



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년05월03일
(11) 등록번호 10-1854447
(24) 등록일자 2018년04월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/53 (2006.01) A01N 65/08 (2009.01)
A01N 65/28 (2009.01) A23L 3/358 (2006.01)
A23L 33/105 (2016.01) A23L 5/30 (2016.01)
A61K 36/31 (2006.01) A61K 36/82 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 36/53 (2013.01)
A01N 65/08 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-0120438
(22) 출원일자 2017년09월19일
심사청구일자 2017년09월19일
- (30) 우선권주장
1020160158172 2016년11월25일 대한민국(KR)
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020150109261 A*
KR1020160113456 A*
Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2013. Vol.2, No.5, pp.2318-2322.*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
- (72) 발명자
정사무엘
대전광역시 서구 계백로 1158번길 128
조철훈
서울특별시 관악구 관악로 1 서울대학교수아파트 122F-201
- (74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 2 항

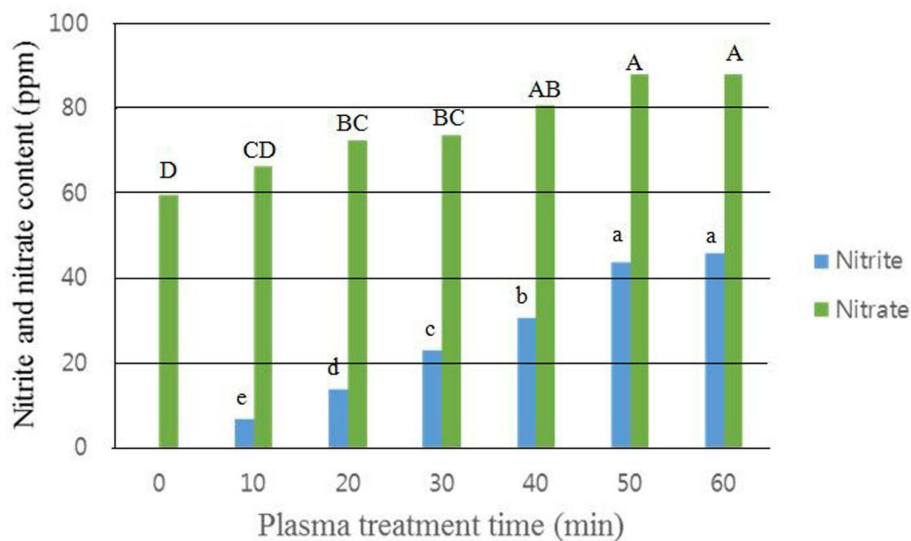
심사관 : 허명숙

(54) 발명의 명칭 플라즈마를 이용하여 식물 추출물 또는 식물 분쇄물 내 아질산 이온을 생성하는 방법

(57) 요약

본 발명은 플라즈마를 이용하여 식물 추출물 또는 식물 분쇄물 내 아질산 이온을 생성하는 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명의 방법으로 제조된 플라즈마를 처리한 소엽 추출물 또는 식물 분쇄물은 내부에 아질산 및 질산이 다량 생성됨으로써 우수한 항균활성을 나타낼 수 있다. 따라서 상기 플라즈마를 처리한 식물 추출물은 천연 아질산 첨가물뿐만 아니라, 아질산이 갖는 약리학적 활성을 이용한 조성물로서 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A01N 65/28 (2013.01)
A23L 3/358 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
A23L 5/30 (2016.08)
A61K 36/31 (2013.01)
A61K 36/82 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/10 (2013.01)
A23V 2300/14 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2016-0856-01
부처명	국립축산과학원
연구관리전문기관	충남대학교 산학협력단
연구사업명	농업첨단핵심기술개발사업
연구과제명	플라즈마를 이용한 소엽 유래 천연 아질산 첨가물 개발
기 여 율	1/1
주관기관	충남대학교
연구기간	2016.03.01 ~ 2018.12.31
공지예외적용	: 있음

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

플라즈마를 처리하여 아질산 이온이 생성된 소엽 추출물을 유효성분으로 함유하는 향균제에 있어서,

상기 향균제는 클로스트리디움 퍼프린젠스, 리스테리아 모노사이토게네스, 살모넬라 티피무름 및 에서리키아 콜리로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균주에 대해 항균활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 향균제.

청구항 7

생식물 분쇄물을, pH 조절하지 않은 상태 그대로 플라즈마를 처리하는 것을 포함하는 생식물 분쇄물 내 아질산 이온의 생성방법.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 플라즈마를 이용하여 식물 추출물 또는 식물 분쇄물 내 아질산 이온을 생성하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 육가공 식품의 생산공정에서 아질산(nitrite, 아질산 이온)은 필수적인 첨가물이며, 일반적으로 화학적으로 합성한 아질산나트륨이 사용되고 있다. 합성 아질산나트륨은 육색소인 미오글로빈 및 헤모글로빈과 작용하여 니트로소미오글로빈(nitrosomyoglobin)과 니트로소헤모글로빈(nitrosohemoglobin)을 생성함으로써 육제품이 고유의 선홍색을 띠게 하며, 제품의 풍미를 향상시킬 뿐만 아니라, 부패 및 독성을 나타내는 클로스트리듐 보툴리눔(*Clostridium botulinum*)과 같은 미생물의 성장을 억제하여 저장성을 증진시킨다.

[0004] 그러나, 합성 아질산나트륨은 발암물질을 생성하며 소아나 태아에서 청색증을 유발할 수 있어 사용량이 규제되고 있다. 한국과 일본은 최종 제품에 합성 아질산나트륨의 잔류량을 70 ppm 이하로 규제하고 있으며, 영국, 독일 등 대부분의 나라들도 합성 아질산나트륨의 잔류량을 100 ppm 내지 200 ppm으로 규제하고 있다. 또한, 소비자들에게 합성 식품첨가물에 대한 부정적인 인식이 증가하고, WHO에서 합성 아질산나트륨이 첨가된 육가공 식품을 발암물질을 포함하고 있는 식품으로 분류한 이래 육가공 식품에 대한 소비자들의 불신이 더욱 증가하고 있다.

[0005] 이에, 최근 식품의 트렌드인 웰빙과 자연주의를 만족시키기 위해 합성 식품첨가물을 무첨가한 육가공 식품이 생산되고 있다. 한국에서는 대부분의 육가공 식품 제조 기업들이 합성 식품첨가물을 무첨가한 제품을 출시하고 있으며, 이러한 제품의 시장 점유율 또한 지속적으로 증가하고 있다.

[0006] 이와 관련하여, 대한민국 등록특허 제10-1229379호는 합성 아질산나트륨을 대체할 수 있는 천연 아질산 첨가물로서 셀러리 분말, 상추, 당근, 양파 등을 이용하여 육제품을 제조하는 방법을 기재하고 있다.

[0007] 그러나 셀러리 분말은 제조 기술의 한계로 전량 수입에 의존하고 있으며, 천연 아질산 첨가물에 대한 연구 또한 매우 미비하다. 현재 천연 아질산 첨가물은 채소착즙에 포함되어 있는 질산을 아질산으로 환원하는 방법으로 제조되고 있다. 따라서 제조된 아질산의 함량은 채소착즙에 포함되어 있는 질산 함량에 의해 결정된다. 이는 아질산의 함량을 증가시키는데 한계가 있을 뿐만 아니라 채소의 재배 지역 및 환경에 따라 포함되는 질산함량이 달라 생산된 채소 분말에 포함되는 아질산의 함량이 상이하다는 문제점이 있다(Chang *et al.*, 2013, Sebranek *et al.*, 2012). 또한, 대부분의 육가공 식품은 열처리에 의해 지방산화가 발생함으로써, 제품의 품질 저하가 빈번할 뿐만 아니라, 제품의 부패가 용이하여 이를 막기 위해 천연 항산화 및 항균 물질의 개발이 요구되고 있다.

