



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0119451
(43) 공개일자 2007년12월20일

(51) Int. Cl.

A23L 1/24 (2006.01) *A23L 1/22* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0054093

(22) 출원일자 2006년06월15일

심사청구일자 2006년06월15일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 공동 220번지 충남대학교

(72) 발명자

김미리

대전 유성구 신성동 대림아파트 101-201

(74) 대리인

이덕록

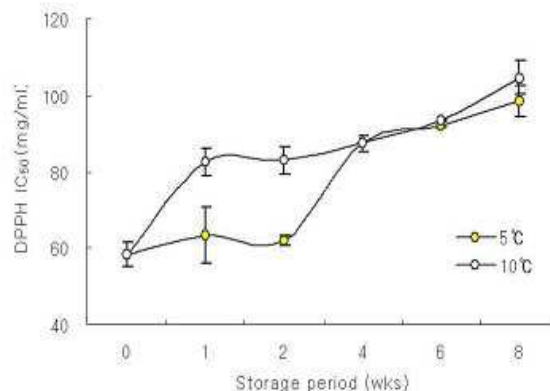
전체 청구항 수 : 총 2 항

(54) 맛과 기능성이 우수한 된장을 함유한 된장 샐러드 드레싱조성물 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 맛과 기능성이 우수한 된장을 함유한 된장 샐러드 드레싱 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 마요네즈에 비해 열량이 적은 된장을 샐러드 드레싱에 첨가함으로써 샐러드 섭취 시 가장 많이 애용되는 마요네즈보다 열량과 지방함량이 낮으므로 비만과 그로 인한 퇴행성 질환의 예방에 유용하며, *in-vivo* 동물 실험을 통해 확인하였듯이 혈액중 총콜레스테롤, LDL, 중성지방농도 및 동맥경화지수를 낮추어주어 동맥경화예방에 효과가 있었으며, 간, 심장, 혈액, 신장 및 뇌조직에서의 항산화효과와 혈액 임파구의 DNA 손상을 방지하는 효과가 있으므로 산화적 손상에 의해 유발되는 노화를 비롯한 각종 질병 즉, 동맥경화, 암 등의 예방에 매우 뛰어난 효과가 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

식용유 27~28%, 난황 0.01~0.02%, 겨자 0.001~0.002%, 양파 5~6%, 된장 10.5~11.5%, 설탕 16~17%, 간장 1.6~1.7%, 식초 21.5~22.5%, 참깨 8~9%, 후추 0.5~0.6% 및 소금 1~1.5%로 전체가 100%가 되도록 물을 함유하는 것을 특징으로 하는 된장 셀러드 드레싱 조성물.

청구항 2

난황 0.01~0.02%, 겨자 0.001~0.002%, 소금 1~1.5% 및 후추 0.5~0.6%를 혼합하는 제1단계;

상기 제1단계에 의한 혼합물을 믹싱볼에 넣고 식초 21.5~22.5%를 투입하여 교반하는 제2단계;

상기 제2단계에 의한 혼합물에 식용유 27~28%를 서서히 주입하면서 계속 교반하여 유화시키고, 유화가 끝난 후에 다시 3~5분간 더 교반하여 드레싱 재료를 제조하는 제3단계;

된장 10.5~11.5%, 간장 1.6~1.7%, 양파 5~6%, 참깨 8~9%, 설탕 16~17% 및 잔량의 물을 별도로 혼합하는 제4단계; 및

제3단계의 혼합물에 제4단계의 혼합물을 소량씩 첨가하면서 혼합하는 단계로 구성되는 것을 특징으로 된 셀러드 드레싱 조성물의 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<4> 본 발명은 맛과 기능성이 우수한 된장을 함유한 된장 셀러드 드레싱 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로 열량이 낮으면서도 영양성분이 풍부하고, 항동맥경화, 항산화성 및 DNA 손상 방지 효과가 높은 된장 셀러드 드레싱용 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

<5> 드레싱은 식품을 제조·가공·조리함에 있어 식품의 풍미를 돋우기 위한 목적으로 사용되는 것으로 식용유, 식초 등을 주원료로 하여 식염, 당류, 향신료, 난류 또는 식품첨가물을 가하고 유화시키거나 분리액상으로 제조한 것 또는 이에 과실류, 채소류 등을 가한 것으로 마요네즈, 유화형 드레싱, 분리액상 드레싱, 된장 셀러드 드레싱, 프렌치 드레싱을 말한다. 마요네즈의 상업적 생산은 한국에서 1972년에 기업화된 이후, 소비가 증가되고 있다. 우리나라에서는 마요네즈의 생산이 주종을 이루고 있고, 드레싱의 생산은 부진한 상태에 있지만, 최근 들어 다양한 종류의 드레싱이 시판되고 있다. 미국에서는 마요네즈와 드레싱의 생산비가 45:55로 드레싱이 마요네즈의 소비를 앞지르고 있다. 그 이유로는 마요네즈는 지방함량이 65%로 높기 때문에 지방의 과잉 섭취가 우려되며 이로 인한 총열량의 증가로 여분의 지방을 체내에 축적하게 됨으로써 비만을 야기하고 또한 비만은 만성 퇴행성 질환의 원인이 되기 때문이다(Landset *et al.* (1992) *Am. J. Clin. Nutr.* 51: 991-993).

<6> 반면, 된장 셀러드 드레싱의 지방함량은 마요네즈에 비하여 매우 적으므로 외국에서는 지방섭취에 민감한 소비자들의 욕구에 부응하여 저열량 마요네즈나 다양한 된장 셀러드 드레싱이 개발되어 시판되고 있다(Chitalt *et al.* (1992) *J. Food Sci.* 57: 200-202).

