

발 간 등 록 번 호

11-1543000-000510-01

산채나물을 활용한 전통요리의 기능성 규명연구

Elucidation of health functionality (improvement of metabolic syndrome)
of Korean traditional dish composed of various sanchae-namuls

연 구 기 관
인 제 대 학 교

농 립 축 산 식 품 부

최종보고서

산채나물을 활용한 전통요리의 기능성 규명연구

Elucidation of health functionality (improvement of metabolic syndrome) of Korean traditional dish composed of various sanchae-namuls

연구기관
인제대학교

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “산채나물을 활용한 전통요리의 기능성 규명연구”에 대한 최종보고서로 제출합니다.

2014년 9월 30일

주관연구기관명: 인제대학교

연구책임자: 김정인

협동연구기관명: 인하대학교

연구책임자: 최은옥

책임연구원: 정라나(경희대학교)

협동연구기관명: 중앙대학교

연구책임자: 어중혁

연 구 진

연구기관명 : 인제대학교

연구책임자 : 김정인

연 구 원 : 최하늘

연 구 원 : 이수진

연 구 원 : 강수정

연 구 원 : 이아연

연구기관명 : 인하대학교

책임연구원 : 최은옥

책임연구원 : 정라나(경희대학교)

연 구 원 : 양정은

연 구 원 : 안해천

연 구 원 : 김정하

연 구 원 : 오보영

연 구 원 : 강경창

연구기관명 : 중앙대학교

책임연구원 : 어중혁

연 구 원 : 권도단

연 구 원 : 김경득

연 구 원 : 조영희

연 구 원 : 김경현

연 구 원 : 김성률

연 구 원 : 김송희

연 구 원 : 강원석

요 약 문

I. 제 목

산채나물을 활용한 전통요리의 기능성 규명연구 (Elucidation of health functionality (improvement of metabolic syndrome) of Korean traditional dish composed of various sanchae-namuls)

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 21세기 이후 문화가 국가 경쟁력의 주요한 비중을 차지하면서 음식과 음식 문화는 국가이미지 상품으로 자리 잡게 되었으며, 세계 각국은 자국 음식의 산업화와 세계화를 전략적으로 육성하기 위한 노력을 경주하고 있으나 한식에 대한 세계인의 인식은 일본, 중국, 프랑스, 태국 음식에 비해 많이 부족한 편임.
- 산채는 환경적응성이 매우 낮아 특수한 환경조건에서만 생육이 가능하여 재배가 어려움. 또한 저장성이 낮아 장기간 보관이 쉽지 않음. 따라서 산채는 집중 출하되는 4-6월에 생채(fresh *sanchae*)로 공급되기도 하지만, 대부분 건조시켜 장기간 보관이 용이한 묵나물 형태로 연중 공급될 수 있음. 따라서 일정 시기에 집중 출하되는 다른 채소들과는 달리 산채는 저장 및 가공(건조)이 잘 이루어진다면, 연중 수급될 수 있는 유용한 식물 자원이며 재배 농가의 안정된 수익 확보에도 크게 기여할 수 있는 농림자원임.
- 산채나물을 이용한 음식으로 산채 비빔밥, 산나물 잡채, 산채나물밥 등은 선호도가 높음. 산채 비빔밥은 여러 가지 산채나물을 얹어 먹는 비빔밥으로 다양한 산채들을 한 번에 맛 볼 수 있는 대표적인 산채 음식임. 산채밥은 양념한 산채나물들을 쌀 위에 얹어 조리한 밥으로, 곤드레 나물밥, 미역취 나물밥, 삼나물밥 등 묵나물을 사용하여 다양한 맛과 향을 가진 밥으로 만들어 먹을 수 있음.
- 산채나물은 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증, 심·뇌혈관계질환 등의 생활습관병에 효과가 있는 사례들이 보고되었으나, 그 기능성을 과학적으로 입증한 연구는 부족함. 산채류의 건강기능성에 대한 연구는 도라지, 고사리, 참취, 곰취류의 *in vitro* 항산화, 항돌연변이 활성, 항암 연구에 집중되어왔으며, 대사증후군, 당뇨병, 심·뇌혈관계질환 개선효과에 대한 연구는 미비한 실정임. 또한 산채의 *in vivo* 대사증후군 개선효과에 대한 연구는 주로 도라지의 효능에 국한되어 있으며, 그 외 산채류의 대사증후군 개선효과 연구는 매우 부족한 실정임.
- 산채는 채취하여 바로 먹는 생채의 형태로도 소비되지만, 대부분은 묵나물 형태로 공급되고 있는데, 묵나물은 물에 불린 후 삶아서 물에 우려내기를 한 후 섭취해야 하는 조리 특성을 가지고 있음. 따라서 산채에 대한 기능성 연구는 시금치, 마늘,

배추 등 일반 채소의 기능성 연구와는 다른 접근 방법이 도입되어야 함. 그러나 대부분의 산채의 기능성에 대한 연구는 생시료 또는 조리 전 상태의 묵나물 추출 물을 제조하여 수행되었고, 산채류의 음식으로서의 기능성을 규명하기보다는 산채류를 생약성분의 급원으로 연구하는 약학적인 접근이 대부분이었음. 그러나 산채류의 기능성을 규명하여 한식의 우수성을 입증하기 위해서는 실제로 섭취하는 형태인 산채나물(요리)의 효능을 규명하여야 할 것임.

- 따라서 본 연구에서는 선행연구 결과 *in vitro*에서 대사증후군 개선활성이 우수하며, 산채비빔밥의 재료로 사용되기에 적합한 것으로 나타난 참나물(생채)과 묵나물 형태의 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물 등 산채류의 조리과정 전, 후 및 부재료 첨가에 의한 기능성 성분 및 생리활성 변화를 조사하고, 원재료 및 조리된 상태의 산채나물의 기능성(대사증후군 개선효과)을 동물실험으로 규명하며, 작용기작을 규명하고, 기능성 유효 활성 물질을 대사체학적 접근 방법을 이용하여 규명하고자 함.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

- 제 1세부 과제: 산채나물의 *in vivo* 기능성(대사증후군 개선) 연구

- (1) 인슐린 저항성을 유도한 마우스에 있어서 산채나물의 대사증후군 개선 효과
 - ① 비만 개선효과, 식이지방 흡수율 조사
 - ② 내당능 및 인슐린 저항성 개선효과, 혈당 조절효과 조사
 - ③ 이상지질혈증 개선효과 조사
 - ④ 고혈압 개선효과 조사
 - ⑤ 소장 점막의 탄수화물 소화효소 활성 조사
 - ⑥ 간조직의 지질과산화물, 글루타치온, 항산화 효소계 활성 조사
- (2) db/db 마우스에 있어서 산채나물의 비만 및 당뇨병 개선효과
 - ① 비만 개선효과 조사
 - ② 혈당 및 인슐린 저항성 개선효과 조사
 - ③ 혈청 지질 profile 분석
 - ④ 비알콜성 지방간 개선효과 조사
 - ⑤ 항산화능 개선효과 조사
 - ⑥ 항염증 효과 조사

- 제 2세부 과제: 산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 기능성 연구

- (1) 산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 건강기능(항당뇨) 활성
 - ① 산채의 영양성분 등 이화학적 특성 및 *in vitro* 기능성
 - ② 산채의 저장(건조) 조건(빛 등)에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분

평가

- ③ 조리 전 전처리 단계에 따른 산채의 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가
- ④ 산채나물 레시피 표준화 및 전문가 FGI(focus group interview)를 통한 검증
- ⑤ 산채(삼나물)의 조리과정(가열시간 및 온도 등) 및 들기름 첨가에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가

(2) 산채나물의 식품 기능적 특성 및 *in vitro* 항산화, 항염증 활성

- ① 산채의 저장(건조) 조건(빛 등)에 따른 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가
- ② 조리 전 전처리 단계에 따른 산채의 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가
- ③ 조리과정(가열시간 및 온도 등) 및 들기름 첨가에 따른 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가
- ④ 산채나물 이용 음식의 배합비 설정

● 제 3세부 과제: 산채나물 유래 기능성 활성성분 규명 연구

(1) 산채 함유 항당뇨 대사체 추출 및 분석 기반 확립

- ① 산채나물 함유 항당뇨 유용 대사체 추출법 확립
- ② Prep-LC를 이용한 항당뇨 유용성분 분리법 확립
- ③ LC-MS/MS 기반 산채 유래 대사체 분석법 확립 및 유용 대사체 분석

(2) 산채 함유 항염증 활성성분의 분리 및 규명

- ① 산채 유래 항염증 대사체의 분리를 위한 최적 추출 조건 확립
- ② Prep-LC를 이용한 항염증 유용성분 분리법 확립
- ③ LC 기반 산채나물의 유용 성분 분석법 확립

- 본 연구는 ‘산채나물의 *in vivo* 기능성(대사증후군 개선) 연구’, ‘산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 기능성 연구’, ‘산채나물 유래 기능성 활성성분 규명 연구’의 3개의 세부과제로 구성되었음.

IV. 연구개발결과

● 제 1세부 과제: 산채나물의 *in vivo* 기능성(대사증후군 개선) 연구

(1) 고지방·고단순당으로 인슐린 저항성을 유도한 마우스에 있어서 산채나물의 대사증

후군 개선 효과 규명

① 비만 개선효과, 식이지방 흡수율 조사

- C57BL/6J mice를 네 군으로 나누어 대조군에게는 기본식이를, 고지방·고단순당 (High-fat, high-sugar, HFHS)군에게는 고지방·고단순당(HFHS)식이를, 참나물 추출물군에게는 참나물 추출물 0.5%를 첨가한 식이를, 참나물 무침군은 동결건조한 참나물 무침 분말 4%를 첨가한 식이를 12주간 제공하였다.
- C57BL/6J mice를 세 군으로 나누어 대조군에게는 기본식이를, HFHS군에게는 HFHS식이를, 혼합 산채나물군에게는 동결건조한 혼합 산채나물요리(참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물) 분말 4%를 첨가한 식이를 12주간 제공하였다.
- HFHS식이 섭취 동물에 있어서 참나물 추출물, 참나물 무침, 혼합 산채나물의 섭취는 체중과 체지방에 유의적인 영향을 주지 않았다. 혼합 산채나물군의 분변 중 성지방 및 콜레스테롤 함량은 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였다.

② 내당능 및 인슐린 저항성 개선효과, 혈당 조절효과 조사

- 참나물 추출물, 참나물 무침, 혼합 산채나물은 혈당, 인슐린, 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR을 HFHS군에 비해 유의적으로 감소시켜, 인슐린 저항성과 고혈당 개선효과가 우수한 것으로 나타났다.

③ 이상지질혈증 개선효과 조사

- 혼합 산채나물군의 혈청 중성지방 농도는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 참나물 추출물, 참나물 무침, 혼합 산채나물의 섭취는 혈청 콜레스테롤, 유리 지방산 농도, 동맥경화지수를 HFHS군에 비해 유의적으로 감소시켰다. 따라서 참나물 추출물, 참나물 무침, 혼합 산채나물은 HFHS식으로 유도된 이상지질혈증을 개선하는 효과를 나타내었다.

④ 고혈압 개선효과 조사

- 참나물 추출물, 참나물 무침, 혼합 산채나물은 수축기 혈압을 HFHS군에 비해 감소시키는 경향을 보였으나 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

⑤ 소장 점막의 탄수화물 소화효소 활성 조사

- 참나물 추출물, 참나물 무침, 혼합 산채나물은 HFHS 식이를 섭취하는 마우스에 있어서 소장 점막 maltase와 sucrase 활성에 유의적인 영향을 주지 않았다.

⑥ 간조직의 지질과산화물, 글루타치온, 항산화 효소계 활성 조사

- 참나물 추출물 및 혼합 산채나물의 섭취는 HFHS군에 비해 간조직의 지질과산화물 농도를 유의적으로 감소시키고, catalase(CAT) 및 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성을 증가시켰으며, 혼합 산채나물은 글루타치온 농도를 증가시켰다. 참나물 추출물 및 참나물 무침, 혼합 산채나물은 superoxide dismutase(SOD) 활성을 HFHS군에 비해 유의적으로 증가시켰다.
- 참나물 추출물 및 참나물 무침, 혼합 산채나물은 혈청 IL-6 농도를 HFHS군에 비해 유의적으로 감소시켰다. 참나물과 혼합 산채나물은 항산화능을 개선하고 항염증 효과를 나타내어 인슐린 저항성을 개선하고, 따라서 대사증후군을 개선하는데

기여하는 것으로 사료된다.

(2) db/db 마우스에 있어서 산채나물의 비만 및 당뇨병 개선효과 규명

① 비만 개선효과 조사

- db/db mice를 네 군으로 나누어 대조군에게는 대조식이를, 다래순군 및 참나물군, 혼합 산채나물군에게는 각각 동결건조한 다래순(묵나물 형태로 구입한 후 전처리한 상태), 참나물(생으로 구입하여 데친 상태), 혼합 산채나물요리(참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물로 구성된 나물요리) 분말을 4% 수준으로 첨가한 식이를 7주간 제공하였다. 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 체중과 체지방에 유의적인 영향을 주지 않았다.

② 혈당 및 인슐린 저항성 개선효과 조사

- 다래순군 및 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈당, 당화혈색소 농도, HOMA-IR은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 혼합 산채나물군의 혈청 인슐린은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 다래순군, 혼합 산채나물군의 혈청 아디포넥틴은 대조군에 비해 증가하였다. 따라서 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 인슐린 저항성 개선효과와 고혈당 완화효과를 나타내었다.

③ 혈청 지질 profile 분석

- 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈청 중성지방 농도, 동맥경화지수는 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 다래순군, 혼합 산채나물군의 혈청 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 감소하였다. 따라서 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 제2형 비만당뇨동물모델에 있어서 이상지질혈증을 개선하는 효과를 나타내었다.

④ 비알콜성 지방간 개선효과 조사

- 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 총 지질 및 중성지방, 콜레스테롤 함량과 혈청 GOT 및 GPT 활성은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 따라서 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 비알콜성 지방간 개선효과를 나타내었다.

⑤ 항산화능 개선효과 조사

- 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 지질과산화물 농도는 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 간조직 CAT, GSH-Px 활성은 유의적으로 증가하였다. 다래순군, 혼합 산채나물군의 간조직 SOD 활성은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 따라서 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 산화적 스트레스를 완화시키는 것으로 나타났다.

⑥ 항염증 효과 조사

- 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈청 TNF- α 및 MCP-1 농도와 간조직 TNF- α 및 MCP-1 농도는 대조군에 비해 유의적으로 감소하여, 항염증 효과를 나타내었다. 다래순, 참나물, 혼합 산채나물은 비만형 제2형 당뇨 동물모델에 있어서 항산화능을 개선하고 염증성 cytokine들을 감소시켜 인슐린 저항성을 개선하고, 따라서 당뇨병과 비알콜성 지방간질환을 개선하는데 기여하는 것으로 사료된다.

- 제 2세부 과제: 산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 기능성 연구
 - (1) 산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 건강기능(항당뇨) 활성
 - ① 산채의 영양성분 등 이화학적 특성 및 *in vitro* 기능성
 - 참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물은 식이섬유가 30% 이상, 지방 함량은 3% 미만인 저열량 식품으로 무기질, 폴리페놀, 플라보노이드 함량이 비교적 높았다.
 - 항당뇨 활성 지표로서의 α -glucosidase 저해활성은 삼나물>참나물>다래순>방풍나물>미역취, 항비만 활성 지표로서의 pancreatic lipase 저해활성은 참나물에서 63.5%로 가장 높았고, 다래순>방풍나물>삼나물>미역취 순이었다.
 - ② 산채의 저장(건조) 조건(빛 등)에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가
 - 생채 삼나물을 데친 후 건조하였을 때 플라보노이드, 폴리페놀, 토코페롤 함량은 유의하게 감소하였으며, 빛은 큰 영향을 나타내지 않았다.
 - 산채의 항당뇨 활성(α -glucosidase 저해활성)은 데치기 및 건조 공정에 의해 영향을 받지 않았으나, 항비만 활성(pancreatic lipase 저해활성)은 데치기 공정에서만 유의하게 감소하였다.
 - ③ 조리 전 전처리 단계에 따른 산채의 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가
 - 묵나물을 물에 불리고 우리고 삶는 전처리 과정에 의해 플라보노이드, 폴리페놀 함량은 유의하게 감소하였으며, 지용성인 토코페롤 함량은 잠시 증가하였지만 계속적인 불림, 삶음, 우림 과정 후에는 묵나물과 큰 차이를 보이지 않았다.
 - α -glucosidase 저해활성과 pancreatic lipase 저해활성은 묵나물의 찬물 불림과 삶음 과정에서 유의하게 감소하였으나 이후 1시간 우림 과정은 저해활성에 유의한 변화를 주지 않았다.
 - ④ 산채나물 레시피 표준화 및 전문가 FGI(focus group interview)를 통한 검증
 - 전문가 관능검사 결과 묵나물의 조리 전 전처리 조건으로 16시간 찬물 불림, 30분 삶음, 1시간 우림이 선정되었다. 또한 묵나물과 생나물 조리에서는 각각 들기름과 참기름 첨가(20 g/200 g)가 향미 기호도 점수를 높였다.
 - 산채나물의 관능 특성 분석 결과, 제 1 주성분(PC1)과 제 2 주성분(PC2)이 각각 총 변동의 63.99%와 12.89%를 설명하였다. 미역취, 다래순, 방풍나물은 초록색, 표면의 거친 정도, 아린 맛, 쓴맛, 무맛, 짙은 뒷맛, 입 안 잔여감, 거친 식감 등을, 삼나물은 기름지고, 촉촉하며, 감칠맛이 나고, 부드러우며, 콘 스프 맛의 특성을 주로 나타내었다.
 - 묵나물의 관능 특성들과 소비자 기호도 간의 관련성을 통해 산채나물의 선호 및 방향결정 요인의 분석 후 각 산채나물의 레시피를 표준화 하였다.
 - ⑤ 산채(삼나물)의 조리과정(가열시간 및 온도 등) 및 들기름 첨가에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가
 - 전처리된 삼나물은 가열 조리 후 플라보노이드, 폴리페놀 함량이 유의하게 감소하

였으나, 들기름을 첨가하여 가열 조리한 경우에는 이들 화합물 함량이 증가하였다.

- 향당노와 항비만 활성은 가열과 들기름 첨가에 따른 유의한 영향이 관찰되지 않았다.

(2) 산채나물의 식품 기능적 특성 및 *in vitro* 항산화, 항염증 활성

① 산채의 저장(건조) 조건(빛 등)에 따른 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가

- 생 삼나물을 데친 후 건조하였을 때 카로티노이드, 클로로필 함량은 유의하게 감소하였으나 빛의 존재는 이들 변화에 유의한 영향을 나타내지 않았다.
- 항산화 활성 지표로서의 DPPH 라디칼 저해활성은 빛의 존재와 건조 기간에 관계 없이 매우 높았으나, 질산염 소거 활성은 건조에 의해 유의하게 감소하였으며, 빛은 이를 더욱 촉진하였다. 항염증 활성은 데침, 건조에 의해 감소하였으며, 건조시 빛의 존재는 항염증 활성의 감소를 완화시켰다.

② 조리 전 전처리 단계에 따른 산채의 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가

- 묵나물의 전처리는 카로티노이드 함량을 감소시키고, 클로로필 함량은 증가시켰다 (건물 기준).
- 묵나물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 찬물에 불렸을 때 약간 감소하였으나, 30분 삶음과 1시간 우림 과정은 유의한 영향을 보이지 않았다. 그러나, 질산염 소거 활성은 전처리 과정에서 유의하게 감소하였다.
- 묵나물의 항염증 활성은 찬물에 16시간 불림 과정에서 증가한 후 삶음 과정에서 감소하였으나 전체적으로는 전처리 과정에 의해서 증가하였다.

③ 조리과정(가열시간 및 온도 등) 및 들기름 첨가에 따른 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가

- 전처리된 삼나물의 카로티노이드 함량은 가열 조리 후 증가하였으며, 들기름 첨가 시 다시 감소되었다.
- 삼나물의 항산화 활성은 가열 조리 후 감소하였으며, 들기름을 첨가한 경우 감소가 더 컸다. 그러나 질산염 소거 활성은 가열 조리 후 증가하였으며, 들기름 첨가는 유의한 변화를 보이지 않았다.
- 전처리된 삼나물의 항염증 활성은 가열 조리에 의해 유의하게 변하지 않았으나 들기름 첨가에 의해 증가하였다.

④ 산채나물 이용 음식의 배합비 설정

- Contents analysis, 실험조리, FGD(focus group discussion) 등을 이용하여 산채 송편, 산채 녹두빈대떡, 산채 밀쌈, 산채밥, 산채 떡갈비, 산채 육개장, 산채 잡채, 산채 튀김, 산채 장아찌, 산채 어죽 등 10개의 산채나물 이용 음식의 레시피를 표준화하였다.

● 제 3세부 과제: 산채나물 유래 기능성 활성성분 규명 연구

(1) 산채 함유 항당뇨 대사체 추출 및 분석 기반 확립

① 산채나물 함유 항당뇨 유용 대사체 추출법 확립

- 추출 용매에 따른 α -glucosidase 저해활성을 측정한 결과 모든 산채나물(참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물)에서 75% 에탄올 추출물의 저해활성이 가장 높게 나타났다. positive control로 사용된 0.23 mg/mL 농도의 acarbose의 저해활성은 약 30%로, 0.92 mg/mL의 참나물, 다래순, 삼나물의 75% 에탄올 추출물에서의 저해활성이 acarbose 수준으로 확인되었다.

② Prep-LC를 이용한 항당뇨 유용성분 분리법 확립

- 참나물 75% 에탄올 추출물을 Prep-LC를 이용하여 C18 flash column(50 μ m)을 통해 crude한 정제를 하였다. 총 6개의 fraction 중 높은 저해율을 나타내는 fraction 5와 fraction 6를 합쳐 C18 glass column(20 μ m)을 이용하여 총 6개의 subfraction을 얻었다. 그 중 subfraction 5가 다른 subfraction들에 비해 상대적으로 높은 활성을 보였다. C18 AQ-HG column(12 μ m)를 통해 얻은 7개의 subfraction 중에 subfraction 5-4이 다른 subfraction들에 비해 높은 저해활성을 보였다.
- 다래순 75% 에탄올 추출물을 참나물과 동일한 방법으로 Prep-LC를 이용하여 먼저 C18 flash column(50 μ m)을 통해 총 5개의 fraction을 얻었다. Fraction 5가 가장 높은 저해활성을 보였으며, fraction 3에서는 비교적 높은 저해활성이 나타났다.

③ LC-MS/MS 기반 산채 유래 대사체 분석법 확립 및 유용 대사체 분석

- 참나물 추출물의 유용 성분 정제를 진행한 결과, subfraction 5에서 항당뇨 유용 성분인 chlorogenic acid 외에도 후보 물질로 hydroxytyrosol-1-O-glucoside 구조를 포함하고 있는 phenolic compound와 9,11-conjugated linoleic acid와 palmitic acid 같은 지방산계열이 분리 정제되어 높은 α -glucosidase 저해활성을 보이는 것으로 사료되었다.
- 다래순 추출물의 유용 성분 정제를 진행한 결과, Fraction 3, 5에서 공통적으로 항당뇨 유용 성분인 chlorogenic acid가 분리 정제 되었으며 또한 후보 물질로 rutin과 isoquercitrin과 같은 flavonoid계열이 분리 정제되어 높은 α -glucosidase 저해활성을 보이는 것으로 사료되었다.

(2) 산채 함유 항염증 활성성분의 분리 및 규명

① 산채 유래 항염증 대사체의 분리를 위한 최적 추출 조건 확립

- 추출 용매에 따른 다래순의 추출 수율은 75% 에탄올 추출물이 20.8%로 가장 높았다. 추출용매에 따른 각 추출물 별 총 페놀 함량은 D.W., 25%, 50%, 75%, 100% 에탄올 추출물 순으로 낮았다. 또한, 75% 에탄올 추출물은 50 μ g/mL의 농

도에서 약 43%의 우수한 NO 생성 저해활성을 보였다. 따라서, 75% 에탄올을 산채나물 함유 유용 대사체 추출용매에 가장 최적의 추출 조건으로 확립하였다.

② Prep-LC를 이용한 항염증 유용성분 분리법 확립

- 다래순 75% 에탄올 추출물을 Prep-LC로 C18 flash column(50 µm)을 통해 crude한 정제를 하였다. 이를 통해 총 4개의 fraction을 얻었으며, NO 생성 저해 활성 활성을 측정한 결과 fraction 3에서 가장 높은 저해활성을 보였다. Fraction 3을 C18 glass column(20 µm)을 통해 총 4개의 subfraction을 얻었다. subfraction 1이 다른 subfraction들에 비해 상대적으로 높은 활성을 보였다. subfraction 1의 효율적인 유용 성분 분리를 위해 C18 glass column(10 µm) 통해 7개의 sub-subfraction을 받았고, subfraction 1-3이 다른 sub-subfraction 들에 비해 높은 저해활성을 보였다. 또한, 75% 에탄올 추출물과 모든 활성 분획물이 iNOS의 발현을 억제하였으며, 정제과정이 진행될수록 iNOS 발현 억제 수준이 증가하였다.

③ LC 기반 산채나물의 유용 성분 분석법 확립

- 75% 에탄올 추출물과 가장 NO 생성 저해활성이 높았던 분획물들을 HPLC로 분석한 결과 retention time 12.5분에서 15분 사이에 검출되는 성분이 최종적으로 정제되었다.
- 다래순 추출물의 유용 성분 정제를 진행한 결과, caffeic acid 유도체가 분리 정제되어 높은 NO 생성 저해활성을 보이는 것으로 사료되었다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- SCI급 논문 3편, 국내논문 2편이 게재되어 ‘연구논문’ 성과 목표치 5건(SCI급 논문 3편, 국내논문 2편)을 100% 달성하였음.
- 특허를 3건을 출원하여, ‘지식재산권’ 성과 목표치(2건) 대비 초과달성하였음.
- 미디어 홍보 1건, 교육지도 1건을 실시하여, ‘언론매체 홍보 등’ 성과 목표치(2건)을 100% 달성하였음. 학술대회 발표 17건을 실시하여 ‘학술발표’ 성과 목표치(13건) 대비 초과달성하였음(우수 포스터상 3건).
- SCI급 논문 2편, 국내논문 1편을 추가 투고하고 특허 1건을 출원할 계획임. 김해시 건강증진사업과 연계하여 산채나물의 우수성을 홍보하며, 산채의 섭취를 생활습관병 예방 및 개선용 식생활 가이드 라인으로 활용할 계획임. 산채의 건강기능성을 한식재단 사이트, 언론기고를 통해 홍보하고 식품관련 회사 및 영양교사 연수 프로그램의 영양교육 자료로 제공하고, 산채나물을 활용한 레시피를 어린이 급식안전관리센터의 교육 자료로 활용할 계획임.
- 국내외 한식당에서 산채나물과 선호도가 높은 산채나물 응용음식을 메뉴로 활용할 수 있도록 적극 홍보하고, 삼나물을 활용한 산채나물 응용 레시피를 전통 요리 강좌에 활용하며, 국내외 비건 요리전문점에 적극 홍보할 예정임.

SUMMARY

(영문요약문)

- Chronic consumption of *chamnamul* (*Pimpinella koreana*) extract, *chamnamul-muchim*, and *sanchae-namul* (*chamnamul*, *daraesun* (shoot of Siberian gooseberry; *Actinidia arguta* Planchon), *samnamul* (*Aruncus dioicus*), *miyeokchui* (*Solidago virgaurea* var. *gigantea*), and *bangpungnamul* (*Ledebouriella seseloides*) significantly decreased serum glucose, insulin, and HOMA-IR in C57BL/6J mice fed a high-fat, high-sucrose (HFHS) diet.
- *Chamnamul* extract, *chamnamul-muchim*, and *sanchae-namul* significantly reduced serum cholesterol, free fatty acids, and atherogenic index in C57BL/6J mice fed a HFHS diet. *Sanchae-namul* significantly reduced serum triglycerides and increased fecal excretion of triglycerides and cholesterol compared with the HFHS group. Thus, *chamnamul* extract, *chamnamul-muchim*, and *sanchae-namul* improved hyperglycemia, insulin resistance, and dyslipidemia in mice with HFHS diet-induced metabolic syndrome.
- *Chamnamul* extract and *sanchae-namul* significantly reduced lipid peroxides in the liver and increased activities of hepatic catalase and GSH-Px compared with the HFHS group. *Chamnamul* extract, *chamnamul-muchim*, and *sanchae-namul* significantly increased hepatic SOD activities compared with the HFHS group. Thus, *chamnamul* extract and *sanchae-namul* improved antioxidant status in mice with HFHS diet-induced metabolic syndrome.
- Chronic consumption of *daraesun*, *chamnamul*, and *sanchae-namul* (*chamnamul*, *daraesun*, *samnamul*, *miyeokchui*, and *bangpungnamul*) significantly decreased serum glucose, blood glycated hemoglobin, and HOMA-IR in db/db mice. *Daraesun* and *sanchae-namul* significantly increased serum adiponectin in db/db mice.
- *Daraesun*, *chamnamul*, and *sanchae-namul* significantly decreased serum triglycerides and atherogenic index, while *daraesun* and *sanchae-namul* reduced serum cholesterol in db/db mice.
- *Daraesun*, *chamnamul*, and *sanchae-namul* significantly decreased total

lipids, triglyceride, and cholesterol contents in the liver and serum GOT and GPT in db/db mice.

- *Daraesun*, *chamnamul*, and *sanchae-namul* significantly decreased lipid peroxides in the liver and increased activities of hepatic antioxidative enzymes such as catalase and GSH-Px, while *daraesun* and *sanchae-namul* elevated SOD activities in db/db mice.
- Serum and hepatic TNF- α and MCP-1 levels of *daraesun*, *chamnamul*, and *sanchae-namul* groups were significantly lower than those of the control group. Therefore, *daraesun*, *chamnamul*, and *sanchae-namul* improved hyperglycemia and dyslipidemia in an animal model of type 2 diabetes. In addition, *daraesun*, *chamnamul*, and *sanchae-namul* alleviated fatty liver and exerted antioxidant and anti-inflammatory effects, contributing to improvement of insulin resistance and alleviation of non-alcoholic fatty liver diseases (NAFLD) in db/db mice.
- *Chamnamul*, *daraesun*, *samnamul*, *miyeokchui*, and *bangpungnamul* were low calorie foods containing low lipid content (<3%) and high content of dietary fiber (>30%), minerals, polyphenols, and flavonoids which provided high α -glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities as a potential of antidiabetes and antiobesity.
- Drying of fresh *sanchae* caused decrease in health and food functional compounds such as polyphenols, flavonoids, tocopherols, carotenoids, and chlorophylls. There was no significant effects by the presence of light.
- The DPPH radical scavenging activity and the α -glucosidase inhibitory activities of *sanchae* were not affected by blanching and drying, however, blanching significantly decreased pancreatic lipase inhibitory activity. Drying and light presence significantly decreased the nitrite scavenging activity. The anti-inflammatory activity of *sanchae* decreased by blanching and drying, while light increased it.
- The soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min and then soaking in water for 1 h was chosen as the best condition for pretreatment on the basis of the sensory evaluation by professional groups. Perilla and sesame oils were the best oil, producing the highest preference, for cooking *muknamul* and fresh one, respectively.
- Pretreatment (soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min and

then soaking in water for 1 h) decreased flavonoid, polyphenol, and carotenoid contents, while it increased tocopherol and chlorophyll contents. The DPPH radical scavenging, and α -glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities of *sanchae* were not significantly affected by soaking in water for 1 h (*woorim*), however, the nitrite scavenging activity decreased and anti-inflammatory activity increased by the pretreatment.

- Heating for cooking significantly decreased flavonoid, and polyphenol contents, and perilla oil added flavonoids and polyphenols to *sanchae-namul*. Carotenoid contents increased after heating, however, their level was lowered by perilla oil addition. Antidiabetes activity of *sanchae* decreased after cooking, however, perilla oil addition increased it. There was no significant effect on antiobesity and anti-inflammatory activities by heating. Perilla oil added the anti-inflammatory activity to *sanchae-namul*. The antioxidant activity significantly decreased by heating, and perilla oil further decreased it.
- The recipe for cooking *sanchae-namul* (17 dishes) was standardized based on the correlation between sensory attributes of *muknamul* and consumer preference. In addition, the standardized recipe for 10 dishes with *sanchae-namul* (*songpyeon*, *bindaetteok*, *milssam*, *bap*, *tteokgalbi*, *yukgyejang*, *jabchae*, *fry*, *jangajji*, *eojuk*) was provided.
- *Chamnamul*, *daraesun*, *samnamul*, *miyeokchui*, and *bangpungnamul* were investigated as α -glucosidase inhibiting and anti-inflammatory activities and active compounds in these edible plants were identified through metabolomic analysis.
- *Pimpinella koreana* and *Actinidia arguta* exhibited significant levels of inhibition and 75% ethanol extracts of these edible plants showed highest α -glucosidase inhibiting activity which was comparable to the positive control, acarbose.
- Compounds in the extract were fractionated with reverse phase column chromatography and the resulting metabolites were compared and identified using LC-MS/MS through multivariate statistical analysis. In *Pimpinella koreana*, chlorogenic acid containing polyphenolic fractions were screened as main contributor for α -glucosidase inhibiting activity, while flavonoid fractions including rutin and isoquercitrin was identified as key compound for α -glucosidase inhibition.
- The 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* showed highest activity of

ant-inflammation by reducing NO secretion in LPS-induced macrophage cell and the active fractions were partially purified by reverse phase column chromatography. The active fractions prepared from preparative LC separation were analyzed using LC-MS/MS and the resulting metabolomes were compared through multivariate statistical analysis to screen the key compounds for anti-inflammation. As a result, caffeic acid and its derivatives, were identified as main contributor for anti-inflammatory activity of *Actinidia arguta* by suppressing iNOS expression in LPS-induced macrophage cell.

CONTENTS
(영 문 목 차)

Chapter 1. Introduction (Objectives and Scope of the Study)	16
Chapter 2. Experimentals (Methods and Results)	26
1. Effect of various <i>sanchae-namuls</i> on metabolic syndrome <i>in vivo</i>	26
2. Chemical characteristics and functionality of various <i>sanchae-namuls</i>	75
3. Characterization of active compounds in various <i>sanchae-namuls</i>	148
Chapter 3. Degree of Goal Achievement and Contribution to the Related Areas	183
Chapter 4. Outcomes and Future Plans for Application of the Results	186
Chapter 5. Information and Technology Obtained from Abroad during Performance of the Study	193
Chapter 6. References	194

목 차

제 1 장 연구 개발 과제의 개요	16
제 1 절 연구 개발의 목적 및 필요성	16
제 2 절 연구의 범위	23
제 2 장 연구 개발 수행 내용 및 결과	26
제 1 절 산채나물의 <i>in vivo</i> 기능성(대사증후군 개선) 연구 (제 1 세부과제)	26
제 2 절 산채나물의 이화학 특성 및 <i>in vitro</i> 기능성 연구 (제 2 세부과제)	75
제 3 절 산채나물 유래 기능성 활성성분 규명 연구 (제 3 세부과제)	148
제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도	183
제 1 절 목표 달성도	183
제 2 절 관련 분야 발전에의 기여도	184
제 4 장 연구 성과 및 성과 활용 계획	186
제 1 절 연구 개발 성과	186
제 2 절 성과 활용 계획	191
제 5 장 연구 개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보	193
제 6 장 참고문헌	194

제 1 장 연구 개발 과제의 개요

제 1 절 연구 개발의 목적 및 필요성

1. 연구의 필요성

- 21세기 이후 문화가 국가 경쟁력의 주요한 비중을 차지하면서 음식과 음식 문화는 국가이미지 상품으로 자리잡게 되었으며, 세계 각국은 자국 음식의 산업화와 세계화를 전략적으로 육성하기 위한 노력을 경주하고 있으나 한식에 대한 세계인의 인식은 일본, 중국, 프랑스, 태국 음식에 비해 많이 부족한 편임.
- 우리나라도 현재 정부 차원의 한식 세계화정책을 추진하고 있음. 우리나라는 2008년 한식세계화선포식을 시작으로 2009년 한식세계화추진단을 발족하였고, 2009, 2010년 한식세계화 국제심포지움을 개최하는 등 정부 차원의 적극적인 활동이 이루어지고 있음.
- 한식세계화란 한식의 고유한 가치를 바탕으로 우리 식문화를 세계에 알려 한식이 세계적 음식으로 통용되는 것을 의미함. 또한 한식의 우수성을 바탕으로 한식을 발전시키고 한식문화의 국내외 확산을 통해 관련 산업을 발전시키고, 우리나라 이미지 향상에 기여하고자 하는 것임.
- 2009년 국가브랜드위원회가 주한 외국인을 대상으로 가장 먼저 떠오르는 한국의 이미지를 조사한 결과 '김치와 불고기'라고 응답한 비율이 가장 높았음.
- 최근 세계 식품소비는 건강·웰빙지향, 편의화, 감성소비 등의 추세임. 한식은 세계 식품소비 트렌드와 부합하여 세계인의 음식으로 인정받을 가능성과 잠재력이 충분함. 2004년 세계보건기구(WHO)에서는 한식을 영양적으로 균형을 갖춘 모범식으로 선정하였고, 2006년 미국 Health지는 김치를 세계 5대 건강식품으로 선정하였음.
- 세계 식품시장은 2005년 3.6조 달러 규모에서 2008년 4.0조 달러, 2012년 4.6조 달러로 규모가 크고, 성장가능성이 매우 높음. 국내 식품시장은 연평균 6.7%씩 증가하고 있으며 식품·음식산업의 부가가치는 33.6조원으로 우리나라 전체산업의 4.2%를 차지하고 있음. 국내 식품산업은 국가 경제에서 차지하는 중요성이 크고, 음악, 영화, 드라마 및 스포츠 등 세계 문화 시장에서의 강한 한류와 함께 식문화에서도 한식 세계화를 통해 해외시장 진출 확대 가능성이 높음.
- 우리나라의 문화에서 오랫동안 지속되어온 유교 및 불교의 영향으로 전통적인 한식에서 채소의 비중은 상당히 높으며, 김치 등 절임식품을 제외하면 나물 특히 산채나물의 비중은 절대적임.
- 산채란 산에서 나는 나물로, 산지에서 자생하는 풀이나 나무의 싹 중에서 먹을 수 있는 식물을 지칭함. 국내 자생식물 중 480여종이 먹을 수 있는 것으로 알려져 있으며, 순, 잎, 줄기, 뿌리 등 먹는 부위는 다양함. 또한 산채는 다양한 약리작용이

있어 말린 산채는 전통적으로 약용으로 사용되어 왔음.

- 산채류는 썬이나 나물로 많이 먹어왔으며, 밥, 탕, 무침, 회, 튀김, 구이, 절임 등 다양한 방법으로도 활용되고 있음. 산채나물은 산채의 향을 유지하기 위해 양념을 최소화하여 조리하므로 갖은 양념이 들어가는 반찬과는 달리 들기름 등만을 이용하여 자극적이지 않고 산채 고유의 맛과 향을 최대한 살리면서 입맛에 맞도록 조리하는 것이 특징임.
- 산채나물을 이용한 음식으로 산채비빔밥, 산나물잡채, 산채나물밥 등은 선호도가 높음. 산채 비빔밥은 여러 가지 산채나물을 엮어 먹는 비빔밥으로 다양한 산채들을 한 번에 맛 볼 수 있는 대표적인 산채 음식임. 산채밥은 양념한 산채나물들을 쌀 위에 엮어 조리한 밥으로, 곤드레 나물밥, 미역취 나물밥, 삼나물밥 등 묵나물을 사용하여 다양한 맛과 향을 가진 밥으로 만들어 먹을 수 있음.
- 비빔밥은 잘 지은 밥과 제철 나물을 선택하여 갖은 양념을 하여 고추장과 함께 내는 음식으로, 영양소의 배합과 맛이 우수하여 예로부터 우리나라 사람들이 오랫동안 즐겨 먹어온 음식임. 비빔밥은 1800년대 말 조리서인 「시의전서」에서 처음 등장하였으며, 궁중에서는 여러 가지 재료를 한데 섞어 만든 밥이라 하여 ‘골동반’이라고도 하였음. 비빔밥은 불고기, 김치 등과 함께 한국을 대표하는 음식으로 항공사의 기내식으로도 개발되어 한국인 뿐 만 아니라 외국인들에게도 건강식으로 주목받고 있으며, 최근에는 다양한 재료를 이용한 비빔밥이 개발되고 있어, 산채비빔밥 종류를 확장하고 레시피를 표준화하면 경쟁력을 높일 가능성이 큼.
- 산채비빔밥은 지역 고유의 산나물이 많이 들어가므로 맛과 영양이 뛰어나고 제각기 독특한 맛을 냄. 산채비빔밥에 들어가는 산채나물의 종류는 지역마다 다르며 농가·임가에서 재배가 이루어지고 있는 주요 산채에는 도라지, 참취, 곰취, 미역취, 고사리, 두릅, 달래, 고들빼기, 썩, 곤드레, 참나물, 썬바귀, 비름나물, 머위, 월추리, 곤달비, 잔대, 참비름, 수리취, 당귀, 어수리, 방풍나물, 삼나물, 다래순 등이 있음.
- 산채는 환경적응성이 매우 낮아 특수한 환경조건에서만 생육이 가능하여 재배가 어려움. 또한 저장성이 낮아 장기간 보관이 쉽지 않음. 따라서 산채는 집중 출하되는 4-6월에 생채(fresh *sanchae*)로 공급되기도 하지만, 대부분 건조시켜 장기간 보관이 용이한 묵나물 형태로 연중 공급될 수 있음. 따라서 일정 시기에 집중 출하되는 다른 채소들과는 달리 산채는 저장 및 가공(건조)이 잘 이루어진다면, 연중 수급될 수 있는 유용한 식물 자원이며 재배 농가의 안정된 수익 확보에도 크게 기여할 수 있는 농림자원임.
- 또한 국민 생활의 수준이 향상되고 식물성 식품 특히 채소에 대한 선호도가 증가하는 사회 인식의 변화로 산채에 대한 수요량이 증가하고 있음. 또한 일부 산채의 약리 효과에 대한 보고와 활발한 홍보 활동의 결과 지역 특성을 살린 관광 상품으로 인기가 상승하고 있음. 산채는 일반적으로 저공해식품으로 인식되고 있으며 특히 농산물 수입개방에 대응할 수 있는 '신토불이식품'으로 우리나라 농림 산업에

서의 위치가 강화되고 있음.

- 우리 민족의 생활 일부였던 산채는 대보름, 단오, 한식 등의 전래 풍습에서도 빠질 수 없는 식품으로, 특히 대보름에는 각종 산채나물을 먹으면서 건강을 기원하였음.
- 그러나 산채는 섬유소가 많고 쓴 맛, 떫은 맛 등의 고미 성분으로 인하여 다른 채소에 비해 외국인은 물론 넓은 연령층의 지지를 받지 못하고 있는 단점이 있으나 최근 웰빙 트렌드와 관련하여 건강식품 소재로 관심이 증대되고 있음. 따라서 넓은 연령층으로의 산채의 보급 및 세계인들을 대상으로 한 소비 확대를 위한 레시피의 개발이 필요함.
- 산채는 종류가 다양하고, 다양한 종류의 산채는 다른 채소와 마찬가지로 식이섬유는 물론 카로티노이드, 엽록소 등의 색소와 플라보노이드 등의 phytochemical들의 함량이 높아 시금치, 마늘, 부추 등 다른 채소와 마찬가지로 건강기능성이 기대됨. 산채요리는 우리민족이 전통적으로 섭취해 온 음식으로, 산채요리의 주요 구성 요소인 산채나물을 중심으로 기능성 정보에 대한 요구가 국내외적으로 많음. 따라서 산채요리의 건강기능성을 과학적으로 규명하여, 산채요리의 우수성을 국내 외에 홍보하고 그 소비를 촉진시키는 계기를 마련할 필요성이 절실히 요구됨. 또한 이들 산채류는 다른 나라의 전통 음식에 거의 이용되지 않는 독보적인 소재로 우리나라 전통한식에 사용되는 국제경쟁력을 갖춘 원료임.
- 산채나물은 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증, 심·뇌혈관계질환 등의 생활습관병에 효과가 있는 사례들이 보고되었으나, 그 기능성을 과학적으로 입증한 연구는 부족함. 산채류의 건강기능성에 대한 연구는 도라지, 고사리, 참취, 곰취류의 *in vitro* 항산화, 항돌연변이활성, 항암 연구에 집중되어왔으며, 대사증후군, 당뇨병, 심·뇌혈관계질환 개선효과에 대한 연구는 미비한 실정임. 또한 산채의 *in vivo* 대사증후군 개선효과에 대한 연구는 주로 도라지의 효능에 국한되어 있으며, 그 외 산채류의 대사증후군 개선효과 연구는 매우 부족한 실정임.
- 식생활과 생활양식의 서구화로 비만 유병율은 전 세계적으로 급속히 증가하고 있으며, 비만은 심혈관계질환, 제2형 당뇨병, 암 등의 위험요인으로, 수명을 단축시키고 삶의 질을 저하시키는 건강의 적이 되고 있음. 대사증후군(metabolic syndrome)은 인슐린 저항성 증후군(insulin resistance syndrome, IRS)으로도 명명되는데, 복부비만, 내당능장애, 고인슐린혈증, 이상지질혈증 및 고혈압이 군집을 이루어 나타나는 증후군으로, 1988년 Reaven은 이러한 군집현상의 공통적인 원인이 인슐린 저항성임을 제시하였음(Fig. 1). 인슐린 저항성은 혈중 인슐린에 대한 표적장기의 반응이 저하되어 있는 상태를 말하는데, 유전 및 환경 요인이 인슐린 저항성 유발에 관여함. 대사증후군의 진단 기준은 미국 NCEP 기준으로 복부비만, 고혈당, 고중성지방혈증, HDL-콜레스테롤 저하, 고혈압이 포함되며, WHO의 기준으로 복부비만, 고중성지방혈증, HDL-콜레스테롤 저하, 고혈압, 미세단백뇨가 포함됨.

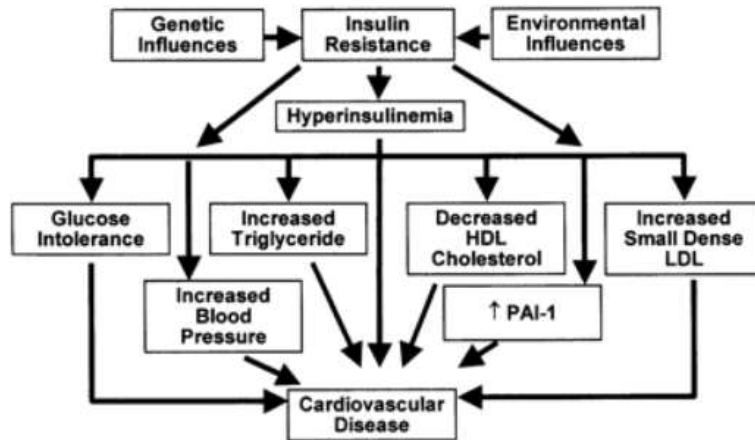


Fig. 1. Insulin resistance and metabolic syndrome.

- 대사증후군의 적절한 관리가 이루어지지 않을 경우 제2형 당뇨병과 심혈관계질환으로 이환될 위험이 매우 높음. 따라서 대사증후군 환자를 조기에 발견하여 치료하는 것은 제2형 당뇨병 및 심혈관계질환 유병율을 감소시키는 가장 효율적인 방법이며, 의료비 절감 차원에서도 가장 효율적임.
- 국내 성인의 대사증후군 유병율을 조사한 결과 대사증후군 유병율은 26.1%로 나타났다으며, 비만 유병율은 30.7%, 당뇨병 유병율은 9.7%로 보고되었음. 고콜레스테롤혈증 및 고중성지방혈증 유병율은 각각 10.9%, 17.3%로 나타나, 이상지질혈증 유병율도 지속적으로 증가하고 있는 것으로 나타났다(보건복지부, 2010년 국민건강·영양조사).
- 복부비만의 경우 TNF- α , IL-6 등의 염증성 사이토카인과 혈액응고 이상을 일으키는 PAI-1 등의 사이토카인이 증가되고, 인슐린 민감성을 증가시키는 anti-inflammatory adipokine인 adiponectin은 감소하여 인슐린 저항성이 증가함. 따라서, 항염증활성의 증가는 인슐린 저항성을 개선하는데 매우 중요함.
- 비만은 reactive oxygen species (ROS)의 생산을 증가시키고 항산화 시스템을 저하시켜, 산화적 스트레스를 증가시킴. 산화적 스트레스는 인슐린 저항성을 유발하는데 기여하고, 인슐린 저항성 증후군이 심혈관계질환, 제2형 당뇨병으로 발전하는 것을 가속화시키므로, 항산화능의 증진은 대사증후군의 예방과 치료에 있어서 매우 중요함.
- α -Glucosidase 저해제인 acarbose는 식이 탄수화물의 소화를 저해하여 식후혈당을 조절하는 제2형 당뇨병 치료제로, 장기 복용 시 인슐린 저항성 개선효과를 나타내며 공복 혈당 조절효과를 나타냄. 그러나 acarbose는 구토, 복부 팽만감 등의 부작용을 나타내어, 식품을 포함한 천연물로부터 α -glucosidase 저해제를 탐색하는 연구가 활발히 이루어지고 있음.
- Pancreatic lipase 저해제인 Xenical은 식이 지방의 흡수를 저해하여 비만을 억

제하고 고지혈증을 개선하는 비만 치료제임. 비만을 치료하는 것은 인슐린 저항성을 개선하고 고혈압을 완화시키는데 매우 중요함. 그러나 Xenical은 지방변, 신장 손상 등의 부작용을 나타내어, 식품을 포함한 천연물로부터 pancreatic lipase 저해제를 탐색하는 연구가 활발히 이루어지고 있음.

- 산채는 채취하여 바로 먹는 생채의 형태로도 소비되지만, 대부분은 묵나물 형태로 공급되고 있는데, 묵나물은 물에 불린 후 삶아서 물에 우려내기를 한 후 섭취해야 하는 조리 특성을 가지고 있음. 따라서 산채에 대한 기능성 연구는 시금치, 마늘, 배추 등 일반 채소의 기능성 연구와는 다른 접근 방법이 도입되어야 함. 그러나 대부분의 산채의 기능성에 대한 연구는 생시료 또는 조리 전 상태의 묵나물 추출물을 제조하여 수행되었고, 산채류의 음식으로서의 기능성을 규명하기보다는 산채류를 생약성분의 급원으로 연구하는 약학적인 접근이 대부분이었음. 그러나 산채류의 기능성을 규명하여 한식의 우수성을 입증하기 위해서는 실제로 섭취하는 형태인 산채나물(요리)의 효능을 규명하여야 할 것임.
- 묵나물은 말린 나물을 물에 삶는 등 부드럽게 한 후 대부분 들기름 등을 넣어 산채나물로 만들어 먹음. 따라서 산채나물은 산채의 영양 및 건강기능성 뿐 아니라 들기름의 기능성을 함께 제공받을 수 있는 훌륭한 건강식품임. 산채류는 한국, 중국, 일본에서만 주로 섭취해 왔으며, 이 중 산채나물은 한국만의 고유한 음식임.
- 들기름의 원료인 들깨는 국산 유량종실로서 가장 많은 농가가 가장 넓은 경작면적에서 재배하고 있는 유종이며 거의 독점적으로 국내에서만 소비되고 있기 때문에 FTA체결에 따른 농가 손실을 보전할 수 있는 최적의 국산 종실임.
- 들깨 및 들기름과 관련된 기호 조사(정 등, 2012)에서 나물은 연령, 성별에 관계없이 소비자들이 가장 선호하는(67.4%) 들기름의 이용 요리이었으며, 특히 외국인들은 들기름을 윤기있는 표면을 식품에 제공할 수 있는 좋은 기름으로 인식하고 있었음. 따라서 들기름은 산채의 글로벌화를 위하여 질기며 거친 질감의 산채의 단점을 극복할 수 있는 유용한 원료임.
- 들기름에는 60%에 가까운 리놀렌산이 포함되어 있어 오메가-3 지방산 함량이 가장 높은 식물유지 중 하나이며 리놀렌산은 혈중 콜레스테롤 함량 감소, 체지방 감소, 두뇌기능 향상, 심혈관계질환으로부터의 보호 및 항알러지 효과 등이 보고된 필수지방산임. 또한 동물실험에서 유방암 및 대장암의 증식 억제(Park and Kim, 2002), 학습능력 향상(Yamamoto *et al.*, 1988; Yoshida *et al.*, 1997), 혈소판응집인자 억제 및 심혈관계질환의 예방효과(Ho-hashi *et al.*, 1997; 서화중, 2001), 항비만효과(Okuno *et al.*, 1997) 및 항알레르기 효과(Watanabe *et al.*, 1994) 등의 다양한 기능성이 있음이 밝혀져 있음.
- 들기름은 DPPH radical 소거 효과(IC₅₀ = 2.12 mg/mL), superoxide anion radical 소거 효과(메탄올 추출물; 21.1%), hydroxy radical 소거효과(메탄올 추출물; 86%)를 나타냈으며 plasmin의 41.7%의 혈전용해성을 나타냈으며(송, 2012), 이에는 들기름에 다량 함유된 리놀렌산 뿐 아니라 폴리페놀(80 mg/kg) 및

토코페롤(640 mg/kg)이 중요하게 관여하고 있는 것으로 생각됨.

- 그러나 산채 및 들기름에 존재하는 생리활성 성분은 나물의 조리 과정 중 빛, 가열 등의 조작에 의해 분해되어 들기름 자체뿐 아니라 산채의 기능성 성분의 변화를 초래할 수 있음.
- 따라서 본 연구에서는 선행연구 결과 *in vitro*에서 대사증후군 개선활성이 우수한 것으로 나타난 참나물과 묵나물 형태의 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 등 몇몇 산채류의 조리과정 전, 후 및 부재료 첨가에 의한 기능성성분 및 생리활성 변화를 조사하고, 생채 및 조리된 산채나물의 기능성(대사증후군 개선효과)을 동물실험으로 규명하며, 기능성의 유효 활성물질을 규명하고자 함. 특히 산채의 기능성 유효물질은 대사체학적 접근 방법을 이용하여 규명할 것임.
- 대사체학(metabolomics)은 최근에 새롭게 도입되고 있는 기술 분야로 국제적 기술차가 작은 장점이 있음. 이는 생명체 내 세포에 존재하는 대사산물의 총합인 대사체(metabolome)를 통합적으로 연구하는 학문으로 다양한 유전적, 생리적, 또는 환경적 조건에서 변화되어 나타나는 대사체군의 종류와 양을 분석하고 해석함으로써 생명현상의 변화 원인을 규명해나갈 수 있음.
- 대사체학은 식물체, 실험동물 또는 인체를 연구대상으로 하여 단일세포에서 유기체에 이르기까지 다양한 수준의 생체기관에 적용 가능하며, 주로 저분자 대사체(low-molecular-weight metabolites)의 수준 및 분포 변화에 많이 이용되고 있음. 최근에는 심혈관계질환, 당뇨병 및 암 등과 같은 질환에서 만성적으로 나타나는 비정상적인 대사의 불균형상태를 측정함으로써 병태생리학적 지표 규명 등에도 이용되고 있음.
- 산채나물은 종류가 다양하나, 본 연구팀의 선행연구로 산채비빔밥의 주요 재료로 사용되는 산채류의 75% 에탄올 추출물의 *in vitro* 대사증후군 개선효과를 측정할 결과, 참나물과 묵나물 형태의 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물의 생리활성이 우수한 것으로 나타났음.
- 참나물(*Pimpinella koreana*)은 각지 산의 나무 밑에서 자라는 여러해살이풀로, 향기가 그윽하여 '나물 중의 나물'이라 이름 지어진 산채임. 봄, 여름에 전초를 뜯어 잎자루와 함께 생으로 씹을 싸 먹거나 데쳐서 나물로 이용하며, 또한 동통과 설사, 이질에 효력이 있어 전초를 약용으로 사용하기도 함. 참나물의 n-hexane 분획물은 *in vitro*에서 항산화능이 우수한 것으로 나타났으며(Lee *et al.*, 2008), 참나물 에탄올 추출물은 고콜레스테롤 식이로 고지혈증 및 비만을 유도한 흰쥐에 있어서 혈중 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 중성지방의 감소에 효과를 나타내었음(Lee *et al.*, 2006). 참나물 에탄올 추출물은 흰쥐에 있어서 알코올 섭취로 유도된 산화적 스트레스와 알코올성 독성으로부터 간을 보호하는 항산화효과가 우수한 것으로 나타났음(Choo *et al.*, 2007).
- 다래나무(*Actinidia arguta* Planchon)는 주로 산골짜기에서 자라며, 이른 봄에 다래순을 채취하여 삶아서 나물 또는 묵나물로 이용하며 진해, 진통효과 등 약리

효과도 우수하여 전초를 건조하여 약재로 이용되기도 함. 다래나무 뿌리에서 추출한 ursolic acid은 *in vitro*에서 pancreatic lipase 저해활성이 우수한 것으로 나타났으며(Jang *et al.*, 2008), 흰쥐에게 lipid emulsion과 다래뿌리에서 추출한 ursolic acid을 경구투여한 결과 혈중 지질농도를 감소시켜 pancreatic lipase 저해활성이 우수한 것으로 나타났으나(Kim *et al.*, 2009), 다래순에 대한 연구는 미비한 실정임.

- 삼나무(*Aruncus dioicus*)은 눈개승마라고도 하며, 전국 각처의 고산지역에서 자라는 다년생 초본으로 어린순을 채취하여 삶아서 말린 묵나물로서 비빔밥, 무침, 찌개, 탕류 등 여러 요리에 사용되는 산채임. 삼나무는 쇠고기와 비슷한 맛과 물성을 나타내어, 채식으로 이루어진 산채비빔밥에 긴요하게 사용되는 산채임. 삼나무 에탄올 추출물은 streptozotocin으로 당뇨를 유발한 동물에 있어서 혈당 조절 및 항산화 활성을 나타내었으며(Kim *et al.*, 2006), CCD-986sk cell에 있어서 피부노화 방지 효과가 우수한 것으로 나타났음(Kim *et al.*, 2012). 또한 삼나무에서 추출한 monoterpenoids는 항산화능이 우수한 것으로 나타났음(Jeong *et al.*, 2011).
- 미역취(*Solidago virgaurea* var. *gigantea*)는 우리나라 각처의 산이나 들에서 자라는 다년생 초본으로 고유의 식미와 향취가 있어 봄철 어린순을 캐서 주로 삶아 나물 또는 묵나물로 이용하며, 또한 약리 효과도 있어 전초와 뿌리를 약용으로 한약재로 사용하기도 함. 미역취의 아세톤 추출물 및 발효 추출물은 tyrosinase 저해활성이 우수한 것으로 나타났음(Kim *et al.*, 2011).
- 방풍나물(*Ledebouriella seseloides*)은 예로부터 중풍을 막아 준다는 데서 유래된 이름으로 산과 들에 자라는 여러해살이 풀임. 잎은 주로 삶아 나물 또는 묵나물로 이용하며 뿌리는 말려서 한약재로 사용됨. 방풍나물 메탄올 추출물은 DPPH 라디칼 소거능, 아질산염 소거능, SOD 활성이 우수하여 항산화능이 우수한 것으로 나타났음(Bea, 2012).
- 위와 같이 산채의 기능성에 대한 연구는 대부분 생체 또는 건채 추출물에 국한되어 있고, 즐겨먹는 산채류인 더덕, 도라지, 두릅은 대사증후군 개선효과가 이미 입증되었으며, 취나물(곰취, 참취)류는 선행연구에서 *in vitro* 대사증후군 개선효과가 낮게 나타났음. 또한 산채나물로 조리하거나 나물을 밥과 혼합하여 먹는 산채비빔밥과 같은 음식 형태의 대사증후군 개선효과를 *in vitro*와 *in vivo*에서 종합적으로 규명한 연구는 전무한 실정임.
- 2010년 농진청에서 발표한 산채재배현황 보고에 의하면 참나물, 삼나무, 미역취, 방풍나물은 우리나라 주요 산채 40종에 해당되는 것으로 나타났음. 우리나라 전체 산채류의 재배 면적은 11,049 ha이며, 이 중 참나물 및 삼나무는 각각 189.9 ha, 71.1 ha로 보고되어 현재는 그 비중이 크지 않은 실정임.
- 본 연구에서는 즐겨먹는 산채나물(도라지, 더덕, 고사리, 두릅, 취나물류 등) 이외에 산채비빔밥의 재료로 사용하기에 적합한 참나물, 다래순, 삼나무, 미역취, 방풍

나물의 5종 산채나물의 기능성을 규명하고, 생산량 및 소비량의 증가에 기여하고자 함. 선행연구의 결과, *in vitro*에서 α -glucosidase 저해활성, pancreatic lipase 저해활성, DPPH 라디칼 소거능 등 우수한 기능성을 나타낸 참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물 원재료 및 이들 산채류로 만들어진 산채나물요리의 혈당조절, 항비만, 항산화, 항염증효과를 중점으로 대사증후군 개선효과 및 항당뇨 효과를 규명하고 식품기능성을 평가하며, 대사체학에 기반하여 대사증후군 개선용 지표성분을 분리·규명하고자 함.

2. 연구 목적

- 산채(참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물 원재료)와 산채나물(요리)의 대사증후군 개선 효과 및 식품기능성을 과학적으로 규명하고, 작용기작을 규명하며, 기능성 활성물질을 분리·규명함으로써, 우리나라 산채나물의 식품학적 우수성 및 건강기능성에 대한 과학적 자료를 확보, 제시하고, 국내 산채 및 산채나물의 소비 촉진은 물론 세계인들의 자발적인 산채 및 산채나물의 소비 확대를 유도하고, 산채나물을 세계적인 음식으로 발전시키고 우리나라의 대표 식문화 국가브랜드로 정립하는 기반을 제공하고자 함.

제 2 절 연구의 범위

- 본 연구는 3개의 세부과제로 구성됨. 즉, 제 1 세부과제는 ‘산채나물의 *in vivo* 기능성(대사증후군 개선) 연구’, 제 2 세부과제는 ‘산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 기능성 연구’, 제 3 세부과제는 ‘산채나물 유래 기능성 활성성분 규명 연구’임.
- 산채나물(요리)의 표준 레시피 확립 및 산채류의 이화학 특성과 *in vitro* 항당뇨 효과를 규명하고, *in vivo*에서 산채(재료)와 산채나물(요리)의 대사증후군 개선효과를 규명하고 작용기작을 규명하여 이들의 건강기능성에 대한 실증적 자료를 확보함.
- 산채류의 조리 과정 및 저장, 부재료 첨가에 의한 식품 기능적 특성 및 *in vitro* 항산화, 항염증활성을 평가하며, *in vivo*에서 산채(재료)와 산채나물(요리)의 비만 및 당뇨병 개선효과를 규명하고 작용기작을 규명하여 이들의 식품학적 우수성 및 건강기능성을 입증함.
- 산채류에 함유된 대사증후군 개선 활성 대사체의 분리, 추출법을 확립하고 항당뇨 핵심 지표성분을 분리·규명함.
- 산채류에 함유된 항염증 핵심 지표성분을 대사체학에 기반하여 분리·규명하여, 산채의 건강기능 우수성의 기초 자료를 제공하고자 함.

● 제 1세부 과제: 산채나물의 *in vivo* 기능성(대사증후군 개선) 연구

(1) 인슐린 저항성을 유도한 마우스에 있어서 산채나물의 대사증후군 개선효과

- ① 비만 개선효과, 식이지방 흡수율 조사
- ② 내당능 및 인슐린 저항성 개선효과, 혈당 조절효과 조사
- ③ 이상지질혈증 개선효과 조사
- ④ 고혈압 개선효과 조사
- ⑤ 소장 점막의 탄수화물 소화효소 활성 조사
- ⑥ 간조직의 지질과산화물, 글루타치온, 항산화 효소계 활성 조사

(2) db/db 마우스에 있어서 산채나물의 비만 및 당뇨병 개선효과

- ① 비만 개선효과 조사
- ② 혈당 및 인슐린 저항성 개선효과 조사
- ③ 혈청 지질 profile 분석
- ④ 비알콜성 지방간 개선효과 조사
- ⑤ 항산화능 개선효과 조사
- ⑥ 항염증 효과 조사

● 제 2세부 과제: 산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 기능성 연구

(1) 산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 건강기능(항당뇨) 활성

- ① 산채의 영양성분 등 이화학적 특성 및 *in vitro* 기능성
- ② 산채의 저장(건조) 조건(빛 등)에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가
- ③ 조리 전 전처리 단계에 따른 산채의 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가
- ④ 산채나물 레시피 표준화 및 전문가 FGI를 통한 검증
- ⑤ 산채(삼나물)의 조리과정(가열시간 및 온도 등) 및 들기름 첨가에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가

(2) 산채나물의 식품 기능적 특성 및 *in vitro* 항산화, 항염증 활성

- ① 산채의 저장(건조) 조건(빛 등)에 따른 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가
- ② 조리 전 전처리 단계에 따른 산채의 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가
- ③ 조리과정(가열시간 및 온도 등) 및 들기름 첨가에 따른 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가
- ④ 산채나물 이용 음식의 배합비 설정

● 제 3세부 과제: 산채나물 유래 기능성 활성성분 규명 연구

(1) 산채 함유 항당뇨 대사체 추출 및 분석 기반 확립

- ① 산채나물 함유 항당뇨 유용 대사체 추출법 확립
- ② Prep-LC를 이용한 항당뇨 유용성분 분리법 확립
- ③ LC-MS/MS 기반 산채 유래 대사체 분석법 확립 및 유용 대사체 분석

(2) 산채 함유 항염증 활성성분의 분리 및 규명

- ① 산채 유래 항염증 대사체의 분리를 위한 최적 추출 조건 확립
- ② Prep-LC를 이용한 항염증 유용성분 분리법 확립
- ③ LC 기반 산채나물의 유용 성분 분석법 확립



제 2 장 연구 개발 수행 내용 및 결과

제 1절 산채나물의 *in vivo* 기능성(대사증후군 개선) 연구 (제 1 세부과제)

1. 고지방·고단순당으로 인슐린 저항성을 유도한 마우스에 있어서 산채나물의 대사증후군 개선효과 규명

1) 재료

(1) 시료 선정 및 구입

대사증후군은 비만으로 인슐린 저항성을 초래하여 복부비만, 내당능장애, 이상지질혈증 및 고혈압이 군집을 이루어 나타나는 증후군이다. 대사증후군 개선효과가 기대되는 산채류를 선정하기 위하여, 산채류의 *in vitro* α -glucosidase 및 pancreatic lipase 저해활성, DPPH 유리라디칼 소거능을 조사한 결과, 참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물의 활성이 우수한 것으로 나타났다(Fig. 2-1-4, Fig. 2-1-5, Table 2-2-3 참조). 이 중 α -glucosidase 및 pancreatic lipase 저해활성이 모두 우수하게 나타난 참나물을 *in vivo* 생리활성 규명에 사용할 단일 산채종으로 선정하였다. 또한 산채류의 생리활성을 규명한 선행연구들이 대부분 생채 또는 건채 추출물에 국한되어 있는 제한점을 보완하기 위하여, 본 연구는 참나물 추출물과 참나물 무침(나물요리) 및 데친 참나물, 묵나물 형태로 구입한 후 전처리한 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물을 동량으로 사용하여 만든 혼합 산채나물(요리)의 효과를 비교하고자 하였다. 혼합 산채나물의 기능성에 대한 이론적 근거(responsible compounds, 특히 *in vitro* 항당뇨, 항비만 활성에서 중요한 화합물로 평가된 플라보노이드, 토코페롤 등)를 간접적으로 평가하고, 각 산채의 혼합량 차이에 따른 artefacts를 제거하기 위하여, 5종의 산채를 전처리한 후 각각 동량으로 사용하여 산채나물(요리)를 제조하였다.

제1, 2, 3 세부과제에서 사용한 산채류는 동일한 시료를 사용하였다. 저장성이 높아 비교적 가격 안정성이 우수한 묵나물(100g 당 삼나물 14,000원, 미역취 8,200원, 다래순 14,000원, 방풍나물 9,200원)은 대형마트에서도 쉽게 구할 수 있으나, 제공업체, 채취 및 가공에 대한 자세한 정보를 얻을 수 없어 본 연구에서는 가공업체와 직접적으로 연결하여 산채를 구입하였다. 다래순은 수확하여 삶아서 자연건조 작업한 것을 강원농수산 쇼핑몰에서 구입하였다. 삼나물, 미역취는 수확하여 자연건조 작업한 것을 울릉웰빙식품에서, 방풍나물은 수확하여 자연건조 작업한 것을 삼림조합 푸른장터에서, 연중 생나물로 구입이 가능한 참나물은 경상남도 김해시에서 수확한 생나물을 구입하여 사용하였다.

(2) 참나물 추출물의 제조

참나물을 세척한 후, 물기를 제거하고 동결건조시켰다. 동결건조한 참나물을 분쇄한 후, 10배의 75% 에탄올을 가하여 12시간 실온에서 추출하였다. 여과하여 추출액과 잔사를 분리한 후, 여과액을 Rotary evaporator를 사용하여 감압·농축하였다. 참나물 추출물의 수득율은 12.6%로 나타났다.

2) 방법

(1) 참나물 무침 및 혼합 산채나물의 제조

참나물 무침 및 혼합 산채나물(요리)를 제 2 세부과제에서 제시한 레시피에 근거하여 Table 1-1-1 및 Table 1-1-2에 제시한 방법으로 제조하였다. 혼합 산채나물(요리)는 전처리한 후 얻어진 참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물 각 40 g에 들기름을 각각 0.6 g씩 넣고 10분간 볶아 나물을 만든 후 혼합하였다.

Table 1-1-1. 참나물 무침 레시피

	참나물 (생나물) (g)	데치는 물 (L)	들기름 (g)	조리방법
참나물 무침	377	3	3	(1) 물 3 L를 끓이다가 생 참나물 377 g을 넣고 2분간 데친다. (2) 데친 참나물을 물을 따라낸 뒤, 10분간 찬물에 담근 후, 찬물에 한 번 세척한다. (3) 물기를 꼭 짰 후, 데친 참나물 200 g을 얻는다. (4) 데친 참나물 200 g에 들기름 3 g을 넣고 무친다.

Table 1-1-2. 혼합 산채나물 레시피

	나물 재료 (g)	불리는 물 (L)	삶는 물 (L)	우리는 물 (L)	들기름 (g)	조리방법
혼합 산채 나물	참나물 (생나물 75.4 g)	-	0.6	-	0.6	(1) 물 0.6 L를 끓이다가 생 참나물 75.4 g 을 넣고 2분간 데친다.
	다래순 (묵나물 6.7 g)	0.4	0.3	0.4	0.6	(2) 데친 참나물을 물을 따라낸 뒤, 10분간 찬물에 담근 후, 찬물에 한 번 세척한 다.
	삼나물 (묵나물 6.7 g)	0.4	0.3	0.4	0.6	(3) 물기를 꼭 짰 후, 데친 참나물 40 g 을 얻는다.
	미역취 (묵나물 9.8 g)	0.6	0.4	0.6	0.6	(4) 데친 참나물 40 g에 들기름 0.6 g을 넣 고 무친다.
	방풍나 물 (묵나물 11.9 g)	0.7	0.5	0.7	0.6	(5) 묵나물 형태의 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물을 각각 6.7, 6.7, 9.8, 11.9 g 씩 취해 각각 0.4, 0.4, 0.6, 0.7 L의 찬 물에 16시간 동안 불린다.
						(6) 0.3, 0.3, 0.4, 0.5 L의 물을 끓이다가 불린 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물 을 각각 넣고 30분간 삶는다.
						(7) 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 삶은 다래 순, 삼나물, 미역취, 방풍나물을 각각 0.4, 0.4, 0.6, 0.7 L의 찬물에 1시간 동안 우려내어 아린 맛을 제거한다.
						(8) 물을 따라낸 뒤 한 번 세척한 후, 물기 를 꼭 짜서 준비한다.
						(9) 물기를 제거한 각각의 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물 40 g에 들기름을 각각 0.6 g을 넣고 10분간 볶는다.
						(10) 완성된 5종의 산채나물(참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물)을 각각 같은 비율로 섞어서 혼합한다.

(2) 참나물 무침 및 혼합 산채나물 일반성분 분석

참나물 무침 및 혼합 산채나물을 동결건조한 후 일반성분을 AOAC법으로 분석하였다. 동결건조한 참나물 무침의 수분은 2.4%, 단백질은 22.9%, 지방은 11.8%, 회분은 10.4%, 총 식이섬유는 39.8%로 나타났고, 동결건조한 혼합 산채나물의 수분은 2.2%, 단백질은 23.3%, 지방은 12.1%, 회분은 5.4%, 총 식이섬유는 47.9%로 나타났다.

Table 1-1-3. Proximate composition of freeze-dried *chamnamul-muchim* and *sanchae-namul*

	<i>Chamnamul-muchim</i>	<i>Sanchae-namul</i>
Moisture	2.4	2.2
Crude protein	22.9	23.3
Crude lipid	11.8	12.1
Crude ash	10.4	5.4
Total dietary fiber	39.8	47.9

(3) 실험동물 및 실험디자인

① 고지방·고단순당을 섭취한 마우스에 있어서 참나물 추출물 및 참나물 무침의 대사 증후군 개선효과

생후 5주령의 수컷 C57BL/6J mice(n=28)를 구입하여 1주일간 적응기간 후, 난괴법으로 동물을 네 군으로 나누었다. 대조군(Control)에게는 5.0% corn oil과 65.0% corn starch가 포함된 식이(Basal diet)를, 고지방·고단순당(High-fat high-sugar, HFHS)군에게는 3.0% corn oil, 33.0% lard 및 27.1% sucrose를 포함한 HFHS 식이를, 참나물 추출물군(*Chamnamul extract*, CE)에게는 HFHS 식이에 참나물 추출물 0.5%를 포함한 식이를, 참나물 무침(*Chamnamul-muchim*, CM)군은 HFHS 식이에 동결건조한 참나물 무침 분말 4%를 첨가하여 12주간 *ad libitum*으로 제공하였다. 참나물 추출물의 수득율이 12.6%이므로, 식이의 0.5%로 제공하는 참나물 추출물의 양은 동결건조한 참나물을 식이의 4% 정도 수준으로 제공하는 양에 해당된다. 따라서 참나물 추출물을 식이의 0.5%로 제공하고, 동결건조한 참나물 무침을 식이의 4% 수준으로 제공하여, 참나물 재료의 효능과 참나물 무침(요리) 효능을 비교하고자 하였다.

C57BL/6J mouse에 있어서 12주 이상 HFHS 식이를 섭취한 경우 비만, 인슐린 저항성, 대사증후군을 나타내는 것으로 보고되었다. 실험기간 동안 체중과 식이섭취량은 각각 주 1회 및 3회 측정하였다. 식이 섭취 시작일로부터 12주가 지난 후, 동물을 12시간 절식시키고, 동물을 심장채혈법으로 희생시켰다. 혈액은 3,000×g에서 15분간 원심 분리한 후 혈청을 분리하였고, 혈청과 간조직을 -70°C에서 보관하였다.

Table 1-1-4. Composition of control, HFHS, *Chamnamul* extract, and *Chamnamul-muchim* diets

Ingredient	Control	HFHS	CE	CM
Casein	20.00	20.00	20.00	19.08
Corn starch	65.00	11.00	11.00	10.49
Sucrose	-	27.10	26.60	25.00
Alpha-cellulose	5.00	-	-	-
Corn oil	5.00	3.00	3.00	2.53
Lard	-	33.00	33.00	33.00
Vitamin mixture	1.00	1.20	1.20	1.20
Mineral mixture	3.50	4.20	4.20	4.20
D,L-Methionine	0.30	0.30	0.30	0.30
Choline bitartrate	0.20	0.20	0.20	0.20
<i>Tert</i> -butyl hydroquinone	0.001	0.007	0.007	0.007
<i>Chamnamul</i> extract	-	-	0.50	-
<i>Chamnamul-muchim</i> *	-	-	-	4.00

*Freeze-dried

② 고지방·고단순당을 섭취한 마우스에 있어서 산채나물의 대사증후군 개선효과

생후 5주령의 수컷 C57BL/6J mice(n=21)를 구입하여 1주일간 적응기간 후, 세 군으로 나누었다. 대조군(Control)에게는 5.0% corn oil과 65.0% corn starch가 포함된 식이(Basal diet)를, 고지방·고단순당(HFHS)군에게는 3.0% corn oil, 33.0% lard 및 27.1% sucrose를 포함한 HFHS 식이를, 혼합 산채나물군 (*Sanchae-namul*, SN)에게는 HFHS 식이에 동결건조한 혼합 산채나물 분말을 4%를 첨가하여 12주간 *ad libitum*으로 제공하였다. 식이 섭취 시작일로부터 12주가 지난 후, 동물을 12시간 절식시키고, 동물을 심장채혈법으로 희생시켰다. 혈청과 간조직을 -70°C에서 보관하였다.