[0009] 소엽(*Perilla frutescens*)은 한국을 포함하는 아시아 지역에 서식하는 약용식물로서 다양한 페놀화합물을 함유하고, 항산화 활성, 항균 활성, 해열작용, 혈당 수치 상승 등의 약리작용이 있는 것으로 알려져 있다(중약대사전, 3574-4576).

[0011] 한편, 플라즈마는 가스에 전기적인 에너지를 인가하여 생성되는 고에너지 입자들로 구성된 준중성의 가스로서 이를 식품의 살균 또는 포장 등에 이용하고자 하는 연구가 진행되고 있다. 이와 관련하여, 대한민국 공개특허 제10-2015-0109261호는 플라즈마 처리수를 이용하여 합성 아질산염을 무첨가한 육제품의 제조방법을 개시하고 있다.

[0012]

[0013] 이에, 본 발명자들은 천연 아질산 첨가물을 개발하기 위해 노력하던 중, 플라즈마가 처리된 소엽 추출물 또는 식물 분쇄물에서 아질산 이온이 생성되고, 상기 추출물이 항산화 활성을 가질 뿐만 아니라 상기 추출물의 항균 활성이 증가함을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 본 발명의 목적은, 식물 추출물에 플라즈마를 처리하는 것을 포함하는 식물 추출물 내 아질산 이온의 생성방법을 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 다른 목적은, 플라즈마를 처리하여 아질산 이온이 생성된 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 허혈성 질환 치료용 조성물 및 항균제를 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명의 또 다른 목적은, 식물 분쇄물에 플라즈마를 처리하는 것을 포함하는 식물 분쇄물 내 아질산 이온의 생성방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0019] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 식물 추출물에 플라즈마를 처리하는 것을 포함하는 식물 추출물 내 아질산 이온의 생성방법을 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 플라즈마를 처리하여 아질산 이온이 생성된 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 항균제를 제공한다.

[0021] 나아가, 본 발명은 식물 분쇄물에 플라즈마를 처리하는 것을 포함하는 식물 분쇄물 내 아질산 이온의 생성방법

을 제공한다.

발명의 효과

[0023] 본 발명의 방법으로 제조된 플라즈마를 처리한 소엽 추출물 또는 식물 분쇄물은 내부에 아질산 및 질산이 다량 생성됨으로써 우수한 항균활성을 나타낸다. 따라서 상기 플라즈마를 처리한 식물 추출물 또는 식물 분쇄물은 천연 아질산 첨가물 뿐만 아니라, 아질산이 갖는 약리학적 활성을 이용한 조성물로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 플라즈마 장치의 모식도를 나타낸 도이다.

도 2는 플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물의 pH를 비교한 그래프이다. 평균의 표준오차는 0.052이며, a 내지 g의 알파벳이 다르면 $p < 0.05$ 이하를 나타내어 유의성 있는 차이를 나타냄을 의미한다.

도 3은 플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물 내 아질산 및 질산 이온의 함량을 비교한 그래프이다. 평균의 표준오차는 아질산은 0.46, 질산은 1.96이며, A 내지 D 또는 a 내지 e의 알파벳이 다르면 $p < 0.05$ 이하를 나타내어 유의성 있는 차이를 나타냄을 의미한다.

도 4는 플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물의 총 폴리페놀 함량을 비교한 그래프이다. 평균의 표준오차는 0.41이다.

도 5는 플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 비교한 그래프이다. 평균의 표준오차는 3.68이다.

도 6은 플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물의 환원력을 비교한 그래프이다. 평균의 표준오차는 0.18이다.

도 7은 실시예 7에서 분쇄물에 플라즈마를 처리하기 위하여 사용한 장치를 나타낸다.

도 8은 마늘 분쇄물에 플라즈마를 처리한 시간에 따른 아질산이온 함량 변화를 나타내는 그래프이다.

도 9는 양파 분쇄물에 플라즈마를 처리한 시간에 따른 아질산이온 함량 변화를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0028] 본 발명은 식물 추출물에 플라즈마를 처리하는 것을 포함하는 식물 추출물 내 아질산 이온의 생성방법을 제공한다.

[0029] 상기 식물은 모든 천연식물일 수 있다. 또한, 상기 식물은 질산을 포함하거나 포함하지 않는 식물일 수 있다. 구체적으로, 상기 식물은 소엽, 녹차, 배추, 양배추, 상추, 오이, 양파, 당근, 가지, 버섯, 셀러리, 감자, 옥수수, 브로콜리, 토마토, 포도, 머루, 부추, 굴, 오렌지, 레몬, 로즈마리, 생강, 브로콜리, 민트, 석류, 썬피플, 야관문, 홍화씨, 마늘, 연꽃, 크라스페디아(골든볼), 미르틀, 히습, 감자, 호로파, 레몬밤, 홍충, 계피, 오레가노, 정향, 검은깨, 땅콩, 레몬그라스, 감초, 섬머 세이보리, 대추, 카레, 강황, 머위, 참나물, 청경채, 썬갓, 팔손이, 호박, 참깨, 돌나물, 오가피, 대두, 키누, 로젤, 커피, 올리브, 당근 및 무우로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 식물은 소엽일 수 있다. 본 발명의 방법은 질산을 포함하지 않는 식물에 플라즈마를 처리함으로써 식물 내 아질산 이온을 생성할 수 있다.

[0030] 상기 추출물은 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 사용하여 추출할 수 있다. 상기 알코올은 구체적으로는 C_1 내지 C_4 의 저급 알코올일 수 있으며, 더욱 구체적으로는 에탄올일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 알코올은 70% 에탄올일 수 있다. 이의 추출방법으로는 감압고온 추출, 열탕 추출, 여과법, 열수 추출, 침지 추출, 환류 추출, 냉침 추출, 증기 추출, 상온 추출 또는 초음파 추출 등 당 업계에 공지된 모든 통상적인 방법을 이용할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 추출방법은 여과법일 수 있다.

[0031] 상기 플라즈마는 유전장벽 방전, 코로나 방전, 마이크로파 방전, 아크 방전 또는 공기 방전에 의해 발생될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 플라즈마는 유전장벽 방전에 의해 발생된 것일 수 있다. 또한, 상기 플라즈마는 550 W 내지 650 W, 구체적으로는 570 W 내지 630 W, 더욱 구체적으로는 580 W 내지 620 W로 처리될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 플라즈마는 600 W로 처리될 수 있다. 또한, 상기 플라즈마는 10분 내지 100분, 구체적으로는 10분 내지 80분, 더욱 구체적으로는 10분 내지 70분 동안 처리될 수 있다. 본 발명의 일

실시예에서, 상기 플라즈마는 10분 내지 60분 동안 처리될 수 있다. 플라즈마 처리는 당 업계에 공지된 플라즈마 기술이라면 모두 적용될 수 있다.

[0032] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 소엽 추출물에 플라즈마를 처리하면 식물 추출물 내 아질산 이온이 다량 생성되는 것을 확인하였다(도 3 참조).

[0034] 또한, 본 발명은 플라즈마를 처리하여 아질산 이온이 생성된 식물 추출물을 포함하는 아질산 첨가물을 제공한다.

[0035] 상기 식물 추출물 및 플라즈마는 상술한 바와 같은 특징을 가질 수 있다. 일례로, 상기 식물은 모든 천연식물일 수 있다. 또한, 상기 식물은 질산을 포함하거나 포함하지 않는 식물일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 식물은 소엽일 수 있다. 상기 플라즈마는 유전장벽 방전, 코로나 방전, 마이크로파 방전, 아크 방전 또는 공기 방전에 의해 발생될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 플라즈마는 유전장벽 방전에 의해 발생될 수 있다. 플라즈마를 처리시, 하기와 같은 화학반응식을 통해 아질산 이온 및 질산 이온이 생성된다.

