

한국식품영양학회지

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION

Vol. 36, No. 5, October 2023



한국식품영양학회

THE KOREAN SOCIETY OF FOOD AND NUTRITION

<http://ksfn.kr>

한국 식품 영양 학회지

The Korean Journal of Food and Nutrition

2023년도 학회 임원명단

고 문	민경찬(전 신한대학교) 김현오(전 장안대학교) 조미자(전 동남보건대학교) 김재근(전 계명문화대학교) 최부돌(전 신구대학교)	이성동(전 고려대학교) 김광호(전 창원문성대학교) 안창순(전 안산대학교) 안용근(전 충청대학교) 이영순(전 계명문화대학교)	오승희(전 포항대학교) 서정숙(전 을지대학교) 소명환(전 부천대학교) 조득문(전 동부산대학교) 이애랑(전 숭의여자대학교)
명 예 회 장	윤옥현(김천대학교) 장재선(가천대학교) 이성호(계명문화대학교)	최병범(신한대학교) 이광수(장안대학교)	장상문(대구보건대학교) 최향숙(경인여자대학교)
회 장	이수정(부천대학교)		
차 기 회 장	김미옥(대구보건대학교)		
총 팔 부 회 장	김범식(연성대학교)		
부 회 장	김옥선(장안대학교) 김종희(서일대학교)	류혜숙(상지대학교) 권종숙(신구대학교)	강연중(CJ프레시웨이) 홍승희(신한대학교)
감 사	이재우(김천대학교)	이경행(한국교통대학교)	
총 무 이 사	최은영(부천대학교)		
학 술 이 사	정혜연(숭의여자대학교)	김미자(강원대학교)	최현숙(충청대학교)
편 집 이 사	이호진(한국교통대학교) 이연리(대전보건대학교)	백진경(을지대학교)	권수연(신구대학교)
재 무 이 사	이윤희(부천시어린이급식관리지원센터)		
사 업 이 사	노재필(신구대학교)		
홍 보 이 사	강현주(부천대학교)		
지 부 장	서울 · 강원지부 최남순(배화여자대학교) 대전 · 충청지부 이진미(백석대학교) 부산 · 경남지부 박우포(마산대학교)	경기 · 제주지부 손춘영(동남보건대학교) 대구 · 경북지부 황보미향(계명문화대학교) 광주 · 호남지부 송희순(광주보건대학교)	

편 집 위 원 회

편 집 위 원 장	이석원(유한대학교)	백진경(을지대학교)	이연리(대전보건대학교)
편 집 위 원	이호진(한국교통대학교) 권수연(신구대학교) 김옥선(장안대학교) 한규상(호남대학교) 김현주(대전보건대학교) 김현정(제주대학교)	심기현(숙명여자대학교) 오윤신(을지대학교) 김영모(목포과학대학교) 연지영(서원대학교) 한규호(Obihiro Univ.)	문민선(이룸) 김기대(경남대학교) 용해인(충남대학교) 이세호(충양타프라)

윤 리 위 원 회

윤 리 위 원 장	이수정(부천대학교)		
부 위 원 장	이호진(한국교통대학교)		
윤 리 위 원	김옥선(장안대학교) 김영모(목포과학대학교)	배운정(한국교통대학교) 문민선(이룸)	심기현(숙명여자대학교)

Editor: Ho Jin Lee Ph. D.
61 Daehak-ro, Jeungpyeong-gun, Chungbuk, 27909, Republic of Korea
Tel: +82-43-820-5338 Fax: +82-43-820-5850, E-mail: hojin@ut.ac.kr

학회지 구독이나 회원관리 및 회비관련 문의: 010-2515-1571, E-mail: ksfan88@hanmail.net
논문투고관련 문의: 010-4907-3711, E-mail: foodnutr1@naver.com
주소: 부천시 신흥로 56번길 25, 부천대학교 식품영양학과 내((우)14632)
전화: 032-610-3445,3442 팩스: 032-610-3205

Copyright ©2023 by The Korean Society of Food and Nutrition
This work was supported by the Korean Federation of Science and Technology Societies(KOFST) grant funded by the Korean government.

본 사업은 기획재정부의 복권기금 및 과학기술정보통신부의 과학기술진흥기금으로 추진되어 사회적 가치 실현과 국가 과학기술 발전에 기여합니다.

한국식품영양학회지

제 36권 5호 2023년 10월

목 차

<연구논문>

- 341 찹녹미 첨가 발효음료 품질 특성 조민정 · 정희선
- 354 중쇄지방산을 활용한 글리세린 지방산 에스테르의 화학 합성 및 항균 활성 이경행 · 이은현
- 360 전통 누룩을 이용한 발효황기의 성분 변화 강민혜 · 이은숙 · 지윤정 · 김형돈 · 김금숙 · 최수지 · 장귀영
- 368 *In Vitro* Digestion Model을 활용한 두류 소화 단계별 영양성분 변화 분석
..... 이다빈 · 장경아 · 황인선 · 강민숙 · 서미경 · 김행란 · 유선미
- 379 앞들개 유전자원의 기능성분 및 항산화 활성
..... 안연주 · 김정인 · 김상우 · 김성엽 · 오은영 · 이정은 · 이은수 · 유은애 · 성정숙 · 이명희 · 김춘송 · 김민영
- 387 Development and Quality Assessment of Healthy Bread using Korean Pine Leaf Powder
..... Eunbin Park, Soo In Ryu and Jean Kyung Paik
- 395 옥수수 부산물의 항산화 활성 및 잎과 줄기의 생육시기별 Phytosterol 함량 변화 이미자 · 김현영 · 송승엽 · 서우덕
- 403 복령과 황태껍질 발효물 혼합물의 고지방식이 유도 비만 동물모델에서의 항비만효과 김미자 · 강순아
- 415 *Rhizopus oligosporus* 발효에 따른 국산 콩의 아미노산, 피틴산 및 트립신 저해제 함량
..... 박혜영 · 송하나 · 김현주 · 서민정 · 최혜선 · 박지영 · 심은영 · 김홍식
- 425 ■ 학회소식
- 427 ■ 저자 체크표
- 428 ■ 저작권 이전 동의서
- 429 ■ 연구윤리서약서
- 430 ■ 한국식품영양학회 회칙
- 436 ■ 한국식품영양학회 연구윤리 규정
- 445 ■ 한국식품영양학회 논문 투고 규정

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION

Vol. 36, No. 5, October 2023

CONTENTS

<Original Articles>

- 341 Quality Characteristics of Fermented Rice Beverage Prepared with Green Glutinous Rice
..... Min Jeong Cho and Hee Sun Jeong
- 354 Chemical Synthesis and Antibacterial Activity of Glycerine Fatty Acid Esters Using Medium-Chain Fatty Acid
..... Kyung-Haeng Lee and Eun-Hyun Lee
- 360 Changes in the Components of *Astragalus membranaceus* Fermented by Korean Traditional *Nuruk*
..... Min Hye Kang, Eun Suk Lee, Yun-jeong Jee, Hyung Don Kim,
Geum Soog Kim, Su Ji Choi and Gwi Yeong Jang
- 368 Analysis of Nutrient Content by Digestion Phase of Legumes using an *In Vitro* Digestion Model
..... Da Bin Lee, Kyeong A Jang, In Seon Hwang, Min Sook Kang,
Mi-Kyung Seo, Haeng Ran Kim and Seon Mi Yoo
- 379 Functional Components and Antioxidant Activities of Perilla Leaf Genetic Resource
..... Yeon Ju An, Jung In Kim, Sang Woo Kim, Sungup Kim, Eunyoung Oh, Jeongeun Lee, Eunsoo Lee,
Eunae Yoo, Jung-Sook Sung, Myoung Hee Lee, Choon-Song Kim and Min Young Kim
- 387 Development and Quality Assessment of Healthy Bread using Korean Pine Leaf Powder
..... Eunbin Park, Soo In Ryu and Jean Kyung Paik
- 395 Antioxidant Activity of Corn (*Zea mays* L.) By-Products and Changes in Phytosterol Content according to the Growth Period of
Leaves and Stems Mi Ja Lee, Hyun Young Kim, Seung-Yeob Song and Woo Duck Seo
- 403 Anti-Obesity Effect of Fermented Pollack Skin and *Wolfiporia extensa* Ginns in High Fat-induced Obesity Animal Model
..... Mi Ja Kim and Soon Ah Kang
- 415 Amino Acid, Phytic Acid, and Trypsin Inhibitor Contents of Korean Soybeans Before and After Fermentation by
Rhizopus oligosporus
..... Hye-Young Park, Hana Song, Hyun-Joo Kim, Min-Jung Seo, Hye Sun Choi,
Jiyoung Park, Eun-Yeong Sim and Hong-Sik Kim
- 425 ■ News of the Korean Society of Food and Nutrition
- 427 ■ Checklist for Original Article
- 428 ■ Copyright Transfer and Statement of Originality Korean Journal of Food and Nutrition
- 429 ■ Declaration of Ethical Conduct in Research
- 430 ■ The Rules of the Korean Society of Food and Nutrition
- 436 ■ Research Ethics Rules of the Korean Society of Food and Nutrition
- 445 ■ Guidelines for Submitting Manuscripts

찰녹미 첨가 발효음료 품질 특성

조민정 · 정희선*

숙명여자대학교 문화예술대학원 전통식생활문화전공 석사졸업
*숙명여자대학교 문화예술대학원 전통식생활문화전공 부교수

Quality Characteristics of Fermented Rice Beverage Prepared with Green Glutinous Rice

Min Jeong Cho and †Hee Sun Jeong*

Master Student, Major in Traditional Culinary Culture, Graduate School of Arts, Sookmyung Woman's University, Seoul 04310, Korea

*Associate Professor, Major in Traditional Culinary Culture, Graduate School of Arts, Sookmyung Woman's University, Seoul 04310, Korea

Abstract

In this study, we aimed to develop a fermented green rice beverage with a unique flavor and physiological function activity. With glutinous green rice and rice *nuruk* as independent variables, we modeled the antioxidant characteristics and α -glucosidase, α -amylase inhibitory activity of glutinous green rice fermented beverage to verify its significance. The total flavonoid content and α -glucosidase inhibitory activity were selected as Quadratic models, and DPPH radical scavenging ability and α -amylase inhibitory activity were selected as linear models. For the sensory characteristics of glutinous green rice fermented beverage, sweetness, sourness, savory taste, bitterness, throat feel, *nuruk* scent, and overall preference increased in preference as the amount of glutinous green rice and rice *nuruk* increased, but significantly decreased after the center point ($p < 0.01$). A blending ratio of 180.00 g of glutinous green rice and 400.00 g of rice *nuruk* had the highest preference among all the sensory items. Based on these results, we developed a green rice fermented beverage with unique flavor and physiological function activity of rice using glutinous green rice and rice *nuruk*, and the optimal blending ratio was determined to be 164.04 g of white rice, 195.96 g of glutinous green rice, and 414.61 g of rice *nuruk*.

Key words: glutinous green rice, fermented rice beverage, rice *nuruk*, physiological function activity, optimization

서론

소비성향의 다양화와 건강에 대한 높은 관심으로 현미, 향미, 빨간색, 노란색, 녹색을 가진 유색미와 같은 기능성 특수미의 섭취 이용량이 증가하여 재배면적이 확대되고 있다. 현재 우리나라에서 개발된 유색미는 20여 품종이며 현미, 흑미, 적미, 녹미 등이 가장 보편적으로 많이 사용되는 품종이다(Kim & Chun 2010; Choi YH 2021). 유색미(pigmented rice)는 백미에 비해 저장성이 강하고 현미 상태로 도정해 단백질, 미네랄, 식이섬유, 비타민, 무기질 함량이 높아 기능성 식품으로 이용 가치가 있는 것으로 알려져 있다(Ha 등 1999;

Lee & Jung 2002; Choi YH 2021). 녹미는 유색미의 일종으로 녹색을 띤 찰쌀로 일반 벼와는 달리 겉은 까맣고 속이 푸르른 우리나라 고유품종으로 청량미, 생동찰이라 불렀다. 유색미 중 향도 좋고 미네랄과 식이섬유, 필수 아미노산인 라이신 함량이 높으며 혈액순환에 도움 주는 클로로필이 함유되어 혈당조절에 도움이 되며 당뇨 예방 효과가 있다. 또 알칼리성으로 위장 기능을 회복시켜 주며, 피부미용과 빈혈 예방, 혈액 정화에 효과적이다(Seo 등 2007; Choi YH 2021). 녹미는 쌀과 함께 밥을 해도 흑미처럼 밥을 물들이지 않고 과피와 종피에 포함된 색소에 따라 맛과 성분에 차이가 있는데 녹미밥은 단맛이 나면서 쫄깃한 식감을 갖는 특징으로 다양

† Corresponding author: Hee Sun Jeong, Associate Professor, Major in Traditional Culinary Culture, Graduate School of Arts, Sookmyung Woman's University, Seoul 04310, Korea. Tel: +82-2-710-9853, Fax: +82-2-2077-7548, E-mail: sunnyj@sm.ac.kr

한 요리에 활용가능하다(Lee 등 2006).

녹미는 건강 식단을 선호함에 따라 흑미, 적미와 함께 혼반용으로 활용될 뿐 영양학적, 기능적 측면에서 백미보다 우수함에도 활용도가 낮다(Lee 등 2012). 삼백초와 등굴레를 이용한 한방 음료 개발(Seong SK 2008), 산수유를 이용한 기능성 음료 개발(Lee JN 2012), 쌀 입국을 이용한 잡곡 발효음료(Noh JM 2014), 유산균을 이용한 발효 수액음료 개발(Kim JW 2015), 미선나무잎 추출물 첨가 음료개발(Lee 등 2023a) 등 대부분 약재이거나 시중에서 구입이 쉽지 않은 재료를 활용한 식물성 발효음료 개발 연구가 이루어져 왔다. 쌀과 누룩을 이용한 알코올성 음료나 특정 미생물만을 분리하여 만드는 주정발효에 관한 연구가 대부분이며, 비알코올성 음료는 발효가 제한적으로 일어나 맛이 더 좋고 소화도 잘되며 기호에 따라 꿀과 설탕을 첨가하여 먹을 수 있어 건강에도 더 좋은 것으로 보고된 바 있다(Kim 등 1999). 발효에 있어 중요한 역할을 하는 누룩은 오랜 세월 동안 발효제로 사용되어 왔는데, 자연에 있는 곰팡이, 효모, 세균뿐만 아니라 잡균이 번식하여 누룩이 오염되면 발효 제품은 불쾌한 맛과 냄새가 생성되어 균일한 품질을 만들기 어렵다(Rha K 1989; So MH 1999). 따라서 안전한 발효와 균일한 품질을 유지하기 위해 현재는 증자한 곡류에 순수 배양한 누룩곰팡이를 인위적으로 접종하고 배양하는 입국 방법을 사용하고 있다(So MH 1991). 입국에는 주로 *Aspergillus* 속의 곰팡이를 사용하며 균종 색에 따라 백국, 황국, 흑국균으로 나누며 양조, 식초, 장류, 음청류 등의 산업에 많이 이용된다. 전통 누룩과 달리 효모가 존재하지 않아 알코올 발효가 일어나지 않고 당화력만 있어 음료 제조가 가능하다. 누룩 미생물을 이용한 잡곡 발효음료의 품질개선 및 실용화 연구(Noh JM 2014)에 의하면 전분 함량이 70~80%이고, 단백질 함량이 10% 미만인 곡류를 이용한 잡곡 발효음료 제조를 위해 균주 선택 시 전분 분해 활성이 첫 번째 고려대상이며, 그 중 단백질 분해 활성이 높은 균주 사용이 음료 제조에 유리한 것으로 나타났다. 상업용 균주 *Apergillus oryzae* CF1001, CF1003, KACC 46424, 46459, *Apergillus acidus* CF1005 중 균종별 잡곡 음료의 기호도 평가에서 향을 제외한 색, 맛, 전체 기호도에서 높은 점수를 받은 *Apergillus oryzae* CF1001을 찰녹미 전통 발효음료 개발에 활용하고자 하였다(Noh JM 2014).

식생활이 바뀌고 쌀의 수입 물량이 증가하면서 쌀 재고량은 많아지고, 소비량은 점차 감소하고 있는 실정에서 우리 쌀의 경쟁력을 높이기 위해서는 고급화, 특수미 등의 품종개발과 더불어 소비 증진을 위한 쌀 가공품 개발이 필요하다(Oh 등 2016). 녹미 찰현미는 일반 쌀과 섞거나 현미로만 밥을 지으면 차지고 고소한 맛이 있을 뿐만 아니라 연한 황녹색을 띠어 시식회 등에서 소비자들에게 호응도가 높은 것으로

나타났다(Lee 등 2006; Lee 등 2007). 항산화성 및 어린이 발육 성장에 좋은 라이신 및 트립토판 등의 필수아미노산과 색소 성분의 함량이 높아 국민의 고른 영양섭취 및 건강 증진에도 기여할 수 있는 웰빙쌀로 이용이 기대된다(Seo 등 2007). 영양학적·기능적인 측면에서 백미보다 훨씬 우수함에도 불구하고, 백미와 혼용하는 일종의 잡곡 형태로 이용되고 있을 뿐, 활용도가 낮은 찰녹미를 활용하여 쌀 발효음료 개발의 기초자료를 제공하고, 소비자의 기호도가 높은 건강 기능성 쌀 음료를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

쌀 발효음료를 개발하기 위해 찰녹미는 2020년산 녹원찰벼 품종으로 2021년 5월 8일 도정한 것을 지평선몰(jpmall.com, Korea)에서, 삼광미는 2020년 경주산으로 2021년 8월 2일 도정한 것을 G마켓(Gmarket.co.kr, Korea)에서 구입하였으며, 황국균(*A. Oryzae* CF1001)은 (주)충무발효(Ulsan, Korea)에서 구입하여 쌀 낱알 누룩과 찰녹미 발효음료 제조에 사용하였다.

2. 실험계획

찰녹미 발효음료의 실험 계획, data 분석 및 품질의 최적화 분석은 Design Expert 8(Stat-Easy Co., Minneapolis, MN, USA) 프로그램을 사용하였다. 품질 최적화는 response surface methodology(Reinheimer 등 2012) 중 중심합성계획법(central composite design)에 따라 설계하였다. 독립변수로는 찰녹미 발효음료의 품질특성 중 맛과 풍미에 가장 큰 영향을 주는 백미와 찰녹미의 비율(A)과 쌀누룩(B) 함량 두 가지를 요인으로 설정하였으며, 종속변수로는 음료의 향산화 특성(총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH free radical scavenge activity), 향당노 특성(α -glucosidase 저해 활성, α -amylase 저해 활성), 관능적 특성으로 단맛(sweetness), 신맛(sourness), 구수한 맛(delicate taste), 씹쓸한 맛(bitterness), 목 넘김(swallowing), 누룩 향(yeast flavor), 탁한 정도(turbidity), 그리고 전반적인 기호도(overall quality)로 설정하였다. 예비실험을 실시하여 찰녹미 발효음료에 가장 큰 영향을 주는 요인인 백미와 찰녹미의 배합 비율(A)과 쌀누룩(B)은 백미와 찰녹미의 비율 1:4-4:1(72 g:288 g-288 g:72 g), 쌀누룩 200-600 g으로 설정하였다. 중심합성계획법의 실험점은 center point(0.00)와 $\pm a$ 점(axial point), ± 1 level점(factorial point)으로 이루어지고, 실험점 사이에는 모델 설정 및 적합 결여 검증을 위해 2개의 반복점을 포함하여 총 10개의 실험점이 설정되었다(Table 1).

Table 1. Experimental design for fermented beverages of glutinous green rice with rice *nuruk*

Sample No.	Variable levels			Water (mL)
	Rice (g)	Glutinous green rice (g)	Rice <i>nuruk</i> (g)	
1	288	72	200	2,500
2	72	288	200	
3	288	72	600	
4	72	288	600	
5	288	72	400	
6	72	288	400	
7	180	180	200	
8	180	180	600	
9	180	180	400	
10	180	180	400	

3. 찰녹미 발효음료 제조

문헌조사(「산가요록(山家要錄)」 감주 만들기, 1449년)를 통해 찰녹미 발효음료의 표준 배합 비율과 제조조건을 설정하였다. 주재료인 쌀누룩은 세척 후 생수에 4시간 침지, 1시간 동안 체에 밭쳐 물기를 제거하고, 50분간 쌀을 증자하고 40℃로 냉각한 후, 황국균(*A. Oryzae* CF1001)을 접종(쌀 1 kg 당 황국균 5 g)하여 발효기(MSX-56 fermenter China, 35℃, 48시간)에 발효시켜 제조하였다. 백미와 찰녹미는 1:4-4:1 비율에 따라 혼합하여 360 g의 쌀을 세척 후 30분 동안 침지, 물기를 제거 후 정수물 500 mL 첨가해 밥솥(Nutrase Oil Core Electric Skillet, USA, R2 course)에서 밥을 짓고, 밥이 완성되면 물 2,000 mL를 넣어 밥 온도를 50℃로 식힌 후, 제조한 쌀누룩 400 g을 넣고 잘 저어주었다. 발효기(Nutrase Oil Core Electric Skillet, USA)에서 50℃, 8시간 동안 발효시킨 후 푸드믹서(Termomix, Vorwerk, Germany) 7단계, 1분 동안 분쇄하여 찰녹미 발효음료를 제조한 후 실험에 사용하였다. 항산화 특성을 측정하기 위한 시료는 발효음료를 골고루 섞은 후 Whatman 필터(No.2, Whatman International, Maidstone, UK)로 여과하여 여액을 8,000 rpm으로 원심분리(VS30000mt, Vision, Korea)하여 상등액을 취한 후 여과지 재여과하여 시료로 사용하였다.

4. 찰녹미의 일반성분 및 엽록소 분석

일반성분은 식품공전(MFDS 2021)의 방법을 참고하여 분석하였다. 수분 함량은 105℃에서 상압가열건조법으로, 조단백질 함량은 Kjeltac System(Kjeltac Auto 2400/2460, Foss Tecator AB, Hoganas, Sweden)를 사용하여 Kjeldahl 분해법으

로, 조지방 함량은 조지방 추출기(Soxhlet Avanti 2050, FOSS Co., Hillerod, Denmark)를 사용하여 Soxhlet 추출법으로, 조회분 함량은 550-600℃의 전기회화로(LEF-105S, Daihan LabTech, Namyangju, Korea)를 사용하여 직접 회화법으로 분석하였다. 탄수화물 함량은 식품의 전체 중량(100 g)에서 수분, 조단백질, 조지방, 조회분 등의 함량을 감산하여 산출하였다.

찰녹미의 총 엽록소 함량도 2021년 식품공전에 따라 시료 1 g을 85% 아세톤 용액 50 mL에 담아 24시간 엽록소를 충분히 추출하고, 여과 후 아세톤을 가하여 200 mL로 정량 후, 이중 20 mL와 에테르 50 mL 및 5% 황산나트륨 50 mL를 가하여 진탕 후, 물층 제거 과정을 2회 반복 후 5% 황산나트륨 50 mL로 3회 세척하여 분광분석기(CARY 60UV/VIS, Agilent Co., USA)로 750, 665, 645, 630, 480 nm에서 흡광도를 분석하였다.

5. 찰녹미 발효음료의 항산화 특성

찰녹미 발효음료의 총 페놀 함량(total phenolic content)은 Folin-Ciocalteu법을 응용한 Yu 등(2002)의 방법으로 측정하였다. 각 시료액 200 μ L에 증류수 2,000 μ L와 2 N Folin-Ciocalteu 용액 400 μ L를 넣어 교반한 뒤 3분간 반응시켰다. 이 혼합액에 1 N sodium carbonate(Na_2CO_3) 800 μ L를 가하여 1시간 동안 암소에 방치한 후 분광광도계(V-530, Jasco, Tokyo, Japan)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 곡선은 gallic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA)를 표준물질로 농도별 검량곡선을 작성, 3회 반복하여 측정하고, mg gallic acid equivalents(GAE mg/g extract)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량(total flavonoid content) 측정은 Zhishen 등(1999)의 방법을 사용하여 측정하였다. 시료액 25 μ L에 증류수 100 μ L를 가하고 5% NaNO_2 첨가한 다음 3분 방치 후 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 용액 15 μ L 6분간 반응, 1 M NaOH 50 μ L를 첨가해 10분간 상온에서 반응시킨 다음 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분광분석기(CARY 60UV/VIS, Agilent Co., USA)를 사용해 Rutin을 표준물질로 사용하여 표준곡선을 작성한 후, mg rutin equivalents(RE mg/g extract)로 플라보노이드 함량을 나타냈다. 실험은 3회 반복하여 평균값과 표준편차로 나타내었다.

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) free radical에 대한 소거 효과는 Brand-Williams W 등(1995)의 방법을 응용해 측정하였다. 시료 990 μ L에 DPPH solution(0.1×10^{-4} M) 330 μ L를 혼합, 30분간 암소, 실온에서 방치한 후 517 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거 활성은 시료 첨가군과 무첨가군 간에 흡광도 차이를 백분율(%)로 산출하였으며, 3회 반복하여 얻은 값을 평균값으로 나타내었다.

6. 찰녹미 발효음료의 α -glucosidase 저해 활성 및 α -amylase 저해 활성

α -Glucosidase 저해 활성은 은 Zhu 등(2008)의 방법을 응용하였으며 효소는 효모로부터 얻어진 α -glucosidase를 사용하였고, 기질은 p -nitrophenyl- α -dglucopyranoside(p NPG)를 사용하여 p -nitrophenol 생성량을 측정하였다. α -glucosidase 10 μ L에 시료 200 μ L를 가하여 37°C에서 5분 incubation한 후 1 mM p NPG를 200 μ L를 가하여 격렬하게 혼합한 다음 실온에서 20분 동안 반응시켰다. 1 N NaOH 500 μ L를 넣어 반응을 중지시키고 50 mM phosphate buffer(pH 6.8)로 최종부피를 1.5 mL가 되도록 가하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. Positive control으로 acarbose를 사용하였으며 반응 후 p -nitrophenol(PNP) 생성량의 표준곡선으로부터 α -glucosidase의 저해 활성을 3회 반복 실험하여 측정하였다.

Inhibition activity (%) =

$$(1 - \text{반응구의 PNP 생성량/대조구의 PNP 생성량}) \times 100$$

α -Amylase 저해 활성 측정은 Bhandari 등(2008)의 방법을 이용하였다. Pancreatin 유래의 α -amylase에 대한 저해 활성은 starch를 기질로 하여 측정하였다. 0.01 M CaCl_2 를 함유하는 0.5 M tris HCl buffer에 starch를 현탁 시킨 후 5분 동안 끓여 주어 제조된 기질 용액을 37°C에서 5분간 incubation 하여 실험에 사용하였다. 증류수에 용해한 시료 0.2 mL와 α -amylase 0.2 mL를 가한 후 기질 starch 용액 0.3 mL를 가하여 반응을 종결시킨 후 원심분리(4°C, 978 g force, 5 min)하여 595 nm에서 상층액의 흡광도를 측정하였다.

Inhibition activity (%) =

$$(1 - \text{Sample absorbance/control absorbance}) \times 100$$

7. 관능적 특성 평가

관능검사는 사전에 관능평가에 대한 교육을 받은 25명을 선정하여 용어, 평가 기준 등을 숙지시킨 후 scoring test로 실시하였다. 모든 시료는 난수표에 의하여 5자리 숫자로 표시하였으며 한 개의 시료를 평가한 후 반드시 물로 입안을 헹구도록 한 후 다른 시료를 시식하도록 하였다. 단맛, 신맛, 구수한 맛, 쓴맛, 목 넘김, 누룩 향, 탁한 정도, 전반적인 기호도에 대하여 7점 척도법(1점: 매우 나쁘다~7점: 매우 좋다)으로 평가하였다. 본 연구는 숙명여자대학교 생명윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(Approval Number: SMWU-2203-HR-012).

8. 통계 분석

찰녹미 발효음료의 요인 간 상호 작용 및 경향을 파악하기

위해 design expert 8 프로그램을 이용하여 ANOVA-test를 통해 모델 적합성을 검증하였으며, perturbation plot과 contour plot, response surface 3D plot을 이용하여 변수 간의 관계를 분석하였다. 최적화는 canonical model의 graphical optimization과 numerical optimization을 통하여 찰녹미와 백미의 비율(A)과 쌀누룩(B)의 양을 선정하였으며, 수치 최적화를 통해 제시된 최적점 중 가장 높은 적합도를 나타내는 최적점을 채택하기 위해 canonical model을 기준으로 하는 모델 계수 중에서 독립 변수인 찰녹미와 백미의 비율(A)과 쌀누룩(B)의 양은 범위 내에서, 반응변수인 관능검사 항목 중 유의적인 결과를 낸 경우는 maximum으로, 유의적이지 않은 인자는 none으로 설정하여 최적점을 채택하였다.

$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_n)^{1/n} = (\prod_{i=1}^n d_i)^{1/n}$$

D = overall desirability, d = desirability, n = response 수

결과 및 고찰

1. 찰녹미의 일반성분 및 염색소

찰녹미의 수분, 조지방, 조단백질, 조섬유, 조회분 및 염색소 분석 결과는 Table 2와 같다.

찰녹미의 일반성분 분석 결과 수분 12%, 조지방 2.63%, 조단백 9.19%, 탄수화물 74.8%, 조회분 1.37%로 나타났다. Lee 등(2012)의 유색미 영양학적 특성 연구에서 찰녹미는 수분 13.23%, 조지방 3.06%, 조단백질 7.57%, 탄수화물 74.96%, 조회분 1.18%로 조단백을 제외하고, 유사한 조성을 보였다. 한국인 영양권장량 식품영양가 표에서 제시한 현미와 백미의 조단백 함량은 현미 6.4%, 백미 6.6%라고 보고하여 본 실험 결과 녹미의 조단백 함량(9.19%)이 높게 나타났으며, 양질미 기준인 단백질 함량 7~9% 범위보다 높은 것으로 나타났다.

Table 2. Proximate compositions and total chlorophyll of glutinous green rice (Mean \pm S.D.)

Contents (%)	
Moisture	12.0 \pm 0.17
Crude fat	2.63 \pm 0.33
Crude protein ¹⁾	9.19 \pm 0.15
Crude ash	1.37 \pm 0.10
Carbohydrate ²⁾	74.8 \pm 0.32
Total chlorophyll	57.36 \pm 6.3 (mg/100 g)

¹⁾ N \times 5.95.

²⁾ 100 - Sum of moisture, crude fat, crude protein, crude ash contents.

또 Park JH(2015)의 연구에서 조단백 함량 7.69%보다 높은 결과를 보였으며, Choi YH(2021)의 유색미 첨가 당면 연구에서 나타난 7.98%보다도 높았다. Kang 등(2008)의 연구에서 녹원찰벼 현미 중 총 아미노산 함량은 371.48 μmol 로 일반벼보다 1.14~1.65배 높은 것으로 나타났으며, 특히 현미에서는 라이신, 발린 함량이 높게 나타났다. 백미와 현미의 아미노산 함량을 비교해 본 결과 호분층보다는 배와 배유에 많은 아미노산을 함유하고 있는 것으로 나타났다.

찰녹미에 함유된 총 엽록소 함량을 분석한 결과는 57.36 mg/100 g으로 나타나, Kang 등(2008)의 연구에서 나타난 녹원찰벼 현미 49.56 mg/100 g보다 함량이 높았고, 일반벼 엽록소 함량 24.97~29.30 mg/100 g보다 거의 2배 가까이 높게 나타났다(Table 2). Hirayama & Oido(1969)는 신선한 시금치의 클로로필 a 함량은 52 mg/100 g, 클로로필 b 함량은 18 mg/100g 이었다고 보고하였으며, Khachik 등(1986)은 생시금치의 클로로필 a, 클로로필 b의 함량은 각각 94.16 mg/100 g, 20.20 mg/100 g으로 보고하였다(Lee 등 2001). 현미가 녹색을 띠는 녹(색)미는 시금치보다 함량은 낮으나 등숙기에도 엽록소가 늦게까지 과피층에서 사라지지 않으며, 생동찰벼가 고유 품종으로 동의보감에 나오는 청량미라고도 한다(Lee 등 2008).

2. 찰녹미 발효음료 항산화 특성

1) 총 페놀 함량

10가지 배합 비율로 제조한 찰녹미 발효음료의 총 페놀 함량 측정 결과는 153.24~213.06 $\mu\text{g GAE}/100\text{ g}$ 의 범위를 나타내었으며(Table 3). 각각의 독립변수 간에 교호작용이 미치는

quadratic 모델이 선정되었고, p -value는 0.0347로 유의성을 나타내었으며 R^2 값은 0.9683으로 해당 모델의 적합성이 인정되었다(Table 4). 찰녹미의 배합 비율과 쌀누룩이 증가할수록 총 페놀 함량은 유의적으로 증가하였으며, 쌀 누룩보다 찰녹미의 함량이 큰 영향을 준 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

Seo 등(2007)의 여러 가지 특수미의 일부 항산화 성분 분석에서 녹미의 총 폴리페놀 함량은 127 mg/100 g이라고 하였으며, Choi YH(2021)는 40.82 mg/100 g, Park JH(2015)는 28.96 mg/100 g의 총 폴리페놀 함량을 나타내었다. 유색미로 제조한 식혜의 항산화 활성 연구(Yang 등 2015) 결과 녹미식혜의 총 폴리페놀 함량은 3.61 mgGAE/g으로 보고하여 찰녹미를 사용하여 제조한 발효음료의 총 폴리페놀 함량이 낮게 나타났다. 쌀에는 총 페놀의 약 25~47%가 불용성 페놀이 차지한다고 하였으며(Seo 등 2007), 곡류 및 과채류 등 식물성 식품에 함유되어 있는 폴리페놀은 유리형으로 존재하기보다는 다당류 및 올리고당과 에스테르 형태를 이루기 때문이라고 하였다(Kroon 등 1997; Park & Sim 2022). 폴리페놀 에스테르형은 곡류 섭취 시, 위장의 pH 변화 및 장내 미생물이 생산하는 esterase에 의하여 유리형으로 전환되어 항산화 효과가 증가한다(Andreassen 등 2001). 따라서 찰녹미를 사용하여 제조한 발효음료는 생리활성을 나타내는 폴리페놀을 얻을 수 있어 인체 내에 항산화 기능으로 질병 예방 및 건강을 유지하는데 도움을 줄 것으로 기대된다.

2) 총 플라보노이드 함량

10개의 배합 비율로 제조한 찰녹미 발효음료의 플라보노이드 함량은 265.92~598.14 $\mu\text{g RE}/100\text{ g}$ 의 범위를 나타내었으며(Table 3), quadratic 모델이 선정되어 독립변수 간에 교호

Table 3. Antioxidant activities of fermented beverages of glutinous green rice

Sample No.	Rice (g)	Glutinous green rice (g)	Rice nuruk (g)	Response		
				Total phenol content ($\mu\text{gGAE}/100\text{ g}$)	Total flavonoid content ($\mu\text{gRE}/100\text{ g}$)	DPPH radical scavenging activity IC_{50}
1	288	72	200	153.24	265.92	117.39
2	72	288	200	198.12	549.53	69.04
3	288	72	600	166.75	277.86	108.77
4	72	288	600	213.06	598.14	62.66
5	288	72	400	162.39	272.03	114.64
6	72	288	400	209.37	564.53	63.43
7	180	180	200	184.26	329.11	97.46
8	180	180	600	196.17	368.69	89.03
9	180	180	400	187.24	334.25	91.86
10	180	180	400	190.75	340.64	97.42

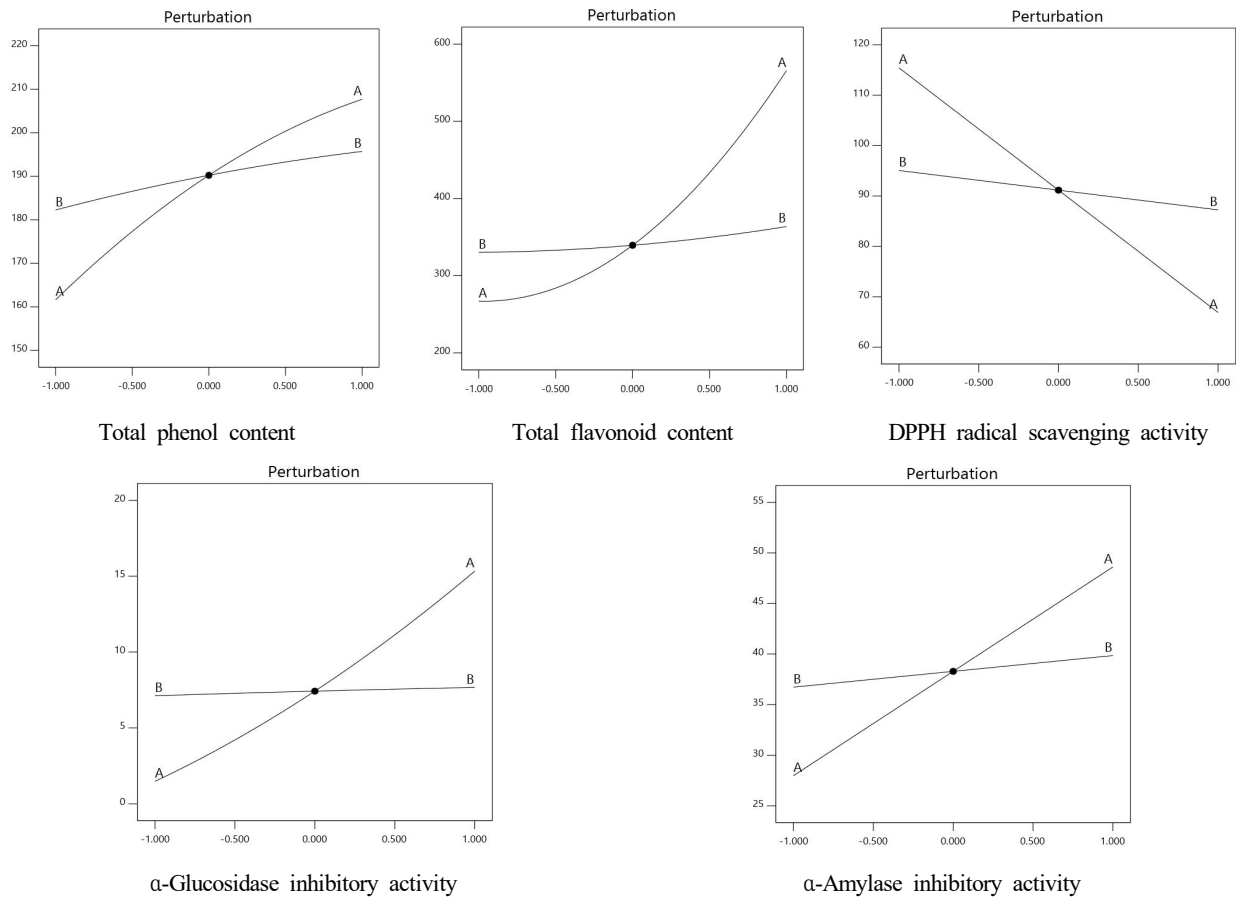


Fig. 1. Perturbation plot for the effect of green glutinous rice(A) and rice nuruk(B) on the antioxidant activities and α-glucosidase and α-amylase inhibitory activities of fermented beverages of glutinous green rice.

Table 4. Analysis of the predicted model equation for antioxidant activities of fermented beverages of glutinous green rice

Response	Model	Mean	R ² ¹⁾	F-value ²⁾	Prob>F	Polynomial equation ³⁾
Total phenol content (μgGAE/100 g)	Quadratic	186.14±2.19	0.9683	8.74*	0.0347	190.23+23.03A+6.73B+6.73AB - 5.58A ² - 1.24B ²
Flavonoid content (μgRE/100 g)	Quadratic	390.07±5.15	0.9942	279.14***	<0.0001	339.41+149.40A+16.69B+9.17AB - 76.91A ² - 7.53B ²
DPPH free radical scavenging activity IC ₅₀	Linear	91.17±3.29	0.9737	167.71***	<0.0001	91.17 - 24.28A - 3.91B

1) 0 ≤ R² ≤ 1, close to 1 means more significant.

2) * p<0.05, *** p<0.001.

3) A: glutinous green rice, B: rice koji.

작용이 있음을 확인할 수 있었고, R² 값이 0.9942로 신뢰도가 높았다. p-value는 <0.0001로 유의적으로 해당 모델의 적합성이 인정되었으며(Table 4), 찰녹미의 배합 비율과 쌀누룩이 증가할수록 총 플라보노이드 함량은 유의적으로 증가하여, 총 폴리페놀 함량 결과와 유사하게 쌀 누룩보다 찰녹미의 함

량이 큰 영향을 준 것으로 나타났다(Fig. 1).

플라보노이드 또한 항산화 물질 중 하나로, Park 등(2016)의 유색미 품종별 항산화성분 및 활성 비교 연구 결과 녹미 2품종인 녹원찰미 및 중모1020의 총 플라보노이드 함량은 각각 0.22 mg(CE/g), 0.17 mg(CE/g)이라고 하였으며, Park

JH(2015)의 연구에서 찰녹미 가루는 0.36 mg(QE/g)으로 나타났다. 녹미 식혜의 총 플라보노이드는 0.31 mgCAE/g으로 보고되어(Yang 등 2015), 찰녹미 발효음료의 플라보노이드 함량과 유사한 것으로 나타났다. Kim 등(2012)은 폴리페놀 함량이 플라보노이드 함량보다 대부분 큰 값을 가지기는 하지만, 반드시 폴리페놀이 높은 것은 아니라고 보고한바 있으며, Kim 등(2011)은 발효과정에서 발생하는 플라보노이드의 감소는 불안정한 플라보노이드계 화합물의 변성과 함께 단백질, 철분, 알칼로이드 및 피리딘 등과 결합하여 침전을 형성하기 때문이라고 예측하였다. 또 유색미의 플라보노이드 함량은 유색미 과피색의 차이보다는 품종 간 변이가 심한 것으로 나타났다고 하였다(Goufo & Trindade 2014).

3) DPPH 라디칼 소거활성

찰녹미 발효 음료의 DPPH 라디칼 소거능 IC₅₀ 측정 결과는 62.66~117.39의 범위를 나타내었으며(Table 3) 각 요인이 독립적으로 작용하는 linear model이 선정되었다. *p*-value는 < 0.0001로 해당 모델의 적합성이 유의적으로 인정되었으며, R² 값은 0.9637로 신뢰도가 매우 높음을 알 수 있었다(Table 4). 찰녹미와 누룩의 함량이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능은 증가하는 것으로 나타났으며, 찰녹미가 누룩보다 DPPH 라디칼 소거능에 영향을 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다(Fig. 1).

DPPH 라디칼 소거활성은 시간이 빠르고 실험 반복성이 우수하여 항산화력을 비교하는데 지표로 이용되고, 소수성 물질의 전자 공여능과 수소 공여능을 포괄하여 측정할 수 있는 방법이다(Lee 등 2023b). 본 연구 결과 찰녹미 함량이 높을수록 DPPH 라디칼 소거능은 증가하며 이는 찰녹미에 함

유된 총 폴리페놀 및 플라보노이드 물질, 라디칼 소거 활성이 찰녹미 발효음료에도 영향을 준 것으로 사료된다. Park 등(2016)은 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 안토시아닌과 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능에서 측정한 IC₅₀ 값과는 높은 부의 상관관계를 보인다고 하였으며, 본 연구에서도 총 폴리페놀 함량이 증가할수록 DPPH radical 소거활성도 증가하는 것으로 나타나 찰녹미 첨가 발효음료의 항산화 활성과 천연 기능성 식품으로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

3. 찰녹미 발효음료의 α-glucosidase 저해 활성 및 α-amylase 저해 활성

1) α-Glucosidase 저해 활성

10개의 배합 비율로 제조한 찰녹미 발효음료의 α-glucosidase 저해 활성 측정 결과는 1.18~15.67%의 범위를 나타내었으며(Table 5), quadratic 모델이 선정되어 독립변수 간에 교호작용이 있음을 확인할 수 있었다. *p*-value는 0.0009로 유의적으로 해당 모델의 적합성이 인정되었으며(Table 6), R² 값은 0.9983으로 신뢰도가 높았다. 찰녹미가 누룩보다 α-glucosidase 저해 활성에 영향을 더 크게 미치는 것으로 나타났으며, perturbation plot을 보면 찰녹미 첨가량이 증가할수록 α-glucosidase 저해 활성이 증가하는 경향을 나타내었으나, 누룩 함량에는 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(Fig. 2).

탄수화물 대사의 필수 효소인 α-glucosidase는 다당류나 이당류를 단당류로 가수분해하여 소화 흡수시키기 때문에, 천연물의 α-glucosidase에 대한 저해 활성은 포도당을 비롯한 탄수화물의 흡수를 지연시키는 역할을 하여 식후 혈당 상승의 감소 효과가 있어, 혈당수치 상승 억제에 지표로 사용되

Table 5. α-Glucosidase and α-amylase inhibitory activity of fermented beverages of glutinous green rice

Sample No.	Rice (g)	Glutinous green rice (g)	Rice <i>nuruk</i> (g)	Response	
				α-Glucosidase inhibitory activity (%)	α-Amylase inhibitory activity (%)
1	288	72	200	1.18	27.14
2	72	288	200	15.05	46.51
3	288	72	600	1.62	29.12
4	72	288	600	15.67	50.59
5	288	72	400	1.58	27.69
6	72	288	400	15.21	48.75
7	180	180	200	7.09	37.01
8	180	180	600	7.68	40.32
9	180	180	400	7.56	38.34
10	180	180	400	7.31	37.42

Table 6. Analysis of the predicted model equation for α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity fermented beverages of glutinous green rice

Response	Model	Mean±S.D.	R^2 ¹⁾	F-value ²⁾	Prob>F	Polynomial equation ³⁾
α -Glucosidase inhibitory activity (%)	Quadratic	8.00±0.13	0.9983	65.76***	0.0009	7.43+6.92A+0.28B+0.05AB+0.98A ² - 0.03B ²
α -Amylase inhibitory activity (%)	Linear	38.29±0.58	0.9919	983.11***	<0.0001	38.29+10.32A+1.56B

¹⁾ $0 \leq R^2 \leq 1$, close to 1 means more significant.

²⁾ *** $p < 0.001$.

³⁾ A: glutinous green rice, B: rice koji.

고 있다(Oh 등 2008).

2) α -Amylase 저해 활성

찰녹미 발효음료의 α -amylase 저해 활성 결과는 27.14~50.59%의 범위를 나타내었으며(Table 5), 각 요인이 독립적으로 작용하는 linear model이 선정되었다. p -value는 <0.0001로 해당 모델의 적합성이 유의적으로 인정되었으며, R^2 값은 0.9919로 신뢰도가 매우 높음을 알 수 있었다(Table 6). 찰녹미와 누룩의 함량이 증가할수록 α -amylase 저해 활성도 증가하는 것으로 나타났으며, 찰녹미가 누룩보다 α -amylase 저해 활성에 영향을 더 크게 미치는 것으로 나타났다(Fig. 2). α -Amylase는 전분 분자들의 α -1,4 결합을 무작위로 가수분해하는 효소로 섭취한 탄수화물을 당으로 분해해 체내 흡수를 통해 생명 유지와 에너지원으로 이용하는 중요한 역할을 하지만 전분 분해 효소들의 과잉 활성은 비만, 당뇨 등의 질환이 발생하게 된다. α -Glucosidase는 소장 점막에 존재하여, α -amylase에 의해 분해된 당질 중 엿당을 최종적으로 단당류인 포도당으로 전환시키는 효소로(Lee 등 2008), α -glucosidase 활성을 저해시킬 경우 당질의 가수분해와 흡수과정을 지연시켜 식후 혈당 농도를 조절할 수 있다(Shinde 등 2008). 또한 포도당의 자가 산화 및 당화 등에 의해 자유 라디칼을 생성하거나 산화스트레스에 의한 조직의 산화적 손상이 유발될 때 시료의 항산화 활성과 α -glucosidase 저해 활성이 동시에 높을 때 당뇨성 질환에 더 효과적이라 할 수 있다(Baynes & Thorpe 1999). 찰녹미의 α -glucosidase 저해 활성은 7.08%로 나타났으며(Choi YH 2021), 찰녹미 발효음료의 α -glucosidase 저해 활성은 발효 중에 생성된 2차 대사산물과 찰녹미의 폴리페놀 화합물 간의 복합적인 작용으로 탄수화물 소화효소의 작용을 저해하여 식후에 급격하게 혈당이 상승하는 것을 억제할 수 있을 것으로 기대된다(Yoon & Pyo 2022).

4. 찰녹미 발효음료의 관능적 특성

찰녹미와 쌀누룩을 독립변수로 제조한 각 10개의 찰녹미

발효음료의 단맛(sweetness), 신맛(sourness), 구수한 맛(delicate taste), 씹쓸한 맛(bitterness), 목 넘김(swallowing), 누룩 향(yeast flavor), 탁한 정도(turbidity), 그리고 전반적인 기호도(overall quality)에 해당하는 관능평가 결과는 Table 7과 같다. 관능적 특성 중 탁한 정도에 대한 항목을 제외한 모든 항목에서 독립변수들 간에 교호작용하는 quadratic 모델이 선정되었으며(Table 8), 모든 항목에서 모델 적합성이 유의적으로 인정되었다($p < 0.01$).

단맛에 대한 기호도는 2.15~5.00의 범위를 나타내었으며, quadratic 모델이 선정되어 각각의 독립변수 간에 교호작용이 나타났음을 확인할 수 있었고(Table 7, Table 8), 찰녹미와 쌀누룩 함량이 증가할수록 단맛에 대한 기호도가 유의적으로 증가하다가 중심점 이후로 감소하는 경향을 보였다($p < 0.01$)(Fig. 3). Perturbation plot을 살펴보면 단맛에 대한 기호도에 영향을 크게 미쳤던 요인은 찰녹미 함량으로 나타났으며 R^2 값은 0.7082로 신뢰도가 높았다. 단맛에 대한 기호도가 가장 높은 찰녹미 발효음료 배합 비율은 녹미 180.00 g, 쌀누룩 400.00 g이었다.

신맛에 대한 기호도는 2.46~3.31의 범위를 나타내었으며(Table 7), 단맛과 마찬가지로 찰녹미와 쌀누룩이 교호작용하는 quadratic 모델이 선정되었다(Table 8). 찰녹미와 쌀누룩 함량이 증가할수록 신맛에 대한 기호도는 유의적으로 증가하다 중심점 이후로 감소하는 경향을 보였으며($p < 0.01$)(Fig. 2), 신맛에 대한 기호도에 있어서 관능검사 점수가 가장 높은 찰녹미 발효음료 배합 비율은 녹미 180.00 g, 쌀누룩 400.00 g이었다.

찰녹미 발효음료의 구수한 맛에 대한 기호도는 3.46~4.77의 범위를 나타내었으며(Table 7), 찰녹미와 쌀누룩이 교호작용하는 quadratic 모델이 선정되었다. 해당 모델의 적합성이 유의적으로 인정되었으며($p < 0.001$), 구수한 맛에 대한 기호도에 영향을 크게 미쳤던 요인은 찰녹미 함량으로 R^2 은 0.9940으로 매우 높은 신뢰도를 나타냈다(Table 8). 찰녹미를 이용함으로써 찰녹미 발효음료의 식미에 긍정적 영향을 주

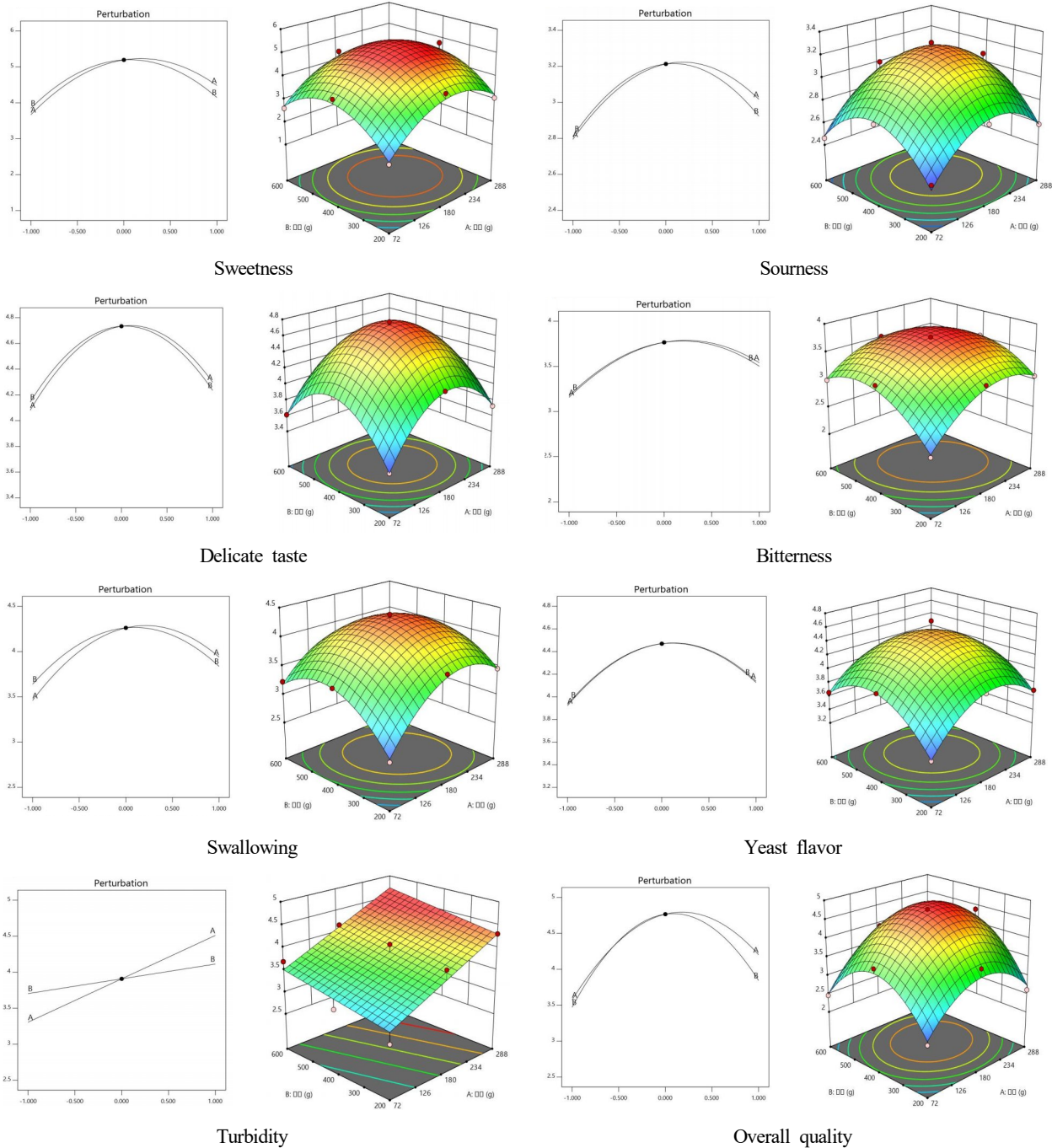


Fig. 2. Perturbation plot for the effect of green glutinous rice (A) and rice *nuruk* (B) on the sensory characteristics of fermented beverages of glutinous green rice.

고자 했던 이번 연구 목적에 부합하는 결과를 보였다. 찰녹미와 쌀누룩이 증가할수록 구수한 맛에 대한 기호도는 증가하다가 감소하는 경향을 나타내어(Fig. 2), 일정 수준 이상의 많은 양의 찰녹미와 쌀누룩은 구수한 맛에 대한 기호도를 감소시켰다. 구수한 맛에 대한 기호도가 가장 높은 찰녹미 발효

음료 배합 비율도 찰녹미 180.00 g, 누룩 400.00 g 이었다.

썩썩한 맛에 대한 기호도는 2.38~4.77의 범위를 나타내었으며(Table 7), 다른 항목과 마찬가지로 각각의 독립변수가 교호 작용하는 quadratic 모델이 선정되어 찰녹미와 쌀누룩의 함량이 증가하면 썩썩한 맛에 대한 기호도가 유의적으로 증

Table 7. Sensory evaluation properties of fermented beverages of glutinous green rice

Sample No.	Rice (g)	Glutinous green rice (g)	Rice <i>muruk</i> (g)	Response ¹⁾							
				Sweetness	Sourness	Delicate taste	Bitterness	Swallowing	Yeast flavor	Turbidity	Overall quality
1	288	72	200	2.15	2.46	3.46	2.38	2.64	3.31	2.85	2.34
2	72	288	200	3.08	2.59	3.73	3.08	3.46	3.69	4.31	2.62
3	288	72	600	2.62	2.46	3.62	3.00	3.23	3.66	3.69	2.46
4	72	288	600	3.21	2.69	3.77	3.15	3.46	3.77	4.46	3.38
5	288	72	400	3.85	2.77	4.08	3.23	3.46	3.92	3.08	3.69
6	72	288	400	4.77	3.08	4.31	3.54	3.85	4.08	4.46	4.38
7	180	180	200	4.08	2.77	4.15	3.23	3.69	3.92	3.92	3.69
8	180	180	600	4.38	3.00	4.23	3.52	3.69	4.08	4.15	3.92
9	180	180	400	5.00	3.31	4.77	3.77	4.38	4.69	4.08	4.77
10	180	180	400	4.92	3.08	4.69	3.69	4.23	4.31	4.08	4.46

¹⁾ By the 7-point hedonic scale.

Table 8. Analysis of the predicted model equation for sensory quality characteristics of fermented beverages of glutinous green rice

	Model	Mean±S.D.	R ² ¹⁾	F-value ²⁾	Prob>F	Polynomial equation ³⁾
Sweetness preference	Quadratic	3.81±0.31	0.7082	6.75**	0.0024	5.19+0.41A+0.15B - 0.08AB - 1.12A ² - 1.20B ²
Sourness preference	Quadratic	2.82±0.10	0.6546	27.53**	0.0046	3.21+0.11A+0.06B+0.03AB - 0.31A ² - 0.35B ²
Delicate taste preference	Quadratic	4.08±0.03	0.9940	1,008.93***	<0.0001	4.73+0.11A+0.05B - 0.03AB - 0.54A ² - 0.54B ²
Bitterness preference	Quadratic	3.26±0.07	0.9127	115.12***	0.0003	3.77+0.19A+0.16B - 0.13AB - 0.42A ² - 0.43B ²
Swallowing preference	Quadratic	3.61±0.12	0.7633	53.21**	0.0013	4.26+0.24A+0.10B - 0.15AB - 0.56A ² - 0.52B ²
Yeast flavor preference	Quadratic	3.94±0.15	0.7950	25.53**	0.0053	4.47+0.11A+0.10B - 0.07AB - 0.44A ² - 0.44B ²
Preference of overall quality	Quadratic	3.57±0.24	0.7934	49.55**	0.0015	4.77+0.31A+0.19B+0.16AB - 0.88A ² - 1.11B ²
Turbidity	Linear	3.91±0.22	0.7207	26.27**	0.0006	3.91+0.60A+0.21B

¹⁾ $0 \leq R^2 \leq 1$, close to 1 means more significant.

²⁾ ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

³⁾ A: glutinous green rice, B: rice koji.

가하다가 감소하는 결과를 나타내었고($p < 0.001$)(Fig. 2), R² 값은 0.9127로 높은 신뢰도를 보였다(Table 8). 씹쓸한 맛에 대한 기호도가 가장 높은 찰녹미 발효음료의 배합 비율도 찰녹미 180.00 g, 쌀누룩 400.00 g 이었다.

찰녹미 발효음료의 목 넘김에 대한 기호도는 2.64-4.38 범위였으며(Table 7), quadratic 모델이 선정되어 찰녹미와 쌀누룩 간에 교호 작용함을 확인할 수 있었고, 찰녹미와 쌀누룩의 함량이 증가할수록 목 넘김에 대한 기호도가 유의적으로 증가하다 감소하는 경향을 보였다($p < 0.01$)(Fig. 2). Perturbation

plot과 response surface plot에서 목 넘김 기호도에 크게 영향을 미쳤던 요인이 찰녹미였으며, R²가 0.7633으로 신뢰도가 높았다. 찰녹미 180.00 g, 쌀누룩 400.00 g의 배합 비율일 때 찰녹미 발효음료의 목 넘김 관능 평가 점수가 가장 높은 것으로 나타났다.

누룩 향에 대한 기호도는 3.31-4.69의 범위를 나타내었으며(Table 7), 목 넘김과 마찬가지로 각각의 독립변수 간에 교호 작용하는 quadratic 모델이 선정되었다. 찰녹미와 쌀누룩의 함량이 증가할수록 누룩 향에 대한 기호도가 유의적으로

증가하다 감소하는 경향을 보였다($p < 0.01$)(Fig. 2). 누룩 향에 대한 기호도에 큰 영향을 준 요인은 찰녹미였으며, 다른 관능검사 항목과 같이 누룩향의 기호도가 가장 높은 찰녹미 발효음료 배합 비율은 찰녹미 180.00 g, 쌀누룩 400.00 g으로 나타났다.

찰녹미 발효음료의 탁한 정도는 2.85-4.46의 범위를 나타내었으며(Table 7), 각 요인이 독립적인 작용을 하는 linear model이 선정되었다. 찰녹미와 쌀누룩의 함량이 증가할수록 탁한 정도가 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며($p < 0.001$)(Fig. 2), 찰녹미가 쌀누룩보다 탁한 정도에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다.

찰녹미 발효음료의 전반적인 기호도는 2.34-4.77의 범위였으며(Table 7), 찰녹미와 쌀누룩이 서로 교호작용 하는 quadratic 모델이 선정되었다. 찰녹미와 쌀누룩 함량이 증가함에 따라 기호도는 유의적으로 증가하다가 중심점 이후로 감소하는 경향을 보였으며($p < 0.01$)(Fig. 3), 전반적인 기호도에 영향을 크게 주었던 요인은 찰녹미 함량으로 나타났으나 일정 수준 이상의 많은 양의 찰녹미와 쌀누룩은 전반적인 기호도를 감소시켰다. 전반적인 기호도가 가장 높은 배합 비율은 찰녹미 180.00 g, 쌀누룩 400.00 g이었다.

5. 찰녹미 발효음료의 관능 최적화

찰녹미를 활용한 발효음료의 배합비 최적화를 위해 canonical 모형의 수치 최적화 및 지점 예측을 통해 최고의 적합도(desirability)를 나타낸 최적점을 도출한 결과, 각각 독립변수에 대해 예측된 최적값은 찰녹미 195.96 g, 백미 164.04 g, 쌀누룩 414.61 g이었으며(Table 9), 이때 사용한 반응모형을 이용한 모형적 최적화와 perturbation plot은 Fig. 3과 같다.

Table 9. Standard formula of optimized fermented beverages of glutinous green rice

Ingredient	Weight (g)	Volume (mL)
Rice	164.04	-
Glutinous green rice	195.96	-
Rice koji	414.612	-
Water	-	2,500

요약 및 결론

본 연구는 쌀고유의 풍미와 생리활성 기능을 갖춘 녹미 발효음료를 개발하고자 쌀 낱알 누룩과 찰녹미를 이용하여 찰녹미 발효음료의 최적화를 목적으로 품질특성을 분석하고 관능 최적화 배합 비율을 도출하였다. 찰녹미의 일반성분 분석 결과 수분 12.0%, 조지방 2.63%, 조단백질 9.19%, 탄수화물 74.8%, 조회분 1.37% 조성을 보였으며, 엽록소 함량은 57.36 mg/100 g이었다. 찰녹미와 쌀누룩을 독립변수로 하여 찰녹미 발효음료의 항산화 특성과 α-glucosidase 및 α-amylase 저해 활성을 모델링하여 유의성을 검증한 결과 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, α-glucosidase 저해 활성은 quadratic 모델이, DPPH 라디칼 소거능, α-amylase 저해 활성은 linear 모델이 선정되었다. 총 페놀함량을 제외한 총 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거능, α-glucosidase 저해 활성, α-amylase 저해 활성 항목 모두 p-value가 유의수준 99.9% 이내에서 모델의 적합성이 인정되었다. 찰녹미 발효음료의 관능적 특성에서는 단맛, 신맛, 구수한 맛, 쓴맛, 목 넘김, 누룩 향, 전반적인 기호도 모두 찰녹미와 쌀누룩 첨가량이 증가할수록 기호도가 증가하다가 중심점 이후 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다($p < 0.01$). 관능적 모든 항목에서 기호도가 가장 높은 배합 비율은 찰녹미 180.00 g, 쌀누룩 400.00 g이었다.