Table 1-1-5. Composition of control, HFHS, and *Sanchae-namul* diets

Ingredient	Control	HFHS	SN
Casein	20.00	20.00	19.07
Corn starch	65.00	11.00	10.64
Sucrose	-	27.10	24.88
Alpha-cellulose	5.00	-	-
Corn oil	5.00	3.00	2.52
Lard	-	33.00	33.00
Vitamin mixture	1.00	1.20	1.20
Mineral mixture	3.50	4.20	4.20
D,L-Methionine	0.30	0.30	0.30
Choline bitartrate	0.20	0.20	0.20
<i>Tert</i> -butyl hydroquinone	0.001	0.007	0.007
<i>Sanchae-namul</i> *	-	-	4.00

*Freeze-dried

(4) 비만 개선효과 및 식이지방 흡수율 측정

비만 개선 효과를 조사하기 위해, 동물을 해부한 후 부고환 백색지방 무게를 측정하였으며, 혈청 leptin 농도는 ELISA법으로 측정하였다. 체중, 체중증가량, 식이섭취량을 측정하고, 식이섭취효율(feed efficiency ratio, FER)은 [(체중증가량/식이섭취량)×100]으로 계산하였다. 동물 해부 4일 전, 24시간 동안 분변을 수집한 후 동결건조하였고, 분변의 지질은 Folch법으로 추출한 후 총 지방 함량을 측정하고, 중성지방 및 콜레스테롤 함량은 효소법으로 측정하였다. 식이지방 섭취량과 분변의 지방배설량으로부터 식이지방 흡수효율을 계산하였다.

(5) 내당능 및 인슐린 저항성 개선효과, 혈당 조절효과 조사

식이섭취 11주 후, 절식시킨 동물에게 glucose(2 g/kg)를 경구투여한 후 2시간 동안 30분 간격으로 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여, 혈당을 측정하고, 혈당 증가곡선의 면적(AUC)을 구하였다. 동물을 해부한 후, 혈당은 효소법으로, 혈청 인슐린 농도는 ELISA법으로 측정하였다. 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR은 [공복혈당 (mmol/L)×공복인슐린 (μU/mL)/22.5]로 계산하였다.

(6) 이상지질혈증 및 고혈압 개선효과 조사

혈청 중성지방 및 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도는 효소법으로 측정하였다. 동맥경화지수는 [(총 콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤]로 계산하였으며, 혈청 유리지방산은 ELISA법으로 측정하였다. 동물의 수축기 혈압은 1주간 측정기계에 적응훈련을 거친 후 3주에 1회씩 측정하였다. 동물의 혈압

을 tail-cuff blood system을 사용하여 측정하였다.

(7) 소장 점막의 탄수화물 소화효소 활성 측정

소장은 전체를 분리하여 십이지장 부분을 제거한 다음, 상부 1/3을 채취하여 실험에 사용하였다. Maltase 및 sucrase 활성은 Dahiqvist법으로, 단백질 함량은 Lowry법으로 측정하였다. 효소 활성은 1분 동안 분해된 기질의 양(μmole)을 1 unit로 하였다.

(8) 간조직의 지질과산화물, 글루타치온 농도 및 항산화 효소계 활성, 염증성 cytokines 측정

간 조직의 지질과산화물 측정은 Ohkawa 등의 방법을 이용하여, thiobarbituric acid (TBA)와 반응하는 malondialdehyde (MDA)의 함량을 측정하였고 표준용액으로는 1,1,3,3,-tetramethoxypropane (TMP)을 사용하였다. 간 조직의 glutathione (GSH)의 총 함량은 Ellman이 제시한 glutathione reductase-DTNB recirculation assay를 사용하여 측정하였다. 간조직의 SOD 활성은 Sun 등의 방법을 변형하여 측정하였고, 효소 활성 1 unit은 Nitro blue tetrazolium (NBT) 감소의 저해비율이 50%가 되는 효소의 양으로 정의하였다. Catalase (CAT) 활성은 Aebi법으로 측정하였으며, 효소 활성은 1분 동안 1 μmole 의 기질을 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다. Glutathione peroxidase (GSH-Px)의 활성은 Lawrence & Burk의 방법으로 EDTA, NaN_3 , NADPH, GSH, GSSG-reductase를 첨가한 반응 혼합액을 이용하여 H_2O_2 용액을 첨가하여 반응시켜서 NADPH의 흡광도 감소를 측정하였다. 염증성 cytokine인 IL-6의 혈청 농도를 ELISA법으로 측정하였다.

(9) 통계처리

실험 결과는 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 로 나타내었다. 각 군간의 유의성 검정은 ANOVA를 사용하여 실시하였고, Tukey's test를 follow-up test로 사용하였다($p < 0.05$).

3) 결과

(1) 고지방·고단순당을 섭취한 마우스에 있어서 참나물 추출물 및 참나물 무침의 대사 증후군 개선효과

① 비만 개선효과 및 지방 흡수율

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 체중은 각각 26.5 ± 2.2 , 40.1 ± 3.8 , 38.0 ± 4.3 , 36.9 ± 3.9 g으로 나타났다. HFHS군의 체중은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군, CM군의 체중은 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. HFHS군의 체중증가량은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군, CM군의 체중증가량은 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. 대조군, HFHS군, CE군, CM군의 식이섭취량은 유의적인 차이가

없었다. HFHS군의 식이섭취효율(Feed efficiency ratio, FER)은 $7.77 \pm 0.97\%$ 로 나타나, 대조군($2.42 \pm 0.66\%$)에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군($6.89 \pm 0.85\%$), CM군($6.40 \pm 1.40\%$)과는 유의적인 차이가 없었다.

Table 1-1-6. Body weight, food intake, and FER of C57BL/6J mice

Group	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER (%)
Control	19.3 ± 1.6	26.5 ± 2.2^a	0.085 ± 0.024^a	3.5 ± 0.4	2.42 ± 0.66^a
HFHS	19.4 ± 1.8	40.1 ± 3.8^b	0.246 ± 0.025^b	3.2 ± 0.4	7.77 ± 0.97^b
CE	19.4 ± 1.7	38.0 ± 4.3^b	0.221 ± 0.036^b	3.2 ± 0.4	6.89 ± 0.85^b
CM	19.5 ± 1.7	36.9 ± 3.9^b	0.207 ± 0.032^b	3.3 ± 0.3	6.40 ± 1.40^b

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 부고환 백색지방 무게는 각각 14.2 ± 3.3 , 31.7 ± 4.4 , 29.3 ± 6.2 , 27.3 ± 6.1 mg/100 g BW로 나타났다. HFHS군의 부고환 백색지방 무게는 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군, CM군의 부고환 백색지방 무게는 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. 따라서 참나물의 섭취는 HFHS 식이로 비만을 유도한 동물에 있어서 체중과 체지방에 유의적인 영향을 미치지 않았다.

Table 1-1-7. Epididymal fat pad weight of C57BL/6J mice

Group	Epididymal fat pad weight (mg/g BW)
Control	14.2 ± 3.3^a
HFHS	31.7 ± 4.4^b
CE	29.3 ± 6.2^b
CM	27.3 ± 6.1^b

HFHS군의 혈청 렙틴 농도는 12.3 ± 2.3 ng/mL로 대조군(5.0 ± 0.9 ng/mL)에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군, CM군의 혈청 렙틴 농도는 각각 10.3 ± 2.3 , 9.6 ± 2.1 ng/mL로 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. 렙틴은 지방조직에서 분비되는 호르몬으로 뇌의 시상하부에서 포만감에 대한 신호를 전달하여 교감신경계를 활성화 시켜서 에너지 소비를 촉진시킨다. 비만인 경우 렙틴 저항성 및 고렙틴혈증을 나타내는 것으로 보고되었다. HFHS 식이로 비만을 유도한 마우스에 있어서 참나물 추출물 및 무침의 섭취는 혈청 렙틴 농도에 영향을 미치지 않았다.

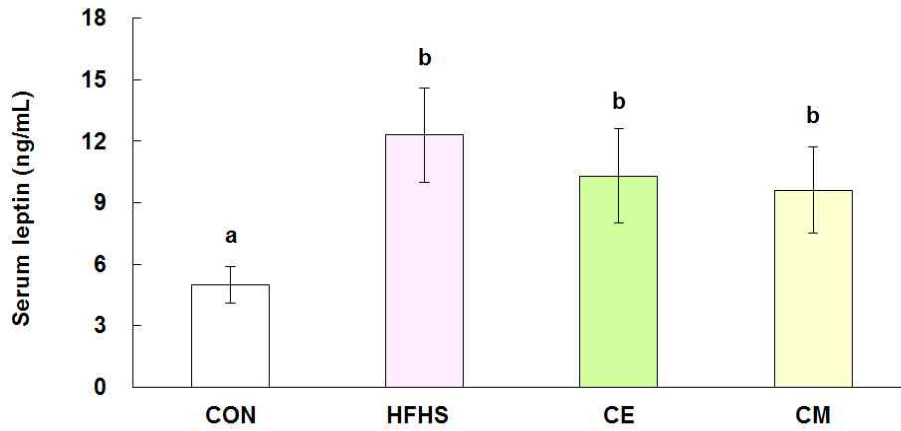


Fig. 1-1-1. Serum leptin levels of C57BL/6J mice.

HFHS군의 분변 중성지방 함량은 6.26 ± 0.81 mg/g feces로 대조군(3.99 ± 0.59 mg/g feces)에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군(6.57 ± 0.77 mg/g feces) 및 CM군의 분변 중성지방 함량(7.17 ± 0.93 mg/g feces)은 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다.

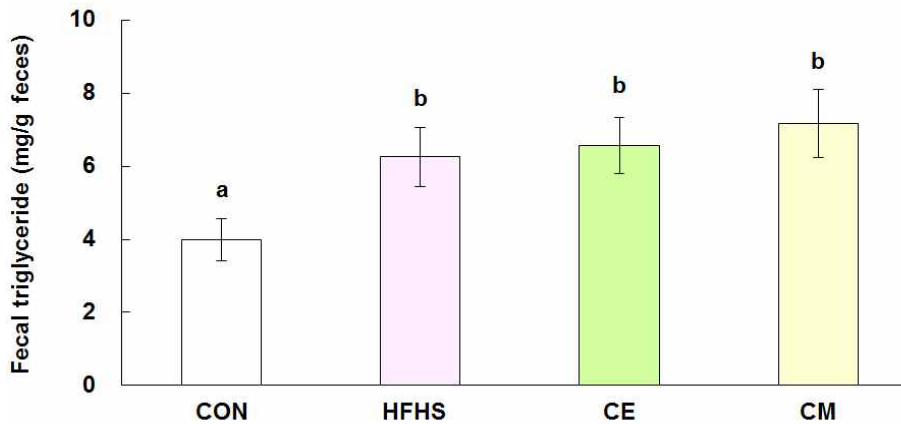


Fig. 1-1-2. Fecal triglyceride levels of C57BL/6J mice.

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 분변 콜레스테롤 함량은 각각 3.01 ± 0.69 , 4.24 ± 0.66 , 4.83 ± 0.65 , 5.33 ± 0.92 mg/g feces로 나타나, HFHS군의 분변 콜레스테롤 함량은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군 및 CM군의 분변 콜레스테롤 함량은 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. HFHS군의 식이지방 흡수율은 $99.4 \pm 0.1\%$ 로 대조군($97.8 \pm 0.5\%$)에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군, CM군의 식이지방 흡수율은 각각 99.3 ± 0.1 , $99.2 \pm 0.2\%$ 로 나타나 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다.

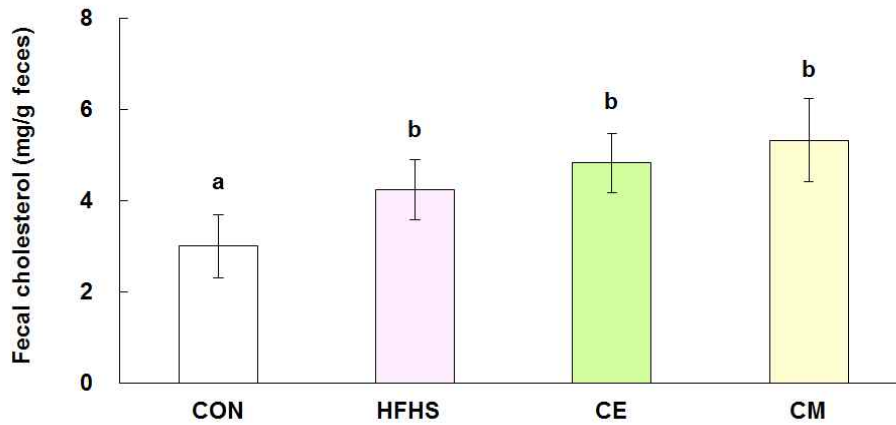


Fig. 1-1-3. Fecal cholesterol levels of C57BL/6J mice.

② 내당능 및 인슐린 저항성 개선효과, 혈당 조절효과 조사

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 혈당은 각각 129.2 ± 16.3 , 170.5 ± 21.7 , 140.6 ± 16.9 , 142.6 ± 11.4 mg/dL로 나타났다. HFHS군의 혈당은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군, CM군의 혈당은 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

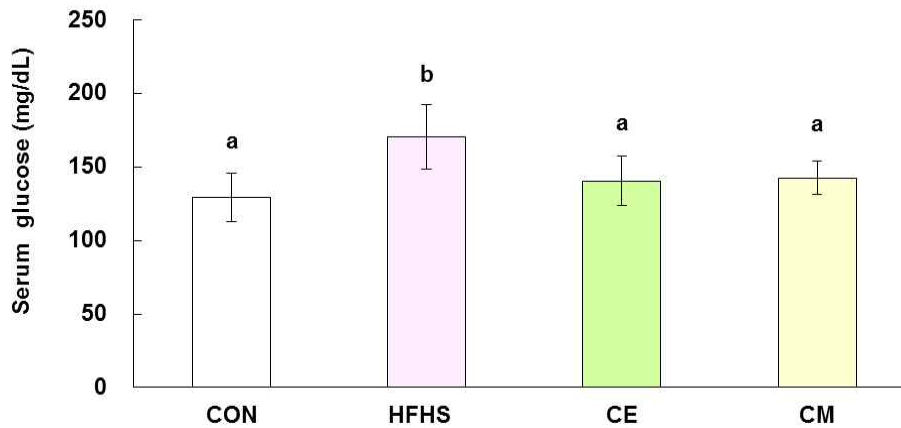


Fig. 1-1-4. Serum glucose levels of C57BL/6J mice.

HFHS군의 혈청 인슐린 농도는 38.3 ± 5.3 μ U/mL로 대조군(17.1 ± 2.2 μ U/mL)에 비해 유의적으로 증가하였다. CE군, CM군의 인슐린 농도는 각각 27.6 ± 3.9 , 24.6 ± 4.1 로 나타나, HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 대조군보다 높게 나타났다.

HFHS군의 HOMA-IR은 16.0 ± 2.5 로 대조군(5.5 ± 1.3)에 비해 유의적으로 증가하였다. CE군, CM군의 HOMA-IR은 각각 9.5 ± 1.1 , 8.6 ± 1.5 로 나타나 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 대조군보다 높게 나타났다. C57BL/6J mice에 있어서 HFHS 식이의 섭취는 인슐린 신호전달체계의 유전자 발현을 하향 조절하여 인슐린 저항성을 유도하여 고인슐린혈증, HOMA-IR의 증가, 고혈당을 나타낸다고 보고되었다. 참나물 추출물 및 참나물 무침의 섭취는 HFHS 식이 섭취로 인슐린 저항성을 유도한 마우스

에 있어서 고인슐린혈증을 완화하고, 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR을 감소시켰으며, 고혈당을 개선하였다. 따라서 참나무 추출물 및 참나무 무침은 인슐린 저항성의 개선 및 대사증후군 예방에 도움이 되는 것으로 나타났다.

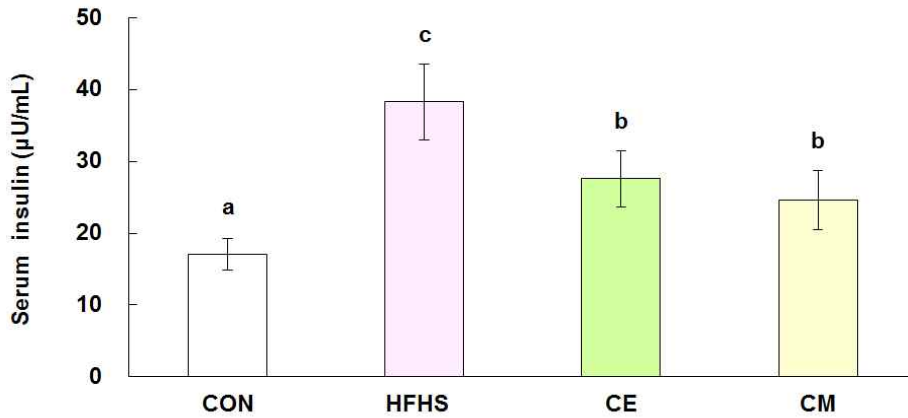


Fig. 1-1-5. Serum insulin levels of C57BL/6J mice.

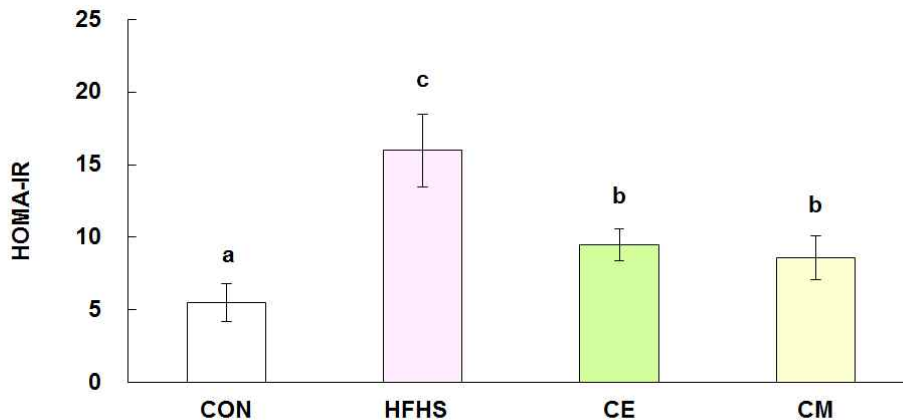


Fig. 1-1-6. HOMA-IR values of C57BL/6J mice.

C57BL/6J mice에 있어서 포도당 부하 후 혈당 변화곡선을 Fig. 1-1-7에 나타내었다. HFHS군에 있어서 포도당 투여 후 30분의 혈당증가치는 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났다. CE군의 30분의 혈당증가치는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였고, 대조군과 유의적인 차이가 없었다. CM군의 30분의 혈당증가치는 대조군, HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. HFHS군의 혈당증가 곡선의 면적은 $6,229 \pm 1,812$ mg·min/dL로 대조군($3,671 \pm 646$ mg·min/dL)에 비해 유의적으로 증가하여, 내당능이 감소한 것으로 나타났다. CE군, CM군의 혈당증가 곡선의 면적은 각각 $4,958 \pm 1,029$, $5,154 \pm 1,274$ mg·min/dL로 HFHS군에 비해 감소하는 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 없었다. 따라서 참나무는 식이로 유도된 인슐린 저항성 동물 모델에 있어서 내당능을 개선시키는 경향을 나타내었으나, 유의적인 차이는 나타내지 않았다.

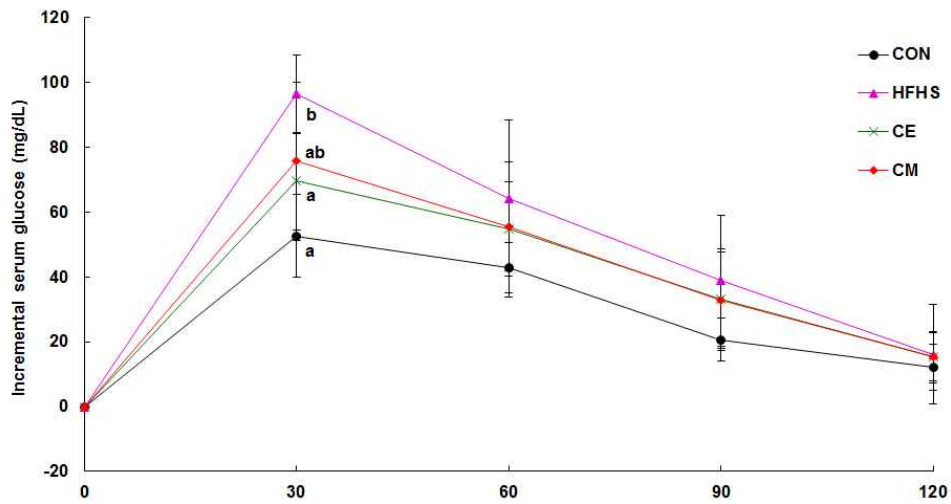


Fig. 1-1-7. Oral glucose tolerance test curves of C57BL/6J mice.

Table 1-1-8. Area under the oral glucose tolerance curves (AUC)

Group	AUC (mg · min/dL)
Control	3,671±646 ^a
HFHS	6,229±1,812 ^b
CE	4,948±1,029 ^{ab}
CM	5,154±1,274 ^{ab}

③ 이상지질혈증 개선효과

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 혈청 중성지방 농도는 각각 103.8±11.3, 132.5±14.0, 123.8±15.6, 118.4±14.0 mg/dL로 나타났다. HFHS군의 혈청 중성지방 농도는 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. CE군 및 CM군의 중성지방 농도는 HFHS군에 비해 감소하는 경향을 보였으나, 대조군 및 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다.

HFHS군의 혈청 콜레스테롤 농도는 144.8±22.3 mg/dL로 대조군(95.3±15.3 mg/dL)에 비해 유의적으로 증가하였다. CE군(115.4±15.4 mg/dL), CM군(119.3±13.1 mg/dL)의 경우, HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였고, 대조군과는 유의적인 차이가 없었다.

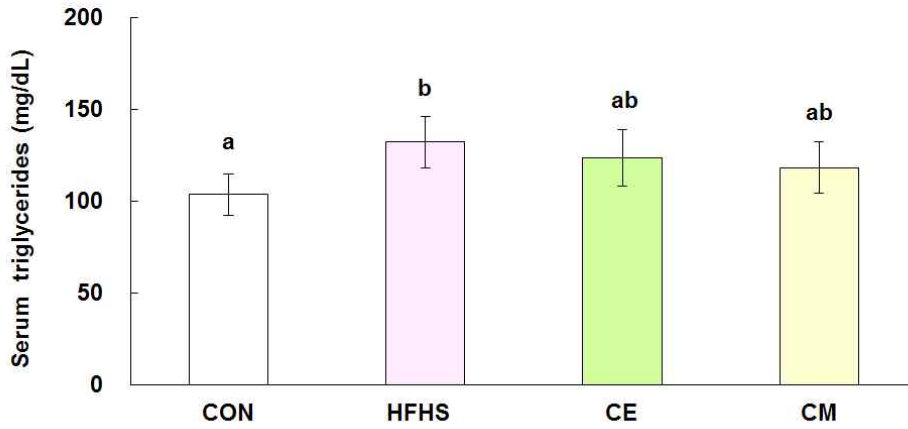


Fig. 1-1-8. Serum triglyceride levels of C57BL/6J mice.

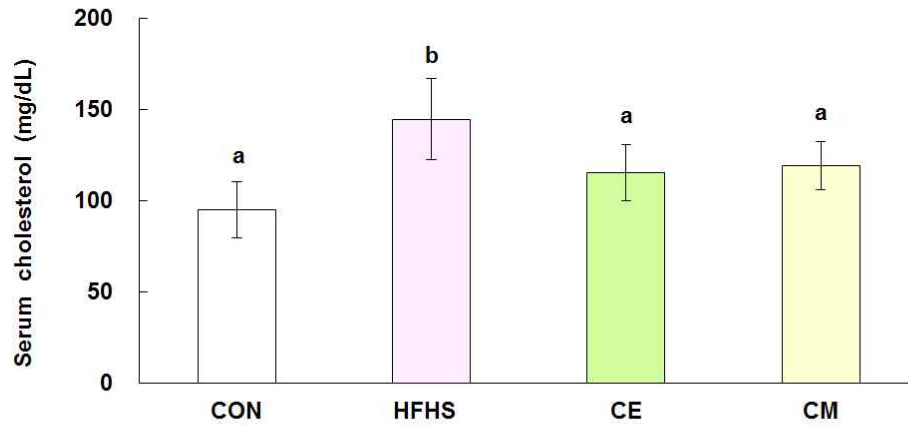


Fig. 1-1-9. Serum cholesterol levels of C57BL/6J mice.

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 혈청 HDL-콜레스테롤 농도는 각각 53.9 ± 11.5 , 66.0 ± 6.8 , 64.1 ± 11.0 , 64.0 ± 10.5 mg/dL로 나타나, 네 군간 유의적인 차이가 없었다.

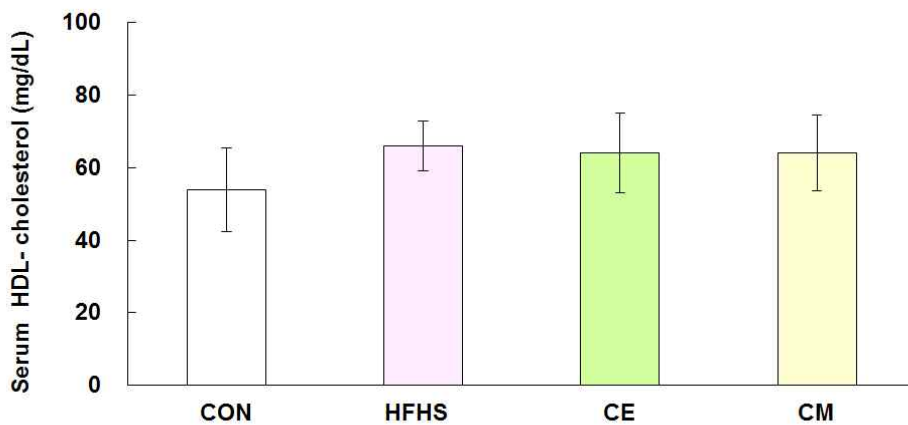


Fig. 1-1-10. Serum HDL-cholesterol levels of C57BL/6J mice.

HFHS군의 혈청 LDL-콜레스테롤 농도는 39.7 ± 5.4 mg/dL로 대조군(27.3 ± 4.9 mg/dL)에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군(34.4 ± 10.2), CM군(36.1 ± 8.7)은 HFHS군 및 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

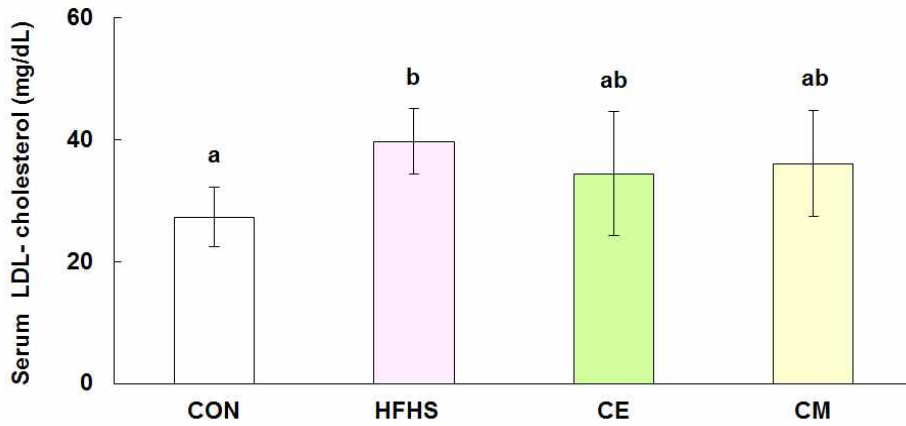


Fig. 1-1-11. Serum LDL-cholesterol levels of C57BL/6J mice.

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 동맥경화지수는 각각 0.79 ± 0.19 , 1.19 ± 0.18 , 0.82 ± 0.23 , 0.88 ± 0.15 로 나타났다. HFHS군의 동맥경화지수는 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, CE군, CM군은 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

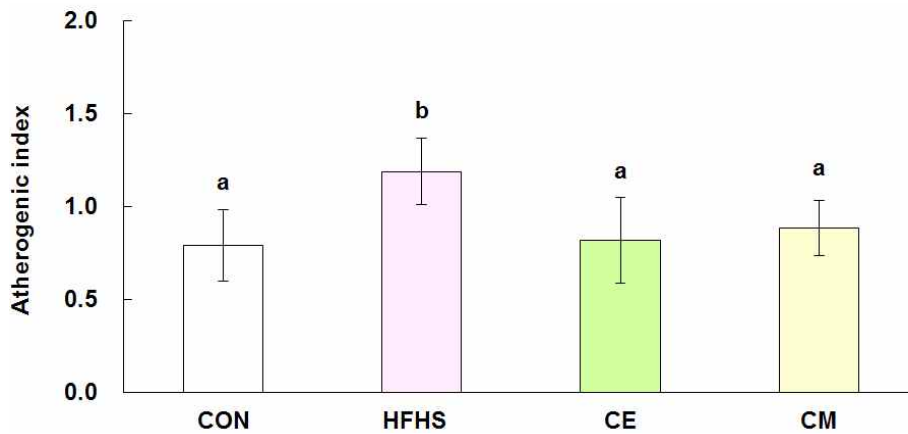


Fig. 1-1-12. Atherogenic index of C57BL/6J mice.

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 혈청 유리지방산(FFA) 농도는 각각 0.71 ± 0.10 , 1.21 ± 0.18 , 0.89 ± 0.16 , 0.92 ± 0.14 mmol/L로 나타나, HFHS군은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군, CM군은 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였고 대조군과는 유의적인 차이가 없었다. 혈액 내 중성지방 및 콜레스테롤 농도의 증가는 고혈압, 심혈관계질환 및 뇌졸중 발생의 원인으로 작용한다. 비만동물과 비만 환자는 인슐린 저항성이 증가하고 그로 인해 유리지방산이 증가된다고 보고되어 있다. HFHS 섭

취로 비만이 유도된 동물에 있어서 참나무 추출물 및 참나무 무침의 섭취는 혈청 콜레스테롤 및 유리지방산 농도를 감소시키고 동맥경화지수를 감소시켜, 인슐린 저항성을 개선하고 심혈관계질환의 위험을 감소시키는데 기여할 것으로 사료된다.

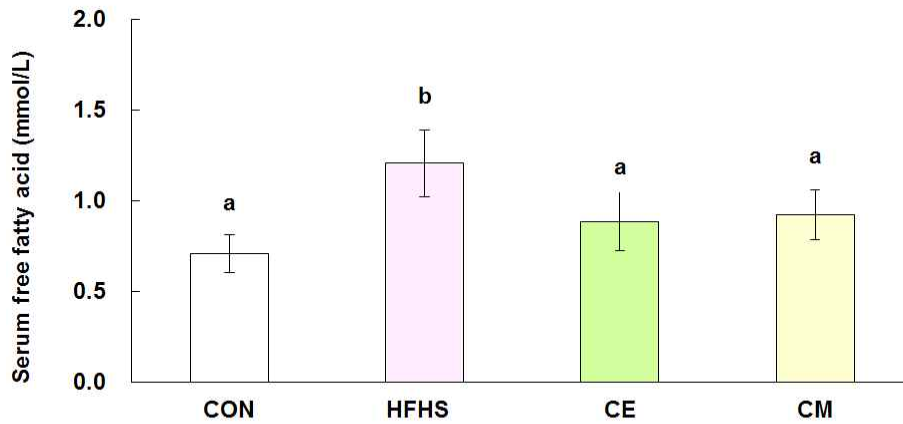


Fig. 1-1-13. Serum free fatty acid levels of C57BL/6J mice.

④ 고혈압 개선효과

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 수축기 혈압을 측정한 결과, 각각 95.3 ± 8.8 , 116.3 ± 16.1 , 111.7 ± 12.7 , 109.1 ± 12.5 mmHg로 나타나 HFHS군의 수축기 혈압이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, CE군 및 CM군의 수축기 혈압은 HFHS군에 비해 감소하는 경향을 보였으나 대조군 및 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다.

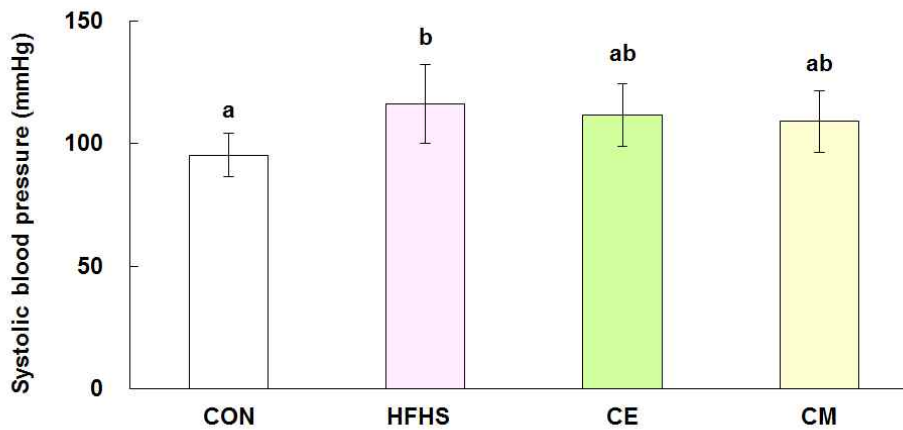


Fig. 1-1-14. Systolic blood pressure of C57BL/6J mice.

⑤ 소장 점막의 탄수화물 소화효소 활성

HFHS군의 소장 점막 maltase 활성은 50.3 ± 7.3 U/mg protein로 나타나, 대조군 (71.0 ± 12.7 U/mg protein)에 비해 유의적으로 감소하였다. CE군, CM군의 소장 점막 maltase 활성은 각각 46.7 ± 8.6 , 48.3 ± 8.4 U/mg protein로 나타나, HFHS군과 유의적인 차이가 없었다.

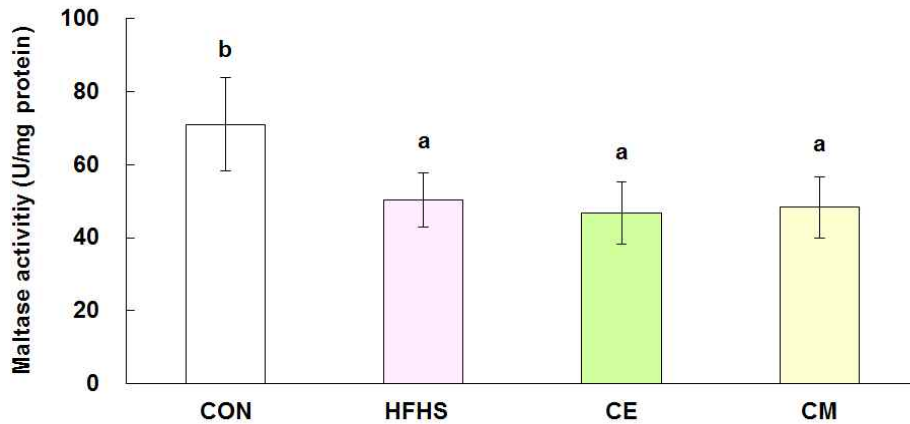


Fig. 1-1-15. Maltase activities of small intestinal mucosa of C57BL/6J mice.

HFHS군(6.6 ± 1.0 U/mg protein)의 소장 점막 sucrase 활성은 대조군(12.1 ± 2.2 U/mg protein)에 비해 유의적으로 감소하였으며, CE군(6.7 ± 1.4 U/mg protein) 및 CM군(7.5 ± 2.4 U/mg protein)은 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. 따라서 HFHS식이 섭취 마우스에 있어서 참나물을 장기간 섭취한 경우 소장의 탄수화물 소화효소 활성에는 영향을 미치지 않았다.

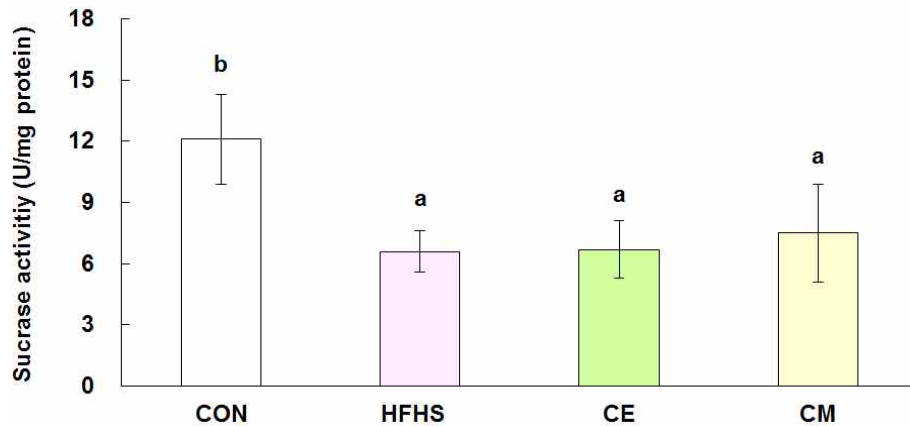


Fig. 1-1-16. Sucrase activities of small intestinal mucosa of C57BL/6J mice.

㉔ 간조직의 지질과산화물, 글루타치온 농도 및 항산화 효소계 활성, 염증성 cytokines 측정

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 간조직 TBARS 농도를 측정한 결과, HFHS군(0.924 ± 0.155 nmol MDA/mg protein)이 대조군(0.652 ± 0.100 nmol MDA/mg protein)에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군(0.687 ± 0.097 nmol MDA/mg protein)은 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였다. CM군(0.750 ± 0.127 nmol MDA/mg protein)의 지질과산화물 농도는 대조군 및 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. 따라서, 참나물 추출물의 섭취는 HFHS로 대사증후군을 유도한 마우스에 있어서 간조직의 지질 과산화물을 감소시키는 효과를 나타내었다.

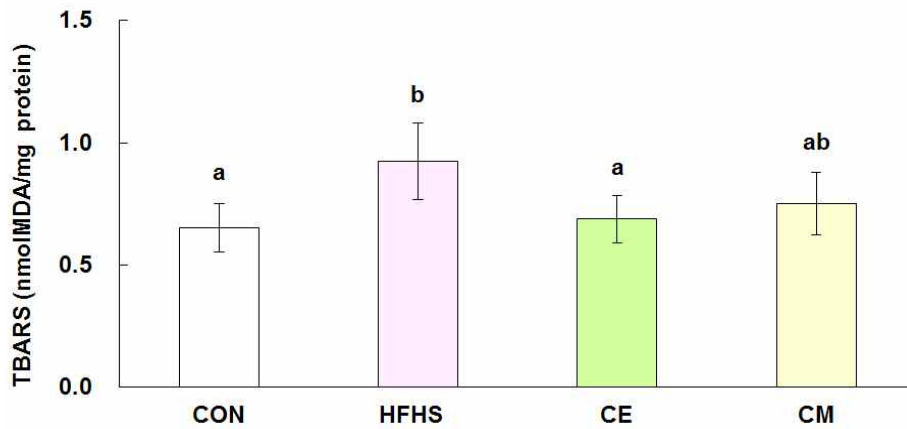


Fig. 1-1-17. Hepatic TBARS levels of C57BL/6J mice.

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 간조직 GSH 농도는 각각 29.1 ± 4.3 , 18.2 ± 2.4 , 23.6 ± 3.5 , 22.2 ± 3.4 nmol/mg protein으로 나타나 HFHS군 및 CM군은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. CE군의 간조직 GSH 농도는 대조군 및 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다.

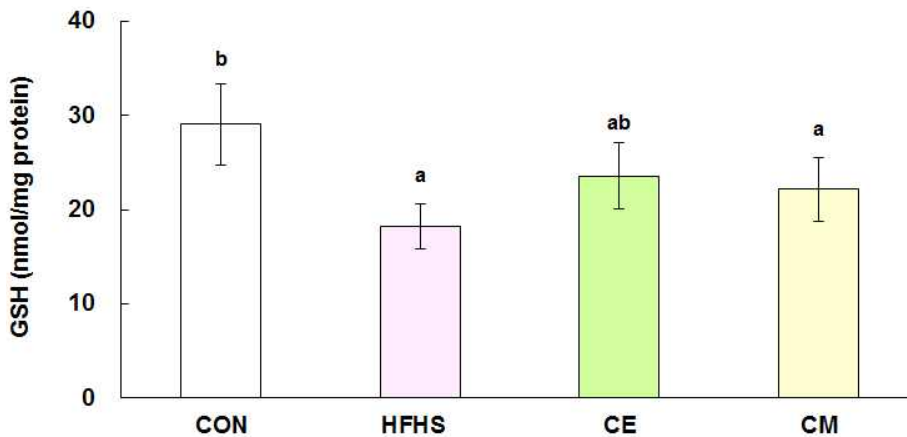


Fig. 1-1-18. Hepatic GSH levels of C57BL/6J mice.

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 간조직 SOD 활성은 각각 18.1 ± 2.3 , 12.6 ± 1.6 , 17.8 ± 1.6 , 16.3 ± 2.2 U/mg protein으로 나타나 HFHS군의 SOD 활성이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. CE군 및 CM군의 간조직 SOD 활성은 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였고, 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

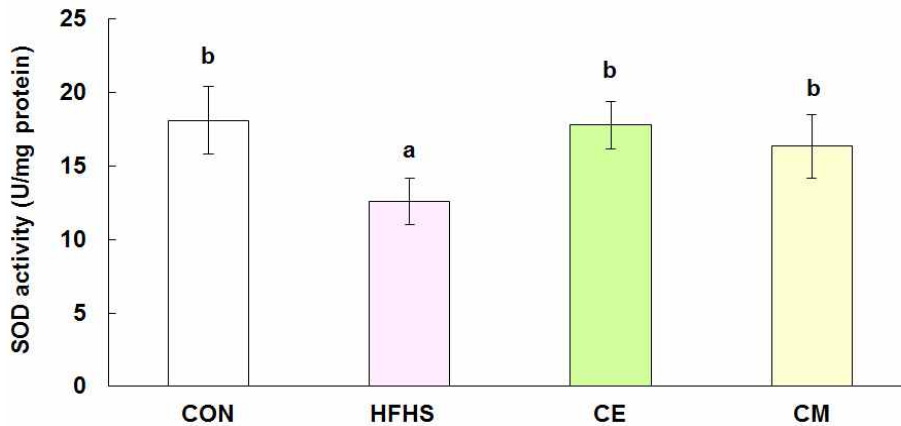


Fig. 1-1-19. Hepatic SOD activities of C57BL/6J mice.

HFHS군의 간조직 catalase 활성은 8.4 ± 1.5 U/mg protein로 대조군(12.2 ± 1.6 U/mg protein)에 비해 유의적으로 감소하였고, CE군의 catalase 활성(11.8 ± 1.7 U/mg protein)은 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 대조군과 유의적인 차이가 없었다. CM군의 catalase 활성(11.1 ± 1.9 U/mg protein)은 HFHS군 및 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

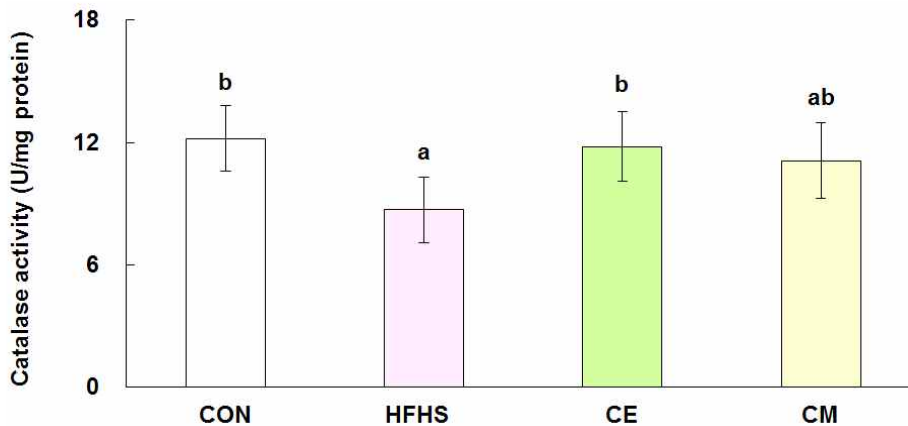


Fig. 1-1-20. Hepatic catalase activities of C57BL/6J mice.

대조군, HFHS군, CE군, CM군의 간조직 GSH-Px 활성은 각각 17.8 ± 2.9 , 13.6 ± 1.6 , 17.1 ± 2.1 , 15.7 ± 2.2 U/mg protein로 나타나 HFHS군의 GSH-Px 활성이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. CE군의 간조직 GSH-Px 활성은 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 대조군과 유의적인 차이가 없었다. CM군의 GSH-Px 활성은 HFHS군 및 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 비만상태는 산화적 스트레스를 증가시키고, 이는 제2형 당뇨병, 심혈관계질환, 비알콜성 지방간 등 비만 관련 질환의 이환율을 증가시킨다. 참나물 추출물은 식이로 비만을 유도한 동물에 있어서, 간조직의 GSH를 증가시키고 항산화계 효소 활성을 증가시켜, 비만 관련 질환의 진행을 완화하는데 기여할 것으로 사료된다.

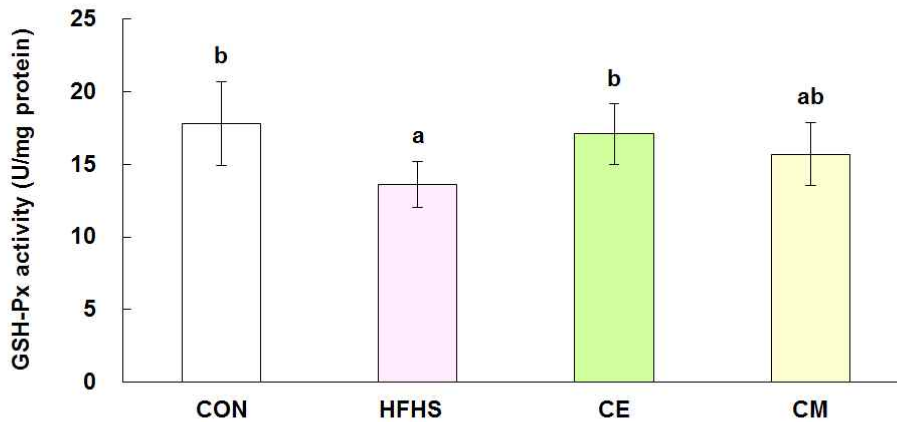


Fig. 1-1-21. Hepatic GSH-Px activities of C57BL/6J mice.

HFHS군의 혈청 IL-6 농도는 62.1 ± 11.7 pg/mL로 대조군(21.3 ± 4.9 pg/mL)에 비해 유의적으로 증가하였고, CE군(43.9 ± 7.1 pg/mL) 및 CM군의 IL-6 농도(46.3 ± 8.6 pg/mL)는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였다. IL-6는 염증반응을 촉진하는 cytokine으로 보고되어 있다. HFHS 식이의 섭취는 혈청 IL-6 농도를 증가시키나, 참나무 추출물, 참나무 무침의 섭취는 이러한 염증성 사이토카인을 감소시킨 것으로 나타났다. 식이로 유도된 비만은 low degree inflammation을 초래하고, 이는 인슐린 저항성을 유도하게 된다. 참나무 추출물과 무침은 염증성 반응을 완화시켜 인슐린 저항성을 개선하고, 따라서 대사증후군을 완화시키는데 기여하는 것으로 사료된다.

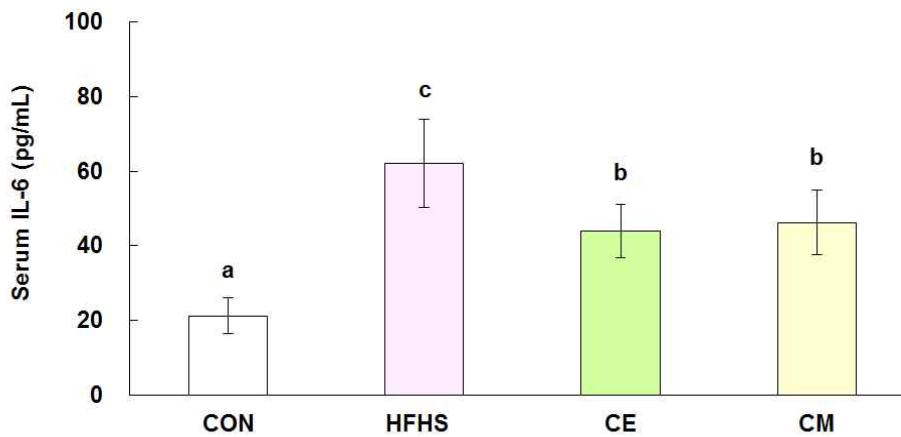


Fig. 1-1-22. Serum IL-6 levels of C57BL/6J mice.

(2) 고지방·고단순당을 섭취한 마우스에 있어서 산채나물의 대사증후군 개선효과

① 비만 개선효과 및 지방 흡수율

대조군, HFHS군, SN군의 체중은 각각 27.0 ± 2.5 , 39.2 ± 3.8 , 36.2 ± 3.2 g으로 나타났다(Table 1-1-9). HFHS군의 체중 및 체중증가량은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 체중 및 체중증가량은 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. 대조군,

HFHS군, SN군의 식이섭취량은 유의적인 차이가 없었다. HFHS군의 식이섭취효율 (FER)은 $7.49 \pm 0.98\%$ 로 나타나, 대조군($2.33 \pm 0.95\%$)에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군($6.05 \pm 1.75\%$)과는 유의적인 차이가 없었다.

Table 1-1-9. Body weight and food intake of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*

Group	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER (%)
Control	19.9 ± 1.8	27.0 ± 2.5^a	0.084 ± 0.035^a	3.7 ± 0.4	2.33 ± 0.95^a
HFHS	19.6 ± 1.8	39.2 ± 3.8^b	0.233 ± 0.029^b	3.1 ± 0.4	7.49 ± 0.98^b
SN	19.7 ± 1.9	36.2 ± 3.2^b	0.196 ± 0.046^b	3.3 ± 0.4	6.05 ± 1.75^b

대조군, HFHS군, SN군의 부고환 백색지방 무게는 각각 13.3 ± 3.4 , 30.9 ± 6.0 , 25.8 ± 6.3 mg/100 g BW로 나타났다. HFHS군의 부고환 백색지방 무게는 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 부고환 백색지방 무게는 HFHS군에 비해 감소하는 경향을 나타냈지만 유의적인 차이는 없었다. HFHS군의 혈청 렙틴 농도 (11.4 ± 2.0 ng/mL)는 대조군(4.8 ± 1.1 ng/mL)에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 혈청 렙틴 농도(9.1 ± 2.0 ng/mL)는 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. 비만인 경우 렙틴 저항성이 유도되고 고렙틴혈증이 나타난다. 혼합 산채나물의 섭취는 HFHS 식이로 비만을 유도한 동물에 있어서 체중과 체지방, 혈청 렙틴에 유의적인 영향을 미치지 않았다.

Table 1-1-10. Epididymal fat pad weight of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*

Group	Epididymal fat pad weight (mg/g BW)
Control	13.3 ± 3.4^a
HFHS	30.9 ± 6.0^b
SN	25.8 ± 6.3^b

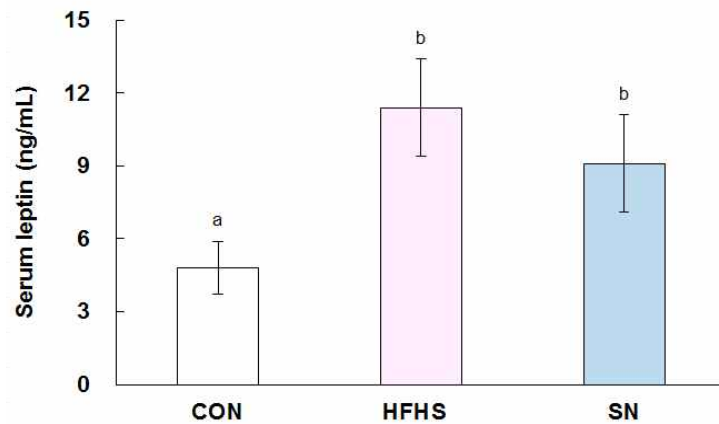


Fig. 1-1-23. Serum leptin levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

HFHS군의 분변 중성지방 함량(6.03 ± 0.87 mg/g feces)은 대조군(3.86 ± 0.70 mg/g feces)에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 분변 중성지방 함량(7.83 ± 1.43 mg/g feces)은 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였다.

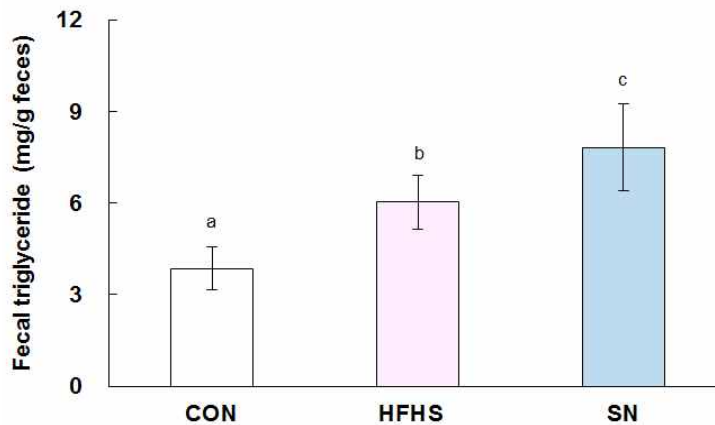


Fig. 1-1-24. Fecal triglyceride levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

HFHS군(4.64 ± 0.63 mg/g feces)의 분변 콜레스테롤 함량은 대조군(3.13 ± 0.63 mg/g feces)에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군(6.06 ± 1.18 mg/g feces)의 분변 콜레스테롤 함량은 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였다. 따라서, HFHS 식이 섭취 동물에 있어서, 혼합 산채나물의 섭취는 분변 중성지방과 콜레스테롤 배설량을 증가시켰다. HFHS군의 식이지방 흡수율($99.4 \pm 0.1\%$)은 대조군 ($97.8 \pm 0.5\%$)에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 식이지방 흡수율은 $99.2 \pm 0.1\%$ 로 나타나 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다.

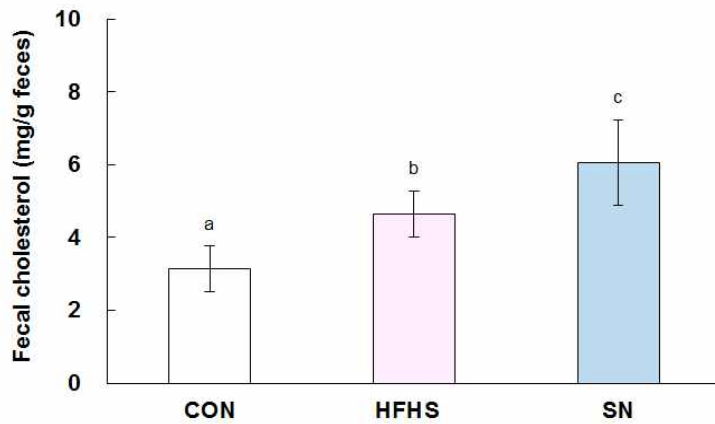


Fig. 1-1-25. Fecal cholesterol levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

② 인슐린 저항성 및 혈당 개선효과

대조군, HFHS군, SN군의 혈당은 각각 122.8 ± 15.8 , 171.0 ± 22.9 , 136.9 ± 20.7 mg/dL로 나타났다. HFHS군의 혈당은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 혈당은 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 대조군과 유의적인 차이가 없게 나타나, 혼합 산채나물의 혈당 개선효과가 우수하게 나타났다. 혼합 산채나물의 평균 섭취량은 4.7 g/kg BW으로 나타났다. 마우스에 있어서 동결건조한 혼합 산채나물의 섭취량을 체표면적(body surface area) 차이에 근거하여 사람의 섭취량으로 전환하면 0.4 g/kg에 해당되고, 이는 체중 56.3 kg(한국인 성인여성의 표준체중)인 사람이 동결건조한 산채나물을 21.7 g/day 섭취하는 양에 해당된다. 이는 산채나물의 수분 함량을 고려할 때, 하루에 채소류 “1인 1회” 분량을 3회 정도 섭취하는 양에 해당된다.

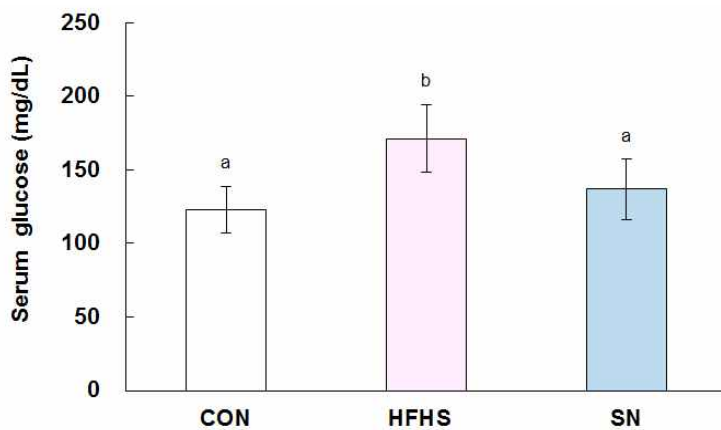


Fig. 1-1-26. Serum glucose levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

HFHS군의 혈청 인슐린 농도는 34.6 ± 6.0 μ U/mL로 대조군(16.2 ± 3.1 μ U/mL)에 비해 유의적으로 증가하였다. SN군의 혈청 인슐린 농도는 24.5 ± 3.3 μ U/mL로 나타나 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 대조군보다 높게 나타났다.

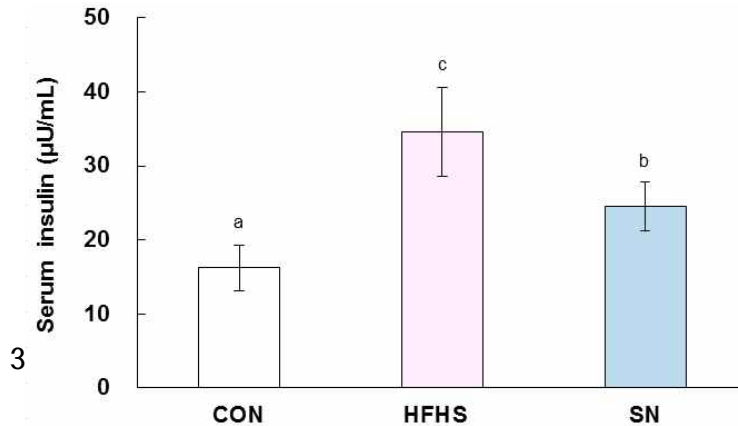


Fig. 1-1-27. Serum insulin levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

대조군, HFHS군, SN군의 HOMA-IR은 각각 4.9 ± 1.2 , 14.7 ± 3.4 , 8.3 ± 1.9 로 나타나 HFHS군의 HOMA-IR은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 HOMA-IR은 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 대조군보다 높게 나타났다.

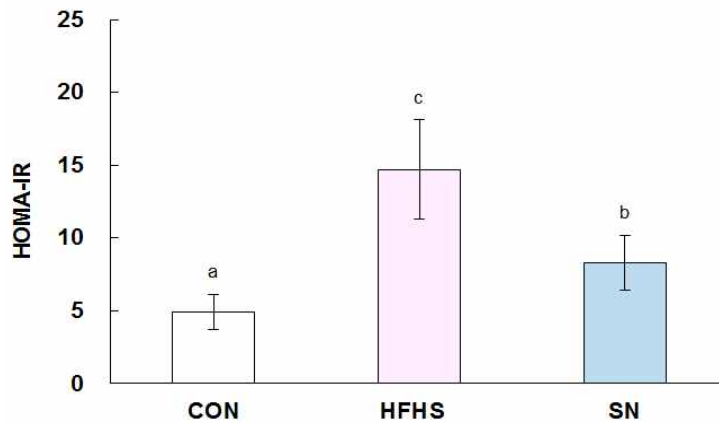


Fig. 1-1-28. HOMA-IR values of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

산채나물의 섭취가 내당능에 미치는 영향을 조사한 결과를 Fig. 1-1-29에 나타내었다. HFHS군에 있어서 포도당 투여 후 30분의 혈당증가치는 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, SN군의 30분의 혈당증가치는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였고, 대조군과 유의적인 차이가 없었다. HFHS군의 60분의 혈당증가치는 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, SN군의 60분의 혈당증가치는 HFHS군 및 대조군과 유의적인 차이가 없었다. HFHS군의 혈당증가 곡선의 면적은 $6,058 \pm 1,620$ mg·min/dL로 대조군($3,501 \pm 800$ mg·min/dL)에 비해 유의적으로 증가하여, 내당능이 감소한 것으로 나타났다. SN군의 혈당증가 곡선의 면적은 $4,500 \pm 1,020$ mg·min/dL로 HFHS군에 비해 감소하는 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 없었다. 따라서 HFHS 식이의 섭취로 인슐린 저항성과 고혈당을 나타낸 C57BL/6J mice에 있어서 혼

합 산채나물의 섭취는 고인슐린혈증을 완화하고, 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR과 혈당을 감소시켜 내당능 및 고혈당을 개선하였다. 혼합 산채나물을 구성하는 재료 중 참나물, 다래순, 삼나물은 *in vitro*에서 α -glucosidase 저해활성이 우수하였다. α -glucosidase 저해제의 장기간 섭취는 인슐린 저항성을 개선하고 고혈당을 개선시키는 것으로 보고되었다. 따라서 혼합 산채나물은 α -glucosidase를 저해하여, 인슐린 저항성과 고혈당을 개선하는데 기여한 것으로 사료된다.

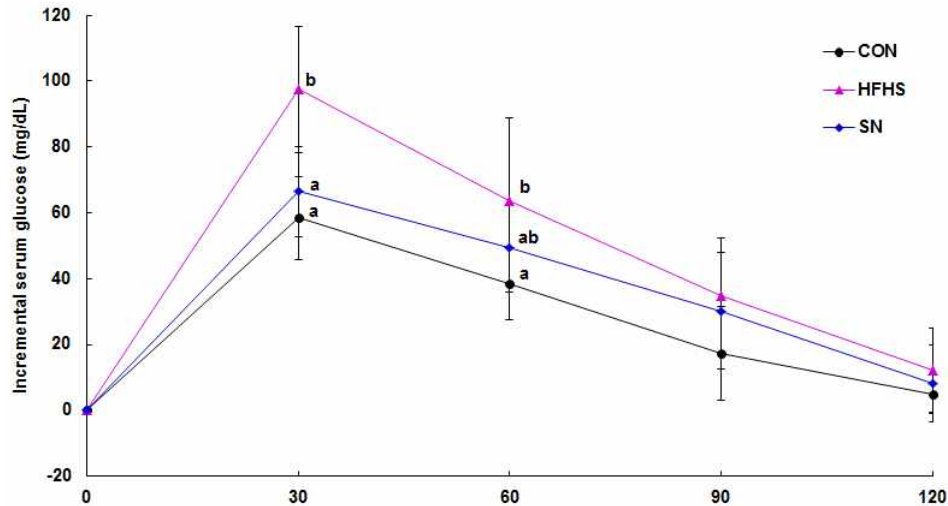


Fig. 1-1-29. Oral glucose tolerance test curves of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

Table 1-1-11. Area under the oral glucose tolerance curves (AUC) of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*

Group	AUC (mg · min/dL)
Control	3,501±800 ^a
HFHS	6,058±1,620 ^b
SN	4,500±1,020 ^{ab}

③ 이상지질혈증 및 고혈압 개선효과

HFHS군의 혈청 중성지방 농도(130.8 ± 15.7 mg/dL)는 대조군(102.4 ± 13.2 mg/dL)에 비해 유의적으로 증가하였다. SN군의 혈청 중성지방 농도(106.6 ± 13.8 mg/dL)는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

HFHS군의 혈청 콜레스테롤 농도는 143.4 ± 18.4 mg/dL로 대조군(94.5 ± 12.4 mg/dL)에 비해 유의적으로 증가하고, SN군의 콜레스테롤 농도(111.0 ± 14.5 mg/dL)는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였고, 대조군과는 유의적인 차이가 없었다.

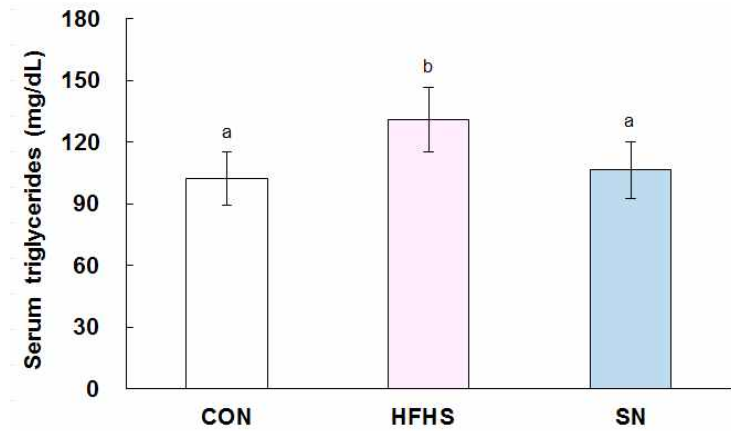


Fig. 1-1-30. Serum triglyceride levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

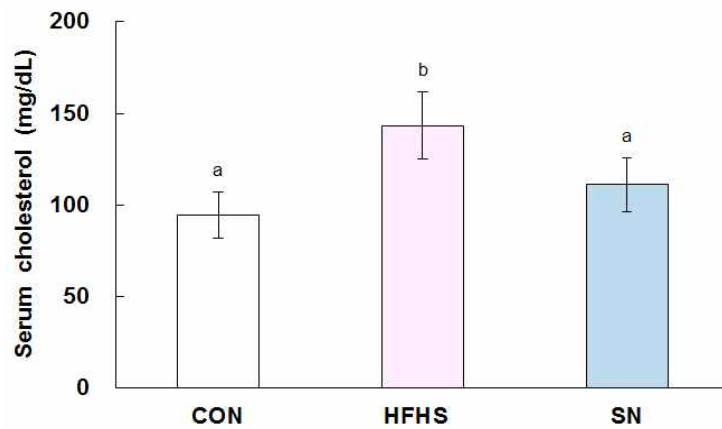


Fig. 1-1-31. Serum cholesterol levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

대조군, HFHS군, SN군의 혈청 HDL-콜레스테롤 농도는 세 군간 유의적인 차이가 없었다.

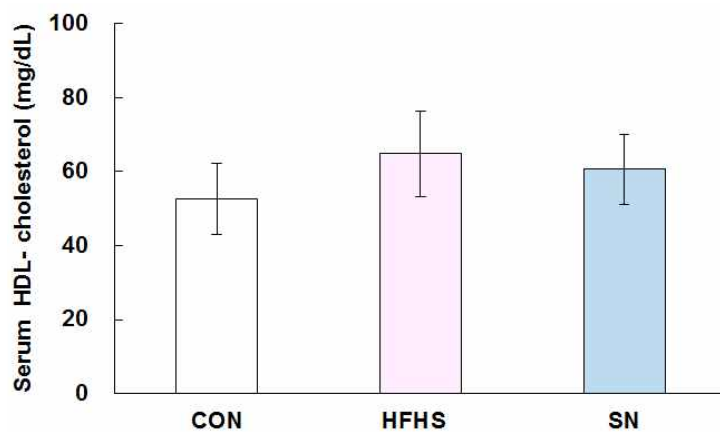


Fig. 1-1-32. Serum HDL-cholesterol levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

HFHS군의 혈청 LDL-콜레스테롤 농도(42.4 ± 11.2 mg/dL)는 대조군(25.3 ± 6.3 mg/dL)에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 LDL-콜레스테롤 농도(32.4 ± 8.5 mg/dL)는 HFHS군 및 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

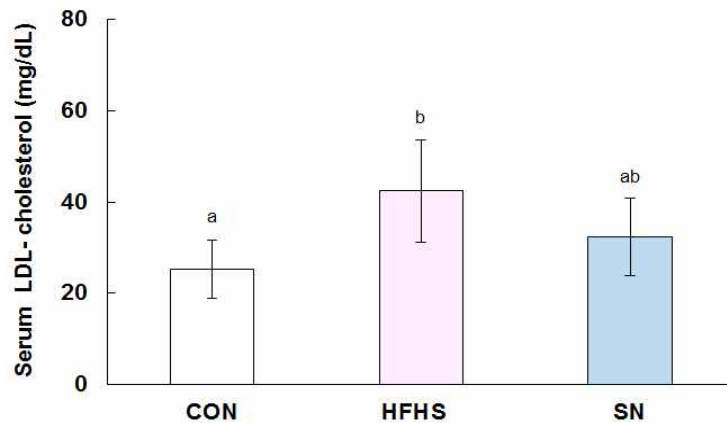


Fig. 1-1-33. Serum LDL-cholesterol levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

HFHS군의 동맥경화지수는 1.26 ± 0.36 으로 나타나, 대조군(0.83 ± 0.24)에 비해 유의적으로 증가하였으며, SN군의 동맥경화지수는 0.84 ± 0.10 로 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였고 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 장기간 HFHS 식이 섭취로 이상지질혈증이 유도된 마우스에 있어서 혼합 산채나물의 섭취는 고중성지방혈증과 고콜레스테롤혈증을 개선하였고 동맥경화지수를 감소시켜, 심혈관계질환의 위험을 감소시키는데 기여할 것으로 사료된다.

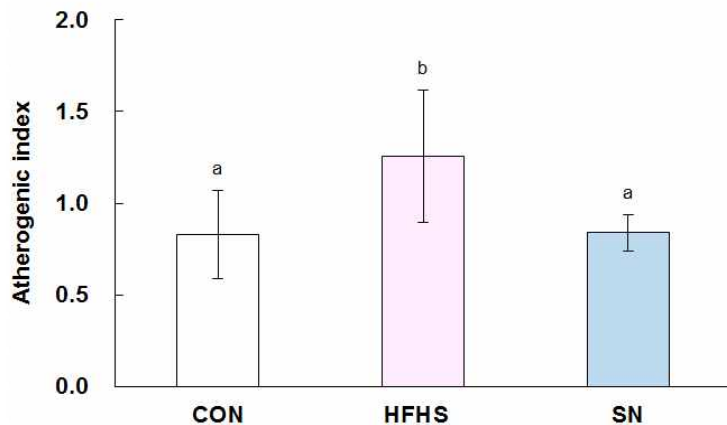


Fig. 1-1-34. Atherogenic index of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

HFHS군(1.18 ± 0.22 mmol/L)의 혈청 FFA농도는 대조군(0.69 ± 0.12 mmol/L)에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 FFA농도(0.80 ± 0.12 mmol/L)는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 대조군과는 유의적인 차이가 없었다. 따라서 HFHS 식이를

섭취한 마우스에 있어서 혼합 산채나물은 인슐린 저항성을 개선시켜 FFA를 감소시킨 것으로 사료된다.

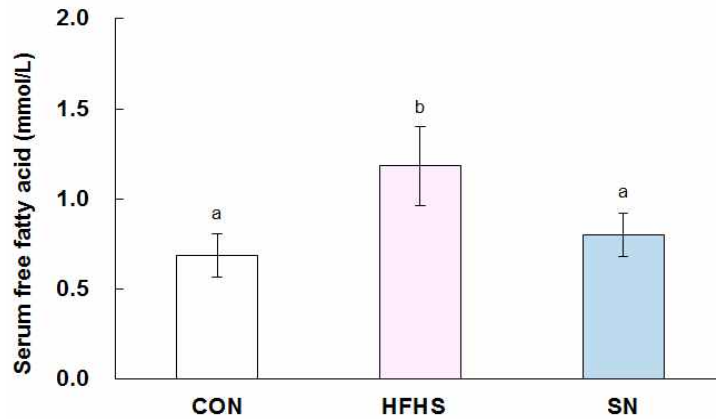


Fig. 1-1-35. Serum free fatty acid levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

대조군, HFHS군, SN군의 수축기 혈압은 각각 95.7 ± 9.3 , 115.0 ± 12.5 , 102.9 ± 13.6 mmHg로 나타나 HFHS군의 수축기 혈압이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, SN군의 수축기 혈압은 HFHS군에 비해 감소하는 경향을 보였으나 대조군 및 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다.

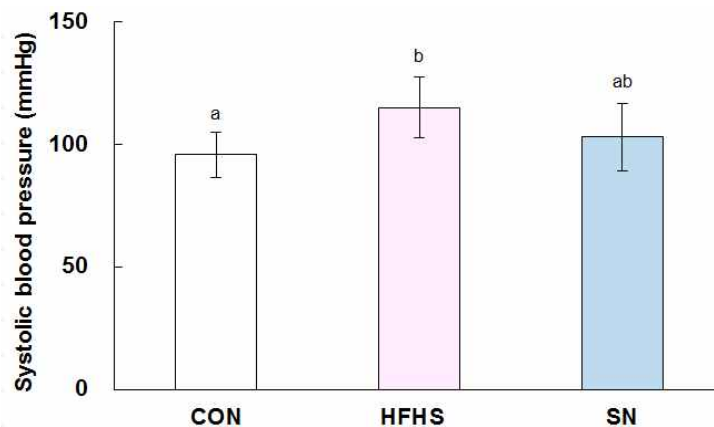


Fig. 1-1-36. Systolic blood pressure of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

④ 소장 점막의 탄수화물 소화효소 활성

대조군, HFHS군, SN군의 소장 점막 maltase 활성은 각각 70.6 ± 12.5 , 51.5 ± 8.5 , 53.5 ± 7.8 U/mg protein로 나타났다. HFHS군의 소장 점막 maltase 활성은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였고, SN군의 소장 점막 maltase 활성은 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다.

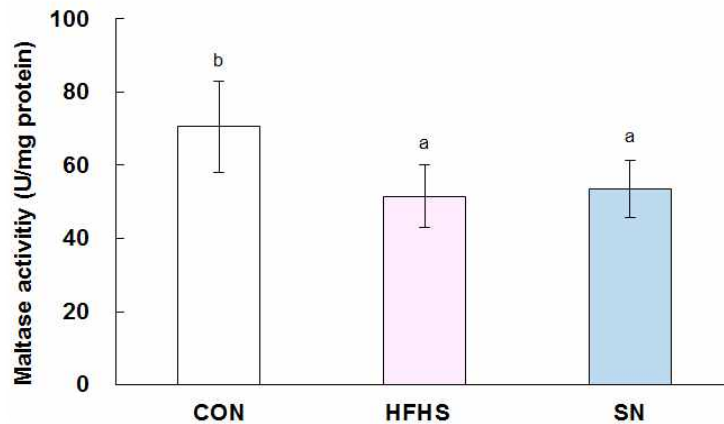


Fig. 1-1-37. Maltase activities of small intestinal mucosa of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

HFHS군의 소장 점막 sucrase 활성(6.3 ± 1.3 U/mg protein)은 대조군(11.3 ± 2.2 U/mg protein)에 비해 유의적으로 감소하였으며, SN군(7.9 ± 2.3 U/mg protein)은 HFHS군과 유의적인 차이가 없었다. 따라서 HFHS 식이를 섭취한 마우스에 있어서 혼합 산채나물을 장기간 섭취한 경우 소장의 탄수화물 소화효소 활성화에 영향을 미치지 않았다.

