

최 중  
연구보고서

GOVP1200625654

T0016365

**뽕잎을 이용한 기능성 두부와  
비지가공식품 개발 및 기능적 효과 규명**  
Development and Functional Effect Identification  
of Mulberry Leaf Soybean Curd and Soybean Curd  
Residue Processed Food

연구기관  
주관기관 : 단국대학교  
협동기관 : 혜전대학

농 립 부

## 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “뽕잎을 이용한 기능성 두부와 비지가공식품 개발 및 기능적 효과 규명” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006년 5월 24일

주관연구기관명 : 단국대학교

총괄연구책임자 : 김명환

세부연구책임자 : 김명환

협동연구기관명 : 혜전대학

협동연구책임자 : 김애정

# 요 약 문

## I. 제 목

콩잎을 이용한 기능성 두부와 비지가공식품 개발 및 기능적 효과 규명

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 우리나라는 경제 수준 향상, 핵가족화, 맞벌이 부부의 증가 등 사회·경제면의 급속한 발전과 함께 식생활과 생활양식에도 커다란 변화를 가져왔으며 이에 따른 질병유형과 사망원인의 변화도 주목되고 있다. 식물성 식품 섭취량은 점차 감소되고 육류 위주의 서구형 식생활의 변화로 동물성 식품 섭취량은 현저히 증가되어 비만, 순환기계 질환, 당뇨병 등 만성퇴행성 질환의 발생과 그로 인한 사망률이 급격히 증가하고 있어 사회적으로 크게 이슈화되고 있는 상황이다. 또한 공기, 물, 흙 등이 공해로 오염되면서 환경이 나빠지자 암을 비롯한 현대병이 인류를 위협하고 있어 이를 예방관리하기 위한 대책의 중요성이 강조되고 있다.

지금 콩으로 성인병을 예방하고 치유하자는 움직임이 세계적으로 활발히 진행되고 있다. 콩과 그 제품에는 여러 가지 기능성 물질이 들어 있으며, 어느 부분이나 성분을 버릴 것이 없어 콩 전체를 이용하거나 식용하는 것이 바람직하다. 성인병을 예방하고 줄이기 위해서는 콩의 섭취를 늘려 약 50 g 정도를 섭취하는 것이 바람직한데, 이는 현재 공급량의 2배 정도가 된다. 또한 최근 들어 광우병, 조류독감, 구제역 등, 동물성 단백질 급원인 축산물의 안전성 부재로 새로운 단백질 대체식품의 등장 이 필수적이다. 이러한 시점에서 비지를 이용한 새로운 형태의 고섬유소, 고단백질의 햄버거용 패트나 육류 대용품이 개발된다면 시장 점유율은 매우 밝다고 전망하겠다. 반면 콩 비지는 두유나 두부 제조시 얻어지는 부산물로서 저장성이 낮고 영양적 가치가 떨어진다고 하여 경시되어 왔으나, 최근 들어 두유 산업이 급성장 하면서 이의 활용방안에 대한 요구와 관심이 증가하고 있다.

한편, 뽕나무(*Morus species*)의 잎은 중국의 전통생약으로 당뇨병을 예방, 치료 하며 갈증을 해소시키고, flavones, steroids, triterpene, amino acids와 미네랄과 비타민 등이 풍부하게 함유되어 있다. 국내 연구를 통해서도 콩잎의 GABA 성분은 혈압을 낮추어 주며, rutin은 뇌혈관을 튼튼하게 해주고 혈관에 붙어 있는 기름덩어리를 제거하여 동맥경화를 예방하는 것뿐만 아니라 중금속 흡착억제 및 해독작용을 하는 것으로 밝혀졌다. 이러한 콩잎은 다양한 건강 기능성을 가지고 있는 식품이며 쉽게 재배할 수 있는 장점을 가지고 있지만 식품이라는 인식이 미흡하고 소비의 폭

이 좁아 잠업농가의 경쟁력이 낮기 때문에 이를 폭넓게 이용하여 소비하기 위한 기술개발이 필요한 실정이다.

따라서 본 연구는 빵잎 또는 비지를 이용하여 새로운 기능성 가공식품인 두부, 요구르트, 햄버거용 페트, 노인 간식용 쿠키 등을 개발하고 동물실험과 임상실험을 통하여 그 기능적 효과를 규명하여 우리 콩과 빵잎의 우수성을 재조명하고 산업화를 통하여 관련 산업계의 활성화 및 국민건강 증진에 기여하는데 있다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### 가. 빵잎두부 제조공정의 최적화 및 표준화

- 두부에 첨가할 빵잎 분말과 페이스트 형태의 빵잎 추출물 제조 공정의 최적화 및 표준화
- 식품소재로서의 빵잎 분말과 빵잎 추출물 제품 개발
- 빵잎(분말형태, 페이스트형태)첨가 두부에 대한 이화학적, 미생물적 분석 및 관능적 특성 평가
- 빵잎 두부 제조공정의 표준화
- 기능성 빵잎 두부제품 개발을 통한 특허출원

#### 나. 빵잎두부의 저장성향상

- 빵잎두부의 천연방부제 첨가를 이용한 저장성 향상분석
- 저장유통기간 증대를 위한 빵잎 두부제조공정의 표준화

#### 다. 빵잎과 비지를 이용한 새로운 가공식품 (햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠키)개발

- 비지분말과 빵잎분말을 이용한 돼지고기 햄버거용 페트개발
- 비지분말과 빵잎분말을 이용한 쇠고기 햄버거용 페트개발
- 비지분말과 빵잎분말을 이용한 돼지고기와 쇠고기 혼합형 햄버거용 페트개발
- 비지분말과 빵잎분말을 이용한 노인 간식용 쿠키개발

#### 라. 빵잎을 이용한 요구르트 개발

- 빵잎분말을 이용한 요구르트 개발
- 빵잎추출물을 이용한 요구르트 개발

마. 동물실험을 통하여 개발된 빵잎 분말의 기능성 규명

- 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 빵잎 분말에 대한 항고지혈증 규명
- 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 빵잎 분말에 대한 중금속 제거효과 규명

바. 임상실험을 통하여 개발된 빵잎분말두부의 기능성규명

- 빵잎두부 섭취가 비만 중년여성의 혈청 지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준변화에 미치는 효과규명
- 빵잎두부 섭취가 흡연 남자 성인의 손목 골밀도, 생화학 골대사지표 및 혈청 지질성상에 미치는 효과규명
- 빵잎두부가 저칼슘 섭취 여대생의 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표 및 지질성상에 미치는 효과규명

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발결과

가. 두부제조공정의 최적화 및 빵잎두부 제조 시 빵잎 분말과 추출물의 최적첨가조건 연구

1) 두부제조공정의 최적화

두부 제조공정의 최적화를 위하여 제조공정과정에서 두부의 품질에 주요한 영향을 미치는 5가지 요인을 예비실험을 통하여 선별하였으며 선별된 요인(독립변수)으로는 응고온도, 응고시간, 압착압력, 응고제첨가량, 두유농도이었다. 중심합성설계법에 의거하여 각 비선형모형에 따른 27개의 실험 점을 정하였으며 독립변수의 수준에 따른 두부의 전체적인 품질의 기호도에 미치는 영향을 반응표면분석법으로 분석하였다. 5가지 요인의 수준변화에 따른 두부의 전체적인 품질의 기호도에 미치는 영향을 분석한 결과 두유농도가 가장 영향력을 미쳤으며 응고온도, 응고제첨가량, 압착압력, 응고시간 순으로 나타났다. 두유농도와 응고온도는 5%내에서 유의성 차이를 나타내었다. 두부제조공정의 최적조건은 응고온도(60℃), 응고시간(27.2 min), 압착압력(45.45 gr/cm<sup>2</sup>), 응고제첨가량(1.44%), 두유농도(5.0 ° Brix)이었으며 본 제조조건에서 전체적인 품질의 기호도 값은 6.2로 나타났다.

## 2) 콩잎두부 제조 시 콩잎 분말과 추출물의 최적첨가조건 연구

콩잎 두부 제조 시 콩잎 분말의 최적첨가조건을 조사하고자 high impact planetary mill을 이용하여 콩잎분말입자의 평균크기를 조절하였으며 콩잎두부 제조 시 첨가하였다. 콩잎분말입자의 평균크기와 농도 및 자몽종자추출물 농도에 따른 콩잎두부의 전체적인 품질 기호도 변화를 중심합성설계법을 이용하여 반응표면분석법으로 조사하였다. 또한, 콩잎추출물의 농도를 0~0.75%(w/w)로 조절하여 콩잎두부의 기호도 및 강도를 조사하였다. 콩잎분말입자의 평균크기와 농도 및 자몽종자추출물에 따른 콩잎두부의 전체적인 기호도에 미치는 영향 정도는 콩잎분말입자의 평균크기 > 콩잎분말의 농도 > 자몽종자추출물의 농도 순으로 나타났으며 콩잎분말입자의 평균크기와 콩잎분말의 농도는 5% 내에서 유의성 차이가 있었으나 자몽종자추출물의 농도변화에 따른 콩잎두부의 기호도에는 유의성 차이가 없었다. 본 실험의 흥미영역을 기준으로 볼 때 콩잎분말의 농도는 0.40%, 콩잎분말의 평균크기는 40 $\mu$ m, 자몽종자추출물농도는 176ppm의 첨가조건에서 최적화를 보였으며 이때의 콩잎두부 전체적인 품질의 기호도 값은 6.45로 나타났다. 콩잎추출물의 농도에 따른 콩잎두부의 기호도 및 강도를 조사한 결과 콩잎 특유의 떫은 맛 강도는 0.50%까지의 농도에서는 대조구와 거의 같은 값을 나타내었지만 0.75%의 농도에서 대조구보다 약간 높은 강도를 보였으나 5%내에 유의성 차이를 보이지 않았다. 콩잎추출물의 농도가 0.25%일 때 조적감에 대한 기호도 값을 제외하고는 색상, 맛 및 전체적인 품질의 기호도에서 가장 높은 값을 보였다.

### 나. 콩잎두부의 저장성 연장방안

#### 1) 침지액에 알칼리성 이온수 및 자몽종자추출물 첨가가 콩잎두부의 저장성에 미치는 효과

콩잎두부에 증류수, 자몽종자추출물(300ppm), 알칼리성 이온수를 침지액으로 넣은 다음 4 $^{\circ}$ C 와 25 $^{\circ}$ C에서 저장하면서 침지액의 산도, 탁도 등 이화학적 분석 및 콩잎두부에 대하여 호기성세균, 대장균, 혐기성세균, 효모 및 곰팡이 등의 미생물 분석을 하였다. 4 $^{\circ}$ C에서 18일간 저장 후 증류수, 자몽종자 추출물, 알칼리성 이온수의 산도는 각각 0.021, 0.008 및 0.002%로 나타났다. 반면 25 $^{\circ}$ C에서 5일간 저장시에는 0.042, 0.029 및 0.009%이었다. 4 $^{\circ}$ C에서의 18일 후 증류수, 자몽종자 추출물, 알칼리 이온수의 탁도는 0.50, 0.29, 0.21이었으며 25 $^{\circ}$ C에서 5일 후에는 0.38, 0.34, 0.27이었다. 두부침지액의 산도와 탁도 변화는 저장온도에 민감함을 알 수 있었다. 침지액이 증류수의 경우 4 $^{\circ}$ C저장에서는 18일 지나도 두부의 부패가 시작된다는 호기성미생물의 수가 10<sup>7</sup> CFU/g에 도달하지 않았는데 25 $^{\circ}$ C에서는 저장 1일 만에 도달하였다. 호기성세균, 대장

균, 혐기성세균, 효모 및 곰팡이 등의 미생물 수에 대한 공통적인 사항은 4℃저장이 25℃저장보다 자동종자추출물이나 알칼리성 이온수의 항균효과가 뚜렷하였다.

다. 빵잎과 비지를 이용한 새로운 가공식품 (햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠키)개발

#### 1) 비지분말과 빵잎분말을 이용한 햄버거용 페트개발

돼지고기 햄버거용 페트개발로 빵가루만으로 제조된 페트가 가장 높은 기호도를 보였다. 비지분말과 빵잎분말을 빵가루 40g의 대체품으로 이용할 경우 기호도 측면에서 대조구에 접근할 수 있는 조건은 비지분말 9.5g, 빵잎분말 1g, 빵가루 29.5g의 배합비율이다. 쇠고기 햄버거용 페트개발로 돼지고기를 주원료로 제조된 페트에서와는 다르게 흥미구역 안에서는 빵가루를 넣지 않고 36g의 비지분말과 4g의 빵잎분말을 이용하여 제조된 페트가 색상, 향, 맛, 조직감, 전체적인 평가 등 전 항목에서 가장 높은 기호도를 보였다. 따라서 기존의 햄버거 페트에 이용되는 빵가루 대신에 비지분말과 빵잎분말을 사용할 때 더욱 높은 기호도를 나타내며 산업화에 이용할 수 있다. 돼지고기와 쇠고기 혼합형 햄버거용 페트개발로 빵가루나 빵잎분말을 넣지 않고 40g의 비지분말로만 제조된 페트가 색상, 향, 맛, 조직감, 전체적인 평가 등 전 항목에서 가장 높은 기호도를 보였다. 이러한 결과는 돼지고기 햄버거 페트에서는 비지분말이 부정적으로 나타났지만 쇠고기 또는 돼지고기와 쇠고기를 혼합한 페트에서는 빵가루를 대신한 비지분말의 적용성이 탁월하게 나타났다. 이는 주원료의 향미와 비지분말 또는 빵잎분말의 향미조화와 관련이 있다고 사료된다.

#### 2) 비지분말과 빵잎분말을 이용한 노인 간식용 쿠키개발

쿠키에 들어가는 밀가루 165g을 대신하여 빵잎 분말과 비지분말의 적용성에 대하여 검토한 결과 빵잎분말을 넣지 않고 150g의 밀가루와 15g의 비지분말을 이용하여 제조된 쿠키가 색상, 향, 맛, 조직감, 전체적인 평가 등 전 항목에서 가장 높은 기호도를 보였다. 이는 비지분말의 적용성이 있다는 의미로 해석된다.

라. 빵잎을 이용한 요구르트 개발제조

#### 1) 빵잎분말을 이용한 요구르트 개발제조

일반적으로 빵잎분말입자의 평균크기가 커짐에 따라서 기호도는 떨어졌으며 빵잎분말의 농도가 높아짐에 따라서 기호도가 낮아졌다. 200 micron의 빵잎분말입자 평

균크기 와 빵잎분말의 농도0.75%(w/v)인 빵잎요구르트만이 대조구와 5%에서 유의성차이를 나타내었지만 나머지 조건에서 제조된 빵잎요구르트는 유의성차이가 나타나지 않았다. 따라서 대조구와 유의성차이가 없으므로 빵잎분말을 이용하여 요구르트 제조는 가능하나 기호도에서 문제점이 발견되었다.

## 2) 빵잎추출물을 이용한 요구르트 개발

빵잎 추출물 첨가량에 따른 빵잎요구르트의 기호도에 미치는 영향을 분석한 결과 대조구에 비하여 농도에 관계없이 빵잎 추출물 첨가 요구르트의 각 항목에 대한 기호도는 높았다. 전체적인 평가에서는 1%농도에서 최대 값을 나타내었으며 모든 농도에서 대조구와 유의성 차이를 보였다. 따라서 빵잎을 이용하여 요구르트를 제조할 때는 분말보다는 추출물을 이용하는 것이 바람직하다는 결과가 나왔으며 대조구에 비하여 월등히 기호도가 높으므로 산업화가 가능하다고 사료된다. 또한, 빵잎추출물 과 아울러 과일농축액(65 Brix)으로 사과, 매실, 자몽 및 복숭아를 이용하였을 때 요구르트 기호도의 상승효과를 확인하였다.

## 마. 동물실험을 통한 빵잎분말의 기능성규명

### 1) 빵잎분말이 고 콜레스테롤 식이 투여 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

본 연구에서는 빵잎분말이 고 콜레스테롤 섭취시 생체 내에서의(*in vivo*) 지질대사 개선에 미치는 효과를 알아보려고 하였다. 흰쥐에 콜레스테롤 1%인 사료를 급여하여 고지혈증을 유발시키면서 빵잎분말 (0%, 5%, 10%)을 해당사료에 첨가하여 4주간 섭취시켜 혈중 지질성분을 분석하여 비교하였다. 식이섭취량과 시작체중은 군간에 유의차가 없었는데, 체중증가량과 사료효율은 10% 빵잎첨가군 (HC10M)에서 가장 낮았다. 고 콜레스테롤 투여군 (HC)의 혈청 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL-cholesterol 농도는 정상대조군(C)을 포함한 다른 실험군들(HC5M, HC10M)에 비해 유의적으로 높았다. 빵잎분말이 급여된 실험군들(HC5M, HC10M)의 이들 지질 함량은 정상군보다 높았지만 HC군에 비해서는 유의적으로 낮은 수준을 보였다. HDL-cholesterol 함량은 상반된 결과를 보였다. 심혈관계인자는 고 콜레스테롤을 급여한 모든 군(HC, HC5M, HC10M)은 정상대조군(C)과 비교할 때 유의적으로 높아 심혈관계질환의 위험성이 높은 것으로 나타났으며, 실험군들(HC5M, HC10M)이 고 콜레스테롤 급여 대조군(HC)보다 유의하게 낮았는데, 10% 첨가된 실험군(HC10M)이 5% 실험군(HC5M)보다 더 효과적이었다. 혈청 AST 활성은 정상대조군에 비해 실험군(HC)에서 유의적으로 높았으며, 빵잎분말이 투여된 실험군들(HC5M, HC10M)의 경우 정상대조군(C)에 비해 높았지만 10% 투여군(HC10M)은

정상대조군 수준으로 낮게 나타났다. 혈청 ALT 활성은 정상대조군과 실험군들간에 유의차가 없었다. 혈청 creatinine 수준은 대조군과 실험군사이에 유의적인 차이가 없었으며 모두 정상수준을 보였다. 고 콜레스테롤을 투여한 실험군들(HC, HC5M, HC10M)의 간의 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤함량은 정상대조군(C)에 비해 각각 43%, 27%, 55%씩 증가하였다. 이러한 지방축적 현상은 뽕잎분말의 첨가에 의해 유의적으로 감소하였으며, 그 효과는 농도에 의존적이었다. 고 콜레스테롤 투여군(HC)의 분변중 총지질과 중성지방 농도는 정상대조군(C)에 비해 다소 높았고, 총 콜레스테롤의 경우는 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 뽕잎첨가군(HC5M과 HC10M)의 총지질, 중성지방 및 콜레스테롤 농도는 콜레스테롤 투여군(HC)에 비해 분변으로 배설량이 증가하는 현상을 보였다. 이상의 결과를 살펴보면 뽕잎분말은 고 콜레스테롤식을 섭취하는 경우 혈청과 간장의 지질수준은 떨어뜨리고, 분변중 지질배설량을 상승시키는 효과가 현저한 것으로 보인다.

## 2) 뽕잎분말이 납 투여한 흰쥐 체내의 납과 무기질수준에 미치는 영향

본 연구에서는 뽕잎분말이 납투한 흰쥐의 혈액성상 및 장기, 변중 납과 무기질수준에 미친 효과를 알아보고자 하였다. 흰쥐에 500 ppm 납을 사료에 첨가하여 납중독을 유발시키면서 뽕잎분말(5%, 10%)을 해당사료에 동시에 첨가하여 4주간 섭취시켜 혈액성상 및 장기와 변의 납과 무기질수준을 분석하여 비교하였다. 식이섭취량과 시작체중은 모든 군 간에 유의적인 차이가 없었으며, 체중증가량은 10% 뽕잎분말을 첨가한 Pb10M군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 식이효율은 정상대조군(C)이 실험군들(Pb, Pb5M, Pb10M)에 비해 유의적으로 높게 나타났다. AST 활성은 정상대조군(C)에 비해 실험군(Pb)에서 유의적으로 높게 나타났으나, ALT 활성에는 정상대조군(C)과 실험군들(Pb, Pb5M, Pb10M)간에 유의차가 없었다. 정상대조군(C)에 비해 다른 실험군들에서 creatinine가 유의적인 증가를 보였는데 특히, Pb군에서 가장 높게 나타났다. 그리고 납이 투여된 실험군들(Pb, Pb5M, Pb10M)의 혈청에서만 납이 측정되었는데 뽕잎첨가량에 의존적으로 납축적량이 감소되었다. 납과 체내에서 길항작용을 하는 것으로 알려져 있는 2가 양이온에 해당되는 칼슘, 철분, 구리, 아연 등의 간장내 수준을 살펴보았을때 칼슘, 납, 철분, 구리, 아연 수준에서 유의적인 차이가 나타나 납 투여군들에서 모든 무기질수준이 정상대조군에 비해 유의적으로 낮았고, 뽕잎첨가량이 5% 일때 대조군과 유사한 수준으로 회복되었다. 그러나 10% 첨가시 5%첨가시 보다 간장과 신장내 철분, 구리, 아연, 칼슘의 농도는 감소하였다. 이는 납에 의한 길항작용과 더불어 뽕잎내 다량 함유된 섬유소가 중금속뿐만 아니라 기타 양이온의 배설까지 증진시킨 것으로 보여진다. 그러므로 중금속 배설촉진을 위해 다량의 섬유소를 섭취할 경우 우리 몸에 이로운 양이온의 보충이 반드시 선행되어야겠다. 결론적으로 납과 같은 중금속에 오염된 환경을 단시일내에 회복시

키기는 어려우므로 이러한 상황에서 환경오염으로부터 받을 가능성이 높은 신장장애, 간장장애 같은 독성효과를 최소화 하기 위해서는 적정수준의 식이섬유소 섭취가 적극 권장되어야 한다.

#### 바. 임상실험을 통한 콩잎두부의 기능성규명

##### 1) 콩잎분말 첨가두부 섭취가 비만 중년여성의 혈청 지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준변화에 미친 영향

본 연구에서는 불균형된 식생활로 혈중 지질농도가 높은 비만한 중년여성을 대상으로 선행연구에서 개발한 단백질, 칼슘함량이 풍부한 콩잎분말 첨가두부를 4주간 섭취시킨 후 비만한 중년여성의 혈중지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납수준에 미치는 효과를 규명하고자 하였다. 본 실험대상자의 평균 연령은 43.05세, 평균 신장은 159.60 cm이었으며 콩잎분말 첨가두부(고단백, 고칼슘 식품)를 4주간 섭취시킨 결과 체중, 체질량지수(BMI: Body Mass Index), 체지방 및 WHR에 유의적인 차이는 없었다. 총 열량섭취량에 대한 탄수화물, 단백질, 지방섭취량의 비율은 섭취 전(65 : 12 : 25)에 비해 섭취 후(65 : 14 : 24) 단백질의 섭취비율이 권장량 수준으로 상승되었다. 평균 단백질 섭취량은 섭취 전(권장량의 117%)과 섭취 후(권장량의 137%)에 유의적인 차이는 없었다. 평균 식이섬유소섭취량은 섭취 전(13.25 g)과 섭취 후(13.73 g)가 유사한 수준이었다. 평균 식물성 단백질, 총 칼슘섭취량과 식물성 칼슘섭취량이 유의적으로 증가( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ )된 반면 인의 섭취량에는 유의적인 차이가 없었다. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당 수준은 섭취 전, 섭취 2주 후, 섭취 4주 후 간에 유의적인 차이는 없었다. 콩잎분말 첨가두부 섭취에 의해 혈청 중성지방과 LDL-cholesterol수준은 유의적으로 감소( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ )되었고, 심혈관계 지표로 사용되는 AI, LHR도 섭취 전에 비해 섭취 후 유의적인 감소( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ )를 보였으나, lipase활성과 HTR의 경우는 섭취 전과 후에 유의적인 차이가 없었다. 콩잎분말 첨가두부 섭취 전과 후의 혈청 칼슘, 칼슘/인 비율은 모두 정상 범위에 들었으며, 콩잎분말 첨가두부 섭취기간에 따른 유의적인 차이는 없었다. 그리고 혈청 납수준도 정상범위( $< 20 \mu\text{g/dL}$ )였고 섭취기간에 따른 유의적인 차이는 없었다. 정리해보면 콩잎분말 첨가두부를 4주간 섭취한 결과 비만 중년여성의 혈청 지질수준이 부분적으로 낮아지는 결과를 보였다. 따라서 장기적으로 일상식을 통해 콩잎분말 첨가두부를 섭취한다면 혈청 지질수준 뿐만 아니라 체중이나 무기질 수준에도 긍정적인 효과를 기대해볼 수 있을 것이다.

##### 2) 콩잎분말 첨가두부 섭취가 충남 일부지역에 거주하는 흡연 남자 성인의 손목 골밀도, 생화학 골대사지표 및 혈청 지질성상에 미친 영향

본 연구에서는 선행연구에서 체내 지질 및 무기질 영양상태 개선효과가 이미 규명된 콩잎분말 첨가두부를 흡연 남자 대학생을 대상으로 4주간 섭취시켜 흡연으로 인한 혈중 골격 관련 무기질의 농도와 골밀도, 골대사지표 및 지질수준에 미치는 영향을 규명하고자 하였다. 본 실험대상자의 평균 연령은 22.38세, 평균 신장은 173.46 cm이었으며 콩잎분말 첨가두부를 4주간 섭취시킨 결과 체중, BMI, 체지방, WHR, 손목 골밀도 등에 유의적인 차이는 없었다. 골대사 생화학 지표인 혈청 alkaline phosphatase 활성, 혈청 osteocalcin, 뇨 DPD의 경우도 콩잎분말 첨가두부 섭취에 따른 유의적인 차이가 없었다. 콩잎분말 첨가두부 섭취 전과 후 총 열량 섭취량에 대한 CFP ratio를 비교해 보면, 섭취 후 당질, 지질 섭취비율은 감소한 반면, 단백질의 섭취비율이 다소 상승되었고, 평균 단백질, 섬유소섭취량은 섭취 전과 후 유의적인 차이가 없었다. 그러나 평균 식물성 단백질과 총 칼슘과 식물성 칼슘섭취량은 섭취 전에 비해 섭취 후 모두 유의적으로 증가( $p < 0.05$ )되었다. 혈청 총 단백질, 알부민, 혈당수준 및 혈청 지질수준과 심혈관계지표로 사용되는 AI, LHR, HTR 및 CRF 수준도 섭취 전과 후 유의적인 차이가 없었다. 그리고 콩잎분말 첨가두부 섭취 전과 후의 혈청 칼슘, 마그네슘, 납 수준은 모두 정상범위에 들었으나, 섭취기간에 따른 유의차는 없었다.

정리해보면 4주간 고칼슘·고단백 콩잎분말 첨가두부를 섭취하기는 하였지만, 섭취기간이 4주로 제한되어 있었고, 본 실험대상자들이 모두 젊은 청장년이어서 중년층의 흡연자들에 비해 흡연경력이 상대적으로 짧았으며, 그에 따라 골밀도, 혈청 지질수준, 혈청 무기질수준 등이 모두 정상수준이어서 콩잎분말 첨가두부 섭취의 영향을 크게 받지 않은 것으로 사료된다. 그러나 차후 본 실험대상자들이 중년에 접어들기 전에 이와 같은 급원을 일상식을 통해 꾸준히 섭취한다면 중년 이후에 나타날 지질대사 이상, 골밀도 저하현상 등을 예방하는데 도움이 되리라 생각된다.

### 3) 콩잎분말 첨가두부가 충남 일부지역 저칼슘 섭취 여대생의 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표 및 지질성상에 미친 영향

본 연구에서는 콩잎분말 첨가두부(고단백, 고 칼슘 식품)를 칼슘 섭취량이 낮은 여자 대학생을 대상으로 4주간 섭취시킨 후 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표와 지질성상에 미치는 영향을 규명하고자 하였다. 연구대상자의 평균 연령은 21.13세, 평균 신장은 161.26 cm이었으며, 콩잎분말 첨가 두부를 4주간 섭취하였을 때 체중, 체질량지수, 체지방 및 허리둘레에 유의적인 변화는 없었다. 평균 열량 섭취량은 콩잎분말 첨가 두부 섭취 전은 1666.46 kcal(EER의 83.32%), 섭취 후는 1603.39 kcal(EER의 80.17%)로 유사하였다. 평균 단백질 섭취량은 두부 섭취 전에는 권장 섭취량의 약 90%였으나 섭취 후에는 약 103% 수준으로 증가하였으나 유의한 차이는 없었다. 평균 칼슘 섭취량은 두부 섭취 후 유의적으로 증가하였으나( $p < 0.05$ ), 인

의 섭취량은 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ )되었다. 뽕잎분말 첨가두부 섭취 전 ( $0.38 \text{ g/cm}^2$ )과 후( $0.42 \text{ g/cm}^2$ ) 평균 손목 골 밀도에는 유의적인 차이가 없었으나 섭취 후 근위와 평균 골밀도가 정상수준으로 증가하였다. 생화학적 골대사지표는 뽕잎분말 첨가 두부 섭취에 따른 유의적인 차이가 없었다. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당 수준은 두부 섭취에 따른 유의적인 차이가 없었다. 혈청 지질성상과 심혈관계 지표 중 중성지방이 두부 섭취에 따라 유의적으로 감소하였으며( $p < 0.05$ ), 두부 섭취기간이 길어질수록 AI, LHR, CRF는 감소하고, HTR 수준은 증가되는 경향을 보였다. 혈청 칼슘, 칼슘/인, 마그네슘 수준은 두부 섭취에 따라 유의차가 없었다. 이상의 연구결과를 종합할 때 저칼슘 식사를 하는 본 실험대상자들은 두부 섭취 전 손목 근위와 평균 골밀도가 정상범위보다 다소 낮았으나 뽕잎분말 첨가두부를 한 달간 섭취한 후 정상수준으로 회복되었으며 혈청 중성지방이 감소하였는데, 이는 뽕잎분말 첨가두부의 높은 식물성 단백질과 칼슘함량 때문으로 생각된다. 따라서 차후 폐경기에 이르기 전에 이와 같은 식품을 계속 섭취한다면 중년 이후에 나타날 수 있는 골밀도 저하현상이나 순환기계 장애를 예방하는데 도움이 되리라 생각된다.

## 2. 활용에 대한 건의

- 참여기업인 서신식품주식회사의 기술이전으로서 최적조건의 뽕잎두부제조기술을 이전할 것이며 또한 뽕잎의 생리적 특성에 대한 연구결과를 일반두부와 차별화하여 산업화 측면에서 뽕잎두부의 기능적 특성에 관한 홍보자료로 이용할 것이다.
- 본 뽕잎두부 개발기술을 국내 기존의 두부제조업체에도 제공하여 새로운 기능성 두부제품으로 생산하는데 이용하며 국내 기존 두부가공 식품 산업체에서의 제품 다양화 및 고급화에 활용한다. 또한 개발된 기능성 뽕잎두부를 지역의 특산품으로 활용한다.
- 개발된 뽕잎 분말 및 추출물을 다량 소비되는 식품인 두부, 국수, 라면, 코팅 쌀 등에 일부분만 소재로서 활용한다하더라도 뽕잎의 식품소재로서 사용량은 매우 클 것이다.
- 두부의 문제점 중의 하나는 유통저장기간(shelf-life)이 짧은 것이다. 본 연구에서 개발된 기술을 서신식품 및 기존의 두부제조업체에 전수하여 저장유통기간을 늘림으로서 두부의 소비확대 및 소비자의 만족도를 높이는데 활용한다.
- 다양한 식품화, 식품소재화를 위하여 개발된 제조기술을 뽕잎 생산자단체 및 뽕잎 가공업체에 기술 이전하여 직접 제조생산에 참여함으로써 뽕잎의 부가가치 향

상효과와 아울러 뽕잎산업의 활성화에 활용한다.

- 개발된 경쟁력 있는 다기능성 콩 가공식품 (두부, 햄버거용 페트, 노인 간식용 쿠키, 요구르트 등)을 산업화하여 두부관련업계를 활성화하고 생산성을 증대시켜 고부가가치 산업화를 촉진시킨다.
- 본 연구결과를 바탕으로 뽕잎이 콩 가공제품의 맛을 내는 재료 배합비 조정 및 식품의 향미물질 첨가 등을 이용하여 건강식으로서 모든 연령층의 기호에 맞는 제품 개발에 응용한다.

## SUMMARY

### I. Title of Research

Development and Functional Effect Identification of Mulberry Leaf Soybean Curd and Soybean Curd Residue Processed Food

### II. The Objectives and Importance of Research

Dietary life and lifestyle were changed in Korea recently by economic improvement, reduced family size, and increased two-paycheck couples, which result in changes of disease pattern and death factor changes. Changed dietary life style, reduced vegetable based food and increased animal based food, improve diseases obesity, circulating system of the blood, diabetes etc., and result in raised mortality. The air, water and soil were contaminated by environmental pollution, which make raising cancer and modern diseases. We need protect from above situation.

At this time, the geriatric diseases were protected and treated by soybean world widely. Soybean has various functional components and we need 50g consumption per day to protect geriatric diseases. The mad cow disease, birds influenza and foot-and-mouth disease were caused from animal base protein intake and we need replaced food for protein intake. We need to develop high fiber and high protein food from soybean curd residue as new functional food which will be raised market share. While, soybean curd residue as waste materials from soy milk and soybean curd were hold lightly owing to stability of storage and nutritive value.

Mulberry leaves have various bio-active components, flavones, steroids, triterpene, amino acids, minerals and vitamins, and protect thirst and treat diabetes. The other functional properties are reduced blood pressure by GABA, strengthening brain blood vessel by rutin, protect arteriosclerosis, control and counteracting heavy metal absorption. We need develop the techniques for new functional food products to improve mulberry leaf consumption and enlarge sericultural industry.

This study was conducted to develop new functional foods, soybean curd, yogurt, hamburger patty and cookie for old person using mulberry leaf and soybean curd residue. We also analyze the functional properties of mulberry

leaf powder using rat experiment and of mulberry leaf powder *Tofu* with human experiment. New developed functional soybean processed foods will be industrialized for improvement of preexistence soybean curd manufacturing companies and enhanced public health.

### III. The Scope and Contents of Research

#### A. Development of optimization and standardization of processing conditions for mulberry leaf soybean curd

- Optimization for manufacturing soybean curd adding mulberry leaf powder and extract
- Manufacturing mulberry leaf powder and extract for food materials
- Evaluation of physicochemical, microbial and sensory properties of soybean curd adding mulberry leaf powder and extract
- Standardization of processing conditions for mulberry leaf soybean curd
- Patent application by development of mulberry leaf soybean curd product

#### B. Extending shelf-life of mulberry leaf soybean curd

- Analysis of extending shelf-life of mulberry leaf soybean curd by natural preservatives
- Standardization of processing conditions of mulberry leaf soybean curd for extending shelf-life

#### C. Development of new hamburger patty and cookie for old person products using mulberry leaf and soybean curd residue

- Development of new pork based hamburger patty using mulberry leaf powder and soybean curd residue powder
- Development of new beef based hamburger patty using mulberry leaf powder and soybean curd residue powder
- Development of new pork and beef based hamburger patty using mulberry leaf powder and soybean curd residue powder
- Development of new cookie for old person using mulberry leaf and soybean curd residue

D. Development of new yogurt using mulberry leaf powder and extract

- Development of new yogurt using mulberry leaf powder
- Development of new yogurt using mulberry leaf extract

E. Analysis of functional properties of mulberry leaf powder using rat

- Effects of mulberry leaves powder on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats
- Effects of mulberry leaf powder supplementation on lead status and minerals content in Pb-administered rats

F. Analysis of functional properties of mulberry leaf powder *Tofu* with human

- Effects of mulberry-leaf powder *Tofu* consumption on serum lipid profiles, Ca, Ca/P ratio and Pb status in middle-aged obese women
- Effects of mulberry-leaf powder *Tofu* consumption on bone mineral

density of carpus, biochemical bone turnover markers and serum lipid profile in smoking male adults

□ Effects of mulberry-leaf powder *Tofu* on bone mineral density of carpus, Biochemical Bone turnover markers and lipid profile in university female students consumed low calcium diet

#### IV. Results of Research and Recommendation

##### 1. Results

A. Development of optimum processing conditions for soybean curd and soybean curd adding mulberry leaf powder and extract

##### 1) Development of optimum processing conditions for soybean curd

We selected five major factors among soybean curd processing parameters based on pre-experimental data, which were significantly affected on the quality of soybean curd product. The selected five major factors were coagulation temperature, coagulation time, pressing pressure, coagulant concentration and soya milk concentration. The changes of the sensory hedonic scores of soybean curd product on the processing conditions were analyzed by response surface methodology. The 27 experimental points were designed using a central composite method. Affecting factor for the sensory hedonic scores of soybean curd product was arranged according to soya milk concentration, coagulation temperature, coagulant concentration, pressing pressure and coagulation time. Soya milk concentration and coagulation temperature were significant factors at the 5% level. The optimum processing conditions for soybean curd were coagulation temperature(60℃), coagulation time(27.2 min), pressing pressure(45.45 g/cm<sup>2</sup>), coagulant concentration(1.44%) and soya milk concentration(5.0 ° Brix). The sensory hedonic score of soybean curd product was 6.2 with above optimum processing conditions.

##### 2) Optimization for manufacturing soybean curd adding mulberry leaf

powder and extract

To optimize the added conditions of mulberry leaf powder for the manufacturing of mulberry leaf soybean curd, high impact planetary mill was used to reduce and control the average particle size of mulberry leaf powder. The added effects of concentration and average particle size of mulberry leaf powder, and concentration of grape seed extract on the hedonic scores of overall quality of mulberry leaf soybean curds were analyzed by response surface methodology with a central composite method. We also analyzed the effects of mulberry leaf extract concentrations from 0% to 0.75% (w/w) on the hedonic and intensity scores of mulberry leaf soybean curds. Affecting factor for the hedonic scores of mulberry leaf soybean curd product was arranged according to average particle size of mulberry leaf powder, concentration of mulberry leaf powder and concentration of grape seed extract. The average particle size and concentration of mulberry leaf powder were significant factors at the 5% level. The optimum added conditions of mulberry leaf powder for manufacturing of mulberry leaf soybean curd were 0.40% (w/w) of concentration and 40 $\mu$ m of average particle size of mulberry leaf powder, and 176ppm (w/w) of grape seed extract concentration. The hedonic score of mulberry leaf soybean curd product was 6.45 with above optimum processing conditions. The intensity of mulberry leaf soybean curds astringency were similar to control up to 0.50% of mulberry leaf extract concentrations. While, that of the 0.75% concentration was a little bit higher than that of control. There was no difference in the intensity of mulberry leaf soybean curds astringency at the 5% level. The mulberry leaf extract concentrations on the hedonic scores of mulberry leaf soybean curds was optimized at 0.25% in color, flavor and overall quality except texture.

#### B. Extending shelf-life of mulberry leaf soybean curd

1) Effects of alkaline ionic water and grapefruit seed extract added immersion solutions on storage characteristics of mulberry leaf soybean curd

This study was conducted to analyze the acidity and turbidity changes of

immersion solutions, and aerobic bacteria, *E.coli*, anaerobic bacteria, yeast and mold counts changes of mulberry leaf soybean curds during storage at 4°C and 25°C by different immersion solutions such as distilled water, grapefruit seed extract(300 ppm) and alkaline ionic water. The acidities of immersion solutions of distilled water, grapefruit seed extract and alkaline ionic water after 18 days of storage at 4°C were 0.021, 0.008 and 0.002%, respectively. While, those after 5 days of storage at 25°C were 0.042, 0.029 and 0.009%, respectively. The turbidities of above immersion solutions after 18 days of storage at 4°C were 0.50, 0.29 and 0.21, and then after 5 days of storage at 25°C were 0.38, 0.34 and 0.27, respectively. The acidity and turbidity changes of immersion solutions were sensitive to storage temperatures. The count of aerobic bacteria of mulberry leaf soybean curds after 18 days of storage at 4°C was still below the  $10^7$  CFU/g, the beginning point of soybean curd putrefaction, while this value was reached within one day at 25°C. Grapefruit seed extract and alkaline ionic water had a better preservative effect at 4°C than at 25°C of storage temperature.

#### C. Development of new hamburger patty and cookie for old person products using mulberry leaf and soybean curd residue

##### 1) Development of new hamburger patty using mulberry leaf and soybean curd residue

Hamburger patty based on pork using bread powder had the highest hedonic scores. The hedonic score of composition with 9.5g soybean curd residue powder, 1g mulberry leaf powder, 29.5g bread powder of patty had relatively closed to that of control. Based on beef patties, the composition of 36.0g soybean curd residue powder and 4g mulberry leaf powder patty had the highest hedonic score in every item of sensory evaluation. While, hamburger patty based on pork and beef had the highest hedonic score using 40g of soybean curd residue powder singly.

Based on above data, hamburger patty based on beef and, pork and beef patties using mulberry leaf and soybean curd residue can apply new functional food products in food industry.

##### 2) Development of new cookie for old person using mulberry leaf and soybean

curd residue

Based on cookies, the composition of 150.0g wheat flour and 15g soybean curd residue powder patty had the highest hedonic score in every item of sensory evaluation. Cookie using a soybean curd residue powder combined with wheat flour can apply for the health of old person.

#### D. Development of new yogurt using mulberry leaf powder and extract

##### 1) Development of new yogurt using mulberry leaf powder

The hedonic scores of yogurt using mulberry leaf powder decreased with increasing average particle size and concentration of mulberry leaf powder. The mulberry leaf powder addition in yogurt had negative affection. While, The mulberry leaf powder addition in yogurt had no significant difference compare to control except 200 micron average particle size and 0.75%(v/v) concentration of mulberry leaf powder processing conditions.

##### 2) Development of new yogurt using mulberry leaf extract

Yogurt using mulberry leaf extract had higher hedonic scores compare to control in the whole concentration ranges(1-3%, v/v). The mulberry leaf extract addition in yogurt had significant difference compare to control and the highest hedonic score of processing condition was addition of 1.0%(v/v) mulberry leaf extract. Yogurt using a mulberry leaf extract can apply in food industry as a functional yogurt. The concentrated fruit juices(65 Brix) such as apple, plum, grapefruit and peach were benefit to add hedonic score in mulberry leaf extract yogurt.

#### E. Analysis of functional properties of mulberry leaf powder using rat experiment

##### 1) Effects of mulberry leaves powder on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats

Mulberry leaves, which is high in dietary fiber and some nutritional materials, are thought to have hypocholesterolemic effect. The present study was performed to further elucidate the hypocholesterolemic actions of mulberry leaves for the effects on the diet-induced hypercholesterolemia in rats. Effect of mulberry leaves powder on factors related to serum lipid profiles were studied using rats fed each diet divided into 4 groups. Male Sprague-Dawley rats were fed with AIN-93 diet (normal control group; C), diets containing high-cholesterol and 0% mulberry leaves powder (HC), high-cholesterol and 5% mulberry leaves powder (HC5M), high-cholesterol and 10% mulberry leaves powder (HC10M) for 4 weeks. Hypercholesterolemia was induced by adding 1% cholesterol and 0.5% cholic acid to all diets except for normal control group. There were no differences in food intake and initial body weight among groups. However the mulberry leaves treatments showed significant decreases in food efficiency ratio and body weight gain. Mulberry leaves decreased serum lipid profiles, AI, CRF, LHR and serum AST, liver lipids but increased HTR and serum HDL-cholesterol, fecal lipids suggesting it could prevent hyperlipidemia and improve liver action. These results showed mulberry leaves was effective for improving lipid composition in blood, which may have potential to prevent cardiovascular disease.

## 2) Effects of mulberry leaf powder supplementation on lead status and minerals content in Pb-administered rats

This study was designed to investigate the effects of mulberry leaf powder supplementation on lead(Pb) status and mineral(Ca, Fe, Cu and Zn) contents in Pb-administered rats for 4 weeks. Thirty two male rats were divided into 4 groups: a control, Pb(500 ppm Pb), Pb5M(500 ppm Pb+5% mulberry leaf powder), and Pb10M(500 ppm Pb+10% mulberry leaf powder). There were no significant differences in food intake and initial body weight among groups. While mulberry leaf powder treatments showed significant decreases in food efficiency ratio and body weight gain. The levels of serum aspartate transaminase(AST) and creatinine were decreased by mulberry leaf powder treatment. Mineral contents of liver and kidney were significantly decreased in the Pb groups than that of control group. Whereas, fecal mineral contents were significantly increased in the

Pb5M and Pb10M than those of control group. Pb contents of serum, liver and kidney were significantly increased in the Pb group than that of control group. However, by mulberry leaf powder administration(Pb5M and Pb10M), Pb levels of serum, liver and kidney were lowered than that of Pb group. And fecal Pb excretions were significantly increased in the Pb5M and Pb10M than that of Pb group. These results showed mulberry leaves were effective for lowering Pb accumulations in serum, organs, which may have potential to prevent Pb toxicity.

#### F. Analysis of functional properties of mulberry leaf powder *Tofu* with human experiment

##### 1) Effects of mulberry-leaf powder *Tofu* consumption on serum lipid profiles, Ca, Ca/P ratio and Pb status in middle-aged obese women

This study was done to investigate the effects of mulberry-leaf powder *Tofu* (MPT) on the levels of serum lipid profiles, Ca, Ca/P ratio and Pb in 30 middle aged obese women lived in Choongnam area after consumption of MPT (100 g/day) for 4 weeks. The contents of nutrient per 100 g MPT were 86.71 kcal (energy), 8.98 g (protein), 0.53 mg (fiber), 211.33 mg (Ca) and 1.59 g (fat). Anthropometric measurements, 24-recall dietary intakes, serum levels of protein, albumin, glucose, lipid profiles (cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol), Ca, Ca/P ratio and Pb were analyzed before and after consumption of MPT. After consumption of MPT, there were no significant differences in anthropometric measurements, the levels of serum protein, albumin, glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, lipase activity, HTR (HDL-cholesterol/total cholesterol), CRF (cardiac risk factor), Ca, Ca/P ratio and Pb. There were decreased in serum triglyceride, LDL-cholesterol, AI (atherogenic index) and LHR (LDL-cholesterol/HDL-cholesterol). Increased dietary intakes in plant protein, total Ca, plant Ca were significantly observed.

##### 2) Effects of mulberry-leaf powder *Tofu* consumption on bone mineral density of carpus, biochemical bone turnover markers and serum lipid profile in smoking male adults lived in Choongnam

This study was done to investigate the effects of mulberry-leaf powder *Tofu* (MPT) on the status of anthropometric measurements, bone mineral density (BMD) in the right carpus, biochemical bone turnover markers, serum levels of lipids and macrominerals in 30 smoking male adults who lived in Choongnam were supplemented MPT(100 g/day) for 4 weeks. The average ages, number of smoked cigarettes and packyear were 22.38 year, 15.12/day and 3.54 years, respectively. The contents of nutrient per 100 g MPT were 86.10 kcal(energy), 8.98 g(protein), 0.53 mg(fiber), 211.33 mg(Ca) and 1.59 g(fat). Anthropometric measurements, dietary intakes using 24-hours recall method, BMD of carpus using DEXA, serum levels of protein, albumin, glucose, lipid profile(cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol) and AI(atherosclerosis index), HTR, CRF, LHR), some biomarkers of BMD(serum alkaline phosphatase activity, osteocalcin, urinary DPD), serum macrominerals(Ca, Ca/P ratio, Mg) and Pb were analyzed before and after consumption of MPT. After consumption of MPT there were significantly increased in dietary intakes of plant protein, total Ca and plant Ca. But there were not significant differences in anthropometric measurements, BMD with bone metabolism makers, the serum levels of protein, albumin, glucose, lipid profile with AI, HTR, LHR and CRF.

3) Effects of mulberry-leaf powder *Tofu* on bone mineral density of carpus, Biochemical Bone turnover markers and lipid profile in university female students consumed low calcium diet in Choongnam

This study was done to investigate the effects of mulberry-leaf powder *Tofu* (MPT) on the status of anthropometric measurements, bone mineral density (BMD), biochemical bone turnover markers, serum levels of lipids and macrominerals in 30 female University students whose daily dietary Ca intake was low(mean daily intake is  $524.66 \pm 21.47$  mg/day) and lived in Choongnam. The subjects were supplemented MPT(100 g/day) for 4 weeks. The contents of nutrients per 100 g MPT were 84.10 kcal(energy), 8.98 g(protein), 0.53 mg(fiber), 211.33 mg(Ca) and 1.59 g(fat). Anthropometric measurements, dietary intakes using 24-hours recall method, BMD of carpus using DEXA, some biomarkers of BMD(serum alkaline phosphatase activity, osteocalcin, urinary deoxypyridinoline), serum levels of protein,

albumin, glucose, lipid profile(cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol) and serum macrominerals(Ca, Ca/P ratio, Mg) were analyzed before and after consumption of MPT. After consumption of MPT, there were not significant differences in anthropometric measurements, nutrient intakes, BMD in carpus with serum alkaline phosphatase activity, osteocalcin, urinary deoxypyridinoline, and serum levels of protein, albumin, glucose, lipid profile with AI, HTR, LHR and CRF. However, there were significantly increased in dietary calcium but decreased in serum triglyceride with supplementation of MPT. These results suggest the steady intake of MPT could prevent bone and cardiovascular diseases and the need for further research.

## 2. Recommendation for Practical Application

- We will offer technical know-how of optimized processing conditions for the production of mulberry leaf soybean curd to Seo Shin food company. The functional property results of mulberry leaf and mulberry leaf soybean curd will be used for public relations.
- We will also offer technical know-how of optimized processing conditions for the production of mulberry leaf soybean curd to preexistence soybean curd manufacturing companies for the variety and seniority of industrial soybean curd productions. New developed mulberry leaf soybean curd can be applied as a regional product.
- New developed mulberry leaf soybean powder and extract products can be used as ingredients of large consumption foods such as soybean curd, noodle, instant noodle and coating rice.
- New developed technique for extending shelf-life of mulberry leaf soybean curd will be offered to Seo Shin food company and other preexistence soybean curd manufacturing companies to improve consumption and consumer satisfaction.
- We will offer technical know-how of optimized processing conditions for the production of mulberry leaf soybean powder and extract, and

mulberry leaf soybean curd to mulberry produced and manufacturing organizations, and for the improvement of mulberry leaf values.

- New developed functional soybean processed foods such as hamburger patty, cookie for old person using mulberry leaf and soybean curd residue, and mulberry leaf yogurt products will be industrialized for improvement of preexistence soybean curd manufacturing companies.
- New developed technique can be applied for health foods to the whole aged persons using techniques of optimum formula and addition of flavor ingredients.