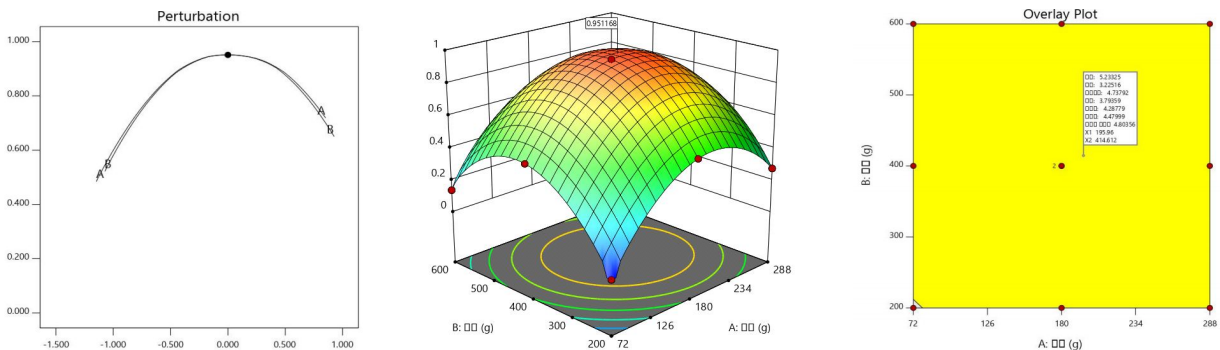


Fig. 3. Perturbation, 3D surface, and overlay plot for the optimization mixture on desirability of fermented beverages of glutinous green rice.

이상의 결과를 통해 찰녹미와 쌀누룩을 이용하여 쌀고유의 풍미와 생리활성 기능을 갖춘 녹미 발효음료를 개발하였으며, 최적 배합비는 백미 164.04 g, 찰녹미 195.96 g, 쌀누룩 414.61 g으로 산출되었다. 이러한 결과는 우수한 생리활성 기능을 지닌 찰녹미의 기능성 소재로의 활용도를 높이고, 찰녹미를 이용하여 발효음료를 제조할 경우 백미로 만든 음료보다 건강 지향적이며, 기능성을 갖춘 알레르기 비유발 음료 개발 연구의 기초자료로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

References

- Andreasen MF, Kroon PA, Williamson G, Garcia-Conesa MT. 2001. Intestinal release and uptake of phenolic antioxidant diferulic acids. *Free Radic Biol Med* 31:304-314
- Baynes JW, Thorpe SR. 1999. Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 48:1-9
- Bhandari MR, Jong-Anurakkun N, Hong G, Kawabata J. 2008. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb pakhanbhed (*Bergenia ciliata* Haw.). *Food Chem* 106:247-252
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *WLT Food Sci Technol* 28:25-30
- Choi YH. 2021. Quality characteristics of *dangmyon* added with pigmented rice varieties. Ph.D. Thesis, Sejong Univ. Seoul. Korea
- Goufo P, Trindade H. 2014. Rice antioxidants: Phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. *Food Sci Nutr* 2:75-104
- Ha TY, Park SH, Lee CH, Lee SH. 1999. Chemical composition of pigmented rice varieties. *Korean J Food Sci Technol* 31:336-341
- Hirayama O, Oido H. 1969. Changes of lipid and pigment compositions in spinach leaves during their storage. *J Agr Chem Soc Jpn* 43:423-428
- Kang SY, Shin IC, Kim DS, Lee G, Kim JB, Lee DY, Lee SY, Lee DJ. 2008. A new green-kerneled glutinous rice mutant variety, "nogwonchalbyeo" developed by gamma ray irradiation. *Korean J Breed Sci* 40:303-307
- Khachik F, Beecher GR, Whittaker NF. 1986. Separation, identification, and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 34:603-616
- Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH. 2012. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 44:337-342
- Kim JW. 2015. Development of fermented sap beverage using γ -aminobutyric acid producing lactic acid bacteria. Master's Thesis, Chungbuk National Univ. Cheongju. Korea
- Kim MJ, Yang SA, Park JH, Kim HI, Lee SP. 2011. Quality characteristics and anti-proliferative effects of dropwort extracts fermented with fructooligosaccharides on HepG2 cell. *Korean J Food Sci Technol* 43:432-437
- Kim SC, Kim HS, Kang YJ. 1999. Changes of components in the rice-porridge fermented by *nuruk*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28:1017-1021
- Kim YK, Chun A. 2010. Status and prospects of rice varieties for processing. *Food Preserv Process Ind* 9:3-12
- Kroon PA, Faulds CB, Ryden P, Robertson JA, Williamson G. 1997. Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon. *J Agric Food Chem* 45:661-667
- Lee BB, Park SR, Han CS, Han DY, Park EJ, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:405-409
- Lee HH, Chu SH, Jiang W, Ryu SN, Kim CH, Koh HJ. 2007. Change of kernel-greenness under different storage conditions after harvest in green-kerneled rice. *Korean J Breed Sci* 39:155-159
- Lee HH, Chu SH, Ryu SN, Shin MC, Koh HJ. 2006. Grain characteristics of green-kerneled rices under different planting time and N-fertilizer levels. *Korean J Breed* 38:358-365
- Lee HJ, Kwon SY, Jung PM, Kim EA, Lee KH. 2023a. Beverage development using *Abeliophyllum distichum* leaf extract and its physicochemical properties. *Korean J Food Nutr* 36:122-128
- Lee JN. 2012. Development of functional beverage using *Cornus officinalis* extract and its fermented broth. Master's Thesis, Andong National Univ. Andong. Korea
- Lee J, Son D, Surh J. 2023b. Antioxidant activities of 16 natural materials: Effect of the extraction solvent and analytical method applied during the measurement. *Korean J Food Cookery Sci* 39:14-21
- Lee MK, Kim YM, Park JS, Na HS. 2012. Nutritional

- characteristics of pigmented rice. *Korean J Food Preserv* 19:235-242
- Lee SH, Choe EO, Lee HG, Park KH. 2001. Factors affecting the components chlorophyll pigment in spinach during storage. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 44:73-80
- Lee WJ, Jung JK. 2002. Quality characteristics and preparation of noodles from brown rice flour and colored rice flour. *Korean J Culin Res* 8:267-278
- Ministry of Food and Drug Safety [MFDS]. 2021. Korean food standards codex. Available from http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_02.jsp?idx=263 [cited 5 March 2021]
- Noh JM. 2014. Quality characteristics of fermented mixed grain beverages using rice koji. Master's Thesis, Hankyong National Univ. Ansong, Korea
- Oh SJ, Hong SS, Kim YH, Koh SC. 2008. Screening of biological activities in fern plants native to Jeju island. *Korean J Plant Resour* 21:12-18
- Oh SW, Lee SM, Park SY, Lee SY, Lee WH, Cho HS, Yeo YS. 2016. Rice biotechnology and current development. *J Korean Soc Int Agric* 28:24-36
- Park JH. 2015. Quality and antioxidative properties of popped brown and pigmented waxy rice for making 'ssahyeotgangjeong'. Master's Thesis, Chonnam National Univ. Gwangju, Korea
- Park JY, Ham H, Han SI, Oh SH, Song YC, Cho JH, Hur Y, Lee YY, Lee BW, Choi YH. 2016. Comparison of antioxidant components and antioxidant activities of colored rice varieties (*Oryza sativa* L.) cultivated in Southern Plain. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45:1214-1220
- Park SY, Sim KH. 2022. Quality characteristics and antioxidant activity of *tteokbokkidduk* supplemented with wheat bran powder. *Korean J Food Nutr* 35:16-33
- Reinheimer MA, Mussati SF, Scenna NJ. 2012. Optimization of operating conditions of a cooling tunnel for production of hard candies. *J Food Eng* 109:22-31
- Rha K. 1989. Seed mold, important in brewing. *Korean J Food Nutr* 1:108-110
- Seo SJ, Choi YM, Lee SM, Kim KJ, Son JR, Lee JS. 2007. Determination of selected antioxidant compounds in specialty rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36:499-502
- Seong SK. 2008. The effect of functional herbal beverage supplemented with *Houttuynia cordata*, *Saururus chinensis*, and *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum* on diabetes mellitus. Ph.D. Thesis, Kyonggi Univ. Seoul, Korea
- Shinde J, Taldone T, Barletta M, Kunaparaju N, Hu B, Kumar S, Placido J, William Zito S. 2008. α -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel *in vitro* and in Goto - Kakizaki (GK) rats. *Carbohydr Res* 343:1278-1281
- So MH. 1991. Improvement in the quality of *takju* by the combined use of *Aspergillus kawachii* and *Aspergillus oryzae*. *Korean J Food Nutr* 4:115-124
- So MH. 1999. Characteristics of a modified *nuruk* made by inoculation of traditional *nuruk* microorganisms. *Korean J Food Nutr* 12:219-225
- Yang J, Kim YE, Lee KH. 2015. Physicochemical characteristics and antioxidant activities of *sikhye* made with pigmented rice. *J East Asian Soc Diet Life* 25:830-841
- Yoon SM, Pyo YH. 2022. The *in vitro* antioxidant and antidiabetic activity of various fractions from *Monascus*-fermented ginger extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 51:125-133
- Yu L, Haley S, Perret J, Harris M, Wilson J, Qian M. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J Agric Food Chem* 50:1619-1624
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64:555-559
- Zhu YP, Yin LJ, Cheng YQ, Yamaki K, Mori Y, Su YC, Li LT. 2008. Effects of sources of carbon and nitrogen on production of α -glucosidase inhibitor by a newly isolated strain of *Bacillus subtilis* B2. *Food Chem* 109:737-742

Received 19 June, 2023

Revised 12 August, 2023

Accepted 05 September, 2023

중쇄지방산을 활용한 글리세린 지방산 에스테르의 화학 합성 및 항균 활성

†이 경 행 · 이 은 현*

한국교통대학교 식품영양학 전공 교수, *미소성 대표

Chemical Synthesis and Antibacterial Activity of Glycerine Fatty Acid Esters Using Medium-Chain Fatty Acid

†Kyung-Haeng Lee and Eun-Hyun Lee*

Professor, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

*President, Misosung Co., Cheongju 28171, Korea

Abstract

A mono-type glycerine fatty acid ester compound was chemically synthesized using medium-chain fatty acids with antibacterial activity, and the physicochemical quality and antibacterial activity of the synthesized glycerine medium-chain fatty acid ester compound were measured. At a reaction molar ratio of MCT(medium chain triglyceride) to glycerine of 1:2.5, 48.15% mono ester was produced. The physicochemical analysis of the synthesized glycerine fatty acid ester compound showed an acid content of 0.38~0.60%, which tended to increase slightly as the glycerine molar ratio increased. The saponification value decreased as the synthesized molar ratio of glycerine increased from 218 to 284. The number of bacteria was measured to confirm the degree of antibacterial activity of glycerine medium-chain fatty acid esters against food poisoning bacteria, *Bacillus cereus* and *Salmonella typhi*. The number of bacteria significantly decreased as the MCT:glycerine molar ratio increased. In particular, the antibacterial effect between the treatment groups was the highest when at an MCT:glycerine molar ratio of 1:2.5.

Key words: glycerine fatty acid ester, medium-chain fatty acid, chemical synthesis, antibacterial activity

서 론

최근 식품산업은 고도화, 단순화, 다양화 및 국제화 시대를 맞이하여 원료의 안정적인 공급, 효율적인 제조 가공공정, 위생적인 제품생산, 안전한 저장 및 유통기술 등이 확보된 고부가가치의 제품에 대한 국민관심이 높아지고 있다(Kwon 등 2010).

중쇄지방(medium chain fatty acid, MCT)은 코코넛 유지 등에서 유래된 것으로 MCT의 구성 지방산으로 카프릴산(caprylic acid, C_{8:0}), 카프릭산(capric acid, C_{10:0}), 라우릴산(lauric acid, C_{12:0}) 등이 있다(Kang 등 2015).

이들 중쇄지방산들은 항균활성을 지니고 있는 것으로 알려져 있으며 그 기작은 대개 중쇄지방산이 세포막에 작용하

여 균을 사멸시키고 특히 전자전달계와 인산화 작용을 방해함으로써 에너지 생성 기능에 영향을 미치는 것으로 추정되어지고 있다(Boyaval 등 1995; Więckowski & Wojtczak 1998; Desbois & Smith 2010).

지방산 중에서도 탄소 수 10개인 capric acid, 12개인 lauric acid가 항균활성이 가장 높은 것으로 알려져 있고 탄소수가 이들보다 짧거나 길면 항균활성이 떨어지는 것으로 보고되고 있다(Sun 등 2003; Wille & Kydonieus 2003; Debrois & Smith 2010). 중쇄지방산들인 caprylic acid, capric acid, lauric acid 등은 국내 식품첨가물 공전에 등재된 식품첨가물이며, 특히 caprylic acid의 경우에는 FDA에서 식품에 직접 첨가할 수 있도록 허용한 GRAS(Generally Recognized As Safe) 인증 물질이다(Ministry of Food and Drug Safety 2011; CFR 2023).

† Corresponding author: Kyung-Haeng Lee, Professor, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Chungbuk 27909, Korea. Tel: +82-43-820-5334, Fax: +82-43-820-5850, E-mail: leekh@ut.ac.kr

Bergsson 등(2001)은 lauric acid, palmitoleic acid 및 monocaprin은 *Streptococci*에 대해 5 mM 농도에서 6 log CFU/mL 수준 이상의 감소를 보였고 지방산 에스테르 형태인 monocaprin은 더 낮은 농도에도 가장 높은 균성장 억제를 확인하였다고 하였으며 특히 *Staphylococcus aureus*에서도 더 낮은 농도에서 monocaprin은 항균활성을 나타내는 유일한 지질이었다고 하였다. Thormar 등(2006)은 *Campylobacter jejuni*의 현탁액에 10 mM의 capric acid와 monocaprylin을 10분간 처리한 결과, 초기 균수와 비교하여 6~7 log CFU/mL 수준의 균이 ND 수준까지 감소되는 높은 항균활성을 확인하였다고 하였다. 사과주스에 접종한 *E. coli* O157:H7에는 더욱 낮은 농도인 5 mM의 monocaprylin을 장시간(24시간) 적용하여 5 log CFU/mL 이상의 높은 저감효과를 확인하여 중쇄지방산이 낮은 pH 환경에서 더 높은 저감효과를 보이는 것을 확인하였다(Nair 등 2005).

이와 같이 이들 각각의 성분들은 항균력이 입증되어 위생용품 및 주방기구의 항균세제 및 동물 사료 등의 영양 강화와 항균제 및 자돈 등의 무독성 항생제로서 이용되고 있다. 중쇄지방산들은 매우 큰 항균력을 가지고는 있으나 식품분야에의 적용이 매우 제한적이라 할 수 있는데 그 이유는 중쇄지방산 자체가 지용성의 성질을 지니고 있기 때문에 수용성 식품 즉, 대부분의 식품에서의 적용은 쉽지 않다고 할 수 있다. 이에 중쇄지방산의 항균력을 전 식품분야에 응용하기 위해서는 수상(water phase)에서의 용해력이 필요하며, 이러한 특성을 나타내기 위해서는 식품 첨가물 유효제인 ‘글리세린 지방산 에스테르’의 개발이 절실히 필요하다고 할 수 있다. 또한 Lee 등(2011)은 중쇄지방산보다는 중쇄지방산을 함유한 triglyceride, monoglyceride 등의 유도체가 더 높은 효과를 보였으나, 중쇄지방산 유도체의 경우 가격이 일반 중쇄지방산에 비해 훨씬 높아 산업적 적용은 어려울 것이라 하였다.

따라서 본 연구에서는 항균활성을 갖는 중쇄지방산을 활용하여 mono 형태의 글리세린 지방산 에스테르 화합물을 화학적으로 합성하고 합성된 글리세린 중쇄지방산 에스테르 화합물의 이화학적 품질 및 항균활성을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 중쇄지방산을 활용한 글리세린 지방산 에스테르의 화학합성

중쇄지방산의 특성인 항균력을 식품에서 발현시키기 위해서는 수상에서의 용해력을 증대시켜야 함에 따라, Fig. 1과 같이 에스테르 화학 합성을 통하여 mono glyceride형 및 diglyceride형을 제조하고자 글리세린과 중쇄지방산의 triglyceride 형태인 MCT(medium chain triglyceride)를 활용하여 에스테르 화

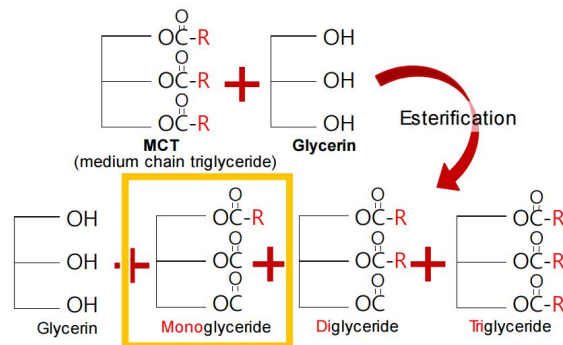


Fig. 1. Esterification of glycerine fatty acid using medium chain triglyceride.

합 반응을 진행함에 있어 MCT : 글리세린의 반응물비는 각각 1:1.0(Sample-1), 1:1.5(Sample-2), 1:2.0(Sample-3), 1:2.5(Sample-4) 및 1:3.0(Sample-5)으로 하여 제조하였다.

이때의 반응 촉매는 calcium stearate를 사용하였으며 반응 온도는 245~255℃를 3시간 동안 유지시키면서 제조하였다.

2. 글리세린 지방산 에스테르의 합성정도 확인

MCT와 글리세린을 비율별로 에스테르 화학 합성을 통하여 제조하였고 제조된 글리세린 중쇄지방산 에스테르의 합성 정도를 확인하기 위하여 식품첨가물 공전의 일반시험법에 등재되어 있는 가스크로마토그래피 시험법의 면적백분율법에 따라 진행하였다. 즉 글리세린 중쇄지방산 에스테르의 Mono-, Di-, Tri-ester의 함량을 확인하기 위하여 Agilent 6890 GC(Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였고 column은 capillary DB-5(J&W7, Folsom, CA, USA, 30 m)를 사용하였으며, carrier gas는 helium을 사용하였고, 분석시료는 전처리 공정으로는 TMS(trimethylsilylation)화를 진행하여 1.0 μL 주입하였다. 컬럼 온도는 150℃에서 분당 10℃씩 상승시킨 후, 320℃에서 25분간 유지한 후 냉각하였다. 샘플 주입의 split ratio는 10/1로 설정하여 분석을 진행하였고 검출기는 FID(Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였으며, gas chromatogram은 Fig. 2와 같다.

3. 글리세린 지방산 에스테르의 이화학적 시험

글리세린 중쇄지방산 에스테르는 식품 첨가물로서 식품 첨가물 공전에 ‘27. 글리세린지방산에스테르’인 화학적 합성품으로 분류된다. 식품 첨가물 공전에서 관리하는 이화학적 인 순도 시험은 산가를 6 이하로 관리하고 있으며, 분석 방법은 Ministry of Food and Drug Safety(2021)에 등재되어 있는 유지류 시험법에 따라 평가하였다. 즉 제조한 시료에 ethanol: ether 혼액(1:2, v/v) 100 mL를 넣어 잘 용해시키고 여기에

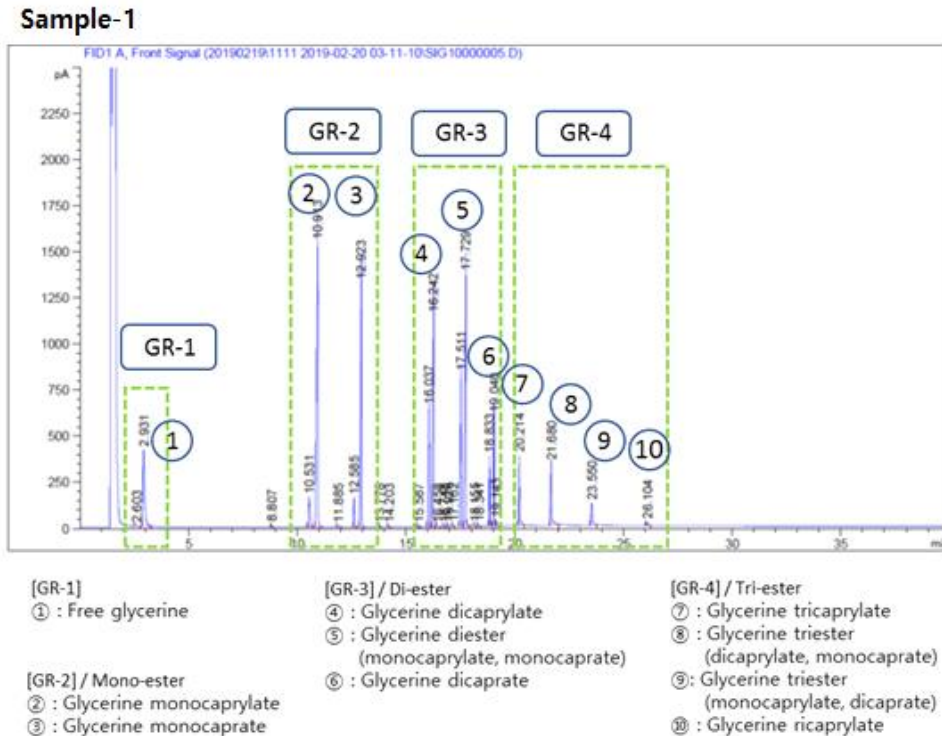


Fig. 2. Chromatogram of synthesized glycerine medium fatty acid esters.

phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N 에탄올성 NaOH 용액으로 적정하여 측정하였다.

순도 시험 이외에 일반적으로 글리세린 지방산 에스테르의 품질 평가에 사용되는 이화학 분석으로는 비누화가를 활용하고 있으므로 제조된 글리세린 중쇄지방산 에스테르의 비누화가 시험은 식품 공전(2021)에 등재되어 있는 시험법에 따라 진행하였다. 즉 제조한 시료에 0.5 N KOH-ethanol 용액 25 mL를 가하고 이에 환류냉각관을 연결한 후 30분간 가열하였다. 여기에 phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.5 N HCl 용액으로 적정하여 측정하였다.

4. 글리세린 지방산 에스테르의 항균활성 측정

화학 합성에서 얻어진 ‘글리세린 중쇄지방산 에스테르’의 항균 활성을 확인하기 위하여 물 농도별(1:1.0, 1:1.5, 1:2.0 및 1:2.5)로 합성한 에스테르 화합물을 0.005, 0.01 및 0.02%가 되도록 농도별로 1 mL씩 petri dish에 각각 분주하고 PCA 배지를 분주 후 균했다. 여기에 미리 배양해 놓은 *Bacillus cereus* 및 *Salmonella typhi*를 10배 희석법으로 10^4 , 10^5 및 10^6 으로 희석하고 희석액 0.1 mL씩 각각 접종한 후 37°C에서 배양한 후 균수를 측정하였다. 대조군은 합성한 에스테르 화합물 대신 멸균된 증류수를 첨가하여 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 중쇄지방산을 활용한 글리세린 지방산 에스테르의 화학합성

수상에서 용해력을 가지면서도 중쇄지방산의 특성인 항균력을 식품에서 발현시키기 위하여 MCT와 글리세린을 물 비율로 합성하였으며 글리세린 중쇄지방산 구성비율을 측정한 결과는 Table 1과 같다.

MCT와 글리세린의 반응 몰비를 1:1로 에스테르 반응을 진행한 시료에서는 mono 에스테르 함량이 37.44%로 가장 낮은 함량이었고 MCT와 글리세린의 반응 몰비를 1:2.5로 하였을 때가 48.15%로 최대의 mono 에스테르가 생성되는 것으로 확인되었다. MCT와 글리세린의 에스테르 화학 합성 반응은 무작위 에스테르 교환 반응으로 글리세린의 반응 몰비가 증가할수록 mono 에스테르의 함량이 증가됨이 확인된 반면, 최종 합성품에서 di 에스테르의 함량이 감소하고 부산물인 미반응 글리세린의 함량이 증가되어 유효성이 낮아질 것으로 판단되었다. 이와 같은 결과에 따라 유추해보면, 유효한 효과를 발현하는 mono 에스테르를 합성할 수 있는 최적의 합성반응조건은 1몰의 MCT와 2몰~2.5몰의 글리세린으로 반응시켰을 때임을 확인할 수 있었다.

Table 1. Composition ratio of glycerine fatty acid according to the molar ratio of MCT and glycerine

Molar ratio (MCT:Glycerine)		1:1.0	1:1.5	1:2.0	1:2.5	1:3.0
Composition ratio (%)	Free glycerine	7.18	14.40	21.67	28.53	32.31
	Mono ester	37.44	45.26	47.95	48.15	47.27
	Di ester	46.53	35.89	27.33	20.90	19.08
	Tri ester	8.84	4.45	3.05	2.41	1.34

2. 글리세린 지방산 에스테르의 이화학적 시험

합성된 글리세린 지방산에스테르 화합물의 이화학적 분석 결과는 Table 2와 같다.

산가의 경우, 0.38~0.60으로 몰 비율별로 글리세린의 비율이 높아질수록 약간씩 증가하는 경향이였다. 식품첨가물 공전에서 규정하고 있는 글리세린 지방산 에스테르의 규격은 6 이하로 되어있어 모든 몰 농도 비율에 따른 반응에 의해 생성된 글리세린 지방산 에스테르는 적합함을 확인할 수 있었다.

비누화가의 경우, 218~284로 글리세린의 합성 몰비가 높아질수록 비누화가가 낮아짐을 알 수 있었으며, 중쇄지방산 mono 에스테르의 함량이 높게 합성된 제품의 비누화가는 232~248 정도임을 확인하였다.

3. 글리세린 지방산 에스테르의 항균활성 측정

화학 합성에서 얻어진 글리세린 중쇄지방산 에스테르가 식중독 균인 *Bacillus cereus* 및 *Salmonella typhi*에 대한 항균 활성 정도를 확인하기 위하여 균수를 측정할 결과는 Table 3 및 4와 같다.

10^4 으로 균을 희석한 경우에는 대조군은 균수가 많아 셀 수 없을 정도였으며 MCT와 글리세린의 몰 비율이 높아질수록 균수가 현저하게 감소하는 것을 알 수 있었다. 특히 처리군간에 항균효과는 MCT와 글리세린의 몰비가 1:2.5이었을 때가 가장 높았으며 다음으로는 1:2.0, 1:1.5의 순이었다. 즉 MCT와 글리세린의 비율이 1:1.0의 몰 비율로 반응시킨 경우도 항균효과가 있었지만 글리세린의 몰비율이 높은 시료에 비하여 보다 낮은 항균 효과를 보여 MCT와 글리세린의 몰 비율이 1:2.5로 하였을 때가 보다 효과적인 것으로 나타났다.

균수가 10^5 및 10^6 으로 희석한 경우에도 글리세린 지방산 에스테르 화합물의 첨가 농도가 높을수록 항균효과가 우수

하였으며 처리군간에는 1:2.5의 비율일 때가 가장 높은 항균 효과를 나타내었다.

이와 같이 1:2.0 또는 1:2.5의 비율로 제조한 글리세린 지방산 에스테르가 보다 높은 항균효과를 보이는 이유는 Table 1에서 보는 바와 같이 mono 에스테르의 함량이 높기 때문인 것으로 사료되었다.

이상의 결과로 보아 MCT와 글리세린의 비율이 1:1.0의 몰 비율로 반응시킨 경우, 항균효과가 있었지만 글리세린의 몰 비율이 높은 처리군 보다 낮은 항균 효과를 나타내었다. 즉 가장 높은 *Salmonella typhi*에 대한 항균효과를 보이는 글리세린 지방산 에스테르로는 MCT와 글리세린의 몰 비율이 1:2 또는 1:2.5로 하였을 때가 보다 효과적이었다.

Bergsson 등(2001)이 식중독세균 *S. aureus*의 현탁액에 미량(10 mM, 0.17%)의 capric acid, lauric acid와 capric acid의 monoglyceride인 monocarpin을 10분간 처리한 결과 5~6 log CFU/mL 수준의 높은 균 성장저해를 확인하였다고 하여 mono 형태의 글리세린 지방산 에스테르 함량이 가장 많았던 결과를 뒷받침해 주었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 항균활성을 갖는 중쇄지방산을 활용하여 mono 형태의 글리세린 지방산 에스테르 화합물을 화학적으로 합성하였고 항균활성을 측정할 결과, MCT와 글리세린의 몰 비율이 1:2 또는 1:2.5로 하였을 때 항균효과가 우수하였다.

요약 및 결론

항균활성을 갖는 중쇄지방산을 활용하여 mono 형태의 글리세린 지방산 에스테르 화합물을 화학적으로 합성하고 합성된 글리세린 중쇄지방산 에스테르 화합물의 이화학적 품질

Table 2. Acidity and saponification value of glycerine medium chain fatty acid ester

Molar ratio (MCT : Glycerine)	1 : 1.0	1 : 1.5	1 : 2.0	1 : 2.5	1 : 3.0
Acidity	0.38	0.43	0.44	0.51	0.60
Saponification value	284	262	248	232	218

Table 3. Antibacterial activity of glycerine medium-chain fatty acid esters against *Bacillus cereus* (unit: CFU/mL)

Dilution	Concentrate (%)	Molar ratio (MCT : glycerine)				
		Control	1 : 1.0	1 : 1.5	1 : 2.0	1 : 2.5
10 ⁴	0.005%		4.4×10 ⁶	8.1×10 ⁵	3.9×10 ⁵	5.5×10 ⁴
	0.01%	∞ ¹⁾	2.3×10 ⁶	2.6×10 ⁵	6.0×10 ⁴	ND ²⁾
	0.02%		1.4×10 ⁶	1.0×10 ⁴	1.0×10 ⁴	ND
10 ⁵	0.005%		5.4×10 ⁶	1.5×10 ⁵	8.5×10 ⁵	2.0×10 ⁵
	0.01%	5.3×10 ⁷	5.9×10 ⁶	ND	2.0×10 ⁵	ND
	0.02%		1.0×10 ⁶	ND	ND	ND
10 ⁶	0.005%		6.8×10 ⁷	1.0×10 ⁶	6.5×10 ⁶	ND
	0.01%	1.3×10 ⁸	2.3×10 ⁷	ND	ND	ND
	0.02%		5.0×10 ⁵	ND	ND	ND

¹⁾ ∞: Too many to count.

²⁾ ND: not detected.

Table 4. Antibacterial activity of glycerine medium-chain fatty acid esters against *Salmonella typhi* (unit: CFU/mL)

Dilution	Concentrate (%)	Molar ratio (MCT : glycerine)				
		Control	1 : 1.0	1 : 1.5	1 : 2.0	1 : 2.5
10 ⁴	0.005%		1.7×10 ⁶	2.6×10 ⁵	ND ²⁾	ND
	0.01%	∞ ¹⁾	5.8×10 ⁵	1.0×10 ⁴	ND	ND
	0.02%		2.8×10 ⁵	ND	ND	ND
10 ⁵	0.005%		5.0×10 ⁶	1.5×10 ⁵	ND	ND
	0.01%	5.1×10 ⁷	8.5×10 ⁵	ND	ND	ND
	0.02%		ND	ND	ND	ND
10 ⁶	0.005%		3.5×10 ⁶	ND	ND	ND
	0.01%	1.4×10 ⁸	ND	ND	ND	ND
	0.02%		ND	ND	ND	ND

¹⁾ ∞: Too many to count.

²⁾ ND: not detected.

및 항균활성을 측정하였다. MCT와 글리세린의 반응 몰비를 1:2.5로 하였을 때가 48.15%로 최대의 mono 에스테르가 생성 되는 것으로 확인되었다. 합성된 글리세린 지방산 에스테르 화합물의 이화학적 분석 결과, 산가의 경우, 0.38~0.60%로 몰 비율별로 글리세린의 비율이 높아질수록 약간씩 증가하는 경향이였다. 비누화가의 경우, 218~284로 글리세린의 합성 몰비가 높아질수록 비누화가가 낮아지는 것으로 나타났다. 글리세린 중쇄지방산 에스테르가 식중독 균인 *Bacillus cereus* 및 *Salmonella typhi*에 대한 항균 활성 정도를 확인하기 위하여 균수를 측정한 결과 MCT:글리세린의 몰 비율이 높아질수록 균수가 현저하게 감소하는 것을 알 수 있었다. 특히 처리 군간에 항균효과는 MCT:글리세린의 몰비가 1:2.5이었을 때가 가장 높았다.

감사의 글

본 논문은 2018년도 중소기업청 맞춤형 기술파트너 지원 사업과 2021년 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업입니다(No. 2021R1A6A1A03046418).

References

- Bergsson G, Arnfinnsson J, Steingrímsson Ó, Thormar H. 2001. Killing of Gram-positive cocci by fatty acids and monoglycerides. *J Pathol Microbiol Immunol* 109:670-678
- Boyaval P, Corre C, Dupuis C, Roussel E. 1995. Effects of free

- fatty acids on propionic acid bacteria. *Lait* 75:17-29
- Code of Federal Regulation [CFR]. 2023. 21§184.1025 Caprylic acid. Available from <https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-B/part-184/subpart-B/section-184.1025> [cited 20 March 2023]
- Desbois AP, Smith VJ. 2010. Antibacterial free fatty acids: Activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Appl Microbiol Biotechnol* 85:1629-1642
- Kang IJ, Kang MH, Kim MS, Park SS, Byun EH, Yoo SH, Yook HS, Lee KH, Lee MK, Lee YT, Lee OH, Lee JS, Lim SS, Lim JY, Jeon WJ, Jung SJ, Jung YH, Jung HJ. 2015. Food Chemistry. p.66. Life Science
- Kwon SC, Choi GH, Hwang JH, Lee KH. 2010. Physicochemical property and antioxidative activity of hot-water extracts from enzyme hydrolysate of *Astragalus membranaceus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:406-413
- Lee MS, Jang SH, Yang JH. 2011. Inactivation of microorganisms in potentially hazardous non-thermal foods. *Ministry of Food and Drug Safety*. Report No. 1475006257
- Ministry of Food and Drug Safety. 2011. Food Additives Code. Available from <https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/> [cited 14 August 2023]
- Ministry of Food and Drug Safety. 2021. Korea Food Code. Available from <https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/> [cited 25 January 2023]
- Nair MKM, Abouelezz H, Hoagland T, Venkitanarayanan K. 2005. Antibacterial effect of monocaprylin on *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. *J Food Prot* 68:1895-1899
- Sun CQ, O'Connor CJ, Robertson AM. 2003. Antibacterial actions of fatty acids and monoglycerides against *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 36:9-17
- Thormar H, Hilmarsson H, Bergsson G. 2006. Stable concentrated emulsions of the 1-monoglyceride of capric acid (monocaprin) with microbicidal activities against the food-borne bacteria *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 72:522-526
- Więckowski MR, Wojtczak L. 1998. Fatty acid-induced uncoupling of oxidative phosphorylation is partly due to opening of the mitochondrial permeability transition pore. *FEBS Lett* 423:339-342
- Wille JJ, Kydonieus A. 2003. Palmitoleic acid isomer (C16:1Δ6) in human skin sebum is effective against Gram-positive bacteria. *Skin Pharmacol Physiol* 16:176-187

Received 29 August, 2023

Revised 05 September, 2023

Accepted 19 September, 2023

전통 누룩을 이용한 발효황기의 성분 변화

강민혜 · 이은숙* · 지윤정** · 김형돈 · 김금숙*** · 최수지*** · †장귀영

농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 연구사, *농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 공무직연구원, **농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 박사전문연구원, ***농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 연구관

Changes in the Components of *Astragalus membranaceus* Fermented by Korean Traditional *Nuruk*

Min Hye Kang, Eun Suk Lee*, Yun-jeong Jee**, Hyung Don Kim,
Geum Soog Kim***, Su Ji Choi*** and †Gwi Yeong Jang

Researcher, Dept. of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea

*Research Assistant, Dept. of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea

**Post-Doctor, Dept. of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea

***Senior Researcher, Dept. of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea

Abstract

The major active components of *Astragalus membranaceus* (AM) are isoflavones, which exist in the form of various glycosides. *Nuruk* is a traditional fermentation starter in Korea, and is suitable for the biotransformation of isoflavone glycosides because it contains various microorganisms and enzymes. This study was performed to determine changes in the isoflavones and antioxidant properties of AM fermented (AF) with *nuruk* over 24 hours. AF was sampled after 0, 2, 4, 6, 12, 18, and 24 h of fermentation, and calycosin 7-glucoside, ononin, calycosin, and formononetin content, and the antioxidant properties of AF were analyzed. The total phenolic content increased with fermentation time, and the ABTS radical scavenging activity increased until 6 h of fermentation and then decreased. During fermentation, the isoflavone glycosides decreased significantly as fermentation time increased. The contents of calycosin and formononetin, which are aglycons of calycosin-7-glucoside and ononin, increased from 100.54 µg/g to 276.84 µg/g and from 56.29 µg/g to 123.04 µg/g, respectively, at 18 h of fermentation. Significant correlations were observed between fermentation time, isoflavone content, and antioxidant properties. The results of this study showed that fermentation with *nuruk* is suitable for the biotransformation of isoflavones in AM.

Key words: *Astragalus membranaceus*, antioxidant properties, fermentation, isoflavone, *nuruk*

서 론

황기(*Astragalus membranaceus*)는 콩과에 속하는 다년생 초본식물로 박피한 뿌리를 건조하여 한약재나 식품원료로 사용한다(Jung 등 2008). 황기는 한방에서 강장, 지한, 이뇨에 효과가 있어 십전대보탕, 보주익기탕, 옥병풍산 등의 처방에 사용되며 인삼과 함께 많이 사용되는 보기약 중 하나이다(Kim 등 2007; Lee 등 2008).

황기는 다양한 triterpene saponin, 페놀성 화합물 및 다당체

를 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(Subarnas 등 1991; Hirotani 등 1994). 다른 콩과 식물과 같이 황기에는 페놀성 화합물 중 아이소플라본(isoflavone)이 다량 존재하며, calycosin 7-glucoside, ononin, calycosin 및 formononetin이 대표적이다(Song 등 1997; Li 등 2019). 황기의 주요 아이소플라본인 calycosin 7-glucoside, ononin, calycosin 및 formononetin에 대한 생리활성 연구는 다양하게 이루어졌다. 황기에 존재하는 아이소플라본은 항당뇨(Tang 등 2011), 항염증(Huh 등 2010), 항산화(Yu 등 2005) 효과, 심혈관계 질환의 개선(Luk'yanchikov

† Corresponding author: Gwi Yeong Jang, Researcher, Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea. Tel: +82-43-871-5768, Fax: +82-43-871-5759, E-mail: janggy@korea.kr

MS 1984) 등 다양한 활성을 갖는 것으로 보고되었다. 아이소플라본의 당 결합 유무에 따른 연구로 황기 아이소플라본의 항염증 활성 연구에서 아글리콘이 배당체의 절반의 농도에서 동일한 효과를 나타내었으며(Luo 등 2019), 콩 유래 아이소플라본 배당체와 아글리콘의 지질대사 촉진 효과에 대한 연구에서도 아글리콘이 더 빠른 체내 흡수와 높은 지질대사 촉진 효과를 나타내어 배당체보다는 아글리콘 형태의 이 용에 대한 필요성을 나타내었다(Kawakami 등 2005).

식품 중에 존재하는 우수한 흡수율과 기능성을 갖는 아글리콘 형태의 아이소플라본 함량을 높이기 위한 방법으로 증속과 같은 이화학적인 방법(Chen 등 2020)과 미생물이나 효소를 이용한 생물학적인 전환 방법(Gu 등 2019; Park 등 2021)에 대한 연구가 보고되었다. 생물학적인 전환 방법은 이화학적인 방법 대비 낮은 온도에서 목적인 성분을 특이적으로 전환시킬 수 있다는 장점이 있다. 누룩은 우리나라의 전통적인 발효제로 다양한 미생물과 당화효소를 높은 농도로 포함하고 있다(So MH 1993; So MH 1999). 높은 농도의 미생물과 당화효소를 포함하는 누룩은 배당체의 아글리콘 전환에 적합한 발효제이며 식품원료로 사용이 가능하여 활용성이 높다.

본 연구에서는 황기의 아이소플라본 배당체를 아글리콘으로 전환시키기 위한 발효제로서 전통누룩을 사용하고 항산화 특성과 아이소플라본 함량 변화를 확인하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

박피한 건조황기는 제천 소재의 영농조합법인으로부터 구입하여 분쇄 후 발효를 위한 원료로 사용하였다. 황국균을 주요 미생물로 사용하는 전통 누룩은 부산에 위치한 금정산성 누룩으로부터 구입하여 분쇄 후 사용하였다. 황기의 isoflavone 분석을 위한 표준품으로 calycosin 7-glucoside, calycosin, ononin 및 formononetin은 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. 분석에 사용한 물과 acetonitrile (ACN)은 Fisher Scientific(Pittsburgh, PA, USA)에서 구입하였다. 그 외에 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

2. 발효 황기의 제조

발효황기의 제조는 황기, 누룩 및 물을 5:5:100의 중량비가 되도록 각각 40 g, 40 g 및 800 g을 3 L baffled erlenmeyer flask에 넣고 혼합하여 40±2°C에서 150 rpm으로 24시간 동안 발효시켰다. 발효액은 0, 2, 4, 6, 12, 18 및 24시간을 각각 발효하여 2배의 99% 에탄올을 가하여 반응을 정지시킨 후 상온에서 2시간 동안 초음파 추출 후 여과하여 분석용 시료로 사용

하였다.

3. 발효황기의 항산화 특성

1) 총 페놀 함량

발효시간에 따른 황기의 총 페놀 함량을 확인하기 위하여 Dewanto 등(2002)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu reagent가 추출물의 페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 측정하였다. 즉, 각 추출물에 2% Na₂CO₃용액을 가한 후 1 N Folin-Ciocalteu reagent를 가하였다. 30분간 방치 후 반응액의 흡광도 값을 750 nm로 microplate reader로 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였으며 총 폴리페놀 함량은 생 시료 mL 중의 µg gallic acid로 나타내었다.

2) ABTS 라디칼 소거능

발효시간에 따른 황기의 ABTS 라디칼 소거능을 확인하기 위하여 Re 등(1999)의 방법으로 측정하였다. 7.4 mM 2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS, Sigma Chemical Co., USA)과 potassium persulfate 2.6 mM을 12시간 이상 암소에 방치하여 ABTS^{•+} 양이온을 형성시킨 후 이 용액을 735 nm에서 흡광도 값이 1.4가 되도록 물 흡광계수($\epsilon = 3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS^{•+} 용액 190 µL에 추출액 10 µL를 가하여 흡광도의 변화를 30분 후에 microplate reader로 측정하였다. 표준물질로 L-ascorbic acid(Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였다.

4. 발효시간에 따른 황기의 isoflavone 함량 변화

발효 황기의 isoflavone 함량을 확인하기 위하여 발효 여과액을 0.2 µm syringe filter(GHP membrane, PALL, New York, USA)로 여과 후 claycosin 7-glucoside($y = 38.128x + 1.5057$, $R^2 = 0.9993$), ononin($y = 46.472x + 0.2983$, $R^2 = 0.999$), calycosin($y = 54.998x + 2.2287$, $R^2 = 0.9991$) 및 formononetin($y = 68.757x + 1.6707$, $R^2 = 0.9992$) 표준품을 사용하여 시료 중 함량을 분석하였다. 표준물질은 50 µg/mL의 농도로 제조 후 희석하여 사용하였다. Isoflavone 함량은 Park 등(2019)의 방법을 변형하여 사용하였다. 분석에는 HPLC-UV(1200 series, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA)와 YMC triart C18 컬럼(100 mm×4.6 mm, 3.0 µm, YMC Co., Kyoto, Japan)을 사용하였다. 분석 조건은 이동상은 0.1% formic acid/water(A), 0.1% formic acid/acetonitrile(B) 기울기 조건(0~5 min: 0~0% B, 5~7 min: 0~10% B, 7~12 min: 10~20% B, 12~16 min: 20~26% B, 16~17 min: 26~26% B, 17~22 min: 26~33% B, 22~32 min: 33~60% B), 컬럼 온도 30°C, 유속 1.0 mL/min, 주입량 10 µL, 검출과

장 250 nm로 분석하였다. 정량은 검량선의 검량 계수 값을 구하여 각 화합물의 함량을 계산하여 발효액 제조에 사용된 황기 건조물 중 $\mu\text{g/g}$ 으로, 발효 중 isoflavone의 전환속도는 각 isoflavone의 함량이 발효시간의 증가에 따라 직선성을 보이는 범위에서 단위 시간당 함량 변화량으로서 황기 건조물 중 $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$ 로 나타내었다.

5. 통계분석

모든 실험은 3회 반복하였으며, 통계분석은 SPSS(Statistical package for the social science, Ver. 23.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 각 시료군의 평균과 표준편차를 산출하고, 처리 간 차이 유무를 one-way ANOVA(Analysis of variation)로 분석한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 검정하였다($p < 0.05$). 또한 요인간의 상관분석은 Pearson's correlation analysis를 통하여 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 발효황기의 항산화 특성

발효시간을 달리하여 제조한 발효황기의 항산화 특성 변화는 Fig. 1과 같다. 총 페놀성분 함량은 발효시간이 증가함에 따라 증가하였다. 발효 전 $242.22 \mu\text{g/mL}$ 에서 발효시간에 의존적으로 증가하여 24시간에서는 $390.67 \mu\text{g/mL}$ 로 발효 전과 비교하여 61% 증가하였다($p < 0.05$). 총 페놀성분 함량이 발효시간에 비례하여 증가한데 반하여 ABTS 라디칼 소거능은 큰 변화를 나타내지 않았다. 발효 시작 후 6시간까지 감소 후 12시간부터 소폭 증가하여 발효 시작 전 $2.71 \mu\text{g/mL}$ 에서 24시간 후에 $2.88 \mu\text{g/mL}$ 를 나타내었다.

발효시간 황기의 항산화 특성에 대한 연구로 황기 잎 추출물을 유산균으로 발효하였을 때 총 페놀성분 함량과 항산화 효과가 증가되었으며, 페놀성분 함량 증가율 대비 항산화 효과의 증가율이 낮았다(Song 등 2020). Lee 등(2022)의 유산균을 이용한 발효황기에서도 산화스트레스로부터 간세포를 보호하고, 항산화 효과와 관련된 단백질의 발현 촉진 효과를 증가시켰다. 발효에 의한 페놀성 화합물과 항산화 활성의 증가는 방향족 고리가 포함된 중합체의 분해에 의해 일어날 수 있으며, 방향족 고리가 포함된 성분도 항산화 활성을 나타내지 않는 경우도 있어 총 페놀 함량이 모든 항산화 활성을 갖는 페놀 함량과 일치하지 않을 수 있다(Haslam 등 2003; Chu & Chen 2006).

2. 발효시간에 따른 황기의 isoflavone 변화 및 전환속도

발효시간에 따른 황기의 isoflavone 변화는 Fig. 2(Guo 등 2020), Fig. 3 및 Fig. 4와 같이, 황기에 존재하는 주요

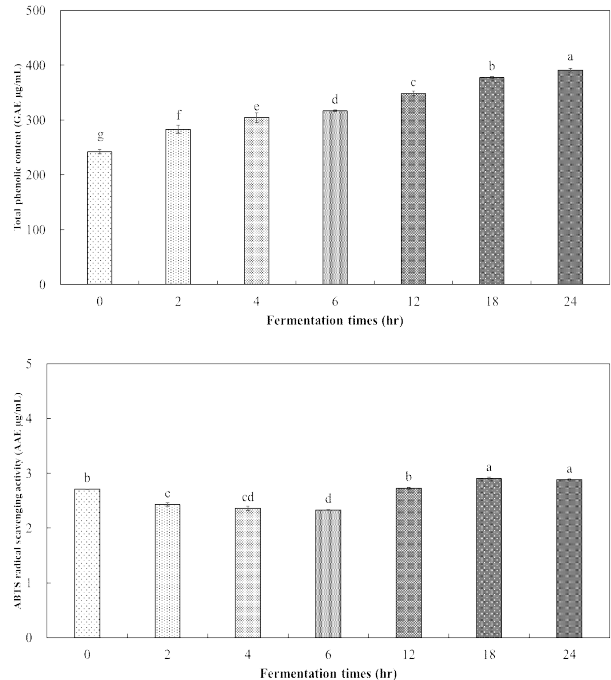


Fig. 1. Antioxidant properties of *Astragalus membranaceus* fermented by *nuruk* with different fermentation times. Different small letters on the bars indicate a significant difference ($p < 0.05$). GAE; gallic acid equivalent. AAE; ascorbic acid equivalent.

isoflavone 배당체인 calycosin 7-glucoside와 ononin이 가수분해되어 아글리콘인 calycosin과 formononetin으로 전환되었다. Calycosin 7-glucoside는 발효액에 포함된 황기의 증량을 기준으로 발효 전에는 $38.95 \mu\text{g/g}$ 에서 발효시간이 증가함에 따라 빠르게 감소하였다. 발효 시작 6, 12 및 18시간에 각각 59.08, 87.27 및 96.96%가 감소하였으며, 18시간 후 수렴하였다. Ononin도 calycosin 7-glucoside와 유사하였다. 발효 전 $14.09 \mu\text{g/g}$ 에서 발효 6시간 후 72.90%가 감소하여 $3.82 \mu\text{g/g}$ 을 나타내었으며, 12시간부터는 검출되지 않았다. 배당체가 아글리콘으로 전환됨에 따라 calycosin과 formononetin 함량이 증가하였다. Calycosin과 formononetin 함량 증가는 발효 18시간까지 증가 후 수렴하였으며, calycosin과 formononetin 증가율은 발효 18시간을 기준으로 각각 175.35%와 118.57%이었다. 발효 전 calycosin과 formononetin 함량은 $100.54 \mu\text{g/g}$ 과 $56.29 \mu\text{g/g}$ 이었으며, 가장 많은 함량을 나타낸 발효 18시간에서는 $175.35 \mu\text{g/g}$ 과 $123.04 \mu\text{g/g}$ 이었다.

Jiao 등(2017)의 연구에서 흑국균(*Aspergillus niger*)과 황국균(*Aspergillus oryzae*)을 고정화하여 황기 모상근과 같이 배양한 연구에서 isoflavone 아글리콘인 calycosin과 formononetin 함량이 크게 증가하였다. Isoflavone 아글리콘은 흑국균과 황

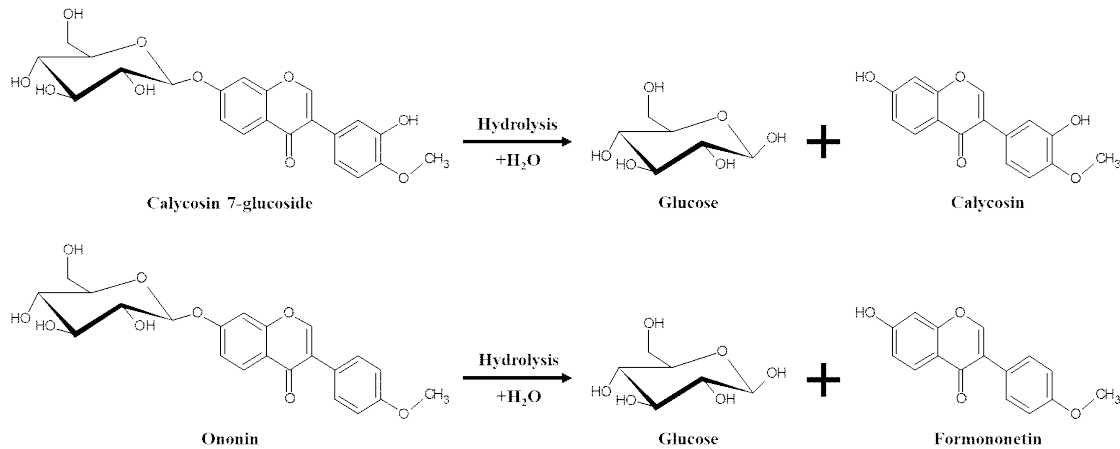


Fig. 2. Bioconversion of isoflavones from *Astragalus membranaceus* by enzymatic hydrolysis (Guo et al., 2020).

국균의 세포 외로 분비된 β -glucosidase에 의해 배당체의 당 결합이 가수분해되어 증가하였으며, 전구체에 해당하는 배당체들은 지속적으로 감소하였다(Cao 등 2015). 본 연구에서 사용한 누룩도 주요 미생물인 황국균에 의해 생성된 β -glucosidase에 의해 동일한 전환효과를 나타내는 것으로 판단된다.

황기 주요 isoflavone의 전환속도를 확인한 결과는 Fig. 5와 같다. 배당체에서 아글리콘으로 전환됨에 따라 감소되는 calycosin 7-glucoside와 ononin의 전환속도는 각각 $-1.86 \mu\text{g/g} \cdot \text{h}$ 와 $-0.86 \mu\text{g/g} \cdot \text{h}$ 이었으며, 발효 2시간부터 12시간까지의 구간에서 높은 직선성을 나타내었다. 함량 증가를 나타낸 calycosin과 formononetin의 전환속도를 확인한 결과, 발효 시작부터 6시간 구간에서 일정한 전환속도를 나타내었다. Calycosin과 formononetin의 생성속도는 각각 $11.61 \mu\text{g/g} \cdot \text{h}$ 과 $3.73 \mu\text{g/g} \cdot \text{h}$ 이었으며, 6시간 이후 생성속도가 점차 느려져서 18시간 이후에는 0에 가깝게 수렴하였다. 효소적 가수분해에 의해 전환되는 calycosin 7-glucoside와 ononin의 감소속도와 감소된 함량 대비 증가된 calycosin과 formononetin 함량은 많은 차이를 보였다. 분자량을 기준으로 $100 \mu\text{g}$ 의 calycosin 7-glucoside(MW: 446.40)가 가수분해되어 생성되는 calycosin(MW: 284.26)은 $63.7 \mu\text{g}$ 이며, $100 \mu\text{g}$ 의 ononin(MW: 430.40)에서는 $62.3 \mu\text{g}$ 의 formononetin(MW: 268.26)이 생성될 수 있다. 그러나 본 연구에서 감소된 calycosin 7-glucoside와 ononin의 함량 대비 증가된 calycosin과 formononetin의 함량은 많은 차이를 나타내어, 배당체의 감소량 대비 아글리콘의 높은 증가량을 나타내었다. 이러한 결과는 calycosin 7-glucoside와 ononin 외에 calycosin과 formononetin으로 전환이 가능한 배당체의 존재에 의한 것으로 추정된다.

황국균을 고정화하여 황기 모상근과 같이 배양하며 성분

변화를 확인한 연구에서, isoflavone 배당체의 함량이 최고점에서 배양시간에 따라 일정하게 감소하고, 그에 따라 아글리콘의 함량도 시간에 비례하여 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 감소된 배당체(calycosin 7-glucoside와 ononin)의 함량 대비 생성된 아글리콘의 함량간에 많은 차이를 나타내 본 연구의 결과와 유사하였다(Jiao 등 2017). 이는 calycosin 7-glucoside와 ononin 외에도 acetylcalycosin 7-glucoside, malonylcalycosin 7-glucoside, acetylononin 및 malonylononin과 같은 전구체가 존재하여 발생하는 함량 차이로 추정된다(Wang 등 2023).

3. 발효시간과 황기 성분간의 상관성 분석

발효시간, 항산화 특성 및 isoflavone 함량 간의 상관성을 분석한 결과는 Table 1과 같이, 발효시간과 성분 변화간에 높은 상관성을 나타내었다. 총 페놀성분 함량($0.952, p<0.01$), ABTS 라디칼 소거능($0.724, p<0.01$), calycosin($0.879, p<0.01$) 및 formononetin($0.908, p<0.01$) 함량은 발효시간과 정의 상관관계를 나타내었다. 배당체인 calycosin 7-glucoside($-0.894, p<0.01$)와 ononin($-0.834, p<0.01$)의 함량은 발효시간과 음의 상관관계를 나타내었다. 이는 발효과정에서 효소적 가수분해에 의해 페놀성 화합물의 증가, 배당체의 아글리콘으로의 전환에 의한 것으로 발효시간에 의존적인 변화를 나타내는 것으로 판단된다.

요약 및 결론

황기와 누룩을 혼합하여 발효하면서 발효시간에 따른 항산화 특성과 isoflavone(calycosin 7-glucoside, ononin, calycosin 및 formononetin) 함량 변화를 확인하였다. 총 페놀성분 함량과 ABTS 라디칼 소거능은 발효에 의해 증가하였으며, 6시간

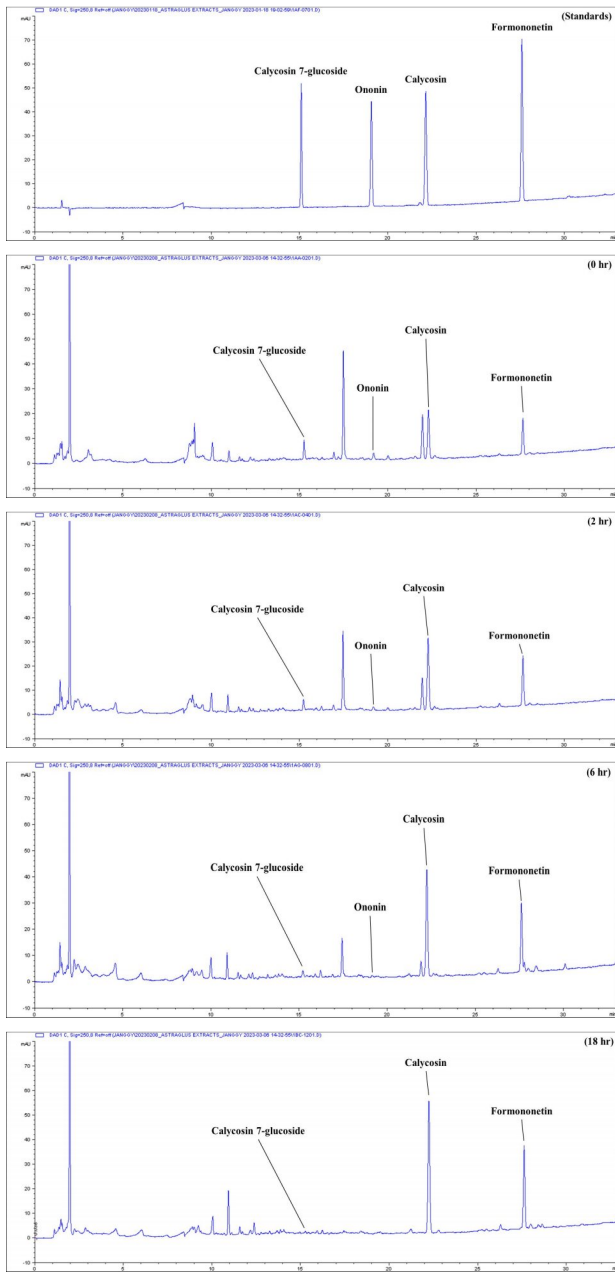


Fig. 3. Typical chromatograms of *Astragalus membranaceus* fermented by *nuruk* with different fermentation times.

발효에서 가장 우수하였다. Isoflavone 함량은 발효시간이 증가함에 따라 배당체인 calycosin 7-glucoside와 ononin 함량은 감소하였다. 아글리콘인 calycosin과 formononetin 함량은 각각 100.54 µg/g과 56.29 µg/g에서 276.84 µg/g과 123.04 µg/g으로 크게 증가하였다. 발효시간과 항산화 특성 및 isoflavone 함량 간에 높은 상관성을 나타내었다. 발효시간과 isoflavone 배당체는 음의 상관관계, 아글리콘은 양의 상관관계를 나타내었다. 이러한 결과는 누룩을 이용한 발효가 단시간에 황기

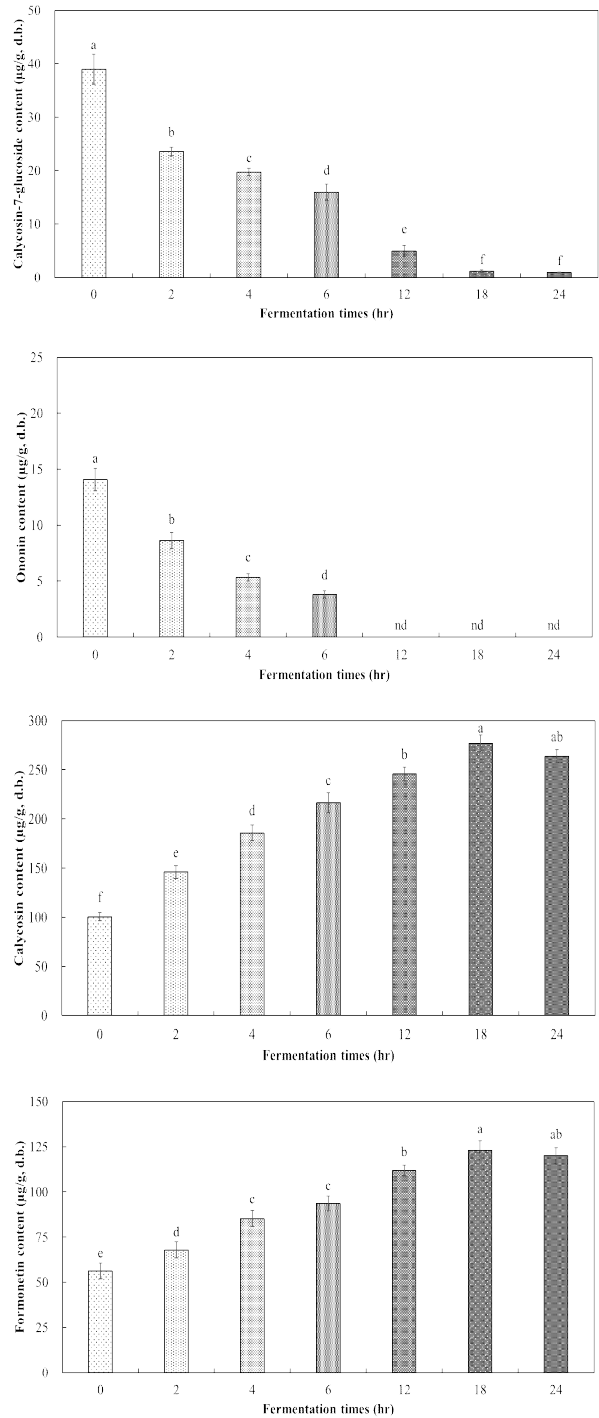
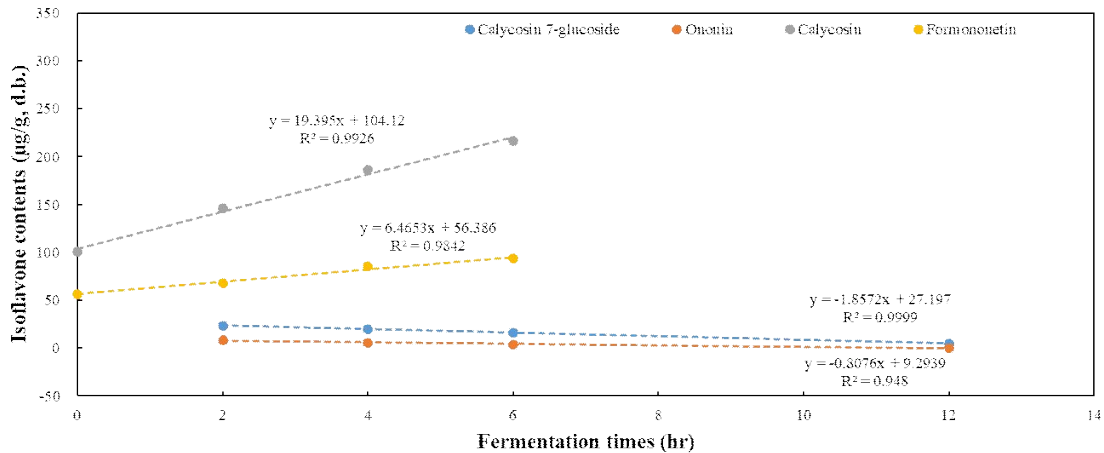


Fig. 4. Isoflavone contents of *Astragalus membranaceus* fermented by *nuruk* with different fermentation times. Different small letters on the bars indicate a significant difference ($p < 0.05$).

의 isoflavone 배당체를 아글리콘으로 전환시킬 수 있어 생물학적 전환기술로 활용할 가치가 있음을 보여준다.



Isoflavones	Conversion rate (µg/g · h, d.b.)
Calycosin 7-glucoside	- 1.86±0.02
Calycosin	11.61±0.95
Ononin	- 0.86±0.07
Formononetin	3.73±0.69

Fig. 5. Conversion rate of isoflavone from *Astragalus membranaceus* fermented by *nuruk*.

Table 1. Correlation among fermentation time, antioxidant properties, and isoflavone contents of *Astragalus membranaceus* fermented by *nuruk*

Factors	FT	TPC	ABTS	C7G	O	C	F
FT	1.000	0.952**	0.724**	-0.894**	-0.834**	0.879**	0.908**
TPC		1.000	0.550**	-0.981**	-0.953**	0.965**	0.967**
ABTS			1.000	-0.472*	-0.365	0.460*	0.549*
C7G				1.000	0.982**	-0.972**	-0.965**
C					1.000	-0.975**	-0.956**
O						1.000	0.978**
F							1.000

Factors: FT; fermentation time, TPC; total phenolic content, ABTS; ABTS radical scavenging activity, C7G; calycosin 7-glucoside, O; ononin, C; calycosin, F; formononetin.

