

발간등록번호

11-1543000-001013-01

**천연 폴리페놀 및 전곡립 활용 글루텐 대체 기능 구현을 통한
건강 기능성 면류 가공기술 개발**

(Process development of health functional gluten-free noodles
by utilizing natural polyphenols and whole grains)

(주) 농심 연구소

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “천연 폴리페놀 및 전곡립 활용 글루텐 대체 기능 구현을 통한 건강 기능성 면류 가공기술 개발” 과제 보고서로 제출합니다.

2015년 8월 7일

주관연구기관명 : (주) 농 심
주관연구책임자 : 민 병 중
세부연구책임자 : 민 병 중
연 구 원 : 김 중 훈
연 구 원 : 이 현 준
연 구 원 : 장 혜 립
협동연구기관명 : 세종대학교
협동연구책임자 : 유 상 호
협동연구기관명 : 세종대학교
협동연구책임자 : 이 수 용
위탁연구기관명 : 중앙대학교
위탁연구책임자 : 어 중 혁

요 약 문

I. 제 목

천연 폴리페놀 및 전곡립 활용 글루텐 대체 기능구현을 통한 건강 기능성 면류 가공기술 개발

II. 연구성과 목표 대비 실적

성과목표	사업화지표								연구기반지표								
	지식 재산권		기술이전	사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구용 등)
	출원	등록		제품화	기술창업	매출창출	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책 활용	홍보 전시	
			SCI						비 SCI								
최종목표	4	1	1	2						2	2						
연구기간 내 달성실적	4	1	0	0						5	2	15		9			
달성율(%)	100	100	0	0						250	100						

III. 연구개발의 목적 및 필요성

· 연구개발 목표

- 폴리페놀계 화합물과 식품 단백질간의 상호작용 특성을 바탕으로 글루텐 대체 소재 및 가공 기술 개발 가능성을 탐색하여 제면 제품 가공적성 향상과 함께 건강 기능성 향상을 목표로 하였다. 또한 건강 기능성이 기 확보된 곡류의 적용을 통해 폴리페놀류 혹은 단백질 급원으로서의 가치를 제면을 위한 글루텐 대체 소재 개발 가능성에 초점을 두어 탐색하고자 하였다. 또한 가공 식품 분야에서 밀가루 대체 소재에 대한 수요가 높고 있는 가운데 천연물 유래 식품 소재에 대한 관심이 증대되고 있다. 특히, 건강 기능성에 대한 전 세계적인 관심이 높아지면서 식물에서 유래한 천연 기능성 소재인 polyphenol 및 전곡립(whole grain)에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 따라서 polyphenol 및 전곡립을 활용한 건강 기능성 부여 및 gluten 대체 소재 개발을 통한 곡류 가공 제품의 가공 적성 개선을 통한 새로운 개념의 곡류 가공 제품 개발 범위의 저변 확대가 요구된다. 이를 통하여 건강 기능성이 부여된 가공식품에 대한 기대 수요에 부응할 수 있다면 국민건강 증진에 기여할 것으로 기대된다.

· 연구개발 목적

- 최종목표

· 최근 밀가루 대체 소재로서 다양한 곡류를 활용한 가공식품 응용 연구가 확대되고 있는 가운데, 천연 식품소재의 적용을 통하여 건강 기능성 및 가공적성이 향상된 신 기능성 곡류 응용 제품을 개발함으로써 곡류 가공식품 산업의 활성화를 최종 목표로 하였다. 이를 위하여 식물체

유래 천연 polyphenol 성분의 추출, 지표성분의 구조 분석, 기능성 평가를 수행하고, 이를 토대로 제면 공정에서의 건강 기능성 소재로 활용함과 동시에 글루텐 대체 기능 구현을 통한 곡류 제면 제품의 품질 향상 시스템을 구축하고자 하였다.

- 세부목표

- 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립을 이용한 고부가 제면 공정 확립 및 제품 개발
- Metabolomics 기반 폴리페놀 대사체 및 가공 중 변이 분석
- 폴리페놀계 천연소재 및 전곡립을 활용한 곡류 제면 제품의 건강 기능성 개선
- 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립의 글루텐 기능 구현을 통한 곡류 제면 제품의 가공 유효성 개선

IV. 연구개발 내용 및 범위

- 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립을 이용한 고부가 제면 공정 확립 및 제품 개발

- 곡류 제면 제품 개발을 위한 공정 설비 및 운영 조건 확립
- 폴리페놀 및 전곡립 소재의 제면 적용 조건 확립
- 가공 제면 시제품 생산 및 식품학적/관능학적 품질 평가

- Metabolomics 기반 폴리페놀 대사체 및 가공 중 변이 분석

- Metabolomics 기반 전곡립 및 천연물 폴리페놀 대사체 분석
- 가공 중 폴리페놀 대사체 변이 분석
- 다변량 통계분석법을 이용한 주요 대사체 발굴 및 제면 특성 상관관계 규명

- 폴리페놀계 천연소재 및 전곡립을 활용한 곡류 제면 제품의 건강 기능성 개선

- 천연 폴리페놀계 화합물의 효율적 추출공정 확립 및 지표 폴리페놀 성분 구조 동정
- 폴리페놀 및 전곡립 기능성 소재의 생리적 기능성 평가 및 가공 안정성 탐색
- 폴리페놀-단백질 상호작용 기작 탐색 및 폴리페놀/전곡립을 활용한 곡류 제면 제품의 특성 평가

- 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립의 글루텐 기능 구현을 통한 곡류 제면 제품의 가공 유효성 개선

- 글루텐 기능 구현을 위한 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립 소재의 가공 물성 평가
- 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립을 활용한 제면 적성 개선
- 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립을 활용한 제면 가공 신기능성 부여

V. 연구개발결과

1. 폴리페놀계 천연소재 및 전곡립을 활용한 건강 기능성 개선 방안 탐색을 위하여 복분자, 오디, 녹차, 오가자를 추출하는 조건 중 초기 pH, 극성, 온도를 달리하여 반응표면분석을 이용하여 최적 추출조건을 확립하였다. 추출물별 지표 폴리페놀 선정 및 구조 동정은 HPLC-PDA 로 프로파일링하여 진행하였다. 베리류의 주요물질은 공통적으로 520 nm에서 주요물질이 분리 되었으며, 520 nm에서 분리된 피크는 안토시아닌 계열의 물질이라 예상이 되었으며, 녹차의 주요물질 분리 파장영역은 230, 280 nm이었다. 이를 바탕으로 LC-MS/MS 분석을 통해 폴리페놀 추출물의 주요성분 분석을 진행하였으며, 복분자에선 negative ion mode에서

cyanidin-3-rutinoside, rutin 등이 동정되었으며, positive ion mode에서 cyanidin 계열의 화합물들이 동정되었다. 오디에서는 negative mode, positive mode 모두 cyanidin 계열의 화합물이 동정되었다. 녹차의 경우 negative mode와 positive mode에서 모두 catechin 계열의 화합물이 동정되었다.

2. 폴리페놀계 천연소재와 함께 복합체 형성을 위해 전곡립 추출액의 총 페놀함량을 측정하였다. 추출온도가 높을수록 폴리페놀 추출이 잘 되었고, 발아보리가 수수에 비해 추출물의 총 페놀함량이 높게 나타났으며, LC-MS/MS를 이용하여 지표폴리페놀을 선정하였다. 또한 귀리, 수수, 완두단백의 아미노산 조성을 각각 분석하였으며, 폴리페놀 및 전곡립 추출물의 DPPH, ABTS 라디칼 소거능 측정을 통하여 항산화 활성 평가하였고, 추출온도가 높을수록 라디칼 소거능이 높은 것을 확인할 수 있었다. 또한 라디칼 소거능의 온도, 빛, 산에 대한 안정성에 대하여 관찰하였다. 녹차추출물의 경우 온도가 높을수록, pH가 낮을수록, 형광보단 UV조사 조건에서 저장할수록 불안정하였으며, 오디추출물 역시 온도가 높을수록, pH 낮을수록 라디칼 소거능이 감소하였으나 녹차추출물에 비해 빛 노출에 비교적 안정하였다.

3. 또한 총 페놀함량 측정을 통하여 폴리페놀-단백질 조합별 상호작용 정도를 확인하였으며, 분리완두단백과 오디추출물 간의 상호작용, gelatin과 tannic acid 사이의 상호작용은 온도가 낮을수록 잘 일어나는 것을 확인할 수 있었으며, 분리완두단백과 녹차추출물 간의 상호작용은 고온에서 잘 일어나는 것을 확인할 수 있었다. 또한 단백질 가수분해효소를 첨가할 경우 폴리페놀-단백질 간의 상호작용을 저해하는 것을 확인하였다.

4. Metabolomics를 활용하여 제면 과정 중 단백질과 상호작용하는 오디 및 녹차 추출물 함유 폴리페놀 대사체 선별을 진행하였다. 그 결과 녹차 폴리페놀 추출물에서는 주로 tannin계열의 화합물들이 단백질과 상호작용하여 면대 형성에 기여하는 것으로 확인되었고, 그 중 procyanidin계열 대사체가 주요한 역할을 하는 것으로 나타났다. 오디 폴리페놀 추출물에서는 주로 anthocyanin계열의 화합물들이 단백질과의 작용으로 면대 형성에 도움을 주는 것으로 확인되었고, cyanidin과 그 배당체 물질들이 주요 대사체로 작용하는 것으로 분석되었다.

5. 폴리페놀과 전곡립 활용에 따른 반죽특성을 분석하였으며, 면 반죽은 쌀가루가 첨가되었을 때 점도가 높아졌으며, 추가로 단백질을 첨가할 경우 점도가 낮아졌다. 또한 오디추출물을 첨가할 경우 당의 영향으로 인하여 점도가 낮아졌으며, 노화정도 역시 줄어들었다. 그리고 면 반죽의 열적특성을 관찰하였으며, 밀가루 함량이 줄어들고, 폴리페놀 추출물을 첨가하였을 때 호화개시온도가 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 또한 오디추출물을 첨가하였을 때 당의 영향으로 인하여 엔탈피변화량이 감소하는 것을 볼 수 있었다. 다음은 FE-SEM을 이용하여 면 표면의 구조적 특성을 확인하였으며, 대조군에 비해 단백질과 폴리페놀추출물을 첨가하였을 때 폴리페놀-단백질 상호작용으로 인하여 구조가 촘촘히 형성된 것으로 관찰된다. X-ray 회절을 통해 면 반죽의 결정구조 역시 관찰해 보았으며, 여러 전분이 섞임에 따라 intensity가 낮아지는 것을 확인할 수 있었으며, 폴리페놀-단백질 상호작용이 반죽 내 전분의 결정형에는 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 면의 텍스처 특성도 분석을 해보았으며, 단백질과 폴리페놀추출물을 첨가할 경우 면의 탄성이 증가하는 경향을 보였으나, 밀가루 함량이 줄어들어 따라 점성이

감소하는 것을 확인하였다.

6. 전곡립과 폴리페놀 활용에 따른 제면 제품의 새로운 가공 기능성에 대한 탐색을 실시하였다. 그 결과, 압출면 공정에서 기인한 cooking loss를 저감화할 수 있는 방법에 대하여 연구하였고 특히, 공정 변수, 배합 원료, 물리적, 효소적 처리 등을 적용하여 cooking loss를 저감화할 수 있는 방법을 제시하였다. 아울리, 전곡립/폴리페놀 사용에 따른 압연면의 흡유 특성을 분석하였고 그 결과 내부 구조를 치밀하게 하여 대조구에 비하여 흡유량을 감소시켜 저지방, 저칼로리 압연면을 제조할 수 있는 가능성을 제시하였다. 또한, 가속 저장 중 압연면의 산패도를 측정하여 녹차추출물이 첨가되었을 때 추출물 내의 폴리페놀의 항산화효과에 의한 압연면 내의 유지가 산패 지연됨을 확인할 수 있었으며, 또한 현미를 사용한 압연면에서도 산패 지연 효과가 관찰되었다.

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

- 폴리페놀계 천연소재 및 전곡립을 활용한 건강 기능성 개선 방안 탐색
- 폴리페놀계 화합물과 식품 단백질간의 상호작용을 통한 제면 제품 가공적성 향상 및 건강 기능성 향상
- 건강 기능성 확보된 폴리페놀, 단백질 급원 적용을 통해 제면을 위한 글루텐 대체 소재 개발
- 폴리페놀 및 전곡립을 활용한 제면 제품의 품질 개선으로 제면 산업 기술 발전에 기여
- 식품 산업 분야에 활용이 용이한 다양한 형태의 폴리페놀 천연 신소재 개발
- 밀가루의 글루텐 대체 소재로서 전곡립을 활용한 다양한 식품 소재의 개발 및 가공적성 향상을 통한 신수요 증대

SUMMARY

(영문 요약문)

I. Title

Process development of health functional gluten-free noodles by utilizing natural polyphenols and whole grains.

II. Objectives

In an effort to improve processability and health benefit of noodle products, the interaction between plant-derived polyphenols and proteins was applied to develop gluten-free rice noodles. Also, whole cereals as valuable sources of polyphenols and proteins were applied to produce noodles for investigating their quality and health functionality.

III. Results

Food allergies and food intolerances are a growing public health concern causing higher consumer demand of products that are tailored to meet special dietary requirements. Especially the market for gluten-free and free-from foods has gradually increased. In order to meet the dynamic growth trends taking place in the gluten-free market it is important to develop alternative ingredients of gluten.

In this study, the potential of the protein-polyphenol interaction was applied to cross-linking reinforced protein networks in gluten-free instant whole grain noodles. Specifically, inter-component interaction between soy protein isolate and extract of some Korean berries and green tea extracts were examined with a view to improving rheological, cooking properties and health functional quality of instant whole grain noodles.

Prior to treatment of protein isolate and polyphenol extract on noodle, the condition of polyphenol extract from berries and green tea was optimized using RSM. Optimal extraction conditions of polyphenols from four different sources such as bokbunja, mulberry, green tea leaf, and ogaja were established by applying different initial pH, temperature, and polarity of extraction solvent through response surface methodology (RSM). The greatest amount of total phenolic compounds (mg GAE/10 g) from bokbunja were extracted at pH 7.25 and 65.95°C with a yield of 26.17. Among 4 different plants, the greatest yield (86.39 mg GAE/10 g) of total phenolics was obtained from green tea leaf.

In a components-interacting model system, a mixture of protein isolate (PI) and polyphenol extract (PE) made some haze. Major anthocyanin of mulberry are cyanidin and its glycoside such as cyanidin-3-glucoside and cyanidin. And major antocyanin of green tea are tannin compound such as procyanidin B2-gallate and procyanidin trimer. These major compound sparsely interacted with PI and support noodle formation by polyphenol-protein complex.

By adding rice flour in noodle dough formulation, the resulting dough showed greater

viscosity while this parameter decreased by adding proteins. Mulberry extract caused viscosity drop and less retrogradation of rice-added noodle dough possibly due to high amount of sugar in the extract. Thermal transition property of noodle dough indicated that its gelatinization temperature increased by adding proteins and polyphenols. Interaction between protein and polyphenol did not affect crystalline form of starch in dough but elasticity of noodle increased obviously. Cooking loss of rice noodle increased by decreasing proportion of wheat flour in the dough formulation while the rice noodle enforced with both protein and polyphenol showed less cooking loss caused by dense network through polyphenol-protein interaction. Our results suggested the potential for utilizing protein-polyphenol interaction for gluten-free rice noodle production.

CONTENTS

Chapter 1. Overview of research	11
Chapter 2. Current status of domestic and foreign technologies	23
Chapter 3. Contents and results	26
Section 1. Development of fundamental technology for whole grain noodles manufacturing process and establishment of polyphenol extractions process	
Section 2. Investigation of stability in processing using whole grain and natural derived polyphenol	
Section 3. Evaluation of processability and health benefit of prototype	
Chapter 4. Research goal attainment and contribution to related area	196
Chapter 5. Research outcome and utilization plan	200
Chapter 6. Overseas science and technology information	203
Chapter 7. Current status of research instrument or equipment	205
Chapter 8. Laboratory safety management performance	206
Chapter 9 References	208

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 및 성과목표	11
	* 연구개발의 목적, 필요성 및 범위 등을 기술	
	* 연구성과 목표 대비 실적	
제 2 장	국내외 기술개발 현황	23
	* 국내·외 관련분야에 대한 기술개발현황과 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치 등을 기술	
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	26
	* 이론적, 실험적 접근방법, 연구내용, 연구결과를 기술	
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	196
	* 연도별 연구목표에 입각한 연구개발목표의 달성도 및 관련분야의 기술발전에의 기여도 등을 기술	
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	200
	* 실용화·산업화 계획(기술실시 등)	
	* 교육·지도·홍보 등 기술확산 계획 등	
	* 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등	
	* 추가연구, 타연구에 활용 계획 등	
	* 연구기획사업 등 사업별 특성에 따라 목차는 변경 가능함	
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	203
제 7 장	연구시설·장비 현황	205
	* 도입·개발한 연구시설·장비 현황 및 국가과학기술종합정보시스템 장비 등록번호를 기술	
제 8 장	연구실 안전관리 이행실적	206
	* 연구수행 기간 중 소속 기관의 연구실 안전관리 관련 규정에 따른 이행실적(자체양식)	
제 9 장	참고문헌	208
	* 보고서 작성 시 인용된 모든 참고문헌을 열거	
<첨부>	특허, 논문 및 시장분석 보고서	214

제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

제 1절 연구개발 목적

◦ 최종목표

최근 밀가루 대체 소재로서 다양한 곡류를 활용한 가공식품 응용 연구가 확대되고 있는 가운데, 천연 식품소재의 적용을 통하여 건강 기능성 및 가공적성이 향상된 신 기능성 곡류 응용 제품을 개발함으로써 곡류 가공식품 산업의 활성화를 최종 목표로 하였다. 이를 위하여 식물체 유래 천연 polyphenol 성분의 추출, 지표성분의 구조 분석, 기능성 평가를 수행하고, 이를 토대로 제면 공정에서의 건강 기능성 소재로 활용함과 동시에 글루텐 대체 기능 구현을 통한 곡류 제면 제품의 품질 향상 시스템을 구축하고자 하였다.

[제1 세부과제]

폴리페놀 천연 소재 및 전곡립을 이용한 고부가 제면 공정 확립 및 제품 개발

- 연구개발 목표
- 폴리페놀 및 전곡립을 활용하여 신기능성 곡류 제면 제품 생산을 위한 공정을 확립하고, 이를 토대로 소비자의 선호도를 개선시킬 수 있는 건강 지향적 제면 제품을 출시하고자 하였다.

[제 1 위탁과제]

Metabolomics 기반 폴리페놀 대사체 및 가공 중 변이 분석

- 연구개발 목표
- Metabolomics 기반 분석방법을 이용하여 전곡립 및 천연물에 함유된 폴리페놀 대사체를 분석, profiling하고, 가공 중 변이를 다변량통계분석법으로 분석하여 효율적 가공 공정 확립의 기초 자료를 제공하고자 하였다.

[제1 협동과제]

폴리페놀계 천연소재 및 전곡립을 활용한 곡류 제면 제품의 건강 기능성 개선

- 연구개발 목표
- 폴리페놀계 화합물과 식품 단백질간의 상호작용 특성을 바탕으로 글루텐 대체 소재 및 가공 기술 개발 가능성을 탐색하여 제면 제품 가공적성 향상과 함께 건강 기능성 향상을 목표로 하였다. 또한 건강 기능성이 기 확보된 곡류의 적용을 통해 폴리페놀류 혹은 단백질 급원으로서의 가치를 제면을 위한 글루텐 대체 소재 개발 가능성에 초점을 두어 탐색하고자 하였다.

[제2 협동과제]

폴리페놀 천연 소재 및 전곡립의 글루텐 기능 구현을 통한 곡류 제면 제품의 가공 유효성 개선

◦ 연구개발 목표

- 폴리페놀 및 전곡립 소재의 가공적성 구멍을 토대로 글루텐 기능 구현을 위한 물리적/효소적 처리 및 이를 통한 제면 적성 개선을 목표로 하였다. 아울러, 기존의 제면 제품과는 차별화될 수 있는 새로운 가공 기능성을 부여함으로써 보다 다양한 제면 제품으로서 응용 가능성을 제시하고자 하였다.

제 2절 연구개발 필요성

전곡립이란 곱게 정제된 곡물이 아니라 식용이 불가능한 부분만 제거한 거친 상태의 곡물을 말하며, 곡류는 전분 섭취의 주된 근원이지만, 전곡립에는 비타민, 미네랄, 아미노산, 식이섬유 등의 기능성 물질들을 다량함유하고 있다. 특히 항산화 물질 등 생리활성 물질의 70-80% 정도가 곡류 종실 껍질 부분에 치우쳐 존재하고 있다.

따라서, 전곡립을 섭취할 경우 심장병, 뇌졸중 등 혈관질환뿐 만 아니라, 당뇨병, 비만, 암 등의 발병위험을 크게 감소한다는 연구결과들이 잇따라 발표되고 있다. 이에 따라 미국 FDA는 30 g의 전곡립을 하루에 세 번 섭취 시 심장병과 당뇨병 예방에 도움이 된다고 전곡립의 섭취를 권장하고 있다.

특히, 전 세계적으로 인구 100명당 1명이 밀단백질에 의한 셀리악병 (celiac disease)으로 고통 받고 있기 때문에 이러한 알러지를 유발하는 밀가루의 사용을 줄이려는 제품 개발 노력이 활발히 진행 중이다.

따라서, 밀가루 대체와 관련된 연구에서 가장 큰 문제점은 밀가루에 포함된 글루텐이란 단백질의 역할을 대신할 수 있는 소재가 아직까지 발견되지 않아 제품의 물성 구현 및 구조 형성이 매우 어렵다. 따라서, 밀가루를 대체하기 위해서는 gluten의 작용을 대체할 수 있는 글루텐 대체 소재 (gluten-like materials)이 매우 필요하다. 이에 따라, 전 세계적으로 밀가루 글루텐의 역할을 대신할 gluten 대체 소재를 개발하기 위하여 많은 노력을 기울이고 있다.

Polyphenol에 관한 연구는 주로 항산화 활성에 초점을 맞추어 다양한 원료 및 추출 방법에 따른 생리활성 연구가 대부분을 이루고 있으며, 이와 같은 생리활성 연구를 토대로 polyphenol은 우수한 건강 기능성 식품 소재로서의 가치는 충분히 있다. 그러나 이에 비하여 polyphenol의 산업적 측면에서의 식품가공에의 활용성은 아직까지 매우 제한적이다.

Polyphenol은 식빵 등의 비교적 단순한 식품 시스템에서 미흡하게나마 이용되고 있을 뿐 다양한 식품 응용연구는 드문 실정이며, 그나마 polyphenol 성분을 함유한 원료를 단순 첨가, 배합한 제품 응용 연구만이 보고되고 있는 실정이다.

식품 물성학적 측면에서도 polyphenol 함유 식품의 단순 텍스처 분석, 관능평가 등에 주로 초점을 맞추고 있고, 이를 과학적으로 설명하기 위한 식품 매트릭스내에서 polyphenol의 이화학적 특성 및 물성에 미치는 영향에 관한 체계적인 연관성을 탐색한 연구는 전무한 실정이다.

제 3절 연구개발의 범위

본 연구에서는 천연 폴리페놀계 화합물을 효율적으로 추출하는 공정 확립 및 지표 폴리페놀 성분 구조를 동정하고자 하였으며, 폴리페놀 및 전곡립 기능 소재의 생리적 기능성 평가 및 가공 안정성을 탐색하였고, 폴리페놀-단백질 상호작용기작 탐색 및 폴리페놀/전곡립을 활용하여 곡류 제면 제품의 특성을 평가하였다.

본 연구결과로부터 폴리페놀 및 전곡립 소재를 식품에서 응용하기 위한 다양한 가공 적성 자료를 분석 제시하였고, 이를 활용하여 실제 제면 제품을 제조하였다. 특히, 압출면에서 문제가 되고 있는 조리용출도를 저감시킬 수 있는 방법을 제시하였고, 유탕 압연면의 경우 유탕 중 흡유량을 감소시키고 산패를 지연시킬 수 있는 기술을 개발하였다.

또한 대사체학 기반 분석법을 이용하여 전곡립 및 천연물에 함유된 폴리페놀 대사체를 분석, profiling하고, 가공 중 변이를 다변량통계분석법으로 분석하여 효율적 가공 공정 확립의 기초 자료를 제공하는 것을 세부 목표로 하였다.

[제1 세부과제]

[1차년도]

- 곡류 제면 제조를 위한 압출성형장치의 설비 개선
- 이축압출성형기 (twin-screw extruder)를 사용하여 곡류 압출면 제조를 위하여 장치 설비를 개선하였다. 특히, screw 배열 및 die 형태의 제어를 통하여 곡류 제면 특성을 개선하고자 하였다.

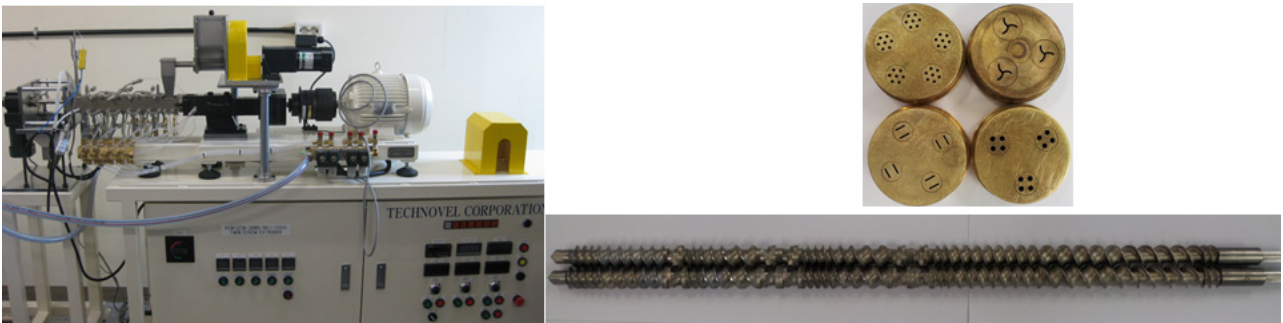


그림 1. Twin screw extruder, die, screw 형태.

- 곡류 제면을 위한 전처리 및 압출 공정 변수 제어
- 곡류 원료의 상태에 따른 압출공정 후 제면 특성을 분석하기 위하여 곡류 분말 소재의 수분 함량 및 호화도, 입도 등의 전처리를 변화시켰다.
- 아울러, 압출 성형기의 운영 공정 변수인 투입량, 온도, 머무름 시간 등 제어하여 압출 후 제면 특성을 분석하였다.

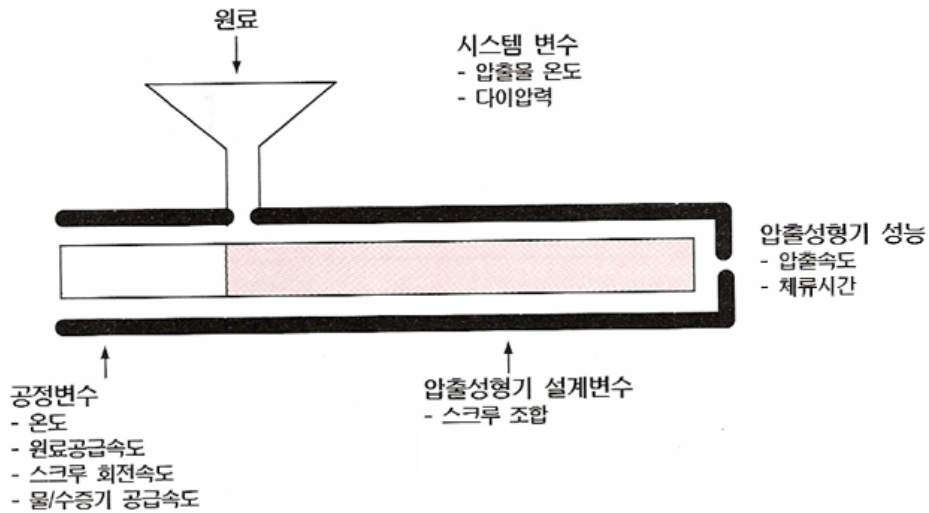


그림 2. 압출공정 변수.

[제1 세부과제(계속)]

[2차년도]

- 폴리페놀 및 전곡립 소재의 제면 적용을 위한 배합별 제면 특성 평가
- Mixolab을 사용하여 폴리페놀 및 전곡립 (현미, 통밀 보리 등) 분말 배합 시 제면 특성을 Micro-Macro 소재 변형법을 사용하여 분석하였다.

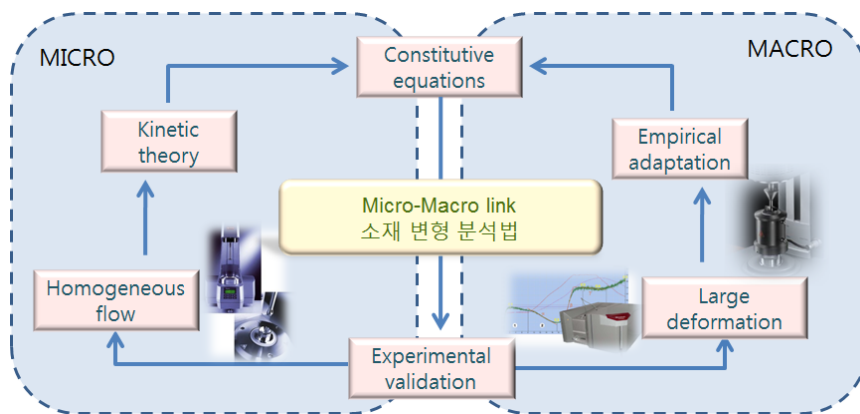


그림 3. 다각적 물성 분석법.

- 폴리페놀 및 전곡립 원료별 제면 시제품 생산
- 1 및 2협동과제에서 제시된 기초 자료를 토대로 하여 폴리페놀 원료별, 전곡립 원료별(현미, 통밀, 보리 등) 압출면 제조 조건을 확립하여 시제품을 생산하였다.
- 경제성, 원료수급 용이성 등을 고려하여 글루텐 대체 소재 개발 대상 원료 선정



그림 4. 압출면 제조.

[3차년도]

- 폴리페놀 및 전곡립 제면 시제품의 조리 전후의 식품학적 품질 특성 평가
 - Texture analyzer를 사용하여 tensile 및 compression test를 통하여 조리 전후의 제면 텍스처를 평가하고, 색도는 색도계를 사용하여 L, a, b값과 색의 변화 정도를 나타내는 ΔE 값을 구하여 평가하였다.
 - 아울러, 시제품을 조리 후 전분용출도, 탁도, 수분 흡습도, 팽창률 등을 분석하였다.
- 폴리페놀 및 전곡립 제면 시제품의 관능테스트 및 선호도 조사
 - 폴리페놀 및 전곡립을 활용한 제면 시제품의 관능평가를 9점척도법을 사용하여 시행하였다.
 - 아울러, 제조된 시제품의 소비자 선호도 조사를 실시하였다.

[제1 협동과제]

[1차년도]

- 폴리페놀 화합물 추출조건 탐색 및 추출 최적화
 - 폴리페놀 추출 대상 천연소재 선정: 복분자, 오디, 녹차 등 유래 폴리페놀류 화합물
 - 가용성 폴리페놀 화합물 추출조건 탐색: 건물량 200 g 기준 식물체 원료를 1 L 추출용매를 이용하여 4 ° C 혹은 25 ° C에서 1 시간 동안 침지하였다. 과실 잔유물은 감압여과를 통해 제거하고, 폴리페놀 추출물은 필요에 따라 회전증발농축기를 이용하여 농축하였다. 추출 pH는 0.01% HCl 수준의 약산성 영역과 중성 영역에서 수행하며, 추출용매별 극성은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Polarity index of the solvent mixture} = \Phi_A P_A + \Phi_B P_B$$

$$\Phi_A = \text{용매A의 분율}, P_A = \text{용매A의 극성}$$

추출용매로는 물, 에탄올, 메탄올 및 이들의 혼합액을 활용함. 추출된 총 페놀화합물 함량은 Folin-Ciocalteu' s 방법을 이용해 결정하며 gallic acid 상당량으로 제시하였다.

- 폴리페놀 추출물 중 지표성분 선정 및 구조 동정
 - 지표성분 특성에 따른 HPLC 정량분석조건을 확립하여 지표 페놀성 화합물을 중심으로 하는 활용 식물체별 폴리페놀 화합물 분포를 분석하였다. 분석용 컬럼으로는 C18 컬럼을

활용하고 물과 아세트니트릴의 용출용매 비율에 따른 분석조건을 최적화하였다. 검출방법으로는 photo-diode array를 채택하여 흡광 특성을 파악함. 1차 폴리페놀 프로파일링이 HPLC 분석에 의해 완성되면 LC-MS 분석을 이용한 지표 성분에 대한 구조분석을 수행하였다. Cone voltage 범위는 75-180 eV, capillary voltage는 4 kV 조건을 기준으로 필요시 변경하였다.

- 지표 폴리페놀 성분의 고순도 정제 및 결합양식 분석: 필요에 따라서 지표 폴리페놀 화합물의 분취를 위해 recycling prep HPLC를 이용하여 고순도 폴리페놀 단일 성분을 정제하며, 이의 화학적 구조를 NMR 분석을 통해 진행하였다. ^1H - and ^{13}C -NMR 스펙트럼은 600 MHz NMR을 이용하여 298 K에서 진행되며, 정제된 폴리페놀 화합물은 분석을 위해 $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{D}:\text{CD}_3\text{OD}=1:19$ (v/v)의 용매에 녹여 사용하였다.

[2차년도]

- 전곡립 유래 폴리페놀류 및 단백질 추출 및 특성 탐색
 - 발아 보리 (폴리페놀 급원), 수수 (단백질 및 폴리페놀 급원) 등의 지표 폴리페놀 화합물 선정 및 정량 분석 수행하였다. 아울러 ortho-phthalic dicarboxaldehyde(OPA)의 1차 아민 수식방법을 활용한 유도체화 기법을 이용하여 식물체 유래 단백질의 아미노산 조성 프로파일링 수행하였다. C18 컬럼을 활용하고 60 mM potassium phosphate buffer (pH 6.65)와 methanol-isopropyl alcohol-acetonitrile 혼합용매를 용리구배를 결정하여 정량 분석하였다.
 - 폴리페놀 추출조건은 1차년도 가용성 폴리페놀 화합물 추출조건을 활용하며, 단백질 추출은 알칼리추출법을 기준으로 채택하며 필요에 따라 추출법을 변경하였다.
- 폴리페놀 추출물 및 전곡립의 *in vitro* 항산화 활성 평가
 - DPPH법과 ABTS법을 병용하여 자유라디칼 소거능을 분석하여 항산화 활성능을 평가하고자 하였다. DPPH법에 의한 항산화 활성능은 free radical 생성 Inhibition (%) = $[1 - (\Delta\text{abs of sample} / \Delta\text{abs of control})] \times 100$ 으로 제시되며, ABTS 래디칼 소거능은 시료의 734 nm 파장에서 감소시키는 흡광도 변화의 양으로 판단하였다.
- 폴리페놀 추출물 및 전곡립의 가공 안정성 평가
 - 다양한 식물체 및 전곡립 유래 폴리페놀 화합물의 화학구조적 안정성을 평가하기 위해 4-80 ° C 범위에서의 열안정성을 측정하였고, 형광(5,000 lux) 및 자외선(253.7 nm, 2.1 mWcm⁻²) 조사를 통해 빛의 노출에 대한 영향을 평가하였다. pH에 따른 영향은 약산성 영역인 3.0 및 중성 영역에서 실시하였다.

[3차년도]

- 폴리페놀-단백질 간 상호작용 특성 탐색
 - 폴리페놀-단백질 조합별 haze formation을 통한 분광학적 탁도 수준 비교: 0.01-0.1%(w/v) 수준의 폴리페놀 추출물과 동일 농도 범위내에서의 단백질 용액과의 혼합을 통해 저온(4 ° C), 상온(25 ° C), 고온(40 ° C)에서 24 시간 동안 탁도 형성의 경시적 변화를 관찰하였다. 강력한 탁도를 형성하는 모델 시스템으로 잘 알려진 gelatin과 tannic acid를 positive control로 이용하였다. Haze 형성능은 가시광선 영역의 660 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 판단하였다.

- 형성된 haze가 단백질과의 상호작용을 통해 이루어진 것을 확인하기 위하여 다양한 단백질 가수분해효소를 적용하여 폴리페놀-단백질 상호작용의 저해효과를 평가하였다.
- 제면 시 폴리페놀/단백질 급원으로서의 기능성 전곡립 첨가 효과 평가
- 제면시 폴리페놀 첨가량 혹은 단백질 첨가량에 기준을 맞춰 제면 파우더의 배합비를 설정하고, 제1 세부과제를 통해 확립된 제면 공정을 통해 제조된 면 제품의 이화학적 특성(호화 특성-DSC분석, 점도특성-RVA분석 등) 및 구조적 특성(전분구조의 변화 및 단백질 구조의 변화) 파악하였다.
- 폴리페놀-단백질-전이효소처리 복합공정에 따른 제면 특성에 미치는 영향 탐색
- 전이효소처리 복합공정에 따른 제면 파우더의 배합비를 설정하고, 제조된 면 제품의 이화학적 특성(호화특성-DSC분석, 점도특성-RVA분석 등) 및 구조적 특성(전분구조의 변화 및 단백질 구조의 변화) 파악하였다.

[제2 협동과제]

[1차년도]

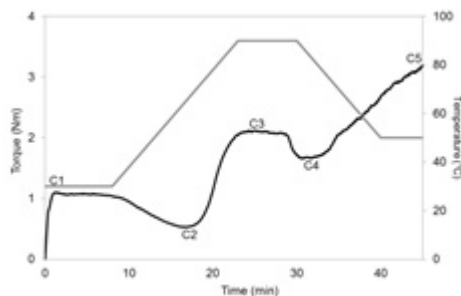
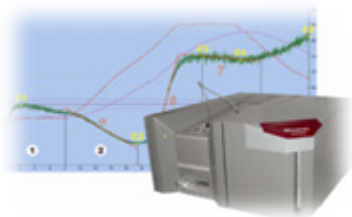
- 폴리페놀 및 전곡립 소재별 제면 반죽 형성능 분석
- 폴리페놀 및 전곡립 소재(현미, 보리 등)의 반죽 형성을 위한 수화능을 측정하기 위하여 수분흡수능(WAI; water absorption index), 용해도(WS; water solubility), 팽윤력(SP; swelling power)은 아래의 식에 의해서 계산하였다.

$$\text{Water absorption index (WAI)} = \text{Wet sediment weight} / \text{Sample weight}$$

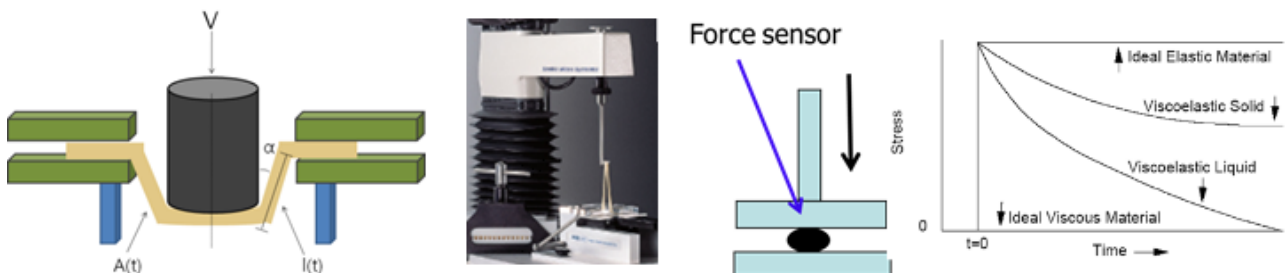
$$\text{Water solubility (WS, \%)} = \text{Residue weight} / \text{Sample weight} \times 100$$

$$\text{Swelling power (SP)} = \text{Wet sediment weight} / \text{Sample weight} \times [1 - (\text{WS} / 100)]$$

- 폴리페놀 및 전곡립 소재의 기초 물성 분석을 위하여 starch pasting cell을 사용하여 현탁 반죽 물성을 Mixolab을 활용하여 도우 반죽 물성을 분석하였다. Starch pasting cell을 사용하여 샘플을 10.7%농도로 만들어 50 °C에서 1 분 동안 유지하고 3.75 분 동안 95 °C까지 증가시킨 다음 95 °C에서 2.5 분간 유지시키고, 다시 3.75 분 안에 50 °C까지 낮추었고 50 °C에서 5 분간 유지시키면서 온도에 따른 점도 변화를 모니터링하였다.
- 도우 반죽의 물성 분석을 위하여 Mixolab을 사용하여 시료 분말을 120 rpm으로 30 °C에서 8 분간 dual-mixing한 후, 4 °C/min의 속도로 90 °C로 올린 후 7 분간 유지시켰다. 그 후, 4 °C/min의 속도로 50 °C로 온도를 내린 후 10 분간 mixing하여 측정되는 torque 값을 기록하여 반죽 특성을 분석하였다.



- 물리적/효소적 복합 처리를 통한 글루텐 기능 구현 가능성 평가
 - 전곡립 소재의 다양한 Thermo-mechanical 공정 (압출성형, 스팀처리, autoclaving 등) 처리에 따른 반죽 특성 및 신장력 분석
 - 효소 처리 (Transglutaminase 등) 및 반응 조건 (반응 온도, 반응시간 등)에 따른 반죽 특성 및 신장력 분석
- 다각적 물성법을 통한 제면 형태에 따른 글루텐 기능 구현 평가
 - 아울리, Texture analyzer로 일정한 두께와 지름을 가진 고미 dough를 지름 1 cm의 cylindrical probe를 이용하여 속도 100 mm/min으로 Planar extensional test를 실시하였다. Tensile test는 Kieffer extensibility rig를 이용하여 속도 3.3 mm/s, test distance는 50 mm로 신장 점도를 측정하며 Stress relaxation test를 점탄성 측정으로 압출면의 글루텐 기능 구현 가능성을 평가하였다.



[2차년도]

- 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립을 활용한 가용성물질 용출도 개선
 - 폴리페놀 및 전곡립 소재를 활용하여 제면 후 면(10 g)을 150 ml의 끓는 물에 넣고 10 분간 조리한 후 그 무게를 재고, drying 시킨 후의 무게를 잰 다음 체로 걸러낸 여과액을 105 °C에서 건조하여 남은 잔사의 무게를 측정하였다. 그 후, 아래 식을 사용하여 가용성물질의 조리 특성을 측정하였다.
 - Swelling index = (weight of cooked product - weight after drying)/weight after drying
 - Water absorption = (weight of cooked product - weight of raw product)/weight of raw product x 100
 - Cooking loss(%) = Residue in cooking water (g)/ Noodle weight before cooking (g) x 100
- 폴리페놀 화합물 및 전곡립을 활용한 제면 제품의 복원력 개선
 - 폴리페놀 및 전곡립 소재별 제면 제품의 열/물질전도도 측정을 통한 조리 시간 단축
 - 폴리페놀 및 전곡립 소재별 광학 분석을 통한 내부 구조 제어를 통한 조리 중 제면 복원력 개선

[3차년도]

- 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립을 활용한 압연면의 흡유 저감 효과 분석
 - 폴리페놀 및 전곡립 소재의 식용유지 (콩기름, 올리브유, 해바라기씨유, 포도씨유, 카놀라유 등)에 대한 유지흡착능을 측정하였다.

- 폴리페놀 및 전곡립 소재의 배합에 따른 압연면을 제조한 후, 유당처리에 따른 수분 손실도 및 흡유 정도를 soxhlet 방법을 사용하여 분석하였다.
- 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립 활용에 따른 압연면의 산패도 지연 효과 분석
- 폴리페놀 및 전곡립 소재 종류를 달리한 압연면의 제조 후 저장 중 유지 산패도 분석을 통한 유지 산패 지연 효과 탐색
- 폴리페놀 및 전곡립 소재 함량을 달리한 압연면의 제조 후 저장 중 유지 산패도 분석을 통한 유지 산패 지연 효과 탐색

제 4절 연구성과 목표 대비 실적

성과목표	사업화지표								연구기반지표								
	지식 재산권		기술이전	사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책·홍보		기타 (타 연구용 등)
	출원	등록		제품화	기술창업	매출창출	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
			SCI						비SCI								
최종목표	4	1	1	2					2	2							
연구기간 내 달성실적	4	1	0	0					5	2	15		9				
달성율(%)	100	100	0	0					250	100							

1. 논문게재 성과

- 가. Effect of dry- and wet-milled rice flours on the quality attributes of gluten-free dough and noodles. 2013. Journal of Food Engineering. 116(213-217)
- 나. Quality improvement of rice noodle restructured with rice protein isolate and transglutaminase. 2014. Food Chemistry. 145(409-416)
- 다. Optimizing conditions for extracting polyphenols and antioxidant activities from Korean berries and green tea. 2014. Food Science and Technology. 46(410-417)
- 라. Utilization of Lentinus edodes mushrooms b-glucan to enhance the functional properties of gluten-free rice noodles. 2014. LWT- Food Science and Technology. 55(627-631)
- 마. Functional Characterization of Brown Rice Flour in an Extruded Noodle System. 2014. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 57(435-440)
- 바. Development of a gluten-free rice noodle by utilizing protein-polyphenol interaction between soy protein isolate and extract of Acanthopanax sessiliflorus. 2015. Journal of the

Science of Food and Agriculture. (Accepted)

사. Utilization of brown rice flour as a functional ingredient in instant fried noodles. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. (published on-line)

2. 학술발표 성과

가. 한국식품과학회(천안, 한국)

① Optimization of polyphenol extraction from Korean berries and green tea and identification of major polyphenol compounds. 2013. 한국식품과학회 (천안, 한국)

② Utilization of brown rice flour as a gluten-free ingredient in extruded noodles. 2013. 한국식품과학회 (천안, 한국)

③ Non-targeted profiling of polyphenol metabolites in various polyphenol-rich food using LC-ESI-Ion trap-MS/MS. 2013. 한국식품과학회 (천안, 한국)

나. 한국산업식품공학회(전주, 한국)

① Metabolomic profiling of protein precipitating polyphenols in mulberry (*Morus bombycis* var. *rubricaulis* UYEKI) using LC-ESI-Ion trap-MS/MS. 2013. 한국산업식품공학회 (전주, 한국)

다. IFT (Chicago, USA)

① Effect of brown rice flour on the quality attributes of gluten-free extruded noodles. 2013. IFT (Chicago, USA)

② Production of a high quality rice noodle by utilizing polyphenol-protein interaction between ogaja extract and soy protein isolate. 2013. IFT (Chicago, USA)

라. 한국식품과학회 (광주, 한국)

① Development of gluten-free rice noodle by utilizing protein-polyphenol interaction between pea protein isolate and the green tea extract. 2014. 한국식품과학회 (광주, 한국)

② Effect of emulsifiers on the quality attributes of extruded brown rice noodles. 2014. 한국식품과학회 (광주, 한국)

마. 한국산업식품공학회 (서울, 한국)

① Effect of extrusion variables and hydrocolloids on the cooking quality of extruded rice noodles. 2014. 한국산업식품공학회 (서울, 한국)

바. IUFoST (Montreal, Canada)

① Metabolomic profiling of protein precipitating polyphenol in green tea using LC-ESI-Ion trap-MS/MS. 2014. IUFoST (Montreal, Canada)

② Optimizing extraction and identification of polyphenols in Korean mulberry, raspberry and green tea and their relationship with antioxidant activities. 2014. IUFoST (Montreal, Canada)

③ Utilization of brown rice flour as a gluten-free ingredient for health-functional extruded noodles. 2014. IUFoST (Montreal, Canada)

사. 한국식품과학회 (부산, 한국)

① Combined effect of Transglutaminase and Polyphenol Extracts on the Rheological and Noodle-Making Properties of Wheat flour. 2015. 한국식품과학회 (부산, 한국)

② Metabolomic analysis for the contribution of polyphenol extracts in rice noodle preparation. 2015. 한국식품과학회 (부산, 한국)

아. Whole grain summit (Portland, USA)

① Impact of whole-grain flour on the rheology, oil-resisting property, and in vitro starch digestibility of instant noodles. 2015. Whole grain summit (Portland, USA)

3. 특허 성과

가. 버섯 유래 식이섬유를 포함하는 쌀 반죽 또는 이로부터 제조된 쌀 면
(출원: 10-2013-0060855, 등록: 10-1519606)

나. 현미 압출면의 제조방법
(출원: 10-2013-0064841)

다. 아임계 가속용매추출법을 이용하는 베리류 및 녹차 추출물이 포함된 가공적성이 증진된 면류의 제조방법 및 이를 활용한 면류 제품
(출원: 2014-0066743)

라. 제인을 함유하는 쌀면 및 그 제조방법
(출원:10-2015-0109586)

4. 기술료 징수 현황

- 해당사항 없음

5. 사업화 현황

- 해당사항 없음

6. 인력활용/양성 성과

가. 인력지원 성과

-해당사항 없음

나. 장·단기 연수지원 성과

-해당사항 없음

다. 산업기술인력 양성 성과

성명	과학기술인 등록번호	전공 및 학위			
		학위	연도	전공	학교
이지혜	11125752	석사	2014	식품공학	세종대학교
정이슬	11125690	석사	2014	식품공학	세종대학교
고동완	11125780	석사	2014	식품공학	세종대학교
김용욱	11125633	석사	2014	식품공학	세종대학교
배우성	11125839	석사	2015	식품공학	세종대학교
백정주	11125817	석사	2015	식품공학	세종대학교
권다애	11085545	석사	2014	식품공학	중앙대학교
권도단	11085528	석사	2014	식품공학	중앙대학교
김송희	11197805	석사	2015	식품공학	중앙대학교

7. 경제사회 파급효과

쌀 소비 증진을 위한 다양한 노력과 사회적인 정책이 행해지고 있음과 함께 이번 연구를 통한 쌀 압출면 생산 및 기능성 면류 개발은 쌀 소비 증진에 이바지할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 이번 연구를 통해 개발된 글루텐 대체 소재 적용 및 전곡립 활용 면류 제품의 상품화 추진을 통해 쌀 가공업체들의 성장 도모뿐만 아니라 곡류 가공 식품 산업의 활성화에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1절. 국내외 관련분야에 대한 기술개발현황

제면은 제빵 시장 다음으로 전 세계에서 가장 큰 시장을 차지하고 있는데, 국내 제면 시장은 2009년 기준 2조원 대 이상을 기록하였다.

국민소득 증대로 소비자들이 건강 기능성 제품 제품과 품질 높은 제품을 선호하는 경향으로 인하여 밀가루 이외의 건강 기능성 원료로서 다른 곡류의 사용이 증대되고 있는 추세이다. 이에 따라, 웰빙과 안전한 먹거리로서 쌀을 활용한 제품 출시가 대기업을 중심으로 이어지고 있다.

특히, 제면 분야에서는 쌀을 활용한 제면 제품들이 많이 출시되고 있다. 쌀을 이용한 제면은 동남아시아를 중심으로 발달되어왔지만, 우리나라에서는 최근에 이르러서야 요식업을 중심으로 대중화되기 시작하였다. 쌀 가공 기술은 아직 초보적인 단계이므로 관련 기술은 대부분이 국외에서 의존하고 있는 상황이기 때문에, 국내 쌀의 적용성에도 한계를 지니고 있다.

쌀가루에는 글루텐이 함유되어 있지 않아 제빵 시 적절한 물성 구현의 어려움, 부피 감소와 제면 시 안정적 면대 형성의 어려움, 비탄력적인 식감이 큰 문제가 되고 있다. 따라서, 현재 대부분의 쌀 관련 가공 제품은 밀가루와 쌀가루의 복합분을 사용하여 만들어지는 경우가 대다수이다.

쌀면의 경우, 기존의 제면 공정을 활용하여 제조하였을 경우 조리 시 가용성 물질의 용출로 인한 국물의 탁도 증가, 조리면의 부서짐성 증가, 끈적끈적한 식감 등 쌀가루 고유의 특성으로 인하여 최종 면류 제품의 품질 저하를 초래하고 있어 이를 개선하기 위한 연구가 매우 시급하다.

쌀면 제품의 가공 및 조리 적성 문제점

가공 적성	조리 적성
쌀가루에 대한 품질 지표 부재	높은 가용성 물질 용출도
상온에서 반죽 형성 어려움	오랜 조리 시간
압출성형 시 면 부착 문제	탄력 있는 텍스처 부재

특히, 제면의 경우 현재까지 국내뿐만 아니라 전 세계적으로 밀가루 반죽을 압연 후 세절하는 방식으로 제조된 압연면이 주로 소비되고 있지만, 쌀을 이용한 제면은 압출 과정을 통하여 만들어지기 때문에 현격한 품질 상의 차이점을 보이고 있다. 따라서, 밀가루 면에 상응하는 품질 특성을 갖추기 위한 쌀면의 품질 개선 공정 확립이 절실히 필요하다.

Phytochemicals는 식물을 뜻하는 phyto와 화학물질을 뜻하는 chemical의 합성어로서 식물

속에 포함되어 있는 모든 종류의 생리 활성 물질을 통틀어 일컫는 개념이며, 식물생리활성영양소, 식물영양소 또는 식물화합물 등으로 불리는 이들은 식물 내에서 자외선이나 외부환경, 또는 미생물, 해충 등으로부터 자신의 몸을 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

Phytochemicals의 대표적인 작용으로는 자유기에 대한 항산화작용, 잠재적 발암물질의 독성 제거, 세포 성장 조절, 면역 반응 조절, 항염증 작용 등이 다양한 연구를 통해 입증되고 있으며, 현재도 수 많은 연구가 진행 중이며, 식품학적 측면에서 polyphenol 화합물은 유기 마이크로영양소로 식품의 품질을 결정짓는 요소로서 영양학적 특성, 관능학적 특성, 상품기호성에 영향을 준다.

식품가공학적 측면에서 청징 음료는 유통, 구입, 소비 기간 동안 맑은 상태를 유지하도록 가공 처리되고 있으나 미생물의 생육, 전분, 펙틴, 펜토산 성분, 옥살산의 결정화 등을 통해 혼탁, 침전을 야기할 수 있음. 그러나 또 하나의 중요한 혼탁 원인은 맥주, 와인, 과일주스 등에서 일어나는 protein과 polyphenol 간의 상호작용에 기인함. 이러한 음료들은 protein-polyphenol 간의 상호작용을 방지함으로써 혼탁의 개시시점을 지연시켜 안정화시킬 수 있다.

이와 같이 식품산업적 측면에서는 주로 이들 protein-polyphenol 간의 상호작용을 제거하여 혼탁을 방지하는 목적으로 식품의 품질향상을 꾀하고 있다.

하지만 본 연구과제에서는 천연 식품소재로서 protein과 polyphenol 성분 간의 상호작용을 적극적으로 활용하여 gluten-like 특성을 갖는 식품매트릭스내의 구조 형성 조건을 확립하며, 아울러 polyphenol 추출물의 활용을 통한 건강기능성 가공식품의 제조공정을 탐색하고자 한다.

또한 protein-polyphenol 간의 상호작용과 함께 전이효소 복합처리를 통해 단백질 간의 가교 결합능을 향상시켜 gluten-like 특성을 보강함으로써 쌀 유래 가공식품의 품질 향상을 꾀할 수 있는 것으로 파악된다.

2절. 연구결과가 국내의 기술개발현황에서 차지하는 위치

압출면은 파스타, 스파게티 등의 기술이 발달한 유럽, 아메리카 등에서 선도적 기술을 가지고 있으나 주로 듀럼밀 등의 밀가루를 사용한 밀가루 기반 식품에 초점을 맞추고 있다.

쌀은 아시아를 중심으로 대부분 소비되고 있기 때문에 쌀을 활용한 제면 제품 제조는 동남아시아 국가에서 많이 이루어진다. 하지만 대부분이 쌀 현탁액을 가열 후 건조하고 이를 세절하는 형식으로 면을 제조하고 있을 뿐 압출을 이용한 기술을 전 세계적으로 매우 드문 상황이다.

본 연구에서는 일반 쌀 뿐만 아니라 건강 기능성을 갖춘 전곡립(현미 등)을 활용하여 압출면을 제조할 수 있는 기술에 대하여 연구하였고, 이를 통하여 쌀 압출면을 제조할 수 있는 기술을 확보하였다.

쌀 압출면 제조 시 일어날 수 있는 문제점 특히, 가용성물질의 용출을 억제할 수 있는 방법

을 개발하여 국내외적으로 선도적 기술로 인정된다. 뿐만 아니라, 국내 쌀 압출면 산업에서는 압출면 제조 시 시행착오에 바탕을 둔 노하우를 바탕으로 할 뿐 체계적인 압출면 공정 변수에 대한 연구는 전무하다. 따라서, 본 연구를 통하여 얻어진 압출면 공정 변수 결과를 관련 산업체에 큰 도움이 될 것으로 기대된다.

현재 백미를 이용한 쌀 압출면이 제조 시판되고 있지만, 본 연구를 통하여 전곡립 중 하나인 현미를 활용한 압출면을 처음으로 제조하여 국내외 시장에서 새로운 시도로서 큰 의의가 있다. 압연면은 2013년에는 무려 1,050억 개의 라면이 소비될 정도로 전 세계적으로 소비되고 있는 식품이다. 하지만, 유당 공정 중 흡수되는 지방 및 칼로리로 인하여 건강 지향적 소비자의 선호도가 매우 낮은 상황이다.

본 연구를 통하여 건강 기능성 전곡립 (현미 등)과 폴리페놀을 압연면에 적용하였고, 아직까지 전곡립 압연면이 시판되고 있지 않은 상황에서 선도적 기술로서 의미를 가질 수 있다. 또한, 압연면의 흡유량을 분석하여 전곡립 및 폴리페놀 사용에 따라 흡유량이 저감화되는 것을 확인하여 국내외 면 산업에 큰 관심을 일으킬 것으로 기대된다.

또한, 전곡립 및 폴리페놀 사용에 따른 산패지연 효과를 확인하였고 이를 통하여 압연면의 유통기한을 연장시킴으로써 관련 산업체의 발전에 기여할 수 있는 기술이라고 생각된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절. 곡류 제면 제품 개발 및 천연 폴리페놀계 화합물 추출공정 기초 기술 개발

1. 곡류 제면 제조 공정 확립을 위한 압출성형장치의 설비 개선

가. 실험방법

(1) 모델 면의 선정 및 처방

쌀가루의 함량을 최대로 하되 면대가 형성될 수 있는 모델을 선정하여 그 처방에 준하는 원료를 배합하여 이를 control로 사용하였다.

(2) Lab 제면기

Lab용 소형 사출기(KZW12 TW Extruder/일본, Technovel社)를 활용하였다.

(3) Lab 용 Die의 제작 및 설치

모델면인 쌀국수의 면 굵기와 같도록 Lab용 제면기의 Die를 신규로 제작의뢰(하림정밀)하여 설치하였다.

나. 실험결과

(1) 압출 성형기 die 구조 개선

(가) 압출 성형을 위한 기본 처방 도출

미분을 활용한 압출 성형을 위해 쌀면의 처방을 확정하였다. 표 1과 같이 미분의 함량을 80%로 설정하였으며, 면대의 유지를 위해 밀가루와 정제염을 같이 처방하였다. 다양한 미분 함량별로 반죽 및 제면을 수행하였으나 미분의 함량을 80%이상 증진 시 반죽 물성이 좋지 않았고, 사출을 통한 면대 형성이 잘 이루어지지 않았다.

표 1. 압출 성형용 쌀면 처방

구분	원료	함량 (%)
배합분	미분	80
	밀가루	19.5
배합수	정제염	0.5

(나) 압출 성형 기본 제조 공정 도출

쌀국수의 제조는 그림 1과 같은 공정으로 세팅하였다. 가수량은 원료와 첨가한 물의 함량이 35%가 될 수 있도록 조정하였으며, 사출 시 면의 두께는 0.7 ~ 1.2 mm로 세팅하고, 사출된 면은 90 ~ 100 g 기준으로 커팅한 후 40 ~ 60 °C에서 1시간 정도 건조하는 공정을 압출 성형의 기본 제조공정으로 선정하였다. 각 공정별 공정 조건은 사출기의 특색에 맞게 조절하여 최적화를 수행하였다.

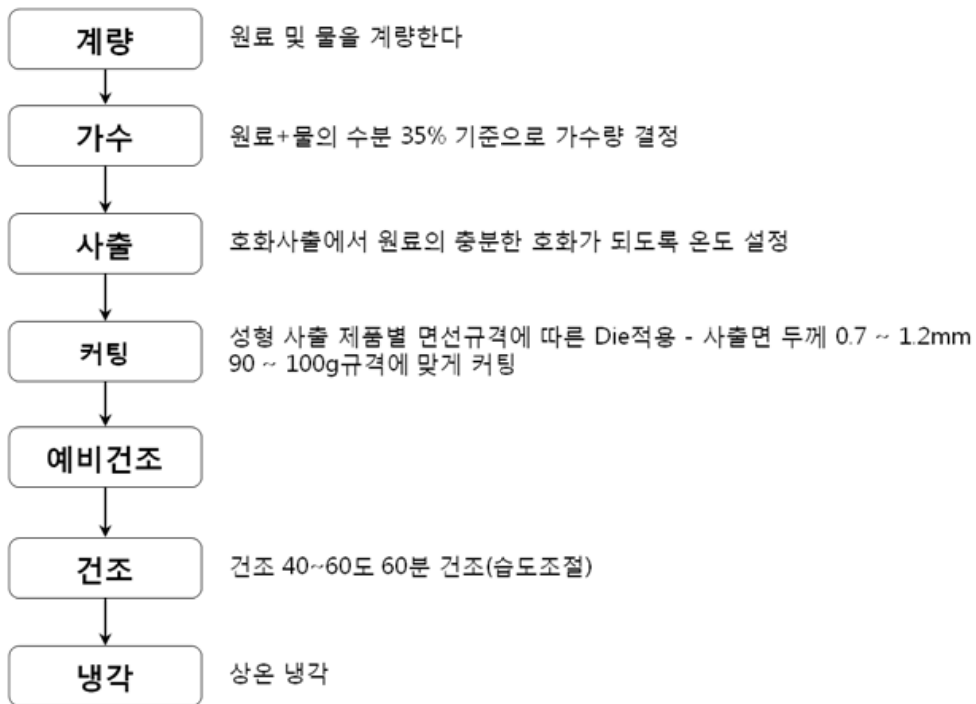


그림 1. 압출 성형을 활용한 압출면 제조 방법.

(다) Lab 압출 성형기 die 개선

소형 사출기(KZW12 TW Extruder/일본, Technovel社)를 사용하여 실험을 수행하였다. 실험에 사용한 사출기는 twin타입의 screw가 장착되어있고, 속도를 350 rpm 고정 시 시간당 500 g의 샘플을 처리할 수 있었고, 원료를 최대 10.25 Hz로 forced feeding 할 수 있는 장비이다.

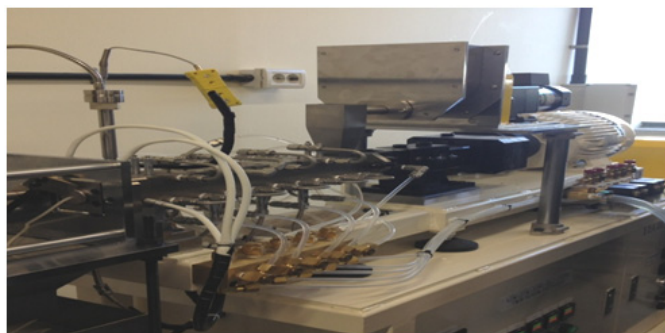


그림 2. 소형 사출기 사진 (KZW12 TW Extruder).

소형 사출기를 활용하여 상기 처방 및 제조공정에 맞는 압출면을 제조하기 위해 모델면의 면 굵기와 형태를 유지하기 위한 die 변경을 진행하였다. 기본으로 세팅된 die는 single type으로 본 제면실험에 적합하지 않았다. 일반적으로 pilot설비에서 사용하는 die 와 같은 수준인 1.2 mm size로 신규로 제작하였다.

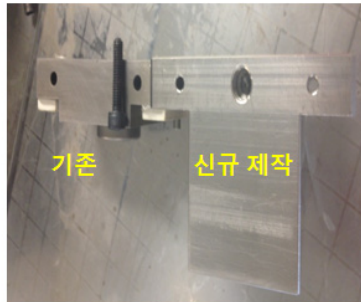


그림 3. Lab 사출기용 신규 die 의 제작.

기존 사출기의 배출구 head는 압출면을 수평방향으로 뽑아내는 타입이었다. 사출된 면을 적당한 크기로 절단하여 확보하기 쉽게 head 부분을 변경하여 면이 수직방향으로 나오게 설비를 변경하였다. Die의 개선과 head 부분의 변경으로 그림 4와 같이 정상적인 면의 사출을 확인할 수 있었다.

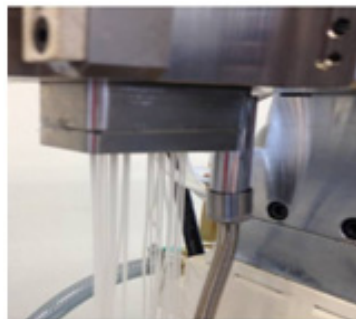


그림 4. Die 및 Head 변경 후 면 사출 확인.

(2) 압출 성형기 screw 배열 제어

(가) Pilot 압출 성형기 현상 분석

Die를 개선한 lab장비를 pilot 운용 조건에 맞추기 위해 일반적으로 사용 중인 Pilot 압출 성형기의 공정조건을 표 2와 같이 분석하였다. 일반적인 pilot 장비는 시간 당 20 kg의 샘플을 처리할 수 있는 기계이다. 싱글 screw 타입의 기계로 forced feeding의 속도는 12 rpm이며, 보통 screw는 50 rpm의 조건으로 장비가 운영되었다. Pilot 장비의 공정 조건으로 생산한 압출면의 품질을 평가하여 lab 장비 활용 압출면의 품질 평가의 대조군으로 사용하였다.

표 2. Pilot 장비의 공정조건

구분	주요 공정	공정 조건
G-Extruder	Screw type	Single
	Forced Feeding (rpm)	12
	G-기 Screw (rpm)	50
F-Extruder	Die 규격(mm)	1.2*0.85
	Die pressure(bar)	110

(나) Lab 사출기의 screw rpm 선정

상기 pilot 사출기의 조건과 유사한 공정조건을 lab 사출기의 screw rpm으로 변화하여 맞추고자 하였다. lab 사출기는 pilot 사출기와 다른 twin타입이고, 그림 5와 같이 샘플을 투입하는 feeder screw와 압출 성형을 하는 twin screw로 구성되어 있다. Pilot 사출기의 특성을 구현하기 위해 screw를 개조하고자 하였으나, 기기 특성 상 screw를 die와 같이 신규 제작하여 개조하기는 어려웠다. 압출면 제조를 위한 lab 사출기의 screw 배열제어는 screw의 속도 제어 외에는 다른 방법이 없었다.

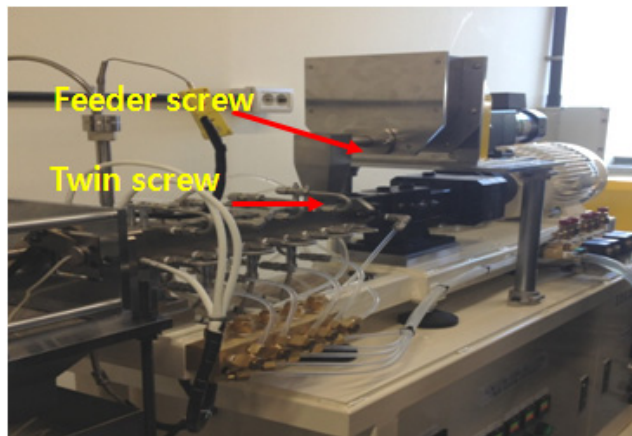


그림 5. Lab용 사출기의 screw 타입.

Lab 사출기의 rpm을 변화하면서 그 때의 압력과 사출된 면의 형태를 관찰하였다. Feeder의 속도를 10.25로 고정하고 screw의 속도를 조정하며 실험 한 결과, rpm을 높이 올릴수록 pilot 사출기와 같은 효과를 낼 수 있으나 screw의 속도를 400 rpm으로 올리면 압력 변동폭 1.2 ~ 1.9으로 크게 발생하여 균일한 품질의 면대 제작이 어려웠다. 이에 screw의 속도를 350 rpm으로 고정하였다.

표 3. Screw의 rpm에 따른 압력변화

Feeder 속도 (rpm)	Screw 속도 (rpm)	압력(Mpa)
10.25	300	1.2 ↓
10.25	350	1.6 ~ 1.9
10.25	400	1.2 ~ 1.9

2. 곡류 제면을 위한 전처리 및 압출 공정 변수 제어

가. 실험방법

(1) 공정조건의 설정

우선, 사출기 screw 온도를 초기 60 ~ 100 °C 범위에서 feeder의 rpm과 배합분의 투입량을 압력의 변화를 기준으로 설정하고, 면의 호화도를 기준으로 사출기 screw 의 온도조건을 설정하였다. 이때, lab 에서 제면한 시료를 조리 후 시식하며 조리특성 및 조직감을 평가하였다. 한편, 사출된 면은 열풍건조기를 이용하여 최종 수분 함량이 12%가 되도록 건조하였다.

(2) 복원성 평가법 개발

(가) 수분흡수능 평가법의 개선

기존에 활용하던 수분흡수능 평가법은 조리후 면의 무게를 측정하는 방법으로, 처방에 따라 조리중 면의 용출량이 편차가 심할 경우 적용에 한계가 있었다. 따라서, 압출면용 복원성소재 개발에 적합하도록 수분흡수능 평가법을 개선하였다. 개선방법으로 컵면 용기에 일정량의 압출 면을 넣고, 일정온도 물을 부어 일정시간 정치 후, 면의 수분흡수능을 측정하는 방법을 고안하여 표준화된 시험조건을 선정하였다.

(나) 신규 수분흡수능 평가법의 검토

조리에 의해서 전분의 용출이 심한 경우 전술한 기존 수분흡수능 평가법에 한계가 있다. 따라서, 신규로 조리과정 없이 수분흡수능을 평가하기 위하여 항온항습기를 이용하는 방법과 물 결합능력(Water Holding capacity, WHC) 측정방법에 따라 검토하였다.

항온항습기를 이용하는 방법은 항온항습기의 온도와 습도를 일정하게(50 °C, 90%)로 세팅한 후, 페트리 디쉬에 일정량(5 g)의 시료를 넣고 시간대 별로 중량 변화를 측정하여, 수분 흡수능을 분석하였다. 모든 시료는 3회 반복 하여 평균값을 취하였다.

WHC 는 제면 시료를 분쇄하여 dry oven으로 수분 표준화를 시킨 후, 10 ml의 물을 넣어 충분히 가수화 시킨 후 원심분리하고 tube를 뒤집어 20 분 동안 방치한 다음 증가된 수분의 양으로부터 WHC를 계산하였다. 모든 시료는 3회 반복하여 평균값을 취하였다.

(3) 복원성 평가법의 MSA

수분흡수능 평가법을 향후 복원성 향상소재의 개발 시 사용가능한지를 확인하기 위하여 lab (소형사출기), plant, pilot 에서 각각 제조한 압출면 시료의 수분흡수능을 측정하여 수분흡수능 평가법을 Minitab 6.0을 활용하여 gage R&R 을 실시하였다.

나. 실험결과

(1) 곡류 원료의 수분함량, 호화도, 입도 등 전처리 변수 제어

(가) 곡류 원료의 수분함량

기본처방의 배합수 함량을 최적화하기 위해 테스트를 수행하였다. 기존 pilot 사출기의 기본 조건인 35%를 기준으로 수분함량을 변화하면서 면의 특성을 비교 분석하였다(표 4). 제면테스트를 진행한 결과 lab 사출기에 적합한 최적의 수분함량은 33% 정도였다. 수분함량이 33% 보다 증진 될 경우 관능적으로 pilot 시제품에 비해 면의 탄력성, 매끄러움성, Hardness에 차이가 있었다.