# CONTENTS

Chapter 1. Introduction of the Project .....	41
Section 1. Significance of Research .....	41
1. Technological point of view .....	41
2. Economical/Industrial point of view .....	42
3. Social/Cultural point of view .....	43
Section 2. Contents of Research and Scope .....	45
1. Contents of Research and Scope .....	45
A. Optimization and standardization of mulberry leaf soybean curd manufacturing process .....	45
B. Enhancement of shelf-life of mulberry leaf soybean curd .....	45
C. Developing new processing foods(hamburger patty and cookie for old person) using mulberry leaf and soybean curd residue .....	46
D. Developing yogurt product using mulberry leaf .....	46
E. Identification of functional property of developed mulberry leaf powder by animal experiment .....	46
F. Identification of functional property of developed mulberry leaf soybean curd with human experiment .....	46
2. Yearly contents of research and scope .....	47
Section 3. Scheme for Research .....	48
Chapter 2. Technology Development of Foreign Countries and Korea .....	49
Section 1. Present state of Technology Development and Issue .....	49
Section 2. Future Prospect .....	50
Chapter 3. Results and Discussion .....	51
Section 1. Development of Optimum Processing Conditions for Soy Bean Curd .....	51
1. Background of theory .....	51
2. Materials and method .....	52

A. Materials .....	52
B. Experimental design .....	52
C. Manufacturing of soy bean curd .....	53
D. Sensory test .....	53
3. Results .....	54
A. Effects of overall quality hedonic scores of soybean curd by processing variables .....	54
B. Fitness of second degree polynomial regression .....	56
C. Optimization of mulberry leaf soybean curd manufacturing process .....	58
 Section 2. Studies of Optimum Added Conditions of Mulberry Leaf Powder and Extract for Mulberry Leaf Soybean Curd Manufacturing .....	60
1. Background of theory .....	60
2. Materials and Method .....	60
A. Materials .....	61
B. Dehydration, grinding and extraction of mulberry leaf .....	61
C. Experimental design .....	62
D. Manufacturing of mulberry powder soy bean curd .....	63
E. Sensory test .....	63
3. Results .....	63
A. Effect of mulberry leaf powder concentration and average particle size, and grapefruit seed concentration on hedonic scores of mulberry leaf soybean curd .....	63
B. Fitness of second degree polynomial regression .....	65
C. Optimization of mulberry leaf powder manufacturing process .....	66
D. Optimum concentration of mulberry leaf extract .....	68
 Section 3. Effects of Alkaline Ionic Water and Grapefruit Seed Extract Added Immersion Solutions on Storage Characteristics of Mulberry Leaf Soybean Curd .....	69
1. Background of theory .....	69
2. Materials and Method .....	70
A. Materials .....	70
B. dehydration and grinding of mulberry leaf powder .....	70
C. Manufacturing of mulberry leaf powder soy bean curd .....	70
D. Storage of mulberry leaf powder soy bean curd .....	71
E. Acidity and Turbidity .....	71
F. Viable cell count .....	71

3. Results .....	71
A. Acidity .....	71
B. Turbidity .....	72
C. Microbial .....	73
 Section 4. Developing New Processing Foods(Hamburger Patty and Cookie for Old Person) Using Mulberry Leaf and Soybean Curd Residue .....	79
1. Background of theory .....	79
2. Materials and Method .....	80
A. Hamburger patty .....	80
B. Cookie for old person .....	82
3. Results .....	84
A. Hamburger patty .....	84
B. Cookie for old person .....	97
 Section 5. Developing Yogurt Product Using Mulberry Leaf Powder and Extract .....	100
1. Background of theory .....	100
2. Materials and Method .....	101
A. Materials .....	101
B. Manufacturing of yogurt .....	102
C. pH and Acidity .....	102
D. Viable cell count .....	102
E. Viscosity .....	102
F. Sensory test .....	102
G. Statistical analysis .....	102
3. Results .....	103
A. Physicochemical and microbial changes of mulberry leaf extract added yogurt during incubation .....	103
B. Effect of mulberry leaf powder concentration and average particle size on hedonic scores of mulberry leaf yogurt .....	103
C. Effect of mulberry leaf extract concentration on hedonic scores of mulberry leaf yogurt .....	105
D. Effect of concentrated apple juice concentration on hedonic scores of 1% mulberry leaf extract added yogurt .....	105
E. Effect of concentrated plum juice concentration on hedonic scores of 1% mulberry leaf extract added yogurt .....	106
F. Effect of concentrated grapefruit seed juice concentration on	

hedonic scores of 1% mulberry leaf extract added yogurt .....	107
G. Effect of concentrated peach juice concentration on hedonic scores of 1% mulberry leaf extract added yogurt .....	107
 Section 6. Effects of Mulberry Leaves Powder on Lipid Metabolism in High Cholesterol-Fed Rats .....	108
1. Background of theory .....	108
2. Materials and Method .....	110
A. Materials .....	110
B. Rat rearing and diet composition .....	110
C. Collection and handling of materials .....	111
D. Analysis of serum lipids .....	112
E. Index of CRP, LHR, AI .....	112
F. Activity analysis of creatinine, aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) .....	112
G. Analysis of lipid concentration in fecal and liver .....	112
H. Statistical analysis .....	112
3. Results .....	113
A. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio .....	113
B. Levels in serum AST, ALT and creatinine .....	113
C. Heart's blood connection factor .....	114
D. Activity of AST and ALT in serum .....	117
E. Creatinine concentration in serum .....	118
F. Lipid level in liver and feces .....	118
 Section 7. Effects of Mulberry Leaf Powder Supplementation on Lead Status and Minerals Content in Pb-Administered Rats .....	120
1. Background of theory .....	120
2. Materials and Method .....	121
A. Rat rearing and diet composition .....	121
B. Collection and treatment of sample .....	122
C. Biochemical analysis of sample .....	122
D. Statistical analysis .....	123
3. Results .....	123
A. Diet intake amount, weight gain and diet efficiency .....	123
B. Creatine and activity of AST and ALT in serum .....	124
C. Pb concentration in serum, internal organs and feces .....	125
D. Mineral concentration in internal organs and feces .....	127

Section 8. Effects of Mulberry-Leaf Powder <i>Tofu</i> Consumption on Serum Lipid Profiles, Ca, Ca/P Ratio And Pb Status in Middle-Aged Obese Women .....	129
1. Background of theory .....	129
2. Materials and Method .....	130
A. Materials .....	130
B. Mulberry leaf powder soybean curd intake experiment .....	131
C. Biochemical analysis of blood .....	133
D. Statistical analysis .....	134
3. Results .....	134
A. Body component change .....	134
B. Diet and nutrient intake .....	134
C. Protein, albumin and blood sugar levels in serum .....	135
D. Lipid concentration in serum .....	136
E. Ca, Ca/P ratio and Pb levels .....	137

Section 9. Effects of Mulberry-Leaf Powder <i>Tofu</i> Consumption on Bone Mineral Density of Carpus, Biochemical Bone Turnover Markers and Serum Lipid Profile in Smoking Male Adults Lived in Choongnam .....	139
1. Background of theory .....	139
2. Materials and Method .....	140
A. Materials .....	140
B. Experimental design of mulberry leaf powder soybean curd and select experimental person .....	140
C. Body measuring and bone mineral density of carpus analysis .....	140
D. Diet intake .....	142
E. Biochemical analysis in blood and urine .....	142
F. Statistical analysis .....	143
3. Results .....	144
A. Changes of body composition .....	144
B. Bone mineral density of carpus, biochemical bone turnover markers changes .....	144
C. Nutrient intake .....	145
D. Protein, albumin and blood sugar levels in serum .....	147
E. Lipid content in serum .....	147
F. Ca, Ca/P ratio and Pb levels in serum .....	149

Section 10. Effects of Mulberry-Leaf Powder <i>Tofu</i> on Bone Mineral Density of Carpus, Biochemical Bone Turnover Markers and Lipid Profile in	
---	--

University Female Students Consumed Low Calcium Diet in Choongnam	150
1. Background of theory	150
2. Materials and Method	151
A. Materials	151
B. Experimental design of mulberry leaf powder soybean curd and select experimental person	151
C. Body measuring and bone mineral density of carpus analysis	152
D. Diet intake	152
E. Biochemical analysis in blood and urine	153
F. Statistical analysis	153
3. Results	154
A. Changes of body composition	154
B. Status of nutrient ingestion	154
C. Bone mineral density of carpus, biochemical bone turnover markers changes	155
D. Protein, albumin and blood sugar levels in serum	156
E. Lipid content in serum	157
F. Ca, Ca/P ratio and magnesium levels in serum	158
 Chap. 4. Achievement of Objectives and Performances of Research	 160
Section 1. Development of Optimum Processing Conditions and Standardization for Mulberry Leaf Soybean Curd	160
1. Optimization for manufacturing of soybean curd	160
2. Optimization and standardization for manufacturing soybean curd with mulberry leaf powder and extract	160
Section 2. Extending Shelf-Life of Mulberry Leaf Soybean Curd	160
1. Analysis of extending shelf-life of mulberry leaf soybean curd by natural preservatives	160
Section 3. Development of New Hamburger Patty and Cookie for Old Person Products Using Mulberry Leaf and Soybean Curd Residue	161
1. Development of new pork based hamburger patty using mulberry leaf powder and soybean curd residue powder	161
2. Development of new beef based hamburger patty using mulberry leaf powder and soybean curd residue powder	161
3. Development of new pork and beef based hamburger patty using	

mulberry leaf powder and soybean curd residue powder .....	161
4. Development of new cookie for old person using mulberry leaf and soybean curd residue .....	162
Section 4. Development of New Yogurt With Mulberry Leaf .....	162
1. Development of new yogurt with mulberry leaf powder .....	162
2. Development of new yogurt with mulberry leaf extract .....	162
Section 5. Identification of Functional Properties of Mulberry Leaf Powder Using Rat Experiment .....	162
1. Effects identification of mulberry leaves powder on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats .....	162
2. Effects identification of mulberry leaf powder supplementation on lead status and minerals content in Pb-administered rats .....	163
Section 6. Identification of Functional Properties of Mulberry Leaf Powder <i>Tofu</i> with Human .....	163
1. Effects identification of mulberry-leaf powder <i>Tofu</i> consumption on serum lipid profiles, Ca, Ca/P ratio and Pb status in middle-aged obese women .....	163
2. Effects identification of mulberry-leaf powder <i>Tofu</i> consumption on bone mineral density of carpus, biochemical bone turnover markers and serum lipid profile in smokng male adults lived in Choongnam .....	163
3. Effects identification of mulberry-leaf powder <i>Tofu</i> on bone mineral density of carpus, Biochemical Bone turnover markers and lipid profile in university female students consumed low calcium diet in Choongnam .....	164
Section 7. Scholarly Monograph, Scholarly Presentation, Patent Application and Prize .....	165
Chap. 5. Practical Plan of Research Results .....	167
Chap 6. Acquired Information on Foreign Technology .....	169
Section 1. Data of Soybean Curd Manufacturing and Distribution in Japan Industry .....	169

Section 2. Actual Utilization of Soybean Curd Residue in Japan	169
Chap. 7. Reference	171

## 목 차

제 1 장. 연구개발과제의 개요 .....	41
제 1 절. 연구개발의 필요성 .....	41
1. 기술적 측면 .....	41
2. 경제·산업적 측면 .....	42
3. 사회·문화적 측면 .....	43
제 2 절. 연구개발의 목표 및 내용 .....	45
1. 연구개발 목표와 내용 .....	45
가. 빵잎두부 제조공정의 최적화 및 표준화 .....	45
나. 빵잎두부의 저장성향상 .....	45
다. 빵잎과 비지를 이용한 새로운 가공식품 (햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠키)개발제조 .....	46
라. 빵잎을 이용한 요구르트 개발제조 .....	46
마. 동물실험을 통하여 개발된 빵잎 분말의 기능성 규명 .....	46
바. 임상실험을 통하여 개발된 빵잎두부의 기능성규명 .....	46
2. 연차별 연구개발 목표와 내용 .....	47
제 3 절. 연구개발 추진체계 .....	48
제 2 장. 국내외 기술개발 현황 .....	49
제 1 절. 국내외 관련기술의 현황과 문제점 .....	49
제 2 절. 앞으로의 전망 .....	50
제 3 장. 연구개발수행 내용 및 결과 .....	51
제 1 절. 두부제조공정의 최적화 .....	51
1. 이론적 접근방법 .....	51
2. 재료 및 방법 .....	52
가. 재료 .....	52
나. 실험설계 .....	52
다. 두부의 제조 .....	53

라. 관능검사 .....	53
3. 연구결과 .....	54
가. 두부제조공정에 따른 전체적인 품질의 기호도에 미치는 영향 .....	54
나. 이차다항회귀곡선식의 적합도 .....	56
다. 두부제조공정의 최적화 .....	58
제 2 절. 빵잎두부 제조 시 빵잎 분말과 추출물의 최적첨가조건 연구 .....	60
1. 이론적 접근방법 .....	60
2. 재료 및 방법 .....	60
가. 재료 .....	61
나. 빵잎 건조, 분쇄 및 추출 .....	61
다. 실험설계 .....	62
라. 빵잎두부의 제조 .....	63
마. 관능검사 .....	63
3. 연구결과 .....	63
가. 빵잎분말의 농도, 빵잎분말입자의 평균크기 및 자몽종자추출물의 농도에 따른 빵잎두부의 기호도에 미치는 영향 .....	63
나. 이차다항회귀곡선식의 적합도 .....	65
다. 빵잎분말 제조공정의 최적화 .....	66
라. 빵잎추출물의 최적농도 .....	68
제 3 절. 침지액에 알칼리성 이온수 및 자몽종자추출물 첨가가 빵잎두부의 저장성에 미치는 효과 .....	69
1. 이론적 접근방법 .....	69
2. 재료 및 방법 .....	70
가. 재료 .....	70
나. 빵잎 건조 및 분쇄 .....	70
다. 빵잎두부의 제조 .....	70
라. 빵잎두부 저장 .....	71
마. 산도 및 탁도 측정 .....	71
바. 미생물 측정 .....	71
3. 연구결과 .....	71
가. 산도 .....	71
나. 탁도 .....	72
다. 미생물 .....	73
제 4 절. 빵잎과 비지를 이용한 새로운 가공식품 (햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠	

키) 개발제조 .....	79
1. 이론적 배경 .....	79
2. 재료 및 방법 .....	80
가. 햄버거용 패트 .....	80
나. 노인 간식용 쿠키 .....	82
3. 연구결과 .....	84
가. 햄버거용 패트 .....	84
나. 노인 간식용 쿠키 .....	97
제 5 절. 빵잎분말과 추출물을 이용한 요구르트 개발제조 .....	100
1. 이론적 배경 .....	100
2. 재료 및 방법 .....	101
가. 시료 .....	101
나. 요구르트제조 .....	102
다. pH 및 산도 .....	102
라. 미생물 측정 .....	102
마. 점도 .....	102
바. 관능검사 .....	102
사. 통계분석 .....	102
3. 연구결과 .....	103
가. 배양과정에서 빵잎 추출물첨가요구르트의 이화학 및 미생물 변화 .....	103
나. 빵잎분말입자의 평균크기 및 농도에 따른 빵잎요구르트의 기호도에 미치는 영향 .....	103
다. 빵잎 추출물 첨가량에 따른 빵잎요구르트의 기호도에 미치는 영향 .....	105
라. 1% 농도의 빵잎추출물 첨가 요구르트에 사과농축액 첨가가 기호도에 미치는 영향 .....	105
마. 1% 농도의 빵잎추출물 첨가 요구르트에 매실농축액 첨가가 기호도에 미치는 영향 .....	106
바. 1% 농도의 빵잎추출물 첨가 요구르트에 자몽농축액 첨가가 기호도에 미치는 영향 .....	107
사. 1% 농도의 빵잎추출물 첨가 요구르트에 복숭아농축액 첨가가 기호도에 미치는 영향 .....	107
제 6 절. 빵잎분말이 고 콜레스테롤 식이 투여 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향 .....	108
1. 이론적 접근방법 .....	108
2. 재료 및 방법 .....	110

가. 재료	110
나. 실험동물 사육 및 식이조성	110
다. 시료의 수집 및 처리	111
라. 혈청 지질분석	112
마. 심혈관계지표	112
바. 혈청 creatinine, 혈청 aspartate transaminase (AST) 및 alanine transaminase (ALT) 활성 측정	112
사. 간장과 분변 중에서 지질 농도 측정	112
아. 통계분석	112
3. 연구결과	113
가. 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율	113
나. 혈청 지질수준	113
다. 심혈관계인자	114
라. 혈청 AST와 ALT 활성	117
마. 혈청 creatinine 농도	118
바. 간장과 분변 중에서 지질 농도 측정	118
제 7 절. 빵잎분말이 납 투여한 흰쥐 체내의 납과 무기질수준에 미치는 영향	120
1. 이론적 접근방법	120
2. 재료 및 방법	121
가. 실험동물 사육 및 식이조성	121
나. 시료의 수집 및 처리	121
다. 시료의 생화학적 분석	122
라. 통계분석	123
3. 연구결과	123
가. 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율	123
나. 혈청 AST, ALT 활성과 혈청 creatinine 측정	124
다. 혈청, 장기 및 분변 중 납 함량 측정	125
라. 장기와 분변 중 무기질 함량 측정	127
제 8 절. 빵잎분말 첨가두부 섭취가 비만 중년여성의 혈청 지질, 갈슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준변화에 미친 영향	129
1. 이론적 접근방법	129
2. 재료 및 방법	130
가. 시료	130
나. 빵잎분말 첨가두부 섭취 시험	131

다. 혈액 생화학 조사 .....	133
라. 자료분석 및 통계처리 .....	134
3. 연구결과 .....	134
가. 체성분 변화 .....	134
나. 식이섭취 및 영양소섭취 조사 .....	134
다. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당수준 변화 .....	135
라. 혈청 지질수준 변화 .....	136
마. 혈청 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준변화 .....	137

제 9 절. 콩잎분말 첨가두부 섭취가 충남 일부지역에 거주하는 흡연 남자 성인의 손목 골밀도, 생화학 골대사지표 및 혈청 지질성상에 미친 영향 .....

1. 이론적 접근방법 .....	139
2. 재료 및 방법 .....	140
가. 시료 .....	140
나. 콩잎분말 첨가두부 섭취 실험설계 및 실험대상자 선정 .....	140
다. 신체 계측 및 손목 골밀도 측정 .....	141
라. 식이섭취조사 .....	142
마. 혈액 및 뇨 생화학 조사 .....	142
바. 통계분석 .....	143
3. 연구결과 .....	144
가. 체성분 변화 .....	144
나. 손목 골밀도 및 골대사지표 변화 .....	144
다. 영양소 섭취상태 .....	145
라. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당수준 변화 .....	147
마. 혈청 지질성상 변화 .....	147
바. 혈청 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준 변화 .....	149

제 10 절. 콩잎분말 첨가두부가 충남 일부지역 저칼슘 섭취 여대생의 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표 및 지질성상에 미친 영향 .....

1. 이론적 접근방법 .....	150
2. 재료 및 방법 .....	151
가. 시료 .....	151
나. 콩잎분말 첨가 두부 섭취 시험설계 및 실험대상자 선정 .....	151
다. 신체계측 및 손목 골밀도 측정 .....	152
라. 식이섭취조사 .....	152
마. 혈액과 소변의 생화학적 분석 .....	153

바. 통계분석 .....	154
3. 연구결과 .....	154
가. 체성분 변화 .....	154
나. 영양소 섭취상태 .....	154
다. 손목 골밀도 및 골대사지표 변화 .....	155
라. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당 변화 .....	156
마. 혈청 지질성상 변화 .....	157
바. 혈청 칼슘, 칼슘/인 및 마그네슘 변화 .....	158
제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	160
제 1 절. 빵잎두부 제조공정의 최적화 및 표준화 .....	160
1. 두부제조공정의 최적화 .....	160
2. 두부에 첨가할 빵잎 분말과 페이스트 형태의 빵잎 추출물 제조공정의 최적화 및 표준화 .....	160
제 2 절. 빵잎두부의 저장성향상 .....	160
1. 빵잎두부의 천연방부제 첨가를 이용한 저장성 향상연구 .....	160
제 3 절. 빵잎과 비지를 이용한 새로운 가공식품 (햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠키)개발제조 .....	161
1. 비지분말과 빵잎분말을 이용한 돼지고기 햄버거용 페트개발 .....	161
2. 비지분말과 빵잎분말을 이용한 쇠고기 햄버거용 페트개발 .....	161
3. 비지분말과 빵잎분말을 이용한 돼지고기와 쇠고기 혼합형 햄버거용 페트개발 .....	161
4. 비지분말과 빵잎분말을 이용한 노인 간식용 쿠키개발 .....	162
제 4 절. 빵잎을 이용한 요구르트 개발제조 .....	162
1. 빵잎분말을 이용한 요구르트 개발제조 .....	162
2. 빵잎추출물을 이용한 요구르트 개발제조 .....	162
제 5 절. 동물실험을 통하여 개발된 빵잎 분말의 기능성규명 .....	162
1. 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 빵잎 분말에 대한 항고지혈증 규명 .....	162
2. 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 빵잎 분말에 대한 중금속 제거 효과 규명 .....	163

제 6 절. 임상실험을 통하여 개발된 뽕잎두부의 기능성규명 .....	163
1. 뽕잎두부 섭취가 비만 중년여성의 혈청 지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준 변화에 미치는 효과규명 .....	163
2. 뽕잎두부 섭취가 흡연 남자 성인의 손목 골밀도, 생화학 골대사지표 및 혈청 지질성상에 미치는 효과규명 .....	163
3. 뽕잎두부가 저칼슘 섭취 여대생의 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표 및 지 질성상에 미치는 효과규명 .....	164
제 7 절. 학술논문, 학술발표, 특허출원 및 수상 .....	165
제 5 장. 연구개발결과의 활용계획 .....	167
제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	169
제 1 절. 일본기업의 두부제조 및 유통관련 자료 .....	169
제 2 절. 일본의 비지이용실태 .....	169
제 7 장. 참고문헌 .....	171

## 제 1 장. 연구개발과제의 개요

### 제 1 절. 연구개발의 필요성

#### 1. 기술적 측면

- 두부는 오래 전부터 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등 동양에서는 물론 이제는 구미지역에 이르기까지 각광을 받는 식품으로 부상하고 있다. 두부는 타 식품에 비해 맛이 담백하고 체내의 신진대사와 성장 발육에 절대 필요한 필수 아미노산 및 칼슘, 철 등의 무기질이 다량 함유된 식물성 단백질식품으로서 동물성 단백질식품에 비견할 만한 식품임. 따라서 육류를 상식하지 않고 곡물로부터 단백질을 섭취하는 사람들에게는 귀중한 양질의 단백질 공급원으로서 큰 역할을 해왔고 전통 고유 식품으로서 자리를 굳건히 지키고 있다.
- 시대의 변천에 따라 식문화도 발전하였으며 대가족 제도에서의 핵가족화, 식품의 인스턴트화 및 외식산업의 도래로 우리 고유 식품이 점차 인기를 잃고 있어 두부 또한 인기가 예전만은 못하다. 현재 국내에서 주로 유통되고 있는 두부로는 일반두부, 만두두부, 연두부, 순두부, 유부두부 등과 같이 두유만을 이용한 제품이 대부분이다.
- 전통적인 두부 제조방법은 지속적인 기술개발을 통해 두부의 품질과 수율 향상, 생산 규모, 사용장비, 포장방법, 살균 및 식품 첨가물 첨가 등의 저장방법, 자동화 설비 등에 초점을 맞추어 많이 개선되어 두부 제조방법에 대한 기술은 이미 확보되어 있는 상태이다. 그러나 두부의 저장성, 부산물인 비지의 활용 및 다양한 두부 제품의 개발 등의 연구과제가 남아 있다.
- 우리보다 기술수준이 앞선 일본이나 미국에서는 두부 소비의 한계와 두부의 저장성, 비지의 활용 등 남아 있는 연구과제의 해결을 위해 다양한 두부제품 개발에 주력하고 있다. 두부를 주원료로 하여 제조되는 두부 햄버거, 소시지, 스테이크는 물론 두부피자까지 개발하고 있으며, 두부아이스크림이나 두유의 피막을 이용하여 만든 유바두부, 유바국수 등이 인기를 얻고 있다.
- 국내에서도 두부의 저장성을 높이기 위해 중국에서는 '간(乾)두부'로 일컬어지고 있는 '마른 두부'가 개발되어 시판되고 있으나 아직 그 시장 규모는 미약한 실정이다. 또한 기존의 일반두부 형태를 벗어나 꽃이나 동물 또는 여러 가지 형태를 띤 모양 있는 제품이 생산된다면 어린이는 물론 노인에 이르기까지 시각적인 선택의 폭을 넓혀 두부

의 소비를 촉진할 수 있을 것이다.

- 이와 같이 두부의 제조방법 개선이라는 1차 기술개발 단계를 넘어 두부의 고부가가치 산업화를 촉진할 수 있는 2차 기술개발이 필요한 실정이다. 즉 두부의 기호성과 건강·기능성을 향상시키고 저장성을 높이며 두부 부산물을 활용할 수 있는 복합적인 효과를 통해 두부의 생산과 소비를 촉진할 수 있는 기능성 두부제품의 개발이 요구되고 있다.
- 뽕나무(Morus species)의 잎은 중국의 전통생약으로 당뇨병을 예방, 치료하며 갈증을 해소시키고(Li, 1978), flavones, steroids, triterpene, amino acids와 미네랄과 비타민 등이 풍부하게 함유되어 있다(Kondo, 1957). 국내 연구를 통해서도 뽕잎의 GABA 성분은 혈압을 낮추어 주며, rutin은 뇌혈관을 튼튼하게 해주고 혈관에 붙어 있는 기름 덩어리를 제거하여 동맥경화를 예방하는 것뿐만 아니라 중금속 흡착억제 및 해독작용을 하는 것으로 밝혀져 있다(김애정 등, 2000).
- 뽕잎은 다양한 건강 기능성을 가지고 있는 식품이며 쉽게 재배할 수 있는 장점을 가지고 있지만 식품이라는 인식이 미흡하고 소비의 폭이 좁아 잠업농가의 경쟁력이 낮기 때문에 이를 폭넓게 이용하여 소비하기 위한 기술개발이 필요한 실정이다.
- 본 연구에서는 최근 잠업농가의 기능성 신소재로 급부상중인 뽕잎을 추출액과 분말 형태로 제조하여 이를 연·고형두부 제조시 첨가함으로써 그 효능이 보강된 새로운 건강식품으로 두부제품을 다양화시키고자 한다. 또한 두부 제조시 파생되는 부산물인 비지를 활용하여 오래 저장 할 수 있는 기능성 신소재 첨가한 냉동가공식품(햄버거용 pet, 동그랑땡 형태)을 개발함으로써 비지의 부가가치를 높이고자 한다.

## 2. 경제·산업적 측면

- 두부 제조시 제일 중요한 원료는 백태라 일컫는 콩이다. 1960년대까지 자급률은 100%이었으나 1985년도 이후부터 20% 이하로 떨어져 현재 콩 자급률은 8% 정도이며, 식용되는 45만톤 중 겨우 30% 가량이 국내에서 생산되고 있다. 국내산 콩의 자급률이 이처럼 떨어지는 원인으로서는 콩 재배 면적의 감소이다. 농촌의 도시화, 산업화가 급속히 진전되어 농지가 비농업용으로 잠식되었으며 콩의 수익률도 다른 특용작물에 비해 낮기 때문에 농민들의 콩 파종 기피현상이 나타나고, 축산업의 급속한 발전으로 사료용 콩이 대량 수입되면서 수입 물량에 따른 국내 콩 생산량, 즉 자급률이 떨어지게 된 것이다.

- 농산물시장 개방시대에 우리 농촌을 지키기 위한 경쟁력 마련과 기술축적 및 시장성 확보방안이 요구되고 있다. 이와 같은 방안으로 신제품 또는 대체품 개발 및 선정에 있어서 식품공정과 조성에 대한 최적화(optimization) 이론과 적용은 필수적인 역할을 한다. 현재 국내에서만뿐만 아니라 외국에서도 많은 신제품들이 소개되고 있지만, 신제품이 성공할 수 있는 가능성은 매우 낮음. 식품개발 산업에 있어서 조성(composition) 성분이 차지하는 비중은 설비나 인력과 같이 고정된 요인에 비교하여 상대적으로 크며 또한 효과적으로 조절될 수 있다.
- 현재 약 2조원의 시장 규모를 갖는 연(軟)식품산업은 '모판두부'와 '포장두부'로 나뉘며 수요 면에서는 큰 증가가 없으나 판두부에서 포장두부 시장으로 전이됨에 따라 가격 면에서의 시장규모가 증가되고 있다. 지금까지 두부 생산은 주로 두부공장에서 대량생산, 단단계 유통으로 이루어졌으나 제조과정에서의 이물질 첨가, 비위생, 품질저하 등의 문제점으로 1996년 이후 즉석두부가 두부시장에 진출하면서 두부를 새롭게 인식하는 계기가 되었으며, 두부제품의 다양화, 고급화를 통해 두부 소비량이 증가하고 있다. 그러나 약 5년이라는 짧은 기간 동안 즉석두부에게 약 30%의 시장을 잠식당한 대형두부공장 대부분은 이미 경영상의 어려움을 겪고 있어 이에 대한 대책마련이 시급하다.
- 최근에는 경제성장과 더불어 국민생활이 고급화, 건강 식품화, 간편화를 지향하는 경향이 나타나면서 기능성이 가해진 건강식품이 각광을 받고 있으며, 건강기능식품의 생산 및 소비시장 규모는 크게 증가하고 있다. 콩에 대한 건강기능성이 세계적으로 많은 연구개발을 통해 규명됨으로써 콩은 현대인의 건강식품이라는 인식이 확산되어 있기 때문에 콩을 이용한 대표적인 가공식품인 두부에 대한 소비시장은 매우 넓은 상태이다.
- 따라서 소비자의 요구에 맞춘 새로운 두부제품 및 비지를 이용한 가공식품의 개발은 콩과 두부의 소비 증가, 연식품업계의 활성화 및 시장규모 확대, 국내 콩 재배농가의 활성화를 통한 국내산 콩 자급률의 회복 및 잠업농가의 경쟁력 강화 등으로 이어질 것으로 전망한다.

### 3. 사회·문화적 측면

- 최근 우리나라는 경제 수준 향상, 핵가족화, 맞벌이 부부의 증가 등 사회·경제면의 급속한 발전과 함께 식생활과 생활양식에도 커다란 변화를 가져왔으며 이에 따른 질병유형과 사망원인의 변화도 주목되고 있다. 즉 외식빈도가 증가하고 식물성 식품 섭

취량은 점차 감소되고 육류 위주의 서구형 식생활의 변화로 동물성 식품 섭취량은 현저히 증가되어 비만, 순환기계 질환, 당뇨병 등 만성퇴행성 질환의 발생과 그로 인한 사망률이 증가하고 있다. 또한 공기, 물, 흙이 공해로 오염되면서 환경이 나빠지자 암을 비롯한 현대병이 인류를 위협하고 있어 이를 예방관리하기 위한 대책의 중요성이 강조되고 있다.

- 지금 콩으로 성인병을 예방하고 치유하자는 움직임이 세계적으로 활발히 진행되고 있으며 1971년 미국에서는 '암과의 전쟁'이 선포된 이래 엄청난 연구비가 투입되어 식품 소재 속에 들어있는 항암 성분 탐색에 관한 연구를 실시한 바 있는데, 그 능력이 가장 뛰어난 것으로 선정된 5가지 식품 속에 콩이 당당히 포함되어 있다. 콩과 그 제품에는 여러 가지 기능성 물질이 들어 있으며, 어느 부분이나 성분을 버릴 것이 없어 콩 전체를 이용하거나 식용하는 것이 바람직하다. 성인병을 예방하고 줄이기 위해서는 콩의 섭취를 늘려 약 50 g 정도를 섭취하는 것이 바람직한데, 이는 현재 공급량의 2배 정도가 된다.
- 우리나라의 전통식단은 쌀, 콩, 김치, 기타 반찬으로 표시할 수 있는데, 지금 우리의 식단은 쌀, 콩, 김치가 크게 감소하고 서구식품이 크게 증가하였다. 이와 같은 전통 식문화의 변화의 대가로 성인병의 증가를 얻었으며, 건강을 위해 우리의 식문화에 관심을 갖고 배우고 있는 서구인과는 반대로 우리는 전통 식문화를 잃어가고 있다. 따라서 급격히 늘어나고 있는 동물성 식품을 콩과 콩 제품으로 빨리 대체함으로써 건강과 우리의 전통식단을 되찾는 노력이 시급한 실정이다.
- 이에 본 연구에서는 성인병 예방효과가 있는 두부 및 그 부산물인 비지를 이용한 저칼로리, 고섬유소 가공식품을 개발함으로써 우리의 전통 식문화를 계승하고 이를 통한 국민 건강과 그로 인한 의료비 절감을 가져올 수 있을 것으로 확신한다.
- 흡연으로 인해 야기될 수 있는 지질대사 이상, 체내 납축적, 골밀도 저하 등 만성퇴행성 질환을 저해하는 영양소로는 단백질, 칼슘, 식이섬유소 등이 잘 알려져 있다. 특히 식이성 칼슘은 소화관에서 지방산과 비누(soaps)를 형성하는데, 이 칼슘비누는 불용성으로서 대변으로의 칼슘배설을 증가시키므로 고지방식은 식이성 칼슘의 흡수를 저하시킨다는 것은 잘 알려져 있는바 이는 식이성 칼슘이 지방흡수에 상호방해인자로 작용하여 혈청 콜레스테롤 농도에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 그러므로 흡연자에게 고단백, 고칼슘, 고식이섬유소 식품의 공급이 필수적인데, 이러한 조건을 한번에 만족시키는 식품은 흔하지 않다.
- 식습관이나 식행동 조사에 의하면 여대생들은 대부분 패스트푸드와 탄산음료를 즐겨

섭취하고 있어서 고지방식이면서 칼슘섭취량과 칼슘과 인의 섭취비율이 낮은 영양불균형 상태에 있다. 최대 골질량을 획득해야 할 중요한 시기인 여대생의 영양불균형이나 잘못된 식습관은 성인이 된 후에도 큰 영향을 미치게 되며, 특히 여대생의 경우 곧 임신과 출산의 과정을 갖게 될 연령층이므로 임신 전 모체의 영양상태와 건강이 태아에게 직접적으로 영향을 미치게 된다. 따라서 여대생의 골 질환 예방을 위해서는 고칼슘 급원의 발굴 및 공급이 필수적이다.

- 영양학적 관점에서는 혈액순환기계 질환의 원인으로 동물성 지방과 단백질 섭취가 증가하고 칼슘과 같은 무기질 섭취량 감소와 환경오염으로 인한 납과 같은 중금속에 의해 체내대사 시 칼슘의 흡수가 방해받거나 식이섬유소 섭취량이 감소되고 있기 때문인 것으로 보고되어 있다. 따라서 비만과 납 중독으로 인해 발생빈도가 상승할 가능성이 높은 혈액순환기계 질환의 예방 및 치료를 위해서는 저지방, 고단백, 고칼슘, 고섬유소 식품이 권장되어야 할 필요성이 대두되고 있다.
- 두부는 오래전부터 만성적 단백질 부족을 완화하는데 크게 기여하여 온 식품으로 칼슘도 풍부하여 이러한 조건을 만족시키는 식품으로 보여 진다. 그러나 두부의 원료인 대두단백질은 함황아미노산이 적어 단백질 이용률이 낮으므로 이를 개선하기 위해 함황아미노산 뿐만 아니라 무기질, 식이섬유소, 항산화 비타민 등이 풍부한 콩잎을 두부 제조 시 첨가하여 두부의 영양을 개선할 필요가 있다.

## 제 2 절. 연구개발의 목표 및 내용

### 1. 연구개발 목표와 내용

#### 가. 콩잎두부 제조공정의 최적화 및 표준화

- 두부에 첨가할 콩잎 분말과 페이스트 형태의 콩잎 추출물 제조 공정의 최적화 및 표준화
- 식품소재로서의 콩잎 분말과 콩잎 추출물 생산
- 콩잎(분말형태, 페이스트형태)첨가 두부에 대한 이화학적, 미생물적 분석 및 관능적 특성 평가
- 콩잎 두부 제조공정의 표준화
- 기능성 콩잎 두부제품 개발을 통한 특허출원

#### 나. 콩잎두부의 저장성향상

- 빵잎두부의 천연방부제 첨가를 이용한 저장성 향상분석
- 저장유통기간 증대를 위한 빵잎 두부제조공정의 표준화

다. 빵잎과 비지를 이용한 새로운 가공식품 (햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠키)개발  
제조

- 비지분말과 빵잎분말을 이용한 돼지고기 햄버거용 페트개발
- 비지분말과 빵잎분말을 이용한 쇠고기 햄버거용 페트개발
- 비지분말과 빵잎분말을 이용한 돼지고기와 쇠고기 혼합형 햄버거용 페트개발
- 비지분말과 빵잎분말을 이용한 노인 간식용 쿠키개발

라. 빵잎을 이용한 요구르트 개발제조

- 빵잎분말을 이용한 요구르트 개발제조
- 빵잎추출물을 이용한 요구르트 개발제조

마. 동물실험을 통하여 개발된 빵잎 분말의 기능성 규명

- 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 빵잎 분말에 대한 항고지혈증 규명
- 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 빵잎 분말에 대한 중금속 제거효과 규명

바. 임상실험을 통하여 개발된 빵잎두부의 기능성규명

- 빵잎두부 섭취가 비만 중년여성의 혈청 지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준변화에 미치는 효과규명
- 빵잎두부 섭취가 흡연 남자 성인의 손목 골밀도, 생화학 골대사지표 및 혈청 지질성상에 미치는 효과규명
- 빵잎두부가 저칼슘 섭취 여대생의 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표 및 지질성상에 미치는 효과규명

2. 연차별 연구개발 목표와 내용

최종 연구목적	
<p>콩잎 또는 비지를 이용하여 새로운 기능성 가공식품(두부, 요구르트, 햄버거용 페트, 노인 간식용 쿠키)을 개발하고 동물실험과 임상실험을 통하여 그 기능적 효과를 규명하여 우리 콩과 콩잎의 우수성을 재조명하고 산업화를 통하여 관련 산업계의 활성화 및 국민건강 증진에 기여함</p>	
<p>세부과제명 : 콩잎을 첨가한 두부 와 요구르트 및 콩잎 또는 비지를 이용한 새로운 가공식품인 햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠키개발</p>	
연구목표	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 두부에 첨가할 콩잎 분말과 페이스트 형태의 콩잎 추출물 제조 공정의 최적화 및 표준화, 콩잎두부제조 및 저장성향상연구</li> <li>◦ 콩잎과 비지를 이용한 새로운 기능성 가공식품(요구르트, 햄버거용 페트, 노인 간식용 쿠키)개발</li> </ul>
연구내용 및 범위	<p><u>1차년도</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 두부나 비지 가공식품에 첨가할 콩잎 분말과 페이스트 형태의 콩잎 추출물 제조 및 공정의 표준화</li> <li>◦ 콩잎첨가 두부 제조공정의 표준화</li> <li>◦ 콩잎첨가 두부에 대한 이화학적, 미생물적 분석 및 관능적 특성 평가</li> <li>◦ 유통기한 증대를 위한 저장성 실험</li> </ul> <p><u>2차년도</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 비지를 이용한 콩잎첨가 가공식품(요구르트, 햄버거용 페트, 노인 간식용 쿠키) 제조공정의 표준화</li> <li>◦ 제조된 콩잎과 비지를 이용한 새로운 기능성 가공식품에 대한 이화학적, 미생물적 분석 및 관능적 특성 평가</li> </ul>
연구개발 결과	<p>⇒ 콩잎 또는 비지를 이용하여 새로운 기능성 가공식품(두부, 요구르트, 햄버거용 페트, 노인 간식용 쿠키)을 개발</p>
<p>협동연구과제명 : 콩잎과 개발한 두부 가공식품의 기능성(항고지혈증 및 중금속 제거효과) 규명</p>	
연구목표	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 동물실험을 통하여 개발된 콩잎분말의 기능성 규명</li> <li>◦ 임상실험을 통하여 개발된 콩잎두부의 기능성규명</li> </ul>
연구내용 및 범위	<p><u>1차년도</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 콩잎분말에 대한 항고지혈증 규명</li> <li>◦ 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 콩잎분말에 대한 중금속 제거효과 규명</li> </ul> <p><u>2차년도</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 콩잎두부 섭취가 비만 중년여성의 혈청 지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준변화에 미치는 효과규명</li> <li>◦ 콩잎두부 섭취가 흡연 남자 성인의 손목 골밀도, 생화학 골대사지표 및 혈청 지질성상에 미치는 효과규명</li> <li>◦ 콩잎두부가 저칼슘 섭취 여대생의 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표 및 지질성상에 미치는 효과규명</li> </ul>
연구개발 결과	<p>⇒ 동물실험과 임상실험을 통하여 개발된 콩잎분말 및 콩잎두부의 성인병 예방 및 개선효과 기능성 규명</p>

### 제 3 절. 연구개발 추진체계

#### 빵잎을 이용한 기능성 두류가공식품 개발 및 기능적 효과 규명



		연구 목표	연구범위 및 내용
세 부 과 제	기능성을 신소재를 첨가한 두부 이용한 새로운 가공식품(햄버거 패트와 노인 간식용 쿠키)개발	<b>1차년도</b> □ 두류가공식품에 첨가할 빵잎 분말과 페이스트 형태의 빵잎 추출물 제조 및 제조 표준화 □ 빵잎첨가 두부제조조건 표준화 □ 유통기한 증대를 위한 저장성 실험 <b>2차년도</b> □ 빵잎과 비지를 이용한 고섬유저칼로리 가공식품(햄버거용 패트와 노인 간식용 쿠키)개발 □ 빵잎을 이용한 기능성 요구르트개발 ⇒ 콩과 비지(빵잎포함)를 이용한 저칼로리, 고섬유소 가공식품개발 및 저장성평가	□ 실험재료 메주콩, 빵잎, 비지 □ 실험설계 두류가공식품 첨가할 빵잎 분말과 페이스트 형태의 빵잎 추출물 제조, 빵잎첨가 고형두부 제조, 비지는 빵잎첨가 가공식품(냉동 햄버거용 패트, 노인용 쿠키, 요구르트 등) 개발 □ 분석내용 관능평가, 이화학적 및 미생물적 평가 □ 통계분석



		연구 목표	연구범위 및 내용
협 동 연 구	빵잎과 개발한 두부 가공식품의 기능성(항고지혈증 효과) 및 중금속 제거 효과 규명	<b>1차년도</b> □ 세부과제 1차년도에 제조한 빵잎분말 또는 빵잎 추출물이 흰쥐에서 체내 지질저해 및 중금속 축적저해 효과 규명 <b>2차년도</b> □ 성인에서 1차년도에 제조한 빵잎두부에 대한 체내 지질저해 효과 및 중금속 축적저해 효과 규명 ⇒ 빵잎분말 및 빵잎첨가 두부에 대한 성인병예방효과 규명	□ 동물실험설계 흰쥐 및 성인남녀 □ 시료제조 및 사육 식이에 빵잎분말 또는 추출물을 여러 수준으로 포함시켜 8주간 급여 □ 섭취실험 개발된 빵잎두부를 4주간 섭취 □ 분석시험 사육 종료 후 흰쥐를 부검하여 혈청 지질수준과 중금속수준을 분석 및 임상분석 □ 통계분석



식생활의 서구화 및 환경공해로 심각한 수준에 달한 성인병과 중금속 오염을 예방할 수 있는 기능성 빵잎 두부 가공식품을 실용화 및 산업화하여 농가, 연식품 산업계, 소비자의 이득을 창출하고 궁극적으로 질환의 예방 및 치료를 통한 국민 건강증진에 기여

## 제 2 장. 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절. 국내·외 관련기술의 현황과 문제점

- 2000년 전부터 행해온 전통적인 두부 제조방법은 많은 변천을 가져와 현재에 이르고 있다. 우선적으로 두부의 품질 즉, 맛과 조직감과 수율 향상에 대한 기술개발을 통해 대두의 침지로부터 두유로의 추출, 수용성 대두 단백질의 응고 그리고 응고된 두부의 성형·압착 및 포장방법 등이 크게 향상되었다. 한편으로는 상업화 측면에서 생산규모, 사용장비, 포장방법, 살균 및 식품첨가물을 이용한 저장방법, 자동화 설비 등에 초점을 맞추어 개선되어 왔다.
- 최근에는 제조방법의 기술개발 단계를 넘어 두부의 소비 확대와 고부가가치 산업화를 촉진할 수 있는 기술개발이 이루어지고 있는데, 색상두부(윤광섭 등, 1997), 해조류 첨가 두부(김동한 등, 1996), 우유 및 난백 첨가 두부(김중만 등, 1993), 인삼 첨가 두부(김경택 등, 1996), 아미노산 강화 두부(위재준 등, 1983), 코코넛 두부(Bae et al, 1997) 등이 선행되었다.
- 이와 같이 다양한 두부제품들은 대부분 즉석두부의 형태로 개발되어 소비 확대에 한계를 가지고 있으며, 두부에 식품소재를 첨가하는 형태의 기술 적용에 그치고 있어 생산된 두부의 품질 개선이나 기능성 효과평가는 이루어지지 못하고 있는 상태이다.
- 본 연구팀은 이미 선행연구를 통해 식품성 단백질 급원인 두유에 천연물인 뽕잎을 분말, 추출액 형태로 각각 비율별로 첨가하여 영양학적으로 우수한 두부를 제조하고자 시도한 바 있다. 이를 통해 뽕잎 분말의 입도가 연두부에 넣기에는 너무 커서 열을 가하면 팽화 되어 눈에 보이며, 뽕잎 추출액을 첨가하고 가열하면 녹색이 갈변하는 기술상태의 취약점을 발견하여 이를 보완하는 기술을 개발하고 있다.
- 한편 콩 비지는 두유나 두부 제조시 얻어지는 부산물로서 저장성이 낮고 영양적 가치가 떨어진다고 하여 간과되어 왔으나, 최근 콩 우유 산업이 급성장 하면서 이의 활용방안에 대한 요구와 관심이 증가하고 있다. 이에 대한 연구로서 건조비지를 개발했을 때 저장성이 향상되고 단백질 향상이 40% 이상이었다고 하며, 건조비지를 밀가루 반죽이나 두부 제조에 활용할 수 있다는 보고가 있을 뿐, 아직까지 콩 비지는 비지찌개로 식탁에 오르는 정도로 활용분야의 기술개발이 미흡한 실정이다.

- 최근에는 콩 비지가 식이섬유소가 풍부하고 생리활성 물질이 상당량 함유되어 있어 성인병 예방에 효과적인 식품으로 그 가치가 새롭게 평가되고 있기 때문에 서구식 식품의 소비 증가로 성인병이 증가하고 있는 점을 고려할 때 육류 대용품이나 가공품으로 활용하는 방안이 검토되고 있다.

## 제 2 절. 앞으로의 전망

- 안전성, 발전성을 갖춘 유망사업의 조건은 유행을 타지 않으며, 지속적, 반복적으로 팔리는 소비재로서 비싸지 않아 소비층이 넓어야 하고 성장 잠재력이 있어야 한다. 연식품산업은 위와 같은 조건을 충족하고 있어 소비자의 욕구에 맞춰 제품을 다양화, 고급화하는 노력이 결여된다면 발전 가능성이 매우 높다.
- 연식품산업의 발전은 우리나라 콩 생산능력의 활성화로 이어질 수 있다. 농민의 파종 기피와 국제시세에 비해 가격이 월등히 비싸 수입 콩에 의존하고 있는 현실이다. 그러나 1999년 하반기 두부의 생산 원료인 미국산 수입 콩에 대한 유전자조작 안정성시비가 두부류의 전반적인 매출 감소로 이어진 바 있어 우리 콩을 주원료로 하는 두부의 다양화, 고급화, 기능화로 국내산 콩의 생산성을 증가시킬 수 있다.
- 최근 광우병, 조류독감, 구제역 등, 동물성 단백질 급원인 축산물의 안전성 부재로 새로운 단백질 대체식품의 등장이 필수적이다. 이러한 시점에서 비지를 이용한 새로운 형태의 고섬유소, 고단백질의 햄버거용 페트나 육류 대용품이 개발된다면 시장 점유율은 매우 밝다고 전망한다. 또한 만성질환의 위협에서 건강을 갈망하고 있는 전 세계인들이 콩 및 그 제품에 대한 관심과 요구가 높기 때문에 기능성 두부와 비지 가공품의 개발은 값싼 원료를 수입하여 비싼 제품으로 역수출하는 활로를 개척할 수도 있다.

## 제 3 장. 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절. 두부제조공정의 최적화

#### 1. 이론적 접근방법

두부의 원료인 대두(*Glycine max*)는 glycinin과 albumin 등의 단백질과 지방뿐만 아니라 올리고당, isoflavone, saponin 및 섬유질 등과 같은 기능성 성분 또한 많이 함유하고 있어 영양 생리적으로 매우 우수한 식품으로 인정되고 있다(Kim et al., 2000a). 최근 들어 대두의 생체 조절기능에 대한 연구가 활성화 되면서 콜레스테롤 저하효과 이외에도 대두에 많이 존재하는 flavonoid 성분들은 항암효과, 골다공증, 신부전, 심장질환 등과 같은 만성질환의 예방에 효과가 있는 것으로 밝혀졌다(Lee et al., 1995; Kim, 1996). 대두 단백질은 고혈압예방에도 탁월하여 25g 이상 섭취하는 여성은 하루에 2.5g 섭취하는 군에 비하여 수축기혈압은 1.9 mmHg, 이완기혈압은 0.9 mmHg 정도 낮추는 것으로 나타났으며 혈압감소경향은 나이가 많을수록 더욱 효과적이라는 결과를 보였다. 또한 대두의 영양 장애물질로 알려진 성분들이 오히려 우리 몸에 유익한 작용을 한다는 사실들이 밝혀지고 있다(Bennink, 1995).

두부의 제조원리는 대두를 물과 함께 마쇄할 때 대두에 함유되어있는 단백질과 각종염류가 용액내로 녹아 들어가 교질 현탁액인 대두유를 이룬다. 여기에 응고제를 첨가하면 교질상태로 현탁되었던 단백질이 침전되는데 이것이 응고되어 gel을 형성하는 것이 두부이다(Lee 와 Rha, 1978). 두부의 품질, 조직, 수율 등은 원료 대두 및 제조조건에 따라 영양을 받는데 즉 대두 단백질, 지방, phytic acid 함량, 대두의 수침시간, 대두유 농도, 대두유의 가열온도 및 응고제의 종류 나 농도, 응고온도, 응고제 첨가속도, 응고시간, 압착시 성형압력 등에 따라 달라진다(Chi 와 Kim, 1983; Choi et al., 2000a; Choi et al., 2000b; Kim et al., 2000b; Kim et al., 1995; Kim et al., 2001). 식품의 품질에 관한 최종 판단은 소비자들에 의해 이루어지기 때문에 제품의 관능적평가결과는 매우 중요한 분석 방법 중의 하나이다. 반면에 두부의 제조공정에 따른 이화학적 분석에 관한 연구는 많이 이루어졌으나 관능적 품질에 관한연구는 미미한 편이다.

따라서 본 연구는 예비실험을 통하여 제조공정과정에 있어서 두부의 품질에 주요한 영향을 미치는 5가지 요인을 선별한 다음 각 비선형모형에 따른 중심합성설계법으로 실험설계를 한 후 각 요인의 수준에 따른 두부의 전체적인 품질의 기호도에 미치는 영향을 반응표면 분석법에 의하여 분석하여 최적제조조건을 정립하는데 있다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

두부제조에 사용된 대두는 미국산 수입대두(수입 US No. 1)이었으며 두부제조를 위한 응고제로는 태진산업의 두부용 응고제 황산칼슘( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )을 사용하였다.

### 나. 실험설계

실험설계는 중심합성설계법을 이용하였으며 5가지 요인으로 응고제 첨가온도( $X_1$ ), 응고시간( $X_2$ ), 압착압력( $X_3$ ), 응고제첨가량( $X_4$ ), 두유농도( $X_5$ )에 대하여 Table 1과 같이 수준을 조절하여 두부를 제조한 다음 관능검사를 통하여 최적 제조조건을 설정하였다. 각 인자의 수준 변화에 따른 두부의 전체적인 품질의 기호도 영향을 조사하기 위하여 분산분석, 이차다항회귀곡선식 및 반응표면분석법(response surface methodology, RSM) 등의 통계방법을 이용하였으며 모든 통계분석은 SAS를 이용하였다(SAS, 1993). 이차다항회귀곡선식은 다음과 같다.

$$Y = A_0 + A_1X_1 + A_2X_2 + A_3X_3 + A_4X_4 + A_5X_5 + A_6X_1^2 + A_7X_1X_2 + A_8X_2^2 + A_9X_3X_1 + A_{10}X_3X_2 + A_{11}X_3^2 + A_{12}X_4X_1 + A_{13}X_4X_2 + A_{14}X_4X_3 + A_{15}X_4^2 + A_{16}X_5X_1 + A_{17}X_5X_2 + A_{18}X_5X_3 + A_{19}X_5X_4 + A_{20}X_5^2 \text{-----}(1)$$

여기서 Y는 종속변수로 제조된 두부의 전체적인 품질의 기호도이고,  $X_1, X_2, X_3, X_4, X_5$ 는 독립변수이며  $A_i$ 는 계수이다.  $X_1, X_2, X_3, X_4$  및  $X_5$ 의 각 독립변수는 수준을 5가지로 하여 -2 ~ 2범위의 code value를 갖도록 선형화하였다.

Table 1. Factors and levels of soybean curds manufacturing

Code Value	Coagulation temp. (°C)	Coagulation time (min)	Pressing pressure ( $\text{gf}/\text{cm}^2$ )	Coagulant concentration (%)	Soya milk concentration (° Brix)
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$
-2	60	5	18.18	1	3.0
-1	70	15	31.82	2	3.5
0	80	25	45.45	3	4.0
1	90	35	59.09	4	4.5
2	100	45	72.73	5	5.0

#### 다. 두부의 제조

수세한 대두 100g을 상온(20~22℃)에서 24시간 증류수에 수침시킨 후 건져내어 증류수 1000ml와 함께 blender를 이용하여 3분간 마쇄한 다음 면포를 이용하는 여과방법으로 두유를 제조하였다. 본 실험에서 두부의 저장성 향상을 위하여 자몽종자추출물(*grape seed extract*)을 150 ppm 첨가하였다. 제조된 두유를 5분간 끓인 다음 교반하면서 적정한 두유농도(3.0~5.0°Brix)에 대두함량을 기준으로 적정량(1~5%, w/w)의 응고제를 적정온도(60~100℃)에서 첨가하였다. 응고제를 첨가한 후 적정시간(5~45min) 방치하고 나서 성형틀(Fig. 1)에서 적정압력(18.18~72.73 gf/cm<sup>2</sup>)으로 1시간 동안 압착하여 두부를 성형 제조하였다.

#### 라. 관능검사

관능검사 과목을 이수한 학생들을 대상으로 관능검사요원은 기본 맛 인지검사와 순위검사를 실시하여 24명의 관능검사요원을 선별하였다(Suh *et al.*, 2001). 관능검사 방법은 보다 정확한 데이터를 얻고자 감각의 둔화작용을 최소화 하는 방법으로서 설문항목을 전체적인 품질에 대한 평가로 측정항목을 국한 시키고 또한 시료도 4가지로 제한하였다. 제조된 두부를 상온에서 1시간 동안 방치한 다음 두부의 전체적인 품질에 대한 기호도를 9점법에 의하여 측정하였다. 27가지의 시료에 대한 관능검사는 *balanced incomplete block design*법(Stone 과 Sidel, 1983)에 의하여 4가지 시료를 1 session으로 시행하였다.

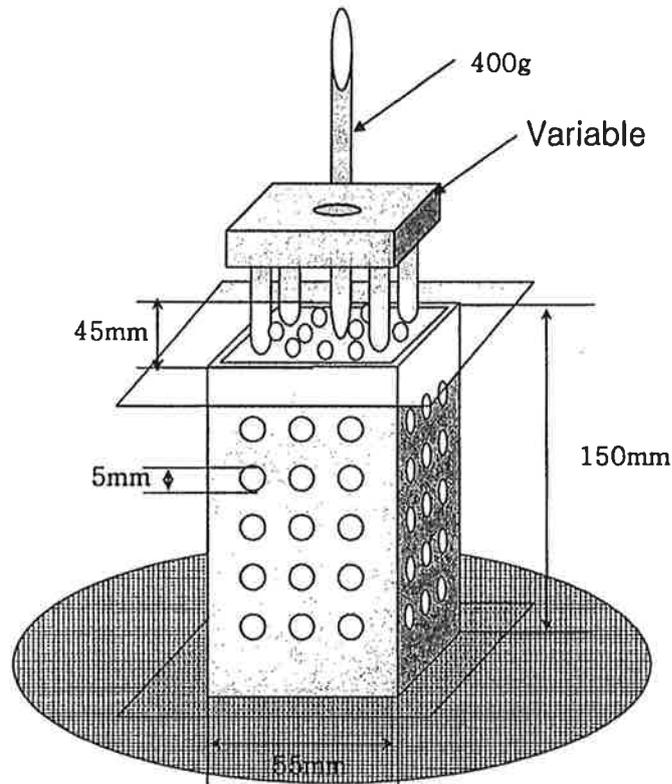


Fig. 1 Apparatus for soybean curds Manufacturing

### 3. 연구결과

#### 가. 두부제조공정에 따른 전체적인 품질의 기호도에 미치는 영향

두부제조과정에서 5가지 요인 응고온도(X1), 응고시간(X2), 압착압력(X3), 응고제첨가량(X4), 두유농도(X5)의 수준변화에 따른 두부의 전체적인 기호도의 결과는 Table 2와 같다. Raw 데이터를 기준으로 볼 때 관능적평가의 전체적인 품질의 기호도에서 최소 값(3.46)을 보인 제조조건은 90 °C의 온도에서 2%(w/w)의 응고제(CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O)를 첨가하여 35분간 방치시키고 압착압력이 31.82 gf/cm<sup>2</sup>, 두유의 농도는 3.5 °Brix 일 때 이었다. 반면 최대 값(6.40)을 보인 제조조건은 70 °C의 온도에서 4%(w/w)의 응고제를 첨가하여 15분간 방치시키고 압착압력이 59.09 gf/cm<sup>2</sup>, 두유의 농도는 3.5 °Brix 일 때 이었다. 본 실험 5가지 요인의 흥미영역(수준)에서의 전체적인 품질의 기호도 평균값은 5.11이었다. 5가지 요인의 수준 변화에 따른 전체적인 기호도에 미치는 영향정도를 분석하여 본 결과는 Table 3과 같다. 두부의 전체적인 기호도에 미치는 영향정도는 두유농도> 응고온도> 응고제첨가량> 압착무게> 응고시간의 순으로 나타났으며 두유농도와 응고온도는 5% 내에서 유의성 차이가 있었다.

Table 2. The overall quality hedonic scores of soybean curds by processing variables

X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	Overall quality hedonic score
-1	-1	-1	-1	-1	5.15
1	-1	-1	-1	1	6.38
-1	1	-1	-1	1	6.38
1	1	-1	-1	-1	3.46
-1	-1	1	-1	1	6.27
1	-1	1	-1	-1	3.87
-1	1	1	-1	-1	5.67
1	1	1	-1	1	5.07
-1	-1	-1	1	1	5.64
1	-1	-1	1	-1	4.21
-1	1	-1	1	-1	5.14
1	1	-1	1	1	4.67
-1	-1	1	1	-1	6.40
1	-1	1	1	1	4.00
-1	1	1	1	1	5.33
1	1	1	1	1	3.73
-2	0	0	0	0	5.47
2	0	0	0	0	3.79
0	-2	0	0	0	6.21
0	2	0	0	0	5.79
0	0	-2	0	0	4.64
0	0	2	0	0	5.57
0	0	0	-2	0	5.00
0	0	0	2	0	5.00
0	0	0	0	-2	5.36
0	0	0	0	2	4.79
0	0	0	0	0	5.07

Table 3. Analysis variances for the effects of five process variables on the overall quality hedonic scores of soybean curds

Factor	Sum of square	Mean of square	F value	Pr > F
X <sub>1</sub>	5.971265	0.995211	4.36	0.0481
X <sub>2</sub>	1.600045	0.266674	1.17	0.4275
X <sub>3</sub>	3.014832	0.502472	2.20	0.1798
X <sub>4</sub>	3.928781	0.654797	2.87	0.1126
X <sub>5</sub>	6.107463	1.017910	4.46	0.0458

나. 이차다항회귀곡선식의 적합도

두부제조조건 독립변수(요인, X)인 응고온도(X<sub>1</sub>), 응고시간(X<sub>2</sub>), 압착무게(X<sub>3</sub>), 응고 제침가량(X<sub>4</sub>), 두유농도(X<sub>5</sub>)의 수준변화에 대한 종속변수(반응치, Y)인 두부의 전체적인 품질의 기호도를 예측하기 위하여 SAS program의 rsreg procedure를 이용하였으며 이차다항회귀곡선의 회귀계수 값을 계산한 결과는 Table 4와 같다. 또한 두부의 전체적인 품질의 기호도에 대한 이차다항회귀곡선에서의 일차다항회귀(linear), 이차다항회귀(quadratic), 교차회귀(cross product)의 기여도를 검정한 결과(Table 5) 기여도는 일차다항회귀, 교차회귀, 이차다항회귀 순으로 나타났으며 total regress는 0.0475로서 5% 내에서 유의성의 차이를 보였다.

