



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

A23L 1/212 (2006.01)

A23L 1/29 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0035132

(43) 공개일자 2007년03월30일

(21) 출원번호 10-2005-0089613

(22) 출원일자 2005년09월27일

심사청구일자 2005년09월27일

(71) 출원인 충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 궁동 220번지 충남대학교

(72) 발명자 김미리
대전 유성구 신성동 대림아파트 101-201
석대은
대전 유성구 신성동 두레아파트 101-201

(74) 대리인 김원준

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 203087-2

부처명 농림부

연구사업명 첨단기술개발사업

연구과제명 비열처리과정을 이용한 M R P 신선 채소 편의기능성 셀러드 제조 가공 기술 개발

주관기관 충남대학교

연구기간 2003년 07월 15일 ~ 2005년 07월 14일

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 항동맥경화 기능이 우수한 셀러드 채소 조성물

(57) 요약

본 발명은 항동맥경화 효과를 나타내는 셀러드 채소 조성물에 관한 것으로, 비트, 신선초, 적상추, 민들레 및 청코스가 각각 상대비율 1~2 중량비로 함유된 항산화 효과를 나타내는 셀러드 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 셀러드 조성물에는 적겨자, 토스카나, 레디쉬, 셀러리, 양파, 적치커리, 롤라로사, 로메인, 꽃케일 및 적꽃케일로 이루어지는 군에서 선택된 어느 하나 이상의 채소를 0.5~4 중량비가 되도록 추가되는 것이 좋다.

이상과 같이 본 발명에 의하면 동맥경화유발식이인 고지혈고콜레스테롤식이로 유도한 mice 혈중 지질, 콜레스테롤, LDL 함량을 낮추어 동맥경화유발지수를 감소시켰을 뿐 아니라 동맥경화증의 주요한 발별기전중의 하나인 유리라디칼에 의하여 유발되는 산화를 막아주고, 생체내 지질과산화 억제, 항산화효소계의 활성화 증가, DNA의 손상을 억제시켜주는 기능이 우수한 항동맥경화 기능성 셀러드 채소 조성물을 제공할 수 있게 된다.

대표도

도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

비트, 신선초, 적상추, 민들레 및 청코스가 각각 상대비율 1~2 중량비로 함유된 것을 특징으로 하는 향동맥경화 효과를 나타내는 샐러드 조성물.

청구항 2.

제 1 항에 있어서,

적겨자, 토스카나, 레디쉬, 셀러리, 양파, 적치커리, 롤라로사, 로메인, 꽃케일 및 적꽃케일로 이루어지는 군에서 선택된 어느 하나 이상의 채소를 0.5~4 중량비가 되도록 추가로 함유된 것을 특징으로 하는 향동맥경화 효과를 나타내는 샐러드 조성물.

청구항 3.

제 2 항에 있어서,

비트, 신선초, 적상추, 민들레, 청코스, 셀러리, 양파 및 적치커리가 동일한 중량비로 함유된 것을 특징으로 하는 향동맥경화 효과를 나타내는 샐러드 조성물.

청구항 4.

제 2 항에 있어서,

비트, 신선초, 적상추, 민들레, 청코스, 롤라로사, 로메인 각각 2 중량부, 꽃케일 및 적꽃케일 각각 1 중량부 함유된 것을 특징으로 하는 항산화 효과를 나타내는 샐러드 조성물.

청구항 5.

제 2 항에 있어서,

청코스, 적겨자, 토스카나 및 적상추가 각각 1 중량비, 비트, 신선초, 민들레, 레디쉬가 각각 2 중량비, 적양배추가 4중량비로 함유된 것을 특징으로 하는 항산화 효과를 나타내는 샐러드 조성물.

청구항 6.

롤라로사, 월드로프, 적양배추, 공심채, 신선초, 적상추, 민들레, 꽃케일 및 청상추가 각각 상대비율 1~2 중량비로 함유된 것을 특징으로 하는 항산화 효과를 나타내는 샐러드 조성물.

청구항 7.

제 6 항에 있어서,

롤라로사, 월드로프, 적양배추, 공심채, 신선초, 적상추, 민들레, 꽃케일 및 청상추가 각각 동일한 중량비로 함유된 것을 특징으로 하는 항산화 효과를 나타내는 샐러드 조성물.

청구항 8.

적치콘, 신선초, 민들레, 공심채, 플라스타, 적상추, 월드로프, 청상추 및 롤라로사가 각각 상대비율 1~2 중량비로 함유된 것을 특징으로 하는 항산화 효과를 나타내는 샐러드 조성물.

청구항 9.

제 8 항에 있어서,

적치콘, 신선초, 민들레, 공심채, 플라스타, 적상추, 월드로프, 청상추 및 롤라로사동일한 중량비로 함유된 것을 특징으로 하는 항산화 효과를 나타내는 샐러드 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 샐러드 채소 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 유리 라디칼에 의하여 유발되는 생체내 지질, DNA 등의 산화적 손상을 억제시켜 주는 기능이 우수한 항동맥경화 기능성 샐러드 채소 조성물에 관한 것이다.

식생활 패턴의 서구화에 따른 육류 소비 증가와 더불어 영양 불균형으로 인한 부작용으로 인해 점차 비만, 당뇨, 고혈압 등 각종 성인병의 증가하여 사회문제로 대두 되면서 건강 지향성 식품에 대한 관심이 높아지고 있다. 야채를 이용한 샐러드는 손쉽게 만들어 먹을 수 있는 기호 식품 중의 하나이며 각종 비타민이 다량 함유되어 있는 것으로 알려지면서 대표적인 건강 식품으로 자리잡고 있다. 미국의 경우, 소매점에서 판매되는 제품의 25% 가량이 신선 편의 식품이며 특히 fast food restaurant에서 다이어트용 샐러드 제품이 호황을 누리고 있다. 우리나라에서도, 핵가족화와 맞벌이 가족이 증가하면서 보다 간편하게 조리할 수 있는 신선 편의 식품이 증가하고 있으며, 샐러드 채소의 경우에도 깨끗하게 세척되고 적절한 크기로 다듬어져 소량씩 포장된 제품을 쉽게 찾아볼 수 있다. 그러나, 샐러드 채소의 기능성에 주목하여 특정 기능이 높은 채소를 중심으로 선별되어 있는 샐러드 채소 조성물은 아직까지 개발된 바 없다.

동맥경화증은 정상인에 비하여 혈중 콜레스테롤이 높은 것이 특징이며, 특히 LDL 콜레스테롤 함량이 높다. 또한 LDL은 유리라디칼에 의해 산화가 잘 일어나며 산화된 LDL은 혈관벽의 지질을 산화시켜 foam cell을 만들고 foam cell이 macrophage에 의해 monocyte로 되면서 염증 유발과 함께 혈관벽의 plaque를 형성하면서 혈관벽의 탄력성이 없어져 혈관의 압력이 증가되어 고혈압을 유발하고 한편, 혈관벽의 압력을 견디지 못하여 떨어져 나온 plaque는 혈행을 저하시킨다. 따라서 동맥경화를 예방하기 위해서는 혈중 콜레스테롤과 함께 LDL 함량을 낮추는 것이 중요하며, 아울러 LDL의 산화를 막는 것이 중요하다. 식물 즉 과일과 채소 중에는 여러종류의 항산화 물질이 존재하며 이들은 유리라디칼에 의한 LDL의 산화를 막아주는 역할을 한다.

