발 간 번 호 등 록
11-1543000-000451-01

조리방법별 취나물의 caffeoylquinic acid에 의한 항산화 및 항염증효능 규명

(Elucidation of antioxidant and anti-inflammation effect of caffeoylquinic acid in Chwinamul by various cooking methods)

농림축산식품자료실

0014278

농 림 수 산 식 품 부

7
9
13-272

편집순서 2

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “조리방법별 취나물의 caffeoylquinic acid에 의 항산화 및 항염증효능 규명” 에 대한 최종보고서로 제출합니다.

2013년 12월 19일

덕성여자대학교

편집순서 3

연 구 진

연구기관명 : 덕성여자대학교
연구책임자 : 김 건 희

책임연구원 : 김 건 희
연 구 원 : 박 희 숙

연구기관명 : 세종대학교
책임연구원 : 심 순 미

연구기관명 : 고려대학교
책임연구원 : 박 권 우

편집순서 3

요 약 문

Ⅰ. 제 목

조리방법별 취나물의 caffeoylquinic acid에 의 항산화 및 항염증효능 규명

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구는 취나물의 (참취, 곰취, 수리취) 조리방법별 기능성지표 물질인 caffeoylquinic acid을 프로파일링 하고 함량을 비교분석하고자 하였다. Caffeoylquinic acid를 포함하는 취나물의 조리방법별 항산화 및 염증억제 기능성을 규명하고 생체모방시스템 적용을 통한 조리방별 취나물의 기능성 지표물질의 생체이용률을 평가하고자 하였다. 이 같은 결과와 문헌을 바탕으로 취나물의 레시피를 조사하고 시뮬레이션을 통해 1인당 연간 취나물의 섭취량 및 caffeoylqunic acid의 개인별 섭취량을 산출 하고자 하였다.

전통적으로 산채 나물은 항산화효능을 바탕으로 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증, 심-뇌혈관 질환 등의 각종 성인병에 효과 있는 사례가 많이 보고되고 있으나 이에 대한 과학적인 연구는 진행되고 있지 못하다. 한식의 세계적인 식품으로의 발전을 위해서는 우리나라 전통밥상의 주원료인 산채의 우수성 및 건강기능성의 과학적 규명이 매우 절실하다. 이에 한국인의 소비량이 가장 많은 취나물 3종류를 가지고 항산화 및 항염증 효능 규명하고 그 기능성 지표성분을 규명하는 것은 산채의 우수성 및 건강기능성의 과학적 규명에 이바지 할 것이며, 이를 바탕으로 산채나물의 우수성을 과학적으로 규명하고 홍보하여 세계에 한식의 우수성을 알리고 산채나물의 지속적 수요 창출로 인해 경작 확대를 통한 안정적인 농가 수익 증대를 기대할 수 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 취나물의 기능성 지표물질의 최적 분석조건 확립
2. 기기분석법 확립을 통한 지표물질(Caffeoylqunic acid) 의 정량 및 정성분석

3. 취나물의 가공 및 조리별 *in vitro* 항산화 효능 규명
4. 취나물의 조리별 *in vitro* 염증억제효능규명
5. 취나물 기능성 지표물질 (Caffeoylqunic acids)의 생체이용률 평가
6. 취나물을 이용한 비빔밥의 레시피 제시 및 문헌을 통한 한국인의 취나물 섭취량 조사
7. 산채비빔밥을 통한 기능성물질 (CQAs) 1일 섭취량과 비빔밥을 통한 섭취량 추정

Ⅳ. 연구개발결과

- 곰취로부터 5-caffeoylqunic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3-caffeoylquinic acid, 3,4-di-caffeoylquinic acid의 4개의 caffeoylquinic acids (QAs)가 분석되었음
- 생 곰취에서는 총 CQAs의 함량이 2,711 μg/g of fresh weight 이었고 총 CQAs의 생체이용률은 16.37%였음
- 3개의 조리방법 (데침, 볶음, 전자렌지 조리)중 에서 전자레인지에 3분간 조리된 곰취가 442 μg/g 로 총 CQAs의 함량이 가장 높았으나, 생체이용률은 CQAs의 검출한계 이하로 매우 낮은 수치를 나타냄
- 다른 조리방법들과 비교했을 때, 데친 곰취의 CQAs의 생체이용률이 가장 높았음
- 생곰취와 동결건조 곰취를 비교했을 때 라디컬 소거능은 차이가 많지 않았으나, hydroxyl (OH) 라디컬 소거능은 동결건조 곰취가 높았음
- 조리방법에 따른 곰취의 라디컬 소거능은 데침 조리에서 DPPH 라디컬 소거능이, 볶음 조리에서는 hydroxyl(OH) 라디컬 소거능이, 전자렌지 조리에 있어서는 peroxyl (AAPH) 라디컬 소거능이 생곰취 및 다른 조리방법에 비해 높았음
- 모든 조리된 곰취에서 peroxynitrite (ONOO) 라디컬 소거능이 생곰취에 비해 높았으나, 조리방법간의 차이는 없었으며, hypochlorite ion 소거능은 생곰취와 조리된 곰취 모두 높았음
- 볶음, 데침, 전자렌지 조리한 곰취가 대식세포의 독성을 유발하지 않는 농도에서 염증반응 전사인자인 iNOS의 발현을 조절 하여 염증매개물질인 NO의 분비를 억제시킴으로서 염증반응을 저해했음
- 참취의 3-caffeoylquinic acid (3-QA)의 함량은 생참취에 비해 데침, 볶음, 전자렌지 조리에 따라 각각 1.78배, 2.32배, 1.10배 증가하였음
- 생참취와 동결건조 참취를 비교했을 때 DPPH, peroxyl (AAPH) 라디컬 소거능이 생참취가 동결건조 참취에 비해 높았음
- 조리방법에 따른 참취의 라디컬 소거능은 데침 조리에서 hydroxyl(OH) 라디컬 소거능이, 볶음 조리에서는 DPPH 라디컬, peroxyl (AAPH) 라디컬 소거능이 생 참취 및 다른 조리

방법에 비해 높았음

- 모든 조리된 곰취에서 peroxynitrite (ONOO) 라디컬 소거능 과 hypochlorite ion 소거능이 생참취와 조리된 참취 모두 높았음
- 볶음, 데침, 전자렌지 조리한 참취가 대식세포의 독성을 유발하지 않는 농도에서 농도의존적으로 염증매개물질인 NO의 분비를 억제시킴으로서 염증반응을 저해했음
- 특히, 전자렌지 조리한 참취는 낮은 농도에서도 NO 분비를 억제시켰으며, 볶음 조리한 참취는 다른 조리법에 비해 감소의 폭이 작았음
- 수리취의 3-caffeoylquinic acid (3-QA)의 함량은 조리된 수리취가 생참취에 비해 감소하였음
- 조리방법에 따른 수리취의 라디컬 소거능은 데침 조리에서 hydroxyl(OH) 라디컬, DPPH 라디컬, peroxynitrite (ONOO) 라디컬 소거능이 생 수리취 및 다른 조리방법에 비해 높았음
- 조리한 수리취가 대식세포의 독성을 유발하지 않는 농도에서 염증매개물질인 NO의 분비를 억제시킴으로서 염증반응을 저해했으나, 낮은 농도에서는 감소시키지 않았음
- 국내 산채재배면적은 연간 약 11,000 ha(2010)이며, 노지재배 71.3%, 시설재배 17.6%, 비가림재배 11.1 %임
- 산채는 연간 47,755톤(2010)이 생산되며 이 가운데 취나물은 21,118톤으로 전체 산채 생산량의 44.2%를 차지한다, 산채연간 섭취량(2010)은 1일 1인당 4.01g으로 조사되었고 취 섭취량은 1인당 연간 1463.65g, 1일 1.77g임.
- 산채비빔밥은 오대산, 속리산, 지리산, 청계산 등 12곳에서 계절별로 조사하였으며 조사지의 레시피에서 50%이상 나타나는 채소와 산채는 버섯, 고사리, 취나물, 콩나물, 무생채임. 문헌상 레시피에는 무생채가 대신 도라지가 대체되어있으므로 제안 레시피는 밥, 달걀을 기본으로 하고 산채와 채소는 버섯, 고사리, 취나물, 콩나물, 도라지 등 5가지를 20g 씩 필수로 하고 그 외 2가지는 봄에 죽순, 참나물, 여름에 호박나물, 고추잎, 가을에 무생채, 비름나물, 겨울에 미역취, 곤드레를 계절에 따라 2가지씩 첨가하는 방식을 제안하였음
- 참취, 곰취, 수리취의 지역별이용, 지방명칭, 효능, 특허 등을 조사하였으며 각각의 기능성 성분 조사 제시하였음.
- CQAs의 섭취량은 생취상태는 연간 1752mg, 1일 4.80mg 이며, 5분 데친 것을 식용하면 0.32mg, 5분 볶은 것을 먹으면 0.28mg을 섭취할 수가 있는 것으로 나타났다. 이를 비빔밥 한 그릇에 20g을 5분 데친 것을 첨가하면 3.60mg, 5분 볶은 것을 넣게 되면 3.22mg을 함유하는 것으로 조사되었다.

Ⅴ. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 연구성과

✓ 학회 포스터 발표(4건 발표완료 / 2건 발표예정)

- Effect of various cooking methods on contents and bioaccessibility of caffeoylquinic acids in *Ligularia fischeri* Turcz. 한국식품영양과학회, 2013년 11월 13일-11월 15일, 광주, 김대중 컨벤션센터
- Antioxidant activity of cooked *L. fischeri* evaluated with myoglobin method. 한국식품과학회, 2013년 8월 28일-30일, 천안,천안아트센터/휴라클리조트
- Antioxidant activity of dried *Aster scber* Thunb. with different cooking methods. 한국식품과학회, 2013년 8월 28일-30일, 천안,천안아트센터/휴라클리조트
- Antioxidant activity of fresh *Aster scber* Thunb. with different cooking methods. 한국식품과학회, 2013년 8월 28일-30일, 천안, 천안아트센터/휴라클리조트
- Changes in contents, ORAC, bioaccessibility of caffeoylquinic acids in *Ligularia fischeri Turcz*. according to various cooking methods. The Institute of Food Technologists (IFT), 2014년 6월24-24일, New Oreleans Morial Convention center, New Orleans, LA, USA 발표예정
- Changes of anti-inflammatory 3-O-caffeoylquinic acid in *Ligularia fischeri (Gomchwi)* by cooking methods. The Institute of Food Technologists (IFT), 2014년 6월24-24일, New Oreleans Morial Convention center, New Orleans, LA, USA 발표예정

✓ 논문발표(2편 심사중, 1편 투고예정)

- "Changes of anti-inflammatory 3-O-caffeoylquinic acid in *Ligularia fischeri (Gomchwi)* by cooking methods"을 Czech Journal of Food science 에 투고하여 심사 중임
- "Evaluation of the antioxidant activity of cooked *Gomchwi* (*Ligularia fischeri*) using the myoglobin methods"을 Preventive Nutrition and Food science 에 투고하여 심사 중임
- "Effect of various cooking methods on contents, ORAC, and bioaccessiblity of caffeoylquinic acids in *Ligularia fischeri Turcz* (Gom-chi)" 논문을 Food & Function 저널에 투고예정임

✓ 특허(1건 출원 중)

- “항산화 및 항염증 작용을 하는 3-O-caffeoylquinic acid를 유효성분으로 하는 곰취 추출물” 대한민국 특허 출원 접수

○ 연구성과 활용계획

✓ 한식의 주된 구성 식품인 나물 중 소비량이 가장 많은 취나물의 3종류의 산채의 기능성 지표성분을 분석하고 항산화 및 항염증 효능을 규명함으로서 산채의 우수성 및 건강기능성의 과학적 규명에 이바지 할 것으로 사료됨

✓ 취나물은 지역별, 계적별로 쓰이는 취나물의 레시피 및 조리법이 상이 하므로 다양한 지역과 계절에 따른 취나물의 종류 및 표준 레시피 분석과 취나물 섭취 시 제공되는 취나물 종류와 그에 따른 기능성 지표물질의 종류를 조사함으로서 다양한 취나물요리에 적용 할 수 있을 것으로 사료됨

✓ 분석된 취나물의 기능성지표물질이 산채섭취 형태와 양에 따라 생체이용률에 변화가 있으므로 생체모방시스템을 이용한 생체이용률 분석을 통해 기능성 물질의 다른 건강기능에 대한 과학적 근거를 확보 할 수 있음

✓ 취나물 섭취량와 기능성 물질 (caffeoylquinic acid) 섭취량의 양적 관계가 모호하므로 문헌을 통해 산채종류와 기능성 물질 종류의 관계를 조사하고, 섭취량과 기능성 물질의 양적 상관관계를 조사하고 생체이용률과 기능성 물질과의 양적 상관관계를 제시하므로 기능성지표물질의 체내 실제이용량 에 대한 기초자료를 제공 할 수 있음

✓ 이를 토대로 체계적이고 적극적인 산채 마케팅 및 홍보전략 수립

✓ 산채나물의 우수성을 과학적으로 규명하고 홍보하여 세계에 한식의 우수성을 알리고 산채나물의 지속적 수요 창출로 인해 경작 확대를 통한 안정적인 농가 수익 증대를 기대할 수 있음

편집순서 4

SUMMARY

Ligularia fischeri (common name is Gomchui) is belongs to compositae, which is perennial vegetable plant found mainly in damp shady regions besides brooks and sloping field in Europe and Asia. In Korea, Gomchui is generally consumed a salted or fired after a blanching process, it is called as Chuinamul. *Ligularia fischeri* contains significant amount of caffeoylquinic acids (CQAs), which is known to be antioxidant constituents. The objective of the present study was to evaluate the effect of cooking methods including blanching, pan frying, and microwaving on CQAs contents, anti-oxidant and anti-inflammatory activities and bioaccessibililty in Gomchui. And investigation of standard recipe and contents of functional phytochemicals of edible Chuinamul (Asterceae's namul). This research attempts to investigate the caffeoylquinic acids (CQAs) in the compounds of Gomchui under cooking methods. Optimal condition were find out maximized the function of CQAs. CQAs were identified and quantified by using ultra-performance liquid chromatography-photodiode array detector (UPLC-PDA). In order to evaluated antioxidant capacities by cooking methods, determined a myoglobin protective capacities of Chuinamul against five reactive oxidant spices. Anti-inflammatory effects evaluated inflammatory response mediator such as nitric oxide (NO) and prostagladin E2 (PGE2) on lipopolysaccharide(LPS)-induced macrophages cell (RAW264.7). *In vitro* digestion model system simulating human gastro-intestinal tract was to carried out to assess bioaccessibility of CQAs. Standard recipe of Bibimbab was investigated by Literature review and contents of functional phytochemicals of edible Chuinamul were calculated. By exploring the scientific information on them, and prepare a stepping stone for Korean Foods to advance into the global market by activating the Korean food industry.

The results of this study are as follows.

1. Four major CQAs from Gom-chui were detected as 5-caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3-caffeoylquinic acid, and 3,4-di-caffeoylquinic acid.
2. In fresh Gom-chui, the amount of total CQAs was 2,711 μg/g of fresh weight and bioaccessibility of total CQAs was 16.37%.
3. Among cooking methods, Gomchi microwaved for 3 min had the highest amount of total CQAs of 442 μg/g. however, it provided very poor bioaccessibility indicating content of CQA was below the limit of detection.
4. In addition, CQAs from blanching Gomchui were more bioaccessible from plant matrix compared to other cooking methods.

5. Blanched Gomchui has greater scavenging activity against DPPH radicals than fresh Gomchui
6. Pan-fried Gomchui higher scavanging activity against hydroxyl (OH) radical, microwaved Gomchui higher these activity against peroxyl radical (AAPH) more than fresh Gomchui
7. Cooked Gomchui has greater inhibition of inflammatory response mediator such as nitric oxide (NO) more than fresh Gomchui
8. Blanched *Aster scaber* Thunb (Chamchui) has greater scavenging activity against hydroxyl (OH) radical than fresh it
9. Blanched *Aster scaber* Thunb (Chamchui) higher scavanging activity against hydroxyl (OH) radical, pan-fried *Aster scaber* higher these activity aginst peroxyl (AAPH) and DPPH radical more than fresh it
10. Average production amounts of edible Asterceae was 47,755T/year in Korea. Korean ate about 1463.65g wild vegetables a person a year and 4.01g a day. Daily edible portion amount of edible Asterceae was 1.77g.
11. Yearly consumption of caffeoylquinic acid(CQAs) a person was 1752mg and 4.8mg a day using fresh salad, but only about 0.3mg a day using blanched salad.
12. Main ingredients of wild vegetable sanchae-bibimbab were chui-namul(Korean edible aster), edible fern, mushrooms, soybean sprouts and Korea radish mu-saengchae (shallow cutted radish salad). Additional ingredients were 2-3 wild vegetables after seasons and prepared vegetables in restaurants. After literature mainly bell flower roots(*Platycodon grandiflorum)* was used for bibimbab, but Mu-Saengchae was not found.
13. Proposed Bibimbab recipe was composed 5 basal ingredients such as chui-namul, edible fern, bell flower roots, mushrooms, and soybean sprouts. Changeable more 2 ingredients rely on seasons, such as bamboo sprouts and cham-namul(*Pimpinella brachycarpa*) for spring menu, hobag-namul(blanched pumpkin) and gochu-namul(blanced hot pepper young leaves) for summer, mu-saengchae, bireum-namul(blanched leaves of pig weed, Amarathus) for autumn and gondre-namul(blanched dry leaves of *Cirsium setidens*) and miyeog-chui(*Solidago virgaurea*) for winter.
14. Yearly Koream took about 1752mg of caffeoylquinic acid(CQAs) and 4.3mg a day using fresh leaf and about 0.3mg using blanched leaf. A portion of bibimbab mixed with 20g blanched Chui-namul contained about 3.22-3.60 mg caffeoylquinic acid(CQAs).

편집순서 5

CONTENTS

SUMMARY ····· 7

CHAPTER 1 Outline of Research Project ····· 12

CHAPTER 2 Research Performed and Results ····· 17

CHAPTER 3 Research Attainments and Contributions to Related Fields ···· 75

CHAPTER 4 Application Plans for Research Results ····· 76

CHAPTER 5 References ····· 76

목 차

요 약 문 ····3

제1장 연구개발과제의 개요 ····12
제1절 연구개발의 필요성 ····12
제2절 연구개발의 목표 및 범위 ····16

제2장 연구개발 수행내용 및 결과 ····17
제1절 연구수행방법 ····17
1. 취나물의 가공 및 조리별 기능성 지표물질 탐색 및 함량분석 ····17
2. 취나물의 caffeoylquinic acids 정량 및 정성 분석 ····18
3. 취나물의 가공 및 조리별 *in vitro* 항산화 효능 규명 ····19
4. 조리별 취나물의 대식세포에서의 항염증 효능규명 ····20
5. 취나물의 caffeoylquinic acids 생체접근성 평가 ····21
6. 한국인의 취나물 개별 섭취량 조사 및 산채비빔밥 레시피 조사 ····21
7. 취나물 지역별 이용, 기능성 특허 분석 ····22
8. 산채비빔밥을 통한 기능성 물질 섭취량 ····22

제2절 연구내용 및 결과 ····23
1. 곰취의 조리방법별 기능성지표물질 및 기능성 규명 ····23
2. 참취의 조리방법별 기능성지표물질 및 기능성 규명 ···· 40
3. 수리취의 조리방법별 기능성지표물질 및 기능성 규명 ···· 50
4. 취나물의 조리방법별 레시피 조사 및 문헌을 통한 기능성물질 함량 조사 ····57

제3장 연구목표 달성도 및 관련분야에의 기여도 ····73

제4장 연구개발결과의 활용계획 ····74

제5장 참고문헌 ····75

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 필요성

1. 국내산 자생 산채의 재배 및 소비현황

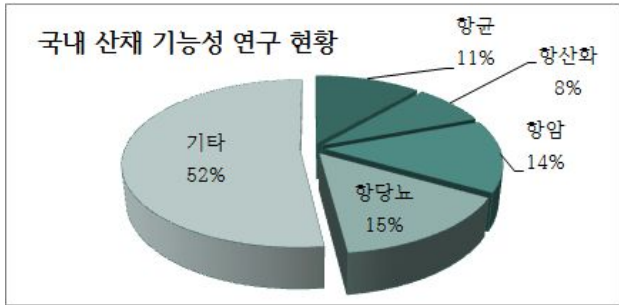
- 산채 (산나물)는 사람에 의해 개량 육성되어 논밭에서 재배되고 있는 농작물에 반해 자연 그대로 산야에 자생하는 식물 중 식용이 가능한 식물을 말하며 우리나라에서 자생하고 있는 식물 중 산채로 이용이 가능한 식물은 약 480여종으로 식용 200종, 약용과 식용 겸용이 280종으로 분류되고 있음.
- 산채의 이용부위는 주로 새싹, 잎, 열매, 꽃 등 다양하나 주로 잎을 식용한다고 볼 수 있고 연한상태인 어린잎을 식용한다고 볼 수 있음. 자생하는 산채류 중 기호성이 좋고 식품 가치가 높은 식물은 약 90여종 정도이며 현재 주로 재배되고 있는 산채류는 40여종이며 그 재배면적이 9,978ha ('09) 에 달하고 있음. 주요 산채류의 2009년도 재배면적은 더덕이 2,744ha로 가장 넓었고, 뒤이어 고사리(1862ha), 취나물 (1,309ha), 도라지(1,116ha) 순으로 넓은 것으로 나타났음 (서종택, 2011).
- 또한, 산채 1인당 소비량은 2003년에 1,380g, 2007년에 1,577g, 2011년에는 1,803g 으로 그 소비량이 점자 증가하는 추세에 있으며 분류학적으로는 국화과 식물이 다수임.

2. 국내산 산채의 연구 현황

2-1 국내산 산채의 기능성물질 및 기능성연구 현황

- 식량작물의 과잉생산으로 인해 각종 성인병, 비만, 영양 불균형등의 문제가 대두되는 가운데 자생식물로부터 기능성, 약리 성분등을 찾으려는 노력이 전개 되고 있음. 이로 인해 기호성, 청정성, 기능성을 가지고 있는 산채류가 새롭게 조명되고 있음.
- 산채들은 일반적으로 경작되는 채소보다 생리활성물질을 더 많이 함유하여 그 약리활성에 기반한 기능성이 더 크다고 알려지고 있음. 최근 국내문헌에 나타난 산채의 기능성 연구를 통해 여러 가지 산채가 항균, 항산화, 항암 및 항당뇨에 효능을 가지고 있다고 보고되었음 (김현주 외 2007). 연구에 따르면 산채 557종중 항균, 항산화, 항암 및 항당뇨에 효능이 있는 산채는 각각 6.5%, 4.5%, 7.9%, 8.4% 차지하였고, 기타 기능성 효능도 29.6% 로 나타나는 것으로 보고하였음.
- 산채는 일반적으로 잎을 식용하지만 잎에서 주로 생리활성 물질이 생합성 되어 다른 부위로 이동할 것이 예측됨에 따라 뿌리, 열매 등 다른 조직에 있는 화합물과 관련된 유사물질

이 잎에도 존재하는 것으로 알려지고 있음. 따라서 산채의 잎부위는 항산화작용을 나타내는 폴리페놀 성분을 함유하므로 여러 기능성을 나타낼 것으로 기대됨.



- 일반적으로 산채는 다양한 기능성 성분이 함유되어있다고 알려져 있으며 그 기능성 성분의 종류에 따라 산채의 약리작용이 나타날 수 있음. 한국에서_기호성이 큰 취나물은 간보호효과, 콜레스테롤 저하효과, 바이러스 질환, 당뇨병, 동맥경화등 다양한 질환에 효과가 있다고 보고되었음(김태정, 1999).
- 또한, 취나물을 비롯한 한국의 산채류는 어린잎이나 순을 식용하는 경우가 많고 이 어린 상태의 잎 조직 중에 caffeoylquinic acid 성분의 함량이 높고 성장함에 따라 이들 물질의 함량은 감소하고 다른 이차대사물질의 함량은 증가한다고 보고되었음(Nugroho A et al., 2010). caffeoylquinic acid 를 고함유하는 소재들은 간보호효과, 항당뇨효과, 항비만효과 등이 알려져 있으므로 이는 취나물의 고함유 caffeoylquinic acid 와 비교하여 이해 할 수 있음 (박희준, 2011).