*p<0.05, **p<0.01.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 원예특작시험연구사업의 지원에 의해 수행된 연구과제(과제번호: PJ01669401)의 일부 결과이며, 이에 감사드립니다.

References

Cao H, Chen X, Jassbi AR, Xiao J. 2015. Microbial

biotransformation of bioactive flavonoids. *Biotechnol Adv* 33:214-223
 Chen Y, Shan S, Cao D, Tang D. 2020. Steam flash explosion pretreatment enhances soybean seed coat phenolic profiles and antioxidant activity. *Food Chem* 319:126552
 Chu SC, Chen C. 2006. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chem* 98:502-507
 Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal

- processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50:3010-3014
- Gu Q, Duan G, Yu X. 2019. Bioconversion of flavonoid glycosides from *Hippophae rhamnoides* leaves into flavonoid aglycones by *Eurotium amstelodami*. *Microorganisms* 7:122
- Guo R, Guo S, Gao X, Wang H, Hu W, Duan R, Dong TTX, Tsim KWK. 2020. Fermentation of Danggui Buxue Tang, an ancient Chinese herbal mixture, together with *Lactobacillus plantarum* enhances the anti-diabetic functions of herbal product. *Chin Med* 15:98
- Haslam E. 2003. Thoughts on thearubigins. *Phytochemistry* 64:61-73
- Hirofani M, Zhou Y, Furuya HR. 1994. Cycloartane triterpene glycosides from the hairy root cultures of *Astragalus membranaceus*. *Phytochemistry* 37:1403-1407
- Huh JE, Seo DM, Baek YH, Choi DY, Park DS, Lee JD. 2010. Biphasic positive effect of formononetin on metabolic activity of human normal and osteoarthritic subchondral osteoblasts. *Int Immunopharmacol* 10:500-507
- Jiao J, Gai QY, Niu LL, Wang XQ, Guo N, Zang YP, Fu YJ. 2017. Enhanced production of two bioactive isoflavone aglycones in *Astragalus membranaceus* hairy root cultures by combining deglycosylation and elicitation of immobilized edible *Aspergillus niger*. *J Agric Food Chem* 65:9078-9086
- Jung HS, Lee EJ, Lee JH, Kim JS, Kang SS. 2008. Phytochemical studies on *Astragalus* root (3): Triterpenoids and sterols. *Korean J Pharmacogn* 39:186-193
- Kawakami Y, Tsurugasaki W, Nakamura S, Osada K. 2005. Comparison of regulative functions between dietary soy isoflavones aglycone and glucoside on lipid metabolism in rats fed cholesterol. *J Nutr Biochem* 16:205-212
- Kim MJ, Lim KR, Jung TK, Yoon KS. 2007. Anti-aging effect of *Astragalus membranaceus* root extract. *J Soc Cosmet Sci Korea* 33:33-40
- Lee HY, Ha HK, Jung DY, Choi JY, Lee NH, Ma JY, Yu YB, Shin HK. 2008. Study on pharmacological activity of *sipjeondaebotang* by difference in component ratio between *Astragali radix* and *Cinnamomi cortex*. *J Korean Oriental Med* 29:156-166
- Lee JY, Park HM, Kang CH. 2022. Antioxidant effect via bioconversion of isoflavonoid in *Astragalus membranaceus* fermented by *Lactiplantibacillus plantarum* MG5276 *in vitro* and *in vivo*. *Fermentation* 8:34
- Li Y, Guo S, Zhu Y, Yan H, Qian DW, Wang HQ, Yu JQ, Duan JA. 2019. Comparative analysis of twenty-five compounds in different parts of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* and *Astragalus membranaceus* by UPLC-MS/MS. *J Pharm Anal* 9:392-399
- Luk'yanchikov MS. 1984. Quantitative determination of flavonoids in some representatives of the family Fabaceae. *Chem Nat Compd* 20:40-41
- Luo L, Zhou J, Zhao H, Fan M, Gao W. 2019. The anti-inflammatory effects of formononetin and ononin on lipopolysaccharide-induced zebrafish models based on lipidomics and targeted transcriptomics. *Metabolomics* 15:153
- Park HM, Lee JY, Kim MY, Kang CH, Hwang HS. 2021. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of *Astragalus membranaceus* fermented by *Lactiplantibacillus plantarum* on LPS-induced RAW 264.7 cells. *Fermentation* 7:252
- Park JY, Lee JY, Kim HD, Jang GY, Seo KH. 2019. Changes in the constituents and UV-photoprotective activity of *Astragalus membranaceus* caused by roasting. *J Nutr Health* 52:413-421
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evance C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231-1237
- So MH. 1993. Conditions for the production of amylase and protease in making wheat flour *nuruk* by *Aspergillus oryzae* L2. *Korean J Food Nutr* 6:89-95
- So MH. 1999. Characteristics of a modified *nuruk* made by inoculation of traditional *nuruk* microorganisms. *Korean J Food Nutr* 12:219-225
- Song BN, Lee DB, Lee SH, Park BR, Choi JH, Kim YS, Park SY. 2020. Physicochemical properties and antioxidant activity of extract from *Astragalus membranaceus* Bunge leaf fermented with lactic acid bacteria. *Korean J Med Crop Sci* 28:428-434
- Song CQ, Zheng ZR, Liu D, Hu ZB. 1997. Isoflavones from *Astragalus membranaceus*. *Acta Bot Sin*. 39:764-768
- Subarnas A, Oshima Y, Hikino H. 1991. Isoflavans and a pterocarpan from *Astragalus mongholicus*. *Phytochemistry* 30:2777-2780
- Tang D, He B, Zheng ZG, Wang RS, Gu F, Duan TT, Cheng HQ, Zhu Q. 2011. Inhibitory effects of two major isoflavonoids in radix *Astragali* on high glucose-induced

mesangial cells proliferation and AGEs-induced endothelial cells apoptosis. *Planta Med* 77:729-732

Wang Y, Gong Y, Xiao Y, Jiang Y, Chen J, Zhao H, Qi M, Chen H, Fan J, Wang J. 2023. Study on the dynamic metabolic characteristic of main active ingredients in Danggui Buxue Decoction by liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on *in situ* sequential

metabolism strategy. *J Sep Sci* 46:2200941

Yu D, Duan Y, Bao Y, Wei C, An L. 2005. Isoflavonoids from *Astragalus mongholicus* protect PC12 cells from toxicity induced by L-glutamate. *J Ethnopharmacol* 98:89-94

Received 01 September, 2023

Revised 06 September, 2023

Accepted 19 September, 2023

In Vitro Digestion Model을 활용한 두류 소화 단계별 영양성분 변화 분석

[†]이다빈 · 장경아* · 황인선* · 강민숙* · 서미경** · 김행란*** · 유선미***

농촌진흥청 국립농업과학원 식생활영양과 석사연구원, *농촌진흥청 국립농업과학원 식생활영양과 농업연수사,
농촌진흥청 국립농업과학원 식생활영양과 연구원, *농촌진흥청 국립농업과학원 식생활영양과 농업연구관

Analysis of Nutrient Content by Digestion Phase of Legumes using an *In Vitro* Digestion Model

[†]Da Bin Lee, Kyeong A Jang*, In Seon Hwang*, Min Sook Kang*,
Mi-Kyung Seo**, Haeng Ran Kim*** and Seon Mi Yoo***

Master's Degree Researcher, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

*Researcher, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

**Researcher Assistant, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

***Senior Researcher, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

Abstract

Changes in contents of free sugars, amino acids, and fatty acids of legumes were analyzed for each phase of *in vitro* digestion. In addition, contents of resistant starch in raw and digested pulses were compared. Soybeans, kidney beans, cowpeas, and chickpeas were analyzed. An *in vitro* digestion model was used to analyze contents of nutrients using LC-MS and GC-MS. Stachyose in kidneybean, cowpea, and chickpea increased as the digestion phase progressed. In four types of legumes, raffinose slightly decreased or showed no significant difference between the Oral phase and the BBMV phase. Content of glucose, a monosaccharide, increased during the BBMV phase. During the digestion phase, levels of free amino acids and free fatty acids also increased. Content of resistant starch was reduced compared to that in the raw material. It was 0.01g/100 g food in soybean, 1.06 g/100 g food in red kidney bean, 0.77g/ 100g food in cowpea, and 0.76 g/100 g food in chickpea. It was confirmed that nutrients in the *in vitro* digestion model were liberated at each digestion phase with changes in the content of resistant starch. These results are expected to be used as fundamental data for obtaining bioavailability of nutrients.

Key words: legume, *in vitro* digestion, nutrient content

서 론

한국인의 식생활에 있어 주요 식량 자원으로 이용되는 콩은 탄수화물, 단백질, 식이섬유가 풍부한 식품으로 섭취 시 많은 건강상 이점이 있는 것으로 알려져 있다(Cha 등 2023). 콩에 함유된 올리고당의 일종인 stachyose와 raffinose는 sucrose에 galactose가 α-1,6 결합으로 각각 단일 또는 두 개의 결합이 되어있는 화학구조를 가지고 있어 인체 효소에 의해 분해가 되지 않는 난소화성 올리고당이다(Hodoniczky 등 2012). 이는 인

체의 장내 미생물에 의해 이용되어 장내 유익균인 bifidobacteria의 생육을 촉진시켜 부패균에 의한 대사산물 생성을 억제하고 혈장 내 총지방, 콜레스테롤 및 중성지방의 함량을 감소시켜 성인병의 유발을 억제한다(Choi 등 2014; Kim 등 2023). 또한, 콩에는 올리고당 외에도 대장 미생물의 먹이로 활용되는 식이섬유와 저항전분이 다량 함유되어 있다(Lee 등 2022). 소화되지 않는 탄수화물을 식이섬유라고 하며 불용성 식이섬유와 수용성 식이섬유로 분류된다. 불용성 섬유질은 대변의 부피를 증가시켜 장을 더 빨리 통과하도록 돕고, 수용성

[†] Corresponding author: Da Bin Lee, Master's Degree Researcher, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea. Tel: +82-63-238-3842, E-mail: wnel4495@daum.net

섭유질은 유익한 박테리아에 의해 선택적으로 발효되어 다양한 단쇄지방산(SCFA)의 생성을 증가시키는 프리바이오틱스로써 작용한다(Julio-Gonzalez 등 2021). 저항전분은 장내 유익한 미생물의 먹이가 되어 발효되면서 bifidobacteria와 같은 장내 유익균을 증가시키는 생리적 효과가 있다(Oku & Nakamura 2002; Chang MJ 2004).

한편 콩은 단백질과 지방의 공급원으로도 이용된다. 특히 lysine 등의 필수아미노산과 linoleic acid, linolenic acid 등 불포화 지방산을 다량 함유하고 있어 심혈관계 질환을 예방하고 두뇌 발달 촉진 효과를 기대할 수 있다(Lee 등 2013).

입을 통해 섭취한 식품 성분은 인체 내에서 입의 amylase, 위의 pepsin과 lipase, 소장의 pancreatin, sucrase, lactase, maltase 등 다양한 소화 효소에 의해 분해되어 체내 유용할 수 있는 영양 및 기능성 성분을 생산한다. 주요 영양성분인 탄수화물, 지방, 단백질은 섭취 후 각각 당, 지방산, 아미노산으로 분해·흡수되어 생리활성 기능을 유지하는 데 활용된다. 따라서 식품 섭취 이후 건강 영향을 파악하기 위해서는 소화 단계에 따른 성분 변화에 대한 연구가 필수적이다.

In vitro digestion model은 인체 내 소화과정을 모사하여 만든 방법으로 인체 내 소화와 비슷한 유사 환경을 만들어 비슷한 결과를 얻어낼 수 있는 연구 방법이다(Bae 등 2021). 동물 또는 인간을 대상으로 한 식품의 기능성 검증이 가장 정확한 생리활성 결과를 얻을 수 있으나, in vivo digestion model은 많은 시간과 비용이 소요되며 동물실험이나 인체적용시험 등에서 발생하는 윤리적 문제가 있다(Jo 등 2018). In vitro digestion model을 활용한 식품 연구는 많이 이루어지고 있다. 특히 전분, 차, 쌀, 빵 등 식물성 식품 관련 연구가 45%를 차지한다. 다음으로 식육 18%, 낙농식품 9%로 대부분의 식품 연구 분야에서 in vitro digestion model이 이용된다는 것을 의미한다. 이 실험법을 두류에 적용한 연구는 보고된 바 없으나 볶음 메밀이나 케일, 석류, 신선초 등 식이섬유 다함유 시료를 활용한 연구는 일부 연구에서 보고되었다(Lee 등 2019; Bae 등 2021; Kim 등 2021). In vitro digestion model은 실험의 목적에 따라 사용하는 효소, 시료의 성질, 시료의 사이즈, 소화 온도, pH 등의 항목이 고려되어야 한다. 시료의 성질에 따라 탄수화물 시료는 α -amylase와 mucin을, 지방질 시료에는 pancreatin 및 bile salt를, 단백질 시료에는 pepsin을 첨가 또는 함량을 증가시키는 등의 조절이 필요하며 시료의 입자가 크거나 시료의 양이 많을수록 소화시간을 증가시켜 in vitro digestion이 원활히 이루어지도록 실험하여야 한다(Hur 등 2012).

본 연구에서는 한국인 식생활에서 식용유, 장류, 두부 등 식품의 원료로 사용되어 다소비 두류에 해당하는 대두를 대조군으로 하여 저항전분 함량이 많은 붉은강낭콩(국산), 동

부(국산), 병아리콩(외국산) 3종을 분석 시료로 선별하였다. 식품과학, 영양학자 등 과학자들이 모여 음식 소화에 대한 기초연구를 수행하는 국제연구 네트워크인 INFOGEST에서 제시한 가장 일반적이고 표준화된 in vitro digestion model을 참고하여 입, 위, 소장에서의 소화를 진행하였다(Minekus 등 2014). 추가로 회장 소화단계를 구현하여 전분과 단백질 소화를 완료하기 위해 brush border membrane vesicles(BBMV) 효소를 첨가하였으며(Ferreira-Lazarte 등 2019), 소화물의 대장 이관 전 마지막 단계인 흡수(dialysis) 과정까지 모사하여 기존 시스템을 보완하였다. 최종적으로 구축된 digestion model을 두류 시료에 적용하여 두류의 영양성분 함량 변화를 입, 위, 소장, 용모 소화단계별로 확인하였다.

재료 및 방법

1. 시료 선정 및 전처리

본 연구에서 사용한 시료 중 대두(Glycinemax), 붉은 강낭콩(Phaseolus vulgrais var. humilis Alef), 동부(Vigna unguiculata)는 각각 경상북도 상주, 경상남도 거창, 전라남도 구례 농협에서 직접 구매하였고, 병아리콩(Cicer arietinum)은 미국산으로 온라인 유통처를 통해 구매하였다. 두류 4종을 국가표준식품 성분표(National Institute of Agricultural Sciences 2021)에 제시된 표준 조리법에 따라 조리하여 실험에 사용하였다. 각 두류의 조리 방법은 불린 시간·물양·삶는 시간을 달리하였으며 두류별 조리법은 다음과 같다. 대두는 4시간 동안 불린 후 3배의 물양을 넣고 40분 동안 삶았다. 동부는 8시간 불린 후 10배의 물을 넣고 50분간 삶았다. 붉은 강낭콩은 불림 없이 10배의 물에 1시간 동안 삶았다. 병아리콩은 6시간 동안 불린 후 10배의 물에 15분 동안 삶아 전처리하였다. 조리 완료된 두류 시료는 물기를 제거하고 믹서기(SMX-350SKHN, Shinil, Korea)로 20초간 분쇄하여 최종 시료로 사용하였다.

2. In vitro digestive model

소화 단계별 영양소 함량 변화를 보기 위해 Minekus 등 (2014)의 방법에 따라 oral phase(입), gastric phase(위), intestinal phase(소장), BBMV phase(용모) 소화 과정을 진행하였다(Fig. 1, Table 1). Oral phase는 시료와 입 소화액(SSF, pH 7.0), 효소(75 U/mL salivary α -amylase solution(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 0.3 M CaCl₂(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), water)을 1:1(w/v)로 넣어 37°C 항온 진탕기(200 rpm)에서 2분간 반응하였다. Gastric phase는 입 소화물과 위 소화액(SGF, pH 3.0), 효소[2000 U/mL porcine pepsin stock solution(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 0.3M CaCl₂, 1M HCl(Daejung, Seoul, Korea), water]을 1:1(v/v)로 섞고 37°C 항온 진탕기(200

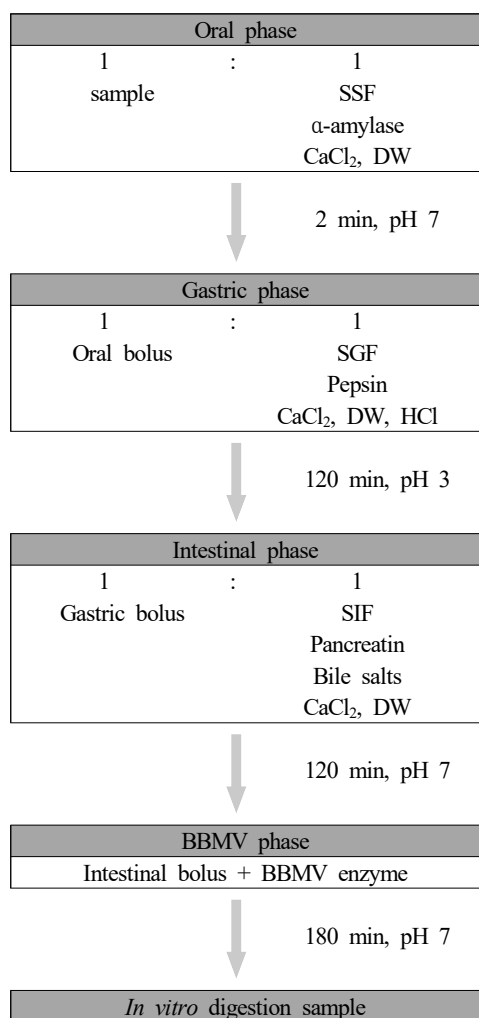


Fig. 1. Overall process of each phase in *in vitro* digestion system.

Table 1. Composition of simulated fluid (mmol/L)

Composition	SSF	SGF	SIF
KCl ¹⁾	15.1	6.9	6.8
KH ₂ PO ₄ ²⁾	3.7	0.9	0.8
NaHCO ₃ ³⁾	6.8	12.5	42.5
NaCl ⁴⁾	-	11.8	9.6
MgCl ₂ · (H ₂ O) ₆ ⁵⁾	0.5	0.4	1.1
(NH ₄) ₂ CO ₃ ⁶⁾	0.06	0.5	-

¹⁾ Potassium chloride P9333, Sigma aldrich Co, Seoul, Korea.

²⁾ Potassium phosphate monobasic P0662, Sigma aldrich Co.

³⁾ Sodium bicarbonate S5761, Sigma aldrich Co.

⁴⁾ Sodium chloride S9888, Sigma aldrich Co.

⁵⁾ Magnesium chloride hexahydrate 63068, Sigma aldrich Co.

⁶⁾ Ammonium carbonate 207861, Sigma aldrich Co.

rpm)에서 120분간 반응하였다. Intestinal phase는 위 소화물과 장 소화액(SIF, pH 7.0), 효소[200 U/mL pancreatin from porcine pancreas(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)], 160 mM bile salts(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 0.3 M CaCl₂ water을 1:1(v/v)로 섞고 37°C 항온 진탕기(200 rpm)에서 120분간 반응하였다. 이후 intestinal phase를 거친 시료에 77.3 U/mL BBMV 효소를 첨가하고 37°C 항온 진탕기(200 rpm)에서 180분간 1:1(v/v) 반응하였다(Oku 등 2011). 다음 phase로 진행하기 전에 phase별로 샘플을 채취하였고 100°C에서 10분 동안 효소 반응을 중지시킨 후 보관하였다. 모든 샘플은 원심분리(4,000 rpm, 10분) 후 상등액을 취하여 0.45 μm 필터로 여과한 다음 성분분석에 이용하였다.

3. Dialysis 구현

In vitro digestion을 거친 샘플을 회수하여 Spectra/Por[®] 6 Standard RC Pre-wetted Dialysis Tubing(SPL Life Sciences, Pocheon, Gyeonggi, Korea)에 넣고 10 mM NaCl(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 담가 저분자 소화물을 제거하였다. 37°C에서 24시간 동안 진행하였다(Shiowatana 등 2006; Bouayed 등 2011; Hettiarachchi 등 2021).

4. 유리당 분석

Phase별 유리당(6종) 함량은 Dionex ultimate 3000(Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)를 이용해 분석하였다. 컬럼은 Sugar-pak(WAT085188, 300 mm×6.5 mm, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였으며, 소화물 시료는 일정량의 증류수에 균질화한 후 0.45 μm 필터에 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다. 표준품은 glucose(98%), lactose monohydrate(99%) 2종은 Junsei chem에서 구입하여 사용하였고 raffinose(99%), stachyose(99%), sucrose(99.5%)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하여 유리당 함량을 분석하였다.

5. 아미노산 분석

아미노산(18종)은 Dionex Ultimate 3000(Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)을 사용해 분석하였으며 컬럼은 Inno C18 column(4.6 mm×150 mm, 5 μm, USP L1, YounJin Biochrom, Seongnam, Gyeonggi, Korea)을 사용하였다. 소화물 시료는 추출 Buffer(0.1 M perchloric acid, 0.1% meth-phosphoric acid)에 넣어 1시간 초음파 추출 후 상온에서 1시간 혼합한 뒤 0.2 μm 필터 후 분석에 사용하였다. 표준품(aspartic acid, glutamic acid, serine, histidine, glycine, threonine, alanine, arginine, taurine, tyrosine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine, proline, tryptophan)은 Agilent(Santa Clara, CA, USA)와 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 분

석하였다.

6. 지방산 분석

지방산은 palmitic acid, stearic acid, arachidic acid, oleic acid, linoleic acid, α -linolenic acid의 함량 변화를 GC-MS (7890A, Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 시료는 동결 건조하여 methylation mixture (MeOH:Benzen:DMP:H₂SO₄ = 39:20:5:2) 340 μ L, heptane 200 μ L를 넣고 흔든 후 80°C에서 2시간 추출하였다. 추출 후 상온 냉각하여 형성된 두 층 중 상층액을 일정량 추출 후 GC로 분석하였다. 컬럼은 DB-23(60 mm×0.25 mm×0.25 μ m, 122-2362-INT, Agilent, Santa Clara, CA, USA)을 사용하였고 검출기는 FID(280°C, H₂ 35, Air 350, He 35 mL/min)를 사용하여 분석하였다.

7. 저항전분 함량 분석

시료는 동결건조 및 분쇄하여 Resistant starch assay kit(K-RAPRS, Megazyme International Ireland Ltd., Ireland)를 사용하여 AOAC 방법으로 측정하였다(Hoehnel 등 2020; McCleary 등 2020). Pancreatin α -amylase/amyloglucosidase로 37°C에서 4시간 반응하였고, 95% 에탄올 용액 4 mL를 넣어 효소 반응을 중지시켰다. 4,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 분리한 후 상등액은 소화가능한 전분 분석에 사용하였고, 침전물은 저항전분 분석에 사용하였다. 저항전분 함량을 분석하기 위해 침전물에 50% 에탄올 용액을 넣어 원심분리하여 세척하고, 침전물에 1.7 M NaOH 용액을 첨가하여 분산 및 용해했다. 1 M sodium acetate buffer(pH 3.8)와 amyloglucosidase (AMG)를 첨가하여 50°C에서 30분 반응시킨 후 가수분해된 glucose 양에 따라 저항전분 함량을 계산하였다. 소화가능한 전분 함량은 상등액에 dilute AMG를 추가하여 50°C에서 30분 동안 반응시킨 후 glucose oxidase plus peroxidase로 D-glucose 함량으로 측정하였으며, 수분함량을 고려한 식품 100 g 당 전분 함량으로 제시하였다.

8. 통계분석

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하여 평균과 표준편차를 산출하였고, 시료 간의 차이는 Statistical Package for Social Sciences(SPSS)(26.0, IBM, Chicago, IL, USA) 소프트웨어를 사용하여 t-test 및 분산분석(one-way ANOVA, Duncan 다중범위시험법 사후검정)으로 95% 유의수준에서 검정하였다. 주 성분분석법(PCA, principle component analysis)을 이용한 다변량분석은 GraphPad Prism(9.5.1, Dotmatics, Boston, MA, USA)을 사용하였다. 각 시료의 phase별 영양성분 함량 데이터를 표준화(평균을 0, 표준편차를 1로 조정)하여 사용하였으며, 주성분은 eigenvalue가 1을 초과하는 두 개의 성분을 선정하였

다. 데이터 입력 및 기술통계는 Microsoft Excel 2016(Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA)을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. In vitro digestive model을 적용한 두류의 단계별 유리당 함량 분석

두류 4종에 함유된 유리당 함량 변화를 phase별로 확인하였다(Table 2). 대두의 stachyose(사당류)와 raffinose(삼당류)는 oral phase보다 소화 마지막 단계인 BBMV phase에서 유의적으로 감소하였다. Stachyose의 함량을 보면 붉은강낭콩은 30,839.88 mg/L에서 58,389.65 mg/L로, 동부는 41,360.63 mg/L에서 73,802.63 mg/L로, 병아리콩은 19,618.06 mg/L에서 45,862.19 mg/L로 oral phase보다 BBMV phase에서 증가하였다. 대두의 stachyose 함량은 소화가 진행됨에 따라 감소하였으나, 그 외 콩 시료들은 약 1.5배 증가하였다. 이는 올리고당, 저항전분, 식이섬유가 많은 두류로 알려진 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩은 대조군인 대두보다 탄수화물 함량이 높아(Im 등 2016; National Institute of Agricultural Sciences 2021; Zuo 등 2022) 다당류인 복합탄수화물이 BBMV phase에서 분해되면서 stachyose의 함량이 증가하였기 때문으로 보인다. 한편, 대두의 raffinose 함량은 oral phase보다 BBMV phase에서 감소하였고, 붉은강낭콩은 증가하였다. 동부, 병아리콩의 raffinose 함량은 소화 전·후의 유의적인 차이를 보이지 않았다.

두류에 많이 함유된 올리고당류인 stachyose와 raffinose는 소화 효소에 의해 잘 분해되지 않고 산과 열에 강하여 바로 대장까지 도달하는 특성이 있다(Hodoniczky 등 2012; Julio-Gonzalez 등 2021). Table 2에서 소화 후에도 stachyose와 raffinose가 상당량 잔존한다는 사실을 확인하였으며, 이 물질은 대장에서 장내 미생물의 먹이인 프리바이오틱스로 활용될 가능성이 있음을 시사한다.

본 연구에서는 전분을 충분히 소화하기 위해 BBMV 효소를 첨가하여 용모소화단계를 추가하였다. BBMV 효소는 포유류 소장 점막 세포에서 분비되는 다중효소복합체로 sucrase-isomaltase, lactase-phlorizin hydrolase, maltase-glucoamylase 등의 활성을 가진다(Ferreira-Lazarte 등 2019). Zhang 등(2023)에 따르면 stachyose는 소화되지 않는 탄수화물이지만 BBMV 효소에 의해 부분적으로 소화된다고 보고하였다. 앞서 보았듯 대두의 stachyose 함량은 oral, gastric, intestinal phase까지는 증가하다가 BBMV phase에서 함량이 감소하는 경향을 보였다. 이는 용모 단계에서의 BBMV효소에 의해 stachyose가 부분적으로 소화되어 나타난 현상으로 보인다.

모든 시료에서 단당류인 glucose는 oral, gastric, intestinal

Table 2. Changes in free sugar contents at each phase of digestion

(mg/L)

Sample ¹⁾	Glucose	Lactose	Sucrose	Stachyose	Raffinose
SO	N/A ²⁾	N/A	42,979.07±312.77 ^a	28,944.09±166.69 ^a	7,801.8±87.45 ^{ab}
SG	N/A	7,771.97±394.76	38,410.46±1,308.7 ^b	30,101.61±913.85 ^a	8,911.33±291.84 ^a
SI	N/A	13,582.57±717.28	37,411.08±970.59 ^b	31,243.91±1,641.37 ^a	7,149.54±1,222.17 ^b
SB	19,952.33±638.23	N/A	29,009.74±1,792.1 ^c	23,815.13±1,472.22 ^b	4,501.78±286.12 ^c
KO	N/A	N/A	56,092.97±254.32 ^c	30,839.88±250.24 ^c	23,673.82±125.12 ^d
KG	N/A	5,785.17±326.72 ^b	30,135.64±421.18 ^d	42,886.89±322.13 ^b	20,171.15±253.81 ^c
KI	N/A	16,487.98±913.73 ^a	102,758.79±2,929.43 ^a	28,351.11±380.64 ^d	64,373.59±968.96 ^a
KB	176,968.38±2,010.68	16,640.7±216.71 ^a	68,200.93±498.84 ^b	58,389.65±456.93 ^a	27,928.03±720.21 ^b
CO	N/A	N/A	71,733.82±1,738.34 ^c	41,360.63±1,523.81 ^b	36,657.4±1,346.15 ^b
CG	10,927.63±189.93 ^b	3,266.05±513.59 ^c	16,190.62±598.14 ^d	25,005.9±274 ^c	36,726.67±359.56 ^b
CI	8,038.83±162.93 ^b	16,920±245.52 ^a	135,785.51±807.87 ^a	32,989.15±409.27 ^c	91,807.13±487.16 ^a
CB	236,139.7±9,280.11 ^a	13,168.17±621.9 ^b	97,430.45±4,680.02 ^b	73,802.63±3,840.77 ^a	39,762.34±2,082.07 ^b
CHO	N/A	N/A	52,700.25±916.73 ^c	19,618.06±372.01 ^c	38,509.73±607.2 ^b
CHG	N/A	8,134.32±215.34 ^c	41,741.27±499.4 ^d	22,550.63±305.83 ^b	36,685.49±271.15 ^c
CHI	5,594.36±213.29	21,213.51±952.87 ^a	84,953.01±754.19 ^a	19,424.93±31.37 ^c	64,711.91±257.23 ^a
CHB	160,828.94±2,070.2 [*]	15,019.13±664.79 ^b	54,877.3±468.47 ^b	45,862.19±1,064.9 ^a	38,348.29±767.34 ^b

^{a-d}Different letters within the same column indicate significant differences ($p<0.05$) in contents compared by digestion phase (after).

^{*}Significant differences ($p<0.05$) in contents before and after the same digestion phase.

¹⁾ S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase.

²⁾ N/A: not available.

phase에서는 검출되지 않았고 BBMV phase에서 함량이 증가하였다. BBMV효소에 의해 올리고당, 이당류 등이 가수분해되어 glucose가 생성된 것으로 보인다.

2. *In vitro* digestive model 적용 전·후 저항전분 함량 소화하지 않은 원물의 저항전분 함량은 선행연구 데이터를 인용하여 제시하였다(Table 3). Lee 등(2022)에서 대두, 붉

은강낭콩, 병아리콩의 저항전분과 소화가능한 전분의 함량을 분석하였고 동일한 방법으로 동부와 *in vitro* digestive model을 적용한 소화 후 시료의 저항전분과 소화가능한 전분의 함량을 확인하였다. 저항전분은 소장에서 흡수되지 않고 대장으로 이관되므로 소장과 대장에서 흡수되는 영양소들을 제외하기 위해 인위적 막을 활용한 흡수단계를 구현하였다. 대두의 경우 소화 전 시료의 저항전분과 소화가능한 전분

Table 3. Resistant and digestible starch contents in legumes before and after *in vitro* digestion

(mean±S.D.)

Starch	RS ¹⁾ (g/ food 100 g) ³⁾		DS ²⁾ (g/food 100 g)	
	Before	After	Before	After
<i>In vitro</i> digestion ⁴⁾				
Soybean	0.01±0.01 ⁵⁾	0.01±0.01 ^c	0.27±0.04 ⁵⁾	0.01±0.01 ^d
Kidneybean	2.24±0.06 ⁵⁾	1.06±0.06 ^a	18.61±0.51	2.26±0.02 ^b
Cowpea	1.70±0.10	0.77±0.02 ^b	15.15±0.78 ⁵⁾	1.66±0.07 ^c
Chickpea	1.31±0.04 ⁵⁾	0.76±0.05 ^b	17.32±0.74 ⁵⁾	4.48±0.09 ^a

^{a-d}Different letters within the same column indicate significant differences ($p<0.05$) in contents compared by digestion phase (after).

¹⁾ RS: resistant starch.

²⁾ DS: digestible starch.

³⁾ g/food 100 g: Starch content considering moisture content of boiled legumes; dry weight basis×{(100 - Moisture content)/100}.

⁴⁾ Samples were treated from oral to dialysis phase.

⁵⁾ Data from the previous study (Lee et al. 2022).

함량이 각각 0.01 ± 0.01 g/food 100 g, 0.27 ± 0.04 g/food 100 g으로 대상 시료 중 가장 낮은 수준이었고 소화 후 시료에서도 전분 함량이 타 시료에 비해 매우 낮았다. 붉은강낭콩과 동부, 병아리콩은 저항전분이 높은 두류로 알려져 있다. 붉은강낭콩의 저항전분은 2.24 ± 0.06 g/food 100 g이었고 소화 후에는 1.06 ± 0.06 g/food 100 g으로 감소하였다. 동부의 저항전분은 1.70 ± 0.10 g/food 100 g으로 나타났고 소화 후에는 0.77 ± 0.02 g/food 100 g으로 감소하였다. 병아리콩은 소화전에 1.31 ± 0.04 g/food 100 g, 소화 후에 0.76 ± 0.05 g/food 100 g으로 감소하였다. 결론적으로 두류별 저항전분 소화율은 붉은강낭콩 47%, 동부 45%, 병아리콩 58%로 나타났다. 저항전분은 약 30~70%만이 소화된다고 보고된 바 있어(Chang MJ 2004), 선행연구와 유사한 결과를 보였음을 알 수 있다.

저항전분의 종류에는 RS-1, RS-2, RS-3, RS-4가 있다. RS-1은 도정이나 저작에 의해 분해되는 전분인데, *in vitro* digestion 구현 시 입의 저작 작용을 모사하기 위해 삶은 두류를 분쇄하는 과정에서 RS-1 형태의 저항전분이 감소했을 것으로 예상된다. RS-3는 열에 의해 호화되며 식품 내 소화 효소에 의해 감소한다(Nugent AP 2005). 소화가 진행되면서 작용하는 여러 소화 효소에 의해 일부 분해되었을 것이다. 다만, 소화 효소에 의한 전분 분해율은 콩 껍질의 유무, 발효, 조리 방법에 따라 달라지는데(Jeong 등 2019), 본 연구에서 사용한 시료는 다른 첨가물 없이 물에 불린 후 적정 시간 동안 삶은 것으로 전처리 방법에 따라 저항전분과 소화가능한 전분의 함량은 달라질 수 있다.

3. *In vitro* digestive model을 적용한 두류의 단계별 아미노산 함량 분석

소화 단계별 아미노산 함량 변화를 보았다(Table 4, Table 5). 모든 두류에서 소화가 진행됨에 따라 아미노산의 함량이 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 BBMV phase에서 필수아미노산의 함량이 유의적으로 증가한 것을 통해 단백질은 위의 pepsin뿐만 아니라 소장과 용모 효소에 의한 소화도 가능하다는 사실을 알 수 있다.

비필수아미노산 8종(tyrosine, alanine, aspartic acid, glutamic acid, glycine, proline, serine, taurine) 중 taurine은 대두에서는 gastric, intestinal, BBMV phase를 거칠수록 함량이 증가하였고 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩의 BBMV phase에서는 검출되지 않았다.

BBMV phase의 아미노산 함량을 보면 품종과 상관없이 필수아미노산에서는 leucine, lysine, phenylalanine, arginine이 비필수아미노산에서는 tyrosine, alanine, glutamic acid, serine이 전반적으로 높은 함량을 보였다. 국가표준식품성분표에서도 다른 아미노산류보다 leucine, lysine, arginine, glutamic acid, aspartic acid의 함량이 높았다. 특히 콩에는 곡류의 제한아미노산인 lysine이 풍부하다고 보고되고 있다(Lee 등 2013; Kim 등 2022). 따라서 두류에 풍부한 아미노산류가 *in vitro* digestion model을 이용한 두류 소화물에서도 나타났다고 볼 수 있다.

콩의 소화단계별 아미노산 함량 변화와 관련된 선행연구는 보고된 바 없으나, 탈지분유를 사용한 *in vitro* digestion system 검증 연구는 꾸준히 진행되었다. 탈지분유의 경우 입

Table 4. Changes in essential amino acid content at each phase of digestion

(mg/L)

Sample ¹⁾	Isoleucine	Leucine	Lysine	Methionine	Phenylalanine	Threonine	Tryptophan	Valine	Histidine	Arginine
SO	29.42±1.92 ^d	23.02±0.55 ^d	48.06±5.22 ^c	11.58±0.39 ^d	30.4±2.58 ^c	26.98±0.78 ^d	230.59±6.39 ^d	29.96±0.3 ^d	101.14±4.88 ^c	2,164.67±62.71 ^d
SG	94.9±1.16 ^c	207.09±4.34 ^c	115.54±9.76 ^c	66.29±1.98 ^c	153.02±2.41 ^c	102.07±2.46 ^c	337.56±4.16 ^c	135.7±4.24 ^c	128.66±3.53 ^c	2,480.85±51.25 ^c
SI	1067.19±22.66 ^b	3,257.8±81.33 ^b	1,957.34±109.28 ^b	357.76±15.94 ^b	3,870.98±96.17 ^b	453.11±8.54 ^b	1,001.25±23.61 ^b	734.35±22.02 ^b	486.05±32.79 ^b	5,952.66±130.72 ^b
SB	4,588.88±42.58 ^a	10,691.88±105.57 ^a	9,015.81±83.36 ^a	1,727.23±29.26 ^a	9,462.78±94.73 ^a	2,280.16±28.47 ^a	2,229.86±22.36 ^a	3,849.95±33.28 ^a	1,651.21±61.37 ^a	15,365.88±165.51 ^a
KO	30.88±0.45 ^c	36.59±0.37 ^c	65.37±2.16 ^c	7±0.86 ^d	70.99±1.72 ^c	65.13±0.62 ^c	89.12±0.38 ^c	66.32±2.55 ^c	160.46±1.52 ^c	1,521.26±10.13 ^c
KG	77.22±0.89 ^c	172.98±3.57 ^c	98.87±6.89 ^c	48.84±2.03 ^c	161.18±2.96 ^c	105.12±2.4 ^c	136.66±2.94 ^c	148.5±5.14 ^c	164.53±5.62 ^c	1,495.03±36.09 ^c
KI	424.61±5.9 ^b	1,636.09±23.5 ^b	1,678.81±58.61 ^b	157.79±3.24 ^b	1,962.91±23.73 ^b	330.23±10.64 ^b	397.45±5.63 ^b	416.22±1.78 ^b	413.46±10.76 ^b	3,815.37±72.61 ^b
KB	3,300.93±112.87 ^a	7,763.77±221.83 ^a	7,358.6±319 ^a	707.25±22.75 ^a	6,647.25±213.7 ^a	2,120.82±63.74 ^a	1,187.56±70.26 ^a	3,605.23±98.8 ^a	1,929.77±205.56 ^a	8,893.86±304.3 ^a
CO	16.65±0.72 ^d	24.65±0.3 ^d	44.94±2.44 ^c	9.69±0.39 ^d	42.43±0.86 ^c	33.98±1.13 ^d	99.98±2.74 ^d	43.4±0.94 ^d	106.79±2.05 ^c	1,272.58±26.72 ^d
CG	73.18±2.13 ^c	174.73±3.05 ^c	96.24±8.01 ^c	54.57±1.06 ^c	153.12±3.84 ^c	92.55±3.69 ^c	132.13±0.95 ^c	142.29±1.76 ^c	152.98±3.25 ^c	1,706.38±31.96 ^c
CI	474.5±17.45 ^b	1,931.34±69.19 ^b	2,023.27±90.79 ^b	208.83±8.54 ^b	2,287.34±91.97 ^b	345.73±30.99 ^b	519.61±13.8 ^b	445.12±16.81 ^b	434.99±21.43 ^b	4,406.49±200.06 ^b
CB	4,031.29±49.42 ^a	9,356.31±119.54 ^a	9,179.25±59.28 ^a	825.1±17.51 ^a	7,805.94±77.9 ^a	3,047.97±50.56 ^a	1,501.53±19.11 ^a	4,366.42±47.48 ^a	2,244.01±63.91 ^a	10,376.73±160.56 ^a
CHO	7.13±0.73 ^c	5.24±0.51 ^d	203.21±10.67 ^c	4.53±0.36 ^d	21.54±3.25 ^c	44.53±0.63 ^d	278.86±8.21 ^d	15.68±0.64 ^d	73.28±2.11 ^c	5,897.06±145.81 ^d
CHG	74.98±1.4 ^c	186.98±2.59 ^c	270.14±2.62 ^c	50.58±1.8 ^c	136.57±1.87 ^c	117.54±1.54 ^c	381.94±3.61 ^c	114.18±0.62 ^c	101.96±1.51 ^c	6,542.32±90.08 ^c
CHI	533.07±4.8 ^b	1,741.31±18.42 ^b	1,349.64±19.37 ^b	184.77±3.56 ^b	2,106.77±22.76 ^b	366.82±7.24 ^b	607.73±9.1 ^b	506.29±8.01 ^b	482.58±7.00 ^b	8,324.94±108.42 ^b
CHB	2,698.98±89.84 ^a	5,646.8±173.16 ^a	5,459.15±248.18 ^a	641.13±21.26 ^a	5,219.33±176.75 ^a	2,066±65.78 ^a	941.32±25.87 ^a	2,599.46±89.53 ^a	1,248.48±81.53 ^a	14,596.08±486.92 ^a

^{a-d}Different letters within the same column indicate significant differences ($p < 0.05$) in contents compared by digestion phase (after).

¹⁾ S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase.

Table 5. Changes in nonessential amino acid content at each phase of digestion

(mg/L)

Sample ¹⁾	Tyrosine	Alanine	Aspartic acid	Glutamic acid	Glycine	Proline	Serine	Taurine
SO	16.67±0.46 ^c	170.06±4.25 ^d	306.93±14.38 ^c	370.83±13.12 ^c	12.34±0.47 ^d	30.47±1.08 ^b	43.65±2.04 ^d	N/A ²⁾
SG	79.62±2.69 ^c	301.67±4.49 ^c	468.02±10.31 ^b	616.97±11.52 ^b	96.42±4.73 ^c	71.55±0.46 ^b	133.08±6.52 ^c	17.1±0.9 ^c
SI	3764±117.85 ^b	565.37±14.46 ^b	446.38±12.25 ^b	666.67±18.67 ^b	145.84±9.01 ^b	74.28±2.06 ^b	294.89±7.98 ^b	27.43±0.8 ^b
SB	8,161.39±120.28 ^a	4,871.68±39.07 ^a	1,265±20.45 ^a	2,830.51±75.75 ^a	962.08±15.44 ^a	675.11±74.22 ^a	3,528.03±47.05 ^a	76.32±8.47 ^a
KO	43.01±0.43 ^c	181.07±0.44 ^c	393.49±2.98 ^c	1,079.53±10.2 ^c	51.76±0.38 ^c	56.94±1.63 ^c	50.51±0.74 ^c	N/A
KG	86.28±2.24 ^c	256.14±5.35 ^c	460.47±13.51 ^b	1,104.69±28.89 ^c	92.56±7.91 ^{bc}	106.25±8.26 ^b	106.94±5.56 ^c	13.61±1.05
KI	1,677.58±22.43 ^b	439.4±5.81 ^b	493.51±7.82 ^b	1,251.32±15.26 ^b	142.4±5.44 ^b	130.72±2.66 ^b	243.36±7.01 ^b	32.3±0.82 [*]
KB	4,565.66±165.33 ^a	3,911.66±99.92 ^a	1,467.68±54.65 ^a	4,094.07±142.02 ^a	1,094.03±59.95 ^a	570.93±32.81 ^a	3,550.36±102 ^a	N/A
CO	36.45±1.7 ^c	125.99±4.76 ^d	455.22±11.64 ^c	901.94±33.41 ^d	36.36±2.23 ^d	41.4±2.12 ^c	28.68±0.25 ^d	N/A
CG	75.9±2.09 ^c	257.23±3.86 ^c	699.5±13.85 ^b	1,190.21±21.13 ^c	89.72±0.93 ^c	80.06±1.43 ^{bc}	104.15±1.63 ^c	N/A
CI	2,111.58±87.99 ^b	476.63±16.28 ^b	712.98±35.7 ^b	1,389.39±60.4 ^b	161.39±6.72 ^b	125.28±9.33 ^b	259.73±10.36 ^b	28.17±1.62
CB	5,635.62±138.54 ^a	4,918.39±58.33 ^a	2,111.76±22.64 ^a	5,222.6±26.19 ^a	1,597.1±18.12 ^a	714.54±72.54 ^a	4,782.38±40.84 ^a	N/A
CHO	31.5±0.85 ^c	32.22±0.65 ^d	71.73±2.61 ^d	1,044.8±31.84 ^c	32.86±2.04 ^d	354.16±13.84 ^b	22.9±0.41 ^c	N/A
CHG	93.26±1.98 ^c	167.63±2.55 ^c	232.33±5.37 ^c	1,295.94±29.1 ^b	109.9±1.4 ^c	368.03±39.11 ^b	103.28±1.38 ^c	19.42±0.33
CHI	1,783.45±30.47 ^b	407.77±6.26 ^b	284.86±5.32 ^b	1,356.07±41.45 ^b	166.01±2.01 ^b	433.98±13.23 ^b	247.16±1.86 ^b	N/A
CHB	3,547.66±106.34 ^a	3,312.54±116 ^a	1,072.02±51.55 ^a	3,411.85±166.61 ^a	1,105.35±57.77 ^a	1,645.36±339.49 ^a	2,825.42±130.25 ^a	N/A

^{a-d}Different letters within the same column indicate significant differences ($p<0.05$) in contents compared by digestion phase (after).

^{*}Significant differences ($p<0.05$) in contents before and after the same digestion phase.

¹⁾ S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase.

²⁾ N/A: not available.

단계에서는 유청단백질의 소화가 거의 이루어지지 않고, α -S2-casein, α -S1-casein, β -casein, κ -casein, α -lactoglobulin은 위 소화 단계에서 완료되며 β -lactoglobulin은 소장을 거쳐야 완전히 소화된다. 유리 아미노산도 pancreatin과 bile이 첨가된 소장 단계에서 다량 생성되었다(Kopf-Bolanz 등 2012). Xu 등 (2021)에 따르면 위 소화 단계에서는 단백질을 펩타이드로 분해하고 단백질의 작은 부분만 아미노산으로 분해되며 intestinal phase에서 펩타이드와 소분자 단백질이 아미노산으로 분해된다. 한편 Minekus 등(2014)은 단백질의 최종 소화를 위해서는 BBMV 효소가 필요하다고 하였다. BBMV는 주로 prolyl endopeptidase 효소를 통해 강력한 단백질 분해 활성을 갖는 것으로 알려져 있다(Perez-Gregorio 등 2018). 본 연구의 대두, 붉은강낭콩, 병아리콩, 동부의 소화과정에서도 intestinal phase에서 첨가된 pancreatin과 bile에 의해 단백질이 소화되며 동일한 pH와 온도 조건에서 BBMV 효소가 첨가되기 때문에 BBMV phase에서는 pancreatin과 BBMV 효소가 동시에 작용하게 된다. 이 때문에 gastric, intestinal phase보다 BBMV phase에서 높은 아미노산 함량을 나타내는 것으로 보인다.

4. In vitro digestive model을 적용한 두류의 단계별 지방산 함량 분석

콩의 지방산 함량은 linoleic acid>oleic acid>palmitic acid>

linolenic>stearic acid 순으로 높다고 알려져 있다(Kim 등 2007). 유리지방산 함량의 변화를 gastric, intestinal, BBMV phase별로 분석하였으며, oral phase에서는 지방의 소화가 거의 이루어지지 않아 제외하였다(Table 6).

대두, 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩 모두 지방산 5종의 함량이 증가하는 경향을 보였다. 본 연구에서 BBMV phase에서 유리지방산의 함량이 가장 높았는데, 선행연구에서도 두류의 소장 소화 단계에서 BBMV효소를 첨가하였을 때 지질 안정성이 떨어지고 유리지방산이 증가하였다. BBMV 효소는 lipase, phospholipase, A₂ cholesterol esterase가 포함된 효소 복합체이기 때문에 지방산의 소화에 영향을 미치는 것으로 보인다(Xu 등 2021).

본 연구와 유사하게 Minekus 등(2014)을 참고한 방법으로 탈지분유의 소화 전·후 총 지방산을 분석한 선행연구 결과(Kopf-Bolanz 등 2012), SCFA는 소화 후에 증가하였고, medium chain fatty acid(MCFA)와 LCFA는 종류에 따라 증가하기도 감소하기도 하였다. 탈지분유의 stearic acid, oleic acid, linoleic acid는 소화 후에 증가하였다. 지방산의 전체 비율로 보았을 때 소화 후 LCFA은 감소하고 MCFA와 SCFA는 증가하지만, 각각의 지방산 사슬은 어떠한 규칙에 따라 감소하거나 증가하는 것으로 보이지 않는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 사용한 두류와 달리 탈지분유는 중성지방이 상당

Table 6. Changes in fatty acid content at each phase of digestion

(µg/mL)

Sample ¹⁾	Palmitic acid (C16:0)	Stearic acid (C18:0)	Arachidic acid (C20:0)	Oleic acid (C18:1(n-9))	Linoleic acid (C18:2(n-6))	α-linolenic acid (C18:3(n-3))
SG	4.265±0.08 ^c	1.317±0.04 ^c	0.12±0.00 ^c	6.372±0.13 ^c	18.922±0.36 ^b	3.113±0.07 ^c
SI	8.826±0.07 ^b	2.71±0.08 ^b	0.239±0.01 ^b	10.781±0.18 ^b	34.234±0.34 ^a	5.86±0.07 ^b
SB	10.999±0.34 ^a	3.691±0.14 ^a	0.318±0.01 ^a	11.253±0.3 ^a	33.27±0.84 ^a	5.517±0.17 ^a
KG	0.728±0.07 ^c	0.142±0.03 ^c	N/A ²⁾	0.311±0.03 ^c	0.816±0.05 ^c	1.089±0.06 ^c
KI	2.17±0.06 ^b	0.432±0.03 ^b	N/A	0.869±0.03 ^b	2.161±0.05 ^b	2.758±0.06 ^b
KB	3.324±0.21 ^a	0.777±0.08 ^a	N/A	1.554±0.09 ^a	3.566±0.16 ^a	4.134±0.14 ^a
CG	0.769±0.02 ^c	0.131±0.01 ^c	N/A	0.294±0.01 ^c	0.913±0.03 ^c	1.336±0.04 ^c
CI	2.99±0.12 ^b	0.542±0.08 ^b	N/A	1.076±0.04 ^b	3.102±0.09 ^b	4.446±0.10 ^b
CB	4.236±0.22 ^a	0.989±0.12 ^a	N/A	1.746±0.08 ^a	4.475±0.20 ^a	5.817±0.24 ^a
CHG	2.017±0.18 ^b	0.408±0.08 ^b	0.093±0.01 ^b	6.596±0.43 ^c	6.063±0.48 ^c	0.223±0.02 ^c
CHI	3.103±0.45 ^a	0.817±0.30 ^a	0.149±0.02 ^a	9.115±0.37 ^b	8.077±0.30 ^b	0.325±0.02 ^b
CHB	3.61±0.15 ^a	0.959±0.10 ^a	0.155±0.01 ^a	11.444±0.31 ^a	10.111±0.30 ^a	0.365±0.01 ^a

^{a-d} Different letters within the same column indicate significant differences ($p < 0.05$) in contents compared by digestion phase (after).

¹⁾ S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase.

²⁾ N/A: not available.

량 제거되므로 지방 소화 후 LCFA 생성량이 적어 발생한 현상으로 추정할 수 있다.

5. 주성분분석(PCA)을 이용한 두류의 소화단계별 영양 성분 함량 비교

두류 시료의 소화단계별 영양성분 함량을 비교·분석하고자 주성분 분석 방법을 사용하였다. 주성분 분석 결과 PC score와 loadings를 함께 나타낸 biplot은 Fig. 2에 나타내었다.

유리당의 경우 PC1에 대한 variance proportion은 45.47%, PC2에 대한 variance proportion은 27.33%이었다(Fig. 2A). 대

두를 제외한 두류 3종(붉은강낭콩, 동부, 병아리콩)은 같은 소화단계를 거친 시료 간 유리당 함량이 유사한 양상으로 나타나는 것을 확인할 수 있다. 1사분면에 속하는 성분은 raffinose, sucrose, lactose로 서로 상관관계를 보였으며 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩의 intestinal phase에서 높은 함량을 보였다. 2사분면에 속하는 stachyose와 glucose는 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩의 BBMV phase에서 함량이 높았다. 이중 동부의 intestinal 및 BBMV phase에서 타 두류보다 모든 유리당 함량이 가장 높다는 사실을 알 수 있다. Table 2의 유리당 함량을 보면, stachyose는 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩의 BBMV phase에서

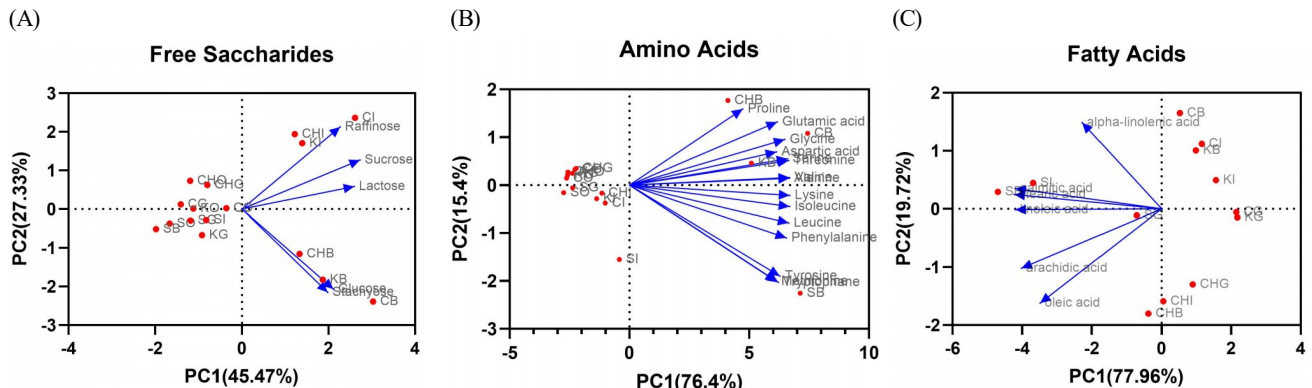


Fig. 2. Principal component analysis (PCA) biplots of digestion phase and nutrients contents in legumes. (A) Free sugar, (B) Amino acid, (C) Fatty acid. S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase.

가장 함량이 높았고 glucose는 모든 두류에서 높았다.

비필수아미노산의 주성분 분석 결과 PC1에 대한 variance proportion은 76.4%이고, PC2는 15.4%이었다. 각 두류의 BBMV phase에서 아미노산 함량이 가장 높았으며, oral, gastric, intestinal phase에서는 모두 낮은 함량을 보였다(Fig. 2B). 비필수아미노산인 proline, glutamic acid, glycine, aspartic acid, serine, alanine은 1사분면에 속해 서로 상관성을 보였고, 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩의 BBMV phase에서 함량이 높았다. 그 외 필수아미노산 성분은 4사분면에 속해 상관성을 보였으며 대두의 BBMV phase에서 높은 수준이었다.

지방산의 주성분 분석 결과 biplot은 Fig. 2C에 나타냈으며 PC1에 대한 variance proportion은 77.96%이고, PC2는 19.72%이었다. palmitic acid, stearic acid, α -linolenic acid는 2사분면, arachidic acid, oleic acid, linoleic acid는 3사분면에 속해 각각 상관성을 보였다. 모두 음의 방향으로 분포하고 있다. 대두 소화물에서는 타 두류보다 지방산 함량이 높다는 사실을 알 수 있으며, 소장, 용모단계보다 위 단계에서 상대적으로 낮은 수준이었다. 한편 동부, 붉은강낭콩의 위, 소장, 용모 소화물은 병아리콩보다 palmitic acid, stearic acid, α -linolenic acid 함량이 높은 경향을 보이며, 병아리콩 소화물에서는 arachidic acid, oleic acid, linoleic acid가 상대적으로 많이 검출되었다. 각 두류에서 gastric-intestinal-BBMV phase로 갈수록 지방산 함량이 증가하는 경향 또한 확인할 수 있다.

요약 및 결론

본 연구에서는 네 가지 종류의 두류 시료를 *in vitro* digestion model에 적용하여 탄수화물 · 단백질 · 지방의 소화 단계별 함량 변화를 보고자 하였다. 콩은 양질의 단백질을 함유한 식품이며 종에 따라서는 저항전분이나 식이섬유 함량이 높아 장내 미생물의 좋은 먹잇감을 제공하기도 한다. 불용성 식이섬유가 높은 동부, 붉은강낭콩, 병아리콩을 선별하고 다소비 두류인 대두와 비교하여 유리당, 아미노산, 지방산의 함량 변화를 보았다. 올리고당인 stachyose와 raffinose는 소화되지 않고 대장으로 이관되어 프로바이오틱스로 작용하는 유리당이다. 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩에서 stachyose는 BBMV phase에서 증가하였다. 이는 복합 탄수화물이 분해되면서 생성된 것으로 보인다. Raffinose는 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩에서 oral phase와 BBMV phase에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 대두는 stachyose와 raffinose가 oral phase보다 BBMV phase에서 감소하였다. 단당류인 glucose는 oral, gastric, intestinal phase에서 검출되지 않거나 미량 검출되다가 소화 마지막 단계인 BBMV phase에서 증가하였다. 필수아미노산 10종과 비필수아미노산 8종 모두 oral phase보다

BBMV phase에서 증가하였다. 콩의 유리지방산 소화가 진행됨에 따라 증가하는 경향을 보였다. 대두와 병아리콩의 α -linolenic acid는 소장과 용모단계에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 콩 원물과 소화 후의 저항전분과 소화가능한 전분 함량을 분석하였다. 소화가능한 전분은 대부분 소화되었고, 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩의 저항전분 함량은 원물과 비교하였을 때 약 1 g/food 100 g 감소하였으나 대조군인 대두보다는 높은 함량을 보였다. 본 연구결과를 통해 소장 용모 및 흡수 과정이 보완된 *in vitro* digestion model을 적용하여 식품 섭취 후 체내에서 생성 · 흡수되는 영양성분 함량을 추정할 수 있으며, 추후 다양한 영양 · 기능성분의 생체이용률 산출을 위한 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 기관고유 연구사업 “식재료 및 식단의 장내 미생물·대사체 변화 분석 및 건강 영향 예측 연구 (PJ016762)”의 일환으로 수행되었으며, 지원에 감사를 드립니다.

References

- Bae HG, Kim S, Lee JC, Kim MJ. 2021. Evaluation of antioxidant activity and lipid oxidative stability of roasted buckwheat according to *in vitro* digestive system. *Korean J Food Preserv* 28:612-620
- Bouayed J, Hoffmann L, Bohn T. 2011. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem* 128:14-21
- Cha SH, Song HY, Pyeon GN, Hong EA, Bak SL, Park SB, Jiang S, Jang KI. 2023. Changes of isoflavone contents in white and black soybean powders prepared under drying conditions after soaking. *Korean J Food Nutr* 36:87-92
- Chang MJ. 2004. Starch in human health. *Food Ind Nutr* 9:10-18
- Choi M, Cho K, Nam S. 2014. Antioxidant activities and changes in *trans*-resveratrol and indigestible oligosaccharides according to fermentation periods in *cheonggukjang*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:243-249
- Ferreira-Lazarte A, Gallego-Lobillo P, Javier Moreno F, Villamiel M, Hernandez-Hernandez O. 2019. *In vitro* digestibility of galactooligosaccharides: Effect of the structural features on their intestinal degradation. *J Agric Food Chem* 67:4662-

4670

- Hettiarachchi HACO, Gunathilake KDPP, Jayatilake S. 2021. Effect of *in-vitro* gastrointestinal digestion and dialysis process on phenolic compounds and antioxidant capacity of selected underutilized fruits in Sri Lanka. *Trop Agric Res* 32:212-218
- Hodoniczky J, Morris CA, Rae AL. 2012. Oral and intestinal digestion of oligosaccharides as potential sweeteners: A systematic evaluation. *Food Chem* 132:1951-1958
- Hoehnel A, Bez J, Sahin AW, Coffey A, Arendt EK, Zannini E. 2020. *Leuconostoc citreum* TR116 as a microbial cell factory to functionalise high-protein faba bean ingredients for bakery applications. *Foods* 9:1706
- Hur SJ, Lee SK, Kim YC, Choi IW. 2012. Development of *in vitro* human digestion models for health functional food research. *Food Sci Ind* 45:40-49
- Im JY, Kim SC, Kim S, Choi Y, Yang MR, Cho IH, Kim HR. 2016. Protein and amino-acid contents in Baektae, Seoritae, Huktae, and seomoktae soybeans with different cooking methods. *Korean J Food Cookery Sci* 32:567-574
- Jeong D, Han JA, Liu Q, Chung HJ. 2019. Effect of processing, storage, and modification on *in vitro* starch digestion characteristics of food legumes: A review. *Food Hydrocoll* 90:367-376
- Jo YN, Hwang HJ, Yoo M, Lee DE, Jung TH, Han KS. 2018. Estimation of digestibility of hanwoo cuts using *in vitro* physicochemical gastroduodenal system. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47:1029-1035
- Julio-Gonzalez LC, Moreno FJ, Jimeno ML, Doyagüez EG, Olano A, Corzo N, Hernandez-Hernandez O. 2021. Hydrolysis and transglycosylation activities of glycosidases from small intestine brush-border membrane vesicles. *Food Res Int* 139: 109940
- Kim HH, Kim YJ, Kim KY, Shin CS, Yoon JW, Jeon S, Kim BM, Bang J, Kim K. 2023. Effects of 2'-fucosyllactose on defecation and intestinal microbiota in mice. *Korean J Food Nutr* 36:193-201
- Kim HJ, Seo JH, Won DJ, Han N, Lee JY, Kim M, Lee YY, Kang MS. 2022. Comparison of physicochemical properties of seed protein in soybean cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 51:1048-1055
- Kim HS, Oh KY, Lee SM, Kim JY, Lee SH, Jang JS, Lee MH. 2021. Effect of extraction methods on the quality of pomegranate juice and physiological activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 50:136-148
- Kim SL, Lee YH, Chi HY, Lee SJ, Kim SJ. 2007. Diversity in lipid contents and fatty acid composition of soybean seeds cultivated in Korea. *Korean J Crop Sci* 52:348-357
- Kopf-Bolanz KA, Schwander F, Gijs M, Vergères G, Portmann R, Egger L. 2012. Validation of an *in vitro* digestive system for studying macronutrient decomposition in humans. *J Nutr* 142:245-250
- Lee DB, Lee YJ, Kang MS, Kim HR, Jang KA. 2022. Analysis of resistant starch content and its functional properties in legumes and manufactured soy milk. *Korean J Food Cookery Sci* 38:332-340
- Lee S, Lee Y, Kim HS. 2013. Analysis of the general and functional components of various soybeans. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1255-1262
- Lee SM, Park HJ, Kim HS, Kim JY, Lee SH, Jang JS, Lee MH. 2019. Quality characterization by various juice extraction method and changes in physiological activities by *in vitro* digestion of *Angelica keiskei*, *Brassica oleracea*, and *Oenanthe javanica* vegetable juices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 48:718-727
- McCleary BV, McLoughlin C, Charmier LMJ, McGeough P. 2020. Measurement of available carbohydrates, digestible, and resistant starch in food ingredients and products. *Cereal Chem* 97:114-137
- Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, Carrière F, Boutrou R, Corredig M, Dupont D, Dufour C, Egger L, Golding M, Karakaya S, Kirkhus B, Le Feunteun S, Lesmes U, Macierzanka A, Mackie A, Marze S, McClements DJ, Ménard O, Recio I, Santos CN, Singh RP, Vegarud GE, Wickham MSJ, Weitschies W, Brodtkorb A. 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food: An international consensus. *Food Funct* 5:1113-1124
- National Institute of Agricultural Sciences. 2021. Korean Food Composition Table. 10th ed. rev. pp.90-96. National Institute of Agricultural Sciences
- Nugent AP. 2005. Health properties of resistant starch. *Nutr Bull* 30:27-54
- Oku T, Nakamura S. 2002. Digestion, absorption, fermentation, and metabolism of functional sugar substitutes and their available energy. *Pure Appl Chem* 74:1253-1261
- Oku T, Tanabe K, Ogawa S, Sadamori N, Nakamura S. 2011. Similarity of hydrolyzing activity of human and rat small

- intestinal disaccharidases. *Clin Exp Gastroenterol* 2011:155-161
- Shiowatana J, Kitthikhun W, Sottimai U, Promchan J, Kunajiraporn K. 2006. Dynamic continuous-flow dialysis method to simulate intestinal digestion for *in vitro* estimation of mineral bioavailability of food. *Talanta* 68:549-557
- Xu Q, Ritzoulis C, Han J, Han F, Jin W, Liu W. 2021. Particle degradation and nutrient bioavailability of soybean milk during *in vitro* digestion. *Food Biophys* 16:58-69
- Zhang G, Sun C, Song, J, Jin W, Tang Y, Zhou D, Song L. 2023. Glycation of whey protein isolate and stachyose modulates their *in vitro* digestibility: Promising prebiotics as functional ingredients. *Food Biosci* 52:102379
- Zuo Z, Liu S, Pang W, Lu B, Sun W, Zhang N, Zhou X, Zhang D, Wang Y. 2022. Beneficial effect of kidney bean resistant starch on hyperlipidemia-induced acute pancreatitis and related intestinal barrier damage in rats. *Molecules* 27:2783

Received 21 August, 2023

Revised 13 September, 2023

Accepted 25 September, 2023

잎들깨 유전자원의 기능성분 및 항산화 활성

안연주 · 김정인* · 김상우* · 김성엽* · 오은영* · 이정은* · 이은수* ·
유은애** · 성정숙*** · 이명희**** · 김춘송**** · †김민영*

농촌진흥청 국립식량과학원 남부작물부 발작물개발과 산학협동과정 박사과정생

*농촌진흥청 국립식량과학원 남부작물부 발작물개발과 농업연구사

농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터 농업연구사, *농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터 농업연구관

****농촌진흥청 국립식량과학원 남부작물부 발작물개발과 농업연구관

Functional Components and Antioxidant Activities of Perilla Leaf Genetic Resource

Yeon Ju An, Jung In Kim*, Sang Woo Kim*, Sungup Kim*, Eunyoung Oh*, Jeongeun Lee*, Eunsoo Lee*,
Eunae Yoo**, Jung-Sook Sung***, Myoung Hee Lee****, Choon-Song Kim**** and †Min Young Kim*

*Doctor's Student, Upland Crop Breeding Research Division, Dept. of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA,
Miryang 50424, Korea*

**Associate Researcher, Upland Crop Breeding Research Division, Dept. of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA,
Miryang 50424, Korea*

***Associate Researcher, National Agrobiodiversity Center, NIAS, RDA, Jeonju 54874, Korea*

****Research Officer, National Agrobiodiversity Center, NIAS, RDA, Jeonju 54874, Korea*

*****Research Officer, Upland Crop Breeding Research Division, Dept. of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA,
Miryang 50424, Korea*

Abstract

The objective of this study was to investigate the distribution of functional compounds in perilla leaves of various genetic resources and their antioxidant activities. A comprehensive analysis of functional compounds was conducted for 90 genetic resources, focusing on total polyphenol content (TPC), total flavonoid content (TFC), individual phenolic content (IPC), and lutein. Their antioxidant activities were then analyzed based on their radical scavenging capacity using ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The TPC content exhibited a range of 13.19 to 35.85 mg gallic acid equivalent/g, whereas the TFC content varied from 11.74 to 46.51 mg catechin equivalent/g. Total IPC was detected in a range of 6,310.98 to 40,491.82 µg/g. Lutein was detected at levels between 70.97 and 597.97 µg/g. ABTS and DPPH radical scavenging activities of perilla leaves ranged from 30.39 to 58.58 mg trolox equivalent (TE)/g and from 7.74 to 46.56 mg TE/g, respectively. Furthermore, correlation analysis demonstrated that rosmarinic acid, a phenolic acid, exhibited a significantly positive correlation with antioxidant activity. These findings suggest that various genetic resource of perilla leaves could effectively mediate antioxidant capacity. Results of this study provide valuable information for use of perilla leaves in Korea as functional food materials.