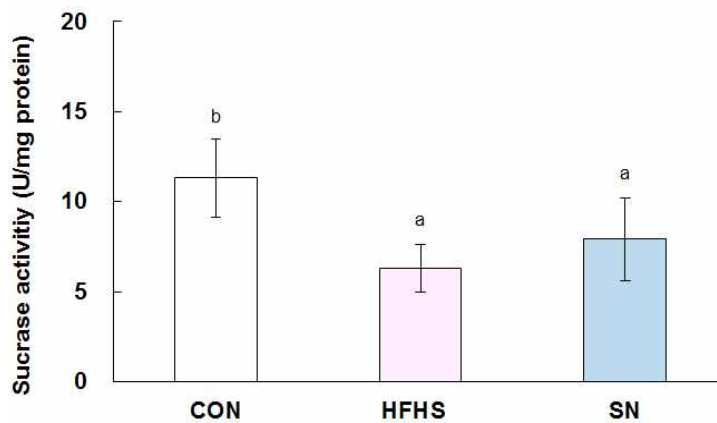


Fig. 1-1-38. Sucrase activities of small intestinal mucosa of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

⑤ 항산화 효과 및 염증성 cytokines 감소효과

HFHS군의 간조직 TBARS 농도(0.869 ± 0.096 nmol MDA/mg protein)는 대조군(0.611 ± 0.091 nmol MDA/mg protein)에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 간조직 TBARS 농도(0.680 ± 0.090 nmol MDA/mg protein)는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였고 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

HFHS군의 간조직 GSH 농도는 17.4 ± 3.0 nmol/mg protein로 나타나, 대조군(27.4 ± 2.1 nmol/mg protein)에 비해 유의적으로 감소하였다. SN군의 GSH 농도

(25.4 ± 4.0 nmol/mg protein)는 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였고 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

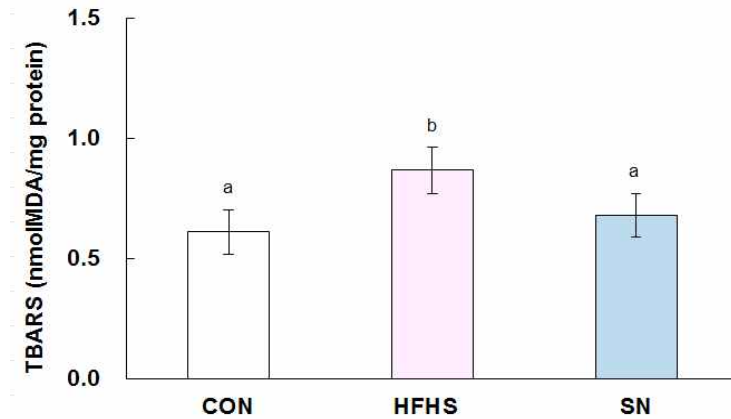


Fig. 1-1-39. Hepatic TBARS levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

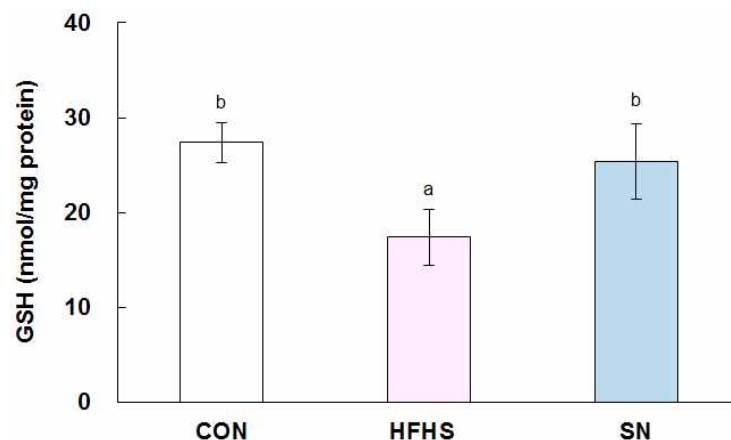


Fig. 1-1-40. Hepatic GSH levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

대조군, HFHS군, SN군의 간조직 SOD 활성은 각각 18.9 ± 2.9 , 11.6 ± 1.7 , 15.3 ± 1.8 U/mg protein으로 나타나 HFHS군의 SOD 활성이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. SN군의 SOD 활성은 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 대조군에 비해 낮게 나타났다.

HFHS군의 간조직 catalase 활성은 8.7 ± 1.6 U/mg protein로 대조군(11.5 ± 1.7 U/mg protein)에 비해 유의적으로 감소하였고, SN군의 catalase 활성(11.0 ± 1.4 U/mg protein)은 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 대조군, HFHS군, SN군의 간조직 GSH-Px 활성은 각각 17.0 ± 2.5 , 13.1 ± 1.9 , 16.2 ± 2.1 U/mg protein로 나타났다. HFHS군의 간조직 GSH-px 활성은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, SN군의 간조직 GSH-Px 활성은 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하였고, 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

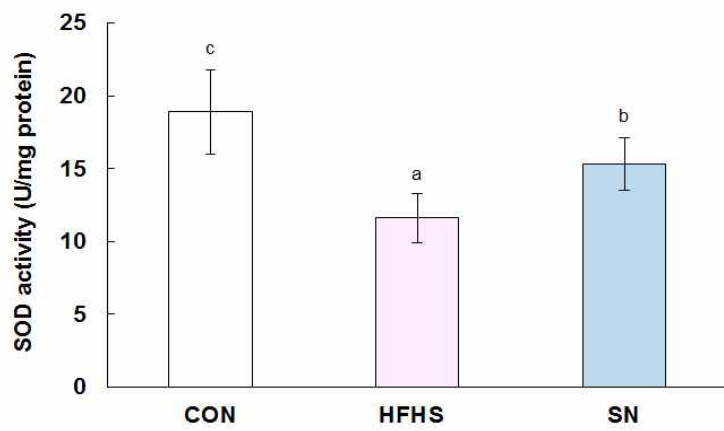


Fig. 1-1-41. Hepatic SOD activities of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

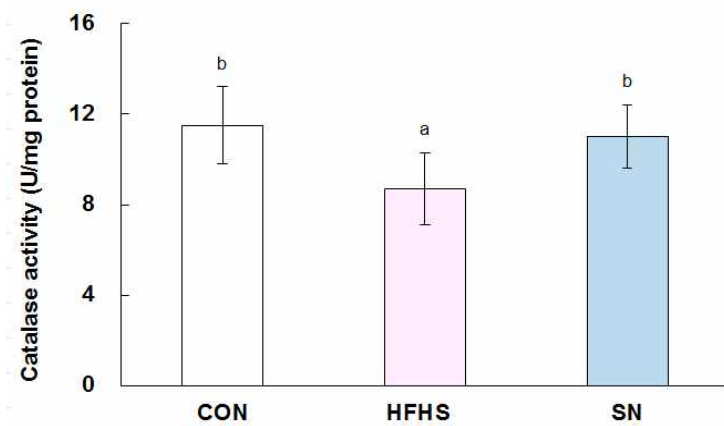


Fig. 1-1-42. Hepatic catalase activities of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

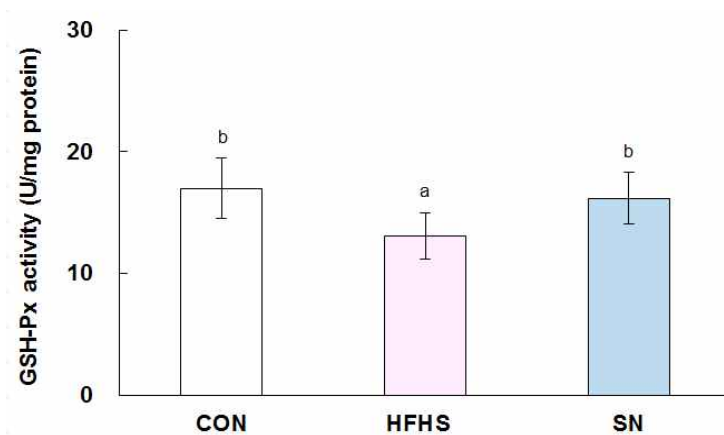


Fig. 1-1-43. Hepatic GSH-Px activities of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

비만으로 인해 과도하게 축적된 지방은 유리라디칼의 생성을 증가시켜 산화적 스트레스를 촉진하고, 이는 대사증후군, 제2형 당뇨병, 심혈관계질환, 비알콜성 지방간을 포

함하는 비만 관련 질환을 악화시킨다고 보고되었다. 산채나물에 포함된 폴리페놀류는 항산화 효과가 우수한 phytochemical이다. 인슐린 저항성이 유도된 마우스에게 사람이 채소류 “1인 1회” 분량을 3회 섭취하는 양에 해당하는 혼합 산채나물을 제공한 경우, 간조직에서 항산화물질인 GSH을 증가시키고 항산화 효소계(SOD, catalase, GSH-Px) 활성을 증가시켜, 지질 과산화물을 감소시키는 효과를 나타내었다. 따라서 폴리페놀이 풍부한 혼합 산채나물의 섭취는 항산화 효과를 나타내어, 대사증후군을 완화하는데 기여할 것으로 사료된다.

대조군, HFHS군, SN군의 혈청 IL-6 농도는 각각 19.6 ± 3.1 , 59.1 ± 12.0 , 40.7 ± 7.9 pg/mL로 나타나, HFHS군의 혈청 IL-6 농도는 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, SN군의 IL-6 농도는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였다. HFHS 식이의 섭취는 혈청 염증반응을 촉진하는 cytokine인 IL-6 농도를 증가시키나, 혼합 산채나물의 섭취는 이러한 염증성 사이토카인을 감소시킨 것으로 나타났다. 비만으로 인한 산화적 스트레스는 지방세포의 아디포사이토카인 분비작용에 변화를 유도하여, 염증성 cytokine 수치를 증가시키고 지속적인 염증반응을 유발하면서, 인슐린 저항성을 초래하게 된다. 혼합 산채나물의 섭취는 산화적 스트레스와 염증성 반응을 완화시켜 인슐린 저항성을 개선하고, 따라서 대사증후군을 완화시키는데 기여하는 것으로 사료된다.

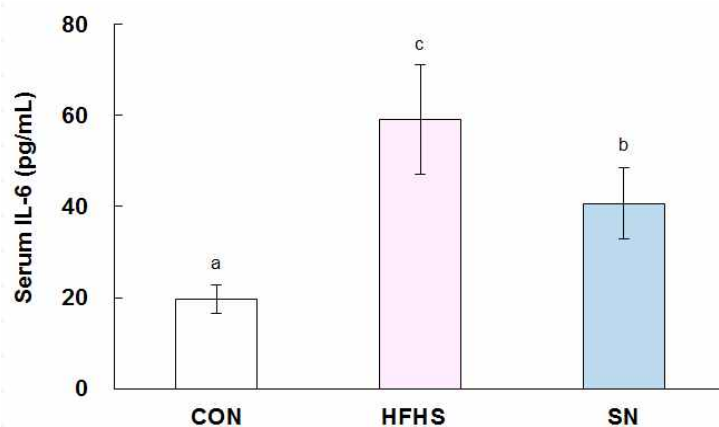


Fig. 1-1-44. Serum IL-6 levels of C57BL/6J mice fed *sanchae-namul*.

2. db/db 마우스에 있어서 산채나물의 비만 및 당뇨병 개선효과 규명

1) 방법

(1) 다래순 및 참나물, 혼합 산채나물 제조

산채나물의 비만 및 당뇨병 개선효과와 작용기작을 규명하기 위해, 다래순, 참나물, 혼합 산채나물(다래순, 참나물, 삼나물, 미역취, 방풍나물) 시료를 제조하였다. 참나물은 α -glucosidase 및 pancreatic lipase 저해활성이 모두 우수하게 나타났고(Fig. 2-1-4, Fig. 2-1-5 참조), 다래순은 α -glucosidase 및 pancreatic lipase 저해활성, DPPH 유리라디칼 소거능이 모두 우수하게 나타나(Fig. 2-1-4, Fig. 2-1-5, Table 2-2-3 참조), 참나물과 다래순을 *in vivo* 생리활성 규명에 사용할 단일 산채종으로 선정하였다.

다래순은 묵나물 33.5 g을 찬물 2 L에 16시간 불린 후, 1.5 L의 끓는 물에 30분간 삶았다. 삶은 다래순을 찬물 2 L에 1시간 동안 우려내고, 한 번 세척하여 물기를 꼭 짰 후, 전처리한 다래순 200 g을 얻었다. 생 참나물 377 g을 끓는 물 2 L에 넣고 2분간 데치고, 10분간 찬물에 담근 후, 찬물에 세척하고 물기를 꼭 짜서 전처리한 참나물 200 g을 얻었다(Table 1-1-1). 혼합 산채나물 요리는 데친 참나물 40 g과 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물을 각 묵나물 형태로 구입한 후 불림, 삶음, 우림 과정을 거쳐서 얻어진 전처리한 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물 각각 40 g을 사용하여 나물을 만든 후 혼합하였다(Table 1-1-2).

(2) 참나물 무침 및 혼합 산채나물 일반성분 분석

다래순, 참나물, 혼합 산채나물을 동결건조한 후 일반성분을 AOAC법으로 분석하였다. 동결건조한 다래순의 수분은 1.2%, 단백질은 30.8%, 지방은 3.1%, 회분은 7.0%, 총 식이섬유는 41.7%로 나타났고, 동결건조한 참나물의 수분은 2.9%, 단백질은 25.2%, 지방은 1.8%, 회분은 14.5%, 총 식이섬유는 35.0%로 나타났다. 동결건조한 혼합 산채나물의 수분은 2.2%, 단백질은 23.3%, 지방은 12.1%, 회분은 5.4%, 총 식이섬유는 47.9%로 나타났다.

Table 1-2-1. Proximate composition of freeze-dried *Daraesun*, *Chamnamul* and *Sanchae-namul*

	<i>Daraesun</i>	<i>Chamnamul</i>	<i>Sanchae-namul</i>
Moisture	1.2	2.9	2.2
Crude protein	30.8	25.2	23.3
Crude fat	3.1	1.8	12.1
Crude ash	7.0	14.5	5.4
Total dietary fiber	41.7	35.0	47.9

(3) 실험동물 및 실험디자인

다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 비만 및 당뇨병 개선효과는 렙틴 수용체의 결핍으로 인해 비만, 인슐린 저항성, 고혈당, 이상지질혈증을 나타내는 비만형 제2형 당뇨동물 모델인 db/db 마우스를 사용하여 규명하였다. 생후 5주령의 수컷 C57BL/Ks-db/db mouse(n=28)를 구입하여 1주일간 적응기간 후, 난괴법에 따라 네 군으로 나누었다. 대조군(Control)에게는 AIN-93G 식이를, 다래순군(*Daraesun*)에게는 AIN-93G 식이에 동결건조한 다래순 분말 4%를 첨가한 식이, 참나물군(*Chamnamul*)에게는 동결건조한 참나물 분말 4%를 첨가한 식이, 혼합 산채나물군(*Sanchae*)에게는 Table 1-1-2에 제시한 레시피에 따라서 만든 혼합 산채나물을 동결건조하여 분말화하여 4% 수준으로 첨가한 식이를 7주간 제공하였다. 다래순 및 참나물, 혼합 산채나물의 성분분석 결과에 근거하여, 각 군 식이의 단백질 및 지방, 식이섬유 함량이 유사하도록 제조하였다(Table 1-2-2). 실험기간 동안 체중과 식이섭취량은 각각 주 1회 및 3회 측정하였다. 식이 섭취 시작일로부터 7주가 지난 후, 동물을 12시간 절식시키고, 동물을 심장채혈법으로 희생시켰다. 혈액은 3,000×g에서 15분간 원심 분리한 후 혈청을 분리하여 -70°C에서 보관하였고, 간조직 및 부고환 백색지방, 갈색지방을 채취하였다.

Table 1-2-2. Composition of experimental diets (%)

Ingredient	Group			
	Basal	<i>Daraesun</i>	<i>Chamnamul</i>	<i>Sanchae</i>
Corn starch	39.75	38.77	38.23	39.08
Dextrinized cornstarch	13.20	13.20	13.20	13.20
Casein	20.00	18.77	18.99	19.07
Soybean oil	7.00	6.88	6.93	6.52
Alpha-cellulose	5.00	3.33	3.60	3.08
Sucrose	10.00	10.00	10.00	10.00
AIN-93G mineral mixture	3.50	3.50	3.50	3.50
AIN-93G vitamin mixture	1.00	1.00	1.00	1.00
L-cystine	0.30	0.30	0.30	0.30
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25
<i>Tert</i> -butylhydroquinone	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014
<i>Daraesun</i> *	-	4.00	-	-
<i>Chamnamul</i> *	-	-	4.00	-
<i>Sanchae</i> *	-	-	-	4.00

*Freeze dried

(4) 비만 개선효과 조사

체중 및 체중 증가량, 식이섭취량을 측정하고 식이섭취효율(FER)을 계산하였다. 사육 기간 후 동물을 희생시키고 부고환 백색지방, 갈색지방을 수집한 후 무게를 측정하였다.

(5) 혈당 및 인슐린 저항성 개선효과 조사

혈당은 효소법으로, 혈청 인슐린 농도는 ELISA법으로 측정하였다. 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR은 [공복혈당(mmol/L)×공복인슐린(μU/mL)/22.5]로부터 계산하였다. 혈청 adiponectin 농도는 ELISA법으로 측정하였다.

(6) 혈청 지질 profile 분석

혈청 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도는 효소법으로 측정하였다. 동맥 경화지수(atherogenic index)는 총 콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤/HDL-콜레스테롤]로 계산하였다.

(7) 비알콜성지방간 개선효과 조사

간조직의 총 지질은 Folch법으로 추출한 후, 총 지방 축적량을 중량법으로 측정하고, 간조직의 중성지방과 콜레스테롤 함량은 효소법으로 분석하였다. 간기능 지표인 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvate transaminase (GPT) 활성을 측정하였다.

(7) 항산화능 개선효과 조사

간조직의 지질과산화물은 Ohkawa 등의 방법을 이용하여, thiobarbituric acid (TBA)와 반응하는 malondialdehyde (MDA)의 함량을 측정하였다. SOD 활성은 Sun 등의 방법을 변형하여 측정하였고, Catalase (CAT) 활성은 Aebi법으로 측정하였으며, Glutathione peroxidase (GSH-Px)의 활성은 Lawrence & Burk의 방법으로 측정하였다. 간조직의 단백질은 Bradford법으로 측정하였고, 효소활성은 U/mg protein으로 나타내었다.

(8) 항염증 효과 조사

혈청 및 간조직의 TNF- α , MCP-1 수준은 ELISA법으로 측정하여 항염증 효과를 측정하였다. 간조직의 단백질은 Bradford법으로 측정하였다.

(9) 통계처리

실험 분석결과는 평균 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 표시하였다. 각 군의 평균치의 유의성 검정은 분산분석(ANOVA)를 사용하여 실시하였고, Tukey's test를 follow up test로 사용하였다(p<0.05).

3) 결과

(1) 비만 개선효과

대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 체중은 각각 42.1 \pm 3.1, 40.5 \pm 2.6, 42.4 \pm 3.4, 41.3 \pm 3.0 g으로 나타나, 네 군간 유의적인 차이가 없었다. 대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 식이섭취량은 각각 4.2 \pm 0.4, 4.1 \pm 0.4, 4.2 \pm 0.5, 4.3 \pm 0.5 g/day로 나타났으며, 식이섭취효율(Feed efficiency ratio, FER)은 각각 10.4 \pm 1.6, 10.1 \pm 2.6, 10.9 \pm 2.2, 10.0 \pm 2.0%로 나타나, 네 군간 유의적인 차이가 없었다.

대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 부고환 백색지방의 무게는 각각 48.7 \pm 4.6, 44.5 \pm 5.9, 46.6 \pm 6.4, 45.1 \pm 6.7 mg/g BW로 나타나, 네 군간 유의적인 차이가 없었다. 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 갈색지방 무게는 각각 9.1 \pm 1.8, 7.3 \pm 1.0, 8.7 \pm 1.8 mg/g BW로 나타나, 대조군(7.5 \pm 1.4 mg/g BW)과 유의적인 차이가 없었다. 따라서 다래순, 참나물 및 혼합 산채나물의 섭취는 비만형 당뇨 동물모델에 있어서 체중과 체지방, 식이섭취효율에 유의적인 영향을 미치지 않았다.

Table 1-2-3. Body weight, food intake, and FER of db/db mice

Group	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER (%)
Control	20.7±1.7	42.1±3.1	0.436±0.062	4.2±0.4	10.4±1.6
<i>Daraesun</i>	20.3±1.6	40.5±2.6	0.413±0.055	4.1±0.4	10.1±2.6
<i>Chamnamul</i>	20.4±1.6	42.4±3.4	0.448±0.060	4.2±0.5	10.9±2.2
<i>Sanchae</i>	20.3±1.8	41.3±3.0	0.427±0.069	4.3±0.5	10.0±2.0

Table 1-2-4. Epididymal fat pad and brown adipose tissue weight of db/db mice

Group	Epididymal fat pad weight (mg/g BW)	Brown adipose tissue weight (mg/g BW)
Control	48.7±4.6	7.5±1.4
<i>Daraesun</i>	44.5±5.9	9.1±1.8
<i>Chamnamul</i>	46.6±6.4	7.3±1.0
<i>Sanchae</i>	45.1±6.7	8.7±1.8

(2) 혈당 및 인슐린 저항성 개선효과

대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈당은 각각 488.9±53.1, 375.1±40.9, 405.5±47.4, 377.7±49.3 mg/dL으로 나타났다. 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈당은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다.

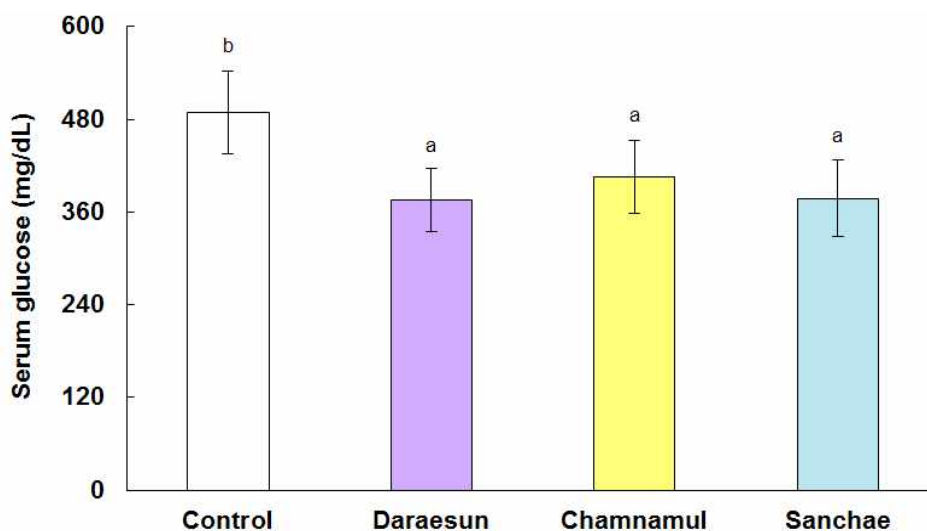


Fig. 1-2-1. Serum glucose levels of db/db mice.

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 당화혈색소는 7.2 ± 0.6 , 7.3 ± 0.5 , $7.1 \pm 0.6\%$ 로 나타나, 대조군($8.1 \pm 0.6\%$)에 비해 유의적으로 감소하였다. 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 공복혈당과 장기간의 혈당조절 지표인 당화혈색소를 감소시킨 것으로 나타나, 비만형 제2형 당뇨 동물모델인 db/db 마우스에 있어서 고혈당을 완화하였다. 다래순, 참나물, 삼나물은 *in vitro*에서 α -glucosidase 저해활성이 우수하였다. α -glucosidase 저해제를 장기간 섭취하면 포도당 독성(glucose toxicity)을 감소시키므로, 산채나물의 α -glucosidase 저해활성이 db/db 마우스에 있어서 혈당 조절 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

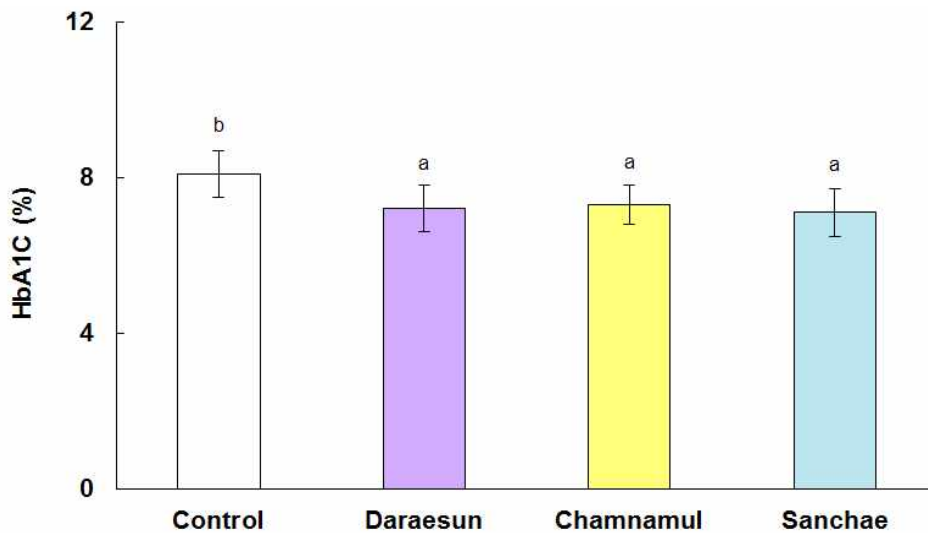


Fig. 1-2-2. HbA_{1c} levels of db/db mice.

대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈청 인슐린 농도는 각각 90.0 ± 11.3 , 79.1 ± 10.4 , 82.4 ± 8.8 , 73.8 ± 9.8 $\mu\text{U/mL}$ 으로 나타나, 혼합 산채나물군의 혈청 인슐린 농도는 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 다래순군 및 참나물군의 혈청 인슐린 농도는 대조군 및 혼합 산채나물군과 유의적인 차이가 없었다.

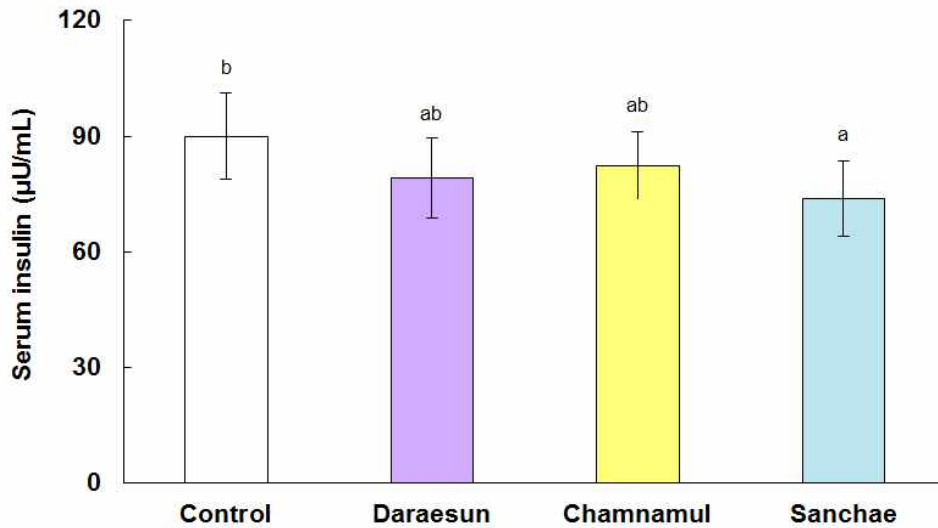


Fig. 1-2-3. Serum insulin levels of db/db mice.

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 HOMA-IR은 각각 73.2 ± 12.1 , 81.9 ± 7.8 , 68.6 ± 10.5 로, 대조군(108.7 ± 18.6)에 비해 유의적으로 감소하였다. 다래순군 및 참나물군, 혼합 산채나물군 간에는 유의적인 차이가 없었다. 따라서 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 인슐린 저항성을 개선시킨 것으로 나타났다.

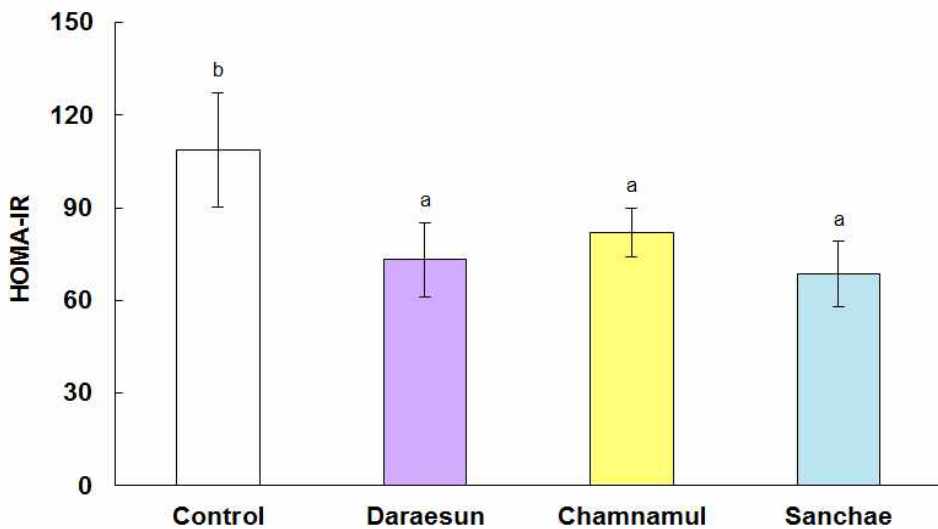


Fig. 1-2-4. HOMA-IR of db/db mice.

대조군의 혈청 아디포넥틴 농도는 9.8 ± 1.3 µg/mL로 나타났고, 다래순군 및 혼합 산채나물군의 혈청 아디포넥틴 농도는 각각 11.9 ± 1.3 , 12.1 ± 1.6 µg/mL로 나타나, 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 참나물군의 혈청 아디포넥틴 농도(11.2 ± 1.2 µg/mL)는 대조군, 다래순군 및 혼합 산채나물군과 유의적인 차이가 없었다. 아디포넥틴은 지방 조직에서 분비되는 호르몬으로 인슐린 저항성을 개선시키고

pro-inflammatory cytokines의 분비를 억제하는 것으로 보고되었다. 다래순 및 혼합 산채나물의 섭취는 아디포넥틴을 증가시켜, 인슐린 민감도를 증가시키는데 기여할 것으로 사료된다. 비만형 당뇨동물모델인 db/db 마우스에 있어서 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 인슐린 저항성을 개선시키고, 고혈당을 완화하여, 대사증후군 개선효과를 나타낸 것으로 사료된다.

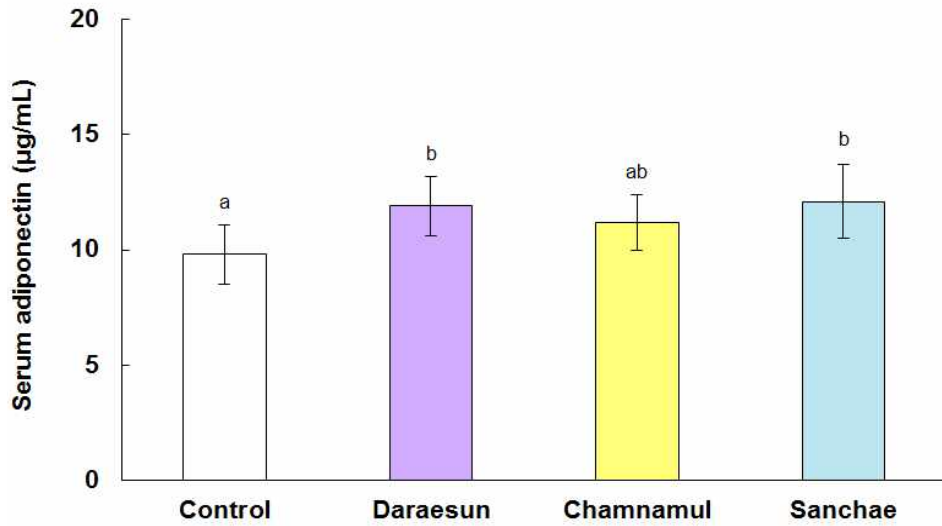


Fig. 1-2-5. Serum adiponectin levels of db/db mice.

(3) 혈청 지질 profile 분석

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈청 중성지방 농도는 각각 118.3 ± 15.5 , 120.0 ± 15.3 , 114.6 ± 23.2 mg/dL로 나타나, 대조군(142.7 ± 16.5 mg/dL)에 비해 유의적으로 감소하였다.

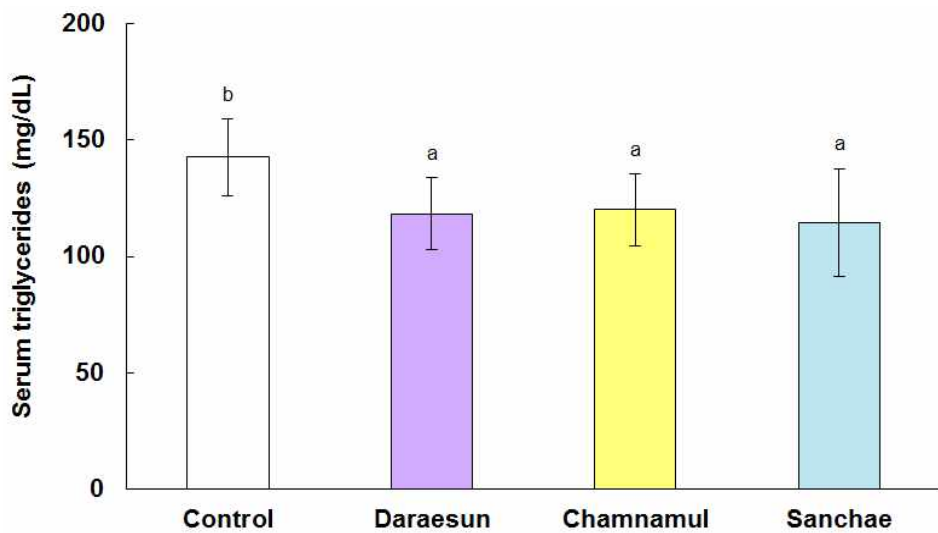


Fig. 1-2-6. Serum triglycerides levels of db/db mice.

대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈청 콜레스테롤 농도는 각각 159.8 ± 21.5 , 125.3 ± 16.4 , 135.1 ± 20.7 , 122.5 ± 20.0 mg/dL으로 나타나, 다래순군, 혼합 산채나물군의 혈청 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 참나물군의 혈청 콜레스테롤 농도는 대조군, 다래순군 및 혼합 산채나물군과 유의적인 차이가 없었다.

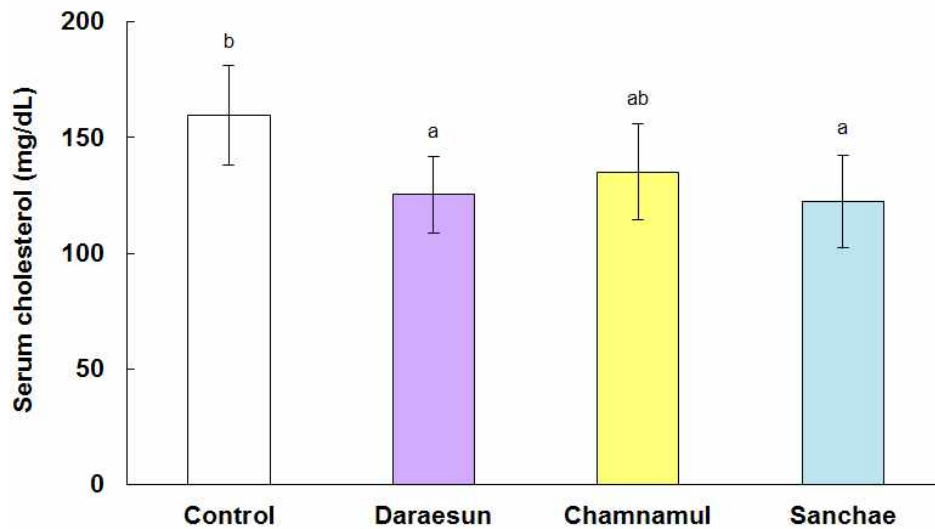


Fig. 1-2-7. Serum cholesterol levels of db/db mice.

대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈청 HDL-콜레스테롤 농도는 각각 58.1 ± 8.1 , 52.4 ± 7.6 , 55.7 ± 6.7 , 50.6 ± 7.8 mg/dL로 나타나, 네 군간 유의적인 차이가 없었다.

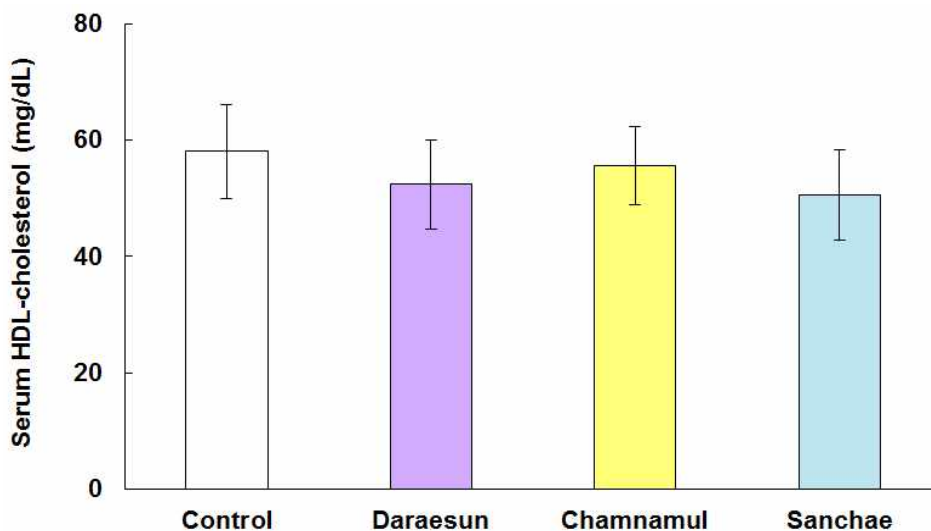


Fig. 1-2-8. Serum HDL-cholesterol levels of db/db mice.

다래순군, 참나물군 및 혼합 산채나물군의 동맥경화지수는 각각 1.40 ± 0.18 , 1.42 ± 0.16 , 1.43 ± 0.24 로 나타나, 대조군(1.76 ± 0.15)에 비해 유의적으로 감소하였다. 제2형 당뇨병동물모델에 있어서 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 고중성지방혈증을 개선하고 동맥경화지수를 감소시켰으며, 다래순 및 혼합 산채나물의 섭취는 혈청 콜레스테롤 농도를 감소시켰다. 제2형 당뇨병의 경우, 심혈관계 합병증이 조기 사망의 주요 원인이 된다. 엄격한 혈당 조절과 이상지질혈증의 개선은 심혈관계 합병증을 예방하는데 매우 중요하다고 보고되었다. 따라서 다래순, 참나물, 혼합 산채나물은 db/db 마우스에 있어서 이상지질혈증을 개선하고, 심혈관계 합병증을 예방하는데 기여할 것으로 사료된다.

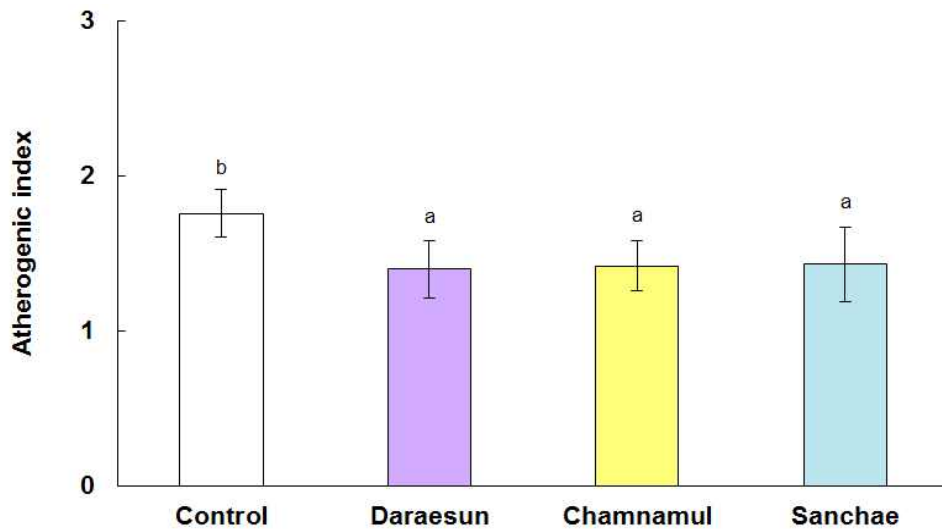


Fig. 1-2-9. Atherogenic index of db/db mice.

(4) 비알콜성 지방간 개선효과

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 총 지질함량은 각각 148.6 ± 20.7 , 121.4 ± 17.3 , 132.0 ± 18.5 mg/g liver으로 나타나, 대조군의 간조직 총 지질 함량 (182.9 ± 22.0 mg/g liver)에 비해 유의적으로 감소하였다.

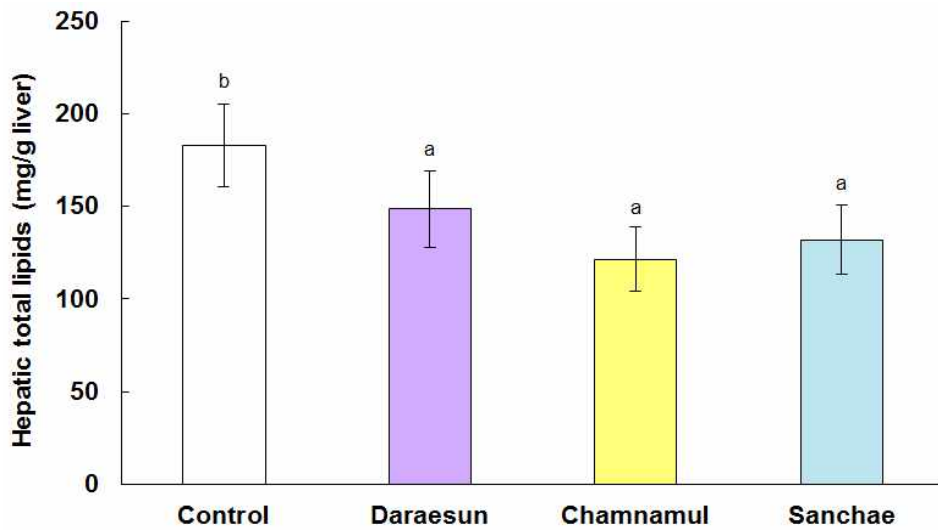


Fig. 1-2-10. Hepatic total lipids levels of db/db mice.

대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 중성지방 함량은 각각 61.9 ± 8.8 , 38.7 ± 6.2 , 34.1 ± 6.8 , 29.5 ± 5.2 mg/g liver로 나타났다. 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 중성지방 함량은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다.

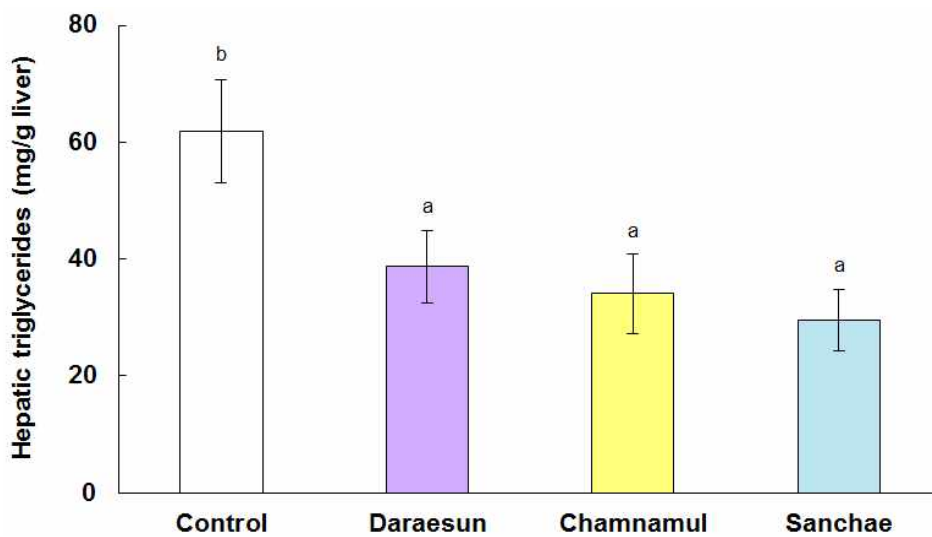


Fig. 1-2-11. Hepatic triglycerides levels of db/db mice.

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 콜레스테롤 함량은 각각 4.96 ± 0.83 , 4.94 ± 0.85 , 4.57 ± 0.81 mg/g liver으로 나타나, 대조군의 간조직 콜레스테롤 함량 (6.46 ± 0.91 mg/g liver)에 비해 유의적으로 감소하였다.

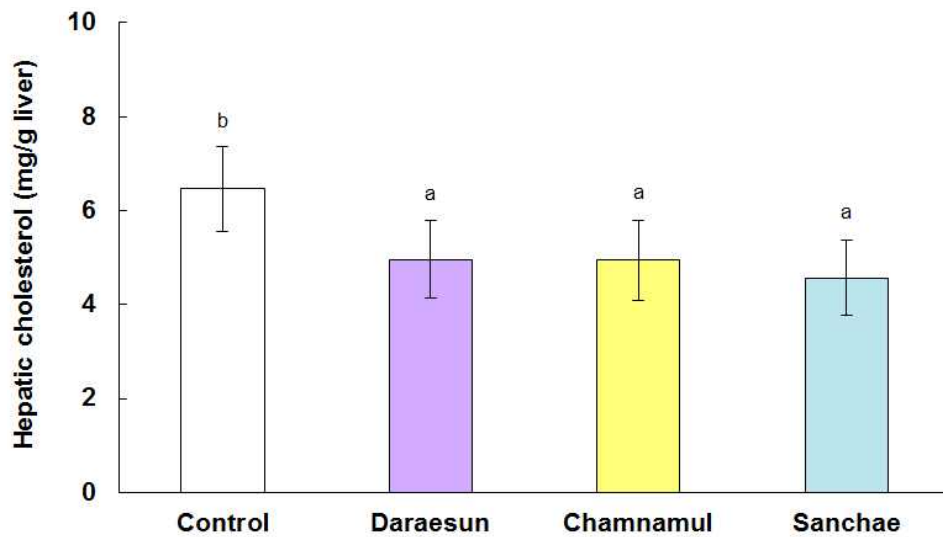


Fig. 1-2-12. Hepatic cholesterol levels of db/db mice.

대조군의 혈청 GOT 활성은 166.4 ± 19.3 U/L으로 나타났고, 다래순군(135.0 ± 17.4 U/L), 참나물군(139.6 ± 16.7 U/L), 혼합 산채나물군(129.1 ± 16.3 U/L)의 혈청 GOT 활성은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다.

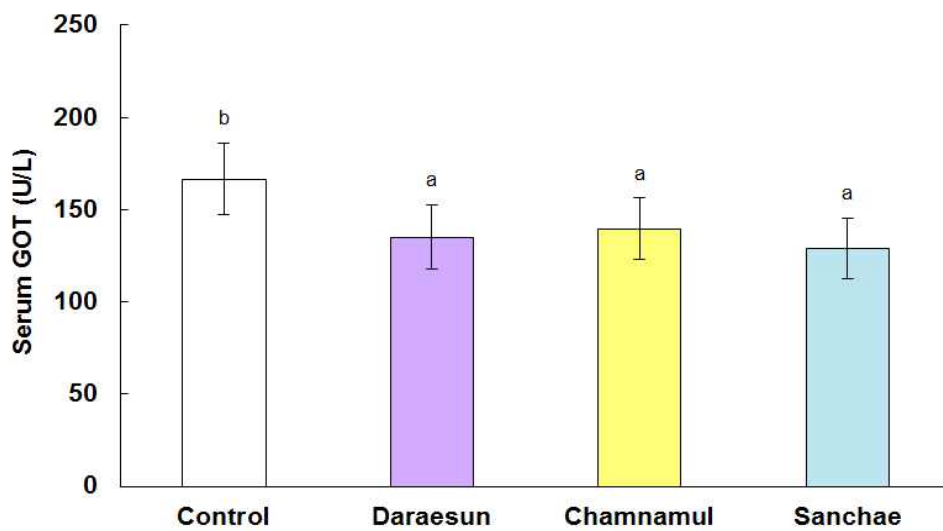


Fig. 1-2-13. Serum GOT activity of db/db mice.

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈청 GPT 활성은 각각 84.3 ± 16.6 , 76.1 ± 16.3 , 74.4 ± 13.4 U/L으로 나타나 대조군(118.6 ± 26.0 U/L)에 비해 유의적으로 감소하였다.

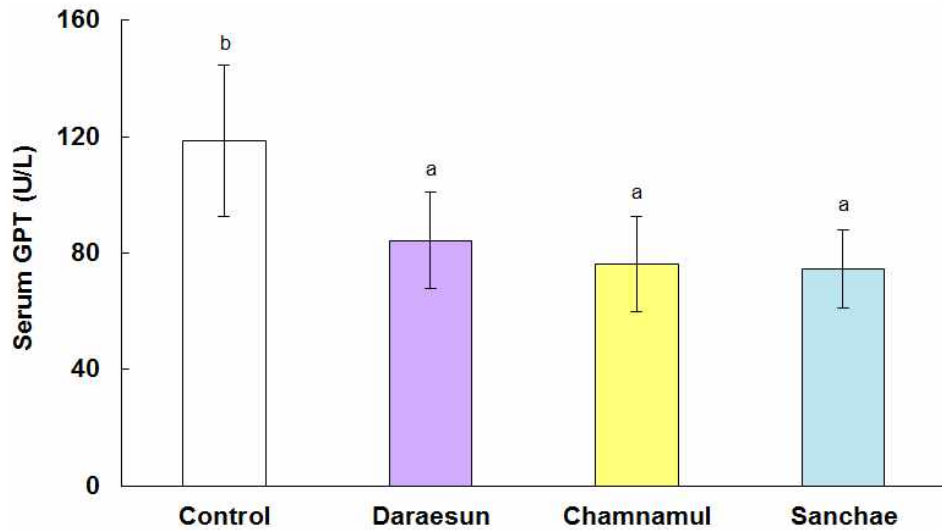


Fig. 1-2-14. Serum GPT activity of db/db mice.

db/db 마우스는 비만, 이상지질혈증과 함께 비알콜성 지방간(nonalcoholic fatty liver diseases, NAFLD)을 나타낸다고 보고되었다. 비알콜성 지방간질환은 만성적인 알콜의 섭취 없이 나타나는 간질환의 스펙트럼을 가리키는데, 단순 지방간(fatty liver), 비알콜성 지방간염(nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 간섬유화, 간경변증 등을 포함한다. 인슐린 저항성은 비알콜성 지방간을 초래하는 주요 요인으로 알려져 있다. 다래순, 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 간조직의 총 지질, 중성지방, 콜레스테롤 축적량을 감소시켰으며, 간 손상 지표인 GOT, GPT를 감소시켜, 지방간을 예방하고 간기능을 개선하는 것으로 나타났다. 산채류의 섭취는 인슐린 저항성을 개선시켜 비알콜성 지방간을 예방하는데 기여할 것으로 사료된다.

(5) 항산화능 개선효과

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 TBARS 농도는 각각 1.18 ± 0.28 , 1.98 ± 0.25 , 1.60 ± 0.34 nmol/mg protein으로 나타나, 다래순군은 대조군 (2.64 ± 0.37 nmol/mg protein) 및 참나물군에 비해 유의적으로 감소하였다. 참나물군 및 혼합 산채나물군의 간조직 TBARS 농도는 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 참나물군은 다래순군에 비해 유의적으로 증가하였고, 혼합 산채나물군은 다래순군 및 참나물군과 유의적인 차이가 없었다. 따라서 다래순 및 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 db/db 마우스에 있어서 간조직의 지질과산화물을 감소시켜 항산화능이 증가된 것으로 사료된다.

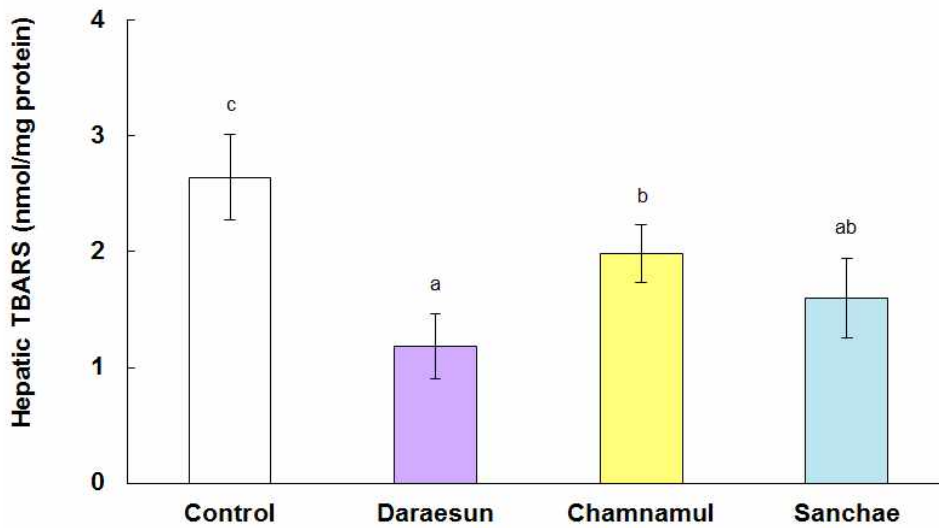


Fig. 1-2-15. Hepatic TBARS levels of db/db mice.

다래순군(17.1 ± 2.1 U/mg protein), 혼합 산채나물군의 간조직 SOD 활성(16.4 ± 1.9 U/mg protein)은 대조군의 간조직 SOD 활성(13.3 ± 2.0 U/mg protein)에 비해 유의적으로 증가하였다. 참나물군(15.7 ± 2.3 U/mg protein)의 간조직 SOD 활성은 대조군, 다래순군 및 혼합 산채나물군과 유의적인 차이가 없었다.

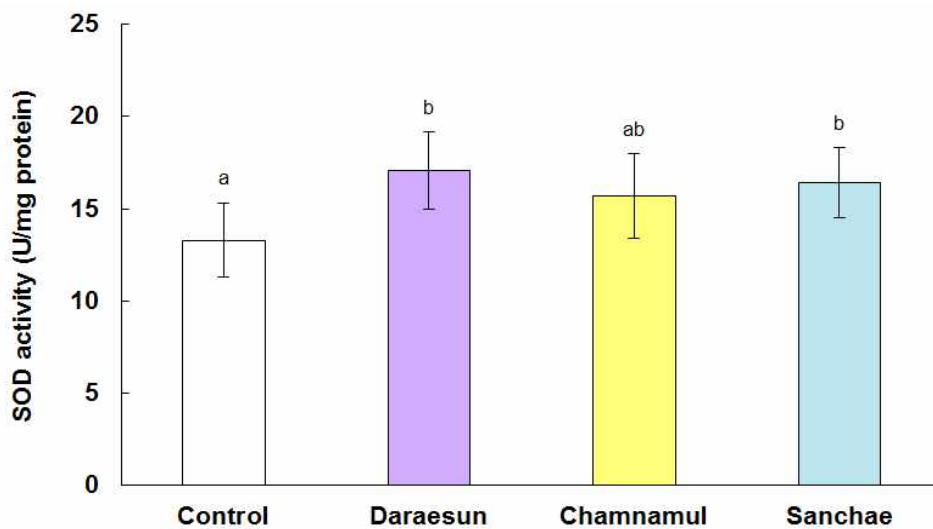


Fig. 1-2-16. Hepatic SOD activity of db/db mice.

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 CAT 활성은 각각 11.1 ± 1.3 , 10.4 ± 1.1 , 10.8 ± 1.1 U/mg protein로 나타나, 대조군의 간조직 CAT 활성(8.8 ± 1.0 U/mg protein)에 비해 유의적으로 증가하였다.

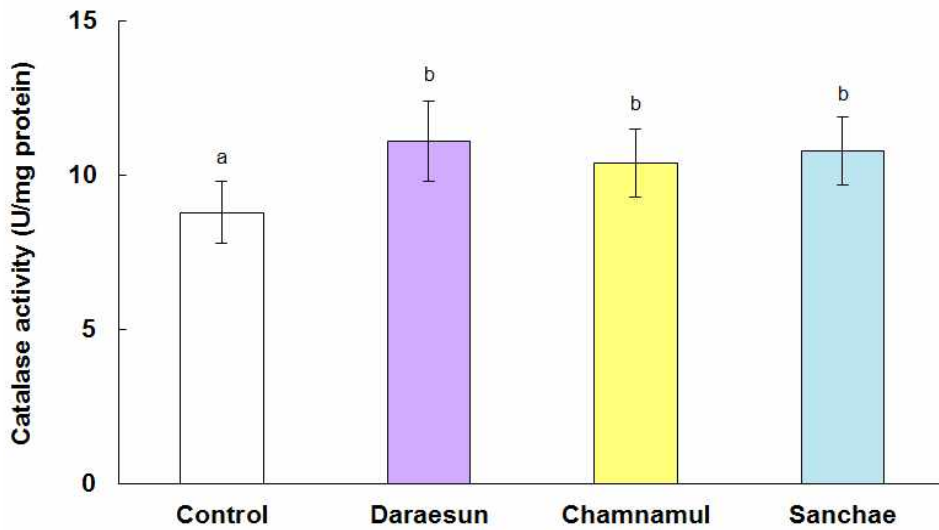


Fig. 1-2-17. Hepatic CAT activity of db/db mice.

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 GSH-Px 활성은 각각 27.6 ± 3.1 , 26.1 ± 2.8 , 28.4 ± 3.1 U/mg protein으로 나타나, 대조군(21.7 ± 2.4 U/mg protein)의 간조직 GSH-Px 활성에 비해 유의적으로 증가하였다.

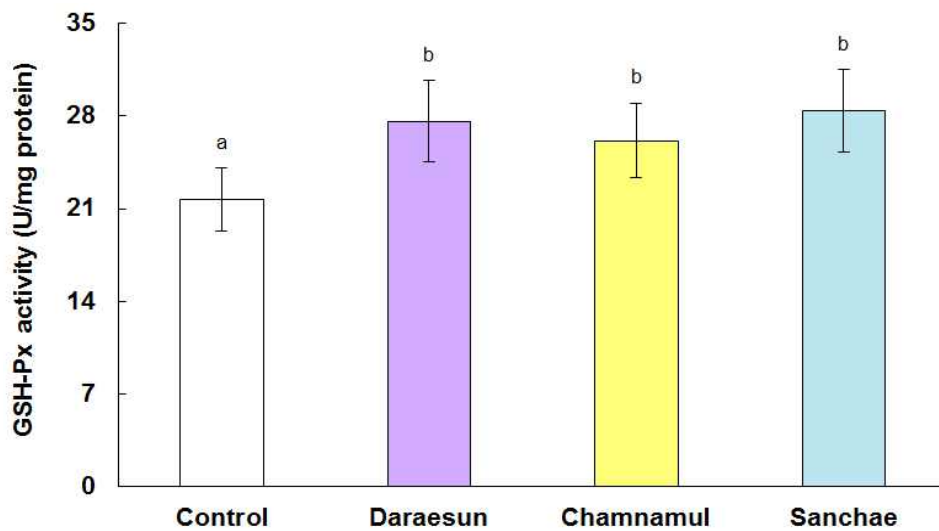


Fig. 1-2-18. Hepatic GSH-Px activity of db/db mice.

당뇨병 상태에서는 활성산소종 및 활성질소종의 생성이 증가되어 체내 항산화 시스템의 불균형이 초래된다. 산화적 스트레스는 당뇨합병증을 초래하고 악화시키는 중요한 요인으로 보고되었다. SOD는 활성산소종 화학종인 superoxide radical을 과산화수소로 전환하고, 과산화수소는 CAT 또는 GSH-Px에 의해 산소와 물로 전환된다. 다래순 및 참나물, 혼합 산채나물의 섭취는 제2형 당뇨 동물모델에 있어서 간조직의 항산화계 효소 활성을 증가시켰으며, 지질과산화물 농도를 낮추어 산화적 스트레스를 완

화시킨 것으로 나타났다. 이는 다래순, 참나물, 삼나물, 미역취, 방풍나물에 포함된 폴리페놀 화합물이 항산화 효과를 나타내는데 기여한 것으로 사료된다. 폴리페놀 화합물은 수소공여체로 작용하여 유리 라디칼을 제거할 수 있으며 nuclear factor-erythroid-2-related factor 2(Nrf2)을 활성화하여, 항산화계 효소 활성을 증진시킨다고 보고되었다. 따라서 혼합 산채나물은 비만 및 제2형 당뇨병 동물 모델인 db/db 마우스에 있어서 항산화 효과를 나타내었고, 이는 당뇨병병증을 예방하고 개선하는데 기여할 것으로 사료된다.

(6) 항염증 효과

대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 혈청 TNF- α 농도는 각각 37.1 \pm 4.8, 21.8 \pm 4.0, 29.0 \pm 4.1, 25.3 \pm 5.0 pg/mL로 나타나, 다래순군, 참나물군 및 혼합 산채나물군의 혈청 TNF- α 농도는 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다.

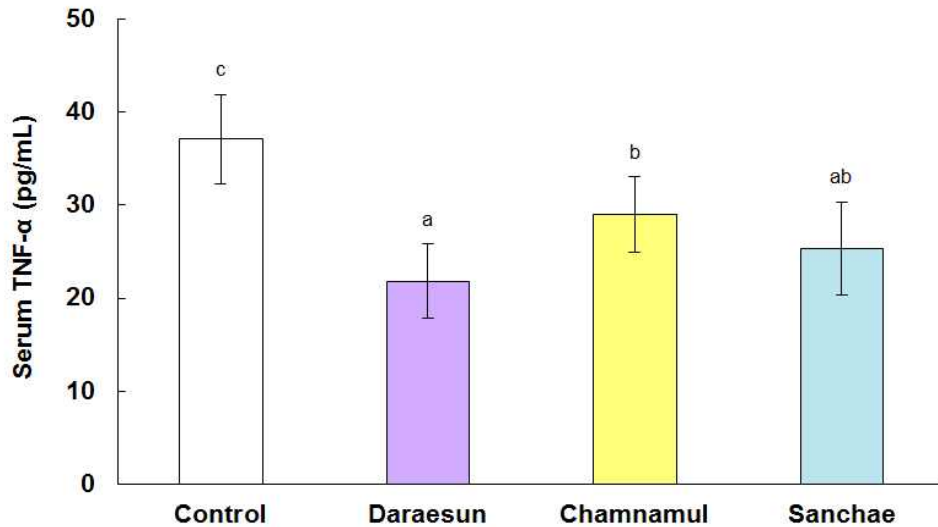


Fig. 1-2-19. Serum TNF- α levels of db/db mice.

혈청 MCP-1 농도는 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군이 각각 99.6 \pm 18.0, 108.1 \pm 15.5, 102.7 \pm 18.5 pg/mL로 나타나 대조군(135.9 \pm 20.8 pg/mL)에 비해 유의적으로 감소하였다.

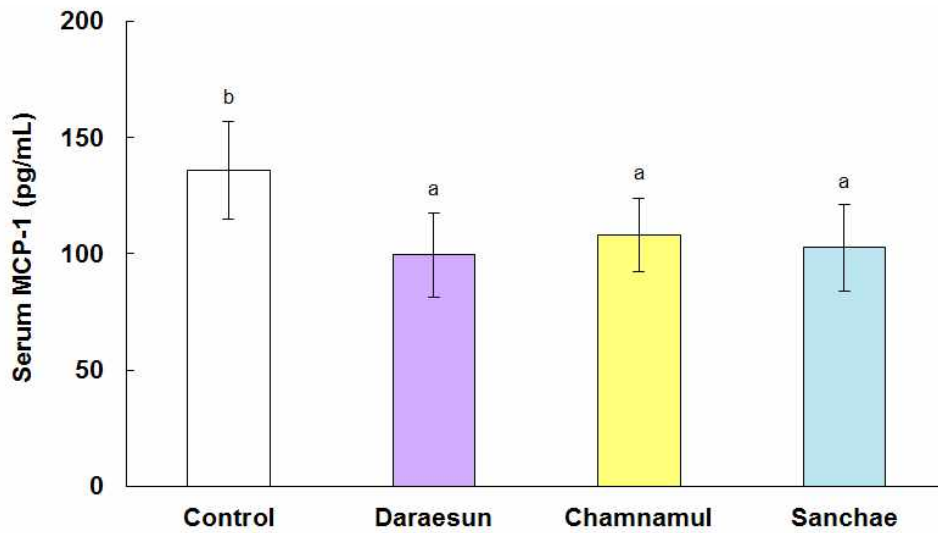


Fig. 1-2-20. Serum MCP-1 levels of db/db mice.

다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 TNF- α 농도는 각각 187.3 ± 26.7 , 213.1 ± 28.5 , 222.4 ± 31.6 pg/mg protein으로 나타나, 대조군의 간조직 TNF- α 농도(411.0 ± 59.1 pg/mg protein)에 비해 유의적으로 감소하였다.

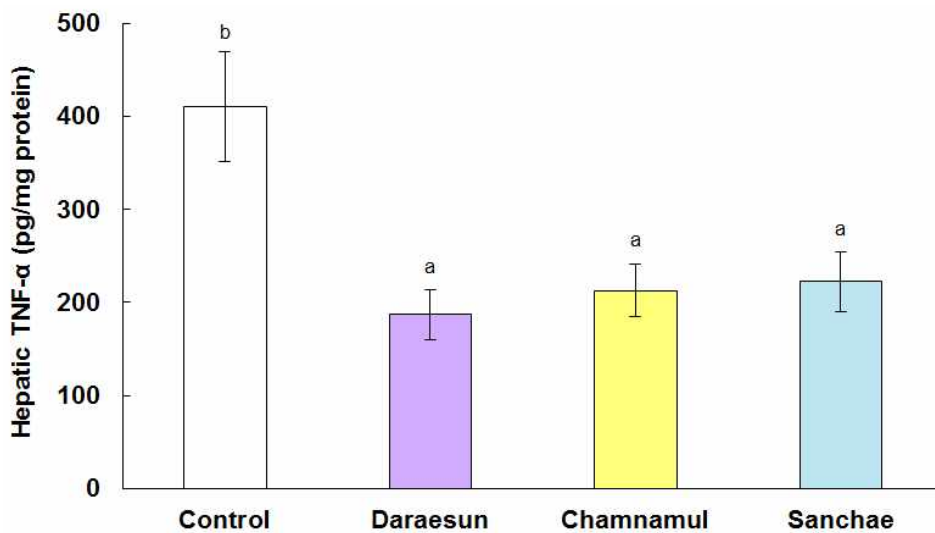


Fig. 1-2-21. Hepatic TNF- α levels of db/db mice.

대조군, 다래순군, 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 MCP-1 농도는 각각 276.9 ± 39.6 , 91.6 ± 15.5 , 175.6 ± 21.9 , 144.6 ± 22.9 pg/mg protein으로 나타나, 다래순군의 간조직 MCP-1 농도가 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 참나물군 및 혼합 산채나물군에 비해 유의적으로 감소하였다. 참나물군, 혼합 산채나물군의 간조직 MCP-1 농도는 대조군에 비해 유의적으로 감소하였고, 다래순군에 비해 유의적으로 증가하였다.

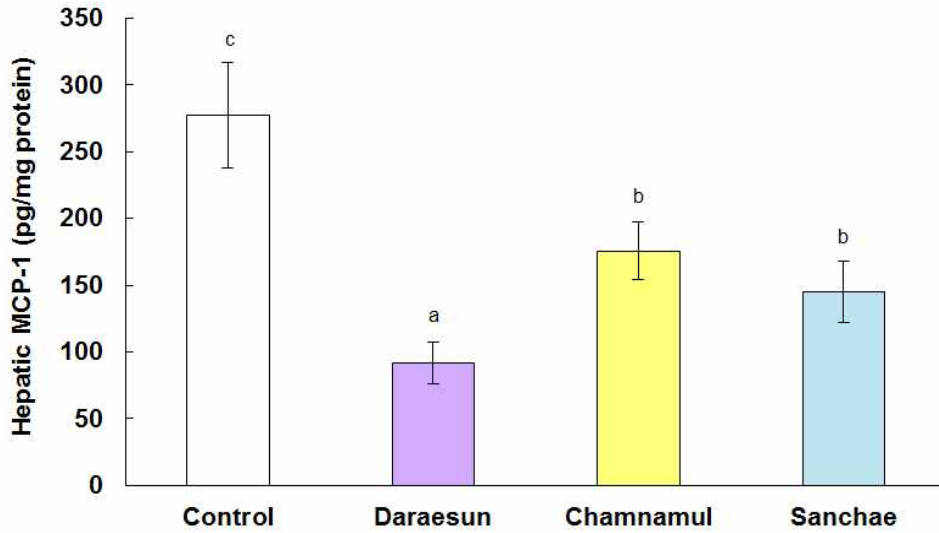


Fig. 1-2-22. Hepatic MCP-1 levels of db/db mice.

비만과 당뇨병은 산화적 스트레스를 증가시키고, 산화적 스트레스는 지방세포의 아디포사이토카인 분비작용에 변화를 유도하여, 염증성 cytokine 수치를 증가시키고 지속적인 염증반응을 유발한다. Pro-inflammatory cytokine인 TNF- α , MCP-1은 인슐린 신호전달체계에 영향을 주어 인슐린 저항성을 유도한다. 이러한 염증반응은 단순지방간(fatty liver)이 심각한 형태의 비알콜성 지방간질환인 비알콜성 지방간염(NASH), 간경변증 등으로 악화되는 과정을 촉진한다. 본 연구에서 db/db 마우스에게 다래순, 참나물, 혼합 산채나물을 제공한 결과, 혈청 및 간조직에서 염증성 cytokine이 감소되었다. 그러므로 이들 산채나물은 db/db 마우스에 있어서 항산화 및 항염증 효과를 나타내어 인슐린 저항성의 개선에 도움을 주며, 따라서 당뇨병과 NAFLD를 개선하는데 기여하는 것으로 사료된다.

산채 비빔밥에 적합한 참나물, 다래순, 삼나물, 방풍나물, 미역취 나물요리를 동량으로 혼합한 산채나물요리는 대사증후군 동물 모델에 있어서 인슐린 저항성을 개선하고 고혈당과 이상지질혈증, 비알콜성 지방간질환을 완화하여 대사증후군 개선효과를 나타내었다. 혼합 산채나물요리의 대사증후군 개선효과는 산채나물의 α -glucosidase 저해활성과 항산화능 증가 및 항염증 효과로 인해 인슐린 저항성이 개선된 것에 기인하는 것으로 사료된다.

제 2절 산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 기능성 연구 (제 2 세부과제)

1. 산채나물의 이화학 특성 및 *in vitro* 건강기능(항당뇨) 활성 평가

1) 연구방법

(1) 시료의 준비

- 삼나물, 미역취는 경상북도 울릉군에서 2012년 4월 수확하여 자연건조 작업한 묵나물을 울릉웰빙식품에서, 다래순은 강원도 양양군에서 2012년 4월에 수확하여 삶아서 자연건조 작업한 묵나물을 강원농수산 쇼핑에서 구입하였다. 방풍나물은 전라남도 고흥에서 2012년 4월 수확하여 자연건조 작업한 묵나물을 삼림조합 푸른장터에서, 참나물은 경상남도 김해시에서 2012년 10월에 수확한 생나물을 구입하여 사용하였다 (Fig. 2-1-1).



Fig. 2-1-1. 실험에 사용한 나물.

- 관능검사에서 미역취, 다래순, 방풍나물은 표면의 거친 조직감, 아린 맛, 쓴맛, 무맛, 떼은 뒷맛, 입안 잔여감, 거친 식감 등을, 삼나물은 기름지고, 촉촉하며, 감칠맛이 나고, 부드러우며, 콘 스프 맛의 특성을 주로 나타냈으므로, 산채의 글로벌화를 위하여 조리과정 전, 후 및 부재료 첨가에 의한 이화학 특성과 식품 기능적 특성, *in vitro* 활성 변화를 조사하는 연구는 부드러운 식감의 삼나물을 대상으로 수행하였음.
- 건조: 산채 중 활성이 높았던 삼나물을 채취한 직후 산지로부터 직접 구매하여 생채(300 g)를 끓는 물(3 L)에 50초간 데친 후 흐르는 찬물에 3분간 수침시켜 건져내고 야채탈수기로 물기를 제거한 후 야채 건조망에 넣어 빛(형광등이 켜진 실내; 온도: 22.3°C, 습도 36%) 또는 완전히 빛을 차단한 상태에서(온도: 21.4°C, 습도 40%) 건조하였다(Fig. 2-1-2).



Fig. 2-1-2. 삼나물의 건조 과정.

- 조리 전 전처리: 산채 중 삼나물, 미역취, 방풍나물, 다래순을 묵나물 상태로 구매하여 각 50 g을 3 L의 찬물에 16시간 불리고 끓는 물에 30분 삶은 후에 3 L 찬물에 1시간 우려내었다. 또한 삼나물은 전처리 과정을 a. 찬물에 불리기(0시간, 6시간, 12시간, 16시간, 20시간) b. 찬물에 16시간 불리고 30분 삶기 c. 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기로 나누어 각 단계별 전처리를 실시하였다(Fig. 2-1-3).
- 조리: 삼나물을 묵나물 형태로 구입하고, 표준레시피를 바탕으로 180°C에서 10, 20분 가열 조리하였으며, 이때 들기름(10%) 첨가군과 무첨가군으로 나누어 실시하였다.



Fig. 2-1-3. 묵나물의 전처리 과정.

(2) 일반 영양성분 분석 방법

- 산채(삼나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 참나물)의 일반 및 영양 성분 분석은 수분, 조단백질, 조지방질, 조회분을 포함하였으며, 각각 AOAC법 934.01, 979.09A, 920.39, 942.05에 의해 정량하였다. 탄수화물 함량은 100%에서 이들 성분의 값을 뺀 값으로 하였다. 식이섬유는 식품공전 시험법 1.1.4.3에 의해 분석하였다.

(3) 건강 기능 성분 분석 방법

- 기능 성분으로 산화 방지 작용이 보고된 flavonoids, polyphenols과 토코페롤 함량을 평가하였다. 이때 모든 시료는 동결건조를 실시한 후 분석에 사용하였다.
- 플라보노이드는 Moreno 등(Moreno et al., 2000)의 방법에 따라 산채(추출물) 0.5 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 후 UV-Visible spectrophotometer (HP 8453, Hewlett Packard, Wilmington, DE, USA)를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하고, 표준물질로 quercetin을 이용한 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 플라보노이드 함량을 산출하였다.
- 산채나물의 폴리페놀 화합물 함량은 Wong(2001)과 Maksimović 등(2005)의 방법을 변형하여 구하였다. 분쇄한 산채 0.5 g에 80% 아세톤 용액 50 mL를 섞고, 25°C의 항온 수조에서 6시간 동안 진탕하였다. 이후 10 mL를 취해 원심분리기 (Avanti J, Beckman, Fullerton, CA, USA)로 484×g, 4°C에서 20분 동안 시료를 분리하였다. 상층액의 0.2 mL를 취하여 Folin-Ciocalteu's phenol 시약 0.3 mL를 넣고 증류수로 5 mL로 정용하였다. 실온에서 1시간 동안 정치시킨 후 UV-Visible spectrophotometer (HP 8453, Hewlett Packed, Wilmington, DE, USA)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 산채나물의 폴리페놀 화합물

함량은 gallic acid를 표준물질로 사용하여 작성한 검량곡선을 통해 구하였다.

- 토코페롤 함량 분석을 위해 분쇄한 산채나물 0.5 g을 n-헥산 5 mL와 충분히 혼합하여 hydrophobic membrane filter (PTFE 0.2 μ m, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)로 여과한 후, 20 μ L를 HPLC (YL 9100, HPLC, Younglin, Anyang, Korea)에 자동시료주입기(YL 9150 Autosampler, Younglin, Anyang, Korea)를 이용하여 주입하였다. 컬럼은 μ -Porasil™ 컬럼(3.9 \times 300 mm, 10 μ m ID, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였고, n-헥산:이소프로판올의 혼합용매 (97:0.2, v/v)를 이동상으로 사용하여 분당 2 mL의 속도로 용출시켰다(Lee and Choe 2009). 이 때 형광검출기(G1321A, Agilent 1100 series, Böblingen, Germany)의 파장은 excitation 290 nm, emission 330 nm 이었다. 산채나물의 토코페롤 함량은 표준 토코페롤 검량곡선을 이용하여 구하였다.

