최 종
연구보고서

Non-thermal processing을 이용한 MPR(Minimally processed & refrigerated) 신선 채소 편의 기능성 샐러드 제조 가공 기술 개발

Development of Preparation of Minimally Processed and Refrigerated (MPR) Salad by Non-thermal processing

충 남 대 학 교

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “Non-thermal processing을 이용한 MPR(Minimally processed & refrigerated) 신선 채소 편의 기능성 샐러드 제조 가공 기술 개발” 과제 최종보고서로 제출합니다.

2005 년 7 월 14 일

주관연구기관명 : 충남대학교
총괄연구책임자 : 김 미 리
세부연구책임자 : 송 경 빈
연 구 원 : 석 대 은
연 구 원 : 고 종 관
연 구 원 : 마 유 현
연 구 원 : 신 희 영
연 구 원 : 조 흔
연 구 원 : 위 춘 화
연 구 원 : 양 윤 형
협동연구기관명 : 농업과학기술원 농촌자원개발연구소
협동연구책임자 : 전 혜 경
연 구 원 : 박 홍 주
연 구 원 : 조 용 식
연 구 원 : 조 수 묵
연 구 원 : 이 성 현
연 구 원 : 박 혜 영

요 약 문

Ⅰ. 제 목

Non-thermal processing을 이용한 MPR(Minimally processed & refrigerated) 신선 채소 편의 기능성 샐러드 제조 가공 기술 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

이산화염소 및 citric acid를 이용하여 Minimally processed and refrigerated (MPR) 샐러드 제품의 미생물학적 안전성 확보 및 저장성을 증대시킬 수 있는 화학적 처리방법을 개발하고, 성인병 예방 등 기능성을 가진 샐러드 및 샐러드드레싱을 개발하며 개발된 non-thermal processing 기술을 토대로 기능성 MPR 샐러드 제품을 고품질화 편의 식품으로 제조하고자 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

한국인이 일상 식생활에서 이용하고 있는 신선채소를 이용하여 성인병 예방용 기능성 샐러드를 개발하고 기능성 샐러드의 미생물학적 위해 인자 제거를 위한 non-thermal processing 가공 기술 및 포장 기술의 개발로 기능성 샐러드의 신선도 및 품질유지를 위한 non-thermal processing 가공 기술을 확립하고, 유통 조건을 확립하고자하였다.

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

신선채소를 이용하여 성인병 예방용 샐러드 및 샐러드드레싱을 개발하고 기능성을 확인하였으며, non-thermal processing 조건을 확립하여 이에 따른 기능성 MPR 샐러드 제품의 제조를 통해 미생물학적 안전성 확보를 위한 가공 조건의 확립과 포장 기술에 의한 저장성 증대를 확인하였다. 또한 영양가 평가와 관능검사를 통해 가공 조건에 따른 유통기한을 설정하였고, **ARPC 연구 성과 전시회에 본 연구에서 개발한 기능성 샐러드 및 기능성 드레싱을 출품**하여 전시 및 설명회에 참석하여 기대 이상의 반응을 확인하였다. (2005년 7월7일 AT센터)

본 기술의 적용으로 non-thermal processing model 시스템 구축 및 실제 적용이 가능하고, 유기농 농민들에 있어 채소 및 과일의 저장 유통 중

의 현실적 문제점을 해결함으로써 실질적 소득 증대 예상된다. 또한 샐러드의 가공뿐만 아니라 일반적인 신선 채소의 저장 유통 조건을 확립함으로서 농산물의 안정적 공급이 기대되고, 채소 및 과일의 저장 유통 중의 현실적 문제점을 해결함으로서 재배 농가의 실질적 소득 증대 예상된다. 본 연구를 통해 Minimal processed 식품의 보급화로 식품 유통의 선진화가 가능할 것이고, Non-thermal processing 기술의 일반화로 신선 채소의 식품 안전성 확보가 가능할 것으로 기대된다.

SUMMARY

Ⅰ. Title

Development of Minimally Processed and Refrigerated (MPR) and Health Improving Salad by Non-thermal processing

Ⅱ. The Objectives and Importances of Research

Consumption of minimally processed vegetable salad has increased in recent years, partly due to its nutritional value and presumed beneficial health effects. The convenience of shredded, packaged vegetable salad consisted of several kinds of green vegetables such as lettuce benefits to consumers provides the industry with considerable savings in transportation and storage costs. However, minimally processed salad vegetables are subject to microbial decay largely caused by the growth of microorganisms originating from preharvest environments as well as softening of texture and browning. Therefore, the objectives of this study were to develop the optimal processing for extending the shelf-life and improving quality of fresh vegetable salad in the marketplace by chemical treatment(chlorine dioxida and citric acid), and to prepare the vegetable salad with health improving effect such as antioxidant and antiatherosclerosis activities.

Ⅲ. The Scope and Contents of Research

The vegetables rich in antioxidant activities such as DPPH scavenging and Fe-hydroxyl radicals, were chosen for the preparation of functional salad. In an attempt to evaluate the mixed vegetable salads with good antioxidant and antiatherosclerosis activities were evaluated by the animal experiments.

1. Development of health improving vegetable salad and salad dressing

1) Development of vegetable salad :antioxidant

(1) Screening of vegetables among 52 kinds of commonly-consumed traditional vegetables and newly-introduced western vegetables in Korea, by measuring

DPPH-free radical scavenging activity, the ability to inhibit Fe^{+2}-mediated lipid peroxidation in bovine brain tissue and phenol content.

(2) Selection and combination of vegetables from screening data.

(3) Test of antioxidant activity by animal experiment: body weight, fat pad weight, food efficiency, plasma lipid profile, TBA, carbonyl value, antioxidant material contents (glutathione, β-carotene), antioxidant enzyme assay(GPx, GR, SOD), DNA damage by comet assay.

2) Development of vegetable salad : antiatherosclerosis

(1) Human plasma LDL antioxidant activity of vegetables

(2) Lipid peroxidation inhibition activity

(3) Test of antiatheroscleosis activity by animal experiment: body weight, fat pad weight, food efficiency, plasma lipid profile, TBA, carbonyl value, antioxidant material contents (glutathione, β-carotene), antioxidant enzyme assay(GPx, GR, SOD), DNA damage by comet assay.

3) Development of salad dressing

(1) Development of salad dressing consisted of soybean paste and/or spirurina

(2) Quality and storage study of salad dressing

(3) Test of antioxidant activity by animal experiment:body weight, fat pad weight, food efficiency, plasma lipid profile, TBA, carbonyl value, antioxidant material contents (glutathione, β-carotene), antioxidant enzyme assay(GPx, GR, SOD), DNA damage by comet assay.

2. Development of non-thermal processing treatment technology

1) Establishment of optimal minimally processing & refrgerated condition

washing, cutting, dewatering condition

2) Establishment of Chemical treatment condition

(1) Microbial assay of raw salad vegetable: pathogenic bacteria such as *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, Listeria monocytogenes

(2) Comparison of several methods of chemical treatments: chlorine dioxide, ozonated water, and citric acid: D value, PPO & PG activity

(3) Optimum chemical treatment condition :combination of chlorine dioxide and citric acid: treatment time, treatment dosage, cutting condition

(4) Application of development mixed vegetable salad

3. Study for commercialization of MPR vegetable salad

1) Nutrients analysis

proximate analysis, mineral and vitamin analysis of each nine vegetables and MPR treated mixed vegetable salad

2) Storage study : Change of quality during storage

(1) Storage condition: 4 & 10℃, 12 days

(2) Physicochemical qualities of each nine vegetables and MPR treated mixed vegetable salad: weight loss, moisture content, pH, acidity, soluble solid content

3) Package material study:Change of quality during storage

(1) Each nine Vegetables and MPR treated mixed vegetable salad

(2) PET (polyethylene terephthalate)& BOPS (bisxially oriented PS sheet)

4) Establishment of shelf-life by sensory and quality test

Ⅳ. Results and Recommendation

1. Development of health improving vegetable salad and salad dressing

Fifty two kinds of salad vegetables were screened by DPPH scavenging, Fe-hydroxyl radicals, phenol content, and human LDL antioxidant assay, good antioxidant activities vegetables were selected and combined by 2 or more than 3 kinds of vegetables. Two kinds of combined vegetable salad consisted of 7 or 9 kinds of vegetables showing the best antioxidant activities based on the in vitro assay, were prepared : antioxidant and antiatherosclerosis. Moreover, antioxidant or antiatheroscleosis activity of each prepared vegetable salad were confirmed by animal experiments: Animal experiment showed that mixed vegetable salad (antioxidant activity) diet containing high amount of antioxidant and free radical scavenging activities, reduced body weight and body fat deposition, elevated antioxidant materials(β-carotene and glutathione), and antioxidant enzyme activities(GPx and SOD), and protected lipid peroxidation by TBA, and DNA damage by comet assay in mice. Base on these results, our vegetable salad exerts degenerative disease-protective effects on oxidative DNA damage possibly via a free radical levels. Also, antiatherogenesis vegetable salad diet showed 1) improved plasma lipid profile and decreased atherosclerotic index; 2) increased antioxidant activity; 3) reductions in protein oxidation damage and; 4) reductions in DNA oxidative damage associated. it is suggested that mixed vegetable salad could be considered as a functional salad for preventing risks of atheroscelerosis and may recommend that daily consumption of mixed salad vegetables should be included in the diet.

2. Development of non-thermal processing treatment technology

Optimum condition for the non-thermal treatment to improve microbial safety, and to keep freshness during storage of minimally processed and refrigerated (MPR) salad, were established by using combination of aqueous chlorine dioxide(50ppm, 5 min) and citric acid(1 %) : Aqueous chlorine dioxide and citric acid treatment was introduced to insure microbial safety of minimally processed and refrigerated (MPR) salad. Salad samples were treated with 50 ppm chlorine dioxide and 1% citric acid. Chemical treatment decreased total aerobic bacteria, yeast and molds, *E. coli,* and *Listeria* by 3.75, 3.47, 3.41, and 3.38 log cycles, respectvely, and polyphenoloxidase activity of MPR salad by 49.73%. Plain water

washing of salad did not effectively decrease microbial growht. These results indicate appropriate chemical treatment provides microbial safety and quality control in MPR salad during marketing.

3. Study for commercialization of MPR vegetable salad

Nutrients analyses showed that two kinds of MPR vegetable salads contained higher antioxidant vitamins and minerals such as Ca, Mg. PET for packaging material was good for keeping freshness of salad. Shelf-life for commercialization of MPR salad was recommended to be 2 days at 10 ℃, although good and fresh quality was kept for 7 days based on sensory test.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction ····· 11

Chapter 2. Status of technology ····· 13

Chapter 3. Research contents and results ····· 14

Chapter 4. Achievement of research target and contributions to the related field ····· 134

Chapter 5. Application plan of research results ····· 139

Chapter 6. Abroad science technology information ····· 140

Chapter 7. References ····· 141

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 ····· 11

제 2 장 국내외 기술개발 현황 ····· 13

제 3 장 연구 개발 수행 내용 및 결과 ····· 14

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 ····· 134

제 5 장 연구개발결과의 활용계획 ····· 139

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 ··· 140

제 7 장 참고문헌 ····· 141

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

식생활 패턴의 서구화에 따른 비만, 성인병 등의 증가에 대한 예방책으로 그리고 diet하는 젊은 여성 중심으로 샐러드 등 신선 채소 편의가공 식품의 소비는 급증하고 있으나 원료 채소의 수확당시의 많은 미생물이 오염이 있어 식품으로 미생물학적 안전성 확보가 시급한 실정이다. 또한, 짧은 유통기간 때문에 대량생산 및 효율적인 저장 유통에 많은 제한을 받고 있어 샐러드 제품의 유통과정 중 많은 손실이 발생하고 있다. 따라서 본 연구에서는 이산화염소 및 citric acid를 이용하여 Minimally processed and refrigerated (MPR) 샐러드 제품의 미생물학적 안전성 확보 및 저장성을 증대시킬 수 있는 화학적 처리방법을 개발하고, 성인병 예방 등 기능성을 가진 샐러드 및 샐러드 드레싱을 개발하며 개발된 non-thermal processing 기술을 토대로 기능성 MPR 샐러드 제품을 고품질화 편의 식품으로 제조하고자 한다. 본 연구로 개발된 기능성 샐러드는 성인병 예방 및 비만 방지로 국민 보건 향상 및 사회 부대비용 절감의 효과가 예상되며 샐러드 제품의 소비 증가로 신선채소 재배 농민의 소득 증대를 도모하고자 한다.

제2절 연구개발의 필요성 및 배경

식생활 패턴의 서구화에 따른 육류 소비 증가와 더불어 영양 불균형 초래 및 비만과 당뇨, 고혈압 등 각종 성인병의 증가하여 사회문제로 대두 되면서 건강 지향성 식품의 소비가 증가추세이며 특히 최근 diet하는 젊은 여성 중심으로 샐러드 등 신선 채소 편의 가공 식품 소비 급증하게 되었다. 하지만 샐러드의 소비가 점차 늘어나고 있으나 짧은 유통기간 때문에 대량생산 및 유통에 많은 제한을 받고 있으며 특히 채소 수확단계에서의 세균이나 효모의 오염이 심각함에 따라 위생적으로 안전성이 확보된 샐러드 제품의 안전한 공급이 요망된다. 특히, 하절기 채소 가공품(예, 샐러드)은 유통 중 갈변, 조직연화, 미생물 증식 등 품질열화와 더불어 *Listeria, E. coli* O157:H7 등 병원성 미생물이 쉽게 번식함에 따라 미생물학적 안전성이 더욱 대두되었다.

식품의 미생물학적 위해인자 제거 및 유통기간을 늘리기 위한 일반적인 처리 방법인 thermal processing은 샐러드 식품에 대해서는 향미, texture, 영양성분의 손실 등을 초래하기 때문에 이에 따른 대안으로서 선진국 중심으로 연구되고 있는 non-thermal processing 기술을 적용 하여야 하며 non-thermal processing 기술은 채소와 과일의 향미와 영양성분 손실 최소화를 가능하게 한다. 미국 등 선진국에

서는 현재 non-thermal processing 기술을 적용하고 있으며 샐러드를 가공하여 packing한 individual instant 샐러드 제품이 유명 fast food restaurant 및 supermarket을 중심으로 판매되고 있으며 그 소비가 증가하고 있다. 아직 국내에서는 minimal processed 식품에 대한 인식 및 기초 연구 부족으로 미생물학적 위해 인자는 제거하나 조직의 연화와 갈변화의 문제에 대한 해결 방안 수립은 미흡한 실정이다.

따라서 샐러드 제품에 적용하여 미생물학적 안전성 및 유통기간 연장 등의 효과가 있는 non-thermal processing 기술의 개발이 필요하다.

제 3 절 연구개발의 범위

한국인이 일상 식생활에서 이용하고 있는 신선채소를 이용하여 성인병 예방용 기능성 샐러드(항산화, 항동맥경화 샐러드) 및 샐러드드레싱을 개발하고 채소 최소 가공품의 미생물학적 위해 인자 제거 및 향미, 물성, 변색 등을 방지하기 위한 non-thermal processing 기술을 개발하여 안전성이 확보된 MPR 샐러드 제품을 개발한다. 또한 이 연구를 수행하면서 유기농 야채에 생육하는 병원성 미생물을 분석하고 저장성 실험을 통한 MPR 샐러드의 최적 유통기간을 확립한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

현재 국내에서 소비되는 샐러드는 그 기능성에 대한 명확한 지식을 갖지 못하며 또한 저장 유통 과정에서 야기되는 품질과 기능성분의 손실에 대한 구체적인 연구 결과는 미비한 실정이며 채소와 과일의 가공 시 발생하는 조직 연화, 갈변, 미생물의 번식 등을 억제시키기 위한 효과적인 minimal processing 관련 연구는 이제 시작단계에 불과하다. 본 연구와 같이 신선 식품에 대한 non-thermal processing에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 현재 국내에서는 채소 및 과일 대상으로 가장 효과적인 non-thermal processing 기술을 확보치 못하고 있는 실정이다.

서구 식생활화에 따른 부작용으로 인해 점차 비만, 당뇨, 고혈압 등 성인병의 문제가 점차 심각해질 것으로 예측되며 건강에 대한 관심이 높아져 야채와 채소를 이용한 성인병 예방 기능성 샐러드 등 천연 식품의 소비가 증가할 것이다. 선진국의 경우, 미국 소매점에서 판매되는 모든 제품의 25% 가량이 신선 편의 식품임. 특히 fast food restaurant에서 diet용 샐러드 제품이 호황을 누리고 있다. 국내에서도 점차 이러한 식품 소비 추세로 변화될 전망됨에 따라 본 연구를 통하여 안전한 샐러드 제품의 공급이 가능해 질 것이다.

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

제 1 절 제 1 세부과제

연구책임자 김미리 : 성인병 예방용 한국형 신선편의 채소 샐러드의 개발

1. 대상품목

영양가, 효능 등 문헌에 보고된 자료 및 측정한 항산화능 평가를 통하여 선정하였다. 선정된 품목은 적상추, 청상추, 적양배추, 양상추, 방울토마토, 당근, 양배추, 케일, 롤라로사, 오크잎, radish, 신선초, 서양민들레, 참나물, 크레송, 치커리, 비트잎, 청코스, 엔다이브, 로케트, 구루모, 슈가로프, 월드로프, 교나, 겨자채, 샐러리, 딜, 파세리, 번행초, 방아, 배청추, 플라스타, 토스카노, 꽃케일, 브로콜리, 양파, 쌈추, 적근대, 로메인으로 39종을 대상으로 하였다.

2. 질병 예방용 샐러드 채소류의 선정 및 혼합

질병 예방용 샐러드는 in vitro 실험을 통해 개개 채소 기능성 및 조합에 의해 가장 기능성이 큰 채소조합을 선정하여 제조하였다.

가. **항산화샐러드** : 비트잎20, 신선초20, 적상추20, 민들레20, 청코스20, 롤라로사 20, 로메인 20, 꽃케일10, 적꽃케일10

나. **항동맥경화샐러드**: 비트잎20, 신선초20, 적상추 20, 민들레 20, 청코스 20, 샐러리 20, 양파 20, 적치커리 20

3. 세척, 탈수 및 절단 조건 설정

채소의 종류 즉, 엽채, 경채, 과채, 근채 별로 특성이 매우 다르므로 특성에 맞게 절단, 탈수 등 제반 가공 조건을 조직감, 손상정도, 변색정도 등 특성을 기준으로 설정한다.

가. 절단공정:

잎채소 : 상추, 로메인, 치커리, 서양 민들레 등 잎이 넓고 연하여 쉽게 부러지거나 손상되었고 쉽게 상하였으므로 2 x 3 cm 크기로 절단한다.

당근 : 조직감이 억세고 질기므로 채친다

방울토마토 : 반으로 자른다

양배추, 피망 : 잎이 두껍고 강하므로 입안에서 씹으면 거칠고 질기게 느껴짐으로 먹을때 거부감이 들지 않도록 적당한 크기로 채썬다

레디시 : 얇게 썬다

나. 세척

흐르는 수돗물에서 채소부피의 5배의 물에 담그어 3회 세척한다.

다. 탈수

야채 탈수 기구를 이용하여 30초 돌린 후 뒤집어서 다시 30초 돌려서 물기를 제거한다.

라. 전체 공정의 확립

전체 공정은 제 2 세부에서 설정한 처리 조건과 연관하여 다음과 같이 정립하였다.

Fig. 1. 샐러드 제품 제조 공정

셀러드 세척용 세제 washing → 수돗물 2회 세척 → 이산화염소 50 ppm 5분 처리 → 절단 → Citric acid 1% 1분 처리 → 탈수 → 포장

4. 기능성 측정

가. 샐러드 종류별 항산화력 측정

1) 노화 억제와 관련된 항산화성

채소 또는 샐러드의 항산화성은 총 46종의 샐러드 재료에 대하여 phenol 함량과 DPPH 라디칼 소거능 및 TBA법을 이용하여 지질 과산화 억제력을 측정하였다.

DPPH 라디칼 소거능은 DPPH를 EtOH에 녹여 제조한 후 샐러드채소 동결건조 시료를 메탄올로 추출 농축하여 희석액 0.2 mL와 DPPH용액 0.8 mL을 넣고 잘 혼합 후 30분간 방치후에 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

지질 산화 억제력은 채소 농축액과 소 뇌액을 혼합하여 지질을 산화 시킨 후 TBA/TCA를 넣고 반응 시킨 후 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Total phenol 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 방법으로 Folin-Denis법에 의해 측정한다. 시료추출액에 Folin-Denis 시약과 Na_2CO_3 포화용액을 넣고 30분간 반응시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다.

측정 결과는 Table 1과 같으며 DPPH 라디칼 항산화능이 큰 채소로는 서양민들래, 신선초, 공심채, 플라스타, 로메인, 코스, 번행초, 구루모, 롤라로사, 방아, 비트잎등이었다. 또한 지질과산화 억제정도가 큰 채소로는 공심채, 방아, 슈가로프, 민들레, 케일, 플라스타, 로메인, 코스, 번행초, 구루모, 롤라로사, 비트

잎, 치콘, 깻잎, 케일, 적쌈무등이 우수하였다. Phenol 함량이 높은 채소로는 신선초, 공심채, 번행초, 민들레, 비트잎, 방아, 상추, 코스, 롤라로사, 케일 등이었고, phenol 함량이 적은 채소로는 양상추, 양배추 등이었다.

2) 동맥경화와 관련된 LDL의 항산화성

동맥경화와 관련된 LDL의 항산화성을 측정하기 위하여 Table 1의 결과를 토대로 하여 항산화능이 우수한 채소와 문헌에 동맥경화나 심혈관계 질환에 좋다고 보고 된 채소를 중심으로 측정하였다.

LDL 항산화성 측정은 사람의 혈장을 이용하여 LDL을 제조한 후 copper에 의한 LDL 산화조건에서 각 샐러드 시료액을 넣고 LDL 산화정도를 TBA 법에 의해 측정함으로서 샐러드 시액의 항산화 보호효과를 측정하였다.

측정한 결과는 Table 2와 같으며 IC_{50}을 분석한 결과는 Fig. 2.에서와 같이 비트잎, 공심채, 번행초, 방아, 신선초, 적상추 등이었다.

나. 상추 품종별 phenol 함량 및 항산화능

한국인이 일상식생활에서 즐겨 먹는 적상추, 청상추와 최근에 쌈채소로 많이 보급되는 롤라로사, 그리고 서양의 샐러드에 주로 많이 사용되는 코스, 로메인, 양상추등의 상추 품종별 phenol 함량 및 항산화능은 Table 3 및 Fig. 3과 같다. 상추 중에서 롤라로사, 로메인, 적코스의 항산화능이 우수하였다. 양상추는 가장 낮은 항산화력을 나타내었다.

Table 1. DPPH radical-scavenging activity and inhibition of lipid peroxidation (TBA) of methanol extract of forty five salad vegetables

English name	Scientific name	Water content (%)	Extraction (%)	Phenol content	DPPH IC_{50}	TBA
Agastache rugosa	Isodon japonicus	81.5	26.7	4.3±0.1	3.2±0.8	80.4±11.9
Angelica	Angelica Kiusiana	84.2	22.7	8.8±0.1	2.2±0.3	95.1±1.7
Arugula	Eruca sativa	90.4	15.8	6.7±0.4	7.4±0.7	28.3±13.1
Beet leaf	Beta vulgaris var	91.1	15.7	4.3±0.2	5.2±0.9	35.4±3.4
Cabbage, green	Brassica oleracea var capitata	91.7	12.4	1.6±0.2	17.6±8.2	14.8±2.4
Cabbage, red	Brassica oleracea var. Capitata	91.9	12.1	5.7±0.1	11.5±3.2	54.1±7.2
Celery	Apium graveolens spp	85.9	30.9	2.4±0.1	8.1±1.4	35.0±6.5
Cherry tomato	Lycopersicon esculentum	93.8	58.6	3.5±0.6	33.6±7.8	36.7±5.1
Chicory, red	Cichorium intybus	93.2	31.4	1.6±1.2	4.6±1.4	18.3±2.7
Chicory, red	Cichorium intybus	90.6	22.7	3.8±0.3	5.0±0.8	32.6±2.6
Chicory, witloof	Cichorium intybus (green)	93.2	21.8	4.4±0.2	6.7±0.9	64.5±1.5
Chinese cabbage	Brassica campestris	94.2	50.0	3.4±2.3	47.4±17.9	10.6±1.6
Chinese radish, lobo	Raphanus sativus	94.2	23.8	3.1±0.2	8.0±0.8	15.6±6.0
Cos lettuce, green	Lactuca sativa var	94.2	22.0	4.2±0.1	10.4±1.1	70.9±5.2
Cos lettuce, red	Lactuca sativa var	94.0	20.1	4.7±0.4	5.8±0.8	18.3±1.3
Dandelion	Taraxacum officinale Wiggers	84.6	23.1	8.8±0.1	0.4±0.3	88.8±5.6
Dill	Anethum graveolens	97.5	22.3	3.5±0.4	5.9±0.8	35.5±1.1
Endive	Cichorium endivia var	92.6	23.2	4.2±0.1	4.8±0.6	74.4±3.8
Grumoro	Cichorium intybus	90.0	23.9	5.1±0.5	4.9±0.6	25.3±3.4
Kale	Brassica oleracea var. acephala	89.8	30.3	3.4±0.2	10.9±0.1	19.3±5.8
Kale, green	Brassica oleracea var. Acephala	91.0	16.3	5.5±0.1	4.5±0.6	84.3±7.1
Kale, red	Brassica oleracea var. Acephala	90.4	25.6	3.3±0.1	7.0±0.7	20.3±5.9
Kale, Scotch	Brassica olerecea var. acephala	90.8	20.2	4.6±0.2	5.3±0.1	77.0±1.4
Laciniata	Brassica juncea var. Laciniata	91.2	24.3	3.6±0.3	8.1±0.5	4.8±2.8
Leaf broccoli	Brassica oleracea var.botrytis	88.8	17.3	4.8±0.1	9.5±1.5	36.4±8.3
Leaf lettuce, green	Lactuca sativa	93.4	25.5	5.7±0.1	0.8±0.1	72.1±3.4
Leaf lettuce, red	Lactuca sativa	92.0	20.3	4.9±0.1	0.6±0.1	72.9±1.8
Lettuce, iceberg	Lacluce sativa var. capitata	96.2	40.3	1.6±0.2	52.1±2.3	6.4±2.7
Lettuce, Romaine	Lactuca sativa	94.1	19.2	3.7±0.3	3.5±0.2	11.4±2.9
Lollo Rosso	Lactuca sativa	94.2	16.8	4.7±0.1	6.5±1.8	54.0±4.8
Mustard leaf, green	Brassica juncea	90.8	21.8	8.1±0.4	5.0±2.0	82.3±10.7
Mustard leaf, red	Brassica juncea	93.5	20.5	4.6±0.3	6.1±1.9	33.2±8.6
Oak leaf lettuce	Lactuca sativa var	92.5	22.0	4.2±0.1	8.0±1.2	56.5±5.5
Parsley	Petroselinum crispum	88.5	24.7	1.8±0.2	67.1±18.1	28.4±4.3
Perila leaf	Perilla frutescens var. japonica	93.7	22.0	4.6±0.3	0.3±0.4	84.7±6.6
Radish leaf, red	Rhaphanus sativus	92.6	22.0	3.3±0.1	7.1±1.5	47.7±9.2
Short-frui	Cryptotaenia japonica	87.2	17.2	4.4±0.1	7.1±1.1	74.6±1.5
Sugar loaf	Cichorium intybus	93.0	24.8	5.9±0.3	6.2±0.8	48.9±4.8
Tah tasai Chinese cabbage	Brassica campestris var. narinosa	92.1	22.3	3.6±0.1	8.3±1.5	29.3±5.9
Teragon	Tetragonia tetragonoides	92.5	14.0	5.7±0.1	4.3±0.8	67.7±5.9
Water spinach	Ipomoea aquatica	89.4	14.9	7.3±0.3	3.7±1.4	87.0±3.1
Witloof	Cichorium intybus	89.7	20.6	6.4±0.1	5.1±0.4	3.0±2.0
Trolox					0.066±0.006	94.2±1.4
Ascorbic acid					0.048±0.002	93.1±1.6

Table 2. 샐러드 채소의 LDL 항산화능

샐러드채소 종류	Conc.(μg/ml)	Oxidative injury(%)
번행초	250	11.0
방아	250	13.7
CL13	250	13.7
신선초	250	13.7
공심채	250	15.7
적상추	250	20.9
비트잎	250	21.8
적치콘	250	40.12
참나물	250	61.2
적치커리	250	74.5
식용민들래	250	85.0
청케일	250	115.6
청겨자	250	117.6
양파	250	121.1
플라스타	250	125.2
샐러리	250	137.9
슈카로프	250	142.2
로메인	250	142.2
청코스	250	145.8
적상무	250	155.8
오크잎	250	156.2

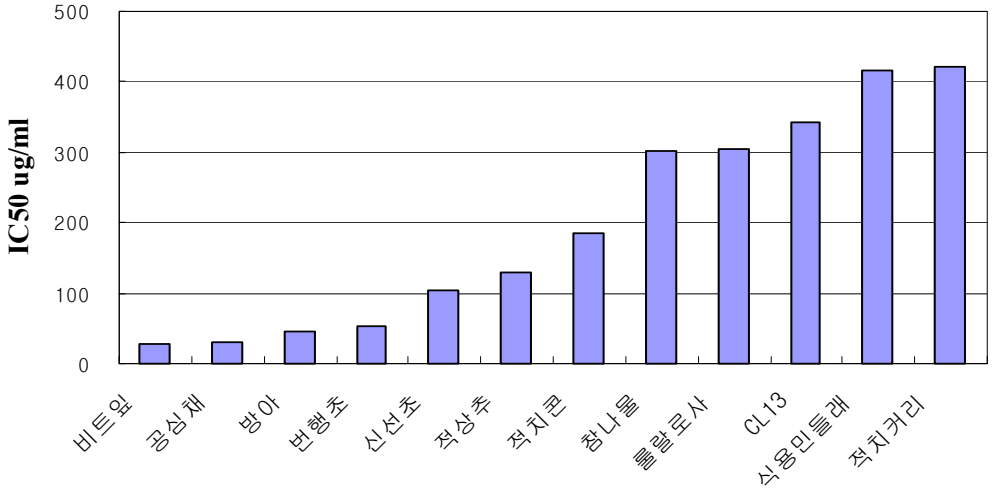


Fig. 2. 샐러드 채소의 LDL 항산화능

Table 3. 상추 품종별 phenol 함량 및 항산화력

	DPPH IC_{50}	TBA (%)	수분 (%)	농축수율 (%)	Phenol (μg/ml)
적상추	0.07±0.01[d]	0.61±0.19	91.97	20.33	4.64
청상추	0.08±0.00[c]	0.81±0.11	93.43	25.47	4.99
적코스	0.58±0.08[b]	1.40±0.03	94.05	20.10	4.63
청코스	1.21±0.24[c]	0.54±0.12	94.16	21.0	4.24
롤랄로사	0.53±0.12[ab]	0.96±0.10	94.22	16.80	4.56
로메인	0.34±0.00[a]	2.11±0.30	94.08	19.23	3.98
양상추	5.39±0.08[f]	2.98±0.07	96.18	40.33	1.71

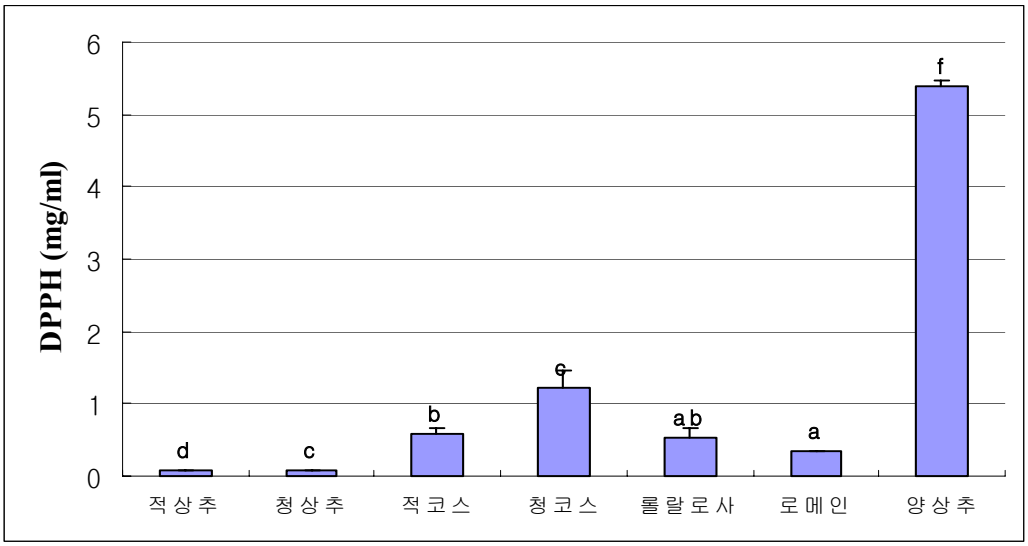


Fig. 3. 상추 품종별 DPPH IC_{50} value

다. 샐러드 채소 조합의 항산화능

본 실험에 사용된 샐러드 채소들 가운데 한국인의 일상 식생활에서 즐겨 먹는 적상추, 청상추 그리고 항산화능을 분석한 상기 Table 1의 분석 결과를 기초로 하여 항산화능이 우수하고 페놀함량이 높은 채소를 조합하여 항산화능이 증가되는지 알아본 결과는 다음과 같다.

1) 상추와 채소류 조합 DPPH IC_{50} 측정

한국인의 일상 식생활에서 즐겨 먹는 상추와 항산화능이 우수한 서양민들레,

공심채, 꽃케일을 조합하여 몇 가지 조합을 만든 후 이 조합들의 DPPH IC_{50} value를 측정한 결과는 Table 4와 같다.

상기 표에서와 같이 적상추나 청상추는 항산화능이 우수하였으며, 또한, 서양민들레, 공심채, 케일, 적양배추는 적상추 또는 청상추와 각각 혼합하였을 때 항산화능이 증가되었다.

Table 4. 상추와 채소류 조합 DPPH IC_{50} 측정

상추와 채소류 조합	**채소조합 후 DPPH IC_{50}(mg/ml)**	단일채소 DPPH IC_{50}(mg/ml)	단일채소 DPPH IC_{50}(mg/ml)
적상추+청상추	**0.05±0.029**	0.068±0.001	0.075±0.011
적상추+민들래	**0.119±0.006**	0.068±0.001	0.178±0.009
적상추+꽃케일	**0.142±0.005**	0.068±0.001	0.628±0.007
적상추+양배추	**0.157±0.005**	0.068±0.001	2.253±0.045
적상추+적양배추	**0.157±0.010**	0.068±0.001	0.649±0.041
적상추+공심채	**0.071±0.019**	0.068±0.001	0.283±0.026
청상추+민들래	**0.142±0.001**	0.075±0.011	0.178±0.009
청상추+꽃케일	**0.141±0.001**	0.075±0.011	0.628±0.007
청상추+양배추	**0.171±0.009**	0.075±0.011	2.253±0.045
청상추+적양배추	**0.157±0.005**	0.075±0.011	0.649±0.041
청상추+공심채	**0.090±0.005**	0.075±0.011	0.283±0.026

2) 채소류 조합의 DPPH IC_{50} 측정

샐러드 채소류 중에서 적상추와 청상추를 제외하고 항산화능이 우수한 채소류를 선정하여 2개씩 조합하여 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 5와 같다. Table 5에서와 같이 방아, 플라스타, 적치콘, 공심채와 조합한 채소군의 항산화능이 우수하였다

그러나 공심채, 방아, 적치콘, 플라스타, 슈가로프는 생육 특성상 상시 공급이 불가능하였으므로 다른 채소로 대치하여 측정하였다(Table 6). 민들레, 적양배추, 꽃케일의 조합이 우수한 항산화능을 나타내었다.

Table 5. 채소류 조합의 DPPH IC_{50}

샐러드 조합 (비율 1:1)	IC_{50} (10mg/ml)	샐러드 조합 (비율 1:1)	IC_{50} (10mg/ml)	샐러드 조합 (비율 1:1)	IC_{50} (10mg/ml)
방아+공심채	0.22	슈카로프+청케일	0.86	적치콘+신선초	0.03
방아+민들래	0.23	슈카로프+민들래	0.29	적치콘+공심채	0.03
방아+플라스타	0.39	슈카로프+청겨자채	0.71	적치콘+민들래	0.40
방아+신선초	0.51	슈카로프+공심채	0.35	적치콘+슈카로프	0.41
방아+청겨자	0.52	슈카로프+신선초	0.55	적치콘+청겨자채	0.52
방아+적치콘	0.57	슈카로프+적쌈무	0.83	적치콘+적쌈무	0.75
방아+슈카로프	0.67	적쌈무+청케일	0.95	적치콘+청케일	1.3
방아+적쌈무	0.69	적쌈무+청겨자채	1.00	민들래+청겨자채	0.50
방아+청케일	0.69	적쌈무+신선초	0.61	민들래+청케일	0.55
플라스타+민들래	0.11	적쌈무+민들래	0.48	민들래+공심채	0.14
플라스타+적쌈무	0.5	적쌈무+공심채	0.36	민들래+신선초	0.31
플라스타+공샘채	0.15	신선초+청케일	0.67	청겨자채+신선초	0.50
플라스타+신선초	0.24	신선초+공심채	0.43	청겨자채+청케일	0.84
플라스타+적치콘	0.29	청케일+공심채	0.43	청겨자채+공심채	0.32
플라스타+슈카로프	0.38				
플라스타+청겨자	0.43				
플라스타+청케일	0.45				

Table 6. 채소류 조합의 DPPH IC_{50}

샐러드채소 조합	채소조합 후 DPPH IC_{50}(mg/ml)	단일채소 DPPH IC_{50}(mg/ml)	단일채소 DPPH IC_{50}(mg/ml)
민들래+양배추	0.41	0.18±0.00	2.37±0.04
민들래+적양배추	0.29	0.18±0.00	0.65±0.04
양배추+적양배추	1.19	2.25±0.05	0.65±0.04
공심채+민들래	0.18	0.28±0.03	0.18±0.00
공심채+양배추	0.29	0.28±0.03	2.25±0.05
공심채+적양배추	0.27	0.28±0.03	0.65±0.04
꽃케일+양배추	0.83	0.63±0.00	2.25±0.05
꽃케일+적양배추	0.69	0.63±0.00	0.65±0.04
꽃케일+민들래	0.38	0.63±0.00	0.18±0.00
꽃케일+공심채	0.29	0.63±0.00	0.28±0.03

다음으로는 2가지 이상의 샐러드 채소를 조합하여 측정한 항산화능은 다음의 Table 7과 같다. 각각의 조합 중에서 DPPH 라디칼 소거능이 우수한 군은 CA1, 2,

3, 4, 7, 12, 17, 18 이 우수하였으나 TBA 지질 과산화 억제력이 낮은 군인, CA1, 2, 3, 4, 12를 제외한 CA7, 17, 18군은 DPPH 라디칼 소거능과 지질과산화억제력이 매우 우수하였다. 즉, 항산화기능성 샐러드 조합으로 C7(적코스+롤로로사+공심채+꽃케일+적상추), C17(롤랄로사+월드로프+적양배추+공심채+신선초+적상추+민들래+꽃케일+청상추), C18(적치콘+신선초+민들래+공심채+플라스타+적상추+월드로프+청상추+롤라로사)이 DPPH 라디칼 소거능 및 TBA에 의한 지질 과산화 억제력이 매우 우수하였다.

Table 7. 항산화 기능성 샐러드 제조를 위한 샐러드 채소 조합에 따른 항산화능

No.	샐러드 조합 목록 (조합비율 1:1)	IC_{50} (mg/ml)	TBA (%)
CA1	적코스+롤로로사+월드로프+청상추+적양배추	0.20	11.72
CA2	롤로로사+월드로프+적양배추+공심채+신선초	0.18	4.65
CA3	**신선초+식용민들래+공심채+꽃케일+적상추**	**0.07**	45.44
CA4	신선초+식용민들래+공심채+청상추+적양배추	0.18	9.88
CA5	신선초+꽃케일+월드로프+공심채+적양배추	0.25	5.81
CA6	적코스+롤로로사+신선초+식용민들래+월드로프	0.31	19.86
CA7	**적코스+롤로로사+공심채+꽃케일+적상추**	**0.15**	**64.63**
CA8	청상추+적양배추+공심채+꽃케일+적상추	0.25	18.12
CA9	적코스+롤로로사+신선초+식용민들래+월드로프+방울토마토	0.39	63.66
CA10	청상추+적양배추+공심채+꽃케일+적상추+방울토마토	0.32	15.31
CA11	민들래+방아+공심채+적상추+청케일	0.20	63.88
CA12	적치콘+신선초+민들래+공심채+플라스타	0.17	43.28
CA13	플라스타+민들래+공심채+적치콘+적쌈무	0.25	34.57
CA14	슈카로프+적쌈무+청케일+민들래+공심채	0.34	37.48
CA15	신선초+적치콘+슈카로프+플라스타+방아	0.31	24.78
CA17	**롤랄로사+월드로프+적양배추+공심채+신선초+적상추+민들래+꽃케일+청상추**	**0.19**	**88.75**
CA18	**적치콘+신선초+민들래+공심채+플라스타+적상추+월드로프+청상추+롤로로사**	**0.22**	**82.31**

5. 샐러드 조합 중 최종 결정

상기에서 선정된 CA 7, 17, 18의 채소중에는 생육특성상 상시 공급이 불가능한 채소인, 공심채, 월드로프, 플라스타, 적치콘을 다른 채소로 대치하여 새로이 분석한 결과 Table 8에서와 같이 CA25군(비트+신선초+적상추+민들래+청코스+롤랄로사+로메인+꽃케일+적꽃케일)이 DPPH 라디칼 소거능과 지질과산화억제력이 우수하였고

또한 LDL 항산화능이 우수한 비트, 신선초, 민들레, 적상추가 포함된 조합인 CA25를 최종적으로 항산화 기능성 샐러드로 확정하였다. 또한 일반 샐러드로 양상추를 기본으로 하여 맛과 색을 고려하여 샐러드 채소를 조합하여 일반 샐러드를 만들었다.

Table 8. 기능성 샐러드 채소 조합

	샐러드 조합	IC_{50} (mg/ml)	TBA(%)
Control	양상추+로메인+당근+방울토마토+적치커리+적양배추+비타민+적코스+홍피망 (비율 5 : 4 : 1 : 2 :1/2 : 1 : 1 : 1/2 : 1)	0.30	69.1
CA25	비트+신선초+적상추+민들래+청코스+롤랄로사+로메인+꽃케일+적꽃케일 (비율 2 : 2 : 2 : 2 : 2 : 2 : 2 : 1 : 1)	0.17	86.2

Fig. 4. 제조된 항산화 기능성 샐러드

6. 샐러드의 선정 및 샐러드드레싱의 개발 방법

영양가, 효능 등 문헌에 보고된 자료 및 측정한 항산화능 평가를 통하여 선정하였던 선행연구의 샐러드조합 중 그 항산화력이 월등했던 샐러드 조합을 선택하였다.

가. 항산화샐러드의 선정

샐러드의 항산화성은 다양한 샐러드 조합에 대하여 phenol 함량과 DPPH 라디칼 소거능 및 TBA법을 이용한 지질 과산화 억제력을 측정 하였다. DPPH 라디칼 소거능은 DPPH를 EtOH에 녹여 제조한 후 샐러드채소 동결건조 시료를 메탄올로 추출 농축하여 희석액 0.2 mL와 DPPH용액 0.8 mL를 넣고 잘 혼합한 후 30분간 방치 후

에 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지질 산화 억제력은 채소 농축액과 소 뇌액을 혼합하여 지질을 산화 시킨 후 TBA/TCA를 넣고 반응 시킨 후 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

항산화샐러드의 조합을 결정하기 위해 여러 가지 샐러드의 자유라디칼 소거능과 TBA법에 의한 지질의 과산화 억제능을 측정하였다. 결과는 Table 10과 같으며 DPPH 라디칼 항산화능이 큰 샐러드조합으로는 비트, 신선초, 적상추, 민들레, 청코스, 롤라로사, 로메인, 꽃케일, 적꽃케일을 혼합한 CA25 salad가 월등히 높았고 지질 과산화 억제정도 역시 CA25 salad가 가장 높았다. 그 다음으로는 비트, 신선초, 적상추, 민들레, 청코스, 샐러리, 양파, 척치커리를 혼합한 CL13 salad가 높은 항산화능을 가지는 것을 알았다. 그리하여 Table 11과 같은 조합으로 항산화샐러드를 선정하였다. Table 12.13은 선정된 항산화샐러드의 일반성분과 무기질을 분석한 자료이다.