[0036] [식 1] $2\text{NO}(\text{g}) + \text{O}_2(\text{g}) \rightarrow 2\text{NO}_2(\text{g})$

[0037] [식 2] $\text{NO} + \text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NO}_2^- + 2\text{H}^+$

[0038] [식 3] $2\text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- + 2\text{H}^+$

[0039] [식 4] $3\text{NO}_2(\text{g}) + \text{H}_2\text{O}(\ell) \rightarrow 2\text{HNO}_3(\text{aq}) + \text{NO}(\text{g})$

[0040] [식 5] $4\text{NO}_2(\text{g}) + \text{O}_2(\text{g}) + 2\text{H}_2\text{O}(\ell) \rightarrow 4\text{HNO}_3(\text{aq})$

[0041] 상기 첨가물은 상기 식물 추출물 자체일 수 있고, 여기에 조미료, 기능성 첨가물 등의 첨가물이 첨가된 것일 수도 있다.

[0042] 또한, 본 발명에 따른 아질산 첨가물은 육제품의 제조에 사용될 수 있다. 상기 육제품은 본 발명의 식물 추출물 이외에도 지방, 염화나트륨, 피로인산나트륨, 아스코르브산, 옥수수 전분, 대두단백, 난분, L-글루타민산나트륨, 당, 콜라겐, 감미료, 보존료 및 다양한 향신료로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 부재료가 추가로 더 첨가되어 제조될 수 있다.

[0043] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 플라즈마 처리에 의해 소엽 추출물 내에 아질산 이온을 생성시킬 수 있음을 확인하였다(도 3 참조).

[0045] 또한, 본 발명은 플라즈마를 처리하여 아질산 이온이 생성된 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 허혈성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0046] 상기 식물 추출물 및 플라즈마는 상술한 바와 같은 특징을 가질 수 있다. 일례로, 상기 식물은 모든 천연식물일 수 있다. 또한, 상기 식물은 질산을 포함하거나 포함하지 않는 식물일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 식물은 소엽일 수 있다. 상기 플라즈마는 유전장벽 방전, 코로나 방전, 마이크로파 방전, 아크 방전 또는 공기 방전에 의해 발생될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 플라즈마는 유전장벽 방전에 의해 발생될 수 있다.

[0047] 본 발명에 따른 플라즈마가 처리된 식물 추출물은 다량의 아질산 이온을 포함할 수 있다. 상기 아질산 이온은 통상의 기술분야에서 허혈성 질환의 치료제로 사용될 수 있음이 잘 알려져 있다. 일례로, 아질산염이 심장 및 간의 허혈-재관류 손상 동안 세포를 보호하고(*J Clin Invest.*, 2005, vol.115, p.1232-1240, GLADWIN, M.T.), 질산염을 섭취하면 혈압을 조절할 수 있음이 알려져 있다(*N Engl J Med.*, 2006, vol.355, p.2792-2793). 따라서, 본 발명에 따른 방법으로 아질산 이온이 생성된 식물 추출물은 허혈성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 유효성분으로 이용될 수 있다.

[0048] 상기 허혈성 질환은 허혈성괴사, 허혈성 뇌혈관질환, 허혈성 신장질환, 허혈성 폐질환, 사지의 허혈성 질환, 허혈성 심장질환, 뇌졸중, 뇌경색, 심근경색, 허혈성 심부전 또는 폐색성 동맥경화증일 수 있다.

[0050] 상기 약학 조성물은 약학 조성물 전체 중량에 대하여 유효성분인 본 발명에 따른 추출물을 10 내지 95 중량%로 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 약학 조성물은 상기 유효성분 외에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 추가로 함유할 수 있다.

- [0051] 본 발명의 조성물은 또한 생물학적 제제에 통상적으로 사용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 둘 이상의 이들의 조합을 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 조성물을 생체 내에 전달하는데 적합한 것이면 특별히 제한되지 않으며, 예로서, Merck Index, 13th ed., Merck & Co. Inc. 에 기재된 화합물, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로스 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 또는 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합한 것일 수 있다. 이때, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.
- [0052] 상기 조성물을 제제화할 경우, 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.
- [0053] 본 발명의 조성물은 경구제제 또는 비경구제제로 제형화 될 수 있다. 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 첨가될 수 있다. 한편, 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 여기에는 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등과 같은 부형제가 포함될 수 있다.
- [0054] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제 등의 주사제가 포함될 수 있다.
- [0055] 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.
- [0056] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여될 수 있으며, 비경구 투여는 피부 외용 또는 복강내 주사, 직장내 주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식중 선택될 수 있다.
- [0057] 본 발명에 따른 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여된다. 이는 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물 등에 따라 달라질 수 있다. 본 발명의 조성물은 단독 또는 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있다. 병용 투여시, 투여는 순차적 또는 동시일 수 있다.
- [0058] 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명에 따른 약학 조성물에 포함되는 유효성분의 양은 0.001 ~ 10,000 mg/kg, 구체적으로는 0.1 g ~ 5 g/kg 일 수 있다. 상기 투여는 하루에 1회일 수 있고, 수회로 나눌 수도 있다.
- [0060] 또한, 본 발명은 플라즈마를 처리하여 아질산 이온이 생성된 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 허혈성 질환 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0061] 상기 식물 추출물 및 플라즈마는 상술한 바와 같은 특징을 가질 수 있다. 일례로, 상기 식물은 모든 천연식물일 수 있다. 또한, 상기 식물은 질산을 포함하거나 포함하지 않는 식물일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 식물은 소엽일 수 있다. 상기 플라즈마는 유전장벽 방전, 코로나 방전, 마이크로파 방전, 아크 방전 또는 공기 방전에 의해 발생될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 플라즈마는 유전장벽 방전에 의해 발생될 수 있다.
- [0062] 상기 아질산 이온은 통상의 기술분야에서 허혈성 질환의 치료제로 사용될 수 있음이 잘 알려져 있다. 일례로, 아질산염이 심장 및 간의 허혈-재관류 손상 동안 세포를 보호하고, 질산염을 섭취하면 혈압을 조절할 수 있음이 알려져 있다. 따라서, 본 발명에 따른 방법으로 아질산 이온이 생성된 식물 추출물은 허혈성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 유효성분으로 이용될 수 있다.
- [0064] 본 발명의 추출물은 식품에 그대로 첨가되거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있다. 이때, 첨가되는 유효성분의 함량은 목적에 따라 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 중의 함량은 전체 식품 중량의 0.01 내지 90 중량부일 수 있다.
- [0065] 또한, 상기 건강기능식품의 형태 및 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 건강기능식품의 형태는 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상 또는 환 등일 수 있다.
- [0066] 본 발명의 건강기능식품은 통상의 건강기능식품과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린 또는 아스파르탐과 같은 합

성 감미제 등을 사용할 수 있다.