Table 4. Regression coefficients of second degree polynomials for the overall quality hedonic scores of soybean curds

Parameter	Estimate
Intercept	5.043928
X1	-0.495446
X2	-0.052113
X3	0.134554
X4	-0.044613
X5	0.079693
X1*X1	-0.100223
X2*X1	0.091831
X2*X2	0.242277
X3*X1	-0.084419
X3*X2	0.190581
X3*X3	0.018527
X4*X1	0.053081
X4*X2	0.110581
X4*X3	0.146831
X4*X4	-0.007723
X5*X1	0.033290
X5*X2	-0.141710
X5*X3	-0.447960
X5*X4	-0.552960
X5*X5	0.011027

Table 5. Determination coefficient of second degree polynomials for the overall quality hedonic scores of soybean curds

Regression	R-square	F value	Pr > F
Linear	0.4964	8.46	0.0109
Quadratic	0.1055	1.80	0.2474
Cross product	0.3277	2.79	0.1106
Total regress	0.9296	3.96	0.0475

#### 다. 두부제조공정의 최적화

5가지의 요인인 응고온도(X1), 응고시간(X2), 압착압력(X3), 응고제첨가량(X4), 두유농도(X5) 중 5%내에서 유의성 차이가 나타나지 않는 응고시간, 압착압력, 응고제첨가량은 canonical analysis에 의하여 얻어진 최적 값인 27.2 min, 45.45 gf/cm<sup>2</sup>, 1.44%(w/w) 으로 각각 고정시킨 다음 두부의 제조과정에서의 응고온도와 두유농도에 따른 전체적인 품질의 기호도에 미치는 영향을 반응표면분석법으로 분석한 결과 Fig. 2와 같다. 두부의 전체적인 품질의 기호도는 응고온도가 높아짐에 따라서 낮아짐을 알 수 있었다. 두유농도는 저 농도 보다는 고농도에서 전체적인 품질의 기호도가 높아졌다. 분석결과 응고온도가 60℃, 5.0 °Brix 두유농도에서 최적 점을 나타내었다. 본 실험의 흥미영역을 기준으로 볼 때 최적 제조조건에서 두부의 전체적인 품질의 기호도는 6.2를 나타내었다. 따라서 본 실험의 흥미영역에서 두부제조공정의 최적 제조조건은 응고온도(60℃), 응고시간(27.2 min), 압착무게(45.45 gf/cm<sup>2</sup>), 응고제첨가량(1.44%, w/w), 두유농도(5.0 °Brix)이었다.

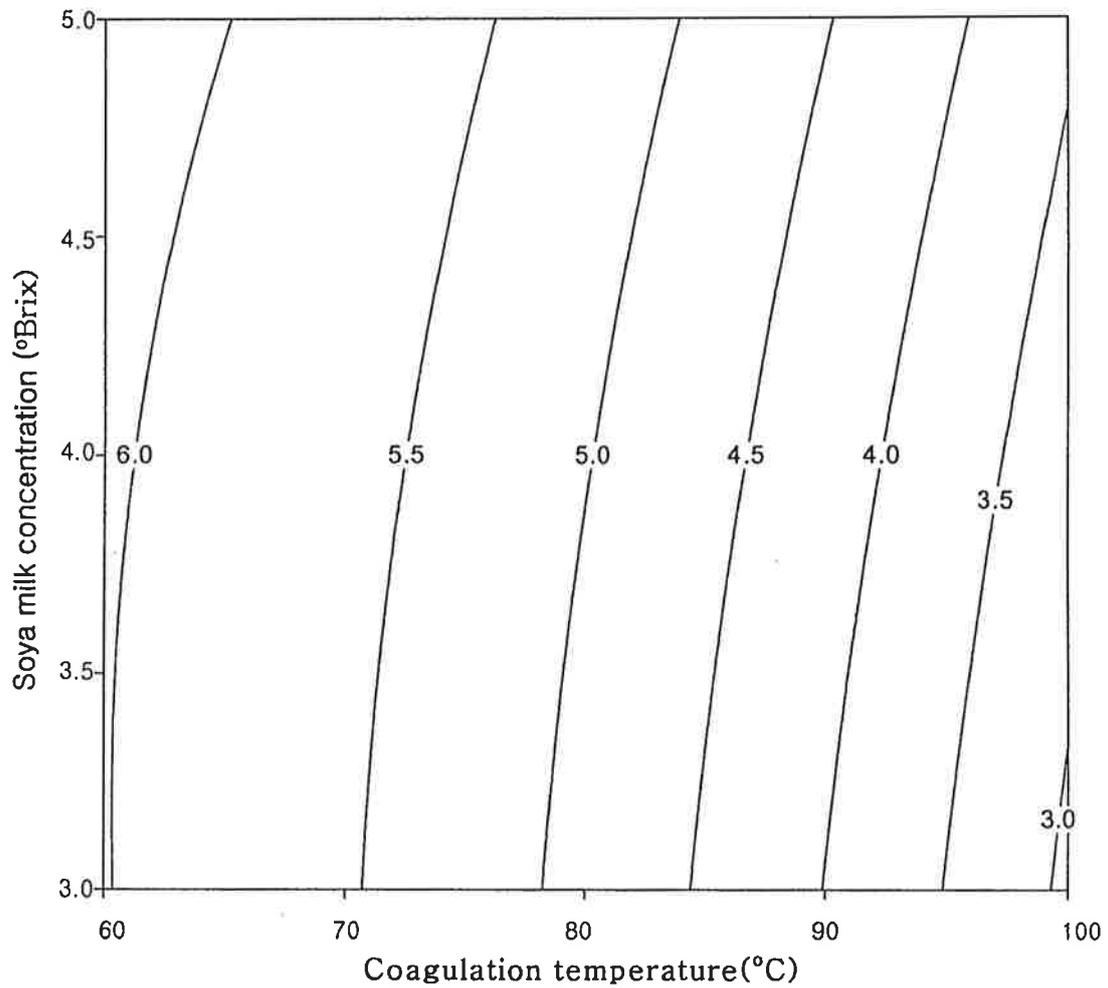


Fig. 2. The overall quality hedonic scores of soybean curds as related to coagulation temperature and soya milk concentration.

## 제 2 절. 뽕잎두부 제조 시 뽕잎 분말과 추출물의 최적첨가 조건 연구

### 1. 이론적 접근방법

뽕잎은 2,200여 년 전부터 민간에서 약제로 이용되어왔으며 뽕잎에는 단백질, 아미노산, 비타민, 미네랄 및 다량의 식이섬유소 뿐 아니라 flavones, steroids 및 triterpenes와 같은 다양한 생리활성물질을 함유하고 있는 것으로 보고 되고 있다(Chae et al., 2003; Asano et al., 2000). 또한, 뽕잎은 항당뇨(Basnet et al., 1993; Asano et al., 1994; Kimura et al., 1995; Kim et al., 1999), 항고지혈증(Kim 과 Lee 1996; Kim et al., 1998a), 항산화작용(Yen et al., 1996; Doi et al., 2000) 및 중금속제거 능력 (Kim 1998b) 등 여러 가지 생리적 또는 약리적 작용을 갖고 있다. 뽕잎에 함유되어있는 여러 가지 생리활성성분 중 혈당강하성분으로 알려진 1-deoxynojirimycin(DNJ), 혈압강하성분인 r-aminobutyric acid(GABA) 및 항산화성분의 flavonoid화합물은 뽕잎의 우수한 기능성을 나타내는 지표물질로서 잘 알려져 있다(Chae et al., 2003). 한편 안전성 즉, 독성여부를 조사한 결과 무독성 식품으로서 70kg 체중을 가진 성인이 한번에 마른 뽕잎3.5kg을 먹어도 전혀 이상이 없다는 점이 검증되었다(Lee et al., 2003).

이러한 연구배경으로 최근 들어 기능성 식품, 화장품 및 의약품의 신소재로서 널리 이용되고 있으며 한국과 일본을 중심으로 새로운 천연신소재로 뽕잎에 대한 관심이 급부상 하였으며 뽕잎분말을 첨가하여 개발된 가공식품으로는 뽕잎아이스크림, 뽕잎국수, 뽕잎과자 등을 제조하여 시판되고 있다(Kim 과 Yuh 2004). 반면에 뽕잎 분말을 이용하여 제품화하는 과정에서 뽕잎 분말입자의 크기가 일반적으로 큼으로서 가공제품의 조직감에서 거침성이 나타나므로 소비자의 불만이 많이 야기되고 있는 실정이다.

지금까지 식품의 가공공정에서 미세분쇄공정으로 ball 또는 pin mill 등을 이용하고 있으나 분쇄과정에서 온도상승에 의한 품질저하를 고려할 때 분쇄분말의 평균입자직경은 200~300 micron 수준이다. 최근에 개발된 high impact planetary mill은 cell의 방향과 축 방향을 반대로 회전시키면서 media 상호간의 충격 및 전단운동을 이용하여 기존의 분쇄 방법들에 비하여 초미세분쇄(20~40 micron)가 가능하게 되었으며 단시간(30분) 내에 분쇄가 이루어진다.

따라서 본 연구에서는 high impact planetary mill을 이용하여 뽕잎분말입자의 평균크기를 조절하여 뽕잎 두부 제조 시 첨가함으로써 뽕잎분말입자의 평균크기와 농도 및 뽕잎추출물의 농도변화에 따른 뽕잎첨가 두부품질의 기호도를 조사하여 가공 처리된 뽕잎의 최적첨가조건을 연구하는데 있다.

### 2. 재료 및 방법

가. 재료

두부제조에 사용된 대두는 미국산 수입대두(수입 US No. 1)이었으며 빙잎은 충남 홍성의 농가로부터 구입하여 deep freezer에 보관하면서 사용하였다. 두부제조를 위한 응고제로는 태진산업의 두부용 응고제 황산칼슘( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )을 사용하였다. 자몽종자추출물(Grape seed extract)은 에프에이뱅크(DF-100, Korea)의 제품을 사용하였다.

나. 빙잎 건조, 분쇄 및 추출

빙잎의 건조는 원적외선건조기(FDI-150, Duksan, Korea)를 사용하여 50℃에서 수분함량 4%(dry basis) 까지 건조시켰다. 건조된 빙잎의 분쇄는 high impact planetary mill(pulverisette 6, FRITSCH, Germany)를 이용하였으며 4.9mm의 ball 크기로 200 rpm에서 분쇄시간을 조절하여 빙잎분말입자의 평균크기를 조절하였다. 분쇄된 빙잎분말입자의 평균크기가 40.02 $\mu\text{m}$ , 64.65 $\mu\text{m}$ , 101.76 $\mu\text{m}$ (Fig. 3)인 빙잎분말을 빙잎두부 제조 시 사용하였다. 빙잎추출물제조는 40.02 $\mu\text{m}$  크기의 빙잎분말을 이용하여 100℃에서 열수추출방법으로 하였으며 열수추출 후 진공농축기(R-124, Buchii, Switzerland)를 사용하여 40℃에서 20°brix까지 농축하였다.

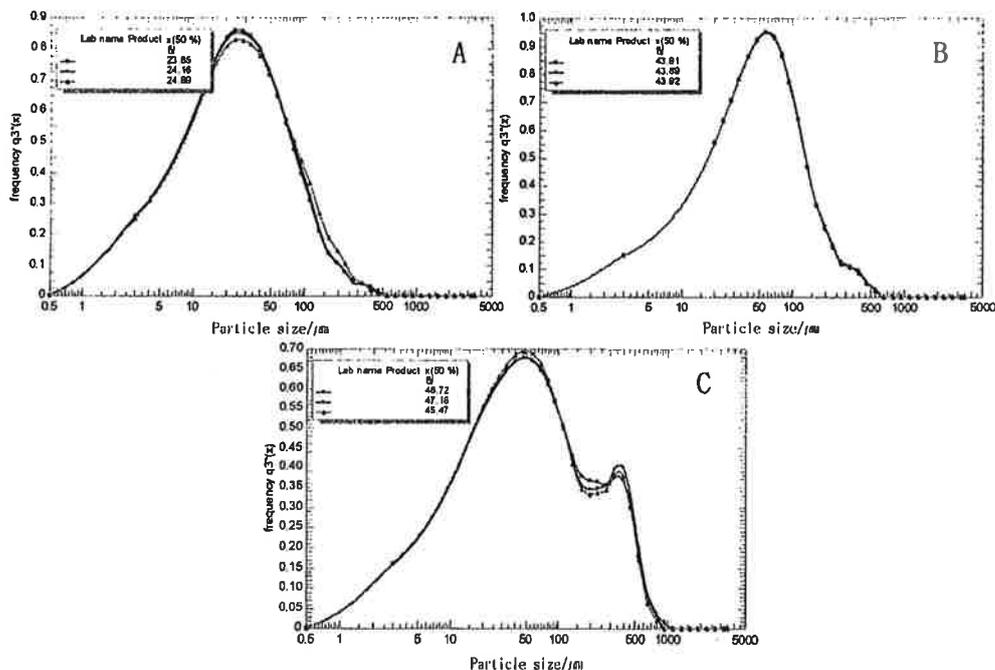


Fig. 3. Average particle size of mulberry leaf powder; 40.02 $\mu\text{m}$ (A), 64.65 $\mu\text{m}$ (B), 101.76 $\mu\text{m}$ (C).

다. 실험설계

실험설계는 중심합성설계법을 이용하였으며 3 가지 요인 뽕잎분말의 농도(X1), 뽕잎분말입자의 평균크기(X2), 자몽종자추출물의 농도(X3)에 대하여 Table 6과 같이 수준을 조절하여 뽕잎두부를 만든 다음 관능검사를 통하여 최적의 뽕잎분말 제조조건을 설정하였다. 뽕잎분말입자의 평균크기(X2)는 실제적으로 40.02 $\mu$ m, 64.65 $\mu$ m, 101.76 $\mu$ m(Fig. 2)인 것을 각각 40 $\mu$ m, 70 $\mu$ m, 100 $\mu$ m(Table 6)으로 입력하였다. 여기서 자몽종자추출물은 뽕잎두부의 저장성향상을 위하여 첨가하였다. 각 인자의 수준 변화에 따른 뽕잎두부의 전체적인 품질의 기호도 영향을 조사하기 위하여 분산분석, 이차다항회귀곡선식 및 반응표면분석법(response surface methodology, RSM) 등의 통계방법을 이용하였으며 통계분석은 SAS를 이용하였다(SAS, 1993). 이차다항회귀곡선식은 다음과 같다.

$$Y=A_0+A_1X_1+A_2X_2+A_3X_3+A_4X_1^2+A_5X_1X_2+A_6X_2^2+A_7X_1X_3+A_8X_3X_2+A_9X_3^2-----(1)$$

여기서 Y는 종속변수로 제조된 두부의 전체적인 품질의 기호도이고, X1, X2, X3, 는 독립변수이며 Ai는 계수이다. X1, X2, 및 X3의 각 독립변수는 수준을 3가지로 하였다.

뽕잎추출물의 농도는 대조구, 0.25%, 0.50% 및 0.75%(w/w)로 조절하여 뽕잎두부의 기호도 및 강도를 조사하였다. 이때, 자몽종자추출물은 뽕잎분말 제조공정의 최적화과정에서 얻어진 176 ppm으로 농도를 고정시켰다. 통계처리는 분산분석과 Duncan의 다범위검정법을 이용하였다. 뽕잎분말, 뽕잎추출물 및 자몽종자추출물의 농도(w/w)는 대두의 무게를 기준으로 하였다.

Table 6. Levels of independent variables expressed in coded for optimization of mulberry leaf powder added conditions

Code units	Independent variables		
	Concentration of mulberry leaf powder (%)	Average particle size of mulberry leaf powder ( $\mu$ m)	Concentration of grape seed extract (ppm)
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
-1	0.25	40	0
0	0.50	70	150
1	0.75	100	300

## 라. 뽕잎두부의 제조

수세한 대두 100g을 상온(20~22℃)에서 24시간 증류수에 수침시킨 후 건져내어 증류수 1000ml와 함께 blender를 이용하여 3분간 마쇄한 다음 면포를 이용하는 여과방법으로 두유를 제조하였다. 제조된 두유에 적정량의 뽕잎분말 또는 뽕잎 추출물과 자몽종자추출물을 첨가한 후 5분간 끓인 다음 교반하면서 5.0°Brix의 두유농도에 대두함량을 기준으로 1.44%(w/w)의 응고제를 60℃의 온도에서 첨가하였다. 응고제를 첨가한 후 27.2분간 방치하고 나서 성형틀에서 45.45 gf/cm<sup>2</sup>의 압력으로 1시간 동안 압착하여 두부를 성형 제조하였다.

## 마. 관능검사

관능검사 과목을 이수한 학생들을 대상으로 24명의 관능검사요원을 선별하였다. 뽕잎분말의 농도, 뽕잎분말입자의 평균크기, 자몽종자추출물의 농도에 따른 기호도변화의 관능검사 방법은 기준검사물(뽕잎이 첨가되지 않은 두부)을 제시한 다음 기준 검사물에 인위적으로 5점을 부여한 후 기준 검사물과 비교평가 하도록 하는 9점 기호척도법을 이용한 다시료 비교검사법을 사용하였다. 제조된 두부를 상온에서 1시간 동안 방치한 다음 뽕잎두부의 전체적인 품질에 대한 기호도를 9점법에 의하여 측정하였다. 18가지의 시료에 대한 관능검사는 balanced incomplete block design법(Stone 과 Sidel, 1983)에 의하여 3가지 시료를 1 session으로 시행하였다.

뽕잎추출물의 농도변화에 따른 뽕잎두부의 기호도 및 강도변화의 관능검사 방법은 4가지 시료에 대하여 색상(color), 맛(taste), 조직감(texture) 및 전체적인 품질(overall quality)의 기호도를 뚫은 맛(astringency)은 강도에 대한 것을 앞서의 다시료 비교검사법을 사용하여 9점법에 의하여 분석하였다.

## 3. 연구결과

### 가. 뽕잎분말의 농도, 뽕잎분말입자의 평균크기 및 자몽종자추출물의 농도에 따른 뽕잎두부의 기호도에 미치는 영향

뽕잎두부의 전체적인 기호도의 결과는 Table 7과 같다. Raw 데이터를 기준으로 볼 때 관능적평가의 전체적인 품질의 기호도에서 최소 값(4.714)을 보인 조건으로 뽕잎분말의 농도는 0.75%, 뽕잎분말입자의 평균 크기는 100 $\mu$ m, 자몽종자추출물의 농도는 300ppm일 때 이었다. 반면 최대 값(6.538)을 보인 조건으로 뽕잎분말의 농도는 0.50%, 뽕잎분말의 평균 크기는 40 $\mu$ m, 자몽종자추출물의 농도는 150ppm 일 때 본 실험 3가지 요인의 흥미 영역(수준)에서의 전체적인 품질의 기호도 평균값은 5.56이었다.

3가지 요인의 수준 변화에 따른 전체적인 기호도에 미치는 영향 정도를 분석하여 본 결과는 Table 8과 같다. 뽕잎두부의 전체적인 기호도에 미치는 영향 정도는 뽕잎분말입자의 평균크기 > 뽕잎분말의 농도 > 자몽종자추출물의 농도의 순으로 나타났으며 뽕잎분말입자의 평균크기(0.0003)와 뽕잎분말의 농도(0.0178)는 5% 내에서 유의성 차이가 있었으나 자몽종자추출물의 농도(0.8381) 변화에 따른 뽕잎두부의 기호도에는 유의성 차이가 없었다.

Table 7. Hedonic scores of overall quality of mulberry leaf soybean curds by mulberry leaf powder added conditions

X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Overall quality
-1	-1	-1	6.385
1	-1	-1	5.714
-1	1	1	5.500
-1	1	-1	5.231
1	1	-1	4.786
-1	-1	1	6.231
1	1	1	4.714
0	1	-1	5.385
1	-1	1	5.846
1	0	-1	5.462
1	1	0	5.000
0	0	0	5.857
-1	0	0	5.500
1	0	0	5.429
0	-1	0	6.538
0	1	0	5.286
0	0	-1	5.615
0	0	1	5.571

Table 8. Analysis of variance for the effects of three variables on the hedonic scores of overall quality of mulberry leaf soy bean curd

Factor	Sum of squares	Mean of square	F Value	Pr > F
X <sub>1</sub>	0.810539	0.202635	5.73	0.0178*
X <sub>2</sub>	2.952334	0.738084	20.88	0.0003***
X <sub>3</sub>	0.049299	0.012325	0.35	0.8381

나. 이차다항회귀곡선식의 적합도

뽕잎분말의 농도(X<sub>1</sub>), 뽕잎분말입자의 평균크기(X<sub>2</sub>), 자몽종자추출물의 농도(X<sub>3</sub>)의 수준 변화에 따른 종속변수(반응치, Y)인 뽕잎두부의 전체적인 품질의 기호도를 예측하기 위하여 SAS program의 rsreg procedure를 이용하였으며 이차다항회귀곡선의 회귀계수 값을 계산한 결과는 Table 9와 같다. 또한 두부의 전체적인 기호도에 대한 이차다항회귀곡선에서의 일차다항회귀(linear), 이차다항회귀(quadratic), 교차회귀(cross product)의 기여도를 검정한 결과(Table 10) 일차다항회귀, 이차다항회귀, 교차회귀 순으로 나타났으며 total regress는 0.0009로서 0.1% 내에서 높은 유의성의 차이를 보였다.

Table 9. Regression coefficients of the second degree polynomials for the hedonic scores of overall quality of mulberry leaf soy bean curd

Parameter	Estimate
Intercept	5.774624
X <sub>1</sub>	-0.209926
X <sub>2</sub>	-0.505788
X <sub>3</sub>	-0.015053
X <sub>1</sub> *X <sub>1</sub>	-0.245082
X <sub>2</sub> *X <sub>1</sub>	-0.014604
X <sub>2</sub> *X <sub>2</sub>	0.142606
X <sub>3</sub> *X <sub>1</sub>	-0.031947
X <sub>3</sub> *X <sub>2</sub>	0.017256
X <sub>3</sub> *X <sub>3</sub>	-0.105191

Table 10. Determination coefficient of the second degree polynomials for the hedonic scores of overall quality of mulberry leaf soy bean curd

Regression	R-Square	F-value	Pr > F
Linear	0.8586	33.68	<.0001
Quadratic	0.0702	2.75	0.1119
Cross product	0.0032	0.12	0.9429
Total regress	0.9320	12.19	0.0009

#### 다. 뽕잎분말 제조공정의 최적화

뽕잎분말의 농도( $X_1$ )와 뽕잎분말입자의 평균크기( $X_2$ )의 수준변화에 따른 뽕잎두부의 전체적인 품질 기호도에 미치는 영향을 반응표면분석법으로 분석한 결과 Fig. 4와 같다. 이때 자몽중자추출물의 농도( $X_3$ )는 canonical analysis에 의하여 얻어진 최적 값인 176ppm(v/w) 으로 고정시켰다. 뽕잎두부의 전체적인 품질의 기호도는 뽕잎분말의 농도 보다는 뽕잎분말입자의 평균크기 변화에 민감한 반응을 보였으며 뽕잎분말입자의 평균크기가 작아짐에 따라서 뽕잎두부의 전체적인 품질 기호도는 상대적으로 높아짐을 알 수 있었다. 뽕잎분말입자의 평균크기가 동일한 경우를 기준으로 볼 경우 뽕잎분말의 농도는 0.25%와 0.50% 구간에서 전체적인 품질의 기호도가 높아졌다. 분석결과 뽕잎분말의 농도는 0.40%, 뽕잎분말입자의 평균크기는 40 $\mu$ m에서 최적 점을 나타내었다. 본 실험의 흥미영역을 기준으로 볼 때 최적점에서 뽕잎두부 전체적인 품질의 기호도는 6.45로 나타났다. 따라서 본 실험의 흥미영역에서 최적조건은 뽕잎분말의 농도는 0.40%, 뽕잎분말입자의 평균크기는 40 $\mu$ m, 자몽중자추출물농도는 176ppm이었다.

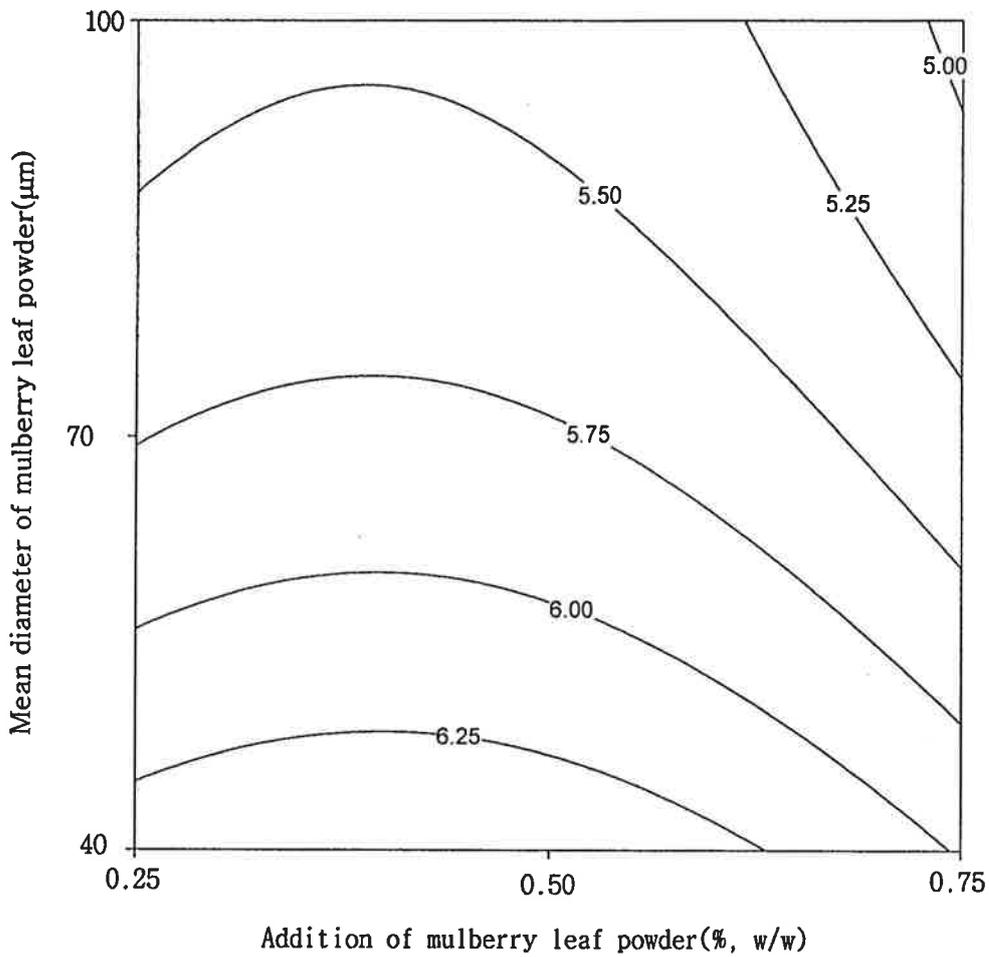


Fig. 4. The hedonic scores of overall quality of mulberry leaf soybean curd as related to added concentration and size of mulberry leaf powder at 176ppm of grape seed extract concentration.

라. 뽕잎추출물의 최적농도

뽕잎추출물의 농도를 대조구, 0.25%, 0.50% 및 0.75%(v/w)로 조절하여 뽕잎두부의 기호도 및 강도를 조사한 결과 Table 11과 같다. 색상, 맛, 조직감 및 전체적인 품질은 기호도를 측정하였으며 짙은맛은 강도를 9점법에 의하여 측정하였다. 이때, 자몽종자추출물의 농도는 앞서의 최적조건인 176ppm으로 고정시켰다. 대조구(뽕잎이 첨가되지 않은 두부)에 비하여 뽕잎을 첨가한 두부의 색상의 기호도는 0.25%에서 높게 나타났으며 0.50% 이상의 농도에서는 대조구보다 낮았으며 군 간은 5%내에서 유의성 차이는 나타나지 않았다. 맛에 대한 기호도에서는 0.25%에서 가장 높은 값을 보였으며 대조구와는 5%에서 유의성 차이를 나타내었다. 0.75%의 농도에서는 대조구보다 낮은 기호도 값을 보였다. 두부 제조 시 뽕잎추출물을 첨가할 때 뽕잎 특유의 짙은 맛 강도를 조사한 결과 0.50%까지의 농도에서는 대조구(5.00)와 거의 같은 값(5.07)을 나타내었지만 0.75%의 농도에서 대조구보다 약간 높은 강도(5.47)를 보였다. 본 실험 조건인 0.25%~0.75% 의 농도에서 대조구와 비교할 때 짙은 맛 강도는 5%내에 유의성 차이를 보이지 않았다. 조직감 과 전체적인 품질의 기호도에서는 대조구보다 0.25%와 0.50%의 농도에서 높은 기호도 값을 보였지만 0.75%의 농도에서는 급격히 기호도 값이 떨어졌으며 0.25%, 0.50%군과 0.75%의 군 간에서 유의성 차이를 나타내었다. 뽕잎추출물의 농도가 0.25%일 때 조직감에 대한 기호도 값을 제외하고 색상, 맛, 및 전체적인 품질의 기호도에서 가장 높은 값을 보였다.

Table 11. Hedonic and intensity scores of mulberry leaf soybean curds by added concentration of mulberry leaf extract

	Control	Concentration of mulberry leaf extract(w/w)		
		0.25%	0.50%	0.75%
Color	5.00 <sup>NS</sup>	5.40 <sup>NS</sup>	4.33 <sup>NS</sup>	4.87 <sup>NS</sup>
Taste	5.00 <sup>b</sup>	6.33 <sup>a</sup>	5.40 <sup>ab</sup>	4.47 <sup>b</sup>
Astringency	5.00 <sup>NS</sup>	5.07 <sup>NS</sup>	5.07 <sup>NS</sup>	5.47 <sup>NS</sup>
Texture	5.00 <sup>ab</sup>	5.53 <sup>a</sup>	5.67 <sup>a</sup>	3.93 <sup>b</sup>
Overall quality	5.00 <sup>ab</sup>	5.73 <sup>a</sup>	5.60 <sup>a</sup>	4.20 <sup>b</sup>

NS : Not significance

### 제 3 절. 침지액에 알칼리성 이온수 및 자몽종자추출물 첨가가 콩잎두부의 저장성에 미치는 효과

#### 1. 이론적 접근방법

두부의 원료인 대두(*Glycine max*)는 glycinin과 albumin 등의 단백질과 지방뿐만 아니라 올리고당, isoflavone, saponin 및 섬유질 등과 같은 기능성 성분 또한 많이 함유하고 있어 영양 생리적으로 매우 우수한 식품으로 인정되고 있다.(Kim et al., 2000) 최근 들어 대두의 생체 조절기능에 대한 연구가 활성화 되면서 콜레스테롤 저하효과 이외에도 대두에 많이 존재하는 flavonoid 성분들은 항암효과, 골다공증, 신부전, 심장질환 등과 같은 만성질환의 예방에 효과가 있는 것으로 밝혀졌다(Lee et al., 1995 ; Kim et al., 1996) 콩잎은 2,200여 년 전부터 민간에서 약제로 이용되어왔으며 콩잎에는 단백질, 아미노산, 비타민, 미네랄, 다량의 식이섬유소 뿐 아니라 flavones, steroids 및 triterpenes와 같은 다양한 생리활성물질을 함유하고 있는 것으로 보고 되고 있다.(Chae et al ., 2003) 또한, 항당뇨(Kimura et al ., 1995), 항고지혈증(Kim et al ., 1996), 항산화작용(Doi et al ., 2000) 및 중금속제거 능력(Kim et al ., 1998)등 여러 가지 생리적 또는 약리적 작용을 갖고 있다.

반면 두부는 80% 이상의 수분 때문에 시판되는 포장두부는 포장 후 65~80℃에서 열처리하고 냉각시킨 후 냉장 유통되고 있으며 저장유통기간은 일반적으로 5일이다. 포장하지 않은 판두부는 저장기간이 4~10월은 24시간, 11~3월은 48시간 냉장에서는 3일을 유통기간으로 권장하고 있다.(Jung et al ., 2002) 두부의 저장성 향상을 위하여 두부를 microwave나 고압으로 처리하는 방법,(Lee et al ., 1997 ; Prestamo et al ., 2000) Ca<sup>2+</sup>이온 또는 그 이외에 다양한 화합물을 응고제로 사용하는 방법,(Lee et al ., 2001 ; Jung et al ., 2000 ; Lee et al ., 2004) 두부의 침지액에 보존성향상 시킬 수 있는 유기산이나 키토산을 첨가하는 방법,(Chun et al ., 1997 ; Lee et al ., 1990) 식물체유래의 천연항균물질을 첨가하는 방법(Oh et al ., 2002)등이 보고 되고 있다.

알칼리성 이온수는 식수로서의 적합성은 외국에서 많이 보고 되고 있으며 특히 음식물이 산성 영역의 것이 많기 때문에 식수로서의 권장가치가 인정되고 있다.(Oh et al ., 1993) 또한 매우 폭넓은 항균 스펙트럼을 가지면서도 인체에 무해한 장점을 갖고 있으므로 단체급식소에서 현재 사용되고 있는 염소수를 대체할 수 있는 대안으로 평가되고 있으며 채소류의 세정 및 살균 등에 뛰어난 효과를 나타내는 것으로 보고 되고 있다.(Lee et al ., 2004)

자몽종자추출물은 함유된 naringin 등의 flavonoid성분이 미생물의 세포벽 및 세포막의 기능을 약화시키고 효소활성을 저해하며 DNA/RNA에서 비롯되는 세포증식기작을 억제한다. 미생물에 대한 살균효과가 커서 500 ppm정도의 낮은 희석배율로도 *Salmonella*를

제거하는데 효과가 있으며 대장균, 포도상구균, 콜레라균 등의 식중독 균에 모두 항균스펙트럼을 가지고 있다.(Choi et al., 2000) 또한, 금속 킬레이트화(chelation) 효과, 항돌연변이유발 효과, 유리기(free radical)붕쇄효과, 항염증효과, 항아테롬형성(anti-atherogenic) 효과, 치아 우식 원인 균인 *Streptococcus mutans* 성장을 억제하는 효과 등 다양한 기능성을 가지고 있다.(Jagetia et al., 2002; Borrelli et al., 2000; Borradaile et al., 2003)

따라서 본 연구에서는 콩잎두부의 저장성 향상을 목적으로 알칼리성 이온수 및 자몽종자추출물을 침지액으로 이용하여 4°C 와 25°C에서 저장하면서 대조구인 증류수와 이화학적 및 미생물 변화를 비교분석하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

본 실험에서 두부제조에 사용된 대두는 미국산 수입대두(수입 US No. 1)이었으며 콩잎은 충남 홍성의 농가로부터 구입하여 deep freezer에 보관하면서 사용하였다. 두부제조를 위한 응고제로는 태진산업(주)의 두부용 응고제 황산칼슘( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )을 사용하였다. 침지액으로 사용된 알칼리성 이온수는 (주)이인의 제품으로 pH는 9.3이었으며 자몽종자추출물(grape seed extract)은 에프에이뱅크(DF-100, Korea)의 제품이었다.

### 나. 콩잎 건조 및 분쇄

콩잎의 건조는 원적외선건조기(FDI-150, Duksan, Korea)를 사용하여 50°C에서 수분함량을 4%(dry basis)까지 건조시켰다. 건조된 콩잎의 분쇄는 high impact planetary mill(pulverisette 6, FRITSCH, Germany)을 이용하였으며 4.9 mm 크기의 ball로 200 rpm에서 분쇄시간을 30분으로 조절하였다. 분쇄된 콩잎분말입자의 평균크기는 40.02  $\mu\text{m}$ 이었다.

### 다. 콩잎두부의 제조

수세한 대두 100 g을 상온(20~22°C)에서 24시간 증류수에 수침시킨 후 건져내어 증류수 1000 ml와 함께 blender를 이용하여 3분간 마쇄한 다음 면포를 이용하는 여과방법으로 두유를 제조하였다. 제조된 두유에 대두 대비 4%(w/w) 콩잎분말을 첨가한 후 5분간 끓인 다음 교반하면서 5.0 °Brix의 두유농도에 대두함량을 기준으로 1.44%(w/w)의 응고제를 60°C의 온도에서 첨가하였다. 응고제를 첨가한 후 27.2분간 방치하고 나서 성형 틀에서 45.45 g/cm<sup>2</sup>의 압력으로 1시간동안 압착하여 두부를 성형 제조하였다.

#### 라. 뽕잎두부 저장

제조된 뽕잎 두부의 미생물수의 측정은 screw cap bottle에 5g의 두부를 넣고 두부 량의 5배(v/w)에 해당되는 증류수, 300ppm농도의 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수를 침지액으로 넣은 다음 4℃ 와 25℃의 온도에서 저장하였다.

#### 마. 산도 및 탁도 측정

산도는 침지액을 10 ml 취한 다음 0.01N NaOH 용액을 이용하여 중화될 때까지 적정하였다. 탁도는 침지액을 여과지(Whatman paper No.2)를 이용하여 거르고 UV spectrophotometer(UV-160A, Shimadzu, Japan)로 600 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

#### 바. 미생물 측정

마쇄한 뽕잎두부를 10진법으로 희석한 다음 호기성 생균수는 plate count agar, *E-coli*의 경우는 desoxycholate agar, 혐기성세균은 APT agar, 효모와 곰팡이는 potato dextrose agar를 이용하여 25~30℃에서 2~5일간 배양한 후 생균수를 계수하였다.

### 3. 연구결과

#### 가. 산도

뽕잎두부의 침지액으로 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수를 넣은 다음 4℃와 25℃에서 저장하는 동안 침지액의 산도변화를 측정한 결과 Fig. 5과 같다. 본 실험에서 사용된 자몽종자추출물의 농도는 300 ppm이었으며 이는 예비실험을 통하여 관능적으로 뽕잎두부에 쓴맛이 느껴지지 않는 범위 내에서 농도를 정하였다. 4℃저장온도에서 침지액으로 증류수를 이용한 경우 침지액의 산도는 저장 12일 이후부터는 상승속도가 급격히 증가하였다. 반면 자몽종자추출물의 경우에는 저장 18일까지 일정한 증가속도를 보였으며, 알칼리성 이온수의 경우에는 경시적인 증가만 보였다. 대조구인 증류수를 이용한 경우 저장과정에서의 급격한 산도증가는 황 등의 연구결과(Hwang et al., 2001)와 일치하며 이는 두부가 변질되면서 오염미생물이 두부단백질을 분해하여 저분자량의 peptide와 amino acid, amine 등을 생성시키기 때문이다. 4℃에서 18일간 저장 후 증류수, 자몽종자 추출물, 알칼리성 이온수의 산도는 각각 0.021, 0.008 및 0.002%로 나타났다. 25℃의 저장에서도 4℃와 유사한 형태의 산도변화를 나타내었다. 증류수를 이용한 경우 침지액의 산도는 저장 3일 이후부터는 상승속도가 증가하였다. 반면 자몽종자추출물의 경우에는 저장 5일까지 일정한 증가속도를 보였으며, 알칼리성 이온수의 경우에는 증가속도가

미미하였다. 25℃에서 5일간 저장 시 증류수, 자몽종자 추출물 및 알칼리성 이온수의 산도는 각각 0.042, 0.029 및 0.009%이었다.

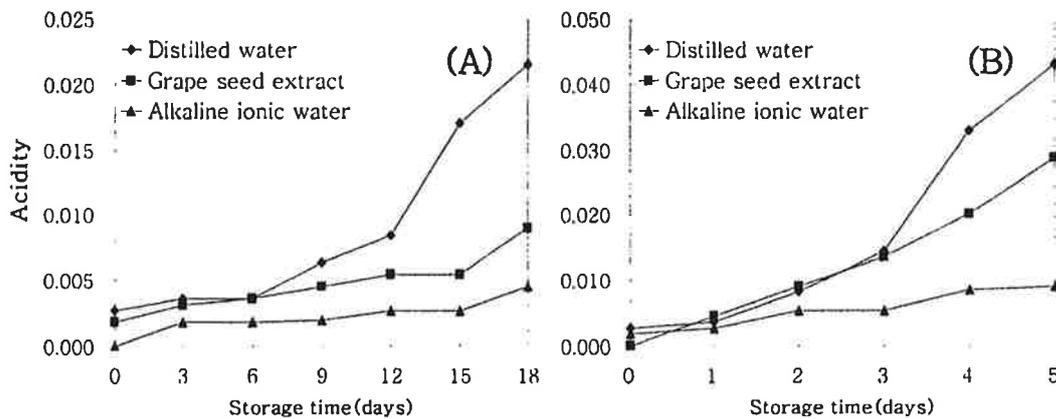


Fig. 5. Acidity changes of immersion solutions during storage of mulberry leaf soybean curds at 4°C (A) and 25°C (B).

#### 나. 탁도

증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수를 침지액으로 사용하여 4°C 와 25°C에서 저장하는 동안에 침지액의 탁도 변화는 Fig. 6와 같다. 4°C 저장에서 저장 3일까지는 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수 모두 거의 변화가 없었다. 침지액으로 증류수와 자몽종자 추출물을 이용한 경우 저장 6일 이후부터 가파른 상승을 보였다. 반면 알칼리성 이온수의 경우에는 저장 18일까지 일정한 증가속도를 보였다. 침지액의 탁도 증가 현상은 두부가 변질되면서 생성되는 점물질과 미생물의 증가에 기인하는 것으로 보고되고 있다.(Dotson et al., 1997) 4°C에서의 18일 후 증류수, 자몽종자 추출물, 알칼리 전해수의 경우 탁도는 각각 0.50, 0.29, 0.21이었다. 25°C 저장에서는 저장초기 3일까지 증류수와 자몽종자추출물은 완만한 증가를 보이다가 3일 이후부터 가파른 상승을 보였다. 반면 알칼리성 이온수의 경우는 3일까지 거의 변화가 없다가 3일 이후부터 증가를 나타내었다. 25°C저장에서 저장 5일 후 증류수, 자몽종자 추출물, 알칼리성 이온수의 탁도는 각각 0.38, 0.34, 0.27이었다.

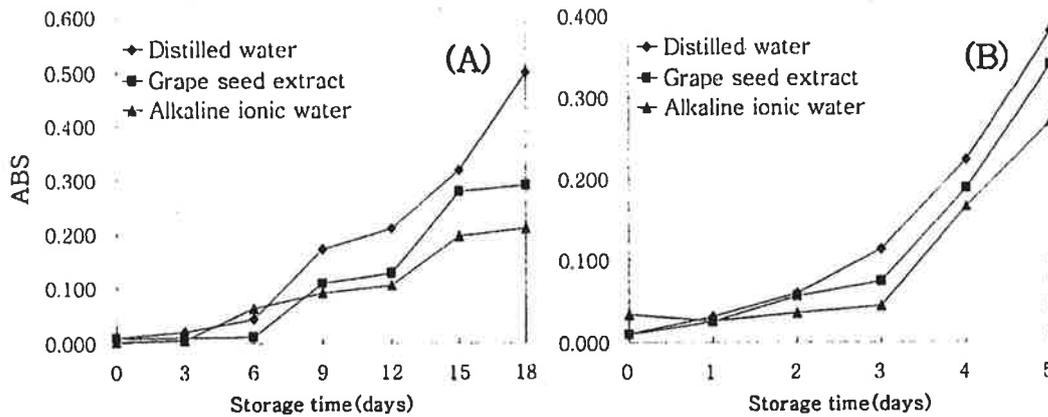


Fig. 6. Turbidity changes of immersion solutions during storage of mulberry leaf soybean curds at 4°C (A) and 25°C (B).

#### 다. 미생물

증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수를 빙잎두부의 침지액으로 넣은 다음 4°C와 25°C에서 저장하는 동안 빙잎두부의 호기성세균 수 변화를 측정된 결과는 Fig. 7과 같다. 4°C 저장에서 호기성세균의 증가속도는 증류수의 경우가 제일 높았으며 그 다음 자몽종자추출물, 알칼리성 이온수 순이었다. 저장 18일 후 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수를 침지액으로 이용한 경우 빙잎두부의 호기성세균수는 각각  $9.33 \times 10^4$ ,  $1.82 \times 10^4$ ,  $3.98 \times 10^2$  CFU/g이었다. 점물질을 생성하는 두부변패의 주된 원인 균은 호기성의 gram 음성구균인 *Acinetobacter*속이다.(Jang et al., 1995) 일반적으로 대조구의 경우 30°C에서는 12시간, 20°C에서는 30시간을 전후하여 부패가 시작되며 이때의 호기성세균수는  $10^7$  CFU/g에 도달한다고 한다.(Lee et al., 2004) 25°C저장에서는 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수 모두 저장초기 1일까지 호기성세균수의 급격한 증가를 보이다가 그 이후부터는 완만한 증가를 보였다. 저장초기 대조구에 비하여 알칼리성 이온수가 약간의 호기성세균수의 증가억제 효과를 보였을 뿐 4°C 저장에 비하여 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수의 항균효과가 훨씬 떨어졌다. 이 결과는 저장온도가 높아짐에 따라서 저장초기의 호기성세균수 증가속도가 높아지며 키토산처리의 항균효과도 작아진다는 박 등(Park et al., 2005)의 연구결과와 일치하였다. 대조구의 경우 25°C저장에서 호기성세균수는 24시간 만에  $10^7$  CFU/g에 도달하였다. 일본의 경우 두부는 국가에서 규격관리를 하고 있지 않으며 자율적으로 두부제조업소에서 자체적으로 위생관리를 맡기고 있으나 일반세균의 경우는  $10^5$  CFU/g 이하로 매우 철저히 위생관리를 행하고 있다. 일반적으로 두부의 품질관리측면에서 측정하는 미생물로서는 일반세균, 대장균군, *Bacillus*속, 포도상구균 등이다.(Park et al., 2003)

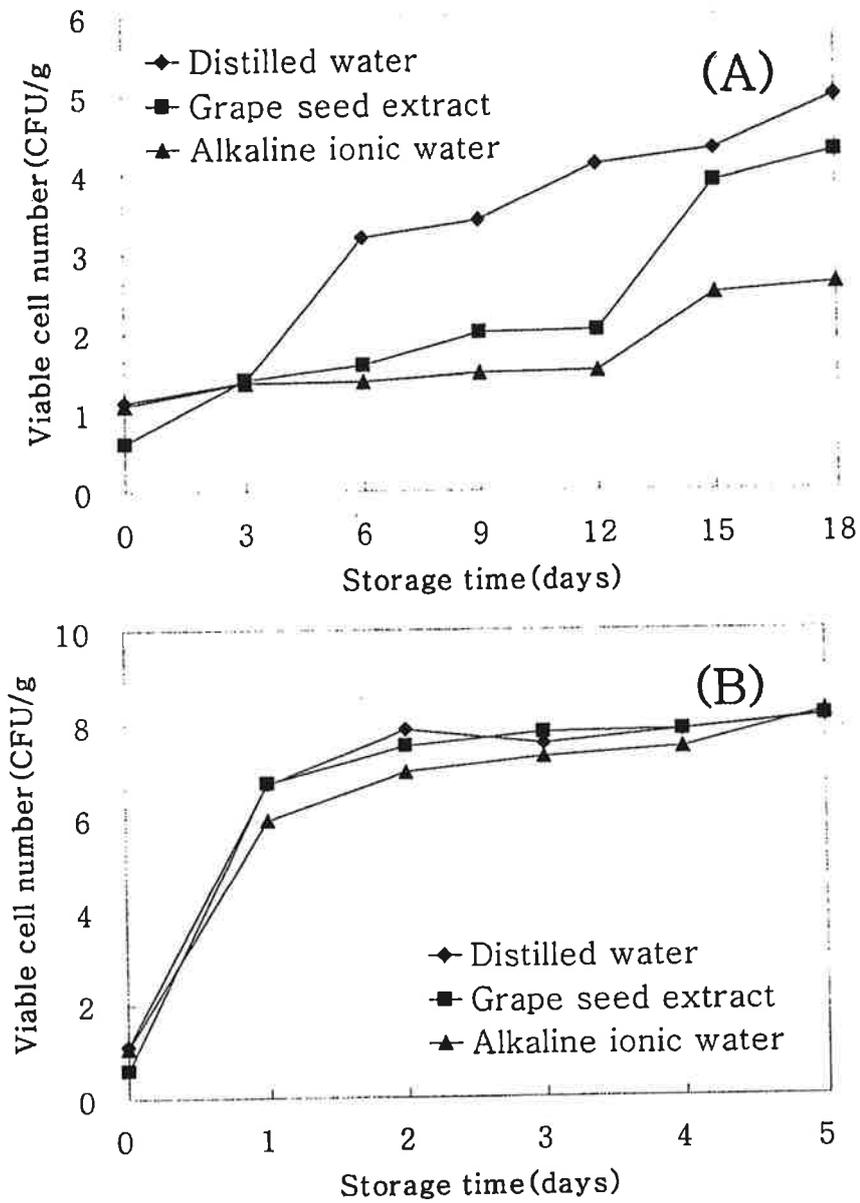


Fig. 7. Aerobic bacteria changes of mulberry leaf soybean curds during storage at 4°C (A) and 25°C (B).

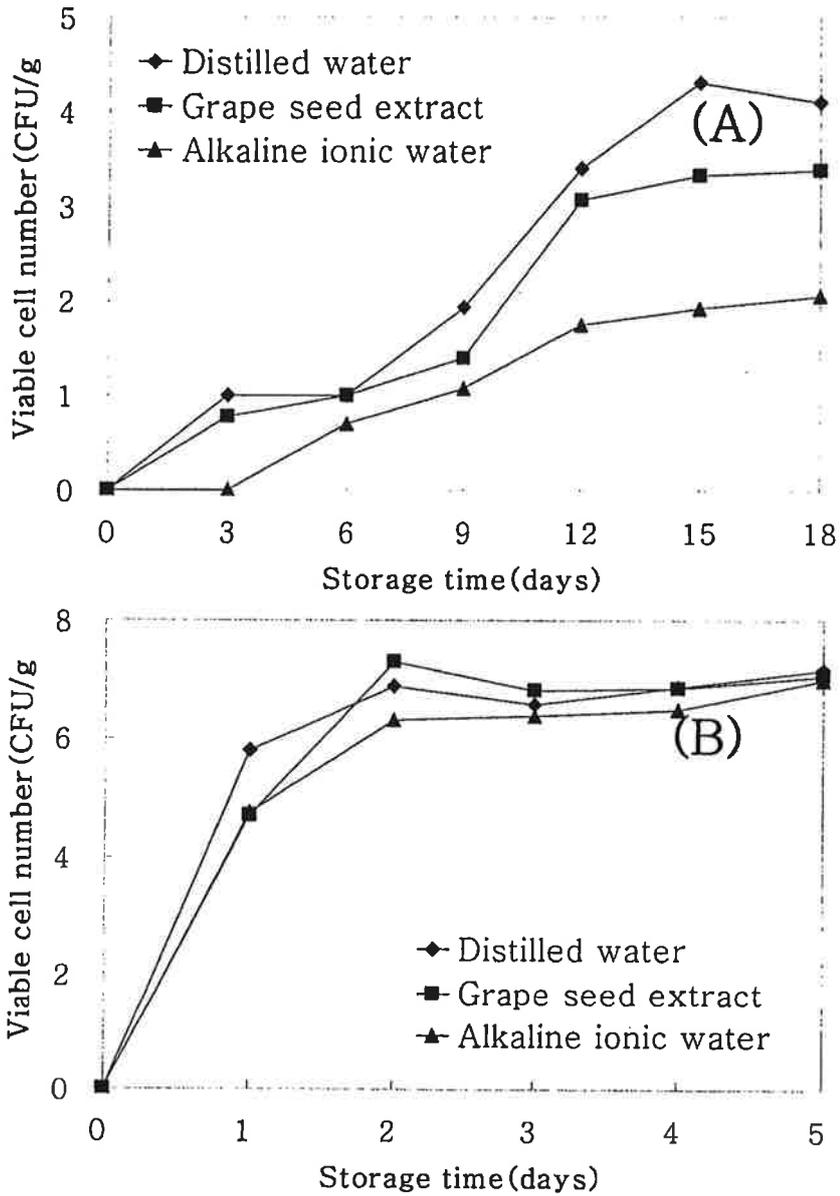


Fig. 8. *E. coli* changes of mulberry leaf soybean curds during storage at 4°C (A) and 25°C (B).

4°C 와 25°C에서 저장하는 동안 빙잎두부의 *E. coli*수의 변화는 Fig. 8와 같다. 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수 모두 4°C 저장에서는 저장초기보다 저장 9일 이후부터 증가속도가 높아졌다. 또한, 저장초기보다는 저장 9일 이후부터 자몽종자추출물과 알칼리성 이온수의 평균효과가 뚜렷이 나타났으며 자몽추출물에 비하여 알칼리성 이온수의 평균효과가 컸다. 4°C에서 저장 18일 후 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수를 침지액으로 이용한 경우 빙잎두부의 *E. coli*수는 각각  $1.26 \times 10^4$ ,  $2.45 \times 10^3$ ,  $1.14 \times 10^2$  CFU/g이었다. 25°C저장에서는 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수 모두 호기성 세균수와 비슷한 양상으로서 4°C저장과는 달리 저장초기 2일 동안 *E. coli*수의 급격한 증가를 보인다음 그 이후부터는 완만한 증가를 보였다. 자몽종자추출물 과 알칼리 성 이온수 모두 4°C 저장에 비하여 *E. coli*의 평균효과가 훨씬 떨어졌다.

4°C 와 25°C에서 저장하는 동안 침지용액에 따른 빙잎두부의 혐기성세균수의 변화는 Fig. 9와 같다. 4°C저장에서 증류수 와 자몽종자추출물의경우는 18일간의 저장기간 동안에 계속적인 증가를 보였다. 알칼리성 이온수의 경우는 저장초기 6일까지는 거의 증가를 나타나지 않았지만 6일 이후부터 급격한 증가속도를 보였다. 저장 18일 후 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수를 침지액으로 이용한 경우 빙잎두부의 혐기성세균수는 각각  $2.29 \times 10^4$ ,  $7.94 \times 10^3$ ,  $1.82 \times 10^2$  CFU/g이었다. 25°C저장에서는 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리성 이온수 모두 유사한 형태의 증식을 보였으며 4°C저장에 비하여 25°C저장에서는 자몽종자추출물 과 알칼리성 이온수의 평균효과가 매우 떨어졌다.

4°C 와 25°C의 온도에서 저장하는 동안 침지용액에 따른 빙잎두부의 효모 및 곰팡이 수 변화는 Fig. 10과 같다. 4°C저장에서의 효모 및 곰팡이의 증가형태는 저장 6일 이후부터 증가가 시작되었으며 전 등(Chun et al ., 1999)의 연구결과와 비슷한 형태를 보였다. 알칼리성 이온수의 평균효과는 저장초기보다는 저장 12일 이후에 높게 나타났다. 저장 18일 후 증류수, 자몽종자추출물 및 알칼리 이온수를 침지액으로 이용한 경우 빙잎두부의 효모 및 곰팡이 수는 각각  $1.78 \times 10^4$ ,  $6.43 \times 10^3$ ,  $1.12 \times 10^2$  CFU/g이었다. 25°C에서는 저장초기에 가파른 증가를 보였으며 이러한 형태는 전 등(Chun et al ., 1999)의 결과와 유사하였고 4°C에 비하여 자몽종자추출물 과 알칼리 이온수의 평균효과가 훨씬 떨어졌다.

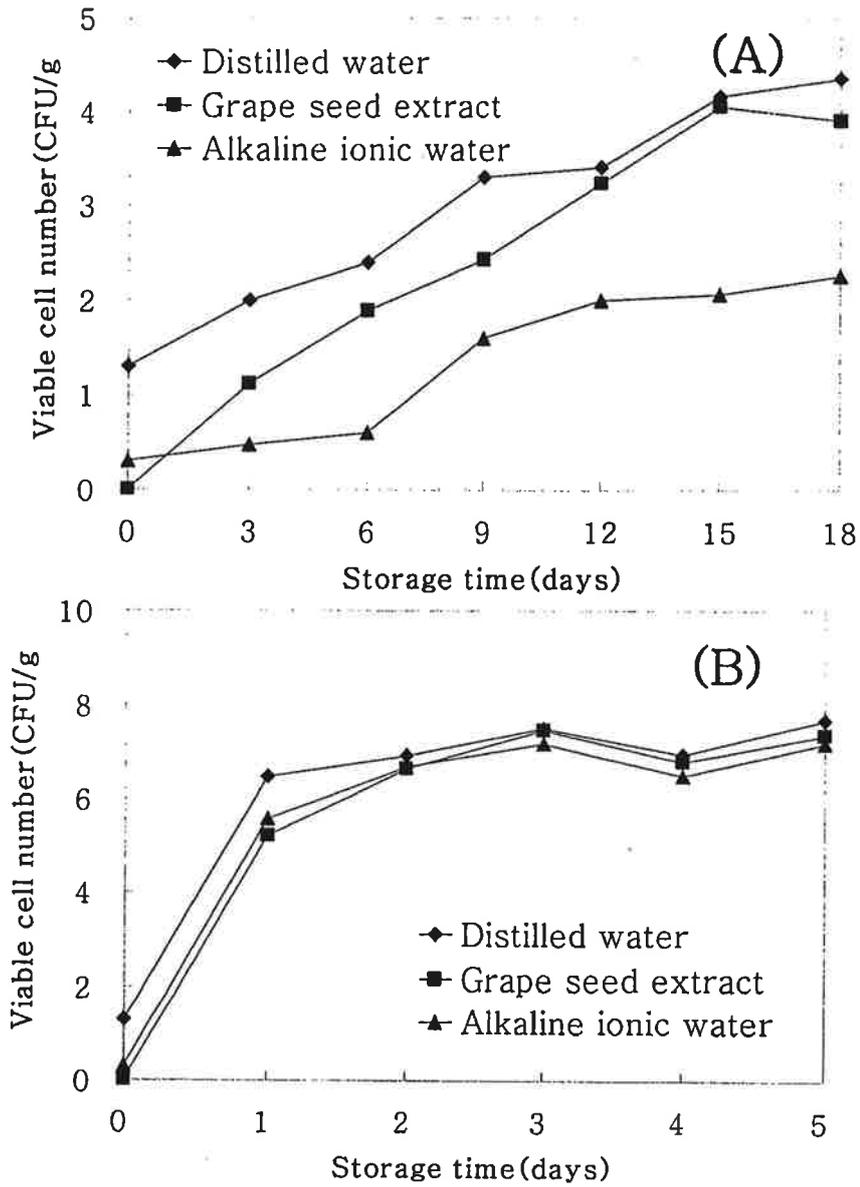


Fig. 9. Anaerobic bacteria changes of mulberry leaf soybean curds during storage at 4°C (A) and 25°C (B).