Table 10. 여러 가지 샐러드 조합의 항산화능

Conc.(10 mg/ml)	DPPH IC_{50} (mg/ml)	TBA (%)
CA24 salad	0.3000	69.4
CA25 salad	**0.1700**	**85.8**
CC11 salad	0.2300	82.1
CL13 salad	0.1900	83.7
Vitamin C	0.0048	94.1
Vitamin E	0.0153	42.5

Table 11. 항산화샐러드의 조합

비트	신선초	적상추	민들레	청코스	롤라로사	로메인	꽃케일	적꽃케일
2	2	2	2	2	2	2	1	1

Table 12. 항산화샐러드의 일반성분 (per 100g edibe portion)

Energy (kcal)	Moisture (%)	Protein (g)	Fat (g)	Non-fiberous (g)	Fiber (g)	Ash (g)
27.18	91.26	2.38	0.06	4.24	0.87	1.19

Table 13. 항산화샐러드의 무기질 (per 100g edibe portion)

Ca (mg)	Zn (mg)	Fe (mg)	Na (mg)	Mg (mg)	K (mg)	P (mg)
165.88	0.41	2.65	43.00	27.68	389.71	0.004

나. 항동맥경화샐러드의 선정

샐러드의 항동맥성은 사람의 혈장 중 LDL 항산화능을 측정하여 선정하였는데 LDL항산화능은 PBS 버퍼, Cu^{2+}용액, LDL cholesterol을 넣은 석영 cell에 각각의 같은 농도의 채소농축액을 넣고 반응 시킨 후 234 nm에서 흡광도를 측정하였다.

항동맥경화샐러드의 조합을 결정하기 위해 여러 가지 채소의 사람 혈장 중 LDL 항산화능을 측정하였다. 결과는 Fig 7과 같으며 LDL 항산화능이 우수하였던 채소 중 우리나라에서 손쉽게 구할 수 있는 채소인 적상추, 신선초, 비트잎을 중심으로 항동맥경화샐러드의 조합을 선정하였다(Table 14). Table 15, 16은 선정된 항동맥경화샐러드의 일반성분과 무기질을 분석한 자료이다.

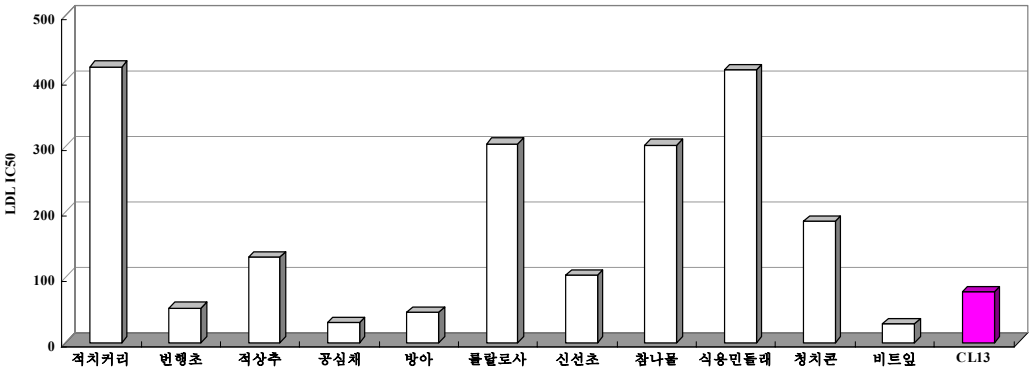


Fig. 7. 여러 가지 채소의 사람 혈장 중 LDL 항산화능 비교분석

Table 14. 항동맥경화샐러드의 조합

비트	신선초	적상추	민들레	청코스	샐러리	양파	적치커리
2	2	2	2	2	2	2	2

Table 15. 일반성분 (per 100g edibe portion)

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

Table 16. 무기질 (per 100g edibe portion)

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

다. 스피루리나 첨가 샐러드드레싱의 개발

항산화성에 초점을 맞추어 기능성을 부여하고 동양인의 입맛에 맞는 재료 중에서

된장, 간장, 참깨를 선정하였고, 제조한 마요네즈에 이들 재료의 첨가 비율을 달리하면서 샐러드드레싱을 제조 후 관능검사를 통해 첨가 비율을 결정하였다. 또한 샐러드 드레싱에 첨가되는 스피루리나 농도의 범위 또한 관능검사를 통해 결정하였다.

항산화성에 초점을 맞추어 기능성을 부여하고 동양인의 입맛에 맞는 재료 중에서 된장, 간장, 참깨를 선정하였고, 제조한 마요네즈에 이들 재료의 첨가 비율을 달리하면서 샐러드드레싱을 제조 후 관능검사를 통해 첨가 비율을 결정하였다. 또한 샐러드 드레싱에 첨가되는 스피루리나 농도의 범위 또한 관능검사를 통해 Table 17과 같이 결정하였다. Table 18는 개발된 스피루리나 첨가 샐러드드레싱의 영양성분을 분석한 결과이다.

Table 17. 스피루리나 첨가 샐러드드레싱의 성분

(%)

corn oil	egg, york	mustard	onion	water	soybean paste	sucrose
27.55	0.01	0.001	5.51	5.51	11.02	16.53

soybean sauce	vinegar	sesame	pepper	salt	spirulina	total
1.65	22.04	8.26	0.55	1.10	0.28	100

Table 18. 스피루리나 첨가 샐러드드레싱의 영양성분 (per 100g edibe portion)

Energy (㎉)	Water (%)	Protein (g)	Fat (g)	Carbohydrate		Ash (g)
				Sugar(g)	Fiber (g)	
376	35.3	5.3	32.8	19.0	5.0	2.6

Minerals							Vitamins		
Ca (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Na (mg)	K (mg)	Zn (mg)	Mg (mg)	Niacin (mg)	β-Carotene	Riboflabin (mg)
123	69	0.5	865	130	0.1	18	0.4	1.139	0.13

1) 실험재료 및 샐러드드레싱의 배합비

마요네즈 제조에 필요한 식초(청정원), 옥수수 식용유(청정원), 겨자(청정원), 후추(오뚜기), 달걀을 시중 슈퍼마켙에서 구입하여 냉장보관(5℃)하였다가 난황을 분리하여 사용하였다. 또한, 된장(해찬들), 간장(샘표), 설탕(청정원), 볶은참깨, 양파는 시중의 수퍼마켙에서 구입하여 사용하였고, 스피루리나는 지구 DIC사 제품을 사용하였다.

본 실험에서 제조한 스피루리나 샐러드 드레싱의 배합비는 Table 1과 같다. 예비

실험을 통해 기능성을 부여하고 동양인의 입맛에 맞는 재료 중에서 된장, 간장, 참깨를 선정하였고, 제조한 마요네즈에 이들 재료의 첨가 비율을 달리하면서 샐러드 드레싱을 제조 후 관능검사를 통해 첨가비율을 결정하였다. 또한, 샐러드 드레싱에 첨가되는 스피루리나 농도의 범위 또한 관능검사를 통해 Table 19와 같이 결정하였다.

Table19. Ingredients ratio of spirulina salad dressing (%)

Ingredients Sample	1	2	3	4	5	6
corn oil	27.62	27.61	27.59	27.55	27.47	27.32
egg, york	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
mustard	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
onion	5.52	5.52	5.52	5.51	5.49	5.46
water	5.52	5.52	5.52	5.51	5.49	5.46
soybean paste	11.05	11.04	11.03	11.02	10.99	10.93
sucrose	16.57	16.56	16.55	16.53	16.48	16.39
soybean sauce	1.66	1.66	1.66	1.65	1.65	1.64
vinegar	22.10	22.08	22.07	22.04	21.98	21.82
sesame	8.29	8.28	8.28	8.26	8.24	8.20
pepper	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
salt	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10
spirulina	0.00	0.07	0.14	0.28	0.55	1.09
total	100	100	100	100	100	100

2) 샐러드드레싱의 제조 방법

난황, 겨자, 소금, 후추를 믹싱볼에 넣고 전기비터(HM-213: Main Power Electrical Factory Ltd)로 10초간 교반시켰다. 여기에 식초를 넣고 다시 10초간 교반시킨 후 식용유를 서서히 주입하는 동시에 계속 교반시키면서 10분간 유화시켰다. 유화가 끝난 후 에 다시 3분간 더 교반해 준 다음 드레싱 재료로 사용하였다. 된장, 간장, 양파, 참깨, 물, 설탕을 Osterizer blender(SQ-205, (주)일진가전)에서 교반하면서 혼합한 후에 제조 한 마요네즈에 소량씩 첨가하면서 전기비터로 교반하면서 혼합하였다. 또한 스피루리나는 마쇄 후 드레싱에 첨가해 첨가량을 달리하여 (0, 0.07, 0.14, 0.28, 0.55, 1.09%) 드레싱을 제조하였다.

3) 물성 및 점도

제조한 샐러드 드레싱의 물성은 비이커(50 mL)에 샐러드 드레싱 50 g을 넣고 19 mm(id)의 plunger 가 5.0 mm/s의 속도로 물성 측정시료 표면으로부터 15 mm의 깊이까지 내려가도록 texture analyser(TA/XT2, Microstable Systems Co., England)를 사용하여 TPA를 측정하였으며, 각 시료마다 6회 반복 측정하였다. 측정 조건은

Table 20과 같다.

점도는 제조한 샐러드 드레싱 50mL을 항온수조(MSB-2011D, (주)CIRCULATOR)에 10분간 방치하여 온도를 10℃및 20℃가 되도록 한 후 점도계(Brookfield Digital Viscometer DV Ⅱ+, USA)를 사용하여 5초 간격으로 1분간 측정하였다.

Table 20. Condition of texture analyser

Sample rate	100 pps
Force threshold	5.0 g
Distance threshold	0.5 mm^2
Contact force	5.0 g
Pre test speed	5.0 mm/sec
Post test speed	5.0 mm/sec
Test speed	5.0 mm/sec
Strain	30%
Time	0.5 sec
Trigger type	Auto 10 g

스피루리나를 첨가한 샐러드 드레싱의 물성을 분석한 결과는 Table 21과 같다. 경도는 스피루리나 첨가량이 증가될수록 유의적으로 증가하였으며($p<0.05$), 대조군은 23.17 g 인데 비하여 0.07% 첨가군은 26.23 g, 0.28% 첨가군은 27.77 g 이었다. 한편 본 실험에서 제조한 마요네즈의 경도는 182 g 이었으며, 본 실험에서 제조한 샐러드 드레싱의 경도에 비하여 상당히 높았는데, 이는 기존의 보고(Chun & Song 1995)와 유사한 경향이었다. 부착성 역시 스피루리나 첨가량이 증가될수록 유의적으로 증가하였으며($p<0.05$), 대조군은 -0.28 인데 비하여 0.07% 첨가군은 -.0.59, 0.28% 첨가군은 -0.71, 1.09% 첨가군은 -0.82 이었다. 한편 본 실험에서 제조한 마요네즈의 부착성은 -43.8 이었으며, 본 실험에서 제조한 샐러드 드레싱의 부착성에 비하여 상당히 높았는데, 이는 기존의 보고(Chun & Song 1995)와 유사한 경향이었다. 탄력성은 스피루리나를 첨가한 군이 대조군에 비하여 높았으며, 첨가량 0.28% 까지는 0.07% 첨가군과 유의적인 차이가 없었으나 첨가량이 0.55%이상인 경우에는 첨가량에 따라 유의적으로 높아졌다($p<0.05$). 대조군은 0.84 인데 비하여 0.07% 첨가군은 0.87, 0.55% 첨가군은 0.89, 1.04% 첨가군은 0.92이었다.

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱 점도를 10℃와 20℃ 달리하여 측정한 결과는 Table 22에서와 같다. 10℃에서 대조군의 점도는 1600cP 이였으며 20℃에서는 800cP는 온도가 높아짐에 따라 점도는 감소하였다. 스피루리나 첨가량을 달리 하여 제조

한 드레싱의 점도는 스피루리나 첨가량이 0.07%-0.28% 까지는 유의적 차이가 없었다. 그러나 스피루리나 첨가량을 증가시켜 0.55% 또는 1.09%를 첨가하였을 때는 대조군에 비하여 점도는 유의적으로 증가하여 각각 1620cP, 1653cP 이었다($p<0.05$). 기존에 보고된 마요네즈의 점도는 샐러드 드레싱보다 높았으며, 또한, 본 실험에서 제조한 샐러드 드레싱의 점도에 비하여 높았다(Chun & Song 1995; Lee & Song 2003).

Table 21. Textural properties of spirulina added-salad dressing

Spirulina(%)	Hardness(g)	Adhesiveness	Spinginess	Cohesiveness
0.00	23.17±0.64^{e}	-0.28±0.08^{a}	0.84±0.01^{d}	0.79±0.05^{b}
0.07	26.23±0.31^{d}	-0.59±0.00^{b}	0.87±0.00^{c}	0.81±0.01^{ab}
0.14	27.17±0.12^{c}	-0.59±0.00^{b}	0.87±0.00^{c}	0.82±0.0^{ab}
0.28	27.77±0.15^{b}	-0.71±0.01^{c}	0.88±0.00^{c}	0.82±0.01^{ab}
0.55	28.13±0.06^{b}	-0.74±0.00^{c}	0.89±0.00^{b}	0.83±0.01^{ab}
1.09	28.70±0.00^{a}	-0.82±0.01^{d}	0.92±0.00^{a}	0.85±0.01^{a}

^{a}:Means in the same column with different letters are significantly different($p<0.05$).

Table 22. Viscosity of spirulina-added salad dressing

Spirulina(%)	10℃ viscosity(cP)	20℃ viscosity(cP)
0.00	1600.0±0.0^{b}	800.0±0.0^{b}
0.07	1600.0±0.0^{b}	800.0±0.0^{b}
0.14	1613.3±11.5^{b}	800.0±0.0^{b}
0.28	1616.7±28.9^{b}	800.0±0.0^{b}
0.55	1620.0±0.0^{a}	813.3±11.5^{a}
1.09	1653.3±5.8^{a}	813.3±11.5^{a}

^{a}:Means in the same column with different letters are significantly different($p<0.05$).

4) 유화안정성과 미세구조

제조한 샐러드 드레싱의 유화안정성은 Pearce & Kinsella(1978)의 방법으로 측정하였다. 눈금 있는 원심분리 관에 10mL 넣어 5분간 원심분리(UNION5KR, (주)한일, 3,600rpm)한 후 분리된 수상(water phase)의 비율을 아래 같이 산출하여 구했다.

$$ES(\%) = \{(0.5T-X)/0.5T\}\times 100$$

단, T : emulsion 전용량(mL), X : 분리한 수상의 용량(mL)

미세구조를 측정하기 위해 샐러드 드레싱 0.5 g을 10% glycerol(in sodium dodecyl sulfate, SDS) 20 mL로 희석한 후 2% SudanⅢ 2 mL로 염색하여 capped vial에 놓고 심하게 흔들었다. 2시간 경과 후에 염색된 시료를 slide glass 위에 도포

하여 현미경(DMLP, Leica) 으로 관찰한 후 도포된 부위의 전 영역이 포함되도록 사진(Q600, Leica)을 찍었다.

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 유화 안정성 실험 결과, Table 23에서와 같이 대조군은 40%이었으며 스피루리나 첨가군은 0.07%-1.09% 모두 40%로 대조군과 동일하여 스피루리나 첨가량이 유화안정성에 영향을 주지 않았다. 일반적으로 마요네즈의 유화 안정성은 90%이상으로 높았으나(Chun & Song 1995; Lee & Song 2003), 본 실험에서 제조한 샐러드 드레싱의 유화안정성은 40%로 낮은 편이었다.

본 실험에서 제조한 스피루리나 샐러드 드레싱 중 기호도 검사에서 가장 높은 점수를 받은 0.28%의 스피루리나를 첨가한 샐러드 드레싱의 미세구조를 현미경으로 관찰한 결과는 그림 8과 같다. 또한, 샐러드 드레싱의 지방구 크기의 분포는 그림 9에 나타내었다. 그 크기가 0~0.5 ㎛인 지방구가 25.5%를 차지하였고, 0.5~1.0 ㎛는 30.3%를 차지하였으며, 1.0~1.5 ㎛가 29.8%를 차지하여 대부분 작은 지방구를 이루고 있었다. 검을 이용한 저지방 마요네즈의 경우(Lee & Song 2003) 지방구의 입자 크기가 0.45~4.56 ㎛까지 분포된 반면에 본 0.28% 스피루리나 샐러드 드레싱의 입자 크기는 0.5~4.0 ㎛으로 분포되어 입자 크기의 분포 범위는 유사하였다. 그러나 본 샐러드 드레싱의 지방구 입자 크기는 직경 1.5 ㎛ 이하가 전체의 85.6%로 대부분 차지한 반면, 검을 이용한 저지방 마요네즈의 경우(Lee & Song 2003) 지방구의 입자는 2.28 ㎛가 59.37%를 차지하여 본 드레싱의 입자 크기가 더 미세한 것으로 나타났다.

Table 23. Emulsion stability of spirulina added-salad dressing

Spirulina(%)	Emulsion stability(%)
0.00	40
0.07	40
0.14	40
0.28	40
0.55	40
1.09	40

Fig. 8. Microscopic examination of spirulina added-salad dressing.

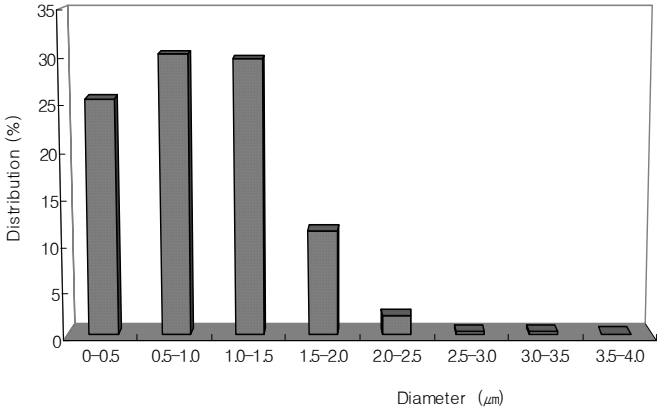


Fig. 9. Frequency distribution(%) of lipid droplet sizes of spirulina added-salad dressing.

5) 색상

색상은 샐러드 드레싱 20 g을 페트리디쉬(50×12 mm)에 담아 색차계(CM-3500d, Minolta Co., Ltd., Japan)를 사용하여 Hunter color system의 명도(L 값), 녹색도(-a 값), 황색도(b 값)를 측정하였다.

스피루리나 첨가량을 달리하여 제조한 샐러드 드레싱의 색상을 Hunter color system으로 표시한 결과는 Table 24와 같다. 대조군의 명도(L 값)와 황색도(b 값)은 각각 30.79 및 18.01 이었으며 스피루리나 첨가량이 많을수록 유의적으로 감소하였는데($p<0.05$), 스피루리나 첨가량 0.28%의 경우는 23.74 및13.35이었고 스피루리나 첨가량이 1.09%인 19.89 및 10.97이었다. 한편, 녹색도(-a 값)값은 대조군은 -4.21이었으나 스피루리나를 첨가한 경우에는 값이 유의적으로 증가하여 스피루리나 첨가량

0.28%의 경우는 3.68이었고 스피루리나 첨가량이 1.09%인 4.22이었다. 와 △E 값은 스피루리나 첨가량이 0.07%일때 대조군에 비하여 차이값이 4.71로 현저히 색상에 차이가 있었으며, 0.14%로 증가하면 0.07%에 비하여 0.72로 근소한 차이의 색상을 나타내었으나 0.14%에서 0.28%로 증가하면 1.76으로 감지할 수 있을 정도로 색상의 차이가 났다(Kim et al 2004). 본 실험에 사용한 스피루리나는 진한 녹색의 tablet 형태를 분말화하여 첨가하였는데, 스피루리나의 색소 성분으로는 등황색의 카로티노이드, 녹색의 클로로필, 청색의 피코시아닌 등이 있다(Kim & Park 2003).

Table 24. Hunter color value of spirulina added-salad dressing

Spirulina(%)	L value	-a value	b value	△E value
0.00	30.79±1.14[a]	-4.21±0.00[a]	18.01±0.01[a]	46.68±0.00[f]
0.07	27.35±0.01[b]	1.35±0.01[b]	16.34±0.01[b]	51.39±0.12[e]
0.14	25.63±0.01[c]	3.34±0.02[c]	14.32±0.00[c]	52.11±0.00[d]
0.28	23.74±0.01[d]	3.68±0.01[d]	13.35±0.01[d]	53.87±0.01[c]
0.55	21.0±0.01[e]	3.98±0.00[e]	12.11±0.00[e]	55.09±0.00[b]
1.09	19.89±0.00[f]	4.22±0.01[f]	10.97±0.01[f]	58.01±0.00[a]

[a]:Means in the same column with different letters are significantly different($p<0.05$).

6) 항산화능 실험

자유라디칼 소거능은 샐러드 드레싱 10 g에 2배의 메탄올을 넣고 10분간 blending시켜한 후 원심분리(3000rpm 20min)하였다. 상층액을 취해서 1.5×10^{-4}M 농도의 DPPH 용액에 30분간 반응시킨 후 515nm에서 흡광도를 분광광도계(352, Pharmacia Co.)로 측정하였다.

또한 지질과산화 억제정도는 TBARS(2-thiobarbituric acid reactive substances) 법으로 측정하였다. 드레싱 0.5 g에 thiobarbituric acid(TBA)/trichloroacetic acid(TCA)용액 2mL을 혼합한 후 90℃에서 15분간 가열하고 10분간 얼음물로 냉각한 후 원심분리(3000rpm, 20min) 후 상층액을 533nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 malondialdehyde를 사용하였으며 이때 표준곡선의 식은 Y=245.25X +0.1071 (R^2= 0.9896)이었다. 이때 얻어진 결과는 ㎍ malondialdehyde/㎖ sample로 표시하였다.

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 항산화성을DPPH 라디칼 소거능과 TBARS 함량을 측정하여 IC_{50}(50% 저해시키는데 필요한 농도)값을 Table 25에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능의 IC_{50}(DPPH 라디칼을 50% 소거시키는데 필요한 농도)값은

샐러드 드레싱은 대조군이 114.63 ㎎/㎖이었으며, 스피루리나를 첨가하면 첨가량이 증가함에 따라 IC_{50} 값은 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). 그러나 스피루리나 첨가 0.07%군과 0.14%군은 대조군에 비하여 유의적으로 낮았으나 2군간의 차이는 없었다(110.55-108.17 ㎎/㎖). 또한, 0.28%첨가군은 0.14%첨가군에 비하여 DPPH 라디칼 소거능이 유의적으로 증가하였으나 0.28%부터 1.04%까지 첨가한 경우에는 첨가군간에 유의적인 차이가 없었다(104.98-102.14 ㎎/㎖). 즉, 0.28% 첨가군의 DPPH 라디칼 소거능이 다른 첨가군에 비하여 우수하였다. 참고로 Ascorbic acid의 DPPH 라디칼 소거능은 IC_{50}값이 0.0048 ㎎/㎖로 매우 우수하였으며, 또한 마요네즈의 IC_{50}값은 174.91 ㎎/㎖로 기능성 재료를 첨가하지 않은 군에 비하여 높아 항산화성이 낮았다.

한편, 제조한 샐러드 드레싱의 지질 과산화 억제정도를 TBA법으로 측정한 결과(Table 25), 대조군의 IC_{50}(지질과산화를 50% 저해시키는데 필요한 농도)값은 6.85 ㎍/㎖이었으며 스피루리나를 첨가하면 첨가량이 증가함에 따라 IC_{50} 값은 유의적으로 감소하였는데($p<0.05$), 스피루리나 첨가 0.07%군(6.81 ㎎/㎖)은 대조군(6.85 ㎎/㎖)과 유의적인 차이를 나타내지 않았으며 0.14% 이상 첨가(6.74 ㎎/㎖)시에 유의적으로 지질과산화 저해정도가 높게 나타났다. 또한, 0.28%첨가군(6.71 ㎎/㎖)은 0.14%첨가군에 비하여 유의적인 차이는 없었으나 0.55%첨가군은 0.28%첨가군에 비하여 또한, 1.09%첨가군은 0.55%첨가군에 비하여 유의적으로 IC_{50} 값이 감소하였다. 즉, 지질과산화 억제정도가 컸다. 그러나 마요네즈의 IC_{50}값은 7.66 ㎎/㎖ 으로 기능성 재료를 첨가하지 않은 군에 비하여 높아 항산화성이 낮았다.

Table 25. Antioxidant activities of spirulina added-salad dressing

Spirulina(%)	DPPH IC_{50}(㎎/㎖)	TBARS(㎍/㎖)
0.00	114.63±2.60[a]	6.85±0.06[a]
0.07	110.55±0.62[b]	6.81±0.02[a]
0.14	108.17±1.14[c]	6.74±0.05[b]
0.28	104.98±0.59[d]	6.71±0.03[b]
0.55	104.29±0.17[de]	6.63±0.03[c]
1.09	102.14±1.33[e]	6.52±0.03[d]
Ascorbic acid	0.0048	

*IC_{50} :50% inhibition concentration

[a]:Means in the same column with different letters are significantly different($p<0.05$).

7) 관능검사

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 기호도를 평가하기 위하여 충남대학교 식품영양학과 학생 60명을 대상으로 시료인 샐러드 드레싱에 샐러드를 함께 제공하여 기호

도 평가를 실시하였다. 평가항목인 외관, 향, 맛, 점도, 전반적인 기호도에 대하여 5점 척도법으로 평가하였다.

스피루리나 샐러드 드레싱의 기호도 검사 결과는 Table 26과 같다. 외관(색)에 대한 점수는 대조군이 3.67점이었으나, 스피루리나를 0.07% 첨가한 경우는 4.33점, 스피루리나 0.14% 첨가군과 0.28% 첨가군은 각각 7.50점 및 7.83점으로 기호도 점수가 높아졌다($p<0.05$). 그러나 스피루리나 첨가량을 더 증가시킨 경우에는 즉, 0.55% 및 1.09% 첨가군은 각각 3.83 및 2.83점으로 스피루리나 첨가량을 0.55%이상으로 증가시킨 경우에는 기호도 점수가 낮아졌다. 샐러드 드레싱의 색에 대한 기호도 점수가 가장 높은군 즉, 0.14% 및 0.28%를 첨가한 드레싱의 녹색도는 3.34 및 3.68이었다(Table 6). 향에 대한 기호도 점수는 대조군은 5.33점이었으나, 스피루리나를 첨가한 군은 5.5~7.5점으로 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 유의적인 차이는 없었지만 스피루리나 첨가량이 0.28%인 군이 7.5점으로 가장 높은 점수를 받았다. 맛에 대한 기호도 점수는 대조군이 5.5점이었으나, 스피루리나를 0.07% 첨가한 경우는 5.83점, 스피루리나 0.14% 첨가군은 7.17점, 0.28% 첨가군은 8.00점으로 유의적인 차이는 없었지만 기호도 점수가 높아졌다. 그러나 스피루리나 첨가량을 더 증가시킨 경우에는 즉, 0.55% 및 1.09% 첨가군은 각각 5.00 및 4.17점으로 스피루리나 첨가량을 0.55% 이상으로 증가시킨 경우에는 기호도 점수가 유의적으로 낮아졌다($p<0.05$). 점도에 대한 기호도 점수는 대조군은 4.33점이었고, 스피루리나 첨가한 군은 4.67~5.33점으로 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 전반적인 기호도 점수는 대조군이 4.17점이었고, 스피루리나를 0.07% 첨가한 경우는 4.33점, 스피루리나 0.14% 첨가군과 0.28% 첨가군은 각각 5.01점 및 7.97점으로 기호도 점수가 높아졌다($p<0.05$). 그러나 스피루리나 첨가량을 더 증가시킨 경우에는 즉, 0.55% 및 1.09% 첨가군은 각각 4.33 및 3.83점으로 스피루리나 첨가량을 0.55%이상으로 증가시킨 경우에는 기호도 점수가 유의적으로 낮아졌다($p<0.05$). 따라서, 관능검사결과, 스피루리나를 0.28% 첨가한 샐러드 드레싱이 가장 좋은 것으로 나타났다.

Table 26. Mean scores of sensory evaluation of spirulina added-salad dressing

Spirulina(%)	Color	Flavor	Taste	Viscosity	Over-all preference
0.00	$3.67±1.75^{b}$	$5.33±1.97^{a}$	$5.50±2.43^{abc}$	$4.33±1.97^{a}$	$4.17±1.72^{ab}$
0.07	$4.33±1.97^{b}$	$5.83±2.40^{a}$	$5.83±1.94^{abc}$	$5.17±2.23^{a}$	$4.33±1.21^{b}$
0.14	$7.50±1.05^{a}$	$6.33±2.42^{a}$	$7.17±1.60^{ab}$	$5.17±2.32^{a}$	$5.01±1.64^{b}$
0.28	$7.83±0.98^{a}$	$7.50±1.38^{a}$	$8.00±0.89^{a}$	$5.33±2.66^{a}$	$7.97±1.21^{a}$
0.55	$3.83±1.33^{b}$	$5.83±2.14^{a}$	$5.00±2.19^{bc}$	$4.67±2.34^{a}$	$4.33±1.37^{b}$
1.09	$2.83±1.72^{b}$	$5.50±2.43^{a}$	$4.17±2.86^{c}$	$4.67±3.08^{a}$	$3.83±1.72^{b}$

[a]:Means in the same column with different letters are significantly different($p<0.05$).

라. 스피루리나 첨가 샐러드드레싱의 저장 중 품질특성

1) 샐러드드레싱의 제조 및 저장방법

본 실험에서 제조한 스피루리나 샐러드 드레싱의 배합비는 Table 27과 같다. 난황, 겨자, 소금, 후추를 믹싱볼에 넣고 전기비터(HM-213: Main Power Electrical Factory Co., Ltd)로 10초간 교반시켰다. 여기에 식초를 넣고 다시 10초간 교반시킨 후 식용유를 서서히 주입하는 동시에 계속 교반시키면서 10분간 유화시켰다. 유화가 끝난 후 에 다시 3분간 더 교반해 준 다음 드레싱 재료로 사용하였다. 된장, 간장, 양파, 참깨, 물, 설탕을 Osterizer blender(SQ-205, (주)일진가전)에서 교반하면서 혼합한 후에 제조 한 마요네즈에 소량씩 첨가하면서 전기비터로 교반하면서 혼합하였다. 또한 스피루리나는 전보(Cho *et al* 2005)의 실험결과에서 최적농도인 0.28%를 첨가하였다. 또한 드레싱을 일정량씩 플라스틱 백(PET+CPP)에 넣고 진공포장(한 후 저장 온도 5℃ 또는 10℃에 8주간 보관하면서 실험에 사용하였다.

Table 27. Ingredients ratio of spirulina-added salad dressing(%)

Ingredients	Ratio
corn oil	27.55
egg, york	0.01
mustard	0.001
onion	5.51
water	5.51
soybean paste	11.02
sucrose	16.53
soybean sauce	1.65
vinegar	22.04
sesame	8.26
pepper	0.55
salt	1.10
spirulina	0.28
total	100

2) 점도

제조한 샐러드 드레싱 50 mL을 항온수조(MSB-2011D, (주)모노텍)에 10분간 방치하여 온도를 10 및 20℃가 되도록 한 후 점도계(Brookfield Digital Viscometer DV Ⅱ+, USA)를 사용하여 5초 간격으로 1분간 측정하였다.

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 저장기간에 따른 점도의 변화는 Fig. 10과 같

다. 제조 직 후의 드레싱의 점도는 10℃에서 측정한 경우 1,616 cP이었고, 20℃에서 측정한 경우는 766 cP로 10℃에서 측정한 드레싱의 점도는 20℃에서 측정한 드레싱의 점도보다 높았는데($p<0.05$), 모두 저장 2주후부터 저장기간이 경과됨에 따라 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). 이같은 경향은 마늘 샐러드 드레싱의 결과와 유사하였다(Kim & Lee 1993). 한편, 저장온도가 5℃인 경우 드레싱의 점도는 저장온도가 10℃에 비하여 저장 1-2주까지는 높았으나 그 이후에는 유의적인 차이를 나타내지 않아 저장온도가 저온인 본 실험조건에서는 저장 온도에 따른 차이는 적다고 할 수 있었다. 기존에 보고된 마요네즈의 점도는 샐러드 드레싱보다 높았으며, 또한, 본 실험에서 제조한 샐러드 드레싱의 점도에 비하여 높았다(Chun & Song 1995, Lee & Song 2003).

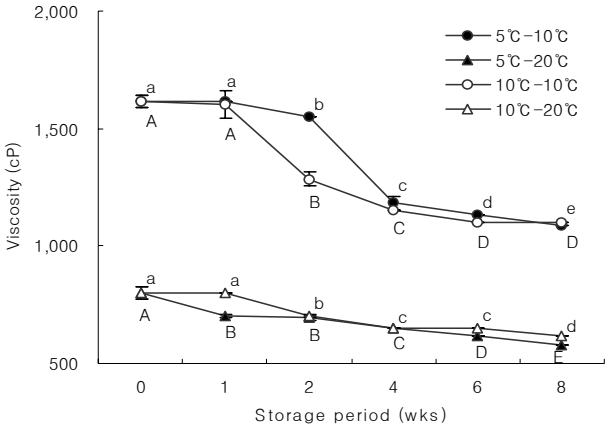


Fig. 10. Changes in viscosity of spirulina-added salad dressing during storage at 5℃ and 10℃. [a, A]: Means in the same line (storage period) with different letters are significantly different($p<0.05$).

3) 유화안정성

제조한 샐러드 드레싱의 유화안정성은 Pearce & Kinsella(1978)의 방법으로 측정하였다. 눈금 있는 원심분리 관에 10 mL 넣어 5분간 원심분리(UNION5KR, (주)한일, 3,600 rpm)한 후 분리된 수상(water phase)의 비율을 아래 같이 산출하여 구했다.

$$ES(\%) = \{(0.5T-X)/0.5T\}\times 100$$

단, T : emulsion 전용량(mL), X : 분리한 수상의 용량(mL)

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 저장기간에 따른 유화안정성의 변화는 Fig. 11과 같다. 스피루리나 첨가 드레싱 제조직후에는 40%이었으며, 저장기간이 경과됨에

따라 감소하였는데, 5℃에 저장한 경우 저장 3주부터 8주까지 30%의 안정성을 유지하였다. 또한, 10℃에 저장한 군은 저장 2 주 경과 시부터 저장 8주까지 30%를 유지하여 제조 직 후 유화안정도에 비하여 25% 감소하였다. 저장 초기 2주까지는 온도에 따른 유의적인 차이가 있었으나 저장 2주 이후부터는 저장 기간 및 저장 온도에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않아 비교적 안정하였다. 이같은 결과는 마늘 샐러드 드레싱의 결과와 유사하였다(Lee KJ 1993). 일반적으로 마요네즈의 유화 안정성은 90%이상으로 높았으나(Chun & Song 1995, Lee & Song 2003), 본 실험에서 제조한 샐러드 드레싱의 유화안정성은 40%로 낮은 편이었다.

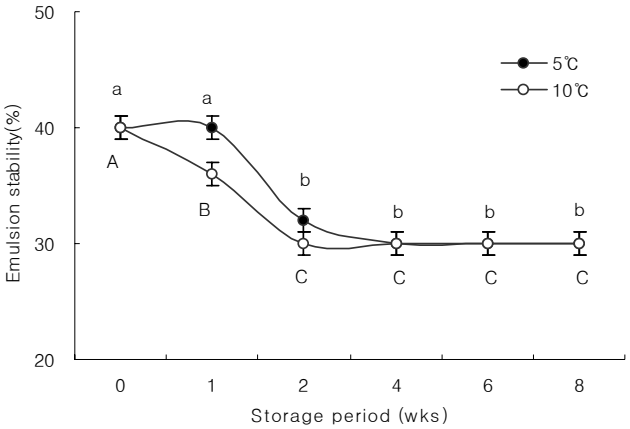


Fig. 11. Changes in emulsion stability of spirulina-added salad dressing.

[a, A]: Means in the same line (storage period) with different letters are significantly different($p<0.05$).

4) 미세구조

샐러드 드레싱 0.5 g을 10% glycerol(in sodium dodecyl sulfate, SDS) 20 mL로 희석한 후 2% SudanⅢ 2 mL로 염색하여 capped vial에 놓고 심하게 흔들었다. 2시간 경과 후에 염색된 시료를 slide glass 위에 도포하여 현미경(DMLB, Leica, Germany) 으로 관찰한 후 도포된 부위의 전 영역이 포함되도록 사진(Q600, Leica, Germany)을 찍었다.

본 실험에서 제조한 스피루리나 샐러드 드레싱의 미세구조를 저장기간 경과에 따라 현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 12와 같다. 또한, 샐러드 드레싱의 지방구 크기의 분포는 표 28에 나타내었다. 저장 30일후에는 입자 크기의분포가 제조직후에 비하여 크게 증가하지 않았다. 그러나 저장 75일 후에는 5 ℃저장의 경우 가장 작은 크기인 0.5~1.0 ㎛는 11.3%, 10℃저장의 경우 13.5%로 제조 직 후의 25.5%에 비하여 크게 감소한 반면에, 입자가 큰 1.5~2.0 ㎛의 경우, 제조직후의 11.4%에서 5 ℃저장의

경우, 30.1%, 10 ℃저장의 경우, 32.3%로 크게 증가 하였다. 저장 온도가 10℃인 경우 5℃에 비하여 큰 차이는 없었으나 저장 기간이 지방구의 크기에 더 큰 영향을 미쳤는데 이같은 결과는 마늘 샐러드 드레싱의 결과와 유사하였다(Lee KJ 1993). 검을 이용한 저지방 마요네즈의 경우(Lee & Song 2003) 지방구의 입자 크기가 0.45~4.56 ㎛까지 분포된 반면에 본 스피루리나 샐러드 드레싱의 입자 크기는 0.5~4.0 ㎛으로 분포되어 입자 크기의 분포 범위는 유사하였다. 그러나 본 샐러드 드레싱의 지방구 입자 크기는 직경 1.5 ㎛ 이하가 전체의 85.6%로 대부분 차지한 반면, 검을 이용한 저지방 마요네즈의 경우(Lee & Song 2003) 지방구의 입자는 2.28 ㎛ 가 59.37%를 차지하여 본 드레싱의 입자 크기가 더 미세한 것으로 나타났다.

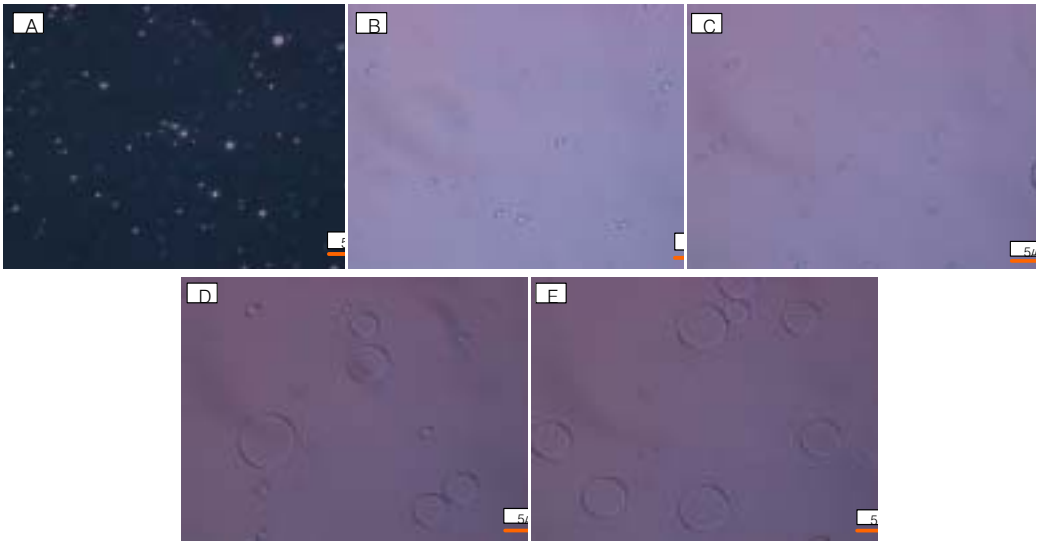


Fig. 12. Microscopic examination of spirulina-added salad dressing.
A: Freshly made dressing, B: stored for 30 days at 5℃, C: stored for 30 days at 10℃, D: stored for 75 days at 5℃, E: stored for 75 days at 10℃

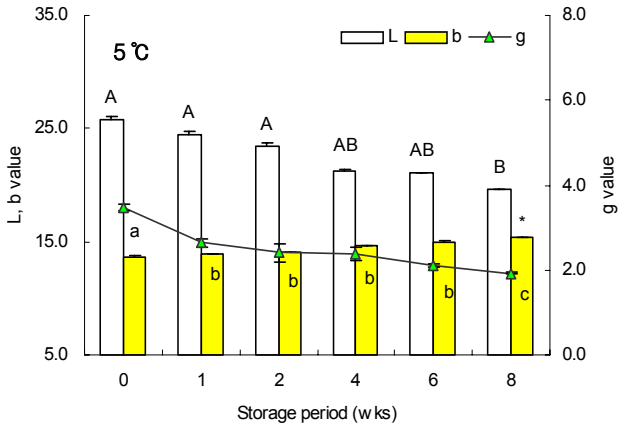
Table 28. Changes in frequency distribution of lipid droplet sizes of spirulina-added salad dressing during storage at 5℃ or 10℃.

㎛	0 day	30 days		75 days	
		5℃	10℃	5℃	10℃
0~0.5	25.5	20.3	22.1	11.3	13.5
0.5~1.0	30.3	30.5	30.6	19.8	16.7
1.0~1.5	29.8	30.4	27.5	29	22.4
1.5~2.0	11.4	9.6	10.3	30.1	32.3
2.0~2.5	2.1	4.6	8.1	6.2	8.1
2.5~3.0	0.4	3.1	0.3	2.3	3.5
3.0~3.5	0.4	1.1	0.6	1.1	2.3
3.5~4.0	0.1	0.4	0.5	0.2	1.2

5) 색상

색상은 샐러드 드레싱 20 g을 페트리디쉬(50×12 mm)에 담아 색차계(CM-3500d, Minolta Co., Ltd., Japan)를 사용하여 Hunter color system의 명도(L 값), 녹색도(-a 값), 황색도(b 값)를 측정하였다.

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 저장기간에 따른 색상을 Hunter color system으로 표시한 결과는 Fig. 13과 같다. 스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 명도(L 값)와 황색도(b 값)은 각각 23.74 및 13.35이었고, 녹색도(-a 값)값은 3.68이었다. 샐러드 드레싱을 저장하는 동안 L 값은 감소하였고, a 및 b 값이 증가하는 경향을 나타내었다. 본 실험에 사용한 스피루리나는 진한 녹색의 tablet 형태를 분말화하여 첨가하였는데, 스피루리나의 색소 성분으로는 등황색의 카로티노이드, 녹색의 클로로필, 청색의 피코시아닌 등이 있다(Kim & Park 2003).



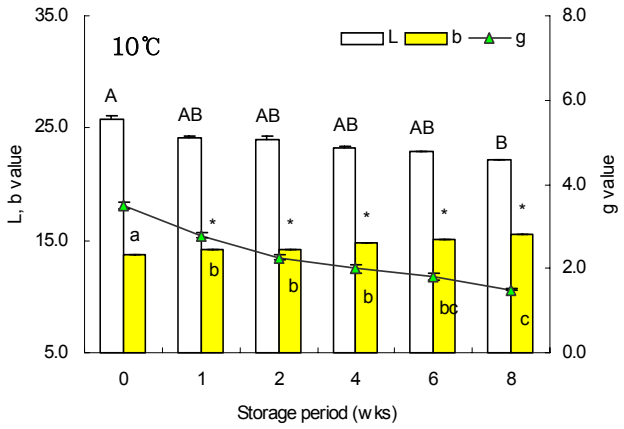


Fig. 13. Changes in Hunter L, a and b value of spirulina-added salad dressing during storage at 5℃ or 10℃. [A]: Means in the same column with different letters are significantly different at L-value($p<0.05$), [*]: significantly different at b-value($p<0.05$), [a]: Mean in the same column with different letters are significantly different at g-value($p<0.05$).