표 4. 곡류원료의 수분함량별 결과

수분함량(%)	관능특성 (pilot시제품과 유사성 식별, 7점척도)
33	6
35	4
37	3

(나) 제면의 호화도 증진을 위한 기본 공정 조건 도출

공정 최적화를 위해 무부하 테스트를 시행하였고 온도 별로 반복실험 하여 대략적인 호화 조건 범위(In-60 ~ 95 °C-out)를 설정하였다. Feeder의 rpm을 변화하면서 적정 온도 조건을 도출 한 결과 표 5와 같이 In/Out screw온도 60 °C이상이어야 정상적으로 면이 사출되었으며, 온도가 95 °C이상이면 면대 사출 시 퍼핑 효과가 생겨 압출면 제조가 어려웠다.

표 5. 호화 온도 조건 범위 설정

Out←Screw온도(°C)→In	Feeder 속도 (rpm)	압력(Mpa)	비고
60, 60, 60, 60, 60	6	0.5	누수 현상 없음
80, 80, 70, 70, 60	8	0.7~0.8	-
100, 80, 80, 70, 70	8	0.5	면대 퍼핑 현상

(다) 원료 특성별 제면 적성 비교

쌀의 분쇄 조건에 따른 미분의 특성을 표 6과 같이 분석하였다. 분쇄 방법에 의한 미분의 peak 점도와 trough 점도는 기류식 분쇄로 확보한 미분이 높았으며, breakdown 점도와 setback 점도는 습식분쇄한 미분이 낮은 값을 보였다.

표 6. 분쇄 방식에 따른 미분의 호화 특성

분쇄 방법	Peak Viscosity	Trough Viscosity	Breakdown Viscosity	Final Viscosity	Setback Viscosity	Peak Time (min)
습식	315.58	236.83	78.75	379.67	142.83	6.67
기류식	453.00	263.08	189.92	485.42	222.33	5.47

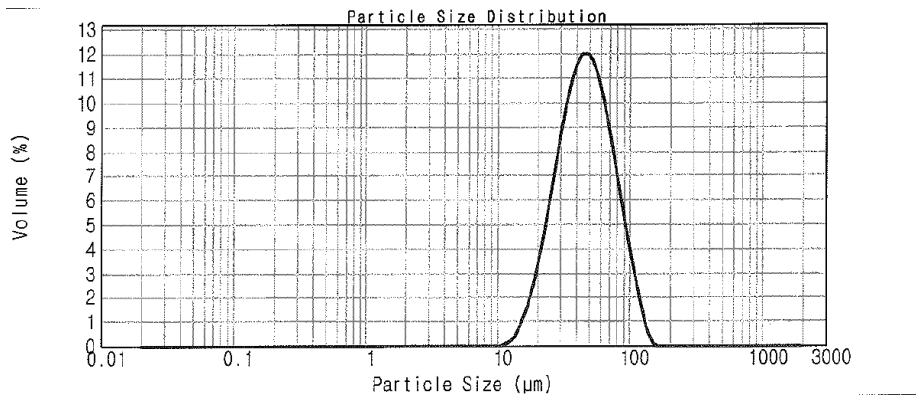
분쇄된 미분을 활용하여 사출 적용 시 효과를 분석하였다. 습식분쇄를 통해 생산한 미분을 활용하여 압출면 생산 시 기류식 분쇄 미분 보다 사출 적성이 우수하였다. 또한 사출된 면 조리 시 전분의 용출이 감소하였고, 면대의 풀림성도 감소하여 전반적으로 품질이 우수하였다. 이는 습식분쇄한 미분이 낮은 breakdown 점도와 setback 점도값을 가져 온도 변화에 대한 물성 안전성이 높은 원인에서 기인된 결과로 사료된다.

표 7. 분쇄 방식에 사출 적성 및 조리 특성

분쇄 방법	사출 적성 (9점 척도)	식당 용출률(%)	조리 시 풀림성 (9점 척도)
습식 분쇄	5	7.3	7
기류식 분쇄	4	7.8	5

습식분쇄를 통해 생산된 미분의 입도 사이즈별로 제면특성을 파악하였다. 그림 6과 같은 입자분포를 지닌 미분을 원료로 사용하여 압출면을 제조하였다. (a)원료는 200 mesh 이하에서 83%가 통과하였고, 350 mesh이하에서 48%가 통과하는 미분이었으며, (b)원료는 200 mesh 이하에서 56%가 통과하였고, 350 mesh이하에서 23%가 통과하는 미분이었다. 두 원료의 사출적성은 큰 차이가 없었지만, 조리 시 풀림성과 식당 용출은 (b)원료가 우수하였다. 이에 (b)원료의 규격을 미분의 입도 기준으로 선정하였다.

(a)



(b)

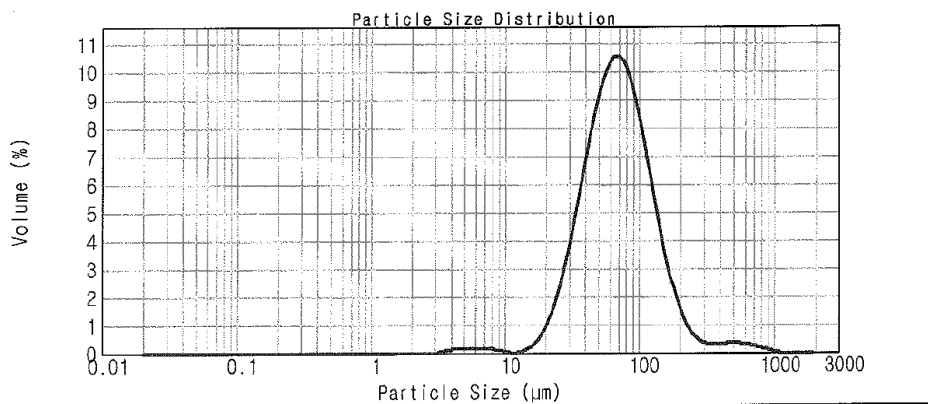


그림 6. 미분원료의 입자 크기 분포도.

(2) 압출 성형기의 투입량, 온도, 머무름 시간 등 공정 변수 제어

(가) 투입량 선정

Lab 사출기를 활용하여 원료의 투입량을 결정하였다. Lab 장비의 특성 상 원료의 투입량은 feeder의 속도와 twin screw의 속도에 의해 결정될 수 있다. Feeder의 속도는 장비의 최대치인 10.25 rpm으로 설정하였다.

전술한 바와 같이 twin screw의 속도를 최대 400 rpm으로 원료 투입 시 압력의 편차가 크게 발생하여 균일한 품질의 압출면을 제조할 수 없었다. 제면에 적당한 twin screw의 속도는 350 rpm으로, 이를 원료 투입속도로 설정하였다. screw의 속도를 350 rpm으로 고정 시 lab용 사출기는 시간 당 500 g의 샘플을 활용하여 압출면을 제조할 수 있었다.

(나) 온도 조건 및 머무름 시간 최적화

Lab 사출기를 활용하여 pilot에서 제조한 것과 유사한 품질의 제품을 생산하고자 온도조건 및 머무름 시간을 최적화하였다.

Lab 사출기는 기존 pilot 장비와 달리 특성상 screw 길이가 짧아 별도의 머무름 시간을 설정하기 어려웠으며, 단시간에 고온의 열을 받는 현상이 발생했음. 이에 배출구의 온도를 최소

한 낮추고, 최적온도 조건을 도출하고자 하였다.

결과적으로 표 8과 같이 배출구의 온도 조건을 별도로 세팅하지 않는 것이 효율적이었다. 각 부분의 온도는 85 °C ← 90 °C, ← 75 °C ← 60 °C가 가장 적절한 것으로 평가되었다.

이상의 조건으로 제조한 면은 다른 조건에 의해 생산된 면에 비해 호화도가 증가하였고 식감도 우수하였다.

표 8. 온도 조건 최적화

조건	Out←Screw온도(°C)→In	Feeder 속도 (rpm)	압력 (Mpa)	Die	면 호화도
1	off, 80, 85, 75, 60	10.25	1.6 ~ 1.9	1.2 * 0.85	▲
2	off, 85, 90, 75, 60				●
3	off, 90, 90, 75, 60				-



그림 7. Lab 제조 압출면 사진.

(다) 건조 조건 최적화

Lab에서 생산한 압출면과 pilot에서 제조한 압출면의 가장 큰 품질적인 차이는 면의 제조 속도와 건조 방법에 의한 차이였다. pilot에서 생산한 압출면은 빠른 시간 안에 사출이 완료되어 면의 수분편차 발생이 작았으나, lab에서 생산한 압출면은 pilot에 비해 상대적으로 시간이 걸려 처음 사출된 면과 시간이 경과한 후 사출된 면의 수분 편차가 발생하였다.

이를 해결하고자 lab에서 1회 샘플 제조 시 사출하는 원료의 양을 기존 100 g에서 20 g 수준으로 조정하였다. 또한 사출된 면을 pilot과 비슷한 품질을 유지하기 위해 건조 온도를 기존 60 °C에서 74 °C 수준으로 조정하였다.

(라) 면류 복원성 평가법 선정

제조한 압출면류의 복원성 평가에 적합한 평가법을 선정하였다. 중량 편차 활용 수분흡수능 평가법과 수분흡수 평가 방법, 물결합능력 (WHC, Water Holding Capacity) 평가법을 비교하였다.

이중 수분흡수 평가 방법은 샘플 건조 후 처리 시 주변온도 및 습도 차이에 의한 급격한 수

분 흡습 현상이 발생하여 평가 방법으로 적합하지 않았다. 물결합능력 평가법은 샘플 처리 과정 중 편차 발생으로 적합하지 않았고 중량 편차 활용 수분흡수능 평가법이 비교적 복원성 평가에 적합한 방법으로 사료되었다.

기존에 사용하던 수분흡수능 평가법을 압출면에 적합하도록 개선하였다. 먼저, 조리중 면의 용출을 방지하기 위하여 끓는 물에서 조리하는 대신에 컵 용기에 일정량의 면을 담고 일정량의 끓는 물을 부어 일정시간 후 흡수된 수분함량을 측정하는 방법으로 개선하였다(표 9). 또한, 물과 면을 분리하기 위하여 체를 터는 대신 일정시간 찬물에 방치하여 면과 면사이의 물을 제거하고, 일정시간 자연 정치하는 방법으로 실험자에 의한 편차를 최소화하였다. 반복실험을 통하여 수분흡수능의 편차를 2% 이하로 하는 표준측정법을 정립하였다.

표 9. 개선된 수분흡수능 측정 표준

항목	방법
시료량	면 15g
가수온도 및 가수량	85℃, 120g
복원시간	3 분
찬물에 방치시간	30 초
정치시간	1 분

수분흡수능 평가법을 향후 복원성 향상소재의 개발 시 사용가능한지를 확인하기 위하여 시판 쌀국수 제품과 lab(소형사출기), pilot 에서 각각 제조한 압출면 시료의 수분흡수능을 측정하여 수분흡수능 평가법을 Minitab 6.0을 활용하여 gage R&R 을 실시하였다. 평가 결과 gage R&R분석결과 연구변동 % 22.45, %기여 5.04로 충분히 만족스러운 결과를 얻을 수 있었다.

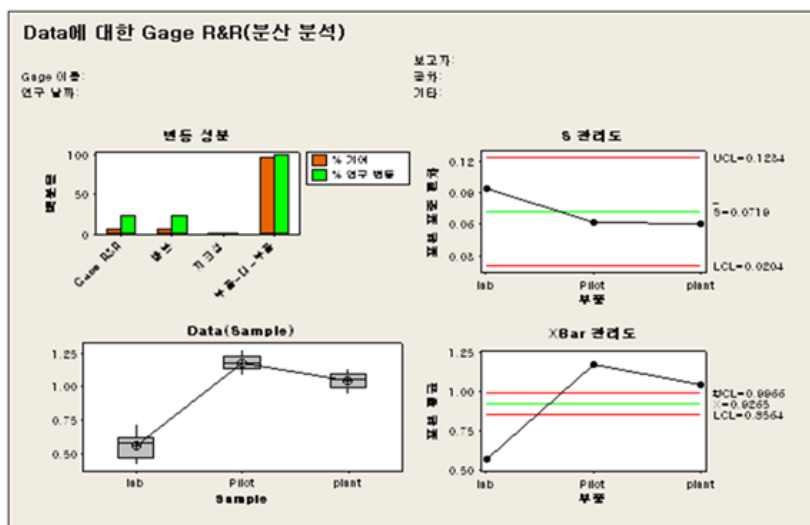


그림 8. 수분흡수능 평가법 MSA.

3. 전곡류 품종별, 부위별 기능성 폴리페놀 대사체의 추출 및 분석법 확립

가. 실험방법

(1) 기능성 폴리페놀 대사체 추출법 확립

연구에 사용할 대상 식품 소재인, 수수, 발아보리, 복분자, 오디, 녹차의 기능성 폴리페놀 분석을 위한 추출법을 확립하였다. 비교를 위해 크게 2가지 용매, 수용성 및 알코올 추출물 (Water, 80% Ethanol) 을 사용하였다.

일반적으로 대사체는 사용하는 추출 용매의 극성에 따라 다양한 대사체를 분리할 수 있으며, 본 연구에서는 식품용 대사체 추출에 가장 널리 사용되는 두 가지 용매를 아래와 같은 방법으로 폴리페놀 대사체를 추출하였다.

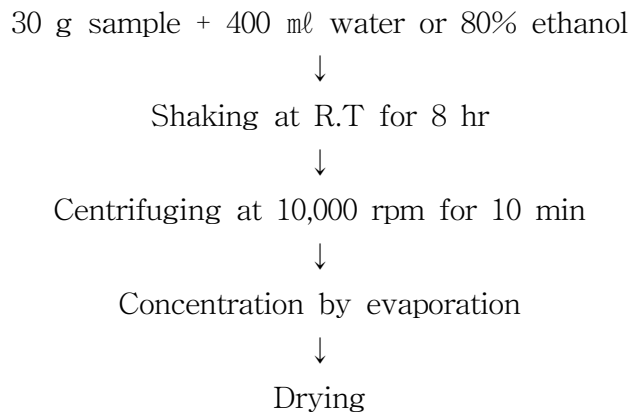


그림 9. 물, 에탄올을 이용한 폴리페놀 대사체 추출법.

나. 실험결과

(1) 용매별 추출물의 총 폴리페놀 함량 및 항산화능

(가) 추출물의 수율

에탄올에 비하여 물을 용매로 사용하였을 때 전체적으로 수율이 높게 측정되었고, 그 중에서 오디 추출물이 70.2%로 가장 높았으며, 수수가 4.40%로 가장 낮은 수율을 보였다.

표 10. 물, 에탄올을 이용한 수수, 발아보리, 녹차, 복분자, 오디 추출물의 추출 수율(%)

	Yield (%)	
	D.W	80% EtOH
<i>Sorghum bicolor</i>	4.40 ± 0.151	1.61 ± 0.015
<i>Hordeum vulgare</i> L.	12.58 ± 0.062	7.14 ± 0.601
Green tea	22.75 ± 0.003	14.75 ± 0.0007
<i>Rubus coreanus</i> Miquel	44.12 ± 0.07	40.14 ± 0.03
<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI	70.16 ± 0.06	70.68 ± 0.007

(나) 총 폴리페놀 함량 (Folin-ciocalteu's method)

추출물에 함유된 총 폴리페놀 함량 측정 결과, 녹차 에탄올 추출물이 가장 높았고, 밭아보리의 물 추출물이 가장 낮은 함량을 보였다. 또한 모든 시료에서 에탄올 추출물이 상대적으로 높은 폴리페놀 함량을 나타내었다.

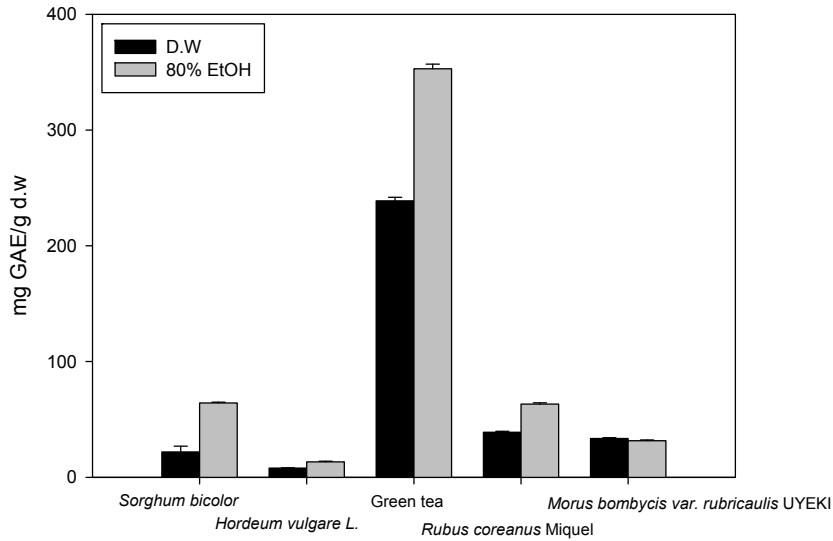


그림 10. 물, 에탄올을 이용한 수수, 밭아보리, 녹차, 복분자, 오디 추출물의 총 폴리페놀 함량 (mg GAE/g dry weight).

표 11. 물, 에탄올을 이용한 수수, 밭아보리, 녹차, 복분자, 오디 추출물의 총 폴리페놀 함량 (mg GAE/g dry weight)

Total Polyphenol content (mg GAE/g dry weight)		
	D.W	80% EtOH
<i>Sorghum bicolor</i>	21.93 ± 5.017	64.18 ± 0.853
<i>Hordeum vulgare L.</i>	8.01 ± 0.198	13.30 ± 0.630
Green tea	238.87 ± 3.03	352.96 ± 3.93
<i>Rubus coreanus Miquel</i>	38.94 ± 0.864	63.27 ± 1.14
<i>Morus bombycis var. rubricaulis UYEKI</i>	33.52 ± 0.717	31.53 ± 0.687

(다) 항산화능 측정 (DPPH radical 소거능)

모든 sample에서 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 높은 항산화능을 보였으며, 그 중 녹차 에탄올 추출물이 가장 높은 소거능 (41.28%)을 보였다. 녹차의 경우, 대조구인 ascorbic acid (5.865 µg/ml)의 52.2% 소거능과 비슷한 수준의 높은 항산화능을 보유하고 있는 것으로 측정되었다.

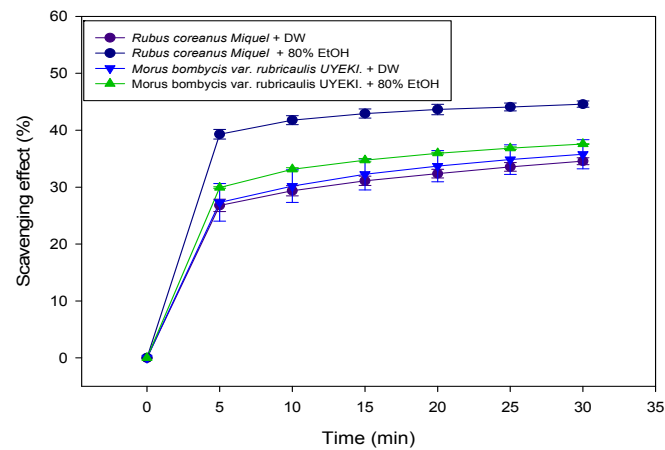
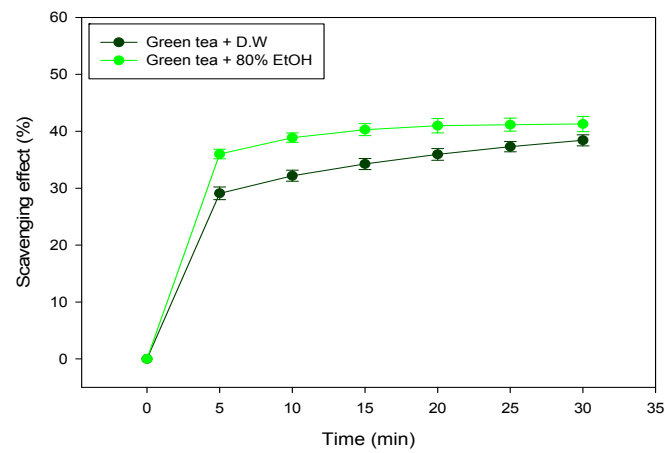
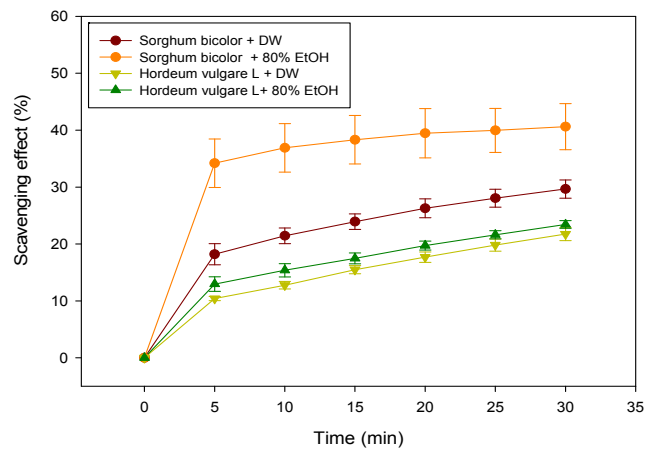


그림 11. 물, 에탄올을 이용한 수수, 발아보리, 녹차, 복분자, 오디 추출물의 DPPH radical 소거능 (%) (*Sorghum bicolor*, *Hordeum vulgare* L. (1.655 $\mu\text{g}/\text{ml}$), Green tea, *Rubus coreanus* Miquel., *Morus bombycis* var. *rubricaulis* UYEKI. (3.33 $\mu\text{g}/\text{ml}$)).

표 12. 물, 에탄올을 이용한 수수, 발아보리, 녹차, 복분자, 오디 추출물의 DPPH radical 소거능(%)

Scavenging effect (%)		
	D.W	80% EtOH
<i>Sorghum bicolor</i>	29.66 ± 1.604	40.62 ± 4.050
<i>Hordeum vulgare</i> L.	21.739 ± 1.143	23.43 ± 0.670
Green tea	38.41 ± 0.983	41.28 ± 1.339
<i>Rubus coreanus</i> Miquel	34.55 ± 0.610	44.59 ± 0.558
<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI	28.47 ± 0.392	30.93 ± 0.457

(라) Specific activity

각 추출물의 항산화능을 폴리페놀 μg 당 DPPH 소거능 (%)을 기준으로 비교한 결과, 발아보리 물 추출물이 가장 높은 활성(81.42%/ μg GAE)를 나타내었고, 수수 에탄올 추출물이 가장 낮은 활성(18.99%/ μg GAE)를 나타내었다. 또한 오디를 제외한 모든 물 추출물이 상대적으로 높은 활성을 보여, 추출물 구성에 따라 항산화능에 영향을 받는 것으로 나타났다.

표 13. 물, 에탄올을 이용한 수수, 발아보리, 녹차, 복분자, 오디 추출물의 specific activity (%/ μg GAE)

Specific activity (%/ μg GAE)		
	D.W	80% EtOH
<i>Sorghum bicolor</i>	40.58	18.99
<i>Hordeum vulgare</i> L.	81.42	52.88
Green tea	48.29	35.13
<i>Rubus coreanus</i> Miquel	26.62	21.14
<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI	25.61	29.43

(마) 흡수 스펙트럼 특성

흡수 스펙트럼 측정 결과, 물과 에탄올 추출물 간에 전체적인 pattern은 유사하였다. 모든 추출물에서 200~300 nm 범위에서 특이적인 흡수가 존재함을 확인할 수 있었으나, 추출물들 간에 상대적인 흡수 세기에는 일부 차이가 관찰되었다. 복분자와 오디에서는 anthocyanin 계열의 폴리페놀 물질에 의한 500 nm 대의 흡수 특성을 관찰할 수 있었다.

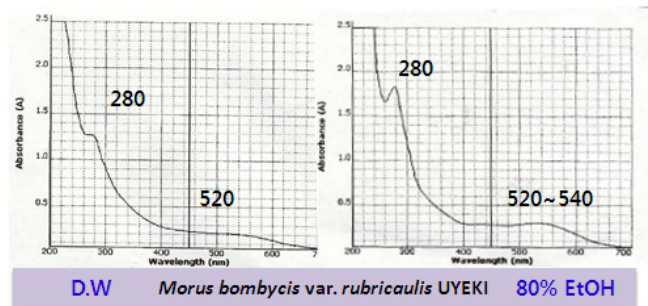
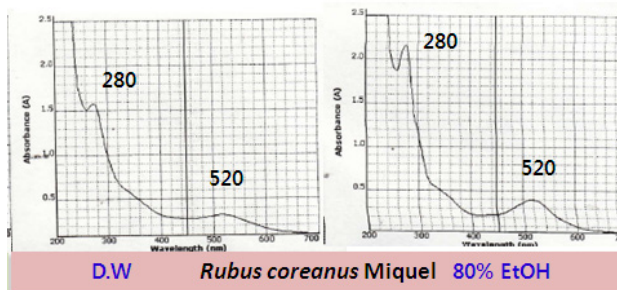
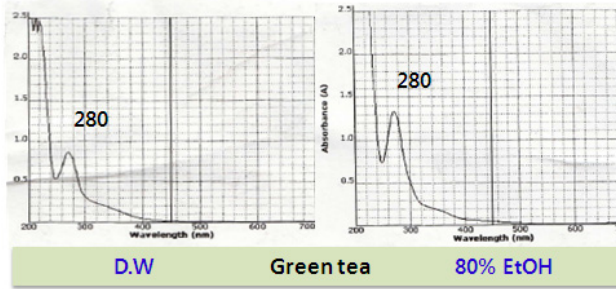
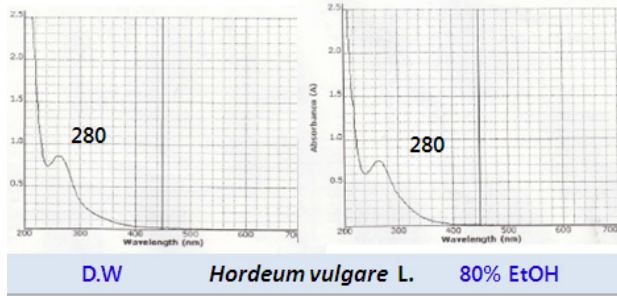
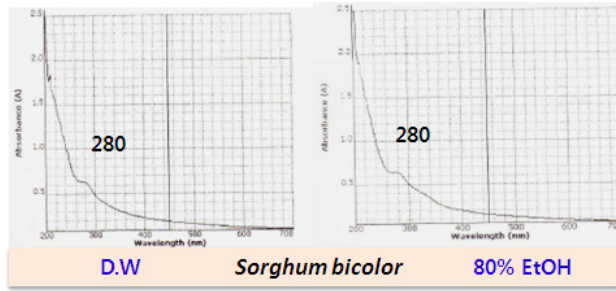


그림 12. 물, 에탄올을 이용한 발아보리, 수수, 녹차, 복분자, 오디 추출물의 흡수 스펙트럼 (200 ~ 700 nm).

4. 폴리페놀 대사체의 non-targeted profiling

가. 실험방법

HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS을 이용하여 말아보리, 수수, 녹차, 복분자, 오디 추출물 대사체의 profiling을 실시하였다. 분석을 이후의 대사체 분석을 위해 최소 3반복 이상 수행하였으며, 자세한 분석 조건은 다음과 같았다.

표 14. 기능성 폴리페놀을 분석하기 위한 HPLC 및 LC-MS/MS protocol

HPLC condition			
HPLC	HPLC system (Dionex Ultimate 3000)		
Column	YMC-Triart C18 column (1.9 μ m), 2.0x100 mm		
Detector	PDA detector		
Elution	A : 0.1% Formic acid in water		
	B : 0.1% Formic acid in ACN		
Gradient	Time (min)	% (Phase A)	% (Phase B)
	0-6	95-90	5-10
	6-12	90	10
	12-36	90-60	10-40
	36-48	60-10	40-90
	48-54	10-95	90-5
	54-66	95	5
MS condition			
Ion trap	LTQ-Velos ion trap mass spectrometer		
Electrospray ionization	Heat electrospray ionization interface (Thermo Fisher Scientific, San Joe, CA USA)		
Column	UPLC BEH C18 column (1.7 μ m), 2.1x100 mm *		
	(Acquity, Waters, Milford Ma, USA)		
	YMC-Triart C18 column (1.9 μ m), 2.0x100 mm **		
Column temperature	36 °C	Full MS mass range (m/z)	100-1000
Capillary Temperature	275 °C	Source voltage	5 kV
Sheath gas	35 ml/min	Auxiliary gas	5 ml/min

*Sorghum bicolor Hordeum vulgare L

** Green tea, Rubus coreanus Miquel, Morus bombycis var. rubricaulis UYEKI

나. 실험결과

(1) 수수

(가) 다변량통계분석

수수에 함유된 폴리페놀 대사체 추출물(물 및 에탄올)들의 비교 분석을 위해 주성분분석(PCA)을 실시한 결과, 추출 용매 조건에 따라 상이한 대사체들이 추출되었음을 확인할 수 있었다. 추출물들에 함유된 폴리페놀 대사체들의 profiling을 위해서 OPLS-DA 분석을 실시하고, 5% 유의수준에서 차이를 나타내는 주요 폴리페놀 대사체들을 선별하고 동정을 시행하였다.

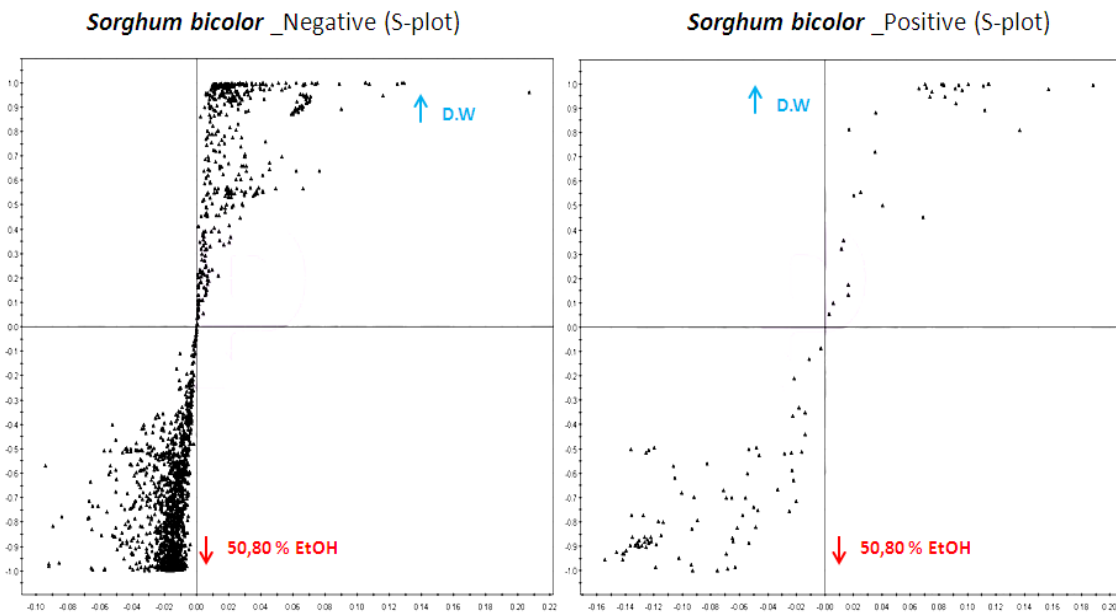


그림 13. 수수 추출물 대사체 (물, 에탄올)의 OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석.

(나) LC-MS/MS non-targeted profiling

수수 추출물의 대사체 분석 결과는 아래 표 15-18에 정리하였다. 대사체들은 분자량과 fragmentation pattern, 흡광 특성 그리고 DB와 참고문헌의 정보에 기반하여 동정하였다. 다양한 형태의 flavonol 및 flavone 계열의 폴리페놀 물질들의 존재가 확인되었고, 에탄올 추출물에서는 배당체 형태의 폴리페놀 대사체들이 존재하는 것을 확인할 수 있었다.

표 15. 수수 물추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
329.28	1.25	253	279.92, 176.86, 158.91, 256.88, 319.98, 238.96	2,8-Di-O-methylelagic acid	Khallouki <i>et al.</i> Pfundstein <i>et al.</i> METLIN
327.53	29.69	225	309.23, 311.24, 171.06, 201.06, 213.04, 293.23, 275.31	5,8-Dihydroxy-7-methoxyflavone 8-O-acetate	METLIN
209.49	29.72	256	165.02, 83.03, 190.98, 163.0, 124.98, 80.97, 95.0	5-Hydroxyferulat	METLIN
441.38	29.72	256	327.21, 369.19, 342.06, 423.19, 250.05, 309.05, 279.18	Flaccidine	METLIN
313.52	34.57	290	295.20, 183.11, 277.26, 195.11, 129.13	Crotaoprostrin	METLIN
315.61	36.25	261	297.47, 171.09, 279.31, 269.35, 311.24, 141.22, 155.13, 201.10	Lapathinol	METLIN
489.36	35.94	226	445.21, 311.25, 179.03, 427.27, 176.98, 309.28, 273.19, 289.20	5-Hydroxy-7,8,2'-trimethoxyflavone 5-glucoside	METLIN
681.52	27.56	270, 302	351.24, 329.28, 233.12, 251.16, 638.18	Tricin 7-diglucuronoside	METLIN

표 16. 수수 80%에탄올 추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
367.44	5.74	278, 307	192.93, 173, 230.95, 134.06	5-O-Feruloylquinic acid	Deborah <i>et al.</i>
563.26	12.61	224, 301	443.03, 472.98, 544.97, 502.96, 353.06	6-C-Pentosyl-8-C-hexosyl apigenin	Figueirinha <i>et al.</i>
285.49	13.14	220, 278	241.01, 175.06, 199, 242.97, 217.04	Luteolin	METLIN
433.43	15.06	281,, 334	271.28 313.06 151.14	Naringenin 4'-O-glucoside	METLIN
609.32	15.09	283, 295	301.05 566.06 457.20 343.12	Rutin	Deborah <i>et al.</i>
565.34	17.17	285, 301	271.07, 177, 502.96, 445.04	5,7,4'-Trihydroxyflavanone 7-O-arabinosylglucoside	METLIN
461.36	17.40	285, 301	299.07 284.14 341.07	Kaempferol 5-glucuronide	METLIN
507.34	18.10	281, 312	344.06 387.03 329.11	Quercetagetin 7,3'-dimethyl ether 6-glucoside	METLIN
533.28	18.85	283, 304	489, 411.17, 515.06, 313.19, 471.08	Kaempferol 3-(6''-malonylglucoside)	Aaby <i>et al.</i>
489.34	18.87	286	285.01, 475.99, 329.08, 159.99, 191.03	Luteolin 7-(6''-acetylglucoside)	METLIN
439.45	22.08	281, 316	245.11, 148.99, 289.07, 227.11	(-)-Epicatechin 3-O-vanillate	Khallouki <i>et al.</i>

표 17. 수수 물추출물에 함유된 대사체 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
211.36	29.69	276	193.30, 175.14, 195.89, 111.15	3,4-Dihydroxyphenylvaleric acid	METLIN
315.46	34.60	270, 310	297.23, 279.28, 305.10, 187.07	Isoscutellarein 7,8-dimethyl	Lin <i>et al.</i> METLIN

표 18. 수수 80%에탄올 추출물에 함유된 대사체 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
305.29	13.78	280, 327	287.21, 153.00, 259.10, 195.01	(±)-Taxifolin	METLIN

(2) 발아보리

(가) 다변량통계분석

발아보리에 함유된 폴리페놀 대사체 추출물(물 및 에탄올)들의 비교 분석을 위해 주성분분석(PCA)을 실시한 결과, 추출 용매 조건에 따라 상이한 대사체들이 추출되었음을 확인할 수 있었다. 추출물들에 함유된 폴리페놀 대사체들의 profiling을 위해서 OPLS-DA 분석을 실시하고, 5% 유의수준에서 차이를 나타내는 주요 폴리페놀 대사체들을 선별하고 동정을 시행하였다.

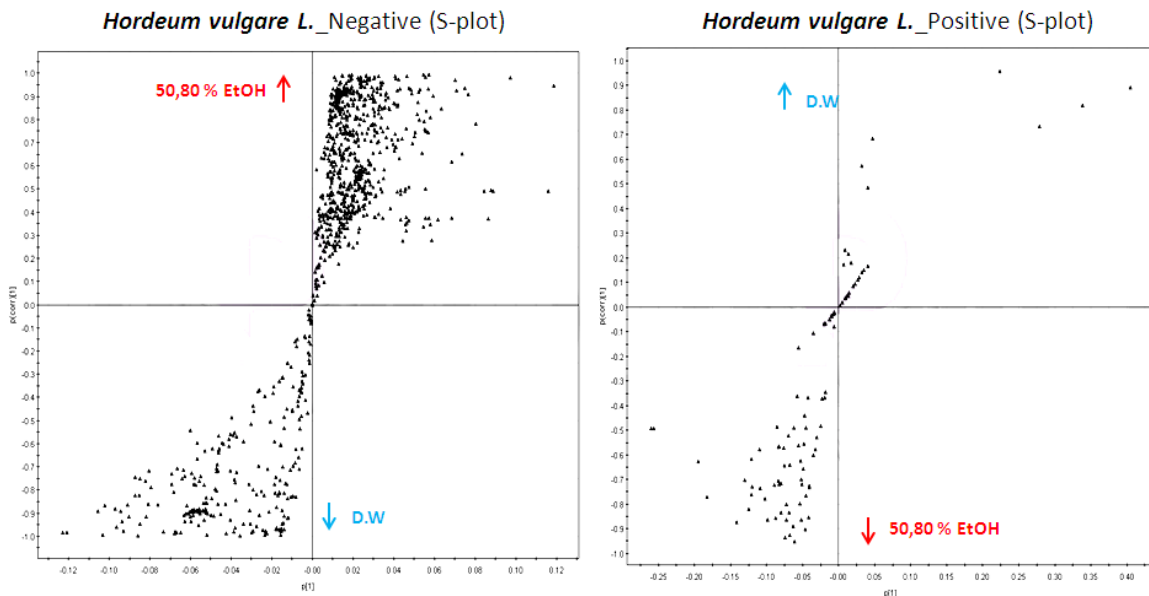


그림 14. 발아보리 추출물 대사체 (물, 에탄올)의 OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석.

(나) LC-MS/MS non-targeted profiling

발아보리 추출물의 대사체 분석 결과는 아래 표에 정리하였다. 대사체들은 분자량과 fragmentation pattern, 흡광 특성 그리고 DB와 참고문헌의 정보에 기반하여 동정하였다. 물 추

출물에선 flavonol 계열의 화합물들이, 그리고 에탄올 추출물에서는 flavonoe 계열이 성분들이 주요 폴리페놀 대사체로 존재하고 있다는 것을 확인하였다. 에탄올 추출물에서 배당체 형태의 compound들이 확인되었으나, anthocyanin 계열의 물질들의 존재는 확인할 수 없었다.

표 19. 발아보리 물추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
329.28	1.24	261	279.95, 319.93, 305.81, 320.97, 176.87	2,8-Di-O-methylelagic acid	Khallouki <i>et al.</i> , Pfundstein <i>et al.</i> METLIN
815.47	25.03	262, 327	653.30, 491.22, 635.27, 797.33, 329.29, 473.20	Syringetin 3-rutinoside-7-glucoside	METLIN
427.13	32.94	225, 355	406.92, 311.21, 284.26, 341.31, 252.19, 384.09	5,4'-Dihydroxy-3,6,3'-trimethoxy-7-prenyloxyflavone)	METLIN

표 20. 발아보리 80%에탄올 추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
451.42	3.25	276, 288	289.11, 299.10, 161.01, 360.21	(-)-(Epi)catechin 6-C-glucoside	METLIN
289.45	5.25	282	245.03, 204.98, 260.06, 178.96	Epicatechin, (\pm)-Catechin	METLIN
609.32	8.21	282, 303	447.10, 327.11, 489.04, 357.47	Isoorientin 7-glucoside	METLIN
593.31	11.03	273, 327	431.06, 311.09, 473.05, 341.14	Quercetin 3-methyl ether 7-rhamnoside-3'-xyloside	METLIN
623.33	13.09	283	341.08, 461.06, 503.05, 608.16, 533.16	Scoparin 2''-O-glucoside	METLIN
431.37	15.35	289, 332	311.10, 341.07, 413.04, 269.07	Kaempferide 3-alpha-L-arabinopyranoside	METLIN
461.33	16.29	269, 303	341.08, 371.05, 285.08, 195.98	6-Methoxykaempferol 3-rhamnoside	METLIN
431.50	31.54	225, 342	385.23, 311.27, 293.23, 369.21, 197.93	Genistein 8-C-glucoside	Garcia-villa lba <i>et al.</i>

표 21. 발아보리 물추출물에 함유된 대사체 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
457.45	36.99	226, 353	313.21, 369.27, 413.45, 185.16, 145.18, 284.27	3'-Hydroxysimvastatin	METLIN

표 22. 발아보리 80%에탄올 추출물에 함유된 대사체 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
529.273	3.657	202, 219, 275	511.31, 229.12, 349.24, 493.17, 183.09, 168.14	Quercetin 3-rhamnoside-3'-sulfate	METLIN
367.405	3.718	220, 279	349.44, 229.15, 331.28, 259.19, 271.23	3'-Hydroxyalpinumisoflavone 4'-methyl ether	METLIN
205.345	3.966	201, 276, 287	188.23, 147.24, 164.22, 159.21, 132.16, 98.18	Anofinic acid	METLIN
371.505	33.231	226, 379	353.53, 279.31, 261.31, 243.26, 179.17, 297.31, 335.34	Ferulic acid 4-O-glucuronide	METLIN

(3) 녹차

(가) 다변량통계분석

녹차에 함유된 폴리페놀 대사체 추출물(물 및 에탄올)들의 비교 분석을 위해 주성분분석(PCA)을 실시한 결과, 추출 용매 조건에 따라 상이한 대사체들이 추출되었음을 확인할 수 있었다. 또한 추출물들에 함유된 폴리페놀 대사체들의 profiling을 위해서 OPLS-DA 분석을 실시하고, 5% 유의수준에서 차이를 나타내는 주요 폴리페놀 대사체들을 선별, 동정하였다.

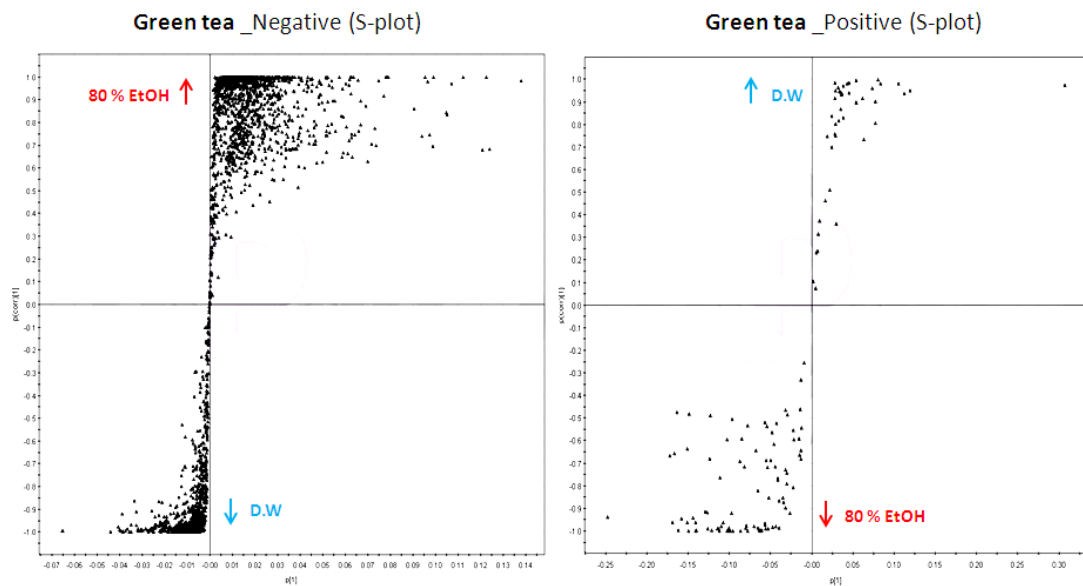


그림 15. 녹차 추출물 대사체 (물, 에탄올)의 OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석.

(나) LC-MS/MS non-targeted profiling

녹차 추출물의 대사체 분석 결과는 아래 표 23-26에 정리하였다. 대사체들은 분자량과 fragmentation pattern, 흡광 특성 그리고 DB와 참고문헌의 정보에 기반하여 동정하였다. 물 추출물에선 주로 phenolic compounds 계열의 화합물들이, 그리고 에탄올 추출물에서는 flavanols 계열(Catechin, epicatechin)의 성분들이 주요 폴리페놀 대사체로 존재하고 있다가 확인되었다. 에탄올 추출물에서는 배당체 형태의 compound들이 확인되었다.

표 23. 녹차 물추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
337.46	14.28	206 311	191.27 163.08 173.14 119.27	4-p-coumaroylquinic acid	Metlin
633.31	8.22	206	301.26 463.02 614.00 275.11	HHDP-galloyl-glucose	Hanhineva <i>et al.</i>
191.27	1.27	200	111.12 172.92 129.02 85.28	Quinic acid	Metlin

표 24. 녹차 80%에탄올 추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
301.54	21.65	219 319	301.11 239.07 283.13 257.13 215.07 191.06 151.08	Ellagic acid	METLIN, Aaby <i>et al.</i>
425.42	19.95	207 312	273.18 169.02 255.18 381.23	Epiarzelechin 3-O-gallate	METLIN, Lin <i>et al.</i>
755.46	24.23	221 313	609.18 301.15 591.16	Quercetin-rhamnose-hexose-rhamnose	METLIN, Del Rio <i>et al.</i>
441.47	17.36	226	289.17 169.05 331.16 271.17 397.15	Epicatechin-O-gallate	METLIN, Del Rio <i>et al.</i>
289.52	7.42	272	245.38 205.11 179.12 137.09 125.17	(Epi)catechin	Del Rio <i>et al.</i>
471.38	16.55	207 330	183.00 305.17 287.15 168.00 306.14 345.17	Epigallocatechin derivative	METLIN
515.39	19.87	206 343	353.38 335.24 471.26 179.14 497.24 191.14	Di-caffeoylquinic acid	METLIN

표 25. 녹차 물추출물에 함유된 대사체 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
773.41	17.39	224	303.14 465.15 611.17 449.14	Quercetin rutinoid hexoside	METLIN
627.34	16.10	211 341	319.16 481.13 465.12 361.25	Myricetin-3-rhamnoside-hexoside	METLIN
757.48	18.68	208 341	287.12 449.14 595.16 309.27	Kaemferol derivative	METLIN
633.31	15.12	275 344	319.14 297.15 361.16 615.12	myricetin-galloylhexoside	METLIN

표 26. 녹차 80%에탄올 추출물에 함유된 대사체 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
481.29	16.42	206 329	319.34 463.14 361.11	Myricetin hexoside	METLIN
449.36	19.52	205 331	287.34 431.14 273.22 329.17	Kaempferol hexoside	METLIN
465.33	18.14	209 331	303.39 447.07 345.30 399.16	Quercetin hexoside	METLIN
303.35	18.31	206 353	257.12 229.07 285.13 165.00 153.07 136.94	Quercetin	METLIN
319.39	16.41	205 317	273.12 301.15 164.99 245.17 153.03 263.19	Myricetin	METLIN

(4) 복분자

(가) 다변량통계분석

복분자에 함유된 폴리페놀 대사체 추출물(물 및 에탄올)들의 비교 분석을 위해 주성분분석(PCA)을 실시한 결과, 추출 용매 조건에 따라 상이한 대사체들이 추출되었음을 확인하였다. 또한 추출물들에 함유된 폴리페놀 대사체들의 profiling을 위해서 OPLS-DA 분석을 실시하고, 5% 유의수준에서 차이를 나타내는 주요 폴리페놀 대사체들을 선별, 동정하였다.

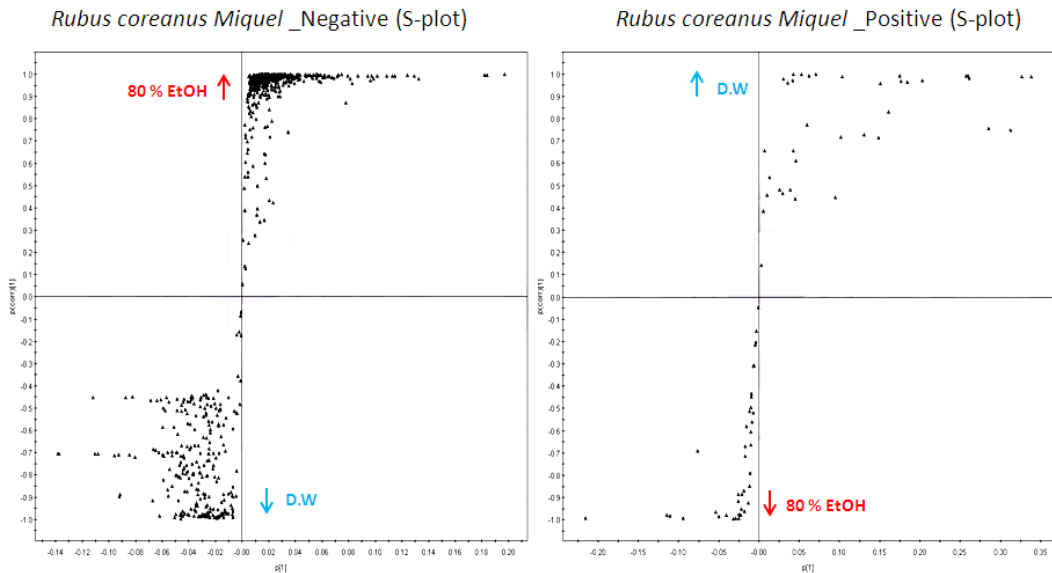


그림 16. 복분자 추출물 대사체 (물, 에탄올)의 OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석.

(나) LC-MS/MS non-targeted profiling

복분자 추출물의 대사체 분석 결과는 아래 표에 정리하였다. 대사체들은 분자량과 fragmentation pattern, 흡광 특성 그리고 DB와 참고문헌의 정보에 기반하여 동정하였다. 물 추출물에선 주로 phenolic compounds 계열의 화합물들이, 그리고 에탄올 추출물에서는

hydroxycinnamic acid 유래 대사체들이 주요 폴리페놀 대사체로 존재하고 있었고, 에탄올 추출물에서는 anthocyanins 계열의 화합물들이 주요 대사체로 동정되었다.

표 27. 복분자 물추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
113.38	6.56, 7.88	271	69.01, 85.03	3-methyl-4-pentenoic acid	METLIN
353.33	1.40	257, 300	135, 172.95, 179, 191.08, 111.10	Caffeoylquinic acid	Deborah <i>et al</i>
153.22	4.37	270	109.04, 124.05, 135.05, 98.18	3,4-Dihydroxybenzoic acid	ZHANG <i>et al</i> , Hossain <i>et al</i>
359.47	23.66, 22.31	270	313.32, 179.11, 161.10	Rosmarinic acid	L-Perez-Fons <i>et al</i>
227.23	32.92	270	156.03, 185.07, 140.93, 113.08, 93.10, 118.28	cis-Resveratrol	METLIN

표 28. 복분자 80%에탄올 추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
783.08	4.12	258	481.0660, 300.9948, 275.0138	Bis-HHDP-glucose	Hanhineva <i>et al</i> .
783.33	6.16	282			
577.31	7.18	280, 318	425.0873, 407.0562, 289.0555, 244.0699, 125.0199	Procyanidin Dimer (EC-4,8-C)	KEGG Mass Bank standard
289.41	7.52	278, 318	245.17, 205.12, 179.12, 125.16 165.09, 109.31	Catechin	METLIN KEGG
865.33	7.81	280, 318	577.1321, 287.0524, 739.1718, 695.1433, 451.0960, 425.0774, 407.0730	Procyanidin Trimer/procyanidin C1	Mass Bank
633.23	8.34	279	463.0499, 300.9973, 275.0160	Galloyl-HHDP-glucose	Hanhineva <i>et al</i>
577.31	9.24	279, 513	425.0873, 407.0562, 289.0555, 244.0699, 125.0199	Procyanidin Dimer (EC-4,8-C)	KEGG Mass Bank
465.37	9.60	279, 516	285.27 ,241.08, 339.13, 199.07, 355.20	Cyanidin-3-glucoside-chloride	standard
289.41	11.28	280, 517	245.17, 205.12, 179.12, 125.16, 165.09, 109.31	Catechin	standard METLIN

표 29. 복분자 물추출물에 함유된 대사물 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
223.25	28.81	272	207.07 165.07 178.14 193.06 121.14 93.11	Monoisobutyl phthalic acid	METLIN

표 30. 복분자 80%에탄올 추출물에 함유된 대사물 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
449.29	9.69	279, 516	286.83, MS3 : 213, 137, 241, 269	Cyanidin 3-glucoside	<i>Wu et al.</i>
595.59	10.94	280, 517	287.14, 449.02, MS3 : 213, 137, 241, 269	Cyanidin 3-rutinoside	METLIN
727.35	10.96	280, 517	286.83, 581.10, MS3 : 213, 137, 241, 269	Cyanidin 3-xylosylrutinoside	<i>Wu et al.</i>
579.31	14.14	279, 506	271.49, 433.02	Pelargonidin-3-rutinoside	METLIN
611.34	17.95	279, 324	302.93, 465	Quercetin-3-o-rutinoside	Mass Bank
479.25	18.31	259, 284	303.05, MS3 : 257, 229, 165	Quercetin-3-o-glucuronide	METLIN

(5) 오디

(가) 다변량통계분석

오디에 함유된 폴리페놀 대사체 추출물(물 및 에탄올)들의 비교 분석을 위해 주성분분석 (PCA)을 실시한 결과, 추출 용매 조건에 따라 상이한 대사체들이 추출되었음을 확인하였다. 또한 추출물들에 함유된 폴리페놀 대사체들의 profiling을 위해서 OPLS-DA 분석을 실시하고, 5% 유의수준에서 차이를 나타내는 주요 폴리페놀 대사체들을 선별, 동정하였다.

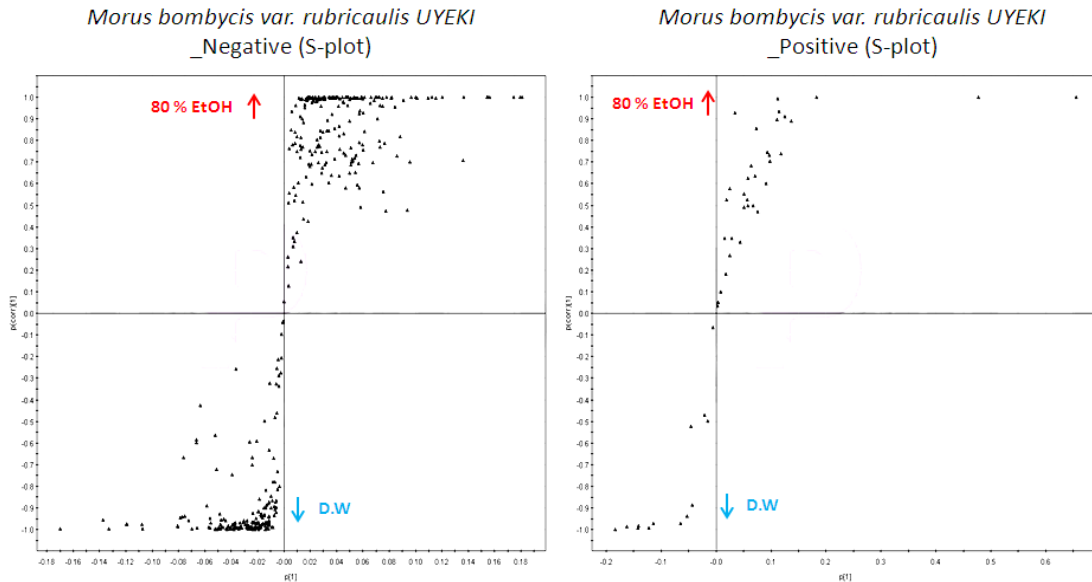


그림 17. 오디 추출 대사체 (물, 에탄올)의 OPLS-DA (Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석.

(나) LC-MS/MS non-targeted profiling

오디 추출물의 대사체 분석 결과는 아래 표에 정리하였다. 대사체들은 분자량과 fragmentation

pattern, 흡광 특성 그리고 DB와 참고문헌의 정보에 기반하여 동정하였다. 오디도 복분자의 경우와 매우 유사하게, 물 추출물에서는 주로 phenolic acid들이, 에탄올 추출물에서는 anthocyanins 계열의 물질들이 주요 대사체로 확인되었다. 또한 에탄올 추출물에서는 배당체 형태의 화합물도 다양하게 분석되었다.

표 31. 오디 물추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms						Tentative identification	reference
191.18	1.21	202, 303	85.07	127.06	173.00	93.07	111.09	147.07	Quinic acid	Deborah <i>et al.</i>

표 32. 복분자 80%에탄올 추출물에 함유된 대사체 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms						Tentative identification	reference	
609.37	17.90	220 312	301.10	343.13	172.96	591.17			Rutin	METLIN	
447.41	9.75	280 515	285.34	327.12	429.14	357.12	269.20			Cyanidin-3-glucoside (Chrysanthemin)	METLIN
353.46	7.77	217 321	191.03	179.03	135.13	256.10			Chlorogenic acid	METLIN	
593.38	11.21	210 516	285.12	299.15	327.12	467.11	575.13	257.14	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN	
505.33	19.35	221	301.08	463.08	343.14	445.10			Quercetin acetyl-hexoside	METLIN	
489.38	21.21	221	285.09			327.05			Kaempferol derivative	METLIN	
609.37	11.51	217 517	285.13	301.08	485.14	565.12	241.11	193.00f	Cyanidin-diglucoside	METLIN	
285.49	9.56	279 514	241.10	257.12	217.09	149.00	125.14		Cyanidin	METLIN	

표 33. 오디 물추출물에 함유된 대사체 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms			Tentative identification	reference
166.31	2.90	283	120.37	149.04	131.13	L-Phenylalanine	METLIN
132.42	1.96	283	86.32	114.14		5(d)-Aminolevulinic Acid	METLIN
182.31	1.60	248	165.30	136.32		L-Tyrosine	METLIN

표 34. 오디 80%에탄올. 추출물에 함유된 대사체 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms			Tentative identification	reference	
449.32	9.90	280 513	287.37	MS3(287) : 213, 137, 241, 269			Cyanidin-3-O-glucoside	Wu <i>et al.</i>
595.32	11.60	215 518	287.35, 449.16	MS3(287) : 213, 137, 241, 269			Cyanidin-3-rutinoside	Massbank
611.36	18.23	220	303.34, 465.13				Rutin	METLIN

본 연구에서 사용하였던 대상 식품 소재인 수수, 발아보리, 녹차, 복분자, 오디의 추출물들에 함유된 대사체 profiling 결과, 물 추출물에서는 phenolic acids, hydroxycinnamic acid 등의 계열의 물질들이 그리고 에탄올 추출물에서는 anthocyanin 계열과, 배당체의 형태의 화합물들이 주요 대사체로 존재하고 있다는 것을 확인할 수 있었다.

5. 폴리페놀 화합물 추출조건 탐색 및 추출 최적화

가. 실험방법

(1) 폴리페놀 추출 대상 천연소재 선정

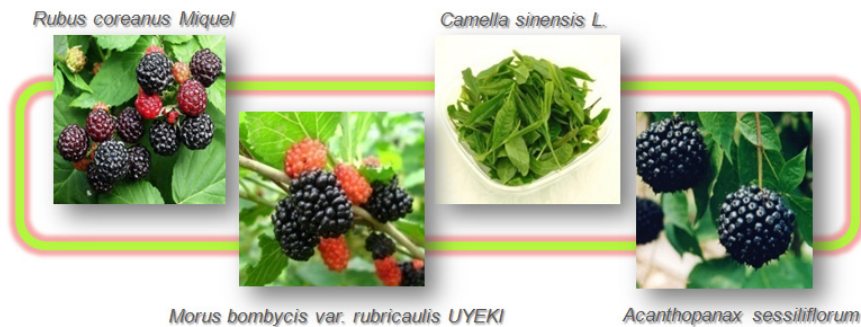


그림 18. 폴리페놀 추출 대상 천연소재 선정.

복분자(*Rubus coreanus* Miquel), 오디(*Morus bombycis* var. *rubricaulis* UYEKI), 녹차 (*Camella sinensis* L.)를 우선적으로 연구하였다.

추가적으로 오가자(*Acanthopanax sessiliflorum*)에 대한 연구도 함께 진행하였다.

(2) 가용성 폴리페놀 화합물 추출조건 탐색

복분자, 오디, 녹차, 오가자를 추출용매로 추출하는 조건 중 초기 pH, 극성 및 추출용액의 온도를 달리하여 반응표면분석을 이용하여 총 페놀함량을 최대로 하는 최적 추출조건을 확립하였다.

(가) Sample preparation

추출에 앞서 폴리페놀 추출 소재 중 복분자와 오디는 생과의 형태이고, 녹차와 오가자는 건조잎/과실의 형태이므로, 폴리페놀 추출소재간의 수분함량의 차이로 균일한 추출조건 설정을 위해 감압건조방법을 통해 수분함량을 측정하여 소재 간의 차이를 보완하였다.

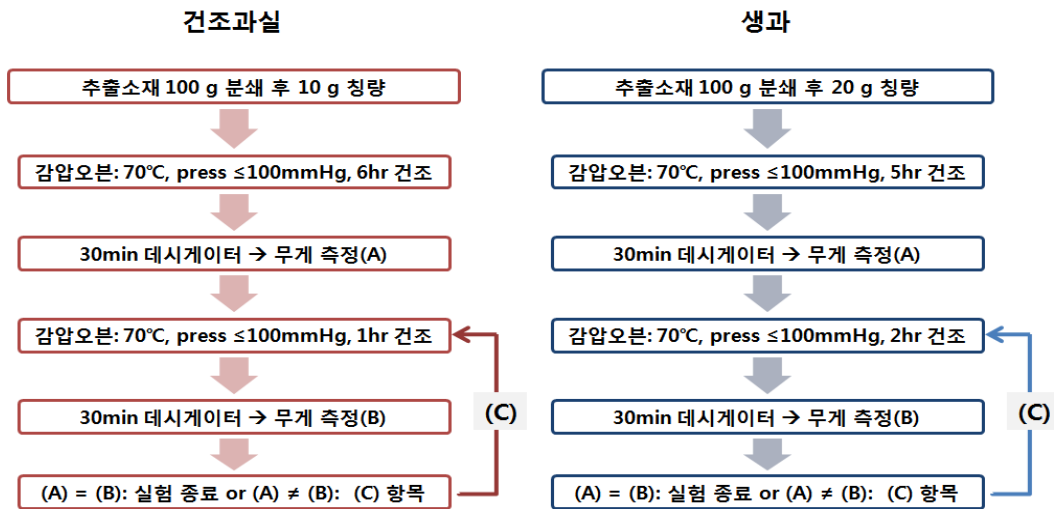


그림 19. 추출소재 수분함량 측정법.

추출액은 건물기준 10 g의 소재를 200 mL의 용매로 1 시간 추출한 후 과실을 제거하여 제조하였다.

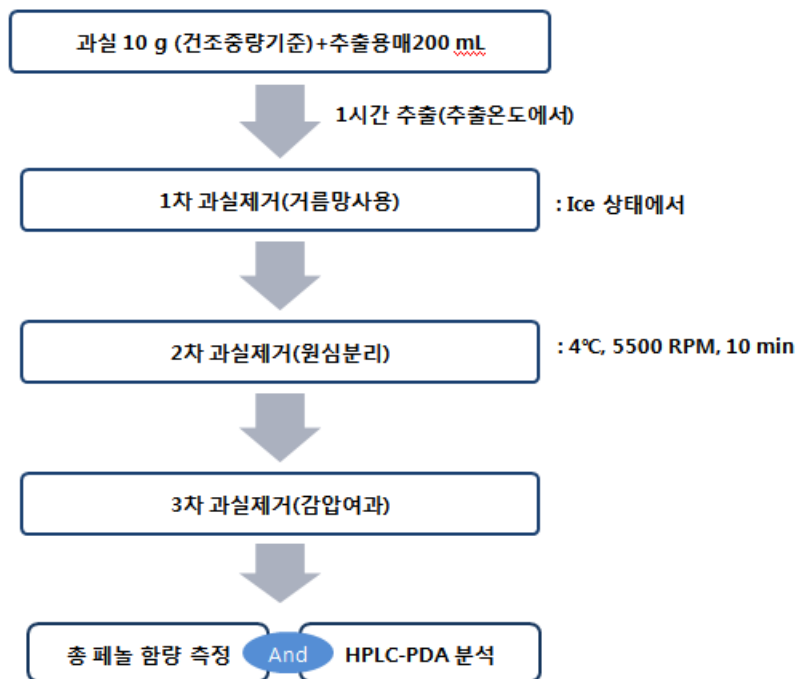


그림 20. 폴리페놀 추출물 제조.

최적조건은 Box-Behnken design으로 설계하였고, 실험조건은 독립변수로 pH (X_1 ; 3, 7, 11), 추출 용액의 극성 (ethanol 함량)(X_2 ; 0, 40, 80) 추출온도(X_3 ; 5, 35, 65°C)였으며, 실험계획은 -1, 0, 1 의 3단계로 코드화하여 표와 같이 15개의 실험구로 설정하여 실시하였다.

종속(반응)변수(Y)는 녹차, 오디, 복분자, 오가자 추출액 내의 총페놀 함량으로 하였고, 각기 3회 반복 측정하여 평균값을 회귀분석에 사용하였다.

이때 독립변수와 종속변수에 대한 2차 회귀 모형식은 다음과 같다.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2$$

Y : 총 페놀함량, X₁ : 추출용매 pH, X₂ : 추출용매 EtOH %, X₃ : 추출용매 온도

식 1. 회귀 분석 모형식.

여기서 Y는 종속(반응)변수, X₁, X₂, X₃는 독립변수, β₀는 절편, β_n는 회귀계수이다.

회귀분석에 의한 모델식의 예측에는 SAS program이 사용되었고, 회귀분석의 결과 임계점 (Critical point)이 최대점(Maximum)이 아닌 안장점(Saddle point)의 경우에는 능선분석(Ridge analysis)을 하여 최적점을 구하였다.

표 35. Levels of experimental conditions

X _n	Experimental condition	Level		
		-1	0	1
X ₁	pH	3	7	11
X ₂	Polarity (Ethanol %)	0	40	80
X ₃	Temperature(°C)	5	35	65

표 36. Experimental conditions on Box-Benhken design

Experimental number	pH	Polarity (Ethanol %)	Temperature (°C)
1	-1(3)	0(40)	-1(5)
2	0(7)	0(40)	0(35)
3	0(7)	-1(0)	1(65)
4	-1(3)	0(40)	1(65)
5	0(7)	-1(0)	-1(5)
6	-1(3)	-1(0)	0(35)
7	0(7)	0(40)	0(35)
8	1(11)	0(40)	-1(5)
9	-1(3)	1(80)	0(35)
10	1(11)	0(40)	1(65)
11	1(11)	1(80)	0(35)
12	1(11)	-1(0)	0(35)
13	0(7)	1(80)	1(65)
14	0(7)	0(40)	0(35)
15	0(7)	1(80)	-1(5)

(나) 총 페놀함량 측정

추출한 폴리페놀 추출액을 UV/VIS scanning spectrophotometer(DU 730, Beckman Coulter, Inc., USA)를 이용하여 760 nm에서 측정하였다.

표준물질은 gallic acid (Sigma-Aldrich Chemical Co. MO, USA)를 이용하였고, 총 페놀함량은 gallic acid 당량(mg GAE / 10 g)으로 표현하였다.

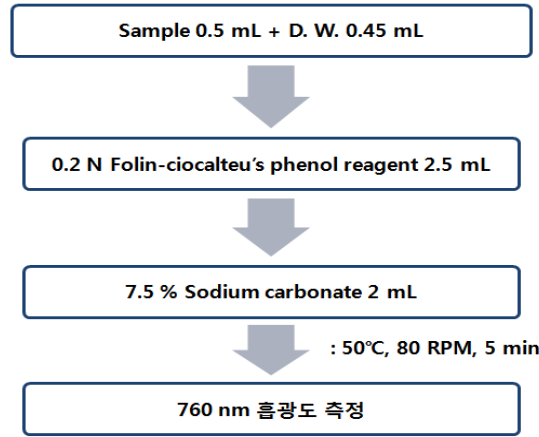


그림 21. 총 페놀 함량 측정법.

나. 실험결과

(1) 총 페놀함량 측정

조건별 총 페놀함량의 측정값은 다음과 같다.

표 37. 소재 추출물 내의 총 페놀 함량

Experimental number	Total phenolics (mg GAE / 10 g)			
	<i>Bokbunja</i>	<i>Mulberry</i>	Green tea	<i>Ogaja</i>
1	20.18±0.19	18.39±0.14	86.12±0.20	20.64±0.17
2	18.05±0.09	25.21±0.26	74.53±0.20	16.25±0.21
3	22.84±0.17	20.18±0.03	50.80±0.33	21.58±0.18
4	23.67±0.12	21.88±0.08	81.00±0.58	20.01±0.17
5	15.12±0.21	17.78±0.20	46.30±0.16	18.75±0.29
6	15.28±0.16	21.51±0.13	42.03±0.17	18.18±0.26
7	17.00±0.17	24.12±0.10	80.43±0.51	16.17±0.18
8	22.41±0.05	19.37±0.17	82.20±0.25	19.99±0.05
9	14.94±0.20	14.97±0.08	64.44±0.44	4.11±0.05
10	26.19±0.25	17.45±0.08	72.58±0.27	20.64±0.17
11	12.99±0.05	16.10±0.13	57.36±0.43	6.82±0.03
12	16.27±0.22	21.83±0.05	48.08±0.09	18.41±0.22
13	22.61±0.13	19.03±0.00	36.57±0.26	8.50±0.03
14	19.59±0.19	23.81±0.13	81.59±0.60	16.27±0.10
15	16.60±0.15	10.38±0.14	37.22±0.40	7.58±0.09

(2) 2차 회귀모형식

독립변수와 종속변수에 대한 회귀모형식은 아래의 표와 같다.

표 38. 반응표면분석에 의해 유도된 다항식

Response	Second order polynomials	R ²	Significance
Bokbunja	$Y_{\text{복분자TP}} = 14.543692 + 0.234318X_1 + 0.255282X_2 - 0.235029X_3 + 0.01249X_1^2 - 0.04672X_1X_2 - 0.002483X_2^2 - 0.001386X_1X_3 - 0.000691X_2X_3 + 0.005134X_3^2$	0.9170	0.0299
Mulberry	$Y_{\text{오디TP}} = 8.564702 + 2.077443X_1 + 0.130028X_2 + 0.130028X_3 - 0.105802X_1^2 + 0.001361X_1X_2 - 0.002937X_2^2 - 0.017251X_1X_3 + 0.001083X_2X_3 - 0.003807X_3^2$	0.8705	0.0803
Green tea	$Y_{\text{녹차TP}} = 37.040325 - 3.002772X_1 - 3.002772X_2 + 2.127778X_3 + 0.360492X_1^2 - 0.028212X_1X_2 - 0.021741X_2^2 - 0.024851X_1X_3 - 0.002999X_2X_3 - 0.004961X_3^2$	0.8637	0.0897
Ogaja	$Y_{\text{오가자TP}} = 25.953602 - 0.692902X_1 + 0.079398X_2 - 0.174194X_3 + 0.054454X_1^2 - 0.007054X_1X_2 - 0.003536X_2^2 - 0.005545X_1X_3 - 0.000131X_2X_3 + 0.003076X_3^2$	0.9505	0.0090

* Y_{복분자 TP} : 복분자 총 페놀 함량, X₁ : 추출용매 pH, X₂ : 추출용매 EtOH %, X₃ : 추출용매 온도

(3) 반응표면분석

(가) 복분자

복분자의 반응표면회귀식은 총변동의 91.7%를 설명하였으며 이 모형은 유의수준 $\alpha = 0.05$ 에서 유의적으로 나타났다.