또한 채소 과일중의 나린진 같은 물질은 콜레스테롤 ester합성 효소인 ACAT효소를 저해하여 콜레스테롤의 축적을 저해한다. 또한, 과일과 채소중에 존재하는 phytoesterol은 생체내 콜레스테롤 합성을 저해하여 혈중 콜레스테롤을 낮추어준다. 기존의 약물로 개발된 노바스타틴은 콜레스테롤 합성을 저해하여 동맥경화증 치료에 효과적인 약물이나 부작용이 있다. 따라서 일상 식에서 이같은 성분이 많이 함유된 채소를 섭취함으로써 동맥 경화를 예방 하는 것이 매우 중요하다.

유리라디칼에 의한 생체내 지질, DNA 등의 산화가 심장질환, 암, 동맥경화, 염증 및 노화의 원인이 되는 것으로 알려지면서, 항동맥경화 작용을 갖는 물질이나 성분들이 건강 식품이나 약으로 많이 연구되고 있다. 실제로 항동맥경화 성분을 많이 함유하고 있는 과일과 야채를 적정량 섭취하는 사람들은 심혈관계 질환 및 암, 백내장의 발생률이 낮다고 알려져 있다. 항동맥경화 작용을 가진 것으로 가장 많이 선전되는 성분으로 비타민 C, 비타민 E, 베타-카로틴(몸 안에서 비타민 A로 바뀜), 그리고 광물질 셀레늄 등이 있다. 그러나, 상기와 같은 항동맥경화 물질을 정제로 복용했을 때의 효과에 대해서는 지난 수년 간 10여개의 연구가 발표되었는데, 대개는 부정적인 결과들이었다. 더구나 특정한 성분의 고지혈증 치료약과 함께 항동맥경화제를 섭취하는 경우에는 오히려 항동맥경화제 섭취가 해로울 수도 있다고까지 시사하고 있다.

그러므로 대다수의 사람들에게는 항동맥경화제가 풍부한 과일, 야채, 도정하지 않은 곡류 등이 포함된 균형잡힌 음식을 섭취하는 것이 가장 바람직한 방안이다. 음식물로서 항동맥경화 작용을 가진 성분을 효과적으로 섭취하기 위해서는, 항동맥경화 작용이 높은 성분과 그를 함유하는 식품에 대한 지식이 필요하다. 그에 반해, 일반 대중들이 영양 성분을 모두 제대로 숙지하고 있는 것은 현실적으로 어려우며, 또한 영양 성분을 숙지하고 있다고 하더라도 그에 따라 매 끼니의 식단을 짜서 음식물을 섭취하는 경우는 매우 드물다. 따라서 항산화 작용이 높은 채소를 중심으로 간편 신선식품인 샐러드 조성물을 구성할 수 있다면, 별도의 노력없이도 항동맥경화 작용을 가진 성분을 효과적으로 섭취할 수 있을 것이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 항동맥경화성이 높은 채소를 선별, 조합하는 것에 의해서 유리 라디칼에 의하여 유발되는 생체내 지질, DNA 등의 산화적 손상을 억제시켜 주는 기능이 우수하고 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 기능이 우수한, 간편하게 섭취할 수 있는 항동맥경화 기능성 샐러드 채소 조성물을 제공하고자 하는 것을 목적으로 한다.

발명의 구성

전술한 목적을 달성하기 위한 본 발명은 비트, 신선초, 적상추, 민들레 및 청코스가 각각 상대비율 1~2 중량비로 함유된 항산화 효과를 나타내는 샐러드 조성물에 관한 것이다.

상기 샐러드 조성물에는 적겨자, 토스카나, 레디쉬, 셀러리, 양파, 적치커리, 롤라로사, 로메인, 꽃케일 및 적꽃케일로 이루어지는 군에서 선택된 어느 하나 이상의 채소를 0.5~4 중량비가 되도록 추가되는 것이 좋다. 특히 비트, 신선초, 적상추, 민들레, 청코스, 셀러리, 양파, 적치커리가 모두 동일한 중량비로 함유되거나 롤라로사, 로메인 각각 2 중량부, 꽃케일 및 적꽃케일이 각각 1 중량부 함유되거나, 모두 동일한 중량비로 함유되는 것이 바람직하다.

또한 본 발명에 의한 샐러드 조성물은 청코스, 적겨자, 토스카나 및 적상추가 각각 1 중량비, 비트, 신선초, 민들레, 레디쉬가 각각 2 중량비, 적양배추가 4중량비로 함유될 수 있다.

본 발명은 또한 비트, 신선초, 적상추, 민들레 및 청코스를 기본 성분으로 하는 상기 샐러드와는 달리, 롤라로사, 월드로프, 적양배추, 공심채, 신선초, 적상추, 민들레, 꽃케일 및 청상추가 각각 상대비율 1~2 중량비로 함유된 항산화 효과를 나타내는 샐러드 조성물을 제공한다. 이때 상기 각 원료는 동일한 중량비로 함유되는 것이 바람직하다.

또한 본 발명은 비트, 신선초, 적상추, 민들레 및 청코스를 기본 성분으로 하는 상기 샐러드와는 달리, 적치콘, 신선초, 민들레, 공심채, 플라스타, 적상추, 월드로프, 청상추 및 롤라로사가 각각 상대비율 1~2 중량비로 함유된 항산화 효과를 나타내는 또 다른 유형의 샐러드 조성물을 제공한다. 이때 상기 각 원료는 동일한 중량비로 함유되는 것이 바람직하다.

본 발명은 국내에서 재배 생산되는 50 여종의 샐러드 채소 각각의 항산화성(DPPH 유리라디칼 소거능, 지질과산화억제능, LDL 항산화능)을 in vitro 실험을 통해 평가한 결과를 기초로 하였다. 이를 기초로 채소의 조합에 의한 항산화성을 평가하여 최대효능을 나타내는 조합을 선정하여 항동맥경화 기능성 샐러드를 개발함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

본 발명에 의한 항동맥경화 효과가 있는 샐러드 조성물은 칼로리 및 영양가분석, 소비자 기호도 조사등을 실시한 결과 열량은 낮으면서 비타민 C, 섬유소, 베타 카로틴등이 풍부하였고, 소비자 기호도 조사를 실시한 결과 매우 높은 점수를 받았다. 또한, 동물실험(식이섭취량, 체중 증가량, 분변량, 장기무게, 지방무게, 생화학 성분분석, 항산화효소활성도, DNA 손상도 등)을 통해 본 발명에 의한 항동맥경화 기능성 샐러드의 기능성을 평가한 결과, 체중저하, 체내 지방조직감소, 혈중 지

질저하, 혈중콜레스테롤저하, 혈중 LDL저하, 동맥경화유발지수 감소, 항산화효소활성의 증대, 조직 특히 혈액, 간, 신장, 심장조직에서의 지질과산화 억제, 혈액 및 간세포 DNA 손상보호 등의 효과가 있어 우수한 항동맥경화 효과를 나타내는 것을 확인하였다.