6) 지질산패도

지질과산화 억제정도는 TBARS(2-thiobarbituric acid reactive substances)법으로 측정하였다. 드레싱 0.5 g에 thiobarbituric acid(TBA)/trichloroacetic acid(TCA)용액 2 mL을 혼합한 후 90℃에서 15분간 가열하고 10분간 얼음물로 냉각한 후 원심분리(3000 rpm, 20 min) 후 상층액을 533 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 malondialdehyde를 사용하였으며 이때 표준곡선의 식은 Y=245.25X+0.1071 (R^2= 0.9896)이였다. 이때 얻어진 결과는 ㎍ malondialdehyde/mL sample로 표시하였다.

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 저장기간에 따른 지질산패도를 TBA법으로 측정한 결과는 Fig. 14와 같다. 저장온도가 높고 저장기간이 경과될수록 TBARS값이 증가하였다. 5℃에서 저장하여 4주 경과된 샐러드 드레싱의 TBARS값은 7.24 ㎍이었고 10℃에서 저장하여 4주 경과된 샐러드 드레싱은 7.49 ㎍로 저장 온도가 높을수록 TBARS 값은 증가되었다. 또한, 5℃에서 저장하여 8주 경과된 샐러드 드레싱의 TBARS값은 7.45 ㎍으로 제조직 후의 11%증가하였고, 10℃에서 저장하여 8주 경과된 샐러드 드레싱은 7.69 ㎍으로 제조직후에 비하여 15% 증가하여 저장기간이 경과될수록 TBARS값은 높아졌다. 그러나 이같은 결과는 마요네즈에 녹차나 녹차추출물를 첨가하였을 때 지질 산패가 억제되었다는 보고(Park & Park 2002)와 일치하였는데, 본 샐러드 드레싱에 첨가된 스피루리나, 참깨 등에 함유된 polyphenol이나 리그난 등이 유지의 산패를 억제해 주기 때문이다.

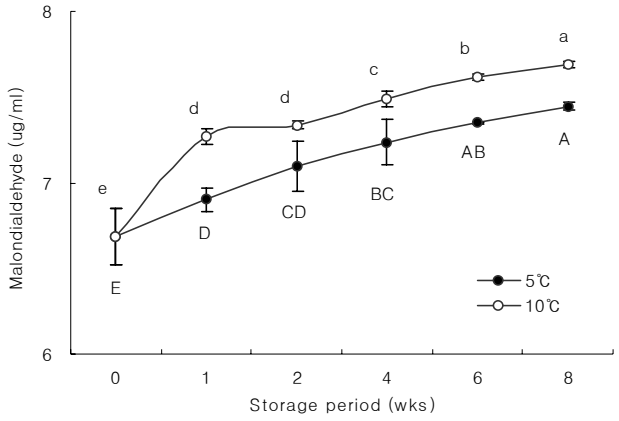


Fig. 14. Changes in TBARS value of spirulina added-salad dressing during storage at 5℃ or 10℃. [a, A]: Means in the same line (storage period) with different letters are significantly different($p<0.05$).

7) 항산화성

DPPH 라디칼 소거능은 샐러드 드레싱 10 g에 2배의 메탄올을 넣고 10분간 blending시켜한 후 원심분리(3000 rpm 20 min)하였다. 상층액을 취해서 1.5×10^{-4}M 농도의 DPPH 용액에 30분간 반응시킨 후 515 nm에서 흡광도를 분광광도계(352, Pharmacia Co.)로 측정하였다.

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 저장 중 항산화성 정도를 DPPH 라디칼 소거능을 측정하여 IC_{50}값을 Fig. 15에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능의 IC_{50}(DPPH 라디칼을 50% 소거시키는데 필요한 농도)값은 샐러드 드레싱은 제조 직후에 대조군이 104.9 mg/mL이었으며, 5℃에서 저장하여 4주 경과된 샐러드 드레싱의 IC_{50}값은 132 mg/mL, 이었고 10℃에서 저장하여 4주 경과된 샐러드 드레싱은 149.8 mg/mL로 저장 온도가 높을수록 IC_{50}값은 증가되었다. 즉, 항산화성은 감소되었다. 또한, 5℃에서 저장하여 8주 경과된 샐러드 드레싱의 IC_{50}값은 157.4 mg/mL, 이었고 10℃에서 저장하여 8주 경과된 샐러드 드레싱은 194.6 mg/mL로 저장 기간이 경과됨에 따라 IC_{50}값은 증가되었다. 5℃에 저장 시 저장 1주까지 항산화성이 안정하였으나 10℃에 저장 시 저장 1주부터 항산화성에 유의적인 차이가 나타나기 시작하였다. 이같은 항산화성은 샐러드 드레싱에 사용한 옥수수 유중에 tocopherol이 함유되어 있을 뿐 아니라, 스피루리나, 참깨 등에 함유된 항산화물질에 기인된 것이나 옥수수유에는 불포화지방이 많아 저장 중 산화되기 때문에 드레싱에 함유된 항산화물질 등의 소진에 기인된 것으로 생각된다.

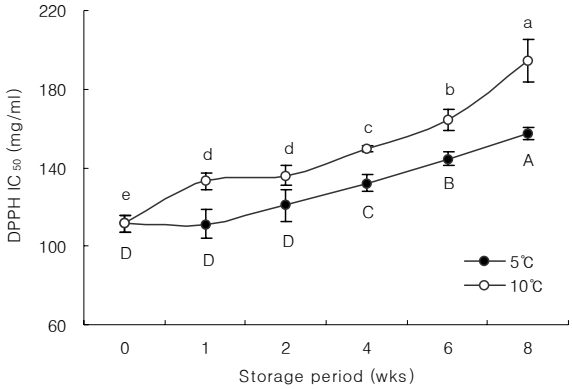


Fig. 15. Changes in DPPH IC_{50} (mg/mL) of spirulina-added salad dressing during storage at 5℃ or 10℃. *IC_{50} : 50% inhibition concentration, [a, A]: Means in the same line (storage period) with different letters are significantly different($p<0.05$).

8) 총균수 및 대장균군수

샐러드 드레싱 1 g을 멸균수 9 mL에 넣고 균질화(Bagmixer 400, Timer 2min, Speed 7) 한 후 희석하여 각각의 배지에 분주하여 생균수를 평판배양법으로 측정하였으며 사용된 멸균수와 배지에는 3% NaCl을 첨가하였다. 총균은 nutrient broth (Difco, Co., USA)와 agar powder (Samchun Chemical Co.)를 혼합하여 만든 배지, 대장균은 EMB agar(Difco, Co., USA)배지를 사용하였다. 총균수는 30℃, 대장균군은 37℃ 배양기에서 48시간 배양 후 나타난 colony를 계수하였는데 이때 대장균군은 금속성을 띠는 흑녹색의 집락을 계수하였다. 미생물수는 시료 1 g당 colony forming unit(CFU)로 나타내었다.

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱의 저장 기간에 따른 총균과 대장군균 수의 변화는 Table 29와 같다. 제조직후의 총균수는 6.2 log(CFU/mL)이었다. 저장 4주후에는 5℃의 경우 7.5 log(CFU/mL)이었고, 10℃의 경우 7.3 log(CFU/mL)으로 저장 온도에 따른 차이는 없었다. 그러나, 저장 8주 후에는 7.9 log(CFU/mL)로 제조 직후에 비하여 증가하였다. 한편, 유해미생물인 대장균군은 저장 8 주후까지 검출되지 않아 식품공전의 규격에 적합하였다(한국식품공업협회 2003).

Table 29. Total microbial and *Escherichia coli* number of spirulina-added salad dressing during storage.

Storage day (wks)	Total microbial profile		Escherichia coli profile	
	5℃	10℃	5℃	10℃
0	6.2±0.2[d]	6.2±0.2[D]	nd	nd
1	6.6±0.1[c]	6.6±0.1[C]	nd	nd
2	6.8±0.1[c]	6.8±0.1[C]	nd	nd
3	7.2±0.2[b]	7.3±0.2[B]	nd	nd
4	7.5±0.2[ab]	7.6±0.3[AB]	nd	nd
5	7.7±0.2[a]	7.7±0.2[A]	nd	nd
6	7.7±0.0[a]	7.8±0.0[A]	nd	nd
7	7.8±0.1[a]	7.8±0.0[A]	nd	nd
8	7.9±0.1[a]	7.9±0.1[A]	nd	nd

[a, A]: Means in the same line (storage period) with different letters are significantly different($p<0.05$), *nd: Not detected.

라. 항산화 샐러드와 샐러드 드레싱의 정량적 소비자 검사(QCT)

충남대학교 식품영양학과 대학생과 식생활과 다이어트 교양과목을 듣는 타과 학생 120명을 대상으로 항산화 샐러드의 소비자 검사를 실시하였다. 외관, 향, 맛, 조직감, 전반적인 기호도의 5가지 항목을 5점 만점으로 평가하였다.

1) 샐러드의 소비자 기호도 검사

샐러드의 외관, 맛, 조직감 및 기호도가 각각 4.0, 4.0, 4.1, 4.2 점으로 높은 기호도를 받았고 향은 3.8점을 받았는데 이는 채소의 향이 거의 느껴지지 않았기 때문이며 다음에 준비된 샐러드드레싱과 함께 섭취할 경우 보강되리라 생각된다(Fig. 16).

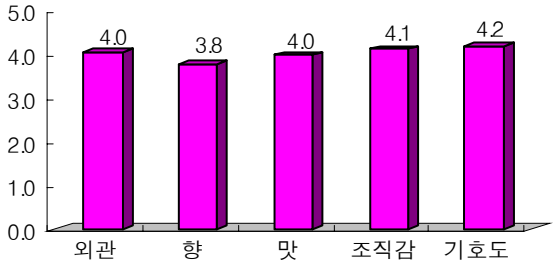


Fig. 16. 항산화샐러드드레싱의 소비자기호도 검사

2) 샐러드 드레싱 소비자 기호도 검사

스피루리나, 된장 첨가 샐러드 드레싱을 소비자검사 하기 위해 항산화샐러드와 함께 제시하였다. 스피루리나 첨가 샐러드드레싱은 외관, 향, 맛, 질감에 있어 각각 3.6, 3.4, 4.5, 4.0 점을 받았는데 맛이 월등함을 알 수 있고, 이에 따라 전반

적인 기호도 역시 4.3 점으로 높았다. 된장 첨가 샐러드드레싱은 외관, 향, 맛, 질감의 항목에서 각각 3.7, 3.9, 4.0, 3.6 점을 받았고 전반적인 기호도는 3.8 점이었다. 된장 첨가 샐러드드레싱이 스피루리나 첨가 샐러드드레싱보다 향의 항목에서는 유의적으로 높은 점수를 받았으나 맛과 질감에서 유의적으로 낮게 나타났고 이는 전반적인 기호도에 반영되었다(Table 30).

Table 30. 스피루리나, 된장 첨가 드레싱

	appearance	flavor	taste	texture	prefer
Spirulina	3.6±0.9a	3.4±1.1a	4.5±0.7b	4.0±0.7b	4.3±0.6b
Soybean paste	3.7±1.0a	3.9±0.8b	4.0±0.7a	3.6±0.9a	3.8±0.8a

8. 기능성평가를 위한 동물실험 방법

가. ICR mice를 이용한 항산화샐러드의 기능성 평가

1) 실험동물

실험에 이용된 동물은 체중 18-22 g 정도의 생후 4 주령된 ICR mice(수컷) 16마리를 구입하여 실험 시작 전 AIN 76 diet로 1 주일간 적응시켰다. 적응기간이 끝난 실험동물은 체중에 따른 난괴법(randomized complete block design)으로 Table 30에서와 같이 각 군당 8마리씩 2군으로 나누어 8주 동안 사육하였다. 사육실의 온도는 23±2℃, 습도 50~60%로 조절하였고, 매일 광주기 및 암주기를 각각 12시간이 되도록 조절하였다. 실험동물은 두 마리씩 stainless steel cage에서 사육하였고, 실험식이와 먹는 물은 24시간 동안 자유 급식으로 공급하였으며, 무기질의 오염 방지를 위해서 사육실에 필요한 모든 기구는 0.4%의 EDTA로 씻은 후 탈이온 증류수로 헹구어 사용하였다.

Table 30. 실험군

실험군	고지방고콜레스테롤군	고지방고콜레스테롤+항산화샐러드군
	HFC	HFS
수량	8 마리	8 마리

2) 식이조성

실험식이는 Table 31에서 보는 바와 같이 총 식이 무게의 20%(열량의 11.7%)를 옥수수유(동방유량)와 라드(동광농산)로 공급하였고 1%의 콜레스테롤을 첨가하여 고지방고콜레스테롤식이를 공급하였다. 또한 항산화 샐러드 첨가군은 총 식이무게의 20%를 첨가하였고 샐러드의 성분 중 당분, 미네랄, 비타민의 함량을 대조군에서 제한 후 대조군과 총열량은 동일하게 맞추어 조절하였다. 식이성분으로는 choline bitartrate(ICN Biomedicals Inc. Germany), casein(Dae Jung Chemiclas & Metals Co, Ltd, Korea), cellulose(Aldrich chemical Co. Inc. USA), DL-methionine (Reserach Chemicals Ltd, Korea)을 사용하였다. 각 군의 식이는 매주 한 번씩 만들어 사용하였고 지방의 산패를 방지하기 위해 -70℃ 냉동고에 보관하면서 정해진 시간에 매일 일정량을 급여하였다.

Table 31. 식이조성 (g/kg diet)

사료성분	고지방고콜레스테롤군	고지방고콜레스테롤 +항산화샐러드군
casein	200.0	200.0
DL-methionine	3.0	3.0
corn starch	70.0	70.0
sucrose	220.0	123.0
cellulose	50.0	30.1
corn oil	20.0	20.0
lard	180.0	180.0
cholesterol	10.0	10.0
salt mix[1)]	35.0	28.0
vitamin mix[2)]	10.0	8.0
choline bitartrate	4.0	4.0
혼합salad	0.0	200.0
total	802.0	876.1

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

[2)] AIN 76 Vitamin mixture(mg/kg): thiamine-HCl 600, riboflavin 600, pyridoxine-HCl 700, nicotinic acid 3,000, D-calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, D-biothin 20, Vit B_{12} 2.5, Vit A 400,000 IU, Vit D_3 100, 000 IU, Vit E 7,500 IU, Vit K 75, finely powdered to make 1,000g

3) 통계처리

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

4) 동물실험 방법

가) 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이 효율 및 분변의 양

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

그림 16에서와 같이 실험식이 3주 경과까지는 대조군(HFC)과 항산화샐러드첨가

군의 체중증가 경향에 차이가 없었으나, 실험식이 4주경과 이후 조금씩 체중차이가 보이기 시작하여 실험식이 6주경과시에는 유의적인 차이를 나타내었다($p<0.05$). Table 32에서와 같이 대조군에 비해 항산화샐러드첨가군의 식이섭취량이 많은데 반해 체중증가량이 적은 것에 기인하여 식이효율이 유의적으로 낮게 나타났고 분변의 양이 약 2배 가량 증가하였는데 이는 항산화샐러드의 식이섬유에 의한 결과로 생각되어 진다.

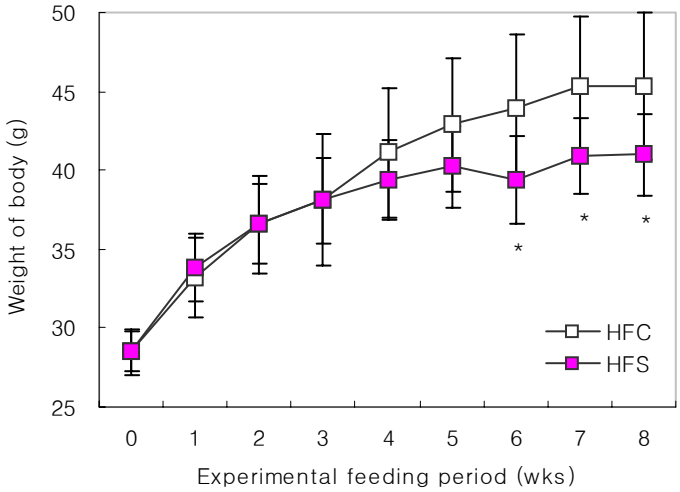


Fig. 16. 체중의 변화

Table 32. 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 분변의 양

	Gain weight (g)	Food intake (g/day)	FER (%)	Fecal weight (g/day)
HFC	22.2±0.46	4.03±0.22	9.78±1.28	0.28±0.03
HFS	18.8±0.25	4.60±0.18*	7.33±0.95*	0.51±0.08*

* : significantly different($p<0.05$)

나) 장기무게와 부위별 지방무게

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

Table 33은 대조군과 실험군의 간, 심장, 신장의 무게를 나타내고 있는데 항산화

샐러드 첨가군의 심장과 신장이 약간 큰 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다(p>0.05). 그림 17은 부위별 지방의 무게를 나타내고 있으며 항산화샐러드 첨가군이 대조군보다 낮은 경향을 나타내는 것을 볼 수 있다. 특히 복부, 고환주위, 허벅지의 지방량이 감소한 것을 볼 수 있다. 이는 샐러드에 의한 지방산화라고 해석되어진다.

Table 33. 장기무게 (g/100 g BW)

	Liver	Heart	Kidney
HFC	4.207±0.876	0.388±0.048	1.367±0.161
HFS	4.250±0.453$^{N.S.}$	0.558±0.046$^{N.S.}$	1.710±0.140$^{N.S.}$

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

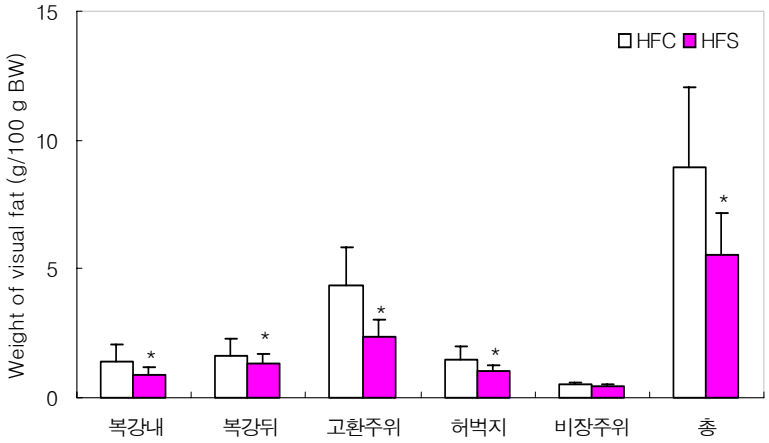


Fig. 17. 부위별 지방무게(g/100 g BW). * : significantly different(p<0.05)

다) 혈장 중의 생화학적 성분 분석

시료채취 : 실험 종료 후인 8주 경과시에 12시간 동안 절식시킨 실험동물을 에틸에테르로 마취시켰다. 마취 상태에서 개복한 즉시 심장에서 혈액을 채취하였으며 채취한 혈액을 heparin이 담긴 튜브에 담아 굳지 않도록 처리한 다음 2,000 rpm에서 5분 동안 원심 분리하여 혈장(plasma)을 분리하였다. 분리한 혈장은 -70℃에서 냉동보관한 후 분석에 사용하였다.

지질분석 : 총 중성지질(triglyceride), 총 콜레스테롤(total cholesterol), HDL-콜레스테롤 농도는 효소 Kit(영동제약) 시약법에 의해 분광광도계(Model 80-2088-64,

Pharmacia Biotech. Co., Cambridge, England)을 이용하여 각각 546, 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

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

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

그 결과는 Table 34에 제시하였다. 먼저 중성지질을 살펴보면 실험식이 4주시보다 8주시에 모든군에 있어 감소하는 경향을 보이고 있는데 특히 항산화샐러드첨가군(HFS)의 경우 대조군(HFC)보다 빠른시기인 실험식이 6주시에 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). 콜레스레롤 함량의 경우 실험식이 8주경에 대조군과 항산화샐러드첨가군간의 유의적인 차이는 인정되지 않았으나 실험식이 4주에서 8주까지의 변화를 살펴보면 대조군의 경우 4주동안 콜레스테롤 수치가 일정하게 유지된것에 반해 항산화샐러드첨가군은 감소하는 경향을 띠었다. HDL, LDL 콜레스테롤에 있어 대조군과 항산화샐러드첨가군간의 유의적인 변화는 찾아볼 수 없었다. 그러나 동맥경화지수(AI)에 있어 실험식이 8주경과시에 대조군이 0.39이고 항산화샐러드첨가군이 0.20인 것을 볼 때 본 연구에서 개발된 항산화샐러드의 섭취가 혈액 내 콜레스테롤 수치에 영향을 주고 이는 더 나아가서 동맥경화예방에도 도움을 줄 수 있을 것이라 사료된다.

Table 34. 총 중성지질, 총 콜레스테롤, 고밀도지단백질·저밀도지단백질 콜레스테롤 및 동맥경화지수

Lipid profile	Experimental Feeding period	HFC	HFS
Triglycerides (mg/dl)	4	71	70
	6	80	36
	8	32	30
Toral cholesterol (mg/dl)	4	212	244
	6	201	227
	8	205	202
HDL-cholesterol (mg/dl)	4	134	157
	6	144	156
	8	148	168
LDL- cholesterol (mg/dl)	4	64	74
	6	41	64
	8	51	29
AI	4	0.58	0.55
	6	0.40	0.46
	8	0.39	0.20

라) 분변 중의 생화학적 성분 분석

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

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

Table 35에서와 같이 대조군(HFC)에 비해 항산화샐러드 첨가군(HFS)이 변 중에 높은 중성지질과 콜레스테롤을 함유하는 경향을 띠었으나 유의적인 차이는 인정되지 않았다($p>0.05$). 그러나 Table 32에서와 같이 항산화샐러드첨가군의 분변양이 2배인 것을 감안할 때 실질적으로 배설되는 중성지방과 콜레스테롤양이 증가하므로 이는 긍정적인 효과로 해석되어진다.

Table 35. 변 중 총 중성지질과 총 콜레스테롤

	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)
HFC	20.6±8.4	305.0±21.3
HFS	24.9±5.8$^{N.S.}$	319.8±26.7$^{N.S.}$

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

마) 항산화물질의 측정

Total glutathione을 위한 시료제조 : 마우스의 혈액은 2,000 rpm에서 5분 동안 원심 분리하여 혈장(plasma)을 분리하고 남은 RBC를 사용하였다. 마우스의 간조직을 간중량의 19배의 6% metaphosphoric acid로 균질화 한 후 25000rpm으로 30분간 원심분리(4℃)한 후 상등액 취한 것을 당일에 총 glutathione 측정 실험에 사용하였다.

Total Glutathione(GSH) : 총 glutathione은 Floreani 등의 방법(*Floreani M, Skaper D.S. Facci L., Lipartiti M, and Giusti P.,1997*)을 약간 변형하여 사용하였다. 제조한 시료의 상등액 15 ㎕를 취해서 500 ㎕ 의 cuvette cell에 0.1 M의 potassium phosphate/0.005 M EDTA buffer(pH 7.4) 400 ㎕를 넣고 10 mM의 [5,5′-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB] 12.5 ㎕, 5 mM NADPH 40 ㎕를 취해

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

β-carotene : HPLC를 이용하여 측정하였는데 그 조건과 방법은 다음과 같다.

(a). HPLC 조건:

: 20㎕ injection

: ODS column

: mobile phase

acetonitrile/ isoprpoanol/ methanol (68:20:12 v/v/v)

+ 0.02% ammonium acetate

: Flow 1.0 mL/min

: UV detector at 450nm

(b). Extraction of -carotene from plasma 3 step

- 100 ㎕ plasma 을 glass vial 에 담는다

protein denaturation

: 500 ㎕ ethanol 과 25 ㎕ 의 91 mmol BHT/L methanol 을 add 한다

organic solvent extraction with addition of IS

: IS solution (5㎍/mL) 20㎕ add

: 3 mL 의 hexane 을 add

solvent exchange

: each tube 를 teflon-lined screw cap 으로 sealing 한 후

: vortexing 30 s

: 400 uL water add

: vortex 30 s

: centrifuge at 1500rpm for 2 min separate organic and aqueous phase

: upper phase 을 new glass vial 로transfer 하였다.

: evaporate to dryness under a stream of nitrogen

: residue was redissloved in 30㎕ isopropanol/acetonitrile (50:50, v/v)

: filtrate 한후 HPLC 에 주입 하였다.

Table 36은 항산화물질인 글루타티온과 베타카로틴의 함량을 측정한 결과이다. 간과 혈액에서 총 글루타티온 함량을 측정한 결과 항산화샐러드첨가군(HFS)이 대조군(HFC)에 비해 높은 함량이 측정되었으며 특히 혈액중의 총 글루타티온 함량은 유의적이었다($p<0.05$). 또한 베타카로틴 역시 대조군에서는 발견되지 않았으나 항산화

샐러드첨가군에서는 0.040 nmole/ml을 함유하는 것으로 나타났다($p<0.05$).

Table 36. 혈액과 간의 총 글루타티온 함량과 혈장 중의 베타카로틴 함량

	GSH in liver (ng)	GSH in RBC (ng)	β-carotene (nmole/ml)
HFC	7.11±1.58	0.017±0.002	ND
HFS	**8.06±1.19**	**0.025±0.004***	**0.040±0.020***

* : significantly different($p<0.05$)

바) 항산화효소 활성도 측정

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

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

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

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

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

kit를 사용하여 595 nm에서 측정하여 계산하였다.

Table 37에서 볼 수 있듯이 간에서 측정한 GPx, GR, SOD 효소활성도는 대조군(HFC)보다 항산화샐러드첨가군(HFS)이 높았으며 특히 GPx는 유의적으로 높은 값을 나타내었다. (Table 38).

또한, mice의 종류를 달리하여 C57BL/6J mice로 실험한 결과를 Table 37-1에 첨부하였다. 간에서의 GPx, GR, SOD 효소활성도는 대조군(HFC)보다 항산화샐러드첨가군(HFS)이 높은 경향을 나타내었으며, 특히 GPx, SOD는 그 차이가 매우 뚜렷하였다($p<0.05$).

항산화 효소계 중 Glutathione peroxidase(GPx)와 glutathion reductase는 세포내에서 산화적 손상에 의해 생성된 지질 과산화물 중에서 hydroperoxides를 해독(detoxification)시켜 주는 작용을 한다. GPx가 glutathione(GSH)를 매개로 H_2O_2를 제거하는 과정에서 두분자의 GSH가 산화되어 한분자의 GSSG를 생성하게 된다. 또한 SOD는 반응성이 큰 활성 산소종인 O^{2-} 을 O^2 와 H_2O_2로 전환시키는 것을 촉매하는 효소로, 최근에는 O^{2-}와 관련된 다양한 질병을 치료하는 데 SOD를 사용하려는 시도가 이루어질 정도로 항산화효소계에서 중요하다. 본 발명의 샐러드 투여군이 대조군에 비하여 항산화 효소계인 GPx와 SOD가 유의적으로 증가되었기 때문에 항산화 기능이 우수한 것으로 나타났다.

Table 37. 항산화효소의 활성도(ICR mice)

	GPx-Liver (unit/mg prot.)	GR-Liver (unit/mg prot.)	SOD-liver (unit/mg prot.)	SOD-Blood (unit/mg prot.)
HFC	1.64±0.13	0.386±0.05	1.66±0.83	0.037±0.010
HFS	**2.15±0.17***	**0.395±0.06**	**2.02±0.33**	**0.041±0.009**

* : significantly different($p<0.05$)

Table 37-1. 항산화효소의 활성도(C57BL/6J mice)

	GPx-Liver (unit/mg prot.)	GR-Liver (unit/mg prot.)	SOD-liver (unit/mg prot.)
HFC	1.13±0.11	0.45±0.05	0.52±0.06
HFS	**1.55±0.09***	**0.52±0.05**	**0.70±0.04***

* : significantly different($p<0.05$)

Table 38. 간과 혈액의 단백질 정량

	Protein in liver (mg/ml)	Protein in RBC (mg/ml)
HFC	19.79±2.41	282.48±26.85
HFS	**22.37±2.53$^{N.S.}$**	**303.96±37.51$^{N.S.}$**

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

사) 지질의 과산화물(TBARS) 측정

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

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

Table 39에서와 같이 혈장, 간, 심장, 신장조직의 지질과산화물을 TBA법으로 측정한 결과 혈장, 간, 신장의 지질과산화물이 대조군(HFC)보다 항산화샐러드첨가군(HFS)에 더 적게 나타난 것을 볼 수 있다(p<0.05). 그러나 심장의 지질과산화물에서는 유의적인 차이가 없었다.

또한, mice의 종류를 달리하여 C57BL/6J mice로 실험한 결과(Table 39-1), 혈액, 간, 심장 및 신장에서 지질산패도가 유의적으로 감소하였다. 특히 혈액에서 약 50% 감소되어 매우 우수한 결과를 보여주었다.

Table 39. 혈장과 장기의 지질의산패도(ICR mice)

	Plasma (ug/ml)	Liver (ug/ml)	Heart (ug/ml)	Kidney (ug/ml)
HFC	5.29±2.05	21.80±3.00	12.58±1.62	15.14±1.72
HFS	**3.38±0.93***	**16.77±1.75***	**12.79±1.10**	**11.41±2.27***

* : significantly different(p<0.05)

Table 39-1. 혈액과 장기의 지질산패도(C57BL/6J mice)

	Plasma (ug/ml)	Liver (ug/ml)	Heart (ug/ml)	Kidney (ug/ml)
HFC	8.11±1.31	5.84±0.93	10.24±0.81	10.24±0.35
HFS	**4.18±0.39***	**4.63±0.59***	**7.40±0.42***	**8.02±0.84***

* : significantly different(p<0.05)

아) 조직내 단백질의 산화도 측정

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

Carbonyl value : 간과 심장 조직에 20% TCA를 600 ㎕ 넣고 14,000rpm 초고속 원심분리기에서 10분간 원심분리하고 상등액은 버렸다. 10 mM DNPH시약을 1 ㎖ 씩 가해서 충분히 vortex시킨 후 천천히 다 넣어 50분간 38℃에서 배양시켰다. 매 15분마다 vortex를 시켜주었고 20 %의 TCA를 1 ㎖ 씩을 넣어 8,000rpm에서 15분간 원심분리시킨 후 상징액을 버렸다. EtOH/ethyl acetate(EA)를 1 : 1 비율로 혼합하여 각각 1 ㎖ 씩 넣고 10분 동안 잘 저은 후 8,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상징액은 버리고, 상징액이 맑아져서 노란색이 보이지 않을 때까지 5회 정도 반복하여 씻어냈다. 침전물(ppt)에 6 M guanidine용액을 1 ㎖씩 넣고 incubator(38℃)에서 30분간 배양한 후 380 nm에서 흡광도를 측정하였다.

간과 심장 조직내 단백질의 산화도를 측정한 결과 심장에서는 유의적인 차이가 없었으나 간에서 대조군(HFC)의 산화정도가 항산화샐러드첨가군(HFS)보다 월등히 높음을 확인할 수 있었다(Table 40).

Table 40. 간과 심장 조직내 단백질 산화도

	Liver Carbonyl (umole/ml)	Heart Carbonyl (umole/ml)
HFC	0.73±0.23	0.28±0.07
HFS	**0.49±0.09***	**0.25±0.06**

* : significantly different($p<0.05$)

자) 혈액의 DNA의 손상정도

Mice DNA 손상정도를 측정하기 위해 alkalin single-cell gel electrophoresis (comet assay)를 실시하였다. Slide에 0.5% Normal melting agarose(NMA)를 50 ㎕와 75 ㎕로 2번 코팅한 후 시료 5 ㎕와 0.75% Low melting agarose(LMA) 75 ㎕의 현탄액을 골고루 분산시킨 후 cover glass로 덮어 4℃의 냉장온도에 저장하였다. Gel이 굳으면 그 위에 0.75% LMA 75 ㎕를 도포하여 한겹 더 코팅하였다. 미리 차게 준비해두었던 pH 10 lysis buffer에 DMSO와 TritionX-100을 섞은 시약에 slide를 담그어 한시간동안 암실에 보관하면서 lysis 과정을 거쳤다. Lysis 과정을 끝낸 slide는 electrophoresis buffer에 40분에 저장하였다가 electrophoresis chamber에 배열하고 25V, 300mA에서 20분 동안 unwinding시켰다. 전기영동이 끝난 slide는 pH7.5 tris buffer에 5분씩 3회 세척하고 마지막으로 에탄올에 5분 담갔다가 말렸다.

처리가 끝난 샘플의 Comet image 분석을 하기 위해 ethidium bromide(20 ㎕/㎖)

로 nucleotide를 염색하여 형광현미경에서 관찰하고 카메라를 통해 comet image analyzing system이 설치된 컴퓨터에서 분석하였다. DNA 손상정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리(tail length, TL), tail 내 함유된 DNA% (tail DNA%) 그리고 TL값에 tail DNA%를 곱해준 tail moment(TM) 값을 측정하였다.

Table 41은 혈액에서의 DNA 손상정도를 측정한 것인데 대조군(HFC)과 항산화샐러드첨가군(HFS)의 tail length는 거의 비슷한 값을 나타내었지만 항산화샐러드첨가군의 Tail DNA값이 유의적으로 적게 나타내었고 그리하여 Olive tail moment 값도 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다($p<0.05$).

혈액과 간의 DNA 손상정도를 또한, mice의 종류를 달리하여 C57BL/6J mice로 실험한 결과를 Table 41-1, Table 41-2에 나타내었다. 혈액의 경우 Head DNA(%)가 항산화샐러드첨가군이 유의적으로 높은 값을 나타내었고, Tail DNA(%), Tail Extent Moment, Olive Tail Moment 항목에서 모두 유의적으로 낮은 값을 나타내어 DNA 보호능이 매우 우수함을 알 수 있었다. 또한 간의 경우 Tail Extent Moment, Tail Length(㎛) 항목에서 유의적으로 낮은 값을 나타내었다. 항산화샐러드첨가군을 대조군과 비교한 결과 혈액과 간에서의 DNA 보호능이 우수함을 알 수 있었다.

Table 41. 혈액의 DNA 손상정도(ICR mice)

	Tail DNA(%)	Olive Tail Moment	Tail Length(㎛)
HFC	10.48±1.38	1.80±0.26	23.56±2.95
HFS	**8.07±2.17** *	**1.65±0.68***	**23.79±10.46**

* : significantly different($p<0.05$)

Table 41-1. **혈액**의 DNA 손상정도(C57BL/6J mice)

	Head DNA(%)	Tail DNA(%)	Tail Extent Moment	Olive Tail Moment	Tail Length (㎛)
HFC	87.69±2.11	12.31±2.11	3.26±1.91	2.12±0.72	19.43±11.21
HFS	**91.45±1.44***	**8.55±1.44***	**1.46±0.54***	**1.27±0.18***	**14.61±7.06**

* : significantly different($p<0.05$)

Table 41-2. **간**의 DNA 손상정도(C57BL/6J mice)

	Head DNA(%)	Tail DNA(%)	Tail Extent Moment	Olive Tail Moment	Tail Length(㎛)
HFC	86.61±4.12	13.39±4.12	8.06±2.68	4.51±1.16	49.53±11.02
HFS	**84.66±4.29**	**15.34±4.29**	**5.09±1.86***	**3.27±0.84**	**30.98±6.39***

* : significantly different($p<0.05$)

나. C57BL/6J mice를 이용한 항동맥경화샐러드의 기능성 평가

1) 실험동물

실험에 이용된 동물은 체중 19-23 g 정도의 생후 6 주령된 C57BL/6J mouse(수컷) 16마리를 구입하여 실험 시작 전 AIN 93G diet로 1 주일간 적응시켰다. 적응기간이 끝난 실험동물은 체중에 따른 난괴법(randomized complete block design)으로 각 군당 8마리씩 2군으로 나누어 8주 동안 사육하였다. 사육실의 온도는 23±2℃, 습도 50~60%로 조절하였고, 매일 광주기 및 암주기를 각각 12시간이 되도록 조절하였다. 실험동물은 두 마리씩 stainless steel cage에서 사육하였고, 실험식이와 먹는 물은 24시간 동안 자유 급식으로 공급하였으며, 무기질의 오염 방지를 위해서 사육실에 필요한 모든 기구는 0.4%의 EDTA로 씻은 후 탈이온 증류수로 헹구어 사용하였다.

Table 42. 실험군

실험군	고지방고콜레스테롤군	고지방고콜레스테롤 +항동맥경화샐러드군
	Control	HFS
수량	8 마리	8 마리

2) 식이조성

실험식이는 Table 43에서 보는 바와 같이 총 식이 무게의 20%를 옥수수유(해표)와 라드(동광농산)로 공급하였고 1%의 콜레스테롤을 첨가하여 고지방고콜레스테롤식이를 공급하였다. 또한 항동맥경화 샐러드 첨가군은 총 식이무게의 8%를 첨가하였고 샐러드의 성분 중 당분, 미네랄, 비타민의 함량을 대조군에서 제한 후 대조군과 총열량은 동일하게 맞추어 조절하였다. 식이성분으로는 choline bitartrate(ICN Biomedicals Inc. Germany), casein(Dae Jung Chemiclas & Metals Co, Ltd, Korea), cellulose(Aldrich chemical Co. Inc. USA), DL-methionine(Reserach Chemicals Ltd, Korea)을 사용하였다. 각 군의 식이는 매주 한 번씩 만들어 사용하였고 지방의 산패를 방지하기 위해 -70℃ 냉동고에 보관하면서 정해진 시간에 매일 일정량을 급여하였다.

Table 43.식이조성 (g/kg diet)

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

[1)] AIN 93 mineral mixture(g/kg) : Calcium Carbonate 357.00, Potassium Phosphate (monobasic) 196.00, Potassium Citrate H_2O 70.78, Sodium Chloride 74.00, Potassium Sulfate 46.60, Magnesium Oxide 24.00, Ferric Citrate, U.S.P. 6.06, Zinc Carbonate 1.65, Manganous Carbonate 0.63, Cupric Carbonate 0.30, Potassium Iodate 0.01, Sodium Selenate 0.01025, Ammonium Paramolybdate $4H_2O$ 0.00795, Sodium Metasilicate $9H_2O$ 1.45, Chromium Potassium Sulfate $12H_2O$ 0.275, Lithium Chloride 0.0174, Boric Acid 0.0815, Sodium Flouride 0.0635, Nickel Carbonate 0.0318, Ammonium Vanadate 0.0066, Sucrose finely powdered 221.026

[2)] AIN 93 Vitamin mixture(g/kg): Niacin 3.00, Calcium Pantothenate 1.60, Pyridoxine HCl 0.70, Thiamine HCl 0.60, Riboflavin 0.60, Folic Acid 0.20, Biotin 0.02, Vitamin E Acetate(500 IU/g) 15.00, Vitamin B12 (0.1%) 2.50, Vitamin A Palmitate(500,000 IU/g) 0.80, Vitamin D3(400,000 IU/g) 0.25, Vitamin K1/Dextrose Mix(10 mg/g) 7.50, Sucrose 967.23

3) 통계처리

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

4) 동물실험 방법

가) 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이 효율 및 분변의 양

실험 동물의 식이 섭취량은 매일 오후 2시경에 측정하였으며, 체중 측정은 갑작스런 체중 증가를 막기 위해 1시간 전에 식이 공급을 중단한 후 매주 일정한 시간에 한 번씩 측정하였다. 식이 효율(food efficiency ratio, FER)은 총 체중 증가량을 같은 기간 동안의 총 식이 섭취량으로 나눈 값으로 산출하였다. 분변의 양은 식이 마지막 주, 즉 4주에 3일간 채취하여 동결 건조 후 무게를 측정하였다.

그림 18에서와 같이 대조군(Control)에 비해 항동맥경화샐러드 첨가군(HFS)의 유의적인 차이는 인정되지 않았지만 더 낮은 체중증가를 나타내었다(p>0.05). 통계적으로 유의적인 차이는 없었지만 항동맥경화 샐러드 첨가군(HFS)이 대조군(Control)에 비해 체중증가량이 적고 식이섭취량이 많은 경향을 띰에 따라 식이효율은 항동맥경화 샐러드 첨가군이 유의적으로 적게 나타났다(Table 44). 또한 분변양이 유의적으로 증가함을 알 수 있었다(p<0.05).

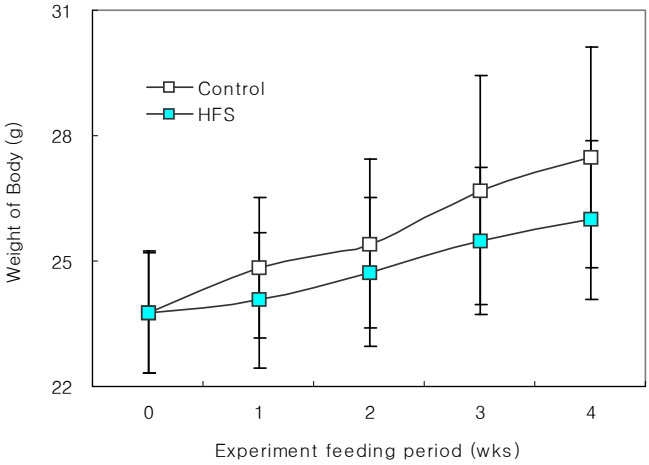


Fig. 18. 체중의 변화

Table 44. 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 분변의 양

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

* : significantly different(p<0.05)

나) 장기무게와 부위별 지방무게

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

Table 45에서 보듯이 장기무게는 모든군에서 유의적인 차이가 없었다. 그림 19에서 나타낸 지방무게를 보면 대조군(HFC)에 비해 항동맥경화 샐러드첨가군(HFS)이 적은 값을 나타내었다. 특히 복강뒤, 복강내, 허벅지 주위의 지방양이 유의적으로 줄어든 것을 볼 수 있었다.

Table 45. 장기무게 (g/100 g BW)

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

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

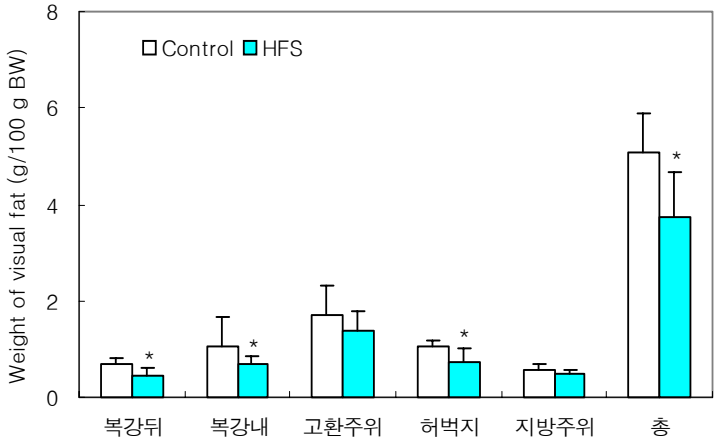


Fig. 19. 부위별 지방무게(g/100 g BW). * : significantly different(p<0.05)

다) 혈장 중의 생화학적 성분 분석

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

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

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

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

혈장 중의 생화학적 성분을 분석한 결과는 Table 46와 같다. 혈액 중 총 중성지질 수치는 낮아지는 경향을 띠었고(p>0.05), 총 콜레스테롤 수치는 유의적으로 낮아졌다. 또한 HDL 콜레스테롤의 수치는 유의적인 차이를 나타내지 않았지만 LDL 콜레스테롤 수치가 유의적으로 낮아졌으며 그림 20에서 볼 수 있듯이 동맥경화지수가 대조군(0.33)에 비해 항동맥경화샐러드첨가군(0.15)이 유의적으로 낮아져 본 연구에서 개발한 항동맥경화샐러드가 실제로 동맥경화발생률을 낮출 수 있는 기능을 가지고 있음을 시사해 주었다.

Table 46. 총 중성지질, 총 콜레스테롤, 고밀도지단백질, 저밀도지단백질 콜레스테롤

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

* : significantly different(p<0.05)

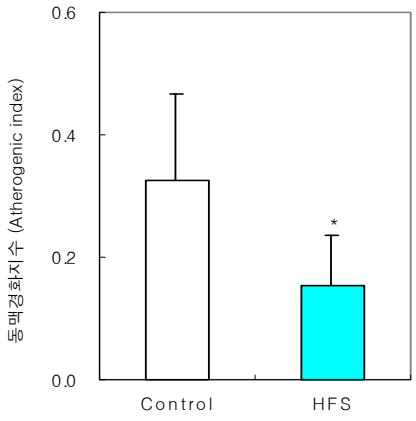


Fig. 20. 동맥경화지수. * : significantly different(p<0.05)

라) 분변 중의 생화학적 성분 분석

시료제조 : 동결건조하여 분말화한 변을 Folch 등의 방법(*Folch et al., J Biol Chem 1957, 226, 497*)에 따라 일정량 취하여 20배의 chloroform : methanol = 2 : 1의 용액에 잘 섞어 지질을 추출한 후 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액만 다른 튜브에 옮겨 담는다. 증류수를 20% 첨가한 후 2000rpm에서 15분간 원심분리하

여 얻어진 상층액을 제거하고 하층의 액체를 농축하여 변중의 지질을 분리하였다. 분리된 지질은 처음 사용한 분변량 30배의 ethanol에 녹여 실온에 보관하면서 분석에 사용하였다.