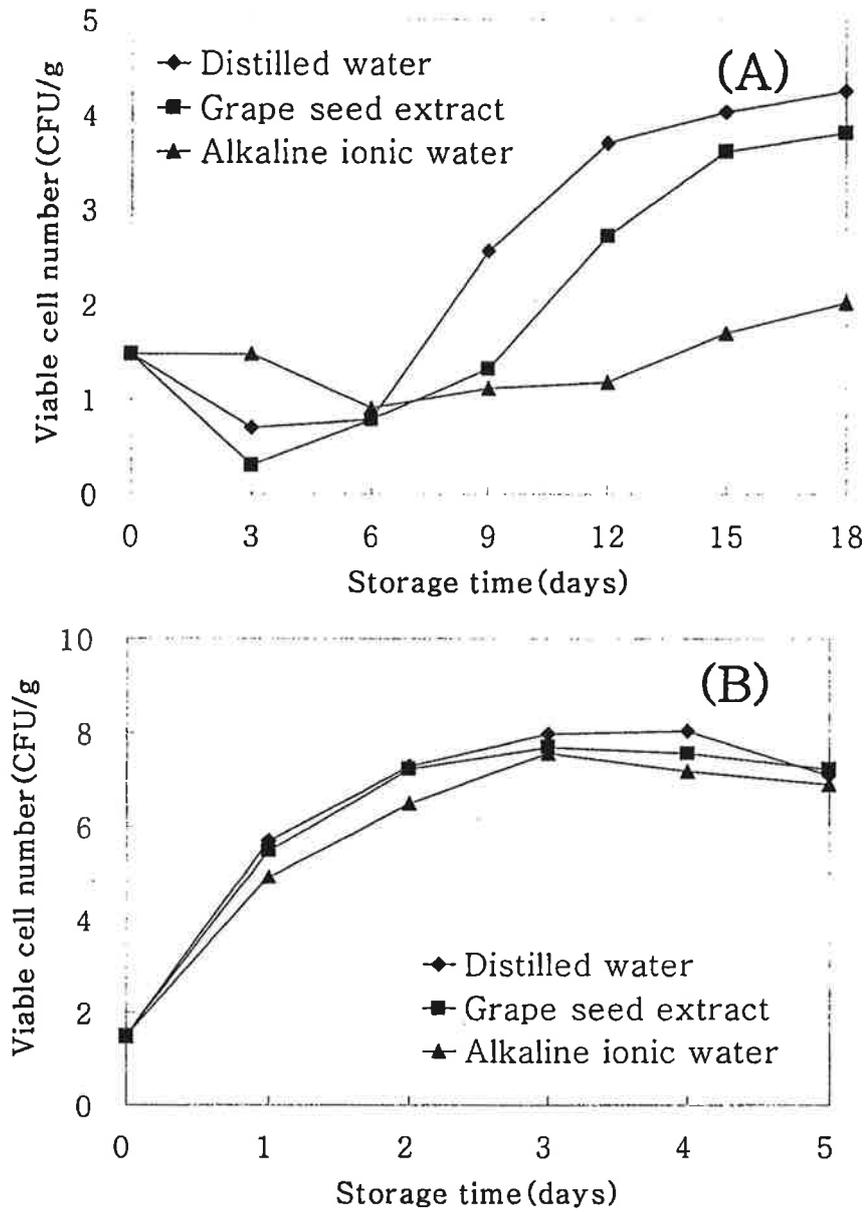


Fig. 10. Yeasts and molds changes of mulberry leaf soybean curds during storage at 4°C (A) and 25°C (B).

## 제 4 절.  콩잎과 비지를 이용한 새로운 가공식품 (햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠키)개발제조

### 1. 이론적 배경

비지(tofu-residue)는 대두로부터 비발효성 식품인 두부 또는 두유를 제조할 때 생산되는 부산물로 대두 건물 중량의 20-30%가 생산된다. 하지만 비지는 약 80% 이상의 수분을 함유하여 부패되기 쉽고 운반과정 중에도 변질되므로 이용성이 떨어진다. 따라서 일부만이 요리나 가축의 사료로 이용될 뿐 대부분은 폐기되고 있는 실정이며 유용자원의 손실을 초래할 뿐만 아니라 환경오염측면에서도 문제점을 야기하고 있다.(Kim et al., 2004)

그러나, 최근 콩 우유 산업이 급성장 하면서 이의 활용방안에 대한 요구와 관심이 증가하고 있다. 이에 대한 연구로서 건조비지를 개발했을 때 저장성이 향상되고 단백질 함량이 40% 이상이었다고 하며, 건조비지를 밀가루 반죽이나 두부 제조에 활용할 수 있다는 보고가 있을 뿐, 아직까지 콩 비지는 비지찌개로 식탁에 오르는 정도로 활용분야의 기술개발이 미흡한 실정이다. 최근에는 콩 비지가 식이섬유소가 풍부하고 생리활성 물질이 상당량 함유되어 있어 성인병 예방에 효과적인 식품으로 그 가치가 새롭게 평가되고 있기 때문에 서구식 식품의 소비 증가로 성인병이 증가하고 있는 점을 고려할 때 육류 대용품이나 가공품으로 활용하는 방안이 검토되고 있다.(Woo et al., 2001, Hacker et al., 1973) 최근 광우병, 조류독감, 구제역 등, 동물성 단백질 급원인 축산물의 안전성 부재로 새로운 단백질 대체식품의 등장이 필수적이다.

이러한 시점에서 비지를 이용한 새로운 형태의 고섬유소, 고단백질의 햄버거용 페트나 육류 대용품이 개발된다면 시장 점유율은 매우 밝다고 전망된다. 또한 시중에서 주로 판매중인 고칼로리, 고당질 쿠키 대신 섬유소함량이 풍부한 비지와 콩잎을 첨가한 저칼로리 쿠키류를 개발하여 비만환자나 노인의 간식용으로 활용하고자 한다. 이러한 제품개발은 만성질환의 위험에서 건강을 갈망하고 있는 전 세계인들이 콩 및 그 제품에 대한 관심과 요구가 높기 때문에 기능성 두부와 비지 가공품의 개발은 값싼 원료를 수입하여 비싼 제품으로 역수출하는 활로를 개척할 수도 있다.

따라서 본 연구에서는 콩잎분말과 비지를 이용한 새로운 가공식품으로 햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠키를 개발 제조하는데 있다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 햄버거용 페트

#### 1) 실험재료 및 햄버거 페트의 제조

본 실험에 사용한 비지는 원적외선 건조기를 이용하여 70℃에서 1일간 건조한 다음 sample mill을 이용하여 분쇄하였다. 분쇄된 비지는 50mesh 체로 통과된 분말비지로 사용하였다. 주재료인 돼지고기(국내산 뒷다리살) 또는 쇠고기(호주산 앞다리살)를 400g, 부재료로는 양파 40g, 빵가루 40g, 소금, 4g, 후추 0.8g, 마늘 4g으로 무게를 고정하여 첨가하였다. 각 원료를 계량한 다음 반죽기를 이용 혼합한 후 직경 97mm, 높이 14mm의 크기로 성형하였다. 성형한 페트를 convection oven(Bubang techron, BB-191M, Korea)을 이용하여 160℃의 온도에서 양면을 각각 4분 30초간 가열한 다음 실험에 사용하였다.

#### 2) 햄버거페트의 배합

비지분말과 빵잎분말이 첨가된 햄버거 페트의 배합비는 Table 12와 같고 햄버거 페트 제조에 사용되는 빵가루 40g을 빵잎분말, 비지분말의 혼합물 형태로 첨가하기 위하여 비지분말( $X_1$ ), 빵잎분말( $X_2$ ), 빵가루( $X_3$ )의 총 중량이 항상 40g이 되도록 하였다. 본 실험에 사용한 실험 점은 모두 9개이었다. 9개의 실험 점에서의 육류의 첨가량은 400g, 양파 40g, 소금, 4g, 후추 0.8g, 마늘 4g으로 고정하여 페트를 제조하였다.

Table 12. Formula for soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty

unit: g

Sample	$X_1$	$X_2$	$X_3$	Meat	Onion	Salt	Pepper	Garlic
S1	9.5	3.0	27.5	400	4	4	0.8	4
S2	0.0	4.0	36.0	400	4	4	0.8	4
S3	40.0	0.0	0.0	400	4	4	0.8	4
S4	36.0	4.0	0.0	400	4	4	0.8	4
S5	9.5	1.0	29.5	400	4	4	0.8	4
S6	0.0	0.0	40.0	400	4	4	0.8	4
S7	27.5	3.0	9.5	400	4	4	0.8	4
S8	29.5	1.0	9.5	400	4	4	0.8	4
S9	19.0	2.0	19.0	400	4	4	0.8	4

### 3) 실험설계

실험설계는 페트 제조시 사용된 빵가루(40g)을 비지분말과 빵잎 분말의 혼합형태로 대체하기 위하여 비지분말( $X_1$ ), 빵잎분말( $X_2$ ), 빵가루( $X_3$ )의 총중량이 항상 40g이 되도록 Minitab R14 program을 이용 제한된 영역에서의 혼합물설계(꼭지점 설계)를 하였으며 (Fig. 11) 본 실험에 사용한 실험 점은 모두 9개이었다. 햄버거 패티의 제조에 사용된 주 재료인 비지분말( $X_1$ ), 빵잎분말( $X_2$ ), 빵가루의 최소 및 최대첨가량은 다음과 같다.

$$0g \leq X_1 \leq 40.0g, 0g \leq X_2 \leq 40.0g, 0g \leq X_3 \leq 40.0g$$

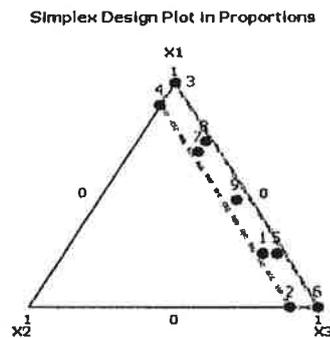


Fig. 11. Experimental point with simplex design plot in proportion

### 4) 햄버거 페트의 색도

햄버거 페트의 색도는 Hunter Color meter (Minolta, CR-200, Japan)를 이용하여 L(lightness), a(redness), b(yellowness)를 측정하였으며 standard plate(No. 21933148)의 L, a, b값은 각각 98.46, -0.07, 0.28이었다.

### 5) 조직감

햄버거 페트의 조직감은 Texture Analyzer(Stable micro system, TA-XT2, England)를 이용하여 TPA(texture profile analysis) test를 하였다. 햄버거 페트의 경도(hardness), 탄력성(springiness), 응집성(cohesiveness), 검성(guminess)을 측정하였다. 이 때 사용한 probe는 직경이 50mm인 probe이었으며 test speed는 1.0mm/sec, deformation

은 30%이었다.

## 6) 관능검사

관능검사는 관능검사 과목을 이수한 단국대학교 식품공학과 학생 3, 4학년 중 15명을 선정하여 흰색접시에 3개의 시료를 제시한 다음 color, taste, odor, texture, overall quality에 대하여 관능검사를 실시하였다. 관능평가에 사용한 척도는 '극도로 좋다'에 9점, '극도로 싫다'에 1점을 부여하도록 하는 9점 기호척도법을 사용하였다.

### 나. 노인 간식용 쿠키

#### 1) 실험재료

본 실험에 사용한 재료는 밀가루(과자용 밀가루, 삼양사), 베이킹 파우더(성진식품), 버터(서울우유), 설탕((주)CJ), 달걀(농협), 소금((주)천일)이었으며 첨가된 비지는 원적외선 건조기를 이용하여 70℃에서 24시간 건조 후 50mesh체를 통과한 것을 시료로 사용하였다.

#### 2) 쿠키의 배합

쿠키의 배합비는 Table 13과 같으며 대조구(control)는 밀가루만 165g을 첨가하고 나머지 부재료인 베이킹 파우더, 버터, 설탕, 달걀, 소금의 양은 각각 3g, 70g, 65g, 48g, 0.5g으로 고정하여 쿠키를 제조한 다음 기준시료로 사용하였다.

Table 13. Formula for soybean curd residue and mulberry powder added cookie

unit: g

	Control	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
Wheat flour	165.0	123.7	150.0	136.8	114.3	106.8	104.9	136.8	150.0	89.9
Mulberry leaf powder	-	7.5	15.0	11.3	3.8	11.3	-	3.8	-	15.0
Soybean curd residue powder	-	33.8	-	16.9	46.9	46.9	60.1	24.4	15.0	60.1
Baking powder	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Butter	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0
Sugar	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0
Egg	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0
Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

### 3) 실험설계

쿠키 제조시 사용된 대조구의 밀가루 중량(165g)을 비지분말과 빵잎 분말의 혼합형태로 대체하기 위하여 밀가루( $X_1$ ), 빵잎분말( $X_2$ ), 비지분말( $X_3$ )의 총중량이 항상 165g이 되도록 하였다. Minitab R14 program을 이용하여 제한된 영역에서의 혼합물설계(꼭지점 설계)를 하였으며 본 실험에 사용한 실험 점은 모두 9개이었다.(Fig. 12) 9개의 실험 점에서의 부재료의 첨가량은 대조구 쿠키의 제조에 사용된 양과 동일하게 사용하였다. 쿠키 제조에 사용된 주재료인 밀가루( $X_1$ ), 빵잎분말( $X_2$ ), 비지분말( $X_3$ )의 범위는 다음과 같다.

$$89.9g \leq X_1 \leq 150.0g, 0g \leq X_2 \leq 15.0g, 0g \leq X_3 \leq 60.0g$$

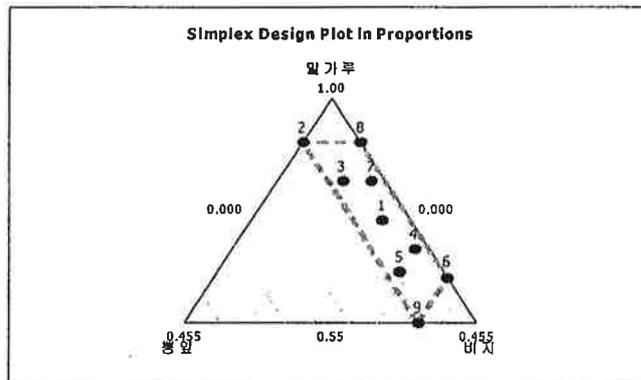


Fig 12. Experimental point with simplex design plot in proportion

#### 4) 쿠키 제조

각 재료를 계량한 다음 중탕 가열하여 녹인 버터를 믹싱볼에 넣고 3분간 반죽한 후 직경은 39 mm, 두께는 7 mm 크기의 원형형태로 쿠키의 모양을 성형한 다음 convection oven(Bubang techron, BB-191M, Korea)을 이용하여 160℃에서 13분간 구웠다.

#### 5) 색도

쿠키의 색도는 Hunter Color meter (Minolta, CR-200, Japan)를 이용하여 L(lightness), a(redness), b(yellowness)를 측정하였으며 standard plate(No. 21933148)의 L, a, b값은 각각 98.46, -0.07, 0.28이었다.

#### 6) 조직감

Texture Analyzer(Stable micro system, TA-XT<sub>2</sub>, England)를 이용하였으며 return to start test로 쿠키의 경도를 측정하였다. 이때 사용한 probe 는 three-point bend rig probe이었으며 test speed는 1.0 mm/sec, deformation은 30%이었다.

#### 7) 관능검사

관능검사 과목을 이수한 단국대학교 식품공학과 학생 3, 4학년 중 15명을 선정하였다. 흰색접시에 기준시료와 검사시료를 제시하고 기준시료(R)에 5점을 인위적으로 부여하여 검사시료와 비교 평가하도록 하는 다시료 비교검사법을 이용하였다.

### 3. 연구결과

#### 가. 햄버거용 패트

##### 1) 비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기 햄버거용 패트의 기호도

비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기 베이스의 햄버거용 패트 기호도 결과는 Fig. 13과 같다. Fig. 13의 점선 안쪽부분이 본 실험의 흥미영역이다. 색상에서는 비지분말과 빵가루가 각각 20g 씩 포함하여 만든 패트가 가장 높은 기호도를 나타내었지만 그 이외의 항목에서는 빵가루만으로 제조된 패트가 가장 높은 기호도를 보였다. 비지분말과 콩잎분말을 빵가루의 대체품으로 이용할 경우 기호도 측면에서 대조구에 접근할 수 있는 조건은 비지분말 9.5g, 콩잎분말 1g, 빵가루 29.5g의 배합이다.

## 2) 비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기 햄버거용 페트의 색도

비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기 베이스의 햄버거용 페트 색도 측정 결과는 Fig. 14와 같다. Lightness(L)는 비지분말이나 빵가루 첨가량에 따라서는 변화가 없는 반면에 콩잎분말의 첨가량이 많아짐에 따라서는 검은색 쪽으로 이동하였다. Redness(a) 또한 비지분말이나 빵가루 첨가량에 따라서는 변화가 없는 빨간색 계통(+)에서 콩잎분말의 첨가량이 많아짐에 따라서는 녹색 계통(-)으로 이동하였다. Yellowness(b)는 비지가루로만 제조하였을 때 가장 높은 값인 20.76을 나타내었으며 콩잎분말의 첨가량이 증가됨에 따라서는 파란색 쪽으로 이동되었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 콩잎분말의 첨가량이 돼지고기 햄버거용 페트의 색도를 좌우하는 물질로 판명되었다.

## 3) 비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기 햄버거용 페트의 조직감

비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기 베이스의 햄버거용 페트 조직감을 TPA(texture profile analysis)로 측정 결과는 Fig. 15와 같다. 탄력성(springiness)은 관능적으로 정의할 때 시료가 이 사이에서 압착된 뒤 압착을 제거하였을 때 원래의 모양으로 되돌아가는 정도를 의미하는 것으로서 비지분말이나 빵가루의 첨가량보다는 콩잎분말의 첨가량에 따라서는 좌우된다. 콩잎분말의 첨가량이 증가함에 따라서는 탄력성은 저하된다. 응집성(cohesiveness)은 주관적인 방법으로 정의 할 경우에는 물질이 이 사이에서 파괴되기 전까지 압착되는 정도로 표현하고 객관적인 방법에서는 식품의 형태를 구성하는 내부적 결합에 필요한 힘으로 정의한다. 응집성 또한, 비지분말이나 빵가루의 첨가량 변화에는 거의 영향력이 미치지 않았으며 콩잎분말의 첨가량이 증가함에 따라서는 저하되었다. 씹힘성(chewiness)과 검성(gumminess)은 페트를 비지분말로 제조하였을 경우에 가장 높은 값을 보였다. 콩잎분말과 빵가루의 첨가량이 증가됨에 따라서는 점차적으로 줄어들었다. 경도(hardness)는 씹힘성과 검성과 유사한 형태의 데이터를 보였는데 이는 경도가 씹힘성과 검성을 계산하는데 중요한 독립변수로 작용하기 때문이다. 경도는 씹힘성, 검성과 마찬가지로 페트를 비지분말로 제조하였을 경우에 가장 높은 값을 보였으며 콩잎분말과 빵가루의 첨가량이 증가됨에 따라서는 점차적으로 줄어들었다.

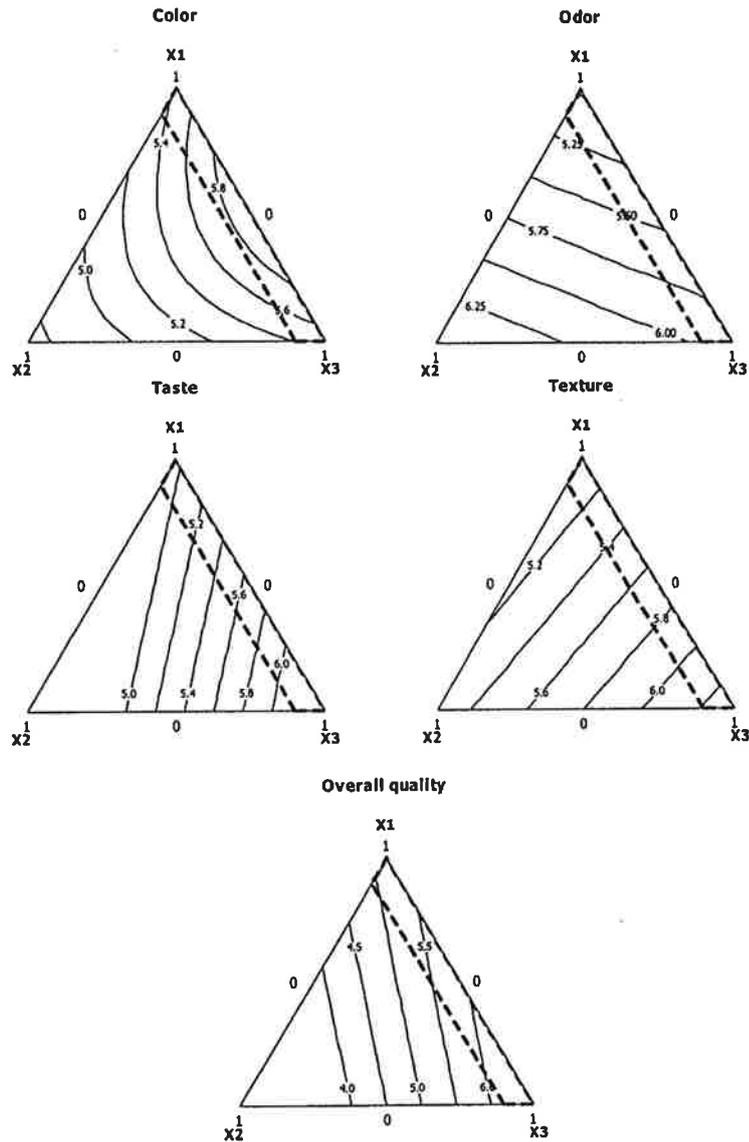


Fig. 13. Hedonic scores of soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty based on pork.

1) X1, X2 and X3 represents soybean curd residue powder, mulberry leaf powder and bread powder, respectively.

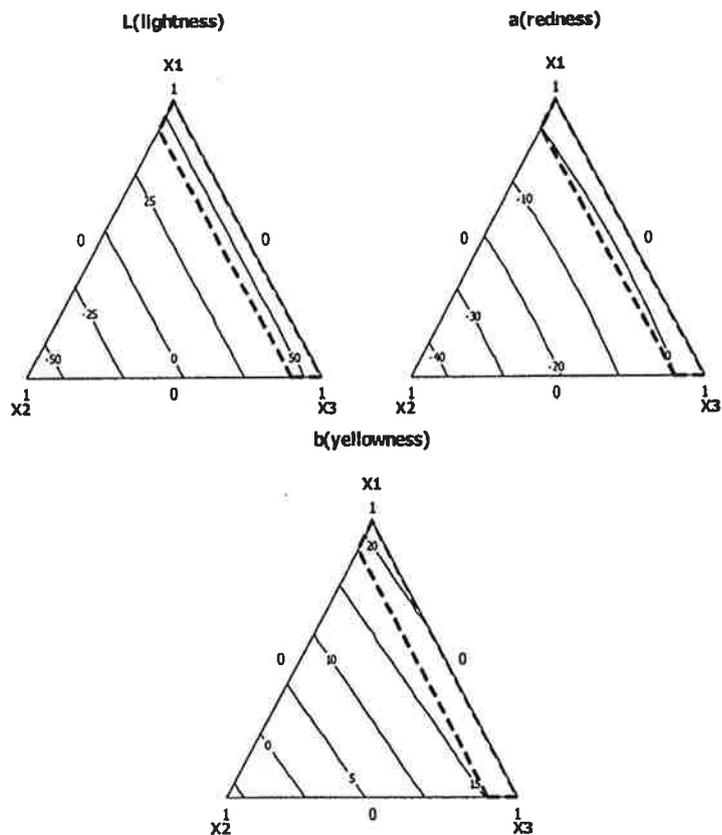


Fig. 14. Color values of soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty based on pork.

1) X1, X2 and X3 represents soybean curd residue powder, mulberry leaf powder and bread powder, respectively.

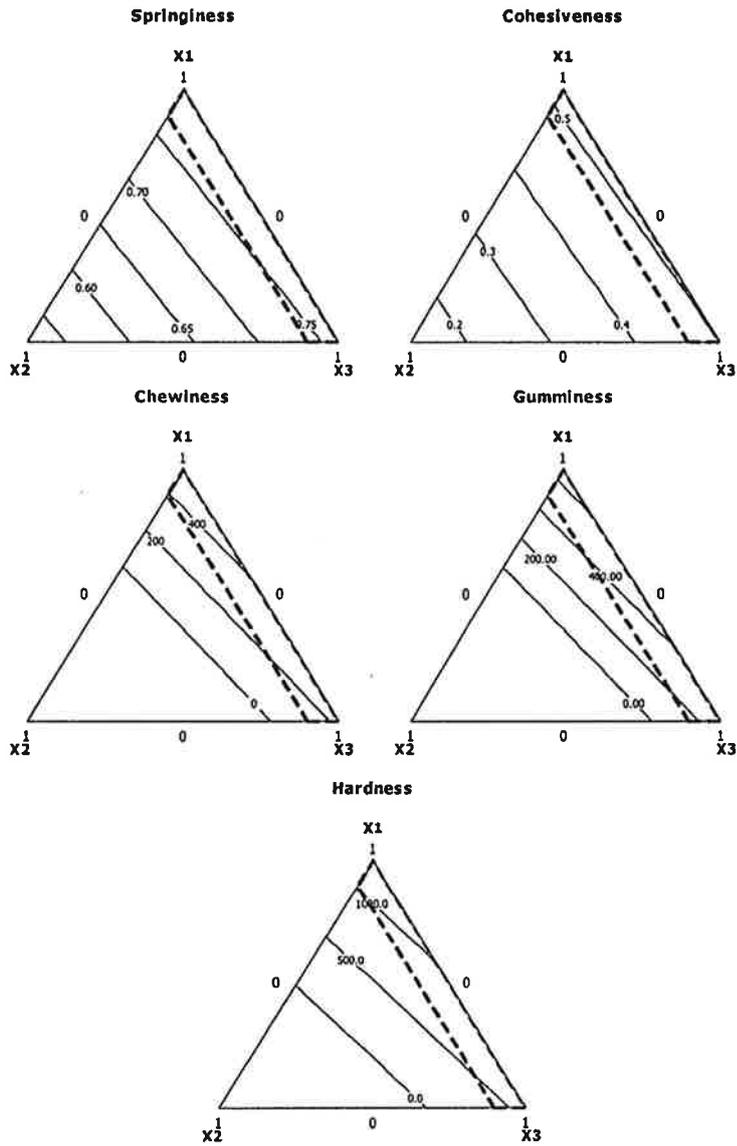


Fig. 15. Texture properties of soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty based on pork.

1) X1, X2 and X3 represents soybean curd residue powder, mulberry leaf powder and bread powder, respectively.

#### 4) 비지분말, 뽕잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 쇠고기 햄버거용 페트의 기호도

비지분말, 뽕잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 쇠고기 베이스의 햄버거용 페트 기호도결과는 Fig. 16과 같다. 돼지고기를 주원료로 제조된 페트에서와는 다르게 흥미구역 안에서는 빵가루를 넣지 않고 36g의 비지분말과 4g의 뽕잎분말을 이용하여 제조된 페트가 색상, 향, 맛, 조직감, 전체적인 평가 등 전 항목에서 가장 높은 기호도를 보였다.

#### 5) 비지분말, 뽕잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 쇠고기 햄버거용 페트의 색도

비지분말, 뽕잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 쇠고기 베이스의 햄버거용 페트 색도측정 결과는 Fig. 17과 같다. Lightness(L)는 비지분말이나 빵가루 첨가량에 따라서는 거의변화가 없는 반면에 뽕잎분말의 첨가량이 많아짐에 따라서 검은색 쪽으로 이동하였다. Redness(a) 또한 비지분말이나 빵가루 첨가량에 따라서는 변화가 없는 빨간색 계통(+)에서 뽕잎분말의 첨가량이 많아짐에 따라서 녹색 계통(-)으로 이동하였다. Yellowness(b)는 비지가루로만 으로 제조하였을 때 가장 높은 값인 13.82를 나타내었으며 비지분말이나 빵가루 첨가량에 따라서는 거의변화가 없었고 뽕잎분말의 첨가량이 증가됨에 따라서 파란색 쪽으로 이동되었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 뽕잎분말의 첨가량이 돼지고기와 마찬가지로 쇠고기에서도 햄버거용 페트의 색도를 좌우하는 물질로 판명되었다.

#### 6) 비지분말, 뽕잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 쇠고기 햄버거용 페트의 조직감

비지분말, 뽕잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 쇠고기 베이스의 햄버거용 페트 조직감을 측정결과는 Fig. 18과 같다. 탄력성은 뽕잎분말의 첨가량이 증가함에 따라서 탄력성은 높아졌다. 또한 비지가루첨가량의 증가는 탄력성의 상승을 도왔다. 응집성은 비지분말 첨가량증가에 따라서 감소하였으며 뽕잎분말의 첨가량이 증가함에 따라서 상승되었다. 경도, 씹힘성, 검성은 모두 페트를 비지분말로 제조하였을 경우에 가장 높은 값을 보였으며 뽕잎분말과 빵가루의 첨가량이 증가됨에 따라서 점차적으로 줄어들었다. 본 실험결과 분석에서 비지분말은 페트의 조직감을 딱딱하게 하는 주원인인 것으로 판명되었다.

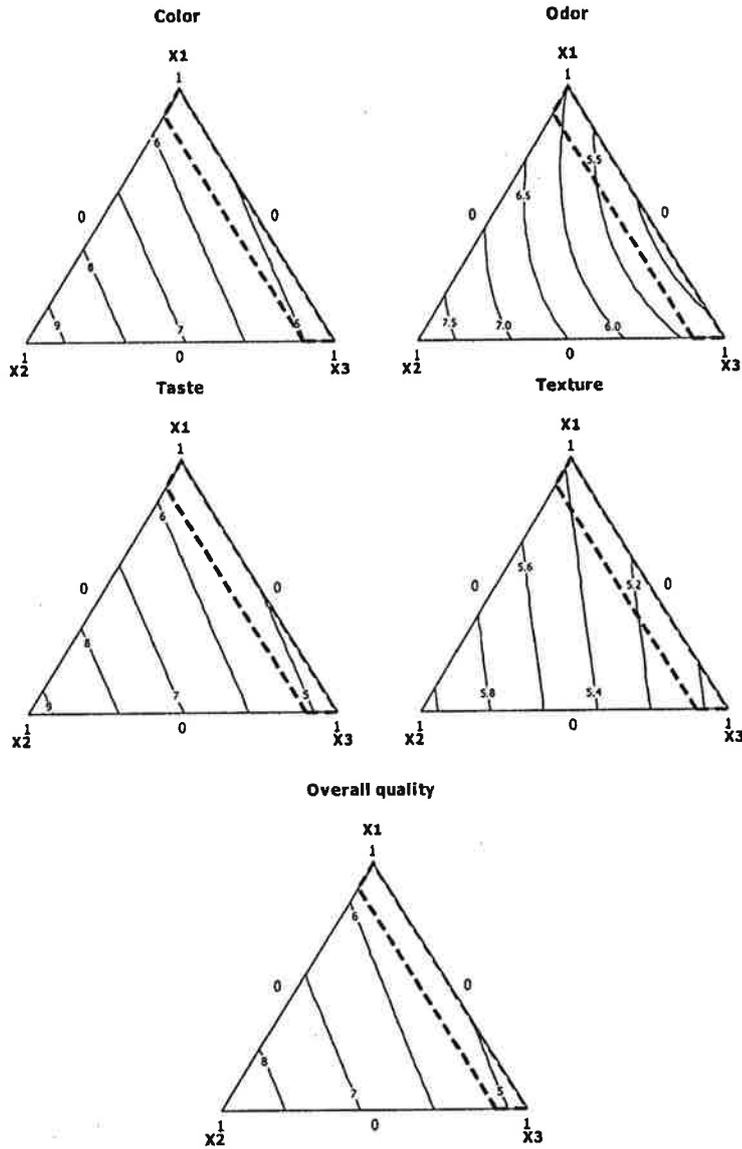


Fig 16. Hedonic scores of soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty based on beef.

1) X1, X2 and X3 represents soybean curd residue powder, mulberry leaf powder and bread powder, respectively.

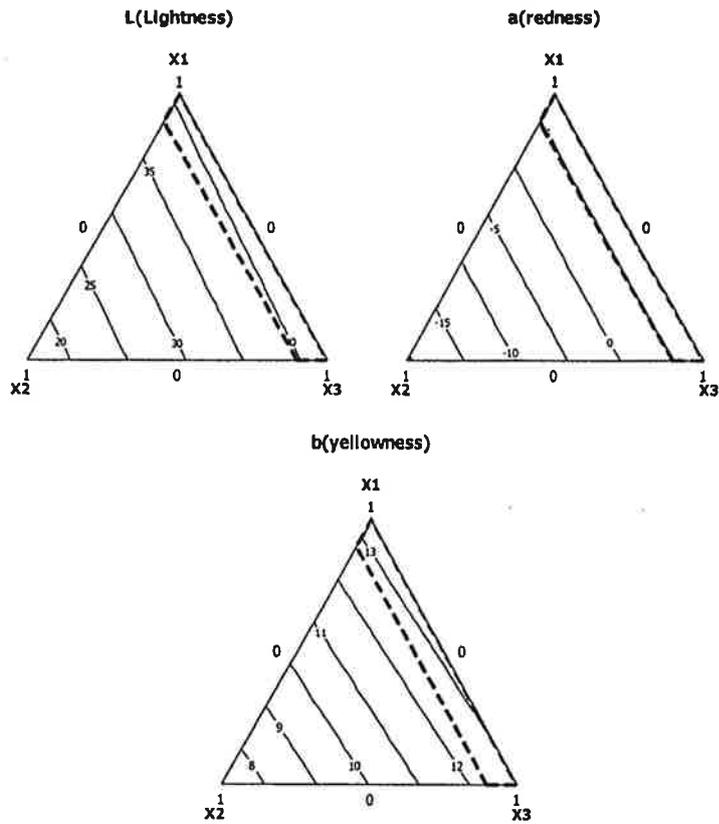


Fig. 17. Color values of soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty based on beef.

1) X1, X2 and X3 represents soybean curd residue powder, mulberry leaf powder and bread powder, respectively.

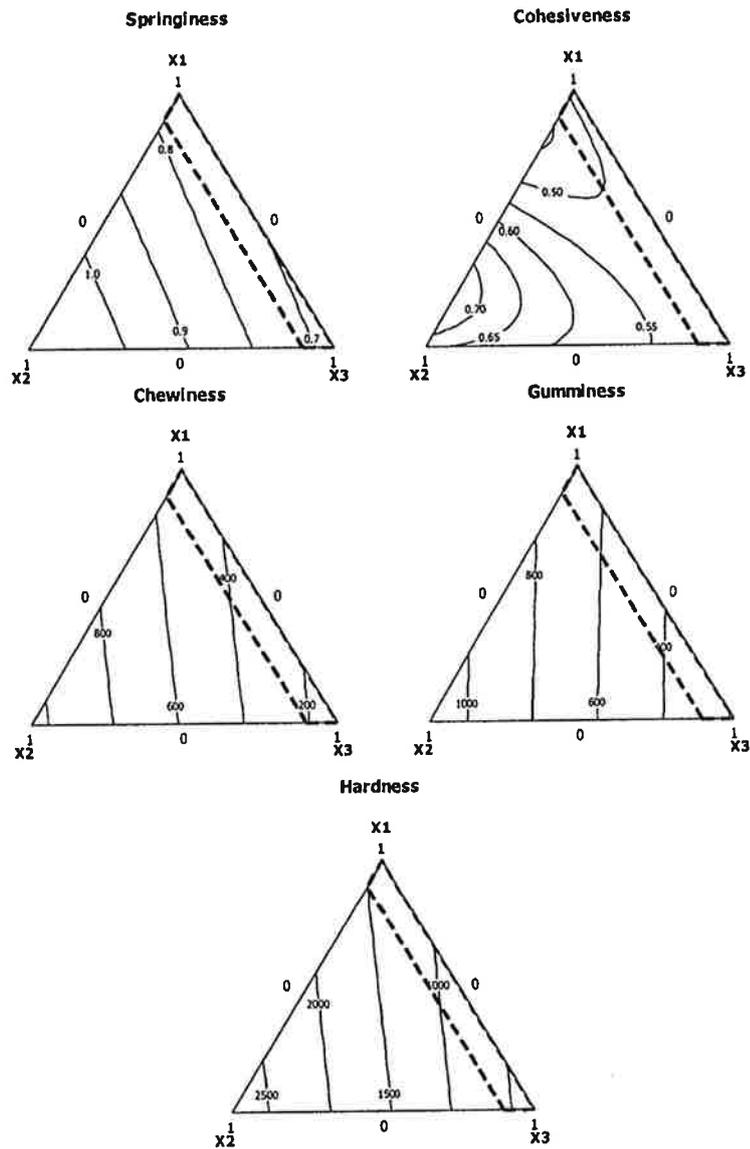


Fig. 18. Texture properties of soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty based on beef.

1) X1, X2 and X3 represents soybean curd residue powder, mulberry leaf powder and bread powder, respectively.

7) 비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기와 쇠고기 혼합 햄버거용 페트의 기호도

비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기와 쇠고기 혼합 햄버거용 페트 기호도결과는 Fig. 19와 같다. 흥미구역 안에서는 빵가루나 콩잎분말을 넣지 않고 40g의 비지분말로만 제조된 페트가 색상, 향, 맛, 조직감, 전체적인 평가 등 전 항목에서 가장 높은 기호도를 보였다. 이러한 결과는 돼지고기 햄버거 페트에서는 비지분말이 부정적으로 나타났지만 쇠고기 또는 돼지고기와 쇠고기를 혼합한 페트에서는 빵가루를 대신한 비지분말의 적용성이 탁월하게 나타났다. 이는 주원료의 향미와 비지분말 또는 콩잎분말의 향미조화와 관련이 있다고 사료된다.

8) 비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기와 쇠고기 혼합 햄버거용 페트의 색도

비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기와 쇠고기 혼합 햄버거용 페트 색도측정결과는 Fig. 20과 같다. Lightness(L)는 비지분말의 첨가량이 증가됨에 따라서 lightness의 증가를 보였으나 커다란 영향은 미치지 못하였다. 반면, 콩잎분말의 첨가량이 많아짐에 따라서 검은색 쪽으로 이동하였으며 그 영향력은 매우 컸다. Redness(a)는 비지분말이나 빵가루 첨가량에 따라서는 변화가 없는 빨간색 계통(+)에서 콩잎분말의 첨가량이 많아짐에 따라서 녹색 계통(-)으로 이동하였다. Yellowness(b)는 비지가루로만 으로 제조하였을 때 가장 높은 값인 17.48을 나타내었으며 콩잎분말의 첨가량이 증가됨에 따라서 파란색 쪽으로 이동되었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 콩잎분말의 첨가량이 돼지고기, 쇠고기 햄버거용 페트와 마찬가지로 돼지고기와 쇠고기의 혼합 페트에서도 색도를 좌우하는 물질로 판명되었다.

9) 비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기와 쇠고기 혼합 햄버거용 페트의 조직감

비지분말, 콩잎분말 및 빵가루의 혼합비에 따른 돼지고기와 쇠고기 혼합 햄버거용 페트 조직감 측정결과는 Fig. 21과 같다. 탄력성은 콩잎분말의 첨가량이 증가함에 따라서 저하되었다. 응집성은 콩잎분말첨가량 증가에 따라서 감소하였으며 비지분말의 첨가량 증가에 따라서 증가되었다. 경도(hardness)는 씹힘성, 검성과 유사한 형태의 데이터를 보였다. 경도, 씹힘성, 검성은 콩잎분말의 첨가량 증가에 따라서 감소하였다. 비지분말과 빵가루의 첨가량이 같은 비율로 섞인 페트에서 가장 높은 값을 나타내었다.

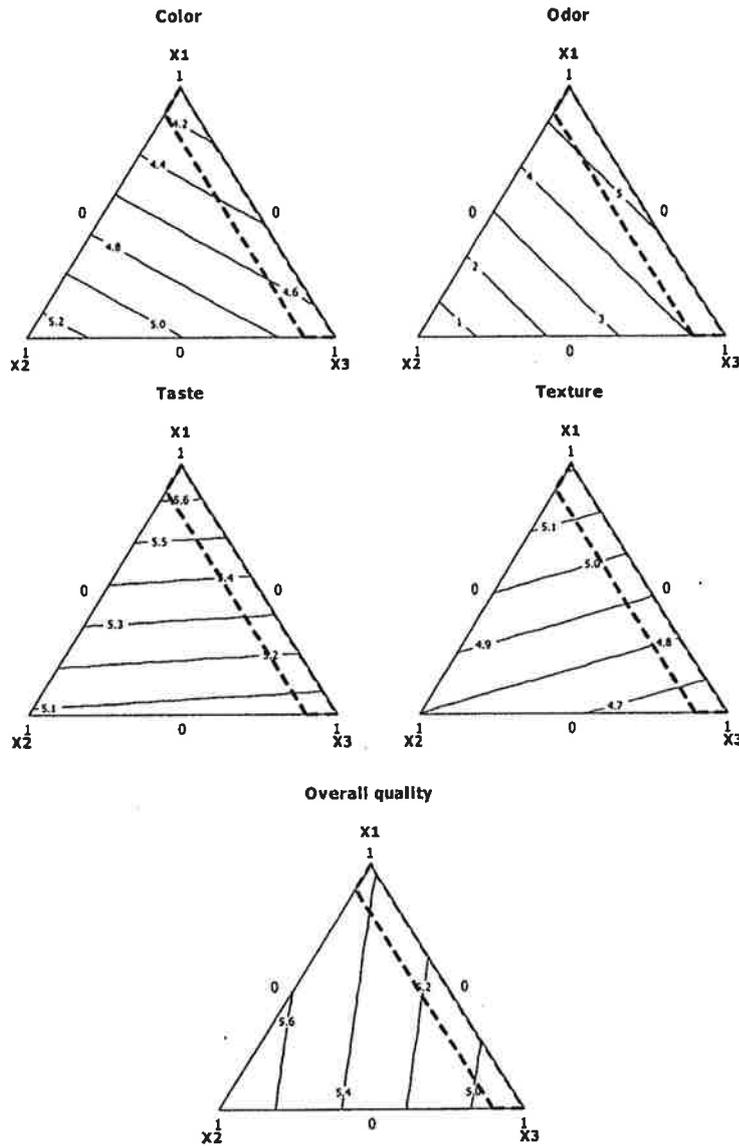


Fig 19. Hedonic scores of soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty based on pork and beef.

1) X1, X2 and X3 represents soybean curd residue powder, mulberry leaf powder and bread powder, respectively.

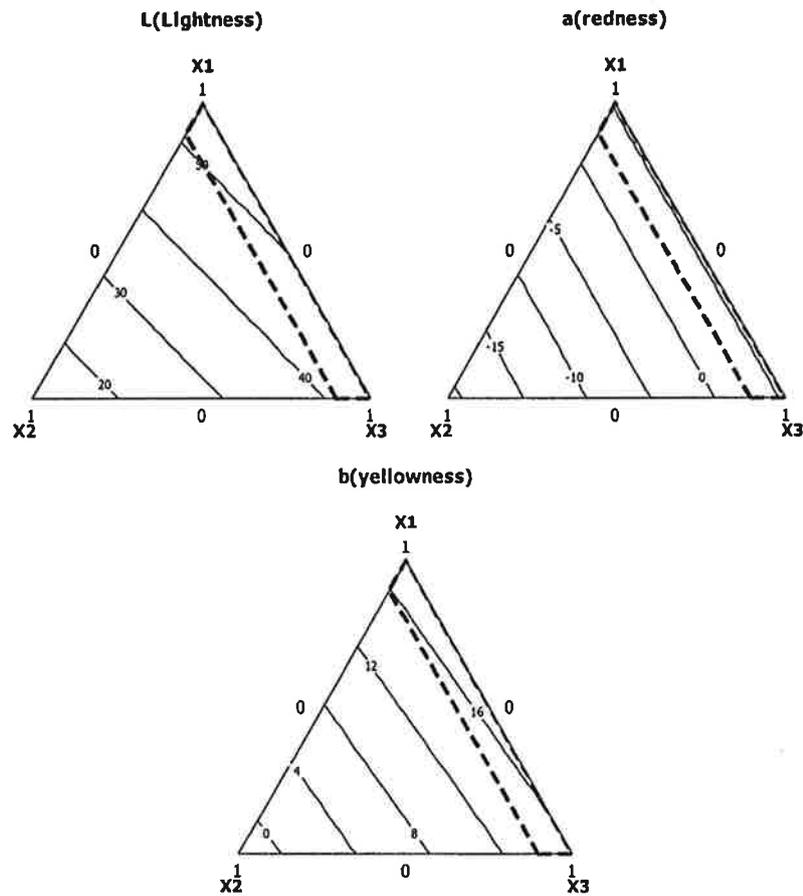


Fig. 20. Color values of soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty based on pork and beef.

1) X1, X2 and X3 represents soybean curd residue powder, mulberry leaf powder and bread powder, respectively.

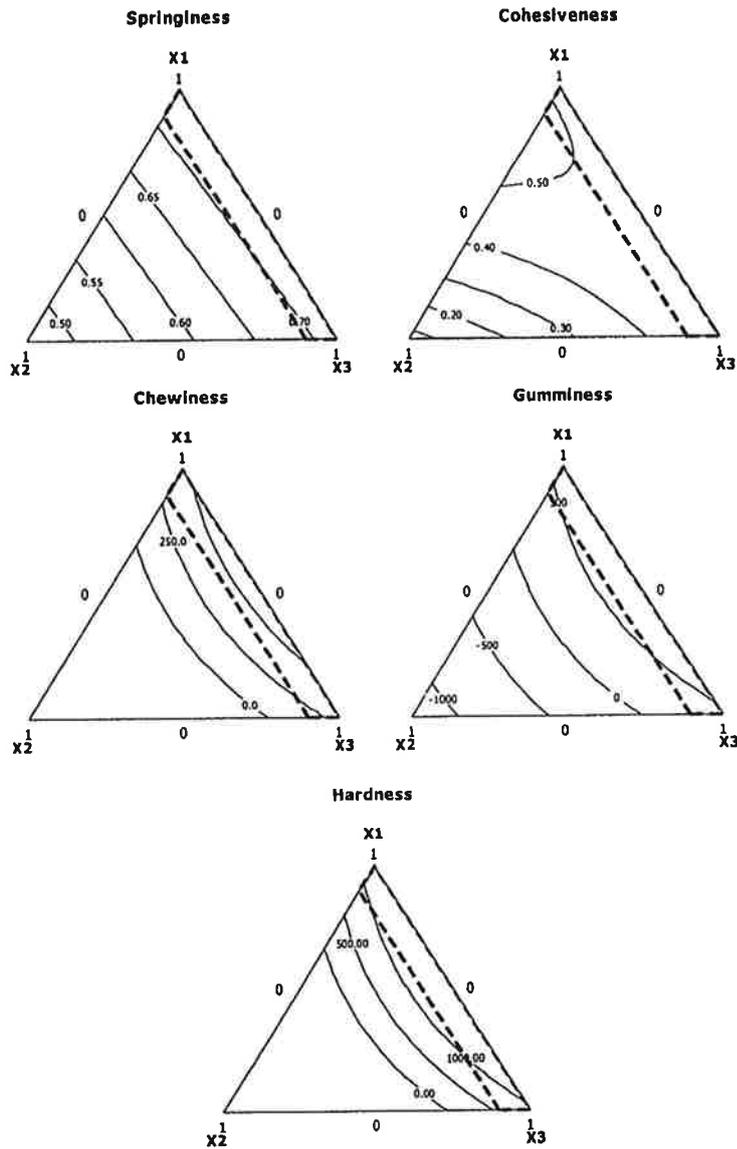


Fig. 21. Texture properties of soybean curd residue and mulberry powder added hamburger patty based on pork and beef.

1) X1, X2 and X3 represents soybean curd residue powder, mulberry leaf powder and bread powder, respectively.

## 나. 노인 간식용 쿠키

### 1) 제조된 노인 간식용 쿠키의 외형

쿠키 제조시 사용된 대조구의 밀가루 중량(165g)을 비지분말과 콩잎 분말의 혼합형태로 대체하기 위하여 밀가루( $X_1$ ), 콩잎분말( $X_2$ ), 비지분말( $X_3$ )의 총중량이 항상 165g이 되도록 하였다. Fig. 22에 표시한  $R_1$  -  $R_2$  쿠키의 제조 배합 비는 Table 13과 같다. 색상이 가장 짙게 나온  $R_2$ 의 경우는 콩잎분말첨가량이 15g 으로서 가장 많이 집어넣은 것이고 대조구와 색상이 비슷한  $R_6$ 는 콩잎분말을 집어넣지 않은 것이다. 콩잎첨가량이 증가함에 따라서 쿠키의 색상이 짙어진다.

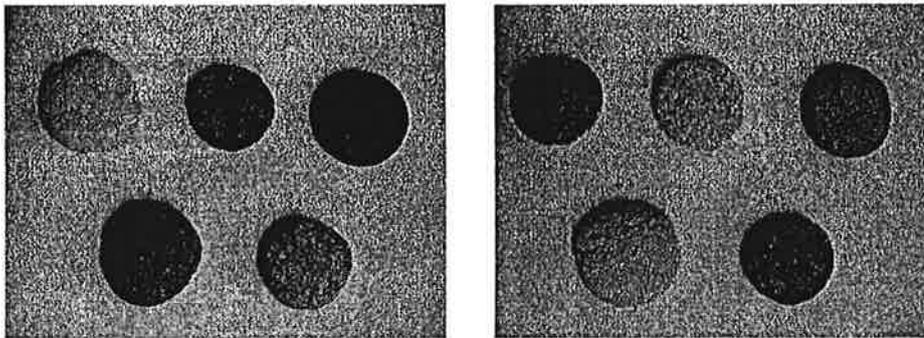


Fig. 22. Appearances of soybean curd residue and mulberry powder added cookie.

### 2) 밀가루, 콩잎분말 및 비지분말의 혼합비에 따른 노인 간식용 쿠키의 기호도

밀가루, 콩잎분말 및 비지분말의 혼합비에 따른 노인 간식용 쿠키제품의 기호도결과는 Fig. 23과 같다. Fig. 23의 점선 안쪽부분이 본 실험의 흥미영역이다. 흥미구역 안에서는 콩잎가루를 넣지 않고 150g의 밀가루와 15g의 비지가루를 이용하여 제조된 쿠키가 색상, 향, 맛, 조직감, 전체적인 평가 등 전 항목에서 가장 높은 기호도를 보였다. 색상 면에서도 콩잎가루를 넣지 않은 제품들의 기호도가 높게 나타났다. 이는 밝은 색의 쿠키를 선호한다는 것을 알 수 있다.

### 3) 밀가루, 콩잎분말 및 비지분말의 혼합비에 따른 노인 간식용 쿠키의 색도

밀가루, 콩잎분말 및 비지분말의 혼합비에 따른 노인 간식용 쿠키제품의 색도결과는 Fig. 24와 같다. Lightness(L)는 밀가루나 비지가루 첨가량에 따라서는 거의변화가 없는 반면에 콩잎분말의 첨가량이 많아짐에 따라서 검은색 쪽으로 이동하였다. 밀가루나 비지가루를 한

쪽으로 많이 첨가하였을 때 가장 밝은 색도를 나타내었다. Redness(a) 또한 밀가루나 비지분말의 첨가량에 따라서는 변화가 없는 빨간색 계통(+)에서 뽕잎분말의 첨가량이 많아짐에 따라서는 녹색 계통(-)으로 이동하였다. 밀가루나 비지가루를 한쪽으로 많이 첨가하였을 때 가장 높은 redness를 나타내었다.

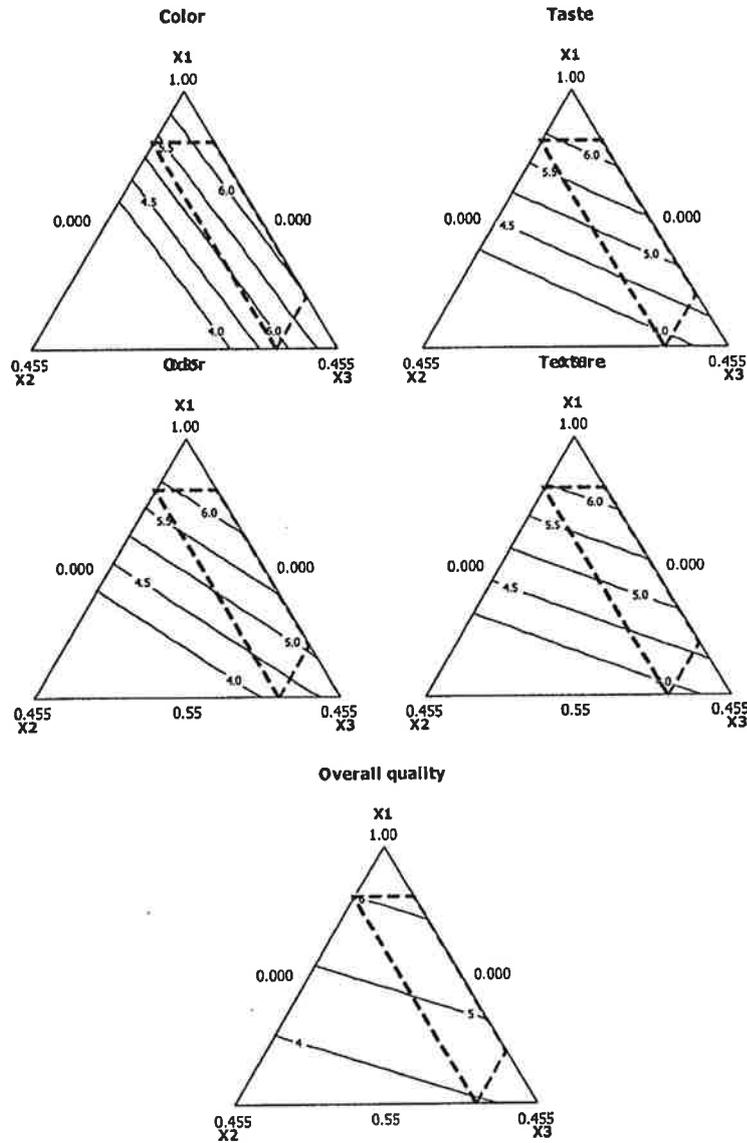


Fig. 23. Sensory scores of soybean curd residue and mulberry powder added cookie.

1) X1, X2 and X3 represents wheat flour, mulberry leaf powder and soybean curd residue powder, respectively.

Yellowness(b)는 150g의 밀가루와 15g의 비지가루로 제조하였을 때 가장 높은 값인 30.18을 나타내었으며 밀가루, 빵잎분말, 비지분말 첨가량에 따라서 복합적으로 변화였다. 흥미구역 이외의 영역을 참고할 때 빵잎분말의 첨가량이 증가함에 따라서 색도는 파란색계통으로 변화되는 것을 알 수 있다.