<7> 최근 우리나라도 국민 소득이 증가되고 식생활이 서구화되면서 동물성 지방의 섭취가 늘어 성인병의 유발이 증가되고 있는 시점에서 지방함량이 마요네즈보다 적은 셀러드 드레싱류를 더 선호할 것으로 전망되나 현재까지 마요네즈에 관한 연구에 비해 셀러드 드레싱에 관한 연구는 부족한 실정이다. 최근 드레싱류가 개발되어 시판되고 있기는 하나 주로 서구의 드레싱으로 동양인의 입맛에 맞으면서 기능성 물질이 풍부한 된장, 참깨, 간장 등을 사용하여 제조한 된장드레싱에 관한 연구는 미미한 실정이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<8> 본 발명은 상기 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로 마요네즈에 비해 열량이 적은 된장을 셀러

드 드레싱에 첨가함으로써 된장의 인체에 유의한 영양성분과 유용한 생리활성을 갖는 된장 샐러드 드레싱 조성물 및 그의 제조방법을 제공하고자 하는 것을 목적으로 한다.

<9> 이하, 본 발명의 구성 및 작용을 설명한다.

발명의 구성 및 작용

<10> 본 발명은 맛과 기능성이 우수한 된장을 함유한 된장 샐러드 드레싱을 제공한다.

<11> 본 발명의 된장을 함유한 된장 샐러드 드레싱 조성물은 식용유 27~28%, 난황 0.01~0.02%, 겨자 0.001~0.002%, 양파 5~6%, 된장 10.5~11.5%, 설탕 16~17%, 간장 1.6~1.7%, 식초 21.5~22.5%, 참깨 8~9%, 후추 0.5~0.6% 및 소금 1~1.5%로 전체가 100%가 되도록 물을 함유하는 것을 특징으로 한다.

<12> 된장 샐러드 드레싱의 재료로서 항산화성에 초점을 맞추어 기능성을 부여하고 동양인의 입맛에 맞는 재료 중에서 된장, 간장, 참깨를 선정하였다. 예비 실험을 통해 이들 재료의 배합 비율을 달리하면서 된장 샐러드 드레싱을 제조 후 관능검사를 통해 첨가비율을 결정하였다.

<13> 상기의 된장 샐러드 드레싱 조성물의 제조방법은 난황, 겨자, 소금 및 후추를 배합비에 따라 혼합하는 제1단계; 상기 제1단계에 의한 혼합물을 믹싱볼에 넣고 배합비의 식초를 투입하여 교반하는 제2단계; 상기 제2단계에 의한 혼합물에 식용유를 서서히 주입하면서 계속 교반하여 유화시키고, 유화가 끝난 후에 다시 3~5분간 더 교반하여 드레싱 재료를 제조하는 제3단계; 배합비에 따른 된장, 간장, 양파, 참깨, 물 및 설탕을 별도로 혼합하는 제4단계; 및 상기 제3단계의 혼합물에 제4단계의 혼합물을 소량씩 첨가하면서 혼합하는 단계로 구성되는 것을 특징으로 한다. 된장 샐러드 드레싱은 상기의 배합방법에 의해 혼합할 경우 유화가 가장 효율적으로 이루어지며, 모든 재료를 한꺼번에 혼합되면 각 조성물간의 유화가 효율적이지 못하여 분리된다.

<14> 된장 샐러드 드레싱의 *in-vitro* 항산화성을 DPPH 라디칼 소거능과 지질 과산화 억제능의 IC₅₀ 값으로 측정한 결과, 대조군(시판마요네즈)보다 항산화성이 높은 것을 확인할 수 있었다.

<15> *In-vitro*에서 확인된 항산화성이 *in-vivo*에서도 유효한지 검증하기 위하여 체중 20~25g 정도의 생후 4주령된 ICR mice(수컷)를 대상으로 대조군과 대조군에 된장 샐러드 드레싱을 함께 급여한 된장 샐러드 드레싱군으로 나누어 동물실험을 실시하였다.

<16> 된장 샐러드 드레싱을 일반 식이에 첨가한 군의 식이 섭취량, 체중증가량은 대조군과 유의한 차이가 인정되지 않아 된장 샐러드 드레싱의 섭취로 인한 체중증가는 없었다. 그러나 총체지방무게는 대조군에 비하여 유의적으로 적었으며 특히 부위별 지방조직중 복부와 고환주위의 지방축적량이 적어 성인병예방에 좋은 효과가 있는 것으로 판단된다. 한편, 각 장기(간, 심장, 뇌, 신장) 조직의 무게는 대조군과 된장샐러드 드레싱을 첨가한 군간에 유의한 차이가 없어서 부작용이나 독성이 나타나지 않았다. 혈장 중의 지질조성중 총 중성지질, 총 콜레스테롤, LDL cholesterol 함량이 대조군에 비하여 된장 샐러드 드레싱 군간이 낮아졌으며 또한 동맥경화위험지수도 낮아져 동맥경화 예방에 좋은 효과를 나타내었다. 본 실험에서는 식사 중의 지방함량이 40%, 콜레스테롤이 1%로 고지방 고콜레스테롤식을 급여하였기 때문에 체중 증가 및 체지방(복부 등) 증가 현상뿐만 아니라 동맥경화 등의 원인이 되는 혈중 지질농도증가, 혈중 콜레스테롤 증가 등의 현상이 나타나므로 건강에 좋지 않은 영향을 준다. 그러나 된장 샐러드 드레싱을 식이에 첨가하여 급여시킨 된장 샐러드 드레싱의 군에서 대조군에 비해 총 체지방 함량, 혈중 콜레스테롤, 혈중 지질 함량을 억제함으로써 성인병에 좋은 효과가 있음을 보여준다.

