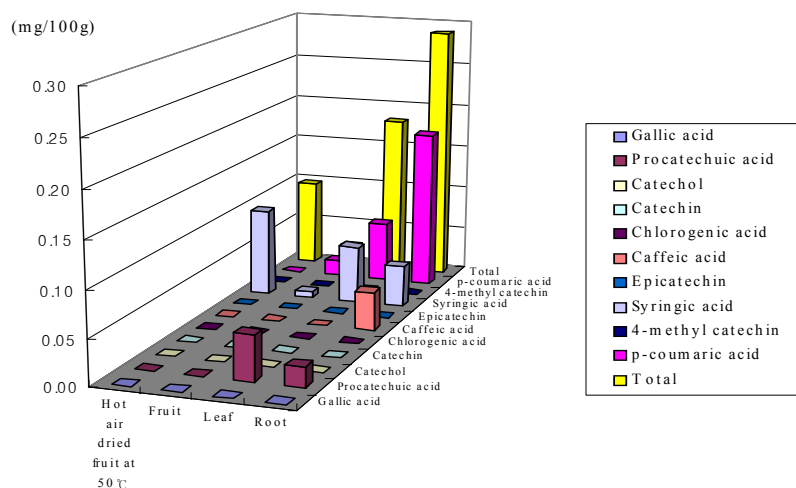
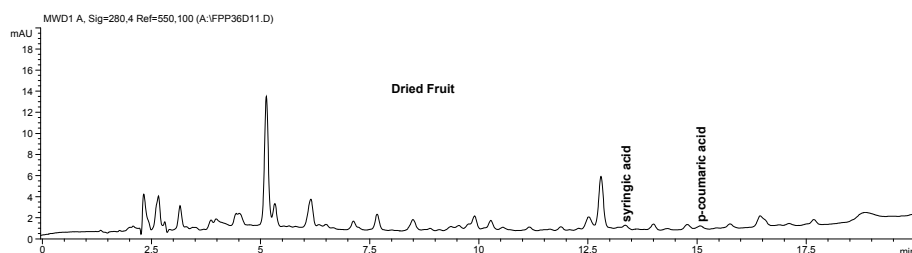


Fig. 15. Polyphenolic compounds of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.



continued

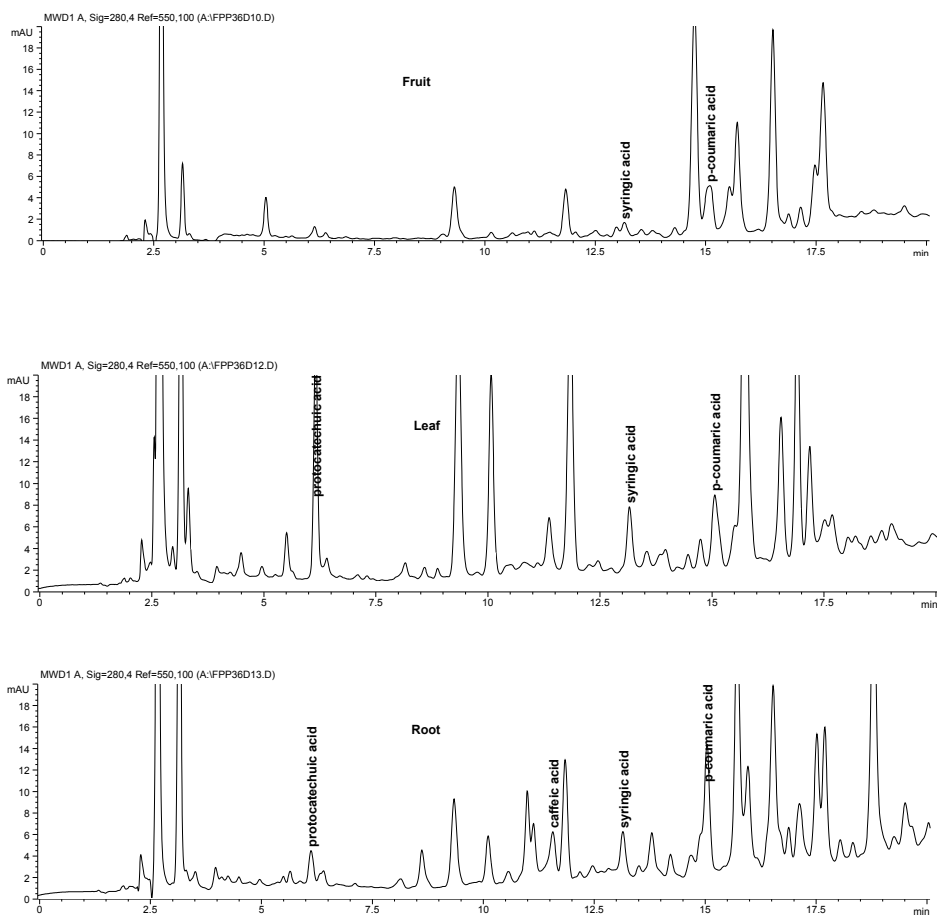


Fig. 16. HPLC chromatogram of polyphenolic compounds in *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

마. 향기성분 분석

불로 구기의 향기성분의 경우 총 128개 물질이 확인되었다. Acids류는 22개, alcohol류는 15개, aldehyde류는 12개, ester류는 8개, furan류는 10개, hydrocarbon류는 26개, phenol류는 4개, pyrrole류는 2개, pyrazine은 1개, 그 외의 28개류가 확인되었다. 열풍건조한 구기열매, 생구기자, 구기엽, 지골피 향기성분을 분석하였다. Fig. 17에서 dried fruit, fruit, leaf, root의 순으로 이들 그룹별 함량을 보면 acids류는 12.713ppm, 0.300ppm, 1.278ppm, 6.440ppm을 나타내었고, alcohol류는 2.985ppm, 0.210ppm, 2.900ppm, 1.059ppm, aldehyde류는 3.657ppm,

0.171ppm, 0.786ppm, 0.092ppm으로 나타났다. Ester의 경우 4.513ppm, 0.069ppm, 0.342ppm, 0.267ppm이었고, furans의 경우 5.367ppm, 0.137ppm, 0.371ppm, 0.433ppm 이었다. Phenol류는 3.160ppm, 0.138ppm, 0.555ppm, 1.078ppm, pyrroles의 경우 dried fruit와 leaf에서 각각 1.039ppm과 0.013ppm으로 나타났다. Fig. 18에 GC chromatogram을 제시하였다.

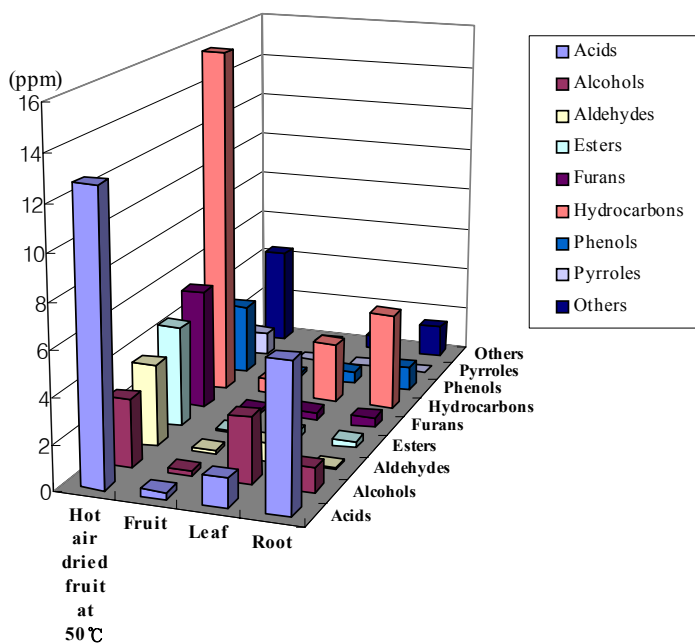
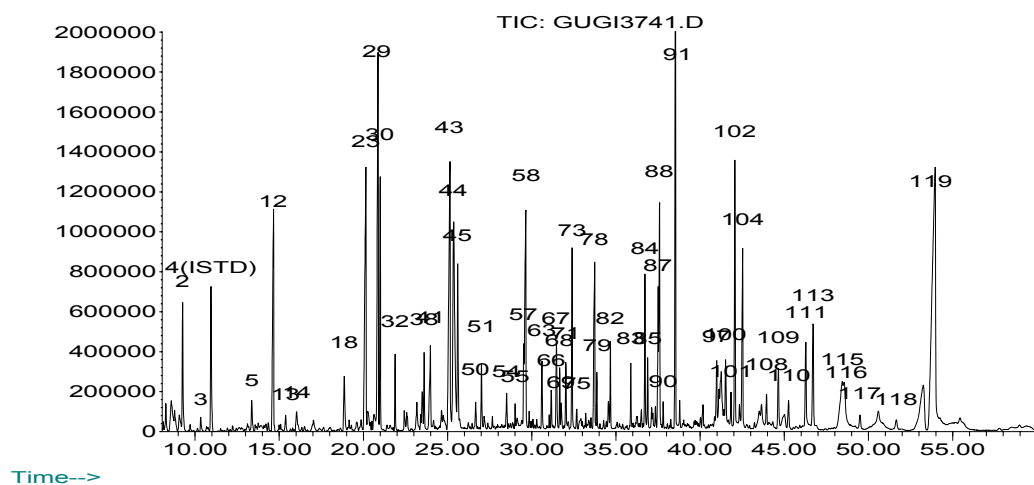


Fig. 17. Volatile flavor compounds of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

Dried fruit

Abundance



Fruit

Abundance

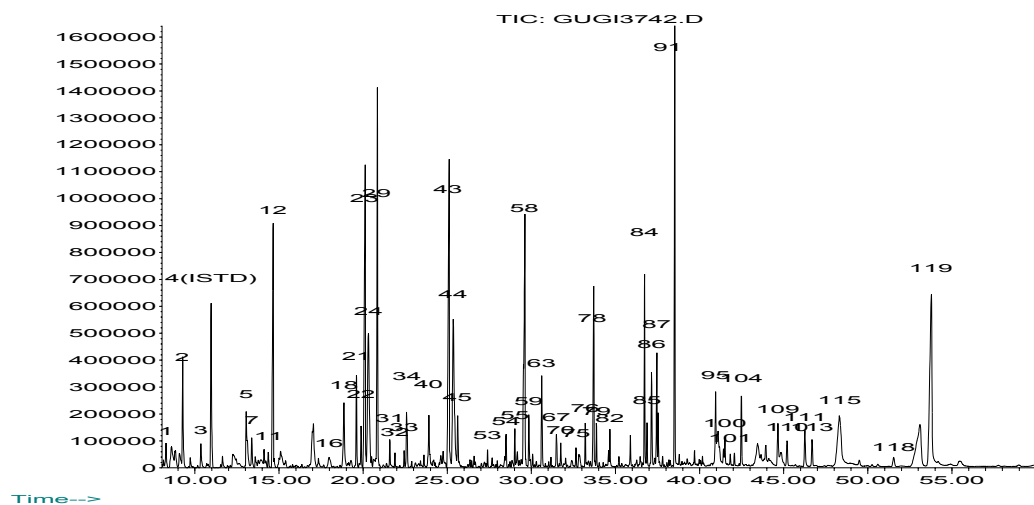
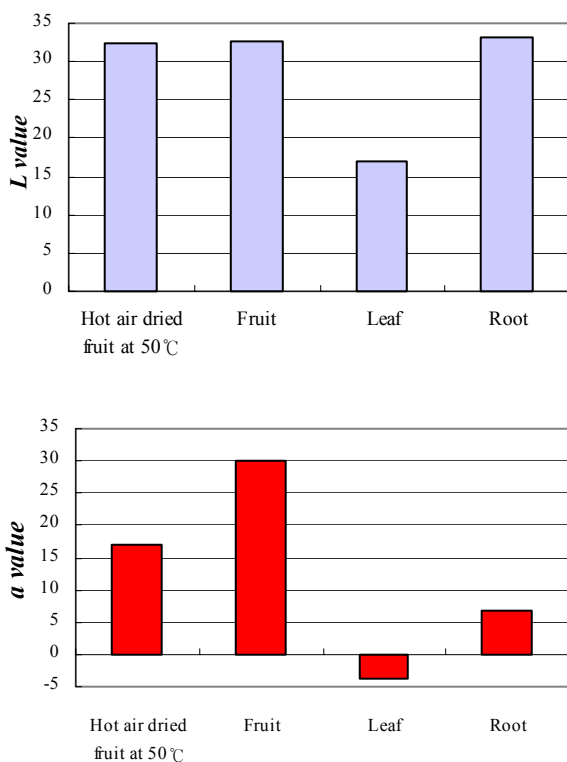


Fig. 18. GC chromatogram of volatile flavor compounds in *Lycii fructus*.

바. 색도 품질평가

Fig. 19은 불로 구기자의 부위별 명도(L), 적색도(a), 황색도(b)를 측정된 결과이다. L 값은 50℃에서 열풍건조한 dried fruit, fruit, root는 비슷한 명암을 나타내었다. Fruit의 경우 밝은 주홍색을 띠었으며 a 의 값이 30.12로 붉은 색을 띠었으며, 잎의 경우 a 값이 -3.65로 초록색을 나타내었다. 그리고 b 값의 경우 fruit은 21.08로 옅은 노란색을 가진 색소성분이 높게 나타났다. Fig. 2의 사진에서와 같이 50℃에서 열풍건조한 dried fruit의 L 값은 생구기열매와 비슷하며 a 값은 붉은 색이 생구기열매보다 낮았으며, b 값의 노란색은 낮게 나타났다.



continued

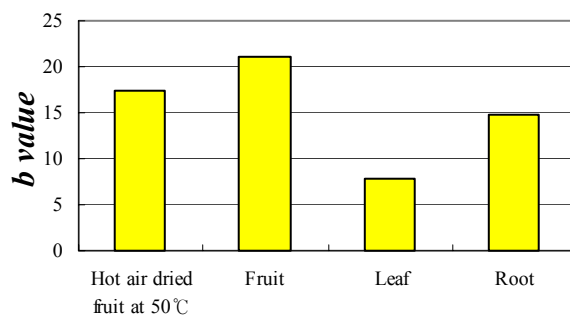


Fig. 19. *L*, *a*, *b* value of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*.

제 2 절 씨 적은 구기자즙의 기능성 성분분석 및 품질평가에 관한 연구

1. 실험방법 및 내용

가. 시료 제조

본 실험에서는 2003년 청양 구기자 시험장에서 수확한 구기자의 생과와 건과를 이용하여 시료를 Fig. 1, 2 와 같이 주스를 제조하였다. 생 볼로 구기자 주스(FJ)는 볼로 구기자 생과를 정선 및 수세 과정을 거쳐 90℃에서 40초간 처리하여 착즙하였다. 비타민 C 0.25%, 메타인산나트륨 0.1%를 첨가하여 85℃에서 5분간 가열 후 여과하였다. 병입하여 90℃에서 15분간 살균한 후 급냉하였다. 구기자 건과의 경우는 볶은 건과 볼로 구기자 주스와 볶지 않은 건과 볼로 구기자 주스의 두 종류를 제조하였다. 볶은 건과 볼로 구기자 주스(RJ)는 볼로 구기자 건과를 증불에서 5분간 볶으며, 이 때의 건과 내부 온도는 80℃이었다. 구기자 건과와 물의 비율을 1 : 9로 하고, 비타민 C 0.25%, 메타인산나트륨 0.1%를 첨가하여 50℃에서 2시간동안 추출하였다. 여과하고 병입 한 후 90℃에서 15분간 살균하고 냉각시켜 제조하였다. 볶지 않은 건과 볼로 구기자 주스(DJ)는 구기자 건과와 물의 비율을 1 : 9로 하여 비타민 C 0.25%, 메타인산나트륨 0.1%를 첨가하여 50℃에서 2시간동안 추출하였다. 여과 후 병입 한 후 90℃에서 15분간 살균하여 냉각하였다. 시료들은 1℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

나. 화학적 성분 분석

1) pH, 총산도, 당도

pH는 상온에서 pH meter(ion meter, Orion 520A, USA)를 사용하여 측정하였다. 총 산도는 주스 10mL에 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.4가 될 때 까지 적정하여 소비된 NaOH 양을 사과산으로 환산하여 구하였다. 당도는 25℃에서 Hand refractometer를 사용하여 측정하였다 (Zoecklein *et al.*, 1990).

2) Hue, Intensity, 색도, 투광도

Zoecklein 등의 방법(Zoecklein *et al.*, 1990)에 따라 볼로 구기자 주스를 각각 420 nm, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 hue는 420nm/520nm의 비율로, intensity는 420+520 nm의 합으로 하였다. 색도는 L, a, b 값으로 Hunter colorimeter를 이용하여 측정하였다. 투광도는 spectrophotometer로 희석한 액을 660 nm에서 %T로 측정하였다.

3) 당 분석

당 분석은 식품공전을 참조하여 측정하였고, 시료 10 g을 증류수로 3배 희석해서 HPLC(Hewlett Packed 1100, Palo Alto, USA)로 분석하였다. 분석조건은 HPLC 1100 Series, 컬럼은 Kromasil KR100-10NH₂ (250 × 4.5 mm), 30℃이며, 이동상은 75% acetonitrile, 검출기는 50℃에서 RI로, 유속은 1.4 mL/min, 주입량은 10 μL로 하였다. Sucrose, maltose, glucose, fructose(Sigma Co. MO, USA)를 농도별로 희석하여 표준용액을 제조한 후 분석하여 검량선을 작성하였으며 이에 따라 정량하였다 (Korea Food Industry Association, Food code, 2002).

4) 유기산분석

AOAC 방법(AOAC, 1995)에 따라 시료 5 g을 증류수 5배 희석하여 시료로 사용하였다. Oxalate, tartarate, malate, lactate, acetate, citrate, succinate, fumarate 표준품(Sigma Co. MO, USA)을 농도별로 희석하여 표준용액을 제조한 후 HPLC(Hewlett Packard 1100, Palo Alto, USA)로 분석, 검량선을 작성하여 정량하였다. 분석조건은 컬럼 Prevail Organic acid 5μ (250 × 4.6mm), 25℃이며, 이동상은 25 mM KH₂PO₄(Phosphoric acid pH 2.1), 검출기는 DAD(diode array detector)로 파장 210 nm, 유속은 1.0 mL/min, 주입량은 10 μL로 하였다.

다. 항산화력 분석

1) 총 페놀함량

Folin-Ciocalteu 법(Zoechlein, *et al.*, 1990)을 사용하여 ब्लो 구기자 주스의 총 페놀 함량을 측정하였다. 시료 1 mL에 증류수 60 mL를 가하고, Folin-Ciocalteu's reagent 5 mL를 첨가해 30초간 반응시킨다. 15 mL의 포화 탄산나트륨 용액을 혼합하여 실온에서 2시간 방치한 뒤, 765 nm에서 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 mg/L GAE로 환산하였다.

2) 총 플라보노이드 함량

블로 구기자 주스를 Nieva Moreno 등의 방법(Nieva Moreno *et al.*, 2000)으로 주스 0.1 mL에 80% ethanol 0.9 mL를 더한다. 이 혼합물 0.5 mL에 10% aluminium nitrate 0.1 mL와 1 M potassium acetate 0.1 mL를 더하고, 80% ethanol 4.3 mL를 첨가한 후 40분 방치한다. 415 nm에서 측정된 흡광도는 quercetin을 이용하여 구한 검량곡선으로부터 mg/L quercetin으로 환산하

였다.

3) 항산화 실험 (Ferric thiocyanate method)

블로 구기자 주스를 Mohd Zin 등의 방법(Mohd Zin *et al.*, 2002)에 따라 시료 4 mL에 ethanol에 녹인 2.51% linoleic acid 4.1 mL를 더하고, 0.05 M phosphate buffer 8 mL (pH 7.0), 증류수 3.9 mL를 더한다. 이를 screw tube에 넣어 뚜껑을 닫고 45℃의 암소에서 보관한다. 위 용액 0.1 mL와 75% ethanol 9.7 mL와 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL를 더한다. 3.5% HCl에 녹인 0.02 M ferrous chloride 0.1 mL를 넣은 후 정확히 3분 뒤에 500 nm에서 흡광도를 측정한다. Control의 흡광도가 최대에 도달할 때까지 24시간마다 흡광도를 측정한다.

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = [100 - \{(\text{product extraction oxidation index}_{t=\text{maxhr}} / \text{control oxidation index}_{t=\text{maxhr}}) \times 100\}]$$

4) Superoxide radical 소거실험

블로 구기자 주스의 항산화 효과를 측정하기 위해 hypoxanthin-xanthin oxidase(HPX-XOD) 체계에서 ESR(electron spin resonance, Model JEOL-JES-TE 200, Japan)로 측정하였다. 0.1 M Kpi buffer(pH 7.4) 181 μ L, 5 mM DTPA(diethylene triamane penta acetic acid) 2 μ L, 9 M DMPO (5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide) 4 μ L, 50 mM xanthine 4 μ L, 100 μ M catalase 2 μ L, 25 unit xanthin oxidase 2 μ L와 시료 5 μ L를 microtube에 넣어 잘 혼합하여 2분 후에 ESR로 측정하였다. 각 radical peak가 control peak에 비해 작아진 정도의 비를 계산하여 나타내었다(Mitsuta *et al.*, 1990; Sato *et al.*, 1996; Lissi *et al.*, 1995).

$$\text{Scavenging activity (\%)} = [100 - \{(\text{sample peak height} / \text{control peak height}) \times 100\}]$$

5) Hydroxyl radical 소거실험

블로 구기자 주스의 hydroxyl radical scavenging activity를 측정하기 위해 0.1 M Kpi buffer(pH 7.4) 183 μ L, 10 mM EDTA(ethylene diamine tetra acetic acid) 4 μ L, 9 M DMPO 2 μ L, 20 mM FeSO₄ 2 μ L, 5 mM H₂O₂ 4 μ L와 시료 5 μ L를 microtube에 넣어 잘 혼합하여 2분 후에 ESR(Modal JEOL-JES-TE 200, Japan)로 측정하였다(Mitsuta *et al.*, 1990; Sato *et al.*, 1996; Lissi *et al.*, 1995).

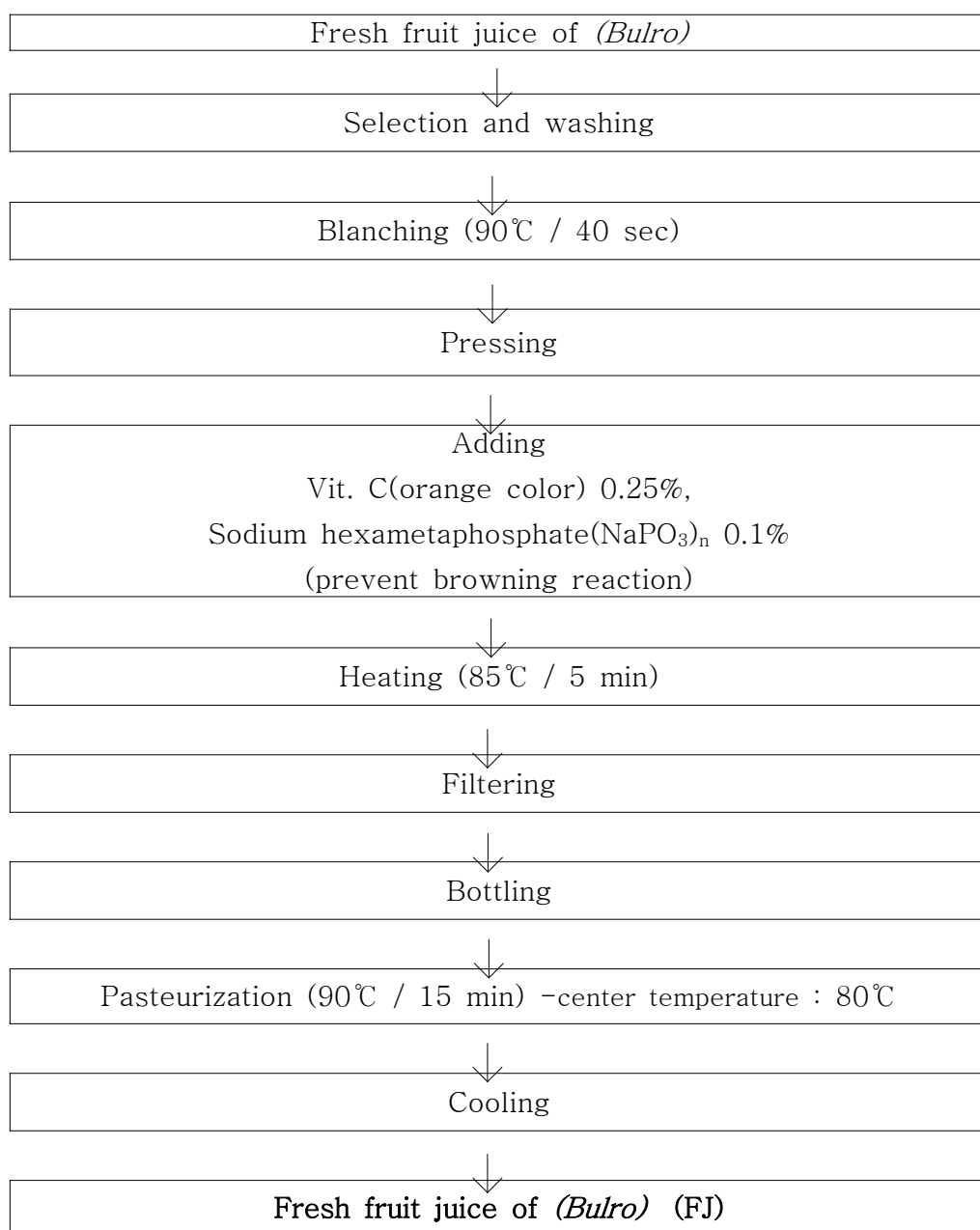


Fig. 1. Procedure of fresh fruit juice of *Lycium chinense* (Bulro).

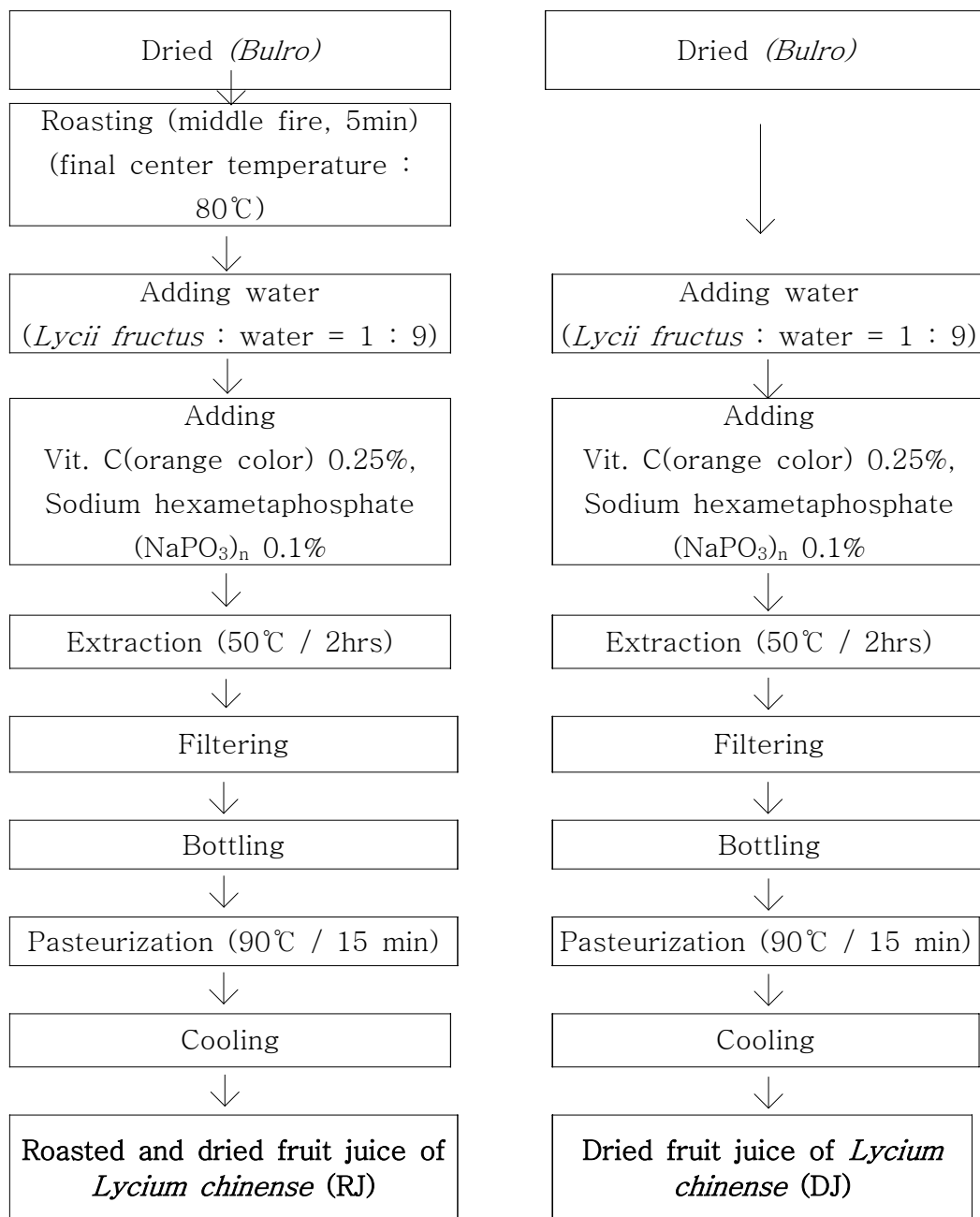


Fig. 2. Procedure of roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense* (Bulro).

라. Polyphenolic compounds 분석

Chen 등(Chen *et al.*, 2001)의 방법으로 분별 깔대기에 시료 50 g과 동량의 ethyl acetate를 혼합한 후 ethyl acetate층을 분리, 추출하였으며 이 과정을 3회 반복하여 ethyl acetate 추출물을 합한 후 무수황산나트륨을 가하고 여과하여 50°C에서 회전 진공농축기로 완전히 농축한 후 시액(0.2 M 인산완충액, pH 3.0 : 메탄올 : 물 = 2 : 3 : 15, v/v/v) 10 mL로 잘 희석한 용액을 0.45 μ m로 여과한 다음 HPLC로 측정하였다. 이 때 분석조건은 HPLC(Hewlett Packard Co., Palo Alto, USA)로 컬럼 Hypersil ODS (250 $\times$ 4.6 mm, Hewlett Packard Co., Palo Alto, USA), 온도는 40°C이며, 이동상은 아세토니트릴 : 초산 : 메틸알콜 : 물 (113 : 5 : 20 : 862, v/v/v), 검출기는 DAD(diode array detector)로 파장 280 nm), 유속은 1.0 mL/min, 주입량은 20 μ L로 하였다. Catechol, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin 등 표준품(Sigma Co. MO, USA)을 농도별로 조제한 후, 검량선을 작성하여 정량하였다.

마. 향기성분 및 향기패턴 분석

불로 구기자를 균질화하여 일정량을 취한 후 이들 중의 향기성분을 Nickerson & Likens 방법(Kim HW *et al.*, 1998)에 따라 연속증류추출장치 (SDE, Simultaneous Distillation Extraction Apparatus)장치를 이용하여 dichloromethane 100 mL씩으로 4시간 추출한 다음, Kuderna-danish concentrator로 0.2 mL로 농축 후 100 ppm β -pinene 0.1 mL를 첨가하여 GC/MS(Hewlett Packed 6890 GC/5972 MSD, Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. 컬럼은 INNOWax(crosslinked polyethylene, 60.0 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m)이며, 컬럼의 온도는 40°C/2min에서 5°C/min 온도상승하여 230°C에서 20분간 실시하였다. Inlet의 온도는 250°C, 검출기의 온도는 280°C이었고, 이동상은 헬륨가스로 1.2 mL/min 속도로 주입시켰다. Split mode는 split flow 13 mL/min로 하였고, ion source는 EI(70eV)이며 주입량은 2.0 mL로 하였다. 그리고 GC/MS분석으로 얻은 mass spectrum을 GC/MS의 소프트웨어로 내장된 Wiley library와 비교하여 동정하였으며, 정량은 내부표준법으로 산출하였다.

바. 관능검사

1) Panel 선정 및 묘사 분석

불로 구기자 주스의 맛과 향에 대한 묘사분석을 위해 관능검사에 대해 가톨릭대학교 식품영양학과 15명을 선발하여 Fig. 15와 같이 불로 구기자 주스를 제시하고 향과 맛을 본 후 느낀 단어들을 나열하도록 하였다. 그 후 토론을 통

하여 character notes 의 선정을 실시하였다. Table 1과 같이 표준물질을 제시하고, 훈련을 3회 실시하였다. 이들에게 선정된 각각의 항목에 대해 느끼는 강도를 약한 정도는 좌측으로 강한 정도는 우측으로 하여 15 cm 선상에 표시하게 하고 항목당 평점은 원편 선단으로부터 표시까지의 거리로 하였다. 결과 중 오차가 심한 3명을 제외한 12명의 데이터로, 검사 결과를 SAS program 을 사용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고 Duncan의 다중범위 시험법(Duncan's Multiple Range Test)에 의해 시료간의 차이를 검증하고 QDA(Quantitative descriptive analysis) diagram 으로 표시하여 정량적 묘사 분석법으로 도해하였다(Galan-Sodevilla *et al.*, 2004; Torres-Penaranda *et al.*, 2001; Oirshot *et al.*, 2003).

2) 표준물질

표준물질로 사용한 시약은 특급시약을 사용하였다. 최소 감응 농도(threshold value)에 해당하는 양을 증류수에 녹여 패널들에게 제시하였다. 표준물질의 종류와 농도는 Table 1 과 같다.

3) 기호도 조사 (Acceptability test)

블로 구기자 주스의 9개의 시료에 대한 color, flavor, taste, total evaluation 에 대해 50명의 panel에게 기호도 조사(degree of acceptability)를 하였다. (1점 : very poor ~ 5점 : very good)에 대해 조사하였다. 각 결과는 점수법을 이용하였다(Del Caro *et al.*, 2004).

사. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 실험하였으며, SAS(SAS 8.2, Cary, North Carolina, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)법으로 유의차를 검증하였다.

Table 1. Composition of reference standards

Attributes		Reference
Color	Yellow	
	Orange	
	Brown	
Taste	Sweet	Sucrose, 10 g/L ⁽⁸⁾ , Sigma Co. MO, USA
	Bitter	Caffeine, 0.03 g/L ⁽⁸⁾ , Acros organics, New Jersey, USA
	Acid	Citric acid, 0.2 g/L ⁽⁸⁾ , Sigma Co. MO, USA
	Pumpkin	Pumpkin 200 g/0.1L water and boil then press
Flavor	Roasted rice	Roasted rice flavor LFC-08168, 3 drops in 100mL water ⁽⁸⁾ , SAMHWA flavors & fragrances Co., LTD. KOREA
	Caramel	Caramel flavor RFO3-0227, 3 drops in 100mL water ⁽⁸⁾ , SAMHWA flavors & fragrances Co., LTD. KOREA
	Sweet	Vanilla flavor HFO4-0262, 3 drops in 100mL water ⁽⁸⁾ , SAMHWA flavors & fragrances Co., LTD. KOREA
	Barley tea	Barley tea flavor BFO4-0484, 3 drops in 100mL water ⁽⁸⁾ , SAMHWA flavors & fragrances Co., LTD. KOREA

2. 연구결과 및 고찰

가. 시료 제조

생 불로 구기자 주스(FJ, Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro))는 구기자 생과 34 Kg을 정선 및 수세, blanching 과정을 거쳐 착즙한 결과 20 Kg의즙이 나왔다. 여기에 0.25% 비타민 C 50 g과 0.1% 메타인산 나트륨 20 g을 첨가하여 제조한 결과 제품 14.5 Kg 제조하여 42.65 % 수율이었다. 불로 건과 구기자 주스의 경우는 각각 4 Kg의 건과에 물 36 Kg을 각각 첨가하여 제조한 결과, 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ, Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro))는 30.3 Kg으로 수율이 75.75 %가 되었고, 볶지 않은 불로 구기자 주스(DJ, Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro))의 경우는 30.5 Kg으로 수율이 76.25 %로 나왔다. 1차년도 결과 불로 구기자를 50℃, 60℃, 70℃에서 각각 48시간, 44시간, 36시간 건조시켰을 때 낮은 온도인 50℃에서 건조시킨 구기자가 선풍빛을 나타내어 육안으로 가장 좋았다(Kim *et al.*, 2004). 본 실험에서 80℃보다 높은 온도나 5분 이상의 볶음 시간은 구기자의 외관이 탄 것과 같이 검붉어졌으며, 기능성 성분 분석 파괴를 최소한으로 하기 위한 조건으로 80℃에서 5분간 볶아 제조하였다.

나. 화학적 성분 분석

1) pH, 총산도, 당도

Table 2와 같이 불로 구기자 주스의 pH는 생 불로 구기자 주스(FJ)가 4.84, 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)가 5.14, 볶지 않은 불로 구기자 주스(DJ)가 5.05로 생 불로 구기자 주스(FJ)의 pH가 가장 낮게 나타났다($p < 0.01$). 총산도는 생 불로 구기자 주스(FJ)가 0.58%, 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)가 0.19%, 볶지 않은 불로 구기자 주스(DJ)가 0.24%로 생 불로 구기자 주스(FJ)의 산도가 가장 높은 것으로 나타났다($p < 0.01$). 당도는 생 불로 구기자 주스(FJ), 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ), 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)의 순으로 나타났으며, 그 값은 각각 16.23°, 5.80°, 4.73° 이다($p < 0.01$). 본 실험에서는 DJ와 RJ를 비교해보면, 볶은 건과 불로 구기자 주스의 pH는 증가하고 총산도와 당도는 감소하였다.

Table 2. pH, total acidity and brix of *Lycium chinense* juice (Bulro)

	FJ	RJ	DJ
pH**	4.84 ± 0.01 ^c	5.14 ± 0.01 ^a	5.05 ± 0.01 ^b
Total acidity(%)**	0.58 ± 0.02 ^a	0.19 ± 0.00 ^c	0.24 ± 0.00 ^b
Brix(°)**	15.96 ± 0.00 ^a	4.37 ± 0.00 ^c	4.51 ± 0.00 ^b

Means ± S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncans multiple range test at $p < 0.01$ (**).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

2) Hue, intensity, 색도, 투광도

Fig. 3에는 FJ, RJ, DJ를 나타내었다. Table 3과 같이 Hue는 생 불로 구기자 주스(FJ)가 6.11로 가장 높은 값을 보였고, 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)가 4.15, 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)가 4.34을 보였다($p < 0.01$). Intensity는 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ), 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ), 생 불로 구기자 주스(FJ)의 순으로 각각 3.71, 1.84, 1.43의 값을 나타내었다($p < 0.01$). 색도를 보면, 생 불로 구기자 주스(FJ), 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ), 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)의 L값은 각각 6.25, 48.89, 36.43이었고, a값은 각각 3.72, 6.64, 13.79로 나타났다. b값은 각각 4.10, 26.90, 23.65로 건과 불로 구기자 주스(RJ, DJ)가 생 불로 구기자 주스(FJ)보다 높게 나타났다($p < 0.01$). 투광도는 생 불로 구기자 주스(FJ), 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ), 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)는 각각 90.83, 84.60, 73.00의 순으로 생 불로 구기자 주스(FJ)의 투광도가 가장 높게 나왔다($p < 0.01$). Table 3과 같이 투광도, 명도(L)는 볶을수록 증가되었고, 적색도(a)는 감소하였으며 황색도(b)는 차이가 없는 것으로 나타났다. Lee 등(Lee *et al.*, 1995)에 의하면 볶음 시간과 온도가 증가될수록 추출액의 명도(L)와 황색도(b)는 감소하고, 적색도(a)는 증가된다고 하였다. 또 투광도는 점점 감소하였다고 하였는데, 이는 구기자의 유리당과 아미노산 성분들이 볶음 시 가열에 의해 일어나는 마이알 반응으로 인한 것이라 한다.

Table 3. Hue, intensity and color of *Lycium chinense* juice (Bulro)

		FJ	RJ	DJ
Hue(420/520nm)**		6.11 ± 0.00 ^a	4.15 ± 0.00 ^c	4.34 ± 0.01 ^b
Intensity(420+520nm)**		1.43 ± 0.00 ^c	1.84 ± 0.00 ^b	3.71 ± 0.00 ^a
Transmittance(%T)**		90.83 ± 0.06 ^a	84.60 ± 0.06 ^b	73.00 ± 0.06 ^c
Color	L**	6.25 ± 0.05 ^c	48.89 ± 0.01 ^a	36.43 ± 0.04 ^b
	a**	3.72 ± 0.01 ^c	6.64 ± 0.01 ^b	13.79 ± 0.01 ^a
	b**	4.10 ± 0.02 ^b	26.90 ± 0.01 ^a	23.65 ± 0.02 ^a

Means ± S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncans multiple range test at $p < 0.01$ (**).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)



Fig. 3. The color comparison of *Lycium chinense* juice (Bulro).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

3) 당 분석

불로 구기자 주스의 당 함량은 Table 4에서와 같이 생 불로 구기자 주스(FJ)는 fructose가 4.62 g/100 g, glucose가 4.91 g/ 100 g, sucrose가 0.08 g/100 g을 나타내었다. 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)는 fructose가 1.67 g/100 g,

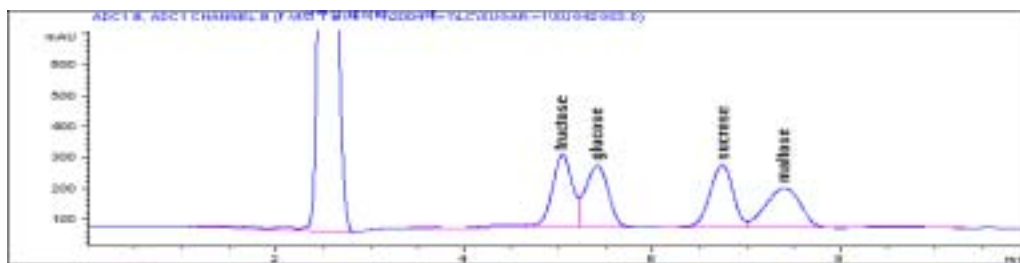
glucose가 1.18 g/100 g을 나타내었으며, 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)는 fructose가 1.40 g/100 g, glucose가 1.13 g/100g을 나타내었다. 모든 주스에서 maltose의 함량은 나타나지 않았으며, 건과 주스에서는 sucrose의 함량도 나타나지 않았다. 크로마토그램은 Fig. 4에 나타내었다. 가열과정 중 갈색화 반응으로 생성되는hydroxy-methyl- furfural(HMF)은 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)와 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)에서 각각 13.63 mg/Kg, 불검출을 나타내었다.

Table 4. Sugar and hydroxy methyl furfural(HMF) contents of *Lycium chinense* juice (Bulro) (g/100g)

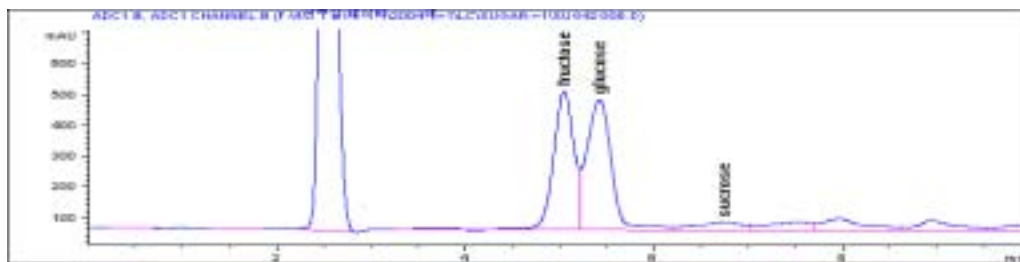
	FJ	RJ	DJ
Fructose	4.62	1.67	1.40
Glucose	4.91	1.18	1.13
Sucrose	0.08	0	0
Maltose	0	0	0
Total	9.61	2.85	2.53
HMF (mg/kg)	2.20	13.63	0

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

Standard sugars(0.5 g/100 g)

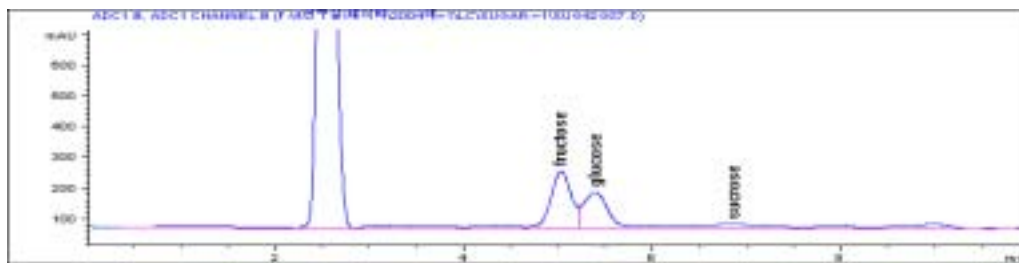


Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro) (FJ)



continued

Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro) (RJ)



Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro) (DJ)

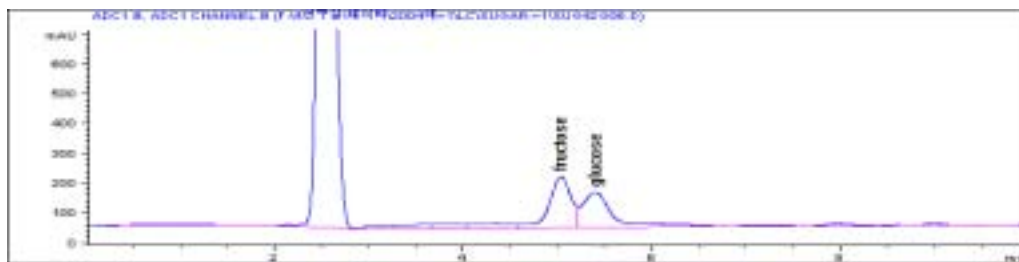


Fig. 4. HPLC chromatogram of sugars in *Lycium chinense* juice (Bulro).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), RJ : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), DJ : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

4) 유기산분석

불로 구기자 주스의 유기산 함량은 Table 5에 나타내었고 크로마토그램은 Fig. 5에 나타내었다. 생 불로 구기자 주스(FJ)는 100 g당 citrate 837.56 mg, malate 130.95 mg, acetate 58.72 mg, succinate 51.15 mg, oxalate 25.90 mg, fumarate 22.61mg의 함량을 나타내었고, lactate는 존재하지 않았다. 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)는 100 g당 citrate 398.56 mg, malate 57.49 mg, lactate 52.13 mg, oxalate 36.18 mg, succinate 14.88 mg, fumarate 14.18 mg 의 함량을 나타내었으며 acetate는 존재하지 않았다. 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스 (DJ)는 100 g당 citrate 276.82 mg, lactate 47.90 mg, malate 40.27 mg, oxalate 31.70 mg, fumarate 12.05 mg, succinate 10.19 mg의 함량을 나타내었으며 acetate는 존재하지 않았다. 모든 주스에서 tartarate는 검출되지 않았다. Oh 등 (Oh *et al.*, 1990)의 연구에서 청양재래종의 건조 구기자 추출물의 유기산 함량은 lactate가 821.6 mg%, malic acid가 520.8 mg%로 높은 함량을 보였으며, oxalate가 212.0 mg% 로 나타났다. 이는 불로 구기자 주스에서 citrate의 함량이 가장 높게 나타난 것과는 차이가 났으나, lactate와 malate의 함량은 citrate

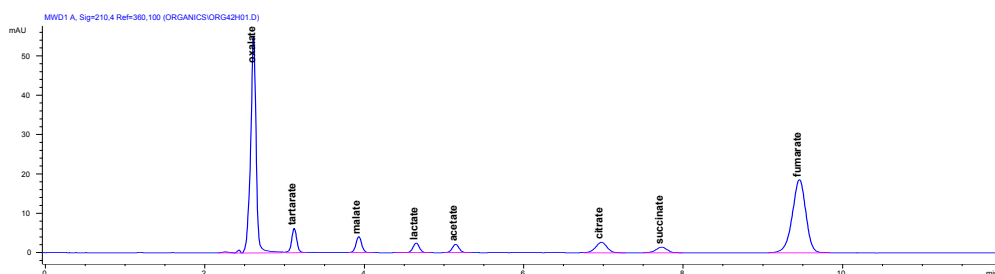
다음으로 높게 나타났다.

Table 5. Organic acid contents of *Lycium chinense* juice (Bulro)
(mg/100g)

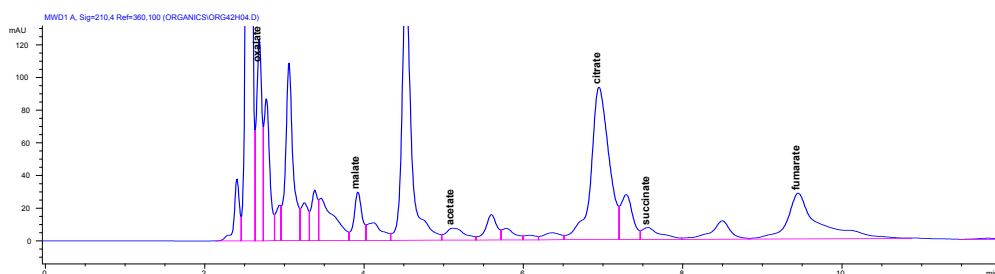
	FJ	RJ	DJ
Oxalate	25.90	36.18	31.70
Tartarate	0	0	0
Malate	130.95	57.49	40.27
Lactate	0	52.13	47.90
Acetate	58.72	0	0
Citrate	837.65	398.56	276.82
Succinate	51.15	14.88	10.19
Fumarate	22.61	14.18	12.05
Total	1126.98	573.42	418.93

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

Standard organic acids(0.1 g/100 g)

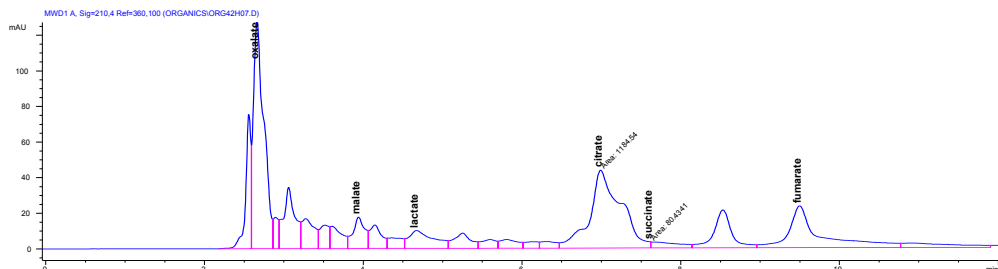


Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro) (FJ)



continued

Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro) (RJ)



Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro) (DJ)

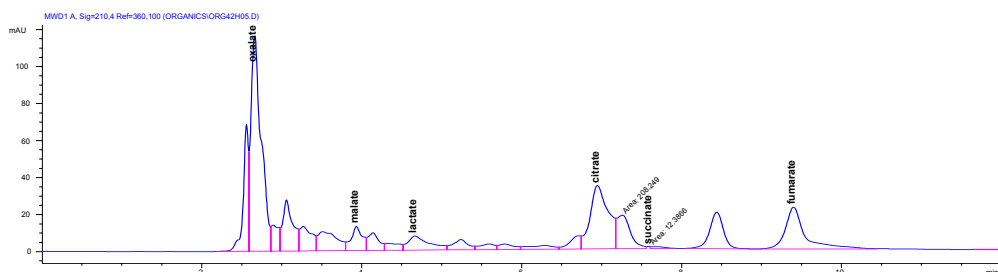


Fig. 5. HPLC chromatogram of organic acids in *Lycium chinense* juice (Bulro).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

다. 항산화력 분석

1) 총 페놀함량과 총 플라보노이드 함량

총 페놀 함량은 Table 6에 나타내었으며, 생 불로 구기자 주스(FJ)의 경우 3,468.34 mg/L GAE로 가장 높게 나타났으며, 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ), 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)가 각각 896.11, 585.00 mg/L GAE의 함량을 보였다($p < 0.01$). Yoo 등(Yoo *et al.*, 2004)의 연구에서 과일이 성숙할수록 총 페놀 함량이 증가하는 경향을 보였으며, 과성숙 유자가 미성숙 유자에 비해 과피나 과육에서 총 페놀 함량이 더 높은 것을 알 수 있었다. Kang 등(Kang *et al.*, 2003)의 연구에서는 구기자를 첨가한 맥주의 총 페놀함량이 일반 시판 맥주보다 더 높은 것으로 나타났다. 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과, 생 불로 구기자 주스(FJ), 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ), 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)에는 그 함량이 없는 것으로 나타났다. Del Caro 등(Del Caro *et al.*, 2004)의 연구에서 오렌지와 자몽을 이용하여 과일조각과 주스의 저장기간에 따른 플라보노이드 함량을 측정한 결과, 과일조각의 플라보노이드 함량은 증가하였으나, 주스의 플라보노이드 함량은 감소하였다. 과일조각

에서는 영양적인 성분과 건강상 유익한 성분을 유지하였으나, 주스는 저장기간이 길어질수록 감소하는 것을 알 수 있었다.

Table 6. Total phenolic content of *Bulro Lycii fructus* juice

	FJ	RJ	DJ
Total phenolic content			
(mg/L GAE)**	3468.34 ± 38.19 ^a	585.00 ± 8.33 ^c	896.11 ± 12.73 ^b

Means ± S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncans multiple range test at $p < 0.01$ (**).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*)

2) 항산화 효과

Table 7과 Fig. 6에서 보여지듯이 FTC(Ferric thiocyanate)방법에 의한 불로 구기자 주스의 항산화 실험 결과 농도가 5%, 10%, 15%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% 일 때, 생 불로 구기자 주스(FJ)의 항산화력은 각각 90.44%, 93.36%, 94.87%, 96.68%, 96.66%, 97.56%, 98.45%, 98.42% 로 나타났다. 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)는 각각 58.15%, 63.88%, 81.09%, 90.34%, 95.26%, 95.38%, 95.11%, 94.44% 로 나타났다. 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)는 각각 39.03%, 57.14%, 64.69%, 83.60%, 93.45%, 94.58%, 95.47%, 95.20% 로 나타났다. Table 8과 Fig. 6에서 flavonoid의 농도가 500 ppm 일 때 항산화력을 비교해보면 kaempferol은 96.68%, quercetin은 94.97%, naringin은 97.18%, naringenin은 97.18% 로 나타났다. (-)EGC는 89.24%, (-)EGCG는 88.43%, chrysin은 80.47%, apigenin은 83.19%의 항산화력을 나타냈다. Flavonoid의 농도가 1,000 ppm 일 때 kaempferol은 96.48%, quercetin은 94.37%, naringin은 97.28%, naringenin은 97.89% 로 나타났다. (-)EGC는 91.85%, (-)EGCG는 88.30%, chrysin은 83.29%, apigenin은 89.21%의 항산화력을 보였다. 청양구기자시험장의 보고서(Cheongyang Boxthorn experiment station. *Gugija*, 2000)에 따르면, free radical의 소거작용, linoleic acid를 기질로 한 지질산화 억제효과 및 이에 따른 경시적인 malonaldehyde 생성 억제효과와 노화방지 효소인 SOD(superoxide dismutase), POD(peroxidase)를 알아본 결과, DPPH에 의한 free radical 소거작용은 radical의 50%를 소거시키는 농도 즉, RC₅₀값을 측정한 결과 구기자가 1,140 µg이 나왔다. 이는 합성 항산화제인 BHT의 RC₅₀값이 13

μg에 거의 동등한 항산화 효과가 있음을 나타낸다. 구기자 추출물의 과산화물가(POV, peroxide value)를 측정한 결과 과산화물 생성 억제율이 최고 53%까지 나타나 항산화 효과가 강한 것으로 나타났다. Kim 등(Kim *et al*, 2004)은 음양곽, 오미자, 파고지, 당귀 등 약용식물 물 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과, 70% 이상의 높은 항산화 활성을 나타내었고, BHA, BHT 및 비타민 C, E의 경우도 모두 90% 이상의 높은 활성을 나타내었다. Arena 등(Arena *et al*., 2001)은 붉은 오렌지 주스와 옅은 오렌지 주스의 항산화력을 비교한 결과 붉은 오렌지 주스의 항산화력이 옅은 오렌지 주스보다 높게 나타났다.

Fig. 7에 총 페놀 함량과 항산화력의 상관관계를 나타내었으며 생 불로 구기자 주스(FJ), 붉은 건과 불로 구기자 주스(RJ), 붉지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)에서 모두 총 페놀 함량이 높을수록 항산화력이 높게 나타났다($p < 0.05$).

Table 7. Antioxidant activity of *Lycium chinense* juice (Bulro)

concentration (%)	Antioxidant activity (%)		
	FJ	RJ	DJ
5	90.44 ± 0.05 ^f	58.15 ± 0.46 ^k	39.03 ± 0.09 ^l
10	93.36 ± 0.05 ^e	63.88 ± 0.09 ^j	57.14 ± 0.05 ^k
15	94.87 ± 0.19 ^{bcde}	81.09 ± 0.10 ^h	64.69 ± 0.18 ⁱ
20	96.68 ± 0.05 ^{ab}	90.34 ± 0.05 ^f	83.60 ± 0.10 ^g
40	96.66 ± 0.05 ^{abc}	95.26 ± 0.09 ^{bcde}	93.45 ± 0.05 ^{de}
60	97.56 ± 0.19 ^a	95.38 ± 0.10 ^{bcde}	94.58 ± 0.18 ^{cde}
80	98.45 ± 0.19 ^a	95.11 ± 0.05 ^{bcde}	95.47 ± 0.10 ^{bcd}
100	98.42 ± 0.05 ^a	94.44 ± 0.09 ^{de}	95.20 ± 0.14 ^{bcde}

Means ± S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncans multiple range test at $p < 0.01(**)$.

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

Table 8. Antioxidant activity of flavonoids

Flavonoid compounds		Antioxidant activity (%)	
		Concentration (ppm)	
		500	1,000
Flavonols	Kaempferol	96.68 ± 0.05 ^{ab}	96.48 ± 0.07 ^{abc}
	Quercetin	94.97 ± 0.18 ^{bcd}	94.37 ± 0.10 ^{bcd}
Flavanonoes	Naringin	97.18 ± 0.19 ^a	97.28 ± 0.17 ^a
	Naringenin	97.18 ± 0.20 ^a	97.89 ± 0.13 ^a
Flavanonols	(-)EGC	89.24 ± 0.15 ^f	91.85 ± 0.09 ^f
	(-)EGCG	88.43 ± 0.19 ^f	88.30 ± 0.23 ^f
Flavones	Chrysin	80.47 ± 0.48 ^h	83.29 ± 0.89 ^g
	Apigenin	83.19 ± 0.39 ^g	89.21 ± 0.28 ^f

(-)EGC : epigallocatechin, (-)EGCG : epigallocatechin gallate

Means ± S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncans multiple range test at $p < 0.01$ (**).