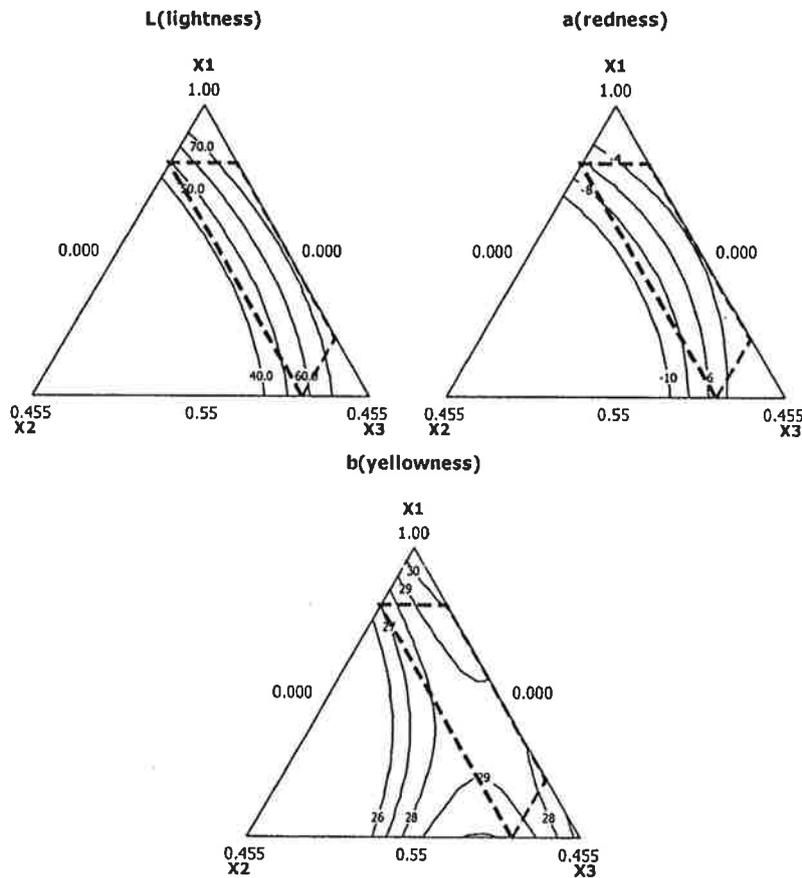


Fig. 24. Color values of soybean curd residue and mulberry powder added cookie.

1) X1, X2 and X3 represents wheat flour, mulberry leaf powder and soybean curd residue powder, respectively.

4) 밀가루, 빵잎분말 및 비지분말의 혼합비에 따른 노인 간식용 쿠키의 경도

밀가루, 빵잎분말 및 비지분말의 혼합비에 따른 노인 간식용 쿠키제품의 경도결과는 Fig. 25와 같다. 밀가루만을 이용하였을 때 가장 작은 값을 나타내었다. 빵잎분말과 비지분말의 첨가량이 증가함에 따라서 경도 값은 커졌다. 흥미구역 내에서의 경도 값 변화는 최소 값

대비 최대 값은 150%이상이었다.

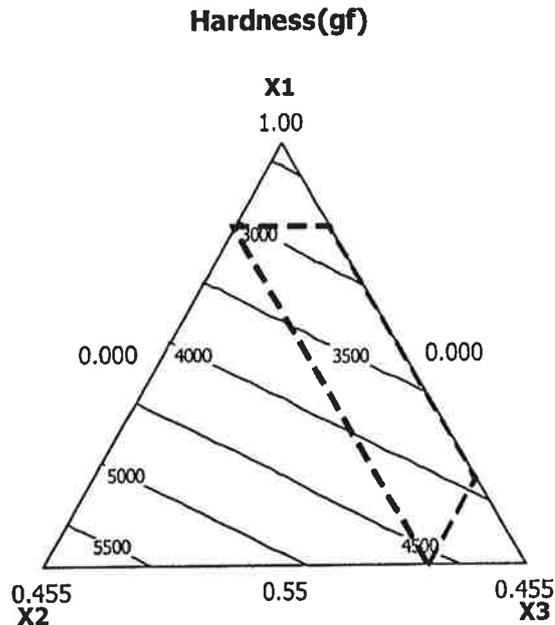


Fig. 25. Hardness of soybean curd residue and mulberry powder added cookie.

1) X1, X2 and X3 represents wheat flour, mulberry leaf powder and soybean curd residue powder, respectively.

## 제 5 절. 뽕잎분말과 추출물을 이용한 요구르트 개발제조

### 1. 이론적 배경

발효 유제품인 요구르트는 원유 또는 탈지유를 젖산균 또는 효모로 발효시켜 산미와 향미를 강화시킨 것으로 주원료인 우유성분이외에 젖산균의 작용에 의한 젖산, peptone, peptide, 미량의 생리활성물질과 젖산균체가 포함되어 있어 영양학적으로 우유보다 우수한 식품이다(Gilliland, 1989). 또한, 유산균 발효유의 섭취에 의하여 유산균이 장내에 도달하게 되면 대장의 장내환경 변화로 유해세균의 감소에 인한 정장작용, 혈중 콜레스테롤 감소작용, 미네랄과 비타민 흡수촉진작용 및 대장암 발생 억제작용 등 식품 및 영양보건학적으로 매우 유익한 효과가 있다고 보고 되고 있다(Brian, 1992; Hood 와 Zottola, 1988). 요구르트는 세계적으로 수요가 꾸준히 증가하고 있으며 우리나라에서도 액상 요구르트가 주종을 이루었으나 수년전부터 유고형분 함량과 젖산균수가 많은 커드상의 요구르트 및 이와 유사한 제품의 수요가 꾸준히 증가하고 있다(Sung *et al.*, 2005). 최근에는 다양한 생리활성 성분을

함유하고 있는 인삼, 매실, 쑥, 녹차, 삼백초, 클로렐라 등의 천연소재를 요구르트에 첨가하여 기존의 요구르트의 기능성뿐만 아니라 새로운 생리활성이 강화된 요구르트를 제조하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다(Bang 과 Park, 2000; Lee *et al.*, 2002; Lee 와 Paek, 2003; Sung *et al.*, 2005).

뽕잎은 2,200여 년 전부터 민간에서 약제로 이용되어왔으며 뽕잎에는 단백질, 아미노산, 비타민, 미네랄 및 다량의 식이섬유소 뿐 아니라 flavones, steroids 및 triterpenes와 같은 다양한 생리활성물질을 함유하고 있는 것으로 보고 되고 있다(Chae *et al.*, 2003; Asano *et al.*, 2000). 또한, 뽕잎은 항당뇨(Basnet *et al.*, 1993; Asano *et al.*, 1994; Kimura *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 1999), 항고지혈증(Kim 과 Lee 1996; Kim *et al.*, 1998a), 항산화작용(Yen *et al.*, 1996; Doi *et al.*, 2000) 및 중금속제거 능력 (Kim, 1998b) 등 여러 가지 생리적 또는 약리적 작용을 갖고 있다. 뽕잎에 함유되어있는 여러 가지 생리활성성분 중 혈당강하성분으로 알려진 1-deoxynojirimycin(DNJ), 혈압강하성분인 r-aminobutyric acid(GABA) 및 항산화성분의 flavonoid화합물은 뽕잎의 우수한 기능성을 나타내는 지표물질로서 잘 알려져 있다(Chae *et al.*, 2003). 한편 안전성 즉, 독성여부를 조사한 결과 무독성 식품으로서 70kg 체중을 가진 성인이 한번에 마른 뽕잎 3.5kg을 먹어도 전혀 이상이 없다는 점이 검증되었다(Lee *et al.*, 2003).

따라서 본 연구에서는 뽕잎분말과 뽕잎추출물을 이용한 새로운 기능성 요구르트를 제조하는데 있다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 시료

뽕잎의 건조는 원적외선건조기(FDI-150, Duksan, Korea)를 사용하여 50℃에서 수분함량 4%(dry basis) 까지 건조시켰다. 건조된 뽕잎의 분쇄는 high impact planetary mill(pulverisette 6, FRITSCH, Germany)를 이용하였으며 4.9mm의 ball 크기로 200 rpm에서 분쇄시간을 조절하여 뽕잎분말입자의 평균크기를 조절하였다. 분쇄된 뽕잎분말입자의 평균크기가 40.02 $\mu$ m, 64.65 $\mu$ m, 101.76 $\mu$ m인 뽕잎분말을 뽕잎두부 제조 시 사용하였다. 뽕잎추출물제조는 40.02 $\mu$ m 크기의 뽕잎분말을 이용하여 80℃에서 열수추출방법으로 하였으며 열수추출 후 진공농축기(R-124, Buchii, Switzerland)를 사용하여 80℃에서 8.5°brix까지 농축하였다. 요구르트제조에 사용되는 전지분유와 탈지분유는 서울우유주식회사 제품을 이용하였으며 스타터로는 (주)한미요구르트사의 요구르팅요 제품을 사용하였다. 요구르팅요의 배합은 유산균 배양물 33.3%, 유당 66.7%로 되어있으며 유산균 배양물은 *L. acidophilus* 3X10<sup>8</sup> CFU/g, *L. bulgaricus* 5X10<sup>8</sup> CFU/g, *Streptococcus thermophilus* 1X10<sup>9</sup> CFU/g으로 구성되어있다. 과일농축액은 65 Brix로서 사과, 매실, 자몽 및 복숭아를 이용하였다.

#### 나. 요구르트제조

전지분유 120g, 탈지분유 20g을 1,000 ml의 증류수에 현탁한 다음 80℃에서 30분간 멸균한 후 상온에서 냉각하였다. 냉각 후 스타터 3g을 접종하여 37℃의 온도에서 요구르트 제조기(NUC electric, NY-4500M, Korea)로 6시간동안 배양하여 사용하였다.

#### 다. pH 및 산도

pH는 pH meter를 이용하여 측정하였으며 산도는 침지액을 10 ml 취한 다음 0.01N NaOH 용액을 이용하여 중화될 때까지 적정하였다.

#### 라. 미생물 측정

뽕잎추출물첨가 요구르트를 10진법으로 희석한 다음 호기성 생균수를 plate count agar를 이용하여 25℃에서 2일간 배양한 후 생균수를 계수하였다.

#### 마. 점도

점도측정은 Brookfield viscometer를 이용하여 25℃에서 겔보기점도를 측정하였다.

#### 바. 관능검사

관능검사 과목을 이수한 학생들을 대상으로 15명의 관능검사요원을 선별하였다. 뽕잎 분말의 농도, 뽕잎분말입자의 평균크기에 따른 기호도변화의 관능검사 방법은 기준검사물(뽕잎이 첨가되지 않은 요구르트)을 제시한 다음 기준검사물에 인위적으로 5점을 부여한 후 기준검사물과 비교평가 하도록 하는 9점 기호척도법을 이용한 다시료 비교검사법을 사용하였다. 10가지의 시료에 대한 관능검사는 balanced incomplete block design법 (Stone 과 Sidel, 1983)에 의하여 3가지 시료를 1 session으로 시행하였다.

뽕잎추출물의 농도변화에 따른 뽕잎 요구르트의 기호도변화의 관능검사 방법은 4가지 시료에 대하여 색상(color), 향(odor), 맛(taste), 점도(viscosity) 및 전체적인 품질(overall quality)에 대한 것을 앞서의 다시료 비교검사법을 사용하여 9점법에 의하여 분석하였다.

#### 사. 통계분석

모든 자료는 SAS package를 이용하여 군간의 유의성을 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

### 3. 연구결과

#### 가. 배양과정에서 뽕잎 추출물첨가요구르트의 이화학 및 미생물 변화

6시간동안 배양과정에서 뽕잎 추출물첨가요구르트의 이화학 및 미생물 변화결과는 Table 14와 같다. 산도는 배양과정에서 증가하였으며 이는 발효과정에서 산생성에 따른 현상으로서 뽕잎추출물의 농도가 증가함에 따라서 6시간 배양 후 산도의 증가폭이 컸다. 초기 pH는 6.8로서 대조구나 처리구가 같았으나 6시간 배양 후 뽕잎추출물의 농도가 증가함에 따라서 감소 폭이 컸다. 이는 산도증가에 기인되었다 사료된다. 점도 또한 초기에는 비슷하였으나 뽕잎추출물의 농도가 증가함에 따라서 증가 폭이 컸다. 호기성 미생물 수는 대조구의 경우 초기  $2.83 \times 10^4$  CFU/g에서 배양 후  $5 \times 10^6$  CFU/g 에 지나지 않았으나 뽕잎추출물의 농도가 증가함에 따라서 생균수는 증가하였다. 이러한 현상에 의하여 뽕잎추출물의 농도가 증가함에 따라서 산도증가, pH감소 및 점도증가가 나타났으리라 생각된다.

Table 14. Physicochemical and microbial changes in mulberry leaf extract yogurt during 6 hours of incubation

Concentration of mulberry leaf extract (v/v, %)	Acidity		pH		Viscosity (mPa·S)		Viable cell number (CFU/g)	
	0 hr	6 hr	0 hr	6 hr	0 hr	6 hr	0 hr	6 hr
Control	0.042	0.167	6.8	5.1	7.5	1240	$2.83 \times 10^4$	$5.00 \times 10^6$
1%	0.025	0.368	6.8	4.8	7.6	1880	$2.56 \times 10^4$	$3.00 \times 10^8$
2%	0.033	0.552	6.8	4.6	7.6	1920	$2.71 \times 10^4$	$6.00 \times 10^8$
3%	0.033	0.669	6.8	4.3	7.6	2200	$2.80 \times 10^4$	$7.00 \times 10^8$

나. 뽕잎분말입자의 평균크기 및 농도에 따른 뽕잎요구르트의 기호도에 미치는 영향  
 뽕잎분말입자의 평균크기 및 뽕잎분말의 농도에 따른 뽕잎요구르트의 기호도 결과는 Table 15와 같다. 뽕잎첨가 요구르트의 색상에서 일반적으로 뽕잎분말입자의 평균크기가 커짐에 따라서 기호도는 떨어졌으며 뽕잎분말의 농도가 높아짐에 따라서 기호도가 낮아졌다. 대조구와 비교하여 뽕잎분말의 농도에 관계없이 뽕잎분말입자의 평균크기가 120 micron과 40 micron에서는 5 %에서 유의성차이가 나타나지 않았지만 200 micron의 입자크기에서는 대조구와 유의성 차이를 보였다. 향에서는 뽕잎분말 첨가 요구르트가 대조구에 비하여 전반적으로 낮은 기호도를 나타내었다. 뽕잎분말입자의 평균크기 및 뽕잎분말의 농도에 따른 뽕잎분말 첨가 요구르트 향에 대한 기호도와와의 관계성은 찾아볼 수 없었다. 점도에서는 뽕잎분말 첨가 요구르트가 대조구에 비하여 전반적으로 낮은 기호도를

나타내었다. 뽕잎분말입자의 평균크기 및 뽕잎분말의 농도에 따른 뽕잎분말 첨가 요구르트 점도에 대한 기호도와 관계성은 뽕잎분말입자의 평균크기가 작을수록 기호도가 높았으며 뽕잎분말입자의 평균크기가 120 micron과 40 micron에서는 5 %에서 유의성 차이가 나타나지 않았지만 200 micron의 입자크기에서는 대조구와 유의성 차이를 보였다. 맛에서는 뽕잎분말 첨가 요구르트가 대조구에 비하여 전반적으로 낮은 기호도를 나타내었다. 뽕잎분말입자의 평균크기 및 뽕잎분말의 농도에 따른 뽕잎분말 첨가 요구르트 맛에 대한 기호도와 관계성은 찾아볼 수 없었다. 뽕잎첨가 요구르트의 전체적인 평가에서 대조구에 비하여 전반적으로 낮은 기호도를 나타내었다. 뽕잎분말입자의 평균크기 및 뽕잎분말의 농도에 따른 뽕잎분말 첨가 요구르트 전체적인 평가에 대한 기호도와 관계성은 찾아볼 수 없었다. 200 micron의 뽕잎분말입자 평균크기 와 뽕잎분말의 농도 0.75%(w/v)인 뽕잎요구르트만이 대조구와 5%에서 유의성 차이를 나타내었지만 나머지 조건에서 제조된 뽕잎요구르트는 유의성 차이가 나타나지 않았다.

Table 15. Hedonic scores of mulberry leaf yogurt by mulberry leaf powder added conditions

	Color	Taste	Odor	Viscosity	Overall quality
Control	6.86 <sup>a</sup>	6.60 <sup>a</sup>	6.13 <sup>a</sup>	6.26 <sup>a</sup>	6.40 <sup>a</sup>
L75 <sup>1)</sup>	3.60 <sup>c</sup>	3.46 <sup>c</sup>	4.40 <sup>c</sup>	4.20 <sup>c</sup>	3.60 <sup>b</sup>
L50	5.00 <sup>b</sup>	5.60 <sup>ab</sup>	5.13 <sup>abc</sup>	4.46 <sup>bc</sup>	5.26 <sup>a</sup>
L25	5.06 <sup>b</sup>	5.66 <sup>ab</sup>	6.06 <sup>ab</sup>	5.73 <sup>ab</sup>	5.86 <sup>a</sup>
M75	5.53 <sup>ab</sup>	5.80 <sup>ab</sup>	5.20 <sup>abc</sup>	5.93 <sup>a</sup>	5.60 <sup>a</sup>
M50	6.26 <sup>ab</sup>	5.06 <sup>b</sup>	4.73 <sup>bc</sup>	5.26 <sup>abc</sup>	5.13 <sup>a</sup>
M25	6.33 <sup>ab</sup>	5.26 <sup>ab</sup>	5.40 <sup>abc</sup>	5.53 <sup>ab</sup>	5.80 <sup>a</sup>
S75	5.93 <sup>ab</sup>	5.73 <sup>ab</sup>	5.20 <sup>abc</sup>	5.66 <sup>ab</sup>	5.20 <sup>a</sup>
S50	5.66 <sup>ab</sup>	6.40 <sup>ab</sup>	5.40 <sup>abc</sup>	6.13 <sup>a</sup>	6.00 <sup>a</sup>
S25	6.60 <sup>a</sup>	5.06 <sup>b</sup>	4.73 <sup>bc</sup>	6.00 <sup>a</sup>	5.66 <sup>a</sup>

1) L, M and S represents 200, 140 and 40 micron of average particle size of mulberry powder, respectively.

2) 75, 50 and 25 means mulberry powder concentration of 0.75, 0.50 and 0.25%(w/v) based on yogurt volume, respectively.

3) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

다. 뽕잎 추출물 첨가량에 따른 뽕잎요구르트의 기호도에 미치는 영향

뽕잎 추출물 첨가량에 따른 뽕잎요구르트의 기호도에 미치는 영향을 분석한 결과 Table 16과 같다. 대조구에 비하여 농도에 관계없이 뽕잎 추출물 첨가 요구르트의 각 항목에 대한 기호도는 높았다. 뽕잎추출물첨가 요구르트의 색상에서 2%농도가 최대 값인 6.13을 나타내었으며 대조구와는 1%농도를 제외하고는 5%내에서 유의성 차이를 보였다. 향에서는 1%농도에서 최대 값인 7.00을 나타내었으며 농도에 관계없이 대조구와 5%내에서 유의성 차이를 보였다. 점도 또한 대조구에 비하여 높은 값의 기호도를 나타내었으며 1%의 농도에서 최대 값을 보였으며 대조구와 5%내에서 유의성 차이를 보였다. 맛에서는 1%농도에서 최대 값을 나타내었으며 1%와 2%농도에서 대조구와 유의성 차이를 보였다. 전체적인 평가에서는 1%농도에서 최대 값을 나타내었으며 모든 농도에서 대조구와 유의성 차이를 보였다.

Table 16. Hedonic scores of mulberry leaf yogurt by added concentration of mulberry leaf extract

Concentration of mulberry leaf extract (v/v, %)	Color	Taste	Odor	Viscosity	Overall quality
Control	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>c</sup>	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>c</sup>
1%	5.60 <sup>ab</sup>	7.00 <sup>a</sup>	6.47 <sup>a</sup>	6.60 <sup>a</sup>	7.00 <sup>a</sup>
2%	6.13 <sup>a</sup>	6.73 <sup>ab</sup>	6.00 <sup>a</sup>	5.60 <sup>ab</sup>	6.67 <sup>ab</sup>
3%	6.07 <sup>a</sup>	5.87 <sup>bc</sup>	6.33 <sup>a</sup>	5.80 <sup>ab</sup>	5.93 <sup>b</sup>

1) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

라. 1% 농도의 뽕잎추출물 첨가 요구르트에 사과농축액 첨가가 기호도에 미치는 영향

1% 농도의 뽕잎추출물 첨가 요구르트에 65 Brix의 사과농축액 첨가농도에 따른 기호도에 미치는 영향을 분석한 결과 Table 17과 같다. 색상에서는 대조구에 비하여 농도에 관계없이 사과농축액 첨가 요구르트의 각 항목에 대한 기호도는 일반적으로 높았다. 색상에서 사과농축액첨가 요구르트의 0.5%농도가 최대 값인 6.87을 나타내었으며 대조구와는 1%농도를 제외하고는 5%내에서 유의성 차이를 보였다. 향에서는 1.5%농도에서 최대 값인 5.80을 나타내었으며 0.5%와 1.5%에서 대조구와 5%내에서 유의성 차이를 보였다. 점도 또한 대조구에 비하여 높은 값의 기호도를 나타내었으며 1%의 농도에서 최대 값을 보였으며 0.5%와 1%에서 대조구와 5%내에서 유의성 차이를 보였다. 맛에서는 0.5%농도에서 6.13으로 최대 값을 나타내었으며 대조구와 유의성 차이를 보였다. 전체적인 평가에서는 0.5%농도에서 최대 값을 나타내었으며 모든 농도에서 대조구와 유의성 차이를 보였다.

다. 따라서 기호도 측면에서 뽕잎추출물을 요구르트에 단독으로 이용하는 것보다는 사과 농축액을 혼합하여 사용하는 것도 바람직하다고 사료된다.

Table 17. Hedonic scores of mulberry leaf extract (1%, v/v) yogurt by added 65 Brix of apple concentrated juice

65 Brix of apple concentrated juice(v/v, %)	Color	Taste	Odor	Viscosity	Overall quality
Control	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>bc</sup>	5.00 <sup>c</sup>	5.00 <sup>c</sup>
0.5%	6.87 <sup>a</sup>	6.13 <sup>a</sup>	5.60 <sup>ab</sup>	6.80 <sup>a</sup>	7.00 <sup>a</sup>
1.0%	5.87 <sup>b</sup>	5.40 <sup>b</sup>	4.80 <sup>c</sup>	5.93 <sup>b</sup>	6.00 <sup>b</sup>
1.5%	6.33 <sup>a</sup>	5.47 <sup>b</sup>	5.80 <sup>a</sup>	5.53 <sup>bc</sup>	6.33 <sup>ab</sup>

1) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

마. 1% 농도의 뽕잎추출물 첨가 요구르트에 매실농축액 첨가가 기호도에 미치는 영향

1% 농도의 뽕잎추출물 첨가 요구르트에 65 Brix의 매실농축액 첨가농도에 따른 기호도에 미치는 영향을 분석한 결과 Table 18과 같다. 모든 항목에서 0.5%의 매실농축액 첨가가 가장 높은 기호도를 나타내었다. 또한 대조구와 모든 항목에서 5%이내에서 유의성 차이를 보였다. 반면에 0.5%의 농도보다 높아짐에 따라서 기호도는 낮아졌으며 1.0%와 1.5%에서는 대조구와 향 항목을 제외하고는 유의성 차이를 보이지 않았다.

Table 18. Hedonic scores of mulberry leaf extract (1%, v/v) yogurt by added 65 Brix of plum concentrated juice

65 Brix of plum concentrated juice(v/v, %)	Color	Taste	Odor	Viscosity	Overall quality
Control	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>c</sup>	5.00 <sup>c</sup>	5.00 <sup>b</sup>
0.5%	7.20 <sup>a</sup>	7.47 <sup>a</sup>	6.80 <sup>a</sup>	7.13 <sup>a</sup>	7.53 <sup>a</sup>
1.0%	5.67 <sup>b</sup>	5.13 <sup>b</sup>	5.47 <sup>bc</sup>	5.80 <sup>b</sup>	5.47 <sup>b</sup>
1.5%	5.27 <sup>b</sup>	4.93 <sup>b</sup>	5.80 <sup>b</sup>	5.47 <sup>bc</sup>	5.13 <sup>b</sup>

1) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

바. 1% 농도의 뽕잎추출물 첨가 요구르트에 자몽농축액 첨가가 기호도에 미치는 영향

1% 농도의 뽕잎추출물 첨가 요구르트에 65 Brix의 자몽농축액 첨가농도에 따른 기호도에 미치는 영향을 분석한 결과 Table 19와 같다. 매실농축액의 결과와는 반대로 모든 항목에서 본 실험조건에서 가장 높은 농도인 1.5%의 자몽농축액첨가가 가장 높은 기호도를 나타내었다. 또한 1.5%의 농도에서는 대조구와 모든 항목에서 5%이내에서 유의성 차이를 보였다. 반면에 자몽농축액의 농도보다 낮아짐에 따라서 기호도는 낮아졌다.

Table 19. Hedonic scores of mulberry leaf extract (1%, v/v) yogurt by added concentration of grapefruit concentrated juice

65 Brix of grapefruit concentrated juice (v/v, %)	Color	Taste	Odor	Viscosity	Overall quality
control	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>c</sup>	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>b</sup>
0.5%	5.33 <sup>ab</sup>	6.53 <sup>b</sup>	5.87 <sup>a</sup>	6.20 <sup>a</sup>	6.20 <sup>b</sup>
1.0%	5.53 <sup>ab</sup>	7.07 <sup>ab</sup>	5.80 <sup>a</sup>	5.87 <sup>ab</sup>	6.60 <sup>ab</sup>
1.5%	5.80 <sup>a</sup>	7.33 <sup>a</sup>	6.00 <sup>a</sup>	6.53 <sup>a</sup>	6.93 <sup>a</sup>

1) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

사. 1% 농도의 뽕잎추출물 첨가 요구르트에 복숭아농축액 첨가가 기호도에 미치는 영향

1% 농도의 뽕잎추출물 첨가 요구르트에 65 Brix의 복숭아농축액 첨가농도에 따른 기호도에 미치는 영향을 분석한 결과 Table 20과 같다. 색상과 향 항목을 제외하고 모든 항목에서 본 실험조건에서 가장 높은 농도인 1.5%의 복숭아농축액첨가가 가장 높은 기호도를 나타내었다. 또한 1.5%의 농도에서는 대조구와 모든 항목에서 5%이내에서 유의성 차이를 보였다. 반면에 자몽농축액과 같게 복숭아농축액의 농도보다 낮아짐에 따라서 기호도는 낮아졌다.

Table 20. Hedonic scores of mulberry leaf extract (1%, v/v) yogurt by added concentration of peach concentrated juice

65 Brix of peach concentrated juice (v/v, %)	Color	Taste	Odor	Viscosity	Overall quality
control	5.00 <sup>c</sup>	5.00 <sup>c</sup>	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>b</sup>
0.5%	5.40 <sup>bc</sup>	5.80 <sup>b</sup>	4.73 <sup>b</sup>	5.60 <sup>ab</sup>	5.80 <sup>b</sup>
1.0%	6.20 <sup>a</sup>	6.33 <sup>b</sup>	6.27 <sup>a</sup>	6.20 <sup>a</sup>	6.73 <sup>a</sup>
1.5%	5.93 <sup>ab</sup>	7.67 <sup>a</sup>	6.13 <sup>a</sup>	6.53 <sup>a</sup>	7.33 <sup>a</sup>

1) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

## 제 6 절. 뽕잎분말이 고 콜레스테롤 식이 투여 흰쥐의 지질 대사에 미치는 영향

### 1. 이론적 접근방법

고도의 산업화와 경제적 수준의 향상에 따라 식생활 패턴이 고열량화, 고지방식 등의 불균형된 식생활로 인하여 한국인 사망 원인으로 뇌혈관계 질환, 악성 종양, 고혈압 및 심장 질환 등이 높은 비중을 차지하고 있으며, 소아 성인병 또한 증가추세에 있어 국민 보건에 심각한 문제점으로 지적되고 있다(Nsok et al., 2003; Nsok et al., 2002). 이러한 그릇된 식생활로 인해 발생하는 비만증의 발생 원인은 대부분 섭취 열량이 체내에서 소비되지만 남은 부분이 지방으로 전환되어 체내의 여러 부분, 특히 피하조직과 복강 내에 축적됨으로서 일어나는 현상이다. 그 결과 고지혈증, 지방간, 동맥경화, 심혈관계질환, 고혈압 등의 합병증이 수반되고 있으며, 이러한 혈액순환기계 질환의 원인으로 Poller(Peller et al., 1970)는 동물성 지방과 단백질 식이가 증가하고 식이섬유소 섭취량이 감소하고 있기 때문인 것으로 보고하고 있다.

혈액순환기계 질환을 예방하기 위하여 혈중 콜레스테롤치를 감소시키는 것이 효과적이라는 보고가 있다. 혈청 콜레스테롤은 허혈성 뇌혈관질환 및 관상동맥질환의 위험인자로 밝혀졌고 콜레스테롤 1%를 저하시키면 심장사나 심근경색을 2% 감소, 허혈성 뇌졸중의 발병율을 5배 감소시킬 수 있다고 한다(Shin et al., 1996; Kim et al., 1997; Buring et al., 1997; Jacques et al., 1995). 또한 최근에 free radical이 노화 및 뇌혈관질환, 심혈관계 질환, 암과 같은 만성질환의 원인이 된다고 밝혀짐에 따라 항산화효과를 가지는 식품의 섭취를 통해 이와 같은 질병을 예방하고 치료하며, 노화를 지연시키고자 하는 노력이 증가하고 있다(Shin et al., 1996; Kim et al., 1997; Buring et al., 1997;

Jacques et al ., 1995). 그 가운데 폴리페놀이 풍부한 식품, 즉 과일, 채소 및 이들의 주스, 와인, 차, 커피 등의 음료가 항산화성분의 식이공급원으로서 그 생리활성에 주목을 받고 있다.

많은 역학연구에서 식이섬유소와 폴리페놀이 풍부한 식품섭취가 심혈관계질환에 의한 사망률 저하와 상관성이 있음을 보고하고 있다(Stleger et al ., 1979 ; Hertog et al ., 1995 ; Tijburg et al ., 1997). 동맥경화, 심근경색 및 뇌졸중과 같은 심혈관계 질환은 다른 만성질환에 비하여 식이의 영향을 많이 받는다고 알려져 있으며, 위험인자로는 혈중 콜레스테롤, 고혈압, 흡연, 당뇨 및 비만 등이 있다(Glowinska et al ., 2002). 따라서 식품 중에 함유된 항동맥경화성 인자들을 추출하고 이들의 생리활성 기능을 과학적으로 밝히고자하는 많은 연구들이 수행되어 왔다. 그 가운데 녹차나 홍차와 심혈관계질환 관련 연구는 매우 활발히 진행되어 왔으나(Hertog et al ., 1993 ; Kono et al ., 1996 ; Green et al ., 1992 ; Kono et al ., 1992 ; Yang et al ., 1997 ; Yanaguchi et al ., 1991 ; Yang et al ., 2000 ; Yang et al ., 2001 ; Sayama et al ., 2000 ; Kao et al ., 2000), 생리활성 효과가 녹차와 유사하나(Naitoh et al ., 1968 ; Sin et al ., 1995) 녹차와 비교시 차로서 인지도가 낮아 뽕잎을 대상으로 한 연구는 비교적 적은 편이다.

뽕잎에는 50여종의 각종 무기성분, methionine 등의 아미노산, 다량의 식이섬유소 및 항산화 비타민이 다량 함유되어 있다(Yetal et al ., 2002). 또한 기능성 성분으로는 rutin, quercetin, isoquercetin과 같은 플라보노이드가 함유되어 있으며(Naitoh et al ., 1968 ; Shin et al ., 1995 ; Kim et al ., 1995 ; Onog et al ., 1993 ; Kang et al ., 1984),  $\alpha$ -glycoside저해활성을 갖는 1-deoxynojirimycin(Yoshikumi et al ., 1994)과 N-containing sugars(Asano et al ., 1994 ; Asano et al ., 1994 ; Basnent et al ., 1993 ; Kimura et al ., 1995)도 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. 뽕잎의  $\beta$ -glycoside저해활성을 가지는 물질은 혈당강화 작용을 나타내는 천연자원으로 평가되면서 당뇨와 연관된 연구는 현재 활발히 진행되고 있다(Asano et al ., 1994 ; Asano et al ., 1994 ; Basnent et al ., 1993). 그러나 고지혈증 관련 연구의 경우는 세포나 조직상에서 주로 이루어졌고(Cha et al ., 2000), in vivo의 경우도 단기간 메탄올추출물의 형태를 경구투여 하여 그 효과를 본 경우(Lee et al ., 2003)로 제한되어 있어 일상 식생활에 적용하기 쉬운 분말형태로의 접근은 매우 드문 실정이다. 따라서 본 연구에서는 뽕잎 분말형태를 이용해보고자 고지혈증 유발 흰쥐에게 뽕잎분말을 여러 수준(0, 5, 10%)으로 첨가하여 4주간 섭취시켜 식이에 첨가한 뽕잎분말이 심혈관계 질환의 주요 위험 인자들을 저해시키는 효과를 규명하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

본 실험에 사용된 뽕잎(Morus alba)분말은 충북양잠조합에서 구입하여 사용하였다.

### 나. 실험동물 사육 및 식이조성

실험동물로는 생후 12주령 된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 32마리를 (주) 바이오제노믹스(Biogenomics, Seoul Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험식이 시작 전 1주일간은 고형배합사료로 적응시킨 후, 이들을 체중에 따라 난괴법을 사용하여 8마리씩 정상 식이군과 실험군으로 나누어 4마리씩 stainless steel cage에서 4주 동안 사육하였다. 실험군은 normal control group (C), 1% cholesterol administered group (HC), 1% cholesterol + 5% mulberry leaf powder (HC5M), 1% cholesterol + 10% mulberry leaf powder (HC10M) 군으로 나누었다. 사육실의 온도는  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 유지하였으며, 조명은 12시간 주기(08:00-20:00)로 조절하였다. 본 실험에서 사용한 대조군과 실험군의 식이조성은 AIN-93G (Harlan Teklad, Madison, USA)를 기준으로 Table 21과 같이 하였고 식이와 음용수는 *ad libitum*으로 하였다. 고 콜레스테롤혈증을 유도하기 위하여 고 콜레스테롤군의 모든 식이는 1% 콜레스테롤과 0.5% cholic acid를 첨가하여 조제하였다. 식이섭취량은 1주일에 2번씩 측정하였으며, 체중은 1주일에 한번씩 측정하였다. 식이효율 (food efficiency ratio; FER)은 사육기간 동안의 체중증가량을 같은 기간동안 섭취한 식이섭취량으로 나누어 산출하였다.

$$\text{식이효율 (FER)} = \frac{\text{체중증가량 (g)}}{\text{식이섭취량 (g)}}$$

Table 21. Composition of experimental diets

Ingredients	(g/kg diet)			
	C <sup>1)</sup>	HC <sup>2)</sup>	HC5M	HC10M
Corn Starch	529.486	529.486	529.486	529.486
Casein	200.000	200.000	200.000	200.000
Sucrose	100.000	100.000	100.000	100.000
Soybean oil	70.000	70.000	70.000	70.000
Cellulose	50.000	50.000	50.000	50.000
Mineral mixture <sup>3)</sup>	35.000	35.000	35.000	35.000
Vitamin mixture <sup>4)</sup>	10.000	10.000	10.000	10.000
L-Cystine	3.000	3.000	3.000	3.000
Choline bitartrate	2.500	2.500	2.500	2.500
T-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014
Cholesterol	—	10.000	10.000	10.000
Mulberry leaves powder	—	—	50.000	100.000
Total	1000	1010	1060	1110

1) C: Normal control group fed AIN-93 diet

2) All of HC groups were fed 1% cholesterol and 0.5% cholic acid diet

HC5M: 5% mulberry leaves powder was added in diet

HC10M: 10% mulberry leaves powder was added in diet

3) AIN-93 Mineral mixture (g/kg diet): Calcium carbonate 357 g, Monopotassium phosphate 196 g, Potassium citrate 70.78 g, Sodium chloride 74 g, Magnesium oxide 24 g, Ferric citrate 6.06 g, Zinc carbonate 1.65 g, Manganous carbonate 0.63 g, Cupric carbonate 0.30 g, Potassium iodate 0.01 g, Ammonium paramolybdate 0.00785 g

4) AIN-93 Vitamin mixture (g/kg diet): Nicotinic acid 3.0 g, Ca pantothenate 1.6g, Pyridoxine HCL 0.7g, Thiamin HCL 0.6 g, Riboflavin 0.6 g, Folic acid 0.2 g, D-Biotin 0.02 g, Vitamin E 15.0 g, Vitamin A 0.8 g, Vitamin D<sub>3</sub> 0.25 g, Vitamin K 0.075 g, Powdered sucrose 974.655 g

#### 다. 시료의 수집 및 처리

사육기간이 끝난 실험동물들을 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취하여 심장에서 주사기로 채혈하였다. 채혈된 혈액은 3000 rpm에서 30분간 원심분리 후 혈청을 분리하여 분석 시까지 냉동 보관하였다. 간장과 신장은 무균 적으로 채취하여 생리식염수로 세척하고 여과지로 물기를 제거하여 중량을 측정한 후 -70℃에서 냉동보관 하였다. 실험동물 을 희생하기 3일 전에 metabolic cage에 흰쥐를 한 마리씩 넣어 24시간 동안 대변을 분리 수집하였다. 수집한 분변은 중량을 측정한 후 -70℃에서 냉동보관 하여 분석시 사용 하였다.

#### 라. 혈청 지질분석

혈청 중성지방의 함량은 혈청 중성지방 측정용 kit (Sigma Co, USA)를 사용하여 정량하였다. 혈청 총 콜레스테롤 함량은 Rudel 등(Rudel et al., 1973)의 방법에 의거하여 분석하였으며, HDL-cholesterol 함량과 LDL-cholesterol 함량은 Noma 등(Noma et al., 1978)의 방법에 따라 분석하였다.

#### 마. 심혈관계지표

임상진단에서 순환계와 관련한 진단지수인 동맥경화지수 (atherogenic index; AI), 심장위험지수 (cardiac risk factor; CRF), HTR (high density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio), LHR (low density lipoprotein cholesterol ratio)는 아래와 같은 공식에 의하여 산출하였다(Kim et al., 2004; Kang et al., 2000).

$$AI = (\text{Total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol}) / \text{HDL-cholesterol}$$

$$CRF = \text{Total cholesterol} / \text{HDL-cholesterol}$$

$$HTR = \text{HDL-cholesterol} / \text{total cholesterol}$$

$$LHR = \text{LDL-cholesterol} / \text{HDL-cholesterol}$$

#### 바. 혈청 creatinine, 혈청 aspartate transaminase (AST) 및 alanine transaminase (ALT) 활성 측정

간의 손상정도를 측정하기 위하여 아미노산 전이효소인 AST와 ALT 활성을 효소법에 의한 정량용 kit (Asan Co, Seoul, Korea)을 이용하여 측정하였다. 혈청 creatinine 농도는 kit (Asan Co, Seoul, Korea)을 사용하여 측정하였다.

#### 사. 간장과 분변 중에서 지질 농도 측정

간 조직 1 g에 생리식염수 4 mL를 넣어 조직균질기로 얼음물 속에서 균질화한 후 Folch(Bartrop et al., 1975)법으로 지질을 추출하였다. Sale 등(Kim et al., 2003)의 방법을 적용하여 클로로포름에 용해된 지질추출물을 일정량 취하여 질소 가스로 건조시킨 후 tritonx-100과 에탄올에 용해시켜 혈청 지질측정과 동일한 방법으로 간의 콜레스테롤과 중성지방 농도를 측정하였다. 분변의 총 콜레스테롤과 중성지방도 간과 동일한 방법으로 지질을 추출하여 농도를 측정하였다.

#### 아. 통계분석

본 연구의 실험결과는 실험군당 평균과 표준편차를 계산하였고, ANOVA를 실시한 후  $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의거하여 각 실험군 평균치 간의 유의성을 검정하였다.

### 3. 연구결과

#### 가. 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

뽕잎분말이 첨가된 식이를 4주간 섭취한 실험동물의 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율은 Table 22와 같다. 식이섭취량과 시작체중은 모든 군 간에 유의적인 차이가 없었으며, 체중증가량과 식이효율은 10% 뽕잎분말을 첨가한 HC10M군에서 가장 낮게 나타났다. 뽕잎 10% 군에서 체중증가율과 식이효율이 유의적으로 낮은 것은 뽕잎이 52%의 섬유질 함유량을 갖는 고섬유질식품(Lee et al., 2003)이어서 다량의 식이섬유소가 지질을 흡착하여 배설을 촉진시킨 것으로 사료된다.

Table 22. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio

Groups	Food intake (g/day)	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g/4 weeks)	FER
C	26.33±6.23 <sup>1), NS2)</sup>	269.50±13.12 <sup>NS</sup>	336.83±21.23 <sup>a,3)</sup>	67.33±8.56 <sup>ab</sup>	2.56±0.22 <sup>a</sup>
HC	31.59±5.34	266.33±18.54	346.17±24.41 <sup>a</sup>	79.84±5.65 <sup>a</sup>	2.53±0.31 <sup>a</sup>
HC5M	35.90±4.12	277.17±16.89	320.66±20.71 <sup>ab</sup>	43.49±3.27 <sup>b</sup>	1.21±0.11 <sup>ab</sup>
HC10M	35.27±3.98	268.00±15.32	300.43±17.23 <sup>b</sup>	32.33±4.11 <sup>b</sup>	0.92±0.09 <sup>b</sup>

1) Mean±SD (n=7-8).

2) NS: not significant.

3) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

#### 나. 혈청 지질수준

뽕잎분말이 흰쥐의 혈청 지질함량에 미치는 영향을 알아보기 위하여 중성지방, 총콜레스테롤, LDL-cholesterol 및 HDL-cholesterol치를 측정하였으며 그 결과는 Table 23과 같다.

Table 23. Serum lipid profiles

(mg/dL)

Groups	Total cholesterol	Triglyceride	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol
C	47.50± 4.59 <sup>1)c2)</sup>	48.16±12.02 <sup>a</sup>	51.83±17.57 <sup>a</sup>	6.83± 2.31 <sup>b</sup>
HC	153.50± 7.50 <sup>a</sup>	87.16±20.58 <sup>a</sup>	23.50± 4.03 <sup>b</sup>	27.16±15.74 <sup>a</sup>
HC5M	86.33±32.18 <sup>b</sup>	67.50±12.34 <sup>b</sup>	23.33± 2.50 <sup>b</sup>	24.16± 7.22 <sup>a</sup>
HC10M	90.50±19.96 <sup>b</sup>	68.83±10.49 <sup>b</sup>	49.33± 9.20 <sup>a</sup>	10.83± 2.04 <sup>b</sup>

1) Mean±SD (n=7-8).

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

고콜레스테롤 투여군(HC)의 혈청 내 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL-cholesterol 농도는 정상대조군(C)을 포함한 다른 실험군들(HC5M, HC10M)에 비해 유의적으로 높았다. 뽕잎분말이 급여된 실험군들(HC5M, HC10M)의 경우 정상군보다는 높았지만 HC군에 비해서는 유의적으로 낮은 수준이었다. 그러나 HDL-cholesterol 함량의 경우에는 반대의 상반된 경향을 보였다. 동맥경화를 개선시켜주는 요인으로 알려져 있는 HDL은 말초조직으로부터 과잉의 콜레스테롤을 간으로 이동시키고 거품세포형성을 방해하여 동맥경화의 진행과정을 늦추는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Tall et al., 1990). 본 실험결과 뽕잎분말 급여가 식이로 고콜레스테롤을 유도한 경우에 총 콜레스테롤, LDL-cholesterol, 중성지방을 감소시키고, HDL-cholesterol을 상승시키는 결과를 가져와 지질대사 개선에 효과적인 것으로 나타났다.

Russell 등(Russell et al., 1992)은 녹차의 콜레스테롤 저하기전을 녹차에 포함된 다량의 식이섬유소와 기능성 성분의 콜레스테롤 흡수억제 및 담즙산 형태로의 배설을 촉진함으로써 혈중 지질상태를 개선하는 것으로 추정하였는데, 본 연구에서 뽕잎 첨가군에서 혈청 지질 함량이 저하된 것도 같은 원리로 볼 수 있다.

#### 다. 심혈관계인자

뽕잎분말이 첨가된 식이를 4주간 섭취한 실험동물의 심혈관계인자 지표인 CRF, LHR, AI 지수에 미친 영향에 대한 결과는 Fig. 26~29와 같다. CRF, LHR, AI 등의 경우 HC군에서 가장 높게 나타났고, HTR은 HC군이 HC5M, HC10M군에 비해 낮았다.

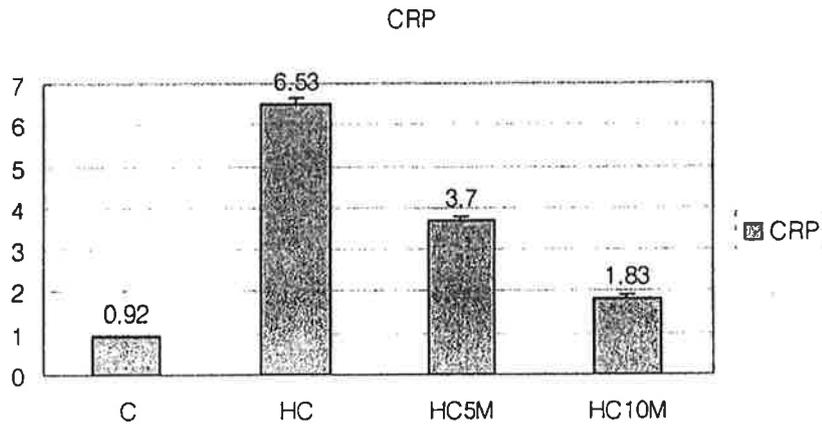


Fig. 26. CRP.

Means with different superscripts are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. CRP is cardiac risk factor.

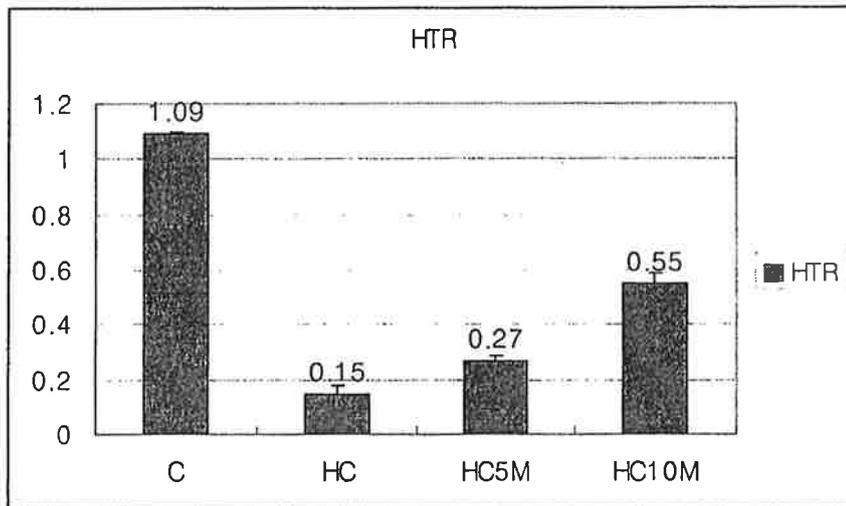


Fig. 27. HTR.

Means with different superscripts are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. HTR is high density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio.

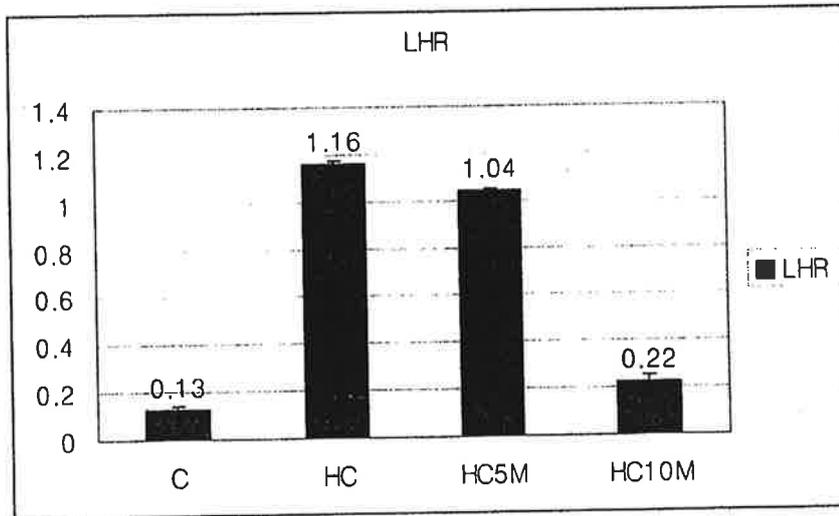


Fig. 28. LHR.

Means with different superscripts are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. LHR is low density lipoprotein cholesterol ratio.

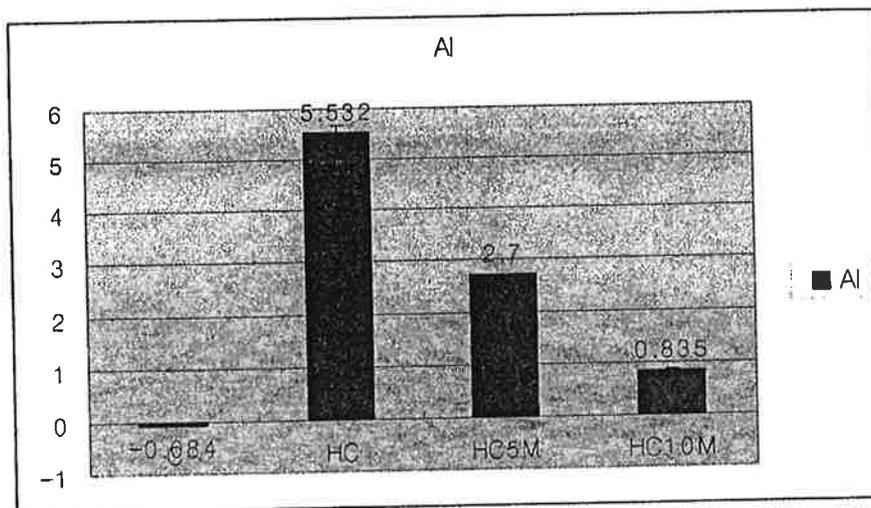


Fig. 29. AI.

Means with different superscripts are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. AI is atherogenic index.

동맥경화지수 (AI)는 체내 HDL-cholesterol에 대한 중성지방의 농도를 대표하는 값으로 임상에서 3.0 이상의 값을 나타낼 때 동맥경화에 대한 위험 신호로서 사용하고 있다 (깁들딩 et al., 1989). 심혈관위험지수 (CRF)는 동맥경화지수와 더불어 심혈관계질환에 대한 위험신호로서 사용되고 있으며, 임상에서 7.0 이상의 수치를 나타낼 때 위험신호로 인지된다(Yun et al., 1996). Fig. 26~28에서 동맥경화지수, 심혈관계지수와 그와 유사한 HTR, LHR을 살펴보면, 정상대조군(C)과 비교할 때 고 콜레스테롤을 급여한 모든 군(HC, HC5M, HC10M)에서 유의적으로 높은 수치를 나타내어 심혈관계질환의 위험성이 높은 것으로 나타났다. 고 콜레스테롤 급여 대조군(HC)과 실험군들(HC5M, HC10M) 사이에서도 유의적인 차이를 보였는데, 뽕잎분말이 10%수준으로 첨가된 실험군(HC10M)이 5% 실험군(HC5M)보다 더 효과적이었다. 즉 혈중 지질농도가 높은 대상자의 경우 일상 식사 형태로 뽕잎을 꾸준히 섭취한다면 심혈관계질환 예방 및 치료에 보조적인 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

#### 라. 혈청 AST와 ALT 활성

고 콜레스테롤과 뽕잎분말 투여가 혈청의 간기능지표 효소인 AST와 ALT 활성에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 24와 같다. 혈청 AST와 ALT 활성은 간세포의 변성이나 괴사를 반영하는 효소로서 간조직 손상시 혈중으로 다량 유출된다(Takeda et al., 1964). AST 활성은 정상대조군에 비해 실험군(HC)에서 유의적으로 높게 나타났는데, 뽕잎분말이 투여된 실험군들(HC5M, HC10M)의 경우 정상대조군(C)에 비해 높게 나타났지만 10% 투여군(HC10M)의 경우는 정상대조군 수준으로 낮게 나타났다. ALT 활성에는 정상대조군(C)과 실험군들(HC, HC5M, HC10M)간에 유의차가 없었다. 즉, 지방섭취가 증가되고 있는 현실에서 뽕잎분말을 고지방식품 및 식단에 첨가·조리하여 섭취하도록 권장한다면 간기능 개선에도 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 24. Serum AST, ALT and creatinine

Groups	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	Creatinine (mg/dL)
C	40.00±2.52 <sup>1)c2)</sup>	37.16± 6.04 <sup>NS3)</sup>	1.50±0.52 <sup>NS</sup>
HC	62.16±3.67 <sup>ab</sup>	48.33±12.70	1.02±0.22
HC5M	73.50±4.53 <sup>a</sup>	42.16± 6.99	1.04±0.36
HC10M	47.50±2.89 <sup>b</sup>	41.83±13.21	1.30±0.32

1) Mean±SD (n=7-8).

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

3) NS: not significant.

#### 마. 혈청 creatinine 농도

신장의 배설 능력의 척도로서 creatinine clearance가 측정되고 혈중 creatinine량은 사구체신염과 같은 신장질환에서 증가되며 정상 흰쥐의 혈중 creatinine량은 0.4-1.5 mg/dL이다(The Association of Korean Clinical Pathology, 1994 ; Ortho Clinical Diagnostics, 2001). 과량의 뽕잎투여가 신장기능에 이상을 초래하는지를 알아보고자 혈중 creatinine 수준을 분석하여 살펴본 결과는 Table 24와 같다. 정상대조군과 실험군들 사이에 유의적인 차이가 없었으며 모두 정상수준을 보임으로써 고 콜레스테롤 투여와 함께 뽕잎을 10%까지 과량 투여해도 신장기능에는 이상을 초래하지 않는 것으로 보여진다. 이는 뽕잎을 재배할 때 누에의 먹이로서 농약을 살포하지 않기 때문이며, 또한 대부분의 차 종류가 다량의 카페인을 함유하여 이뇨작용을 일으키는데 반해 뽕잎에는 카페인이 거의 함유되어 있지 않기 때문으로 사료된다.

#### 바. 간장과 분변 중에서 지질 농도 측정

고 콜레스테롤을 투여한 실험군들(HC, HC5M, HC10M)의 간의 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤함량은 정상대조군(C)에 비해 각각 43%, 27%, 55%씩 증가하였다. 이러한 지방축적 현상은 뽕잎분말의 첨가에 의해 유의적으로 감소하였으며, 그 효과는 농도에 의존적이었다. 본 실험에서 고지방식이에 의한 간의 콜레스테롤 농도의 증가 정도는 중성지방 농도 증가에 비해 높았는데 이는 혈청 LDL-cholesterol이 높아진 결과와 일치하는 것으로 간으로 LDL-cholesterol의 유입이 높아져 간의 콜레스테롤 농도가 높아진 것으로 생각된다. 펙틴과 같은 섬유소는 소장에서 담즙의 배설을 촉진하여 간으로 재순환된 담즙량을 감소시켜 이를 보충하기 위해서 콜레스테롤이 담즙 생성에 사용(Kwon et al., 2005)되게 하여 간의 지질을 저하시킨다고 한다. 또한 섬유소는 담즙생성 효소인 cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase의 활성을 촉진시키는 생리활성이 있다고 하는데 본 실험 결과 뽕잎분말도 같은 역할을 하였을 것으로 판단된다.