<17> 샐러드 드레싱의 항산화성은 간조직 및 뇌조직내 항산화 효소 활성화도, 조직 내 지질의 과산화 정도로 측정하였다.

<18> 항산화 효소 활성화는 간 및 뇌조직의 GP(Glutathione peroxidase), GST(glutathione S-transferase)활성도를 측정하여 비교하였다. 간 및 뇌 조직에서의 항산화효소인 글루타치온 페록시다제(Glutathione peroxidase) 활성을 유의적으로 높여주었으며, 항발암해독효소인 GST활성을 대조군에 비하여 간조직에서는 1.75배 뇌조직에서는 1.45배 증가시켰다.

<19> 혈액, 간, 심장, 신장, 뇌조직에서의 지질 과산화 정도를 TBARS로 분석하였을 때 된장샐러드 드레싱 군의 TBARS값이 대조군에 비하여 각각 유의적으로 낮게 나타나, 지질 과산화가 억제됨을 확인할 수 있었다. 이는 대조군에 비하여 지질 과산화가 20~35%까지 억제된 것으로 된장 샐러드 드레싱에 함유된 된장, 참깨, 양파 등에 기인된 것이다. 간조직에서 지질의 과산화는 라디칼에 의한 membrane의 손상을 초래하여 산화적 손상에 의해

유발되는 노화, 동맥경화, 암 등 거의 모든 질병의 원인이 되므로 드레싱 섭취로 인해 간 조직 membrane내 지질 과산화가 현저히 감소하였으므로 상기의 질환에 효과가 있을 것으로 기대된다.

<20> 혈액 중 임파구의 DNA 손상정도를 comet assay로 분석한 결과, 셀러드 드레싱군이 대조군에 비하여 tail DNA(%), tail length 및 tail moment가 모두 유의적으로 높아 셀러드 드레싱이 혈액중의 DNA를 효과적으로 보호하는 것을 확인하였다. 혈액 임파구의 DNA 손상을 방지하는 효과가 있으므로, 산화적 손상에 의해 유발되는 노화를 비롯한 각종 질병 즉, 동맥경화, 암 등의 예방에 효과가 있을 것으로 기대된다.

<21> 이하, 본 발명을 실시예에 대해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<22> 실시예 1 : 된장셀러드 드레싱의 최적 배합비율 선정

<23> 실험재료

<24> 마요네즈 제조에 필요한 식초(청정원), 옥수수 식용유(청정원), 겨자(청정원), 후추(오뚜기) 및 달걀은 시중 슈퍼마켓에서 구입하여 냉장보관(5℃)하며 사용하였으며 난황은 달걀에서 분리하여 사용하였다. 된장(해찬들), 간장(샘표), 설탕(청정원), 볶은 참깨, 양파 역시 시중의 슈퍼마켓에서 구입하여 사용하였다.

<25> 하기 실시예의 모든 실험은 3회 반복하였으며 실험 결과는 SAS program 중에서 분산 분석(ANOVA)을 실시하여 유의성이 있는 경우에 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 실시하였다(SAS Institute, Inc. 1988, Steel & Torrie 1960).

<26> 1) 된장 셀러드 드레싱의 제조

<27> 예비 관능 검사 실험을 통해 표 1의 배합비(중량비)로 하기 방법에 따라 된장 셀러드 드레싱을 제조하였다.

<28> 먼저 난황, 겨자, 소금, 후추를 배합비에 따라 믹싱볼에 넣고 전기비터(HM-213: Main Power Electrical Factory Ltd)로 10초간 교반하였다. 여기에 배합비의 식초를 넣고 다시 10초간 교반한 후 식용유를 서서히 주입하면서 계속 교반하여 10분간 유화시켰다. 유화가 끝난 후에 다시 3분간 더 교반하여 드레싱 재료로 사용하였다.

<29> 별도로, 배합비에 따른 된장, 간장, 양파, 참깨, 물 및 설탕을 Osterizer blender(SQ-205, (주)일진가전)에서 교반하여 혼합한 후 상기의 방법으로 제조한 드레싱에 소량씩 첨가하면서 전기비터로 교반하여 혼합하였다.

표 1

<30> 본 발명 된장 셀러드 드레싱 조성물

성분	조성비율(중량%)
식용유	27%
난황	0.01%
겨자	0.001%
양파	5%
된장	10.5%
설탕	16%
간장	1.6%
식초	21.5%
참깨	8%
후추	0.5%
소금	1%
물	잔량

<31> 2) 관능검사

<32> 충남대학교 식품영양학과 학생 90명을 대상으로 상기의 된장 셀러드 드레싱과 대조군으로 마요네즈를

드레싱으로 하여 채소 샐러드와 함께 제공하여, 외관, 향, 맛, 조직감 및 전반적인 기호도를 5점 척도법으로 평가하고 그 결과를 표 2에 도시하였다.

<33> 외관(색)에 대한 점수는 대조군이 2.1점이었고, 향에 대한 기호도 점수는 대조군은 1.3점이었고, 맛에 대한 기호도 점수는 대조군이 2.2점이었다. 조직감에 대한 기호도 점수는 대조군은 3.0점이었다. 반면, 된장 샐러드 드레싱의 외관(색)에 대한 점수는 3.6점, 향에 대한 점수는 3.7점, 맛에 대한 기호도 점수는 3.8점, 조직감에 대한 점수는 3.5점으로 대조군보다 점수가 높았다($p<0.05$).

<34> 전반적인 기호도 점수는 대조군이 2.5점에 비해, 된장 샐러드 드레싱의 기호도 점수가 가장 높았다($p<0.05$).