(4) *In vitro* 항당뇨 및 항비만 활성 평가 방법

- 산채의 *in vitro* 항당뇨 및 항비만 활성을 평가하기 위해 산채 추출물의 α -glucosidase 및 pancreatic lipase inhibitory activity를 측정하였다.
- 산채 추출물의 제조는 75% 에탄올을 이용하였다. 즉, 산채나물을 -80°C 에서 예비동결 시킨 후 동결건조기(TFD5505, Freeze Dryer, Ilshinbiobase, Dongducheonsi, Korea)를 이용하여 -50°C , 5 mTorr 조건 하에 동결 건조하고 분쇄기(Essence HR 2084, Blender, PHILIPS, Amsterdam, Netherlands)로 분쇄한 후 75% 에탄올(1:10, w/v)을 섞고 25°C , 120 rpm의 항온 수조에서 12시간 동안 진탕 추출하였다. 이를 감압여과한 뒤 회전진공증발기(N-N series Eyela, Tokyo, Japan)를 사용하여 80°C 에서 용매를 제거하여 농축물을 얻었다. 얻어진 농축물을 -80°C 냉동고에서 예비동결 시킨 후, 동결 건조기(TFD5505, Freeze Dryer, Ilshinbiobase, Dongducheonsi, Korea)를 이용하여 -50°C , 5 mTorr 조건 하에 동결 건조하여 추출물을 제조하였다.
- 산채의 *in vitro* α -glucosidase 저해활성은 Watanabe 등(1997)의 방법에 따라 측정하였다. 산채 추출물을 dimethylsulfoxide (DMSO)에 5 mg/mL 농도로 녹인 후, 10 μ L씩 enzyme solution (0.7 U/mL α -glucosidase 0.0015 g, 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 10 mL, 0.2% bovine serum albumin 0.02 g, 0.02% sodium azide 0.002 g) 50 μ L와 함께 96-well plate에 넣고 ELISA (Power wave X, Biotek instruments, Vermont, USA)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 5분 후 기질인 p -nitrophenyl- α -D-glucopyranoside를 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 10 mL에 용해시켜 5 mM 농도로 50 μ L를 첨가하여 실온에서 5분간 반응시킨 후, 동일한 파장에서 흡광도를 측정하여 흡광도 변화로부터 α -glucosidase 저해활성을 계산하였다. 아카보스를 표준시약으로 사용하였고, 시료 및 아카보스의 최종농도는 0.5 mg/mL이었다. 각 시료별로 3회 반복 측정 하여 평균치를 구하였다.

$$\text{Inhibitory activity (\%)} = \{1 - (S2 - S1) / (B2 - B1)\} \times 100$$

(where, S: Absorbance of sample, B: Absorbance of blank(no *sanchae* extract),

(1: first OD₄₀₅, 2: last OD₄₀₅)

- 참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물 추출물의 pancreatic lipase inhibitory activity는 Arai 등(1999)의 방법에 따라 측정하였다. 0.05 U pancreatic lipase 20 µL, 0.1 M citrate-Na₂HPO₄ buffer (pH7.4) 25 µL, 산채나물 추출물(산채 추출물을 dimethylsulfoxide (DMSO)에 5 mg/mL 농도로 녹여 사용) 5 µL, 기질 0.1 mM 4-methylumbelliferyl (MU) oleate 50 µL를 가하고 37°C에서 10분간 반응시킨 후 Spectrofluorophotometer (Luminescence spectrophotometer LS55, Perkin Elmer instruments, MA, USA)를 이용하여 320/450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 pancreatic lipase 저해활성을 계산하였다. 표준시약으로는 비만 치료제로 사용되고 있는 orlistat를 사용하였다.

$$\text{Inhibitory activity (\%)} = (1 - S/B) \times 100$$

(where, S: Absorbance of sample, B: Absorbance of blank(no *sanchae* extract))

(5) 산채나물 레시피 표준화

- 산채나물 레시피 수집 분석 및 재현을 위해 향토음식, 고조리서 및 대표적인 조리법 홈페이지 등의 자료의 문헌조사 연구를 통해 산채나물의 조리법 조사 분석하고, 실험조리 및 FGD(focus group discussion) 토론에 의해 산채나물 시료를 선정하였다.
- 묘사분석과 소비자 기호도 조사 결과를 반영하여 산채나물의 레시피를 표준화하였다.

① 실험조리 및 FGD 토론에 의한 산채나물 시료 선정

- 산채나물은 종류가 다양하나, 본 연구팀의 선행연구에서 산채비빔밥의 주요 재료로 사용되는 산채류의 75% 에탄올 추출물의 *in vitro* 대사증후군 개선활성을 측정한 결과, 참나물과 묵나물 형태의 삼나물, 다래순, 미역취, 방풍나물의 생리활성이 우수한 것으로 나타났다.
- 따라서 이 5종의 나물들을 중심으로 2차에 걸친 실험조리 및 전문가 토론을 통해 시료를 1차로 선별했다. 이 후에 전문가 토론을 실시하여 전반적 기호도, 외관, 맛, 향, 조직감 및 뒷맛 정도를 비교하여 특성 차이가 나타나는 시료 14 종류를

최종적으로 선정하였다.

② 묘사분석을 통한 산채나물의 관능적 특성 표준 척도 개발

- 묘사분석을 통하여 산채나물의 관능적 특성 표준 척도를 개발하였다.
- 패널요원 선정 : 산채나물(묵나물)에 대한 묘사분석을 수행하기 위하여 묘사분석에 경험이 있거나, 관심이 많은 경희대학교 조리·서비스 경영학과 대학생 9명을 선정하였다.
- 묘사분석을 수행하기 위한 훈련
 - 1차 훈련 : 이 단계에서는 본 실험에 사용될 시료 12종을 제시하여 시료에 익숙해지는 훈련을 실시하였으며 산채나물의 관능적 특성을 표현하는 일련의 묘사용어를 나열하도록 하였다. 또한 1회에 맞보는 시료의 양, 시료 평가에 적합한 용기, 시료를 효율적으로 맞보는 방법 및 절차를 결정하였다.
 - 2차 훈련 : 패널요원들은 본 실험에서 평가할 시료의 외관, 향, 맛, 조직감 및 뒷맛 특성에 대한 묘사용어를 개발하였으며 정의를 확립하였고, 이러한 관능적 특성 강도에 해당하는 표준물질을 선정하였다. 이후 패널요원들이 산채나물의 특성 및 평가방법에 익숙해질 때까지 훈련을 지속하였고, 산채나물의 주요 관능적 특성에 대한 강도를 평가할 때 사용하는 표준척도를 개발하였다.
- 시료 준비 및 제시 : 산채나물의 묘사 분석을 위한 시료들은 실험 당일에 제조하여 사용하였으며, 색, 향, 맛 등에 의한 차이를 감지하지 못하도록 무색·무취의 150 mL들이 화이트 컵(Happy Pack Co., Seoul, Korea)에 30 g씩 담아서 곧바로 뚜껑을 닫아 실온($20 \pm 2^\circ\text{C}$)에 보관하였다. 패널들은 평가 시 피로감을 줄이기 위하여 먼저 6개의 시료를 평가 한 뒤, 15분의 휴식 시간을 가지고 나머지 6개의 시료를 마저 평가하도록 하였으며, 각각의 시료 별로 3자리 난수를 사용하여 제시 순서에 인한 오류가 발생하지 않도록 하였다.
- 통계분석 : 산채나물 시료들 간에 전체적인 차이가 있는지 알아보기 위해 다변량 분산분석(multivariate analysis of variance, MANOVA)을 실시하였다. 또한 각각의 관능적 특성에 대해서 시료 간에 유의적 차이를 알아보기 위해 분산분석 (analysis of variance, ANOVA)을 수행하였으며, 그 결과에 따라 Duncan's multiple range test를 실시하여($P < 0.05$) 평균 차이 정도를 평가하였다. 또한 시료들 간의 관능적 특성들의 차이를 요약하여 설명할 수 있도록 특성별 평균값을 적용하여 주성분 분석(principal component analysis, PCA)을 수행하였다. PCA는 XLSTAT (XLSTAT version 2013, Addinsoft, New York, N.Y., U.S.A.) 프로그램을 사용하여 분석하였고, 그 외 모든 분석은 SPSS 18.0(SPSS Inc., Chicago, Ill., U.S.A.) 프로그램을 사용하였다.

③ 산채나물의 전반적 기호도 및 관능적 특성들에 대한 기호도 조사

a. 묵나물(삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물) 소비자 기호도 조사

- 패널 일반사항 : 패널은 경희대학교 조리·서비스 경영학과, 관광대학원 및 궁중음식 연구원에서 모집하였으며, 총 115명(남자 55명, 여자 60명, 연령 20세~70세)의 소비자패널이 실험에 참여하였다.
- 시료 제시 및 평가
 - 묘사분석 때 사용했던 12가지의 산채나물 시료를 무색·무취의 150 mL들이 화이트 컵(Happy Pack Co., Korea)에 각각 담아 제공하였으며, 묘사분석 때와 마찬가지로 6개씩 두 번 제시하였다. 시료 별로 3자리 난수를 사용하여 랜덤으로 제시하였으며, 이를 통해 제시 순서로 인한 오류를 방지하였다.
 - 참가한 패널들은 제시된 12 종류의 각각의 산채나물시료에 대한 전반적인 기호도(Overall liking, OL), 외관 기호도(Appearance liking, APPL), 향미 기호도(Flavor liking, FLL)와 조직감 기호도(Texture liking, TXTL)의 기호도 평가 및 다시 먹어볼 의향, 추천 의향과 같은 제품 태도 등을 평가하였다. 기호도 평가는 9점 기호도 척도(1=대단히 많이 싫다, 5=좋아하지도 싫어하지도 않는다, 9=대단히 많이 좋다)를, 제품태도는 9점 카테고리 척도(1=대단히 동의하지 않는다, 5=동의하지도 동의하지 않지도 않는다, 9=대단히 동의한다)를 이용하여 평가하였다. 참가자들은 시료에 대한 적응을 방지하고자 시료와 시료 사이마다 생수와 따뜻한 쌀밥을 이용하여 입을 헹구도록 하였다.
- 통계분석 : 각각의 산채나물 시료별 관능적 특성과 소비자 기호도 사이의 연관성을 이해하기 위하여 부분최소평방 회귀분석(partial least square-regression, PSLR)을 수행하였으며, PSLR은 XLSTAT (XLSTAT version 2011, Addinsoft, New York, N.Y., U.S.A.) 프로그램을 사용하여 분석하였다.

b. 참나물 소비자 기호도 조사

- 시료 선정 : 위에서 제시한 대로 데치는 시간을 달리한 참나물 샘플 중(15초, 30초, 1분, 2분, 3분, 4분, 5분, 7분, 10분, 15분) FGD를 통하여 유의적인 차이가 나는 샘플 5개를 선정하여 실험하여, 최종적으로 실험에 사용된 참나물 시료는 데치는 시간을 15초, 1분, 2분, 5분, 10분으로 설정하였다.
- 패널 일반사항 : 평소 관능검사에 관심이 많은 경희대학교 조리·서비스경영학과 학생 총 53명(남 23명, 여 30명, 연령 20세~30세)을 대상으로 실험을 실시하였다.
- 시료 제시 및 평가
 - 묵나물의 방법과 동일하게 실험이 진행되었다.
 - 참나물 시료들에 대한 전반적 기호도 및 외관, 향미, 조직감, 기호도는 9점 기호도 척도를 이용하여 평가하였고, 시료의 단단한 정도, 익은 정도 및 촉촉한 정도는 just-about-right (JAR) 척도를 이용하여 그 적절성을 평가하였다. 또한 check-all-that-apply (CATA) method를 이용하여 시료의 좋은 특성과 싫은 특성에 대해 질문하였고, 시료의 다시 먹을 의향 및 추천 의도의 제품 태도는 9점 척도를 이용하여 평가하였다.

- 통계분석 : 각각의 기호도 및 제품 태도에 대해서 시료 간에 유의적 차이를 알아보기 위해 분산분석(analysis of variance, ANOVA)을 수행하였으며, 그 결과에 따라 Duncan's multiple range test를 실시하여(P<0.05) 평균 차이 정도를 평가하였다. 또한 좋아하는 이유와 싫어하는 이유에 대한 check-all-that-apply (CATA) 항목들은 빈도분석을 이용하여 응답자의 20% 이상이 선택한 특성들만을 골라 소비자 기호도에 영향을 미치는 주요 동인으로 채택하였다. SPSS 18.0(SPSS Inc., Chicago, Ill., U.S.A.) 프로그램을 사용하여 분석하였다.

2) 연구결과

(1) 산재의 영양성분 등 이화학적 특성 및 *in vitro* 기능성

① 이화학 특성

- 묵나물 형태로 구입한 후 동결건조한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 후 동결건조한 참나물에는 식이섬유가 30% 이상 함유되어 있으나 지방 함량은 3% 미만으로 저열량 식품 원료이며 회분 함량과 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 비교적 높았다(Table 2-1-1).

Table 2-1-1. Proximate composition and antioxidants of dried *samnamul*, *miyeokchui*, *daraesun*, *bangpungnamul*, and *chamnamul*

	삼나물	미역취	다래순	방풍나물	참나물
Moisture (%)	11.67±0.18	14.68±0.27	9.70±0.16	14.65±0.10	7.67±0.80
Lipids (%)	0.92±0.03	2.67±0.04	2.26±0.06	2.48±0.20	1.81±0.06
Protein (%)	19.87±0.28	14.86±0.23	26.42±0.06	18.25±0.69	21.75±0.02
Ash (%)	5.64±0.00	9.52±0.15	7.10±0.05	10.67±0.07	19.11±0.12
Carbohydrate Total (%)	61.91±0.07	58.28±0.68	54.53±0.09	53.95±1.06	49.67±1.00
Dietary fiber (%)	38.86±0.15	41.82±0.11	36.26±0.14	31.53±0.10	33.55±1.56
polyphenols (g/kg <i>sanchae</i>)	545.1±16.5 ^a	486.5±23.4 ^b	223.4±9.2 ^e	416.5±1.6 ^c	355.2±28.9 ^d
flavonoids (mg/kg)	606.9±10.0 ^b	386.8±41.8 ^c	1152.7±92.4 ^a	3294.±0.9 ^c	603.8±4.6 ^b
α-	3.30±0.11 ^e	13.33±0.16 ^c	24.65±0.01 ^b	7.26±0.01 ^d	73.94±0.73 ^a
γ-	n.d.	n.d.	11.20±0.04 ^a	n.d.	5.17±0.25 ^b
δ-	1.93±0.05 ^b	n.d.	3.36±0.10 ^a	n.d.	n.d.
Total	5.24±0.06 ^e	13.33±0.16 ^c	39.20±0.15 ^b	7.26±0.01 ^d	79.11±0.98 ^a

② *In vitro* 항당뇨 및 항비만 활성

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 후 동결건조한 참나물의 항당뇨 활성 지표로서의 α-glucosidase 저해 활성은 삼나물(45.9%), 참나물(42.3%), 다래순(40.2%)에서 높았고, 방풍나물(33.3%)과 미역취

(23.1%)는 이보다 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 2-1-4).

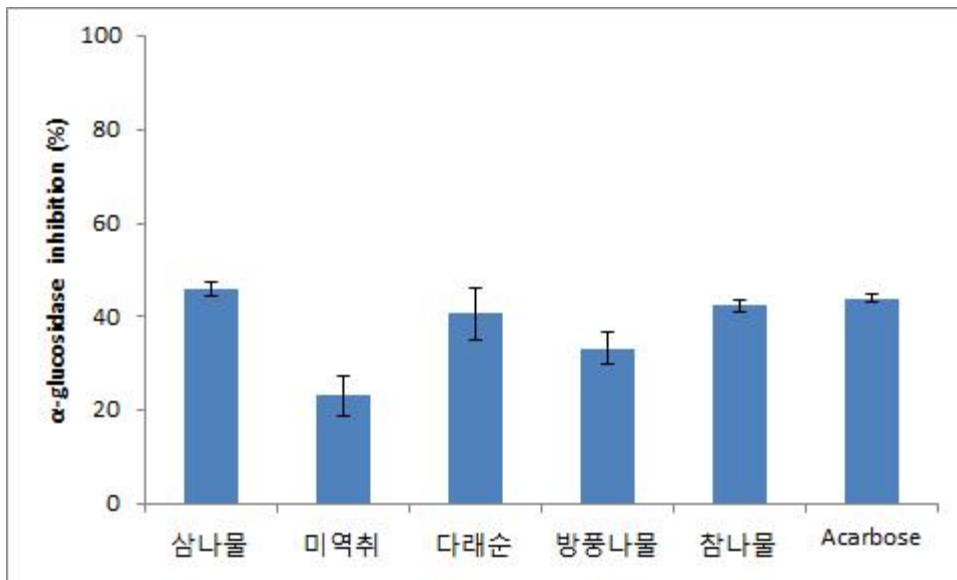


Fig. 2-1-4. α -Glucosidase inhibitory activity of 75% ethanol extracts of *sanchae*.

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 후 동결건조한 참나물의 *in vitro* 항비만 활성 지표로서의 pancreatic lipase 저해활성은 참나물에서 63.5%로 가장 높았고, 다래순 58.6%, 방풍나물 38.7%, 삼나물 35.3%, 미역취 27.9%이었다(Fig. 2-1-5).

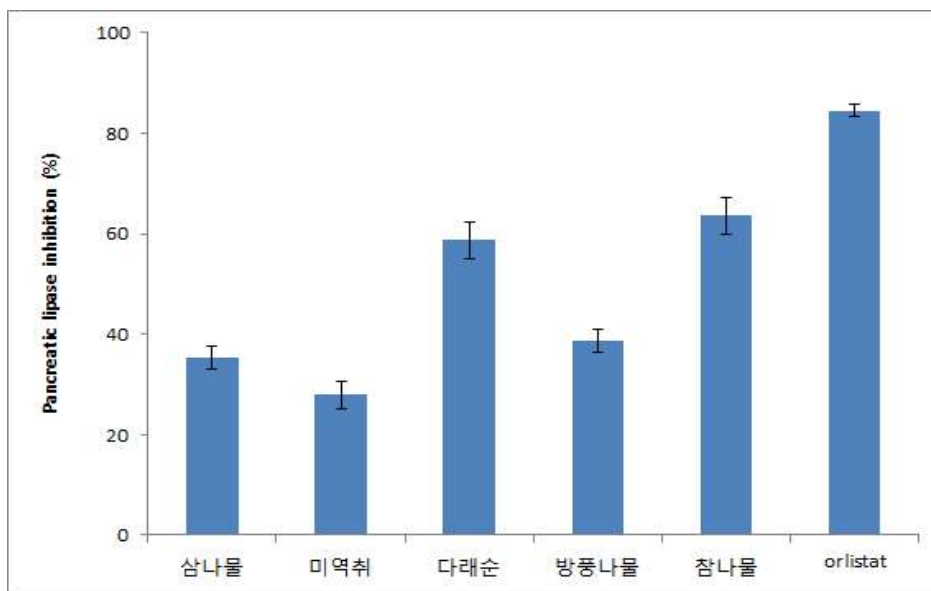


Fig. 2-1-5. Pancreatic lipase inhibitory activity of 75% ethanol extracts of *sanchae*.

- 위 결과로부터 묵나물 중 다래순과 삼나물, 그리고 생채인 참나물의 항당뇨, 항비만 활성이 높을 것으로 기대되었다.

③ 산채의 tocopherol, polyphenol, flavonoid 함량과 *in vitro* α-glucosidase 및 pancreatic lipase 저해 효과와의 관련성

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 후 동결건조한 참나물의 tocopherol, polyphenol, flavonoid 함량과 *in vitro* α-glucosidase 및 pancreatic lipase 저해 활성을 회귀분석한 결과(Table 2-1-2), α-glucosidase 저해 활성은 폴리페놀보다는 플라보노이드가, pancreatic lipase 저해 활성은 폴리페놀과 토코페롤 함량과 관련성이 높았다. α-glucosidase 저해 활성에 관여하는 플라보노이드로 chlorogenic acid가 동정되었다 (제 3세부).

Table 2-1-2. Regression analysis between contents of tocopherols, polyphenols, and flavonoids and α-glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activity of *sanchae*

		Regression parameters ¹⁾		
		a	b	r ²
α-glucosidase inhibition	polyphenols	-0.013	42.0	0.0298
	flavonoids	0.014	28.5	0.2467
	tocopherols	0.099	34.1	0.1172
pancreatic lipase inhibition	polyphenols	-0.101	85.5	0.6552
	flavonoids	0.031	26.0	0.4119
	tocopherols	0.437	32.2	0.7788

¹⁾α-Glucosidase or pancreatic lipase inhibitory activity = a x contents of tocopherols (mg/kg), polyphenols (g/kg), and flavonoids (mg/kg) + b, r²=coefficient of determination

(2) 산채의 저장(건조) 조건(빛 등)에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가

- 삼나물을 채취한 즉시 생채로 구입하여 끓는 물에서 50초간 데치고 흐르는 찬물에 3분간 수침시킨 후 건져내고 야채탈수기로 물기를 제거한 후 야채 건조망에 넣어 빛(온도: 22.3°C, 습도 36%) 또는 빛을 차단한 상태에서(온도: 21.4°C, 습도 40%) 건조하면서 건조 기간에 따른 건강 기능 성분인 폴리페놀, 토코페롤, 플라보노이드 함량을 평가하고 75% 에탄올 추출물의 항당뇨, 항비만 활성을 평가하였다.

① 건강기능성분

- 생채 삼나물 에탄올 추출물의 플라보노이드 함량은 5.64%이었으나 끓는 물에 데친 후 3.84%로 감소하였다. 데친 삼나물을 빛에서 건조하였을 때 건조시간에 따라 플라보노이드 함량은 유의한 변화를 보이지 않았으나 데친 삼나물을 빛을 차단

하여 건조하였을 때 플라보노이드 함량은 유의하게 낮았다. 따라서 건조 과정 중 삼나물의 플라보노이드 함량은 빛의 존재에 따라 유의하게 영향을 받음을 알 수 있었다(Fig. 2-1-6).

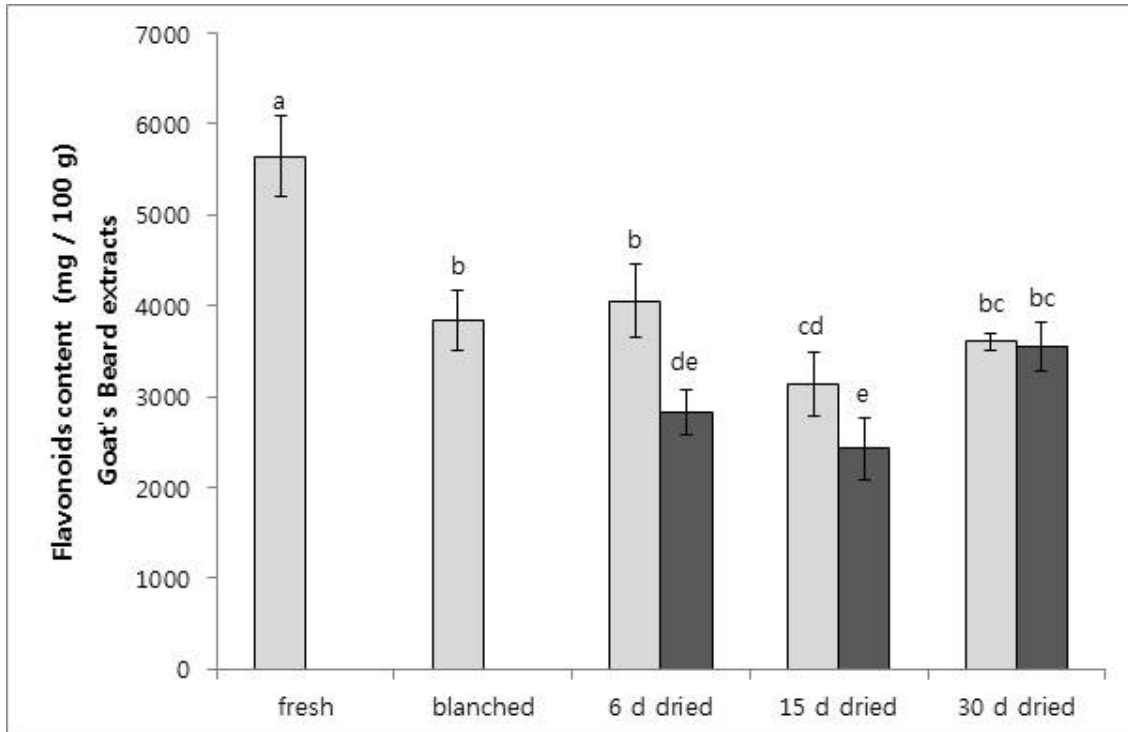


Fig. 2-1-6. Flavonoid contents in 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to drying steps (□; light, ▨; dark).

- 생채 삼나물의 폴리페놀 화합물 함량은 34.69 mg/g (dry weight basis)이었으나 생채 삼나물을 끓는 물에 데친 후 30.81 mg/g으로 유의하게 감소하였다. 데친 삼나물을 빛에서 건조하였을 때 폴리페놀 화합물 함량은 유의하게 감소하였으나 건조시간에 따른 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 빛을 차단하여 건조하였을 때는 빛 존재 하에 건조시킨 경우에 비하여 높은 폴리페놀 함량을 나타냈으며, 건조 기간에 따라 증가한 경향을 보였다(Fig. 2-1-7).

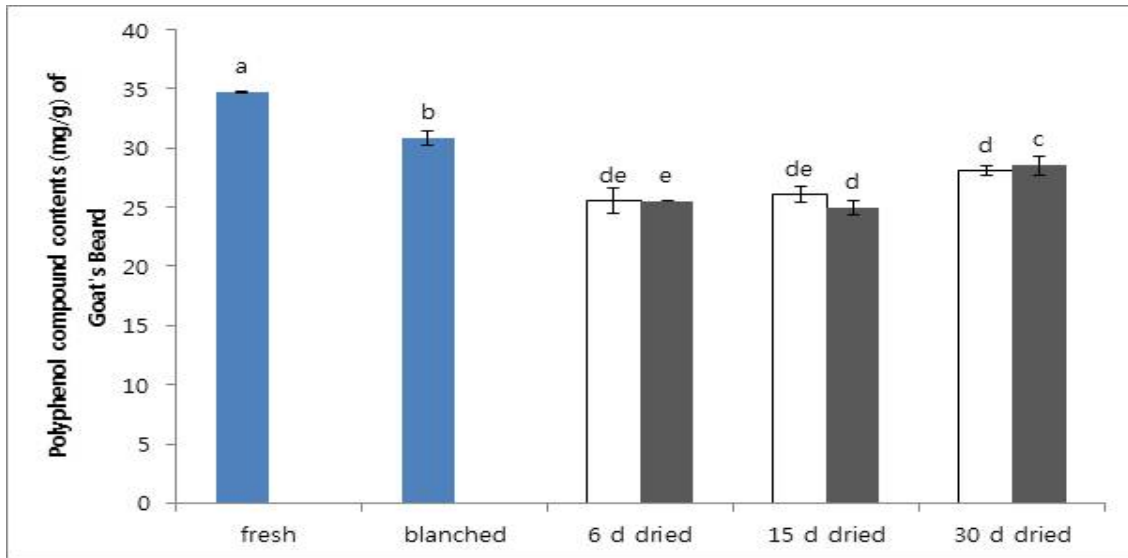


Fig. 2-1-7. Polyphenol contents of Goat's Beard (*Samnamu*) with respect to drying steps (□; light, ■; dark).

- 생채인 삼나무에는 α -, γ -, δ -토코페롤이 각각 50.04, 150.81, 41.02 mg/kg (dry weight basis) 함유되어 총 토코페롤 함량은 241.87 mg/kg이었다. 생채 삼나무를 끓는 물에 데친 후에는 모든 종류의 토코페롤 함량이 유의하게 감소하여 총 토코페롤 함량은 193.47 mg/kg이었다. 데친 삼나무를 건조하였을 때 토코페롤 함량은 유의하게 감소하였으며 빛의 존재 하에서 건조한 경우 빛을 차단하여 건조한 경우에 비해 토코페롤 함량은 유의하게 낮았다. 또한 건조시간이 길어짐에 따라 토코페롤 함량은 유의하게 감소하였다(Fig. 2-1-8).

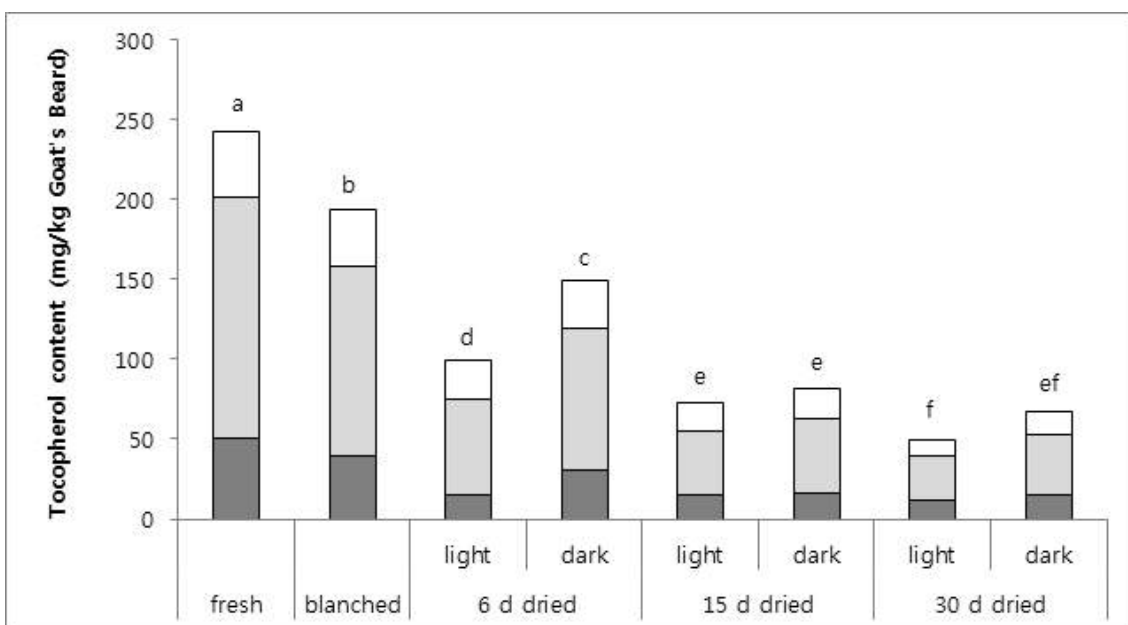


Fig. 2-1-8. Tocopherol contents of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to drying steps (■; α -tocopherol, ▨; γ -tocopherol, □; δ -tocopherol).

- 생채인 삼나물의 에탄올 추출물에는 α -, γ -, δ -토코페롤이 각각 292.9, 743.2, 229.6 mg/kg 함유되어 총 토코페롤 함량은 1265.7 mg/kg이었다. 끓는 물에 데친 생채 삼나물의 에탄올 추출물에는 α -토코페롤을 제외하고는 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 그러나 데친 삼나물을 건조한 후 에탄올로 추출한 추출물에는 토코페롤 함량이 유의하게 감소하였으며 건조 기간이 증가할수록 감소량이 컸다. 또한 빛의 존재 하에서 건조한 경우 빛을 차단하여 건조한 경우에 비해 삼나물 추출물에서의 토코페롤 함량은 유의하게 낮았다(Fig. 2-1-9).

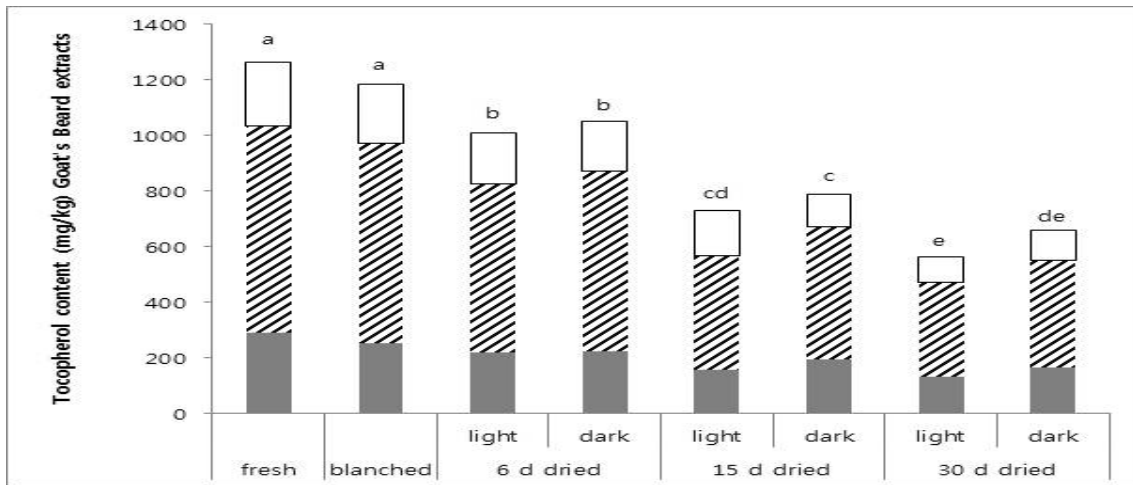


Fig. 2-1-9. Tocopherol contents of 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to drying steps (■; α -tocopherol, ▨; γ -tocopherol, □; δ -tocopherol).

- 위 결과로부터 산채는 생채로 수확한 후 비교적 극성인 폴리페놀과 플라보노이드 화합물은 블랜칭에 의해 그 함량이 유의하게 감소하였지만 건조 기간에 따른 유의한 차이는 크지 않았고, 비극성인 토코페롤은 블랜칭보다는 건조 기간에 따라 분해가 증가함을 알 수 있었다. 건조 기간 중 빛의 존재는 큰 영향을 보이지 않았다.

② 항당뇨, 항비만 활성

- 항당뇨 활성 지표로서의 α -glucosidase 저해 활성은 표준물질인 아카보스 (52.05%)와 비교하여 생채 형태의 삼나물, 이를 끓는 물에 데친 삼나물은 40% 정도로 아카보스의 80% 정도의 저해활성을 나타냈다. 또한 데친 삼나물을 30일간 건조시켰을 때 빛의 존재와 건조 기간에 상관없이 α -glucosidase 저해 활성은 그대로 유지되었다. 따라서 산채의 항당뇨 활성은 데치기 및 건조 공정에 의해 영향

을 받지 않는 것으로 생각된다(Fig. 2-1-10).

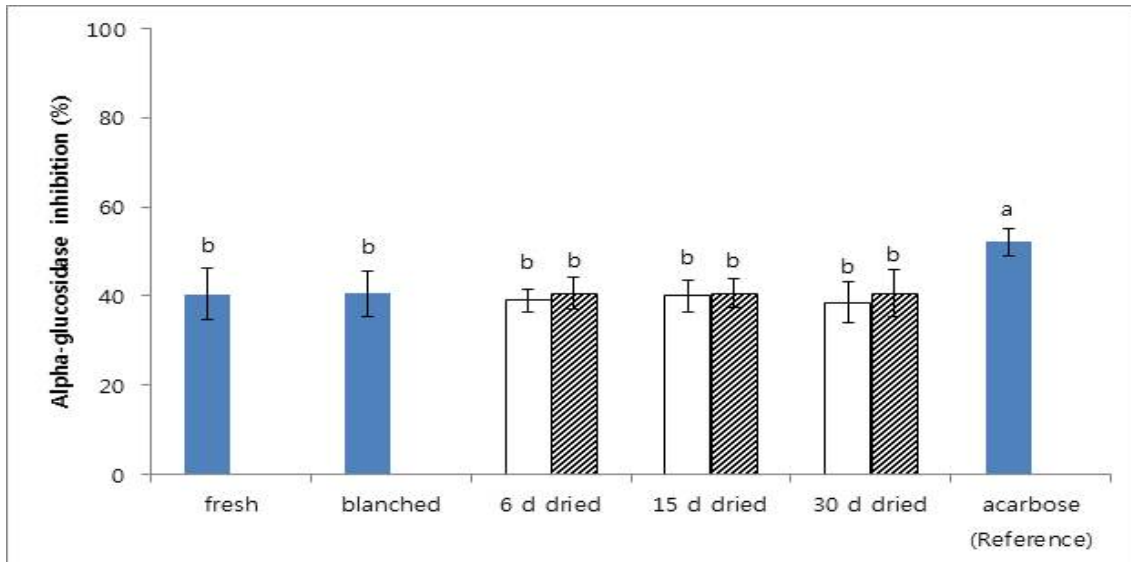


Fig. 2-1-10. α -Glucosidase activity of 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to drying steps (\square ; light, \square ; dark).

- in vitro* 항비만 활성 지표로서의 pancreatic lipase 저해 활성을 분석한 결과, 생체 형태의 삼나물은 표준물질인 Orlistat(75.49%)의 74.6%에 해당하는 56.33%의 저해 활성을 나타냈고, 또한 생체 삼나물에 비해 데친 삼나물은 유의하게 낮은 저해 활성을 나타냈다. 그러나 데친 삼나물을 30일간 건조시켰을 때는 데친 삼나물에 비해 약간 감소하는 경향을 보이긴 했으나, 그 변화는 유의하지 않았으며 빛의 존재와 건조 기간에 상관없이 pancreatic lipase 저해 활성은 그대로 유지되었다. 따라서 묵나물 형태 산채의 항비만 활성은 데치기 공정에서 유의하게 감소되며 건조 공정에 의해 영향을 받지 않는 것으로 생각된다(Fig. 2-1-11).

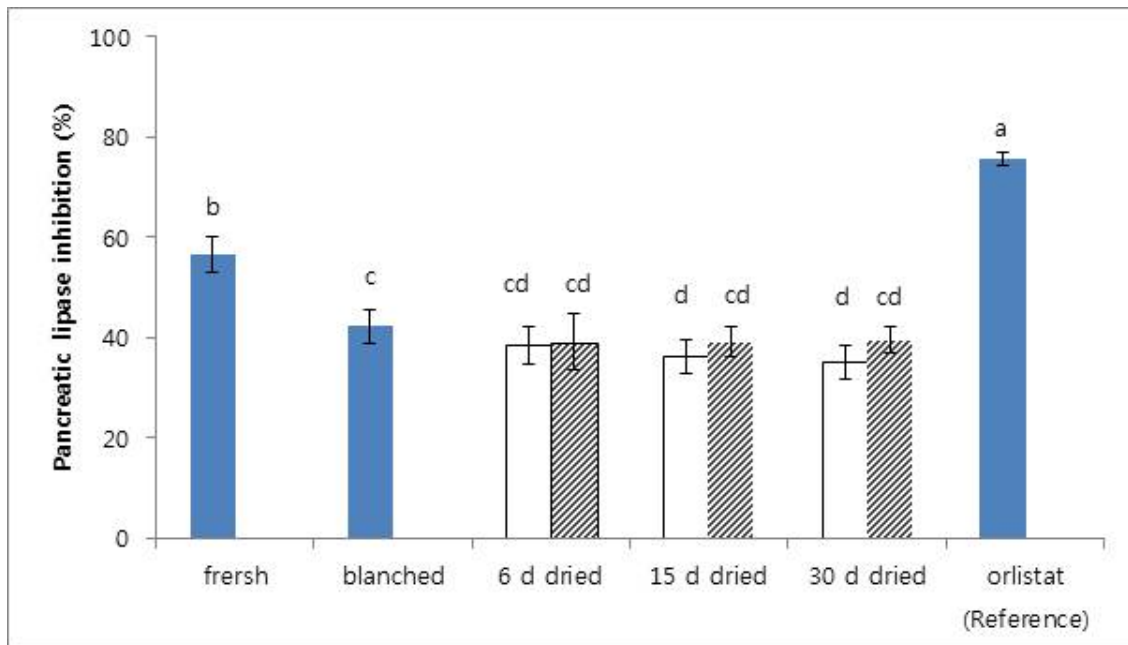


Fig. 2-1-11. Pancreatic lipase activity of 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamu*) with respect to drying steps (□; light, ▨; dark).

(3) 조리 전 전처리 단계에 따른 산채(삼나물)의 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물을 조리하기 위한 전처리를 a. 찬물에 불리기(0시간, 6시간, 12시간, 16시간, 20시간) b. 찬물에 16시간 불리고 30분 삶기 c. 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기의 단계로 나누어 실시한 결과, 삼나물의 전처리 단계에 따른 75% 에탄올 추출물의 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 함량은 다음과 같다.

① 건강 기능 성분

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물의 에탄올 추출물의 플라보노이드 함량은 474.1 mg% 이었으나, 찬물에 6, 12, 16, 20시간 동안 불린 후 각각 207.9, 221.0, 186.7, 151.5 mg%로, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 58.7 mg%, 물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려 후 49.4 mg%로 유의하게 감소하였다(Fig. 2-1-12). 이 결과는 묵나물을 물에 불리고 우려는 과정보다는 삶는 과정에서 플라보노이드 함량 감소가 큼을 의미한다.

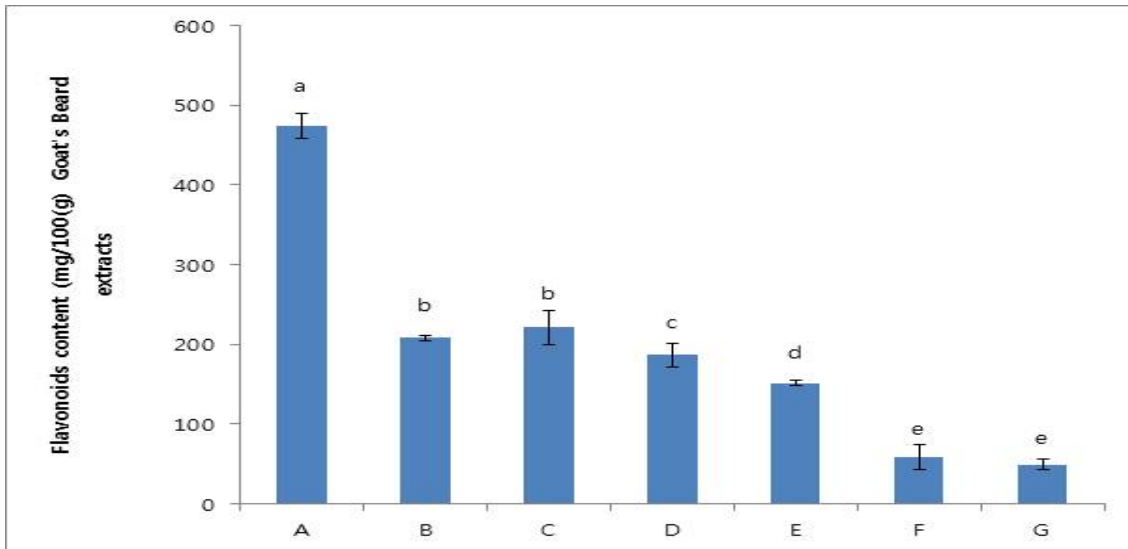


Fig. 2-1-12. Flavonoid contents in 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps prior to cooking (A: No pre-treatment, B: soaking in water for 6 h, C: soaking in water for 12 h, D: soaking in water for 16 h, E: soaking in water for 20 h, F: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min, G: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min and then soaking in water for 1 h).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물의 폴리페놀 함량은 2.02% 이었으나, 찬물에 6, 12, 16, 20시간 동안 불린 후 각각 1.74, 1.74, 1.77, 1.45% (dry weight basis)로, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1.03%, 물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우린 후 0.91%로 유의하게 감소하였다(Fig. 2-1-13). 이 결과는 묵나물을 물에 불리고 삶고 우리는 과정 중 나물 자체에서 폴리페놀이 손실됨을 의미한다.

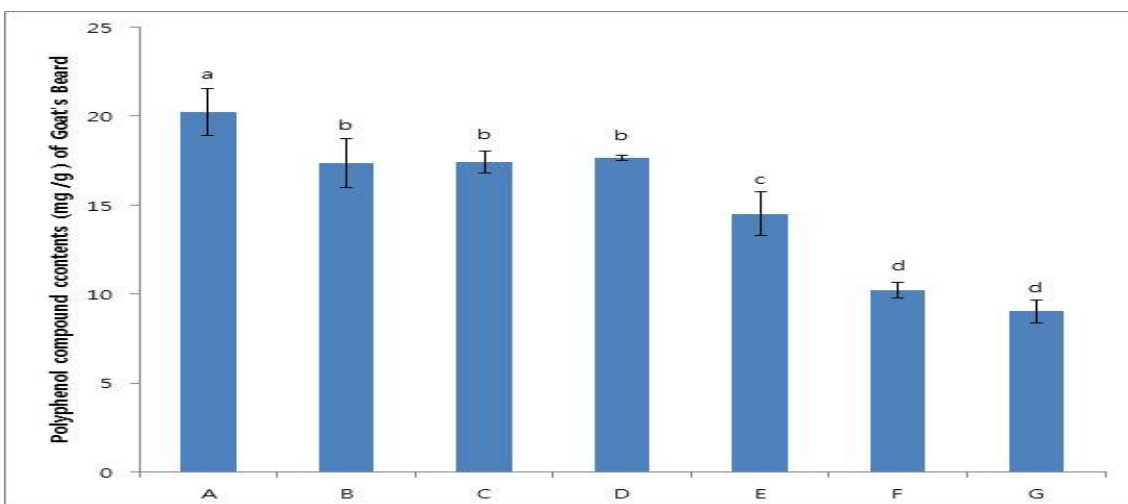


Fig. 2-1-13. Polyphenol contents of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps prior to cooking (A: No pre-treatment, B: soaking in

water for 6 h, C: soaking in water for 12 h, D: soaking in water for 16 h, E: soaking in water for 20 h, F: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min G: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min and then soaking in water for 1 h).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물에는 α -, γ -, δ -토코페롤이 각각 9.34, 4.87, 6.32 mg/kg (dry weight basis) 함유되어 총 토코페롤 함량은 20.53 mg/kg이었다. 그러나 묵나물인 삼나물을 찬물에 불린 후 오히려 함량이 증가하였고, 물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우린 후에는 초기 묵나물 형태의 삼나물과 비슷한 수준이었다(Fig. 2-1-14). 이 결과는 묵나물을 물에 불리고 삶고 우리는 과정에서 산채 단위 무게 당 토코페롤 함량이 증가하였음을 의미하며, 이것은 불리고 삶고 우리는 과정에서 수용성 성분들이 용출되지만, 토코페롤과 같은 지용성 성분은 오히려 삼나물에 남아 있게 되어 공정 후 동결건조된 삼나물에서의 비중이 증가하는데서 일부 기인하는 것으로 보인다.

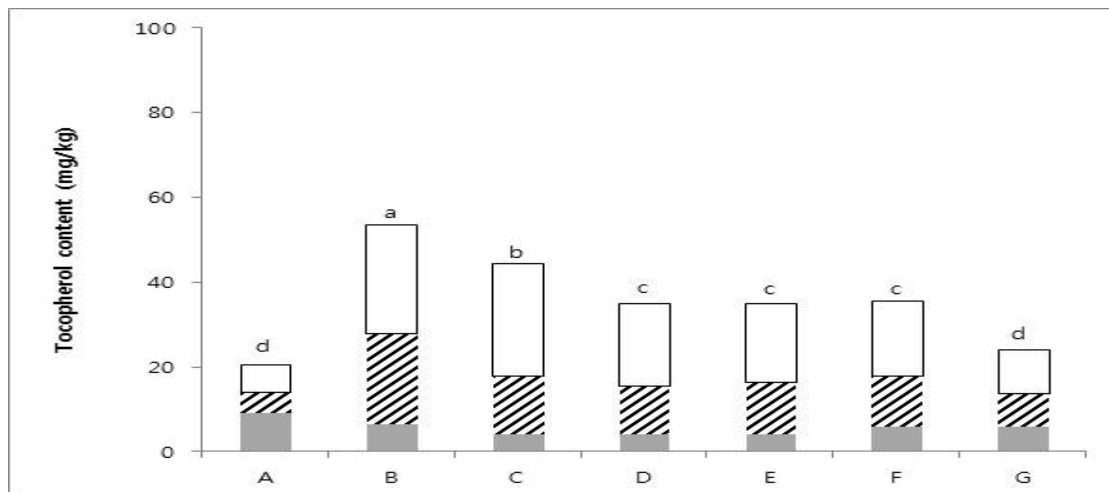


Fig. 2-1-14. Tocopherol (■; α -tocopherol, ▨; γ -tocopherol, □; δ -tocopherol) contents of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps for cooking (A: No pre-treatment, B: soaking in water for 6 h, C: soaking in water for 12 h, D: soaking in water for 16 h, E: soaking in water for 20 h, F: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min, G: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min and then soaking in water for 1 h).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물의 에탄올 추출물에는 α -, γ -, δ -토코페롤이 각각 156.7, 47.3, 36.3 mg/kg 함유되어 총 토코페롤 함량은 240.2 mg/kg이었다. 그

러나 목나물인 삼나물을 찬물에 불리거나, 물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우린 후 추출물에서 α -토코페롤을 제외하고는 오히려 토코페롤 함량이 증가하였으며, α -토코페롤은 반대 경향을 보였다(Fig. 2-1-15). 이 결과는 목나물을 물에 불리고 삶고 우리는 과정에서 산채 단위 무게 당 토코페롤 함량이 증가하였음을 의미하며, 이것은 불리고 삶고 우리는 과정에서 수용성 성분들이 용출되지만, 토코페롤과 같은 지용성 성분은 오히려 삼나물에 남아 있게 되어 공정 후 동결건조된 삼나물에서의 비중이 증가하는데서 일부 기인하는 것으로 보인다.

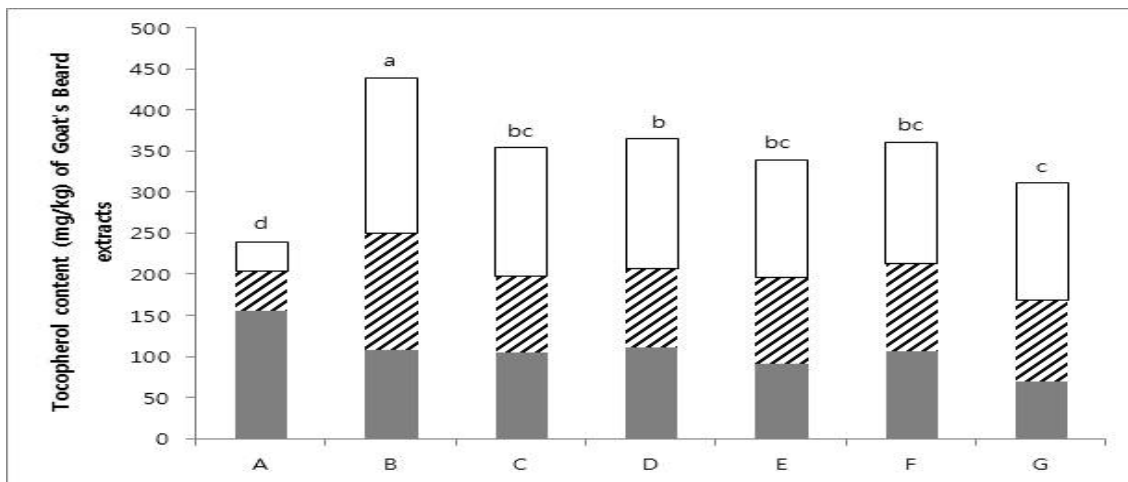


Fig. 2-1-15. Tocopherol (■; α -tocopherol, ▨; γ -tocopherol, □; δ -tocopherol) contents of 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps for cooking (A: No pre-treatment, B: soaking in water for 6 h, C: soaking in water for 12 h, D: soaking in water for 16 h, E: soaking in water for 20 h, F: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min, G: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min and then soaking in water for 1 h).

- 위 결과로부터 목나물에 함유된 비교적 극성인 폴리페놀과 플라보노이드 화합물은 물에 불리거나 우림 과정 보다는 물에 삶는 과정 중 손실이 컸다. 따라서 항당뇨, 항비만 활성 증진을 위하여 목나물 텍스처를 고려하면서 삶음 시간을 최소화할 필요가 있을 것으로 사료된다.

② 항당뇨, 항비만 활성

- 목나물 형태로 구입한 삼나물의 에탄올 추출물의 항당뇨 활성 지표로서의 α -glucosidase 저해 활성은 표준 물질인 아카보스(42.68%) 보다 적은 20.89%이었으며, 목나물 형태로 구입한 삼나물을 찬물에 불렸을 때 불림 시간이 증가함에 따

라 서서히 감소하여 불림 20시간 후 저해 활성은 15.95%이었다. 또한 이후 30분 삶음 과정에서 α -glucosidase 저해 활성은 유의하게 더욱 감소하였으나 1시간 우림 과정은 저해 활성에 유의한 변화를 주지 않았다(Fig. 2-1-16).

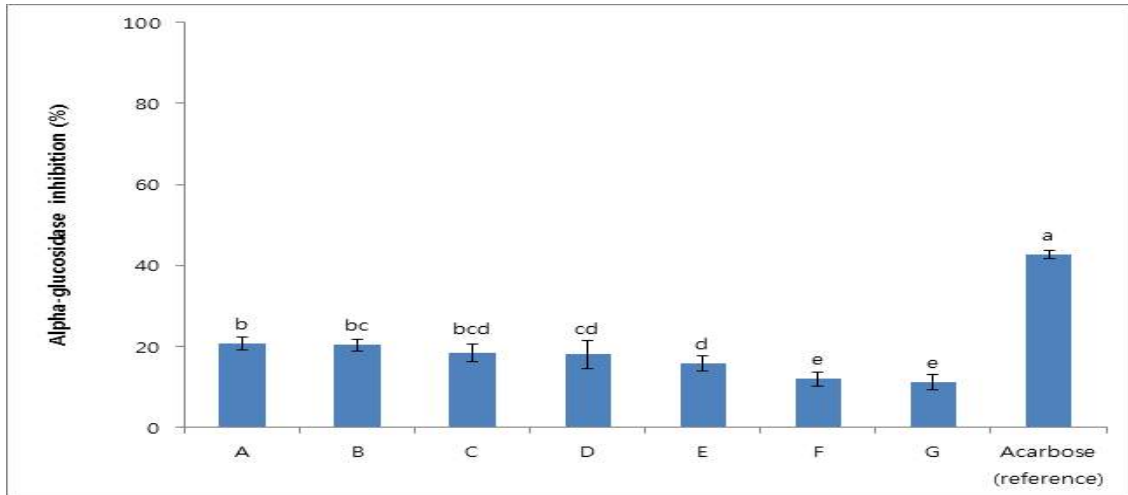


Fig. 2-1-16. α -Glucosidase inhibitory activity of 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps for cooking (Acarbose was the reference compound at the same weight basis).(A: No pre-treatment, B: soaking in water for 6 h, C: soaking in water for 12 h, D: soaking in water for 16 h, E: soaking in water for 20 h, F: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min, G: soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min and then soaking in water for 1 h).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물의 에탄올 추출물의 *in vitro* 항비만 활성 지표로서의 pancreatic lipase 저해 활성은 표준물질인 Orlistat(81.36%)보다 유의하게 적은 30.25%이었으며, 묵나물 형태로 구입한 삼나물을 찬물에 불렸을 때 불림 시간이 증가함에 따라 서서히 감소하여 불림 20시간 후 저해 활성은 22.90%이었다. 또한 이후 30분 삶음 과정에서 lipase 저해 활성은 유의하게 더욱 감소하였으나 1시간 우림 과정은 저해 활성에 유의한 변화를 주지 않았다(Fig. 2-1-17).

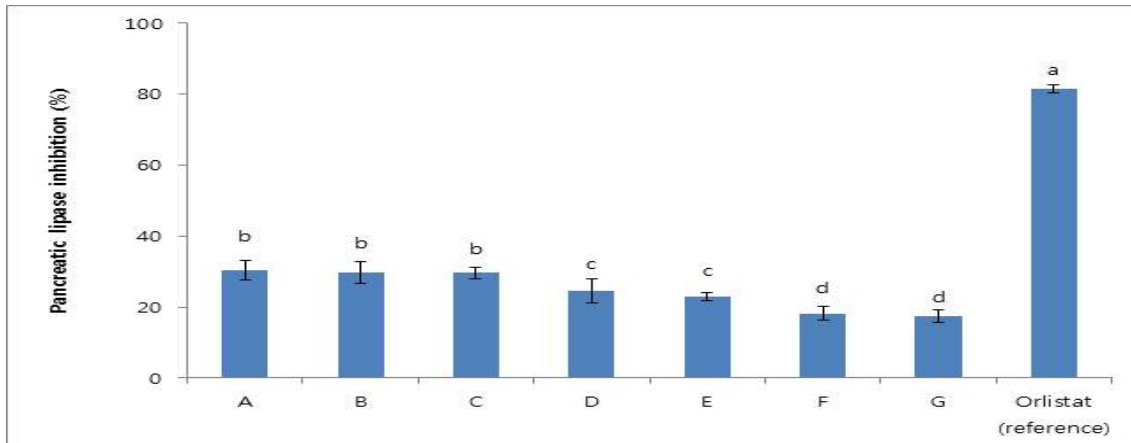


Fig. 2-1-17. Pancreatic lipase activity of 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps for cooking (Orlistat was the reference compound at the same weight basis).(A; No pre-treatment, B; soaking in water for 6 h, C; soaking in water for 12 h, D; soaking in water for 16 h, E; soaking in water for 20 h, F; soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min G; soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min and then soaking in water for 1 h).

- 위 결과로부터 묵나물의 삶음 과정에서 항당뇨, 항비만 활성이 유의하게 감소하였는데 이것은 이 과정에 의해 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 유의하게 감소한 데서 기인한 것으로 사료된다.
- 전처리 과정 중 폴리페놀, 플라보노이드 등의 산화 방지 성분 함량 및 α -glucosidase 및 pancreatic lipase 저해 효과 변화, 패널에 의한 관능평가 결과를 고려하여 전처리 과정은 16시간 동안 물에 불린 후 30분 삶음, 1시간 우림으로 결정하였다.

(4) 여러 종류의 산채 조리를 위한 전처리(16시간 불림, 30분 삶기, 1시간 우리기)에 의한 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물의 조리 전처리인 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우리기 후(fresh 상태로 섭취하는 참나물은 생채로 구입한 후 그대로) 동결건조하여 75% 에탄올로 추출한 산채 추출물의 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 함량은 다음과 같다.

① 건강 기능 성분

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물의 플라보노이드 함량은 각각 474.1, 486.5, 662.9, 324.3, 60.4

mg%이었으나, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 49.4, 38.7, 115.3, 32.9 mg%로 나타나, 다래순을 제외하고는 10% 내외로 감소하였다 (Fig. 2-1-18). 이 결과는 묵나물을 물에 불리고 삶고 우려는 과정에서 플라보노이드 함량 감소가 매우 큼을 의미한다.

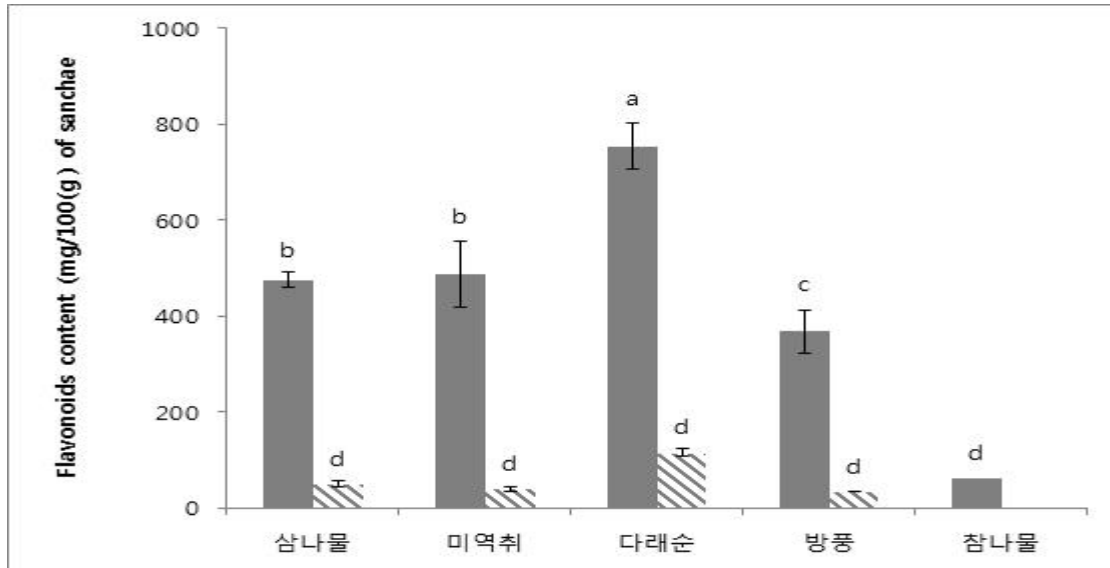


Fig. 2-1-18. Flavonoids contents of 75% ethanol extracts from *sanchae* (■; before pre-treatment ▨; after pre-treatment).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량은 각각 12.2, 7.5, 4.4, 6.4, 6.0 %이었으나, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 1.49, 0.90, 1.33, 0.84%로 다래순을 제외하고는 10% 내외로 감소하였다(Fig. 2-1-19). 이 결과는 묵나물을 물에 불리고 삶고 우려는 과정에서 폴리페놀 함량 감소가 매우 큼을 의미한다.

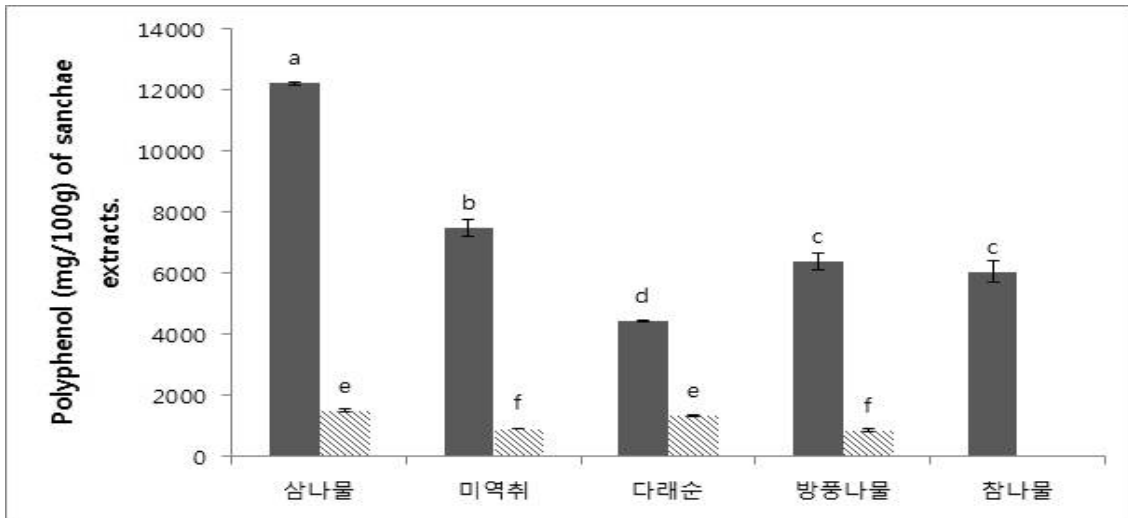


Fig. 2-1-19. Polyphenol contents of 75% ethanol extracts from *sanchae* (■; before pre-treatment ▨; after pre-treatment).

- 위 결과로부터 전처리 과정은 묵나물 자체의 폴리페놀과 플라보노이드 함량에 관계없이 묵나물의 폴리페놀과 플라보노이드 화합물에 매우 큰 손실을 초래하였다. 따라서 산채나물의 우수한 건강 기능성을 확보하기 위해서 텍스처를 만족하는 범위에서 전처리 과정을 단축시킬 필요가 있을 것으로 사료된다.
- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 총 토코페롤 함량은 각각 20.53, 10.01, 43.03, 3.40, 70.07 mg/kg (dry weight basis)이었으나, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우리기 후 각각 22.43, 38.69, 165.50, 30.00 mg/kg으로 유의하게 증가하였다(Fig. 2-1-20). 이것은 앞에서 언급한 것처럼 불리고 삶고 우리는 과정에서 수용성 성분들이 용출되고 지용성 성분은 오히려 산채에 남아 있게 되어 공정 후 동결건조된 산채에서의 비중이 증가하는데서 기인한다.

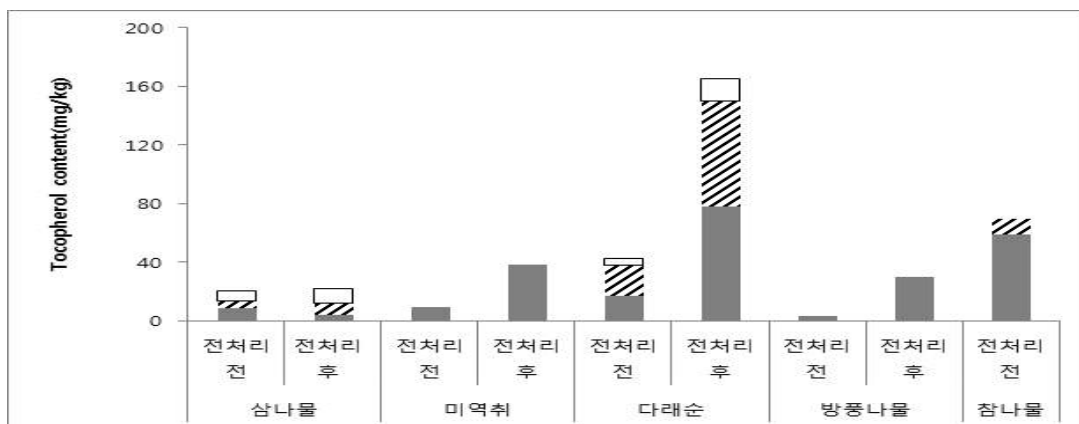


Fig. 2-1-20. Tocopherol content of dried *sanchae* (■; α -tocopherol, ▨; γ -tocopherol, □; δ -tocopherol), (■; before pre-treatment ▨; after pre-treatment).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물에서의 총 토코페롤 함량은 각각 240.2, 129.0, 782.8, 47.9, 294.9 mg/kg 이었으나, 묵나물을 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 329.3, 478.6, 1353.5, 287.6 mg/kg으로 유의하게 증가하였다 (Fig. 2-1-21). 이것은 앞에서 언급한 것처럼 불리고 삶고 우려는 과정에서 수용성 성분들이 용출되고 지용성 성분은 오히려 산채에 남아 있게 되어 공정 후 동결 건조된 산채에서의 비중이 증가하는데서 기인한다.

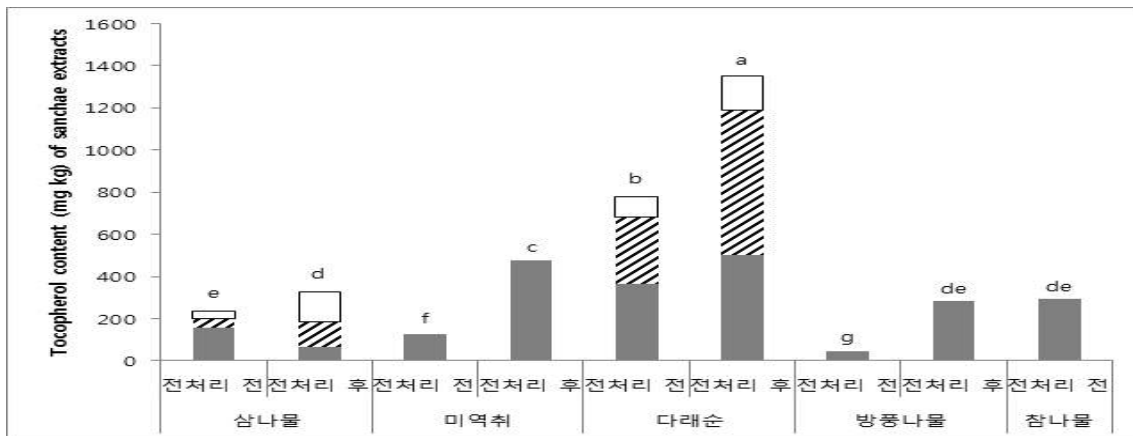


Fig. 2-1-21. Tocopherol content of 75% ethanol extract of dried *sanchae* (■; α-tocopherol, ▨; γ-tocopherol, □; δ-tocopherol), (■; before pre-treatment ▨; after pre-treatment).

② 항당뇨, 항비만 활성

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물의 항당뇨 활성 지표로서의 α-glucosidase 저해 활성은 20.89, 13.11, 23.70, 23.33, 12.30%로 표준 물질인 아카보스(43.93%)보다 작게 나타났으며, 묵나물을 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 11.27, 10.9, 18.9, 17.0%로 감소하였다(Fig. 2-1-22).

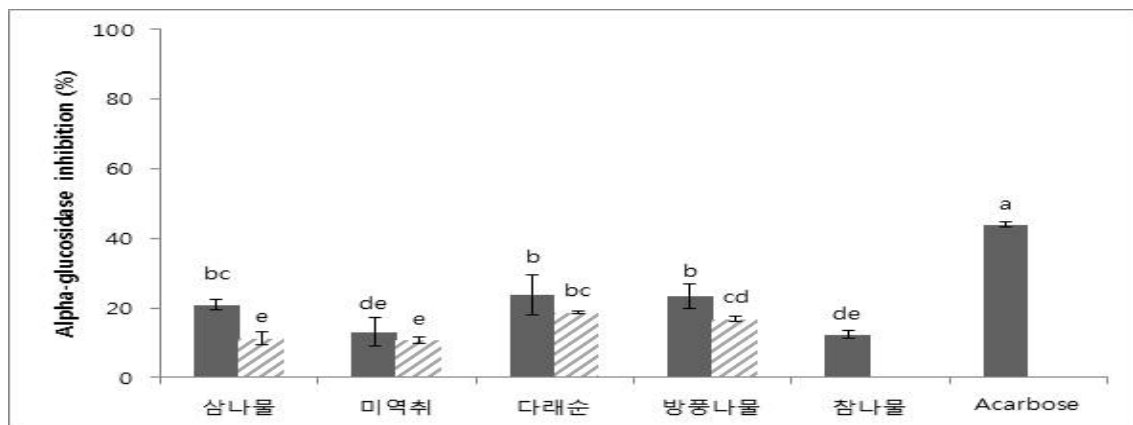


Fig. 2-1-22. α -Glucosidase inhibitory activities of some dried *sanchae* and *muknamul* extracts (Acarbose was the reference compound at the same weight basis.)(■; before pre-treatment ▨; after pre-treatment).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물의 *in vitro* 항비만 활성 지표로서의 pancreatic lipase 저해 활성은 표준물질인 Orlistat (84.49%)보다 유의하게 적은 각각 30.25, 67.93, 64.65, 38.69, 56.22%이었으며, 묵나물을 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 17.51, 17.12, 56.48, 24.42%로 유의하게 감소하였다(Fig. 2-1-23).

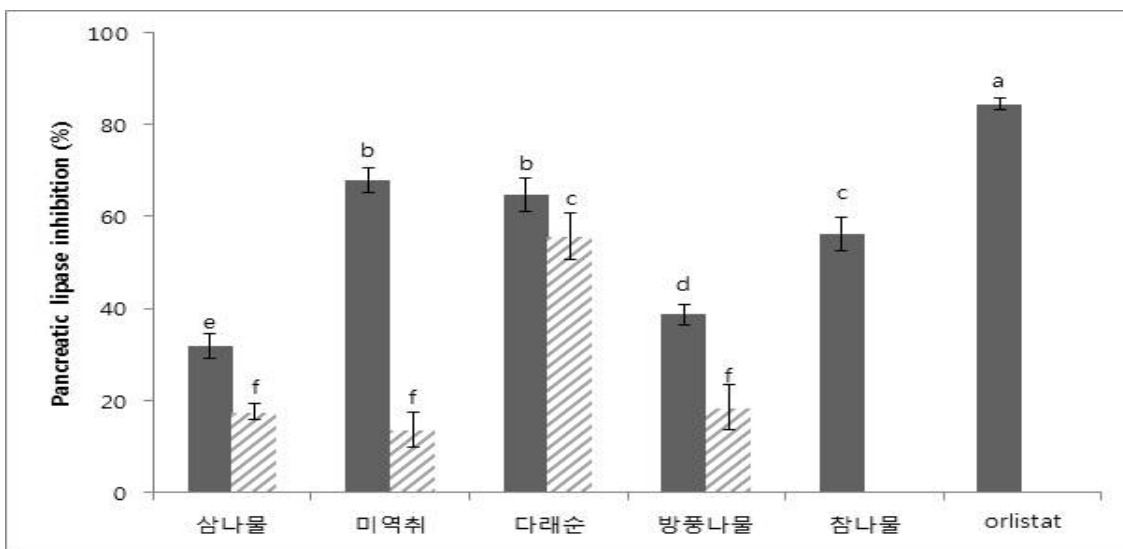


Fig. 2-1-23. Pancreatic lipase inhibitory activities of some dried *sanchae* and *muknamul* extracts (Orlistat was the reference compound at the same weight basis.)(■; before pre-treatment ▨; after pre-treatment).

- 항당뇨, 항비만 활성은 묵나물의 전처리과정에 의해 유의하게 감소하였으나 다래순의 경우 전처리 과정에 의한 활성 감소가 적어 산채나물 조리 방법이 비교적 수월할 것으로 예측되었다.

(5) 산채나물 레시피 표준화 및 전문가 FGI(focus group interview)를 통한 검증

① 실험조리 및 FGD에 의한 산채나물 시료 선정

- 1차 실험조리 및 전문가 FGD의 참여 전문가는 한복선(한복선 식문화연구원 원장), 장소영(경민대학교 호텔외식조리과 교수), 박영미(한양여자대학교 외식산업과 교수), 이소영(궁중음식연구원 선임연구원), 조은희(아름지기 선임연구원)이 참여하였으며, 시료는 Table 2-1-3, Fig. 2-1-24에 제시하였다.

- 묵나물(삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물)은 불리는 시간, 삶는 시간, 우리는 시간을 달리하여 비교 평가한 결과, 묵나물을 16시간 불리고, 30분을 삶고, 1시간 우리로 결정하였다.
- 참나물은 데치는 시간별 특성 차이를 비교 평가한 결과, 2분 데치는 것이 조직감과 향미 면에서 기호도가 높게 평가되고, 30초를 데치는 경우는 질기고, 짧은맛이 강했으며, 5분 이상 데치는 경우는 조직이 너무 물러졌다.
- 향유(들기름 vs. 참기름) 첨가 실험 결과, 향산화성이 높고, 생리활성 물질이 풍부한 묵나물의 경우 들기름을 넣었을 때 향미 기호도가 높게 평가되고, 생나물의 경우 참기름을 넣었을 때 향미 기호도가 높게 평가되었다. 첨가 수준은 삶아서 물기를 제거한 묵나물 200 g당 20 g의 향유를 넣기로 결정하였다.
- 조미(국간장 vs. 진간장) 수준실험 결과, 진간장으로 간을 한 경우의 기호도가 더 높게 나타나고, 조미 수준은 삶아서 물기를 제거한 나물 200 g당 18 g의 간장을 넣기로 하였다.
- 2차 실험조리 및 전문가 토론 결과, 묵나물은 전처리(불리기) 및 후처리(우리기)의 유·무에 따른 특성 차이를 비교하고, 참나물은 데치는 시간을 달리한 참나물의 조직감 특성 차이를 검사한 결과, 데치는 시간 별(15초, 1분, 2분, 5분, 10분) 유의적인 특성 차이가 나타나는($p < 0.05$) 시료로 선정하였다(Table 2-1-4).

② 묘사분석을 통한 산채나물의 관능적 특성 표준 척도 개발

- 산채나물 시료 12 종류에 대한 묘사분석 결과 외관, 향, 맛, 조직감 및 뒷맛 특성에 대하여 총 41가지 특성이 개발되었다. 모든 특성들에서 유의적인 차이 ($P < 0.05$)가 나타났다.
- 산채나물의 관능적 특성별로 주성분 분석을 실시한 결과, 제 1 주성분(PC1)과 제 2 주성분(PC2)이 각각 총 변동의 63.99%와 12.89%를 설명하여 총 변동의 76.879%를 설명하였다(Fig. 2-1-25).
- 시료들이 주성분에 의해 부하된 정도를 보면 PC1에 대해 미역취, 다래순, 방풍나물 시료들은 양의 방향에 위치하여 초록색, 표면의 거친 정도, 아린 맛, 쓴맛, 무맛, 짧은 뒷맛, 입안 잔여감, 거친 식감 등의 특성을 주로 나타내는 것을 알 수 있고, 삼나물 시료들은 음의 방향에 위치하여 기름지고, 촉촉하며, 감칠맛이 나고, 부드러우며, 큰 스프 맛의 특성을 주로 나타낸다는 것을 알 수 있다.
- 본 연구 결과, 삼나물의 특징을 묘사하는 용어가 다른 나물의 특징을 묘사하는 용어에 비해 긍정적인 용어가 대부분이어서, 삼나물 기호도가 상대적으로 높을 것으로 사료된다. 따라서 삼나물을 넣은 음식의 기호도가 높아 질 것으로 사료된다.
- PC2의 설명력은 크게 높지 않아 특성의 정확한 분류는 이루어지지 않았으나, 불리고 우리기 과정을 모두 거친 미역취 샘플이 비교적 양의 방향으로 부하되어 파인애플식감, 거친 식감, 입안 잔여감 등의 특성이 높게 나타남을 알 수 있고, 음의 방향으로는 방풍나물 시료들이 높게 부하되어 기름 산패 취, 한약의 쓴맛, 고무밴드 향미 등의 특성이 높게 나타남을 알 수 있었다.