Table 25. Liver weight and lipids

Groups	Weight (g/100g BW)	Total lipid (mg/g wet wt)	Total-cholesterol (mg/g wet wt)	Triglyceride (mg/g wet wt)
C	5.89±0.09 <sup>ns</sup>	20.93± 4.52 <sup>a</sup>	3.85±0.90 <sup>a</sup>	5.49±0.63 <sup>a</sup>
HC	6.68±0.04 <sup>ns</sup>	48.49±11.50 <sup>b</sup>	14.49±1.55 <sup>b</sup>	9.96±3.38 <sup>b</sup>
HC5M	6.40±0.07 <sup>ns</sup>	40.30± 8.12 <sup>b</sup>	13.18±1.71 <sup>b</sup>	6.62±1.64 <sup>b</sup>
HC10M	6.23±0.07 <sup>ns</sup>	23.15± 2.88 <sup>a</sup>	4.22±0.51 <sup>a</sup>	6.30±1.74 <sup>b</sup>

1) Mean±SD (n=7-8).

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

4주 사육 후 희생시키기 전 이틀 동안 수집한 분변의 지방농도를 분석한 결과 고 콜레스테롤 투여군(HC)의 총지질과 중성지방 농도는 정상대조군(C)에 비해 다소 높았으나, 총 콜레스테롤의 경우는 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 빵잎을 첨가한 실험군들(HC5M과 HC10M)의 총지질, 중성지방 및 콜레스테롤 농도는 고 콜레스테롤을 투여군(HC)에 비해 분변으로 배설량이 증가하는 현상을 보였다. 이는 식이를 통해 섭취된 콜레스테롤의 분변으로의 배설량이 높아졌기 때문으로 생각되며, 빵잎분말첨가에 의한 분변의 총지질, 중성지방 및 콜레스테롤 농도가 높아진 것은 Cassidy와 Calvert(Cassidy et al., 1993)는 식이 섬유소의 콜레스테롤 저하기전에 대한 총설에서 밝힌 바와 같이 식이 섬유소인 빵잎이 지질의 흡수를 방해하여 분변으로의 배설을 증가시켰기 때문이다. 이러한 분변으로의 지질 배설 증가 효과는 빵잎분말 첨가군의 혈청, 간의 지질 농도가 빵잎분말 첨가 농도 의존적으로 낮아진 결과와 일치하는 것으로 빵잎분말의 지질저하 효과를 확인할 수 있었다. 본 연구에서 빵잎분말에 의해 분변으로의 콜레스테롤배설량이 중성지방의 배설량보다 많은 것은 빵잎분말이 식이중 콜레스테롤뿐만 아니라 담즙의 재흡수도 방해하여 이들 모두를 배설시켰기 때문으로 생각된다.

Table 26. Fecal lipids

Groups	Total lipid (mg/g wet wt)	Total-cholesterol (mg/g wet wt)	Triglyceride (mg/g wet wt)
C	69.48±20.85 <sup>ns</sup>	9.89± 0.23 <sup>b</sup>	12.71±0.01 <sup>ns</sup>
HC	83.10± 6.02 <sup>ns</sup>	12.97± 0.61 <sup>b</sup>	13.36±0.18 <sup>ns</sup>
HC5M	83.66±18.54 <sup>ns</sup>	24.57±11.85 <sup>ab</sup>	19.68±0.49 <sup>ns</sup>
HC10M	96.50±17.11 <sup>ns</sup>	31.12±13.03 <sup>a</sup>	19.71±0.49 <sup>ns</sup>

1) Mean±SD (n=7-8).

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$

by Duncan's multiple range test.  
NS: not significant.

## 제 7 절. 뽕잎분말이 납 투여한 흰쥐 체내의 납과 무기질수준에 미치는 영향

### 1. 이론적 접근방법

오늘날 환경오염의 증대와 과도한 농약살포 등으로 납, 수은, 카드뮴 등과 같은 중금속 화합물의 피해는 날로 심각한 문제로 대두되고 있다. 선진국에서는 중금속오염이 빨리 진행되어 1970년대에 납독성에 영향을 미치는 영양소에 대해 조사하고자 많은 연구들이 진행되었다.(Alice et al., 1989) 이들의 연구목적은 치료가 아니라 예방에 있었다. 왜냐하면 급성 납중독은 신장장애, 빈혈, 뇌손상 등을 일으키며 만성인 경우에는 창백한 피부, 두통, 식욕감퇴 등 많은 질병을 유발시키기 때문이다. 납이 인체에 축적 되었을 때는 식욕감퇴, 체중감소, 간장, 신장과 같은 장기 등의 형태학적 변화, 생화학적 변화, 면역능력의 감소에 의해 혈액 순환기계 질병, 암, 중추신경계의 이상, 뇌손상과 같은 여러 가지 중독현상을 일으킨다.(Bryce et al., 1983 ; Choi et al., 1983) 중금속 화합물중 독성이 적은 물질은 체내에 천천히 흡수되어 빠르게 배설되나 독성이 강한 물질은 체내에 빠르게 흡수되어 느리게 배설되기 때문에 독성이 강하다. 그리고 독성물질은 지용성인 것이 많아서 세포막을 쉽게 통과하여 혈액공급량이 많고 specific binding protein이 많은 조직 즉, 간장이나 신장에 축적되기 쉽다.(Goyer et al., 1977) 이러한 유해성 중금속을 식생활 측면에서 해결하고자 하는 연구가 다방면에서 이루어지고 있는데, 영양학적인 연구로는 단백질, 칼슘, 지방, 섬유질 등의 식이 인자들이 체내 중금속 대사에 영향을 미쳐 그 분포와 배설을 변화시키는 것으로 보고 되었다.(Kim et al., 1988 ; Kim et al., 1989) 최근 두충의 납 및 카드뮴중독 완화효과(Lee et al., 2000), 홍화추출물의 카드뮴 독성 해독효과(Hwan et al., 1998), 녹차잎과 감잎 차의 카드뮴, 납 이온들에 대한 흡착능 등이 보고(Jo et al., 2000 ; Park et al., 2001)되면서 천연식물에 다량 존재하는 폴리페놀 화합물은 강한 항산화작용을 가질 뿐만 아니라 금속이온과 착염을 형성하여 체내 중금속의 축적을 감소시킬 수 있음에 관심이 모아지고 있다. 이와 같이 체내의 영양상태가 중금속의 임상적 중독현상이나 해독기구에 영향을 미칠 수 있다는 보고(Mahaffer et al., 1981)를 미루어 볼 때 천연식물을 이용한 중금속의 중독현상 완화에 관한 연구는 중요하다고 볼 수 있다. 양잠산물 가운데 뽕잎에는 다량의 섬유소(52%), 50여종의 무기질, 항산화 효과(Schulz et al., 1987 ; McGarry et al., 1980)가 있는 flavonoid계통의 색소를 포함하고 있는 것으로 알려져 있으나(Lee et al., 2003 ; Kondo et al., 1957 ; Katai et al., 1942) 뽕잎을 소재로한 연구들은 항당뇨효과(Kimura et al., 1995 ; Khwa et al., 1987), 항고지혈증(Dietschy et al., 1970 ; Mahley et al., 1974 ; Kim et al., 1998 ;

Kim et al., 1999) 등에 집중되어 있어서, 중금속축적 저해효과에 대한 연구는 매우 드문 실정이다. 따라서 납을 투여한 흰쥐에서 뽕잎분말을 사료에 두 수준으로 급여한 후 혈청 납, 장기(신장과 간)의 납축적, 변을 통한 배설량, 혈청 납수준 등을 분석하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 실험동물 사육 및 식이조성

본 실험에 사용된 뽕잎(*Morus alba* L.)분말은 충북양잠조합에서 구입하여 사용하였다. 실험동물로는 생후 12주령된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 32마리를 (주) 바이오제노믹스(Biogenomics, Seoul Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험식이 시작 전 1주일간은 고형배합사료로 적응시킨 후, 이들을 체중에 따라 난괴법을 사용하여 8마리씩 정상식이 군과 실험군으로 나누어 4마리씩 stainless steel cage에서 4주 동안 사육하였다.

실험군은 1) Normal control group :C, 2) 500 ppm Pb: Pb, 3) 500 ppm Pb+5% mulberry leaf powder: Pb5M, 4) 500 ppm Pb+10% mulberry leaf powder: Pb10M 군으로 나누었다. 뽕잎분말은 사람이 섭취하는 식이섬유소 양을 고려하여 뽕잎분말 투여군의 사료에 5%와 10%가 되도록 하였다.

사육실의 조건은 다음과 같다. 온도는  $20 \pm 2$  °C로 유지하였으며, 조명은 12시간 주기(08:00-20:00)로 조절하였다. 사육시 일어날 수 있는 무기질 오염을 방지하기 위해 실험 시작전 필요한 모든 기구는 0.4% EDTA용액으로 세척하여 사용하였으며, 실험기간 동안 물(탈이온수)과 사료는 *ad-libitum*으로 하였다. 식이섭취량과 체중은 일주일에 2회씩 측정하였다.

본 실험에서 사용한 실험식은 AIN-93G(Harlan Teklad, Madison, USA)를 기준으로 대조군과 실험군들의 식이구성은 제 6절의 Table 21과 같도록 하였다. 납 중독을 유도하기 위해 사료에 500 ppm 납( $C_4H_6O_4Pb$ )을 첨가하였다.

식이섭취량은 1주일에 2번씩 측정하였으며, 체중은 1주일에 한번씩 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio: FER)은 사육기간 동안의 체중증가량을 같은 기간동안 섭취한 식이량으로 나누어 산출하였다.

$$\text{식이효율(FER)} = \frac{\text{체중증가량 (g)}}{\text{식이 섭취량(g)}}$$

### 나. 시료의 수집 및 처리

사육기간이 끝난 실험동물들을 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취하여 심장에서

주사기로 채혈하였다. 채혈된 혈액은 3000 rpm에서 30분간 원심분리 후 혈청을 분리하여 분석 시까지 냉동 보관하였다. 간장과 신장은 무균적으로 채취하여 생리식염수로 세척하고 여과지로 물기를 제거하여 중량을 측정한 후 -70 °C에서 냉동보관 하였다. 실험동물을 희생하기 3일 전에 metabolic cage에 흰쥐를 한 마리씩 넣어 24시간 동안 대변을 분리 수집하였다. 수집한 분변은 중량을 측정한 후 -70 °C에서 냉동보관 하여 분석시 사용하였다.

#### 다. 시료의 생화학적 분석

##### 1) 혈청 creatinine, 혈청 aspartate transaminase (AST) 및 alanine transaminase (ALT) 활성 측정

혈청 creatinine 농도는 kit (Asan Co, Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다. 간의 손상 정도를 측정하기 위하여 아미노산 전이효소인 AST와 ALT 활성을 효소법에 의한 정량용 kit (Asan Co, Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다.

##### 2) 혈청과 장기(간장, 신장)중 납 함량 측정

혈청과 장기를 각각 1 ml, 1 g씩 취하여 microwave digestion system(Ethos touch control, Milestone Inc, Bergamo, Italy)으로 분해하여 검액을 만든 뒤 ICP spectrometer(Atomscan advantage axial sequential plasma spectrometer, Thermo Jarrell Ash Co, Franklin, MA, USA)를 이용하여 납 함량을 정량 분석하였다. 실험에 사용된 모든 기구들은 무기질의 오염을 방지하기 위해서 깨끗이 씻은 후 플라스틱 제품인 경우에는 0.4% EDTA 용액에, 유리제품인 경우는 질산원액에 24시간 이상 담갔다 2차 증류수로 3번 이상 세척하고 건조기에서 습기를 제거한 다음에 사용하였다.

3) 장기(간장, 신장)와 분변중의 무기질 함량 측정

간, 신장과 분변을 각각 1 g씩 취하여 혈청 납 측정과 동일한 방법으로 무기질 함량을 측정하였다.

라. 통계분석

본 연구의 실험결과는 실험군당 평균과 표준편차를 계산하였고, ANOVA를 실시한 후  $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의거하여 각 실험군 평균치 간의 유의성을 검정하였다.

3. 연구결과

가. 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

뽕잎분말이 첨가된 식이를 4주간 섭취한 실험동물의 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율은 Table 27과 같다. 식이섭취량과 시작체중은 모든 군 간에 유의적인 차이가 없었으며, 체중증가량은 사료에 10% 뽕잎분말을 첨가한 Pb10M군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 뽕잎 10% 군에서 체중증가율이 유의적으로 낮은 것은 뽕잎이 고섬유질식품(Lee et al., 2003)이어서 다량의 식이섬유소가 납과 같은 중금속 외에 열량영양소를 흡착하여 배설을 촉진시킨 것으로 사료된다. 식이효율은 정상대조군(C)이 실험군들(Pb, Pb5M, Pb10M)에 비해 유의적으로 높게 나타났는데, 특히 납만 투여된 군에서 가장 낮게 나타났는데 납의 독성 가운데 체중의 감소작용(McGill et al., 1992)때문으로 생각된다.

Table 27. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio

Groups	Food intake (g/day)	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g/4 weeks)	FER
C	26.33±6.23 <sup>1)NS2)</sup>	269.50±13.12 <sup>NS</sup>	336.83±21.23 <sup>ab3)</sup>	67.33±8.56 <sup>ab</sup>	2.56±0.22 <sup>a</sup>
Pb	35.86±2.34	271.83±15.45	296.83±22.22 <sup>b</sup>	25.00±4.65 <sup>b</sup>	0.03±0.01 <sup>d</sup>
Pb5M	31.48±4.12	266.50±16.89	320.66±20.71 <sup>b</sup>	26.33±3.27 <sup>b</sup>	0.84±0.11 <sup>b</sup>
Pb10M	29.55±3.98	264.14±15.32	300.43±17.23 <sup>b</sup>	14.29±4.11 <sup>c</sup>	0.48±0.09 <sup>c</sup>

1) Mean±SD (n=7-8).

2) NS: not significant.

3) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

나. 혈청 AST, ALT 활성과 혈청 creatinine 측정

뽕잎분말이 납 중독된 흰쥐 혈청의 간 기능지표 효소인 AST와 ALT 활성에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 28과 같다. 혈청 AST와 ALT 활성은 간세포의 변성이나 괴사를 반영하는 효소로서 간 조직 손상 시 혈중으로 다량 유출된다.(Takeda et al., 1964) AST 활성은 정상대조군(C)에 비해 실험군(Pb)에서 유의적으로 높게 나타났다. 따라서 환경오염으로 인해 중금속에 오염된 식품을 일상적으로 섭취하고 있는 현대인들에게 뽕잎분말을 식단에 첨가·조리하여 섭취하도록 권장한다면 납중독으로 인한 간 기능 장애를 개선하는데 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

신장의 배설 능력의 척도로서 creatinine clearance가 측정되고, 혈중 creatinine량은 사구체신염과 같은 신장질환에서 증가되며 정상 흰쥐의 혈중 creatinine량은 0.4-1.5 mg/dL이다.(The Assocate Of Korean Clinical, 1994 ; Ortho Clinical Diagnostics, 2001) 과량의 납 투여가 신장기능에 이상을 초래하는지를 알아보고자 혈중 creatinine과 납 수준을 분석하여 살펴본 결과는 Table 28과 같다. 정상대조군(C)에 비해 다른 실험 군들에서 creatinine이 유의적인 증가를 보였는데(Conrad et al., 1987) 특히, Pb군에서 가장 높게 나타났다. 이는 납이 신장기능에 이상을 초래한 것으로 보이는데, 납이 투여된 군들 중 5%, 10% 뽕잎분말이 첨가되었을 시에는 정상대조군(C)에 비해서는 높았지만 Pb군에 비해 유의적으로 낮아짐으로써 뽕잎이 납중독에 의한 신장기능장애를 어느 정도 완화시킨 것으로 보여진다.

Table 28. Serum AST, ALT and creatinine

Groups	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	Creatinine (mg/dL)
C	40.00 ± 2.52 <sup>1) b2)</sup>	37.16 ± 6.04 <sup>NS3)</sup>	1.04 ± 0.52 <sup>b</sup>
Pb	62.66 ± 5.30 <sup>a</sup>	31.50 ± 7.86	4.10 ± 1.29 <sup>a</sup>
Pb5M	46.50 ± 1.21 <sup>ab</sup>	41.00 ± 4.85	1.86 ± 0.71 <sup>b</sup>
Pb10M	47.71 ± 2.68 <sup>ab</sup>	39.42 ± 7.80	1.20 ± 0.28 <sup>b</sup>

1) Mean ± SD (n=7-8).

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

3) NS: not significant.

다. 혈청, 장기 및 분변 중 납 함량 측정

Conard와 Barton(Conrad et al., 1987)은 흰쥐에게 아세트산납을 정맥 투여한 실험에서 간 조직에 납의 축적량이 증가되었다고 보고하였다. 이는 다량의 납을 투여할 경우 흡수와 배설의 불균형으로 인해 체내에 축적되는 것(Kim et al., 1987)으로 알려져 있다. 뽕잎분말이 납 중독된 흰쥐의 혈청, 간장과 신장 및 분변중의 무기질수준에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Fig. 30~33와 같다. 납이 투여된 실험 군들(Pb, Pb5M, Pb10M)의 혈청에서만 납이 측정되었는데 뽕잎첨가량에 의존적으로 납 함량이 감소되었다.

간장과 신장의 납 축적량은 납 투여군들이 정상대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났는데, 뽕잎분말 투여 군들(Pb5M, Pb10M)에서 납 투여군(Pb)에 비해 축적량이 낮았다. 이는 뽕잎분말 투여 군들의 분변 중 납 배설량과 무관하지 않은 것으로 사료된다.

분변 중 납 배설량은 납 투여 군들에서 정상대조군에 비해 유의적으로 많은 양이 배설되었는데 특히 뽕잎분말 10%투여군(Pb10M)에서 가장 많이 배설되었다.

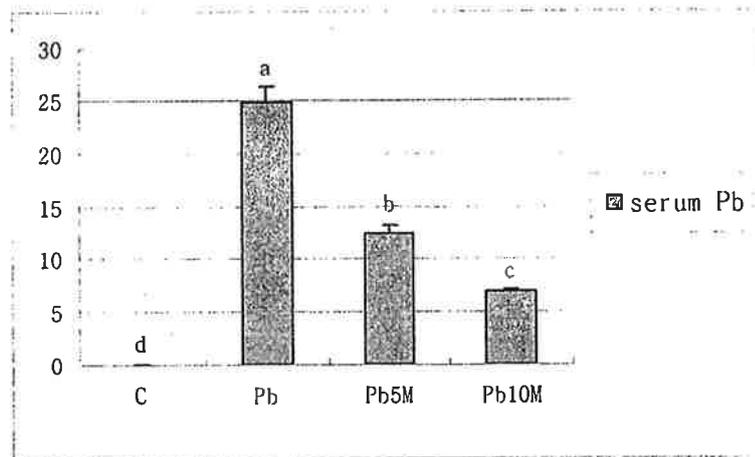


Fig. 30. Serum Pb Contents.

Means with different superscripts are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test.

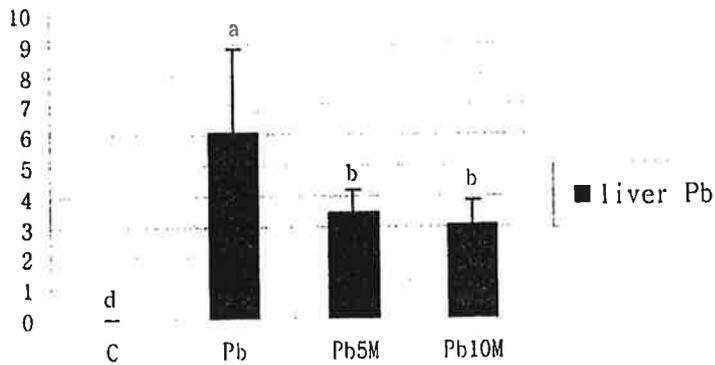


Fig. 31. Liver Pb Content.

Means with different superscripts are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test.

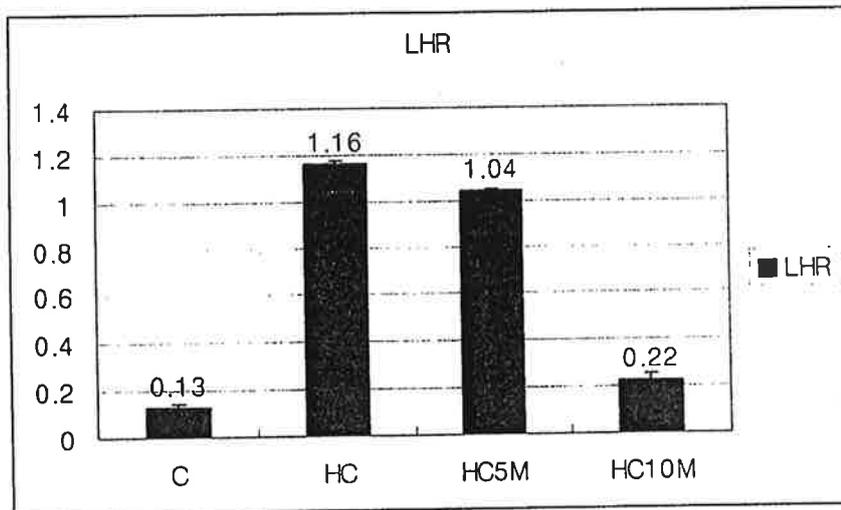


Fig. 32. LHR.

Means with different superscripts are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test. LHR is low density lipoprotein cholesterol ratio.

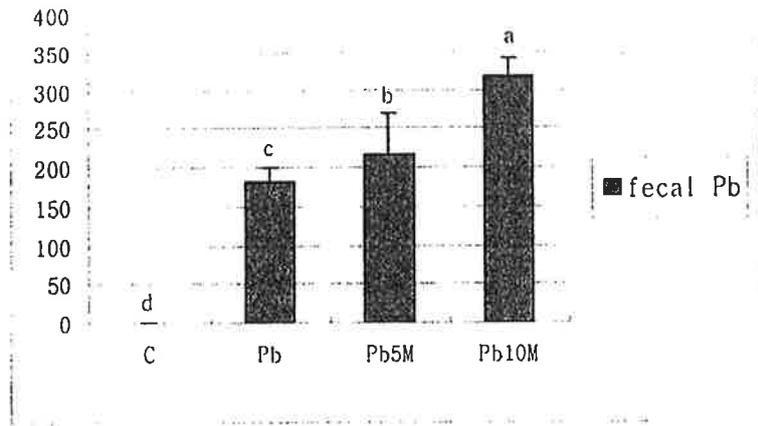


Fig. 33. Fecal Pb Content.

Means with different superscripts are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

#### 라. 장기와 분변 중 무기질 함량 측정

납은 적은 양의 흡수에도 독성을 일으킬 가능성이 큰 원소로서 흡수된 납은 뼈와 근육 조직을 통하여 간으로 이동되며 간에서 담즙을 통해 배설되므로 주된 배설통로는 변이라고 할 수 있다. 음식으로 섭취된 과잉 되지 않은 납은 주로 분변으로 배설되나 과량의 납은 흡수량 보다는 배설량이 훨씬 적으므로 그로 인해서 뼈와 조직에 축적되게 된다 (Conrad et al., 1987; Terman et al., 1975). 따라서 본 연구에서는 뽕잎분말이 납 중독된 흰쥐의 분변 중 무기질배설량에 미치는 영향을 살펴보았는데 그 결과는 Fig 31, Table 29~31과 같다. 납과 체내에서 길항작용을 하는 것으로 알려져 있는 2가 양이온에 해당되는 칼슘, 철분, 구리, 아연의 간장 내 함량을 살펴보았을 때 Fig 31에서와 같이 뽕잎분말농도에 의존적으로 납은 감소하였으며 칼슘, 철분, 구리, 아연함량은 납 섭취시 감소하였으나, 뽕잎분말을 5% 섭취시 대조군의 수준으로 회복하였다. 신장의 경우도 칼슘, 납, 철분, 구리, 아연수준에서 유의적인 차이가 나타나 납 투여군 들에서 모든 무기질수준이 정상대조군에 비해 유의적으로 낮아졌다.

2가 양이온에 해당되는 칼슘, 철분, 구리, 아연 등의 분변 중 배설량도 납이 투여된 실험 군들(Pb, Pb5M, Pb10M)에서 2가 양이온의 배설량이 정상대조군에 비해 높은 경향을 보였고, 뽕잎분말에 의존적으로 더 많이 배설되었다. 즉, 뽕잎분말의 식이섭유소가 우리 체내에 해로운 중금속만 선택적으로 배설시키기 보다는 우리체내에 유리한 모든 양이온의 배설을 촉진시킨 것으로 생각된다. 따라서 다량의 식이섭유소 섭취 시에는 반드시 필수 양이온의 보충을 권장하여야 한다.

Table 29. The liver minerals

Groups	Ca (ppm)	Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)
C	48.27±12.37 <sup>a</sup>	233.42±30.37 <sup>a</sup>	6.17±1.02 <sup>a</sup>	29.94± 4.01 <sup>a</sup>
Pb	39.47± 1.32 <sup>b</sup>	118.33±29.19 <sup>b</sup>	4.11±2.02 <sup>b</sup>	20.46± 2.02 <sup>b</sup>
Pb5M	46.80± 6.57 <sup>ab</sup>	232.12±47.58 <sup>a</sup>	5.25±0.67 <sup>ab</sup>	29.35± 6.04 <sup>a</sup>
Pb10M	44.17± 5.68 <sup>ab</sup>	121.36±60.83 <sup>b</sup>	5.08±0.32 <sup>ab</sup>	22.79±11.20 <sup>ab</sup>

1) Mean±SD (n=7-8).

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

Table 30. The kidney minerals

Groups	Ca (ppm)	Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)
C	59.01±4.37 <sup>b</sup>	103.85±14.51 <sup>a</sup>	8.48±1.31 <sup>a</sup>	22.15±2.06 <sup>a</sup>
Pb	83.82±9.93 <sup>a</sup>	43.64± 5.38 <sup>d</sup>	6.03±0.99 <sup>ab</sup>	7.06±0.70 <sup>c</sup>
Pb5M	75.72±4.52 <sup>ab</sup>	87.27±35.13 <sup>b</sup>	5.87±1.24 <sup>b</sup>	17.37±6.99 <sup>b</sup>
Pb10M	71.43±9.42 <sup>ab</sup>	50.72± 4.68 <sup>c</sup>	5.45±0.78 <sup>b</sup>	8.69±0.55 <sup>c</sup>

1) Mean±SD(n=7-8).

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

Table 31. The fecal minerals

Groups	Ca (ppm)	Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)
C	257.25±42.61 <sup>NS</sup>	174.37±13.73 <sup>NS</sup>	116.09±37.83 <sup>NS</sup>	84.76±18.63 <sup>ab</sup>
Pb	277.30±22.64	229.16±12.95	138.06± 2.19	112.29±17.84 <sup>a</sup>
Pb5M	258.15±28.26	205.11±16.03	122.30±25.32	86.67± 1.01 <sup>b</sup>
Pb10M	314.98±20.87	209.62±18.47	136.45±14.40	92.55± 8.72 <sup>ab</sup>

1) Mean±SD (n=7-8).

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

3) NS: not significant.

## 제 8 절. 빵잎분말 첨가두부 섭취가 비만 중년여성의 혈청 지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준변화에 미친 영향

### 1. 이론적 접근방법

경제수준의 향상으로 인한 식생활 패턴의 서구화로 비만 인구가 꾸준히 증가되었으며 고도의 산업화에 따른 납, 카드뮴과 같은 환경오염으로 인해 뇌혈관계 질환, 고혈압 등 심혈관계 질환과 같은 만성퇴행성 질환이 한국인의 사망 원인 중 높은 비중을 차지하게 되었다(Nsok et al ., 2003 ; Nsok et al ., 2002). 운동부족, 고열량, 고지방식과 같은 불균형 된 식생활 및 생활패턴으로 인해 발생하는 비만증의 원인은 대부분 섭취 열량이 체 내에서 소비되지만 남은 부분이 지방으로 전환되어 체내의 여러 부분에 축적이 되고 이러한 지방조직에 환경오염의 산물인 중금속이 축적되기 쉽다. 그 결과 고지혈증, 동맥경화증, 심혈관계 질환, 고혈압 등이 유발되고, 납과 같은 중금속이 인체에 축적되면 혈액순환기계 질환, 중추신경계 이상, 뇌손상과 같은 여러 가지 중독 현상을 일으킨다(Cho et al ., 2004). 이러한 납의 체내 배설을 촉진하여 중독현상을 저해하는 영양소로는 단백질, 칼슘, 식이섬유소 등이 알려져 있다(Park et al ., 2005).

영양학적 관점에서는 혈액순환기계 질환의 원인으로 Poller(Poller et al ., 1970)는 동물성 지방과 단백질 섭취가 증가하고 칼슘과 같은 무기질 섭취량 감소와 환경오염으로 인한 납과 같은 중금속에 의해 체내대사 시 칼슘의 흡수가 방해받거나 식이섬유소 섭취량이 감소되고 있기 때문인 것으로 보고하고 있다. 따라서 비만과 납 중독으로 인해 발생 빈도가 상승할 가능성이 높은 혈액순환기계 질환의 예방 및 치료를 위해서는 저지방, 고단백, 고칼슘, 고섬유소 식품이 권장되어야 할 필요성이 대두되고 있다.

저지방, 고단백, 고칼슘, 고섬유소인 식품은 흔하지 않지만 오랜 전통을 갖고 있는 두부는 이러한 조건을 만족시키는 식품으로 보여 진다(Kim et al ., 1989). 두부는 오래전부터 만성적 단백질 부족을 완화하는데 크게 기여하여 왔다(Wolf et al ., 1972). 그러나 두부의 원료인 대두단백질은 함황아미노산이 적어 단백질 이용률이 낮으므로 이를 개선하기 위해 함 황 아미노산이 풍부한 식품소재를 두부 제조 시 첨가한다면 두부의 영양개선이 가능하리라 본다. 따라서 이러한 두부에 함황아미노산함량 뿐만 아니라 기타 영양성분을 풍부하게 함유하고 있는 빵잎(Kim et al ., 2002 ; Peller et al ., 1970 ; Michichiro et al ., 1988 ; Lee et al ., 1997)을 첨가한다면 상승효과를 볼 수 있으리라 판단된다.

빵잎에는 50여종의 각종 무기성분, cystein(0.6 g/100 g DW)과 methionine(0.3-0.4 g/100 g DW) 등의 함황아미노산(Sci et al ., 1999 ; Kim et al ., 2003), 식이 섬유소 및

항산화 비타민이 다량 함유되어 있다(Kim et al., 2002). 그동안 진행되었던 지질대사와 관련된 연구의 경우는 식이섬유소(Peller et al., 1970), 단백질(Michichiro et al., 1988), 칼슘(Lee et al., 1977) 등 각각 영양소와 지질대사에 미치는 영향에 대한 연구로 진행되어 왔다. 또한 콩잎에 대한 연구도 콩잎 추출물과 분말형태를 동물이나 인체를 대상으로 단기간 경구 섭취시킨 형태의 연구들(Kim et al., 2001 ; Kim et al., 1988 ; Kim et al., 1999)로 제한되어 있다. 즉 두부에 콩잎을 첨가하여 단백질, 칼슘, 식이섬유소 등이 강화된 식품으로 제조하여 인체를 대상으로 체내 섭취효과를 본 연구는 매우 드문 실정이다. 따라서 본 연구에서는 고지방, 저칼슘, 저섬유소 식사 등 불균형된 식생활로 혈중 지질농도가 높은 비만한 중년여성(Kim et al., 2003)을 대상으로 단백질, 식이섬유소, 칼슘 등을 보충하여 혈청 지질수준을 낮추고 단백질 및 칼슘의 영양개선에 도움을 주고자 선행연구에서 개발한 단백질, 식이섬유소, 칼슘함량이 풍부한 콩잎분말 첨가두부(Han et al., 2005)를 4주간 섭취시킨 후 콩잎분말 첨가두부가 비만한 중년여성의 혈중 지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납수준에 미치는 효과를 규명하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 시료

본 연구에 사용된 콩잎분말 첨가두부의 제조법은 1차년도 연구결과(Han et al., 2005)(Fig. 34)에 의거하여 서신식품(Seosin Co Ltd, Seoul, Korea)에서 제조한 것(콩잎분말 2% 첨가두부)을 매주 구입하여 4주간 시료로 사용하였다. Fig. 34에 제시된 바와 같이 콩잎분말 무 첨가두부에 비해 2% 콩잎분말 첨가두부의 경우 단백질과 칼슘함량이 높다.

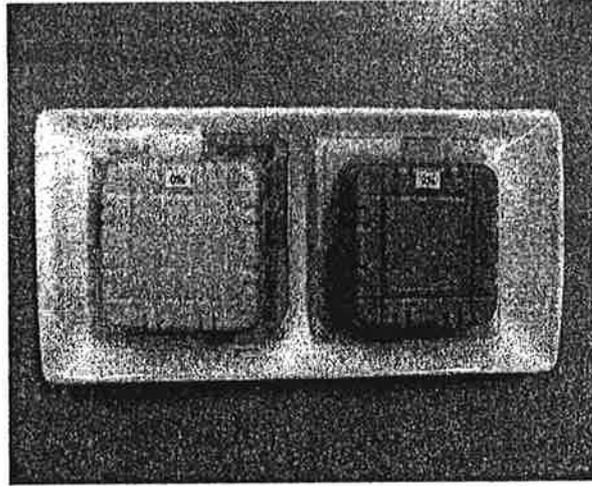


Fig. 34. 1. 2% Mulberry-leaf powder *Tofu*.  
 84.10 kcal(energy), 8.40g(protein), 0.20g(fiber),  
 3.50 g(fat) and 159.00 mg(Ca)/100g 0% MPT. 86.71  
 kcal(energy), 8.98g(protein), 0.53g(fiber), 1.59g(fat)  
 and 211.33 mg(Ca)/100 g 2% MPT.

#### 나. 뽕잎분말 첨가두부 섭취 시험

##### 1) 실험설계 및 연구대상자

본 연구는 충남 태안군 태안의료원 건강교육프로그램에 참여하는 100여명의 중년여성 가운데 본 실험의 연구를 잘 이해하고 동의한 비만한 중년여성 30명을 대상(Kim et al., 2001)(Table 32)으로 하여 2005년 11월 20일부터 12월 18일까지 4주 동안 뽕잎분말 첨가 두부 섭취 전·후로 채혈, 체성분조사 등을 실시하였다(Fig. 35). 뽕잎분말 첨가두부의 섭취량은 김 등(Kim et al., 2000)을 참고로 하여 하루 동안 사람이 무리 없이 섭취할 수 있는 양(100 g/day)을 3끼 식사 중 원하는 끼니에 조리하지 않은 상태로 부식과 함께 자유로이 섭취하도록 하였다.

Table 32. Anthropometry measurements of the subjects

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (4 weeks)	P-value <sup>2)</sup>
Age(yrs)	43.05±3.22 <sup>1)</sup>	-	-
Height(cm)	159.60±5.29	-	-
Weight(kg)	70.26±9.66	64.78±8.11	NS
BMI(kg/m <sup>2</sup> ) <sup>3)</sup>	27.45±1.93	25.30±2.31	NS
Body fat(%)	34.27±3.24	31.05±3.21	NS
WHR <sup>4)</sup>	0.87±0.04	0.85±0.05	NS

1) Mean±Standard Deviation.

2) Significance as determined by student t-test.

NS: not significant, \* p<0.05

3) Body Mass Index.

4) Waist Hip Ratio.

Variables	Days																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
Anthropometric measurements <sup>1)</sup>	*																													*
MPT consumption <sup>2)</sup>	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Blood sampling <sup>3)</sup>	*														*														*	

Fig. 35. Experimental Design

1) Height, Weigh, BMI, Body fat, and WHR were analyzed by Inbody 3.0 before and after MPT administration for 4 weeks.

2) MPT(Fig 1.) were administered for 4 weeks to middle-aged obese women.

3) Blood sampling were done 3 times for biochemical assessments.

## 2) 체성분 분석

신장계로 신장을 측정 한 후 Inbody 3.0(Bio-electrical Impedance Fatness Analyzer, Biospace Co, Korea)을 이용하여 체질량지수(Body Mass Index, BMI), 체지방율, 체지방량 및 체지방량 등을 측정하였다.

## 3) 식이섭취 및 영양소섭취 조사

식이섭취조사는 훈련된 조사원의 지도하에 일대일 면접을 토대로 이루어졌으며 24시간

회상법을 이용하여 주중 2일간 주말 1일을 포함한 3일간의 영양소 섭취상태를 조사하였다. 섭취한 양을 정확하게 파악하기 위하여 식품모델을 전시한 후 이를 이용하여 음식량을 측정하였다. 1일 영양소 섭취량 분석은 2000년 한국영양학회에서 개발한 영양평가 프로그램(Can-Pro 2.0, Computer Aided Nutritional analysis program for professionals)을 이용하여 산출하였다.

#### 다. 혈액 생화학 조사

##### 1) 채혈 및 혈청 분리

본인의 동의를 얻어 12시간 금식시킨 후 정맥혈 10 mL을 채혈하였다. 채취한 혈액은 실온에서 1시간 방치한 후 4℃, 1500 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 혈청은 분석 시까지 -70℃에서 냉동보관 하였다.

##### 2) 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당 측정

혈청 총 단백질 함량(Tiets et al., 1995)은 혈청 총 단백질 측정용 kit(Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈청 알부민 함량(Tiets et al., 1995)은 혈청 알부민 측정용 kit(Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)로 596 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈당(Tiets et al., 1995)은 혈당 측정용 kit(Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)로 340 nm에서 흡광도를 측정하였다.

##### 3) 혈청 지질 및 lipase activity 측정

혈청 Triglyceride, Total cholesterol, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol(Tiets et al., 1995)은 생화학자동분석기(Selectra II, Vital scientific NV Holland)를 사용하였다. 그리고 혈청 lipase activity(Tiets et al., 1995)는 혈청 lipase activity 측정용 kit(Randox Co Ltd, USA)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, UAS)로 측정하였다.

##### 4) 심혈관계 지표

임상진단에서 순환계와 관련한 진단지수인 동맥경화지수(atherogenic index: AI), 심장 위험지수(cardiac risk factor: CRF), HTR(high density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio), LHR(low density lipoprotein cholesterol ratio)은 아래와 같은 공식에 의하여 산출하였다(Kim et al., 2004 ; Kang et al., 2000).

$$AI = (\text{Total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol}) / \text{HDL-cholesterol}$$

$$LHR = \text{LDL-cholesterol} / \text{HDL-cholesterol}$$

$$\text{HTR} = \text{HDL-cholesterol} / \text{total cholesterol}$$

CRF = Total cholesterol / HDL-cholesterol

#### 5) 혈청 Ca, Ca/p ratio 및 Pb 측정

혈청 1 mL을 취하여 microwave digestion system(Ethos touc control, Milestone, Bergamo, Italy)으로 분해하여 검액을 만든 뒤 ICP spectrometer(Atomscan advantage axial sequential plasma spectrometer, Thermo Jarrell Ash Co, Franklin, MA, USA)(Choi et al., 2004)를 이용하여 다량무기질 및 중금속함량을 정량분석 하였다. 실험에 사용된 모든 기구들은 무기질의 오염을 방지하기 위해서 깨끗이 씻은 후 플라스틱 제품인 경우에는 0.4% EDTA 용액에, 유리제품인 경우는 질산원액에 24시간 이상 담갔다가 2차 증류수로 3번 이상 세척하였으며, 건조기에서 습기를 제거한 후 사용하였다.

#### 라. 자료분석 및 통계처리

수집된 모든 자료는 SAS(Statistical Analysis System, ver 8.01) package를 이용하여 평균±표준편차를 구하였다. 뽕잎분말 첨가두부 섭취 전, 섭취 2주 후, 섭취 4주 후로 나누어  $p < 0.05$  수준에서 ANOVA 및 Duncan's multiple range test로 유의성 여부를 검증하였다. 단, 섭취 전과 섭취 4주 후에만 측정된 자료는 Student's t-test로 검증하였다.

### 3. 연구결과

#### 가. 체성분 변화

본 연구대상자의 신체계측 사항은 Table 32와 같다. 평균 연령은 43.05세, 평균 신장은 159.60 cm인 중년여성을 대상으로 뽕잎분말 첨가두부를 4주간 섭취시킨 결과 체중, 체질량 지수, 체지방 및 허리와 엉덩이둘레 비율(WHR)에 유의적인 차이는 없었다.

#### 나. 식이섭취 및 영양소섭취 조사

본 연구 대상자의 영양소섭취량 및 한국인영양섭취기준(The Korean Nutrition Society, 2005)에 대한 섭취 비율은 Table 33과 같다. 평균 열량섭취량은 뽕잎분말 첨가두부 섭취 전과 후 각각 1708.80 kcal, 1739.17 kcal로 섭취 전은 한국인영양섭취기준의 약 90%, 섭취 후는 약 92%로 뽕잎분말 첨가두부 섭취 전과 후가 유사하였다. 총 열량섭취량에 대한 탄수화물, 단백질, 지방섭취량의 비율은 섭취 전과 후 각각 65 : 12 : 25와 64 : 14 : 24로 섭취 전에는 단백질의 섭취비율이 낮은 편이었지만, 섭취 후에는 권장량 수준으로 상승되었다. 평균 단백질섭취량은 섭취 전은 영양섭취기준의 117%였으며 섭취 후는 137%수준을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 평균 식물성 단백질 섭취량은 섭취 후(41.64 g)가 섭취 전(31.39 g)에 비해 유의적으로 증가( $p < 0.05$ )되었다. 평균 식이섬유소섭취량은 13.25 g에서 섭취 후는 13.73 g으로 유사한 수준이었다. 평균 총 칼슘과 식물성 칼슘섭취량은 섭취 전과 후 각각 유의적으로 증가( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ )되었으나, 인의 섭취량에는 유

의적인 차이가 없었다.

정리해보면 빵잎분말 첨가두부의 섭취에 의해 식물성 단백질(p<0.05), 총 칼슘(p<0.05), 식물성 단백질(p<0.05) 섭취량이 유의적으로 증가되었는데, 이는 식물성 단백질, 식물성 칼슘함량이 풍부한 빵잎분말 첨가두부의 섭취 때문으로 생각된다.

Table 33. Mean daily energy and nutrient intakes of the subjects

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (4 weeks)	% of DRIs <sup>3)</sup>		p-value
			Pre-treatment	Post-treatment	
Energy (kcal)	1708.80±185.81 <sup>1)</sup>	1739.17± 77.18 <sup>NS2)</sup>	89.93(EER) <sup>3)</sup>	91.53(EER)	NS
Total protein(g)	52.71± 8.93	62.09± 3.71	117.13(RI) <sup>3)</sup>	137.98(RI)	NS
Plant protein(g)	31.39± 3.81	41.64± 1.69			*
Animal protein(g)	21.31± 5.47	20.45± 2.03			NS
Carbohydrate(g)	271.06± 12.97	279.86± 12.21			NS
Fiber(g)	13.25± 0.92	13.73± 2.92			NS
Total Calcium(mg)	650.58± 14.38	832.78±104.47	92.94(RI)	118.96(RI)	*
Plant Calcium(mg)	304.39± 7.83	450.57± 74.99			*
Animal Calcium(mg)	346.18± 7.56	382.20± 29.99			NS
Phosphorus(mg)	1053.44± 11.39	933.42± 51.21			NS

1) Mean±Standard Deviation.

2) Significance as determined by student t-test.

NS: not significant, \* p<0.05

3) DRI: Dietary Reference Intakes for Korean.

EER: Estimated Energy Requirements.

RI: Recommended Intake.

다. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당수준 변화

빵잎분말 첨가두부 섭취 전, 2주 후, 4주 후의 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당 수준은 Table 34와 같다. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당 수준은 섭취 전, 섭취 2주 후, 섭취 4주 후 간에 유의적인 차이가 없었다.

Table 34. Serum levels of total protein, albumin and glucose of the subjects

Variables	Groups Pre-treatment	Post -treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	p- value	Normal range <sup>3)</sup>
Total protein (g/dL)	7.36 ± 0.23 <sup>1)</sup>	7.51 ± 0.61	7.69 ± 0.43 <sup>NS2)</sup>	NS	6.5-8.3
Albumin (g/dL)	4.61 ± 0.16	4.62 ± 0.33	4.74 ± 0.37 <sup>NS</sup>	NS	3.5-5.3
Glucose (mg/dL)	90.78 ± 12.61	84.68 ± 14.00	80.25 ± 21.31 <sup>NS</sup>	NS	70-110

1) Mean ± Standard Deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Normal range by SMSI(Seoul Medical Science Institute).

#### 라. 혈청 지질수준 변화

우리나라는 경제 성장과 국민 소득의 향상으로 식생활이 서구화되어 동물성 식품과 지방의 섭취량 증가, 식이섬유소의 섭취량 감소 등의 변화로 인해 비만 발생률이 늘어나고 있으며 동맥경화증 또는 심근경색 등의 심장순환기계 질환의 이환율도 증가되고 있다(Ha et al., 2005). 혈청 콜레스테롤 농도의 저하에 영향을 주는 인자로서 식이섬유소(Peller et al., 1970), 단백질(Michichiro et al., 1988), 지방산(Kim et al., 2001), 등 다양한 식이인자가 알려져 있다. 식이섬유소는 대변의 부피를 증가시켜 결국 담즙산을 희석시킴으로써 혈중 총 콜레스테롤 농도를 감소시키는 효과가 인정되고 있다(Lee et al., 1977). 한편 식이 칼슘은 소화관에서 지방산과 비누(soaps)를 형성하는데, 이 칼슘비누는 불용성으로서 대변으로의 칼슘 배설을 증가시키므로 고지방식은 식이성 칼슘의 흡수를 저하시킨다는 것은 잘 알려져 있는바(Gacs et al., 1977) 이는 식이성 칼슘이 지방흡수에 상호 방해인자로 작용하여 혈청 콜레스테롤 농도에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

빵잎분말 첨가두부(고단백, 고칼슘 식품) 섭취 전과 후의 혈청 지질수준 변화는 Table 35에 제시된 바와 같다. 빵잎분말 첨가두부 섭취에 따라 혈청 중성지방( $p<0.05$ )과 LDL-cholesterol( $p<0.05$ )수준은 유의적으로 감소된 반면에 총 콜레스테롤과 HDL-cholesterol수준에는 유의적이 차이가 나타나지 않았다. 심혈관계 지표로 사용되는 AI, LHR, HTR 및 CRF(Table 35) 가운데 AI( $p<0.05$ ), LHR( $p<0.05$ )은 빵잎분말 첨가두부 섭취 전에 비해 섭취 후 유의적인 감소를 보였으나, HTR과 CRF는 유의적인 차이가 없었다. 그리고 lipase 활성도 섭취 전과 후에 유의적인 차이가 없었다.

Table 35. Serum lipid parameters, AI, HTR, LHR and CRF of the subjects

Variables	Groups	Pre-treatment	Post-treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	p-value	Normal range <sup>3)</sup>
Total cholesterol (mg/dL)		205.70 ± 35.89 <sup>1)</sup>	191.52 ± 33.72	183.56 ± 27.80 <sup>NS</sup>	NS	<200
Triglyceride (mg/dL)		194.85 ± 60.31 <sup>a2)</sup>	112.37 ± 54.71 <sup>b</sup>	107.22 ± 59.01 <sup>b</sup>	*	<150
HDL-cholesterol (mg/dL)		51.47 ± 8.30	52.00 ± 6.92	55.25 ± 9.60 <sup>NS</sup>	NS	42-74
LDL-cholesterol (mg/dL)		124.60 ± 27.48 <sup>a</sup>	121.00 ± 25.58 <sup>b</sup>	112.22 ± 9.60 <sup>b</sup>	*	<130
Lipase activity (U/L)		30.44 ± 6.65	32.25 ± 6.61	35.16 ± 6.95 <sup>NS</sup>	NS	<60
AI <sup>4)</sup>		3.00 ± 0.02 <sup>a</sup>	2.68 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.32 ± 0.01 <sup>b</sup>	*	<3.0
LHR <sup>5)</sup>		3.37 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.24 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.16 ± 0.04 <sup>b</sup>	*	-
HTR <sup>6)</sup>		0.25 ± 0.03	0.27 ± 0.01	0.30 ± 0.05 <sup>NS</sup>	NS	-
CRF <sup>7)</sup>		4.00 ± 0.04	3.68 ± 0.02	3.39 ± 0.07 <sup>NS</sup>	NS	<7.0

1) Mean ± Standard Deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Normal range by SMSI (Seoul Medical Science Institute).

4) AI: Atherogenic index = (total cholesterol - HDL-cholesterol) / HDL-cholesterol.

5) LHR: Low density lipoprotein cholesterol and high density lipoprotein ratio = LDL-cholesterol / HDL-cholesterol.

6) HTR: High density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio = HDL-cholesterol / total cholesterol.

7) CRF: Cardiac risk factor = Total cholesterol / HDL-cholesterol.

#### 마. 혈청 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준변화

뽕잎분말 첨가두부 섭취 전과 후의 혈청 칼슘, 칼슘/인 비율, 납 수준은 Table 36에 제시된 바와 같다. 본 연구결과 뽕잎분말 첨가두부 섭취 전(칼슘 섭취량: 650.58 mg)과 후(칼슘 섭취량: 832.78 mg)의 혈청 칼슘과 납 수준은 정상범위에 들었으며, 뽕잎분말 첨가두부 섭취에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 산업화에 따라 중금속에 의한 환경 오염은 날로 심화되어 납, 카드뮴, 수은 등과 같은 중금속의 피해는 심각한 사회문제로 대두 되었다. 그 가운데에서도 납은 자연계에 널리 분포되어 있고, 납의 오염원으로는 생활환경에 의한 페인트나 도료, 세라믹 그릇, 화장품 등이 있다(Park et al., 2005). 생체

가 다량의 납에 노출되거나, 미량이라도 만성적으로 접하게 되면, 체내에 축적되어 조혈 기능 저해, 신경계 손상, 장기의 생화학적, 형태학적 변화 등의 중독 증상 등을 나타낸다 (Gacs et al., 1977). 납과 같은 유해 중금속을 제거하기 위해 여러 가지 식이 인자와의 상호관계에 대한 연구가 이루어지고 있다. 그 가운데 칼슘은 납의 흡수에 영향을 주는 무기질로 납과 경쟁적인 흡수관계에 있으며 또 칼슘이 부족할 경우 흡수 부위의 tight junction을 변화시켜 납 흡수를 증가시킨다고 보고하였으며, 칼슘은 납의 배설량을 증가시킨다고 보고되었다(Gacs et al., 1977). 본 연구결과 혈청 칼슘과 납수준에 있어서 유의적인 차이가 나타나지 않고 높아지거나 낮아지는 경향만을 보인 것은 특정한 한 요인을 과량 투여하는 동물실험과는 달리 일상 식생활을 통해 식품의 형태로 적정량을 공급하였기 때문으로 생각된다.

Table 36. Serum Ca, Ca/P ratio and Pb levels of the subjects

Variables	Groups	Pre-treatment	Post-treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	p-value	Normal range <sup>3)</sup>
Calcium (mg/dL)		9.43±0.38 <sup>1)</sup>	9.49±0.61	9.84±0.70 <sup>NS2)</sup>	NS	8.2-10.8
Ca/P ratio		2.51±0.59	2.58±0.19	2.62±0.21 <sup>NS</sup>	NS	-
Lead (µg/dL)		7.52±0.29	7.22±0.30	6.61±0.25 <sup>NS</sup>	NS	<20

1) Mean±Standard Deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Normal range by SMSI(Seoul Medical Science Institute).

## 제 9 절. 뽕잎분말 첨가두부 섭취가 충남 일부지역에 거주하는 흡연 남자 성인의 손목 골밀도, 생화학 골대사지표 및 혈청 지질성상에 미친 영향

### 1. 이론적 접근방법

최근 우리나라 20세 이상 남자 성인의 흡연율은 약 61.7% 정도의 높은 수준이며, 흡연 시작 연령 또한 낮아지고 있어 국민보건상의 문제가 우려되고 있다(Nsok et al., 1999). 특히 20-29세 성인남자의 흡연율은 67.8%로 다른 연령 대에 비해 가장 높은 것으로 보고되고 있으나(Ministry of Health and Welfare, 2002), 흡연으로 인한 건강 장애는 오랜 기간 경과 후에 나타나기 때문에 이 연령대의 흡연율은 일생의 건강에 심각한 영향을 줄 수 있다.

흡연이 건강에 미치는 유해한 영향은 여러 연구(McGill et al., 1998 ; Mjos et al., 1998 ; Torabi et al., 1993)를 통해 보고된 바와 같이 관상심장질환의 위험률을 높이고 혈중 지질 및 지단백질의 이상을 유발할 수 있다. 특히 담배연기에는 니코틴과 납을 포함한 4,000여종의 독성 화학물질이 포함되어 있다. 흡연으로 인해 환경오염의 산물인 납과 같은 중금속이 체내로 쉽게 흡수되게 되면, 고지혈증, 동맥경화증, 심혈관계 질환, 고혈압 등의 유발이 촉진되고, 장기적으로 인체 내에 축적되면 혈액순환기계 질환, 중추신경계 이상, 뇌손상, 골 질환과 같은 여러 가지 증상을 일으킨다(Cho et al., 2004). 한편 최근에는 흡연이 칼슘과 비타민 D대사에도 관여하여 골격건강에도 영향을 미칠 수 있음이 보고되고 있다(Kwak et al., 2000 ; Kim et al., 2003). 담배의 니코틴은 내분비계 및 신경계에 영향을 주어 뼈의 칼슘 용해를 억제시키는 에스트로젠 분비를 저하시키고, 소변 중 deoxypyridinoline (DPD)의 배설량을 증가시켜 칼슘과 비타민 D의 대사에 중요한 영향을 미치고 골다공증의 위험률을 증가시킬 수도 있음이 보고되었다(Kim et al., 2003).

이렇게 흡연으로 인해 야기될 수 있는 지질대사 이상, 체내 납축적, 골밀도 저하 등 만성퇴행성 질환을 저해하는 영양소로는 단백질, 칼슘, 식이섬유소 등이 잘 알려져 있다(Park et al., 2005). 특히 식이성 칼슘은 소화관에서 지방산과 비누(soaps)를 형성하는데, 이 칼슘비누는 불용성으로서 대변으로의 칼슘배설을 증가시키므로 고지방식은 식이성 칼슘의 흡수를 저하시킨다는 것은 잘 알려져 있는바(Gacs et al., 1997) 이는 식이성 칼슘이 지방흡수에 상호방해인자로 작용하여 혈청 콜레스테롤 농도에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 그러므로 흡연자에게 고단백, 고칼슘, 고식이섬유소 식품의 공급이 필수적인데, 이러한 조건을 한번에 만족시키는 식품은 흔하지 않다.

두부는 오래전부터 만성적 단백질 부족을 완화하는데 크게 기여하여 온 식품으로 칼슘

도 풍부하여 이러한 조건을 만족시키는 식품으로 보여 진다(Kim et al ., 1989 ; Wolf et al ., 1972). 그러나 두부의 원료인 대두단백질은 함황아미노산이 적어 단백질 이용률이 낮으므로 이를 개선하기 위해 함황아미노산 뿐만 아니라 무기질, 식이섬유소, 항산화 비타민 등이 풍부한 콩잎(Kim et al ., 2002 ; Peller et al ., 1970 ; Michichiro et al ., 1988 ; Lee et al ., 1997)을 두부 제조 시 첨가하여 두부의 영양을 개선할 필요가 있다.

정리해보면 흡연으로 인한 지질대사 이상으로 초래되는 심혈관계 질환, 무기질대사 이상으로 야기되는 골밀도 저하 등 골대사 이상 등의 영향을 미칠 수 있음이 제시되고 있으나, 이러한 체내대사 이상을 경감시키고자 어떤 특정 식품을 선택·공급함으로써 그 효과를 규명하고자 한 연구는 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구에서는 선행연구에서 체내지질 및 무기질 영양상태 개선효과가 이미 규명된 콩잎(Kim et al ., 2001 ; Kim et al ., 1988 ; Kim et al ., 1998 ; Kim et al ., 1999)을 첨가한 두부를 흡연경력 3년 이상, 하루 흡연량 13개피 이상인 흡연 남자 대학생을 대상(Sung et al ., 2005)으로 4주간 섭취시켜 골밀도, 혈중 생화학 골대사지표, 혈중 골밀도 관련 무기질 및 지질수준에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 시료

본 연구에 사용된 콩잎분말 첨가두부의 제조법은 1차년도 연구결과(Han et al ., 2005)(Fig. 34)에 의거하여 서신식품(Seosin Co Ltd, Seoul, Korea)에서 제조한 것(콩잎분말 2% 첨가 두부)을 매주 구입하여 4주간 시료로 사용하였다. 제 8 절 Fig. 34에서와 같이 콩잎분말 첨가두부는 무첨가두부에 비해 단백질과 칼슘함량이 높다.