Key words: perilla leaf, genetic resource, functional compound, antioxidant activity

† Corresponding author: Min Young Kim, Associate Researcher, Upland Crop Breeding Research Division, Dept. of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Miryang 50424, Korea. Tel: +82-55-350-1215, Fax: +82-55-350-3050, E-mail: kmyqwer@korea.kr

서 론

최근 다양한 질병과 전염병 등으로 건강과 면역에 대한 사람들의 관심이 높고, 항산화 활성 및 기능성이 우수한 농산물에 대한 관심도 함께 증가하고 있다(Kim 등 2022). 우리나라의 대표 유식작물 중 하나인 들깨 [*Perilla frutescens* var. *japonica* (Hassk.) Hara.]는 한국을 중심으로 중국, 인도, 일본 등 동아시아에서 널리 재배되고 있는 꿀풀과 들깨속에 속하는 1년생 초본 작물이다. 과거에는 주로 종실유를 채취할 목적으로 들깨가 재배되어 왔으나 최근 육류의 소비 증가 및 웰빙에 의한 쌈채소 소비 시장의 급성장으로 최근 들깨잎용 품종이 개발되어 연중 생산이 가능해졌다(Lee 등 2009). 독특한 향미와 개운한 맛 때문에 쌈채소뿐만 아니라 깻잎 절임, 깻잎 김치, 나물 및 양념으로도 많이 쓰인다(Kim 등 2022). 또한 한의학에서는 강장, 소화, 충독, 해독, 음종 및 옷의 해독 등에도 사용되고 있으며, 깻잎에 함유되어 있는 식이 섬유소는 당뇨병, 비만예방, 항암 및 항산화 효과가 있는 것으로 알려져 있어 기능성 채소로도 개발 가치가 높다(Mercurio & Behm 1981).

다양한 질병의 원인으로 알려진 활성산소(reactive oxygen radical, ROS)는 쌍을 이루지 못한 전자에 의해 높은 반응성을 가지며 이는 산화적 스트레스의 직접적 원인이 된다(Kim 등 2019). 따라서 최근 세포내 활성산소 억제제를 위해 항산화에 좋은 다양한 성분들을 많이 섭취하고 있는 실정이다(Kim 등 2022). 활성산소는 세포막 지질의 과산화를 촉진하고 NF- κ B(nuclear factor kappa B)를 비롯한 다양한 신호전달 체계를 활성화 시킴으로써 염증반응을 촉진한다(Zhang 등 2002). 몸속 염증 및 항염 반응은 외부 자극에 대하여 스스로를 보호하기 위한 가장 첫번째 면역 작용 중의 하나이나, 그 정도가 과도하게 되면 관절염, 천식, 만성 장염 및 위염, 건선, 피부염 등의 염증 질환을 유발하게 된다(Guo 등 2011). 체내 활성산소를 제거하기 위해 다양한 연구가 진행되고 있을 뿐 아니라(Jennings & Barnett 1988), 천연 항산화제에 대한 연구 또한 활발히 진행되고 있다(Um 등 2017).

들깨잎에는 luteolin, caffeic acid, quercetin, rosmarinic acid, lutein 등의 페놀 및 기능 성분이 다량 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(Yamazaki & Saito 2006). 특히 luteolin은 플라보노이드계 화합물로 항바이러스와 미백 활성, 항산화 활성을 가지고(Jeon 등 2014), caffeic acid는 페놀산 중 계피산의 일종으로 커피, 허브, 와인 등에 포함되어 있으며(Li 등 2019), 산화스트레스 유발 및 aflatoxin의 생산을 억제할 수 있다고 알려져 있다(Oh & Lee 2003). Caffeic acid의 이합체인 rosmarinic acid는 체내에서 생성되는 활성산소를 제거하는 역할을 함으로써 항산화와 치매 예방에 좋고(Kim 등 2019), 맥아당을 포

도당으로 분해시키는 작용을 해서 혈중 당분을 체외로 배출시켜 혈당의 상승을 억제하는 작용을 한다고 알려져 있다(Hyun 등 2003). 또한 lutein은 주로 식물의 엽록체 속에 존재하며, 시력 보호의 기능이 있어 눈 건강에 도움을 주는 것으로 알려져 있고(Semba & Dagnelie 2003), 면역 및 항암 활성을 가지며 여러 만성질환의 예방과 상관성이 있다(Granado 등 2003).

유전자원이란 자연계에 존재하는 종자, 미생물, 동물, 곤충 등 모든 생명체 및 넓게는 DNA, genome 등을 포함하며, 현재는 물론 미래에도 인류 생존 및 복지에 필수 불가결한 존재로(Oh Y 2004) 오랫동안 인류 공동유산(common her-itage)으로 인정되어왔다. 우리나라는 약 26만여 건의 식물유전자원을 보유하고 있는 세계 5위 수준의 종자 강국이지만 종자 시장 내 차지하는 비중은 1% 내외이다(Shin J 2012). 따라서 국내 유전자원의 국제 경쟁력을 강화하기 위해 적극적인 확대 및 발전을 위한 방안을 모색해야 할 필요가 있을 것으로 보인다(Kwak 등 2012). 현재 들깨의 기능성분 및 항산화 활성에 대한 연구는 품종별로 다양하게 진행되어 보고되어 있지만, 유전적 다양성을 가지는 유전자원 간의 유용성분 분포에 따른 항산화 활성에 대한 연구는 부족한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 농업적으로 이용 가치가 높고, 생리활성 성분의 차이가 다양한 유전자원을 대상으로 들깨 유용성분과 항산화 활성을 평가하여 상관관계를 구명하고, 국내 들깨의 우수 유전자원의 선발에 활용하여 기능성 식품 소재 개발에 유용한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

본 연구에 사용한 시험재료는 국립농업과학원 농업유전자원센터에서 분양받은 90자원의 들깨종자를 2022년도에 경상남도 밀양 소재의 국립식량과학원 남부작물부 시험포장에서 재배하여 개화 이전의 잎을 수확한 후 동결건조하여 사용하였다. 항산화 활성 측정 및 기능성분 분석에 사용된 Trolox, ABTS, DPPH, Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, catechin hydrate, sodium nitrite, aluminum chloride hexahydrate, sodium carbonate 등은 Sigma(Sigma-Aldrich Co., Steinheim, Germany)로부터 구입하여 사용하였다. 사용된 시약은 analytical 및 HPLC 등급을 사용하였다.

2. 총 폴리페놀 함량 (total polyphenol contents, TPC) 및 총 플라보노이드 함량 (total flavonoid contents, TFC)

잎들깨 시료 0.5 g을 80% methanol 20 mL 가해 24시간 교반추출(multi shaker MMS, Eyla)하여 잎들깨 추출물을 제조

하여 실험에 사용하였다. 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu phenol reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 한 Woo 등(2010)의 방법을 변형하여 분석하였다. 잎들깨 추출물에 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 μ L를 가하고 5분간 보관한 후 7.5% Na_2CO_3 80 μ L를 가하여 혼합하였다. 암소에서 30분간 발색시킨 후 750 nm에서 Spectrophotometer Reader(VERSAmax)로 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 표준 물질로 하여 검량선을 작성하였고, mg gallic acid equivalent(GAE)/g(dry basis)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Dewanto 등(2002)의 방법에 따라 추출물 100 μ L에 증류수 400 μ L와 5% NaNO_2 30 μ L를 가한 뒤, 5분 후 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 30 μ L를 가하여 혼합하였다. 6분 후 1 N NaOH 200 μ L, 증류수 240 μ L를 가한 후 강하게 vortex 한 뒤, 13,500 rpm, 5분 동안 원심분리하여 상등액 200 μ L를 취하였다. 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였으며, (+)-catechin(Sigma-Aldrich Co.)을 표준 물질로 하여 검량선을 작성하였고, mg catechin equivalent (CE)/g (drybasis)로 나타내었다.

3. ABTS 및 DPPH radical 소거 활성

잎들깨 추출물의 항산화 활성 분석은 ABTS 및 DPPH radical 소거 활성을 측정하였으며, Trolox equivalent antioxidant capacity(TEAC) 방법을 변형하여 측정하였다(Re 등 1999). ABTS radical 소거 활성은 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulfate 용액을 1:1 비율로 섞은 후 상온에서 12시간 보관하여 ABTS 양이온을 형성시켜 흡광도 값이 0.8-1.1의 수치가 되도록 증류수로 희석하였다. 20 μ L 잎들깨 추출물에 ABTS solution 200 μ L를 분주하여 30분간 암반응 시킨 후 735 nm에서 흡광도를 측정하였다.

DPPH radical 소거 활성은 20 μ L 잎들깨 추출물에 0.2 mM DPPH solution 200 μ L를 분주하였고, 30분간 암반응 시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 및 DPPH radical 소거 활성 측정에 표준물질로 Trolox를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 시료의 항산화력을 mg trolox equivalent (TE)/100 g (dry basis)로 나타내었다.

4. Phenolic compounds 및 lutein 함량

잎들깨의 phenolic compounds 추출을 위해 분쇄된 시료 0.5 g에 80% methanol 20 mL를 가하여 3시간 교반 추출하였다. 또한 lutein 추출을 위해 분쇄된 시료 0.2 g에 Acetone 15 mL를 분주하여 30분간 초음파 추출하여 분석에 사용하였다. 함량 분석은 High Performance Liquid Chromatography(HPLC, 액체크로마토그래피, Ultimate 3000, Thermo fisher)를 이용하여 측정하였으며 phenolic compounds의 분석 조건은 Table 1,

lutein의 분석 조건은 Table 2와 같다.

5. 통계분석

모든 실험에 대한 통계 자료의 값은 R studio(ver. 4.2.0)을 이용하였으며, $p < 0.05$ 수준에서 유의성 검정하였고, 상관관계 분석(Correlation analysis), 군집분석(CA; cluster analysis) 및 주성분 분석(PCA; principal component analysis)을 수행하였다. 상관관계 분석은 Pearson's correlation coefficient를 기반으로 하여 수행하였고, 들깨 유전자원의 군집 특성을 파악하고 보다 가시화하기 위해 'pheatmap' 라이브러리(library)를 이용하여 군집분석을 포함하는 heatmap을 작성하였다. 또한, 변

Table 1. The analytical conditions of HPLC for identification and determination of phenolic compounds

Instrument	HPLC Ultimate 3000	
Column	YMC Triart C-18 (50×2 mm, 1.9 μ m)	
Mobile phase	(A): 0.1% acetic acid in water (B): 0.1% acetic acid in acetonitrile	
Flow rate	0.4 mL/min	
Injection vol.	5 μ L	
Wavelength	330 nm	
Time(min)	A (%)	B (%)
1	95	5
3	85	15
9	81	19
12	72	28
16	40	60
22	95	5

Table 2. The analytical conditions of HPLC for identification and determination of lutein

Instrument	HPLC Ultimate 3000	
Column	Supersil column (4.6×150 mm, 5 μ m)	
Mobile phase	(A): 75% methanol (B): Ethyl acetate	
Flow rate	1.0 mL/min	
Injection vol.	10 μ L	
Wavelength	450 nm	
Time(min)	A (%)	B (%)
1	70	30
15	10	90
20	70	30
25	70	30

수들 간의 기여도 정도를 분석하여 주성분 분석을 수행하였으며, 상관관계수 행렬의 고유벡터(eigenvector)를 제1주성분(PC1)부터 제8주성분(PC8)까지 나타내었고, 각 주성분별 고유치(eigenvalue) 및 기여율(contribution)을 표로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 총 폴리페놀 함량 (total polyphenol contents, TPC) 및 총 플라보노이드 함량 (total flavonoid contents, TFC)

90자원의 유전자원 잎들개 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정 결과 평균 26.55 mg GAE/g, 13.19~35.85 mg GAE/g의 범위로 나타났으며(Table 3), 총 폴리페놀 고함량 자원은 IT117017 (35.85 mg GAE/g)이었다. 이전 Kim 등(2019)의 잎들개 유전자원의 항산화 활성 평가 연구에서 한국 품종인 다유의 총 폴리페놀 함량은 29.32 mg GAE/g으로 유사한 결과로 보고되었다. 총 플라보노이드 함량 측정 결과 평균 31.12 mg CE/g, 11.74~46.51 mg CE/g의 함량 범위로 나타났으며(Table 3), 총 플라보노이드 고함량 자원 또한 유전자원 IT117017(46.51 mg CE/g)으로 총 폴리페놀 고함량 자원과 같은 자원으로 나타났다. 이전 연구(Kwak 등 2013)인 잎들개와 참깨잎 추출물의 플라보노이드 함량 비교 분석한 연구에서 들깨잎의 총 플라보노이드 함량이 약 100 mg GAE/100 g으로 보고되어 선행연구보다 본 연구에서 다소 낮은 함량 결과를 보였고, 이는 사용된 시료의 재배 환경, 추출 방법 및 조건 등에 차이가 있기 때문인 것으로 생각된다(Kwak 등 2013).

2. ABTS 및 DPPH radical 소거 활성

잎들개 추출물의 항산화 활성은 ABTS 및 DPPH radical 소거 활성을 측정하였다. 시료의 특성에 따른 ABTS와 DPPH radical과의 결합 정도가 다를 수 있으므로(Shin 등 2008), 본 연구에서는 두 radical 소거 활성을 모두 분석하였다. 잎들개 추출물의 ABTS radical 소거능의 측정 결과 전체 자원 평균 47.67 mg TE/g, 30.39~58.58 mg TE/g의 활성 범위로 나타났으며

(Table 3), ABTS radical 소거능이 가장 높은 자원은 국내 수집종인 IT113193(58.58 mg TE/g)로 나타났다. DPPH radical 소거능 측정 결과 전체 자원 평균 46.56 mg TE/g, 7.74~46.56 mg TE/g의 활성 범위로 나타났으며(Table 3), DPPH radical 소거능이 가장 높은 자원 또한 국내 수집종 중 IT105990(46.56 mg TE/g)로 나타났다. 잎들개의 폴리페놀 성분이 항산화성 및 암세포 독성을 일으키는 들깨잎 함유 활성 물질로 보고된 바 있고(Izumi 등 2012), 선행연구 및 본 연구의 결과를 볼 때 국내의 잎들개 자원은 우수한 항산화 활성을 가지는 것으로 나타났으며, 항산화제 개발 및 육종 등에 중요한 정보를 제공할 수 있을 것으로 생각된다(Kim 등 2022).

3. Phenolic compound 및 lutein 함량

Kim 등(2023), Lee 등(2009)에서 잎들개 품종의 기능 성분 분석 연구가 수행되고 있지만, 품종 육성의 기초가 되는 유전자원에 대한 연구는 아직까지 미흡한 실정이다. 선행연구로 잎들개의 phenolic acid인 rosmarinic acid와 caffeic acid, flavone 성분인 apigenin, luteolin이 분리, 정제, 동정 연구가 진행된 바 있고(Meng 등 2009), 본 연구에서는 잎들개의 phenolic compound인 rosmarinic acid, caffeic acid, luteolin과 carotenoid인 lutein 분석을 수행하였다. 잎들개 추출물의 caffeic acid 함량 분석 결과 평균 823.68 µg/g, 60.61~1,589.55 µg/g의 함량 범위로 나타났으며(Table 3), caffeic acid가 가장 높은 자원은 IT318022(1,589.55 µg/g), 가장 낮은 자원은 IT274644(60.61 µg/g)였다(Fig. 1). 이전 연구(Kim 등 2019)에서 잎들개 생리활성 물질을 분석한 결과 caffeic acid 함량이 540~1,090 µg/g 범위로 나타났고, 본 연구에서 분석한 잎들개와 자원 및 분석 방법과는 다르지만 유사한 결과로 나타났다. Rosmarinic acid 함량 분석 결과 평균 20,689.14 µg/g, 6,195.46~39,464.55 µg/g의 함량 범위로 나타났으며(Table 3), 고함량 자원은 IT117017 (39,464.55 µg/g)로 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 고함량 자원과 같은 자원으로 나타났다. Luteolin 함량 분석 결과 평균 27.31 µg/g, 0~65.92 µg/g의 함량 범위로 나타났으며(Table

Table 3. Summary of functional compounds and antioxidant activities

	Antioxidant compound content		Individual functional compound content (µg/g)				Antioxidant activity (mg TE/g)	
	TPC ¹⁾ (mg GAE/g)	TFC ²⁾ (mg CE/g)	Caffeic acid	Rosmarinic acid	Luteolin	Lutein	ABTS	DPPH
Average	26.55	31.12	823.68	20,689.14	27.31	433.09	47.67	22.73
Range	13.19~35.85	11.74~46.51	60.61~1,589.55	6,195.46~39,464.55	0~65.92	70.97~597.97	30.39~58.58	7.74~46.56
CV ³⁾ (%)	15.21	17.49	28.46	24.73	64.65	19.22	15.47	35.32

¹⁾ TPC: total polyphenol content.

²⁾ TFC: total flavonoid content.

³⁾ CV: coefficient of variation.

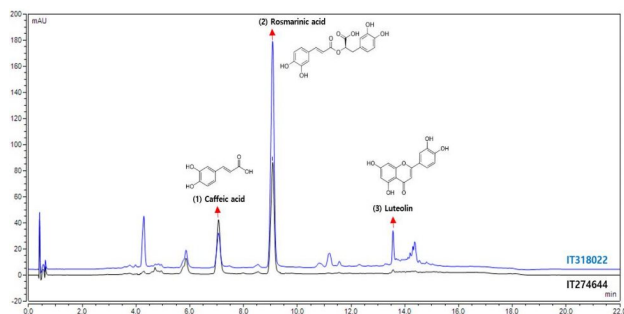


Fig. 1. HPLC chromatograms of phenolic compounds from high caffeic acid resource IT318022 and low caffeic acid resource IT274644: (1) caffeic acid, (2) rosmarinic acid and (3) luteolin.

3), luteolin이 가장 높은 자원은 IT304335(65.92 µg/g)였다. Lutein 함량 분석은 표준용액을 0.078125~60 µg/mL의 단계 희석하여 HPLC로 분석 후 검량선을 작성하였으며, 상관계수 0.9993 이상으로 높은 직선성을 보였다. 함량 분석 결과 평균 433.09 µg/g, 70.97~597.97 µg/g의 범위로 나타났으며(Table 3), lutein이 가장 높은 자원은 IT201780(597.97 µg/g), 가장 낮은 자원은 IT328843(70.97 µg/g)으로 나타났다.

4. 상관관계 분석

잎들깨 90자원에 대해 총 폴리페놀(TPC) 함량, 총 플라보노이드(TFC) 함량, 항산화 활성(ABTS, DPPH), phenolic compound 및 lutein 함량 분석을 하였고, 그 결과를 이용하여 상관관계를 분석하였다(Fig. 2). TPC와 TFC는 ABTS 및 DPPH radical 소거능과 높은 양의 상관관계를 보였는데, ABTS radical 소거능과 DPPH radical 소거능간의 상관성(0.918, $p < 0.001$), TFC와 DPPH radical 소거능간의 상관성(0.775, $p < 0.001$), TFC와 ABTS radical 소거능간의 상관성(0.773, $p < 0.001$), TPC와 ABTS radical 소거능간의 상관성(0.663, $p < 0.001$) TPC와 DPPH radical 소거능간의 상관성(0.652, $p < 0.001$) 순으로 모두 유의적인 양의 상관관계가 확인되었다. 이러한 결과는 잎들깨의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량이 항산화 활성과 높은 상관관계를 보였다는 선행 연구결과(Kim 등 2022)와 일치하였다. 이는 폴리페놀의 하이드록시기(-OH)가 자유라디칼에 전자를 공여함으로써 활성산소와 자유라디칼을 소거하는 항산화작용을 한 결과라고 생각된다. 특히, 구성 페놀화합물 중에서는 rosmarinic acid와 luteolin이 지용성 성분인 lutein에 비해 높은 상관관계를 보였다. Rosmarinic acid는 들깨와 잎들깨의 주요 구성 페놀산으로서, 들깨 부위별 페놀화합물과 생리활성의 관계에 대해 분석한 Lee & Cho(2021)의 연구에 따르면, 수산기그룹의 카테콜구조를 하고 있는 rosmarinic acid 함량이 라디칼소거능과 티로시네이즈 저해활

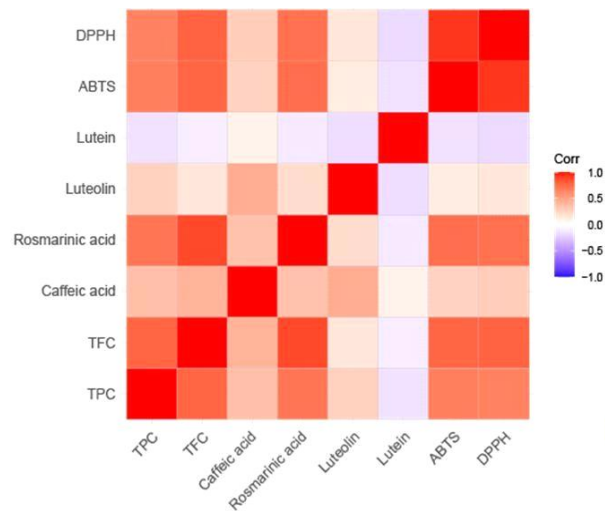


Fig. 2. Correlation analysis between functional compounds and antioxidant activities. Correlation analysis was performed based on pearson's correlation coefficient. TPC: total polyphenol content, TFC: total flavonoid content.

성과 양의 상관관계를 보였다고 하여 본 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한, 다양한 플라보노이드의 항산화 및 항염증활성에 대한 Tian 등(2021)의 연구에서는 luteolin이 kaempferol, apigenin, quercetin 등의 플라보노이드에 비해 산화촉진의 가능성이 낮고, 우수한 라디칼 소거능을 나타내 천연 항산화제로서 역할을 한다고 보고한 바 있다. 하지만, lutein 함량은 모든 항산화 활성과 음의 상관관계를 나타내었는데, 이는 지용성 물질인 lutein은 플라보노이드 및 페놀산에 비해 상대적으로 라디칼 소거능에는 유의적인 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다.

5. 군집분석

잎들깨 유전자원 활성 및 함량 평가 결과를 바탕으로 군집(cluster) 분석을 수행하였다. 보다 가시화하기 위하여 군집분석을 포함하는 heatmap을 Fig. 3에 나타내었다. Lutein, ABTS, DPPH, rosmarinic acid, TPC, TFC caffeic acid, luteolin 총 8가지 변수를 이용하여 분석을 수행하였을 때 총 3개의 클러스터로 나뉘었으며, 그룹I은 23개 유전자원으로 전체의 26%를 차지하였고, 그룹II는 2개 자원으로 전체의 2%, 그룹III은 65개 자원이 포함되어 전체의 72%를 차지하였다. 그룹별 특성을 살펴보면, 그룹I은 항산화 활성과 항산화 성분 함량이 높은 편이었고 그룹II는 항산화 활성 및 성분 함량이 높으며 페놀산계열인 rosmarinic acid와 caffeic acid의 함량이 높은 특징을 보였다. 그룹III은 상대적으로 그룹I, II에 비해 항산화 활성 및 성분 함량이 낮은 편을 보였고, 잎들깨의 기능 성분인 lutein은 군집분석에 영향을 적게 미치는 것으로 보였다. 이

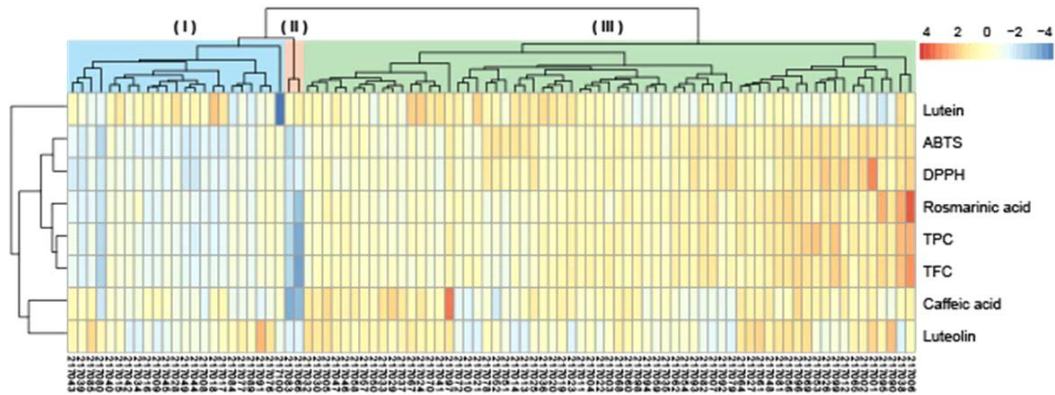


Fig. 3. Heatmap including cluster analysis according to functional compounds and antioxidant activities in the perilla leaves of genetic resources. A total of eight variables were used in the analysis, which were divided into three clusters. Each cluster is colored blue (I), red (II) and green (III). TPC: total polyphenol content, TFC: total flavonoid content.

와 같은 군집분석 결과를 바탕으로 앞들개 유전자원 90자원을 구분하는 가장 중요한 형질은 항산화 활성 및 성분인 ABTS, DPPH, TPC, TFC 인 것으로 생각된다.

6. 주성분 분석

앞들개 유전자원 상호간의 유사관계를 파악하고자 8개 양적형질에 대한 주성분 분석을 수행하였고, 고유값과 주성분의 기여도를 나타낸 결과는 Table 4와 같다. 제1주성분(PC1)은 고유치가 4.64로, 전체 분산 중 57.98%를 설명하였다. 제 2주성분(PC2)은 1.24에 15.47%, 제 3주성분(PC3)은 1.1에 13.73%, 제 4주성분(PC4)은 0.45에 5.58%, 제 5주성분(PC5)은 0.40에 4.99%, 제 6주성분(PC6)은 0.08에 0.99%, 제 7주성분(PC7)은 0.07에

0.92%, 제 8주성분(PC8)은 0.03에 0.33%를 설명하는 것으로 나타났다. 전체에 대한 각 주성분의 누적 기여율은 제 1주성분은 58.0%, 제 2주성분은 73.5%, 제 3주성분은 87.2%, 제 4주성분은 92.8%, 제 5주성분은 97.8% 제 8주성분은 100%로 나타났다. 주성분 분석으로 8개의 주성분이 생성되었고, 최종 주성분 수는 자료의 변이를 많이 설명하는 몇 개의 주성분만을 선택하는데, 고유값 1 이상 또는 누적분산비율이 80% 이상 조건에서 결정된다(Kim 등 2016). 본 연구에서는 고유값 1 이상을 기준으로 하여 제 3주성분까지 3개의 주성분으로 전체 변이의 87%를 설명할 수 있기 때문에 제 1~3주성분으로 앞들개 유전자원 90자원의 분류가 가능한 것으로 나타났다.

Table 4. Summary of principal component analysis (PCA) statics and eigenvalues for functional compounds and antioxidant activities

Principal component	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
TPC ¹⁾	-0.449	0.012	-0.057	0.071	-0.245	0.451	-0.333	0.645
TFC ²⁾	-0.441	0.064	-0.096	0.187	-0.314	-0.053	-0.468	-0.661
Caffeic acid	-0.224	-0.644	-0.216	0.586	0.340	-0.025	0.169	0.005
Rosmarinic acid	-0.428	0.090	-0.040	-0.001	-0.491	-0.352	0.658	0.095
Luteolin	-0.141	-0.690	0.388	-0.569	-0.138	-0.006	-0.071	-0.074
Lutein	0.074	-0.151	-0.887	-0.424	-0.053	-0.024	-0.038	-0.001
ABTS	-0.416	0.206	0.002	-0.267	0.441	0.548	0.366	-0.290
DPPH	-0.415	0.177	0.030	-0.206	0.518	-0.607	-0.262	0.220
Eigenvalue	4.639	1.237	1.099	0.447	0.399	0.079	0.074	0.026
Proportion (%)	57.98	15.47	13.73	5.58	4.99	0.99	0.92	0.33
Cumulative contribution (%)	57.98	73.45	87.19	92.77	97.76	98.75	99.67	100.00

¹⁾ TPC: total polyphenol content.

²⁾ TFC: total flavonoid content.

요약 및 결론

본 연구는 잎들깨 유전자원을 대상으로 항산화 및 기능성분을 구명하여 활성, 함량의 분포를 알아보았다. 총 폴리페놀 함량(TPC), 총 플라보노이드 함량(TFC), ABTS, DPPH radical 소거능, phenolic compounds 함량(IPC), lutein 활성 및 함량 분석을 실시하였다. 농업유전자원센터에서 분양 받은 시료 90자원에 대하여 경남 밀양 소재의 국립식량과학원 시험포장에서 재배 및 수확한 자원을 실험에 사용하였다. 함량 분석 결과 TPC 함량은 13.19~35.85 mg GE/g 범위를 나타냈고, TFC 함량은 11.74~46.51 mg CE/g으로 나타났다. Phenolic compounds 함량은 caffeic acid, rosmarinic acid, luteolin 함량에 대해 분석하였고, 총 IPC는 6,310.98~40,491.82 µg/g의 범위를 나타냈다. 잎들깨의 기능성분인 Lutein은 70.97~597.97 µg/g 함량 범위를 나타냈다. ABTS 및 DPPH 라디칼 소거 활성은 각각 30.39~58.58 mg trolox equivalent(TE)/g와 7.74~46.56 mg TE/g으로 나타났다. 상관관계 분석 결과 페놀산인 로즈마린산이 플라보논의 일종인 루테올린에 비해 항산화 활성과 유의한 양의 상관관계를 보였다. 주성분 분석 결과로는 제 3주성분까지 3개의 주성분으로 전체 변이의 87%를 설명할 수 있기 때문에 제 1~3주성분으로 잎들깨 유전자원 90자원의 분류가 가능한 것으로 나타났다. 선행연구 및 본 연구의 결과를 볼 때 잎들깨 유전자원은 우수한 기능성 및 항산화물질을 가지는 것으로 나타났으며, 우수 자원을 선발 및 활용함으로써 잎들깨의 식품 소재 활용과 육종 등에 유용한 정보를 제공할 수 있을 것이라 생각된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(IRIS 과제번호: RS-2019-RD008643)의 지원으로 수행된 결과로 이에 감사드립니다.

References

- Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50:4959-4964
- Granado F, Olmedilla B, Blanco I. 2003. Nutritional and clinical relevance of lutein in human health. *Br J Nutr* 90:487-502
- Guo D, Xu L, Cao X, Guo Y, Ye Y, Chan CO, Mok DKW, Yu Z, Chen S. 2011. Anti-inflammatory activities and mechanisms of action of the petroleum ether fraction of *Rosa multiflora* Thunb. hips. *J Ethnopharmacol* 138:717-722
- Hyun KW, Kim JH, Song KJ, Lee JB, Jang JH, Kim YS, Lee JS. 2003. Physiological functionality in Geumsan perilla leaves from greenhouse and field cultivation. *Korean J Food Sci Technol* 35:975-979
- Izumi Y, Matsumura A, Wakita S, Akagi K, Fukuda H, Kume T, Irie K, Takada-Takatori Y, Sugimoto H, Hashimoto T, Akaike A. 2012. Isolation, identification, and biological evaluation of Nrf2-ARE activator from the leaves of green perilla (*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis*). *Free Radic Biol Med* 53:669-679
- Jennings PE, Barnett AH. 1988. New approaches to the pathogenesis and treatment of diabetic microangiopathy. *Diabet Med* 5:111-117
- Jeon IH, Kim HS, Kang HJ, Lee HS, Jeong SI, Kim SJ, Jang SI. 2014. Anti-inflammatory and antipruritic effects of luteolin from perilla (*P. frutescens* L.) leaves. *Molecules* 19:6941-6951
- Kim DJ, Assefa AD, Jeong YJ, Jeon YA, Lee JE, Lee MC, Lee HS, Rhee JH, Sung JS. 2019. Variation in fatty acid composition, caffeic and rosmarinic acid content, and antioxidant activity of Perilla accessions. *Korean J Med Crop Sci* 27:96-107
- Kim HY, Yang JY, Seo WD, Lee MJ, Song SY. 2022. Antioxidant activities of various cultivars of Korean perilla leaves (*Perilla frutescens*). In 2022 KFN International Symposium and Annual Meeting: New Frontiers for Green Biotechnology in Food Science and Nutrition. p.588. Korean Society of Food Science and Nutrition
- Kim JI, Lee MH, Kim SW, Oh KW, Park JE, Kim MY, Kim SU, Oh EY, Lee JE, Lee ES, Cho KS, Jung C. 2023. Comparison of growth characteristics and quality of soil-based and hydroponic cultured leaf Perilla leaves of different cultivars. *Korean J Med Crop Sci* 31:159-168
- Kim MS, Lee HJ, Yu DA, Song JY, Nino M, Nogoy F, Kim J, So YS, Cho YG. 2016. Classification of Korean rice varieties based on agro-morphological traits. *Korean J Breed Sci* 48:254-270
- Kwak JH, Yoon MK, Park S, Kim DY, Cheong SR, Shin HH, Lee SK, Lim YP. 2012. Survey on current status of vegetable seed markets of Guangdong and Yunnan provinces in China for the development of domestic vegetable seed industry. *Korean J Agric Sci* 39:491-496
- Kwak Y, Ki S, Noh EK, Shin HN, Han Y, Lee Y, Ju J. 2013. Comparison of antioxidant and anti-proliferative activities of perilla (*Perilla frutescens* Britton) and sesame (*Seasamum*

- indicum* L.) leaf extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 29:241-248
- Lee HS, Lee HA, Hong CO, Yang SY, Hong SY, Park SY, Lee HJ, Lee KW. 2009. Quantification of caffeic acid and rosmarinic acid and antioxidant activities of hot-water extracts from leaves of *Perilla frutescens*. *Korean J Food Sci Technol* 41:302-306
- Lee JH, Cho YS. 2021. Assessment of phenolic profiles from various organs in different species of perilla plant (*Perilla frutescens* (L.) Britt.) and their antioxidant and enzyme inhibitory potential. *Ind Crops Prod* 171:113914
- Li Y, Liu L, Yu X, Zhang Y, Yang J, Hu X, Zhang H. 2019. Transglycosylation improved caffeic acid phenethyl ester anti-inflammatory activity and water solubility by *Leuconostoc mesenteroides* dextransucrase. *J Agric Food Chem* 67:4505-4512
- Meng L, Lozano YF, Gaydou EM, Li B. 2009. Antioxidant activities of polyphenols extracted from *Perilla frutescens* varieties. *Molecules* 14:133-140
- Mercurio KC, Behm PA. 1981. Effects of fiber type and level on mineral excretion, transit time, and intestinal histology. *J Food Sci* 46:1462-1477
- Oh SI, Lee MS. 2003. Screening for antioxidative and antimutagenic capacities in 7 common vegetables taken by Korean. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32:1344-1350
- Oh Y. 2004. Reflections on international and domestic debates on the protection of genetic sources and associated traditional knowledge. *Intellect Prop* 86:3-28
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231-1237
- Semba RD, Dagnelie G. 2003. Are lutein and zeaxanthin conditionally essential nutrients for eye health? *Med Hypotheses* 61:465-472
- Shin J. 2012. Global seed industry. *World Agric* 139:71-93
- Shin JH, Lee SJ, Seo JK, Cheon EW, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of hot-water extract from Yuza (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka) peel. *J Life Sci* 18:1745-1751
- Tian C, Liu X, Chang Y, Wang R, Lv T, Cui C, Liu M. 2021. Investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin. *S Afr J Bot* 137:257-264
- Um JN, Min JW, Joo KS, Kang HC. 2017. Antioxidant, anti-wrinkle activity and whitening effect of fermented mixture extracts of *Angelica gigas*, *Paeonia lactiflora*, *Rehmannia chinensis* and *Cnidium officinale*. *Korean J Med Crop Sci* 25:152-159
- Woo KS, Song SB, Ko JY, Seo MC, Lee JS, Kang JR, Oh BG, Nam MH, Jeong HS, Lee J. 2010. Antioxidant components and antioxidant activities of methanolic extract from adzuki beans (*Vigna angularis* var. *nipponensis*). *Korean J Food Sci Technol* 42:693-698
- Yamazaki M, Saito K. 2006. Isolation and characterization of anthocyanin 5-O-glucosyltransferase in *Perilla frutescens* var. *crispa* by differential display. In Liang P, Meade JD, Pardee AB (Eds.), *Differential Display Methods and Protocols*. pp.255-266. Humana Press
- Zhang R, Brennan ML, Shen Z, MacPherson JC, Schmitt D, Molenda CE, Hazen SL. 2002. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. *J Biol Chem* 277:46116-46122

Received 16 August, 2023
 Revised 19 September, 2023
 Accepted 25 September, 2023

Development and Quality Assessment of Healthy Bread using Korean Pine Leaf Powder

Eunbin Park, Soo In Ryu* and †Jean Kyung Paik**

Master's Student, Dept. of Food and Nutrition, Eulji University, Seongnam 13135, Korea

**Center Director, Seongnam Food R&D Support Center, Seongnam 13218, Korea*

***Associate Professor, Dept. of Food and Nutrition, Eulji University, Seongnam 13135, Korea*

Abstract

With the advancement and diversification of the bread industry, eco-friendly products with less sugar and salt, and containing functional ingredients are being developed. To develop healthy bread, Korean pine leaf powder was added in different proportions (0%, 1%, 3%, 5%, and 7%), and the quality characteristics of the bread, namely height, moisture, color value, texture, antioxidant property, and sensory characteristics were evaluated. As the amount of leaf powder was increased in the bread, L-value in the range of 53.45~85.05 ($p<0.001$) and adhesiveness in the range of 0.13~0.32 mJ ($p<0.001$) decreased significantly, whereas b-value in the range of 16.75~30.74 ($p<0.001$), total polyphenol content in the range of 466.83~669.13 ug/mL, ABTS- in the range of 0.46~43.23%, DPPH-radical in the range of 1.39~45.76%, scavenging capacities ($p<0.001$), color in the range of 3.27~5.40 ($p=0.017$) and texture in the range of 4.33~4.80 ($p=0.006$) preferences increased significantly. This study could increase the utilization of Korean pine leaf and the production of healthy food with antioxidant properties.

Key words: bread, Korean pine leaf, quality characteristics, sensory characteristics, functional ingredients

Introduction

The history of Korean bakery industry changed when bread was first introduced in the 1880s by missionaries and diplomats (Lee SH 1990; Lee KH 2014). In the 1980s, franchise bakery market was formed, and in the 2000s, bread became a luxury product and bakery culture diversified (Lee SH 1990; Lee KH 2014). Bread is classified into fermented and non-fermented bread based on whether the fermentation occurs (Lee KH 2014). The fermented bread is produced by adding yeast in the dough for fermentation, and its types include bread, cream bread, and red bean paste bread (Lee KH 2014). The non-fermented bread types include cakes and Korean crackers (Lee KH 2014). With the advancement and diversification of bread industry, eco-friendly products containing functional ingredients and less sugar and salt are being developed (Lee KH 2014). Furthermore, consumers are becoming increasingly health conscious as the national income has improved (Shin & Roh 2000; Lee KH 2014). Therefore, the

demand for healthy bread products is steadily increasing (Shin & Roh 2000; Lee KH 2014).

Korean pine leaves have been reported to contain ingredients that help in preventing aging and cancer and have excellent antioxidant and antibacterial effects (Song & Kim 1994; Kim et al. 2012). Cho YJ (2017) reported *Korean pine* leaf extracts to exert anti-inflammatory effects that are caused by inhibition of hyaluronidase; hence, it can be used as a natural functional material to suppress inflammation.

Bread is prepared using flour, yeast, water, and salt as major ingredients, and sugars and edible oil as minor ingredients (Shin & Jung 1998). The resulting dough is fermented and baked, and it contains less than 10% sugar (Shin & Jung 1998). Strong flour is used that contains 11.5~14% protein (Shin & Jung 1998), 40% gluten, with gluten properties, and forms the bread skeleton (Shin & Jung 1998). In a study on a bakery that used functional ingredients, subjects had the highest preference for white bread, cooked bread (Hwang et al. 2006). People aged 20~30 preferred

† Corresponding author: Jean Kyung Paik, Associate Professor, Dept. of Food and Nutrition, Eulji University, Seongnam 13135, Korea. Tel: +82-31-740-7141, Fax: +82-31-740-7370, E-mail: jkpaik@eulji.ac.kr

green tea products, while those over 30 preferred beans, vegetable, ginseng, oriental medicine, and mushrooms (Lee et al. 2006). Bread containing functional ingredients such as Rubi fructus juice (Kwon et al. 2004), black rice flour powder (Jung et al. 2002), Sea Buckthorn berry powder (Lee & Kim 2020), Mate leaf powder (Lee MH 2018), and Chlorella powder (Kim et al. 2020) has been developed.

This study aimed to develop healthy bread containing Korean pine leaf powder, which is a by-product of Korean pine. Korean pine leaf powder was added in the proportions of 0%, 1%, 3%, 5%, and 7%, and Quality characteristics of bread were evaluated namely height, moisture content, color value, texture, antioxidant property, and sensory characteristics.

Materials and Methods

1. Ingredients

Korean pine leaf powder used in this experiment was provided by Dain Natural (Cheonan, Korea). Wheat flour (Daehan Flour, Seoul, Korea), sugar (Cheiljedang, Seoul, Korea), shortening (Allthebaking, Busan, Korea), yeast (Societe Industrielle Lesaffre, Marcq, France), milk powder (Allthebaking, Busan, Korea), and salt (Chungjungone, Seoul, Korea) were purchased online.

2. Bread preparation

Bread containing Korean pine leaf powder was prepared according to the methods described by Park LY (2015) and Lee MH (2018). Korean pine leaf powder was added in the following proportions in preliminary experiments: 0%, 1%, 3%, 5%, and 7%. The amount was later standardized as shown in Table 1.

Dough was prepared using the straight dough method. Wheat flour, Korean pine leaf powder, water, sugar, yeast, and salt were added in a kneader (5K5SSA, Whirlpool Corp., Benton Charter

Township, MI, USA), and dough was kneaded at speed 1 for 2 min. To form a lump of dough, shortening was added and dough was kneaded at speed 2 for 3 min. The first fermentation was performed at 27°C and 75% relative humidity for 15 min in a fermentor (EP-20, Daeyung, Korea). After the first fermentation, the dough was kneaded for 3 min to remove the gas. The second fermentation was performed at 27°C at 75% relative humidity for 1 h. After the second fermentation, the dough was turned into a round shape. The third fermentation was performed at 27°C and 75% relative humidity for 15 min. After the third fermentation, the dough was divided into three parts and placed in a mold. The fourth fermentation was performed at 35°C and 85% relative humidity for 1 h. After the fourth fermentation, the dough was baked in an oven (FDO-7103, Daeyung, Korea), with the temperature at the top being 180°C and at the bottom being 190°C, for 30 min. After cooling at room temperature for 1 h, it was stored in a sealed container at room temperature for future use in the experiment.

3. Height and moisture of the bread

Height of the bread was measured in the middle by cutting a cross section of the bread using a ruler (Fig. 1).

Moisture content was measured by subjecting the bread to method of heat drying on high pressure in a dry oven (LO-FS150, LK Lab, Namyangju, Korea) at 105°C according to AOAC (1980).

4. Color values of the bread

The bread was measured by cutting 3 cm×3 cm×3 cm section in half. Color values of the bread were measured by determining the L-value (brightness), a-value (redness), and b-value (yellowness) using a chromometer (CR-170, Minolta, Osaka, Japan). Standard white plate (L=93.00, a=0.3125, and b=0.531) was used as the reference.

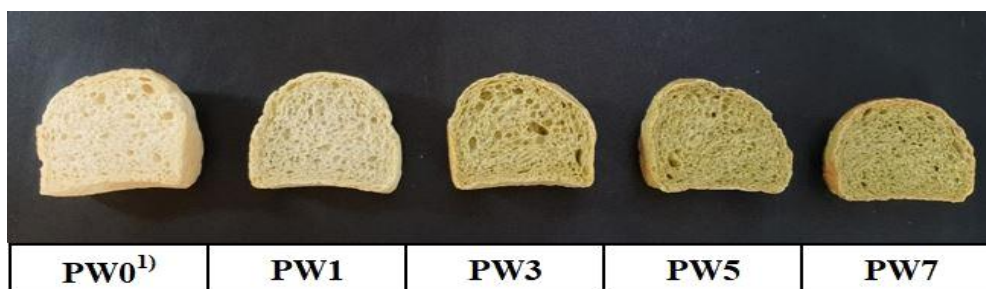


Fig. 1. Bread containing Korean pine leaf powder. ¹⁾ PW0, PW1, PW3, PW5, and PW7 represent addition of 1%, 3%, 5%, and 7% Korean pine leaf powder.

5. Texture characteristics of the bread

Texture characteristics, namely adhesiveness, hardness, springiness, and chewiness, of the bread were measured using a CTX Texture analyzer (CTX, Ametek Brookfield, MA, USA).

Texture profile analysis (TPA) of five sample (3 cm×3 cm×3 cm) was performed. Measurements of the samples were taken under the following conditions: compression 25%, trigger force 10 g, test speed 10 mm/s, sample diameter 30 mm, and sample height 20 mm.

6. Total polyphenol content and ABTS- and DPPH-radical scavenging capacities of the bread

To study the antioxidant capacity of the bread, total polyphenol content, ABTS-radical scavenging capacity, and DPPH-radical scavenging capacity were measured. The wet sample (3 g) was homogenized by adding 27 mL ethanol. To measure the total polyphenol content, 0.4 mL of homogenized sample and 0.4 mL of Folin-Ciocalteu reagent were mixed, and maintained at room temperature for 5 min. Thereafter, 0.4 mL of 10% sodium carbonate was added, and the reaction mixture was maintained at room temperature for 10 min. The absorbance was measured at 765 nm using a spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu, Japan). The total polyphenol content was determined using the formula given.

To determine the ABTS-radical scavenging capacity, 7.4 mM ABTS-radical solution and 2.7 mM potassium persulphate solution were mixed in a ratio of 1:1. The mixture was diluted with 50% ethanol so that the absorbance was 0.7~1.0 at 734 nm, which was measured using a spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu, Japan). The homogenized sample (0.2 mL) and ABTS-radical solution (0.4 mL) were mixed and maintained at room temperature for 10 min. Thereafter, absorbance was measured at 734 nm using a spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu, Japan), and the ABTS-radical scavenging capacity was determined using the following formula.

To determine DPPH-radical scavenging capacity, 0.2 mL of homogenized sample and 0.4 mL of 0.2 mM DPPH-radical solution were mixed and allowed to react for 30 minutes in the dark. The absorbance was measured at 517 nm using a spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu, Japan). The DPPH-radical scavenging capacity was determined using the following formula.

7. Sensory characteristics of the bread

Sensory characteristics of the bread were evaluated by 15

food-related workers after the purpose and evaluation method of this study were explained to them (Eulji University Institutional Bioethics Committee Deliberation Exemption Approval Number: EU21-058).

The bread stored at room temperature was cut into 2 cm × 2 cm×1 cm pieces and served on plates with a random check. After evaluating each sample, water was provided as a palate cleanser. The seven-point scale was used to evaluate the following characteristics: color, flavor, texture, taste, and overall preference.

8. Statistical analysis

All the experimental results of this study were measured three times. SPSS 22.0 package (ver. 22.0, Chicago, IL, USA) was used for processing and analyzing the data, which was expressed as mean±standard error (SE). The control group and addition group were analyzed using one-way analysis of variance ($p<0.05$) and least squares method.

Result and Discussion

1. Height and moisture content of the bread containing Korean pine leaf powder

Height and moisture content of the bread are shown in Table 1. The height of the bread was the highest in the 1% additive group (4.98 cm) and the lowest in the 7% additive group (4.53 cm). Compared with the control, the height increased significantly in the 1% additive group, and then decreased with the increase in the amount of leaf powder added ($p<0.001$). The moisture content was the highest in the 3% additive group (37.51%) and the lowest in the 7% additive group (32.95%); there were no significant differences between the groups ($p=0.059$). The moisture content was not significantly changed; however, there was a tendency to decrease except for the 1% additive group.

Similar to our results, the height of *Angelica gigas* Nakai powder bread (Shin & Kim 2008) and *lotus* leaf powder bread (Park et al. 2009) was shown to decrease as the amount of leaf powder was increased. In Green tea bread, the reason for the decrease in volume as the amount added is thought to be that the minerals contained in green tea in inhibit yeast fermentation in the dough and inhibit the formation of gluten. When manufacturing bread by adding other ingredients, depending on the nature of the additive, if there is no substance that can maintain the gluten structure among the additives, it is difficult to maintain the structural strength and the volume decreases

Table 1. List of ingredients used to prepare the bread containing Korean pine leaf powder

Ingredients (g)	PW0 ¹⁾	PW1	PW3	PW5	PW7
Wheat flour	100	99	97	95	93
Korean pine leaf powder	0	1	3	5	7
Water	64	64	64	64	64
Sugar	5	5	5	5	5
Shortening	5	5	5	5	5
Yeast	4	4	4	4	4
Milk powder	3	3	3	3	3
Salt	2	2	2	2	2

¹⁾ PW0, PW1, PW3, PW5, and PW7 represent addition of 1%, 3%, 5%, and 7% leaf powder.

(Kang & Nam 1999). Also, In a previous study on Job's Tears powder and green tea powder bread (Park & Lee 1999), it was reported that the moisture decreases as the amount of leaf powder increases due to the interaction between fiber and protein. In this study, except for the 1% additive group, it was found that the lesser the moisture, the smaller the height, suggesting that moisture content affects the height of the bread and the minerals in Korean pine leaf affect volume reduction.

2. Color value of the bread containing Korean pine leaf powder

Color values of the bread are shown in Table 2. The L-value was the highest in the control group (85.05) and the lowest in the 7% additive group (53.45), and it decreased significantly as the amount of leaf powder was increased ($p<0.001$). The a-value was the highest in the control group (-2.50) and the lowest in the 3% additive group (-4.37). Compared with the control, it decreased significantly till the 3% addition group, and then increased ($p<0.001$). The b-value was the highest in the 7% additive group (30.74) and the lowest in the control group (16.75); it increased significantly as the amount of leaf powder

was increased ($p<0.001$).

According to previous studies on bread containing greenish powder *Houttuynia cordata* Thunb powder (Park LY 2015) and green tea powder (Im & Kim 1999) as in this study, the L-value and a-value decreased while the b-value increased as the amount of leaf powder was increased; a similar trend was observed in this study. It can be seen that as the color gets darker, the brightness decreases and the yellowness increases.

3. Texture characteristics of the bread containing Korean pine leaf powder

Texture characteristics of bread are shown in Table 3. The adhesiveness was the highest in the control group (0.32 mJ) and the lowest in the 7% additive group (0.13 mJ). Compared with the control, it decreased significantly as the amount of leaf powder was increased ($p<0.001$). The hardness was the highest in the 1% additive group (855.70 g) and the lowest in the 7% additive group (739.23 g). Compared with the control, it increased significantly in the 1% additive group, and then decreased ($p<0.001$). Springiness was the highest in the 1% additive group (9.46 mm) and the lowest in the 7% additive group (8.03 mm);

Table 2. Height, moisture content and Color values of the bread containing Korean pine leaf powder

Sample ¹⁾	PW0	PW1	PW3	PW5	PW7	p-value
Height (cm)	4.82±0.02 ^b	4.98±0.06 ^c	4.75±0.03 ^b	4.63±0.03 ^a	4.53±0.02 ^a	<0.001
Moisture content (%)	36.19±0.45	33.41±2.31	37.51±0.64	36.49±0.42	32.95±0.22	0.059
L-value	85.05±0.10 ^d	69.25±0.53 ^c	62.81±0.40 ^b	61.05±0.28 ^b	53.45±1.92 ^a	<0.001
a-value	-2.50±0.05 ^d	-3.54±0.02 ^b	-4.37±0.05 ^a	-3.70±0.02 ^b	-3.26±0.10 ^c	<0.001
b-value	16.75±0.08 ^a	20.75±0.06 ^b	26.56±0.16 ^c	30.56±0.30 ^d	30.74±0.15 ^d	<0.001

¹⁾ PW0, PW1, PW3, PW5, and PW7 represent addition of 1%, 3%, 5%, and 7% leaf powder.

^{a-d}Represents significant differences based on least squares method at $p<0.05$.

Table 3. Texture characteristics of bread containing Korean pine leaf powder

Sample ¹⁾	PW0	PW1	PW3	PW5	PW7	p-value
Adhesiveness (mJ)	0.32±0.01 ^d	0.26±0.00 ^e	0.25±0.01 ^c	0.16±0.00 ^b	0.13±0.00 ^a	<0.001
Hardness (g)	848.50±4.04 ^b	855.70±22.26 ^b	839.03±12.22 ^b	740.70±18.13 ^a	739.23±6.31 ^a	<0.001
Springiness (mm)	9.39±0.13 ^c	9.46±0.14 ^c	8.54±0.01 ^b	8.69±0.07 ^b	8.03±0.01 ^a	<0.001
Chewiness (mJ)	51.89±0.50 ^a	55.21±0.72 ^b	58.80±0.67 ^{cd}	56.52±1.19 ^{bc}	59.10±0.25 ^d	<0.001

¹⁾ PW0, PW1, PW3, PW5, and PW7 represent addition of 1%, 3%, 5%, and 7% leaf powder.

^{a-d}Represent significant differences based on least squares method at $p < 0.05$.

significant differences were present between the groups ($p < 0.001$). But compared with the control, the values did not show a continuous trend of increase or decrease. Chewiness was the highest in the 7% additive group (59.1 mJ) and the lowest in the control group (51.89 mJ); there was significant difference between the group ($p < 0.001$). Compared with the control, chewiness increased as the amount of leaf powder was increased.

In this study, as the amount of Korean pine leaf powder in the bread was increased, the adhesiveness and hardness significantly decreased. However, the springiness and chewiness did not show a specific trend; springiness was lower, and chewiness was higher in the additive groups than in the control group, and there were significant differences between the groups. In *Corni fructus* powder bread (Shin & Shin 2008), the adhesiveness and hardness significantly decreased as the amount of leaf powder was increased. In *Cudrania tricuspidate* leaf powder bread (Kim & Ju 2016), the hardness and chewiness were observed to increase as the amount of leaf powder was increased. In black soybean powder bread (Im & Kim 2003), adhesiveness and springiness were significantly increased. In medicinal herb composites bread, It is considered that the physical properties of bread are greatly affected by the additive materials and amount added, and are also affected by the moisture and volume of the bread (Kang et al. 2009). According to a study on buckwheat bread with different gluten contents, the buckwheat mixture dough with added gluten had an increased moisture absorption rate, longer dough formation time, decreased weakening, and increased extensibility (Chung & Kim 1998a). When bread was made from buckwheat dough with added gluten, sensory characteristics showed that the crumbliness of the bread was reduced and elasticity was improved (Chung & Kim 1998b). Accordingly, it is believed that there is a relationship between gluten and texture. In this study, as the content of Korean pine leaf powder increased, the gluten content decreased

due to a decrease in the ratio of flour content, which is believed to have affected the texture of the bread. In *Aster glehni* powder bread, the lower the springiness, cohesiveness and chewiness compared to the control group, the higher the taste, texture, and overall preference in sensory characteristics (Park JR 2022). On the other hand, in watermelon seed powder bread, the group with the highest texture, taste, and overall preference in the sensory characteristics was medium in springiness, cohesiveness and chewiness (Kim & Suh 2023). Therefore, it can be seen that there are differences in texture characteristics and sensory characteristics depending on the added material.

4. Total polyphenol content and ABTS- and DPPH-radical scavenging capacities of the bread containing Korean pine leaf powder

Total polyphenol content and ABTS- and DPPH-radical scavenging capacities of the bread are shown in Table 4. Total polyphenol content was the highest in the 7% additive group (669.13 µg/mL) and the lowest in the control group (466.83 µg/mL). Compared with the control it increased significantly as the amount of leaf powder increased ($p < 0.001$). ABTS-radical scavenging capacity was the highest in the 7% additive group (43.23%) and the lowest in the control group (0.46%). Compared with the control, it increased significantly as the amount of leaf powder increased ($p < 0.001$). DPPH-radical scavenging capacity was the highest in the 7% additive group (45.76%) and the lowest in the control group (1.39%). It increased significantly as the amount of leaf powder was increased ($p < 0.001$).

Korean pine leaves contain gallic acid and syringic acid, which have antioxidant effects (Lee et al. 1992; Song & Kim 1994; Cha et al. 2000). Moreover, high total polyphenol content and ABTS- and DPPH-radical scavenging capacities have been reported in Kim et al. (2012) and Jo et al. (2017). In this study, as the amount of Korean pine leaf powder was increased, the

Table 4. Total polyphenol content and ABTS- and DPPH-radical scavenging capacities of bread containing Korean pine leaf powder

Sample ¹⁾	PW0	PW1	PW3	PW5	PW7	p-value
Total polyphenol (µg/mL)	466.83±5.32 ^a	534.8±3.31 ^b	570.37±3.07 ^c	576.83±1.73 ^c	669.13±1.29 ^d	<0.001
ABTS (%)	0.46±0.07 ^a	22.08±0.34 ^b	26.61±0.4 ^c	35.53±0.67 ^d	43.23±0.36 ^e	<0.001
DPPH (%)	1.39±0.28 ^a	23.74±0.30 ^b	32.25±0.93 ^c	39.33±0.68 ^d	45.76±0.83 ^e	<0.001

¹⁾ PW0, PW1, PW3, PW5, and PW7 represent addition of 1%, 3%, 5%, and 7% leaf powder.

^{a-e}Represents significant differences based on least squares method at $p<0.05$.

total polyphenol content and the ABTS- and DPPH-radical scavenging capacities significantly increased. Similarly, in *Gynura procumbens* powder bread (Shin et al. 2019) and mugwort powder bread (Woo & Lee 2021), antioxidant activity increased with the increase in the amount of the powder.

5. Sensory characteristics of the bread containing Korean pine leaf powder

Sensory characteristics of the bread are shown in Table 5. Color preference was the highest in the 7% additive group (5.40) and the lowest in the 1% additive group (3.27). Compared with the control, it first decreased in the 1% group and then increased significantly as the amount of leaf powder was increased ($p=0.017$). It was considered that the bread's color became clearer. As a result, the preference increased as the amount of leaf powder was increased, and the color became darker. Flavor preference was the highest in the 3% additive group (4.67) and the lowest in the control group (3.60). Compared with the control, it increased till the 3% additive group and then decreased; however, there were no significant differences between the groups ($p=0.463$). It is considered that the flavor preference increased because the flavor become stronger as the amount of leaf powder was increased. It is considered that the bitter taste of the Korean pine leaf powder must have reduced the taste

preference as the amount of leaf powder was increased. In the pine needle extract bread, the taste preference was the lowest when 100% extract was added (Kim & Kim 1998). Taste preference was the highest in the 1% additive group (4.53) and the lowest in the control group (3.67). Compared with the control, it increased in the 1% additive group, and then decreased; however, there were no significant differences between the groups ($p=0.622$). Texture preference was the highest in the 7% additive group (4.80) and the lowest in the control group (3.40). Compared with the control, it increased significantly as the amount of leaf powder increased ($p=0.006$). It was considered to be influenced by the increase in adhesion, hardness, and chewiness and decrease in springiness as the amount of leaf powder was increased. Overall preference was the highest in the 1% additive group (4.47) and the lowest in the 7% additive group (2.93). Compared with the control, it increased significantly in the 1% additive group and then decreased ($p<0.001$). In the case of whey pan bread, the 50% additive group was the highest (Lee & Lee 2021). But, in the case of mugwort powder white bread, the control group was the highest. This is considered to be due to a strong rejection of the bitter taste of mugwort (Jung IC 2006).

In summary, in this study, the color and taste preferences were the highest in 7% additive group. The flavor and texture

Table 5. Sensory characteristics of white pan bread containing Korean pine leaf powder

Sample ¹⁾	PW0	PW1	PW3	PW5	PW7	p-value
Color	4.27±0.60 ^{abc}	3.27±0.49 ^{ab}	4.53±0.40 ^{abc}	5.00±0.37 ^{bc}	5.40±0.35 ^{abc}	0.017
Flavor	3.60±0.46	4.27±0.41	4.67±0.37	4.60±0.46	4.40±0.52	463
Taste	3.67±0.42	4.53±0.29	4.33±0.43	4.00±0.53	3.80±0.52	0.622
Texture	3.40±0.35 ^a	4.33±0.19 ^b	4.33±0.23 ^b	4.47±0.22 ^b	4.80±0.30 ^b	0.006
Overall preference	4.13±0.35 ^b	4.47±0.27 ^b	4.40±0.42 ^b	3.07±0.34 ^a	2.93±0.40 ^a	0.004

¹⁾ PW0, PW1, PW3, PW5, and PW7 represent addition of 1%, 3%, 5%, and 7% leaf powder.

^{a-c}Represents significant differences based on least squares method at $p<0.05$.

preferences were the highest in 3% and 7% additive groups, respectively; however, there were no significant differences between the groups. In addition, the overall preference was the highest in 1% additive group due to the influence of the flavor and texture.

Conclusion

In this study, to develop healthy bread, the Korean pine leaf powder, which is a by-product of *Korean pine*, was added to the bread in the following proportions: 0%, 1%, 3%, 5%, and 7%. Various quality characteristics of the bread were evaluated namely height, moisture content, color values, texture characteristics, antioxidant capacity, and sensory characteristics.