Table 2-1-3. The results of the first round of selecting samples based on the pre-test

	Sample	Soaking before boiling (16h)	Boiling (30min)	Soaking After boiling (1h)	Code
1		0	0	0	Sam_SBS
2	<i>Samnamul</i>	0	0	-	Sam_SB
3	(goatsbeard_	-	0	0	Sam_BS
4	<i>Aruncus dioicus</i>)	-	0	-	Sam_B
5		0	0	0	Miyeokchwi _SBS
6	<i>Miyeokchwi</i>	0	0	-	Miyeokchwi _SB
7	(goldenrod_	-	0	0	Miyeokchwi _BS
8	<i>Solidago virgaurea</i> <i>var. asiatica</i>)	-	0	-	Miyeokchwi _B
9		0	0	0	Daraesoon_ SBS
10	<i>Daraesoon</i>	0	0	-	Daraesoon_ SB
11	(shoots sprouts of	-	0	0	Daraesoon_ BS
12	Siberian gooseberry_	-	0	-	Daraesoon_ B
	<i>Actinidia arguta</i>				
	Planchon)				
13		0	0	0	Bangpung_ SBS
14	<i>Bangpung</i>	0	0	-	Bangpung_ SB
15	(leaf of siler_	-	0	0	Bangpung_ BS
16	<i>Siler</i> <i>divaricata</i>)	-	0	-	Bangpung_ B
	Sample (fresh)	Blanching	Cooling in the water	Code	
17		30 sec		Chamnamul_30S	
18	<i>Chamnamul</i>	1 min	10 min	Chamnamul_1m	
19	(<i>Pimpinella</i>	2 min		Chamnamul_2m	
20	<i>brachycarpa</i>)	5 min		Chamnamul_5m	

*Seasoning : Cooked wild edible greens 200g, Perilla Oil 20g, Soy sauce 18g

			
Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
			
Sample 5	Sample 6	Sample 7	Sample 8
			
Sample 9	Sample 10	Sample 11	Sample 12
			
Sample 13	Sample 14	Sample 15	Sample 16
			
Sample 17	Sample 18	Sample 19	Sample 20

Fig. 2-1-24. The samples selected by the pre-test.

Table 2-1-4. The information of 14 *sanchae-namul* (seasoned dish with wild edible greens) samples

	Sample (dried)	Soaking before boiling (16h)	Boiling (30min)	Soaking After boiling (1h)	Code
1	<i>Samnamul</i>	0	0	0	Sam_SBS
2	(goatsbeard_	-	0	0	Sam_BS
3	<i>Aruncus dioicus</i>)	-	0	-	Sam_B
4	<i>Miyeokchwi</i>	0	0	0	Miyeokchwi_SBS
5	(goldenrod	-	0	0	Miyeokchwi_BS
6	_ <i>Solidago virgaurea</i> <i>var. asiatica</i>)	-	0	-	Miyeokchwi_B
7	<i>Daraesoon</i>	0	0	0	Daraesoon_SBS
8	(shoots sprouts of	-	0	0	Daraesoon_BS
9	Siberian gooseberry_ <i>Actinidia arguta</i> Planchon)	-	0	-	Daraesoon_B
10	<i>Bangpung</i>	0	0	0	Bangpung_SBS
11	(leaf of siler_ <i>Siler</i> <i>divaricata</i>)	-	0	0	Bangpung_BS
12		-	0	-	Bangpung_B
	Sample (fresh)	Blanching	Cooling in the water		Code
13	<i>Chamnamul</i>	30 sec	10 min		Chamnamul_30S
14	(<i>Pimpinella</i> <i>brachycarpa</i>)	2 min			Chamnamul_2m

*Seasoning : Cooked wild edible greens 200g, Perilla Oil 20g, Soy sauce 18g

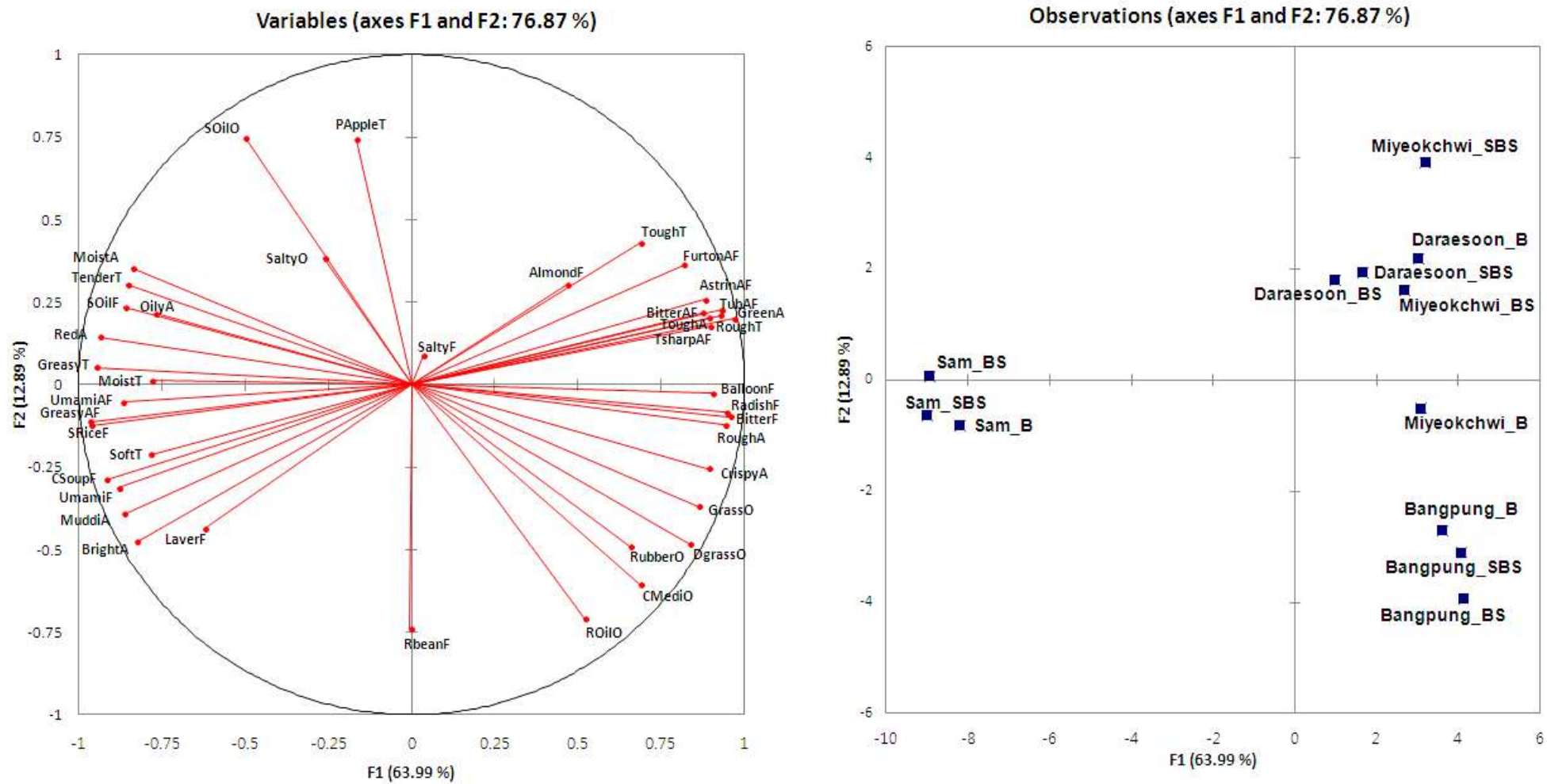


Fig. 2-1-25. PC loadings of the sensory attributes (a), the 12 *sanchae-namul* (seasoned dish with wild edible greens) (b) evaluated by the Korean panel.

③ 산채나물의 전반적 기호도 및 관능적 특성들에 대한 기호도 조사

a. 묵나물(삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물) 소비자 기호도 조사

- 묵나물(삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물) 시료의 관능적 특성들과 소비자 기호도 간의 관련성을 통해 산채나물의 선호 맛 방향결정 요인을 분석하고자 실시한 PLSR (partial least square-regression)의 결과는 Fig. 2-1-26에 제시하였다.
- 소비자의 전반적 기호도(overall liking, OL), 향 기호도(odor liking, ODL), 맛 기호도(flavor liking, FLL) 및 조직감 기호도(texture liking, TXTL)는 삼나물 시료들과, 우리기 과정만 거친 다래순과 미역취 시료에 근접해 있는 것을 볼 수 있고, 촉촉하고 부드럽고, 기름진 질감, 고소하고 감칠맛의 특성들이 가까이 위치하고 있어, 이러한 시료들에서 나타나는 특성들이 전반적인 기호도에 긍정적인 영향을 주는 것으로 나타났다.
- 반면 불리지도 우리지도 않은 시료들 중에서 삼나물을 제외한 모든 나물들에 대한 기호도는 그 반대 방향에 위치하고 있으며, 질긴 정도, 쓴 향미, 아린 향미, 무 향미, 말린 풀냄새 등의 특성들과 가까이 위치하고 있어 이러한 시료들에서 나타나는 특성들은 소비자 기호도에 부정적인 영향을 미치는 것으로 추측할 수 있었다.
- 또한 소비자의 외관 기호도(appearance liking, APPL)는 불리지도 않은 시료들에 더 가깝게 위치하고 있으며, 거친 질감, 질긴 정도 등의 조직감 특성들과 가까이 위치하고 있는 것을 볼 수 있다. 이를 통해 외관에 있어서는 불리지도 않고 바로 삶아낸 시료들의 기호도가 높게 나타난다는 것을 알 수 있었다.
- 위의 연구 결과, 산채나물을 첨가한 음식을 개발할 때, 산채나물의 전처리 방법이 산채나물 첨가 음식의 기호도에도 영향을 미칠 것으로 사료된다. 따라서 나물 각각의 전처리 방법을 달리하여 산채나물 첨가 음식을 만든다면 음식의 기호도를 더욱 높일 수 있을 것으로 사료된다.

b. 참나물 소비자 기호도 조사

- 모든 평가 항목에서 각 시료마다 유의적인 차이가 나타났으며($p < 0.05$), 10분 데친 참나물에 대한 기호도 평가가 유의적으로 낮게($p < 0.05$) 평가되었다. 이는 다시 먹을 의향과 추천의도와도 같은 양상을 나타내었다.

Table 2-1-5. The mean intensities of on consumer acceptability scores of the 5 *Chamnamul* samples

	Cham_15s	Cham_1m	Cham_2m	Cham_5m	Cham_10m	F-ratio	p-value
Overall liking	5.72 ^a	5.75 ^a	5.74 ^a	5.66 ^a	4.43 ^b	6.058	0.000
Appearance liking	5.64 ^a	5.74 ^a	5.75 ^a	5.21 ^a	4.08 ^b	11.820	0.000
Flavor liking	5.89 ^a	6.04 ^a	5.94 ^a	5.64 ^{ab}	5.00 ^b	3.502	0.008
Texture liking	5.72 ^a	5.92 ^a	5.75 ^a	5.74 ^a	4.36 ^b	6.638	0.000

¹⁾Mean values with in the same row with the same alphabet superscripts do not differ significantly($p < 0.05$)

Table 2-1-6. The mean intensities of on consumer's attitude scores of the 5 *Chamnamul* samples

	Cham_30s	Cham_1m	Cham_2m	Cham_5m	Cham_10m	F-ratio	P-value
Willing to try again	5.42 ^a	5.45 ^a	5.21 ^a	5.23 ^a	3.87 ^b	6.911	<0.000
Willing to recommend	5.28 ^a	5.26 ^a	4.96 ^a	5.08 ^a	3.83 ^b	5.121	<0.001

¹⁾Mean values with in the same row with the same alphabet superscripts do not differ significantly($p < 0.05$)

- JAR 분석 결과에 따르면, 10분 데친 참나물은 단단한 정도가 유의적으로 낮고($p < 0.05$), 익은 정도와 촉촉함 정도는 유의적으로 높게($p < 0.05$) 나타나 적절한 수준에 못 미치는 것으로 해석할 수 있다.

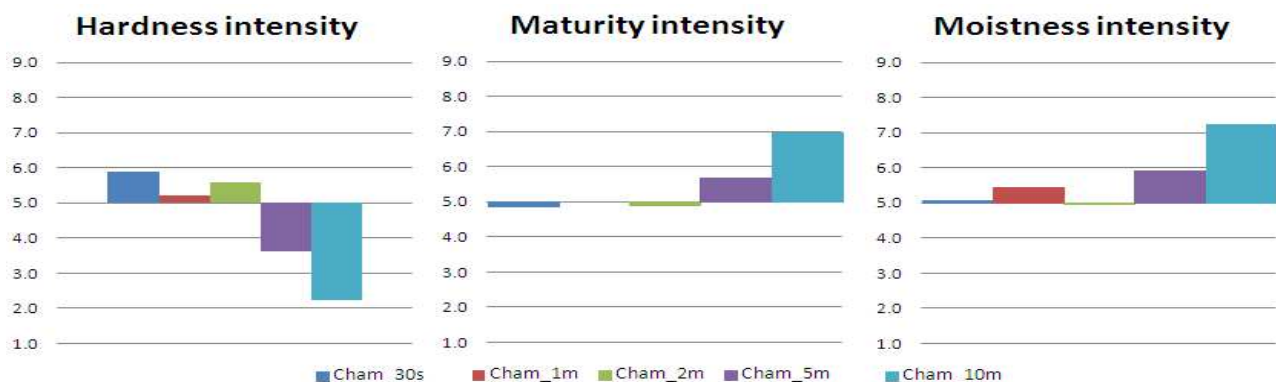


Fig. 2-1-27. JAR of the 5 *Chamnamul* samples.

- CATA 결과, 주재료의 씹히는 감촉, 부드러움, 물기가 많음 등의 조직감에 대한 특성이 기호도를 낮추는 주요 동인(Drivers of disliking)으로 작용하는 것을 알 수 있었다.
- 소비자들에게 있어 덜 익힌 나물보다 너무 과도하게 익힌 나물에 대한 인식이 더욱 부정적으로 나타나고 있으며, 그 기준이 10분 미만인 것으로 해석할 수 있다. 평소 살짝 데쳐서 먹는 조리방법에 익숙한 한국 사람들의 경우와 비교하여, 푹 익혀서 먹는 방법에 익숙한 문화권과의 소비자 기호도 비교연구가 추가적으로 진행된다면, 참나물의 세계화 방안 마련에 크게 기여할 수 있을 것으로 사료된다.


Table 2-1-7. The list of attributes that the consumers liked and disliked about the 5 *Chamnamul* samples

	Cham_30s	Cham_1m	Cham_2m	Cham_5m	Cham_10m	
Liking	감칠맛(13)	참깨 고소한 냄새와 맛(28)	감칠맛(10) 참깨 고소한 냄새와 맛(27)	감칠맛(17) 참깨 고소한 냄새와 맛(25)	참깨 고소한 냄새와 맛(22) 부드러움(14) 해당사항없음(13)	
	참깨 고소한 냄새와 맛(26)	조화로운 냄새와 맛(13)	풍부한 냄새와 맛(10)	풍부한 냄새와 맛(13)		
	풍부한 냄새와 맛(12)	친숙한 냄새와 맛(11)	친숙한 냄새와 맛(11)	조화로운 냄새와 맛(14)		
	주재료 씹히는 감촉(18)	주재료 씹히는 감촉(22) 촉촉함(14)	주재료 씹히는 감촉(19) 촉촉함(13)	주재료 씹히는 감촉(14) 부드러움(17) 촉촉함(17)		
	짠맛(11)	떫은맛(12)	떫은맛(11)	물기가 많음(17)		주재료의 씹히는 감촉(13)
	단단함(13)	해당사항 없음(13)	해당사항 없음(16)	해당사항 없음(12)		부드러움(17)
	해당사항 없음(13)					물기가 많음(30)

④ 산채나물의 표준화 레시피

각 산채나물의 레시피는 다음과 같다.

Item: 삼나물(sample 1)			Date : 2013/02/19	
Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick			Yield : 288 g	
Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	삼나물	마른 것		50 g
		16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1 시간 우린 후 물기제거		200 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g




<전처리>

1. 마른 나물 50 g을 찬물에 16시간 불린다. (Yield: 170 g)
2. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 불려놓은 묵나물을 넣고 30분간 삶는다.
3. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 찬물에 1시간 동안 우려내어 아린 맛을 제거한다. (Yield: 300 g)
4. 물기를 꼭 짜서 준비한다.

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 288 g)

Item: 삼나물(sample 2)			Date : 2013/02/19	
Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick			Yield : 291 g	
Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	삼나물	마른 것		50 g
		마른 삼나물을 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1 시간 우린 후 물기 제거		200 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 묵나물 50 g을 넣고 30분간 삶는다.
2. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 찬물에 1시간 동안 우려내어 아린 맛을 제거한다.
3. 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 249 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 291 g)

Item: 삼나물(sample 3)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 338 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	삼나물	마른 것		50 g
		마른 삼나물을 끓는 물에 30분간 삶아내고 바로 물기를 제거한다.		200 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 묵나물 50 g을 넣고 30분간 삶는다.
2. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield:244 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 338 g)

Item: 미역취(sample 4)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 339 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	미역취	마른 것		50 g
		16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1 시간 우린 후 물기 제거		200 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 묵나물 50 g을 찬물에 16시간 불린다. (Yield: 176 g)
2. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 불려놓은 나물을 넣고 30분간 삶는다.
3. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 찬물에 1시간 동안 우려내어 아린 맛을 제거한다.
4. 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 205 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 339 g)

Item: 미역취(sample 5)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 329 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	미역취	마른 것		50 g
		마른 미역취를 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1 시간 우린 후 물기 제거		200 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 묵나물 50 g을 넣고 30분간 삶는다.
2. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 찬물에 1시간 동안 우려내어 아린 맛을 제거한다.
3. 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 221 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 329 g)

Item: 미역취(sample 6)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 375 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	미역취	마른 것		50 g
		마른 미역취를 끓는 물에 30분간 삶아내고 바로 물기를 제거한다.		200 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 묵나물 50 g을 넣고 30분간 삶는다.
2. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 252 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 375 g)

Item: 다래순(sample 7)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 310 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	다래순	마른 것		50 g
		16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1 시간 우린 후 물기 제거		200 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 묵나물 50 g을 찬물에 16시간 불린다. (Yield: 173 g)
2. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 불려놓은 나물을 넣고 30분간 삶는다.
3. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 찬물에 1시간 동안 우려내어 아린 맛을 제거한다.
4. 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 300 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 310 g)

Item: 다래순(sample 8)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 293 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	다래순	마른 것		50 g
		마른 다래순을 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1 시간 우린 후 물기 제거		200 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 묵나물 50 g을 넣고 30분간 삶는다.
2. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 찬물에 1시간 동안 우려내어 아린 맛을 제거한다.
3. 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 279 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 293 g)

Item: 다래순(sample 9)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 361 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	다래순	마른 것		50 g
		마른 다래순을 끓는 물에 30분간 삶아내고 바로 물기를 제거한다.		200 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 묵나물 50 g을 넣고 30분간 삶는다.
2. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 260 g)

<조리방법: 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 361 g)

Item: 방풍나물(sample 10)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 307 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	다래순	마른 것		50 g
		16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1 시간 우린 후 물기 제거		160 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		14 g
	들기름			16 g



<전처리>

1. 묵나물 50 g을 찬물에 16시간 불린다. (Yield: 132 g)
2. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 불려놓은 나물을 넣고 30분간 삶는다.
3. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 찬물에 1 시간 동안 우려내어 아린 맛을 제거한다.
4. 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 168 g)

<조리방법: 전처리 후 나물 160 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 160 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 1 1/5컵을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 307 g)

Item: 방풍나물(sample 11)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 318 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	다래순	마른 것		50 g
		마른 방풍나물을 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1 시간 우린 후 물기 제거		160 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		14 g
	들기름			16 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 묵나물 50 g을 넣고 30분간 삶는다.
2. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 찬물에 1시간 동안 우려내어 아린 맛을 제거한다.
3. 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 152 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 160 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 160 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 1 1/5컵을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 318 g)

Item: 방풍나물(sample 12)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 352 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	다래순	마른 것		50 g
		마른 방풍나물을 끓는 물에 30분간 삶아내고 바로 물기를 제거한다.		160 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		14 g
	들기름			16 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 2 L를 끓이다가 묵나물 50 g을 넣고 30분간 삶는다.
2. 불을 끄고 물을 따라낸 뒤, 물기를 꼭 짜서 준비한다. (Yield: 158 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 160 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 160 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 불을 켜 뒤, 약 1분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 1 1/5컵을 넣고 3분간 잘 볶아 준다.
3. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10분간 뜸을 들인다. (Yield: 352 g)

Item: 참나물(sample 13)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 245 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	참나물	생 것		
		뿌리부분의 두껍고 갈변이 심한 부분은 제거하고 사용함		377 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 3 L를 끓이다가 생 참나물 377 g을 넣고 30초간 데친다.
2. 찬 물에 두 번 헹구고, 10분간 수침한다.
3. 물기를 꼭 짜서 제거한다. (Yield: 215 g)

<조리방법: 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.

Item: 참나물(sample 14)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 232 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	참나물	생 것		
		뿌리부분의 두껍고 갈변이 심한 부분은 제거하고 사용함		377 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 3 L를 끓이다가 생 참나물 377 g을 넣고 1분간 데친다.
2. 찬 물에 두 번 헹구고, 10분간 수침한다.
3. 물기를 꼭 짜서 제거한다. (Yield: 205 g)

<조리방법: 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.

Item: 참나물(sample 15)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 229 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	참나물	생 것		
		뿌리부분의 두껍고 갈변이 심한 부분은 제거하고 사용함		377 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 3 L를 끓이다가 생 참나물 377 g을 넣고 2분간 데친다.
2. 찬 물에 두 번 헹구고, 10분간 수침한다.
3. 물기를 꼭 짜서 제거한다. (Yield: 200 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.

Item: 참나물(sample 16)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 219 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	참나물	생 것		
		뿌리부분의 두껍고 갈변이 심한 부분은 제거하고 사용함		377 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 3 L를 끓이다가 생 참나물 377 g을 넣고 5분간 데친다.
2. 찬 물에 두 번 헹구고, 10분간 수침한다.
3. 물기를 꼭 짜서 제거한다. (Yield: 198 g)

<조리방법; 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.

Item: 참나물(sample 17)

Date : 2013/02/19

Tools : Pot, Bowl, Sieves, Wooden Chopstick

Yield : 215 g

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for	Weight for
	참나물	생 것		
		뿌리부분의 두껍고 갈변이 심한 부분은 제거하고 사용함		377 g
	진간장	샘표 양조간장 501S		18 g
	들기름			20 g



<전처리>

1. 큰 냄비에 물 3 L를 끓이다가 생 참나물 377 g을 넣고 10분간 데친다.
2. 찬 물에 두 번 헹구고, 10분간 수침한다.
3. 물기를 꼭 짜서 제거한다. (Yield: 192 g)

<조리방법: 전처리 후 나물 200 g에 대한 양념>

1. Bowl에 전처리 된 나물 200 g을 넣고, 진간장, 들기름을 넣고 조물조물 무쳐준다.

(6) 산채(삼나물)의 조리과정(가열시간 및 온도 등) 및 들기름 첨가에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물을 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우리는 전처리를 거쳐 들기름을 첨가하거나 또는 첨가하지 않은 상태로 180°C 오븐에서 각각 10분, 20분 가열 하였을 때 75% 에탄올 추출물의 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 함량은 다음과 같다.

① 건강 기능 성분

- 묵나물 형태로 구입하여 전처리를 마친 삼나물의 에탄올 추출물의 플라보노이드 함량은 197.6 mg%이었으나, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열하였을 때 각각 139.3, 142.8 mg%로 감소하였으며 가열 시간에 따른 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 2-1-28). 그러나 들기름을 첨가하여 같은 온도에서 10분간 가열하였을 때 유의하지는 않았으나 155.7 mg%로 높게 나타나, 들기름으로부터 플라보노이드가 더해졌음을 알 수 있었다. 그러나 20분간 가열하였을 때는 들기름 첨가의 이점을 볼 수 없었다.

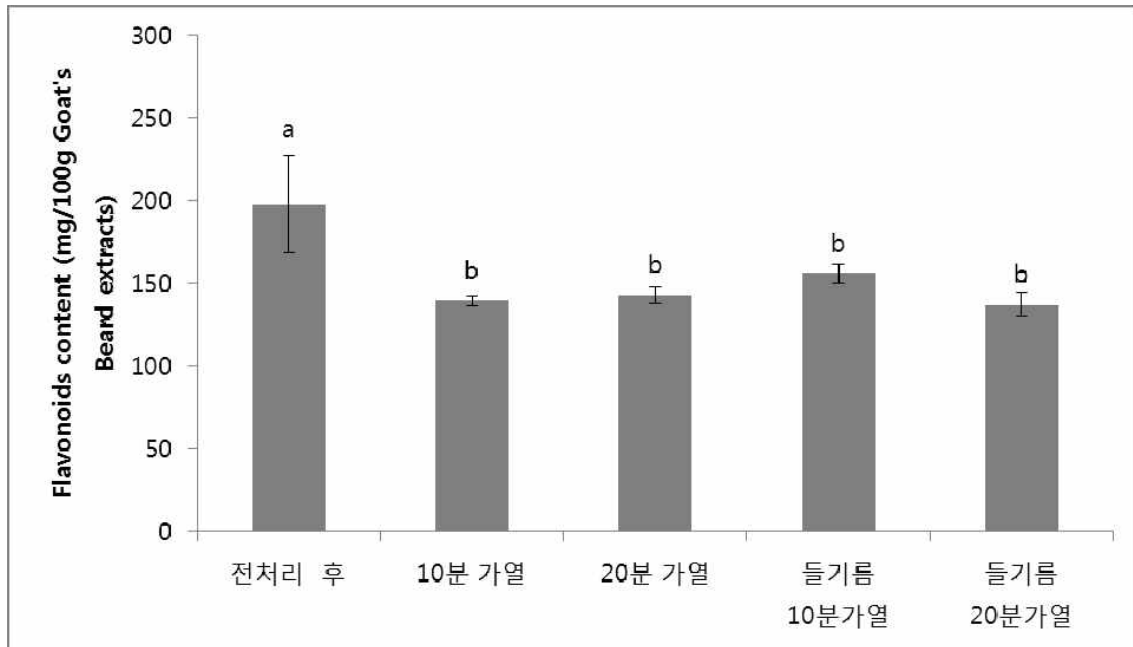


Fig. 2-1-28. Flavonoid contents in 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) affected by heating and perilla oil addition.

- 묵나물 형태로 구입하여 전처리를 마친 삼나물의 폴리페놀 함량은 9.05 mg/g이었으나, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열하였을 때 각각 5.93, 5.26 mg/g으로 유의한 차이가 있었다(Fig. 2-1-29). 또한 들기름을 첨가하여 같은 온도에서 10, 20분간 가열하였을 때 유의하게 높은 7.23, 6.24 mg/g을 나타내어 들기름으로부터 폴리페놀이 유입되었음을 알 수 있었고, 이것은 산채보다는 산채나물요리의 건강기능성이 우수할 수 있음을 암시한다.

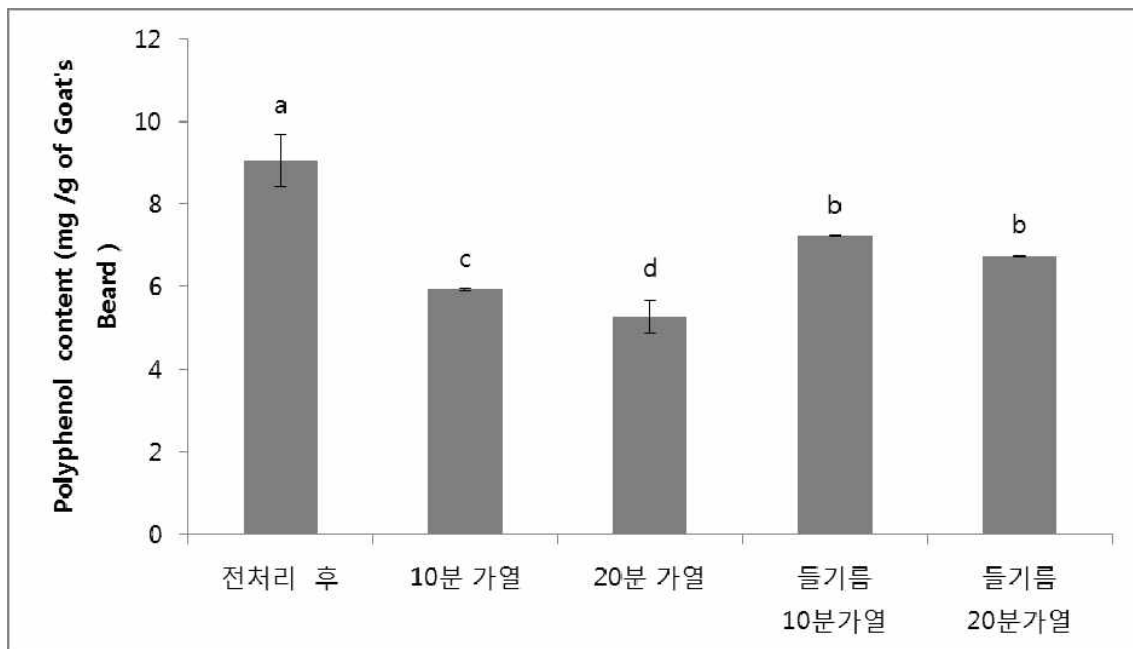


Fig. 2-1-29. Polyphenol contents of Goat's Beard (*Samnamul*) affected by heating and perilla oil addition.

- 목나물 형태로 구입하여 전처리를 마친 삼나물의 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량은 1492.7 mg/g이었으나, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열하였을 때 각각 1622.3, 1538.7 mg/g으로 유의하지 않았으나 증가하였다(Fig. 2-1-30). 또한 들기름을 첨가하여 같은 온도에서 10분간 가열하였을 때 유의하게 높은 1750.5 mg/g을 나타내었다.

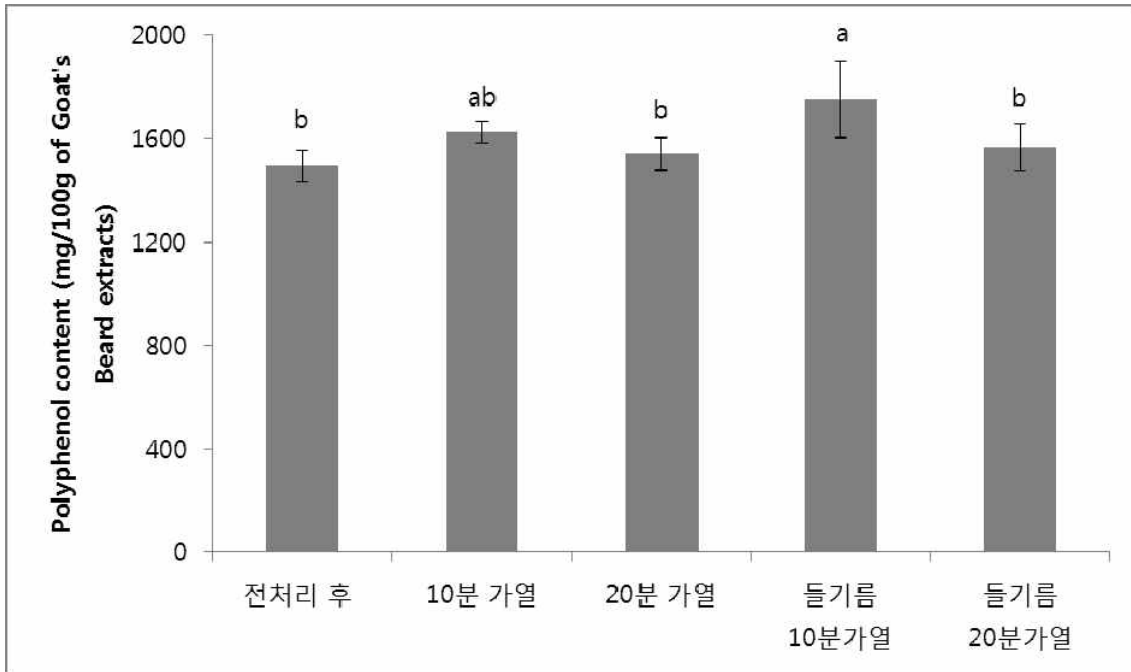


Fig. 2-1-30. Polyphenol contents in 75% ethanol extract of Goat's Beard (*Samnamul*) affected by heating and perilla oil addition.

- 목나물 형태로 구입하여 전처리를 마친 삼나물의 토코페롤 함량은 24.16 mg/kg이었으나, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열하였을 때 각각 18.56, 15.61 mg/kg으로 유의하게 감소하였다(Fig. 2-1-31). 또한 들기름을 첨가하여 같은 온도에서 10분간 가열하였을 때 280.09, 265.53 mg/kg으로 유의하게 증가하였다.

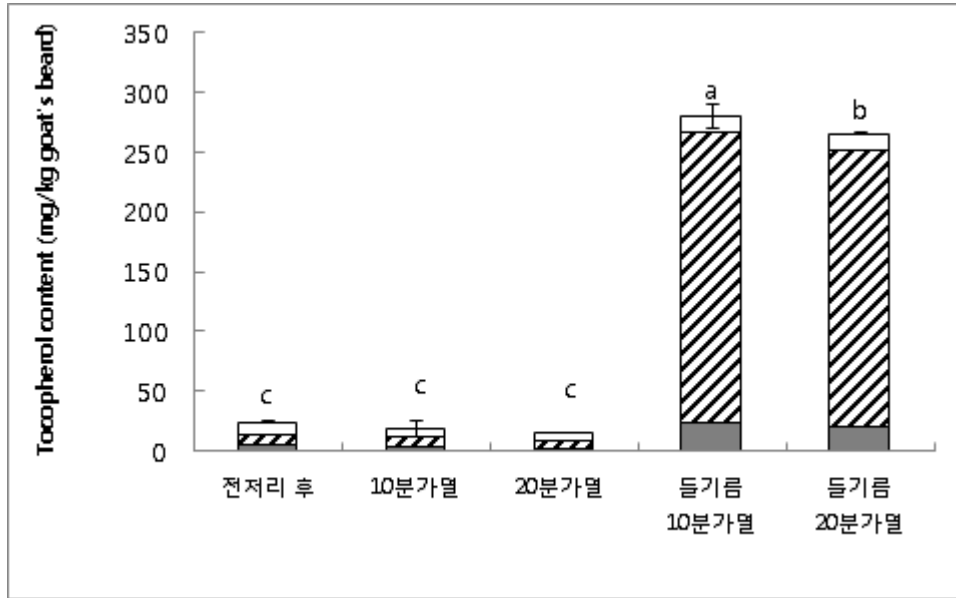


Fig. 2-1-31. Tocopherol contents of Goat's Beard (*Samnamul*) affected by heating and perilla oil addition.

- 묵나물 형태로 구입하여 전처리를 마친 삼나물의 에탄올 추출물의 토코페롤 함량은 312.4 mg/kg이었으나, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 20분간 가열하였을 때 모두 분해되어 검출되지 않았으나, 들기름을 첨가하여 같은 온도에서 10분, 20분간 가열하였을 때 유의하게 높은 2,184.0, 1,644.6 mg/kg을 나타내었다(Fig. 2-1-32). 이것은 들기름 첨가에 의해 토코페롤이 보충되었으나 가열에 의해 손실됨을 나타낸다. 본 결과로부터 산채나물 조리 시 들기름을 첨가함으로써 건강 기능 성분의 섭취를 증가시켜 건강에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대되었다.

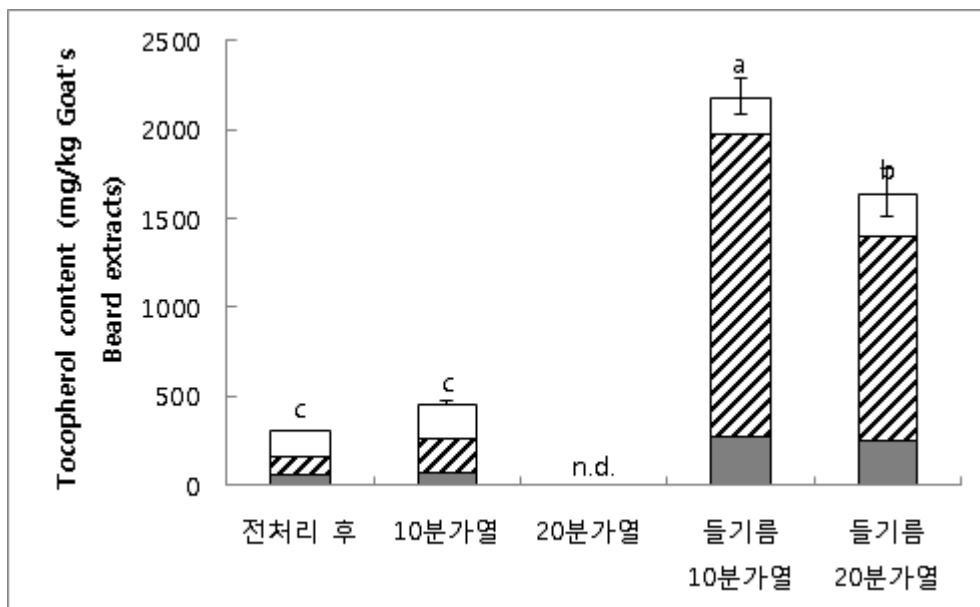


Fig. 2-1-32. Tocopherol contents in 75% ethanol extract of Goat's Beard (*Samnamul*) affected by heating and perilla oil addition.

- 이상의 결과로부터 산채에 함유된 폴리페놀, 플라보노이드, 토코페롤 등은 가열 조리에 의해 손실이 있으나 들기름 첨가에 의해 보충되므로, 산채나물 조리에 들기름의 첨가는 건강 기능성에도 큰 도움이 되는 것으로 사료된다.

② 항당뇨, 항비만활성

- 묵나물 형태로 구입하여 전처리를 마친 삼나물의 에탄올 추출물의 항당뇨 활성 지표로서의 α -glucosidase 저해 활성은 표준 물질인 아카보스(44.78%)보다 적은 11.3%이었으며, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분 간 가열하였을 때 각각 13.5, 9.6%로, 들기름을 첨가하여 같은 온도에서 10, 20분간 가열하였을 때 15.4, 12.2%로 증가한 경향을 보였다(Fig. 2-1-33).

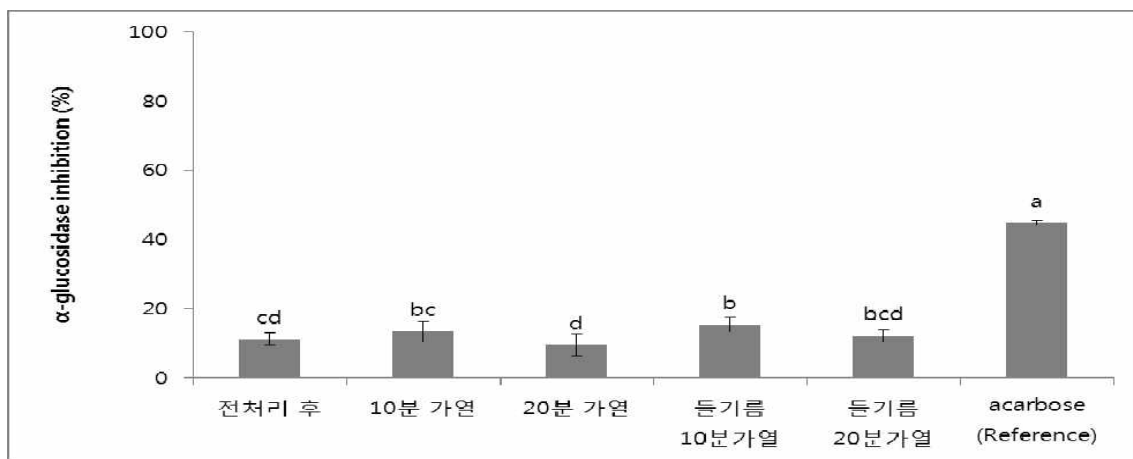


Fig. 2-1-33. α -Glucosidase inhibitory activity of 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) affected by heating and perilla oil addition (Acarbose was the reference compound at the same weight basis.).

- 묵나물 형태로 구입하여 전처리가 끝난 삼나물의 에탄올 추출물의 *in vitro* 항비만 활성 지표로서의 pancreatic lipase 저해 활성은 표준 물질인 Orlistat(78.1%)보다 유의하게 적은 17.5%이었으며, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열하였을 때 각각 18.8, 16.2%로 가열에 의한 유의한 변화를 보이지 않았으며, 들기름 첨가에 의한 유의한 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 2-1-34).

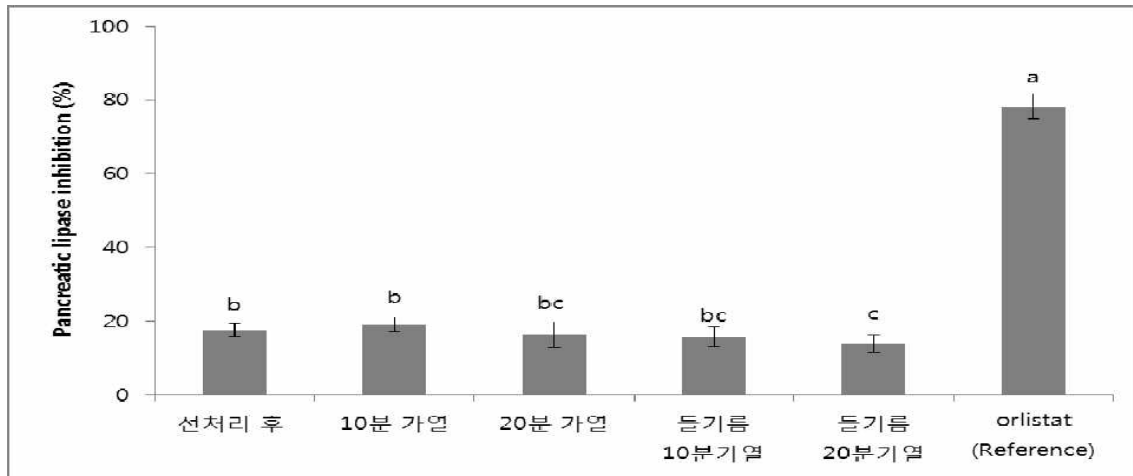


Fig. 2-1-34. Pancreatic lipase inhibitory activity of 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps for cooking (Orlistat was the reference compound at the same weight basis.).

2. 산채나물의 식품 기능적 특성 및 *in vitro* 항산화, 항염증 활성 평가

1) 연구방법

(1) 시료의 준비

- 삼나물, 미역취는 경상북도 울릉군에서 2012년 4월 수확하여 자연건조 작업한 묵나물을 울릉 웰빙식품에서, 다래순은 강원도 양양군에서 2012년 4월에 수확하여 삶아서 자연건조 작업한 묵나물을 강원농수산 쇼핑몰에서 구입하였다. 방풍나물은 전라남도 고흥에서 2012년 4월 수확하여 자연건조 작업한 묵나물을 삼림조합 푸른장터에서, 참나물은 경상남도 김해시에서 2012년 10월에 수확한 생나물을 구입하여 사용하였다.
- 건조: 산채 중 활성이 높았던 삼나물을 채취한 직후 산지로부터 직접 구매하여 생채(300 g)를 끓는 물(3 L)에 50초간 데친 후 흐르는 찬물에 3분간 수침시켜 건져내고 야채탈수기로 물기를 제거한 후 야채 건조망에 넣어 빛(형광등이 켜진 실내; 온도: 22.3°C, 습도 36%) 또는 완전히 빛을 차단한 상태에서(온도: 21.4°C, 습도 40%) 건조하였다.
- 조리 전 전처리: 산채 중 삼나물, 미역취, 방풍나물, 다래순을 묵나물 형태로 구매하여 각 50 g을 3 L의 찬물에 16시간 불리고 끓는 물에 30분 삶은 후에 3 L 찬물에 1시간 우려내었다. 또한 삼나물은 전처리 과정을 a. 찬물에 불리기(0시간, 6시간, 12시간, 16시간, 20시간) b. 찬물에 16시간 불리고 30분 삶기 c. 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기로 나누어 각 단계별 전처리를 실시하였다.
- 조리: 삼나물을 묵나물 형태로 구입하고, 표준레시피를 바탕으로 180°C에서 10, 20분 가열 조리하였으며, 이때 들기름(10%) 첨가군과 무첨가군으로 나누어 실시하였다.

(2) 식품 기능 성분 분석 방법

- 기능 성분으로는 클로로필과 카로티노이드 함량을 평가하였다. 이때 모든 시료는 동결건조한

분석에 사용하였다.

- 클로로필 함량은 산채 0.05 g 또는 추출물 0.01 g에 다이클로로메탄 3 mL를 첨가한 뒤 추출액을 hydrophobic PTFE membrane filter (0.2 μm ×13 mm; Tokyo, Japan)로 여과한 후, 20 μL 를 HPLC (Younglin SP 930D, Seoul, Korea)에 주입하였다. Symmetry C18 컬럼 (5.0 μm , 4.6×150 mm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였고 UV검출기 파장은 438 nm 이었다. 이동상으로는 에틸아세테이트, 메탄올, 물의 혼합용액(50:37.5:12.5, v/v/v)을 사용하여 분당 1.5 mL의 속도로 용출시켰다. 산채의 클로로필 함량은 표준 클로로필의 검량곡선을 이용하여 구하였다.
- 카로티노이드 함량은 AOAC 970.64법으로 유기성분을 비누화 시킨 후 HPLC로 분리하고 정량하였다. 즉 분쇄한 산채 2 g 또는 산채 추출물 0.01 g에 n-헥산, 아세톤, 에탄올, 톨루엔 (10:7:6:7, v/v/v/v)의 혼합용매 15 mL와 물, 40% 수산화칼륨 용액을 첨가하고 56 hydrophobic PTFE membrane filter (0.2 μm ×13 mm; Tokyo, Japan)로 여과한 후, 20 μL 를 HPLC (Younglin SP 930D, Seoul, Korea)에 주입하였다. 컬럼은 μ -PorasilTM (3.9×300 mm, 10 μm ID, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였고, n-헥산, 이소프로판올의 혼합용매(97:3, v/v)를 이동상으로 사용하여 분당 1 mL의 속도로 용출시켰다. 이때 UV 검출기의 파장은 436 nm로 하였다. 산채의 카로티노이드 함량은 표준 β -카로틴, 루테인을 이용하여 작성한 검량곡선을 통해 구하였다.

(3) *In vitro* 항산화 및 항염증 활성 평가 방법

- 산채의 *in vitro* 항산화 및 항염증 활성을 평가하기 위해 위와 같은 방법으로 75% 에탄올을 이용하여 산채 추출물을 제조하였다.
- 산채의 *in vitro* 항산화 활성은 Blois's 방법에 따라 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 전자공여능(electron-donating ability)으로 추출물에 대한 환원력을 측정하였다. 즉 추출액 0.1 mL에 0.1 mM DPPH 용액 1 mL을 넣고 혼합한 후 실온에서 30분간 방치한 다음 UV/Vis-spectrophotometer (HP 8453, Hewlett Packard, Wilmington, DE, USA)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화활성은 다음과 같은 식으로 구하였다. 각 시료별로 3회 반복 측정하여 평균치를 구하였다.

$$\text{Electron donating ability(\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도, B : 무첨가구의 흡광도

- 산채의 아질산염 소거 활성은 추출물 5 mg을 75% 에탄올 5 mL에 녹여 사용하였으며, Gray와 Dugan(1975)의 방법에 따라 일정 농도의 시료 1 mL에 1mM NaNO₂ 용액 1 mL를 가한 뒤 0.1 N HCl로 반응 용액의 pH가 1.2가 되게 조절한 후 총량이 10 mL가 되도록 하였다. 용액을 1시간 동안 37°C에서 반응시킨 후, 1 mL를 취하고 2% acetic acid 5 mL, Griess 시약(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine의 1:1 비율 혼합액으로 사용 직전에 조제함.) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합하였다. 이 혼합액을 상온에서 15분간 반응시키고 UV/Vis-spectrophotometer (HP 8453, Hewlett Packard, Wilmington, DE,

USA)를 사용해서 520 nm에서 흡광도를 측정하여 남아있는 아질산량을 구하였다. 대조군은 Griess 시약대신 동량의 증류수를 가하여 위와 동일한 방법으로 측정하였다.

$$\text{Nitrite scavenging ability (\%)} = (1 - (A - C) / B) \times 100$$

A: 시료첨가구흡광도, B: 1 mM NaNO₂ 의 흡광도, C: 대조구흡광도

- 산채의 *in vitro* 항염증 활성은 추출물을 이용하였으며 macrophage cell 라인인 Raw cell (RAW 264.7)을 이용하여 Griess test로 평가하였다. 24 well plate에 2×10⁵ cells/well의 세포수가 되도록 분주하고, 시료(80 µg/mL), LPS(100 µg/mL)를 처리하여 37°C, 5% CO₂에서 20시간 동안 배양한 후 이 용액 50 µL와 sulfanilamide 용액 50 µL를 섞은 후 실온에서 10분간 반응시켰다. NED 용액(naphthylethylenediamine dihydrochloride) 50 µL를 첨가한 후 다시 10분간 실온에서 반응시켜 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrite로 표준 곡선을 작성하여 NO 함량을 산출하였다.

(4) 산채나물 이용 음식의 배합비 설정

① Contents analysis와 실험조리를 통한 1차 산채나물 이용 음식 선정

- 목나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물은 조리 전처리인 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 음식 만들기에 사용을 하였다. 또한 생나물 형태인 참나물은 뿌리부분의 두껍고 갈변이 심한 부분은 제거하고, 2분간 데쳐서 곧바로 찬물에 10분간 침지 시킨 후 물기를 짜내어 음식 만들기에 사용하였다.
- Contents analysis를 이용하여 다음 Table 2-2-1와 같이 음식 분류 체계에 따른 산채나물 이용 가능 음식을 정리하였다.

Table 2-2-1. 음식 분류 체계에 따른 산채나물 이용 가능 음식

분류	음식명	
밥·죽·국수	산채비빔밥, 산채솔밥, 산채쌈밥, 산채비빔국수 산채어죽, 산채칼국수, 산채말이밥, 산채도토리냉면	
국·찌개·전골	산채육개장(채식용), 산채 된장국,	
구이·조림·볶음	산채산적, 산채나물생선조림, 산채나물떡볶음	
찜·선	산채순대, 산채찜	
채·나물	산채잡채(채식용), 산채무침, 산채장아찌, 산채나물김치 산채모듬회	
전·튀김	산채녹두전, 산채튀김, 산채밀적,	
쌈	산채밀쌈	
떡·한과	노비송편, 수리취계피떡, 취떡, 산채나물시루떡 감자취떡	

- Table 2-2-1의 산채나물 이용가능 음식은 실험 조리를 통하여 1차 레시피 안을 작성하고, 전문가 집단을 이용한 FGI를 통하여 10개 메뉴를 선별하였다. 추후 소비자 실험을 통하여 1차 레시피(안)을 수정보완하고, 산채나물을 이용하여 육류를 대체한 채식용 음식의 레시피를 개발하였다.

② 산채나물 이용 음식의 FGD를 통한 배합비 설정

a. 산채나물 이용 음식의 FGD 내용 분석

- 패널 일반사항 : 패널은 경희대학교 조리·서비스 경영학과 재학생들 중에 모집하였으며, 총 20명의 패널이 실험에 참여하였다.
- 시료 제시 및 평가
 - 1차 실험 조리 때 선정 된 레시피로 10 종류의 산채나물 이용 음식들을 조리하여 완성 접시에 담아 제시하였다. 패널들은 음식 종류마다 다른 시식 접시를 이용하여 차례대로 돌아가며 시식 후에 토론을 진행하였다.
 - 참가한 패널들은 제시된 10 종류의 산채나물 이용 음식에 대한 전반적인 기호도(Overall liking, OL)를 9점 기호도 척도(1=대단히 많이 싫다, 5=좋아하지도 싫어하지도 않는다, 9=대단히 많이 좋다)를 이용하여 평가하였다. 또한 check-all-that-apply (CATA) method를 이용하여 시료의 좋은 특성과 싫은 특성에 대해 평가하고, 자유롭게 토론한 결과를 바탕으로 레시피의 배합비를 조정하였다.

2) 연구 결과

(1) 산채의 식품 기능 성분 및 *in vitro* 항산화 활성 및 함염증 활성

① 식품 기능 성분

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물에서는 클로로필이 검출되지 않았으며, 묵나물인 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 후 동결건조한 참나물에는 클로로필이 각각 3551.38, 837.89, 186.98, 1,423.23 mg/kg (dry basis) 함유되어 있었다. 대부분 클로로필 a가 검출되었으며 참나물에서만 클로로필 b가 694.09 mg/kg 검출되었다. 카로티노이드는 삼나물에서는 베타 카로틴만 3.43 mg/kg, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 참나물에 베타 카로틴이 각각 391.3, 414.74, 39.04, 1,870.57 mg/kg, 루테인이 47.01, 52.85, 8.88, 112.54 mg/kg 함유되어 있었다(Table 2-2-2). 이들 색소들은 식품에 색을 제공함으로써 식욕을 돋우는 것 뿐 아니라, 항산화 작용 등도 보고된 바 있어 산채의 건강 기능성을 부가시킬 것으로 기대된다.

Table 2-2-2. Pigments of dried *samnamul*, *miyeokchui*, *daraesun*, *bangpungnamul*, and *chamnamul*

		삼나물	미역취	다래순	방풍나물	참나물
Chlorophylls	Chlorophyll a	n.d	551.38±56.98 ^c	837.89±33.43 ^a	186.98±6.31 ^d	729.14±47.00 ^{ab}
	Chlorophyll b	n.d	n.d	n.d	n.d	694.09±65.50
	Total	n.d	551.38±56.98 ^d	837.89±33.43 ^b	186.98±6.31 ^e	1423.23±112.50 ^a
Carotenoids	β-Carotene	3.43±0.18 ^e	391.30±1.95 ^b	414.74±14.70 ^b	39.04±0.05 ^e	1870.57±59.05 ^a
	Lutein	n.d	47.91±1.07 ^{bc}	52.85±0.35 ^b	8.88±0.12 ^e	112.54±4.64 ^a
	Total	3.43±0.18 ^e	439.21±3.02 ^{bc}	467.58±15.04 ^b	47.92±0.17 ^e	1983.11±63.68 ^a

② *In vitro* 항산화 및 항염증 활성

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 후 동결건조한 참나물의 항산화 활성(DPPH 라디칼 소거 활성)은 삼나물(91.1%)과 다래순(61.62%)에서 매우 높았고, 미역취(38.4%), 방풍나물(22.3%), 참나물(10.4%) 순이었다(Table 2-2-3). 또한 항염증 활성은 삼나물, 방풍나물, 미역취보다는 참나물과 다래순에서 높았다. 따라서 다래순과 삼나물을 다양한 방법으로 조리하여 섭취한다면 건강기능성을 보강할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 2-2-3. DPPH radical scavenging and anti-inflammatory activity of dried *samnamul*, *miyeokchui*, *daraesun*, *bangpungnamul*, and *chamnamul*

		DPPH radical scavenging activity (%)	Anti-inflammatory activity (NO concentration, %)	
	삼나물	91.12±0.42 ^b	81.63±0.00	
	미역취	38.44±1.69 ^f	77.96±2.20	
	다래순	61.62±0.86 ^e	58.12±1.27	
	방풍나물	22.29±0.27 ^g	84.57±5.09	
	참나물	10.39±1.46 ⁱ	54.45±2.55	
Reference	Ascorbic acid	98.72±0.02 ^a	Control (no <i>sanchae</i>)	33.87±2.20
	α-tocopherol	87.36±0.12 ^{cd}	LPS	100±0.00

(2) 산채의 저장(건조) 조건(빛 등)에 따른 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가

- 삼나물을 채취한 즉시 생채로 구입하여 끓는 물에서 50초간 데치고 흐르는 찬물에 3분간 수침시킨 후 건져내고 야채탈수기로 물기를 제거한 후 야채 건조망에 넣어 빛(온도: 22.3°C, 습도 36%) 또는 빛을 차단한 상태에서(온도: 21.4°C, 습도 40%) 건조하면서 건조 기간에 따른 식품 기능 성분인 클로로필, 카로티노이드 함량을 평가하고 75% 에탄올 추출물의 항산화, 항염증 활성을 평가하였다.

① 식품기능성분

- 생채 삼나물의 카로티노이드 함량은 1,251.8 mg/kg(베타카로텐 1,181.9 mg/kg, 루테인 69.9 mg/kg)이었으나 끓는 물에 데친 후 1,294.4 mg/kg으로 나타나 유의한 변화는 없었다. 데친 삼나물을 빛에서 건조하였을 때 건조시간에 따라 카로티노이드 함량은 유의하게 감소하였으며, 건조 6일에는 빛을 차단하여 건조하였을 때보다 빛에서 건조하였을 때 카로티노이드 함량이 유의하게 낮았으나, 이후에는 빛의 존재에 따른 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig.

2-2-1).

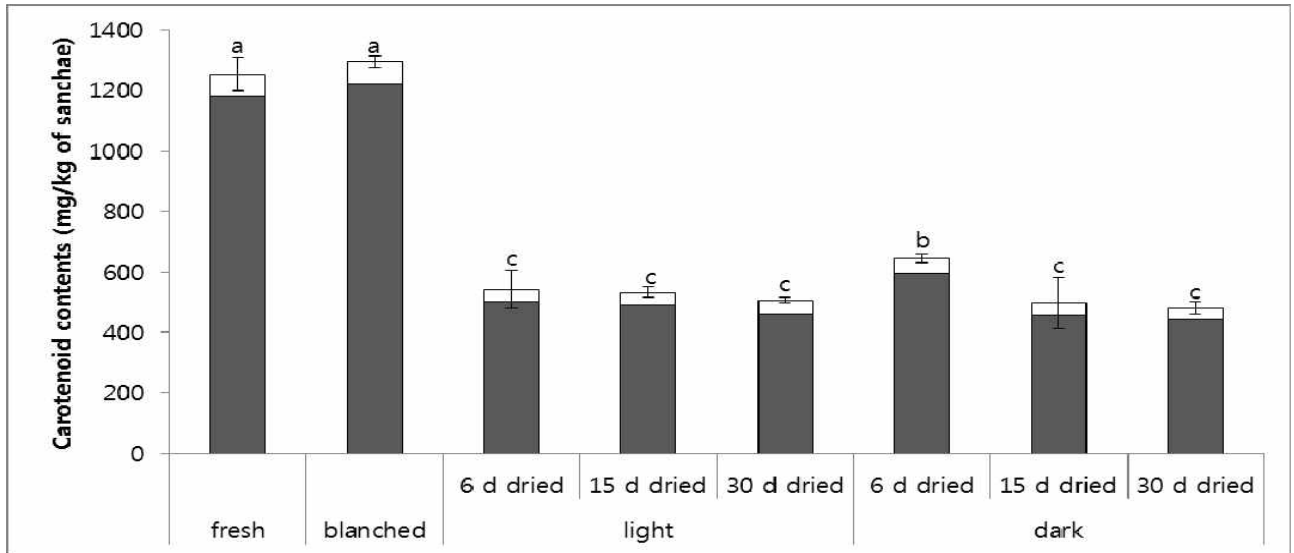


Fig. 2-2-1. Carotenoid contents (mg/kg) of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to drying steps (■; beta-carotene, □; lutein).

- 생채 삼나물 추출물의 카로티노이드 화합물 함량은 556.2 mg/kg이었으나 생채 삼나물을 끓는 물에 데친 후 889.6 mg/kg으로 유의하게 증가하였다. 데친 삼나물을 건조하였을 때 카로티노이드 화합물 함량은 유의하게 감소하였으며 빛의 존재 하에서 감소량이 컸다. 또한 빛의 존재와 상관없이 건조시간에 따라 삼나물 추출물의 카로티노이드 화합물 함량은 유의하게 감소하였다(Fig. 2-2-2).

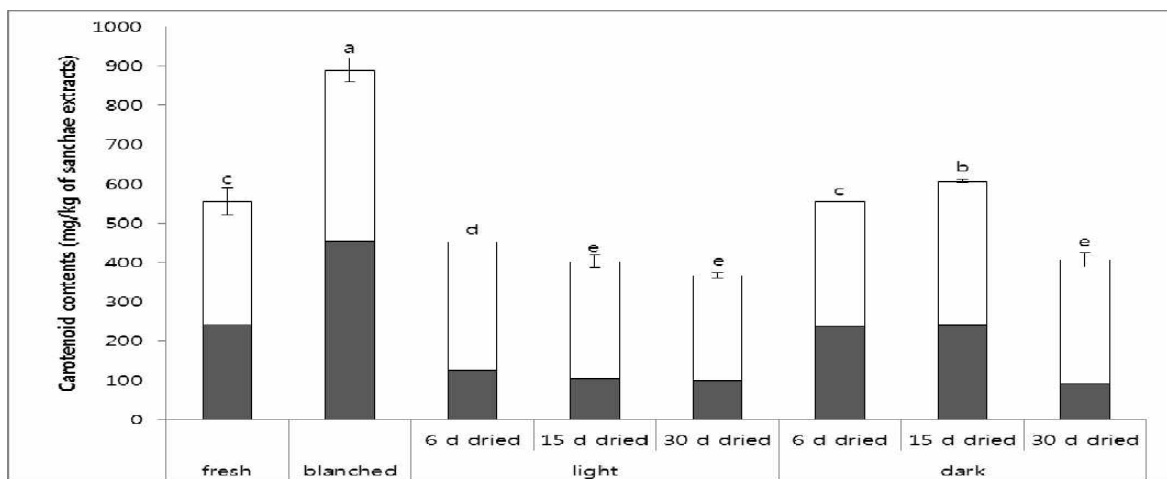


Fig. 2-2-2. Carotenoid contents (mg/kg) in 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to drying steps (■; beta-carotene, □; lutein).

- 생채인 삼나물에는 클로로필 a와 b가 각각 839.9, 526.4 mg/kg (dry weight basis) 함유되어 총 클로로필 함량은 1,366.3 mg/kg이었으며, 생채 삼나물을 끓는 물에 데친 후에도 유의

한 변화는 없었다. 그러나, 데친 삼나물을 건조하였을 때 클로로필 함량은 유의하게 감소하였으며 빛의 존재는 클로로필 함량에 유의한 영향을 나타내지 않았다(Fig. 2-2-3).

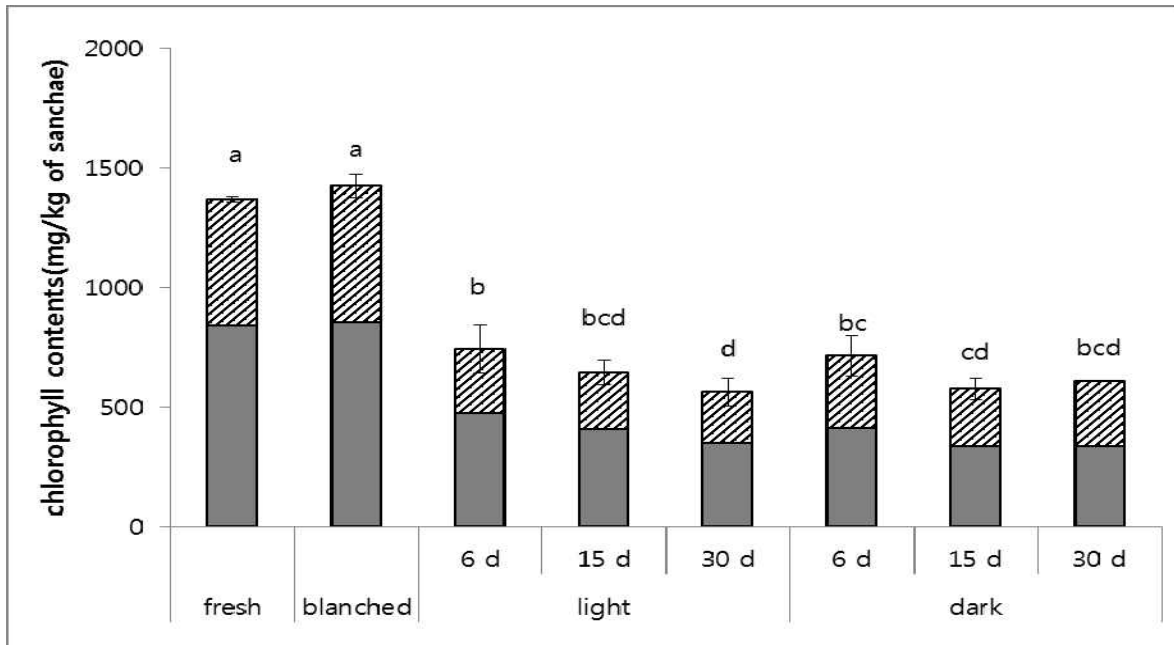


Fig. 2-2-3. Chlorophyll contents (mg/kg) of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to drying steps (■; chlorophyll a, ▨; chlorophyll b).

- 생채인 삼나물의 에탄올 추출물에서는 클로로필이 검출되지 않았으나 데친 삼나물 추출물에서는 클로로필 a와 b가 각각 1,170.4, 1,080.4 mg/kg 함유되어 총 클로로필 함량은 2,250.7 mg/kg이었다. 이것은 생 삼나물의 클로로필은 세포 내에 위치하여 추출 용매인 에탄올에 용해되지 않았으나 데친 이후 세포 밖으로 빠져나와 에탄올에 용출된 이유에서 기인한 것으로 보인다. 데친 삼나물을 건조한 후 에탄올로 추출한 추출물에는 클로로필 함량이 유의하게 감소하였으며 건조 기간이 증가할수록 감소량이 컸다. 또한 빛의 존재 하에서 건조한 경우 빛을 차단하여 건조한 경우에 비해 삼나물 추출물에서의 클로로필 함량은 유의하게 낮았다(Fig. 2-2-4).

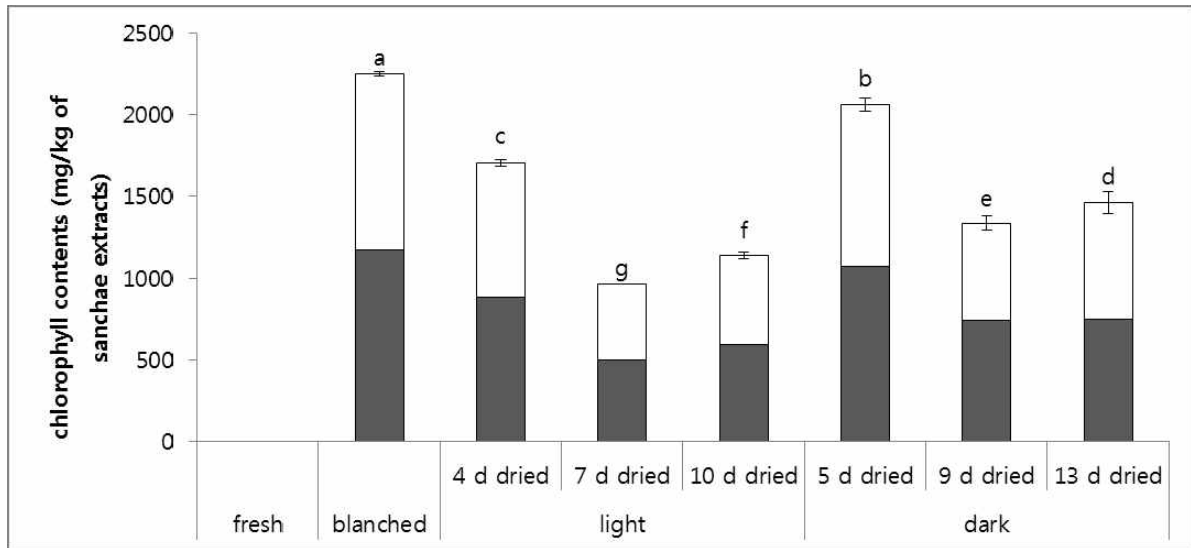


Fig. 2-2-4. Chlorophyll contents (mg/kg) in 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to drying steps (■; chlorophyll a, □; chlorophyll b).

- 위 결과로부터 산채는 생채로 수확한 후 카로티노이드와 클로로필 등의 색소는 블랜칭에 의해 그 함량이 유의하게 증가 또는 유지되었고, 건조에 의해 유의하게 감소하였으나 기간에 따른 차이는 유의하지 않았다.

② 항산화, 항염증활성

- 항산화 활성 지표로서의 DPPH 라디칼 저해 활성은 표준물질인 아스코브산(98.72%), BHT (86.03%), 알파토코페롤(87.36%)과 비교하여 생채 상태의 삼나물(83.03%), 이를 끓는 물에 데친 삼나물(91.47%)은 매우 높은 항산화 활성을 나타냈다. 또한 데친 삼나물을 30일간 건조시켰을 때 빛의 존재와 건조 기간에 상관없이 항산화 활성은 그대로 유지되었다. 따라서 산채의 항산화 활성은 데치기 및 건조 공정에 의해 증가되는 것으로 생각된다(Fig. 2-2-5).

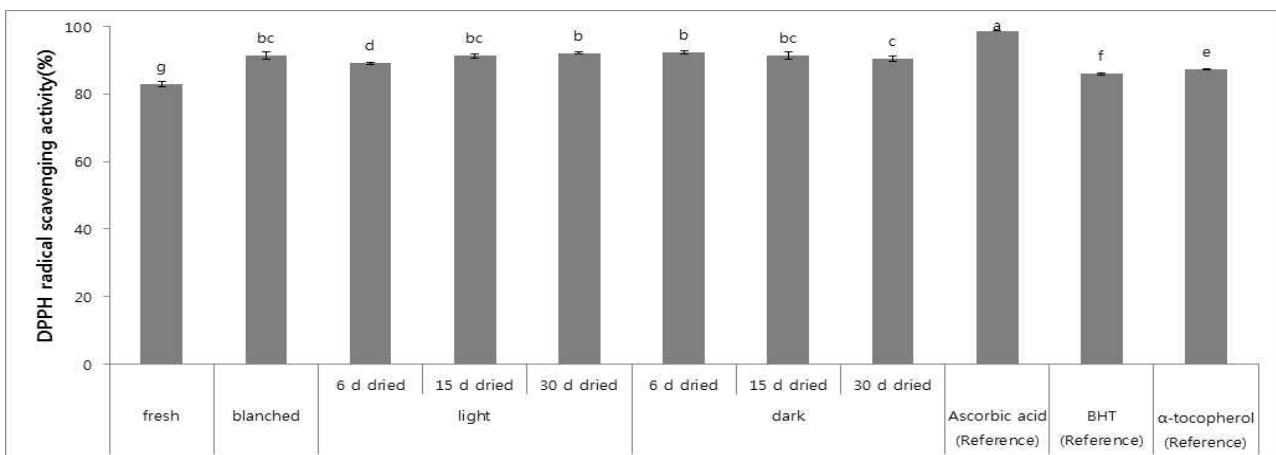


Fig. 2-2-5. DPPH radical scavenging activity of 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to drying steps.

- 질산염 소거 활성은 생채 삼나물이 39.43%, 데친 삼나물은 36.44%이었으며 건조 공정에 의해 유의하게 감소하였다. 또한 건조 공정 중 빛의 존재는 질산염 소거 활성을 더욱 유의하게 감소시켰다(Fig. 2-2-6).

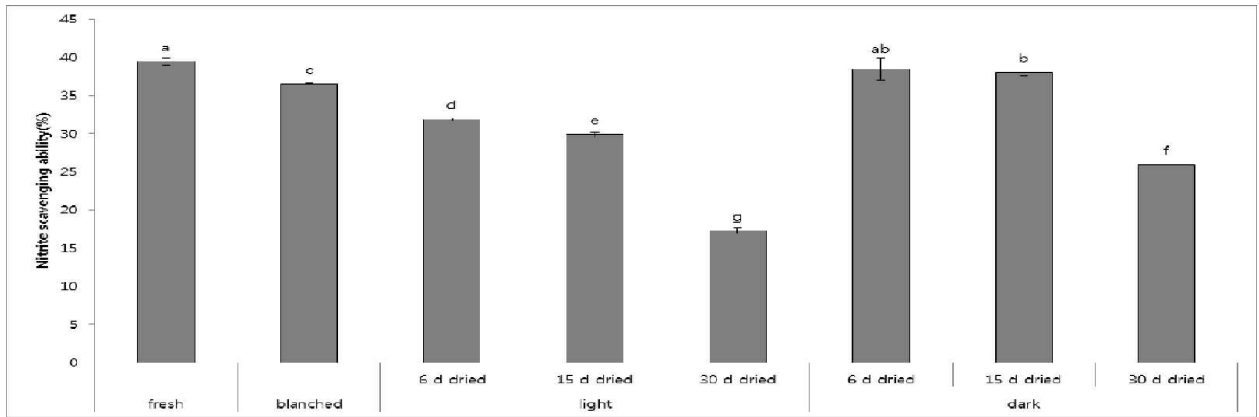


Fig. 2-2-6. Nitrite scavenging ability (%) of Goat's Beard (*Samnamu*) with respect to drying steps.

- 생 삼나물 추출물은 LPS 단독 처리군(100%)에 비해 nitric oxide (NO)양을 현저하게 감소시켜(17.6%), LPS로 유도된 NO 생성을 억제하여 항염증 활성이 우수함을 알 수 있었다. 그러나 데침 과정과 건조 과정에 의해 NO 양이 증가하여(69~90%) 건조 삼나물 추출물의 항염증 활성은 감소하였다. 한편 빛의 존재 하에 건조한 삼나물 추출물은 빛을 차단하고 건조한 삼나물의 추출물에 비해 NO 양이 적어 항염증 활성은 더 높았다(Fig. 2-2-7).

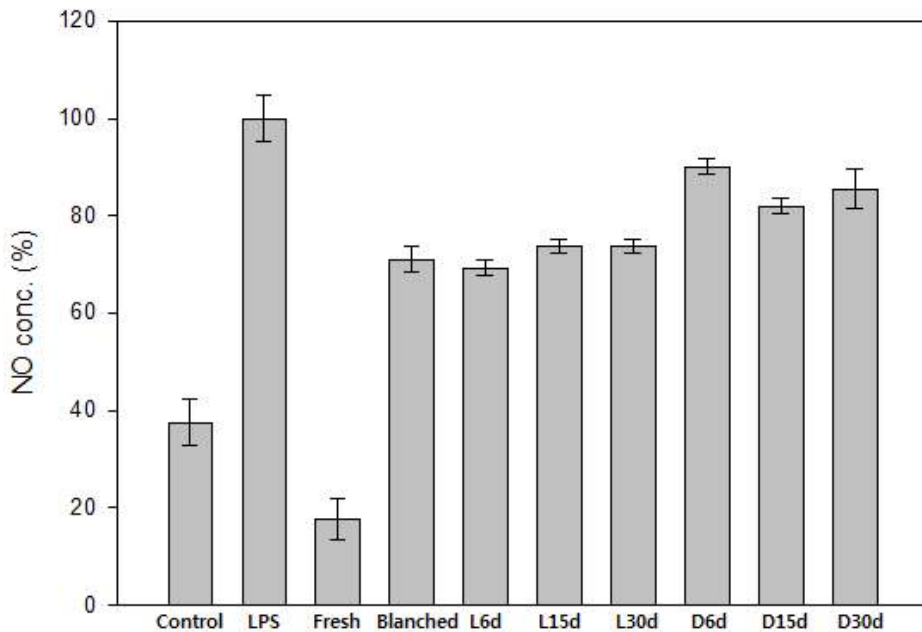


Fig. 2-2-7. NO concentrations of Goat's Beard (*Samnamu*) extracts with respect to drying steps (L : light, D : dark).

(3) 조리 전 전처리 단계에 따른 산채(삼나물)의 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물을 조리하기 위한 전처리를 a. 찬물에 불리기(0시간, 6시간, 12시간, 16시간, 20시간) b. 찬물에 16시간 불리고 30분 삶기 c. 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우린기의 단계로 나누어 실시하고, 삼나물의 전처리 단계에 따른 75% 에탄올 추출물의 항산화, 항염증 활성 및 식품기능 성분 함량을 평가한 결과는 다음과 같다.

① 식품 기능 성분

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물의 카로티노이드 함량은 3.43 mg/kg이었으나, 찬물에 16시간 동안 불린 후 3.27 mg/kg (dry weight basis)으로, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 2.58 mg/kg, 물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우린 후 2.88 mg/kg으로 나타나, 변화는 유의하지 않았다(Fig. 2-2-8). 이 결과는 묵나물을 물에 불리고 삶고 우리는 과정 중 나물 자체에서 카로티노이드의 손실은 별로 없음을 의미한다.
- 묵나물 형태로 구입한 삼나물의 에탄올 추출물의 카로티노이드 함량은 74.46 mg/kg(모두 베타 카로텐)이었으나, 찬물에 6, 12, 16시간 동안 불린 후 각각 49.27, 37.25, 44.30 mg/kg으로, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 30.98 mg/kg, 물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우린 후 31.38 mg/kg으로 유의하게 감소하였다(Fig. 2-2-9). 이 결과는 묵나물을 물에 불리는 과정에서 삼나물 에탄올 추출물의 카로티노이드 함량이 크게 감소하였으며 물에 불리는 시간, 우린 과정, 삶는 과정에 의한 효과는 적었음을 의미한다.