이하 실시예를 통하여 본 발명을 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 예시적인 목적일 뿐 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

<실시예>

사전 준비 실험

(1) 채소의 준비

한국인이 일상식생활에서 즐겨 먹는 상추 류와 최근에 많이 보급되고 있는 쌈채소, 그리고 서양의 샐러드에 주로 많이 사용되는 샐러드 채소 등, 총 50가지의 샐러드 재료를 대상으로 하였다.

선정된 대상 재료를 흐르는 수돗물로 수회 세척한 후 표면의 물기를 제거한 후, 채소의 종류별로 특성이 매우 다르므로 특성에 맞게 절단하였다. 즉, 잎채소인 상추, 로메인, 치커리, 서양 민들레 등은 잎이 넓고 연하여 쉽게 부러지거나 손상되었고 쉽게 상하므로 2~3 cm 크기로 절단하였다. 당근은 조직감이 역세고 질기므로 채썰었다. 방울토마토는 반으로 자르고, 양배추나 피망처럼 잎이 두껍고 강한 것은 썰으면 입안에서 거칠고 질기게 느껴지므로 먹을 때 거부감이 들지 않도록 적당한 크기로 채썰었다. 레디시는 얇게 썰었다.

(2) 시료의 준비

채소 또는 조성물의 항산화능 등을 분석하기 위하여 시료를 건조하거나 추출하였다.

건조시료는 전기 (1)에서 준비된 각 샐러드 채소를 70℃에서 48시간 동결 건조하여 제조하여 준비하였고, 추출시료는 상기 동결 건조된 샐러드 채소 무게에 10배의 메탄올을 각각 넣고 2일간 추출 교반한 후 3000rpm에서 30분간 원심분리하고 상등액을 취하여 감압 농축하여 제조하였다.

(3) 샐러드 채소의 항산화능 등 측정

준비된 추출시료, 건조시료 및 생시료에 대하여 폴리페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능 및 TBA법을 이용한 지질과산화도로 항산화능을 측정하여 그 결과를 표 1a 및 1b에 나타내었다.

DPPH를 EtOH에 녹여 제조한 후 샐러드 채소 동결건조 시료를 메탄올로 추출 농축하여 희석액 0.2 mL와 DPPH액 8mL를 넣고 잘 혼합후 30분간 방치후에 517nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH 라디칼 소거능을 분석하였다.(Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss. u. Technol* 28(1), p. 25-30)

채소 농축액과 소 뇌액을 혼합하여 지질을 산화 시킨 후 TBA/TCA를 넣고 반응 시킨 후 535nm에서 흡광도를 측정하여 지질 산화 억제력을 측정하였다.(Bidlack WT, Tappel AL. 1973. Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids* 8: 177-182:: Gutteridge JMC. 1975. The use of standards for malondialdehyde. *Analytical Biochem* 69: p 518526.)

Total 폴리페놀 함량은 폴리페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 방법으로 Folin-Denis법에 의해 측정한다. 시료추출액에 Folin-Denis 시약과 Na_2CO_3 포화용액을 넣고 30분간 반응시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다.(Singleton VL, Rossi JA Jr. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144-158.)

[표 1a]

채 소 명	수분함량 (%)	추출수율 (%)	폴리페놀 함량(mg/ml)	DPPH IC50 (mg/mL)	TBA (%)
Agastache rugosa	81.5	26.7	4.3±0.1	3.2±0.8	80.4±11.9
Angelica	84.2	22.7	8.8±0.1	2.2±0.3	95.1±1.7
Arugula	90.4	15.8	6.7±0.4	7.4±0.7	28.3±13.1
Beet leaf	91.1	15.7	4.3±0.2	5.2±0.9	35.4±3.4
Cabbage, green	91.7	12.4	1.6±0.2	17.6±8.2	14.8±2.4
Cabbage, red	91.9	12.1	5.7±0.1	11.5±3.2	54.1±7.2
Celery	85.9	30.9	2.4±0.1	8.1±1.4	35.0±6.5
Cherry tomato	93.8	58.6	3.5±0.6	33.6±7.8	36.7±5.1
Chicory, red	93.2	31.4	1.6±1.2	4.6±1.4	18.3±2.7
Chicory, red	90.6	22.7	3.8±0.3	5.0±0.8	32.6±2.6
Chicory, witloof	93.2	21.8	4.4±0.2	6.7±0.9	64.5±1.5
Chinese cabbage	94.2	50.0	3.4±2.3	47.4±17.9	10.6±1.6
Chinese radish, lobo	94.2	23.8	3.1±0.2	8.0±0.8	15.6±6.0
Cos lettuce, green	94.2	22.0	4.2±0.1	10.4±1.1	70.9±5.2
Cos lettuce, red	94.0	20.1	4.7±0.4	5.8±0.8	18.3±1.3
Dandelion	84.6	23.1	8.8±0.1	0.4±0.3	88.8±5.6
Dill	97.5	22.3	3.5±0.4	5.9±0.8	35.5±1.1
Endive	92.6	23.2	4.2±0.1	4.8±0.6	74.4±3.8
Grumoro	90.0	23.9	5.1±0.5	4.9±0.6	25.3±3.4
Kale	89.8	30.3	3.4±0.2	10.9±0.1	19.3±5.8
Kale, green	91.0	16.3	5.5±0.1	4.5±0.6	84.3±7.1
Kale, red	90.4	25.6	3.3±0.1	7.0±0.7	20.3±5.9
Kale, Scotch	90.8	20.2	4.6±0.2	5.3±0.1	77.0±1.4
Laciniata	91.2	24.3	3.6±0.3	8.1±0.5	4.8±2.8
Leaf broccoli	88.8	17.3	4.8±0.1	9.5±1.5	36.4±8.3

[표 1b]

채소명	수분함량 (%)	추출수율 (%)	폴리페놀 함량(mg/ml)	DPPH IC50 (mg/mL)	TBA (%)
Leaf lettuce, green	93.4	25.5	5.7±0.1	0.8±0.1	72.1±3.4
Leaf lettuce, red	92.0	20.3	4.9±0.1	0.6±0.1	72.9±1.8
Lettuce, iceberg	96.2	40.3	1.6±0.2	52.1±2.3	6.4±2.7
Lettuce, Romaine	94.1	19.2	3.7±0.3	3.5±0.2	11.4±2.9
Lollo Rosso	94.2	16.8	4.7±0.1	6.5±1.8	54.0±4.8
Mustard leaf, green	90.8	21.8	8.1±0.4	5.0±2.0	82.3±10.7
Mustard leaf, red	93.5	20.5	4.6±0.3	6.1±1.9	33.2±8.6
Oak leaf lettuce	92.5	22.0	4.2±0.1	8.0±1.2	56.5±5.5
Parsley	88.5	24.7	1.8±0.2	67.1±18.1	28.4±4.3
Perila leaf	93.7	22.0	4.6±0.3	0.3±0.4	84.7±6.6
Radish leaf, red	92.6	22.0	3.3±0.1	7.1±1.5	47.7±9.2
Short-frui	87.2	17.2	4.4±0.1	7.1±1.1	74.6±1.5
Sugar loaf	93.0	24.8	5.9±0.3	6.2±0.8	48.9±4.8
Tah tasai Chinese cabbage	92.1	22.3	3.6±0.1	8.3±1.5	29.3±5.9
Teragon	92.5	14.0	5.7±0.1	4.3±0.8	67.7±5.9
Water spinach	89.4	14.9	7.3±0.3	3.7±1.4	87.0±3.1
Wtloof	89.7	20.6	6.4±0.1	5.1±0.4	3.0±2.0
Trolox				0.066±0.006	94.2±1.4
Ascorbic acid				0.048±0.002	93.1±1.6

분석결과, 표 1a에 기재된 바와 같이 서양민들레, 신선초, 공심채, 플라스타, 로메인, 코스, 번행초, 구루모, 롤라로사, 방아, 청겨자채, 적치커리 및 비트잎 등이 DPPH 라디칼 항산화능이 큰 것으로 나타났다.