### 나. 콩잎분말 첨가두부 섭취 실험설계 및 실험대상자 선정

본 연구는 충남 일부지역 대학에 재학 중인 200여명의 남자 대학생 가운데 설문지를 통해 하루에 13개피 이상 흡연하고, 흡연을 시작한지 3년 이상 된 대상(Sung et al ., 2005) 가운데 본 실험의 연구를 잘 이해하고 동의한 30명(Table 37)을 선발하여 2005년 11월 20일부터 12월 18일까지 4주 동안 콩잎분말 첨가두부 섭취 전·후로 채혈, 체노, 체성분 및 골밀도 측정 등을 실시하였다(제 8 절, Fig. 35). 콩잎분말 첨가두부의 섭취량은 김 등(Kim et al ., 2000)의 연구를 참고로 하여 하루 동안 사람이 무리 없이 섭취할 수 있는 양(100 g/day)을 세끼 식사 중 원하는 끼니에 자유로이 부식과 함께 섭취하도록 하였다.

Table 37. Anthropometric parameters of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	Significance <sup>2)</sup>
Age(yrs)	22.38± 3.55 <sup>1)</sup>	-	-	-
Height(cm)	173.46± 6.31	-	-	-
Smoking history (packyear) <sup>3)</sup>	3.54± 2.23	-	-	-
Number of cigarettes/day	15.12± 0.11	-	-	-
Weight(kg)	79.56±13.07	79.55±13.67	77.23±11.54 <sup>NS2)</sup>	NS
BMI(kg/m <sup>2</sup> ) <sup>4)</sup>	26.40± 3.57	26.27± 3.68	25.90± 3.58 <sup>NS</sup>	NS
Body fat(%)	23.92± 4.42	23.90± 5.99	23.73± 4.08 <sup>NS</sup>	NS
LBM(kg) <sup>5)</sup>	58.57± 6.49	60.22± 7.93	60.50± 8.09 <sup>NS</sup>	NS
WHR(%) <sup>6)</sup>	0.87± 0.04	0.87± 0.05	0.87± 0.03 <sup>NS</sup>	NS

1) Mean±Standard Deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Packyear=Smoking years on the basis of 1 pack of cigarettes per day.

4) Body Mass Index.

5) Lean Body Mass.

6) Waist Hip Ratio.

#### 다. 신체 계측 및 손목 골밀도 측정

신장계로 신장을 측정한 후 Inbody 3.0(Bio-electrical Impedance Fatness Analyzer, Biospace Co, Korea)을 이용하여 체질량지수(Body Mass Index, BMI), 체지방률, 체지방량 및 체지방량 등을 측정하였다.

골밀도를 측정하는 방법은 여러 가지가 있으나 정밀도가 높고 신체의 모든 부위를 측정할 수 있는 이중에너지 방사선 골밀도 측정기(dual energy X-ray absorption: DEXA)가 가장 많이 사용되고 있으며, 골밀도 측정 부위는 골질이 빈번히 발생하는 요추, 대퇴부, 전완 등이다(Ooms et al., 1993). 따라서 본 연구에서 대상자의 골밀도는 이중에너지 방사선 골밀도 측정기(Osteoview DEXA Scanner, Medilink, France)를 이용하여 오른쪽 손목 근위(ultradis)와 원위(distal)의 골밀도를 측정한 후 평균값을 사용하였다.

## 라. 식이섭취조사

식이섭취조사는 훈련된 조사원의 지도하에 일대일 면접을 토대로 이루어졌으며 24시간 회상법을 이용하여 주중 2일간 주말 1일을 포함하여 3일간의 영양소 섭취 상태를 조사하였다. 섭취한 양을 정확하게 파악하기 위하여 식품모델을 전시한 후 이를 이용하여 음식량을 측정하였다. 1일 영양소 섭취량 분석은 한국영양학회에서 개발한 영양평가 프로그램(Can-Pro 2.0, Computer Aided Nutritional analysis program for professionals)을 이용하여 산출하였다.

## 마. 혈액 및 뇨 생화학 조사

### 1) 혈액과 소변 채취

본인의 동의를 얻어 12시간 금식시킨 후 정맥혈 10 mL을 채혈하였다. 채취한 혈액은 실온에서 1시간 방치한 후 4°C, 1500 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 혈청은 분석 시까지 -70°C에서 냉동보관 하였다.

채혈일의 일시뇨는 EDTA로 처리한 채뇨용기에 수집하여 -70°C에 냉동 보관하여 분석에 사용하였다.

### 2) 골대사지표 측정

혈청 alkaline phosphatase 활성(Tiets et al., 1995)은 측정용 시약 AMP(Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)으로 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈청 osteocalcin(Tiets et al., 1995)은 전기적 화학발광인 Electrochemiluminescence(ECLA)을 이용하여 측정하였다. 뇨중 DPD(deoxypyridinoline) 배설량(Tiets et al., 1995)은 competitive immunoassay방법으로 Pyliliks-D kit(Meter Biosystems, USA)를 사용하여 분석한 후 소변 중 크레아티닌 수치로 보정하였다.

### 3) 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당

혈청 총 단백질 함량(Tiets et al., 1995)은 측정용 kit(Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)으로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈청 알부민 함량(Tiets et al., 1995)은 측정용 kit(Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)으로 596 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈당(Tiets et al., 1995)은 측정용 kit(Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)로 340 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 4) 혈청 지질 및 lipase activity 측정

혈청 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol(Tiets et al., 1995)은 생화학자동분석기(Selectra II, Vital scientific NV Holland)를 사용하였다. 그리고 혈청 lipase activity(Tiets et al., 1995)는 측정용 kit(Randox Co Ltd, USA)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, USA)으로 측정하였다.

#### 5) 심혈관계지표 산출

임상진단에서 순환계와 관련한 진단지수인 동맥경화지수(atherogenic index: AI), 심장 위험지수(cardiac risk factor: CRF), HTR(high density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio), LHR(low density lipoprotein cholesterol ratio)은 아래와 같은 공식에 의하여 산출하였다(Kim et al., 2004).

$$\begin{aligned} \text{AI} &= (\text{Total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol}) / \text{HDL-cholesterol} \\ \text{LHR} &= \text{LDL-cholesterol} / \text{HDL-cholesterol} \\ \text{HTR} &= \text{HDL-cholesterol} / \text{total cholesterol} \\ \text{CRF} &= \text{Total cholesterol} / \text{HDL-cholesterol} \end{aligned}$$

#### 6) 혈청 Ca, Ca/p ratio, Mg 및 Pb 측정

혈청 1 mL을 취하여 microwave digestion system(Ethos touc control, Milestone, Bergamo, Italy)으로 분해하여 검액을 만든 뒤 ICP spectrometer(Atomscan advantage axial sequential plasma spectrometer, Thermo Jarrell Ash Co, Franklin, MA, USA)(Choi et al., 2004)를 이용하여 다량 무기질 및 중금속함량을 정량분석 하였다. 실험에 사용된 모든 기구들은 무기질의 오염을 방지하기 위해서 깨끗이 씻은 후 플라스틱 제품인 경우에는 0.4% EDTA 용액에, 유리제품인 경우는 질산원액에 24시간 이상 담갔다가 2차 증류수로 3번 이상 세척하였으며, 건조기에서 습기를 제거한 후 사용하였다.

#### 바. 통계분석

수집된 모든 자료는 SAS(Statistical Analysis System, ver 8.01) package를 이용하여 평균±표준편차를 구하였다. 병입분말 첨가두부 섭취 전, 섭취 2주후, 섭취 4주후로 나누어  $p < 0.05$  수준에서 ANOVA 및 Duncan's multiple range test로 유의성 여부를 검증하였다. 단, 섭취 전과 4주 후인 2회만 측정된 결과 치는 student's t-test로 유의성을 검증하였다.

### 3. 연구결과

#### 가. 체성분 변화

본 연구대상자의 신체계측 사항은 Table 32와 같다. 평균 연령 22.38세, 평균 신장 173.46 cm인 남자 대학생으로서 평균 흡연력 3.5년, 평균 흡연량 15.12 개피인 30명을 대상으로(Sung et al., 2005)으로 빵잎분말 첨가 두부를 4주간 섭취시킨 다음 체중, 체질량지수(BMI: Body Mass Index), 체지방 및 허리와 엉덩이둘레 비율(WHR) 등을 측정하여 결과 유의적인 차이가 없었다.

#### 나. 손목 골밀도 및 골대사지표 변화

골밀도는 단위면적 또는 체적당 골량(bone mass)을 표시한 것으로 골강도를 대변하고 골절의 발생과 밀접한 연관이 있기 때문에 골격상태나 골다공증을 진단하는데 있어 가장 많이 사용된다(Choi et al., 2005). 그리고 Cummings 등(Cumming et al., 1995)에 의하면 체중과 체질량지수는 신체에 하중을 주어 뼈의 밀도를 높이고 골절위험을 낮춘다고 한다.

본 실험대상자의 손목 골밀도는 Table 38에서 보는 바와 같이 빵잎분말 첨가두부 섭취 전과 후 모두 평균 오른쪽 손목 골밀도(섭취 전:  $0.49 \text{ g/cm}^2$  섭취 후:  $0.51 \text{ g/cm}^2$ )는 모두 정상범위( $0.385\text{-}0.520 \text{ g/cm}^2$ ) 수준이었다. 그리고 빵잎분말 첨가두부 섭취 전과 후의 오른쪽 손목 근위(ultradis)는 각각  $0.43\pm 0.06 \text{ g/cm}^2$ (섭취 전),  $0.46\pm 0.06 \text{ g/cm}^2$ (섭취 후)로 유의적인 차이가 없었으며 원위(distal)의 경우도 변화가 없었다.

본 연구에서는 골대사 생화학 지표로 오스테오칼신(osteocalcin), 소변의 DPD배설량 및 혈청 alkaline phosphatase 활성 등을 측정하였다. 오스테오칼신(osteocalcin)은 골다공증 환자에서 골다공증을 일으키는 질환에서의 골상태에 대한 연구(Duda et al., 1988)를 통해 발견된 골형성 표지물질이다. 오스테오칼신은 골(bone)과 상아질(dentin)에 특이성을 가지는 49개의 아미노산으로 구성된 단백질로서 칼슘과 결합하는  $\gamma$ -carboxy glutamic acid(GLA)를 포함하고 있기 때문에 bone GLA protein(BGP)라고도 한다(Charles et al., 1985).

소변의 피리디놀린과 DPD는 히드록시프롤린에 비하여 뼈에 특징적이고, 이들은 완성된 세포의 콜라겐에만 존재하며, 소변으로 배설되기 전에 대사되지 않으며, 또한 음식에 포함된 피리디놀린과 DPD는 장에서 흡수되지 않기 때문에 히드록시프롤린을 측정할 때처럼 음식을 제한하지 않아도 된다는 장점이 있다(Kim et al., 2001). 김 등(Kim et al., 2003)은 담배의 니코틴은 내분비계 및 신경계에 영향을 주어 뼈의 칼슘 용해를 억제시키는 에스트로젠 분비를 저하시키고, 뇨중 DPD의 배설량을 증가시켜 칼슘과 비타민 D의 대사에 중요한 영향을 미치고 골다공증의 위험율을 증가시킬 수도 있음을 보고하였다.

본 연구결과 빵잎분말 첨가두부 섭취 전·후의 골대사 생화학 지표에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 그러나 뇨 DPD 배설량의 경우는 비록 유의적인 차이는 없었지만, 섭취

후 뇨 DPD는 약 11%가 감소된 것으로 보아 앞으로 뽕잎분말 첨가두부의 섭취기간이나 섭취량을 증가시킬 경우 긍정적인 결과를 초래할 것으로 기대되며 이에 대한 연구가 요구된다.

Table 38. BMD and bone metabolism markers of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (4 weeks)	Significance <sup>2)</sup>	Normal range <sup>3)</sup>
BMD(g/cm <sup>2</sup> ) <sup>4)</sup> Ultradis	0.43±0.06 <sup>1)</sup>	0.46± 0.06 <sup>NS2)</sup>	NS	0.36-0.49
Distal	0.55±0.05	0.55± 0.04 <sup>NS</sup>	NS	0.41-0.55
Average BMD((g/cm <sup>2</sup> )	0.49±0.03	0.51± 0.02 <sup>NS</sup>	NS	0.385-0.520
Alkaline phosphatase (IU/L)	90.00±16.60	87.50±11.45 <sup>NS</sup>	NS	39-117
Osteocalcin (ng/dL)	29.45±0.14	27.24± 7.24 <sup>NS</sup>	NS	11-43
DPD(RU) (nM/mM Cre) <sup>5)</sup>	6.25±2.73	5.54± 1.64 <sup>NS</sup>	NS	2.5-6.5

1) Mean±Standard Deviation.

2) Significance as determined by student t-test.

NS: not significant, \* p<0.05

3) Normal range by SMSI(Seoul Medical Science Institute).

4) BMD: Bone Mineral Density.

5) DPD: Deoxypyridinolin.

#### 다. 영양소 섭취상태

본 연구 대상자의 영양소섭취량 및 한국인영양섭취기준(The Korean Nutrition society, 2005)에 대한 섭취비율은 Table 39와 같다. 평균 열량섭취량은 뽕잎분말 첨가두부 섭취 전(2155.02 kcal: EER의 91.53%)과 섭취 후(2100.08 kcal: EER의 89.92%)로 유사한 수준이었으며, 본 연구의 대상자와 비슷한 조건(평균 23.91세, 3.14년의 흡연경력, 11.87개피/일의 흡연량을 갖는 남자 성인)인 송 등(Sung et al., 2005)의 2184.9 kcal와 유사한 섭취수준이었다. 평균 단백질섭취량은 섭취 전은 영양섭취기준의 110 %였으며 섭취 후는 118% 수준을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 총 열량섭취량에 대한 탄수화물, 단백질, 지방섭취량의 비율(CPF ratio)은 섭취 전(63.27 : 13.30 : 23.43)과 섭취 후(62.90 : 14.65 : 22.45)를 송 등(Sung et al., 2005)의 연구결과(57.2 : 13.7 : 26.4)와 비교 시 당질의 섭취 비율은 낮고 단백질과 지방의 섭취 비율은 비슷한 수준이었다. 평균 단백질섭취량은 뽕잎분말 첨가두부 섭취에 따른 유의차가 없었으나 식물성 단백질섭취량은 섭취 후 유의적으로 증가하였다(p<0.05). 평균 식이섭유소섭취량은 섭취 전 10.09 g에서 섭취 후 10.47 g으로 유사한 수준이었으며, 송 등(Sung et al., 2005)의 6.60 g에 비해서

는 높은 수준이었다. 평균 칼슘섭취량 섭취 전(650.58 mg)에 비해 섭취 후(832.78 mg) 유의적인 증가( $p < 0.05$ )를 보였는데, 송 등(Sung et al., 2005)의 588.70 mg과 비교 시 섭취 전은 유사한 수준이었고, 섭취 후에는 더 높은 수준을 보였다. 식물성 칼슘섭취량은 섭취 전(304.39 mg)에 비해 섭취 후(450.57 mg)가 유의적으로 증가( $p < 0.05$ ) 되었고, 송 등(Sung et al., 2005)의 280.19 mg에 비해 총 단백질섭취량과 같은 경향을 보였다. 반면 인의 섭취량은 섭취 전(1053.44 mg)에 비해 섭취 후(933.42 mg) 유의적인 차이가 없었으며, 송 등(Sung et al., 2005)의 인 섭취량(1121.1 mg)과 비교 시 섭취 전과 섭취 후 모두 낮은 수준을 보였다.

정리해보면 콩잎분말 첨가두부의 섭취에 의해 식물성 단백질, 총 칼슘과 식물성 칼슘 섭취량은 유의적으로 증가( $p < 0.05$ )되었는데, 이는 식물성 단백질, 칼슘함량이 풍부한 콩잎분말 첨가두부의 섭취 때문으로 생각된다.

Table 39. Mean daily energy and nutrient intakes of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (4 weeks)	% of DRIs <sup>3)</sup>		Significance <sup>2)</sup>
			Pre-treatment	Post-treatment	
Energy (kcal)	1708.80 ± 185.81 <sup>1)</sup>	1739.17 ± 77.18 <sup>NS)</sup>	89.93 (EER) <sup>3)</sup>	91.53 (EER)	NS
Total protein (g)	52.71 ± 8.93	62.09 ± 3.71	117.13 (RI) <sup>3)</sup>	137.98 (RI)	NS
Plant protein (g)	31.39 ± 3.81	41.64 ± 1.69			*
Animal protein (g)	21.31 ± 5.47	20.45 ± 2.03			NS
Carbohydrate (g)	271.06 ± 12.97	279.86 ± 12.21			NS
Fiber (g)	13.25 ± 0.92	13.73 ± 2.62			NS
Total Calcium (mg)	650.58 ± 14.38	832.78 ± 104.47	92.94 (RI)	118.96 (RI)	*
Plant Calcium (mg)	304.39 ± 7.83	450.57 ± 74.99			*
Animal Calcium (mg)	346.18 ± 7.56	382.20 ± 29.79			NS
Phosphorus (mg)	1053.44 ± 11.39	933.42 ± 51.21			NS

1) Mean ± Standard Deviation.

2) Significance as determined by student t-test.

NS: not significant, \*  $p < 0.05$

3) DRI: Dietary Reference Intakes for Korean.

EER: Estimated Energy Requirements.

RI: Recommended Intake.

라. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당수준 변화

콩잎분말 첨가두부 섭취 전, 2주 후, 4주 후의 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당수준은 Table 40과 같다. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당수준은 섭취 전, 섭취 2주 후, 섭취 4주 후 간에 유의적인 차이는 없었다. 혈당의 경우는 두부 섭취 4주 후에 섭취 전과 비교했을 때 감소되는 경향을 보여 앞으로 보다 장기적인 섭취에 따른 평가가 필요하다고 생각한다.

Table 40. Serum levels of total protein, albumin and glucose of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	Significance <sup>2)</sup>	Normal range <sup>3)</sup>
Total protein (g/dL)	7.70 ± 0.29 <sup>1)</sup>	7.72 ± 0.26	7.81 ± 0.28 <sup>NS2)</sup>	NS	6.5-8.3
Albumin (g/dL)	4.92 ± 0.24	4.94 ± 0.22	5.00 ± 0.20 <sup>NS</sup>	NS	3.5-5.3
Glucose (mg/dL)	88.91 ± 29.44	85.00 ± 22.11	82.08 ± 21.60 <sup>NS</sup>	NS	70-110

1) Mean ± Standard Deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Normal range by SMSI (Seoul Medical Science Institute).

마. 혈청 지질성상 변화

콩잎분말 첨가두부(고단백, 고칼슘 식품) 섭취 전과 후의 혈청 지질수준 변화는 Table 41에 제시된 바와 같다. 본 연구대상자(하루 평균 흡연량: 15.12 개피, 흡연력: 3.5년 이상)의 경우는 흡연량이 25개피가 되지는 않았지만 혈청 지질의 정상범위와 비교 시 (Table 41) 중성지방과 LDL-cholesterol수준은 높고, HDL-cholesterol수준은 낮은 편이었다.

흡연이 건강에 미치는 유해한 영향은 여러 연구(McGill et al., 1998; Mjos et al., 1998; Torabi et al., 1993)를 통해 보고된 바와 같이 관상심장 질환의 위험율을 높이고 혈중 지질 및 지단백질의 이상을 유발할 수 있다. 혈청 콜레스테롤농도의 저하에 영향을 주는 인자로서 식이섬유소(Peller et al., 1970), 단백질(Michichiro et al., 1988), 지방산(Lee et al., 1997), 등 다양한 식이인자가 알려져 있다. 식이섬유소는 대변의 부피를 증가시켜 결국 담즙 산을 희석시킴으로써 혈중 총 콜레스테롤 농도를 감소시키는 효과가

인정되고 있다(Kim et al., ). 흡연이 혈청 지질수준에 미치는 영향은 연구에 따라 다소 차이는 있으나, 하루 25개피 이상의 담배를 피우는 사람들은 HDL-cholesterol수준은 낮고 중성지질과 LDL-cholesterol은 높은 것으로 보고 되고 있다(Duthie et al., 1993 ; Brot et al., 1999 ; Duthie et al., 1996 ; Yoon et al., 1997). 본 연구결과 콩잎분말 첨가두부 섭취 전과 후 혈청 지질수준에 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 섭취기간에 비례해서 감소되는 경향은 보였다. 심혈관계지표로 사용되는 AI, LHR, HTR 및 CRF수준도 콩잎분말 첨가두부 섭취 전과 후 유의적인 차이는 없었으나 섭취기간이 길어질수록 AI, LHR, CRF는 감소, HTR 수준은 증가되는 경향을 보여주었다.

Table 41. Serum lipid parameters, AI, HTR, LHR and CRF of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	Significance <sup>2)</sup>	Normal range <sup>3)</sup>
Total Cholesterol (mg/dL)	182.54 ± 40.93 <sup>1)</sup>	177.18 ± 43.06	178.92 ± 31.19 <sup>NS2)</sup>	NS	<200
Triglyceride (mg/dL)	142.85 ± 81.50	134.55 ± 69.55	118.75 ± 87.97 <sup>NS</sup>	NS	<150
HDL-Cholesterol (mg/dL)	46.46 ± 8.43	48.09 ± 9.52	49.08 ± 13.41 <sup>NS</sup>	NS	42-74
LDL-Cholesterol (mg/dL)	104.77 ± 31.97	99.27 ± 34.47	100.50 ± 25.75 <sup>NS</sup>	NS	<130
Lipase activity (U/L)	28.77 ± 5.21	27.73 ± 3.41	28.33 ± 3.96 <sup>NS</sup>	NS	<60
AI <sup>4)</sup>	2.93 ± 0.03	2.68 ± 0.02	2.65 ± 0.04 <sup>NS</sup>	NS	<3.0
LHR <sup>5)</sup>	2.26 ± 0.12	2.09 ± 0.20	2.02 ± 0.24 <sup>NS</sup>	NS	-
HTR <sup>6)</sup>	0.26 ± 0.03	0.27 ± 0.05	0.27 ± 0.04 <sup>NS</sup>	NS	-
CRF <sup>7)</sup>	3.93 ± 0.02	3.68 ± 0.02	3.65 ± 0.03 <sup>NS</sup>	NS	<7.0

1) Mean ± Standard Deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Normal range by SMSI(Seoul Medical Science Institute).

4) AI: Atherogenic index=(total cholesterol -HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.

5) LHR: Low density lipoprotein cholesterol and high density lipoprotein ratio= LDL-cholesterol/HDL-cholesterol.

6) HTR: High density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio=HDL-cholesterol/total cholesterol.

7) CRF: Cardiac risk factor = Total cholesterol / HDL-cholesterol.

바. 혈청 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준 변화

담배연기에는 니코틴과 납을 포함한 4,000여종의 독성 화학물질이 포함되어 있다 (McGill et al., 1998; Mjos et al., 1998; Torabi et al., 1993). 생체가 다량의 납에 노출되거나, 미량이라도 만성적으로 접하게 되면, 체내에 축적되어 조혈기능 저해, 신경계 손상, 장기의 생화학적, 형태학적 변화 등의 중독증상 등을 나타낸다(Lee et al., 1991). 납과 같은 유해 중금속을 제거하기 위해 여러 가지 식이인자와의 상호관계에 대한 연구가 이루어지고 있다. 그 가운데 칼슘은 납의 흡수에 영향을 주는 무기질로 납과 경쟁적인 흡수관계에 있으며 또 칼슘이 부족할 경우 흡수 부위의 tight junction을 변화시켜 납의 흡수를 증가시킨다고 보고하였으며, 칼슘은 납의 배설량을 증가시킨다고 보고하였다 (Lee et al., 1991).

뽕잎분말 첨가두부 섭취 전과 후의 혈청 칼슘, 칼슘/인 비율, 납 수준은 Table 42에 제시된 바와 같다. 본 연구결과 뽕잎분말 첨가두부 섭취 전(칼슘 섭취량: 650.58 mg)과 후(칼슘 섭취량: 832.78 mg)의 혈청 칼슘, 마그네슘과 납의 수준은 정상범위에 들었으며, 뽕잎분말 첨가두부 섭취에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이렇게 혈청 칼슘과 납의 수준에 있어서 유의적인 차이가 나타나지 않고 경미하게 높아지거나 낮아지는 경향만을 보였다. 이는 본 연구의 섭취기간이 4주로 제한되어 있었던 점과 어떤 한 가지 요인을 과량 투여하는 동물실험과는 달리 일상 식생활을 통해 식품으로 적정량을 공급하였기 때문으로 생각된다.

Table 42. Serum Ca, Ca/P ratio, Mg and Pb levels of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	Significance <sup>2)</sup>	Normal range <sup>3)</sup>
Calcium (mg/dL)	9.83±0.28 <sup>1)</sup>	9.80±0.42	9.85±0.27 <sup>NS2)</sup>	NS	8.2-10.8
Ca/P ratio	2.33±0.19	2.54±0.11	2.45±0.29 <sup>NS</sup>	NS	-
Magnesium (mg/dL)	2.12±0.29	2.18±0.16	2.19±0.14 <sup>NS</sup>	NS	1.47-2.70
Lead (µg/dL)	8.51±0.28	7.83±0.22	7.72±0.16 <sup>NS</sup>	NS	<20

1) Mean±Standard Deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Normal range by SMSI(Seoul Medical Science Institute).

## 제 10 절. 뽕잎분말 첨가두부가 충남 일부지역 저칼슘 섭취 여대생의 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표 및 지 질성상에 미친 영향

### 1. 이론적 접근방법

경제 성장과 더불어 1980년대 이후 우리나라 국민의 영양소 섭취상태는 전체적으로 향상되었으나, 칼슘은 결핍되기 쉬운 영양소 중의 하나로 밝혀져 있다(Ministry of health and welfare et al., 2002). 이는 칼슘의 섭취상태가 매우 불량하고, 주요 급원이 대부분 체내 이용율이 낮은 식물성 식품이기 때문이다(Joung et al., 2005). 최근 이러한 칼슘의 섭취부족으로 인한 영양문제는 뼈 질환, 순환기계 질환, 고혈압, 동맥경화, 고지혈증 등 각종 성인병과 관련하여 연구가 활발히 진행되고 있는데(Ministry of health and welfare et al., 2002), 특히 칼슘과 뼈 질환(Kim et al., 2001) 및 순환기계 질환(Lee et al., 1997; Lee et al., 2004; Gacs et al., 1977)과 관련하여 많은 연구들이 진행되고 있다. 뼈 질환과 관련된 식이요인 가운데 중요시되고 있는 것으로 단백질(Kerstetter et al., 1999), 칼슘과 인(Mat Kovic et al., 2000; Heaney et al., 2000)의 비율 등이 있다. 적절한 단백질의 섭취는 골격 성장에 필수적이지만 식이 중 동물성 단백질 함량 증가하면 소변으로의 칼슘 배설량이 증가하는 것으로 알려져 있다(Kerstetter et al., 1999; Heaney et al., 1995; Itoh et al., 1998). 칼슘은 골격의 무기질화와 골격 유지를 위해서 식품을 통한 적당량의 섭취가 중요한데(Heaney et al., 2000), 일상 식사에서 칼슘과 인의 불균형은 골격 손실에 영향을 미친다고 한다(Allen et al., 1998).

식습관이나 식행동 조사에 의하면 여대생들은 대부분 패스트푸드와 탄산음료를 즐겨 섭취하고 있어서 고지방식이면서 칼슘섭취량과 칼슘과 인의 섭취비율이 낮은 영양불균형 상태에 있다(Kim et al., 2005). 최대 골질량을 획득해야 할 중요한 시기인 여대생의 영양불균형이나 잘못된 식습관은 성인이 된 후에도 큰 영향을 미치게 되며, 특히 여대생의 경우 곧 임신과 출산의 과정을 갖게 될 연령층이므로 임신 전 모체의 영양상태와 건강이 태아에게 직접적으로 영향을 미치게 된다(Kim et al., 2001). 따라서 여대생의 골 질환 예방을 위해서는 고칼슘 급원의 발굴 및 공급이 필수적이다.

두부는 대두를 이용한 전래의 조리 가공품 중 우리의 식생활에서 차지하는 비중이 상당히 높은 식품으로 오래 전부터 만성적 단백질 부족을 완화하는데 크게 기여하여 왔다(Wolf et al., 1997). Ellis 등(Ellis et al., 1997)은 대두 단백질을 많이 섭취하는 채식인의 경우 모든 연령군의 골밀도가 대조군보다 높았으며, 채식군은 69세 이후의 골밀도의 감소가 없는 반면 일반 식이군은 지속적인 감소를 보였다고 보고하였다. 그리고 두부에는 무기질 중 칼슘이 높는데 이는 대두 내 높은 칼슘함량과 제조 과정에서 칼슘함유

응고제를 사용하기 때문이며, 칼슘 함량이 우유보다 약 23% 정도 더 많이 함유되어 있다 (Wilson et. al., 1995). 뿐만 아니라 두부는 대두의 수용성 단백질을 활용한 식품으로 단백질과 지방의 비율이 높고 콜레스테롤과 유당이 함유되어 있지 않으며 포화지방산 함량이 낮은 저지방 식품이다. 또한 두부에 존재하는 천연 lecithin과 linoleic acid는 인체에서 콜레스테롤과 지방산이 장내와 혈액에 축적되는 것을 막아준다(Shepherd et. al., 1991). 따라서 두부는 골질환 뿐만 아니라 지질대사 이상으로 초래될 수 있는 순환기계 질환의 예방에도 도움이 될 것으로 판단된다.

그동안의 골밀도 관련 연구는 대부분 폐경 후 여성(Ellis et. al., 1997)을 대상으로 하고 있고, 폐경 전의 경우도 저체중에 해당되는 성인여성을 대상으로 한 연구(Kim et al., 2001; Kerstetter et al., 1999)로 제한되어 있다. 즉, 칼슘 섭취량이 낮은 정상 체중을 갖는 성인 여자를 대상으로 골질환의 예방적인 차원에서 골밀도에 유용한 중재방안을 살펴본 연구는 매우 드문 실정이다.

따라서 본 연구에서는 정상 체중을 갖는 여대생 중 칼슘 섭취량이 낮은 대상자(Kim et. al., 2005)를 선발하여 선행연구(Han et. al., 2005)에서 개발한 단백질과 칼슘이 강화된 빵잎분말 첨가 두부를 4주간 섭취시킨 후 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표 및 지질성상에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 시료

본 연구에 사용한 빵잎분말 첨가 두부는 선행연구(Han et. al., 2005)에 제시한 제조법에 의거하여 서신식품(Seosin Co. Ltd, Seoul, Korea)에서 매주 제조하여(빵잎분말 2% 첨가두부, 제 8 절 Fig. 34) 4주간 시료로 사용하였다. Fig. 34에서와 같이 빵잎분말 첨가 두부는 무첨가두부에 비해 단백질과 칼슘함량이 높다.

### 나. 빵잎분말 첨가 두부 섭취 시험설계 및 실험대상자 선정

본 연구는 1차적으로 칼슘 섭취량이 낮은 여대생을 선별하기 위해 충남 일부지역 대학에 재학 중인 여대생 100명을 대상으로 3일간 식이섭취조사를 실시한 후 영양평가 프로그램(Can-Pro, Computer Aided Nutritional analysis program for professionals)에 의거하여 칼슘 섭취량을 계산하였다. Kim 등(Kim et. al., 2005)의 연구를 참고로 하여 칼슘 섭취량이 520 mg 이하인 대상자 중 본 연구에 대하여 잘 이해하고 동의한 30명을 대상(Table 43)으로 2005년 11월 20일부터 12월 18일까지 4주 동안 빵잎분말 첨가 두부 섭취 전·후로 채혈, 체중, 체 성분 및 골밀도 측정을 실시하였다(제 8 절, Fig. 35). 빵잎분말 첨가두부의 섭취량은 Kim 등(Kim et. al., 2000)을 참고로 하여 하루 동안 사람이 무리 없이 섭취할 수 있는 양(100 g/day)을 3끼 식사 중 원하는 끼니에 자유로이 부식과 함께

섭취하도록 하였다.

Table 43. Anthropometric measurements of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (4 weeks)	P-value
Age(yrs)	21.13 ± 1.32 <sup>1)</sup>	-	-
Height(cm)	161.26 ± 5.10	-	-
Weight(kg)	61.66 ± 10.41	61.01 ± 10.51 <sup>NS2)</sup>	NS
BMI(kg/m <sup>2</sup> ) <sup>3)</sup>	23.76 ± 3.72	23.53 ± 3.79 <sup>NS</sup>	NS
Body fat(%)	32.88 ± 5.16	32.56 ± 6.14 <sup>NS</sup>	NS
WHR(%) <sup>4)</sup>	0.85 ± 0.04	0.84 ± 0.05 <sup>NS</sup>	NS

1) Mean ± standard deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Body Mass Index.

4) Waist Hip Ratio.

#### 다. 신체계측 및 손목 골밀도 측정

신장계로 신장을 측정 후 Inbody 3.0(Bio-electrical Impedance Fatness Analyzer, Biospace Co, Korea)을 이용하여 체질량지수(Body Mass Index, BMI), 체지방율, 체지방량 및 체지방량 등을 측정하였다. 골밀도를 측정하는 방법은 여러 가지가 있으나 정밀도가 높고 신체의 모든 부위를 측정할 수 있는 이중에너지 방사선 골밀도 측정기(dual energy X-ray absorption: DEXA)가 가장 많이 사용되고 있으며, 골밀도 측정 부위는 골절이 빈번히 발생하는 요추, 대퇴부, 전완 등이다(Ooms et. al., 1993). 따라서 본 연구에서 골밀도는 이중에너지 방사선 골밀도 측정기(Osteoview DEXA Scanner, Medilink, France)를 이용하여 오른쪽 손목의 근위(ultradis)와 원위(distal)의 골밀도를 측정 후 그 평균값을 사용하였다.

#### 라. 식이섭취조사

식이섭취조사는 훈련된 조사원의 지도하에 일대일 면접을 토대로 실시하였으며 24시간 회상법을 이용하여 주중 2일간, 주말 1일을 포함한 3일간의 영양소 섭취상태를 조사하였다. 섭취한 양을 정확하게 파악하기 위하여 식품모형을 제시하면서 음식량을 추정하였다. 1일 영양소 섭취량은 Can-Pro를 이용하여 분석하였다.

## 마. 혈액과 소변의 생화학적 분석

### 1) 혈액과 소변 채취

채혈은 본인의 동의를 얻어 12시간 금식시킨 후 실시하였다. 채취한 혈액은 실온에서 1시간 방치한 후 4℃, 1500 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 혈청은 분석 시까지 -70℃에서 냉동보관 하였다. 채혈일의 일시뇨를 EDTA로 처리한 채뇨용기에 수집하여 -70℃에 냉동보관 하여 분석에 사용하였다.

### 2) 골대사지표 측정

혈청 alkaline phosphatase 활성(Tiets et. al ., 1995)은 측정용 시약 AMP((Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)으로 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈청 osteocalcin(Tiets et. al ., 1995)은 전기적 화학발광인 electrochemiluminescence(ECLA)를 이용하여 측정하였다. 소변의 DPD(deoxypyridinoline) (Tiets et. al ., 1995)는 competitive immunoassay법으로 Pyliliks-D kit(Meter Biosystems, USA)를 사용하여 분석한 후 소변 중 크레아티닌 수치로 보정하였다.

### 3) 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당 측정

혈청 총 단백질과 알부민(Tiets et. al ., 1995)은 측정용 kit(Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)로 각각 540과 596 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈당(Tiets et. al ., 1995)은 측정용 kit(Bayer Co Ltd, Germany)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, Germany)로 340 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 4) 혈청 지질 및 lipase activity 측정

혈청 중성지질, 총 콜레스테롤, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol(Tiets et. al ., 1995)은 생화학자동분석기(Selectra II, Vital scientific NV, Holland)를 사용하였으며, 혈청 lipase activity(Tiets et. al ., 1995)는 측정용 kit(Randox Co Ltd, USA)를 사용하여 ADVIA 1650(Bayer Co Ltd, UAS)로 측정하였다.

### 5) 심혈관계지표 산출

임상진단에서 순환계질환과 관련한 진단지표인 동맥경화지수(atherogenic index: AI), 심장위험지수(cardiac risk factor: CRF), HTR(high density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio), LHR(low density lipoprotein cholesterol ratio)은 다음의 공식에 의하여 산출하였다(Kim et. al ., 2004 ; Kang et. al ., 2000).

$$AI = (\text{Total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol}) / \text{HDL-cholesterol}$$

$$LHR = \text{LDL-cholesterol} / \text{HDL-cholesterol}$$

$$\text{HTR} = \text{HDL-cholesterol} / \text{total cholesterol}$$

CRF = Total cholesterol / HDL-cholesterol

#### 6) 혈청 무기질 측정

혈청 1 mL을 취하여 microwave digestion system(Ethos touch control, Milestone, Bergamo, Italy)으로 분해하여 검액을 만든 뒤 ICP spectrometer(Atomscan advantage axial sequential plasma spectrometer, Thermo Jarrell Ash Co, Franklin, MA, USA)(Choi et. al., 2004)를 이용하여 칼슘, 마그네슘 함량을 정량분석 하였으며, 인 함량은 molybdenum blue법(Tiets et. al., 1995)에 의거하여 비색정량 하였다. 실험에 사용한 모든 기구들은 무기질의 오염을 방지하기 위해서 깨끗이 씻은 후 플라스틱 제품인 경우에는 0.4% EDTA 용액에, 유리제품인 경우는 질산원액에 24시간 이상 담갔다 2차 증류수로 3번 이상 세척하였으며, 건조기에서 습기를 제거한 후 사용하였다.

#### 바. 통계분석

모든 자료는 SAS(Statistical Analysis System, ver 8.01) package를 이용하여 평균과 표준편차를 구하였다. 콩잎분말 첨가 두부의 섭취 전, 섭취 2주후, 섭취 4주후로 나누어  $p < 0.05$  수준에서 ANOVA 및 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다. 섭취 전과 4주 후만 측정된 결과는 Student's t-test로 유의성을 검증하였다.

### 3. 연구결과

#### 가. 체성분 변화

연구대상자의 신체계측 사항은 Table 43과 같다. 평균 연령 22.13세, 평균 신장 161.26 cm이며 1일 칼슘 섭취량이 520 mg 이하인 30명의 여자 대학생을 대상으로 콩잎분말 첨가 두부를 4주간 섭취시킨 결과 체중, 체질량지수, 체지방 및 허리둘레에 유의적인 차이는 없었다. 이는 4주의 단기간 섭취 시에 나타난 결과이며, 콩잎분말 첨가두부가 지방함량은 적고, 단백질과 섬유소함량은 높은 식품(Kim et. al., 1999)이기 때문에 장기간 일상식사를 통해 섭취한다면 긍정적인 결과가 기대되며 이에 대한 연구가 요구된다.

#### 나. 영양소 섭취상태

연구대상자의 영양소 섭취량 및 한국인영양섭취기준(The Korean nutrition society., 2005)에 대한 섭취비율은 Table 44와 같다. 평균 열량 섭취량은 콩잎분말 첨가 두부 섭취 전은 1666.46 kcal(EER의 83.32%), 섭취 후는 1603.39 kcal(EER의 80.17%)로 유사하였다. 총 열량 섭취량에 대한 탄수화물, 단백질, 지방 섭취비율은 섭취 전 66.03 : 11.87 : 23.10, 섭취 후 64.46 : 14.08 : 21.46로 섭취 전에는 단백질 섭취비율이 낮은 편이었지만 섭취 후에 단백질의 비율이 다소 상승하였다. 평균 단백질 섭취량은 섭취 전은 권장섭취량의 약 90%였으며 섭취 후에는 약 103% 수준을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 평

균 식이섬유소 섭취량은 7.92 g에서 섭취 후는 8.14 g으로 유사한 수준이었다. 평균 칼슘 섭취량은 두부 섭취 후에 섭취 전보다 유의하게 증가하였으며(p<0.05), 식물성 칼슘 섭취량도 섭취 전 226.77 mg에서 섭취 후 398.01 mg으로 유의적으로 증가하였다(p<0.01). 반면 인의 섭취량은 두부 섭취 후에 섭취 전보다 유의하게 감소하였다(p<0.05). 이와 같이 빵잎분말 첨가두부의 섭취에 의해 식물성 단백질과 칼슘 섭취량이 증가하였고 인의 섭취량은 유의적으로 감소하였는데, 이는 식물성 단백질과 칼슘함량이 풍부한 빵잎분말 첨가두부의 섭취 때문으로 생각된다.

Table 44. Mean daily energy and nutrient intakes of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (4 weeks)	% of DRIs <sup>3)</sup>		p-value
			Pre-treatment	Post-treatment	
Energy(kcal)	1666.46±121.62	1603.39±126.68	83.32(EER) <sup>3)</sup>	80.17(EER)	NS
Total protein(g)	49.45± 1.65	56.44± 3.20	89.91(RI) <sup>3)</sup>	102.62(RI)	NS
Plant protein(g)	26.24± 3.58	35.30± 3.54			NS
Animal protein(g)	23.21± 2.79	21.14± 3.12			NS
Carbohydrate(g)	270.94±10.43	258.38±15.31			NS
Fiber(g)	7.92± 3.15	8.14± 3.20			NS
Total Calcium(mg)	524.66±21.47	688.90±23.38	74.95(RI)	98.41(RI)	*
Plant Calcium(mg)	226.77±21.47	398.01±31.38			**
Animal Calcium(mg)	297.89±59.69	290.89±68.33			NS
Phosphorus(mg)	1046.85±74.50	790.33±25.12			*

1) Mean±Standard Deviation.

2) Significance as determined by student t-test.

NS: not significant, \* p<0.05, \*\* p<0.01

3) DRI: Dietary Reference Intakes for Korean.

EER: Estimated Energy Requirements.

RI: Recommended Intake.

#### 다. 손목 골밀도 및 골대사지표 변화

뼈의 대사는 파골세포(osteoclast)에 의한 골흡수(bone resorption)와 조골세포에 의한 골형성(bone formation)이 밀접하게 연계되어 반복적으로 발생하고 있으며, 이러한 현상을 통해 오래된 뼈가 새로운 뼈로 바뀌는 골재형성(bone remodeling)이 이루어진다. 정상인에서는 골흡수와 골형성이 균형을 이루고 있으나, 골다공증을 포함한 많은 대사성 골질환에서는 이 균형이 깨어지게 된다. 골흡수와 골형성의 속도, 즉 골교체율(bone turnover rate)은 파골세포나 조골세포에서 분비되는 효소를 측정하거나, 골흡수나 골형성 시 유리되는 골의 기질 성분들을 측정하여 평가할 수 있다(Kim et. al., 2001). 골형성의 지표는 osteocalcin과 alkaline phosphatase 등을 측정하고, 골흡수 지표로는 소변의

hydroxyproline이나 DPD 등을 측정한다. 이 중 osteocalcin은 골형성을 잘 반영하는 유용한 지표이며(Sirtroi et. al., 1997), DPD는 골용해를 반영하는 대표적인 생화학적 지표로 알려져 있다(Raymond et. al., 1997). 따라서 본 연구에서도 손목 골밀도와 생화학적 골대사지표를 측정하였는데, 그 결과는 Table 45와 같다. 손목 골밀도의 경우 근위(ultradis)는 뽕잎분말 첨가 두부 섭취 전( $0.31 \text{ g/cm}^2$ )에 비해 섭취 후( $0.35 \text{ g/cm}^2$ )가 약간 증가되었지만 유의적인 차이는 없었다. 원위(distal)의 경우도 섭취 전( $0.45 \pm 0.04 \text{ g/cm}^2$ )에 비해 섭취 후( $0.48 \pm 0.05 \text{ g/cm}^2$ )가 약간 증가되었으나 유의차는 없었다. 평균 손목 골밀도는 섭취 전( $0.38 \text{ g/cm}^2$ )은 정상수준 이하였지만 섭취 후( $0.42 \text{ g/cm}^2$ )는 정상수준을 보였다. 뽕잎분말 첨가 두부 섭취 전 혈청 alkaline phosphatase 활성, 혈청 osteocalcin, 요 중 DPD 배설량은 모두 섭취전후 유의적인 차이가 없었다.

Table 45. BMD of carpus and bone metabolism markers of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (4 weeks)	p-value	Normal range <sup>3)</sup>
BMD( $\text{g/cm}^2$ ) <sup>4)</sup> Ultradis	$0.31 \pm 0.04$ <sup>1)</sup>	$0.35 \pm 0.06$ <sup>NS2)</sup>	NS	0.36-0.49
Distal	$0.45 \pm 0.04$	$0.48 \pm 0.05$ <sup>NS</sup>	NS	0.41-0.55
Average	$0.38 \pm 0.02$	$0.42 \pm 0.03$ <sup>NS</sup>	NS	0.385-0.520
Alkaline phosphatase (IU/L)	$68.39 \pm 12.98$	$62.91 \pm 14.49$ <sup>NS</sup>	NS	39-117
Osteocalcin (ng/dL)	$21.88 \pm 8.20$	$21.98 \pm 7.73$ <sup>NS</sup>	NS	11-43
DPD(RU) (nM/mM Cre) <sup>5)</sup>	$7.47 \pm 1.58$	$7.10 \pm 1.84$ <sup>NS</sup>	NS	2.5-6.5

1) Mean±standard deviation.

2) Significance as determined by student t-test.

NS: not significant, \*  $p < 0.05$

3) Normal range by SMSI(Seoul Medical Science Institute).

4) Bone Mineral Density.

5) Deoxyypyridinolin.

#### 라. 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당 변화

뽕잎분말 첨가 두부 섭취 전, 2주 섭취, 4주 섭취 후의 혈청 총 단백질, 알부민 및 혈당 수준은 Table 46과 같이 유의적인 차이가 없었다. 특히 혈당은 두부 섭취 4주 후에 섭취 전과 비교했을 때 감소되는 경향을 보여 앞으로 보다 장기적인 섭취에 따른 평가가 필요하다고 생각한다.

Table 46. Serum levels of total protein, albumin and glucose of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	p-value	Normal range <sup>3)</sup>
Total protein (g/dL)	7.68 ± 0.38 <sup>1)</sup>	7.53 ± 0.41	7.61 ± 0.33 <sup>NS2)</sup>	NS	6.5-8.3
Albumin (g/dL)	4.72 ± 0.26	4.67 ± 0.22	4.72 ± 0.20 <sup>NS</sup>	NS	3.5-5.3
Glucose (mg/dL)	80.69 ± 6.43	79.61 ± 7.84	75.61 ± 7.84 <sup>NS</sup>	NS	70-110

1) Mean ± standard deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Normal range by SMSI (Seoul Medical Science Institute).

#### 마. 혈청 지질성상 변화

콩잎분말 첨가두부(고단백, 고칼슘 식품)의 섭취 전과 후 혈청 지질수준의 변화는 Table 47에 제시된 바와 같다. 섭취 전에 비해 섭취 기간이 길어질수록 혈청 지질수준이 감소되는 경향을 보였다. 특히 4주 섭취 후 중성지방은 섭취 전에 비해 유의적으로 감소하였다( $p<0.05$ ). 심혈관계지표로 사용되는 AI, LHR, HTR 및 CRF 수준은 콩잎분말 첨가두부 섭취 전후에 의적인 차이는 없었으나 콩잎분말 첨가두부 섭취기간이 길어질수록 AI, LHR, CRF수준은 감소하고 HTR수준은 증가되는 경향을 보였다.

칼슘섭취 부족이 건강에 미치는 유해한 영향은 여러 연구(Kim et. al., 2001; Lee et. al., 1997; Lee et. al., 2004)를 통해 보고된 바와 같이 관상심장질환의 위험율을 높이고 혈중 지질 및 지단백질의 이상을 유발할 수 있다. 혈청 콜레스테롤 농도의 저하에 영향을 주는 인자로서 식이섬유소(Peller et. al., 1970), 단백질(Michichiro et. al., 1988), 칼슘(Lee et. al., 1997) 등 다양한 식이 인자가 알려져 있다. 식이섬유는 대변의 부피를 증가시켜 결국 담즙산을 희석시킴으로써 혈중 총 콜레스테롤 농도를 감소시키는 효과가 인정되고 있다(Kim et. al., 2001). 한편 식이 칼슘은 소화관에서 지방산과 비누(soaps)를 형성하는데, 이 칼슘비누는 불용성으로서 대변으로의 칼슘 배설을 증가시키므로 고지방 식이는 식이성 칼슘의 흡수를 저하시킨다는 것은 잘 알려져 있는바와 같이(Gacs et. al., 1977) 식이성 칼슘이 지방흡수에 상호 방해인자로 작용하여 혈청 콜레스테롤 농도에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 본 연구에서 콩잎분말 첨가두부는 특히 혈청 중성지질을 감소시키는 결과를 보여 지질성상의 개선에 유용한 효과가 있는 것으로 생각된다.

Table 47. Serum lipid parameters, AI, HTR, LHR and CRF of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	p-value	Normal range <sup>3)</sup>
Total Cholesterol(mg/dL)	183.48±31.07 <sup>1)</sup>	182.30±28.53	177.43±24.11 <sup>NS2)</sup>	NS	<200
Triglyceride(mg/dL)	112.87±88.03 <sup>a</sup>	99.30±57.50 <sup>ab</sup>	88.65±42.26 <sup>b</sup>	NS	<150
HDL-Cholesterol(mg/dL)	54.43±10.44	56.30± 1.87	56.09± 9.09 <sup>NS</sup>	NS	42-74
LDL-Cholesterol(mg/dL)	102.43±24.44	104.44±22.71	96.17±21.22 <sup>NS</sup>	NS	<130
Lipase activity(U/L)	35.13± 6.26	34.00± 5.79	33.26± 7.93 <sup>NS</sup>	NS	<60
AI <sup>4)</sup>	2.37± 0.05	2.24± 0.03	2.16± 0.03 <sup>NS</sup>	NS	<3.0
LHR <sup>5)</sup>	1.88± 0.14	1.86± 0.10	1.72± 0.14 <sup>NS</sup>	NS	-
HTR <sup>6)</sup>	0.30± 0.02	0.31± 0.04	0.32± 0.05 <sup>NS</sup>	NS	-
CRF <sup>7)</sup>	3.37± 0.04	3.23± 0.06	3.15± 0.06 <sup>NS</sup>	NS	<7.0

1) Mean±standard deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Normal range by SMSI(Seoul Medical Science Institute).

4) Atherogenic index = (total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.

5) Low density lipoprotein cholesterol and high density lipoprotein ratio = LDL-cholesterol/HDL-cholesterol.

6) High density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio = HDL-cholesterol/total cholesterol.

7) Cardiac risk factor = Total cholesterol/HDL-cholesterol.

#### 바. 혈청 칼슘, 칼슘/인 및 마그네슘 변화

혈청 칼슘, 칼슘/인 비율과 마그네슘 농도는 식사섭취량, 흡수량, 대변 중 배설량, 뼈 축적량과 용출량, 신장의 재흡수량과 요중 배설량 등에 의해서 조절된다(Avioli et. al., 1988). 본 연구에서 뽕잎분말 첨가 두부 섭취 전과 후의 혈청 칼슘, 칼슘/인, 마그네슘 수준은 Table 48에 제시된 바와 같다. 뽕잎분말 첨가 두부 섭취 전과 후의 혈청 칼슘과 마그네슘 수준은 모두 정상범위에 있었으며, 유의한 차이는 없었다. 단, 뽕잎분말 첨가 두부 섭취기간이 길어질수록 정상범위 내에서 평균 혈청 칼슘 수준은 증가하고, 칼슘/인의 비율은 감소하고, 혈청 마그네슘 수준은 증가하는 경향을 보였다.

Table 48. Serum Ca, Ca/P ratio and Mg levels of the subjects (n=30)

Variables	Pre-treatment	Post-treatment (2 weeks)	Post-treatment (4 weeks)	p-value	Normal range <sup>3)</sup>
Calcium (mg/dL)	9.53 ± 0.34 <sup>1)</sup>	9.80 ± 0.42	9.85 ± 0.27 <sup>NS2)</sup>	NS	8.2-10.8
Ca/P ratio	2.31 ± 0.19	2.54 ± 0.11	2.45 ± 0.29 <sup>NS</sup>	NS	-
Magnesium (mg/dL)	1.84 ± 0.42	2.15 ± 0.15	2.22 ± 0.15 <sup>NS</sup>	NS	1.47-2.70

1) Mean ± standard deviation.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

3) Normal range by SMSI (Seoul Medical Science Institute).

## 제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절. 빙잎두부 제조공정의 최적화 및 표준화

#### 1. 두부제조공정의 최적화

빙잎두부를 제조하기 이전에 두부 제조공정의 최적화를 위하여 제조공정과정에서 두부의 품질에 주요한 영향을 미치는 5가지 요인을 예비실험을 통하여 선별하였으며 선별된 요인(독립변수)으로는 응고온도, 응고시간, 압착압력, 응고제첨가량, 두유농도이었다. 중심합성설계법에 의거하여 각 비선형모형에 따른 27개의 실험 점을 정하였으며 독립변수의 수준에 따른 두부의 전체적인 품질의 기호도에 미치는 영향을 반응표면분석법으로 분석하였다. 두부제조공정의 최적조건은 응고온도(60℃), 응고시간(27.2 min), 압착압력(45.45 g/cm<sup>2</sup>), 응고제첨가량(1.44%), 두유농도(5.0 °Brix)이었다. 본 실험설계법을 응용하여 공장라인에 적용하면 기존의 품질보다 월등히 나은 제품이 생산되리라 확신한다.

#### 2. 두부에 첨가할 빙잎 분말과 페이스트 형태의 빙잎 추출물 제조공정의 최적화 및 표준화

빙잎 두부 제조 시 빙잎 분말의 최적첨가조건을 조사하고자 high impact planetary mill을 이용하여 빙잎분말입자의 평균크기를 조절하였으며 빙잎두부 제조 시 첨가하였다. 빙잎분말입자의 평균크기와 농도 및 자몽종자추출물 농도에 따른 빙잎두부의 전체적인 품질 기호도 변화를 중심합성설계법을 이용하여 반응표면분석법으로 조사하였다. 본 실험의 흥미영역을 기준으로 볼 때 빙잎분말의 농도는 0.40%, 빙잎분말의 평균크기는 40 $\mu$ m, 자몽종자추출물농도는 176ppm의 첨가조건에서 최적화를 보였으며 이때의 빙잎두부 전체적인 품질의 기호도 값은 6.45로 나타났으며 대조구보다 월등히 높았다. 또한, 빙잎추출물의 농도를 0~0.75%(w/w)로 조절하여 빙잎두부의 기호도 및 강도를 조사하였다. 빙잎추출물의 농도가 0.25%일 때 조직감에 대한 기호도 값을 제외하고는 색상, 맛 및 전체적인 품질의 기호도에서 가장 높은 값을 보였다. 이러한 조건은 빙잎두부산업화에 곧바로 적용할 수 있다.

### 제 2 절. 빙잎두부의 저장성향상

#### 1. 빙잎두부의 천연방부제 첨가를 이용한 저장성 향상연구

빙잎두부에 증류수, 자몽종자추출물(300ppm), 알칼리성 이온수를 침지액으로 넣은 다

음 4℃ 와 25℃에서 저장하면서 침지액의 산도, 탁도 등 이화학적 분석 및 빙잎두부에 대하여 호기성세균, 대장균, 혐기성세균, 효모 및 곰팡이 등의 미생물 분석을 하였다. 침지액이 증류수의 경우 4℃저장에서는 18일 지나도 두부의 부패가 시작된다는 호기성미생물의 수가  $10^7$  CFU/g에 도달하지 않았는데 25℃에서는 저장 1일 만에 도달하였다. 반면 알칼리성 이온수의 경우에는 3일 후에 도달하였다. 호기성세균, 대장균, 혐기성세균, 효모 및 곰팡이 등의 미생물 수에 대한 공통적인 사항은 4℃저장이 25℃저장보다 자몽종자추출물이나 알칼리성 이온수의 항균효과가 뚜렷하였다. 따라서 이상의 결과를 종합하여 볼 때 알칼리성 이온수를 침지액으로 이용 시 빙잎두부의 저장유통기간을 현저히 늘릴 수 있으며 산업에 적용할 수 있다..

### 제 3 절. 빙잎과 비지를 이용한 새로운 가공식품 (햄버거용 페트와 노인 간식용 쿠키)개발제조

#### 1. 비지분말과 빙잎분말을 이용한 돼지고기 햄버거용 페트개발

빵가루만으로 제조된 페트가 가장 높은 기호도를 보였다. 비지분말과 빙잎분말을 빵가루 40g의 대체품으로 이용할 경우 기호도 측면에서 대조구에 접근할 수 있는 조건은 비지분말 9.5g, 빙잎분말 1g, 빵가루 29.5g의 배합비율이다.