표 2

<35> 된장 샐러드 드레싱 관능 검사 결과

	외관	향	맛	조직감	기호도
된장드레싱	3.6 a	3.7 a	3.8 a	3.5 a	3.8 a
대조군(시판마요네즈)	2.1 b	1.3 b	2.2 b	3.0 b	2.5 b

[주] 같은 컬럼 내의 다른 윗첨자는 유의적으로 다름을 의미함($p<0.05$).

<36> 실시예 2 : 된장 샐러드 드레싱의 영양성분 분석

<37> 실시예 1에서 제조한 된장 샐러드 드레싱 100g 중 영양성분을 AOAC법(1990)에 따라 분석하였다.

<38> 즉, 수분은 상압 가열 건조법, 조단백질은 micro-Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 회분은 직접 회화법으로 각각 측정하였고, 조섬유는 Henneberg-Stohmann법을 개량한 방법으로 측정하였으며, 당질은 시료 100g 중에서 수분, 단백질, 지질, 조섬유, 회분 함량을 감한 값으로 하였고, 에너지는 가식부 100g 당 분석된 단백질, 당질, 지방의 g수에, FAO/WHO 에너지 환산계수를 적용하여 산출하였다. 무기질 성분은 시료를 microwave 시료전처리기(MLS1200, Milestone, Italy)로 습식분해한후 Ca, Fe, Mg, K, Na, Zn은 원자흡광광도계(Z6100, Hitachi, Japan)로, P은 ammonium vanadate 발색법으로 측정하였다.

<39> 가. 일반성분

<40> 제조된 된장샐러드 드레싱의 일반성분을 분석한 결과는 표 3과 같았다. 일반성분은 된장드레싱이 단백질, 섬유소 및 회분 함량에서 약간 높은 값을 보였는데, 사우전드 아일랜드, 이탈리아 및 프렌치 등 기 보고된 샐러드드레싱의 일반성분과는 단백질, 당질 및 지질 함량에서 차이를 보였다(식품성분표 2001). 단백질의 경우 사우전드 아일랜드드레싱 등이 100 g 당 1 g 내외인 반면 새로 개발된 샐러드드레싱은 단백질 함량이 5배 이상 함유되어 있으며, 당질 함량은 2배, 섬유소 함량은 약 10배 이상 많이 함유된 것으로 나타났다. 이와는 달리 지질 함량에서는 기 보고된 샐러드드레싱이 100 g 당 41~48 g의 지질을 함유한 반면 개발된 드레싱은 100 g 당 33 g 수준으로 10% 정도 낮았으며, 총 열량의 경우도 기존의 샐러드드레싱(430~480 g/100g)에 비하여 100 g당 50~100 kcal 정도 낮은 것으로 분석되었다. 결과적으로 본 발명에서 제조한 샐러드드레싱은 기존의 샐러드드레싱에 비하여 섬유소 함량이 많고, 지방 함량은 적어서 저칼로리 다이어트용 샐러드드레싱으로 적절할 것으로 생각되었다.

표 3

<41> 된장샐러드드레싱의 일반성분 조성

(가식부 100g)

식 품 명	에너지 (kcal)	수분 (%)	단백질 (g)	지질 (g)	당질 (g)	섬유소 (g)	회분 (g)
된장 드레싱	371	37.6	5.1	32.8	17.9	4.1	2.5
마요네즈(대상)	707.0	15.7	0.6	75.1	7.1	0.0	1.5
사우전드아일랜드드레싱	481.0	37.4	0.9	48.4	10.5	0.6	2.2

<42> 나. 무기질 성분

<43> 된장샐러드드레싱의 무기질 성분은 표 4와 같았다. 새로 개발된 된장드레싱의 무기질 성분은 사우전드 아일랜드, 이탈리아 및 프렌치 등 기 보고된 샐러드드레싱의 무기질 성분과는 큰 차이를 보였는데, 칼슘 함량은 약 10배 정도 높았고, 인과 칼륨함량도 2~3배 정도 많이 함유하는 것으로 나타났다. 나트륨 함량의 경우에는 프렌치드레싱(1370 mg/100g)보다는 낮았으나, 사우전드 아일랜드드레싱(761 g/100g), 이탈리아드레싱(87 g/100g)과는 유사한 수준으로 분석되었다(식품성분표 2001). 새로 개발된 된장샐러드드레싱은 기존의 샐러드드레싱에 비하여 칼슘, 칼륨 등 풍부한 무기성분과 다수의 생리활성 물질을 함유한 된장을 활용한 측면에서 기능성 샐러드드레싱으로 가치가 있을 것으로 판단되었다.

표 4

<44> 된장샐러드드레싱의 무기질 함량 (가식부 100g)

식 품 명	칼슘 (mg)	인 (mg)	철 (mg)	나트륨 (mg)	칼륨 (mg)	마그네슘 (mg)	아연 (mg)
된장 드레싱	116	72	0.4	679	153	21	0.1
마요네즈(대상)	21.0	33.0	0.8	547.0	21.0	-	0.16
사우전드아일랜드드레싱	14.0	22.0	0.3	761.0	93.0	-	0.14

<45> 다. 비타민 성분

<46> 된장샐러드드레싱의 비타민 함량을 분석한 결과는 표 5와 같았다. 된장 샐러드드레싱의 비타민 중, 100 g당 베타카로틴 함량은 200 μ g 수준이었고, 티아민과 리보플라빈은 0.13~0.18 mg, 나이아신의 경우는 100 g당 0.4 mg이었으며, 아스코르빈산은 검출되지 않았다. 이러한 결과는 사우전드 아일랜드드레싱에 비하여 베타카로틴 함량은 2배 수준이며, 티아민과 리보플라빈 및 나이아신은 각각 2~6배 정도 많이 함유하는 결과로 기존의 샐러드드레싱보다 다량의 비타민을 함유하는 것을 나타낸다(식품성분표, 2001). 결과적으로 새로 개발된 된장샐러드드레싱은 기존의 샐러드드레싱보다 다량의 비타민을 함유하여 영양학적으로 보다 우수하며, 기존의 샐러드드레싱에 비하여 건강유지에 보다 효과적으로 기여할 것으로 생각되었다.