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

모두 대조군에 비해 실험군이 유의적으로 높은 콜레스테롤을 함유하고 있었으나 총 중성지질량은 유의적인 차이가 인정되지 않았다(Table 47). 이는 Table 44의 결과와 연관지어 볼 수 있는데 혈중 콜레스테롤양의 감소가 변중의 콜레스테롤양 증가로 인해 체내에서 밖으로 배출된 것으로 보이며 샐러드의 섬유소가 콜레스테롤이 재흡수되는 것을 방해하여 변으로 배설하게 한 것으로 생각된다.

Table 47. 변 중 총 중성지질과 총 콜레스테롤

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

* : significantly different($p<0.05$)

마) 항산화물질의 측정

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

Total Glutathione(GSH) : 총 glutathione은 Floreani 등의 방법(*Floreani M, Skaper D.S. Facci L., Lipartiti M, and Giusti P.,1997*)을 약간 변형하여 사용하였다. 제조한 시료의 상등액 15 ㎕를 취해서 500 ㎕ 의 cuvette cell에 0.1 M의 potassium phosphate/0.005 M EDTA buffer(pH 7.4) 400 ㎕를 넣고 10 mM의 [5,5′-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB] 12.5 ㎕, 5 mM NADPH 40 ㎕를 취해서 1 분간 평형을 유지시킨 후에 0.5 unit의 GR(type Ⅲ Sigma, from bakers yeast, diluted in 0.1 M phosphate buffer pH 7.4)을 넣고 잘 섞은 후 반응을 개시되면 412 nm에서 2분간 지속적으로 흡광도를 측정하였다. 0.04 mM GSH를 제조하여 standard curve를 그린 후 흡광도에 대한 농도를 환산하였다.

간조직내의 총 글루타티온 함량을 분석한 결과는 그림 21과 같다. 항동맥경화샐러드 첨가군(HFS)이 대조군(HFC)에 비해 높은 값을 나타내는 것을 알 수 있었다($p<0.05$).

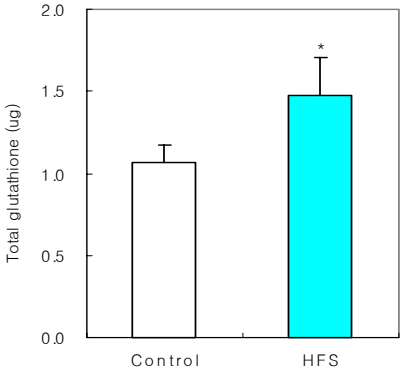


Fig. 21. 간조직내의 총 글루타티온 함량. * : significantly different(p<0.05)

바) 항산화효소 활성도 측정

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

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

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

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

Paraoxonase(PON) : Paraoxonase를 측정하기 위해 arylesterase activity assay

를 하였다. 1 mM $CaCl_2$가 함유된 20 mM Tris-HCl pH 8.0 buffer 495 ㎕에 혈장 5 ㎕를 넣은 후 cuvette 안의 농도가 1 mM이 되도록 phenylacetate를 첨가하고 270 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음의 공식에 의해 activity를 계산하였다.

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

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

Table 48에서 보는것과 같이 샐러드 첨가군(HFS)이 대조군(HFC)보다 간조직에서의 GPx와 SOD 효소활성을 가지고 있었으며 Paraoxonase의 활성을 간접적으로 나타내어주는 aryesterase activity도 높은 경향을 나타내었다. GR 효소활성은 유의적인 차이가 인정되지 않았으나 증가하는 경향을 보여주었다. Table 49는 간조직의 단백질을 분석한 결과인데 대조군과 항동맥경화샐러드 첨가군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다(p>0.05).

Table 48. 항산화 효소 활성도

	GPx-Liver (unit/mg prot.)	GR-Liver (unit/mg prot.)	SOD-liver (unit/mg prot.)	Paraoxonase (U)
Control	1.13±0.11	0.45±0.05	0.52±0.06	43.6±6.5
HFS	1.59±0.31*	0.52±0.14	0.71±0.15*	50.8±4.0

* : significantly different(p<0.05)

Table 49. 간조직내 단백질 정량

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

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

사) 지질의 과산화물(TBARS) 측정

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

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

TMP)를 표준물질로 사용하였다.

Table 50에서 보듯이 혈장과 모든 장기의 지질과산화물가는 대조군(HFC)보다 항동맥경화샐러드 첨가군(HFS)이 낮은 경향을 띠었다($p<0.05$).

Table 50. 지질의 과산화물가

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

* : significantly different($p<0.05$)

아) 혈액과 간세포의 DNA의 손상정도

Mice DNA 손상정도를 측정하기 위해 alkalin single-cell gel electrophoresis (comet assay)를 실시하였다. Slide에 0.5% Normal melting agarose(NMA)를 50 ㎕와 75 ㎕로 2번 코팅한 후 시료 5 ㎕와 0.75% Low melting agarose(LMA) 75 ㎕의 현탄액을 골고루 분산시킨 후 cover glass로 덮어 4℃의 냉장온도에 저장하였다. Gel이 굳으면 그 위에 0.75% LMA 75 ㎕를 도포하여 한겹 더 코팅하였다. 미리 차게 준비해두었던 pH 10 lysis buffer에 DMSO와 TritionX-100을 섞은 시약에 slide를 담그어 한시간동안 암실에 보관하면서 lysis 과정을 거쳤다. Lysis 과정을 끝낸 slide는 electrophoresis buffer에 40분에 저장하였다가 electrophoresis chamber에 배열하고 25V, 300mA에서 20분 동안 unwinding시켰다. 전기영동이 끝난 slide는 pH 7.5 tris buffer에 5분씩 3회 세척하고 마지막으로 에탄올에 5분 담갔다가 말렸다.

처리가 끝난 샘플의 Comet image 분석을 하기 위해 ethidium bromide(20 ㎕/㎖)로 nucleotide를 염색하여 형광현미경에서 관찰하고 카메라를 통해 comet image analyzing system이 설치된 컴퓨터에서 분석하였다. DNA 손상정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리(tail length, TL), tail 내 함유된 DNA% (tail DNA%) 그리고 TL값에 tail DNA%를 곱해준 tail moment(TM) 값을 측정하였다. 그리고 추가로 핵의 DNA함유량인 Head DNA(%), Tail Extent Moment(TEM)의 값을 측정하였다.

Table 51은 혈액에서의 DNA 손상정도를 측정한 것이고 Table 52은 간세포의 DNA 손상정도를 측정한 결과이다. 대조군에 비해 실험군의 head DNA가 높은 경향을 띠었고 tail DNA와 tail length가 낮았으며, 전반적으로 tail extent moment와 olive tail moment가 낮아 샐러드 첨가군이 혈액과 간세포의 DNA 손상정도가 적음을 알 수 있었다.

Table 51. 혈액의 DNA 손상정도

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

Table 52. 간세포의 DNA 손상정도

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

* : significantly different($p<0.05$)

다. ICR mice를 이용한 스피루리나 첨가 샐러드드레싱의 기능성 평가

1) 실험동물

실험에 이용된 동물은 체중 18-22 g 정도의 생후 4 주령된 ICR mice(수컷) 16마리를 구입하여 실험 시작 전 AIN 76 diet로 1 주일간 적응시켰다. 적응기간이 끝난 실험동물은 체중에 따른 난괴법(randomized complete block design)으로 Table 5에서와 같이 각 군당 8마리씩 2군으로 나누어 8주 동안 사육하였다. 사육실의 온도는 23±2℃, 습도 50~60%로 조절하였고, 매일 광주기 및 암주기를 각각 12시간이 되도록 조절하였다. 실험동물은 두 마리씩 stainless steel cage에서 사육하였고, 실험식이와 먹는 물은 24시간 동안 자유 급식으로 공급하였으며, 무기질의 오염 방지를 위해서 사육실에 필요한 모든 기구는 0.4%의 EDTA로 씻은 후 탈이온 증류수로 헹구어 사용하였다.

Table 53. 실험군

실험군	정상식이	**정상식이+ 샐러드드레싱첨가군**
	LFC	**LFD**
수량	8 마리	**8 마리**

2) 식이조성

실험식이는 Table 54에서 보는 바와 같이 총 식이 무게의 5%를 옥수수유(동방유량)와 라드(동광농산)로 공급하였다. 또한 항산화 샐러드 첨가군은 총 식이무게의 8%를 첨가하였고 샐러드의 성분 중 당분, 미네랄, 비타민의 함량을 대조군에서 제한

후 대조군과 총열량은 동일하게 맞추어 조절하였다. 식이성분으로는 choline bitartrate(ICN Biomedicals Inc. Germany), casein(Dae Jung Chemiclas & Metals Co, Ltd, Korea), cellulose(Aldrich chemical Co. Inc. USA), DL-methionine (Reserach Chemicals Ltd, Korea)을 사용하였다. 각 군의 식이는 매주 한 번씩 만들어 사용하였고 지방의 산패를 방지하기 위해 -70℃ 냉동고에 보관하면서 정해진 시간에 매일 일정량을 급여하였다.

Table 54. 식이조성 (g/kg diet)

사료성분	정상군	정상식이+ 샐러드드레싱첨가군
casein	200.0	200.0
DL-methionine	3.0	3.0
corn starch	150.0	150.0
sucrose	500.0	345.0
cellulose	50.0	50.0
corn oil	20.0	20.0
lard	30.0	30.0
dressing	0.0	149.0
salt mix[1)]	35.0	35.0
vitamin mix[2)]	10.0	10.0
choline bitartrate	2.0	2.0
Total Energy(kcal)	3,862	3,862
Fat ratio(%)	11.7	24.9

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

[2)] AIN 76 Vitamin mixture(mg/kg): thiamine-HCl 600, riboflavin 600, pyridoxine-HCl 700, nicotinic acid 3,000, D-calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, D-biothin 20, Vit B_{12} 2.5, Vit A 400,000 IU, Vit D_3 100, 000 IU, Vit E 7,500 IU, Vit K 75, finely powdered to make 1,000g

3) 통계처리

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

4) 동물실험 방법

가) 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이 효율 및 분변의 양

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

저지방식이를 통한 스피루리나 샐러드 드레싱의 급여로 인한 mouse의 실험기간 동안의 체중변화는 그림 22와 같으며, 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 분변의 양은 Table 55와 같다. 식이섭취량은 대조군(LFC)과 드레싱투여군(LFD) 사이에 유의적인 차이가 없었으나 체중은 드레싱 섭취 4주 이후부터 대조군에 비해 감소하여 8주후에는 41.4 g으로 대조군의 42.9 g에 비해 적었으나 유의적인 차이는 없었다. 그러나 식이효율은 드레싱투여군이 대조군에 비해 낮았고 변의양에 있어 드레싱 투여군이 대조군보다 많았으나 유의적인 차이는 인정되지 않았다.

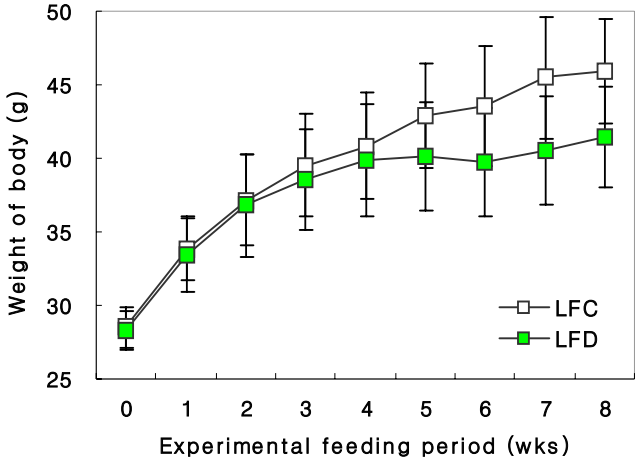


Fig. 22. 체중의 변화.

Table 55. 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 분변의 양

	Gain weight (g)	Food intake (g/day)	FER (%)	Fecal weight (g/day)
LFC	15.1±2.2	5.2±0.5	5.7±0.4	0.7±0.1
LFD	**11.5±3.2**	**5.3±0.6**	**3.6±0.5***	**1.0±0.1**

* : significantly different($p<0.05$)

나) 장기무게와 부위별 지방무게

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

Table 56는 대조군과 실험군의 간, 심장, 신장의 무게를 나타내고 있는데 드레싱 투여군(LFD)과 대조군(LFC) 사이에 유의적인 차이는 없었다($p>0.05$). 그림 23은 부위별 지방의 무게를 나타내고 있으며 드레싱 투여군이 대조군보다 낮은 경향을 나타내는 것을 볼 수 있으니 역시 유의적인 차이는 없었다($p>0.05$). 그러나 기존의 샐러드드레싱은 지질식품으로서 고열량을 가지고 있어 체중을 증가시키고 체지방을 늘리는 역할을 한다고 볼 때 본 연구에서 개발한 스피루리나 첨가 샐러드드레싱은 저열량 샐러드드레싱으로서 체중 및 체지방의 증가에 영향을 미치지 않는 것으로 보아 기존의 샐러드드레싱의 단점이 보완된 좋은 식품이라고 생각된다.

Table 56. 장기무게 (g/100 g BW)

	Liver	Heart	Kidney
LFC	3.9±0.7	0.498±0.127	0.015±0.001
LFD	4.1±1.9$^{N.S.}$	0.602±0.131$^{N.S.}$	0.016±0.002$^{N.S.}$

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

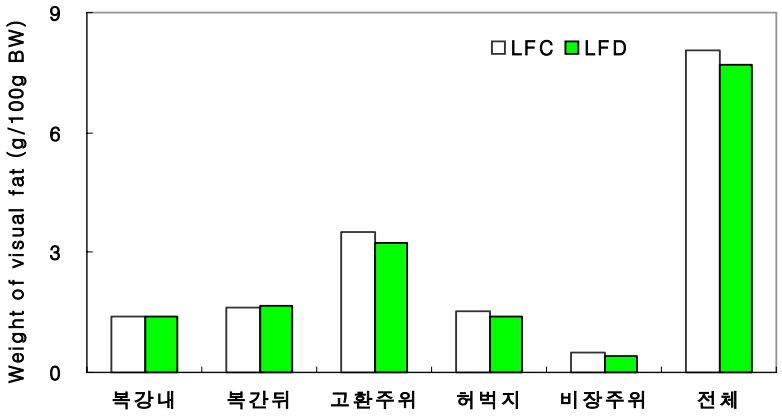


Fig. 23. 부위별 지방무게(g/100 g BW)

다) 혈장 중의 생화학적 성분 분석

시료채취 : 실험 종료 후인 8주 경과시에 12시간 동안 절식시킨 실험동물을 에틸에테르로 마취시켰다. 마취 상태에서 개복한 즉시 심장에서 혈액을 채취하였으며 채

취한 혈액을 heparin이 담긴 튜브에 담아 굳지 않도록 처리한 다음 2,000rpm에서 5분 동안 원심분리하여 혈장(plasma)을 분리하였다. 분리한 혈장은 -70℃에서 냉동 보관한 후 분석에 사용하였다.

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

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

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

저지방식이를 통한 스피루리나 샐러드 드레싱의 급여로 인한 mouse의 혈장 내 중성지질, 총 콜레스테롤, 고밀도 지단백질 콜레스테롤, 저밀도 지단백질 콜레스테롤 및 동맥경화지수는 Table 57과 같다. 모든 실험 항목에서 드레싱 투여군(LFD)은 대조군(LFC)에 비해 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이 같은 결과는 식이조성이 드레싱첨가군은 지방에서 공급되는 열량이 24.9%로 대조군의 11.7%에 비하여 지방의 양이 2배 이상 많이 때문에 드레싱 투여 mice에서 중성지질, 총 콜레스테롤 등의 지표가 높아질 것으로 예상되었으나 대조군과 유의적인 차이가 없었기 때문에 실직적으로는 낮추는 효과라고 생각된다.

Table 57. 총 중성지질, 총 콜레스테롤, 고밀도지단백질, 저밀도지단백질 콜레스테롤

	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	LDL cholesterol (mg/dl)	AI
LFC	56±25	178±28	145±27	22±10	0.23
LFD	**64±14$^{N.S.}$**	**180±15$^{N.S.}$**	**142±15$^{N.S.}$**	**25±10$^{N.S.}$**	**0.27$^{N.S.}$**

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

라) 항산화물질의 측정

Total glutathione을 위한 시료제조 : 마우스의 혈액은 2,000rpm에서 5분동안 원심분리하여 혈장(plasma)을 분리하고 남은 RBC를 사용하였다. 마우스의 간조직을 간중량의 19배의 6% metaphosphoric acid로 균질화한 후 25000rpm으로 30분간 원심분리(4℃)한 후 상등액 취한것을 당일에 총 glutathione 측정실험에 사용하였다.

Total Glutathione(GSH) : 총 glutathione은 Floreani 등의 방법(*Floreani M,*

Skaper D.S. Facci L., Lipartiti M, and Giusti P.,1997)을 약간 변형하여 사용하였다. 제조한 시료의 상등액 15 ㎕를 취해서 500 ㎕ 의 cuvette cell에 0.1 M의 potassium phosphate/0.005 M EDTA buffer(pH 7.4) 400 ㎕를 넣고 10 mM의 [5,5′-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB] 12.5 ㎕, 5 mM NADPH 40 ㎕를 취해서 1 분간 평형을 유지시킨 후에 0.5 unit의 GR(type Ⅲ Sigma, from bakers yeast, diluted in 0.1 M phosphate buffer pH 7.4)을 넣고 잘 섞은 후 반응을 개시되면 412 nm에서 2분간 지속적으로 흡광도를 측정하였다. 0.04 mM GSH를 제조하여 standard curve를 그린 후 흡광도에 대한 농도를 환산하였다.

β-carotene : HPLC를 이용하여 측정하였는데 그 조건과 방법은 다음과 같다.

(a). HPLC 조건:

: 20 ㎕ injection

: ODS column

: mobile phase

acetonitrile/ isoprpoanol/ methanol (68:20:12 v/v/v)

+ 0.02% ammonium acetate

: Flow 1.0 mL/min

: UV detector at 450nm

(b). Extraction of -carotene from plasma 3 step

- 100 ㎕ plasma 을 glass vial 에 담는다

protein denaturation

: 500 ㎕ ethanol 과 25 ㎕ 의 91 mmol BHT/L methanol 을 add 한다

organic solvent extraction with addition of IS

: IS solution (5 ㎍/mL) 20 ㎕ add

: 3 mL 의 hexane 을 add

solvent exchange

: each tube 를 teflon-lined screw cap 으로 sealing 한 후

: vortexing 30 s

: 400 uL water add

: vortex 30 s

: centrifuge at 1500rpm for 2 min separate organic and aqueous phase

: upper phase 을 new glass vial 로transfer 하였다.

: evaporate to dryness under a stream of nitrogen

: residue was redissloved in 30 ㎕ isopropanol/acetonitrile (50:50, v/v)

: filtrate 한 후 HPLC 에 주입 하였다.

Table 58은 대조군과 드레싱투여군의 혈액과 간에서의 항산화물질을 측정한 결과이다. 간과 혈액에서 총 글루타티온 함량을 측정한 결과 드레싱 투여군(LFD)이 대조군(HFC)에 비해 높은 함량이 측정되었으나 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 그러나 혈장의 베타카로틴 함량이 대조군에서는 발견되지 않았으나 스피루리나 첨가 샐러드드레싱 투여군에서는 0.012 nmole/ml을 함유하는 것으로 나타났다($p<0.05$).

Table 58. 혈액과 간의 총 글루타티온 함량과 혈장 중의 베타카로틴 함량

	GSH in liver (ng)	GSH in RBC (ng)	β-carotene (nmole/ml)
LFC	5.37±1.56	0.053±0.010	N.D.
LFD	**6.32±0.82**	**0.058±0.027**	**0.011±0.012***

N.D. : Not detected
* : significantly different($p<0.05$)

마) 항산화효소 활성도 측정

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

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

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

Superoxide dismutase(SOD) : SOD activity는 McCord와 Fridovich 등(McCord and Fridovich Superoxide Dismutase;1969)의 방법에 따라 정량하였다. 반응은 1 unit xanthine oxidase 4 ㎕ 정도 넣어 흡광도가 0.021 ± 0.005이 되도록 농도

를 조절한 후 cytosol 시료 40 ㎕를 반응시켜서 550 nm에서 2분간 측정을 한다. SOD 1 unit는 cytochrome C를 50% 방해하는 데 필요한 SOD의 양으로 정의하였다.

Paraoxonase(PON) : Paraoxonase를 측정하기 위해 aryesterase activity assay를 하였다. 1 mM $CaCl_2$가 함유된 20 mM Tris-HCL pH 8.0 buffer 495 ㎕에 혈장 5 ㎕를 넣은 후 cuvette 안의 농도가 1 mM이 되도록 phenylacetate를 첨가하고 270 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음의 공식에 의해 activity를 계산하였다.

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

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

Table 59에서 볼 수 있듯이 간에서 측정한 GPx, GR, SOD 효소활성도는 대조군(LFC)과 드레싱 투여군(LFD) 사이에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 그러나 몸속의 에스테르 화합물을 분해하여 phenol성 물질을 형성시켜주는 paraoxonase는 드레싱투여군이 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났다($p<0.05$). 적혈구의 간에서 단백질 함량을 분석한 결과 유의적인 차이가 없었다(Table 60).

Table 59. 항산화효소의 활성도

	GPx-Liver (unit/mg prot.)	GR-Liver (unit/mg prot.)	SOD-liver (unit/mg prot.)	SOD-Blood (unit/mg prot.)	PON (U.)
LFC	3.51±0.48	0.46±0.04	1.73±0.64	0.033±0.013	40.8±3.8
LFD	**3.37±0.37**	**0.51±0.07**	**1.90±0.57**	**0.041±0.010**	**48.8±7.6** *

* : significantly different($p<0.05$)

Table 60. 간과 혈액의 단백질 정량

	Protein in liver (mg/ml)	Protein in RBC (mg/ml)
LFC	18.6±2.1	291.6±21.8
LFD	**19.9±1.6**$^{N.S.}$	**277.9±31.3**$^{N.S.}$

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

바) 지질의 과산화물(TBARS) 측정

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

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

Table 61에서와 같이 혈장, 간, 심장, 신장조직의 지질과산화물을 TBA법으로 측정한 결과 간을 제외한 다른 장기 및 혈장의 지질과산화물은 대조군(LFC)과 드레싱 투여군(LFD)간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

Table 61. 지질의 과산화물가

	Plasma (ug/ml)	Liver (ug/ml)	Heart (ug/ml)	Kidney (ug/ml)
LFC	166.86±33.81	19.02±0.40	13.88±0.30	13.05±2.14
LFD	183.09±42.30	16.60±0.20*	13.10±0.30	15.28±1.12

* : significantly different($p<0.05$)

사) 조직내 단백질의 산화도 측정

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

Carbonyl value : 간과 심장 조직에 20% TCA를 600 ㎕ 넣고 14,000rpm 초고속 원심분리기에서 10분간 원심분리하고 상등액은 버렸다. 10 mM DNPH시약을 1 ㎖씩 가해서 충분히 vortex시킨 후 천천히 다 넣어 50분간 38℃에서 배양시켰다. 매 15분마다 vortex를 시켜주었고 20%의 TCA를 1 ㎖ 씩을 넣어 8,000 rpm에서 15분간 원심분리시킨 후 상징액을 버렸다. EtOH/ethyl acetate(EA)를 1 : 1 비율로 혼합하여 각각 1 ㎖ 씩 넣고 10분 동안 잘 저은 후 8,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상징액은 버리고, 상징액이 맑아져서 노란색이 보이지 않을 때까지 5회 정도 반복하여 씻어냈다. 침전물(ppt)에 6 M guanidine용액을 1 ㎖씩 넣고 incubator(38℃) 에서 30분간 배양한 후 380 nm에서 흡광도를 측정하였다.

간과 심장 조직내 단백질의 산화도를 측정한 결과 대조군(LFC)과 드레싱 투여군(LFD) 사이에 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Table 62).

Table 62. 간과 심장 조직내 단백질 산화도

	Liver Carbonyl (umole/ml)	Heart Carbonyl (umole/ml)
LFC	0.20±0.13	0.42±0.13
LFD	0.25±0.04$^{N.S.}$	0.39±0.13$^{N.S.}$

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

아) 혈액의 DNA의 손상정도

Mice DNA 손상정도를 측정하기 위해 alkalin single-cell gel electrophoresis (comet assay)를 실시하였다. Slide에 0.5% Normal melting agarose(NMA)를 50 ㎕와 75 ㎕로 2번 코팅한 후 시료 5 ㎕와 0.75% Low melting agarose(LMA) 75 ㎕의 현탄액을 골고루 분산시킨 후 cover glass로 덮어 4℃의 냉장온도에 저장하였다. Gel이 굳으면 그 위에 0.75% LMA 75 ㎕를 도포하여 한겹 더 코팅하였다. 미리 차게 준비해두었던 pH 10 lysis buffer에 DMSO와 TritionX-100을 섞은 시약에 slide를 담그어 한시간동안 암실에 보관하면서 lysis 과정을 거쳤다. Lysis 과정을 끝낸 slide는 electrophoresis buffer에 40분에 저장하였다가 electrophoresis chamber에 배열하고 25V, 300mA에서 20분 동안 unwinding시켰다. 전기영동이 끝난 slide는 pH 7.5 tris buffer에 5분씩 3회 세척하고 마지막으로 에탄올에 5분 담갔다가 말렸다.

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

그림 24는 혈액에서의 DNA 손상정도를 측정한 것인데 대조군(LFC)과 드레싱 투여군(LFD)을 비교할 때 모든 항목에서 유의적인 감소가 나타났으며 그 결과 스피루리나 샐러드 드레싱의 급여가 혈액 중 DNA 보호효과가 있음으로 해석되어진다 ($p<0.05$). 그림 25는 대조군과 드레싱투여군의 코멧 이미지를 보여주고 있으며 대조군에 비해 드레싱투여군의 세포의 꼬리가 더 짧음을 육안으로도 확인할 수 있었다.

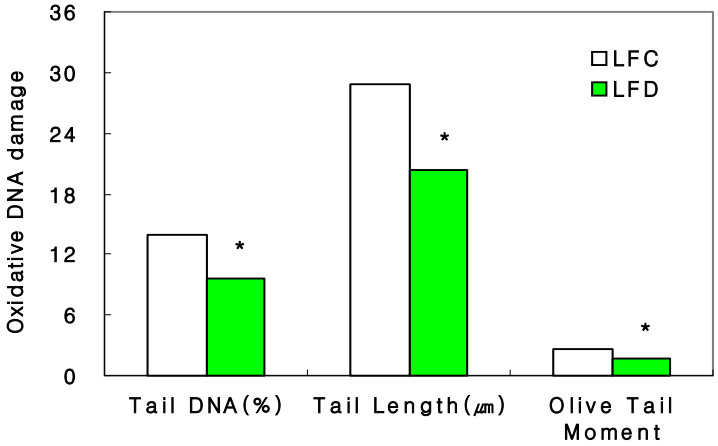


Fig. 24. 혈액의 DNA 손상정도. * : significantly different($p<0.05$)

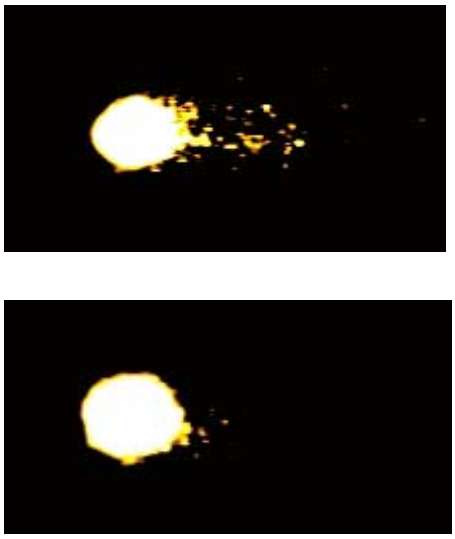


Fig. 25. 대조군(위)과 드레싱투여군(아래)의 코멧 이미지

9. 샐러드와 샐러드드레시의 소비자 조사

개발된 항산화샐러드와 스피루리나 샐러드드레싱, 된장 샐러드드레싱을 제조하여 충남대학교 재학생 중 식품영양학과 교양과목을 듣고 있는 학생 120명을 대상으로 소비자 검사를 실시하였다. 9점 척도법을 사용하였으며 모든 항목에 대하여 기호도(Over all acceptance)로 평가하게 하였다. 그 결과는 아래의 Table 62-1, 62-2와 같다.

외관, 향, 맛, 조직감, 기호도의 항목에 있어 각각 7.3, 6.8, 7.2, 7.4, 7.5점을 받았다. 야채만 맛보았음에도 불구하고 높은 점수를 얻었다는 것은 샐러드드레싱 또는 음료와 함께 섭취했을 때 기호도는 더 높아지리라 기대된다.

또한 스피루리나 샐러드드레싱은 각각 6.5, 6.1, 8.0, 7.2, 7.7점을, 된장샐러드드레싱은 6.6, 7.1, 7.2, 6.5, 6.8점을 나타내었다. 스피루리나 드레싱은 특히 맛과 채소와 함께 씹었을때의 조직감에서 월등히 높은 평가를 받았으며 전반적인 기호도 역시 높았다. 그리고 된장 샐러드드레싱은 향과 맛에 있어 높은 점수를 받았으며 이는 한국인의 입맛에 맞는 샐러드드레싱을 만들고자 했던 취지에 부응하는 결과라 생각되어진다.

62-1. 항산화샐러드의 소비자기호도검사

	외관	향	맛	조직감	기호도
샐러드	7.3±0.9	6.8±1.0	7.2±1.1	7.4±0.8	7.5±1.0

62-2. 스피루리나 샐러드드레싱과 된장 샐러드드레싱의 소비자 기호도 검사

	외관	향	맛	조직감	기호도
스피루리나 샐러드드레싱	6.5±0.9	6.1±1.1	8.0±0.7	7.2±0.7	7.7±0.6
된장 샐러드드레싱	6.6±1.0	7.1±0.8	7.2±0.7	6.5±0.9	6.8±0.8

제 2 절 제 2 세부과제

연구책임자 송경빈 : MPR 신선채소의 미생물학적 위해인자 제거를 위한 non-thermal processing 기술 개발

1. 채소와 과일로부터 병원성 미생물의 검출

제 1 세부과제에서 선정한 재료 중 대표구로 청코스와 적상추를 sampling하여 실험 하였으며 일반 미생물 및 병원성 미생물의 검출은 선택 배지를 사용하여 검출하였다. 청코스는 참여 기업인 반디 농장에서 제공 받아 사용 하였으며 적상추는 재래시장에서 구입하여 사용 하였다. 병원성 미생물은 오염 지표균인 E. coli를 검출 하였고, 샐러드 생육 대표적 병원성 세균인 *Listeria*와 *Pseudomonas*를 검출 하였다.

각기 선정된 재료는 sample 10-15 g을 시료 균질기로 갈은 후 거즈로 걸러서 crude extract를 추출 하였다. 추출된 crude extract는 0.1% peptone water로 serial dilution하여 각기 배지에 분주하여 배양하고 형성된 colony를 계수하여 시료 crude extract ml당 colony forming unit (CFU)의 수치로 나타내었다.

본 실험에 사용된 선택 배지는 total aerobic bacteria는 plate count agar (Difco Co., USA)를 사용 하였고 yeast and mold는 potato dextrose ager (Difco Co., USA), Pseudomonas는 pseudomonas agar F (Difco Co., USA), E. coli는 chromogenic E. coli / coliform media (Oxoid LTD, England), Listeria는 listeria selective agar base (Oxoid LTD, England)를 사용 하였다.

밭에서 직접 채취한 청코스의 경우 전반적으로 10^6 CFU 정도의 생균수를 나타내었고 유통 중인 적상추는 10^3~10^4 CFU의 생균수를 관찰할 수 있었다(Table 64). 이중 병원성 미생물인 Pseudomonas, E. coli, Listeria 또한 10^4개 정도를 보였으며 이 수치는 직접 섭취 하였을 때는 건강에 위해한 요소로 작용할 수 있는 수치이므로 적절한 처리를 통하여 식품적 안전성을 확보 하여야 할 것이다.

Table 64. 청코스와 적상추에 존재하는 생육 미생물

unit : Log CFU / ml

	청 코 스	적 상 추
Total aerobic Bacteria	6.44	4.89
Yeast and Mold	6.21	3.77
Pseudomonas	6.32	4.40
Escherichia coli	미 실 시	3.65
Listeria	미 실 시	4.22

2. Non-thermal treatment에 의한 microbial analysis

본 연구에서는 non-thermal treatment 수단으로 chlorine dioxide treatment를 사용 하였다. 따라서 이 이산화염소에 대한 각기 병원성 미생물에 대한 D-value를 측정함으로써 처리 효과를 확인해 보고자 하였다. 측정에 사용된 병원성 미생물은 식품 및 외식사업 전반에서 빈번하게 발생하고 있는 *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*를 사용 하였다.

E. coli O157:H7은 5.5 ppm 이산화염소 용액 9 ml에 cell culture 1 ml을 넣어 최종 농도가 5 ppm이 되도록 하여 1, 2, 3, 4, 5, 7분 동안 처리하였고, 처리 후 바로 dilution 하여 spreading 하였다. 배지는 TBA plate를 사용 하였으며 37℃에서 24 h 배양 후 colony counting 하여 결과를 분석 하였다. *Salmonella typhimurium*은 5.5 ppm 이산화염소 용액 9 ml에 cell culture 1 ml을 넣어 최종 농도가 5 ppm이 되도록 하여 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10분 동안 처리 하였고, 처리 후 바로 serial dilution 하여 spreading 하였다. 배지는 TBA plate를 사용하여 37℃에서 48h 배양 후 colony counting 하여 결과를 분석 하였다. *Listeria monocytogenes*는 11 ppm 이산화염소 용액 4.5 ml에 cell culture 0.5 ml을 넣어 최종 농도가 10 ppm이 되도록 하여 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10분 동안 처리 하였다. 배지는 BHI agar plate를 사용 하였으며 37℃에서 48h 배양 후 colony counting 하여 결과를 분석 하였다.

D-value는 이산화염소 처리 후 접종한 각 media plate에서 형성된 colony를 counting하여 colony forming units (CFU)로 나타내었다. 각기 counting된 결과는 log scale로 환산하여 처리 시간에 따른 survival rate 그래프를 그렸으며 생균수가 1 log 감소하는데 필요한 시간을 계산하여 D-value를 구하였다.

E. coil O157:H7의 처리 결과는 Fig. 27과 같다. 처리시간마다 일정한 비율로 감소 하여 survival plot이 전형적인 1st order 유형을 보여주었다. 이산화염소 5 ppm에서의 처리는 처리 5분 후 초기 균수에서 1.5 log 감소를 보였다. *E. coli* O157:H7의 survival plot의 slope으로부터 D-value를 구한 결과 3.37분으로 측정되었다.

E. coli O157:H7와는 달리 *Salmonella typhimurium*과 *Listeria monocytogenes*의 처리 결과는 전형적인 biphasic curve를 보였다 (Fig. 28, 29). *Salmonella typhimurium*과 *Listeria monocytogenes*의 biphasic curve를 분석해 보면 5분 처리까지는 해당 농도에서 기대할 수 있는 사멸 효과가 대부분 나타나며 그 이상의 처리 시간은 효과가 없음을 보여준다.

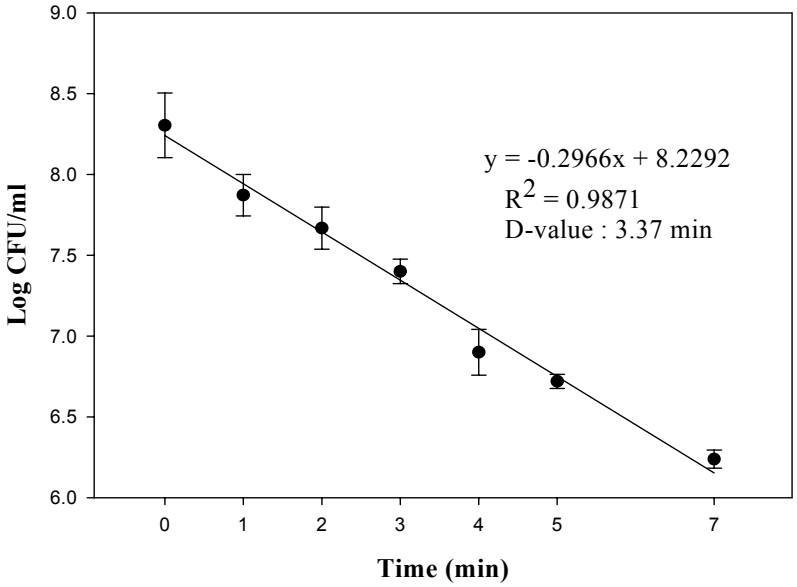


Fig. 27. 이산화염소 5 ppm에서의 *E. coli* O157:H7의 사멸율

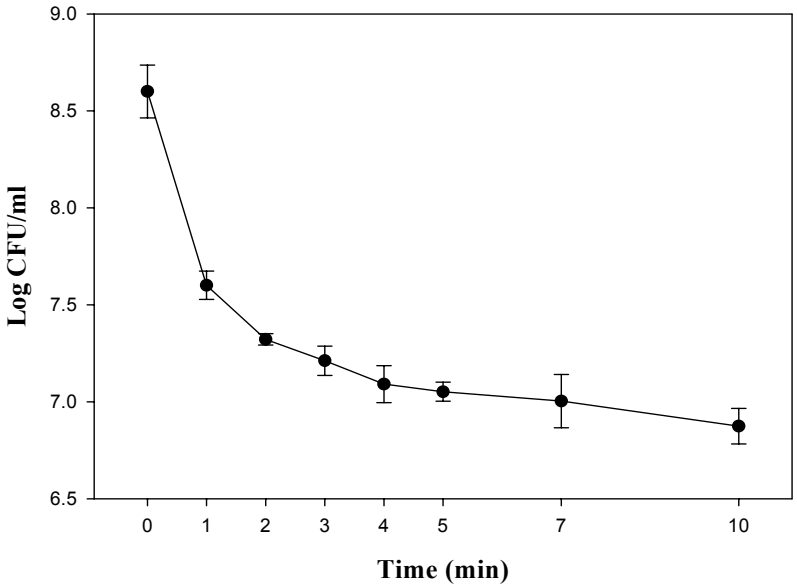


Fig. 28. 이산화염소 5 ppm에서의 *Salmonella typhimurium*의 사멸율

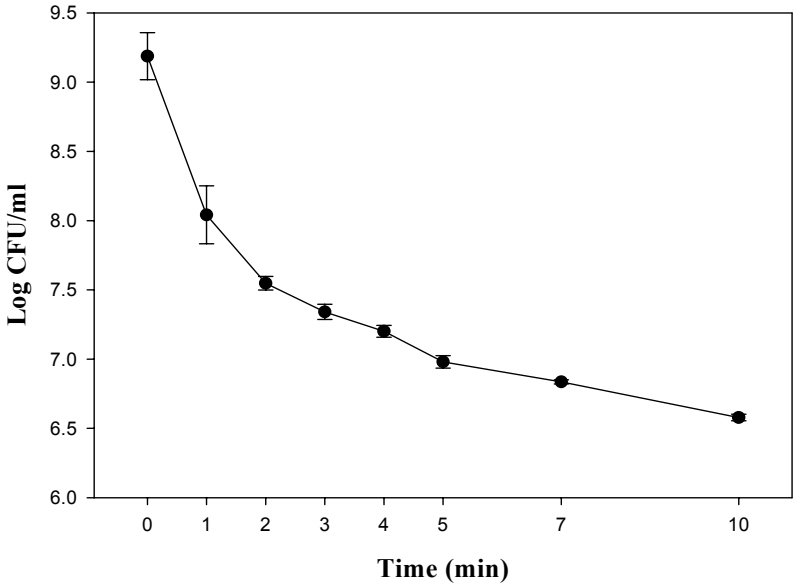


Fig. 29. 이산화염소 10 ppm에서의 *Listeria monocytigenes*의 사멸율

3. MPR 신선채소의 non-thermal processing에 의한 가공·유통 시 미생물학적 안전성 확립

현재 FDA에서 승인한 ClO_2의 처리 허용 농도는 야채 및 과일에 대해서 5 ppm으로 제한하고 있다. 그러나 D-value 측정 결과 다른 유기물이 존재 하지 않는 pure cell culture의 조건에서도 이산화염소 5 ppm 조건에서 높은 살균효과를 보이지 않음을 확인할 수 있었다. 그러므로, 여러 유기물이 복합적으로 포함 되어 있는 야채 등에 처리할 경우는 식품적 안전성을 충분히 보장할 수 있는 정도의 살균 효과를 기대하기 어렵다고 판단된다. 따라서 본 연구에서는 이산화염소 단독 처리의 효과를 살펴보고 다른 agent와의 병행 처리를 통하여 샐러드 신선 편의 채소의 식품적 안전성을 확보할 수 있는 조건을 설정 하였다.

이산화염소 단독 처리의 효과를 검증하기 위하여 오존 처리와 citric acid 처리를 비교 하였다. 사용한 sample은 청코스로 참여 기업인 반디농장에서 제공받아 실험하였다. 처리 조건은 오존 3 ppm 10분, 이산화염소 10 ppm 10분, citric acid 1% 1분 처리 하였다. Sample은 2×2 cm 의 크기로 자른 후 각각의 용액에 처리하여 crude extract를 추출 하였다. 추출된 crude extract는 0.1% peptone water로 serial dilution하여 각기 배지에 분주하여 배양하고 형성된 colony를 계수하여 시료 crude extract ml당 colony forming unit (CFU)의 수치로 나타내었다.

살균 효과는 호기성 세균과 효모, *Pseudomonas*의 생존율을 비교해 검증 하였다.

처리 결과 세가지 처리 모두 초기 균수에서 1~2 log reduction밖에 보이지 않았으며 처리 후 생육 미생물이 10^2 CFU 이상으로 식품으로써 미생물학적 안전성이 보장된다고 하기 어렵다(Table 65).

따라서 미생물학적 안전성을 확보하기 위하여 병행처리를 하였다. 병행 처리는 이산화염소 처리에 앞서서 채소에 묻어있는 유기물이나 먼지 등을 제거하기 위한 과일 및 샐러드 세척용 세제를 이용하여 1차 세척을 하고 그 후에 이산화염소 처리를 하였다. 이산화염소 처리는 본 연구에서 실시 한 microbial analysis 결과를 토대로 이산화염소 5 ppm은 부족하다고 판단하여 충분한 살균효과를 관찰하기 위하여 50 ppm 이라는 높은 농도를 사용 하였고 처리 시간은 5분으로 단축 하였다. 또한 아직까지 FDA에서 승인한 채소에 이산화염소 처리 기준은 자르지 않은 채소에 허가가 난 상태이므로 이산화염소 처리 시 cutting하지 않은 상태로 처리하고 처리 후 cutting 하였다. 따라서 cutting 공정에서 일어날 수도 있는 미생물의 오염을 방지하기 위하여 cutting 후 citric acid 1% 용액에 최종처리 하였다. 즉, 처리 공정을 정리하여 보면, 다음과 같다(Fig. 30).

1. 과일 및 셀러드 세척용 세제로 washing
2. 이산화염소 50 ppm 5분 처리
3. 적당한 크기로 절단
4. Citric acid 1% 1분 처리

살균 효과는 호기성 세균과 효모, *Pseudomonas*를 비롯해 E. coli, Listeria의 생존율 또한 비교함으로써 폭넓게 관찰 하였다. 병행처리의 효과를 검증하기 위하여 사용된 시료는 적상추로 측정 하였다.

적상추에 병행처리 결과 일반 미생물 및 병원성 미생물의 수가 2 log 이하로 남음으로써 미생물학적 안전성을 확보할 수 있었다(Table 66).