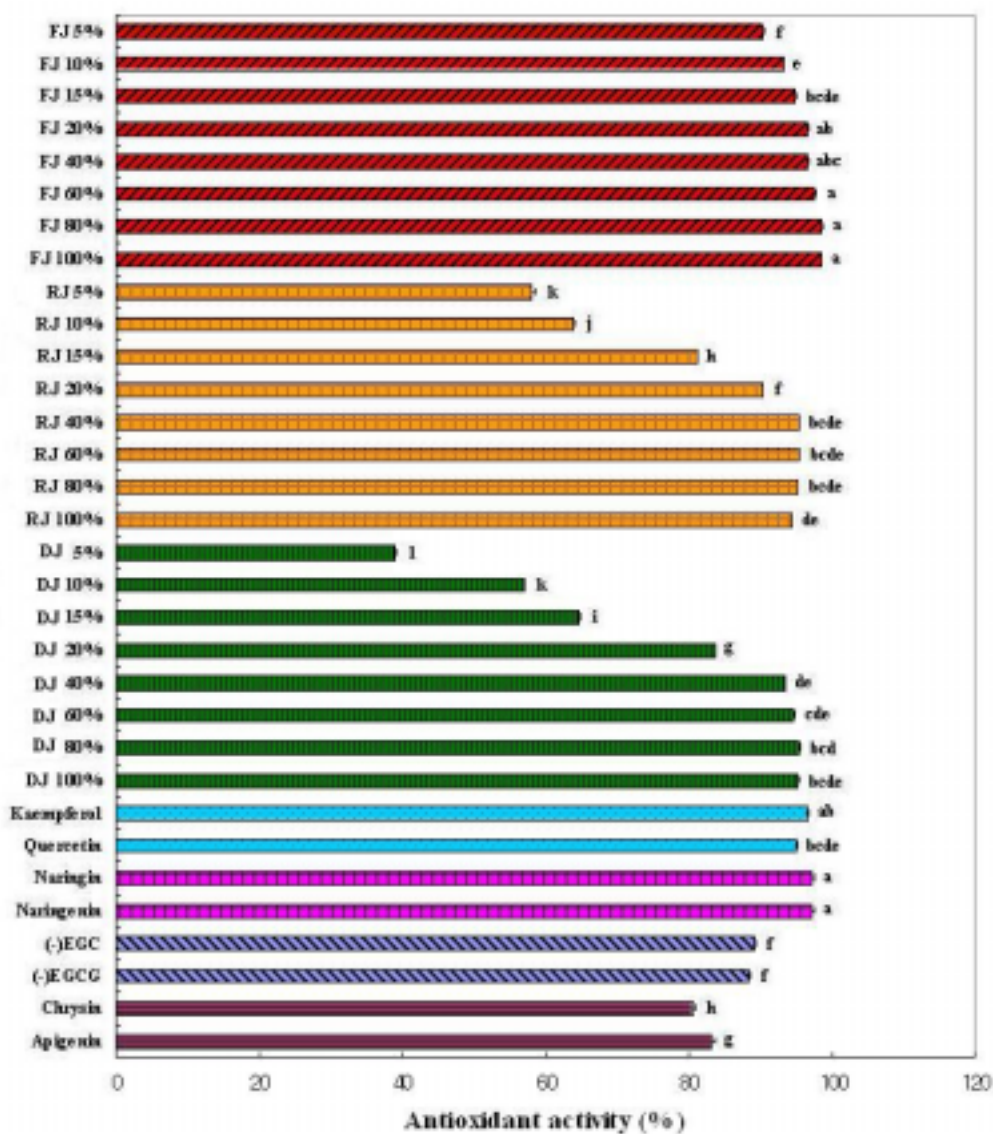


Fig. 6. Antioxidant activity of flavonoid and *Lycium chinense* juice (*Bulro*).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*)
The concentration of flavonoids was 500 ppm. (-)EGC : epigallocatechin, (-)EGCG : epigallocatechin gallate

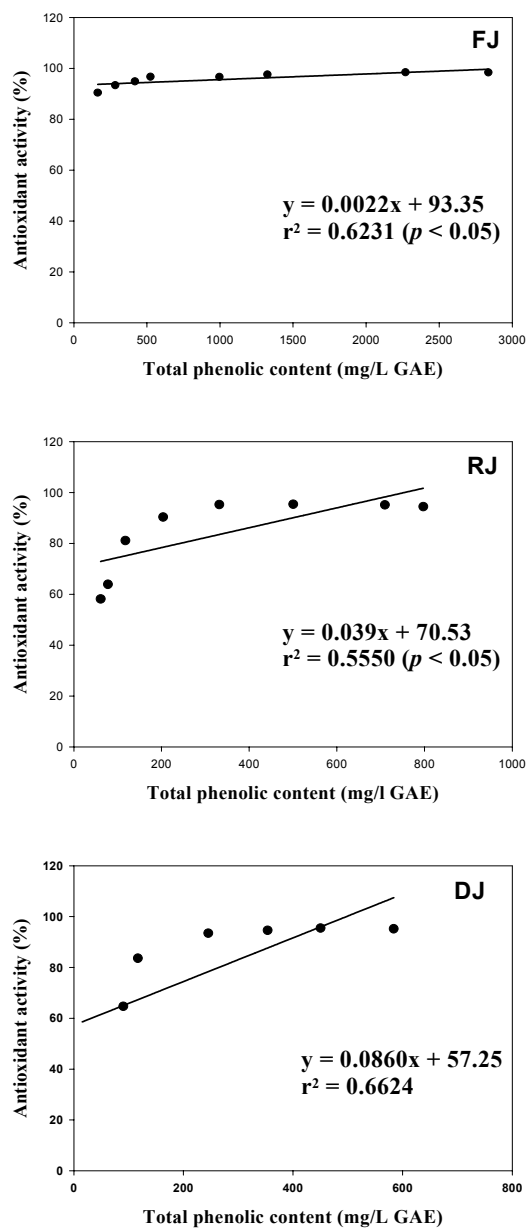


Fig. 7. Correlation relationship between total phenolic content and antioxidant activity of *Lycium chinense* juice (Bulro).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

3) Superoxide radical 소거효과

항산화 효과는 superoxide radical과 hydroxyl radical을 생성시켜 천연물에 의해 각각의 radical을 소거하는 능력을 알아보려고 함이다. 각각의 radical은 매우 불안정하기 때문에 DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide)를 이용하여 radical을 포획하여 신호를 측정한다. 항산화 물질을 첨가하였을 때 그 신호가 줄어들게 되고 그로 인해 자유라디칼 소거효과를 측정할 수 있다. Superoxide anion radical은 xanthin/xanthine oxidase에 의해서 생성이 되는데, 반응 속도가 매우 빠르므로 불안정하다. 그래서 DMPO라는 물질을 이용해서 생성된 radical을 안정하게 trapping 해주어 ESR(electron spin resonance)을 이용해 이 신호를 탐지하게 된다. 이 때 금속이온을 제거하기 위해서 DTPA(diethylene triamane penta acetic acid)를 첨가시켰고, superoxide radical은 시간이 지남에 따라 과산화수소를 같이 생성하기 때문에 이를 제거시키기 위해 catalase를 첨가하였다. Fig. 8은 불로 구기자 주스의 superoxide radical 소거효과에 대한 결과이다. 생 불로 구기자 주스(FJ)의 경우 0.8 μ L, 2.5 μ L, 8.0 μ L, 25.0 μ L/mL일 때 각각 31%, 59%, 96%, 92%의 소거효과가 있었다. 붉은 건과 불로 구기자 주스(RJ)는 8.0 μ L, 25.0 μ L/mL 일 때 각각 44%, 62%의 소거효과를 보였고, 붉지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)는 2.5 μ L, 8.0 μ L, 25.0 μ L/mL일 때 각각 5%, 37%, 56%의 소거효과를 보였다. Fig. 9는 superoxide radical 소거효과에 관한 ESR spectra이다. 그러므로 superoxide radical 소거효과는 생 불로 구기자 주스(FJ) > 붉은 건과 불로 구기자 주스(RJ) > 붉지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)의 순으로 나타났다. Yoon 등(Yoon *et al.*, 2001)의 연구에서 동물실험 결과 2% 구기자 추출물의 첨가식으로 성장시킨 결과 superoxide 해독에 관여하는 간 SOD(superoxide dismutase) 활성은 대조군에 비해 약 26%의 유의한 증가를 보였다. Kim 등(Kim *et al.*, 2004)의 연구에서 약재 추출물의 superoxide 이온 라디칼 소거능의 결과 5 mg/mL 농도에서 음양곽이 약 42%로 높았으며 해동피, 웅가피, 파고지, 토사자 및 속단이 20% 이상의 비교적 높은 활성을 나타내었다. Hong 등(Hong *et al.*, 1998)는 사과주스의 SOD 유사활성을 측정해본 결과 12.5°Bx로 희석한 사과 착즙액의 SOD 유사활성이 14.6%을 나타내었고, 가장 높은 유사활성을 나타낸 것은 4.6°Bx의 브로콜리로 41%를 나타내었다. 본 실험에서 8.0 μ L/mL 이상의 농도에서 FJ는 92% 이상의 SOD 소거효과를 보였고 RJ는 44% 이상의 소거효과를 보였으며 DJ는 37% 이상의 소거효과를 보여, FJ와 RJ는 음양곽과 브로콜리보다 높은 SOD 소거효과를 나타내었다.

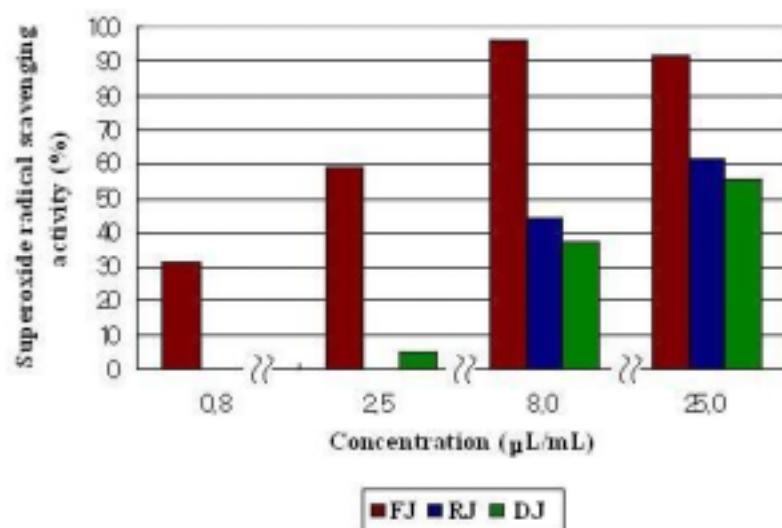
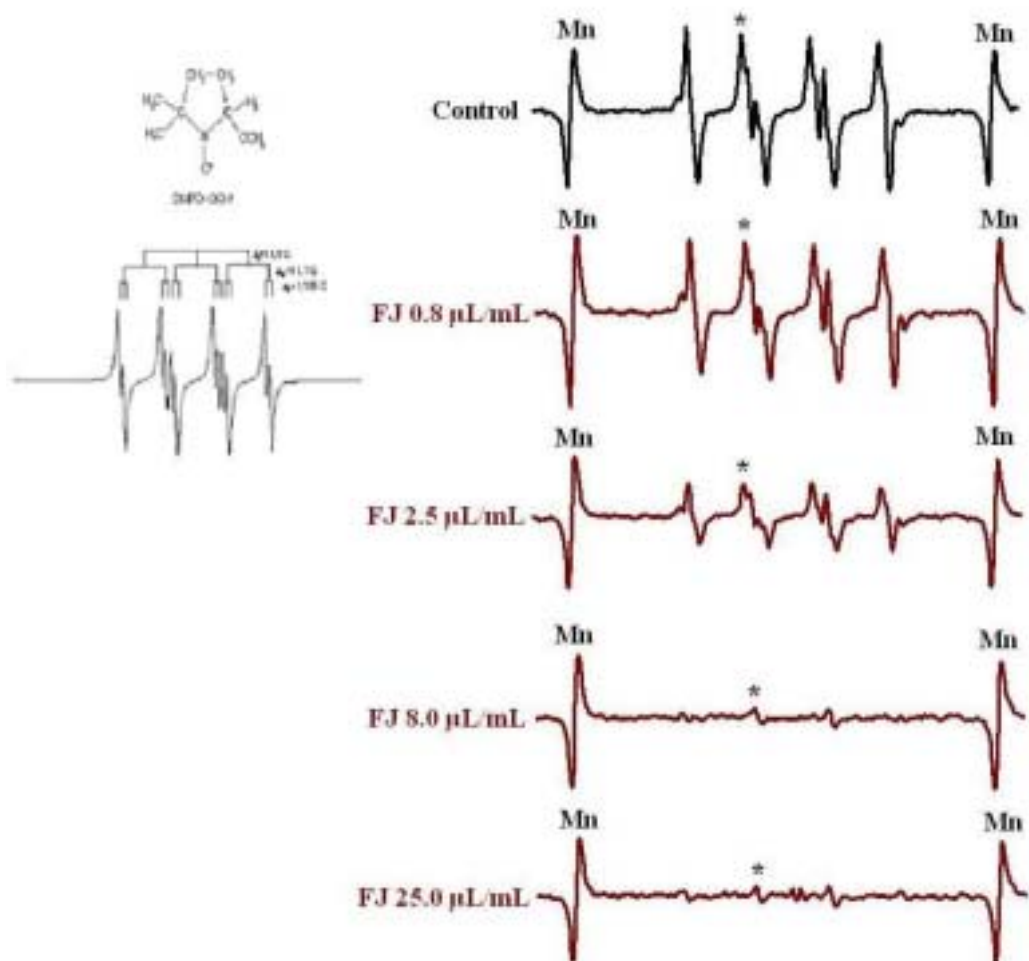


Fig. 8. Superoxide radical scavenging activity of *Lycium chinense* juice (Bulro).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)



continued

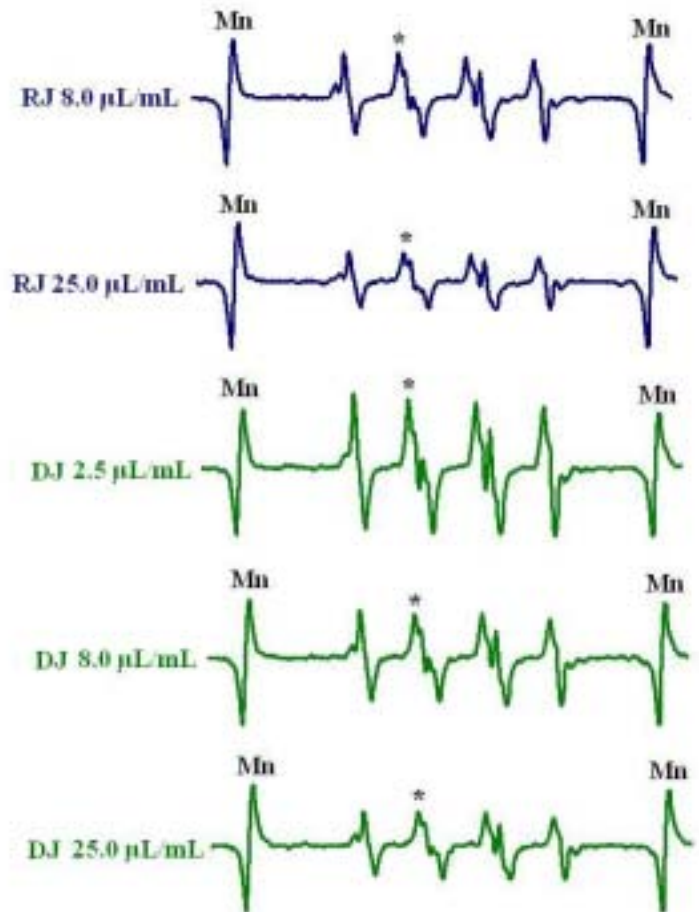


Fig. 9. ESR spectra of superoxide anion radical of *Lycium chinense* juice (*Bulro*).

The conditions of ESR analysis : Microwave frequency 9.416270 [GHz], microwave power 1.00 [mW], modulation amplitude 0.1 [mT]

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*)

4) Hydroxyl radical 소거효과

Fig. 10은 불로 구기자 주스에 대한 hydroxyl radical 소거효과에 대한 결과이

다. Hydroxyl radical은 fenton reaction에 의해서 생성이 되는데, 이 radical 역시 불안정하기 때문에 DMPO로 trapping 하여 ESR로 그 신호를 탐지한다. 그에 관한 ESR spectra는 Fig. 11에 나타내었다. 불로 구기자 주스의 hydroxyl radical 소거효과를 보면 생 불로 구기자 주스(FJ)는 0.8 μL , 2.5 μL , 8.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 일 때 각각 42%, 72%, 89%의 소거효과를 보였으며, 25.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 이상의 농도에서는 100%의 소거효과를 보였다. 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)는 50.0 μL , 100.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 일 때 각각 17%, 29%의 소거효과를 보였다. 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)는 25.0 μL , 50.0 μL , 100.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 일 때 각각 18%, 28%, 54%의 소거효과를 나타내었다. Mau 등⁽²¹⁾의 연구에서 여러 종류의 버섯에 대한 hydroxyl free radical을 측정 한 결과 basket stinkhorn, lion's mane, white matsutake, maitake 버섯은 각각 75.0%, 69.4%, 47.4%, 39.6%의 소거효과를 나타냈었다. 불로 구기자 주스의 hydroxyl radical 소거효과는 FJ는 25.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 이상의 농도에서 100%의 소거효과를 보였고, RJ는 100.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 29.0%의 소거효과를 보였으며 DJ는 100.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 54%의 소거효과를 나타내어 FJ의 hydroxyl radical 소거효과가 가장 큰 것으로 나타났으며 FJ와 DJ는 basket stinkhorn, lion's mane, white matsutake, maitake의 버섯보다도 높은 hydroxyl radical 소거효과를 보였다.

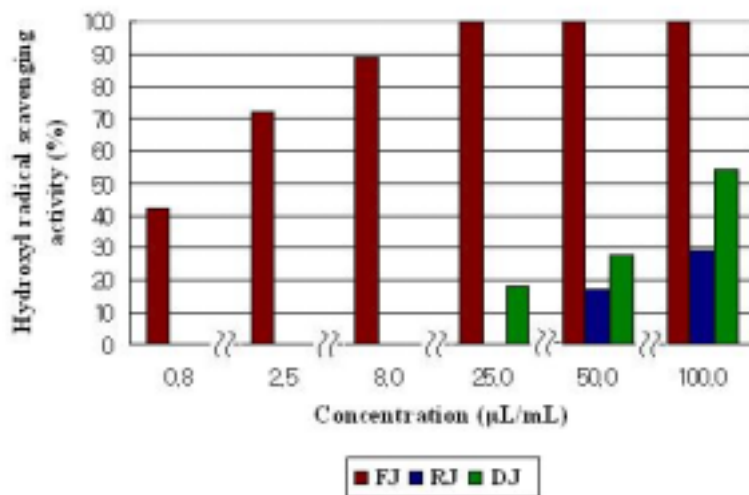
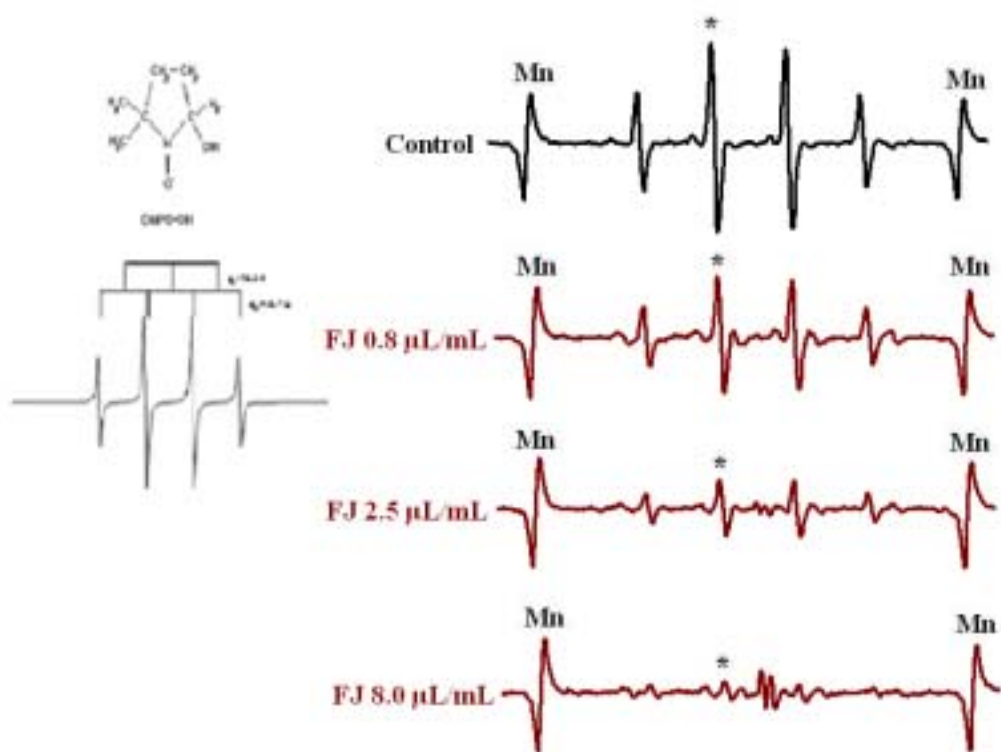


Fig. 10. Hydroxyl radical scavenging activity of *Lycium chinense* juice (*Bulro*).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*)



continued

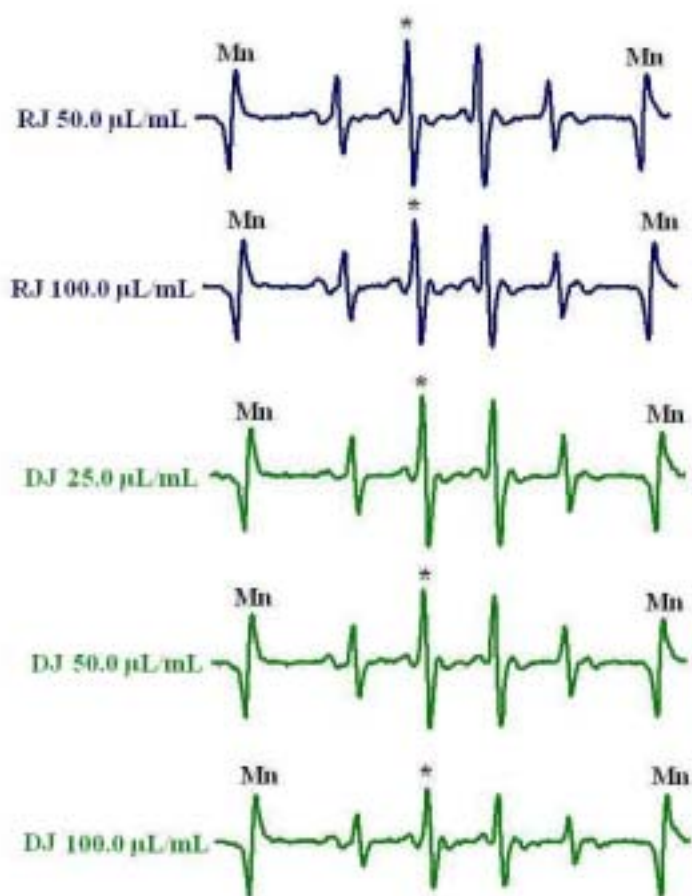


Fig. 11. ESR spectra of hydroxyl radical of *Lycium chinense* juice (*Bulro*).

The conditions of ESR analysis : Microwave frequency 9.416270 [GHz], microwave power 1.00 [mW], modulation amplitude 0.1 [mT]

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*)

라. Polyphenolic compounds 분석

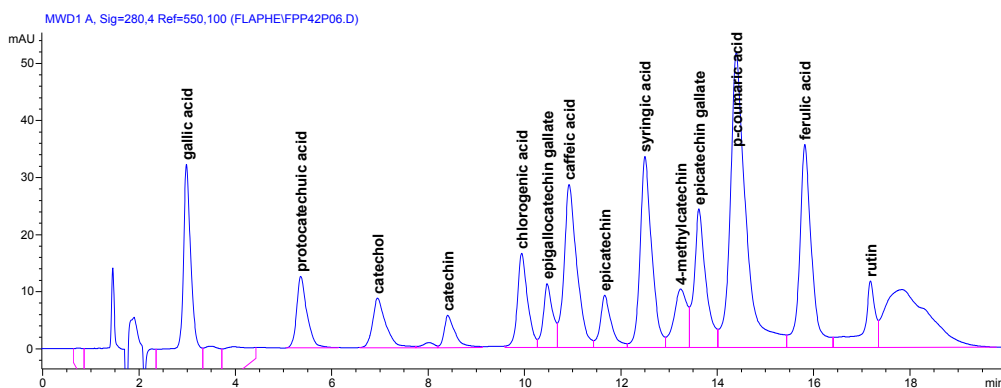
블로 구기자 주스의 polyphenolic compounds 함량은 Table 9에 나타내었고, 크로마토그램은 Fig. 12에 제시하였다. 생 블로 구기자 주스(FJ)는 100 g당 epigallocatechin gallate 505.4 µg, chlorogenic acid 284.7 µg, ferulic acid 117.9 µg, catechin 97.7 µg, procatechuic acid 79.5 µg, rutin 67.0 µg, epicatechin gallate 72.6 µg의 함량을 나타내었다. 볶은 건과 블로 구기자 주스(RJ)는 100 g당 ferulic acid 200.6 µg, rutin 132.8 µg, 4-methyl catechin 114.2 µg, catechin 71.1 µg, epicatechin 56.7 µg, epigallocatechin gallate 48.2 µg, epicatechin gallate 31.6 µg, caffeic acid 8.6 µg을 나타내었다. 볶지 않은 건과 블로 구기자 주스(DJ)는 100 g당 ferulic acid 169.6 µg, 4-methyl catechin 59.1 µg, rutin 54.9 µg, catechin 46.0 µg, epigallocatechin gallate 38.7 µg, epicatechin 11.1 µg, caffeic acid 6.6 µg, epicatechin gallate 3.1 µg의 함량을 나타내었다. FJ에서 epigallocatechin gallate는 전체의 42.30%의 함량을 보였으며 chlorogenic acid는 23.83%, ferulic acid는 9.87%의 함량을 나타내었다. RJ에서 ferulic acid는 30.22%, rutin은 20.00%, 4-methyl catechin은 17.20%의 함량을 나타내었다. DJ에서 ferulic acid는 43.59%, 4-methyl catechin은 15.19%, rutin은 14.11%의 함량을 나타내었다. Gallic acid, catechol, syringic acid, *p*-coumaric acid는 모든 주스에서 검출되지 않았다. Lee 등(Lee *et al.*, 2001)은 flavonoid의 SOD 소거효과를 측정한 결과 rutin은 97.45%, epigallocatechin gallate는 90.79%의 SOD 소거효과를 나타내어 polyphenolic compound 함량이 높을수록 SOD 소거효과가 높은 것을 보였다. 본 실험에서 항산화력이 높은 주요 polyphenolic compound는 FJ는 epigallocatechin gallate, chlorogenic acid, ferulic acid이고 RJ는 ferulic acid, rutin, 4-methyl catechin이며 DJ는 ferulic acid, 4-methyl catechin, rutin이다.

Table 9. Polyphenolic compounds of *Lycium chinense* juice (Bulro)
($\mu\text{g}/100\text{g}$)

	FJ	RJ	DJ
Gallic acid	0	0	0
Protocatechuic acid	79.5	0	0
Catechol	0	0	0
Catechin	97.7	71.1	46.0
Chlorogenic acid	284.7	0	0
Epigallocatechin gallate	505.4	48.2	38.7
Caffeic acid	0	8.6	6.6
Epicatechin	0	56.7	11.1
Syringic acid	0	0	0
4-methyl catechin	0	114.2	59.1
Epicatechin gallate	42.6	31.6	3.1
<i>p</i> -coumaric acid	0	0	0
Ferulic acid	117.9	200.6	169.6
Rutin	67.0	132.8	54.9
Total	1194.8	663.8	389.1

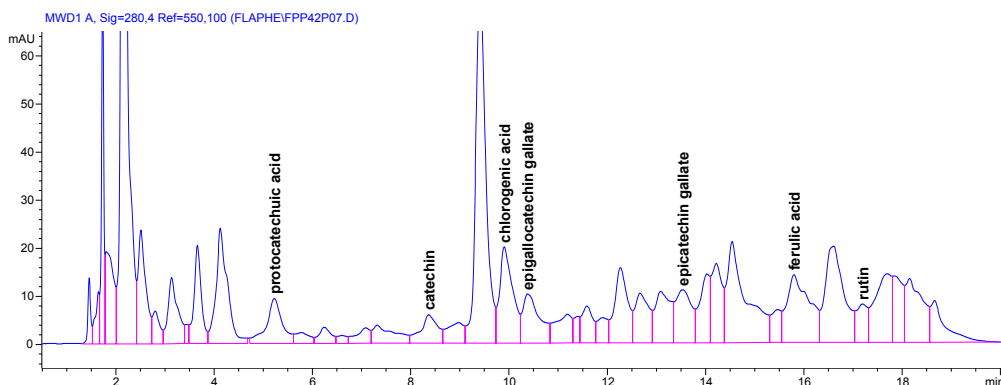
FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

Standard polyphenolic compounds(1 mg/100 g)

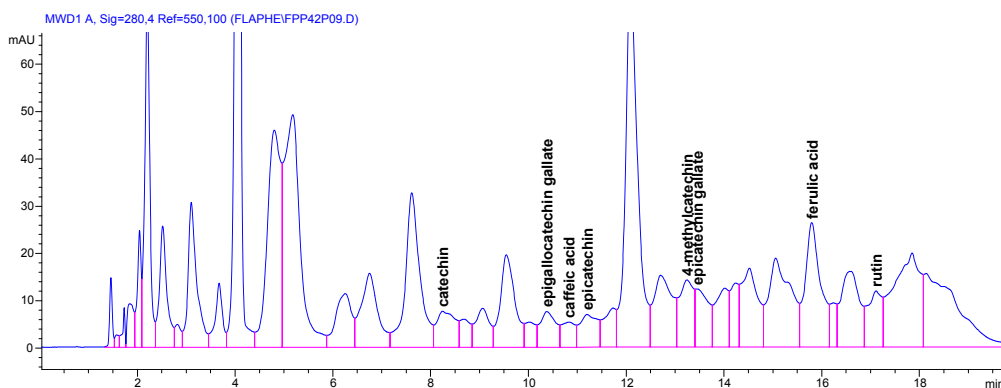


continued

Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*) (FJ)



Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*) (RJ)



Dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*) (DJ)

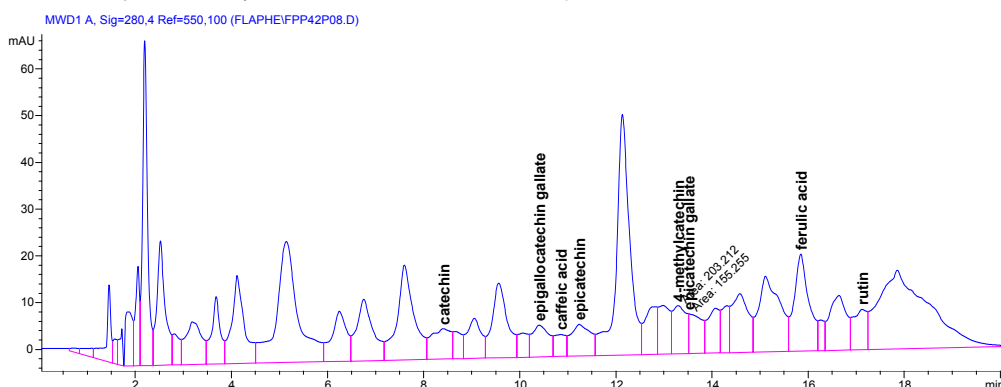


Fig. 12. HPLC chromatogram of polyphenolic compounds in *Lycium chinense* juice (*Bulro*).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*)

마. 향기성분 및 향기패턴 분석

Table 10에 제시한 것과 같이 불로 구기자 주스의 향기성분은 총 63개의 물질이 확인되었다. Acid류는 9개, alcohol류는 6개, aldehyde는 1개, ester류는 5개, furan류는 5개, hydrocarbon류는 18개, phenol류는 4개, pyrrole는 1개, 그 외 14개가 확인되었다. Fig. 13는 불로 구기자 주스의 향기성분을 크로마토그램으로 나타내었다. 생 불로 구기자 주스(FJ), 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ), 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)의 향기성분 함량을 보면, acid류는 각각 3.164 ppm, 3.099 ppm, 1.995 ppm, alcohol류는 0.270 ppm, 0.160 ppm, 0.134 ppm을 나타내었다. Aldehyde는 0.007 ppm, 0.010 ppm, 0.005 ppm을 나타내었고, ester류는 0.297 ppm, 0.243 ppm, 0.391 ppm으로 나타났다. Furan류는 0.021 ppm, 0.347 ppm, 0.070 ppm, hydrocarbon류는 3.224 ppm, 2.836 ppm, 2.146 ppm을 나타내었다. Phenol류는 0.929 ppm, 0.583 ppm, 0.364 ppm, pyrrole은 0.017 ppm, 0.069 ppm, 0.034 ppm을 나타내었다. 생 불로 구기자 주스(FJ)는 hexadecanoic acid가 1.737 ppm으로 전체의 18.68%, 9,12-octadecadienoic acid가 0.752 ppm으로 8.09%, tetracosane이 0.397 ppm으로 4.27%를 나타내었다. 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ)는 hexadecanoic acid가 1.254 ppm으로 전체의 12.94%, 9,12-octadecadienoic acid가 1.038 ppm으로 10.71%, tetracosane이 0.486 ppm으로 5.02%를 나타내었다. 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ)는 9,12-octadecadienoic acid가 0.944 ppm으로 전체의 14.14%, hexadecanoic acid가 0.668 ppm으로 10.00%, 9,12,15-octadecatrienoic acid methyl ester가 0.381 ppm으로 5.71%를 나타내었다. 불로 구기자 주스의 모든 부위에서 hexadecanoic acid와 9,12-octadecadienoic acid가 주요 향기성분으로 나타났다. Yi 등(Yi, *et al*, 1996)의 실험에서 청양재래 구기자의 향기성분은 hexadecanoic acid, methyl linoleate, benzyl alcohol, 1,4-dimethyl benzene, ethyl oleate의 순이었으며, 천연 건조구기자는 hexadecanoic acid, methyl linoleate, benzyl alcohol, ethyl linoleate, methyl propanol의 순으로 나타났다. 가열처리구기자는 hexadecanoic acid, acetylpyrrole, methyl linoleate, methyl thiopropanol, benzene acetaldehyde 순으로 나타났으며, 볶음구기자는 hexadecanoic acid, methyl linoleate, ethyl linoleate, acetyl pyrrole, methyl thio-propanol의 순으로 나타났다.

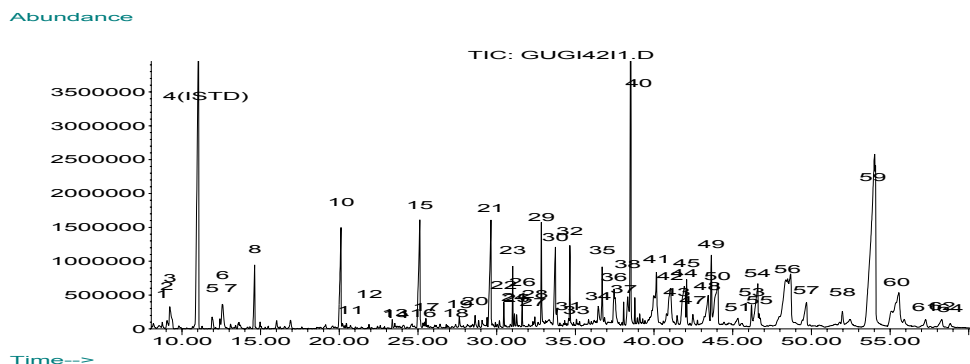
Table 10. Volatile flavor compounds of *Lycium chinense* juice (*Bulro*) (ppm)

		Peak No.	RT	FJ	RJ	DJ
Acid	2-ethyl-hexanoic acid	26	31.625	0.033	0.058	0.025
Acid	octadecanoic acid	42	41.309	0.28	0.66	0.251
Acid	dodecanoic acid	43	41.466	0.03	0	0
Acid	(e)-9-octadecenoic acid	48	43.199	0.206	0.031	0.028
Acid	tetradecanoic acid	53	46.199	0.052	0.022	0.012
Acid	9,12-octadecadienoic acid	56	48.682	0.752	1.038	0.944
Acid	3-phenyl-2-propenoic acid	58	51.97	0.054	0.036	0.027
Acid	hexadecanoic acid	59	54.02	1.737	1.254	0.668
Acid	heptadecenoic acid	64	58.826	0.02	0	0
sum				3.164	3.099	1.955
Alcohol	2-methyl-3-buten-2-ol	2	9.059	0.027	0.016	0.014
Alcohol	3-penten-2-ol	6	12.578	0.102	0.05	0.047
Alcohol	2-methyl-2-buten-1-ol	9	16.903	0.027	0.017	0.016
Alcohol	benzene methanol	22	30.459	0.036	0.038	0.031
Alcohol	benzene ethanol	25	31.272	0.022	0.039	0.026
Alcohol	1-hexacosanol	51	45.326	0.056	0	0
sum				0.270	0.160	0.134
Aldehyde	ethyl-benzaldehyde	18	27.393	0.007	0.01	0.005
				0.007	0.010	0.005
Ester	1,3-dimethyl benzene	5	11.92	0.036	0	0
Ester	methyl cinnamate	27	32.307	0.008	0.02	0.01
Ester	ethyl linoleate	47	42.473	0.044	0	0
Ester	1,2-benzenedicarboxylic acid, dibutyl ester	55	46.677	0.026	0	0
Ester	9,12,15-octadecatrienoic acid methyl ester	60	55.561	0.183	0.223	0.381
sum				0.297	0.243	0.391
Furan	2-furancarboxaldehyde	11	20.821	0	0.021	0.006
Furan	1-(2-furanyl)-ethanone	12	21.889	0.006	0.011	0.007
Furan	5-methyl-2-furancarboxaldehyde	13	23.617	0	0.019	0
Furan	2-furanmethanol	17	25.508	0.015	0.047	0.023
Furan	5-(hydroxymethyl)2-furancarboxaldehyde	46	42.336	0	0.249	0.034
sum				0.021	0.347	0.070
Hydrocarbon	1-decene	3	9.233	0.102	0.029	0.022
Hydrocarbon	2,4,4-trimethyl-2-pentene	7	13.095	0.011	0.007	0.005
Hydrocarbon	1-dodecene	8	14.624	0.13	0.083	0.061
Hydrocarbon	1-tetradecene	10	20.105	0.259	0.156	0.115
Hydrocarbon	1-hexadecene	15	25.119	0.332	0.183	0.138
Hydrocarbon	1-octadecene	21	29.638	0.313	0.169	0.122
Hydrocarbon	2-hexene	29	32.845	0.156	0.016	0
Hydrocarbon	(E)-9-eicosene	30	33.73	0.207	0.118	0.085
Hydrocarbon	docosane	34	36.458	0.071	0.093	0.041
Hydrocarbon	3-eicosene	36	37.461	0.176	0.114	0.06

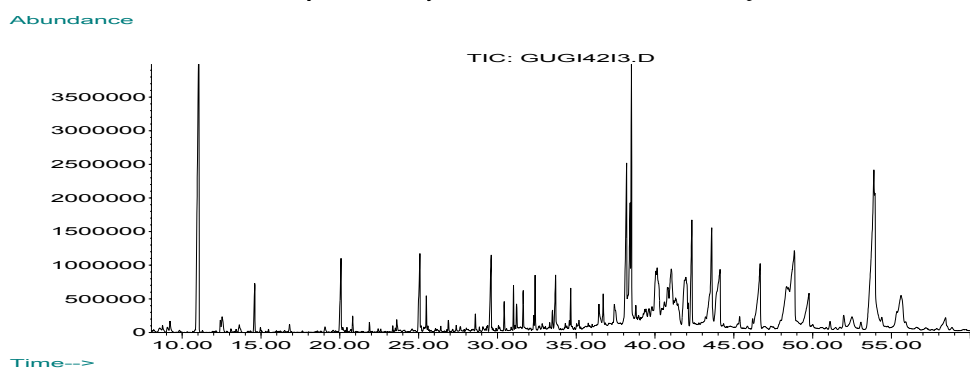
Hydrocarbon	tricosane	38	38.332	0.104	0	0.035
Hydrocarbon	tetracosane	41	40.155	0.397	0.486	0.269
Hydrocarbon	pentacosane	44	41.925	0.262	0.352	0.285
Hydrocarbon	hexacosane	50	44.059	0.305	0.377	0.337
Hydrocarbon	octacosane	54	46.596	0.225	0.351	0.283
Hydrocarbon	octacosane	57	49.694	0.127	0.212	0.197
Hydrocarbon	tetracontane	62	58.29	0.047	0	0
Hydrocarbon	triacontane	63	58.436	0	0.09	0.091
sum				3.224	2.836	2.146
Phenol	2,6-bis-(1,1-dimethylethyl)- 4-methyl-phenol	23	31.024	0.073	0.052	0.024
Phenol	(1,1-dimethylethyl)-4- methoxy-phenol	32	34.658	0.107	0.054	0.019
Phenol	2-methyl-6-vinyl phenol	35	36.712	0.112	0.072	0.044
Phenol	2,4-bis-(1,1-dimethylethyl)- phenol	40	38.525	0.637	0.405	0.277
sum				0.929	0.583	0.364
Pyrrole	1-(1H-pyrrol-2-yl)- ethanone	28	32.43	0.017	0.069	0.034
sum				0.017	0.069	0.034
Others	a-pinene	1	8.752	0.016	0.017	0.02
Others	sulfinylbis-methane	14	23.659	0	0	0.006
Others	1-methyl-(1-methylethyl)- cyclopropane	16	25.325	0.01	0.011	0.005
Others	?	19	27.633	0.019	0.014	0.008
Others	myrtenol	20	28.631	0.025	0.027	0.018
Others	(-)-trans-panane	24	31.135	0.021	0.009	0.005
Others	heneircosane	31	34.578	0.01	0.012	0.007
Others	2-butyl-5-(2-methylpropyl)- -thiophene	33	35.078	0.009	0.006	0
Others	?	37	38.195	0	0.448	0
Others	?	39	38.419	0	0.341	0.112
Others	?	45	42.076	0.078	0.034	0
Others	?	49	43.642	0.143	0.397	0.321
Others	1-(4-hydroxy-3- methoxyphenyl)-ethanone	52	45.371	0	0.026	0.053
Others	3-pyridinecarboxamide	61	57.257	0.045	0	0.027
sum				0.376	1.342	0.582
TOTAL	SUM			9.299	9.689	6.678

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*) (FJ)



Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*) (RJ)



Dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*) (DJ)

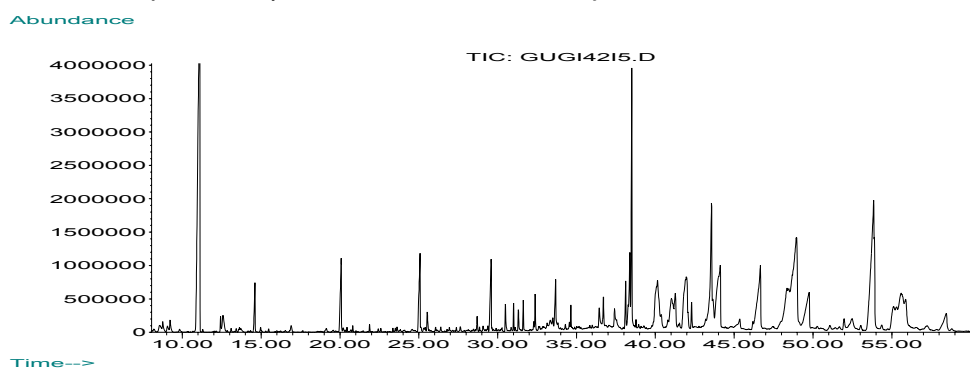


Fig.13. GC chromatogram of volatile flavor compounds in *Lycium chinense* juice (*Bulro*).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), RJ : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*), DJ : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(*Bulro*)

바. 관능검사

1) Character note의 선정

15명의 panel들은 충분한 토론을 통해 9개의 불로 구기자 주스의 색(color), 향(flavor)과 맛(taste)에 대한 character note(descriptive attributes)를 정하였고, 각각의 note에 대한 빈도수는 Table 11에 제시하였다. 이 결과로부터 panel들간의 토론을 거쳐 유사한 개념은 통합하고, 빈도수를 고려하여 색(color)은 3종류(orange, yellow, brown), 향(flavor)은 4종류(roasted rice, caramel, sweet, barley tea), 맛(taste)은 4종류(sweet, bitter, acid, pumpkin)를 선정하여 이후의 분석에 사용하였다. Panel간의 토론을 통해 맛과 향에 대한 정의를 내렸으며, panel 훈련은 표준물질로 3회 실시하였다.

2) 정량묘사분석 (QDA : Quantitative descriptive analysis)

12명의 panel이 Fig. 14에 나타낸 9개의 시료를 관능검사 하였다. 생 불로 구기자 주스(FJ, 10%, 20%, 30%), 볶은 건과 불로 구기자 주스(RJ, 10%, 20%, 30%), 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스(DJ, 10%, 20%, 30%)에 당 10%(백설탕, CJ 주식회사)를 첨가하여 시료로 사용하였다. Table 12에는 색도에 대해 나타내었다. L값은 10%, 20%, 30%가 FJ가 각각 57.52, 40.87, 20.30을 나타내었고, RJ는 각각 88.74, 80.78, 74.72를 나타내었다. DJ는 각각 94.57, 90.87, 86.24를 나타내어 농도가 진해질수록 L값은 낮게 나타났다. a값은 각각의 농도가 10%, 20%, 30% 일 때 FJ는 1.82, 2.95, 3.89를 보였고, RJ는 -1.30, -0.21, 1.43을 나타내었다. DJ는 -1.44, -1.71, -1.47을 나타내어 DJ를 제외하고 농도가 진해질수록 증가하였다. b값은 10%, 20%, 30%의 농도에서 각각 FJ는 12.99, 14.05, 12.18을 나타내었고, RJ는 19.76, 27.63, 31.14를, DJ는 12.14, 18.47, 24.32를 나타내어 FJ를 제외하고 주스의 농도가 진해질수록 b값은 증가하였다. 투광도는 주스의 농도가 10%, 20%, 30%일때 FJ는 각각 47.00, 21.00, 11.20을 보였고, RJ는 각각 91.20, 68.40, 53.60을 나타내었다. DJ는 각각 96.40, 89.20, 70.50을 나타내어 주스의 농도가 진해질수록 투광도는 낮게 나타났다. 이 시료들을 토론을 통해 정해진 12개의 character notes 에 대한 강도를 15 cm 선상에 표시하게 하였고, 측정된 수치를 Duncan's multiple range test 로 통계 처리하였다.

Table 11. Preliminary descriptors

	Character notes	Number of description
Color	Brown (갈색)	11
	Orange (주황색)	22
	Yellow soil (황토)	1
	Ivory (상아)	2
	Apricot (살구)	1
	Yellow (노란색)	12
	Mango (망고)	1
	Lemon juice (레몬즙)	1
	황도액	1
	Gold (금)	1
	Pear juice (배즙)	1
	Honeyed water (꿀물)	1
	Vinegar (식초)	1
	Apple juice (사과주스)	1
Taste	Sweet (단맛)	18
	Bitter (쓴맛)	6
	Astringency (떫은맛)	2
	Pear juice (배즙)	1
	Pumpkin (호박맛)	11
	Medicinal herb (한약재)	5
	Acid (신맛, sour)	10
	Tomato juice (토마토 주스)	1
	Persimmon (감)	1
	Fermented rice punch (식혜)	1
	Barley (보리)	1
	Carrot (당근)	3
	Apple (사과)	2
	Savory (구수한맛)	1
Flavor	Carrot (당근향)	3
	Tomato (토마토향)	1
	Roasted rice (누룽지향, 구수한향)	11
	Caramel (카라멜향, 옻)	12
	Pear juice (배즙)	3
	Sweet (단 향)	10
	Refined rice wine (청주)	1
	Whisky (양주)	1
	Barley tea (보리차)	7
	Grape (청포도)	1
	Peach (복숭아)	1
	Apple (사과)	1
	Orange (귤)	2
	Coffee (커피)	2
	Baby food(Gerber) (이유식)	1

Table 12. Color of *Lycium chinense* juice (Bulro)

Concentration (%)		L **	a **	b **	Transmittance(%T)**
FJ	10	57.52 ± 0.21 ^g	1.82 ± 0.04 ^c	12.99 ± 0.03 ^g	47.00 ± 0.10 ^g
	20	40.87 ± 0.42 ^h	2.95 ± 0.04 ^b	14.05 ± 0.11 ^f	21.00 ± 0.42 ^h
	30	20.30 ± 0.61 ⁱ	3.89 ± 0.09 ^a	12.18 ± 0.19 ^h	11.20 ± 0.15 ⁱ
RJ	10	88.74 ± 0.03 ^c	-1.30 ± 0.01 ^f	19.76 ± 0.02 ^d	91.20 ± 0.10 ^b
	20	80.78 ± 0.04 ^e	-0.21 ± 0.01 ^e	27.63 ± 0.01 ^b	68.40 ± 0.40 ^e
	30	74.72 ± 0.26 ^f	1.43 ± 0.06 ^d	31.14 ± 0.06 ^a	53.60 ± 0.21 ^f
DJ	10	94.57 ± 0.09 ^a	-1.44 ± 0.01 ^g	12.14 ± 0.02 ^h	96.40 ± 0.10 ^a
	20	90.87 ± 0.38 ^b	-1.71 ± 0.03 ^h	18.47 ± 0.03	89.20 ± 0.10 ^c
	30	86.24 ± 2.23 ^d	-1.47 ± 0.19 ^g	24.32 ± 0.20 ^c	70.50 ± 0.06 ^d

Means ± S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncans multiple range test at $p < 0.01$ (**).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

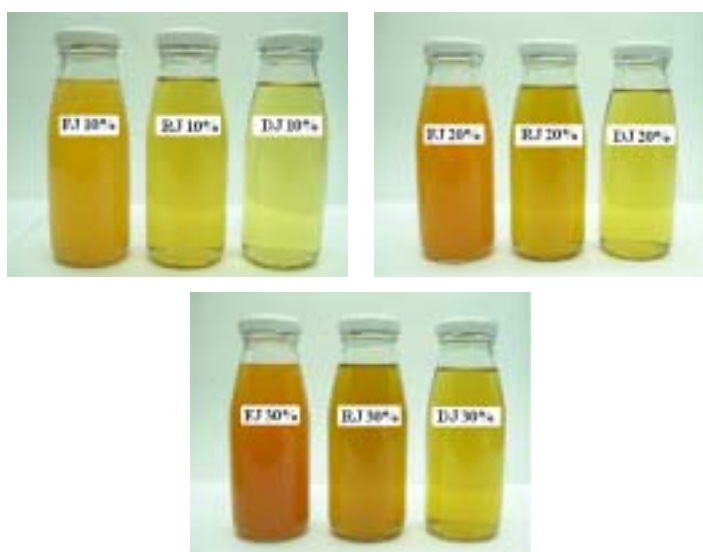


Fig. 14. The color comparison of *Lycium chinense* juice (Bulro).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

Table 13. Quantitative descriptive analysis of *Lycium chinense* juice (Bulro)

		FJ			RJ			DJ		
Concentration (%)		10	20	30	10	20	30	10	20	30
Color	Orange**	5.48±3.26 ^{bc}	7.72±2.40 ^b	10.34±2.33 ^a	2.08±2.34 ^{de}	4.30±3.40 ^{cde}	4.56±3.59 ^{cd}	1.66±2.32 ^e	1.94±2.21 ^{de}	4.04±3.42 ^{cde}
	Yellow	3.06±2.93 ^b	4.87±2.90 ^{ab}	5.74±3.77 ^{ab}	5.05±2.74 ^{ab}	6.63±3.56 ^a	6.53±4.49 ^a	3.77±3.76 ^{ab}	5.05±3.28 ^{ab}	5.57±2.95 ^{ab}
	Brown**	1.80±2.37 ^d	5.74±2.72 ^{cd}	4.26±3.51 ^{bcd}	2.94±3.17 ^{cd}	6.42±2.93 ^b	9.19±2.65 ^a	2.34±3.11 ^d	2.69±2.59 ^d	5.44±2.92 ^{bc}
Flavor	Roasted rice	2.66±2.54 ^c	3.07±2.87 ^{bc}	3.47±2.86 ^{abc}	3.64±3.09 ^{abc}	6.03±2.92 ^a	5.60±2.73 ^{ab}	3.52±3.34 ^{abc}	3.79±3.03 ^{abc}	4.99±3.20 ^{abc}
	Caramel	2.00±2.37 ^b	2.29±2.71 ^{ab}	2.55±2.66 ^{ab}	3.46±3.09 ^{ab}	4.02±2.79 ^{ab}	5.05±3.25 ^a	2.78±3.24 ^{ab}	2.90±2.61 ^{ab}	3.46±3.41 ^{ab}
	Sweet*	3.23±2.05 ^b	3.46±2.97 ^b	3.38±3.27 ^b	6.48±3.01 ^a	7.93±3.00 ^a	7.74±3.27 ^a	5.40±3.30 ^{ab}	5.78±2.63 ^{ab}	7.49±3.28 ^{ab}
	Barley tea	2.68±2.63 ^a	2.97±2.95 ^a	3.16±2.93 ^a	4.05±3.76 ^a	5.14±2.87 ^a	5.56±2.90 ^a	4.16±3.46 ^a	4.56±3.62 ^a	5.01±3.85 ^a
Taste	Sweet**	4.41±2.40 ^b	4.36±2.26 ^b	4.32±3.01 ^b	7.17±2.36 ^a	9.00±2.37 ^a	7.48±3.23 ^a	6.67±2.65 ^{ab}	7.16±2.24 ^a	7.85±2.61 ^a
	Bitter**	3.50±3.49 ^{bc}	4.50±4.59 ^{ab}	6.70±5.47 ^a	0.85±1.28 ^c	1.32±2.49 ^c	1.90±3.05 ^{bc}	0.73±1.06 ^c	1.15±1.60 ^c	1.53±1.99 ^c
	Acid**	4.56±2.51 ^b	5.50±3.06 ^{ab}	6.83±4.56 ^a	0.81±1.17 ^c	2.17±2.11 ^c	2.24±1.95 ^c	0.70±0.95 ^c	1.68±2.13 ^c	1.59±1.67 ^c
	Pumpkin	4.66±2.49 ^a	4.65±2.29 ^a	5.49±4.00 ^a	5.03±3.23 ^a	7.08±2.75 ^a	7.49±3.22 ^a	4.79±3.42 ^a	5.89±3.08 ^a	6.63±3.39 ^a
Total evaluation**		5.07±1.96 ^{bc}	4.17±2.37 ^{cd}	2.54±2.53 ^d	8.57±2.23 ^a	7.18±2.71 ^{ab}	6.98±2.11 ^{ab}	8.00±3.39 ^a	8.06±3.03 ^a	7.79±3.24 ^a

Means ± S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncans multiple range test at $p < 0.05(*)$, $p < 0.01(**)$.

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

Table 13에서 색은 주황색(orange), 노란색(yellow), 갈색(brown)으로 평가하여 주황색은 $FJ\ 30\% > FJ\ 20\% \geq FJ\ 10\% \geq RJ\ 30\% \geq RJ\ 20\% = DJ\ 30\% \geq RJ\ 10\% = DJ\ 20\% > DJ\ 10\%$ 순으로 높게 나타났다($p < 0.01$). 갈색은 $RJ\ 30\% > RJ\ 20\% \geq DJ\ 30\% \geq FJ\ 30\% \geq FJ\ 20\% = RJ\ 10\% \geq DJ\ 20\% = DJ\ 10\% = FJ\ 10\%$ 의 순으로 높게 나타났으며($p < 0.01$), 노란색에서는 유의차가 없었다.

블로 구기자 주스 향은 누룽지향(roasted rice), 카라멜향(caramel), 단향(sweet), 보리차향(barley tea)으로 구분되었으며, 누룽지향과 카라멜향, 보리차향에서는 유의차가 나타나지 않았다. 단향은 $RJ\ 10\% = RJ\ 20\% = RJ\ 30\% \geq DJ\ 20\% = DJ\ 30\% = DJ\ 10\% \geq FJ\ 20\% = FJ\ 30\% = FJ\ 10\%$ 의 순으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

블로 구기자 주스의 맛은 단맛(sweet), 쓴맛(bitter), 신맛(acid), 호박맛(pumpkin)을 평가하였으며, 호박맛을 제외한 단맛, 쓴맛, 신맛에서 모두 유의차를 나타내었다($p < 0.01$). 단맛은 $RJ\ 10\% = RJ\ 20\% = RJ\ 30\% = DJ\ 20\% = DJ\ 30\% \geq DJ\ 10\% \geq FJ\ 10\% = FJ\ 20\% = FJ\ 30\%$ 의 순으로 높게 나타났다. 쓴맛은 $FJ\ 30\% \geq FJ\ 20\% \geq FJ\ 10\% = RJ\ 30\% \geq DJ\ 30\% = RJ\ 20\% = DJ\ 20\% = RJ\ 10\% = DJ\ 10\%$ 의 순으로 높게 나타났다. 신맛의 경우 $FJ\ 30\% \geq FJ\ 20\% \geq FJ\ 10\% > RJ\ 30\% = RJ\ 20\% = DJ\ 20\% = DJ\ 30\% \geq RJ\ 10\% = DJ\ 10\%$ 의 순서로 높게 나타났다. 전체적인 평가를 보면, $RJ\ 10\% = DJ\ 10\% = DJ\ 20\% = DJ\ 30\% \geq RJ\ 20\% = RJ\ 30\% \geq FJ\ 10\% \geq FJ\ 20\% \geq FJ\ 30\%$ 의 순으로 좋다고 평가되었으며, FJ보다는 RJ와 DJ가 좋은 것으로 나타났다($p < 0.01$).

Fig. 15에서 보는바와 같이 생 블로 구기자 주스(FJ)와 건과 블로 구기자 주스(RJ, DJ)간의 차이가 뚜렷이 나타났으며 FJ는 orange color, bitter taste, acid taste가 RJ와 DJ보다 유의적으로 높게 나타났고, RJ와 DJ의 경우는 sweet flavor, barley flavor, sweet flavor, total evaluation이 높게 나타났다. 전체적인 평가에서 생 블로 구기자 주스(FJ)가 낮게 나온 것은 bitter taste와 acid taste의 영향으로 낮게 나타난 것으로 생각된다. Lim 등(Lim *et al.*, 2003)의 구기자 분말을 각각 1%, 3%, 5%, 7% 첨가한 생면의 관능검사 결과 1% 첨가구는 구기자 고유의 황색 및 적색이 미약하였고, 7% 첨가구는 진한 어두운 색을 보였으며, 3% 첨가한 생면에서 외관, 맛, 전체적인 기호도가 가장 높게 평가되었다.

Fig. 16에는 농도별 블로 구기자 주스에 대한 QDA diagram을 나타내었다. 농도가 높을수록 각 항목의 강도는 증가하였으나 FJ, RJ, DJ의 분포 모양에 있어서는 일정한 특성을 나타내었다. FJ와 RJ는 10% 주스를 가장 선호하였으며,

DJ는 농도간의 유의차가 나타나지 않았다. 그러므로 10%의 불로 구기자 주스가 적합하다고 생각된다.

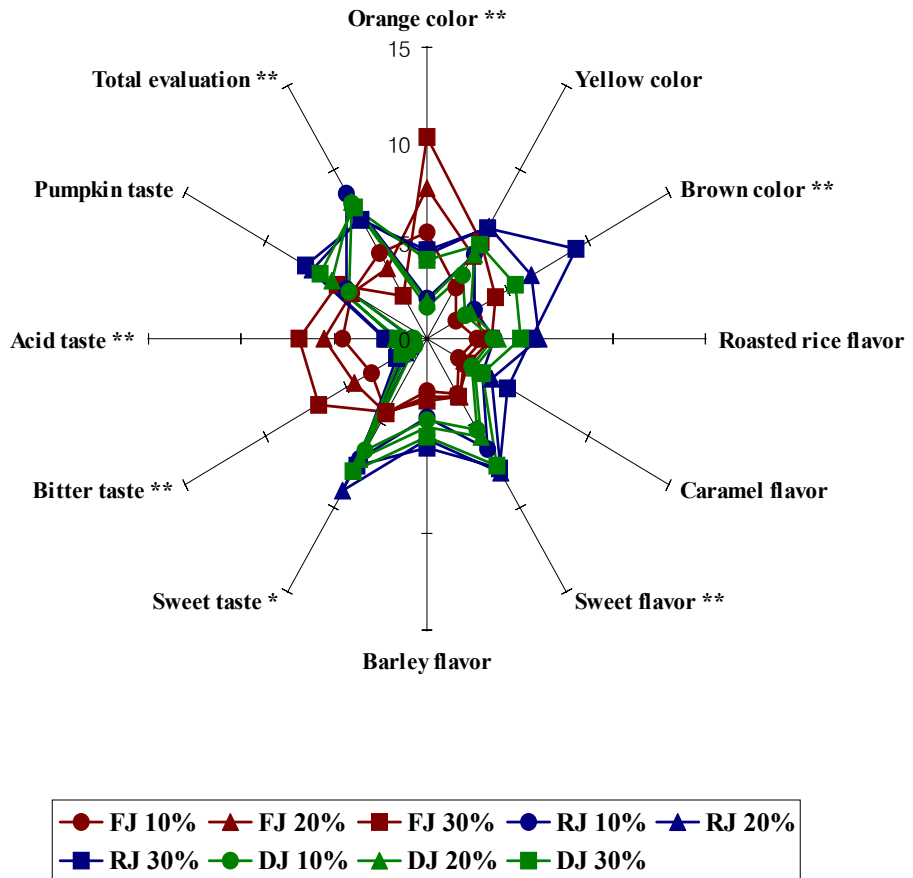


Fig. 15. QDA diagram of *Lycium chinense* juice (Bulro).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

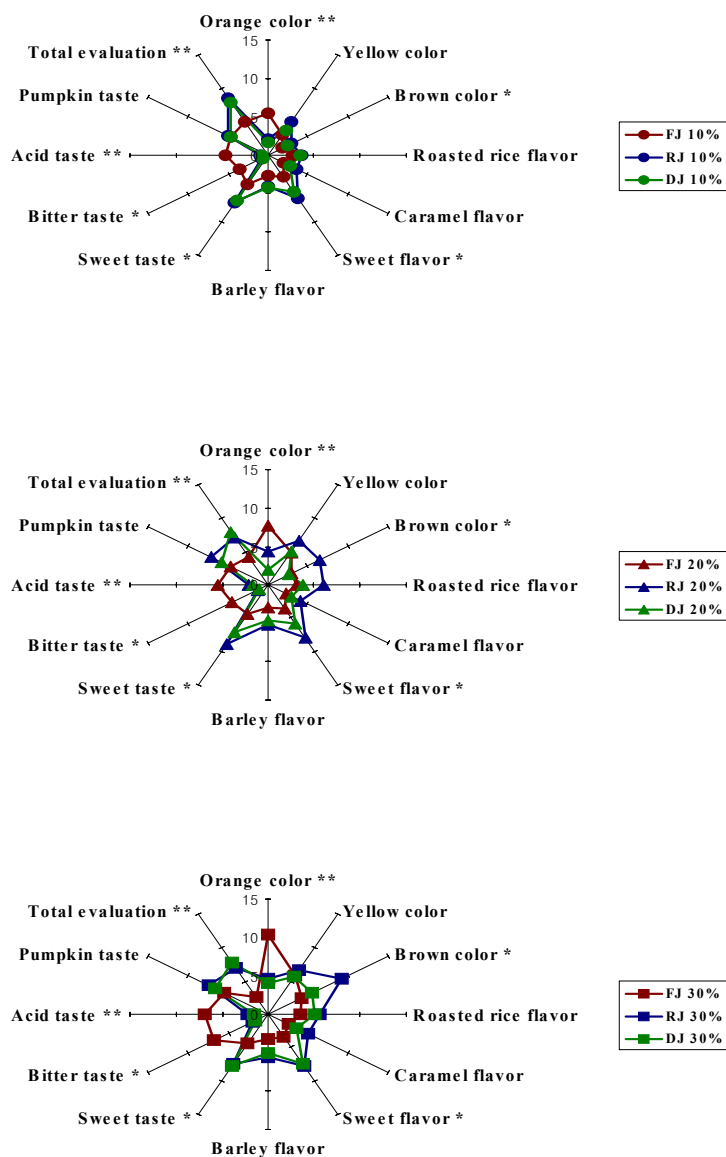


Fig. 16. QDA diagram of *Lycium chinense* juice (Bulro).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **RJ** : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), **DJ** : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

3) 기호도 조사 (Acceptability test)

블로 구기자 주스의 9개의 시료에 대한 color, flavor, taste, total evaluation에 대해 50명의 panel에게 기호도 조사(degree of acceptability)를 한 결과를 Table 14에 나타내었다. 기호도 조사 결과 색, 향, 맛, 전체적인 평가에서 모두 유의차가 나타났다($p < 0.01$). 색에서는 DJ 20% = RJ 10% = DJ 20% $\geq$ DJ 10% $\geq$ RJ 20% $\geq$ RJ 30% $\geq$ FJ 20% $\geq$ FJ 30% $\geq$ FJ 10% 의 순으로 높게 나타났다. 향의 경우에는 RJ 10% = DJ 10% = RJ 20% = DJ 30% = DJ 20% = RJ 30% $>$ FJ 10% $\geq$ FJ 20% $\geq$ FJ 30%의 순으로 높게 나타나 RJ, DJ의 기호도가 FJ보다 높게 나타났다($p < 0.01$). 맛은 RJ 10% $\geq$ DJ 10% = RJ 20% = DJ 30% = DJ 20% $\geq$ RJ 30% $>$ FJ 10% = FJ 20% $>$ FJ 30% 순으로 높게 나타났으며, RJ, DJ의 기호도가 FJ보다 높게 나타났다($p < 0.01$). 전체적인 기호도는 RJ 10% $>$ DJ 30% $\geq$ DJ 10% = DJ 20% = RJ 20% $\geq$ RJ 30% $>$ FJ 20% = FJ 10% $\geq$ FJ 30%로 나타나, RJ, DJ의 기호도가 FJ보다 높은 것으로 나타났다($p < 0.01$). 그러므로 FJ는 10%와 20%의 기호도에 유의차가 없었고, RJ는 10%의 기호도가 가장 높았다. DJ는 농도간 유의차가 없으므로 10% 블로 구기자 주스의 기호도가 좋게 나왔다. 생구기 주스의 경우 생과 34kg을 착즙한 결과 14.5kg을 얻어서 수율은 약 40%였다. 생구기 가격은 4,300원/kg으로 건강기능성 및 관능검사 기호도가 높은 10% 주스 제조 시 약 40L/10kg이므로 약 200병/200mL로 약 212원/병의 재료비를 계산할 수 있었다. 건조구기주스의 경우 4kg 건과에 36kg의 물을 첨가하여 30.3kg이 주스를 제조하였으므로 약 75%의 수율을 얻었다. 건조구기 가격은 21,600원/kg 이므로 기호성이 높은 10% 주스를 75L/10kg으로 375병/200mL로 약 576원/병의 원료비를 계산할 수 있었다. 그리고 10% 생과, 건과 주스의 경우에도 항산화성 및 라디칼 소거효과의 기능성도 높은 것으로 나타났다.