표 5

<47> 된장샐러드드레싱의 비타민 함량 (가식부 100g)

식 품 명	베타카로틴 (μ g)	티아민 (mg)	리보플라빈 (mg)	나이아신 (mg)	아스코르빈산 (mg)
된장 드레싱	205	0.18	0.13	0.4	0
마요네즈(대상)	0	0.02	0.03	0.1	0
사우전드아일랜드드레싱	102.0	0.04	0.02	0.2	0

<48> 실시예 3 : 된장 샐러드 드레싱의 *in-vitro* 항산화성

<49> 실시예 1에서 제조한 된장 샐러드 드레싱의 항산화성을 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능과 TBARS(2-thiobarbituric acid reactive substances) 함량의 IC₅₀(50% 저해시키는데 필요한 농도)값으로 측정하였다.

<50> (1) DPPH 라디칼 소거능

<51> 된장 샐러드 드레싱 10g에 각각 2배의 메탄올을 넣고 10분간 blending한 후 원심분리(3,000 rpm 20 min)하였다. 각각의 상층액을 취해서 1.5×10^{-4} M 농도의 DPPH 용액에 30분간 반응시킨 후 515nm에서 흡광도를 분광광도계(352, Pharmacia Co.)로 측정하여 IG₅₀값을 표 6에 나타내었다.

<52> DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀값으로 측정한 된장 샐러드 드레싱의 항산화성은 대조군이 58.2 mg/mL이었으며, 된장샐러드드레싱의 IC₅₀ 값은 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 또한 마요네즈의 IC₅₀값은 174.91 mg/mL로 기능성 재료를 첨가하지 않은 군에 비하여 1.5배 가량 높아 항산화성이 매우 낮아 본 발명의 된장 샐러드 드레

싱은 항산화능이 높은 기능성 된장 셀러드 드레싱으로 마요네즈를 대체하여 이용할 수 있음을 확인할 수 있었다.

표 6

<53> 된장드레싱의 항산화성

Spirulina(%)	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	TBARS IC ₅₀ (μg/ml)
된장셀러드드레싱	58.2±3. ^a	4.76±0.16 ^a
시판마요네즈	179.7±7. ^b	7.6±0.93 ^b
[주] *IC ₅₀ :50% 억제 농도(inhibition concentration) 같은 컬럼 내의 다른 윗첨자는 유의적으로 다름을 의미함(p<0.05).		

<54> (2) 지질 과산화 억제능

<55> 지질 과산화 억제능은 TBARS법(2-thiobarbituric acid reactive substances)으로 측정하였다. 드레싱 0.5g에 0.75% thiobarbituric acid(TBA)/15% trichloroacetic acid(TCA)용액 2mL을 혼합한 후 90℃에서 15분간 가열하고 10분간 얼음물로 냉각한 후 3,000rpm에서 20min분간 원심분리하였다. 상층액을 분리하여 533nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 malondialdehyde를 사용하였으며 이때 표준곡선의 식은 $Y=245.25X+0.1071$ ($R^2=0.9896$)이었다. 이때 얻어진 결과는 μg malondialdehyde/mL sample로 표시하였다.

<56> 된장 셀러드 드레싱의 지질 과산화 억제 정도는 상기 표 6에 DPPH 소거능과 함께 기재하였다. 대조군(시판마요네즈)의 IC₅₀(지질과산화를 50% 저해시키는데 필요한 농도)값은 7.60 μg/mL이었으며 된장셀러드드레싱은 4.76 μg/mL로 IC₅₀ 값은 유의적으로 감소하여(p<0.05), 지질 과산화가 효과적으로 억제됨을 알 수 있었다. 본 발명의 된장 셀러드 드레싱이 높은 지질 과산화 억제 효과를 나타내는 것은, 참깨 등에 함유된 polyphenol이나 리그난 등이 유지의 산패를 억제해 주기 때문이다.

<57> 실시예 4 : 된장 셀러드 드레싱의 *in-vivo* 동물실험을 통한 항동맥경화 및 항산화성 조사

<58> 1) 된장 셀러드 드레싱의 제조

<59> 실시예 1에서 제조한 된장 셀러드 드레싱을 제조한 후 동결건조 후 냉동보관(-70℃)하면서 사료제조에 사용하였다.

<60> 2) 실험동물

<61> 체중 20~25g 정도의 생후 4주령된 ICR mice(수컷) 20마리를 구입하여 실험 시작 전 고형 배합사료(삼양사료 주식회사)로 1주일간 적응시켰다. 적응기간이 끝난 실험동물은 체중에 따른 난괴법(randomized complete block design)으로 각 군당 10마리씩 2군으로 나누어 12주 동안 사육하였다. 사육실의 온도는 23±2℃, 습도는 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.

<62> 모든 실험 결과는 실험 동물 10 마리의 평균치±표준편차로 표시하였으며, 유의성 검증은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago IL, USA) software package 프로그램을 이용하여 Student t-test에 의하여 각 실험군의 평균치간 유의성을 검정하였다.