- [0067] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린 또는 알코올 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01~0.1 중량부의 범위에서 선택될 수 있다.
- [0069] 또한, 본 발명은 플라즈마를 처리하여 아질산 이온이 생성된 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 향균제를 제공한다.
- [0070] 상기 식물 추출물 및 플라즈마는 상술한 바와 같은 특징을 가질 수 있다. 일례로, 상기 식물은 모든 천연식물일 수 있다. 또한, 상기 식물은 질산을 포함하거나 포함하지 않는 식물일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 식물은 소엽일 수 있다. 상기 플라즈마는 유전장벽 방전, 코로나 방전, 마이크로파 방전, 아크 방전 또는 공기 방전에 의해 발생될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 플라즈마는 유전장벽 방전에 의해 발생될 수 있다.
- [0071] 상기 향균제는 클로스트리디움 퍼프린젠스, 리스테리아 모노사이토게네스, 살모넬라 티피무름 및 에서리키아 콜리 0157:H7로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균주에 대해 항균활성을 나타낼 수 있다.
- [0072] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 플라즈마를 처리한 소엽 추출물이 클로스트리디움 퍼프린젠스, 리스테리아 모노사이토게네스, 살모넬라 티피무름 및 에서리키아 콜리 0157:H7 균주에 대해 항균활성이 있음을 확인하였다(표 1 및 2 참조).
- [0074] 나아가, 본 발명은 식물 분쇄물에 플라즈마를 처리하는 것을 포함하는 식물 분쇄물 내 아질산 이온의 생성방법을 제공한다.
- [0075] 일실시예에 있어서, 상기 식물 분쇄물은 생식물의 분쇄물일 수 있으며, 다른 일실시예에 있어서, 상기 식물 분쇄물이 건조물일 경우, 식물 분쇄물을 물과 혼합한 후 플라즈마를 처리할 수 있다.
- [0077] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해 상세히 설명한다.
- [0078] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 이들에 의하여 한정되는 것은 아니다.

실시예 1

[0080] 플라즈마를 처리한 소엽 추출물의 제조

[0081] <1-1> 소엽 추출물의 제조

[0082] 소엽(소엽 재배 농장, 사천시, 대한민국)의 생잎을 잘게 자른 후, 1 kg의 소엽을 3 ℓ의 70% 식용 에탄올과 혼합하고, 진공블랜더(한샘, 대한민국)를 이용해 2분동안 균질화하였다. 균질화된 소엽을 6,710 xg에서 30분 동안 원심분리(CR 20B2, Hitachi Koki Co., Japan)하여 고형물을 제거한 후, 여과지로 여과하여 소엽 추출물을 제조하였다.

[0083]

[0084] <1-2> 플라즈마 처리

[0085] 먼저, 상기 <실시예 1-1>에서 제조된 소엽 추출물을 3개의 군으로 나누어 5 M 농도의 식용 수산화나트륨을 첨가하고 추출물의 pH를 9로 적정하였다. 플라즈마 는 유전장벽 방전 플라즈마 시스템을 이용하여 처리되었다. 상기 플라즈마 시스템은 플라즈마 발생부(plasma chamber), 추출물 저장 및 혼합부(main chamber), 전기 공급부(plasma power supply) 및 가스 순화부(gas circulating module)로 구성된다(도 1). 상기 준비된 추출물에 600 W의 전압으로 60분 동안 플라즈마를 처리하였으며, 플라즈마를 처리하면서 10분 간격으로 추출물로부터 샘플을 채취하여 하기의 실험에 사용하였다. 3개 군에 대해 플라즈마 처리 시간별(0, 10, 20, 30, 40, 50 및 60분)로 각각 7개의 샘플을 수득하였다.

실시예 2

[0087] 플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물의 pH 변화 확인

[0088] 플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물의 pH 변화를 확인하기 위해, 상기 <실시예 1-2>에서 수득된 샘플의 pH

를 pH 미터(SevenEasy, Mettler-Toledo Inti Inc., Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 3개 군에 대한 총 21개 샘플의 pH를 측정하였다. 측정값의 차이는 SAS 프로그램(ver. 9.3, SAS Institute Inc.)을 이용하여 일원분산분석(One-way Analysis of Variance)으로 비교하였다. 측정값 간의 유의성은 튜키의 다중검정(Tukey's multiple range test)을 이용하여 5% 유의수준에서 평가하였으며, 측정값의 평균값과 표준오차를 나타내었다.

[0089] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 플라즈마로부터 발생하는 질소산화물 및 관련 활성 종들이 수중에 용해되면서 하이드록실 라디칼, 오존, 아질산 및 질산이 생성되어 플라즈마 처리 시간이 증가함에 따라 소엽 추출물의 pH가 감소하였다(도 2).

[0090]

실시예 3

[0091] **플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물에 포함되는 아질산 및 질산 이온의 함량 변화 확인**

[0092] 소엽 추출물에 포함되는 아질산 및 질산 이온의 함량 변화는 HPLC(ACME 9000, Younglin Instruments Inc., Korea)를 이용하여 분석하였다.

[0093] 구체적으로, 상기 <실시에 1-2>에서 수득된 5 ml의 소엽 추출물을 20 ml의 증류수와 혼합하여 20분 동안 80℃의 항온조에서 가열한 후, 냉수를 이용하여 냉각하였다. 냉각된 혼합액에 2 ml의 3.6% 육시아노철(II)산사칼륨(potassium hexacyanoferrate(II) trihydrate) 용액을 혼합하고, 2 ml의 7.6% 황산아연(zinc sulfate heptahydrate) 용액을 첨가하여 다시 혼합하였다. 상기 혼합액을 2,090 xg에서 30분 동안 원심분리(Union 32R, Hanil Co., Korea)한 후, 상등액을 취했다. 상등액에 증류수를 첨가하여 최종 부피를 50 ml에 맞추었다. 상기 혼합액을 0.2 μm의 포어 사이즈를 갖는 와트만 실린지 필터로 여과하고, HPLC를 이용하여 여과액에 포함된 아질산 및 질산 이온의 함량을 분석하였다. 컬럼으로는 이온쌍 크로마토그래피 컬럼인 Eurosil Bioselect 300-5 C18(125×4 mm, KNAUER, Germany)을 사용하였고, 분석시 컬럼의 온도를 40℃로 유지시켰다. 이동상으로는 pH 6.5인 5 mM 테트라부틸암모늄 황산수소염(tetrabutylammonium hydrogen sulphate)을 사용하였다. 시료는 10 μl를 주입하였으며, 등용리 유량은 0.7 ml/min으로 조절하였고, 220 nm 파장에서 UV 흡광도를 측정하였다. 아질산 이온의 함량은 아질산나트륨을 표준물질로서 사용한 표준곡선을, 질산 이온의 함량은 질산나트륨을 표준물질로서 사용한 표준곡선을 이용하여 산출하였다. 측정값의 차이는 SAS 프로그램을 이용하여 일원분산분석으로 비교하였다. 측정값 간의 유의성은 튜키의 다중검정을 이용하여 5% 유의수준에서 평가하였으며, 측정값의 평균값과 표준오차를 나타내었다.

[0094] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 소엽 추출물 내 아질산 이온 함량은 플라즈마를 처리하지 않은 샘플에서 0 ppm, 플라즈마를 50분 동안 처리한 샘플에서 43.9 ppm, 플라즈마를 60분 동안 처리한 샘플에서 45.8 ppm이었다. 아질산 이온 함량은 플라즈마 처리 시간이 50분 이상인 샘플 사이에서 유의적인 차이가 없었다. 한편, 추출물 내 질산 이온함량은 플라즈마를 처리하지 않은 샘플에서 59.8 ppm이었고, 이는 플라즈마 처리 시간에 비례하여 증가하였다. 플라즈마를 60분 동안 처리한 샘플에 포함된 아질산 이온 함량은 88.2 ppm이었다(도 3).

실시예 4

[0096] **플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물의 항산화 활성 변화 확인**

[0097] **<4-1> 총 폴리페놀의 함량 확인**

[0098] 소엽 추출물에 포함되는 총 폴리페놀 함량은 폴린-시오칼투(Folin-Ciocalteu) 방법으로 분석하였다. 일반적으로 페놀구조를 갖는 페놀릭 하이드록실기(phenolic hydroxyl)는 단백질 및 거대분자들과 쉽게 결합하므로써, 총 폴리페놀의 함량은 항산화 활성의 척도가 된다.