아래의 그림에 나타난 것과 같이 복분자 추출액의 총 페놀 함량은 pH에 있어서는 큰 차이를 보이지 않으나 온도의 경우는 30 °C 부근에서 가장 낮은 함량을 나타내고, 30 °C보다 높거나 낮은 온도에서는 더 높은 총 페놀함량을 나타내는 것을 볼 수 있다. 극성에 관하여는 40% 부분이 높은 총 페놀 함량을 보이는 것을 알 수 있다.

복분자의 반응표면 분석에 의한 고정점은 최대점이 아닌 안장점으로 나타나, 능선분석을 통해 총 페놀함량이 최대인 점을 최적점으로 선정하였고, 그 때의 pH, 에탄올 함량 및 추출온도는 각각 7.25, 35.18 및 65.95로 나타났으며 최적조건하에서의 총 페놀함량은 26.17 mg GAE / 10 g로 예측된다.

반응표면분석의 최적조건으로 복분자 추출액을 제조하였을 때 총 페놀함량은 24.27 mg GAE / 10 g로 측정되어 예측값과 유사하게 나타났다.

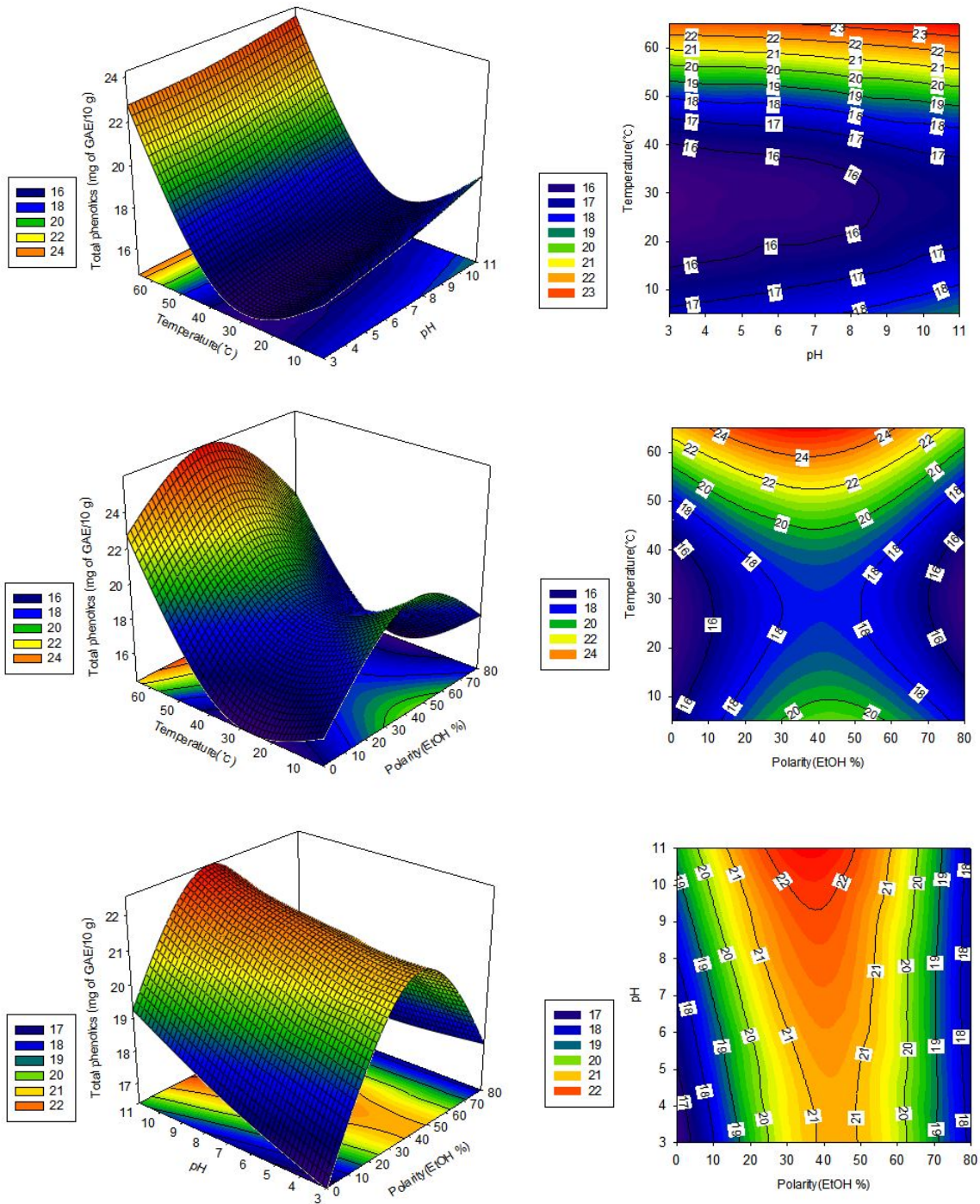


그림 22. 추출용매의 pH, 극성 및 온도에 따른 복분자의 반응표면.

(나) 오디

오디의 반응표면회귀식은 총변동의 87.1%를 설명하였으며, 유의수준 $\alpha=0.1$ 수준에서 유의적으로 나타났다.

아래의 그림과 같이 오디 추출액의 총 페놀 함량은 pH 7부근에서 가장 높게 나타났으며, 추출 온도의 경우는 30 °C 부근에서 가장 높은 함량을 나타내고, 30 °C보다 높거나 낮은 온도에서는 더 낮은 총 페놀 함량을 나타내는 것으로 나타났다. 극성에 관하여는 에탄올 40% 부근이 가장 높은 총 페놀 함량을 보임을 알 수 있다.

오디의 반응표면 분석에 의한 고정점은 최대점으로 나타났으며, 그 때의 pH, 에탄올 함량 및 추출온도는 각각 6.76, 31.06 및 39.89로 나타났으며 최적조건하에서의 총 페놀함량은 25.33 mg GAE / 10 g로 예측된다.

반응표면분석의 최적조건으로 오디 추출액을 제조하였을 때 총 페놀함량은 25.0 mg GAE / 10 g으로 측정되어 예측값과 유사하게 나타났다.

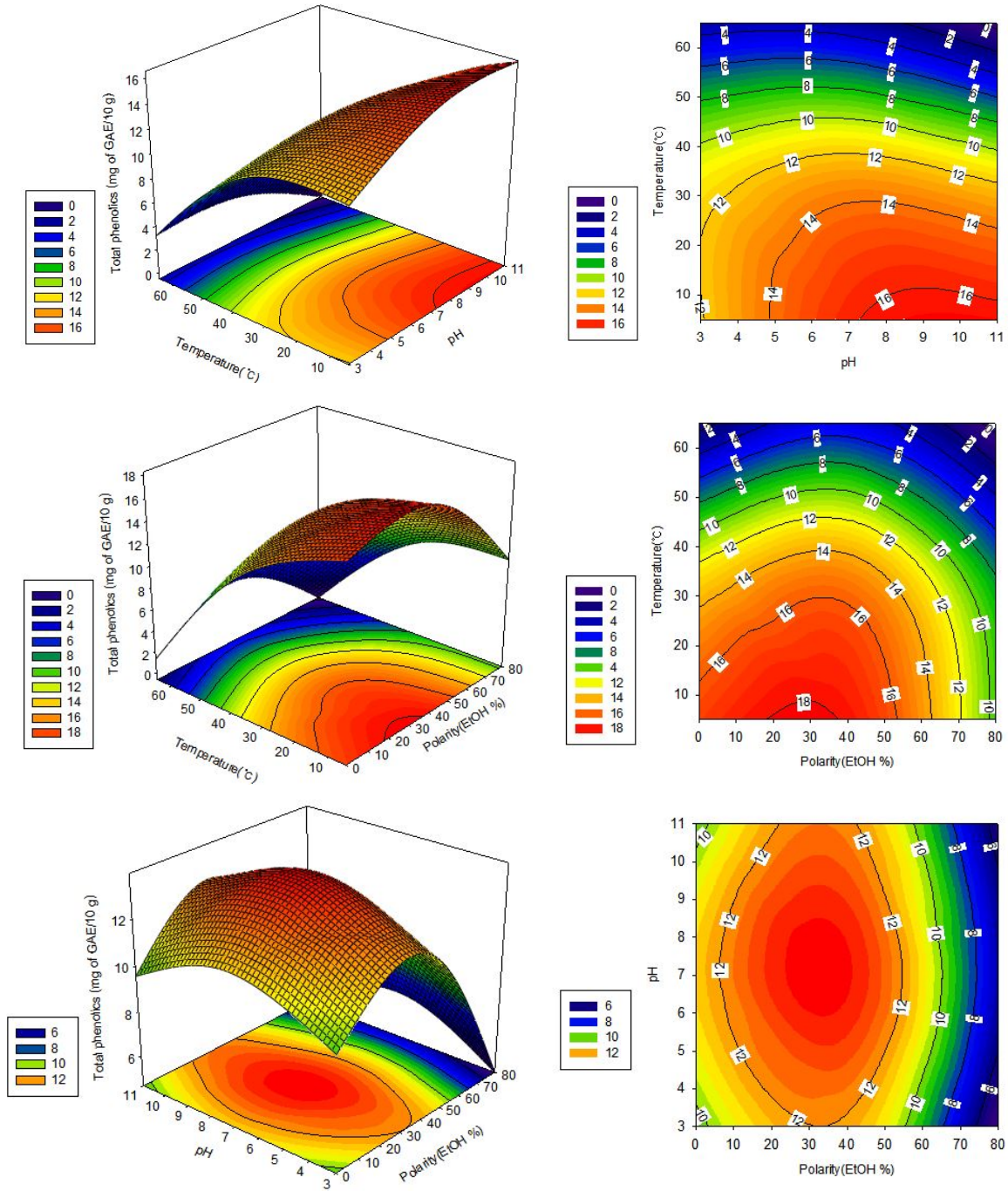


그림 23. 추출용매의 pH, 극성 및 온도에 따른 오디의 반응표면.

(다) 녹차

녹차의 반응표면회귀식은 총변동의 86.4%를 설명하였으며, 이 모형은 유의수준 $\alpha=0.1$ 수준에서 유의적으로 나타났다.

아래의 그림에 나타난 것과 같이 녹차 추출액의 총 페놀 함량은 pH에 있어서는 큰 차이를 보이지 않으나 pH 7부근에서 약간 낮은 경향을 나타내고, 온도가 높을수록 더 높은 총 페놀 함량을 나타내는 것을 볼 수 있다. 극성에 있어서는 40% 부근이 가장 높은 총 페놀 함량을 나타낸다.

녹차의 반응표면분석에 의한 고정점은 최대점이 아닌 안장점으로 나타나, 능선분석을 통해 총 페놀함량이 최대인 점을 최적점으로 선정하였고, 그 때의 pH, 에탄올 함량 및 추출온도는 각각 3.03, 45.11 및 39.48로 나타났으며 최적조건하에서의 총 페놀함량은 86.59 mg GAE / 10 g로 예측된다.

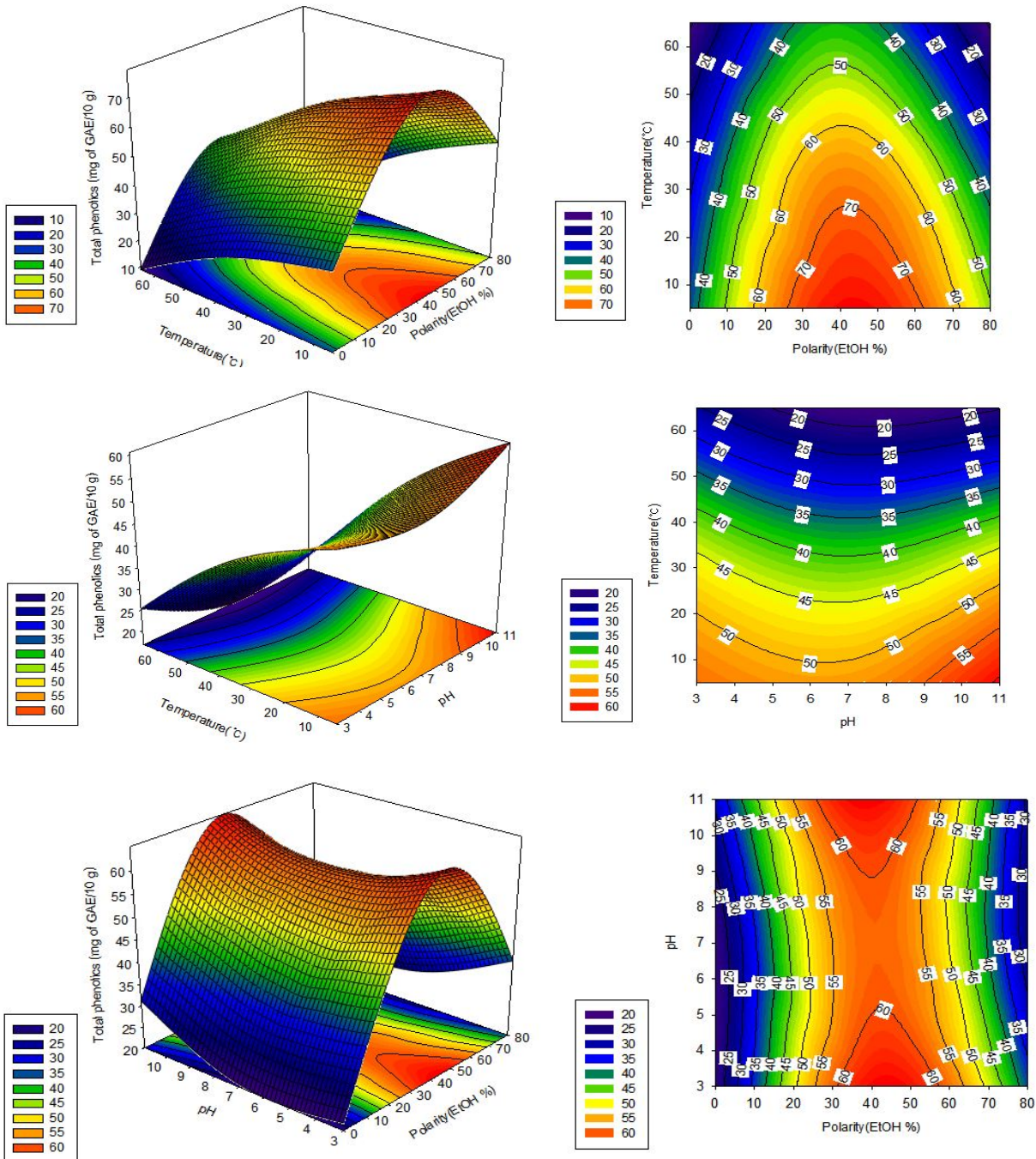


그림 24. 추출용매의 pH, 극성 및 온도에 따른 녹차의 반응표면.

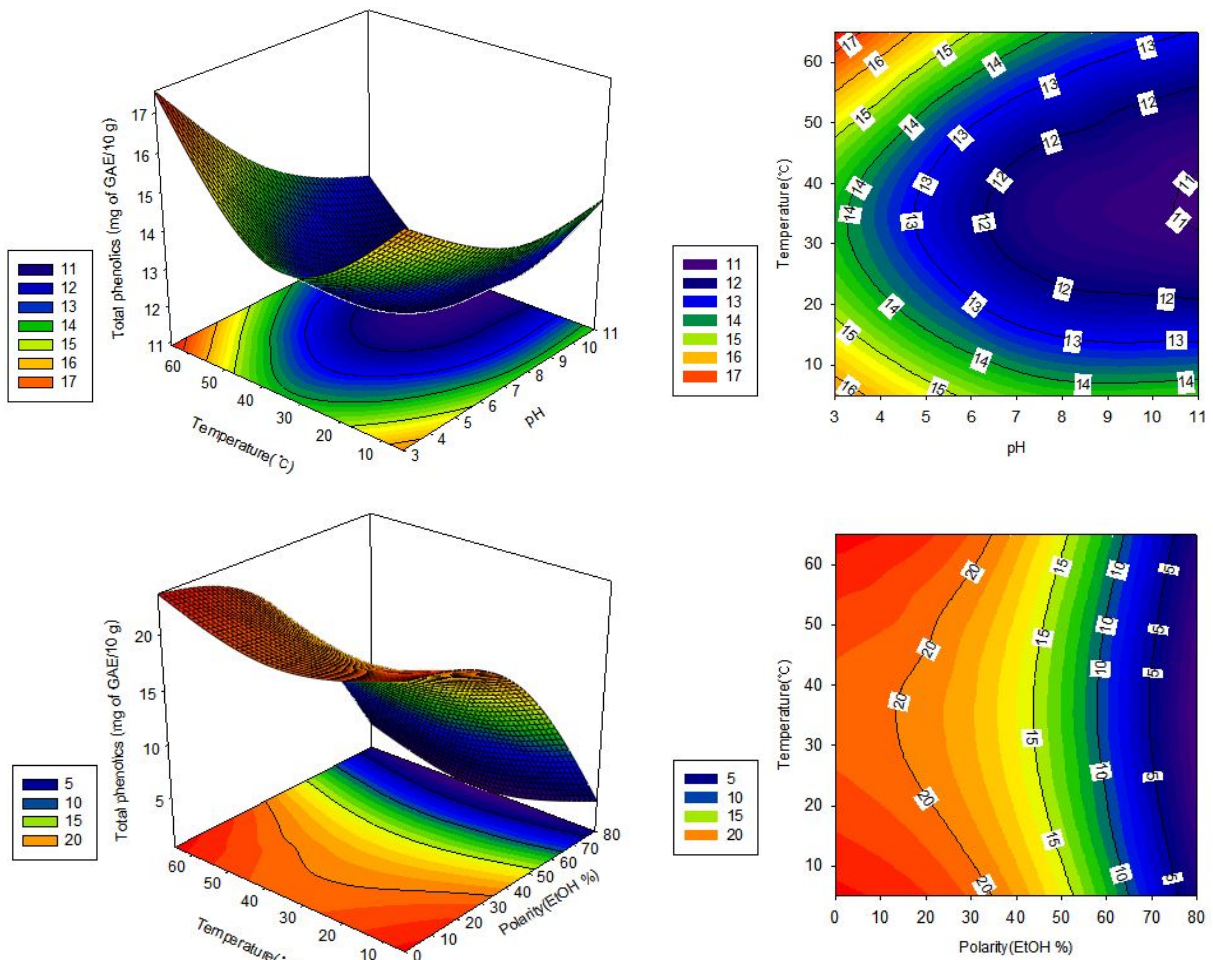
(라) 오가자

추가적으로 실험을 진행하였던 오가자의 반응표면회귀식은 총변동의 95.05%를 설명하였으며 이 모형은 $\alpha=0.01$ 의 유의수준에서 유의적으로 나타났다.

아래의 그림과 같이 오가자 추출액의 총 페놀 함량은 조사된 범위 내에서 초기 pH가 낮아질 수록 높아짐을 알 수 있었고, 온도의 경우는 30 °C 부근에서 가장 낮은 총 페놀함량을 나타내고, 30 °C보다 높거나 낮은 온도에서는 더 높은 총 페놀 함량을 나타내는 것을 볼 수 있다. 극성에 관하여는 에탄올 함량이 낮을수록 높은 총 페놀 함량을 나타내어 오가자의 폴리페놀은 물추출로 가장 효과적임을 알 수 있다.

오가자의 반응표면분석에 의한 고정점은 최대점이 아닌 안장점으로 나타나, 능선분석을 통해 총 페놀함량이 최대인 점을 최적점으로 선정하였고, 그 때의 pH, 에탄올 함량 및 추출온도는 각각 3.64, 18.79 및 64.73으로 나타났으며 최적조건하에서의 총 페놀함량은 22.69 mg GAE / 10 g로 예측된다.

반응표면분석의 최적조건으로 오가자 추출액을 제조하여 측정된 총 페놀함량은 22.18 mg GAE / 10 g로 예측값과 매우 유사하게 나타났다.



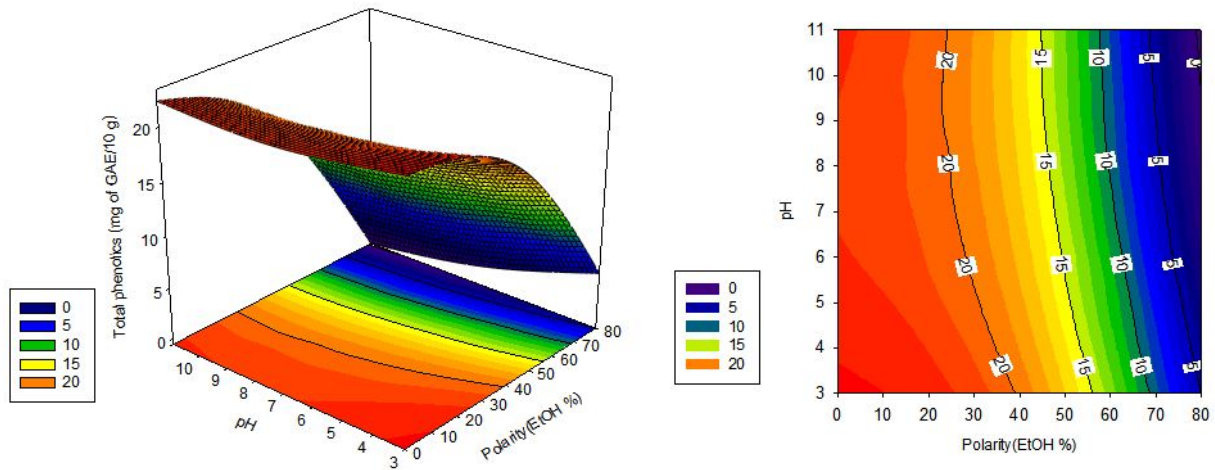


그림 25. 추출용매의 pH, 극성 및 온도에 따른 오가자의 반응표면.

반응표면분석을 통하여 구한 총 페놀함량을 최대로 하는 최적조건은 추출소재에 따라 상이하였으며, 각 추출소재에 대한 초기 pH, 추출용매의 극성 및 추출온도의 효과도 상이하여, 추출소재에 따라 서로 다른 폴리페놀 물질들이 존재할 것으로 여겨진다. 이러한 각 소재의 최적 추출조건은 일차적으로 총 페놀함량보다는 항산화능이 우수한 추출조건으로 선정하여 첨가하는 것이 식품기능성 측면에서 적합하다고 사료되어 최종 추출 조건에는 항산화능이 우수한 추출 조건으로 선정하였다.

6. 추출물별 지표 폴리페놀 선정 및 구조 동정

반응표면분석을 통해 얻은 복분자, 오디, 녹차, 오가자의 최적추출조건으로 얻은 추출물을 HPLC-PDA로 프로파일링을 하며, 이를 이용하여 차년도에 있을 단백질과 상호작용을 하는 폴리페놀물질의 정량분석을 위한 분석 조건으로 선정하였다.

가. 실험방법

(1) Sample preparation

시료는 반응표면분석을 통해 얻은 최적 추출조건을 이용하고, 건물기준 10 g의 폴리페놀 추출소재를 200 mL의 추출 용매로 1시간 추출하여 과실 제거하여 준비하였다.

(2) HPLC - PDA 분석방법 및 조건

폴리페놀 추출소재에 따라 HPLC 분석용매의 비율 및 종류를 다르게 하여 최적 분석 조건을 탐색하였다. 분석용 컬럼으로는 C18 컬럼 (Shiseido Capcell PAK C-18, 4.6 x 250 mm, 5 μ m)을 활용하였다. Sample은 희석 후 0.20 μ L membrane filter로 여과 후 HPLC에 주입하였다. 검출 방법으로는 photo-diode array를 채택하여 다양한 파장에서 흡광 특성을 파악하였다.

추출 소재별로 확립된 분석조건은 다음과 같다.

(가) 복분자

표 39. 최적 조건에서 추출된 복분자 추출물의 HPLC-PDA 분석 조건

Eluent A	Water with 50 mM Phosphoric acid			
Eluent B	100% Acetonitrile			
Detection	220 nm, 280 nm, 520 nm			
Injection vol.	20 μ L			
Gradient	Time(min)	Flow rate(ml/min)	%A	%B
	0	0.7	97	3
	5	0.7	96	4
	10	0.7	95	5
	35	0.7	87	13
	45	0.7	85	15
	80	0.7	50	50
	90	0.7	0	100
	95	0.7	0	100
	100	0.7	50	50

(나) 오디

표 40. 최적 조건에서 추출된 오디 추출물의 HPLC-PDA 분석 조건

Eluent A	Water with 50 mM Phosphoric acid			
Eluent B	100% Acetonitrile			
Detection	230 nm, 280 nm, 520 nm			
Injection vol.	20 μ L			
Gradient	Time(min)	Flow rate(ml/min)	%A	%B
	0	0.7	97	3
	5	0.7	96	4
	10	0.7	95	5
	35	0.7	87	13
	45	0.7	85	15
	80	0.7	50	50
	90	0.7	0	100
	95	0.7	0	100
	100	0.7	50	50

(다) 녹차

표 41. 최적 조건에서 추출된 녹차 추출물의 HPLC-PDA 분석 조건

Eluent A	Water with 0.1 % Acetic acid			
Eluent B	100% MeOH			
Detection	230 nm, 280 nm			
Injection vol.	40 μ L			
Gradient	Time(min)	Flow rate(ml/min)	%A	%B
	0	1.0	80	20
	30	1.0	60	40
	40	1.0	80	20

(라) 오가자

표 42. 최적 조건에서 추출된 오가자 추출물의 HPLC-PDA 분석 조건

Eluent A	Water with 50 mM Phosphoric acid			
Eluent B	100% Acetonitrile			
Detection	280 nm, 330 nm, 520 nm			
Injection vol.	20 μ L			
Gradient	Time(min)	Flow rate(ml/min)	%A	%B
	0	0.7	97	3
	3	0.7	96	4
	20	0.7	95	5
	50	0.7	85	15
	70	0.7	70	30
	90	0.7	55	45
110	0.7	0	100	

(3) LC - MS/MS 분석방법 및 조건

폴리페놀 추출소재에 따라 주요 peak에 대한 구조분석을 실시하였다.

분석용 컬럼으로는 C18 컬럼 (YMC-Triart C18 column, 2.0 x 100 mm, 1.9 μ m)을 활용하였다. 분석조건은 다음과 같다.

표 43. LC-MS/MS 분석 장비 및 조건

MScondition			
Iontrap	LTQ-Velosiontrapmassspectrometer		
Electrospray	Heatelectrosprayionizationinterface		
ionization	(Thermo Fisher Scientific, San Joe, CA USA)		
Column	YMC-Triart C18column(1.9 μ m),2.0x100 mm		
Column temperature	36 $^{\circ}$ C	FullMSmassrange(m/z)	100-1000
Capillary temperature	275 $^{\circ}$ C	Sourcevoltage	5 kV
Sheath gas	35 ml/min	Auxiliarygas	5 ml/min
Eluent A	0.1%	Formic acid in water	
Eluent B	0.1%	Formic acid in CAN	
Gradient	Time(min)	%A	%B
	0-5	97	3
	5 - 10	96	4
	10 - 30	95	5
	30-40	85	15
	40-50	70	30
50-55	0	100	

나. 실험결과

(1) HPLC-PDA 분석

HPLC-PDA 분석은 물질의 분리를 위하여 주요 물질이 검출되는 파장 영역대를 미리 조사한 후 분석을 수행하였다. 차년도에 있을 단백질과 상호작용하는 폴리페놀물질의 정성분석을 위해, 피크가 최대한 분리되는 조건을 확립하였다.

(가) 복분자

과장대에 따라 다양한 물질이 분리되었고, 주요 물질이 분리된 과장 영역은 220 nm, 280nm, 520 nm영역이다. 특히 220 nm에서 다양한 물질이 분리되어졌으며, 520 nm에서 관찰된 물질은 안토시아닌 계열의 폴리페놀물질이라 예상된다.

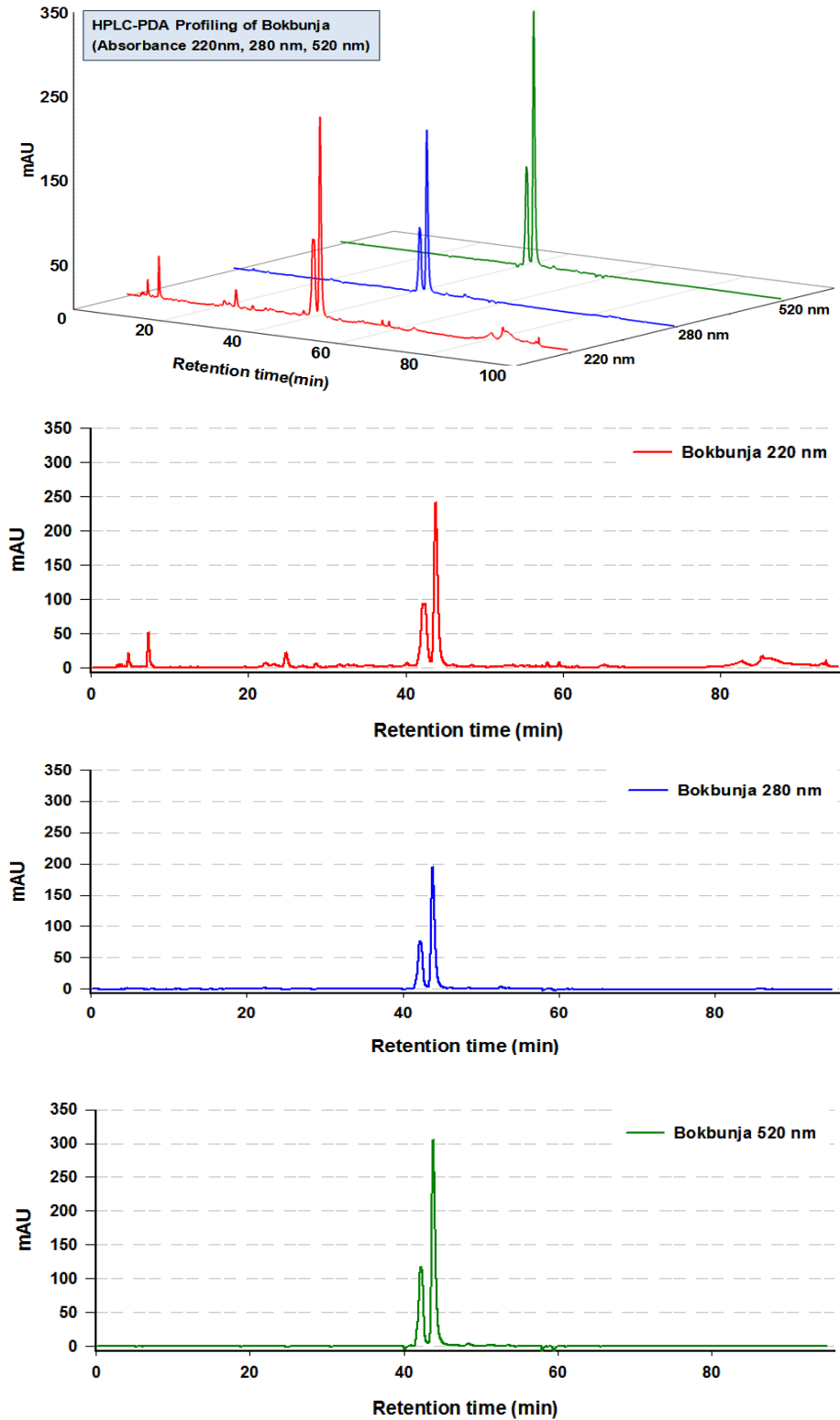


그림 26. 최적 조건에서 추출된 복분자의 HPLC-PDA 프로파일.

(나) 오디

파장대에 따라 다양한 물질이 분리되었고, 주요 물질이 분리된 파장영역은 230 nm, 280 nm, 520 nm이다. 특히, 230 nm에서 다양한 물질이 분리되어졌으며, 520 nm에서 관찰된 물질은 안토시아닌 계열의 폴리페놀물질이라 예상된다.

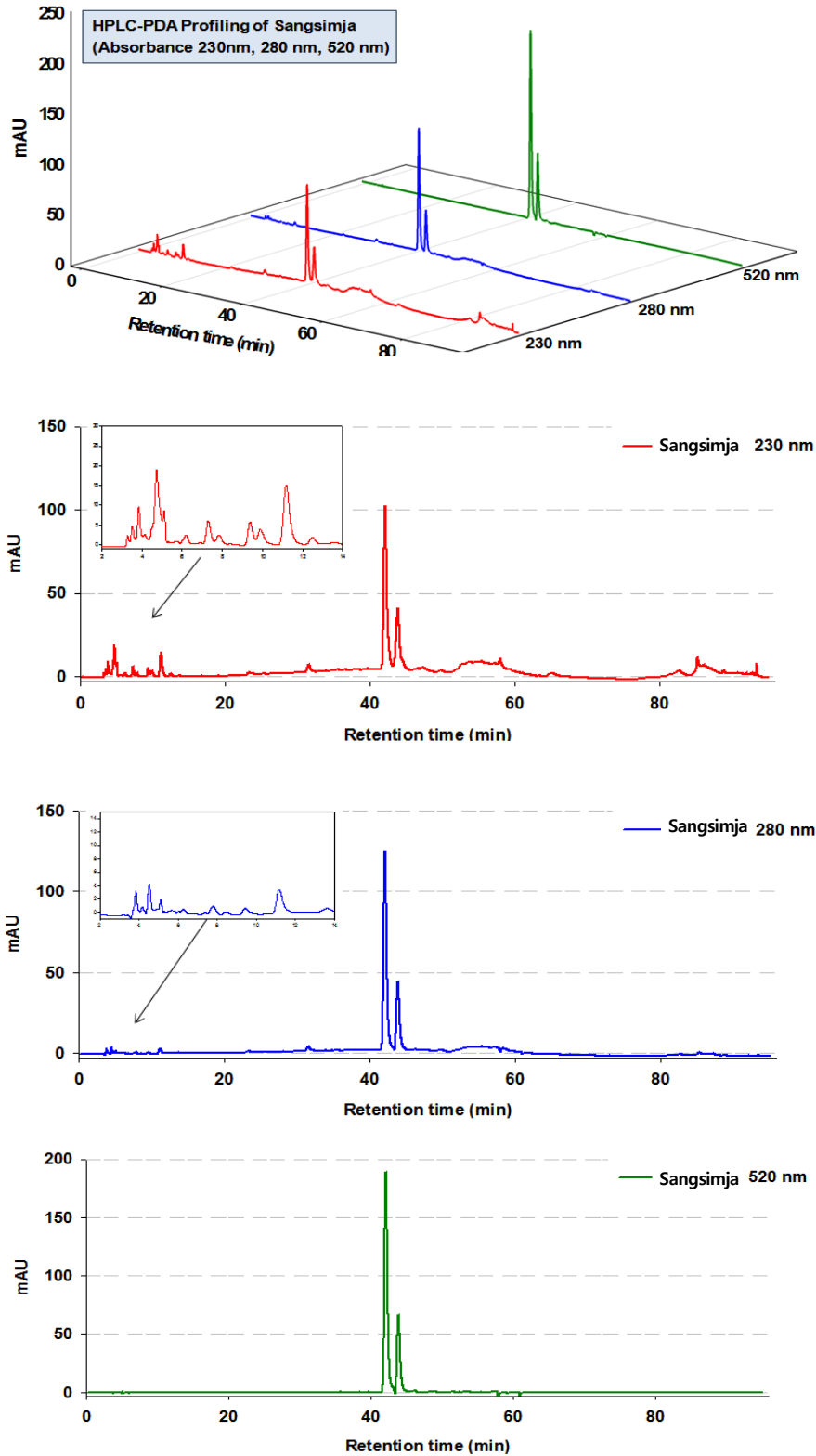


그림 27. 최적 조건에서 추출된 오디의 HPLC-PDA 프로파일.

(다) 녹차

녹차의 경우, 주요물질이 분리된 파장영역은 230 nm, 280 nm이었다. 그 밖의 파장에서는 물질이 관측되지 않았다.

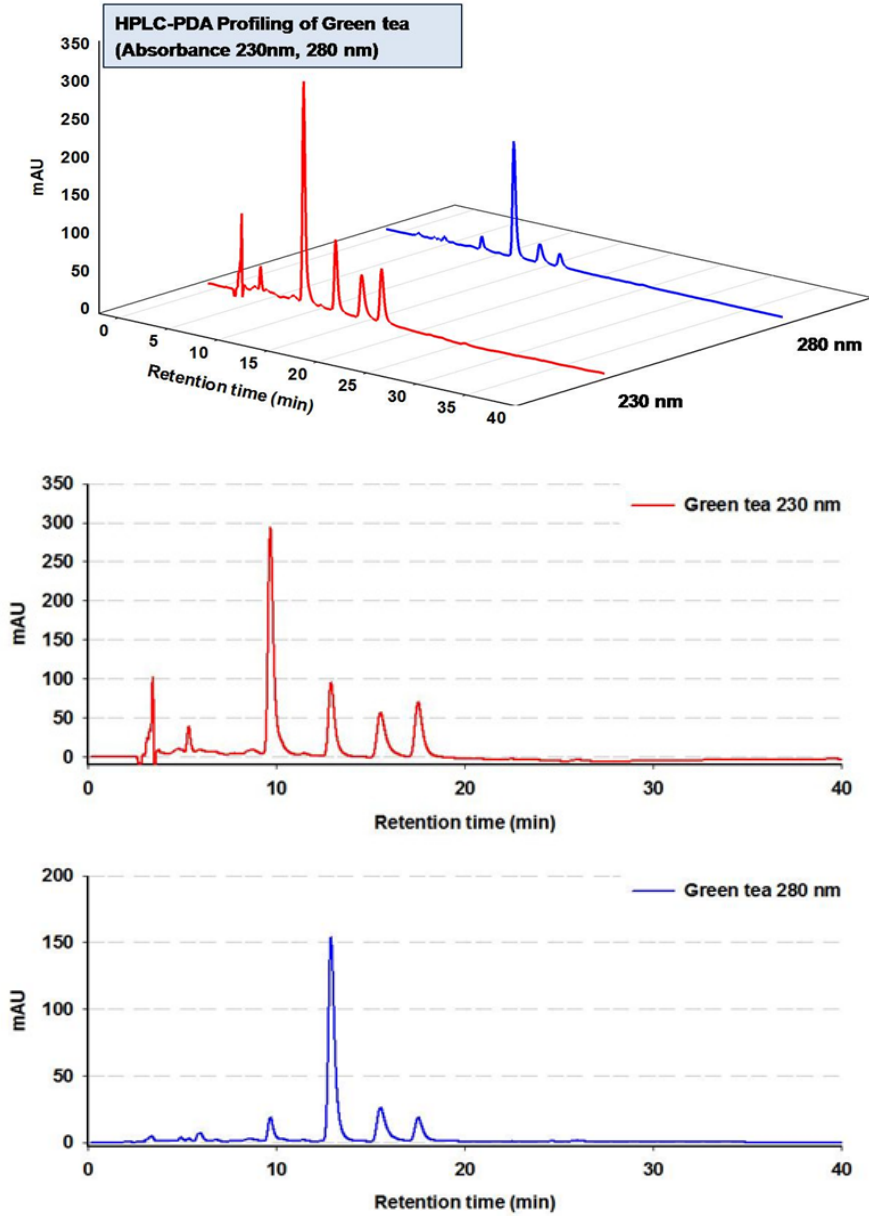


그림 28. 최적 조건에서 추출된 녹차의 HPLC-PDA 프로파일.

(라) 오가자

오가자의 주요물질이 분리된 파장영역은 280 nm, 320 nm, 520 nm 이다. 오가자는 다른 추출소재와는 다르게 320 nm 파장에서 물질이 분리되었으며, 520 nm에서 분리된 피크는 안토시아닌 계열의 물질이라 예상된다.

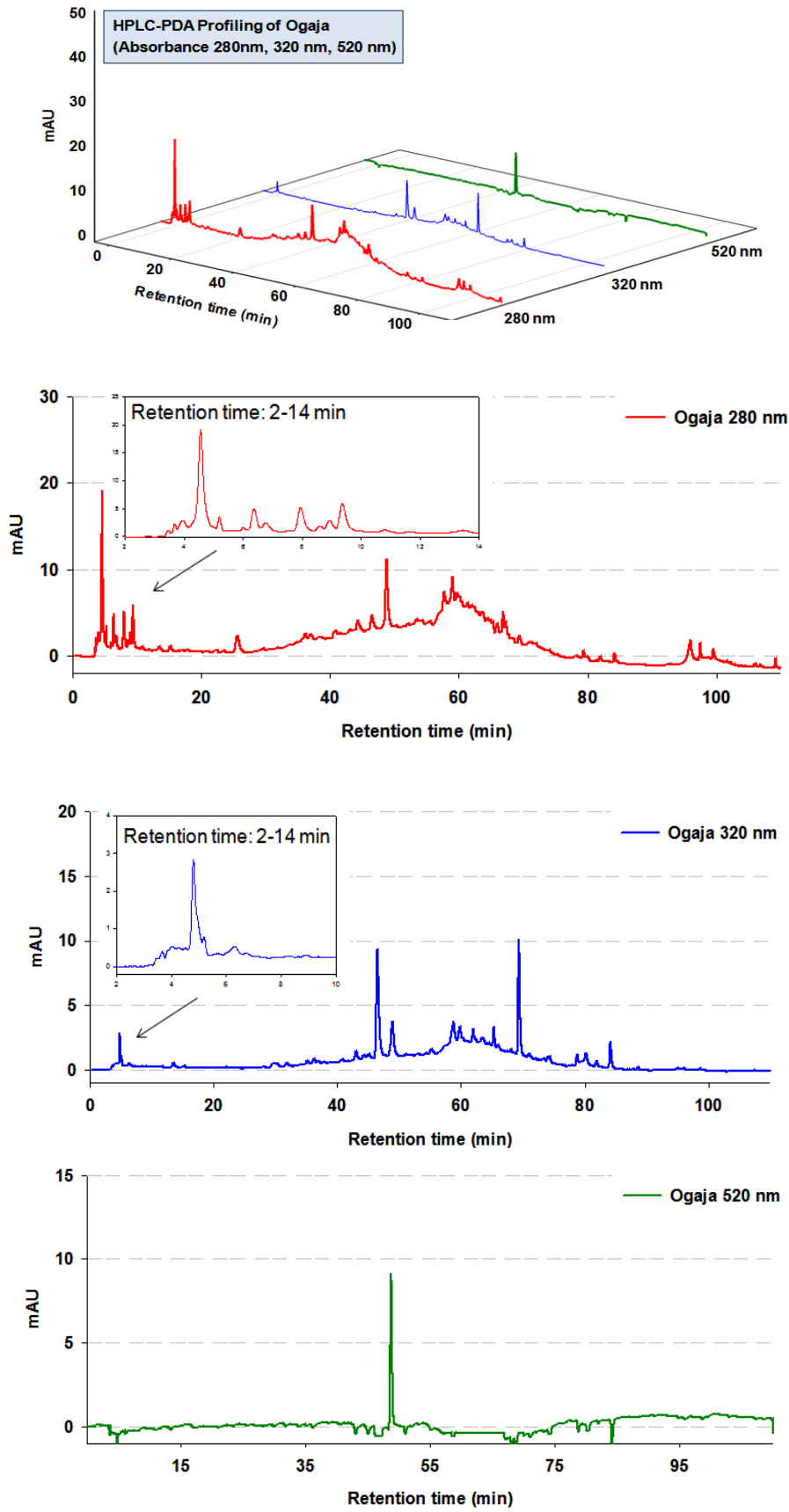


그림 29. 최적 조건에서 추출된 오가자의 HPLC-PDA 프로파일.

HPLC-PDA분석으로 식물체별 폴리페놀 화합물의 분포를 분석한 결과 폴리페놀 추출 급원에 따라 존재하는 지표성분은 그 종류가 다양할 것으로 예상된다. 폴리페놀 추출 급원에 따라 최적의 HPLC-PDA분석법 확립을 통해 차년도에 있을 폴리페놀-단백질 상호작용에 기여하는 폴리페놀물질을 탐색에 있어 효율적인 탐색이 가능할 것으로 예상된다.

또한, 폴리페놀 추출 급원에 따른 최적의 HPLC-PDA분석법 확립을 통해 차년도에 있을 폴리페놀 물질의 가공안정성 평가 시 성분별 안정성 평가가 가능할 것으로 예상된다.

(2) LC - MS/MS 분석

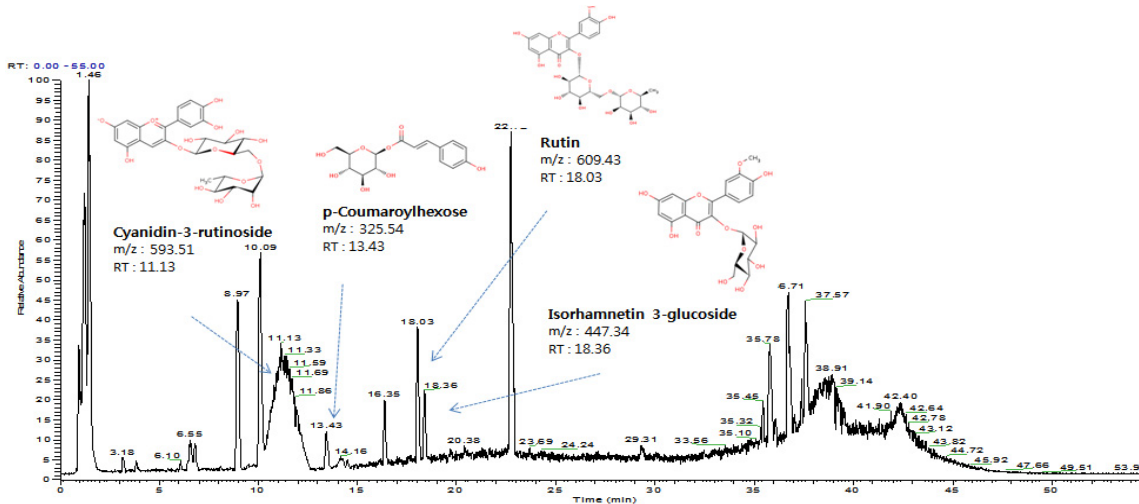
LC-MS/MS분석은 물추출 폴리페놀 추출물의 주요 성분을 분석하였다. 이 연구결과는 차년도에 있을 단백질과 상호작용을 하는 폴리페놀물질의 정성분석을 위한 기초자료로 활용될 예정이다.

(가) 복분자

복분자의 물 추출물에 존재하는 물질들을 negative mode 및 positive mode에서 동정하였으며, 동정된 주요물질은 다음과 같다.

① Negative mode

Time(min)	Abs.	m/z	ms/ms	Tentativeidentification
11.13	280, 517	593.51	285.15/299.16 327.13	Cyanidin-3-rutinoside
13.43	276	325.54	163.02, 161.04, 119.16	p-Coumaroylhexose
18.03	266, 284	609.43	301.1 343.09	Rutin
18.36	281, 304	447.34	315.08,285.13,299.99	Isorhamnetin3-glucoside



② Positive mode

Time(min)	Abs.	m/z	ms/ms	Tentativeidentification
10.98	280, 517	595.43	286.86, 449.00	Cyanidin3-rutinoside
11.19	280,518	727.43	286.83, 581.10	Cyanidin3-xylosylrutinoside

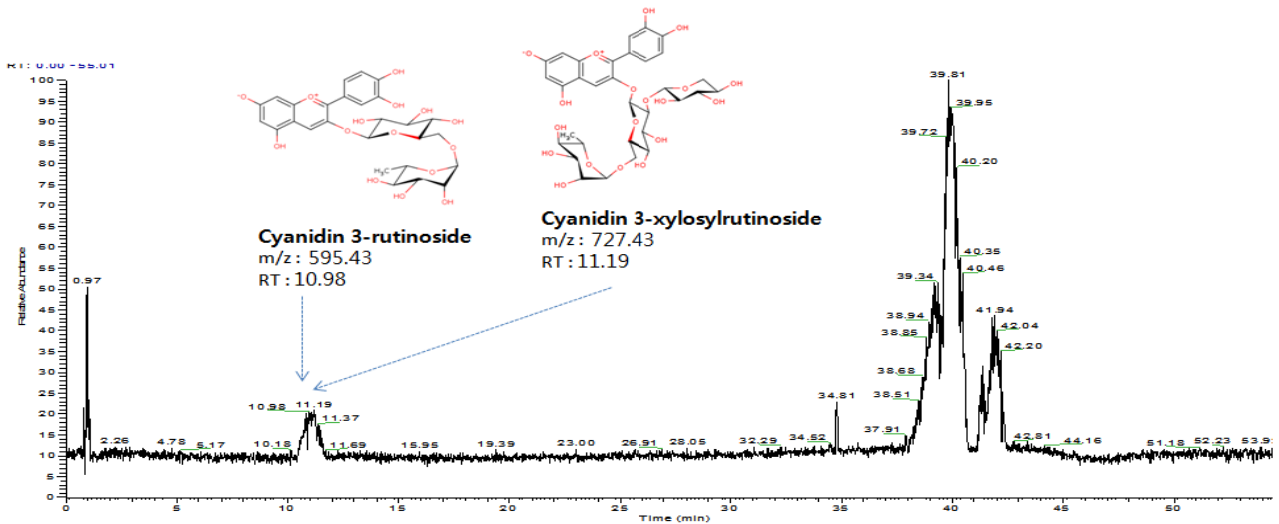


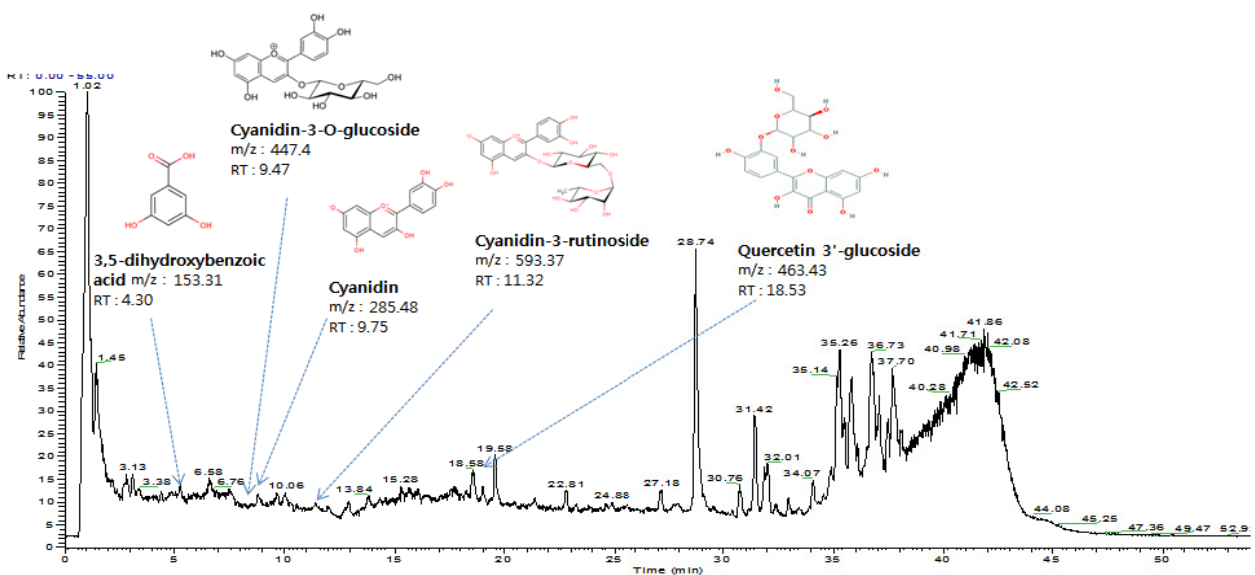
그림 30. 복분자 물 추출물의 LC-MS/MS에 의한 성분 동정.

(나) 오디

오디의 물 추출물에 존재하는 물질들을 negative mode 및 positive mode에서 동정하였으며, 동정된 주요물질은 다음과 같다.

① Negative mode

Time(min)	Abs.	m/z	ms/ms	Tentative identification
4.3	278, 323	153.31	109.00, 110.07, 125.10, 135.06	3,5-dihydroxybenzoic acid
9.47	280,315	447.4	285.11, 327.11, 429.12, 299.13	Cyanidin-3-O-glucoside
9.75	278, 323	285.48	241.06, 257.09, 217.09, 213.05, 199.10	Cyanidin
11.32	283, 316	593.37	285.12,299.08,327.11,467.12	Cyanidin-3-rutinoside
18.53	275	463.43	301.07,343.09,445.23,419.28	Quercetin3'-glucoside



② Positive mode

Time(min)	Abs.	m/z	ms/ms	Tentativeidentification
10.09	277, 521	449.33	287.35MS3:213,137,241,269	Cyanidin-3-O-glucoside
12.2	278,521	595.35	287.33,449.13,MS3:213,137,241,269	Cyanidin-3-rutinoside

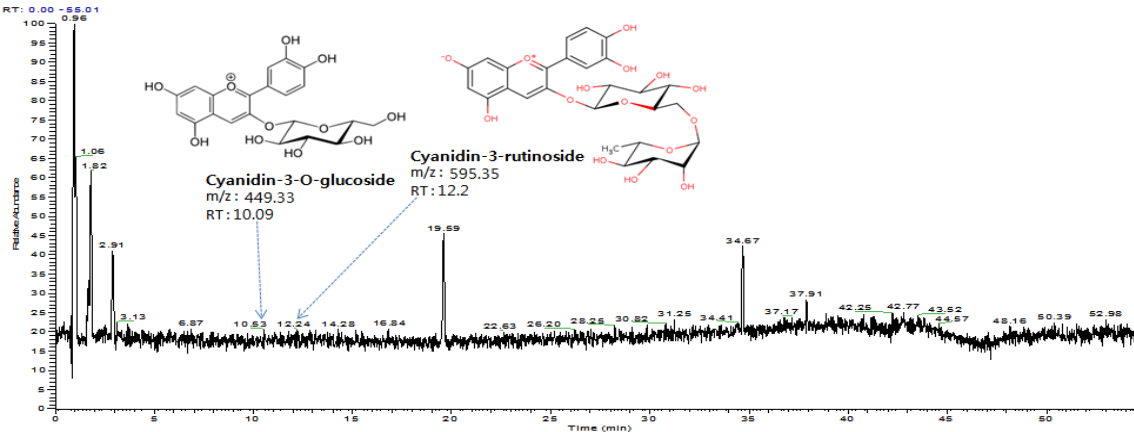


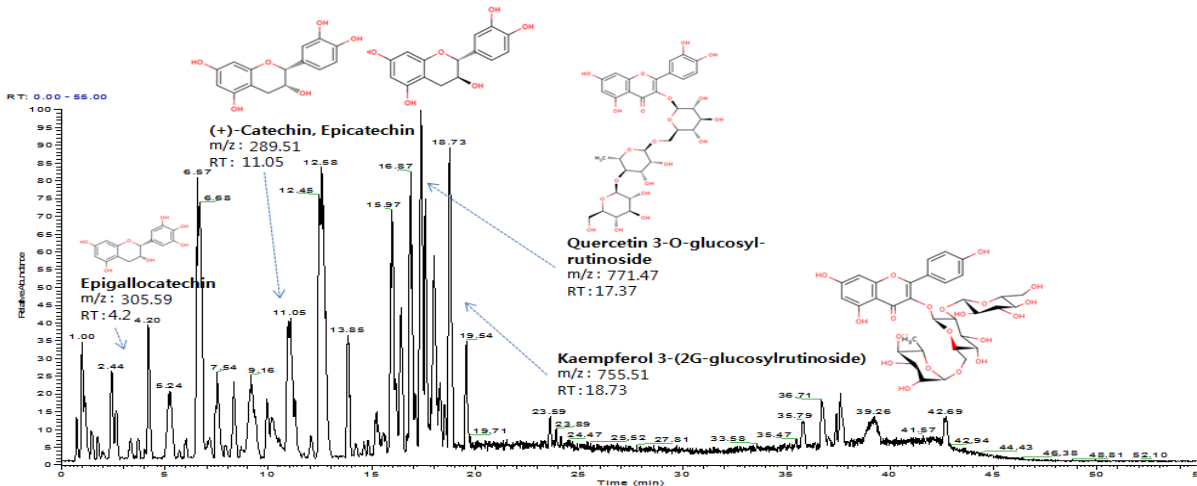
그림 31. 오디 물 추출물의 LC-MS/MS에 의한 성분 동정.

(다) 녹차

녹차의 물 추출물에 존재하는 물질들을 negative mode 및 positive mode에서 동정하였으며, 동정된 주요물질은 다음과 같다.

① Negative mode

Time(min)	Abs.	m/z	ms/ms	Tentativeidentification
4.2	326, 343	305.59	179.07,221.05,219.11,261.11,165.05	Epigallocatechin
11.05	310	289.51	245.19, 205.11, 179.10, 203.14, 165.08, 137.07, 125.16	(+)-Catechin,Epicatechin
17.37	277	771.47	301.15, 343.14, 609.18	Quercetin 3-O-glucosyl-rutinoside
18.73	271, 332	755.51	285.36,447.21,593.15	Kaempferol 3-(2G-glucosylrutinoside)



② Positive mode

Time(min)	Abs.	m/z	ms/ms	Tentativeidentification
11.05	280, 310	289.51	123.11 139.07 165.07	(+)-Catechin,Epicatechin
17.33	274,329	773.52	303.14 465.15 611.17	Quercetin 3-O-galactosylrutinoside
18.05	258, 283, 342	303.35	257.08 164.98 229.16 285.15	Quercetinhydrate

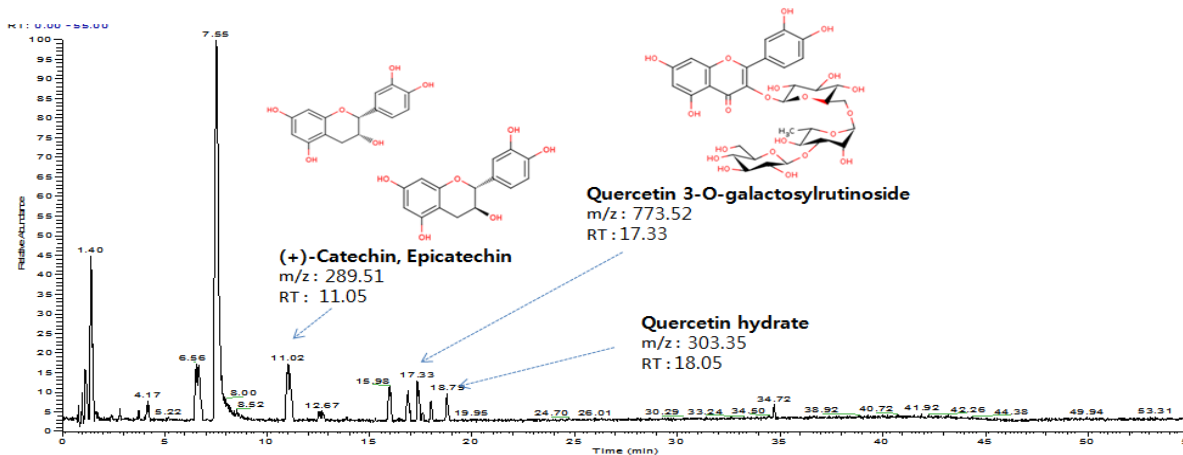


그림 32. 녹차 물 추출물의 LC-MS/MS에 의한 성분 동정.

복분자, 오디 및 녹차 추출소재의 물을 이용한 추출물 내의 주요 폴리페놀 물질을 LC-MS/MS를 이용하여 동정하였으며, 이를 통해 폴리페놀 급원별 주요 지표 물질을 규명할 수 있었다. 또한 이를 통해 차년도 폴리페놀-단백질의 상호작용에 기여하는 폴리페놀 물질의 효율적인 동정이 가능할 것으로 예상된다.

7. 폴리페놀 및 전곡립 소재별 제면 반죽 형성능 분석

가. 실험방법

(1) 일반성분 분석

수분, 회분, 지방 및 단백질 함량은 AOAC 방법에 따라 측정하였다. 수분 함량은 샘플 2 g을 130 °C에서 1 시간 건조시킨 뒤, 건조 전의 샘플 무게와 건조 후의 샘플 무게 차를 계산식에 적용하여 측정하였다. 단백질 함량은 Kjeldahl법에 따라 분해, 증류 및 적정의 과정을 통해 적정에 필요한 양을 구해 계산식에 적용하여 측정하였다. 지방 함량은 Soxhlet 방법을 이용하였고, diethyl ether로 6 시간 동안 추출하여 얻어진 조지방의 무게를 통해 분석하였다. 회분 함량은 도가니(회화로)에서 550 °C로 5 시간 회화시켜 얻은 회분의 무게를 측정하여 분석하였다. 식이섬유 함량은 Megazyme assay kit를 이용하여 효소중량법을 통해 측정하였다. amylase와 protease, amyloglucosidase로 효소 반응시킨 뒤, 걸러내어 잔여물의 무게를 측정하여 식이섬유 함량을 분석하였다. 총 탄수화물 함량은 다른 성분들과의 차이로부터 계산하여 나타낸다.

(2) 수화능 분석

샘플 0.1 g에 물 30 ml을 가하여 혼합한 뒤 각각 상온과 100 °C에서 30 분간 방치시키고, 15,000xg에서 30 분간 원심분리 하여 얻어진 상등액과 침전물의 무게를 측정하였다. 105 °C에서 건조시킨 상등액의 무게 또한 측정한 뒤, 계산식을 통해 수화능을 나타내는 수분흡수능(WAI; water absorption index), 용해도(WS; water solubility), 팽윤력(SP; swelling power)을 계산하여 분석하였다.

(3) 페이스트 형성능 분석

페이스트 특성을 분석하기 위해 starch pasting cell을 사용하여 측정하였다. 샘플을 9.8% 농도로 만들어 50 °C에서 1 분 동안 유지하고 3.75 분 동안 95 °C까지 증가시킨 다음 95 °C에서 2.5 분간 유지시켰다. 다시 3.75 분 안에 50 °C까지 낮추었고 50 °C에서 5 분간 유지시키면서 온도에 따른 점도 변화를 모니터링하였다.

(4) DSC 열적 특성 분석

호화 특성을 분석하기 위해 시차주사 열량계(Differential scanning calorimeter)를 사용하였다. Aluminum pan에 시료 5 mg와 물 15 μ l 주입 후 밀봉하여 1 시간 방치시킨 후 20 °C에서 110 °C(10 °C/min)까지 가열하였다.

(5) Mixolab 열물성 특성 분석

열물성학적 특성을 분석하기 위해 mixolab을 사용하였다. 샘플을 mixolab에 투입한 뒤, water absorption을 70%에 맞추어 30 °C에서 8분간 dual-mixing한 후, 4 °C/min의 속도로 15 분 동안 90 °C까지 증가시킨 후, 90 °C에서 7 분간 유지시켰다. 이 후, 다시 10 분 안에 50 °C까지 낮추고 50 °C에서 5 분간 mixing 하여 측정되는 torque 값을 기록하여 반죽 특성을 알아 보았다.

나. 실험결과

(1) 반죽 형성을 위한 수화능 및 페이스트 형성능 평가

(가) 전곡립 소재의 일반성분 분석

추청백미와 추청현미를 4 시간 수침 후 기류식 분쇄기를 사용하여 습식분쇄하고 열풍건조기를 이용하여 건조시켜 본 실험에 사용하였다. 건조된 백미와 현미의 수분, 회분, 단백질, 지방, 탄수화물, 식이섬유의 함량을 AOAC 방법에 따라 분석한 결과, 현미는 백미에 비해 회분, 단백질, 지방의 함량이 높았으며, 특히 식이섬유의 함량이 약 3배 정도 높은 것을 알 수 있었다.

표 44. 백미와 전곡립(현미)의 일반성분 및 식이섬유 함량

Proximate composition (%)	Polished rice flour	Brown rice flour
Moisture	8.31±0.02 ^a	8.17±0.15 ^a
Ash	0.28±0.01 ^b	1.07±0.01 ^a
Protein	6.09±0.06 ^b	6.44±0.16 ^a
Fat	0.19±0.00 ^b	2.23±0.01 ^a
Carbohydrates (by difference)	85.13±0.06 ^a	82.10±0.22 ^b
Total dietary fiber	1.11±0.42 ^b	3.39±0.09 ^a
Soluble dietary fiber	0.21±0.06 ^a	0.94±0.48 ^a
Insoluble dietary fiber	0.84±0.36 ^b	2.42±0.64 ^a

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(나) 전곡립 소재(현미)의 수화능 분석

백미와 현미를 각각 상온과 100 °C에서의 수화능을 측정한 결과, 상온에서의 수분흡착능(WAI, Water absorption index)과 수분팽화능(SP, Swelling power)은 백미와 현미가루가 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 수분용해도(WS, Water solubility)의 경우, 백미에 비해 현미가 더 높은 값을 나타낸다. 100 °C에서 수분흡착능, 팽화능, 용해도가 크게 증가함을 알 수 있었고, 100 °C에서 백미가 현미보다 수분흡착능과 수분팽화능이 더 우세하였다. 그러나 현미가 수분용해도는 백미보다 더 높은 것으로 관찰되었다.

- ✓ Water absorption index (WAI) = wet sediment weight / dry sample weight
- ✓ Water solubility (WS, %) = dry supernatant weight / dry sample weight × 100
- ✓ Swelling power (SP) = wet sediment weight / dry sample weight × [1 - (WS/100)]

식 2. 백미와 전곡립(현미)의 수화능 계산식.

표 45. 백미와 전곡립(현미)의 수분흡착능, 수분용해도 및 팽화능

		WAI	WS	SP
25 °C	Polished rice	3.58±0.48 ^a	2.55±0.60 ^c	3.67±0.48 ^a
	Polished and brown rice (1:1)	3.40±0.37 ^a	4.01±0.75 ^b	3.55±0.40 ^a
	Brown rice	3.35±0.34 ^a	5.24±0.48 ^a	3.54±0.35 ^a
100 °C	Polished rice	14.86±1.82 ^a	24.95±0.83 ^c	19.79±2.30 ^a
	Polished and brown rice (1:1)	12.83±0.44 ^b	26.81±1.02 ^b	17.54±0.70 ^b
	Brown rice	12.42±0.88 ^b	28.03±0.81 ^a	17.25±1.17 ^b

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(다) 전곡립 소재(현미)의 페이스트형성능 분석

백미와 현미가루의 호화와 노화가 시작되는 온도가 비슷하며, 백미에 비해 현미가루의 호화 점도와 노화점도가 유의적으로 낮게 나타난 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는, 현미가 상대적으로 전분의 양이 적고 전분이 아닌 다른 성분들을 다량 포함하고 있어 호화나 노화현상이 덜 발생하여 점도가 낮게 측정된 것으로 보인다.

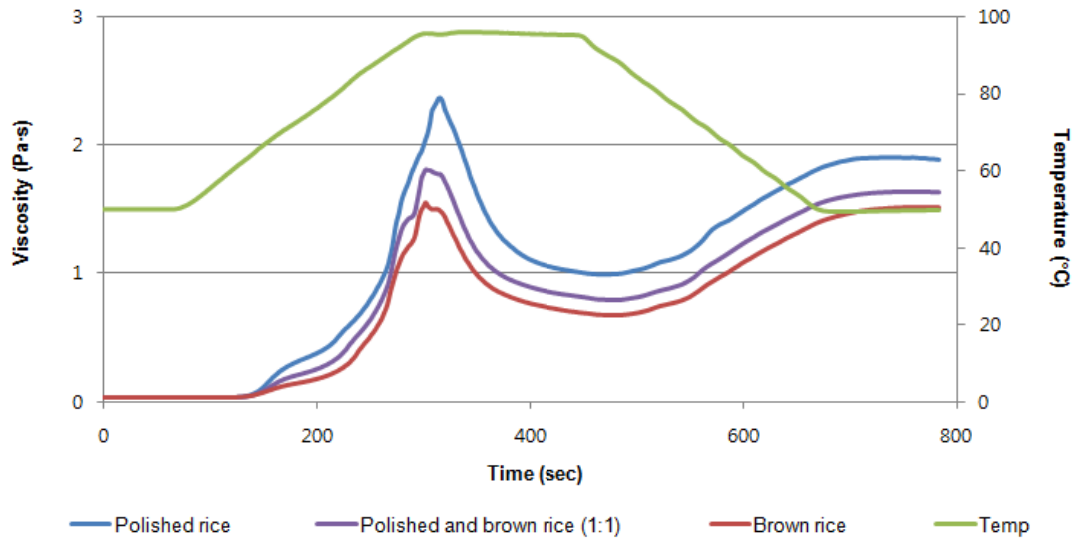


그림 33. 백미와 전곡립(현미)의 온도 변화에 따른 페이스트 형성능 profile.

표 46. 백미와 전곡립(현미)의 페이스트 점도.

	Peak viscosity (Pa·s)	Through viscosity (Pa·s)	break down (Pa·s)	final viscosity (Pa·s)	Setback (Pa·s)
Polished rice	2.38±0.02 ^a	0.99±0.01 ^a	1.39±0.03 ^a	1.91±0.01 ^a	0.92±0.01 ^a
Polished and brown rice (1:1)	1.82±0.03 ^b	0.79±0.00 ^b	1.03±0.03 ^b	1.64±0.01 ^b	0.85±0.01 ^b
Brown rice	1.56±0.04 ^c	0.67±0.00 ^c	0.89±0.04 ^c	1.51±0.01 ^c	0.84±0.01 ^b

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(라) 시차주사 열량계(DSC)를 이용한 호화특성 분석

DSC(시차주사 열량계)를 이용하여 열 분석한 결과, 호화에 필요한 에너지를 나타내는 엔탈피 값은 현미의 경우 작아지는 경향이 있었지만, 유의적인 차이를 보이지 않았고, 호화피크온도와 호화완료온도에서도 역시 유의적인 차이를 보이지 않았다. 다만, 백미가 현미에 비해 더 높은 호화개시온도를 가지는 것을 확인하였다.

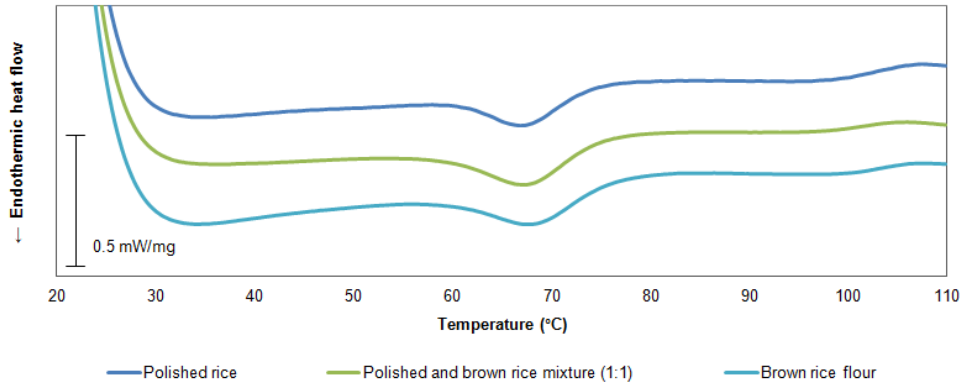


그림 34. 백미와 전곡립(현미)의 온도에 따른 열량변화.