The height of the bread increased significantly in the 1% additive group, and then decreased ($p < 0.001$). The moisture content was a decreasing trend was observed except for 1% additive group, but there was no significant difference between each group ($p = 0.059$). The L-value decreased significantly with the increase in the amount of leaf powder ($p < 0.001$). The a-value increased significantly till the 3% additive group and then decreased ($p < 0.001$). The b-value increased significantly as the amount of addition increased ($p < 0.001$). The adhesiveness decreased significantly as the amount of leaf powder increased ($p < 0.001$). The hardness increased significantly till the 3% additive group and then decreased ($p < 0.001$). The springiness was a significant difference between each group ($p < 0.001$). The chewiness was a significant difference between each group ($p < 0.001$). The total polyphenol content increased significantly with the increase in the amount of leaf powder added ($p < 0.001$). The ABTS-radical scavenging capacity increased significantly as the amount of leaf powder was increased ($p < 0.001$). The DPPH-radical scavenging capacity increased significantly as the amount of leaf powder added was increased ($p < 0.001$). The color preference increased significantly as the amount of leaf powder added was increased ($p = 0.017$). The flavor preference increased till the 3% additive group and then decreased, but there was no significant difference between the groups ($p = 0.463$). The taste preference increased in the 1% additive group and then decreased, but there was no significant difference between the groups ($p = 0.622$). The texture preference increased significantly as the amount of leaf powder was increased ($p = 0.006$). The overall preference increased significantly in the 1% additive group and then decreased ($p = 0.004$).

In this study, healthy bread was developed using *Korean pine* leaf powder, a by-product of Korean pine. The data of our study would contribute to increasing the utilization of Korean pine leaves and the development of healthy foods with good antioxidant properties.

Acknowledgements

This research was supported by Seongnam Senior Industrial Innovation Center '2023 Age-friendly convergence product practical application support project'.

References

- AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. 13th ed. pp.3508-3515. Association of Official Analytical Chemists
- Cha BC, Lee SB, Rhim TJ, Lee KH. 2000. Antioxidative and hepatoprotective effect of compounds isolated from *Galla rhois* (*Rhus javanica* Linne). *Korean J Med Crop Sci* 8:157-164
- Cho YJ. 2017. Inhibitory effect of *Koreinsis chinensis* leaves extract on proinflammatory responses in lipopolysaccharide-induced Raw 264.7 cells. *J Appl Biol Chem* 60:191-198
- Chung JY, Kim CS. 1998a. Development of buckwheat bread: 1. Effects of vital wheat gluten and water-soluble gums on dough rheological properties. *Korean J Soc Food Sci* 14: 140-147
- Chung JY, Kim CS. 1998b. Development of buckwheat bread: 2. Effects of vital wheat gluten and water soluble gums on baking and sensory properties. *Korean J Soc Food Sci* 14: 168-176
- Im JG, Kim YH. 1999. Effect of green tea addition on the quality of white bread. *Korean J Soc Food Sci* 15:395-400
- Im JG, Kim YH. 2003. Quality characteristics of bread prepared by the addition of black soybean powder. *J East Asian Soc Diet Life* 13:334-341
- Jo JB, Park HJ, Lee EH, Lee JE, Lim SB, Hong SH, Cho YJ. 2017. Whitening and anti-wrinkle effect of *Pinus koraiensis* leaves extracts according to the drying technique. *J Appl Biol Chem* 60:73-78
- Jung DS, Lee FZ, Eun JB. 2002. Quality properties of bread made of wheat flour and black rice flour. *Korean J Food Sci Technol* 34:232-237
- Jung IC. 2006. Rheological properties and sensory characteristics

- of white bread with added mugwort powder. *J East Asian Soc Diet Life* 16:332-343
- Kang JS, Kang SK, Kim HS. 2009. Preparation and characteristics of bread by medicinal herb composites with cognitive function. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:1131-1138
- Kang MY, Nam YJ. 1999. Studies on bread-making quality of colored rice (Suwon 415) flours. *Korean J Food Sci* 15:37-41
- Kim E, Ju HW. 2016. Quality characteristics of white pan bread with *Cudrania tricuspidata* leaf powder. *Culin Sci Hosp Res* 22:173-186
- Kim EJ, Kim SM. 1998. Bread properties utilizing extracts of pine needle according to preparation method. *Korean J Food Sci Technol* 30:542-547
- Kim E, Suh SU. 2023. Quality characteristics of white pan bread made with watermelon seed powder. *Culin Sci Hosp Res* 29:27-36
- Kim HS, Jung BO, Lee SB, Chung SJ. 2012. Antioxidant and antibacterial activities of *Pinus koraiensis* extracts with chitosan. *J Chitin Chitosan* 17:221-228
- Kim YH, Han MR, Yoon SJ. 2020. Quality characteristics and textural properties of dough of white pan bread with added chlorella powder. *Korean J Food Nutr* 33:681-691
- Kwon KS, Kim YS, Song GS, Hong SP. 2004. Quality characteristics of bread with *Rubi fructus* (*Rubus coreanus* Miquel) juice. *Korean J Food Nutr* 17:272-277
- Lee JS, Kim JM. 2020. Quality characteristics and antioxidant properties of white pan bread added with sea buckthorn (*Hippophae rhamnoids* L.) berry powder. *Korean J Food Nutr* 33:473-482
- Lee KH, Lee MH. 2021. The palatability and quality characteristics of whey added pan bread. *Culin Sci Hosp Res* 27:34-44
- Lee KH. 2014. Trends and prospects of the bakery industry. *Food Ind Nutr* 19:38-46
- Lee MH, Jeong JH, Oh MJ. 1992. Antioxidative activity of gallic acid in acorn extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 21:693-700
- Lee MH. 2018. Quality characteristics of white pan bread added mate (*Ilex paraguariensis*) leaf powder. *Culin Sci Hosp Res* 24:145-155
- Lee SH. 1990. Confectionery, baking. *Bull Food Technol* 3:5-17
- Lee YS, Hwang YK, Woo IA. 2006. A study on the preference and the actual using patterns of the bakery products using functional ingredients. *Korean J Culin Res* 12:116-130
- Park GS, Lee SJ. 1999. Effects of job's tears powder and green tea powder on the characteristics of quality of bread. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28:1244-1250
- Park JR. 2022. Quality characteristics of morning bread added with aster glehni powder. *Culin Sci Hosp Res* 28:45-56
- Park LY. 2015. Effect of *Houttuynia cordata* Thunb. powder on the quality characteristics of bread. *Korean J Food Sci Technol* 47:75-80
- Park SH, Chang KH, Byun GI, Kang WW. 2009. Quality characteristics of bread made with flour partly substituted by lotus leaf powder. *Korean J Food Preserv* 16:47-52
- Shin GM, Jung JW. 1998. A study on the utilize of materials of bread. *Korean J Culin Res* 4:389-411
- Shin GM, Kim DY. 2008. Quality characteristics of white pan bread by *Angelica gigas* Nakai powder. *Korean J Food Preserv* 15:497-504
- Shin GM, Roh SH. 2000. A study on the commonness and difference in patisseries and bread. *Korean J Culin Res* 6:331-349
- Shin JW, Shin GM. 2008. Quality of white pan bread as affected by various concentrations of *Corni fructus* powder. *J East Asian Soc Diet Life* 18:1007-1013
- Shin YJ, Jegal JM, Lee MH. 2019. Quality and antioxidant properties of white bread with *Gynura procumbens* powder. *Culin Sci Hosp Res* 25:1-11
- Song HK, Kim JK. 1994. Essential oil components of leaves and resins from *Pinus densiflora* and *Pinus koraiensis*. *J Korean Wood Sci Technol* 22:59-67
- Woo SL, Lee MH. 2021. Quality characteristics and antioxidant of pan bread prepared with mugwort powder. *Culin Sci Hosp Res* 27:153-162

Received 23 August, 2023
Revised 18 September, 2023
Accepted 04 October, 2023

옥수수 부산물의 항산화 활성 및 잎과 줄기의 생육시기별 Phytosterol 함량 변화

†이미자 · 김현영* · 송승엽* · 서우덕

농촌진흥청 국립식량과학원 작물기초기반과 농업연구관
*농촌진흥청 국립식량과학원 작물기초기반과 농업연구사

Antioxidant Activity of Corn (*Zea mays* L.) By-Products and Changes in Phytosterol Content according to the Growth Period of Leaves and Stems

†Mi Ja Lee, Hyun Young Kim*, Seung-Yeob Song* and Woo Duck Seo

Senior Researcher, Division of Crop Foundation, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

*Researcher, Division of Crop Foundation, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

Abstract

As the consumption of corn increases, the production of by-products is also increasing. In this study, functional substances and antioxidant activities of corn by-products were investigated to determine their applicability as functional materials. Total polyphenol, flavonoid contents, and ABTS antioxidant activity were the highest in leaves. The total phenolic acid content was the highest in cobs; *p*-coumaric and ferulic acid were the main components. Phytosterol content in leaves and stems was high at 64 and 50 days after sowing, 261.4 and 274.7 mg/100 g, respectively. β -sitosterol of the leaves and stems was the highest, 149.2 and 138.7 mg/100 g. The total phytosterol content of grains and by-products harvested 106 days after sowing was in the order of: corn silk, husk, grain, leaf, stem, and cob. Among the phytosterols, β -sitosterol was the highest, followed by stigmasterol and campesterol, and the composition was different depending on part. The total phytosterol content was the highest in husk and corn silk, but the stems and leaves, which account for 50% of the total corn biomass, also contained high phytosterol content. Therefore, corn leaves and stems are expected to be used as functional raw materials for the development of functional materials in the future.

Key words: corn, antioxidant, phytosterol, by-product, phenolic acid

서 론

옥수수(*Zea mays* L.)는 외떡잎식물 벼목 화본과에 속하는 한해살이 식물로 밀, 벼와 함께 세계 3대 식량작물 중의 하나로 수량성이 매우 높은 곡물이다. 옥수수의 주요 성분은 단백질, 당질과 섬유질 등으로 중요한 식량자원 중의 하나이며, 국내에서는 육류 섭취의 증가와 함께 중요한 가축 사료로의 사용이 증가하여 전체 옥수수 수요량이 증가하고 있으며(Lee 등 2004), 시럽, 녹말, 조미료, 시약, 화장품, 주류, 과자류, 도료, 인쇄 및 제지업 등 의약품 및 각종 화학제품의

원료로 사용되는 등(Kwag 등 1999; Lim 등 2014) 가공용 옥수수 소비도 증가하고 있다. 옥수수는 7월에서 9월까지가 수확 시기로 생육기간이 짧고 단위면적당 건물생산성이 높을 뿐만 아니라 기호도가 높아 식용 및 사료용 등 다양한 특성을 가진 옥수수가 재배되고 있다. 옥수수는 수확 시 줄기와 잎이 부산물로 남겨지고 이삭에서 종실을 탈립 후 포엽, 수염과 속대가 가공부산물로 남겨진다. 이중 수염과 속대를 제외하고는 대부분이 동물사료 및 펄프 등으로 쓰여지고 있으며 전처리와 당화 과정을 거쳐 바이오플라스틱과 바이오연료로서의 활용이 보고되고 있다(Seo 등 1999; Plate & Gallaher

† Corresponding author: Mi Ja Lee, Senior Researcher, Division of Crop Foundation, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea. Tel: +82-63-238-5332, Fax: +82-63-238-5305, E-mail: esilvia@korea.kr

2005). 이 중 옥수수 포엽 분말은 혈중 HDL-cholesterol 농도를 높이고 중성지방 농도와 leptin의 분비를 낮추며(Shin 등 2015), 자색옥수수의 포엽과 속대 추출물의 지방분화 억제 효과 등이 보고되었다(Lee 등 2018), 또한 예로부터 옥수수 속대 끓인 물이 잇몸 염증 완화에 도움이 된다고 하여 민간 요법으로 이용하여 왔으며, 옥수수 속대에 포함된 phytosterol이 잇몸질환 예방과 치료에 효과가 있다고 보고되었다(Kim 등 2018). Phytosterol은 콜레스테롤과 유사한 식물 세포막에서 발견되는 steroid alcohol류의 화합물이며(Verleyen 등 2002; Rouf Shah 등 2016) 생체막의 구성성분으로 막의 견고성 유지 및 물질의 투과성 조절 등의 생체기능에 관여하며 전립선건강, 항암, 면역증강, 혈당조절, 심혈관질환 및 항염증 등의 효과가 보고되어 있다(Ostlund 등 2002; Ostlund 등 2003; St-Onge 등 2003; Jiang & Wang 2005). 이러한 phytosterol은 옥수수의 주요 기능성 물질로 보고되어 있으며(Kim 등 2018) 이외에 비타민, phenolic acids, carotenoids, flavonoids, antocyanins, maysin 등의 기능성 물질과 활성에 대한 연구들이 이루어지고 있으며(Lee 등 2016; Lao 등 2017; Sheng 등 2018) 옥수수 잎은 섬유소 원료로서의 재활용(Singha 등 2022)에 대한 연구가 보고되었다. 그러나 옥수수를 활용한 기능성 연구의 대부분이 옥수수 종실과 옥수수 이삭 가공시 발생하는 부산물인 속대, 수염, 포엽에 대해서 이루어져 왔다. 따라서 본 연구에서는 국내 옥수수의 부가가치 향상 및 옥수수 biomass의 50%를 차지하는 수확 후 부산물인 잎과 줄기의 기능성 소재로서의 활용 가능성을 알아보고자 주로 사용되어온 옥수수 이삭 부산물인 속대, 수염, 포엽과 비교 분석하였다. 또한 기능성 소재로서 사용시 옥수수 잎과 줄기의 적합한 채취시기를 알아보고자 파종 후 일정한 생육기간별 옥수수 잎과 줄기의 기능성 물질인 phytosterol 함량 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 실험에서는 사료용 품종인 광평옥(Kwangpyeongok)을 사용하였으며, 이 품종은 2000년 농촌진흥청 국립식량과학원에서 개발된 품종으로 수확기 늦게까지 푸른 잎이 유지되는 후기녹체성이 우수하여 옥수수 잎 등의 부산물 활용 목적에 적합한 품종이다. 옥수수 재배는 2021년 4월 27일에 파종하여 파종 후 41일부터 일반 옥수수 수확기인 106일까지 일정 기간별로 옥수수 잎을 채취하여 건조하였다. 옥수수 잎과 줄기 구분이 가능한 파종 후 43일부터 106일까지는 옥수수 잎과 줄기를 분리하여 채취하였다. 또한 최종 수확한 파종 후 106일에는 옥수수 종실 이외에 옥수수 이삭의 가공 부산물인 수염, 속대, 포엽 등도 채취하여 충분히 건조한 후

Retsch cutting mill(SM300, Verder Scientific Inc. Newtown, PA, USA)을 이용하여 분쇄하였고 4°C 냉장고에 보관하여 옥수수 부위별 부산물의 기능성분 분석에 사용하였다.

2. 총폴리페놀 함량 측정

총폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 용액(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 측정하였다(Bu 등 2002). 각 시료 0.5 g에 80% MeOH 용액 10 mL로 24시간 추출하고, 10 µL에 2% sodium carbonate 용액 200 µL를 가한 후 3분간 방치하였다. 여기에 50% Folin-Ciocalteu 용액 10 µL를 가하고, 30분 정지한 다음 반응액의 흡광도 값을 760 nm 파장에서 측정하였다. 이때 표준물질은 gallic acid(Sigma-Aldrich)를 사용하여 검량선을 작성하였다.

3. 총플라보노이드 함량 측정

총플라보노이드 함량은 80% MeOH 추출물 250 µL에 증류수 1 mL와 5% NaNO₂ 75 µL를 가한 다음, 5분간 정치하고 10% AlCl₃ · 6H₂O 150 µL를 가하여 6분 방치한 다음 1 N sodium hydroxide 용액 500 µL를 첨가하여, 11분 정지한 다음 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질인 catechin hydrate(Sigma-Aldrich)를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 함량은 시료 g 중의 mg catechin equivalents(CE, dry basis)로 나타내었다.

4. DPPH 라디칼 소거활성 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma Chemical Co.) 라디칼 소거활성 측정은 Sánchez-Moreno 등(1998)의 방법에 준하여 측정하였다. 시료 0.5 g에 70% ethanol 용액 10 mL를 가하여 추출하고 10배 희석하여 분석 시료로 사용하였다. 0.2 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich) 용액(99.9% ethanol에 용해) 200 µL에 시료(추출물 농도 0.1 g/mL) 10 µL를 첨가한 후 실온의 암실에서 30분 방치한 후, 520 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거활성은 시료첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 산출하였다.

5. ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS(2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 라디칼 소거활성 측정은 Re 등(1999)의 방법을 변형하여 실험하였다. ABTS 용액은 7 mM ABTS 저장용액과 2.45 mM potassium persulfate(K₂S₂O₈)을 포함하는 ABTS 용액에 시료를 혼합하여 실온에서 6분간 반응시킨 후, 735 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 항산화능은 추출용매인 1% HCl이 포함된 60% methanol을 대조군으로 하여 대조군에 대한 라디칼

소거능을 백분율로 나타내었다. Trolox를 표준물질로 Trolox equivalents antioxidant capacity(TEAC)값을 구하였다.

6. Phenolic acid 함량 측정

광평옥 옥수수의 종실과 잎 등의 부산물에 함유된 페놀산 함량을 분석하기 위하여 시료 0.5 g에 2N NaOH 15 mL 첨가하여 2시간 교반하고 HCl을 이용하여 pH 2를 맞추었다. 여기에 15 mL의 diethyl ether:ethyl acetate=1:1 용액을 첨가하고 10분간 교반한 후 원심분리(7,800 rpm, 5분)하여 상층액을 농축한 다음 95% ethanol용액 500 μ L에 재용해하고 HPLC분석하기 전에 0.2 μ m RC syringe filter로 여과하였다. 시료의 phenolic acid의 조성 및 함량 분석은 PDA(Waters, Milford, MA, USA) 검출기가 장착된 Waters UPLC 시스템(Waters, Milford, MA, USA)을 이용하였다. 이때 컬럼은 HALO C18 (2.1 \times 100 mm, 2.7 μ m, Advanced Materials Technology, Wilmington, DE, USA)이었으며, 분석시 컬럼 온도는 35 $^{\circ}$ C, 이동상 A는 0.1% trifluoroacetic acid(TFA) 수용액이었고, 이동상 B는 acrylonitrile (ACN) 용액으로 기울기 용리하였다(Table 1). 분석시 유속은 0.3 mL/min이었고, 280 nm의 UV파장에서 정량하였으며, 시료주입량은 1 μ L로 3반복으로 분석하였다. 크로마토그램 데이터는 Empower personal software(waters, Milford, MA)를 사용하여 분석하였다. Phenolic acid 분석을 위한 galic acid, vanilic acid, caffeic acid, coumaric acid, ferulic acid, quercetin 표준물질은Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 분석에 사용하였다.

7. Phytosterol 함량 측정

옥수수 생육시기별 채취한 잎과 줄기, 포엽, 종실, 속대, 수

염 등에 함유된 phytosterol 함량을 검화(saponification) 반응 후 gas chromatography(GC, Agilent 7890A, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 검화는 시료 0.2 g에 2 N(KOH/EtOH) 용액 2 mL를 가하고 90 $^{\circ}$ C에서 15분간 처리 후 냉각시켰다. 이후 동일 비율의 증류수 및 hexane을 가하여 강하게 교반한 후 원심분리기(Beckmancoulter, Blvd. Brea, CA, USA)를 이용하여 15,000 \times g으로 5분간 원심분리하여 상등액을 취하고 감압 농축 후 CHCl_3 에 재용해하고 0.2 μ m RC syringe filter로 여과하여 분석 시료로 준비하였다. 분석용 컬럼은 HP-5MS UI, capillary column(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m, Agilent 19091S-433UI, Wilmington, DE, USA)를 사용하였고, 검출기는 FID(Agilent 7890A, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), carrier gas로는 헬륨가스를 이용하였다. 이때, 주입 온도와 검출기 온도는 각각 250 $^{\circ}$ C, 310 $^{\circ}$ C로 설정하고, chamber의 온도를 220 $^{\circ}$ C에서 290 $^{\circ}$ C까지 분당 25 $^{\circ}$ C씩 상승시키면서 불검화물에 함유된 phytosterol의 조성과 함량을 3반복으로 분석하였다(Jung 등 2012). Phytosterol의 성분 확인을 위해 사용된 표준시약 중 campesterol, stigmasterol, β -sitosterol은 Wako(Tokyo, Japan) 제품을 구입하여 사용하였다.

8. 통계분석

모든 실험결과는 3회 이상 반복 실시하여 결과는 평균치와 표준편차로 표시하였다. 통계처리는 SAS Enterprise Guide 7.13(SAS Institute Inc., Cray, NC, USA) 프로그램을 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시한 후 시료의 유의적인 차이는 Duncan's multiple range test로 유의수준 5% ($p < 0.05$)에서 검증하였으며 기능성분들과 항산화활성간의 상관성을 확인하기 위해 피어슨의 상관관계분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 옥수수 부위별 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량 및 항산화 활성

국내 개발 옥수수 품종인 광평옥의 파종 후 106일에 수확한 잎, 줄기, 포엽, 수염, 속대 및 종실에서의 총폴리페놀 함량, 총플라보노이드 함량과 항산화활성을 분석한 결과를 Table 2에 제시하였다. 총폴리페놀함량은 옥수수 잎, 줄기, 수염, 포엽, 속대 순으로 함량이 많았으며, 옥수수 잎의 총폴리페놀함량이 종실보다 약 6.7배 높았다. 총플라보노이드 함량은 잎, 수염, 속대, 포엽, 줄기, 종실순으로 옥수수 잎이 가장 높았으며 종실보다 4.7배 높았다. DPPH 라디칼 소거 활성은 수염, 줄기, 속대, 포엽, 잎, 종실 순으로 수염이 가장 높았으며, 수염의 DPPH 라디칼 소거 활성은 종실보다는 4.2배 높았고, 잎은 종실보다 1.7배 높았다. ABTS 라디칼 소거 활성은

Table 1. Gradient program used for chromatographic analysis of phenolic acid contents

Time (min)	A ¹⁾ (%)	B (%)	Flow rate (mL/min)
Initial	95.0	5.0	0.3
0	95.0	5.0	0.3
4.0	95.0	5.0	0.3
23.0	80.0	20.0	0.3
25.0	0.0	100.0	0.3
27.0	0.0	100.0	0.3
28.0	95.0	5.0	0.3
40.0		Stop run	

¹⁾ Two eluents were used: A (0.1% TFA in water) and B (100% ACN).

Table 2. Total polyphenol and total flavonoid content by part of corn harvested at 106 days after sowing of Kwangpyeongok

Part	Total polyphenol (mg GAE/g)	Total flavonoid (mg CE/g)	DPPH (%)	ABTS (umol TE/g)
Leaves	6.77±0.059 ^a	2.70±0.065 ^a	34.75±0.290 ^e	2.94±0.210 ^a
Stems	4.97±0.026 ^b	1.11±0.080 ^e	53.74±0.364 ^b	2.47±0.236 ^b
Corn Husk	3.49±0.012 ^d	1.35±0.082 ^d	38.86±0.700 ^d	1.10±0.176 ^c
Corn silk	4.12±0.056 ^c	2.47±0.132 ^b	82.06±0.438 ^a	2.23±0.430 ^c
Cob	3.33±0.014 ^e	1.59±0.037 ^c	52.23±0.616 ^c	1.68±0.163 ^d
Grain	0.92±0.014 ^f	0.57±0.069 ^f	19.53±0.217 ^f	1.05±0.300 ^f

The values indicate the mean±S.D. of triplicate.

^{a-f} Means with the same letter in column are not significantly different by duncan's multiple range test ($p<0.05$).

잎, 줄기, 수염, 속대, 포엽, 종실 순으로 잎이 종실보다 2.8배 높았다. 총폴리페놀과 총플라보노이드 함량은 옥수수 잎이 가장 높았으며 옥수수 수염의 경우 총폴리페놀 및 총플라보노이드 함량이 높진 않았지만 가장 높은 DPPH 항산화활성을 나타내었다. 이는 옥수수 수염에 특이적으로 존재하는 2차 대사물질인 maysin 등 flavone glycoside들이 높은 항산화 효과 및 자유 라디칼 소거 효과 등을 보여(Lee 등 1998; Kim 등 2003) 높은 DPPH 항산화활성을 나타낸 것으로 생각된다.

2. 옥수수 부위별 페놀산 함량

파종 후 106일에 수확한 옥수수 잎 등 부산물과 종실에서 페놀산 함량을 분석하였다(Table 3). 옥수수 부위별 총페놀산 함량은 속대에서 가장 높았으며 다음으로 줄기, 포엽, 잎, 수염, 종자 순으로 높았다. 페놀산 구성 성분 중 옥수수 잎, 줄기, 포엽과 속대에서 *p*-coumaric acid가 각각 125.62, 652.55, 350.01, 810.78 mg/100 g으로 가장 많았으며, 수염과

종실에서는 ferulic acid 함량이 193.85, 113.78 mg/100 g으로 가장 많았다. 옥수수 포엽은 *p*-coumaric acid와 ferulic acid가 각각 350.01, 354.39 mg/100 g으로 비슷한 함량으로 포함되어 있었으며, 옥수수 부위별로 각 페놀산의 구성성분 비율은 달랐지만 주요 페놀산성분은 *p*-coumaric acid와 ferulic acid이었다. 페놀산은 펜토스 인산대사 경로(pentose phosphate pathway), 시킴산 경로(shikimate pathway), 페닐프로판오이드 경로(phenylpropanoid pathway)에 의해 생성되는 이차대사산물로 현재 다양한 생리활성으로 주목받고 있다. 본 연구에서 분석 결과 포함되어 있는 페놀산의 종류는 gallic acid, vanillic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, quercetin 등이 존재하는 것으로 조사되었다(Chiremba 등 2012). Acosta-Estrada 등(2014)은 옥수수 종실의 페놀산은 대부분이 ferulic acid 형태로 존재하며, 그 다음으로 *p*-coumaric acid, vanillic acid 순으로 높다고 하였는데 본 연구결과에서도 종실의 ferulic acid가 가장 높았고 다음으로 *p*-coumaric acid, vanillic acid 등 같은 결과를 보였다.

Table 3. Phenolic acid content by part of corn harvested at 106 days after sowing of Kwangpyeongok

Phenolic acid	Content (mg/100 g)					
	Leaves	Stems	Corn Husk	Corn silk	Cob	Grain
Gallic acid	6.92±0.25 ^a	2.71±0.03 ^b	2.30±0.06 ^c	2.25±0.00 ^c	2.20±0.00 ^c	n.d
Vanillic acid	13.65±0.14 ^d	45.36±2.62 ^a	20.50±0.34 ^c	8.13±0.44 ^c	40.46±1.11 ^b	2.68±0.02 ^f
Caffeic acid	2.96±0.02 ^b	n.d	2.75±0.05 ^d	2.88±0.04 ^c	3.15±0.02 ^a	n.d
<i>p</i> -Coumaric acid	125.62±2.22 ^c	652.55±67.59 ^a	350.01±12.89 ^b	14.29±1.23 ^d	810.78±21.67 ^a	9.71±0.64 ^d
Ferulic acid	114.43±3.44 ^e	157.29±17.15 ^d	354.39±12.49 ^b	193.85±20.47 ^c	680.51±21.98 ^a	113.78±9.31 ^e
Quercetin	4.71±0.04 ^a	3.48±0.39 ^b	2.92±0.13 ^c	2.66±0.04 ^c	3.50±0.36 ^b	n.d
Total	268.30±0.54 ^c	861.38±80.63 ^b	732.87±9.55 ^b	224.05±14.81 ^c	1,540.59±65.09 ^a	126.18±9.98 ^d

The values indicate the mean±S.D. of triplicate.

^{a-f} Means with the same letter in column are not significantly different by duncan's multiple range test ($p<0.05$).

n.d: not detected.

3. 옥수수 부위별 phytosterol 함량

종실과 옥수수 부산물인 속대, 포엽, 수염의 phytosterol 함량을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 수확 시기별 총 phytosterol 함량은 종실과 속대에서 78일부터 85일까지 감소하였고 이후 106일까지 다시 증가하여 함량은 각각 229.33과 129.17 mg/100 g이었으며, 포엽과 수염의 phytosterol 함량은 시기가 증가함에 따라 지속적으로 증가하여 함량은 351.97, 1,005.76 mg/100 g이었다. 파종 후 106일에 수확한 옥수수 부위별 총 phytosterol 함량은 수염, 포엽, 종실, 속대 순으로 높았다. Phytosterol 중 β -sitosterol 함량은 48.77~484.75 mg/100 g 범위로 가장 많은 성분이었으며, 다음으로 stigmasterol 함량이 30.00~343.97 mg/100 g 범위로 높았으며, Campesterol 함량은 38.19~177.04 mg/100 g 범위였고 3가지 성분 모두 옥수수 부위 중에서는 수염에서 가장 높은 함량을 보였다. Kim 등(2018)은 옥수수 종실과 속대에서 phytosterol 중 campesterol, β -sitosterol, stigmasterol이 주요 성분이라고 보고하였으며, 옥수수 종실과 속대에 함유되어 있는 phytosterol 중 주요 성분별 구성비율은 β -sitosterol, campesterol, stigmasterol이 각각 80.05%, 10.5%, 9.46%이었고, 속대보다 종실의 phytosterol 함량이 약 2.4배 높았다고 보고하였다. 본 실험결과에서도 옥수수 종실의 phytosterol은 주로 β -sitosterol, campesterol, stigmasterol로 이루어져 있었으며 주요 성분별 구성비율은 β -sitosterol, campesterol,

stigmasterol이 각각 68.20%, 18.72%, 13.08%이었고 phytosterol 함량은 속대보다 종실이 약 1.78배 높았다.

4. 옥수수 생육시기별 잎과 줄기의 phytosterol 함량

옥수수 부산물 중 가장 생산량이 많은 잎과 줄기는 현재 대부분이 값싼 사료용으로 사용되고 있으므로 이를 다양한 생리활성(Ostlund 등 2002; Ostlund 등 2003; St-Onge 등 2003; Jiang & Wang 2005)을 가지는 phytosterol 소재로서의 사용가능성을 알아보기 위하여 옥수수 잎과 줄기의 phytosterol 함량을 분석하였다. 파종 후 생육시기에 따른 광평옥 옥수수 잎, 줄기 전체와 잎과 줄기 각각에서의 phytosterol의 조성비율과 함량 변화를 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 옥수수 잎과 줄기 전체에서의 생육시기에 따른 총 phytosterol 함량은 파종 후 17일부터 증가하여 24일에서 358.5 mg/100 g으로 최대 함량을 보였고 이후 급격히 감소하여 29일에는 149.0 mg/100 g이었다. 이후 서서히 증가하여 64일에는 246.6 g/100 g이었다. 옥수수 잎과 줄기 각각에 함유된 phytosterol도 모든 생육시기에서 campesterol, β -sitosterol, stigmasterol이 주요 성분이었다. 옥수수 잎의 총 phytosterol 함량은 파종 후 43일에 176.9 mg/100 g이었고 약간 감소하였다가 증가하여 64일에 261.4 mg/100 g으로 최대 함량을 보였고 이후 다시 감소하였다가 서서히 증가하여 106일에 218.3 mg/100 g이었다. 생육기간 중 β -

Table 4. Phytosterol content by part of corn harvested at 78 days, 85 days, 106 days after sowing of Kwangpyeongok

Part	Phytosterol	Content (mg/ 100 g)		
		DAS 78d	DAS 85d	DAS 106d
Grain	Campesterol	27.37±0.598	14.15±0.175	42.93±11.18
	Stigmasterol	42.56±1.168	10.58±0.043	30.00±0.49
	β -Sitosterol	107.02±1.663	55.97±0.336	156.40±5.73
	Total	176.95±3.408	80.70±0.395	229.33±16.06
Cob	Campesterol	14.18±2.560	5.12±0.940	38.19±3.93
	Stigmasterol	25.60±5.357	8.24±1.333	42.21±1.64
	β -Sitosterol	54.99±9.217	23.43±2.057	48.77±11.21
	Total	94.76±17.093	36.79±4.194	129.17±14.32
Corn husk	Campesterol	16.23±0.249	23.36±1.224	80.43±5.11
	Stigmasterol	38.78±0.170	47.53±3.427	128.85±2.51
	β -Sitosterol	59.28±0.547	75.34±4.759	142.69±4.89
	Total	114.29±0.849	146.22±9.309	351.97±11.86
Corn silk	Campesterol	59.36±0.175	76.03±7.863	177.04±7.36
	Stigmasterol	175.04±0.043	250.24±5.190	343.97±20.4
	β -Sitosterol	313.56±0.336	325.22±12.566	484.75±28.87
	Total	547.96±0.395	651.50±18.636	1,005.76±56.63

The values indicate the mean±S.D. of triplicate.

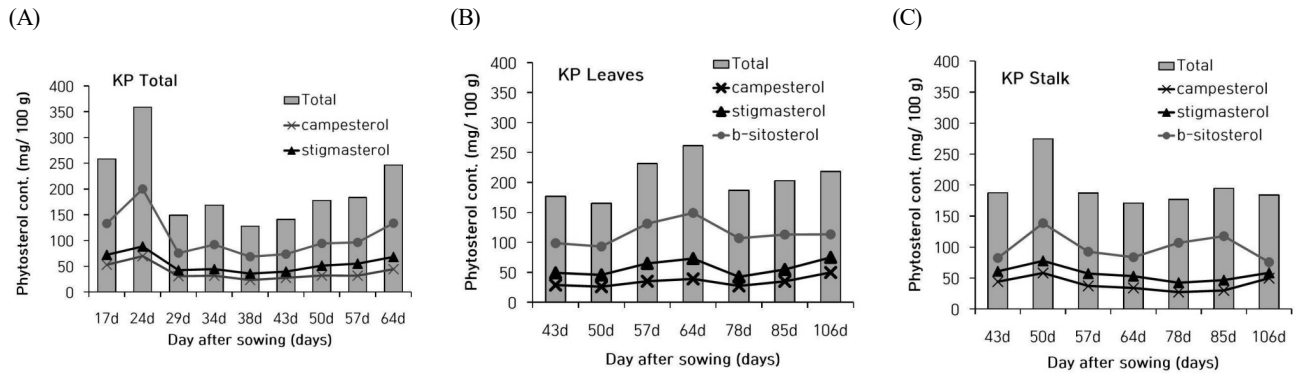


Fig. 1. Changes of phytosterol content in (A) leaves+stems (B) leaves and (C) stems according to growth period after sowing of Kwangpyeongok.

sitosterol은 총 phytosterol 함량 대비 약 44.2~49.2%로 가장 많은 phytosterol 성분이었다. 줄기의 phytosterol 함량은 43일에 187.7 mg/100 g이었고 이후 50일에 274.7 mg/100 g으로 최대 함량을 보였고 106일에 184.1 mg/100 g이었다. 줄기에서도 β -sitosterol이 주요 성분이었으며, 잎과 줄기의 총 phytosterol 함량은 큰 차이를 보이지 않았다. 옥수수는 일반적으로 70일 이후에는 잎과 줄기의 성장이 멈추고 종실 성장이 시작된다. 그러므로 phytosterol 함량이 64일에 가장 높았고 이후 감소하였다가 서서히 증가하였으나 80일 이후에는 잎의 황화현상이 발생하였으므로 일반적인 옥수수 잎 성장 시기인 70일 전후가 적합한 수확시기로 생각되지만 생육시기별 phytosterol 함량 변화에 대한 고찰은 품종별, 재배지역별, 파종시기별 등 향후 조사가 필요할 것으로 생각된다.

Phytosterol은 각종 식물에 널리 함유되어 있는 steroid alcohol류의 물질로서 식물 종류 및 이로부터 추출된 기름의 종류에 따라 함량이 큰 차이를 나타내었다(Jung 등 2012). 들기름의 phytosterol 총 함량은 265.14 mg/100 g이며, β -sitosterol은 227.61 mg/100 g, campesterol은 23.67 mg/100 g, stigmasterol은 13.85 mg/100 g이었다(Lee 등 2014). 미강유에서

도 β -sitosterol 함량이 가장 높았으며, campesterol, stigmasterol의 함량 순으로 함유되어 있다고 보고되었다(Reshma 등 2008; Kim & Lee, 2009; Derakhshan-Honarparvar 등 2010). 옥수수 잎과 줄기에서 phytosterol 함량은 옥수수 포엽과 수염보다는 적었지만 옥수수 종실과 속대보다는 높았으며 생산량도 높아 향후 옥수수 잎과 줄기를 이용한 기능성 소재화가 가능할 것으로 생각된다.

5. 옥수수 부산물의 기능 성분과 항산화활성간의 상관관계

본 연구에서 분석한 옥수수 부산물의 기능성분인 총폴리페놀, 총플라보노이드, 총페놀산, 총 phytosterol 함량과 DPPH, ABTS 항산화활성과의 상관관계를 알아보았다(Table 5). Ku 등(2009)은 옥수수 수염의 플라보노이드 및 페놀성 물질과 항산화활성의 상관관계를 분석한 결과 DPPH보다는 ABTS가 종합적인 항산화능을 평가하는데 적합한 측정 방법이라고 보고하였다. 본 연구에서도 옥수수 부산물의 ABTS 항산화활성이 총 폴리페놀 함량($r=0.897$, $p<0.05$)과 정(+)상관을 보였으나 이외에 phytosterol, 총폴리페놀과 총페놀산 등은 항산화활성과 높은 상관관계를 보이지 않았다. 옥수수잎과 수염의

Table 5. Correlation coefficient between the contents of functional substances and antioxidant effects by ABTS, DPPH assay

Parameters	Total polyphenol	Total flavonoid	Total phytosterol	Total phenolic acid	DPPH	ABTS
Total polyphenol	1.000					
Total flavonoid	0.758	1.000				
Total phytosterol	0.040	0.491	1.000			
Total phenolic acid	0.012	-0.172	-0.461	1.000		
DPPH	0.299	0.508	0.729	0.166	1.000	
ABTS	0.897*	0.717	0.126	-0.114	0.386	1.000

* $p<0.05$.

총폴리페놀과 총플라보노이드 함량과 항산화활성의 상관성은 Ku의 결과와 같이 DPPH보다 ABTS와 일치하였다(Table 2).

요약 및 결론

본 연구에서는 옥수수 부산물의 기능성소재로서의 이용 가능성을 알아보기 위한 기초자료로 활용하고자 옥수수 종실과 수확 후 부산물인 옥수수 잎, 줄기, 수염, 포엽 등의 기능성 물질과 항산화활성을 조사하였다. 기능성 물질로는 옥수수의 생리활성 물질 중의 하나인 phytosterol의 함량 변이를 옥수수 잎과 줄기에서 생육기간별로 분석하였으며, 최종 수확한 종실과 부산물 부위별 phytosterol, 총폴리페놀, 총플라보노이드, 페놀산 함량 및 항산화활성을 분석하였다. 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량 및 항산화활성은 종실보다는 수염, 잎과 옥수수 줄기가 높았으며, ABTS 항산화활성은 옥수수 잎이 가장 높았다. 옥수수 생육시기에 따른 옥수수 잎과 줄기에서의 phytosterol 함량은 파종 후 64일과 50일에 각각 261.4, 274.7 mg/100 g으로 가장 높았으며 β -sitosterol이 149.2와 138.7 mg/100 g으로 가장 많은 phytosterol 성분이었다. 총페놀산 함량은 속대에서 가장 높았으며 *p*-coumaric acid와 ferulic acid가 주성분이었다. 잎과 줄기 이외의 옥수수 부위별 phytosterol 함량은 파종 후 생육시기가 경과할수록 증가하였으며 파종 후 106일에 수확한 옥수수 부위별 phytosterol 함량은 수염, 포엽, 종실, 잎, 줄기, 속대 순으로 높았으며, phytosterol 구성 성분 중 β -sitosterol이 가장 많았고 다음으로 stigmasterol, campesterol이 주요 성분이었다. 본 연구결과 기능성물질 함량과 항산화활성이 종실보다 옥수수 수확 후 부산물에서 높았으며, 구성 비율은 부위에 따라 달랐다. 옥수수 잎과 줄기는 생산량이 높고 phytosterol 함량은 옥수수 수염이나 낱질보다 낮지만 옥수수 잎과 줄기에도 상당량 함유되어 있으므로 향후 옥수수 부산물인 잎과 줄기는 기능성 소재 개발을 위한 기능성 원료로 활용 가능할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(ATIS 과제번호: PJ0160 88022023)의 지원에 의해서 이루어진 것임.

References

- Acosta-Estrada BA, Gutiérrez-Urbe JA, Serna-Saldívar SO. 2014. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem* 152: 46-55
- Bu SY, Jeon WB, Kim DS, Heo HY, Seo YW. 2002. Antioxidant activity and total phenolic compounds in grain extracts of wheat, barley, and oat. *Korean J Crop Sci* 47: 102-107
- Chiremba C, Taylor JRN, Rooney LW, Beta T. 2012. Phenolic acid content of sorghum and maize cultivars varying in hardness. *Food Chem* 134:81-88
- Derakhshan-Honarparvar M, Hamed MM, Pirouzifard MK. 2010. Rice bran phytosterols of three widespread Iranian cultivars. *J Agric Sci Technol* 12:167-172
- Jiang Y, Wang T. 2005. Phytosterols in cereal by-products. *J Am Oil Chem Soc* 82:439-444
- Jung DM, Yoon SH, Jung MY. 2012. Chemical properties and oxidative stability of perilla oils obtained from roasted perilla seeds as affected by extraction methods. *J Food Sci* 77:C1249-C1255
- Kim JY, Lee KT. 2009. Enzymatic synthesis of low trans fats using rice bran oil, palm stearin and high oleic sunflower seed oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:470-478
- Kim SL, Snook ME, Lee JO. 2003. Radical scavenging activity and cytotoxicity of maysin (C-glycosylflavone) isolated from silks of *Zea mays* L. *Korean J Crop Sci* 48:392-396
- Kim SL, Kim MJ, Jung GH, Lee YY, Son BY, Kim JT, Lee JS, Bae HH, Go YS, Kim SG, Baek SB. 2018. Identification and quantification of phytosterols in maize kernel and cob. *Korean J Crop Sci* 63:131-139
- Ku KM, Kim SK, Kang YH. 2009. Antioxidant activity and functional components of corn corn silk (*Zea mays* L.). *Korean J Plant Resour* 22:323-329
- Kwag JJ, Lee JG, Jang HJ, Kim OC. 1999. Volatile components of corn silk (*Zea mays* L.). *Korean J Food Nutr* 12:375-379
- Lao F, Sigurdson GT, Mónica Giusti M. 2017. Health benefits of purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 16:234-246
- Lee EA, Byrne PF, McMullen MD, Snook ME, Wiseman BR, Widstrom NW, Coe EH. 1998. Genetic mechanisms underlying apimaysin and maysin synthesis and corn earworm antibiosis in maize (*Zea mays* L.). *Genetics* 149:1997-2006
- Lee EY, Kim SL, Kang HJ, Kim MH, Ha AW, Kim WK. 2016. High maysin corn silk extract reduces body weight and fat deposition in C57BL/6J mice fed high-fat diets. *Nutr Res Pract* 10:575-582
- Lee JK, Park JY, Park KJ, Ryu SH, Shin JH, Lee MS, Min HK, Kim NS. 2004. Genetic studies of major agronomic traits in

- hybrid populations of maize inbred lines. *Korean J Plant Res* 17:304-313
- Lee KY, Hong SY, Kim TH, Kim JE, Park AR, Noh HS, Kim SC, Park JY, Ahn MS, Jeong WJ, Kim HY. 2018. Inhibition of pancreatic lipase activity and adipocyte differentiation in α -T₃-L₁ cells treated with purple corn husk and cob extracts. *J Food Hyg Saf* 33:131-139
- Lee MJ, Cho MK, Oh SH, Oh CH, Choi DS, Woo JW, Park KH, Jung MY. 2014. Fatty acid composition, contents of tocopherols and phytosterols, and oxidative stability of mixed edible oil of perilla seed and rice bran oil. *Korean J Food Nutr* 27:59-65
- Lim JT, Chang JH, Rho YJ, Ryu JH, Chung DY, Cho JW. 2014. The effect of nitrogen rates on the growth and yield of maize in agricultural fields with the stream. *Korean J Crop Sci* 59:101-108
- Ostlund RE Jr, Racette SB, Okeke A, Stenson WF. 2002. Phytosterols that are naturally present in commercial corn oil significantly reduce cholesterol absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 75:1000-1004
- Ostlund RE Jr., Racette SB, Stenson WF. 2003. Inhibition of cholesterol absorption by phytosterol-replete wheat germ compared with phytosterol-depleted wheat germ. *Am J Clin Nutr* 77:1385-1389
- Plate AYA, Gallaher DD. 2005. The potential health benefits of corn components and products. *Cereal Foods World* 50:305-314
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* 26:1231-1237
- Reshma MV, Saritha SS, Balachandran C, Arumugan C. 2008. Lipase catalyzed interesterification of palm stearin and rice bran oil blends for preparation of zero trans shortening with bioactive phytochemicals. *Bioresour Technol* 99:5011-5019
- Rouf Shah T, Prasad K, Kumar P. 2016. Maize—A potential source of human nutrition and health: A review. *Cogent Food Agric* 2:1166995
- Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric* 76:270-276
- Seo YH, Kim II, Yie AS, Min HK. 1999. Electron donating ability and contents of phenolic compounds, tocopherols and carotenoids in waxy corn (*Zea mays* L.). *Korean J Food Sci Technol* 31:581-585
- Shin KO, Kim YH, Lee KW, Choi KS. 2015. Effect of *in vitro* antioxidant properties and extract of corn husk on serum lipids in mice. *J East Asian Soc Diet Life* 25:261-269
- Sheng S, Li T, Liu R. 2018. Corn phytochemicals and their health benefits. *Food Sci Hum Wellness* 7:185-195
- Singh G, Jose S, Kaur D, Soun B. 2022. Extraction and characterization of corn leaf fiber. *J Nat Fibers* 19:1581-1591
- St-Onge MP, Lamarche B, Mauger JF, Peter JH, Marie-Pierre. 2003. Consumption of a functional oil rich in phytosterols and medium-chain triglyceride oil improves plasma lipid profiles in men. *J Nutr* 133:1815-1820
- Verleyen T, Forcades M, Verhe R, Dewettinck K, Huyghebaert A, De Greyt W. 2002. Analysis of free and esterified sterols in vegetable oils. *J Am Oil Chem Soc* 79:117-122

Received 15 March, 2023
Revised 25 September, 2023
Accepted 04 October, 2023

복령과 황태껍질 발효물 혼합물의 고지방식이 유도 비만 동물모델에서의 항비만효과

김미자* · †강순아**,**

호서대학교 벤처대학원 융합공학과 박사과정 학생, *호서대학교 보건산업연구소 연구원,
호서대학교 벤처대학원 융합공학과 교수, *호서대학교 보건산업연구소 소장

Anti-Obesity Effect of Fermented Pollack Skin and *Wolfiporia extensa* Ginns in High Fat-induced Obesity Animal Model

Mi Ja Kim* and †Soon Ah Kang**,**

Ph.D. Student, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

*Researcher, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

**Professor, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

***Director, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

Abstract

This study aimed to determine the anti-obesity effect of adding *Wolfiporia extensa* Ginns (W) to fermented pollack skin products in an obesity-induced animal model. The experimental groups were the normal diet group (C), high-fat diet group (HF), dried pollack skin (H1), fermented pollack skin (H2), and W of 0.1 (F2-WL), 0.3 (F2-WM), and 0.5 (F2), respectively. It was confirmed that adding W to fermented pollack skin reduced blood triglycerides, total cholesterol, and LDL levels, while increasing HDL levels. *Wolfiporia extensa* Ginns was effective in controlling weight and improving blood lipids in a dose-dependent manner. In histological analysis, findings of fatty liver induced by a high-fat diet were improved by the addition of H2 and W. Size and density of fat globules in the epididymis were decreased. In addition, the concentration of TNF- α was increased in the high-fat diet group, but decreased by the addition of fermented pollack skin and W. In conclusion, adding fermented dried pollack skin and *Wolfiporia extensa* Ginns was effective for weight control and blood lipid improvement. Thus, the use of by-products in functional foods is expected to have a high value in the future.

Key words: anti-obesity effect, fermented pollack skin, *Wolfiporia extensa* Ginns, high fat diet-induced obesity model

서론

에너지 불균형에 의하여 발생하는 비만은 심혈관계질환, 고혈압, 당뇨 등 합병증의 위험을 가져오며 세계인의 건강문제로 대두되면서 비만인 개인대비 연간 의료비용으로 지출이 매년 지속적으로 상승하고 있다고 보고하고 있다(WHO 2017). 이에 체지방 감소를 위한 다양한 소재의 시장 규모가 증가하면서 새로운 신물질 탐색연구가 진행되고 있다(Kim

등 2014; Oh & Kang 2021; Park 등 2021).

황태는 명태(*Theragra chalcogramma*, Alaska pollack)보다 단백질과 필수아미노산 함량이 높고, 칼슘, 인, 칼륨 등 무기질 함량도 풍부하며, 콜레스테롤 함량이 낮아서 영양가 높은 식품이다. 황태의 생리활성은 항산화작용, 간보호작용, 숙취 해소작용, 심혈관계 조절작용 등의 활성이 보고되고 있다(Mori 등 1999; Choi 등 2007). 그러나 황태껍질을 이용한 활성연구는 미흡한 편이지만 명태 껍질에서 얻은 젤라틴 효소로

† Corresponding author: Soon Ah Kang, Professor, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea. Tel: +82-2-2059-2353, Fax: +82-2-2059-1405, E-mail: sakang@hoseo.edu

가수분해물의 인간면역결핍 바이러스 감염예방효과(Park SJ 2016), 명태껍질에서 추출한 콜라겐의 피부노화 억제효과 및 피부 주름 개선 효과(Yang & Hong 2014), 황태껍질발효물의 체지방 감소 효과 및 혈청지질 저하효과(Lee & Kang 2018) 등이 있다.

유효성분의 생체 내 흡수 및 이용률을 향상시키고자 식품 원료 및 약용작물의 발효과정을 널리 사용하였는데, 한방약재는 법제과정을 통하여 약성을 향상시켰다(Jo 등 2009; Nam 등 2014). 고체발효법으로 현미 등과 같은 소재를 영양분으로 미생물의 성장 조건을 향상시키는 구증구포법은 9번 째고 9번 말리는 절차를 반복하여 약재의 약리활성 증진시키는 방법으로 가장 널리 사용하였다(Lee & Kang 2018). 흑삼의 유용성분의 증가연구는 대표적인 구증구포방법에 의한 항산화효과, 항암효과, 면역증진효과 연구(Kim 등 2009; Kim SH 2011; Nam 등 2013)가 있고, 인삼의 증포 횟수 증가에 따라 다양한 페놀 화합물 함량 증가에 따른 항산화 활성 증가 연구(Kim 등 2009), 항당뇨 효과, 항암효과, 혈압 강하효과 연구가 보고되었다(Zhang 등 2006; Jin 등 2012).

복령(*Wolfiporia extensa* Ginns; *Poria cocos*)은 옛 문헌에 복령 혹은 복신으로 표기를 하며 소나무의 정기가 땅속에 스며들어 뭉쳐져 생긴 것으로 령의 의미가 들어있고, 나무의 진액이 활성화하지 못하면 뿌리에서 떨어지지 않고 뿌리를 둘러싸고 있는 균핵이 있는 것을 복신이라고 부르며 내부의 수분을 없애고 그늘에서 건조한 것을 복령개, 절편한 것을 복령편이라한다(Lee SI 1998). 복령은 소나무의 뿌리에 자생하는 구멍쟁이 버섯과에 속하며 균핵을 건조한 것으로 (Lee SI 1986; Lee JY 1988) 표면은 암갈색이고, 내부의 색깔이 백색인 경우 백복령, 연분홍색인 경우는 적복령으로 부른다(Lee SI 1986; Lee JY 1988). 복령의 주성분은 탄수화물, 지방, 단백질, 무기질, 수분이며, 복령의 효능은 이노작용 효과가 있고, 소화기계질환 혹은 부종에 효과가 있어서 신장염, 방광염, 요도염에 효과적이다(Lee 등 1974). 또한 가래 및 호흡 장애를 동반하는 만성기관지염 혹은 기관지확장증에도 거담작용과 진해작용을 한다. 복령의 주성분은 이노작용이 있는 다당류인 β -1,3-glucan의 pachyman이고 ergosterol, lecithin, histidine, adenine, choline 등이 함유되어 있으며 주된 성분이 β -glucan이며, 나머지 아주 소량이 terpene 등이다(Kim SM 2011).

복령의 주요성분인 포도당 배당체인 파키만다당류에 대한 연구로는 sarcoma-180 암세포에 대한 항암작용 및 면역증진작용(Lee 등 1990; Kwon 등 1998), 복령에탄올 추출물의 항산화활성 및 항염증효과(Lee D 2016; Oh HK 2019), 복령의 췌장암세포의 항암효과(Chang HJ 2023), 복령 열수 추출물의 파골세포 증식억제 효과, 고혈압 관련 효소인 ACE의 저해활성(Lee D 2016), 복령 열수추출물의 산화적 스트레스로부

터 신경세포 보호효과(Oh HK 2019), 복령 에탄올추출물의 항산화 효과 및 피부수분 통로조절 효과(Park SG 2020), 복령 균사체의 항산화 활성 및 아질산염 소거기능(Kim 등 2002; Sekiya 등 2003), 노 단백질 배설 억제효과 및 혈중 콜레스테롤 감소효과(Hattori 등 1992), 에탄올추출물의 혈중 지방분포 개선효과 (Yun 등 2006)가 보고되었다.

본 연구에서는 국내산 황태껍질을 구증구포한 후 현미로 고체 발효한 황태껍질발효물과 혈중 지방 분포의 개선을 해주는 복령의 시너지 효과를 보고자 하였다. C57BL/6 mice를 고지방(High fat diets) 식이로 유도한 비만 동물에서 체중증가, 식이효율, 혈중 지질변화 및 항비만효과를 관찰함으로써, 황태껍질발효물과 복령의 혼합에 의한 비만개선 및 지방간 개선 효능을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시험물질 제조 방법

본 연구의 시험물질인 복령은 경기도 파주시에서 구입하여 식물체(100 g)를 음건하여 분말화하였다. 또한, 대관령에서 구입한 동결 건조한 상태인 황태의 황태껍질 시료(Migang Company, Daegwallyeong/Origin Russia)를 가로 1 cm와 세로 1 cm 크기로 잘게 썰었다. 구증구포 방법은 세척한 황태 껍질을 증숙기(HD-WH198, Hongsam world, Incheon, Korea)에서 90~95°C, 3~4시간 증숙하여 1차 증숙물을 만들고 건조기에서 60~70°C, 20~24시간 건조하는 단계를 9회 반복하였다(Chun & Park 1999; Lee & Kang 2018). 구증구포 후 황성에서 구매한 현미를 갈아서 20%(w/w) 섞어 40°C 항온기에서 2일 동안 발효시켰다(Um 등 2010; Cho 등 2014; Lee & Kang 2018).

2. 실험동물 사육조건 및 고지방식이 비만동물모델

C57BL/6 mice 수컷 4주령 60마리를 (주)대한바이오링크(Eumseong, Korea)를 통하여 구입하였고, 온도 22±2°C, 습도 50.0±15.0%, 명암주기 12시간/일, 조도 150~300 Lux, 환기 10~20회/시간 등 자동 설정된 SPF(Specific Pathogen Free) 조건으로 동물 사육실(Polysulfone, 331 D×159 W×132 H(mm)) 안에서 4주 동안 사육하였다. 실험 전에 동물의 외관 검사를 하고 체중 측정으로 개체식별법으로 7일간 순화 기간을 두고 해당 동물실로 이동하여, 매일 1회 이상 일반증상 등을 관찰하였다. 체중을 순화기간 종료일에 측정하고, 체중변화와 일반증상을 주별로 확인 후 체중증가에 큰 이상이 없는 동물을 선별하여 체중을 균등하게 분배하였다. 실험동물용 고형사료로 사용한 식이는 일반동물식이(40 kcal% fat)를 (주)우정바이오에서 구입하여 자유섭취 시켰다. 또한, 음용수는 UV 멸균 과정 후 필터로 여과된 정제수를 음수병

(250 mL)에 넣어 자유섭취하게 하였다. 고지방식이 비만동물 모델을 유도하기 위하여 5주(35일)동안 고지방(High fat diets: 40 kcal% fat)식이(Table 1)로 대사성 비만질환동물로 유도한 후 시험물질 황태겉질발효분말과 복령분말을 고지방사료에 섞어 자유급이하하여 체중증가, 식이효율, 혈중 지질변화 및 비만인자에 미치는 영향을 관찰하였다. 정상식이군(정상군, C)과 고지방식이군(HF)을 두었으며 시험군으로는 황태겉질(5%)과 황태겉질발효물 5% 단독군과 복령을 혼합하여 저(0.1%), 중(0.3%), 고(0.5%)농도로 고지방 식이 사료에 섞어 총 7개 실험군으로 구성하여 치료실험기간은 28일(4주) 동안 자유급이방법으로 공급하고 유도기간을 포함 실험기간은 총 63일간 효능을 알아보았다(Warden & Fisler 2008; Lee & Kang 2018; Kim & Kang 2021; Oh & Kang 2021)(Fig. 1). 체지방율의 변화 및 지방세포의 크기는 6주에서 10주 사이에 유의하게 증가하였고, 혈중 렙틴 농도와 조직 UCP 발현이 유의한 차이를 보인 결과로 고지방식이 동물모델(DIO)을 유도할 때 9주 실험으로 하였다(Kang SA 2002; Park 등 2015). 본 실험 과정은 실험동물 관리 및 사용 방법에 적용되는 모든 규정들을 준수하였으며, 동물보호법(제정: 1991년 5

월 21일 법률 제 4379호, 일부개정: 2020년 2월 11일 법률 제 16977호)이 정하는 규정대로 우정유전체연구소 동물실험윤리위원회(IACUC) 승인(승인번호: IACUC2003-128)을 받았고, 모든 시험규정은 우정유전체연구소 실험동물 윤리위원회 규정에 따라 수행되었다.

3. 혈액 및 시료채취

실험동물의 실험기간동안 식이 섭취량은 매일 측정하였으며, 체중은 1주 간격으로 측정하였다. 시료 투여기간 동안 체중을 주별로 측정하고, 실험기간 종료 시점에 부검을 실시하였다. 시험기간 종료 후 안와정맥총 채혈로 혈액을 채취 후 혈청을 분리하였고, 채혈한 후 경추탈구방법으로 안락사하여 간, 폐, 심장, 신장, 지방 조직을 적출하여 개량하였다. 간과 지방 조직 부위별(epididymal, subcutaneous, peritoneal, mesentric)로 무게를 칭량하였고 조직은 10% 포르말린용액에 고정시켜 H&E 염색 및 Oil red O 염색 과정을 실시하였다. 나머지 개별 조직 시료들은 액체 질소를 이용하여 급속 냉동하여 보관하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

(d/kg diet)

Ingredients	C	HF	F1	F2	F2_WL	F2_WM	F2_WH
Casein	210.0	265.0	265.0	265.0	265.0	265.0	265.0
L-Cystine	3.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Corn starch	280.0	0	0	0	0	0	0
Matodextrin	50.0	160.0	110.0	110.0	110.0	110.0	110.0
Sucrose	325.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
Lard	20.0	310.0	310.0	310.0	310.0	310.0	310.0
Soybean oil	20.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
Cellulose	37.25	65.6	65.6	65.6	65.6	65.6	65.6
Mineral mix. AIN-93G-MX	35.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0
Calcium phosphate, dibasic	2.0	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4
Vitamin mix. AIN-93-VX	15.0	21.0	21.0	21.0	21.0	21.0	21.0
Choline bitartrate	2.75	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Nonfermented pollack skin	0	0.0	50.0	0	0	0	0
Fermented pollack skin	0	0.0	0	50.0	49.0	47.0	45.0
Wolfiporia extensa	0	0	0	0	1.0	3.0	5.0
	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Fat % (Calories)	11.7	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0

C: normal diet, HF : high fat diet, F1: HF + nonfermented pollack skin (5%(w/w)), F2: HF + fermented pollack skin (5%(w/w)). F2_WL: HF + fermented pollack skin (5%(w/w)) + 0.1% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WM: HF + fermented pollack skin (5%(w/w)) + 0.3% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WH: HF + fermented pollack skin (5%(w/w)) + 0.5% *Wolfiporia extensa* Ginns.

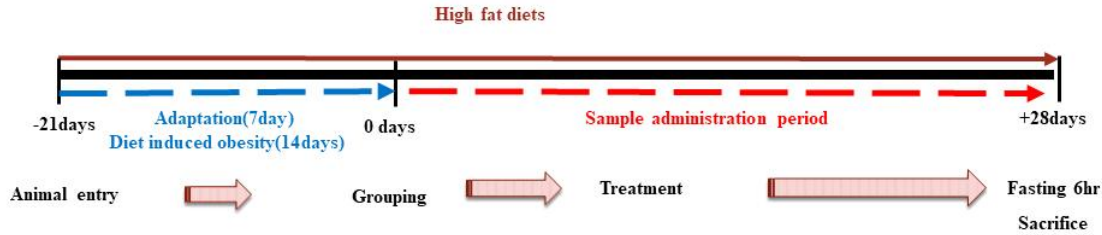


Fig. 1. Experimental design.

4. 혈청 생화학 분석(biochemistry)

실험 종료 시점에 복대동맥으로부터 전혈을 채혈 후 원심 분리하여 획득한 혈장으로 생화학적 자동분석기(7020, Hitachi, Japan)로 검사하였다. 종양괴사인자-알파(TNF- α) (Invitrogn, Cat. No.BMS 607-3, USA)키트로 항원항체 면역 흡착법(ELISA) 반응을 시킨 후 ELISA 리더기(AllSheng AMR-100, China)를 이용하여 TNF- α (pg/mL) 용량을 분석하였다(Yoon H 2015).

5. 조직의 병리학적 표본 제작 후 염색 및 관찰

실험 종료 후 부검 진행을 하면서 얻은 주요장기 등을 중성 완충 포르말린 용액(10%)에 고정한 후 주요 조직들을 cross section해서 hematoxylin과 eosin염색하여 관찰, 측정하였다. 포매과정을 한 조직을 미세조직절단기(microtome, Microm)를 이용하여 연속 관상절편을 5 μ m 두께로 제작하였다. H&E (Hematoxylin-Eosin) 염색과정은 준비한 연속 관상절편 5 μ m 두께 시료를 유리슬라이드에 부착시킨 후 xylene 용액으로 탈파라핀한 다음, 알콜 함수과정으로 염색하였다. 핵을 염색하기 위하여 hematoxylin(Harris hematoxylin, MUTO)에 5분간 염색하고 염색의 정도에 따라 탈염과정을 시행하였다. 세포질 염색은 H&E 염색이 완성된 조직표본슬라이드 시료를 Eosin용액에 2분 동안 염색한 후 연속하여 알콜탈수과정을 거친다. 조직표본 시료의 염색되어진 정도 및 형태학적 관찰은 광학현미경 TS100(Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

6. 통계 분석

실험결과는 평균치와 표준편차 값으로 나타내었고, 각 군간의 비교통계는 Software StatView Program(version 4.51, Abacus Concepts, Berkeley, CA)로 ANOVA 통계방법에 의하여 유의성을 실행하였고 사후검정방법은 Duncan's multiple test로 5% 유의수준에서 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 체중 및 칼로리 섭취량의 변화

연구 결과 모든 실험군에서 시험물질 투여 전후 상태와 부

검 전 과정까지 특이한 이상 증상 증후는 보이지 않았다. 실험기간 동안에 동물의 체중변화를 보여준 결과는 Fig. 2에 보여주었다. 실험동물의 체중과 체중 변화량의 결과는 5주령의 동물을 5주간 정상식이와 고지방식이 유도 후 정상대조군(C)은 평균체중이 27.2 \pm 1.5 g, 고지방식이군(HF)은 평균체중 35.2 \pm 2.8 g의 동물을 선별하였다. 이는 고지방식에 의하여 비만을 유도한 상태에서 통계적으로 유의하게 차이가 있었고 이 시점에서 실험을 개시하였다. 4주간의 시험 종료 후 C 군의 체중은 28.4 \pm 0.8 g으로 1.2 \pm 0.9 g의 체중이 증가였고, HF 군은 체중 증가량이 4.0 \pm 1.2 g으로 정상군에 비하여 통계적으로 유의적인 차이가 있었다(p <0.05)(Fig. 1). 총 실험기간 동안 하루 칼로리섭취량은 C, HF, F1, F2, F2+WL, F2+WM, F2+WH 군간에 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 황태껍질군(F1), 황태껍질발효군(F2), 황태껍질발효군에 복령의 농도를 저(F2-WL), 중(F2-WM), 고(F2-WH) 농도로 첨가한 군에서 감소하는 경향성을 보였다. HF 군은 131.8 \pm 4.3 kcal에 비하여 F2-WH 군의 식이섭취량 101.5 \pm 5.4 kcal로 감소함을 볼 수 있었다(Fig. 2). 이는 고지방식이 섭취로 증가된 식이효율을 복령에 의하여 낮추는 것으로 관찰되었다. Lee & Kang (2018)의 연구에서는 황태껍질 혹은 황태껍질 현미발효물을 혼합한 식이를 제공한 결과 식이섭취량은 영향을 받지않았다. Yun 등(2006)의 연구에 의하면 사료섭취량은 고지방식이 군 및 복령 추출물 첨가군에서 유의한 차이가 없었고, 체중 증가량은 복령에탄을 첨가군에서 체중증가가 감소함을 보였다.