Table 14. Acceptability test of *Lycium chinense* juice (Bulro)

Concentration (%)		Color**	Flavor**	Taste**	Total evaluation**
FJ	10	2.73 ± 0.21 ^d	2.40 ± 0.04 ^b	2.07 ± 0.03 ^c	1.93 ± 0.10 ^d
	20	3.00± 0.42 ^{bcd}	2.07 ± 0.04 ^{bc}	1.67 ± 0.11 ^c	2.07 ± 0.42 ^d
	30	3.20 ± 0.61 ^{cd}	2.00 ± 0.09 ^c	1.40 ± 0.19 ^d	1.67 ± 0.15 ^e
RJ	10	3.27 ± 0.03 ^a	3.13 ± 0.01 ^a	3.40 ± 0.02 ^a	3.47 ± 0.10 ^a
	20	2.93 ± 0.04 ^{abc}	3.13 ± 0.01 ^a	3.13 ± 0.01 ^{ab}	3.13 ± 0.40 ^{bc}
	30	2.53 ± 0.26 ^{bcd}	3.20 ± 0.06 ^a	3.27 ± 0.06 ^b	2.93 ± 0.21 ^c
DJ	10	3.00 ± 0.09 ^{ab}	3.07 ± 0.01 ^a	3.47 ± 0.02 ^{ab}	3.27 ± 0.10 ^{bc}
	20	3.47 ± 0.38 ^a	2.87 ± 0.03 ^a	3.27 ± 0.03 ^{ab}	3.20 ± 0.10 ^{bc}
	30	3.07 ± 2.23 ^a	3.07 ± 0.19 ^a	3.27 ± 0.20 ^{ab}	3.13 ± 0.06 ^b

Means $\pm$ S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.01$ (**).

FJ : Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), RJ : Roasted and dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro), DJ : Dried fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

score: 1-very poor, 5-very good

제 3 절 구기자즙액의 발효과정 기능성 성분 분석 및 품질 평가에 관한 연구

1. 실험방법 및 내용

가. 실험 재료

본 실험에 사용한 구기자는 2004년 충남 청양군 운곡면 청양 구기자 시험장에서 수확한 불로 구기자 생과와 건과를 이용하였다.

나. 불로 구기주 제조

2004년 청양 구기자 시험장에서 수확한 불로 구기자를 이용하여 불로 구기주를 Fig. 1과 같이 제조하였다. FKJ(Fresh *Kugi-Ju*)는 불로 구기자 생과를 정선 및 수세 과정을 거쳐 90℃에서 40초간 처리하여 착즙하였다. 구기자 색변화와 갈변방지를 위해 비타민 C 0.25%, 메타인산나트륨 0.1%를 첨가하여 거른 후, 구기자와 물의 비율을 2 : 8로 하여 물을 첨가하고 10% SO₂ 100 ppm 넣었다. 당도(brix)를 제어 최종 당도가 21°brix가 되도록 백설탕(CJ, Incheon, Korea)을 첨가하고, 미생물의 생육을 위해 Table 1과 같이 종합비타민 centrum(Wyeth, Whitehall Consumer Healthcare Pty Ltd., NSW, Australia) 2알을 첨가하였고, *Saccharomyces cerevisiae* 20 mL을 접종하고 20 ± 0.5℃에서 80일 동안 발효시켰다. FKJS(Fresh *Kugi-Ju* with skin)는 불로 구기자 생과를 정선 및 수세 과정을 거쳐 알맹이를 터트리고 구기자와 물의 비율을 2 : 8로 하여 물을 가하고, 비타민 C 0.25%, 메타인산나트륨 0.1%를 첨가하고 10% SO₂ 100 ppm 첨가하고, 당도가 21°brix가 되도록 백설탕을 첨가하여 발효하였다. DKJ(Dried *Kugi-Ju*)는 불로 구기자 건과를 구기자와 물의 비율을 2 : 8로 하여 물을 가하고 50℃에서 2시간 추출하였다. 비타민 C 0.25%, 메타인산나트륨 0.1%를 첨가하여 거른 후 10% SO₂ 100 ppm 첨가하여 최종 당도가 21°brix가 되도록 백설탕을 첨가하여 발효하였다. DKJS(Dried *Kugi-Ju* with skin)는 불로 구기자 건과를 구기자와 물의 비율을 2 : 8로 하여 물을 가하고 50℃에서 2시간 추출하여 동일한 방법으로 제조하였다. 20℃에서 발효가 끝난 시료는 1℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

Table 1. Components of centrum (1 tablet)

성분	함량(mg)
초산비타민 AD3과립 (비타민A로서 2,000IU, 콜레칼시페롤로서 200IU)	4
베타카로틴 20% 과립 (베타카로틴으로서 1.2mg)	5.988
질산치아민 98%과립 (질산치아민으로서 1.7 mg)	1.757
리보플라빈 98% 과립 (리보플라빈으로서 1.7mg)	1.632
염산피리독신 98% 과립 (염산피리독신으로서 2.4mg)	2.48
시아노코발라민 1% (시아노코발라민으로서 1 μ g)	0.1
아스코르빈산 90% 과립 (아스코르빈산으로서 60mg)	66.666
초산-dl-alpha-토코페놀 50% 과립 (비타민 E로서 14.9 IU)	29.8
비오틴 1% (비오틴으로서 150 μ g)	15
판토텐산칼슘(USP)	6.5
피토나디온 5% (비타민K로서 36 μ g)	0.720
니코틴산아미드(USP)	18
염산(USP)	0.2
황산망간(USP) (망간으로서 1mg)	3.708
산화아연(USP) (아연으로서 5mg)	6.223
푸마르산철(USP) (철로서 4mg)	12.169
염화칼륨(USP) (칼륨으로서 40mg, 염소로서 36.3mg)	76.278
산화제이동(USP) (동으로서 1mg)	1.251
산화마그네슘(USP) (마그네슘으로서 100mg)	165.782
인산수소칼슘(USP) 칼슘으로서 162mg, 인으로서 125mg)	695.577
요오드화칼륨(USP) (요오드로서 100 μ g)	0.131
염화크롬(USP) (크롬으로서 25 μ g)	0.128
몰리브덴산칼륨(식약청고시제 2000-14호) (몰리브덴으로서 25 μ g)	0.063
셀렌산나트륨(식약청고시제2000-14호) (셀레늄으로서 25 μ g)	0.060

다. 화학적 성분 분석

1) pH

pH는 상온에서 pH meter(ion meter, Orion 520A, USA)를 사용하여 측정하였다(Zoecklein, 1990).

2) 당도(Brix), 당 함량, 당 분석

당도는 25℃에서 hand refractometer(model N-1E, ATAGO, Japan)를 사용하여 측정하였다(Zoecklein, 1990). 당 함량은 Boehringer Mannheim GmbH

(Mannheim, Germany)을 사용하여 효소학적 방법으로 측정하였다(Boehringer Mannheim GmbH, 1995). 당 분석은 불로 구기주 10 g을 증류수로 1,250배 희석하여 HPLC(Hewlett Packed 1100, Palo Alto, USA)로 분석하였다. 분석조건은 HPLC 1100 Series, 컬럼은 Kromasil KR100-10NH₂ (250 × 4.5 mm), 30℃이며, 이동상은 75% acetonitrile, 검출기는 50℃에서 RI로, 유속은 1.6 mL/min로 하였고, 주입량은 10 µL로 하였다. Sucrose, maltose, glucose, fructose(Sigma Co. MO, USA)를 농도별로 희석하여 표준용액을 제조한 후 분석하여 검량선을 작성하였으며 이에 따라 정량하였다(Korean Food Industry Association, 2002).

3) Hue, intensity 와 색도

시료를 각각 420 nm, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 hue는 420nm/520nm의 비율로, intensity는 420 + 520 nm의 합으로 하였다. 색도는 L, a, b 값으로 hunter colorimeter(Model TC-3600, Denshoku Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다(Zoecklein, 1990).

4) 에탄올 함량

냉각기를 연결하여 100 mL의 불로 구기주를 가열한 후, 수기에 충분히 알코올을 받아 증류수로 100 mL로 정량하여 주정계를 이용하여 측정하였다(Joo *et al.*, 2000).

5) 유기산 분석

불로 구기주 10 g을 증류수로 5배 희석하여 시료로 사용하였다. Oxalate, tartarate, malate, lactate, acetate, citrate, succinate, fumarate 표준품(Sigma Co. MO, USA)을 농도별로 희석하여 표준용액을 제조한 후 HPLC(Hewlett Packard 1100, Palo Alto, USA)로 분석, 검량선을 작성하여 정량하였다. 분석조건은 컬럼 Prevail Organic acid 5µ (250 × 4.6mm), 25℃이며, 이동상은 25 mM KH₂PO₄(Phosphoric acid pH 2.1), 검출기는DAD(diode array detector)로 파장 210 nm, 유속은 1.0 mL/min, 주입량은 10 µL로 하였다(AOAC, 1995).

라. 미생물 실험

1) 효모의 생균수

불로 구기주의 생균수는 YM agar 배지(Difco, USA)를 이용하여 pour plate counting method로 27℃에서 48시간 배양하여 효모의 생균수를 계수하였다(Zoecklein *et al.*, 1990).

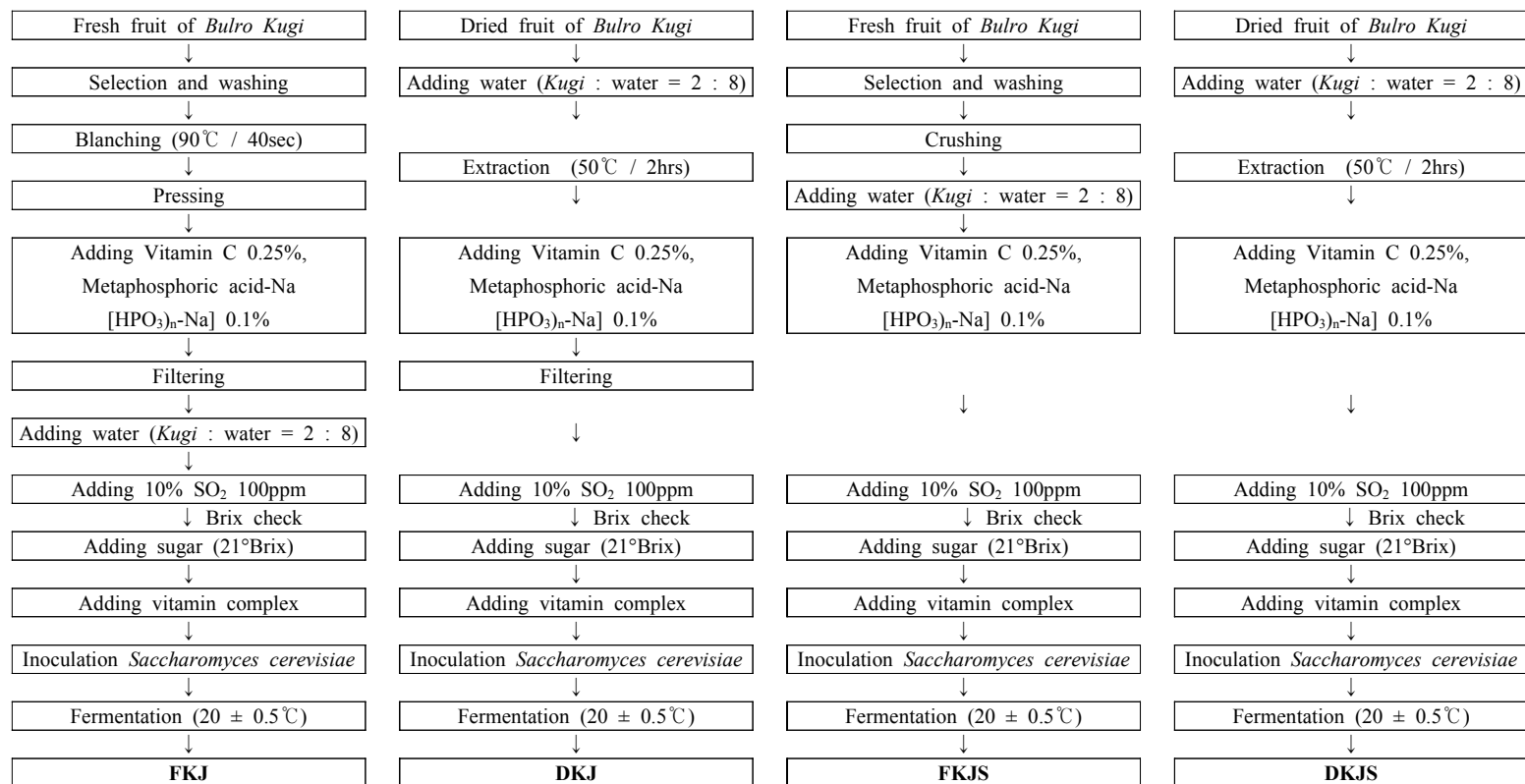


Fig. 1. Procedure of *Bulro Kugi-Ju*.

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with skin, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with skin

마. 항산화력 분석

1) 총 페놀 함량

Folin-Ciocalteu 법(Zoecklein, 1990)을 사용하여 불로 구기주의 총 페놀 함량을 측정하였다. 시료 1 mL에 증류수 60 mL를 가하고, Folin-Ciocalteu's reagent 5 mL를 첨가하여 30초간 반응시킨다. 15 mL의 포화 Na_2CO_3 용액을 혼합하여 실온에서 2시간 방치한 뒤, 765 nm에서 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 mg/L GAE로 환산하였다.

2) 항산화 실험 (Ferric thiocyanate method)

Mohd Zin 등의 방법(Mohd Zin *et al.*, 2002)에 따라 시료 4 mL에 ethanol에 녹인 2.51% linoleic acid 4.1 mL를 더하고, 0.05 M phosphate buffer 8 mL (pH 7.0), 증류수 3.9 mL를 더한다. 이를 screw tube에 넣어 뚜껑을 닫고 45°C의 암소에서 보관한다. 위 용액 0.1 mL와 75% ethanol 9.7 mL와 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL를 더한다. 3.5% HCl에 녹인 0.02 M ferrous chloride 0.1 mL를 넣은 후 정확히 3분 뒤에 500 nm에서 흡광도를 측정한다. Control의 흡광도가 최대에 도달할 때까지 24시간마다 흡광도를 측정하였다.

Antioxidant activity (%)

$$= [100 - \{(\text{product extraction oxidation index}_{t=\text{maxhr}} / \text{control oxidation index}_{t=\text{maxhr}}) \times 100\}]$$

3) Superoxide radical scavenging activity

불로 구기주의 항산화 효과를 측정하기 위해 hypoxanthin-xanthin oxidase(HPX-XOD)체계에서 ESR(electron spin resonance, Model JEOL-JES-TE 200, Japan)로 측정하였다. 0.1 M Kpi buffer (pH 7.4) 181 μL , 5 mM DTPA(diethylene triamine penta acetic acid) 2 μL , 9 M DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide) 4 μL , 50 mM xanthine 4 μL , 100 μM catalase 2 μL , 25 unit xanthin oxidase 2 μL 와 시료 5 μL 를 microtube에 넣어 잘 혼합하여 2분 후에 ESR로 측정하였다. 각 radical peak가 control peak에 비해 작아진 정도의 비를 계산하여 나타내었다(Mitsuta *et al.*, 1990; Sato *et al.*, 1996; Lissi *et al.*, 1995).

Scavenging activity (%)

$$= [100 - \{(\text{sample peak height} / \text{control peak height}) \times 100\}]$$

4) Hydroxyl radical scavenging activity

불로 구기주의 hydroxyl radical scavenging activity를 측정하기 위해 0.1 M Kpi buffer(pH 7.4) 183 μL , 10 mM EDTA(ethylene diamine tetra acetic acid) 4 μL , 9 M DMPO 2 μL , 20 mM FeSO_4 2 μL , 5 mM H_2O_2 4 μL 와 시료 5 μL 를 microtube에 넣어 잘 혼합하여 2분 후에 ESR(Model JEOL-JES-TE 200, Japan)로 측정하였다(Mitsuta *et al.*, 1990; Sato *et al.*, 1996; Lissi *et al.*, 1995).

바. Polyphenolic compounds 분석

Chen 등의 방법(Chen *et al.*, 2001)으로 분별 깔대기에 불로 구기주 100 g을 동량의 ethyl acetate를 혼합한 후 ethyl acetate 층을 분리, 추출하였으며 이 과정을 3회 반복하여 ethyl acetate 추출물을 합한 후 무수황산나트륨을 가하고 여과하여 회전 진공농축기(50℃)로 완전히 농축한 후 시액(0.2 M 인산완충액, pH 3.0 : 메탄올 : 물 = 2 : 3 : 15, v/v/v) 10 mL로 잘 희석한 용액을 0.45 μm 로 여과한 다음 HPLC로 측정하였다. 이 때 분석조건은 HPLC(Hewlett Packard Co., USA)로 컬럼 Hypersil ODS (250×4.6mm, Hewlett Packard Co., USA), 온도는 40℃이며, 이동상은 acetonitrile : acetic acid : methanol : H_2O (113 : 5 : 20 : 862, v/v/v/v), 검출기는 DAD(280 nm), 유속은 1.0 mL/min, 주입량은 20 μL 로 하였다. Gallic acid, procatechuic acid, catechol, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin, syringic acid, 4-methylcatechol, *p*-coumaric acid 의 표준품(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 농도별로 조제한 후, 검량선을 작성하여 정량하였다.

사. 향기 성분 및 향기패턴 분석

시료를 균질화하여 일정량을 취한 후 이들 중의 향기성분을 liquid-liquid extraction하여 dichloromethane 100 mL씩으로 3회 추출한 다음, Kuderna-danish Concentrator로 0.2 mL로 농축 후 100 ppm β -pinene 0.1 mL를 첨가하여 GC/MS(Hewlett Packed 6890 GC/5972 MSD, Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. 컬럼은 INNOWax(crosslinked polyethylene, 60.0 m × 0.25 mm × 0.25 μm)이며, 컬럼의 온도는 40℃/2min에서 5℃/min 온도상승하

여 230℃에서 20분간 실시하였다. Inlet의 온도는 250℃, 검출기의 온도는 280℃이었고, 이동상은 헬륨가스로 1.2 mL/min 속도로 주입시켰다. Split mode는 split flow 13 mL/min로 하였고, ion source는 EI(70eV)이며 주입량은 2.0 mL로 하였다. 그리고 GC/MS 분석으로 얻은 mass spectrum을 GC/MS의 소프트웨어로 내장된 Wiley library와 비교하여 동정하였으며, 정량은 내부표준법으로 산출하였다(Kim *et al.*, 1998).

아. 관능검사

1) Panel 선정 및 묘사 분석

블로 구기주의 맛과 향에 대한 묘사분석을 위한 관능검사에 대해 가톨릭대학교 식품영양학과 15명을 선발하여 블로 구기주를 제시하고 향과 맛을 본 후 느낀 단어들을 나열하도록 하였다. 그 후 토론을 통하여 character notes의 선정을 실시하였다. Table 2와 같이 표준물질을 제시하고, 훈련을 3회 실시하였다. 이들에게 선정된 각각의 항목에 대해 느끼는 강도를 약한 정도는 좌측으로 강한 정도는 우측으로 하여 15 cm 선상에 표시하게 하고 항목 당 평점은 왼쪽 선단으로부터 표시까지의 거리로 하였다. 결과 중 오차가 심한 2명을 제외한 13명의 데이터로, 검사 결과를 SAS program 을 사용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고 Duncan's multiple range test에 의해 시료간의 차이를 검증하고 QDA(Quantitative descriptive analysis) diagram 으로 표시하여 정량적 묘사 분석법으로 도해하였다(Lee *et al.*, 1999; Del Caro *et al.*, 2004).

2) 표준물질

표준물질로 사용한 시약은 특급시약을 사용하였다. 최소 감응 농도(threshold value)에 해당하는 양을 증류수에 녹여 패널들에게 제시하였다(Galán-Sodevilla *et al.*, 2005). Table 2는 블로 구기주의 표준물질의 종류의 농도를 나타내었다.

자. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 실험하였으며, SAS(SAS 8.2, Cary, North Carolina, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)법으로 유의차를 검증하였다.

Table 2. Composition of reference standards

Attributes		Reference
Color	Orange	
	Yellow	
	Brown	
Flavor	Sweet	Vanilla flavor HFO4-0262, 3 drops in 100 mL 12% ethanol, SAMHWA flavor & fragrances Co., LTD. KOREA
	Yeast	Yeast flavor, 3 drops in 100 mL 12% ethanol, SAMHWA flavor & fragrances Co., LTD. KOREA
	Alcoholic	Ethanol, 100 mL 12% ethanol, Acros organics, New Jersey, USA
Taste	Sweet	Sucrose 10 g/L, Sigma Co. MO, USA
	Bitter	Caffeine, 0.003 g/L, Acros organics, New Jersey, USA
	Acid	Citric acid, 0.2 g/L, Sigma Co. MO, USA
	Salty	Sodium chloride, Sigma Co. MO, USA
	Astringent	Phenylthiocarbamide, Sigma Co. MO, USA
	Alcoholic	Ethanol, Acros organics, New Jersey, USA

2. 결과 및 고찰

가. 화학적 성분 분석

1) pH

불로 구기주 발효 과정 중 pH 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 초기 구기주의 pH는 FKJ, FKJS, DKJ, DKJS가 각각 4.1, 4.1, 4.4, 4.5 이었고, 발효 초기에 감소하여 발효 8일째부터 발효가 끝날 때까지 각각 3.4, 3.7, 3.9, 4.0 의 값을 나타내었다. Choi 등(Choi *et al.*, 1996)의 결과 생구기자의 착즙액에 동량의 물을 가하고 설탕으로 보당한 후 발효시킨 구기자 술의 pH는 3.5~4.5의 범위였으며, 건구기자를 보당하여 발효한 구기자술은 4.4~4.8로 나와 본 실험의 불로 구기자주와 비슷하거나 약간 높은 수치를 나타내었다.

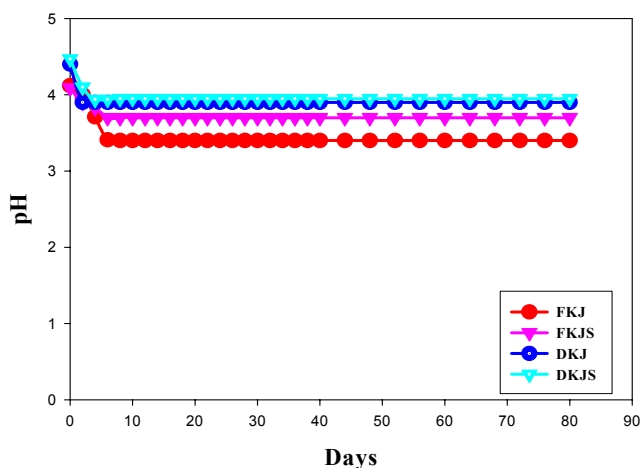


Fig. 1. Changes of pH during *Bulro Kugi-Ju* alcohol fermentation.

Means $\pm$ SD. FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

2) 당도(Brix), 당 함량, 당 분석

당도의 변화는 Fig. 2와 같이 불로 구기주 초기 당도는 21.0° brix 이었고, 발효 과정 중 감소하여 발효 80일째 FKJ는 7.2° brix, FKJS는 7.3° brix, DKJ는 8.4° brix, DKJS는 11.0° brix를 나타내었다. Sucrose의 함량의 변화는 Fig. 2에 나타내었으며, FKJ는 초기 sucrose 함량이 107.0 g/L에서 발효과정 중 감소하여 발효 6일째 85.0 g/L, 발효 28일째 23.0 g/L를 나타내었고, FKJS는 발효초기 55.0 g/L, 발효 6일째 20.0 g/L의 함량을 나타내었으며, 발효 28

일째 5.3 g/L를 나타내었으며, DKJ는 발효 초기 55.0 g/L에서 발효과정 중 감소하여 발효 6일째 21.0 g/L, 발효 28일째 6.3 g/L, DKJS는 발효 초기 73.0 g/L이었으며, 급격히 감소하여 발효 6일째 11.0 g/L의 함량을 보였고, 발효 28일째 2.7 g/L로 발효 80일째에는 알코올 발효가 종료되었다.

Glucose와 fructose 함량의 변화는 Fig. 3에 나타내었으며, 발효 초기 glucose의 함량은 FKJ, FKJS, DKJ, DKJS가 각각 57.0 g/L, 20.0 g/L, 20.0 g/L, 24.0 g/L에서, 발효 초기 급격히 감소하여 발효 12일째 각각 13.0 g/L, 3.0 g/L, 3.0 g/L, 4.0 g/L의 함량을 보였고, 발효 60일째 모든 구기주에서 glucose의 함량이 사라졌다. 발효 초기 fructose의 함량은 FKJ, FKJS, DKJ, DKJS가 각각 50.0 g/L, 35.0 g/L, 35.0 g/L, 49.0 g/L을 나타내었고, FKJ를 제외한 구기주는 발효 초기 급격히 감소하는 경향을 보였다. FKJ는 발효 10일째 38.0 g/L, 발효 32일째 7.2 g/L로 감소하였으며, FKJS는 발효 10일째 8.0 g/L, 발효 22일째 3.8 g/L로 감소하였고, DKJ와 DKJS는 발효 10일째 각각 12.0 g/L, 4.5 g/L의 함량을 보였다. 발효 64일째에 발효가 종료되었다.

3) Hue, intensity, 색도

Hue와 intensity의 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 볼로 구기주의 발효 초기 hue는 감소하는 경향을 보였고, 발효 10일부터 발효 20일까지 증가하는 경향을 보이다가 감소하고, 다시 증가하는 경향을 보였다. FKJ는 발효 초기 11.0, 발효 10일째 10.1, 발효 18일째 10.2를 나타내었고, 발효 80일째 13.6을 나타내었다. FKJS는 발효 초기 10.9, 발효 10일째 9.9, 발효 18일째 10.0, 발효 80일째 14.5를 나타내었다. DKJ는 발효 초기 15.9, 발효 10일째 13.5, 발효 18일째 12.7, 발효 80일째 18.7을 나타내었다. DKJS는 발효 초기 18.0, 발효 10일째 12.9, 발효 18일째 15.8을 보였고, 발효 80일째 19.0을 나타내었다. Intensity는 발효 초기 증가하는 경향을 보이다가 감소하였고, 발효 20일째 다시 증가하다가 감소하는 경향을 보였다. FKJ는 발효 초기 6.6, 발효 12일째 25.9, 발효 20일째 15.5를 보였으며 발효 80일째 16.6을 나타내었다. FKJS는 발효 초기 1.5, 발효 12일째 16.5, 발효 20일째 9.1을 나타내었으며, 발효 80일째 6.5를 보였다. DKJ는 발효 초기 1.4, 발효 12일째 28.0, 발효 20일째 16.0을 보였으며, 발효 80일째 12.7을 나타내었다. DKJS는 발효 초기 9.7, 발효 12일째 28.5, 발효 20일째 21.1, 발효 80일째 16.0으로 나타났다. L, a, b 값은 Fig. 5에 나타내었다. Choi 등(Choi *et al.*, 1996)의 결과는 L값과 a값이 저장일수에 따라 감소되고 b값은 증가되어 색상에서 밝기와 적색도 감소되고 황색도는 증가되었는데, 본 실험의 결과는 L, a, b값이 모두 발효 후 증가하여 밝기, 적색도, 황색도가 모두 증가한 것을 알 수 있었다.

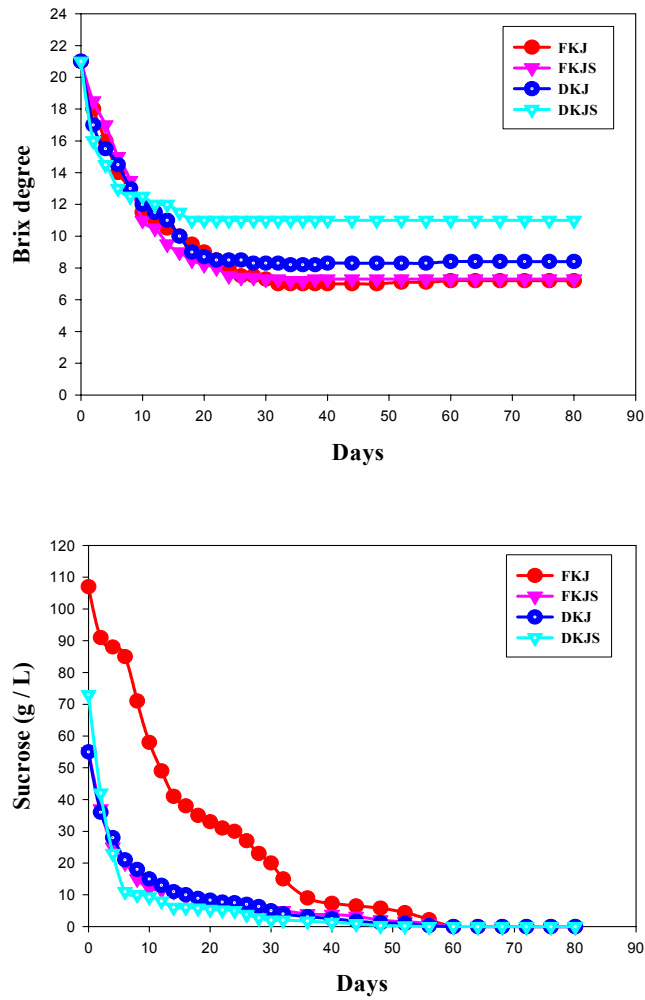


Fig. 2. Changes of brix and sucrose contents during *Bulro Kugi-Ju* alcohol fermentation.

Means $\pm$ SD. FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

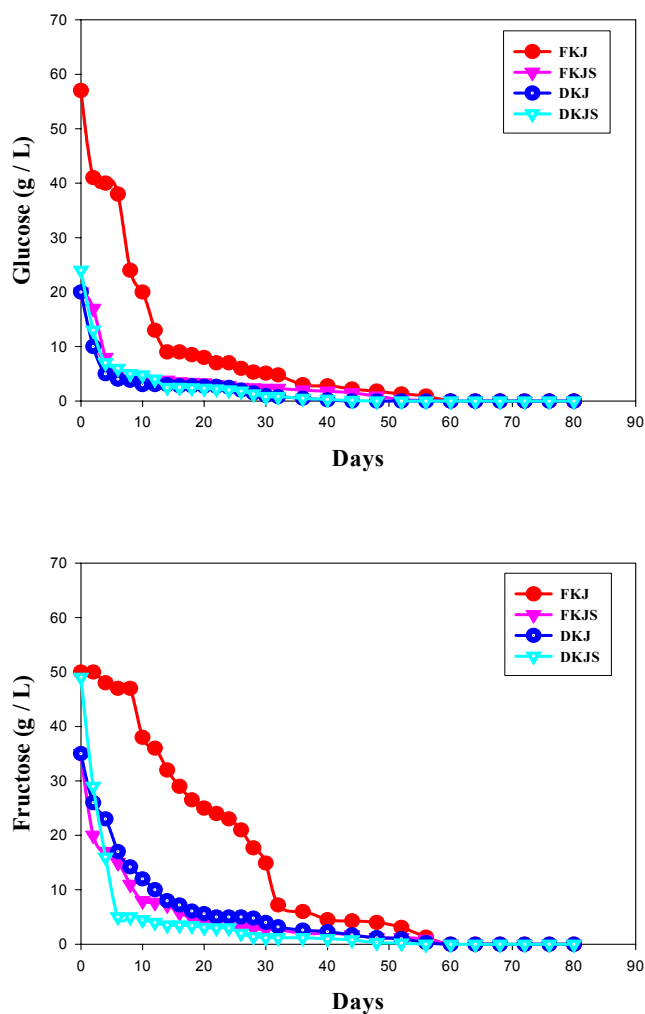


Fig. 3. Changes of glucose and fructose contents during *Bulro Kugi-Ju* alcoholfermentation.

Mean $\pm$ SD. FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

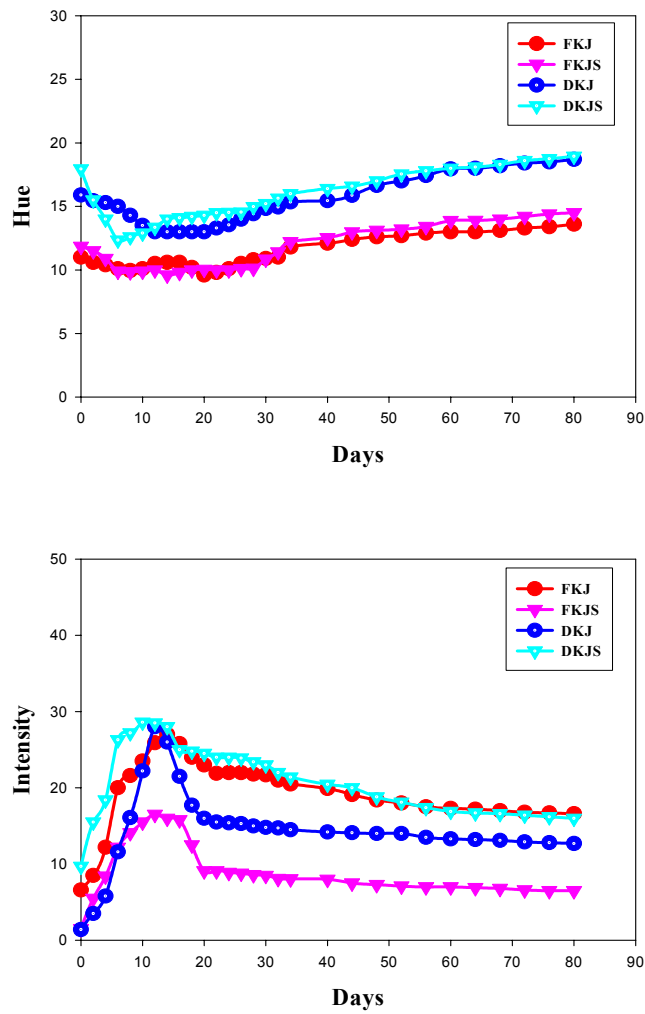


Fig. 4. Changes of hue and intensity during *Bulro Kugi-Ju* alcohol fermentation.

Mean $\pm$ SD. FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

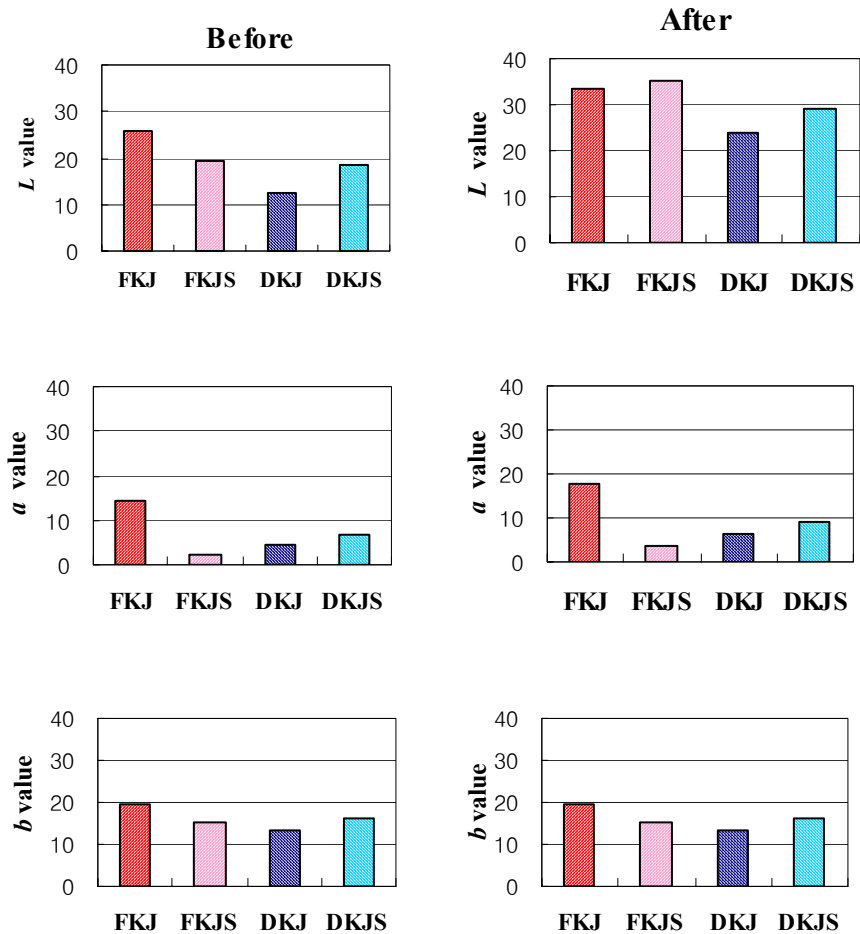


Fig.5. *L, a, b* hunter colorimeter of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation.

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

L : degree of lightness (Black 0 ↔ 100 White); *a* : degree of redness (Green - ↔ + Red); *b* : degree of yellowness (Blue - ↔ + Yellow)

4) 에탄올 함량

에탄올 함량의 변화는 Fig. 6에 나타내었으며, 발효과정 중 당도와 당 함량이 감소하고 동시에 에탄올의 함량이 증가하였다. FKJ, FKJS, DKJ, DKJS의 에탄올 함량은 발효 10일째 각각 9.0%, 7.8%, 9.0%, 8.5% 로 나타났다. 발효

80일째 FKJ는 13.2%, FKJS는 13.7%, DKJ는 12.2%, DKJS는 11.5% 의 에탄올 함량을 나타내었다.

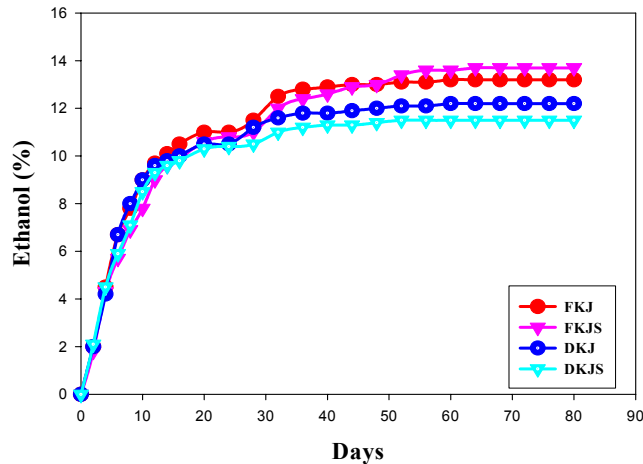


Fig. 6. Changes of ethanol contents during *Bulro Kugi-Ju* alcohol fermentation.

Means $\pm$ SD. FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

5) 유기산 분석

불로 구기주의 유기산 함량을 Fig. 7에 나타내었다. 발효 전 FKJ의 유기산 함량은 100 g 당 lactate가 $3,030.24 \pm 31.51$ mg으로 가장 높게 나타났으며, citrate가 23.29 ± 0.37 mg, tartarate가 22.78 ± 0.35 mg 순으로 나타났다. Acetate, oxalate, malate, succinate, fumarate의 함량은 각각 13.90 ± 0.22 mg, 12.82 ± 0.07 mg, 5.68 ± 0.05 mg, 2.94 ± 0.05 mg, 0.32 ± 0.00 mg을 보였다. 발효 후 FKJ의 유기산 함량은 100 g 당 lactate는 $3,181.05 \pm 33.08$ mg으로 발효 전과 같이 가장 높은 함량을 나타낸 유기산이었으며, acetate 122.47 ± 1.96 mg, succinate 90.65 ± 1.41 mg, citrate 45.38 ± 0.73 mg의 순으로 높게 나타났다. Malate, tartarate, oxalate의 함량은 각각 24.82 ± 0.23 mg, 7.94 ± 0.12 mg, 3.42 ± 0.02 mg을 보였다. FKJ의 발효과정 중에서 증가한 유기산은 malate, lactate, acetate, citrate, succinate이며, oxalate, tartarate, fumarate의 함량은 감소하였다. FKJS의 발효 전 lactate, citrate, oxalate의 함량은 100 g

당 각각 $2,318.37 \pm 24.11$ mg, 36.38 ± 0.58 mg, 22.71 ± 0.35 mg, 14.54 ± 0.07 mg을 보였고, malate, succinate, acetate, fumarate는 100 g 당 각각 9.88 ± 0.09 mg, 6.73 ± 0.10 mg, 3.95 ± 0.06 mg, 0.16 ± 0.00 mg의 순으로 나타났다. 발효 후 FKJS의 유기산 함량은 lactate와 succinate, acetate의 함량이 100 g 당 $3,343.54 \pm 34.77$ mg, 91.28 ± 1.41 mg, 67.95 ± 1.09 mg 으로 나타났다. Citrate, malate, tartarate, oxalate는 100 g 당 각각 41.67 ± 0.67 mg, 28.08 ± 0.26 mg, 16.27 ± 0.25 mg, 3.14 ± 0.02 mg을 나타내었다. FKJS의 발효과정 중 유기산의 변화는 malate, lactate, acetate, citrate, succinate의 함량은 증가하였고, oxalate, tartarate, fumarate는 그 함량이 감소되어 FKJ와 같은 경향을 보였다. 발효 전 DKJ는 lactate의 함량이 100 g 당 $2,570.92 \pm 26.74$ mg으로 가장 높게 나타났으며, citrate 156.99 ± 2.51 mg, tartarate 70.43 ± 1.09 mg, malate 27.86 ± 0.25 mg succinate 25.26 ± 0.39 mg, oxalate 17.42 ± 0.09 mg, acetate 10.35 ± 0.17 mg을 보였다. 발효 후에는 lactate $2,519.70 \pm 26.20$ mg, acetate 237.22 ± 3.80 mg, citrate 235.15 ± 3.76 mg, succinate 137.36 ± 2.13 mg, tartarate 24.07 ± 0.37 mg, oxalate 10.38 ± 0.05 mg, malate 9.51 ± 0.09 mg의 순으로 나타났다. DKJ의 발효과정 중 acetate, citrate, succinate의 함량은 증가한 반면, oxalate, tartarate, malate, lactate, fumarate는 감소하였다. DKJS의 발효 전 유기산은 lactate가 $1,467.72 \pm 15.26$ mg으로 가장 높았으며, citrate, acetate, tartarate, succinate, malate, oxalate, fumarate가 각각 81.52 ± 1.30 mg, 74.99 ± 1.20 mg, 54.46 ± 0.84 mg, 24.71 ± 0.38 mg, 18.34 ± 0.17 mg, 13.93 ± 0.07 mg, 0.78 ± 0.01 mg의 순으로 나타났다. 발효 후의 DKJS는 lactate, acetate, citrate가 각각 $1,059.73 \pm 11.02$ mg, 362.99 ± 5.81 mg, 284.90 ± 4.56 mg이었고, tartarate, succinate, oxalate, malate의 함량이 각각 137.56 ± 2.13 mg, 67.86 ± 1.05 mg, 19.00 ± 0.10 mg, 15.43 ± 0.14 mg의 순으로 나타났다. DKJS의 발효과정 중 oxalate, tartarate, acetate, citrate, succinate의 함량은 증가하였고, malate, lactate, fumarate의 함량은 감소하였다. Fumarate는 FKJ, FKJS, DKJ, DKJS의 모든 시료의 발효과정 중에 그 함량이 모두 감소하였다. 본 실험 결과 발효 전 구기생과에서 lactate의 함량이 높게 나타난 것은 수확시기를 늦추어 과숙이 된 상태에서 수확하여 발효 전의 lactate 함량이 높게 나타난 것으로 생각된다.

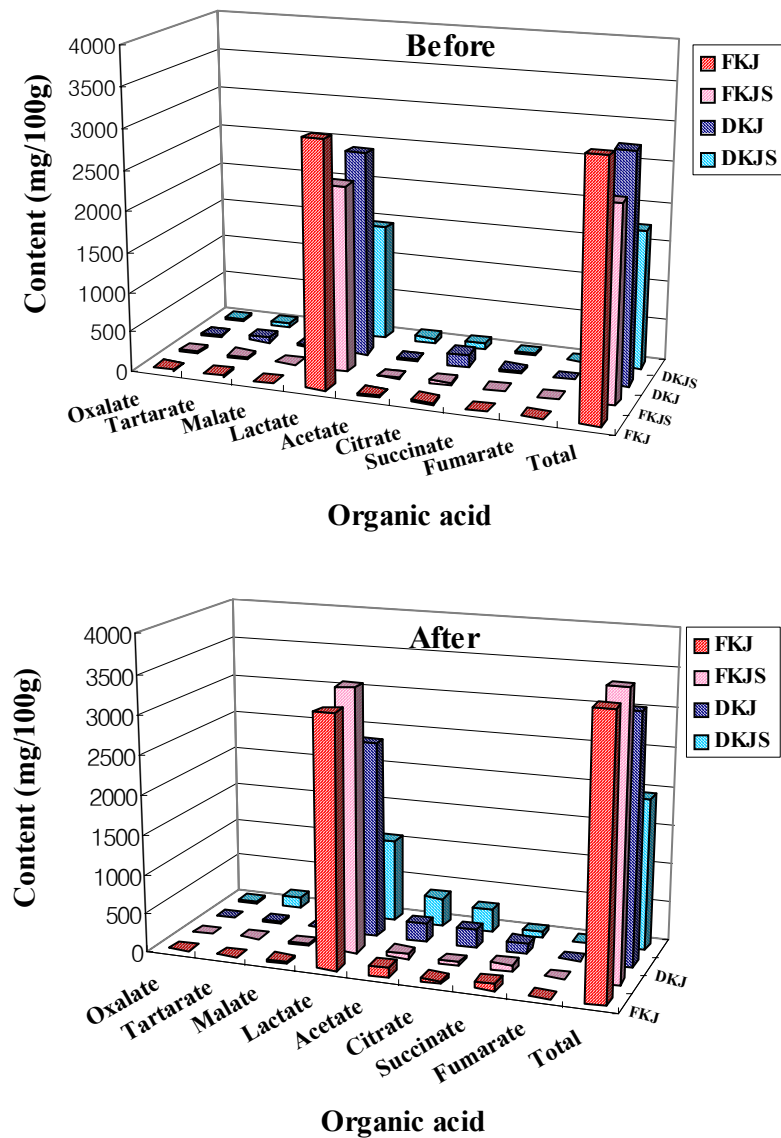


Fig. 7. Organic acid contents of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation.

Means $\pm$ SD. FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

다. 생균수 측정

*Saccharomyces cerevisiae*를 접종한 불로 구기주의 생육곡선을 Fig. 8에 나타내었다. FKJ는 초기에 2.8×10^5 cfu/mL로 발효 6일째 1.1×10^8 cfu/mL로 최고치를 나타내었고, 발효 80일째 1.3×10^7 cfu/mL로 감소하였다. FKJS는 초기에 1.1×10^6 cfu/mL로 발효 14일째 6.6×10^7 로 최고치를 나타내었고, 발효 80일째 7.8×10^6 cfu/mL로 감소하였다. DKJ는 초기에 2.5×10^5 cfu/mL로 발효 8일째 3.2×10^8 cfu/mL로 최고치를 나타내었고, 발효 80일째 4.5×10^6 cfu/mL로 감소하였다. DKJS는 초기에 3.0×10^5 cfu/mL로 발효 4일째 1.8×10^8 cfu/mL로 최고치를 나타내었고, 발효 80일째 4.6×10^6 cfu/mL로 나타났다.

라. 항산화력 측정

1) 총 페놀 함량

불로 구기주의 알코올 발효 기간 동안의 총 페놀 함량의 변화는 Fig. 9에 나타내었다. FKJ는 초기 1,418.33 mg/L GAE의 함량에서 발효 22일째 1,560.00 mg/L GAE으로 증가하였다가 발효 34일째 1,360.0 mg/L GAE으로 감소하였고 발효 80일째 1,493.33 mg/L GAE의 함량을 나타내었다. FKJS는 초기 1,126.67 mg/L GAE의 함량을 보였고, 발효 22일째 1,693.33 mg/L GAE, 발효 34일째 1,361 mg/L GAE의 함량을 나타내었고, 발효 80일째 1,710.00 mg/L GAE의 함량을 보였다. DKJ는 초기 1,890.00 mg/L GAE에서 발효 20일째 2,326.67 mg/L GAE으로 증가하였다가 발효 32일째 1,845.00 mg/L GAE으로 감소하였으며 발효 80일째 2,460.00 mg/L GAE으로 증가하였다. DKJS는 초기 1,901.67 mg/L GAE의 함량을 보였고, 발효 14일째 2,297.00 mg/L GAE, 발효 20일째 1,993.33 mg/L GAE로 감소하였고, 발효 80일째 2,468.33 mg/L GAE의 함량을 나타내었다. 한편 불로 구기주의 알코올 발효 후의 총 페놀함량은 Table 1에 나타난 것과 같이 시료 간에 있어서는 $DKJS > DKJ > FKJS > FKJ$ 순으로 그 함량이 높았다($p < 0.001$).

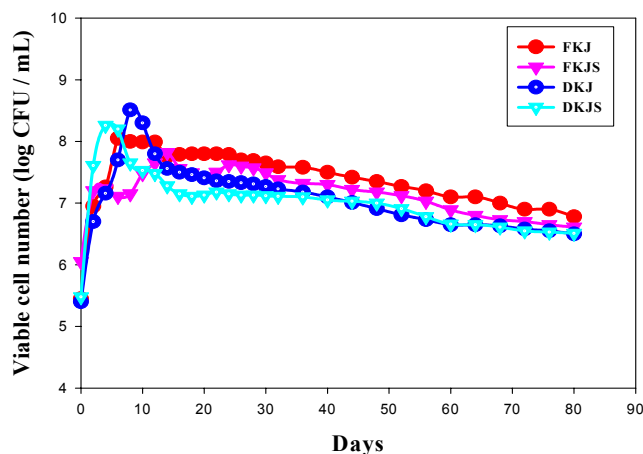


Fig. 8. Changes of viable cell number during *Bulro Kugi-Ju* alcohol fermentation.

Means $\pm$ SD. FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

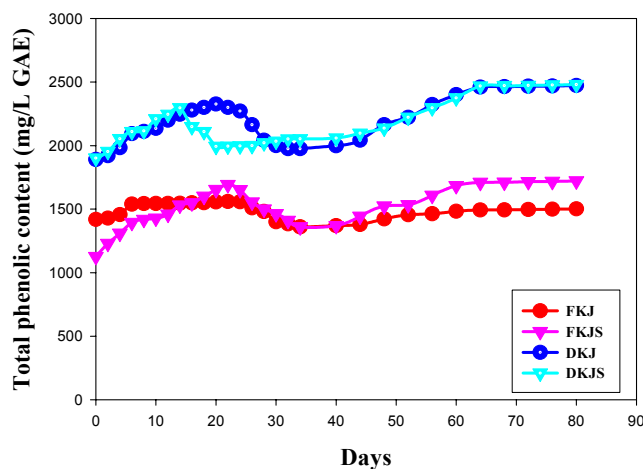


Fig. 9. Changes of total phenolic content during *Bulro Kugi-Ju* alcohol fermentation.

Means $\pm$ SD. FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

Table 1. Total phenolic content of *Bulro Kugi-Ju*

Concentration (%)	Total phenolic content (mg/ L GAE)			
	FKJ	FKJS	DKJ	DKJS
5	92.12 ^{qsr} ± 27.77	25.45 ^s ± 18.18	70.91 ^{sr} ± 24.05	89.09 ^{qsr} ± 36.36
10	146.67 ^{qpr} ± 36.74	204.24 ^{op} ± 26.24	307.27 ^{no} ± 50.62	195.15 ^{qp} ± 13.89
15	301.21 ^{no} ± 27.77	364.85 ^{mn} ± 27.77	373.94 ^{mn} ± 29.22	431.5 ^{lm} ± 69.43
20	502.12 ^{kh} ± 13.89	602.12 ^{jk} ± 37.85	632.42 ^j ± 13.89	623.33 ^j ± 22.88
40	938.48 ^{hi} ± 18.92	853.64 ⁱ ± 36.36	1029.39 ^{gh} ± 18.92	1035.45 ^{gh} ± 24.05
60	1126.36 ^{gf} ± 9.09	1208.18 ^f ± 27.27	1444.55 ^e ± 18.18	1526.36 ^e ± 9.09
80	1490.00 ^e ± 9.09	1596.06 ^d ± 139.16	1977.88 ^{bc} ± 137.67	2014.24 ^b ± 82.49
100	1893.03 ^c ± 189.46	1965.76 ^c ± 72.92	2129.39 ^a ± 107.69	2183.94 ^a ± 45.76

Means ± SD. Means in the same row with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.001$). FKJ : Fresh *Kugi-Ju*, FKJS : Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ : Dried *Kugi-Ju*, DKJS : Dried *Kugi-Ju* with Skin

2) 항산화 효과

Fig. 10에는 Ferric thiocyanate 방법에 의한 불로 구기주의 항산화효과를 나타내었다. 구기주의 농도가 20%, 40%, 60%, 80%, 100% 일 때 FKJ의 항산화력은 각각 36.76%, 48.12%, 48.27%, 61.81%, 97.26%이었고, FKJS는 각각 49.18%, 57.29%, 97.26%, 97.31%, 97.26%였으며, DKJ에서는 각각 83.34%, 93.65%, 97.74%, 96.91%, 96.44%인 것으로 나타났고, DKJS는 각각 94.81%, 95.36%, 89.76%, 88.50%, 85.27% 의 항산화력을 나타내었다. 건과가 생과 보다 항산화력이 더 높게 나타났다($p < 0.001$). Fig. 11에는 총 페놀 함량과 항산화력의 관계를 나타내었는데, 총 페놀 함량과 항산화력 간에 양의 상관관계를 보였다($p < 0.01$).

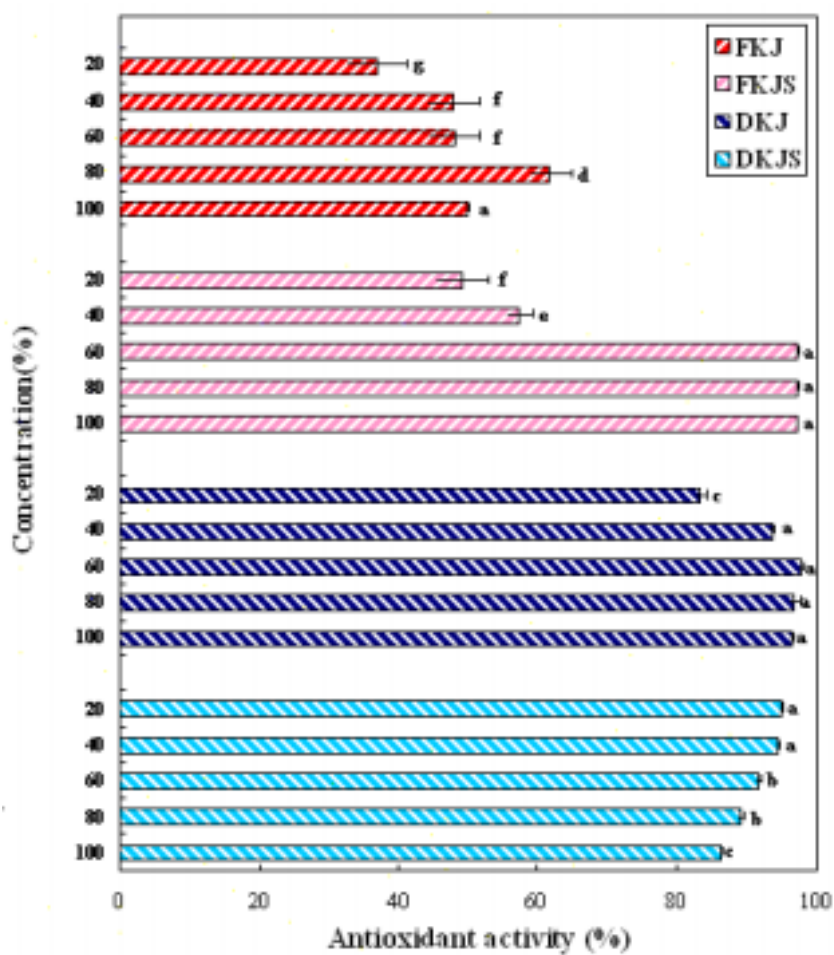


Fig. 10. Antioxidant activity of *Bulro Kugi-Ju*.

Means $\pm$ SD. Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.001$). FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

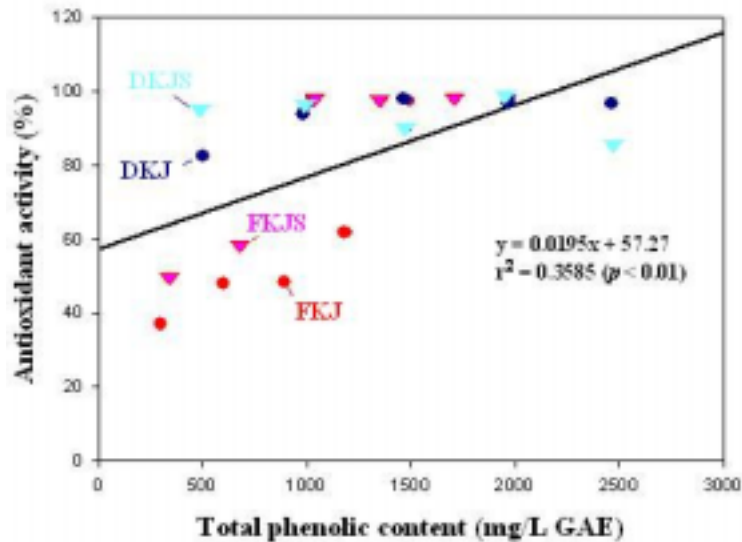


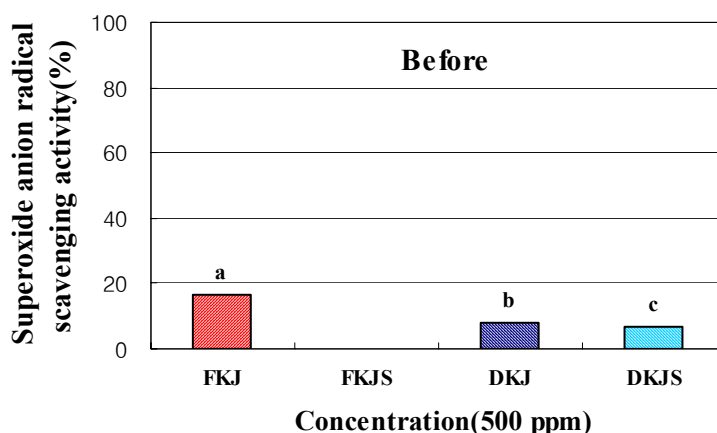
Fig. 11. Correlation relationship between total phenolic content and antioxidant activity of *Bulro Kugi-Ju*.

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

3) Superoxide radical scavenging activity

항산화 효과는 superoxide radical과 hydroxyl radical을 생성시켜 천연물에 의해 각각의 radical을 소거하는 능력을 알아보려고 함이다. 각각의 radical은 매우 불안정하기 때문에 DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide)를 이용하여 radical을 포획하여 신호를 측정한다. 항산화 물질을 첨가하였을 때 그 신호가 줄어들게 되고 그로 인해 자유라디칼 소거효과를 측정할 수 있다. Superoxide anion radical은 xanthin/xanthine oxidase에 의해서 생성이 되는데, 반응 속도가 매우 빠르므로 불안정하다. 그래서 DMPO라는 물질을 이용해서 생성된 radical을 안정하게 trapping 해주어 ESR(electron spin resonance)을 이용해 이 신호를 탐지하게 된다. 이 때 금속이온을 제거하기 위해서 DTPA(diethylene triamane penta acetic acid)를 첨가시켰고, superoxide radical은 시간이 지남에 따라 과산화수소를 같이 생성하기 때문에 이를 제거시키기 위해 catalase를 첨가하였다. Fig. 12는 알코올 발효 전과 후의 불로 구기주의 superoxide radical 소거효과에

관한 결과이며, 알코올 발효 전의 구기주 500 ppm 농도 에서 superoxide radical 의 소거효과는 FKJ에서는 16.67%이었고, FKJS에서는 소거효과가 없는 것으로 나타났으며. DKJ는 8.08%, DKJS에서는 6.57%의 superoxide radical 소거효과를 보였고 1000ppm 농도에서도 모든 시료에서 50% 이하의 낮은 소거 효과를 나타 내었다. 시료 간에 있어서는 FKJ>DKJ>DKJS의 순서로 superoxide radical scavenging activity가 높았다($p<0.001$). 반면 알코올 발효 후의 500 ppm 농도 의 불로 구기주의 superoxide radical 소거효과는 FKJ에서는 86.5%의 효과가 있었고, FKJS는 76.5%의 소거효과를 나타내었고 DKJ는 45.0% 의 소거효과를 나타내었고, DKJS는 43.4%의 superoxide radical 소거효과를 보였다. Superoxide radical 소거력은 FKJ > FKJS > DKJ > DKJS의 순서로 높았으며($p<0.001$), 500 ppm에서 불로 구기주의 알코올 발효 전후의 superoxide radical 소거효과를 비교해보면, 알코올 발효 후에 소거 효과가 높은 것으로 나타났다. Fig. 13은 알 코올 발효 후 구기주의 IC₅₀을 나타내었다. FKJ가 42.62 ppm, FKJS 206.89 ppm, DKJ 818.80 ppm, DKJS 1,217.33 ppm으로 FKJ의 IC₅₀ 의 농도가 가장 낮아 다 른 시료보다 높은 superoxide radical 소거효과를 가진 것으로 나타났으며, 그에 해당하는 ESR spectra는 Fig. 14에 나타내었다.



continued

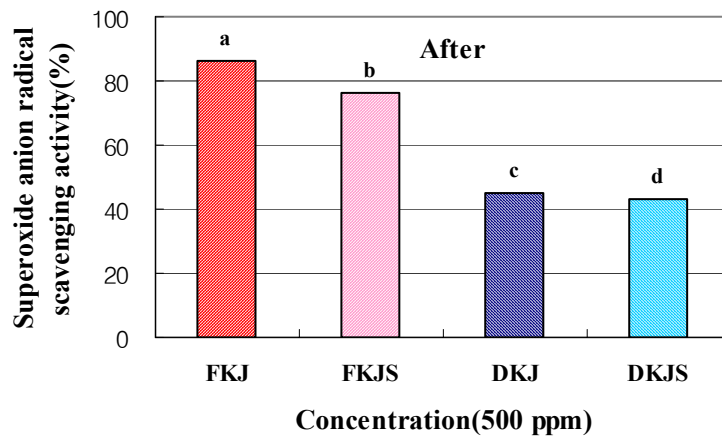


Fig. 12. Superoxide anion radical scavenging activity of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation.

Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.001$). FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

4) Hydroxyl radical scavenging activity

알코올 발효 전과 후의 불로 구기주의 Hydroxyl radical 소거효과와 관련 ESR spectra는 Fig. 15, Fig. 16에 각각 나타내었다. Hydroxyl radical은 fenton reaction에 의해서 생성이 되는데, 이 radical 역시 불안정하기 때문에 DMPO로 trapping 하여 ESR로 그 신호를 탐지한다. 알코올 발효 전의 불로 구기주의 hydroxyl radical 소거효과는 그 농도가 1,000 ppm 일 때, FKJ, FKJS, DKJ가 각각 5.71%, 25%, 8.6% 으로 나타났고, DKJS는 그 효과가 없는 것으로 나타났다. 한편, 알코올 발효 후의 불로 구기주의 hydroxyl radical 소거효과는 그 농도가 1,000 ppm 일 때 FKJ, FKJS, DKJS가 각각 61.4%, 5.9%, 4.7% 로 나타났으며, DKJ의 소거효과는 없는 것으로 나타났다. 알코올 발효 전과 후의 불로 구기주의 hydroxyl radical 소거효과를 비교해보면, 알코올 발효 후에 FKJ, DKJS에서는 그 효과가 증가한 반면, FKJS, DKJ에서는 감소하였다($p < 0.001$).

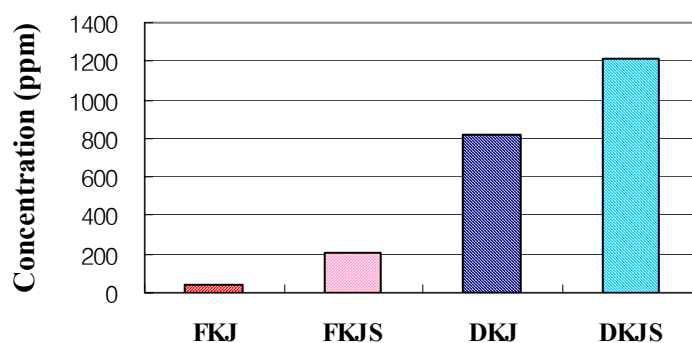
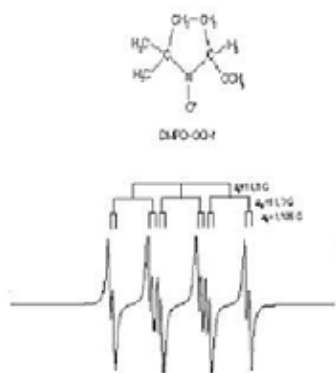


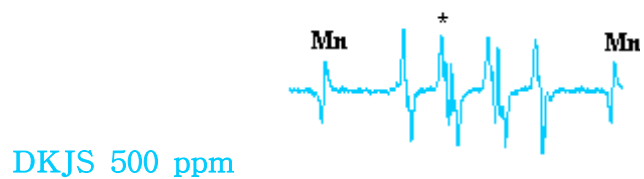
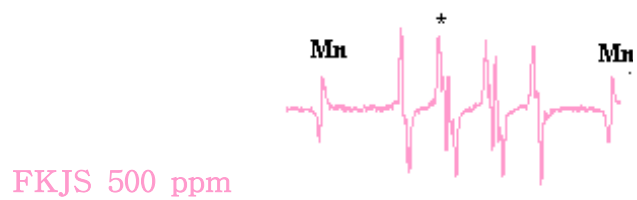
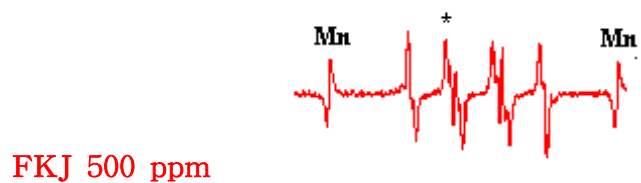
Fig. 13. IC₅₀ superoxide anion radical scavenging activity of *Bulro Kugi-Ju* after alcohol fermentation.

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

Before alcohol fermentation

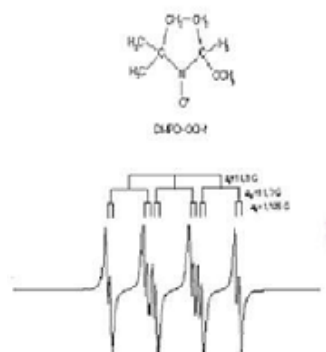


continued

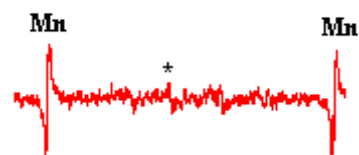


continued

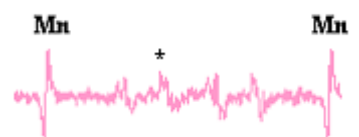
After alcohol fermentation



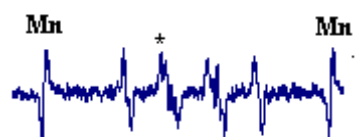
FKJ 500 ppm



FKJS 500 ppm



DKJ 500 ppm



continued

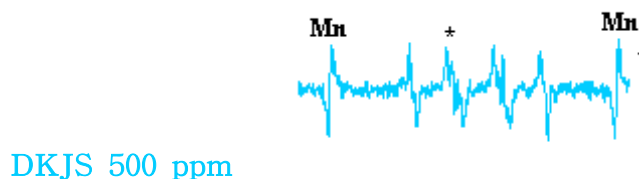


Fig. 14. ESR spectra of superoxide anion radical of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation.

The conditions of ESR analysis : Microwave frequency 9.416270 [GHz], microwave power 1.00 [mW], modulation amplitude 0.1 [mT]

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

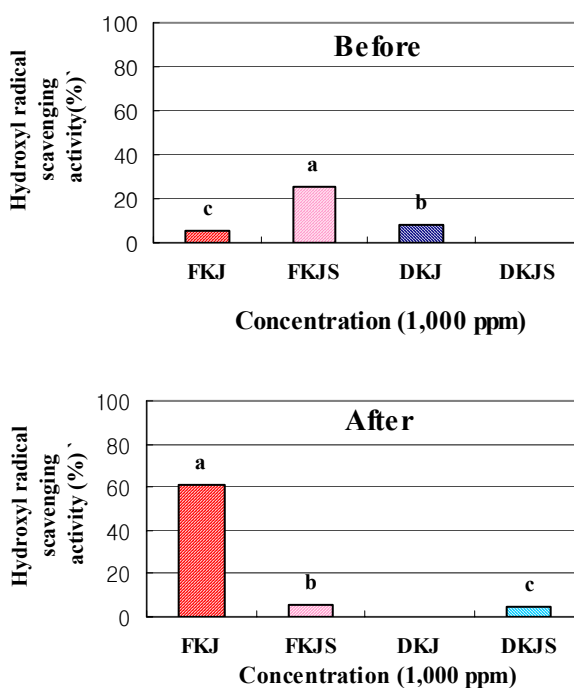
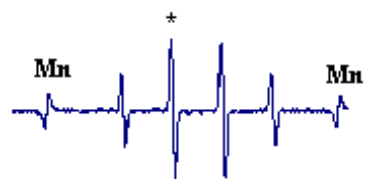
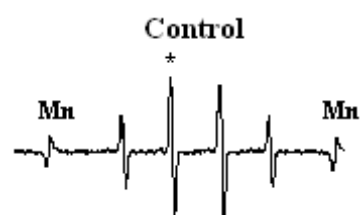
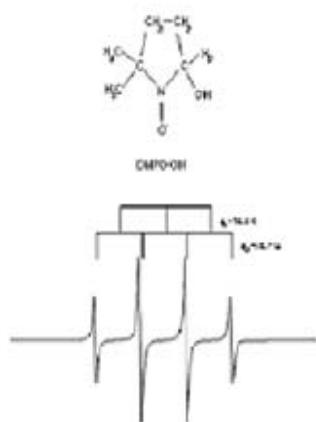


Fig. 15. Hydroxyl radical scavenging activity of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation.

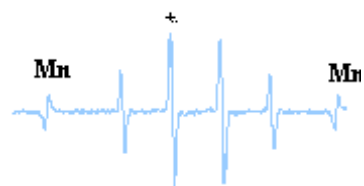
Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.001$). FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

Before alcohol fermentation

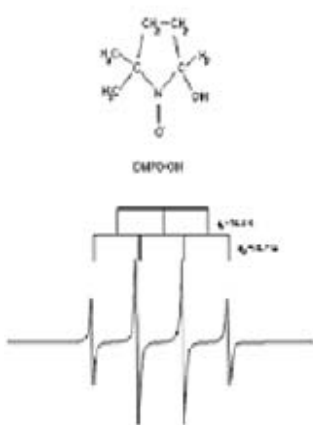


continued

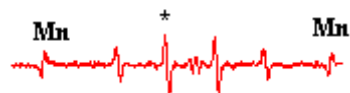
DKJS 1,000 ppm



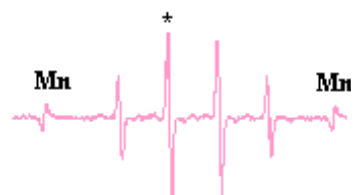
After alcohol fermentation



FKJ 1,000 ppm



FKJS 1,000 ppm



continued

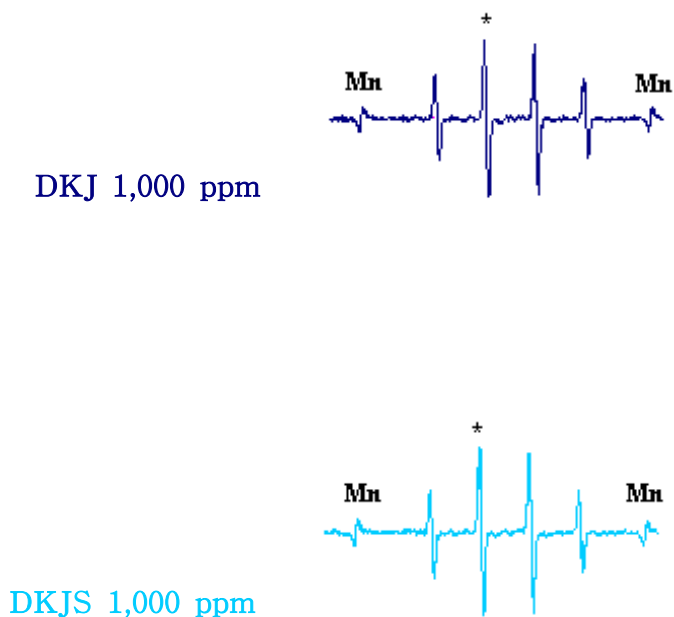


Fig. 16. ESR spectra of hydroxyl radical of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation.

The conditions of ESR analysis : Microwave frequency 9.416270 [GHz], microwave power 1.00 [mW], modulation amplitude 0.1 [mT]

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

마. Polyphenolic compounds 분석

불로 구기주의 폴리페놀 성분의 함량은 Fig. 17에 나타내었고, chromatogram은 Fig. 18에 나타내었다. 발효 전 FKJ는 100 g 당 ferulic acid 0.016 mg, chlorogenic acid 0.006 mg, caffeic acid 0.006 mg, protocatechuic acid 0.004 mg, syringic acid 0.004 mg의 순으로 총 0.036 mg의 함량을 나타내었고, 발효 후 chlorogenic acid 0.184 mg, protocatechuic acid 0.035 mg, ferulic acid 0.017 mg, caffeic acid 0.016 mg, syringic acid 0.013 mg의 순으로 총 0.265 mg으로 발효과정 중 폴리페놀의 함량이 증가하였다. 발효 전 FKJS의 폴리페놀 함량은 100 g 당 chlorogenic acid 0.013 mg, ferulic acid 0.013 mg, caffeic acid 0.005 mg, syringic acid 0.005 mg, protocatechuic acid 0.004 mg의 순으로 총 0.040 mg의 함량을 보였고, 발효 후 chlorogenic acid

0.183 mg, protocatechuic acid 0.040 mg, ferulic acid 0.026 mg, syringic acid 0.023 mg, caffeic acid 0.006 mg의 순으로 총 0.278 mg으로 발효과정 중 폴리페놀의 함량이 증가하였다. DKJ의 발효 전 폴리페놀의 함량은 100 g 당 protocatechuic acid 0.183 mg, ferulic acid 0.148 mg, chlorogenic acid 0.026 mg, syringic acid 0.016 mg, caffeic acid 0.012 mg, gallic acid 0.003 mg으로 총 0.388 mg을 보였고, 발효 후 protocatechuic acid 0.869 mg, chlorogenic acid 0.126 mg, ferulic acid 0.078 mg, syringic acid 0.035 mg, caffeic acid 0.019 mg, gallic acid 0.011 mg으로 총 1.138 mg의 함량을 보였으며, 발효과정 중 폴리페놀의 함량이 모두 증가하였다.

DKJS는 발효 전 100 g 당 protocatechuic acid 0.112 mg, ferulic acid 0.100 mg, syringic acid 0.011 mg, caffeic acid 0.008 mg, gallic acid 0.004 mg으로 총 0.244 mg을 보였고, 발효 후 protocatechuic acid 1.350 mg, chlorogenic acid 0.127 mg, ferulic acid 0.071 mg, syringic acid 0.029 mg, gallic acid 0.008 mg, caffeic acid 0.007 mg으로 총 1.592 mg의 함량을 보였다. DKJS의 발효과정 중 caffeic acid와 ferulic acid를 제외한 폴리페놀 함량은 증가하였다. 폴리페놀 성분 중 catechol, catechin, epigallocatechin gallate, epicatechin, 4-methyl catechol, *p*-coumaric acid, rutin은 나타나지 않았으며, FKJ, FKJS는 gallic acid도 함유하지 않은 것으로 나타났다. 발효 과정 중 폴리페놀 성분이 대부분 증가하였으며, protocatechuic acid는 DKJ와 DKJS에서 많이 증가하였고, chlorogenic acid는 FKJ, FKJS, DKJ, DKJS 모든 시료에서 증가하였다.

바. 향기성분 및 향기패턴 분석

Fig. 19와 Table 2에 제시한대로 볼로 구기주의 향기성분은 총 84개의 물질이 확인되었으며, chromatogram은 Fig. 20에 나타내었다. Acid류 15개, alcohol류 10개, ester류 13개, furan류 4개, hydrocarbon류 12개, phenol류 6개, 그 외 24개의 향기성분이 확인되었다. 발효 전 FKJ의 향기성분은 acid류, alcohol류, ester류, furan류, hydrocarbon류, phenol류, 그 외 향기성분이 각각 3.593 ppm, 0.303 ppm, 0.209 ppm, 0.035 ppm, 1.710 ppm, 0.636 ppm, 0.400 ppm을 보였으며, 발효 후 FKJ의 향기성분은 각각 3.871 ppm, 11.695 ppm, 4.588 ppm, 0.100 ppm, 2.868 ppm, 1.217 ppm, 4.223 ppm 으로 모든 향기성분이 발효과정 중 증가한 것을 알 수 있었다. 발효 전 FKJS의 향기성분은 acid류, alcohol류, hydrocarbon류, phenol류, 그 외 향기성분이 각각 1.819 ppm, 0.077 ppm, 1.051 ppm, 0.488 ppm, 0.182 ppm을 보였으며, 발효 후 FKJS의 향기성분은 acid류, alcohol류, ester류, furan류, hydrocarbon류, phenol류, 그 외 향기성분이 각각 1.707 ppm, 14.190 ppm, 2.916 ppm, 0.090 ppm, 0.770 ppm, 0.602 ppm, 1.337

ppm 으로 확인되었고, acid류, hydrocarbon류와 그 외 향기성분은 발효과정 중 감소하였으며 alcohol류, ester류, furan류, phenol류는 증가하였다. DKJ의 발효 전 향기성분은 acid류, alcohol류, ester류, furan류, hydrocarbon류, phenol류, 그 외 향기성분이 각각 4.596 ppm, 0.358 ppm, 0.326 ppm, 0.074 ppm, 1.771 ppm, 0.719 ppm, 0.344 ppm을 보였으며, 발효 후 DKJ의 향기성분은 각각 2.233 ppm, 5.258 ppm, 1.877 ppm, 0.083 ppm, 2.297 ppm, 1.010 ppm, 4.441 ppm 으로 acid류를 제외한 모든 향기성분이 발효과정 중 증가하였다. DKJS의 발효 전 향기성분은 acid류, alcohol류, ester류, furan류, hydrocarbon류, phenol류, 그 외 향기성분이 각각 3.225 ppm, 0.348 ppm, 0.226 ppm, 0.043 ppm, 1.960 ppm, 0.786 ppm, 1.179 ppm을 보였으며, 발효 후 DKJS의 향기성분은 각각 0.838 ppm, 2.872 ppm, 0.943 ppm, 0.081 ppm, 0.163 ppm, 0.222 ppm, 3.113 ppm 으로 acid류, hydrocarbon류와 phenol류의 향기성분은 발효과정 중 감소하였으며 alcohol류, ester류, furan류와 그 외 향기성분은 증가하였다. 주요 향기성분으로는 acid류는 octadecanoic acid, alcohol류는 3-methyl-1-butanol acetate, ester류는 butanedioicacid diethyl ester였다. Furan류는 2-furanmethanol, hydrocarbon류는 (E)-2-hexene이며, phenol류는 2,4-bis-(1,1-dimethylethyl)-phenol로 나타났다.

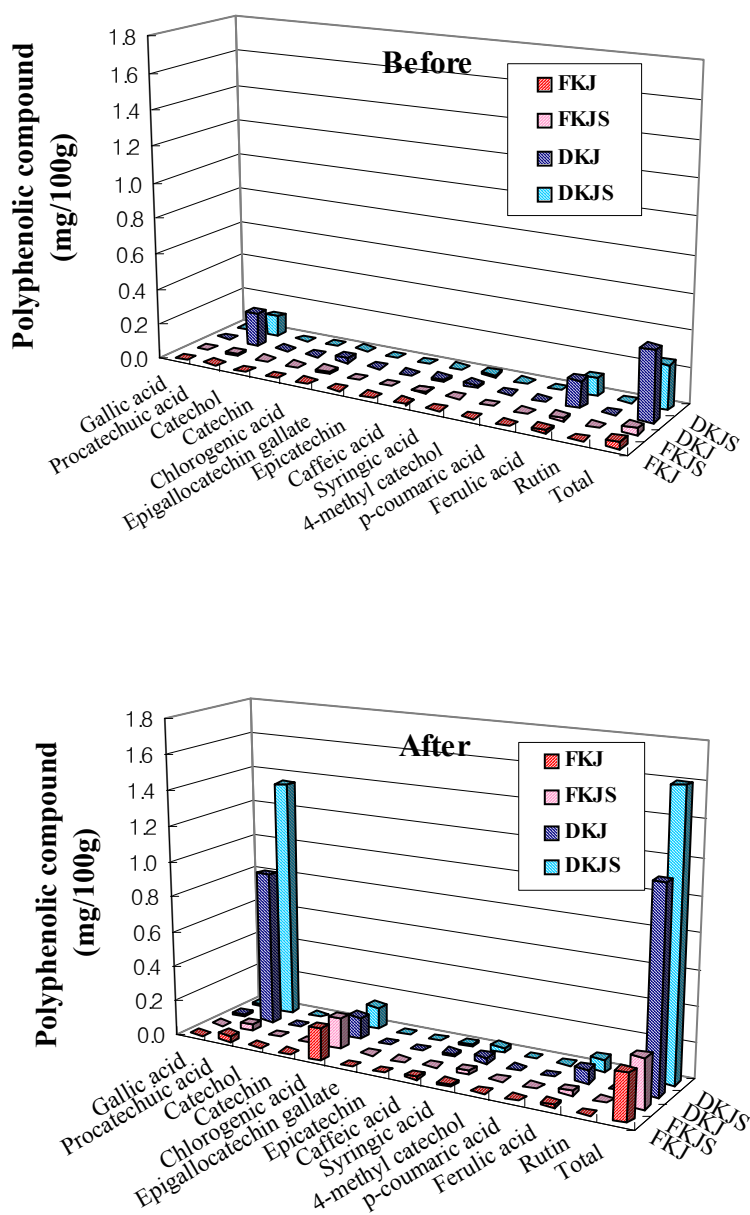
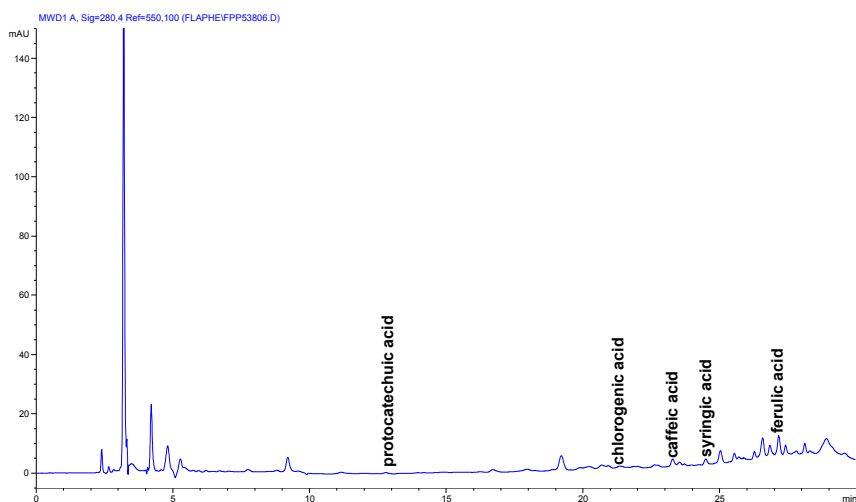


Fig.17. Polyphenolic compounds of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation.

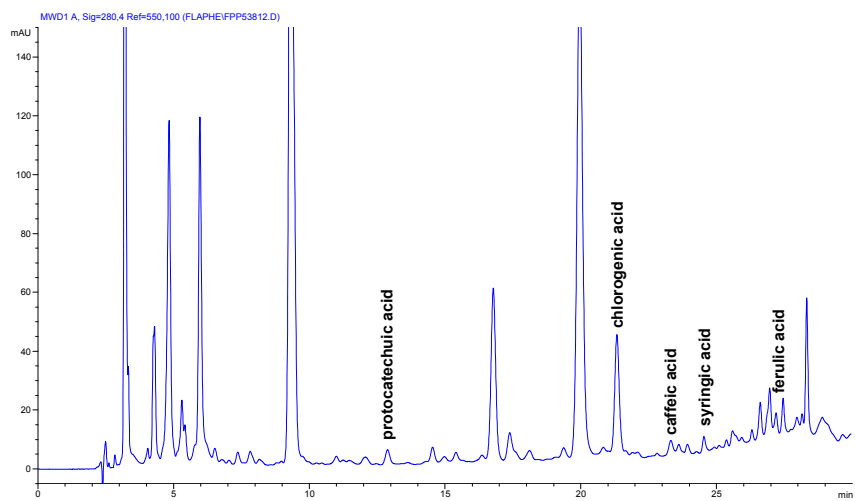
FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

FKJ(Fresh *Kugi-Ju*)

Before alcohol fermentation



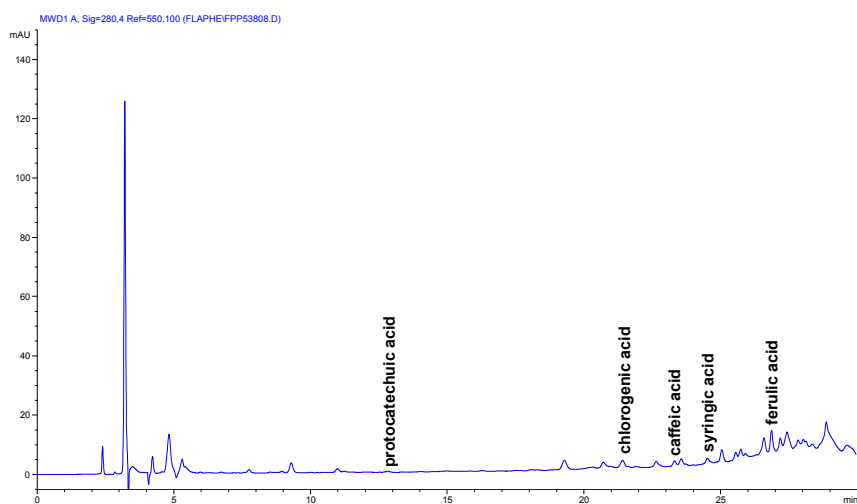
After alcohol fermentation



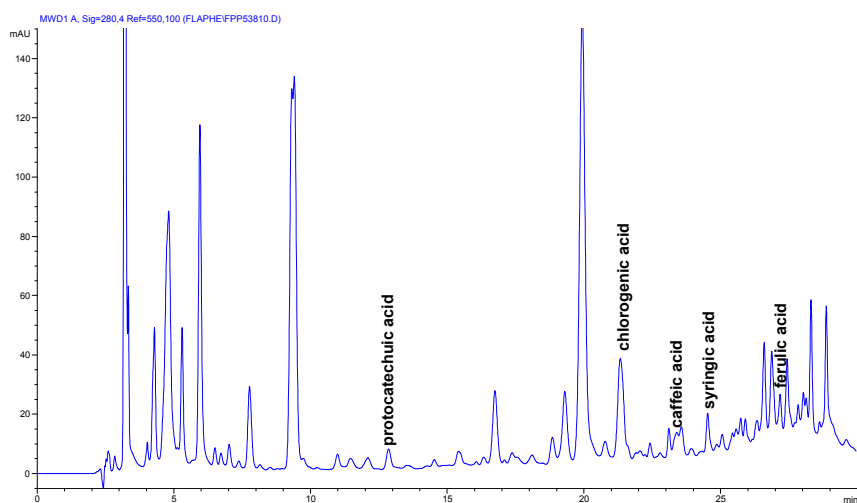
continued

FKJS (Fresh *Kugi-Ju* with skin)

Before alcohol fermentation



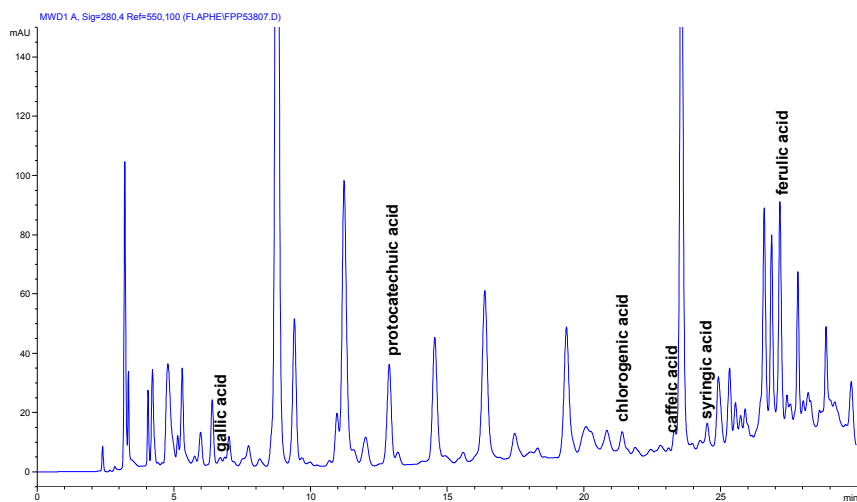
After alcohol fermentation



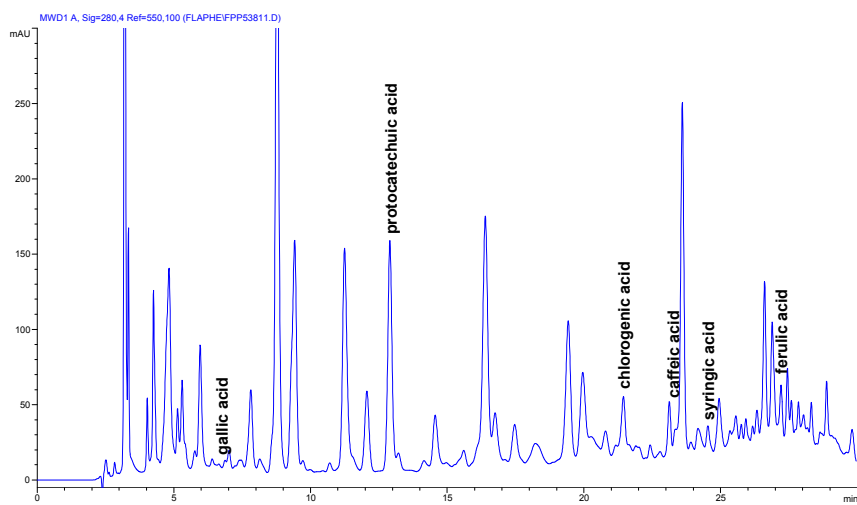
continued

DKJ(Dried *Kugi-Ju*)

Before alcohol fermentation



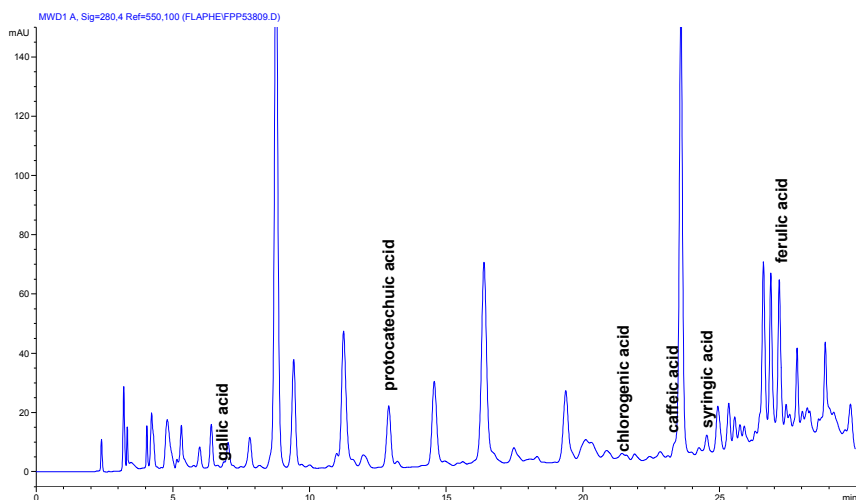
After alcohol fermentation



continued

DKJS (Dried *Kugi-Ju* with skin)

Before alcohol fermentation



After alcohol fermentation

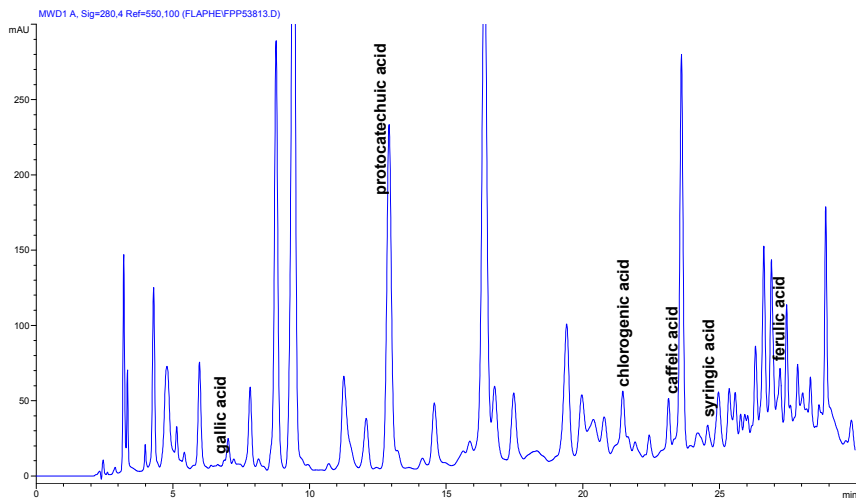


Fig. 18. HPLC chromatogram of polyphenolic compounds of *Bulro Kugi-Ju* of before and after alcohol fermentation.

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

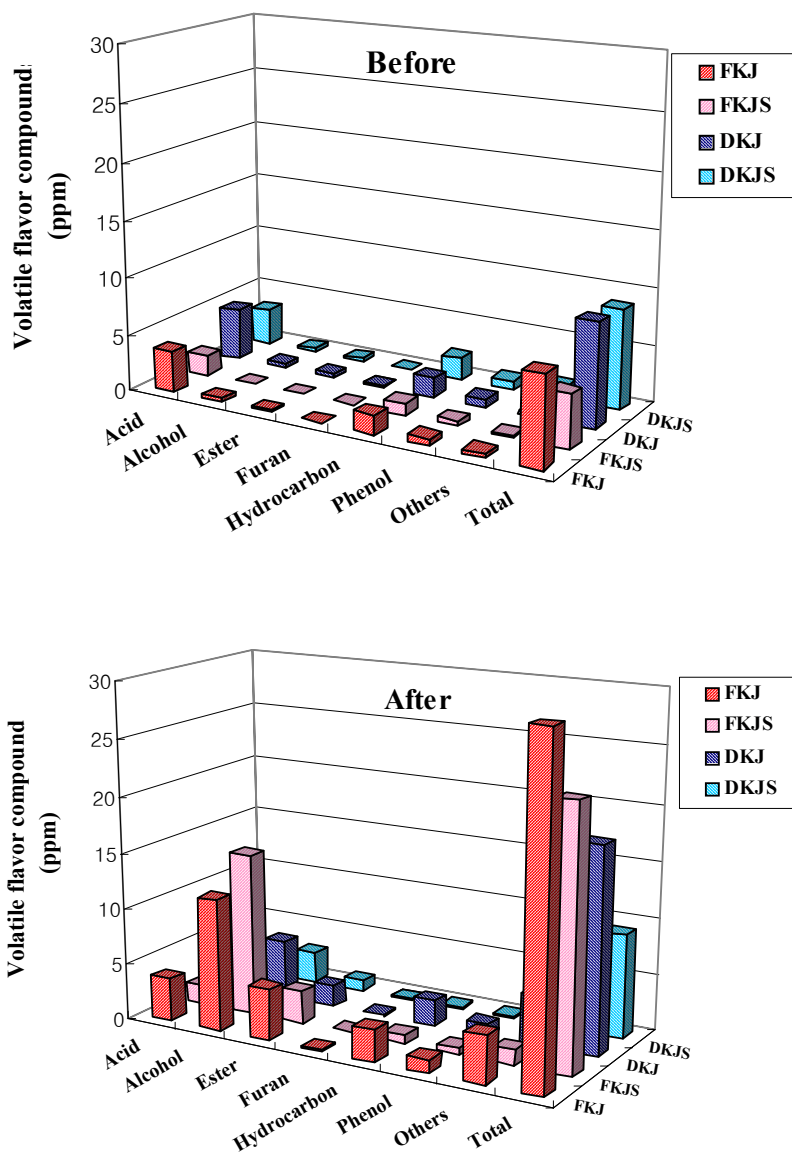


Fig. 19. Volatile flavor compounds of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation.

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

Table 2. Volatile flavor compounds of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation (ppm)

	Compound Name	Peak No.	RT	Before				After			
				FKJ	FKJS	DKJ	DKJS0	FKJ	FKJS	DKJ	DKJS
Acid	propanoic acid	19	22.263	0.007	0	0.011	0	0.012	0	0.027	0.014
Acid	butanoic acid	22	24.459	0	0	0	0	0.036	0.041	0.037	0.009
Acid	hexanoic acid	33	29.337	0	0	0	0	0	0.394	0.269	0.067
Acid	2-ethyl-hexanoic acid	38	31.444	0.029	0.022	0.015	0.007	0.046	0.117	0.055	0.039
Acid	octanoic acid	42	33.653	0.058	0	0.055	0.064	0.160	0.373	0.213	0.041
Acid	decanoic acid	53	37.599	0.046	0	0.055	0.320	0.135	0.092	0.097	0.022
Acid	octadecanoic acid	64	40.122	0.425	0.541	0.663	0.284	1.175	0.323	0.281	0.065
Acid	benzoic acid	65	40.580	0	0	0.036	0.024	0.040	0.019	0.035	0.054
Acid	dodecanoic acid	68	41.266	0.066	0	0.051	0.077	0.512	0.091	0.234	0.079
Acid	4-hydroxy-3-methoxy-benzoic acid	71	41.941	0.028	0.485	0	0	0	0	0.107	0
Acid	(e)-9-octadecenoic acid	73	42.355	0	0	0.811	0	0	0	0	0
Acid	tetradecanoic acid	75	45.878	0.080	0.035	0.083	0.091	0.036	0.025	0.027	0.028
Acid	9,12-octadecadienoic acid	76	47.315	0.424	0	1.570	0	1.080	0	0	0
Acid	hexadecanoic acid	80	53.164	2.279	0.632	1.154	2.260	0.639	0.232	0.851	0.420
Acid	(E)-9-octadecenoic acid	83	54.737	0.151	0.104	0.092	0.098	0	0	0	0
sum				3.593	1.819	4.596	3.225	3.871	1.707	2.233	0.838
Alcohol	2-methyl-3-buten-2-ol	1	8.931	0.021	0.009	0.030	0.026	0.031	0	0.050	0
Alcohol	3-methyl-1-butanol acetate	5	11.243	0	0	0	0	0.061	0.090	0.038	0

continued

Alcohol	3-penten-2-ol	7	12.348	0.059	0.026	0.068	0.061	0.061	0	0.080	0
Alcohol	3-methyl-1-butanol	8	13.382	0.111	0	0.111	0.108	6.338	7.968	3.014	1.687
Alcohol	2-methyl-2-buten-1-ol	12	16.586	0.014	0.005	0.014	0.014	0	0	0	0
Alcohol	3-(methylthio)-1-propanol	28	26.719	0	0	0	0.013	0.262	0.292	0.179	0.104
Alcohol	myrtenol	30	28.345	0.019	0.017	0.018	0.018	0.026	0.028	0.024	0.014
Alcohol	benzenemethanol	35	30.216	0.025	0	0.048	0.038	0.032	0.047	0.064	0.152
Alcohol	benzeneethanol	37	30.981	0.022	0.020	0.052	0.061	4.884	6.065	1.809	0.915
Alcohol	1,2,3-propanetriol, triacetate	43	34.094	0.032	0	0.017	0.009	0	0	0	0
sum				0.303	0.077	0.358	0.348	11.695	14.490	5.258	2.872
Ester	hexanoic acid ethyl ester	10	14.305	0	0	0	0	0.022	0.060	0.020	0
Ester	octanoic acid ethyl ester	14	19.637	0	0	0	0	0	0.082	0	0
Ester	3-hydroxy butanoic acid ethyl ester	18	21.877	0	0	0	0	0	0.034	0	0
Ester	decanoic acid ethyl ester	23	24.726	0	0	0	0	0.169	0.027	0.065	0
Ester	butanedioic acid diethyl ester	27	25.706	0	0	0	0	0.169	0.332	0.062	0.055
Ester	pentanoic acid ethyl ester	31	28.585	0	0	0	0	0.221	0.691	0.069	0.014
Ester	acetic acid, 2-phenylethyl ester	32	28.984	0	0	0	0.017	0.066	0.029	0.041	0
Ester	hexadecanoic acid, ethyl ester	52	37.330	0.024	0	0.018	0.114	0.926	0.174	0.432	0.193
Ester	butanedioic acid diethyl ester	63	39.625	0	0	0	0	1.544	1.237	0.620	0.430
Ester	octadecanoic acid ethyl ester	67	40.939	0	0	0	0.025	0.578	0.082	0.214	0.056
Ester	9-octadecenoic acid ethyl ester	69	41.476	0	0	0	0	0.136	0	0.053	0
Ester	ethyl linoleate	72	42.281	0.07	0	0	0.070	0.757	0.168	0.301	0.195
Ester	9,12,15-octadecatrienoic acid methyl ester	81	54.128	0.115	0	0.308	0	0	0	0	0
sum				0.209	0	0.326	0.226	4.588	2.916	1.877	0.943

continued

Furan	2-pentyl-furan	9	14.149	0.022	0	0	0	0	0	0	0
Furan	dihydro-2(3H)-furanone	25	25.059	0	0	0	0	0.027	0.037	0.016	0.013
Furan	2-furanmethanol	26	25.286	0.013	0	0.023	0.022	0.073	0.053	0.067	0.054
Furan	5-(hydroxymethyl)2-furancarboxaldehyde	70	42.018	0	0	0.051	0.021	0	0	0	0.014
sum				0.035	0	0.074	0.043	0.100	0.090	0.083	0.081
Hydrocarbon	1-decene	2	9.071	0.073	0.022	0.047	0.052	0.093	0	0.061	0
Hydrocarbon	b-myrcene	6	12.284	0.012	0.013	0	0.011	0.009	0.024	0.010	0.025
Hydrocarbon	1-dodecene	11	14.379	0.140	0.058	0.141	0.142	0.114	0	0.134	0
Hydrocarbon	1-tetradecene	16	19.828	0.269	0.145	0.281	0.272	0.653	0.269	0.687	0
Hydrocarbon	1-hexadecene	24	24.832	0.356	0.241	0.368	0.356	0.296	0	0.374	0
Hydrocarbon	1-octadecene	34	29.355	0.354	0.257	0.360	0.350	0.473	0	0.265	0
Hydrocarbon	(E)-2-hexene	40	32.699	0.019	0.031	0.013	0.016	0.572	0.437	0.151	0.101
Hydrocarbon	3-eicosene	41	33.465	0.239	0.191	0.281	0.288	0.247	0.040	0.275	0.024
Hydrocarbon	3-eicosene	44	34.112	0	0.018	0	0	0	0	0	0
Hydrocarbon	3-eicosene	51	37.227	0.160	0	0.167	0.359	0.205	0	0.196	0
Hydrocarbon	ethyl-9-hexadecenoate	54	37.867	0	0	0	0	0.103	0	0.057	0.013
Hydrocarbon	(E)-3-eicosene	66	40.713	0.088	0.075	0.113	0.114	0.103	0	0.087	0
sum				1.710	1.051	1.771	1.960	2.868	0.770	2.297	0.163
Phenol	2,6-bis-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol	36	30.808	0	0	0	0	0	0.018	0	0.027
Phenol	2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	45	34.284	0	0.463	0	0	0.031	0	0	0
Phenol	(1,1-dimethylethyl)-4-methoxy-phenol	46	34.449	0	0.025	0	0	0	0.070	0	0.083

continued

Phenol	2-methyl-6-vinyl phenol	48	36.562	0.013	0	0.038	0.035	0.077	0.107	0.098	0.053
Phenol	2,4-bis-(1,1-dimethylethyl)-pheno l	58	38.308	0.623	0	0.681	0.751	0.541	0	0.694	0
Phenol	4-methoxymethyl phenol	85	58.684	0	0	0	0	0.568	0.407	0.218	0.059
sum				0.636	0.488	0.719	0.786	1.217	0.602	1.010	0.222
Others	?	3	10.259	0	0	0	0	0.304	0.196	0.116	0.086
Others	?	13	17.464	0.009	0	0	0.006	0.392	0.472	0.335	0.626
Others	?	15	19.691	0	0	0	0	0.425	0	1.742	0
Others	?	17	20.067	0.173	0	0.017	0.065	0.388	0	0.415	1.198
Others	?	20	22.545	0	0	0	0	0.582	0.172	0.432	0.093
Others	?	21	23.373	0	0	0	0	0.101	0	0.175	0.173
Others	?	29	27.180	0	0	0	0.007	0.112	0.095	0.151	0.072
Others	1-(1H-pyrrol-2-yl)-ethanone	39	32.245	0	0	0.049	0.022	0	0	0.066	0.048
Others	?	47	36.263	0	0	0	0.051	0.069	0	0.158	0
Others	?	49	36.846	0.147	0	0	0.070	0.126	0	0	0
Others	?	50	37.001	0	0	0	0	0.222	0	0	0
Others	?	55	37.914	0	0	0.152	0.302	0	0	0.266	0.113
Others	?	56	38.108	0	0	0	0	0.459	0.313	0.085	0.089
Others	?	57	38.208	0	0	0.070	0.123	0	0	0.250	0.310
Others	?	59	38.453	0	0	0	0.177	0	0	0	0.028
Others	?	60	38.687	0	0	0	0.154	0	0.036	0.011	0.048
Others	?	61	38.864	0	0	0	0	0.298	0	0.016	0
Others	?	62	39.151	0	0	0	0.020	0.199	0.036	0.078	0.018
Others	?	74	44.426	0	0	0	0	0	0.017	0	0.211

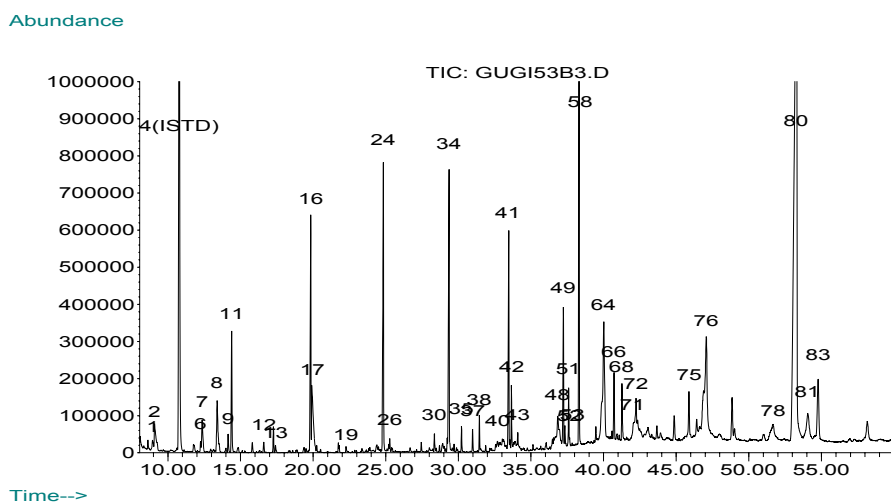
continued

Others	?	77	50.822	0	0	0	0.067	0.184	0	0	0
Others	?	78	51.591	0.071	0	0.056	0.115	0.109	0	0	0
Others	?	79	52.785	0	0	0	0	0	0	0.145	0
Others	?	82	54.135	0	0	0	0	0.253	0	0	0
Others	?	84	57.733	0	0.182	0	0	0	0	0	0
sum				0.400	0.182	0.344	1.179	4.223	1.337	4.441	3.113
TOTAL SUM				7.886	4.617	9.188	8.767	29.562	22.912	18.199	9.232

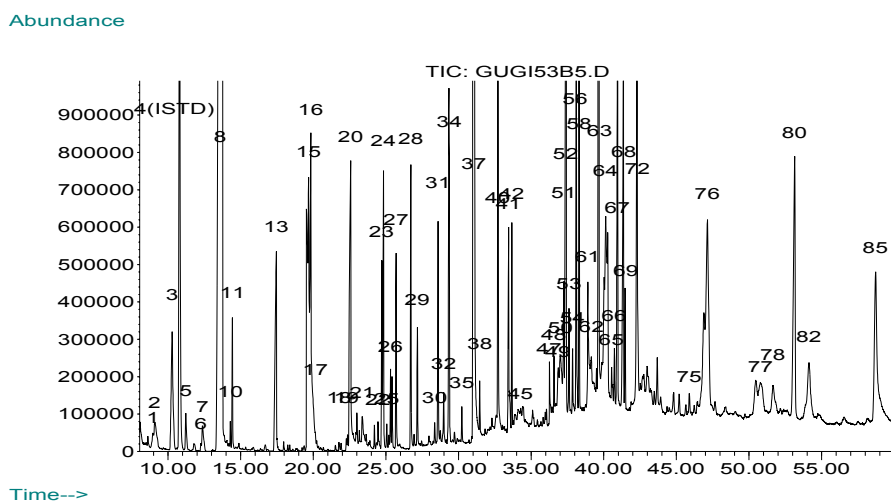
FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

FKJ(Fresh *Kuji-Ju*)

Before alcohol fermentation



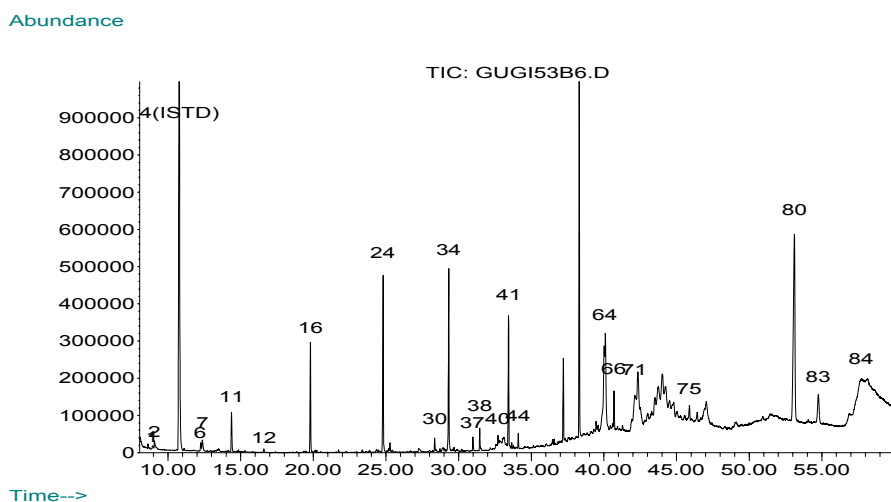
After alcohol fermentation



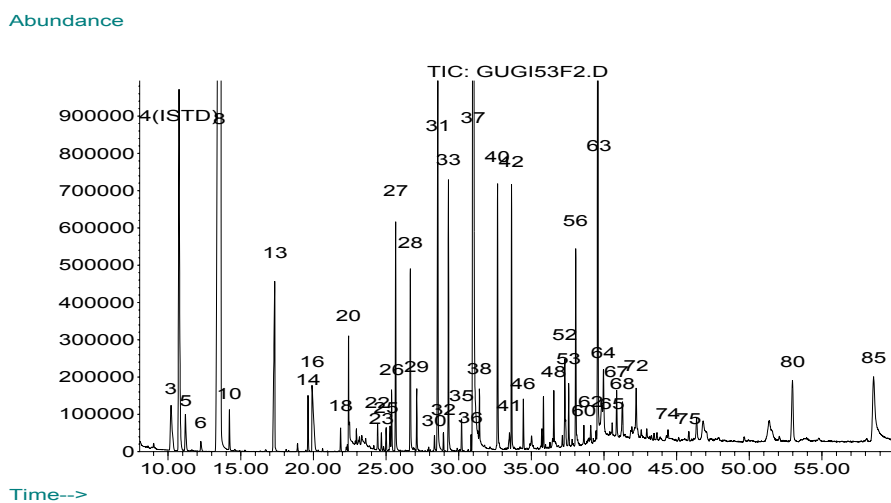
continued

FKJS (Fresh *Kugi-Ju* with skin)

Before alcohol fermentation



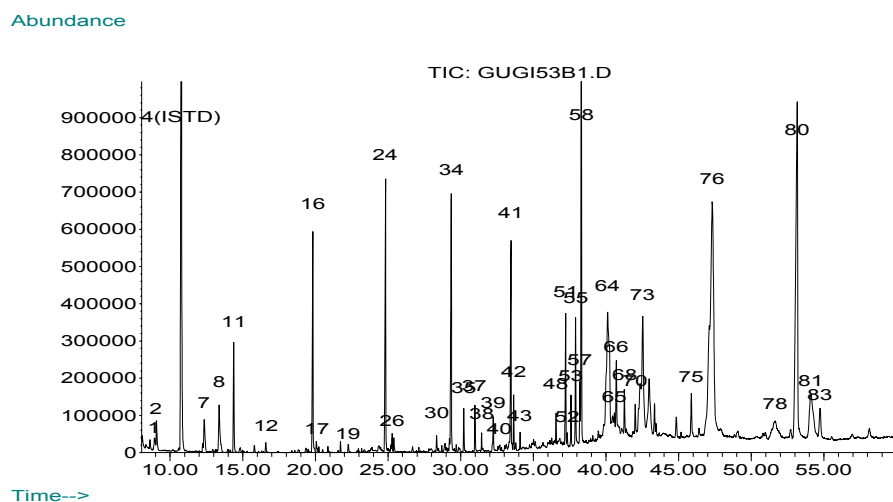
After alcohol fermentation



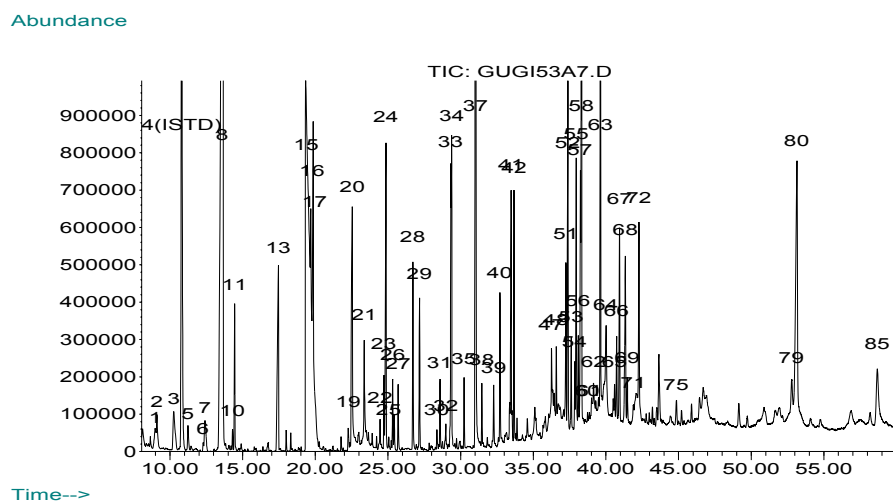
continued

DKJ(Dried *Kuji-Ju*)

Before alcohol fermentation



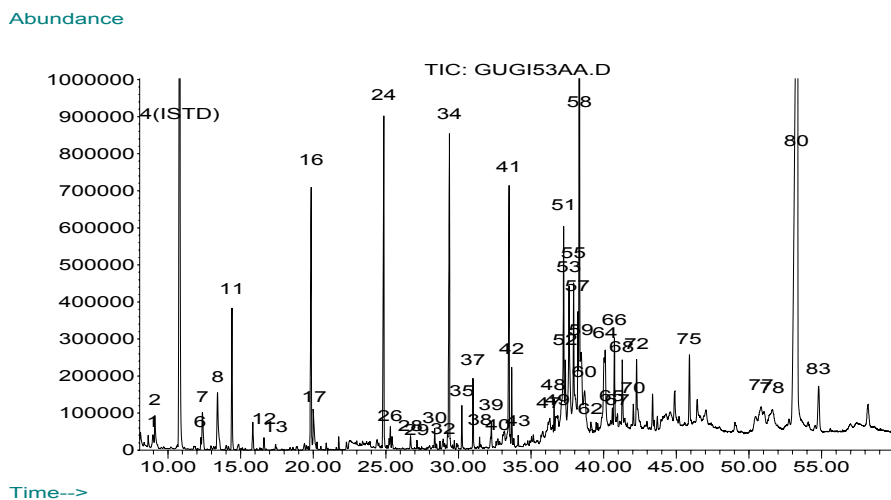
After alcohol fermentation



continued

DKJS(Dried *Kugi-Ju* with skin)

Before alcohol fermentation



After alcohol fermentation

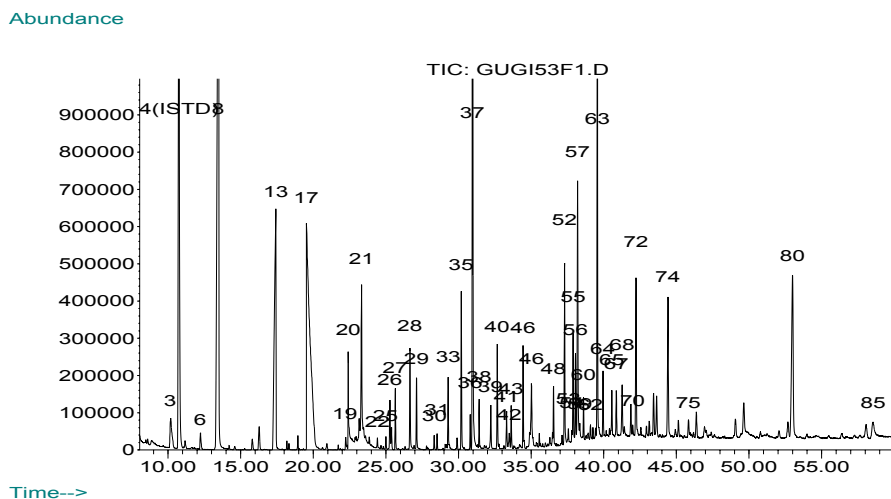


Fig.20. GC chromatogram of volatile flavor compounds of *Bulro Kugi-Ju* before and after alcohol fermentation.

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

아. 관능검사

1) Character note의 선정

13명의 panel들은 충분한 토론을 통해 Fig. 21과 같이 제조한 4개의 불로 구기주를 제시하고 색(color), 향(flavor)과 맛(taste)에 대한 character note (descriptive attributes)를 정하였고, 각각의 note에 대한 빈도수는 Table 3에 제시하였다. 이 결과로부터 panel들 간의 토론을 거쳐 유사한 개념은 통합하고, 빈도수를 고려하여 색(color)은 3종류(orange, yellow, brown), 향(flavor)은 4종류(acid, sweet, yeast, alcoholic), 맛(taste)은 6종류(sweet, bitter, acid, salty, astrigent, alcoholic)를 선정하여 이후의 분석에 사용하였다. Panel 간의 토론을 통해 맛과 향에 대한 정의를 내렸으며, panel 훈련은 표준물질로 3회 실시하였다.

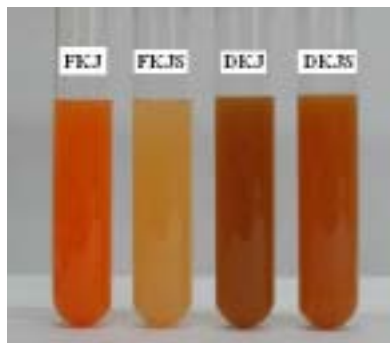


Fig. 21. Color comparison of *Bulro Kugi-Ju*.

FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

Table 3. Preliminary descriptors

	Character notes	Number of description
Color	Orange (주황색)	12
	Yellow soil (황토색)	6
	Brown (갈색)	10
	상아색	2
	Yellow (노란색)	7
	Apricot (살구)	5
	Persimmon (감)	1
	Urochord (미색)	1
	Peach (복숭아)	1
	Carrot (당근)	2
	살색	1
Flavor	Turbid (탁함)	3
	Grain wine (곡주)	4
	Sweet (단향)	5
	순한향	1
	Acid (신, 시큼한향)	7
	Raw rice wine (막걸리)	2
	Yeast (효모)	3
	Dry grape (건포도)	1
	Alcoholic (알코올)	7
	Fruity (과일)	2
	Spicy (매운향)	2
	Salty (짭향)	2
	Soypaste mixed with red pepper (고추장)	1
	Fermentation(발효)	1
	Smell of greens (풋내)	1
	Oyster (굴)	1
	Rubber (고무)	1
	Dried persimmons (곶감)	1
	Spoiled (썩내)	1
	Fermented soybeans (메주)	1
Taste	Grain wine (곡주)	2
	Bitter (쓴맛)	10
	Spoiled (썩맛)	2
	Acid (신맛)	12
	Sweet (단맛)	5
	Fermentation (발효맛)	1
	Raw rice wine (막걸리)	6
	Salty (짭맛)	2
	Soybean paste (된장)	1
	Slices of red pepper dried and seasoned with soy (고추장아찌)	1
	장맛	1
	Stimulating (톡쏘는맛)	1
	Alcoholic (알코올맛)	3
	Fruity (과일)	1
	Astringent (떫은맛)	6
	Soy sauce (간장)	1

2) 정량표사 분석 (Quantitative descriptive analysis)

13명의 panel이 FKJ, FKJS, DKJ, DKJS 4개의 시료를 관능검사 하였다. 이

시료들을 토론을 통해 정해진 14개의 character notes에 대한 강도를 15 cm 선상에 표시하게 하였고, 측정된 수치를 Duncan's multiple test 로 통계 처리하였다. Table 4에서 볼로 구기주의 색은 주황색(orange), 노란색(yellow), 갈색(brown)으로 평가하여 주황색은 $FKJ > DKJS = DKJ > FKJS$ 순으로 높게 나타났고($p < 0.001$). 노란색은 $FKJS > DKJ = DKJS = FKJ$ 의 순으로 높게 나타났고($p < 0.001$), 갈색은 $DKJS = DKJ > FKJ > FKJS$ 의 순으로 높게 나타났고($p < 0.001$). 볼로 구기주의 향은 신 향(acid), 단 향(sweet), 효모 향(yeast), 알코올 향(alcoholic)으로 구분되었으며, 신 향, 효모 향, 알코올 향에는 유의차가 없었고, 단 향은 $DKJ \geq DKJS = FKJS \geq FKJ$ 순으로 높게 나타났고($p < 0.05$).