표 47. 백미와 전곡립(현미)의 열량 및 호화온도

	Enthalpy (ΔH) (J/g)	Gelatinization temperatures ($^{\circ}C$)		
		T_o	T_p	T_c
Polished rice	6.20 \pm 0.73 ^a	60.43 \pm 0.15 ^a	67.00 \pm 0.36 ^a	74.07 \pm 0.47 ^a
Polished and brown rice mixture (1:1)	5.91 \pm 0.20 ^a	60.65 \pm 0.21 ^a	67.30 \pm 0.14 ^a	74.45 \pm 0.49 ^a
Brown rice	6.09 \pm 0.45 ^a	59.43 \pm 0.25 ^b	67.23 \pm 0.15 ^a	74.63 \pm 0.32 ^a

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(마) 전곡립 소재(통보리)의 수화능 측정 및 밀가루와의 비교 분석

전곡립 소재인 통보리가루의 수화능을 상온과 100 °C에서 측정한 후, 밀가루(중력분)의 결과와 비교하였다. 상온에서 통보리가루는 밀가루보다 높은 수분흡착능(WAI, Water absorption index)과 팽화능(SP, Swelling power), 보수력(WHC, Water holding capacity)을 보인다. 그러나 수분용해도(WS, Water solubility)는 밀가루가 더 높은 것으로 관찰되었다. 100 °C에서 방치시켰을 때의 수분흡착능과 팽화능, 보수력은 밀가루에 비해 통보리가루가 더 높은 특징을 나타낸다. 100 °C에서는 밀가루 또는 통보리가루 내의 전분이 호화되므로 전체적으로 수화능 인자가 상온에서보다 높게 나타난 것으로 보인다.

표 48. 백미와 전곡립(통보리)의 수분흡수능, 수분용해도, 팽화능 및 보수력

	WAI	WS	SP	WHC	
25 °C	Wheat	2.08 \pm 0.03 ^b	7.80 \pm 0.43 ^a	2.26 \pm 0.04 ^b	107.97 \pm 2.66 ^b
	Barley	2.73 \pm 0.22 ^a	5.83 \pm 0.30 ^b	2.90 \pm 0.23 ^a	173.22 \pm 21.83 ^a
100 °C	Wheat	10.12 \pm 0.18 ^b	26.78 \pm 0.73 ^a	13.82 \pm 0.35 ^b	912.08 \pm 18.30 ^b
	Barley	10.80 \pm 0.42 ^a	26.11 \pm 0.76 ^a	14.61 \pm 0.52 ^a	979.92 \pm 42.02 ^a

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(바) 전곡립 소재(통보리)의 페이스트 형성능 측정 및 밀가루와의 비교 분석

페이스트 상태에서 밀가루(중력분)와 통보리가루의 현탁 반죽 물성을 측정한 결과, 통보리가 더 높은 호화점도를 보인다.

아울러, 최종 점도의 경우 밀가루보다 훨씬 높은 점도를 가지는 것이 관찰되어 높은 노화 특성을 가지는 것을 확인하였다.

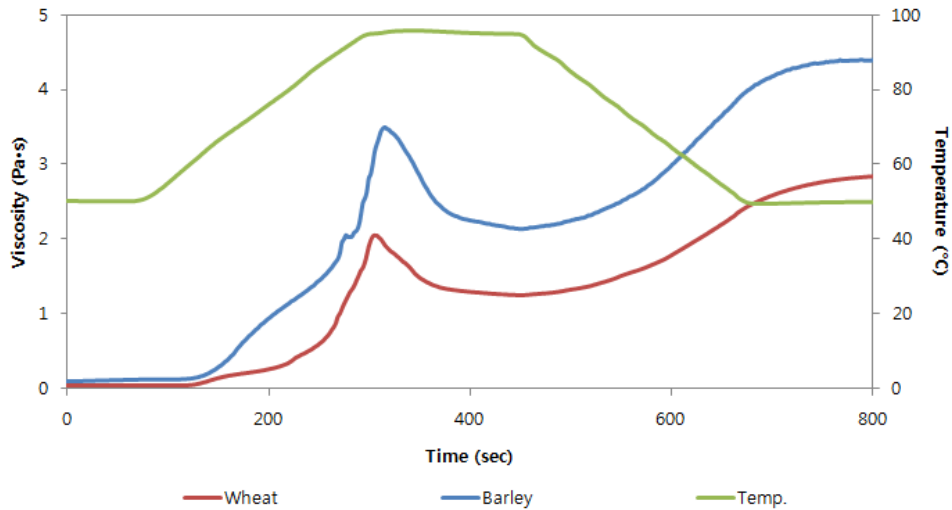


그림 35. 백미와 전곡립(통보리)의 페이스트 형성능 profile.

표 49. 백미와 전곡립(통보리)의 온도 변화에 따른 페이스트 점도

	Peak viscosity (Pa·s)	Through viscosity (Pa·s)	break down (Pa·s)	final viscosity (Pa·s)	Setback (Pa·s)
Wheat	2.04±0.01 ^b	1.24±0.01 ^b	0.81±0.01 ^b	2.85±0.02 ^b	1.61±0.01 ^b
Barley	3.50±0.04 ^a	2.13±0.01 ^a	1.37±0.05 ^a	4.40±0.02 ^a	2.27±0.02 ^a

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(2) Mixolab을 활용한 반죽 형성 특성 분석, 온도에 따른 반죽 thermo-mechanical 특성 분석 및 밀가루와의 비교 평가

(가) 전곡립 소재(현미)의 열물성학적 특성 분석

백미와 현미는 C1값이 꽤 높은 특성을 보이며, C3값으로 미루어보아 호화되었을 때 현미보다 백미 반죽의 Torque 값이 더 높게 측정된다.

현미의 C5값이 낮은 것으로 보아 현미에서 노화현상이 덜 일어날 것으로 생각된다.

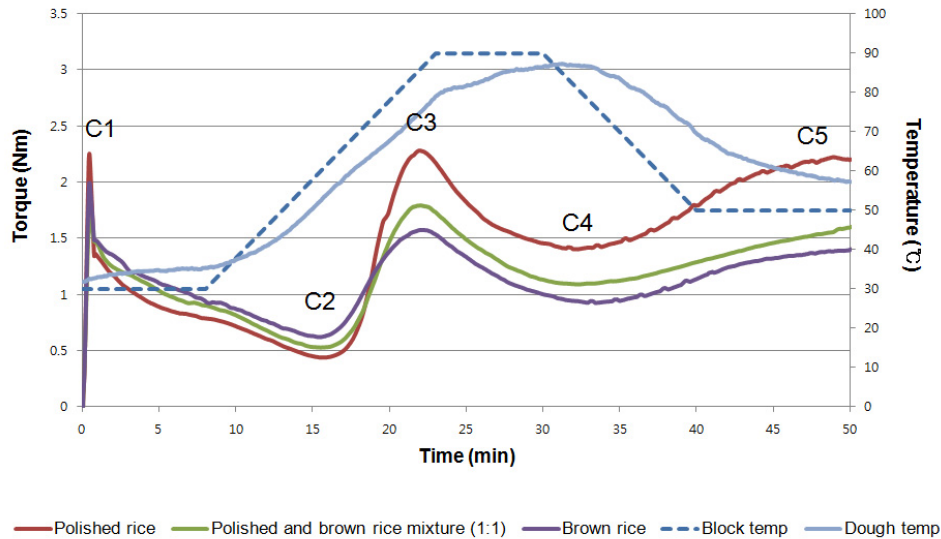


그림 36. 백미와 전곡립(현미)의 mixolab profile 비교.

(나) 전곡립 소재(통보리)의 온도에 따른 반죽 형성 특성 분석 및 밀가루와의 비교 분석
 통보리는 반죽형성시간이 짧고 전체적인 mixolab 인자들이 큰 값을 나타내어 밀가루와는 다른 특성을 나타낸다. 반죽을 형성하는 데 필요한 힘이 밀가루보다 클 것으로 사료된다.
 이와 같은 결과는 현탁액 상태에서의 페이스트 특성과 일치함. 도우 안정성은 밀가루와 통보리 모두 유의적으로 비슷하였다.

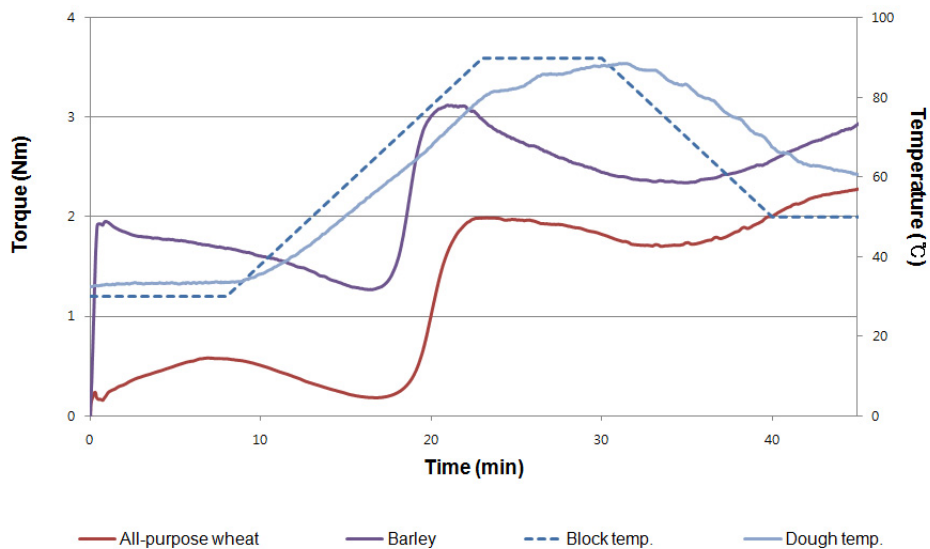


그림 37. 백미와 전곡립(통보리)의 mixolab profile 비교.

8. 물리적/효소적 복합 처리를 통한 글루텐 기능 구현 가능성 평가

가. 실험방법

(1) 전곡립 소재의 물리적 처리

전곡립 소재(보리, 현미)를 스팀, autoclaving, 압출성형 처리를 하여 물리적 처리 샘플로 사용하였다. 전곡립 소재 가루를 steam cooker로 10 분간 스팀처리한 뒤 실온에서 12 시간 건조시켜 샘플로 사용하였으며, autoclaving은 120 °C에서 10 분간 처리하여 실온에서 12 시간 건조시켜 사용하였다. 압출성형은 현미와 보리가루를 수분함량이 15%가 되도록 한 후 twin-screw extruder(투입온도 50 °C, Die온도 80/100/120 °C, Screw속도 200 rpm)에 투입하여 처리한 뒤 열풍건조기에 40 °C에서 12시간동안 건조시켜 본 실험의 샘플로 사용하였다. 물리적 방법으로 처리한 보리 혹은 현미가루를 mixolab에 투입한 뒤 혼합하면서, 일정한 온도 변화에 따라 측정되는 torque 값으로부터 반죽 특성을 알아보았다.

(2) 전곡립 소재의 효소적 처리

효소(TG, Transglutaminase) 처리가 전곡립 소재(보리, 현미)의 반죽 형성 특성에 미치는 영향을 분석하기 위해 밀가루 80 g에 TG를 밀가루 대비 2% 대체하여 1.6 g, 물 17.6 g을 가하여 섞은 후 반응시켰다. 효소 반응시간(1 시간, 2 시간)과 반응온도(상온, 최적온도 45 °C)로 각각 반응조건을 변화시켜 효소 처리한 전곡립 소재의 Water absorption을 70%에 맞춘 뒤 mixolab을 이용하여 반죽 특성을 알아보았다.

나. 실험결과

(1) 물리적 처리에 따른 반죽 특성 분석 및 밀가루와의 비교 평가

(가) 스팀처리, autoclaving, 압출성형 처리한 전곡립 소재(통보리)의 반죽 형성 특성 분석

물리적 방법으로 처리한 보리 혹은 현미가루를 mixolab에 투입한 뒤 혼합하면서, 일정한 온도 변화에 따라 측정되는 torque 값으로부터 반죽 특성을 알아본 결과, 스팀처리와 autoclaving 한 보리가루는 물리적 처리를 하지 않은 보리가루에 비해 Mixolab 인자가 높게 관찰되었다. 80 °C로 압출성형 하였을 경우에는 처리하지 않은 것과 큰 차이를 보이지 않았으며, 100 °C로 압출성형한 것은 C3, C5값이 더 높게 측정된다. 120 °C로 압출성형 하였을 때 가장 높은 C1값을 보여 처음 반죽이 형성될 때 필요한 힘이 클 것으로 보인다. 전반적으로 물리적 처리를 한 보리가루는 밀가루와는 많은 차이를 보이는 것으로 확인되었다.

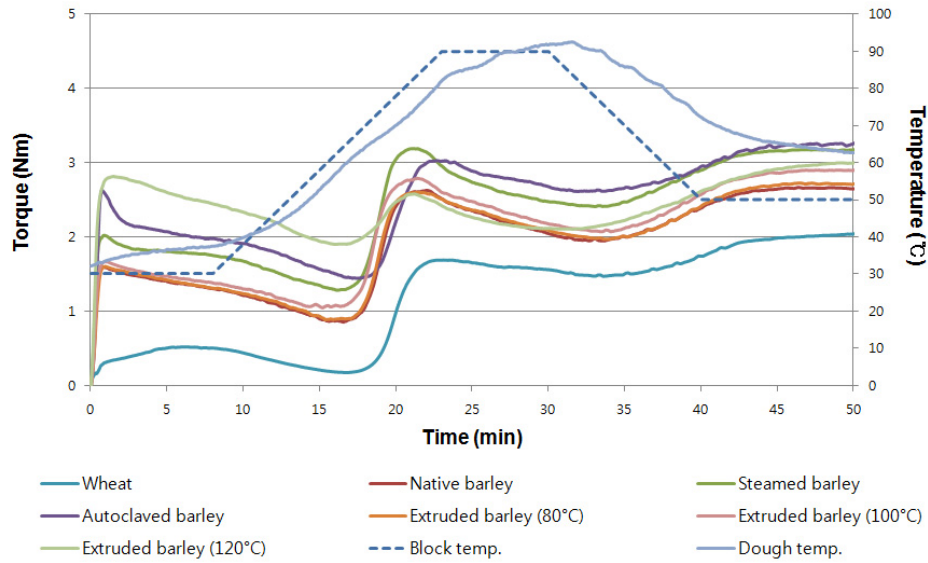


그림 38. 밀가루와 물리적 처리한 전곡립(통보리)의 mixolab profile 비교.

표 50. 밀가루와 물리적 처리한 전곡립(통보리)의 Mixolab 인자

		Wheat	Native barley	Steamed barley	Autoclaved barley	Extruded barley (80°C)	Extruded barley (100°C)	Extruded barley (120°C)
Torque (Nm)	C1	0.52±0.00f	1.62±0.02e	2.04±0.03c	2.65±0.02b	1.59±0.02e	1.67±0.01d	2.82±0.01a
	C2	0.18±0.00f	0.86±0.01e	1.27±0.01c	1.43±0.01b	0.87±0.04e	1.04±0.02d	1.89±0.02a
	C3	1.69±0.00f	2.62±0.01d	3.19±0.01a	3.06±0.04b	2.61±0.01de	2.78±0.01c	2.58±0.01e
	C4	1.46±0.01e	1.93±0.04d	2.43±0.04b	2.63±0.03a	1.97±0.01d	2.07±0.00c	2.08±0.03c
	C5	2.05±0.01e	2.65±0.02d	3.19±0.03b	3.26±0.01a	2.71±0.01d	2.92±0.03c	2.97±0.04c
Slope	α	-0.04±0.01a	-0.03±0.01a	-0.06±0.03a	-0.03±0.01a	-0.03±0.01a	-0.07±0.02a	-0.06±0.00a
	β	0.65±0.02b	0.85±0.06a	0.85±0.02a	0.52±0.12c	0.77±0.11ab	0.87±0.00a	0.21±0.01d
	γ	-0.01±0.00a	-0.05±0.00abc	-0.05±0.00bc	-0.02±0.00ab	-0.06±0.01bc	-0.06±0.04c	-0.04±0.00abc
Dough Stability (min)		5.64±0.02ab	4.83±0.63b	4.91±0.79b	1.23±0.00c	5.22±0.47b	4.51±0.04b	6.74±0.06a
Development time (min)		6.26±0.11a	0.88±0.01d	0.87±0.00c	0.76±0.04c	0.94±0.01c	0.94±0.02c	1.61±0.16b
Water absorption (%)		70	70	70	70	70	70	70

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(나) 스팀처리, autoclaving, 압출성형 처리한 전곡립 소재(현미)의 반죽 형성 특성 분석

현미는 보리에 비해 밀가루와 매우 유사한 반죽 형성 특성을 보이나, 물리적 처리를 하였을 경우 대부분의 mixolab 인자들이 증가하는 경향을 보인다. 스팀처리를 하였을 경우 처리를 하지 않은 것에 비해 C3값이 특히 높게 나타났으며, autoclaving이나 압출성형 처리를 한 경우에는 C1값이 월등히 높아지는 것을 확인하였다. 압출성형의 경우, 다이 온도가 높을수록 C1값이 증가하였다. 120 °C에서 압출성형 처리한 현미는 매우 특이한 패턴을 보였는데, 특히 호화현상 때 나타나는 C3값이 관측되지 않았다. 압출성형 처리에 의해 현미의 전분이 모두 호화 및 노화되어 C3값이 나타나지 않은 것으로 생각된다. 물리적 처리한 현미는 밀가루와는 다소 다른

반죽 특성을 보이는 것으로 확인되었다.

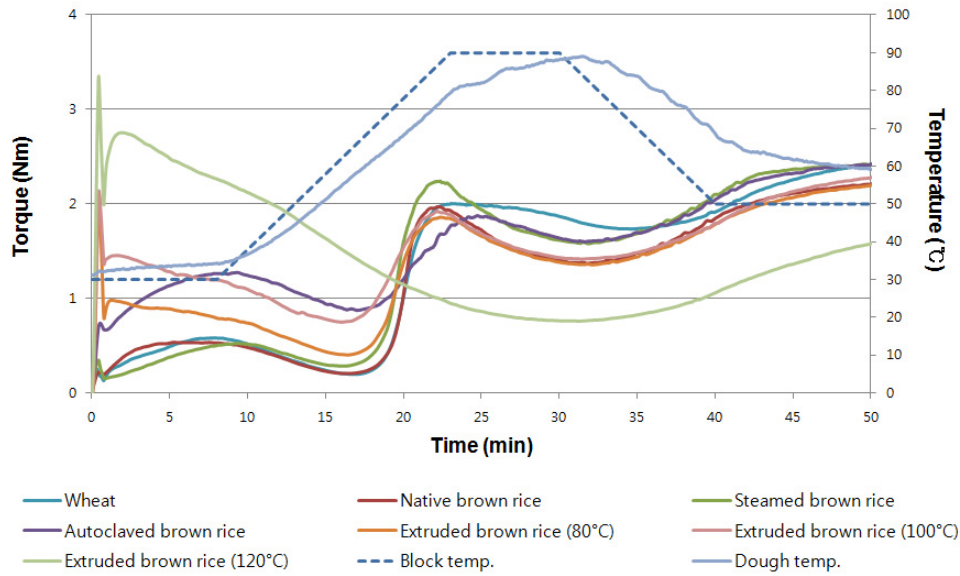


그림 39. 밀가루와 물리적 처리한 전곡립(현미)의 mixolab profile 비교.

표 51. 밀가루와 물리적 처리한 전곡립(현미)의 mixolab 인자

	Wheat	Native brown rice	Steamed brown rice	Autoclaved brown rice	Extruded brown rice (80°C)	Extruded brown rice (100°C)	Extruded brown rice (120°C)
Torque (Nm)	C1	0.58±0.00e	0.54±0.01e	0.53±0.01e	1.27±0.01d	1.81±0.18c	2.13±0.15b
	C2	0.19±0.01e	0.21±0.01e	0.28±0.01d	0.87±0.00a	0.40±0.00c	0.75±0.01b
	C3	2.00±0.01b	1.97±0.00b	2.25±0.00a	1.89±0.01cd	1.87±0.01d	1.91±0.02c
	C4	1.72±0.02a	1.38±0.01e	1.58±0.00c	1.61±0.01b	1.36±0.00e	1.41±0.00d
	C5	2.40±0.03a	2.23±0.02b	2.43±0.00a	2.41±0.02a	2.21±0.01b	2.26±0.03b
Slope	α	-0.04±0.02a	-0.03±0.03a	0.03±0.01a	-0.04±0.07a	-0.05±0.00ab	-0.08±0.04ab
	β	0.77±0.02a	0.41±0.03cd	0.63±0.17ab	0.11±0.05e	0.57±0.01bc	0.32±0.02d
	γ	-0.03±0.01a	-0.06±0.00b	-0.07±0.00b	-0.05±0.01b	-0.07±0.01b	-0.06±0.01b
Dough Stability (min)	4.78±0.08c	7.02±0.02b	4.79±0.16c	7.39±0.20a	0.35±0.03d	0.30±0.03d	0.41±0.01d
Development time (min)	7.34±0.69b	5.22±0.09c	9.22±0.05a	9.27±0.05a	0.50±0.00d	0.50±0.00d	0.50±0.00d
Water absorption (%)	70	70	70	70	70	70	70

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(2) 효소 처리에 따른 반죽 특성 분석 및 밀가루와의 비교 평가

(가) 효소처리 반응 시간과 반응온도에 따른 전곡립 소재(통보리)의 반죽 형성 특성 분석 측정 결과, 효소 처리한 것이 처리를 하지 않은 보리가루에 비해 mixolab torque 값이 높게

측정된다. 이것은 TG반응에 의해 전곡립 소재 내부에서 형성된 단백질 가교결합으로 인해 도우형성에 필요한 힘의 크기가 증가한 것으로 보인다. 그러나 효소 반응시간(1 시간, 2 시간)이나 반응온도(상온, 45 °C)에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다.

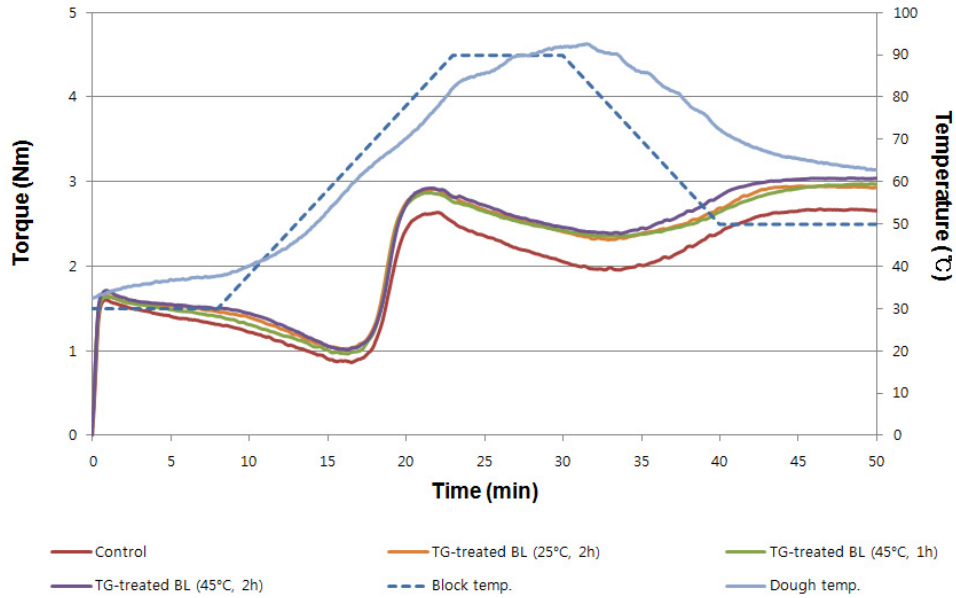


그림 40. 밀가루와 효소 처리한 전곡립(통보리)의 mixolab profile 비교.

표 52. 밀가루와 효소 처리한 전곡립(통보리)의 mixolab 인자

		Control	TG 45°C 1h	TG 45°C 2h	TG 25°C 2h
Torque (Nm)	C1	1.62±0.02a	1.64±0.01a	1.64±0.11a	1.65±0.01a
	C2	0.86±0.01a	0.98±0.02a	0.95±0.08a	0.99±0.03a
	C3	2.62±0.01b	2.86±0.02a	2.90±0.04a	2.90±0.02a
	C4	1.93±0.04b	2.31±0.06a	2.34±0.06a	2.31±0.00a
	C5	2.65±0.02b	2.94±0.05a	2.98±0.08a	2.94±0.01a
Slope	α	-0.03±0.01ab	-0.07±0.01ab	-0.01±0.03a	-0.07±0.00b
	β	0.85±0.06b	1.01±0.07ab	1.09±0.08a	1.00±0.00ab
	γ	-0.05±0.00a	-0.05±0.00a	-0.05±0.00a	-0.05±0.01a
Dough Stability (min)		4.83±0.63c	6.52±0.26b	6.40±0.21b	7.74±0.12a
Development time (min)		0.88±0.01a	0.85±0.00a	1.00±0.17a	0.85±0.07a
Water absorption (%)		70	70	70	70

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(나) 효소처리한 반응 시간과 반응온도에 따른 전곡립 소재(현미)의 반죽 형성 특성 분석

효소 처리한 현미가루를 mixolab으로 측정된 결과, C3값을 제외하고 효소 처리한 현미와 처리하지 않은 현미는 반죽 특성이 크게 다르지 않은 것으로 관찰되었다. 또한 효소 반응시간이나 반응온도 또한 반죽특성에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

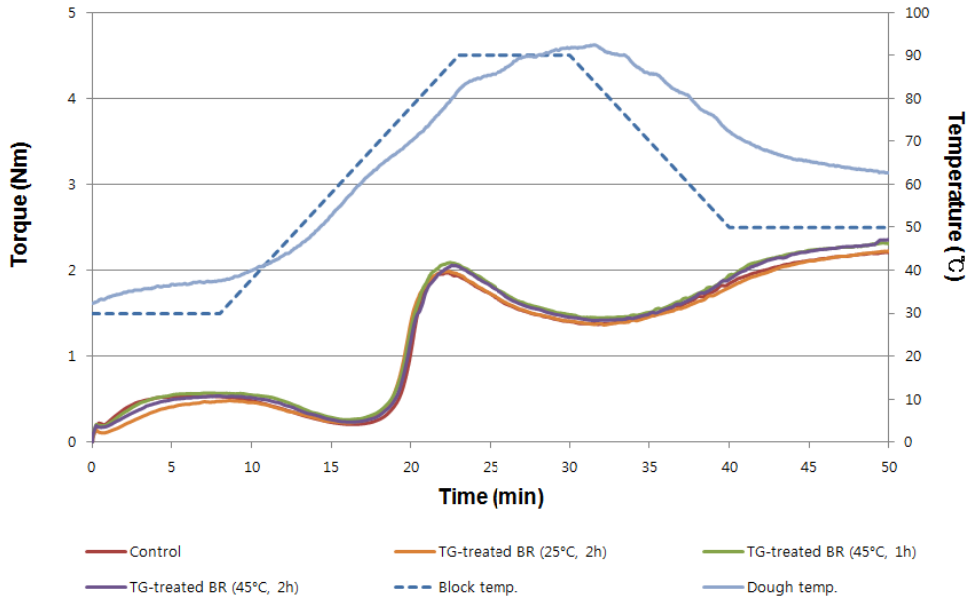


그림 41. 밀가루와 효소 처리한 전곡립(현미)의 mixolab profile 비교.

표 53. 밀가루와 효소 처리한 전곡립(현미)의 mixolab 인자

		Control	TG 45°C 1h	TG 45°C 2h	TG 25°C 2h
Torque (Nm)	C1	0.54±0.01ab	0.60±0.04a	0.51±0.05ab	0.49±0.01b
	C2	0.21±0.01b	0.29±0.04a	0.22±0.02ab	0.22±0.00ab
	C3	1.97±0.00c	2.12±0.04a	2.06±0.01b	2.00±0.01bc
	C4	1.38±0.01b	1.48±0.05a	1.40±0.03ab	1.39±0.04b
	C5	2.23±0.02a	2.40±0.11a	2.31±0.08a	2.23±0.00a
Slope	α	-0.03±0.03a	-0.06±0.00a	-0.06±0.00a	-0.06±0.00a
	β	0.41±0.03a	0.58±0.16a	0.55±0.03a	0.61±0.02a
	γ	-0.06±0.00a	-0.07±0.01a	-0.07±0.01a	-0.07±0.01a
Dough Stability (min)		7.02±0.02b	8.40±0.81a	6.29±0.93b	6.02±0.37b
Development time (min)		5.22±0.09c	6.71±0.44b	8.35±0.67a	8.61±0.01a
Water absorption (%)		70	70	70	70

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

9. 다각적 물성법을 통한 제면 형태에 따른 글루텐 기능 구현 평가

가. 실험방법

(1) Kieffer dough rig를 이용한 물성 측정

전곡립 소재(보리, 현미)로 밀가루(중력분)를 10%, 20%, 30% 대체하여 압연면을 제조하였다. 전곡립 소재 포함 중력분 무게 50 g, 물 20 g, 소금 0.75 g을 가하여 Kitchen Aid로 섞은 뒤 손반죽하고, 국수기를 이용하여 압연면(두께 1.4 mm, 길이 10 cm)을 제조하였다.

백미압출면과 현미 압출면의 신장특성을 평가하기 위하여 백미와 현미가루를 수분함량이 35%가 되도록 한 후 twin-screw extruder(투입온도 50 °C, die온도 80 °C, Screw속도 200 rpm)에 투입하여 압출면을 제조하였다. 길이 5 cm로 자른 백미압출면과 현미 압출면 5 g을 150 ml의 물에 3 분, 6 분, 9 분간 조리 후, Texture analyzer를 사용하여 압출면의 신장력을 측정하였다.

제조된 압연면/압출면은 Tensile test로 Kieffer extensibility rig를 이용하여 속도 3.3 mm/s로 50 mm까지 잡아당겨 신장특성을 측정하였다. Rmax 값은 면이 끊어지기까지 필요한 가장 큰 힘을 나타내며, E값은 Rmax값이 측정되기까지 이동한 거리를 나타낸다. 신장면적은 면이 끊어지기까지 필요한 에너지를 나타낸다.

(2) Planar extensional test를 이용한 물성 측정

전곡립 소재로 10, 20, 30% 대체된 압연면 도우(지름 5 mm, 두께 1.4 mm)를 제조하여 3 mm 지름의 구멍이 뚫려 있는 두 개의 plate 사이에 놓고 여섯 개의 핀으로 고정한 뒤, 지름 10 mm의 실린더형 probe가 100 mm/min 속도로 압연면 dough sheet를 뚫고 지나가게 하여 dough의 신장점도를 측정하였다. 위의 식을 활용하여 probe를 움직인 시간에 따라 측정된 도우의 힘을 그래프로 나타내어 도우의 경도를 측정하고, 변형률(Strain)이나 변형속도(Strain rate)에 따른 응력(stress)의 변화와 변형속도에 따른 점도 변화로 나타내어 반죽 물성을 평가하였다.

(3) Stress relaxation test를 이용한 물성 측정

Texture analyzer를 사용하여 응력완화(Stress relaxation) 실험을 실시하여 압연면 반죽의 물성 평가를 실시함. 일정한 형태의 압연면 반죽(지름 20 mm, 두께 12 mm)을 준비하고, 이를 50 mm인 실린더형 probe로 속도 60 mm/min으로 누른 후 (20% 변형률) 60초간 유지시키면서 stress를 모니터링 하였다.

나. 실험결과

(1) Kieffer dough rig test를 통한 전곡립 대체 압연면/압출면의 신장특성 평가

Tensile test를 이용하여 신장특성을 측정한 결과, 밀가루를 보리로 10, 20, 30% 대체하여 제조한 압연면은 대체될수록 E값과 신장면적이 점차 감소하였으나 Rmax값의 경우에는 대체 양 증가에 따른 별다른 경향성을 보이지 않았다. 현미 압연면에서는 대체 양이 증가할수록 모든 신장특성인자들이 감소하는 경향이 관찰되었다. 이러한 경향은 전곡립 소재로 대체될수록 글루

텐합량이 감소하고, 압연면을 형성함에 있어 전분이나 단백질 이외의 성분들에 의해 글루텐 네트워크 형성이 방해받기 때문인 것으로 생각된다.

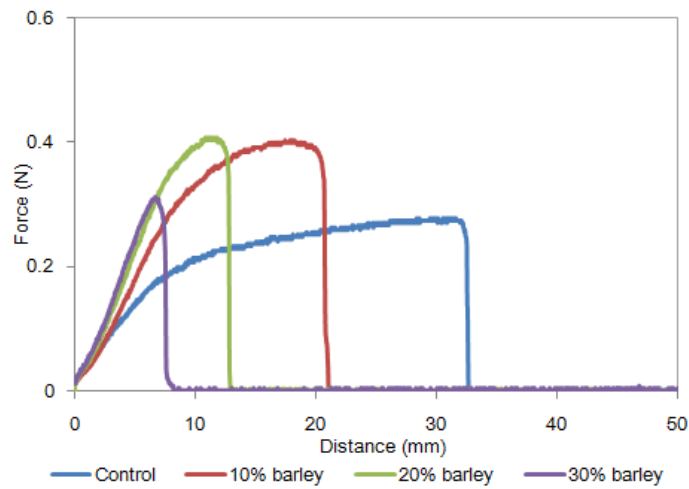


그림 42. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 신장특성 profile.

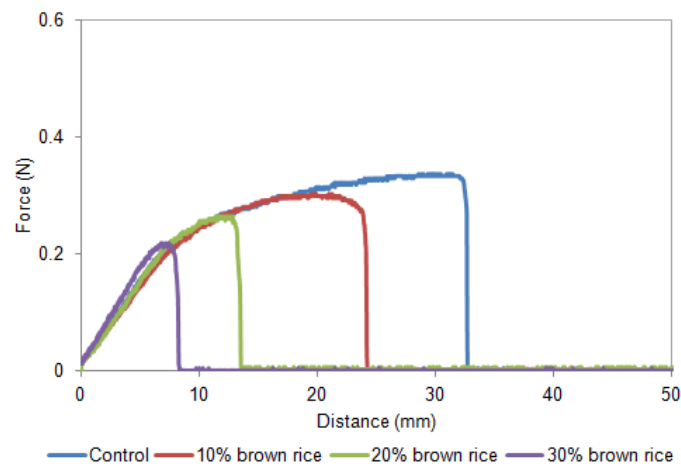


그림 43. 전곡립(현미) 대체 압연면 반죽의 신장특성 profile.

표 54. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 신장특성 인자

	R_{max} (N)	E_{rup} (mm)	Area (N·mm)
Control	$0.29 \pm 0.05c$	$28.57 \pm 4.20a$	$7.66 \pm 0.71a$
10% barley	$0.39 \pm 0.06a$	$15.55 \pm 1.59b$	$5.21 \pm 0.65b$
20% barley	$0.40 \pm 0.02a$	$10.56 \pm 0.49c$	$3.00 \pm 0.29c$
30% barley	$0.33 \pm 0.05b$	$7.03 \pm 0.64d$	$1.58 \pm 0.35d$

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

표 55. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 신장특성 인자

	R_{max} (N)	E_{rup} (mm)	Area (N·mm)
Control	$0.33 \pm 0.03a$	$28.44 \pm 4.59a$	$8.26 \pm 1.50a$
10% brown rice	$0.30 \pm 0.05b$	$17.29 \pm 1.51b$	$4.92 \pm 0.66b$
20% brown rice	$0.26 \pm 0.02c$	$11.55 \pm 0.54c$	$2.80 \pm 0.39c$
30% brown rice	$0.22 \pm 0.01d$	$6.96 \pm 0.45d$	$1.23 \pm 0.20d$

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

전반적으로 조리시간이 증가함에 따라 R_{max} 값, E 값, 신장면적이 감소하는 것을 확인하여 조리시간이 증가할수록 신장성이 감소하는 것을 확인하였다. 특히, 같은 조리 조건에서 현미 압출면의 경우 백미보다 신장특성이 모두 감소하여 면의 조리 시간이 감소될 것으로 기대된다.

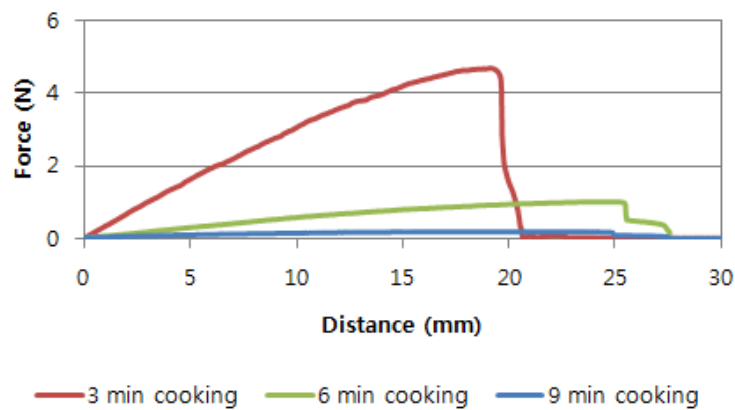


그림 44. 백미압출면의 신장특성 profile.

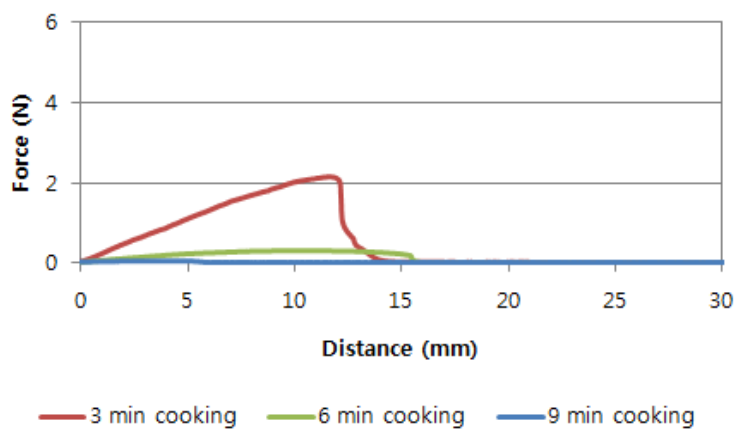


그림 45. 현미 압출면의 신장특성 profile.

표 56. 백미압출면의 신장특성 인자

	Polished rice noodles		
	3 min cooking	6 min cooking	9 min cooking
Rmax (N)	4.63±0.81aA	1.07±0.29aB	0.19±0.04aC
E (mm)	16.69±2.85aB	23.03±2.74aA	15.95±2.77aB
Area of extension curve (N.mm)	46.89±7.42aA	16.62±3.50aB	3.38±1.04aC

(Means followed by different letters in the same column(abc) and row(ABC) differ significantly at $p < 0.05$)

표 57. 현미 압출면의 신장특성 인자

	Brown rice noodles		
	3 min cooking	6 min cooking	9 min cooking
Rmax (N)	2.17±0.28bA	0.33±0.08bB	0.07±0.02bC
E (mm)	11.73±0.77bA	9.57±0.86bB	3.81±1.04bC
Area of extension curve (N.mm)	15.36±1.51bA	3.32±0.77bB	0.40±0.17bC

(Means followed by different letters in the same column(abc) and row(ABC) differ significantly at $p < 0.05$)

(2) Planar extensional test를 통한 전곡립 대체 압연면의 반죽 물성 평가

보리 압연면에서는 대체 양이 증가할수록 면의 경도가 증가하는 특성을 보이는 반면, 현미 압연면에서는 오히려 감소하는 특성을 나타낸다. 보리가루로는 밀가루로 제조한 압연면보다 상대적으로 경도가 큰 압연면이 현미가루로는 경도가 약한 압연면이 만들어지는 것으로 보인다.

$$\text{Elongation stress} = \frac{F(t) \cdot v \cdot t}{2\pi \cdot R \cdot h_0 \cdot l_0} \quad \text{Elongation rate} = \frac{1}{l(t)} \cdot \frac{dl(t)}{dt}$$

F(t): the force measured as a function of time (N)

v: the probe speed (mm/s)

R: average radius between probe and aperture perimeter (mm)

h_0 : the initial thickness of the dough sheet (mm)

l_0 : the distance between the probe surface and aperture perimeter (mm)

$l(t)$: the length of sheet as a function of time (mm)

식 3. 반죽 물성 평가를 위해 적용한 신장응력과 신장속도 계산식.

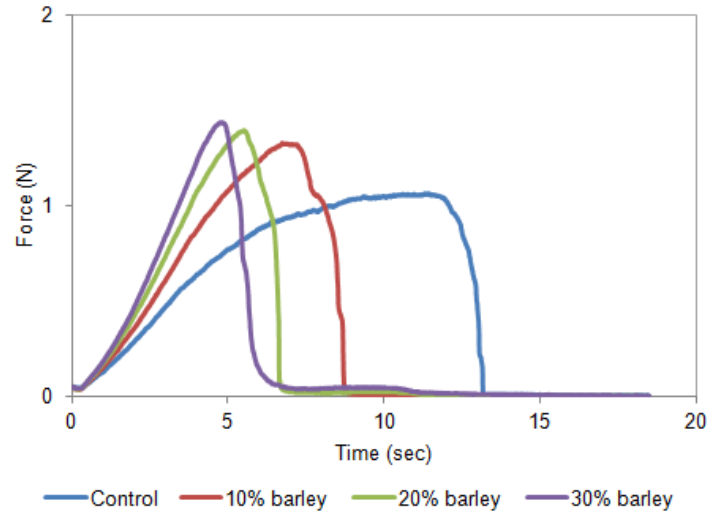


그림 46. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 경도 profile.

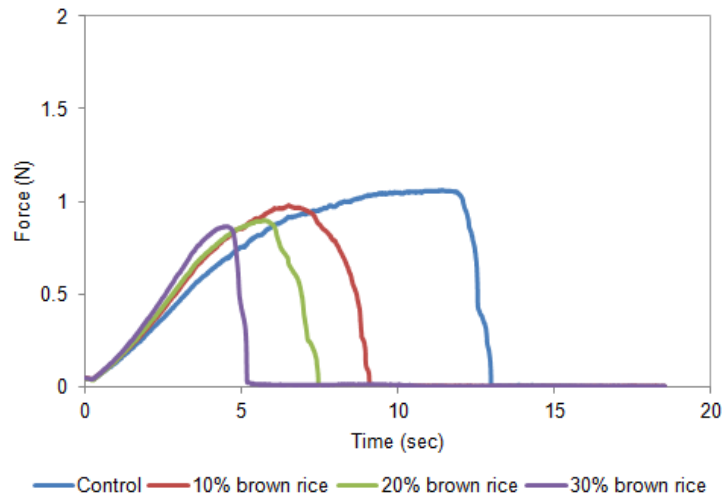


그림 47 전곡립(현미) 대체 압연면 반죽의 경도 profile.

표 58. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 경도 비교

	Hardness (N)
Control	1.06±0.07c
10% barley	1.28±0.12b
20% barley	1.32±0.08b
30% barley	1.40±0.12a

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

표 59. 전곡립(현미) 대체 압연면 반죽의 경도 비교

	Hardness (N)
Control	1.07±0.13a
10% brown rice	0.99±0.11b
20% brown rice	0.89±0.02c
30% brown rice	0.86±0.05c

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

변형률에 따른 응력 그래프가 직선 형태를 나타내는 것으로 보아 보리와 현미 압연면 모두 탄성적인 특성을 나타내는 것으로 보인다. 각 압연면의 전곡립 대체 양이 증가할수록 직선의 기울기가 증가하는 경향을 보인다.

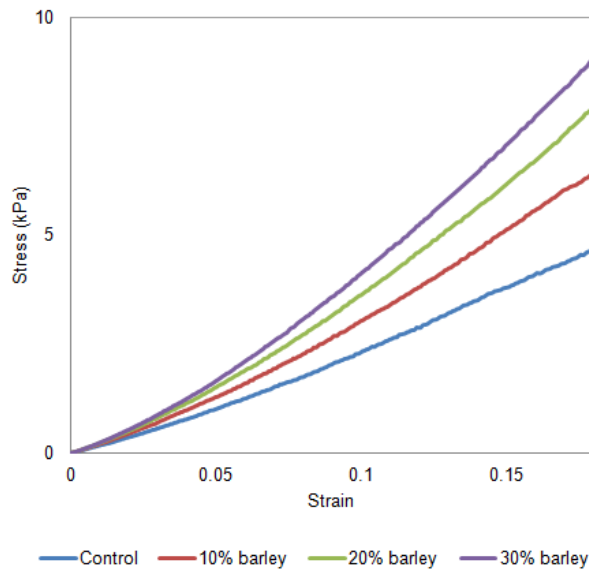


그림 48. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 탄성 평가.

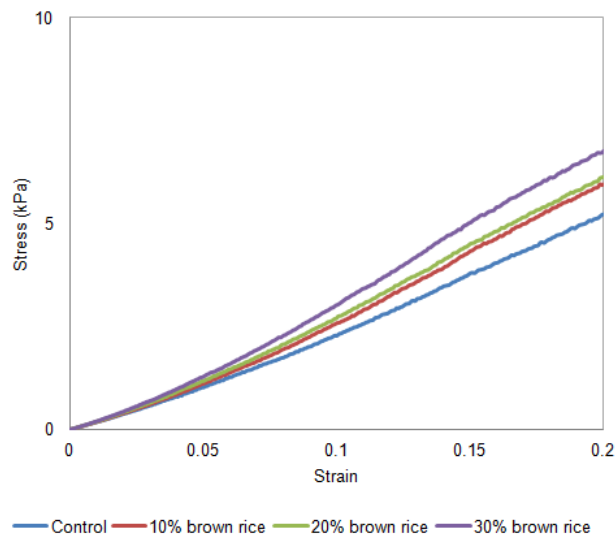


그림 49. 전곡립(현미) 대체 압연면 반죽의 탄성 평가.

변형속도의 증가에 따른 응력 변화를 나타내는 그래프를 통해 보리와 현미 압연면은 대체 양이 늘어날수록 기울기가 커지는 것으로 관찰되었다. 따라서 전곡립으로 대체될수록 변형률에 따른 응력이 증가하는 것을 관찰했으며 그래프의 기울기가 커지는 것으로 미루어 보아 전곡립 대체 압연면의 점도 또한 증가할 것이라고 예측할 수 있다.

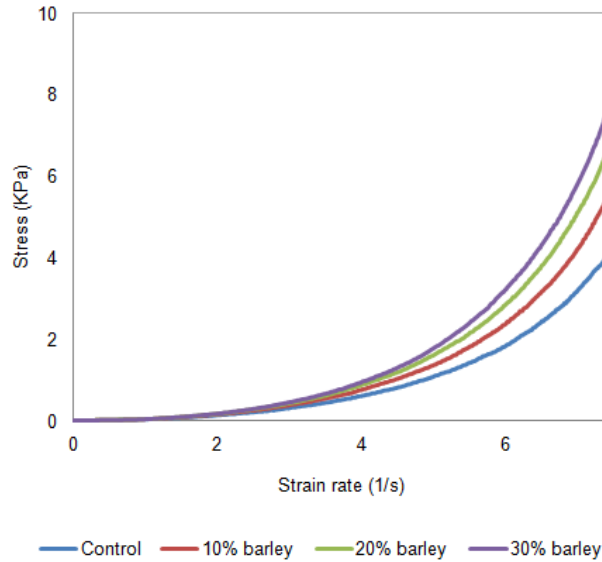


그림 50. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 변형속도에 따른 응력변화.

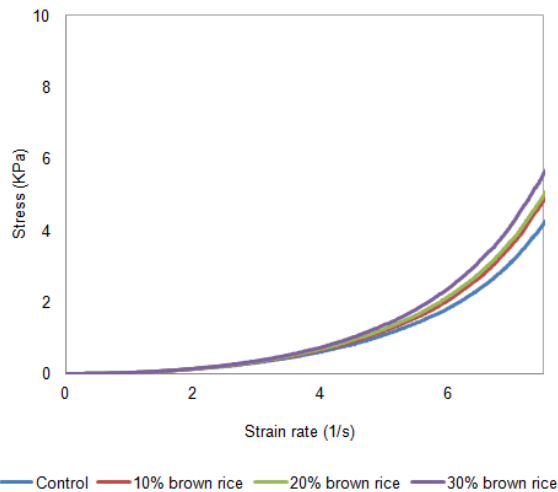


그림 51. 전곡립(현미) 대체 압연면 반죽의 변형속도에 따른 응력 변화.

압연면의 보리나 현미가루 대체 양이 증가할수록 변형속도에 따른 점도가 점차 증가하는 경향성을 나타낸다. 상대적으로 현미에 비해 보리 압연면의 기울기가 더 높고, 변형속도가 $7s^{-1}$ 일 때의 신장점도가 보리 압연면에서는 0.47, 0.59, 0.71, 0.85 $kPa \cdot s$, 현미 압연면에서는 0.47, 0.50, 0.50, 0.57 $kPa \cdot s$ 으로 측정되어 보리 압연면이 더 높은 신장점도 특성을 가지는 것으로 관찰되었다.

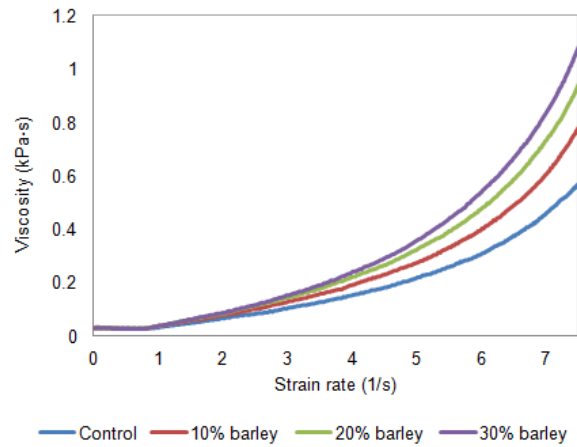


그림 52. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 신장점도 profile.

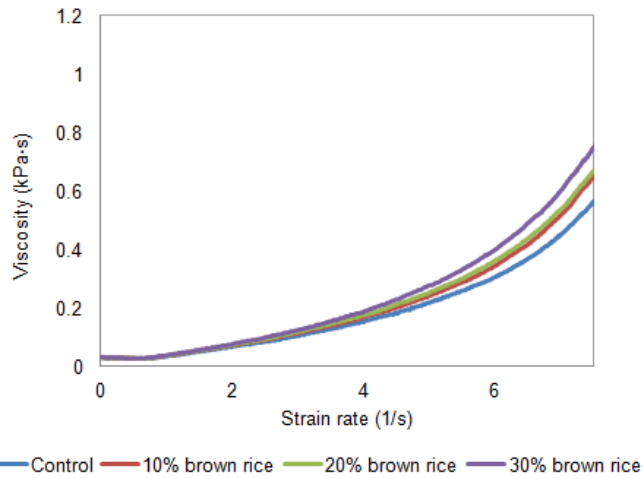


그림 53. 전곡립(현미) 대체 압연면 반죽의 신장점도 profile.

표 60. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 신장점도 비교

	Extensional viscosity (kPa·s) (Strain rate=7 s ⁻¹)
Control	0.47±0.01d
10% barley	0.59±0.02c
20% barley	0.71±0.03b
30% barley	0.85±0.04a

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

표 61. 전곡립(현미) 대체 압연면 반죽의 신장점도 비교

	Extensional viscosity (kPa·s) (Strain rate=7 s ⁻¹)
Control	0.47±0.02c
10% brown rice	0.50±0.05b
20% brown rice	0.50±0.02b
30% brown rice	0.57±0.05a

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

(3) Stress relaxation test를 통한 보리, 현미 대체 압연면의 반죽 물성 평가

보리 압연면과 현미 압연면이 20%의 변형률을 받으면서 시간에 따라 도우내부에 가해지는 힘이 증가했다가 점차 감소하여 위와 같은 그래프를 나타낸다. 보리나 현미의 대체 양이 증가할수록 시간에 따른 도우 내부 응력이 높게 측정되어 보다 탄성적인 성질을 보인다. 아울러, 보리의 경우, 현미보다 보리로 대체될수록 압연면의 응력이 크게 증가하는 것으로 보아 더 높고, 좀 더 강한 반죽 특성을 보이는 것을 관찰하였다.

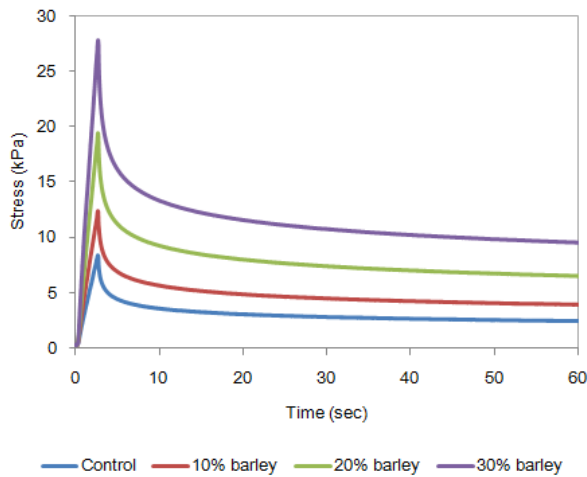


그림 54. 전곡립(통보리) 대체 압연면 반죽의 시간에 따른 응력 변화.

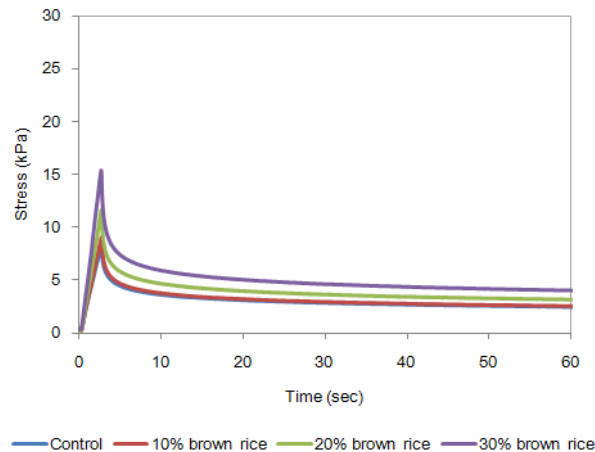


그림 55. 전곡립(현미) 대체 압연면 반죽의 시간에 따른 응력 변화.

제 2절. 폴리페놀 및 전곡립의 가공 안정성 탐색 및 제면 조건 확립

1. 폴리페놀 및 전곡립 소재의 제면 적용을 위한 배합별 제면 특성 평가

가. 실험방법

(1) 쌀 및 전곡립 분쇄

쌀 및 전곡립 소재를 4 시간 수침 후 롤 분쇄기 및 기류식 분쇄기를 이용하여 습식 분쇄한 후, 열풍 건조기로 건조시켜 실험에 사용하였다.

(2) 일반성분 분석

수분, 회분, 단백질, 지방 함량을 AOAC 방법에 따라 분석하였다.

(3) 조리 용출도(Cooking Loss)

조리 용출도 측정을 위해 준비된 면을 5 cm 길이로 잘라 약 5 g을 취하여 100 °C의 끓는 물 150 ml에 넣고 약 6 분간 조리하여 실험을 진행하였다. 조리 후 물은 105 °C에서 6 시간 열풍 건조시켜 계산식에 대입하여 조리 용출도를 계산하였다.

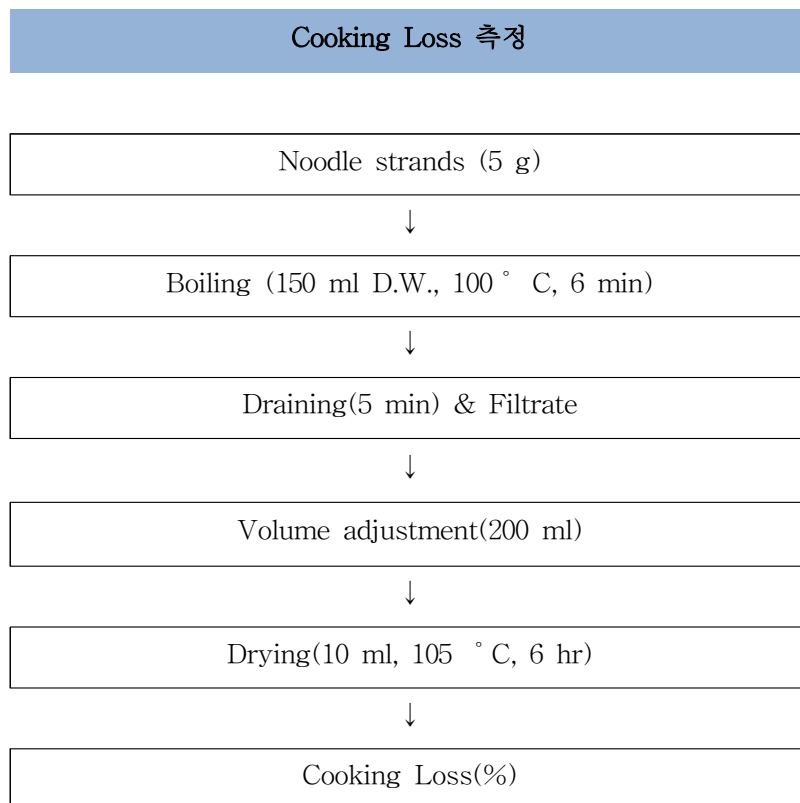


그림56. 면의 조리 용출도(Cooking loss) 측정 과정.

(4) 신장 특성(Tensile property)

제조된 면을 Kieffer extensibility rig를 이용하여 속도 3.3 mm/s로 50 mm까지 잡아당겨 신장특성을 측정하였다. 본 실험을 통해 면이 끊어지기까지 필요한 힘을 나타내는 값인 Rmax값과 Rmax값이 측정되기까지 이동한 거리를 나타내는 값인 E값을 얻었다.

나. 실험결과

(1) 폴리페놀 배합률에 따른 압연면 특성 분석

(가) 밀가루 대체 쌀 및 폴리페놀 함량 설정

표 62. 유당 쌀면, 폴리페놀추출물 및 단백질 활용 유당쌀면 배합비

기본 유당 쌀면 배합비		
구분	원료	함량(%)
배합분	쌀가루	20
	밀가루	70
	감자전분	9
배합수	정제염	1

폴리페놀추출물 및 단백질 활용 유당 쌀면 배합비		
구분	원료	함량(%)
배합분	쌀가루	20
	밀가루	60
	분리단백	10
	감자전분	9
배합수	정제염	1
	폴리페놀추출물	

기존 유당 쌀면의 배합비 및 각 조건의 제면 특성과 관능적 특성을 바탕으로 폴리페놀추출물 및 단백질 유당 쌀면의 배합비를 설정하였다. 밀가루면을 대조군으로 쌀 및 전곡류 대체 함량을 비교한 결과 대체함량이 30% 이상일 경우 면의 hardness 증가 또는 거친 면대 형성 등 품질특성이 급격히 저하되므로 10~30% 대체 함량에 따른 제면 특성과 관능적 특성을 비교한 결과 대체 약 20% 수준의 대체함량이 밀가루 대체면으로 가장 적절하다고 사료된다. 또한 첨가되는 분리단백의 경우 단백질 함량이 10%이상 첨가될 경우 쌀면의 hardness가 높아져 품질 저하를 일으키므로 초기 단백질 함량은 제면 특성을 고려하여 10%로 고정하였다. 폴리페놀추출물 및 단백질 유당 쌀면의 경우 배합수로 폴리페놀추출물을 사용하였다.

표 63. 쌀 대체함량에 따른 제면/관능 특성 비교표

쌀 함량(%)	10	20	30
제면 적합성	+	+++	+
관능평가	+	++	-

(나) 폴리페놀 배합에 따른 압연면 제조조건 도출

표 64. 폴리페놀 추출물 첨가 배합비

실험군	Flour (w/w %)				물 (ml)	PE (ml)	소금
	쌀	밀	PI	감자전분			
1	0	90	-	9	35	-	1.0
2	0	90	-	9	-	35	1.0
3	20	70	-	9	35	-	1.0
4	20	70	-	9	-	35	1.0
5	20	60	10	9	35	-	1.0
6	20	60	10	9	-	35	1.0

PI : 단백질, PE : 폴리페놀 추출물

폴리페놀 배합비에 따른 압연면의 특성을 분석하기 위해 35% 폴리페놀을 첨가하여 유당 적성 테스트 결과, 수분함량이 너무 적을 경우 면에서 수분이 폭발적으로 나가서 발생하는 팽핑 현상이 일어나는 것을 확인하였다. 따라서 유당 온도를 낮추고, 수분함량을 증가시키는 방향으로 개선하여 실험하였다. Sample마다 수분함량이 다르므로, 수분함량을 측정하여 실험군별로 수분을 가감하여 최종 수분함량을 동일하게 40%로 맞추어 실험 진행하였다. 수분함량 40%에서 제면 적성 및 유당 적성이 우수한 면대가 형성되는 것을 확인하였다.

(2) 전곡립의 배합률에 따른 압출면 특성 분석

(가) 쌀 제면 제품의 조리 용출도 개선

① 백미 및 전곡립 소재(현미)의 일반성분 분석

현미를 기준으로 압출면의 특성을 분석하였고, 압출면 제조를 위한 공정조건을 설정하였다.

표 65. 백미와 전곡립(현미)의 일반성분 함량

Proximate composition (%)	Shindongjin white rice flour	Chucheong white rice flour	Chucheong brown rice flour
Moisture	9.20±0.22	8.31±0.02	8.17±0.15
Ash	0.17±0.02	0.28±0.01	1.07±0.01
Protein	6.19±0.12	6.09±0.06	6.44±0.16
Fat	0.30±0.01	0.19±0.00	2.23±0.01

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

신동진백미와 추청백미 및 추청현미를 4 시간 수침 후 물 분쇄기 및 기류식 분쇄기를 이용하여 습식분쇄한 후, 열풍 건조기로 건조시켜 본 실험에 사용하였다. 백미와 현미의 수분, 회분, 단백질, 지방 함량을 AOAC 방법에 따라 분석한 결과, 현미가 백미에 비해 회분, 단백질, 지방의 함량이 더 풍부한 것으로 확인되었다.

② 압출 공정 변수(면 반죽 수분함량, 압출 온도, 건조 온도)에 따른 쌀 압출면의 조리 용출도 및 탁도 분석

표 66. 압출 공정 변수에 따른 쌀 압출면의 조리 용출도 및 탁도

Process variables			Cooking loss (%)	Turbidity
Moisture content of noodle dough	Barrel temperature	Drying temperature		
30	70	40	45.42±3.96bc	1.25±0.07b
40	70	40	43.58±3.10c	1.38±0.07a
30	90	40	14.63±1.62i	0.34±0.05h
40	90	40	27.64±1.65g	0.68±0.05f
30	80	20	45.38±7.35bc	1.05±0.13c
40	80	20	31.43±2.49fg	0.86±0.07e
30	80	60	44.18±4.02c	1.05±0.07c
35	80	60	41.35±4.85cd	1.05±0.08c
35	70	20	49.07±7.26ab	1.36±0.11a
35	90	20	18.84±1.94hi	0.44±0.04g
35	70	60	51.78±8.94a	1.44±0.14a
35	90	60	20.55±1.70h	0.45±0.05g
35	80	40	37.34±6.10de	1.00±0.07cd
35	80	40	37.56±4.80de	0.97±0.09cd
35	80	40	34.96±4.25ef	0.95±0.11d

$$\checkmark \text{ Cooking loss (\%)} = \frac{\text{Weight of filtrate after drying}}{\text{Weight of uncooked noodles}} \times 100$$

식 4. 면의 조리 용출도 계산식

Twin-screw extruder을 이용하여 신동진백미로 쌀 압출면을 제조하였다. 압출 공정 변수는 면 반죽 수분함량, 압출 온도, 건조 온도로 하였고, 면 반죽 수분함량의 경우, 30, 35, 40%, 압출 온도의 경우, 70, 80, 90 °C, 건조 온도의 경우, 20, 40, 60 °C로 변수를 조절하여 압출면을 제조하였다. 압출면을 열풍 건조기로 1시간 건조시킨 뒤 길이 5 cm로 잘라 무게를 5 g씩 제어 조리 용출도 및 탁도 측정과 신장 특성 분석에 이용하였다.

조리 용출도를 측정하기 위하여 준비된 압출면을 끓는 물 150 ml에 넣고 6 분간 조리하였

다. 조리된 물은 105 °C에서 6 시간 동안 열풍 건조시켜 무게를 측정하였으며 이를 토대로 조리 용출도를 계산하였다.

압출 공정 변수에 따른 쌀 압출면의 조리 용출도와 탁도를 분석한 결과, 압출 온도가 높을수록 조리 용출도와 탁도가 낮은 것을 확인하였다. 면 반죽 수분함량과 건조 온도는 조리 용출도와 탁도에 영향이 미미한 것을 관찰하였다.

③ 압출 공정 변수(면 반죽 수분함량, 압출 온도, 건조 온도)에 따른 압출면의 신장 특성 분석

표 67. 압출 공정 변수에 따른 압출면의 신장 특성

Process variables			Tensile property	
Moisture content of noodle dough	Barrel temperature	Drying temperature	Rmax (N)	E (mm)
30	70	40	1.52±0.17f	11.56±1.05e
40	70	40	0.13±0.02i	8.40±1.25f
30	90	40	10.50±0.85a	18.87±4.04c
40	90	40	2.31±0.29d	23.86±3.85b
30	80	20	0.19±0.08i	13.96±4.54d
40	80	20	0.58±0.09h	23.83±3.29b
30	80	60	1.88±0.33e	15.39±2.08d
35	80	60	1.25±0.11g	20.88±2.09c
35	70	20	0.19±0.04i	9.56±1.13ef
35	90	20	3.82±0.28c	34.08±2.78a
35	70	60	0.22±0.07i	9.26±2.26ef
35	90	60	5.01±0.62b	7.65±1.95f
35	80	40	0.76±0.13h	24.75±2.29b
35	80	40	0.80±0.10h	25.68±1.97b
35	80	40	0.71±0.05h	26.07±4.83b

제조된 압면면/압출면은 Tensile test로 Kieffer extensibility rig를 이용하여 Rmax 값과 E값을 도출한 결과 압출 온도가 높을수록 압출면의 Rmax 값이 높은 경향을 확인하였으나, E값은 어떠한 경향성도 보이지 않았다. 또한, 면 반죽 수분함량과 건조 온도는 신장 특성에 영향이 없음을 확인하였다.

2. 폴리페놀 및 전곡립 원료별 제면 시제품 생산

가. 실험방법

(1) 압출면 제조 공정

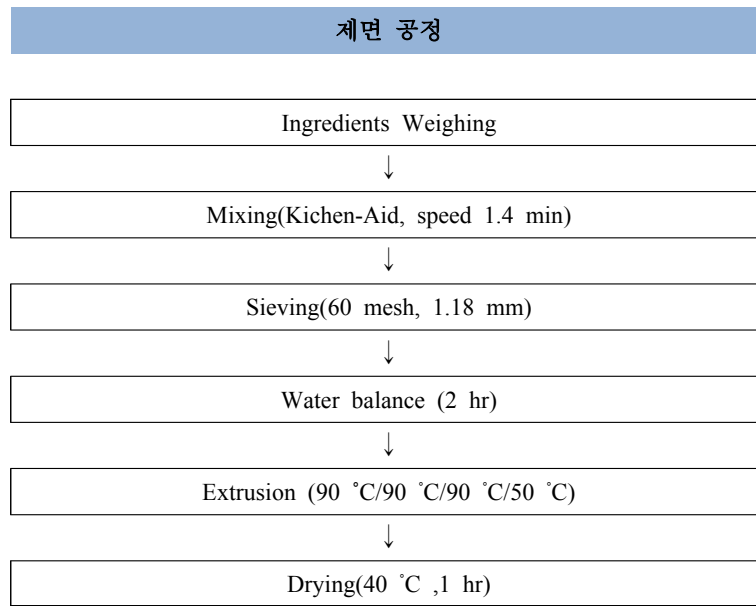


그림 57. 폴리페놀계 천연 소재를 첨가한 전곡립(현미, 보리, 통밀) 압출면 제조과정.

상기 실험결과를 바탕으로 폴리페놀계 천연소재(녹차, 오디 추출물)를 사용하여 현미, 보리, 통밀 압출면을 제조하였다. 현미, 보리, 통밀의 수분함량을 측정 한 후 제면 반죽의 수분함량이 40%가 되도록 맞춰주어 반죽하고 60 mesh, 1.18 mm 체를 이용하여 반죽을 고르게 한 뒤 약 2 시간 동안 면의 수분 평형을 위해 방치하였다. 수분평형이 된 면 반죽을 90/90/90/50 °C로 온도 설정된 Twin-screw extruder를 이용하여 압출한 후, 40 °C에서 1 시간 동안 열풍 건조시켜 분석에 사용할 압출면을 준비하였다.

(2) 압연면 제조 공정

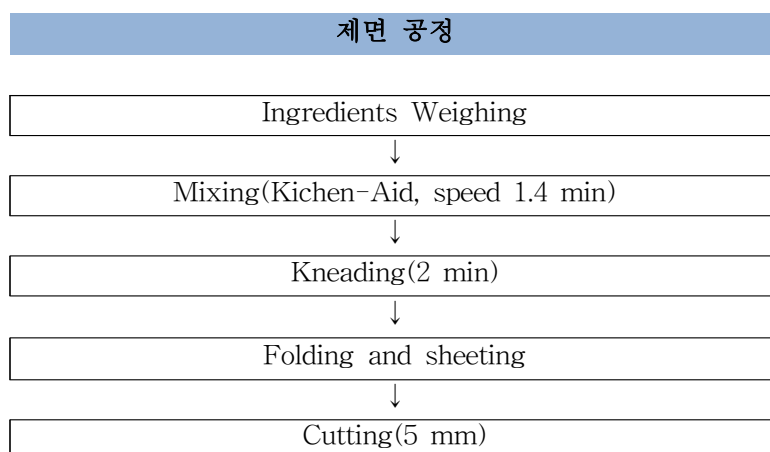


그림 58. 폴리페놀계 천연 소재를 첨가한 전곡립(현미, 보리, 통밀) 압연면 제조과정.

상기 실험결과를 바탕으로 폴리페놀계 천연소재(녹차, 오디 추출물)를 사용하여 현미, 보리, 통밀 압출면을 제조하였다. 현미, 보리, 통밀의 수분함량을 측정 한 후 제면 반죽의 수분함량이

40%가 되도록 맞춰주어 반죽하고 60 mesh, 1.18 mm 체를 이용하여 반죽을 고르게 한 뒤 약 2 시간 동안 면의 수분 평형을 위해 방치하였다. 수분평형이 이루어진 면 배합을 Sheeting roller를 이용하여 sheet 형성 두께 2 mm, 면선은 4 mm가 되도록 제조하였다.

(3) 조리 용출도(Cooking Loss)

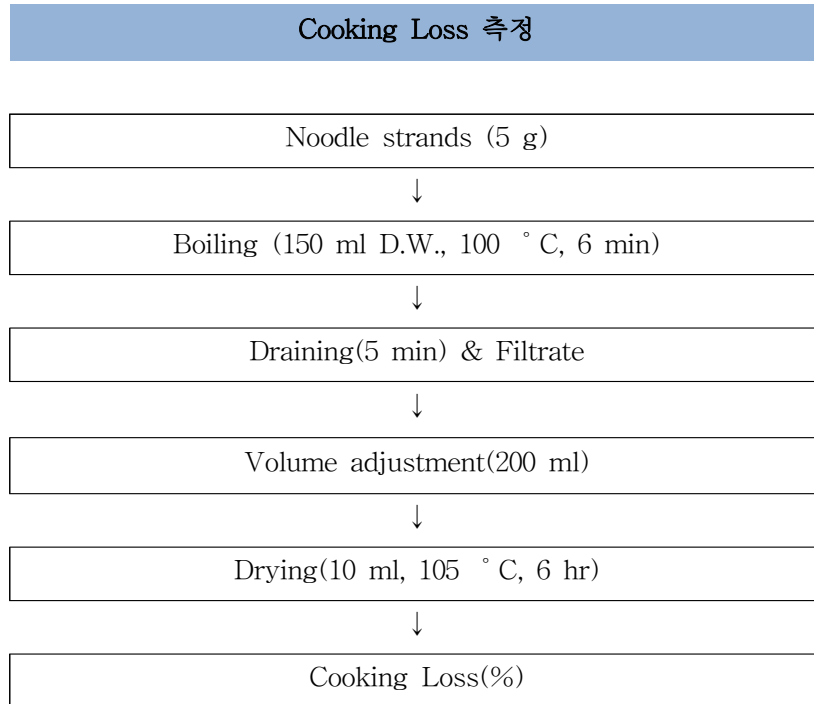


그림 59. 면의 조리 용출도(Cooking loss) 측정 과정.