또한 지질과산화 억제정도는 공심채, 방아, 슈가로프, 민들레, 케일, 플라스타, 로메인, 청코스, 번행초, 구루모, 롤라로사, 비트잎, 치콘, 갯잎, 케일, 적삼무, 신선초, 참나물, 상추, 청겨자채 등이 우수하였다.

표 1b에서 알 수 있듯이 폴리페놀 함량은 신선초, 공심채, 번행초, 민들레, 비트잎, 방아, 상추, 코스, 롤라로사, 케일, 로케트, 월드로프, 구루모, 청치콘, 청오크잎 등에서 높게 나타났고, 양상추, 양배추 등에서 적게 나타났다.

전체적으로는 신선초, 민들레, 방아 및 공심채의 항산화능이 특히 우수하였다. 여러 가지 상추 품종(적상추, 청상추, 적코스, 청코스, 롤라로사, 로메인, 양상추) 중에서는 롤라로사, 로메인, 적코스의 항산화능이 우수하였다.

(4) 동맥경화와 관련된 LDL의 항산화능 분석

상기 표 1a, 1b의 결과를 토대로 하여 항산화능이 우수한 채소와, 문헌에 동맥경화나 심혈관계 질환에 좋다고 보고된 채소를 중심으로 동맥경화와 관련된 LDL의 항산화성을 측정하였다.

LDL 항산화성 측정은 사람의 혈장으로부터 LDL을 분리하여 copper에 의한 LDL 산화조건에서 각 셀러드 시료액을 넣고 LDL 산화정도를 TBA 법에 의해 측정함으로써 셀러드 시액의 항산화 보호효과를 측정하였다. 즉, 셀러드의 항동맥경화성은 사람의 혈장 중 LDL 항산화능을 측정하여 선정하였는데 LDL항산화능은 PBS 버퍼, Cu²⁺ 용액, LDL cholesterol을 넣은 석영 cell에 각각의 같은 농도의 채소농축액을 넣고 반응 시킨 후 234 nm에서 흡광도를 측정하였다.

측정한 결과를 표 2a에, IC₅₀을 분석한 결과를 표 2b에 나타내었다.

[표 2a]

샐러드채소 종류	Conc.($\mu\text{g/ml}$)	Oxidative injury(%)
변행초	250	11,0
방아	250	13,7
CL13	250	13,7
신선초	250	13,7
공심채	250	15,7
적상추	250	20,9
비트잎	250	21,8
적치콘	250	40,12
참나물	250	61,2
적치커리	250	74,5
식용민들레	250	85,0
청케일	250	115,6
청겨자	250	117,6
양파	250	121,1
플라스타	250	125,2
샐러리	250	137,9
슈카로프	250	142,2
로메인	250	142,2
청교스	250	145,8
적상무	250	155,8
오크잎	250	156,2

[표 2b]

	LDL IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Phenol content(mg/ml)
청겨자	69,57	8,1
곶슬케일	302	3,4
꽃케일	272,00	4,6
청치콘	209,00	5,4
민들레	38,00	8,8
적겨자	209,04	4,6
청상추	144,92	5,7
신선초	31,0	8,8
공심채	88,0	7,3
적상추	232,0	4,9
청치콘	219,0	5,4
적치커리	372,0	3,8
참나물	301,6	4,4
룰랄로사	280,0	4,7
CL13	77,0	7,6
공심채	80,93	7,3
비트잎	58,0	4,3
변행초	52,7	5,7

실시예 : 다양한 조합의 샐러드 조성물 제조 및 성분 분석

(1) 샐러드 조성물의 제조

개별 샐러드용 채소의 항산화능 등의 우수성과, 수급용이성, 관능성, 가격 등을 고려하여 선택된 채소들을 다양한 조성비율로 샐러드 조성물을 제조하고 각 조성물의 추출물에 대한 DPPH 라디칼 소거능과 지질과산화억제력 등의 항산화능을 분석하였다(표 3). 대조구로는 일반적으로 많이 사용되는 보통 샐러드 조성물을 선택하였다.

[표 3]

조성물 번호	성분조성	IC ₅₀ (mg/ml)	TBA (%)
대조구	양상추:로메인:당근:방울토마토:적치커리:적양배추:비타민: 적코스:홍피망 (5 : 4 : 1 : 2 : 0.5 : 1 : 1 : 0.5 : 1 중량비)	0.30	69.1
조성 1	콜라로사, 월드로프, 적양배추, 공심채, 신선초	0.18	4.65
조성 2	콜라로사, 월드로프, 적양배추, 공심채, 신선초, 적상추, 민들레, 꽃케일, 청상추	0.19	88.75
조성 3	민들레, 방아, 공심채, 적상추, 청케일	0.20	63.88
조성 4	비트:신선초:적상추:민들레:청코스:콜라로사:로메인:꽃케일: 적꽃케일 (2 : 2 : 2 : 2 : 2 : 2 : 2 : 1 : 1 중량비)	0.17	86.2
조성 5	비트:신선초:적상추:민들레:청코스:샐러리:양파:적치커리	0.19	83.9
조성 6	비트:신선초:적상추:민들레:청코스:적양배추:적겨자:토스카 나:레디쉬 (2 : 2 : 1 : 2 : 1 : 4 : 1 : 1 : 2 중량비)	0.22	80.4
조성 7	슈카로프, 적쌈무, 청케일, 민들레, 공심채	0.34	37.481
조성 8	신선초, 꽃케일, 월드로프, 공심채, 적양배추	0.25	5.81
조성 10	신선초, 식용민들레, 공심채, 꽃케일, 적상추	0.07	45.44
조성 11	신선초, 식용민들레, 공심채, 청상추, 적양배추	0.18	9.88
조성 12	신선초, 적치콘, 슈카로프, 플라스타, 방아	0.31	24.786
조성 13	적치콘, 신선초, 민들레, 공심채, 플라스타	0.17	43.28
조성 14	적치콘, 신선초, 민들레, 공심채, 플라스타, 적상추, 월드로프, 청상추, 콜라로사	0.22	82.31
조성 15	적코스, 콜라로사, 공심채, 꽃케일, 적상추	0.15	64.63
조성 16	적코스, 콜라로사, 신선초, 식용민들레, 월드로프	0.31	19.86
조성 17	적코스, 콜라로사, 신선초, 식용민들레, 월드로프, 방울토마토	0.39	63.66
조성 18	적코스, 콜라로사, 월드로프, 청상추, 적양배추	0.20	11.72
조성 19	청상추, 적양배추, 공심채, 꽃케일, 적상추	0.25	18.12
조성 20	청상추, 적양배추, 공심채, 꽃케일, 적상추, 방울토마토	0.32	15.31
조성 21	플라스타, 민들레, 공심채, 적치콘, 적쌈무	0.25	34.257
	(특별한 표시 없는 조성은 각 성분이 동일 중량비)		

분석결과 표 3에서 볼 수 있듯이, 조성 2, 4, 5, 6, 14가 다른 조성에 비해 월등히 우수한 DPPH 라디칼 소거능과 지질과산화억제력을 나타내었다.