볼로 구기주의 맛은 단 맛(sweet), 쓴 맛(bitter), 신 맛(acid), 짠 맛(salty), 수렴성 맛(astringent), 알코올 맛(alcoholic)으로 구분되었으며, 신 맛은 $DKJS = FKJ \geq DKJ \geq FKJS$ 순으로 높게 나타났고($p < 0.05$), 단 맛, 쓴 맛, 짠 맛, 수렴성 맛, 알코올 맛에는 유의차가 없었다. Fig. 22에는 볼로 구기주에 대한 QDA diagram을 나타내었으며, 보는바와 같이 DKJ와 DKJS는 비슷한 경향을 나타내었으며, FKJ와 FKJS는 orange color와 yellow color를 제외하고 비슷한 경향을 나타내었다. 전체적인 평가에서는 FKJ, FKJS, DKJ, DKJS가 각각 6.67, 6.76, 6.93, 5.42로 시료 간의 유의차가 없이 나타나 시료 간에 뚜렷한 차이가 없음을 알 수 있었다.

생구기주의 경우에도 수율이 약 40%였다. 생구기 가격은 4,300원/kg으로 건강기능성 및 라디칼 소거효과가 있는 원액 구기주는 약 40L/10kg 얻어지므로 약 80병/500mL로 재료비는 약 537원/병으로 계산할 수 있었다. 건조구기주의 경우는 약 75%의 수율을 얻었다. 건조구기 가격은 21,600원/kg이므로 원액 구기주는 약 75L/10kg 얻어졌으며 약 150병/500mL로 건조구기주의 재료비는 약 1,440원/병 이었다. 그리고 구기주는 구기주스 보다 항산화성 및 라디칼 소거효과의 기능성도 훨씬 높은 것으로 나타났다.

Table 4. Quantitative descriptive analysis of *Bulro Kugi-Ju*.

		FKJ	FKJS	DKJ	DKJS
Color	Orange ***	12.16 ± 2.42 ^a	2.22 ± 1.79 ^c	6.04 ± 2.24 ^b	7.65 ± 2.10 ^b
	Yellow ***	4.12 ± 3.22 ^b	10.26 ± 3.60 ^a	5.25 ± 4.14 ^b	4.82 ± 3.57 ^b
	Brown ***	3.32 ± 2.05 ^b	2.48 ± 2.49 ^b	10.31 ± 3.56 ^a	11.91 ± 2.89 ^a
Flavor	Acid	9.30 ± 2.89 ^a	8.07 ± 3.29 ^a	8.37 ± 4.05 ^a	9.29 ± 3.39 ^a
	Sweet *	5.11 ± 2.11 ^b	5.11 ± 2.77 ^{ab}	7.62 ± 3.92 ^a	7.14 ± 3.46 ^{ab}
	Yeast	8.77 ± 4.05 ^a	9.13 ± 3.47 ^a	8.97 ± 3.10 ^a	8.94 ± 2.91 ^a
	Alcoholic	9.26 ± 3.90 ^a	8.85 ± 3.21 ^a	7.52 ± 2.90 ^a	7.43 ± 2.94 ^a
Taste	Sweet	4.81 ± 2.47 ^a	4.69 ± 2.28 ^a	6.38 ± 2.89 ^a	5.38 ± 3.14 ^a
	Bitter	9.17 ± 3.23 ^{ab}	9.95 ± 3.02 ^a	8.25 ± 3.82 ^{ab}	7.12 ± 3.13 ^b
	Acid *	9.92 ± 2.38 ^a	7.95 ± 3.30 ^b	9.97 ± 3.77 ^{ab}	11.39 ± 3.06 ^a
	Salty	5.49 ± 3.37 ^a	4.94 ± 3.26 ^a	6.32 ± 3.39 ^a	6.96 ± 3.86 ^a
	Astringent	6.97 ± 2.74 ^a	7.79 ± 3.58 ^a	6.75 ± 4.09 ^a	6.82 ± 3.21 ^a
	Alcoholic	9.81 ± 3.82 ^a	10.43 ± 3.88 ^a	8.36 ± 3.62 ^a	6.66 ± 2.98 ^a
Total evaluation		6.67 ± 3.36 ^a	6.76 ± 3.30 ^a	6.93 ± 2.97 ^a	5.42 ± 3.58 ^a

Means ± SD. Means in the same row with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$). FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

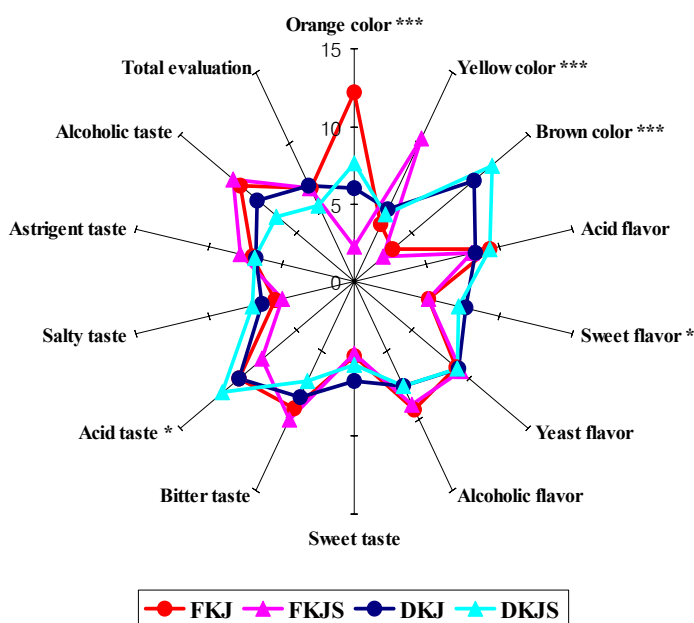


Fig. 22. QDA diagram of *Bulro Kugi-Ju*.

Means are significantly different by Duncan's multiple range test (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$). FKJ: Fresh *Kugi-Ju*, FKJS: Fresh *Kugi-Ju* with Skin, DKJ: Dried *Kugi-Ju*, DKJS: Dried *Kugi-Ju* with Skin

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

- 건조 방법을 달리한 구기열매의 기능성 성분 분석에 관한 연구 결과로 불로 구기자의 건조 방법에 따른 성분 및 품질 특성의 변화를 비교하였다. 화학 분석으로 불로 구기의 일반 성분과 부위별 당, 유기산, 캡사이신, 총페놀 및 플라보노이드 성분을 분석하였고, polyphenolic compounds, 향기성분, 색도의 측정을 통해 품질을 평가하였고, 목표달성은 100%이다.
- 씨 적은 구기자즙의 기능성 성분분석 및 품질평가에 관한 연구 결과로 불로 구기자 생과와 건과를 이용하여 생불로 구기자주스, 볶은 건과 불로 구기자주스, 볶지 않은 건과 불로 구기자 주스를 제조하였다. 화학적 분석으로 당, 유기산의 일반 성분과, 총 페놀 및 플라보노이드 함량, 항산화력, 라디칼 소거력, polyphenolic compounds 분석을 통해 항산화력을 분석하고, 향기 성분 분석 및 관능 검사를 실시하였으며 목표 달성도는 100%이다.
- 구기자즙액의 발효과정 중 기능성 성분 분석 및 품질평가에 관한 연구는 구기자의 생과와 건과를 이용하여 FKJ(Fresh *Kugi-Ju*), FKJS(Fresh *Kugi-Ju* with skin), DKJ(Dried *Kugi-Ju*), DKJS(Dried *Kugi-Ju* with skin)를 제조하였다. 화학분석으로 당, 유기산을 분석하였고, 총페놀함량, FTC(Ferric thiocyanate method), 라디칼 소거력, 폴리페놀성분 분석을 통해 항산화력을 측정하였고, 향기 성분 분석 및 관능 검사를 실시하였으며 목표 달성도는 100%이다.

이러한 일련의 연구를 통하여 국내산 구기자를 이용한 구기자 주스와 구기자주를 제조하고 이에 대한 품질 평가 및 기능성을 검토할 수 있었으며, 관련 산업의 기술 발전에 도움이 되고, 실험 결과들은 논문으로 이미 발표된 바 있어 학문적 기초 자료로써 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

(1) 석사학위논문

- 1) 김은혜. 불로 구기자를 이용한 구기주 성분분석 및 자유라디칼 소거효과에 관한 연구. 가톨릭대학교 대학원 석사학위논문 (2005)

(2) 학술지

- 1) 김은혜, 김현위, 김수동, 이보희, 이철호, 고경희. 불로 구기 부위별 자유라디칼 소거효과에 관한 연구. 한국식품과학회지. 37: 6-10 (2005)
- 2) 김은혜, 이주찬, 김현위, 이철호, 고경희. 불로 구기의 부위별 화학적 성분 분석. 한국식품과학회지. 37: 154-163 (2005)

(3) 국제 학술대회 발표

- 1) Eun-Hae Kim, Youn-Jeong Shim, Hyeon-Wee Kim, Cherl-Ho Lee and Kyung-Hee Koh. Antioxidant activity of *Bulro Kugi* juice. pp 432. 2005 Annual meeting & International symposium」 The Korean Society for Microbiology and Biotechnology. June 30-July 1, Incheon memorial hall. The Korea University, Seoul, Korea(2005)
- 2) Eun-Hae Kim, Hyeon-Wee Kim, Cherl-Ho Lee and Kyung-Hee Koh. Free radicals scavenging activity of *Bulro Kugi* juice. pp 433. 「2005 Annual meeting & International symposium」 The Korean Society for Microbiology and Biotechnology. June 30-July 1, Incheon memorial hall. The Korea University, Seoul, Korea(2005)
- 3) Eun-Hae Kim, Youn-Jeong Shim, Hyeon-Wee Kim, Cherl-Ho Lee and Kyung-Hee Koh. Antioxidant activity of *Bulro Kugi-Ju*. pp 436. 「2005 Annual meeting & International symposium」 The Korean Society for Microbiology and Biotechnology. June 30-July 1, Incheon memorial hall. The Korea University, Seoul, Korea(2005)
- 4) Eun-Hae Kim, Youn-Jeong Shim, Hyeon-Wee Kim, Cherl-Ho Lee and Kyung-Hee Koh. Free radicals scavenging activity of *Bulro Kugi-Ju*. pp 436. 「2005 Annual meeting & International symposium」 The Korean

Society for Microbiology and Biotechnology. June 30-July 1, Incheon memorial hall. The Korea University, Seoul, Korea(2005)

- 5) Eun Hae Kim, Hyeon-Wee Kim, Joo Chan Lee, Cherl Ho Lee, Kyung-Hee Koh. Polyphenol compounds and superoxide radical scavenging effect of parts of *Bulro Lycium chinense* Miller. 2004 Annual Meeting and Interantional Symposium. The Korean Society of Food Science and Nutrition, November 17-19, Ramada Plaza JeJu Hotel, Jeju Island, Korea(2004).

(4) 국내 학술대회 발표

- 1) 김은혜, 김현위, 이철호, 고경희. 불로 구기자 주스의 화학적 성분 분석. pp 129. 한국식품과학회 제72차 학술발표회, 6월 15일-17일. COEX 컨벤션 센터, 서울(2005)
- 2) 김은혜, 김현위, 이철호, 고경희. 불로 구기자 주스의 관능검사에 관한 연구. pp 140. 한국식품과학회 제72차 학술발표회, 6월 15일-17일. COEX 컨벤션 센터, 서울(2005)
- 3) 김은혜, 김현위, 고경희. 불로 구기자의 항산화 효과에 관한 연구. pp 224. 제 71차 학술대회 발표, , 강원도 용평, 한국식품과학회(2004)
- 4) 김은혜, 김현위, 고경희. 불로 구기자의 향기성분에 관한 연구. pp 232. 제 71차 학술대회 발표, , 강원도 용평, 한국식품과학회(2004)
- 5) 김은혜. 김현위, 이주찬, 이철호, 고경희. 불로 구기자의 부위별 polyphenolic 함량과 superoxide radical 소거효과에 관한 연구. 인터넷 학술발표회, 한국 산업식품공학회(2004)
- 6) 김은혜, 김현위, 이충영, 김범준, 강경일, 박유미, 이보희, 조임식, 김수동, 이주찬, 이철호, 고경희. 씨 적은 구기자의 기능성성분 분석. pp. 125, 제 70차 학술대회 발표, 한국식품과학회(2003)

제 6 장 참고문헌

제 1 절 건조방법을 달리한 구기열매의 기능성 성분 분석에 관한 연구

1. 박윤자, 김미향, 배송자 : 구기자 추출성분의 항발암 효과 및 비타민 C 첨가에 의한 상승 효과. 한국식품영양과학회지 31, 1(2002)
2. 오상룡, 김성수, 민병용, 정동효 : 구기자, 당귀, 오미자, 오갈피 추출물의 유리당, 유리아미노산, 유기산 및 탄닌의 조성 , 한국식품과학회지 22, 1(1990)
3. 윤종국, 김현희, 채순남, 오만진, 이규희 : 흰쥐에 있어서 구기자 추출물 첨가식이 간조직의 유해산 소 및 알콜대사 효소활성에 미치는 영향, 한국식품영양과학회지 30, 4(2001)
4. 윤종국, 전태원, 오만진, 이규희, 정재홍 : 흰쥐에 있어서 구기자 알콜 추출물이 Oxygen Free Radical 및 Alcohol 대사효소 활성화에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 29, 2(2000)
5. 이상덕, 이미현, 손현주, 복진영, 성창근, 오만진, 김찬조 : 가열처리에 따른 구기자 추출물의 성분변 화, 한국농화학회지 39, 4(1996)
6. 이부용, 김은정, 최희돈, 김운숙, 김인환, 김성수 : 볶음 조건에 따른 구기자 열수 추출물의 이화학적 특성. 한국식품과학회지 27, 5(1995)
7. 이부용, 김홍만, 김철진, 박무현 : 구기자 및 혼합구기자 열수 추출 농축액의 리올로지적 특성. 한국식품과학회지 24, 6(1992)
8. 조임식, 노재관, 박종상, 이윤희 : 구기자의 건조방법이 품질에 미치는 영향. 한국약용작물학회지. 4, 4(1996)
9. 주인선, 성창근, 오만진, 김찬조 : 구기자 추출물이 미생물 생육에 미치는 영향. 한국식품영양과학회 지 26, 4(1997)
10. 충남농업기술원 청양구기자시험장 : 구기자 (2000)
11. AOAC Official Method 984.27, ICP Emission Spectroscopic Method (1995), Chapter 50, Chapter 33
12. Bruce W. Zoecklein ; Kenneth C. Fugelsang ; Barry H. Gump ; Fred S. Nury : Production wine analysis (1990)
13. Funayama, S. ; Zhang, G. ; Nozoe, S. : Kukoamine B, a spermine alkaloid from Lycium chinense. Phytochemistry 38, 6(1995)
14. Jeng-Leun Mau, Hsiu-Ching Lin, Si-Fu Song : Antioxidant properties

- of several speciality mushrooms. Food Research International, 35 : 519-526 (2002)
15. Kenneth, M.W. and Donald B.A. Rapid high-performanace liquid chromatographic method for the determination of very low capsaicin levels. J. Chromatogr. 367: 438-442(1986)
 16. Lissi EA, Salim M, Psacual C, Castillo MD. Evaluation of total antioxidant potencial and total reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. Free Radic. Biol. Med. 18: 387-395 (1995)
 17. Maria I. Nieva Moreno, Maria I Isla, Antonio R. Sampietro : Comparison of the free radical- scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. Journal of Ethnopharmacology, 71 : 109-114 (2000)
 18. Mitsuta K, Mitsuta Y, Kohno M, Hiramatsu M, Mori A. The application of ESR spin-trapping technique to the evaluation of SOD-like activity of biological substances. Bull. Chem. Soc. Jpn. 63: 187-191 (1990)
 19. Morita, H. ; Yoshida, N. ; Takeya, K. ; Itokawa, H. ; Shiota, O. : Configurational and Conformational Analyses of a Cyclic Octapeptide, Lyciumin A, from *Lycium chinense* Mill. Tetrahedron 52, 8(1996)
 20. Patrick, G.H. Mary, C.L. and William, G.G. Separation and quantitation of red pepper major heat principles by RP-HPLC. J. Agric. Food Chem. 31: 1326-1330(1983)
 21. Qin,X; Yamauchi,R; Aizawa,K.; Inakuma,T.; Kato,K. : Structural Features of arabinogalactan -proteins from the fruit of *Lycium chinense* Mill. Carbohydrate Research 333, 1(2001)
 22. Wang, Y. ; Zhao, H. ; Sheng, X. ; Gambino, P.E. ; Costello, B. ; Bojanowski, K. : Protective effect of Fructus Lycii polysaccharides against time and hyperthermia-induced damage in cultured seminiferous epithelium. Journal of Ethnopharmacology 82, 2/3(2002)
 23. Z. Mohd Zin, A. Abdul-Hamid, A. Osman : Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. Food Chemistry, 78 : 227-231 (2002)

제 2 절 씨 적은 구기자즙의 기능성 성분분석 및 품질 평가에 관한 연구

1. Zoecklein BW, Fugeksang KC, Gump BH, Nury FS. Production wine analysis. pp. 129-168. Van Nostrand Reinhold, NY, USA (1990)
2. Korea Food Industry Association. Food code, pp. 566-588. Korea food and drug administration, Korea (2002)
3. AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA (1995)
4. Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology* 71: 109-114 (2000)
5. Mohd Zin Z, Abdul-Hamid A, Osman A. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu(*Morinda citrifolia L.*) root, fruit and leaf. *Food Chemistry* 78: 227-231 (2002)
6. Chen H, Zuo Y, Deng Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 913: 387-395 (2001)
7. Kim HW, Choi CU, Woo SJ. Changes of volatile flavor compounds in sesame oils during industrial process. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 739-744 (1998)
8. Galan-Sodevilla H, Ruiz-Perez-Cacho MP, Serrano Jimenez S. Development of a preliminary sensory lexicon for floral honey. *Food Quality and Preference* in press (2004)
9. Torres-Penaranda AV, Reitmeier CA. Sensory descriptive analysis of soymilk. *JFS.* 66: 352-356 (2001)
10. Oirshot QEA, Rees D, Aked J. Sensory characteristics of five sweet potato cultivars and their changes during storage under tropical conditions. *Food Quality and Preference* 14: 673-680 (2003)
11. Del Caro A, Piga A, Vacca V, Agabbio M. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry* 84:99-105 (2004)
12. Lee BY, Kim EJ, Choi HD, Kim YS, Kim IH, Kim SS. Physico-chemical

- properties of Boxthorn (*Lycii fructus*) hot water extracts by roasting conditions. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 768-772 (1995)
13. Oh SL, Kim SS, Min BY, Chung DH. Composition of free sugars, free amino acids, non-Volatile organic acids and tannins in the extracts of *L. chinensis* M., *A. acutiloba* K., *S. chinensis* B. and *A. sessiliflorum* S. Korean J. Food Sci. Technol. 22: 76-81 (1990)
 14. Yoo KM, Hwang IK. *In vitro* effect of Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) extracts on proliferation of human prostate cancer cells and actioxidant activity. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 339-344 (2004)
 15. Kang MH, Choi CS, Chung HK. Physical properties and antioxidant activities of *Lycii fructus* beer. Korean J. Food Culture 6: 569-574 (2003)
 16. Cheongyang Boxthorn experiment station. *Gugija*, pp. 1-2. Chungnam agricultural reaserch and extension services, Korea (2000)
 17. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 333-338 (2004)
 18. Arena E, Fallico B, Maccarone E. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. Food Chemistry 74: 423-427 (2001)
 19. Yoon CG, Kim HH, Chae SN, Oh MJ, Lee GH. Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diets supplemented with *Lycium chinense* ethanol extract. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 668-672 (2001)
 20. Hong HD, Kang NK, Kim SS. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1484-1487 (1998)
 21. Mau JL, Lin HC, Song SF. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. Food Research International 35: 519-526 (2002)
 22. Yi SD, Lee MH, Son HJ, Bock JY, Sung CK, Oh MJ, Kim CJ. Changes of chemical constituents in extract of *Lycii fructus* by various heat treatment. Agricultural Chemistry and Biotechnology 39: 268-273 (1996)

23. Lim YS, Cha WJ, Lee SK, Kim YJ. Quality characteristics of wet noodle with *Lycii fructus* powder. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 77-83 (2003)
24. Kim PJ, LEE JC, Koh KH, Lee CH. Effects of drying and extraction conditions on the chemical composition of water extract of *Lycium chinense* Miller. J. Food Process Eng. 8: 105-110 (2004)
25. Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H. Varietal differences in the phenolic contents and superoxide radical scavenging potential of wine from different sources. J. Agric. Food Chem. 44: 80-85 (1995)
26. Mitsuda K, Mitsuda Y, Kohno M, Hiramatsu M, Mori A. The application of ESR spin-trapping technique to the evaluation of SOD-like activity of biological substances. Bull. Chem. Soc. Jpn. 63: 187 (1990)
27. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase(SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the fenton reaction in SOD toxicity. J. Biol. Chem. 268: 416-420 (1993)
28. Lee HJ, Koh KH. Antioxidant and free radical scavenging activities of Korean wine. Food. Sci. Biotechnol. 10: 566-571 (2001)

제 3 절 구기자즙액의 발효과정 기능성 성분 분석 및 품질 평가에 관한 연구

1. AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA (1995)
2. Arena E, Fallico B, Maccarone E. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. Food Chemistry 74: 423-427 (2001)
3. Bae HC, Cho IS, Nam MS. Fermentation properties and functionality of yogurt added with *Lycium chinense* Miller. J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.) 46: 687-700 (2004)

4. Boehringer mannheim GmbH, Method of biochemical analysis and food analysis. Boehringer Mannheim Biochemicals (1995)
5. Chanwitheesuk A, Teerawutgulraq A, Rakariyatham N. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. Food Chemistry 92: 491-497 (2005)
6. Chen H, Zuo Y, Deng Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 913: 387-395 (2001)
7. Cheongyang Boxthorn experiment station. *Kugija* pp. 1-2. Chungnam agricultural reaserch and extension services, Korea (2000)
8. Cho IS, Bae HC, Nam MS. Fermentation properties of yogurt added by *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 23: 250-261 (2003)
9. Cho JH, Sin JS, Kim EJ, Shin SH, Jang JY, Shin KS, Kim YB, Kang JK, Hwang SY. Protective effect of *Lycii fructus* extract against hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride. The Korean Journal of Laboratory Animal Science 20: 187-193 (2004)
10. Choi SH, Lee MH, Shin CS, Sung CK, Oh MJ, Kim CJ. Effect of storage condition on the quality of the wine and Yakju made by *Lycium chinense* Miller. Agricultural Chemistry and Biotechnology 39: 338-342 (1996)
11. Chung KJ, Kim MJ, Jang MS. Effects of Kugija(*Lycium chinesis* Miller) on the sensory properties and lactic acid bacterial count of Nabak Kimchi during fermentation. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 19: 521-528 (2003)
12. Del Caro A, Piga A, Vacca V, Agabbio M. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. Food Chemistry 84: 99-105 (2004)
13. Galán-Sodevilla H, Ruiz-Perez-Cacho MP, Serrano Jimenez S. Development of a preliminary sensory lexiton for floral honey. Food Quality and Preference 16: 71-77 (2005)
14. Ha KT, Yoon SJ, Choi DY, Kim DW, Kim JK, Kim CH. Protective effect of *Lycium chinense* fruit on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Journal of Ethnopharmacology 96: 529-535 (2005)
15. Her J. Orient Medicine Handbook. Pubin Press, Seoul, Korea. pp. 1966

- (1999)
16. Chin, Y.-W. ; Lim, S.W. ; Kim, S.-H. ; Shin, D.-Y. ; Suh, Y.-G. ; Kim, Y.-B. ; Kim, Y.C. ; Kim, J. Hepatoprotective pyrrole derivatives of *Lycium chinense* fruits, Bioorganic & medicinal chemistry letters, v.13 no.1, 2003, pp.79-81)
 17. Hong HD, Kang NK, Kim SS. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1484-1487 (1998)
 18. Hsu HY, Yang JJ, Ho YH, Lin CC. Difference in the effects of radioprotection between aerial and root parts of *Lycium chinense*. Journal of Ethnopharmacology 64: 101-108 (1999)
 19. Hyun Ku Kim, Gyung Min Na, Su Hyang Ye, Ho Suk Han, Extraction Characteristics and Antioxidative Activity of *Lycium chinense* Extracts, Korean Journal of Food Preservation, 11: 352~357 (2004)
 20. Joo HK, Cho KS, Cho HY, Chae SK, Park CK, Ma SJ. Method of Food Analysis. pp. 508-510. Hakmunsa. Korea (2000)
 21. Joo IS, Sung CK, Oh MJ, Kim CJ. The influence of *Lycii fructus* extracts on the growth and physiology of microorganism. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 625-631 (1997)
 22. Kang MH, Choi CS, Chung HK. Physical properties and antioxidant activities of *Lycii fructus* beer. Korean J. Food Culture 6: 569-574 (2003)
 23. Kim DH. Food Chemistry. Tamgudang, Seoul, Korea. pp. 43-44 (2004)
 24. Kim EH, Kim HW, Kim SD, Lee BH, Lee CH, Koh KH. Free radicals scavenging activity of *Bulro Kugi*(*Lycium chinense* Mill) fruit, leaf, and root. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 6-10 (2005)
 25. Kim EH, Kim HW, Lee JC, Lee CH, Koh KH. Analysis of chemical composition of *Bulro Kugi*(*Lycium chinense* Mill) fruit, leaf, and root. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 154-163 (2005)
 26. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 333-338 (2004)
 27. Kim HK, Na GM, Ye SH, Han HS. Extraction characteristics and antioxidative activity if *Lycium chinense* extracts. Korean Journal of Food

- Preservation 11: 352-357 (2004)
28. Kim HW, Choi CU, Woo SJ. Changes of volatile flavor compounds in sesame oils during industrial process. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 739-744 (1998)
 29. Kim NJ, Youn WG, Hong ND. Pharmacological effect of *Lycium chinense*. Korean J. Pharmacogn. 25: 264-271 (1994)
 30. Kim PJ, LEE JC, Koh KH, Lee CH. Effects of drying and extraction conditions on the chemical composition of water extract of *Lycium chinense* Miller. J. Food Process Eng. 8: 105-110 (2004)
 31. Kim SY, Lee KH, Chang KS, Bock JY, Jung MY. Taste and flavor compounds in box thorn (*Lycium chinense* Miller) leaves. Food Chemistry 58: 297-303 (1997)
 32. Korea Food Industry Association. Food code. Korea food and drug administration, Korea. pp. 566-588 (2002)
 33. Lee BY, Kim EJ, Choi HD, Kim YS, Kim IH, Kim SS. Physico-chemical properties of Boxthorn (*Lycii fructus*) hot water extracts by roasting conditions. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 768-772 (1995)
 34. Lee BY, Kim HM, Kim CJ, Park MH. Rheological properties of hot-water extractable concentrates of Boxthorn (*Lycii fructus*) and mixed Boxthorn. Korean J. Food Sci. Technol. 24: 597-602 (1992)
 35. Lee CB. Korean Dictionary of Plant. Hyangmunsa, Seoul, Korea. pp. 663 (1976)
 36. Lee HJ, Koh KH. Antioxidant and free radical scavenging activities of Korean wine. Food. Sci. Biotechnol. 10: 566-571 (2001)
 37. Lim HJ, Cho KH, Choue RW. The effects of functional tea(*Mori Folium*, *Lycii Fructus*, *Chrysanthemi Flos*, *Zizyphi Fructus*, *Sesamum Semen*, *Raphani Semen*) supplement with medical nutrition therapy on the blood lipid levels and antioxidant status in subjects with hyperlipidemia. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 34: 42-56 (2005)
 38. Lim YS, Cha WJ, Lee SK, Kim YJ. Quality characteristics of wet noodle with *Lycii fructus* powder. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 77-83 (2003)
 39. Lissi E, Salim-Hanna M, Pascuala C, Castillo M D.. Evaluation of total antioxidant potential(trap) and total antioxidant reactivity from luminol

- enhanced chemiluminescence measurements. *Free Radical Biology & Medicine* 18: 153-158 (1995)
40. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase(SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the fenton reaction in SOD toxicity. *J. Biol. Chem.* 268: 416-420 (1993)
 41. Mau JL, Lin HC, Song SF. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Research International* 35: 519-526 (2002)
 42. Mitsuda K, Mitsuda Y, Kohno M, Hiramatsu M, Mori A. The application of ESR spin-trapping technique to the evaluation of SOD-like activity of biological substances. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 63: 187-191 (1990)
 43. Mohd Zin Z, Abdul-Hamid A, Osman A. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu(*Morinda citrifolia L.*) root, fruit and leaf. *Food Chemistry* 78: 227-231 (2002)
 44. Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology* 71: 109-114 (2000)
 45. Oh SL, Kim SS, Min BY, Chung DH. Composition of free sugars, free amino acids, non-Volatile organic acids and tannins in the extracts of *L. chinensis M.*, *A. acutiloba K.*, *S. chinensis B.* and *A. sessiliflorum S.*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 76-81 (1990)
 46. Oirshot QEA, Rees D, Aked J. Sensory characteristics of five sweet potato cultivars their changes during storage under tropical conditions. *Food Quality and Preference* 14: 673-680 (2003)
 47. Qian JY, Liu DL, Hyang AG. The efficiency of flavonoids in polar extracts of *Lycium chinense* Mill fruits as free radical scavenger. *Food Chemistry* 87: 283-288 (2004)
 48. Park BH, Cho HS, Park SY. A study on the antioxidative effect and quality characteristics of cookies made with *Lycii fructus* powder. *Korean J. Food Cookery Sci.* 21: 94-102 (2005)
 49. Park YJ, Kim MH, Bae SJ. Enhancement of anticarcinogenic effect by combination of *Lycii fructus* with vitamin C. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 143-148 (2002)
 50. Proesos C, Bakogiannis A, Psarianos C, Koutinas AA, Kanellaki M,

- Komaitis M. High performance liquid chromatography analysis of phenolic substances in Greek wines. *Food Control* 16: 319-323 (2005)
51. Qian, J.-Y. ; Liu, D. ; Huang, A.-G, The efficiency of flavonoids in polar extracts of *Lycium chinense* Mill fruits as free radical scavenger, *Food chemistry*, v.87 no.2, 2004, pp.283-288
 52. SAS. SAS User's Guide. SAS Institute, Ver. 8.2, Cary, NC. USA (1990)
 53. Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H. Varietal differences in the phenolic contents and superoxide radical scavenging potential of wine from different sources. *J. Agric. Food Chem.* 44: 80-85 (1995)
 54. Soong YY, Barlow PJ. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry* 88: 411-417 (2004)
 55. Torres-Penaranda AV, Reitmeier CA. Sensory descriptive analysis of soymilk. *JFS.* 66: 352-356 (2001)
 56. Terauchi, M. ; Kanamori, H. ; Nobuso, M. ; Yahara, S. ; Nohara, T. , Detection and Determination of Antioxidative Components in *Lycium chinense*, *Natural medicines = Shoyakugaku zasshi*, v.51 no.5, 1997, pp.387-391)
 57. Wei, X.-l. ; Jing-yu, L. Chemical studies on root bark of *Lycium chinense* / 中草藥 = Chinese traditional and herbal drugs, v.34 no.7, 2003, pp.580-581
 58. Yi SD, Lee MH, Son HJ, Bock JY, Sung CK, Oh MJ, Kim CJ. Changes of chemical constituents in extract of *Lycii fructus* by various heat treatment. *Agricultural Chemistry and Biotechnology* 39:268-273 (1996)
 59. Yoo KM, Hwang IK. *In vitro* effect of Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) extracts on proliferation of human prostate cancer cells and actioxidant activity. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 339-344 (2004)
 60. Yoon CG, Kim HH, Chae SN, Oh MJ, Lee GH. Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diets supplemented with *Lycium chinense* ethanol extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 668-672 (2001)
 61. Yoon CG, Joen TW, Oh MJ, Lee GH, Jeong JH. Effect of the ethanol extract of *Lycii chinense* on the oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*

29:268-273 (2000)

62. Yaohong, Z. Analysis of Flavonoids in Leaves of *Lycium Chinense* , Fen hsi hua hsueh, v.28 no.5, 2000, pp.650-
63. Zoecklein BW, Fugeksang KC, Gump BH, Nury FS. Production wine analysis. Van Nostrand Reinhold, NY, USA. pp. 129-168 (1990)

제 2 협동과제

씨 적은 구기자의 가공이용과 기능성 평가에 관한 연구

Studies on the Processing Conditions and Functional
Properties of New *Lycium chinense* Cultivars
with Fewer Seeds

협동연구기관명 : 고려대학교

협동연구책임자 : 이 철 호

연 구 원 : 김 범 준

연 구 원 : 박 유 미

연 구 원 : 조 연 숙

연 구 원 : 이 영 원

연 구 원 : 강 경 일

연 구 원 : 정 진 영

연 구 원 : 박 유

요 약 문

I. 제 목

씨 적은 구기자의 기능성 성분 분석 및 품질 평가에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

○ 국내에서 생산되어 판매되고 있는 구기자 가공품들은 다양하지만 구기자의 효능에 대한 연구가 미진하여 대중화가 미약하며 그 이용이 아직은 답보 수준이다. 그렇기 때문에 구기자가 가지고 있는 다양한 효능들에 대한 연구수행 실적을 바탕으로 대 국민 홍보 활동을 강화한다면 요즘과 같은 Well-Being시대에 그 수요가 크게 증가되리라 판단된다.

○ 현재까지 구기자의 성분과 그 가공품들에 대한 연구는 청양 구기자 시험장등 일부 연구실에서 단편적으로 발표되는 자료들에만 의존해 왔다. 다양한 효능을 가지고 있어 만병통치약이라는 칭호까지 들었던 구기자에 대한 연구와 가공기술의 부족으로 구기자 생산 농가는 점점 줄어들고 있다.

○ 이러한 현실을 극복하고 Well-Being과 함께 찾아오는 건강을 중시하는 현대인들의 기호를 자극시킬 충분한 연구 실적이 계속해서 나오고 이를 적극 홍보하려는 노력이 뒤따른다면 구기자와 그 가공품들이 차지하게 될 시장은 큰폭으로 확대될 전망이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 건조 조건과 추출 조건에 따른 구기자의 기능성 성분함량 변화 측정

- 일반성분 분석 : 수분, 조지방, 환원당, 단백질, 회분 측정
- 열풍 및 동결 건조된 구기자의 물에서의 복원력 측정

- 건조방법, 추출온도, 추출시간에 따른 추출액의 추출효율 분석
(환원당, 단백질)
- Betaine 정량 : 구기자 추출물, 구기주스, 구기주 함량 분석

2. 구기자와 포도의 양조특성에 관한 연구

- 알코올 함량, 환원당 함량, 유기산 정량
- Total phenolic compounds 함량 측정
- QDA기법에 의한 기호도 평가

3. 구기자 성분중 zeaxanthin, betaine 함량 분석

- 구기자 추출물과 구기주의 zeaxanthin함량은 HPLC로 분석
- 구기자 추출물과 구기주의 betaine함량은 식품첨가물 공전의 정량법에 의해 측정

4. Cell/ 동물실험을 통한 구기자 추출물의 간 보호 효과 분석

- Zeaxanthin 농도별 간세포 증식에 미치는 영향 분석
- Betaine 농도별 간세포 증식에 미치는 영향 분석
- CCl₄ 로 간독성이 유도된 흰쥐(Rats)에서 간 보호효과 분석

5. 동물 실험을 통한 구기주 고형분의 혈중 콜레스테롤 저하효과 및 지방간 예방 효과 분석

- 구기주스와 구기주 고형분의 혈중 콜레스테롤 저하효과 비교분석
- 구기주스와 구기주 고형분의 지방간 예방효과 비교분석
- Total cholesterol, HDL cholesterol, T.G.(triglyceride) 함량 측정

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 추출 조건에 따른 구기자의 기능성 성분함량 변화 측정

대부분의 제품화 과정에서 사용되는 건조 방법인 동결건조와 열풍건조 방법을 사용하였고, 추출온도는 20℃, 50℃, 90℃로 세분화 하였다.. 여러 가지 면에서 동결건

조 에서의 수율 및 복원력이 우수하게 나타났다. 열풍건조시 각종 성분분석 수율에 있어서는 온도가 높을수록 높게 형성되었다. 복원력을 높이고 품질손상을 최소화 하는 최적의 열풍건조 온도는 50℃임을 알게 되었고, 그 온도에서 동결건조 시료와 비교하였다. 열풍건조보다 동결 건조시 복원력과 각종 수율이 좋게 형성되는 것은 사실이지만, 동결건조 비용이 너무 높기 때문에 경제성이 떨어져 최적의 열풍건조 조건을 찾는 것이 중요하다. 이 실험을 통해서 열풍건조의 최적 조건을 찾긴 했지만 동결건조에 비해서 복원력이나 추출율이 크게 떨어지므로 경제적 측면, 효율적 측면, 상품적 측면을 고려한 보다 다각적인 연구를 통해서 최적의 건조 방법을 찾아야 할 것이다.

2. 구기자와 포도의 양조특성에 관한 연구

생구기자와 건조 구기자를 각각 과실 전체를 이용한 적포도주 제조 방법과 과즙만을 이용한 백포도주 제조방법으로 양조하여 시험하였고, 포도주는 일반적인 포도주 양조방법으로 2차에 걸쳐 발효시킨 시료를 사용하였다. 포도주와 구기주의 알코올 함량은 비슷하였고, pH는 포도주보다 구기주가 다소 높게 형성되었다. 주요 유기산 함량은 포도주는 Tartaric acid, malic acid가 많이 함유 되어 있고, 구기자는 Lactic acid가 많이 함유 되어 있었다. 총 페놀 함량에 있어서 생 구기주는 국내산 포도주 보다, 건조 구기주의 경우는 수입산 포도주 보다 높은 함량을 보였다. 이러한 페놀함량은 항산화력과 직결되는데, 함량이 높을수록 항산화력이 높아서 각종 성인병 예방에 탁월하다 할 수 있겠다.

기호도 조사 결과로는 포도주가 구기자 과실주에 비해 발효냄새와 쓴맛, 떼은맛이 적은 대신 단 냄새와 단맛이 월등히 높게 평가되어 전체적인 선호도가 높게 평가 되었다. 기능성 측면에서 대부분의 경우 우수하게 평가 되었지만 기호도 측면에서는 포도주에 비해서 많은 문제점을 가지고 있어서 구기주가 상용화 되기 위해서는 이러한 문제점들이 반드시 극복되어야 한다.

3. 구기자 성분 중 zeaxanthin, betaine함량 분석

구기자 추출물과 구기주의 zeaxanthin함량은 HPLC기기를 사용하여 분석하였고 추출물의 경우에는 건조 구기자의 경우 청양산(2119.4 μ g/g), 북한산(2109.9 μ g/g), 중국산 (2214.8 μ g/g), 진도산(1570.6 μ g/g)순으로 진도 산이 다소 낮게 분석되었다. 청양산 생구기자는 2821.0 μ g/g를 함유하고 있어서 건조구기자 보다 30%정도 높게 함

유하고 있었다. 그러나 구기주에서는 zeaxanthin이 검출되지 않았다. 베타인(Betaine)함량은 식품첨가물 공전의 방법에 의해 측정하였다. 구기자 추출물의 경우 90℃에서 추출한 것이 가장 높은 값을 내었으며, 건조 구기자의 경우 2.11(mg/g)이었으며, 생 구기자의 경우는 3.18(mg/g)였다. 구기주의 경우 불로 생과즙이 2.04(mg/g)으로 가장 높게 형성되었고, 물 추출물은 1.0(mg/g), 붉은 불로구기자 물 추출물은 1.16(mg/g)으로 나타났다. 구기주에서는 생 구기주에서 0.94(mg/g), 건조 구기주에서 1.57(mg/g)을 함유하고 있었다.

Zeaxanthin, betaine의 경우는 시력개선에 탁월한 효능을 가진 물질들으로써 구기자는 다른 천연식품재료들 보다 높은 함유량을 가지고 있으나 zeaxanthin은 구기자 발효주에서는 검출되지 않았다.

4. Cell/ 동물실험을 통한 구기자 추출물의 간 보호 효과 분석

간세포(AML12 cell)에 사염화 탄소(CCl_4)처리한후 불로 구기자 추출물에 의한 재생효과를 조사하였다. 40% inhibition된 AML12 cell에 생구기자 물 추출물을 처리하였더니 간 회복능력이 좋았으며 control군 수준까지 회복됨을 알 수 있었다. 열풍 건조구기자 추출물의 GPT/GOT 독성실험 결과에서도 CCl_4 로 inhibition된 군은 GPT/GOT 수치가 control에 비해 40% 이상 높은 것을 알 수 있었고, 열풍건조 구기자 물 추출물을 함께 처리한 군은 GPT/GOT 활성수치가 CCl_4 처리군 보다 45% 가 낮아짐을 알 수 있었다

동물실험 결과에서는 CCl_4 투여군과 비교하여 불로구기자 물 추출물(DE) 투여군은 11%, 붉은 불로 구기자 물 추출물(RE) 투여군은 18%, 그리고 불로 생과즙(FJ) 투여군은 15% 정도의 GOT 활성을 감소시켰고, GPT 활성의 경우, CCl_4 단독투여군과 비교하여 붉은 불로구기자 물 추출물(RE) 투여군은 32%, 불로 생과즙(FJ) 투여군은 15% 정도로 감소 하였다($p < 0.05$) 위 두 실험결과 구기자 추출물이 뚜렷한 간 보호 효과가 있음을 나타내었다.

5. 동물 실험을 통한 구기주 고형분의 혈중 콜레스테롤 저하효과 분석

구기주와 구기 주스의 혈중 콜레스테롤 저하 효과 확인을 위한 동물실험에서는 구기 주스 보다는 이를 발효시킨 구기주에서 보다 좋은 효과를 얻을 수 있었다. 구기주 고형분을 매일 0.5 ~ 1g solid /kg 체중 투여 하였을 때 뚜렷한 혈중 콜레스

테를 개선 효과를 보였으며 그 이상의 농도에서는 효과가 떨어져 최적 투여량이 있음을 발견 하였다. 따라서 구기주의 적당량 섭취는 간보호 효과와 아울러 혈중 콜레스테롤 개선 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

Contents

Summary	-----247
Chapter 1. Outline of the project	-----263
Section 1. Research back ground	-----263
Section 2. Research contents and ranges	-----265
Chapter 2. Present status of research on <i>Lycium chinense</i>	-----266
Section 1. Research on functional property	-----266
Section 2. Product development	-----267
Chapter 3. Experimenal methods and results	-----268
Section 1. Studies on the drying condition and functional property of <i>Lycium chinense</i>	-----268
1. Materials and methods	-----268
A. Drying experiments	-----268
1) Materials	-----268
2) Drying methods	-----268
(1) Hot-air drying	-----268
(2) Freeze drying	-----268
(3) Reconstitution of dried <i>Lycium chinense</i>	-----268
3) Mineral content analysis	-----269
2. Results and discussion	-----269
A. Drying characteristics of <i>Lycii</i> fructus	-----269
1) Hot-air Drying	-----269
2) Freeze Drying	-----271
3) Reconstitution of the dried <i>Lycii</i> fruit	-----272

4) Mineral contents in the fruit, leaf and root -----	274
 Section 1. Effects of zeaxanthin and <i>Lycii</i> fructus extracts on the	
liver cell growth -----	275
1. Materials and methods -----	275
A. Zeaxanthin content analysis -----	275
1) Materials -----	275
2) Methods -----	276
B. Effects on liver cell growth -----	277
1) Materials -----	277
2) Methods -----	278
 2. Results and discussion -----	 279
A. Zeaxanthin content -----	279
1) Quantitative analysis of zeaxanthin by extinction coefficient -----	 279
2) Quantitative analysis of zeaxanthin by HPLC -----	279
B. Effects of zeaxanthin and <i>Lycii</i> fructus extracts on the liver cell growth -----	 280
1) Liver cell cultivation -----	280
2) Effects on inducing cytotoxicity and multiplications -----	280
 Section 3. Studies on the hepatoprotective activities of the extract	
of <i>Lycium chinense</i> Bulro with fewer seeds -----	284
1. Materials and methods -----	284
A. Cytotoxicity test with liver cell -----	284
1) Materials -----	284
2) Methods -----	284
B. Hepatotoxicity test with rats -----	285
1) Materials -----	285
2) Methods -----	286

3) Analysis of hepatoprotective effects-----	287
C. Enzyme activity test -----	289
1) Blood serum -----	289
2) Liver -----	289
2. Results and discussion -----	290
A. Analysis of hepatoprotective effect with CCl ₄	
intoxicated liver cell -----	290
1) Effect of betain -----	290
2) Effect of water extract of raw <i>Lycii</i> fructus -----	291
3) Effect of water extract of dried fruit -----	292
B. Analysis of hepatoprotective effect with CCl ₄	
intoxicated rats -----	294
1) Composition of test sample -----	294
2) Betaine contents -----	294
3) Weight gains and liver weight -----	294
4) Chemical composition and enzyme activity of blood -----	295
5) Chemical composition and enzyme activity of liver tissue -----	298

Section 4. Experiment brewing methods of *Lycii* fructus and

grape wine -----	302
1. Materials and methods -----	302
A. Experimental materials and methods -----	302
1) Materials -----	302
2) Brewage methods of fruit liquor -----	302
3) Methods -----	308
2. Results and discussion -----	309
A. Experimental results -----	309
1) Alcohol contents -----	309
2) Reducing sugar contents -----	309

3) pH	310
4) Organic acid contents	312
5) Total phenolic compounds contents	313
6) Quantitative descriptive analysis(QDA)	315
7) Summary	319

Section 5. Functional properties of fermented *Lycii fructus*

liquor	320
1. Materials and methods	320
A. Zeaxanthin and betain analysis	320
1) <i>Zeaxanthin</i>	320
2) Betaine analysis with Ion-exchange method	320
B. Animal test method	320
1) Materials	320
2) Methods	321
3) Blood cholesterol measurement	322
2. Results and discussion	324
A. Zeaxanthin and Betain contents in <i>Lycii fructus</i> liquor	324
1) Zeaxanthin content	324
2) Betaine content	324
B. Blood cholesterol lowering and fat-liver preventing effect of <i>Lycii fructus</i> liquor	325
1) Results of 1st experiment	325
2) Results of 2nd experiment	329
3) Dose dependency of the effects on <i>Lycii fructus</i> liquor solid feeding	332

Chapter 4. Achievements and contribution of the research	-----335
Chapter 5. Application plan for the results	-----336
Chapter 6. Literature	-----338

목 차

요약문	-----247
제 1 장 연구개발과제의 개요	-----263
제 1 절 연구의 필요성	-----263
1. 기술적 측면	-----263
2. 경제·산업적 측면	-----263
3. 사회적·문화적 측면	-----263
제 2 절 연구의 내용 및 범위	-----265
제 2 장 국내외 기술개발 현황	-----266
제 1 절 국내외 구기자 기능성 연구 현황	-----266
제 2 절 국내외 구기자 제품의 개발현황	-----267
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	-----268
제 1 절 씨 적은 구기자, 구기엽, 지골피 부위별 건조 가공 조건 및 기능성 연구	-----268
1. 실험방법 및 내용	-----268
가. 건조가공 실험	-----268
1) 실험 재료	-----268
2) 건조 실험	-----268
(1) 열풍건조 방법	-----268
(2) 동결건조 방법	-----268
(3) 건조구기자의 복원력 실험	-----268
3) 구기자의 Mineral 분석	-----269
2. 결과 및 고찰	-----269
가. 구기자의 건조특성	-----269
1) 열풍건조에 의한 건조 특성	-----269
2) 동결건조에 의한 건조 특성	-----271
3) 건조방법에 따른 구기자의 복원력	-----272
4) 구기자 부위별 Mineral 분석	-----274

제 2 절 Zeaxanthin과 구기자 추출물의 간기능 보호효과	275
1. 실험방법 및 내용	275
가. Zeaxanthin 함량분석	275
1) 실험재료	275
2) 실험방법	276
나. 구기자 추출물이 간세포 증식에 미치는 영향	277
1) 실험재료	277
2) 실험방법	278
2. 결과 및 고찰	279
가. 원산지별 구기자 zeaxanthin 정량	279
1) Extinction coefficient에 의한zeaxanthin 함량	279
2) HPLC법에 의한 zeaxanthin 함량	279
나. 구기자 추출물이 간세포 증식에 미치는 영향	280
1) 간세포 배양	280
2) 간독성 유도 및 증식효과	280
제 3 절 씨 적은 구기자 즙의 간 기능 활성화에 관한 연구	284
1. 실험방법 및 내용	284
가. 간세포 독성 보호효과 실험 방법	284
1) 실험재료	284
2) 실험방법	284
나. 동물실험에 의한 간독성 보호효과 실험 방법	285
1) 실험재료	285
2) 실험방법	286
3) 검체의 간 독성 보호효과 분석	287
다. 효소시료의 제조	289
1) 혈청	289
2) 간	289
2. 결과 및 고찰	290
가. 세포 배양 실험에 의한 간세포독성 보호효과 분석	290
1) Betaine 농도별 간세포 증식에 미치는 영향	290
2) 생구기자 물 추출물의 간세포 증식에 대한 영향	291
3) 열풍 건조 구기자 물 추출물의 간세포 증식에 미치는 영향	292

나. 동물 실험에 의한 간 독성 보호효과 분석	294
1) 시료의 단백질 및 환원당 함량	294
2) 시료의 Betaine 함량	294
3) 체중 증가량 및 간 무게의 변화	294
4) 혈청의 화학성분 및 효소활성 분석	295
5) 간 조직중의 화학성분 및 효소활성 분석	298
제 4 절 구기주 발효기술 연구	302
1. 실험방법 및 내용	302
가. 실험재료 및 방법	302
1) 실험재료	302
2) 과실주 제조 방법	302
3) 실험방법	308
2. 결과 및 고찰	309
가. 실험결과	309
1) 알코올 함량	309
2) 환원당 함량	309
3) pH	310
4) 유기산 함량	310
5) Total phenolic compounds 함량	313
6) 관능검사	315
7) 요약	319
제 5 절 구기자즙액의 발효과정 중 기능성 변화 연구	320
1. 실험방법 및 내용	320
가. 구기자주의 zeaxanthin 및 betain 함량측정	320
1) Zeaxanthin 함량측정	320
2) Ion-Exchange법을 활용한 betaine함량 측정	320
나. 동물 실험에 의한 구기자주 고형분의 혈중 콜레스테롤 저하 및 지방간 예방 효과분석 실험	320
1) 실험재료	320
2) 실험방법	321
3) 검체의 혈중 콜레스테롤 저하효과 분석	322

2. 결과 및 고찰-----	324
가. 구기자주의 zeaxanthin 및 betain 함량 -----	324
1) Zeaxanthin 함량 -----	324
2) Betaine 함량 -----	324
나. 동물 실험에 의한 씨 적은 구기자주 고형분의 혈중 콜레스테롤 및 지방간 예방효과-----	325
1) 1차 실험결과 분석(구기주와 구기주스 고형분의 콜레스테롤 저하 및 지방간예방 효과 분석) -----	325
2) 2차 실험결과 분석(구기주 농도별 콜레스테롤 저하 효과 분석) ---	329
3) 구기자주 고형분 투여 농도에 따른 기능성 변화 -----	332
 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	335
 제 5 장 연구개발결과의 활용계획 -----	336
 제 6 장 참고문헌 -----	338

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구의 필요성

1. 기술적 측면

구기자의 효능에 대한 국내 연구 결과를 보면 몇몇 기관들에서 분석한 결과를 제외하곤 여전히 부족한 상태이다. 중국이나 옛 선인들의 연구결과에 의하면 구기자의 효능은 참으로 대단한 것이며, 만병통치약으로 불려 질 정도였다. 하지만, 체계적인 연구결과 미흡으로 아직 구기자와 그 제품의 국내 판매 현황은 미흡한 편이다.

최근 수입되는 제품들이 효능 면이나 각종 유통과정상 많은 문제점들을 가지고 있어 국내산 중에서 효능및 수확량 측면에서 탁월한 종자를 개량해서 대중화시킨다면 농가 특용작물로서 농민 소득증대에 기여함은 물론 건강증진을 원하는 소비자들의 욕구도 충족시킬 수 있다. 그런 측면에서 청양 구기자 시험장에서 개량시킨 씨 적은 불로 구기자의 가공특성과 생리기능성을 연구할 필요가 있다.

구기자는 항균, 항암, 항산화효과, 면역증진 효과, 간 기능개선, 혈압 강하와 항당뇨효과, 혈중 콜레스테롤 저하 효과 등 다양한 효과를 가지고 있어 만병통치약이라 지칭될 정도로 다양한 효과를 가지고 있다. 하지만 그 효과가 나타나기 위해서는 꾸준히 복용해야 하는데, 그렇기 위해서는 다양한 제품으로 만들어져서 많은 사람들이 이를 활용할 수 있는 여건을 만들어야 한다. 하지만 현재 만들어져서 시판되고 있는 제품들은 특정부분에 국한되고 그 효과에 대한 연구 결과도 미흡한 현실이다. 그렇기 때문에 경쟁력을 가지기 위해서는 구기자의 제품특성별 효능과 제품 홍보에 대한 보다 더 다각적인 노력이 필요하다.

2. 경제·산업적 측면

구기자는 제배 및 수확과정에서 인력을 많이 필요로 하고, 각종 병충해로 인해 수확량도 고르지 못하기 때문에 농가 수입 면에 있어서도 다른 작물에 비해 좋은 형편은 아니다. 그렇기 때문에 많은 연구 결과를 바탕으로 하는 좋은 제품들이 많이 만들어져서 고 부가가치 품목으로 성장하지 않으면 감소 추세는 계속되리라 생각한다.

다양한 가공기술을 개발하여 지금까지 이용이 제한되었던 부분까지 활용을 해서 제품을 생산한다면 만병통치약이라 지칭될 만큼 많은 효용을 지닌 구기자는 Well-being시대의 흐름에 부응하는 각광받는 품목으로 성장할 수 있을 것이다.

3. 사회·문화적 측면

최근 많은 사람들이 건강에 대해서 생각하게 되고, 건강을 유지할 수 있는 제품들을 선호하는 현실이다. 이런 사회적 측면을 고려 할때 구기자의 효능에 대한 정확한 분석과 구기자 제품의 효능에 대한 동물실험, 임상실험의 결과를 바탕으로 하는 대 국민 홍보활동을 극대화 시킨다면 충분히 수요창출을 극대화 시킬 수 있다고 생각한다.

제 2 절 연구의 내용 및 범위

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도	• 건조가공 실험 • 구기 잎, 껍질 열매 부위별 기능성 성분분석 및 간기능 효과에 관한 연구 • Zeaxanthin 정량 • Mineral 성분 분석 • 시료의 간세포 증식에 미치는 영향 측정 • 간세포 독성에 대한 시료의 보호효과 측정	• 열풍건조, 동결건조 • HPLC로 성분분석 • 습식법을 사용 • GPT 활성도는 Retiman-Frankel법으로 LDH활성도는 Berga-broid 법으로 함
2차 년도	• 간세포 분리 배양 • 구기자즙의 간 기능성 성분 분석 및 효과 • 효소시료의 조제	• 에탄올로 분리하여 insuit collagenase perfusion 법으로 실험군을 4개군으로 실험 • 동물실험을 통한 성분분석 • 간 조직을 절편으로 만들어 여러 가지 효소로 활성을 알아봄
3차 년도	• 구기자즙액의 발효과정 중 기능성 변화 연구	• 혈장, 간장, 지방조직 및 분변채취 • 혈장 중의 지질분석 • 간장 및 지방조직 중 각종 지질 정량 • Lipoprotein 분획

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국·내외 구기자 기능성 연구현황

구기자 나무는 생약명으로 열매를 구기자(Lycii fructus), 뿌리의 껍질을 지골피(Lycii cortex), 잎을 구기엽(Lycii folium), 어린순을 천정초(天精草)라 부른다. (허준, 1987). 구기자는 예로부터 그 성질과 효능에 관해 상세히 전해 지는데, 지골피는 강장해열, 폐결핵 및 당뇨병 치료에 쓰이고, 열매인 구기자는 술에 다막 역시 강장약으로 쓰며, 잎은 나물로 하거나 차로 달여 먹으면 강장 효과가 있다. (박원중; 문교부: 한국동식물도감, 1974)

구기자에는 Betain, β -carotene, cholesterol, cinnamic acid, citrostadienol, cryptoxanthin, cycloartanol, cycloeucalenol, glycine, hyoscyamine, α -loneone, lanosterol, cis-9, cis-12-linoleic acid, nicotinic acid, physalinen(=Zeaxanthin dipalminate), vitamin B₁, vitamin B₂ 등이 함유되어 있으며(jian,1997), 구기엽에는 cytidylic acid B, hypoxanthine, inosine, pyroglutamic acid, β -sitosterol- β -D-glucoside, uridylic acid등이 함유되어 있다(chinene Medicine Dictionary, 1979). 지골피에는 항균성을 지닌 cinnamic acid(Yubin,1995)와 hentriacontic acid, kukoamine A(혈압 강하작용), cis-9, cis-12-linoleic acid(항고콜레스테롤), linoleic acid, β -sitosterol등이 존재한다(jian, 1997). Betain 은 중성의 수용액에서 양쪽성을 가지는 4급 아민의 저분자 물질로 식이로부터 직접 또는 체내 choline 의 비가역적인 산화과정을 통하여 공급된다. 초기에 생체의 waste product로 알려졌으나 현재까지 구조적으로 S-adenosylmethionine (SAME)과 생리 기능적으로 choline, folic acid, vitamin B₁₂와 매우 유사하여 다양한 생리학적, 생화학적 및 양리학적 역할이 보고되고 있다(Selhub, 1999; Barak et al., 1983).

구기자의 약리학적 연구로는 혈중 지질 저하 효과(김희선, 1998), 유해산소 및 알코올의 해독효과(윤종국, 2001), 간 보호효과 및 고지혈증 병태모델 혈청지질의 상승억제효과(김남재, 1994), 그리고 혈당 강하작용(김경순, 1998)등이 보고되었다.

제 2 절 국·내외 구기자 제품의 개발 분야

구기자 제품으로는 주로 충남 청양과 진도등에서 특화되어 판매되고 있다. 구기자 한과, 구기자 환(백세 구기환, 백세구기환 골드), 구기자 한방차(티백, 분말차, 현미티백), 구기주(둔송 구기주, 7.4주), 알구기자, 구기자 떡(가래떡, 솔곶감떡) 등 다양한 형태의 제품들이 시판되고 있다. 특히, 차 부분과 술 분야에서 연구가 활성화 되고 있다. 구기자는 독특한 쓴맛을 가지고 있고, 구기자 단일 제품을 가지고 담은 구기주는 기호도 부분에서 포도주나 다른 술 제품에 비해 선호도가 떨어지기 때문에 이러한 문제를 극복할 수 있는 연구가 필요하다 따라서 구기자 단독 가공품의 개발도 중요하지만 다양한 제품의 첨가제로 쓰이는 제품의 개발이 선행되어야 한다. 예를 들면, 국수, 냉면, 음료 등에 첨가제로 쓰이는 구기자 제품이 개발이 필요하다.

구기자의 가공은 주로 열매 혹은 잎을 건조시켜 차의 형태로 이용되고 있으나 구기자의 맛과 향을 강기간 보존하기 위해 예로부터 술을 담그는 방법이 이용되기도 했다. 우리나라의 과실주는 전통적으로 양조곡주를 빚을 때 과실류를 첨가하는 것으로 일종의 가향주(加香酒)와 비슷한 개념으로 볼 수 있으며 약용의 목적이나 별미를 맛보기 위해 이용되었다. 전통 구기자주 역시 곡주에 구기자를 첨가해 만든 약용곡주와 알코올을 첨가해 만든 침출주의 형태가 대부분이었다. 이들 전통 구기자주는 쓴맛이 강하고 기호성이 낮아 그 제조 이용이 미미한 수준에 머물러 있다.

그러나 최근 식생활의 서구화와 기능성 음료에 대한 요구가 증대하면서 포도주, 복분자주, 등 건강 지향형 과실주에 대한 관심이 커지고 있다. 따라서 구기자의 건강 기능성을 살린 맛있고 상품성 있는 구기자 양조법의 개발이 시급하다.

아직 구기자에 대한 활용은 한국, 중국 등 일부 국가에 제한되어 있어 일본이라든지 미국과 같은 나라에서는 그 효용에 대해서 잘 알고 있지 않은 현실이다. 그렇기 때문에 구기자의 효능을 바탕으로 한 다양한 제품을 개발하게 된다면 국제적으로 충분히 시장개척이 가능한 품목이라 생각한다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 씨 적은 구기자, 구기엽, 지골피 부위별 건조가공 조건 및 기능성 연구

1. 실험방법 및 내용

가. 건조가공 실험

1) 실험 재료

구기자는 충남 청양 구기자 시험장에서 재배하여 수확한 2003년산 구기자를 제공 받아 열풍 및 동결건조 실험에 사용하였고, 생구기자는 장기간 보존성을 위해 -70℃ 냉동고에 보관하였다.

2) 건조 실험

(1) 열풍건조 방법

열풍건조는 J-NDS1 dry oven(Jisico, USA)에서 50℃, 60℃, 그리고 70℃의 온도에서 실시하였고, 4시간 단위로 중량을 확인하여 적정 건조 상태를 파악하여, 각각 48시간, 44시간, 36시간 건조하여 제조하였다.

(2) 동결건조 방법

동결건조구기자는 동결건조기SFDSM06(Samwon, Korea)로 10mtorr의 기압에서 plate온도 -20℃, 72시간 건조하여 제조하였다.

(3) 불로 건조구기자의 복원력 실험

① 복원력 분석

불로 건조구기자 1g을 각각 20℃, 50℃, 90℃온도의 물 100ml에 넣고 일정시간 간격으로 복원된 구기자 무게를 칭량하여 복원 속도를 계산하였다.

② 추출물의 환원당, 단백질, Betain 함량 분석

건조방법(동결, 열풍), 추출온도(20℃, 50℃, 90℃), 추출시간에 얻어진 추출물에 대하여 DNS법으로 환원당은 분석하였고, 단백질은 Bradford법으로, Betaine 함량은 식품첨가물공전(1998)에 따라 분석하였다.

3) 구기자의 Mineral 분석

Mineral은 원자흡광 분석법을 사용하여 측정하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 구기자의 건조특성

1) 열풍건조에 의한 건조 특성

열풍건조의 경우 고온인 70°C에서의 최초 4시간동안 수분의 증발량이 31.24g/ 100g으로 가장 많았으며, 저온인 50°C에서는 18.55g/100g으로 초기의 수분 증발량이 적었고, 60°C에서는 그 중간 값인 29.33g/100g이 되었다. 결과적으로 저온 일수록 건조시간이 많이 소요되었는데, 50°C에서는 48시간, 60°C에서는 44시간, 70°C에서는 36시간이 소요됨을 알 수 있었다. 건조 종료 후의 중량은 50°C 19.11g/100g, 60°C 18.47g/100g, 그리고, 70°C 에서 17.90g/100g을 나타내었다.