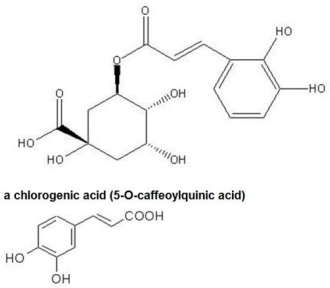
2-2 국내산 취나물 및 유래 화합물의 기능성연구

- 인체에서 자유기 (free radical)는 동맥경화, 심장질환, 류마티스성 관절염, 염증, 암 발병의 주된 원인으로 알려져 있으므로, 항산화물질에 대한 관심이 증가하고 있음. 최근에는 합성항산화제의 부작용으로 대체할만한 천연 항산화제가 식물자원을 중심으로 큰 주목을 받고 있음.
- 건조된 쑥, 참취, 곰취, 및 쇠비름을 중금속에 오염된 동물에 적용한 결과 항산화효소의 활성을 증가시키고 간 과산화지질의 양을 억제시킴으로서 주목할 만한 천연항산화 소재임을 입증하였음. 특히 참취는 항산화 효능을 검색하는 SOD, free radical scavenging, DPPH radical 소거활성 등 여러 연구에서 대부분 우수한 항산화력을 나타냈음.
- 곰취에서 caffeoylquinic acids 의 유도체인 4개의 화합물을 (5-CQA, 3,4-DCQA,

3,5-DCQA, 4,5-DCQA) 분리 하였고 이들 화합물의 radical scavenging activity는 최대 94% 까지 항산화효능을 나타냈음(Shang YF et al., 2010).

- 곰취 메탄올 추출물 및 분획물 (CH_2Cl_2, BuOH,H_2O)은 농도의존적으로 radical scavenging activity를 나타냈으며, 최대 효능을 가진 BuOH 분획물로 부터 hyperoside, 2″ -acetylhyperoside 를 분리하였고, 이 화합물의 radical scavenging activity IC_{50}은 각각 1.31 and 7.09 μg으로 나타났음 (Piao et al., 2009).
- 또한, 참취 분말은 마우스에서 알코올로 산화적 스트레스를 유도하였을 때, 간, 신장, 비장 등의 장기에서 TBARS 함량, Mn-SOD와 catalase 활성등을 저해하는 것으로 보고 되었음(이승은 외, 2002).
- 참취의 메탄올 추출물 및 분획물의 면역조절 인자의 분비 측정을 통한 면역조절 효능이 *in vivo* 및 *in vitro* 연구로 보고되었음(Kim and Kim,2012).
- 또한 수리취 에탄올 추출물은 마우스에서 oil로 유도한 귀 부종 모델에서 항염증 효능을 통한 항부종 효능을 나타냈음. 이 추출물에서 ursolic acid 과 scopoletin 가 분리 되었음 (Park et al., 2004).

2-3. Caffeoylquinic acid 효능 연구



- Caffeoylquinic acid는 다양한 유도체를 가지고 있음. 그중 많은 식품소재에서 풍부하게 나타나는 chlorogenic acid는 quinic acid와 caffeic acid 사이에서 형성된 5-o-caffeoylqunic acid, ester임.
- Caffeoylquinic acid류는 caffeic acid와 quinic acid가 결합한 화합물이며 phenylpropanoid계 화합물인 p-coumaric acid와 ferulic acid가 결합한 화합물까지 포함하여 caffeoylquinic acid라 불리기도 함.
- caffeoylquinic acid는 결합하는 caffeic acid의 수에 따라 monocaffeoylquinic acid류, dicaffeoylquinic acid류, tricaffeoylquinic acid류 등 Caffeoylquinic acid의 생리활성으로 진통작용, 소염효과, 항바이러스 효과, 간보호효과, 항산화효과, 혈소판응집억제 효과 등이 보고되어 있음.

3. 연구의 필요성

- 한식은 건강과 웰빙을 지향하는 음식으로 우리나라 전통밥상의 구성은 나물로 구성되어있

음. 한국의 산채요리는 애용되어온 전통식품으로 산채요리의 주요 구성 산채나물을 중심으로 기능성에 대한 요구가 국내외적으로 많음.

- 전통적으로 산채 나물은 항산화효능을 바탕으로 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증, 심-뇌혈관 질환 등의 각종 성인병에 효과 있는 사례가 많이 보고되고 있으나 이에 대한 과학적인 연구는 진행되고 있지 못함. 한식의 세계적인 식품으로의 발전을 위해서는 우리나라 전통밥상의 주원료인 산채의 우수성 및 건강기능성의 과학적 규명이 매우 절실함.
- 이에 한국인의 소비량이 가장 많은 취나물의 3종류의 산채를 가지고 항산화 및 항염증 효능 규명하고 그 기능성 지표성분을 규명하는 것은 산채의 우수성 및 건강기능성의 과학적 규명에 이바지 할 것으로 사료됨.
- 취나물은 지역별, 계적별로 쓰이는 취나물의 레시피 및 조리법이 상이 하므로 다양한 지역과 계절에 따른 취나물의 종류 및 표준레시피 분석과 취나물 섭취 시 제공되는 취나물종류와 그에 따른 기능성 지표물질의 종류를 조사함으로서 다양한 취나물요리에 적용 할 수 있을 것으로 사료됨.
- 또한, 분석된 취나물의 기능성지표물질이 산채섭취 형태와 양에 따라 생체이용률에 변화가 있으므로 생체모방시스템을 이용한 생체이용률 분석을 통해 기능성 물질의 다른 건강기능에 대한 과학적 근거를 확보 할 수 있음.
- 취나물 섭취량와 기능성 물질 (caffeoylquinic acid) 섭취량의 양적 관계가 모호하므로 문헌을 통해 산채종류와 기능성 물질 종류의 관계를 조사하고, 섭취량과 기능성 물질의 양적 상관관계를 조사하고 생체이용률과 기능성 물질과의 양적 상관관계를 제시하므로 항염증기능성지표물질의 체내 실제이용량 에 대한 기초자료를 제공 할 수 있음.
- 이를 바탕으로 산채나물의 우수성을 과학적으로 규명하고 홍보하여 세계에 한식의 우수성을 알리고 산채나물의 지속적 수요 창출로 인해 경작 확대를 통한 안정적인 농가 수익 증대를 기대할 수 있음.

제2절 연구개발의 목표 및 범위

연구개발의 목표	연구개발의 내용
취나물 3종의 가공 및 조리방법별 항산화 및 항염증억제 효능규명	○ 취나물의 기능성지표물질 (caffeoylquinic acid)의 추출 조건 최적화 및 chlorogenic acid 함량분석 ○ 조리방법별 chlorogenic acid의 함량 변화 ○ 가공 (동결건조, 생채) 및 조리별 (데치기, 볶음, 찜) 취나물의 항산화 및 염증조절 효능 확인 ○ 대식세포를 이용한 염증조절 기전규명을 통한 염증저해 효능 확인
취나물의 지표물질 분석법 확립 및 이의 조리방법에 따른 생체이용율 평가	○ UPLC-PDA-ESI-MS/MSn 등의 기기분석법 확립을 통한 caffeoylquinic acids 외에 다양한 물질들을 정량 및 정성 분석 ○ 취나물의 염증억제 기능성물질 (caffeoylquinic acid)의 생체이용율 평가 ○ 인체소화기관을 연속적으로 모방한 모델시스템 (생체모방시스템)에 적용을 통한 취나물 지표물질의 생체 이용률 평가 ○ 세포실험을 통한 소장에서의 흡수성 과 흡수기작 규명 ○ 취나물의 염증억제 기능성 유효성분의 (eg. caffeoylquinic acid) biokinetics (소화, 흡수, 대사) 규명을 통한 생리활성 최대화
취나물의 조리방법별 레시피 조사 및 문헌을 통한 기능성물질 함량 조사	○ 지역별 및 계절별 취나물요리의 레시피조사 ○ 문헌을 통한 취나물요리의 개별 섭취량 조사 ○ 개별섭취량 및 표준레시피 기준 simulation을 통한 제공되는 취나물요리의 각각 취나물의 종류 및 양 산출 ○ 지역별 취나물 조리에 따른 각각 종류와 함유 기능성물질의 종류 및 함량 파악 ○ 섭취한 취나물에 따른 함유 기능성물질의 섭취량 조사

제2장 연구개발 수행내용 및 결과

제1절 연구수행방법

1. 취나물의 가공 및 조리별 기능성 지표물질 탐색 및 함량분석

1-1. 생시료 및 동결건조 시료의 추출

○ 실험에 사용한 참취, 곰취 수리취는 각각 강원도 인제, 경기도 남양주시에서 채취하였으며 세척을 한 후 물기를 제거 한 후 작은 크기로 절단하여 생시료로 사용하였고, 동결건조기를 사용하여 동결건조 시킨 시료를 동결건조 시료로 사용하였다

○ 시료의 추출은 각각의 시료에 각각 0, 30, 50, 70, 100%의 용매를 이용하여 초음파추출기를 이용하여 40분 동안 3회 반복하여 추출하고, 감압농축기를 이용해서 농축 한 후 DMSO로 녹여 실험에 사용하였다.

1-2. 취나물의 조리 및 시료의 추출

○ 데치기(blanch) : 200g 생시료를 2L의 물을 첨가하여 각각 1, 3, 5,10분 동안 데침

○ 볶음 (pan-fry): 20mL의 기름을 넣은 프라이팬에 200g의 생시료를 넣어 1, 3, 5, 10분간 저어가면서 볶음

○ 마이크로웨이브 찜 (microwave) : 200g의 생시료를 유리 접시에 놓고 약간의 물을 첨가한 후 800W의 전자레인지에 넣고 30초, 1분, 2분, 3분 동안 찜

1-3. 취나물의 조리별 기능성지표물질 (chlorogenic acid) 함량분석

○ 기능성지표물질 (chlorogenic acid) HPLC 분석을 위한 조건

✓ Chlorogenic acid의 정성 및 정량을 위해 사용한 HPLC의 분석조건은 Table 1과 같다. 시료 중의 Chlorogenic acid 농도는 시료를 일정량 취하고 전처리하여 시험용액을 제조 후 고속액체크로마토그래프에 주입 · 분석하여 표준용액의 성분과 머무름 시간이 일치하는 피크의 면적값을 해당표준물질의 검량선에 대입하여 농도를 구하였다.

Table 1. HPLC system for analysis of chlorogenic acid

Instrument	Dianex u-300 system (Milford, MA, USA)		
Column	Atlantis dC_{18}reverse phase column (Waters,4.6×150mm,5μm)		
Flow rate	0.6 mL/min		
Detector	UV detector (300nm)		
Mobile phase	A - Acetonitriles, ACN B - 0.02% aqueous phosphoric acid, v/v		
Gradient condition	Time (min)	A (%)	B (%)
	Initial	13	87
	6	15	85
	9	15	85
	17	19	81
	28	17	83
	37	28	72

2. 취나물의 caffeoylquinic acids 정량 및 정성 분석

2-1 취나물의 caffeoylquinic acids 동시 분리 분석법 확립

○ UPLC-PDA-ESI-MS/MSn 를 이용하여 곰취의 주요 지표물질인 5-caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3-caffeoylquinic acid, 3,4-di-caffeoylquinic acid를 동시 분리 분석.

✓ 1 mL의 메탄올과 샘플 0.02 g을 함께 넣고 실온에서 1시간동안 음파처리한 후, 0.45 μm PVDF Syringe filter로 필터링 하였다. UPLC-PDA-ESI-MS/MSn 분석을 위한 이동상 용매는 0.1% formic acid in 100% methanol (A)과 0.1% formic acid in water (B)이다. 용매 변화는 0-5 min, 10-15% of A; 5-6.88 min, 15-90% of A; 6.88-6.9 min, 90-10% of A; 6.9-9 min, 10-10% of A로 조성하였다. 그리고 50×2.1 mm, 1.9 μm, C_{18} 컬럼을 이용하였고, injection volume은 2 μL였고, 샘플 트레이 온도는 4 ℃로 조절하였고 UV 검출기 파장은 330 nm로 지정하였다.

2-2 조리방법에 따른 취나물의 caffeoylquinic acids 함량 변화

○ 취나물의 조리방법은 데치기, 볶기, 전자렌지 조리 3가지를 이용하였다. 데치기는 800 g과 500 g 의 샘플을 각각 8 L와 5 L에 섞어 각각 3분, 5분간 데쳤고 볶음은 50 mL의 식용유와 함께 3분, 5분간 팬에 볶았다. 마지막으로 전자렌지조리는 700 W 전자렌지를 이용해 각각 2분, 3분간 조리하였다. UPLC-PDA-ESI-MS/MSn 기계를 이용하여 조리방법에 따른 곰취의 주요지표물질인 caffeoylquinic acids의 함량 변화를 측정하였다.

3. 취나물의 가공 및 조리별 *in vitro* 항산화 효능 규명

3-1 자유기 소거능력 측정 (DPPH assay)

○ Protonradical scavenging에 의해 탈색되는 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate (DPPH)를 이용하여 확인. 96 well plate에 Bolis의 방법에 따라 농도별 취나물 추출물과 1.0×10-4M의 DPPH 용액을 첨가한 후 37℃에서 30분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정한다.

3-2 Myoglobin 보호효과 측정을 통한 항산화 효능 규명

○ 체내에서 자유기의 생성은 호흡체계를 통해 이루어 지고 있어 기존의 사용하는 in vitro 항산화 실험은 그 효용성이 크지 않다고 할 수 있다. 따라서, 체내의 physiological 환경에서의 항산화 효능을 측정하기 위해 여러 가지 자유기에 대해 myoglobin 보호효과를 측정하였다. Myoglobin은 0.25mg/mL로 PBS(pH 7.2) 녹여 기질로 사용하였다.

○ **Hypocholorite ion (CLO)에 대한 myoglobin 보호효과**: Hypochlorite ion 은 sodium hypochlorite로 증류수에 녹여 준비해두고 1.5ml의 myoglobin용액에 0.05ml의 시료와 0.25ml의 hypoclorite 용액을 첨가하여 Hypochlorite 용액이 hypochlorite radicals 가 생성되는 양을 측정 한다

○ **Hydroxyl radical (OH)에 대한 myoglobin 보호효과**: Hydroxyl radical 생성 용액은 ferrous sulfate 와 hydrogen peroxide의 반응으로 생성된 반응용액으로 한다. 0.49ml 의 시료와 0.11ml 의 Hydroxyl radical을 3.6ml 의 myoglobin 용액에 첨가하여 측정한다.

○ **Peroxyl radical (AAPH)에 대한 myoglobin 보호효과**: 50mM AAPH (2,2' -Azobis dihydrochloride)용액과 myoglobin 용액을 혼합한 후에 47℃ 에서 5분간 방치한다. 이후에 AAPH 용액과 시료, myoglobin 용액을 혼합하여 37℃에서 30분간 방치하고 peroxyl radical은 AAPH 로 표시한다.

○ **Peroxynitrite ion (ONOO)에 대한 myoglobin 보호효과:** Peroxynitrite ion용액은 20mM NaOH 용액에 녹여 사용한다. 희석된 Peroxynitrite ion은 PBS를 첨가하여 3.09mM이 되도록 제조한다. myoglobin 용액은 시료와 peroxynitrite 용액과 혼합한다.

○ **Myoglobin 보호효과에 의한 항산화 효과 측정 :** Myoglobin 용액과 혼합한 자유기들은 409nm에서 흡광도를 측정한다. Myoglobin 보호효과는 다음과 같은 공식을 통해 %로 나타낸다.

Myoglobin protective ratio (%)

$$= [1 - (Abs^{0-Abs^{rad}}(with\,antioxidant))/(Abs^{0-Abs^{rad}}(without\,antioxidant))]$$

4. 조리별 취나물의 대식세포에서의 항염증 효능 규명

4-1 MTT 분석 방법을 이용한 대식세포 생존능 측정 (MTT assay)

○ 취나물 추출물의 Raw 264.7 cell에 대한 독성 효과를 측정하기 위해 각 실험군과 대조군을 24시간 배양 후 후 MTT 시약을 넣고 3시간 배양한다. 배양 후 상등액을 제거하고 DMSO를 첨가하여 세포를 용해시킨 후 세포 내의 미토콘드리아에서 MTT 환원에 의해 생성된 formazan을 ELISA microplate reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정.

4-2 대식세포에서의 항염증 활성 효과

○ 염증 반응에서 대식세포 (macrophage)는 병원체에 반응하여 tumor necrotic factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), IL-1β와 같은 염증유발인자 (pro-inflammatory cytokine)을 생성하고, inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2 (COX-2)를 합성하여 NO 및 prostaglandin E2 (PGE2)를 생성.

○ **Griess 분석 방법을 이용한 nitrite 측정** : LPS와 IFN-γ로 활성화된 Raw 264.7 cell에서 취나물 추출물의 NO 생성 억제 측정. 추출물을 처리한 실험군과 대조군을 24시간 세포

○ 배양 후 Griess 분석 방법을 이용하여 nitrite를 측정. 96 well plate에 세포 배양 상등액과 Griess reagent를 1:1로 혼합하여 넣고 5분 동안 반응 시킨 후 ELISA microplate reader 이용하여 540 nm 에서 흡광도를 측정.

○ **PGE_2 생성 저해능 측정:** 추출물을 농도 별로 처리한 실험군과 대조군을 24시간 배양 후 상등액을 회수하여 PGE2 측정한다. 농도별 PGE_2 표준시료 이용하고 대조군을 96 well plate에 PGE_2 mouse monoclonal antibody 첨가하여 상온에서 1시간 반응 후, PGE2 conjugate를 첨가하여 상온에서 2시간 반응한다. 세척완충제 (Wash buffer)를 이용하여 세척 후, substrate solution를 첨가하여 빛을 차단하고 30분 반응하고, stop solution를 첨가하여 540 nm에서 흡광도를 측정한다.

○ **염증성 사이토카인 및 전사인자의 mRNA 발현 측정을 통한 기전 규명**: 처리된 세포로부터 Total RNA를 추출하고 total RNA에서 cDNA를 합성한 후 cDNA로 합성된 iNOS,

COX-2의 mRNA의 발현은 real-time reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) 방법으로 측정한다.

5. 취나물의 caffeoylquinic acids 생체접근성 평가

5-1 인체소화모방시스템을 이용한 조리방법별 취나물의 caffeoylquinic acid 생체접근성 평가

○ 침, 위, 소장 상태를 포함한 인체 소화기관을 연속적으로 모방한 모델시스템인 인체소화모방시스템을 이용해 조리방법에 따른 취나물의 caffeoylquinic acid의 생체접근성을 평가

✓ 각 샘플들은 20 mM phosphate buffer에 각각 담고 산화 현상을 억제하기 위해 0.5% ascorbic acid를 첨가한다. 입에서의 소화과정을 위해 아밀라아제 (0.2 mg/mL in 20 mM phosphate buffer)를 샘플에 주입하고 pH를 6.9로 조정한다. 각 샘플들은 워터베스에 37 ℃에서 100 rpm으로 3분간 배양한다.

✓ 위에서의 소화과정을 위해 porcine pepsin (3 mg/mL in 100 mM $NaHCO_3$)를 첨가하고 0.1 M HCl을 이용해 pH 2로 조절한다. 이를 다시 37 ℃ 워터베스에 100 rpm으로 30분간 배양시킨다.

✓ 소장에서의 소화과정을 위해 100 mM sodium bicarbonate 용액을 첨가해 pH를 5.3으로 조절하여 샘플들을 중성화 시킨다. Pancreatic enzyme mixture (0.4 mg/mL of pancreatin in 20 mM phosphate buffer, 0.2 mg/mL of lipase in 20 mM phosphate buffer, 2.4 mg/mL of bile acid in 20 mM phosphate buffer를 섞은 것)을 첨가한다.

✓ 최종 pH는 0.1 M NaOH를 이용해 6으로 조정하고 37 ℃ 워터베스에 100 rpm으로 한 시간 동안 배양한다. 최종 볼륨은 20 mM phosphate buffer를 이용해 10 mL로 조정한다. 그리고 난 다음 4 ℃, 3000 rpm에서 30분간 원심분리 한다.

6. 한국인의 취나물 개별 섭취량 조사 및 산채비빔밥 표준레시피 조사

○ 농진청, 한국농촌경제연구원, 산림청, 보건복지부등의 자료를 바탕으로 한국인의 1일 산채 섭취량을 조사하고 전체 산채 생산량가운데 취나물의 생산량을 백분율로 산출하여 1일 취나물 섭취량을 조사.

○ 조사지역은 오대산 월정사 입구 산채촌, 속리산 법주사 입구 산채촌, 지리산 화엄사입구 산채촌을 계절별로 방문하여 레시피 조사.

○ 방법은 현지를 방문하여 10년 이상 산채식당을 운영한 식당을 탐문 선정하였으며 봄, 여름, 가을로 나누어서 조사하였다. 특히, 지리산과 속리산은 4회 조사하였다.

○ 최근 서울지역에서 유행하는 퓨전 방식 산채 비빔밥의 스타일을 조사하기 위하여 청계산

아래 의왕시 백운호수 주변 유명 산채집의 산채 비빔밥을 방문해서 산채종류를 조사하였다.

- ✓ 전주시 한 전문 비빔밥집을 방문하여 비빔밥을 조사 분석하여 산채비빔밥과의 레시피 차이를 분석하였으며 농진청에서 조사한 '한국의 전통 향토음식' (2009)의 지역별 산채비밥의 산채 및 산채종류를 조사하였다.
- ✓ 정확한 산채의 양(g)을 조사하기 어려운 점이 있었으나 기본적인 레시피는 조사가 가능했으며 특히 참취 만은 먹지 않고 분리수거하여 조사하는 방법을 택하였다.
- ✓ 양념은 지역, 식당, 문헌에 따라 크게 차이가 나므로 기본 양념만을 조사하여 제시하였다.

7. 취나물 지역별 이용, 기능성 특허 분석

- ○ 참취의 지역별 명칭, 조리방법 그리고 특허 사항에 대하여 국립수목원이 2009년 분석한 자료를 토대로 조사하였다.
- ○ 문헌에 나타난 자료를 바탕으로 참취, 곰취, 수리취에 관련된 다양한 명칭, 이용, 특허, 기능성 등을 조사하였다.

8. 산채비빔밥을 통한 caffeoylquinic acid섭취량과 산채비빔밥 한그릇 섭취율

- ○ 우리나라 산채 생산으로 가장 많은 양(전국 생산면적의 약 23%)을 생산하는 강원도의 취나물 생산을 보면 곰취가 전체 재배면적의 73%를 차지하고 그 외 참취는 약 11% 기타취가 15%를 차지한다. 이는 전국적으로 볼 때 같은 경향이라면 국민들이 실제 곰취를 참취보다 많이 섭취한다는 것을 의미한다. 따라서 전체 취나물 생산량을 곰취의 caffeoylquinic acid함량으로 추산하여서 기능성을 산출했다.
  - ✓ Caffeoylquinic acid 의 연간, 1일 섭취량을 산채 1일 섭취량과 취나물 섭취량을 기준으로 추정하였다.
  - ✓ 본 연구에서 조사한 산채 레시피를 참조로 평균적으로 20g 을 기준으로 성인 이 비빔밥 한 그릇을 통해서 섭취하는 기능성 물질 caffeoylquinic acid섭취량을 산출하였다.
  - ✓ 취의 기능성에 대한 홍보 전략 등을 논의 하여보았다.

제2절 연구내용 및 결과

1. 곰취의 조리방법별 기능성지표물질 및 기능성 규명

1-1 곰취의 가공 및 조리별 Chlorogenic acid 함량 분석

취나물의 가공 및 조리별 기능성지표물질을 탐색하기 위해서 기능성지표물질을 caffeoylquinic acids의 하나인 3-*O*-caffeoylquinic acid (Chlorogenic)으로 정하고 조리방법별 chlorogenic acid의 함량 변화를 분석 하였다 (Figure 1). 기능성지표물질인 chlorogenic acid는 HPLC로 분석하였을 때, 약 4분대에 피크가 나타나는 것으로 보였고, 표준Chlorogenic acid를 이용하여 표준곡선을 그리고 그 수식에 대입하여 각각 조리별 곰취 추출물에서의 chlorogenic acid를 함량을 계산하였다.