[0099] 구체적으로, 증류수로 상기 <실시에 1-2>에서 수득한, 3개 군에 대한 21개의 샘플을 100배 희석하였다. 0.1 ml의 상기 희석액, 0.2 ml의 폴린-시오칼투시약 및 3 ml의 5% 탄산나트륨 용액을 혼합하여 23℃에서 1시간 동안 반응시킨 후, 765 nm 파장에서 분광광도계(DU 530, Beckman instruments Inc., USA)로 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 갈산(gallic acid)을 표준물질로서 사용한 표준곡선을 이용하여 갈산 등가물(gallic acid equivalents, GAE)로 산출하였다. 측정값의 차이는 SAS 프로그램을 이용하여 일원분산분석으로 비교하였다. 측정값 간의 유의성은 튜키의 다중검정을 이용하여 5% 유의수준에서 평가하였으며, 측정값의 평균값과 표준오차를 나타내었다.

[0100] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 각 샘플에 포함된 총 폴리페놀 함량은 플라즈마 처리에 의해 영향을 받지

않았다(그림 4).

[0102] <4-2> DPPH 라디칼 소거능 비교

[0103] DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) 라디칼 소거법은 DPPH가 라디칼 상태로 존재하면 517 nm에서 최대 흡광도를 보이는 반면, 라디칼이 소거되면 흡광도를 잃는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법이다. DPPH 라디칼 소거능은 인체 활성산소의 제거와 관련된 항산화능 지표이다.

[0104] 구체적으로 증류수로 상기 <실시에 1-2>에서 수득한, 3개 군에 대한 21개의 샘플을 100배 희석하였다. 200 μ l의 상기 희석액에 800 μ l의 증류수를 넣은 후, 1 ml의 0.2 mM DPPH를 첨가하였다. 상기 혼합액을 30분 동안 상온에서 교반하며 반응시키고, 517 nm 파장에서 분광광도계(DU 530, Beckman instruments Inc., USA)로 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정 후, 하기 수학적 식 1에 따라 전자 공여능을 계산하였다. 측정값의 차이는 SAS 프로그램을 이용하여 일원분산분석으로 비교하였다. 측정값 간의 유의성은 튜키의 다중검정을 이용하여 5% 유의수준에서 평가하였으며, 측정값의 평균값과 표준오차를 나타내었다.

[0105] [수학적 식 1]

$$\text{전자 공여능}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{Blank의 흡광도}}\right) \times 100$$

[0106]

[0107] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, DPPH 라디칼 소거능은 플라즈마 처리에 의해 영향을 받지 않았다(도 5).

[0109] <4-3> 환원력 비교

[0110] 환원력은 제2철이온(ferric ion)을 제1철이온(ferrous ion)으로 환원시키는 활성을 측정하는 방법으로서 일반적으로 항산화 물질의 항산화력 지표로 이용된다.

[0111] 구체적으로, 증류수로 상기 <실시에 1-2>에서 수득한 3개 군에 대한 21개의 샘플을 100배 희석하였다. 200 μ l의 상기 희석액을 500 μ l의 0.2 M 인산나트륨버퍼(pH 6.6)와 혼합한 후, 혼합액에 500 μ l의 1% 페리시안화칼륨(potassium ferricyanide)을 넣고 50℃의 항온조에서 20분 동안 반응시켰다. 상기 반응물을 냉수를 이용해 냉각시키고 여기에 500 μ l의 10% 트리클로로아세트산을 첨가하였다. 이를 10분 동안 10,000 xg로 원심분리(HM-150IV, Hanil Co., Korea)하여 상층액을 수득하였다. 500 μ l의 상층액, 500 μ l의 증류수 및 100 μ l의 0.1% 염화제2철(ferric chloride)을 혼합하여 700 nm 파장에서 분광광도계(DU 530, Beckman instruments Inc., USA)로 흡광도를 측정하였다. 각 시간별로 21개의 실험군에 대해 환원력을 측정하였다. 흡광도가 높을수록 환원력이 높음을 의미한다. 측정값의 차이는 SAS 프로그램을 이용하여 일원분산분석으로 비교하였다. 측정값 간의 유의성은 튜키의 다중검정을 이용하여 5% 유의수준에서 평가하였으며, 측정값의 평균값과 표준오차를 나타내었다.

[0112] 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, 환원력은 플라즈마 처리에 의해 영향을 받지 않았다(도 6).

실시예 5

[0114] 플라즈마 처리 시간에 따른 소엽 추출물의 항균 활성 변화 확인

[0115] 플라즈마가 처리된 소엽 추출물의 항균 활성을 디스크 확산법을 이용하여 측정하였다. 측정에 사용한 균주의 배지, 배양온도 및 환경은 하기 표 1과 같다.

표 1

[0116] 항균 활성 측정에 사용한 균주의 배지, 배양온도 및 환경

균주	사용된 배지	온도(℃)/환경
클로스트리디움 퍼프린젠스(ATCC 13124)	RCM 배지	37℃/혐기
리스테리아 모노사이토게네스(KCTC 3569)	TSB와 0.6% YE가 첨가된 TSA와 0.6% YE를 혼합한 배지	37℃/호기
살모넬라 티피무름(KCTC 1925)	NB와 NA를 혼합한 배지	37℃/호기

에서리키아 콜리 0157:H7 (ATCC 43889)	TSB와 TSA를 혼합한 배지	37℃/호기
----------------------------------	------------------	--------

[0117] RCM: 레인포스트 클로스트리디얼 아가 배지(reinforced clostridial medium agar, Difco)

[0118] TSB: 트립톤 처리 대두 배지(tryptic soy broth, Difco)

[0119] TSA: 트립톤 처리 대두 아가 배지(tryptic soy agar, Difco)

[0120] YE: 효모 추출물(yeast extract, Difco)

[0121] NB: 영양 배지(nutrient broth, Difco)

[0122] NA: 영양 아가 배지(nutrient agar, Difco)

[0124] 먼저, 상기 균주가 배양된 배지에서 균주 1 백금이를 취해 10 ml의 활성 배지에 접종하고 24시간 동안 배양하였다. 0.1 ml의 상기 배양액을 10 ml의 새로운 배지에 접종하고 18시간 동안 2차 배양한 배양액을 항균 활성 측정
에 사용하였다. 구체적으로, 각 균주에 대한 배양 배지를 통상적인 방법으로 제조하고, 여기에 상기 균주의 배양액을 각각 0.1 ml씩 분주하여 상기 배양액이 고르게 퍼지도록 하였다. 직경이 8 mm인 멸균된 페이퍼디스크를 균주가 접종된 평판배지 표면에 밀착시킨 후, 상기 페이퍼 디스크에 플라스마를 처리한 소엽 추출물, 50 μ l의 70% 에탄올 또는 50 μ l의 70 ppm 아질산나트륨을 가하고 37℃에서 배양하였다. 배양 후, 페이퍼디스크 주변에 생성된 저해환의 직경(mm)을 측정하였다. 측정값의 차이는 SAS 프로그램을 이용하여 일원분산분석으로 비교하였다. 측정값 간의 유의성은 튜키의 다중검정을 이용하여 5% 유의수준에서 평가하였으며, 측정값의 평균값과 표준 오차를 나타내었다.