또한 고지방식이군에 비하여 황태껍질군(F1), 황태껍질발효군(F2), 황태껍질발효군에 복령의 농도를 저(F2-WL), 중(F2-WM), 고(F2-WH) 농도로 첨가한 군에서 체중증가량은 통계적으로 유의한 감소 현상을 보였다(p <0.05). F2 군의 체중 증가량은 2.6 \pm 1.2 g, F2-WL 군은 2.1 \pm 1.3 g, F2-WM 군은 2.0 \pm 1.4 g, F2-WH 군은 1.7 \pm 1.4 g으로 복령첨가 농도에 의존하여 통계적으로 유의하게 낮아짐을 보였다(p <0.05)(Fig. 3). 내장지방으로 인하여 오는 비만은 지속적으로 증가하고 있고(Kim & Yang 2006), 항비만 소재를 이용한 연구는 다수 있지만(Roh & Jung 2012; Lee 등 2012; Park 등 2013), 정확한

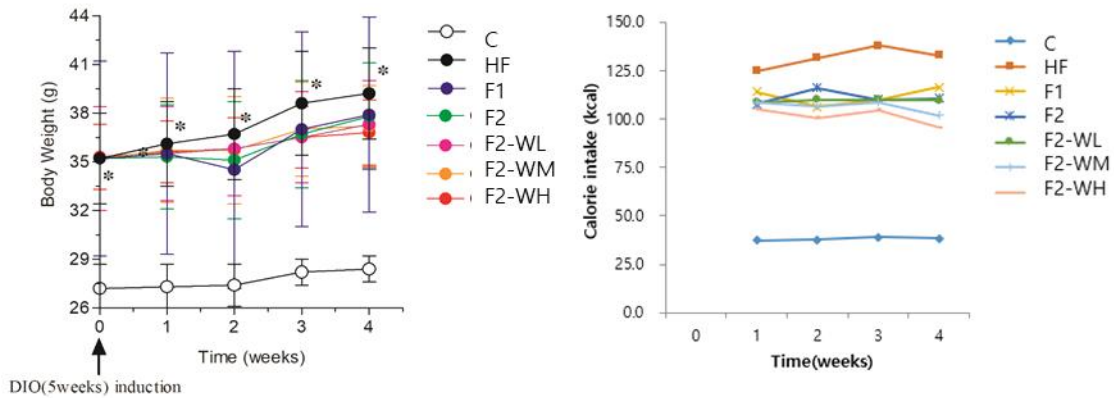


Fig. 2. Change of body weight calorie intake among experimental groups. Each value represents the mean±S.D. *Significantly different from CON vs DIO ($p<0.05$). ¹⁾ C: control, DIO: high-fat diet induced obesity animal, HF: high - fat diet, F1: HF + pollack skin, F2: HF + fermented pollack skin, F2_WL: fermented pollack skin + 0.1% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WM: fermented pollack skin + 0.3% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WH: fermented pollack skin + 0.5% *Wolfiporia extensa* Ginns.

기전연구는 미흡한 실정이다. 황태껍질발효물의 농도별 투여에 의하여 농도 의존적으로 체중증가량이 감소하는 것을 보인 연구(Lee & Kang 2018)와 본 연구 결과는 흡사한 연구 결과를 보였고 본 연구에서는 황태껍질발효물에 복령의 농도별 첨가에 의하여 체중 증가량이 감소함을 보임으로써 복령첨가가 시너지효과를 내면서 항비만 효과를 보였다.

2. 식이효율의 변화

식이효율 변화는 정상대조군(C)은 0.3±0.2, 고지방식이군

(HF)은 1.2±0.2로 통계적으로 유의적으로 높았다($p<0.05$)(Fig. 3). 또한 고지방식이군에 비하여 황태껍질첨가군(F1), 황태껍질발효첨가군(F2), 황태껍질발효첨가군에 복령의 농도를 저(F2-WL), 중(F2-WM), 고(F2-WH) 농도로 첨가한 군에서 감소함을 보였고 특히, 황태껍질발효첨가군에 복령의 농도를 고 농도로 첨가한 군(F2-WH)은 통계적으로 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 이러한 결과는 시료 투여용량에 따라 식이효율이 감소하면서 시료는 에너지대사를 촉진하게 된다(Han & Han 1994). 황태껍질발효물을 농도에 따라 투여한 군에서 식이효

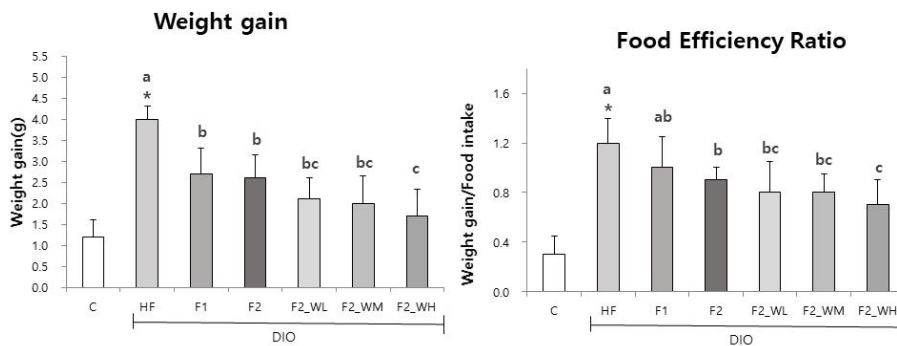


Fig. 3. Weight gain and food efficiency ratio among experimental groups. Each value represents the mean±S.D. *Significantly different from CON vs DIO ($p<0.05$). ^{a-c}Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at $p<0.05$ by Duncan’s multiple range test. C: control, DIO: high-fat diet induced obesity animal, HF: high - fat diet, F1: HF + pollack skin, F2: HF + fermented pollack skin, F2_WL: fermented pollack skin + 0.1% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WM: fermented pollack skin + 0.3% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WH: fermented pollack skin + 0.5% *Wolfiporia extensa* Ginns.

율이 통계적으로 유의한 감소 현상을 보이면서 체중 감량 효과를 보였다는 결과와 유사함을 보였다(Lee & Kang 2018).

3. 장기무게의 변화

실험동물의 장기무게(심장, 간, 심장비대)를 Fig. 4에 보여주고 있다. 대부분 장기들이 정상대조군에 비하여 고지방식이군에서 비대해진 것으로 보였다. 그러나 시료물질인 황태 껍질발효물과 복령 투여군에서 고지방식이군에 비하여 심장과 간 등의 장기에서 차이를 보였다. 특히 심장 무게는 HF 군은 187.9 ± 3.0 mg, 복령을 농도별로 첨가한 군에서 F2 군은 180.6 ± 7.0 mg, F2-WH 군은 175.7 ± 6.0 mg으로 복령첨가에 의하여 통계적으로 유의하게 감소함을 관찰하였다($p < 0.05$). 간의 무게는 HF 군은 $1,594.5 \pm 188.8$ mg, F2 군은 $1,407.8 \pm 113.8$ mg, F2-WH 군은 $1,416.2 \pm 75.7$ mg으로 복령의 고농도 첨가에 의하여 통계적으로 유의하게 감소함을 관찰하였다($p < 0.05$). 타 연구에서 지방 또는 콜레스테롤의 과잉섭취에 의하여 간에서 지질대사 이상현상이 유발하여 지질이 축적되어 간 무게 증가 및 지방 간 현상을 초래하고 간의 지질 함량 및 콜레스테롤 함량이 증가하는 연구가 있었다(Kwag & Baek 2003). 주요 장기 중 간과 심장 조직에서 차이를 보인 결과는 식이

로 인하여 발생하는 비만형 심장비대증과 관련되어진 장기로 유의하게 비대해진 상태에서 황태껍질발효 추출물과 복령 고농도 투여에 의하여 억제효과를 보이면서 복령의 항비만 효과를 알 수 있었다. 심장비대나 간의 경우 황태껍질발효물 농도별로 첨가함에 따라 감소하는 결과(Lee & Kang 2018)는 본 연구와 유사성을 보였다.

4. 지방조직의 무게변화

실험동물 내에 지방 부위별(복막, 장간막, 복막부고환, 피하) 무게는 Fig. 5에 보여주고 있다. 부고환 지방량의 경우는 C 군이 512.4 ± 148.5 mg, HF 군이 $2,064.3 \pm 127.6$ mg, F1 군이 $1,683.9 \pm 223.4$ mg, F2-WH 군은 $1,509.1 \pm 164.3$ mg으로 복령첨가에 의하여 통계적으로 유의하게 낮아진 것으로 관찰되었다($p < 0.05$). 복막 지방 무게는 C 군이 394.6 ± 101.1 mg, HF 군이 891.4 ± 31.8 mg, F2 군이 642.2 ± 66.3 mg, F2-WH 군은 574.1 ± 35.0 mg으로 복령 5% 첨가에 의하여 통계적으로 유의하게 낮게 관찰되었다($p < 0.05$).

비만과 관련된 지방부위에서 황태껍질발효물을 농도별로 투여한 결과(Lee & Kang 2018) 모든 부위에서 유의성 있는 차이를 보임으로써 본 연구와 유사한 결과를 보였다. 최근

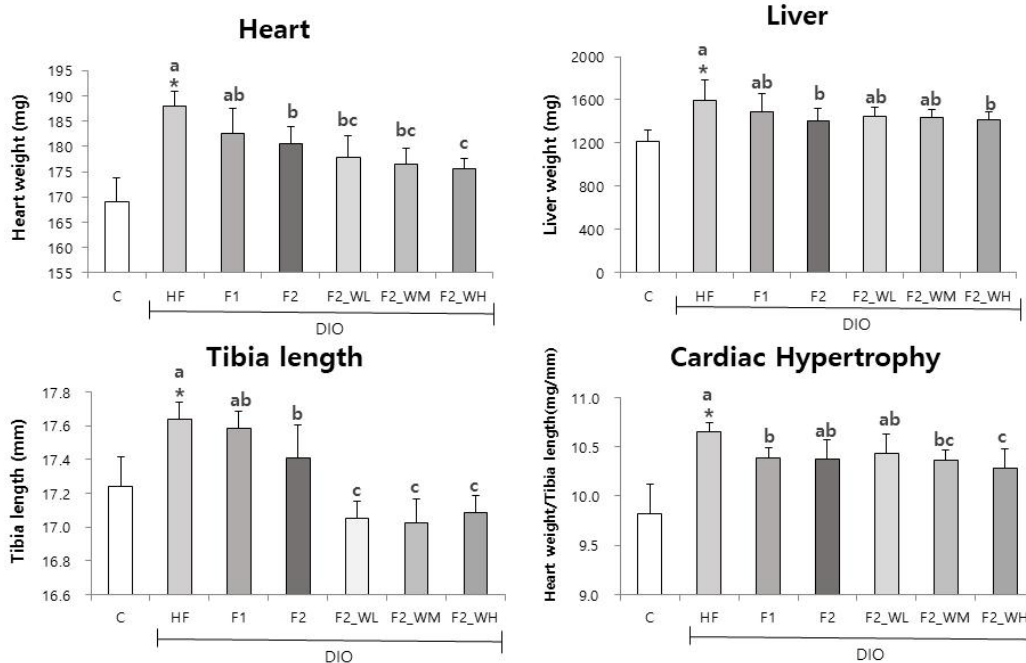


Fig. 4. Organ weight changes among experimental groups. Each value represents the mean \pm S.D. *Significantly different from CON vs DIO ($p < 0.05$). ^{a-c}Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. C: control, DIO: high-fat diet induced obesity animal, HF: high-fat diet, F1: HF + pollack skin, F2: HF + fermented pollack skin, F2_WL: fermented pollack skin + 0.1% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WM: fermented pollack skin + 0.3% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WH: fermented pollack skin + 0.5% *Wolfiporia extensa* Ginns.

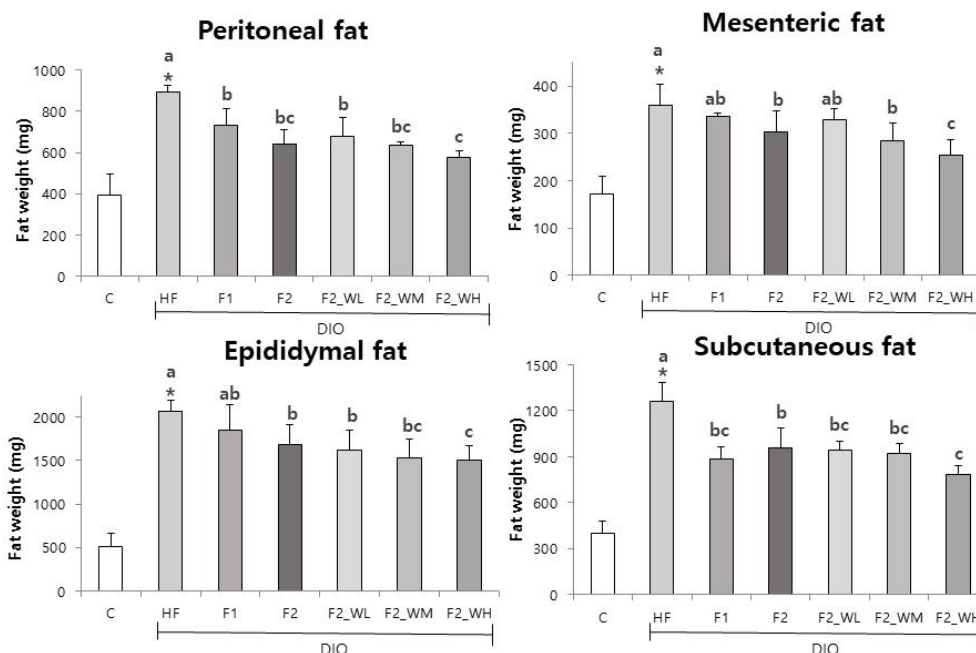


Fig. 5. Fat tissue weight changes among experimental groups. Each value represents the mean±S.D. *Significantly different from CON vs DIO ($p<0.05$). ^{a-c}Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at $p<0.05$ by Duncan’s multiple range test. C: control, DIO: high-fat diet induced obesity animal, HF: high - fat diet, F1: HF + pollack skin, F2: HF + fermented pollack skin, F2_WL: fermented pollack skin + 0.1% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WM: fermented pollack skin + 0.3% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WH: fermented pollack skin + 0.5% *Wolfiporia extensa* Ginns.

연구에 의하면 홍국발효대두 고농도군은 대두군보다 신장지방, 부고환지방, 창자간막지방의 무게가 통계학적으로 유의한 감소현상을 보였고(Kim & Kang 2021), 고수 추출물에 의하여 장간막, 복막, 피하 지방량의 유의한 감소 결과를 보였다(Lee & Kang 2023). 고지방식으로 유도된 비만동물에서 부고환 지방조직 무게는 정상군에 비하여 고지방식이군에서 1.4배 증가함을 보였고 복령 에탄올 추출물을 투여한 군에서도 증가함을 보였다(Yun 등 2006).

5. 혈중 지질의 변화

복령과 황태껍질발효물이 고지방식이 유도 동물의 혈중 지질에 미치는 영향을 본 결과는 Fig. 6에 보여주었다. 총 콜레스테롤 함량은 C 군이 118.5±10.4 mg/dL, HF 군이 282.0±24.3 mg/dL, F1 군이 221.8±13.0 mg/dL, F2 군이 206.8±12.7 mg/dL로 나타나, 총 콜레스테롤 함량이 C 군에 비해 HF 군이 유의적으로 증가하였고($p<0.05$), 황태껍질과 황태껍질발효물 투여에 의하여 고지방식이군보다 유의적으로 감소함을 보였다($p<0.05$). 복령 투여군은 황태껍질발효물 투여군보다 유의한 감소를 보였으나($p<0.05$) 복령 투여량에 따라서는 유의적인 차이는 없었다. 총 지질 함량은 C 군이 35.8±5.7 mg/dL, HF 군

이 58.3±1.8 mg/dL, F1 군이 51.8±2.9 mg/dL, F2 군이 51.2±3.0 mg/dL로 나타나, C 군에 비해 HF 군이 유의적으로 증가하였고($p<0.05$), 황태껍질과 황태껍질발효물 투여에 의하여 고지방식이군에서 증가한 총 지질 함량이 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 복령 투여군은 황태껍질발효물 투여군보다 유의적인 차이는 없었다. LDL 함량은 C 군에 비해 HF 군이 유의적으로 증가하였고($p<0.05$), 황태껍질과 황태껍질발효물 투여에 의하여 고지방식이군보다 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). 복령 투여군은 황태껍질발효물 투여군보다 유의적인 차이는 없었으나 감소하는 경향성은 보였다. HDL 함량은 C 군에 비해 HF 군이 유의적으로 감소하였고, 황태껍질과 황태껍질발효물 투여군은 HF 군에 비하여 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 복령 투여군은 황태껍질발효물 투여군보다 유의적인 차이는 없었으나, 고농도의 복령 투여군(F2-WH)에서는 증가하는 경향성을 보였다. Lee & Kang(2018)의 연구에서 황태껍질발효물을 투여한 군에서 혈중 총콜레스테롤 및 혈중 LDL-콜레스테롤 농도는 고지방식이군에 비하여 유의적인 감소를 보여 항비만효과를 보여준 결과와 유사한 결과를 얻었다. Yun 등 (2006)의 연구에 의하면 혈중 중성지방, 총 콜레스테롤 함량, LDL-콜레스테롤은 고지방식이군에서 증가하였고 복령에탄

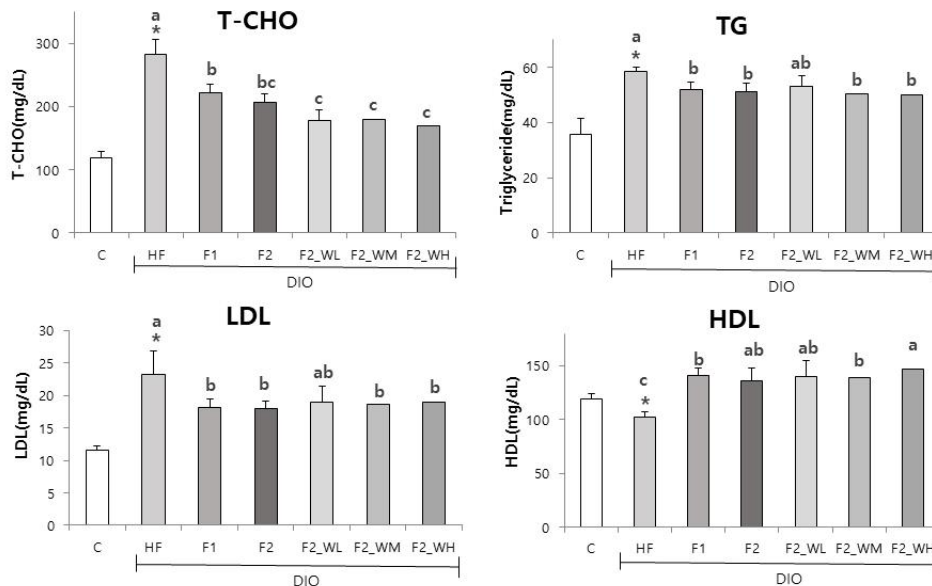


Fig. 6. Blood lipid profiles changes among experimental groups. Each value represents the mean±S.D. *Significantly different from CON vs DIO ($p<0.05$). ^{a-c}Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test. C: control, DIO: high-fat diet induced obesity animal, HF: high - fat diet, F1: HF + pollack skin, F2: HF + fermented pollack skin, F2_WL: fermented pollack skin + 0.1% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WM: fermented pollack skin + 0.3% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WH: fermented pollack skin + 0.5% *Wolfiporia extensa* Ginns.

을 추출물 군에서 유의한 감소 현상을 보였다. 혈중 HDL-콜레스테롤 농도는 고지방식이군에서 감소하고, 복령에탄을 추출물 첨가군에서 증가한 결과는 본 연구결과와 같은 결과를 나타냈다. 혈중의 지질 농도가 적어지면 관상심혈관계 질환을 감소시킨다는 연구(Rosenfeld L 1989)에 의하여 황태껍질발효물에 복령 혼합처리하는 비만에 의한 심혈관계의 질환 발병율의 위험을 낮추어 줄 것으로 사료된다.

6. 혈중 생화학지표 변화

황태껍질발효물과 복령첨가가 임상병리 생화학지표인 혈중 GOT, GPT, 크레아티닌, 혈중 요소 질소함량 등에 미치는 영향 결과는 Fig. 7에 보여주고 있다.

혈중 GOT 함량은 C 군에 비해 HF 군이 유의적으로 증가하였고($p<0.05$), 황태껍질과 황태껍질발효물 투여에 의하여 고지방식이군보다 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). F2-WH 군에서 유의한 감소가 이루어졌으며($p<0.05$) 복령 투여량에 따라서 차이가 있었다. 혈중 GPT 함량도 GOT 함량의 변화와 비슷한 양상으로 C 군에 비해 HF 군이 유의적으로 증가하였고, 황태껍질발효물에 복령 고농도 투여군에서 유의한 감소 현상을 보였다($p<0.05$). 실험결과 혈중 크레아티닌과 혈중요소질소 함량은 모든 군들에서 유의적인 차이를 보이지 않았

다. Ouyang & Seo(2019) 연구에서는 백하수추출물의 고지방식으로 유도된 비만동물모델에서 간기능지표 AST와 ALT 함량을 분석한 결과는 고지방식이군에서 증가하였고 고농도 백하수 추출물 투여군에서 고지방식으로 증가된 ALT와 AST의 수준이 유의하게 감소하였다.

TNF- α 의 결과는 Fig. 8에서 보여주듯이 C 군이 7.42 ± 0.90 pg/mL, HF 군이 13.70 ± 0.18 pg/mL로 고지방식이에 의한 유의한 증가를 보였고, F2 군에서 11.10 ± 0.35 pg/mL로 HF 군보다 유의적인 감소현상을 보였다($p<0.05$). F2-WH 군에서 8.78 ± 0.58 pg/mL로 HF 군보다 유의적으로 감소하였고 또한, F2 군보다 유의한 감소 현상을 보였고($p<0.05$) 복령 투여량에 따라 유의적인 차이가 없었으나 감소하는 경향성을 보였다. Kim & Kang(2021)의 연구에서는 홍국발효대두 농도가 증가함에 따라 TNF- α 의 농도가 저하됨을 보였다. 또한 Lee & Kang(2018) 연구에서는 혈중 싸이토카인 중 종양괴사인자인 TNF- α 는 고지방식이군에서 유의하게 증가하였고 황태껍질 발효물 고농도에서 6.5% 감소함을 보이면서 본 연구 결과와 비슷한 양상으로 황태껍질발효물의 효과를 볼 수 있었다. 이는 황태껍질발효물이 NO, TNF- α , PGE2, IL-6와 같은 염증매개 인자의 생성을 억제하면서 항염증 활성을 유도하는 것으로 보인다.

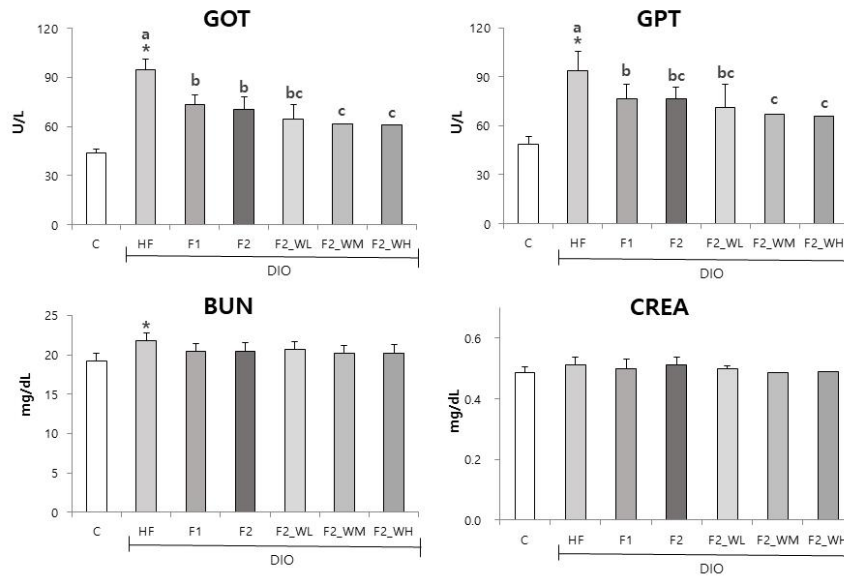


Fig. 7. Blood GOT, GPT, blood urea nitrogen and creatinine changes among experimental groups. Each value represents the mean±S.D. *Significantly different from CON vs DIO ($p<0.05$). ^{a-c}Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at $p<0.05$ by Duncan’s multiple range test. C: control, DIO: high-fat diet induced obesity animal, HF: high - fat diet, F1: HF + pollack skin, F2: HF + fermented pollack skin, F2_WL: fermented pollack skin + 0.1% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WM: fermented pollack skin + 0.3% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WH: fermented pollack skin + 0.5% *Wolfiporia extensa* Ginns.

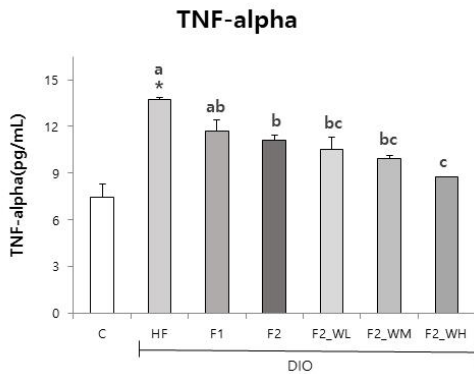


Fig. 8. Blood TNF-alpha changes among experimental groups. Each value represents the mean±S.D. *Significantly different from CON vs DIO ($p<0.05$). ^{a-c}Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at $p<0.05$ by Duncan’s multiple range test. C: control, DIO: high-fat diet induced obesity animal, HF: high - fat diet, F1: HF + pollack skin, F2: HF + fermented pollack skin, F2_WL: fermented pollack skin + 0.1% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WM: fermented pollack skin + 0.3% *Wolfiporia extensa* Ginns, F2_WH: fermented pollack skin + 0.5% *Wolfiporia extensa* Ginns.

7. 동물의 조직학적 병리 검사 및 형태학적 변화

고지방식이 유도 동물의 실험동물의 간, 부고환지방의 형태학적 변화는 C 군보다는 HF 군이 외관상으로도 비만하면서 간에 지방이 많이 침착되어 노랗게 보이며 선명하지 않으며 부고환지방도 길고 지방량도 많은 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 황태껍질발효물과 복령을 함께 투여한 군의 경우는 정상군과 비슷한 모습과 색을 띠면서 지방침착이 억제되는 것으로 보였다. 부검 후 지방조직의 H&E stain과 간조직의 Oil Red O 염색법으로 이미지를 염색하여 세포질 내에 지방 입자 및 색으로 군 간의 차이를 본 결과(Fig. 9) 지방조직의 H&E stain에서는 고지방식에 의하여 지방입자의 크기가 커지면서 지방세포질 내에 지방구조가 크게 비대해졌다. 황태껍질발효물의 첨가에 의하여 입자크기가 작아지면서 구역도 적어지는 것을 볼 수 있었고, 복령을 함께 투여 시 농도 의존적으로 구역이 작아지는 상태를 육안으로도 구분할 수 있었다(Fig. 9A). 간조직을 Oil Red O 염색법으로 지방밀집도를 확인한 결과 (Fig. 9B) 고지방식으로 지방 축적이 되면서 지방의 밀집도가 높아지고 빨강색 염색되었다. 황태껍질발효물 처리에 의하여 지방축적이 감소하면서 색이 흐려짐을 볼 수 있었으며, 황태껍질발효물에 복령을 함께 처리한 경우 복령의 농도에 의존하여 지방밀집도 색이 옅어지는 것이 확

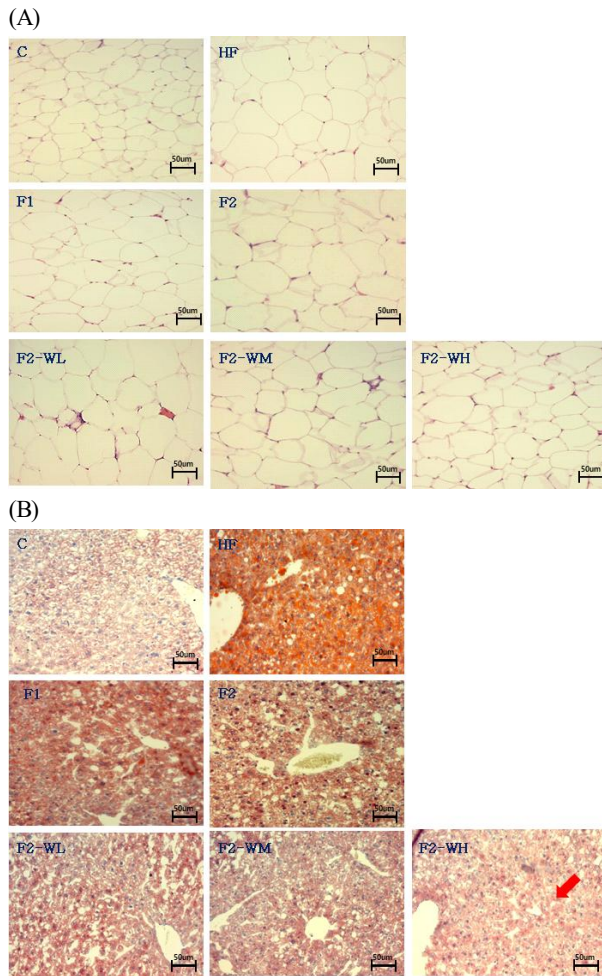


Fig. 9. Histological change of epididymal fat tissue ($\times 200$) by H&E stained (A), hepatic tissue ($\times 200$) by Oil Red O staining. (A) H&E staining of epididymal fat showed that HFD significantly induced adipocyte hypertrophy, and the size of adipocytes in tissue was significantly smaller in F2-WH group than that in HF group. (B) Oil Red O staining results showed remarkable deposition of lipid droplets within the liver in HF mice. As fat accumulates due to a high-fat diet, the density of fat increases and it becomes dyed red. Arrows point to lipid droplets.

인되었다. Lee & Kang(2018) 연구에서는 황태껍질발효물에 의하여 고지방식으로 유도된 지방의 지방입자크기도 작아짐을 볼 수 있었고, 간에 축적되는 지방이 감소하면서 색이 흐려짐을 관찰하면서 장기의 크기 변화와 간 조직의 색깔에서 확연한 차이를 확인하였다. 따라서 황태껍질발효물과 복령첨가군이 지방간 개선에 관여할 것으로 사료된다. 명태로부터 단백질을 분리하여 30%와 100% 농도군으로 투여한 결과 내장지방세포의 무게가 30~22% 감소함을 보였다(Oishi &

Dohmoto 2009). 본 연구에서는 황태껍질 발효과정을 통하여 항비만 효과를 가진 유용성분이 증가하면서 항비만효과가 나타난 것으로 본다.

요약 및 결론

본 연구는 고지방식으로 비만을 유도하는 비만유도모델에서 황태껍질발효물에 복령첨가의 항비만 효능을 체중증가 변화, 식이섭취량 변화, 식이효율 및 혈중 생화학 지표 농도 변화, 조직학적 분석을 통한 확인하고자 하였다. 정상식이군(C)과 고지방식이군(HF)을 두었으며 황태껍질(H1)과 황태껍질발효물(H2)과 복령을 저(0.1%), 중(0.3%), 고(0.5%)농도로 혼합한 F2-WL, F2-WM, F2-WH 군으로 고지방 사료에 섞어 총 7개 군으로 구성하였다. 황태껍질발효물에 복령을 첨가하면 체중증가현상 감소, 식이섭취량 감소, 식이효율의 개선현상을 보였다. 혈중 중성지방 및 총콜레스테롤, LDL 수치를 낮추고, HDL 수치는 높이면서, 주요 장기 중 심장, 간 조직 무게가 감소하였고, 복령의 용량 의존적으로 체중조절 및 혈중 지질개선 효능이 있음을 확인하였다. 또한 간지표로 사용하는 혈중 GOT와 GPT의 농도가 복령첨가에 의하여 유의적인 감소를 보였고, 간의 조직 분석에서 고지방식이에 의한 지방간 현상을 개선해주었다. 조직학적 분석에서 고지방식으로 유도된 지방간의 소견이 황태껍질발효물과 복령첨가에 의하여 향상되었고, 부고환의 지방구 크기 및 밀집도가 감소함을 관찰할 수 있었다. 또한 TNF- α 의 농도는 고지방식이군에서 증가하였으나 황태껍질발효물과 복령첨가에 의하여 감소함을 보였다. 결론적으로 황태껍질발효물과 복령 첨가에 의하여 체중조절효과, 혈중 지질개선효과를 확인하였고, 향후 다양한 부산물을 이용한 기능성 식품 소재활용가치가 높을 것으로 사료된다.

References

- Chang HJ. 2023. The pivotal role of ROS signaling pathway in *Poria cocos* Wolf-induced apoptosis against pancreatic cancer cells. Ph.D. Thesis, Daejeon Univ. Daejeon. Korea
- Cho BJ, Hong JY, Kim M, Song YO. 2014. Development of mouthwash psolid fermented oriental medicinal herb. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1380-1387
- Choi HS, Kim JH, Kim JC. 2007. Effects of different drying methods on fatty acids, free amino acids, and browning of dried Alaska pollack. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36:1182-1187
- Chun JR, Park GS. 1999. Korean green tea by *kajeungkupo*'s:

- I. Analysis of general compositions and chemical compositions. *Korean J Soc Food Sci* 15:95-101
- Han JS, Han YB. 1994. The effect of high fat diet and dietary fiber on lipid metabolism in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 23:541-547
- Hattori T, Hayashi K, Nagao T, Furuta K, Ito M, Suzuki Y. 1992. Studies on antinephritic effects of plant components (3): Effect of pachyman, a main component of *Poria cocos* Wolf on original-type anti-GBM nephritis in rats and its mechanisms. *Jpn J Pharmacol* 59:89-96
- Jin Y, Kim YJ, Jeon JN, Wang C, Min JW, Jung SY, Yang DC. 2012. Changes of ginsenosides and physiochemical properties in ginseng by new 9 repetitive steaming and drying process. *Korean J Plant Res* 25:473-481
- Jo EJ, Kang SJ, Kim AJ. 2009. Effects of steam- and dry-processing temperatures on the benzo(a)pyrene content of black and red ginseng. *Korean J Food Nutr* 22:199-204
- Kang SA. 2002. Altered expression of uncoupling protein 1 by high-fat diet: improving the obesity by fructosepolymer. *Korea Health Industry Development Institute*. Report No. HMP-00-B-22000-0156
- Kim DG, Son DH, Choi UK, Cho YS, Kim SM. 2002. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of *Poria cocos*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31:1097-1101
- Kim DH, Yang BS. 2006. Molecular mechanisms underlying the link of obesity to chronic diseases. *Korean J Obes* 15: 121-128
- Kim DW, Lee YJ, Min JW, Kim YJ, Rho YD, Yang DC. 2009. Conversion of acidic polysaccharide and phenolic compound of changed ginseng by 9 repetitive steaming and drying process, and its effects of antioxidation. *Korean J Orient Physiol Pathol* 23:121-126
- Kim SH, Kang SA. 2021. Anti-obesity effect of soybean fermented with monascus in high-fat diet induced obese mice model. *J East Asian Soc Diet Life* 31:333-343
- Kim SH. 2011. A survey on the use of and significant variables for health functional foods among Korean elderly. *Korean J Food Cult* 26:30-38
- Kim SM. 2011. Quality characteristics of rice cookies added with *Nelumbo nucifera* Gaertn and *Poria cocos* Wolf powder. Master's Thesis, Myungji Univ. Seoul. Korea
- Kim SY, Yun IJ, Kwon CJ, Choi JW, Kim YM, Kang MH, Lee MK, Nam TJ. 2014. The effects of anti-obesity on enzyme-treated *Ecklonia cava* extracts. *Korean J Fish Aquat Sci* 47:363-369
- Kwag JS, Baek SH. 2003. Cytotoxicity and antimicrobial effects of extracts from *Salvia miltiorrhiza*. *Korean J Pharmacogn* 34:293-296
- Kwon MS, Chung SK, Choi JU, Song KS, Kang WW. 1998. Quality and functional characteristics of cultivated hoelen (*Poria cocos* Wolf) under the picking date. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27:1034-1040
- Lee BI, Hong IP, Kim DW, Lee MW. 1990. Effects of *Poria cocos* and *Panax ginseng* extracts on hemogram of Sarcoma-180 mouse. *Korean J Mycol* 18:218-224
- Lee CE, Hur HJ, Hwang JT, Sung MJ, Yang HJ, Kim HJ, Park JH, Kwon DY, Kim MS. 2012. Long-term consumption of platycodi radix ameliorates obesity and insulin resistance via the activation of AMPK pathways. *Evid Based Complement Altern Med* 2012:759143
- Lee D. 2016. The antioxidant & anti-inflammatory effects of ethanol extract from *Poria cocos* Wolf(茯苓). Master's Thesis, Daejeon Univ. Daejeon. Korea
- Lee DI, Ko ST, Moon YH. 1974. Diuretic action of Hoelen in the dog. *J Pharm Soc Korea* 18:39-48
- Lee JY. 1988. Primary Color Korean Mushroom Encyclopedia. p.268. Academy Books
- Lee MS, Kang SA. 2018. Improved effects of fermented Stockfish of Alaska pollack skin (FSAP H-I, II) on adiposity and serum lipids levels in high fat-induced obese mouse. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47:1059-1068
- Lee RW, Kang SA. 2023. Anti-obesity effect of *Coriandrum sativum* L. ethanol extract in high fat-induced obesity animal model. *Korean J Food Nutr* 36:296-308
- Lee SI. 1986. Herbology. p.281. Haklim
- Lee SI. 1998. Herbal Medicine Clinical Application. Institute of Traditional Medicine
- Mori TA, Bao DQ, Burke V, Puddey IB, Watts GF, Beilin LJ. 1999. Dietary fish as a major component of a weight-loss diet: Effect on serum lipids, glucose, and insulin metabolism in overweight hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr* 70: 817-825
- Nam KY, Choi JE, Hong SC, Pyo MK, Park JD. 2014. Recent progress in research on anticancer activities of ginsenoside-Rg3. *Korean J Pharmacogn* 45:1-10
- Nam KY, Choi JE, Park JD. 2013. Transformation techniques for the large scale production of ginsenoside Rg3. *Korean J Med Crop Sci* 21:401-414

- Oh DC, Kang SA. 2021. Anti-obesity and lipid lowering effect of *Discorea japonica* Thunb. fermented with *Monascus* in high-fat diet induced obese C57BL/6J mice model. *Korean J Food Nutr* 34:526-536
- Oh HK. 2019. Biological activities of *Poria cocos* Wolf and *Corni fructus* extracts based on their extraction solvent. *J Korean Appl Sci Technol* 36:1303-1311
- Oishi Y, Dohmoto N. 2009. Alaska pollack protein prevents the accumulation of visceral fat in rats fed a high fat diet. *J Nutr Sci Vitaminol* 55:156-161
- Ouyang FL, Seo BI. 2019. Anti-obesity effect of *Cynanchi wilfordii* Radix on high fat diet-induced obese mice. *Korean J Herbol* 34:49-58
- Park J, Lee J, Jun W. 2013. Radical scavenging and anti-obesity effects of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1908-1914
- Park JH, Guo L, Kang HM, Son BG, Kang JS, Lee YJ, Park YH, Je BI, Choi YW. 2021. Leaves of *Cudrania tricuspidata* on the shoot positional sequence show different inhibition of adipogenesis activity in 3T3-L1 cells. *J Life Sci* 31:209-218
- Park SG. 2020. Regulation of skin water channel and antioxidant effect by ethanol extract of *Poria cocos*. Ph.D. Thesis, Wonkwang Univ. Iksan. Korea
- Park SJ. 2016. Anti-HIV-1 activity of gelatin hydrolysate derived from Alaska pollack *Theragra chalcogramma* skin. *Korean J Fish Aquat Sci* 49:594-599
- Park YM, Oh HG, Kang YG, Kim YP, Sin HS, Jang SH, Kim HJ, Lee SW, Lee HY. 2015. Anti-obesity effects of lactic acid bacteria-fermented *Dioscoreae rhizoma* powder on high fat diet-fed animal model. *J Physiol Pathol Korean Med* 29:267-272
- Roh C, Jung U. 2012. Screening of crude plant extracts with anti-obesity activity. *Int J Mol Sci* 13:1710-1719
- Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein Analysis. Early methods in the diagnosis of atherosclerosis. *Arch Pathol Lab Med* 113: 1101-1110
- Sekiya N, Goto H, Shimada Y, Endo Y, Sakakibara I, Terasawa K. 2003. Inhibitory effects of triterpenes isolated from Hoelen on free radical-induced lysis of red blood cells. *Phytother Res* 17:160-162
- Um Y, Lee J, Ma J. 2010. Quantitative analysis of marker substances in solid fermented *Angelicae gigantis* radix by HPLC. *Korean J Orient Med* 16:173-178
- Warden CH, Fisler JS. 2008. Comparisons of diets used in animal models of high-fat feeding. *Cell Metab* 7:277
- World Health Organization [WHO]. 2017. The statistics of obesity. Available from https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1 [cited 20 May 2023]
- Yang SJ, Hong JH. 2014. Physicochemical properties and biological activities of collagens with different molecular weights from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1535-1542
- Yoon H. 2015. The effect of soybean fermentation extracts on inflammatory reaction and tumor necrosis factor-alpha in a mouse model of lipopolysaccharide-induced cystitis. Master's Thesis, Hanyang Univ. Seoul. Korea
- Yun HJ, Cha HM, Kim SW, Shin WC, Kim HG, Choe SY. 2006. Effects of the extract of Hoelen on serum lipid profiles in mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35:1005-1009
- Zhang Q, Kang X, Zhao W. 2006. Antiangiogenic effect of low-dose cyclophosphamide combined with ginsenoside Rg3 on Lewis lung carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 342:824-828

Received 12 September, 2023

Revised 10 October, 2023

Accepted 16 October, 2023

Rhizopus oligosporus 발효에 따른 국산 콩의 아미노산, 피틴산 및 트립신 저해제 함량

†박혜영 · 송하나* · 김현주 · 서민정** · 최혜선 · 박지영 · 심은영 · 김홍식***

농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 농업연구사, *농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 전문연구원,
농촌진흥청 혁신행정법무담당관실, 농업연구사, *농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 농업연구관

Amino Acid, Phytic Acid, and Trypsin Inhibitor Contents of Korean Soybeans Before and After Fermentation by *Rhizopus oligosporus*

†Hye-Young Park, Hana Song*, Hyun-Joo Kim, Min-Jung Seo**, Hye Sun Choi,
Jiyoung Park, Eun-Yeong Sim and Hong-Sik Kim***

Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16613, Korea

*Post-Doctor, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16613, Korea

**Researcher, Dept. of Management Innovation and Legal Affairs Division, RDA, Jeonju 54875, Korea

***Senior Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16613, Korea

Abstract

This study investigated the nutritional characteristics of before and after fermentation of domestic soybean (*Glycine max* L.) by *Rhizopus oligosporus*. The soybean storage proteins, β -conglycinin (11S globulin) and glycinin (7S globulin), were the most abundant in Seonyu (SY) and Danbaegkong (DBK), with concentrations of 253.4 mg/g and 193.0 mg/g, respectively. For 11S/7S related to sulfur-containing amino acid, DBK had a value of 0.95, making it the most excellent nutritionally among all the cultivars. The free amino acid content significantly increased from 0.04~10.45 mg/g before fermentation to 1.37~16.95 mg/g after fermentation, and the essential amino acid composition increased, confirming an improvement in protein quality after fermentation. Phytic acid, known as a nutritional inhibitor of soybeans, decreased from 1.66~2.13 g/100 g before fermentation to 0.90~1.58 g/100 g after fermentation, suggesting that mineral absorption inhibition was alleviated. In addition, the trypsin inhibitor content is suppressed by 76.20% to 81.25% after fermentation, which is expected to improve protein utilization in the body. This study confirmed some properties of fermented products by *Rhizopus oligosporus* using domestic soybeans, and these results are presented to serve as the basic data for establishing new uses of Korean soybean cultivars.

Key words: soybean, *Rhizopus oligosporus*, amino acid, phytic acid, trypsin inhibitor

서론

콩(*Glycine max* L.)은 식물성 원료이면서 우수한 영양성분이 많이 함유되어 있어, ‘밭에서 나는 소고기’로 불렸으며, 한국인의 식단에 포함되어 오랜 세월을 함께하였다. 실제 콩에 들어있는 영양성분은 소고기 등심만큼 높으며, 식이섬유, 티

아민, 리보플라빈, 니아신, 폴린산, 비타민K, 철, 아연, 인, 칼슘 그리고 마그네슘 등이 포함되어 있어, 콩은 우리에게 최고의 식품 원료로 한국인의 식생활에 큰 비중을 차지하고 있다(RDA 2021). 지금까지 콩의 자급률을 높이기 위하여 다양한 정책들이 추진되어, 2016년 이후 연 12%의 꾸준한 증가로 2022년 국내 콩 생산량은 12만 9,925톤을 나타냈고, 재배면

† Corresponding author: Hye-Young Park, Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16613, Korea. Tel: +82-31-695-0626, Fax: +82-31-695-0609, E-mail: phy0316@korea.kr

적은 전년 대비 17% 증가한 63,956헥타르를 기록하였다(Ha BK 2023). 그러나 여전히 낮은 콩 자급률과 수입 콩의 비중이 높아 국내 생산 기반 확충과 수입 콩과의 차별화된 고부가가치 콩 소재 개발이 필요한 때이다.

콩을 이용한 발효식품은 오랜 역사를 지니며 각국의 전통 식품으로 이어져 왔고, 많은 연구를 통해 그 우수성이 알려졌다. 이러한 식품 중 템페(Tempeh)는 인도네시아의 가장 대표적인 발효식품으로 단백질, 칼로리, 비타민의 주요 공급원이었다. 템페란 대두에 *Rhizopus* 곰팡이균을 접종하여 발효시켰을 때, 순하고 향긋한 향을 내며 잘 제조된 템페는 하얀 곰팡이 균사로 완전히 덮여 있을 뿐 아니라, 그 내부까지 깊이 침투되어 촉촉한 덩어리 형태를 하고 있다(Jung DH 2006). 이렇게 완성된 템페는 튀기거나 굽거나 끓이는 2차 가공으로 폭넓은 활용 범위를 가지며, 이미 알려진 많은 영양 및 기능적 우수성을 통해 국산 콩의 고부가가치 증대를 실현할 수 있는 발효 소재가 아닌가 생각한다.

지금까지 다양한 템페 연구가 수행되었는데 그중 발효에 의한 템페 고형조직 관련 연구로 Varzakas T(1998)는 endoglucanase와 endoxylanase 확산을 곰팡이 균사의 움직임과 연관한 모델을 제시하였고, Sugai-Guérios 등(2016)은 템페 집락화와 관련하여 *Rhizopus oligosporus*의 2가지 균사 역할과 효과를 설명하였다. 템페 기능성 연구는 발효에 의한 phytic acid 감소와 그 효과(Sudarmadji & Markakis 1977; Park & Yoon 1983), L-dihydroxy phenylalanine과 페놀성 항산화능 증가(Randhir 등 2004), 특정 품종과 부위에서의 isoflavone 변화(Nakajima 등 2005), 뇌의 신경염증 저감에 따른 기억력 개선(Ahmad 등 2014) 등이 보고되었고, 그 외 여러 기능성과 다양한 이용 측면에 대한 정보도 제시되었다(Kim JT 1986; Lee JK 1988; Romulo & Surya 2021). 또한 대두 외 작물 활용 연구에서 Kim 등(1990)은 대두와 수수를 혼합한 템페에서 trypsin inhibitor와 phytic acid 감소를 확인하였고, Cuevas-Rodríguez 등(2006)은 고상 발효를 통해 quality protein maize의 단백질 품질 향상을 보고하였으며, Vaidehi 등(1985)은 기존 템페보다 sunflower 혼합 템페의 기호도가 더 우수하다는 결과를 제시하였다. 그러나 국산 콩 적용 연구는 많이 이루어지고 있지 않아 본 연구에서는 국산 콩 주요 품종인 단백콩, 대풍, 대원콩, 새단백, 선유, 청자4호를 중심으로 각 품종에 따른 차이와 *Rhizopus oligosporus* 발효 전·후의 변화를 살펴 향후 국산 콩 대상의 단백질 소재 개발을 위한 기초자료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시험재료

본 연구의 시험재료는 국내 육성된 콩 품종인 단백콩

(*Glycine max* cv. Danbaegkong, DBK), 대풍(cv. Daepung, DP), 대원콩(cv. Daewonkong, DWK), 새단백(cv. Saedanbaek, SDB), 선유(cv. Seonyu, SY), 청자4호(cv. Cheongja4ho, CJ4)를 대상으로 하였다. 시험품종은 Song 등(2021)의 연구에서 콩의 100립중이 큰 것, 조단백질 함량이 높은 것, 콩 발효물의 높은 정도로 견고한 조직의 고품 발효물이 만들어지는 것을 선발하였고, 6개의 품종은 경기도 수원에 있는 국립식량과학원 증부작물부 시험포장에서 2020년 직접 생산한 것을 실험에 사용하였다.

2. 시료 제조

원료 시료는 콩을 1분간 분쇄기(FM-700SS, Hanil Inc., Wonju, Korea)로 분쇄하여 100 mesh의 체로 내린 후 -70°C 에 보관하면서 사용하였다. *R. oligosporus* 발효물 시료는 Egunlety & Aworh(2003)와 Azeke 등(2007)의 템페 제조법을 참조하여 제조하였다. 콩 50 g에 충분한 양의 물을 넣고 인덕션레인지(HC-IH4000, 1800W, Happycall Ltd., Seoul, Korea)로 30분 가열 후 탈피한 다음, 전기보일러(DA-2, Kyung Chang, Seoul, Korea)에서 발생하는 100°C 의 스팀으로 2시간 동안 증가하였다. 상온으로 식힌 콩에 상업용 종균(*R. oligosporus*, Wira brand ragi tempeh, Jans Enterprises Corp., El Monte, CA, USA)을 원료 무게의 1.5%로 접종한 다음, 폴리에틸렌 포장지에 옮겨 밀봉하였다. 호기적 발효를 위하여 밀봉한 시료 포장재의 면적이 넓은 면 앞·뒤로 멸균주사기 바늘을 이용하여 일정 간격의 기공을 만들었으며, 28°C 에서 68시간 동안 발효 후 콩 발효물을 얻었다. 제조한 콩 발효물은 동결 건조 후 원료와 같은 방법으로 처리하여 보관하였다.

3. 저장단백질 분석

원료의 저장단백질 분석은 Kim 등(2022)의 방법을 참고하였고, 시험을 위한 모든 시약은 β -conglycinin 및 glycinin ELISA Kit(Wuhan Unibiotest Co., Ltd, Hubei, China)에서 제공되는 것을 사용 조건에 맞게 희석하여 사용하였다. 즉, 시료 0.3 g에 1× sample extractant 30 mL를 넣고 25°C 에서 16시간 교반 후 4°C , 4,000 rpm에서 5분간 원심분리(Centrifuge, CR22GIII, Hitachi, Co., Ltd., Osaka, Japan)한 다음 시료 상등액을 1× sample diluent로 70배 희석하였다. 이어서 96-well plate에 시료 및 표준물질 β -conglycinin(혹은 glycinin, 개별 진행) 50 μL 를 넣고 antibody solution 50 μL 를 가하여 37°C 에서 30분간 반응시켰다. 이어서 well plate에 있는 모든 용액을 제거한 다음, 1× wash solution 300 μL 를 가하여 15초 후 다시 용액을 제거하는 과정을 3회 반복한 뒤 건조하였다. 그다음 각 well에 HRP conjugate enzyme 100 μL 를 분주하여 37°C 에서 30분 반응 후 chromogen solution A과 chromogen solution

B 1:1 혼합용액을 100 μ L 분주하여 37°C에서 15분 반응하였다. 반응 종료는 stop solution 50 μ L를 가하여 노란색이 나타나면 450 nm, 630 nm에서 흡광도(EPOCH2, Bio Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 측정하였고, 얻어진 값을 Wuhan Unibiotest사에서 제공하는 calculation sheet를 이용하여 β -conglycinin과 glycinin 함량을 산출하였다.

4. 유리아미노산 분석

원료 및 *R. oligosporus* 발효물 시료의 유리아미노산 분석은 Henderson 등(2000)의 방법을 참조하였다. 분쇄한 시료에 0.1 M perchloric acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo, USA)를 일정량 가하여 1시간 동안 초음파 추출한 다음, 4°C, 15,000 rpm에서 30분간 원심분리하였고, 상등액을 0.2 μ m 실린지 필터로 여과하였다. 분석 장비는 Dionex Ultimate 3000(Thermo Scientific, MA, USA)을 사용하였고 FL Detector는 여기 파장이 340 nm, 방출 파장이 450 nm이었다. 분석 컬럼은 INNO C18(4.6mm \times 150mm, 5 μ m, Youngjin biochrom Co., Ltd. Seongnam, Korea)을 사용하였고 이동상 A는 40 mM sodium phosphate (pH 7, Sigma-Aldrich), 이동상 B는 3차 증류수 : Acetonitrile(Thermo Fisher Scientific, MA, USA) : Methanol (Thermo Fisher Scientific) = 10 : 45 : 45 (% , v/v)로 gradient를 주었으며, 용매 혼합 조건은 Table 1과 같다. 시료 주입량은 0.5 μ L, 컬럼 온도는 40°C의 조건으로 분석하였고 amino acid standard kit(Agilent Co., Santa Clara, CA, USA)는 2종(Part No. 5061-3330, 5062-2478)을 사용하였다.

5. Phytic acid와 trypsin inhibitor 분석

원료 및 *R. oligosporus* 발효물 시료의 phytic acid는 Han 등(2022)의 방법을 참조하여, assay kit(K-PHYT, Megazyme International Ltd., Wicklow, Ireland)로 분석하였다. 시료 1 g에 0.66 M hydrochloric acid 20 mL를 가하여 상온에서 3시간 교반 후, 1 mL를 취해 4°C, 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상등액 0.5 mL에 0.75 M NaOH 0.5 mL를 가하여 중화된 추출물 0.05 mL에 증류수 0.6 mL와 buffer 1(200 mM sodium acetate, pH 5.5) 0.2 mL 및 phytase 0.02 mL를 가하여 40°C 항온수조에서 10분 동안 교반하였다. 그다음 반응액에 buffer 2(pH 10.4) 0.2 mL와 alkaline phosphatase 0.02 mL를 가하여 40°C 항온수조에서 10분 동안 교반하였으며, 50% trichloroacetic acid 0.3 mL를 가하여 반응을 중지시켰다. 반응액을 4°C, 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액 1 mL에 color reagent 0.5 mL를 가하여 40°C 항온수조에서 1시간 동안 교반하여 1 mL를 취했으며 655 nm에서 UV spectrophotometer로 흡광도를 측정하였고, 표준물질 phosphorus solution을 사용하여 phytic acid 함량을 산출하였다.

Table 1. HPLC gradient conditions for the measurement of free amino acids

Time (min.)	Flow rate (mL/min.)	Mobile phase (%)	
		A	B
0	1.5	95	5
3.0	1.5	95	5
24.0	1.5	45	55
25.0	1.5	20	80
31.0	1.5	20	80
34.5	1.5	95	5
35.0	1.5	95	5

원료 및 *R. oligosporus* 발효 시료의 trypsin inhibitor 분석은 Hamerstrand 등(1981)과 Liu K(2019) 방법을 참조하였다. 10 mM NaOH로 추출한 시료 2 mL에 trypsin 용액(20 μ L/mL, Sigma-Aldrich) 2 mL를 첨가하여 37°C 항온수조에서 10분간 반응시킨 후 기질인 benzoly-DL-arginine-p-nitroanilide 용액(0.4 mg/mL, Sigma-Aldrich) 5 mL를 추가하여 다시 37°C 항온수조에서 10분간 반응시켰다. 30% acetic acid 1 mL로 최종 반응을 종결시킨 후 8,000 g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액의 흡광도를 410 nm에서 측정하여 TI(trypsin inhibitor, mg/g of sample)를 도출하였다.

6. 통계분석

통계분석은 SPSS 프로그램(Statistical Package for Social Science, version 12, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 저장단백질 외 모두 3회 반복 측정하였고, 1회 이상 측정된 분석값은 평균과 표준편차를 산출하여 나타냈다. 품종 간 유의성 검정은 일원 분산분석(one-way ANOVA)과 다중범위 검정법(Duncan's multiple range test)을 독립적으로 수행하여 결과를 도출하였다. 원료 및 콩 발효물의 유의성 검정은 독립표본 *t*-test로 분석하여 얻어진 *t* 값과 *p* 값 수준을 "*"로 제시하였다.

결과 및 고찰

1. 국산 콩 품종별 저장단백질 함량

콩은 단백질 함량이 약 40%(건조중량 기준) 내외이며, 이중 저장단백질인 glycinin(11S globulin)과 β -conglycinin(7S globulin)이 65~85%를 차지하고 있다(Yang 등 2000). 콩의 아미노산 조성에서 황 아미노산이 적다고 알려져 있으나, 그중 11S는 7S에 비하여 황 아미노산을 많이 포함하고 있어 11S/7S 비율은 콩의 주요한 영양 정보가 되며 품종육성에도 매우 중요하다(Van Etten 등 1967; Ogawa 등 1989). 이러한

저장단백질 함량과 조성은 품종에 따른 차이를 나타내어 다양한 기능적 특성을 가진 펩타이드를 형성하며, 미량 단백질과 당단백질에는 trypsin inhibitor, lipoxygenase, lectin 및 α -amylase가 포함된다(Liu K 1997).

본 연구에서는 국산 콩 6품종을 대상으로 주요 저장단백질인 β -conglycinin과 glycinin을 분석하였으며 그 결과는 Fig. 1과 같다. β -conglycinin은 선유와 새단백이 253.4 mg/g과 250.1 mg/g, glycinin은 새단백과 단백콩이 193.0 mg/g과 180.3 mg/g으로 다른 품종과 비교하여 높은 수준을 나타냈다(Fig. 1A) 관련하여 Kim 등(2022)의 연구와 동일한 시료 품종임에도 β -conglycinin과 glycinin 다소 높은 함량 차이를 나타냈는데, 이것은 분석시료의 단백질 추출 여부에 기인할 것으로 사료된다. 또한, β -conglycinin과 glycinin 함량으로부터 원료의 영양 정보이면서 품종의 고유한 특성인 11S/7S 비율을 살펴보았을 때, 단백콩이 0.95로 다른 품종과 비교하여 다소 높게 나타났다(Fig. 1B). 11S/7S 비율은 함황 아미노산인 메티오닌과 시스테인이 7S와 비교하여 11S에서 더 높은 수준을 보이는 것으로 영양수준을 평가하는 기준이 되기도 하며, 물성 및 유화적 특성과 양의 상관을 나타냄에 따라 두부나 젤의 견고성과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Kim 등 1994; Mujoo 등 2003; Liu 등 2023). 이에 따라 Song 등(2021)의 연구에서 메티오닌과 시스테인 함량이 가장 높았던 단백콩이 11S/7S 비율이 높을 것으로 예측하였고, 본 연구결과로 확인할 수 있었다. 이것은 단백콩의 높은 단백질 함량에서 유래하며, 콩 가공물의 영양적 가치와 물성에도 관련될 것으로 생각된다.

2. *R. oligosporus* 발효에 의한 국산 콩의 유리아미노산 함량 변화

R. oligosporus 발효에 의한 국산 콩의 유리아미노산 함량

변화를 살펴보고자 원료 및 발효물을 대상으로 아미노산을 분석하였으며, 검출된 19종의 아미노산 함량을 Table 2에 나타냈다. 원료의 유리아미노산 함량은 품종 및 아미노산 종류에 따라 0.04~10.45 mg/g이었고, 그중 arginine이 매우 높은 함량을 나타냈다. 원료의 총 아미노산 함량은 3.96~17.29 mg/g 범위에서 단백콩 > 새단백 > 청자4호 > 대원콩 > 선유 > 대풍의 품종 차이를 나타냈고, 필수 및 비필수 아미노산의 조성율은 11.68~31.78%와 68.22~88.32%로 비필수 아미노산이 필수아미노산 조성보다 현격히 높았다. Song 등(2013)은 콩 8품종을 대상으로 한 연구에서 각 유리아미노산의 큰 차이를 확인하였고, 유전자형 외 성장 단계, 재배 조건의 영향을 받을 수 있다고 하였다. 또한, 필수아미노산의 조성은 대부분 유사했으나, 농도에서는 품종에 따른 차이를 나타냈다. 한편 *R. oligosporus* 발효물은 원료와 비교하여 대부분의 아미노산 함량이 증가하여 1.37~16.95 mg/g 범위를 나타냈고, glutamic acid, alanine, glutamine, arginine, leucine 등의 변화가 컸다. 이에 따라 콩 발효물의 총 아미노산 함량도 크게 증가하여 99.97~129.77 mg/g을 나타냈고, 단백콩 > 새단백 > 청자4호 > 선유 > 대풍 > 대원콩으로 원료 총 아미노산 함량의 품종 순위와 차이를 보였다. *R. oligosporus* 발효에 의한 필수 아미노산 조성율 변화는 단백콩이 11.68%에서 40.73%, 대풍이 22.98%에서 37.44%, 대원콩이 18.89%에서 36.09%, 새단백은 21.61%에서 39.35%, 선유가 31.78%에서 36.59%, 청자4호가 20.29%에서 36.4%로 변화하여 모든 품종에서 발효 후 단백질 품질이 향상되었음을 확인하였다(Fig. 2). 이와 관련하여 Aoki 등(2023)의 연구에서 moringa로 제조한 템페의 유리 아미노산은 발효 전과 비교하여 월등히 높은 함량을 나타냈고, 특히 Glu, Ala, Arg이 크게 증가하여 본 연구와 같은 결과를 나타냈다. 또한, Vong 등(2018)은 콩 가공 부산물(okara)의 *R. oligosporus* 발효 후 phytic acid와 불용성 식이섬유의 감소,

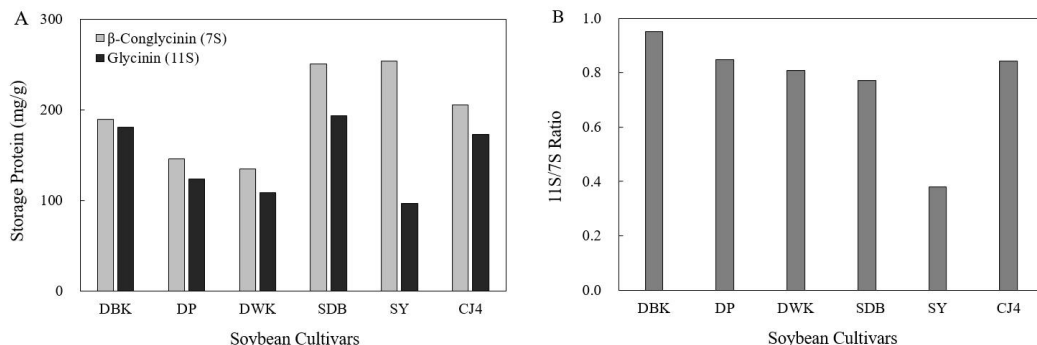


Fig. 1. Storage protein content and 11S/7S ratio of soybean on Korean cultivars. A: β -conglycinin (7S) and glycinin (11S) content. Each value represents single data. B: Data calculated from A. DBK: Danbaegkong, DP: Daepung, DWK: Daewonkong, SDB: Saedanbaek, SY: Seonyu, CJ4: Cheongja4ho.