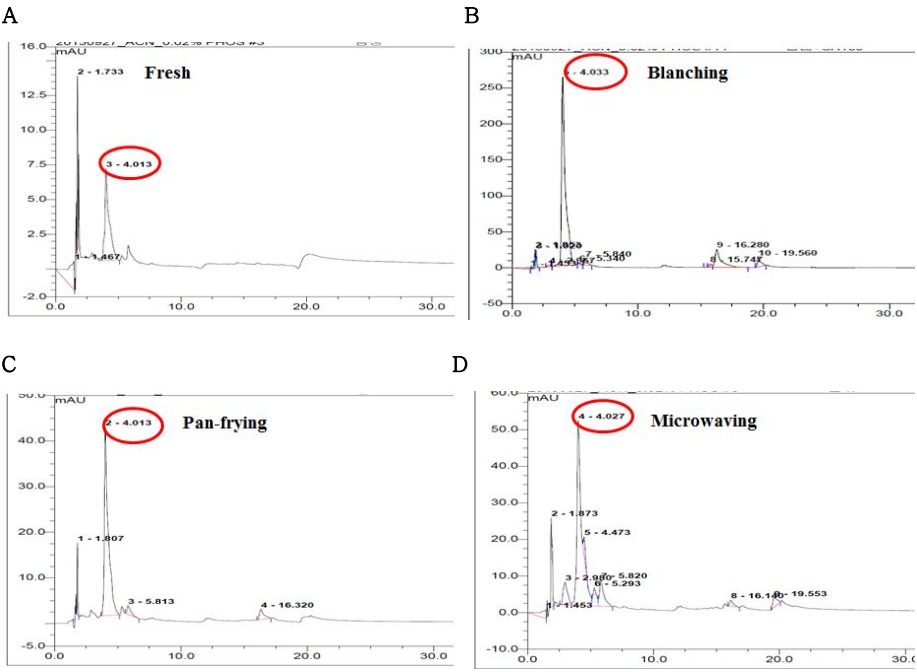


Figure 1. 곰취의 조리방법별 chlorogenic acid 함량분석

조리하지 않은 생 곰취 추출물 1000ppm에서 약 6.47㎍의 chlorogenic acid가 함유되어있는 반면에 데침, 마이크로웨이브 찜, 볶음 조리한 곰취 추출물에서는 각각 254.01, 62.76, 18.87㎍ 이 함유되어 있었다 (Table 1). 이 같은 결과를 미루어 볼 때, 곰취는 조리하지 않은 것 보다 조리한 곰취 추출물에서 기능성지표물질인 chlorogenic acid 의 함량이 증가하는 것으로 분석되었으며, 이는 곰취의 세포벽에 함유되어있던 기능성 물질이 조리에 의해 세포벽이 깨지면서 용출되는 것으로 예상된다.

Table 1. 곰취의 조리방법에 따른 Chlorogenic acid 함량

Cooking Method	Contents (㎍/1000ppm of ext)	Changeratio(Fold) (of uncooked LF)
Uncooked (Fresh)	6.47	-
Blanching	31.87	4.92
Pan-frying	62.76	9.7
Microwaving	254.01	39.2

1-2 조리방법별 곰취의 기능성 지표물질 탐색

가. Caffeoylquinic acids의 동시 분리 분석

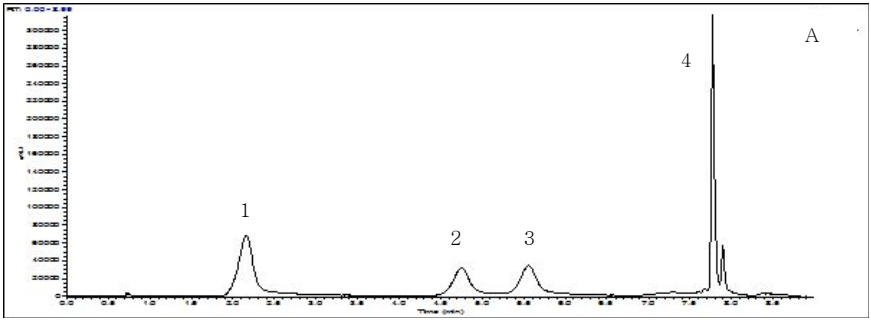


Figure 2. 표준 Caffeoylquinic acids의 UPLC-PDA 크로마토그램

Figure 2는 5-caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3-caffeoylquinic acid, 3,4-di-caffeoylquinic acid 혼합물을 UPLC-PDA 분석한 결과이다. Caffeoylquinic acids는 이전 연구 Kim et al., 2012를 참고하여 동시분리 분석 하였다. 이전 연구에서는 LC 이동상 용매로 0.1% trifluoracetic acid (TFA) in water와 ACN을 이용하였는데 본 연구에서는 이동상

의 용리를 약하게 하기 위해 0.1% formic acid in water와 0.1% formic acid in methanol을 이용하였다. Caffeoylquinic acid 혼합물을 분석한 결과, 4개의 피크가 뚜렷하게 검출되었으며 첫 번째 피크는 5-caffeoylquinic acid, 두 번째 피크는 4-caffeoylquinic acid, 세 번째 피크는 3-caffeoylquinic acid, 네 번째 피크는 3,4-di-caffeoylquinic acid이다.

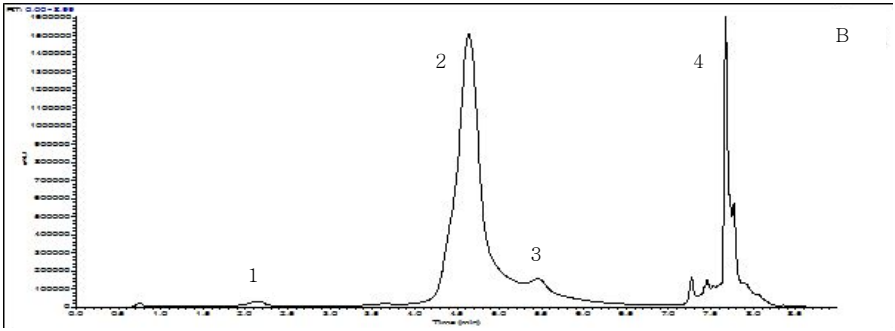


Figure 3. 생곰취 caffeoylqunic acid의 UPLC-PDA 크로마토그램

Figure 3은 생곰취 50% 에탄올 추출물의 UPLC-PDA 크로마토그램이다. Figure A의 retention time에 의해 4개의 피크가 첫 번째 피크는 5-caffeoylquinic acid, 두 번째 피크는 4-caffeoylquinic acid, 세 번째 피크는 3-caffeoylquinic acid, 네 번째 피크는 3,4-di-caffeoylquinic acid임을 알 수 있었다. 생곰취에서의 5-caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3-caffeoylquinic acid, 3,4-di-caffeoylquinic acid의 함량은 136.72, 2144.44, 16.81, 412.93 μg/g 이다. 이는 이전연구인 Kim et al., 2012와 Shang et al., 2010과는 다른 종류의 caffeoylquinic acid이다. 이전 연구에서는 air dired한 곰취를 메탄올 추출한 것을 이용하였으며 검출된 caffeoylquinic acids는 5-caffeoylquinic acid, 3,4-di-caffeoylquinic acid, 3,5-di-caffeoylquinic acid, 4,5-di-caffeoylquinic acid 였다. 이전 연구는 본 연구와 비교했을 때 di-caffeoylquinic acid 형태의 지표물질을 더 많이 검출하였는데 이러한 차이는 원산지, 추출용매, 건조조건 등 때문이라 생각된다.

나. 조리방법에 따른 곰취의 caffeoylquinic acids의 함량변화

Table 2는 조리방법에 따른 곰취의 소화 전 caffeoylquinic acids의 함량을 나타낸 것이다. fresh 곰취에서는 총 2710.9 μg/g의 caffeoylquinic acids가 검출되었다. Caffeoylquinic acids 중에서 4-caffeoylquinic acid가 가장 함량이 높았고 3-caffeoylquinic acid가 가장 함량이 낮았다. 총 caffeoylquinic acids의 함량은 fresh 곰취에 비해 조리한 뒤 모두 유의적으로 줄어드는 것을 알 수 있었다. 총 caffeoylquinic acids의 함량 순서는 전자레인지 조리 3분 > 전자레인지 조리 2분> 데치기 3분 > 데치기 5분 > 볶기 5분 > 볶기 3분이다. 또한 조리된 모든 처리군 중에서 3분동안 볶은 곰취의 총 caffeoylquinic acids 함량이 가장 낮았고 전자렌지 3분 조리한 것의 총 caffeoylquinic acids의 함량이 가장 높았다. Farah et al., 2005 연구 에서는 커피로 부터의 chlorogenic acid 즉, 3-caffeoylquinic acid가 가장 오래 roasting 했을 때 5.2%배 정도 함량이 줄어드는 것을 확인하였다. 또한 Miglio et al., 2008 연구 에서는 당근의 caffeoylquinic acids가 boiling, steaming, frying과 같은 조리방법에 따라 함량의 변화가 생기는 것을 확인하였다. 이 연구에서는 steaming, frying한 것에서 각각 2.2, 3.1 mg/100 g of dry weight of chlorogenic acid가 검출되었다. 또한 Miglio는 boiling 방법에서 당근의 chlorogenic acid가 가장 크게 손실되었음을 밝혔다. 그 이유는 boiling 과정에서 세포조직 파괴로 끓는 물에 chlorogenic acid가 용해되어 손실이 생겼기 때문이다. 본 연구에서 전자레인지에 2분 조리한 곰취에서 caffeoylquinic acids의 함량이 가장 높았다. 전자레인지는 마이크로파를 이용해 식품에 흡수시켜 식품속의 물 분자가 운동함으로써 그 운동에너지가 열에너지로 되어 식품을 가열한다. 이때 물 분자의 운동으로 곰취 속의 수분이 증발하면서 곰취 안에 있는 caffeoylquinic acid가 농축되는 결과를 초래하여 전자레인지 조리한 곰취가 caffeoylquinic acids의 높은 함량을 보여줬다.

Table 2. 조리방법에 따른 곰취의 소화 전 caffeoylquinic acids의 함량

Cooking Methods	Cooking Time (min)	Amount of CQAs (μg/g fresh weight)				
		5-CQA	4-CQA	3-CQA	3,4-di-CQA	Total CQAs
Fresh	-	136.72±0.68	2144.44±121.92	16.81±0.66	412.93±7.23	2710.9±126.55[a]
Blanching	3	11.38±0.11	122.66±0.05	2.23±0.06	55.68±0.43	191.94±0.56[d]
	5	26.97±0.80	117.48±6.97	4.37±0.79	31.5±3.61	180.32±10.36[d]
Pan frying	3	9.40±0.99	79.69±2.18	2.41±0.27	24.33±1.13	115.83±3.96[e]
	5	13.78±1.21	80.92±3.47	4.56±0.29	61.94±13.08	161.20±12.23[d]
Microwaving	2	8.97±0.77	158.01±15.96	2.98±0.14	36.14±1.60	206.11±16.72[c]
	3	10.82±1.57	175.90±6.92	205.90±11.59	49.13±1.94	441.74±7.21[b]

Table 3은 조리방법에 따른 곰취의 소화 후 caffeoylquinic acids의 함량을 나타낸 것이다. 소화 전과 비교했을 때 소화 후에 곰취의 caffeoylquinic acids 함량이 눈에 띄게 줄어드는 것을 확인할 수 있었다. Fresh 곰취에서는 총 444.85 μg/g의 caffeoylquinic acids가 검출되었다. 이는 소화 전과 비교했을 때 대략 6.1배 줄어든 수치이다. Fresh 곰취를 제외한 소화 후 조리방법에 따른 곰취의 caffeoylquinic acids의 함량은 3분 동안 데친 것이 가장 높았다. 이는 fresh 곰취보다 약 0.07배 낮았다. 또한 전자레인지로 2분, 3분간 조리한 곰취들은 소화 후 caffeoylquinic acids 함량이 전혀 검출되지 않았다.

Table 3. 조리방법에 따른 곰취의 소화 후 caffeoylquinic acids의 함량

Cooking Methods	Cooking Time (min)	Amount of CQAs (μg/g fresh weight)				
		5-CQA	4-CQA	3-CQA	3,4-di-CQA	Total CQAs
Fresh	-	33.38±2.65	344.67±18.14	14.85±1.33	51.96±0.95	444.85±21.71[a]
Blanching	3	5.01±0.18	21.58±1.98	1.89±0.11	5.38±0.13	33.85±2.00[b]
	5	3.99±0.15	15.99±0.12	1.57±0.15	4.29±0.07	25.84±0.29[c]
Pan frying	3	1.10±0.78	10.89±1.38	0.61±0.07	2.38±0.18	14.99±2.41[e]
	5	2.17±0.13	14.41±0.42	0.77±0.06	2.58±0.08	19.93±0.59[d]
Microwaving	2	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
	3	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

1-3 곰취의 가공 및 조리별 항산화 효능 규명

가. 곰취의 가공방법 및 조리방법, 시간별 DPPH 라디컬 소거활성

생채 및 동결건조한 곰취의 다양한 추출용매에서의 DPPH 라디컬 소거활성을 측정했다. 동결건조한 곰취 추출물이 생채의 추출물에 비해 DPPH 라디컬 소거 활성이 다소 높았다. 추출용매의 비율에 따라서는 100% 에탄올 추출용매를 제외하고는 에탄올 비율이 증가할수록 소거활성이 증가하였다. 결과적으로 곰취 생채에 경우에는 100% 에탄올 추출물이 가장 DPPH 라디컬 소거능이 높았으며, 동결건조된 곰취의 경우에는 70% 에탄올 추출물이 가장 높았다.

Table 4. 곰취의 가공방법 및 추출용매에 따른 DPPH radical 소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	7.56±0.39	11.82±0.53	11.80±0.86	14.03±0.88	20.65±0.32
Freeze-dried	9.68±0.21	13.84±0.89	14.14±1.70	15.06±0.50	14.33±0.57

조리방법 및 조리시간에 따른 라디컬 소거 활성을 측정하기 위해, 곰취 생채를 데침, 볶음, 마이크로웨이브 조리방법으로 4개의 조리시간동안 조리하여 다양한 용매비율로 추출한 후 DPPH 라디컬 소거 활성을 측정하였다.

Table 5. 곰취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 DPPH radical 소거능

Cooking	min	Solvent concentration (Ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	8.05±1.11	17.14±1.13	17.83±0.57	27.92±1.69	15.98±1.25
	3	7.54±0.67	16.35±2.22	18.10±2.27	24.23±1.35	15.58±0.27
	5	6.66±1.14	15.20±0.48	15.28±0.61	18.80±0.51	14.61±0.18
	10	6.00±2.51	19.10±2.25	15.84±2.05	16.58±0.91	11.36±0.24
Pan-frying	1	15.51±0.54	18.84±0.76	19.15±0.06	19.15±0.59	10.26±1.22
	3	13.76±0.50	17.14±0.62	17.35±0.60	17.95±0.60	9.20±0.91
	5	13.65±1.18	15.52±0.40	16.96±0.46	17.06±0.97	9.03±0.81
	10	22.60±1.21	24.93±1.10	30.38±1.43	25.40±0.74	8.91±0.26
Microwave	0.5	6.97±0.76	7.63±0.60	9.27±1.99	11.23±1.33	10.92±0.62
	1	8.10±0.62	8.70±1.42	9.73±0.44	11.64±0.27	11.04±0.87
	2	14.51±0.25	16.64±0.54	22.64±2.36	23.36±1.88	18.35±0.73
	3	12.24±1.66	13.19±1.12	18.30±1.99	20.32±2.20	18.07±0.38

조리방법별 DPPH 라디컬 소거능은 데침이 모든 조리시간에서 다른 조리방법에 비해서 다소

높은 소거능을 보였고, 볶음과 마이크로웨이브를 이용한 찜이 차례로 라디컬 소거능을 가졌다. 조리시간별로 살펴보면, 데침과 볶음은 대체적으로 짧은 시간 동안 조리했을 경우 (1분,3분) 높은 라디컬 소거능을 가진 반면, 마이크로웨이브 찜은 2분 이상 조리 시에 높은 라디컬 소거능을 가졌다. 특이한 것은, 볶음의 경우 10분 조리군에서 가장 높은 라디컬 소거능을 보였다. 또한, 추출용매 비율별 DPPH 라디컬 소거능을 측정한 결과, 가공방법별 라디컬 소거능과 마찬가지로, 대체적으로 70% 에탄올 추출물에서 높은 라디컬 소거능을 보였다. 이 같은 결과를 바탕으로 볼 때, 곰취는 데침 조리방법으로 1분 처리하고 70% 에탄올 용매로 추출 하였을 때, 높은 DPPH 라디컬 소거능을 가지며, 볶음의 경우만 예외적으로 10분 처리했을 경우 50% 에탄올 용매에서 추출했을 때 가장 높은 DPPH 라디컬 소거능을 가진다.

나. 곰취의 가공방법 및 조리방법, 시간별 hypochlorite ion (CLO) 라디컬 소거 활성

Reactive oxygen speices 의 일종인 hypochlorite ion의 소거 활성을 통한 항산화 효능을 규명하기 위해, 생체에 존재하는 단백질과 비슷한 단백질 구조인 myoglobin을 기질로 하여 보호효과를 측정하였다. 생채와 동결건조한 곰취의 CLO 라디컬 소거 활성은 가공방법에 따른 차이가 없었을 뿐만 아니라, 추출용매 조성에 따른 차이도 없었다. 그러나, 대체적으로 높은 소거 활성을 가지고 있다.

Table 6. 곰취의 가공방법 및 추출용매에 따른 Hypochlorite ion (CLO)소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	81.43±2.44	79.92±3.45	80.27±0.17	81.14±1.68	81.76±2.43
Freeze-dried	80.52±2.09	81.55±2.46	81.99±0.73	80.36±1.06	81.86±1.70

또한, 곰취 생채의 조리방법별 조리시간별 CLO 라디컬 소거능도 마찬가지로, 조리 방법이나, 조리시간, 추출용매의 비율에 상관없이 고루 높은 myoglobin 보호효과를 통한 높은 항산화 활성을 나타냈다.

Table 7. 곰취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 Hypochlorite ion (CLO)소거능

Cooking	min	Solvent concentration (Ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	81.34±2.01	81.73±1.33	81.69±1.43	80.90±1.61	81.42±2.19
	3	81.61±0.85	82.01±0.72	83.21±0.49	81.82±1.15	81.37±0.86
	5	80.10±1.27	81.95±0.52	82.68±1.73	81.25±0.63	80.63±1.28
	10	80.74±0.73	81.33±0.33	81.32±1.18	80.38±1.22	80.63±0.88
Pan-frying	1	82.23±0.63	81.16±0.94	80.48±1.83	81.75±0.46	79.50±1.96
	3	81.80±1.61	82.32±1.06	82.48±0.45	82.10±0.91	82.54±1.59
	5	82.27±1.40	82.35±0.95	83.28±2.22	81.81±1.81	82.03±1.04
	10	82.72±1.62	82.51±0.78	82.83±0.99	83.10±1.76	80.52±1.69
Microwave	0.5	81.42±1.14	83.21±0.16	82.30±1.89	80.50±2.06	82.02±1.82
	1	81.32±1.15	82.45±2.35	81.34±0.36	81.90±1.86	81.17±0.50
	2	82.67±2.24	82.81±2.86	82.70±1.75	83.39±1.49	83.18±1.68
	3	83.40±1.95	83.10±2.43	84.79±2.53	84.38±2.49	84.25±3.10

다. 곰취의 가공방법 및 조리방법, 시간별 hydroxyl radical (OH) 라디컬 소거 활성

Reactive oxygen speices 의 일종인 hydroxyl radical의 소거 활성을 통한 항산화 효능을 규명하기 위해, 생체에 존재하는 단백질과 비슷한 단백질 구조인 myoglobin을 기질로 하여 보호효과를 측정하였다. 생채와 동결건조한 곰취의 OH 라디컬 소거 활성은 생채보다는 동결건조된 곰취에서 다소 높았으며, 추출용매비율에 따른 소거활성은 생채와 동결건조 곰취 모두 50% 에탄올 추출용매에서 가장 높은 소거 활성을 보였다.

Table 8. 곰취의 가공방법 및 추출용매에 따른 Hydroxyl radical (OH)소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	15.06±1.81	11.78±3.45	22.95±0.37	18.10±1.04	14.41±2.35
Freeze-dried	19.55±0.68	24.27±0.95	27.56±0.99	23.85±0.45	14.05±0.54

또한, 곰취 생채의 조리방법별, 시간별 OH 라디컬 소거능은 데침의 경우 3분 처리에서 가장 높은 OH 라디컬 소거능을 나타냈으나, 볶음은 조리시간에 따른 소거능의 차이는 높지 않았다. 다만, 마이크로웨이브 찜은 2분 이상 처리군에서 높은 소거활성을 나타냈다.

Table 9. 곰취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 Hydroxyl radical (OH)소거능

Cooking	min	Solvent concentration (Ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	11.00±1.00	11.78±3.09	21.04±1.12	12.85±1.92	12.55±0.83
	3	13.69±2.35	30.07±0.45	41.84±0.95	36.52±1.19	15.48±1.53
	5	12.19±1.83	15.06±1.72	16.50±1.55	14.76±0.47	15.48±1.89
	10	11.89±0.31	12.85±1.02	14.23±1.64	12.07±0.47	10.64±0.31
Pan-frying	1	11.84±1.37	41.96±1.32	44.18±1.48	40.65±0.83	27.56±1.53
	3	14.11±0.92	40.47±0.10	53.44±0.81	37.60±1.10	16.38±1.29
	5	9.15±1.19	43.69±1.26	54.75±1.26	31.86±0.81	15.36±1.57
	10	17.04±0.85	39.45±1.02	43.34±1.10	28.39±1.08	18.17±1.56
Microwave	0.5	10.76±0.10	10.46±1.00	12.91±0.85	27.62±0.21	21.76±0.65
	1	8.01±1.05	10.82±1.47	14.05±0.31	28.63±0.45	26.54±0.55
	2	11.66±1.35	26.30±1.63	43.99±1.79	38.14±2.00	30.84±1.02
	3	12.67±1.39	42.25±1.00	45.85±1.81	33.29±1.19	30.36±1.86

조리방법에 따른 차이로는 볶음조리가 다른 조리방법에 비해 다소 높은 OH 라디컬 소거 활성을 나타냈다. 또한, 추출용매비율에 따른 소거능은 데침 30초, 1분 처리를 제외하고는 50% 에탄올 추출물에서 다른 용매비율보다 높은 소거활성을 나타냈다. 이런 결과를 바탕으로 곰취의 OH 라디컬 소거능은 볶음 조리법에서, 5분 동안 처리했을 때, 50% 에탄올 추출용매로 추출했을 때 가장 높았고, myoglobin 보호효과를 통한 높은 항산화 활성을 나타냈다.

라. 곰취의 가공방법 및 조리방법, 시간별 peroxyl radical (AAPH) 라디컬 소거 활성

생채와 동결건조한 곰취의 AAPH 라디컬 소거 활성은 생채에서 동결건조된 곰취 보다 다소 높았으며, 추출용매비율에 따른 소거활성은 생채의 경우는 50% 에탄올 추출용매에서 높았으나, 동결건조 곰취에서는 100% 에탄올 추출용매에서 가장 높은 소거 활성을 보였다. 결과적으로 곰취의 AAPH 라디컬 소거능은 생채의 50% 에탄올 추출물에서 높은 myoglobin 보호효과를 가짐으로서 가장 높은 항산화효능을 나타냈다.

Table 10. 곰취의 가공방법 및 추출용매에 따른 Peroxyl radical (AAPH) 소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	9.72±0.83	7.37±0.74	10.57±0.40	2.66±1.22	2.26±0.09
Freeze-dried	6.66±1.17	5.06±0.09	4.31±0.09	2.31±0.15	7.22±0.17

조리방법에 따른 AAPH 라디컬 소거능은 마이크로웨이브 찜 조리가 다른 조리방법에 비해 다소 높은 AAPH 라디컬 소거 활성을 나타냈다. 또한, 추출용매비율에 따른 소거능은 각 조리방법별, 조리시간 별 각각 다른 패턴을 보였다. 결과를 바탕으로 곰취의 AAPH 라디컬 소거능은 마이크로 조리법에서, 3분 동안 처리했을 때, 50% 에탄올 추출용매로 추출했을 때 가장 높았고, myoglobin 보호효과를 통한 높은 항산화 활성을 나타냈다.