<63> 3) 식이 조성

<64> 사료 1Kg 중 식이 성분의 함량(g)을 표 7에 기재하였다. 실험식이는 대조군은 총 식이 무게의 5%(열량의 11.7%)를 옥수수유(동방유량)와 라드(동광농산)로 공급하였고, 드레싱군은 총 식이무게의 15%를 첨가하였으며 드레싱에 첨가된 설탕의 함량을 대조군에서 제한 후 대조군과 드레싱군의 총열량은 동일하게 맞추어 조절하였다. 각 군의 식이는 매주 한 번씩 만들어 사용하였고 지방의 산패를 방지하기 위해 -70℃ 냉동고에 보관하면서 정해진 시간에 매일 일정량을 급여하였다.

표 7

<65> 사료 조성

	대조군-HFC (고지방고콜레스테롤식이)	된장샐러드드레싱군-HFD (고지방고콜레스테롤식이)
카제인(Casein)	200.0	200.0
DL-메티오닌(DL-Methionine)	3.0	3.0
옥수수전분(Cornstarch)	150.0	150.0
수크로즈(Sucrose)	345.0	316.5
셀룰로즈(Cellulose)	50.0	50.0
라드(Lard)	205.0	151.5
염 복합물(Salt Mix) ^a	35.0	35.0
비타민 복합물(Vitamin Mix) ^b	10.0	10.0
콜린 바이타르테이트(Choline Bitartrate)	4.0	4.0
콜레스테롤(Cholesterol)	10.0	10.0
드레싱(Dressing)	0.0	163.0
총량(Total weight)(g)	1012.0	1093.0
[주] a: Mineral mixture AIN 76 (g/kg diet) Calcium Phosphate (dibasic) 500.00; Sodium Chloride 74.00; Potassium Citrate 220.00; Potassium Sulfate 52.00; Manganous Oxide 24.00; Manganous Carbonate 3.50; Ferric Citrate U.S.P. 6.00; Zinc Carbonate 1.6; Cupric Carbonate 0.30; Potassium Iodate 0.01; Sodium Selenite 0.01; Chromium Potassium Sulfate 0.55 Sucrose 118.03 b: Vitamin mixture AIN 76 (g/kg diet) Thiamine HCl 0.60; Riboflavin 0.60; Pyridoxine HCl 0.70; Niacin 3.00; Calcium Pantothenate 1.60; Folic Acid 0.20; Vitamin B12 (0.1%) 1.00; Vitamin A Palmitate (500,000 IU/g) 0.80; Vitamin D3 (400,000 IU/g) 0.25; Vitamin E acetate (500 IU/g) 10.00; Menadoine Sodium Bisulfite 0.08; C12H22O11 981.15		

<66> 4) 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이 효율 및 분변의 양

<67> 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. 분변의 양은 식이 마지막 주, 즉 8주에 3일간 채취하여 동결 건조 후 무게를 측정하였다. 식이 효율(food efficiency ratio, FER)은 총 체중 증가량을 같은 기간 동안의 총 식이 섭취량으로 나눈 값으로 산출하여 식이섭취량, 체중 증가량, 분변량과 함께 표 8에 기재하였다. 체중 변화는 도 3에 도시하였다. 도 3에서 HFC는 대조군을 HFD는 된장 샐러드 드레싱군을 의미하며, 모두 고콜레스테롤 식이를 하였다.

<68> 표 8에서 보는 바와 같이 식이섭취량은 대조군과 된장 샐러드 드레싱군 사이에 유의적인 차이가 없었다. 분변의 양 또한 된장 샐러드 드레싱군이 많았지만 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 식이효율은 된장 샐러드 드레싱군이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다($p<0.05$).

표 8

<69>

실험군	체중증가량 (g/week)	식이섭취량 (g/day)	식이효율(%)
대조군	1.90	4.41	0.38
된장드레싱군	2.03	4.67	0.43

5) 혈청 중 생화학적 성분 및 각 조직의 무게 분석

(1) 시료 채취

상기 4)의 실험 종료 후 12시간 동안 절식시킨 실험동물을 에틸에테르로 마취시켰다. 마취 상태에서 개복한 즉시 심장에서 혈액을 채취하였으며 채취한 혈액을 실온에서 20분간 방치한 후 3,000rpm에서 15분 동안 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 -70℃에서 냉동 보관한 후 분석에 사용하였다. 각 장기는 채혈 직후 즉시 적출하여 0.9% 생리 식염수로 행구어 여과지(Whatman No. 2)로 물기를 제거한 후 중량을 측정하였다.

(2) 혈청 중의 생화학적 성분 분석

총 지질(total lipid), 총 콜레스테롤(total cholesterol), HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도는 효소 Kit(영동제약) 시약법에 의해 분광광도계(Model 80-2088-64, Pharmacia Biotech. Co., Cambridge, England)을 이용하여 505nm에서 흡광도를 측정하고, 하기 수학적 식 1에 의해 동맥경화지수(AI: Atherogenic Index)를 계산하여 표 9에 개시하였다.

수학적 식 1

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

표 9

혈청 중의 생화학적 성분 분석

	총 콜레스테롤	중성지질	HDL 콜레스테롤	LDL 콜레스테롤	AI
	12주	12주	12주	12주	12주
대조군	170.6 ^a	54.4 ^a	123.9	35.8 ^a	0.27 ^a
된장드레싱군	139.7 ^b	39.6 ^b	112.1	22.6 ^b	0.21 ^b
[주] 같은 컬럼 내의 다른 윗첨자는 유의적으로 다름을 의미함($p < 0.05$).					

혈액중 총콜레스테롤, 중성지질, LDL콜레스테롤 농도는 된장샐러드 드레싱군이 대조군에 비해 유의적으로 낮았으며, 동맥경화지수(AI)도 낮게 나타나 동맥경화예방에 효과가 있는 것으로 나타났다.

(3) 장기의 무게

실험동물의 무게 100g 당 간, 심장 및 신장의 평균 무게는 표 10과 같았다. 모든 조직의 무게는 대조군과 된장샐러드드레싱 투여군 간에 유의적인 차이가 없었다.