표 2

[0125] 플라스마를 처리한 소엽 추출물의 항균 활성

	균주			
	클로스트리디움 퍼프린젠스	리스테리아 모노사이토게네스	살모넬라 티피무름	에서리키아 콜리 0157:H7
70% 에탄올	9.7 ^e	- ^c	10.3 ^c	- ^b
아질산나트륨	10.7 ^e	9.7 ^b	10.3 ^c	- ^b
플라스마를 0분 동안 처리한 소엽 추출물	10.8 ^e	- ^c	- ^d	- ^b
플라스마를 10분 동안 처리한 소엽 추출물	10.5 ^e	- ^c	- ^d	- ^b
플라스마를 20분 동안 처리한 소엽 추출물	17.3 ^d	- ^c	- ^d	- ^b
플라스마를 30분 동안 처리한 소엽 추출물	20.7 ^c	- ^c	10.0 ^c	- ^b
플라스마를 40분 동안 처리한 소엽 추출물	20.8 ^c	- ^c	12.7 ^b	- ^b
플라스마를 50분 동안 처리한 소엽 추출물	27.3 ^b	9.3 ^b	15.7 ^a	- ^b
플라스마를 60분 동안 처리한 소엽 추출물	30.8 ^a	11.0 ^a	15.7 ^a	11.3 ^a
평균의 표준오차	0.64	0.16	0.25	0.11

[0126] 같은 열에 있는 a부터 e는 튜키의 다중검정으로 검정하였을 때, $p < 0.05$ 이하를 나타내어 유의성 있는 차이를 나타내는 것을 의미함.

[0128] 그 결과, 표 2에 나타난 바와 같이, 소엽 추출물에 플라스마를 처리한 시간에 비례하여 클로스트리디움 퍼프린젠스 균주에 대한 생육저해환이 커졌다. 생육저해환은 플라스마를 60분 동안 처리했을 때 직경이 30.8 mm로 가장 컸으며, 이는 동일한 농도의 아질산나트륨 용액과 비교하여 더 우수한 항균 활성을 나타냄을 의미한다. 리스테리아 모노사이토게네스 균주에 대한 생육저해환은 플라스마를 60분 동안 처리한 소엽 추출물에 의해 직경이 11.0 mm로 가장 크게 나타났다. 또한, 살모넬라 티피무름 균주에 대한 생육저해환은 소엽 추출물에 플라스마를

처리한 시간에 비례하여 커졌으며, 플라즈마를 60분 동안 처리한 소엽 추출물이 동일한 농도의 아질산나트륨 용액과 비교하여 더 우수한 항균 활성을 나타내었다. 에서리키아 콜리 0157:H7 균주에 대한 생육저해율은 플라즈마를 60분 동안 처리한 소엽 추출물에 의해서만 나타났다(표 2).

실시예 6

[0130] 플라즈마를 처리한 소엽 추출물의 분말에 포함되는 아질산 이온 함량 측정

[0131] 소엽 추출물의 분말에 포함되는 아질산 이온 함량은 HPLC(ACME 9000, Younglin Instruments Inc., Korea)를 이용하여 분석하였다.

[0132] <실시에 1-1>과 동일한 방법으로 제조된 2 ℓ의 소엽 추출물을 이용하여 <실시에 1-2>와 동일한 방법으로 60분 동안 플라즈마를 처리하였다. 상기 플라즈마를 처리한 소엽 추출물을 증발기를 이용하여 감압 농축함으로써 추출물 내 에탄올을 제거하고, 이를 동결건조하였다. 동결건조된 소엽 추출물의 분말을 증류수로 100배 희석한 후 상기 <실시에 3>과 동일한 조건 및 방법으로 아질산 이온의 함량을 측정하였다. 측정값의 차이는 SAS 프로그램을 이용하여 일원분산분석으로 비교하였다. 측정값 간의 유의성은 튜키의 다중검정을 이용하여 5% 유의수준에서 평가하였으며, 측정값의 평균값과 표준오차를 나타내었다.

[0133] 그 결과, 플라즈마를 처리하지 않은 소엽 추출물 분말에서는 아질산 이온이 검출되지 않은 반면, 플라즈마가 처리된 소엽 추출물의 분말에 포함된 아질산 이온의 함량은 3.74 mg/g이었다.

실시예 7

[0135] 플라즈마를 처리한 식물 분쇄물 내 아질산 이온 함량 측정

[0136] 앞선 식물 추출물(즉, 소엽 추출물)을 사용하는 대신, 식물 분쇄물을 사용하여 플라즈마를 처리하여도 아질산 이온함량이 증가하는지 확인하기 위해 아래와 같은 실험을 수행하였다.

[0138] 먼저, 마늘과 양파를 시장에서 구매하고 껍질을 제거한 후 세척하였다. 세척한 마늘과 양파는 식품 분쇄기를 이용하여 분쇄하였다.

[0140] 플라즈마 처리를 위해 유전장벽 방전 플라즈마 시스템을 이용하였다. 본 실시예에 사용한 플라즈마 처리 기기는 플라즈마 발생부(plasma chamber), 추출물 저장 및 혼합부(main chamber), 전기 공급부(plasma power supply), 및 가스 순화부(gas circulating module)로 구성되었다(도 7). 플라즈마 처리 전압은 7 kv 였으며, 분쇄 마늘 및 양파 2kg에 플라즈마를 처리하면서 10분 간격으로 분쇄 마늘 및 양파를 수집하여 아질산 이온의 함량을 측정하였다.

[0142] 마늘 및 양파 분쇄물 내 아질산 및 질산이온 함량의 측정은 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 이용하여 측정하였다. 분쇄물을 20 mL 증류수와 혼합한 후 80℃ 항온조(water bath)에서 20분간 가열 후 냉수를 이용 냉각하였다. 냉각된 시험액에 3.6% 포타슘 헥사시아노페레이트(II) 트리하이드레이트 용액 [potassium hexacyanoferrate (II) trihydrate solution] 2 mL를 첨가하여 혼합 후 7.6% 징크 셀페이트 헵타하이드레이트 용액 [zinc sulfate heptahydrate solution] 2 mL를 첨가하여 재혼합하였다. 시험액은 원심 분리기(Union 32R, Hanil Co., Ltd., Korea)를 이용 2,090 x g에서 30분간 원심분리 후 50 mL 용적 플라스크(volumetric flask)를 이용 최종 시험액 양을 50 mL로 조정하였다. 시험액은 0.2 μm 실린지 필터(Whatman)를 통과시켜 HPLC 바이알에 수집하였다.

[0144] HPLC 분석조건은 다음과 같다: HPLC (ACME 9000, Younglin Instruments Inc., Korea), ion pair chromatography column (Eurosil Bioselect 300-5 C18, 125 x 4 mm, KNAUER, Berlin, Germany), 이동상(5 mM tetrabutylammonium hydrogen sulphate, pH 6.5), 등용리 유량(0.7 mL/min), 주입 용량(10 μL), 컬럼 온도(40 ℃), UV 흡광도(220 nm). 아질산 및 질산 이온의 정량은 표준물질(sodium nitrite, sodium nitrate)로서 구한 표준곡선에 대입하여 계산하였다. 그 결과를 도 8 및 도 9에 나타내었다.