Table 11. 곰취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 Peroxyl radical (AAPH) 소거능

Cooking	min	Solvent concentration (Ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	11.33±1.04	11.43±0.23	10.22±0.83	5.01±0.69	7.92±0.09
	3	7.92±0.17	7.67±1.78	9.12±0.74	3.51±0.66	6.31±0.46
	5	13.38±1.74	9.37±0.66	8.92±0.15	4.96±0.83	4.01±0.09
	10	6.31±0.62	9.67±0.15	7.77±0.09	2.71±0.09	6.31±0.09
Pan-frying	1	19.01±0.29	23.15±0.29	12.54±0.19	3.86±0.33	15.55±0.19
	3	7.32±0.47	12.10±0.29	11.28±0.11	24.85±0.22	10.78±0.11
	5	14.48±0.11	21.21±0.19	7.38±0.47	16.05±0.11	6.38±0.22
	10	17.69±0.11	18.88±0.11	20.26±0.19	20.01±0.11	16.75±0.11
Microwave	0.5	16.75±0.11	25.73±0.19	19.13±0.19	10.34±0.11	15.17±0.19
	1	18.38±0.19	22.02±0.11	28.62±0.11	18.82±0.22	15.11±0.11
	2	16.12±0.38	24.10±0.29	31.57±0.19	16.05±0.11	13.73±0.22
	3	16.37±0.22	24.47±0.39	32.45±0.11	27.62±0.19	23.72±0.11

마. 곰취의 가공방법 및 조리방법, 시간별 peroxynitrite radical (ONOO) 라디컬 소거 활성

생채와 동결건조한 곰취의 ONOO 라디컬 소거 활성은 생채와 동결건조된 곰취에서 큰 차이가 없었으며, 추출용매비율에 따른 소거활성은 생채의 경우는 50% 에탄올 추출용매에서 높았으나, 동결건조 곰취에서는 100% 에탄올 추출용매에서 가장 높은 소거 활성을 보였다. 이는 AAPH 라디컬 소거능과 비슷한 결과 이다. 결과적으로 곰취의 ONOO 라디컬 소거능은 생채의 50% 에탄올 추출물에서 높은 myoglobin 보호효과를 가짐으로서 가장 높은 항산화효능을 나타냈다.

Table 12. 곰취의 가공방법 및 추출용매에 따른 Peroxynitrite radical (ONOO)소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	40.26±0.55	33.24±0.55	40.40±0.67	37.04±1.44	35.50±1.44
Freeze-dried	34.99±0.67	36.38±0.44	34.77±0.83	34.48±0.13	38.65±1.25

조리방법에 따른 ONOO 라디컬 소거능은 모든 조리방법 과 조리시간 에서 비슷한 수준으로

나타났으며. 데침과 볶음은 5분 처리에서 가장 높은 라디컬 소거능을 보였다. 그러나, 추출용매비율에 따른 소거능은 각 조리방법별, 조리시간 별 각각 다른 패턴을 보였다.

Table 13. 곰취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 Peroxynitrite radical (ONOO)소거능

Cooking	min	Solvent concentration (Ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	40.19±0.13	40.33±0.58	41.43±0.66	36.67±0.55	38.36±1.01
	3	40.11±0.58	38.50±0.63	40.84±1.65	35.87±0.34	41.28±0.91
	5	40.26±0.55	43.18±0.44	41.36±1.32	38.14±1.22	34.63±1.16
	10	38.14±0.44	42.01±1.13	41.14±1.54	34.99±0.51	36.82±0.44
Pan-frying	1	41.36±0.55	45.60±0.58	43.84±1.37	42.45±0.77	39.97±0.89
	3	43.99±0.55	44.21±1.68	45.89±0.77	39.60±0.46	39.53±0.34
	5	44.21±0.71	45.23±1.10	46.11±1.01	41.21±0.79	41.79±0.77
	10	46.04±1.01	43.26±1.34	43.33±1.10	41.14±0.63	44.94±0.58
Microwave	0.5	40.84±0.91	40.84±0.67	39.09±0.99	40.84±0.46	40.19±0.71
	1	40.70±0.34	41.43±0.79	41.79±0.51	38.14±0.66	38.06±0.63
	2	46.77±1.43	46.55±0.63	48.38±0.63	49.40±0.91	44.87±0.91
	3	47.50±0.89	44.36±0.77	47.35±1.22	46.11±1.21	46.26±1.44

1-4. 곰취의 조리별 대식세포에서의 항염증 효능 규명

염증 반응은 내부 자극을 매개로 하여 대식세포(macrophage)등의 염증 관련 세포들의 염증 부위로의 유입과 축적을 주요 특징으로 한다. 염증발생 시 염증부위에 면역세포들이 침투되고 이들 세포들에 의해 여러 종류의 화학물질 및 cytokine를 생산, 분비하여 생체방어 및 염증 반응을 일으킨다. 이들 면역세포 중 탐식 및 항원제공에 관여하는 대식세포는 감염초기에 염증 매개물질인 nitric acid (NO)등을 분비하고, lipopolysaccharide (LPS)와 같은 자극에 의해 염증 반응 전사 인자를 활성화시켜 inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2(COX-2)를 발현시키고, iNOS와 COX-2는 다시 NO와 prostaglandin E2 (PGE2)를 생성하여 염증반응을 일으킨다고 알려져 있다.

본 연구에서는 앞서 조리별 곰취의 기능성지표 물질 분석 및 항산화 활성을 측정한 결과 조리되지 않은 생채보다, 조리한 곰취의 기능성지표물질 과 항산화 활성이 높은 것으로 나타났다. 항산화 활성을 기반으로 곰취의 조리방법별 항염증 효능을 규명하기 위해서 염증반응의 연구를 위해 가장 널리 쓰이고 있는 대식세포주 (RAW 264.7 cell)를 이용해서 염증반응 시 분비되는 cytokine 양 및 관련 유전자 발현 패턴의 차이를 분석하였다.

가. 대식세포에서 조리방법별 곰취 추출물의 세포독성

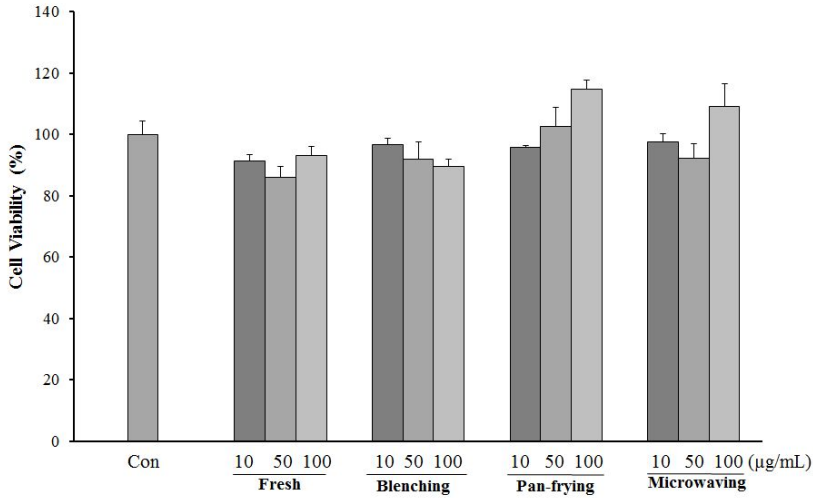


Figure 4. 곰취의 조리방법에 따른 대식세포에서의 세포생존율

대식세포주 (RAW264.7)에서 곰취 추출물에 대한 세포독성을 MTT assay를 통해 분석하였다. 조리되지 않은 생 곰취는 10-100㎍/mL 농도까지 세포독성을 보이지 않았으며, 마찬가지로 데침, 볶음, 마이크로웨이브 찜 조리를 한 곰취 추출물에서도 대조군에 비해 유의적으로 세포 생존률이 감소하지 않아, 세포독성을 보이지 않았다.

나. 대식세포에서 조리방법별 곰취 추출물의 Nitric Oxide (NO) 생성량 측정

LPS로 유도된 대식세포에서 곰취 추출물 처리에 의한 항염증 효능을 규명하기 위해 배지로 분비되는 nitric oxide (NO)의 생성량을 측정하였다. 배지로 분비되는 NO 생성량은 곰취 추출물의 처리에 의해서 농도의존적으로 감소하는 경향을 나타냈으며, 볶음 조리한 곰취는 낮은 농도에서 (10μg/mL)에서 다른 조리방법에 비해 NO 생성량이 감소 되었다. 반면에, 높은 농도에서 (100μg/mL)에서는 생곰취 와 데침 곰취가 다른 조리방법에 비해 NO 생성량이 감소 되었다.

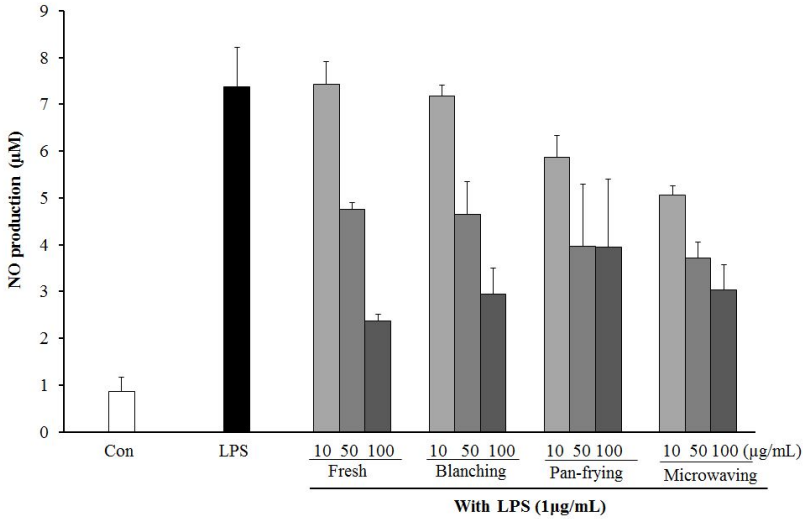


Figure 5. 곰취의 조리방법에 따른 대식세포에서의 nitric oxide (NO) 생성량

다. 대식세포에서 조리방법별 곰취 추출물의 Prostaglandin E2 (PGE_2) 생성량 측정

곰취의 조리방법별 염증 조절 효능을 분석하기 위해 NO와 마찬가지로 염증 매개물질인 PGE_2 생성량을 측정하였다. 대식세포에서 LPS의 처리는 PGE2 의 생성을 증가 시켜 염증반응을 증

가 시켰다. 생 곰취와 조리된 곰취 추출물을 함께 처리했을 때, 처리된 농도에서 LPS 처리 군에 비해 유의적으로 염증매개물질인 PGE_2 생성에 영향이 없었다. 앞선 결과들을 종합해 볼 때 곰취추출물은 LPS로 유도된 염증환경에서 염증매개물질인 NO의 생성량은 감소시켰으나, 다른 염증매개물질인 PGE_2 의 생성량에는 변화가 없었다.

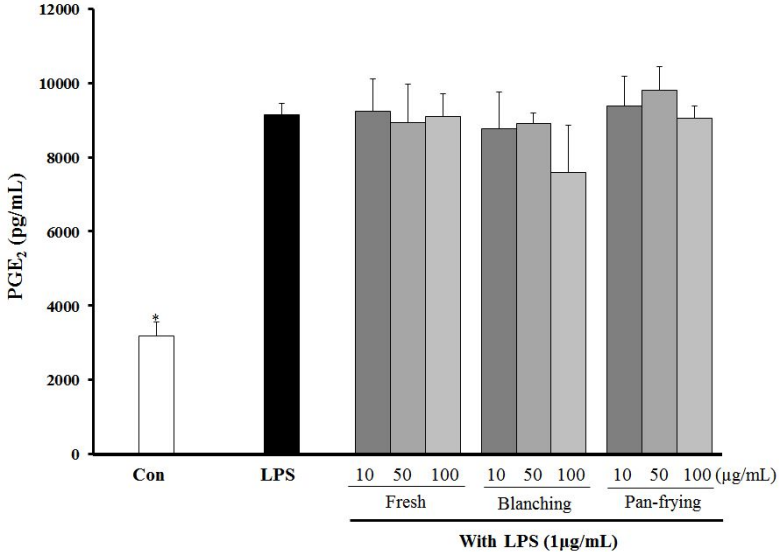
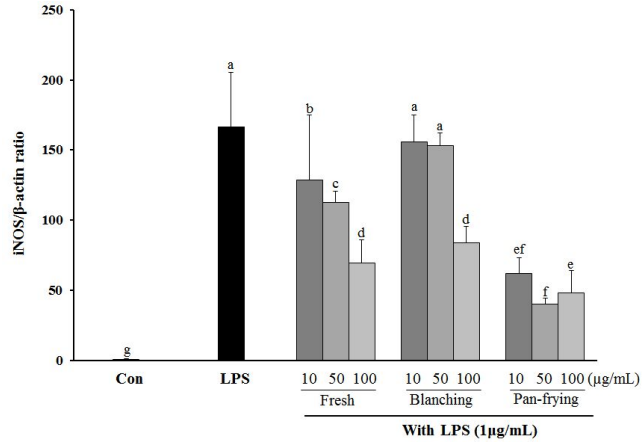


Figure 6. 곰취의 조리방법에 따른 대식세포에서의 prostaglandin E2 (PGE_2)생성량

라. 대식세포에서 조리방법별 곰취 추출물의 염증반응 전사인자 발현 측정

LPS로 유도한 대식세포의 염증환경에서 조리방법에 따른 곰취의 염증반응 전사인자인 iNOS와 COX2의 발현패턴을 측정하기 위해 real-time PCR을 이용해서 분석하였다. 대식세포에서 LPS의 처리는 iNOS의 발현을 유의적으로 증가시켰으며, 곰취 추출물 처리에 의해 전체적으로 감소하는 것으로 보여진다. 특히, 볶음 조리에 경우 LPS 처리 군에 비해 가장 크게 iNOS 발현이 감소하는 것으로 나타났다. 또한, 생곰취와 데침 조리한 곰취도 농도의존적으로 iNOS 발현을 감소시켰다. 데침 조리된 곰취는 100 μg/mL 농도에서만 LPS 처리군에 비해 유의적으로 발현을 감소시켰다.

A



B

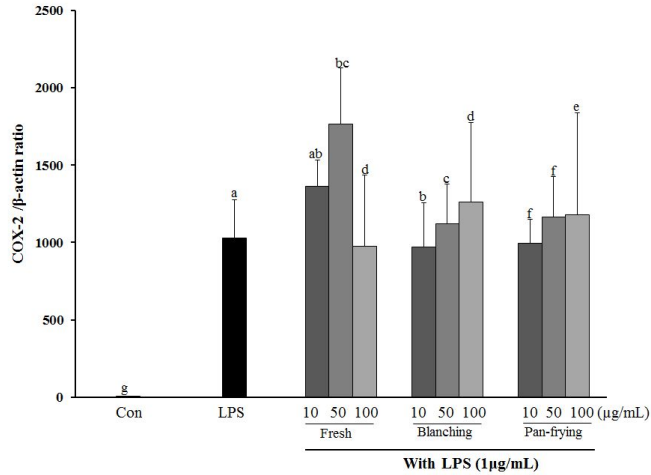


Figure 7. 곰취의 조리방법에 따른 대식세포에서의 iNOS (A)과 COX2 (B)의 mRNA 발현량

한편, 대식세포에서 LPS의 처리는 COX2의 발현을 유의적으로 증가시켰으며, 곰취 추출물 처리에 의해 전체적으로 증가 하는 것으로 보여 진다. 특히, 볶음 조리에 경우 LPS 처리 군에 비해 가장 크게 COX2의 발현이 증가 하는 것으로 나타났다. 또한, 생곰취와 데침 조리한 곰취도 COX2의 발현을 증가시켰다. 결과적으로 앞에서 보여 졌던 곰취 추출물의 항염증 효능은 특이적으로 염증매개 물질인 NO의 생성량이 감소되고 이로 인해 염증반응 전사인자인 iNOS의 발현의 감소 때문인 것으로 사료된다.

1-5. 곰취의 조리방법별 생체접근성 (bioaccessibility)

Figure 8은 다양한 조리방법에 따른 곰취의 총 caffeoylquinic acids의 생체접근성을 나타낸 것이다. 모든 곰취의 caffeoylquinic acids는 fresh, 볶은 곰취, 전자레인지 조리한 곰취와 비교했을 때 데친 곰취가 더 높은 생체접근성을 보여주었다. 조리 시간이 증가함에 따라 총 caffeoylquinic acid의 생체접근성은 데친 곰취는 0.82배, 볶은 곰취는 0.94배 줄어들었다. 데치기 조리방법 사이에는 곰취의 생체접근성이 유의적인 차이가 있었지만 볶기 방법에서는 유의적인 차이가 없었다. 흥미롭게도 전자레인지 조리한 곰취의 총 caffeoylquinic acids의 함량은 전혀 검출되지 않았으며 이는 생체접근성이 거의 없음을 보여준다. 이와 유사하게 이전 연구(William Koop., 2000)에서는 전자레인지 조리는 식품의 대사활동을 낮추고 식품의 기본요소를 바꾸어 소화시스템에 문제를 일으킨다고 밝힌 바 있다. 또한 이 연구는 전자레인지 조리했을 때 과일과 채소의 소화안정성이 줄어드는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구에서 전자레인지 조리한 곰취의 낮은 caffeoylquinic acids의 함량은 전자레인지 조리로 인해 소화시스템에 방해를 받아 생긴 것이라고 추정하는 바이다.

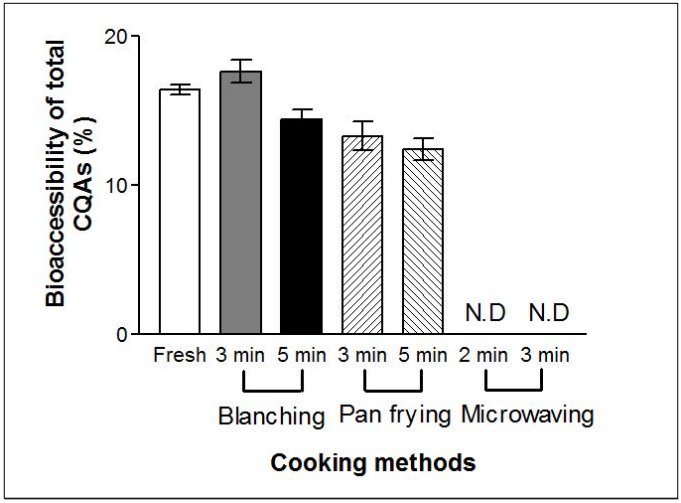


Figure 8. 다양한 조리방법에 따른 곰취의 총 caffeoylquinic acids의 생체접근성

2. 참취의 조리방법별 기능성지표물질 및 기능성 규명

2-1 참취의 조리별 chlorogenic acid 함량 분석

참취의 가공 및 조리별 기능성지표물질을 탐색하기 위해서 기능성지표물질을caffeoylquinic acids의 하나인 3-*O*-caffeoylquinic acid (chlorogenic)으로 정하고 조리방법별 chlorogenic acid의 함량 변화를 분석 하였다 (Figure 9). 기능성지표물질인 chlorogenic acid는 HPLC로 분석하였을 때, 약 4분대에 피크가 나타나는 것으로 보였고, 표준 Chlorogenic acid를 이용하여 표준곡선을 그리고 그 수식에 대입하여 각각 조리별 참취 추출물에서의 chlorogenic acid를 함량을 계산하였다.

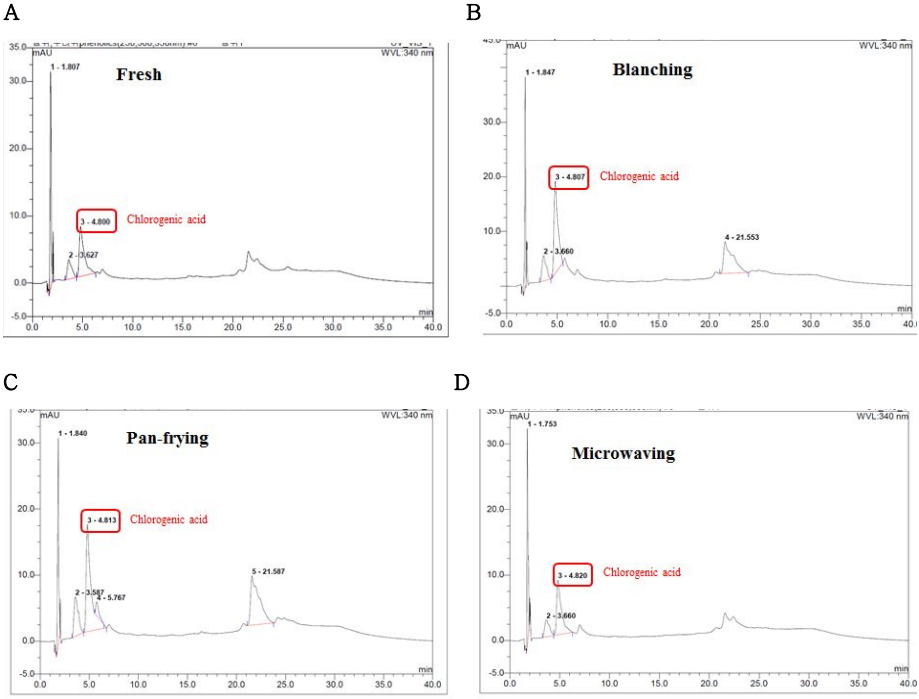


Figure 9. 참취의 조리방법별 chlorogenic acid 함량분석

조리하지 않은 생 참취 추출물 1000ppm에서 약 7.98㎍의 chlorogenic acid가 함유되어있는 반면에 데침, 볶음, 마이크로웨이브 찜 조리한 참취 추출물에서는 각각 14.15, 18.50, 8.83㎍ 이 함유되어 있었으며 이는 생 참취에 비해 각각 1.78, 2.32, 1.10배 증가한 수치로 조리에 따라 chlorogenic acid의 함량이 증가하는 것을 보여준다. 이를 1g의 fresh weight로 환산 했을 경우, 생참취에 함유된 chlorogenic acid의 양이 33.95㎍ 인 반면에 데침, 볶음, 마이크로웨이브 조리한 참취는 각각 52.96, 66.06, 47.56 ㎍이 함유되어있다. (Table 14). 이 같은 결과를 미루어 볼 때, 참취는 조리하지 않은 것 보다 조리한 참취에서 기능성지표물질인 chlorogenic acid 의 함량이 증가하는 것으로 분석되었으며, 이는 참취의 세포벽에 함유되어있던 기능성 물질이 조리에 의해 세포벽이 깨지면서 용출되는 것으로 예상된다.

Table 14. 참취의 조리방법에 따른 chlorogenic acid 함량

Cooking Method	Contents (㎍/1000ppm of ext)	Contents (㎍ of 1g fresh weight)	Change ratio (Fold) (of uncooked LF at ext)
Uncooked (Fresh)	7.98	33.95	-
Blanching	14.15	52.96	1.78
Pan-frying	18.50	66.06	2.32
Microwaving	8.83	47.56	1.10

2-2 참취의 가공 및 조리별 항산화 효능 규명

가. 참취의 가공방법 및 조리방법 · 시간별 DPPH 라디컬 소거활성

생채 및 동결건조한 참취의 다양한 추출용매에서의 DPPH 라디컬 소거활성을 측정했다. 동결건조한 참취 추출물이 생채의 추출물에 비해 DPPH 라디컬 소거 활성이 다소 낮았다. 추출용매의 비율에 따라서는 동결건조된 참취의 경우 100% 에탄올 추출용매를 제외하고는 에탄올 비율이 증가할수록 소거 활성이 증가하였으며, 생채의 경우에는 100% 물 추출물을 제외하고는 비슷한 DPPH 라디컬 소거능을 보였다. 결과적으로 참취의 생채와 동결건조 모두 70% 에탄올 추출물이 가장 높았다.

Table 15. 참취의 가공방법 및 추출용매에 따른 DPPH radical 소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	19.54±0.63	30.17±0.51	28.37±0.88	31.82±0.57	23.42±0.30
Freeze-dried	10.57±0.48	18.49±0.18	20.38±0.54	21.77±0.55	17.62±0.07

조리방법별 DPPH 라디컬 소거능은 데침과 볶음 조리방법에서는 3분 처리가 다른 조리시간보대 높은 소거능을 보였고, 조리방법에 따라서는 볶음 처리가 다른 조리방법에 비해 다소 높은 소거능을 가졌다. 마이크로웨이브 찜은 짧은 시간 조리했을 경우 (30초) 높은 라디컬 소거능을 가졌다. 추출용매 비율별 DPPH 라디컬 소거능을 측정한 결과, 가공방법별 라디컬 소거능과는 다소 다른 패턴을 보였으며, 각각의 조리방법이나 조리시간에 따라서도 다른 패턴을 보였다. 데침은 조리시간 모두 100% 에탄올 추출물에서 높은 라디컬 소거능을 보였으나, 볶음 조리는 조리시간 모두 50% 에탄올 추출물에서 높은 DPPH 라디컬 소거능을 보였다. 마이크로웨이브 찜은 모든 용매조성에서 비슷한 라디컬 소거능을 보였다. 이 같은 결과를 바탕으로 볼 때, 참취의 DPPH 라디컬 소거능은 에서는 는 데침 조리방법으로 3분 처리하고 100% 에탄올 용매로 추출 하였을 때 가장 높은 DPPH 라디컬 소거능을 가지는 것으로 나타났다.