표 10

장기의 무게

	간(g/bw)	심장(g/bw)	뇌(g/b.w)	신장(g/b.w)
대조군	4.06±0.31	0.36±0.02	0.73±0.02	1.47±0.15
된장드레싱군	4.57±0.65	0.37±0.07	0.64±0.09	1.37±0.20

(4) 부위별 지방 조직의 무게

실험동물의 복강 뒤, 복강 내, 고환주위, 허벅지, 비장주위의 지방 무게(g/체중)를 측정하여 표 11에 나타내었다. 복강 뒤, 복강 내, 고환주위의 지방무게는 대조군과 드레싱 투여군간에 차이가 있었고, 허벅지, 비장주위의 지방 무게는 유의적인 차이는 없었다. 전체적인 지방 조직의 무게는 대조군에 비해 된장 샐러드 드레싱군이 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 복부지방 함량 및 총지방함량은 성인병 특히 동맥경화증 유발과 관련이 높다.

표 11

<83> 부위별 지방 조직의 무게

	복강뒤(R/BW)	비장(S/BW)	고환(E/BW)	복강내(M/BW)	허벅지(I/BW)	총량(Total/BW)
대조군	1.89±0.81b	0.38±0.08a	5.38±0.61b	2.03±0.29b	3.77±0.90a	13.46±1.84b
된장드레싱군	1.24±0.20ab	0.34±0.12a	3.81±0.82a	1.38±0.19a	2.46±0.87a	9.22±1.86a

[주] 같은 컬럼 내의 다른 윗첨자는 유의적으로 다름을 의미함($p < 0.05$).

<84> 6) 항산화 지표 분석

<85> (1) 지질 과산화물 측정

<86> 상기 5)에서 채취한 간조직에서 지질과산화물의 지표인 TBARS를 측정하여 표 12에 개시하였다. 지질과산화물은 thiobarbituric acid(TBA)방법(Bidlack & Tappel 1973)을 이용하여 생성된 malondialdehyde(MDA) 양을 533 nm에서 흡광도를 측정하였으며, tetramethoxypropane (malonaldehyde bis, TMP)를 표준물질로 사용하였다. 조직은 조직무게의 9배의 0.01M Sodium phosphate buffer(pH 7.4)와 혼합하여 균질한 후 사용하였다. 먼저 균질액의 200 μ l에 8.1% SDS 용액 200 μ l, 20% acetic acid 400 μ l을 넣고 마지막에 0.75% TBA 용액 200 μ l을 첨가하여 90 $^{\circ}$ C에서 30분간 중탕한 후 10min동안 얼음에 넣어 냉각시켰다. 2400rpm에서 20분간 원심분리한 후 상층액을 분리하여 533nm에서의 흡광도를 측정하였다. blank는 D.W를 사용하였다.

표 12

<87> 지질 과산화물(TBARS) 측정 결과

	혈장 μ g/ml	간 μ g/ml	뇌 μ g/ml	신장 μ g/ml	심장 μ g/ml
대조군	152.2±40.9a	50.6±5.4a	248.8±18.3a	72.4±18.9a	51.4±5.2a
된장샐러드 드레싱군	121.1±12.6b	39.8±5.5b	193.1±9.3b	45.8±2.2b	41.6±7.6b

[주] 같은 컬럼 내의 다른 윗첨자는 유의적으로 다름을 의미함($p < 0.05$).

<88> 된장 샐러드 드레싱군은 간, 혈장, 뇌, 신장, 심장조직 모두에서 대조군에 비하여 유의적으로 낮아졌다. 된장 샐러드 드레싱군은 대조군에 비하여 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 이는 대조군에 비하여 각 조직에서의 지질 과산화가 20-35% 억제된 것이다.

<89> (2) 항산화효소 활성화 측정

<90> 시토솔(Cytosol) 분획은 실험동물의 적혈구와 간조직을 Bansal 등의 방법(Bansal *et al.* Biochem. Biophys. Res Commun (1983) 117: 268-274)에 따라서 130 mM KCl을 함유한 30 mM HEPES buffer(pH 7.4)에 균질화시켜서 얻었으며, -70 $^{\circ}$ C 냉장고에 보관하면서 효소 활성을 측정하여 그 결과를 표 13에 기재하였다.

표 13

<91> 항산화효소 활성화 측정 결과

	간		뇌		
	GST nmol/min	GPx unit/ml	GST nmol/min	GPx unit/ml	GR unit/ml
대조군	127.4±49.3a	6.74±2.44a	241.5±12.6a	0.586±12.6a	108.7±12.6a
된장샐러드 드레싱군	223.5±46.8b	12.17±2.99b	360.2±12.6b	0.765±12.6b	112.4±12.6a

[주] 같은 컬럼 내의 다른 윗첨자는 유의적으로 다름을 의미함($p < 0.05$).

<92> 항산화 효소 활성화는 간 및 뇌조직의 GP(Glutathione peroxidase), GST(glutathione S-transferase)활성도를 측정하여 비교하였다. 간 및 뇌 조직에서의 항산화효소인 Glutathione peroxidase 활성을 유의적으로 높여주었으며, 항발암해독효소인 GST활성을 대조군에 비하여 간조직에서는 1.75배 뇌조직에서는 1.45배 증가시켰

다.

<93> 7) 혈액의 DNA의 손상정도

<94> Mice 혈액 중 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 전혈 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 pH 10 lysis buffer에 DMSO와 TritonX-100을 섞은 시약에 slide를 담그어 한시간 동안 암실에 보관하면서 lysis 과정을 거쳤다. Lysis 과정을 끝낸 slide는 electrophoresis buffer에 40분에 저장하였다가 electrophoresis chamber에 배열하고 25V, 300mA에서 20분 동안 unwinding 시켰다. 전기영동이 끝난 slide는 pH 7.5 tris buffer에 5분씩 3회 세척하고 마지막으로 에탄올에 5분 담갔다가 말렸다.