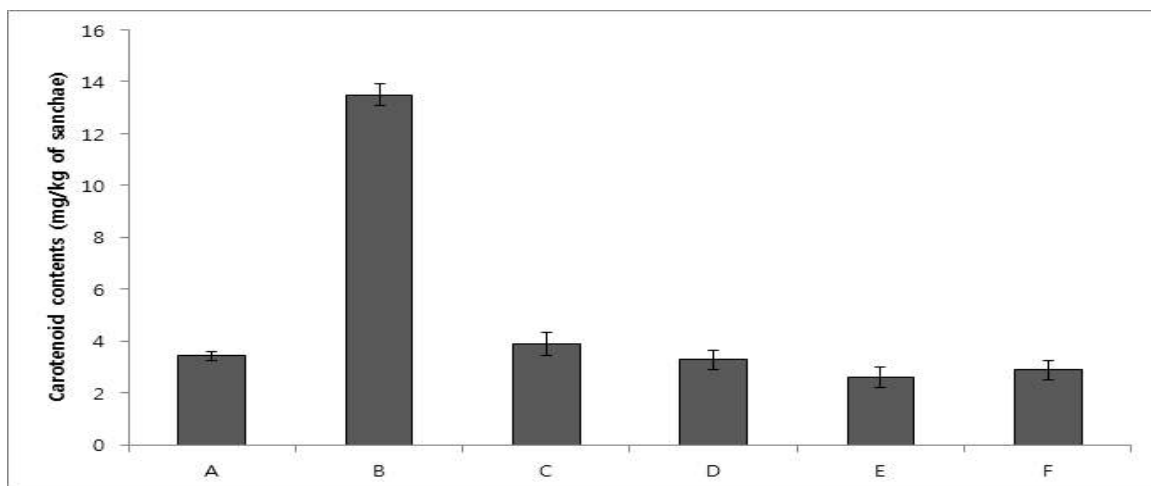


Fig. 2-2-8. Carotenoid contents (mg/kg) of Goat's Beard (*Samnamu*) with respect to pre-treatment steps prior to cooking and cooking with perilla oil (A; No pre-treatment, B; soaked in water for 6 h, C: soaked in water for 12 h, D; soaked in water for 16 h, E; soaked in water for 16 h and boiled 30 min, F; soaked in water for 16 h and boiled 30 min and soaked 1 h) (■; beta-carotene, □; lutein).

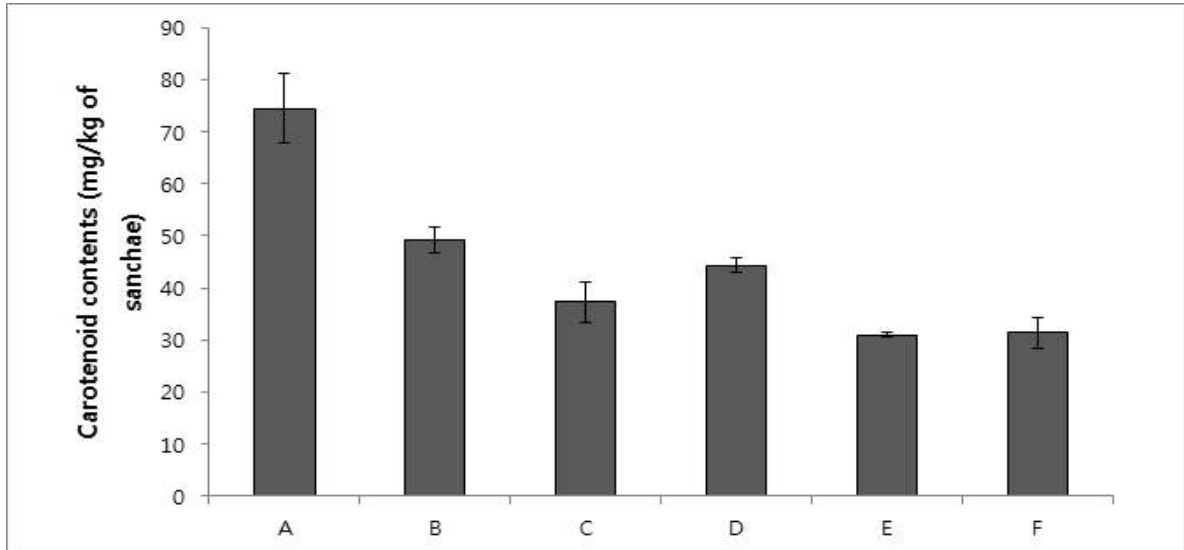


Fig. 2-2-9. Carotenoid contents in 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps prior to cooking (A: No pre-treatment, B; soaking in water for 6 h, C; soaking in water for 12 h, D; soaking in water for 16 h, E; soaking in water for 20 h, F; soaking in water for 16 followed by boiling for 30 min, G; soaking in water for 16 h followed by boiling for 30 min and then soaking in water for 1 h).

② 항산화, 항염증활성

- 목나물 형태로 구입한 삼나물의 에탄올 추출물의 항산화 활성 지표로서의 DPPH 라디칼 소거 활성은 표준물질인 아스코브산(98.72%), BHT(86.03%), 알파토코페롤(87.36%)과 비교하여 매우 높은 91.12%이었으며, 찬물에 불렸을 때 약간 감소하여 불림 16시간 후 85.17%이었다. 그러나 이후 30분 삶음과 1시간 우림 과정은 DPPH 라디칼 소거 활성에 유의한 영향을 보이지 않았다(Fig. 2-2-10).

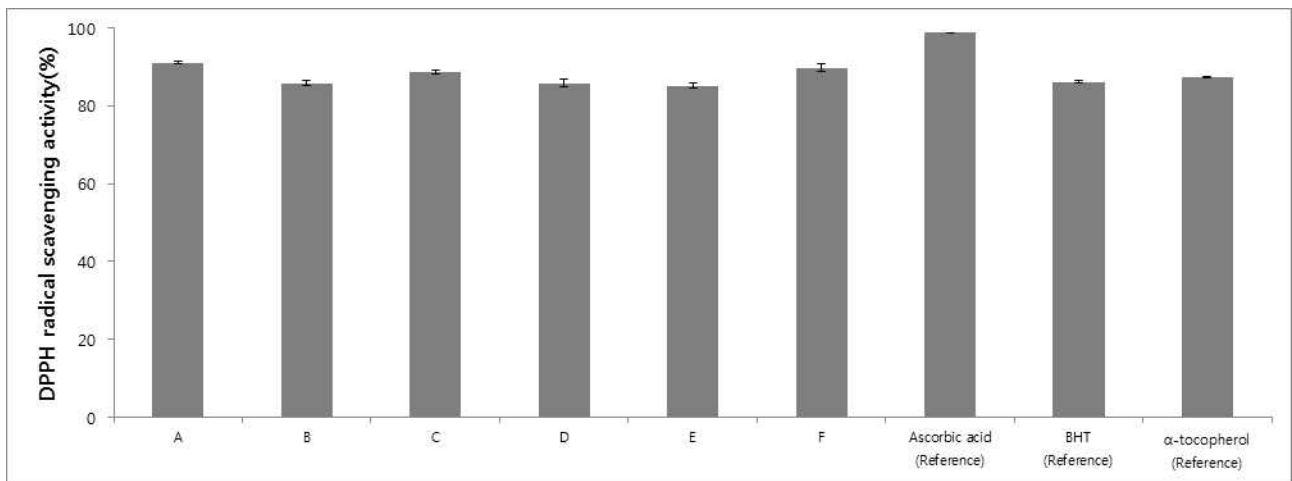


Fig. 2-2-10. DPPH radical scavenging activity (%) of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps prior to cooking and cooking with perilla oil (A: No

pre-treatment, B; soaked in water for 6 h, C: soaked in water for 12 h, D; soaked in water for 16 h, E; soaked in water for 16 h and boiled 30 min, F; soaked in water for 16 h and boiled 30 min and soaked 1 h).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물의 에탄올 추출물의 질산염 소거 활성은 36.25%이었으며, 찬물에 불렸을 때 유의하게 감소하여 불림 16시간 후 저해활성은 11.94%이었다. 또한 이후 30분 삶음 과정과 우림 과정에서 질산염 소거 활성은 유의하게 더욱 감소하여 각각 9.33, 5.87%로 나타났다(Fig. 2-2-11).

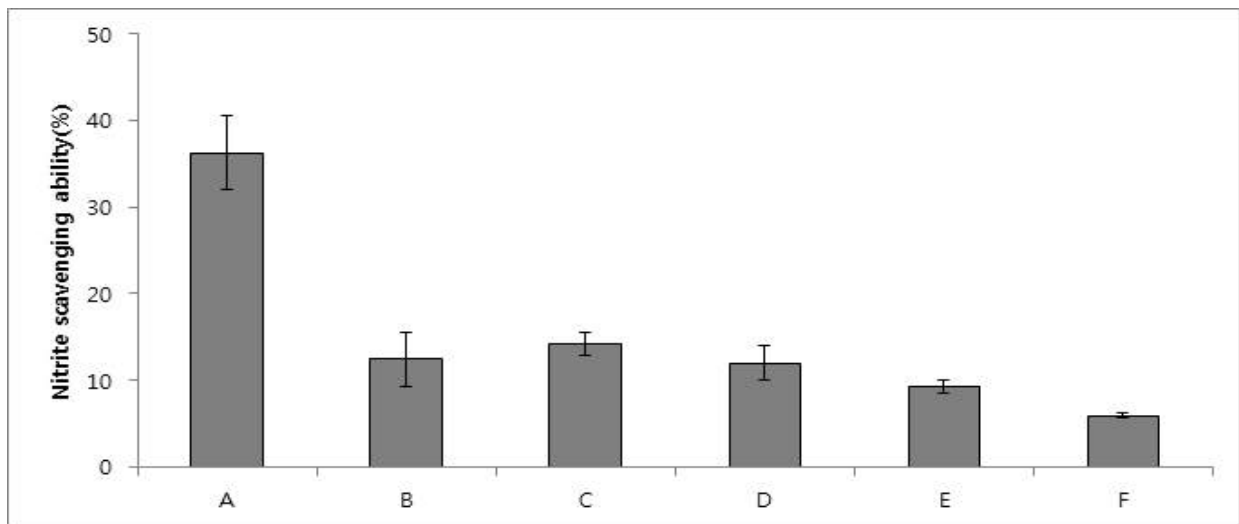


Fig. 2-2-11. Nitrite scavenging ability (%) of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps (A; No pre-treatment, B; soaked in water for 6 h, C: soaked in water for 12 h, D; soaked in water for 16 h, E; soaked in water for 16 h and boiled 30 min, F; soaked in water for 16 h and boiled 30 min and soaked 1 h).

- 묵나물인 삼나물 추출물 처리시 NO 생성량은 81.6%이었으나, 찬물에 6, 12, 16시간 동안 불린 삼나물의 추출물 처리시 각각 45.7, 60.2, 54.8%로 감소하였다가, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 삼나물의 추출물 처리시 73.8%로 다시 증가하였다(Fig. 2-2-12). 이 결과는 묵나물을 물에 불리는 과정에서 삼나물 에탄올 추출물의 항염증 활성이 감소하였음을 의미한다.

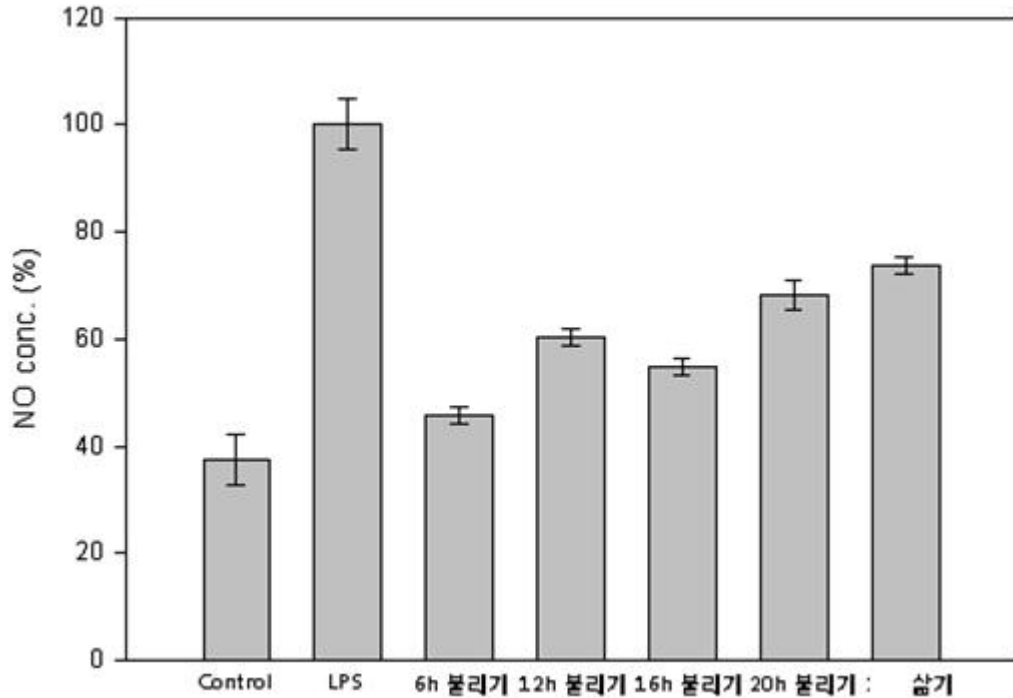


Fig. 2-2-12. Nitric oxide concentration of Goat's Beard (*Samnamul*) with respect to pre-treatment steps (A; No pre-treatment, B; soaked in water for 6 h, C: soaked in water for 12 h, D; soaked in water for 16 h, E; soaked in water for 16 h and boiled 30 min, F; soaked in water for 16 h and boiled 30 min and soaked 1 h).

- 위 결과는 생채로 수확한 산채를 건조하는 과정 중 항산화, 항염증 활성이 유의하게 감소하였음을 명확히 보였으며, 이는 폴리페놀, 플라보노이드, 카로티노이드 등 항산화 효과를 나타내는 화합물들의 손실과 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다.

(4) 여러 종류의 산채 조리를 위한 전처리(16시간 불림, 30분 삶기, 1시간 우리기)에 의한 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물의 조리 전처리인 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우리기 후(fresh 상태로 섭취하는 참나물은 생채로 구입한 후 그대로) 동결건조하여 75% 에탄올로 추출한 산채 추출물의 항산화, 항염증 활성 및 식품기능 성분 함량을 평가한 결과는 다음과 같다.

① 식품 기능 성분

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물의 카로티노이드 함량은 각각 3.43, 439.2, 467.6, 47.9, 1983.1 mg/kg이었으나, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우리기 후 각각 2.88, 235.6, 386.1, 47.7 mg/kg으로 모두 감소하였다(Fig. 2-2-13). 이 결과는 묵나물을 물에 불리고 삶고 우리는 과정에서 카로티노이드의 손실이 있음을 의미한다.

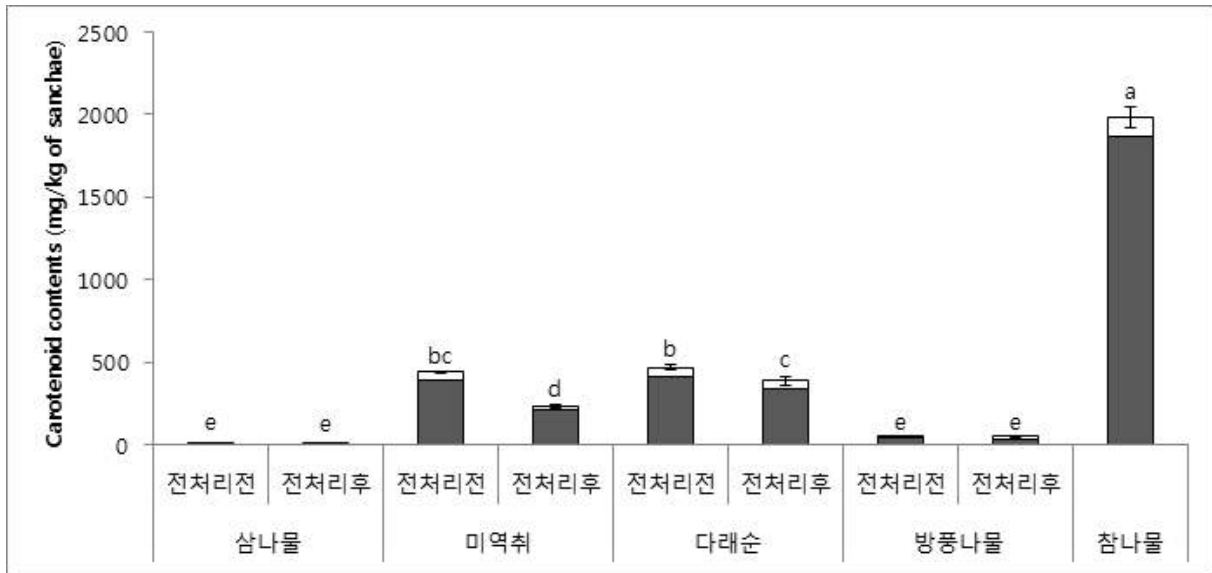


Fig. 2-2-13. Carotenoid contents of *sanchae* (■; Beta-carotene, □; lutein).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물의 카로티노이드 함량은 각각 74.46, 859.96, 2,176.8, 285.7, 1,173.4 mg/kg이었으나, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 31.38, 1,602.5, 2,006.7, 368.99 mg/kg으로 나타나 삼나물을 제외하고는 증가하였다(Fig. 2-2-14).

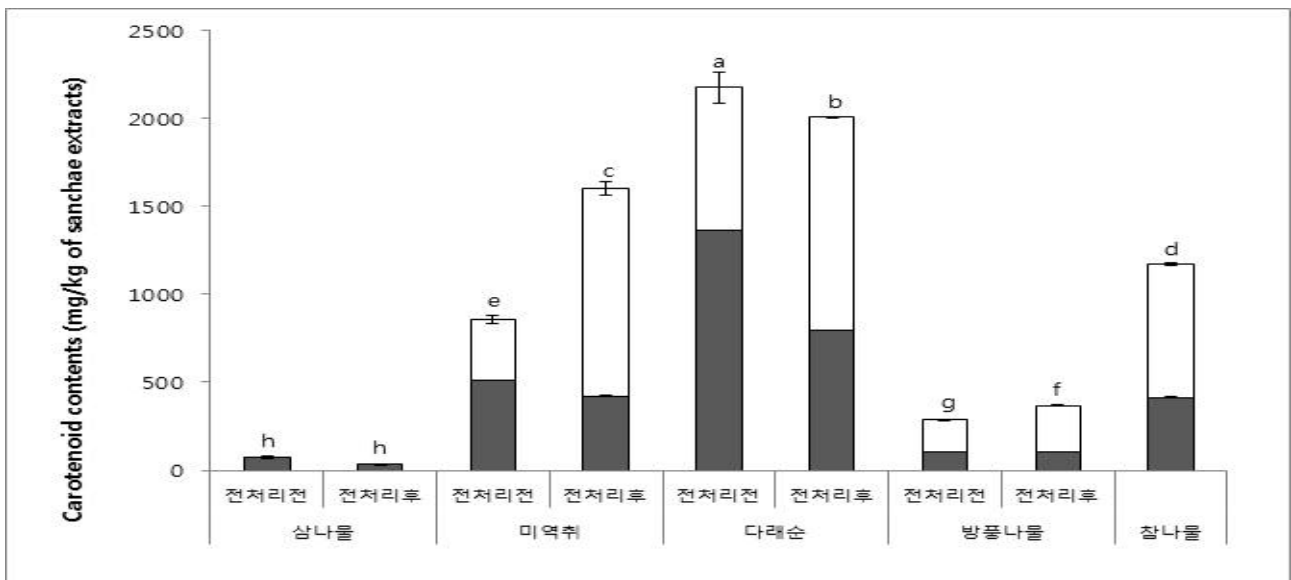


Fig. 2-2-14. Carotenoid contents of 75% ethanol extract of *sanchae* (■; Beta-carotene, □; lutein).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물에서는 클로로필이 검출되지 않았으며, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 클로로필 함량은 각각 551.4, 837.9, 187.0, 1,423.2 mg/kg (dry weight basis)이었으나, 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 745.8, 828.2, 636.5 mg/kg으로 증가하였다(Fig. 2-2-15). 이것은 앞에서 언급한 것처럼 불

리고 삶고 우리는 과정에서 수용성 성분들이 용출되고 지용성 성분은 오히려 산채에 남아 있게 되어 공정 후 동결건조된 산채에서의 비중이 증가하는데서 기인한다.

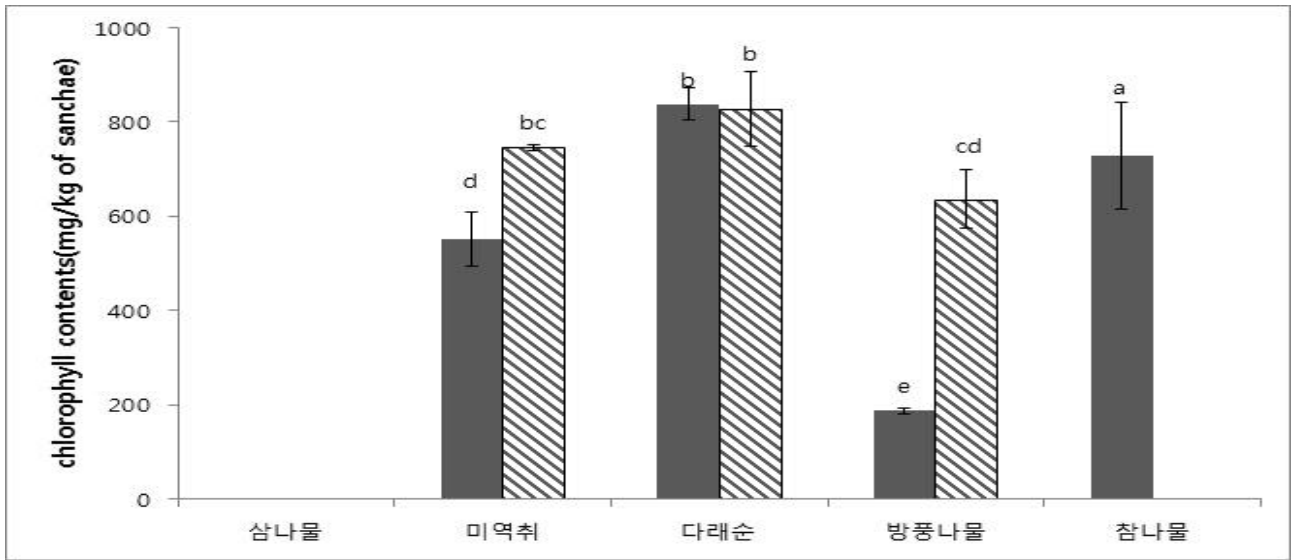


Fig. 2-2-15. Chlorophyll contents (mg/kg) of *sanchae* before and after pre-treatment (■; before, ▨; after).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 방풍나물의 에탄올 추출물에서는 클로로필이 검출되지 않았으며, 다래순 묵나물과 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물 클로로필 함량은 각각 586.2, 7,545.8 mg/kg (dry weight basis)이었다(Fig. 2-2-16). 묵나물을 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우린 미역취, 다래순, 방풍나물의 클로로필 함량은 각각 918.5, 224.9, 411.7 mg/kg이었다. 전처리 전에는 검출되지 않았던 미역취와 방풍 묵나물에서 전처리 후 검출된 클로로필은 앞에서 언급한 것처럼 삶는 과정에서 세포가 파괴되어 용출된 클로로필 일부가 에탄올에 용출된 이유인 것으로 추정된다.

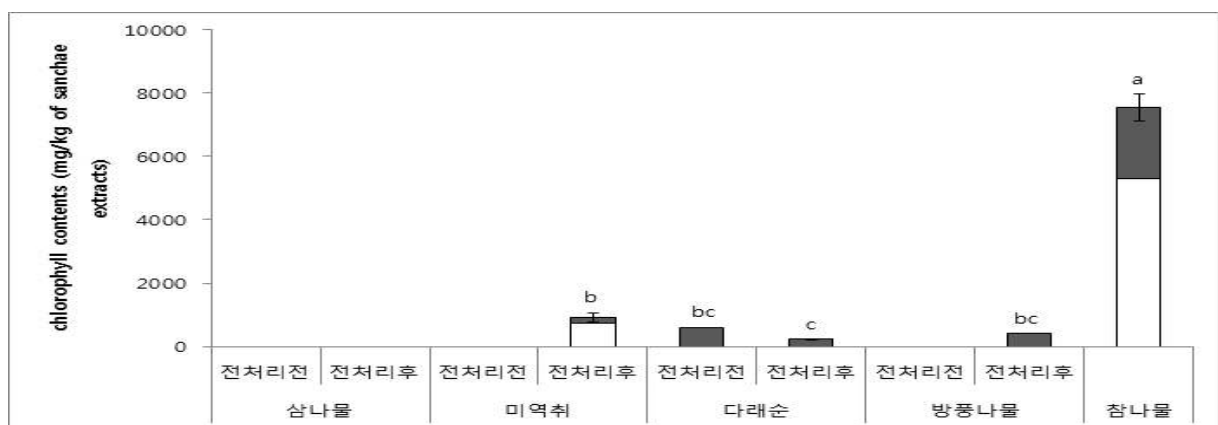


Fig. 2-2-16. Chlorophyll contents of 75% ethanol extracts from *sanchae* (■; chlorophyll a, □ ; chlorophyll b).

- 위 결과는 묵나물 형태의 산채를 전처리 하였을 때 카로티노이드, 클로로필 등 색소 함량에 유의한 변화를 보였으며 산채 종류에 따른 영향은 차이가 있었음을 나타내었다.

② 항산화, 항염증활성

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물의 항산화 활성 지표로서의 DPPH 라디칼 소거 활성은 각각 91.12, 38.44, 61.62, 22.29, 10.39%이었으며, 묵나물을 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 89.72, 10.32, 38.07, 14.4%로 유의하게 감소하였다(Fig. 2-2-17).

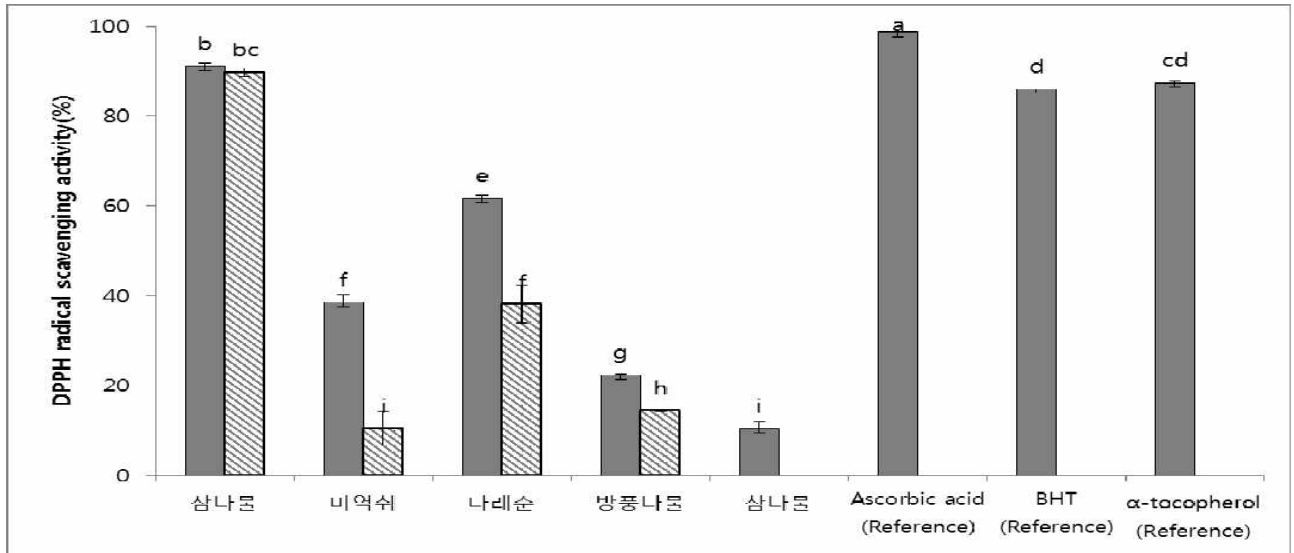


Fig. 2-2-17. DPPH radical scavenging activity (%) of some dried *sanchae* and *muknamul* extracts (■; before pre-treatment ▨; after pre-treatment).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물의 질산염 소거 활성은 각각 35.87, 30.99, 35.37, 27.55, 17.70%이었으며, 묵나물을 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 7.10, 3.59, 3.17, 2.21%로 유의하게 감소하였다(Fig. 2-2-18).

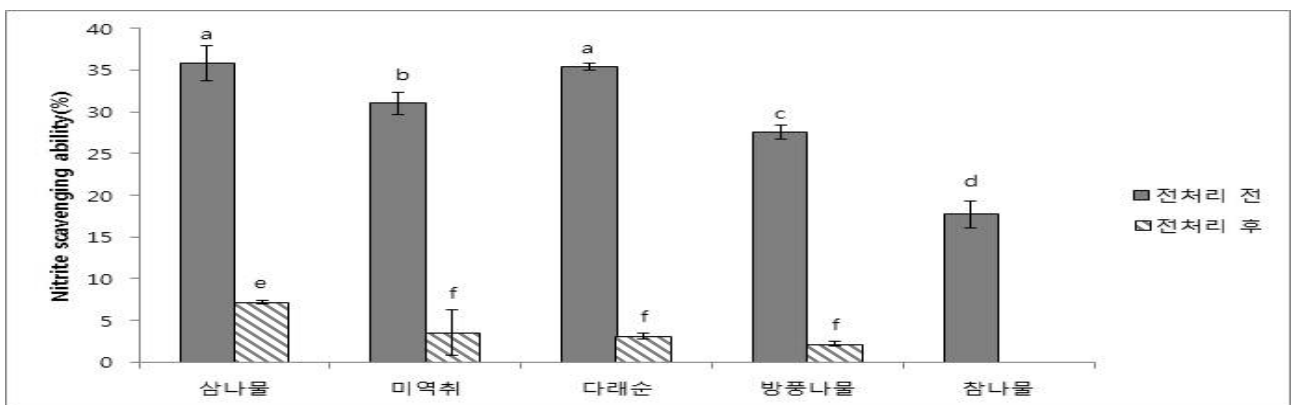


Fig. 2-2-18. Nitrite scavenging ability (%) of *sanchae* extract before and after pre-treatment (■; before, ▨; after).

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 및 생채로 구입한 참나물의 에탄올 추출물을 처리한 경우 NO 생성량은 각각 81.6, 78.0, 58.1, 84.6, 54.4%이었으며, 묵나물을 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려기 후 각각 78.0, 58.9, 66.9, 26.5%로 나타나, 다래순을 제외하고 모두 유의하게 감소하여 항염증 활성이 전처리에 의해 증가되었음을 알 수 있었다(Fig. 2-2-19).

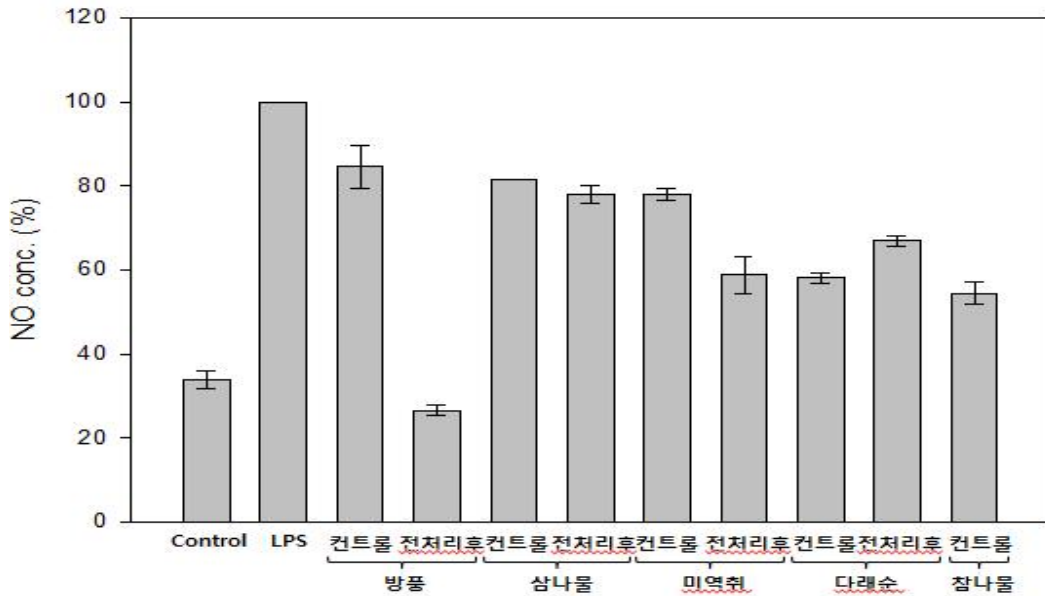


Fig. 2-2-19. Nitric oxide concentration of *sanchae* extract before and after pre-treatment.

- 위 결과는 묵나물 형태의 산채를 전처리 하였을 때 항산화, 항염증 활성이 유의하게 감소하였음을 명확히 보였으며, 이는 폴리페놀, 플라보노이드 등 항산화 효과를 나타내는 화합물들의 손실과 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다.

(5) 조리과정(가열시간 및 온도 등) 및 들기름 첨가에 따른 항산화, 항염증 활성 및 식품 기능 성분 평가

- 묵나물 형태로 구입한 삼나물을 찬물에 16시간 불리고 30분 삶은 후 1시간 우려는 전처리를 거쳐 들기름을 첨가하거나 또는 첨가하지 않은 상태로 180°C 오븐에서 각각 10분, 20분 가열하였을 때 75% 에탄올 추출물의 항산화, 항염증 활성 및 식품기능 성분 함량을 분석한 결과는 다음과 같다.

① 식품 기능 성분

- 묵나물 형태로 구입하여 전처리를 마친 삼나물의 카로티노이드 함량은 2.88 mg/kg이었으나, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열하였을 때 각각 55.10, 54.04 mg/kg으로 유의하게 증가하였다(Fig. 2-2-20). 그러나 들기름을 첨가하여 같은 온도에서 10, 20분간 가열하였을 때는 이보다는 유의하게 감소한 45.36, 37.31 mg/kg을 나타내어 들기름과 함

깨 가열한 경우 카로티노이드 함량은 감소함을 알 수 있었다.

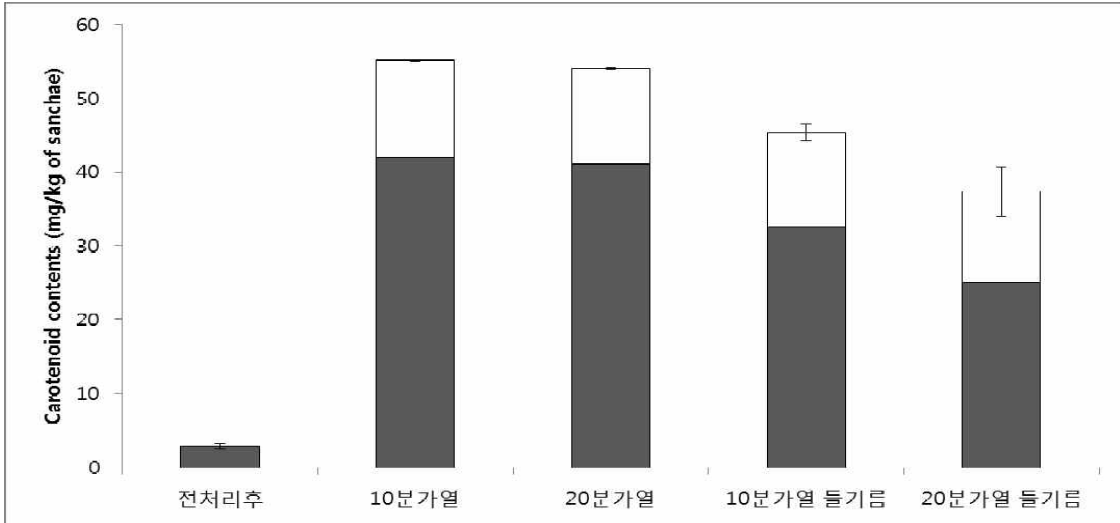


Fig. 2-2-20. Carotenoid contents (mg/kg) of Goat's Beard (*Samnamul*) after cooking (■; beta-carotene, □; lutein).

- 묵나물 형태로 구입하여 전처리를 마친 삼나물의 에탄올 추출물의 카로티노이드 함량은 31.38 mg/kg이었으며, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열하였을 때 각각 449.20, 360.59 mg/kg으로 유의하게 증가하였으나, 들기름을 첨가하였을 때는 이보다 유의하게 감소하였다(Fig. 2-2-21). 또한 가열 시간이 긴 경우 삼나물의 에탄올 추출물의 카로티노이드 함량이 유의하게 낮았다.

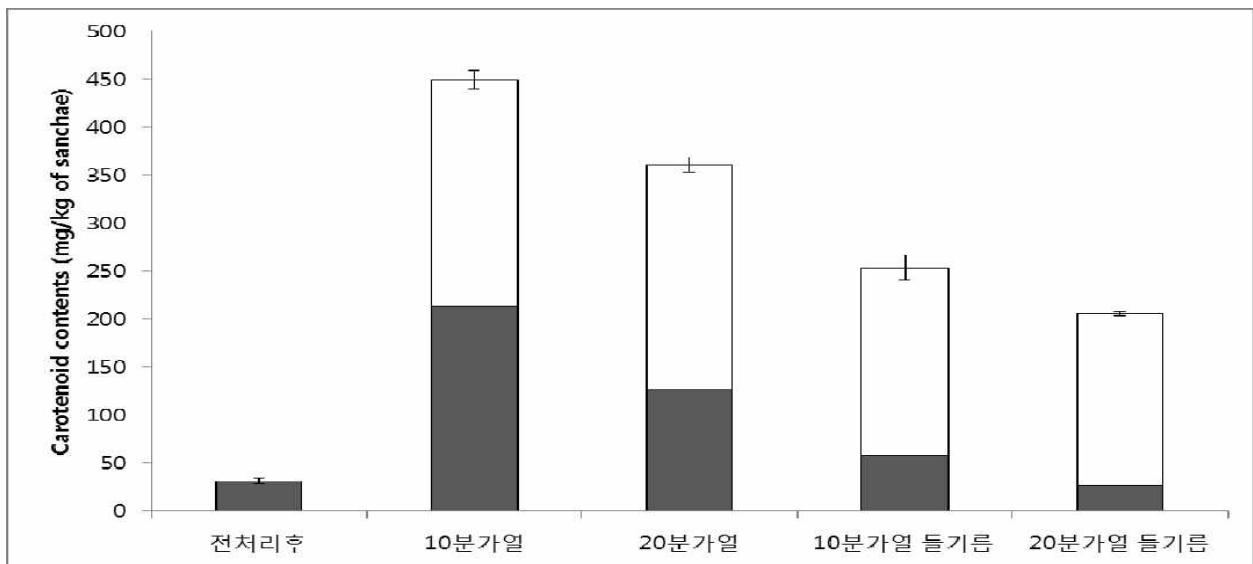


Fig. 2-2-21. Carotenoid contents (mg/kg) in 75% ethanol extracts of Goat's Beard (*Samnamul*) after cooking (■; beta-carotene, □; lutein).

② 항산화, 항염증활성

- 목나물 형태로 구입하여 전처리를 마친 삼나물의 에탄올 추출물의 항산화 활성 지표로서의 DPPH 라디칼 소거 활성은 89.72%이었으나, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열하였을 때 각각 63.01, 67.60%로, 들기름을 첨가하여 같은 온도에서 10, 20분간 가열하였을 때 54.62, 55.71%로 감소하였다(Fig. 2-2-22).

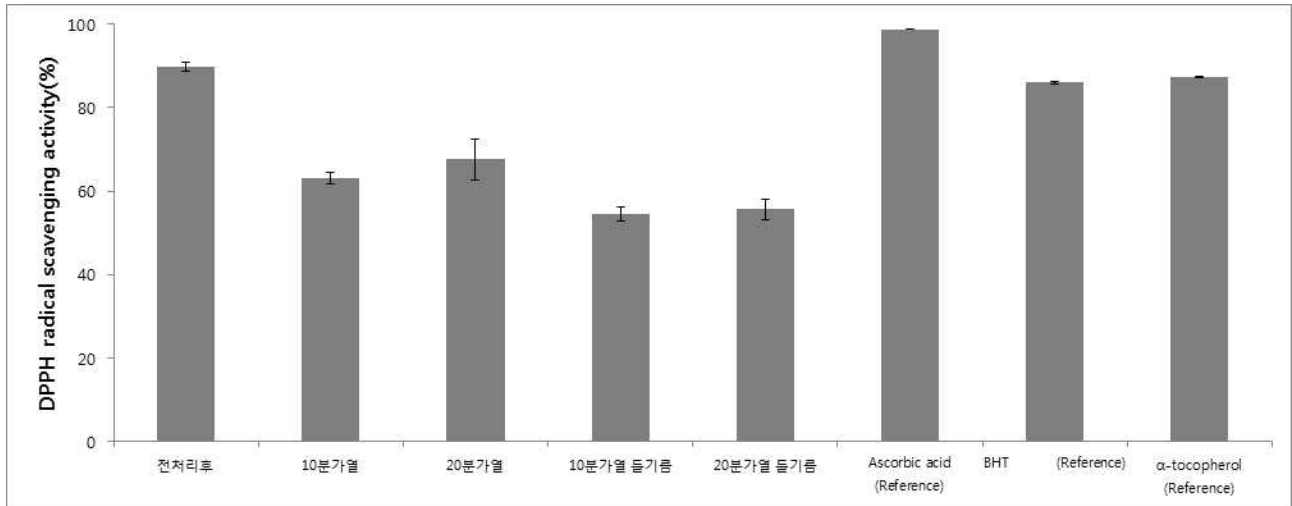


Fig. 2-2-22. DPPH radical scavenging activity (%) of Goat's Beard (*Samnamu*) after cooking.

- 목나물 형태로 구입하여 전처리가 끝난 삼나물의 에탄올 추출물의 질산염 소거 활성은 5.87%이었으며, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열하였을 때 각각 26.44, 18.19%로 유의하게 증가하였으나, 들기름 첨가에 의한 추가적인 유의한 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 2-2-23).

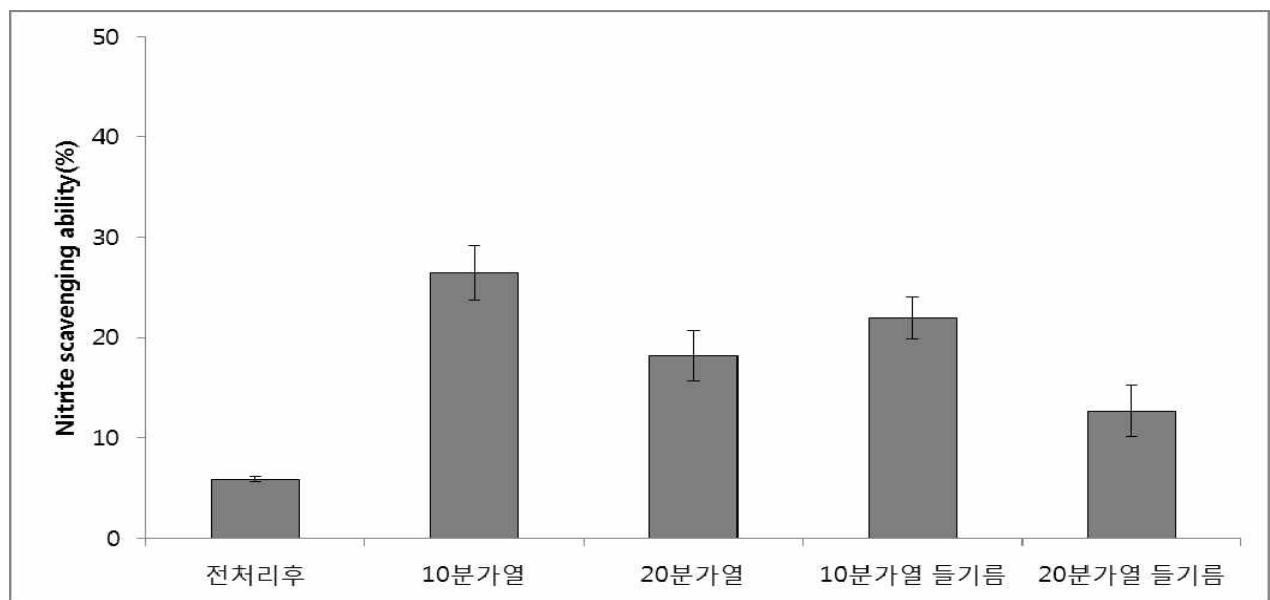


Fig. 2-2-23. Nitrite scavenging ability (%) of Goat's Beard (*Samnamu*) after cooking.

- 묵나물 형태로 구입하여 전처리가 끝난 삼나물의 에탄올 추출물을 처리한 경우 NO 생성량은 78.1%이었으며, 들기름을 넣지 않은 상태로 180°C에서 10, 20분간 가열한 삼나물의 에탄올 추출물을 처리한 경우 각각 76.5, 69.2%이었으나, 들기름을 첨가하여 10, 20분 가열한 삼나물 추출물을 처리한 경우 NO 생성량은 각각 68.3, 81.9%로 들기름을 첨가하여 20분 가열 조리한 삼나물의 항염증 활성이 낮았다 (Fig. 2-2-24). 따라서 조리한 삼나물의 항염증 활성은 들기름 첨가에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

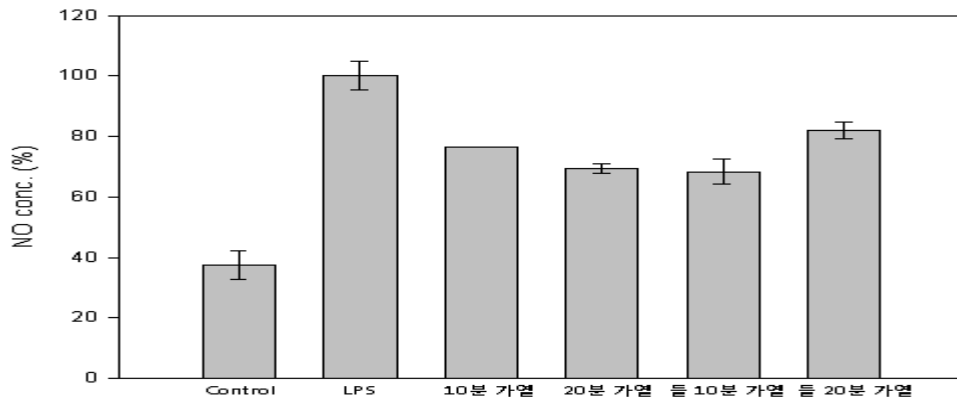


Fig. 2-2-24. Nitric oxide concentration (%) of Goat's Beard (*Samnamul*) after cooking (들; 들기름).

- (6) 산채 종류 및 가공 과정에 따른 건강 기능성과 건강 기능 성분 요약
- 산채 종류 및 가공 과정에 따른 건강 기능성과 건강 기능 성분에 대한 모든 결과로부터 산채, 특히 삼나물은 α -glucosidase와 pancreatic lipase 저해 활성, 항산화활성은 우수하였으나, 항염증활성은 크게 기대할 정도는 아니었다. 따라서 α -glucosidase 저해 효과의 주요 화합물로 분리된(제 3세부) chlorogenic acid, isoquercitrin 등의 flavonoids와 hydroxytyrosol 등의 polyphenol 총량 변화를 α -glucosidase와 pancreatic lipase 저해 활성, 항산화활성과 함께 가공 과정별로 다음과 같이 요약하여 제시하였다 (Table 2-2-3).

Table 2-2-3. Polyphenol and flavonoid content changes during cooking of Goat's Beard (*Samnamul*)

	생채	건조	전처리 후	가열조리 (10분)	가열조리 (20분)	가열조리 (10분) + 들기름	가열조리 (20분) + 들기름
Polyphenols (mg%)	19,494.51±52.70	12,208.37±35.38	1,492.74±60.16	1,622.30±43.48	1,538.65±62.52	1,750.50±147.40	1,563.93±91.29
Flavonoids (mg%)	5,644.04±447.27	1,896.56±63.86	197.62±29.31	139.32±2.66	142.75±4.86	155.70±5.89	136.85±7.14
α -glucosidase inhibition (%)	40.36±5.75	20.89±1.59	11.27±1.79	13.49±2.84	9.61±3.23	15.41±2.19	12.24±1.65
Pancreatic lipase inhibition (%)	56.33±3.58	30.25±2.78	17.51±1.76	18.88±1.88	16.17±3.54	15.63±2.72	13.82±2.38
Antioxidant(DPPH radical scavenging) activity (%)	83.03±0.79	91.12±0.42	89.72±1.04	63.01±1.39	67.60±4.86	54.62±1.64	55.71±2.45

- 이 표에서 보는 바와 같이 산채인 삼나물로부터 산채나물로 조리되는 과정 중 플라보노이드와 폴리페놀 화합물 등의 건강 기능성분과 건강 기능성은 감소하였다. 따라서 건강 기능성은 물론 나물의 텍스처 등을 고려하여 최종적으로 산채나물 조리는 들기름을 첨가하여 10분 내외로 가열하는 것이 건강 기능성이 우수한 산채나물을 섭취할 수 있는 좋은 방법으로 제시하였다.

(7) 산채나물 이용 음식의 배합비 설정

① Contents analysis와 실험조리를 통한 1차 산채나물 이용 음식 선정

- 1차 선별한 10개의 메뉴와 특징들은 다음과 같다.
 - 산채 송편 : 산채나물에 갖은 양념을 하여 소를 만들어 채운 송편으로 식사대용으로도 이용가능하다. 음력 이월 초하루에 한해의 농사가 시작되었음을 알리고 힘을 내라는 뜻으로 나이수대로 먹게 했다고 하며, 지역에 따라 나이떡, 나이송편, 노비송편, 머슴송편, 솔떡, 세병(歲餅), 수복병(壽福餅), 송병, 송엽병, 두지떡으로 부르기도 한다.
 - 산채 녹두빈대떡 : 녹두를 불려 갈아 만든 반죽에 양념한 산채나물을 다져넣고 팬에 부쳐낸 음식이다.
 - 산채 밀쌈 : 여러 가지 산채나물을 밀쌈에 싸서 겨자장에 찍어먹는 음식이다.
 - 산 채 밥 : 산채나물에 양념을 하여 볶아낸 뒤, 불린 쌀과 함께 밥을 지어 양념장에 비벼는 음식이다.
 - 산채떡갈비 : 다진 쇠고기와 두부, 다진 산채나물에 갖은 양념을 한 뒤, 모양을 빚어 팬에 구워 만드는 음식이다.
 - 산채육개장 : 고기 대신 다시마 육수를 내고, 고기와 질감이 비슷한 삼나물과, 그 외 여러 가지 산채나물을 넣어 끓여낸 것으로, 채식주의자들을 위한 음식이다.
 - 산채 잡채 : 고기 대신 산채나물을 양념하여 볶아 넣고, 갖은 채소 및 당면과 함께 볶아낸 음식이다. 특히 삼나물이 고기와 비슷한 질감을 가지고 있어 채식주의자들을 위한 음식이다.
 - 산채 튀김 : 전처리 해놓은 산채나물에 튀김옷을 묻혀 튀겨낸 음식이다.
 - 산채장아찌 : 전처리 해놓은 산채나물에 간장을 부어 절인 음식이다.
 - 산채 어죽 : 생선육수를 기본으로 한 어죽에 전처리 해놓은 산채나물을 넣고 끓인 음식이다.

② 산채나물 이용 음식의 FGD를 통한 배합비 설정

a. 산채나물 이용 음식의 FGD 내용 분석

- 기호도 조사결과

산채나물 이용음식의 기호도 조사결과는 Fig. 2-2-25에 나타내었다.

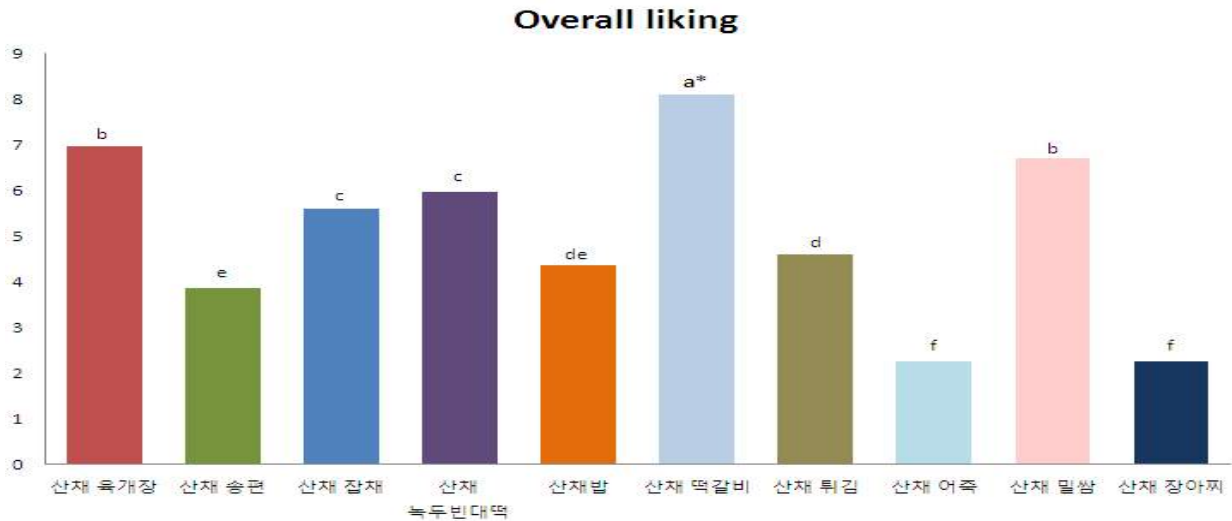


Fig. 2-2-25. 기호도 조사.

- 좋아하는 이유와 싫어하는 이유에 대한 CATA 토론결과
 - 기호도가 높게 나타난 산채 떡갈비에 대해서는 풍부하고 조화로운 냄새, 촉촉함, 친숙한 냄새와 맛의 특성이 높은 비중을 차지했다. 기호도가 산채 떡갈비 다음으로 높게 나타난 산채 육개장과 산채 밀쌈은 삼나물의 맛과 조직감이 고기를 대체할 수 있는 채식요리이다. 기호도가 높게 나타난 산채 떡갈비, 산채 육개장, 산채 밀쌈을 통해 대사증후군 개선효과가 우수하게 나타난 산채나물을 쉽게 섭취할 수 있을 것으로 기대된다.
 - 기호도가 낮게 나타난 산채 어죽과 산채 장아찌에 대해서는 이상한 냄새와 맛, 강하고 부조화스러운 향, 아린 맛 등의 특성이 높은 비중을 차지하는 것을 볼 수 있었다.
 - 산채어죽의 레시피에서는 산채나물의 비중을 줄이고, 산채밥과 산채 송편의 조리법에서 산채나물을 미리 조리하여 첨가하는 것으로 레시피를 조정하였다.
 - 본 연구 결과, 높은 기호도를 가지고 있는 본연의 음식에 산채나물을 첨가하였을 때 역시나 높은 기호도를 보였다. 따라서 산채나물 첨가 음식의 기호도에 가장 영향을 주는 것은 산채나물의 첨가 유무보다 음식 본연의 기호도인 것으로 사료된다.
 - 산채나물 종류에 따라 산채나물 첨가 음식의 기호도가 다르게 나타난 연구 결과에 근거하여, 추후 산채나물 첨가 음식을 개발할 때 첨가하는 나물의 종류를 고려해야 할 것으로 사료된다.
 - 산채나물 첨가 음식을 개발할 때 산채나물의 종류와 함께 산채나물의 전처리 방법을 고려하여야 산채나물 이용음식의 기호도를 높일 수 있을 것으로 생각된다.
 - 위의 개발된 산채나물을 이용한 음식들은 일상의 식생활에 적용 가능한 메뉴로 구성되어 있어, HMR(Home Meal Replacement) 제품, 일반 편의 식품 등의 개발에 유용하게 이용될 것으로 사료된다. 또한 급식 및 외식 메뉴에 적용함으로써 일반인의 산채나물 섭취를 용이하게 할 것으로 생각된다.

b. 10 종류의 산채나물 이용 음식의 표준화 레시피

- 묵나물의 전처리 방법(공통)
 - 찬물에 16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분 간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 동안 우린 후에

물기를 제거한다.

- 기호도 조사와 FGD를 통해 조정된 최종 레시피는 아래와 같다.

산채요리 레시피 카드

Item: 산채송편 (노비송편)

Date : 2014/03/25

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	묵나물	(16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 무린 후 물기를 제거함) 삼나물, 다래순, 미역취, 방풍나물 100g 씩 동량으로 준비			400	g
	쌀가루				1	kg
	소금		1	T		
	뜨거운 물		240	mL		
	산채나물 양념	다진 마늘 2T, 다진 파 2T, 참기름 2T, 원장 1T, 간장 1T, 깨소금 1T, 물 3컵				



1. 쌀가루에 소금 1 큰술을 넣고 뜨거운 물 1 컵을 나눠 넣어주며 익반죽한다. 잘 치대어 준다.
2. 전처리 해놓은 묵나물에 양념을 넣고 잘 무친다.
3. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 약 1 분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 3 컵을 넣고 3 분간 잘 볶아 준다. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10 분간 뜸을 들인다. 볶은 쟁반에 펼쳐서 충분히 식힌다.
4. 쌀가루 반죽을 보통 송편보다 크게 잡아 산채나물 소를 넣고 송편을 빚는다.
5. 찜통에 김이 오르면 젖은 베 보자기를 깔고 간격을 두어 송편을 놓은 다음 20 분 이상 찐다. 송편이 익으면 꺼내 채반 위에 올리고 참기름을 바른다.

산채요리 레시피 카드

Item: 산채녹두전

Date : 2014/03/25

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	녹두	3시간 정도 찬물에 불림			500	g
	찹쌀	찬물에 불리기			150	g
	돼지고기	갈아서 준비			100	g
	물				500	g
	숙주	물에 데치기 2cm길이의 쌀기, 소금간			200	g
	묵나물	(16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 무린 후 물기를 제거함) 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 각 25g 씩 준비, 2cm길이의 쌀기, 소금간			100	g
	배추김치	잘게 다지기			100	g
	대파		3	ea		
	소금, 후추					



1. 불린 녹두와 찹쌀을 물과 함께 믹서에 갈아준다. 소금간 한다.
2. 전처리 한 숙주, 산채나물을 물기를 꼭 짜서 소금간 한다.
3. 대파는 4cm 길이로 채 썬다.
4. 김치는 씻어서 물기를 제거하여 잘게 다진다.
5. #1 에 숙주, 산채나물, 대파, 김치, 돼지고기를 넣고 잘 섞어준다.
6. 팬에 식용유를 두르고 중 불에서 노릇노릇 앞뒤로 구워낸다.

산채요리 레시피 카드

Item: 산채밀쌈

Date : 2014/03/25

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	삼나물	16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 우린 후 물기를 제거함			50	g
	미역취				50	g
	다래순				50	g
	방풍나물				50	g
	참나물				50	g
	나물 양념	기동 제거, 끓는 물에 2분간 데쳐서 찬물에 10분 수침 후 물기제거 (전처리 한 나물 50g에 대한 양념) 들기름 5g, 진간장 4.5g				
	느타리버섯	물에 불려서 잘게 찢어놓기	2	ea		
	당근				30	g
	숙주				50	g
	달걀		2	ea		
	밀전병	밀가루 1C+ 물 11/4C, 소금				
	겨자장	발효겨자 1t, 설탕 1T, 식초 1T, 소금 1/4t				



1. 전처리 된 삼나물, 미역취, 다래순 및 방풍나물 각 50g 에, 진간장, 들기름을 넣고 무쳐준 뒤, 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 약 1 분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3 분간 잘 볶아 준다. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10 분간 뜸을 들인다.
2. 전처리 된 참나물은 물기 제거 후, 들기름과 진간장을 넣고 무쳐준다.
3. 숙주는 머리와 꼬리를 떼고 데친 다음 소금간 하여 팬에 살짝 볶는다.
4. 전처리 해놓은 느타리버섯에 간장 2t, 설탕 1t, 다진 마늘, 후추, 깨소금, 참기름을 넣고 잘 버무린 뒤 기름 두른 팬에 볶는다
5. 당근은 잘게 채 썰어 팬에 식용유를 두르고 기름 두른 팬에 볶는다.
6. 달걀을 잘 풀어서 기름 두른 팬에 얇게 지단을 부친 뒤, 곱게 채 썬다.
7. 밀전병은 약 불에서 한 수저씩 얇게 펴서 부쳐놓는다.
8. 큰 접시 가운데 밀전병을 담고, 주위에 나물, 숙주, 당근, 버섯, 달걀지단 등을 색깔을 맞춰 둘러놓는다. 겨자장과 함께 제공한다.

산채요리 레시피 카드

Item: 산채밥

Date : 2014/03/25

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	쌀	5번 수세하여 30분 동안 불린 후에 물기를 제거하여 준비			600	g
	물		800	mL		
	묵나물	(16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 우린 후 물기를 제거함) 삼나물, 다래순, 미역취, 방풍나물 50g 씩 동량으로 준비, 5cm 길이로 잘라서 준비			200	g
	묵나물 양념	진간장 18g, 들기름 20g				
	표고버섯	건표고를 찬물에 30분 간 불려서 슬라이스 하고, 생표고는 기동을 제거 한 뒤 슬라이스 한다.			60	g
	양념간장	간장 2t, 고추가루 1t, 다진 파 1t, 다진마늘 1t, 깨소금 1t, 참기름 약간				



<묵나물>

1. 전처리 해 좋은 묵나물에 간장, 들기름으로 밑 간한다.
2. 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 약 1 분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 3 컵을 넣고 3 분간 잘 볶아 준다. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10 분간 뜸을 들인다.

<산채밥 만들기>

1. 쌀은 깨끗이 씻어 물에 담가 불려 놓는다.
2. 불린 쌀에 준비한 산채나물과 표고버섯을 얹어 밥을 고슬고슬하게 짓는다.
3. 양념간장을 곁들여 낸다.

산채요리 레시피 카드

Item: 산채떡갈비

Date : 2014/03/25

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	쇠고기	간장 1 1/2t, 소금 1/2t, 설탕 1t, 다진마늘 2t, 다진마늘 1t, 깨소금 1t, 참기름 1t, 후추 약간			150	g
	두부				50	g
	묵나물	(16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 무린 후 물기를 제거함) 삼나물, 다래순, 미역취, 방풍나물 20g 씩 동량으로 준비, 잘게 다져서 준비			80	g
	식용유		1	t		



1. 쇠고기는 굵게 다지고, 두부는 행주로 싸서 무거운 것으로 눌러 물기를 뺀 다음 칼을 눕혀서 굵게 으갠다.
2. 쇠고기와 두부를 합하여 고기 양념으로 끈기가 날 때까지 고루 섞는다.
3. 전처리 해 놓은 묵나물을 넣고 다시 잘 섞는다.
4. 은박지에 식용유를 바른 다음 양념한 고기를 얹어 두께 1cm 정도로 네모지게 만들어 윗면을 칼등으로 자근자근 두들긴다.
5. 기름을 두른 팬에 고기를 얹고, 한 면이 익으면 뒤집어서 뒷면을 익힌다.
6. 한 김 식힌 후에 가로 3cm, 세로 2cm 정도의 크기로 썰어 그릇에 담는다.

산채요리 레시피 카드

Item: 산채어죽

Date : 2014/03/25

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	흰살생선	뼈를 제거하여 살로만 준비			1	kg
	쌀	5번 수세하여 30분 동안 불린 후에 물기를 제거하여 준비			120	g
	묵나물	(16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 무린 후 물기를 제거함) 삼나물, 다래순, 미역취, 방풍나물 30g 씩 동량으로 준비, 2cm 길이로 잘라서 준비			120	g
	물		5	C		
	소금		1	t		
	고추장		1/2	T		
	다진마늘		1	t		
	밀가루		2	t		



1. 생선은 내장 제거 후, 찌낸다. 쌀을 발라 으깨고, 머리와 뼈는 한 번 끓여 육수를 낸다.
2. 전처리 해 놓은 묵나물에 고추장, 다진 마늘, 소금, 밀가루를 넣고 잘 버무린다.
3. 육수에 생선살과 나물을 넣고 끓이다가 불린 쌀을 넣고 쌀이 잘 풀어질 때까지 약 불에서 2~30 분 정도 서서히 끓인다.

산채요리 레시피 카드

Item: 산채육개장

Date : 2014/03/25

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	채소육수	건표고, 백태, 다시마, 황태, 통마늘, 통후추				
	숙주나물				200	g
	묵나물	(16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 우린 후 물기를 제거함)			200	g
	참나물	삼나물, 다래순, 미역취, 방풍나물 50g 씩 동량으로 준비, 5cm 길이로 잘라서 준비				
	참나물	기둥 제거, 끓는 물에 2분간 데쳐서 찬물에 10분 수침 후 물기제거			50	g
	붉은 고추		2	ea		
	대파		1	ea		
	다진마늘		1	T		
	국간장		1	T		
	고추기름		1	T		
	소금		약간			
	후추		약간			



1. 들통에 건표고, 백태, 통마늘, 통후추를 넣고 30 분 가량 끓여주다가 다시마를 넣고 10 분 더 끓인다.
2. 육수를 채에 받쳐 걸러낸다.
3. 대파는 3~4 토막으로 자르고, 전처리 해 놓은 묵나물과 숙주나물, 참나물은 끓는 물에 살짝 데쳐 물기를 뺀다.
4. 불에 준비된 나물들을 넣고 국간장, 다진 마늘, 소금 후추를 넣고 무친다.
5. 냄비에 고추기름을 두르고 잘게 자른 붉은 고추를 넣고 볶다가 육수를 붓고 끓으면 준비한 나물을 넣고 2~30 분 정도 중간 불에서 서서히 끓인다

산채요리 레시피 카드

Item: 산채장아찌

Date : 2014/03/25

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	미역취				1	kg
	삼나물	16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 우린 후 물기 제거함			1	kg
	다래순				1	kg
	방풍				1	kg
	참나물				1	kg
	절임 간장 (나물 1kg당)	간장 3C + 식초 1C + 설탕 1/2C				



1. 묵나물은 전처리 방법대로 준비한다.
2. 참나물들은 깨끗이 씻어 물기를 제거한다.
3. 간장, 식초, 설탕을 분량대로 섞어서 끓인 뒤, 식혀둔다.
4. 각각의 나물들을 항아리에 담고 준비한 간장을 부어준다.
5. 1주일 후에 간장을 따라내어 끓여서 식힌 후 다시 붓는다. (2~3 회 반복)

산채요리 레시피 카드

Item: 산채튀김

Date : 2014/03/25

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	묵나물	(16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 우린 후 물기를 제거한) 삼나물, 미역취, 다래순, 방풍나물 각 50g 씩 준비, 3cm길이로 썰어 놓음			200	g
	참나물				50	g
	말가루		1	C		
	얼음물		1	C		
	계란 노른자		1	ea		
	소금		약간			
	양념간장	간장 3T+ 다시마물 3T, 레몬즙 1t, 무즙 1T				



1. 묵나물은 전처리 방법대로 준비한다.
2. 참나물들은 깨끗이 씻어 물기를 제거하고, 묵나물과 같은 길이로 잘라 놓는다.
3. 찬 얼음물에 말갈노른자를 잘 섞어주고 여기에 말가루를 넣고 가루가 보이지 않을 정도로만 섞어준다.
4. 기름이 170°C로 오르면 준비한 튀김 옷 반죽에 산채나물을 넣고 고루 섞어 준 뒤, 기름에 한 손가락씩 떠 넣어 노릇노릇 튀겨낸다.
5. 양념간장과 함께 낸다.

산채요리 레시피 카드

Item: 산채잡채(채식용)

Date : 2014/01/20

Refer No.	Ingredients	Preparation	Quantity for		Weight for	
	묵나물	(16시간 불린 뒤, 끓는 물에 30분간 삶아내어 미지근한 물에 1시간 우린 후 물기를 제거한) 삼나물, 다래순, 미역취, 방풍나물 50g 씩 동량으로 준비, 3cm 길이로 잘라서 준비			200	g
	묵나물 양념	진간장 18g, 들기름 20g				
	참나물	기둥 제거, 끓는 물에 2분간 데쳐서 찬물에 10분 수침 후 물기제거			100	g
	당면	물에 불려서 들기름 약간, 진간장 2T, 설탕 1T 넣고 볶아 놓기			150	g
	양파				100	g
	당근				50	g
	표고버섯	건표고를 찬물에 불려 채를 썬 뒤, 간장, 설탕, 다진마늘, 깨소금, 참기름 넣고 식용유에 볶기	3	ea		
	목이버섯	찬물에 불려서 손으로 뜯은 뒤, 표고버섯과 함께 양념하여 볶기			5	g
	다진마늘					



1. 전처리 해 놓은 삼나물, 미역취, 다래순 및 방풍나물 각 50g 에, 진간장 18g, 들기름 20g 을 넣고 무쳐준 뒤, 뚜껑 있는 작은 냄비에 무친 나물을 넣고 약 1 분간 열을 올린다. 지글지글 소리가 나기 시작하면 물 한 컵 반을 넣고 3 분간 잘 볶아 준다. 뚜껑을 덮고 불을 약 불로 줄여준 뒤에 10 분간 뜸을 들인다.
2. 전처리 해 놓은 참나물은 물기 제거 후, 참기름 소금을 넣고 무쳐준다.
3. 양파는 채 썰어 참기름, 소금, 깨소금으로 밑 간하여 볶는다.
4. 당근은 납작채를 썰어 밑 간하여 식용유에 볶는다.
5. 볶아놓은 당면과 산채나물, 양파, 당근, 표고버섯, 목이버섯을 섞어서 마지막에 깨소금, 참기름으로 간을 한다.

제 3절 산채나물 유래 기능성 활성성분 규명 연구 (제 3 세부과제)

1. 산채 함유 향당노 대사체 추출 및 분석 기반 확립

1) 재료

제 3 세부과제에서 사용한 산채류는 제 1, 2 세부 과제와 동일한 시료를 사용하였다.

2) 방법

(1) 산채나물 함유 유용 대사체 추출

산채나물에 함유되어 있는 유용 대사체 추출을 위해 용매의 극성도에 따른 추출법을 이용하였다. 추출 용매로는 천연 물질 추출 시 가장 많이 이용되는 ethanol을 사용하였고, 이에 따라 100% ethanol, 75% ethanol, D.W.로 추출하였다. 실험 방법은 동결건조 된 산채나물 시료 5 g(참나물, 삼나물, 방풍나물, 미역취, 다래순)에 각각의 용매를 넣고 12시간 동안 stirring하여 추출한 후, 용매 치환을 통해 효율적인 대사체 추출법을 확립하였다.

Dried sample 5 g + 200 ml of D.W. /75% EtOH/ 100% EtOH



Extraction of samples for 12hr at room temp.



Centrifugation 7000rpm, 5min



Filtration using Whatman filter paper (No.1)



Concentration of the filtrates using rotary evaporator at 40 °C



Drying

Fig. 3-1-1. Procedures for the metabolites extraction from wild herbs with various solvents.

(2) 추출물의 혈당 조절 효과 평가

탄수화물 소화에서 α -glucosidase는 소장에서 탄수화물을 포도당으로 전환시키는 필수 효소로 알려져 있다. 따라서 α -glucosidase 효소 저해 활성 측정을 통해 식후 혈당조절 효과를 확인하였으며 대표적인 α -glucosidase 저해제로 알려진 acarbose를 positive control로 사용하여 산채나물 추출물의 혈당 조절 효과를 비교 분석하였다. α -glucosidase 저해활성 측정은 아래와 같이 *in vitro* 상에서 산채나물 추출물의 효소-기질 반응 저해 정도를 측정하여 간단히 향당노 활성을 확인할 수 있는 방법이다.

50 ul of α -glucosidase 0.7 unit/ml (0.465 unit/mg of pNPG) + 10ul of sample

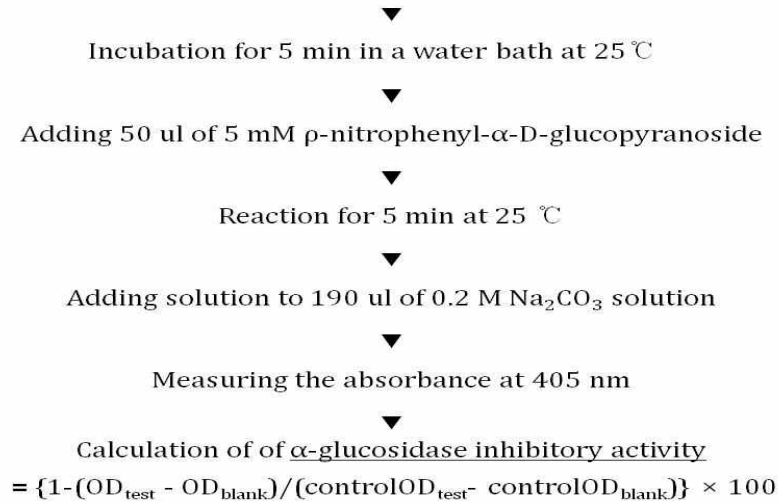


Fig. 3-1-2. Measurement of α -glucosidase inhibitory activity of wild herbs extracts.

(3) Prep-LC를 이용한 유용 성분 분리

산채나물 함유 유용 성분 분리를 위해 산채나물 추출물을 Preparative HPLC (YMC LC-forte/R)를 이용하여 정제를 진행하였다. 컬럼은 C18 flash column (YMC-DispoPack AT, 50 μ m)와 C18 glass column (Kronlab Eco-plus, 20 μ m), C18 AQ-HG column (YMC-Pack ODS-AQ-HG, 15x250 mm, 12 μ m)를 사용하였으며, UV 측정 파장은 260, 340 nm에서 측정하였다. 얻어진 각 fraction들은 동일한 농도(0.46 mg/mL)로 α -glucosidase 저해 활성을 측정하여 유용 성분을 함유한 분획물을 확인하였으며, 자세한 분석 조건은 아래(Fig. 3-1-3)와 같았다.

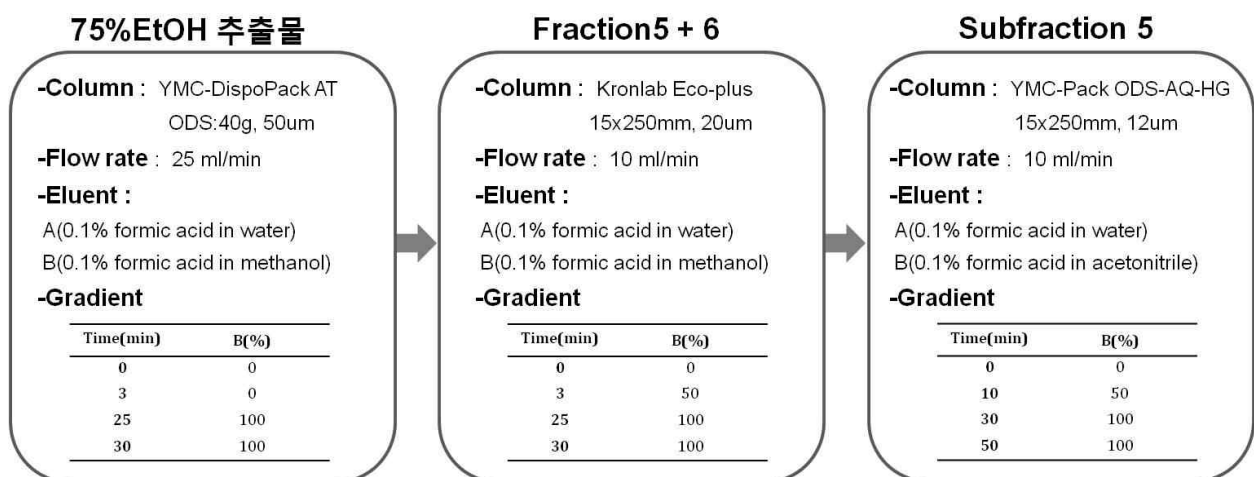


Fig. 3-1-3. Partial purification of α -glucosidase inhibitory compounds from *Pimpinella koreana* using preparative liquid (prep-LC) chromatography.

산채나물의 유용 성분 분리를 위해 Fig. 3-1-3과 같은 방법으로 진행하였다. 참나물의 경우

75% EtOH 추출물을 정제 과정을 통해 subfraction5-4까지 분획하여 실험을 진행하였으며, 다래순의 경우 75% EtOH 추출물을 C18 flash column (YMC-DispoPack AT, 50 µm)을 사용하여 crude하게 정제하여 얻은 분획물로 실험을 진행하였다.

(4) LC-MS/MS 기반 산채 유래 대사체 분석

산채나물 추출물의 유용 성분 분석을 위해 HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ을 이용하였으며 용매는 A : 0.1% formic acid in water와 B : 0.1% formic acid in Acetonitrile을 사용하여 분석하였다. 자세한 분석 조건은 아래(Fig 3-1-4)와 같았다.