조리 용출도 측정을 위해 준비된 면을 5 cm 길이로 잘라 약 5 g을 취하여 100 °C의 끓는 물 150 ml에 넣고 약 6 분간 조리하여 실험을 진행하였다. 조리 후 물은 105 °C에서 6 시간 열풍 건조시켜 계산식에 대입하여 조리 용출도를 계산하였다.

(4) 신장 특성(Tensile property)

제조된 면을 Kieffer extensibility rig를 이용하여 속도 3.3 mm/s로 50 mm까지 잡아당겨 신장특성을 측정하였다. 본 실험을 통해 면이 끊어지기까지 필요한 힘을 나타내는 값인 Rmax값과 Rmax값이 측정되기까지 이동한 거리를 나타내는 값인 E값을 얻었다.

나. 실험결과

(1) 폴리페놀 원료 및 전곡립 원료별(현미, 통밀, 보리 등) 압출면 제조

(가) 폴리페놀 소재 선정

아임계 가속용매추출법으로 베리류 및 녹차의 폴리페놀 추출을 실험을 진행한 결과 녹차와

오디가 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타내었다. 추출물을 면에 적용하였을 때도 높은 폴리페놀 함량을 지닌 녹차와 오디가 제면적성 및 물성 증진에 도움이 되었다. 녹차와 오디의 추출물을 이용하여 쌀 및 전곡립 대체 면에서의 폴리페놀 첨가 유무에 따른 가공적성 테스트하였다.

표 68. 베리류 및 녹차의 폴리페놀 추출율

Responses	Maximum conditions			Total phenolics	
	EtOH concentration (%)	Temperature (°C)	pH	Predicted value	A c t u a l value
Ogaja	18.8	79.8	3.6	22.7	22.03±0.20
Mulberry	31.1	63.3	6.8	25.3	24.82±0.25
Raspberry	35.2	80.6	7.3	26.2	23.67±0.85
Green Tea	45.1	63	3	86.6	87.13±0.11
Total phenolics (mg GAE/ g); DPPH radical-scavenging activities (mg VCEAC / g); ABTS radical-scavenging activities (mg VCEAC / g)					

(나) 폴리페놀 및 전곡립 소재에 따른 압출면의 조리 용출도 분석

조리 용출도 측정 결과, 대조군인 밀가루 면에 비해 전곡립 대체 면이 낮은 조리 용출도를 보였지만 현미, 보리, 통밀 등의 전곡립 종류에 따라서는 조리 용출도가 서로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 전곡립 대체 면이 조리 용출도에 긍정적인 영향을 미치지만 전곡립 종류에 따라서 큰 차이를 보이지 않는 것으로 사료된다. 또한 폴리페놀 추출물을 적용하였을 경우 전반적으로 유의적인 차이가 없는 조리 용출도를 보이거나, 오히려 조리 용출도가 증가하는 경우를 보인다. 따라서 폴리페놀계 천연소재는 전곡립 대체면의 조리 용출도에 긍정적인 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

표 69. 압출면의 전곡립 대체 및 폴리페놀 첨가에 따른 조리/가공 특성 비교표

	대조군 (밀가루면)	전곡립 대체면	전곡립+ 녹차 폴리페놀	전곡립+ 오디 폴리페놀
조리 적성	+++	++	-	-
신장 특성	+++	+	++	++
밀가루면 대체 가능성		+	-	-

(다) 폴리페놀 및 전곡립 소재에 따른 압출면의 신장 특성 분석



그림 60. 보리 대체면의 폴리페놀 소재에 따른 조리 후 면의 사진.

왼쪽부터 보리 대체면, 보리+녹차 폴리페놀 첨가면, 보리+오디 폴리페놀 첨가면

전곡립 대체 압출면의 경우 대조군인 밀가루면에 비해 전체적으로 높은 Rmax값을 나타낸다. 이것은 전곡립 대체 압출면이 밀가루면에 비해 상대적으로 식이섬유 등의 함량이 높기 때문에 상대적으로 단단한 면대를 형성한 것으로 생각된다. 또한 전곡립 종류에 따라서는 Rmax값과 E값이 유의적인 차이를 보이지 않았고, 폴리페놀의 첨가 유무 및 종류에 따라서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 전곡립 종류, 폴리페놀 첨가 유무 및 종류는 전곡립 대체면의 신장특성에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

(2) 폴리페놀 및 전곡립 원료별 압연면 제조 및 특성 분석

(가) 폴리페놀 및 전곡립 소재에 따른 압연면의 조리 용출도 분석

표 70. 압연면의 전곡립 대체 및 폴리페놀 첨가에 따른 조리/가공 특성 비교표

	대조군 (밀가루면)	전곡립 대체면	전곡립+ 녹차 폴리페놀	전곡립+ 오디 폴리페놀
조리 적성	+++	++	++	++
신장 특성	+++	-	-	-
밀가루면 대체 가능성		+	++	++

측정 결과, 전곡립(현미, 보리, 통밀) 대체면의 경우 대조군으로 사용했던 밀면의 조리 용출도와 비슷한 값을 나타내었다. 반면 전곡립 대체면 모두 폴리페놀을 첨가하였을 때가 첨가하지 않았을 때보다 낮은 조리 용출도를 보인다. 따라서, 폴리페놀계 천연소재가 조리 용출도 개선에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 사료된다. 또한, 대체한 전곡립에 따라서는 조리 용출도가 유의적 차이를 나타내지 않았다.

(나) 폴리페놀 및 전곡립 소재에 따른 압연면의 신장 특성 분석

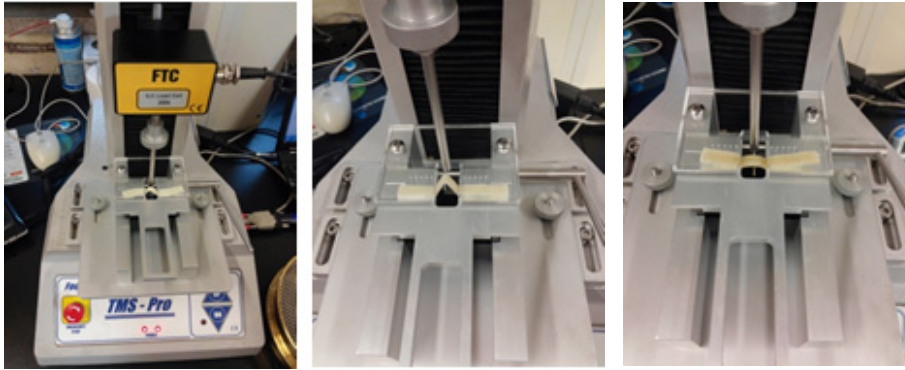


그림 61. 면의 신장 특성(Tensile property) 측정 과정.

현미, 보리 및 통밀을 활용한 전곡립 대체면의 경우 대조군인 밀면과 비슷한 E값을 나타내었지만 Rmax값의 경우 전체적으로 높게 나타났다. 이는 전곡립 대체면이 밀면과 신장력은 비슷하지만 단단한 식감을 나타낼 수 있다고 사료된다. 또한 각 면에 폴리페놀 추출물을 첨가하였을 경우에는 유의적인 차이를 보이지 않았으므로 폴리페놀계 천연소재는 신장 특성에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

3. 가공 공정에 따른 기능성 폴리페놀 대사체 변이 분석 (Targeted analysis)

가. 실험방법

(1) 기능성 폴리페놀 대사체 추출물과 단백질(Oat protein isolate, Pea protein isolate)의 결합 특성 분석(haze 형성 분석)

면 제조에 사용하기 위해 선별된 폴리페놀 급원인 오디와 녹차 추출물의 글루텐 대체 기능을 평가하기 위해, model system을 이용하여 단백질 결합능을 비교하고 관련 대사체의 변이를 분석하였다. 2 종류의 오디와 녹차 물추출물(상온, 8 시간과 65 °C, 1 시간 추출물)과 단백질 소재인 Oat protein isolate와 Pea protein isolate과의 반응에 의한 haze 형성 정도를 아래와 같은 방법으로 비교, 분석하였다.

<Extraction of polyphenol>

Green tea, *Morus bombycis* var. *rubricaulis* UYEKI,
(16 g dry weight/ 80 ml D.W) in water, 23 °C, 8 hr / 65 °C, 1 hr



Measurement of total phenol contents



Dilution of sample at 0.2% phenol contents

<Haze formation of protein isolate with polyphenol solution>

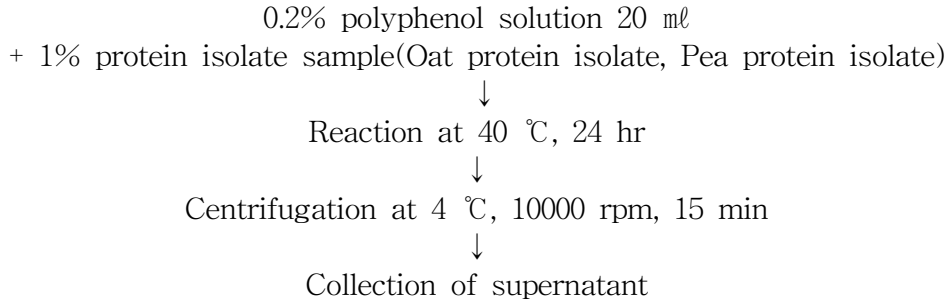


그림 62. 폴리페놀 추출물 제조 및 단백질과의 결합능 분석.

나. 실험결과

(1) 총 폴리페놀 함량

각 추출물들에 함유된 총 폴리페놀 함량 측정 결과, 오디와 녹차 모두에서 상온 8 시간 추출물이 상대적으로 높은 폴리페놀 함량을 나타내었다.

표 71. 각 추출 조건에 따른 녹차, 오디 추출물의 총 폴리페놀 함량 (mg GAE/g dry weight)

Total Polyphenol content (mg GAE /g d.w)		
Green tea	65 °C, 1 hr	45.64±0.002
	23 °C, 8 hr	58.13±0.009
<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI	65 °C, 1 hr	16.22±0.009
	23 °C, 8 hr	21.27±0.009

(2) 흡수 스펙트럼 특성

녹차 추출물에선 250 ~ 350 nm 범위에서 특이적인 흡수가 존재함을 확인할 수 있었다.

오디 추출물에선 300 ~ 350 nm, 450 ~ 550 nm에서 특이적인 흡수가 존재하는 것을 관찰할 수 있다. 특히 anthocyanin 계열의 화합물들에 의한 500 nm 대에서의 흡수 특성이 관찰되어, 녹차 추출물과 상이한 특징을 보였다.

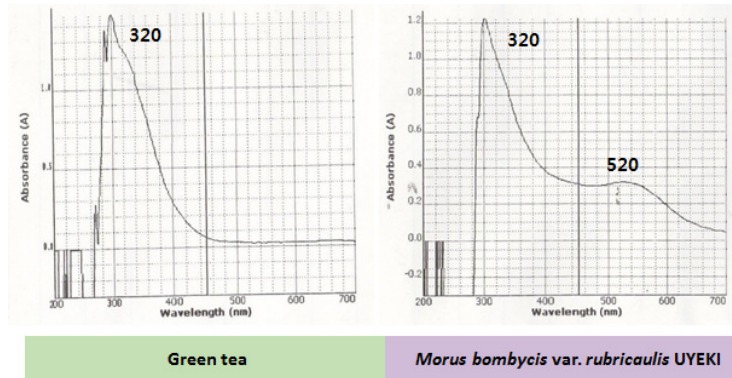


그림 63. 물을 이용한 녹차, 오디 폴리페놀 대사체 추출물의 흡수 스펙트럼 (200 ~ 700 nm).

(3) 단백질과 반응하는 폴리페놀 대사체 동정(targeted profiling)

단백질(OPI, PPI)과 반응하여 haze를 형성하는 폴리페놀 대사체를 규명하기 위하여, HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS을 이용하여 targeted profiling을 수행하였다. 분석은 다변량 통계분석을 위해 최소 3반복 이상씩 수행하였고, 자세한 분석 조건은 표 72과 같았다.

표 72. 기능성 폴리페놀을 분석하기 위한 HPLC 및 LC-MS/MS protocol

HPLC condition_Green tea			
HPLC	HPLC system (Dionex Ultimate 3000)		
Column	X-Bridge C18 column(3.5 μ m), 4.6x150 mm		
Detector	PDA detector		
Elution	A : 0.1% Formic acid in water B : 0.1% Formic acid in ACN		
Gradient	Time (min)	% (Phase A)	% (Phase B)
	0-5	95-90	5-10
	5-10	90	10
	10-30	90-60	10-40
	30-40	60-10	40-90
	40-55	10-95	90-5
MS condition			
Ion trap	LTQ-Velos ion trap mass spectrometer		
Electrospray ionization	Heat electrospray ionization interface (Thermo Fisher Scientific, San Joe, CA USA)		
Column	YMC-Triart C18 column (1.9 μ m), 2.0x100 mm		
Column temperature	36 $^{\circ}$ C	Full MS mass range (m/z)	100-1000
Capillary Temperature	275 $^{\circ}$ C	Source voltage	5 kV
Sheath gas	35 ml/min	Auxiliary gas	5 ml/min
HPLC condition_Mulberry			
HPLC	HPLC system (Dionex Ultimate 3000)		
Column	X-Bridge C18 column(3.5 μ m), 4.6x150 mm		
Detector	PDA detector		
Elution	A : 0.8% Formic acid in water B : Methanol		
Gradient	Time (min)	% (Phase A)	% (Phase B)
	0-5	95-90	5-10
	5-10	90	10
	10-30	90-60	10-40
	30-40	60-10	40-90
	40-55	10-95	90-5

MS condition			
Ion trap	LTQ-Velos ion trap mass spectrometer		
Electrospray ionization	Heat electrospray ionization interface (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA USA)		
Column	YMC-Triart C18 column (1.9 μ m), 2.0x100 mm		
Column temperature	36 $^{\circ}$ C	Full MS mass range (m/z)	100-1000
Capillary Temperature	275 $^{\circ}$ C	Source voltage	5 kV
Sheath gas	35 ml/min	Auxiliary gas	5 ml/min

(가) 녹차 (65 $^{\circ}$ C, 1 시간 추출물)

① 다변량 통계분석

녹차(65 $^{\circ}$ C, 1 시간) 추출물의 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 추출 용매 조건에 따라 상이한 대사체들이 추출되었음을 확인할 수 있었다. 모델계에서 단백질 소재인 OPI 및 PPI와 반응하는 폴리페놀 대사체를 규명하기 위하여, OPLS-DA 분석을 수행하고, 5% 유의수준에서 상이한 변이를 보이는 주요 폴리페놀 대사체들의 동정을 시행하였다.

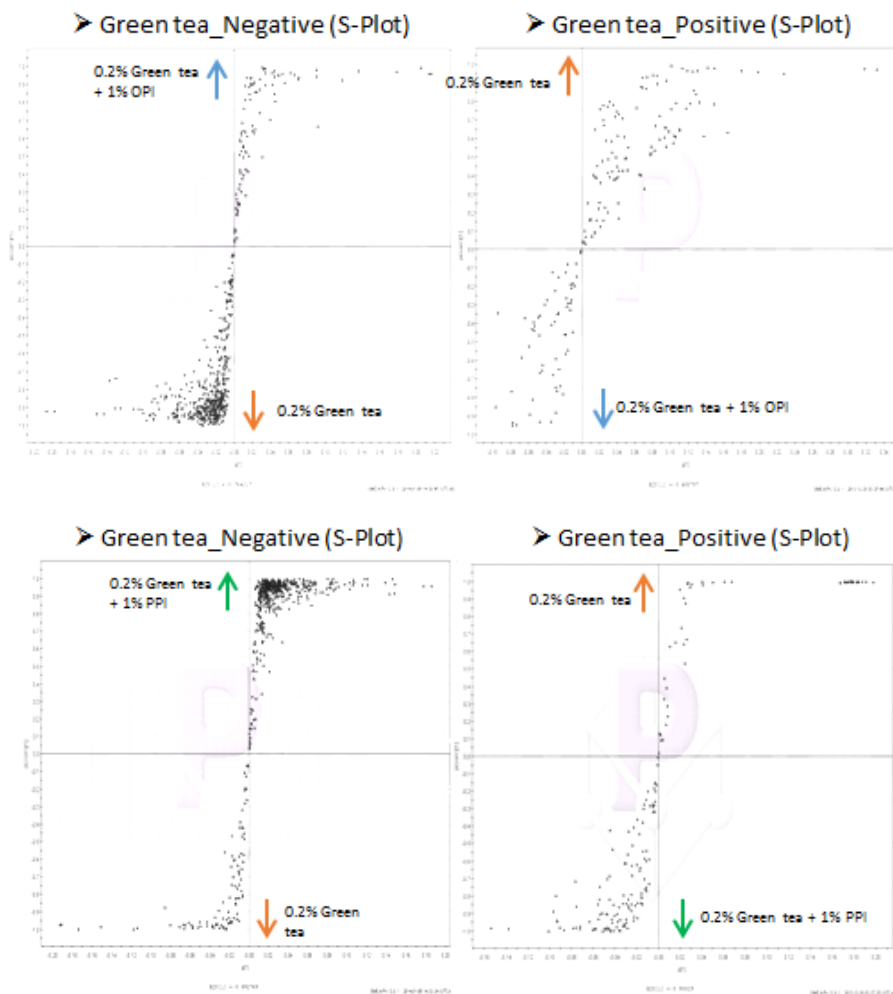


그림 64. 녹차 추출물(65 $^{\circ}$ C, 1 시간)과 단백질처리균 함유 대사체 OPLS-DA 분석.

② LC-MS/MS targeted profiling

단백질과 반응하는 녹차 추출물(65 °C, 1 시간) 함유 주요 폴리페놀 대사체의 동정 결과는 아래 표 73-76에 정리하였다. 주로 tannin 계열과 flavonol 계열의 폴리페놀 화합물들이 단백질과의 상호 작용에 의한 haze 형성에 관여하는 것으로 확인되었다.

표 73. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
425.00	20.67	278, 312	273.01 168.91	Epiafzelechin-O-gallate	Lin <i>et al.</i>
441.05	18.00	269, 338	289.03 168.97 330.99	Epicatechin-O-gallate	Del Rio <i>et al.</i>
457.04	15.13	267, 350	330.95 304.99 168.92	Gallocatechin-O-gallate	METLIN

표 74. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
443.09	17.65	272, 335	273.09 150.97	Epigallocatechin gallate	METLIN

표 75. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
441.05	18.00	272 350 289.03 168.97 330.99 271.02 397.06 192.94		Epicatechin-O-gallate	METLIN, Del Rio <i>et al.</i>
915.08	13.96	274 324	457.05 305.06 331.04 287.04	Epigallocatechin gallate derivative	METLIN

표 76. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
458.98	14.98	269 353	289.00 138.93 150.92 332.94 306.99	Epigallocatechin gallate	METLIN
443.09	17.65	268 352	273.09 150.97 291.07 317.02 138.96	Catechin-O-gallate	METLIN
307.02	6.69	270	289.03 138.96 150.94 180.94 168.94	Epigallocatechin	Mass bank

(나) 녹차 (23 °C, 8 시간 추출물)

① 다변량 통계분석

녹차(23 °C, 8 시간) 추출물의 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 추출 용매 조건에 따라 상이한 대사체들이 추출되었음을 확인할 수 있었다. 또한, 모델계에서 단백질 소재인 OPI 및 PPI와 반응하는 폴리페놀 대사체를 규명하기 위하여, OPLS-DA 분석을 수행하고, 5% 유의수준에서 상이한 변이를 보이는 주요 폴리페놀 대사체들의 동정을 시행하였다.

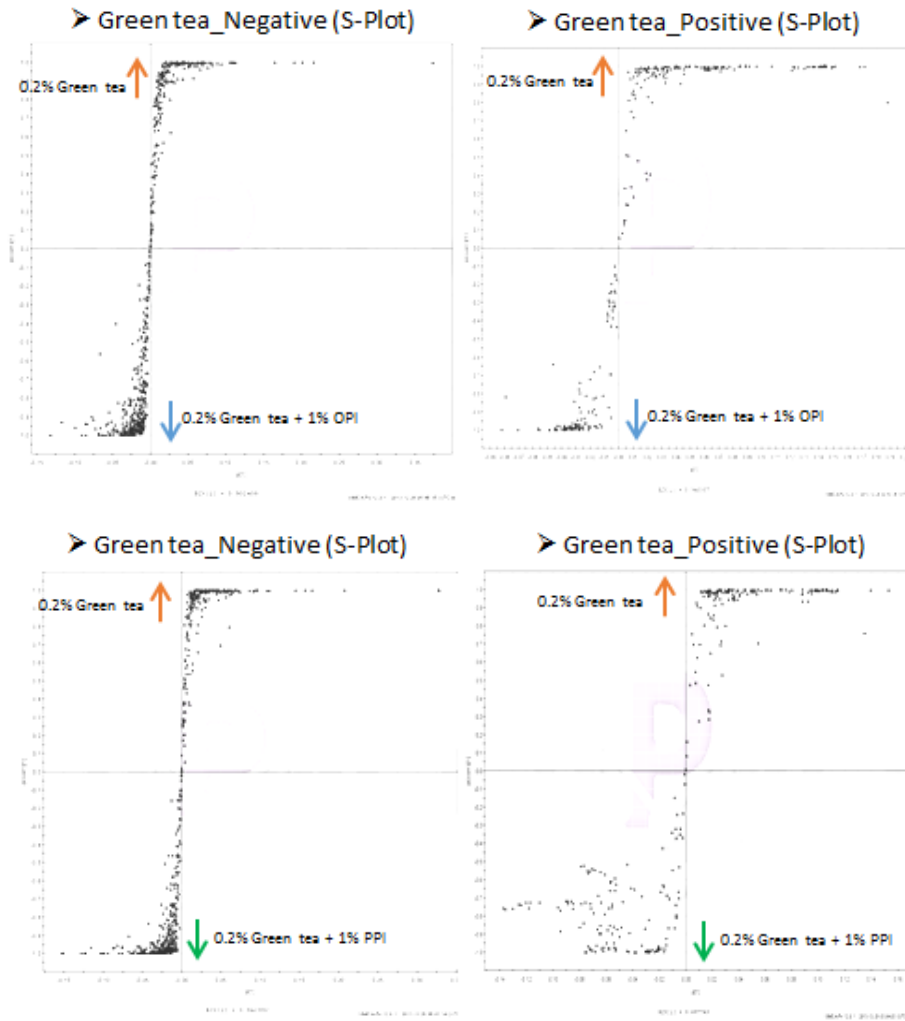


그림 65. 녹차 추출물(23 °C, 8 시간)과 단백질처리균 함유 대사체 OPLS-DA 분석.

② LC-MS/MS targeted profiling

단백질과 반응하는 녹차 추출물(23 °C, 8 시간) 함유 주요 폴리페놀 대사체의 동정 결과는 아래 표 77-80에 정리하였다. 주로 tannin 계열과 flavonol 계열의 폴리페놀 화합물들이 단백질과의 상호 작용에 의한 haze 형성에 관여하는 것으로 확인되었다. 2종류의 녹차 추출물들에 함유된 haze 형성 폴리페놀 대사체는 유사한 것으로 관찰되었다.

표 77. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
457.97	15.03	269.00 324.00	168.93 331.01 305.01 286.99	Epigallocatechin Gallate	METLIN
441.05	17.55	271.00 336.00	288.98 330.93 168.93	Catechin gallate	METLIN
577.05	9.09	279	425.03 451.00 407.04 289.02	(epi)catechin-(epi)catechin	METLIN

표 78. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
443.09	17.65	2272.00 335.00	273.09 150.97	Epigallocatechin Gallate	METLIN
611.03	4.88	274.00	442.98 304.97 286.98	Catechin gallate	METLIN
291.06	11.37	279.00	123.04 138.97 165.01 273.07	Catechin	METLIN
449.00	19.55	279.00 310.00	287.07	kaempferol-O-galactoside	METLIN

표 79. 단백질 (Pea protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
457.02	12.78	275 332	168.94 331.04 305.05 287.03 269.03 192.96	Epigallocatechin gallate	METLIN
441.05	17.49	270 343	288.98 168.93 330.93 270.96 397.01 192.91	Epicatechin-O-gallate	METLIN, Del Rio <i>et al.</i>
457.02	14.51	276 318	305.03 168.91 330.97 287.00	Epigallocatechin derivative	METLIN
577.05	9.04	284	425.03 451.00 407.04 289.02 244.98 599.04	Procyanidin dimer	METLIN, Tsang <i>et al.</i>
463.03	18.41	265 342	301.00 342.99 179.01	Quercetin hexoside	METLIN

표 80. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
443.02	17.57	269 347	273.05 150.95 281.07 317.04 138.96	Epicatechin-O-gallate	METLIN, Del Rio <i>et al.</i>
773.39	17.35	269 335	303.02 465.07 611.10 449.07	Quercetin derivative	METLIN

(다) 오디 (65 °C, 1 시간 추출물)

① 다변량 통계분석

오디(65 °C, 1 시간) 추출물의 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 추출 용매 조건에 따라 상이한 대사체들이 추출되었음을 확인할 수 있었다. 또한, 모델계에서 단백질 소재인 OPI 및 PPI와 반응하는 폴리페놀 대사체를 규명하기 위하여, OPLS-DA 분석을 수행하고, 5% 유의수준에서 상이한 변이를 보이는 주요 폴리페놀 대사체들의 동정을 시행하였다.

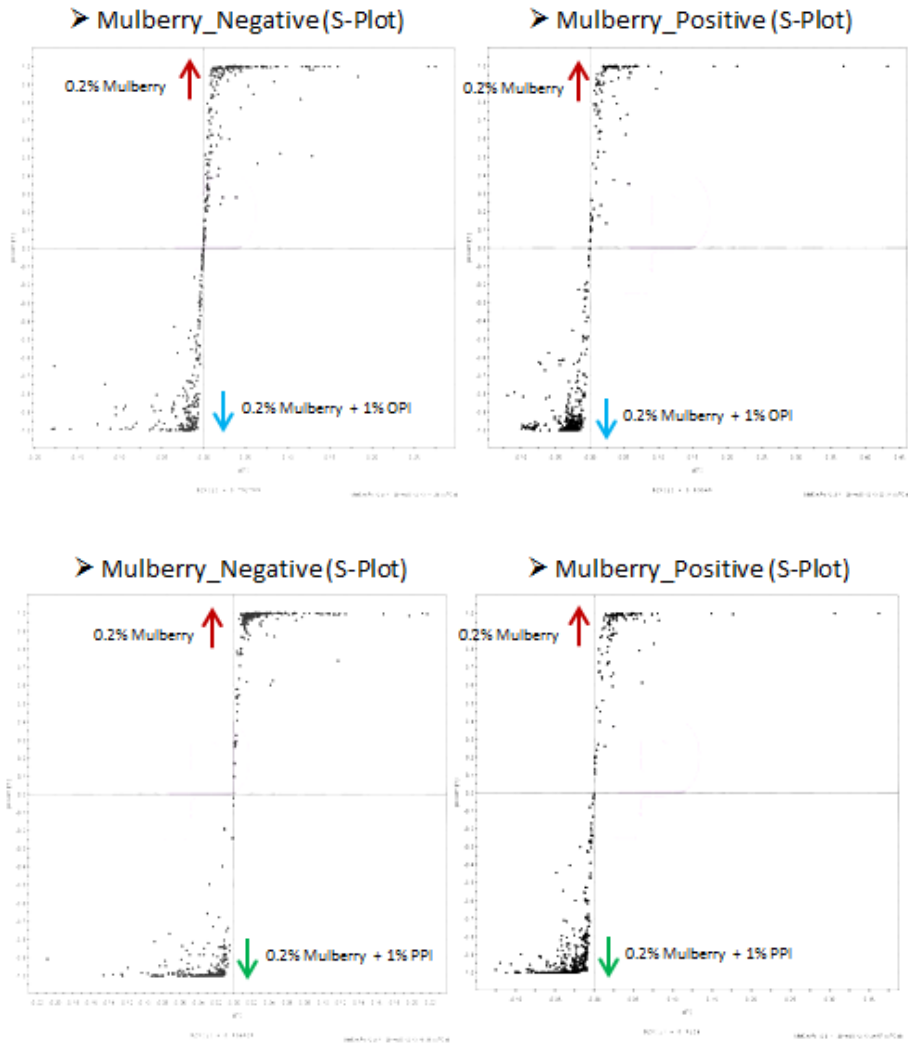


그림 66. 오디 추출물(65 °C, 1 시간)과 단백질처리군 함유 대사체 OPLS-DA 분석.

② LC-MS/MS targeted profiling

단백질과 반응하는 오디 추출물(65 °C, 1 시간) 함유 주요 폴리페놀 대사체의 동정 결과는 아래 표 81-84에 정리하였다. 주로 안토시아닌 계열의 화합물들이 단백질과의 반응에 의한 haze 형성에 관여하는 것으로 확인되었다.

표 81. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
593.13	27.49	246 518	285.01 299.03 327.05	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
447.05	25.97	243 517	285.00	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
285.03	25.999	244 517	241.01 256.97 217.01 146.97	Cyanidin	METLIN

표 82. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
449.03	25.90	242 517	287.01	Cyanidin-3-O-glucoside	METLIN
611.04	24.77	251 338 519	286.98 449.05	Cyanidin 3,5-diglucoside	METLIN
595.11	23.79	254 518	287.04 449.08	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
302.91	34.02	258 522	256.93 284.95 228.97 164.92	Delphinidin	METLIN

표 83. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
593.13	27.49	250 512	284.98 298.98 467.07 575.07 241.01	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
285.03	25.99	280 517	241.01 256.97 217.01 146.97 125.06 174.99 199.00	Cyanidin	METLIN
447.05	25.97	244 517	284.96 326.96 428.99	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
577.12	28.79	253 511	268.99 225.01 311.03 341.04	Pelargonidin rutinoside	METLIN

표 84. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
433.00	27.75	252 518	270.99	Pelargonidin glucoside	METLIN
449.04	25.85	241 517	287.01 236.13 416.21	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
595.12	23.71	254 519	287.04 449.08	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
757.16	28.59	252 513	286.97 611.13	Cyanidin glucosyl rutinoside	METLIN, Rian <i>et al.</i>
611.14	24.66	251 519	286.98 449.05	Cyanidin diglucoside	METLIN, Ali <i>et al.</i>

(라) 오디 (23 °C, 8 시간 추출물)

① 다변량통계분석

오디(23 °C, 8 시간) 추출물의 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 추출 용매 조건에 따라 상이한 대사체들이 추출되었음을 확인할 수 있었다. 또한, 모델계에서 단백질 소재인 OPI 및 PPI와 반응하는 폴리페놀 대사체를 규명하기 위하여, OPLS-DA 분석을 수행하고, 5% 유의수준에서 상이한 변이를 보이는 주요 폴리페놀 대사체들의 동정을 시행하였다.

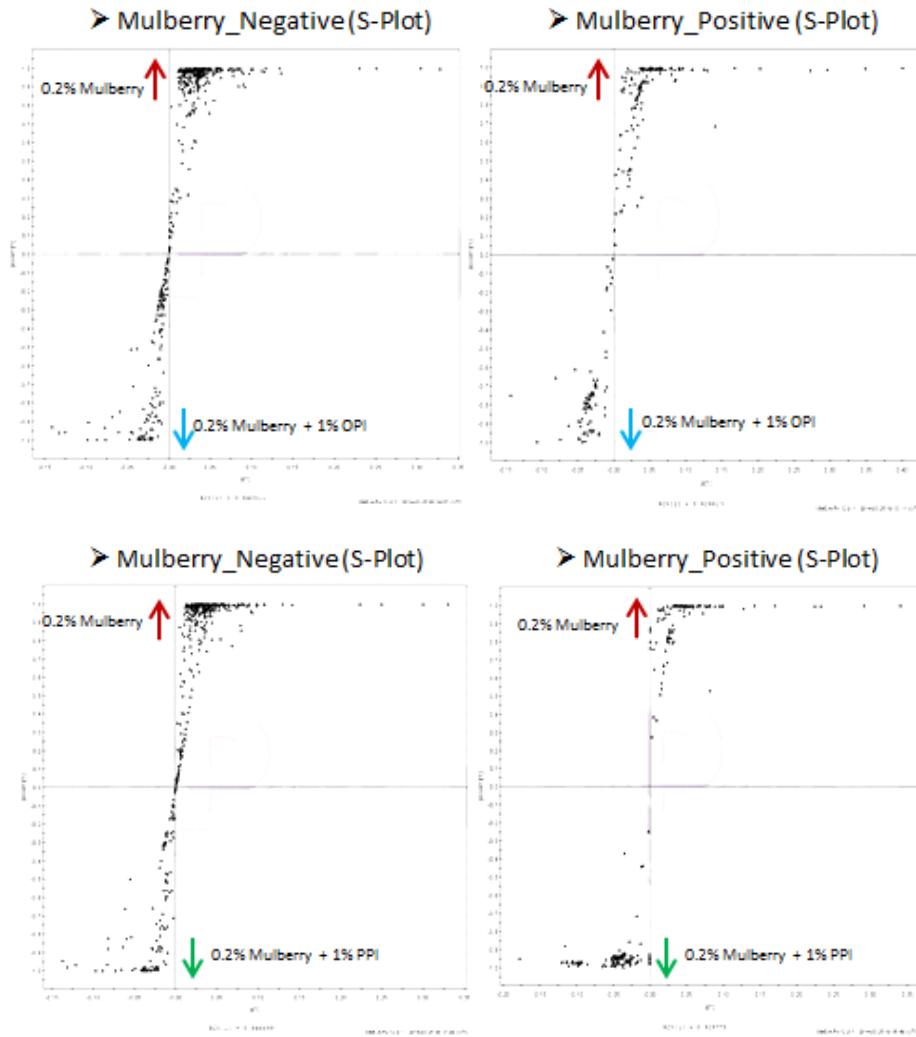


그림 67. 오디 추출물(23°C, 8 시간)과 단백질처리군 함유 대사체 OPLS-DA 분석.

② LC-MS/MS targeted profiling

단백질과 반응하는 오디 추출물(23 °C, 8 시간) 함유 주요 폴리페놀 대사체의 동정 결과는 아래 표 85-88에 정리하였다. 주로 cyanidin, pelargonidin과 같은 안토시아닌 계열의 화합물들이 단백질과의 반응에 의한 haze 형성에 관여하는 것으로 확인되었다.

표 85. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
447.09	26.17	243 517	285.04	Cyanidin 3-glucoside	METLIN
593.15	27.53	247 518	284.96 298.97 326.98	Kaempferol-3-O-rutinoside	METLIN

표 86. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
447.09	26.17	244 517	285.02	Quercetin 3-glucoside	METLIN
593.15	27.47	246 519	285.01 299.02	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN

표 87. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

r	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
6	24.34	247 381	463.09 300.98 505.06	Quercetin diglucoside	METLIN
4	31.46	253 355	300.98 342.97 417.16	Quercetin hexoside	METLIN
5	29.13	250 522	269.03 225.04 341.09 531.13 559.16	Pelargonidin rutinoside	METLIN

표 88. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
449.05	26.16	243 517	287.05 220.18	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
286.98	26.42	247 518	259.02 212.93 241.05 231.09 174.98 136.98 189.01	Cyanidin	METLIN
595.13	27.57	248 518	286.99 449.05	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
579.21	29.18	250 521	271.01 253.23 243.13 196.96 327.08 303.06	Pelargonidin rutinoside	METLIN
433.05	28.05	249 521	271.03	Pelargonidin glucoside	METLIN

(마) 단백질 결합 주요 폴리페놀 대사체

① 녹차(Oat protein isolate)

단백질(Oat protein isolate)과 반응하는 녹차 추출물 함유 폴리페놀 대사체 동정 결과를 아래 표 89-90에 정리하였다. 단백질과 반응하는 대사체는 추출 조건에 관계없이 모두 tannin 계열의 화합물이 주요 대사체였고, keampferol과 같은 flavonol 계열의 화합물이 함께 관여하는 것으로 확인되었다.

표 89. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체 (Negative ion mode)

Green tea (Oat protein isolate, 23 °C 8 시간)_Negative ion mode					
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
457.97	15.03	269.00 324.00	168.93 331.01 305.01 286.99	Epigallocatechin Gallate	METLIN
441.05	17.55	271.00 336.00	288.98 330.93 168.93	Catechin gallate	METLIN
577.05	9.09	279	425.03 451.00 407.04 289.02	(epi)catechin-(epi)catechin	METLIN

Green tea (Oat protein isolate, 65 °C 1 시간)_Negative ion mode						
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms		Tentative identification	reference
425.00	20.67	278, 312	273.01	168.91	Epiafzelechin-O-gallate	Lin <i>et al.</i>
441.05	18.00	269, 338	289.03	168.97 330.99	Epicatechin-O-gallate	Del Rio <i>et al.</i>
457.04	15.13	267, 350	330.95	304.99 168.92	Galocatechin-O-gallate	METLIN

표 90. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

Green tea (Oat protein isolate, 23 °C 8 시간)_Positive ion mode						
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms		Tentative identification	reference
443.09	17.65	2272.00 335.00	273.09	150.97	Epigallocatechin Gallate	METLIN
611.03	4.88	274.00	442.98	304.97 286.98	Catechin gallate	METLIN
291.06	11.37	279.00	123.04	138.97 165.01 273.07	Catechin	METLIN
449.00	19.55	279.00 310.00	287.07		kaempferol-O-galactoside	METLIN

Green tea (Oat protein isolate, 65 °C 1 시간)_Positive ion mode						
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms		Tentative identification	reference
443.09	17.65	272, 335	273.09	150.97	Epigallocatechin gallate	METLIN

② 녹차(Pea protein isolate)

단백질(Pea protein isolate)과 반응하는 녹차 추출물 함유 폴리페놀 대사체 동정 결과를 아래 표 91-92에 정리하였다. OPI의 경우와 동일하게, 단백질과 반응하는 대사체는 추출 조건에 관계 없이 모두 tannin 계열의 화합물이 주요 대사체였고, Quercetin과 같은 flavonol 계열의 화합물이 함께 관여하는 것으로 확인되었다.

표 91. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

Green tea (Pea protein isolate, 23 °C 8 시간)_Negative ion mode						
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms		Tentative identification	reference
457.02	12.78	275 332	168.94 331.04 305.05 287.03 269.03		Epigallocatechin gallate	METLIN
441.05	17.49	270 343	288.98 168.93 330.93 270.96 397.01		Epicatechin-O-gallate	METLIN, Del Rio <i>et al.</i>
457.02	14.51	276 318	305.03 168.91 330.97 287.00		Epigallocatechin derivative	METLIN
577.05	9.04	284	425.03 451.00 407.04 289.02 244.98		Procyanidin dimer	METLIN, Tsang <i>et al.</i>
463.03	18.41	265 342	301.00 342.99 179.01		Quercetin hexoside	METLIN

Green tea (Pea protein isolate, 65 °C 1 시간)_Negative ion mode									
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms				Tentative identification	reference	
441.05	18.00	272 350	289.03	168.97	330.99	271.02 397.06 192.94	Epicatechin-O-gallate	METLIN, Del Rio <i>et al.</i>	
915.08	13.96	274 324	457.05	305.06	331.04	287.04	Epigallocatechin gallate derivative	METLIN	

표 92. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 녹차 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

Green tea (Pea protein isolate, 23 °C 8 시간)_Positive ion mode									
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms				Tentative identification	reference	
443.02	17.57	269 347	273.05	150.95	281.07	317.04 138.96	Epicatechin-O-gallate	METLIN, Del Rio <i>et al.</i>	
773.39	17.35	269 335	303.02	465.07	611.10	449.07	Quercetin derivative	METLIN	

Green tea (Pea protein isolate, 65 °C 1 시간)_Positive ion mode									
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms				Tentative identification	reference	
458.98	14.98	269 353	289.00	138.93	150.92	332.94 306.99	Epigallocatechin gallate	METLIN	
443.09	17.65	268 352	273.09	150.97	291.07	317.02 138.96	Catechin-O-gallate	METLIN	
307.02	6.69	270	289.03	138.96	150.94	180.94 168.94	Epigallocatechin	Mass bank	

③ 오디(Oat protein isolate)

단백질(Oat protein isolate)과 반응하는 오디 추출물 함유 폴리페놀 대사체 동정 결과를 아래 표 93-94에 정리하였다. 단백질과 반응하는 대사체는 추출 조건에 관계없이 모두 cyanidin 계열의 안토시아닌 화합물로 확인되었고, 상온 추출물에서는 일부 flavonol 배당체 형태의 대사체가 함께 작용하는 것으로 동정되었다.

표 93. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI (Oat protein isolate, 23 °C 8 시간)_Negative ion mode									
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms				Tentative identification	reference	
447.09	26.17	243 517	285.04				Cyanidin 3-glucoside	METLIN	
593.15	27.53	247 518	284.96	298.97	326.98	Kaempferol-3-O-rutinoside		METLIN	

<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI (Oat protein isolate, 65 °C 1 시간)_Negative ion mode									
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms				Tentative identification	reference	
593.13	27.49	246 518	285.01	299.03	327.05	Cyanidin-3-rutinoside		METLIN	
447.05	25.97	243 517	285.00				Cyanidin-3-glucoside	METLIN	
285.03	25.999	244 517	241.01	256.97	217.01	146.97	Cyanidin	METLIN	

표 94. 단백질(Oat protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI (Oat protein isolate, 23 °C 8 시간)_Positive ion mode					
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
447.09	26.17	244 517	285.02	Quercetin 3-glucoside	METLIN
593.15	27.47	246 519	285.01 299.02	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI (Oat protein isolate, 65 °C 1 시간)_Positive ion mode					
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
449.03	25.90	242 517	287.01	Cyanidin-3-O-glucoside	METLIN
611.04	24.77	251 338 519	286.98 449.05	Cyanidin 3,5-diglucoside	METLIN
595.11	23.79	254 518	287.04 449.08	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
302.91	34.02	258 522	256.93 284.95 228.97 164.92	Delphinidin	METLIN

④ 오디(Pea protein isolate)

단백질(Pea protein isolate)과 반응하는 오디 추출물 함유 폴리페놀 대사체 동정 결과를 아래 표 95-96에 정리하였다. 단백질과 반응하는 대사체는 추출 조건에 관계없이 모두 cyanidin, pelargonidin 계열의 안토시아닌 화합물들로 동정되었다.

표 95. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI (Pea protein isolate, 23 °C 8 시간)_Negative ion mode					
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
625.16	24.34	247 381	463.09 300.98 505.06	Quercetin diglucoside	METLIN
463.10	31.46	253 355	300.98 342.97 417.16	Quercetin hexoside	METLIN
577.18	29.13	250 522	269.03 225.04 341.09 531.13 559.16	Pelargonidin rutinoside	METLIN
<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI (Pea protein isolate, 65 °C 1 시간)_Negative ion mode					
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
593.13	27.49	250 512	284.98 298.98 467.07 575.07 241.01	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
285.03	25.99	280 517	241.01 256.97 217.01 146.97 125.06 174.99 199.00	Cyanidin	METLIN
447.05	25.97	244 517	284.96 326.96 428.99	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
577.12	28.79	253 511	268.99 225.01 311.03 341.04	Pelargonidin rutinoside	METLIN

표 96. 단백질(Pea protein isolate)과 상호작용하는 오디 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI (Pea protein isolate, 23 °C 8 시간)_Positive ion mode					
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
449.05	26.16	243 517	287.05 220.18	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
286.98	26.42	247 518	259.02 212.93 241.05 231.09 174.98 136.98 189.01	Cyanidin	METLIN
595.13	27.57	248 518	286.99 449.05	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
579.21	29.18	250 521	271.01 253.23 243.13 196.96 327.08 303.06	Pelargonidin rutinoside	METLIN
433.05	28.05	249 521	271.03	Pelargonidin glucoside	METLIN

<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI (Pea protein isolate, 65 °C 1 시간)_Positive ion mode					
m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
433.00	27.75	252 518	270.99	Pelargonidin glucoside	METLIN
449.04	25.85	241 517	287.01 236.13 416.21	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
595.12	23.71	254 519	287.04 449.08	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
757.16	28.59	252 513	286.97 611.13	Cyanidin glucosyl rutinoside	METLIN, Rian <i>et al.</i>
611.14	24.66	251 519	286.98 449.05	Cyanidin diglucoside	METLIN, Ali <i>et al.</i>

4. 물리 화학적 처리에 따른 폴리페놀 metabolome 변이 규명

가. 실험방법

(1) 물리 화학적 처리에 따른 폴리페놀 대사체의 단백질 결합 특성 분석

물리 화학적 처리에 따른 폴리페놀 추출물의 단백질 결합능의 변화를 관찰하기 위해, 열처리에 따른 오디와 녹차 추출물과 단백질의 결합 특성을 비교 분석하였다. 폴리페놀 물추출물(65 °C, 8 시간)을 제조하고, 실제 면 제조 공정 중의 가열 조건과 유사한 온도인 90 °C에서 2 분, 5 분간 열처리한 후, 폴리페놀 대사체의 변이를 분석하였다.

<Extraction of polyphenol>

Green tea, *Morus bombycis* var. *rubricaulis* UYEKI,
(16 g dry weight/ 80 ml D.W) in water, 65 °C, 1 hr

↓

Measurement of total phenol contents

↓

Dilution of sample at 0.2% phenol contents

<Haze formation of protein isolate with polyphenol solution>

0.2% polyphenol solution 1 ml
+ 1% protein isolate sample (Oat protein isolate, Pea protein isolate) 1 ml

↓

Reaction in shaking incubator at 23 °C, for 15 min

↓

Reaction at 90 °C for 2 min or 5 min

↓

Centrifugation at 4 °C, 10000 rpm, 15 min

↓

Collection of supernatant

그림 68. 폴리페놀 추출물 제조와 열처리에 따른 단백질 결합능 비교.

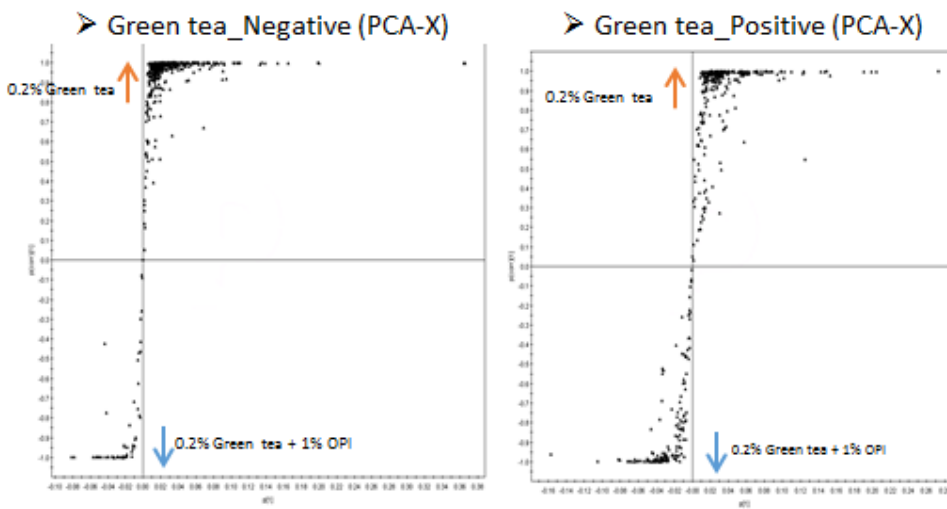
나. 실험결과

(1) 녹차(Oat protein isolate처리_열처리: 90 °C, 2 분/5 분)

(가) 다변량 통계분석

열처리에 따른 녹차(65 °C, 1 시간) 추출물 함유 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 유의적인 변이가 존재함을 확인할 수 있었다. 이 과정에서 단백질(OPI)과 결합하여 haze를 형성하는 데 관여하는 폴리페놀 대사체를 규명하기 위하여 OPLS-DA 분석을 수행하고, 5% 유의수준에서 상이한 변이를 보이는 주요 폴리페놀 대사체들의 동정을 시행하였다.

Green tea_2 min



Green tea_5 min

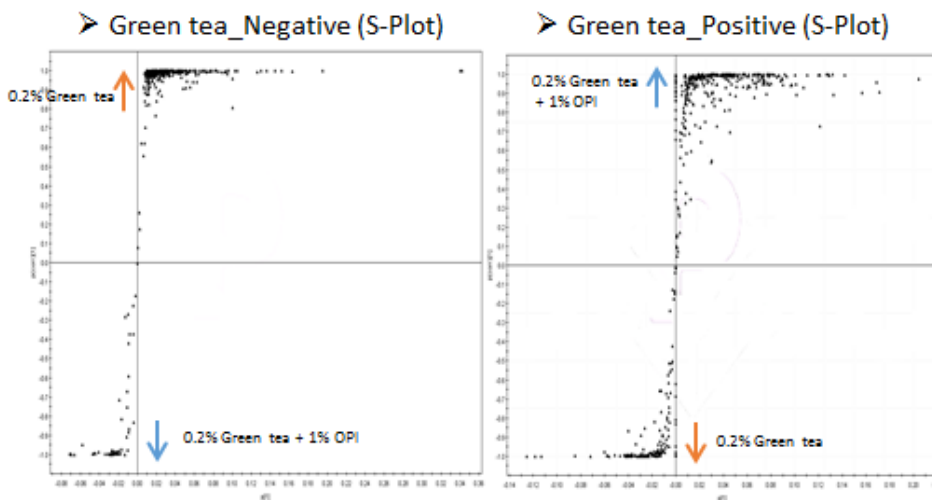


그림 69. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 녹차 추출물(65 °C, 1 시간)과 단백질처리군(OPI) 함유 대사체 OPLS-DA 분석.

(나) LC-MS/MS targeted profiling

가열 처리 조건에서 단백질 결합에 관여하는 것으로 확인된 폴리페놀 성분 중, Galocatechin-O-gallate, Epigallocatechin gallate, Epicatechin-O-gallate, Catechin에 유의적 변이가 나타난 것으로 확인되었다(표 97-98). 이들 화합물은 haze 형성에 관여하는 주요 화합물로 동정된 바 있으며, 열처리에 의해 단백질 변성과 함께 변형된 것으로 추측되었다.

표 97. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 단백질(OPI)과 상호작용하는 녹차 추출물 대사체의 변이 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ_{max}	ms/ms	Tentative identification	reference
2 min					
457.04	15.13	267 350	330.95 304.99 168.92	Galocatechin-O-gallate	METLIN
5 min					
441.05	18.00	269 338	289.03 168.97 330.99	Epicatechin-O-gallate	Del Rio <i>et al.</i>
457.04	15.13	267 350	330.95 304.99 168.92	Galocatechin-O-gallate	METLIN

표 98. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 단백질(OPI)과 상호작용하는 녹차 추출물 대사체의 변이 (Positive ion mode)

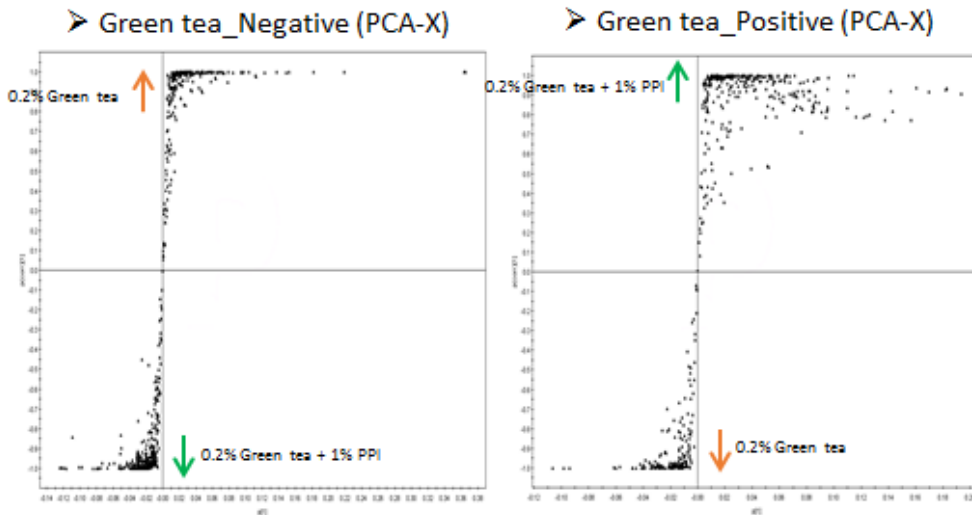
m/z	Time (min)	λ_{max}	ms/ms	Tentative identification	reference
2 min					
443.09	17.65	272 335	273.09 150.97	Epigallocatechin gallate	METLIN
291.06	11.37	279	123.04 138.97 165.01 273.07	Catechin	METLIN
5 min					
443.09	17.65	272 335	273.09 150.97	Epigallocatechin gallate	METLIN

(2) 녹차(Pea protein isolate처리_열처리: 90 °C, 2 분/5 분)

(가) 다변량통계분석

열처리에 따른 녹차(65 °C, 1 시간) 추출물 함유 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 유의적인 변이가 존재함을 확인할 수 있었다. 이 과정에서 단백질(PPI)과 결합하여 haze를 형성하는 데 관여하는 폴리페놀 대사체를 규명하기 위하여 OPLS-DA 분석을 수행하고, 5% 유의수준에서 상이한 변이를 보이는 주요 폴리페놀 대사체들의 동정을 시행하였다.

Green tea_2 min



Green tea_5 min

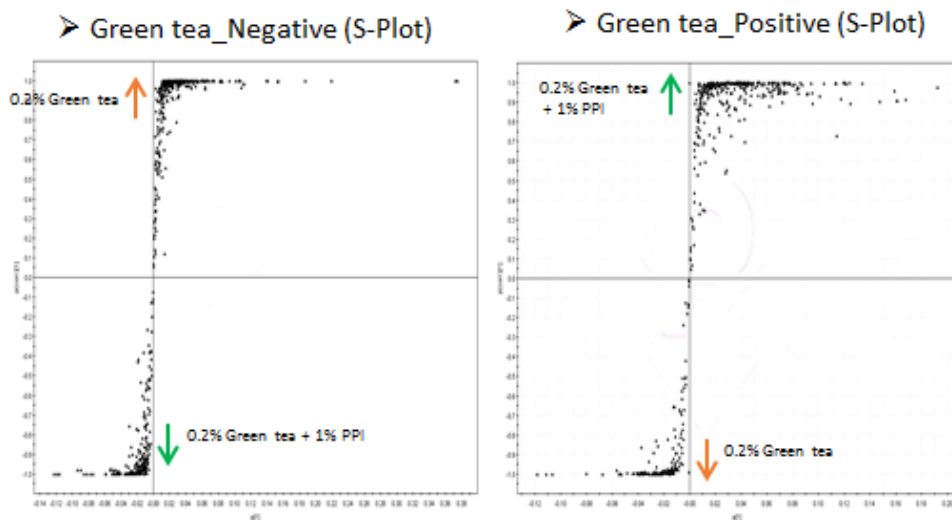


그림 70. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 녹차 추출물(65 °C, 1 시간)과 단백질처리균(PPI) 함유 대사체 OPLS-DA 분석.

(나) LC-MS/MS targeted profiling

가열 처리 조건에서 단백질 결합에 관여하는 것으로 확인된 폴리페놀 성분 중, Epicatechin-O-gallate, Epigallocatechin, Epigallocatechin gallate, Epicatechin-O-gallate, Catechin-O-gallate에 유의적 변이가 나타난 것으로 확인되었다(표 99-100). 이들 화합물은 haze 형성에 관여하는 주요 화합물로 동정된 바 있으며, 열처리에 의해 단백질 변성과 함께 변형된 것으로 추측되었다.

표 99. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 단백질(PPI)과 상호작용하는 녹차 추출물 대사체의 변이 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ_{max}	ms/ms	Tentative identification	reference
2 min					
915.08	13.96	274 324	457.05 305.06 331.04 287.04	Epigallocatechin gallate derivative	METLIN
5 min					
441.05	18.00	272 350	289.03 168.97 330.99 271.02	Epicatechin-O-gallate	METLIN, Del Rio <i>et al.</i>
			397.06 192.94		
915.08	13.96	274 324	457.05 305.06 331.04 287.04	Epigallocatechin gallate derivative	METLIN

표 100. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 단백질(PPI)과 상호작용하는 녹차 추출물 대사체의 변이 (Positive ion mode)

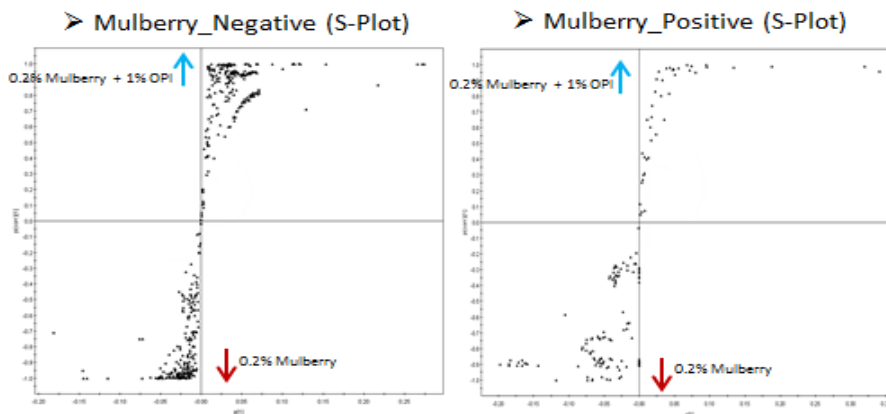
m/z	Time (min)	λ_{max}	ms/ms	Tentative identification	reference
2 min					
458.98	14.98	269 353	289.00 138.93 150.92 332.94	Epigallocatechin gallate	METLIN
443.09	17.65	268 352	273.09 150.97 291.07 317.02	Catechin-O-gallate	METLIN
			138.96		
307.02	6.69	270	289.03 138.96 150.94 180.94	Epigallocatechin	Mass bank
			168.94		
5 min					
458.98	14.98	269 353	289.00 138.93 150.92 332.94	Epigallocatechin gallate	METLIN
443.09	17.65	268 352	273.09 150.97 291.07 317.02	Catechin-O-gallate	METLIN
			138.96		

(3) 오디(Oat protein isolate_90 °C, 2 분/5 분)

(가) 다변량통계분석

열처리에 따른 오디(65 °C, 1 시간) 추출물 함유 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 유의적인 변이가 존재함을 확인할 수 있었다. 이 과정에서 단백질(OPI)과 결합하여 haze를 형성하는 데 관여하는 폴리페놀 대사체를 규명하기 위하여 OPLS-DA 분석을 수행하고, 5% 유의수준에서 상이한 변이를 보이는 주요 폴리페놀 대사체들의 동정을 시행하였다.

Mulberry_2 min



Mulberry_5 min

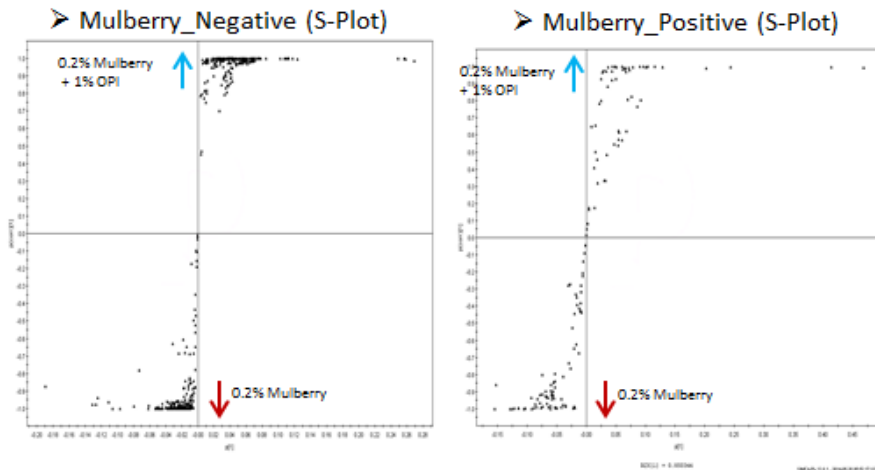


그림 71. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 오디 추출물(65 °C, 1시간)과 단백질처리군(OPI) 함유 대사체 OPLS-DA 분석.

(나) LC-MS/MS targeted profiling

가열 처리 조건에서 단백질 결합에 관여하는 것으로 확인된 폴리페놀 성분 중, Cyanidin-3-glucoside에 유의적 변이가 나타난 것으로 확인되었다(표 101-102). 이 화합물은 오디에 다량 함유되어 있는 대표적인 안토시아닌 계열의 물질로서, 모델계 시험에서 단백질과 강한 상호작용 기능이 있는 것으로 확인된 바 있다.

표 101. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 단백질(OPI)과 상호작용하는 오디 추출물 대사체의 변이 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ_{max}	ms/ms	Tentative identification	reference
2 min					
447.05	25.97	243 517	285.00	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
5 min					
447.05	25.97	243 517	285.00	Cyanidin-3-glucoside	METLIN

표 102. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 단백질(OPI)과 상호작용하는 오디 추출물 대사체의 변이 (Positive ion mode)

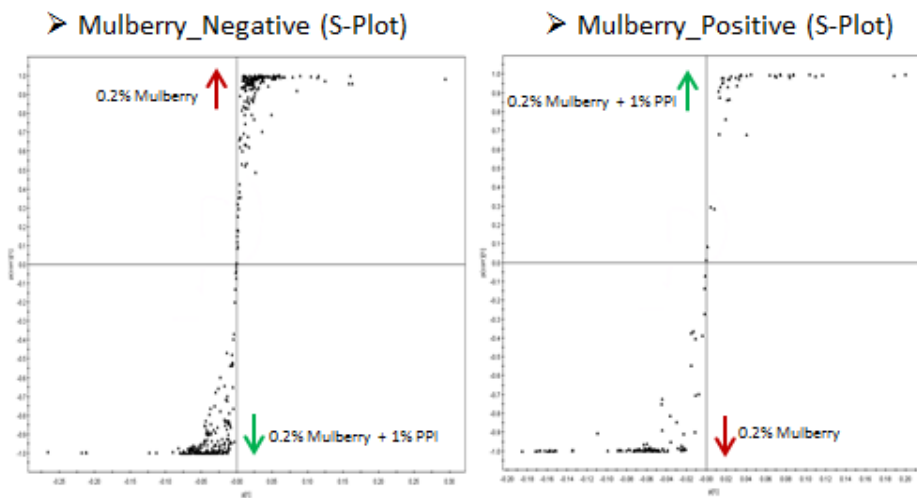
m/z	Time (min)	λ_{max}	ms/ms	Tentative identification	reference
2 min					
449.03	25.90	242 517	287.01	Cyanidin-3-O-glucoside	METLIN
5 min					
449.03	25.90	242 517	287.01	Cyanidin-3-O-glucoside	METLIN

(5) 오디(Pea protein isolate_90 °C, 2 분/5 분)

(가) 다변량 통계분석

열처리에 따른 오디(65 °C, 1 시간) 추출물 함유 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 유의적인 변이가 존재함을 확인할 수 있었다. 이 과정에서 단백질(PPI)과 결합하여 haze를 형성하는 데 관여하는 폴리페놀 대사체를 규명하기 위하여 OPLS-DA 분석을 수행하고, 5% 유의수준에서 상이한 변이를 보이는 주요 폴리페놀 대사체들의 동정을 시행하였다.

Mulberry_2 min



Mulberry_5 min

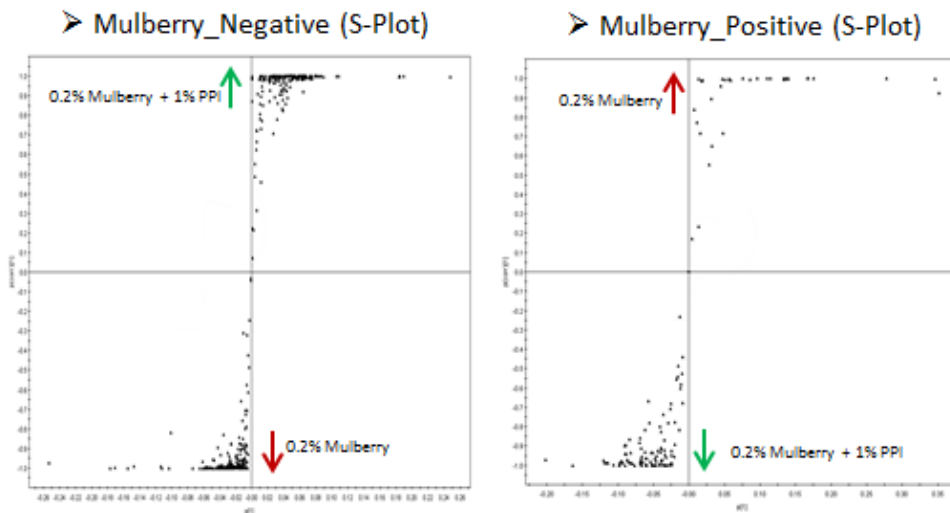


그림 72. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 오디 추출물(65 °C, 1 시간)과 단백질처리균(PPI) 함유 대사체 OPLS-DA 분석.

(나) LC-MS/MS targeted profiling

가열 처리 조건에서 단백질 결합에 관여하는 것으로 확인된 폴리페놀 성분 중,

Cyanidin-3-glucoside, Cyanidin-3-rutinoside, Pelargonidin glucoside에 유의적 변이가 나타난 것으로 확인되었다(표 103-104). 이 화합물들은 오디에 다량 함유되어 있는 안토시아닌 계열의 물질로서, 모델계 시험에서 단백질과 강한 상호작용 기능이 있는 것으로 확인된 물질들이다.

표 103. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 단백질(PPI)과 상호작용하는 오디 추출물 대사체의 변이 (Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ_{max}	ms/ms			Tentative identification	reference
2 min							
593.13	27.49	250 512	284.98	298.98	467.07 575.07	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
447.05	25.97	244 517	284.96	326.96	428.99	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
5 min							
593.13	27.49	250 512	284.98	298.98	467.07 575.07	Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
447.05	25.97	244 517	284.96	326.96	428.99	Cyanidin-3-glucoside	METLIN

표 104. 열처리(90 °C, 2 분/5 분)에 따른 단백질(PPI)과 상호작용하는 오디 추출물 대사체의 변이 (Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ_{max}	ms/ms			Tentative identification	reference
2 min							
449.04	25.85	241 517	287.01	236.13	416.21	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
595.12	23.71	254 519	287.04	449.08		Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
433.00	27.75	252 518	270.99			Pelargonidin glucoside	METLIN
5 min							
595.12	23.71	254 519	287.04	449.08		Cyanidin-3-rutinoside	METLIN
433.00	27.75	252 518	270.99			Pelargonidin glucoside	METLIN
449.04	25.85	241 517	287.01	236.13	416.21	Cyanidin-3-glucoside	METLIN

녹차와 오디 추출물에 함유된 폴리페놀 대사체들 중에서 단백질(Oat protein isolate, pea protein isolate)과 반응하여 haze를 형성하는 후보 대사체를 규명하기 위해, 전체 대사체를 대상으로 5% 유의수준에서 변이를 보이는 화합물을 선별하고 이들의 동정을 실시하였다.

녹차 추출물의 경우, 약 500여개의 대사체 중, 20-30개의 후보 물질이 선별 되었고 최종적으로 3개 정도씩의 폴리페놀 대사체가 동정되었다(표 105).

표 105. 단백질과 상호작용하는 녹차 추출물 함유 폴리페놀 대사체의 선별

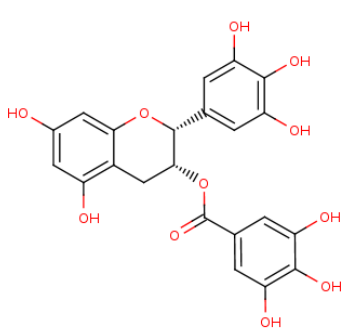
Green tea_65 °C, 1 hr						
	Samples	Total	Screened	Identification	Heat treatment	
					2 min	5 min
Negative	Green tea + OPI	431	16	3	1	2
	Green tea + PPI	490	37	2	1	2
Positive	Green tea + OPI	478	13	1	2	1
	Green tea + PPI	522	23	3	3	2

오디 추출물은, 원물에 존재하는 약 500여개의 대사체 중, 많게는 100여개의 후보 물질이 선별되었고, 이들에 대한 동정 분석 결과 3-5개씩의 폴리페놀 후보 물질이 선별 되었고 최종적으로 단백질과 haze 형성에 관여하는 약 3개 정도씩의 폴리페놀 대사체가 동정되었다(표 106).

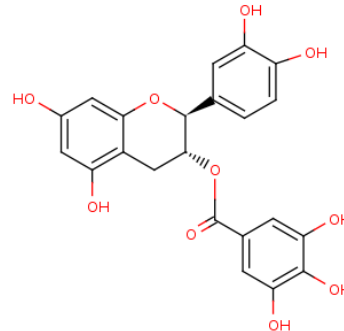
표 106. 단백질과 상호작용하는 오디 추출물 함유 폴리페놀 대사체의 선별

<i>Morus bombycis</i> var. <i>rubricaulis</i> UYEKI (Mulberry)_65 °C, 1 hr						
Samples	Total	Screened	Identification	Heat treatment		
				2 min	5 min	
Negative	Mulberry + OPI	431	114	3	1	1
	Mulberry + PPI	490	137	4	2	2
Positive	Mulberry + OPI	478	44	4	1	1
	Mulberry + PPI	522	60	5	3	3

이상의 결과를 정리하면, 녹차 폴리페놀 추출물에서는 주로 tannin계열의 화합물들이 단백질과 상호작용하여 침전물을 형성하는 것으로 확인되었고, 특히 아래에 기술된 catechin 유도체 물질들이 주요 대사체로 작용하는 것으로 분석되었다.

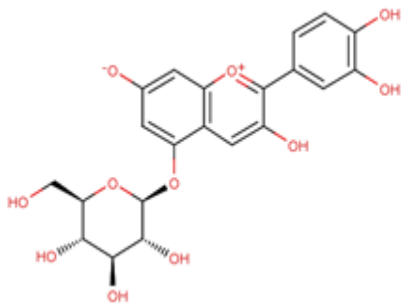


Epigallocatechin gallate

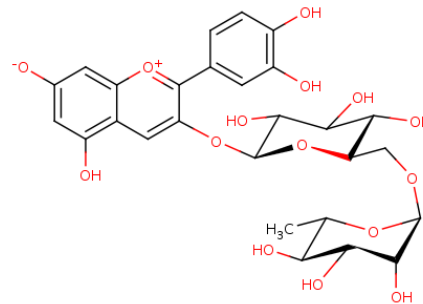


Catechin gallate

오디 폴리페놀 추출물에서는 주로 anthocyanin계열의 화합물들이 침전물 형성을 위해 단백질과 상호작용하는 것으로 확인되었고, cyanidin 배당체 물질들이 주요 대사체로 작용하는 것으로 분석되었다.



Cyanidin-3-glucoside



Cyanidin-rutinoside

5. 전곡립 유래 폴리페놀류 및 단백질 추출 및 특성 탐색

가. 실험방법

(1) 전곡립 폴리페놀 추출조건 탐색

(가) 재료

2012년 전남 영광에서 생산된 발아보리 및 수수를 폴리페놀 추출소재로 사용하였다.

(나)추출액의 제조

발아보리 또는 수수 40 g에 200 ml의 물을 가하여 각각 5, 20, 35, 50, 65 °C에서 1 시간 추출하였다. 추출 예비실험 시 이들 소재의 높은 전분 함량에 의해 유발된 추출액의 탁도가 총폴리페놀 함량 및 항산화능 측정 시 흡광도에 영향을 미쳤다. 따라서, α -amylase(from barley malt; Sigma-Aldrich)와 amyloglucosidase(from *Aspergillus niger*; Toyobo)를 45 °C에서 24 시간 처리하여 전분을 소당류로 분해한 후 총페놀함량 측정에 이용하였다.