특히 LDL 항산화능이 우수한 비트, 신선초, 적상추, 민들레 및 청코스가 공통으로 함유된 조성 4~6은 특히 우수한 항동맥경화능을 나타냄을 확인하였다. 따라서 우선 DPPH 라디칼 소거능이 우수한 채소를 대상으로 사람 혈장 중 LDL 항산화능과, IC₅₀값을 구한 결과(표 2a, 2b)를 바탕으로 LDL 항산화능이 높은 비트, 신선초, 적상추, 식용민들레와 항혈전 동맥경화에 좋은 양파, 샐러리를 첨가하고 관능적 특성, 구입용이성 등을 고려하여 상기 조성 5를 항동맥경화 샐러드로 선정하였다.

(2) 선정된 샐러드 조성물의 일반성분 및 무기질 분석

항동맥경화 샐러드로 선정된 조성 5의 일반성분(표 4) 및 무기질 함량을 분석하였다(표 5).

[표 4]

Energy (kcal)	Moisture (%)	Protein (g)	Fat (g)	Non-fibrous (g)	Fiber (g)	Ash (g)
27.74	90.88	2.30	0.05	4.47	0.84	1.46

(per 100g edibe portion)

[표 5]

Ca (mg)	Zn (mg)	Fe (mg)	Na (mg)	Mg (mg)	K (mg)	P (mg)
235.65	0.72	1.82	105.60	40.88	433.16	0.003

(per 100g edibe portion)

적용예 : 동물실험을 통한 조성 5의 기능성 분석

선정된 조성 5 셀러드 조성물의 섭취가 동물에 미치는 효과를 분석하였다.

(1) 고지방고콜레스테롤 식이로 유도한 산화적 손상에 의한 조성 5 셀러드의 동물실험을 통한 기능성 평가

① 실험동물

실험에 이용된 동물은 체중 18~22g 정도의 생후 4 주된 ICR mice(수컷) 16마리를 구입하여 실험 시작 전 AIN 76 diet로 1 주일간 적응시켰다. 적응기간이 끝난 실험동물은 체중에 따른 난괴법(randomized complete block design)으로 표 6에 서와 같이 각 군당 8마리씩 2군으로 나누어 8주 동안 사육하였다. 사육실의 온도는 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 50~60%로 조절하였고, 매일 광주기 및 암주기를 각각 12시간이 되도록 조절하였다. 실험동물은 두 마리씩 stainless steel cage에서 사육하였고, 실험식이와 먹는 물은 24시간 동안 자유 급식으로 공급하였으며, 무기질의 오염 방지를 위해서 사육실에 필요한 모든 기구는 0.4%의 EDTA로 씻은 후 탈이온 증류수로 행구어 사용하였다.

[표 6]

실험군	대조군(고지방고콜레스테롤)	고지방고콜레스테롤 + 조성 5 셀러드군
	Control	HFS
수량	8 마리	8 마리

② 식이조성

실험식이는 표 7과 같이 총 식이 무게의 20%(열량의 11.7%)를 옥수수유(동방유량)와 라드(동광농산)로 공급하였고 1%의 콜레스테롤을 첨가하여 고지방고콜레스테롤식을 공급하였다. 또한 항동맥경화 셀러드 첨가군은 총 식이무게의 8%를 첨가하였고 셀러드의 성분 중 당분, 미네랄, 비타민의 함량을 대조군에서 제한 후 대조군과 총열량은 동일하게 맞추어 조절하였다. 식이성분으로는 choline bitartrate(ICN Biomedicals Inc. Germany), casein(Dae Jung Chemiclase & Metals Co, Ltd, Korea), cellulose(Aldrich chemical Co. Inc. USA), DL-methionine(Reserach Chemicals Ltd, Korea)을 사용하였다. 각 군의 식이는 매주 한 번씩 만들어 사용하였고 지방의 산패를 방지하기 위해 -70°C 냉동고에 보관하면서 정해진 시간에 매일 일정량을 급여하였다.

[표 7]

	대조군(고지방고콜레스테롤 함유)	고지방고콜레스테롤 + 조성 5 셀러드군
Casein	200.00	200.00
corn starch	388.00	376.08
sucrose	100.00	39.20
cellulose	50.00	46.32
corn oil	20.00	20.00
lard	180.00	180.00
salt mix ¹⁾	35.00	32.20
vitamin mix ²⁾	10.00	9.20
L-cystine	3.00	3.00
choline bitartrate	4.00	4.00
cholesterol	10.00	10.00
Salad	0.00	80.00
TOTAL	1000.00	1000.00

(g/kg diet)

¹⁾ AIN 76 mineral mixture(g/kg) : calcium lactate 620.0, sodium chloride 74.0, potassium phosphate dibasic 220.0, potassium sulfate 52.0, magnesium oxide 23.0, manganous carbonate 3.3, ferric citrate 6.0, zinc carbonate 1.0, cupric carbonate 0.2, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.5, finely powdered to make 1,000g

²⁾ AIN 76 Vitamin mixture(mg/kg): thiamine-HCl 600, riboflavin 600, pyridoxine-HCl 700, nicotinic acid 3,000, D-calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, D-biotin 20, Vit B₁₂ 2.5, Vit A 400,000 IU, Vit D₃ 100, 000 IU, Vit E 7,500 IU, Vit K 75, finely powdered to make 1,000g

(2) 동물실험 방법 및 결과

모든 실험 결과는 실험 동물 8 마리의 평균치±표준편차로 표시하였으며, 유의성 검증은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences. SPSS Inc., Chicago IL, USA) software package 프로그램을 이용하여 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군의 평균치간 유의성을 검정하였다.

① 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이 효율 및 분변의 양

실험 동물의 식이 섭취량은 매일 오후 2시경에 측정하였으며, 체중 측정은 갑작스런 체중 증가를 막기 위해 1시간 전에 식이 공급을 중단한 후 매주 일정한 시간에 한 번씩 측정하였다. 식이 효율(food efficiency ratio, FER)은 총 체중 증가량을 같은 기간 동안의 총 식이 섭취량으로 나눈 값으로 산출하였다. 분변의 양은 식이 마지막 주, 즉 8주에 3일간 채취하여 동결 건조 후 무게를 측정하였다(도 1, 표 8).