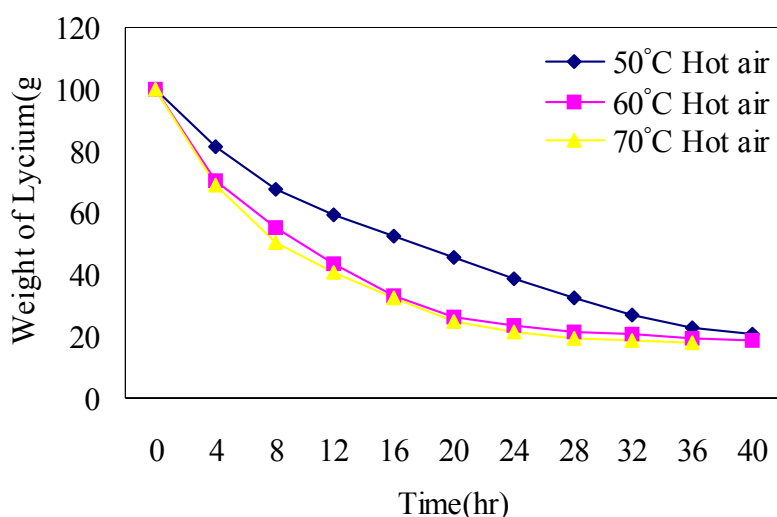


Fig.1. Changes in weight of *Lycium* during drying in different hot-air temperature

50°C



60°C



70°C



Fig. 2. Appearances of dried *Lycium* in different hot-air temperature.

2) 동결 건조에 의한 건조 특성

동결 건조시 생구기자 대비 18.93%의 건조구기자를 획득할 수 있었다. 건조후의 형태가 최초 생구기자와 동일하게 유지하여 육안으로 관측시 매우 좋은 상태를 보였으나, 당이 많은 관계로 쉽게 동결건조가 되지 않고, 건조간 표면에 기포가 완전히 건조가 되지 않은 경우가 많았다. 열풍건조에 비해 생구기자의 원형이 그대로 보존되어 있었다.

Table 1. Changes in weight of freeze dried *Lycium*

unit: g

Average	A			B			C		
	before	after	%	before	after	%	before	after	%
18.93 %	129.07	24.14	18.70	129.03	24.98	19.36	131.95	24.72	18.73



Fig. 3. Appearances of freeze dried *Lycium*

3) 건조방법에 따른 구기자의 복원력

(1) 복원력

건조 방법(동결, 열풍)에 상관없이 물의 온도가 높을수록 복원율이 높게 나타났다는데 동결건조 구기자의 경우 열풍건조 구기자에 비해 복원속도가 훨씬 높았으며, 낮은 온도에서도 높은 복원력을 나타내었다.

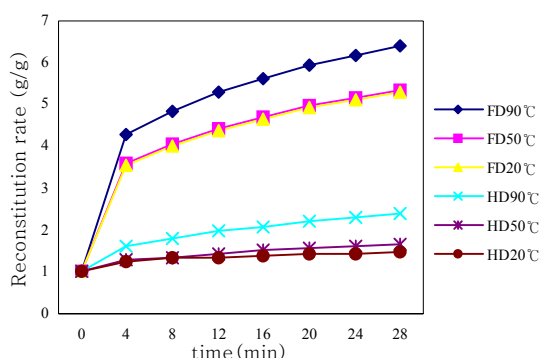


Fig. 4. Reconstitution rate of dried *Lycii fructus* at 20, 50 and 90°C water.
(HD: hot air dried, FD: freeze dried)

(2) 추출물의 환원당 함량

추출초기의 환원당은 많은 차이가 보여주었는데 90°C에서 추출한 동결건조구기자의 경우 4분간 추출 시 $721.68\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 20°C의 $382.52\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 비해 대략 2배 정도가 추출되었다. 동결건조 구기자는 최초 4분간 20°C에서 $382.52\mu\text{g}/\text{ml}$, 50°C에서 $635.77\mu\text{g}/\text{ml}$, 90°C에서 $721.68\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 환원당이 추출되었으며, 열풍건조구기자는 $200.12\mu\text{g}/\text{ml}$, $278.82\mu\text{g}/\text{ml}$, $353.07\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 비해 2배가량 높음을 알 수 있었다. 그러나 90°C의 고온에서 28분간 추출 시에는 열풍건조구기자가 $914.57\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 불로 동결건조구기자의 $1078.18\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 비해 차이가 없음을 알 수 있었다.

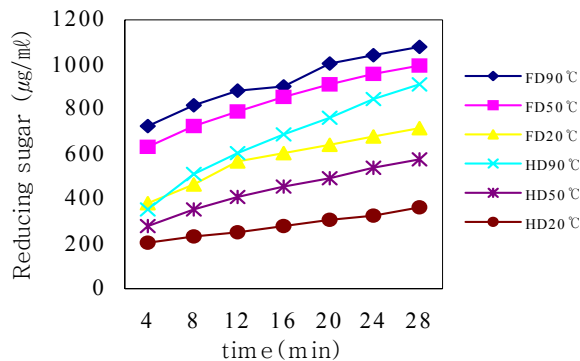


Fig. 5. Extration rate of reducing sugar of dried *Lycii fructus* at 20, 50 and 90°C water.
(HD: hot air dired, FD: freeze dried)

(3) 추출물 단백질 측정

건조 방법(동결, 열풍)에 상관없이 물의 온도가 높을수록 추출되는 단백질량이 높게 나타났으며 특히 추출초기의 단백질은 많은 차이가 발생하였다. 90°C에서 추출한 동결건조구기자의 경우 4분간 추출 시 10.76μg/ml으로 20°C의 3.67μg/ml에 비해 거의 3배가 추출되었다. 동결건조구기자의 경우 최초 4분간 20°C 3.67μg/ml, 50°C 7.25μg/ml. 90°C 10.76μg/ml으로 불로 열풍건조구기자의 2.86μg/ml, 4.47μg/ml, 3.99μg/ml에 비해 1.5-2.5배가량 높음을 알 수 있었다.

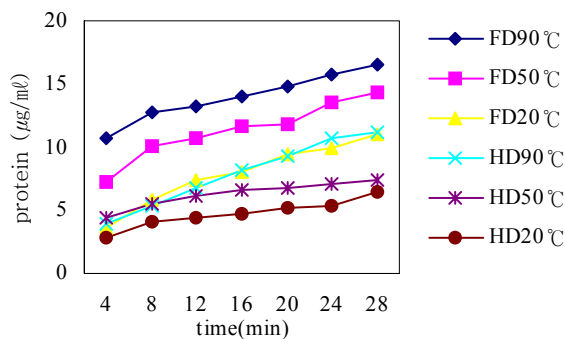


Fig. 6. Extration rate of protein of dried *lycium* at 20, 50 and 90°C water.
(HD: hot air dired, FD: freeze dried)Fig.

(4) 추출물의 Betaine 함량

건조 방법(동결, 열풍)에 상관없이 물의 온도가 높을수록 betaine의 추출율이

높게 나타났다. 동결건조 구기자의 경우 열풍건조 구기자에 비해 추출율이 다소 높았다.

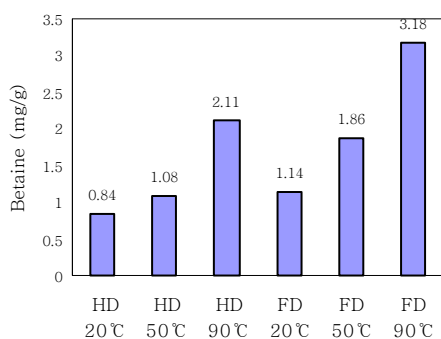


Fig. 7. Betaine content of extract based on the drying and extract methods.

4) 구기자의 부위별 Mineral 분석

구기자의 무기성분 중 열매의 경우 K(4398mg/kg), P(548.9mg/kg), Mg(125.5mg/kg)순으로 많았고 잎의 경우 K(7623.8mg/kg), Ca(3355.2mg/kg), Mg(1510.2mg/kg), P(14.9mg/kg)순 이었다. 뿌리의 경우 Ca(5072.6mg/kg), K(3924.3mg/kg), P(2030.1mg/kg) 순이며 세 부분 모두 Zn, Fe, Mn등이 미량 존재하였다.

제 2 절 Zeaxanthin과 구기자 추출물의 간기능 보호효과

1. 실험방법 및 내용

가. Zeaxanthin 함량분석

1) 실험재료

(1) 구기자

구기자는 시중에서 얻을 수 있는 원산지별(진도, 북한, 중국) 건조구기자 3종과 청양구기자 시험장의 불로 생(건)구기자를 사용하였으며 저장은 건조구기자 4℃ 냉장과 불로생구기자 -20℃ 냉동으로 보관하였다.

(2) 실험 기기 및 시약

본 연구에서 사용한 HPLC system은 Hewlett Packard 110을 사용하였고 μ -Bondapak C18 (3.9×300mm) Column을 사용하였다. 분석 조건은 Table 2.와 같다(Granado et al., 1992; Nelis et al., 1983). 시약은 Zeaxanthin standard는 Indofine사에서 구입하였으며 Hexane, Methanol, Acetonitrile, Iso-propanol은 J.T. Baker사(USA)에서 구입하여 실험에 사용하였다. DCM(Dimethylene chloride), EtOH은 일급시약이며 BHT(Butylated hydroxyltoluene, SIGMA, USA), Filter paper(No. 1, Whatman)등을 사용하였다.

Table 1. HPLC Condition for analysis of Zeaxanthin

Items	Conditions
Instrument	Hewlett Packard 110(Agilent)
Column	μ -Bondapak C18 (3.9×300mm) Column
Eluent	Acetonitrile(ACN):Methanol(MeOH)=85:15
Detector	VIS detector at 450nm
Flow rate	1.0ml/min → 1.8ml/min(9.0min) → 1.0ml/min(20.0min) → 1.0ml/min(25.0min)
Injection Volume	50 μ l
Column Temp.	20℃

2) 실험방법

(1) Zeaxanthin 정량 방법

① Extinction coefficients의 결정

분광광도계(spectrophotometer)를 이용해 Zeaxanthin standard의 absorption spectra를 측정하고, 측정된 최대 흡광파장인 450nm에서 농도에 따른 흡광도(O.D.)를 측정하였다. Extinction coefficient는 Lambert-Beer's law에 따라 linear regression에 의해 구하였으며 Regression coefficient는 $r=0.96$ 에서 $r=1.00$ 범위에 오는지 확인하였다.

i. $A = \epsilon \times b \times c$ - 식.(1) (Lambert-Beer's law)

(A : Measured absorbance, ϵ : Wavelength-dependent molar absorptivity coefficient ($M^{-1}cm^{-1}$)

b : Path length (1cm), c : Analytic concentration)

② Zeaxanthin 의 extinction coefficient와 standard curve

Zeaxanthin standard의 absorption spectra는 Fig. 5.와 같다. Fig. 5.에 의하면 용매 Dichloromethane에서 zeaxanthin의 λ_{max} 는 450nm으로 확인 되었다. 식.(1) Lambert-beer's Law에 의한 zeaxanthin 농도와 O.D.값과의 관계는 Fig. 5.와 같고 이를 통해 구한 zeaxanthin의 extinction coefficient는 $E^{M^{-1}cm^{-1}}=134,607(\lambda_{max}=450, \text{ Dichloromethane})$ 이다.

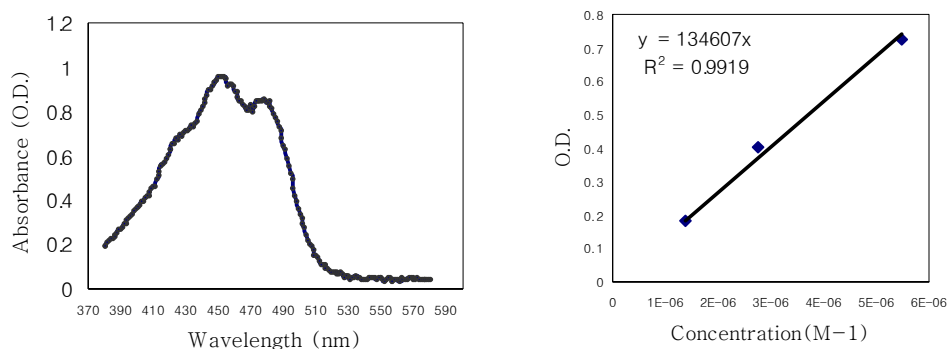


Fig. 5. Absorption spectra(left) and standard curve(right) of zeaxanthin standard

위에서 구한 extinction coefficient를 이용하여 zeaxanthin equivalent를 정량하는 식은 식.(2)와 같다

$$\text{Zeaxanthin content (g/ml)} = \frac{X(\text{O.D.}) \times \text{M.W.}}{E^{M-11\text{cm}} \times 1000} \quad - \text{식. (2)}$$

X : Sample의 O.D. 값

$E^{M-11\text{cm}}$: Zeaxanthin의 extinction coefficient(134,607)

M.W. : Zeaxanthin의 분자량 (568.88)

(2) 구기자 핵산 추출물 제조

마쇄한 시료 2g에 물 5ml와 EtOH(0.1M BHT) 5ml를 섞는다. 그리고 hexane을 200ml 넣고 빛을 차단한 채 탈색될 때까지 교반하며 12시간 동안 두 번 반복 추출하였다. 추출된 hexane을 원심분리(10,000×g, 15분)하여 상등액 hexane층만을 모았으며 모아진 hexane extract는 rotatory evaporator로 감압농축하였다. 잔존물을 20ml hexane으로 다시 녹이고 -20℃ 어두운 곳에서 보관하여 실험에 사용하였다(Ancha et al., 1998; Arun 2001).

(3) 핵산추출물의 검화 방법

추출물 0.5ml에 0.5ml EtOH(0.1M BHT)과 6N KOH(dissolved in MeOH) 0.5ml를 넣어 혼합하였다. 빛을 차단하고 15시간동안 약하게 shaking하며 incubation한 후 1ml 물과 3ml hexane을 넣고 30초간 vortex하였다. 그리고 원심분리(2500rpm, 15분)하여 상등액 hexane phase를 분리하고 Hexane phase중에 잔존하는 염을 제거하기 위해 물로 2회 washing하였다. 남은 추출용매를 N₂ gas로 증발시키고 1ml의 HPLC eluent에 녹여 filtering하고 분석하였다(Granado et al., 2001; Qing et al., 2002).

(4) HPLC에 의한 zeaxanthin의 정량

①. Peak 확인

표준물질과 머무름 시간(Retention time: T_R)의 비교를 통해 peak를 확인하였다(Oliver et al., 2000).

②. Zeaxanthin standard의 회귀곡선 작성

Column에 injection하여 얻은 relative peak area와 농도사이 관계의 회귀곡선을 작성하였다.

나. 구기자 추출물이 간세포 증식에 미치는 영향

1) 실험재료

(1) DMEM media

DMEM/F-12, 1.2g/L sodium bicarbonate, 0.055g sodium pyruvate, 1ml insulin-transferrin-sodium selenite media supplement, 40 μ g/ml dexamethasone, 1ml gentamicin, 10% FBS(fetal bovine serum)를 혼합 후 pH 7.4로 조정하여 사용하였다.

(2) MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) solution MTT(Sigma)를 PBS(phosphate buffered saline)에 2mg/ml의 농도로 녹인 후, 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 사용하였다.

(3) cell line: AML12(origin-rat(6주) liver cell)

(4) GPT, GOT kit(Sigma Diagnostic)

2) 실험방법

(1) 세포배양 및 계대

AML12 cell을 튜브에 옮긴 후 DMEM media 9ml을 넣고 원심분리(125×g, 6분)하였다. 분리된 DMEM media를 제거한 후 9ml의 DMEM을 넣고 suspension 하였다. Dish 3장에 7ml의 DMEM media를 넣은 후 suspension한 AML12 cell을 3ml씩 분주하고 5% CO₂ gas incubator(37℃)에서 배양하였다.

(2) 간세포에 대한 구기자 추출물의 생육 측정

CCl₄ 유도세포에 대한 구기자 추출물의 억제효과를 검색하고자 간세포가 용기표면에 부착하도록 배양한 후 confluency에 도달하면 배지상의 CCl₄ 농도를 각각 0.5mM, 2.0mM, 5mM, 10mM, 20mM로 맞추고 5% CO₂(37℃) incubator에서 2시간 배양하여 MTT assay를 실행하였다. Cell counting은 Hemocytometer로 측정하였다.

(3) 간세포 독성에 대한 시료의 보호 효과 측정

GPT, GOT 측정방법은 Sigma Diagnostics Procedure No. 505에 따라 실행하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 원산지별 구기자의 Zeaxanthin 정량

1) Extinction coefficient에 의해 구한 원산지별 구기자의 Zeaxanthin 함량

Extinction coefficient에 의해 구한 원산지별 구기자의 zeaxanthin의 함량은 Fig. 8과 같다. Zeaxanthin의 함량은 각 원산지별 건조구기자, 생구기자의 dry mass basis를 기준으로 하였다. Fig. 6에 따르면 각 원산지별 건조구기자는 청양산($2119.4 \pm 231.7 \mu\text{g/g}$), 북한산($2109.9 \pm 245.1 \mu\text{g/g}$), 중국산($2214.8 \pm 605.8 \mu\text{g/g}$)이 오차 범위 내에서 비슷한 값을 보였고, 진도산($1570.6 \pm 230.7 \mu\text{g/g}$)은 다른 원산지의 구기자보다 다소 낮은 함량을 보였다. 생구기자는 $2821.0 \pm 401.6 \mu\text{g/g}$ 을 함유하고 있어 기타 건조구기자보다 약 30%많은 zeaxanthin을 함유하고 있는 것으로 분석되었다. 이와 같은 현상이 일어나는 것은 건조와 저장과정 중에 zeaxanthin과 zeaxanthin ester의 파괴가 상당부분 진행되는 것으로 추측된다.

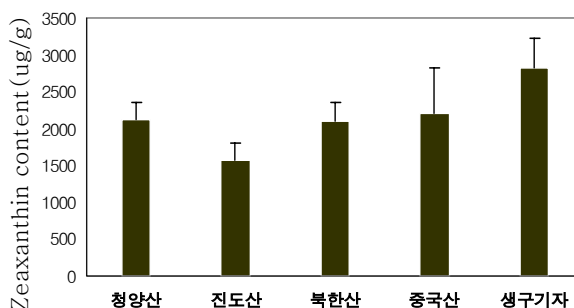


Fig. 8. Zeaxanthin contents in *Lycii fructus* hexane extract measured by spectrophotometer(dry mass base)

2) HPLC법에 의한 원산지별 구기자의 zeaxanthin 함량

Fig. 9.은 앞서 보고한 방법들을 이용해 각 원산지별 구기자의 zeaxanthin 함량 측정 결과 정리한 것이다. 검화(Saponification) 후에 spectrophotometer에 의해 측정된 zeaxanthin의 함량은 청양산($498.5 \pm 139.3 \mu\text{g/g}$), 북한산($556.2 \pm 222.2 \mu\text{g/g}$), 중국산($552.6 \pm 180.32 \mu\text{g/g}$), 생구기자($510.7 \pm 118.7 \mu\text{g/g}$)가 비슷하게 나타났고 진도산($405.0 \pm 45.8 \mu\text{g/g}$)은 약간 작은 값을 나타내었다. 이 값을 비검화 hexane extract의 zeaxanthin 함량과 비교해보면 상당한 zeaxanthin의 loss가 일어났음을 알 수 있었다.

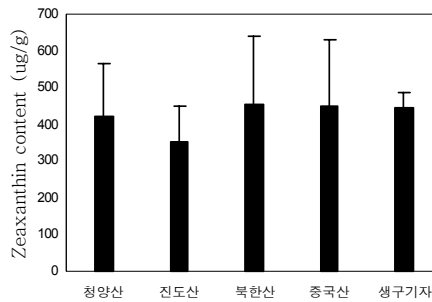


Fig 9. Zeaxanthin contents in saponified *Lycii fructus* hexane extracts.

나. 구기자 추출물이 간세포 증식에 미치는 영향

1) 간세포 배양

간세포 AML12의 초기배양농도는 1×10^6 cells/ml이고 confluency에 도달하면 6×10^6 cells/ml로 나타났다.

2) 간세포 독성유도 및 증식 효과

(1) 사염화탄소(CCl_4)에 의한 간독성 유발

간세포 AML12(1×10^6 cells/ml)에 0.02% EtOH와 0.5, 2, 5, 10, 20mM CCl_4 로 처리 시, 30~40%의 증식 억제효과를 나타내는 CCl_4 농도는 10mM로 나타났다

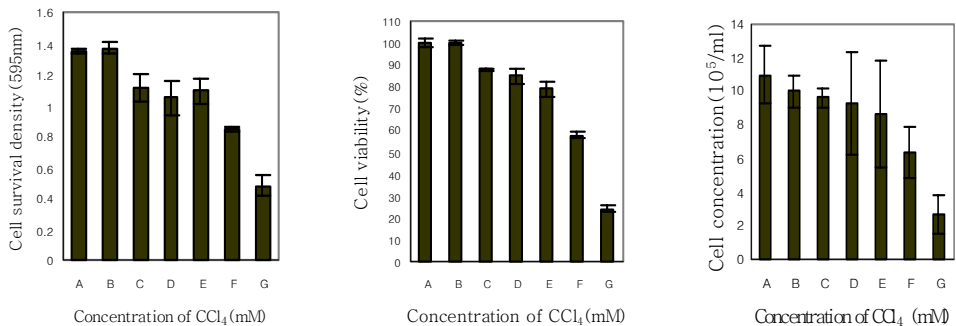


Fig. 10. Effect of CCl_4 concentration on MTT assay, cell counting, and cell viability of the AML12 cell cultured hepatocytes.

A: Control, B: EtOH(0.02%), C: CCl_4 (0.5mM), D: CCl_4 (2mM),
E: CCl_4 (5mM), F: CCl_4 (10mM), G: CCl_4 (20mM)

(2) Zeaxanthin 농도에 따른 간세포 증식 미치는 영향

간세포 AML12(1×10^6 cells/ml)에 0.02% EtOH과 0.01, 0.1, 0.5, 1 μ M zeaxanthin을 각각 첨가하여 배양한 결과 1 μ M zeaxanthin첨가시 뚜렷한 세포증식 촉진효과가 나타났다.

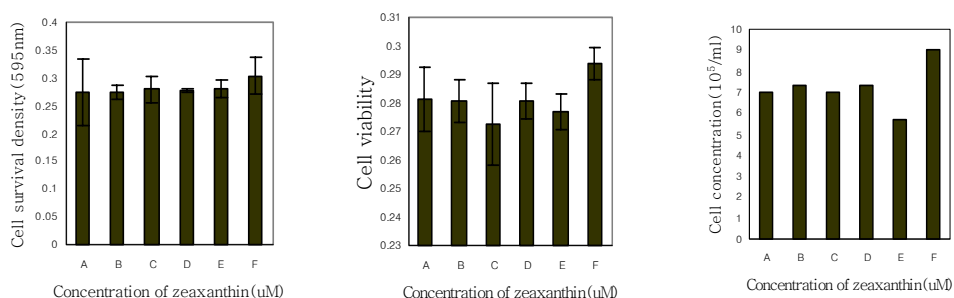


Fig. 11. Effect of zeaxanthin concentration on MTT assay, cell counting, and cell viability of the AML12 cell cultured hepatocytes.

A: Control, B: EtOH(0.02%), C: Zeaxanthin(0.01 μ M), D: Zeaxanthin (0.1 μ M), E: Zeaxanthin(0.5 μ M), F: Zeaxanthin(1 μ M)

(3) 생구기자 추출물의 간세포 증식에 대한 영향

10mM CCl_4 첨가로 대조군(1×10^6 cells/ml)에 비하여 50% inhibition된 간세포 AML12에 불로 생구기자 추출물을 처리 시, MTT assay에서 약 110% 재생 효과가 있었으며 세포수와(6×10^6 cells/ml) 세포활성 측정에서도 약 110% 재생이 일어났음을 확인할 수 있었다.

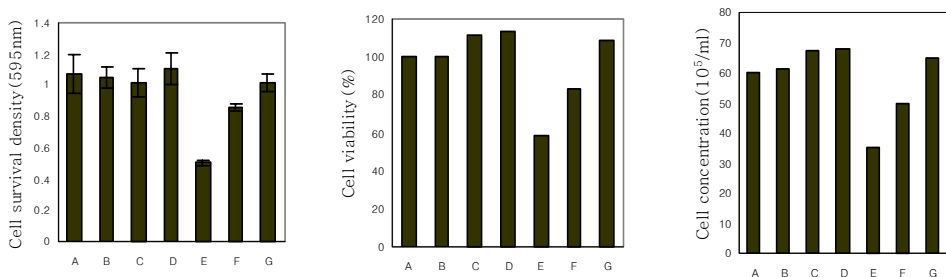


Fig. 12. Effect of Lycium concentration on MTT assay, cell counting, and cell viability of the AML12 cultured hepatocytes in toxicated with CCl₄.

A: Control, B: EtOH(0.02%), C: 1 μ M zeaxanthin, D: 생구기자,

E: 10mM CCl₄, F: 10mM CCl₄+1 μ M zeaxanthin, G: 10mM CCl₄+생구기자

(4) 열풍건조구기자 추출물의 간세포 증식에 대한 영향

10mM CCl₄ 첨가로 대조군(1 $\times$ 10⁶cells/ml)에 비하여 60% inhibition된 간세포 AML12에 열풍구기자 추출물을 처리 시, MTT assay에서 약 100% 재생 효과가 있었으며 세포수(6 $\times$ 10⁶cells/ml)와 세포활성 측정에서는 약 120% 재생이 일어났음을 확인할 수 있었다.

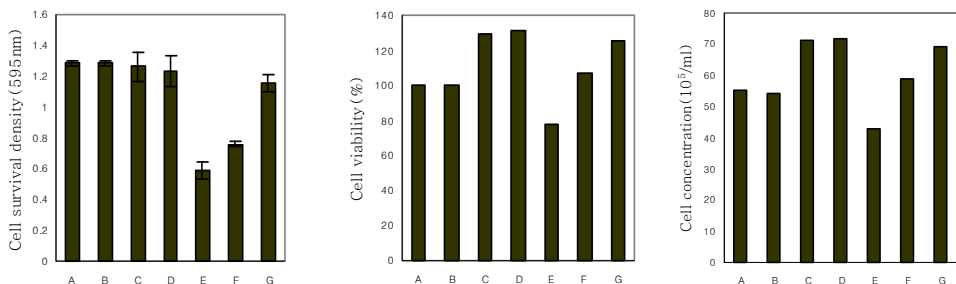


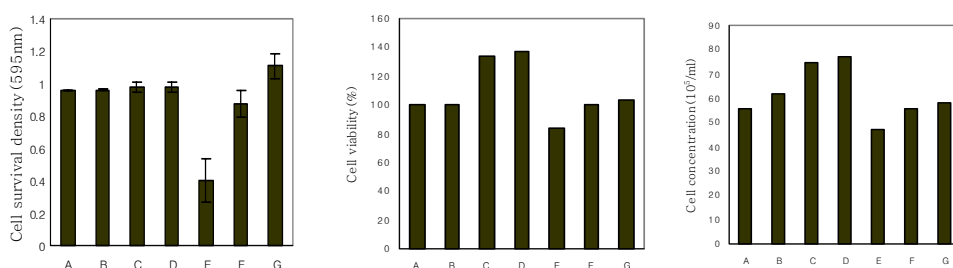
Fig. 13. Effect of heat dried-Lycium concentration on MTT assay, cell counting, and cell viability of the AML12 cultured hepatocyte toxicated with CCl₄

A: Control, B: EtOH(0.02%), C: 1 μ M zeaxanthin, D: 열풍건조구기자,

E: 10mM CCl₄, F: 10mM CCl₄+1 μ M zeaxanthin, G: 10mM CCl₄+열풍건조구기자

(5) 불로 동결건조구기자 추출물의 간세포 증식에 대한 영향

10mM CCl₄로 대조군(1×10^6 cells/ml)에 대하여 40% inhibition된 간세포 AML12에 불로 동결건조구기자 추출물을 처리 시, MTT assay에서 약 105% 재생 효과가 있었으며 Cell counting(6×10^6 cells/ml)과 cell viability 측정에서도 약 105% 재생이 일어났음을 확인할 수 있었다.



A: Control, B: EtOH(0.02%), C: 1 μ M zeaxanthin, D: 동결건조구기자,
E: 10mM CCl₄, F: 10mM CCl₄+1 μ M zeaxanthin, G: 10mM CCl₄+동결건조구기자

Fig. 14. Effect of freeze dried-Lycium concentration on MTT assay, cell counting, and cell viability of the AML12 cultured hepatocytes in toxicated with CCl₄.

제 3 절: 씨 적은 구기자즙의 간 기능 활성화에 관한 연구

1. 실험방법 및 내용

가. 간세포독성 보호효과 실험 방법

1) 실험재료

(1) 구기자

구기자는 충청남도 청양구기자 시험장에서 씨적은 구기자 품종으로 선별 육종한 불로(不老)구기자의 생과와 건조 구기자를 사용하였으며, 저장은 건조 구기자는 4℃에서, 생과는 -20℃에서 보관하였다.

(2) Cell Line

간세포인 AML12 cell(male, mouse)은 ATCC로부터 분주 받아 사용 전까지 -70℃에서 보관하였다.

(3) 실험시약

Betaine(Sigma, USA), MeOH, EtOH(J.T. Baker, USA), CCl₄ (Merk, Germany) 등의 일급시약을 사용하였다.

(4) Cell culture용 시약

배양액은 1L에 Dubecco's MEM-F12 medium(GIBCO), 10% fetal bovine serum(GIBCO), 0.055 g/L sodium pyruvate, 10^{-6} M dexamethasone, 10^{-7} M insulin(sigma), 50 µg/mL gentamycin sulfate를 혼합하여 제조하였고 cell viability를 측정하기 위하여 trypan blue(Sigma, USA)와 Hematocytometer, lysing solution(0.33 mL HCl in 100 mL isopropanol), MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) solution 을 사용하였다.

2) 실험방법

(1) 시료의 제조

불로 건조구기자 물 추출물 및 불로 생과즙을 1차년도와 동일하게 제조 및 보관하였다.

(2) 간세포 배양조건과 CCl₄ 독성 유발

일정한 습도와 온도가 유지되는 37℃ incubator에서 95% O₂와 5% CO₂의 혼

합기체를 공급해주면서 초기배양(1×10^5 cells/mL) 농도로 배양용기(24-well plate)에 배양하였다. CCl₄에 의한 간세포의 독성유도는 AML12 cell을 용기표면에 부착하도록 배양한 후 CCl₄를 10 mM 농도로 처리하여 인위적인 독성을 유발시켰다.

(3) Toxicity 측정

GPT(glutamic pyruvic transaminase)/GOT(glutamic oxaloacetic transaminase) 효소활성을 assay kits(아산제약, 한국)를 사용하여 측정하였다.

(4) Cell viability 및 MTT assay

Hemocytometer 로 cell counting하여 cell viability를 측정하였다. MTT assay의 경우, MTT(Sigma, USA)를 2 mg/ mL의 농도로 PBS(phosphate buffered saline)에 녹인 후 0.22 μ m membrane filter 를 이용하여 제균 한 뒤 배양된 세포에 100 μ l씩 처리하였다. 흡광도 595 nm에서 ELISA Reader를 사용하여 MTT assay 값을 측정하였다.

나. 동물실험에 의한 간독성 보호효과 실험 방법

1) 실험재료

(1) 시료

2003년 10월 충남 청양 구기자 시험장에서 재배하여 수확한 건과 불로구기자와 생과 불로구기자를 구입하여 불로구기자 물 추출물 (DE: dried fruit extract of *Lycium chinense*(Bulro)), 볶은 불로구기자 물 추출물(RE: roasted and dried fruit extract of *Lycium chinense*(Bulro)), 그리고 불로 생과즙(FJ: fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro))을 제조하는데 사용하였다.

(2) 시약 및 기기

T-CHO(total cholesterol), TG(triglyceride), 그리고 GOT(glutamic oxalacetic transaminase) assay kits는 아산제약(주)에서, LDH(lactate dehydrogenase)와 GPT(glutamic pyruvic transaminase) assay kits는 Sigma Diagnostics에서 구입하여 혈청 내 화학성분 및 효소활성을 측정하는 데 사용하였다. Betaine anhydrous, olive oil, glutathione, reinecke salt, ethanolamine(Sigma, USA), BSA(bovine serum albumin), 3,5-dinitrosalicylic acid(Across, USA), CCl₄(Merk, Germany), trichloroacetic acid, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(Kanto, JAPAN), 2-thiobarbituric acid, sodium hydrosulfite, rochelle salt 등을 본 실험에 사용하였다.

(3) 실험동물

생후 6 주된 SD(Sprague-Dawley, 150~200g)종 웅성 흰쥐를 대한바 이오링크(주)에서 구입하여 사용하였다. 이때 사육 환경은 항온 및 항습조건(온도 $22\pm0.5^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $55\pm5\%$)을 유지하고 명암을 인공조명에서 1 일 12 시간씩 교대하였다. 고형사료와 식수는 자유롭게 섭취하도록 공급하였다.

2) 실험방법

(1) 시료의 제조

블로구기자 물 추출물(DE)의 제조는 건과 블로구기자 1 kg을 물과 1:9 비율로 혼합하여 50°C 에서 2 시간 동안 추출하였고 여과 후 병입하였다. 병입물을 90°C 에서 15 분간 살균 및 급랭시켜 동결건조 전까지 -70°C 냉동보관 하였다. 붉은 블로구기자 물 추출물(RE)의 경우, 건과 블로구기자를 80°C 에서 5 분간 붉은 것을 제외하고는 블로구기자 물 추출물과 같은 과정으로 제조 및 보관하였다. 블로 생과즙(FJ)은 생과 블로구기자 1 kg을 정선 및 수세한 후 90°C 에서 40 초 동안 데치기 하여 착즙하였으며 착즙액을 85°C 에서 5 분 동안 가열하고 여과 후 병입하였다. 이 후의 과정은 블로구기자 물 추출물(DE)과 같은 방법으로 제조 및 보관하였다.

(2) 시료의 동결건조

블로구기자 물 추출물(DE), 붉은 블로구기자 물 추출물(RE), 그리고 블로 생과즙(FJ)을 rotary evaporator(Heidolph, Germany)를 이용하여 50°C 이하에서 농축하였다. 적당량의 농축액을 freeze dryer (Samwon, Korea)를 이용하여 완전 건조한 후 동물실험의 검체로서 사용하였다.

(3) 시료의 단백질 및 환원당 함량 측정

단백질의 정량분석으로는 Bradford 방법에 기초하여 측정하였다. 환원당의 정량분석으로는 환원당을 DNS(3,5-dinitrosalicylic acid)와 Rochelle salt로 발색하여 흡광도를 측정하는 DNS 방법으로 OD 640 nm에서 측정하였다.

(4) Ion-exchange 법을 이용한 시료의 베타인 함량 측정

블로구기자 물 추출물(DE), 붉은 블로구기자 물 추출물(RE), 그리고 블로 생과즙(FJ)의 베타인(betaine) 함량분석은 식품첨가물 공전 정량법을 이용하여 측정하였다(식품첨가물공전, 1998).

3) 검체의 간 독성 보호효과 분석

(1) 사육

SD(Sprague-Dawley, 150~200 g)종 음성 흰쥐를 한 실험군에 6 마리씩 배정하였다. 사육실의 온도와 습도는 각각 $22\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 와 $55\pm5\%$ 로 조절하였고, 사육식은 고형사료(조단백 20%, 조지방 4.5% 이상, 조섬유 6.0%, 조회분 7.0% 이하, 칼슘 0.5%, 인 0.5% 이상)를 물과 함께 자유로이 섭취케 하였다. 1주일간의 순화 사육과정을 거친 후 본 실험에 사용하였다.

(2) 검체 투여 및 CCl_4 를 이용한 급성 간 독성 유발

1 주간의 순화기간 후, 흰쥐 6 마리를 1 군으로 하여 사염화탄소 비투여 대조군(Control), 사염화탄소 단독투여군(CCl_4 -treated), 검체와 사염화탄소 투여군(2 g DFE /kg body weight + CCl_4 , 2 g RFE /kg b.w. + CCl_4 , 2 g FFJ /kg b.w. + CCl_4)으로 구성하였다. 검체를 0.9% saline 용액에 녹여 1 일 1 회씩 6 일간 경구투여 하였다. Control 군과 CCl_4 단독투여군의 경우 0.9% saline만을 같은 방법으로 투여하였다. 6 일째, 검체 투여 2 시간 경과 후 Control 군을 제외한 모든 실험군에 50% CCl_4 (in olive oil, 1:1, 1mL/kg b.w.)를 복강 내 투여하여 급성 간 독성을 유발시켰다. Control 군은 동량의 olive oil만을 주사하였으며, CCl_4 투여 24 시간 경과 후 절식한 흰쥐를 diethyl ether로 마취하여 복부를 절개하고 심장에서 직접 채혈 및 간을 적출하였다.

(3) 체중 및 간 무게 측정

하루에 한번 체중을 측정하고 1 주간의 실험 종료 직후 적출된 간의 무게를 정확히 측정하여 체중 100 g에 대한 간의 무게(g liver/100 g b.w.)로 나타내었다.

(4) 혈청의 화학성분 및 효소활성 검사

① GOT 및 GPT 활성 측정

혈청중의 GOT(glutamic oxalacetic transaminase)와 GPT(glutamic pyruvic transaminase) 활성은 Reitman-Frankel 법에 의한 assay kits를 이용하여 측정하였다.

② LDH 활성 측정

혈청중의 LDH(Lactate dehydrogenase) 활성은 Wroblewski & LaDue 의 방법을 바탕으로 한 LD assay kit(Sigma Diagnostics, USA)를 이용하여 측정하였다.

③ 총 콜레스테롤 함량 측정

혈청중의 총 콜레스테롤(total cholesterol) 함량은 V-Cholesterol assay kit(아산제약, 한국)를 이용하여 측정하였다.

④ 중성지방 함량 측정

혈청중의 중성지방 함량은 지단백질 가수분해효소(lipoprotein lipase)에 의해 glycerol과 유리지방산으로 가수분해되는 효소법에 의한 Cleantech TG-S assay kit(아산제약, 한국)를 이용하여 측정하였다.

(5) 간 조직의 화학성분 및 효소활성 검사

① 과산화지질 함량 측정

TBARS(TBA-reactive substances)는 과산화를 측정하는데 가장 많이 사용되는 방법중의 하나로서, Ohkawa 등(1979)의 방법을 이용하여 MDA 함량을 측정하였다. 간 조직액 0.2 mL에 30% TCA(trichloroacetic acid) 1.0 mL를 가한 뒤 3,000 rpm에서 15 분간 원심분리 하였다. 상등액만을 취하여 1% TBA(thiobarbituric acid in 0.05 M NaOH) 0.5 mL를 넣고 끓는 물에서 10 분 동안 반응시켜 냉각한 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 형성된 MDA 양은 분자흡광계수 ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 nmole MDA/mg protein으로 나타내었다.

② Catalase 활성 측정

간 조직의 catalase 활성도는 Aebi(1980)의 방법을 이용하여 측정 하였다. 30 mM H_2O_2 0.995 mL에 간 조직 효소액 5 μL 를 첨가한 직후 바로 240 nm에서 흡광도의 감소를 1 분 동안 측정하였다. 대조실험 의 경우, 기질인 30 mM H_2O_2 대신 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)에 증류수를 첨가하여 측정하였고 catalase 활성도는 H_2O_2 의 분자흡광 계수($43.6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 $\mu\text{moles/mg protein/min}$ 으로 나타내었다.

③ Glutathione-S-transferase 활성 측정

Habig 등(1974)의 방법에 따라 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB, KANTO, JAPAN)과 환원형 glutathione(GSH, Sigma, USA)을 기질로 사용하여 glutathione-S-transferase(GST) 활성을 측정하였다. 50 μL GSH(30 mM), 50 μL CDNB(30 mM), 그리고 500 μL 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)가 담긴 시험관에 600 μL post-mitochondrial fraction을 가하여 잘 혼합한 후 즉시 340 nm에서 흡광도가 직선상으로 증가하는 부분을 5 분간 측정하였다. GST 활

성도는 CDNB의 분자흡광계수($9.6\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 nmole/mg protein/ min으로 나타내었다.

④ Cytochrome P-450 함량 측정

간 조직 중 cytochrome P-450 함량 측정은 Omura와 Sato의 방법 (1964)으로 하였다. Post-mitochondrial fraction을 최종부피가 1 mL가 되도록 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)로 희석한 후 sodium dithionate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)를 소량 가해 잘 혼합하여 두 개의 시험관에 나누었다. 하나의 시험관에만 carbon monoxide gas를 1 분간 가해 포화시킨 후 대조군을 대조로 하여 450 nm와 490 nm사이의 흡광도 차이를 cytochrome CO complex에 의한 흡광량으로 하고 cytochrome CO complex의 분자흡광계수($91\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 cytochrome P-450 함량을 구하였다. Cytochrome P-450 함량은 nmole/mg protein로 나타내었다.

⑤ 단백질 함량 측정

분석한 효소의 활성을 동일한 기준에서 해석하기 위해 Lowry 등 (1951)의 방법을 사용하여 간 조직 내 단백질 함량을 측정하였다.

⑥ 통계처리

실험 결과들은 Statistic Analysis System(SAS) 프로그램을 이용하여 실험군당 $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ (standard deviation)로 나타내었다. 각 군의 유의차 검정은 ANOVA test를 한 후 유의수준에서 Student's t-test로 검증하였다.

다. 효소시료의 제조

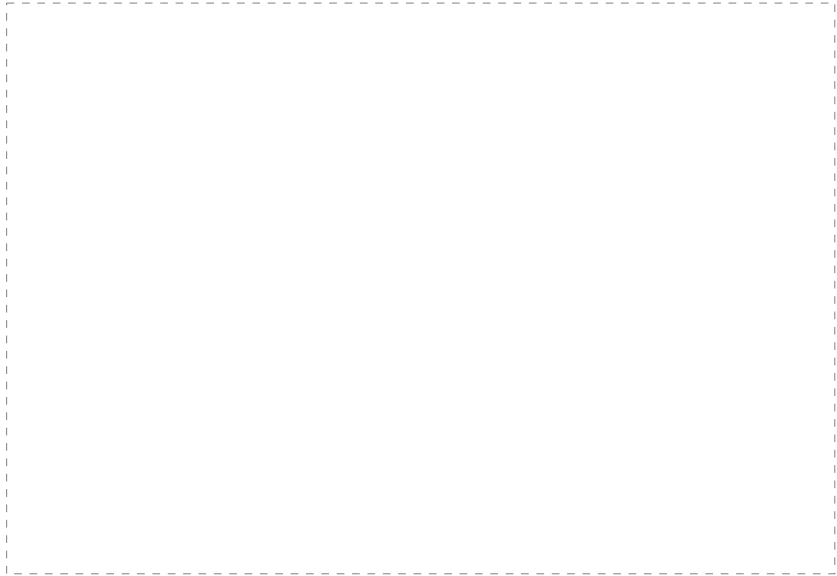
1) 혈청

생화학적 분석에 필요한 혈청은 심장으로 부터 혈액 5~6 mL를 직접 채혈하여 vacutainer(5 mL, 13×75 mm, USA)에 넣고 4℃, 3,000 rpm에서 20 분간 원심분리 한 후 1.5 mL eppendorf tube에 1 mL 씩 분주하였다. 분석용 시료로 사용되기 전까지 -70℃에 냉동 보관하였다. 이 모든 과정은 4℃에서 행하였다.

2) 간

채혈 후 간에 묻어있는 혈액을 ice-cold 0.9% saline으로 씻고 여지로 남아 있는 0.9% saline을 제거한 다음 무게를 측정한 후 일정한 크기로 잘라 -70℃에 보관하였다. 간 조직 1 g에 ice-cold 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4) 9 mL를 넣어 4℃, 11,000 rpm 에서 1 분 동안 균질화하여 10%(w/v) liver homogenate를 제조하였다. 간 조직의 화학성분 및 효소활성 측정을 위해 600×g

에서 원심분리 한 후 상등액을 다시 10,000×g에서 20 분간 원심분리 하여 상등액을 분석용 시료로 사용하였다.



2. 결과 및 고찰

가. 세포 배양 실험에 의한 간세포독성 보호효과 분석

1) Betaine농도별간세포증식에 미치는 영향

Fig. 1과 2는 간 보호효과가 있다고 알려진 betaine을 1, 5, 10, 25, 50 μ M로 AML12 cell에 처리하여 나타난 cell viability 와 MTT assay 결과이다. 10 μ M일 때 control에 비해 10% 정도의 cell viability가 높았으며 또한 cell survival density도 다른 농도에 비해 높음을 볼 수 있었다. Betaine의 적정농도를 검색한 후 Table 1의 결과를 바탕으로 10 μ M에 해당하는 구기자 물 추출물의 농도로 AML12 cell 에 처리하였다.

Table2. Betain concentration in the raw hot-dried *lycii* fructus fewer seed

	raw fruits	Hot-air dried
Betaine	11.15	3.75

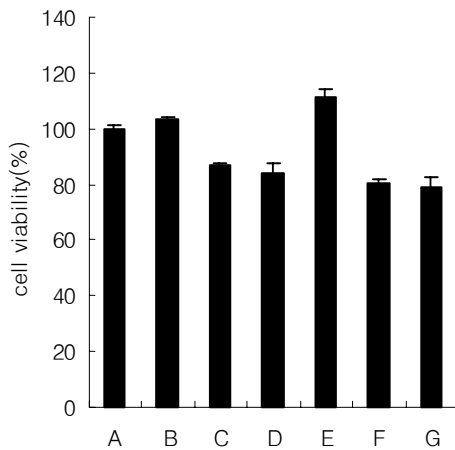


Fig. 1. change in cell viability by betain concentration

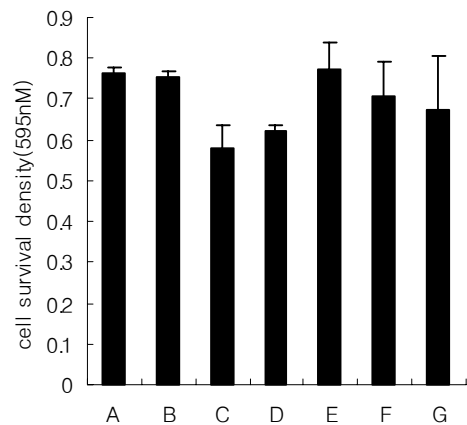


Fig. 2. change in cell servival density betain concentration as measured by MTT assay

A: control, B: vehicle(0.02% EtOH), C: 1 μ M betaine, D: 5 μ M betaine, E: 10 μ M betaine, F: 25 μ M betaine, G:50 μ M betaine

2) 생 구기자 물 추출물의 간세포 증식에 대한 영향

Fig. 3 은 40% inhibition된 AML12 cell에 생구기자 물 추출물을 처리하였더니 CCl₄ 단일처리군 보다 간 회복능력이 좋았으며control군 수준까지 회복되는 것을 볼 수 있었다. Betaine을 함께 처리한 군보다는 생구기자 물 추출물을 함께 처리한 군이 더 회복능력이 좋음을 알 수 있다. 또한 MTT assay를 통해서도 확인할 수 있었으며 그 결과는 Fig. 4와 같다

Fig. 4의 결과에서 40% inhibition된 AML12 cell에 생구기자 물 추출물을 처리하면 control수준까지는 미치지 못했지만 간 회복능력이 있음을 확인 할 수 있다. 또한 GPT/GOT 독성테스트를 하였더니 생구기자 물 추출물이 회복능력이 control에 비해 낮아짐을 알 수 있다. 이는 생구기자 물 추출물이 CCl₄로 인한 세포의 괴사를 감소시켜 transaminase의 활성이 낮아짐을 볼 수 있었으며 그 결과는 Fig. 5 와 같다. GPT/GOT의 활성을 모두 유의성 있게 감소시키는 것을 알 수 있다.

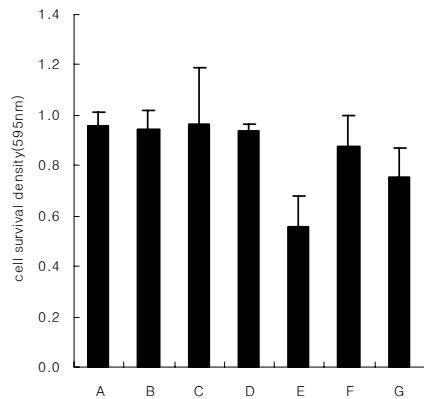
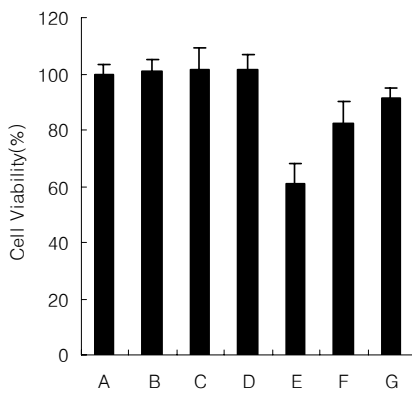


Fig. 3 Effects of *lycii* fructus water on cell viability of the liver cells intoxicated with CCl₄ Fig. 4 Effects of *lycii* fructus water extracts on cell survival density determined by MTT assay
 A: control, B: vehicle(0.02% EtOH), C: 10 μ M betaine, D: 생구기자, E: 10 mM CCl₄ F: 10 mM CCl₄+10 μ M betaine, G: 10 mM CCl₄+생구기자

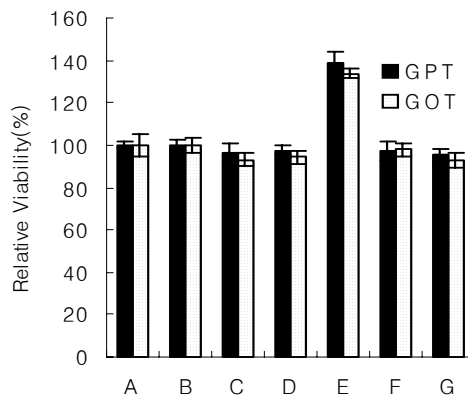


Fig. 5. Effects of *lycii* fructus water extracts addition on the GOT/GPT values of liver cells intoxicated with CCl₄

A: control, B: vehicle(0.02% EtOH), C: 10 μ M betaine, D: 생구기자, E: 10 mM CCl₄
 F: 10 mM CCl₄+10 μ M betaine, G: 10 mM CCl₄+생구기자

3) 열풍 건조 구기자 물추출물의 간세포 증식에 대한 영향

Fig. 6은 40% inhibition된 AML12 cell 에 열풍건조 구기자 물 추출물을 처리한 결과로 CCl₄ 단일처리군 보다 열풍건조구기자 물 추출물을 함께 처리한 군의 간 회복능력이 control수준까지 회복되는 것을 알 수 있다. 또한 MTT assay로

도 그 결과를 확인 할 수 있는데 그 결과는 Fig. 7과 같다. Fig 7 의 결과에서 CCl₄에 의해 inhibition된 cell에 열풍건조구기자 물 추출물을 처리하면 control수준까지 회복되는 것을 알 수 있다. Fig. 8은 열풍건조구기자 추출물의 GPT/GOT 독성실험 결과이다. CCl₄로 inhibition된 군은 GPT/GOT 수치가 control에 비해 40% 이상 높은 것을 알 수 있으며 열풍건조 구기자 물 추출물을 함께 처리한 군은 GPT/GOT 활성수치가 CCl₄ 단일처리군 보다 45%낮아짐을 알 수 있다.

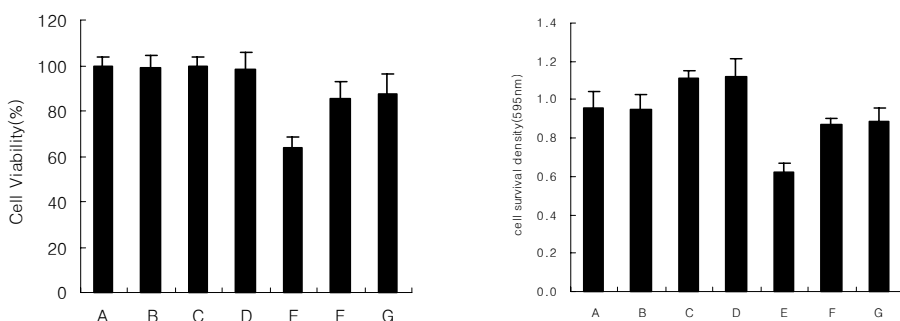


Fig. 6. Result of cell viability by *Lycii fructus* Fig. 7. Result of MTT assay by *Lycii fructus* water extracts.

A: control, B: vehicle(0.02% EtOH), C: 10 μ M betaine, D: 건조 불로구기자, E: 10mM CCl₄, F: 10 mM CCl₄+10 μ M betaine, E: 10 mM CCl₄+건조 불로구기자

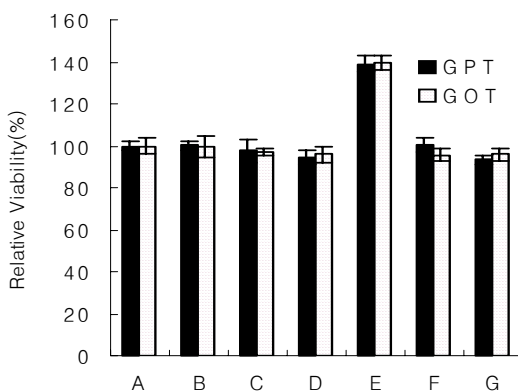


Fig. 8. GPT/GOT effects of *Lycii fructus* water extracts.

A: control, B: vehicle(0.02% EtOH), C: 10 μ M betaine, D: 건조 불로구기자, E: 10mM CCl₄, F: 10 mM CCl₄+10 μ M betaine, E: 10 mM CCl₄+건조 불로구기자

나. 동물실험에 의한 간독성 보호효과 분석

1) 시료의 단백질 및 환원당 함량

불로구기자의 상태 및 제조방법에 따른 수율, 가용성 고형분, 단백질, 그리고 환원당 함량은 Table 2에서와 같다. 고형분수율(% , dry basis) 은 불로구기자 물 추출물(DE) 24%, 볶은 불로 구기자 물 추출물(RE) 20%, 그리고 불로 생과즙(FJ) 35%로 나타났다. 단백질과 환원당 함량은 불로구기자 물 추출물(DE)은 각각 1.18 mg/g solid와 223.90 mg/g solid, 볶은 불로구기자 물 추출물(RE) 은 각각 1.10 mg/g solid와 199.83 mg/g solid, 그리고 불로 생과즙(FJ) 은 각각 2.43 mg/g solid와 257.37 mg/g solid로 나타났다.

Table 3. Properties of the extract and juice of *Lycium chinense* fruit

	Yield (%, dry basis)	Contents(mg/g solid)		
		SS ^a	Protein(±SD)	RS ^b (±SD)
DE ^c	24	303	1.18(±0.05)	223.90(±52.85)
RE ^c	20	259	1.10(±0.02)	199.83(±44.51)
FJ ^c	35	345	2.43(±0.08)	257.37(±31.87)

^a Soluble solid ^b Reducing sugar ^c DE: Dried fruit extract of *Lycium chinense*(Bulro), RE: Roasted and dried fruit extract of *Lycium chinense*(Bulro), FJ: Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(Bulro)

2) 시료의 베타인 함량

불로 생과즙(FJ)은 2.04 mg/g solid로 베타인 함량이 가장 많았으며 불로구기자 물 추출물(DE)은 1.00 mg/g solid, 볶은 불로구기자 물 추출물(RE)은 1.16 mg/g solid로 나타났다.

3) 체중 증가량 및 간무게의 변화

검체를 6 일 동안 경구 투여한 흰쥐의 체중증가량과 간 무게는 각각 Fig. 9와 Fig. 10에서와 같다. 체중증가량은 CCl₄ 단독투여군 23.5g, 불로 구기자 물 추출물(DE) 투여군 16.8 g, 볶은 불로구기 자 물 추출물(RE) 투여군 19.5 g, 그리고 불로 생과즙(FJ) 투여군 19.1 g으로 대조군 17.9 g 보다 다소 높거나 낮았지만 군간의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 한편, 체중 100 g 당 간 무게에 있어 불로 구기자 물 추출물(DE) 투여군과 볶은 불로구기자 물 추출물(RE) 투여군은 3.6 g, 불로 생과즙(FJ) 투여군은 3.5 g으로 CCl₄ 단독 투여군 3.9 g 보다 유의적으로 감소하였다(p<0.01). 본 연구에서는 CCl₄ 투여 시 간 세포 내 APO-L과 triglyceride의 결합이 저해되어 VLDL의 생성을 억제시킴으로써 지방간 형성과

대사과정 중 생성되는 H_2O_2 와 이에 따라 증가된 ROS 독성에 의하여 간세포의 증식능이 유도(Ashby et al., 1995; Kvannes et al., 1995; Chen et al., 1994)됨으로써 간무게가 증가된 것으로 생각된다. 반면 붉은 불로구기자 물 추출물(RE)과 불로 생과즙(FE) 섭취 시 간 조직의 세포막 보호와 정상적인 지질 대사로 지방간 형성을 억제시킴으로써 CCl_4 단독투여군 보다 적은 간 무게를 나타낸 것으로 생각된다.

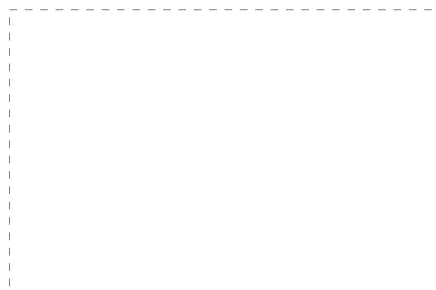


Fig. 9. Body weight gain of rats fed the extract and juice of *Lycium chinense* fruit.

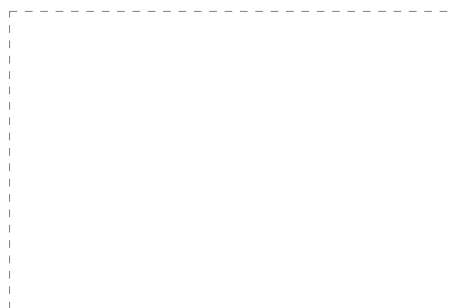


Fig. 10. Effects of the extract and juice of *Lycium chinense* fruit on the liver weight in CCl_4 -treated rats.

Identities are: DFE=Dried fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.);RFE=Roasted fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.);FFJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.). #### $p < 0.001$ significantly different from the control group ** $p < 0.01$ significantly different from the CCl_4 -treated group

4) 혈청의 화학성분 및 효소활성 분석

(1) GOT 및 GPT 활성변화

GOT(glutamic oxalacetic transaminase) 및 GPT(glutamic pyruvic transaminase) 활성은 간의 실질 조직 세포(parenchymal cell)의 손상을 직접적으로 나타내는 지표이다. 검체 투여로 인한 혈청 내 GOT 및 GPT 활성에 미치는 영향은 Fig. 11에서와 같다. CCl_4 단독투여군의 GOT와 GPT 활성은 대조군과 비교하여 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.001$). CCl_4 단독투여군과 비교하여 불로구기자 물 추출물(DE) 투여군은 11%, 붉은 불로 구기자 물 추출물(RE) 투여군은 18%, 그리고 불로 생과즙(FJ) 투여군은 15% 정도의 GOT 활성을 감소시켰으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. GPT 활성의 경우, CCl_4 단독투여군과 비교하여 붉은 불로구기자 물 추출물(RE) 투여군은 32%, 불로 생과즙(FJ) 투여군은 15% 정도로 감소하였다($p < 0.05$). 반면 불로구기자 물 추출물(DE) 투여군은 3.5% 정도의 GPT 활성을 감소시켰으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. CCl_4 단독투여군의 경우, CCl_4 가 간세포의 피사를 일으켜 혈중 내로 GOT와 GPT가 유리되어 그 활성이 증가된다는 보고들과 일치한다(Burk et al., 1986 Edwards

et al., 1993 Elsisi et al., 1993 Kim, 1996 Raiford et al., 1994). 한편, 붉은 불로 구기자 물 추출물(RE)과 불로 생과즙(FJ)의 섭취 시 혈청 내 GOT와GPT 활성이 감소되는 것으로 보아 간세포 괴사를 억제시키는 것으로 생각된다.

(2) LDH 활성 변화

검체 투여에 의한 혈청 내LDH(lactate dehydrogenase) 활성에 미치는 영향은 Fig. 12와 같다. CCl₄ 단독투여군의 LDH 활성은 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다($p<0.001$). CCl₄ 단독 투여군과 비교하여 붉은 불로 구기자 물 추출물(RE) 투여군과 불로 생과즙(FJ) 투여군에서 14% 정도의 LDH 활성이 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). 반면 불로구기자 물 추출물(DE) 투여군은 8% 정도의 LDH 활성을 감소시켰으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. CCl₄ 단독투여군의 경우, CCl₄가 cytochrome P-450에 의해 독성이 강한 free radical로 전환되고 지방변성 및 괴사를 일으켜 혈중으로 LDH가 유리되어 그 활성이 증가된다는 보고들과 일치한다(Rees et al., 1960; Zimmerman et al., 1965). 한편, 붉은 불로구기자 물 추출물 (RE)과 불로 생과즙(FJ)의 섭취 시 혈중 내 LDH 활성이 감소 되는 것으로 보아 독성물질에 의한 간 세포막 손상 및 간세포 괴사를 억제 시키는 것으로 생각된다.



Fig. 11. Effects of the extract and juice of *Lycium chinense* fruit on the activities of serum GPT and GOT in CCl₄-treated rats. Fig. 12. Effects of the extract and juice of *Lycium chinense* fruit on the activity of the serum LDH in CCl₄-treated rats.

Identities are: DE=Dried fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.); RE=Roasted fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.); FJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.). ^{###} $p < 0.001$ significantly different from the control group * $p < 0.05$ significantly different from the CCl₄-treated group.