(다) 총페놀함량 측정

총페놀함량은 Folin-Ciocalteu' s method를 이용하여 측정하였다. 희석한 폴리페놀 추출물 50 L에 증류수 450 L를 가하고, 0.2 N Folin-Ciocalteu' s phenol reagent 2.5 ml와 7.5% Na₂CO₃ 2 ml을 첨가하여 50 °C에서 5 분간 반응시켰다. 이를 방냉 후 UV/Vis spectrophotometer (Beckman coulter Inc., CA, USA)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 3 회 반복 측정하였으며, gallic acid 상당량(GAE)으로 표준검량선 $y = 11.18x + 0.015$ (R² = 0.998)을 이용하여 계산하였다.

(2) 전곡립의 지표폴리페놀 선정

65 °C에서 추출한 전곡립 폴리페놀 추출액을 LC-MS/MS를 이용하여 동정하여 효율적으로 단백질과 결합하는 지표폴리페놀을 선정하였다. LC-MS/MS 분석 기기 및 조건은 표 107와 같다.

표 107. LC-MS/MS 분석 장비 및 조건

Condition			
Iontrap	LTQ-Velosion trap mass spectrometer		
Electrospray ionization	Heat electrospray ionization interface (Thermo Fisher Scientific, San Joe, CA USA)		
Column	YMC-Triart C18 column(1.9 μ m), 2.0x100 mm		
Eluent A	0.1% Formic acid in water		
Eluent B	0.1% Formic acid in acetonitrile		
Column temperature	36 °C	Full MS mass range (m/z)	100-1000
Capillary temperature	275 °C	Source voltage	5 kV
Sheath gas	35 ml/min	Auxiliary gas	5 ml/min

(3) 전곡립 단백질의 아미노산 조성 분석

전곡립 중 단백질의 급원으로 선정된 수수, 완두단백, 귀리 단백질의 아미노산 조성을 분석하였다. 각 단백질을 110 °C에서 24 시간 동안 HCl로 가수분해하였다. Cystein 함량은 각 단백질을 peroxidation한 후 HCl 가수분해하였고, triptopane 함량은 각 단백질을 methanesulfonic acid로 가수분해하여 분석하였다. 산가수분해 후 MeOH: H₂O: TEA: PITC= 7: 1: 1: 1의 유도체화 용액을 30 분간 처리하여 유도체화 시켰다. 이를 건조 후 HPLC eluent A에 용해시킨 후 원심분리하여 상등액을 HPLC로 분석하였다. HPLC 분석조건은 표 108과 같다.

표 108. 아미노산 조성 분석용 HPLC 장비 및 조건

Column	Agilent SB-C18 (2.1mm X 150mm), 1.8 μm			
Column oven tempt.	40 °C			
Detection	254 nm			
Injection vol.	standard 2 μl, samples 1 μl			
Eluent A	140 mM NaHAc, 0.15% TEA, 0.03% EDTA, 6% CH ₃ CN, pH 6.1			
Eluent B	60% CH ₃ CN, 0.015% EDTA			
Gradient	Time(min)	Flow rate (ml/min)	%A	%B
	0	0.4	99.9	0.1
	5	0.4	99.9	0.1
	14.5	0.4	60	40
	15.6	0.4	0	100
	17.9	0.4	0	100
	18	0.4	99.9	0.1
	20	0.4	99.9	0.1

나. 실험결과

(1) 전곡립 추출액의 총페놀함량

추출온도에 따른 발아보리 및 수수 추출액의 총페놀함량은 표 109와 같다. 추출온도는 각 추출액의 총페놀함량에 유의적인 영향을 나타내었다(p<0.05). 따라서, 추출온도가 올라갈수록 발아보리와 수수 추출액의 총페놀함량은 증가하였으며, 발아보리의 총페놀함량은 수수에 비해 높게 나타났다.

표 109. 발아보리 및 수수 추출액의 총페놀함량

Extraction temp.(°C)	Total phenolics (mgGAE/40 g)	
	Germinated barley	Sorghum
5	4.121 ^c	1.765 ^c
20	4.652 ^d	2.031 ^d
35	4.867 ^c	2.711 ^c
50	5.226 ^b	3.465 ^b
65	6.085 ^a	4.549 ^a

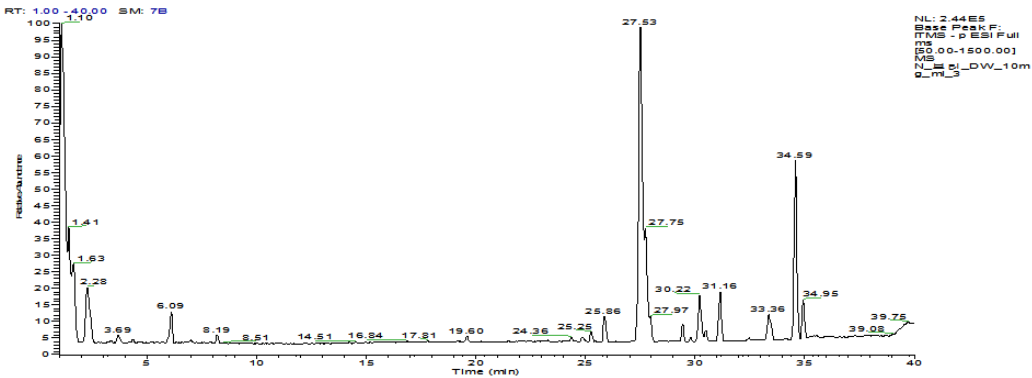
(2) 전곡립 지표폴리페놀 선정

(가) 발아보리

발아보리의 물 추출물에 존재하는 물질들을 negative mode 및 positive mode에서 동정하였으며, 동정된 주요물질은 다음과 같다.

① Negative mode

m/z	RT	ms/ms	Tentativeidentification
329.283	1.236	279.95319.93305.81320.97176.87	2,8-Di-O-methyllicagicacid
815.466	25.034	653.30491.22635.27797.33329.29473.20	Syringetin3-rutinoside-7-glucoside
427.131	32.941	406.92311.21284.26341.31252.19384.09	5,4'-Dihydroxy-3,6,3'-trimethoxy-7-prenyloxyflavone



② Positive mode

m/z	RT	ms/ms	Tentativeidentification
457.449	36.992	313.21 369.27 413.45 185.16 145.18 284.27	3'-Hydroxysimvastatin

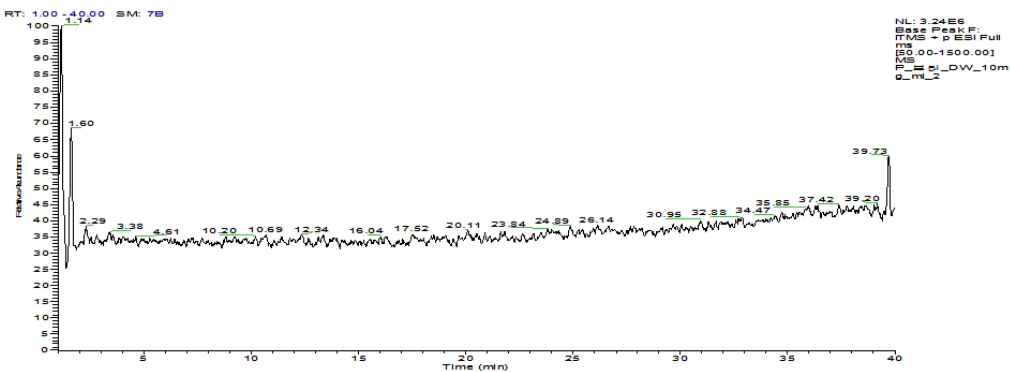


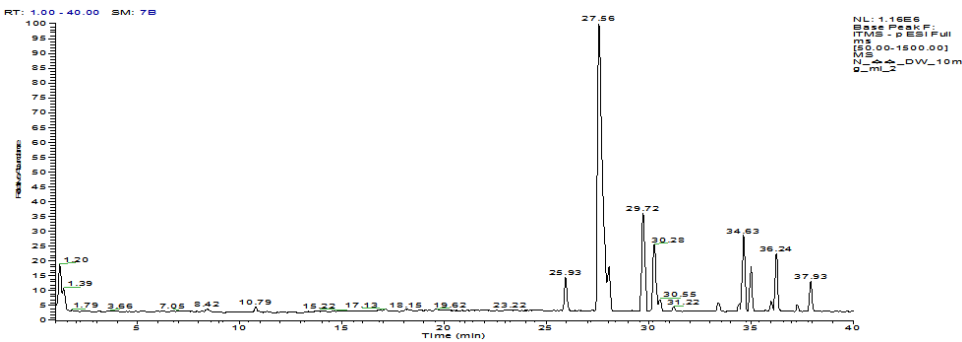
그림 73. 발아보리 물 추출물의 LC-MS/MS에 의한 성분 동정.

(나) 수수

수수의 물 추출물에 존재하는 물질들을 negative mode 및 positive mode에서 동정하였으며, 동정된 주요물질은 다음과 같다.

① Negative mode

m/z	RT	ms/ms	Tentativeidentification
209.488	29.72	165.0283.03190.98163.00124.9880.979 5.0	5-Hydroxyferulate
327.534	29.69	309.23311.24171.06201.06213.04293.2 3275.31	5,8-Dihydroxy-7-methoxyflavanone8-O-a cetate
313.518	34.57	295.20183.11277.26195.11129.13	Crotaoprostrin
475.397	31.33	295.25296.20277.25313.26457.22195.0 6171.07179.02	Matteucinol7-O-glucoside
315.614	36.25	297.47171.09279.31269.35311.24141.2 2155.13201.10	Lapathinol
441.378	29.72	327.21369.19342.06423.19250.05309.0 5279.18	Flaccidine
681.515	27.56	351.24,329.28,233.12,251.16,638.18	Tricin7-diglucuronoside



② Positive mode

m/z	RT	ms/ms	Tentativeidentification
211.357	29.687	193.30175.14195.89111.15	3,4-Dihydroxyphenylvalericacid
315.463	34.597	297.23279.28305.10187.07	Isoscutellarein7,8-dimethylether

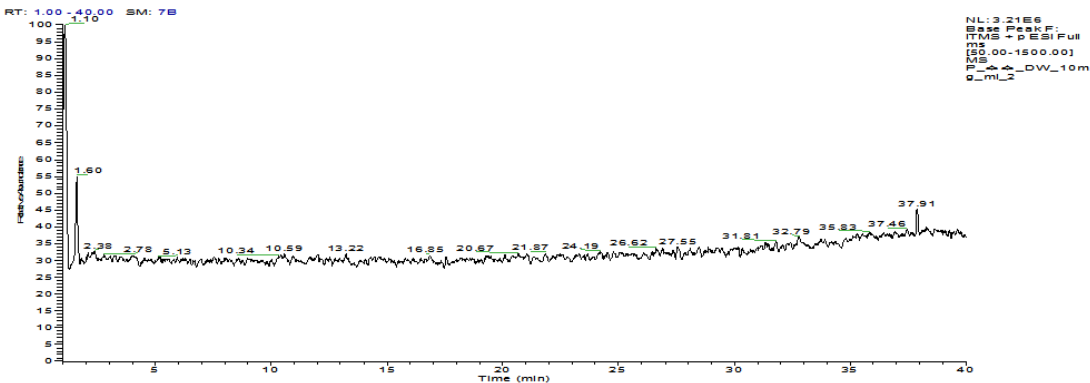


그림 74. 수수 물 추출물의 LC-MS/MS에 의한 성분 동정.

(3) 전곡립 아미노산 조성

귀리, 수수, 완두단백의 아미노산 조성은 분석은 표 110에 나타내었다. 세 종류의 곡류 단백질 모두 glutamine과 glutamic acid의 함량이 높고, 수수단백질의 경우는 특이적으로 alanine의 함량이 높았다. 폴리페놀과 효율적으로 상호작용을 한다고 알려진 proline은 세 단백질 중 수수 단백질에 가장 많이 함유되어 있는 것을 알 수 있다.

표 110. 귀리단백, 수수단백 및 완두단백의 아미노산 조성

Amino acid	Oat		Pea		Sorghum	
	Mol%	nmol/mg	Mol%	nmol/mg	Mol%	nmol/mg
CYA ¹⁾	3.93	26.98	0.65	16.96	1.36	10.14
ASX ¹⁾	8.22	56.37	11.26	294.73	7.21	53.81
GLX ¹⁾	22.46	154.12	17.29	452.34	15.57	116.19
SER	6.20	42.53	6.17	161.37	6.00	44.74
GLY	7.86	53.90	6.74	176.31	8.01	59.80
HIS	1.55	10.63	2.88	75.41	2.06	15.36
ARG	4.64	31.83	6.52	170.66	3.70	27.57
THR	3.76	25.77	3.55	93.03	3.93	29.34
ALA	6.51	44.65	6.45	168.66	11.46	85.54
PRO	6.76	46.40	4.72	123.44	7.16	53.46
TYR	1.40	9.59	2.05	53.59	0.55	4.08
VAL	5.84	40.05	5.45	142.53	5.84	43.61
MET	1.19	8.18	0.68	17.71	1.21	9.04
ILE	4.00	27.45	4.86	127.20	3.82	28.54
LEU	8.02	55.02	9.27	242.63	10.53	78.58
PHE	4.78	32.79	4.70	123.04	4.75	35.43
TRP	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LYS	2.90	19.91	6.77	177.22	6.83	50.95
Total	100.00	686.19	100.00	2616.82	100.00	746.17

¹⁾ CYA, ASX and GLX represent the sum of cysteine & cystine, asparagine & aspartic acid and glutamine & glutamic acid, respectively.

4. 폴리페놀 추출물 및 전곡립의 *in vitro* 항산화 활성 평가

가. 실험방법

(1) 과실류 및 녹차 추출액의 항산화 활성 평가

복분자(*Rubus coreanus Mique*)와 오디(*Morus bombycis var. rubricaulis UYEK*)는 2012년산으로 전라북도 고창군 선운산 농협에서 구입하였으며, 오가자(fruit of *Acanthopanax sessiliflorus*)와 녹차(*Camella sinensis L.*)는 2011년에 각각 강원도 정선 및 전라남도 보성군에

서 재배된 것을 건조물 형태로 구입하여 사용하였다.

(가) 반응표면분석 실험 설계에 따른 추출액의 제조

반응표면분석(Response surface methodology, RSM) 계획에 따라 추출용매의 에탄올 함량 (X_1) 및 추출온도(X_2)를 요인으로 하여 2요인 5수준 중심합성반응표면계획(central composite circumscribed design)에 따라 추출액을 제조하였다(표 111). 각 추출액의 DPPH 및 ABTS 라디칼소거능을 모니터링 하였다. 라디칼소거능은 2회 반복 추출 및 3회 반복 측정을 하였고, 그 평균값을 이용하여 SAS(statistical analysis system) statistical package를 사용하여 분석하였다. 추출액은 분쇄한 시료 10 g(dry basis)을 200 ml의 추출용매로 항온수조에서 1 h 동안 추출하여 제조하였다. 추출 후 4 °C에서 10 분간 원심분리(4400xg) 후 상등액을 Whatman No.1 filter paper를 이용하여 감압여과 하였으며, 2회 반복 추출하여 각 추출액의 총 폴리페놀 함량, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 조사하였다.

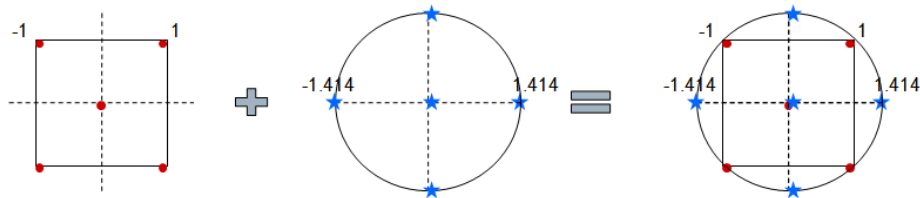


그림 75. Central composite circumscribe (CCC) design.

표 111. Experimental conditions on Composite Circumscribe Design

Factor			
Ethanol concentration (%)		Temperature (°C)	
Coded	Actual	Coded	Actual
0	40	-1.414	5
1.414	80	0	35
-1	11.7	1	56.2
-1	11.7	-1	13.8
0	40	0	35
-1.414	0	0	35
1	68.3	-1	13.8
0	40	1.414	65
0	40	0	35
0	40	0	35
1	68.3	1	56.2
0	40	0	35

(2) 전곡립 추출액의 라디칼소거능 측정

(가) 재료

2012년 전남 영광에서 생산된 발아보리 및 수수의 물 추출물로부터 추출온도에 따른 DPPH 및 ABTS 라디칼소거능의 변화를 조사하였다.

(나) 추출액의 제조

라디칼소거능 측정을 위한 전곡립 추출액은 총폐놀함량 측정 시와 동일하게 제조하였다. 발아보리 또는 수수 40 g에 200 ml의 물을 가하여 각각 5, 20, 35, 50, 65 °C에서 1 시간 추출하였다. 높은 전분 함량에 의해 유발된 추출액의 탁도를 감소시키기 위하여 α -amylase와 amyloglucosidase를 45 °C에서 24 시간 처리하여 전분을 소당류로 분해한 후 추출온도에 따른 DPPH 및 ABTS 라디칼소거능을 조사하였다.

(3) DPPH 라디칼소거능 측정

에탄올에 녹인 0.01 mM DPPH reagent를 실험 당일 제조하고, 표준검량곡선에 적합하게 희석한 추출액 100 L에 0.01 mM DPPH reagent 2.9 ml를 첨가하여 상온에서 30 분간 암실에서 반응시킨 후 UV/Vis spectrophotometer(Beckman coulter, Inc., CA, USA)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 L-ascorbic acid를 이용하였고 표준검량선 $y = 3872x - 0.347(R^2 = 0.999)$ 를 사용하여 계산하였다.

(4) ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS용액은 ABTS를 2.45 mM potassium persulfate로 녹여 7mM로 만들고 암실에서 16 h 동안 방치하여 734 nm에서 흡광도값이 0.700(± 0.02)이 되도록 희석하였다. 희석한 추출액 100 L에 ABTS 용액 3 ml를 첨가하여 6 분 동안 30 °C 암실에서 반응 후 UV/Vis spectrophotometer(Beckman coulter, Inc., CA, USA)로 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거능은 L-ascorbic acid 상당량으로 표준검량선 $y = 7514x + 0.249(R^2 = 0.999)$ 을 이용하여 계산하였고, 3반복 측정하였다.

나. 실험결과

(1) 과실류 및 녹차의 DPPH 및 ABTS 라디칼소거능

☒ 112. DPPH and ABTS radical scavenging activities¹⁾ of ogaja, mulberry, raspberry and green tea²⁾

Extraction condition		Ogaja		Mulberry		Raspberry		Green tea	
EtOH (%)	Temp. (°C)	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS
40	5	13.60 ^d	19.19 ^{cd}	13.79 ^e	19.33 ^d	21.94 ^g	26.84 ^y	148.89 ^d	152.60 ^e
80	35	7.06 ^f	8.54 ^f	21.38 ^b	28.74 ^b	25.45 ^e	36.46 ^g	162.15 ^c	166.36 ^d
11.7	56.2	14.76 ^c	24.73 ^b	20.11 ^c	29.39 ^b	36.06 ^b	48.69 ^c	134.14 ^e	131.82 ^f
11.7	13.8	13.78 ^d	20.22 ^c	13.40 ^e	20.22 ^d	24.02 ^f	29.35 ^h	110.67 ^f	108.42 ^g
40	35	18.13 ^b	25.53 ^d	20.09 ^c	28.89 ^b	32.93 ^c	44.64 ^{de}	163.09 ^{bc}	167.06 ^{cd}
0	35	11.13 ^e	19.29 ^{cd}	18.36 ^d	18.72 ^e	26.07 ^e	28.38 ^h	102.11 ^g	97.95 ^h
68.3	13.8	10.31 ^e	11.82 ^e	17.65 ^d	23.94 ^c	29.30 ^d	39.27 ^f	163.98 ^{bc}	174.33 ^a
40	65	19.66 ^a	27.40 ^a	23.31 ^a	33.48 ^a	39.58 ^a	54.36 ^a	165.92 ^{ab}	171.92 ^b
40	35	18.04 ^b	25.20 ^b	20.43 ^c	28.54 ^b	32.78 ^c	44.31 ^{de}	163.73 ^{bc}	168.51 ^c
40	35	17.85 ^b	25.15 ^b	20.95 ^{bc}	29.47 ^b	33.15 ^c	45.12 ^d	163.65 ^{bc}	167.74 ^{cd}
68.3	56.2	14.68 ^d	18.70 ^d	23.49 ^a	34.36 ^a	35.67 ^b	50.49 ^b	166.73 ^a	173.23 ^{ab}
40	35	18.01 ^b	25.05 ^b	20.93 ^{bc}	29.37 ^b	32.97 ^c	43.83 ^e	163.86 ^{bc}	168.72 ^{cd}
P		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

¹⁾ DPPH(mgVCE/g dry basis); ABTS(mgVCE/g dry basis)

²⁾ Means of triplicate. Values sharing the same superscript within are not significantly different

($\alpha = 0.05$)

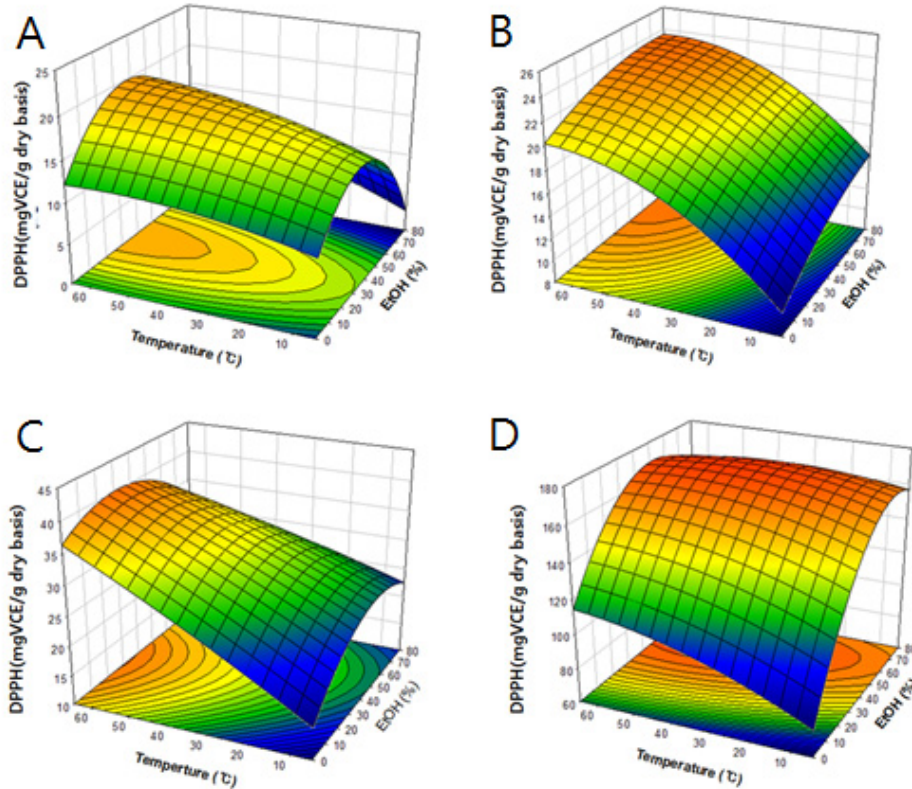


그림 76. 과실류 및 녹차 추출액의 DPPH 라디칼 소거능 반응표면.
A오가자, B오디, C복분자, D녹차.

(가) 오가자

오가자 추출액의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 반응표면은 다음의 그림 및 표에 나타내었다. 오가자 추출액의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 회귀분석 결과 일차적(linear), 이차적(quadratic) 영향이 모두 99.9%의 신뢰수준 이상으로 유의하였고, 전체 회귀모형의 R^2 값이 각각 97.58 및 99.91%로 $p < 0.001$ 수준에서 유의성이 인정되었다. 오가자 DPPH 라디칼 소거능 예측모형의 계수 중에서는 상수 및 에탄올 농도의 일차항 및 이차항만이 유의적으로 나타나 오가자의 DPPH 라디칼 소거능은 추출온도에 의한 영향보다는 에탄올 농도의 영향이 큼을 알 수 있으며, 에탄올 농도 이차항의 계수가 음수로 나타나 실험영역 내에서 증가하다가 감소하는 경향을 나타내었다. ABTS 라디칼 소거능 예측모형은 모든 계수가 유의적으로 나타나($p < 0.01$), 용매의 에탄올 농도, 추출온도 및 이들의 상호작용이 추출액의 라디칼 소거능에 유의적인 영향이 있다는 것을 알 수 있었다. 또한, 에탄올 농도 및 온도의 이차항 계수가 모두 음의 값을 나타내어 ABTS 라디칼 소거능 역시 실험 범위 내에서 증가하다가 감소하는 이차적 변화를 보인다는 것을 알 수 있다. 오가자 추출액의 에탄올 농도 및 온도는 두 변수 모두에 99.9% 신뢰수준으로 영향을 미쳤으며, 반응표면분석 결과로부터 DPPH 라디칼 소거능은 에탄올 농도 38.92%, 온도 73.12 °C에서 추출 시 최대 19.96 mgVCE/g으로 나타났으며, ABTS 라디칼 소거능은 에탄올 농도 32.89%, 온도 67.03 °C에서 추출 시 최대 27.87 mgVCE/g으로 예측되었다.

(나) 오디

오디 추출액의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 반응표면은 다음의 그림 및 표에 나타내었

다. 오디 추출액의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 회귀분석 결과 일차적, 이차적 영향 모두 95%의 신뢰수준 이상으로 유의하고, 전체 회귀모델의 R²값이 각각 97.69 및 95.91%로 p<0.001 수준에서 유의성이 인정되었다. 오디 DPPH 라디칼 소거능 예측모형의 계수는 상수 및 에탄올 농도와 추출온도 각각의 일차항이 유의적으로 나타났으며, 이들 일차항의 계수는 모두 양의 값으로 에탄올 농도 및 추출온도가 증가함에 따라 오디의 DPPH 라디칼 소거능이 증가함을 알 수 있다. ABTS 라디칼 소거능 예측모형은 용매의 에탄올 농도, 추출온도의 일차항 및 에탄올 농도의 이차항이 유의적으로 나타났으며(p<0.05), 에탄올 농도의 이차항 계수는 음의 값을 나타내어 ABTS 라디칼 소거능은 실험 범위 내에서 증가하다가 감소하는 이차적 변화를 보인다는 것을 알 수 있다. 추출 온도는 오디 추출액의 두 변수 모두에 99% 신뢰수준으로 영향을 미쳤으며, 에탄올 농도는 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능에 유의한 효과를 나타내었다. 반응표면 분석 결과로부터 DPPH 라디칼 소거능은 에탄올 농도 74.04%, 온도 62.27 °C에서 추출 시 최대 23.58 mgVCE/g으로 나타났다. ABTS 라디칼 소거능은 에탄올 농도 64.61%, 온도 69.81 °C에서 추출 시 최대 27.87 mgVCE/g으로 예측되었다.

(다) 복분자

복분자 추출액의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 반응표면은 다음의 그림 및 표에 나타내었다. 복분자 추출액의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 회귀분석 결과는 일차적 및 이차적 영향 모두 95%의 신뢰수준 이상으로 유의하고, 전체 회귀모델의 R²값은 각각 91.50 및 92.31%로 p<0.05 수준에서 유의성이 인정되었다. 회귀계수의 유의성을 살펴보면, DPPH와 ABTS 라디칼 소거능에 대해서는 상수, 각각의 일차항 그리고 에탄올의 이차항 계수가 유의적으로 나타났다. 그러나 두 변수에 대해 반응표면의 적합결여검정 결과가 유의적으로 나타났으며(p<0.05), 따라서, ANOVA 결과 추출온도만이 DPPH 라디칼 소거능에 유의적인 영향을 나타내었다(P<0.01). 에탄올 농도는 ABTS 라디칼 소거능에만 유의적인 영향을 나타내었다.

(라) 녹차

녹차 추출액의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 반응표면은 다음의 그림 및 표에 나타내었다. 녹차 추출액의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 회귀분석 결과 일차적, 이차적 영향 모두 99.9%의 신뢰수준 이상으로 유의하고, 전체 회귀모델의 R²값이 각각 99.96 및 99.76%로 p<0.001 수준에서 유의성이 인정되었다. 또한, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 예측 모형의 모든 계수가 유의한 것으로 나타나(p<0.01), 용매의 에탄올 농도, 추출온도 및 이들의 상호작용이 추출액의 라디칼 소거능에 유의적인 영향을 나타내었다. 에탄올 농도 및 추출온도 이차항 계수는 음의 값으로 에탄올의 농도 및 추출온도의 실험 범위 내에서 증가하다 감소하는 이차적 변화를 보였다. 분산분석 결과, 에탄올 농도 및 추출온도는 두 변수 모두에 99.9% 신뢰수준으로 영향을 미쳤다. 반응표면분석 결과로부터 녹차 추출액의 DPPH 라디칼 소거능은 에탄올 농도 56.69%, 추출온도 43.36 °C에서 추출 시 최대 171.42 mgVCE/g으로 나타났다. ABTS 라디칼 소거능은 에탄올 농도 58.13%, 온도 42.90 °C에서 추출 시 최대 171.42 mgVCEAC/g으로 나타났다.

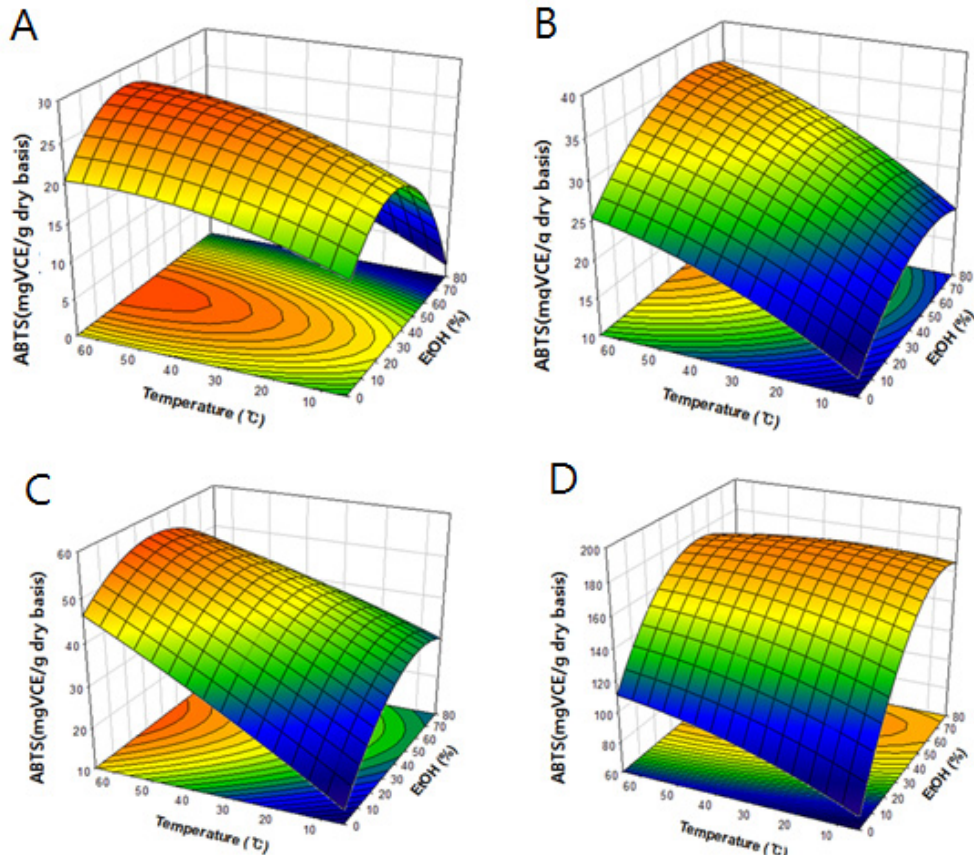


그림 77. 과실류 및 녹차 추출액의 DPPH 라디칼소거능 반응표면.
A오가자, B오디, C복분자, D녹차

(마) 최적 추출 조건 예측 및 확인

오가자, 오디, 복분자 및 녹차의 최적 추출 조건 확립을 위해, superimposed contour plot을 이용하여 중복되는 범위에서 최적 추출조건을 확립하였다. 예상되는 최적 추출 조건 및 예상값과 실제 값은 표 115에 정리하였다. 결과적으로 예상되는 최적추출조건에서의 예측되는 DPPH 및 ABTS 라디칼소거능의 값과 실제 측정값은 매우 유사하게 나타나 반응표면모형의 유의성을 확인할 수 있었다. 산업적인 추출 시 에탄올의 사용을 최소화 하는 것이 경제적 및 식품안전성면에서 합리적이므로 에탄올의 효과를 배제하고 향산화능을 최대로 나타내는 추출 조건을 적용하는 것이 적합하다고 사료되었다. 또한, 실제 산업화/제품화 시에는 공정 간소화 차원에서 추출액을 활용하는 것 대신 과실류 원물의 압착 등의 공정으로 전환하는 방안도 검토 중이며 이 경우도 추출액의 경우와 마찬가지로 향산화능을 최대로 추출할 수 있는 효소처리 등의 공정을 최적화하여 적용할 예정이다.

표 113. 예측 이차다항모형의 회귀계수¹⁾

Parameter ²⁾	DPPH ³⁾				ABTS ³⁾			
	Raspberry	Mulberry	Ogaja	Green tea	Raspberry	Mulberry	Ogaja	Green tea
Intercept	13.36*	8.46***	8.85***	70.03***	10.42	10.88**	13.48***	63.11***
X ₁	0.39*	0.11*	0.34***	2.65***	0.69**	0.30**	0.39***	3.07***
X ₂	0.40*	0.35***	0.12	1.16***	0.63*	0.35*	0.24***	1.18***
X ₁ X ₁	-0.00*	-0.00	-0.01***	-0.02***	-0.01*	-0.00**	-0.01***	-0.02***
X ₁ X ₂	-0.00	-0.00	0.00	-0.01***	-0.00	0.00	0.00**	-0.01***
X ₂ X ₂	-0.00	-0.00**	-0.00	-0.01***	-0.00	-0.00	-0.00***	-0.01**

1) *, ** and *** represent significance at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively.

2) X₁ and X₂ represent extraction concentration of ethanol(%) and temperature(°C) of extraction medium, respectively.

3) mgVCE/g dry basis

표 114. 반응표면 요인에 대한 분산분석¹⁾

Sample	Factor	F-value	
		DPPH	ABTS
Ogaja	Ethanol	66.70***	1767.74***
	Temperature	15.20**	412.53***
Mulberry	Ethanol	14.77**	15.42**
	Temperature	70.82***	32.11***
Raspberry	Ethanol	4.48	6.47*
	Temperature	17.65**	18.06**
Green Tea	Ethanol	4186.32***	778.98***
	Temperature	384.04***	54.12***

1) *, ** and *** represent significance at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively.

표 115. 최대반응조건에서 예측값 및 실측값

Sample	Response ¹⁾	EtOH(%)	Temperature (°C)	Predicted	Actual value
Ogaja	DPPH	33	67	19.77	19.92 ± 0.11
	ABTS			25.04	25.89 ± 0.36
Mulberry	DPPH	69	65	23.55	24.39 ± 0.09
	ABTS			35.44	36.91 ± 0.16
Raspberry	DPPH	65	40	39.93	38.55 ± 0.31
	ABTS			55.6	56.22 ± 0.27
Green Tea	DPPH	57	43	171.38	174.19 ± 0.40
	ABTS			177.56	178.81 ± 0.17

1) mgVCE/g

(3) 전곡립 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

발아보리와 수수 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 표 116와 같다. 총 페놀화합물의 함량과 마찬가지로, DPPH 라디칼 소거능의 경우도 높은 추출온도에서 높은 값을 가지는 것을 알 수 있다. 따라서 실험조건 내에서 추출 시 가장 효과적인 온도는 65 °C이다. 또한 발아보리에 비하여 수수가 더 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내어 총 페놀함량과는 상이한 결과를 나타내었다. ABTS 라디칼 소거능 역시 총 페놀화합물, DPPH 라디칼소거능과 마찬가지로 높은 온도에서 추출 시 더 높게 나타났다. ABTS 라디칼 소거능은 발아보리보다 수수 추출물에서 더 높게 나타나 DPPH 라디칼 소거능의 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 즉, 라디칼 소거능은 높은 온도에서 추출 시 더 효과적이라고 결론을 내릴 수 있다.

표 116. 전곡립 추출물의 DPPH 라디칼 소거능

Temp.(°C)	DPPH(mgVCE/40 g)		ABTS(mgVCE/40 g)	
	Germinated barley	Sorghum	Germinated barley	Sorghum
5	0.419 ^d	0.668 ^e	0.0042 ^d	4.121 ^e
20	0.502 ^c	0.773 ^d	0.0049 ^c	4.652 ^d
35	0.522 ^c	1.054 ^c	0.0051 ^c	4.867 ^c
50	0.843 ^b	1.622 ^b	0.0058 ^b	5.226 ^b
65	1.218 ^a	2.493 ^a	0.0129 ^a	6.085 ^a

7. 폴리페놀 추출물 및 전곡립의 가공 안정성 평가

가. 실험방법

(1) 평가 원물의 선정

폴리페놀 소재 추출액 중 가장 높은 폴리페놀 함량을 가지는 녹차 및 3차년도 연구 적용에 적합한 물 추출물 제조 시 효율적으로 폴리페놀 및 라디칼 소거능을 추출할 수 있는 오디를 신규로 선정하여 가공안정성을 평가하였다.

(2) 추출물의 제조

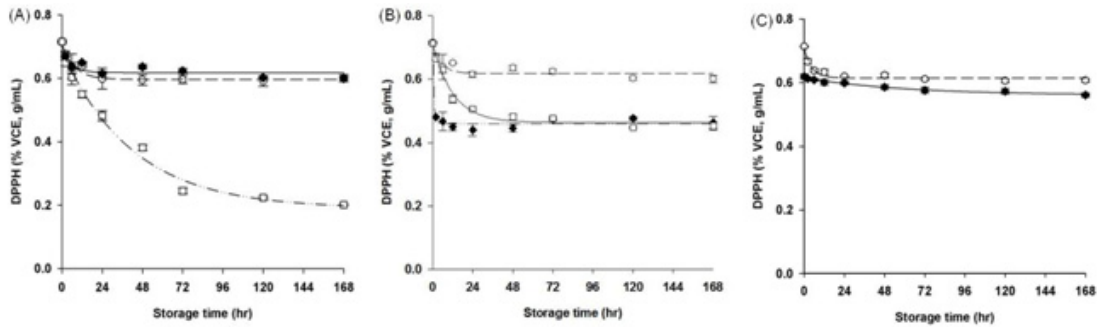
추출물은 물 추출 시 총페놀함량 및 라디칼 소거능의 추출 효율이 가장 높았던 65 °C에서 1 시간 동안 이전과 동일한 방법을 적용하여 제조하였다.

(3) 실험 설계

식품의 가공 및 유통 중 영향을 줄 수 있는 온도, 빛 및 pH에 따른 추출액의 DPPH 라디칼 소거능의 변화를 조사하여 가공시 안정성을 평가하였다. 온도는 4 °C, 25 °C 및 80 °C에서, 빛은 형광 (5000 lux) 및 UV (253.7 nm, 2.1 mWcm⁻²)에서 그리고 pH 3에서 각각 168 시간동안 저장하면서 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다.

나. 실험결과

(1) 녹차 추출액 라디칼 소거능의 온도, 빛, 산에 대한 안정성

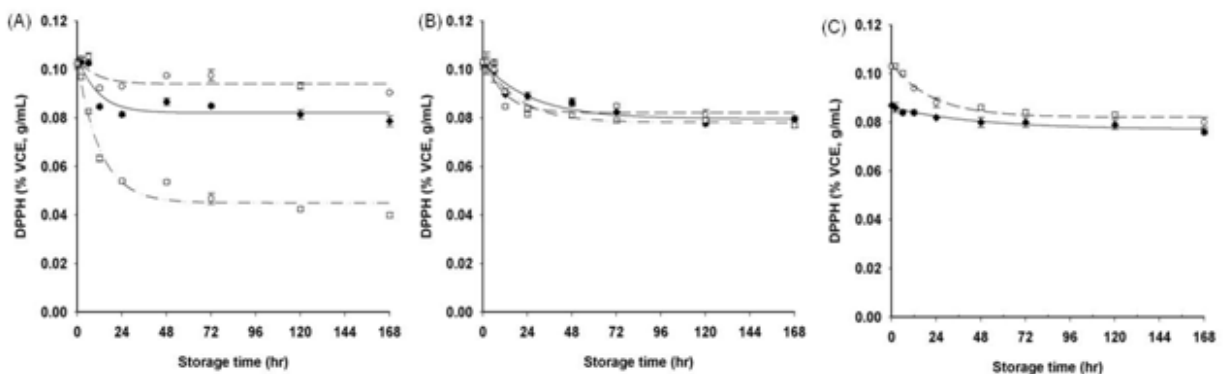


A Temperature: ○ 4°C, ◆ 25°C, □ 80°C; B Light: ○ No light, ◆ UV, □ fluorescence;
 C pH: ○ control, ◆ pH 3

그림 78. 녹차 추출액 라디칼 소거능의 변화.

녹차 추출액 DPPH 라디칼 소거능의 시간별 측정값으로부터 $f(x)=y_0+a*\exp(-b*x)$ 형태의 회귀식을 얻었고, 각 함수의 R^2 는 0.9이상의 값을 나타내었다. 따라서, 추출액의 DPPH 라디칼 소거능은 시간에 따라 지수적으로 감소하는 것을 알 수 있었다. 녹차추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 4 °C 및 25 °C에서 168 시간 저장 시 약 14% 감소하였으나, 80 °C 에서는 72% 감소하였다. 따라서, 녹차 추출액의 폴리페놀은 높은 온도에서 불안정하여 라디칼 소거능을 상실하는 것을 알 수 있었다. 168 시간 동안 UV 및 형광 조사 시 초기에 비해 약 35%의 DPPH 라디칼 소거능이 감소하였다. 특히, UV 조사 시 초기 2 시간에 라디칼 소거능이 급격히 감소하였으며, 형광 조사 시는 24 시간까지 서서히 감소하는 것으로 나타났다. 녹차 추출액의 DPPH 라디칼 소거능은 pH 3에서 즉각적으로 감소되었고, 그 이후로는 감소폭이 적었다. 168 시간 저장 시에는 control에 비하여 13% 감소하였으며, 이는 산에 약한 폴리페놀의 파괴에 의한 것으로 판단된다.

(2) 오디 추출액 라디칼 소거능의 온도, 빛, 산에 대한 안정성



A Temperature: ○ 4°C, ◆ 25°C, □ 80°C; B Light: ○ No light, ◆ UV, □ fluorescence;
 C pH: ○ control, ◆ pH 3

그림 79. 오디 추출액 라디칼 소거능의 변화.

오디 추출액 DPPH 라디칼 소거능의 시간별 측정값으로부터 $f(x)=y_0+a*\exp(-b*x)$ 형태의 회귀식을 얻었고, 4℃ 라디칼 소거능($R^2=0.7661$)을 제외한 각 함수의 R^2 는 0.9이상의 값을 나타내었다. 오디 추출액의 DPPH 라디칼 소거능은 4 ℃ 및 25 ℃에서 168시간 저장 시 각각 11% 및 23% 감소하였으며, 80 ℃에서는 72% 감소하였다. 따라서, 오디 추출액의 폴리페놀 역시 녹차와 유사하게 높은 온도에서 불안정하여 라디칼 소거능을 상실하는 것을 알 수 있었다. 168 시간 동안 UV 및 형광 조사 시에는 빛 차단군의 DPPH 라디칼 소거능 감소와 유사한 약 22%가 감소하였다. 따라서, 오디 추출액은 빛 노출에 대하여 비교적 안정함을 알 수 있었다. 오디 추출액의 DPPH 라디칼 소거능은 pH 3에서 즉각적으로 감소하였고, 그 이후로는 감소폭이 적었다. pH 3에서 168 시간 저장 시에는 control에 비하여 13% 감소하였으며, 이는 산에 약한 폴리페놀의 파괴에 의한 라디칼 소거능의 감소로 판단된다.

8. 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립을 활용한 가용성 물질 용출도 개선

가. 실험방법

(1) 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립 활용 압출면 제조

폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립 활용 압출면의 조리 용출도 분석을 위하여 압출면 배합을 계량 후 twin-screw extruder(투입온도 50 ° C, die 온도 80 ° C, screw 속도 200 rpm)에 투입하여 압출면을 제조하였다.

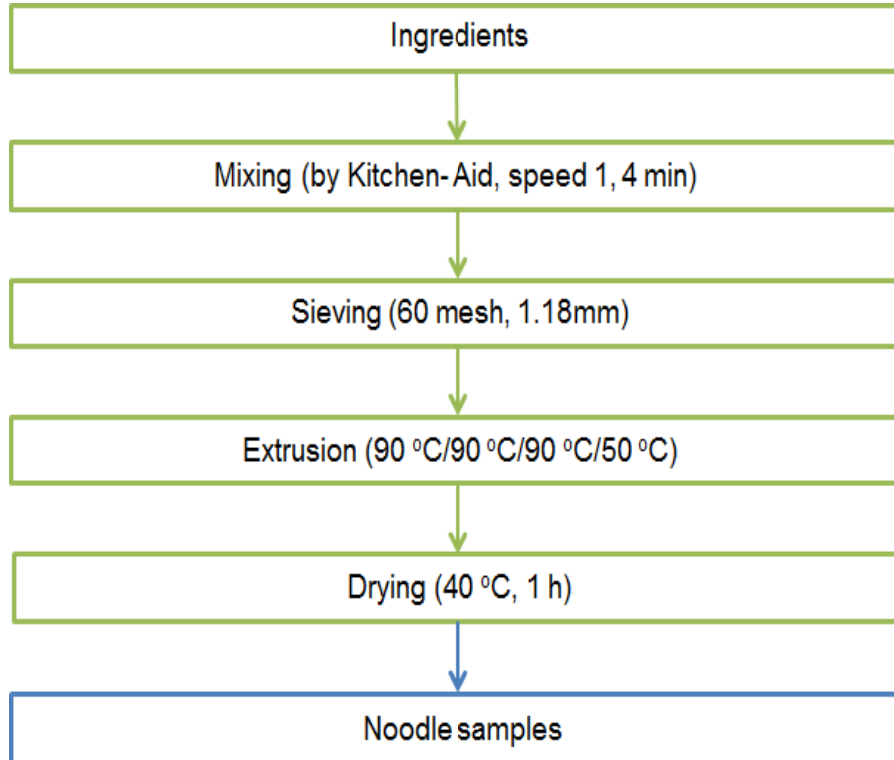


그림 80. 폴리페놀계 천연 소재를 첨가한 전곡립(현미) 압출면 제조과정.

(2) 폴리페놀계 천연 소재 첨가에 따른 가용성 물질 용출도 평가

조리 용출도 측정을 위해 건면은 길이 5 cm로 잘라 샘플 당 5 g씩 실험에 이용하였으며, 끓는물 150 ml에 넣고 일정한 조리시간에 맞추어 조리하였다. 조리된 물은 105 ° C에서 6시간 동안 열풍 건조시켜 무게를 측정하였고, 이를 토대로 조리 용출도를 계산하였다.

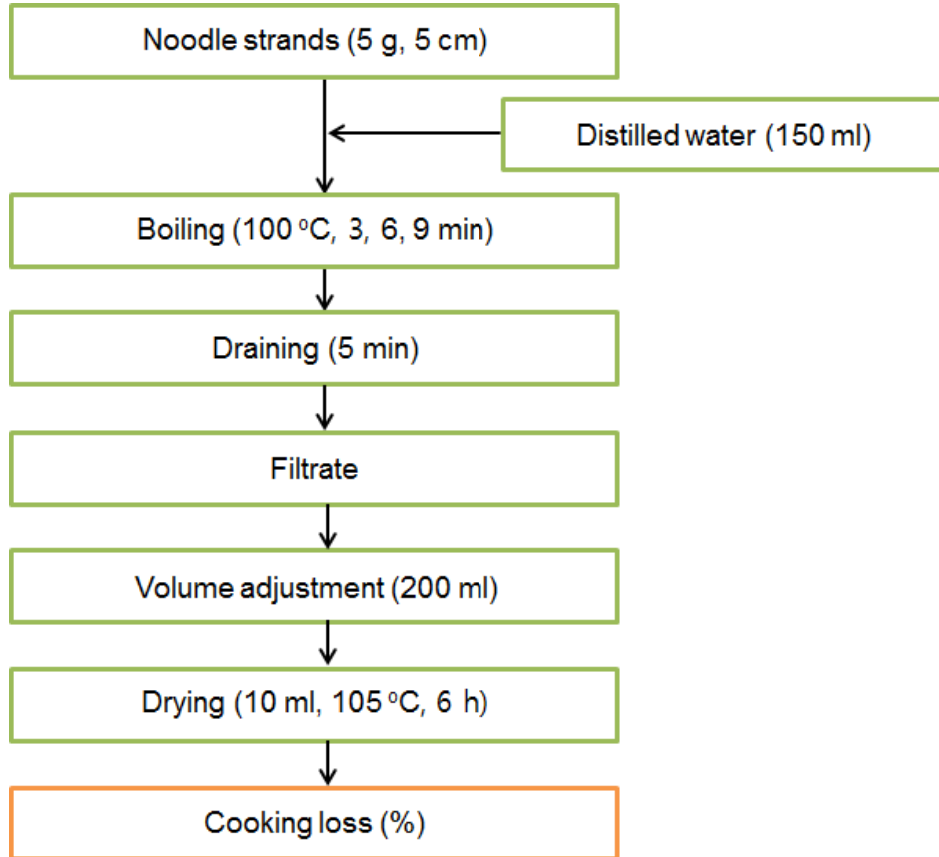


그림 81. 면의 조리 용출도 측정 과정.

$$\checkmark \text{ Cooking loss (\%)} = \frac{\text{Weight of filtrate after drying}}{\text{Weight of uncooked noodles}} \times 100$$

식 5. 면의 조리 용출도 계산식

(3) Hydrocolloid 종류에 따른 점도 비교 분석

Hydrocolloid를 이용하여 조리 용출도를 개선하기 위해, 먼저 각 hydrocolloid 종류별 점도 분석을 실시하여 점도 특성을 파악하였다. 0.6% (w/v) 농도로 hydrocolloid solution을 제조한 뒤, 열처리 전 점도와 90 °C에서 10 분간 열처리 후의 점도를 측정하여 비교하였다. Rheometer을 이용하여 25 °C에서 0.1-1000/s 의 속도로 probe의 전단 속도를 변화시키며 steady shear viscosity를 측정하였다.

(4) 전곡립(통밀) 압출면/압연면의 제조 및 조리 용출도 평가

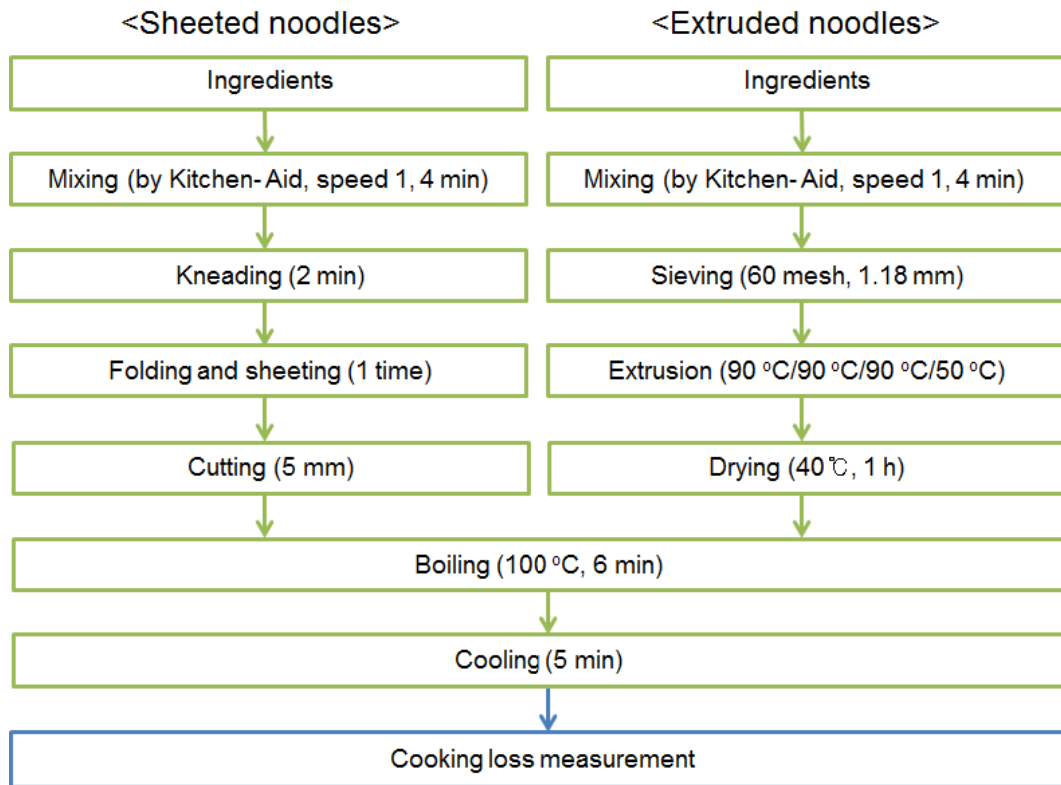
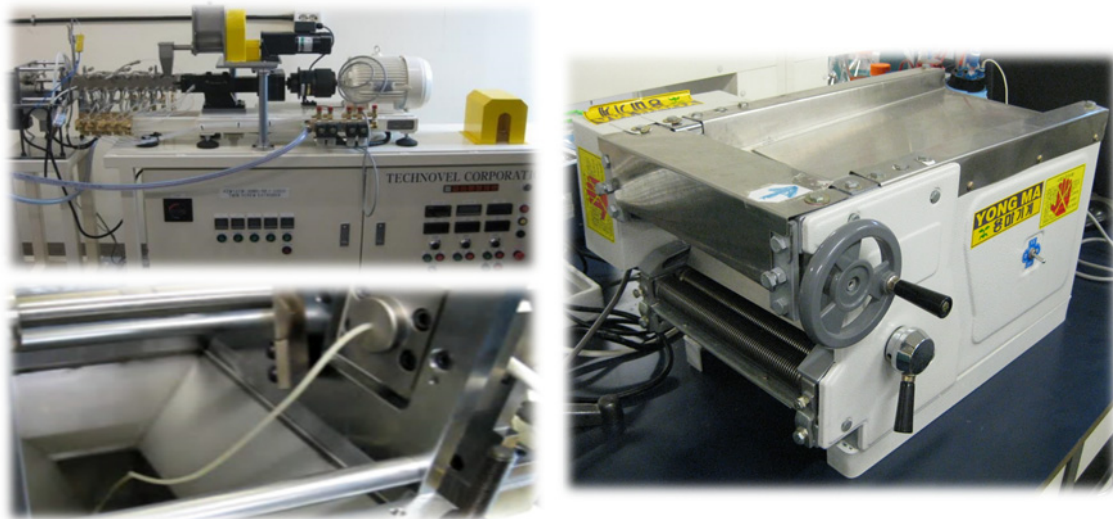


그림 82. 전곡립(통밀) 압출면/압연면 제조 및 조리 과정.



<Twin-screw extruder>

<Sheeting roller>

그림 83. 압출면 및 압연면 제조 장치.

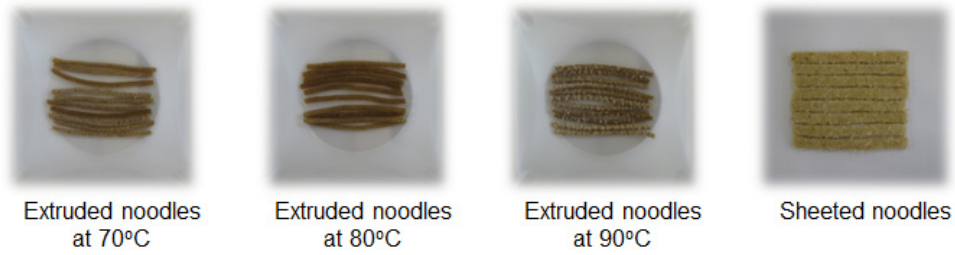


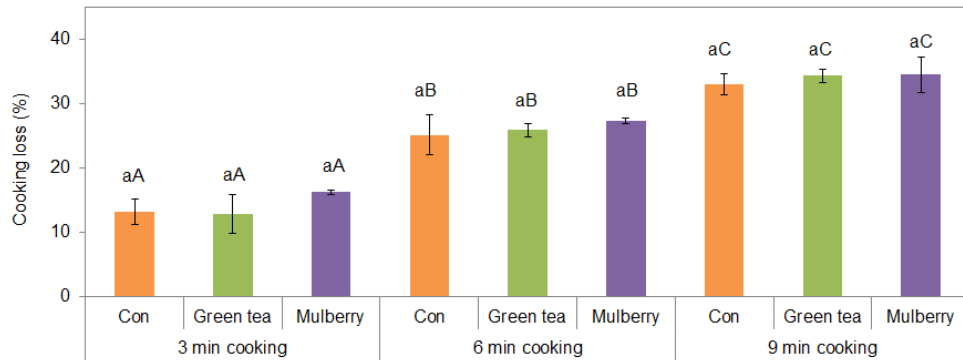
그림 84. 전곡립(통밀) 압출면 및 압연면.

제면 형태(압출면/압연면)에 따른 가용성 물질 용출도를 평가하기 위하여 위와 같이 압출면과 압연면을 제조하였다. 압연면은 Sheeting roller를 이용하여 제조하였으며, 압출면은 Twin-screw extruder을 이용하여 제조하였다. 압출면 제조 시, 면 반죽의 수분함량을 40%로 하고 압출 온도를 70, 80, 90 °C로 하여 각각 샘플을 제조하여 압출 온도에 따른 압출면의 가용성 물질 용출도를 평가하였다. 무게 5 g의 통밀 압출면과 압연면을 끓는 물에 6 분간 조리하여 5분간 배수시킨 뒤 조리물의 무게를 측정하고, 계산식을 통해 조리 용출도를 측정하여 평가하였다.

나. 실험결과

(1)폴리페놀계 천연 소재 첨가에 따른 가용성 물질 용출도 평가

(가) 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)를 첨가한 전곡립(현미) 압출면의 조리 용출도 분석



Cooking loss (%) 3 min cooking 6 min cooking 9 min cooking

Cooking loss (%)	3 min cooking	6 min cooking	9 min cooking
Control	13.22±1.97aC	25.16±3.08aB	33.05±1.59aA
Green tea	12.90±3.03aC	25.91±1.04aB	34.37±1.06aA
Mulberry	16.25±0.36aC	27.37±0.50aB	34.54±2.76aA

(Means followed by different letters in the same column(abc) and row(ABC) differ significantly at $p < 0.05$)

그림 85. 표 117. 폴리페놀계 천연 소재 첨가에 따른 전곡립(현미) 압출면의 조리 용출도

실험결과 대체로 조리시간이 증가함에 따라 조리 용출도가 증가하였지만, 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)를 첨가한 현미 압출면과 첨가하지 않은 현미 압출면의 조리 용출도가 서로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서, 폴리페놀계 천연소재는 조리 용출도에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

(나) 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)와 콩단백질을 첨가한 전곡립(현미) 압출면의 조리 용출도 분석

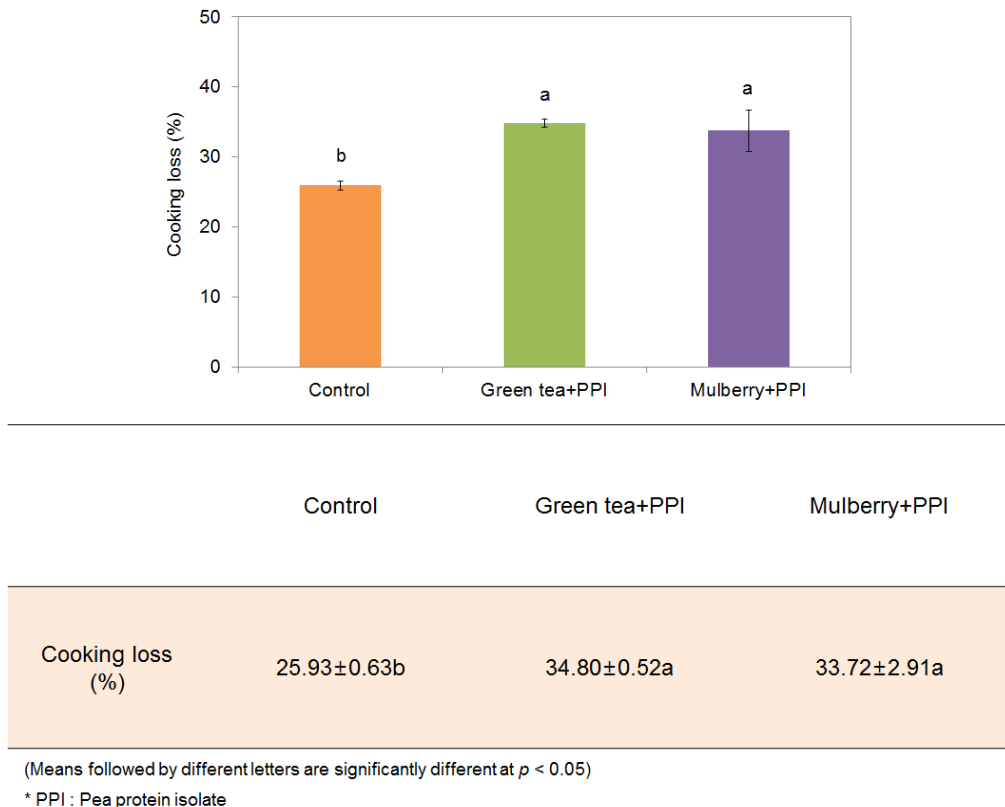


그림 86. 표 118. 폴리페놀계 천연 소재와 콩 단백질의 첨가에 따른 전곡립(현미) 압출면의 조리 용출도

폴리페놀계 천연소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질을 첨가한 현미 압출면의 경우, 첨가되지 않은 현미 압출면에 비해 높은 조리 용출도를 보인다. 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)와 단백질의 상호작용이 현미 압출면의 조리 용출도 저감화에는 효과를 보이지 않는 것으로 보인다.

(2) 전곡립 기반 제면 제품의 가용성 물질 용출도 평가

(가) 백미와 전곡립(현미) 압출면의 조리 용출도 분석

표119. 조리시간에 따른 백미 및 전곡립(현미) 압출면의 조리 용출도

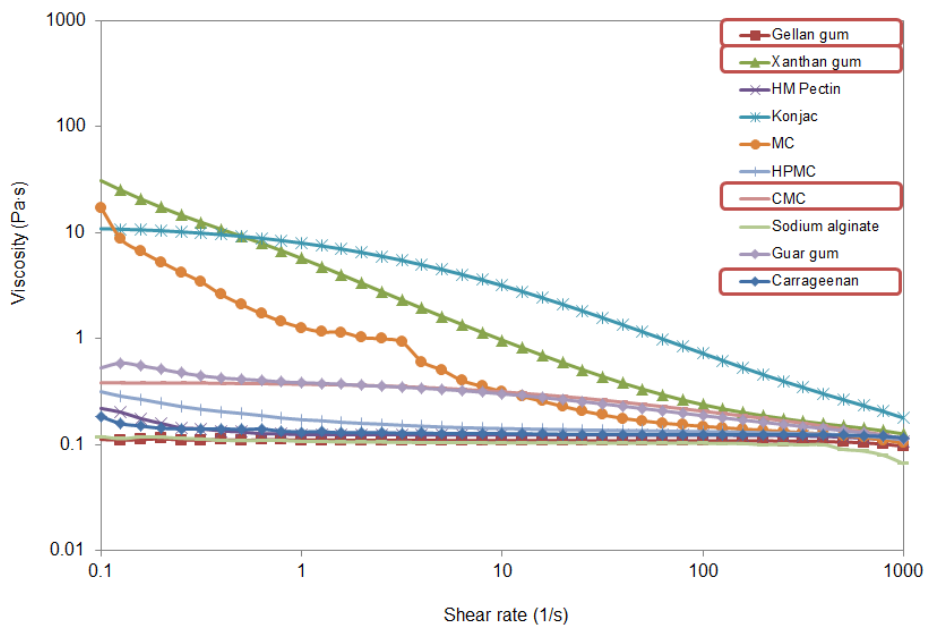
		Cooking time (min)		
		3	6	9
Cooking loss (%)	White rice	16.63±2.37bC	34.01±1.33bB	49.38±2.65bA
	Brown rice	20.89±1.34aC	39.01±1.73aB	54.94±2.66aA
Swelling index	White rice	0.82±0.14bC	1.31±0.13bB	1.75±0.45bA
	Brown rice	1.07±0.18aC	1.48±0.19aB	2.15±0.43aA
Turbidity	White rice	0.45±0.07bC	0.81±0.05bB	1.02±0.05bA
	Brown rice	0.90±0.04aC	1.18±0.01aB	1.26±0.02aA

(Means followed by different letters in the same column(ab) and row(ABC) differ significantly at $p < 0.05$)

백미와 현미 압출면의 조리 용출도와 팽창 인자, 탁도를 분석한 결과, 조리 시간이 증가함에 따라 모든 인자들이 증가하는 경향을 나타내며, 특히 백미 압출면에 비해 현미 압출면이 더 높은 값을 갖는 것을 확인하였다. 백미 압출면에 비해 현미 압출면이 조리 후 조리 용출도와 탁도가 높은 경향을 나타내었는데 이것은 현미 압출면이 상대적으로 전분의 양이 적고 식이섬유와 같은 다량의 비 전분성분들을 다량 포함하고 있어 호화가 덜 발생하여 조리 중 용출이 더 많이 일어난 것으로 생각된다.

(3) Hydrocolloid가 제면 제품의 조리 용출도에 미치는 영향 분석

(가) Hydrocolloid 종류에 따른 점도 비교 분석



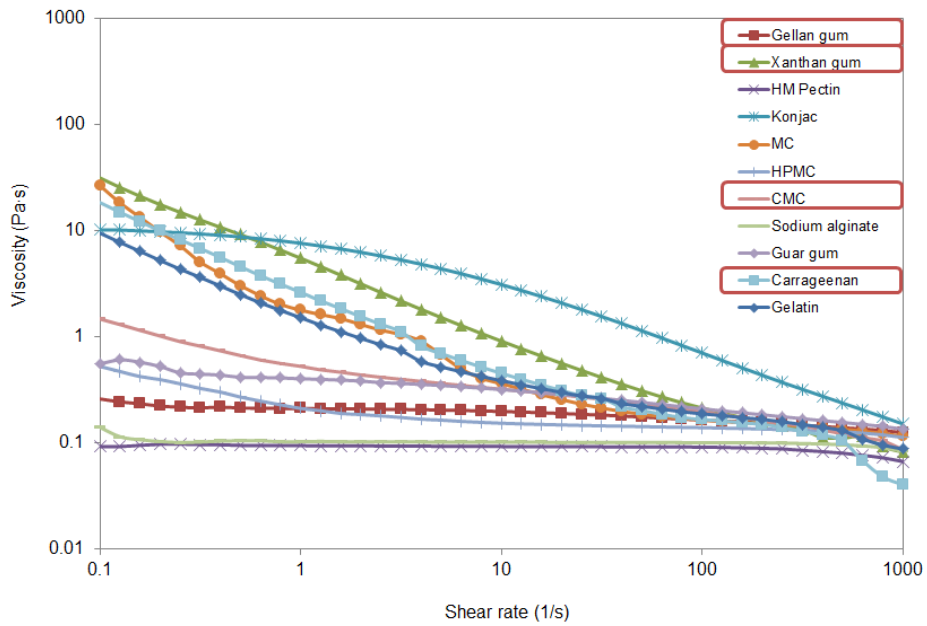


그림 87. Hydrocolloid의 열처리 전, 후의 점도 변화.

점도 측정 결과, gellan gum, CMC, carrageenan이 열처리 전에 비해 점도가 다소 높아지는 경향을 확인하였으며, 이러한 hydrocolloid의 특성을 이용하여 조리용출도를 저감화 하고자 xanthan gum과 함께 총 네 가지 종류의 hydrocolloid를 압출면에 적용시켰다.

(나) Hydrocolloid의 첨가에 따른 쌀 압출면의 조리 용출도 평가

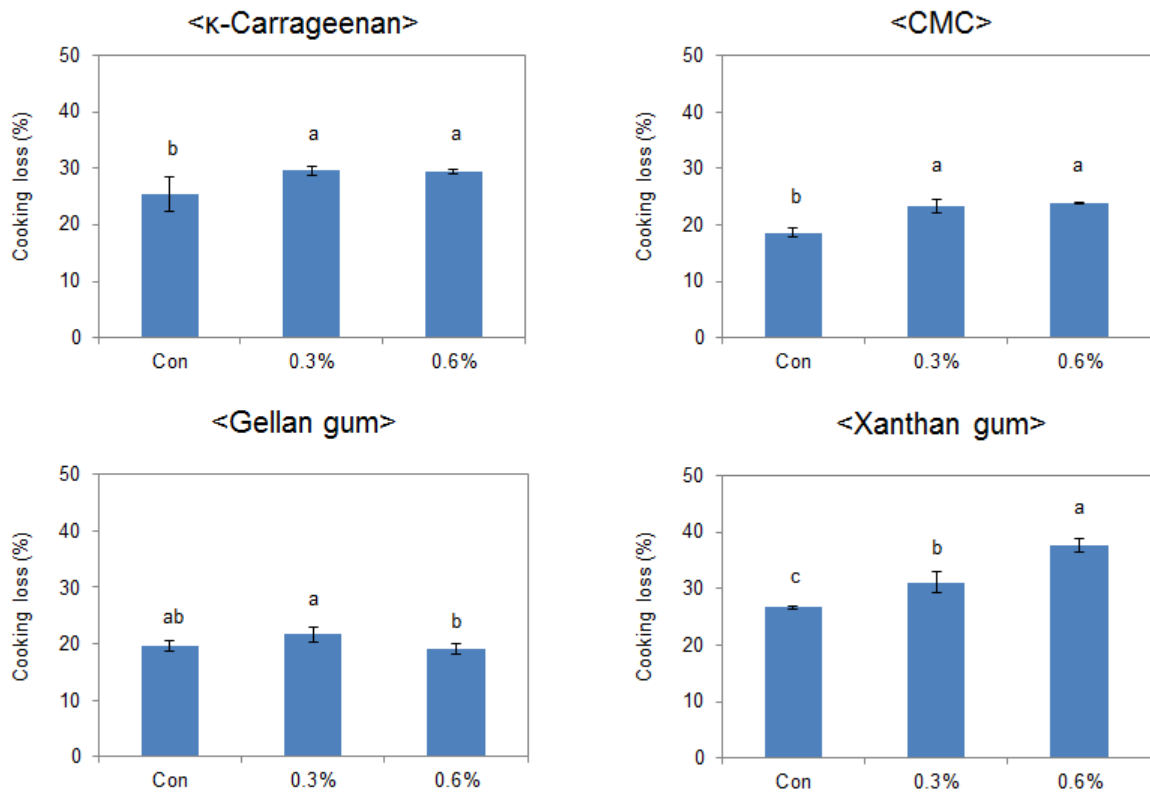


그림 88. Hydrocolloid를 첨가한 쌀 압출면의 조리 용출도.

0.3, 0.6% (w/v) 농도의 hydrocolloid 용액을 제조한 후 hydrocolloid 용액을 가하여 면 반죽을 만든 뒤 Twin-screw extruder을 이용하여 쌀 압출면을 제조하였고, 40 °C에서 1 시간 열풍 건조하였다. κ -Carrageenan, CMC 용액을 가하여 압출면을 제조한 경우에는 용액을 가하지 않았을 때 보다 더 높은 조리 용출도를 보였으나 농도에 따른 경향성을 보이지는 않았다. Gellan gum 용액의 경우, 0.3% 용액으로 제조한 압출면이 가장 높은 조리 용출도를 나타낸다. Xanthan gum 용액은 농도에 따른 경향성을 보이며 조리 용출도를 증가시켰다. 이를 통해, hydrocolloid를 면 배합비에 단순 첨가할 경우에는 압출면의 조리 후 용출도 저감화에 긍정적인 영향이 없는 것으로 파악된다.