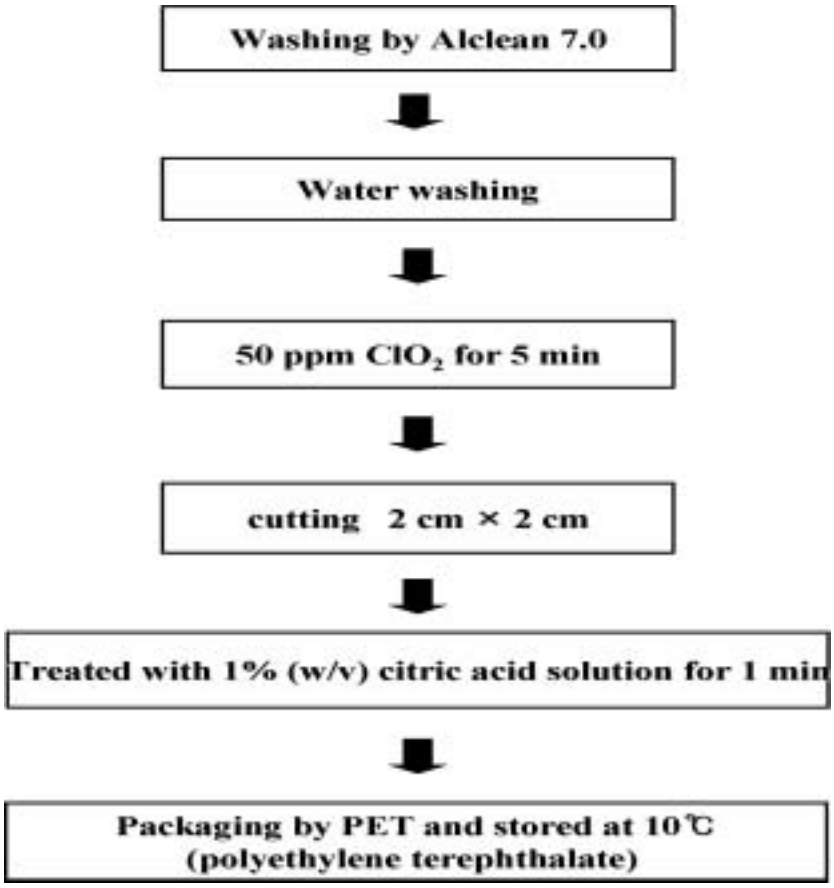


Fig. 30. 샐러드 제품 처리 공정

Table 65. 청코스에 오존수, 이산화염소, citric acid를 처리한 후 생존 미생물의 비교

unit : Log CFU / ml

	PCD	PDA	PaF
Non-treatment	6.44	6.21	6.37
O_3 treatment	5.69	5.43	5.74
ClO_2 treatment	5.23	5.09	5.04
Citric acid treatment	4.55	4.38	4.96

Table 66. 적상추에 이산화염소 및 cirtic aicd 병행처리의 살균 효과

unit : Log CFU / ml

	PCD	PDA	PaF	E. coli	Listeria
Non-treatment	4.89	3.77	4.40	3.65	4.22
Treatment	< 2.0	< 2.0	< 2.0	< 1.0	< 1.0

4. 샐러드의 저장성 연구

가. 항산화 기능성 샐러드의 조합

샐러드는 제 1 세부과제에서 개발한 조건에 따라 조합하여 준비 하였다. 혼합된 샐러드는 3회 water washing 한 후 원심 탈수기를 이용하여 물기를 제거하고 PET (polyethylene terephthalate) 포장재를 사용하여 1 pack 당 150 g씩 포장하여 저장하였다. 저장온도는 4℃와 10℃로 하였다.

나. 중량 감모율 측정

초기 중량에 대한 저장 후 중량을 백분율로 계산하여 나타내었다. 저장 초기 24 h 동안 다소 큰 폭의 변화가 있으며 이후 저장 기간이 길어짐에 따라 비슷한 비율로 지속적으로 감소하였다. 중량의 감소는 대부분 저장 중 수분의 증발에 의한 것으로 사료되며 10℃ 저장 샐러드가 중량 감소폭이 적었다.

다. 수분함량 측정

채소 무게가 항량이 될 때 까지 건조하여 감량된 양을 수분 양으로 하고 백분율로 나타내었다. 저장 초기 24h 동안 샐러드에서 다량의 수분이 감소한 것을 볼 수 있는데 이것은 포장재 내부의 상대습도가 샐러드의 수분 함량에 비하여 매우 낮음으로 인하여 초기에 다량의 수분이 포장재 내부로 증발한 것으로 판단된다. 4℃보다 10℃에 저장한 샐러드가 저장성이 좋았으며 저장 기간이 길어짐에 따라 10℃저장이 수분함량이 높았다. 즉, 10℃ 저장이 보수성이 좋다는 것을 의미한다.

라. 산가 측정

채소 crude extract를 0.1 N NaOH을 이용하여 pH 8.1까지 적정한 후 소모된 NaOH양을 이용하여 다음 계산식에 의해 계산하였다.

$$Acid\ \ value = \left(\frac{A \times\ 0.019214}{B}\right) \times 100$$

Unit of acid value : mg% citric acid

A : 소모된 NaOH의 양

B : sample crude extract의 양

산가는 저장 24 h 동안 큰 폭으로 감소하였으며 10℃저장이 저장기간 동안 감소폭이 적었다. 이는 온도에 따른 샐러드의 호흡에 의해 cell 내부의 신진대사와 관련된 것으로 판단된다.

마. pH 측정

채소 crude extract를 pH meter (Model No. *pH Meter* 240, Corning Inc., Corning, NY, USA)로 측정하였다. 두 가지 저장 조건에서 pH는 전체 저장기간 동안 변화 폭이 비슷하여 유의차가 없다고 할 수 있었다.

바. 종합평가

전체적인 실험 결과를 분석해 볼 때 10℃저장이 4℃보다 좋은 저장성을 보였으나 유의차가 있다고 보기는 어렵고 10℃저장이 4℃저장보다 에너지 측면에서 유리하다고 할 수 있겠다. 저장 중 변화는 저장 24 h 동안 다소 큰 폭의 변화가 있었고 그 이후는 비슷한 비율로 감소하였다. 저장 기간에 따른 상품성을 판단한 결과, MPR 샐러드는 10℃에서 저장을 하며 제조한 다음날까지 판매가 가능하고 제조 후 3일까지 식용에는 문제가 없는 것으로 판단되나 신선도 및 수확 후 최고의 품질을 유지하기 위해선 24시간 이내 판매를 완료하는 것이 좋다고 사료된다.

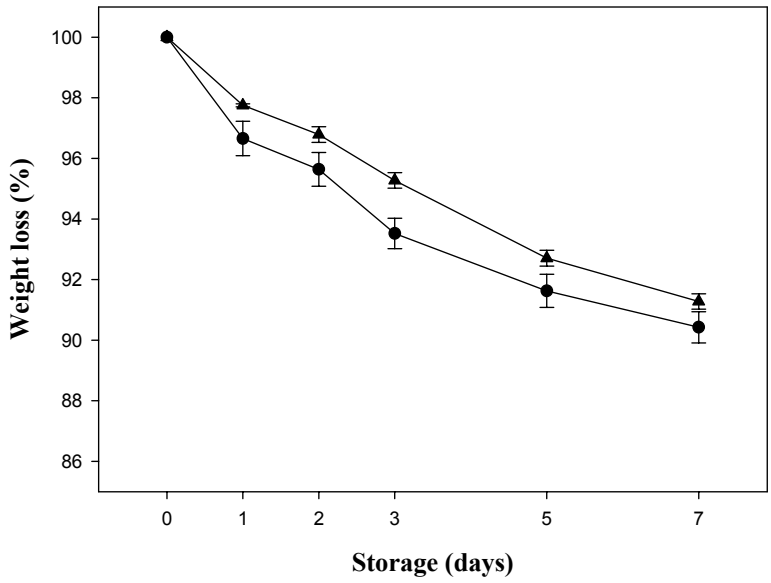


Fig. 31 . Effect of storage temperature on the weight loss of MPR salad.

● : Storage at 4℃, ▲ : Storage at 10℃

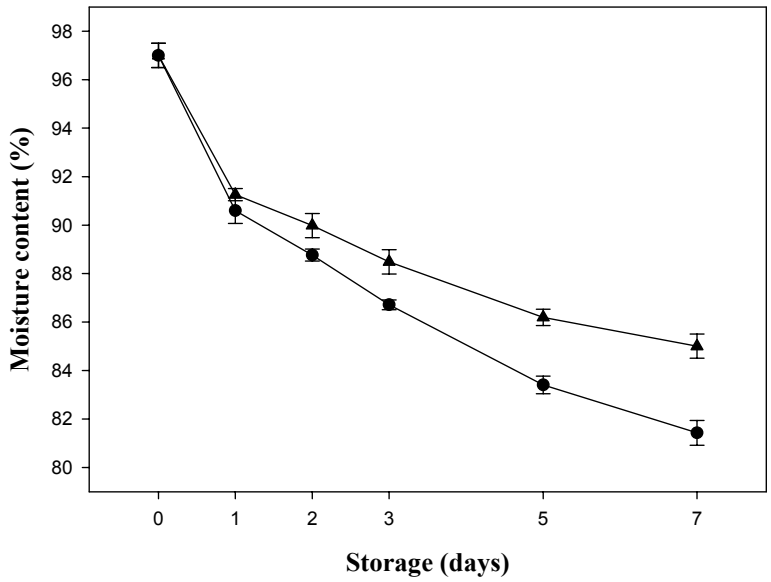


Fig. 32. Effect of storage temperature on the moisture content of MPR salad.

● : Storage at 4℃, ▲ : Storage at 10℃

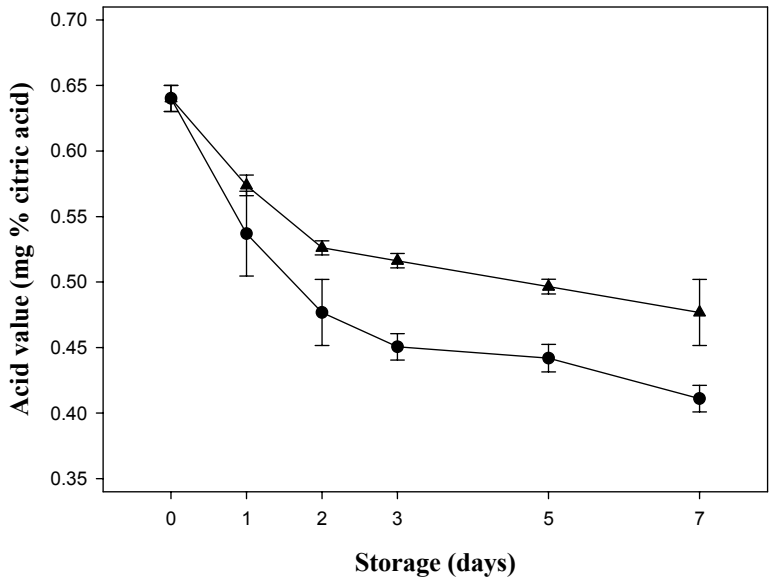


Fig. 33. Effect of storage temperature on the acid value of MPR salad.

● : Storage at 4℃, ▲ : Storage at 10℃

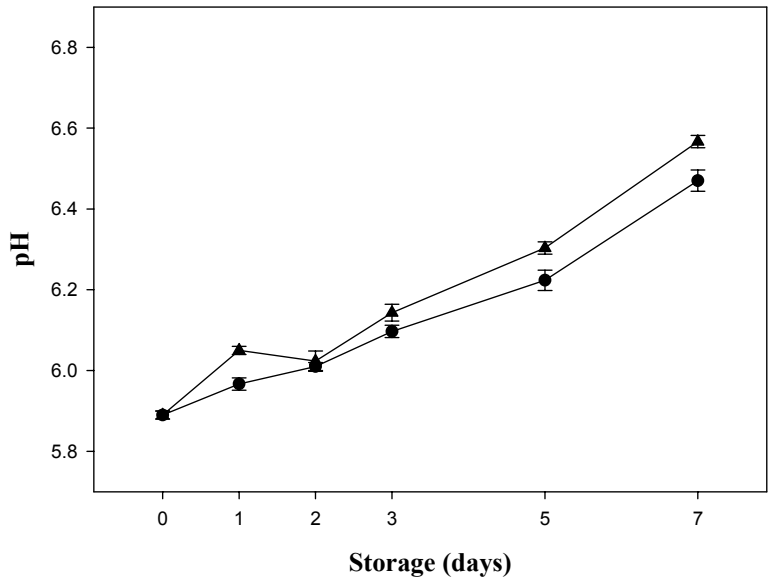


Fig. 34. Effect of storage temperature on the pH of MPR salad.

● : Storage at 4℃, ▲ : Storage at 10℃

5. 샐러드 유통을 위한 포장재 검토 및 선정

샐러드를 포장 판매하기 위한 최적의 포장재를 선정하기 위하여 다방면의 문헌조사 및 현장조사를 실시한 결과 가장 많이 사용되고 있는 포장재는 PET (polyethylene terephthalate) 재질의 포장재였으며 최근 각광받고 있는 포장재는 BOPS (bisxially oriented PS sheet) 이었다. PET는 플라스틱 필름 중에서 가장 강인한 필름에 속하고, 전기적 성질이 우수하며, 탄성율이 크고, 극히 얇은 필름으로 사용될 수 있으며, 강성, 투명성, 내충격강도가 크고, 인장강도가 커서 인장강도가 셀로판의 3배, 폴리에틸렌의 10배에 달하여 알루미늄에 가까울 정도이다. 또한 내열성이 강하고 수증기나 기체의 투과도가 적어 산업적 이용이 가장 많은 포장 용기이다. BOPS는 현재 국내 fastfood점 L사의 샐러드 포장에 이용되고 있는 포장 재질로 고투명, 고광택이며, 방담 처리가 되어 있어 성에가 끼지 않는 특징을 갖고 있다. 또한, 하부는 PS로 이루어져 있으며 블랙으로 유광 처리가 되어 있어 미려한 디자인으로 호평을 받고 있는 용기이다. 따라서 본 연구진에서는 두 가지 포장재의 저장효과를 측정하였다. 측정항목은 중량감모율, 수분함량, 산가, pH를 측정하였다.

중량 감모율은 초기 중량에 대한 저장 후 중량을 백분율로 계산하여 나타내었고 수분함량은 채소 무게가 항량이 될 때 까지 건조하여 감량된 양을 수분 양으로 하고 백분율로 나타내었다. 산가는 채소 crude extract를 0.1 N NaOH을 이용하여 pH 8.1까지 적정한 후 소모된 NaOH양을 이용하여 다음 계산식에 의해 계산하였다.

$$Acid\ \ value = \left(\frac{A \times\ 0.019214}{B}\right) \times 100$$

Unit of acid value : mg% citric acid

A : 소모된 NaOH의 양

B : sample crude extract의 양

pH는 채소 crude extract를 pH meter (Model No. *pH Meter* 240, Corning Inc., Corning, NY, USA)로 측정하였다.

실험결과 산도나 pH의 경우 포장재에 따른 차이는 확인되지 않았다. 하지만 중량 감모율과 수분함량의 경우 BOPS에 비해 PET에서 변화가 적었다. 이것은 BOPS보다 PET에 포장하였을 때 수분의 증발에 따른 물리적 변화가 적었음을 나타내는 결과이다. 따라서 본 실험에서는 PET포장재를 최종 재품의 포장재로 선정하였다.

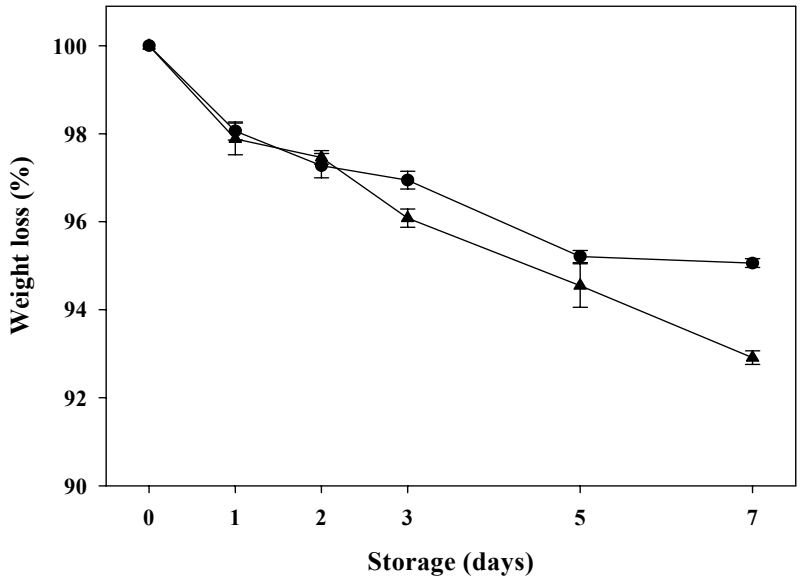


Fig. 35. Change of the weight loss of packaged MPR salad in BOPS and PET after water washing. ● : PET ▲ : BOPS

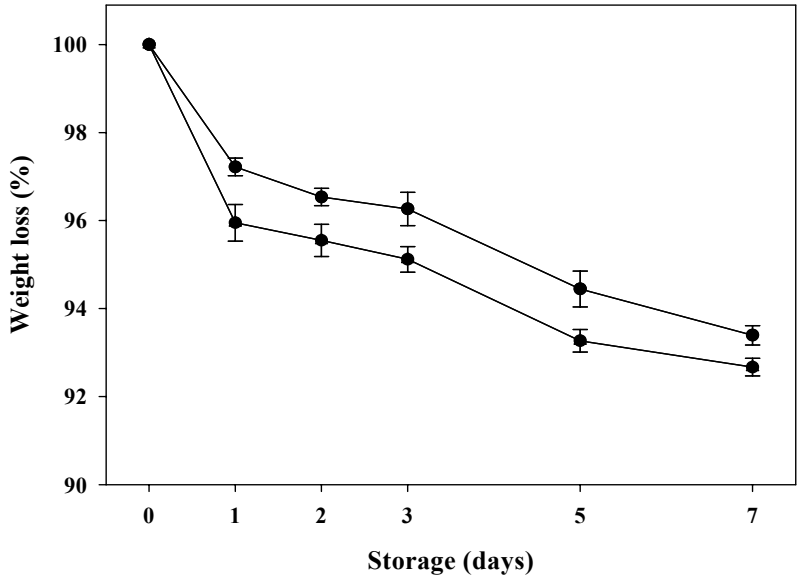


Fig. 36. Change of the weight loss of packaged MPR salad in BOPS and PET after chemical treatment. ● : PET ▲ : BOPS

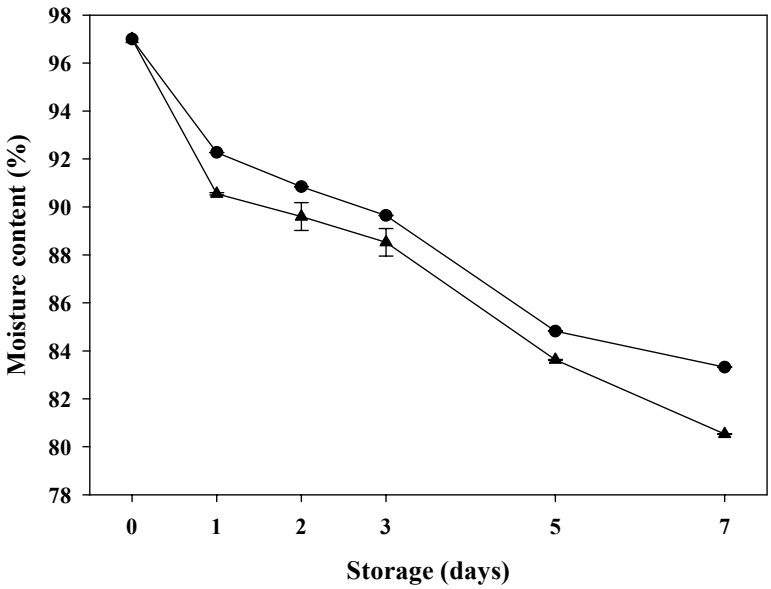


Fig. 37. Change of the moisture content of packaged MPR salad in BOPS and PET after water washing.● : PET ▲ : BOPS

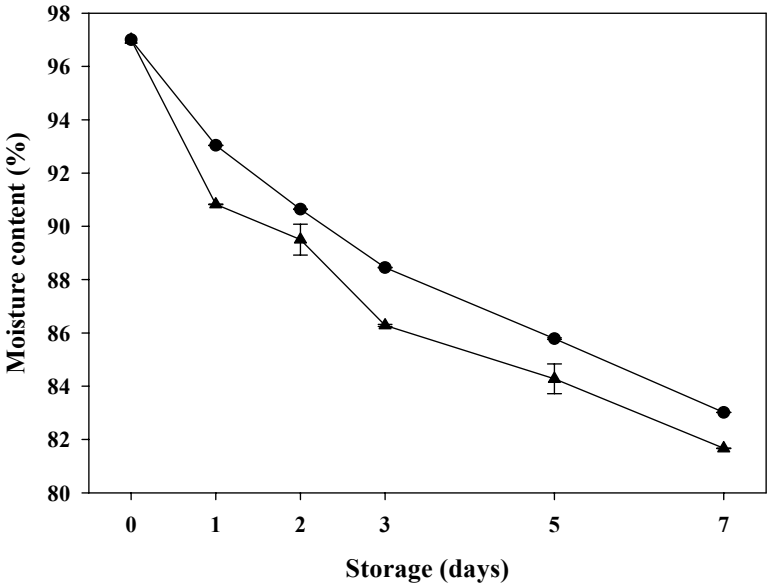


Fig. 38. Change of the moisture content of packaged MPR salad in BOPS and PET after chemical treatment ● : PET ▲ : BOPS

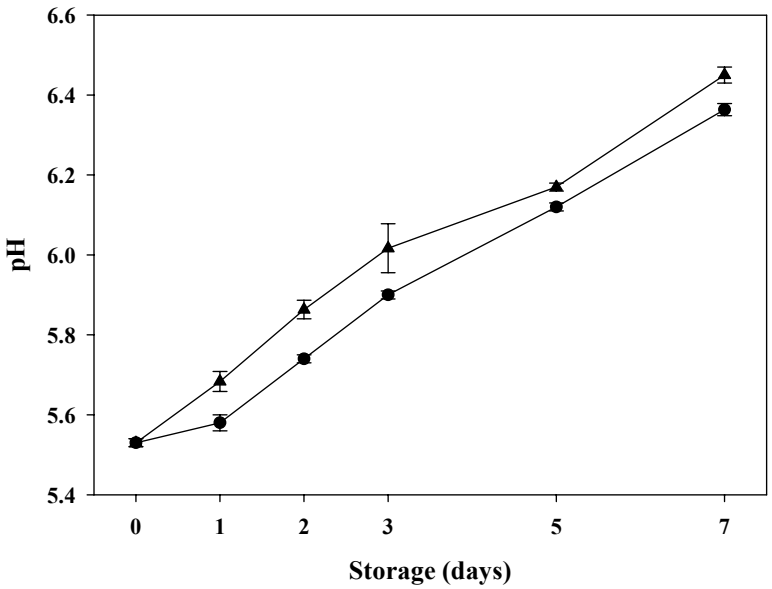


Fig. 39. Change of the pH of packaged MPR salad in BOPS and PET after water washing. ● : PET ▲ : BOPS

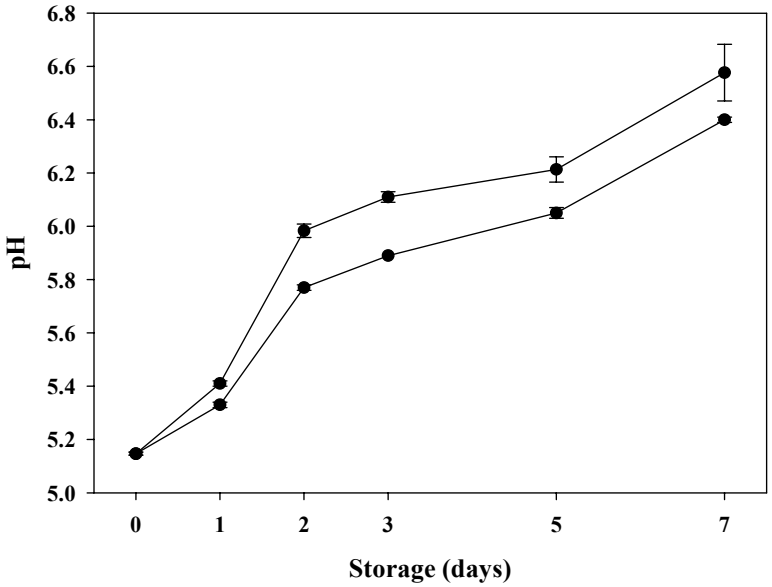


Fig. 40. Change of the pH of packaged MPR salad in BOPS and PET after chemical treatment. ● : PET ▲ :

BOPS

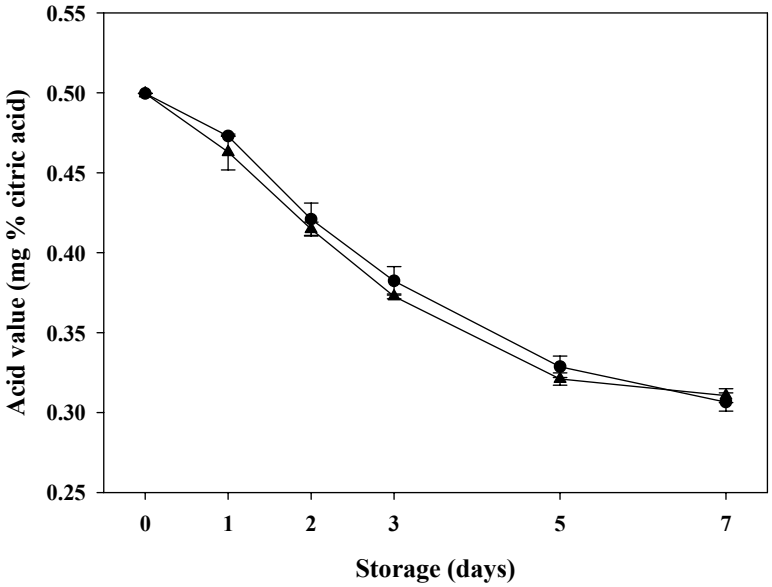


Fig. 41. Change of the acid value of packaged MPR salad in BOPS and PET after water washing. ● : PET ▲ : BOPS

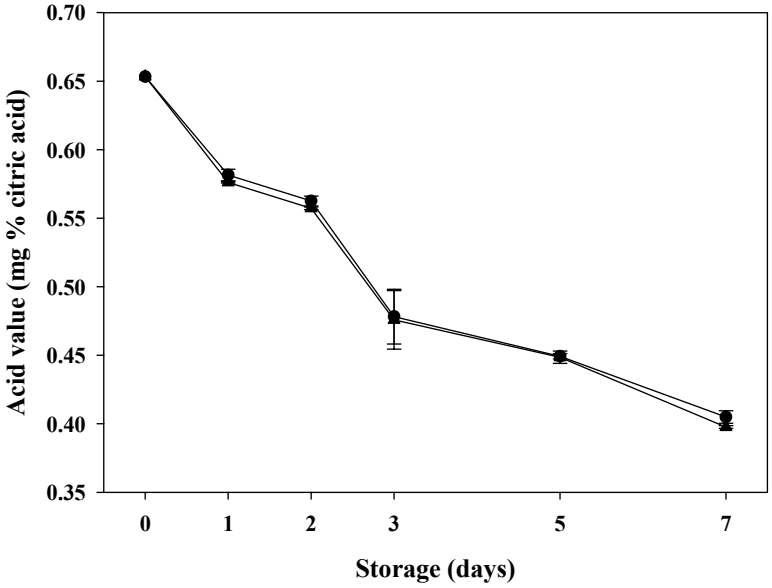


Fig. 42. Change of the acid value of packaged MPR salad in BOPS and PET after chemical treatment. ● : PET ▲ : BOPS

6. 확립된 non-thermal processing 조건과 포장 기술에 의한 저장조건 확립

가. MPR (minimally processed & refrigerated) 샐러드의 제조

1) 항산화 기능성 샐러드의 조합 및 포장

샐러드는 제 1 세부과제에서 개발한 조건에 따라 조합하여 중량기준 동량을 혼합하였다. 조합된 샐러드는 이산화염소를 이용하여 treatment 하였으며 세척한 샐러드와 세척하지 않은 샐러드 간의 저장성의 차이가 매우 큼으로 chemical treatment의 효과를 확인하기 위하여 사용된 대조구는 water washing을 하였다. Control로 사용된 water washing구도 chemical treatment와 동일한 조건을 만들기 위하여 물로 5회 세척하였다. Treatment가 완료된 샐러드는 PET (polyethylene terephthalate) 포장재로 포장한 후 저장하였다.

2) Chemical treatment

채소에 묻어있는 유기물이나 먼지 등을 제거하기 위해 과일 및 샐러드 세척용 세제 (Alclean 7.0, CH_2O Inc., Olympia, WA, USA)를 이용하여 1차 세척을 하고 세제 성분을 제거하기 위해 물로 2회 세척하였다. 그 후에 이산화염소 50 ppm에서 5분간 침지하여 처리하였다. Chlorine dioxide treatment 후 약 2cm × 2cm 크기로 절단한 후 citric acid 1% 용액에 1분간 침지하여 최종처리 하였다.

Control로 chemical treatment와 동일한 조건을 만들기 위하여 물로 5회 세척하였다.

3) MPR 샐러드의 저장

Treatment가 완료된 샐러드는 원심 탈수기를 이용하여 탈수 시킨 후 PET(polyethylene terephthalate) 포장재를 이용하여 1 pack 당 150g씩 포장하여 저장 하였다. 저장 온도는 10℃ 이었다.

나. 제조된 MPR 샐러드의 저장성 및 미생물학적 안전성 측정

1) 생육 미생물의 측정

저장 중인 MPR 샐러드 10~15 g 을 갈은 후 거즈로 걸러서 crude extract를 추출 하였다. 추출된 crude extract는 0.1% sterile peptone water로 serial dilution하여 각기 배지에 분주하여 배양하고 형성된 colony를 계수하여 시료 crude extract ml당 colony forming unit (CFU)의 수치로 나타내었다.

본 실험에 사용된 선택 배지는 total aerobic bacteria는 plate count agar (Difco Co., USA)를 사용 하였고 yeast and mold는 potato dextrose ager (Difco Co., USA), *Escherichia coli* spp. 는 chromogenic E. coli / coliform media (Oxoid Ltd., England), *Listeria* spp. 는 listeria selective agar base (Oxoid Ltd., England)를 사용 하였다.

수확 직후의 샐러드 체소에는 토양 미생물 등의 오염으로 인하여 10^7개의 매우 많은 미생물이 존재하여 그대로 섭취하는 것은 좋지 않으며 보통 가정에서 샐러드를 구입하여 먹을 때 흐르는 물에 2~3회 세척 후 섭취하나 이것 또한 미생물 제거에 효과적이지 못한 것으로 확인되었다. 하지만 본 연구에서 사용한 chemical treatment는 약 99.98%의 미생물을 사멸 시킬 수 있었으며 cutting 이후 최종적으로 citric acid treatment를 함으로써 cutting 시 오염될 수 있는 미생물까지 효과적으로 제거하고 샐러드 표면에 citric acid가 남아있어 표면의 pH를 낮춤으로써 저장초기에 남아있는 미생물의 생육 제해에 효과가 있었다.

Total aerobic bacteria는 non-treatment에 비하여 control인 water washing은 0.98 log 감소하였고 실험구인 chemical treatment는 3.75 log 감소하였다. 초기 균수가 5.98 log 인 control은 저장 7일째 8.47 log 까지 증가 하였고 초기 3.21 log 인 실험구는 저장 7일째 6.76 log 까지 증가 하였다. Chemical treatment를 한 것이 저장 종료 시점까지의 total aerobic bacteria의 증가폭이 더 컸지만 최적의 유통기간으로 판단하는 MPR 샐러드 포장 후 24h 동안의 변화를 관할해 보면 chemical treatment구는 초기와 거의 변화 없지만 control은 저장 1일차부터 균수가 많이 증가한 것을 볼 수 있다. 또한 chemical treatment의 균수가 water washing의 초기 균수까지 증가 하는데 걸린 저장 기간은 5일로써 chemical treatment는 MPR 샐러드에 있어서 미생물학적 안전성을 보장해 준다고 할 수 있다.

Yeast and mold는 non-treatment에 비하여 water washing은 1.47 log 감소하였고 실험구인 chemical treatment는 3.47 log 감소하였다.

Control의 경우 초기 4.19 log에서 6.52 log 까지 증가 하였고 처리구는 2.2 log에서 5.42 log 까지 증가 하였다. 두 가지 모두 저장 72 h 까지 균수가 빠르게 증가 하였고 그 이후엔 거의 변화가 없었으며 chemical treatment가 water washing의 초기 균수만큼 증가 하는데 48 h이 소요 되었다.

Fungi의 경우 식품에 증식할 경우 균사체를 형성하여 육안으로 확인이 가능하나 저장 7일까지 균사체는 관찰되지 않았다. 따라서 증가한 균은 거의 yeast로 추측된다. Chemical treatment의 균수는 저장 2일 후 water washing의 초기 균수만큼 증가하여 MPR 샐러드의 유통기간 동안 미생물학적 안전성을 확보할 수 있었다.

*E. coli*는 non-treatment에 비하여 water washing은 0.93 log 감소하였고 실험구인 chemical treatment는 3.41 log 감소하였다.

Control은 초기 4.59 log에서 7.41 log까지 증가 하였고 chemical treatment는 2.11 log에서 6.27 log까지 증가 하였다. 두 경우 모두 저장 24h 동안 많은 수의 균이 증식 하였고 이후 비슷한 증가폭을 보이며 증가하였다. Chemical treatment의 균수가 water washing의 초기 균수만큼 증가 하는데 3일 이상 걸리는 것으로 관찰됨에 따라 미생물학적 안전성을 보장해 준다고 할 수 있다.

Listeria spp.는 non-treatment에 비하여 water washing은 0.99 log 감소하였고 실험구인 chemical treatment는 3.38 log 감소하였다.

Control은 초기 3.81 log에서 6.06 log 까지 증가 하였고 treatment는 1.42 log에서 3.56 log까지 증가 하였다. *Listeria* spp.도 aerobic bacteria와 같이 treatment는 24 h 동안 초기 균수에 비해서 거의 변화가 없어 chemical treatment가 *Listeria* spp.의 생육을 저해한다. 특히 저장기간 전체를 살펴 볼 때 저장 7일 동안 control은 2.25 log cycle이 증가 하였으며 treatment는 2.14 log cycle이 증가 하였고 또한 저장 7일 후 treatment의 최종 균수가 3.56 log cycle로 control의 초기 균수인 3.81 log cycle를 넘지 않음으로써 chemical treatment가 병원성 미생물인 *Listeria* spp.의 생육을 저해하여 저장 기간동안 샐러드의 미생물학적 안전성을 보장 할 수 있다고 판단된다.

지금까지의 실험 결과로 판단할 때 water washing은 저장 24 h 동안 초기 균수에서 많은 증가폭을 보이지만 chemical treatment는 소폭의 증가를 보이면서 화학적 처리가 샐러드의 미생물 사멸뿐만 아니라 저장초기 미생물의 생육 또한 저해하는 것으로 나타났다. 덧붙여 chemical treatment의 생육 미생물수가 저장 중 water washing의 초기 균수만큼 증가하는데 2~3일내지 그 이상 걸리는 것으로 관찰되어서 본 연구에서 사용된 화학적 처리 방법은 MPR 샐러드의 미생물학적 안전성을 보장할 수 있다고 생각된다.

Table. 67 . Effect of chemical treatment on the microorganism of MPR salad.

Media	Treatment	Population (log_{10} CFU/ml)	Reduction in population
PCA (Total aerobic bacteria)	Non-treatment	6.96 ± 0.05	
	Water washing	5.98 ± 0.11	0.98 ± 0.11
	Chemical treatment	3.21 ± 0.01	3.75 ± 0.01
PDA (Yeast and Mold)	Non-treatment	5.67 ± 0.05	
	Water washing	4.19 ± 0.02	1.47 ± 0.02
	Chemical treatment	2.2 ± 0.14	3.47 ± 0.14
EC (*Escherichia coli*)	Non-treatment	5.52 ± 0.12	
	Water washing	4.59 ± 0.13	0.93 ± 0.13
	Chemical treatment	2.11 ± 0.03	3.41 ± 0.03
Listeria selective agar (*Listeria* spp.)	Non-treatment	4.8 ± 0.01	
	Water washing	3.81 ± 0.13	0.99 ± 0.13
	Chemical treatment	1.42 ± 0.19	3.38 ± 0.19

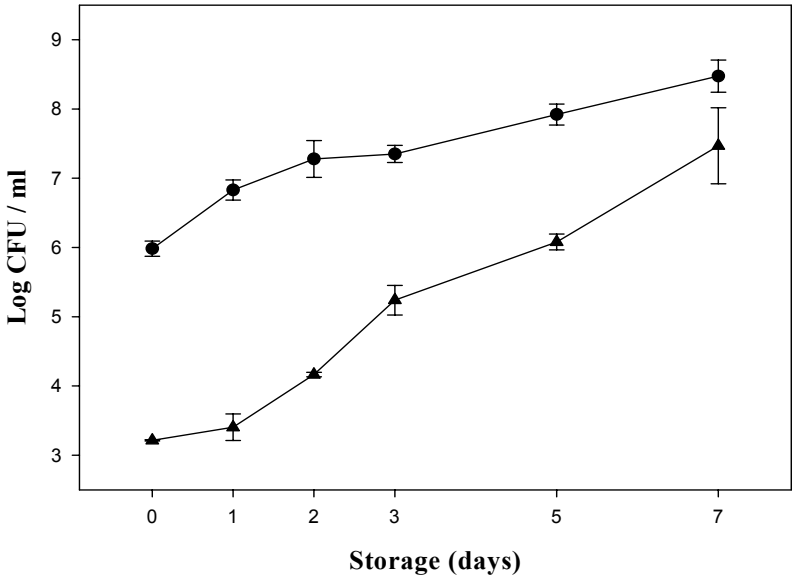


Fig. 43. Effect of chemical treatment on the total aerobic bacteria of MPR salad.
● : Water washing, ▲ : Chemical treatment

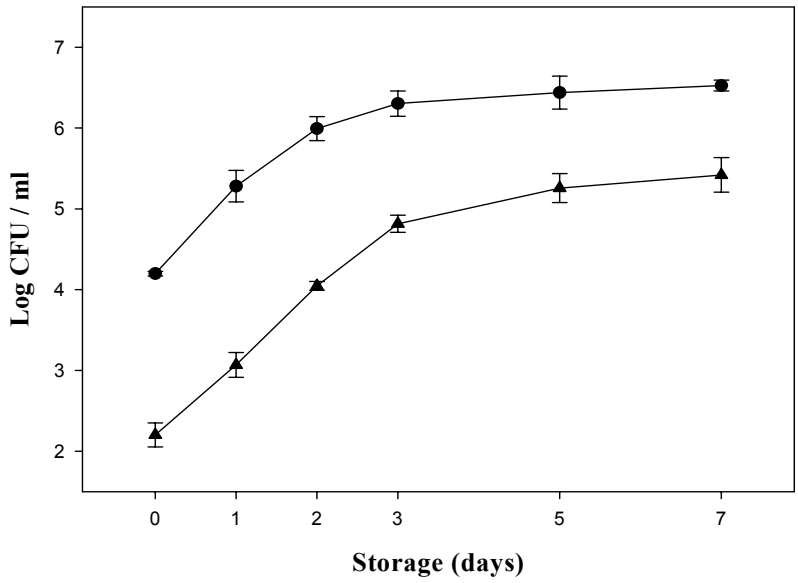


Fig. 44. Effect of chemical treatment on the yeast and mold of MPR salad.
● : Water washing, ▲ : Chemical treatment

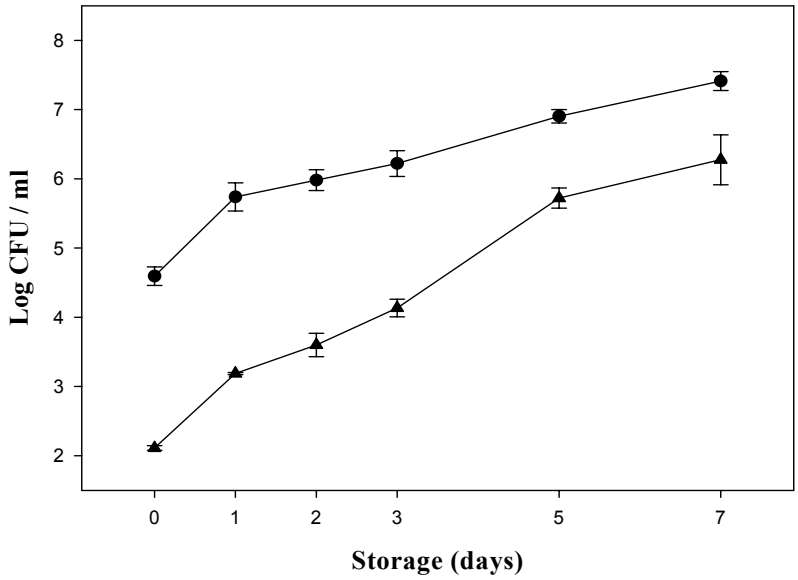


Fig. 45. Effect of chemical treatment on the *Escherichia coli* of MPR salad.
● : Water washing, ▲ : Chemical treatment

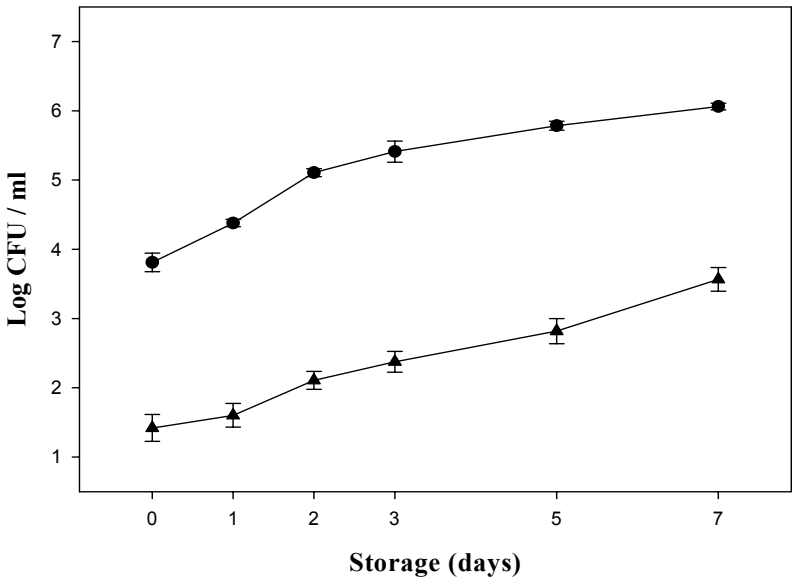


Fig. 46. Effect of chemical treatment on the *Listeria* spp. of MPR salad.
● : Water washing, ▲ : Chemical treatment

2) 저장 중 물성 변화 측정

저장 중 중량 감모율 측정은 초기 중량에 대한 저장 후 중량을 백분율로 계산하여 나타내었다. 수분함량의 측정은 채소 무게가 항량이 될 때 까지 건조하여 감량된 양을 수분 양으로 하고 백분율로 나타내었으며 산가는 채소 crude extract를 0.1N NaOH을 이용하여 pH 8.1까지 적정한 후 소모된 NaOH양을 이용하여 다음 계산식에 의해 계산하였다.

$$Acid\ \ value = \left(\frac{A \times\ 0.019214}{B}\right) \times 100$$

Unit of acid value : mg% citric acid

A : 소모된 NaOH의 양

B : sample crude extract의 양

채소의 저장 중 pH변화는 crude extract를 pH meter (Model No. *pH Meter* 240, Corning Inc., Corning, NY, USA)로 측정하였다. 저장 중 샐러드의 호흡에 의한 내부물질의 변화를 관찰하기 위하여 가용성 고형분 함량을 측정하였으며 가용성 고형분 함량은 Hand Refractometer (N1 type, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하고 Brix %로 나타내었다.