(3) 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량변화

검체 투여에 의한 혈청 내 총 콜레스테롤과 중성지방 함량의 변화는 Fig. 13과 같다. CCl₄ 단독투여군의 총 콜레스테롤 함량은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 반면, 불로 구기자 물 추출물(DE), 볶은 불로구기자 물 추출물(RE), 그리고 불로 생과즙(FJ) 투여군 모두 CCl₄ 단독투여군과 비교하여 유의적인 차이는 나타나지 않았다. CCl₄ 단독투여군의 중성지방 함량은 대조군과 비교하여 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). CCl₄ 단독투여군 과 비교하여 불로구기자 물 추출물(DE) 투여군은 20%, 볶은 불로 구기자 물 추출물(RE) 투여군은 17%, 그리고 불로 생과즙(FJ) 투여군은 21% 정도의 중성지방 함량이 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.05$). 이는 CCl₄ 투여 시 생성된 free radical에 의한 간 조직의 세포막 손상으로 간 조직 내 지질이 다량 축적되어 혈중 내 중성지방 함량이 감소되었으나 검체 섭취 시 간 조직의 정상적인 지질대사로 혈중 내 중성지방 함량이 증가한 것으로 생각된다.

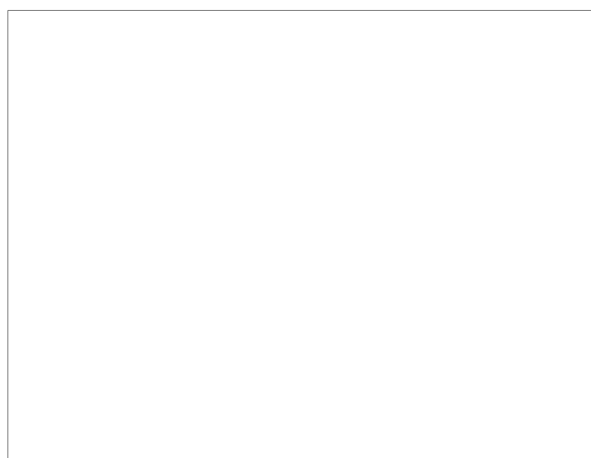


Fig. 13. Effects of the extract and juice of *Lycium chinense* fruit on the serum total cholesterol and triglyceride contents in CCl₄-treated rats. Identities are: DE=Dried fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.); RE=Roasted fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.); FJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.). # $p < 0.05$ significantly different from the control group * $p < 0.05$ significantly different from the CCl₄-treated group

3) 간 조직중의 화학성분 및 효소활성 분석

(1) 과산화 지질함량 변화

MDA(malondialdehyde) 생성에 미치는 검체들의 억제효과를 알아보기 위하여 간 조직중의 MDA 함량을 측정하였다. 간 조직 내 과산화지질 함량의 변화는 Fig. 14와 같다. CCl₄ 단독투여군의 MDA 함량은 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다($p<0.001$). 붉은 불로구기자 물 추출물(RE)과 불로 생과즙(FJ) 투여군의 MDA 함량은 CCl₄ 단독투여군과 비교하여 유의적으로 감소하였다(각각 $p<0.01$, $p<0.05$). 반면 불로구기자 물 추출물(DE) 투여군의 MDA 함량은 10% 정도 감소되었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. MDA는 지질 과산화 과정의 중간 산물이고, 세포손상 기작의 하나로 생각되고 있다(Halliwell et al., 1992; Horton et al., 1987). CCl₄ 투여 시 간 세포 내 CCl₄ 대사로 생성된 CCl₃⁻, CCl₃OO⁻에 의해서 또는 세포막 구성물질인 다가불포화 지방산의 과산화에 의해서 MDA 함량이 증가하며(Didem et al., 2003; HA et al., 2003), 또한 SER(smooth endoplasmic reticulum)과 미토콘드리아 등에도 손상을 입혀 과산화를 발생시키는 것으로 보고되었다(Castro JA, 1984; Brattin WJ et al., 1985). 본 실험에서도 CCl₄ 단독투여군의 경우, MDA 함량이 증가되었으나 붉은 불로구기자 물 추출물(RE)과 불로 생과즙(FJ)의 섭취 시 MDA 함량이 감소되는 것으로 보아 지질과산화에 의한 간 세포의 손상을 억제시키는 것으로 생각된다.

(2) Catalase 활성 변화

활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 중의 하나인 과산화수소 (H₂O₂)를 두 분자의 물과 한 분자의 산소로 분해하는 catalase 활성을 본 실험에서 측정하였다. 검체 투여 시 간 조직 내 catalase 활성의 변화는 Fig. 15와 같다. CCl₄ 단독투여군의 catalase 활성은 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다($p<0.001$). 반면 CCl₄ 단독투여군과 비교하여 불로구기자 물 추출물(DE)과 불로 생과즙(FJ) 투여군에서 각각 9%와 14% 정도의 catalase 활성을 유의적으로 감소시켰다($p<0.05$). 또한 붉은 불로구기자 물 추출물(RE) 투여군에서도 22% 정도의 유의적인 감소를 보여주었다($p<0.01$). Catalase는 주로 간과 신장에서 그 함량이 높게 나타나는데 peroxisomes이라 불리는 subcellular organelles에 가장 많이 존재한다 (Zamocky et al., 1999). H₂O₂는 다양한 oxidase와 superoxide dismutase의 반응 산물로 생체 내 축적 시에는 DNA, 단백질, 그리고 지방 등을 산화시켜 세포의 돌연변이나 괴사를 일으킨다(Bai et al., 1999 Tada-Oikawa et al., 1999 Hampton et al., 1997 Kowaltowski et al., 2000). 또한 catalase는 H₂O₂ 농도가 높을 때에는 catalytic activity을 하여 H₂O₂를 전자공여체(electron donor)로 하고 H₂O₂ 농도가 낮을 때는 peroxidatic activity하여 생체내의 작은 분자량을 가진

알코올 분자 등을 전자 공여체로 삼아 두 분자의 H_2O 로 환원시킨다(Fridovich, 1976). 본 실험에서는 대조군과 비교 시 CCl_4 단독투여군은 catalase 활성이 현저하게 증가되었는데 이는 김옥경 등(2001)의 보고와 일치한다. 반면, 검체 섭취 시 CCl_4 단독투여군 보다 catalase 활성이 현저하게 감소되는 것으로 보아 간 세포 내 CCl_4 대사로 형성된 free radical에 의한 활성산소종의 생성을 감소시키는 것으로 생각된다.

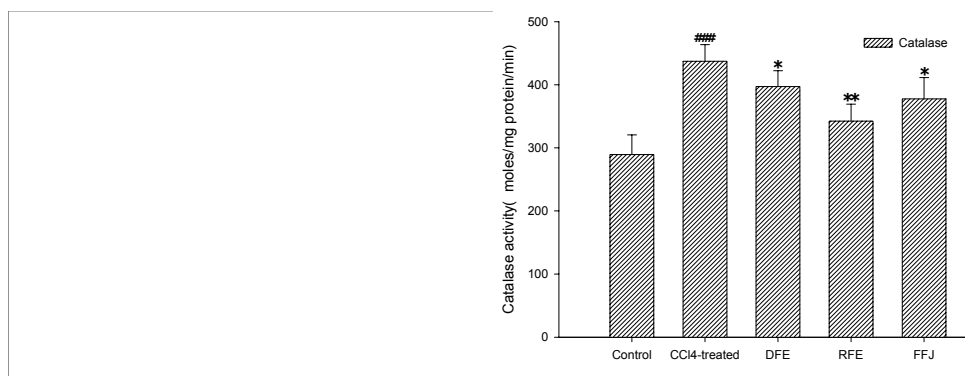


Fig. 14. Effects of the extract and juice of *Lycium chinense* fruit on the MDA content of the liver in CCl_4 -treated rats. Fig. 15. Effects of the extract and juice of *Lycium chinense* fruit on the activity of catalase in CCl_4 -treated rats.

Identities are: DE=Dried fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.); RE=Roasted fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.); FJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.). ### $p < 0.001$ significantly different from the control group *** $p < 0.001$, * $p < 0.01$, and * $p < 0.01$ significantly different from the CCl_4 -treated group

(3) Glutathione-S-transferase 활성 변화

독성물질의 체내, 주로 간에서 이루어지는 해독과정 중 Phase II에 해당하는 포합 반응 관여 효소인 glutathione-S-transferase(GST)는 여러 isozyme 형태를 가지고 있고 대부분의 활성이 세포질에서 나타나는데 특히 간에서의 함량이 매우 높다(Horton et al., 1987; Mannervik et al., 1985a, 1985b). 본 실험에서 검체 투여가 간 조직 내 GST 활성에 미치는 영향을 측정하였고 그 결과는 Fig. 17에서와 같다. CCl_4 단독투여군의 GST 활성은 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 반면 불로구기자 물 추출물(DE) 투여군, 붉은 불로구기자 물 추출물(RE) 투여군, 그리고 불로 생과즙(FJ) 투여군 모두 CCl_4 단독투여군에 비하여 12~24% 정도의 GST 활성이 증가되었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

GST는 여러 내인성 물질과 외인성 약물 및 발암원의 1 단계 약물대사를 거치면서 생성된 친전자성 물질들을 glutathione과 conjugate 시켜 최종적으로 독성이 적고 극성이 큰 mercapturic acid로 전환되게 함으로써 불활성화 및 water-soluble을 증가시켜 독성물질 (toxicant)을 체외로 배출하는데 관여하는 매우 중요한 약물대사 효소로 알려져 있다(Boyland et al., 1969; Jakoby et al., 1974). 본 실험에서도 CCl₄ 투여 시 GST 활성의 감소(윤종국, 1993a; 김선여, 1999; 김옥경, 2001)가 보고된 것과 마찬가지로 CCl₄ 투여로 인해 GST 활성이 감소한 반면 검체 섭취 시 GST 활성이 약간 증가함을 나타냈는데 이러한 결과는 독성물질인 free radical을 glutathione과 conjugate 시킴으로써 포함물의 체외 배출을 가능케 하여 간 조직의 손상을 감소시키는 것으로 생각된다.

(4) CytochromeP-450 함량변화

약물대사효소 cytochrome P-450은 독성물질을 산화 혹은 포함하여 물에 녹기 쉬운 화합물로 변동시키는 중요한 해독효소이다. 본 실험에서 검체투여가 간 조직 내 cytochrome P-450 함량에 미치는 영향을 측정하였고 그 결과는 Fig. 18과 같다. 대조군과 비교하여 CCl₄ 단독투여군의 cytochrome P-450 함량은 유의적으로 감소되지 않았다. 또한 불로구기자 물 추출물(DE), 붉은 불로구기자 물 추출물(RE), 그리고 불로 생과즙(FJ) 투여군 모두 CCl₄ 단독 투여군에 비하여 cytochrome P-450 함량이 각각 9.6%, 11.4%, 그리고 12.4% 정도의 증가를 보였지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 간 조직 내에 존재하는 약물대사효소 cytochrome P-450은 사염화탄소(CCl₄), 니트로사민(nitrosamines), 그리고 polycyclic aromatic hydrocarbon 등과 같은 많은 독성물질들을 Phase I에서 독성 대사물질로 전환시켜 간 손상을 일으키는 것으로 알려져 있으며 (Guengerich et al., 1991), CCl₄ 투여 시 cytochrome P-450 함량이 감소한다고 보고되었다(이태하, 1981; 배송자, 1997). 본 실험에서도 CCl₄ 단독투여군의 cytochrome P-450 함량은 감소하였지만 검체 섭취 시 CCl₄ 단독투여군과 비교하여 cytochrome P-450 함량이 증가되었는데 이는 유해산소 생성에는 별 다른 관련성이 없다고 생각된다.



Fig. 16. Effects of the extract and juice of *Lycium chinense* fruit on the activity of GST in CCl₄-treated rats. Fig. 17. Effects of the extract and juice of *Lycium chinense* fruit on the cytochrome P-450 content in CCl₄-treated rats.

Identities are: DE=Dried fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.); RE=Roasted fruit extract of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.); FJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*(2 g/kg b.w.). [#]p < 0.001 significantly different from the control group

제 4 절 구기주 발효기술 연구

1. 실험방법 및 내용

가. 실험재료 및 방법

1) 실험재료

원료로 사용한 구기자는 2004년 9월 충남 청양에서 수확된 씨적은 불로종의 생구기자와 60℃에서 열풍건조한 건조구기자를 이용하였다.

포도주는 2003년 경기도 이천에서 수확, 제조한 Campbell's Early종 포도주 1종과 2003년 화성시 농업기술센터에서 제조한 1종의 포도주, 그리고 수입산 포도주 1종(Cabernet Sauvignon 품종과 Merlot 품종을 혼합해서 제조한 프랑스산 포도주(Rapel, 2002))을 비교 포도주 시료로 선택하였다.

2) 과실주 제조 방법

생 구기자와 건조구기자를 각각 과실 전체를 이용한 적포도주 제조법과 과즙만을 이용한 백포도주 제조법으로 양조하여 시험하였다

(1) 과실주 전체를 사용한 구기자 양조법

구기자 생과 4 Kg을 정선, 수세하여 원과 표면의 헹잡물 및 이물질을 제거한 후 과실을 파쇄하였다. 물 20 L를 첨가하여 20%의 구기즙 희석액을 만든 후 vitamin C 0.25%와 Sodium metaphosphate ((HPO₃)n-Na) 0.1%, SO₂ 100 ppm을 첨가하고 설탕을 첨가해 21°Brix로 맞추었다. Vitamin complex solution(Centrum, Wyeth - Table 1) 2정과 미지근한 물 100ml에 1g을 넣고 활성화시킨 *Saccharomyces cerevisiae* 20ml를 접종한 후 2~3일 간 호기적 상태를 유지하고 이후부터는 혐기적 조건에서 1일 1회씩 교반하면서 20℃에서 80일간 발효하였다.

구기자 건과는 생과 4 Kg에 물 20 L를 첨가하여 20% 농도로 만든 후 50℃에서 두 시간 동안 교반하면서 가열 추출하였다. 생과를 이용한 양조법과 동일하게 vitamin C 0.25%과 Sodium metaphosphate((HPO₃)n-Na) 0.1%, SO₂ 100 ppm을 첨가하고 설탕을 첨가해 21°Brix로 맞추었다. Vitamin complex solution 2정과 미지근한 물 100 ml에 1 g을 넣고 활성화시킨 *Saccharomyces cerevisiae* 20ml을 접종한 후 발효조에 넣고 생과와 동일한 방법으로 발효하였다.(Fig. 1)

Table 1. Supplement Facts of vitamin

		Amount per serving	% Daily Value
Vitamin A(29%	as	3500IU	100%
Betacarotene)		60mg	100%
Vitamin C		400IU	100%
Vitamin D		30IU	100%
Vitamin E		25mcg	31%
Vitamin K		1.5mg	100%
Thiamin(B1)		1.7mg	100%
Riboflavin(B2)		20mg	100%
Niacin(B3)		2mg	100%
Vitamin B6		400mcg	100%
Folate, Folic acid, Folacin		6mcg	100%
Vitamin B12		30mcg	10%
Biotin		10mg	100%
Pantothenic acid		162mg	16%
Calcium		18mg	100%
Iron		109mg	11%
Phosphorus		150mcg	100%
Iodine		100mg	25%
Magnesium		15mg	100%
Zinc		20mcg	29%
Selenium		2mg	100%
Copper		2mg	100%
Manganese		120mcg	100%
Chromium		75mcg	100%
Molybdenum		72mg	2%
Chloride		80mg	2%
Potassium		5mcg	*
Nickel		10mcg	*
Tin		2mg	*
Silicon		10mcg	*
Vanadium		150mcg	*
Boron			
Lutein			250mcg*
Lycopene			300mcg*

Serving size: 1Tablet

* Daily Value not eastablished.

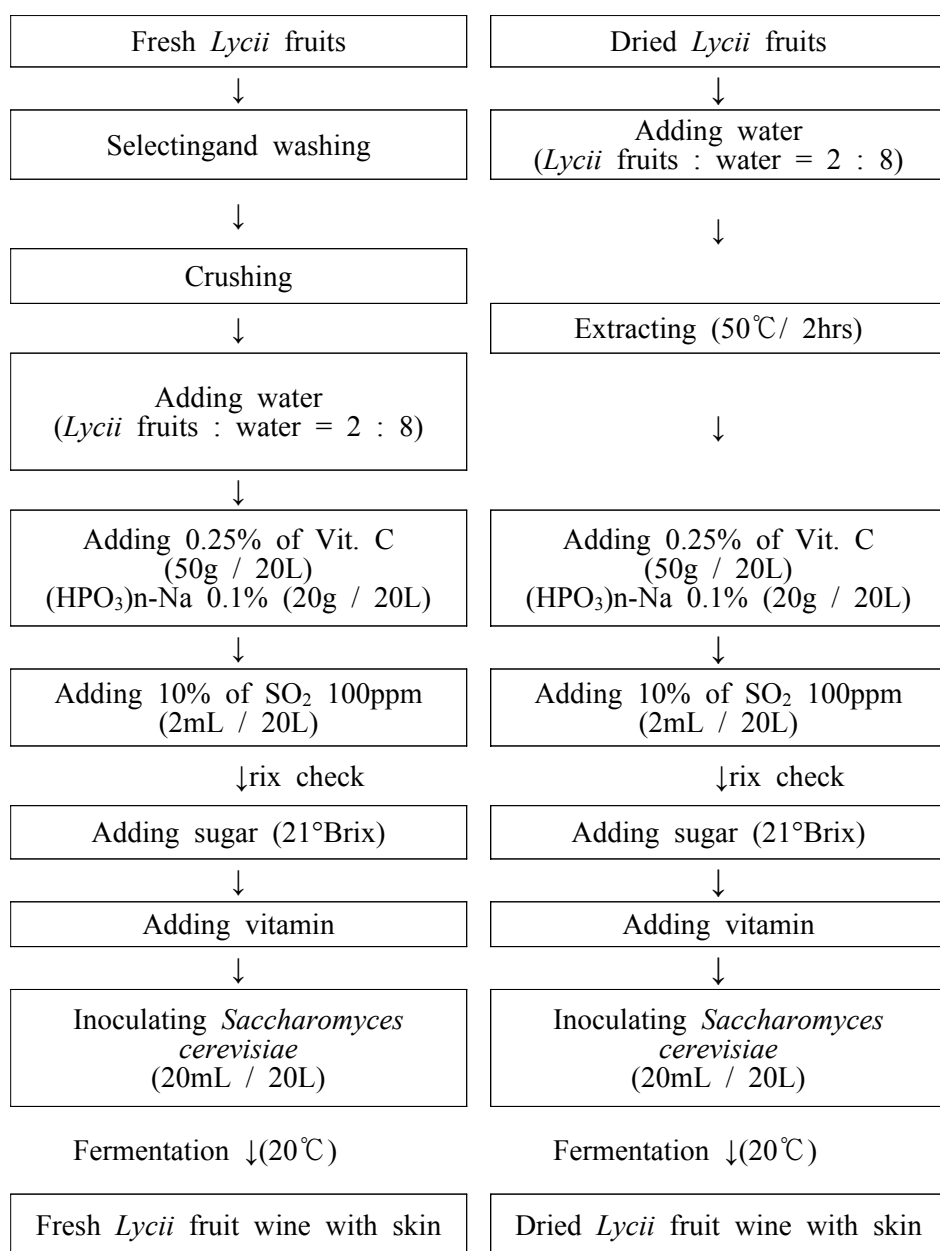


Fig. 1. Flow chart for red wine fermentation processes with *Lycium*

(2) 과즙만을 이용한 구기자 양조법

구기자 생과를 정선, 수세하여 원과 표면의 협잡물 및 이물질을 제거한 후 90℃에서 40초간 가열 처리한다. 열처리한 구기자 원과를 체와 가제로 착즙한

후 vitamin C 0.25%과 Sodium metaphosphate($(\text{HPO}_3)_n\text{-Na}$) 0.1%를 첨가하고 체와 가제로 한번 더 여과한 후 여과액 4Kg에 물을 첨가하여 20 L로 희석한다. 여기에 SO_2 100 ppm을 첨가하고 설탕을 첨가해 21°Brix로 맞추었다. Vitamin complex solution 2정과 미지근한 물 100 ml에 1 g을 넣고 활성화시킨 *Saccharomyces cerevisiae* 20 ml을 접종한 후 발효조에 넣고 2~3일 간 호기적 상태를 유지하고 이후부터는 혐기적 조건에서 1일 1회씩 교반하면서 20℃에서 80일간 발효하였다.

구기자 건과는 과실전체를 이용한 양조법과 마찬가지로 건과 4Kg에 물 20L를 첨가하여 20% 농도로 만든 후 50℃에서 두 시간 동안 교반하면서 가열 추출하

였다. 생과를 이용한 양조법과 동일하게 vitamin C 0.25%와 Sodium metaphosphate($(\text{HPO}_3)_n\text{-Na}$) 0.1%을 첨가하여 체와 가제로 여과한 후 SO_2 100 ppm을 첨가하고 설탕을 첨가해 21°Brix로 맞추었다. Vitamin complex solution 2정과 미지근한 물 100 ml에 1 g을 넣고 활성화시킨 *Saccharomyces cerevisiae* 20 ml을 접종한 후 발효조에 넣고 생과와 동일한 방법으로 20℃에서 80일간 발효하였다. 이상의 방법을 Fig. 2에 제시하였다.

(3) 포도주 제조공정

도주 제조공정은 박 등의 방법을 따랐다. 포도 220kg을 물로 1회 씻은 후 과경을 제거하고 과립을 터뜨린 것을 원통형의 500 L들이 stainless steel 발효조에 넣고, 포도당(dextrose monohydrate)을 첨가하여 당도를 25%로 조정 한 후 potassium metabisulfite를 100 ppm 첨가하고, 다음 날에 48시간 배양된 2L의 Wy30(The Beverage People Co., USA) 효모 균주의 배양액을 발효조에 부어 접종시켰다. 접종 후 매일 2회씩 저어 주어 4일간 1차 발효 후 stainless steel 체로 걸러서 액상의 must를 20 L들이 유리병에 넣고 air lock을 설치하여 공기의 유입을 차단하여 2차 발효를 실시한 후 그 시료를 분석용으로 취하였다 (Fig.3)

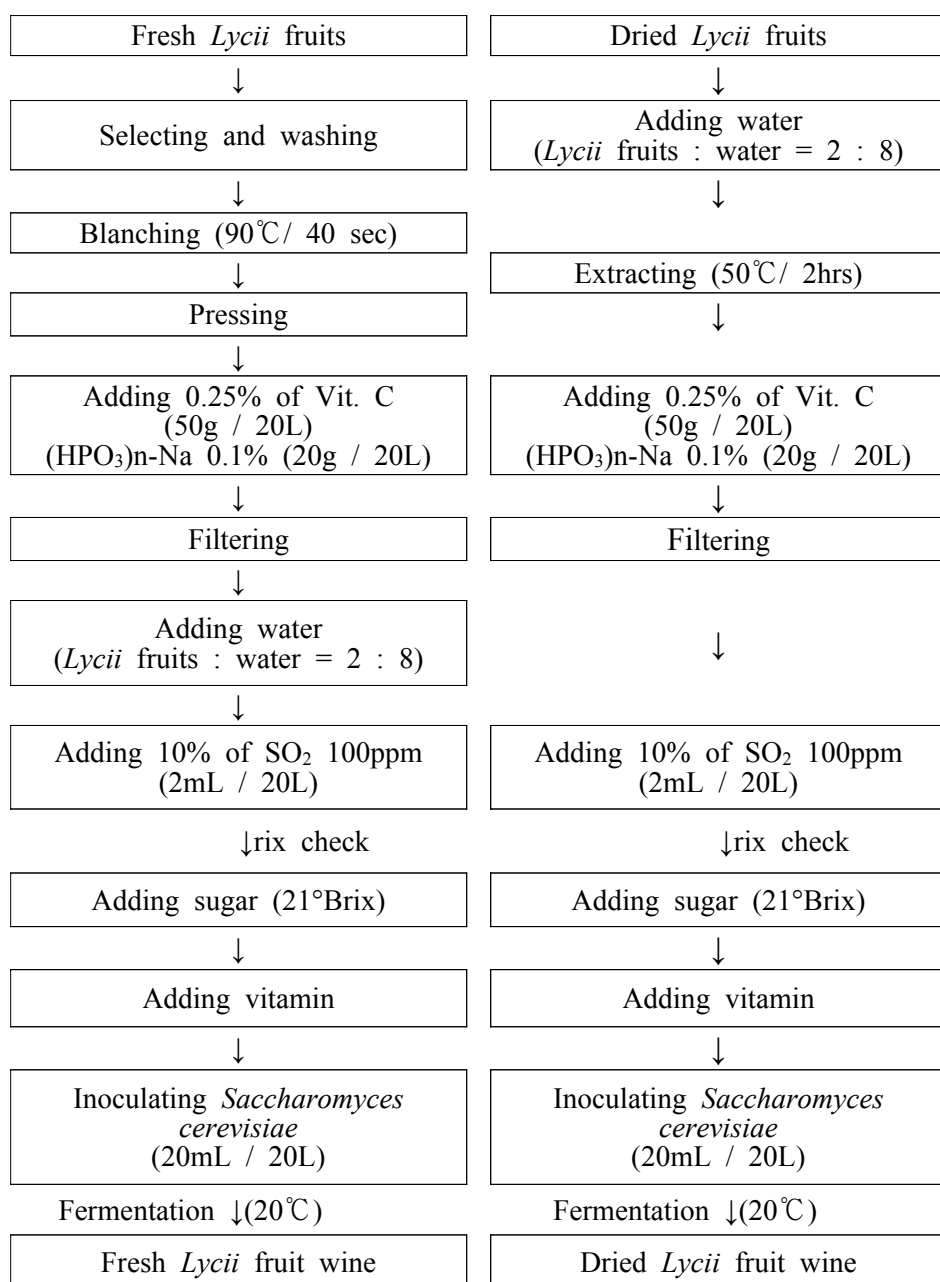


Fig. 2. Flow chart for white wine fermentation processes with *Lycium chinense*

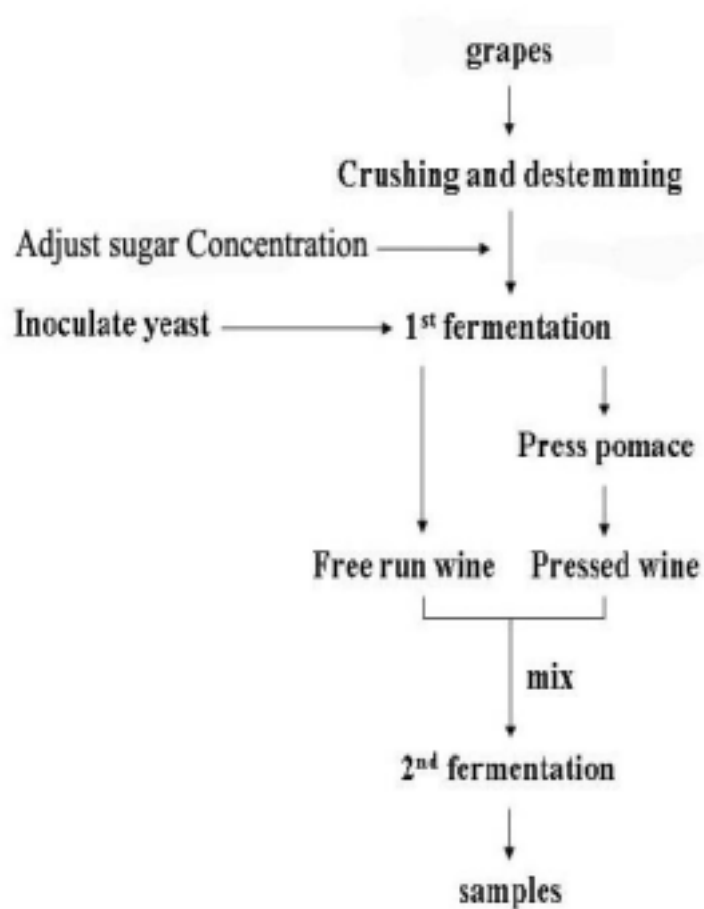


Fig. 3. Flow chart for red wine fermentation process

3) 실험방법

(1) 알코올 정량

과실주 시료 100 ml을 35℃에서 감압증발기로 증류하였다. 증류액이 70 ml 이상이면 증류를 중지하고 증류수를 가하여 100 ml로 정용한 후 주정계로 눈금을 읽고 20℃로 온도 보정한 알코올 함량을 구하였다.

(2) 환원당 함량 및 당도 측정

시료를 회석하여 Somogyi-Nelson법으로 측정하였다. 유주현. (1989) 식품공학실험Ⅰ, 연세대 공학부 식품공학편, 탐구당, 606 Glucose용액을 표준용액으로 당함량과 흡광도 사이의 검량선을 작성하고 검량선에 따라 시료중의 당함량을 결정하였다. 당도는 상온에서 hand refractometer(ATAGO N1, Japan)를 사용하여 측정하였다.

(3) pH 측정

pH는 pH meter(mettler Toledo, USA)로 측정하였다

(4) 유기산 정량

탈색시킨 시료를 0.2 μ m membrane filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였다. Macrae, R. (1983) HPLC in Food analysis 2nd, Academic press, 180-250 Citric acid, tartaric acid, malic acid, lactic acid, tartaric acid 표준품(Sigma Co., USA)을 농도별로 회석하여 표준용액을 제조한 후 HPLC로 분석, 검량선을 작성하여 정량하였다. 분석조건은 Column Aminex HPX-87H column (300 × 7.8 mm) column을 사용하여 이동상은 5mM sulfuric acid, 유속은 0.60 ml/min, 주입량은 20 μ l로 하였으며 UV detector로 210nm 파장에서 검출하였다.

(5) Total phenolic compounds 함량 측정

100 ml의 volumetric flask에 분석하고자 하는 시료 1 ml을 넣고 60 ml의 증류수를 넣었다. 여기에 Folin-Ciocalteu reagent 5 ml을 넣고 30초간 반응시킨 후 20% Na₂CO₃ 용액 15 ml을 첨가하였다. 100 ml까지 증류수로 정용하고 2시간 동안 23℃에 방치한 뒤에 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 곡선을 gallic acid를 농도별로 제조하여 gallic acid equivalent(GAE)로 계산하였다.

(6) 관능검사

① 패널선정 및 묘사분석

구기자 과실주와 포도주 시료간의 관능적 차이를 식별하기 위해 고려대학교 대학원생 중 맛, 향기, 색에 민감한 관능요원 10명을 선정하여 훈련시킨 후 1종의 포도주 및 3종의 구기자 과실주에서 느낄 수 있는 14개의 character notes에 대한 강도를 15 cm선상에 표시하였고 3번 반복을 실시하여 측정된 수치를 Duncan's multiple range test로 통계 처리하였다. 관능검사는 미각이 예민한 오전 11시경에 실시하였으며 시료의 번호에서 오는 선입견을 없애기 위해 세자리 숫자의 난수표를 사용하였고 시료는 유리컵에 담아 제시하였다.

② 통계분석

구기자 과실주와 포도주 시료의 성분 및 관능검사 data의 유의성을 검증하기 위해 SAS package의 분산분석(ANOVA)을 실시하였고 Duncan의 다중범위 시험법(Duncan's multiple range test)에 의해 시료간의 유의성을 검증하고 QDA(Quantitative descriptive analysis) diagram으로 분석, 정리하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 실험결과

1) 알코올 함량

포도주 및 구기자 과실주의 알코올 함량은 Fig. 4에 제시된 바와 같다. 각 시료의 알코올 함량은 11.5~13.7% 사이로 시료간의 차이는 크게 없었으며 과실전체를 사용한 생구기자 과실주와 수입포도주의 알코올 함량이 다소 높게 관찰되었다. 구기자 과실주의 경우 담금법에 의한 발효 정도는 큰 차이가 없었으며, 생구기자를 이용한 과실주의 알코올 함량이 건조구기자를 이용한 과실주보다 다소 높음을 확인할 수 있었다

2) 환원당 함량

이천산 포도주의 환원당 함량이 11.6 mg/ml로 가장 높았는데 이는 당 첨가량이 많아 미처 알코올로 전환되지 못한 다수의 당이 남아있음을 암시한다. 실제로 본 연구를 수행하는 과정에서 이천산 포도주의 경우 병을 열 때마다 이산화탄소가 발생하였던 사실로 미루어 발효가 미약하게나마 계속 진행중임을 예측할 수 있었다. 화성시 포도주와 수입포도주는 유사한 값을 보였으며, 구기자 과실주의 경우 환원당이 모두 소진될 때까지 발효를 진행시켰으므로(Fig.5) 구기자 과실주에 함유된 알코올 함량을 통해 생구기주가 건조구기주보다 많은 양의 환원당을 함유하고 있었음을 예측할 수 있다. (Fig. 4)

3) pH

포도주 및 구기자 과실주의 pH는 Fig. 6 에 제시된 바와 같다. 포도주의 pH가 2.45~2.8 사이로 비슷한 값을 보였으며 구기자 과실주는 이보다 조금 높지만 pH 3.4~4.0 사이로 시료간에 일정한 값을 나타내었다. pH는 술의 발효과정 및 저장에 지대한 영향을 끼치는데 pH 3.6 이상이면 저장 중 잡균이 번식할 가능성이 높고 반대로 pH 3.2 이하이면 신 맛이 두드러질 수 있다. 본 연구에서 구기자 과실주의 pH는 3.4에서 4정도로 최적의 산도를 보이므로 저장성의 측면에서 포도주보다 유리할 것으로 보여진다. 그 대신 적절한 당 첨가에 의해 신맛을 중화시킴으로써 구기자 과실주의 관능적 효과를 높일 수 있을 것으로 사료된다

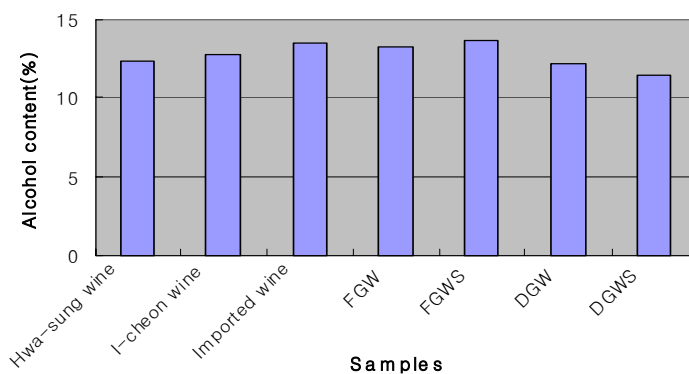


Fig. 4. Alcoholic compounds in *Lycii* fruit wines and Red wines

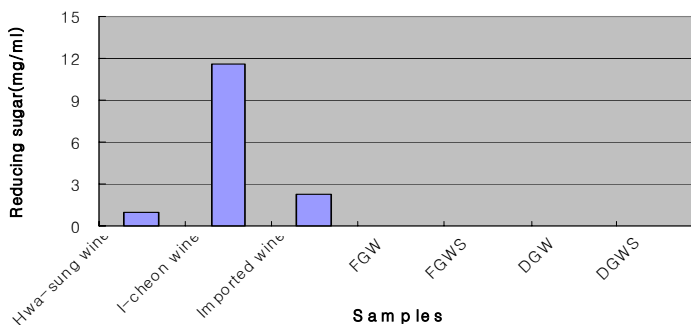


Fig. 5. Reducing sugar contents in *Lycii* fruit wines and Red wines

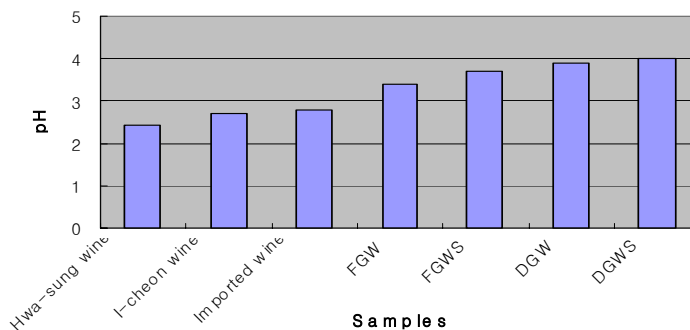


Fig. 6. pH of *Lycii* fruit wines and Red wines

FGW: Fresh gugi wine(made by white wine method)
 FGWS: Fresh gugi wine with solids(made by red wine method)
 DGW: Dried gugi wine(made by white wine method)
 DGWS: Dried gugi wine with solids(made by red wine method)

4) 유기산 함량

구기자 과실주에 함유된 주요 유기산은 lactic acid로 과실 전체를 이용한 생구기자주와 과즙만을 이용한 생구기자주가 각각 33,435ppm과 31,810ppm을 보인 반면 과실 전체를 이용한 건조구기자주와 과즙만을 이용한 건조구기자주가 각각 25,197ppm과 10,597ppm을 보여 생구기자 과실주에서의 함유량이 건조구기자에서보다 높았다. Citric acid 함량은 과실 전체를 이용한 생구기자주에서 417ppm, 과즙만을 이용한 생구기자주에서는 454ppm을 기록해 과실 전체와 과즙에서 각각 2,849ppm, 2,352ppm을 함유한 건조구기자주에서 보다 낮은 함유량을 보였다. Tartaric acid 함량도 건조구기자주에서 다소 높게 관찰되었는데, 과즙만을 이용한 구기자주보다 과실전체를 이용한 구기자주에서 더욱 높은 함량을 보였다. 이는 과피의 유기산 조성 중 tartaric acid가 가장 많았다고 보고한 박서준의 논문 결과와 일치한다.

구기자 원과의 유기산 조성과 비교해 볼 때 불로 건조구기 열매의 주요 유기산은 건조 구기자 과실주와 동일하게 lactic acid의 함유량이 전체 유기산의 34%로 가장 높았으며 citric acid, acetic acid가 그 뒤를 이었다. 생 구기열매의 경우 청양 재래종, 불로 생 구기열매 모두에서 citric acid의 함유량이 가장 높아 생구기자 과실주의 주요 유기산 패턴과는 차이를 보이는데, 발효 중 citric acid의 함량 변화에 대한 좀 더 깊은 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

포도주에 함유된 주요 유기산은 tartaric acid, malic acid, 그리고 citric acid 등이지만 citric acid량은 상대적으로 낮은 편이므로 포도주의 신맛은 주로 tartaric acid와 malic acid에 의해 결정된다. Tartaric acid량은 화성 포도주와 이천 포도주에서 각각 1643ppm과 1480ppm을 함유해 1688ppm을 함유한 수입 포도주와 비슷한 수치를 나타내었다. Tartaric acid는 malic acid와 함께 포도주의 신선도를 유지시켜 보존성을 높여주고 유해한 박테리아로부터의 피해를 막아주는 천연방부제 역할을 하는데, 화성시 제조 포도주의 tartaric acid 함유량은 이에 적당하다고 사료된다.

Malic acid는 포도주의 자극성 신맛을 내는 성분으로 화성 포도주와 이천 포도주가 각각 1461ppm과 2276ppm을 함유한 반면 수입포도주는 231ppm만을 포함하고 있어 국내산 포도주와 수입포도주 간에 큰 차이를 보였는데, 이는 수입산 포도주에서 malolactic fermentation을 통해 많은 양의 malic acid가 lactic acid로 전환된 사실에 기인한다. 포도주의 이차발효를 이끄는 malolactic fermentation은 yeast에 의해 일차발효를 끝낸 포도주의 산미가 강하고 거친 맛을 젖산균을 통해 부드럽고 깊은 맛으로 변화시킨다. malic acid의 선택적 감소는 결과적으로 총산도를 0.15% 내지 0.4% 정도 낮출 수 있으며, 특히 lactic acid는 주질의 원숙에 중

요한 역할을 하므로 malolactic fermentation은 적포도주 발효에 있어서 매우 중요한 과정이다. 따라서 국내산 포도주의 고급화를 위해서는 malolactic fermentation을 활성화시키는 기술개발 및 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다. Citric acid량은 295~435ppm으로 국내산 포도주와 수입포도주 간에 큰 차이가 없었으며 주요 유기산에 비해 상대적으로 적게 존재하였다.

Acetic acid는 포도주 양조 과정에서 일반적으로 소량씩 생성되는 것이 정상인데 특히 구기자 과실주의 함유량이 포도주에 비해 높게 관찰되었다. 이는 acetobacter에 의한 오염 가능성이 높은 것으로 보여지는데 구기주 저장 시 저장 탱크의 빈 공간을 적게 하거나 탄산가스 및 질소 등으로 빈 공간을 채워 혐기적 조건을 유지함으로써 과실주의 산화를 일으키는 호기성 균의 성장을 억제시킬 수 있을 것이다.

5) Total phenolic compounds 함량

적포도주에 다량 존재한다고 알려진 polyphenol 화합물은 술의 성질과 품질을 결정짓는 중요한 물질로서, 맛과 향을 좋게 하는 관능적인 역할은 물론 술의 색도와 미생물에 대한 안전성 등 술 제조에서도 그 역할이 상당히 크다. Kanner은 포도주의 항산화 효과를 기존에 알려진 항산화제와 비교하였는데 알파토코페롤보다 항산화 효과가 큰 것으로 보고되었다. 고경희 등은 우리 나라에서 재배된 포도로 양조된 한국산 적포도주의 페놀계 물질 중 저분자 물질인 phenolic acids와 flavonoids류를 분리하였다. 그 결과 phenolic acids 중 hydroxybenzoic acids로는 gallic acid, syringic acid가 확인되었고, caffeic acid *p*-coumaric acid, *o*-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid 등의 hydroxycinnamic acids가 확인되었다. 그 외에 coumalic acid, chrologenic acid, cinnamic acid도 분리, 확인되었다. 또한 (+)-catechin, (-)-epicatechin, rutin, myricetin, quercetin 등의 flavonoid류도 발견되었다. 본 실험에서 확인된 화성 포도주와 이천포도주의 총페놀함량은 각각 842 mg/L와 849 mg/L이었고 수입포도주에서는 2,200 mg/L 이상의 높은 페놀 성분이 검출되었다. 포도주 각 시료의 숙성 기간에 별 차이가 없음을 감안할 때 이러한 페놀 함량의 차이는 포도 품종과 그에 따른 생육조건에 기인한 것이 아닌가 예상된다.

생구기자 과실주의 페놀 함유량은 1,493~1,710 ppm으로 국내산 포도주보다 높았으며, 건조구기자 과실주의 경우 2,460~2,468ppm의 페놀성분을 함유해 항산화력과 심장병예방에 효과가 있다고 보고되고 있는 수입포도주 보다 높은 수치의

페놀을 함유하고 있었다.

이 페놀 화합물은 구기자의 껍질과 씨에 많이 분포되어 있다. 구기자 술이 발효하는 동안 phenol이 증가하는 것은 과일 껍질의 페놀성분이 에탄올에 용출되어 구기자술 안으로 침출되었기 때문이다. 페놀 성분은 flavan-3-ols, flavan-3,4-diols, anthocyanin, anthocyanidin, flavonol, flavon과 같은 hydroxybenzoic acid, 혹은 flavonoid 유도체를 포함하고 있다. 일반적으로 숙성 전에는 카테킨(cathechin), 에피카테킨(epicathechin), 프로시아니딘(procyanidin), B₂, B₃, B₄, 퀘르세틴(querccetin), 갈릭산(gallic acid) 등의 저분자량을 가진 페놀 성분들이 주를 이루다가 숙성을 거치면서 이들 성분이 중합하여 고분자의 페놀 성분을 생성하게 된다. 따라서 구기자술의 발효가 진행되면서 탄닌과 안토시아닌 중합체 형성으로 안토시아닌의 함량은 점차적으로 감소하게 된다.

Table 4. Organic acid contents of *Lycii* fruit wines and Red wines

(ppm)

	Citric acid	Tartaric acid	Malic acid	Lactic acid	Acetic acid
Hwa-sung wine	435	1643	1461	1599	129
I-cheon wine	308	1480	2276	2628	1167
Imported wine	295	1688	231	3796	342
FGW	454	79	248	31810	1225
FGWS	417	163	281	33435	680
DGW	2352	241	95	25197	2372
DGWS	2849	1376	154	10597	3630

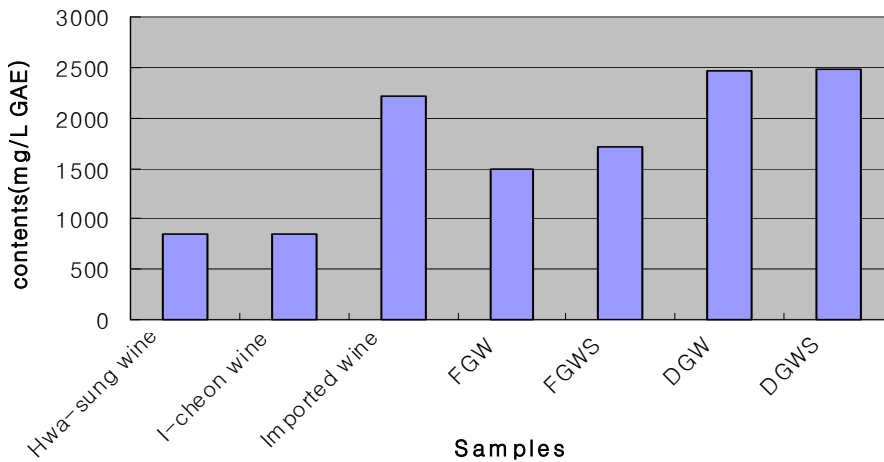


Fig. 7. Total phenolic compounds in *Lycii* fruit wines and Red wines

FGW: Fresh gugi wine(made by white wine method)

FGWS: Fresh gugi wine with solids(made by red wine method)

DGW: Dried gugi wine(made by white wine method)

DGWS: Dried gugi wine with solids(made by red wine method)

6) 관능검사

구기자 과실주 3종과 포도주 1종을 선택하여 QDA 방법으로 색상 및 맛과 향에 대한 관능 profile을 측정하고 선호도를 조사하였다. 비교 시료인 포도주는 화성시와 공동으로 수행한 선행 포도주 연구에서 가장 선호도가 높고 당도가 적당한 시료로 선정했으며, 구기자 과실주 중 적포도주 제조법으로 양조한 건조구기자주(DGWS)는 맛과 향이 변질되어 시료에서 제외하였다. 색, 냄새 맛 등 14가지 용어를 선정하여 실시하였으며 관능검사에 대한 분석결과는 Table 3과 같다. 시료간의 유의성 검정(significant test)에서는 알코올 맛과 신맛을 제외하고는 모두 유의적 차이가 나타났다. Fig. 8에 제시된 각 시료의 전체적 특성을 살펴보면 포도주의 경우 색이 짙고 검붉은 색을 띠어 다른 시료에 비해 밝기에서 현저히 낮은 점수를 보였으며, 건조과정에서의 열처리 반응에 의해 색상이 변한 건조구기자 과실주가 생구기자 과실주보다 색이 더 진하고 어둡게 평가되었다.

냄새에 대한 비교를 보면 포도주에서는 단냄새가 강한 반면 구기자 과실주에서는 신냄새와 발효냄새가 강한 것으로 조사되었으며, 알코올냄새는 비슷하게 나타났다. 구기자 과실주 사이에서는 건조구기자주의 단냄새가 좀더 강한 것으로 평가되었다. 맛에 대한 비교에서는 포도주의 단맛이 가

장 높게 나타났으며, 구기자 과실주는 이에 비해 뽕은맛과 쓴맛이 강하다는 평가가 두드러졌다. 특히, 껍질과 씨가 든 채 발효된 생구기자 과실주(FGWS)는 뽕은맛이 가장 강한 것으로 평가되었다. 이 외에도 생구기자 과실주의 경우 비린 맛을 호소하는 사람들도 소수 있었다. 종합적인 기호도를 보면 단맛, 단 냄새가 강하고 쓴맛, 뽕은맛 발효냄새 및 신냄새가 약한 포도주의 선호도가 월등히 높았으며, 포도주를 제외한 3종의 구기자 과실주에 대한 선호도는 건조구기자 과실주에서 약간 높기는 하나 큰 차이는 없었다. 양조방법에 따른 구기자 과실주의 기호도 차는 색상을 제외하고는 유의성이 없었다

Table 5. Sensory evaluation data for *Lycii* fruit wines and red wine

구분	시료	Red wine	FGW	FGWS	DGW
색	주 황색***	2.88 ^c	5.37 ^b	4.77 ^b	9.80 ^a
	갈 색***	4.75 ^b	3.64 ^b	3.42 ^b	9.56 ^a
	노 란색***	2.03 ^b	8.30 ^a	8.38 ^a	9.42 ^a
	밝기***	4.79 ^c	7.50 ^b	10.65 ^a	7.10 ^b
냄새	단냄새***	10.48 ^a	5.41 ^c	5.74 ^c	8.42 ^b
	신냄새*	4.67 ^b	6.63 ^a	6.87 ^a	5.94 ^{ab}
	발효냄새***	4.47 ^b	8.94 ^a	8.35 ^a	8.65 ^a
	알코올냄새*	7.45 ^a	7.58 ^a	7.55 ^a	5.85 ^b
맛	단맛***	8.14 ^a	4.10 ^b	4.31 ^b	5.12 ^b
	신맛	6.89 ^a	6.58 ^a	7.83 ^a	8.17 ^a
	쓴맛**	5.72 ^b	8.77 ^a	8.69 ^a	8.25 ^a
	알코올맛	7.72 ^a	8.16 ^a	7.60 ^a	7.89 ^a
	떫은맛**	5.58 ^b	8.66 ^a	9.07 ^a	8.64 ^a
종합적	기호도***	9.40 ^a	4.12 ^b	4.36 ^b	4.75 ^b

Score: 0-extremely weak

15-extremely strong

Significant level: * P<0.001 **P<0.01 ***P<0.05

QDA diagram(total)

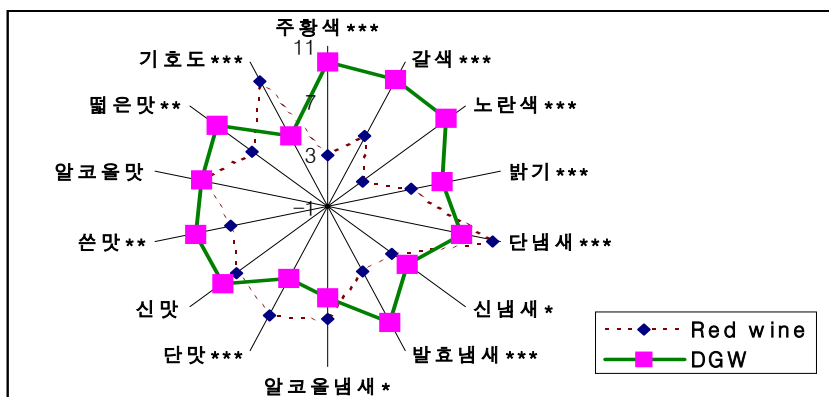
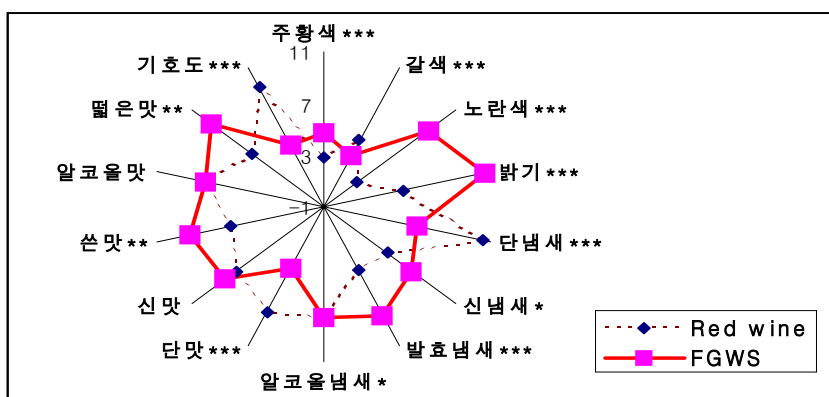
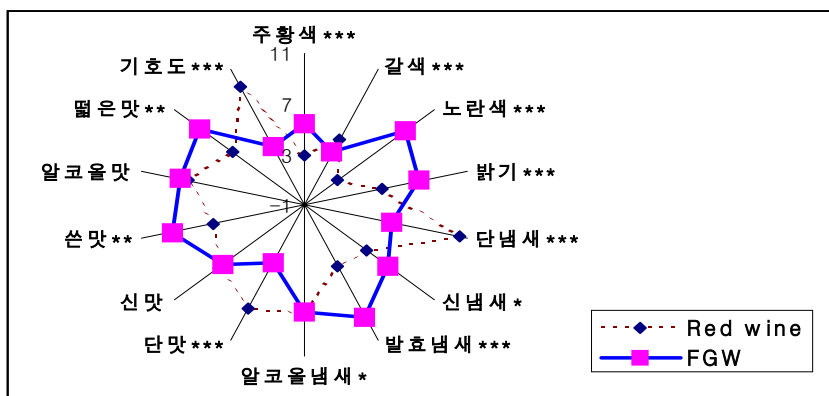


Fig. 8. QDA diagram for total intensity acceptability of fruit wines

7) 요약

국내산 과실주의 활용 방안을 높이기 위하여 국내산 구기자를 원료로 제조한 구기자 과실주의 이화학적 특성 및 관능적 품질을 포도주와 비교하여 분석, 검토하였다.

구기자 과실주의 알코올 함량은 11.5°~13.7°사이로 포도주(12.4°~13.5°)와 비슷했으며, 환원당 함량 및 당도는 7~12°Brix로 이천산 포도주(15.4°Brix)보다 낮았다. pH는 구기자 과실주(pH 3.4~4.0)가 포도주(pH2.45~2.8)보다 높았으나 각 시료 간에는 대체로 고른 값을 보였다. 구기자 과실주의 유기산 함량은 lactic acid가 10,597~33,435 ppm으로 가장 높았으며, acetic acid(680~3,630 ppm)와 citric acid(417~2,849 ppm)의 순으로 높게 나타났다. 포도주에 함유된 주요 유기산은 tartaric acid와 malic acid로 tartaric acid는 각 포도주에서 1,480~1,688 ppm을 기록하여 비슷하였으나, malic acid와 lactic acid 함유량은 수입포도주와 국내산 포도주 간에 다소 차이를 보였다. Citric acid의 양은 건조구기자 과실주를 제외하고는 비슷한 수치를 보였다.

술의 기능성을 나타내는 총 페놀 함량은 건조구기자 과실주가 2,460 ppm 이상으로 가장 높게 관찰되었으며, 수입포도주(2,206 ppm), 생구기자 과실주(1,493~1,710 ppm), 국내산 포도주 순이었다.

전문관능요원에 의해 실시된 QDA 결과는 과실전체를 사용한 구기자주의 색과 투명도가 청주와 가장 유사했으며, 과피와 씨가 첨가되어 뚝은 맛이 다소 두드러진 것을 제외하고는 과즙만을 이용한 구기자주와 유의적 차이가 거의 없었다.

포도주의 경우 구기자 과실주에 비해 발효냄새와 쓴맛, 뚝은 맛이 적은 대신 단냄새와 단맛에서 월등히 높게 평가되어 전체적인 선호도가 가장 높았으며, 구기자 과실주에서는 비린 맛이 다소 강한 생구기자 보다는 건조구기자로 담은 과실주에 대한 기호도가 약간 높았다.

결론적으로 포도주 제조방법을 응용하여 제조한 구기자 과실주는 알코올 함량이나 당도 등 화학적 성분에 있어서 포도주와 큰 차이가 없으므로 과실주로의 개발 가능성은 높은 것으로 보여진다. 관능적 품질 향상을 위해서는 생구기자에 비해 당도가 높고 비린맛이 적은 건조구기자를 이용하는 편이 나을 것으로 생각되며, 적절한당 첨가와 더불어 향이 좋은 다른 과실과 혼합하여 제조한다면 구기자의 기능성을 살린 상품성 있는 과실주를 탄생시킬 수 있을 것이라 생각된다.

제 5 절: 구기자즙액의 발효과정 중 기능성 변화 연구

1. 실험방법 및 내용

가. 구기자주의 Zeaxanthin 및 Betain 함량측정

1) Zeaxanthine 함량 측정

FKJ(생구기자주, 고형분 미포함), FKJS(생구기자주, 고형분 포함), DKJ(건조 구기자주, 고형분 미포함), DKJS(건조 구기자주, 고형분 포함)의 4개 시료에 포함되어 있는 zeaxanthine 성분을 확인하기 위해 일본의 와코(주)에서 표준물질을 구매하여 표준곡선을 얻어, 표준곡선 대비 구기자주 성분상에 포함되어 있는 zeaxanthine 함량을 측정하였다. 분석은 HPLC 기기를 활용하여 분석하였다.

2) Ion-Exchange 법을 활용한 베타인 함량 측정

위의 4개 시료에 대한 베타인 함량분석은 식품첨가물 공전 정량법을 이용하여 측정하였다(식품첨가물 공전, 1998). 위의 4가지 시료를 각각 순서대로 NO.4, NO.2 여과지로 여과한 후 이온교환 컬럼에 통과시켰고, 이온교환 컬럼은 HiTrap SP(상), HiTrap Q(하)를 사용하였고, buffer를 흘려 보내 각각을 활성화 시킨 후 서로를 연결시켜 통과시켰다. 베타인이 쌍성이온의 성질을 가지고 있어서 음이온과 양이온 컬럼을 동시에 통과시켰다. 이 용액을 감압농축을 시킨 후 묽은 염산으로 pH를 1.0으로 맞춘 후, Reinecke salt 용액 5ml를 첨가한 후에 4℃에서 3시간 방치 후 그 침전물을 받아서 95% EtOH로 용해시킨 다음, 수분이 완전히 제거될 때까지 감압농축을 시킨 다음 70%(v/v) Acetone 25ml를 수기를 완전히 씻어낸 용액을 가지고 O.D. 525nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선은 0.2%(w/v) betaine를 제조하여 작성하였고 시료의 베타인 함량은 mg betaine/g solid로 나타내었다.

나. 동물실험에 의한 구기자주 고형분의 혈중 콜레스테롤 저하 및 지방간 예방 효과 분석 실험

1) 실험재료

(1) 시료

2004년도 청양 구기자 시험장에서 수확한 블로종 생 구기자를 사용하였다. 이 생 구기자를 가톨릭대학교에서 발효시키지 않은 구기 주스와 발효과정을 통해 알코올을 형성시킨 구기주를 담았고, 이를 획득하여 동물실험 시료로 사용하였다.

(2) 시약 및 기기

T-CHO(total cholesterol), TG(triglyceride)는 혈청내의 콜레스테롤과 중성지방 함량을 측정하는데 사용 하였고, GOT(glutamic oxalacetic transaminase), GPT(glutamic pyruvic transaminase) assay kits는 혈청 내 화학성분 및 효소활성을 측정하는데 사용 하였다. 이 모든 측정용 kits는 아산제약(주)에서 구매하여 사용하였다. 각각의 측정 시 적정 온도(37℃)는 incubator를 사용하여 조건을 설정하였고, 실험간 부패 방지를 위해 모든 과정은 4℃에서 수행하였다.

(3) 실험 동물

생후 6주된 SD(sprague-Dawley, 180~200g)종 웅성 흰쥐를 샘타코(주)에서 구매하여 사용하였다. 이때 사육 환경은 항온 및 항습조건(22±0.5℃, 상대습도 55±5%)을 유지하고 명암은 인공조명 하에서 1일 12시간씩 교대하였다. 각 군별 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2) 실험방법

(1) 시료의 제조

2004년도 10월에 청양 구기자 시험장에서 수확한 생과 불로종 구기자를 가지고 발효과정을 통해 구기주를 담았고, 구기주는 건과와 생과를 각각 White wine 양조기법과 Red wine 양조기법에 준하여 껍질을 넣고 담은 것과 착즙 후 껍질을 제거하고 담은 것으로 구분하여 건과 및 생과 각각 2개 군씩 총 4개군을 제조하였다. 본 동물실험에 사용한 시료는 그 중에서 생과로 껍질을 넣고 담은 것을 선택하여 혈중 콜레스테롤 저하 효과 여부를 확인하는 과정에 사용하였다. 구기 주스는 2004년도 연구과제 수행 중에 담았던 방법으로 제조하여 실험간 구기주와 효과 비교 시 사용하였다.

(2)시료의 동결건조

우선 알코올 성분과 일정부분의 수분을 제거하기 위해 Rotary evaporator(Heidolph, Germany)로 회전을 시키며, 수조온도 50℃에서 2시간정도 감압농축을 시켜 알코올을 완전히 제거시키고, 일부 수분을 제거하였다. 적당량의 농축액을 Freeze dryer(samwon, korea)를 이용하여 완전히 건조 후 동물실험의 검체로 활용할 수 있도록 실험 농도를 고려하여 conical tube에 분획하여 사용되기 전까지 -70℃에 냉동 보관하였다.

(3) 실험 식이

실험 식이는 일반식으로 AIN-93M 을 선택하여 사용하였고, 고지방 식이는 AIN-93M식이에 1% 콜레스테롤이 첨가된 식이를 사용하였는데, 고지방 식이는 기본 사료에 40%(중량 %)의 우지(Beef Tallow)를 첨가하여 지방함량을 높였으며, 지방함량이 높아서 푸석푸석한 상태로 그 형태를 제대로 유지하기가 쉽지 않았다. 이러한 특징 때문에 일반사료와 고지방 사료는 쉽게 구분이 되어 실험간 혼동될 우려가 없었다.

3) 검체의 혈중 콜레스테롤 저하 효과 분석

(1) 사육

SD(sprague-Dawley, 180~200g)중 웅성 흰쥐를 한 실험군에 6마리씩 배정하였다. 실험은 구기 주스와 구기주를 비교하는 실험과, 구기주를 농도별로 차등을 두어 농도에 따른 효과 변화를 확인하는 실험으로 2회 실시하였다. 1차 실험에서는 6개 군으로 구분하여 실험하였는데, 일반사료, 고지방사료, 구기주 저 농도(1g 고형분/kg 체중)/ 고 농도(2g 고형분/kg 체중), 구기주 저 농도(1g 고형분/kg 체중)/ 고 농도(2g 고형분/kg 체중)로 구분하였다. 사육 식이는 일반사료와 고지방사료에 1% 콜레스테롤이 첨가된 사료를 사용하였고, 처음 적응기간에는 일반사료를 먹이고, 유도 및 투여기간에는 일반사료군을 제외한 나머지 군은 모두 고지방 식이를 섭취시켰고, 물과 식이는 자유로이 섭취토록 하였다. 검체를 투여하는 기간은 매일 무게를 측정하여 무게의 증가량을 고려하여 시료를 경구 투여 하였다. 2차 실험에서는 총 4개군으로 편성하였는데, 일반사료군, 고지방사료군, 구기주 저농도(0.1g 고형분/kg 체중), 고 농도(0.5g 고형분/kg 체중)로 구분하였다. 적응기간 및 투여 기간은 1차 실험과 동일하게 실시하였다.