#### 2. 비지분말과 빙잎분말을 이용한 쇠고기 햄버거용 페트개발

돼지고기를 주원료로 제조된 페트에서와는 다르게 홍미구역 안에서는 빵가루를 넣지 않고 36g의 비지분말과 4g의 빙잎분말을 이용하여 제조된 페트가 색상, 향, 맛, 조직감, 전체적인 평가 등 전 항목에서 가장 높은 기호도를 보였다. 따라서 기존의 햄버거 페트에 이용되는 빵가루 대신에 비지분말과 빙잎분말을 사용할 때 더욱 높은 기호도를 나타내며 산업화에 이용할 수 있다.

#### 3. 비지분말과 빙잎분말을 이용한 돼지고기와 쇠고기 혼합형 햄버거용 페트개발

빵가루나 빙잎분말을 넣지 않고 40g의 비지분말로만 제조된 페트가 색상, 향, 맛, 조직감, 전체적인 평가 등 전 항목에서 가장 높은 기호도를 보였다. 이러한 결과는 돼지고기 햄버거 페트에서는 비지분말이 부정적으로 나타났지만 쇠고기 또는 돼지고기와 쇠고기를 혼합한 페트에서는 빵가루를 대신한 비지분말의 적용성이 탁월하게 나타났다. 이는 주원료의 향미와 비지분말 또는 빙잎분말의 향미조화와 관련이 있다고 사료된다.

#### 4. 비지분말과 빵잎분말을 이용한 노인 간식용 쿠키개발

쿠키에 들어가는 밀가루 165g을 대신하여 빵잎 분말과 비지분말의 적용성에 대하여 검토한 결과 빵잎분말을 넣지 않고 150g의 밀가루와 15g의 비지분말을 이용하여 제조된 쿠키가 색상, 향, 맛, 조직감, 전체적인 평가 등 전 항목에서 가장 높은 기호도를 보였다. 이는 비지분말의 적용성이 있다는 의미로 해석된다.

### 제 4 절. 빵잎을 이용한 요구르트 개발제조

#### 1. 빵잎분말을 이용한 요구르트 개발제조

일반적으로 빵잎분말입자의 평균크기가 커짐에 따라서 기호도는 떨어졌으며 빵잎분말의 농도가 높아짐에 따라서 기호도가 낮아졌다. 200 micron의 빵잎분말입자 평균크기와 빵잎분말의 농도0.75%(w/v)인 빵잎요구르트만이 대조구와 5%에서 유의성차이를 나타내었지만 나머지 조건에서 제조된 빵잎요구르트는 유의성차이가 나타나지 않았다. 따라서 대조구와 유의성차이가 없으므로 빵잎분말을 이용하여 요구르트제조는 가능하나 기호도에서 문제점이 발견되었다.

#### 2. 빵잎추출물을 이용한 요구르트 개발제조

빵잎 추출물 첨가량에 따른 빵잎요구르트의 기호도에 미치는 영향을 분석한 결과 대조구에 비하여 농도에 관계없이 빵잎 추출물 첨가 요구르트의 각 항목에 대한 기호도는 높았다. 전체적인 평가에서는 1%농도에서 최대 값을 나타내었으며 모든 농도에서 대조구와 유의성 차이를 보였다. 따라서 빵잎을 이용하여 요구르트를 제조할 때는 분말보다는 추출물을 이용하는 것이 바람직하다는 결과가 나왔으며 대조구에 비하여 월등히 기호도가 높으므로 산업화가 가능하다고 사료된다. 또한, 빵잎추출물과 아울러 과일농축액(65 Brix)으로 사과, 매실, 자몽 및 복숭아를 이용하였을 때 요구르트 기호도의 상승효과를 확인하였다.

### 제 5 절. 동물실험을 통하여 개발된 빵잎 분말의 기능성규명

#### 1. 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 빵잎 분말에 대한 항고지혈증 규명

본 연구에서는 빵잎분말이 고 콜레스테롤 섭취시 생체 내에서의(*in vivo*) 지질대사 개선에 미치는 효과를 알아보고자 하였다. 흰쥐에 콜레스테롤 1%인 사료를 급여하여 고지혈증을 유발시키면서 빵잎분말 (0%, 5%, 10%)을 해당사료에 첨가하여 4주간 섭취시켜

혈중 지질성분을 분석하여 비교하였다. 콩잎분말은 고 콜레스테롤식을 섭취하는 경우 혈청과 간장의 지질수준은 떨어뜨리고, 분변중 지질배설량을 상승시키는 효과가 현저한 것으로 나타났다.

## 2. 동물실험을 통하여 가공식품에 첨가할 개발된 콩잎 분말에 대한 중금속 제거효과 규명

본 연구에서는 콩잎분말이 납투한 흰쥐의 혈액성상 및 장기, 변중 납과 무기질수준에 미친 효과를 알아보려고 하였다. 흰쥐에 500 ppm 납을 사료에 첨가하여 납중독을 유발시키면서 콩잎분말(5%, 10%)을 해당사료에 동시에 첨가하여 4주간 섭취시켜 혈액성상 및 장기와 변의 납과 무기질수준을 분석하여 비교하였다. 납이 투여된 실험군들(Pb, Pb5M, Pb10M)의 혈청에서만 납이 측정되었는데 콩잎첨가량에 의존적으로 납축적량이 감소되었다. 납과 체내에서 길항작용을 하는 것으로 알려져 있는 2가 양이온에 해당되는 칼슘, 철분, 구리, 아연 등의 간장내 수준을 살펴보았을때 칼슘, 납, 철분, 구리, 아연 수준에서 유의적인 차이가 나타나 납 투여군들에서 모든 무기질수준이 정상대조군에 비해 유의적으로 낮았고, 콩잎첨가량이 5% 일때 대조군과 유사한 수준으로 회복되었다.

## 제 6 절. 임상실험을 통하여 개발된 콩잎두부의 기능성규명

### 1. 콩잎두부 섭취가 비만 중년여성의 혈청 지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납 수준변화에 미치는 효과규명

본 연구에서는 불균형된 식생활로 혈중 지질농도가 높은 비만한 중년여성을 대상으로 선행연구에서 개발한 단백질, 칼슘함량이 풍부한 콩잎분말 첨가두부를 4주간 섭취시킨 후 비만한 중년여성의 혈중지질, 칼슘, 칼슘/인 비율 및 납수준에 미치는 효과를 규명하고자 하였다. 본 실험대상자의 평균 연령은 43.05세, 평균 신장은 159.60 cm이었다. 콩잎분말 첨가두부를 4주간 섭취한 결과 비만 중년여성의 혈청 지질수준이 부분적으로 낮아지는 결과를 보였다. 따라서 장기적으로 일상식을 통해 콩잎분말 첨가두부를 섭취한다면 혈청 지질수준 뿐만 아니라 체중이나 무기질 수준에도 긍정적인 효과를 기대해볼 수 있을 것이다.

### 2. 콩잎두부 섭취가 흡연 남자 성인의 손목 골밀도, 생화학 골대사지표 및 혈청 지질성상에 미치는 효과규명

본 연구에서는 선행연구에서 체내 지질 및 무기질 영양상태 개선효과가 이미 규명된 콩잎분말 첨가두부를 흡연 남자 대학생을 대상으로 4주간 섭취시켜 흡연으로 인한 혈중

골격 관련 무기질의 농도와 골밀도, 골대사지표 및 지질수준에 미치는 영향을 규명하고자 하였다. 평균 식물성 단백질과 총 칼슘과 식물성 칼슘섭취량은 섭취 전에 비해 섭취 후 모두 유의적으로 증가( $p < 0.05$ )되었다. 차후 본 실험대상자들이 중년에 접어들기 전에 이와 같은 급원을 일상식이를 통해 꾸준히 섭취한다면 중년 이후에 나타날 지질대사 이상, 골밀도 저하현상 등을 예방하는데 도움이 되리라 생각된다.

### 3. 콩잎두부가 저칼슘 섭취 여대생의 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표 및 지질성상에 미치는 효과규명

본 연구에서는 콩잎분말 첨가두부(고단백, 고 칼슘 식품)를 칼슘 섭취량이 낮은 여자대학생을 대상으로 4주간 섭취시킨 후 손목 골밀도, 생화학적 골대사지표와 지질성상에 미치는 영향을 규명하고자 하였다. 연구대상자의 평균 연령은 21.13세, 평균 신장은 161.26 cm이었으며, 콩잎분말 첨가 두부를 4주간 섭취하였다. 혈청 지질성상과 심혈관계 지표 중 중성지방이 두부 섭취에 따라 유의적으로 감소하였으며( $p < 0.05$ ), 두부 섭취기간이 길어질수록 AI, LHR, CRF는 감소하고, HTR 수준은 증가되는 경향을 보였다. 혈청 칼슘, 칼슘/인, 마그네슘 수준은 두부 섭취에 따라 유의차가 없었다. 저칼슘 식사를 하는 본 실험대상자들은 두부 섭취 전 손목 근위와 평균 골밀도가 정성범위보다 다소 낮았으나 콩잎분말 첨가두부를 한 달간 섭취한 후 정상수준으로 회복되었으며 혈청 중성지질이 감소하였는데, 이는 콩잎분말 첨가두부의 높은 식물성 단백질과 칼슘함량 때문으로 생각된다. 따라서 차후 폐경기에 이르기 전에 이와 같은 식품을 계속 섭취한다면 중년 이후에 나타날 수 있는 골밀도 저하현상이나 순환기계 장애를 예방하는데 도움이 되리라 생각된다.

## 제 7 절. 학술논문, 학술발표, 특허출원 및 수상

□ 학술논문(국내논문 4편 발표, 국내논문 2편 심사 중):

Effects of mulberry leaf powder supplementation on lead status and mineral content in Pb-administered rats. Korean J. of Nutrition, 38(5), 380~385 (2005)

Effects of mulberry leaves powders on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats. Korean J. Food Sci. Technol., 37(4) 636~641 (2005)

Optimization for manufacturing soybean curd adding mulberry leaf powder and extract. Food Engineering Progress, 9(4), 276~282 (2005)

Development of optimum processing conditions for soybean curd. Food Engineering Progress, 10(1), 66~70. (2006)

□ 학술발표(국외발표 2건, 국내발표 4건, 국내발표 2건 예정; 2006년 6월 15일):

- 국외발표 :

The Study on the effects of mulberry leaves powder on lipid levels of serum, liver and feces in high cholesterol-fed rats. 18th International Congress of Nutrition. Durban, South Africa (2005)

Optimization for manufacturing soybean curd by adding mulberry leaf powder and extract. IFT 2006 annual meeting. Orlando, USA (2006)

- 국내발표 :

뽕잎 두부 제조공정의 최적화. 한국산업식품공학회 2005년 춘계 심포지엄 및 학술대회, 경기도 일산(KINTEX) (2005)

뽕잎 두부의 저장성 향상 연구. 한국산업식품공학회 2005년 춘계 심포지엄 및 학술대회, 경기도 일산(KINTEX) (2005)

The effects of mulberry leaves powder treatment on the minerals content in Pb-administered rats. 제72차 한국식품과학회 학술발표회, 국제심포지엄 및 정기총회, 서울(COEX 컨벤션 센터) (2005)

콩잎두부제조를 위한 콩잎의 가공조건 및 최적 배합비 결정. 제72차 한국식품과학회 학술발표회, 국제심포지엄 및 정기총회, 서울(COEX 컨벤션 센터) (2005)

□ 특허출원 :

특허국문명칭: "콩잎분말과 추출물을 이용한 콩잎두부의 제조방법"  
출원번호 : 특허출원 제 2006-45615호

□ 수상 :

우수논문상:(2006. 4. 21)

수상기관: 한국잡사학회

논문제목: "Effects of mulberry-leaf powder tofu consumption on serum lipid profiles, Ca, Ca/P ratio and Pb status in middle-aged women"

## 제 5 장. 연구개발결과의 활용계획

- 참여기업인 서신식품주식회사의 기술이전으로서 최적조건의 빙얌두부제조기술을 이전할 것이며 또한 빙얌의 생리적 특성에 대한 연구결과를 일반두부와 차별화하여 산업화 측면에서 빙얌두부의 기능적 특성에 관한 홍보자료로 이용할 것이다.
- 본 빙얌두부 개발기술을 국내 기존의 두부제조업체에도 제공하여 새로운 기능성 두부 제품으로 생산하는데 이용하며 국내 기존 두부가공 식품 산업체에서의 제품 다양화 및 고급화에 활용한다. 또한 개발된 기능성 빙얌두부를 지역의 특산품으로 활용한다.
- 개발된 빙얌 분말 및 추출물을 다량 소비되는 식품인 두부, 국수, 라면, 코팅 쌀 등에 일부분만 소재로서 활용한다하더라도 빙얌의 식품소재로서 사용량은 매우 클 것이다.
- 두부의 문제점 중의 하나는 유통저장기간(shelf-life)이 짧은 것이다. 본 연구에서 개발된 기술을 서신식품 및 기존의 두부제조업체에 전수하여 저장유통기간을 늘림으로서 두부의 소비확대 및 소비자의 만족도를 높이는데 활용한다.
- 다양한 식품화, 식품소재화를 위하여 개발된 제조기술을 빙얌 생산자단체 및 빙얌 가공업체에 기술 이전하여 직접 제조생산에 참여함으로써 빙얌의 부가가치 향상효과와 아울러 빙얌산업의 활성화에 활용한다.
- 개발된 경쟁력 있는 다기능성 콩 가공식품 (두부, 햄버거용 페트, 노인 간식용 쿠키, 요구르트 등)을 산업화하여 두부관련업계를 활성화하고 생산성을 증대시켜 고부가가치 산업화를 촉진시킨다.
- 성인병 유병율을 낮출 수 있는 빙얌 첨가 저칼로리·고섬유소 콩 가공식품 개발로 새로운 농산물로서 빙얌의 우수성 재조명한다.
- 국내산 콩의 우수성을 입증하고, 아직 농산물로써 인식이 저조하여 그 생산 및 섭취율이 낮은 빙얌을 새로운 업체류로 부각시켜 콩 재배 농가 및 잠업 농가의 생산성 및 소득 증가시킨다.
- 개발 상품의 세계화를 통해 우리의 식문화를 수출하고, 값싼 원료를 수입하여 비싼 제품으로 역수출하는 새로운 수출 활로 개척한다.

- 본 연구결과를 바탕으로 병잎이 콩 가공제품의 맛을 내는 재료 배합비 조정 및 식품의 향미물질 첨가, 건강식으로서 모든 연령층의 기호에 맞는 제품개발에 응용한다.
- 당뇨병이나 동맥 경화증 환자의 병원식이나 예방 치료식으로 활용이 가능하고 본 연구가 지속적으로 확장, 진행되어 간다면 축적된 기술로부터 성인병 예방 및 치료효과가 있는 새로운 기능성 식품개발에 다양하게 활용할 수 있다.
- 두부제조시 부산물인 비지를 이용한 신제품 제조기술 확보 및 본 연구의 결과는 병잎과 비지혼합물에 대한 이화학적 특성에 대한 연구를 통해 콩 가공 분야에 기초자료로서 활용한다. 또한, 경제적 가치가 낮은 비지를 새로운 상품으로 가공하여 효용성과 경제성을 높여 고부가가치 창출한다.
- 서구화되는 식생활로 육가공품의 소비가 증가되고 있으며 원료에 병잎과 비지를 이용하여 육가공품 제조시 생산원가 절감 및 비지의 효용성 향상 및 잠업농가의 부존자원인 병잎과 두부가공업체의 부존자원인 비지의 이용성 증대한다.

## 제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 제 1 절. 일본기업의 두부제조 및 유통관련 자료

- 일본의 두부제조업체는 2004년 3월 기준으로 14,000여개로 우리나라의 약 10여배에 달하고 있다.
- 우리나라는 비포장두부의 비율이 높은 반면 일본의 경우 살균, 포장과정을 거쳐 10C 이하의 냉장 유통되는 두부가 대부분이다.
- 우리나라에서는 한 회사가 제조, 유통, 판매를 모두 수행하는 경우가 대부분이나 일본은 두부제조업, 유통업 및 판매업이 뚜렷이 구분되어 있으며 두부의 위생관리를 위한 상호협조 및 조연관계를 긴밀히 유지하고 있다.
- 일본의 경우 소규모제조업체의 경우 살균공정을 거치지 않는으나 두부포장 후 4 C 이하의 온도조건에서 충분히 냉각시켜 냉장유통시킴으로서 미생물로부터의 위해를 감소시키는 점이 우리나라업체와의 차이점이다.

#### 2. 일본의 두부관련규정

- 국가에서 별도로 관리하지 않으며 제조회사 사내의 규정에 따라서 제조, 유통 및 판매를 하고 있다.
- 마크식품주식회사(MAC Food Co., Ltd.)의 위생관리는 제품생산 후 1일, 8일, 12일을 기준으로 일반세균수, 대장균수, *Bacillus*속, 포도상구균을 모니터링 한다. 미생물 제거를 위하여 두부제조공정 중 80C에서 20-25분 또는 85C에서 20분 열탕 살균을 한다.
- 일본의 경우 두부의 유통기간은 두부의 종류, 살균방법, 포장방법 등에 따라서 차이가 있으나 일반적으로 1-5일간의 소비기간 과 5-15일의 보존기간으로 설정되어있다.

### 제 2 절. 일본의 비지이용실태

- 우리나라의 경우 비지는 두유나 두부 제조시 얻어지는 부산물로서 80%이상의 수분으로 구성되어 있어서 저장성이 낮고 영양적 가치가 떨어진다고 하여 간과되어 왔으나, 최근 콩 우유 산업이 급성장 하면서 이의 활용방안에 대한 요구와 관심이 증가하고 있다. 반면, 건조비지를 밀가루 반죽이나 두부 제조에 활용할 수 있다는 보고가 있을 뿐, 아직까지 콩 비지는 비지찌개로 식탁에 오르는 정도로 활용분야의 기술개발이 미

흡한 실정이며, 일부분 사료로 이용되기는 하나 대부분 폐기되어 환오염의 문제점으로 대두되고 있다.

- 일본의 경우에는 두유와 두부산업의 활성화로 매년 800,000톤의 비지(Okara)가 부산물로서 나오고 있다. 이러한 비지를 가공 처리하여 식품첨가물로서 사용되고 있으며 그 사용량은 매년 증가하고 있다. 예로서, 일본의 Fiji Oil Co., Ltd.의 경우는 비지에서 수용성 다당류(Soybean Polysaccharide)를 매년 14,000톤 이상 추출하여 섬유소강화식품으로 판매하며, 우유제품의 안정제, 밥과 국수의 끈적거림(stickiness)제거제 등의 첨가물로서 판매하고 있다. 또한, 식품소재이외에 시멘트회사나 페인트회사의 첨가물 등으로 다양하게 판매하고 있다. 본 추출물은 수십만 단위의 분자량을 지니고 있으며 주로 galactose, arabinose, galacturonic acid 등으로 구성되어있으며 낮은 점도와 용액에서 매우 안정화한 상태를 유지하는 특성을 지니고 있다. 또한, 비지의 이용성에 대하여 많은 연구를 계속하고 있다.

## 제 7 장. 참고문헌

- Alice YS, Charles K. Lead distribution in rats repeatedly treated with low doses of lead acetate. *Environ Res* 48: 238-247 (1989)
- Allen LH. Calcium and osteoporosis. *Nutrition today* 6: 10-12 (1986)
- American Institute of Nutrition: Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, 107, 1340 (1977)
- Asano N, Oseki K, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. N-containing sugars from *Morus alba* and their glycoside inhibitory activities. *Carbohydr Res* 259: 243-255 (1994)
- Asano N, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. Sugars with nitrogen in the ring isolated from the leaves of *Morus bombycis*. *Carbohydr Res* 253: 235-245 (1994)
- Asano, N., K. Oseki, E. Tomioko, H. Kizu, and K. Matsui. N-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities. *Carbohydrate Research* 259: 243-255(1994)
- Avioli LV. Calcium and phosphorus. 7th ed, pp. 142-158. In: *Modern Nutrition in Heart and Disease*. Goodhart RS(ed). Lea & Febiger, Philadelphia. USA (1988)
- Bang, B.H. and Park H.H. Preparation of yogurt added with green tea and mugwort tea and quality characteristics. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29; 854-859 (2000)
- Barltrop D, Khoo HE. The influence of nutritional factors on lead absorption. *Postgrad Med J* 51: 795-800 (1975)
- Basnet P, Kadota S, Terashima S, Simazu M, Namba T. Two new 2-arybenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fractions of *Morus insignis*. *Chem Pharm Bull* 41: 1238-1243 (1993)
- Basnet P., S. Kadota, S. Terashima, S. Simazu, and T. Namba. Two new 2-arylbenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fractions of *Morus insignis*. *Chem Pharm Bull* 41: 1238-1243 (1993)
- Bennink, R.M. Prevention of chronic diseases by soy foods: current research in the United States. Paper presented at international symposium. Korea Soybean Society. Seoul, Korea (1995)
- Borradaile, N. M., de Dreu L. E., Barrett, P. H., Behrsin, C. D. and Huff, M. W.

- Hepatocyte apoB-containing lipoprotein secretion is decreased by the grapefruit flavonoid, naringenin, via inhibition of MTP-mediated microsomal triglyceride accumulation. *Biochemistry*. 42, 1283-1291 (2003)
- Borrelli, F. and Izzo, A. A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research*. 14, 581-591.(2000)
- Brian, J.B.W. *The Lactic Acid Bacteria in Health & Disease*. Elsevier applied science, London and New York(1992)
- Brot C, Jorgensen NR, Sorensen OH. The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *Eur. J. Clin. Nutr.* 53: 920-926 (1999)
- Bryce-Smith D, Stephens R. Sources and effects of environmental lead in trace elements in health. Butterworth London pp 83-131 (1983)
- Buring JE, Henekens CH. Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. *Nutr Rev* 55: S53-S60 (1997)
- Cassidy MM, Calvert RJ. Effects of dietary fiber on intestinal absorption of lipids. In *CRC handbook of dietary fiber in human nutrition* 2nd ed Spiller GA ed CRC press, New York. p 153-162 (1993)
- Cha JY, Lim HJ, Cho YS. Effect of water-extract from leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid peroxidation in tissue of rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 29: 531-536 (2000)
- Chae, J. Y., Lee, J. Y., Hong, I. S., Whangbo, D., Choi, P.W., Lee, W.C., Kim, J. W., Choi, S. W. and Ree, S. J. Analysis of functional components of leaves of different mulberry cultivars. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32, 15-21. (2003)
- Charles P, Poser JW, Mosekilde L, Jensen FT. Estimation of bone turnover evaluated by <sup>45</sup>Ca-kinetics: efficiency of bone gamma-carboxy glutamic acid containing protein, serum alkaline phosphatase, and urinary hydroxyproline excretion, *J. Clin. Invest.* 76: 2254-2258 (1985).
- Cho SY, Kim MJ, Lee MK, Park EM, Jang JY, Choi JM, Kim DJ. Effect of Korean traditional tea materials on minerals content and histological changes in Pb-administrated rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 311-317 (2004)
- Cho SY, Kim MJ, Lee MK, Park EM, Jang JY, Choi JM, Kim DJ. Effect of Korean traditional tea materials on minerals content and histological changes in Pb-administrated rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 311-317 (2004)
- Choi MK, Bae YJ, Sung CJ. The relation among bone mineral density, Ca and

- Mg contents in hair and nail, and nutrient intakes of preschool children in Chungnam district. *The Korean Nutr. Society* 38: 544-552 (2005)
- Choi MY. Analysis of manganese contents in 30 Korean common foods. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 1408-1413 (2004)
- Choi SI, Lee JH. Effect of green tea beverage for the removal of cadmium and lead by animal experiments. *Korean J Food Soci Technol* 26: 745-749 (1983)
- Choi, K.S. and S.H. Kim. Changes in soluble sugars and soybean curd yield with increased steeping time during soybean curd processing. *Korean J. Food & nutrition.* 12: 401-406 (1983)
- Choi, O. K., Noh, Y. C. and Hwang, S. Y. Antimicrobial activity of grape seed extracts and polylysine mixture against Food-bone pathogens. *Korean J. Dietary culture.* 15, 9-14 (2000)
- Choi, Y.O., H.S. Chung, and K.S. Youn. Effects of various concentrations of natural materials on the manufacturing of soybean curd. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 7: 256-261 (2000b)
- Choi, Y.O., H.S. Chung, and K.S. Youn. Effects on coagulants on the manufacturing of soybean curd containing natural materials. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 7: 249-255 (2000a)
- Chun, K. H., Kim, B. Y. and Hahm, Y. T. Extension of tofu shelf-life with water soluble degraded chitosan as a coagulant. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28, 161-166 (1999)
- Chun, K. H., Kim, B.Y., Son, T.I. and Hahn, Y.T. The extension of tofu shelf-life with water soluble degraded chitosan as immersion solution. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29, 476-481 (1997)
- Conrad M, Barton JC. Factors affecting the absorption of lead in the rat. *Gastroenterology* 74: 731-740 (1987)
- Cummings SR, Nevit MC, Browner WS. Risk factors for hip fracture in white women. *N Engl J. Med.* 322: 767-773 (1995)
- Dietschy JM, Wilson JD. Regulation of cholesterol metabolism. *Am J Med* 282: 1128-1130 (1970)
- Doi, K., Kosima, T. and Fujimoto, Y. Mulberry leaf extract inhibits the oxidative modification of rabbit and human low density lipoprotein. *Biol Pharm Bull* 23, 1066-1071 (2000)
- Dotson, C. R., Frank, H. A and Cavaletto, C. G. Indirect methods as criteria of spoilage in tofu. *J food Sci.* 42, 273-276 (1997)

- Duda RJ, Grien JF, Katzmann JA, Peterson JM, Mann KG, Riggs BL. Concurrent assays of circulating bone Gla-protein and bone alkaline phosphatase: effect of sex, age and metabolic bone disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 66: 951-957 (1988)
- Duthie GG, Arthur JR, Beattie JA. Cigarette smoking, antioxidants, lipid peroxidant, and coronary heart disease. *Ann. NY Acad Sci.* 686: 120-129 (1993)
- Duthie SJ, Ma A, Ross MA, Collins AR. Antioxidant supplementation decrease oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Research* 56: 1291-1295 (1996)
- Ellis FR, Pathol FRC, Holesh S. Incidence of osteoporosis in vegetarians and omnivores. *Am. J. Clin. Nutr.* 25: 555-558 (1972)
- Fiecher MJ. A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin Chem Acta* 22: 393 (1968)
- Folch J, Lees M and Sloane-Stanly GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, 226: 47 (1957)
- Gacs G, Bartop D. Significance of Ca-soap formation for calcium absorption in the rat. *Gut.* 18: 64-66 (1977)
- Gilliland, S.E. Acidophilus milk products, review of potential benefits to consumer. *J. Dairy Sci.* 72: 2483-2489 (1989)
- Glowinska B, Urban M, Koput A. Cardiovascular risk factors in children with obesity, hypertension and diabetes: lipoprotein(a) levels and body mass index correlate with family history of cardiovascular disease. *Eur J Pediatr* 161: 511-518 (2002)
- Goyer RA, Leonard DL, Moore JF, Rhyne B, Krigm MR, Chapl Hill NC. Lead dosage and the role of the intranuclear inclusion body. *Arch Environ Health* 20: 705-712 (1970)
- Green MS, Harari G. Association of serum lipoproteins and health-related habits with coffee and tea consumption in free-living subjects examined in the Israeli CRDIS Study. *Prev Med* 21: 532-545 (1992)
- Hacker J.R., Stillings, B.R., and Ploimenti, B.J. Correlation of amino acid indexes with nutritional quality of several soybean fraction. *Cereal Chem.* 44: 638-644 (1973)
- Han MR, Kim AJ, Chung KS, Lee SJ, Kim MH. Optimization for manufacturing soybean curd addin mulberry leaf powder and extract. *Food Engineering Progress* 9: 276-282 (2005)

- Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Maecus R, Matkovic V, Weaver C. Peak bone mass. *Osteoporosis Int.* 11: 985-1009 (2000)
- Heaney RP. Nutrition and bone mass. *Phys. Med. Clin. North Am.* 6: 551-556 (1995)
- Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342: 1007-1011 (1993)
- Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Int Med* 155: 381-386 (1995)
- Hood, S.K. and Zottola, E.A. 1988. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *J Food Sci.*, 55; 506-511
- Hwan SY. A study on detoxification effects of Flos Caethami against cadmium poisoning in rats. MS Thesis. Womkwang University. pp 1-17 (1998)
- Hwang, T. I., Kim, S. K., Park, Y. S. and Byoun, K. E. Studies on the storage of functional red soybean curd. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30, 115-119 (2001)
- Itoh R, Nishiyama N, Suyama Y. Dietary protein intake and urinary excretion of calcium: a cross-sectional study in a healthy Japanese population. *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 438-444 (1998)
- Jacques PF, Halpner AD, Blumberg JB. Influence of combined antioxidant nutrient intake on their plasma concentrations in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 62: 1228-1233 (1995)
- Jagetia, G. C. and Reddy T. K. The grapefruit flavanone naringin protects against the radiation-induced genomic instability in the mice bone marrow: a micronucleus study. *Mutation Research.* 147, 37-48 (2002)
- Jang, W. Y., Kim, B. Y. and Shin, D. H. Studies on the physical properties of soybean curd stored in the solution of different salt concentration. *Agricultural Chemistry and Biotechnology.* 38, 135-140 (1995)
- Jo CY, Choi HJ, Ba DK, Son JH, Park MH, Woo HS, An BJ, Bae MJ, Choi C. Removal effect of cadmium by polyphenol compound extracted from persimmon leaves (*Diospyros kaki folium*). *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 213- 217 (2000)
- Joung HJ. Deteriorating nutritional status in an increasingly prosperous society.

- The Korean Nutr. Society 38: 777-785 (2005)
- Jung, G. T., Ju, J. O., Choi, J. S. and Hong, J. S. Preparation and shelf-life of soybean curd coagulated by fruit juice of *Schizandra chinensis* ruprecht (omija) and *prunus mume* (maesil). Korean J. Food Sci. Technol. 32, 1087-1092 (2000)
- Jung, J. Y. and Cho, E. J. The Effect of green tea powder levels on storage characteristics of tofu. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 18, 129-135 (2002)
- Kang IJ, Kim HK, Chung CK, Kim SJ, Oh DH. Effects of *protaetia orientalis* larva on the lipid metabolism in ethanol administered rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 29: 479-484 (2000)
- Kang IJ, Kim HK, Chung CK, Kim SJ, Oh DH. Effects of *protaetia orientalis* larva on the lipid metabolism in ethanol administered rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 479-484 (2000)
- Kang SS, Woo WS. Flavonol glycosides from the leaves of *Zizyphus jujuba*. Kor J Phamacogn 15: 170-178 (1984)
- Kao YH, Hiipakka RA, Liao. Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. Endocrinology 141: 980-987 (2000)
- Katai K. Trace constituents of mulberry leaves. J Chem Soc Jpn 18: 379-340, 1942
- Kerstetter JE, Mitnick ME, Gundberg CM, Caseria DM, Ellison AF, Carpenter TO, Insogna KL. Changes in bone turnover in young women consuming different levels of dietary protein. J. Clin. Endocrinol. Metab. 84: 1052-1055 (1999)
- Khaw KT, Barret CE. Dietary fiber and reduced ischemic heart disease mortality in men and women. Am J Epideiol 126: 1093-1095 (1987)
- Kim AJ, Kim MH, Kim SS, Kwak HP. The effects of mulberry leaf-Jeolpyun on the serum lipid level male University students. J. East Asian Soc. Dietary Life. 10: 387-393 (2000)
- Kim AJ, Yuh CS, Bang IS, Kang YR, Chung KS, Kim MH. A study on the changes of physicochemical characteristics of soybeans curd with cow's milk according to the adding levels of mulberry leaf powder. The Korean J. Community Living Sci. 14: 63-70 (2003)
- Kim EM. Popular obesity diet. Korean Society for the Study of Obesity 7: 253-263 (1998)
- Kim HB, Bang HS, Lee HW, Seuk YS, Sung GB. Chemical characteristics of

- mulberry syncarp. Korean J. Seric. Sci. 41: 123-128 (1999)
- Kim JS, Kang SS, Lee MW, Kim OK. Isolation of flavonoids from the leaves of *Aralia continetails*. Kor J Pharmacogn 26: 239-243 (1995)
- Kim JS, Kim MK. Metabolic changes in growing rats fed diets with different levels of lead and lipid. Korean J Nutr 20: 225-236 (1987)
- Kim MJ, Cho SY, Jang JY, Park JY, Park EM, Lee MK, Kim DJ. Effect of water extract of green tea, persimmon leaf and safflower seed on heme synthesis and erythrocyte antioxidant enzyme activities in lead-administered rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 107: 1779-1785 (2003)
- Kim MJ, Kim JW, Lee SJ. Effects of YK-209 mulberry leaves on disaccharidase activities of small intestine and blood glucose-lowering in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 107-109 (2002)
- Kim MJ, Kim JW, Lee SJ. Effects of YK-209 mulberry leaves on disaccharidase activities of small intestine and blood glucose-lowering in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 107-109 (2002)
- Kim MK, Lee HY. Detoxification study with different dietary protein levels and detoxifying periods in lead poisoned rats. J. Korean Nutr. 22: 185-193 (1989)
- Kim MK, Lee HY. Effects of dietary cadmium and protein levels on the body protein metabolism and cadmium toxicity in growing rats. J Korean Nutr 21: 410-420 (1988)
- Kim SH, Chang MJ, Lee LH, Yu CH, Lee SS. A study of food and nutrient intakes of Korean women by age groups. J. Korean Nutr. Soc. 36: 1042-1051 (2003)
- Kim SH, Yu CH, Kim JY, Lee SS. The effect of milk consumption on blood lipid levels of the Korean College women. The Korean Nutr. Society 38: 561-569 (2005)
- Kim SK, Kim MJ, JW, Lee SJ. Effects of YK-209 mulberry leaves on disaccharidase activities of small intestine and blood glucose-lowering in streptozotocin-induced diabetic rats. J Korean Soc Food Sci Ntr 31: 107-1099 (2002)
- Kim SK, Kim SY, Kim HJ, Kim AJ. The effect of mulberry-leaf extract on the body fat accumulation in obese fa/fa male zucker rat. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 516-520 (2001)

- Kim SK, Kim YS, Kim AJ, Kim SY. Antihyperlipidemic effects of mulberry leaves in adult females. *Soomchunhyang J. Nat. Sci.* 5: 167-171 (1999)
- Kim SK, Yeon BY, Choi MK. Comparison of nutrient intakes and serum mineral levels between smokers and non-smokers. *Korean J. Nutr.* 36: 635-645 (2003)
- Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 1217-1222 (1988)
- Kim SY. A study of soymilk and exercise's effect on bone mineral density in underweight College women with low bone mass. MS Thesis of Sookmyung women's University, Seoul, Korea. pp. 6-34 (2001)
- Kim SY. A study of soymilk and exercise's effect on bone mineral density in underweight College women with low bone mass. MS Thesis, University of Sookmyung Women's, Seoul, Korea. (2001)
- Kim YE, Oh SW, Kwon EA, Han DS, Kim IH, Lee CH. Effects of green tea, buckwheat and grape leaves extracts on lipid metabolism, antioxidative capacity, and antithrombotic activity in rats fed high cholesterol diets. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 979-985 (2004)
- Kim YE, Oh SW, Kwon EA, Han DS, Kim IH, Lee CH. Effects of green tea, buckwheat and grape leaves extracts on lipid metabolism, antioxidative capacity, and antithrombotic activity in rats fed high cholesterol diets. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 979-985 (2004)
- Kim YJ. The protect the living organ from free radicals and the failure of protection: age-related disease. *Bull Fod Technol* 10: 4-26 (1997)
- Kim, A.J. and C.S. Yuh. The development of functional food products manufactured with mulberry leaf. *Food Science and Industry* 37: 22-35 (2004)
- Kim, H. B, Lee, W. C. Kim, S. Y., Lee, Y. K. and Bang, H. S. Effect of mulberry leaf for the removal of Cd and Pb in drink water. *Korean J. Seric. Sci.* 40, 17-22 (1998)
- Kim, H.J., B.Y. Kim, and M.Y. Kim. Rheological studies of the Tofu upon the processing conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 324-328 (1995)
- Kim, J. S. Current research trends on bioactive function of soybean. *Korea Soybean Digest.* 13, 17-24(1996)
- Kim, J. Y., Han J. H., Kim J. K. and Moon, K. D. Quality attributes of whole soybean flour tofu affected by coagulant and their concentration. *Korean J.*

- Food Sci. Technol. 32, 402-409 (2000)
- Kim, J.Y., J.H. Han, J.K. Kim and K.D. Moon. Quality attributes of whole soybean flour Tofu affected by coagulant and their concentration. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 402-409 (2000)
- Kim, J.Y., J.H. Kim, J.K. Kim and K.D. Kim. Quality and sensory evaluation of whole soybean flour Tofu prepared from various processing conditions. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 455-459 (2001)
- Kim, J.Y., J.H. Kim, J.K. Kim and K.D. Moon. Quality attributes of whole soybean flour Tofu Affected by coagulant and their concentration. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 402-409 (2000)
- Kim, M.S., K.S. Ryu, W.C. Lee, H.O. Ku, H.S. Lee, and K.R. Lee. Hypoglycemic effect of mulberry leaves with anaerobic treatment in alloxan-induced diabetic mice. Kor. J Pharmacogn. 30: 123-129 (1999)
- Kim, S. Y. and Lee, W. C. The effects of mulberry on inhibition of HMG-Co A reductase activity. RDA J Agric. Sci. 38, 133-139 (1996)
- Kim, S.Y., Jeon, M.G., and Lee, S.Y. Isolation of the tofu-residue solubilizing microorganism and optimization for solubilization of tofu-residue. Food Engineering Progress. 8: 189-195 (2004)
- Kim, S.Y., W.C. Lee, H.B. Kim, A.J. Kim, and S.K. Kim. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 27: 1217-1222 (1998)
- Kimura M, Chen FJ, Nakashimqa N, Kimura I, Asano N, Koya S. Anti hyperglycemic effect of N-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozotocin-induced diabetic mice. J Traditional Medicine 12: 214-219 (1995)
- Kimura, M., Chen, F., Nakashima, N., Kimura, I. and Asano, N. Antihyperglycemic effect of N-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozotocin-induced diabetic mice. J. Traditional Medicine 12, 214-219(1995)
- Kondo Y. Trace constituents of mulberry leaves. Nippon Sanshigaku Zasschi 26: 349-350 (1957)
- Kono S, Shinchi K, Ikeda N, Yanai F, Imanishi K. Green tea consumption and serum lipid profiles: a cross-sectional study in northern Kyushu, Japan. Prev Med 21: 526-531 (1992)
- Kono S, Shinchi K, Wakabayashi K, Miura S, Umegaki K, Hara Y, Imanishi K, Nishikawa H, Ogawa S, Katsurada M. Relation of green tea consumption to

- serum lipids and lipoproteins in Japanese men. *J Epidemiol* 6: 128-133 (1996)
- Kwak CS, Lee JW, Hyun WJ. The effect of smoking and alcohol drinking on nutritional status and eating habits in adult males. *Korean J. Community Nutr.* 5: 161-171 (2000)
- Kwon JY, Ann IS, Park KY, Cheigh HS, Song YO. The beneficial effects of pectin on obesity in vitro and in vivo. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 13-20 (2005)
- Lee Ik, Kim JG. Effects of extract of *Eucommia ulmoides* Oilv on the reduction of lead and cadmium in organs of rats. *J Korean Health Assoc* 26: 22-28 (2000)
- Lee JS, Cho SY. Effects of dietary protein and calcium levels on hematological properties and renal functions of the Pb-administered rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 20: 337-345 (1991)
- Lee KH, Choi IS, Lee SS, Oh SH. Effects of nondigestible substances and calcium and lipid metabolism in rats. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.* 26: 927-935 (1997)
- Lee LH, Y CH, Lee SS, Chang MJ, Kim SH. A study of food and nutrient intakes of Korean men by age groups. *J. Korean Nutr. Soc.* 37: 143-152 (2004)
- Lee WC, Kim AJ, Kim SY. The study on the functional materials and effects of mulberry leaf. *Food Science and Industry* 36: 2-14 (2003)
- Lee, C.H. and C.K. Rha. Micro-structure of soybean protein aggregates and relation to the physical and textural properties of the curd. *J. Food Sci.* 43: 79-84 (1978)
- Lee, I.S. and Paek, K.Y. Preparation and quality characteristics of yogurt added with cultured ginseng. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35; 235-241 (2003)
- Lee, I.S., Lee, S., and Kim, H.S. Preparation and quality characteristics of yogurt added *Saururus chinensis*(Lour.) Bail. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31; 411-416 (2002)
- Lee, J. K., Park, B .J., Yoo, K. Y. and Ahn., Y. O. Dietary factors and stomach cancer A case-control study in Korea. *J. Epidemiology.* 24, 33-41 (1995)
- Lee, K. S., Kim, D. H., Baek, S. H. and Chon, S. H. Effects of coagulants and soaking solutions of tofu (soybean curd) on extending its shelf-life. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22, 116-122. (1990)
- Lee, K. S., No, H. K. and Mayers, S. P. Effect of chitosan as a coagulant on

- shelf-life of tofu prepared in commercial-scale. *Food Sci. Biotechnol.* 10, 529-533 (2001)
- Lee, M. Y. and Kim, S. D. Shelf-life and characteristics of tofu coagulated by calcium lactate. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 33, 412-419 (2004)
- Lee, S. H. and Jang, M. S. Effects of electrolyzed water and chlorinated water on sensory and microbiological characteristics of lettuce. *Korean j. Soc. Food Cookery Sci.* 6, 45-53 (2004)
- Lee, W.C., A.J. Kim, and S.Y. Kim. The study on the functional materials and effects of mulberry leaf. *Food Science and Industry* 36: 2-14 (2003)
- Mahaffey KR. Nutritional factors in lead poisoning. *Nut Rev* 39: 353-362 (1981)
- Mahley RW, Weisgraber KH, Innerarity TL. Characterization of the plasma lipoprotein associated with atherogenic and nonatherogenic hyperlipoproteinemia. *Circ Rev* 35: 722-723 (1974)
- Matkovic V, Badenhop NE, Landoll JD, Mobley SL. Calcium, hormones and bone health. *Osteoporosis Int.* 11: S1-S74 (2000)
- McDonell LR. Minerals in animal and human nutrition. Academic Press Inc, San Diego. pp 359-361 (1992)
- Mcgarry JD, Foster DW. Regulation hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Ann Rev Biochem* 49: 395-340 (1980)
- McGill HC. The cardiovascular pathology of smoking. *Am. Heart J.* 115: 250-257 (1998)
- Michichiro S, Yukio Y, Katsuko Y, Yukio H, Takaharu M, Minoru K. The hypocholesterolemic action of the undigestion fraction of soybean protein in rats. *Atherosclerosis* 72: 115-117 (1988)
- Ministry of Health and Welfare. Report on 2001 National Health and Nutrition Survey. Korea Health Industry Development Institute(ed), Seoul, Korea (2002)
- Mjos OD. Lipid effects of smoking. *Am. Heart J.* 115: 272-275 (1998)
- Moskowiz HR, Stanley DW and Chandler JW. The eclipse method: Optimizing product formulation through a consumer generated ideal sensory profile. *Can Inst Food Sci Technol J* 10: 161-168 (1977)
- Naitoh K. Studies on the micro constituent in mulberry leaves part 2. Isolation of rutin and quercetin from mulberry leaves. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* 42: 422-425 (1968)
- Noma A, Nakayama KN, Kita M, Okabe H. Simultaneous determination of serum

- cholesterol in high and low density lipoprotein with use of heparin, Ca<sup>2+</sup> and an anion exchange resin. Clin Chem 24: 1504-1510 (1978)
- NSOK. Annual report on the cause of death statistics. In: Yearbook of Statistics. National Statistical Office(ed), Seoul, Korea (1999)
- NSOK. Annual Report on the Cause of Death Statistics. National Statistical Office of Korea, Seoul, Korea (2003)
- NSOK. The Expectancy of Future Population. National Statistical Office of Korea (2002)
- Oh, S. H., Ha, T. I. and Chang, M. H. Availability of alkaline ionic water as a cooking water. Korean J. Food & Nutrition. 6, 8-15 (1993)
- Oh, S. W., Lee, Y. C. and Hong H. D. Effects on the shelf-life of tofu with ethmol extracts of Rubus coreanus miquel, Therminalia Retz and Rhus javanica. Korean J. Food Sci. Technol. 34, 746-749 (2002)
- Onogi A, Osawa K, Yasuda H, Sakai A, Morita H, Tokawa H. Flavonol glycosides from the leaves of Morus alba. Shoyakugaku Zasshi 47: 423-425 (1993)
- Ooms ME, Lips P, Van Lingen A, Valkenburg HA. Determinations of bone mineral density and risk factors for osteoporosis in health elderly women. J. Bone Miner. Res. 8: 669-675 (1993)
- Ortho clinical diagnostics. The reference intervals in biochemical analysis of laboratory animal. Johnson & Johnson Co, New York. p 13 (2001)
- Park JR, Lee YS. Effects of dietary chitosan on blood tissue levels of lead, iron, zinc, and calcium in lead administered rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 34: 336-341 (2005)
- Park KH, Kwon YD, Park MA, Park BJ. A study on the absorption kinetics of heavy metals, Cd (II), Cu (II) and Zn (II) ions by the persimmon leaves. J Korea Soci Environ Analy 4: 159-167 (2001)
- Park, L. Y., Kim, S. J. and Lee, S. H. Effect of surface treatment with chitosan on shelf-life of soybean tofu. Korean J. Food Preserv. 12, 516-521 (2005)
- Park, W. H. and Yi, S. H. The application of HACCP system to soybean curd and its effectiveness. J. Fd Hyg. safety. 18, 202-210 (2003)
- Poller L. Fiber and diabetes. Lancet 24: 434-435 (1970)
- Prestamo, G., Lesmes, M., Otero, L and Arroyo, P. Soybean vegetable protein(tofu) preserved with high pressure. J. Agric. Food Chem. 48, 2943-2947 (2000)
- Raymond MH, Schutte BC, Torner JC, Burns TL, Willing MC, Osteocalcin:

- genetic and physical mapping of the human gene BGLAP and its potential role in postmenopausal osteoporosis. *Genomics* 60: 210-217 (1999)
- Rosenfeld L. Lipoprotein analysis. *Arch Pathol Lab Med* 113: 1101-1110 (1989)
- Rudel L, Morris MD. Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde. *J Lipid Res* 14: 364-366 (1973)
- Russell DW, Setchell KDR. Bile acid biosynthesis. *Biochemistry* 31: 4737-4749 (1992)
- SAS. 1993. SAS/INSIGHT User's Guide. Version 6. SAS Institute Inc., Cary, USA
- Sayama K, Lin S, Zheng G, Oguni I. Effects of green tea on growth, food utilization and lipid metabolism in mice. *In Vivo* 14: 481-484 (2000)
- Schulz H. Inhibition of fatty acid oxidation. *Life Sci* 40: 1443-1445 (1987)
- Shepherd J, Gaffney D, Packard CJ. Affairs of the heart : cholesterol and coronary heart disease risk, *Disease Markers*. 9: 63-71 (1991)
- Shin DH. The research and prospect of natural antioxidants. *Bull Food Technol* 8: 28-33 (1996)
- Shin KH, Young HS, Lee TW, Choi JS. Studies on the chemical component and antioxidative effects of solanum lyratum. *Kor J Pharmacogn* 26: 130-138 (1995)
- Sirtori P, Sosio C, Polo RM, Tenni R, Rubinacci A. A comparative study on biochemical markers of bone collagen breakdown in post-menopausal women. *Pharmacological Research* 36: 229-235 (1997)
- Sperry WM and Webb MA. Reversion of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J Biol Chem*. 187: 97 (1950)
- St Leger AS, Cochran AL, Moore F. Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wine. *Lancet* 1: 1017-1020 (1979)
- Stone, H. and J.L. Sidel . *Sensory Evaluation Practices*. Academic Press, London, UK. (1985)
- Suh, D.S., S.H. Kim, J.H. Hong and K.O. Kim. Application of quantitative descriptive analysis to commercial soybean curd. *Korean J. Dietary Culture*. 16: 58-64 (2001)
- Sung CJ, Bae YJ. The study on nutritonal status, bone mineral density and plasma mineral concentrations of smoking male adults. *Korean J. Community Nutr*. 10: 91-100 (2005)

- Sung, Y.M., Cho, J.R., Oh, N.S., Kim, D.C., and In M.J. Preparation and quality characteristics of curd yogurt added with chlorella. *J. Korean Soc. Appl. Bio. Chem.* 48: 60-64 (2005)
- Symposium of The Korean Society of Seric. Sci. The strategy for the development of bio-resources utilizing sericultural products and insects. p 22 (1999)
- Takeda Y, Ichihara A, Taioka H, Inove H. The biochemistry of animal cells, the effect of corticosteroids on leakage of enzyme from dispersed rat liver cell. *J Biol Chem* 239: 3590-3596 (1964)
- Tall AR. Plasma high density lipoproteins metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 86: 379-384 (1990).
- Terman J, Morrison JN. The effect of dietary calcium and phosphorus on the retention and excretion of lead in rats. *Br J Nutr* 34: 351 - 362 (1975)
- The association of Korean clinical pathology. The clinical pathology. Korea Medicine Co, Seoul. p 40-79 (1994)
- The Korean Nutrition Society. Dietary Reference Intakes for Koreans, Seoul, (2005)
- The Korean Nutrition Society. Dietary Reference Intakes for Koreans, The Korean Nutrition Society (ed). Doseo Publishing Co., Seoul, Korea (2005)
- Tietz NW, Clinical guide to laboratory tests, 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, Philadelphia, USA. pp. 418-421 (1995)
- Tijburg LB, Mattern T, Folts JD, Weisgerber UM, Katan MB. Tea flavonoids and cardiovascular disease: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 37: 771-785 (1997)
- Torabi MR, Bailey WJ, Majd-Jabbari M. Cigarette smoking as a predictor of alcohol and other drug use by children and adolescents: evidence of the "gateway drug effect". *J. Sch. Health* 63: 302-306 (1993)
- Wilson LA. Soyfoods, Chapter 22, pp. 428-459. In: *Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization*. Erickson DR(ed). AOCS Press, Champaign. (1995)
- Wolf WJ. What is soy protein? *Food Technol.* 26: 44-50 (1972)
- Woo, E.Y., Kim, M.J., Shin, W.S., Lee, K.A., and Kim, K.S. Production of protein hydrolyzate, that can be used as food additives, from okara. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 769-773 (2001)
- Wu, M. T. and Salukhe, D. K. Extending shelf-life of fresh soybean curds in-package microwave treatments. *J. Food Sci.* 42, 1448-1450 (1997)

- Yamaguchi Y, Hayashi M, Yamazoe H, Kunitomo M. Preventive effects of green tea extract on lipid abnormalities in serum, liver and aorta of mice fed a atherogenic diet. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 7: 329-337 (1991)
- Yang M, Wang C, Chen H. Green, oolong and black tea extracts modulate lipid metabolism in hyperlipidemia rats fed high-sucrose diet. *J Nutr Biochem* 12: 14-20 (2001)
- Yang TT, Koo MW. Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal lipid extraction. *Life Sci* 66: 411-423 (2000)
- Yang TT, Koo MW. Hypocholesterolemic effects of Chinese tea. *Pharmacol Rev* 35: 505-512 (1997)
- Yen, G.C., S.C. Wu, and P.D. Duh. Extraction and identification of antioxidant components from leaves of mulberry (*Morus alba* L.). *J Agric Food Chem* 44: 1687-1690 (1996)
- Yoon GA. Changes of vitamin C level, lipid peroxidation and lipid concentration in plasma of smokers and non-smokers. *Korean J. Nutr.* 30: 1180-1187 (1997)
- Yoshikumi Y. Inhibition of intestinal  $\alpha$ -glycosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its N-alkyl derivatives. *Agric Biol Chem* 52: 121-126 (1994)
- Yun YP, Kang WS, Lee MY. The antithrombotic effects of green tea catechins. *J Food Hyg Safety* 11: 77-82 (1996)
- 김경탁, 임지순, 김성수. 인삼첨가 두부의 물리적 관능적 특성에 미치는 인삼 첨가량, 첨가방법 및 응고제의 영향 연구. *한국식품과학회지* 28(5): 965-969 (1996)
- 김동한, 임미선, 김영옥. 해조류 첨가가 두부의 이화학적 품질 특성에 미치는 영향. *한국영양식품과학회지* 25(2): 249-254 (1996)
- 김순경, 김선여, 김휘준, 김애정. 뽕잎추출물이 Zucker Rat의 체지방 축적에 미치는 효과. *한국식품영양과학회지* 30(3): 516-520 (2001)
- 김애정 등. 뽕잎 첨가수준에 따른 두부의 관능평가 및 일반성분분석에 관한 연구. *한국지역사회생활과학회지* 14(2): 63-68 (2003)
- 김애정 등. 뽕잎가루 배합비에 따른 뽕잎절편의 무기질 함량 및 품질 특성. *한국조리과학회지* 16(4): 311-315 (2000)
- 김애정 등. 뽕잎가루를 첨가한 빵이 Rat의 지질대사에 미치는 영향. *한국제과제빵학회지* 1(1): 10-14 (2001)
- 김애정 등. 뽕잎분말 섭취가 혈청지질에 미치는 영향. *순천향 자연과학연구* 5(1): 167-171 (1999)
- 김애정 등. 뽕잎분말 첨가 절편 섭취가 남자 대학생의 혈청지질수준에 미친 효과. *동아시*

- 아식생활학회지 10(5): 387-393 (2000)
- 김애정 등. 충남 일부지역 여성의 혈청 중금속 함량과 영양소 섭취상태와의 관련성 연구. 동아시아식생활학회지 9(2): 169-176 (1999)
- 김애정, 여정숙, 방인수, 강영림, 정건섭, 김명희. 콩잎 첨가수준에 따른 두부의 관능평가 및 일반성분분석에 관한 연구. 한국지역사회생활과학회지 24(2): 63-70 (2003)
- 손정우, 김우정. 건조비지 첨가에 의한 두부 품질 변화의 변화. 한국식품과학회지 17: 522 (1985)
- 식품저널. 11월호, pp.82-83 (1999)
- 윤원병, 김병용, 함영태. 두부콩들의 물성학적 기능성 비교 및 최적화에 관한 연구. 한국농화학회지 40(3): 225-231 (1997)
- 이완주, 김애정, 김선여. 콩잎의 기능성물질 탐색 및 효과 규명. 식품과학과 산업 36(3): 2-14 (2003)
- 이희삼, 김선여, 전호정, 이상덕, 문재유, 김애정, 이완주, 류강선. 콩잎 중 Catechins의 *Clostridium perfringens*에 대한 생장억제 효과. 잠사학회지 42(1): 6-9 (2000)
- 이희삼, 김애정 등. 식이 콩잎이 흰쥐의 장내균총 구성에 미치는 영향. 한국식품과학회지 33(2): 252-255 (2001)
- 장천일, 이정근, 구경형, 김우정. 콩 품종에 따른 두부의 수율 및 화학적, 관능적 특성의 비교. 한국식품과학회지 22(4): 439-444 (1990)
- 정재홍. 기초외국조리. 형설출판사, 서울. (2002)
- 지성규. 기능성식품, 건강을 조절할 수 있는 식품영양소. 광일문화사 (1992)
- 최규서. 두부업계 현황과 전망. 식품저널. p.74 (1998)
- 최용순, 이상영. 백서에 있어서 콩제품(두부, 비지) 급여의 콜레스테롤 저하 효과. 한국영양식량학회지 22(6): 673-677 (1993)
- 하종규, 김홍대, 이청수, 박병오, 김선우, 이성실, 고종렬. 두부비지의 첨가수준에 따른 TMR의 저장성 및 이용성 규명. 23(1): 29-38 (1999)
- 한국식품과학교수협의회. 식품제조기술. 지구문화사. p.60 (1993)
- 황인경, 김수희, 최영락. 단백질 식품자원의 개발 및 그 물성적 특성과 관능평가. 한국조리과학회지 8(2): 117-122 (1992)