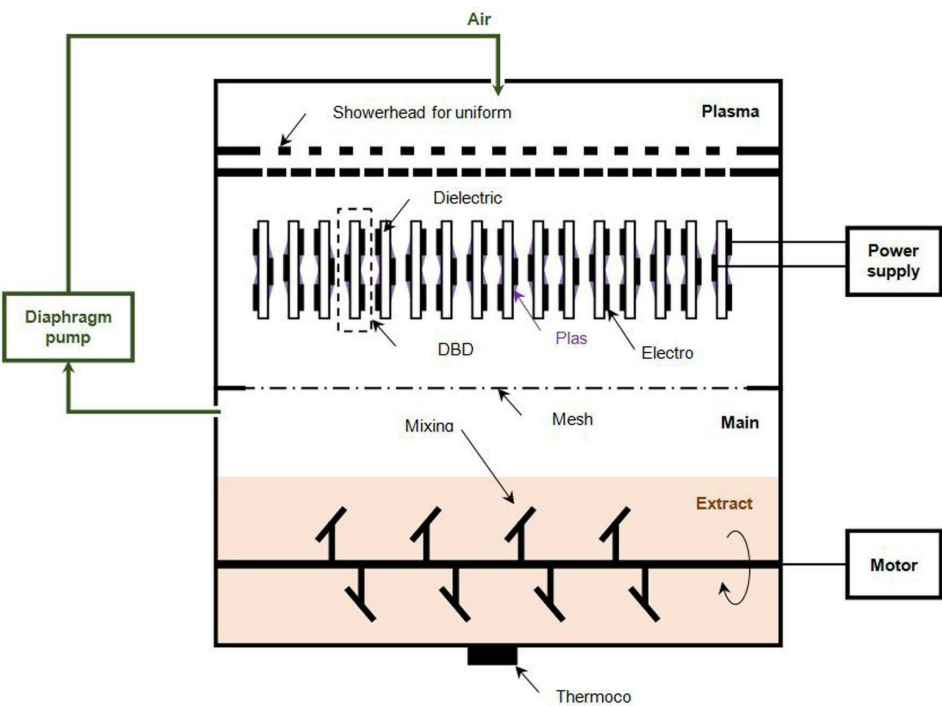
[0146] 도 8에 나타난 바와 같이, 플라즈마 처리에 따른 분쇄 마늘 내 아질산이온 함량을 측정한 결과, 플라즈마 처리 시간 증가와 함께 아질산이온 함량이 증가하는 것으로 확인되었다. 플라즈마 처리 30분 후 분쇄 마늘 내 아질산 이온이 96.4 ppm 생성된 것이 확인되었다.

[0147] 또한, 도 9에 나타난 바와 같이, 플라즈마 처리에 따른 분쇄 양파 내 아질산이온 함량을 측정한 결과, 플라즈마 처리시간 증가와 함께 아질산이온 함량이 증가하는 것이 확인되었다. 플라즈마 처리 30분 후 분쇄 양파 내 아질

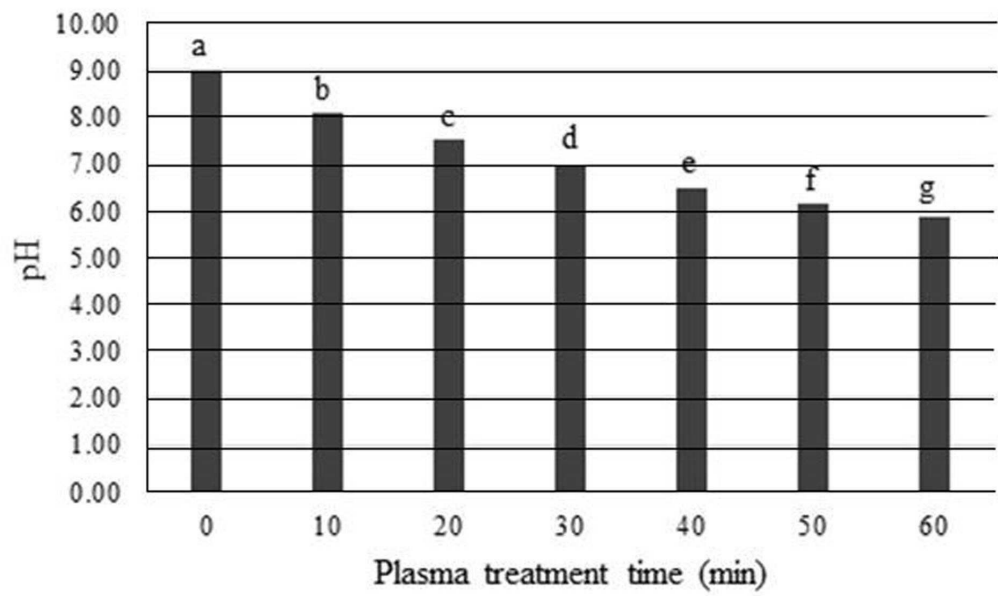
산 이온이 92.7 ppm 생성된 것이 확인되었다.