Table 2. Amino acid contents (mg/g) of raw and fermented soybean on Korean cultivars

Amino acid	Sample condition	Soybean cultivars						F-value
		Danbaegkong	Daepung	Daewonkong	Saedanbaek	Seonyu	Cheongja4ho	
Ala ¹⁾	Raw	0.29±0.02 ^{b2)3)}	0.16±0.01 ^d	0.19±0.01 ^c	0.37±0.01 ^a	0.36±0.00 ^a	0.37±0.01 ^a	277.9765 ^{***5)}
	Fermented	11.88±1.17 ^{ABC}	10.63±2.02 ^{BC}	14.27±1.26 ^A	9.98±1.19 ^C	12.96±2.08 ^{AB}	13.61±0.61 ^A	3.9153 [*]
	t-value	-17.1427 ^{***4)5)}	-8.9751 ^{***}	-19.3228 ^{***}	-13.9794 ^{***}	-10.4720 ^{***}	-37.3418 ^{***}	
Arg	Raw	10.45±0.30 ^a	0.95±0.01 ^f	2.10±0.04 ^d	4.10±0.04 ^b	1.28±0.02 ^e	3.40±0.04 ^c	2,304.9402 ^{***}
	Fermented	9.22±0.71	9.84±0.56	8.39±0.14	9.98±1.01	9.51±1.35	9.89±0.23	1.7444
	t-value	2.7525	-27.6599 ^{***}	-77.8186 ^{***}	-10.1021 ^{**}	-10.5287 ^{**}	-47.9855 ^{***}	
Asn	Raw	1.91±0.05 ^a	0.21±0.01 ^f	0.42±0.01 ^d	1.58±0.02 ^b	0.35±0.01 ^e	0.49±0.01 ^c	3,630.9051 ^{***}
	Fermented	2.74±0.50 ^B	4.55±0.24 ^A	3.67±0.04 ^A	3.79±0.05 ^A	4.63±1.11 ^A	4.60±0.06 ^A	6.5642 ^{**}
	t-value	-2.8854	-31.2881 ^{***}	-143.9033 ^{***}	-73.1057 ^{***}	-6.7048 [*]	-128.7577 ^{***}	
Asp	Raw	1.42±0.03 ^a	0.89±0.02 ^b	0.90±0.02 ^b	0.63±0.01 ^d	0.48±0.01 ^e	0.86±0.01 ^c	1,056.5774 ^{***}
	Fermented	5.43±0.45 ^A	2.38±0.11 ^{CD}	1.37±0.08 ^D	3.94±0.03 ^B	2.60±1.41 ^C	1.78±0.05 ^{CD}	18.6323 ^{***}
	t-value	-15.5295 ^{***}	-34.1006 ^{***}	-9.7532 ^{***}	-163.0838 ^{***}	-2.6102	-30.3687 ^{***}	
Glu	Raw	0.46±0.08 ^a	0.38±0.09 ^{ab}	0.26±0.03 ^c	0.39±0.06 ^{ab}	0.30±0.02 ^{bc}	0.31±0.03 ^{bc}	5.2331 ^{**}
	Fermented	16.95±0.80 ^A	10.81±3.32 ^C	11.75±2.11 ^C	15.56±2.48 ^{AB}	10.87±0.97 ^C	12.52±0.43 ^{BC}	5.1291 ^{**}
	t-value	-35.3124 ^{***}	-5.4473 ^{**}	-9.4454 ^{***}	-10.6138 ^{***}	-18.8536 ^{**}	-49.1245 ^{***}	
Gln	Raw	0.08±0.01 ^{ab}	0.05±0.00 ^d	0.05±0.01 ^d	0.09±0.01 ^a	0.07±0.01 ^c	0.08±0.01 ^{bc}	23.2250 ^{***}
	Fermented	8.30±0.06 ^B	9.98±0.07 ^{AB}	8.08±0.09 ^B	9.66±1.25 ^{AB}	11.27±2.64 ^A	11.73±0.27 ^A	4.6682 [*]
	t-value	-256.8898 ^{***}	-242.3462 ^{***}	-162.4822 ^{***}	-13.2350 ^{***}	-7.3622 [*]	-75.1524 ^{***}	
Gly	Raw	0.06±0.01 ^b	0.04±0.01 ^c	0.04±0.01 ^c	0.07±0.00 ^b	0.06±0.00 ^b	0.07±0.01 ^a	28.2000 ^{***}
	Fermented	3.67±0.36 ^A	2.58±0.24 ^{AB}	2.22±0.06 ^B	2.93±0.23 ^B	2.67±0.40 ^{AB}	2.79±0.08 ^B	10.1285 ^{***}
	t-value	-17.1473 ^{***}	-18.6120 ^{**}	-62.3565 ^{***}	-22.0000 ^{***}	-11.1898 ^{**}	-59.1263 ^{***}	
His	Raw	0.70±0.02 ^a	0.04±0.00 ^f	0.09±0.01 ^e	0.51±0.01 ^b	0.17±0.00 ^d	0.39±0.01 ^c	3,627.8400 ^{***}
	Fermented	4.49±0.28 ^A	3.23±0.24 ^C	2.99±0.21 ^C	3.76±0.36 ^B	3.34±0.25 ^{BC}	3.27±0.13 ^C	13.6170 ^{***}
	t-value	-23.3751 ^{***}	-23.2038 ^{**}	-24.3759 ^{***}	-15.7917 ^{***}	-21.7037 ^{**}	-38.7557 ^{***}	
Ile	Raw	0.08±0.01 ^c	0.06±0.01 ^e	0.08±0.01 ^{cd}	0.11±0.01 ^a	0.09±0.01 ^b	0.07±0.00 ^{dc}	35.0400 ^{***}
	Fermented	6.23±0.37 ^A	4.63±0.08 ^{CD}	4.08±0.20 ^D	5.42±0.30 ^B	4.72±0.56 ^C	4.82±0.11 ^C	16.7398 ^{***}
	t-value	-29.0606 ^{**}	-98.6148 ^{***}	-34.8743 ^{***}	-30.5815 ^{***}	-14.3097 ^{**}	-72.3942 ^{***}	
Leu	Raw	0.19±0.02 ^a	0.15±0.01 ^c	0.13±0.01 ^c	0.20±0.01 ^a	0.17±0.01 ^b	0.17±0.01 ^b	24.2625 ^{***}
	Fermented	10.46±0.44 ^A	8.39±0.08 ^C	7.23±0.29 ^D	9.54±0.22 ^B	8.14±0.76 ^C	8.45±0.13 ^C	24.9917 ^{***}
	t-value	-40.3590 ^{***}	-183.3851 ^{***}	-42.9685 ^{***}	-73.2314 ^{***}	-18.0788 ^{**}	-111.0879 ^{***}	
Lys	Raw	0.27±0.03 ^a	0.17±0.01 ^c	0.17±0.01 ^c	0.26±0.01 ^a	0.22±0.00 ^b	0.17±0.01 ^c	38.2733 ^{***}
	Fermented	8.01±0.60 ^A	5.92±0.25 ^{CD}	5.29±0.29 ^D	7.16±0.40 ^{AB}	6.32±0.98 ^{BC}	6.09±0.06 ^{CD}	10.4620 ^{***}
	t-value	-22.3917 ^{***}	-39.9438 ^{***}	-30.5174 ^{***}	-29.7870 ^{***}	-10.7661 ^{**}	-184.9523 ^{***}	
Met	Raw	0.10±0.01 ^a	0.06±0.01 ^c	0.06±0.00 ^c	0.09±0.01 ^a	0.07±0.01 ^b	0.07±0.01 ^b	23.4571 ^{***}
	Fermented	2.09±0.10 ^A	1.69±0.01 ^B	1.45±0.07 ^C	1.78±0.04 ^B	1.62±0.20 ^{BC}	1.64±0.06 ^B	13.9791 ^{***}
	t-value	-34.2977 ^{***}	-219.5819 ^{***}	-36.0718 ^{***}	-81.9218 ^{***}	-13.2232 ^{**}	-44.9081 ^{***}	
Phe	Raw	0.20±0.02 ^a	0.16±0.01 ^{bc}	0.15±0.01 ^c	0.22±0.01 ^a	0.17±0.01 ^b	0.15±0.01 ^{bc}	28.7125 ^{***}
	Fermented	7.85±0.33 ^A	6.46±0.16 ^C	5.94±0.14 ^D	7.32±0.23 ^B	6.38±0.35 ^C	6.63±0.02 ^C	26.5548 ^{***}
	t-value	-40.3837 ^{***}	-68.3054 ^{***}	-72.2497 ^{***}	-53.6199 ^{***}	-30.5000 ^{**}	-471.4893 ^{***}	

Table 2. Continued

Amino acid	Sample condition	Soybean cultivars						F-value
		Danbaegkong	Daepung	Daewonkong	Saedanbaek	Seonyu	Cheongja4ho	
Pro	Raw	0.25±0.08	0.19±0.02	0.24±0.10	0.30±0.10	0.24±0.03	0.19±0.05	1.0478
	Fermented	7.80±2.51	7.48±2.34	5.78±1.38	6.25±0.47	7.02±1.44	6.19±0.29	0.7272
	<i>t</i> -value	-5.2085*	-5.4762*	-6.9233**	-21.1962***	-8.1717*	-35.0590***	
Ser	Raw	0.15±0.01 ^a	0.05±0.01 ^c	0.07±0.01 ^d	0.11±0.00 ^b	0.09±0.00 ^c	0.15±0.01 ^a	211.0000***
	Fermented	4.85±0.33	4.70±0.05	4.01±0.09	4.96±0.28	4.70±0.81	4.86±0.12	2.4797
	<i>t</i> -value	-24.7392**	-169.1689***	-78.1748***	-30.5664***	-9.8948*	-67.6886***	
Thr	Raw	0.13±0.02 ^a	0.08±0.01 ^d	0.09±0.01 ^c	0.12±0.01 ^{ab}	0.09±0.00 ^{cd}	0.10±0.01 ^{bc}	16.5091***
	Fermented	4.71±0.25 ^A	3.95±0.03 ^{BC}	3.57±0.12 ^C	4.43±0.20 ^{AB}	4.13±0.71 ^{ABC}	4.25±0.12 ^{AB}	4.4107*
	<i>t</i> -value	-31.5447**	-219.5974***	-50.3670***	-36.7917***	-9.8658*	-59.6659***	
Trp	Raw	0.22±0.02 ^d	0.10±0.01 ^f	0.15±0.01 ^e	0.51±0.01 ^a	0.48±0.01 ^b	0.32±0.01 ^c	1,943.6250***
	Fermented	2.31±0.07 ^A	1.64±0.06 ^C	1.49±0.13 ^C	2.02±0.08 ^B	1.63±0.06 ^C	1.68±0.03 ^C	15.0180***
	<i>t</i> -value	-29.8709***	-26.5851**	-10.0344**	-18.0194***	-18.2379**	-50.2213***	
Tyr	Raw	0.20±0.02 ^a	0.13±0.02 ^c	0.11±0.01 ^c	0.16±0.02 ^b	0.14±0.02 ^{bc}	0.13±0.01 ^{bc}	11.0095***
	Fermented	6.08±0.29 ^A	5.02±0.23 ^B	4.35±0.17 ^C	5.51±0.20 ^B	5.00±0.64 ^B	4.90±0.08 ^{BC}	10.0470***
	<i>t</i> -value	-35.3000***	-36.9985***	-44.4744***	-46.4586***	-13.1086**	-109.5993***	
Val	Raw	0.13±0.01 ^a	0.09±0.00 ^c	0.10±0.01 ^c	0.13±0.01 ^a	0.11±0.01 ^b	0.10±0.00 ^c	29.3667***
	Fermented	6.70±0.48 ^A	4.77±0.11 ^C	4.04±0.25 ^D	5.65±0.30 ^B	4.83±0.65 ^C	4.92±0.13 ^C	18.0292***
	<i>t</i> -value	-23.4593***	-71.3693***	-27.5788**	-31.7917***	-12.6363**	-64.9722***	

¹⁾ Ala: alanine, Arg: arginine, Asn: asparagine, Asp: aspartic acid, Glu: glutamic acid, Gln: glutamine, Gly: glycine, His: histidine, Ile: isoleucine, Leu: leucine, Lys: lysine, Met: methionine, Phe: phenylalanine, Pro: proline, Ser: serine, Thr: threonine, Trp: tryptophan, Tyr: tyrosine, Val: valine.

²⁾ All results are expressed as mean±standard deviation (n=3).

³⁾ Means with different letters (^{a-f}, ^{A-D}) within the same rows are significantly different from each other at $p<0.05$ by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test.

⁴⁾ The *t*-values' star symbols within the column indicate significant difference at $p<0.05$ by independent samples *t*-test.

⁵⁾ * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

수용성 식이섬유, 유리아미노산, isoflavone aglycon, 페놀산 등의 증가를 보고하여, 콩 원료의 *R. oligosporus* 발효물은 다양한 영양성과 기능성을 갖춘 우수한 단백 소재임을 확인하였다. 일반적으로 단백질은 맛을 갖고 있지 않으나, 그 분해 생성물인 아미노산은 각각 특유한 맛을 가지고 있어 식품의 맛과 밀접한 관계가 있다. 아미노산 중에서 L-Leu, L-Ile, L-Phe, L-Trp 등 소수성 아미노산은 쓴맛을 가지며, glycine, L-Ala, DL-Ser, L-Hydroxy Pro, L-Lys 등은 단맛, L-Glu는 감칠맛을 가지고 있어 조미료로 널리 사용된다(Lee 등 2014). 국산콩 *R. oligosporus* 발효물의 유리아미노산은 대부분 품종에서 Glu, Ala, Arg 등이 높은 수준을 나타냈고, 각 유리아미노산에서 유래하는 감칠맛, 쓴맛, 단맛은 풍미에 주요한 영향을 줄 것으로 사료 된다.

3. *R. oligosporus* 발효에 따른 국산 콩의 phytic acid 함량 변화

곡류와 두류 등은 phytic acid를 비롯한 tannin, cyanogenic glycoside, oxalate, saponin, lectin과 α -amylase, trypsin, chymotrypsin 같은 효소 억제제 등 항 영양 또는 독성 성분을 상당량 포함하여, 미네랄 생체이용률과 단백질 및 탄수화물의 소화를 방해하며 식품의 영양소를 감소시킨다(Reddy와 Pierson 1994). 본 연구에서는 국산 콩 *R. oligosporus* 발효 전·후 phytic acid 함량을 분석하여 발효에 의한 변화를 살펴보고, 그 결과는 Fig. 3의 A와 같다. 원료 6품종의 phytic acid 함량은 발효 전 1.66-2.13 g/100 g에서 발효 후 0.90-1.58 g/100 g으로 감소하였고, 단백콩을 제외한 대풍($p<0.05$), 대원콩($p<0.01$), 새단백($p<0.01$), 선유($p<0.01$), 청자4호($p<0.01$)는 유의적 차이를 나타냈다. 이러한 결과로 *R. oligosporus* 발효에 의하여 콩의 영

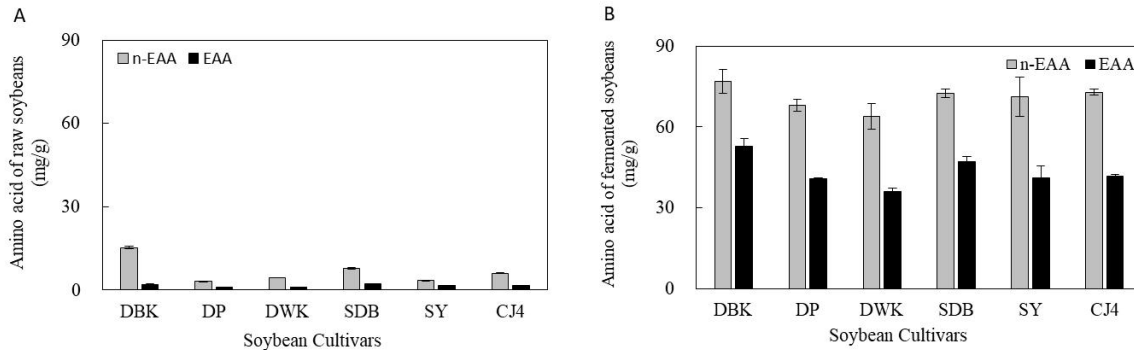


Fig. 2. Amino acid properties of raw and fermented soybean on Korean cultivars. Data derived from Table 2. Each value represents mean±S.D. (n=3). n-EAA: non-essential amino acid (Ala, Arg, Asn, Asp, Glu, Gln, Gly, Pro, Ser, Tyr), EAA: essential amino acid (His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Trp, Val).

양이 개선되었음을 확인할 수 있었고, Abu-Salem 등(2014)의 연구에서도 생콩-침지 후 탈피-발효 단계별 phytic acid 함량이 지속적으로 감소하여 본 연구와 일치하였다. 이외 많은 연구에서 *R. oligosporus* 발효에 의한 phytic acid의 효과적인 감소를 보고하였고(Cuevas-Rodriguez 등 2004; Reyes-Moreno 등 2004; Refaat 등 2018), *R. oligosporus* 발효 중 phytic acid를 분해하는 phytase의 합성 증가에 의한 것으로 설명하였고(Sudarnadji & Markakis 1977; Beal & Mehta 1985; Reyes-Moreno 등 2004), Drabo 등(2023)은 phytic acid 감소와 아연의 생체 흡수가 증가하는 것을 확인하였다. 한편 같은 결과에 대해 Kim 등(1990)은 수침 및 삶는 과정 중 수용성 피트산의 용해가 이루어졌으며 단백질 분해효소에 대한 영향으로 그 원인을 제안하였다. 또한, 발효 후 품종별 phytic acid 함량 비교에서 단백질, 새단백 > 청자4호, 대원콩, 선유, 대풍으로 나타났는데

($p < 0.001$), Song 등(2021)의 연구에서 *R. oligosporus* 발효 후 단백콩과 새단백이 단백질 함량이 높았던 품종과 일치하였으며 해당 품종에서는 영양물질 저해가 더 크게 일어날 것으로 사료 된다. 그리고 Ryoo 등(2004)은 수입산 콩과 비교하여 국산 콩의 다소 높은 phytic acid 함량을 보고하였는데, 이와 관련하여 *R. oligosporus* 발효는 국산 콩의 가공법으로 효과적이라고 생각한다.

4. *R. oligosporus* 발효에 따른 국산 콩의 trypsin inhibitor 함량 변화

콩은 우수한 영양적 특성에도 불구하고 일부 바람직하지 않은 항 영양적 생리활성 물질을 갖는데, 이러한 화합물로 앞서 제시한 phytic acid 외 trypsin inhibitor, lipoxygenase, urease, oligosaccharides, alkaloids, phenolics, isoflavones 등이 있다

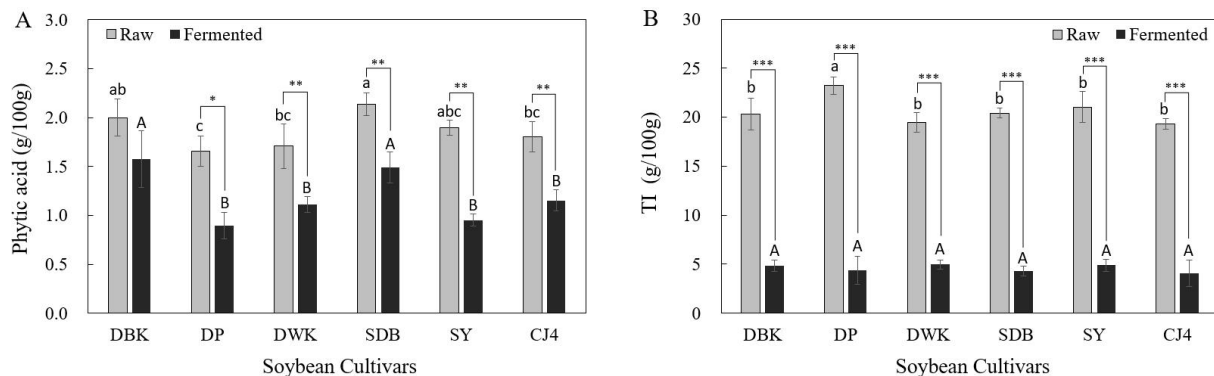


Fig. 3. Phytic acid and trypsin inhibitor contents of raw and fermented soybean on Korean cultivars. Each value represents mean±S.D. (n=3). Means with different letters (a^c , A,B) within the same sample conditions are significantly different from each other at $p < 0.05$ by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. The star symbols within the soybean cultivars indicate significant difference at $p < 0.05$ by independent samples *t*-test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

(Vagadia 등 2017). 본 연구는 국산 콩 대상의 단백 소재 개발을 위한 기초연구로 그 중 단백질과 직접적 관련이 있는 trypsin inhibitor의 함량을 *R. oligosporus* 발효 전·후로 분석하였고, 그 결과는 Fig. 3의 B와 같다. Trypsin inhibitor 함량은 원료 품종별 19.32~23.24 mg/g에서 *R. oligosporus* 발효 후 4.07~4.96 mg/g으로 크게 감소하였다. 원료 품종 간 비교에서 대풍이 비교적 높은 trypsin inhibitor 함량을 나타냈으나 ($p<0.05$), 발효 후 품종간 유의적 차이 없이 모두 낮아 바람직한 결과를 나타냈다. 이상의 결과로 단백질 소화를 방해하는 trypsin inhibitor 함량이 *R. oligosporus* 발효 후 76.20~81.25%로 크게 감소한 것을 확인하였고, 체내 단백질 이용성 개선에 영향을 줄 것으로 사료 된다. Kim 등(1990)은 원료 콩과 발효물에 대한 trypsin inhibitor 함량 비교에서 본 연구보다 다소 낮은 56.4%의 감소를 보고하였고, *R. oligosporus*에 의해 생성된 효소의 영향으로 설명하였다. 지금까지 콩에 존재하는 trypsin inhibitor를 제거하기 위한 많은 연구가 진행되었으며, 물리적 처리로 건조나 로스팅 등의 열처리 방법(Kim & Kim 1998; Stewart 등 2003; Carvalho 등 2013)이 있으며, 화학적 처리는 sodium carbonate(Wallace 등 1971), cysteine(Lei 등 1981), ascorbic acid과 cupric sulfate(Sessa 등 1990), polyphenols(Huang 등 2004) 등의 물질을 열과 함께 처리하였을 때 효과적이었다. 본 연구에서는 콩 외피 제거 단계와 접종 전 단계에서 두 번의 열처리가 있었고 생물학적 처리인 *R. oligosporus* 발효까지 이루어져 trypsin inhibitor 함량이 크게 저하된 것으로 사료 된다. 이와 관련한 Park 등(2022)의 연구에서 국산 콩 6품종을 대상으로 한 *R. oligosporus* 발효물의 단백질 소화율이 0.9 이상으로 매우 높은 수준을 나타냈고, 필수아미노산 함량과 소화율에 근거한 PDCAAS(protein digestibility corrected amino acid score)도 0.8 내외를 나타냄으로써 추출물이 아닌 가공소재 자체로서의 단백질 평가에서 매우 우수하였다.

이제까지의 연구 결과를 종합하면 국산 콩을 *R. oligosporus*로 발효했을 때, 원료 대비하여 유리아미노산은 크게 증가하였고, 피틴산과 트립신 저해제 감소로 영양소 흡수 저해의 개선을 기대할 수 있었다. 이 효과는 콩 품종에 따른 차이를 나타냈으며, 향후 우수한 국산 품종을 활용한 발효 소재 개발을 위하여 본 결과를 기초자료로 활용하고자 한다.

요약 및 결론

본 연구에서는 국산 콩 *Rhizopus oligosporus* 발효물의 단백 소재 활용성을 검토하고자 발효 전·후의 영양적 특성 변화를 살펴보았다. 콩 저장단백질로 알려진 β -conglycinin(11S globulin)은 선유와 새단백이 253.4 mg/g과 250.1 mg/g, glycinin(7S globulin)은 새단백과 단백콩이 193.0 mg/g과 180.3 mg/g

으로 다른 품종과 비교하여 높았고, 함황 아미노산과 관련하여 영양성을 가늠할 수 있는 11S/7S는 단백콩이 0.95로 6품종 중 가장 우수하였다. 유리아미노산 함량은 *R. oligosporus* 발효 전 0.04~10.45 mg/g에서 발효 후 1.37~16.95 mg/g으로 크게 증가하였고, 필수아미노산 조성율도 함께 증가하여 발효 후 단백질 품질이 향상되었음을 확인하였다. 콩의 영양 저해 인자로 알려진 phytic acid는 *R. oligosporus* 발효 전 1.66~2.13 g/100 g에서 발효 후 0.90~1.58 g/100 g으로 감소하여 무기질 흡수 저해가 완화되었을 것으로 생각한다. 또한 단백질 소화와 직접적 관련이 있는 trypsin inhibitor 활성은 원료 19.32~23.24 mg/g에서 *R. oligosporus* 발효 후 4.07~4.96 mg/g으로 크게 감소하여($p<0.05$), 76.20~81.25%의 억제율을 나타냈고 단백질의 체내 이용성 개선에 영향을 줄 것으로 사료 된다. 이상의 결과에서 국산 콩을 원료로 한 *R. oligosporus* 발효는 유리아미노산 증가에 따른 영양적 가치와 피틴산 및 트립신 저해제 감소에 따른 기능적 가치를 부여하였다. 향후 국산 콩이 수입 콩과의 경쟁력을 확보하기 위해서 고부가가치 발효 소재의 개발이 필요한데, 세계 우수 발효식품 템페로 알려진 *R. oligosporus* 발효물은 이에 적합한 소재라고 생각하며, 국산 콩의 새로운 소비처로 확대되기를 희망한다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 국립식량과학원 연구개발 과제(PJ016089032022)의 지원으로 이루어진 것임.

References

- Abu-Salem FM, Mohamed RK, Gibriel AY, Rasmy NMH. 2014. Levels of some antinutritional factors in tempeh produced from some legumes and jojoba seeds. *Int J Biol Agric Biosyst Life Sci Eng* 8:296-301
- Ahmad A, Ramasamy K, Jaafar SM, Majeed ABA, Mani V. 2014. Total isoflavones from soybean and tempeh reversed scopolamine-induced amnesia, improved cholinergic activities and reduced neuroinflammation in brain. *Food Chem Toxicol* 65:120-128
- Aoki H, Nakatsuka-Mori T, Ueno Y, Nabeshima Y, Oyama H. 2023. Analysis of functional ingredients of tempe-like fermented *Moringa oleifera* seeds (*Moringa* tempe) prepared with *Rhizopus* species. *J Biosci Bioeng* 135:306-312
- Azeke MA, Fretzdorff B, Buening-Pfaue H, Betsche T. 2007. Comparative effect of boiling and solid substrate fermentation using the tempeh fungus (*Rhizopus oligosporus*) on the

- flatulence potential of African yambean (*Sphenostylis stenocarpa* L.) seeds. *Food Chem* 103:1420-1425
- Beal L, Mehta T. 1985. Zinc and phytate distribution in peas. Influence of heat treatment, germination, pH, substrate, and phosphorus on pea phytate and phytase. *J Food Sci* 50: 96-100
- Carvalho AW, Natal DIG, Silva CO, Dantas MIS, Barros EG, Ribeiro SMR, Costa NMB, Martino HSD. 2013. Heat-treatment reduces anti-nutritional phytochemicals and maintains protein quality in genetically improved hulled soybean flour. *Food Sci Technol* 33:310-315
- Cuevas-Rodríguez EO, Milán-Carrillo J, Mora-Escobedo R, Cárdenas-Valenzuela OG, Reyes-Moreno C. 2004. Quality protein maize (*Zea mays* L.) tempeh flour through solid state fermentation process. *LWT Food Sci Technol* 37:59-67
- Cuevas-Rodríguez EO, Verdugo-Montoya NM, Angulo-Bejarano PI, Milán-Carrillo J, Mora-Escobedo R, Bello-Pérez LA, Garzón-Tiznado JA, Reyes-Moreno C. 2006. Nutritional properties of tempeh flour from quality protein maize (*Zea mays* L.). *LWT Food Sci Technol* 39:1072-1079
- Drabo MS, Savadogo A, Raes K. 2023. Effects of tempeh fermentation using *Rhizopus oryzae* on the nutritional and flour technological properties of Zamme (*Senegalia macrostachya* seeds): Exploration of processing alternatives for a hard-to-cook but promising wild legume. *Food Biosci* 54:102823
- Egounlety M, Aworh OC. 2003. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). *J Food Eng* 56:249-254
- Ha BK. 2023. Recent soybean industry trends. *Soybean Ind Inf* 6:4-14
- Hamerstrand GE, Black LT, Glover JD. 1981. Trypsin inhibitors in soy products: Modification of the standard analytical procedure. *Cereal Chem* 58:42-45
- Han N, Woo KS, Lee JY, Song SB, Lee YY, Kim M, Kang MS, Kim HJ. 2022. Comparison of physicochemical characteristics, functional compounds, and physiological activities in Adzuki bean cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 51:428-438
- Henderson JW, Ricker RD, Bidlingmeyer BA, Woodward C. 2000. Rapid, Accurate, Sensitive and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids. pp.1-10. Agilent Technologies
- Huang H, Kwok KC, Liang H. 2004. Effects of tea polyphenols on the activities of soybean trypsin inhibitors and trypsin. *J Sci Food Agric* 84:121-126
- Jung DH. 2006. Fermented Soybean Food. pp.709-735. Honggigiae.
- Kim CT, Kim CJ, Kim DC, Kwon TW. 1990. Tempeh fermentation from a mixture of soybean and sorghum grain. *Korean J Food Sci Technol* 6:668-674
- Kim HJ, Seo JH, Won DJ, Han N, Lee JY, Kim M, Lee YY, Kang MS. 2022. Comparison of physicochemical properties of seed protein in soybean cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 51:1048-1055
- Kim JT. 1986. Tempeh: Soybean fermented food in the spotlight. *Korea Soybean Dig* 3:28-36
- Kim YH, Kim SD, Hong EH. 1994. 11S and 7S globulin fractions in soybean seed and soycurd characteristics. *Korean J Crop Sci* 39:348-352
- Kim YM, Kim YW. 1998. Changes of enzyme activity, trypsin inhibitor, tannin and phytic acid during heat treatment of soybean. *Korean J Food Sci Technol* 30:1012-1017
- Lee HJ, Moon TH, Noh BS, Chang PS, Baek HH, Lee KK, Kim SJ, Yoo SH, Lee GW. 2014. Food Chemistry. pp.190-193. Soohaksa
- Lee JK. 1988. Review of nutritional characteristics of tempeh and its usage. *Korea Soybean Dig* 5:10-22
- Lei MG, Bassette R, Reek GR. 1981. Effect of cysteine on heat inactivation of soybean trypsin inhibitors. *J Agric Food Chem* 29:1196-1199
- Liu K. 1997. Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization. pp.1-12. Springer Science + Business Media, B.V., Dordrecht
- Liu K. 2019. Soybean trypsin inhibitor assay: Further improvement of the standard method approved and reapproved by American Oil Chemists' Society and American Association of Cereal Chemists International. *J Am Oil Chem Soc* 96:635-645
- Liu L, Huang Y, Zhang X, Zeng J, Zou J, Zhang L, Gong P. 2023. Texture analysis and physicochemical characteristics of fermented soymilk gel by different lactic acid bacteria. *Food Hydrocoll* 136:108252
- Mujoo R, Trinh DT, Ng PKW. 2003. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. *Food Chem* 82:265-273
- Nakajima N, Nozaki N, Ishihara K, Ishikawa A, Tsuji H. 2005. Analysis of isoflavone content in tempeh, a fermented soybean, and preparation of a new isoflavone-enriched tempeh. *J Biosci Bioeng* 100:685-687

- Ogawa T, Tayama E, Kitamura K, Kaizuma N. 1989. Genetic improvement of seed storage proteins using three variant alleles of 7S globulin subunits in soybean (*Glycine max* L.). *Jpn J Breed* 39:137-147
- Park ES, Yoon S. 1983. The changes of phytic acid content and its interactions with protein and minerals in the preparation of tempeh. *Korean J Nutr* 16:281-286
- Park HY, Kim HJ, Seo JH, Choi HS, Park J, Sim EY, Kim MJ, Kim HS. 2022. *In vitro* digestibility and amino acid score of *Rhizopus oligosporus* fermented products by domestic soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *Korean J Food Nutr* 35:435-444
- Randhir R, Vatter D, Shetty K. 2004. Solid-state bioconversion of fava bean by *Rhizopus oligosporus* for enrichment of phenolic antioxidants and L-DOPA. *Innov Food Sci Emerg Technol* 5:235-244
- Rural Development Administration [RDA]. 2021. Agricultural Technology Guide 116: Soybean. pp.18-23. Rural Development Administration
- Reddy NR, Pierson MD. 1994. Reduction in antinutritional and toxic components in plant foods by fermentation. *Food Res Int* 27:281-290
- Refaat AA, Hemmat MA, Shima AA, Emam AM. 2018. Production and evaluation of soybean tempeh to use as a ready to eat meal in Egyptian hotels. *Asian Food Sci J* 5:1-9
- Reyes-Moreno C, Cuevas Rodríguez EO, Milán Carrillo J, Cárdenas Valenzuela OG, Barrón Hoyos J. 2004. Solid state fermentation process for producing chickpea (*Cicer arietinum* L) tempeh flour. Physicochemical and nutritional characteristics of the product. *J Sci Food Agric* 84:271-278
- Romulo A, Surya R. 2021. Tempe: A traditional fermented food of Indonesia and its health benefits. *Int J Gastron Food Sci* 26:100413
- Ryoo SH, Kim SR, Kim KT, Kim SS. 2004. Isoflavone, phytic acid and oligosaccharide contents of domestic and imported soybean cultivars in Korea. *Korean J Food Nutr* 17:229-235
- Sessa DJ, Haney JK, Nelsen TC. 1990. Inactivation of soybean trypsin inhibitors with ascorbic acid plus copper. *J Agric Food Chem* 38:1469-1474
- Song H, Seo MJ, Kim HS, Choi HS, Park J, Sim EY, Park HY. 2021. Physico-chemical properties of Korean soybean (*Glycine max* L.) and tempeh by *Rhizopus* sp. from soybean cultivars. *J East Asian Soc Diet Life* 31:281-290
- Song J, Liu C, Li D, Gu Z. 2013. Evaluation of sugar, free amino acid, and organic acid compositions of different varieties of vegetable soybean (*Glycine max* [L.] Merr). *Ind Crops Prod* 50:743-749
- Stewart OJ, Raghavan GSV, Orsat V, Golden KD. 2003. The effect of drying on unsaturated fatty acids and trypsin inhibitor activity in soybean. *Process Biochem* 39:483-489
- Sudarmadji S, Markakis P. 1977. The phytate and phytase of soybean tempeh. *J Sci Food Agric* 28:381-383
- Sugai-Guérios MH, Balmant W, Krieger N, Furigo A Jr, Mitchell DA. 2016. Colonization of solid particles by *Rhizopus oligosporus* and *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation involves two types of penetrative hyphae: A model-based study on how these hyphae grow. *Biochem Eng J* 114: 173-182
- Vagadia BH, Vanga SK, Raghavan V. 2017. Inactivation methods of soybean trypsin inhibitor: A review. *Trends Food Sci Technol* 64:115-125
- Vaidehi MP, Annapurna ML, Vishwanath NR. 1985. Nutritional and sensory evaluation of tempeh products made with soybean, ground-nut, and sunflower-seed combinations. *Food Nutr Bull* 7:1-4
- Van Etten CH, Kwolek WF, Peters JE, Barclay AS. 1967. Plant seeds as protein sources of food or feed. Evaluation based on amino acid composition of 379 species. *J Agric Food Chem* 15:1077-1089
- Varzakas T. 1998. *Rhizopus oligosporus* mycelial penetration and enzyme diffusion in soya bean tempe. *Process Biochem* 33:741-747
- Vong WC, Hua XY, Liu SQ. 2018. Solid-state fermentation with *Rhizopus oligosporus* and *Yarrowia lipolytica* improved nutritional and flavour properties of okara. *LWT* 90:316-322
- Wallace GM, Bannatyne WR, Khaleque A. 1971. Studies on the processing and properties of soymilk: II.—Effect of processing conditions on the trypsin inhibitor activity and the digestibility *in vitro* of proteins in various soymilk preparations. *J Sci Food Agric* 22:526-531
- Yang JH, Mau JL, Ko PT, Huang LC. 2000. Antioxidant properties of fermented soybean broth. *Food Chem* 71:249-254

Received 12 September, 2023

Revised 11 October, 2023

Accepted 20 October, 2023

한국식품영양학회 소식

• 일반소식

1. 2023년 09월 08일(금) : 한국과학기술단체총연합회 2023년도 학술활동지원사업 국내학술지 최종선정
2. 2023년 09월 08일(금) : 한국과학기술단체총연합회 2023년도 학술활동지원사업 국내학술대회 최종선정
3. 2023년 09월 13일(금) : 제2차 이사회의 학술대회 주제 및 연사논의
4. 2023년 10월 04일(수) : 추계학술대회 및 포스터 발표 안내의 건' 공문발송
5. 2023년 10월 25일(수) : 2023년 편집이사 규정집 개정 비대면 회의
6. 2023년 10월 27일(금) : 2023년 윤리위원회 연구윤리 규정 개정 서면 회의
7. 2023년 10월 28일(토) : 2023년 추계학술대회 관련 협의 및 2025년도 회장 후보대상자 논의
8. 2023년 10월 28일(토) : 학회지 규정개정 논의
9. 2023년 10월 28일(토) : 제2차 고문회의 개최, 2025년도 회장후보 심의
10. 2023년 10월 31일(화) : 학회지 제36권 제5호에 연구논문 9편 출판

• 학회 가입 및 회비 납부

1. 회원가입

회원가입 신청서를 작성하신 후 우편 또는 이메일로 총무이사에게 제출하시기 바랍니다. 입회원서 제출 및 회비 납부 완료시 정회원으로 승인됩니다. (홈페이지 <http://ksfn.kr/>)

홍보이사 : 강현주, E-mail : ksfan88@hanmail.net, 010-2717-2966

전화 : 053-589-7824, 팩스 : 053-589-7821

주소 : (우) 14632, 경기도 부천시 신흥로 56번길 25 부천대학교 식품영양학과 내

2. 회원 회비납부

신규회원	정회원	평의원	도서관회원	단체회원	학생회원	종신회비
50,000원 (입회비+가입비)	40,000원 (연회비)	50,000원 (연회비)	50,000원 (연회비)	100,000원 (연회비)	20,000원 (연회비)	400,000원 (평생회비)

송금계좌 : 국민은행 759701-04-000460 한국식품영양학회

재무이사 : 이현선, E-mail: lksj1234@nate.com, 010-8786-3449

• 논문투고

1. 논문투고 방법

한국식품영양학회지 홈페이지(<http://ksfn.kr/>)에 안내되어 있는 논문투고규정에 따라 논문을 작성한 다음, 로그인(신규회원인 경우 회원가입 필수) 후 논문투고를 진행하시기 바랍니다. 학회지 발간 이전에 게재료를 납부하셔야 하며, 주저자와 교신저자 모두 학회 회원으로 가입하셔야 합니다.

2. 논문심사료 및 게재료

논문심사료 : 50,000원

게재료 면당 : 50,000원

송금계좌 : 국민은행, 378801-01-051596, 한국식품영양학회(편집)

편집재무이사 : 백진경, E-mail : jkpaik@eulji.ac.kr, 010-2743-0402

3. 논문접수 담당

편집이사: 이호진, E-mail : foodnutr1@naver.com, 043-820-5338, 010-4907-3711

주소 : (우) 27909, 충청북도 증평군 증평읍 대학로 61 한국교통대학교 식품영양학과

Checklist for Original Article

Title of the manuscript : _____

Please check below items as ✓ mark before submission of the manuscript.

1. General guideline

- Manuscript contained one original manuscript, checklist, statement of copyright transfer, and introduction for authors and was dispatched viz email (Statement of copyright transfer should be dispatched via PDF file)
- Manuscript should be typed in hangul or other word processor with a space of 30 mm from upper, lower, left and right margin, 10.0 pt in font size, and line space of 200%
- Text consisted of cover page, title page, abstract, main text, references, tables and figures in separate pages.
- Main text consisted of INTRODUCTION, Materials AND METHODS, and RESULTS AND DISCUSSION.

2. Cover page

- Title, name of authors, affiliation was described both in English and in Korean.
- Korean and English abbreviated titles were described (Korean : less than 20 letters, English less than 10 words).
- In lower area of cover page, the name, address, email, telephone, fax of the corresponding author or presentation in the scientific meeting were described.

3. Abstract and Keywords

- Word count was equal to or less than 250.
- A total number of word count was described below abstract.
- Keywords were described from MeSH in Medline if possible.

4. Main text

- The other of the subtitle was described according to the Instruction to Authors.
- Reference in the main text were described according to the Instruction to Authors.

5. References

- Every articles in REFERENCES were cited in the main text.
- Abbreviated title of the journals were those from Medline or Korea Med.
- All references were written in English.
- The reference style was followed by the Instruction to Authors.
- PDF file for the journal reference which is not indexed in KoreaMed or PubMed was included.

6. Tables and figures

- The title and legends of table and figures were written in English.
- Photos were in required format.
- The numbers of table and figures were described according to the Instruction to Authors.

Copyright Transfer and Statement of Originality Korean Journal of Food and Nutrition

Title of Manuscript :

Author(s) :

COPYRIGHT TRANSFER

If or when above cited manuscript is accepted for publication, copyright is hereby transferred to the Korean Society of Food and Nutrition. The undersigned confirm that neither the manuscript nor any part of it has been published elsewhere. The following statements are comprehended by the undersigned.

1. The author(s) has right to reuse the article or parts in a collection of their works, in noncommercial textbook, in lecture notes, press releases, and review articles, with the express agreement that full bibliographic references be given to the original copyrighted source.

2. Whenever the Korean Society of Food and Nutrition is asked for permission by others to use or reprint the article except for classroom use, the undersigned author's permission will be required.

3. No proprietary right other than copyright is claimed by the Korean Society of Food and Nutrition.

This agreement must be signed by a corresponding author who has the consent of all authors.

Authorized Name and Title(print)

Signature(s):

Date: 2023. . .

Declaration of Ethical Conduct in Research

I declare that I have abided by the following Code of Research Ethics while writing this paper.

“First, I have strived to be honest in my conduct, to produce valid and reliable research conforming with the guidance of ethical regulations for the Korean Journal of Food and Nutrition, and I affirm that my paper contains honest, fair and reasonable conclusions based on my own careful research under the guidance of ethical regulations for the Korean Journal of Food and Nutrition.

Second, I have not committed any acts that may discredit or damage the credibility of my research. These include, but are not limited to: falsification, distortion of research findings or plagiarism and false authorship.”

Date _____

Paper Title :

(Corresponding) Author :

(Signature)

Institute :

한국식품영양학회 회칙

제 1장 총 칙

제 1조 (명칭) 본회는 한국식품영양학회(The Korean Society of Food and Nutrition)라 칭한다.

제 2조 (목적) 본회는 식품 및 영양분야에 관한 이론과 기술을 연구하고, 이의 응용과 보급을 촉진시켜, 국민 식생활의 향상을 도모함을 목적으로 한다.

제 3조 (사무소의 소재지) 본회의 사무소는 회장이 정하는 곳에 두며, 필요에 따라 지부를 둘 수 있다.

제 4조 (사업) 본회는 제 2조의 목적을 달성하기 위하여 다음의 사업을 행한다.

1. 학회지, 정보지 및 도서의 발간
2. 연구발표, 학술강연회 및 학술토론회의 개최
3. 학술정보의 교환
4. 학술활동의 진흥 및 보조
5. 기타 본 회의 목적 달성에 필요한 사항

제 2장 회 원

제 5조 (구성) 본회의 회원은 정회원, 학생회원, 단체회원, 특별회원 및 명예회원으로 구분한다.

제 6조 (자격)

- ① 정회원은 식품학, 영양학 또는 이와 관련된 분야에 종사하는 사람으로서 본 회의 취지에 찬동하여 입회원서를 제출하고, 이사회의 승인을 받은 후 회비를 납부한 사람으로 한다. 다만, 40세 이상의 정회원으로서 회비의 10배를 일시에 납부한 사람은 종신회원이 된다.
- ② 학생회원은 식품학 또는 영양학 분야의 교육기관에 재학 중인 사람으로서 입회원서를 제출하고, 이사회의 승인을 받은 후 회비를 납부한 사람으로 한다.
- ③ 단체회원은 입회원서를 제출하고, 이사회의 승인을 받은 후 회비를 납부한 단체로 한다.
- ④ 특별회원은 본 회의 발전을 위하여 특별찬조를 하고, 이사회의 의결을 거친 단체 또는 개인으로 한다.
- ⑤ 명예회원은 본회의 발전에 현저히 공헌을 하고, 정년퇴임을 한 정회원으로서 이사회의 의결을 거친 자로 하며, 회비를 납부하지 아니한다.

제 7조 (권리와 의무)

- ① 본회의 회원은 회비를 납부해야 하며, 평의원은 평의원회비를 납부해야 한다.
- ② 회원은 선거권, 피선거권, 기타 회칙이 정하는 권리를 갖는다. 단, 학생회원, 단체회원 및 특별회원은 총회에 참석하여 발언할 수 있으나 선거권 및 피선거권은 갖지 아니한다.

제 3장 임 원

제 8조 (구성) 본회는 다음의 임원을 둔다.

1. 회장 1명
2. 차기회장 1명
3. 부회장은 총괄부회장 외 약간명
4. 총무이사 약간명
5. 학술이사 약간명
6. 편집이사 약간명
7. 사업이사 약간명
8. 재무이사 약간명
9. 홍보이사 약간명
10. 감사 2명
11. 지부장 약간명

제 9조 (임기)

- ① 임원의 임기는 회계연도를 기준으로 1년으로 하고, 회장은 중임할 수 없다.
- ② 보선된 임원의 임기는 전임자의 잔임 기간으로 한다.

제 10조 (선임)

- ① 회장은 차기회장이 승계한다.
- ② 차기회장은 다음 각호에 따라 약 1년 이전인 하반기(동계)에 고문회에서 후보를 심의하여 평의원회에서 추천하고 정기총회에서 선출한다.
 1. 차기회장 후보를 추천할 때는 본회의 현 평의원이고, 최근까지 회비를 납부한 회원 중에서 본회의 임원을 역임하여 학회의 전반적인 흐름을 잘 파악하고 있는 사람으로 하여야 한다.
 2. 회장은 차기회장 후보 대상자에게 후보신청서를 받아서 고문회에 제출하고, 고문회는 후보를 심의하여 평의원회에서 추천하고 총회에서 선출한다.
 - ③ 부회장은 회장이 임명하고, 부회장 중 1명을 총괄부회장으로 하여 총회의 인준을 받아야 한다.
 - ④ 감사는 총회에서 후보를 추천하고, 총회에서 선출한다. 감사 후보를 추천할 때에는 최근까지 회비를 납부하고 본회의 현 평의원이며, 본회의 임원을 역임한 경력이 있는 사람으로 하여야 한다.
 - ⑤ 이사 및 지부장은 총괄부회장이 추천하고 회장이 임명한다.
 - ⑥ 회장의 궐위 시에는 총괄부회장이 회장의 직위를 승계한다. 이 경우 임기는 전임자의 잔임 기간으로 한다.

제 11조(직무) 본회의 임원은 다음의 직무를 수행한다.

1. 회장은 본회를 대표하고, 회무를 총괄하며, 총회, 평의원회, 고문회, 임원회 및 이사회의 의장이 된다.
2. 총괄부회장은 회장의 직무를 보좌하고, 회장의 유고시에 그 직무를 대행한다.
3. 부회장은 학술, 편집, 사업, 재무, 홍보 등 회장이 부여하는 분야를 관장하며 회장을 보좌한다.
4. 감사는 본 회의 모든 재무를 감사하고, 그 결과를 총회에 보고한다.
5. 총무이사는 문서수발, 회의준비 등 회무에 관한 제반사항을 시행하고, 각종 행사 및 회의 내용을 기록 보존한다.
6. 학술이사는 학술발표, 강연, 학술토론 등 학술활동에 관한 업무를 담당한다.
7. 편집이사는 학회지 및 정보지의 편집 및 발간에 관한 업무를 담당한다.
8. 사업이사는 본 회의 발전을 위한 수익사업을 담당한다.
9. 재무이사는 회비, 참가비, 협찬금 등의 수령과 각종 경비의 지출을 담당하고, 그 내용을 기록 보존한다.
10. 홍보이사는 회원수 증대 및 학술대회 참가자수 증대를 위한 홍보업무와 정보화 관련 업무를 담당한다.

13. 지부장은 지역을 대표하고, 지역활동을 주재하며, 본회와 지역간의 연락을 원활하게 한다.

제 12조 (고문)

- ① 본회의 발전을 위한 조언과 회칙에서 부여한 임무를 하계 하도록 고문 약간명을 둔다.
- ② 고문은 본 학회의 명예회장을 역임한 사람으로 한다.

제 13조 (명예회장)

- ① 본회의 발전을 위한 조언과 후원을 하도록 명예회장 약간명을 둔다.
- ② 명예회장은 본 학회의 회장을 역임하고 퇴임 때까지로 한다.

제 4장 회 의

제 14조 (회의) 본회의 회의는 총회, 평의원회, 고문회, 임원회, 이사회, 편집위원회 및 윤리위원회로 한다.

제 15조 (총회)

- ① 총회는 정회원으로 구성하며, 정기총회와 임시총회로 나눈다.
- ② 정기총회는 전반기(하계) 및 후반기(동계) 연 2회 회장이 소집하고, 임시총회는 임원회에서 필요하다고 인정할 때에 회장이 소집한다.
- ③ 회장은 총회 개최일 7일 이전에 회원들에게 그 소집을 통지하여야 한다.
- ④ 총회는 출석의원 과반수 찬성으로 의결한다. 가부동수일 경우에는 회장이 결정한다.
- ⑤ 총회에서는 다음의 사항을 심의 또는 의결한다.
 1. 임원선출 및 인준
 2. 예산 및 결산의 승인
 3. 회칙 개정
 4. 사업계획의 승인
 5. 회비의 결정
 6. 기타 중요한 사항

제 16조 (평의원회)

- ① 평의원회는 평의원으로 구성한다.
- ② 평의원은 정회원 중 다음의 자격을 갖춘 사람으로 이사회의 추천으로 회장이 위촉한다. 단, 이사회에서 평의원 후보를 추천할 때에는 최근 2년간 학회활동 실적을 참조하고 다음과 같은 사항에 의거하여 추천한다.
 1. 본 회의 임원을 역임한 회원
 2. 연구단체 또는 직능단체의 대표성 회원
 3. 정회원으로서 장기간 활동한 회원
- ③ 평의원회는 회장이 필요시 소집하며, 평의원회의 개최일 7일 이전에 그 소집을 통보하여야 한다.
- ④ 평의원회는 출석의원 과반수 찬성으로 의결한다.
- ⑤ 평의원회는 다음의 사항을 심의 또는 의결한다.
 1. 예산안의 심의
 2. 사업계획의 심의
 3. (삭제) <2016.6.16.>
 4. 회장 후보의 추천
 5. 기타 총회에서 위임받은 사항

⑥ 부득이한 사유로 평의원회 개최가 어려운 때에는 서신 및 전자우편으로 대체할 수 있다. 이 경우 전체 평의원의 과반수가 응답으로 성립하고, 응답자의 과반수 찬성으로 의결한다.

⑦ 평의원은 다음과 같은 사항에 의거하여 해임 할 수 있다.

1. 회원 탈퇴자
2. 학회 설립목적에 위배되는 행위를 한 자에 대하여 이사회에 의결에 의한다.
3. 3년 연속 평의원 회비를 납부하지 아니한 자는 평의원 자격이 상실된다.

제 17조 (고문회)

- ① 고문회는 회장, 명예회장 및 고문으로 구성하고, 회장이 소집한다.
- ② 고문회는 과반수 출석으로 성립하며, 출석회원 과반수 찬성으로 의결한다.
- ③ 고문회는 다음 사항을 자문 또는 의결한다.
 1. 학회의 발전을 위한 자문
 2. 총회 또는 평의원회에서 위임받은 사항
 3. 회장후보의 심의

제 18조 (임원회)

- ① 임원회는 회장, 차기회장, 부회장, 이사 및 지부장으로 구성하며, 회장이 소집한다.
- ② 임원회는 과반수 출석으로 성립하며, 출석 회원 과반수 찬성으로 의결한다.
- ③ 임원회는 다음의 사항을 심의 또는 의결한다.
 1. 사업계획에 관한 사항
 2. 예산 및 결산에 관한 사항
 3. 총회에 부의할 안건
 4. 시행세칙 및 제 규정의 심의 및 의결
 5. 임시총회의 소집 여부
 6. 회칙 개정안 발의
 7. 각종 회의에서 위임받은 사항
 8. 윤리규정 위반에 따른 징계 건의에 대한 최종심의 및 의결<신설 2016.6.16.>

제 19조 (이사회)

- ① 이사회는 회장, 총괄부회장 및 이사로 구성하며, 회장이 소집한다.
- ② 이사회는 과반수 출석으로 성립하며, 출석회원 과반수 찬성으로 의결한다.
- ③ 이사회는 다음 사항을 심의 또는 집행한다.
 1. 각종 회의에 제출할 안건 및 보고서의 작성
 2. 본 회의 제반 사업과 행사의 추진을 위한 세부계획의 수립과 이의 집행
 3. 회원가입 신청의 승인
 4. 평의원 추천
 5. 시행세칙 및 제 규정의 입안
 6. 각종 회의에서 위임받은 사항

제 20조 (편집위원회)

- ① 편집위원은 정회원 중에서 편집이사가 추천하고 회장이 위촉하며 임기는 1년이며 중임할 수 있다. 단, 편집이사는 당연직 편집위원으로 한다.
- ② 편집위원회 위원장 또는 편집이사가 편집위원회를 소집하며, 과반수 출석과 출석회원 과반수 찬성으로 의결한다.

- ③ 편집위원회에서는 학회지 및 정보지의 편집과 보문의 심사에 관한 제반사항을 수행한다.
- ④ 편집위원회 위원장은 편집위원 중에서 회장이 위촉하고 임기는 1년으로 중임할 수 있다.

제 20조의2 (윤리위원회)

- ① 윤리위원회는 본 학회에서 정한 윤리규정을 기초로 연구윤리규정의 위반여부 및 혐의의 진실성 검증을 목적으로 한다.
- ② 윤리위원회는 7인 내외로 구성하며 위원장은 학회장으로 하고, 부위원장은 편집이사로 하며, 그 외 인원은 편집이사의 추천을 받아 학회장이 위촉한다.
- ③ 윤리위원회는 연구윤리 부정행위의 혐의에 대한 보고접수 권한 및 진실성 검증을 위한 조사 권한을 갖는다.[본조신설 2016.6.16.]

제 5장 재 정

제 21조 (재원) 본 회의 재원은 각종 회비, 각종 단체의 보조금, 찬조금, 수익 사업금, 논문 게재료 및 기타 수익금으로 한다.

제 22조 (회비) 본 회의 회비는 임원회의 심의를 거쳐, 총회에서 결정한다.

제 23조 (회계연도) 본 회의 회계연도는 1월 1일에서 12월 31일까지로 한다.

제 24조 (예산 및 결산)

- ① 예산안은 재무이사가 편성하고, 임원회 및 평의원회의 심의를 거친 후 총회의 승인을 받아야 한다.
- ② 총회에서 예산승인을 받기 전까지는 가예산 상태로 운영하되 이를 즉시 학회 홈페이지에 공개하여야 한다.
- ③ 결산안은 회계연도 종료 즉시 재무이사가 작성하여 임원회의 심의를 거친 후 감사를 받고, 총회의 승인을 받아야 한다.

제 6장 시 상

제 25조 (학회상의 종류) 본 학회에서 시상하는 상의 종류는 다음 각항과 같다.

1. 공로상 : 우리 학회 발전에 현저히 공헌한 사람 또는 단체에 수여한다.
2. 학술상 : 식품영양 분야에서 학술적으로 현저한 연구업적을 남긴 자에게 수여한다.
3. 우수포스터상 : 하계, 동계 각 학술대회에서 우수한 포스터 발표를 한 사람(공동발표자 포함)에게 수여한다.

제 26조 (수상자 선정 등) 수상자의 선정기준, 선정방법, 시상 등은 별도의 규정으로 정한다.

제 7장 보 칙

제 27조 (시행세칙) 본 회칙의 시행에 필요한 시행세칙과 제 규정은 이사회에서 입안하고, 임원회의의 심의를 거쳐 평의원회에서 의결한다.

제 28조 (회칙개정) 본 회칙을 개정하고자 할 때에는 임원회 또는 회원 20인 이상이 발의하며, 총회에서 개정한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1988년 7월 18일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1991년 10월 19일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1996년 7월 10일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1997년 1월 9일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1999년 10월 23일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2008년 6월 23일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2008년 12월 18일부터 시행한다. 다만 제8조는 2005년 1월 1일부터 소급 시행하되 종전의 규정에 의한 간사장은 2008년 12월 31일까지 한시적으로 총괄이사로 한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2011년 6월 16일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2012년 6월 22일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2012년 12월 13일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2013년 12월 12일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2015년 8월 20일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2016년 6월 16일부터 시행한다.

한국식품영양학회 연구윤리 규정

2008년 6월 23일 제정

2016년 4월 21일 개정

2016년 12월 03일 개정

제 1장 총 칙

제 1조(연구윤리 정의) 연구윤리란 연구자가 연구를 수행하는데 있어서 정보를 정직하게 전달하고, 자원을 효율적으로 사용하며, 연구결과를 객관적으로 명확하게 보고하여 책임 있는 연구를 수행하는 것을 말한다.

제 2조(윤리규정의 목적) 본 규정은 학문연구의 윤리성과 진실성을 확보하고 부정행위를 공정하게 검증할 수 있는 기준을 제시하여 한국식품영양학회(이하 학회라 약칭함) 회원들에게 연구의 윤리성을 고양하고 부정행위를 방지하는데 그 목적이 있다.

제 3조(윤리규정의 적용대상) 본 규정은 학회에 등록되어 있는 회원을 비롯하여 학회에서 정기적으로 발행하는 모든 간행물(학회지와 학술대회발표집)에 게재되는 내용과 관련 있는 회원 모두에게 적용한다.

제 2장 연구수행의 윤리규정

제 4조(연구의 진실성) 연구를 수행하고 결과를 발표하는 저자와 연구결과를 평가하는 심사자는 모두 학자로서의 양심에 어긋남이 없이 투명하고 진실하게 연구 활동을 수행해야 한다.

제 5조(데이터 관리) ① 연구자는 연구에 필요한 데이터를 수집하기 이전에 데이터 소유권이 누구에게 있으며 승인이 필요한지 확인하고, 데이터 수집이나 공개에 따르는 자신의 의무와 권리가 무엇인지 명확하게 이해하고 수행하여야 한다.
② 데이터는 신뢰할 수 있는 타당하고 적절한 방법으로 수집, 기록하고 일정기간 동안 보관하며 필요시 다른 연구자들이 결과 확인이나 다른 목적으로 사용할 수 있도록 이를 공개하여 데이터를 공유할 수 있도록 해야 한다.

제 6조(연구발표) 모든 연구결과는 완전하고 공정한 설명과 함께 정확하게 보고하여야 하며, 연구의 방법, 연구자가 발견한 결과 및 결과에 대한 연구자의 생각이 적절하게 포함되어 있는지 정직하고 투명한 평가가 이루어져야 한다.

제 7조(저작권의 보유) 저작권은 원칙적으로 연구에 중요한 공헌을 한 저자들에게 주어지나 교육 등 공공의 목적으로 사용될 경우에는 학회지 및 학술대회발표집의 발행인인 학회가 그 사용권을 가진다.

제 8조(저자의 순서와 소속표시) ① 저자란에 실릴 저자의 순서는 공동저자간의 합의 하에 연구에 대한 기여도에 따라 표기하며 저자들은 저자 기재 순서에 대한 원칙을 설명할 수 있어야 한다.
② 저자의 소속은 연구를 수행할 당시의 소속으로 표기하는 것을 원칙으로 하지만, 이와 다른 관행이 통용되는 분야에서는 그 관행을 따를 수 있다.

제 9조(교신저자 또는 책임저자의 책임) 교신 또는 책임저자는 동료 연구자들을 대표하여 데이터의 정확성, 저자로 기록된 이름, 모든 저자들의 최종 초안 승인, 모든 교신과 질문에 대한 응답 등에 대하여 책임을 지며, 교신저자의 실수나 누락 부분이 자신뿐 아니라 동료 연구자들의 경력에도 큰 영향을 끼친다는 점을 명심하여야 한다.

제 10조(참고문헌의 인용원칙) ① 저자는 타인의 연구 내용의 일부를 자신의 연구논문에 원문 그대로 또는 번역하여 인용할 수 있다.

② 저자는 참고문헌의 출처 표시와 목록 작성의 정확성을 기하여야 한다. 저자명, 학술지의 권·호수, 페이지, 출간 년도 등 인용의 모든 요소를 2차 출처에 의존하지 말고 원 논문에서 직접 확인해야 하며 불가피한 경우에만 재인용을 밝히고 인용해야 한다.

제 3장 연구 부정행위의 윤리규정

제 11조(연구 부정행위의 정의) ① 연구 부정행위는 연구계획, 연구수행, 연구보고 및 발표, 연구의 심사 및 평가 등에 있어서 발생하는 위조, 변조, 표절, 중복게재 등의 행위를 말한다.

② “위조”는 존재하지 않는 데이터 또는 연구결과의 기록을 허위로 만들어 보고하고 제출하는 행위를 말한다.

③ “변조”는 연구 자료나 장비 혹은 과정을 조작 하거나 데이터 또는 결과를 변형·삭제함으로써 연구 기록이 정확하게 표현되지 않도록 하는 행위를 말한다.

④ “표절”은 창시자의 공적을 인정하지 않고 저작권법상 보호되는 다른 사람의 아이디어, 연구과정, 연구결과 혹은 표현에 적절한 출처를 명시하지 않고 전체나 일부분을 유용하는 것을 말한다.

⑤ “중복게재”는 편집인이나 독자에게 이미 출간된 처음의 연구내용을 공지하지 않은 채 완전히 동일하거나 거의 동일한 연구내용을 다른 학술지에 두 번 이상 발표하여 게재하는 것을 말한다.

제 12조(표절의 유형) 표절의 유형은 “아이디어 표절”과 저자를 밝히지 않고 타인이 저술한 텍스트의 일부를 복사하는 “텍스트 표절”, 텍스트의 일부를 조합하거나 단어의 추가, 삽입 또는 동의어로 대체하는 “모자이크 표절” 등이 있다.

제 13조(참고문헌의 왜곡금지) ① 참고문헌은 논문의 내용과 직접적으로 관련이 있는 문헌만 포함시켜야 한다. 학술지나 논문의 인용지수를 조작할 목적으로 또는 논문의 게재 가능성을 높일 목적으로 관련성에 의문이 있는 문헌을 의도적으로 참고문헌에 포함시켜서는 안 된다.

② 자신의 데이터나 이론에 유리한 문헌만을 편파적으로 참고문헌에 포함시켜서는 안 되며, 자신의 관점과 모순되는 문헌도 인용해야 할 윤리적 책무가 있다.

제 14조(지양해야 할 관행) 논문의 발표 시, 논문에 기여한 바가 없어 논문 저자로서의 자격이 없는 사람을 저자로 올리는 “명예” 저자 관행, 단순히 숫자를 늘리기 위해 하나의 연구를 여러 갈래로 쪼개어 작은 연구를 여러 개 만드는 관행, 연구를 검토 없이 조급하게 발표하는 관행 등은 지양해야 한다.

제 14조의2(생명윤리) 인간 대상 연구를 시행한 논문을 투고할 때에는 IRB의 승인과 연구대상자의 동의를 받았음을 논문에 명시하고, IRB 승인서 사본을 학회 이메일로 제출하여야 한다. IRB승인의 필요한 연구와 시행일자는 다음과 같다.

-다음-

연구방법	IRB 승인 기재 의무화 시행일자 (시행일자 이후 투고시 의무화)	비고
인체적용시험	2017년 7월 1일	연구자들의 혼란을 최소화하기 위해 유예기간(6개월~1년)을 둠
동물실험	2017년 7월 1일	
설문조사 (survey, 관능평가 포함)	2018년 1월 1일	

제 4장 논문심사의 윤리규정

제 15조(심사자의 책임과 의무) ① 심사자는 학회의 편집위원회에서 의뢰하는 논문을 성실하게 심사하고 심사결과를 심사규정이 정한 기일 내에 편집위원회에 보고해야 한다.

② 심사자는 의뢰된 논문이 자신이 심사하기에 불충분하다고 판단되면 즉시 편집위원회에 논문을 반납하여야 한다.

③ 심사자는 논문의 질, 연구의 실험성, 이론성 및 해석에 관해 엄격한 과학적 기준 및 연구 기준을 적용해 객관적으로 평가해야 하고 자신의 판단에 대하여 적절하게 설명하고 뒷받침할 수 있어야 한다.

④ 심사자는 저자의 지적 독립성을 존중하고 저자가 다른 과학자의 연구를 잘못 인용하는 것을 막아야 하며 이해관계의 상충에 잘 대응해야 한다.