도 1에서 볼 수 있듯이, 실험식이를 시작한 후부터 대조군(HFC)과 조성 5 셀러드첨가군의 체중증가 경향에서 조금씩 체중 차이가 보이기 시작하였다. 표 8에서와 같이 대조군에 비해 항동맥경화셀러드첨가군의 식이섭취량이 많은데 반해 체중증가량이 적었는데 이는 분변의 양이 약 1.5배가량 증가하였기 때문이며, 또한, 분변의 양이 증가되어 배변이 원활해진 것은 항동맥경화셀러드에 함유된 식이섬유에 기인된 것으로 판단된다.

[표 8]

	Gain weight (g)	Food intake (g/day)	FER (%)	Fecal weight (g/3day)
Control	3.7±1.2	3.0±0.3	4.5	0.45±0.14
HFS	2.5±0.6	3.2±0.3	2.8 *	0.65±0.06 *

* : significantly different(p<0.05)

② 장기무게와 부위별 지방무게

각 장기는 채혈 직후 즉시 적출하여 0.9% 생리 식염수로 행구어 여과지(Whatman No. 2)로 물기를 제거한 후 중량을 측정하였다. 또한 지방은 장기를 적출한 후 곧바로 retroperitoneal(복강 뒤), mesenteric(복강 내), epididymal(고환 주위), inguinal(허벅지), spleen(비장 주위)의 5가지 부위에서 떼어내어 중량을 측정하였다.

표 9은 대조군과 실험군의 간, 심장, 신장의 무게를 나타내고 있는데 셀러드 첨가군과 대조군 사이의 유의적인 차이는 없었다(p>0.05). 도 2는 조직 부위별 체지방의 무게를 나타내고 있으며 항동맥경화셀러드 첨가군이 대조군보다 유의적으로 낮아 체지방 축적이 적었다(p<0.05). 이는 셀러드에 함유된 식이 섬유가 지방을 분변으로 배출시킨데 기인된 것으로 판단된다. 특히 복부, 고환주위, 허벅지의 지방량이 뚜렷하게 감소하였는데 복부나 고환주위의 지방이 많이 축적되면 성인병의 발병위험률이 높은 것으로 보고 되었으므로 본 셀러드 섭취로 인한 복부지방의 감소는 성인병 예방에 좋은 효과를 나타낸다고 할 수 있다.

[표 9]

	Liver	Heart	Brain	Kidney
Control	4.06±0.60	0.42±0.03	0.98±0.28	1.21±0.08
HFS	3.97±0.18 ^{N.S.}	0.42±0.03 ^{N.S.}	0.99±0.22 ^{N.S.}	1.08±0.44 ^{N.S.}

(g/100 g BW)

N.S. : not significant(p>0.05)

③ 혈장의 생화학적 성분 분석

시료채취 : 실험 종료 후인 4주 경과 시에 12시간 동안 절식시킨 실험동물을 에틸에테르로 마취시켰다. 마취 상태에서 개복한 즉시 심장에서 혈액을 채취하였으며 채취한 혈액을 heparin이 담긴 튜브에 담아 굳지 않도록 처리한 다음 2,000 rpm에서 5분 동안 원심 분리하여 혈장(plasma)을 분리하였다. 분리한 혈장은 -70℃에서 냉동 보관한 후 분석에 사용하였다.

지질분석 : 총 중성지질(triglyceride), 총 콜레스테롤(total cholesterol), HDL-콜레스테롤 농도는 효소 Kit(영동제약) 시약법에 의해 분광광도계(Model 80-2088-64, Pharmacia Biotech. Co., Cambridge, England)을 이용하여 각각 546, 500nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{total cholesterol} - (\text{HDL-C}) + \frac{\text{총 중성지질함량}}{5}$$

$$\text{AI(Atherogenic Index)} = \frac{\text{Total cholesterol-HDL-C}}{\text{HDL-C}}$$

그 결과는 표 10과 같다. 혈액 중 총 중성지질, 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 수치는 유의적으로 낮아졌다. 동맥경화 예방에 좋은 영향을 주는 HDL 콜레스테롤의 수치는 유의적인 차이를 나타내지 않았지만 나쁜 영향을 주는 LDL 콜레스테롤

수치가 유의적으로 낮아졌고, 또한, 도 3에서 볼 수 있듯이 동맥경화지수가 대조군(0.33)에 비해 항동맥경화 셀러드첨가군(0.15)이 유의적으로 낮아져 본 발명에서 개발한 항동맥경화셀러드가 실제로 동맥경화발생률을 낮출 수 있는 기능을 가지고 있음을 시사해 주었다.

[표 10]

	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	LDL cholesterol (mg/dl)
Control	79.1±8.0	175.8±15.7	132.8±6.0	42.8±5.1
HFS	62.7±16.3 *	146.8±15.8 *	130.9±9.9	15.7±2.1 *

④ 분변의 생화학적 성분 분석

시료제조 : 동결건조하여 분말화한 변을 Folch 등의 방법(Folch et al., J Biol Chem 1957, 226, 497)에 따라 일정량 취하여 20배의 chloroform : methanol = 2 : 1의 용액에 잘 섞어 지질을 추출한 후 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액만 다른 튜브에 옮겨 담는다. 증류수를 20% 첨가한 후 2000rpm에서 15분간 원심분리하여 얻어진 상층액을 제거하고 하층의 액체를 농축하여 변중의 지질을 분리하였다. 분리된 지질은 처음 사용한 분변량 30배의 ethanol에 녹여 실온에 보관하면서 분석에 사용하였다.

지질분석 : 총 지질(total lipid), 총 콜레스테롤(total cholesterol) 농도는 효소 Kit(영동제약) 시약법에 의해 분광광도계(Model 80-2088-64, Pharmacia Biotech. Co., Cambridge, England)을 이용하여 각각 546, 500nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{total cholesterol} - (\text{HDL-C}) + \frac{\text{총 중성지질함량}}{5}$$

$$\text{AI(Atherogenic Index)} = \frac{\text{Total cholesterol-HDL-C}}{\text{HDL-C}}$$

표 11에서와 같이 대조군(HFC)에 비해 본 발명에 의한 셀러드 첨가군(HFS)이 변 중에 중성지질 함량은 유의적으로 차이가 없었으나 변중 콜레스테롤의 함량이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 분변량 또한 표 8에서와 같이 셀러드 첨가군(HFS)이 대조군에 비해 1.5배 가량 많은 것을 감안하면 매우 긍정적인 결과로 볼 수 있다.

[표 11]

	Total cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
Control	239.5±25.7	21.8±3.4
HFS	265.5±36.5*	16.9±3.9 ^{N.S.}

N.S. : not significant($p > 0.05$).

⑤ 항산화물질의 측정

Total glutathione 측정을 위한 시료제조 : 마우스의 간조직을 간중량의 19배의 6% metaphosphoric acid로 균질화 한 후 25000rpm으로 30분간 원심분리(4℃)한 후 상등액 취한 것을 당일에 총 glutathione 측정 실험에 사용하였다.