Table 16. 참취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 DPPH radical 소거능

Cooking	min	Solvent concentration (Ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	21.56±0.64	30.17±2.00	34.63±0.55	37.60±1.63	42.94±0.82
	3	30.71±0.57	35.07±1.13	44.39±1.04	50.46±1.43	77.78±0.68
	5	23.84±0.81	29.08±0.80	35.32±1.28	37.64±0.88	39.41±0.20
	10	18.87±0.64	20.50±0.48	20.97±0.57	21.33±0.31	28.45±0.13
Pan-frying	1	33.49±0.15	50.20±0.94	73.81±0.81	46.02±0.78	48.44±0.81
	3	33.35±0.37	52.26±0.80	61.44±1.01	37.59±0.58	38.64±0.66
	5	24.32±1.15	25.53±0.94	37.55±0.92	33.60±0.80	15.54±0.34
	10	22.16±0.67	21.47±0.98	30.76±0.88	30.80±0.94	10.57±0.35
Microwave	0.5	14.97±0.88	27.22±0.73	36.20±0.61	31.34±0.59	34.37±0.13
	1	16.53±0.76	17.60±0.28	13.60±0.58	19.48±1.42	17.46±0.40
	2	11.54±1.43	11.99±0.92	16.83±0.62	13.80±0.77	17.79±0.76
	3	10.50±0.50	13.88±0.95	15.14±0.73	12.73±0.77	15.38±1.19

나. 참취의 가공방법 및 조리방법, 시간별 hypochlorite ion (CLO) 라디컬 소거 활성

Reactive oxygen speices 의 일종인 hypochlorite ion의 소거 활성을 통한 항산화 효능을 규명하기 위해, 생체에 존재하는 단백질과 비슷한 단백질 구조인 myoglobin을 기질로 하여 보호효과를 측정하였다. 생채와 동결건조한 참취의 CLO 라디컬 소거 활성은 가공방법에 따른 차이가 없었을 뿐만 아니라, 추출용매 조성에 따른 차이도 없었다. 그러나, 대체적으로 높은 소거 활성을 가지고 있다.

Table 17. 참취의 가공방법 및 추출용매에 따른 hypochlorite ion(CLO) 소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	91.79±0.13	91.25±1.26	87.97±0.26	90.78±0.39	87.59±1.31
Freeze-dried	89.71±0.07	85.76±0.03	89.19±0.79	90.57±1.31	88.18±0.68

또한, 참취 생채의 조리방법별 조리시간별 CLO 라디컬 소거능도 마찬가지로, 조리 방법이나, 조리시간, 추출용매의 비율에 상관없이 고루 높은 myoglobin 보호효과를 통한 높은 항산화 활성을 나타냈다.

Table 18. 참취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 hypochlorite ion(CLO) 소거능

Cooking	min	Solvent concentration (Ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	87.44±0.94	86.78±1.59	87.55±0.26	89.63±3.19	89.74±2.04
	3	93.78±0.29	91.30±0.62	93.82±1.80	95.08±1.38	93.24±0.98
	5	94.23±1.34	92.38±0.62	93.17±0.58	93.38±0.31	90.38±1.71
	10	93.60±0.41	90.37±1.89	92.42±1.18	91.20±1.79	93.08±1.28
Pan-frying	1	93.25±0.37	94.07±0.58	91.71±1.56	93.49±0.99	89.95±0.91
	3	95.01±0.99	96.23±1.12	93.79±1.22	90.38±0.92	90.95±2.60
	5	95.15±0.04	92.98±0.10	91.70±1.79	93.18±1.67	90.56±5.50
	10	92.67±1.12	94.48±0.54	94.28±1.78	93.94±0.14	92.92±0.02
Microwave	0.5	92.63±0.23	93.87±0.70	92.90±0.91	92.83±0.39	95.40±1.71
	1	93.84±0.29	94.14±0.60	93.76±0.97	94.38±1.01	94.54±0.74
	2	94.60±1.82	94.89±1.24	94.52±0.76	93.76±1.30	94.29±1.05
	3	93.93±0.10	94.80±1.57	90.20±2.54	91.59±1.28	95.68±0.78

다. 참취의 가공방법 및 조리방법, 시간별 hydroxyl radical (OH) 라디컬 소거 활성

Reactive oxygen speices 의 일종인 hydroxyl radical의 소거 활성을 통한 항산화 효능을 규명하기 위해, 생체에 존재하는 단백질과 비슷한 단백질 구조인 myoglobin을 기질로 하여 보호 효과를 측정하였다. 생채와 동결건조한 참취의 OH 라디컬 소거 활성은 대체적으로 동결건조 보다는 생참취에서 다소 높았으며, 추출용매비율에 따른 소거활성은 생채와 동결건조 참취 100% 물추출을 제외하고는 비슷한 소거 활성을 보였다.

Table 19. 참취의 가공방법 및 추출용매에 따른 hydroxyl radical(OH) 소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	7.18±0.32	18.61±1.36	19.36±1.15	15.05±0.56	17.81±0.40
Freeze-dried	8.03±0.82	11.32±0.84	14.35±1.00	16.48±0.82	15.95±0.73

참취 조리별 OH 라디컬 소거능은 마이크로 웨이브 찜보다 데침과 볶음에서 높은 라디컬 소거 활성을 가지며, 10분 조리시간을 제외하고는 조리시간이 증가할수록 항산화 활성이 증가하였다. 또한, 용매 조성에 따른 항산화 활성은 대체적으로 50~100% 에탄올 추출물에서 다소 높게 나타났다. 참취의 조리방법에 따른 OH 라디컬 소거능은 1분간 데침처리 한 100% 에탄올 추출물에서 가장 높게 나타났다.

Table 20. 참취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 hydroxyl radical(OH) 소거능

Cooking	min	Solvent concentration (Ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	16.06±0.56	24.72±1.05	23.29±0.70	24.30±0.37	29.13±0.18
	3	17.44±0.18	21.42±1.04	20.20±0.51	21.58±0.96	23.23±0.33
	5	13.77±0.66	15.95±0.42	15.74±0.24	19.25±0.82	22.97±0.42
	10	12.76±0.80	15.52±0.40	14.94±0.33	16.80±0.88	18.18±0.97
Pan-frying	1	15.10±0.66	17.60±0.24	18.55±0.64	21.16±1.04	22.01±1.10
	3	13.93±0.82	15.52±0.97	16.43±0.96	17.70±0.48	20.63±0.49
	5	13.24±0.32	14.41±0.64	14.19±0.70	14.51±0.32	15.84±0.56
	10	12.17±0.51	13.61±0.51	13.88±0.32	13.50±0.49	11.70±0.64
Microwave	0.5	11.43±0.37	14.09±1.21	17.38±0.42	16.00±0.92	13.45±0.66
	1	14.30±0.46	14.32±1.05	14.62±0.33	14.41±0.46	14.78±0.64
	2	10.74±0.79	14.73±1.39	11.91±1.48	10.58±0.18	14.30±0.64
	3	11.38±0.51	12.17±0.74	12.07±0.40	12.60±0.55	10.90±0.64

라. 참취의 가공방법 및 조리방법, 시간별 peroxyl radical (AAPH) 라디컬 소거 활성

Reactive oxygen speices 의 일종인 Peroxyl radical의 소거 활성을 통한 항산화 효능을 규명하기 위해, 생체에 존재하는 단백질과 비슷한 단백질 구조인 myoglobin을 기질로 하여 보호효과를 측정하였다. 생채와 동결건조한 참취의 OH 라디컬 소거 활성은 대체적으로 동결건조보다는 생 참취에서 다소 높았으며, 추출용매비율에 따른 소거활성은 생채와 동결건조 참취 모두 50% 에탄올 추출물에서 가장 높은 라디컬 소거능을 보였다.

Table 21. 참취의 가공방법 및 추출용매에 따른 peroxyl radical(AAPH) 소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	22.58±0.08	24.52±0.08	26.05±0.27	24.07±0.08	20.87±0.08
Freeze-dried	17.45±0.08	16.73±0.13	18.26±0.08	17.36±0.08	13.14±0.08

참취의 조리방법별 AAPH 라디컬 소거능은 볶음조리가 다른 조리방법에 비해 높은 라디컬 소거능을 가지며, 다른 라디컬과 달리, 10분의 긴 시간 볶음 처리를 해도 높은 소거능을 가졌다. 데침조리는 짧은 시간 조리하였을 때 (1, 3분), 100% 물 추출물에서 가장 높은 라디컬 소거능을 가졌다. 마이크로웨이브 찜은 조리시간 모두 비슷한 라디컬 소거능을 가졌으나, 2,3분 조리한 100% 에탈올 추출물에서는 다소 낮은 라디컬 소거능을 보였다. 대체적으로 데침을 제외하고는 볶음, 마이크로웨이브의 모든 조리시간에서 50~70% 에탄올 추출물이 라디컬 소거능에 높은 활성을 가졌다. 참취의 조리방법별 AAPH에 대한 라디컬 소거능은 10분동안 볶음 조리한 30% 에탄올 추출물에서 가장 높았다.

Table 22. 참취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 Peroxyl radical(AAPH) 소거능

Cooking	min	Solvent concentration (Ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	17.18±0.08	13.90±0.13	11.61±0.23	12.24±0.21	10.80±0.13
	3	13.05±0.21	8.55±0.31	6.48±0.40	5.49±0.41	4.09±0.08
	5	7.15±0.13	4.86±0.23	5.26±0.13	9.31±0.13	7.11±0.21
	10	7.87±0.08	8.77±0.23	8.86±0.08	8.82±0.08	10.71±0.08
Pan-frying	1	26.63±0.16	30.27±0.08	33.60±0.13	31.98±0.13	17.18±0.08
	3	24.65±0.28	26.63±0.56	28.92±0.08	27.71±0.08	15.92±0.13
	5	23.48±0.13	24.74±0.43	27.44±0.34	26.77±0.90	15.20±0.68
	10	32.75±0.28	33.65±0.08	32.30±0.16	29.87±0.28	30.14±0.08
Microwave	0.5	15.16±0.79	16.19±0.36	20.96±0.08	20.65±0.13	19.25±0.28
	1	14.13±0.21	15.74±0.21	17.59±0.43	17.14±0.13	18.31±0.28
	2	12.91±0.34	14.98±0.13	15.83±0.08	15.92±0.13	9.58±0.13
	3	13.27±0.34	15.20±0.21	10.85±0.30	11.16±0.34	8.50±0.62

마. 참취의 가공방법 및 조리방법, 시간별 peroxynitrite radical (ONOO) 라디컬 소거 활성

Reactive oxygen speices 의 일종인 Peroxynitrite radical의 소거 활성을 통한 항산화 효능을 규명하기 위해, 생체에 존재하는 단백질과 비슷한 단백질 구조인 myoglobin을 기질로 하여 보호 효과를 측정하였다. 생채와 동결 건조한 참취의 ONOO 라디컬 소거 활성은 거의 비슷한

양상으로 나타났다. 추출용매 비율별 라디컬 소거능 또한, 모든 용매비율에서 비슷한 활성을 나타냈다.

또한, 조리방법별 참취의 ONOO 라디컬 소거활성 역시 조리방법에 따른 소거활성에 큰 차이는 나타나지 않았으나 대체적으로 다른 라디컬 소거능에 비해 다소 높은 활성을 나타냈다. 다만, 조리시간이 길어줄수록 라디컬 소거능이 다소 낮아지는 것으로 나타났다. 추출용매 비율 따른 라디컬 소거능은 데침 조리된 참취는 50% 에탄올 추출물에서 높은 활성을 나타낸 반면, 마이크로웨이브 조리된 참취는 70% 에탄올 추출물에서 높은 활성을 나타냈다.

Table 23. 참취의 가공방법 및 추출용매에 따른 peroxynitrite radical(ONOO) 소거능

Preprocessing	Solvent concentration (Ethanol, %)				
	0	30	50	70	100
Fresh	69.24±0.87	69.49±0.60	67.17±0.85	70.18±0.57	68.73±1.04
Freeze-dried	67.86±0.94	69.11±0.78	70.05±0.71	67.92±0.66	68.80±0.68

Table 24. 참취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 peroxynitrite radical(ONOO) 소거능

Cooking	Min	Solvent concentration (ethanol, %)				
		0	30	50	70	100
Blanching	1	70.74±0.78	72.43±0.54	71.43±0.99	65.29±0.47	63.91±0.86
	3	66.54±0.94	71.43±1.05	70.11±1.05	65.60±0.68	61.22±0.39
	5	64.85±0.50	66.73±0.82	70.49±0.50	63.97±0.57	62.34±0.85
	10	63.53±0.75	65.66±1.07	67.17±0.96	62.97±0.56	61.22±0.60
Pan-frying	1	65.48±0.89	72.12±0.96	71.62±1.05	71.37±0.78	69.36±0.86
	3	64.85±1.05	71.93±0.57	70.24±0.89	66.73±0.82	63.16±0.68
	5	66.98±0.66	71.62±1.13	72.68±0.66	70.86±0.98	65.41±0.75
	10	68.42±0.99	67.79±0.60	69.05±0.71	71.24±0.99	65.73±0.89
Microwave	0.5	61.91±1.04	64.97±1.04	68.61±0.82	73.37±0.87	71.05±0.94
	1	66.42±0.87	69.86±0.60	70.49±0.68	73.87±0.82	71.74±0.29
	2	70.86±0.50	71.37±0.29	72.12±0.89	71.30±1.22	68.80±1.72
	3	71.87±0.47	71.43±0.38	71.05±0.56	68.73±0.95	67.48±0.50

2-3 참취의 조리별 대식세포에서의 항염증 효능 규명

염증 반응은 내부 자극을 매개로 하여 대식세포(macrophage)등의 염증 관련 세포들의 염증 부위로의 유입과 축적을 주요 특징으로 한다. 염증발생 시 염증부위에 면역세포들이 침투되고 이들 세포들에 의해 여러 종류의 화학물질 및 cytokine를 생산, 분비하여 생체방어 및 염증 반응을 일으킨다. 이들 면역세포 중 탐식 및 항원제공에 관여하는 대식세포는 감염초기에 염증 매개물질인 nitric acid (NO)등을 분비하고, lipopolysaccharide (LPS)와 같은 자극에 의해 염증 반응 전사 인자를 활성화시켜 inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2(COX-2)를 발현시키고, iNOS와 COX-2는 다시 NO와 prostaglandin E2 (PGE2)를 생성하여 염증반응을 일으킨다고 알려져 있다.

본 연구에서는 앞서 조리별 참취의 기능성지표 물질 분석 및 항산화 활성을 측정한 결과 조리되지 않은 생채보다, 조리한 참취의 기능성지표물질 과 항산화 활성이 높은 것으로 나타났다. 항산화 활성을 기반으로 참취의 조리방법별 항염증 효능을 규명하기 위해서 염증반응의 연구를 위해 가장 널리 쓰이고 있는 대식세포 주 (RAW 264.7 cell)를 이용해서 참취 추출물 처리에 따른 대식세포의 세포생존율과 염증반응 시 분비되는 nitric oxide (NO) 생성량을 측정하였다. 처리한 참취의 추출물은 여러 라디컬에서 대체적으로 소거능이 높았던 70% 에탄올 추출물로 정하고, 각각의 조리방법별 항산화 활성이 높았던 조리시간을 선정하여 처리하였다.

가. 대식세포에서 조리방법별 참취 추출물의 세포독성

대식세포주 (RAW264.7)에서 참취 추출물에 대한 세포독성을 MTT assay를 통해 분석하였다. 조리되지 않은 생 참취는 10-100μg/mL 농도까지 세포독성을 보이지 않았으며, 마찬가지로 데침, 볶음, 마이크로웨이브 찜 조리를 한 참취 추출물에서도 대조군에 비해 유의적으로 세포 생존률이 감소하지 않아, 세포독성을 보이지 않았다.

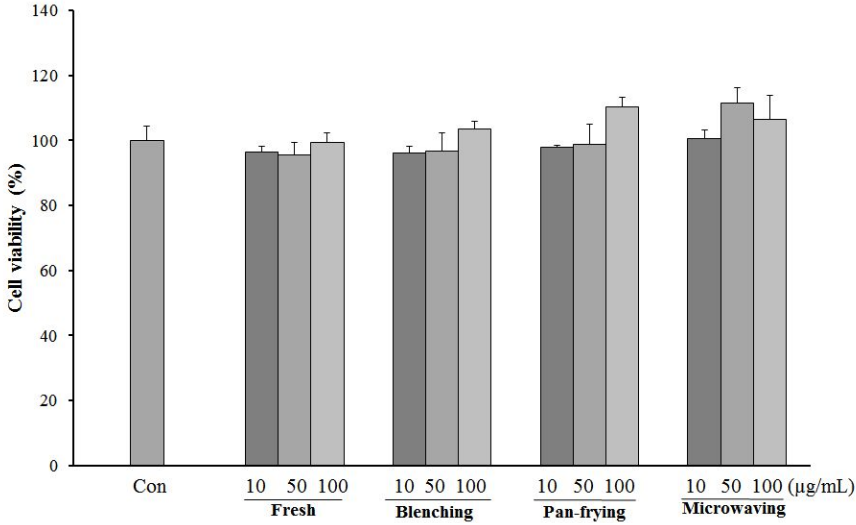


Figure 10. 참취의 조리방법에 따른 대식세포에서의 세포생존율

나. 대식세포에서 조리방법별 참취 추출물의 Nitric Oxide (NO) 생성량 측정

LPS로 유도된 대식세포에서 참취 추출물 처리에 의한 항염증 효능을 규명하기 위해 배지로 분비되는 Nitric Oxide (NO)의 생성량을 측정하였다. 배지로 분비되는 NO 생성량은 생 참취 추출물의 처리에 의해서 LPS로 유도된 대조군(7.9 μg/mL)에 비해 농도 의존적으로 감소하는 경향을 나타났다. 데침 조리 한 참취 역시 LPS로 유도한 대식세포에서 생 참취와 비슷하게 농도의 존적으로 NO 생성량을 감소시켰다. 마이크로웨이브 참취는 다른 조리법이랑 달리, 낮은 농도에서 (10μg/mL)에서도 NO 생성량이 감소 되었으나, 높은 농도 에서는 다른 조리법에 비해 생성량이 높지 않았다. 볶음 조리한 참취는 NO생성량이 처리에 따라 감소되었으나, 다른 조리방법에 비해 감소량이 작았다. 이러한 결과를 바탕으로 LPS로 유도한 대식세포에서는 참취 처리에 따라 NO 생성량이 감소하였으며, 그중 데침 조리가 NO 생성억제에 가장 효과적인 조리법으로 보여진다.

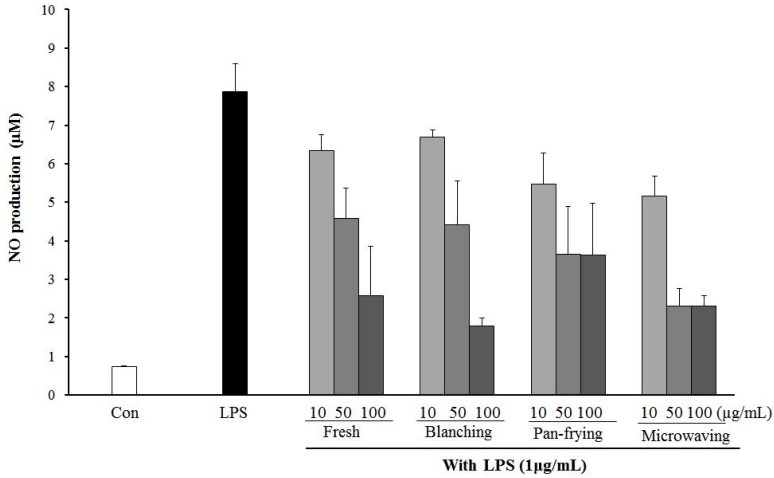


Figure 11. 참취의 조리방법에 따른 대식세포에서의 Nitric Oxide (NO) 생성량

3. 수리취의 조리방법별 기능성지표물질 및 기능성 규명

3-1 수리취의 조리별 chlorogenic acid 함량 분석

수리취의 가공 및 조리별 기능성지표물질을 탐색하기 위해서 기능성지표물질을 caffeoylquinic acids의 하나인 3-*O*-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid)로 정하고 조리방법별 chlorogenic acid의 함량 변화를 분석 하였다. 기능성지표물질인 chlorogenic acid는 HPLC로 분석하였을 때, 약 4분대에 피크가 나타나는 것으로 보였고, 표준 Chlorogenic acid를 이용하여 표준곡선을 그리고 그 수식에 대입하여 각각 조리별 수리취 추출물에서의 chlorogenic acid를 함량을 계산하였다.

조리하지 않은 생 수리취 추출물 1000ppm에서 약 575.30㎍의 chlorogenic acid가 함유되어있는 반면에 데침 조리한 수리취에서는 데침시간 (1, 3, 5분)에 따라 각각 608.31, 640.02, 673.20 ㎍이 함유되어 생 수리취에 비해 데침 조리 했을 경우 chlorogenic acid의 함량이 증가하는 것으로 보였으며, 데침시간의 증가에 따라 함량도 다소 증가 하는 것으로 보인다. 또한, 마이크로웨이브 찜 조리한 수리취 추출물에서는 조리시간 (30초, 1분, 2분)에 따라 각각 166.06, 153.64, 189.62 ㎍이 함유되어 데침 조리보다는 작지만, 생 수리취에 비해 chlorogenic acid의 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 데침 조리와 마찬가지로 조리시간이 증가할수록 함량도 다소 증가하는 것으로 보인다.

추출수율은 조리에 따라서 생수리취가 가장 높았으며, 마이크로웨이브, 데침이 그 뒤를 이었고, 조리시간이 증가함에 따라 수율을 줄어들었다. 이는 조리수에 침출되거나 수분의 증발의 영향일 것으로 생각된다. 따라서, 이 같은 추출 수율을 고려한 건조중량 1g에 함유되어있는 chlorogenic acid의 함량은 생 수리취가 가장 높았으며, 조리시간이 짧을수록 함량이 많이 보존되었다.

Table 25. 참취의 조리방법에 따른 chlorogenic acid 함량

Cooking method	Cooking time	Chlorogenic contents (㎍/1000ppm of ext)	Yield (%)	Chlorogenic contents (㎍/g Dry weight)
Uncooked (Fresh)	-	575.30	56	106.75
Blanching	1min	1194.86	25	99.57
	3min	1257.15	15	62.86
	5min	1322.34	10	44.08
Microwaving	30sec	166.06	31	16.97
	1min	301.59	27	26.81
	2min	372.28	8	9.51

3-2 수리취의 가공 및 조리별 항산화 효능 규명

가. 수리취의 조리방법 · 시간별 DPPH 라디컬 소거활성

수리취의 조리방법별 DPPH 라디컬 소거능은 데침과 마이크로웨이브 조리가 생 수리취에 비해 높았으며, 데침 조리한 수리취는 추출용매에 따른 항산화 활성의 변화가 거의 미비한 반면, 마이크로웨이브 조리는 에탄올의 조성이 증가할수록 라디컬 소거능이 증가하였다. 이는 수리취에 함유되어 있을 것으로 추정되는 항산화 물질이 에탄올과 같은 유기용매에 잘 용해되기 때문이라고 추측 할 수 있다. 조리시간에 따른 항산화 활성의 변화는 데침과 마이크로웨이브 모두 조리시간이 증가할수록 라디컬 소거능이 다소 증가하는 것으로 보여, 조리시간과도 연관이 있어 보인다. 생시료보다 조리를 했을 때 항산화활성이 증가하는 것은 시료의 수분이 소면되어 상대적으로 활성물질이 농축된 효과이거나, 조리를 하면서 활성물질이 용해되기 쉬운 형태로 전환되었을 것으로 추측 해 볼 수 있다.