이화학적 변화를 관찰한 결과 중량 감모율 및 수분함량은 실험구 사이에 유의차가 없이 거의 비슷한 값을 보이며 감소하였으며 특히 저장 초기 24h 동안 큰 폭으로 감소하였다. 중량 감모율의 경우 저장 24 h 동안 변화의 폭이 같았으며 이후 변화에서는 control이 treatment에 비하여 더 많은 중량이 감소하였다. 수분함량의 경우도 저장기간 동안 동일한 비율로 수분이 감소하여 거의 비슷한 수분 함량을 보였다. Chemical treatment 직후 20% 높은 산가를 보였는데 이것은 chemical treatment의 최종 단계가 citric acid treatment이기 때문인 것으로 생각된다. 다소 높은 산가가 측정되긴 했지만 관능평가 결과 신맛을 느낄 정도는 아니며 샐러드 제품성에 문제는 없는 것으로 판단된다. pH의 경우도 chemical treatment 경우 낮은 pH를 보였는데 이것도 최종 처리인 citric acid treatment이기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 저장 초기 높은 산가 및 낮은 pH는 처리 후 샐러드에 남아있는 미생물의 저장 중 생육저해에 작용했으리라 생각된다. 가용성 고형분 함량은 treatment구에서 저장초기 약간 증가하나 이후 지속적으로 감소하는 경향을 보였다.

Chemical treatment는 샐러드의 품질에 가장 영향을 주는 수분함량 및 보수성에 거의 영향이 없는 것으로 관찰되었다. 하지만 산가 및 pH에는 많은 영향이 있었고 이것은 chemical treatment의 최종 처리가 citric acid를

이용하였기 때문으로 판단된다. 하지만 이러한 산가의 증가는 맛에는 영향을 미치지 않았으며 화학적 처리 후 남아 있는 미생물의 생육을 저해하는데 효과가 있었다.

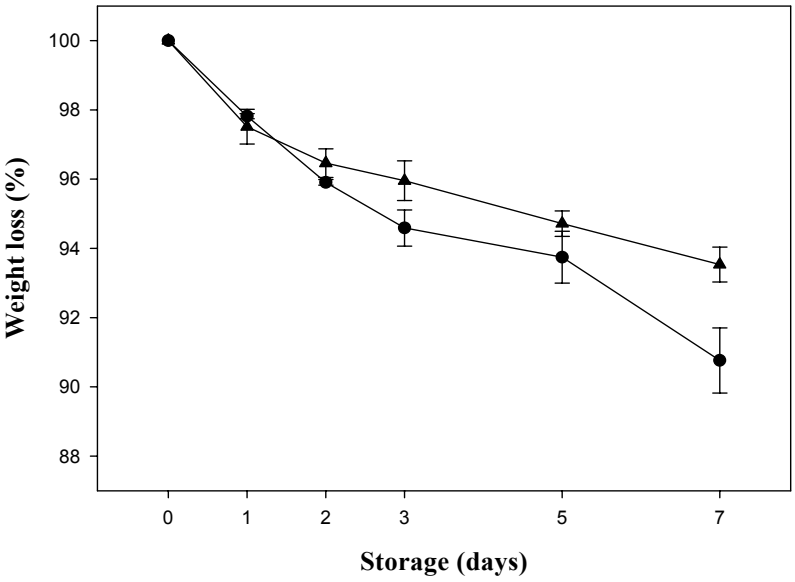


Fig. 47. Effect of chemical treatment on the weight loss of MPR salad.
● : Water washing, ▲ : Chemical treatment

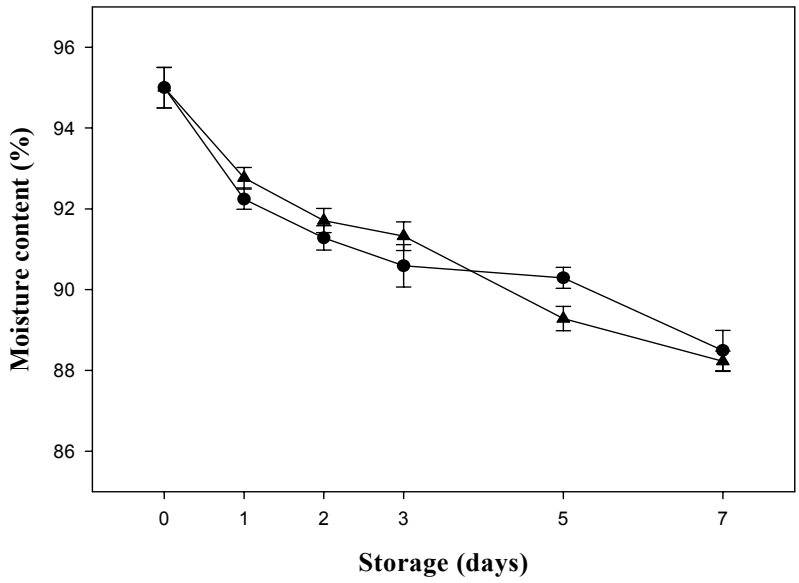


Fig. 48. Effect of chemical treatment on the moisture content of MPR salad.
● : Water washing, ▲ : Chemical treatment

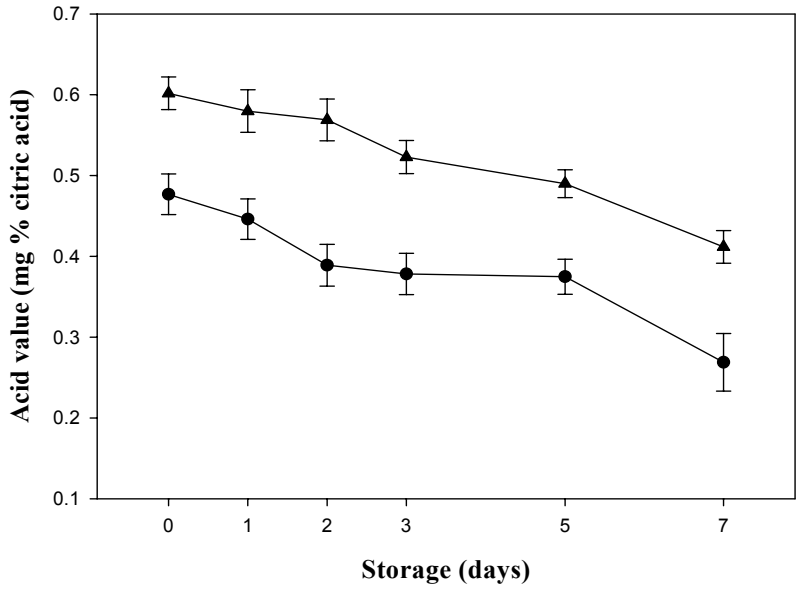


Fig. 49. Effect of chemical treatment on the acid value of MPR salad.
● : Water washing, ▲ : Chemical treatment

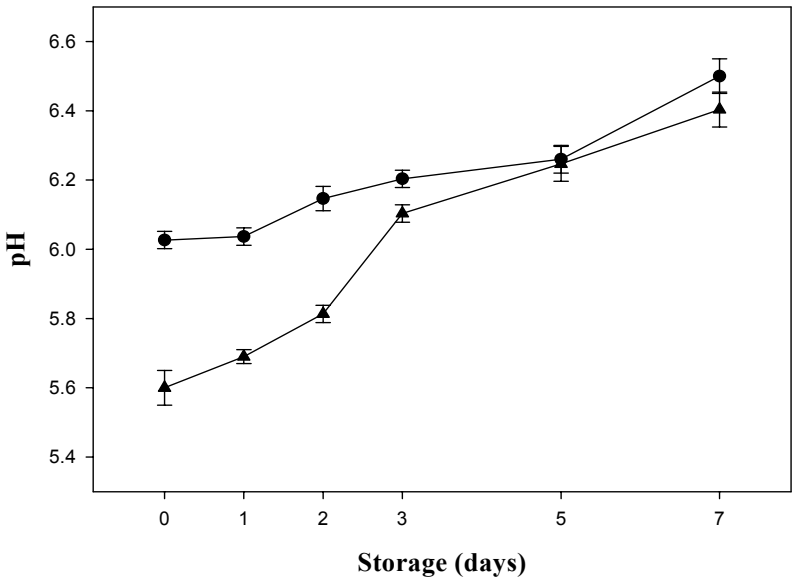


Fig. 50. Effect of chemical treatment on the pH of MPR salad.

● : Water washing, ▲ : Chemical treatment

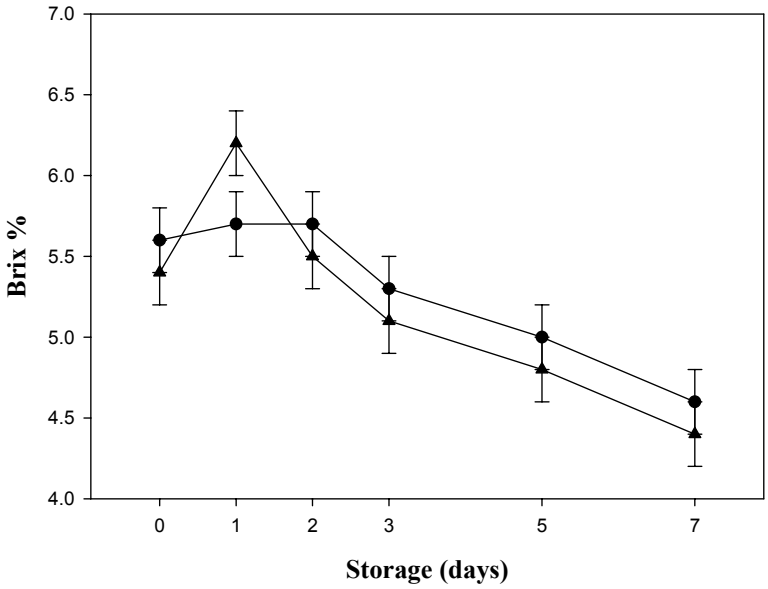


Fig. 51. Effect of chemical treatment on the total solid content of MPR salad.

● : Water washing, ▲ : Chemical treatment

3) 저장 중 관능평가에 의한 신선도 평가

Chemical treatment가 MPR salad의 품질에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 선정된 기준에 의거한 5단계 평점으로 관능검사를 실시하였다. 관능검사는 선발된 panel 요원 10명에 의해 조사된 시료의 신선도, 시듦, 조직감(씹힘성), 부패 정도 및 종합적 기호도에 대해 실시하였다. 각 처리된 시료에 대한 관능검사는 처리되지 않은 시료를 대조구로 하여 비교 분석하였다.

Chemical treatment가 MPR salad의 관능적 품질에 미치는 영향에 대해 관능검사를 실시한 결과, 처리된 시료와 대조구 사이에 있어서 신선도, 시듦, 조직감(씹힘성), 부패 정도 및 종합적 기호도면에서 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다(Table. 68).

Table. 68. Sensory evaluation of chemical treated MPR salad.

Organoleptic parameter	Treatment type	Storage Period (day)				
		1	2	3	5	7
Freshness	control	4.63±0.52[a]	4.13±0.64 [a]	3.50±0.53 [a]	2.75±0.71 [a]	1.88±0.64 [a]
	treatment	4.63±0.52[a]	4.13±0.83 [a]	3.88±0.64 [a]	3.00±0.53 [a]	2.50±0.76 [a]
Wilting	control	4.13±0.35 [a]	4.13±0.64 [a]	3.38±0.52 [a]	2.75±0.71 [ab]	1.75±0.89 [ab]
	treatment	4.63±0.52 [a]	4.00±0.93 [a]	3.75±0.71 [a]	3.13±0.64 [a]	2.38±0.92 [a]
Texture	control	4.63±0.52 [a]	4.13±0.83 [a]	3.63±0.74 [a]	2.75±0.71 [a]	1.75±0.89 [a]
	treatment	4.75±0.46 [a]	4.00±1.07 [a]	3.88±0.83 [a]	3.00±0.53 [a]	2.50±1.31 [a]
Decay	control	4.63±0.52 [a]	3.88±0.83 [a]	3.63±0.52 [a]	2.75±0.71 [a]	2.00±0.76 [a]
	treatment	4.88±0.35 [a]	4.00±0.93 [a]	3.88±0.83 [a]	3.13±0.64 [a]	2.63±1.06 [a]
Total	control	4.50±0.53 [a]	3.88±0.64 [a]	3.50±0.53 [a]	2.75±0.71 [a]	1.75±0.89 [a]
	treatment	4.63±0.52 [a]	4.00±0.93 [a]	3.88±0.83 [a]	3.00±0.53 [a]	2.38±0.92 [a]

7. 샐러드 처리 시 처리제의 농도 유지 기술 및 처리 지침 설정

대량의 샐러드 처리 시 가장 중요한 것은 생산이 이루어지는 동안 이산화염소 용액의 농도를 일정하게 유지하는 것이라 할 수 있다. 첫 단계에서 이루어지는 세제 세척은 샐러드의 불순물을 제거하는 것이 주목적인 단계로 농도에 큰 영향이 없지만 실질적 살균이 이루어지는 이산화염소 처리 단계는 농도의 유지가 매우 중요하다. 이것을 위하여 본 연구진은 컨베어벨트 등을 이용하여 샐러드가 각 처리 용액을 연속적으로 시간에 맞추어 이동하는 연속 생산방식을 권장한다. 일정한 농도의 이산화염소 용액이 지속적으로 공급되고 또한 배수구를 통하여 계속 폐수 처리시설로 배출되기 때문에 처리 탱크안의 농도는 항상 일정하게 유지되며 이 처리 탱크를 샐러드는 켄베어벨트 등의 이동수단을 이용하여 일정 시간동안 통과하게 되는 것이다. 이런 연속 생산방식은 각 처리 탱크에서 건져내어 다음 처리 탱크로 이동하지 않기 때문에 조직의 손상도 줄일 수 있을 뿐만 아니라 이산화염소 용액을 생산하여 공정에 공급하는 기기 또한 일정농도의 이산화염소 용액을 지속적으로 생산할 수 있는 장치로 샐러드의 연속 생산방식에 적합한 기기이다.

이런 연속 생산방식의 장점은 이산화염소 용액의 농도를 일정하게 유지시킬 수 있는 것 외에도 생산량의 양에 따라서 만들어야할 이산화염소 용액의 양을 조절할 필요 없이 지속적으로 샐러드 제품의 생산이 가능하다는 것이다.

8. 최종 제품의 유통 기간 설정

관능평가 및 제품의 물성 측정결과 최종 제품의 가식 기간은 3일 정도로 판단되며 상품성은 2일 까지 유지가 되는 것으로 판단된다. 하지만 신선하고 최상의 품질을 유지할 수 있는 기간은 당일생산 당일판매, 즉 1일이내 판매를 완료하는 것이 좋다고 판단된다.

제 3 절 협동연구기관 : 농업과학기술원 농촌자원개발연구소

연구책임자 전혜경 : MPR 신선채소의 품질 유지를 위한 영양소 분석 및 관능평가를 통한 유통기한 설정

1. 실험재료

본 연구에서는 비트, 신선초, 적상추, 민들레, 청코스, 롤로로사, 로메인, 꽃케일, 적꽃케일, 적양배추, 적겨자, 토스카노, 레디쉬, 셀러리, 양파, 적치커리, 양상추, 당근, 체리토마토, 적코스, 피망, 비타민 등 22종 채소를 충남 공주시 소재 반디농장에서 직접 채취하거나 채소의 신선상태를 고려하여 시중에서 직접 구입하여 사용하였다. 영양성분 분석용 시료는 샐러드용 채소의 경우에는 재료를 구입한 즉시 협잡물을 제거하고 잘게 다졌고, 샐러드의 경우에는 재료를 구입한 후 4℃ 냉장고에 보관하고 24시간 이내에 샐러드를 제조하여 즉시 잘게 다진 후 용기에 넣어 -70℃에 저장하면서 이용하였다. 샐러드드레싱(스피루리나, 된장) 2종은 제1세부과제에서 제공받았으며, 기타 분석용 시약은 특급 이상의 시약을 구입하여 사용하였다.

Table 69. 샐러드 제조를 위한 기능별 채소 배합비

채 소 명	항산화샐러드(g)	항암샐러드(g)	항동맥경화샐러드(g)	일반샐러드(g)
비 트	20	20	20	-
신 선 초	20	20	20	-
적 상 추	20	20	20	-
민 들 레	20	10	20	-
청 코 스	20	10	20	-
롤 로 로 사	20	-	-	-
로 메 인	20	-	-	40
꽃 케 일	10	-	-	-
적 꽃 케 일	10	-	-	-
적 양 배 추	-	40	-	-
적 겨 자	-	10	-	10
토 스 카 노	-	10	-	-
레 디 쉬	-	20	-	-
셀 러 리	-	-	20	-
양 파	-	-	20	-
적 치 커 리	-	-	20	5
양 상 추	-	-	-	50
당 근	-	-	-	10
체리토마토	-	-	-	20
적 코 스	-	-	-	5
피 망	-	-	-	10
비 타 민	-	-	-	10
합 계	160	160	160	160

2. 샐러드용 기능성 채소의 영양학적 특성 분석

가. 일반성분

수분함량은 105℃의 건조기에서 수분 손실량을 계산하여 측정하였고, 조단백질은 micro -Kjeldahl법으로 정량하여 얻어진 질소량에 단백질 환산계수를 곱하여 산출하였으며, 조지방은 Soxhlelt 추출법, 회분은 550℃ 직접회화법, 섬유소(조섬유)는 Henneberg-stohmann법을 개량한 방법으로 측정하였으며, 당질은 시료 100g 중에서 수분, 단백질, 지질, 조섬유, 회분 함량을 감한 값으로 하였고, 에너지는 가식부위 100 g당 분석된 단백질, 당질, 지방의 g수에, FAO/WHO 에너지 환산계수를 적용하여 산출하였다.

기능별 채소 샐러드를 개발하기위하여 선정된 22종의 샐러드용 채소 중 일반성분 등이 기 보고되었거나 일반 샐러드에 많이 사용되고 있는 양파, 양상추, 당근, 체리토마토, 피망 적양배추, 레디쉬 등 7종을 제외하고 비트, 민들레, 청상추 등 15종의 기능성 채소의 일반성분을 분석한 결과는 Table 70과 같다.

기능성 샐러드용 채소 15종의 수분함량은 88~92% 수준이었고, 가식부 100 g당 단백질 1~4 g, 지방 0.1~1.1 g, 섬유소 0.6~1.8 g, 회분 1~2 g을 함유한 것으로 분석되었다. 단백질 함량은 토스카노가 100 g당 4.7 g 으로 분석된 채소 중 가장 많았고, 신선초(4.4 g/100g), 꽃케일(3.3 g/100g), 적꽃케일(3.1 g/100g) 등이 다른 채소에 비하여 상대적으로 단백질 함량이 많았으며, 롤로로사가 100 g당 1.1 g의 단백질을 함유하여 가장 낮은 단백질 함량을 나타냈다. 지방함량은 신선초가 100g당 1.1 g으로 가장 높았고 민들레, 토스카노, 적치커리, 적코스 등도 0.5~0.6 g/100g 수준으로 지방함량이 많았으며. 적겨자가 100 g당 0.1 g 으로 분석된 채소 중 가장 적었다.

섬유소함량은 신선초가 1.8 g/100 g으로 가장 많았고. 그 다음으로 적치커리, 민들레, 적꽃케일, 토스카노 순으로 많았으나, 적상추, 적코스, 꽃케일은 100 g당 1g 이하의 함량을 나타내서 섬유소 함량이 적었다. 회분함량에서도 유사한 경향을 보여서 신선초, 민들레. 토스카노 등이 많았고, 적꽃케일, 적코스 등이 적은 것으로 나타났다.

Table 70. 샐러드용 기능성 채소의 일반성분 조성 (가식부 100g)

채 소 명	에너지 (kcal)	수 분 (%)	단백질 (g)	지 질 (g)	당질 (g)	섬유소 (g)	회 분 (g)
비 트	20	92.1	2.4	0.4	2.9	0.8	1.4
신 선 초	57	80.3	4.4	1.1	10.4	1.8	2.0
적 상 추	18	92.4	1.8	0.3	3.1	1.0	1.4
민 들 레	30	88.2	2.2	0.5	5.7	1.6	1.8
청 코 스	21	92.3	1.8	0.4	3.6	0.6	1.3
롤 로 로 사	18	92.9	1.1	0.2	3.9	0.6	1.3
로 메 인	26	90.6	1.8	0.2	5.7	0.7	1.0
꽃 케 일	29	88.5	3.3	0.2	5.4	1.1	1.5
적 꽃 케 일	26	89.7	3.1	0.3	4.4	1.4	1.1
적 겨 자	17	92.6	2.2	0.1	2.9	0.9	1.3
토 스 카 노	35	86.4	4.7	0.6	5.3	1.4	1.6
셀 러 리	22	91.1	1.8	0.2	4.6	0.9	1.4
적 치 커 리	21	91.3	2.3	0.6	2.9	1.7	1.2
적 코 스	27	90.5	1.9	0.6	4.9	1.0	1.1
비 타 민	12	94.5	2.1	0.2	1.4	0.6	1.2

기능성 채소 15종 중 총열량은 신선초(57 kcal/100 g)가 가장 높았고, 비타민(12 kcal/100 g)의 경우가 가장 낮았는데, 분석된 채소의 총열량은 대부분 가식부 100 g당 20~30 kcal 내외를 나타내서 저 칼로리 및 다이어트용 식품소재로 활용성이 높을 것으로 기대되었다.

나. 무기질성분

무기질 성분은 Ca, P, Fe, NA, K, Mg, Zn의 함량을 분석하였는데, 시료를 microwave 시료전처리기(Mile-stone, MLS1200, USA)로 습식·분해한 후 원자흡광도계(Hitachi Z6100, Japan)을 이용하여 분석하였다. P은 ammonium vanadate 발색법에 따라 분광광도계(Simazu, Japan)를 가지고 470 nm에서 측정하였다.

비트, 민들레, 청상추 등 15종의 기능성 채소의 무기질 성분을 분석한 결과는 Table 71과 같다. 채소의 무기질 함량은 100 g당 칼륨 84~292 mg, 인 33~77 mg, 철 0.5~8.7 mg, 나트륨 31~197 mg, 칼륨은 195~752 mg, 마그네슘 25~113 mg, 아연 0.4~1.2 mg 의 수준이었으며. 주요 성분은 칼슘, 칼륨, 나트륨 및 마그네슘으로 나타났다.

무기질 성분은 채소의 종류에 따라 많은 차이를 보였는데, 칼슘함량은 꽃케일이 가장 많았고, 그 다음 신선초, 토스카노, 적코스 등이 많았다. 나트륨 함량은 비트가 가장 많았고, 롤로로사, 로메인, 토스카노, 셀러리 순이었다. 칼륨함량은 신선초, 민들레, 적겨자, 비타민의 순으로 많았고, 마그네슘은 비트, 꽃케일에서 많았는데, 마그네

슘의 경우 비트(113 mg/100g), 꽃케일(64 mg/100g), 비타민(25 mg/100g)을 제외하고 대부분의 채소에서 100 g당 40 mg 내외의 유사한 수준을 보였다. 인 함량은 청코스, 적코스, 꽃케일, 신선초의 순으로 많았고, 철분함량은 로메인과 민들레에서 많았으며, 아연의 경우에는 대부분의 채소에서 유사한 수준으로 나타났다.

Table 71. 샐러드용 기능성 채소의 무기질 함량 (가식부 100g)

식 품 명	칼슘 (mg)	인 (mg)	철 (mg)	나트륨 (mg)	칼륨 (mg)	마그네슘 (mg)	아연 (mg)
비 트	100	39	3.0	197	327	113	0.4
신 선 초	235	62	3.2	87	752	34	0.5
적 상 추	94	34	1.7	34	345	32	0.9
민 들 레	87	41	4.4	31	539	37	0.6
청 코 스	178	77	0.5	102	231	48	1.2
롤 로 로 사	118	52	2.7	161	207	44	1.2
로 메 인	84	33	8.7	161	222	36	1.1
꽃 케 일	292	66	3.3	103	195	64	0.9
적 꽃 케 일	89	35	3.5	65	232	42	1.0
적 겨 자	112	59	1.4	37	538	42	1.1
토 스 카 노	254	46	0.4	189	263	48	1.1
셀 러 리	177	53	1.4	150	298	41	1.1
적 치 커 리	90	47	1.3	57	488	45	0.9
적 코 스	200	73	2.0	47	477	43	1.0
비 타 민	91	51	2.7	17	559	25	0.7

다. 비타민 성분

비타민 함량 중 vitamin A는 비색법, vitamin B_1(티아민)은 thiochrom 형광법, vitamin B_2(리보플라빈)는 lumiflavin 형광법, vitamin C(아스코르빈산)는 2,4-DNP법, niacin은 Konig 반응에 의한 비색법으로 측정하였다.

비트, 민들레, 청상추 등 15종의 기능성 채소의 비타민 성분을 분석한 결과는 Table 72와 같다. 채소 가식부 100 g당 비타민 함량은 베타카로틴 415~2647 ug, 티아민 0.08~0.24 mg, 리보플라빈 0.09~0.46 mg, 나이아신 0.4~1.0 mg, 아스코르빈산 13~118 mg의 수준이었다.

비타민 성분은 채소의 종류에 따라 다양한 값을 보였는데, 베타카로틴 함량은 신선초, 토스카노가 각각 100 g당 2721 ug, 2647 ug으로 가장 높았고, 민들레, 꽃케일,

적치커리, 적코스, 비트의 순으로 많이 함유한 것으로 나타났다. 티아민 함량은 적겨자, 로메인, 꽃케일, 토스카노가 100 g당 0.2 mg 이상 함유하여 가장 높았고, 비트가 0.08 mg/100g으로 가장 낮았으며, 다른 채소의 경우에는 100 g당 0.12~0.19 mg의 티아민을 함유한 것으로 나타났다. 기능성 채소의 리보플라빈 함량은 민들레와 신선초가 각각 100 g당 0.85 mg과 0.46 mg 으로 가장 많았고, 그 다음 토스카노, 비트, 꽃케일, 청코스, 적꽃케일의 순으로 많았다. 나이아신의 경우도 민들레가 100 g당 0.96 mg을 함유하여 가장 높았고, 기타 채소의 경우에는 0.4~0.8 mg/100g 의 수준을 보였다. 아스코르빈산은 토스카노가 100g 당 118 mg을 함유하여 가장 높았고, 꽃케일과 적꽃케일의 경우도 각각 105 mg/100g과 108 mg/100g의 아스코르빈산을 함유하여 다른 채소에 비하여 높은 함량을 보였다. 비트의 경우 아스코르빈산 함량은 100 g당 13 mg으로 시험된 채소 중 가장 낮았으며, 다른 채소는 24~78 mg/100g 수준의 아스코르빈산을 함유하는 것으로 분석되었다.

Table 72. 샐러드용 기능성 채소의 비타민 함량 (가식부 100g)

식 품 명	베타카로틴 (ug)	티아민 (mg)	리보플라빈 (mg)	나이아신 (mg)	아스코르빈산 (mg)
비 트	1010	0.08	0.26	0.4	13
신 선 초	2721	0.17	0.46	0.6	71
적 상 추	617	0.19	0.13	0.5	31
민 들 레	1480	0.12	0.85	0.96	24
청 코 스	652	0.17	0.25	0.4	39
롤 로 로 사	505	0.13	0.09	0.4	26
로 메 인.	1095	0.23	0.16	0.4	45
꽃 케 일	1212	0.23	0.27	0.7	105
적 꽃 케 일	415	0.18	0.24	0.6	109
적 겨 자	556	0.24	0.12	0.4	78
토 스 카 노	2647	0.22	0.38	0.8	118
셀 러 리	648	0.16	0.18	0.8	47
적 치 커 리	1065	0.17	0.23	0.5	48
적 코 스	1045	0.16	0.13	0.6	45
비 타 민	405	0.12	0.20	0.5	20

3. 기능별 채소 샐러드의 영양학적 특성

가. 일반성분

기능별 샐러드 3종과 일반샐러드 등 4종 샐러드의 일반성분을 분석한 결과는 Table 73과 같다. 제조된 샐러드 4종의 수분 함량은 90~93% 이었고, 샐러드 100g 당 단백질 함량은 1~2 g, 지방은 0.1 g 내외, 섬유소는 0.7~1.0 g, 회분은 0.7~1 g 내외를 함유한 것으로 나타났다. 항산화, 항암, 항동맥경화 등 기능성 샐러드는 샐러드 제조 시 통상적으로 많이 적용되는 채소로 구성된 일반샐러드(대조구)에 비하여 단백질, 탄수화물, 섬유소 및 회분함량이 상대적으로 높은 반면 수분함량이 낮게 나타났는데, 샐러드를 구성하는 채소의 종류와 각각의 조성비의 차이에서 유래한 것으로 생각된다. 총열량은 샐러드 100 g당 16~24 kcal 수준으로 매우 낮아서 저 칼로리 및 다이어트 등 건강식품으로 활용성이 높을 것으로 기대되며, 일관되게 일반샐러드에 비하여 기능성 샐러드 특히, 항암샐러드가 높게 나타났다.

Table 73. 기능별 채소샐러드의 일반성분 조성 (가식부 100g)

샐 러 드 명	에너지 (kcal)	수분 (%)	단백질 (g)	지질 (g)	당질 (g)	섬유소 (g)	회분 (g)
항산화샐러드	21	91.3	2.4	0.1	4.1	0.9	1.2
항 암 샐 러 드	24	90.5	2.4	0.1	4.9	1.0	1.1
항동맥경화샐러드	22	90.9	2.3	0.1	4.4	0.8	1.5
일 반 샐 러 드	16	93.9	1.1	0.1	3.5	0.7	0.7

나. 무기질 성분

샐러드 4종의 무기질 성분은 Table 74와 같이 종류에 따라 큰 차이를 나타냈으며, 전반적으로 기능성 샐러드의 경우가 대조구에 비하여 무기질 함량이 많았으며, 주요 무기성분은 칼륨, 칼슘, 나트륨 및 마그네슘 이었다. 칼슘은 샐러드 100 g당 135~235 mg, 아연은 0.3~0.7 mg, 나트륨 36~105 mg, 마그네슘 17~41 mg, 칼륨은 314~433 mg 수준이었으며, 항동맥경화 샐러드는 시험된 샐러드 4종 중 칼슘, 아연, 나트륨 및 마그네슘 함량에서 가장 많았다. 샐러드의 철 함량은 1.5~3.0 mg/100g의 범위였으며, 항암샐러드가 100 g당 3.0 mg을 함유하여 가장 높았다.

Table 74. 기능별 채소샐러드의 무기질 함량 (가식부 100g)

샐 러 드 명	칼슘 (mg)	철 (mg)	나트륨 (mg)	칼륨 (mg)	마그네슘 (mg)	아연 (mg)
항산화샐러드	166	2.7	43	390	28	0.4
항 암 샐 러 드	205	3.0	63	413	26	0.3
항동맥경화샐러드	236	1.8	106	433	41	0.7
일 반 샐 러 드	135	1.5	36	315	18	0.4

다. 비타민 C 성분

샐러드 4종의 비타민 C함량은 Fig. 52와 같이 샐러드의 종류에 따른 차이를 보였다. 항암 샐러드의 경우가 100 g당 52 mg 으로 많았고, 항산화샐러드 35 mg/100g, 항동맥경화샐러드 33 mg/100g 순으로 측정되었으며, 일반 샐러드(대조구)의 경우 100g 당 25 mg의 비타민 C를 함유하여 가장 낮은 수준이었다. 이와 같은 결과는 샐러드를 구성하는 채소의 종류와 구성비에 따른 차이로 생각되며, 기능성 샐러드는 일반 샐러드보다 다량의 비타민 C를 함유하므로 영양학적 관점에서도 우수할 뿐만 아니라 저장기간에 따른 샐러드의 품질변화에도 유효한 역할을 할 것으로 생각된다.

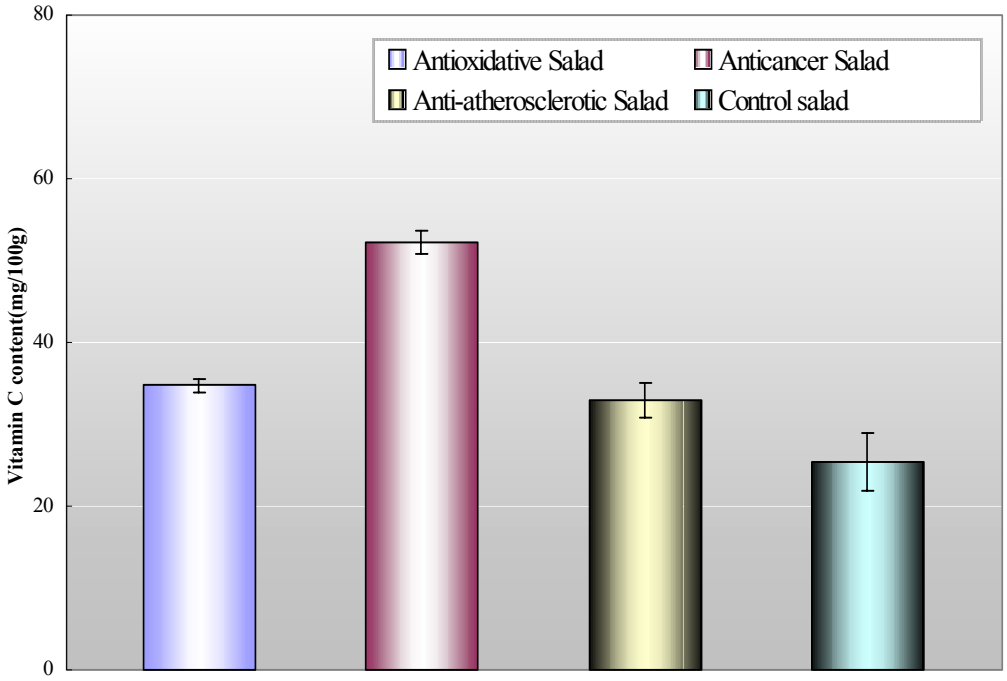


Fig. 52. 기능별 채소 샐러드의 비타민 C 함량 비교

4. 샐러드드레싱의 영양성분

가. 일반성분

제조된 샐러드용 드레싱 2종의 일반성분을 분석한 결과는 Table 75와 같다. 일반성분은 스피루리나드레싱이 된장드레싱보다 단백질, 섬유소 및 회분 함량에서 약간 높은 값을 보였으나, 전반적으로 유사한 수준이었으며, 사우전드 아일랜드, 이탈리안 및 프렌치 등 기 보고된 샐러드드레싱의 일반성분과는 단백질, 당질 및 지질 함량에서 차이를 보였다(식품성분표 2001). 단백질의 경우 사우전드 아일랜드드레싱 등이 100 g 당 1 g 내외인 반면 새로 개발된 샐러드드레싱은 단백질 함량이 5배 이상 함유되어 있으며, 당질 함량은 2배, 섬유소 함량은 약 10배 이상 많이 함유된 것으로 나타났다. 이와는 달리 지질 함량에서는 기 보고된 샐러드드레싱이 100 g 당 41~48 g의 지질을 함유한 반면 개발된 드레싱은 100 g 당 33 g 수준으로 10% 정도 낮았으며, 총 열량의 경우도 기존의 샐러드드레싱(430~480 g/100g)에 비하여 100 g당 50~100 kcal 정도 낮은 것으로 분석되었다. 결과적으로 본 연구에서 개발된 샐러드드레싱은 기존의 샐러드드레싱에 비하여 섬유소 함량이 많고, 지방 함량은 적아서 저칼로리 다이어트용 샐러드드레싱으로 적절할 것으로 생각된다.

Table 75. 샐러드용 스피루리나 및 된장드레싱의 일반성분 조성

(가식부 100g)

식 품 명	에너지 (kcal)	수분 (%)	단백질 (g)	지질 (g)	당질 (g)	섬유소 (g)	회분 (g)
스피루리나드레싱	376	35.3	5.3	32.8	19.0	5.0	2.6
된장드레싱	371	37.6	5.1	32.8	17.9	4.1	2.5

나. 무기질 성분

샐러드드레싱 2종의 무기질 성분은 Table 76과 같다. 칼슘, 철분, 나트륨 함량에서는 스피루리나드레싱이 보다 많았고, 칼륨은 된장드레싱에서 더 많이 함유되어 있었으며, 다른 무기질 성분은 비슷한 수준이었다. 새로 개발된 된장드레싱의 무기질 성분은 사우전드 아일랜드, 이탈리안 및 프렌치 등 기 보고된 샐러드드레싱의 무기질 성분과는 큰 차이를 보였는데, 칼슘 함량은 약 10배 정도 높았고, 인과 칼륨함량도 2~3배 정도 많이 함유하는 것으로 나타났다. 나트륨 함량의 경우에는 프렌치드레싱(1370 mg/100g)보다는 낮았으나, 사우전드 아일랜드드레싱(761 g/100g), 이탈리안드레싱(87 g/100g)과는 유사한 수준으로 분석되었다(식품성분표 2001). 새로 개발된 샐러드드레싱은 기존의 샐러드드레싱에 비하여 칼슘, 칼륨 등 풍부한 무기성분과 다수의 생리활성 물질을 함유한 된장을 활용한 측면에서 기능성 샐러드드레싱으로 가치가 있을 것으로 판단된다.

Table 76. 샐러드용 스피루리나 및 된장드레싱의 무기질 함량 (가식부 100g)

식 품 명	칼슘 (mg)	인 (mg)	철 (mg)	나트륨 (mg)	칼륨 (mg)	마그네슘 (mg)	아연 (mg)
스피루리나드레싱	123	69	0.5	865	130	18	0.1
된장 드레싱	116	72	0.4	679	153	21	0.1

다. 비타민 성분

샐러드드레싱 2종의 비타민 함량을 분석한 결과는 Table 77과 같다. 두 가지 샐러드드레싱의 비타민 함량은 비슷한 수준을 나타냈으며, 100 g당 베타카로틴 함량은 200 ug 수준이었고, 티아민과 리보플라빈은 0.13~0.18 mg, 나이아신의 경우는 100 g당 0.4 mg이었으며, 아스코르빈산은 검출되지 않았다. 이러한 결과는 사우전드 아일랜드드레싱에 비하여 베타카로틴 함량은 2배 수준이며, 티아민과 리보플라빈 및 나이아신은 각각 2~6배 정도 많이 함유하는 결과로 기존의 샐러드드레싱보다 다량의 비타민을 함유하는 것을 나타낸다(식품성분표, 2001). 결과적으로 새로 개발된 샐러드드레싱은 기존의 샐러드드레싱 보다 다량의 비타민을 함유하여 영양학적으로 보다 우수하며, 기존의 샐러드드레싱에 비하여 건강유지에 보다 효과적으로 기여할 것으로 생각된다.

Table 77. 샐러드용 스피루리나 및 된장드레싱의 비타민 함량 (가식부 100g)

식 품 명	베타카로틴 (ug)	티아민 (mg)	리보플라빈 (mg)	나이아신 (mg)	아스코르빈산 (mg)
스피루리나 드레싱	206	0.14	0.13	0.4	0
된장 드레싱	205	0.18	0.13	0.4	0

5. 기능성 채소의 품질저해효소 활성에 미치는 MPR 처리의 효과

효소의 추출 및 활성

채소 및 샐러드 시료 10 g을 인산완충용액(pH 7.0) 20 mL에 넣고 30초 동안 분쇄한 후 거즈로 걸러서 crude enzyme extract를 추출하였다. Crude enzyme solution은 Bradford assay를 이용하여 total protein양을 측정하였다.

Polygalacturonase(PG)

PG(polygalacturonase)의 활성 측정은 DNS(Dinitrosalicylic acid) 비색법에 따라 1% polygalacturonic acid를 기질로 하여 효소액과 30℃에서 30분간 반응시켜 측정하고, α-D-galacturonic acid를 사용한 표준곡선에 의해 PG 활성을 계산하였다. 이 때 PG 1

unit란 pH 4.5, 30℃ 조건에서 polygalacturonic acid를 분해하여 1분 동안 환원당 D-galacturonic acid 1.0 μmol을 생성하는 효소의 양을 의미한다

Polyphenoloxidase(PPO)

PPO(polyphenoloxidase)의 활성은 50 mM potassium phosphae buffer 2.2 mL과 0.2 M catechol 0.2 mLl에 효소액 0.1 mLl를 첨가하여 실온에서 반응시켜 420 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였으며, 효소활성 1 unit는 1분간 0.001의 흡광도를 변화시키는 효소의 양을 의미한다.

PPO(polyphenoloxidase)는 채소 및 과일에서 갈변을 일으키는 효소로 저장 유통 중 색을 변화시켜 품질을 저해 시키며 PG(polygalacturonase)는 샐러드의 pectin층을 분해하여 저장 유통 중 샐러드가 물러지는 데 관여하는 효소로서 기능성 채소 샐러드의 신선도를 유지하고 저장성을 증진시키기 위해서는 이들의 효소의 활성을 어느 정도 불활성화 시키는 것이 필요하다.

저장 중 샐러드용 기능성 채소의 품질저해 효소활성을 억제하는 처리조건을 설정하기위하여 제 1 세부과제에서 선정한 재료 중 청코스와 적상추를 선정하여 PPO와 PG의 효소활성을 조사하였다. 그 결과 Table 78에서와 같이 청코스는 PG에서, 적상추는 PPO에서 상대적으로 높은 값을 보였다.

청코스와 적상추의 PPO 및 PG 활성을 기초로 하여 이들 효소들의 활성을 저해시키는 조건을 설정하기 위하여 청코스를 각각 오존(3 ppm, 10분), 이산화염소(10 ppm, 10분) 및 구연산(1%, 1분)으로 처리한 후 효소 활성 저해를 측정한 결과는 Table 79와 같다. 청코스의 PPO와 PG는 오존, 이산화 염소 및 구연산처리에 의하여 효소활성이 저해되었는데, 구연산의 처리는 청코스의 PPO 활성을 43% 저해하였고, PG 활성을 75%정도 저해하는 높은 효과를 보였다(Table 80).

Table 78. 청코스와 적상추의 품질저해 관련 효소 활성 비교 (Unit/g)

효 소	청 코 스	적 상 추
Polyphenoloxidase	15,300	42,221
Polygalacturonase	292	128

※ Specific activity : Protein 1 mg에 대한 enzyme activity

Table 79. 청코스의 PPO 및 PG 활성에 미치는 화학적 처리의 효과

구 분	Polyphenoloxidase		Polygalacturonase	
	Specific activity (unit)	Relative activity (%)	Specific activity (unit)	Relative activity (%)
무처리구	15,300	100	292	100
오 존 수	10,891	71.2	181	62.0
이산화염소	12,164	79.5	186	62.7
구 연 산	8,758	57.2	72	24.7

Table 80. 적상추의 PPO 및 PG활성에 미치는이산화염소와 구연산 병행처리의 효과

구 분	Polyphenoloxidase		Polygalacturonase	
	Specific activity (unit)	Relative activity (%)	Specific activity (unit)	Relative activity (%)
무처리구	42,221	100	128	100
화학적처리구	15,881	37.6	89	70.2

6. MPR 처리에 의한 채소 샐러드의 품질저해효소 활성억제

최소가공샐러드의 효소적 갈변을 일으켜 상품성 및 영양적 가치를 하락시키는 PPO는 화학적 처리로 인하여 활성이 저해되는 것으로 관찰되었다. 화학적 처리 결과, 샐러드의 PPO 활성은 대조구인 물 세척은 72.7%의 활성을 보인반면, 처리구는 대조구에 비하여 49.7%로 감소하였다. 한편, 저장기간에 따른 MPR 처리 채소의 PPO 활성 변화는 저장 5일까지는 증가하다가 감소하는 경향을 보였는데, 화학적 처리구가 대조구보다 변화의 폭이 적었다(Fig. 53.). IhL 등(2003)은 최소가공된 샐러드 제품의 저장 중 포장내부 ethylene 함량이 증가함에 따라 PPO의 활성도 증가한다고 보고하였는데 저장 5일 이후 PPO의 활성이 감소하는 것은 내부 ethylene 함량과 관련이 있는 것으로 판단된다. 결론적으로 화학적 처리에 의하여 대조구에 비하여 PPO의 활성은 감소하였고 PPO의 활성 저해는 저장, 유통기간 중 샐러드 절단면의 효소적 갈변을 억제함으로써 MPR 샐러드의 상품성 유지에 효과적일 것으로 판단된다.

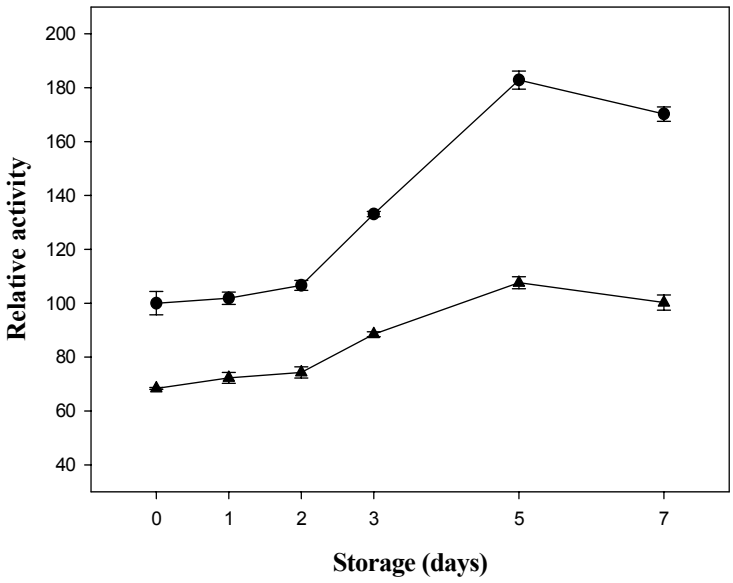


Fig. 53. 기능성 채소샐러드의 PPO 활성변화에 미치는 이산화염소와 구연산 병행처리의 효과.