Total Glutathione(GSH) : 총 glutathione은 Floreani 등의 방법(Floreani M, Skaper D.S. Facci L., Lipartiti M, and Giusti P., 1997)을 약간 변형하여 사용하였다. 제조한 시료의 상등액 15 µl를 취해서 500 µl의 cuvette cell에 0.1M의 potassium phosphate/0.005M EDTA buffer(pH 7.4) 400 µl를 넣고 10 mM의 [5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid),

DTNB] 12.5 μ l, 5 mM NADPH 40 μ l를 취해서 1 분간 평형을 유지시킨 후에 0.5unit의 GR(type III Sigma, from bakers yeast, diluted in 0.1 M phosphate buffer pH 7.4)을 넣고 잘 섞은 후 반응을 개시되면 412nm에서 2분간 지속적으로 흡광도를 측정하였다. 0.04mM GSH를 제조하여 standard curve를 그린 후 흡광도에 대한 농도를 환산하였다.

간조직내의 총 글루타티온 함량을 분석한 결과는 도 4와 같다. 항동맥경화셀러드 첨가군(HFS)이 대조군(HFC)에 비해 높은 값을 나타내는 것을 알 수 있었다($p < 0.05$).

⑥ 항산화효소 활성도 측정

시료제조 : 마우스의 간조직을 간중량의 9배의 0.01 M Sodium phosphate buffer pH 7.4로 균질한 후 25000rpm에서 30 분간 원심분리(4℃)한 후 상층액을 얻었다. -70℃ 냉장고에 보관하면서 항산화효소계 효소(GPx, GR, SOD) 측정 실험에 사용하였다.

Glutathione peroxidase(GPx) assay : GPx는 Tappel(Tappel, A.L. Glutathione peroxidase hydroperoxides.1978)의 방법을 사용하여 정량하였다. 1.0 mM EDTA를 함유한 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.2)에 catalase의 작용을 억제하기 위해서 1 mM의 azide를 넣은 후 891 μ l을 1 mL cuvette cell에 넣고 시토졸 enzyme 50 μ l, 0.25mM glutathione 20 μ l, 10mM NADPH 20 μ l, GR(0.5 unit/ml) 10 μ l을 넣고 마지막에 100 mM cumene hydroperoxide 10 μ l를 넣은 후에 340 nm에서 흡광도를 2분간 측정하였다. GPx의 활성도 1 unit는 mg protein당 1분간 산화되는 μ M 수로 정한다.

Glutathione reductase(GR) : 간조직의 GR 효소의 활성측정은 Pinto 등의 방법(Pinto M.C., Mata A.M., Lopes-Barea J.1984)에 따라 구하였다. 시료 50 μ l, 1mM EDTA를 함유한 0.1M Tris-HCl buffer(pH 8.0) 940 μ l, 0.1 mM GSSG 용액 20 μ l를 함유된 용액에 10mM NADPH 20 μ l을 첨가한 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) : SOD activity는 McCord와 Fridovich 등(McCord and Fridovich Superoxide Dismutase;1969)의 방법에 따라 정량하였다. 반응은 1 unit xanthine oxidase 4 μ l 정도 넣어 흡광도가 0.021 ± 0.005 이 되도록 농도를 조절한 후 cytosol 시료 40 μ l를 반응시켜서 550 nm에서 2분간 측정을 한다. SOD 1 unit는 cytochrome C를 50% 방해하는 데 필요한 SOD의 양으로 정의하였다.

Paraoxonase(PON) : Paraoxonase를 측정하기 위해 aryesterase activity assay를 하였다. 1mM CaCl₂가 함유된 20mM Tris-HCL pH8.0 buffer 495 μ l에 혈장 5 μ l를 넣은 후 cuvette 안의 농도가 1mM이 되도록 phenylacetate를 첨가하고 270nm에서 흡광도를 측정한 후 다음의 공식에 의해 activity를 계산하였다.

$$PA(U) = \frac{\text{흡광도} \times \text{cuvette 크기}(\mu\text{l}) \times 1000}{\text{시료양}(\mu\text{l}) \times 1310 \times \text{반응 시간}(\text{min})}$$

단백질 정량 : GPx, GR, SOD는 mg protein당 unit로 계산하였는데 이때 단백질 정량은 bovine serum albumin(BSA)을 표준 단백질로 사용하여 Bradford 측정법(Bradford, M.M.,1976)에 기초를 둔 Bio-Rad 단백질 정량법에 의한 Bio-Rad protein kit를 사용하여 595 nm에서 측정하여 계산하였다.

표 12에서 볼 수 있듯이 간에서 측정한 항산화효소계인 GPx, GR, SOD 효소활성도는 대조군(HFC)보다 본 발명에 의한 셀러드첨가군(HFS)이 높았으며, 특히 GPx와 SOD는 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 간에서 단백질을 정량한 결과 대조군과 셀러드첨가군간의 유의적인 차이는 없었다(표 13).

[표 12]

	GPx-Liver (unit/mg prot.)	GR-Liver (unit/mg prot.)	SOD-liver (unit/mg prot.)
Control	1.13±0.11	0.45±0.05	0.52±0.06
HFS	1.59±0.31 *	0.52±0.14	0.71±0.15*

* : significantly different(p<0.05)

[표 13]

	Protein in liver (mg/ml)
Control	10.34±0.61
HFS	10.39±1.91 ^{N.S.}

^{N.S.} : not significant(p>0.05)

⑦ 지질 과산화물(TBARS)의 측정

시료제조 : 마우스의 조직을 간중량의 9배의 0.01 M Sodium phosphate buffer pH 7.4로 균질한 후 -70℃ 냉장고에 보관하면서 TBARS 측정 실험에 사용하였다.

TBARS : 혈장, 간, 심장, 신장의 지질과산화물은 thiobarbituric acid(TBA)방법(Bidlack, W.T & Tappel, A.L.1973)을 이용하여 생성된 malondialdehyde(MDA) 양을 533 nm에서 흡광도를 측정하였으며, tetramethoxypropane (malonaldehyde bis, TMP)를 표준물질로 사용하였다.

표 14에서와 같이 혈장, 간, 심장, 신장조직의 지질과산화물을 TBA법으로 측정한 결과 모든 조직에서의 지질과산화물이 대조군(HFC)보다 항산화셀러드첨가군(HFS)에 유의적으로 더 적게 나타나 지질과산화를 유의적으로 억제시켜주었다 (p<0.05). 특히 혈액과 심장 조직에서의 지질과산화억제 효과가 컸으므로 동맥경화예방에 매우 좋은 효과라고 판단된다.

[표 14]

	Plasma (ug/ml)	Liver (ug/ml)	Heart (ug/ml)	Kidney (ug/ml)
Control	8.11±1.31	5.84±0.93	10.24±0.81	10.24±0.35
HFS	4.13±0.91 *	4.73±0.58 *	7.40±0.62 *	7.80±0.68*

* : significantly different(p<0.05)

⑧ 혈액의 DNA의 손상정도

Mice DNA 손상정도를 측정하기 위해 alkalin single-cell gel electrophoresis(comet assay)를 실시하였다. Slide에 0.5% Normal melting agarose(NMA)를 50 μ l와 75 μ l로 2번 코팅한 후 시료 5 μ l와 0.75% Low melting agarose (LMA) 75 μ l의 현탁액을 골고루 분산시킨 후 cover glass로 덮어 4℃의 냉장온도에 저장하였다. Gel이 굳으면 그 위에 0.75% LMA 75 μ l를 도포하여 한겹 더 코팅하였다. 미리 차게 준비해두었던 pH10 lysis buffer에 DMSO와 TritonX-100을 섞은 시약에 slide를 담그어 한시간동안 암실에 보관하면서 lysis 과정을 거쳤다. Lysis 과정을 끝낸 slide는

electrophoresis buffer에 40분에 저장하였다가 electrophoresis chamber에 배열하고 25 V, 300 mA에서 20분 동안 unwinding시켰다. 전기영동이 끝난 slide는 pH 7.5 tris buffer에 5분씩 3회 세척하고 마지막으로 에탄올에 5분 담갔다가 말렸다.