Table 26. 수리취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 DPPH 라디컬 소거능

Cooking	Cooking Time (min)	Solvent concentration (Ethanol, %)		
		0	70	100
Uncooked (Fresh)	-	47.12±0.89	48.80±0.94	48.48±0.35
Blanching	1	51.38±0.21	52.86±0.65	54.84±1.29
	3	51.97±0.82	53.70±0.55	53.65±1.36
	5	54.48±1.38	53.33±1.25	61.01±1.39
Microwave	0.5	36.66±0.71	45.00±2.40	55.55±1.99
	1	49.63±0.62	54.54±0.19	57.70±0.32
	2	48.80±0.48	53.36±0.72	58.51±1.44

나. 수리취의 조리방법 · 시간별 hypochlrorite ion (CLO) 라디컬 소거활성

Reactive oxygen speices 의 일종인 hypochlorite ion의 소거 활성을 통한 항산화 효능을 규명하기 위해, 생체에 존재하는 단백질과 비슷한 단백질 구조인 myoglobin을 기질로 하여 보호효과를 측정하였다. 수리취의 조리방법별 조리시간별 CLO 라디컬 소거능은 조리 방법이나, 조리시간, 추출용매의 비율에 상관없이 고루 높은 myoglobin 보호효과를 통한 높은 항산화 활성을 나타냈다.

Table 27. 수리취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 hypochlorite ion(CLO) 소거능

Cooking	Cooking time (min)	Solvent concentration (Ethanol, %)		
		0	70	100
Uncooked (Fresh)	-	84.93±1.27	83.81±0.91	84.72±0.61
Blanching	1	82.35±1.36	81.45±0.70	80.45±0.95
	3	82.04±1.03	83.16±0.87	80.96±0.79
	5	83.26±2.47	81.17±1.78	84.56±1.40
Microwave	0.5	86.58±1.12	81.30±1.63	82.51±1.84
	1	85.12±1.07	83.10±1.07	82.08±1.35
	2	82.73±0.63	86.95±0.84	88.57±2.49

다. 수리취의 조리방법 · 시간별 hydroxyl radical ion (OH) 라디컬 소거활성

수리취 조리별 OH 라디컬 소거능은 생수리취 보다 데침과 마이크로웨이브 조리 에서 높은 라디컬 소거활성을 가지며, 각각 3분과 1분 조리시간에서 가장 높은 항산화 활성을 나타냈다. 또한, 용매 조성에 따른 항산화 활성은 대체적으로 70% 에탄올 추출물에서 다소 높게 나타났다. 그러나, 수리취의 조리방법에 따른 OH 라디컬 소거능은 5분간 데침 처리 한 70% 에탄올 추출물에서 가장 높게 나타났다.

Table 28. 수리취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 hydroxyl radical(OH) 소거능

Cooking	Cooking time (min)	Solvent concentration (Ethanol, %)		
		0	70	100
Uncooked (fresh)	-	10.20±9.93	17.90±6.62	5.69±1.18
Blanching	1	6.45±1.07	14.85±2.34	8.67±3.00
	3	18.95±3.87	21.37±2.66	9.02±5.07
	5	9.09±3.14	25.82±3.67	22.05±2.38
Microwave	0.5	0.83±2.84	2.64±4.79	10.13±6.29
	1	12.07±3.52	14.78±4.97	3.96±4.34
	2	9.37±3.12	6.45±2.84	7.08±3.87

라. 수리취의 조리방법, 시간별 Peroxyl radical (AAPH) 라디컬 소거 활성

Reactive oxygen speices 의 일종인 Peroxyl radical의 소거 활성을 통한 항산화 효능을 규명하기 위해, 생체에 존재하는 단백질과 비슷한 단백질 구조인 myoglobin을 기질로 하여 보호효과를 측정하였다. 수리취의 조리방법별 AAPH 라디컬 소거능은 조리방법 (데침, 마이크로웨이브)과, 조리시간에 따라 다소 변화양상을 보였다.

Table 29. 수리취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 Peroxyl radical(AAPH) 소거능

Cooking	Cooking time (min)	Solvent concentration (ethanol, %)		
		0	70	100
Uncooked (fresh)	-	7.13±0.40	4.19±0.26	3.11±0.66
Blanching	1	6.26±0.56	9.00±2.14	3.32±1.57
	3	8.29±0.26	5.35±0.65	2.36±0.25
	5	0.33±0.83	9.25±0.38	13.68±1.12
Microwave	0.5	0.12±0.12	0.12±0.66	4.39±0.29
	1	4.85±0.00	5.22±0.78	3.77±0.47
	2	9.58±1.93	5.68±0.19	6.59±0.33

마. 수리취의 조리방법, 시간별 Peroxynitrite radical(ONOO) 라디컬 소거 활성

조리방법별 수리취의 ONOO 라디컬 소거활성은 생 수리취에 비해 조리를 한 수리취에서 라디컬 소거능이 증가하였다. 조리시간에 따른 차이는 마이크로웨이브 조리에서 조리시간이 증가할수록 라디컬 소거능이 증가하였다. 이는 조리시간이 길어질수록 항산화 활성성분이 농축되었다고 추측 할 수 있다. 추출용매 비율 따른 라디컬 소거능은 물 추출에 비해 에탄올과 혼합된 추출용매에서 더 높은 항산화 활성을 나타냈다. 이는, ONOO 라디컬에 소거효능을 가지는 활성성분이 유기용매에 녹기 때문이라고 추측 할 수 있다.

Table 30. 수리취의 조리방법, 조리시간, 추출용매에 따른 Peroxynitrite radical(ONOO) 소거능

Cooking	Cooking time (min)	Solvent concentration (Ethanol, %)		
		0	70	100
Uncooked (fresh)	-	22.64±3.27	18.35±1.98	25.54±2.98
Blanching	1	27.92±2.58	28.51±2.58	27.66±2.77
	3	30.30±2.49	33.60±1.50	26.86±2.18
	5	27.99±2.48	30.69±2.28	32.41±2.49
Microwave	0.5	25.94±3.33	26.47±2.48	28.71±3.85
	1	25.35±2.18	28.58±2.68	27.00±2.48
	2	29.31±3.08	28.32±2.48	28.65±3.37

3-3 수리취의 조리별 대식세포에서의 항염증 효능 규명

염증 반응은 내부 자극을 매개로 하여 대식세포(macrophage)등의 염증 관련 세포들의 염증 부위로의 유입과 축적을 주요 특징으로 한다. 염증발생 시 염증부위에 면역세포들이 침투되고 이들 세포들에 의해 여러 종류의 화학물질 및 cytokine를 생산, 분비하여 생체방어 및 염증 반응을 일으킨다. 이들 면역세포 중 탐식 및 항원제공에 관여하는 대식세포는 감염초기에 염증 매개물질인 nitric acid (NO)등을 분비하고, lipopolysaccharide (LPS)와 같은 자극에 의해 염증 반응 전사 인자를 활성화시켜 inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2(COX-2)를 발현시키고, iNOS와 COX-2는 다시 NO와 prostaglandin E2 (PGE2)를 생성하여 염증반응을 일으킨다고 알려져 있다.

본 연구에서는 앞서 조리별 수리취의 기능성지표 물질 분석 및 항산화 활성을 측정한 결과 조리되지 않은 생채보다, 조리한 수리취의 기능성지표물질 과 항산화 활성이 높은 것으로 나타났다. 항산화 활성을 기반으로 수리취의 조리방법별 항염증 효능을 규명하기 위해서 염증반응의 연구를 위해 가장 널리 쓰이고 있는 대식세포 주 (RAW 264.7 cell)를 이용해서 참취 추출물 처리에 따른 대식세포의 세포생존율과 염증반응 시 분비되는 nitric oxide (NO) 생성량을 측정하였다. 처리한 수리취의 추출물은 여러 라디컬에서 대체적으로 소거능이 높았던 70% 에탄올 추출물로 정하고, 각각의 조리방법별 항산화 활성이 높았던 조리시간을 선정하여 처리하였다.

가. 대식세포에서 조리방법별 참취 추출물의 세포독성

대식세포주 (RAW264.7)에서 수리취 추출물에 대한 세포독성을 MTT assay를 통해 분석하였다. 조리되지 않은 생 수리취는 10-40 μg/mL 농도까지 세포독성을 보이지 않았으며, 마찬가지로 데침, 마이크로웨이브 조리를 한 수리취 추출물에서도 대조군에 비해 유의적으로 세포생존률이 감소하지 않아, 세포독성을 보이지 않았다. 다만, 50 μg/mL 이상 처리한 군에서는 현저하게 세포독성이 나타났다.

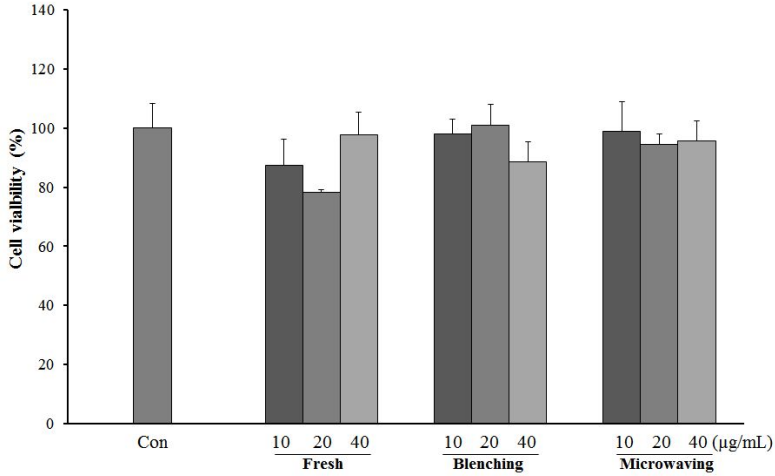


Figure 12. 수리취의 조리방법에 따른 대식세포에서의 세포생존율

나. 대식세포에서 조리방법별 참취 추출물의 nitric oxide (NO) 생성량 측정

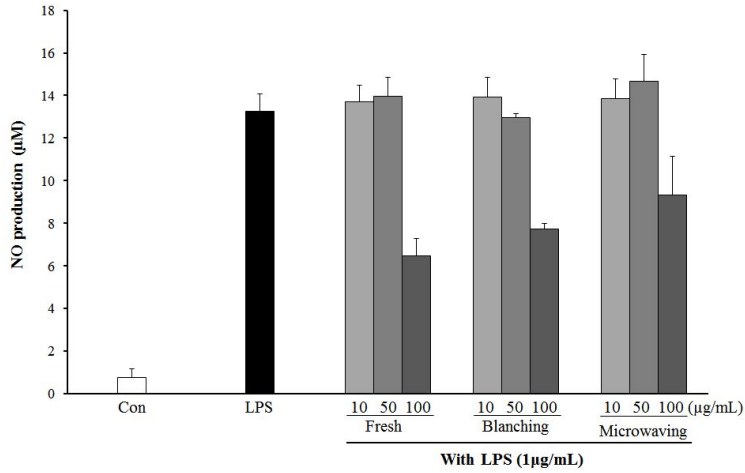


Figure 13. 수리취의 조리방법에 따른 대식세포에서의 Nitric Oxide (NO) 생성량

LPS로 유도된 대식세포에서 수리취 추출물 처리에 의한 항염증 효능을 규명하기 위해 배지로 분비되는 Nitric Oxide (NO)의 생성량을 측정하였다. 배지로 분비되는 NO 생성량은 생 수리취 추출물의 처리에 의해서 LPS로 유도된 대조군에 비해 고농도 처리군에서 (100 μg/mL) 감소하였다. 데침과 마이크로웨이브 조리 한 수리취 역시 LPS로 유도한 대식세포에서 생 수리취와 비슷하게 고농도에서 NO 생성량을 감소시켰다. 조리방법에 따른 NO 생성량에는 큰 차이가 없는 것으로 보여짔다. 이러한 결과를 바탕으로 LPS로 유도한 대식세포에서는 수리취의 조리에 따라 NO 생성량이 감소하였으며, 그중 데침 조리가 NO 생성억제에 가장 효과적인 조리법으로 보여 진다.

4. 취나물의 조리방법별 레시피 조사 및 문헌을 통한 기능성물질 함량 조사

4-1. 한국인의 취나물 개별 섭취량 조사

가. 산채재배 면적조사

한국인은 전통적으로 쌈 채소를 즐겨먹는데 최근에 참취, 곰취 등이 새로운 쌈 채소로 각광을 받는다(박과 류, 2000). 그리고 국제적으로도 한국의 쌈 문화는 한국의 식문화를 대표하고 있다(Park and Lee. 2006). 국내의 채소 소비량은 증가하고 있으며 그에 따라 산채 재배 면적과 소비량도 증가하는 추세이다(Lee and Park, 2006; 한국농촌경제연구원, 2010).

국내 산채의 재배 면적은 표1과 같으며 가장 많은 산채는 더덕으로 2477.15ha, 그 다음으로 고사리 2195.51, 취나물 1412.1 ha, 도라지로 1157.83 ha 순 이다. 그 외 다른 산채는 약 500 ha 내외이며 4가지 주요 산채가 산채 재배 면적의 66%를 차지한다. 연도별로 보면 산채 재배 면적은 2006년 6,915ha, 2007년 9,177 ha, 2008년 8,236 ha, 2009년 9,994ha, 2010년 11,049ha 로 매년 증가하는데 이는 연간 약 10% 이상 증가 추세이다. 재배농가도 약 3만 5000농가이므로 소득에도 크게 기여한다.

표 1. 산채 종류별 재배현황 (농촌진흥청, 2010)

구분		합계		노지		비가림		시설	
		농가 수	면적	농가 수	면적	농가 수	면적	농가 수	면적
합 계		**34,823**	**11,049.31**	**29,623**	**9,671**	**2,656**	**740.51**	**2,544**	**637.8**
1	더덕	3,717	2,477.15	3,715	2,476.95	1	0.1	1	0.1
2	고사리	5,911	2,195.51	5,830	2,167.38	43	21.83	38	6.3
3	**취나물**	**6,275**	**1,412.1**	**3,897**	**1,007.4**	**972**	**156.8**	**1,406**	**247.9**
4	도라지	5,481	1,157.83	5,471	1,156.43	6	0.3	4	1.1
5	나무두릅	2,238	568.8	2,185	565.9	3	0.9	50	2
6	달래	1,760	525.7	919	188.5	779	331.4	62	5.8
7	땅두릅	1,021	475.76	941	428.76	59	41	21	6
8	음나무	1,035	306.9	1,032	306.6	3	0.3	-	-
9	곤드레	555	232.3	493	216.2	47	14.6	15	1.5
10	고들빼기	784	224.8	761	216.7	23	8.1	-	-
11	쑥	1,024	221.75	1,022	221.35	-	-	2	0.4
12	참나물	395	189.9	81	13.2	60	31.1	254	145.6
13	삼엽채	173	120.8	3	0.8	-	-	170	120
14	씀바귀	734	113.7	695	105.8	39	7.9	-	-

15	산마늘	362	101	308	95.8	24	2.9	30	2.3
16	눈개승마	306	71.1	306	71.1	–	–	–	–
17	머위	629	55.3	388	28.7	92	8.6	149	18
18	비름	324	57.7	14	2.2	221	39.7	89	15.8
19	냉이	291	39.4	281	38.3	10	1.1	–	–
20	돌나물	93	34.5	16	3.3	21	8	56	23.2
21	참죽	274	34.2	274	34.2	–	–	–	–
22	고비	150	34.0	150	34	–	–	–	–
23	세발나물	36	29.0	15	14.9	21	14.1	–	–
24	누룩치	36	29.0	15	14.9	21	14.1		
25	잔대	86	25.7	62	19.9	22	5.5	2	0.3
26	원추리	121	13.3	46	3.3	40	8	35	2
27	곤달비	75	9.9	23	5.1	48	4.1	4	0.7
28	어수리	71	7.7	30	3	34	4.1	7	0.6
29	민들레	2	5.0	2	5.0	–	–	–	–
30	반디나물	24	3.2	–	–	24	3.2		
31	모시대	9	1.3	5	0.8	–	–	4	0.5
32	부지갱이	2	0.1	–	–	–	–	2	0.1
기타		829	274.91	643	224.53	43	12.78	143	37.6

그림 1. 산채 노지(좌) 및 시설 내 관비재배(우)

참취는 2010년 재배 면적이 1412.1 ha 이며 재배방법별로는 노지재배 1007.4ha,(71.3%) 비가림 재배 156.8ha(11.1%), 시설 재배 247.9(17.6%) ha 로서 노지재배가 71.3%로 주를 이룬다(그림 1). 여름철의 우기로 인해서 잎의 품질이 열악한 것을 대비해서 비 가림 재배가 이

루어지는데 따라서 지금까지 일반인들이 산채는 산에서 채취한다는 개념의 변화가 필요하며 봄철 산간지역에서 일부 채취되는 산채 이외는 모두가 재배 산채임이 나타났다. 재배하는 산채의 종류는 별로 조사되지 않았으나 우리나라 산채 생산으로 가장 많은 양(전국 생산면적의 약 23%)을 생산하는 강원도의 곰취가 전체 재배면적의 73%를 차지하고 그 외 참취는 약 11% 기타취가 15%를 차지한다. 취의 기능성 지표물질의 산출을 위해서는 세분화된 취의 종류별 재배 면적 등이 조사되어야 할 것이다.

나. 참취 생산량과 1인당 연간 참취 섭취량

90년대 들어서 국민의 생활수준이 급격하게 향상되고 웰빙에 대한 관심이 높아지면서 산채에 대한 소비가 증대되기 시작했다(박과 이, 1991). 따라서 농촌진흥청(1999)을 포함해서 많은 곳에서 산채의 재배 연구 뿐 만 아니라 산채의 항암작용에 대하여 많이 보고되었다(함, 2004). 취는 그 종류가 많은데 나물로 뿐만 아니라 쌈채(박과 류, 2000), 건조해서 한약제로도 이용되며 도라지. 더덕 등이 대표적이다(한, 2002). 계절에 따라서는 봄에는 벌개미취, 초봄에는 참취, 여름에는 곰취, 수리취 등이 재배되어 생산되나 취 종류별 재배 면적은 전국 규모로 아직 제시되지 않고 있다(산림청, 2010). 다만 통계에는 취로 통합되어 제시되어 본 연구에는 전체 취를 대상으로 섭취량을 분석하고자 한다.

취나물의 단위 면적 10a생산량은 재배방법에 상이한데, 농진청(2012)의 보고에 따르면 취의 노지지배는 1007.4ha 비가림 재배는 156.8 ha, 시설재배는 247.9ha로 나타났으며 노지재배는 10a당 2890kg, 시설재배는 2850kg 생산 되는 것으로 보고되고 있다. 생산량은 1인당 연간 취나물 섭취량은 재배면적 곱하기 단위면적당 수량을 인구수로 나누면 되는데 이렇게 하면 연간 약 625g의 취를 먹고 1일 1.71g의 취를 섭취하게 된다. 이와 같이 계산을 할 수가 있으나 공신력 있는 자료를 위하여 농촌경제연구원에서 4-5년 단위로 보고하는 식품수급표를 참고하여 표2와 같이 연간 1인당 1일 섭취량 산출 하였다. 또한, 이를 기초로 산채류 총생산량에 대한 취나물 점유율을 곱하면 1인당 섭취율을 산출 할 수가 있다. 산림청(2010)은 산채류 생산량과 종류별 점유율(표 3)을 보고 하였는데 산채류 생산량은 총 합계 47,755,418kg 이었으며 이 가운데 취나물은 면적은 3번째이지만 생산량은 가장 많아서 21,117,947kg 으로 전체 산채 생산량의 44.2 %를 점유하였다. 주요 산채의 생산량을 들면 가장 재배 면적이 많이 차지하는 더덕은 생산량은 8,22,815kg(17.2 %), 도라지는 6,909,901kg(14.5%), 고사리 6,150,731k(12.9%), 두릅 2,617,624kg(5.5%) 순서였다. 산채생산량을 인구수로 나누면 연간 섭취량이 산출되나 계산하면 농경연의 표 2자료와 차이가 있어서 농촌경제연구소(2010)과 보건복지부의 국민건강통계(2013) 등의 자료에서 섭취량 자료를 택하여, 전체 산채생산량에 대한 취나물 점유율을 곱하여 계산하였다. 즉, 산채류 중에 가장 많이 생산되는 참취의 1인

섭취율을 계산 하려면 1일 섭취량(표 2)을 전체 산채생산량에 대한 점유율을 곱하였다. 지금까지 1인당 취 소비량은 제시되지 않았으나 다음 공식을 이용하면 추정할 수가 있다. 물론 이때 폐기율은 고려하지 않았는데 2011년 농진청의 표준식품성분표에 의하면 취의 폐기율이 0%로 제시되었기 때문이다.

참취 1인당 1일 섭취량(g/일)= 1일 산채 섭취량(농촌경제연구원, 2010) x 전체 산채생산량에 대한 취나물 점유율(산림청, 2010)

이를 공식에 따라 계산 하면 4.01g x 44.2/100=1.77g 이 나오게 되며 이는 앞서 면적당 수량을 곱해서 나온 수치 1.71과 큰 차이는 없었다.

표 2. 산채류의 1인당 연간 1일 섭취량 변화(한국농촌경제연구원, 2010)

년도	2006	2007	2008	2009	2010	5년 평균
섭취량(g)	4.38	4.32	3.75	3.66	4.01	4.02

한국농촌경제연구원(2010)에 의하면 1995년에 산나물은 연간 1.13g 섭취하였으며 2000년 2.97g, 2005년에는 3.84g, 2010년에는 4.01g으로 매년 증가하고 있으며 이는 연간 1463.65g을 섭취하는 양에 해당 한다 (표 2). 또한, 이 중 취나물의 섭취량은 연간 627.8g 이다. 농가 수익창출에 있어서 임산물 가운데 가장 중요한 작물로 자리매김하고 있다. 산림청(2013)의 보고에 따르면 산림농가 수익에 있어서 산채는 순임목, 토석, 수실류, 조경재에 이어서 5번째로 중요한데 연간 3886억원의 수익 창출을 하여 약용식물 3845억원보다 많다.

표 3. 산채류의 생산량(kg)과 종류별 점유율(산림청, 2010)

합계	고사리	도라지	더덕	두릅	취나물	고비	기타
47,755,418 (100%)	6,150,731 (12.9)	6,909,901 (14.5)	8,228,815 (17.2)	2,617,624 (5.5)	21,117,947 (44.2)	285,021 (0.6)	2,445,379 (5.1)

이는 국민들이 건강에 대한 관심이 증진 되고 지역 산채 연구소와 기능성 연구센터를 중심으로 산채의 기능성에 대한 연구 자료가 다양하게 제공되기 때문이며, 특히 취나물을 포함한 산채는 채소 중에 가장 농약의 사용량이 작고 고기능성의 채소라는 인식이 높기 때문이다. 다만 보다 청결하게 생산, 포장, 공급되어야하고 산채재배법의 표준화와 모델화가 있어야 고품질 산채의 재배 면적이 보다 증가되고 아울러서 소비도 촉진되어 농가의 소득증대가 예상된다.

4-2. 지역별, 계절별, 산채비빔밥 레시피 조사

가. 지역별, 계절별, 산채비빔밥 레시피의 차이

산채 비빔밥의 지역별 조사를 위하여 오대산 월정사입구, 속리산 법주사입구, 지리산 화엄사입구의 산채촌을 4계절 방문하고 서울 청계산 산채촌을 방문하여 레시피를 조사하였다. 먼저 지역 마다 담아 나오는 그릇이나 구성 레시피가 차이가 있다(그림2). 현지 식당 12개소의 레시피를 조사하여 분석해 본 결과 평균 6.8개의 산채 및 채소를 사용하는 것으로 나타났다(표4). 이는 약 7가지 정도 산채 및 채소를 사용하는 것을 의미하는데 조사 지역 가운데 유일하게 속리산에서는 4번 조사에 3번이 참취를 사용하지 않았다. 오대산 월정사입구 식당 촌에서는 가을철에만 건조된 취나물이 참취, 곰취, 미역취 등 3가지가 들어가는 레시피를 제공했지만 재료 제공은 받을 수는 없었다. 그 외 지역에서는 모두 참취 만 이용하여서 비빔밥내의 취 종류별 영양가 분석은 의미가 없어서 제외하였다. 메뉴 통일의 가능성을 접근하기 위하여 조리사와의 개별 인터뷰를 통해 속리산의 경우에는 식당에서 계절마다 제공되는 나물을 비빔밥재료로 사용하며 정해진 레시피는 존재하지 않기 때문에 산채비빔밥 레시피의 표준화를 제시하더라도 많은 문제가 야기 될 것으로 사료된다. 이러한 이유로 속리산의 산채는 4번 조사 시에 3번이의 비빔밥에서 참취가 제외 되어있었다. 산채의 생산지가 소비자에게 중요한 요소임을 감안하여 식당책임자와 개별 인터뷰를 통해 산채비빔밥에 사용되는 산채는 100% 국산 재료만을 사용 하였으며, 소비자의 대부분이 고정 소비자이므로 그 신뢰성 확보를 위함이라는 것을 알 수 있었다. 특히 외산의 가능성이 가장 높은 고사리에 대하여 재차 문의했을 때 들어가는 양이 소량이라 국산만을 이용한다고 했다. 아울러서 생산지는 채취하는 것은 일반인들이 조금씩 사는 거고 식당의 지속적으로 많은 물량을 쓰기 때문에 현지 농가 재배 산채로서 일정량이 매일 공급되는 것을 사용한다고 하였다. 다만 지리산의 죽순은 식당에서 운영하는 대밭에서 직접채취 이용하고 오대산에서 고추잎은 자기 밭에서 제거한 곁순을 사용한다고 하였다.