⑤ 심사자는 논문의 기밀을 유지해야 하고 저자의 동의 없이 아직 검토 중인 미간행 논문에 담긴 정보, 주장, 해석 등을 사용하거나 공개해서는 안 된다.

제 16조(심사자의 비윤리적 행위) 심사자는 공정한 심사와 심사 중 기밀 유지를 위하여 다음과 같은 비윤리적 행위를 삼가 해야 한다.

① 자신이 맡은 심사를 대학원 학생이나 제 3자에게 부탁하는 행위

② 심사 중인 논문의 내용을 동료와 논의하는 행위

③ 심사 종료 후 심사 내용의 사본을 반납하거나 분쇄하지 않고 보유하는 행위

④ 논문을 심사하는 과정에서 명예손상이나 인신공격에 해당하는 언어를 쓰는 행위

⑤ 논문을 읽지 않고 심사 또는 평가하는 행위

제 17조(편집위원회의 책임과 의무) 삭제(2016년 4월 21일)

제 5장 연구윤리규정의 시행 및 윤리위원회

제 18조(윤리규정 준수 의무) 회원은 회원가입과 동시에 자신의 연구 행동을 책임지고 연구 부정행위를 심각하게 받아들여야 하며 본 학회의 연구윤리 규정을 준수할 의무를 갖는다.

제 19조(윤리규정 위반의 보고 및 조사) 회원은 다른 회원이 윤리규정을 위반한 사실이 인지될 경우 그 회원으로 하여금 윤리규정을 환기시키고 위반사항이 바로 잡히지 않을 경우에는 윤리위원회에 즉시 보고한다.

제 20조(윤리위원회의 목적과 구성) ① 윤리위원회는 본 학회에서 정한 윤리규정을 기초로 연구윤리규정의 위반여부 및 혐의의 진실성 검증을 목적으로 한다.

② 윤리위원회는 7인 내외로 구성하며 위원장은 학회장으로 하고, 부위원장은 편집이사로 하며, 그 외 인원은 편집위원장의 추천을 받아 학회장이 위촉한다.

제 21조(윤리위원회의 권한) ① 윤리위원회는 연구윤리 부정행위의 혐의에 대한 보고접수 권한 및 진실성 검증을 위한 조사 권한을 갖는다.

② 보고된 사안에 대하여 제보자, 피조사자, 증인, 참고인 및 증거자료 등을 통한 폭 넓은 조사를 실시한 후 윤리규정을 위반한 것이 사실로 판정될 경우 학회 정관에 의거하여 제재조치를 할 수 있다.

제 22조(윤리위원회의 판정 및 제재) ① 위반행위에 대한 검증절차는 예비조사, 본 조사, 판정의 단계로 진행하여야 하며

모든 조사 일정은 6개월 이내에 종료되어야 한다. 단, 이 기간 내에 조사가 이루어지기 어렵다고 판단될 경우 위원장의 승인을 거쳐 조사기간을 연장할 수 있다.

② 제보자 또는 피조사자가 판정에 불복할 경우 통보를 받은 날로부터 30일 이내에 서면으로 이의를 제기할 수 있으며, 윤리위원회에서 이를 검토하여 필요한 경우 재조사 할 수 있다.

제 23조(제보자 및 조사대상자의 보호) ① 윤리위원회는 제보자 및 조사대상자가 위반행위의 신고 및 조사를 이유로 불이익이나 부당한 압력 또는 위해 등을 받지 않도록 보호해야 할 의무를 지니며, 이에 대한 대책을 마련해야 한다.

② 제보자는 위반행위의 신고 이후에 진행되는 조사절차 및 일정 등에 대하여 알려줄 것을 요구할 수 있으며, 윤리위원회는 이에 성실히 응하여야 한다.

③ 윤리규정 위반에 대하여 학회의 최종적인 결정이 내려질 때까지 윤리위원회는 해당 회원의 명예나 권리가 침해되지 않도록 신원을 외부에 공개해서는 안 된다.

제 24조(징계의 절차 및 내용) ① 징계 건의가 있을 경우 위원장은 임원회를 소집하여 징계 여부 및 징계내용을 최종적으로 결정한다.

② 징계가 판정된 회원의 연구결과는 학회지나 학술 대회발표집, 인터넷 홈페이지에서 삭제하고 향후 5년간 논문투고금지, 회원자격 정지 내지 박탈 등의 징계를 하며 이 조치를 대상자의 소속기관에 알리거나 학회지에 공시할 수 있다.

제 25조(윤리규정의 수정) ① 윤리규정은 수정이 필요한 경우 간사회에서 수정안을 작성하고 임원회에서 심의한 후 평의원회에서 의결한다.

② 기존의 규정을 준수하기로 서약한 회원은 추가적인 서약 없이 새로운 규정을 준수하기로 서약한 것으로 간주한다.

- 부칙 -

제 1조(효력발효) 본 윤리규정은 2008년 6월 23일부터 효력을 발생한다.

제 2조(효력발효) 본 윤리규정은 2016년 4월 21일부터 효력을 발생한다.

제 3조(효력발효) 본 윤리규정은 2016년 12월 3일부터 효력을 발생한다.

Research Ethics Rules of the Korean Society of Food and Nutrition

Amended on 23/06/2008

Amended on 21/04/2016

Amended on 03/12/2016

Chapter 1 General Provisions

Article 1: Definition of Research Ethics

The term “research ethics” means honestly conveying information in the research conduct, using resources efficiently, and performing responsible study by objectively and accurately reporting study results.

Article 2: Purpose of Ethics Regulations

This regulation aims to enhance research ethics to members of the Korean Society of Food Science and Nutrition (hereinafter referred to as “the Society”) and prevent research misconducts by proposing standards to secure ethics and truth in academic research and fairly verify misconducts.

Article 3: Application Objects of Ethics Regulations

These regulations shall apply to all of the registered members as well as any members related to contents presented in all publications (the journal of the Society and symposium publications) regularly issued in the Society

Chapter 2 Ethics Regulations on Research Conduction

Article 4: Truth in Research

An author who conducts a research and presents its results and a dissertation review committee member who evaluates the research results shall carry out research activity transparent and sincere without doing any act against conscience as scholars

Article 5: Data Management

5.1. A researcher shall confirm the ownership of data and authorization to use the data prior to collecting necessary data. In addition, the researcher must carry out the study with clear understanding on the obligation and right imposed upon the collection or disclosure of data.

5.2. Data shall be collected and recorded through appropriated measures in reliable and valid manner and must be retained for a certain period of time for other researchers to verify results and assessable to be used as other purposes by publicly presenting the findings.

Article 6: Presentation of Research Results

All of the research results shall be accurately reported with a thorough and reasonable explanation. An honest and transparent evaluation must be conducted to examine if research methods and researcher’s opinions are adequately presented in the findings or results of the study.

Article 7: Retention of Copyright

In principle, the copyright is given to the authors who made significant contributions in the research. However, the Society, the publisher of the journal and publications of symposiums, has the right of using the copyright in case the findings are used for the purpose of public interest such as education, and others.

Article 8: Order of Authors and Affiliation

8.1. For the space stating the authors, the order of authors shall be determined pursuant to the contribution made on the research upon the mutual consent among corresponding authors. In addition, the authors shall be able to explain the principles of such orders.

8.2. In principle, the affiliation of the author is stated by the name of the institution at the time of the research conduct. However, when other customary practices are applied in other field, the author may state the affiliation in accordance with custom.

Article 9: Responsibility of the Corresponding Author or Senior Author

The corresponding author or senior author shall take responsibility for accuracy of data, the list of all authors, approval for final draft of all authors, all of the exchanges and responses to questions, and others by representing co-researchers. In addition, the corresponding author must be fully aware of that mistakes and omissions made by himself/herself and co-researchers have a great influences in their careers.

Article 10: Citation Principles of References

10.1 The author may cite the part of other researchers' study in his/her research paper as the original text or the translated version.

10.2 The author shall take all possible measures to ensure the accuracy in stating sources and making the list of references.

Chapter 3 Ethics Regulations on Misconduct

Article 11: Definition of Research Misconduct

11.1. The research misconduct is defined as the fabrication, falsification, plagiarism, and other unfair activities generated in the process of designing, carrying out, reporting, and evaluating and assessing the research.

11.2. "Fabrication" means reporting the research data or results, etc. that do not actually exist but have been fabricated.

11.3. "Falsification" means manipulating research data or equipment and process or exhibiting research record inaccurately by deliberately changing or deleting research results.

11.4. "Plagiarism" means using the entire or partial research ideas, processes, results, and etc. protected under copyright law of any other person without citing the appropriate sources and acknowledging the contribution of the founder of such findings.

11.5 "Repeated publication" means publishing an identical or almost similar research in other journals two (2) or more times without stating the initial research contents that have been already presented to publishers or readers.

Article 12: Types of Plagiarism

Types of plagiarism is classified as "idea plagiarism", "text plagiarism", copying a part from other persons' text without citing the source for the ideas of other authors, "mosaic plagiarism", combining a part of a text with a few words added, inserted, or replaced with synonyms, and others.

Article 13: Prohibition of Distortion in References

13.1. Cited references shall only includes directly related references to the contents of research paper. The author shall not deliberately include irrelevant references for the purpose of intentionally increasing citation index of articles or journals and the probability of publication of the manuscript.

13.2. The author shall not biasedly include only references favorable to data or theories of his/her articles. The author has ethical responsibility to cite references contradicting against his/her point of view.

Article 14: Practices to Avoid

The following practices should be avoided including a practice of “honoring” author by listing unqualified authors who have made no contributions in publishing research papers as one the authors, practice of dividing a research into many studies only to increase the number of published articles, and practice of hastily publishing articles without review process.

Article 14-2 : Bioethics

When submitting a paper on human subjects, It should be noted in the paper that IRB approval and consent of the subject has been obtained. A copy of the IRB approval must be submitted by e-mail of society. The effective date of IRB approval is as follows.

Research type	Date of enforce (After date of enforce, make indication of submission)	Note
human subject	Jul, 1, 2017	Suspend periods(6 month ~ 1 year) for minimize of researchr's confusion
Animal experiment	Jul, 1, 2017	
Question investigation (survey and sensory evaluation)	Jan, 1, 2018	

Chapter 4 Ethics Regulations for Dissertation Review**Article 15: Responsibilities and Obligations of Dissertation Examiner**

15.1. The dissertation examiner shall report the review results to the Publishing Committee within the period stipulated in the review regulations by sincerely examining the submitted dissertations.

15.2. The examiner shall immediately turn in the research paper to the Publishing Committee once the submitted dissertation is determined to be inadequate for the examiner to review.

15.3. The examiner shall objectively evaluate the dissertation by applying strict scientific and research standards regarding the quality of dissertation, the experimentability of research, and conceptuality and interpretation, and must be able to adequately explain or support the assessment made upon his/her judgement.

15.4. The examiner shall respect the author's intellectual independence, prevent the author from wrongfully citing other scientists' research, and well coordinate contradictions that arise out of the relationship between interested parties.

15.5. The examiner shall abide by the confidentiality of research paper that is still in the process of reviewing and shall not publicize any information, assertion, interpretation or any other matters of the unpublished manuscript without the consent of the author.

Article 16: Unethical Acts of Examiner

For fair evaluation and confidentiality, examiners shall refrain from performing any of the following unethical acts.

- 16.1. an act of assigning research paper view that is requested to the examiner to post-graduate students or any third party
- 16.2. an act of discussing the contents of research paper while the viewing of the dissertation is still in progress.
- 16.3. an act of turning in the copy of research paper or retaining the paper without shredding it despite the review process is completed
- 16.4. an act of using abusive words categorized as a form of defamation of character and personal attack in the process of dissertation review
- 16.5. an act of evaluating the dissertation without reading the paper

Article 17: Responsibilities and Obligations of the Publishing Committee : Delete(21 April 2016)**Chapter 5 Implementation of the Research Ethics Regulations and the Ethics Committee****Article 18 Duty of Obedience**

The members of the Society shall take responsibilities on their research activities upon the signing up as the member, accept research misconduct seriously and they are obligated to comply with the research ethics regulations of the Society.

Article 19 Report and Investigation of Violations of the Ethics Regulations

In case where a member of the Society recognizes the ethics violation of another member, the member must remind the ethics regulations to the another member and shall immediately notify the Ethics Committee when the violations are not corrected.

Article 20 Purpose and Composition of the Ethics Committee

- 20.1. The Committee aims to verify the allegation and truth of research ethics violations in accordance with the ethics regulations stipulated in the Society.
- 20.2. The Committee shall consist of about seven (7) commissioners. The president of the Society shall serve as the chairman of the Committee and the vice chairman shall serve as the chief of editor. The other members of publishing commissioners shall be appointed by the president of the Society upon the recommendation of the head of the Publishing Committee.

Article 21: Rights of the Ethics Committee

- 21.1. The Ethics Committee is authorized to receive reports on alligation of the research misconduct and investigate for the verification of truth.
- 21.2. The Committee may impose sanctions as stipulated in the Society regulations, if violations are verified to be true upon the conduction of extensive investigation with informants, examinees, witnesses, other persons to attend, and submit materials relevant to the case.

Article 22: Judgment and Sanctions of the Ethics Committee

22.1. The verification process of violation shall be conducted in accordance with the phases of preliminary examination, main examination, and judgement and the process must be terminated within six (6) months. Provided, That the investigation period may be extended upon the approval of the chairman of the Committee in case the investigation is deemed difficult to be completed within the stipulated period

22.2. In case an informant or an examinee is dissatisfied with the judgement, those persons may raise an objection in writing within thirty (30) days after they are informed of the notification. In such event, the Ethics Committee may reinvestigate, if necessary, upon the reviewing objection.

Article 23: Protection of Informant and Examinee

23.1 The Committee is responsible for the protection of informant and investigated subject in the event that the informant receives disadvantages or unjust pressure due reporting alleged misconduct and its investigation, the Committee shall take all necessary measures to protect the informant.

23.2 The informant has right to request necessary information on investigation process or schedules after reporting alleged misconduct and the Committee shall faithfully comply with it.

23.3 The identity of the examinee shall not be disclosed and attention shall be paid to the protection of the honor and rights of the examinee until a judgement on alleged misconduct has been reached by the Committee.

Article 24: Procedures and Contents of Disciplinary Sanctions

24.1. In case where any disciplinary sanctions need to be taken, the chairman of the Committee shall convene the meeting and conclusively determine if disciplinary sanctions will be imposed or not and the forms of sanctions.

24.2. Once the sanction is finalized, the member may be suspended or deprived from research paper submission and member's qualification for the next five (5) years and such measures may be informed or publicized to the subject or his/her affiliated institution and journals.

Article 25: Revision of the Ethics Regulations

25.1. In case where revision of the ethics regulations is required, the amendment shall be prepared by the Board of Directors, deliberated to the Board of Executives, and decided by the resolution of the Advisory Council.

25.2. Members who pledged to comply with the previous regulations shall be deemed to agree to comply with the amended regulations without additional pledge.

Addendum

Article 1: Date of Enforcement

These regulations shall enter into force on June 23rd, 2008.

Article 2: Date of Enforcement

These regulations shall enter into force on april 21rd, 2016.

Article 3: Date of Enforcement

These regulations shall enter into force on december 3rd, 2016.

한국식품영양학회지 논문 투고 규정

1988년	7월	5일	제정	1990년	12월	10일	개정
1996년	8월	16일	개정	1998년	12월	18일	개정
2002년	8월	8일	개정	2003년	3월	8일	개정
2004년	3월	26일	개정	2006년	3월	25일	개정
2009년	3월	25일	개정	2010년	8월	14일	개정
2012년	6월	22일	개정	2013년	6월	20일	개정
2013년	9월	28일	개정	2014년	6월	20일	개정
2015년	12월	17일	개정	2016년	6월	16일	개정

- 한국식품영양학회지는 식품·영양에 관한 연구논문, 연구노트, 연구속보 및 총설 등을 게재한다. 단, 총설은 본 학회에서 위촉하거나, 편집위원회의 심의에 의해 정한 경우에 한한다.
- 투고자 중 주 저자와 교신저자는 본회 회원에 한하는 것을 원칙으로 하되, 초청논문은 예외로 한다.
- 투고논문은 다른 학술지에 발표되지 않은 것이어야 한다.
- 논문 투고는 학회 홈페이지(<http://ksfn.kr>)의 온라인 논문투고시스템으로 한다.
- 원고 투고 관련 문의는 편집이사에게 한다.
E-mail: foodnutr1@naver.com
- 논문의 심사, 채택여부, 게재순서, 인쇄순서는 논문심사규정 및 편집규정에 따른다. 논문의 접수일은 논문이 본 학회 온라인 투고시스템에 도착한 날로 한다.
- 전문가 심사과정은 논문 게재 시 학술지의 질적 향상을 위해 진행 한다. 모든 논문은 비공개로 진행되며 편집이사나 편집위원에 의해 선정된 익명의 심사위원은 최소한 2명으로 한다. 심사위원들은 공정하게 심사한다. 논문 주제에 전문 지식을 가진 심사위원은 논문의 실험 설계 및 결과의 독창성, 중요성, 타당성이 유효한지를 평가한다. 논문 저자는 즉시 편집이사의 채택이나 불가 또는 수정 후 재심 결정을 통보 받는다. 심사위원은 논문 수정을 할 수 있고 수정된 내용에 대하여 채택 또는 불가를 편집이사에게 전달한다. 논문 저자는 편집이사로부터 최종 결정을 통보 받는다. 최종 수정된 논문은 한국식품영양학회 서식과 규정에 완전히 부합할 때 다음호에 게재 될 수 있다.
- 논문은 국문 또는 영문으로 한글 또는 MS워드 파일을 사용하여 컴퓨터로 작성하되, 글씨 크기는 10~12포인트, 줄 간격은 200%로 한다.
- 원고 제1면에는 국문과 영문으로 논문제목, 저자 및 소속기관을 나타낸다. 제목 상단에 압축한 소제목(Running title)을 기재한다. 소제목(Running title)은 논문의 내용을 잘 나타낼 수 있도록 짧게 하며 논문 저자가 두 사람 이상인 경우에는 교신저자 성명 앞에 †표시를 한다. 소속기관이 다른 경우에는 저자 이름 끝에 위첨자로 *, **, ***을 순서에 따라 붙이고, 해당인의 소속기관 앞에도 같은 부호를 붙인다. 교신저자는 1면 하단에 영문으로 성명, 소속기관, 소속기관 주소, 전화번호, fax 번호, e-mail 주소를 기입한다. 국문 저자명은 저자명 사이에 “”를, 영문은 저자명 사이에 “, ”를 넣는다.
- 원고 제 2면에는 제목을 국문과 영문으로 표기하고 영문으로 된 Abstract를 첨부한다. 초록은 200단어 내외의 줄 바꿈 없는 단일 문단으로 하되 본문과 분리하여도 논문을 이해할 수 있도록 연구목적, 연구방법, 연구결과가 나타나도록 작성하며, 하단에는 5개 내외의 영문주제어(keywords)를 기입한다 (keywords는 모두 소문자 영어로 표기).
- 논문의 형식은 서론, 재료 및 방법(또는 연구 대상 및 방법), 결과 및 고찰, 요약 및 결론, (감사의 글), References의 순서로 함을 표준으로 하며, 쪽 구분 없이 계속 연결하여 작성한다.
- 연구노트는 어떤 한정된 부분의 발견이나 새로운 실험 방법과 좋은 내용을 정리한 논문으로, 논문형식을 기준으로 작성하되 2,500단어 이내, Table과 Figure 합이 3개 이하를 원칙으로 한다.
- 모든 표 및 그림의 제목과 설명은 영문으로 한다. 제목은 Table 1, Fig. 1 등의 순서로 표기하며 본문을 참조하지 않아도 내용을 알 수 있을 정도로 간결, 명확하게 기재한다. Table의 제목은 표의 상단에, Fig.의 제목은 그림의 하단에 기재한다. 본문에 인용할

때는 Table 1, Fig. 1 등으로 표시한다. Table이 페이지를 넘어가는 경우에는 제목 끝에 “continued”를 표기해 준다.

14. Table의 밑에 각주(footnote)를 달 때는 Table 내용 중 설명하려는 단어 혹은 문장 아래 아라비아 숫자 1), 2), 3)으로 나타내며 부호들은 사용하지 않는다. *, ** 표시는 통계분석의 유의확률이 $p < 0.05$ 나 $p < 0.01$ 을 나타낼 때만 사용한다. 다중범위 검정에서는 a, b, c, d 등을 사용하고 하단에 그 내용을 표시한다.
15. 모든 표와 그림은 본문 중에 작성하거나, 한 장에 하나씩 작성하여 본문 뒤에 순서대로 첨부한 후 본문 중에 그 위치를 표시하여야 한다. 그림은 사진 또는 컴퓨터로 깨끗이 작성하여 정판원고로 직접 사용될 수 있도록 한다.
16. 본문 중에 인용되는 References는 저자명과 연도별로 인용하며, 영문으로 표기함을 원칙으로 한다. 인용문헌의 기재 예는 다음과 같다.
 - 1) 인용되는 문헌은 해당부위에 영문 성(family name)으로 된 저자명과 연도를 괄호하여 표기한다. 저자가 1인 일 때는 **저자의 성과 이름 약자를 모두 표시**하고 저자가 2인 일 때는 **두 저자의 성만을 표시**하고, 3인 이상일 때는 **제 1저자 성을 표기**하고 ‘등’을 쓴다. 동일저자의 같은 연도 발표논문인 경우에는 연도 뒤에 a, b, c로 표기한다.

예: **문장 처음에 오는 경우**
 Kim HJ(2005)는 ...
 Kim & Lee(2007)는 ...
 Kim 등(2008)은 ...
 Park(2007a)은 ...

문장 끝에 오는 경우
 (Kim HJ 2005), (Kim & Lee 2007), (Kim 등 2008).
 - 2) 본문 중에 인용문헌이 여럿일 경우에는 연도순으로 표기하고, 연도가 같은 경우에는 저자명의 알파벳 순으로 표기한다.

예: (Lee 등 2007; Kim HJ 2008; Park & Kim 2008)
17. 본 학회 학술지에 게재된 논문을 적극적으로 인용(2편 이상)할 것을 권장한다.
18. References의 배열은 저자의 영문성의 알파벳 순으로 한다. 인용문헌에서 게재 학회지의 약어는 국제

약어 기록 관례에 따른다. References의 기재 예는 다음과 같다.

1) 학술잡지

Kim KW, Ko CJ, Park HJ. 2002. Mechanical properties, water vapor permeabilities and solubilities of highly carboxymethylated starch-based edible films. *J Food Sci* 67:218-222

2) 단행본

Brock TD, Smith DW, Madigan MT. 1984. *Biology of Microorganisms*. pp.100-105. Prentice-Hall. Inc. AOAC. 1980. *The Association Official Methods of Analysis*. 13th ed. pp.3508-3515

3) Bulletin, 학위논문

Hur YH, Lee SG, Suh JS. 1987. Studies on the change in components of γ -irradiated soybean during fermentation. *Ann Bull Seoul Health Junior College* 7:7-14

Ciaccio CF. 1983. A study on mineral contents in processed foods. Ph.D. Thesis, North Dakota State Univ. Fargo. North Dakota

4) 특허

Bernard S. 1988. Preproofed, frozen and refrigeration and crusty bread and method of making same. US Patent 4,788,067

5) 학회에서 구두 발표된 원고

Huhtanen CN. 1988. Preparation of cold water dispersible cocoa powder. Abstract 21, 42nd *Ann Meeting Inst Food Technol Atlanta*

6) 인터넷 규정

Korean National Statistical Office. 2007. The statistics of mortality and the cause. Available from <http://www.kostat.go.kr> [cited 20 January 2014]

19. 논문 약호는 Chemical Abstracts에 준한다. 학술용어는 가능한 한 한글로 표기한다.
20. 수량은 아라비아 숫자로, 단위는 가능한 국제단위(SI unit)로 표기한다. 단위와 술어의 약자는 본 학회가 권장하는 방법을 따르되 기타 부득이한 경우에는 본문에 처음 나올 때 설명하여야 한다.
21. 교정은 초고에 한하여 저자가 교정하는 것을 원칙으로 하며, 교정 중 내용을 바꾸거나 추가할 수 없다. 단, 논문편집상 필요하다고 인정되는 사항은 편집이사가 이를 교정할 수 있다. 본 학회지에 게재된 논문의 저작권은 본 학회에 귀속된다.

- 22. 투고자는 소정의 게재료를 납부하여야 한다. 또한 칼라사진으로 인쇄할 경우나 30부 이상의 별책을 원할 경우에는 투고자가 실비를 부담한다.
- 23. 한 호에 게재되는 논문은 주 저자 1명 당 2편으로

- 제한하며 해당 월의 20일까지 편집완료 된 30편 이내의 논문을 게재한다.
- 24. 본 규정에 명시되지 않은 사항은 편집위원회에서 결정한다.

단 위	표기방법	단 위	표기방법
micrometer	2 μ m	part per million	20 ppm
millimeter	4 mm	molarity	0.1 M
centimeter	6 cm	normality	0.05 N
meter	2 m		0.01 N HCl
milligram	2 mg	temperature	60°C
gram	4 g		180°F
kilogram	6 kg	absolute degree	270K
milliliter	2 mL	mega pascal	25 MPa
liter	4 L	kilocalorie	2,000 kcal
second	2 s	gravity	10,000×g
minute	4 min		
hour	6 h	약 어	
milliliter/minute	2 mL/min	optical density	O.D.
meter/second	4 m/s	dextrose equivalent	D.E.
percent	20%	범 위	
%(weight/volume)	20%(w/v)		1.0~2.0 mg
milligram percent	100 mg%		
pH	pH 7.0	수 식	
			(a+b)/(c+d)

※ 학회지 투고규정이 2016년 6월 16일자로 일부 변경되었습니다.
29권 4호 이후의 논문 투고 시 참고하시기 바랍니다.

Guidelines for Submitting Manuscripts

Amended on 05/07/1988	Amended on 10/12/1990
Amended on 16/08/1996	Amended on 18/12/1998
Amended on 08/08/2002	Amended on 08/03/2003
Amended on 26/03/2004	Amended on 25/03/2006
Amended on 25/03/2009	Amended on 14/08/2010
Amended on 22/06/2012	Amended on 20/06/2013
Amended on 28/09/2013	Amended on 20/06/2014
Amended on 17/12/2015	Amended on 16/06/2016

1. The journal of Korean Society of Food Science Nutrition shall publish review research articles, research notes, and provided, That reviews shall be published only in cases of appointment by the Society and deliberation of the Publishing Committee.
2. In principle, the first author and corresponding author among paper contributors shall be limited to only members of the Society excluding invited research papers.
3. Submitted manuscripts should not have been published before in any other journals.
4. The author should submit the manuscript electronically via online submission at the Society's website (<http://ksfn.kr>).
5. For information of Manuscript submission please contact the editor.
E-mail: foodnutr1@naver.com
6. Research paper review, selection, publishing order, printing order shall comply with review and publishing regulations. The receipt date of manuscript shall be the arrival date of manuscript by online submission to the Society.
7. Peer review
"Peer review" is used to help ensure the highest possible quality in published manuscripts. All manuscripts will be treated as confidential and will be critically read by at least two anonymous reviewers, selected by the editor and associate editors.

Scientists with expertise in the subject matter will evaluate the manuscript for validity of the experimental design and results of originality, significance, and appropriateness to the journal. The corresponding author is notified as soon as possible of the editor's decision to accept, reject, or request minor or major revision of manuscripts. The editor will consider the revisions, and recommend to the editor-in-chief either to accept or reject the revised manuscript. The author will then be informed by the editor-in-chief of the final decision. When the final revised manuscript is completely acceptable according to the The Korean Society of Food and Nutrition format and criteria, it is scheduled for publication in the next available issue.

8. The language in the manuscript should be Korean or English in A4-size paper setting, typed using a computer with font size of 10~12 points and the line spacing should be set at 200%.
9. The author should provide the title in Korean and English, the author's (or authors') name(s), and affiliation on the first page of the manuscript. The running title should be provided at the upper part of the title page. If the number of authors is two or more, †mark should be indicated in front of corresponding author. If affiliations of authors are different, superscriptions of *, **, *** should be put at the end of authors name in order. The same marks should be put in front of respective affiliation. The corresponding authors should provide author's name in English, affiliation, affiliation address, telephone, fax, and e-mail. The authors' names in Korean should have "-" in between the name and the author's names in

English should have “,” in between the name.

10. The English abstract should be provided in case of Korean manuscript on the second page of the manuscript. The abstract must not exceed more than 200 words in one paragraph and it should provide a general view of the manuscript by including the research objectives, methods, and results. About 5 keywords should be included at the bottom of the page. (All of the keywords should be written in lowercase letters.)
11. Article structure should be in order of introduction, materials and methods (or research methods), results and discussion, summary and conclusion and references, in standard. In addition, the manuscript should be in written in a continuous form regardless of page number.
12. Research Notes are brief reports of limited scope that contribute new knowledge. The formatting is the same as the Research Articles. Research Notes are suggested not exceeding 2500 words. The tables and figures are limited up to 3 in any combination.
13. Titles and descriptions of tables and figures should be all provided in English. Titles should be provided in order of Table 1, Fig. 1, and etc. and in clear and precise manner so they could be understandable without referring to the text. The title of table should be given at the top of the table and the title of figure should be given at the bottom of the figure. Tables and figures should be stated as Table 1, Fig. 1 and etc. when they are quoted from the text body.
14. Footnotes should be expressed as Arabic numerals of ¹⁾, ²⁾, ³⁾ at the bottom of tables, and no sign should be used. Moreover, *, ** marks must be used to present significance probability of $p < 0.05$ or $p < 0.01$ in statistical analysis. In multiple range test, alphabets of a, b, c, d, and etc. should be used and the explanations should be stated at the bottom.
15. All of the tables and figures may be presented in the middle of the text body or on separate sheets of paper to be attached at the end of the manuscript in order. The exact locations of tables and figures should be properly stated in the text. Pictures must be neatly produced by photography or a computer to be directly used as original images.
16. All sources cited in the text must provide author's name alphabetically and the year, and, in principle, all references must be provided in English. The examples of cited references are as follows:
 - 1) Cited references should be presented as surname in English and the year in parentheses at the corresponding part. For the citation of **a single author**, his/ her **initial(s) and surname** should be provided. For the citation of **two authors**, only **surnames** should be provided. For one work by **more than three authors**, citation should include only **the surname of the first author** followed by “**et al.**” For two or more works by the same author by year of publication, the signs such as a, b and c should be provided followed by the year.
e.g. Citation in the beginning of a sentence
 Kim HJ (2005) is ...
 Kim & Lee (2007) is ...
 Kim et al. (2008) is ...
 Park (2007a) is ...
Citation in the end of a sentence
 (Kim HJ 2005), (Kim & Lee 2007), (Kim et al. 2008).
 - 2) For several citations in the text, the cited sources should be presented in chronological order or in alphabetical order of authors, in case of the same year.
e.g. (Lee et al. 2007; Kim HJ 2008; Park & Kim 2008)
17. KSFAN actively recommends to cite articles (2 or more) published in the journal of the Society.
18. **The arrangement of references shall be put in alphabetical order of author's last name.** Abbreviation of journal in cited references shall comply with international standards for abbreviation. The examples of

cited references are as follows:

1) Academic Journal

Kim KW, Ko CJ, Park HJ. 2002. Mechanical properties, water vapor permeabilities and solubilities of highly carboxymethylated starch-based edible films. *J Food Sci* 67:218-222

2) Edited Books

Brock TD, Smith DW, Madigan MT. 1984. *Biology of Microorganisms*. pp.100-105. Prentice-Hall. Inc.
AOAC. 1980. *The Association Official Methods of Analysis*. 13th ed. pp.3508-3515.

3) Bulletin, Dissertations

Hur YH, Lee SG, Suh JS. 1987. Studies on the change in components of γ -irradiated soybean during fermentation. *Ann Bull Seoul Health Junior College* 7:7-14.
Ciaccio CF. 1983. A study on mineral contents in processed foods. Ph.D. Thesis, North Dakota State Univ. Fargo. North Dakota

4) Patents

Bernard S. 1988. Preproofed, frozen and refrigeration and crusty bread and method of making same. US Patent 4,788,067

5) Oral Presentation of Manuscript at Symposia

Huhtanen CN. 1988. Preparation of cold water dispersible cocoa powder. Abstract 21, 42nd *Ann Meeting Inst Food Technol* Atlanta

6) Internet Source

Korean National Statistical Office. 2007. The statistics of mortality and the cause. Available from <http://www.kostat.go.kr> [cited 20 January 2014]

19. Article abbreviations should be presented in accordance with Chemical Abstracts. Academic terms, if possible, should be provided in Korean.

20. The quantity always should be express in Arabic numerals and units should be express, if possible, in accordance to the International System of Units (SI). Units and abbreviations of predicate terms shall abide by recommendation provided by the Society. However, in case where there is any unavoidable reason, such exceptions must be clearly explained in the beginning of the text.

21. In principle, revision is accepted during the proofreading made by only the authors of the manuscript. No changes or insertions shall be made in the contents during the revision. Provided, That matters, in case of deemed necessary, may be revised by an editor. The copyright of all published articles in the journal of KFN shall devolve on the Society.

22. The paper contributor should pay the expenses for publication (50,000 KRW/page). In case of color printing of images and book publication with more than 30 volumes, the actual expenses must be paid by the paper contributors.

23. The number of published article per main author is limited to two in each issue, and 30 or less of fully edited papers will be submitted by the 20th of that month.

24. Any matters not explicitly stated in these regulations shall be determined by the Publishing Committee.

※ Guide for authors have been partially amended as of June 16th, 2016. Please refer to the guidelines for more details for manuscript submission commencing from **Volume 29, Issue 4**.

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION

Vol. 36, No. 5 October 2023

pISSN : 1225-4339

eISSN : 2287-4992

Homepage : <http://ksfn.kr>

Full-text : www.eksfan.or.kr

President

Soo-Jeong Lee (Bucheon Univ.)

Vice Presidents

Mi-Ok Kim (Daegu-Health College)

Bum Sik Kim (Yeonsung Univ.)

Ok-Sun Kim (Jangan Univ.)

Jong Hee Kim(Seoil Univ.)

Hye Sook Ryu(Sangji Univ.)

Jong-Sook Kwon(Shingu Univ.)

Yeon-Jung Kang (CJ freshway)

Seung - Hee Hong (Shinhan Univ.)

Editor-in-Cheif

Seog-Won Lee(Yuhan Univ.)

Editors

Youn-Ri Lee(Daejeon Health Institute of Technology)

Jean Kyung Paik(Eulji Univ.)

Soo-Youn Kwon(Shingu Univ.)

Hojin Lee(Korea National University of Transportation)

Manuscript editor

Seo Lin Yang

Secretary General

Jean Kyung Paik(Eulji Univ.)

Editorial Board

Ki Hyun Sim(Sookmyung Woman's Univ.)

Yoon Sin Oh(Eulji Univ.)

Jee Young Yeon(Seowon Univ.)

Hyun Jung Kim(Jeju National Univ.)

Kyu-Ho Han(Obihiro Univ.)

Gyu Sang Han(Honam Univ.)

Yong Hae In(Chungnam National Univ.)

Ok-Sun Kim(Jangan Univ.)

Gi Dae Kim(Kyungnam Univ.)

Young Mo Kim(Kwangju Women's Univ.)

Hyun Ju Kim(Daejeon Health Institute of Technology)

Se Ho Lee(Junganatafla)

Min Sun Moon(Erom Corporation)

Aims & Scope

The Korean Journal of Food and Nutrition (Korean J. Food Nutr.) is the official journal published quarterly in February, April, June, August, October and December each year. Contributions written in English and Korean are welcomed in the form of review articles, research papers, and research notes. This journal aims to promote and encourage the advancement of the field of food science with nutrition. Topics covered include:

- impact of nutritional science on food product development
- nutritional implications of food processing
- nutritional quality of novel foods
- food-nutrient interactions
- use of fermentation and biotechnology in food science/nutrition
- nutritional and physiological aspects of bioactive compounds in food
- dietary requirements and nutritive value of food

ISO abbreviation of journal title

The official title of the journal is 'The Korean Journal of Food and Nutrition' and the abbreviated title is 'Korean J. Food Nutr.'

Year of launching (history)

The Korean Journal of Food and Nutrition was launched in 1988.

Availability of the full-text in the web

The URL address of the Journal is 'www.eksfan.or.kr' where full text is available.

Indexed in database

Some, or all, of the articles in this journal are indexed in Ksfan, DOI/crossref, Google scholar, the National Research Foundation of Korea(NRF) and Korea Citation Index (KCI).

Fund support

This journal was supported by the Korean Federation of Science and Technology Societies (KOFST) Grant funded by the Korean Government.

Subscription information

Correspondence concerning business matters should be addressed to Secretary Treasurer Hyun Sun Lee, Department of Food and Nutrition, Bucheon Univ. 25, Sinheung-ro 59beon-gil, Bucheon-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea.(Cell: 82-10-8786-3449, E-mail: lksj1234@nate.com) The subscription price of this journal is Korean Won, ₩40,000 (US\$ 30.00 or equivalent) annually. Back issues are available.

Contact information

Manuscripts should be submitted via the online Manuscript Central website (<http://ksfn.kr>) Other correspondences can be sent by an e-mail to foodnutr1@naver.com (Editor, Hojin Lee, Major of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, 61 Daehak-ro, Jeungpyeong-gun, Chungbuk, 27909 Korea, Cell: +82-10-4907-3711) The manuscript and other required documents including a completed Copyright Assignment Form and Checklist for original article should be emailed as attachments to the above e-mail address.

Publication fee

A page charge is effective for all manuscripts on original research. A review is exempt from page charges, provided it is approved in advance by the Editor-in-Chief. The actual charge per printed page will be notified to the author along with the manuscript for galley proofs.

Published by

The Korean Society of Food Science and Nutrition

Department of Food and Nutrition, Bucheon University, 25 Sinheung-ro 56beon-gil, Bucheon-si, Gyeonggi-do, 14632 Korea
Tel: +82-32-610-3445, Fax: +82-32-610-3205 E-mail: ksfan88@hanmail.net

Editorial office of the Korean Journal of Food Science and Nutrition

Major of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, 61 Daehak-ro, Jeungpyeong-gun, Chungbuk, 27909 Korea
Tel: +82-43-820-5338, Fax: +82-43-820-5850, E-mail: hojin@ut.ac.kr

Printed by Guhmok Munhwansa

259-1, Euljiro3-ga, Jung-gu, Seoul, 04549, Korea

Phone: +82-2-2277-3324, Fax: +82-2-2277-3390, E-mail: guhmok@guhmok.com

Editor-in-Chief

Professor, Seog-won Lee

Department of Hotel Culinary Art and Foodservice Management, 590, Gyeongin-ro, Bucheon-si, Gyeonggi-do 14780, Korea

Cell: +82-10-5201-8325, E-mail: goodabba@yuhan.ac.kr

It is printed on acid-free paper.

Copyright ©2023 by The Korean Society of Food and Nutrition

This work was supported by the Korean Federation of Science and Technology Societies(KOFST) grant funded by the Korean government.



영양사 시험문제집

제28판
2도 인쇄 | 값 42,000원

영양사 요점정리

제24판
2도 인쇄 | 값 42,000원

문운당 위생사 실기

제10판
4도 인쇄 | 값 31,000원

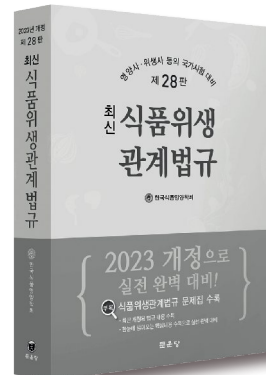
문운당 위생사 필기

제10판
2도 인쇄 | 값 42,000원



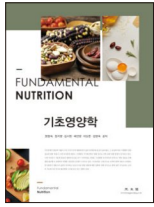
제3판 식품학

2도 인쇄 | 값 24,000원
강의용 보조자료(PPT) 제공



최신 식품위생관계법규

개정 제28판 (7월 출간 예정)
30,000원



기초영양학 [신간]

최향숙·김미옥·정지영 외 공저
컬러판 / 368쪽 / 정가 26,000원

영양학의 기본 지식인 5대 영양소의 기능, 소화와 흡수, 대사, 관련된 건강 문제에 대해서 중점적으로 다루었다.



식품위생관계법규편람 (개정 32판)

식품위생법규 교재편찬위원회 편저
46배판 / 420쪽 / 정가 20,000원

식품위생법규를 원문 그대로 단순히 옮기는데 그치지 않고, 학습효과를 최대한 높이도록 편집하였다.



식품조리원리 [신간]

정재홍·김중현·김현영 외 공역
컬러판 / 360쪽 / 정가 25,000원

식품의 특성과 조리 과정 중의 변화 등을 중심으로 구성하였다.



식품재료학

김은미, 박문옥 외 공저 / 46배판
438쪽 / 정가 28,000원 / 컬러판

우리가 흔히 접하는 식품 재료 뿐만 아니라 눈에 보이지 않는 보조 재료까지 나누어 정리하였다.



흥미롭고 다양한 세계의 음식문화

정정희·정수근 외 공저 / 46배판
384쪽 / 정가 29,000원 / 컬러판

세계 각국의 다양한 음식문화를 접함으로 기후와의 관계, 종교와의 관계, 그들 문화와의 관계 등을 이해할 수 있다.



커피사전

西東社編集部 편 / 이정기 감수
288쪽 / 정가 24,000원 / A5, 컬러판

일반 사전과는 조금 달리 매우 실용적이며, 커피에 관한 모든 최신 정보들까지 간결하게 설명하고 있다.



단체급식실습

이애랑, 박경숙 외 공저 / 46배판
224쪽 / 정가 20,000원 /

단체급식 실무에서 사용하고 있는 서식을 포함하여 급식관리 이론과 실습에 대한 내용을 서술하였다.



식생활관리

박경숙 · 최향숙 · 오윤재 외 공저 / 46배판
312쪽 / 정가 23,000원 / 컬러판

맛과 개성과 건강까지 생각하는 요즘, 집에서 누구나 따라할 수 있는 홈베이킹 입문서이자 전문서를 구상하였다.



제과 제빵 이론 및 실기

홍행홍 · 민경찬 · 서홍원 외 공저
46배판 / 504쪽 / 정가 30,000원

제과사, 제빵사 자격시험의 출제 과목별 '요점 정리'와 '예상문제'를 자세하게 수록하였다.



2023 영양사 모의고사 핵심 문제집

| 영양사국가고사시험연구회 편저 | 국배판(210mm×297mm) | 276쪽 | 값 26,000원 |

**실전과 같은 모의고사
4회 수록**

제1교시 영양학 및 생화학(60), 영양교육, 식사요법 및 생리학(60)
제2교시 식품학 및 조리원리(40), 급식, 위생 및 관계법규(60)

최고의 적중률! 100%합격을 위한 핵심문제출제! 실전과 같은 OMR카드 4회 수록

영양사 모의고사 핵심 문제집은 4회의 모의고사 문제로 영양사 시험 1, 2교시로 나누고, 220문제로 구성하고 각 4회 시험 마지막 부분에 정답과 해설을 첨부하여 정리할 수 있도록 편집하였다. 본 모의고사 문제는 다년간 영양사 국가고사에 출제 경험이 풍부한 식품영양학과 교수들 중심으로 국가시험 실전에 대비하여 수험생의 합격률을 높이기 위하여 최신 출제 문항과 적중률 높은 문항으로 구성하였다. 영양사 모의고사 핵심 문제는 그동안 학교에서 배운 시험 과목과 영양사 국가시험을 준비한 수험생이 최종적으로 자체 점검하는 영양사 국가고시를 대비한 실전 문제로 개발하였다.

제24회 식품위생관리사 시험안내

Korea Food Sanitation Management Association
한국식품위생관리협회
www.fsmc.co.kr
기타 문의 : (031) 955-2755

○ 식품위생관리사 및 응시 자격

식품의 구매에서 제조·가공·저장·유통·조리의 전 과정을 일관성 있게 관리·감독할 수 있는 기능인을 양성하고, 그에 합당한 자격을 부여하기 위해 신설된 민간 자격증이다.

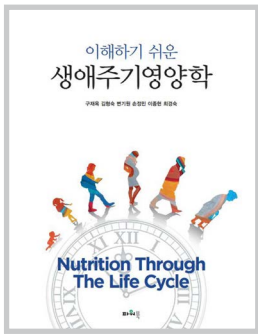
- ① 고등학교를 졸업하고 2년 이상 식품산업체 및 공공기관에서 근무 경력이 있는 자
 - ② 전문대학 이상의 보건, 위생, 식품, 영양, 환경 관련 학과에서 40학점 이상의 학점을 이수한 자
- 도서출판 광문각에서 발간된 《식품위생관리사시험 예상문제집》을 활용하면 많은 도움을 받을 수 있다.

○ 시험 과목 수 · 문제 수 및 배점 기준

1교시	단체급식관리(30)	2교시	HACCP 실무(30)	객관식 5선다지 문항 당 1점 총점 140점
	식품매개 질병관리(30) 식품재료학(20)		기초영양학(30)	

○ 접수 신청 및 관련 사항

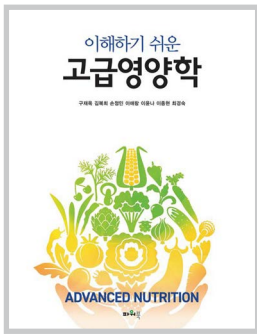
- 원서 접수 : 2023년 5월 17일(수)까지
- 시험 일자 : 2023년 5월 27일(토)
- 시험 장소 : 서울, 부산, 경기, 대구, 광주, 대전, 창원, 익산, 전주
- 신청 방법 : www.fsmc.co.kr 에 접속 후 식품위생관리사 자격시험 공고 참고
- 교재 문의 및 단체구입 : 도서출판 광문각 (031) 955-8787, 홈페이지 : www.kwangmoonkag.co.kr



이해하기 쉬운 생애주기영양학

구재욱 · 김형숙 · 변기원
손정민 · 이종현 · 최경숙

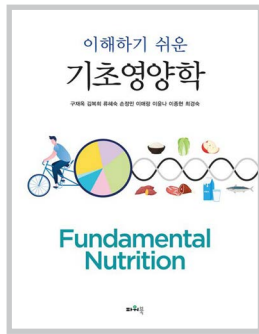
396쪽 | 값 25,000원
978-89-8160-474-5 (93590)



이해하기 쉬운 고급영양학

구재욱 · 김복희 · 손정민 · 이애랑
이윤나 · 이종현 · 최경숙

456쪽 | 값 26,000원
978-89-8160-477-6 (93590)



이해하기 쉬운 기초영양학

구재욱 · 김복희 · 류혜숙 · 손정민
이애랑 · 이윤나 · 이종현 · 최경숙

304쪽 | 값 23,000원
978-89-8160-475-2 (93590)



이해하기 쉬운 식생활관리

권순자 · 김미리 · 손정민 · 김중희
이연경 · 최경숙 · 정현아

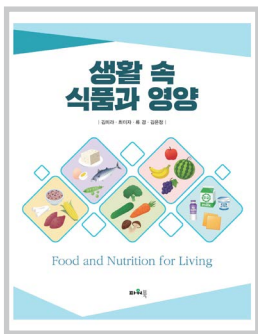
324쪽 | 값 23,000원
978-89-8160-483-7 (93590)



식사요법 및 실습

김미현 · 배윤정 · 성미경 · 연지영
이지선 · 임희숙 · 조혜경 · 최미경

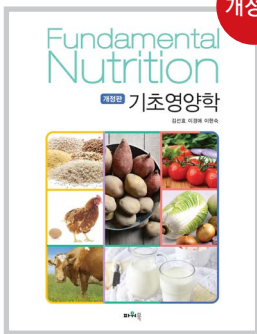
500쪽 | 값 27,000원
978-89-8160-480-6 (93590)



생활 속 식품과 영양

김미라 · 최미자 · 류경 · 김은정

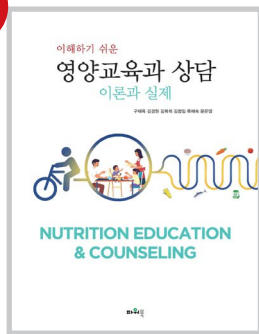
300쪽 | 값 22,000원
978-89-8160-479-0 (93590)



기초영양학

김선호 · 이경애 · 이현숙

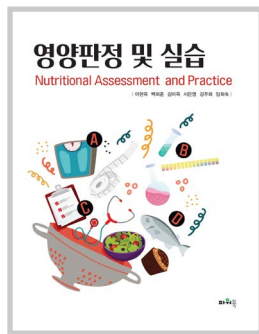
376쪽 | 값 24,000원
978-89-8160-471-4 (93590)



이해하기 쉬운 영양교육과 상담 -이론과 실제-

구재욱 · 김경원 · 김복희
김창임 · 류혜숙 · 윤은영

424쪽 | 값 25,000원
978-89-8160-476-9 (93590)



영양판정 및 실습

이현옥 · 백희준 · 김미옥
서은영 · 강주희 · 임희숙

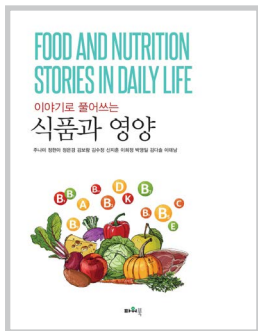
368쪽 | 값 24,000원
978-89-8160-482-0 (93590)



플러스 고급영양학

현태선 · 한성림 · 김혜경
권영혜 · 정자용

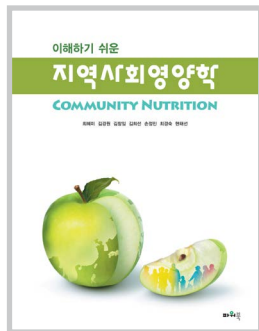
576쪽 | 값 29,000원
978-89-8160-488-2 (93590)



이야기로 풀어쓰는 식품과 영양

주나미 · 정현아 · 정은경 · 김보람
김수정 · 신지훈 · 이희정 · 박영일
김다솔 · 이태남

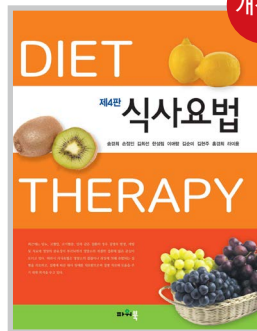
304쪽 | 값 22,000원
978-89-8160-478-3 (93590)



이해하기 쉬운 지역사회영양학

최혜미 · 김경원 · 김창임 · 김희선
손정민 · 최경숙 · 현태선

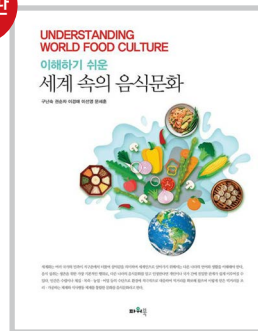
352쪽 | 값 24,000원
978-89-8160-485-1 (93590)



제4판 식사요법

송경희 · 손정민 · 김희선
한성림 · 이애랑 · 김순미
김현주 · 홍경희 · 라미용

448쪽 | 값 26,000원
978-89-8160-484-4 (93590)



이해하기 쉬운 세계 속의 음식문화

구난숙 · 권순자 · 이경애
이선영 · 문세훈

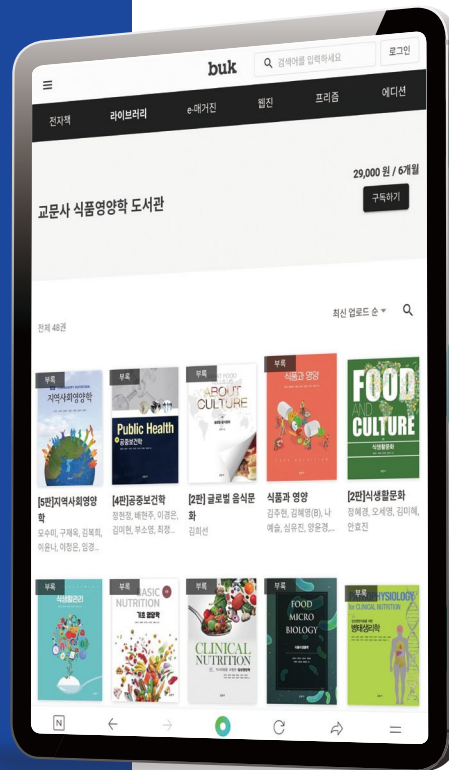
360쪽 | 값 23,000원
978-89-8160-494-3 (93590)

교문사 식품영양학 50여 종 무제한 구독서비스 실시

(계속 업데이트 중)

구독서비스란?

일정 금액으로 정해진 기간동안
교문사에서 출간된 식품영양학 모든 교재를
E-Book으로 열람할 수 있는
구독형 라이브러리 서비스



무거운
도서는
이제 그만!

태블릿
하나로
해결!

더 편하고
더 가볍게
공부하세요!

교문사 식품영양학 도서관



정용섭 부장 010.4216.9636 subi@gyomoon.com
서울 및 수도권, 충남, 충북, 대전, 전북지역

송기윤 부장 010.6206.0993 curlysky@gyomoon.com
서울 및 수도권, 부산, 경남, 충청, 광주, 음성지역

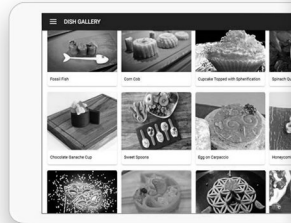
진경민 과장 010.7130.1350 jinkm@gyomoon.com
서울 및 수도권, 대구, 경북, 강원도, 광주, 전남지역, 제주



(10881) 경기도 파주시 문발로 116
TEL 031) 955-6111~4 | FAX 031) 955-0955
Homepage www.gyomoon.com
E-mail genie@gyomoon.com

푸드 3D프린터 개발

푸드테크(Food-Tech)는 **식품(Food)**과 **기술(Technology)**을 결합한 신조어로 식품에 기술을 접목한 분야입니다.
LSB는 푸드테크 분야의 쿠키 프린터 개발을 지원합니다.



▲ 푸디니(FOODINI) 스페인 Natural Machines社 공식총판

푸드 3D 프린터가 가져올 변화

- ✓ 자신이 설계한 레시피 모양 그대로 요리를 만들어 주는 3D프린터
- ✓ 개인의 체질, 체형에 따른 맞춤형 식품을 생산
- ✓ 요리에 필요한 전 과정의 간소화로 생활의 패러다임 변화



▲ 초코J (Choco J)
자사개발 교육용 초코프린터



▲ 초코CC (Choc Creator V2.0 Plus)
영국 choc Edge社 공식총판



▲ 초코지니 (Choco Jenie)
양산형 초코프린터

CJ프레시웨이가 함께하는 맞춤 케어푸드

헬씨누리

HEALTHY NURI



소중한 사람을 위한 그 마음
건강하고 활기찬 미소로 이어지도록
CJ프레시웨이가 정성을 더해 전합니다



헬씨누리만의 건강하고 다양한 상품과
정성 담긴 서비스를 만나보세요

차별화된 상품

 High 많이 먹어야 건강한 영양소는 더 많이	 Low 적게 먹어야 건강한 성분은 더 적게	 Easy 편하게 드릴 수 있도록 더 부드럽게
---	---	--

다양한 서비스

 맞춤 식단 관리 서비스 제공	 건강정보 매거진 제공	 정기적인 교육 프로그램 운영	 급식운영 트렌드 세미나 개최
------------------------	--------------------	------------------------	------------------------

CJ프레시웨이 홈페이지와 전화로 문의해주세요.

고객센터 02-2149-6114





fresh food!

(주)델리에프에스

업력 23년, 국내 최고의

“단체급식 전문기업”

‘델리에프에스’는 ‘기업의 사회적 책임’을 이행해 왔습니다.

사업분야

- ★ 관공서, 공공기관 급식
- ★ 산업체, 오피스 급식
- ★ 연수원, 대학교 급식
- ★ 지식산업센터 급식
- ★ 외식사업

- 사회소외분야, 취약계층 지원
(불우 청소년, 독거노인 등)
- 높은 장애인 고용율
- 청소년 재단 불우청소년후원
- 1사1촌 농촌지원 등

대표이사 **신 무 현**

서울시 강남구 선릉로 93길 9, 5F(역삼동, 장원빌딩)

TEL. (02) 3453-0755 / FAX. (02) 3452-6747

Mobile : **010-3725-0452**

E-mail : shinceo@hanmail.net

www.defs.co.kr



fresh food!

(주)델리에프에스

Tel. 02)3453-0833 / www.defs.co.kr

글로벌 친환경 지속가능 유망기업 속초물산 / 양양키토산

속초물산은 동해안 심해에서 잡히는 붉은대게의 껍질을 이용한 키토산, 키토산 및 식품첨가물, 건강식품, 화장품, 의료용 소재 등을 생산하는 친환경 바이오 제품 생산 전문 업체입니다.

동해안 속초붉은대게로 만드는 BIO 제품을 생산하는 천연 키토산 전문업체

속초물산의 친환경 키토산 제품은 지구 환경과 우리 삶의 질을 향상 시키는 바이오 제품 개발의 선두주자 입니다.

| 생산제품 | 키토산, 키토산, 수용성키토산, 키토올리고당
나노화이버키토산, 농업용/사료용 키토산·키토산

생산품목

- ▶ 키토산, 키토산, 수용성 키토산, 키토 올리고당, 글루코자민, 나노화이버 키토산, 농업용/사료용 키토산/키토산



식품 및 Bio 산업분야 제품 활용

- ▶ 수용성 키토산의 음료, 식품 및 화장품의 품질기능 강화제
- ▶ 키토산 및 키토산의 의약 및 의료용 소재
- ▶ 키토산 및 키토산의 유기농업자재(상품명: 쑥쑥튼튼, 특허 제10-2351106)
- ▶ 키토산 및 키토산의 생분해성 천연 기능성 포장재

보유기술

- ▶ 키토산 및 키토산 유도체 생산기술(특허 제10-1915730호)
- ▶ 기능성 식품소재 생산용 생물전환기술
- ▶ Phytochemicals의 이용성 및 효율성 증진용 Nanofabrication 기술
- ▶ 광반응(photo-reactive) 천연 고분자 제조 기술



운영중인 기업부설 연구소(식품 및 의약분야)

- ▶ 속초물산 붉은대게(홍게) 연구소(과학기술정보통신부, 제2019111426호)
- ▶ (주)일신티에이치이 R&D Center(과학기술정보통신부, 제2023111935호)



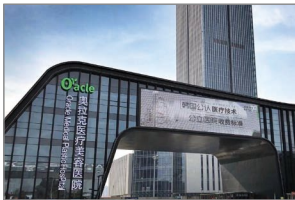
오라클메디컬그룹

No.1 Clinic Network in Korea



전 세계
100여개 지점 보유

오라클메디컬그룹 계열사 소개



KORACLE LIMITED
오라클 병원사업



뉴셀파마(주)
피부과·성형외과 포털
전문 쇼핑몰



오라클코스메틱(주)
코스메슈티컬, 화장품



텐소프트(주)
병·의원 전자차트



텐텍(주)
10THERMA, 10THERA



오라클피부임상시험센터(주)
인체적용시험기관

서울시 강남구 선릉로 612 한일빌딩 4층
Mobile: +82-10-2063-8974 / E-mail: info@oraclemedicalgroup.com

토탈밀솔루션은 지난 15년간 연구를 통해 축적해온 빅데이터와
지식 기술 기반으로
맞춤형 식사관리&식사구독, 건강레시피,
밀키트상품, 섭식교육컨텐츠 등을 제공합니다.

나이가 무색한 네오실버 세대의
건강하고 활기찬 일상을 지원하는
포털서비스



진정한 마음으로 고객을 대접하는
기업이 되겠습니다.
많은 관심과 사랑 부탁드립니다.



감사합니다.

(주) 신원티엠에스
대표이사

신원희



토탈밀솔루션



들깨파스타밀키트
(2인분)



들깨냉모밀밀키트
(2인분)



만능들깨소스
(2kg/500g)



들깨버섯소스
(2kg/500g)



들깨조랭이밀키트
(2인분)



들깨패밀리팩
(파스타+조랭이+냉모밀)



신선하고 건강한 식재료로 채워진 스마트 다이닝

신박한 밥상
Dr.Shin's Dining



신박한 밥상

2023년도 한국식품영양학회 평의원

강남이	박희옥(가천대학교)	이용권(유한대학교)
강선문(농촌진흥청)	배윤정(한국교통대학교)	이재우(김천대학교)
권수연(신구대학교)	백승희(신구대학교)	이재학(서일대학교)
권순형(한양여자대학교)	백재은(부천대학교)	이정실(경동대학교)
권중숙(신구대학교)	백진경(을지대학교)	이종현(동남보건대학교)
금중화(대전보건대학교)	변기원	이주희(경상대학교)
김건희(덕성여자대학교)	변진원	이찬(한서대학교)
김경민(배화여자대학교)	서현창(신구대학교)	이호진(한국교통대학교)
김광옥	손규목	이현옥(연성대학교)
김동희	손춘영(동남보건대학교)	이현주(목포과학대학교)
김명숙(서해대학교)	송태희(배화여자대학교)	장상문(대구보건대학교)
김미옥(대구보건대학교)	송희순(광주보건대학교)	장재선(가천대학교)
김미자(강원대학교)	신경옥(삼육대학교)	전순실
김미지(대구보건대학교)	신동선(농촌진흥청)	정사무엘(충남대학교)
김미현(경일대학교)	신서영(서일대학교)	정수영(제주한의학연구원)
김범식(연성대학교)	신성균(한양여자대학교)	정하숙(덕성여자대학교)
김병숙(전북과학대학교)	심기현(숙명여자대학교)	정혜연(승의여자대학교)
김숙희(혜전대학교)	심창환(경민대학교)	정혜영(가천대학교)
김순미(가천대학교)	양성범(단국대학교)	정희선(숙명여자대학교)
김애정(경기대학교)	연지영(서원대학교)	조갑연(우송정보대학교)
김영모(목포과학대학교)	오성천(대원대학교)	조우균(가천대학교)
김영성(신한대학교)	오세인(서일대학교)	주나미(숙명여자대학교)
김영순(고려대학교)	오왕규(동원대학교)	차윤환
김옥선(장안대학교)	오윤신(을지대학교)	최경순
김정미(대구과학대학교)	유경미(승의여자대학교)	최남순(배화여자대학교)
김중현(마산대학교)	유경혜(대전보건대학교)	최병범(신성대학교)
김종희(서일대학교)	윤옥현(김천대학교)	최은영(부천대학교)
김중배(상지영서대학교)	윤지영(숙명여자대학교)	최정화(승의여자대학교)
김지명(신한대학교)	윤택준(유한대학교)	최향숙(경인여자대학교)
김창입(대전과학기술대학교)	이경행(한국교통대학교)	최현숙(충청대학교)
김현정(제주대학교)	이광수	최희숙(신안산대학교)
김현주(대전보건대학교)	이미경(광주보건대학교)	하애화
남정혜(경민대학교)	이별나(대구공업대학교)	한규상(호남대학교)
남진식(수원여자대학교)	이보숙(한양여자대학교)	한규호(Obihiro Univ.)
류혜숙(상지대학교)	이상현(장안대학교)	허성미(안동과학대학교)
문영자	이석원(유한대학교)	허채옥
문숙희(경남정보대학교)	이성호(계명문화대학교)	홍승희(신한대학교)
박경숙(장안대학교)	이세호((주)중앙타프라)	황금희(동강대학교)
박금미(신구대학교)	이수정(부천대학교)	황병순(농촌진흥청)
박영십(신한대학교)	이수한	황성연(한경대학교)
박우포(마산대학교)	이애랑	황인국(농촌진흥청)
박현국(동남보건대학교)	이연리(대전보건대학교)	황자영(동남보건대학교)
박혜영(농촌진흥청)	이옥환(강원대학교)	황혜정(전 동부산대학교)

한국식품영양학회지 제36권 제5호

The Korean Journal of Food and Nutrition
Vol. 36. No. 5. October 2023

발행인 이수정
편집인 이호진
발행처 한국식품영양학회
 (우) 14632
 경기도 부천시 원미구 신흥로 56번길(심곡동)
 부천대학교 식품영양학과 내
 Tel: 032-610-3445/ Fax: 032-610-3205
 E-mail: ksfan88@hanmail.net
발행일 2023. 10. 31.
인쇄 거목문화사/거목인포
 Tel: 02-2277-3324
 Fax: 02-2277-3390
 E-mail: guhmok@guhmok.com

Publisher SooJeong Lee
Editor Ho Jin Lee
Published by The Korean Society of Food and Nutrition
 Tel: +82-32-610-3445 / Fax: +82-32-610-3205
 E-mail: ksfan88@hanmail.net
Printed Date 2023. 10. 31.
Printed by Guhmok Publishing/Guhmok Info
 Tel: +82-2-2277-3324
 Fax: +82-2-2277-3390
 E-mail: guhmok@guhmok.com

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION

제36권 제5호 2023. 10



한 국 식 품 영 양 학 회

THE KOREAN SOCIETY OF FOOD AND NUTRITION
<http://ksfn.kr>