(2) 검체 투여

동결 건조된 conical tube에 담겨 있던 검체는 0.9% saline용액을 가지고 각각의 농도로 희석하여 사용량만큼씩 제조하여 4℃냉장 보관 후 1일 단위 필요량씩 분주하여 사용하였다. 일반/ 고지방 Control 군은 동일한 조건을 주기 위해 0.9% saline용액을 몸무게를 고려하여 투여 하였고, 구기주와 구기 주스 군은 각각의 시료로 만들어진 고 농도와 저 농도를 몸무게를 고려하여 1일 단위 일정시간에 투여하였다. 1차 실험 간에는 적응기간 3일, 유도기간 1주일을 둔 후 경구 투여를 하였으나, 2차 실험에서는 적응기간을 둔 후 바로 고지방 식이를 섭취시키면서 검체를 투여하였다.

(3) 체중 및 간 무게 측정

체중은 처음 구매와 동시에 일정무게 단위로 Grouping화 시키기 위해 측정하였고, 3일간의 유도 기간이 지난 후에 다시 전체적인 무게 측정을 통해 군별 6마리씩 비슷한 무게로 나누어 cage에 넣어 사육하였다. 1차 실험 유도 기간 중에는 2일에 1번씩 무게를 측정하였고, 1,2차 실험 검체 투여 기간에는 1일 단위 무게 측정을 통해 무게를 고려한 검체 투여를 하였다. 간 무게 측정은 혈액을 채취 후 개복하여 간을 적출한 후 0.9% saline용액에 혈액을 씻어낸 후 실험용 휴지에 물기를 제거하여 전자저울로 측정하였다. 측정한 간 무게는 liver weight(g)로 나타내었다.

(4) 혈청의 화학성분 및 효소활성 검사

① GOT 및 GPT 활성 측정

혈청중의 GOT와 GPT활성은 Reitman-Frankel법에 의한 assay kits를 이용하여 측정하였다. 측정 방법은 기질액 1ml을 넣고 37℃에서 5분간 방치 후, 혈청 0.2ml을 넣고 잘 혼합하여 GOT는 37℃에서 60분간, GPT는 30분간 방치 후, 정색시약 1ml을 넣고 잘 혼합하여 20분간 방치한 다음, 0.4N NaOH용액 10ml을 넣고 잘 혼합한 후 10분간 실온에 방치한 다음 505 nm에서 흡광도를 측정한 값을 표준곡선에 대입하여 활성도를 측정하였다.

② 총 콜레스테롤 함량 측정

혈청중의 총 콜레스테롤 함량은 V-Cholesterol assay kits(아산제약, 한국)를 사용하여 측정하였다. 측정 방법은 우선 혈액 0.02ml과 효소시액 3.0ml을 넣고 잘 혼합하여 37℃에서 5분간 방치 후 60분 이내에 500 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에 대입하여 각각의 함량을 측정하였다.

③ 중성지방 함량 측정

혈청중의 중성지방 함량은 지단백질 가수분해효소(lipoprotein lipase)에 의해 glycerol과 유리지방산으로 가수 분해되는 효소법에 의한 Cleantech TG-S assay kits(아산제약, 한국)를 이용하여 측정하였다. 측정 방법은 혈청 0.02ml과 효소시액 3.0ml을 넣고 잘 혼합하여 37℃에서 10분간 방치한 다음, 60분 이내에 550nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에 대입하여 함량을 측정하였다.

④ HDL 콜레스테롤 함량 측정

분리시액 중 인팅스텐산과 마그네슘 양이온의 작용으로 lipoprotein중 LDL(low Density lipoprotein)을 침전시킨후 상청에 남은 HDL(high Density

lipoprotein)을 정량하는 방법을 사용한다. 아산제약에서 구매한 AM 203K를 사용하여 측정하였다. 측정방법은 혈청 0.2ml과 분리시액 0.2ml을 넣고 잘 혼합한 후 실온에서 10분간 방치한 다음, 3000rpm에서 10분간 원심 분리한 상등액 0.1ml과 효소시액 3.0ml을 잘 혼합한 후 37℃에서 5분간 방치한 다음, 500nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에 대입하여 함량을 측정하였다.

(5) 간 화학성분 분석

간 1g에 ice-cold 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4) 9ml를 넣어 4℃, 11,000 rpm에서 1분 동안 균질화하여 10%(w/v) Liver Homogenate를 제조한 다음 화학성분 분석에 사용하기 위해 최초 600×g에서 10분간 원심 분리 후 상등액 만을 취해 다시 10,000×g에서 20분간 원심분리 하여 상등액을 분석용 시료로 사용하였다. 이후 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL 콜레스테롤 함량 측정방법은 혈청의 방법과 동일하게 측정하였다.

(6) 통계처리

실험 결과들은 Statistic Analysis System(SAS) 프로그램을 활용하여 실험군당 mean±S.D(standard deviation)로 나타내었다. 각 군의 유의차 검정은 ANOVA test를 한 후 유의수준에서 Student's T-test로 검증하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 구기자주의 zeaxanthin 및 betain 함량

1) Zeaxanthine 함량

표준물질을 가지고 HPLC를 통과시켰을 경우에는 7.5분이 경과된 후에 표준곡선을 나타내었다. 하지만, FKJ(생구기자, 고휘분 미포함), FKJS(생구기자, 고휘분 포함), DKJ(건조 구기자, 고휘분 미포함), DKJS(건조 구기자, 고휘분 포함)의 4개 시료에서는 peak를 나타내지 않았다. 결과적으로, 4개의 시료에는 Zeaxanthine물질이 들어 있지 않았다. Zeaxanthine물질이 구기주가 발효되는 과정에서 없어졌거나, 열과 빛에 민감한 물질이라서 발효시켜 전처리 후 보관하는 과정에서 산화되어 없어졌을 수 있기 때문이라 판단된다.

2) Betaine 함량

FKJ(생구기자, 고휘분 미포함), FKJS(생구기자, 고휘분 포함), DKJ(건조 구기자, 고휘분 미포함), DKJS(건조 구기자, 고휘분 포함)의 4개 시료에 함유되어 있는 베타인 함량은 다음과 같다. FKJ에는 0.79mg/g solid, FKJS에는 0.94mg/g solid, DKJ에는 1.42mg/g solid, DKJS에는 1.57mg/g solid만큼 들어 있었다. 생 구기주에서 보다는 건조 구기주에 보다 많은 양이 함유되어 있었고, 고휘분을 착즙해서 담은 술 보다는 구기자 고휘분을 포함시켜서 담은 술에서

보다 많은 양이 검출되었다. 그래서 동물 실험시, 구기주 고형분을 넣어서 담은 FGWS(생구기주, 고형분 포함)를 시료로 사용하게 되었다. 베타인 성분이 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시키고, 혈당을 낮춰주는 탁월한 효능이 있다는 논문들이 많이 있었기 때문에 시료로 사용하게 되었다.

Table.1 Zeaxanthin and Betain contents in *Lycium chinense*

UN : mg/g

	Fruit Gugi-Ju	Fruit Gugi-Ju (with skin)	Dried Gugi-Ju	Dried Gugi-Ju (with skin)
Zeaxanthin	0	0	0	0
Betaine	0.79	0.94	1.42	1.57

나. 동물실험에 의한 씨 적은 구기자주 고형분의 혈중 콜레스테롤 저하 및 지방간 예방효과

1) 1차 실험결과 분석(구기자주와 구기자스 고형분의 콜레스테롤 저하효과 분석)

(1) 체중 증가량 및 간 무게 변화

총 사육기간 동안 몸무게 변화량은 Fig.1과 같다. 일반 사료군 120.2g, 고 지방 사료군 128.4g, 술 저 농도 119.8g, 술 고농도 124.7g, 주스 저 농도 121.8g, 주스 고 농도 124.8g 으로 고 지방 사료군 대비 일반 사료군, 술 저 농도, 주스 저 농도에서 유의적인 차이를 보임을 알 수 있었다. 다른 군에서도 고지방 사료군 대비 다소 낮게 형성되었지만 유의적 차이를 보이지는 않았다. 간 무게 측정 결과는 Fig.2와 같다. 일반사료 군 9.0g, 고 지방 사료군 13.4g, 술 저 농도 군 9.8g, 술 고 농도 군 10.8g, 주스 저 농도 군 11.0g, 주스 고 농도 군 10.8g으로 고 지방 사료 군 대비 전체적으로 낮게 형성됨을 알 수 있다. 특히 일반 사료 군과 술 저 농도 군에서 유의적 차이를 보이며 현저하게 낮게 형성됨을 알 수 있었다.

간 무게 측정결과 간 무게가 고 지방 식이 군에 비해 술 저 농도 군에서 유의적 차이를 보이며 낮게 형성된 것은 구기주 고형분이 간 조직의 세포막 보호와 정상적인 지질 대사로 지방간 형성을 억제시킴으로써 고지방 식이 섭취에 따른 지방간 형성과 대사 과정 중 생성되는 ROS에 의해 유도되는 간세포 증식을 억제시켰기 때문이다.

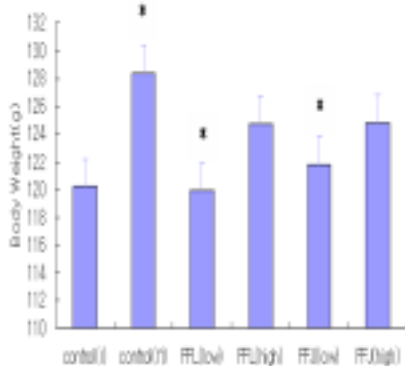


Fig. 1 Body weight gain of rats fed the liquor and juice of *Lycium chinense* fruit

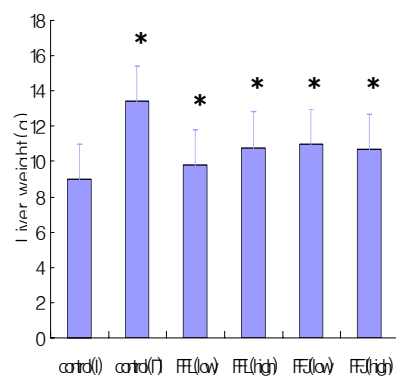


Fig. 2 Liver weight of rats fed the liquor and juice of *Lycium chinense* fruit

Identities: FFL=Fresh fruit fermented liquor of *Lycium chinense*; low=1g solid/kg b.w.; high=2g solid/kg b.w.; FFJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*; * $p < 0.05$ significantly different from the control(II) group

(2) 혈청의 화학성분 및 효소활성 분석

① GOT 및 GPT활성 변화

GOT 및 GPT활성은 간의 실질 조직 세포의 손상을 직접적으로 나타내는 지표이다. 각각의 측정결과는 Fig. 3에서와 같다. 측정결과를 보면 일반 사료 군에 비해 고지방 식이 사료 군에서 높게 형성되었음을 알 수 있다. 고지방 사료 섭취에 따른 지방간화와 ROS형성에 따른 간세포 증식 등의 원인으로 높게 형성되었다. 그러나, 구기주 고형분은 간세포 보호를 통해 지방간화를 억제시키는 효과가 있어 구기주 고형분 저 농도에서는 고지방 사료 군이지만 GOT/GPT 측정 결과가 낮게 형성 되었다. 또한, 구기주와 구기 주스 고형분을 섭취한 전체 군에서도 유의적인 차이를 보이며 측정결과가 낮게 형성되었다. 이 결과를 통해 우리는 구기자가 간 보호 효과가 있듯이 구기주와 구기 주스도 간 보호 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 구기 주스 보다는 이를 발효 시킨 구기주에서 보다 좋은 효과가 있음을 알 수 있었고, 고 농도에 비해서 저 농도에서 좋은 효과가 있음을 알게 되었다. 하지만, Dose dependant한 관계를 나타내지 못하고 고 농도가 저 농도 보다 효과가 떨어짐을 확인할 수 있었는데, 이러한 문제점을 찾아 서로간의 유의성을 확인하기 위해 저 농도인 1g 고형분/ kg 체중 보다 더 낮은 농도에서 변화를 관찰하기 위해 2차 실험을 실시하였다.

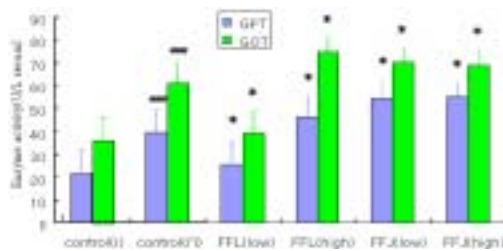


Fig 3. Effects of the liquor and juice of *Lycium chinense* fruit on the activities of serum GPT and GOT.

Identites: FFL=fresh fruit fermented liquor of *Lycium chinense*; low=1g solid/kg b.w.; high=2g solid/kg b.w.; FFJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*; * $p<0.05$ significantly different from the control(II) group; *** $p<0.001$ significantly different from the control group

② 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량 변화

검체 투여에 의한 혈청 및 간 총 콜레스테롤과 중성지방 함량 변화는 Fig. 4, Fig.5와 같다. 측정결과 일반사료 군에 비해 고지방 사료 군에서 유의적 차이를 보이며 높게 형성되었고, 고지방 사료 군 내에서는 유의적 차이를 보이지 않았으나, 구기주 저 농도에서 유의적 차이를 보이며 현저히 낮게 형성됨을 확인할 수 있었다. 이는 혈청에서 뿐만 아니라 간 에서도 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 중성지방 측정결과에서는 일반사료 군 대비 고지방 사료 군과는 유의적 차이를 보였고, 고지방 사료군 대비 구기 주스와 구기주 모두 유의적 차이를 보이며 낮게 형성됨을 알 수 있었다. 이는 구기주와 구기 주스에 포함되어 있는 베타인(betain)성분이 콜레스테롤을 억제시키는 효과가 있어서 콜레스테롤 수치를 낮춰주는 효과와 구기자가 지방간 형성을 억제시키는 효과가 있어서 콜레스테롤과 중성지방을 낮춰 주는 효과가 있기 때문이다. 그러나 이 경우도 구기 주스보다는 이를 발효 시킨 구기주에서 좋은 효과를 보였고, 고 농도 보다는 저 농도에서 좋은 결과를 얻을 수 있었다. 이 경우도 농도 의존적인 성향을 보이지 않아 농도별 연계성을 확인하기 위해 2차 실험을 실시하게 되었다.

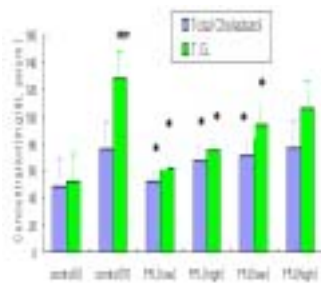


Fig. 4 Effects of liquor and juice of *Lycium chinense* fruit on the serum total cholesterol and triglyceride contents

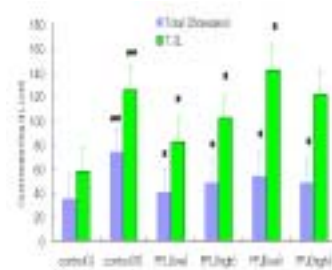


Fig. 5 Effects of liquor and juice of *Lycium chinense* fruit on the liver total cholesterol and triglyceride contents

Identities : FFL=Fresh fruit fermented Liquor of *Lycium chinense* ; low = 1g dry matter/ kg b.w.; high= 2g dry matter/ kg b.w.; FFJ=Fresh fruit Juice of *licium chinense* ; ***p < 0.001 significantly different from the control group ; *p < 0.05 significantly different from the control(II) group

③ HDL/ LDL 콜레스테롤 함량변화

HDL/LDL 콜레스테롤함량 측정결과는 Fig. 6, Fig. 7과 같다. 일반 사료군에서 가장 높게 형성이 되었고, 일반사료 군과 고 지방 사료 군 과는 유의적 차이를 보이며, 고지방식이군 내에서는 구기주 저 농도와 구기 주스 저 농도에서는 유의적 차이를 보이며, 나머지 구기주, 구기 주스 각각 고 농도와는 유의적 차이를 보이지 않았다. 이 결과에서도 구기주와 구기 주스 저 농도가 우리 몸에 유용한 HDL 콜레스테롤 저하를 억제시키고, 우리 몸에 좋지 않은 LDL 콜레스테롤 함량 증가를 억제시키는 효과가 있음을 알 수 있었다.

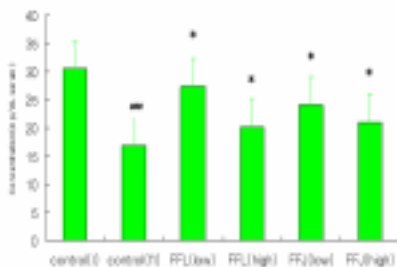


Fig. 6 Effects of liquor and juice of *Lycium chinense* fruit on the serum HDL Cholesterol content

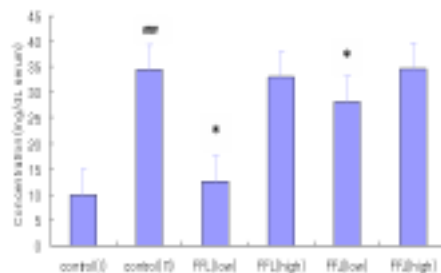


Fig. 7 Effects of liquor and juice of *Lycium chinense* fruit on the serum LDL Cholesterol content

Identities: FFL=fresh fruit fermented liquor of *Lycium chinense*; low=1g solid/kg b.w.; high=2g solid/kg b.w.; FFJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*; *p<0.05 significantly different from the control(II) group; ***p<0.001significantly different from the control group

2) 2차 실험결과 분석(구기주 농도별 콜레스테롤 저하 효과분석)

(1) 체중 증가량 및 간 무게 변화

경구 투여기간 동안 몸무게 변화량은 Fig.8과 같다. 일반 사료군 56.9g, 고 지방 사료군 67.1g, 술 저농도 65.0g, 술 고농도 61.1g 으로 고 지방 사료 군 대비 술 저 농도 군은 유의적 차이를 보이지 않았으나, 술 고 농도 군과는 유의적 차이를 보임을 알 수 있었다. 간 무게 측정 결과를 보면 일반사료 군 9.0g, 고 지방 사료 군 10.1g, 술 저 농도 군 9.6g, 술 고 농도 군 9.4g로 고 지방 사료 군 대비 일반사료 군과 술 고 농도 군이 유의적 차이를 보임을 알 수 있었다. 그러나 간 무게 측정 결과에서 각 군별 현저한 차이를 보이는 경우는 없었다.

간 무게 측정결과 고 지방 식이 군에 비해 술 저 농도에서 유의적 차이를 보이며 무게가 낮게 형성된 것은 1차 실험에서와 같이 구기주 고형분이 간 조직의 세포막 보호와 정상적인 지질 대사로 지방간 형성을 억제시킴으로써 고지방 식이 섭취에 따른 지방간 형성과 대사 과정 중 생성되는 ROS에 의해 유도되는 간세포 증식을 억제시켰기 때문이다.

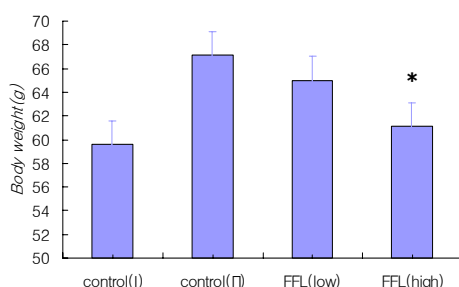


Fig. 8 Body weight gains of rats fed liquor of the *Lycium chinense*

Identites: FFL=fresh fruit fermented liquor of *Lycium chinense*; low=1g solid/kg b.w.; high=2g solid/kg b.w.; FFJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*; *p<0.05 significantly different from the control(II) group

(2) 혈청의 화학성분 및 효소활성 분석

① 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량 변화

검체 투여에 의한 혈청 총 콜레스테롤과 중성지방 함량 변화는 Fig.9, Fig.10과 같다. 측정결과 일반사료 군에 비해 고지방 사료 군에서 유의적 차이를 보이며 높게 형성되었고, 고지방 식이군 내에서는 구기주 저 농도와는 유의적 차이가 없었으나, 구기주 고 농도와는 유의적 차이를 보이며 낮게 형성됨을 알 수 있었다. 중성지방 측정결과에서는 일반사료 군 대비 고지방 사료 군과 유의적 차이를 보였고, 고지방 식이 섭취군 대비 구기주 저 농도와 고 농도 군 모두 유의적 차이를 보이며 낮게 형성됨을 알 수 있었다. 이는 1차 실험의 결과에서와 같이 구기주에 포함되어 있는 베타인(betain)성분이 콜레스테롤을 억제시키는 효과가 있어서 콜레스테롤 수치를 낮춰 주었고, 구기자가 지방간 형성을 억제시키는 효과가

있어서 중성지방을 낮춰 주었다 생각한다. 2차 실험에서는 저 농도 보다는 고 농도에서 효과가 있는 것으로 확인이 되어 1차 실험과 연계성을 얻을 수 있었다.

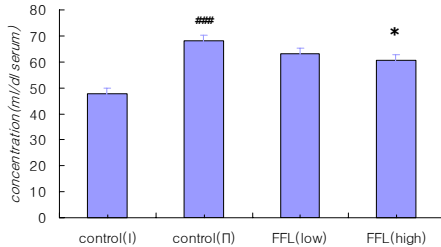


Fig. 9 Effects fermented liquor of *Lycium* fruit on serum total cholesterol

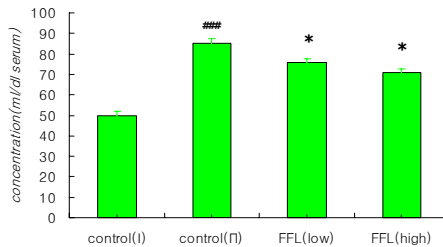


Fig. 10 Effects fermented liquor of *Lycium* fruit on serum triglyceride

Identites: FFL=fresh fruit fermented liquor of *Lycium chinense*; low=1g solid/kg b.w.; high=2g solid/kg b.w.; FFJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*; * $p<0.05$ significantly different from the control(II) group; *** $p<0.001$ significantly different from the control group

② HDL/ LDL 콜레스테롤 함량변화

HDL/LDL 콜레스테롤함량 측정결과는 Fig. 11, Fig. 12와 같다. HDL 콜레스테롤 분석 결과 고지방 식이 군과 구기주 저 농도 군에서는 유의적 차이를 보이지 않았고, 구기주 고 농도와는 현저한 차이를 보임을 알 수 있었다. 또한, 일반 사료 군과 구기주 고농도 군에서 비슷한 수치를 얻을 수 있었다. LDL콜레스테롤 수치에서도 고 지방 식이 군 대비 구기주 고 농도 군에서 유의적 차이를 보이며 낮게 형성됨을 확인 할 수 있었다.

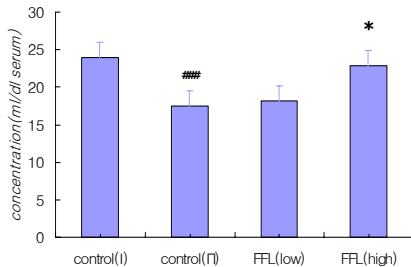


Fig. 11 Effects fermented liquor of *Lycium* fruit on serum HDL cholesterol

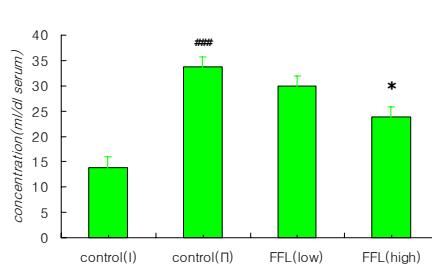


Fig. 12 Effects fermented liquor of *Lycium* fruit on serum LDL cholesterol

Identites: FFL=fresh fruit fermented liquor of *Lycium chinense*; low=1g solid/kg b.w.; high=2g solid/kg b.w.; FFJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*; * $p<0.05$ significantly different from the control(II) group; *** $p<0.001$ significantly different from the control group

③ GOT 및 GPT활성 변화

GOT 및 GPT활성 측정결과는 Fig. 13, Fig. 14와 같다. 2차 실험결과에서도 GOT 측정결과는 일반사료 군(40.7)보다 고지방 사료 군(118.0)에서 높게 형성 되었으며, 고지방 사료 군중에서도 통제군과 비교시 구기주 저 농도 군(98.2)과 구기주 고 농도 군(89.4) 모두 유의적 차이를 보였다. GPT 측정결과에서도 일반사료 군(32.4)보다 고지방 사료 군(57.2)에서 높게 형성 되었으며, 고지방 사료 군중에서도 통제군과 비교시 구기주 저 농도 군(50.2)과 구기주 고 농도 군(46.1) 모두 유의적 차이를 보였다. 구기주 저 농도 군보다는 고 농도 군에서 GOT 및 GPT활성이 낮게 형성되었는데, 결과적으로 저 농도 군보다는 고 농도 군에서 간 보호 효과가 더 뛰어남을 알 수 있었다. 1,2차 실험을 통해서 보면, 너무 낮은 농도와 높은 농도에서는 효과가 별로 없고 적절한 농도 구배에서 효과가 뛰어 남을 알 수 있었다.

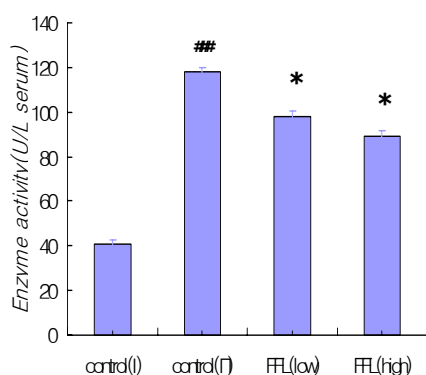


Fig. 13 Effects fermented liquor of *Lycium* fruit on activities of the serum GOT

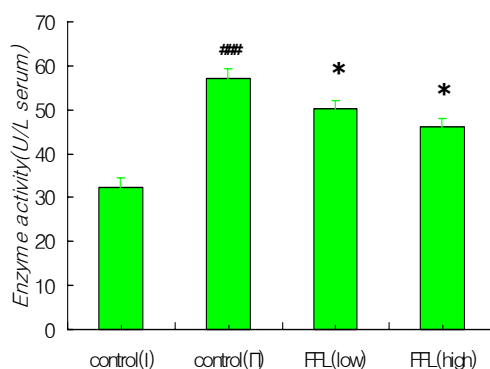


Fig. 14 Effects fermented liquor of *Lycium* fruit on activities of the serum GPT

Identites: FFL=fresh fruit fermented liquor of *Lycium chinense*; low=1g solid/kg b.w.; high=2g solid/kg b.w.; FFJ=Fresh fruit juice of *Lycium chinense*; * $p < 0.05$ significantly different from the control(II) group; *** $p < 0.001$ significantly different from the control group

3) 구기자주 고형분 투여 농도에 따른 기능성 변화

총 콜레스테롤, 중성지방, LDL, HDL 함량과 GOT, GPT 활성 변화를 농도에 따른 변화율(%)로 나타내면 다음과 같다. 총 콜레스테롤 및 중성지방의 경우 고지방 사료군 대비 0.1g solid/kg body weight에서는 7.5%, 11.4% 감소를, 0.5g에서는 11%, 11.4% 감소효과를 보였으며, 1g에서는 31%, 51%, 2g에서는 10.7%, 41.4% 감소 하보였다.

HDL 및 LDL 콜레스테롤의 경우 고지방 사료군 대비 0.1g solid/kg body weight에서는 4%(↑), 11.3%(↓), 0.5g에서는 30.9%(↑), 29.4%(↓) 효과를 보였으며, 1g에서는 62.5%(↑), 63%(↓), 2g에서는 20.2%(↑), 4.6%(↓) 효과를 보였다. GOT 및 GPT 활성도 비슷한 효과를 보였다. 고지방 사료군 대비 0.1g solid/kg body weight에서는 16.8%, 12.2% 감소를, 0.5g에서는 24.2%, 19.4% 감소효과를 보였으며, 1g에서는 36.3%, 35.2%, 2g에서는 21.9%, 18.1% 높게 나타났다.(Fig. 15, 16, 17)

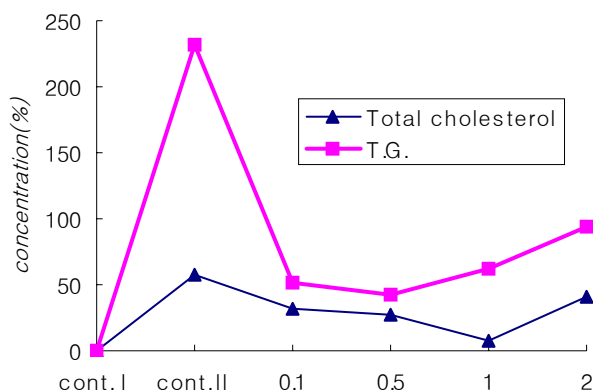


Fig. 15 Compare different concentration of *lycii* fructus liquor with effecting on the serum Total cholesterol and triglyceride content

- * Control I : AIN-93G normal diets
- * Control II: AIN-93G+ high fat diets(1% cholesterol)
- * 0.1 = 0.1g dry matter/kg b.w. 0.5 = 0.5g dry matter/kg b.w.
- * 1 = 1g dry matter/kg b.w.; 2 = 2g dry matter/kg b.w.

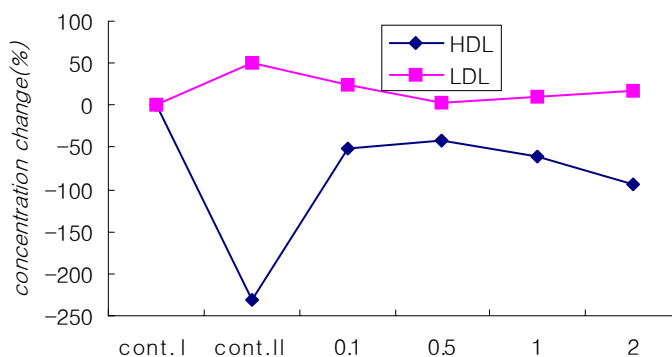


Fig. 16 Compare different concentration of *lycii* fructus liquor with effecting on the serum HDL and LDL cholesterol content

- * Control I : AIN-93G normal diets
- * Control II: AIN-93G(in high fat diets(1% cholesterol))
- * 0.1 = 0.1g dry matter/kg b.w.; 0.5 = 0.5g dry matter/kg b.w.
- * 1 = 1g dry matter/kg b.w.; 2 = 2g dry matter/kg b.w.

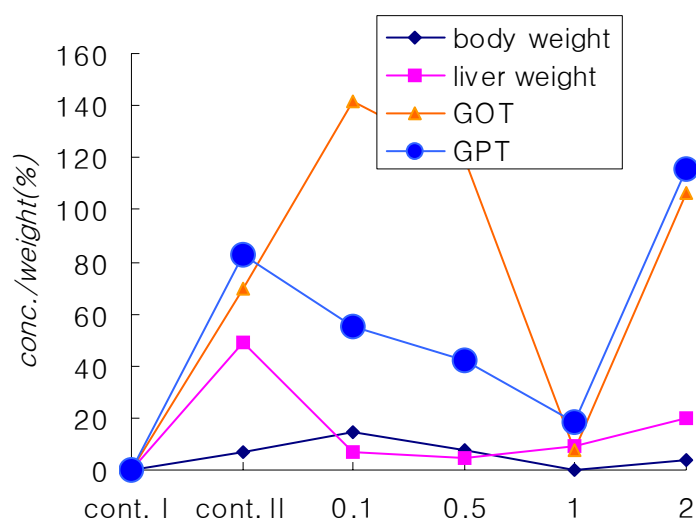


Fig. 17 Compare different concentration of *lycii* fructus liquor with effecting on the Body , liver weight gains and GOT,GPT activity

* Control I : AIN-93G normal diets

* Control II: AIN-93G(in high fat diets(1% cholesterol))

* 0.1 = 0.1g dry matter/kg b.w.; 0.5 = 0.5g dry matter/kg b.w.

* 1 = 1g dry matter/kg b.w.; 2 = 2g dry matter/kg b.w.

제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

- 시력 개선효과를 알아보기 위한 betaine, zeaxanthin 분석결과 청양산 불로 구기자의 함량이 높게 평가되었다(진도산, 북한산, 청양산). MTT Assay법을 이용한 불로 구기자 시료가 간세포 증식에 미치는 영향 측정결과 건조방법에 차이없이 구기자 추출물 모두에서 AML12 Cell의 재생능력이 뛰어났다.
- 불로 구기자의 간세포독성 보호효과 실험에서도 구기자 추출물 첨가가 CCl₄에 의한 간세포 독성을 완화 하는 효과를 나타내었다. 동물실험 결과에서도 불로 구기자 물 추출물 및 생과즙의 간독성 보호효과를 혈액 및 간 세포 조직을 이용하여 측정하였는데, 그 결과 CCl₄ 처리에 의해 발생된 간독성을 억제시키는 효과가 뚜렷함을 알 수 있었다. 또한 간세포 조직을 분쇄하여 얻은 상등액을 가지고 실험한 glutathione-S-transferase, cytochrome-P450의 효소 활성 분석에서도 간독성 보호효과가 있음을 알 수 있었다.
- 구기주 제조 과정 중에 일어나는 betaine과 zeaxanthin 분석결과 betaine은 큰변화를 보이지 않았으나, zeaxanthin은 구기주에서 검출되지 않았다. Zeaxanthin의 경우는 발효과정에서 없어졌거나, 열과 빛에 의한 관계로 중간에 없어졌을 가능성이 있다. 구기주 고형분의 혈중 콜레스테롤 저하효과를 분석하기 위한 동물실험에서도 구기주 고형분이 구기주스보다 탁월했고, 투여량이 0.5-1.0 g/ kg b.w.일때 효과가 뚜렷함을 알 수 있었다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 3년간의 연구결과를 통해 얻은 구기자의 효능에 대한 연구 결과를 바탕으로 구기자 홍보활동을 강화한다면 현재 구기자 제배 농가가 처해 있는 여러 가지 문제점들을 극복하고 현대사회와 같이 건강을 중시하는 사회에서 각광받는 품목으로 자리매김 할 수 있을 것이다.
- 본 연구 과제를 통하여 얻어진 기능성 성질에 대해서는 향후 관련 학회지에 발표하여 구기자 연구 분야의 기초 자료로 활용되게 할 것이다. 구기자 추출물과 구기 주스, 구기주에 대한 연구 결과를 바탕으로 구기자를 재료로 가공/생산하는 분야에서 기초 자료로 활용해서 구기자 산업 육성에 기여토록 활용되었으면 한다.

본 연구를 통하여 학술지에 발표 혹은 게재된 논문은 다음과 같다.

(1) 석사학위논문

- 1) 정진영 : 구기자와 포도의 양조특성에 관한 비교연구, 고려대학교 대학원 생명공학원 석사학위논문 (2005)
- 2) 김범준 : 구기자 건조 및 추출 조건에 따른 성분분석 비교연구, 고려대학교 생명공학원 석사학위 논문 (2004)
- 3) 박유미 : 생구기자와 건조 구기자를 이용한 구기자주 제조방법에 관한 연구, 고려대학교 생명공학원 석사학위논문 (2004)
- 4) 조연숙 : 국자 추출물의 간 보호 효과에 관한 연구, 고려대학교 생명공학원 석사학위 논문 (2004)
- 5) 강경일 : 동물실험에 의한 불로 구기자의 간독성 보호효과에 관한 연구, 고려대학교 :대학원 생명공학원 석사학위논문(2004)
- 6) 박영원 : HPLC 와 spectrophotometer를 이용한 구기자의 Zeaxanthin 함량 분석에 관한 연구, 고려대학교 식품공학원 석사학위 논문 (2003)

(2) 학술지

- 1) 강경일 : 동물실험에 의한 불로구기자의 간독성 보호효과에 관한 연구, 식품과학회지 투고예정
- 2) 김범준, 이주찬, 고경희, 이철호 : 구기자 건조 및 물 추출 조건에 따른 성분 분석 비교연구, 산업식품공학회 8(2), p105-110 (2004)

(3) 국제 학술대회 발표

- 1) Bum Jun Kim, Cher ho Lee, Effect of Drying Condition on The Quality and Functional Property of *Lycii Fructus*, FOOMA , Tokyo, Japan (2003)

(4) 국내 학술대회 발표

- 1) 박유, 이강경, 이철호. 구기자주 고형분의 혈중 Cholesterol 저하 효과 분석. 한국 식품과학회 제72차 학술회, 6월 15일-17일. COEX 컨벤션 센터, 서울, (2005)
- 2) 강경일, 정진영, 고경희, 이주찬, 이철호. 불로 구기자 추출물 및 생과즙 투여가 흰쥐의 간 독성 보호효과에 미치는 영향, 제 71차 학술대회 발표, 강원도 용평 한국식품과학회 (2004)

제 6 장 참고문헌

제 1 절 씨 적은 구기자, 구기엽, 지골피 부위별 건조가공 조건 기능성 연구

1. 식품첨가물공전, 식품의약품안전청, pp 639-640,(1998)
2. 김병원, 최명석, 노광수: 구기자의 세포생장과 Betaine 생산에 미치는 질산염과 인산염의 영향, 한국생물공학회지, Vol. 12, No. 2, 176-183(1997)
3. Young Geun Shin, Kyung Hee Cho, Jong Moon Kim, Man Ki Park, Jeong Hill Park:Determination of betaine in Lycium chinense fruits by liquid chromatography-electrospraionization mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 857, 331-335,(1999)
4. Granado F., Begona Olmedilla, Inmaculada Blanco, and Enrique Roja-Hidalgo: Carotenoid composition in raw and cooked spanish vegetables, J. Agric. Food Chem., 40, 2135-2140,(1992)
5. Nelis H.J.C.F. and A.P. De Leenheer: Isocratic nonaqueous reversed-phase liquid chromatography of carotenoids, Anal. Chem., 55, 270-275,(1983)
6. Anocha Kajadphai Taungbohitham, Gwyn P. Jones, Ma L.W & David R. Briggs: Evaluation of extraction method for the analysis of carotenoids in fruits and vegetables, Food Chemistry, Vol.63, No. 4, 577-584,(1998)
7. Arun B. Barua: Improved normal-phase and reversed-phase gradient high-performance liquid chromatography procedures for the analysis of retinoids and carotenoids in human serum, plant and animal tissues, Journal of Chromatography A, 936, 71-82(200)
8. F. Granado, B. Olmedilla, E. Gil-Martinez, and I. Blanco: A fast, reliable and low-cost saponification protocol for analysis of carotenoids in vegetables, Journal of food composition and analysis, 14, 479-489,(2001)
9. Qing Su, Kevin G. Rowley, Nicholas D.H. Balazs: Carotenoids: seperation methods applicable to biological samples, Journal of Chromatography B, 1-21(2002)

10. Oliver J., Andreu Palou: Chromatographic determination of carotenoids in foods, *Journal of Chromatography A*, 881, 543-555(2000)
11. Yuri Y. Sautin, James M. Crawford, and Stanislav I. Svetlov: Enhancement of survival by LPA via Erk1/Erk2 and PI 3-kinase/Akt pathways in a murine hepatocyte cell line, *Am J Physiol Cell Physiol*, Vol. 281, Issue 6, C2010-C2019, December 2001
12. Toshinori Noguchi, Masayuki, Hiroshi Masubuchi, Taiichiro Seki, and Toyohiko Ariga: IL-1 β Down-Regulates Tissue-Type Plasminogen Activator by Up-Regulating Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein in AML 12 Cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 288, 42-48(2001)

제 2, 3 절: 씨 적은 구기자즙의 간기능 활성화에 관한 연구

1. Aebi, H.: Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*, Bergmeyer, H.V.(ed) Academic Press, New York, Vol.2, 673-684
2. Anthony J. Barak, Harriet C. Becknhauer, and Dean J. Tuma: Betaine, Ethanol, and the Liver: A Review., *Alcohol* 13(4):395-398(1996)
3. Bai, J., Ana M. Rodriguez, J. Andres Melendez, and Arthur I. Cederbaum: Overexpression of Catalase in Cytosolic or Mitochondrial Compartment Protects HepG2 Cells against Oxidative Injury., *J. Biol. Chem.* 274:26217-26224(1999).
4. Barak AJ, Tuma DJ.: Betaine, Metabolic By-Product or Vital Methylating Agent?, *Life Sci.* 32:771-774(1983)
5. Boyland, E. and Chasseaud, L.F.: The Role of Glutathione and Glutathione S-Transferase in Mercapturic Acid Biosynthesis., *Adv. Enzymol.* 32:173-219(1969)
6. Bradford, M.M.: A Rapid and Sensitive Method for the Determination of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding., *Anal. Biochem.* 72:248(1976)
7. Brattin WJ., Glende EA Jr, Recknagel RO: Pathological Mechanisms in Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity, *Free Radic Biol Med* 1:27(1985)
8. Burk, R. F., Reiter, R., and Lane, J. M.: Hyperbaric Oxygen Protection

- against Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity in the Rat., *Gastroenterology*. 90:812-818(1986)
9. Castro JA: Mechanistical Studies and Prevention of Free Radical cell injury. Proceedings of the IUPHAR 9th International Congress of Pharmacology, Vol 2, London, Macmillan Press, 243-250(1984)
 10. Chambers ST.: Betaines - Their Significance for Bacteria and the Renal Tract., *Clin. Sci.* 88:25-7(1995)
 11. Didem Deliorman Orhan, Mustafa Aslan, Goknur Aktay, Ender Ergun, Erdem Yesilada, Fatma Ergun: Evaluation of Hepatoprotective Effect of *Gentiana olivieri* Herbs on Subacute Administration and Isolation of Aactive Principle., *Life Sciences* 72:2273-2283(2003)
 12. Edwards, M., Keller, B. J., Kauffman, F. C., and Thurman, R. G.: The Involvement of Kupffer Cells in Carbon Tetrachloride Toxicity., *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 119:275-279(1993)
 13. Elsisi, A.E. D., Hall, P., Sim, W-L. W., Earnest, D.L., and Sipes, I.G.: Characterization of Vitamin A Potentiation of Carbon Tetachloride -Induced Liver Iinjury., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 119:280-288(1993)
 14. Finkelstein, J.D., Kyle, W.E. and Harris, B.J.: Methionine Metabolism in Mammals. Regulation of Homocysteine Methyltransferases in Rat Tissue., *Archives of Biochemistry and Biophysics* 146:84-92(1971)
 15. Guengerich, F.P., Dong Hyun Kim, Masahiko Iwasaki: Role of Human Cytochrome P-450 IIE1 in the Oxidation of Many Low Molecular Weight Cancer Suspects., *Chemical Research in Toxicology* 4:168-179(1991)
 16. Gutteridge JM, Halliwell B.: Free Radicals and Antioxidants in the Year 2000, A Historical Look to the Future., *Ann. NY Acad. Sci.* 899:136-147(2000)
 17. Habig, W.H, Pabst, M.J., and Jackoby, W.B.: Glutathione S-transferase: The First Enzymatic Step in Mercapturic and Formation., *J. Biol. Chem.* 249:7130-7139(1974)
 18. Hampton, M.B., and Orrenius, S.: Dual Regulation of Caspase Activity by Hydrogen Peroxide: Implications for Apoptosis., *FEBS Lett.* 414:552-556(1997).
 19. Har, B. J., Lee, J. Y.: The Effect of Chondroitin Sulfate against CCl4-Induced Hepatotoxicity., *Bio. Pharm. Bull.* 26:622-626(2003)
 20. Harper, A.E., Monson, W.J., Benton, D.A. and Elvehjen, C.A.: The

- Influence of Protein and certain Amino acids, particularly Threonine, on the Disposition of Fat in the Liver of the Rats., *Journal of Nutrition* 50:383(1953)
21. Horton, A.A., and Fairhurst, S.: Lipid Peroxidation and Mechanisms of Toxicity., *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 18:27-79(1987)
 22. Hyman J. Zimmerman: Hepatotoxicity: The Adverse Effects of Drugs and Other Chemicals on the Liver, Lippincott Williams & Wilkins Press, Philadelphia(1999)
 23. Jakoby, W.B.: The Glutathione-S-Transferases: A Group of Multifunctional Detoxification Proteins., *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 46:383-414(1978)
 24. Jiangsu New Medical College: Chinese Medicine Dictionary, Shanghai Science and Technology Press, Shanghai(1979)
 25. Jian Yin: Modern study of Chinese drugs, *Clinical Applications(3)*, Ancient Book Press of Chinese Medicine(1997)
 26. Junnila M, Barak AJ, Beckenhauer HC, Rahko T.: Betaine Reduces Hepatic Lipidosis Induced by Carbon Tetrachloride in Sprague-Dawley Rats., *Vet Hum. Toxicol.* 40:263-266(1998)
 27. Kim, S. G., Chung, H. C., and Cho, J. Y.: Molecular Mechanism for Alkyl Sulfide-Modulated Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity: The Role of Cytochrome P450 2E1, P450 2B and Glutathione S-Transferase Expression., *J. Pharmacol. Experi. Thera.* 277:1058-1066(1996)
 28. Kowaltowski, A.J., Vercesi, Anibal E., Rhee, Sue Goo and Netto, Luis E.S.: Catalases and Thioredoxin Peroxidase Protect *Saccharomyces cerevisiae* against Ca^{2+} -Induced Mitochondrial Membrane Permeabilization and Cell Death., *FEBS Lett.* 473:177-182(2000)
 29. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J.: Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent., *J. Biol. Chem.* 193:265-275(1951)
 30. Mannervik, B.: The Isoenzymes of Glutathione Transferase., *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 57:357-417(1985a)
 31. Mannervik, B., Alin, P., Guthenberg, C., Jensson, H, Tahir, MK, Warholm M, Jornvall H.: Identification of Three Classes of Cytosolic Glutathione Transferase Common to Several Mammalian Species: Correlation between Structural Data and Enzymatic Properties., *Proc. Natl. Acad. Sci.*

- 82:7202-7206(1985b)
32. N Kaplowitz, T Y AW, M Ookhtens: The Regulation of Hepatic Glutathione., *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 25:715-744(1985)
 33. Ohkawa, H, Ohishi N, Yagi K.: Assay for Lipid Peroxide in Animal Tissue by Thiobarbituric Acid Reaction., *Anal. Biochem.* 95:351-358(1979)
 34. Omura, T. and Sato, R: The Carbon Monoxide-Binding Pigment of Liver Microsome: Evidence for Its Homo-Protein Nature. *J. Biol. Chem.* 239:2370-2378(1964)
 35. Raiford, D. S., and Thigpen, M. C.: Kupffer Cell Stimulation with *Corynebacterium parvum* Reduces Some Cytochrome P450-Dependent Activities and Diminishes Acetaminophen and Carbon Tetrachloride -Induced Liver Injury in the Rat., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 129: 36-45(1994)
 36. Rees KR, Sinha KP.: Blood Enzymes in Liver Injury., *J Pathol Bacteriol* 80:297-307(1960)
 37. Reitman S, Frankel S: A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminase., *Am J Clin Pathol* 28:56(1957)
 38. Roullier CH: Experimental Toxic Injury of the Liver. In: Roullier CH, ed. *The liver*, Vol. 2, New York, Academic Press, 335-476(1964)
 39. Selhub J.: Homocysteine Metabolism., *Annu Rev Nutr* 19:217-246(1999)
 40. Tada-Oikawa, S., Oikawa, S., Kawanishi, M., Yamada, M.: Generation of Hydrogen Peroxide Precedes Loss of Mitochondrial Membrane Potential during DNA Alkylation-Induced Apoptosis., *FEBS Lett.* 442: 65-69(1999).
 41. Toshikazu, Noguchi, Kuo-Lan Fong, Edward K. Lai, Steve S. Alexander, M. Margaret King, Larry Olson, J. Lee Poyer: Specificity of a Phenobarbital-Induced Cytochrome P-450 for Metabolism of Carbon Tetrachloride to the Trichloromethyl Radical., *Biochem Pharmacol* 31:615-624(1982)
 42. Wroblewski F, LaDue JS: Lactic Dehydrogenase Activity in Blood., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 90:210(1955)
 43. Yubin Ji: *Pharmacological Action, Application of Available Composition of Traditional Chinese Medicine*, Heilongjiang Science and Technology Press, Heilongjiang(1995)
 44. Zamocky, M., and Koller, F.: Understanding the Structure and Function of

- Catalases: Clues from Molecular Evolution and in vitro Mutagenesis., *Progress in Biophys. Mol. Biol.* 72:19-66(1999).
45. Zimmerman HJ, Kodera Y, West M.: Rate of Increase in Plasma Levels of Cytoplasmic and Mitochondrial Enzymes in Experimental Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity., *J. Lab. Clin. Med.* 66:315-323(1965)
 46. 김경순, 심상희, 정기화, 정춘식, 고광호, 박정일, 허훈, 이봉진, 김박광: 구기자 성분의 혈당강화작용., *응용약물학회지* 6:378-383 (1998)
 47. 김남재, 윤황금, 홍남두: 구기자나무의 약물활성., *Kor. J. Pharmacogn.* 25:264-271(1994)
 48. 김선여, 이희삼, 류강선, 이은주, 김영중: 사염화탄소에 의해 유발된 간독성에 대한 상백피 추출물의 간보호효과., *Yakhak Hoeji* 43:391-396(1999)
 49. 김옥경: 지구자나무 추출물이 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간손상에 미치는 영향., *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30:1260-1265(2001)
 50. 김희선, 박영숙, 김창임: 구기자 섭취에 의한 고지방식을 하는 흰쥐의 혈중 지질상태 변화., *한국영양과학회지* 31:263~270(1998)
 51. 문교부: 한국동식물도감, 408(1974)
 52. 박원중: 구기자의 화학적 조성과 그 추출물의 생리활성, 건국대학교 박사학위논문(1995)
 53. 배송자, 김남홍, 고진복, 노승배, 정복미: 고들빼기 식이가 간 독성을 유발한 흰쥐의 효소 활성화에 미치는 영향., *한국영양학회지* 30:19~24, 1997
 54. 식품의약품안전청: 식품첨가물 공전, 639(1998)
 55. 안학수: 한국농식물자원 명감, 일조각, 192(1982)
 56. 이태하: 인삼이 백서 간 약물대사 효소계에 미치는 효과., *약학회지* 25:145-151(1981)
 57. 윤종국, 박해숙, 이상일: 식이성 Tungstate가 사염화탄소 투여에 의한 흰쥐 간 손상에 미치는 영향., *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22:678-684(1993a)
 58. 윤종국, 김현희, 채순님, 오만진, 이귀희: 흰쥐에 있어서 구기자 추출물 첨가 식이가 간조직의 유해산소 및 알코올대사 효소활성에 미치는 영향., *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30:668-672(2001b)
 59. 이창복: 대한식물도감, 향문사, 663(1982)
 60. 정기화, 정춘덕, 노혜림: 승마추출물이 흰쥐의 사염화탄소 유발 간독성에 미치는 효과., *J. of Applied Pharmacology* 89-96(1996)
 61. 청양구기자 시험장: 구기자 발행물(1999)
 62. 통계청: 한국인의 사망원인(1999)
 63. 허준: 동의보감 3권, 남산당(1987)

제 4 절 : 구기주 발효기술 연구

1. 이도춘. (1998) 구기자 품종의 생리활성적 특성과 성분분석, 상지대학교 농학과 박사학위논문
2. 김종원 외 14명. (1984) 현대생약학, 한국학습교재사
3. 박원중. (1995) 구기자의 화학적 조성과 그 추출물의 생리활성, 건국대학교 박사학위논문
4. Nishiyama, R. (1963) Betaine of *Lycium chinensis*, 日本食品工業學會誌, 10, 517-519
5. Traditional and modern application of GouQizi and future prospects. Proceeding of International Symposium and Anti-aging Agent.
6. 강경일, 정진영, 이철호. (2005) 씨적은 불로구기자 추출물의 간독성 보호효과에 관한 연구, 한국식품과학회 투고중
7. 조연숙. (2004) 구기자 추출물성분의 간보호 효과에 관한 연구, 고려대학교 석사학위논문
8. 김범준, 이주찬, 고경희, 이철호. (2004) 구기자 건조 및 물 추출 조건에 따른 성분 분석 비교 연구, Food Engineering Progress, 8(2), 105
9. 이철호, 권태완. (2003) 한국식품학입문, 354-355
10. Kondo, K., Matsumoto, A., Kurata, H., Tanahashi, H., Koda, H., Amachi, T. and Itakura, H. (1994) Inhibition of oxidation of low density lipoprotein with red wine, Lancet 344, 1152-1155
11. R.C.Bell, J., Donovan, J., Wrong, R., Waterhouse, A., German, J.B., Walzem, R. and S.Kasim-Karakas. (2000) American Journal of Clinical Nutrition, 71(1), 103-108
12. Joseph, R. (2000) Good Wine Guide 2001, Dorling Kindersley Publishing, Inc. 95 Madison Avenue, New York, USA
13. 고경희. (1999) 포도주의 건강기능적 특성, 식품산업과 영양, 4(1), 20-25
14. 이정태. (2002) 적정 음주에 대한 의학적 접근, J. Korean Public Health Assoc., 26(4), 373-382
15. Park, K.L., Nah, S.S., Yoo, Y.J. and Hong, S.C. (1969) Studies on the red wine production (in Korean), Technical Bulletin of National Institute of Technology and Quality, 19, 107
16. Gong, S.J., Hong, S.B. and Lee, D.K. (1973) Investigation on grape varieties for winery (in Korea), Technical Bulletin of National

Horticultural Research Institute, 15, 19

17. Park, Y.H. (1975) Studies on the grape varieties and the selection of yeast strain for wine-making in Korea, Korean J. Agric. Chem. Soc., 18, 219
18. 정진영, 신미영, 이명자, 이철호. (2005) 당(糖)첨가를 달리한 적포도주의 품질에 관한 비교연구, 한국식품과학회 투고중
19. 박원목, 박혁구, 이숙중, 강경일, 이철호, 윤경은. (2004) Carbonic maceration 발효방법으로 제조된 국내산 포도 *Vitis labrusca* cultivar. Campbell's Early의 포도주 특성, 한국식품과학회지, 36(5), 773-778
20. 유주현. (1989) 식품공학실험Ⅱ, 연세대 공학부 식품공학편, 탐구당, 606
21. Macrae, R. (1983) HPLC in Food analysis 2nd, Academic press, 180-250
이철호, 이진근, 채수규, 고경희, 손혜숙. (1999) 식품평가 및 품질관리론, 유림문화사
22. Iverson, J. (2000) Home Wine Making Step. A Guide to Fermenting Wine Grapes, 3rd ed., Stonemark Publishing Co.
23. 박서준, 송기철, 박문균, 류명상, 신용억. (2003) 포도 '캠벨얼리' 품종의 환상박피 후 품질 및 성분변화, 원예과학기술지, 21(2), 73
24. 김은혜, 이주찬, 김현위, 이철호, 고경희. (2005) 불로 구기의 부위별 화학적 성분분석, 한국식품과학회지, 37(2), 154-163
25. Kim, H.W., Choi, C.U., Woo, S.J. (1998) Change of volatile flavor compounds in sesame oils during industrial process, Korean J. Food Sci. Technol., 30, 739-744
26. 박원목, 박혁구, 이숙중, 이철호, 윤경은. (2002) 국내재배 Campbell's Early 포도품종의 적포도주 제조 적합성, 한국식품과학회지, 34(4), 590-596
27. 이장은, 신용섭, 신준기, 김성수, 고경희. (2002) 한국산 적포도주의 색도변화에 관한 연구, 가톨릭대학교, 한국식품과학회지, 34(2), 164-169
28. Kanner, J., Frankel, E., Granit, R., German, B. and Kinsella, J.E. (1994) Natural antioxidants in grape and wines, J. Agric. Food Chem., 42, 64-69
29. 고경희, 이준희. (1997) 한국산 적포도주의 페놀계 저분자 물질의 분리, 한국응용생명화학회 춘계학술발표 초록집, 168
30. 고경희. (1999) 포도주의 건강기능적 특성, 식품산업과 영양, 4(1), 20-25
31. Shahidi, F., Naczk, M. (1995) Food phenolics, Technomic Publishing Company, Lancaster PA, USA, 128-135
32. Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H. and Nury, F.S. (1995) Production Wine Analysis, Van Nostrand Reinhold, New York, USA, 129-168

33. 유태종, 홍재훈, 김영배, 이호, 김영애, 황한준, 소명환, 이효구. (1997) 식품미생물학, 문운당, 297-307
34. Wagner, P.M. (1994) A Guide to Wine Making in America - Grapes into Wine, Alfred A.K., New York, USA
35. Yoo, K.M., Hwang, I.K. (2004) In vitro effect of Yuza(*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) extracts on proliferation of human prostate cancer cells and antioxidant activity, Korean J. Food Sci. Technol., 36, 339-344

제 5 절: 구기자즙액의 발효과정 중 기능성 변화 연구

1. 박종상, 박종대, 이봉춘, 최강주, 라상욱, 장기운 : 구기자 부위별 추출물이 흰쥐 비장 세포의 증식에 미치는 영향, Korean J. Medicinal corp sci. 8(4): 291-296(2000)
2. Park W. J. 1995. studies on chemical compositions and Biological activities of *Lycium chinense* Mill. Ph.D. Thesis. Kunkuk Univ. Press. Korea. 5P.
3. 주인선, 성창근, 오만진, 김찬조 : 구기자(*Lycii fructus*) 추출물이 미생물 생육에 미치는 영향. 한 국식품영양과학회지 : 26(4), 625-631(1987)
4. Reeves P. G., Mielsen F.H., and Fahey G.C., AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of American institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76 rodent diets, J. Nutr., 123, 1939-1951(1993)
5. 맹영선, 박혜경, 권태봉. 메밀 및 메밀 식품에서의 루틴의 분석. Korean J. Food Sci. Technol. 22(7). p.732-737, 1990.
6. Hwa-Joong Sheo, Sung-Joo Jun and Myung-Yul Lee. Effects of *Lycii fructus* extract on experimentally induced liver damage and alloxan diabetes in rabbits. J. Korean Soc. Food Nutr. 15(2). p.136-143, 1986.
7. Jongwon Choi, Chung Kyn Lee, Young Chul Lee, Young In Moon, Hee-Juhn Park, and Yong Nam Han : Biological Activities of the Extracts from Fruit and Stem of Pricky Pear(*Opuntia ficus-indica* var. saboten) II. Effects on Dietary induced Hyperlipidemia., Kor. J. Pharmacogn. 33(3) : 230-237(2002)
8. Folch, J. Lees, M. and Stanley, G.H.(1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 226: 497.
9. Inhida, T. (1963) The effect of cholesterol-feeding on the tissue lipids. Hokkaido J. Med. Sci., 38: 67

10. Aebi, H.: Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*, Bergmeyer, H.V.(ed) Academic Press, New York, Vol.2, 673-684
11. Boyland, E. and Chasseaud, L.F.: The Role of Glutathione and Glutathione S-Transferase in Mercapturic Acid Biosynthesis., *Adv. Enzymol.* 32:173-219(1969)
12. Habig, W.H, Pabst, M.J., and Jackoby, W.B.: Glutathione S-transferase: The First Enzymatic Step in Mercapturic and Formation., *J. Biol. Chem.* 249:7130-7139(1974)
13. Jakoby, W.B.: The Glutathione-S-Transferases: A Group of Multifunctional Detoxification Proteins., *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 46:383 -414 (1978)
14. Jiangsu New Medical College: *Chinese Medicine Dictionary*, Shanghai Science and Technology Press, Shanghai(1979)
15. Jian Yin: Modern study of Chinese drugs, *Clinical Applications(3)*, Ancient Book Press of Chinese Medicine(1997)
16. Junnila M, Barak AJ, Beckenhauer HC, Rahko T.: Betaine Reduces Hepatic Lipidosis Induced by Carbon Tetrachloride in Sprague-Dawley Rats., *Vet Hum. Toxicol.* 40:263-266(1998)
17. Mannervik, B., Alin, P., Guthenberg, C., Jensson, H, Tahir, MK, Warholm M, Jorvall H.: Identification of Three Classes of Cytosolic Glutathione Transferase Common to Several Mammalian Species: Correlation between Structural Data and Enzymatic Properties., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82:7202-7206 (1985b)
18. Mannervik, B.: The Isoenzymes of Glutathione Transferase., *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 57:357-417(1985a)
19. Rees KR, Sinha KP.: Blood Enzymes in Liver Injury., *J Pathol Bacteriol* 80:297-307(1960)
20. Yubin Ji: *Pharmacological Action, Application of Available Composition of Traditional Chinese Medicine*, Heilongjiang Science and Technology Press, Heilongjiang(1995)
21. 김경순, 심상희, 정기화, 정춘식, 고광호, 박정일, 허훈, 이봉진, 김박광: 구기자 성분의 혈당강화작용., *응용약물학회지* 6:378-383 (1998)
22. Nam Jae Kim, Whang Geum Youna and Nam Doo Hong. Pharmacological effects of *Lycium chinensis*. *Kor. J. Pharmacogn.* 25(3). p.264-271, 1994.
23. 김희선, 박영숙, 김창임: 구기자 섭취에 의한 고지방식을 하는 흰쥐의 혈중

- 지질상태 변화. 한국영양과학회지 31:263~270(1998)
24. 박원중: 구기자의 화학적 조성과 그 추출물의 생리활성, 건국대학교 박사 학위 논문 (1995)
 25. Jang sang Park: effects of Extracts from various parts of Lycium chinense Mill. On the proliferation of Mouse spleen cells, Korean.J. Medicinal corp sci, Vol, 291-296(2000)
 26. Philip G. Reeves : components of the AIN-93 Diets as improvement in the AIN-76A Diet^{1,2} , J. Nutr. 127 : 838-841, 1997
 27. 박노현 : 동결건조의 일반적 개요와 이용실태, 공기조화 냉동공학, 24(3), p338-345 (1995)
 28. 청양구기자시험장 : 구기자, p10(1999)
 29. 강경일, 정진영, 이철호. (2005) 씨적은 불로구기자 추출물의 간독성 보호 효과에 관한 연구, 한국식품과학회
 30. 김범준, 이주찬, 고경희, 이철호. (2004) 구기자 건조 및 물 추출 조건에 따른 성분 분석 비교 연구, Food engineering process, 8(2), 105
 31. 김은혜, 이주찬, 김현위, 이철호, 고경희. (2005) 불로 구기의 부위별 화학적 성분분석, 한국식품과학회지, 37(2), 154-163
 32. 박세문 : Effects of soy protein and Plant Sterol Feeding on Cholesterol Level and Flow Properties of rats, 고려대학교 생명공학원 석사과정논문 (2005)