(다) Hydrocolloid의 코팅처리에 따른 쌀 압출면의 조리 용출도 평가

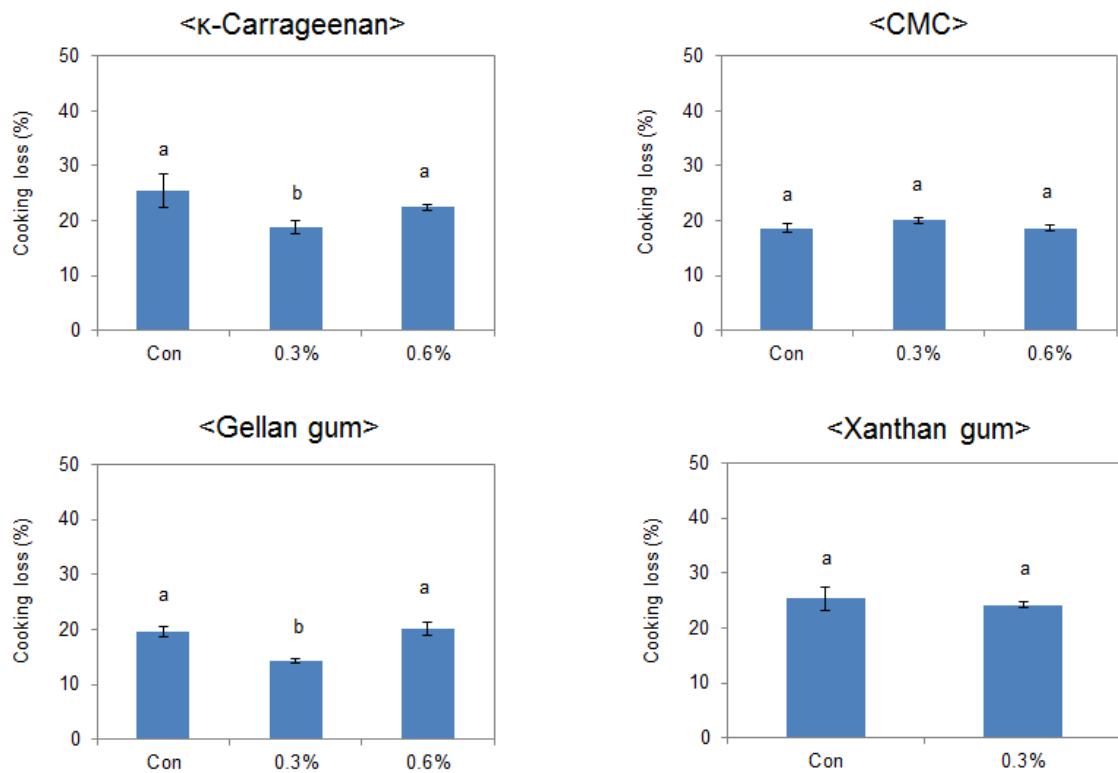
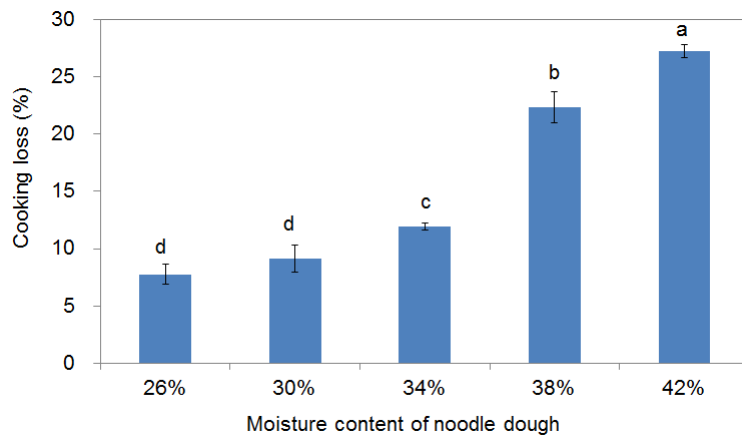


그림 89. Hydrocolloid로 코팅한 쌀 압출면의 조리 용출도.

쌀가루와 증류수를 혼합하여 면 반죽을 만든 뒤, Twin-screw extruder을 이용해 쌀 압출면을 제조하여 40 °C에서 1 시간 열풍 건조하였다. 0.3, 0.6% (w/v) 농도의 hydrocolloid 용액을 제조하여 건조된 쌀 압출면을 용액에 10초간 담가 코팅한 뒤, 다시 40 °C에서 1 시간 열풍 건조하였다. CMC와 xanthan gum 코팅처리는 조리 용출도에 차이를 보이지 않았으나, κ -Carrageenan과 gellan gum의 경우, 0.3% 농도로 코팅하였을 때, 유의적으로 조리 용출도가 감소하는 경향을 보인다. Hydrocolloid 용액 코팅 처리 방법은 제면 제품의 조리 용출도 저감화에 효과적인 방법으로 사료된다.

(4) 전곡립 기반 면 반죽 조건이 제품 조리 시 용출도에 미치는 영향 분석

(가) 면 반죽 수분함량에 따른 전곡립(현미) 압출면의 조리 용출도 평가



	Moisture content of noodle dough				
	26%	30%	34%	38%	42%
Cooking loss (%)	7.75±0.88d	9.14±1.17d	11.94±0.27c	22.35±1.34b	27.23±0.59a
Expansion ratio	1.34±0.13a	1.24±0.11ab	1.16±0.10b	1.11±0.16bc	0.99±0.16c

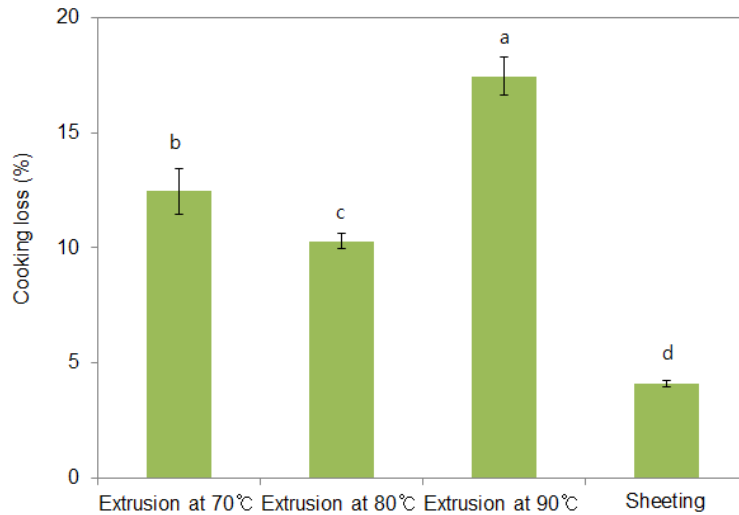
(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

그림 90. 표 120. 면 반죽 수분함량에 따른 전곡립(현미) 압출면의 조리 용출도

수분함량이 26, 30, 34, 38, 42%인 면 반죽을 각각 준비하여 현미 압출면을 제조한 뒤, 40 °C 에서 1 시간 열풍건조하였다. 조리 용출도 측정 결과, 면 반죽의 수분함량이 증가함에 따라 팽창률은 감소하였고, 조리 용출도는 증가하는 경향이 관찰되었다. 면 반죽의 수분함량을 낮추는 것이 현미 압출면의 조리 용출도를 개선하기 위한 또 하나의 방법이 될 수 있을 것으로 기대된다.

(5) 제면 형태(압출면/압연면)에 따른 가용성 물질 용출도 평가

(가) 전곡립(통밀) 압출면/압연면의 제조 및 조리 용출도 평가



(%)	Extrusion at 70°C	Extrusion at 80°C	Extrusion at 90°C	Sheeting
Cooking loss	12.46±0.97b	10.30±0.31c	17.45±0.83a	4.11±0.14d

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

그림 91. 표 121. 전곡립(통밀) 압출면/압연면의 조리 용출도

통밀 압출면은 통밀 압연면에 비해 높은 조리 용출도를 보였으며, 압출면 중에서 압출 온도를 80 °C로 설정하여 압출면을 제조하였을 경우가 가장 낮은 조리 용출도를 보인다. 이러한 경향은 압연면이 압출면에 비해 상대적으로 면 내부 조직이 치밀하여 용출도가 적게 관찰된 것으로 생각된다. 또한, 압출 온도가 낮은 경우에는 충분한 호화가 일어나지 않기 때문에 면의 표면이 거칠게 일어나며, 압출 온도가 높은 경우에는 압출 시 빠른 수분 증발로 인해 마찬가지로 면의 표면이 매끄럽지 않아, 조리 시 물과 접촉할 수 있는 표면적이 넓어지므로 용출도가 크게 증가된 것으로 생각된다.

9. 폴리페놀계 및 전곡립 소재의 열/물질 전달 분석을 통한 제면 제품의 복원력 개선

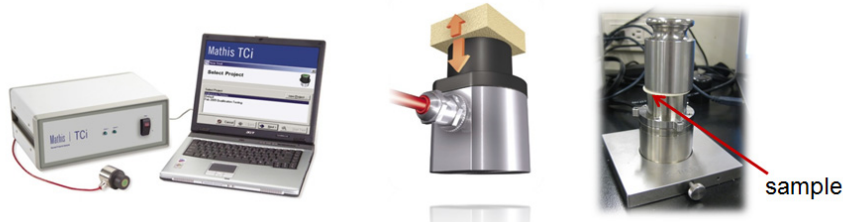
가. 실험방법

(1) 열전도도 측정

폴리페놀 및 전곡립 소재의 열/물질 전달 특성을 분석하기 위해 열전도도 측정기를 이용하였다. 열전도도 측정을 위하여 샘플은 측정기의 센서 위에 올려놓고 무게 500 g의 추로 눌러주

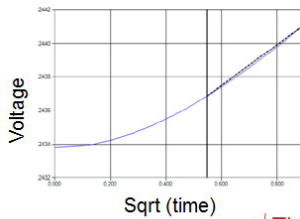
었다. 샘플의 온도를 2 °C 가량 올리는 데에 필요한 전압이 측정되어 계산을 통해 열전도도가 측정되며, 열전도도는 K(W/mK) 값으로 나타났다. 즉, 열전도도가 큰 물질일수록 이동한 열량이 크므로 열전달이 잘 이루어진다.

압연면 반죽은 무게 50 g의 밀가루와 무게 0.75 g의 소금, 무게 20 g의 물을 이용하여 반죽기로 두께 1.4 mm인 반죽을 제조하였고, 지름 4 cm인 원형 커터로 잘라 열전도도 측정에 이용하였다.



< Thermal Conductivity Analyzer >

Application of a known current – temperature rise ($\leq 2^\circ\text{C}$) – voltage change



$$\Delta V = m (\text{time})^{1/2}$$

Voltage change can be correlated with thermal conductivity through a calibration with reference

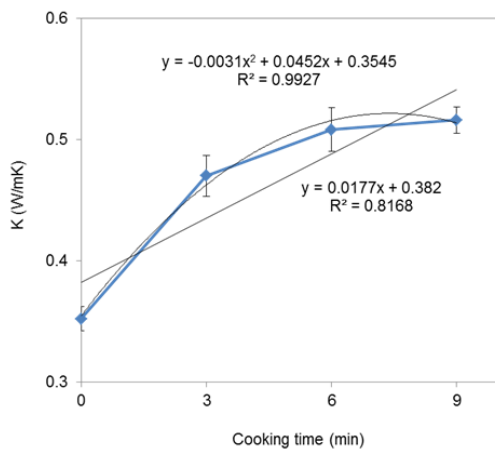
Thermally insulative $\uparrow \rightarrow$ the steeper the voltage rise.

그림 92. 열전도도 측정기의 원리 및 사진.

나. 실험결과

(1) 폴리페놀 및 전곡립 소재별 열전도도 측정

(가) 열전도도 측정기를 이용한 제면 반죽의 열전도도 분석



Cooking time (min)	K(W/mK)
0	0.352±0.010c
3	0.470±0.017b
6	0.508±0.018a
9	0.516±0.011a

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

그림 93. 표 122. 조리 시간에 따른 밀가루 면 반죽의 열전도도

조리 시간에 따른 밀가루 압연면 반죽의 열전도도를 측정된 결과, 조리시간이 증가함에 따라 열전도도 값이 증가하는 경향을 확인하였다. 조리시간에 따른 열전도도의 변화를 그래프로 나타낸 결과, $y = 0.0177x + 0.382$ 의 1차식보다 $y = -0.0031x^2 + 0.0452x + 0.3545$ 의 2차식에 더 부합한 것을 확인하였다. 이러한 결과는 조리 시간이 증가함에 따라 압연면의 호화 정도가 점차 커지면서 수분에 의한 열전달이 초기 조리 과정에서 빠르게 일어난 결과로 예측할 수 있다.

(나) 백미 및 전곡립(현미) 면 반죽의 열전도도 분석

표 123. 백미 및 전곡립(현미) 면 반죽의 열전도도

K (W/mK)	Control	White rice noodle		Brown rice noodle	
		30%	40%	30%	40%
Before cooking	0.368±0.001Ba	0.356±0.004Bb	0.336±0.005Be	0.348±0.002Bc	0.341±0.002Bd
After cooking	0.484±0.002Aa	0.473±0.003Ac	0.480±0.008Aab	0.475±0.004Abc	0.462±0.002Ad

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

밀가루를 백미와 현미로 각각 30%, 40% 대체하여 압연면 반죽을 제조하였고, 조리 시간은 5분으로 하여 조리 전과 후로 나누어 열전도도를 측정하였다. 모든 샘플의 조리 후 열전도도가 조리 전에 비해 높게 관찰되었다. 조리 전과 조리 후 모두 밀가루 압연면 반죽이 백미, 현미 대체 압연면에 비해 높은 열전도도 값을 나타낸다. 조리 전의 경우 백미와 현미 대체 압연면에서 30% 대체 압연면이 40% 대체 압연면에 비해 높은 열전도도를 보였으나 조리 후에는 별다른 경향성이 나타나지 않았다.

(다) 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질 첨가에 따른 전곡립(현미) 면 반죽의 열전도도 분석

표 124. 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질 첨가에 따른 전곡립(현미) 면 반죽의 열전도도

Cooking time (min)	Control		Green tea+PPI		Mulberry+PPI	
	0	3	0	3	0	3
K (W/mK)	0.369±0.001c	0.437±0.008a	0.351±0.002d	0.417±0.004b	0.349±0.002d	0.413±0.011b

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질을 활용하여 현미 압연면 반죽을 제조하였다. 대조군으로는 밀가루를 현미로 15% 대체한 압연면 반죽으로 하였고, 조리 시간을 3분으로 하여 조리 전과 조리 후의 열전도도를 각각 측정하였다. 측정 결과, 모든 샘플이 조리 전

에 비해 조리 후 열전도도 값이 높게 측정되었고, 조리 전의 경우, 대조군에 비해 폴리페놀계 천연 소재와 콩 단백질이 첨가된 압연면 반죽의 열전도도가 더 낮게 측정되는 것을 확인하였다. 3분간 조리 후 열전도도를 측정한 경우에도 마찬가지로 대조군에 비해 낮은 열전도도를 보인다. 녹차 추출물과 오디 추출물을 넣은 샘플 간에는 열전도도 값이 유의적인 차이가 없는 것을 확인하였다. 이에 따라, 폴리페놀계 천연 소재와 콩 단백질의 첨가가 면 반죽의 열전달에 긍정적 효과가 없는 것으로 생각된다.

(2) 폴리페놀 및 전곡립 소재별 조리 시간에 따른 수분 전달 특성 분석

(가) 조리 시간에 따른 백미 및 전곡립(현미) 압출면의 조리면 수분함량 분석

표 125. 백미 및 전곡립(현미) 압출면의 조리 시간에 따른 조리면 수분함량

Cooking time (min)	Moisture content of cooked noodles (%)	
	White rice	Brown rice
3	44.87±4.01cB	51.37±4.45cA
6	56.53±2.37bA	59.53±3.35bA
9	62.59±7.54aA	67.74±4.24aA

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

3분, 6분, 9분 조리 후, 백미와 현미 압출면의 수분함량을 분석하여 조리 시간에 따른 수분 전달 특성을 알아보하고자하였다. 조리시간이 증가함에 따라 백미와 현미 압출면의 수분함량이 증가하였고, 3분간 조리한 면의 경우 백미면에 비해 현미면의 수분함량이 더 높게 측정된다. 이러한 결과는 조리 시간이 증가함에 따라 면이 익으면서 면에 존재하는 수분의 양이 점차 늘어남에 따른 결과로 해석된다. 또한, 같은 시간 조리하였을 때, 백미 압출면에 비해 현미 압출면에 수분이 더 많이 흡수되는 것으로 관찰되었다.

(나) 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)가 첨가된 전곡립(현미) 압출면의 조리 시간에 따른 조리면 수분함량 분석

표 126. 폴리페놀계 천연 소재가 첨가된 전곡립(현미) 압출면의 조리 시간에 따른 조리면 수분함량

Cooking time (min)	Moisture content of cooked noodles (%)		
	Control	Green tea	Mulberry
3	50.21±3.22cA	46.86±0.91cA	50.89±2.61cA
6	56.92±0.96bA	60.53±3.60bA	58.53±0.62bA
9	63.40±1.47aA	65.87±0.40aA	65.25±2.12aA

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

조리시간을 3분, 6분, 9분으로 하였을 때, 폴리에놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)가 첨가된 현미 압출면의 수분함량을 측정한 결과, 모든 샘플에서 조리시간이 증가함에 따라 조리면의 수분함량이 점차적으로 증가한 것으로 확인되었다. 폴리에놀계 천연 소재의 종류에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 보아 수분전달에는 영향이 미미한 것으로 확인되었다.

제 3절. 폴리페놀 및 전곡립 활용 시제품 평가 및 가공 신기능성 부여 기술 개발

1. 폴리페놀 소재 적용 제면 스케일 향상 및 품질 특성 분석

가. 실험방법

(1) 수분 등 일반성분 분석

수분(고형분) 함량은 AOAC 방법에 따라 측정하였다. 수분 함량은 샘플 1~2 g을 130 ° C에서 4 시간 건조시킨 뒤, 건조 전의 샘플 무게와 건조 후의 샘플 무게 차를 계산식에 적용하여 측정하였다.

(2) 기능성 폴리페놀의 추출방법 개선

(가) 오디 폴리페놀 추출방법 확립

오디의 기능성 폴리페놀을 추출하기 위해 기존 열수 추출법 외 착즙을 통한 추출을 진행하였다. 또한 추출물의 품질개선을 위해 cellulase 계열의 효소 6종(Celluclast, Rapidase C80 Max, Rapidase TF, Rohament CL, Viscozyme L)을 기질 대비 0.5 % 첨가하여 55 ° C에서 3 시간 반응한 효소 처리 오디 폴리페놀을 제조하였다.

열처리를 통한 품질 개선 효과를 알아보기 위해 70, 80, 90 ° C의 조건에서 30 분, 2 시간, 4 시간 동안 열처리를 진행하여 열처리 오디 폴리페놀을 제조하였다. 또한 고형분 함량 증진을 위해 농축단계에서 40, 55, 70 ° C 조건에서 최종 고형분 함량이 20 %가 될 때까지 진공농축기를 활용하여 농축을 진행하였다. 실험 조건은 표 127과 같다.

(나) 녹차 폴리페놀 추출방법 확립

녹차의 기능성 폴리페놀을 추출하기 위해 기존 열수 추출을 통해 생산된 녹차 추출물에 효소 및 열처리를 하여 시료를 준비하였다. 효소처리 녹차 폴리페놀의 경우 Tannase, Viscozyme L을 0.5 % 처리하여 55 ° C에서 3 시간 반응하여 효소 처리 녹차 폴리페놀을 제조하였고, 95 ° C 3 시간 열처리를 통해 열처리 녹차 폴리페놀을 제조하였다.

(3) 탁도 및 색도 측정

실험 샘플의 탁도는 적정 농도로 희석 후 TN100 기기를 활용하여 NTU 단위로 측정하였다. 샘플의 색도는 색차계(Spectrophotometer CM-700d)를 활용하여 L, a, b 값을 측정하였다.

표 127. 오디 추출물 열처리 및 농축 조건

구분	제조조건				추출방법	압연면
	열처리		농축단계			성분 및 함량
	온도(°C)	시간(hr)	온도(°C)	고형분함량 (중량%)		함량 (중량%)
1	80	2	55	20	착즙	0.5
2	50	2	55	20	착즙	0.5
3	110	2	55	20	착즙	0.5
4	80	0.5	55	20	착즙	0.5
5	80	4	55	20	착즙	0.5
6	80	2	40	20	착즙	0.5
7	80	2	70	20	착즙	0.5
8	80	2	55	10	착즙	0.5
9	80	2	55	30	착즙	0.5
10	80	2	55	20	착즙	0.1
11	80	2	55	20	착즙	0.2
12	80	2	55	20	착즙	0.3
13	80	2	55	20	착즙	0.4
14	80	2	55	20	착즙	1
15	80	2	55	20	착즙	2
16	80	2	55	20	착즙	3
17	80	2	55	20	착즙	4
18	80	2	55	20	착즙	5
19	80	2	55	20	착즙	6
20	-	-	55	20	착즙	0.5
21	80	2	-	-	착즙	0.5
22	-	-	-	-	에탄올추출	0.5
23	-	-	-	-	열수추출	0.5

(4) 총 폴리페놀 함량 및 DPPH 항산화능

총 폴리페놀 함량은 Folin-ciocalteu's method를 통해 분석하였다. 10배 희석된 폴리페놀 추출물 50 ul에 450 ul의 3차 증류수를 넣은 뒤 0.2 N Folin-ciocalteu's reagent 시약을 2.5 ml 첨가하였다. 7.5% sodium carbonate 2 ml을 넣은 뒤 water bath에서 50 ° C, 120 rpm으로 5 분 동안 반응 시킨 뒤 UV/vis spectrophotometer로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 시료로는 Gallic acid를 사용하였고, Blank로는 Gallic acid 대신 3차 증류수를 사용하여 측정하였다. 총 폴리페놀 함량 측정 방법은 그림 1과 같다. DPPH 항산화능은 에탄올에 녹인 0.01 mM DPPH reagent를 준비하여 표준검량곡선에 적합하게 희석한 추출액 100 ul에 0.01 mM DPPH reagent 2.9 ml을 첨가하여 상온에서 30 분간 암실에서 반응시킨 후 UV/vis spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

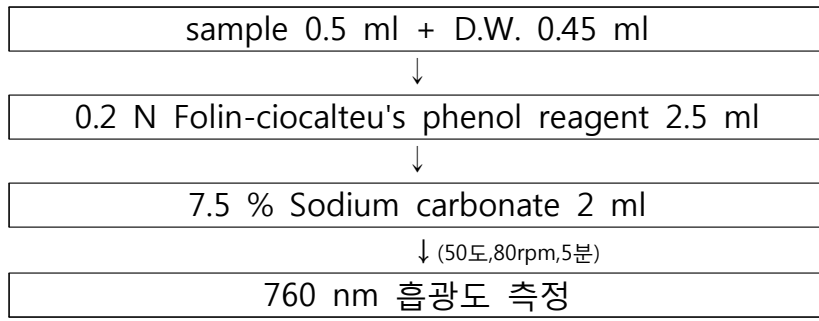


그림 94. 총 폴리페놀 함량 측정.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left\{ \left[\frac{(A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}})}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

식 6. DPPH 항산화 활성 계산식.

(5) 항산화 활성 측정

제조된 압연, 압출면 시료의 과산화물가(POV) 및 산가(AV) 등의 항산화 활성을 측정하였다. 과산화물가 측정은 먼저 시료 1~5 g을 삼각플라스크에 칭량 후 초산:클로로포름(3:2) 혼합액 25 ml을 넣어 유지를 녹였다. 포화요오드화칼륨용액 1 ml을 넣고 섞은 후 암실에서 10분간 방치하였다. 물 30 ml과 전분시약을 1 ml을 가한 후 0.01 N 티오황산나트륨으로 적정하여 청남색이 소멸되는 시점을 종말점으로 하며 같은 방법으로 공시험을 함께 진행하여 다음의 수식에 넣어 계산하였다.

$$\text{과산화물가 (meq/kg)} = \frac{10 \cdot (a - b) \cdot f}{S}$$

식 7. 과산화물가 계산식

a: 샘플의 티오황산나트륨 소비량

b: Blank의 티오황산나트륨 소비량

f: 티오황산나트륨의 역가

S: 시료의 채취량(g)

산가 측정은 먼저 시료를 5~10 g 정도 삼각플라스크에 취한 후 에탄올:에테르(1:2) 혼합액을 100 ml 넣어 유지를 녹였다. 페놀프탈레인 지시약을 2~3 방울 떨어뜨린 후 옅은 핑크색을 띄면 종말점으로 하며 같은 방법으로 공시험을 함께 진행하여 다음의 수식에 넣어 계산하였다.

$$\text{산가 (meq/kg)} = \frac{5.611 \cdot f \cdot (M - B)}{S}$$

식 8. 산가 계산식

S: 시료의 무게; M: 시료의 0.1 N-KOH 용액 소비량; B: Blank의 0.1 N-KOH 용액 소비량;

f: 0.1 N-KOH 용액의 factor

(6) 폴리페놀 추출물 적용 제면 테스트

기능성 폴리페놀 추출물을 활용한 제면 테스트는 (주)동아원에서 진행하였다. 압연면 및 압출면의 초기 제조 공정은 표 128, 129와 같다.

표 128. 압연면 생산 공정

구분	공정	조건	비고
1	Pre-mixing	10분	반죽 수분 40% 기준
2	Rolling	5단 롤러	
3	절단	No. 20 절출기 사용	
4	증숙	100도, 4분	
5	유탕	150도, 50초	농심 팜유 사용

표 129. 압출면 생산 공정

구분	공정	조건	비고
1	Pre-mixing	10분	반죽 수분 45% 기준, 반죽기 사용
2	압출	Die 1mm	
3	건조	습도60%,50도	

(7) 조리 용출도 분석

조리 용출도 측정을 위해 준비된 면을 5 cm 길이로 잘라 약 5 g을 취하여 100 °C의 끓는 물 150 ml에 넣고 약 6 분간 조리하여 실험을 진행하였다. 조리 후 물은 105 °C에서 6 시간 열풍 건조시켜 계산식에 대입하여 조리 용출도를 계산하였다.

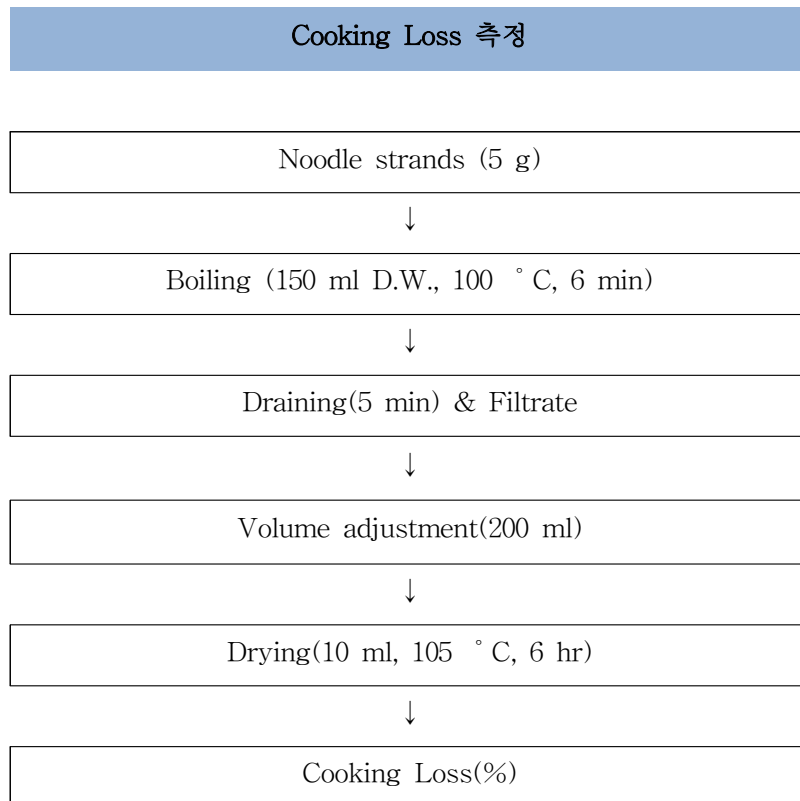


그림 95. 면의 조리 용출도(Cooking loss) 측정 과정.

(8) 관능학적 특성 분석

오디 폴리페놀 추출물의 풍미 평가를 위해 실험 조건에 따라 제조한 압연면을 끓는 물에 넣고 4 분간 조리하였다. 이를 30명의 훈련된 연구원이 각각 시식하도록 하여 풍미를 평가하였다. (나쁨-X, 보통-△, 좋음-O, 아주좋음-◎)

또한 pilot 테스트에서 생산된 압연면 및 압출면 시료를 활용하여 전반적인 선호도에 대한 관능평가를 진행하였다. 평가 인원은 연구원 39명을 대상으로 진행하였고, 전반적인 선호도에 대해 7점 척도 기준으로 control, 오디 폴리페놀 적용 시료(MB), 녹차 폴리페놀 적용 시료(GE) 등 3종에 대한 선호도 조사를 통해 관능평가를 진행하였다.

(9) 오디 추출물 적용 반죽의 가공성 평가

오디 폴리페놀 추출물 적용 반죽의 가공성 평가를 위해 제조된 반죽의 물성을 평가하였다. (나쁨-X, 보통-△, 좋음-O, 아주좋음-◎)

나. 실험결과

(1) 기능성 폴리페놀의 추출방법 및 품질 개선

(가) 오디 폴리페놀의 추출방법 및 품질 개선

표 130. 효소 처리 오디 추출물의 분석

MB	총 페놀함량 (ug/g CA)	DPPH(%)	탁도(NTU)	색도		
				L-value	a-value	b-value
MB_control	6348.18	31.15	989	7.31	32.98	11.17
MB_Celluclast	4930.00	45.12	17.88	19.8	47.04	27.92
MB_Rapidase C80 Max	4766.36	44.98	19.56	20.9	47.46	28.55
MB_Rapidase TF	4784.55	44.98	20	21.83	48.01	29.79
MB_Rohament CL	4666.36	44.40	22.3	21.08	47.72	29.16
MB_Viscozyme L	4884.55	45.71	15.26	22.21	48.15	29.84

오디 폴리페놀의 추출방법 개선을 위한 기존 열수 추출방법 대신 착즙을 통해 오디 폴리페놀을 생산하였다. 추출물의 폴리페놀 함량 및 공정의 편의성을 비교해 본 결과 착즙을 통해 폴리페놀 추출물을 얻는 것이 더 효율적으로 판단되었다. 또한 착즙으로 얻어진 오디 폴리페놀 추출물을 효소 및 열처리의 품질 개선 공정을 진행하였다. 효소의 경우 cellulase 계열의 효소인 Celluclast, Rapidase C80 Max, Rapidase TF, Rohament CL, Viscozyme L 등 6종을 적용하여 테스트하였다. 그 결과 Viscozyme L을 적용한 실험군에서 탁도 개선 효과가 가장 높게 나타났으며 총 폴리페놀 함량 또한 높게 유지되는 것을 확인할 수 있었다.

표 131. 열처리 오디 추출물의 품질특성

MB	총 페놀함량 (ug/g CA)	DPPH (%)	탁도(NTU)	색도		
				L-value	a-value	b-value
MB_control	6348.18	31.15	989	7.31	32.98	11.17
MB_H_70 °C	4102.73	56.04	4.92	30.03	50.62	23.55
MB_H_80 °C	4448.18	53.28	5.6	27.75	50.46	23.17
MB_H_90 °C	4484.55	57.50	6.68	28.38	50.43	22.54

또한 열처리를 통한 오디 폴리페놀 추출물의 품질 개선을 진행한 결과, 80 °C 열처리 조건에서 탁도 개선 효과가 비교적 우수하며 총 폴리페놀 함량 또한 높게 유지되는 것을 확인할 수 있었다.

효소처리 및 열처리 오디 폴리페놀 추출물의 총 폴리페놀 함량 및 탁도 개선 효과를 고려하여 최종 시료의 처리방법으로 착즙 후 80 °C에서 3 시간 조건으로 공정을 확립하였다. 이러한 효소 및 열처리를 통한 탁도 개선은 열에 의한 오디 pulp의 분해에 따른 개선 효과로 사료된다.

(나) 오디 추출물 열처리 조건 개선 및 압연면 적용량 최적화

오디 추출물의 열처리에 의한 품질 개선 효과를 확인 후 열처리 조건 및 농축 조건 최적화를 진행하였다. 또한 이러한 처리 조건 최적화 후 첨가량에 따른 압연면의 품질 평가를 진행하였다.

표 132. 오디 추출물 적용 압연면 품질특성

구분	평가항목							
	총 페놀화합물 함량 (ug/g)	흡유량 (%)	풍미	가공성	탁도 (NTU)	DPPH (%)	과산화물가 (meq/kg)	산가 (mf-KOH/g)
1	4448.18	15	◎	◎	5.6	53.28	4.0	0.20
2	3133.11	15.1	○	○	4.24	49.98	5.4	0.23
3	4652.44	15	○	○	7.32	52.65	4.3	0.20
4	2898.20	15.3	△	○	4.41	49.23	5.4	0.24
5	4818.47	15.1	△	○	7.21	53.69	3.9	0.19
6	4211.57	15.2	△	△	5.71	52.17	4.2	0.21
7	4348.49	15.2	△	○	5.74	53.10	4.1	0.21
8	3231.21	15.1	△	○	5.66	51.03	5.4	0.23
9	4566.88	15	△	△	5.63	53.29	4.0	0.20
10	2955.11	17.1	×	○	5.6	49.55	5.9	0.29
11	3513.85	16.5	○	○	5.6	50.98	5.2	0.22
12	3688.18	16.3	○	○	5.6	51.07	5.1	0.22
13	3801.08	16	○	○	5.6	51.13	4.9	0.22
14	4201.92	14.8	◎	◎	5.6	52.46	4.2	0.21
15	4298.58	14.7	◎	◎	5.6	53.01	4.2	0.21
16	4316.82	14.6	○	○	5.6	52.96	4.1	0.21
17	4498.65	14.6	○	○	5.6	53.16	4.0	0.20
18	4582.74	14.4	×	△	5.6	53.45	3.9	0.20
19	4721.21	14.1	×	△	5.6	53.88	3.8	0.19
20	3388.76	15.3	×	○	8.98	50.16	5.4	0.23
21	2621.48	17.4	△	×	5.6	49.80	6.0	0.31
22	1377.88	18.8	×	△	8.8	47.11	6.2	0.33
23	1466.36	18.9	×	△	9.1	45.42	6.2	0.33

(다) 녹차 폴리페놀의 추출방법 및 품질 개선

녹차 폴리페놀의 경우 떫은 맛 및 탁도에 대한 문제점을 개선하기 위해 효소 및 열처리 실험을 진행하였다. 효소처리의 경우 Tannase 및 오디 폴리페놀 품질 개선에서 효과를 보였던 Viscozyme L을 적용하여 테스트를 하였다. Viscozyme, Tannase 및 두 가지 효소 복합처리군 중 Tannase 단독 처리군에서 가장 높은 탁도 개선 효과를 나타내었지만 Tannase의 경우 가격 경쟁력이 떨어지고 또한 국내 수급 용이성이 낮아 제외하였다. Viscozyme L을 처리한 경우 또한 탁도 개선에서 우수하였고 총 폴리페놀 함량 또한 높게 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 열처리 조건의 경우 문헌 검색을 통해 2가지 조건으로 설정하여 실험을 진행하였고, 그 중 121℃ 3 시간 처리한 실험군에서 더 높은 총 폴리페놀 함량과 낮은 탁도를 보였지만 과도한 열처리로 인한 색도 변화로 인해 제면 적용 시 품질 저하를 초래할 것으로 사료되어 제외하였다.

표 133. 효소 및 열처리 녹차 추출물의 품질특성

실험군	총 페놀함량 (ug/g CA)	DPPH(%)	탁도(NTU)	색도		
				L-value	a-value	b-value
GE_control	3569.09	82.25	48.9	97.78	-3.96	11.75
GE_E_V&T	3469.09	84.36	5.58	98.39	-2.64	10.63
GE_E_V	3442.17	83.16	6.12	98.34	-2.98	11.01
GE_E_T	3432.73	85.20	4.94	98.54	-1.83	8.29
GE_H95_3 hr	3378.18	84.61	5.65	96.01	-2.51	25.71
GE_H121_3 hr	4943.33	83.57	4.76	92.29	-2.31	34.92

(2) 기능성 폴리페놀 적용 Pilot scale 제면 테스트

(가) 폴리페놀 추출물 적용 압연면 제면 특성

Lab-scale에서 진행된 제면 배합을 바탕으로 5 kg 수준의 pilot scale에서 제면 테스트를 진행하였다. 초기 공정의 경우 배합 및 반죽 후 일정시간의 숙성 시간을 거친 뒤 제면을 진행하였지만 lab scale과 다르게 pilot scale 실험 시 숙성 후 제면 과정에서 반죽의 수분함량이 감소되어 면대 형성에 적절하지 않은 것으로 판단되었다. 이에 최종 압연면 제조 공정에서 숙성 공정을 제외하고 진행하였으며 또한 수분함량을 40%에서 35%로 감소시켜 제면했을 경우 제면 특성이 더 좋아졌으므로 수분함량 또한 35%로 개선하였다. 오디 및 녹차 폴리페놀 추출물 적용군의 경우 추출물에 포함된 고형분 함량을 감안하여 최종 반죽의 수분함량을 조절하였다. 압연면 제조 과정은 그림 96과 같다.



그림 96. 압연면 제조 과정.

(나) 폴리페놀 추출물 적용 압출면 제면 특성

Lab-scale에서 진행된 제면 배합을 바탕으로 5 kg 수준의 pilot scale에서 제면 테스트를 진행하였다. 압출면 반죽의 경우 압연면보다 더 많은 수분을 필요로 하고 반죽의 상태로 압출 시면의 특성을 판단할 수 있다. 이에 Lab-scale에서 진행된 배합을 바탕으로 반죽을 진행한 결과 반죽의 흐름성이 좋지 않아 압출 시 퍼핑이 심하게 일어날 것으로 사료되었다. Lab 장비와 성능의 차이가 있음을 감안하고 가수량을 증가시켜 압출기 특성에 적합한 반죽 상태로 개선하였다. 초기 lab 배합에서 최종 수분함량을 40%로 진행하였는데 pilot의 경우 최종 수분함량을 47%까지 증가시켜 제면을 진행하였다. 압출면 제조 과정은 다음과 같다.

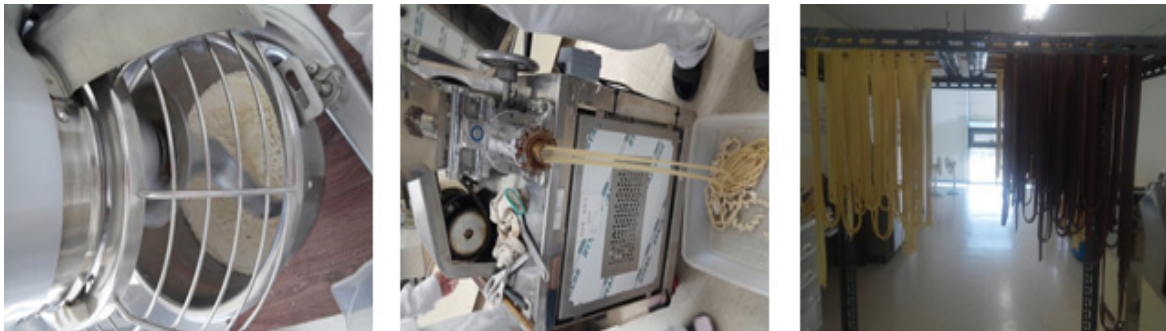


그림 97. 압출면 제조 과정.

(3) Pilot scale 제면 샘플 관능학적 특성 분석

대조군을 비롯한 시료 압연면 및 압출면 6종에 대한 관능학적 특성 분석 결과 대조군 및 오디에 대한 선호도가 높은 것으로 확인되었다. 또한 압연면 및 압출면 모두 비슷한 경향의 선호도를 나타내었으며 전반적인 선호도면에서 압출면에 대한 선호도가 높은 것으로 확인되었다. 녹차 추출물 적용 샘플의 경우 기타의견에서 녹차의 떫은맛이 면에서 느껴진다는 의견이 다소 있었다. 또한 시료의 식감에 대한 질문에서 차이가 있다는 의견이 소수 있었지만 이는 유의차 없는 결과를 나타내었다. 이에 폴리페놀 추출물 적용 시 녹차의 경우 탄닌 등에 의한 떫은맛을 제어하는 것이 가장 중요한 것으로 사료되며, 폴리페놀 소재 적용 시 밀가루 함량을 낮춘 대조군과 비슷한 식감을 나타내는 것을 확인하였다.

표 134. 관능학적 특성 분석

시료	전반적 선호도(압연면)	전반적 선호도(압출면)
Control	(1)4.9 ^{a(2)}	5.6
MB	5	5.5
GE	4.6	5.3
⁽¹⁾ 9점 척도에 서 평균값, ⁽²⁾ 같은 column 안에서 다른 letter는 5% 유의수준에서 유의적 차이를 나타낸다 ME: Mulberry extract, GE: Green tea extract		

2. 폴리페놀 추출물과 제면 특성의 상관관계 분석

가. 실험방법

(1) 면 sample 제조

폴리페놀 추출물의 제면 공정에서의 글루텐 대체능을 규명하기 위해, 표 135와 같은 면 시료들을 제조하였다.

시료군은 크게 단백질(Pea protein isolate)을 넣은 면과 넣지 않은 시험군으로 나뉘지고, 대조군 면 (밀가루+쌀가루, 밀가루+쌀가루+분리단백질)과 폴리페놀 추출물(녹차 및 오디) 첨가 면을 대상으로 분석을 수행하였다. 쌀가루를 함유하고, 추가의 단백질을 넣지 않은 면을 기존 면이라고 하고, 첨가한 면을 분리단백질 면이라고 지칭하였다.

표 135. 폴리페놀 추출물을 첨가한 면 sample 제조를 위한 배합 조성

실험군	Flour (w/w, %)					물 (g)	ME (g)	GE (g)
	밀가루	쌀가루	PPI	소금	감자전분			
Wheat+Rice	70	20	-	1	9	88.57	-	-
Wheat+Rice +ME	70	20	-	1	9	0.67	88.90	-
Wheat+Rice +GE	70	20	-	1	9	0.67	-	88.90
Wheat+Rice +PPI	60	20	10	1	9	2.30	-	-
Wheat+Rice +PPI+ME	60	20	10	1	9	2.30	88.90	-
Wheat+Rice +PPI+GE	60	20	10	1	9	2.30	-	88.90

- * Wheat : 밀가루
- * Rice : 쌀가루
- * PPI : Pea protein isolate
- * GE : 녹차 추출물, ME : 오디 추출물

(2) 면 시료 함유 폴리페놀 대사체 분석

기존 면(밀가루, 쌀가루, 추출물 넣어 제조한 면)과 분리단백질 면(밀가루, 쌀가루, PPI, 추출물을 넣어 제조한 면)에 존재하는 폴리페놀 물질을 아래와 같이 80% 에탄올을 사용하여 추출하였다. 이 때 추출된 폴리페놀 대사체는 면 제조 과정에서 단백질과 침전되지 않은 free 폴리페놀로 생각하여, 면 제조 전후의 폴리페놀 대사체 변이를 비교 분석하였다.

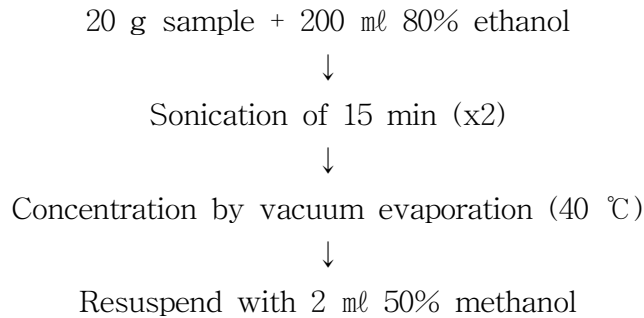


그림 98. 면 시료 함유 폴리페놀 대사체 추출.

나. 실험결과

(1) 폴리페놀 대사체의 targeted profiling

HPLC-ESI-Ion trap-MS/MS을 이용하여 녹차, 오디 추출물 대사체와 상기의 면 시료들에 함유된 폴리페놀 대사체들에 대한 targeted profiling을 실시하였다. 모든 시료에 대한 분석을 이후 통계 분석을 위해 최소 3반복 이상씩 수행하였고, 자세한 분석 조건은 앞에 표 135와 같은 조건을 사용하였다.

(가) 녹차 추출물 첨가 면

① 다변량 통계분석

녹차 추출물과 기존 면, 분리단백질 면에 존재하는 free 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 추출물과 실험 대상 시료 면에서 상이한 대사체들이 존재함을 확인할 수 있었다. 각 시료들간의 상이한 대사체 변이 규명을 위해서, 녹차 추출물의 첨가에 따른 유의적인 폴리페놀 대사체들의 규명을 위해 OPLS-DA 분석을 수행하였다.

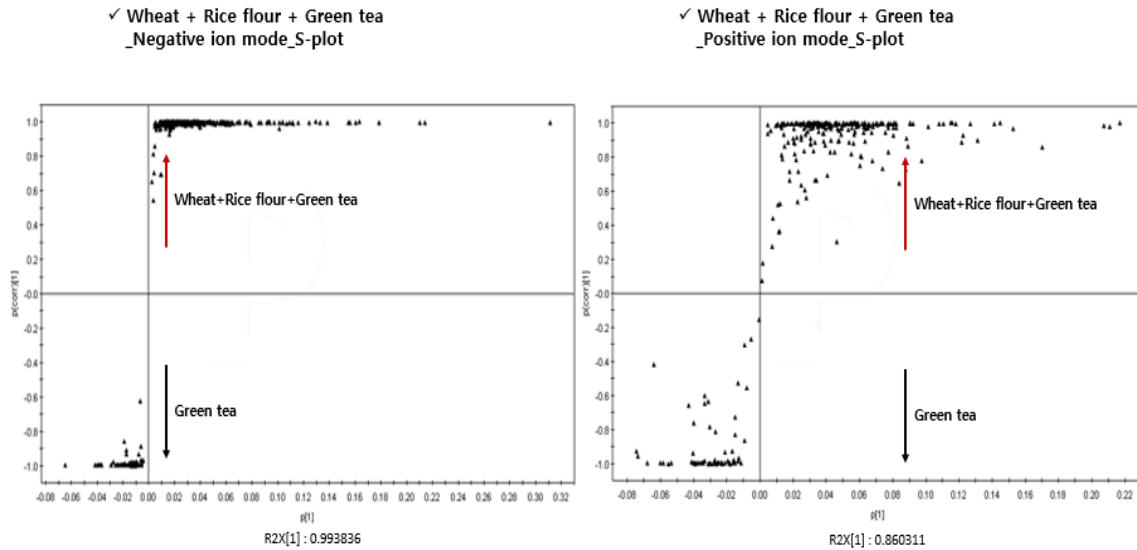


그림 99. 녹차 추출물과 기존 면에 함유된 폴리페놀 대사체들의 OPLS-DA(Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석.

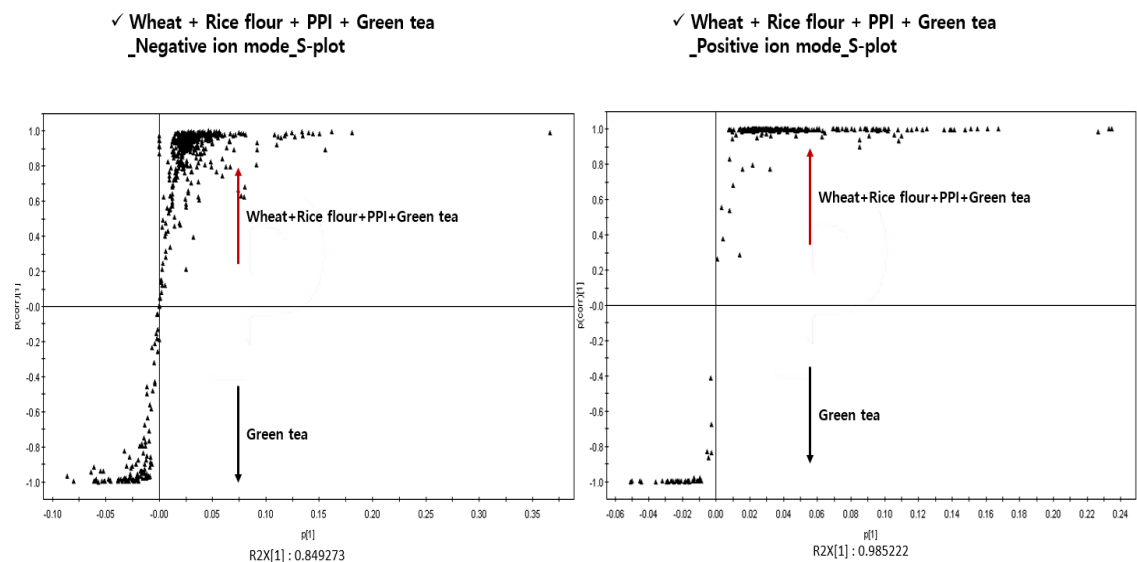


그림 100. 녹차 추출물과 분리단백질 면에 함유된 폴리페놀 대사체들의 OPLS-DA(Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석.

② LC-MS/MS targeted profiling

녹차 추출물이 첨가된 기존 면(쌀가루 포함한 면) 시료에서는 표 136과 137에 리스트된 폴리페놀 대사체들이 단백질과 상호 작용에 관여하는 것으로 확인되었다. Negative ion mode에서는 주로 tannin계열(procyanidin B2-gallate, procyanidin trimer), hydroxybenzoic acid 계열(proto catechuic acid hexose, galloylquinic acid, glucogallic acid, digalloylglucose)의 화합물들이, positive ion mode에서는 flavonols계열(querctin), hydroxycinnamic acid 계열(chlorogenic acid)의 물질들이 주요 작용 대사체로 분석되었다.

표 136. 기존 면과 상호작용을 나타내는 녹차 추출물 함유 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
315.15	3.50	279	153.03, 164.99, 225.03, 109.10, 195.04, 181.12	Protocatechuic acid hexose (3,5-Dihydroxybenzoicacid-O-hexose)	METLIN, Han <i>et al</i>
191.00	2.11	266	111.04, 172.97, 129.01, 85.25	Isocitrate	METLIN
343.11	2.67	275	191.02, 169.00, 125.02, 299.06, 325.07	galloylquinic acid	Del Rio <i>et al</i>
331.14	1.81	273	169.01, 271.08, 211.00, 193.03, 125.04	Glucogallic acid	METLIN
345.16	3.79	273	183.01, 225.01, 285.04, 167.99	Methyl gallate-hexoside	METLIN, Hvattum <i>et al</i>
483.07	7.78	273	271.07, 331.12, 313.09, 169.00	Digalloylglucose	METLIN, Mammela <i>et al</i>
865.23	15.02	276	695.14, 577.14, 739.21, 407.09, 287.04	Procyanidin trimer	METLIN, Tsang <i>et al</i>
633.10	9.02	274	300.98, 463.03, 614.03, 275.01, 331.05, 228.97	HHDP-galloyl-glucose	Soong <i>et al</i>
353.16	8.21	280	191.03, 179.08, 135.10	Chlorogenic acid	METLIN, Han <i>et al</i>
729.14	15.81	269, 343	577.12, 559.12, 407.12, 603.14, 441.11, 289.10	Procyanidin B2-gallate	METLIN

표 137. 기본 면과 상호작용을 나타내는 녹차 추출물 함유 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
919.21	23.89	221, 316	309.08, 455.14, 611.14, 757.21, 303.03, 419.16	Quercetin derivative	METLIN
355.08	8.17	274	162.91, 337.08, 144.97, 135.02	Chlorogenic acid	METLIN

녹차 추출물이 첨가된 분리단백질 면(쌀가루 포함한 면) 시료에서는 표 138과 139에 리스트된 폴리페놀 대사체들이 단백질과 상호 작용에 관여하는 것으로 확인되었다. Negative ion mode에서는 주로 tannin 계열(procyanidin trimer), flavanols 계열(catechin dimer), hydroxybenzoic acid 계열(protocatechuic acid hexose, galloylquinic acid, digalloylglucose)의 물질들이, positive ion mode에서는 tannin 계열(procyanidin dimer, procyanidin trimer)의 화합물들이 주요 작용 대사체로 분석되었다.

표 138. 분리단백질 면과 상호작용을 나타내는 녹차 추출물 함유 폴리페놀 대사체
(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
633.10	9.02	274	300.98, 463.03, 614.03, 275.01, 331.05, 228.97	HHDP-galloyl-glucose	Soong <i>et al</i>
315.15	3.50	279	153.03, 164.99, 225.03, 109.10, 195.04, 181.12	Protocatechuic acid hexose (3,5-Dihydroxybenzoic acid-O-hexose)	METLIN, Han <i>et al</i>
345.16	3.79	273	183.01, 225.01, 285.04, 167.99	Methyl gallate-hexoside	METLIN, Hvattum <i>et al</i>
343.11	2.67	275	191.02, 169.00, 125.02, 299.06, 325.07	galloylquinic acid	Del Rio <i>et al</i>
865.23	15.02	276	695.14, 577.14, 739.21, 407.09, 287.04	Procyanidin trimer	METLIN, Tsang <i>et al</i>
579.10	11.51	279	289.08, 245.05, 203.04, 469.15, 179.07	Catechin dimer	Respect of phytochemicals
483.07	7.78	273	271.07, 331.12, 313.09, 169.00	Digalloylglucose	METLIN, Mammela <i>et al</i>

표 139. 분리단백질 면과 상호작용을 나타내는 녹차 추출물 함유 폴리페놀 대사체
(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
867.24	9.44	202, 281	579.15, 715.18, 427.09, 407.10, 289.05, 517.13	Procyanidin trimer	METLIN, Rockenbach <i>et al</i>
579.10	9.47	203, 281	427.10, 291.05, 289.05, 409.09, 453.09, 247.03	Procyanidin dimer	METLIN, Tsang <i>et al</i>

(나) 오디 추출물 첨가 면

① 다변량 통계분석

오디 추출물과 기존 면, 분리단백질 면에 존재하는 free 폴리페놀 대사체들의 PCA 분석 결과, 추출물과 실험 대상 시료 면에서 상이한 대사체들이 존재함을 확인할 수 있었다. 각 시료들간의 상이한 대사체 변이 규명을 위해서, 오디 추출물의 첨가에 따른 유의적인 폴리페놀 대사체들의 규명을 위해 OPLS-DA 분석을 수행하였다.



그림 101. 오디 추출물과 기존 면에 함유된 폴리페놀 대사체들의 OPLS-DA(Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석.



그림 102. 오디 추출물과 분리단백질 면에 함유된 폴리페놀 대사체들의 OPLS-DA(Orthogonal partial least squared discriminant analysis) 분석.

② LC-MS/MS targeted profiling

오디 추출물이 첨가된 기존 면(쌀가루 포함한 면) 시료에서는 표 140과 141에 리스트 된 폴리페놀 대사체들이 단백질과 상호 작용에 관여하는 것으로 확인되었다. Negative ion mode에서는 주anthocyanins 계열(cyanidin-3-glucoside, cyanidin), flavonols 계열(querctin-3-glucoside, querctin-diglucoside, querctin-rutinoside-glucoside), hydroxycinnamic acid 계열(caffeoylquinic acid, chlorogenic acid)의 물질들이, positive ion mode에서 anthocyanins 계열(delphinidin-3-rutinoside-5-glucoside, delphinidin-diglucoside, delphinidin hexoside), 그리고 hydroxycinnamic acid 계열(dicaffeoylquinic acid)의 화합물들이 주요 작용 대사체로 분석되었다.

표 140. 기존 면과 상호작용을 나타내는 오디 추출물 함유 폴리페놀 대사체(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
465.12	25.63	280, 516	285.08, 241.09, 339.15, 199.17, 303.13, 437.12, 161.13	Taxifolin-hexoside	Mammela <i>et al</i>
447.15	25.42	280, 518	285.07, 429.09, 327.08, 201.03, 241.07, 269.10	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
315.07	10.39	238, 507	152.99, 225.01, 109.05, 164.99, 195.03	Protocatechuic acid hexose (3,5-Dihydroxybenzoicacid-O-hexose)	METLIN, Han <i>et al</i>
190.91	1.88	252	111.06, 172.99, 129.01, 85.30	Isocitrate	METLIN
285.09	25.60	247, 519	241.06, 257.05, 271.04, 147.04, 125.03, 162.98, 175.06	Cyanidin	METLIN
771.23	24.62	247, 518	609.24, 463.14, 301.07, 651.13, 753.23, 727.15, 505.15	Quercetin-rutinoside-glucoside	METLIN
515.12	17.07	249, 518	353.09, 190.99, 323.05, 497.13, 161.05	Caffeoylquinic acid	METLIN
463.08	25.11	243, 517	301.04, 377.11, 419.11, 257.05, 191.02	Quercetin-3-glucoside	METLIN, Mullen <i>et al</i>
353.10	20.79	248, 519	191.05, 173.04, 179.03, 285.11, 135.06	Chlorogenic acid	METLIN, Han <i>et al</i>
625.20	24.06	248, 519	463.09, 301.02, 505.07	Quercetin-diglucoside	METLIN, Mullen <i>et al</i>

표 141. 기존 면과 상호작용을 나타내는 오디 추출물 함유 폴리페놀 대사체(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
773.19	24.47	247, 520	465.08, 627.13, 303.01, 611.15	Delphinidin-3-rutinoside-5-glucoside	METLIN, Sadilova <i>et al</i>
627.20	23.95	248, 520	465.07, 303.03	Delphinidin-diglucoside	METLIN, Tian <i>et al</i>
465.08	25.37	246, 517	303.03	Delphinidin-hexoside	METLIN
517.12	28.36	249, 520	355.06	Dicaffeoylquinic acid	METLIN, Carini <i>et al</i>

오디 추출물이 첨가된 분리단백질 면(쌀가루 포함한 면) 시료에서는 표 142과 143에 리스트 된 폴리페놀 대사체들이 단백질과 상호 작용에 관여하는 것으로 확인되었다. Negative ion mode에서는 주로 tanthocyanins 계열(cyanidin, cyanidin-3-glucoside), flavonols 계열(querctin diglucoside, querctin-3-glucoside, querctin-rutinoside-glucoside), hydroxycinnamic acid 계열(caffeoylquinic acid)의 물질들이, positive ion mode에서는 anthocyanins 계열(delphinidin-diglucoside, delphinidin-3-rutinoside-5-glucoside, delphinidin hexoside), hydroxycinnamic acid 계열(dicaffeoylquinic acid)의 화합물들이 주요 작용 대사체로 분석되었다.

표 142. 분리단백질 면과 상호작용을 나타내는 오디 추출물 함유 폴리페놀 대사체
(Negative ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
465.12	25.63	280, 516	285.08, 241.09, 339.15, 199.17, 303.13, 437.12, 161.13	Taxifolin-hexoside	Mammela <i>et al</i>
447.15	25.42	280, 518	285.07, 429.09, 327.08, 201.03, 241.07, 269.10	Cyanidin-3-glucoside	METLIN
771.23	24.62	248, 519	609.24, 463.14, 301.07, 651.13, 753.23, 727.15, 505.15	Quercetin-rutinoside-glucoside	METLIN
285.09	25.60	247, 519	241.06, 257.05, 271.04, 147.04, 125.03, 162.98, 175.06	Cyanidin	METLIN
625.2	24.06	248, 519	463.09, 301.02, 505.07	Quercetin-diglucoside	METLIN, Mullen <i>et al</i>
315.07	10.39	238, 507	152.99, 225.01, 109.05, 164.99, 195.03	Protocatechuic acid hexose (3,5-Dihydroxybenzoic acid-O-hexose)	METLIN, Han <i>et al</i>
515.12	17.07	249, 518	353.09, 190.99, 323.05, 497.13, 161.05	Caffeoylquinic acid	METLIN
463.08	25.11	243, 517	301.04, 377.11, 419.11, 257.05, 191.02	Quercetin-3-glucoside	METLIN, Mullen <i>et al</i>

표 143. 분리단백질 면과 상호작용을 나타내는 오디 추출물 함유 폴리페놀 대사체
(Positive ion mode)

m/z	Time (min)	λ max	ms/ms	Tentative identification	reference
627.20	23.95	248, 520	465.07, 303.03	Delphinidin-diglucoside	METLIN, Tian <i>et al</i>
773.19	24.47	247, 520	465.08, 627.13, 303.01, 611.15	Delphinidin-3-rutinoside-5-glucoside	METLIN, Sadilova <i>et al</i>
465.08	25.37	246, 517	303.03	Delphinidin-hexoside	METLIN
517.12	28.36	249, 520	355.06	Dicaffeoylquinic acid	METLIN, Carini <i>et al</i>

녹차와 오디 추출물에 함유된 폴리페놀 대사체들 중에서 체면 과정에서 단백질과 반응하여 haze를 형성하는 후보 대사체를 규명하기 위해, 전체 대사체를 대상으로 5% 유의수준에서 변이를 보이는 화합물을 선별하고 이들의 동정을 실시하였다(표 144, 145).

녹차 추출물의 경우, 면 시료에 존재하는 약 500여개의 대사체 중, 40-60개의 후보 물질이 선별되었고 최종적으로 약 10개의 유효한 폴리페놀 대사체가 동정되었다(표 144).

오디 추출물의 경우, 면 시료에 존재하는 약 400여개의 대사체 중, 50-140개의 후보 물질이 선별되었고 최종적으로 약 10개의 유효한 폴리페놀 대사체가 동정되었다(표 145).

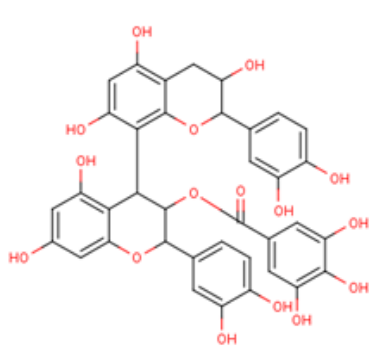
표 144. 제면 과정 중 단백질과 상호작용하는 녹차 추출물 함유 폴리페놀 대사체의 선별

Samples		Total	Screened (p<0.05)	Identification
Negative	Wheat+Rice flour+Green tea	537	61	10
	Wheat+Rice flour+PPI+Green tea	547	56	7
Positive	Wheat+Rice flour+Green tea	334	42	2
	Wheat+Rice flour+PPI+Green tea	321	36	2

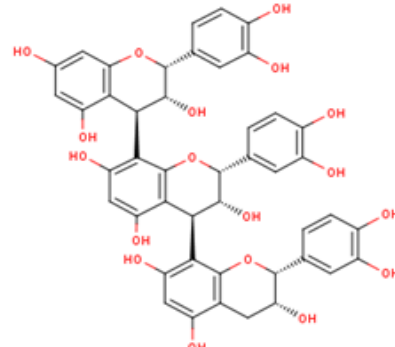
표 145. 제면 과정 중 단백질과 상호작용하는 오디 추출물 함유 폴리페놀 대사체의 선별

Samples		Total	Screened (p<0.05)	Identification
Negative	Wheat+Rice flour+Green tea	425	151	10
	Wheat+Rice flour+PPI+Green tea	428	140	8
Positive	Wheat+Rice flour+Green tea	112	58	4
	Wheat+Rice flour+PPI+Green tea	129	48	4

이상의 결과를 정리하면, 녹차 폴리페놀 추출물에서는 주로 tannin계열의 화합물들이 단백질과 상호작용하여 면대 형성에 기여하는 것으로 확인되었고, 아래의 procyanidin 계열 대사체가 주요한 역할을 하는 것으로 나타났다.

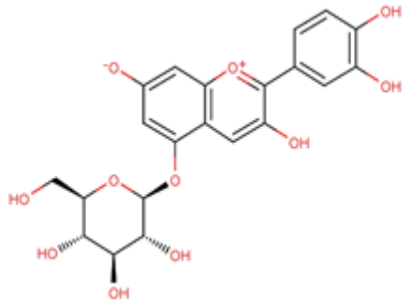


Procyanidin B2-gallate

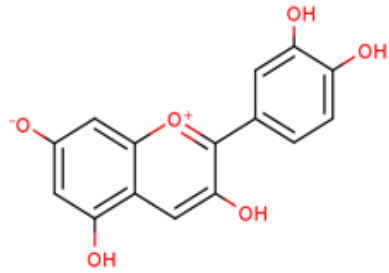


Procyanidin trimer

오디 폴리페놀 추출물에서는 주로 anthocyanin계열의 화합물들이 단백질과의 작용으로 면대 형성에 도움을 주는 것으로 확인되었고, cyanidin과 그 배당체 물질들이 주요 대사체로 작용하는 것으로 분석되었다.



Cyanidin-3-glucoside



Cyanidin

3. 폴리페놀-단백질 간 상호작용 특성 탐색

가. 실험방법

(1) 폴리페놀-단백질 조합별 haze formation을 통한 분광학적 탁도 비교

(가) 재료

전남 보성에서 생산된 녹차와 전북 고창에서 생산된 오디를 폴리페놀 추출소재로 사용하였으며, Sigma-aldrich사의 tannic acid와 gallic acid를 사용하였다.

(나) 추출액의 제조

오디는 냉동(-80 °C)상태의 과실을 사용하였으며, 녹차는 건조잎 형태의 원물을 사용하였다. 녹차추출액은 녹차 10 g에 200 ml의 증류수를 가하여 shaking waterbath에서 65 °C, 150 rpm, 1 시간 추출하였다. 또한 오디추출액은 오디 내 수분함량을 고려하여 45.31 g의 오디에 164.69 ml의 증류수를 가하여 같은 조건에서 추출하였다.

(다) 총 페놀함량 측정

총 페놀함량은 Folin-Ciocalteu' s method를 이용하여 측정하였다. 회석 후의 추출물 50 L에 증류수 450 L를 가하고, 0.2 N Folin-Ciocalteu' s phenol reagent 2.5 ml와 7.5% Na₂CO₃ 2ml를 첨가하여 50 °C에서 5 분간 반응시켰다. 이를 방랭 후 UV/Vis spectrophotometer (Beckman coulter Inc., CA, USA)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 3 회 반복 측정하였으며, 표준검량선 $y = 10.573x(R^2 = 0.998)$ 을 이용하여 gallic acid 상당량 (GAE)으로 계산하였다. 오디추출물과 녹차추출물의 총 페놀함량은 각각 건량기준 13.15 ± 0.23, 41.08 ± 0.58 mg GAE/ g이다.

(라) 폴리페놀-단백질 조합별 상호작용 특성 탐색

0.2%(w/v)농도의 단백질용액을 water bath에서 40 °C, 120 rpm, 1 시간 shaking 해준 후 0.2%의 폴리페놀 추출물을 첨가 후에 저온(4 °C), 상온(25 °C), 고온(40 °C)에서 각각 24 시간

반응시킨다. 반응 후의 침전물을 거르기 위하여 5500 rpm에서 원심분리해준 후 0.2 um 실린지 필터로 걸러준다. 마지막으로 상등액의 총 페놀함량을 측정하여 대조군 대비 감소한 단백질 첨가군의 총 페놀함량을 %로 계산하였다.

(2) 단백질 가수분해효소를 적용하여 폴리페놀-단백질 상호작용의 저해효과 평가

(가) 재료

Sigma aldrich사의 protease from *Streptomyces griseus*(type XIV, $\geq 3.5\text{U/mg}$)을 사용하였다.

(나) 단백질 가수분해효소를 적용하여 폴리페놀-단백질 상호작용 저해효과 평가

제조된 0.1% 단백질용액에 1 U/ml의 Protease from *Streptomyces griseus*를 첨가해준 후, 최적온도인 40 °C에서 2 시간 반응시킨다. 그 후에 폴리페놀 추출물을 첨가하여 준 후 24 시간 반응시킨다. 다음으로 5500 rpm에서 원심분리, 침전물을 0.2 um 실린지 필터로 걸러준다. 마지막으로 총 페놀함량을 측정하여 대조군 대비 감소한 단백질 첨가군의 총 페놀함량을 %로 계산하였다.

나. 연구결과

(1) 폴리페놀-단백질 조합별 haze formation을 통한 분광학적 탁도 비교

Pea protein isolate(PPI)와 오디 추출물 사이의 interaction은 저온(27.99%)에서 고온(11.75%)보다 많이 일어나는 것을 확인할 수 있었으며, Gelatin과 Tannic acid interaction 역시 온도가 높아질수록 상호작용이 줄어드는 경향을 볼 수 있었다. 하지만 Gelatin과 Tannic acid 사이의 상호작용은 고온(80.40%), 저온(87.08%) 등 온도에 의한 영향을 크게 받지 않아 넓은 온도범위 내에서 강력한 상호작용을 가지는 것을 알 수 있었다. 반면에 PPI와 녹차추출물의 상호작용은 고온(31.06%)에서 저온(26.39%)보다 잘 일어나는 것으로 보아 온도가 높아질수록 강한 상호작용을 지니는 것을 알 수 있었다.

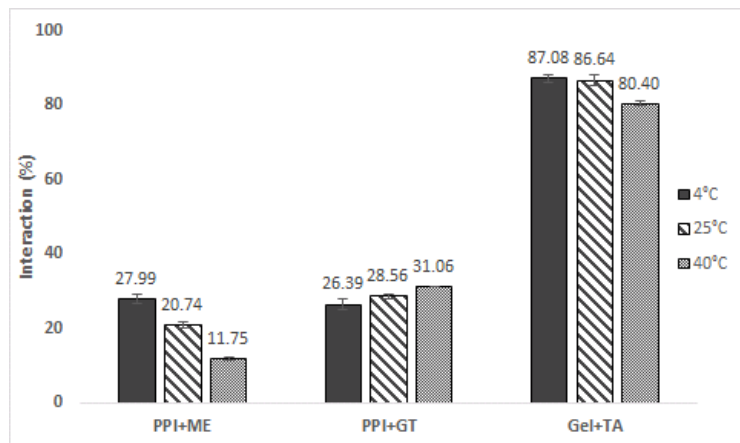


그림 103. 폴리페놀-단백질 조합별 haze formation을 통한 분광학적 탁도 비교.

(2) 단백질 가수분해효소를 적용하여 폴리페놀-단백질 상호작용의 저해효과 평가

폴리페놀-단백질 상호작용은 단백질 가수분해효소(protease)를 첨가한 군에서 모두 감소하는 경향이 나타났다. 그 이유는 단백질이 가수분해 됨에 따라 분자량이 작아지게 되어 결합 시 침전되는 haze가 적어져 결과적으로 0.2 um syringe filter로 여과 시 여과가 되지 않기 때문이라고 사료된다. 오디추출물은 PPI와 효소를 첨가하였을 군의 경우(6.58%) 효소를 첨가하지 않은 군(11.75%)에 비해 상호작용이 크게 저해되는 것을 관찰할 수 있었으며, 녹차추출물 역시 효소를 첨가하였을 때(15.74%), 효소를 첨가하지 않은 군(31.06%)에 비해 상호작용이 많이 저해되는 것을 볼 수 있었다. 하지만 gelatin과 tannic acid는 타군에 비하여 더욱 강력한 상호작용을 가지기 때문에 효소를 첨가한 군(75.37%)이 효소를 첨가하지 않은 군(80.40%)에 비하여 감소하긴 하나 효소에 의해 큰 저해효과를 나타내진 않았다.