● : 물처리구, ▲ : 화학적 처리구

7. 기능별 채소샐러드의 유통 기한 조사

가. 채소의 일반처리

샐러드는 비트, 신선초, 적상추, 민들레, 청코스, 롤로로사, 로메인, 꽃케일, 적꽃케일 등 22종의 채소를 품목별로 구분하여 3×3 cm로 절단하고 물로 3회 수세한 다음 수동식 원심탈수기로 탈수하였다.

나. 기능별 채소 샐러드의 제조 및 포장

탈수가 완료된 각각의 채소는 각각의 기능별로 Table 69의 배합기준에 의거하여 PP 재질의 밀폐용기에 1 pack 당 160g씩 혼합 포장하였다.

다. 기능별 채소 샐러드의 유통기한

포장된 기능별 채소 샐러드를 4℃에서 14일 동안 저장하면서 관능평가방법에 의하여 식용이 가능한 기간을 조사하였다.

8. 관 능 평 가

채소샐러드 및 품목별 개별 채소의 관능평가는 농촌자원개발연구소의 훈련된 전문 패널요원 20명을 구성하고 평가전에 시료특성 및 평가방법 등 검사방법에 대하여 충분하게 설명한 후 저장기간에 따른 샐러드 및 채소 시료의 신선도, 변색, 조위, 조직감, 부패 등을 5점 채점법으로 평가하였다.

(1) 신선도(freshness)

- 5점: 수확 직후-채소 고유의 색택을 유지하고 있으며 갈색 또는 붉은 색의 반점이 없는 상태
- 4점: 갈색 또는 붉은색의 반점이 생기기 시작한 상태-반점이 서로 뭉치지 않은 상태
- 3점: 변색이 어느 정도 진행되었으나 다듬으면 식용은 가능한 상태-반점이 서로 뭉쳐서 커진 상태
- 2점: 변색이 심하여 식용은 곤란한 상태
- 1점: 변색이 극심한 상태-변색이 50% 이상 진행된 것.

(2) 시듦 (wilting)

- 5점: 수확 직후의 신선한 상태
- 4점: 양상치 잎이 약간 시들기 시작한 상태
- 3점: 어느 정도 시들었으나 식용 가능한 상태

· 2점: 시든 정도가 심하여 양상치 고유의 조직감이 상실된 상태
· 1점: 아주 심하게 시든 상태.

(3) 조직감 (firmness, texture)
· 5점: 수확 직후의 상태-단단하고 씹을 때 아삭아삭한 상태
· 4점: 수확 직후에 비해 약간 조직감이 저하되었으나 그런대로 초기 상태와 비슷한 상태
· 3점: 조직감이 저하되어 초기 상태와는 차이가 나지만 그런대로 식용이 가능한 상태
· 2점: 물러져서 식용에 적당하지 않은 상태
· 1점: 아주 심하게 물러진 상태.

(4) 부패 (decay)
· 5점: 수확 직후의 상태-부패 흔적이 전혀 없는 상태
· 4점: 부패 흔적이 한 두군데 나타나기 시작한 상태
· 3점: 부패 흔적이 5~6군데 나타나 상품 가치를 잃기 시작한 상태로 다듬으면 식용이 가능한 상태
· 2점: 부패가 어느 정도 진행되어 점질물이 많으며 식용은 곤란한 상태
· 1점: 부패가 극심한 상태-부패가 50% 이상 진행되어 전체적으로 부패한 상태.

(5) 종합적 평가 (overall acceptability)
· 5점: 수확 직후의 신선한 상태
· 4점: 위의 1~4항목 중 품질저하 요인이 1~2개 이상 나타나기 시작한 상태
· 3점: 신선도는 조금 떨어지나 식용은 가능한 상태
· 2점: 신선도가 많이 저하되어 식용이 불가능하고 상품성도 없음
· 1점: 신선도가 매우 저하되어 폐기 직전의 상태

9. 통 계 처 리

통계처리는 SAS 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan's multiplem test법을 이용하여 각 평균값에 대한 유의차를 조사하였다. 유의수준은 5% 이내로 하였으며, 각 실험치의 평균값과 표준오차(Standard errors of the mean)로 나타내었다.

기능별 채소 샐러드 3종과 일반샐러드의 저장성을 평가하고 적정 가식기간을 조사하기 위하여 제조된 샐러드 4종을 PP재질의 밀폐용기에 넣고 4℃에 14일간 저장하면서 저장기간에 따른 신선도, 시듦, 조직감, 부패도 및 종합적 기호도를 5점 채점법으로 평가한 결과 항산화, 항암 및 항동맥경화 샐러드의 경우가 일반샐러드 (대조구)보다 가식기간이 좀더 연장된 것으로 나타났다(Table 81).

샐러드의 저장기간에 따른 신선도, 시듦, 조직감, 부패도 및 종합적 기호도에 대한 평균점수는 저장 2일까지는 대체적으로 초기상태를 유지하는 것으로 나타났으며, 이후에는 저장기간이 경과함에 따라 관능적 특성이 낮아지는 경향을 보였다. 특히, 저장 2일, 저장 4~8일 및 저장 10일 이후 등 크게 세 가지 구간으로 구분할 때 샐러드의 관능적 특성은 5%수준에서 유의적인 차이를 보였으며, 동일한 구간 내에서의 통계적인 유의성은 없는 것으로 조사되었다($p < 0.05$).

항산화 샐러드(A)의 경우 저장기간에 따른 관능적 특성은 저장 2일까지는 채소 초기상태의 신선도를 보였으며, 저장 4일 이후에는 관능적 특성이 점차 낮아져서 10일 이후부터는 신선도, 조직감, 부패도 및 종합적인 기호도가 유의적으로 낮아져서 식용이 불가능하고, 상품성도 없는 것으로 나타났다. 따라서, 항산화샐러드는 4℃에 저장할 경우 가식기간이 관능적으로 최대 8일까지 가능한 것으로 조사되었다.

항암샐러드(B)에서는 신선도, 시듦, 조직감, 부패도 및 종합적 기호도 등 모든 평가항목에서 저장 2일까지 유의적으로 높았고, 저장 12일 이후에는 식용이 불가능하고 상품성이 없는 것으로 조사되었는데, 저장 2~10일 사이에는 저장기간의 경과함에 따라 신선도, 시듦, 조직감 및 종합적 기호도 등 관능적 특성이 점차 낮아졌으나 이 기간 내에서의 통계적 유의성은 나타나지 않았다. 따라서, 항암샐러드의 최대 가식기간은 4℃ 저장의 경우 최대 10일로 판단된다. 특히, 항암샐러드는 비타민 C함량이 상대적으로 높은 함량을 나타내서 이들이 가식기간의 연장에 다소간 영향을 미친 것으로 생각된다.

항동맥경화 샐러드(C)의 경우도 신선도, 시듦, 조직감, 부패, 종합적 평가의 모든 항목에서 저장 1일, 2일에 유의적으로 높았으며($p < 0.05$), 조직감과 부패도는 4일부터 다소 저하되었으나 신선도, 시듦, 종합적 평가 항목이 저장 8일 까지는 비교적 높은 수준을 유지해서 저장 8일까지는 식용 가능한 것으로 판단된다.

대조구로서 샐러드 제조 시 통상적으로 적용빈도가 높은 채소로 구성된 일반 샐러드(D)는 신선도, 시듦, 조직감, 부패, 종합적 평가의 모든 항목에 대한 평가가 저장기간이 경과할수록 뚜렷하게 낮아졌으며, 저장 4일 이후에는 식용으로 적합하지 않은 것으로 나타났다.

Table 81. 관능평가에 의한 기능성 채소 샐러드의 저장성 변화(4℃ 저장)

(A) 항산화샐러드

항 목 \ 저장기간 (일)	1	2	4	6	8	10	12	14
신선도	4.62^{a}	4.65^{a}	3.59^{b}	3.63^{b}	3.53^{b}	2.39^{c}	2.60^{c}	2.20^{c}
시 듦	4.43^{a}	4.40^{a}	3.41^{b}	3.63^{b}	3.47^{b}	2.39^{c}	2.60^{c}	2.07^{c}
조직감	4.33^{a}	4.35^{a}	3.59^{b}	3.58^{b}	3.47^{b}	2.72^{c}	2.53^{c}	2.20^{c}
부 패	4.86^{a}	4.70^{a}	3.82^{b}	3.68^{b}	3.76^{b}	2.50^{c}	2.67^{c}	2.27^{c}
종합적 평가	4.62^{a}	4.40^{a}	3.59^{b}	3.53^{b}	3.53^{b}	2.39^{c}	2.53^{c}	2.13^{c}

* 같은 가로줄에서는 서로 다른 문자 사이에 유의적인 차이 있음($p < 0.05$).

(B) 항암샐러드

항 목 \ 저장기간 (일)	1	2	4	6	8	10	12	14
신선도	4.67^{a}	4.65^{a}	4.00^{b}	4.26^{ab}	4.00^{b}	3.83^{b}	2.60^{c}	2.47^{c}
시 듦	4.43^{ab}	4.50^{a}	4.06^{abc}	4.16^{abc}	3.88^{bc}	3.72^{c}	2.67^{d}	2.13^{d}
조직감	4.38^{ab}	4.75^{a}	4.06^{bc}	4.00^{bc}	3.65^{c}	3.67^{c}	2.73^{d}	2.40^{d}
부 패	4.81^{a}	4.75^{a}	4.12^{b}	4.32^{ab}	4.06^{b}	3.89^{b}	2.60^{c}	2.47^{c}
종합적 평가	4.52^{ab}	4.65^{a}	3.94^{bc}	4.16^{abc}	3.76^{c}	3.67^{c}	2.47^{d}	2.40^{d}

* 같은 가로줄에서는 서로 다른 문자 사이에 유의적인 차이 있음($p < 0.05$).

(C) 항동맥경화샐러드

항 목 \ 저장기간 (일)	1	2	4	6	8	10	12	14
신선도	4.67^{a}	4.45^{ab}	3.82^{bc}	3.95^{bc}	4.18^{ab}	3.33^{c}	2.27^{d}	2.20^{d}
시 듦	4.48^{a}	4.40^{a}	3.71^{bc}	3.74^{bc}	3.94^{ab}	3.17^{c}	2.20^{d}	1.80^{d}
조직감	4.57^{a}	4.35^{ab}	3.71^{cd}	3.74^{cd}	3.94^{ab}	3.33^{d}	2.27^{e}	2.07^{e}
부 패	4.81^{a}	4.55^{ab}	3.94^{c}	3.95^{c}	4.06^{bc}	3.50^{d}	2.33^{de}	1.87^{e}
종합적 평가	4.71^{a}	4.45^{a}	3.82^{bc}	3.63^{bc}	3.88^{b}	3.28^{c}	2.27^{d}	1.87^{d}

* 같은 가로줄에서는 서로 다른 문자 사이에 유의적인 차이 있음($p < 0.05$).

(D) 일반 샐러드

항 목 \ 저장기간 (일)	1	2	4	6	8	10	12	14
신선도	4.90[a]	4.25[b]	3.06[c]	2.37[d]	2.47[d]	1.72[f]	1.80[ef]	1.53[f]
시 듦	4.81[a]	3.90[b]	3.06[c]	2.47[d]	2.41[d]	1.89[ef]	1.80[efg]	1.33[g]
조직감	4.62[a]	4.05[b]	3.18[c]	2.63[d]	2.59[d]	2.22[de]	1.80[ef]	1.53[f]
부 패	4.86[a]	4.35[b]	3.29[c]	2.42[de]	2.59[d]	1.94[eg]	1.67[gh]	1.40[h]
종합적 평가	4.81[a]	4.05[b]	3.00[c]	2.26[d]	2.29[d]	1.83[de]	1.73[e]	1.27[f]

* 같은 가로줄에서는 서로 다른 문자 사이에 유의적인 차이 있음($p < 0.05$).

8. MPR 처리 기능성 채소의 관능적 유통 기한 조사

가. 채소의 MPR 처리

비트, 신선초, 적상추, 민들레, 청코스, 롤로로사, 로메인, 꽃케일, 적꽃케일 등 15종의 채소를 품목별로 각각 구분하여 과일 및 샐러드 세척용 세제(Aclean 7.0, Ch_2O Inc., Olympia, Washington, USA)로 1차 세척하고, 다시 물로 2회 세척하여 채소에 묻어있는 유기물과 세제성분을 제거하였다. 세척이 완료된 채소는 Chlorine dioxide generator system(Ch_2O Inc., Olympia, Washington, USA)에 의하여 제조된 50 ppm 이산화염소 용액에 5분간 침지하였으며, 대조구는 이산화염소 대신 물로 처리하였다. 이산화염소 처리 후 채소는 2×2cm 크기로 절단한 다음 1%(w/v) 구연산 용액에 다시 1분간 침지하였으며, 원심탈수기를 이용하여 탈수하였다.

나. MPR 처리 채소의 품목별 유통기한

MPR 처리가 완료된 채소는 각각의 품목별로 polyethylene terephthalate(PET) 포장재에 1 pack 당 50g씩 포장하였고, 10℃에서 12일간 저장하면서 관능평가방법에 의하여 식용이 가능한 기간을 조사하였다.

다. 관 능 평 가

채소샐러드 및 품목별 개별 채소의 관능평가는 농촌자원개발연구소의 훈련된 전문 패널요원 20명을 구성하고 평가전에 시료특성 및 평가방법 등 검사방법에 대하여 충분하게 설명한 후 저장기간에 따른 샐러드 및 채소 시료의 신선도, 변색, 조위, 조직감, 부패 등을 5점 채점법으로 평가하였다.

(1) 신선도(freshness)

- 5점: 수확 직후-채소 고유의 색택을 유지하고 있으며 갈색 또는 붉은 색의 반점이 없는 상태
- 4점: 갈색 또는 붉은색의 반점이 생기기 시작한 상태-반점이 서로 뭉치지 않은 상태
- 3점: 변색이 어느 정도 진행되었으나 다듬으면 식용은 가능한 상태-반점이 서로 뭉쳐서 커진 상태
- 2점: 변색이 심하여 식용은 곤란한 상태
- 1점: 변색이 극심한 상태-변색이 50% 이상 진행된 것.

(2) 시듦 (wilting)

- 5점: 수확 직후의 신선한 상태
- 4점: 양상치 잎이 약간 시들기 시작한 상태
- 3점: 어느 정도 시들었으나 식용 가능한 상태
- 2점: 시든 정도가 심하여 양상치 고유의 조직감이 상실된 상태
- 1점: 아주 심하게 시든 상태.

(3) 조직감 (firmness, texture)

- 5점: 수확 직후의 상태-단단하고 씹을 때 아삭아삭한 상태
- 4점: 수확 직후에 비해 약간 조직감이 저하되었으나 그런대로 초기 상태와 비슷한 상태
- 3점: 조직감이 저하되어 초기 상태와는 차이가 나지만 그런대로 식용이 가능한 상태
- 2점: 물러져서 식용에 적당하지 않은 상태
- 1점: 아주 심하게 물러진 상태.

(4) 부패 (decay)

- 5점: 수확 직후의 상태-부패 흔적이 전혀 없는 상태
- 4점: 부패 흔적이 한 두군데 나타나기 시작한 상태
- 3점: 부패 흔적이 5~6군데 나타나 상품 가치를 잃기 시작한 상태로 다듬으면 식용이 가능한 상태
- 2점: 부패가 어느 정도 진행되어 점질물이 많으며 식용은 곤란한 상태
- 1점: 부패가 극심한 상태-부패가 50% 이상 진행되어 전체적으로 부패한 상태.

(5) 종합적 평가 (overall acceptability)

- 5점: 수확 직후의 신선한 상태
- 4점: 위의 1~4항목 중 품질저하 요인이 1~2개 이상 나타나기 시작한 상태
- 3점: 신선도는 조금 떨어지나 식용은 가능한 상태
- 2점: 신선도가 많이 저하되어 식용이 불가능하고 상품성도 없음
- 1점: 신선도가 매우 저하되어 폐기 직전의 상태

라. 통 계 처 리

통계처리는 SAS프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan's multiple-test법을 이용하여 각 평균값에 대한 유의차를 조사하였다. 유의수준은 5% 이내로 하였으며, 각 실험치의 평균값과 표준오차(Standard errors of the mean)로 나타내었다.

MPR 처리 기능성 채소의 저장성과 적정 유통기한을 조사하기 위하여 MPR 처리한 처리구와 물로 처리한 대조구 채소 15종을 polyethylene terephthalate(PET) 포장재에 각각 1 pack 당 50g 씩 포장하고 10℃에서 12일간 저장하면서 관능평가에 의하여 저장기간에 따른 신선도, 시듦, 조직감, 부패도 및 종합적 기호도 등을 평가하였고, 그 결과는 Table 82와 같다.

신선도, 시듦, 조직감, 부패 및 종합적 평가 등 기능성 채소의 관능적 품질은 저장기간의 경과함에 따라 점차 낮아지는 경향을 나타냈고, 채소의 저장 중 품질저하 속도는 채소의 종류별로 달라서 유통기한에도 차이를 보였다. 기능성 채소의 관능적 품질은 저장초기 수확 후 상태(5점)에서 최소 5일에서 최대 11일이 경과한 후에는 유통제한상태(3점)에 도달하였고, 채소별로는 비트, 신선초, 토스카나, 샐러리 등이 다른 채소에 비하여 장기간 유통이 가능한 것으로 조사되었다.

MPR 처리 유무에 따른 기능성 채소의 저장 중 관능적 품질을 비교한 결과, 대부분의 채소품목에서 MPR 처리된 채소의 유통기한은 물로 처리한 대조구와 대부분 일치하였다. 그러나, 민들레, 로메인, 적겨자의 경우 MPR 처리구가 대조구보다 유통기한이 1~3일 정도 연장된 반면 적상추는 MPR 처리구가 대조구보다 2일정도 유통기한이 단축된 것으로 조사되었다($p<0.05$).

저장기간에 따른 MPR 처리 기능성 채소의 관능적 유통기한은 신선도의 경우, 신선초가 저장 12일에도 식용이 가능한 상태를 유지하여 시험된 15종의 채소 중 관능적 유통기한이 가장 길었으며, 비트와 토스카나도 저장 11일까지 식용이 가능한 것으로 조사되었다. 적겨자, 샐러리, 적치커리, 적코스 및 비타민은 저장 8일까지 식용이 가능한 신선도를 유지하였고, 적상추, 민들레, 청코스, 로메인 및 적꽃케일의 신선도는 저장 6일까지 식용 가능한 것으로 나타났으며, 롤로로사는 신선도 유지기간이 5일로 평가되어 시험된 채소 중 관능적 유통기한이 가장 짧았다. 관능평가에 의하여 MPR 처리 기능성 채소의 신선도를 평가하여 얻어진 품목별 유통기한은 통계적으로 유의하였으며($p<0.05$), 시든정도, 조직, 부패도 및 종합적 품질에 대한 관능평가에서도 MPR 처리 기능성 채소의 유통기한은 신선도의 경우와 일치된 결과를 나타내었다.

Table 82. 관능평가에 의한 MPR 처리 기능성 채소의 저장성 변화(10℃ 저장)
(A) 신선도

채소명	1일		2일		3일		5일		6일		8일		9일		11일		12일	
	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구
비 트	4.9±0.3^{a}	4.9±0.3^{a}	4.7±0.4^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.3±0.6^{bc}	4.3±0.6^{bc}	4.3±0.7^{bc}	4.3±0.6^{bc}	3.9±0.7^{cd}	3.9±0.6^{d}	3.3±0.5^{e}	2.9±0.5^{ef}	3.2±0.6^{e}	3.2±0.5^{e}	2.6±0.6^{fg}	2.3±0.6^{g}
신선초	5.0±0.0^{a}	5.0±0.1^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.7±0.5^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.5±0.6^{d}	4.3±0.6^{d}	4.5±0.5^{cd}	4.6±0.5^{cd}	4.3±0.5^{d}	4.3±0.5^{d}	3.9±0.6^{e}	3.9±0.6^{e}	3.6±0.5^{ef}	3.6±0.5^{ef}	3.3±0.6^{f}	3.2±0.6^{f}
적상추	4.9±0.3^{a}	4.8±0.4^{a}	4.8±0.4^{ab}	4.6±0.4^{ab}	4.4±0.6^{bc}	4.2±0.5^{c}	4.4±0.6^{bc}	3.7±0.7^{d}	3.8±0.6^{d}	3.3±0.6^{e}	3.0±0.3^{ef}	2.7±0.4^{fg}	2.6±0.6^{g}	2.4±0.6^{gh}	2.3±0.6^{gh}	2.1±0.6^{h}	1.5±0.6^{i}	1.4±0.6^{i}
민들레	4.6±0.3^{a}	4.5±0.5^{ab}	4.4±0.3^{ab}	4.2±0.5^{bc}	4.1±0.6^{cd}	3.9±0.5^{de}	3.8±0.6^{de}	3.5±0.8^{e}	2.6±0.5^{g}	3.0±0.6^{f}	2.3±0.5^{g}	2.3±0.4^{g}	1.8±0.5^{h}	1.7±0.5^{h}	1.6±0.6^{h}	1.5±0.6^{hi}	1.2±0.4^{i}	1.1±0.4^{i}
청코스	4.8±0.4^{a}	4.8±0.3^{a}	4.6±0.4^{a}	4.5±0.4^{ab}	4.2±0.6^{bc}	4.1±0.6^{bc}	4.1±0.5^{c}	3.8±0.5^{cd}	3.5±0.6^{d}	3.1±0.4^{e}	2.5±0.3^{f}	2.5±0.4^{f}	2.1±0.5^{g}	2.5±0.5^{f}	1.4±0.6^{h}	1.5±0.6^{h}	1.2±0.4^{h}	1.3±0.6^{h}
롤로로사	4.9±0.3^{a}	4.9±0.3^{a}	4.4±0.4^{b}	4.4±0.4^{b}	3.9±0.7^{c}	3.9±0.7^{c}	3.3±0.7^{d}	3.3±0.8^{d}	3.0±0.5^{de}	2.7±0.6^{e}	2.0±0.5^{f}	2.1±0.6^{f}	1.3±0.6^{g}	1.3±0.7^{g}	1.1±0.4^{g}	1.2±0.5^{g}	1.1±0.4^{g}	1.0±0.4^{g}
로메인	4.9±0.3^{a}	4.9±0.3^{a}	4.6±0.3^{ab}	4.5±0.4^{ab}	4.2±0.5^{bc}	4.3±0.5^{bc}	3.7±0.8^{d}	4.0±0.4^{dc}	2.8±0.4^{ef}	3.0±0.7^{e}	2.5±0.6^{fg}	3.1±0.6^{e}	2.4±0.6^{g}	2.5±0.7^{fg}	1.3±0.5^{hi}	1.6±0.5^{h}	1.1±0.3^{i}	1.2±0.4^{hi}
적꽃케일	5.0±0.1^{a}	4.9±0.3^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.4±0.6^{cd}	4.3±0.6^{cd}	4.0±0.7^{de}	3.9±0.7^{e}	2.7±0.6^{f}	2.7±0.6^{f}	2.0±0.6^{g}	2.0±0.7^{g}	1.6±0.5^{g}	1.8±0.5^{g}	1.2±0.4^{h}	1.2±0.4^{h}
적겨자	4.9±0.2^{a}	4.9±0.3^{a}	4.7±0.4^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.5±0.4^{ab}	4.6±0.4^{ab}	4.3±0.6^{bc}	4.5±0.4^{ab}	3.8±0.7^{d}	4.0±0.7^{cd}	2.5±0.8^{f}	3.0±0.6^{e}	1.8±0.7^{gh}	2.2±0.8^{fg}	1.3±0.4^{i}	1.5±0.5^{hi}	1.3±0.4^{i}	1.3±0.5^{i}
토스카나	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.5^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.5±0.6^{c}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.4^{c}	4.4±0.5^{c}	3.9±0.7^{d}	4.0±0.6^{d}	3.3±0.5^{e}	3.5±0.6^{e}	3.4±0.7^{e}	3.3±0.7^{e}	2.2±0.4^{g}	2.7±0.4^{f}
셀러리	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{a}	4.8±0.4^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.4±0.5^{bc}	4.2±0.5^{de}	4.3±0.5^{cd}	4.3±0.5^{cd}	3.8±0.7^{e}	3.8±0.6^{e}	3.0±0.5^{fg}	2.8±0.4^{fg}	3.0±0.6^{f}	2.6±0.6^{hi}	2.6±0.6^{gh}	2.3±0.7^{i}
적치커리	5.0±0.1^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.4±0.6^{cd}	4.5±0.6^{bc}	4.1±0.5^{d}	4.2±0.7^{d}	3.5±0.7^{e}	4.1±0.7^{d}	2.7±0.5^{f}	3.3±0.8^{e}	2.2±0.4^{g}	2.4±0.5^{fg}	0±0.5^{gh}	2.2±0.5^{g}	1.4±0.5^{i}	1.6±0.7^{hi}
적코스	4.9±0.3^{a}	4.8±0.4^{ab}	4.6±0.4^{ab}	4.6±0.3^{ab}	4.4±0.6^{bc}	4.4±0.6^{bc}	4.1±0.5^{cd}	4.1±0.5^{cd}	3.8±0.6^{d}	3.7±0.4^{d}	3.2±0.6^{e}	3.1±0.5^{e}	2.8±0.6^{ef}	2.7±0.4^{fg}	2.7±0.7^{fg}	2.7±0.7^{fg}	2.3±0.6^{gh}	2.1±0.6^{h}
비타민	4.8±0.4^{a}	4.9±0.3^{a}	4.7±0.4^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.4±0.6^{bc}	4.5±0.4^{ab}	4.2±0.6^{cd}	4.2±0.5^{cd}	4.0±0.6^{de}	3.9±0.6^{e}	3.2±0.6^{f}	3.5±0.6^{f}	2.3±0.4^{g}	2.1±0.3^{gh}	2.4±0.6^{g}	2.5±0.6^{g}	1.8±0.7^{hi}	1.6±0.7^{i}

* 같은 가로줄에서는 서로 다른 문자 사이에 유의적인 차이 있음($p < 0.05$).

(B) 시 듦

채소명	1일		2일		3일		5일		6일		8일		9일		11일		12일	
	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구
비 트	4.9±0.3^{a}	4.8±0.3^{a}	4.8±0.4^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.5±0.6^{ab}	4.4±0.6^{bc}	4.3±0.6^{cd}	4.1±0.7^{def}	4.1±0.6^{def}	3.9±0.7^{ef}	3.8±0.7^{f}	3.2±0.5^{g}	2.9±0.5^{gh}	3.0±0.5^{g}	3.1±0.4^{g}	2.6±0.6^{hi}	2.3±0.6^{i}
신선초	5.0±0.1^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.6^{de}	4.4±0.5^{de}	4.5±0.4^{cd}	4.2±0.5^{e}	4.2±0.5^{e}	3.7±0.5^{f}	3.7±0.5^{f}	3.5±0.6^{fg}	3.4±0.6^{fg}	3.3±0.6^{g}	3.2±0.6^{g}
적상추	4.9±0.3^{a}	4.8±0.4^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.4^{bc}	4.3±0.5^{c}	4.2±0.6^{c}	3.8±0.7^{d}	3.7±0.6^{de}	3.3±0.6^{ef}	3.1±0.4^{fg}	2.7±0.4^{gh}	2.5±0.4^{hi}	2.4±0.6^{hij}	2.3±0.6^{ij}	2.0±0.6^{j}	1.5±0.^{k}	1.4±0.6^{k}
민들레	4.6±0.4^{a}	4.6±0.6^{a}	4.4±0.5^{ab}	4.2±0.5^{b}	4.0±0.6^{bc}	3.9±0.5^{bc}	3.7±0.8^{cd}	3.5±0.8^{d}	2.6±0.5^{f}	3.0±0.5^{e}	2.3±0.5^{f}	2.2±0.5^{f}	1.8±0.5^{g}	1.7±0.5^{g}	1.6±0.5^{gh}	1.5±0.6^{gh}	1.2±0.4^{hi}	1.1±0.4^{i}
청코스	4.7±0.4^{a}	4.8±0.3^{a}	4.6±0.4^{ab}	4.5±0.4^{ab}	4.2±0.6^{bc}	4.1±0.6^{cd}	4.1±0.6^{de}	3.8±0.5^{ef}	3.5±0.6^{f}	3.1±0.4^{g}	2.3±0.3^{hi}	2.4±0.4^{hi}	2.1±0.5^{i}	2.5±0.5^{h}	1.4±0.5^{j}	1.5±0.6^{j}	1.2±0.4^{j}	1.3±0.6^{j}
롤로로사	4.8±0.3^{a}	4.8±0.4^{a}	4.3±0.5^{b}	4.3±0.5^{b}	3.9±0.7^{b}	3.9±0.7^{b}	3.4±0.9^{c}	3.4±0.8^{d}	3.0±0.6^{cd}	2.7±0.7^{d}	1.9±0.5^{e}	2.0±0.6^{e}	1.3±0.6^{f}	1.3±0.7^{f}	1.1±0.4^{f}	1.2±0.5^{f}	1.1±0.4^{f}	1.0±0.3^{f}
로메인	4.9±0.1^{a}	5.0±0.1^{a}	4.5±0.5^{b}	4.5±0.5^{b}	4.1±0.5^{bc}	4.3±0.3^{bc}	3.7±0.8^{d}	4.0±0.5^{cd}	2.8±0.5^{ef}	3.0±0.6^{e}	2.5±0.7^{fg}	3.1±0.7^{e}	2.4±0.6^{g}	2.5±0.7^{fg}	1.3±0.4^{hi}	1.5±0.5^{h}	1.1±0.3^{i}	1.2±0.4^{hi}
적꽃케일	5.0±0.1^{a}	5.0±0.0^{a}	4.8±0.3^{a}	4.9±0.3^{a}	4.7±0.6^{ab}	4.7±0.3^{ab}	4.4±0.6^{b}	4.4±0.6^{b}	3.9±0.6^{c}	3.9±0.6^{c}	2.7±0.6^{d}	2.8±0.6^{d}	2.1±0.6^{e}	2.0±0.7^{e}	1.8±0.5^{e}	1.8±0.5^{e}	1.2±0.4^{f}	1.2±0.5^{f}
적겨자	4.9±0.2^{a}	5.0±0.1^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.5±0.6^{cd}	4.5±0.6^{bc}	4.2±0.7^{de}	4.5±0.4^{cd}	3.8±0.7^{f}	4.0±0.6^{ef}	2.5±0.6^{h}	3.0±0.4^{g}	1.8±0.6^{i}	2.2±0.8^{h}	1.4±0.4^{j}	1.6±0.6^{i}	1.3±0.4^{j}	1.3±0.5^{j}
토스카나	5.0±0.1^{a}	4.9±0.3^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.7±0.5^{ab}	4.5±0.6^{ab}	4.5±0.6^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.6^{bc}	4.1±0.6^{cd}	4.0±0.6^{d}	3.8±0.7^{de}	3.9±0.6^{d}	3.3±0.5^{f}	3.5±0.6^{ef}	3.4±0.6^{ef}	3.3±0.6^{f}	2.3±0.4^{h}	2.7±0.4^{g}
셀러리	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{a}	4.8±0.4^{ab}	4.8±0.5^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.4±0.8^{bc}	4.4±0.5^{bc}	4.2±0.5^{cd}	4.0±0.7^{de}	3.9±0.7^{de}	3.8±0.6^{de}	3.7±0.6^{e}	3.0±0.5^{fg}	2.9±0.4^{fg}	3.0±0.6^{f}	2.6±0.6^{fg}	2.5±0.6^{gh}	2.3±0.7^{h}
적치커리	5.0±0.0^{a}	5.0±0.0^{a}	4.8±0.5^{ab}	4.8±0.5^{ab}	4.3±0.5^{cd}	4.5±0.5^{bc}	4.2±0.5^{cd}	4.3±0.7^{cd}	3.3±0.9^{e}	3.9±0.7^{d}	2.7±0.6^{f}	3.2±0.6^{e}	2.2±0.4^{g}	2.4±0.5^{fg}	2.1±0.6^{g}	2.3±0.6^{fg}	1.4±0.5^{h}	1.6±0.7^{h}
적코스	4.9±0.1^{a}	4.9±0.2^{a}	4.6±0.4^{ab}	4.6±0.5^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.4±0.5^{bc}	4.1±0.5^{c}	4.1±0.5^{c}	3.7±0.5^{d}	3.5±0.5^{de}	3.1±0.7^{ef}	3.1±0.7^{f}	2.9±0.4^{f}	2.7±0.4^{fg}	2.7±0.7^{fg}	2.7±0.7^{fg}	2.3±0.6^{gh}	2.2±0.6^{h}
비타민	5.0±0.1^{ab}	5.0±0.0^{a}	4.7±0.3^{ab}	4.6±0.5^{ab}	4.4±0.5^{cd}	4.5±0.4^{bc}	4.3±0.6^{de}	4.3±0.6^{de}	3.9±0.6^{ef}	3.8±0.6^{fg}	3.2±0.7^{h}	3.4±0.6^{gh}	2.3±0.5^{i}	2.2±0.5^{i}	2.3±0.6^{i}	2.4±0.6^{i}	1.7±0.7^{j}	1.6±0.7^{j}

* 같은 가로줄에서는 서로 다른 문자 사이에 유의적인 차이 있음($p < 0.05$).

(C) 조직감

채소명	1일		2일		3일		5일		6일		8일		9일		11일		12일	
	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구
비 트	4.9±0.4^{a}	4.8±0.4^{a}	4.8±0.4^{a}	4.7±.0.6^{a}	4.6±0.6^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.5±0.6^{ab}	4.4±0.6^{ab}	4.2±0.6^{bc}	4.2±0.6^{bc}	3.9±0.7^{c}	3.8±0.7^{c}	3.3±0.5^{d}	3.0±0.5^{de}	3.1±0.5^{de}	3.1±0.4^{de}	2.7±0.7^{ef}	2.5±0.6^{f}
신선초	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.3±0.6^{cd}	4.5±0.5^{bc}	4.1±0.6^{de}	4.2±0.5^{de}	3.8±0.7^{ef}	3.8±0.6^{ef}	3.5±0.6^{fg}	3.5±0.5^{fg}	3.3±0.6^{g}	3.2±0.6^{g}
적상추	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.7±0.3^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.4±0.4^{c}	4.3±0.6^{c}	3.8±0.6^{d}	3.6±0.5^{d}	3.2±0.5^{e}	3.1±0.5^{e}	2.8±0.5^{f}	2.5±0.4^{fg}	2.4±0.5^{g}	2.3±0.6^{gh}	2.0±0.6^{h}	1.4±0.6^{i}	1.4±0.6^{i}
민들레	4.7±0.4^{a}	4.7±0.4^{a}	4.6±0.4^{ab}	4.4±0.5^{ab}	4.3±0.5^{bc}	4.1±0.6^{cd}	3.8±0.7^{de}	3.7±0.8^{e}	2.5±0.5^{g}	3.0±0.5^{f}	2.4±0.5^{g}	2.3±0.4^{g}	1.7±0.5^{h}	1.6±0.5^{h}	1.6±0.6^{h}	1.5±0.6^{hi}	1.2±0.4^{i}	1.1±0.4^{i}
청코스	4.9±0.3^{a}	4.8±0.2^{a}	4.7±0.4^{ab}	4.6±0.4^{ab}	4.4±0.6^{bc}	4.2±0.5^{cd}	4.2±0.7^{cd}	3.9±0.7^{d}	3.5±0.6^{e}	3.3±0.5^{e}	2.3±0.3^{fg}	2.4±0.4^{fg}	2.0±0.5^{g}	2.6±0.5^{f}	1.4±0.5^{h}	1.5±0.6^{h}	1.2±0.4^{h}	1.3±0.6^{h}
롤로로사	4.9±0.2^{a}	4.9±0.3^{a}	4.4±0.5^{b}	4.3±0.5^{b}	4.1±0.5^{b}	4.1±0.5^{b}	3.3±0.8^{c}	3.4±0.8^{c}	3.1±0.6^{cd}	2.9±0.7^{d}	1.9±0.5^{e}	2.0±0.6^{e}	1.2±0.5^{f}	1.2±0.6^{f}	1.1±0.4^{f}	1.2±0.5^{f}	1.1±0.4^{f}	1.0±0.3^{f}
로메인	5.0±0.1^{a}	4.9±0.1^{ab}	4.6±0.4^{ab}	4.6±0.4^{bc}	4.4±0.5^{cd}	4.4±0.4^{cd}	3.9±0.8^{e}	4.1±0.6^{de}	2.8±0.5^{fg}	3.0±0.7^{f}	2.3±0.5^{i}	2.9±0.6^{fg}	2.4±0.6^{hi}	2.6±0.8^{gh}	1.3±0.4^{jk}	1.5±0.5^{j}	1.1±0.3^{k}	1.2±0.4^{jk}
적꽃케일	5.0±0.0^{a}	5.0±0.1^{ab}	4.8±0.5^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.5±0.5^{b}	4.6±0.5^{ab}	4.0±0.6^{c}	3.8±0.6^{c}	2.8±0.7^{d}	2.9±0.7^{d}	2.1±0.6^{e}	2.0±0.7^{e}	1.9±0.6^{e}	1.9±0.7^{e}	1.2±0.4^{f}	1.2±0.5^{f}
적겨자	5.0±0.1^{a}	5.0±0.1^{a}	4.8±0.3^{a}	4.8±0.3^{a}	4.7±0.4^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.3±0.6^{bc}	4.5±0.4^{ab}	3.8±0.7^{d}	4.0±0.6^{cd}	2.5±0.8^{f}	3.1±0.6^{e}	1.8±0.7^{gh}	2.2±0.8^{fg}	1.4±0.4^{i}	1.6±0.7^{hi}	1.3±0.4^{i}	1.3±0.5^{i}
토스카나	5.0±0.0^{a}	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.5^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.6^{bc}	4.2±0.5^{cd}	4.1±0.6^{de}	3.9±0.7^{e}	3.9±0.6^{e}	3.3±0.5^{f}	3.4±0.6^{f}	3.4±0.7^{f}	3.4±0.7^{f}	2.4±0.4^{h}	2.8±0.4^{g}
셀러리	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.6^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.5±0.5^{bc}	4.2±0.6^{cd}	4.0±0.6^{d}	3.8±0.7^{d}	3.8±0.6^{d}	3.8±0.6^{d}	3.0±0.6^{e}	2.9±0.4^{e}	3.0±0.6^{e}	2.7±0.6^{ef}	2.6±0.6^{ef}	2.4±0.6^{f}
적치커리	5.0±0.1^{a}	5.0±0.1^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.4±0.5^{cd}	4.5±0.6^{bc}	4.2±0.6^{de}	4.3±0.7^{de}	3.2±0.9^{f}	4.0±0.7^{e}	2.7±0.6^{g}	3.2±0.6^{f}	2.2±0.4^{h}	2.3±0.5^{gh}	2.1±0.6^{h}	2.3±0.5^{gh}	1.5±0.6^{i}	1.6±0.7^{i}
적코스	4.9±0.1^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.7±0.3^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.2±0.6^{c}	4.2±0.6^{c}	3.6±0.4^{d}	3.5±0.5^{de}	3.4±0.5^{de}	3.2±0.5^{ef}	2.9±0.5^{fg}	2.8±0.4^{gh}	2.7±0.6^{gh}	2.7±0.5^{gh}	2.4±0.6^{hi}	2.3±0.6^{i}
비타민	4.9±0.3^{a}	5.0±0.1^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.7±0.3^{ab}	4.5±0.6^{ab}	4.6±0.4^{b}	4.3±0.6^{b}	4.3±0.6^{c}	3.8±0.6^{c}	3.7±0.6^{d}	3.2±0.7^{cd}	3.4±0.6^{e}	2.3±0.4^{e}	2.2±0.4^{e}	2.4±0.6^{e}	2.5±0.6^{d}	1.7±0.7^{f}	1.6±0.7^{f}

* 같은 가로줄에서는 서로 다른 문자 사이에 유의적인 차이 있음($p < 0.05$).

(D) 부패도

채소명	1일		2일		3일		5일		6일		8일		9일		11일		12일	
	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구
비 트	4.9±0.3^{a}	4.9±0.3^{a}	4.8±0.4^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.4±0.7^{bc}	4.4±0.6^{bc}	4.0±0.7^{c}	4.0±0.7^{c}	3.4±0.6^{d}	3.1±0.6^{de}	3.2±0.6^{d}	3.2±0.5^{d}	2.7±0.7^{ef}	2.5±0.7^{f}
신선초	4.9±0.3^{a}	4.9±0.3^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.5±0.6^{ab}	4.6±0.4^{ab}	4.5±0.6^{b}	4.5±0.6^{b}	3.9±0.7^{c}	3.9±0.7^{c}	3.7±0.6^{cd}	3.7±0.6^{cd}	3.4±0.6^{d}	3.3±0.6^{d}
적상추	4.9±0.3^{a}	4.9±0.3^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.7±0.3^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.6±0.5^{ab}	4.4±0.7^{bc}	4.1±0.8^{cd}	3.8±0.7^{de}	3.5±0.8^{ef}	3.3±0.6^{fg}	2.9±0.6^{gh}	2.6±0.5^{hi}	2.3±0.5^{ij}	2.2±0.6^{ij}	1.9±0.6^{j}	1.4±0.6^{k}	1.4±0.6^{k}
민들레	4.8±0.4^{a}	4.8±0.3^{a}	4.5±0.6^{ab}	4.3±0.6^{b}	4.3±0.8^{b}	4.1±0.8^{bc}	3.7±0.8^{cd}	3.6±0.8^{d}	2.7±0.7^{ef}	3.1±0.7^{e}	2.3±0.5^{f}	2.3±0.5^{f}	1.8±0.5^{g}	1.6±0.5^{gh}	1.6±0.6^{gh}	1.5±0.6^{gh}	1.2±0.4^{h}	1.1±0.4^{h}
청코스	4.9±0.3^{a}	4.8±0.3^{a}	4.8±0.3^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.4±0.5^{bc}	4.3±0.6^{c}	4.2±0.7^{c}	4.0±0.7^{cd}	3.7±0.7^{de}	3.3±0.6^{e}	2.2±0.3^{fg}	2.4±0.4^{fg}	2.0±0.5^{g}	2.5±0.6^{f}	1.4±0.5^{h}	1.5±0.6^{h}	1.2±0.4^{h}	1.3±0.6^{h}
롤로로사	4.9±0.3^{a}	4.9±0.3^{a}	4.6±0.4^{ab}	4.5±0.4^{ab}	4.2±0.8^{b}	4.1±0.8^{b}	3.4±1.1^{c}	3.5±1.0^{c}	3.2±0.8^{cd}	2.8±0.7^{d}	1.9±0.5^{e}	1.9±0.6^{e}	1.2±0.5^{f}	1.3±0.6^{f}	1.1±0.4^{f}	1.2±0.5^{f}	1.1±0.4^{f}	1.0±0.3^{f}
로메인	5.0±0.0^{a}	5.0±0.0^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.4±0.7^{bc}	4.6±0.5^{ab}	4.0±0.8^{d}	4.2±0.6^{cd}	2.8±0.6^{ef}	3.0±0.8^{ef}	2.3±0.5^{g}	3.0±0.6^{e}	2.3±0.6^{g}	2.6±0.8^{fg}	1.3±0.4^{hi}	.1.5±0.5^{h}	1.1±0.3^{i}	1.2±0.4^{hi}
적꽃케일	5.0±0.0^{a}	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.6^{bc}	4.2±0.6^{c}	4.1±0.6^{c}	3.0±0.8^{d}	3.0±0.6^{d}	2.3±0.9^{e}	2.1±0.9^{e}	1.9±0.6^{e}	1.9±0.6^{e}	1.1±0.3^{f}	1.1±0.3^{f}
적겨자	5.0±0.1^{a}	5.0±0.0^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.5±0.6^{b}	4.6±0.5^{ab}	3.9±0.7^{c}	4.1±0.6^{c}	2.4±0.9^{e}	3.0±0.5^{d}	1.8±0.6^{fg}	2.2±0.7^{ef}	1.4±0.5^{h}	1.6±0.6^{gh}	1.2±0.4^{h}	1.3±0.4^{h}
토스카나	5.0±0.0^{a}	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.5^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.5±0.4^{b}	4.5±0.4^{b}	4.1±0.7^{c}	4.1±0.6^{c}	3.4±0.7^{d}	3.5±0.7^{d}	3.6±0.8^{d}	3.6±0.8^{d}	2.5±0.4^{f}	2.9±0.3^{e}
셀러리	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	.4.9±0.3^{a}	4.7±0.6^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.6^{bc}	4.4±0.5^{c}	4.3±0.5^{cd}	3.9±0.6^{de}	3.9±0.6^{e}	3.2±0.7^{f}	3.1±0.7^{f}	3.2±0.7^{f}	2.9±0.7^{fg}	2.8±0.6^{fg}	2.5±0.7^{g}
적치커리	5.0±0.0^{a}	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.4±0.7^{cd}	4.5±0.7^{bc}	3.5±1.1^{e}	4.1±0.7^{d}	2.6±0.6^{f}	3.2±0.6^{e}	2.1±0.5^{g}	2.3±0.5^{fg}	2.0±0.5^{gh}	2.2±0.5^{fg}	1.5±0.6^{i}	1.6±0.7^{hi}
적코스	5.0±0.1^{a}	5.0±0.1^{a}	4.9±0.3^{a}	4.7±0.5^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.4±0.7^{b}	4.4±0.6^{b}	3.9±0.6^{c}	3.7±0.5^{cd}	3.4±0.6^{de}	3.3±0.7^{ef}	2.9±0.6^{fg}	2.8±0.5^{gh}	2.6±0.6^{gh}	2.6±0.5^{gh}	2.4±0.6^{hi}	2.3±0.6^{i}
비타민	5.0±0.0^{a}	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.5±0.7^{bc}	4.4±0.7^{bc}	4.1±0.6^{cd}	3.9±0.7^{de}	3.3±0.7^{f}	3.5±0.6^{ef}	2.4±0.7^{g}	2.3±0.6^{g}	2.5±0.6^{g}	2.6±0.6^{g}	1.7±0.6^{h}	1.5±0.7^{h}

* 같은 가로줄에서는 서로 다른 문자 사이에 유의적인 차이 있음($p < 0.05$).