처리가 끝난 샘플의 Comet image 분석을 하기 위해 ethidium bromide(20 $\mu\text{l}/\text{ml}$)로 nucleotide를 염색하여 형광현미경에서 관찰하고 카메라를 통해 comet image analyzing system이 설치된 컴퓨터에서 분석하였다. DNA 손상정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리(tail length, TL), tail 내 함유된 DNA% (tail DNA%) 그리고 TL값에 tail DNA%를 곱해준 tail moment(TM) 값을 측정하였다.

표 15은 혈액에서의 DNA 손상정도를 측정한 것이고 표 16은 간세포의 DNA 손상정도를 측정한 결과이다. 대조군에 비해 실험군의 head DNA가 높았고, tail DNA와 tail length가 낮았으며, 전반적으로 tail extent moment와 olive tail moment가 낮아 셀러드 첨가군이 혈액과 간세포의 DNA 손상정도가 적음을 알 수 있었다.

[표 15]

	Head DNA(%)	Tail DNA(%)	Tail Extent Moment	Olive Tail Moment	Tail Length(μm)
HFC	87.69 $\pm$ 2.11	12.31 $\pm$ 2.11	3.26 $\pm$ 1.91	2.12 $\pm$ 0.72	19.43 $\pm$ 11.21
HFS	92.05$\pm$1.64*	7.96$\pm$1.64*	1.86$\pm$1.15*	1.28$\pm$0.45*	16.38$\pm$8.43

* : significantly different(p<0.05)

[표 16]

	Head DNA(%)	Tail DNA(%)	Tail Extent Moment	Olive Tail Moment	Tail Length(μm)
HFC	86.61 $\pm$ 4.12	13.39 $\pm$ 4.12	8.06 $\pm$ 4.68	4.51 $\pm$ 1.16	49.53 $\pm$ 11.02
HFS	89.49$\pm$3.45	10.51$\pm$3.45	4.04$\pm$2.20*	2.62$\pm$1.02*	30.81$\pm$12.49*

* : significantly different(p<0.05)

발명의 효과

이상과 같이 본 발명에 의하면 동맥경화유발식이인 고지혈고콜레스테롤식이로 유도한 mice 혈중 지질, 콜레스테롤, LDL 함량을 낮추어 동맥경화유발지수를 감소시켰을 뿐 아니라 동맥경화증의 주요한 발별기전중의 하나인 유리라디칼에 의하여 유발되는 LDL 산화를 막아주고, 생체내 지질과산화 억제, 항산화효소계의 활성화 증가, DNA의 손상을 억제시켜주는 기능이 우수한 항동맥경화 기능성 셀러드 채소 조성물을 제공할 수 있게 된다. 이에 의해 음식물로의 섭취에 의해 노화, 염증, 동맥경화 등 성인병 등의 예방과 개선에 공헌할 수 있게 된다.

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명에 의한 항동맥경화 효과를 가지는 셀러드 조성물의 식이에 따른 체중변화를 보여주는 도표.

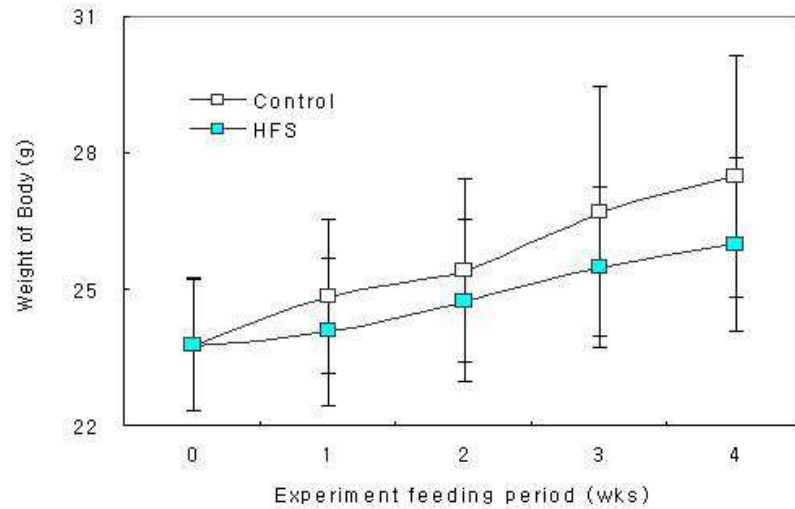
도 2는 본 발명에 의한 항동맥경화 효과를 가지는 셀러드 조성물을 식이한 동물 조직의 부위별 지방 무게를 보여주는 도표.

도 3은 본 발명에 의한 항동맥경화 효과를 가지는 셀러드 조성물을 식이한 동물의 혈액 내의 동맥경화 지수를 보여주는 도표.

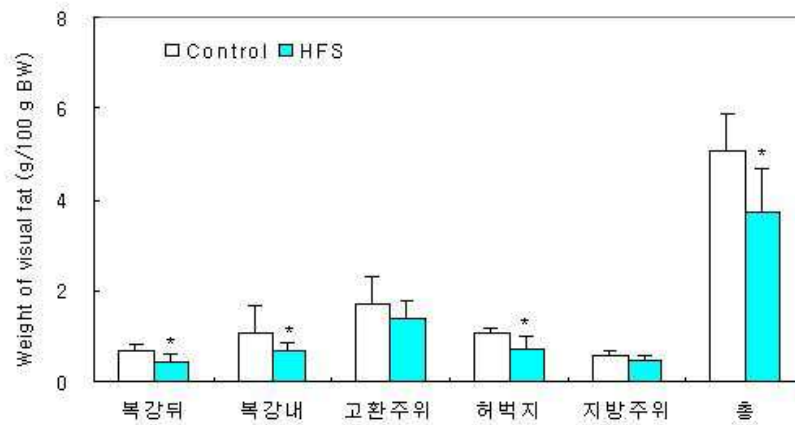
도 4는 본 발명에 의한 항동맥경화 효과를 가지는 셀러드 조성물을 식이한 동물의 간조직내의 총 글루타티온 함량을 보여주는 도표.

도면

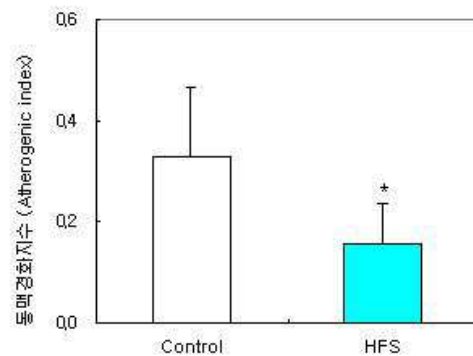
도면1



도면2



도면3



도면4