그림 2. 지역별 산채 비빔밥(좌로부터: 속리산, 오대산, 지리산지역)

3개 유명산자락에 유치한 식당 가운데는 레시피를 비교적 잘 유지하면서 제공하는 곳이 지리산 산채 식당으로(20년 된 식당) 취, 고사리, 버섯, 콩나물, 무생채, 죽순 등 6가지가 주를 이루고 그 외 호박나물, 오이생채가 계절별로 추가된다. 따라서 레시피가 평균 7.5개로 3개 조사지역 가운데 가장 많은 산채를 정확하게 사용하고 있었다. 둘째로 속리산이 7.5 그리고 오대산은 6가지를 기본 래시피로 사용했다. 그러나 산채 비빔밥은 반찬이 4-5개가 추가되므로 실제 섭취하게 되는 산채나 채소는 10여 가지로 이루어져서 건강식으로 세계 어느 나라에 비교해보아도 훌륭한 식단으로 구성 되어있는 것을 알 수가 있었다. 12차례 조사에서 (오대산지역 3, 속리산 지역 4, 지리산지역 4, 청계산 지역 1)주로 나타나는 산채 및 채소종류를 분류해보니 버섯이 92%, 고사리 83%, 취나물 75%, 콩나물 58%, 무생채 58%로 다섯 가지가 50%를 넘었다. 그 외 남부지역에서만 사용되는 죽순(33%), 우산나물, 곤드래, 얼리지, 호박나물이 25%를 차지했다(그림 3).

표 4. 지역별, 계절별 산채비밥내의 산채 및 채소 레시피(밥과 달걀 제외)

조사지역	조사 계절	취나물	고사리	버섯	콩나물	무생채	기타	총수
오대산, 월정사입구 식당가	봄	o[Z]	o	o	o	-	동이나물, 은둔지,	6
	여름	o	o	o	-	-	고추잎[Y], 우산나물, 얼리지	6
	가을	o	-	-	-	-	곰취, 곤드레, 미역취, 우산나물, 얼리지	6
속리산, 법주사입구 식당가	봄	-	o	o	o	o	피마자나물, 참나물	6
	초여름	o	o	o	-	o	참나물, 들깨, 명아주	7
	늦여름	-	-	o	o	-	고추잎, 우산나물, 얼리지, 곤드래,	6
	가을	-	o	o	o	o	참나물, 곤드래, 두릅순(건조)	7
지리산, 화엄사 입구 식당가	겨울	o	o	o	o	o	죽순[Y], 오이생채	7
	봄	o	o	o	o	o	죽순, 호박나물, 피나무순,	8
	여름	o	o	o	-	o	죽순, 호박나물, 고구마순, 쑥부쟁이	8
	가을	o	o	o	o	-	죽순, 호박나물, 오이생채	7
청계산 의왕	가을	o	o	o	-	o	방풍,부지갱이,미역취,개미취	8
전주비빔밥[X]	가을	-	-	o	o	o	당근채, 도라지, 명아주, 호박	7
평균								6.8

[Z] 산채생산지: 조사결과 100% 국내산만 사용. 타 지역 생산여부는 가능하면 자기 지역 것을 사용한다고 함

[Y] 재배방법: 구례 화엄사 지역 죽순은 식당소유 대밭에서 채취함. 월정사 지역에서 고추잎은 자기 집 고추밭에서 곁가지를 제거한 것을 사용한다고 함. 그 외 식당에서는 산채나 채소를 직접 시장구입(재배된 것) 또는 공급상에서 제공하는 것을 사용하며 산에서 채취한 것은 지속적인 물량 고급이 안되므로 거의 사용 안함

[X] 전주 비빔밥은 비교를 하기 위하여 참고로 조사함.

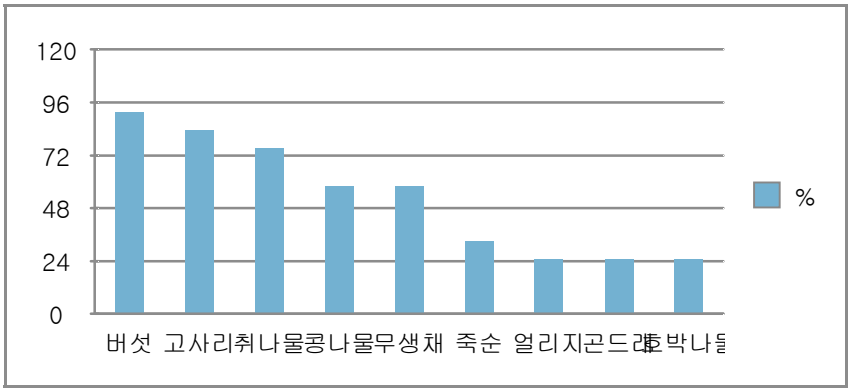


그림. 3. 조사지역 산채 비빔밥 레시피에 나타난 채소종류별 빈도율(%)

최근 서울근교에서는 산채만 제공하고 각자 비벼먹는 스타일로 퓨전식 산채 비빔밥이 등장하고 있는데 한식 세계화를 위해서는 레시피의 통일, 글로벌한 홍보, 비빔밥의 과학적인 효능 연구를 통해 전통적인 산채 비빔밥의 발전에 관심을 더 기울이는 것이 필요하다고 사료되나 개인의 취향을 존중해 개인의 선호도에 따라 산채를 골라먹는 퓨전 산채비빔밥에 대한 연구도 다양한 산채비빔밥의 소비를 위해서는 필요하다고 본다(그림 4). 모든 산채 비빔밥에는 예외 없이 밥, 달걀이 하나 제공되고, spice로는 고추장, 참기름, 깨소금 등이 첨가되었다. 그러나 이번 연구에서는 산채 레시피만을 조사하여 표기하였다(표 4). 앞으로 1일 권장량을 연구할 때는 밥과 달걀후라이의 영양가를 남녀성인 기준표를 참고해서 조사해야한다(보건복지부, 2013).

그림 4. 퓨전형 비빔밥차림(원하는 산채만 비벼 먹음: 서울 근교청계산)

실제 방문하여 조사한 데이터와 달리 표 5에서는 각 지역별 전통음식을 조사한 농진청의 자료(2009)와 한국의 전통음식 자료(황 등, 2000)에 의하면 산채의 종류가 조사 시 보다 1-2개 작으며 역시 충북에서는 속리산 법주사 조사한바와 같이 취나물을 산채비빔밥에 넣고 있지 않았다. 표 5에서와 같이 문헌에서는 산채비빔밥에 모두 도라지를 넣지만 실제 조사에서는 한곳 즉 전주비빔밥(일반 식당메뉴)에서만 나타나며 시중 산채비빔밥에는 들어가지 않았다. 이는 도라지의 전처리가 간편하지 않아 도라지 대신 무생채를 식당에서는 이용하는 것이 아닌가 생각된다. 그러나 단기간의 방문 조사이기 때문에 앞으로 이 분야는 한식세계화의 차원에서 표준식단을 만드는데 노력을 해야 한다. 특히 국가조리사 시험(정 등, 2009)에서도 고사리, 도라지, 청포묵, 애호박 등 4가지만을 넣고 돌솥밥이나 비빔밥 시험을 치루는 데 앞으로 산채비빔밥의 추가와 식단의 표준화가 필요하다고 사료된다.

표 5. 문헌에 나타난 산채비빔밥 및 상용비빔밥의 구성 산채 및 채소종류

조사지역	조사계절	취나물	고사리	버섯	콩나물	무생채	도라지	기타	총수
강원[y]		o	−	−	o	−	o	당근,	4
충청북도[y]		−	o	o	o	−	o	미나리, 더덕, (도토리묵)	6(7)
전라북도[y]		o	o	o	o	−	o		5
경상남도[y]		o	o	o	−	−	o	더덕, 시금치, (도토리묵)	6(7)
상용음식[y]		o	o	o	o	−	−	버섯(표고, 느타리)[z], 상추	7
전통음식[x]		−	o	o	o	−	o	오이생채,	5
평균		5	5	5	5	−	5		5.5

[z] 버섯은 표고 또는 느타리버섯을 단용 또는 혼용, 콩나물은: 계절에 따라 숙주 또는 콩나물이용, 전통음식에서는 쇠고기다진 것, 생선전 등이 첨가되기도 함. 달걀은 모두 이용하였다. 밥과 달걀은 조사표에서 제외함

[y] 농촌진흥청. 2009. 한국의 전통 향토음식. 교문사

레시피에 나타난 채소종류별 빈도율(%)조사는 지역이 매우 한정적이었지만 인터넷 등(blog.naver.com 또는 free draw.co.kr)에서 제시되는 비빔밥 레시피 역시 7-8가지로 본 조사와 동일하였다. 방문을 통해 조사한 표1의 결과에서는 취, 고사리, 버섯, 콩나물, 무생채, 죽순 등 6가지가 대표적인데 표 4에서 보면 문헌상으로 취, 고사리, 버섯, 콩나물은 중복되나 도라지는 중복되지 않는다. 따라서 한국적인 산채의 의미를 살리기 위하여 산채비빔밥의 레시피에는 무생채 대신에 도라지를 넣는 것이 좋고 도라지를 무생채로 대치시킬 수 있는 식단을 제안했다. 이상의 조사 결과를 토대로 산채비빔밥 주재료만의 레시피를 다음과 같이 제안하고자 한다. 즉 본 조사에서 나타난 빈도수 50% 이상 5가지를 기본 비빔밥 구성으로 하고 각각

의 계절적으로 대치할 수가 있는 채소와 산채를 제시하여 보았다(표 6). 여기서는 구체적인 양을 제시하지 못했으나, 방문해서 면담했을 때 책에 나온 것 같이 g을 재서 비빔밥을 만드는 것이 아니라 손으로 약간씩 넣기 때문에 주방장의 기술, 식당 내 준비한 산채의 양과 종류에 따라 다르다고 했다. 대체적으로 넣는 양은 20g 내외이나 어떤 품목은 40-50g 정도 넣은 경우도 있었다. 원칙은 비싼 것은 약간 넣고 계절에 많이 시장에 나오며 싼 산채를 좀 많이 넣고 한다고 하였다. 이상 제반 사항을 고려하여 산채 종류만 제시하면 기본채소와 산채 5종류에 2-3가지 산채나 채소를 첨가하는 레시피를 구성하여 제안하고 앞으로 다양한 검토가 요구된다.

표 6. 조사에 근거한 산채 비빔밥 주재료 레시피 제안

래시피 구성요소	채소 및 산채종류[z]	제공량/그릇	비고
필수채소 및 산채	버섯	20g	느타리로 데친 것 사용
	고사리	20g	데친 고사리 사용
	취나물	20g	데친 곰취로 계산
	콩나물	20g	데친 콩나물계산
	도라지	20g	데친 도라지 계산
봄	죽순	20g	데친 죽순 사용
	참나물	20g	생것으로 산출(데친 자료 없음)
여름	호박나물	20g	애호박 데친 것
	고추잎	20g	데친 고구마순
가을	무생채	20g	조선무 생것
	비름나물	20g	데친 비름
겨울	미역취	20g	데친 것 이용
	곤드레(고려엉컹퀴)	20g	데친 것 이용

[z] 현지 식당을 방문해서 조사한 채소 및 산채를 기준으로 필수산채는 앞서 보고에서 제시한 것을 중심으로 하고 계절 채소나 산채는 조사한 것 중 2회 이상 조사된 것을 대상으로 제시

추가로 양념은 크게 산채에 들어가는 산채양념과 고추장 양념으로 대별되는데 문헌상(황 등 2000; 농진청, 2009)으로 나타난 양념을 조사 분석하였다. 조사식당에서는 기본양념에 고추장을 넣는다고만 할 뿐 정보를 주지 않으려 해서 조사를 못했으며 다만 문헌을 통해서 가장 빈도수가 많은 기본 적인 것을 제시하면 표 7과 같다. 산채는 산채 자체에 약간의 양념이 들어가 있으면 소금을 넣지 않지만 간장 이외 약간의 소금을 넣는 경우가 있는데 최근에는 손님들이 짜게 먹지 않아서 필요하면 제공하는 방식을 취하고 식단에 따라 간장, 국간장 등으로 간을 맞춘다고 한다. 고추장 양념도 볶기도 하는데 여기에도 다진 마늘을 넣기도 한다. 지역에 따라 돼지고기나 쇠고기를 넣기도 하며 이들을 고명 상태나 아니면 어느 정도 작은 크기로 익혀서 올려주기도 하는데 그에 따라 가격 다르다. 대체로 산채만 비빔밥을 만들면 7-8000원,

돌솥산채비빔밥은 8-9000, 고기를 넣을 경우는 10000원 수준으로 나타났다.

표 7. 산채 비빔밥에 들어가는 기본양념(황 등 2000: 농진청, 2009)

양 념	재 료
산채양념	참기름1 큰 술, 간장 1 큰 술, 다진 파 1 작은 술, 다진 마늘 1 작은 술
고추장 양념	고추장 2 큰 술, 설탕약간, 통깨 1/2큰 술

4-3. 취나물의 지역별이용, 기능성 및 특허 분석

가. 지역별 취나물의 이용

본 자료는 국립수목원(2009, a, b)에서 조사한 한반도 민속식물 중에 본 연구를 수행하는 오대산, 속리산, 지리산을 포함한 강원, 충청, 전남 지역의 취 이용에 대한 자료를 취합해서 정리하였다(표 8, 9, 10). 참취는 취나물, 나물취, 산취, 넘취 등의 별명을 가지고(표 8) 곰취는 곰추, 나물취(참취와 중복됨), 곰달래라 부르고 전라도만 호미모양으로 잎이 생겼다하여 호미의 사투리 호무를 붙여서 호무취라고 부르는 것이 흥미로웠다(표 9). 수리취는 강원도에서는 수리취, 떡취, 개취 충청도에서는 떡취, 가을취나물, 수리치기, 시루취 전라도에서는 보내쑥, 부추, 보노추, 부싯돌 이용취, 분대, 분추라고 하여서 3가지 취중에 가장 이름이 다양했다. 경상도에서는 수취, 떡추로만 사용된다(표 10). 이용 편을 보면 3종류 취 모두 나물로 먹으며 취와 곰취는 쌈으로 이용되고 수리취는 주로 떡으로 많이 가공해서 이용한다. 수리취는 전라도에서 특이하게 부싯돌의 불붙이는 재료로 사용했는데 면화를 이용하여 부싯돌을 붙이지 못하는 산간지역 주민들이 즐겨 사용했다고 본다. 취의 종류마다 다양한 특허가 있는데 주로 참취와 곰취는 추출물을 이용한 기능성 식품의 개발 방향이나 수리취는 기능성 섬유나 종이의 제품으로 취의 물리성을 이용한 특허가 주를 이루었다.

표 8. 참취(*Aster scaber* Thunb.)의 지역별 명칭, 이용법, 특허(국립수목원, 2009, a, b 발췌정리)

조사사항	강원도	충청도	전라도
지방명	취나물, 추나물, 나물취, 생취	취, 취나물, 나물취, 산취, 넘취	취, 산취, 취나물
식별법	개미취속 중에 잎이 심장형이고 잎자루가 좁은 날개가 있으며 과실은 원추형이다	다년초로 뿌리잎은 심장형. 줄기잎은 어긋나며 밑무분은 날개가 있는 심장형, 양면에 털, 가장자리 톱니. 8-10월	개미취속 식물 중에 잎이 심장형이고 잎자루가 좁은 날개가 있으며 과실은 편편하지 않고 원추형이다

		개화. 꽃은 백색줄기 가지는 산방상으로 갈라지며 전체가 거칠다	
이용법	잎을 삶아서 나물로 먹거나, 말려서 묵나물로 이용. 쌈, 튀김, 부쳄개, 국, 겉절이, 장아찌	봄에 어린잎 쌈, 겉절이, 데치기, 물김치, 데쳐서 먹거나 말려서 묵나물로 먹음. 산 채취 산취. 하우스 재배는 집취	봄철 부드러운 잎을 채취해서 생채, 숙채, 쌈으로 먹고 나물로 이용
특허	• 항고지혈증, 항산화 및 항바이러스 활성을 갖는 참취추출물 및 그로부터 분리된 화합물(No.10-2000-0046816) • 참취 통배추김치의 제조방법(No.10-2007-0020495) • 뇌항산화활성을 가지는 참취추출물(No.10-2003-0047598) • 참취추출물을 함유하는 제초제 조성물 및 이를 이용한 제초방법 (No.10-2007-0058306) • 산채추출을 함유하는 산채음료, 산채음료의 제조방법 및 산채추출물을 분말화한 것을 유효성분으로 함유하는 타블렛의 제조방법 (No.10-2001-0007582)		

표 9. 곰취(*Lagularia fischeri* Turez.)의 지역별 명칭, 이용법, 특허(국립수목원, 2009, a, b 발췌정리)

조사사항	강원도	충청도	전라도
지방명	곰취, 곰추, 곤추, 나물추, 나물취	곰치, 곰달래, 곰추	호무취, 홈취
식별법	총포는 크고 포린은 8개 이상이며 통화는 다수이다. 곤달비에 비하여 잎은 밑이 창모양이 아니라 심장 모양이며 잎 끝이 갑자기 뾰쪽해지지 않고 설상화는 5-9개로 많으므로 구분된다.	깊은 산에 자생하는 다년초로 줄기에 담갈색의 거미줄 같은 털이 발생한다. 잎은 심방형, 가장자리 불규칙 톱니 존재. 꽃은 종모양, 꽃잎 같은 혀꽃 5-9개로 곤달비 1-3개와 차별	총포는 크고 포린은 8개 이상이며 통화는 다수. 곤달비에 비하여 곰취는 잎은 밑이 창모양이 아닌 심장 모양, 잎 끝이 갑자기 뾰쪽해지지 않고 설상화는 5-9개로 많으므로 구분된다.
이용법	봄에 잎을 삶아서 나물과 묵나물로 이용한다. 쌈, 간장장아찌 이용.	어린잎을 삶아서 나물, 쌈 장아찌로 먹거나 말려서 묵나물이용	봄에 어린잎 채취해서 쌈이용 또는 데쳐서 나자
특허	• 산채를 이용한 발효식품의 제조방법(No. 10-2001- 0023298) • 산채김치조성물 및 이의 제조방법(No. 10-2002-0026738) • 항염증작용을 하는 곰취 추출물 및 그 분획물(No. 10-2001-0036462) • 곰취를 이용하는 소스 첨가제의 제조방법(No.10-1998-0019952) • 당귀 또는 황기의 염수추출물을 첨가한 곰취 냉면 및 그 제조방법 (No.10-2007-0086071)		

표 10. 수리취(*Synnurus deltoides* Nakai)의 지역별 명칭, 이용법, 특허 (국립수목원, 2009, a, b 발췌정리)

조사사항	강원도	충청도	전라도
지방명	수리취, 떡취, 개취	떡취, 가을취나물, 수리치기, 시루취	보내쑥, 부추, 보노추, 부싯돌 이용취, 분대, 분추
식별법	큰수리취에 비하여 잎은 난형 또는 난상심장형, 화관통부는 가는 부분의 길이가 넓은 부분의 절반 쯤으로 구분	전국 자생다년초 줄기에 세로로 줄이 있으며 흰털이 많다. 줄기에 달린 잎이 어긋나며 장타원형이다. 자주색 꽃이 원줄기 끝이나 가지 끝에 땅을 향해 달림	큰수리취에 비하여 잎은 난형 또는 난상심장형, 화관통부는 가는 부분의 길이가 넓은 부분의 절반 쯤으로 구분
이용법	봄에 잎 나물이용, 말려서 묵나물 이용, 김치, 쌈, 전, 차, 떡을 만듬	봄에 잎을 따서 나물로 먹거나 말려서 묵나물로 먹고 쌀가루와 섞어서 떡만듬. 뿌리를 삶은 물을 마시면 담에 좋다.	뽐에 부드러운 잎 채취해서 떡만듬. 취나물처럼 데쳐서 나물만듬. 잎을 채취해서 말려 두었다가 잘 비벼서 부싯돌로 쳐서 불을 지피는데 이용
특허	• 쑥 및 수리취를 소재로 한 천연섬유 솜의 제조방법 및 그 제조방법으로 제조된 천연섬유솜(No.10-1994-0025806) • 식물(쑥, 수리취)에서 얻은 천연섬유소를 소재로 한 종이제조 방법 및 그 제조 방법으로 제조된 종이(No.10-1998-0036671) • 수리취 국수 및 이의 제조방법(No.10-2000-0021728) • 수리취 추출물을 유효선분으로 함유하는 항류마티스 효과를 가지는 조성물(No.10-2003-0019847) • 산채현미 쩐빵의 제조 방법(No.10-2009-0013551)		

나. 문헌을 통한 취나물의 기능성 및 효능(한, 2002, 2004, 2006)

참취, 곰취, 수리취는 다양한 기능성성분을 가지고 있는바 중요 물질을 정리해보면 다음 표 11과 같다.

- 참취나 곰취가 4종류 기능성 물질이 보고된 것에 비하여 수리취는 5 종류로 비교적 기능성 성분이 다양함.
- 참취에는 astersaponin, chrysanthemaxantbin, lachnophylloe, taraxanthin 같은 물질이 함유되어있으며 이들은 주로 강장, 진해, 항비만성, 콜레스테롤 저하 등의 효과가 보고됨.
- 곰취에는 caffoylquinic acids, ligularidine, jacobins, amelene 등의 성분이 들어 있으며

기관지의 효과가 보고됨. 그 외 소화촉진, 간기능 증진, 콜레스테롤을 낮추는 역할을 한다(Lewis and Elvin-Lewis, 2003).

- 수리취는 잎의 뒷면이 흰 표피가 있어서 다른 두 종류와 확연히 구별되며, 주성분으로는 bayogenin, diphenyl-2-picryl hydrazyl radical, scopletin,, taraxol, triterpenoids,, ursolic acid 등이 함유되어있는 것으로 보고됨.

표 11. 참취, 곰취, 수리취의 기능성 물질과 효능(Nagano et al. 1993: 한, 2002, 2004, 2006; 박과 김, 2012)

종류	기능성 물질	효능
참취	Astersaponin, Chrysanthemaxantbin Echinocystic acid Lachnophylloe, Prosapogenin Saberoside, Taraxanthin	강장, 진해, 진통, 현기증 예방, 해독 작용, 간 중성지방저하, 항비만성, 혈중 콜레스테롤 저하, 혈액순환 촉진, 요통, 두통, 기침, 만성 변비, 숙취해소, 당뇨예방(5~10g 섭취 시)
곰취	Amelene Caffoylquinic acids Eremoligenol Franoeremophilane Ligularone Liguloxide, Ligulooxidol Jacobins, Petasalbin	폐 건강, 기침, 감기치료, 황달, 고혈압, 간염예방, 항돌연변이성, 콜레스테롤 저하, 유전독성억제 효과, 항산화
수리취	Bayogenin Diphenyl-2-picryl hydrazyl radical Kaurenic acid Kauranol Scopletin, Solidagonic acid Taraxol, Triterpenoids, Ursolic acid,	종창, 지혈, 청독, 해열, 해독, 기관지염, 인후염, 각종 암, 당뇨병, 폐병, 소염, 이뇨, 발진, 부종, 변비

4-4. 산채비빔밥을 통한 기능성 물질 섭취량

가. 연간 Caffeoylquinic acid(CQAs)의 개인별 일별 섭취량 산출

한국농촌경제연구원에(2010)이 매4-5년에 한번 씩 분석하는 식품수급표에 의하면 한국인의

1일 산나물 섭취량은 4.01g 이다(표 2). 2010년 산채 생산량의 44.2%가 취나물이며 취나물의 폐기율이 0%인 것을 감안하여 계산 한 것이 표 12에 제시한 바와 같이 1일 취 섭취량은 1.77g인데 이는 연간 1463.65g에 해당된다. 여기에 조리방법에 따른 함량 변화요인을 감안하면 생취로 쌈을 싸먹는다면 4.80mg의 Caffeoylquinic acids(CQAs)를 섭취하게 된다. 이는 연간 1인당 1752mg을 섭취하는 셈이다. 그러나 3분 데치면 그 양이 대폭 감소되어서 거의 1/14로 감소되어서 섭취량은 0.34mg이고 데치거나 볶는 시간 길어지면 감소폭도 더 크다. 그러나 전자렌지 조리는 감소폭이 작아서 3분 익히면 약 0.78mg로 1/6 정도로 감소하게 된다. 따라서 참취는 어린잎을 따서 쌈으로 먹으면 비타민 C 나 CQAs의 함량을 조리한 것 보다 높아 기능성 성분의 섭취에 유리하다고 사료된다. 다만 조리에 따른 참취 잎의 비타민 C함량이 13mg으로 상추의 수준이나 조리하면 0mg으로 감소된다. 그러나 생 참취의 베타카로틴 1544㎍g에서 데친 참취의 베타카로틴 양은 2032㎍g으로 증가한다 (표 13). 생취를 이용하려면 수확기를 잘 조절해야 하는데, 잎이 성숙하면 각종 알카로이드 계통물질이 많이 형성되어 쌈을 싸먹을 수가 없을 정도로 고미가 증가되기 때문이다. 이와 같은 조리 시 영양성분의 변화는 산채나 채소 분만 아니라 과일 등에서도 많이 알려져 있다(농진청, 2012: 김, 2013).