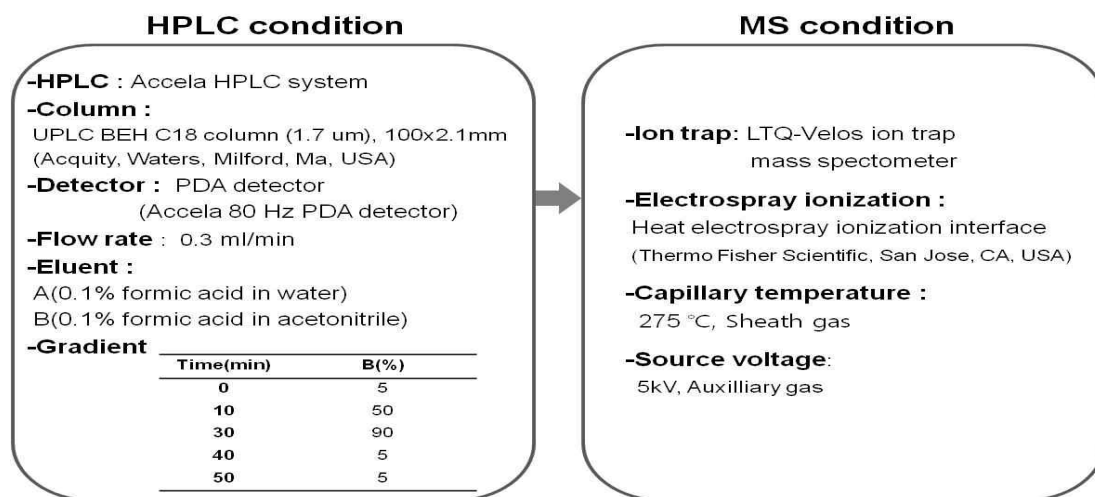


Fig. 3-1-4. Analytical conditions for α -glucosidase inhibitory compounds from wild herbs using HPLC and LC-MS/MS.

3) 결과

(1) 산채나물 함유 유용 대사체 추출

효율적인 대사체 추출법에 따라 각 용매별 추출물들의 α -glucosidase 저해 활성을 측정하였으며, 결과는 아래와 같았다.

Table 3-1-1. α -Glucosidase inhibitory activities (%) of the wild herb extracts prepared with various solvents

	α -glucosidase inhibitory activity (%) *				
	참나물	삼나물	방풍	미역취	다래순
D.W. 추출물	0.4 ± 3.1	-0.5 ± 2.5	0.98 ± 4.9	-1.2 ± 3.7	0.7 ± 2.2
75% EtOH 추출물	14.0 ± 2.3	14.6 ± 6.0	6.5 ± 1.6	8.8 ± 4.0	16.3 ± 5.7
100% EtOH 추출물	3.6 ± 4.1	6.2 ± 3.7	4.9 ± 2.7	2.6 ± 3.1	4.5 ± 3.5

* final concentration : 0.23 mg/ml

위의 표(Table 3-1-1)와 같이, 동일한 농도(0.23 mg/mL)에서 추출 용매에 따른 α -glucosidase 저해 활성을 측정한 결과 모든 산채나물에서 75% EtOH 추출물의 저해 활성이 가장 높게 나타났다. 이러한 결과를 통해 선행 연구 결과와 동일하게 75% ethanol이 산채나물의 항당뇨 유용 성분 추출에 가장 효율적인 용매로 판단되어, 이후 75% EtOH 추출물에 함유된 항당뇨 활성 대사체의 검증을 진행하였다.

(2) 추출물의 혈당 조절 효과 평가

각 산채나물별 75% EtOH 추출물의 혈당 조절 효과를 평가하기 위하여 농도별(0.23, 0.92 mg/mL)로 측정하였으며 α -glucosidase 저해제로 알려진 acarbose를 positive control로 사용하여 비교 분석하였다.

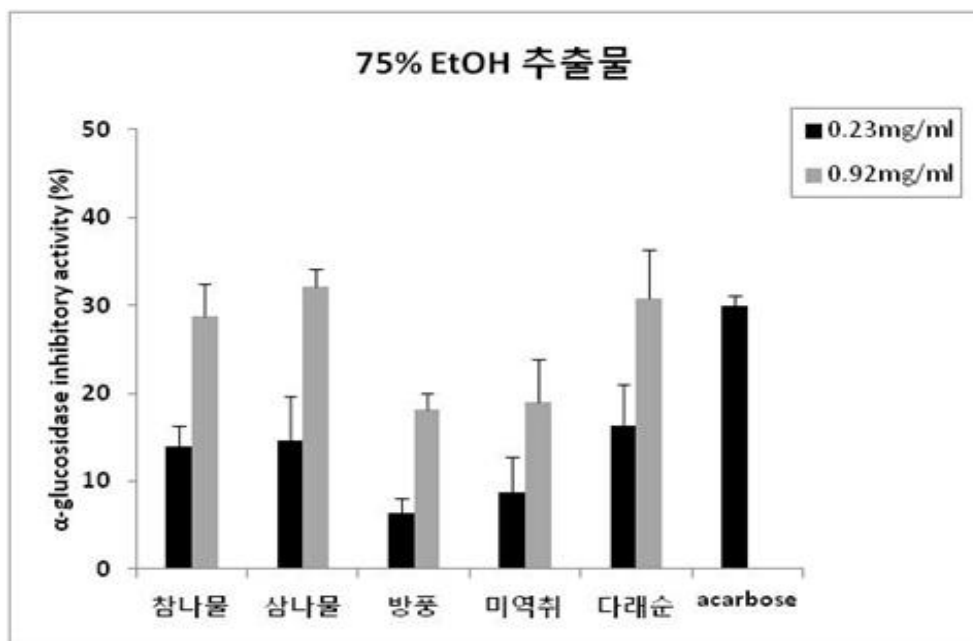


Fig. 3-1-5. α -glucosidase inhibitory activities (%) of 75% ethanol extracts of the wild herbs.

산채나물별 75% EtOH 추출물의 α -glucosidase 저해 활성을 농도별로 측정한 결과, 농도 의존적으로 저해 활성이 나타나는 것을 확인하였다. 동일한 농도 0.92 mg/mL에서 유의적 차이 없이 삼나물이 약 32%, 다래순이 약 30%, 참나물이 약 29%로 상대적으로 높은 저해 활성을 나타냈다. 이를 positive control로 사용된 0.23 mg/mL 농도의 acarbose와 비교하면, 0.92 mg/mL의 삼나물, 다래순, 참나물의 75% EtOH 추출물에서의 저해 활성이 acarbose 수준으로 확인되었다. 이러한 결과를 통해 산채나물 추출물이 α -glucosidase를 저해함으로써 혈당 조절에 효과적인 소재임을 확인할 수 있었다.

기존에 보고된 산채나물의 항당뇨 유용 성분에 관한 연구 결과에 따르면 다래순에는 Isoquercitrin, hyperoside와 같은 폴리페놀류가 존재하는 것으로 확인되었으며(Kurakane *et al.*, 2011), 방풍나물에서는 coumarin, xanthone과 같은 폴리페놀류에 의한 혈당 조절 효과가 나타나는 것이 보고되었다(Raj *et al.*, 2009). 또한 참나물에는 항당뇨 활성이 널리 알려진

chlorogenic acid가 함유되어 있는 것이 알려져 있으며(Apati *et al.*, 2003), 그 외의 다양한 유용 성분의 존재가 제기되어 왔다. 이와 같이 산채나물의 항당뇨 활성은 폴리페놀 함량과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고된 바 있으나, 이외의 다양한 화합물들이 항당뇨 활성에 관여할 것으로 예측되고 있다. 그러나 관련 대사체들에 대한 보고는 아직까지 미비한 실정이다.

(3) 흡수 스펙트럼 측정

산채나물 추출물의 흡수 스펙트럼 측정 결과 Fig. 3-1-6과 같이 200~400 nm 범위에서 특이적으로 흡수가 존재함을 확인할 수 있었다. 참나물과 다래순 모두 260 nm에서 가장 높은 흡광도를 보였으므로 이를 중심으로 분리 정제 실험을 진행하였다.

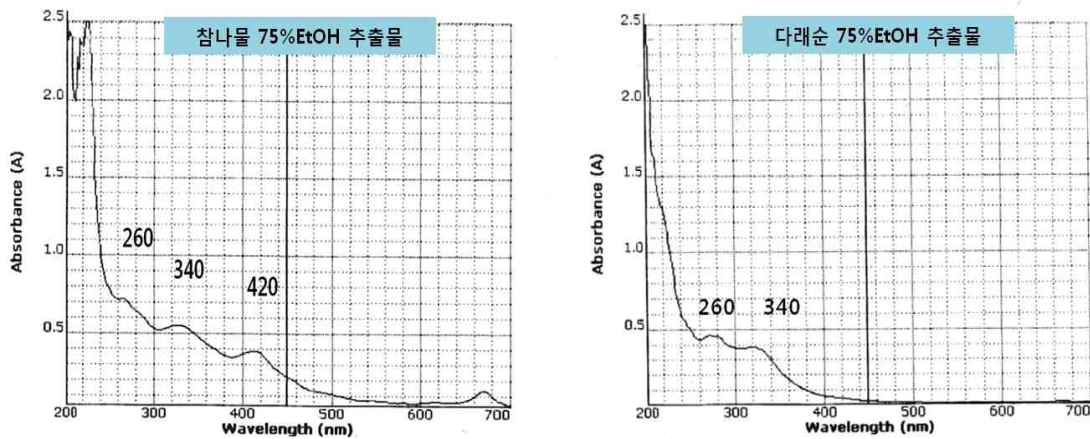


Fig. 3-1-6. Absorption spectrums of the 75% ethanol extracts of *Pimpinella koreana* and *Actinidia arguta* (200-700 nm).

(4) Prep-LC를 이용한 유용 성분 분리

참나물 75% EtOH 추출물을 Prep-LC를 이용하여 먼저 C18 flash column (particle size : 50 μ m)을 통해 crude한 정제를 하였다. 이를 통해 총 6개의 Fraction을 얻었으며, 각 Fraction 별 항당뇨 활성 확인을 위해 α -glucosidase 저해 활성을 3회 이상 반복 측정하였다(Fig. 3-1-7). 동일한 농도(0.46 mg/mL)로 측정된 결과 Fraction 6에서 약 58.6%로 가장 높은 저해 활성을 보였으며, Fraction 5에서는 약 19.6%로 비교적 높은 저해 활성이 나타났다. 따라서 Fraction 5와 Fraction 6에 항당뇨 유용 성분이 존재할 것으로 예상되어짐에 따라 Fraction 5와 Fraction 6을 합쳐 이후의 추가 부분 정제 실험을 진행하였다(Table 3-1-2).

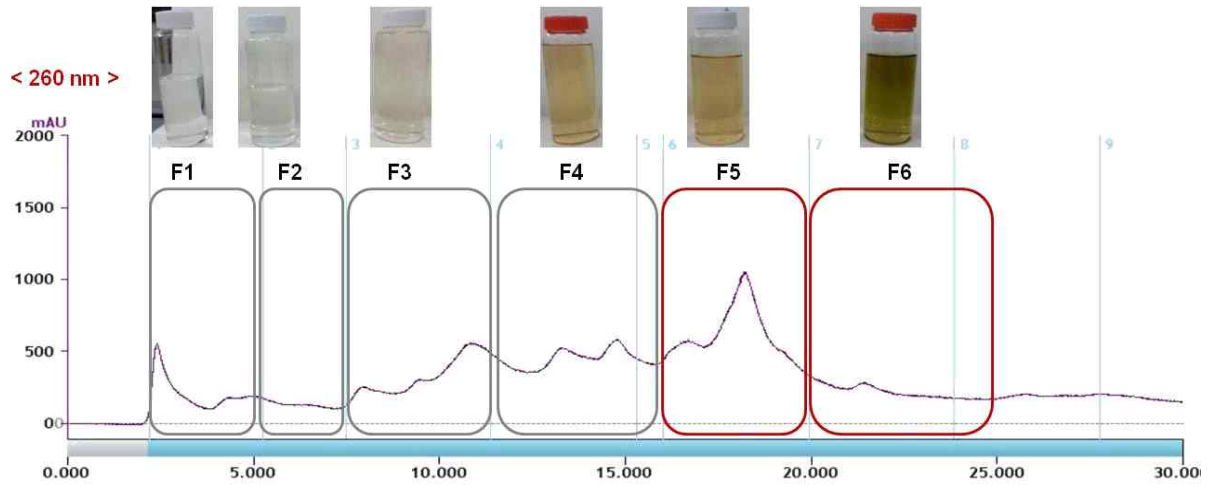


Fig. 3-1-7. Preparative liquid (prep-LC) chromatography of the 75% ethanol extract of *Pimpinella koreana*.

Table 3-1-2. α -glucosidase inhibitory activities (%) of the fractions of *Pimpinella koreana* extracts prepared using preparative liquid (prep-LC) chromatography

α -glucosidase inhibitory activity (%) *					
Fraction1	Fraction2	Fraction3	Fraction4	Fraction5	Fraction6
5.0 \pm 2.4	-0.9 \pm 3.3	-5.2 \pm 0.5	2.7 \pm 4.5	19.6 \pm 5.1	58.6 \pm 6.4

* final concentration : 0.46 mg/ml

높은 저해율을 나타내는 Fraction 5와 Fraction 6를 합쳐 C18 glass column (particle size : 20 μm)을 이용하여 분석시간 30분 동안 총 6개의 subfraction을 얻었다. 각 분획물들을 동일한 농도(0.46 mg/mL)에서 α -glucosidase 저해 활성을 측정한 결과, subfraction 5에서 약 63.4%로 다른 subfraction들에 비해 상대적으로 높은 활성을 보였다. 따라서 subfraction 5를 이용하여 분리 정제를 진행하였다.

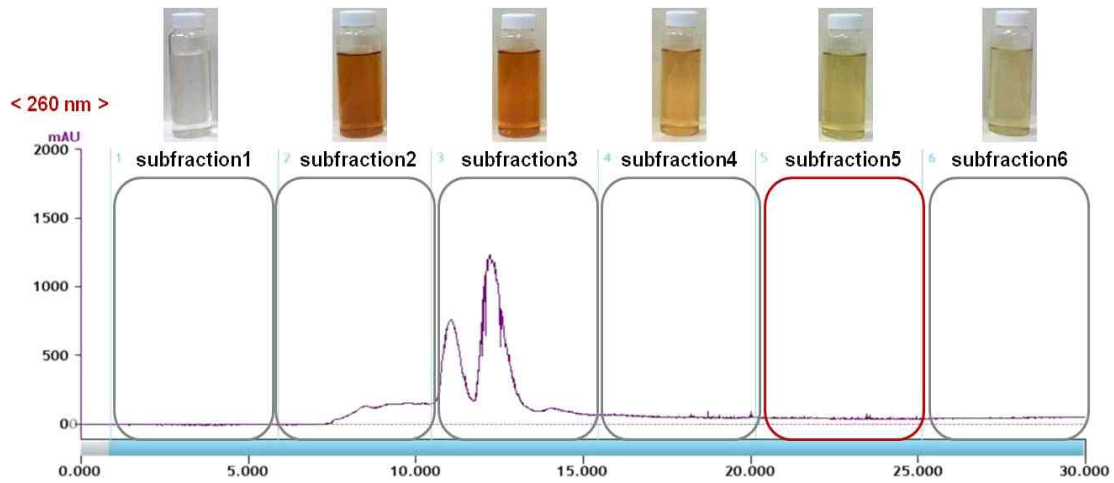


Fig. 3-1-8. Sub-fractionation of the fractions from *Pimpinella koreana* extracts using preparative liquid (prep-LC) chromatography.

Table 3-1-3. α -glucosidase inhibitory activities (%) of the sub-fractions from *Pimpinella koreana* extracts prepared using preparative liquid (prep-LC) chromatography

α -glucosidase inhibitory activity (%)*					
Subfraction1	Subfraction2	Subfraction3	Subfraction4	Subfraction5	Subfraction6
11.1 \pm 4.3	14.0 \pm 2.5	6.7 \pm 3.0	11.2 \pm 1.6	63.4 \pm 4.9	35.3 \pm 2.0

* final concentration : 0.46 mg/ml

효율적인 유용 성분 분리를 위해 acetonitrile (ACN)용매를 이용하여 subfraction 5를 분획하였다. C18 AQ-HG column (particle size : 12 μ m)를 통해 분석시간 총 50분 동안 7개의 subfraction을 받아, 동일한 농도(0.46 mg/mL)에서 α -glucosidase 저해 활성을 측정하였다. Subfraction 5-4에서 약 72.9%로 다른 subfraction들에 비해 높은 저해 활성을 보였다(Table 3-1-4). 이 결과를 토대로 Prep-LC를 통해 참나물 75% EtOH 추출물의 해당노 유용성분 대사체 분획을 분리하고 이후 대사체 분석을 실시하였다.

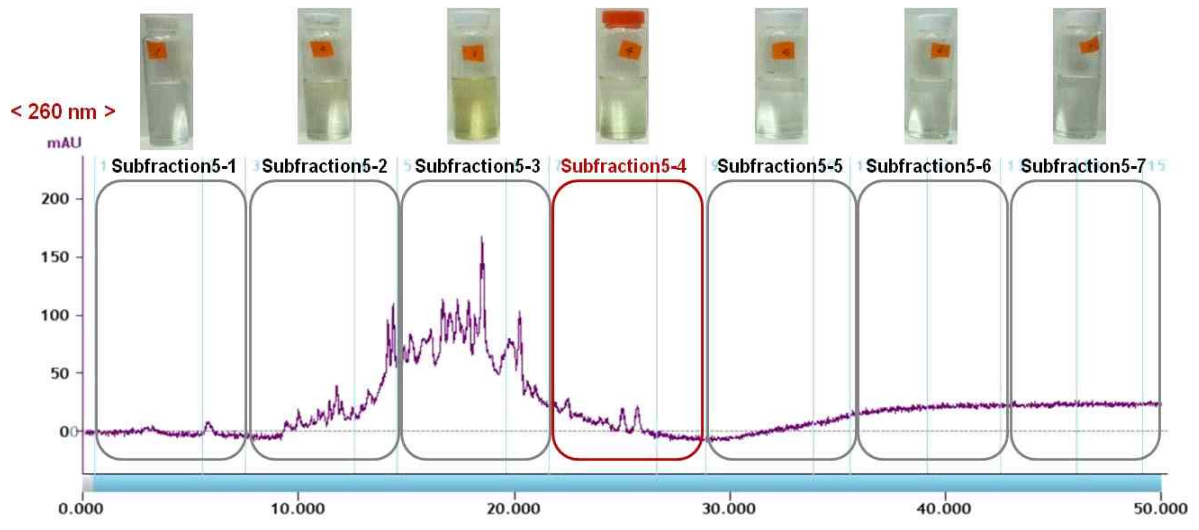


Fig. 3-1-9. Partial purification of the sub-fraction 5 from *Pimpinella koreana* extracts using preparative liquid (prep-LC) chromatography.

Table 3-1-4. α -glucosidase inhibitory activities (%) of the partially purified sub-fractions from *Pimpinella koreana* extracts prepared using preparative liquid (prep-LC) chromatography

α -glucosidase inhibitory activity (%) *						
Subfraction 5-1	Subfraction 5-2	Subfraction 5-3	Subfraction 5-4	Subfraction 5-5	Subfraction 5-6	Subfraction 5-7
23.1 \pm 2.4	-4.7 \pm 5.8	32.5 \pm 4.1	72.9 \pm 1.9	29.0 \pm 3.2	41.3 \pm 1.9	-26.7 \pm 5.6

* final concentration : 0.46 mg/ml

다래순 75% EtOH 추출물을 참나물과 동일한 방법으로 Prep-LC를 이용하여 먼저 C18 flash column (particle size : 50 μ m)을 통해 총 5개의 Fraction을 얻었다. 각 Fraction별 항당뇨 활성 확인을 위해 α -glucosidase 저해 활성을 동일한 농도(0.46 mg/mL)로 3반복 이상 측정하였다. 각 분획물들의 혈당 조절 평가 결과 Fraction 5에서 약 43.6%로 가장 높은 저해 활성을 보였으며, Fraction 3에서는 약 35.4%로 비교적 높은 저해 활성이 나타났다. 따라서 Fraction 3과 Fraction 5에 항당뇨 유용 성분이 존재할 것으로 예상됨에 따라 이 결과를 토대로 다래순 75% EtOH 추출물의 대사체 분석을 실시하였다

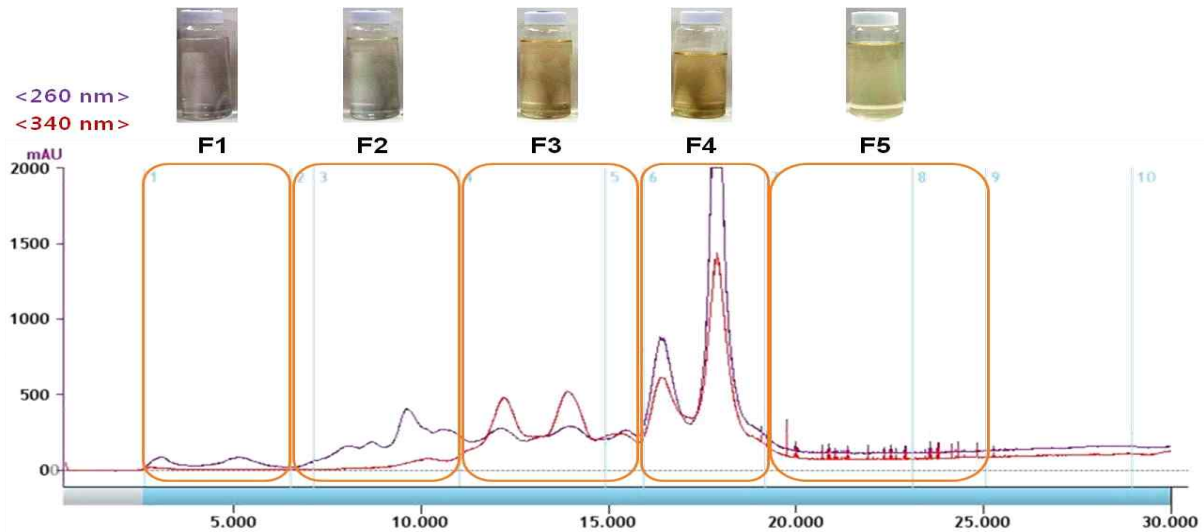


Fig. 3-1-10. Preparative liquid (prep-LC) chromatography of the 75% ethanol extract of *Actinidia arguta*.

Table 3-1-5. α -glucosidase inhibitory activities (%) of the fractions of *Actinidia arguta* extracts prepared using preparative liquid (prep-LC) chromatography

α -glucosidase inhibitory activity (%) *				
Fraction 1	Fraction 2	Fraction 3	Fraction 4	Fraction 5
-1.5 \pm 3.91	-2.3 \pm 2.31	35.4 \pm 5.71	16.9 \pm 2.85	43.6 \pm 3.50

* final concentration : 0.46 mg/ml

⑤ LC-MS/MS 기반 산채 유래 대사체 분석

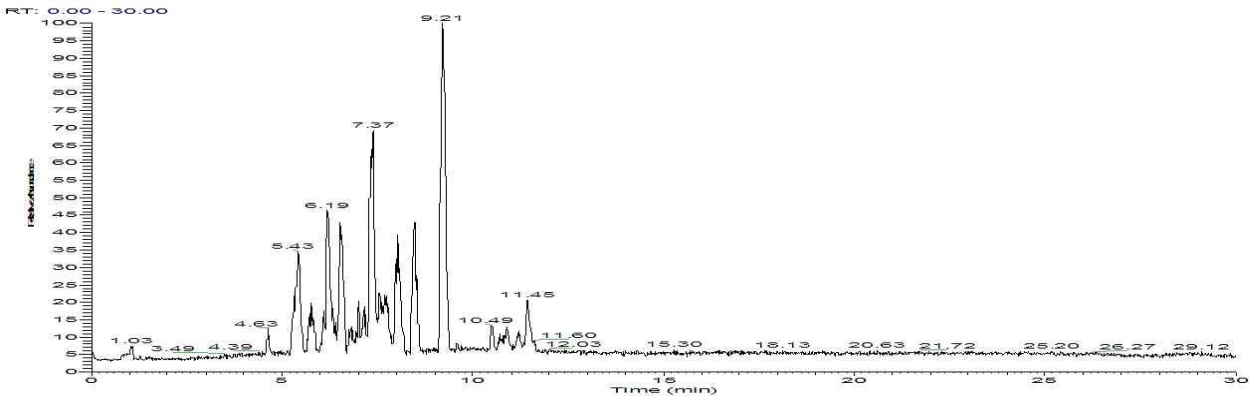
Prep-LC를 통해 분획하여 얻은 산채나물의 분획물들을 HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS를 이용하여 분석 수행하였다. 참나물의 경우, Subfraction 3은 HPLC 분석 결과 높은 intensity를 갖는 것으로 보아 다량의 compound를 함유하고 있지만 α -glucosidase 저해 활성은 거의 나타나지 않았으므로, 저해 활성이 높은 Subfraction 5와 비교 및 통계 분석하였다.

다래순의 경우, α -glucosidase 저해 활성이 낮은 Fraction 1, 2를 비교적 높은 저해 활성을 나타내는 Fraction 3과 Fraction 5와 비교하였으며, 산채나물 분획물들의 효율적인 항당뇨 유용 성분 동정을 위해 PCA (Principal component analysis)와 OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석을 실시하였다. 먼저 PCA 분석을 수행하여 분획물 간의 유사성과 차이성을 확인하여 경향을 분석하였으며, OPLS-DA를 통해 분획물 간의 차이를 최대화하여 유의성을 갖는 성분을 동정 및 screening을 진행하였다.

Fig. 3-1-11, 3-1-12은 Prep-LC를 이용하여 얻은 분획물 중 subfraction 3와 subfraction 5를 HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS로 분석한 결과로, 분획물 간에 서로 다른 양상의 chromatogram을 확인하였다. Negative와 Positive ion mode에서 모두 동일한 패턴으로 분석되었으며, Subfraction 3는 5-10 min (ACN 약 27-50%)에서, Subfraction 5는 10-20 min (ACN 약 50-70%)에서 elution 되었다. 이를 토대로 분획물 간의 compound 차이가 있음을 확

인할 수 있었으며, 해당뇨 유용 성분이 10-20 min (ACN 약50-70%)에서 측정되는 compound 로 상대적으로 비극성일 것으로 예측되었다.

Subfraction 3 , Negative ion mode



Subfraction 5 , Negative ion mode

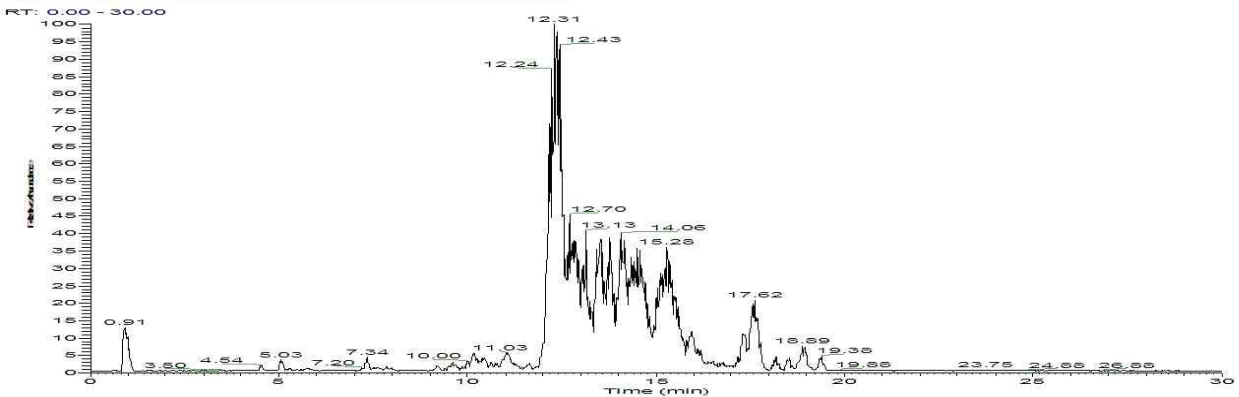
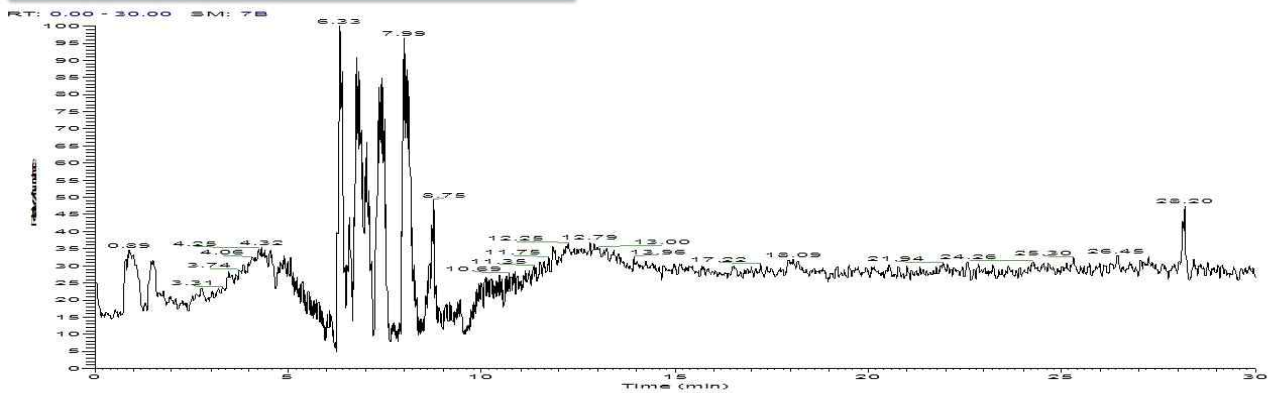


Fig. 3-1-11. TIC chromatography of HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ analysis for the subfraction 3 and 5 from 75% ethanol extract of *Pimpinella koreana* (negative ion mode).

Subfraction 3 , Positive ion mode



Subfraction 5 , Positive ion mode

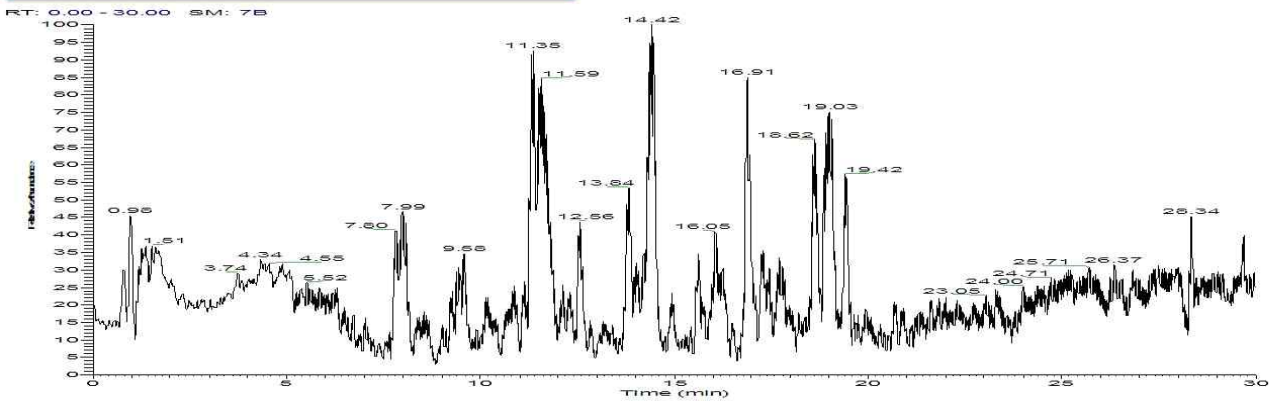


Fig. 3-1-12. TIC chromatography of HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ analysis for the subfraction 3 and 5 from 75% ethanol extract of *Pimpinella koreana* (positive ion mode).

Fig. 3-1-13, 3-1-14에서 나타난 바와 같이, HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS 분석에 나타난 대사체들의 다변량 통계분석을 실시하였다. Fig. 3-1-13에서 Subfraction 5는 PC 1을 기준으로 negative ion mode에서는 양의 방향에, positive ion mode에서는 음의 방향에 위치하는 것으로 나타나, 해당뇨 활성에 차이를 보이는 상이한 대사체의 존재를 반영하고 있었다. 또한 OPLS-DA 분석(Fig. 3-1-14)에 나타난 바와 같이, negative와 positive mode 모두에서 해당뇨 활성에 기여하는 대사체들을 확인할 수 있었으며, 이를 토대로 1% 유의 수준에서 유의적 차이를 나타내는 성분들을 screening 및 동정하여 이들 대사체와 혈당 조절 효능 간의 상관관계를 확인하였다.

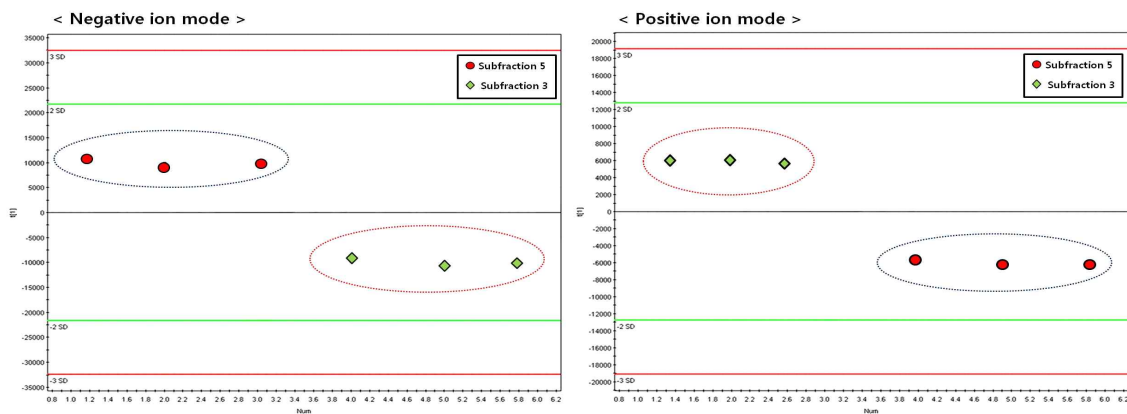


Fig. 3-1-13. PCA (Principal component analysis) analysis for the metabolites in the subfraction 3 and 5 from 75% ethanol extract of *Pimpinella koreana*.

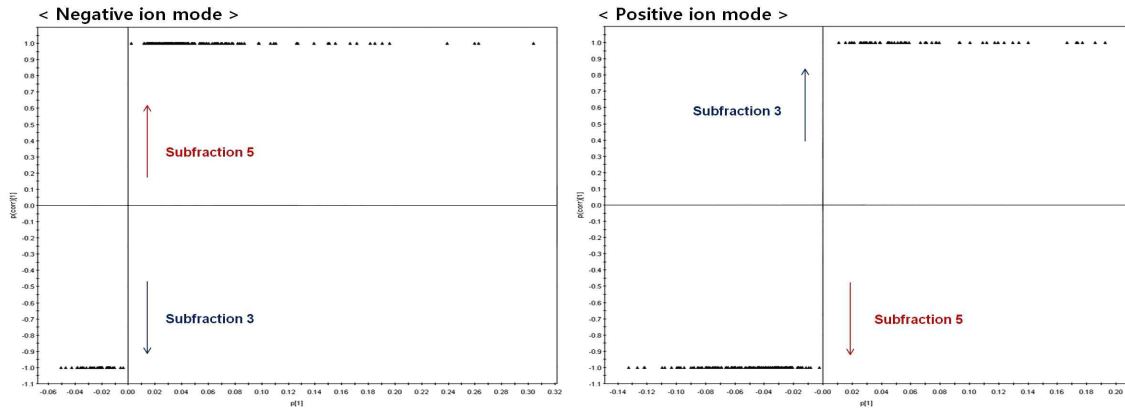
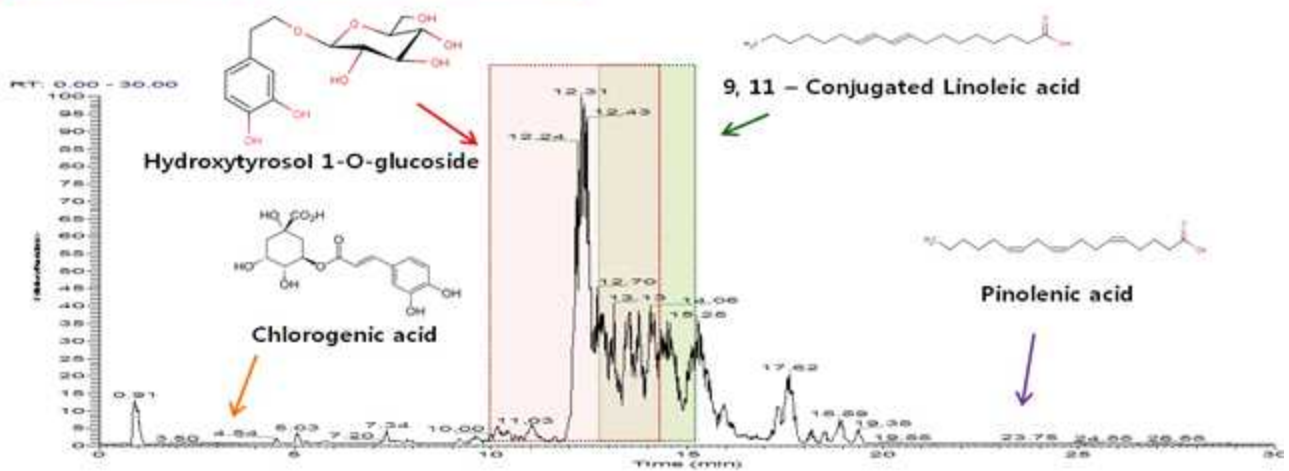


Fig. 3-1-14. OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) analysis for the metabolites in the subfraction 3 and 5 from 75% ethanol extract of *Pimpinella koreana*.

참나물 추출물의 성분 동정을 시행한 결과, Subfraction 3와 Subfraction 5에서 산채나물류 함유 유용 성분인 chlorogenic acid가 동정되었으며(Apati *et al.*, 2003), 선행 연구 자료를 통해 chlorogenic acid는 항당뇨 유용 성분으로 혈당 조절 효과를 나타내는 것이 확인되었다(Nicasio *et al.*, 2005, Aguilar-Santamaria *et al.*, 2009). 또한, 다변량 통계분석을 통해 Subfraction 3와 유의적으로 차이가 나는 성분들을 동정한 결과 negative ion mode에서는 9,11-conjugated linoleic acid와 pinolenic acid와 같은 지방산 계열과 hydroxytyrosol-1-O-glucoside 구조를 포함하고 있는 compound들이 주요 대사체로 분석되었으며, positive ion mode에서는 palmitic acid와 pinolenic acid를 함유하고 있는 것으로 확인할 수 있었다. Linoleic acid, linolenic acid, palmitic acid와 같은 지방산은 참나물 유용성분으로 알려져 있으며(Lee *et al.*, 2007), phenolic compound인 hydroxytyrosol-1-O-glucoside는 α -glucosidase의 활성을 저해함으로써 혈당 조절에 효과를 나타내는 것으로 보고되어 있다(Jemai *et al.*, 2009). 따라서 α -glucosidase 저해 활성 평가를 통해 참나물 추출물의 유용 성분 정제를 진행한 결과, Subfraction 5에서 항당뇨 유용 성분인 chlorogenic acid 외에도 후보 물질로 hydroxytyrosol-1-O-glucoside 구조를 포함하고 있는 phenolic compound와 지방산계열이 분리 정제되어 높은 α -glucosidase 저해 활성을 보이는 것으로 사료되었다.

Subfraction 5 , Negative ion mode



Subfraction 5, Positive ion mode

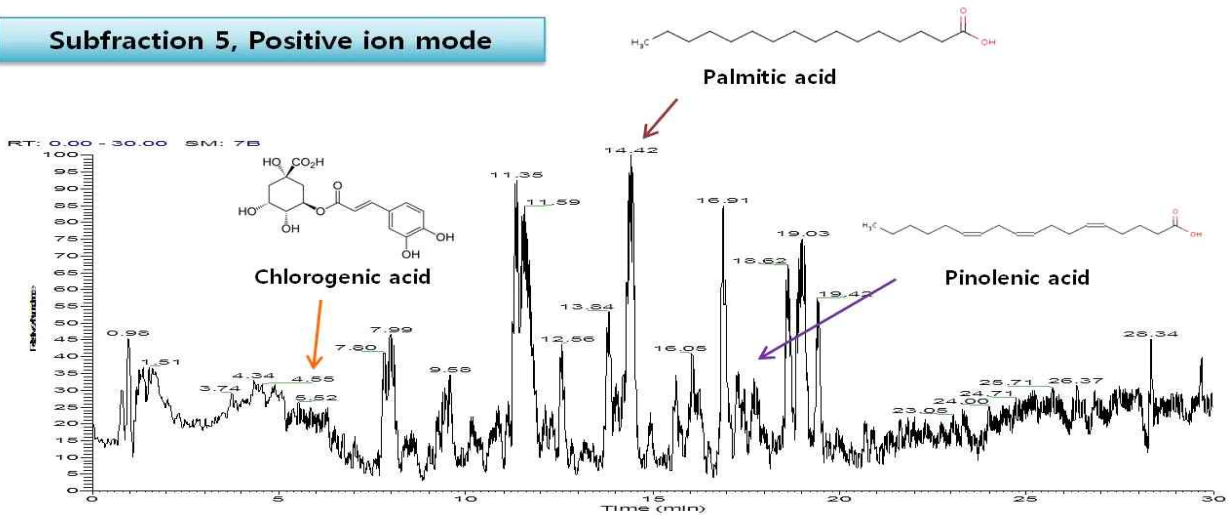


Fig. 3-1-15. TIC chromatography of HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ analysis for the subfraction 5 from 75% ethanol extract of *Pimpinella koreana*.

Fig. 3-1-16, 17, 18에서 나타난 바와 같이, HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS 분석에 나타난 다량 순 추출물 함유 대사체들의 다변량 통계분석을 실시하였다. Fig. 3-1-16에서 negative ion mode에서는 Fraction 1, 2는 PC 1, PC 2를 기준으로 모두 양의 방향에 위치하며, Fraction 3은 PC 1, PC 2를 기준으로 모두 음의 방향에 위치하며, Fraction 5는 PC 1을 기준으로 양의 방향에, PC 2를 기준으로 음의 방향에 위치하는 것으로 나타났다. Positive ion mode에서는 Fraction 1, 2는 PC 1을 기준으로 양의 방향에, PC 2를 기준으로 음의 방향에 위치하며, Fraction 3는 PC 1, PC 2를 기준으로 모두 양의 방향에 위치하며, Fraction 5는 PC 1, PC 2를 기준으로 모두 음의 방향에 위치하는 것으로 나타났다. 따라서 항당뇨 활성이 거의 나타나지 않은 Fraction 1, 2는 비슷한 양상으로 나타나며 Fraction 3와 Fraction 5는 Fraction 1, 2와는 다른 양상으로 항당뇨 활성에 차이를 보이는 상이한 대사체를 존재하고 있음을 반영하고 있었다. 또한 OPLS-DA 분석(Fig. 3-1-17, 3-1-18)에 나타난 바와 같이, negative와 positive mode 모두에서 항당뇨 활성에 기여하는 대사체들을 확인할 수 있었으며, 이를 토대로 5% 유의 수준에서 유의적 차이를 나타내는 성분들을 screening 및 동정하여 이들 대사체와 혈당 조절 효능 간의 상관관계를 확인하였다.

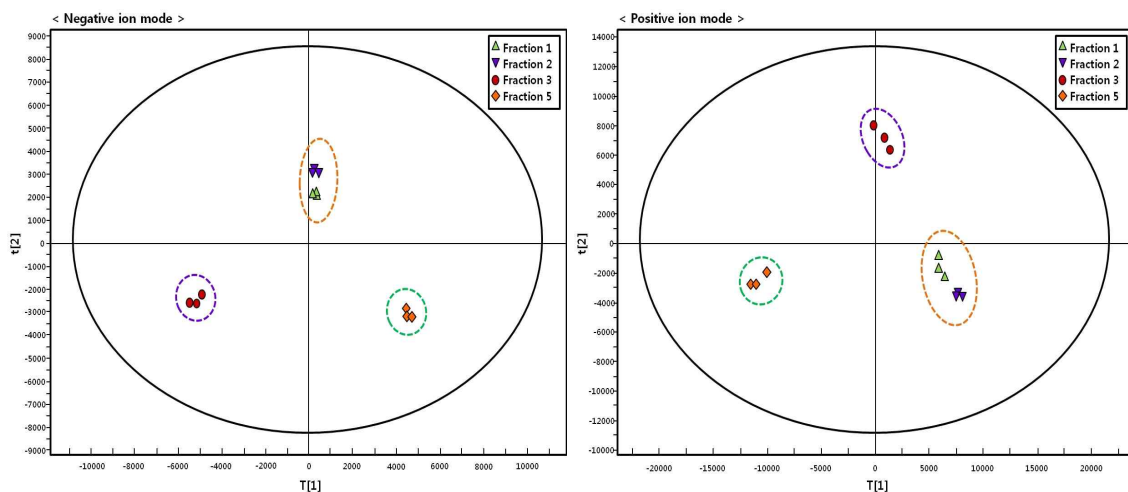


Fig. 3-1-16. PCA (Principal component analysis) analysis for the metabolites in the fractions from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta*.

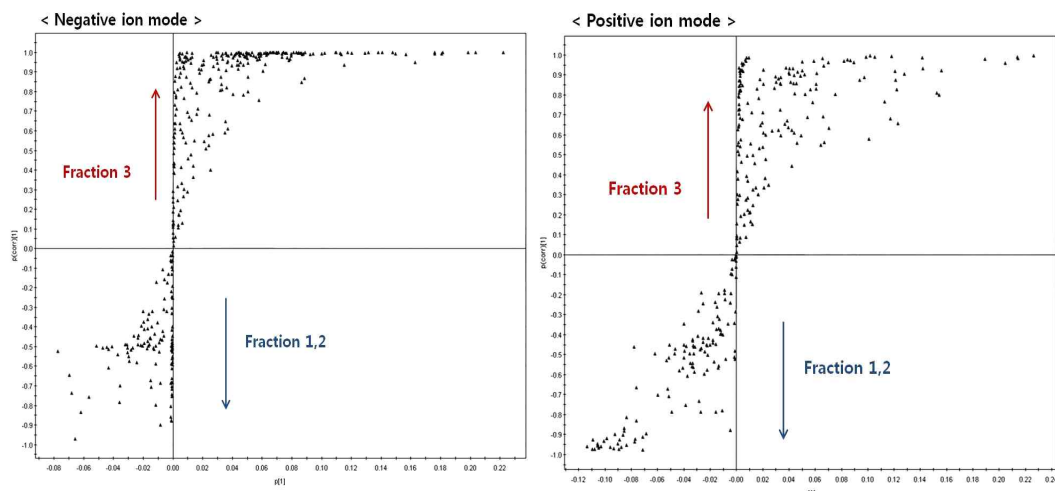


Fig. 3-1-17. OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) analysis for the metabolites in the fraction 1 and 2 versus 3 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta*.

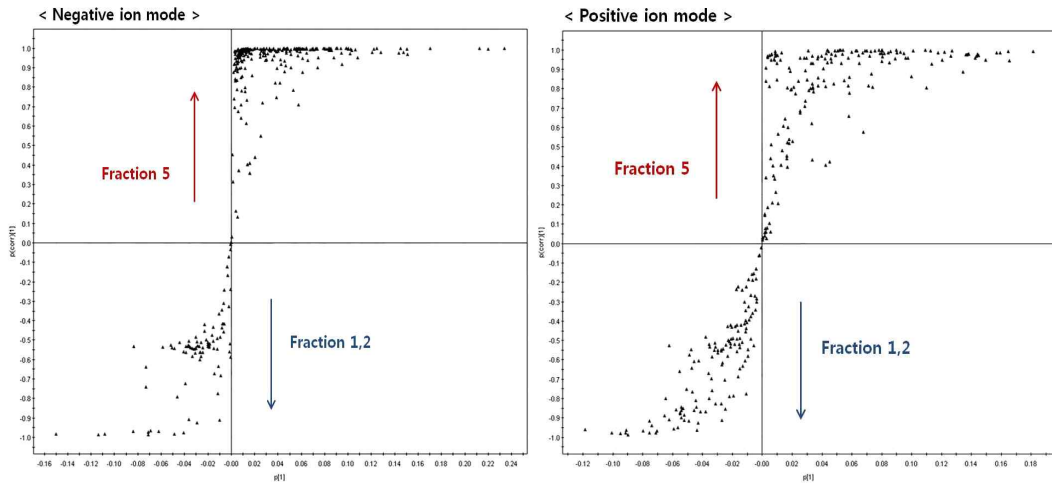
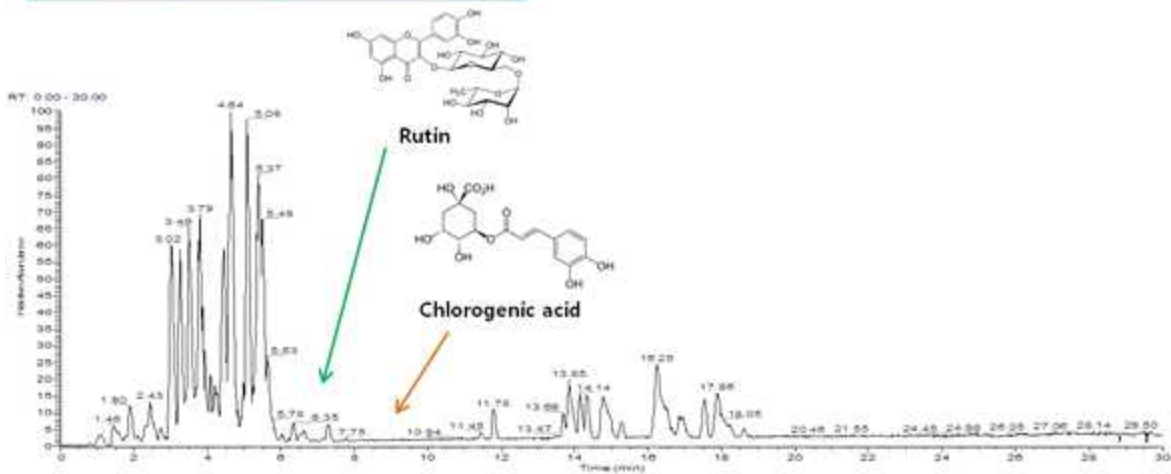


Fig. 3-1-18. OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) analysis for the metabolites in the fraction 1 and 2 versus 5 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta*.

다래순 추출물의 성분 동정을 시행한 결과, Fraction 3, 5에서 선행 연구 자료를 통해 항당뇨 유용 성분으로 알려진 chlorogenic acid가 동정되었다. 이는 분석된 항당뇨 유용 성분 중 참나물과 동일한 성분으로 이를 통해 chlorogenic acid가 산채나물 함유 유용 성분이라는 것이 확인되었다(Apati *et al.*, 2003). 또한, 다변량 통계분석을 통해 Fraction 1, 2와 유의적으로 차이가 나는 성분들을 동정한 결과 Fraction 3, negative ion mode에서는 flavonoid 계열인 rutin이 주요 대사체로 분석되었다. Fraction 5에서는 negative, positive ion mode 모두에서 flavonoid 계열인 isoquercitrin이 분석되었으며, isoquercitrin은 다래순의 항당뇨 유용 성분으로 보고되어 있다(Kurakane *et al.*, 2011). 따라서 α -glucosidase 저해 활성 평가를 통해 다래순 추출물의 유용 성분 정제를 진행한 결과, Fraction 3, 5에서 공통적으로 항당뇨 유용 성분인 chlorogenic acid가 분리 정제 되었으며 또한 후보 물질로 rutin과 isoquercitrin과 같은 flavonoid계열이 분리 정제 되어 높은 α -glucosidase 저해 활성을 보이는 것으로 사료된다. 본 연구는 대사체학 기법을 이용하여 참나물의 항당뇨 대사체를 분석한 최초의 시도로서, 향후 참나물과 다래순 및 산채나물의 항당뇨 유용 성분 분석에 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

Fraction 3, Negative ion mode



Fraction 3, Positive ion mode

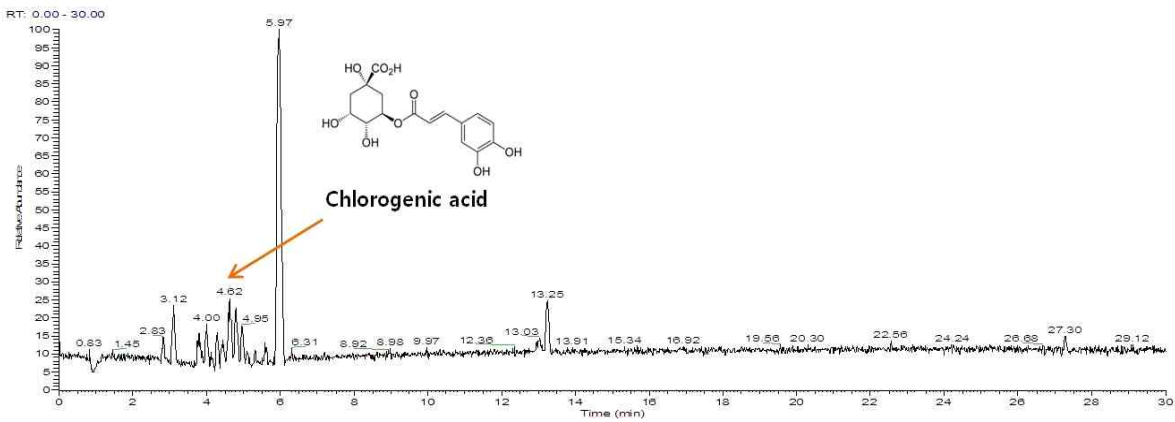
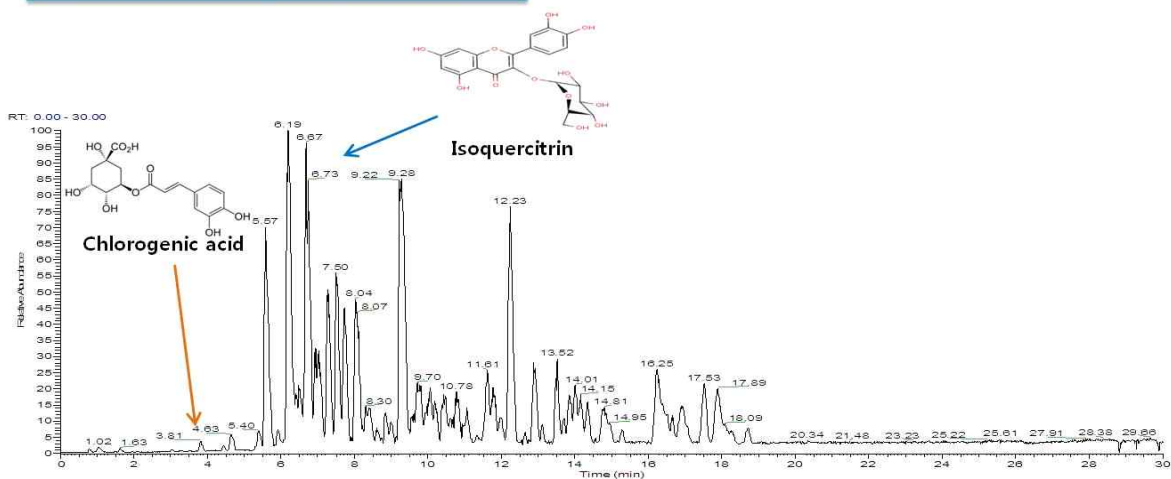


Fig. 3-1-19. TIC chromatography of HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ analysis for the fraction 3 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta*.

Fraction 5, Negative ion mode



Fraction 5, Positive ion mode

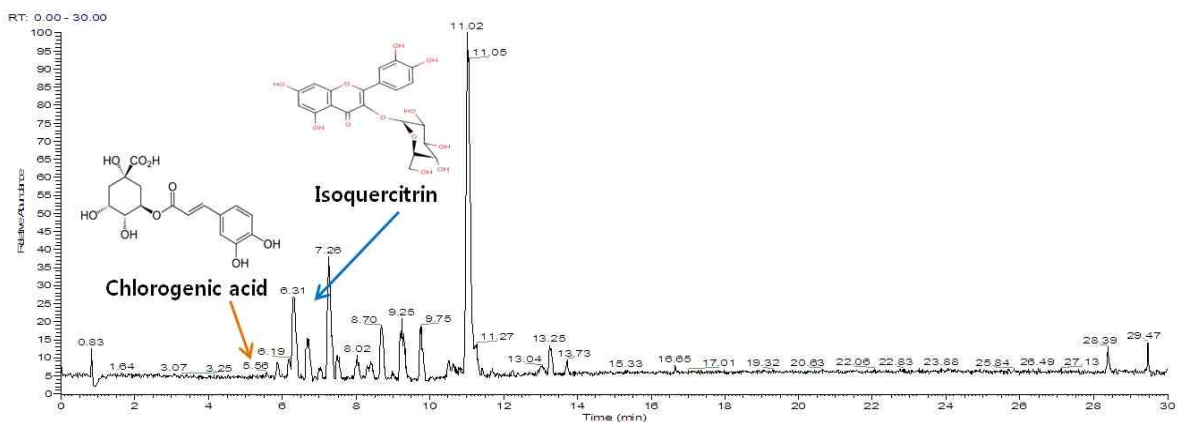


Fig. 3-1-20. TIC chromatography of HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ analysis for the fraction 5 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta*.

2. 산채 함유 항염증 활성성분의 분리 및 규명

1) 재료

제 3 세부과제에서 사용한 산채류는 제 1,2 세부 과제와 동일한 시료를 사용하였다.

2) 방법

(1) 산채 유래 항염증 대사체의 분리를 위한 최적 추출 조건 확립

① 산채나물 추출물의 제조

산채나물에 함유되어 있는 유용 대사체 추출을 위해 용매의 극성도에 따른 추출법을 이용하였다. 추출 용매로는 천연 물질 추출 시 가장 많이 이용되는 ethanol을 사용하였고, 이에 따라 D.W., 25% ethanol, 50% ethanol, 75% ethanol, 100% ethanol로 추출하였다. 동결건조 된 다래순 (*Actinidia arguta*) 시료 1g에 각각 200 mL의 용매를 넣고 12시간 동안 stirring하여 추출한 후 7000rpm, 4°C, 5분간 centrifugation (Hanil combi-514 R, Korea)하여 상등액을 취하였다. 여기서 얻은 상등액을 filter paper (Whatman, No.1)를 통해 여과한 후, 25% ethanol 추출물, 50% ethanol 추출물, 75% ethanol 추출물과 100% ethanol 추출물은 rotary evaporator (EYELA SB 1200, JAPAN)를 사용하여 D.W.로 용매 치환하여, D.W. 추출물과 함께 동결건조 (Ilshin Engineering Co.)시켰다. 이와 같은 전처리 과정을 통해 얻어진 추출물을 이용하여 실험을 진행하였다.

② 총 폴리페놀 함량 측정

산채나물의 Total polyphenol content는 Folin-Ciocalteu's reagent를 사용하여 측정하였다. 추출물을 동결 건조한 시료를 D.W.에 용해하여 사용하였고, gallic acid를 표준물질로 사용하여 standard curve를 구하였다. 실험 방법은 Fig. 3-2-1에 제시하였다.

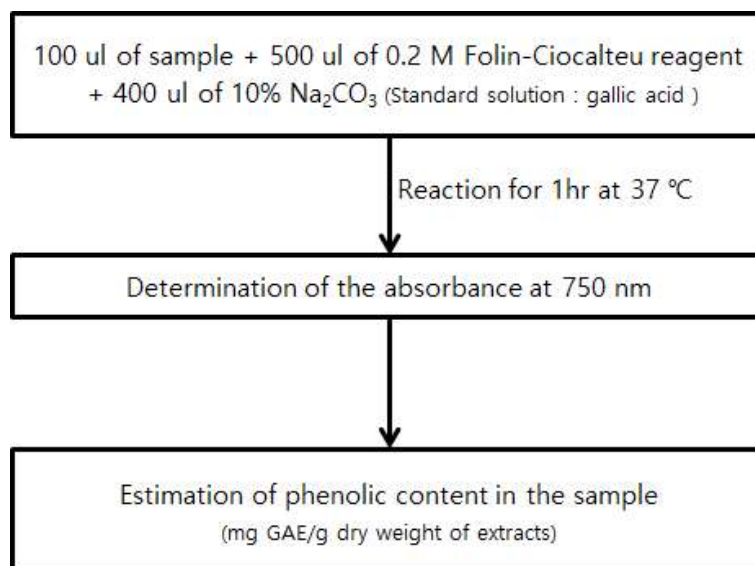


Fig. 3-2-1. Determination of total polyphenolic contents.

(2) Prep-LC를 이용한 유용 성분 분리 기반 확립

다래순 함유 유용 성분 분리를 위해 다래순 추출물을 Preparative HPLC (YMC LC-forte/R)를 이용하여 정제를 진행하였다. 컬럼은 C18 flash column (YMC-DispoPack AT ODS:40g, 50µm)와 C18 glass column (Kronlab Eco-plus 15 × 250 mm (ODS: 25g, 20µm)), C18 glass column (Kronlab Eco-plus 15 × 250 mm (ODS: 25g, 10µm))를 사용하였으며, UV 측정 파장은 270, 320, 400 nm에서 측정하였다. 이를 통해 얻은 fraction별 항염증 효과를 측정하여 유용 성분을 함유한 분획물을 확인하였다. 자세한 분석 조건은 위의 Fig. 3-2-2와 같았다.

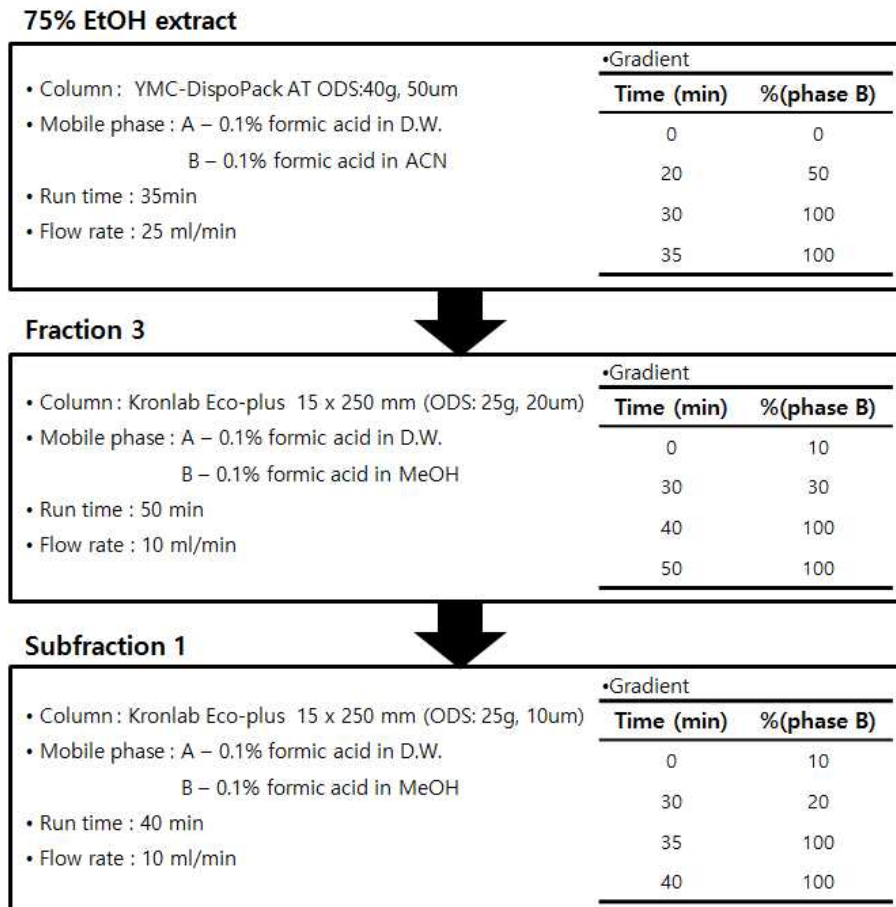


Fig. 3-2-2. Procedures for the partial purification of anti-inflammatory compounds from *Actinidia arguta* using preparative liquid (prep-LC) chromatography.

(3) 추출물의 *in vitro* 항염증 효과 평가

① RAW 264.7 세포 배양

RAW 264.7 세포를 10% fetal bovine serum (FBS), 1% penicillin & streptomycin, 1% HEPES가 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기(MCO-18AC-PK, Panasonic Healthcare Co., Ltd. Japan)에서 배양하였다.

② Nitric Oxide 생성량 측정

NO 함량을 측정하기 위하여 96 well plate에 RAW 264.7 cell을 분주하고 배양한 후 Lipopolysaccharide (LPS)와 sample을 동시에 처리하였다. sample은 100 mg/mL의 농도로

DMSO에 녹인 후 0.2 μ m filter로 여과하여 배지로 희석하여 사용하였다. NO 함량은 세포 배양 상등액을 Griess reagent를 사용하여 반응 시킨 후 micro plate reader (Molecular devices, CA, USA)로 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrite를 표준물질로 사용하여 standard curve를 구하였다. 자세한 실험 방법은 Fig. 3-2-3에 제시하였다.

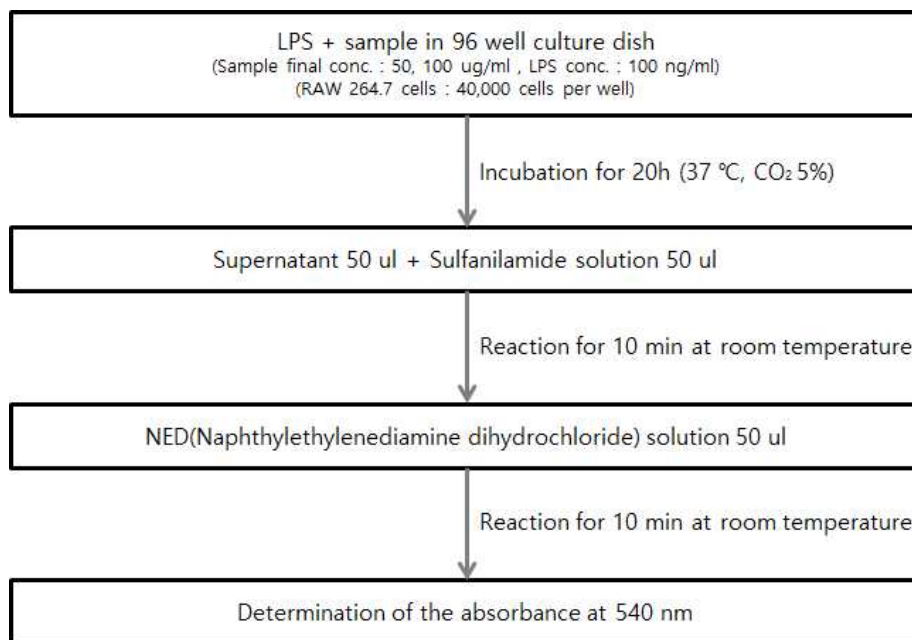


Fig. 3-2-3. Determination nitric oxide (NO) production from LPS-induced RAW 264.7 cell.

③ 단백질 발현 수준 측정(Western Blotting)

다래순 추출물의 유용 성분에 의한 단백질의 발현 억제 수준을 측정하기 위해 western blot assay를 하였다. 60 mm cell culture dish에 RAW 264.7 cell을 800,000 cells/well의 농도로 분주하여 배양한 후 LPS와 sample을 동시에 처리하였다. 37°C, 5% CO₂에서 20시간 배양 후 cell lysate를 얻었다. BCA protein assay로 cell lysate의 단백질 농도를 측정하여 40 μ g protein을 SDS-PAGE로 분리한 후 PVDF membrane으로 이동시켰다. membrane을 blocking 한 후 primary antibody (iNOS, COX-2, beta-actin)를 첨가하여 4°C에서 overnight 반응시켰다. secondary antibody와 상온에서 1시간 반응시킨 후 ECL과 EZ-Caputre MG (ATTO, Tokyo, Japan)로 단백질 발현 수준을 가시화 하였다. 단백질 발현 수준은 CS analyzer(ver. 3.0, ATTO)로 정량하였다.

(4) LC 기반 산채나물의 유용 성분 분석법 확립

다래순 추출물의 유용 성분 분석을 위해 HPLC (Dionex HPLC-3000, Dionex corp., Sunnyvale, CA, USA)와 LC-ESI-Ion trap-MS/MS를 이용하였으며 분석 용매로는 0.1% formic acid in D.W.와 0.1% formic acid in ACN을 사용하였다. 분석 시간은 50분으로, gradient를 이용하여 분석하였다. 자세한 분석 조건은 Fig. 3-2-4와 Fig. 3-2-5에 제시하였다.

- Column : YMC-Triart C18 (5 um), 250 x 4.6 mm
- Mobile phase : A – 0.1% formic acid in D.W.
B – 0.1% formic acid in ACN
- Run time : 50 min
- Flow rate : 1 ml/min
- Injection volume : 10 ul
- Sample concentration : 5 mg/ml
- Gradient

Time (min)	%(phase B)
0	0
30	30
40	100
45	0
50	0

Fig. 3-2-4. Analytical conditions for anti-inflammatory compounds from *Actinidia arguta* using HPLC.

- Column : YMC-Triart C18 (1.9 um), 100 x 2.0 mm
- Mobile phase : A – 0.1% formic acid in D.W.
B – 0.1% formic acid in ACN
- Run time : 50 min
- Flow rate : 0.3 ml/min
- Injection volume : 10 ul
- Sample concentration : 5 mg/ml
- Gradient

Time (min)	%(phase B)
0	0
30	30
40	100
45	0
50	0

- Detector : PDA detector (Accela 80 Hz PDA detector)
- Ion trap : LTQ-Velos ion trap mass spectrometer
- Electrospray ionization
: heat electrospray ionization interface
(Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA)
- Capillary temperature : 275 °C
- sheath gas : 35 units
- auxiliary gas : 5 units
- Source voltage : 5 kV

Fig. 3-2-5. Analytical conditions for anti-inflammatory compounds from *Actinidia arguta* using LC-ESI-Ion trap-MS/MS.

3) 결과

(1) 산채 유래 항염증 대사체의 분리를 위한 최적 추출 조건 확립

추출 용매에 따른 다래순의 추출 수율은, D.W. 추출물 14.8%, 25% ethanol 추출물 13.4%, 50% ethanol 추출물 11.3%, 75% ethanol 추출물 20.8%, 100% ethanol 추출물에서 7.4%로, 75% ethanol 추출물의 수율이 가장 높았다(Table 3-2-1).

Table 3-2-1. Extraction yield of the *Actinidia arguta* using various solvents

	D.W. 추출물	25% EtOH 추출물	50% EtOH 추출물	75% EtOH 추출물	100% EtOH 추출물
Yield (%)	14.8	13.4	11.3	20.8	7.4

추출용매에 따른 각 추출물 별 총 페놀 함량 측정 결과, Table 3-2-2와 같이 D.W. 추출물 109.6, 25% ethanol 추출물 102.3, 50% ethanol 추출물 99.6, 75% ethanol 추출물 91.7, 100% ethanol 추출물에서 65.0로, 100% ethanol 추출물의 총 페놀 함량이 가장 낮았다.

Table 3-2-2. Total polyphenolic contents in the *Actinidia arguta* extracts prepared with different solvents

	D.W. 추출물	25% EtOH 추출물	50% EtOH 추출물	75% EtOH 추출물	100% EtOH 추출물
mg GAE / g dry weight of extract	109.6±0.6	102.3±0.9	99.6±3.3	91.7±3.1	65.0±3.1

(2) 추출물의 *in vitro* 항염증 효과 평가

추출용매에 따른 각 추출물 별 NO 생성 저해 활성 측정 결과, Fig. 3-2-6과 같이 전체적으로 LPS만 처리한 군에 비해 NO 생성이 저해되었다. 특히 75% ethanol 추출물은 50 µg/mL의 농도에서 약 43%의 우수한 NO 생성 저해 활성을 보였다. Table 3-2-1과 Table 3-2-2의 결과를 토대로 Fig. 3-2-6의 결과를 비교하였을 때, 75% ethanol이 산채나물 함유 유용 대사체 추출용매로 가장 효율적이며 적합하다고 판단하였다.

*Actinidia arguta*는 다래나무과의 낙엽 덩굴나무로 한국, 일본, 중국 등지에 분포한다. 열매는 hardy kiwi, kiwi berry, baby kiwi 등으로 불리며, 항산화 및 증식 억제 작용(Zuo et al., 2012)과 열매 추출물에 함유된 페놀 화합물의 항산화 및 항염증 활성(Lim et al., 2006) 등 국내외 많은 연구가 보고되어 있다. 또한 다래순의 줄기는 항산화, 항당뇨 및 항염증 활성(Lee et al., 2014; Kim and Song, 2013)과 줄기 추출물에서 유래된 (+)-Catechin과 (-)-Epicatechin의 골수세포의 증식 증진 효과(Takano et al., 2003)에 대한 연구 등이 보고되어 있다. 다래순은 *A. arguta*의 어린 순으로 전통적으로 나물로써 섭취하였으며, 민간에서 소화불량, 급성위염, 류마티즘, 중풍 치료제 등으로 사용되었다. 다래순은 국내에서 항산화 및 항염증 효과(Kwak and Lee, 2014)에 대한 연구가 보고되어 있으나, 아직 다래순에 함유된 항염증 활성 성분에 대한 연구는 미비한 실정이다.

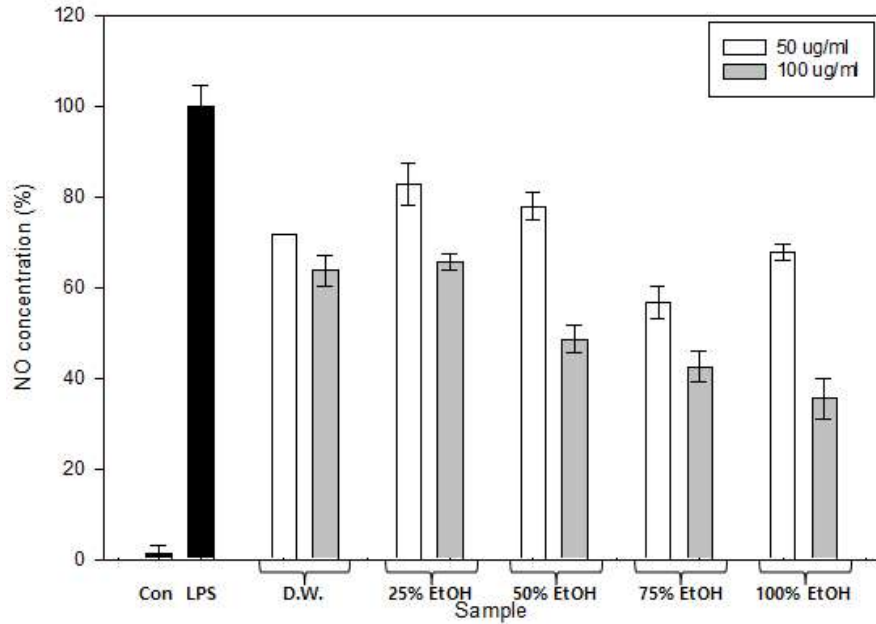


Fig. 3-2-6. Effect of *Actinidia arguta* extracts on the nitric oxide (NO) production in LPS-induced RAW 264.7 cell.

(3) Prep-LC를 이용한 유용 성분 분리 기반 확립

① 다래순 75% ethanol 추출물의 분리 및 정제

다래순 75% ethanol 추출물을 Prep-LC로 0.1% formic acid in D.W.와 0.1% formic acid in ACN을 이동상으로 이용하여 C18 flash column (YMC-DispoPack AT ODS:40g, 50 μ m)을 통해 crude한 정제를 하였다. 270, 320, 400 nm에서 흡광도를 측정하여 다른 양상을 나타내는 구간을 나누어 총 4개의 fraction을 얻었다. 4개의 fraction 모두 0.1% formic acid in ACN 0-50% 구간에 측정되어 75% ethanol 추출물의 성분들이 비교적 극성 성질을 가지는 것을 알 수 있었다. 이를 통해 각 Fraction 별 항염증 활성 확인을 위해 NO 생성 저해 활성을 측정하였다.

50, 100 μ g/mL의 농도로 NO 생성 저해 활성을 측정한 결과, Fraction 3이 50 μ g/mL에서 약 61%, 100 μ g/mL에서 약 38%로 가장 높은 저해 활성을 보였다. 따라서 Fraction 3에 항염증 유용 성분이 존재할 것으로 예상되었으며, Fraction 3으로 다음 분리 정제를 진행하였다.