(E) 종합평가

채소명	1일		2일		3일		5일		6일		8일		9일		11일		12일	
	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구	대조구	처리구
비 트	4.9±0.3^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.4±0.6^{bc}	4.3±0.6^{cd}	4.2±0.7^{e}	4.3±0.6^{def}	3.9±0.7^{fg}	3.8±0.6^{g}	3.3±0.6^{h}	3.0±0.6^{hi}	3.1±0.5^{hi}	3.1±0.4^{hi}	2.7±0.6^{ij}	2.4±0.6^{j}
신선초	5.0±0.1^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.6^{bc}	4.4±0.6^{cd}	4.5±0.5^{bc}	4.3±0.5^{d}	4.3±0.6^{d}	3.9±0.6^{ef}	3.9±0.7^{e}	3.6±0.6^{ef}	3.5±0.6^{fg}	3.3±0.6^{g}	3.2±0.6^{g}
적상추	5.0±0.1^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.5±0.5^{bc}	4.5±0.6^{bc}	4.3±0.5^{c}	4.3±0.6^{c}	3.8±0.6^{d}	3.7±0.6^{d}	3.3±0.7^{e}	3.2±0.4^{e}	2.8±0.5^{f}	2.5±0.5^{fg}	2.3±0.5^{gh}	2.3±0.6^{gh}	1.9±0.6^{h}	1.4±0.6^{i}	1.4±0.6^{i}
민들레	4.8±0.3^{a}	4.7±0.3^{a}	4.5±0.5^{ab}	4.3±0.6^{bc}	4.1±0.5^{bc}	4.0±0.4^{cd}	3.8±0.6^{de}	3.5±0.8^{e}	2.5±0.5^{g}	3.0±0.6^{f}	2.4±0.5^{g}	2.3±0.5^{g}	1.8±0.5^{h}	1.6±0.5^{h}	1.6±0.6^{h}	1.5±0.6^{hi}	1.2±0.4^{i}	1.1±0.4^{i}
청코스	4.8±0.4^{a}	4.8±0.3^{a}	4.7±0.3^{ab}	4.6±0.3^{ab}	4.3±0.5^{bc}	4.2±0.^{cd}	4.1±0.6^{cd}	3.9±0.6^{de}	3.6±0.7^{ef}	3.3±0.6^{f}	2.3±0.3^{gh}	2.4±0.4^{gh}	2.0±0.5^{h}	2.6±0.5^{g}	1.4±0.5^{i}	1.4±0.5^{i}	1.2±0.4^{i}	1.4±0.6^{i}
롤로로사	4.8±0.3^{a}	4.8±0.4^{a}	4.4±0.5^{b}	4.3±0.5^{b}	4.0±0.7^{b}	3.9±0.7^{b}	3.3±0.8^{c}	3.4±0.8^{c}	3.1±0.6^{cd}	2.7±0.6^{d}	1.9±0.5^{e}	2.0±0.6^{e}	1.3±0.6^{f}	1.3±0.6^{f}	1.1±0.4^{f}	1.2±0.4^{f}	1.1±0.4^{f}	1.0±0.3^{f}
로메인	4.9±0.1^{a}	4.9±0.1^{a}	4.6±0.4^{ab}	4.5±0.4^{ab}	4.2±0.5^{cd}	4.4±0.3^{cd}	3.8±0.7^{e}	4.0±0.5^{de}	2.8±0.5^{fg}	3.0±0.7^{f}	2.3±0.6^{h}	3.0±0.6^{f}	2.3±0.5^{h}	2.5±0.7^{gh}	1.3±0.4^{ij}	1.5±0.5^{i}	1.1±0.3^{j}	1.2±0.4^{ij}
적꽃케일	5.0±0.0^{a}	4.9±0.1^{a}	4.8±0.5^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.7±0.6^{ab}	4.7±0.3^{ab}	4.5±0.5^{b}	4.5±0.4^{b}	4.0±0.6^{c}	3.9±0.6^{c}	2.8±0.7^{d}	2.8±0.7^{d}	2.1±0.6^{e}	2.0±0.7^{e}	1.7±0.5^{e}	1.8±0.6^{e}	1.2±0.4^{f}	1.2±0.4^{f}
적겨자	4.9±0.2^{ab}	5.0±0.1^{a}	4.7±0.4^{ab}	4.8±0.3^{ab}	4.5±0.4^{ab}	4.5±0.6^{c}	4.3±0.6^{cd}	4.5±0.4^{bc}	3.7±0.9^{e}	4.0±0.6^{de}	2.4±0.8^{g}	3.0±0.5^{f}	1.8±0.6^{hi}	2.2±0.7^{gh}	1.4±0.4^{j}	1.6±0.6^{ij}	1.2±0.4^{j}	1.3±0.6^{j}
토스카나	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.5^{ab}	4.6±0.4^{ab}	4.5±0.5^{bc}	4.5±0.6^{bc}	4.5±0.6^{bc}	4.2±0.6^{cd}	4.2±0.5^{cd}	3.9±0.8^{de}	3.9±0.6^{d}	3.3±0.6^{f}	3.5±0.6^{ef}	3.5±0.7^{ef}	3.4±0.7^{f}	2.3±0.4^{h}	2.8±0.4^{g}
셀러리	5.0±0.0^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.8±0.4^{ab}	4.8±0.5^{ab}	4.7±0.4^{ab}	4.6±0.6^{ab}	4.5±0.4^{bc}	4.2±0.5^{cd}	4.1±0.6^{de}	3.9±0.6^{e}	3.9±0.7^{e}	3.8±0.6^{e}	3.0±0.5^{f}	2.9±0.5^{f}	3.1±0.7^{f}	2.7±0.6^{fg}	2.7±0.6^{fg}	2.4±0.7^{g}
적치커리	5.0±0.0^{a}	5.0±0.1^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.4±0.5^{cd}	4.5±0.5^{bc}	4.3±0.6^{cd}	4.3±0.6^{cd}	3.4±0.9^{e}	4.0±0.8^{d}	2.6±0.6^{f}	3.2±0.6^{e}	2.1±0.4^{g}	2.3±0.4^{fg}	2.1±0.6^{g}	2.2±0.5^{fg}	1.5±0.6^{h}	1.7±0.6^{h}
적코스	4.9±0.2^{a}	4.8±0.3^{ab}	4.9±0.3^{ab}	4.6±0.5^{ab}	4.5±0.6^{ab}	4.4±0.5^{bc}	4.2±0.5^{c}	4.2±0.5^{c}	3.6±0.5^{d}	3.6±0.4^{d}	3.3±0.7^{de}	3.1±0.6^{ef}	2.8±0.6^{fg}	2.8±0.5^{fg}	2.6±0.6^{gh}	2.6±0.5^{gh}	2.4±0.6^{h}	2.2±0.6^{h}
비타민	4.8±0.3^{ab}	4.9±0.2^{a}	4.9±0.3^{ab}	4.6±0.5^{ab}	4.4±0.5^{bc}	4.6±0.4^{ab}	4.3±0.6^{cd}	4.2±0.5^{cd}	3.9±0.6^{de}	3.8±0.5^{e}	3.1±0.6^{f}	3.4±0.6^{f}	2.3±0.5^{g}	2.2±0.4^{g}	2.4±0.6^{g}	2.6±0.6^{g}	1.7±0.6^{h}	1.6±0.7^{h}

* 같은 가로줄에서는 서로 다른 문자 사이에 유의적인 차이 있음($p < 0.05$).

9. MPR 처리 채소샐러드의 제조 및 유통 기한 조사

가. MPR 채소 샐러드의 처리

비트, 신선초, 적상추, 민들레, 청코스, 롤로로사, 로메인, 꽃케일, 적꽃케일 등 15종의 채소를 품목별로 각각 구분하여 과일 및 샐러드 세척용 세제(Aclean 7.0, Ch_2O Inc., Olympia, Washington, USA)로 1차 세척하고, 다시 물로 2회 세척하여 채소에 묻어있는 유기물과 세제성분을 제거하였다. 세척이 완료된 채소는 Chlorine dioxide generator system(Ch_2O Inc., Olympia, Washington, USA)에 의하여 제조된 50 ppm 이산화염소 용액에 5분간 침지하였으며, 대조구는 이산화염소 대신 물로 처리하였다. 이산화염소 처리 후 채소는 2×2cm 크기로 절단한 다음 1%(w/v) 구연산 용액에 다시 1분간 침지하였으며, 원심탈수기를 이용하여 탈수하였다.

나. MPR 채소 샐러드의 제조 및 포장

비트, 신선초, 민들레, 청코스, 롤로로사, 로메인, 꽃케일, 적꽃케일 등 9종의 채소를 품목별로 각각 구분하여 MPR 처리한 후 Table 69의 항산화샐러드 배합기준에 의거하여 polyethylene terephthalate(PET) 포장재에 160 g씩 각각 포장하였다.

다. MPR 채소 샐러드의 유통기한

포장된 MPR 채소 샐러드를 10℃에서 12일간 저장하면서 관능평가방법에 의하여 식용이 가능한 기간을 조사하였다.

라. 관 능 평 가

채소샐러드 및 품목별 개별 채소의 관능평가는 농촌자원개발연구소의 훈련된 전문패널요원 20명을 구성하고 평가전에 시료특성 및 평가방법 등 검사방법에 대하여 충분하게 설명한 후 저장기간에 따른 샐러드 및 채소 시료의 신선도, 변색, 조위, 조직감, 부패 등을 5점 채점법으로 평가하였다.

(1) 신선도(freshness)

- 5점: 수확 직후-채소 고유의 색택을 유지하고 있으며 갈색 또는 붉은 색의 반점이 없는 상태
- 4점: 갈색 또는 붉은색의 반점이 생기기 시작한 상태-반점이 서로 뭉치지 않은 상태
- 3점: 변색이 어느 정도 진행되었으나 다듬으면 식용은 가능한 상태-반점이 서로 뭉쳐서 커진 상태
- 2점: 변색이 심하여 식용은 곤란한 상태
- 1점: 변색이 극심한 상태-변색이 50% 이상 진행된 것.

(2) 시듦 (wilting)

· 5점: 수확 직후의 신선한 상태
· 4점: 양상치 잎이 약간 시들기 시작한 상태
· 3점: 어느 정도 시들었으나 식용 가능한 상태
· 2점: 시든 정도가 심하여 양상치 고유의 조직감이 상실된 상태
· 1점: 아주 심하게 시든 상태.

(3) 조직감 (firmness, texture)
· 5점: 수확 직후의 상태-단단하고 씹을 때 아삭아삭한 상태
· 4점: 수확 직후에 비해 약간 조직감이 저하되었으나 그런대로 초기 상태와 비슷한 상태
· 3점: 조직감이 저하되어 초기 상태와는 차이가 나지만 그런대로 식용이 가능한 상태
· 2점: 물러져서 식용에 적당하지 않은 상태
· 1점: 아주 심하게 물러진 상태.

(4) 부패 (decay)
· 5점: 수확 직후의 상태-부패 흔적이 전혀 없는 상태
· 4점: 부패 흔적이 한 두군데 나타나기 시작한 상태
· 3점: 부패 흔적이 5~6군데 나타나 상품 가치를 잃기 시작한 상태로 다듬으면 식용이 가능한 상태
· 2점: 부패가 어느 정도 진행되어 점질물이 많으며 식용은 곤란한 상태
· 1점: 부패가 극심한 상태-부패가 50% 이상 진행되어 전체적으로 부패한 상태.

(5) 종합적 평가 (overall acceptability)
· 5점: 수확 직후의 신선한 상태
· 4점: 위의 1~4항목 중 품질저하 요인이 1~2개 이상 나타나기 시작한 상태
· 3점: 신선도는 조금 떨어지나 식용은 가능한 상태
· 2점: 신선도가 많이 저하되어 식용이 불가능하고 상품성도 없음
· 1점: 신선도가 매우 저하되어 폐기 직전의 상태

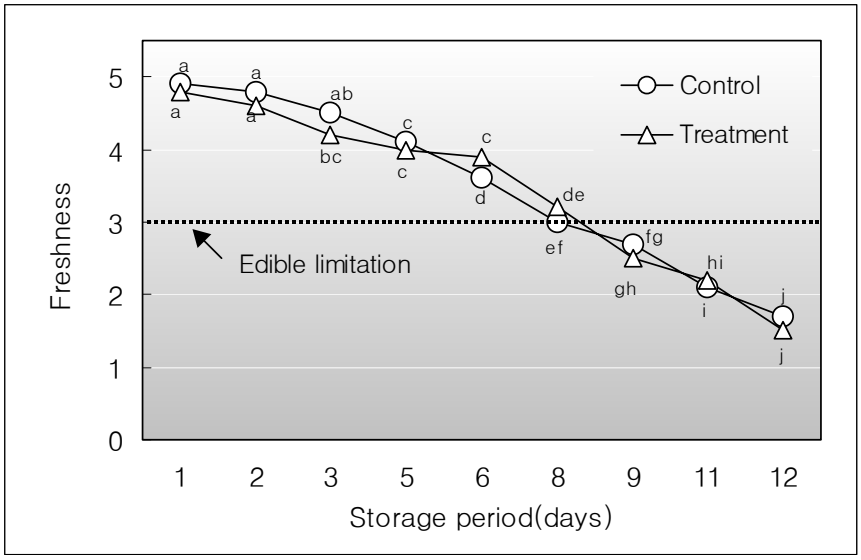
마. 통 계 처 리

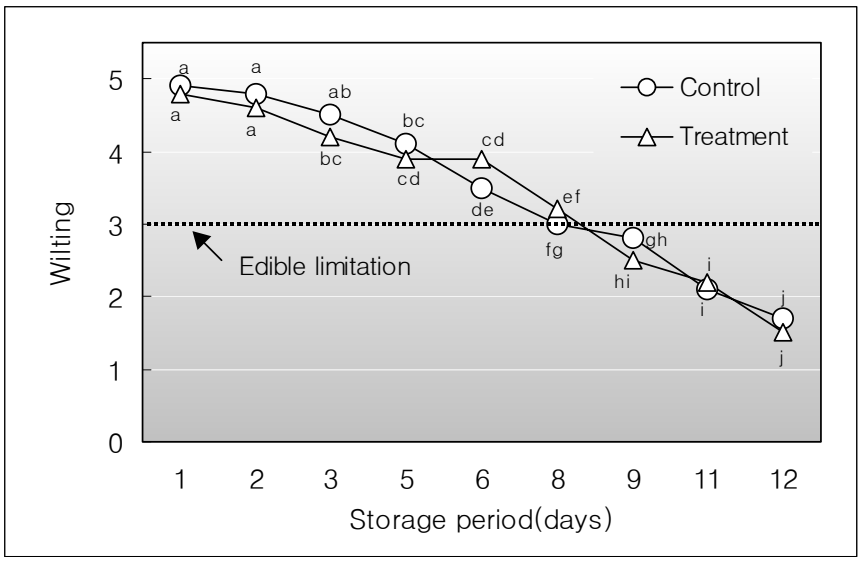
통계처리는 SAS 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan's multiplem test법을 이용하여 각 평균값에 대한 유의차를 조사하였다. 유의수준은 5% 이내로 하였으며, 각 실험치의 평균값과 표준오차(Standard errors of the mean)로 나타내었다.

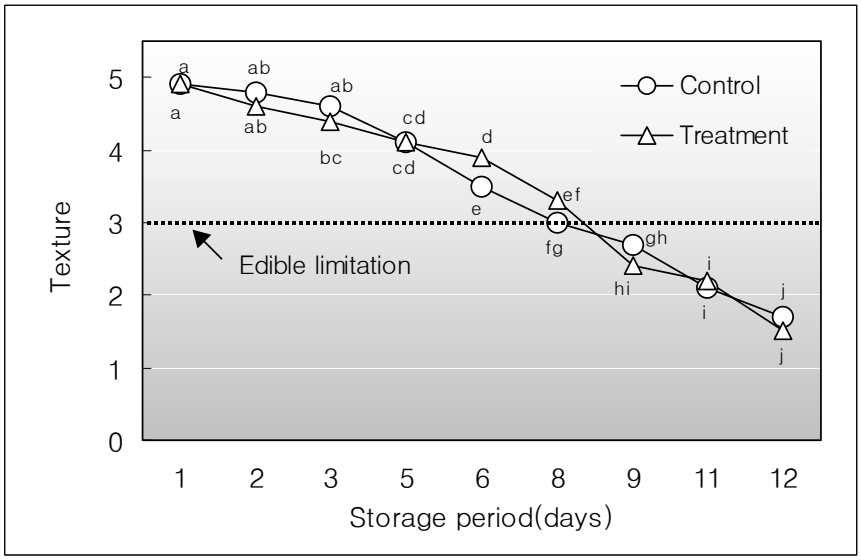
비트, 신선초, 민들레, 청코스, 롤로로사, 로메인, 꽃케일, 적꽃케일 등 9종의 채소를 품목별로 각각 구분하여 MPR 처리하고 Table 58의 항산화샐러드 배합기준에 의거하여 polyethylene terephthalate(PET) 포장재에 160g씩 각각 포장한 후 포장된 MPR 채소 샐러드를 10℃에서 12일동안 저장하면서 신선도, 시듦, 조직감, 부패도 및 종합적 기호도 등 관능적 특성을 평가한 결과는 Fig. 54와 같다.

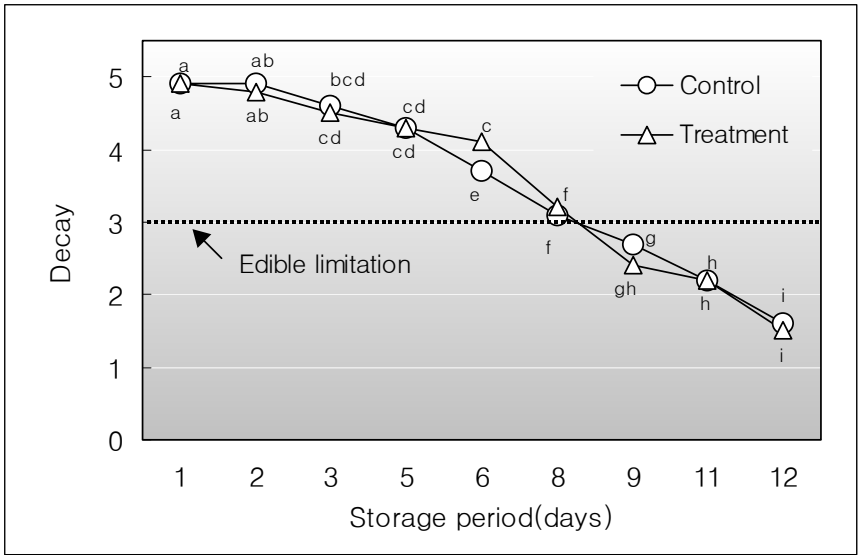
저장기간에 따른 MPR 채소 샐러드의 관능적 품질은 저장기간이 경과함에 따라 점차 낮아지는 경향을 나타냈는데, 저장 2일까지 대체적으로 수확 직후의 신선한 상태를 유지하였고, 저장 3일 이후 채소의 관능적 품질이 전차 낮아져서, 저장 9일 이후에는 식용이 불가능한 것으로 조사되었다. 따라서, MPR 채소 샐러드는 저장 8일까지 식용이 가능하며 MPR 채소샐러드는 유통기한은 8일로 확인되었다.

한편, 채소샐러드의 유통기한 연장을 위한 MPR 처리의 효과를 확인하기 위하여 물로 처리한 대조구와 관능적 품질을 비교하였다. 그 결과 대조구의 경우도 저장 8일까지 식용이 가능한 것으로 평가되어 MPR 처리에 의한 채소샐러드의 유통기한 연장효과는 나타나지 않았다. 또한, 저장 기간별 채소 샐러드의 관능적 품질도 통계적인 유의성은 없었으나($p<0.05$) 저장 5일까지는 물로 처리한 대조구의 관능적 품질보다 MPR 채소샐러드의 관능적 품질이 처리 오히려 낮은 결과를 보였다. 그러나, 저장 6일의 경우에는 MPR 채소샐러드 관능적 품질이 대조구보다 우수한 것으로 평가되었고, 저장 8일차 MPR 처리 샐러드의 관능적 품질은 저장 6일차 대조구와 관능적 품질에서 차이가 없었다($p<0.05$). 따라서, MPR 처리는 저장 5일 이후에 채소샐러드의 급격한 품질저하를 방지하여 관능적 품질 유지에 기여하며, 이는 MPR 처리에 의한 채소의 Polyphenoloxidase 등 품질저해효소의 활성 억제와 오염 미생물의 경감효과에 의한 영향으로 생각된다.




Wilting
Storage period(days)
Control
Treatment
Edible limitation
0
1
2
3
4
5
1
2
3
5
6
8
9
11
12
a
a
ab
bc
cd
ef
gh
i
j
a
a
bc
cd
de
fg
hi
i
j


Texture
Storage period(days)
Control
Treatment
Edible limitation
0
1
2
3
4
5
1
2
3
5
6
8
9
11
12
a
ab
ab
cd
d
ef
gh
i
j
a
ab
bc
cd
e
fg
hi
i
j



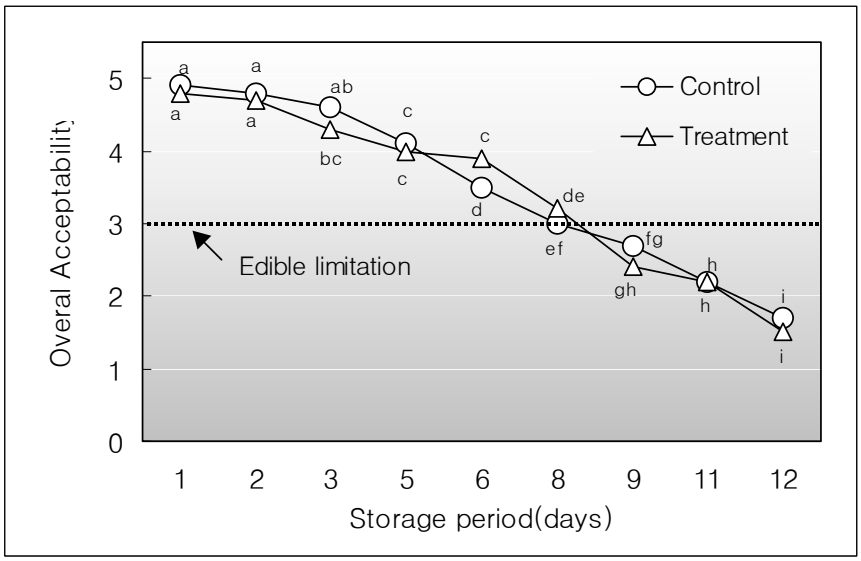


Fig. 54. 관능평가에 의한 MPR 채소샐러드의 저장성 변화(10℃ 저장)

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

가. 최종 목표

Minimally processed and refrigerated (MPR) 신선채소를 이용하여 성인병 예방 등 기능성 샐러드를 non-thermal processing 기술을 통하여 고품질화 편의 식품으로 제조하여 신선채소 재배 농민의 소득 증대를 도모한다.

나. 당해 단계목표 및 달성도

구분	세부연구목표	주요 연구개발 실적	가중치 (%)	연구목표 달성도 (%)	비고
1차 년도 (2003)	성인병 예방을 위한 신선 편의 한국형 채소 샐러드의 개발 및 기능성 분석	성인병 등 질병 유발에 일차적으로 기여하는 생체 내 산화 방지를 위한 항산화물질 다량 함유 샐러드 채소류를 선정 및 혼합하기 위하여 샐러드 제조용 채소의 특성에 따른 가공 조건 설정하고, 제조된 샐러드의 노화억제 관련 항산화성(DPPH법,TBA법) 및 LDL 산화 방지효과를 분석하였다. 또한 샐러드의 맛, 조직감, 신선도, 기호도 등 관능적 특성을 분석하여 기능성 샐러드를 제조하였다. 제조된 샐러드 채소 조합 중 항산화 효과(DPPH 라디칼 소거능과 지질과산화억제력)가 우수한 CA25군(비트+신선초+적상추+민들래+청코스+롤랄로사+로메인+꽃케일+적꽃케일)을 선정 하였고 또한 LDL 항산화능이 우수한 비트, 신선초, 민들레, 적상추가 포함된 조합인 CL13을 최종적으로 항동맥경화 기능성 샐러드로 확정하였다.	15	100	
	개발된 예방을 위한 신선 편의 한국형 채소 샐러드의 기능성 분석 (1차년도 연차실적 평가시 지적된 사항의 추가실험 결과)	제조된 항산화, 항동맥경화 샐러드의 기능성을 평가하기 위해 ICR, C57BL/6J mice(동맥경화 유발식이투여)를 이용한 동물실험(식이섭취량, 체중 증가량, 분변량, 장기무게, 지방무게, 생화학 성분분석, 항산화효소활성도, DNA 손상도 등)을 통해 샐러드 CA25 및 CL13의 기능성을 확인하였다. 즉, 항산화 기능성샐러드, 항동맥경화 샐러드는 각각 동물실험에서 체중저하, 체내 지방조직감소, 항산화효소활성의 증대, 지질과산화 억제,DNA 손상보호 등의 효과가 있었고, 항동맥경화 샐러드인 경우에도 항산화효과는 물론 총콜레스테롤 저하 및 동맥경화지수의 감소 등의 효과가 있었다.	20	100	

구분	세부연구목표	주요 연구개발 실적	가중치 (%)	연구목표 달성도 (%)	비고
1차 년도 (2003)	채소의 생물학적 위해인자 제거 위한 on-thermal processing 조건 확립	선정된 채소에 생육하는 미생물의 총균수 및 병원성 식중독 미생물 을 검출하였고, citric acid, Ozone, Chlorine dioxide 등의 처리를 통한 MPR 신선채소의 non-thermal processing에 의한 가공·유통 시 미생물학적 안전성을 확립하였다. 또한, 생육 미생물의 사멸율과 D value 등의 측정을 통한 non-thermal processing에 의한 microbial analysis으로 생육 미생물의 사멸율, D value 등을 측정하여 측정된 미생물 변화에 의거한 non-thermal processing 조건을 확립하였다. Water washing은 저장 24 h 동안 초기 균수에서 많은 증가폭을 보이지만 chemical treatment는 소폭의 증가를 보이면서 화학적 처리가 샐러드의 미생물 사멸뿐만 아니라 저장초기 미생물의 생육 또한 저해하는 것으로 나타났다. 덧붙여 chemical treatment의 생육 미생물수가 저장 중 water washing의 초기 균수만큼 증가하는데 2-3일내지 그 이상 걸리는 것으로 관찰되어서 본 연구에서 사용된 화학적 처리 방법은 MPR 샐러드의 미생물학적 안전성을 보장할 수 있다고 생각된다.	35	100	
	MPR 신선채소의 품질 유지를 위한 효소 활성 측정 및 영양소 평가	Non-thermal processing에 의해 처리한 샐러드의 효소 활성을 측정하고 또한 저장조건과 기간에 따른 효소 (Polygalacturonase, Polyphenol oxidase)의 활성을 측정하였고, 제조된 샐러드의 총열량, 수분, 지방, 단백질, 식이섬유, Na 함량, Vitamin C 함량을 측정하였다. 또한, Non-thermal processing에 의한 신선편의 샐러드의 효소 활성 저해 효과를 측정하였고, 처리 유무에 따른 효소 활성 측정하여 샐러드 종류별 맛, 조직감, 신선도, 기호도 등의 관능적 특성과 영양가를 분석하였다.	30	100	

구분	세부연구목표	주요 연구개발 실적	가중치 (%)	연구목표 달성도 (%)	비고
2차 년도 (2004)	제조된 샐러드의 저장 중 관능적 특성 평가 및 샐러드 드레싱의 개발	제조된 샐러드의 저장 중 맛, 신선도, 조직감 등 관능적 특성 분석하였고, 제조된 기능성 샐러드에 곁들이는 기능성 샐러드 드레싱을 개발하였다. 샐러드 드레싱의 맛, 색상, 점도, 기호도 등 관능적 특성을 분석하고 제조된 샐러드 드레싱의 항산화성(DPPH법, LDL 산화 방지)을 in vitro 실험을 통해 분석하였다. 기능성평가를 위해 ICR mice를 이용한 동물실험(식이섭취량, 체중 증가량, 식이섬유 및 분변량, 장기무게, 부위별 지방무게, 생화학 성분 분석, 효소활성, DNA 손상도 등)을 통해 제조된 샐러드 드레싱의 산화적 손상에 의한 DNA 보호효과 및 지질 과산화 억제 효과를 확인하였다.	35	100	
	신선채소 편의가공 식품의 유통기간 증대를 위한 포장재 선정 및 유통 기한 설정	가용성 고형물 함량, 중량 감모율, 산도, pH, 색도 등의 측정을 통해 샐러드의 저장성을 연구하였고, 샐러드 유통을 위한 포장재의 작업성, 인쇄성, 기체투과성 등을 고려한 신선 채소를 위한 최적의 포장재 및 용기를 검토 및 선정하였다. 확립된 non-thermal processing 조건과 포장 기술에 의한 저장조건 확립으로 미생물학적 안전성 및 품질 평가를 통한 유통기한을 설정하였고, 개발된 샐러드의 현장실험을 통한 검증을 실시하였다. Chemical treatment는 샐러드의 품질에 가장 영향을 주는 수분함량 및 보수성에 거의 영향이 없는 것으로 관찰되었다. 하지만 산가 및 pH에는 많은 영향이 있었고 이것은 chemical treatment의 최종 처리가 citric acid를 이용하였기 때문으로 판단된다. 하지만 이러한 산가의 증가는 맛에는 영향을 미치지 않았으며 화학적 처리 후 남아 있는 미생물의 생육을 저해하는데 효과가 있었다. 관능평가 및 제품의 물성 측정결과 최종 제품의 가식 기간은 3일 정도로 판단되며 상품성은 2일 까지 유지가 되는 것으로 판단된다.	35	100	

구분	세부연구목표	주요 연구개발 실적	가중치 (%)	연구목표 달성도 (%)	비고
2차 년도 (2004)	제조된 샐러드 드레싱의 영양소 분석 및 관능 분석을 통한 유통기한 설정	제조된 샐러드 드레싱의 총열량, 수분함량, 지방, 단백질 등의 영양소를 분석하고, 신선도, 시듦, 조직감, 부패 등의 관능 평가를 통해 제조된 샐러드의 유통 기한을 설정하였다. 저장기간에 따른 MPR 채소 샐러드의 관능적 품질은 저장기간이 경과함에 따라 점차 낮아지는 경향을 나타냈는데, 저장 2일까지 대체적으로 수확 직후 상태를 유지하였고, 저장 3일 이후 관능적 품질이 낮아졌으며. 저장 9일 이후에는 식용이 불가능한 것으로 조사되었다. 따라서, MPR 채소 샐러드는 저장 8일까지 식용이 가능하며 MPR 채소샐러드는 유통기한은 8일로 확인되었다. 채소샐러드의 유통기한 연장을 위한 MPR 처리의 효과를 확인하기 위하여 물로 처리한 대조구와 관능적 품질을 비교한 결과 대조구의 경우도 저장 8일까지 식용이 가능한 것으로 평가되어 MPR 처리에 의한 채소샐러드의 유통기한 연장효과는 나타나지 않았다. 또한, 저장기간별 채소 샐러드의 관능적 품질도 통계적인 유의성은 없었으나($p<0.05$) 저장 5일까지는 물로 처리한 대조구의 관능적 품질 보다 MPR 채소샐러드의 관능적 품질이 처리 오히려 낮은 결과를 보였다. 그러나, 저장 6일의 경우에는 MPR 채소샐러드 관능적 품질이 대조구보다 우수한 것으로 평가되었고, 저장 8일차 MPR 처리 샐러드의 관능적 품질은 저장6일차 대조구와 관능적 품질에서 차이가 없었다($p<0.05$). 따라서, MPR 처리는 저장 5일 이후의 채소샐러드의 급격한 품질저하를 방지하여 관능적 품질 유지에 기여하며, MPR 처리에 의한 채소의 Polyphenoloxidase 등 품질저해효소의 활성 억제와 오염 미생물의 경감효과가 영향을 미친 것으로 생각된다.	30	100	
		ARPC 연구 성과 전시회에 본 연구에서 개발한 기능성 샐러드 및 기능성 드레싱을 출품하여 전시 및 설명회에 참석하여 기대 이상의 참석자들의 반응을 확인하였다. **(2005년 7월7일 AT센터)**			
총계			100	100	

다. 관련 분야에의 기여도

- 본 연구를 통해 확립된 신기술 식품 가공 공법을 기타 식품 공정에 응용, 고품질 식품 생산에 기여
- 서구 식생활화에 따른 부작용으로 인해 점차 비만, 당뇨, 고혈압 등 성인병의 문제가 점차 심각해질 전망이나 신선편의기능성 샐러드 섭취로 건강 증진에 기여
- 국내에서도 점차 이러한 식품 소비 추세로 변화될 전망됨에 따라 안전한 채소와 과일을 이용한 샐러드의 수요가 급증될 전망이므로 채소재배농민의 수입증대
- 건강에 대한 관심이 높아져 채소를 이용한 성인병 예방 기능성 샐러드 등 천연 식품의 소비가 증가할 것으로 예상되므로 고부가차화한 샐러드채소의 소비증대로 인한 농민의 소득증대
- MPR 기술의 적용 및 확대로 대부분의 채소, 과일의 저장 및 유통 기간 증대 따른 농민 소득 향상 기대
- Non-thermal processing 기술지도로 MPR샐러드의 일반화 및 대중화에 기여
- 따라서 본 연구의 수행은 국내 신선 채소와 과일의 소비 증대에 상당한 도움을 줄 것으로 기대

-산업체에서 필요로 하는 전문 고급인력의 양성 및 배출

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 유기농 채소 재배농장의 참여로 본 연구 기술의 적용에 대한 model 시스템 구축 및 실제 적용이 가능
- 유기농 농민들에 있어 채소 및 과일의 저장 유통 중의 현실적 문제점을 해결함으로써 실질적 소득 증대 예상
- 샐러드의 가공뿐만 아니라 일반적인 신선 채소의 저장 유통 조건을 확립함으로서 농산물의 안정적 공급 기대
- 벤처기업이나 농어민 연합회 등에 minimal processing 기술을 이전하여 다양한 상품의 생산 가능
- Minimal processed 식품의 보급으로 식품 유통의 선진화 가능
- Non-thermal processing 기술로 신선 채소의 식품 안전성 확보
- 각종 기능성 샐러드 제조를 통한 신선 채소 및 과일의 기능성 평가로 채소의 고부가가치화로 인한 재배 농민의 소득 증대 가능
- 건강에 대한 관심이 높아져 채소를 이용한 성인병 예방 기능성 샐러드 등 천연식품의 소비가 증가할 것으로 예상되므로 샐러드채소의 고부가치화로 인한 농민의 소득증대
- 된장 등 전통음식을 접목시켜 한국인의 기호에 맞는 저칼로리 샐러드드레싱 개발로 전통 음식의 세계화 및 홍보에 활용
- 선진국의 경우, 미국 소매점에서 판매되는 모든 제품의 25% 가량이 신선 편의식품이므로 향후 fast food restaurant에서 diet용 샐러드제품 판매 호황 가능
- 신선 채소에 대한 미생물학적 위해 인자 연구를 통해 병원성 세균 및 식중독의 예방책이 마련 가능
- 소비자 기호의 변화에 따라 신선 채소의 소비 증가는 계속될 것으로 예상되며, 이러한 non-thermal processing 기술은 신선 채소의 품질 유지에 지대한 영향을 미칠 것으로 사료

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 야채와 채소의 유통기간을 늘리기 위한 일반적인 전처리 방법인 blanching 등 thermal processing은 향미, texture, 영양성분의 손실 초래하기 때문에 이에 따른 대안으로 선진국 중심으로 non-thermal processing 기술 개발이 진행되고 있으며, 이에 따른 개발로 채소와 과일의 향미와 영양성분 손실 최소화가능
- 미국 등 선진국에서 현재 non-thermal processing 기술을 개발하여 산업계에 적용하고 있으며 샐러드를 가공하여 packing한 individual instant 샐러드 제품이 유명 fast food restaurant 및 supermarket을 중심으로 소비 증가 추세
- 선진국의 식당 및 편의 식품점에서 샐러드 등 minimal processed and refrigerated (MPR) 채소 가공 식품 소비의 개연성 증가
- 채소 및 과일 가공품의 미생물학적 위해 인자 제거 및 향미, 물성, 변색 등을 방지하기 위한 non-thermal processing technology로서 감마선 등을 이용한 물리적 방법과, 미생물의 생육을 저해하는 저해제를 이용하는 화학적 방법이 대두되고 있는 실정
- Chemical을 이용한 non-thermal processing은 minimal processing 과정과 연계 이용으로 그 생산 설비와 시간 소요 등을 최소화하고 있으며 미생물의 생육 억제와 품질에 영향을 미치는 효소의 저해 효과를 동시에 얻고 있음
- 물리적 가공 기술인 감마선은 투과력이 강하여 완전포장 식품에 사용가능하여 살균처리후 재포장에 따른 2차 오염을 방지할 수 있고 에너지 효율도 높일 수 있기 때문에 포장된 샐러드에 이용할 수 있어 산업적으로 응용 가능성이 높음
- 선진국에서는 이러한 non-thermal processing을 이용하여 신선 채소의 안전성과 저장성을 증대시킬 뿐 아니라 비만, 성인병 등으로 야기되는 사회, 경제적 문제점의 해소를 기대하고 있음.
- 식생활 패턴의 변화에 따른 육류 소비 증가와 더불어 영양 불균형 초래 및 비만과 당뇨, 고혈압 등 각종 성인병의 증가하고 있다. 이와 더불어 건강 지향성 식품의 소비 증가 추세로, 특히 최근 diet하는 젊은 여성 중심으로 신선 채소 편의 가공 식품의 소비 급증
- 육류섭취 따른 성인병 예방 위해 채식 열풍 등 채소 소비 확대 따른 채소의 안전한 공급 요망으로 위생적 가공 방법의 개발이 진행되고 있음
- 샐러드의 소비가 점차 늘어나고 있으나 짧은 유통기간 때문에 대량생산 및 유통에 많은 제한을 받아 기술 개발의 필요성이 대두되고 있음

제 7 장 참고문헌

1. Ahvenainen, R. and E. Hurme, 1994. Minimal processing of vegetables. p. 17-35. In: R. Ahvenainen, T. Mattila-Sandholm and T. Ohlsson(eds.). Minimal Processing of Foods (VTT Symposium Series No. 142) Technical Research Centre of Finland (VTT), Espoo, Finland
2. Brackett, R.E. 1994. Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. p. 269-312. In; R.C. Wiley (ed.). Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. Chapman & Hall, New York, USA
3. Cho, H., Yang, Y.H., Cho, Y.S., Chun, H.K., Song, K.B. and Kim, M.R. 2005. Development and quality characteristics of spirulina added salad dressing. J. East Asian Soc Dietary Life 15(3), 292-299
4. Chun, J.A. and Song, E.S. 1995. Sensory and physical properties of low-fat mayonnaise made with starch-based fat replacers. Korean J Food Sci Technol 27, 839-844
5. Day, B.P.F. and L.G.M. Gorris. 1993. Modified atmosphere packaging of fresh produce on the west-european market. ZFL-Int. Z. Lebensm.-Tech., Mark., Verpack. Anal. 44(1/2): 32-37
6. Huxsoll, C.C. and H.R. Bolin. 1989. Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. Food Technol. 43:124-128.
7. Kabir, H. 1994. Fresh-cut vegetables. p. 156-160. In: A.L. Brody (ed.). Modified Atmosphere Food Packaging. Institute of Packaging Professionals, Herdon, VA, USA.
8. Kader, A.A., D. Zagory and E.L. Kerbel. 1989. Modified atmosphere packaging of fruit and vegetables. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 28(1), 1-30.
9. Kader, A.A., 1992. Post-harvest Technology of Horticultural Crops. Univ. of California Pub. No. 3311
10. Kim, D. M., N.L. Smith and C.Y. Lee. 1993. Quality of minimally processed apple slice from selected cultivars, J Food Sci 58:1115-1117
11. Lee, K.J. (1993) Physical and chemical properties of garlic salad dressing. MS Thesis. Chungnam National University. Daejeon, Korea 5-10
12. Kim, M.R. and Lee, K.J. 1993. Physical-chemical properties of garlic salad dressing. Miwon Research Institute of Korean Food and Dietary Culture 6, 729-752

13. Lee, M.O. and Song, Y.S. 2003. Manufacture and Stability of Low Calorie Mayonnaise Using Gums. J Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32(1), 82-88
14. Marchetti, R., M.A. Casadei, and M.E. Guerzoni. 1992. Microbial population dynamics in ready-to-use vegetable salads. Ital. J. Food Sci. No. 2:97-108
15. Markholm, V. 1992. Intact Carrots and Minimally Processed Carrots - microflora and Shelf life. Rerentning No.S2190, Havebrugscentret Laboratoriet for Levnedsmiddelforskning, Arslev, Denmark.
16. Manzano, M., B. Citterrio, M. Maifreni, M. Paganessi and G. Comi. 1995. Nicrobial and sensory quality of vegetables for soup packaged in different atnostheres. J. Sci. Food Agric. 67: 521-529
17. Ohlsson, T. 1994. Minimal processing-preservation methods of the future: an overview. Tren. Food Sci. Technol. Nov.: 341-344
18. Powrie, W.D. and B.J. Skura. 1991. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. p. 169-245. In: B. Ooraikul and M.E. Stiles. (eds.). Modified Atmosphere Packaging of Food. Ellis Horwood, New York, USA.
19. Riquelme, F., M.T. Pretel, G. Martinez, M. Serrano, A. Amoros, and F. Romojaro. 1994. Packaging of fruits and vegetables: Recent results. p. 141-158. In: M. Mathlouthi(ed.). Food Packaging and Preservation. Blackie, London, GB.
20. Torriani, S. and S. Massa. 1994. Bacteriological survey on ready-to-use sliced carrots. Lebensm.-Wiss. Technol. 27: 487-490
21. Wiley, R.C. 1994. Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. Chapman & Hall, New York, US.
22. Yang HN, Lee EH, Kim HM 1997. Spirulina platensis inhibits anaphylatic reaction. *Lif Sci* 61: 1237-1244.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.