도면

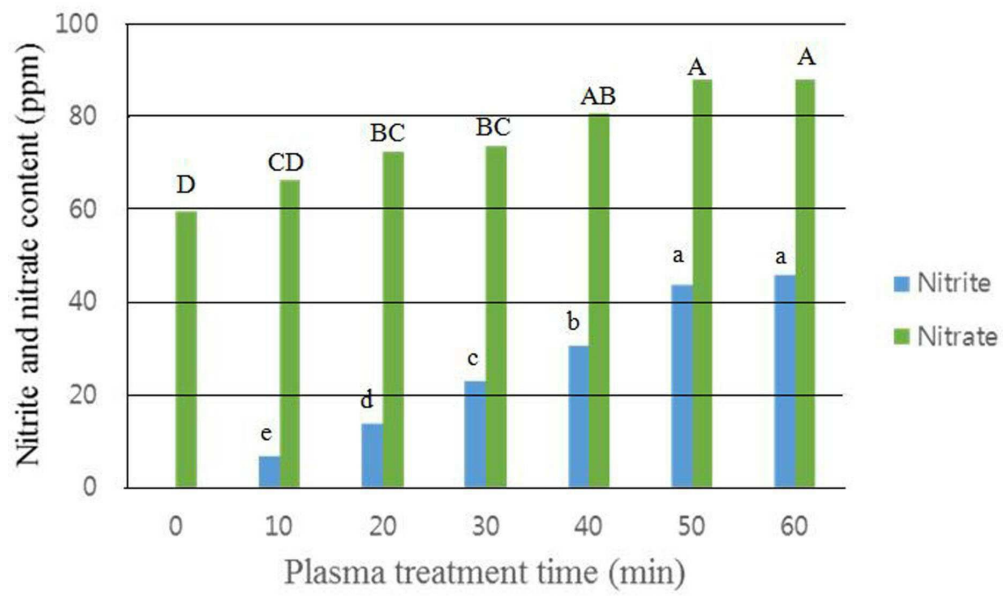
도면1



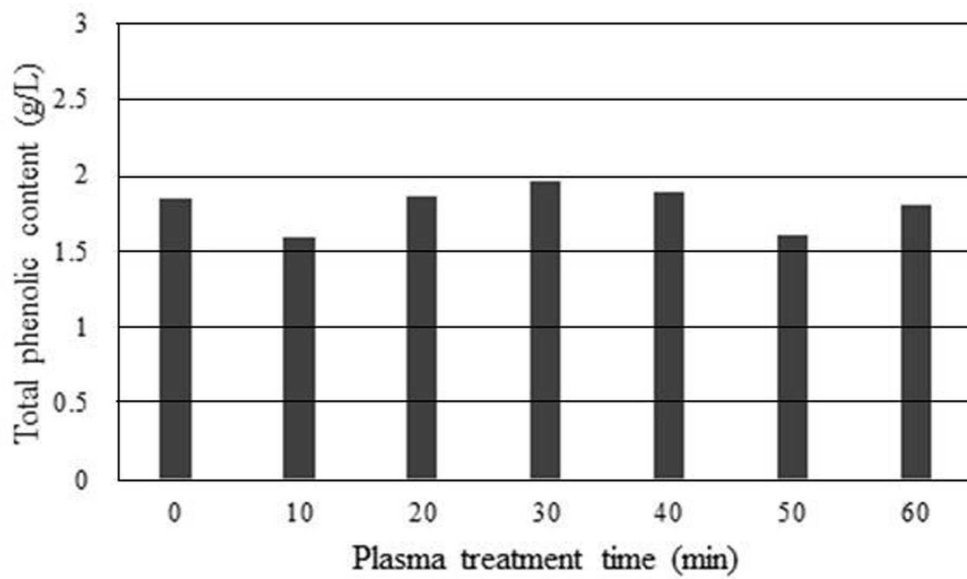
도면2



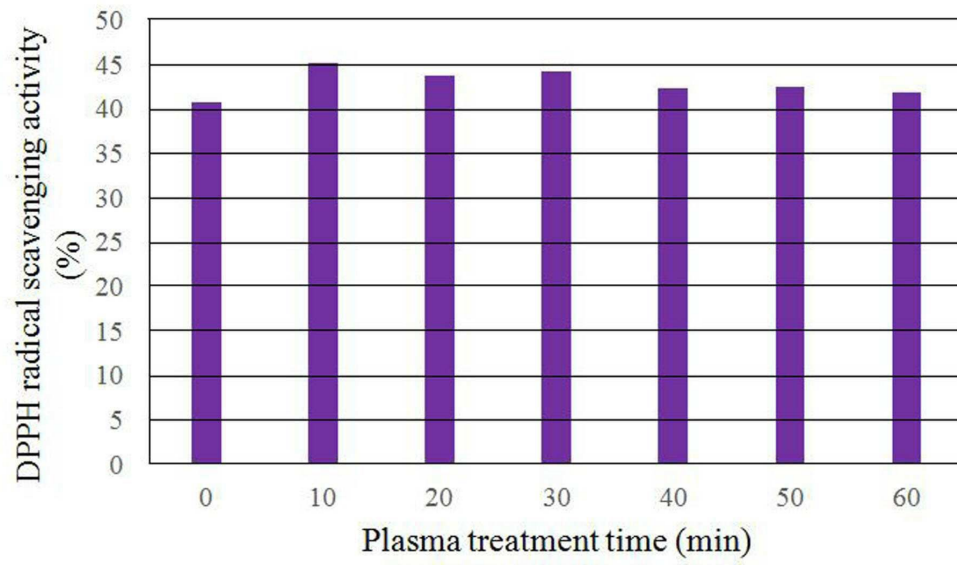
도면3



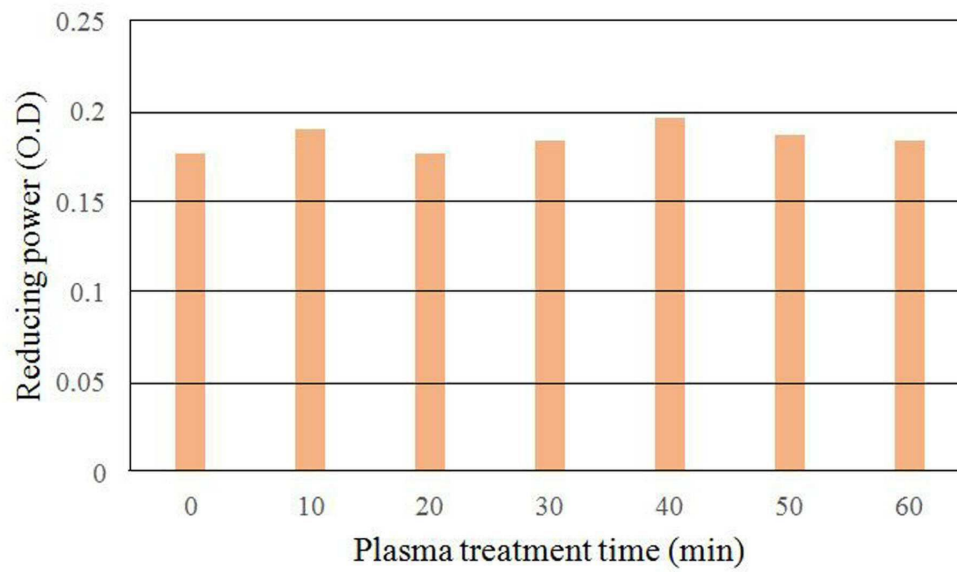
도면4



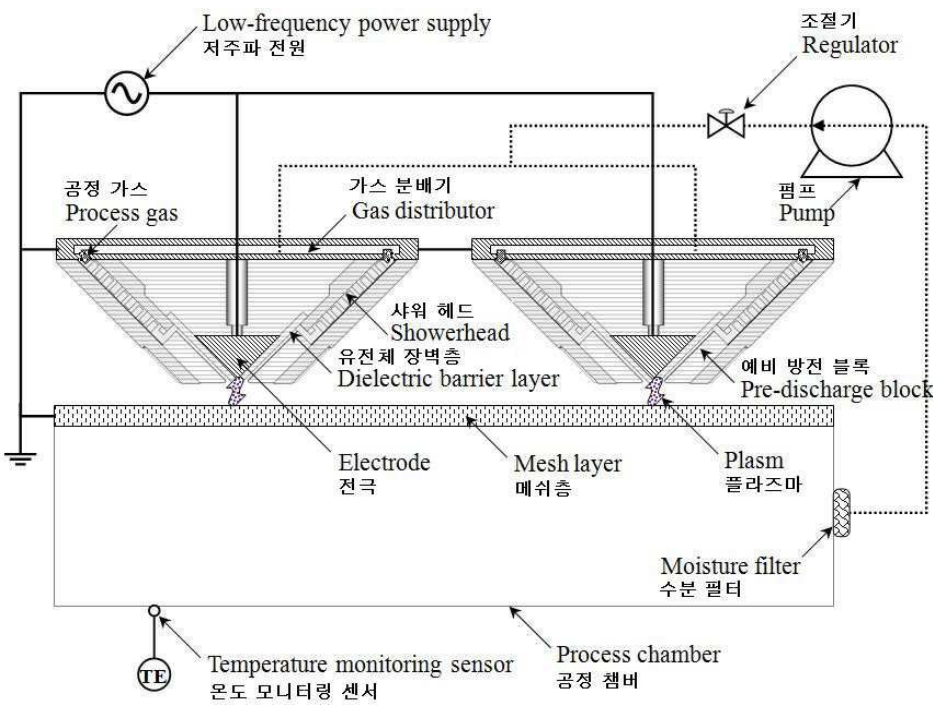
도면5



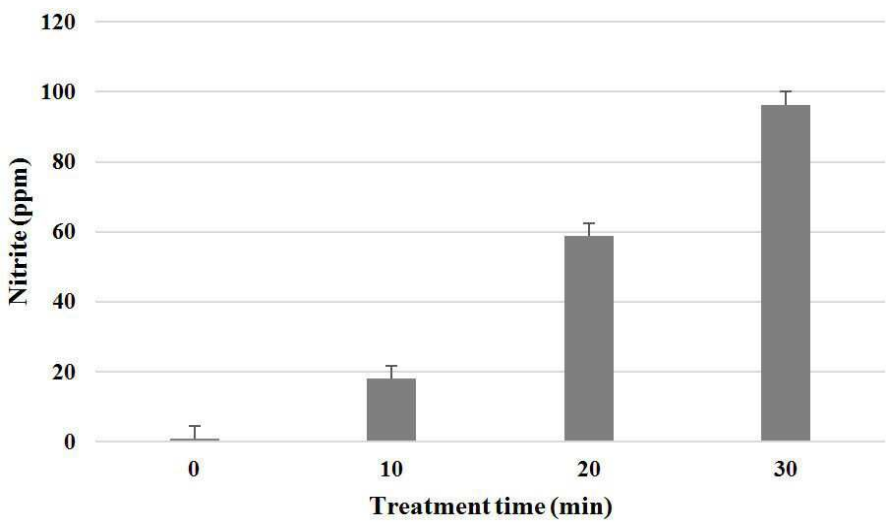
도면6



도면7



도면8



도면9