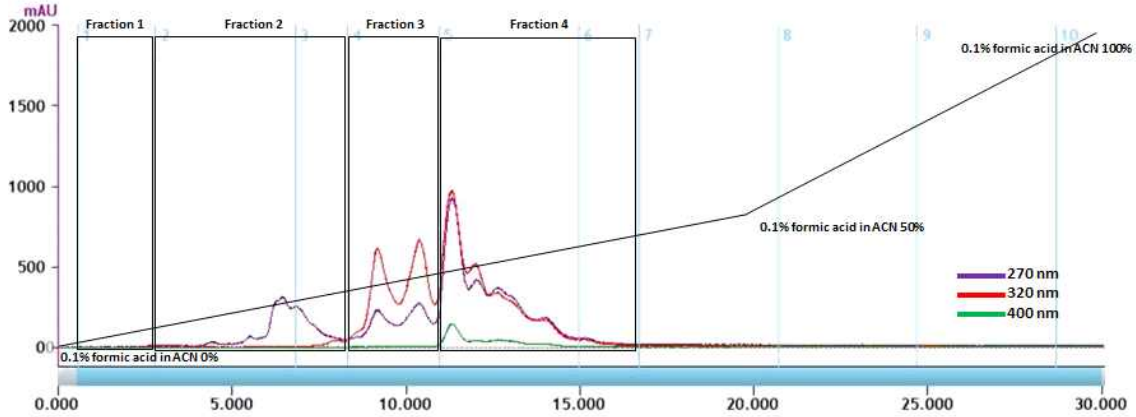


Fig. 3-2-7. Preparative liquid (prep-LC) chromatography of the 75% ethanol extract of *Actinidia arguta*.

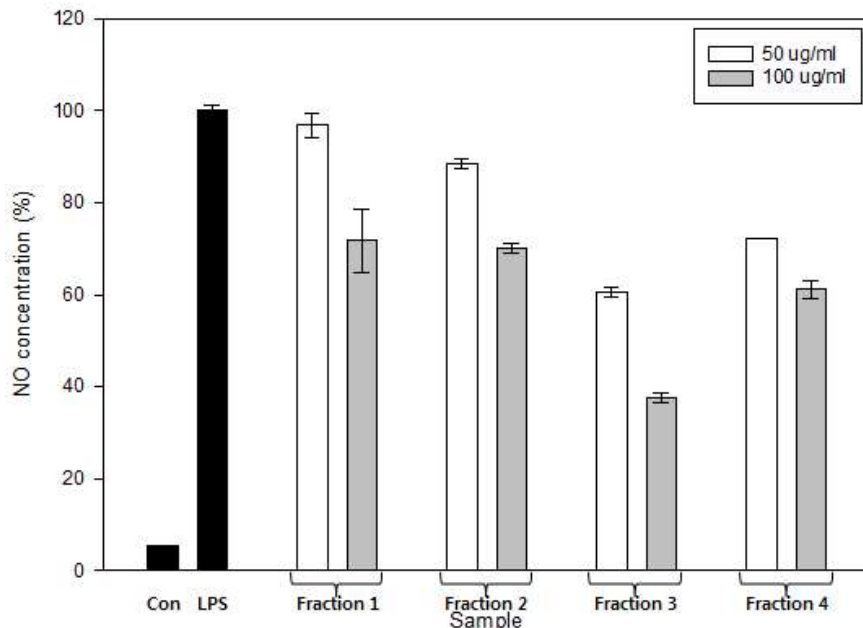


Fig. 3-2-8. Effect of the fractions of *Actinidia arguta* extract prepared using preparative liquid (prep-LC) chromatography on the nitric oxide (NO).

② Fraction 3의 분리 및 정제

높은 저해 활성을 나타내는 Fraction 3의 효율적인 유용 성분 분리를 위해 0.1% formic acid in D.W.와 0.1% formic acid in methanol을 이동상으로 이용하여 C18 glass column (particle size : 20 μm)을 통해 분석시간 40분 동안 총 4개의 subfraction을 얻었다. 위의 Fig. 3-2-7에서 제시한 chromatogram과 동일하게 아래의 Fig. 3-2-9에서도 Fraction 3은 270, 320 nm에서 특이적인 흡광도를 나타내었으며, 전체적으로 320 nm에서 intensity가 높게 측정되었다. 각 분획물들을 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 NO 생성 저해 활성을 측정한 결과, Fig. 3-2-10에 제시한 것과 같이 Subfraction 1은 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 약 83%, 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 약 69%의 저해활성을 나타내었으며 다른 subfraction들에 비해 상대적으로 높은 활성을 보였다. 따라서 subfraction 1를 이용하여 다음 분리 정제를 진행하였다.

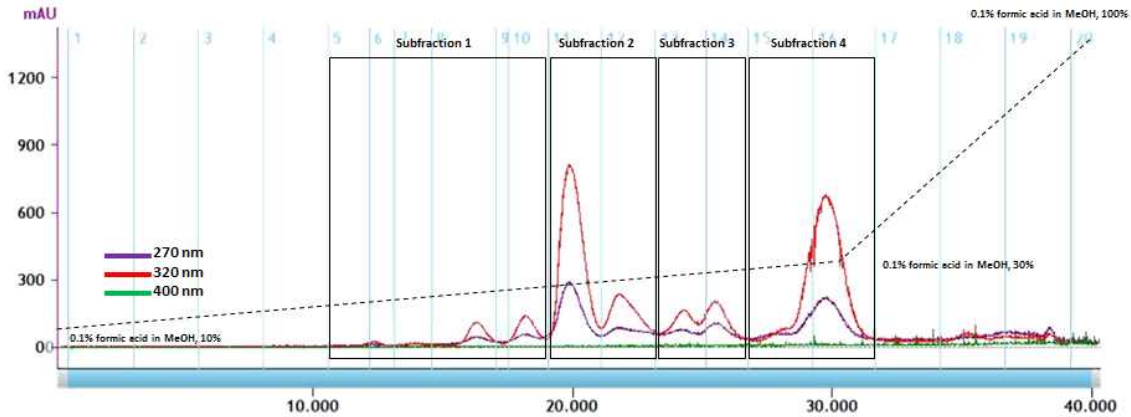


Fig. 3-2-9. Sub-fractionation of the fraction 3 from *Actinidia arguta* extracts using preparative liquid (prep-LC) chromatography.

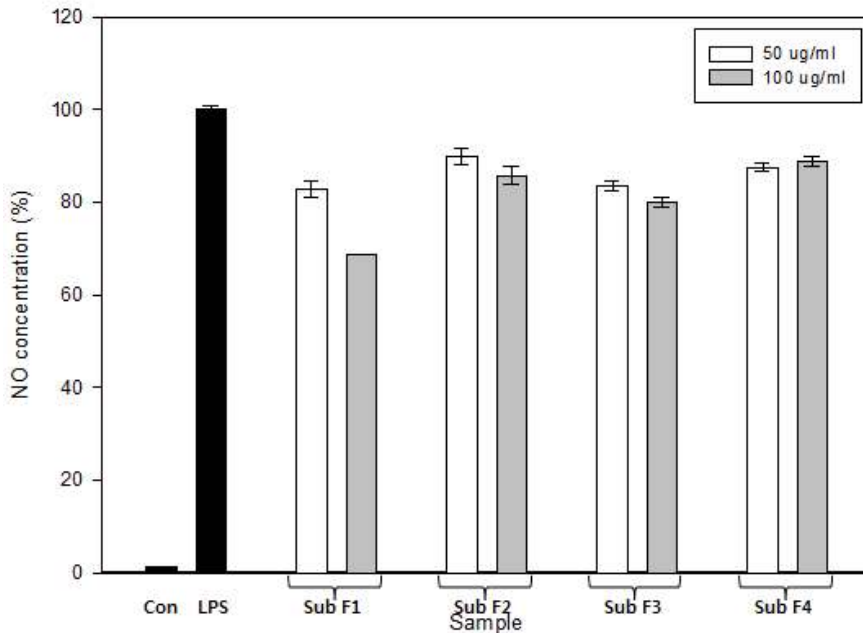


Fig. 3-2-10. Effect of the sub-fractions from *Actinidia arguta* extract prepared using preparative liquid (prep-LC) chromatography on the nitric oxide (NO) production in LPS-induced RAW 264.7 cell.

③ Subfraction 1의 분리 및 정제

가장 높은 저해 활성을 나타낸 Subfraction 1은 Fig. 3-2-9에 제시한 chromatogram과 같이 0.1% formic acid in methanol 약 17-23% 구간에서 얻은 분획물로서 비교적 높은 극성도를 가지는 성분들이므로 판단되었다. 따라서 비교적 극성이 높은 유용 성분을 효율적으로 분리하기 위해 0.1% formic acid in D.W.와 0.1% formic acid in methanol을 이동상으로 이용하였으며, C18 glass column (particle size : 10 μ m) 통해 분석시간 총 30분 동안 0.1% formic acid in methanol 10%에서 20%로 용매 기울기를 완만하게 하여 총 7개의 sub-subfraction을 얻었다. 각 분획물들을 50, 100 μ g/mL의 농도로 NO 생성 저해 활성을 측정한 결과, 아래 Fig. 3-2-12에 제시한 바와 같이 subfraction 1-3이 50 μ g/mL에서 약 65%, 100 μ g/mL에서 약

100%로 다른 sub-subfraction들에 비해 높은 저해 활성을 보였다.

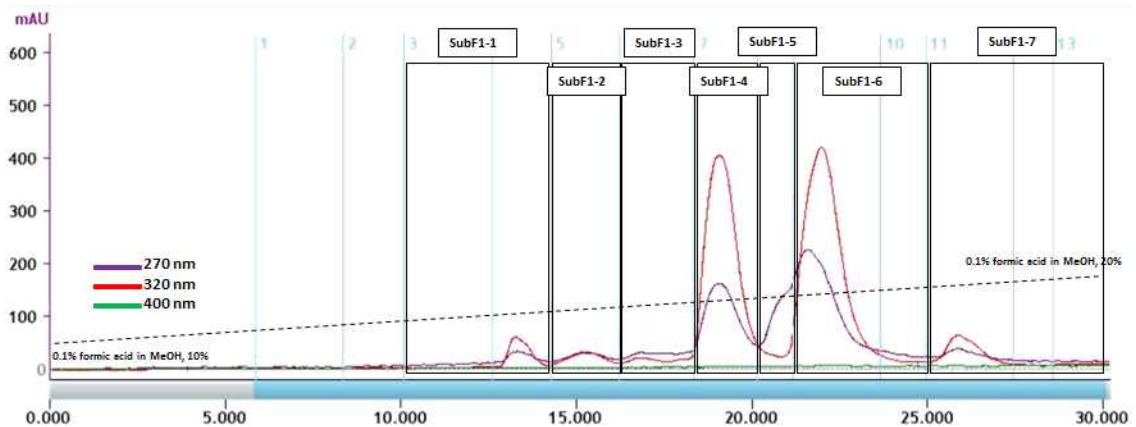


Fig. 3-2-11. Partial purification of the sub-fraction 1 from *Actinidia arguta* extracts using preparative liquid (prep-LC) chromatography.

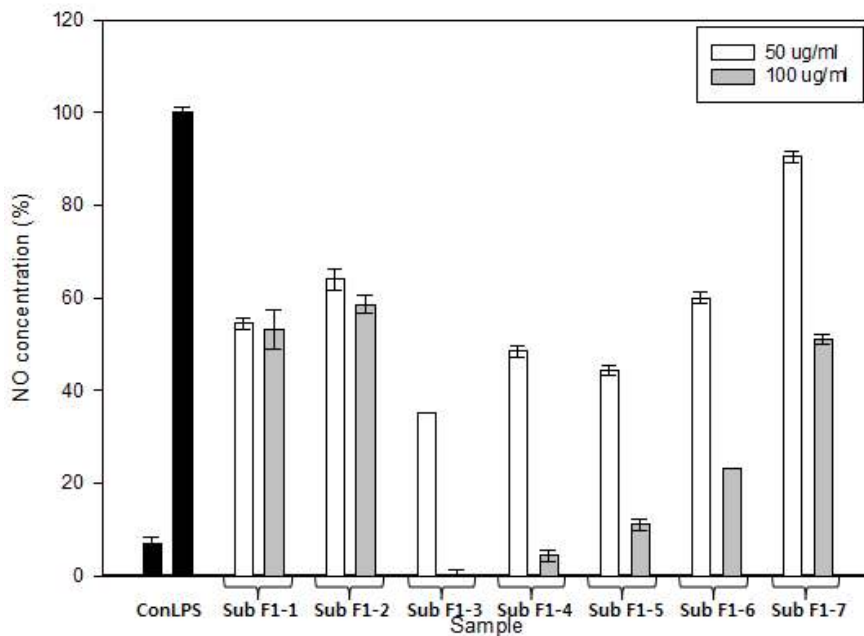


Fig. 3-2-12. Effect of the partially purified sub-fractions from *Actinidia arguta* extracts prepared using preparative liquid (prep-LC) chromatography on the nitric oxide (NO) production in LPS-induced RAW 264.7 cell.

(4) 추출물 및 분획물의 단백질 발현 억제 활성

최종적으로 가장 높은 NO 생성 저해 활성을 가진 Subfraction 1-3과 나머지 분획물들을 100 μ g/mL의 농도로 cell에 처리하여 western blot assay를 진행하였다. 모든 분획물이 iNOS의 발현을 억제하였지만 COX-2의 발현은 억제하지 않았다(Fig. 3-2-13). Western blot assay 결과를 CS analyzer(ver. 3.0, ATTO)로 정량한 결과는 Fig. 3-2-14에 제시하였다.

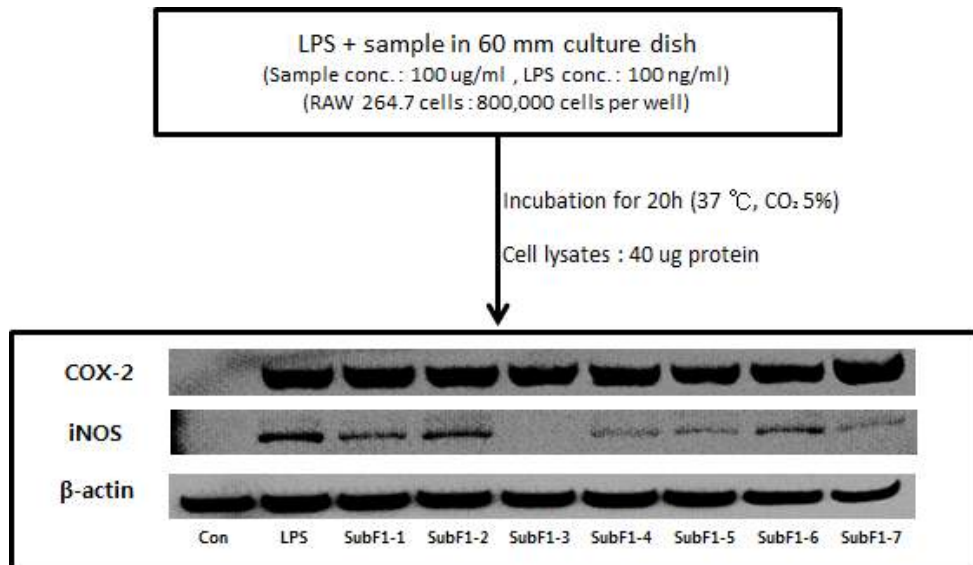


Fig. 3-2-13. Effect of the partially purified sub-fractions from *Actinidia arguta* extracts on expression levels of iNOS and COX-2 proteins in LPS-induced RAW 264.7 cell.

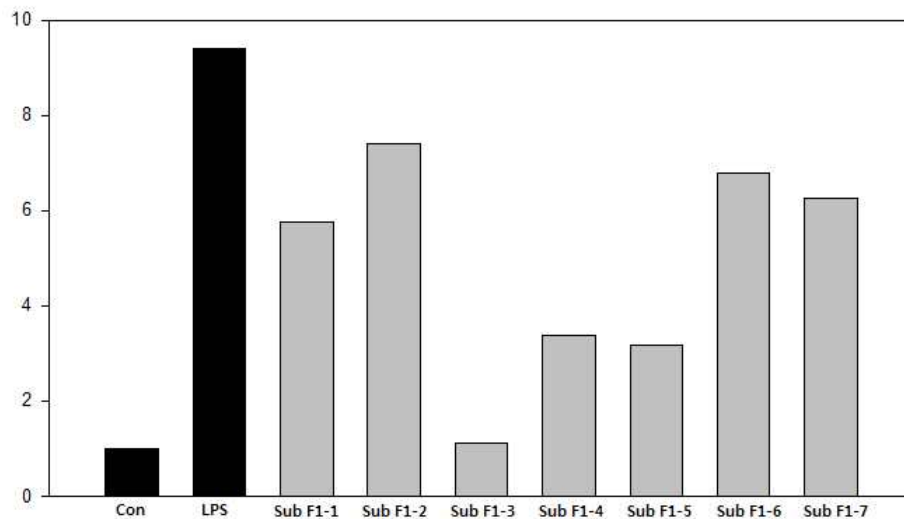


Fig. 3-2-14. Comparison of the iNOS protein expression in LPS-induced RAW 264.7 cell by the partially purified sub-fractions from *Actinidia arguta* extracts.

정량 결과 Fig. 3-2-12에 제시한 NO 저해활성 결과와 유사한 경향을 나타내었으며, subfraction 1-3이 가장 높은 iNOS 발현 억제능을 보였다. 이를 통해 subfraction 1-3이 iNOS의 발현을 조절함으로써 NO의 생성 또한 억제 시키는 것임을 알 수 있었다.

75% ethanol 추출물과 가장 NO 생성 저해 활성이 높았던 분획물들을 50 μg/mL의 농도로 cell에 처리하여 western blot assay를 진행하였다. 모든 분획물이 iNOS의 발현을 억제하였으며, 정제과정이 진행될수록 iNOS 발현 억제 수준이 증가하였다(Fig. 3-2-15). Western blot assay 결과를 CS analyzer로 정량한 결과는 Fig. 3-2-16에 제시하였다.

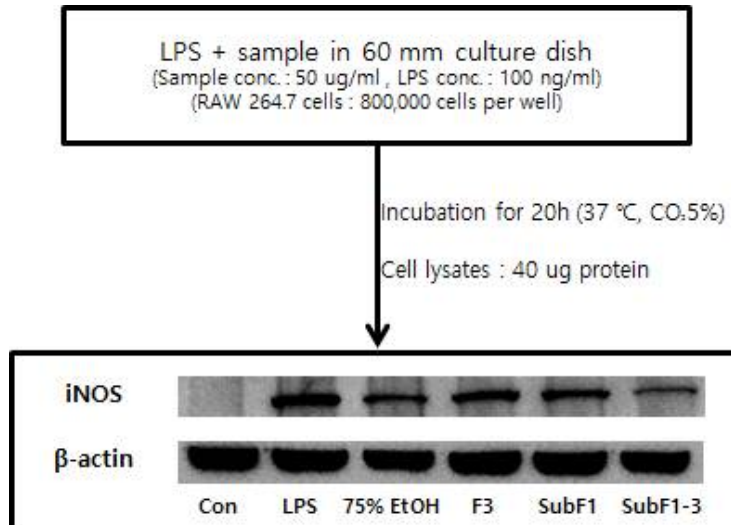


Fig. 3-2-15. Comparison the suppression on iNOS expression in LPS-induced RAW 264.7 cell with *Actinidia arguta* extract and its partially purified fractions.

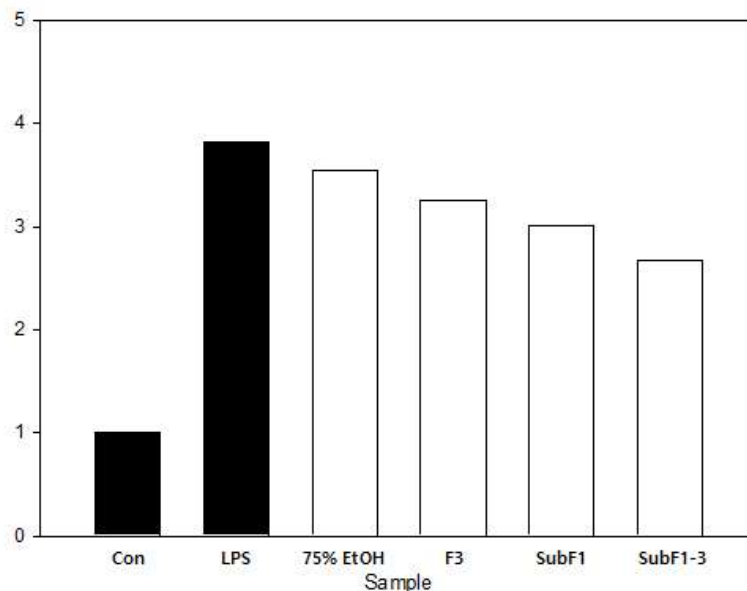


Fig. 3-2-16. Comparative analysis of the suppression on iNOS expression in LPS-induced RAW 264.7 cell with *Actinidia arguta* extract and its partially purified fractions.

(5) LC 기반 산채나물의 유용 성분 분석법 확립

① HPLC를 이용한 다래순의 유용 성분 분석

75% ethanol 추출물과 가장 NO 생성 저해 활성이 높았던 분획물들을 HPLC로 분석한 결과 Fig. 3-2-17과 Fig. 3-2-18에 제시된 것과 같이 UV 270 nm와 320 nm에서 retention time 12.5분에서 15분 사이에 검출되는 성분이 최종적으로 정제되었으며, 항염증 유용 성분이 이 구간에 존재할 것으로 예상되었다.

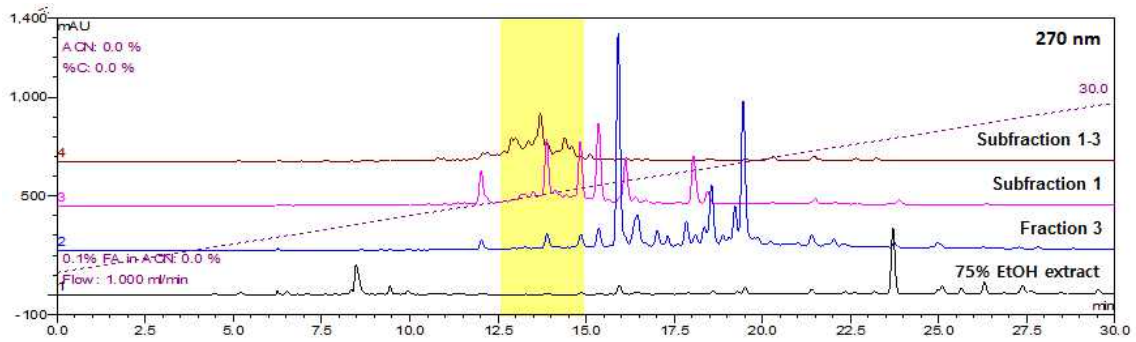


Fig. 3-2-17. HPLC chromatograms for the *Actinidia arguta* extract and its partially purified fractions chased with 270 nm PDA detector.

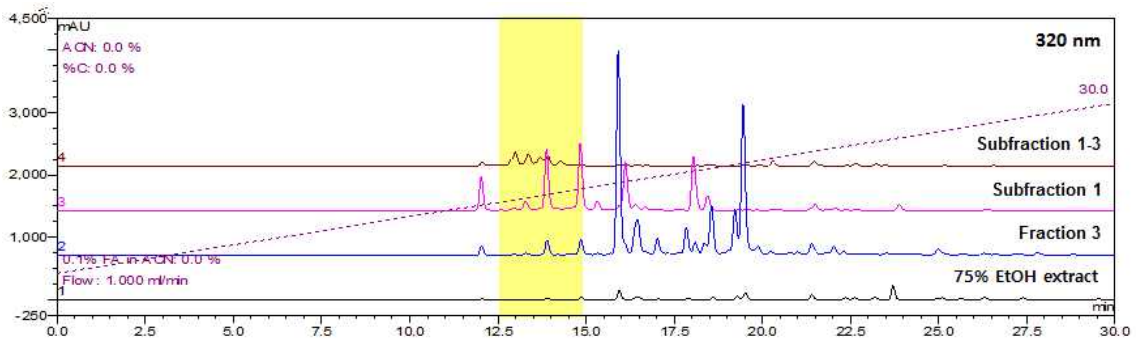


Fig. 3-2-18. HPLC chromatograms for the *Actinidia arguta* extract and its partially purified fractions chased with 320 nm PDA detector.

② LC-ESI-Ion trap-MS/MS를 이용한 다래순의 유용 성분 분석

Prep-LC를 이용하여 얻은 분획물 subfraction 1-3을 HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS로 분석한 결과를 나타낸 Chromatogram을 Fig. 3-2-19, Fig. 3-2-20에 제시하였다.

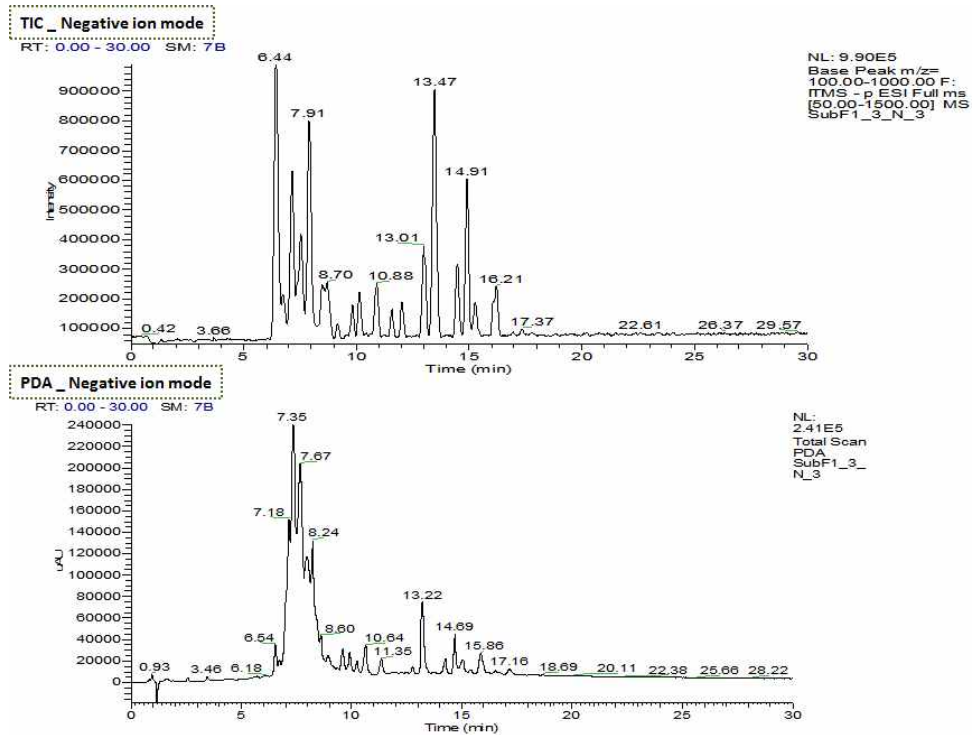


Fig. 3-2-19. TIC chromatography of HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ analysis for the subfraction 1-3 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (negative ion mode).

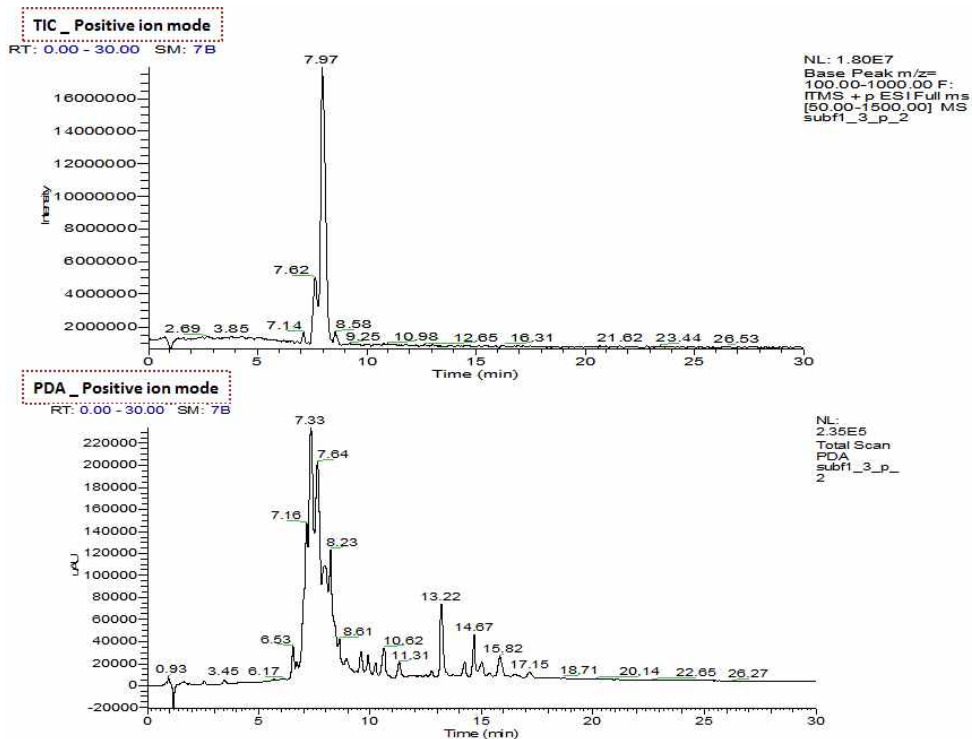


Fig. 3-2-20. TIC chromatography of HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ analysis for the subfraction 1-3 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (positive ion mode).

Fig. 3-2-19에 제시된 것과 같이 negative ion mode의 TIC와 PDA 모두 retention time 6분에서 16분 사이에 대사체들이 검출되었다. 또, Fig. 3-2-20에 제시된 것과 같이 positive ion mode의 TIC에서는 6분에서 9분 사이에 대사체들이 검출되었고, PDA에서는 6분에서 16분 사이

에 대사체들이 검출되었다. 위와 같은 subfraction 1-3의 HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS 분석결과와 나머지 sub-subfraction들의 HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS 분석결과를 통해 subfraction 1-3의 주요 항염증 활성 대사체를 동정하기 위해 다변량 통계 분석을 실시하였다.

③ 다래순의 유용 성분 동정을 위한 통계 분석

다래순 분획물들의 효율적인 항염증 유용 성분 동정을 위해 PCA (Principal component analysis)와 OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석을 실시하였다. 먼저 PCA 분석을 수행하여 분획물 간의 유사성과 차이성을 확인하여 경향을 분석하였으며, OPLS-DA를 통해 분획물 간의 차이를 최대화하여 유의성을 갖는 성분을 동정 및 screening을 진행하였다.

Fig. 3-2-21, 3-2-22에 나타난 바와 같이, HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS 분석에 나타난 대사체들의 다변량 통계분석을 실시하였다. PCA 분석 결과 negative ion mode에서는 subfraction 1-3, 5, 7은 PC 1, PC 2를 기준으로 모두 음의 방향에 위치하며, subfraction 1-1, 2는 PC 1 기준으로 음의 방향에, PC 2 기준으로 양의 방향에 위치하며, subfraction 1-4는 PC 1, PC 2를 기준으로 모두 양의 방향에 위치하며, subfraction 1-6은 PC 1을 기준으로 양의 방향에, PC 2를 기준으로 음의 방향에 위치하는 것으로 나타났다. positive ion mode에서는 subfraction 1-3이 PC 1 기준으로 음의 방향에, PC 2 기준으로 양의 방향에 위치하였으며, subfraction 1-5가 이와 같은 방향에 위치하는 것으로 나타났다. 따라서, subfraction 1-3을 제외한 나머지 sub-subfraction들을 묶은 그룹과 subfraction 1-3의 차이를 OPLS-DA를 통해 분석하였다.

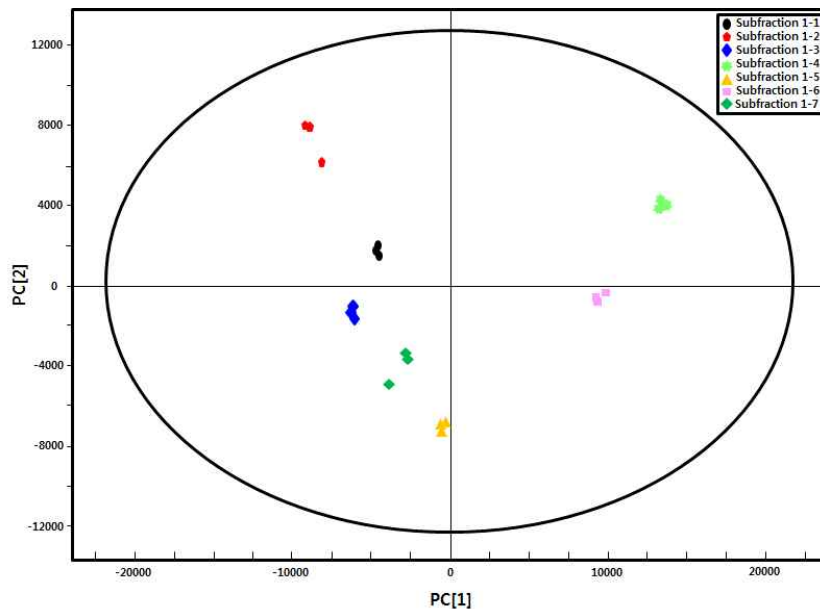


Fig. 3-2-21. PCA (Principal component analysis) analysis for the metabolites in the sub-fractions from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (negative ion mode).

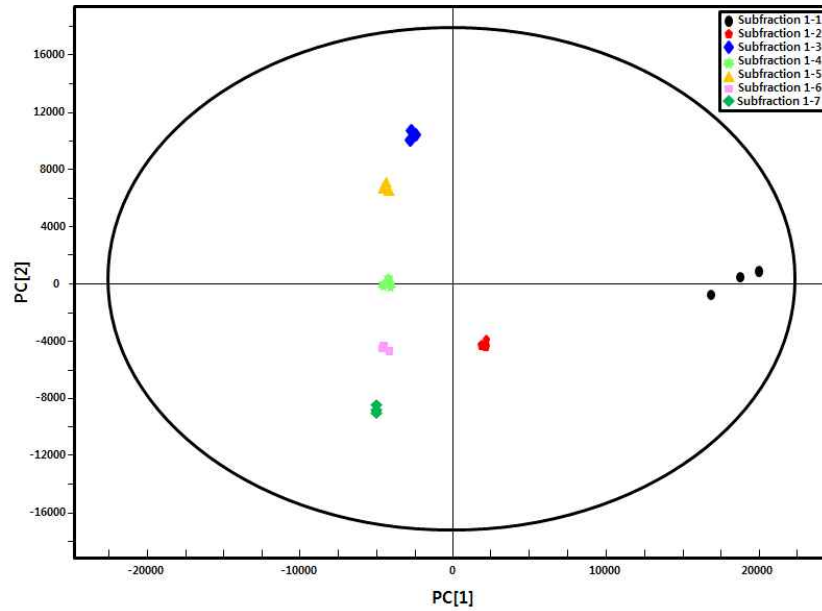


Fig. 3-2-22. PCA (Principal component analysis) analysis for the metabolites in the sub-fractions from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (positive ion mode).

OPLS-DA 분석(Fig. 3-2-23, 3-2-24)에 나타난 바와 같이, negative와 positive ion mode 모두에서 유의적인 차이를 나타내는 대사체들을 확인할 수 있었으며, 이를 토대로 5% 유의 수준에서 유의적 차이를 나타내는 성분들을 screening 및 동정하여 이들 대사체와 항염증 효능 간의 상관관계를 확인하였다.

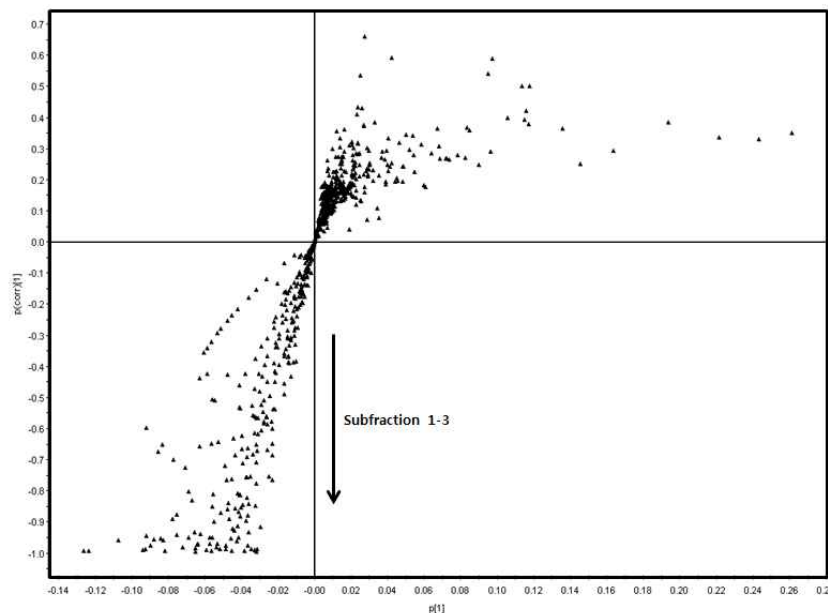


Fig. 3-2-23. OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) analysis for the metabolites in the sub-fractions from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (negative ion mode).

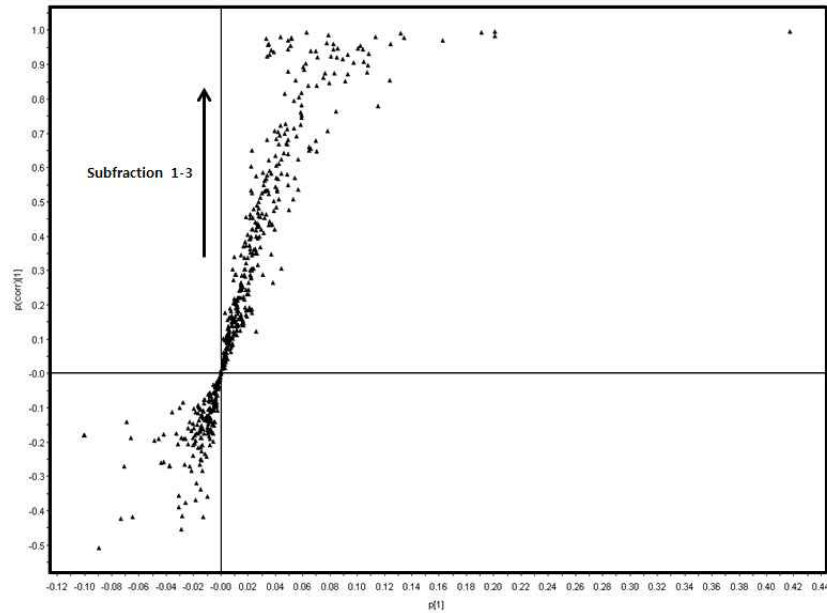


Fig. 3-2-24. OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) analysis for the metabolites in the sub-fractions from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (positive ion mode).

④ 다래순의 유용 성분 동정

다변량 통계분석을 통해 유의적으로 차이가 나는 성분들을 동정한 결과, negative ion mode에서는 Fig. 3-2-25에 나타난 것과 같이 caffeoylthreonic acid (Parveen *et al.*, 2008), dihydroxyphenyl lactic acid (Chen *et al.*, 2011)와 같은 caffeic acid 유도체가 주요 대사체로 분석되었고, positive ion mode에서는 Fig. 3-2-26에 나타난 것과 같이 pantothenic acid가 분석되었다. Fig. 3-2-27과 같이 negative ion mode에서 동정된 caffeic acid 유도체들은 5% 유의 수준에서 유의적 차이를 나타냈으며, Fig. 3-2-28과 같이 positive ion mode에서 동정된 pantothenic acid 또한 5% 유의 수준에서 유의적 차이를 나타냈다. 동정된 성분들의 질량/전하비 (MS^n), retention time (min), UV λ_{max} (nm), intensity 등은 Table 3-2-3, 3-2-4에 자세히 나타내었다. Caffeic acid는 다래 열매의 항염증 유용 성분으로 알려져 있으며 (Lim *et al.*, 2006), caffeic acid와 caffeic acid의 유도체는 항염증 유용 성분으로 보고되어 있다 (Cunha *et al.*, 2004; Shin *et al.*, 2004; Song *et al.*, 2002).

따라서 NO 생성 저해 활성과 iNOS 발현 억제 수준 평가를 통해 다래순 추출물의 유용 성분 정제를 진행한 결과, caffeic acid 유도체가 다래순 추출물로부터 분리 정제되어 높은 항염증 활성을 보이는 것으로 사료된다. 본 연구는 대사체학 기법을 이용하여 다래순의 항염증 대사체를 분석한 최초의 시도로서, 향후 다래순 및 산채나물의 항염증 유용 성분 분석에 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

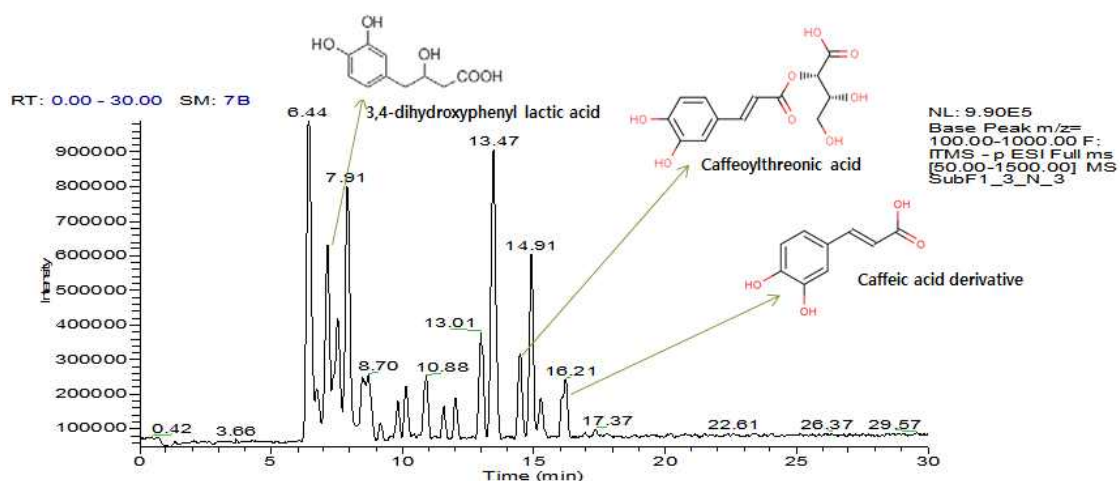


Fig. 3-2-25. HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ chromatograms and the identification of anti-inflammatory compounds in sub-fractions 1-3 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (negative ion mode).

Table 3-2-3. Tentative identification of the anti-inflammatory compounds in sub-fractions 1-3 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (negative ion mode)

m/z	RT	nm	ms/ms (MS3)	Tentative identification	Intensity	Reference
595.08	14.79	218, 303, 324	297.04(178.97, 134.97)	dimer 2- <i>O</i> -caffeoylthreonic acid	640753	Ifat Parveen et al.
395.08	7.56	224, 286	197.03(179.02, 153.05, 135.03, 73.03), 179.05, 153.11, 135.02	dimer 3,4-dihydroxyphenyl lactic acid	145236	Hong Chen et al.
309.08	16.10	219, 285, 317	179.00(134.95), 161.02, 135.03	Caffeic acid derivative	267397	
297.06	14.74	219, 298, 324	178.99, 134.97	2- <i>O</i> -caffeoylthreonic acid	349085	Ifat Parveen et al.

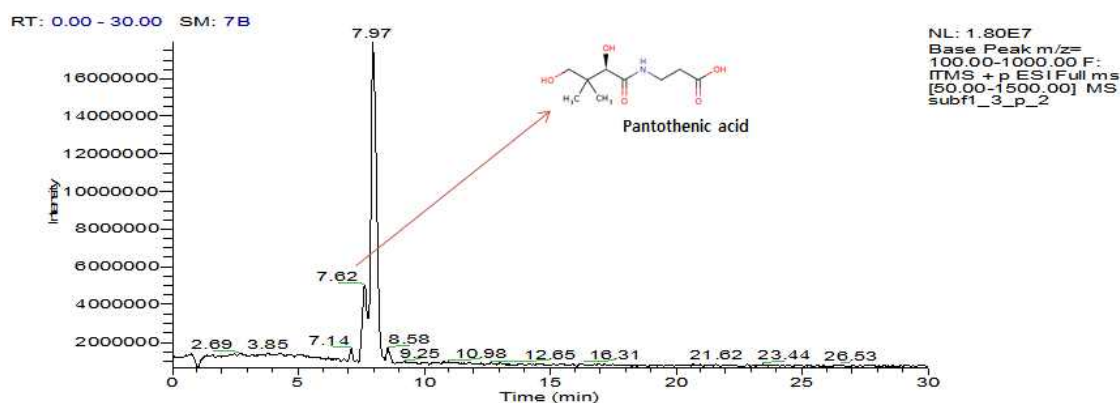


Fig. 3-2-26. HPLC-ESI-Ion trap-MSⁿ chromatograms and the identification of anti-inflammatory compounds in sub-fractions 1-3 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (positive ion mode).

Table 3-2-4. Tentative identification of the anti-inflammatory compounds in sub-fractions 1-3 from 75% ethanol extract of *Actinidia arguta* (positive ion mode)

m/z	RT	nm	ms/ms (MS3)	Tentative identification	Intensity	Reference
220.07	7.45	222, 291	202.06, 184.07, 90.06	Pantothenic acid	1787571	Metlin

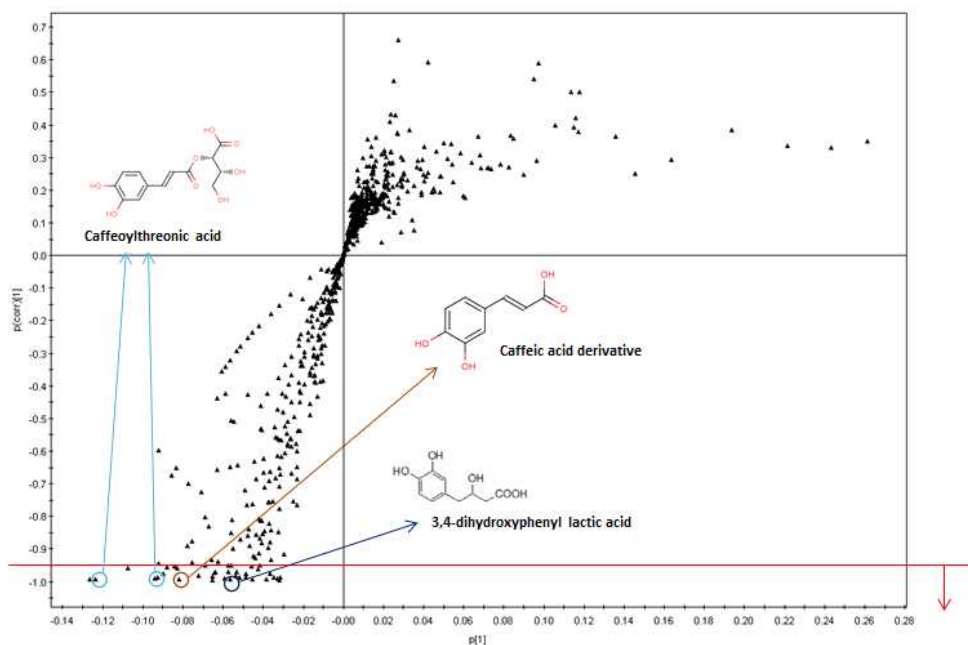


Fig. 3-2-27. Identification of anti-inflammatory compounds in S-plot generated by OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) for the metabolites in subfractions 1-3 (negative mode).

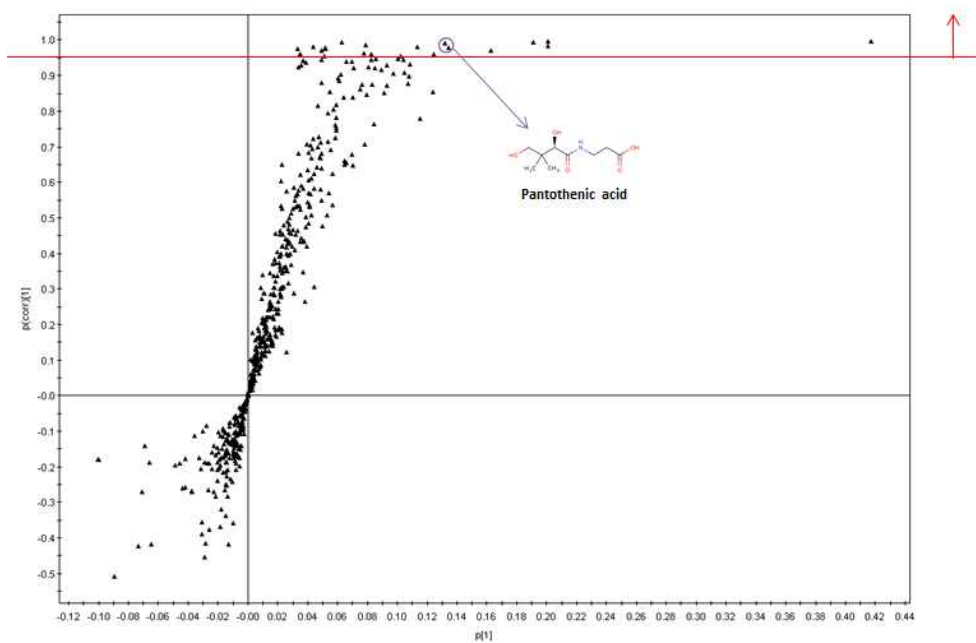


Fig. 3-2-28. Identification of anti-inflammatory compounds in S-plot generated by OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) for the metabolites in subfractions 1-3 (Positive ion mode).

제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도

제 1절 목표달성도

- 세부과제 등 모든 과제의 연도별 목표 및 계획에 기술한 연구 내용은 다음 표에서 보는 바와 같이 모두 100% 달성하였음

구분	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
1차년도 (2012)	(제1세부) 고지방·고단순당으로 인슐린 저항성을 유도한 마우스에 있어서 산채나물의 대사증후군 개선효과 규명	● 비만 개선효과 및 식이지방 흡수율 조사	100
		● 내당능 및 인슐린 저항성 개선효과, 혈당 조절효과 조사	100
		● 이상지질혈증 개선효과 조사	100
		● 고혈압 개선효과 조사	100
		● 소장 점막의 탄수화물 소화효소 활성 조사	100
		● 간조직의 지질과산화물, 글루타치온, 항산화 효소계 활성 조사	100
	(제2세부) 산채나물의 이화학 특성 및 <i>in vitro</i> 건강기능(항당뇨) 활성 평가	● 영양성분 등 이화학적 특성	100
		● 저장 조건에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가	100
		● 조리 전 전처리에 의한 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가	100
		● 산채나물 레시피 표준화 및 전문가 FGI(focus group interview)를 통한 검증	100
		● 가열에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가	100
		● 들기름 첨가에 의한 항당뇨, 항비만 활성 및 건강기능 성분 평가	100
	(제3세부) 산채 함유 항당뇨 대사체 추출 및 분석 기반 확립	● 산채나물 함유 유용 대사체 추출법 확립	100
		● Prep-LC를 이용한 항당뇨 유용성분 분리법 확립	100
		● LC-MS/MS 기반 산채 유래 대사체 분석법 확립 및 유용 대사체 분석	100

구분	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
2차년도 (2013)	(제1세부) db/db 마우스에 있어서 산채나물의 비만 및 당뇨병 개선효과 규명	● 비만 개선효과 조사	100
		● 혈당 및 인슐린 저항성 개선효과 조사	100
		● 혈청 지질 profile 분석	100
		● 비알콜성 지방간 개선효과 조사	100
		● 항산화능 개선효과 조사	100
		● 항염증 효과 조사	100
	(제2세부) 산채나물의 식품 기능적 특성 및 <i>in vitro</i> 항산화, 항염증 활성 평가	● 저장 조건에 따른 항산화, 항염증활성 및 식품기능 성분 평가	100
		● 조리 전 전처리에 의한 항산화, 항염증활성 및 식품기능 성분 평가	100
		● 가열에 따른 항산화, 항염증활성 및 식품기능 성분 평가	100
		● 들기름 첨가에 의한 항산화, 항염증활성 및 식품기능 성분 평가	100
		● 산채나물 이용 음식의 배합비 설정	100
	(제3세부) 산채 함유 항염증 활성성분의 분리 및 규명	● 산채 유래 항염증 대사체 분리를 위한 최적 추출 조건 확립	100
		● Prep-LC를 이용한 항염증 유용 성분 분리 기반 확립	100
		● LC 기반 산채의 유용 성분 분석법 확립 및 유용 성분 분석	100

제 2절 관련 분야 발전에의 기여도

- 산채나물(참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물)의 대사증후군 개선효과를 *in vitro* 실험과 동물실험을 통해 규명하여, 산채나물의 식품학적 우수성과 기능성을 규명하였음.
- 본 과제에서 획득한 산채의 영양성분, 생리활성기능, *in vitro* 및 *in vivo* 실험 결과를 바탕으로 전통식품 DB 구축에 기여할 수 있음.
- 다양한 종류의 산채나물의 건강기능성을 규명하는 후속 연구에 필요한 기초자료를 제공하였으며, 대사증후군 및 제2형 당뇨병 동물모델에 있어서 전통한식의 기능성을 종합적으로 규명하는 연구시스템을 확립하였음.
- 산채나물은 한식에 있어 중요한 식재료이고, 이들의 기능성에 대한 연구보고가 있어왔으나, 이러한 생리적 활성에 관여하는 물질 규명에 대한 연구는 상대적으로 미미하였음. 본 연구에서는 산채나물에 함유되어 있는 항당뇨 및 항염증 성분을 대사체학 기법을 이용하여 규명하였음.
- 대사체학 기법을 활용함으로써, 기존의 순수 정제 과정의 연구에서 제기될 수 있는 오랜 시간과 순수 정제 과정에서의 오류를 극복하고, 상대적으로 짧은 시간 내에 후보 물질들을 규명할

수 있었음. 이러한 새로운 접근법의 활용은 전통 한식재료에 함유된 다양한 생리 활성 물질의 규명에 있어 매우 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대됨.

- 참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물 등 산채의 식품 및 건강기능 우수성에 대한 과학적 실증 자료를 제공함으로써, 산채의 소비를 촉진하고 우리 고유 문화에 바탕을 둔 식품 개발 등 식품산업 발전에 기여할 수 있음.
- 산채의 식품학, 건강기능적 우수성을 규명함으로써, 산채에 대한 세계인의 인식 제고 및 산채 이용 식품의 세계화를 통하여 산채 수요를 증대시키고 이에 따라 침체된 농가·임가의 소득 증대에 기여할 수 있을 것이며, 농가·임가 자립화 방안에 적극 활용할 수 있을 것으로 기대됨.
- 산채 이용 음식 레시피 발굴, 영양 및 기능성 성분 분석 및 생리활성에 대한 작용 기전, 조리 방법에 따른 영양 및 기능성 성분의 변화에 관한 구체적이며 체계적인 연구로 전통 한식의 우수성을 규명할 수 있는 로드맵 개발에 기여할 것임.
- 산채나물 조리법의 표준화를 통하여 한식의 표준화, 규격화를 유도하고 이를 바탕으로 산업화할 수 있는 방안에 활용할 수 있을 것으로 기대됨.
- 산채나물 요리 레시피 홍보 및 시식회를 통하여 산채요리 전문점 확대를 도모하여, 산채소비를 증가시키고 지역사회 경제발전에 기여할 수 있음.
- 산채의 식품학, 건강기능적 우수성을 규명함으로써, 산채에 대한 세계인의 인식 제고 및 산채 이용 식품의 세계화에 기여할 것임.

제 4 장 연구 개발 성과 및 성과 활용 계획

연구개발 성과(총괄)

	연구논문	학술발표	지식 재산권	기타				계
				미디어 홍보	컨텐츠	시식회	교육지도	
계획	5 (SCI 3, KSCI 2)	13	2	2				22
달성	5 (SCI 3, KSCI 2)	17	3	1			1	27
달성도 (%)	100	130	150	100				

제 1절 연구 개발 성과

1. 논문

저자	연도	제목	학술지명	Vol(no):page	국내외 구분	SCI 구분
이수진, 최하늘, 강민정, 최은옥, 어중혁, 김정인	2013	Chamnamul [<i>Pimpinella brachycarpa</i> (Kom.) Nakai] ameliorates hyperglycemia and improves antioxidant status in mice fed a high-fat, high-sucrose diet	Nutrition Research and Practice	7(2):446-452	국내	SCIE
안해천, 김정하, 김정인, 어중혁, 최은옥	2014	<i>In vitro</i> α -glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities and antioxidants of Samnamul (<i>Aruncus dioicus</i>) during rehydration and cooking	Food Science and Biotechnology	23(4):1287-1293	국내	SCIE
양정은, 이지현, 김다운, 최은옥, 정라나	2014	산채나물의 관능적 특성에 근거한 소비자 기호도 유도 인자 분석	한국식품조리과학회지	30(2):200-211	국내	
권도단, 김경득, 강원석, 박정은, 김송희, 최은옥, 김정인, 어중혁	2014	Pinoresinol diglucoside is screened as a putative α -glucosidase inhibiting compound in <i>Actinidia arguta</i>	Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry	57(4):473-479	국내	SCIE
최하늘, 강수정, 최은옥, 정라나, 김정인	2014	고지방과 고당질 식이 섭취 마우스에 있어서 산채나물의 항산화 효과	한국식품조리과학회지	30(4):368-376	국내	

2. 학술발표

논문제목	국내/ 국외	발표날짜	학회명	저자명	특기사항
Inhibitory activity of <i>Pimpinella brachycarpa</i> against alpha glucosidase <i>in vitro</i>	국내	2012.11.01	한국식품영양과학회	김아롱, 장양희, 최하늘, 정수미, 김정인	
우리나라 산채나물의 <i>in vitro</i> 산화방지활성 평가	국내	2012.11.09	한국식품조리과학회 추계학술대회	김정인, 정라나, 오수정, 최은옥	우수 포스터상 수상
Hypoglycemic and antioxidant effects of Chamnamul in mice fed high-fat high-sucrose diet	국내	2013.05.31	한국식품조리과학회 춘계학술대회	김정인, 최하늘, 이수진, 최은옥, 어중혁	우수 포스터상 수상
Inhibitory activity of <i>Actinidia arguta</i> against alpha glucosidase <i>in vitro</i>	국내	2013.10.25	한국식품조리과학회 추계학술대회	김아롱, 최하늘, 이수진, 장양희, 어중혁, 김정인	
Hypoglycemic effect of <i>Solidago virgaurea</i> in mice fed high-fat high-sucrose diet	국내	2013.10.25	한국식품조리과학회 추계학술대회	장양희, 최하늘, 김아롱, 이수진, 정라나, 김정인	
Chamnamul alleviates fatty liver in mice fed high-fat high-sucrose diet	국내	2013.11.08	한국영양학회 추계학술대회	최하늘, 이수진, 장양희, 김아롱, 최은옥, 김정인	
Metabolomic screening of potential inhibitory compounds from <i>Actinidia arguta</i> extracts	국내	2013.11.22	한국산업식품공학회 추계학술대회	권도단, 김경득, 어중혁	우수 포스터상 수상
데치는 시간에 따른 참나물의 소비자 기호도 분석	국내	2013.05.24	한국식생활문화학회	정라나, 이지현, 양정은	
묵은 산채나물의 조리방법 및 연령에 따른 소비자 기호도 비교 분석	국내	2013.05.24	한국식생활문화학회	정라나, 양정은, 이지현	
Descriptive analysis of the <i>Sanchae namul</i> (seasoned dish with wild edible greens)	국외	2013.08.13	2013 Pangborn	정라나, 이지현, 양정은	
Antioxidants and <i>in vitro</i> antioxidant and glucosidase inhibitory activity of Korean <i>Sanchae</i> (wild vegetables)	국외	2013.07.16	2013 IFT	안해천, 정라나, 최은옥	

삼나무 생채의 건조 조건에 따른 항당뇨, 항비만 활성 및 산화방지 성분 평가	국내	2013.11.14	한국식품영양과학회	안해천, 김정하, 김정인, 어중혁, 최은옥	
Effects of pre-treatment prior to cooking of dried goat's beard (Samnamul) on antioxidant contents and alpha-glucosidase inhibitory activity	국내	2013.08.29	한국식품과학회	안해천, 김정하, 최은옥	
Hypoglycemic and anti- inflammatory effect of <i>Actinidia arguta</i> shoot in mice fed a high-fat, high-sucrose diet	국외	2014.05.02	International Society of Nutrigenetics/ Nutrigenomics	김정인, 강민정, 최하늘	
다래순나무 조리를 위한 목나무의 전처리와 조리에 따른 <i>in vitro</i> α - glucosidase와 pancreatic lipase 저해 활성과 산화 방지 성 분	국내	2014.05.17	한국식품조리과학회 춘계학술대회	안해천, 김정하, 오보영, 강경창, 최은옥	
<i>In vitro</i> antidiabetic and antiobesity activities of <i>Daraesoon</i> (shoot of Siberian gooseberry tree, <i>Actinidia arguta</i> Planchon) affected by pretreatment and cooking	국외	2014.07.03	2014 PHYTOPHARM conference	김정하, 안해천, 김정인, 최은옥	
Pinoresinol-diglucoside was identified as α -glucosidase inhibitory compound in ethanolic extract of <i>Actinidia arguta</i> through metabolomics analysis	국외	2014.08.17	2014 IUFoST	김경득, 권도단, 김정인, 최은옥, 어중혁	

3. 특허

- “삼나무 추출물을 유효성분으로 포함하는 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료 용 조성물” 특허 출원 (김정인, 강민정, 최은옥, 어중혁, 최하늘, 이수진, 출원번호: 10-2013-0079552). 2013

리의 다양성과 우수성을 홍보하였음.



제 2절 성과 활용 계획

1. 교육.지도.홍보 등 기술확산 계획

- 한식재단 사이트, 언론기고, (주)휴롬엘에스(경남 김해시 주촌면 망덕리 872-12) 등 식품관련 회사들의 사내 영양 교육자료, 초·중·고교생 영양교육 자료 등을 통해 산채나물의 건강기능성에 대한 과학적 자료와 산채나물 응용 레시피를 제공하고 홍보함.
- 김해시 보건소에서 잘못된 식사관리로 발생할 수 있는 만성퇴행성질환을 조기예방 하고 올바른 식습관을 유지하기 위한 영양지식과 정보제공을 위해서 운영하는 건강증진사업의 참여자를 대상으로 산채나물의 건강기능성을 홍보함.
- 지역 축제참가자 및 일반시민을 대상으로 산채나물의 건강기능성을 홍보하고 산채의 섭취를 생활습관병 예방 및 개선용 식생활 가이드 라인으로 활용함.
- 참나물, 다래순, 산채나물 요리의 대사증후군 개선효과, 항당뇨 효과를 비만, 당뇨 질환자들을 대상으로 하는 식이 교육 자료로 활용함.
- 산채나물을 활용한 레시피를 어린이 급식관리지원센터 및 영양교사 연수 프로그램의 교육 자료로 활용함.
- 삼나물을 고기대체용으로 사용한 메뉴(산채육개장, 산채 잡채) 등 산채나물 응용 레시피를 궁중음식연구원, 궁중병과연구원 등 전통 요리 강좌 교육에 적극 활용하고, 채식주의자들을 위한 요리 개발에 활용하여 국내외 비건 요리 전문점 및 한국 음식점(지화자, 콩두 등)에 적극 홍보함.
- 산채나물의 대사증후군 개선효과 등의 기능성을 바탕으로 산채나물과 선호도가 높은 산채나물 응용음식(떡갈비, 빈대떡 등)을 국내 외식업소, 기내식, 해외 한식당, 해외 한식 편의점(Bibibop 등)의 메뉴로 활용할 수 있도록 적극 홍보함.

2. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보 계획

- Hypoglycemic effect of *daraesun* (shoot of *Actinidia arguta*) in type 2 diabetic db/db mice - SCI급 논문 투고 예정.
- 제2형 당뇨동물모델에 있어서 산채나물의 혈당조절효과 - 한국식품조리과학회지 투고 예정.
- Metabolomic screening of anti-inflammatory compounds from *Actinidia arguta* - SCI급 논문 투고 예정.
- 삼나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 간기능 개성용 조성물 - 특허 출원 예정.

3. 추가연구, 타연구에 활용 계획

- 산채나물 및 천연물에 함유된 유용 물질 발굴에 본 연구에서 이용된 대사체학을 이용한 연구법을 활용.
- 대사증후군 환자에 있어서 산채나물의 대사증후군 개선효과를 확인하는 인체적용 시험 계획.

제 5 장 연구 개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보

- Chang 등(2013)은 감초, *Astragalus membranaceus* 뿌리, *Dioscorea* 뿌리, *P. amaryllifolius*, *C. papaya*, *T. divaricata*, *Anoectochilus roxburghii* 등의 허브들이 베타 세포 기능, incretin 관련 경로, 글루코스 흡수 등을 통하여 인슐린 저항성을 조절함으로써 제2형 당뇨병 발생을 억제할 수 있음을 보고하였다. (Chang CL, Lin Y, Bartolome AP, Chen YC, Chiu SC, Yang WC. 2013. Herbal therapies for type 2 diabetes mellitus: chemistry, biology, and potential application of selected plants and compounds. Evid Based Complement Alternat Med, 2013;2013:378657. doi: 10.1155/2013/378657)
- Wikul 등(2012)은 탈지된 참깨(*Sesamum indicum*)의 항당뇨 활성 성분을 조사하기 위해 α -glucosidase-guided fractionation을 실시하였다. 이를 통해 α -glucosidase를 저해하는 3가지 리그난을 분리하였고, 그 중 (+)-Pinoresinol이 rat intestinal maltase를 경쟁적, 비경쟁적으로 저해함을 보고하였다. (Wikul A, Damsud T, Kataoka K, Phuwapraisirisan P. 2012. (+)-Pinoresinol is a putative hypoglycemic agent in defatted sesame (*Sesamum indicum*) seeds though inhibiting α -glucosidase. Bioorg Med Chem Lett. 22:5215-5217)
- Kim 등(2013)은 다래의 물 추출물 성분인 PG102가 *in vitro* 및 *in vivo* 천식 모델에서 항알레르기 효과를 나타냄을 보고하였다. 세포모델계에서 PG102의 처리는 IL-4의 발현을 억제하였다. 천식 유발 동물모델에서 PG102의 처리는 천식 증상을 완화하였으며, IgE와 IL-5의 발현을 유의적으로 감소시켰다. (Kim D, Choi J, Kim MJ, Kim SH, Cho SH, Kim S. 2013. Reconstitution of anti-allergic activities of PG102 derived from *Actinidia arguta* by combining synthetic chemical compounds. Exp Biol Med (Maywood). 238:631-640)

제 6 장 참고문헌

- Aebi H. 1974. Catalase. Methods of enzymatic analysis. Vol 2. pp 673-684. In: Bergmeyer HU, Gawehn K, editors. Academic Press. New York, NY. USA
- Aguilar-Santamaría L, Ramírez G, Nicasio P, Alegría-Reyes C, Herrera-Arellano A. 2009. Antidiabetic activities of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. J Ethnopharmacol. 124:284-248
- Apáti P, Szentmihályi K, Kristó ST, Papp I, Vinkler P, Szoke E, Kéry A. 2003. Herbal remedies of Solidago-correlation of phytochemical characteristics and antioxidative properties. J Pharm Biomed Anal. 32:1045-1053
- Arai I, Amagaya S, Komatsu Y, Okada M. 1999. Improving effects of the extracts from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. J Ethnopharmacol. 68:307-314
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 72:248-254
- Chen H, Zhang Q, Wang X, Yang J, Wang Q. 2011. Qualitative analysis and simultaneous quantification of phenolic compounds in the aerial parts of *Salvia miltiorrhiza* by HPLC-DAD and ESI/MSⁿ. Phytochem Anal. 22:247-257
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J Biol Chem. 226:497-509
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. J Clin Invest. 114:1752-1761
- Gao Y, Jiang W, Dong C, Li C, Fu X, Min L, Tian J, Jin H, Shen J. 2012. Anti-inflammatory effects of sophocarpine in LPS-induced RAW 264.7 cells via NF- κ B and MAPKs signaling pathways. Toxicol In Vitro. 26:1-6
- Gray JI, Dugan JLR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. J Food Sci. 40:981-985
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. J Amer Oil Chem Soc. 58:966-968
- Jemai H, Bouaziz M, Sayadi S. 2009. Phenolic composition, sugar

- contents and antioxidant activity of Tunisian sweet olive cultivar with regard to fruit ripening. *J Agric Food Chem.* 57:2961-2968
- Kim YJ, Song CH. 2013. Anti-inflammatory effect of Bower Actinidia in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Korean J Acupunct.* 30:243-251
 - Kurakane S, Yamada N, Sato H, Igarashi K. 2011. Anti-diabetic effects of *Actinidia arguta* polyphenols on rats and KK-Ay mice. *Food Sci Technol Res.* 17:93-102
 - Kwak CS, Lee JH. 2014. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory effects of ethanol extracts from sprout of evening primrose (*Oenothera lacinata*) and Gooseberry (*Actinidia arguta*). *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 43:207-215
 - Lawrence RA, Burk RF. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 71:952-958
 - Lee J, Choe E. 2003. Lipid oxidation and tocopherol contents change in full-fat soy flour during storage. *Food Sci Biotechnol.* 16:981-987
 - Lee SK, Hwang JY, Song JH, Jo JR, Kim MJ, Kim ME, Kim JI. 2007. Inhibitory activity of *Euonymus alatus* against alpha-glucosidase *in vitro* and *in vivo*. *Nutr Res Pract.* 1:184-188
 - Lim HW, Kang SJ, Park M, Yoon JH, Han BH, Choi SE, Lee MW. 2006. Anti-oxidative and nitric oxide production inhibitory activities of phenolic compounds from the fruits of *Actinidia arguta*. *Nat Prod Sci.* 12:221-225
 - Maksimović Z, Malencić D, Kovacević N. 2005. Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. *Bioresour Technol.* 96:873-877
 - Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacol.* 71:109-114
 - Nicasio P, Aguilar-Santamaría L, Aranda E, Ortiz S, González M. 2005. Hypoglycemic effect and chlorogenic acid content in two *Cecropia* species. *Phytother Res.* 19:661-664
 - Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 95:351-358
 - Park YK, Koo MH, Ikegaki M, Contado JL. 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arq Biol Technol.* 40:97-106

- Parveen I, Winters A, Threadgill MD, Hauck B, Morris P. 2008. Extraction, structural characterisation and evaluation of hydroxycinnamate esters of orchard grass (*Dactylis glomerata*) as substrates for polyphenol oxidase. *Phytochem.* 69:2799-2806
- Song YS, Park EH, Hur GM, Ryu YS, Lee YS, Lee JY, Kim YM, Jin C. 2002. Caffeic acid phenethyl ester inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *Cancer Lett.* 175:53-61
- Styskal J, Van Remmen H, Richardson A, Salmon AB. 2012. Oxidative stress and diabetes: what can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models? *Free Radic Biol Med.* 52:46-58
- Sun J, Zhang X, Broderick M, Fein H. 2003. Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay. *Sensors (Basel).* 3:276-284
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 34:497-500
- Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. 1997. Isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from Tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci Biotechnol Biochem.* 61:177-178
- Wong NA, Coll RK. 2001. Student experience of international cooperative education: Reflections on personal and professional growth. *Asia-Pacific Journal of Cooperative Education (APJCE).* 2:11-18
- Zhang J, Kang MJ, Kim MJ, Kim ME, Song JH, Lee YM, Kim JI. 2008. Pancreatic lipase inhibitory activity of *Taraxacum officinale* *in vitro* and *in vivo*. *Nutr Res Pract.* 2:200-203
- Takano F, Tanaka T, Tsukamoto E, Yahagi N, Fushiya S. 2003. Isolation of (+)-catechin and (-)-epicatechin from *Actinidia arguta* as bone marrow cell proliferation promoting compounds. *Planta Med.* 69:321-326

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 산채나물을 활용한 전통요리의 기능성 규명연구 (영문) Elucidation of health functionality (improvement of metabolic syndrome) of Korean traditional dish composed of various sanchae-namuls		
연 구 기 관	인제대학교	연 구 구	(소속) 인제대학교
참 여 기 관	인하대학교, 중앙대학교	책 임 자	(성명) 김정인
연 구 비	계 260,000,000원	총 연 구 기 간	2012.08.10 ~ 2014.08.09. (2년 월)
참 여 연 구 원	20명 (연구책임자: 1명, 책임연구원: 3명, 연구보조원 16명)		
<p>○ 연구개발 목표 및 내용</p> <ul style="list-style-type: none"> • 본 연구는 산채와 산채나물요리의 대사증후군 개선효과를 규명하고, 작용기작을 구명하며, 활성물질을 분리·정제함으로써, 산채나물의 건강기능성을 과학적으로 입증하고, 이를 바탕으로 국내외 한식 소비를 촉진시키며 한식을 세계적인 음식으로 발전시키고 우리나라의 대표 문화 국가브랜드로 정립하는 기반을 제공하고자 함. 본 연구는 '산채나물의 <i>in vivo</i> 기능성(대사증후군 개선) 연구', '산채나물의 이화학 특성 및 <i>in vitro</i> 기능성 연구', '산채나물 유래 기능성 활성성분 규명 연구'의 3세부과제로 진행되었음. <p>○ 연구결과</p> <ul style="list-style-type: none"> • 참나물 무침 및 산채나물요리(참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물로 만든 나물요리)의 섭취는 고지방·고단순당으로 인슐린 저항성을 유도한 마우스에 있어서 혈당 조절효과 및 이상지질혈증 개선효과를 나타내어 대사증후군을 개선하였음. 참나물, 다래순, 산채나물요리(참나물, 다래순, 삼나물, 미역취, 방풍나물)의 섭취는 비만형 당뇨 동물모델인 db/db 마우스에 있어서 고혈당 및 이상지질혈증을 개선하여 항당뇨 효과를 나타내었으며, 비알콜성 지방간질환 개선효과를 나타내었음. 산채류의 대사증후군 개선효과는 산채나물의 α-glucosidase 저해활성과 항산화능 증가 및 항염증 효과로 인해 인슐린 저항성이 개선된 것에 기인하는 것으로 사료됨. • 산채는 저열량 식품이며, 카로티노이드, 클로로필 등 식품 기능성분과 산화방지제와 α-glucosidase 및 pancreatic lipase 저해활성, 항산화 및 항염증 활성이 높은 건강식품으로, 건조, 조리 전 전처리(불리기, 삶기, 우리기), 가열 조리 중 기능성과 기능 성분이 감소되기는 하지만 상당량이 유지됨. 특히 조리시 들기름 첨가에 의해 기능성이 복구 또는 증가되어 산채나물의 우수한 건강 기능성이 기대됨. • 산채류로부터 항당뇨 및 항염증 활성성분을 규명한 결과, 항당뇨 유용 성분으로써 참나물로부터 chlorogenic acid 외에도 후보 물질로 phenolic compound와 지방산계열이, 다래순으로부터 chlorogenic acid 및 rutin, isoquercitrin과 같은 flavonoid계열이 분리 정제됨. 또한 항염증 유용 성분으로써 caffeic acid 유도체가 다래순으로부터 분리 정제됨. 따라서 산채나물은 당뇨병 및 염증 반응을 개선시키는 기능성 식품으로 효과적일 것으로 기대됨. • SCI 논문 3편, 국내논문 2편이 게재되어, 성과목표(5건)를 달성하였음. 미디어 홍보 1건, 교육지도 1건 등 총 2건을 달성하였으며(목표치 2건), 지식재산권 3건(목표치 1건) 및 학술대회 발표 17건(목표치 13건), 우수 포스터상 3건으로 성과목표를 초과달성하였음. • SCI급 논문 2편, 국내논문 1편을 추가 투고하고 특허 1건을 출원할 계획임. 김해시 건강증진사업과 연계하여 산채나물의 우수성을 홍보하며, 산채나물의 섭취를 생활습관병 예방 및 개선용 식생활 가이드 라인으로 활용할 계획임. 산채나물의 건강기능성을 한식재단 사이트, 언론기고를 통해 홍보하고 식품관련 회사 및 영양교사 연수 프로그램의 영양교육 자료로 제공하며, 산채나물을 활용한 레시피를 어린이 급식안전관리센터의 교육 자료로 활용할 계획임. • 국내외 한식당에서 산채나물과 선호도가 높은 산채나물 응용음식을 메뉴로 활용할 수 있도록 적극 홍보하고, 삼나물을 활용한 산채나물 응용 레시피를 전통 요리 강좌에 활용하며 국내외 비건 요리 전문점에 홍보할 예정임. 			

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 한식세계화 용역 연구 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 한식세계화 용역 연구 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.