표 12. 취조리방법별 기능성 물질 (CQAs) 함량변화와 취를 통한 1일 섭취량

조리방법	조리시간	조리방법별 1일 Caffeoylquinic acids(CQAs) 섭취량 변화		
		CQAs(mg/g FW)	취 1일섭취량(g)[Z]	1일 CQAs 섭취량(mg/g FW)
생 곰취	-	2.711	1.77	4.80
데침	3	0.192	1.77	0.34
	5	0.180	1.77	0.32
볶음	3	0.116	1.77	0.21
	5	0.161	1.77	0.28
전자렌지 조리	2	0.206	1.77	0.36
	3	0.442	1.77	0.7

[Z]참취 1인당 1일 섭취량(g/일)= 1일 산채 섭취량(농촌경제연구원, 2010)x 전체 산채생산량에 대한 취나물 점유율 (산림청, 2010)

표 13. 참취의 조리방법별 비타민 함량 변화(농진청, 2012 발췌 정리)

조리상태	베타카로틴(ug)	비타민 B1(mg)	비타민 B2 (mg)	나이아신 (mg)	비타민 c (mg)
생취	1544	0.13	0.16	0.9	13

데친 것	2032	0.03	0.05	0.4	0
마른 것	197	0.03	0.08	3.8	6

전국에서 생산되는 취의 종류별 생산량이 정확하게 집계된 자료가 미비하여 본 조사에서는 최대 연간 생 참취 섭취량 당 1인당 CQAs를 1일 약 4.8mg, 연간 약1,752mg로 섭취량을 추측하였다. CQAs 은 콜레스테롤을 낮추는 효과가 있으므로 정제화한 약품의 개발도 고려할 필요가 있다고 본다. 또한 Lewis와 Elvin-Lewis (2003)는 Asterceae의 약리적 효과를 다양하게 언급하기도 하였다. 박과 김(2012)은 취와 같은 Asterceae의 아티초크의 기능성에 대하여 언급하면서 독일의 경우는 콜레스테롤 저하 약품을 만들어 판매되는 것을 보고한바 있다. 따라서 CQAs의 다양한 기능성 효과를 보다 깊이 연구 홍보하여 소비자의 취 소비 증대와 그에 따른 생산량의 증가를 통한 농가 소득 증대를 가져올 것으로 사료된다.

나. 제안 레시피에 따른 caffeoylquinic acid(CQAs)의 산채비빔밥 한 그릇 당 섭취량 산출

조사에 근거한 제안 레시피(표 6)에서 취나물을 산채비빔밥 한 그릇당 20g 제공할 경우 조리방법에 따른 한 그릇 당 섭취율은 표 14와 같다. 산채 비빔밥에는 생취가 들어가지 않으므로 생취의 함량은 계산하지 않았다. 보통 취를 물에 3-5분정도 데침에 따라 한 그릇에 약 3.60-3.84 mg이 제공되게 된다. 전자렌지에 3분간 조리된 산채는 9.84mg이 제공되나 실제 비빔밥에는 전자렌지 조리를 하지 않으므로 제외하였다. 산채비빔밥 제안 레시피는 앞으로 다양한 검토가 요구되나 대체로 20g 취나물을 넣으면 caffeoylquinic acid 약 3mg 정도 들어가는데 첨가하는 다른 산채의 기능성도 잘 분석하여 제사하면 소비자가 다른 채소에 비하여 농약을 거의 살포하지 않아도 잘 자라는 각종 산나물의 이미지를 잘 알기 때문에 소비확대가 보다 쉬워지리라 사료된다. Park과 Lee(2006)는 국제 원예학회에서 한국의 쌈 문화에 대하여 소개와 더불어 취에 대한 기사를 썼으며 많은 국외 학자들이 관심을 가진 바 세계유일의 산채비빔밥을 보다 홍보하는 것은 국내외 건강 염려군들의 소비를 증대시킬 수가 있으리라 사료된다. 이를 위해서는 산채비빔밥 한 그릇에 들어가는 모든 산채의 기능성을 잘 분석하여 보고한다면 한국을 대표하는 한식으로 자리 매김할 수가 있다고 본다.

이와 같은 제안의 근거는 최근 모든 선진 국가에서 phytochemicals에 대한 식품적 및 약리적인 효과를 가진 제품에 관심이 높기 때문이며(한국약학대학 협의회, 2005: Airley, 2009), 독일의 경우는 암예방을 위한 요리법(Coy, 2010)까지 제시하여 다양한 보건적 식품의 소비를 증대시키고 있는 바 산채비빔밥에 들어가는 산채류의 기능성 분석하여 항암을 위항 레시피 쪽으로 제안하면서 그 연구 결과를 홍보하면 소비를 확대하여 농가 소득을 증대하고 소비자도 건강증진에 크게 도움이 되리라 본다. 본 연구에서는 충분한 시도가 이루어지지 않았지만 산채비빔밥의 영양적인

분석을 제안한 레시피(표 6)에 따라 앞으로 보다 세밀하게 연구할 필요가 있다고 사료된다.

표 14. 취 조리방법에 따른 비빔밥 한 그릇에 들어가는 caffeoylquinic acid 함량

조리방법	조리시간	레시피에 따른 한 그릇 당 CQAs 섭취량 산출		
		CQAs(mg/g FW)	한 그릇 당 취첨가량(g)[z]	한 그릇 당 섭취량(mg/g FW)
데침	3	0.192	20	3.84
	5	0.180	20	3.60
볶음	3	0.116	20	2.32
	5	0.161	20	3.22
전자렌지 조리	2	0.206	20	4.12
	3	0.442	20	9.84

[z] 표 6 제안 레시피에 의거 한 그릇 당 20g을 넣는 경우, 첨가량을 바꿀 경우 양만 넣어서 계산 가능

제3장 연구목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

세부과제명	연구개발의 내용	연구수행내용 및 기여도
취나물 3종의 가공 및 조리방법별 항산화 및 항염증억제 효능 규명	취나물의 조리별 추출법 최적화	- 취나물의 조리방법 및 조리 시간별 추출법을 확립하였음
	가공 및 조리방법에 따른 기능성지표물질의 함량탐색	- 조리방법에 따른 기능성지표물질인 chlorogenic acid의 변화량을 탐색하였음
	취나물의 가공 및 조리별 *in vitro* 항산화 효능	- 취나물의 가공 및 조리별 자유기 소거능을 다각적인 방법으로 구축하였음
	취나물의 조리별 항염증 효능규명	- 대식세포에서의 항염증 효력 시험을 수행하였음
취나물의 지표물질 분석법 확립 및 이의 조리방법에 따른 생체이용율 평가	곰취의 주요 지표물질 정량 및 정성 분석	- 4개의 standard를 분리하는 UPLC-PDA-ESI-MS/MSn 기기 분석법을 확립하였음
	조리방법에 따른 곰취의 주요지표물질 함량 변화 분석	- 조리방법에 따른 곰취의 기능성지표물질인 4종류의 affeoylquinic acid 함량변화를 분석함
	조리방법에 따른 곰취의 주요지표물질 생체접근성 평가	- 조리방법에 따른 곰취의 기능성 지표물질인 4종류의 caffeoylquinic acid 생체접근성을 *in vitro* digestion model system을 이용하여 수행하였음
취나물의 조리방법별 레시피 조사 및 문헌을 통한 기능성물질 함량 조사	한국인의 취나물 개별 섭취량 조사	- 취의 산채재배 면적조사 및 생산량 1인당 산채와 취의 연간 및 1일 섭취량 산출
	지역별, 계절별 산채비빔밥 레시피 조사 및 레시피 제안	- 지역별, 계절별 산채비빔밥 레시피 조사 및 레시피 제안
	산채비빔밥을 통한 기능성 물질 섭취량	- 취나물의 연간 1인당 기능성물질(caffeoylquninic acid) 섭취량 및 제안 레시피에 따른 한 그릇 당 섭취량 제시

제4장 연구개발결과의 활용계획

- ○ 한식의 주된 구성 식품인 나물 중 소비량이 가장 많은 취나물의 3종류의 산채의 기능성 지표성분을 분석하고 항산화 및 항염증 효능을 규명함으로서 산채의 우수성 및 건강기능성의 과학적 규명에 이바지 할 것으로 사료됨
- ○ 취나물은 지역별, 계적별로 쓰이는 취나물의 레시피 및 조리법이 상이 하므로 다양한 지역과 계절에 따른 취나물의 종류 및 표준 레시피 분석과 취나물 섭취 시 제공되는 취나물 종류와 그에 따른 기능성 지표물질의 종류를 조사함으로서 다양한 취나물요리에 적용 할 수 있을 것으로 사료됨
- ○ 분석된 취나물의 기능성지표물질이 산채섭취 형태와 양에 따라 생체이용률에 변화가 있으므로 생체모방시스템을 이용한 생체이용률 분석을 통해 기능성 물질의 다른 건강기능에 대한 과학적 근거를 확보 할 수 있음
- ○ 취나물 섭취량과 기능성 물질(caffeoylquinic acid) 섭취량의 양적 관계가 모호하므로 문헌을 통해 산채종류와 기능성 물질 종류의 관계를 조사하고, 섭취량과 기능성 물질의 양적 상관관계를 조사하고 생체이용률과 기능성 물질과의 양적 상관관계를 제시하므로 기능성지표물질의 체내 실제이용량 에 대한 기초자료를 제공 할 수 있음
- ○ 이를 토대로 체계적이고 적극적인 산채 마케팅 및 홍보전략 수립
- ○ 산채나물의 우수성을 과학적으로 규명하고 홍보하여 세계에 한식의 우수성을 알리고 산채나물의 지속적 수요 창출로 인해 경작 확대를 통한 안정적인 농가 수익 증대를 기대할 수 있음
- ○ 도시농업 관련 교육, 귀농교육, 농가소득증대를 위한 교육 등에서 취나물의 기능성에 대한 강의를 하면서 본 연구 내용을 소개하고 아울러서 원예 산업신문, 농민신문 등에 기회가 있을 때 마다 취나물의 기능성 산채 비빔밥의 영양가 등에 대하여 홍보하고 자함
- ○ 산채비빔밥의 레시피를 제안하여 공론화를 통한 다양한 레시피 표준화 준비를 하고 보다 체계적으로 영양성분에 대한 후속 연구를 통하여 산채 비빔밥의 우수성을 국내외에 홍보하고자 함
- ○ 본 연구에서 나온 취나물내의 caffeoylquinic acid의 항산화, 항염증, 콜래스테롤 저하효과 등의 연구결과를 강원도 산채연구소, 충북기술원 및 전남 가술원에 농민 교육용으로 사용하는데 자료로 제공하여 생산자 스스로 취의 효능을 인지하고 찾는 소비자에게 홍보
- ○ 국제학회에 발표하여 한국인이 식용하는 취나물의 건강기능성과 가장 많이 섭취할 수 있는 산채비빔밥을 이용하도록 홍보할 필요가 있으며 본 연구 참여연구자 분 만아니라 산채 연구자 모두가 공동 노력을 경주할 필요가 있다고 봄

제5장 참고문헌

- 국립수목원. 2009 a. 한반도 민속식물(강원, 충북, 전남, 경남, 남해도서 중 참조)
- 국립수목원. 2009 b. 한반도 민속식물(강원도, 충청도, 전라도, 경상도)
- 김숙희 2013. 조리의 기초영양학. 2013, 대왕사
- 김태정. 한국의 식물자원. 1999. 서울대학교 출판부
- 김현주 외. 국내문선에 나타난 항균, 항산화, 항암 및 항당뇨성 산채의 종류와 내용. 2007. 한국인간 · 식물 · 환경학회, 10: 44-69
- 농촌진흥청. 1999. 산채류
- 농촌진흥청. 2009. 한국의 전통 향토음식. 교문사
- 농촌진흥청. 2012. 2011 표준 식품성분표.
- 박권우, 김건희. 2012. 기능성채소 및 과일. 선진문화사
- 박권우, 류경오. 2000. 기능성채소. 도서출판 허브월드
- 박진아, 김미경. 한국고유의 산채류 첨가식이아 흰주의 지방대사 및 항산화능과 cadmium 제독에 미치는 영향. 1999. 한국영양학회지. 32:353-368
- 박철호, 이기철. 1991. 식용산채 생산론. 선진문화사
- 박희준. 산채의 약리작용. 2011. 식품저장과 가공산업. 10:18-24
- 보건복지부, 2013. 국민 건강 통계 2012
- 산림청. 2010. 임업통계연보.
- 서종택. 특집: 2011. 한국산채산업 현황 및 향후전망. 식품저장과 가공산업, 10: 3-9
- 이승은, 성낙술, 정태영, 최미연, 윤은경, 정유진. 2001. 참취분말이 에탄올을 투여한 흰쥐의 항산화계에 비치는 효과. 30: 1215-1219
- 정재홍, 권미신, 김명선 외 2009. 한국조리. 형설
- 한국농촌경제연구원. 2010. 식품수급표
- 한국영양학회. 2011. 파이토뉴트리언트 영양학. 라이프사이언스
- 한국약학대학 협의회. 2005. 건강기능성 식품학. 신일상사
- 한용봉. 2002. 한국야생 식용식물자원 I. 고려대학교 출판부
- 한용봉. 2004. 상용식용식물 I. 고려대학교 출판부
- 한용봉. 2006. 상용 식용식물 II. 고려대학교 출판부.
- 함승시. 2004. 산나물 항암&건강법 .Human & Books
- 황해성, 한복려, 한복선, 정라나. 2000. 한국의 전통음식. 교문사

Adrian JP, Bolwell GP. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J Sci Food Agric* 80: 985-1012 (2000)

Airley R. Cancer chemotherapy. Wiley-Blackwell (2009)

Amin I, Lee WY. Effect of different blanching times on antioxidant properties in selected cruciferous vegetables. *J Sci Food Agric* 85: 2314-2320 (2005)

Andlauer W, Stumpf C, Hubert M, Rings A, Furst P. Influence of cooking process on phenolic marker compounds of vegetables. *Int J Vitam Nutr Res* 73: 152-159 (2003)

Bae JH YS, Kim YM, Chon SU, Kim BW, Heo BG. Physilogical activity of methanol extracts form and their hyperplasia inhibition activity of cancer cell. *J Bio Environ Control* 18: 67-73 (2009)

Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200 (1958)

Borneo R, Leon AE. Whole grain cereals: functional components and health benefits. *Food Funct* 3: 110-119 (2012)

Bunea A, Andjelkovic M, Socaciu C, Bobis O, Neacsu M, Verhe RCamp JV. Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (Spinacia oleracea L.). *Food Chemistry*108: 649-656 (2008)

Cefarelli G, D'Abrosca B, Fiorentino A, Izzo A, Mastellone C, Pacifico SPiscopo V. Free-radical-scavenging and antioxidant activities of secondary metabolites from reddened cv. Annurca apple fruits. *J Agric Food Chem* 54: 803-809 (2006)

Choi ED, Y.N Guyen, HT.Park, SH.Kim, YH. Antioxidant activity of Gomchi (*Ligularia fischeri)* leaves. *Food Science and Biotechnology* 16: 710-714 (2007)

Choi EM Suh KS. Ligularia fischeri leaf extract suppresses proinflammatory mediators in SW982 human synovial cells. *Phytother Res* 23: 1575-1580 (2009)

Choi EM. Ligularia fischeri leaf extract prevents the oxidative stress in DBA/1J mice with type II collagen-induced arthritis. *J Appl Toxicol* 27: 176-182 (2007)

Choi J, Park JK, Lee KT, Park KK, Kim WB, Lee JH, Jung HJPark HJ. In vivo antihepatotoxic effects of Ligularia fischeri var. spiciformis and the identification of the active component, 3,4-dicaffeoylquinic acid. *J Med Food* 8: 348-352 (2005)

Coy, F. Das Anti-Krebs Kochbuch. GU. (2010)

Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 52:

794-804 (2004)

dos Santos MD, Chen G, Almeida MC, Soares DM, de Souza GE, Lopes NP,Lantz RC. Effects of caffeoylquinic acid derivatives and C-flavonoid from Lychnophora ericoides on in vitro inflammatory mediator production. *Nat Prod Commun* 5: 733-740 (2010)

Francisco V, Costa G, Figueirinha A, Marques C, Pereira P, Miguel Neves B, Celeste Lopes M, Garcia-Rodriguez C, Teresa Cruz M, Teresa Batista M. Anti-inflammatory activity of Cymbopogon citratus leaves infusion via proteasome and nuclear factor-kappaB pathway inhibition: contribution of chlorogenic acid. *J Ethnopharmacol* 148: 126-134 (2013)

Ganiyu O. Effect of blanching on the antioxidant properties of some tropical green leafy vegetables. *LWT-Food Sci Tech* 38:513-517 (2005)

Garcia MC, Puchalska P, Esteve C,Marina ML. Vegetable foods: a cheap source of proteins and peptides with antihypertensive, antioxidant, and other less occurrence bioactivities. *Talanta* 106: 328-349 (2013)

Han C. Screening of anticarcinogenic ingredients in tea polyphenols. *Cancer Lett* 114: 153-158 (1997)

Jimenez-Monreal AM, Garcia-Diz L, Martinez-Tome M, Mariscal M, Murcia MA. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J Food Sci* 74: H97-H103 (2009)

Jin Kim , Hyun-Sook Kim. The Immunomodulating Effects of Aster Scaber THUNB Extracts in Mice. *Nutritional Sciences* :4; 203-210 (2002)

Kenny OO'Beirne D. The effects of washing treatment on antioxidant retention in ready-to-use iceberg lettuce. *International Journal of Food Science and Technology* 44: 1146-1156 (2009)

Kim SM, Jeon JS, Kang SW, Jung YJ, Ly LNUm BH. Content of antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in field-grown Ligularia fischeri (Ledeb.) Turcz and responses to sunlight. *J Agric Food Chem* 60: 5597-5603 (2012)

Kim SM, Kang, S.W, Um, B.H. Extraction conditions of radical scavenging caffeolyquinc acids from gomchui (*Ligularia fischeri*) Tea. *Journal of Korea Society Food Science and Nutrition* 39: 399-405 (2010)

Krul C, Luiten-Schuite A, Tenfelde A, van Ommen B, Verhagen H, Havenaar R. Antimutagenic activity of green tea and black tea extracts studied in a dynamic in vitro gastrointestinal model. *Mutat Res* 474: 71-85 (2001)

Lee BI, Nugroho A, Bachri MS, Choi J, Lee KR, Choi JS, Kim WB, Lee KT, Lee JDPark HJ. Anti-ulcerogenic effect and HPLC analysis of the caffeoylquinic acid-rich extract from Ligularia stenocephala. *Biol Pharm Bull* 33: 493-497 (2010)

Lee KH, Choi EM. Analgesic and anti-inflammatory effects of Ligularia fischeri leaves in experimental animals. *J Ethnopharmacol* 120: 103-107 (2008)

Lee, J. M., K. W. Park. Vegetable production and consumption in Korea. *Chronica Hort* 46:29-32 (2006)

Lewis, Q. H., M. P. F. Elvin-Lewis. Medical botany. John Wiley &Sons (2003)

Lin C-HChang C-Y. Textural change and antioxidant properties of broccoli under different cooking treatments. *Food Chemistry* 90: 9-15 (2005)

Makris DP, Rossiter JT. Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa)* and asparagus spears (Asparagus officinalis): effect on flavonol content and antioxidant status. *J Agric Food Chem* 49: 3216-3222 (2001)

Manzocco L, Calligaris S, Masrrocola D, Nicoli MC, Lerici CR. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci Tech* 11: 340-346 (2000)

Miglio C, Chiavaro E, Visconti A, Fogliano V,Pellegrini N. Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. *J Agric Food Chem* 56: 139-147 (2008)

Miglio C., Chiavaro E., Visconti A., Fogliano V., Pellegrini N. Effect of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables, *J Agric Food Chem* 56:139-147 (2008)

Nagano, T., R. Tanaka, Y. Iwase, H. Okabe. Studies on tne constotuents of Aster scaber Thunb. IV. Structures of four new echinocystic acid glycosides isolated from the herb. *Chem. Pharm. Bull* 41:659-665 (1993)

Natella F., Belelli F., Ramberti A., Scaccini C. Microwave and traditional cooking methods : effect of cooking on antioxidant capacity and phenolic compounds content of seven vegetables, *J Food Biochem*, 34:796-810 (2009)

Nicoli MC, Anese M, Parpinel M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetalbes. Trends Food Sci Tech 10: 94-100 (1999)

Nugroho A, Lee KR, Alam MB, Choi JS, Park HJ. Isolation and quantitative analysis of peroxynitrite scavengers from *Artemisia princeps* var. orientalis. *Arch Pharm Res* 33:703-708 (2010)

Ouedraogo O., Amyot M. Effect of various cooking methods and food components on bioaccessibility of mercury from fish, *Environ Res* 111(8):1064-9 (2011)

Park JH, Son KH, Kim SW, Chang HW, Bae K, Kang SS, Kim HP. Antiinflammatory activity of *Synurus deltoides*. *Phytother Res* 18(11):930-3 (2004)

Park, K. W., J. M. Lee. Wrap-ups: A unique method of vegetable usage and consumption in Korea. *Chronica Hort* 46: 12-15(2006)

Piao XL, Mi XY, Tian YZ, Wu Q, Piao HS, Zeng Z, Wang DPiao X. Rapid identification and characterization of antioxidants from *Ligularia fischeri*. *Arch Pharm Res* 32: 1689-1694 (2009)

Podsedek A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Science and Technology* 40: 1-11 (2007)

Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53: 4290-4302 (2005)

Seo CS, Lee MY, Shin IS, Lee JA, Ha HShin HK. Spirodela polyrhiza (L.) Sch. ethanolic extract inhibits LPS-induced inflammation in RAW264.7 cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 34: 794-802 (2012)

Shang YF, Kim SM, Song DG, Pan CH, Lee WJ, Um BH. Isolation and identification of antioxidant compounds from Ligularia fischeri. *J Food Sci* 75: C530-535 (2010)

Slavin JL, Lloyd B. 2012. Health benefits of fruits and vegetables. Adv Nutr 3: 506-516.

Terashima M, Inoue N, Ohashi Y, Yokoyama M. Relationship between coronary plaque formation and NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species - comparison of intravascular ultrasound finding of atherosclerotic lesions with histochemical characteristics. *Kobe J Med Sci* 53: 107-117 (2007)

Yamaguchi T, Mizobuchi T, Kajikawa R, Kawashima H, Miyabe F, Terao J, Takamura H. Mathoba T. Radical-Scavenging activity of vegetables and the effect of cooking on their activity. *Food Science and Technology Research* 7: 250-257 (2001)

Yang YZ, Tang YZLiu YH. Wogonoside displays anti-inflammatory effects through modulating inflammatory mediator expression using RAW264.7 cells. *J Ethnopharmacol* 148: 271-276 (2013)

Young G, Jolly P. Microwaves: the potential for use in dairy processing. *Australian Journal of Dairy Technology* 45: 34-37 (1990)

Yu T, Ahn HM, Shen T, Yoon K, Jang HJ, Lee YJ, Yang HM, Kim JH, Kim C, Han MH, Cha SH, Kim TW, Kim SY, Lee J, Cho JY. Anti-inflammatory activity of ethanol extract derived from Phaseolus angularis beans. *J Ethnopharmacol* 137: 1197-1206 (2011)

Zhang D. Hamauzu Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry* 88: 503-509 (2004)