<95> Comet image 분석을 하기 위해 ethidium bromide(20 μ l/ml)로 상기 방법으로 전기 영동한 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 DNA를 곱해준 tail moment(TM) 값을 측정하였다(Wim *et al.* Life Sci. 2001 61: 1237-1244).

<96> 고지방 식이를 통한 된장 셀러드 드레싱의 급여로 인한 mouse 전혈의 DNA 손상정도를 tail DNA(TD), tail length(TL), olive tail moment(OTM)를 분석하여 하기 표 14에 나타내었다.

표 14

<97> 고지방 식이를 통한 된장 셀러드 드레싱의 급여로 인한 mouse 전혈의 DNA 손상정도를 측정하기 위한 tail DNA(TD), tail length(TL), olive tail moment(OTM) 분석 결과

	Head DNA	Tail DNA	Tail Extent Moment	OliveTail Moment	Tail Length
HFC	89.60 $\pm$ 1.37a	9.72 $\pm$ 0.85b	1.29 $\pm$ 0.37b	1.15 $\pm$ 0.21b	7.95 $\pm$ 1.17b
HFD	94.02 $\pm$ 0.74b	5.54 $\pm$ 0.44a	0.46 $\pm$ 0.08a	0.77 $\pm$ 0.06a	4.93 $\pm$ 0.92a
[주] 같은 컬럼 내의 다른 윗첨자는 유의적으로 다름을 의미함($p < 0.05$).					

<98> Tail DNA(%)는 대조군이 9.72%인데 비하여 된장 셀러드 드레싱군은 5.54%로 유의적으로 낮았으며, tail length와 olive tail moment 역시 대조군이 7.95 μ m와 1.15 된장 셀러드 드레싱군이 1.15 μ m와 0.77로 유의적으로 적게 나타났는데($p < 0.05$), 이는 DNA의 손상이 적게 일어났기 때문이다. 따라서 된장 셀러드 드레싱이 혈액중의 DNA 보호 작용을 하는 것으로 해석되어진다.

발명의 효과

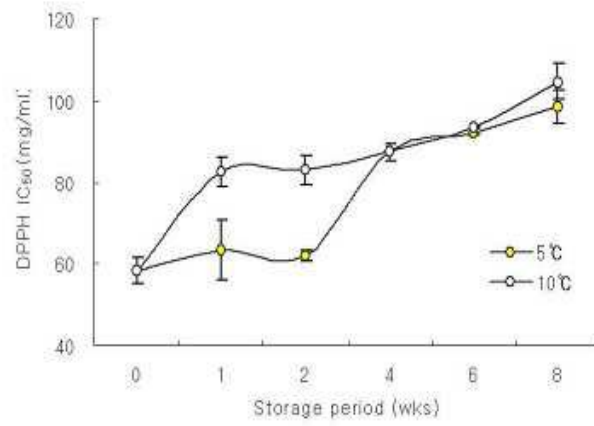
<99> 이상, 상기 실시예를 통하여 설명한 바와 같이, 본 발명 맛과 기능성이 우수한 된장을 함유한 된장 셀러드 드레싱 및 이의 제조방법은 마요네즈에 비해 열량이 적은 된장을 셀러드 드레싱에 첨가함으로써 셀러드 섭취 시 가장 많이 애용되는 마요네즈보다 열량과 지방함량이 낮으므로 비만과 그로 인한 퇴행성 질환의 예방에 유용하며, *in-vivo* 동물실험을 통해 확인하였듯이 혈액에서의 총콜레스테롤 농도 저하, 총중성지방농도 저하 및 동맥경화지수의 감소로 동맥경화예방에 효과를 나타내었다. 또한, 간, 심장, 혈액, 신장 및 뇌조직에서의 항산화효과와 혈액 임파구의 DNA 손상을 방지하는 효과가 있으므로 산화적 손상에 의해 유발되는 노화를 비롯한 각종 질병 즉, 동맥경화, 암 등의 예방에 매우 뛰어난 효과가 있으므로 식품산업상 매우 유용한 발명인 것이다.

도면의 간단한 설명

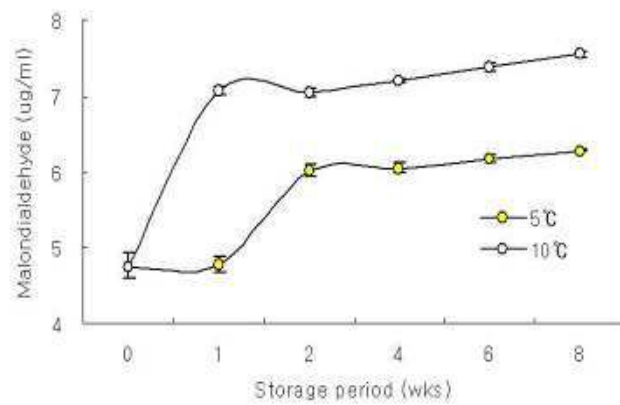
- <1> 도 1은 된장 셀러드 드레싱의 저장기간에 따른 DPPH 라디칼 소거능의 변화를 보여주는 그래프이다.
- <2> 도 2는 된장 셀러드 드레싱의 저장기간에 따른 지질 과산화 억제능의 변화를 보여주는 그래프이다.
- <3> 도 3은 대조군과 된장 셀러드 드레싱군의 실험동물의 평균 체중의 변화를 나타내는 그래프이다.

도면

도면1



도면2



도면3