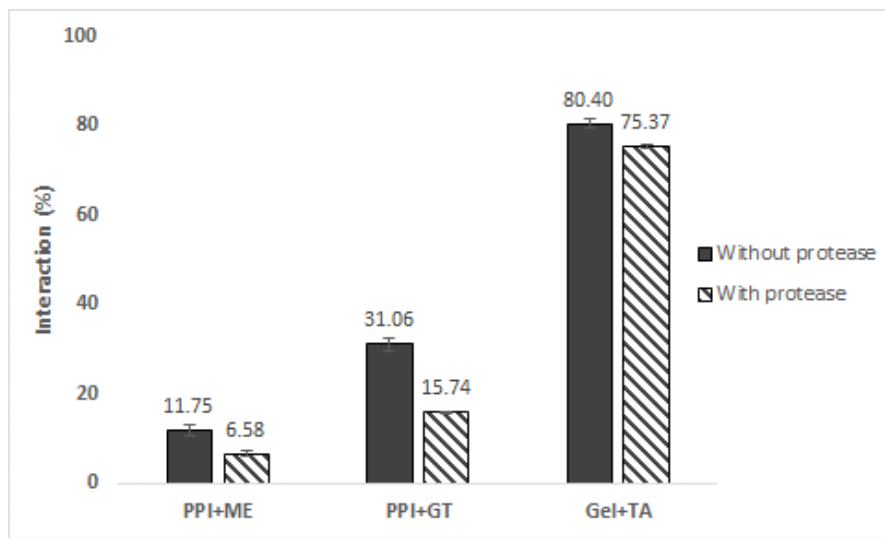


그림 104. 단백질 가수분해효소를 적용하여 폴리페놀-단백질 상호작용의 저해효과 평가.

4. 제면 시 폴리페놀/단백질 금원으로서의 기능성 전곡립 첨가 효과 평가

가. 실험방법

(1) 폴리페놀과 단백질 첨가량에 기준을 맞춰 제면 파우더의 배합비 확립

밀가루와 쌀가루는 농심미분사의 면용 5호를 사용하였으며, pea protein isolate(PPI)는 Roquette사의 NUTRALYS® pea protein 제품을 사용하였고, 감자전분은 Emsland group의 제품, 염화나트륨은 Sigma aldrich사의 제품을 사용하였다.

(2) 제조된 면 제품의 이화학적 특성 관별

(가) 제면공정재료

제면 파우더의 배합비에 물 또는 추출물을 첨가하여 반죽의 수분함량을 40%로 맞추어준 후,

Kitchen Aid mixer를 이용하여 10 분간 반죽한다. 압연기(Yongma machinery)를 이용하여 면 반죽의 두께가 1 mm가 되도록 만들어준다. 면 너비가 2 mm가 되도록 절출해준 뒤, 반죽을 호화시켜주기 위하여 100 °C 전자찜기 (Tefal)를 이용하여 10 분간 증숙한다. 마지막으로 유탕기(KFR-1201, Kaiser)를 이용하여 150 °C 팜유에서 90 초간 유탕하여 준다.

(나) 면 반죽의 반죽특성 관찰

면 반죽의 반죽특성을 관찰하기 위하여 Rheometer(AR1500ex, TA Instrument)에 pasting cell을 연결하여 사용하였다. 시료는 면반죽을 사용하였으며, 동결건조 후 분쇄, 그리고 100 mesh체에 거른 시료를 사용하였다. Pasting cell에 시료 3 g과 물 25 ml를 넣어 분석하였으며, 실험조건은 50 °C - 90 °C - 50 °C(heating-cooling)로 진행하였다.

(다) 면 반죽의 열적특성 관찰

면 반죽의 열적특성을 관찰하기 위하여 differential scanning calorimetry(DSC 200 f3 maia, NETZSCH)를 사용하였으며, 각각의 시료는 aluminum pan(100 DSC, NETZSCH)에 5 mg 넣었으며, 3차 증류수 15 ul를 첨가해준 후 밀봉하였다. pan은 상온에서 3 시간 동안 수화시켰으며, 시료는 20 °C에서 100 °C까지 관찰하였으며, 가열속도는 10 K/min, reference는 비어있는 pan을 사용하였다.

(라) 면의 구조적특성 관찰

증숙 전의 면을 동결건조한 후, field emission scanning electron microscopy (FE-SEM)(S-4700, Hitachi)를 사용하여 면 표면의 구조적 특성을 관찰하였다. 시료는 aluminum stub 위에 carbon tape와 백금도금된 ion sputter coater(15 nm, E-1030, Hitachi)를 사용하여 붙여 40, 150, 500 배 확대하여 표면구조를 관찰하였다.

(마) X-ray 회절을 이용한 면 반죽의 결정구조 관찰

X-ray powder diffractometer(D.MAX-2500/PC D5005, Rigaku Corporation)을 이용하여 면 반죽의 전분 결정구조를 관찰하였으며, 실험을 진행한 회절각(2θ)은 5-40 ° 이며, diffraction intensity는 40 KV 그리고 100 mA이다.

(바) 면의 텍스처 특성 관찰

면의 텍스처 특성을 관찰하기 위하여 texture analyzer(TMS-Pro, Food Technology Co.)를 이용하였으며, 면은 약 5 cm 길이로 잘라 끓는 물에서 4 분 30 초간 끓여준 후 tension test를 진행하였다. Rmax값은 면이 늘어나 끊어질 때의 힘을 나타내며, extensibility(E)값은 면이 끊어지기 전까지의 최대 늘어난 거리를 나타낸다.

(사) 압연면의 Cooking loss 측정

25 g의 유탕 면을 200 ml 물에 cooking time(4 분 30 초)동안 끓인 후 체를 이용하여 건져 준다. 끓인 후의 유탕 면을 20 ml 3차 증류수를 이용하여 씻어주며 끓인 물과 씻어낸 물을 모아준다. 마지막으로 모은 물을 105 °C 드라이오븐에서 항량 시킨 뒤 cooking loss를 계산하여 준다.

$$\text{Cooking loss (\%)} = \frac{\text{항량 후의 무게}}{\text{압연면의 무게}} \times 100$$

식 9. Cooking loss 계산식

나. 연구결과

(1) 폴리페놀과 단백질 첨가량에 기준을 맞춰 제면 파우더의 배합비 확립

(가) 제면 파우더의 배합비

제면 파우더의 배합비는 모든 면에 9%의 감자전분과 1% 염화나트륨을 넣어준 상태에서 control인 밀면의 경우 밀가루가 90%를 포함하고 있다. 쌀면은 밀가루 20%를 쌀가루로 대체한 군이며, 마지막으로 PPI면은 쌀면 파우더에 PPI가 밀가루를 추가로 10% 대체한 군이다. 자세한 제면 파우더의 배합비는 표 146에 나타내었다.

표 146. 폴리페놀과 단백질 첨가량에 기준을 맞춘 제면 파우더의 배합비 확립

Sample	Flour (% w/w)				NaCl
	Wheat	Rice	PPI	Potato starch	
Wheat noodle	90	-	-	9	1
Rice noodle	70	20	-	9	1
PPI noodle	60	20	10	9	1

(2) 제조된 면 제품의 이화학적 특성 판별

(가) 면 반죽의 반죽특성 관찰

면 반죽을 분석하였을 때 쌀가루를 첨가한 군이 밀가루 면에 비하여 반죽의 점도가 높아지는 것을 보았으며, 추가로 단백질을 첨가할 경우 점도가 낮아지는 현상을 확인할 수 있었다. 또한, 오디 추출물을 첨가하였을 때 추출물 내의 당의 영향으로 인하여 대조군에 비해 반죽의 점도가 낮아지는 것을 확인할 수 있었으며, 노화정도 역시 줄어들음을 확인할 수 있었다.

표 147. 오디추출물 첨가 반죽의 반죽특성

Sample	RVA parameters					
	Peak viscosity (Pa•s)	Hold viscosity (Pa•s)	Break down (Pa•s)	Final viscosity (Pa•s)	Set back (Pa•s)	Peak temp. (°C)
Wheat	2.33±0.05 ^b	1.28±0.02 ^b	1.05±0.02 ^{ab}	2.90±0.05 ^a	1.62±0.03 ^a	94.0±0.14 ^a
Wheat+ME	2.28±0.04 ^b	1.25±0.01 ^b	1.03±0.02 ^b	2.69±0.03 ^b	1.44±0.01 ^c	94.0±0.31 ^a
Rice	2.49±0.05 ^a	1.35±0.03 ^a	1.15±0.02 ^a	3.01±0.04 ^a	1.67±0.02 ^a	94.4±0.00 ^a
Rice+ME	2.52±0.12 ^a	1.37±0.05 ^a	1.10±0.13 ^a	2.90±0.09 ^a	1.53±0.03 ^b	94.4±0.64 ^a
PPI	2.18±0.07 ^b	1.26±0.03 ^b	0.92±0.05 ^b	2.69±0.05 ^{bc}	1.45±0.06 ^c	93.0±0.07 ^b
PPI+ME	2.18±0.02 ^b	1.23±0.00 ^b	0.95±0.01 ^b	2.57±0.00 ^c	1.34±0.00 ^d	93.1±0.07 ^b

ME : Mulberry Extract, PPI : Pea protein isolate

(나) 면 반죽의 열적특성 관찰

밀가루에 비해 쌀가루, PPI가 호화개시온도가 높기 때문에 밀가루의 함량이 줄어들수록 호화개시온도가 높아지는 것을 확인할 수 있다. 또한 폴리페놀 추출물 첨가 시에도 호화개시온도가 높아지는 것을 볼 수 있었다. 그리고 쌀가루를 첨가하면 엔탈피 변화량이 증가하였으며, PPI를 첨가할 경우 엔탈피변화량이 감소하였다. 이러한 경향은 powder형태의 원재료의 영향을 받기 때문이라 사료된다. 마지막으로 폴리페놀 추출물을 첨가할 경우 엔탈피 변화량이 감소하는 것을 볼 수 있었다.

표 148. 폴리페놀 추출물 첨가 반죽의 열적 특성

Sample	T ₀ (°C)	T _P (°C)	T _C (°C)	ΔH (J/g)	
Wheat	56.2±0.4 ^e	63.9±0.4 ^c	71.7±0.1 ^e	8.191±0.1 ^b	
Wheat+ME	57.1±0.4 ^d	65.0±0.0 ^b	72.6±0.1 ^d	7.828±0.0 ^c	
Wheat+GE	56.2±0.1 ^e	64.0±0.4 ^c	71.4±0.4 ^c	7.266±0.3 ^d	
Rice	57.3±0.1 ^d	64.8±0.2 ^b	75.2±0.5 ^{abc}	8.694±0.1 ^a	
Noodle dough	Rice+ME	58.1±0.0 ^b	65.1±0.0 ^b	75.0±0.2 ^{cb}	8.260±0.1 ^b
	Rice+GE	58.0±0.1 ^{bc}	64.5±0.1 ^{bc}	75.0±0.2 ^{bc}	7.891±0.0 ^c
	PPI	57.5±0.1 ^{cd}	64.5±0.4 ^{bc}	75.5±0.3 ^{ab}	7.222±0.1 ^d
	PPI+ME	59.5±0.1 ^a	65.8±0.1 ^a	75.7±0.2 ^a	7.015±0.1 ^d
PPI+GE	59.1±0.4 ^a	65.0±0.3 ^b	74.7±0.1 ^c	6.494±0.0 ^e	

GE : Green tea Extract

T₀ : Onset temperature, T_P : Peak temperature, T_C : Conclusion temperature

표 149. Flour의 열적 특성

Sample	T ₀ (°C)	T _P (°C)	T _C (°C)	ΔH (J/g)
Wheat	56.3±0.2 ^d	64.0±0.2 ^d	71.2±0.5 ^c	9.24±0.0 ^c
Rice	59.9±0.1 ^c	68.4±0.1 ^b	75.2±0.1 ^b	15.13±0.3 ^a
Potato starch	60.6±0.1 ^b	65.5±0.1 ^c	71.5±0.1 ^c	13.48±0.2 ^b
PPI	65.2±0.4 ^a	85.6±0.6 ^a	92.6±1.1 ^a	6.75±0.1 ^d

(다) 면의 구조적특성 관찰

FE-SEM을 사용하여 면 표면의 구조적 특성을 보았을 때, 밀면이 쌀면의 network보다 더 잘 형성한 것으로 확인되며, PPI를 추가로 첨가하였을 때 network를 잘 형성하는 것으로 관찰되었다. 또한 폴리페놀 추출물을 추가로 첨가하였을 때 대조군에 비해 폴리페놀-단백질 상호작용으로 인하여 구조가 촘촘히 형성된 것으로 관찰된다(그림 105).

(라) X-ray 회절을 통한 면 반죽의 결정구조 관찰

밀가루와 쌀가루와 같은 가루 형태의 원물에서는 날카로운 peak를 보이거나, 면 반죽의 peak

은 여러 전분이 섞임에 따라 intensity가 낮아지는 것을 확인할 수 있었으며, 폴리페놀-단백질 상호작용이 전분의 결정형에는 영향을 미치지 않았다는 것을 알 수 있었다(그림 106).

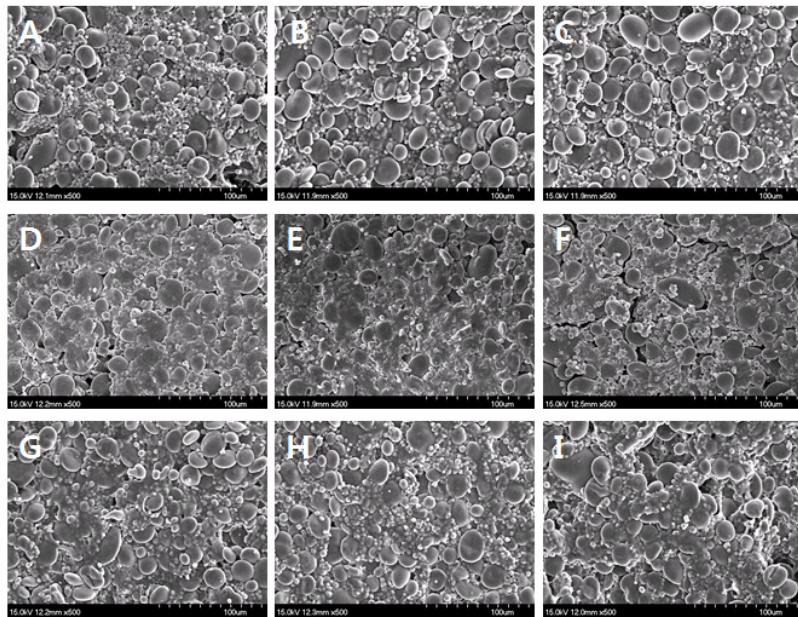


그림 105. 면의 구조적 특성 (500배).

A : Wheat noodle, B : Rice noodle, C : PPI noodle
 D : Wheat+ME noodle, E : Rice+ME noodle, F : PPI+ME noodle
 G : Wheat+GE noodle, H : Rice+GE noodle, I : PPI+GE noodle

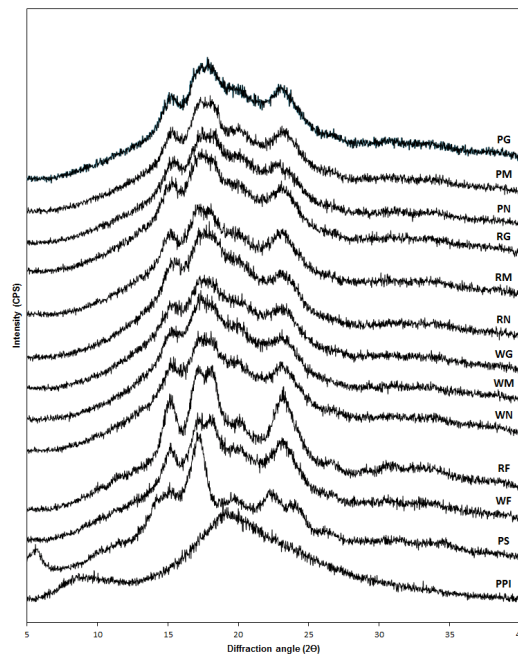


그림 106. X-ray 회절을 이용한 면 반죽 전분구조 관찰

PS : Potato starch, WF : Wheat flour, RF : Rice flour, WN : Wheat noodle
 WM : Wheat+ME, WG : Wheat+GE, RN : Rice noodle, RM : Rice+ME,
 RG : Rice+GE, PN : PPI noodle, PM : PPI+ME, PG : PPI+GE

(마) 면의 텍스처 특성 관찰

쌀가루를 첨가한 군의 탄성특성과 점성특성은 0.140 N, 9.15 mm로 밀가루 면에 비해 탄성과 점성이 감소하는 것으로 보아 면이 흐느적거리며, 쉽게 끊기는 특성 등을 확인할 수 있었으며, PPI를 첨가하였을 때 0.179 N으로 면의 탄성은 증가하는 것을 볼 수 있다. 하지만 밀가루의 함량이 줄어들어 따라 점성이 6.91 mm로 감소하는 특징을 보여 면의 품질이 좋지 않은 방향으로 변하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 PPI에 폴리페놀 추출물을 첨가한 군의 경우 대조군에 비해 탄성과 점성모두 증가하여 대조군에 비해 면의 품질향상에 도움이 되는 것으로 사료된다. 면의 점성 탄성 특성은 다음의 표 150에 나타내었다.

표 150. 면의 점성, 탄성 특성

Sample	Tensile strength	
	Rmax (N)	E (mm)
Wheat	0.179 ± 0.001 ^a	13.31 ± 0.05 ^a
Wheat+ME	0.197 ± 0.015 ^{ab}	13.28 ± 0.29 ^a
Wheat+GE	0.188 ± 0.008 ^{ab}	13.80 ± 0.46 ^a
Rice	0.140 ± 0.001 ^c	9.15 ± 0.28 ^b
Rice+ME	0.151 ± 0.007 ^c	9.95 ± 0.07 ^c
Rice+GE	0.150 ± 0.009 ^c	9.71 ± 0.45 ^{bc}
PPI	0.179 ± 0.003 ^a	6.91 ± 0.38 ^d
PPI+ME	0.197 ± 0.003 ^b	7.59 ± 0.01 ^e
PPI+GE	0.188 ± 0.004 ^{ab}	8.11 ± 0.06 ^e

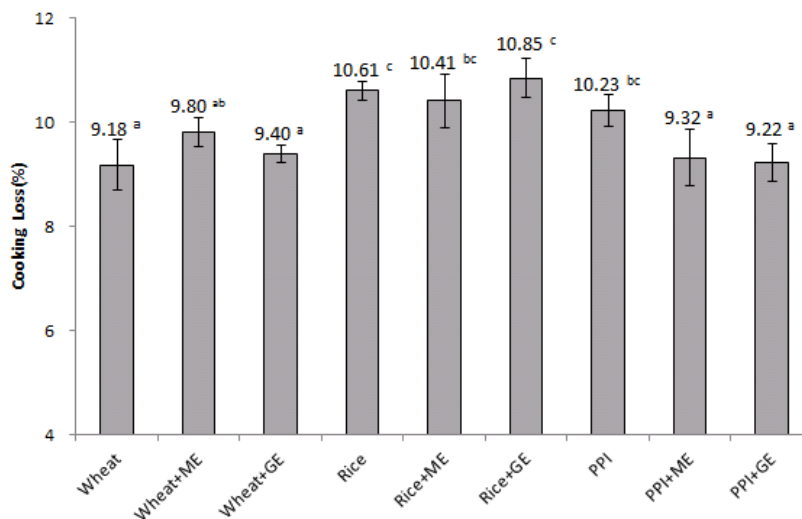


그림 107. 압연면의 Cooking loss.

(바) 압연면의 Cooking loss 측정

밀가루면의 cooking loss는 글루텐 network에 의하여 구조가 단단하여 9.18%로 낮게 유지됨을 관찰할 수 있다. 하지만 쌀이 첨가되면서 내부 면의 구조가 약해짐에 따라 cooking loss 역시 10.61%로 커지게 되는 것을 확인할 수 있다. 하지만 PPI가 첨가되면서 면의 구조가 견고하게 되어 cooking loss 역시 줄어들고, 또한 폴리페놀 추출물이 첨가될 경우 폴리페놀-단백질 상호작용이 형성됨에 따라 면의 구조가 더욱 견고하게 되어 오디추출물, 녹차추출물을 첨가한 군의 cooking loss가 밀가루 면에 견주는 9.32, 9.22%까지 감소하는 것을 알 수 있었다. Cooking loss에 대한 자세한 결과는 그림 107에 나타내었다.

5. 폴리페놀-단백질-전이효소처리 복합공정에 따른 제면 특성에 미치는 영향 탐색

가. 실험방법

(1) 전이효소처리 제면공정

전이효소처리 제면공정은 그림 28과 같으며, 전이효소처리를 한 압연면의 최적 조건을 찾기 위해 전이효소처리하는 방법을 세가지로 나누어 실험을 진행하였다. 첫번째는 전이효소에 아무런 반응조건을 주지 않은 것이고 두번째는 dough 상태에서 반응시킨 것이며 세번째는 kneading 후에 반응시키는 것이었다. 반응 시간은 10 분, 20 분으로 나누어 진행하였다.

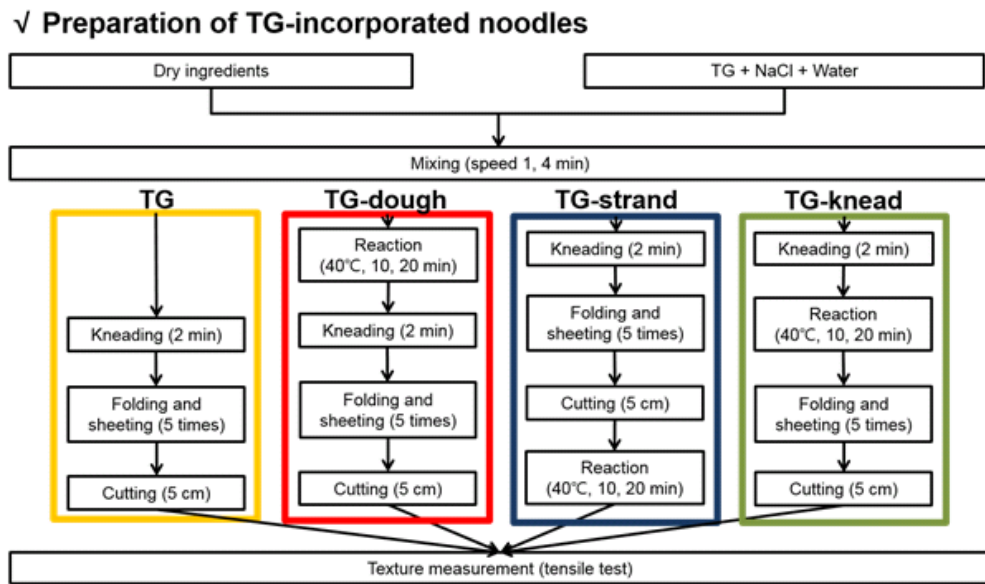


그림 108. 전이효소처리 제면공정.

(2) X-ray 회절을 통한 TG처리 면의 결정형 분석

X-ray powder diffractometer(D.MAX-2500/PC D5005, Rigaku Corporation)을 이용하여 TG 처리 면 반죽의 전분 결정구조를 관찰하였으며, 실험을 진행한 회절각 (2θ)은 5-40° 이며, diffraction intensity는 40 KV 그리고 100 mA 이다.

(3) TG 처리면의 단백질 전기영동 패턴 분석

전처리로 유탕 전의 transglutaminase(TG)처리 sample을 동결건조하였다. Sample 내의 단백질을 추출하기 위하여 buffer를 제조하였다. Buffer는 Tris-HCl buffer (pH 6.8)를 용매로 2%(w/v) SDS, 10%(v/v) glycerol, 3%(v/v) β -mercaptoethanol 그리고 0.01%(w/v) bromophenol blue를 첨가하였다. 그리고 1 ml buffer에 50 mg의 sample을 넣어준 후, 2.5 시간 vortexing하였다. 그리고 5분간 끓는 물에 중탕하여준 후, 3000 g로 5 분간 원심분리한 후 gel에 load하였다. gel은 1 mm 두께로, 12% separating gel과 4% stacking gel로 이루어져있으며, 전기영동은 stacking gel에서 80 V로 진행되며, separating gel에서는 120 V로 진행되었다. Precision Plus Protein™ Standards(Bio-Rad)를 standard marker로 사용하였다.

나. 실험결과

(1) X-ray 회절을 통한 TG처리 면의 결정형 분석

쌀가루, 밀가루 감자전분의 diffractometry는 sharp하게 나타나는 반면, TG처리 면 반죽의 peak은 여러 전분이 섞임에 따라 intensity가 낮아지는 것을 확인할 수 있었으며, 폴리페놀 - 단백질 상호작용이 전분의 결정형에는 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다(그림 109).

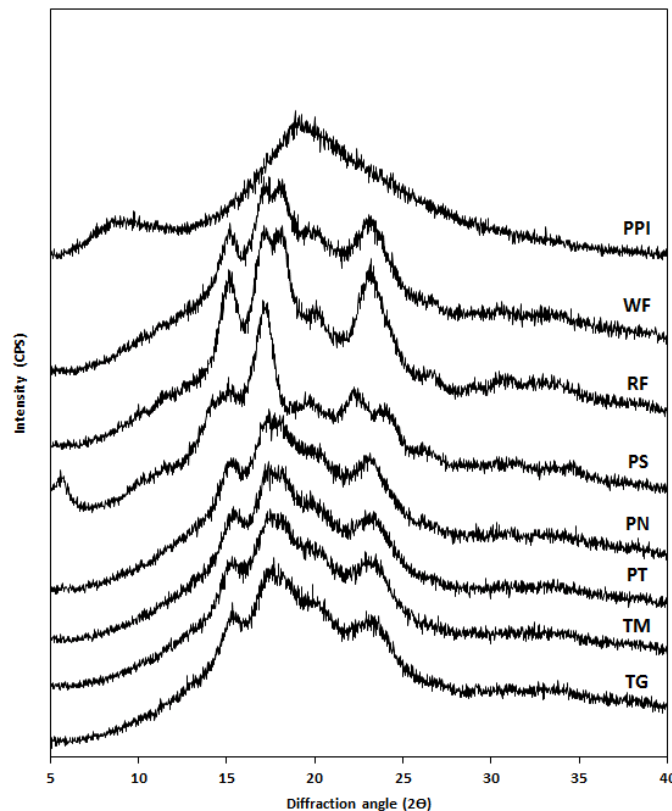


그림 109. X-ray 회절을 통한 TG처리 면 반죽의 전분구조 관찰.

WF : Wheat flour, RF : Rice flour, PS : Potato starch
PN : PPI noodle, PT : PPI+TG noodle, TM : PPI+TG+ME, TG : PPI+TG+GE

(2) TG 처리면의 텍스처 특성 관찰

전이효소의 반응시간이 0 분일 경우 viscous property가 감소되었고, 반응시간이 길어질수록 elastic property는 증가하고 viscous property는 감소하는 경향을 나타냈다. 먼대 형성 후 전이효소 반응 시에는 elastic property와 viscous property가 모두 감소하는 경향을 나타냈다. Dough 상태로 반응시킨 경우에는 elastic property가 증가하고 viscous property가 감소하는 것을 확인하였다. 결과적으로 전이효소를 kneading 후에 20 분간 최적온도인 40 ° C에서 반응시킨 후 면을 제조하면 면 반죽의 탄력을 증가시킬 수 있다(그림 110).

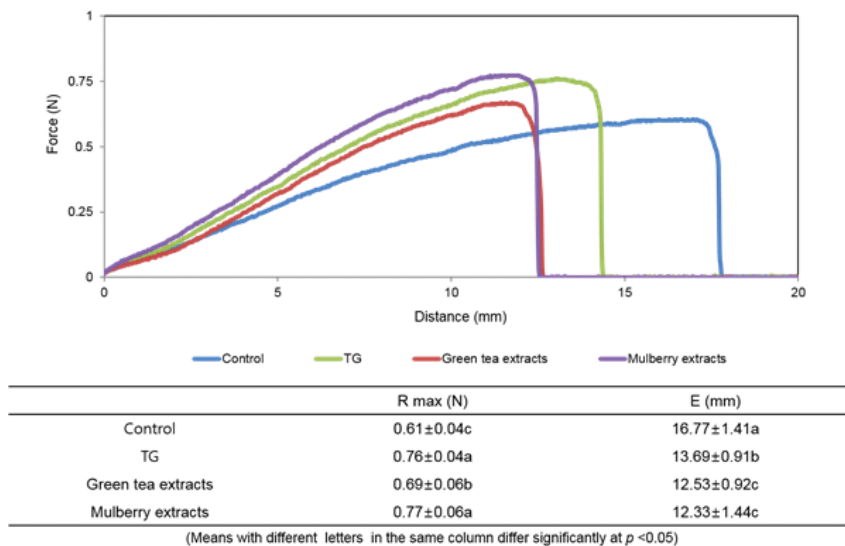
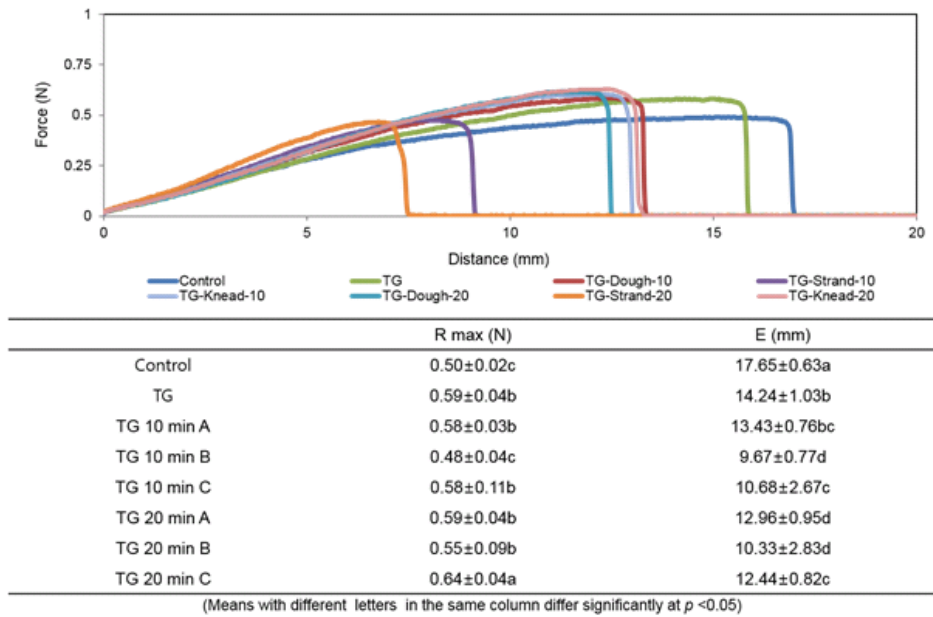


그림 110. 면의 텍스처 특성.

전이효소와 폴리페놀 추출물이 결합한 압연면의 경우 면 반죽의 탄력이 증가함을 확인하였다. 또한 viscous property의 경우는 대조군 대비 모두 감소하는 경향을 나타내었다.

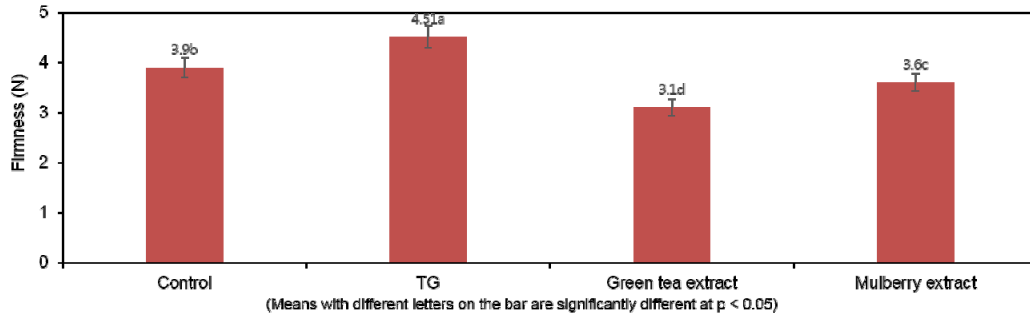


그림 111. TG 처리에 따른 면의 경도.

압연면의 firmness값의 경우 전이효소만의 첨가한 군의 경우 가장 높은 경도를 나타내었으며 전이효소와 폴리페놀 추출물이 결합한 군의 경우 모두 대조군 보다 낮은 경도를 나타내었다.

(3) 전이효소와 폴리페놀추출물 첨가에 따른 흡유 저장 효과 분석

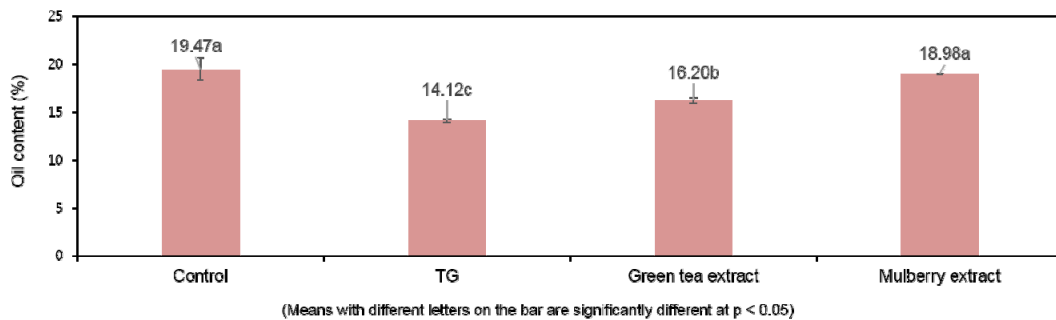


그림 112. TG처리에 따른 조지방 함량.

실험실에서 전이효소와 폴리페놀 추출물을 결합한 압연면을 제조한 경우 조지방 함량이 전이효소만 첨가한 군의 경우 가장 낮았으며, 전이효소와 폴리페놀 추출물이 결합한 군의 경우 증가하는 것을 확인하였다. 오디추출물 첨가 군의 경우 대조군과 통계적으로 유의적 차이가 없는 조지방 함량을 나타낸다.

(4) TG 처리면의 반죽 특성 관찰

면의 반죽특성을 알아본 결과 녹차추출물군의 경우 대조군 대비 노화정도가 줄어들음을 확인하였다.

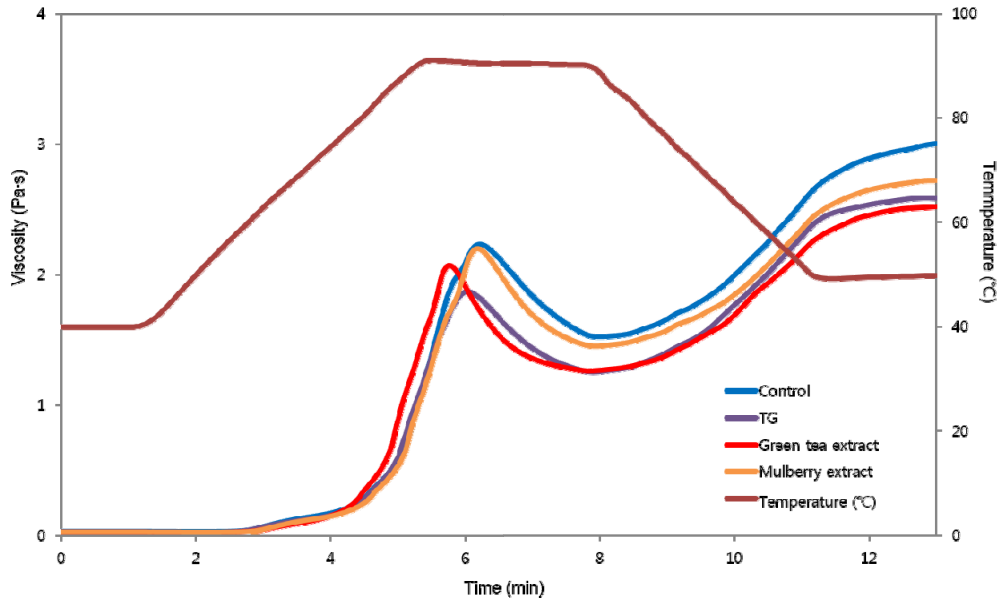


그림 113. TG처리에 따른 반죽의 반죽 특성.

(6) TG 처리에 따른 면의 열적 특성 관찰

DSC를 이용하여 면의 열적특성을 알아보았다. 면의 열적특성을 알아보기 위해 스팀하지 않은 면의 가루를 동결건조하여 전처리하였다. 그 결과 전이효소와 폴리페놀 추출물이 결합한 실험군의 경우 호화 시작 온도가 감소하는 경향을 나타내었다. 반면, 종결온도의 경우 증가하는 경향을 나타내었다. 호화 엔탈피의 경우 물을 폴리페놀 추출물로 대체한 실험군에서 가장 높은 값이 나타났다. 결과적으로 전이효소와 폴리페놀 추출물이 결합한 실험군의 경우 호화하기 위해 더 많은 시간과 열이 필요함을 확인하였다.

	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔH (J/g)
Control	59.40 ±0.10b	64.60 ±0.26b	70.30 ±0.00c	2.55 ±0.32bc
TG	58.07 ±0.71c	65.10 ±0.78ab	69.90 ±0.00d	3.33 ±0.49a
Green tea extract	58.77 ±0.38bc	65.20 ±0.52ab	70.63 ±0.06b	3.18 ±0.18ab
Mulberry extract	61.10 ±0.10a	65.80 ±0.30a	71.33 ±0.21a	2.25 ±0.08c

(Means with different letters in the same column differ significantly at $p < 0.05$)

그림 116. TG 처리에 따른 반죽의 열적 특성.

(7) TG 처리면의 단백질 전기영동 패턴 분석

시료의 전기영동 패턴을 분석하였을 때, TG를 처리를 하지 않은 군의 경우 TG처리를 한 군에 비해 분자량이 작은 단백질의 함량이 많은 것을 확인할 수 있었으며, TG처리를 하였을 때 분자량이 큰 단백질이 함량이 증가하였다. 이는 TG처리를 하였을 때, 폴리페놀-단백질 간의

비공유결합이 TG에 의해 공유결합으로 전환됨에 따라 저분자의 단백질이 폴리페놀과 결합하여 고분자의 화합물을 생성하는 것으로 사료된다.

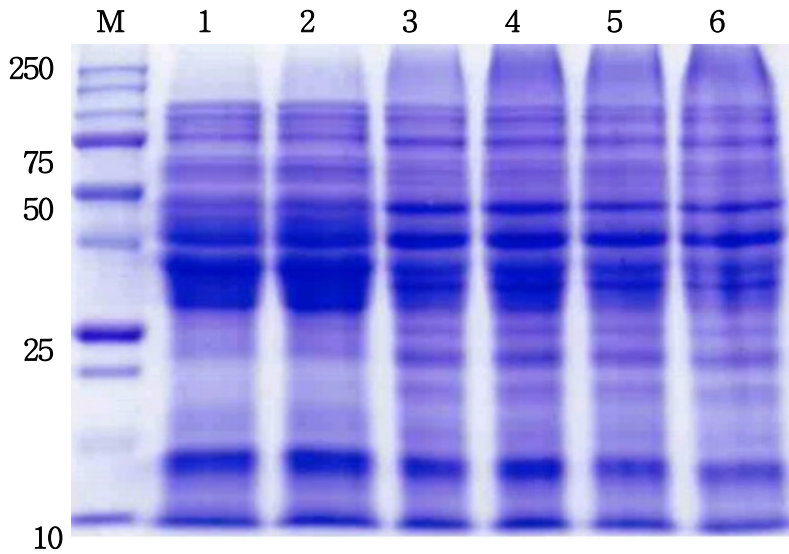


그림 114. TG 처리면의 단백질 전기영동 패턴.

1 : Wheat flour, 2 : Wheat noodle, 3 : Wheat+PPI noodle

4 : PPI+TG noodle, 5 : PPI+TG+ME noodle, 6 : PPI+TG+GE noodle

6. 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립을 활용한 제면 가공 신기능성 부여

가. 실험방법

(1) 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립을 활용한 압연면의 흡유 저감 효과 분석

(가) 폴리페놀계 천연 소재를 첨가한 전곡립(현미) 압연면 파우더 제조과정

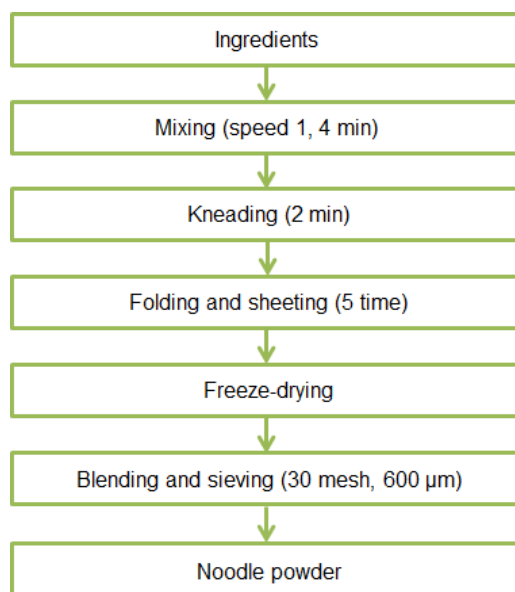


그림 115. 폴리페놀계 천연 소재를 첨가한 전곡립(현미) 압연면 파우더 제조과정.

폴리페놀계 천연 소재를 첨가한 전곡립(현미) 압연면 파우더 제조를 위해 배합을 계량 후 압연면 제조 공정에 따라 압연면을 제조하여 동결건조 및 분쇄한 분말을 사용하여 실험에 사용하였다.

(나) 압연면 파우더의 유지 흡착능 측정

전곡립 소재(현미)와 폴리페놀계 천연소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질을 사용하여 압연면을 제조하였다. 현미의 함량은 가루 대비 15%로 대체하였으며 건 재료 50 g에 소금 0.75 g을 녹인 물 혹은 추출물 20 g을 가해 Kitchen Aid로 섞어 손반죽하고, 국수기를 이용하여 압연면(두께 1.4 mm, 길이 10 cm)을 제조하였다. 동결 건조 후, 건조된 면을 곱게 갈아 30 mesh 체로 쳐서 실험에 이용하였다. 압연면 가루 0.5 g을 유지 6 ml와 섞어준 후, 3000 g 로 25 분간 원심분리하여 유지를 분리해낸 뒤 남은 침전물의 무게를 재어 이를 토대로 유지 흡착능을 계산하였다. 유지의 종류는 대두유, 카놀라유, 포도씨유, 올리브유, 해바라기씨유를 이용하여 유지의 종류에 따른 유지 흡착능을 비교하여 평가하였다.

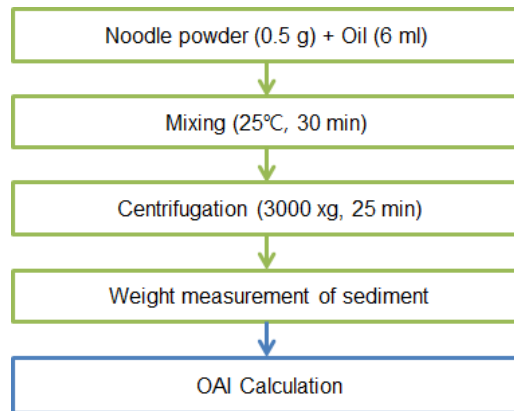


그림 116. 압연면 파우더의 유지 흡착능 측정 과정.

✓ Oil absorption index (OAI) = Sediment weight / Sample weight

식 10. 압연면 파우더의 유지 흡착능 계산식.

(다) 페이스트 특성 분석

전곡립(현미)의 함량에 따른 페이스트 특성을 분석하기 위해 starch pasting cell을 사용하여 측정하였다. 샘플을 9.8 % 농도로 만들어 50 ° C에서 1 분 동안 유지하고 3.75분 동안 95 ° C까지 증가시킨 다음 95 ° C에서 2.5 분간 유지시킴. 다시 3.75 분 안에 50 ° C까지 낮추었고 50 ° C에서 5 분간 유지시키면서 온도에 따른 점도 변화를 모니터링하였다.

(라) 열전도도 분석

폴리페놀 및 전곡립 소재의 열/물질 전달 특성을 분석하기 위해 열전도도 측정기를 이용하였다. 열전도도 측정을 위하여 샘플은 측정기의 센서 위에 올려놓고 무게 500 g의 추로 눌러

주었다. 샘플의 온도를 2 °C 가량 올리는 데에 필요한 전압이 측정되어 계산을 통해 열전도도가 측정되며, 열전도도는 K(W/m·K) 값으로 나타났다. 즉, 열전도도가 큰 물질일수록 이동한 열량이 크므로 열전달이 잘 이루어진다. 압연면 반죽은 무게 50 g의 밀가루와 무게 0.75 g의 소금, 무게 20 g의 물을 이용하여 반죽기로 두께 1.4 mm인 반죽을 제조하였고, 지름 4 cm인 원형 커터로 잘라 열전도도 측정에 이용하였다.

(마) 폴리페놀계 천연소재 및 단백 소재 활용 압연면의 흡유 특성 분석

폴리페놀계 천연소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질을 사용하여 현미 압연면을 제조하였다. 1.4 mm의 두께와 4 mm의 폭으로 절출한 10 cm 길이의 면을 16 가닥 씩 5 분간 스팀 처리하여 150 °C의 기름으로 50 초간 유탕한 후 1 시간 동안 상온에서 방냉시켜 실험에 이용하였다. Soxhlet 방법을 이용해 압연면을 6 시간 동안 Diethyl ether로 추출하여 유지 함량을 통해 흡유 특성을 분석하였다.

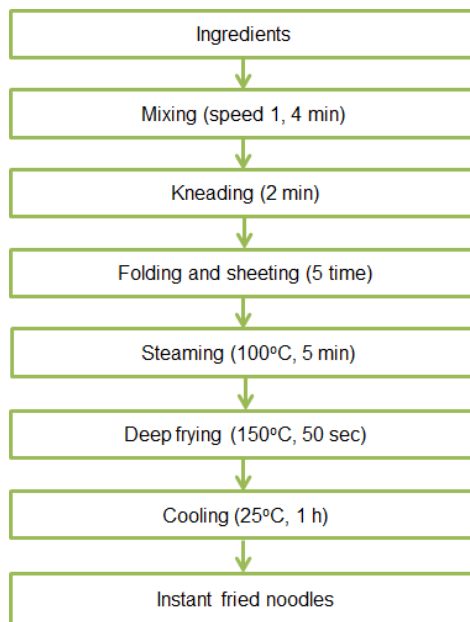


그림 117. 폴리페놀계 천연 소재를 첨가한 전곡립(현미) 압연면 제조과정.

(바) 압연면의 파괴응력 분석

Texture analyzer를 이용하여 Three-point bending test를 통하여 압연면의 경도 및 파괴 응력 측정을 실시하였다. 4 cm 떨어져 있는 두 지지대 위에 압연면을 올려놓고 0.5 cm 두께, 2 cm 길이의 probe로 속도를 50 mm/min 으로 하여 눌러주면서 압연면이 부러질 때까지 필요한 가장 큰 힘 값을 경도(Firmness)로 측정하여 평가하였다.

$$\sqrt{\text{Breaking stress (N/mm}^2\text{)}} = \frac{3FL}{2WT^2}$$

F: Applied force (N)
 L: Length (mm)
 W: Width (mm)
 T: Thickness of noodle sample (mm)

식 11. 현미 압연면의 파괴 응력 계산식

(사) 압연면의 산패 지연 효과 분석

압연면의 산패 지연 효과를 분석하기 위하여 가속실험을 진행하였다. 이를 위하여 60 ° C dry oven에서 저장을 하였고 4 주간 7 일에 한 번씩 과산화물가 (meqO2/kg,POV)를 측정하여 녹차추출물에 의한 유지 산패지연효과를 확인하였다. 조지방은 Accelerated solvent extractor (Dionex™ ASETM 350, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용해 추출하였다. 용매는 석유에테르는 Daejung사의 시약을 사용하였으며, 실험방법은 다음과 같다. 조지방을 아세트산:클로로포름 혼합액 (3:2) 25 ml에 녹인 후 포화 요오드화칼륨 수용액 1 ml를 첨가하여준 후 암실에서 10 분간 보관하고, 그 후 30 ml 증류수를 넣어준 다음에 지시약으로 1% soluble starch 1ml 넣은 후 마지막으로 0.01 N 티오황산나트륨 수용액 (F=1.000)을 사용하여 적정하였다.

(아) 압연면의 신장 특성 분석

Kieffer extensibility rig를 이용한 Tensile test로 압연면의 조리 후 신장 특성을 분석하였다. 속도 3.3 mm/s로 50 mm까지 면을 잡아당겨 잡아당긴 거리에 따른 힘 값을 측정하였으며, Rmax 값과 E 값을 통해 신장특성을 분석하였다. Rmax 값은 면이 끊어지기까지 필요한 가장 큰 힘을 나타내며, E값은 Rmax값이 측정되기까지 이동한 거리를 나타낸다.

나. 실험결과

(1) 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립을 활용한 압연면의 흡유 저감 효과 분석

(가) 폴리페놀 및 전곡립 소재의 식용유지에 대한 유지흡착능 평가

① 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)를 첨가한 전곡립(현미) 압출면의 유지 흡착능 분석

표 151. 폴리페놀계 천연 소재 첨가에 따른 전곡립(현미) 압연면의 유지 흡착능

	Con	Green tea+PPI	Mulberry+PPI
Soybean oil	2.08±0.03a	2.03±0.04a	2.06±0.07a
Canola oil	2.07±0.04a	2.05±0.05a	2.09±0.06a
Grape seed oil	2.04±0.03a	2.07±0.04a	2.11±0.07a
Olive oil	2.11±0.08a	2.08±0.03a	2.19±0.07a
Sunflower oil	2.11±0.08a	2.04±0.06a	2.09±0.02a

(Means with different letters in the same row differ significantly at p <0.05)

실험 결과, 유지의 종류에 관계없이 유지 흡착능에 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 폴리페놀계 천연소재의 종류에 따라서도 차이를 보이지 않았다. 따라서 유지 흡착능은 유지의 종류

에 따라 쉽게 영향 받지 않으며, 폴리페놀계 천연소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질의 상호 작용이 유지 흡착능에 영향을 미치지 않는 것으로 분석되었다.

표 152. 전곡립(현미) 함량에 따른 압연면의 유지 흡착능

	Con	15% Brown rice	30% Brown rice
Soybean oil	1.82±0.00b	1.84±0.00a	1.84±0.00a
Canola oil	1.84±0.02a	1.86±0.02a	1.86±0.00a
Grape seed oil	1.87±0.03a	1.86±0.01a	1.89±0.01a
Olive oil	1.88±0.02a	1.91±0.01a	1.89±0.02a
Sunflower oil	1.88±0.01ab	1.84±0.00b	1.88±0.03a

(Means with different letters in the same row differ significantly at $p < 0.05$)

전곡립(현미)의 함량을 15%와 30%으로 하여 유지흡착능을 측정한 결과, 대두유를 이용하였을 때 현미로 밀가루를 대체함에 따라 유지 흡착능이 증가하는 경향을 보였으며 대체 함량에 따른 차이는 보이지 않았다. 다른 종류의 유지를 이용하였을 때에는 현미의 함량에 따른 어떠한 경향성을 찾을 수 없었다. 따라서 대부분의 유지를 이용할 때에는 현미의 사용에 따라 유지 흡착능에 큰 차이를 보이지 않으며 대두유를 이용하였을 때에 현미의 유지 흡착능이 높은 특성을 확인하였다.

(나) 전곡립(현미) 함량에 따른 페이스트 형성능 분석

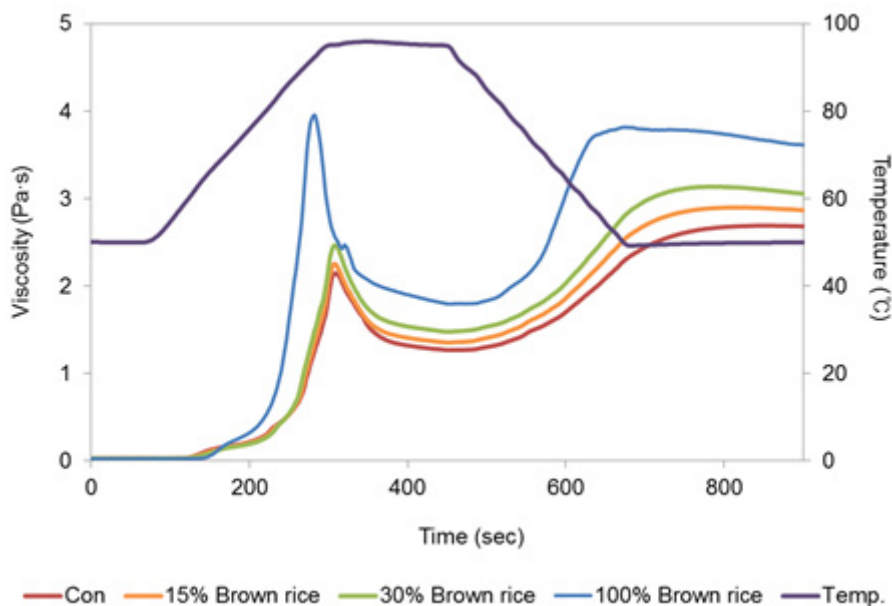


그림 118. 전곡립(현미) 함량에 따른 페이스트 형성능 profile.

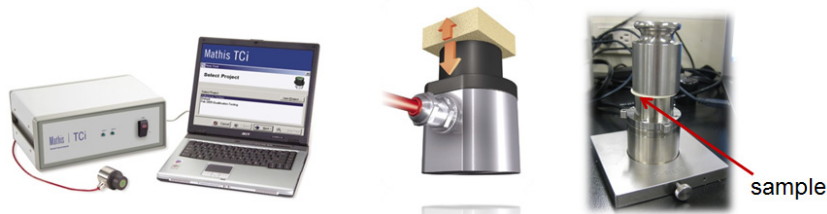
표 153. 전곡립(현미) 함량에 따른 페이스트 점도

	Con	15% Brown rice	30% Brown rice	100% Brown rice
Peak viscosity (Pa·s)	2.15±0.04d	2.26±0.02c	2.47±0.02b	3.96±0.01a
Through viscosity (Pa·s)	1.27±0.01d	1.35±0.01c	1.48±0.01b	1.79±0.03a
Break down (Pa·s)	0.88±0.03c	0.91±0.02c	0.99±0.01b	2.17±0.03a
Final viscosity (Pa·s)	2.67±0.02d	2.83±0.00c	2.99±0.01b	3.58±0.01a
Setback (Pa·s)	1.40±0.01d	1.48±0.01c	1.51±0.01b	1.79±0.02a
Peak time (sec)	308.01±1.98a	307.35±1.15a	307.34±1.14a	281.66±1.15b
Pasting temp. (°C)	57.23±0.21b	56.90±0.50b	57.27±0.23b	60.57±0.23a

(Means followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$)

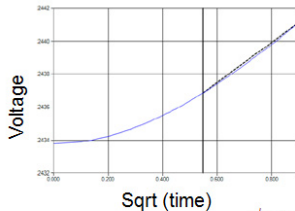
현미의 함량이 증가할수록 점도 값이 전반적으로 증가하는 경향을 나타낸다. 피크점도 값이 나타나는 시간은 빨라지며 호화 시작 온도도 빨라지는 것을 확인하였다. 이러한 결과는, 현미 내의 전분과 밀가루 내의 전분의 특성이 다르기 때문에 각 전분의 점도 특성이 다르게 나타난 것으로 보인다.

(다) 전곡립(현미) 함량에 따른 반죽의 열전도도 분석



< Thermal Conductivity Analyzer >

Application of a known current – temperature rise ($\leq 2^\circ\text{C}$) – voltage change



$$\Delta V = m (\text{time})^{1/2}$$

Voltage change can be correlated with thermal conductivity through a calibration with reference

Thermally insulative \uparrow → the steeper the voltage rise.

그림 119. 열전도도 측정기의 원리 및 사진.

표 154. 전곡립(현미) 함량에 따른 압연면 반죽의 열전도도

k (W/m·K)	Con	15% Brown rice	30% Brown rice
Before cooking	0.371±0.001Ba	0.354±0.001Bb	0.339±0.003Bc
After cooking	0.421±0.008Ab	0.420±0.004Ab	0.432±0.013Aa

(Means followed by different letters in the same column(AB) and row(abc) differ significantly at $p < 0.05$)

밀가루를 현미로 15, 30% 대체하여 압연면 반죽을 제조한 후, 조리 전과 후로 나누어 열전도도를 측정하였다. 조리 전 상태의 반죽에서는 현미로 대체할수록 열전도도 값이 낮게 나타나는 경향을 보인다. 이러한 경향으로 보아 현미가 밀가루에 비해 열전달을 방해하는 물질을 보다 많이 함유하고 있는 것으로 생각된다. 그러나 조리 후에는 15% 대체군에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으며 30% 대체군은 열전도도 값이 높게 나타난 것을 확인하였다.

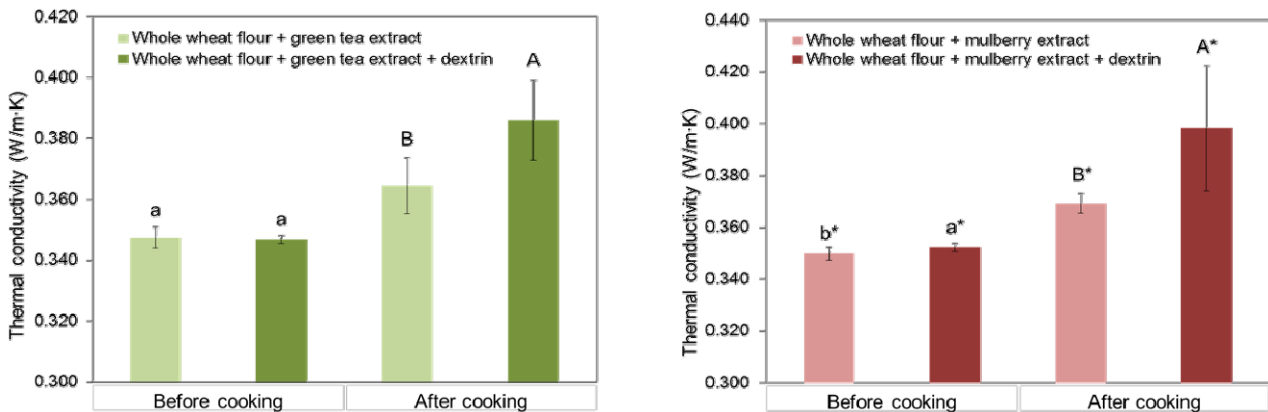


그림 120. 덱스트린 첨가에 따른 폴리페놀 및 전곡립(통밀)소재의 배합 압연면 반죽의 열전도도

폴리페놀 추출물로 녹차와 오디를 이용하고 통밀 대비 5%의 덱스트린을 대체한 통밀 배합 압연면 반죽을 제조한 후, 조리 전과 후로 나누어 열전도도를 측정하였다. 조리 전 상태의 반죽에서는 녹차추출물 첨가 군의 경우에는 열전도도 값에 차이가 나타나지 않았으나, 오디추출물 첨가 군의 경우에는 열전도도 값이 5% 덱스트린으로 대체된 실험군이 더 높은 값을 나타내는 경향을 나타내었으며 큰 차이는 나타나지 않았다. 그러나 조리 후에는 5% 덱스트린 대체군에서 녹차추출물과 오디추출물 모두에서 열전도도 값이 높게 나타난 것을 확인하였다.

(2) 폴리페놀 및 전곡립 소재의 배합에 따른 압연면 제조와 유탕처리에 따른 수분 손실도 및 흡유도 분석

(가) 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)를 첨가한 전곡립(현미) 압연면 제조 및 흡유 특성 분석

폴리페놀 추출물을 물 대신 사용하여 압연면 제조 후 흡유 특성을 분석하였다. 폴리페놀 추출물로 물을 대체함에 따라 흡유도가 감소하거나 비슷한 흡유량을 보인다. 녹차 추출물을 사용 시 흡유량을 감소 시켜 유당 중 흡유 저감화 효과가 있음을 확인하였다.

폴리페놀계 천연소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질로 제조한 현미 압연면의 경우 대조군에 비해 흡유도가 낮게 측정되었다. 이에 따라 폴리페놀계 천연소재와 콩 단백질의 상호 작용이 압연면의 흡유 저감에 긍정적으로 작용하는 것으로 확인되었다. 폴리페놀계 천연소재의 종류에 따른 흡유도 차이는 발견되지 않았다. 전곡립(현미)의 함량을 15, 30%으로 하여 압연면 제조 후 흡유 특성을 분석하였다. 현미의 함량이 늘어남에 따라 흡유도가 어떠한 차이를 보이지 않는 것을 확인하여 현미가 흡유 특성에 영향을 미치지 않는 것으로 파악되었다. 이러한 결과는 현미가 유지 흡착능에 별다른 영향을 미치지 않는 결과와 연관지어 생각해볼 수 있다.

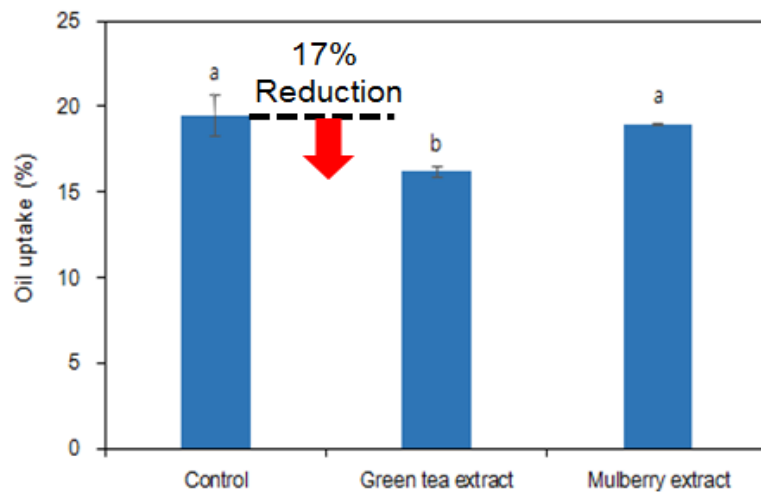


그림 121. 폴리페놀 추출물 대체에 따른 압연면의 흡유도.

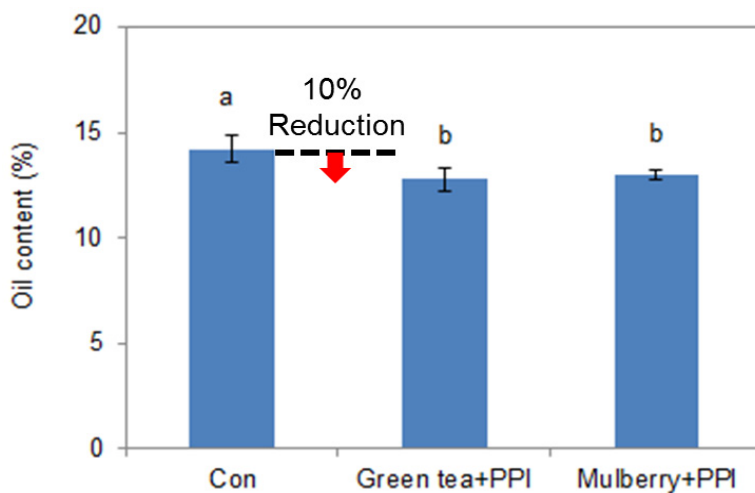


그림 122. 폴리페놀계 천연 소재 첨가에 따른 곡립(현미) 압연면의 흡유도.

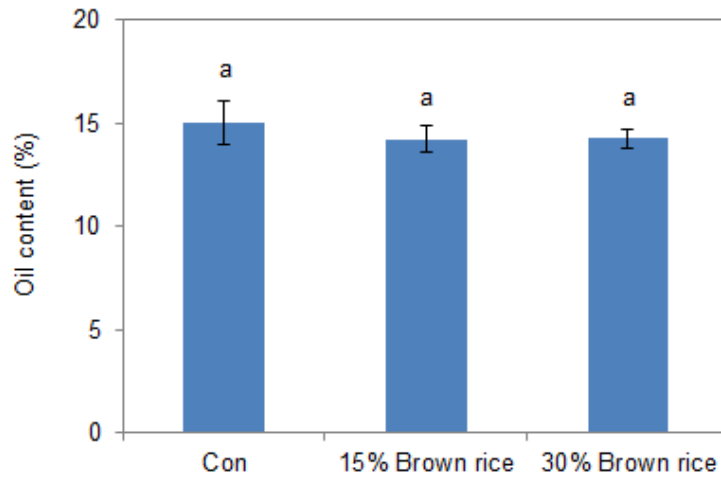


그림 123. 전곡립(현미) 함량에 따른 압연면의 흡유도.

(나) 폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)를 첨가한 전곡립(현미) 압연면의 수분 손실도 분석

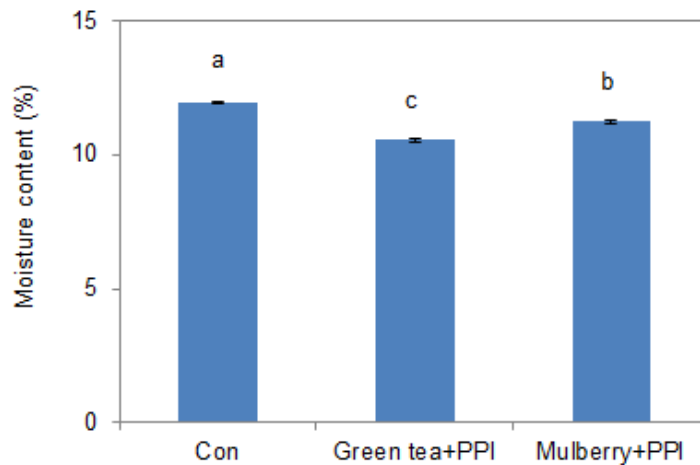


그림 124. 폴리페놀계 천연 소재를 첨가한 전곡립(현미) 압연면의 수분 손실도.

수분 손실도를 파악하기 위해 제조한 압연면을 105 °C의 dry oven에서 1 시간 동안 가열하여 수분함량을 측정하였다. 폴리페놀계 천연소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질을 사용하여 제조한 현미 압연면은 수분함량이 대조군에 비해 적게 나타났으며, 특히 녹차 추출물과 콩 단백질을 사용한 현미 압연면의 수분함량이 가장 낮게 나타났다. 이를 통해 폴리페놀계 천연소재(녹차, 오디 추출물)와 콩 단백질을 사용하였을 때 유탕 공정에 따른 수분 손실이 많이 발생하는 것으로 파악되었다.

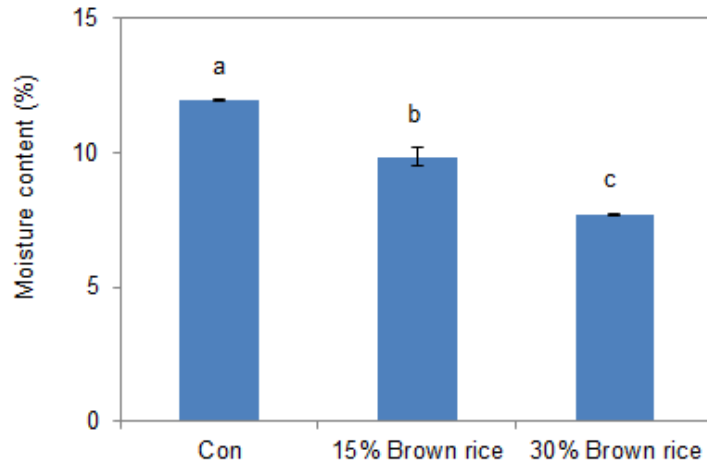


그림 125. 전곡립(현미) 함량에 따른 압연면의 수분 손실도.

전곡립(현미)의 함량을 늘려 압연면을 제조하였을 때 수분함량의 차이를 분석하였다. 대조군에 비해 현미로 대체하였을 때에 현미의 함량이 늘어남에 따라 수분함량이 감소하는 경향을 확인하였다. 따라서 밀가루를 현미로 대체할수록 압연면 제조 시 유탕 공정에 따른 수분 손실이 많이 발생하는 경향을 보인다.

(다) 전곡립(현미) 함량에 따른 압연면의 파괴 응력 분석

표 155. 전곡립(현미) 함량에 따른 압연면의 경도 및 파괴 응력

	Con	15% Brown rice	30% Brown rice
Firmness (N)	1.23±0.15b	1.32±0.09ab	1.41±0.05a
Breaking stress (N/mm ²)	18.85±2.28b	20.26±1.37ab	21.65±0.82a

(Means with different letters in the same row differ significantly at $p < 0.05$)

현미로 15, 30% 대체된 압연면의 경도와 파괴 응력 값이 높게 나타나, 물리적인 힘에 대한 저항력이 높은 것을 관찰하였다. 따라서 외부 충격이나 파괴에 대해 쉽게 손상되지 않을 가능성이 많을 것으로 생각된다.

(라) 전곡립(현미) 함량에 따른 압연면의 신장 특성 분석

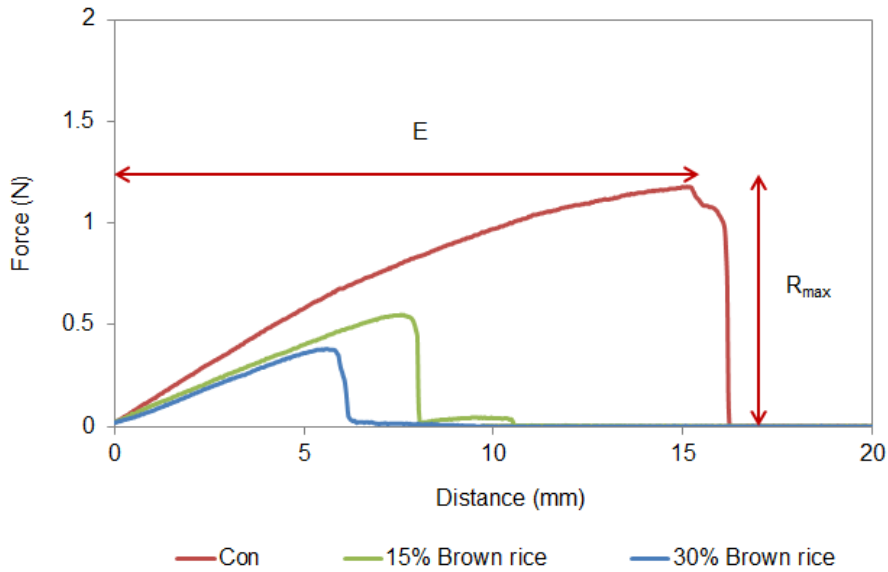


그림 126. 전곡립(현미) 함량에 따른 압연면의 신장특성.

표 156. 전곡립(현미) 함량에 따른 압연면의 신장특성 인자

	Con	15% Brown rice	30% Brown rice
R_{max} (N)	1.16±0.10a	0.55±0.03b	0.38±0.04c
E (mm)	13.85±3.43a	8.74±2.29b	4.84±1.44c

(Means with different letters in the same row differ significantly at $p < 0.05$)

압연면의 조리 후 신장특성을 측정된 결과, 밀가루를 현미로 15, 30% 대체하여 제조한 압연면은 현미의 함량이 증가함에 따라 R_{max} 값과 E값이 점차 감소하였다. 이러한 경향은 전곡립 소재로 대체될수록 글루텐 함량이 감소하고, 압연면을 형성함에 있어 전분이나 단백질 이외의 성분들에 의해 글루텐 네트워크 형성이 방해받기 때문에 신장특성이 낮게 나타난 것으로 생각된다.

(3) 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립 활용에 따른 압연면의 산패도 지연 효과 분석

(가) 폴리페놀 및 전곡립 소재 종류를 달리한 압연면 제조 및 저장 중 유지 산패도 분석

녹차추출물을 첨가하지 않고 통밀만을 추가로 첨가한 군의 경우 대조군과 비교하였을 때 산패지연의 효과가 적음을 확인하였다. 반면, 녹차추출물을 추가로 첨가한 실험군의 경우 대조군과 비교하였을 때 초반에는 비슷한 과산화물가를 나타내지만 시간이 지남에 따라 대조군과의

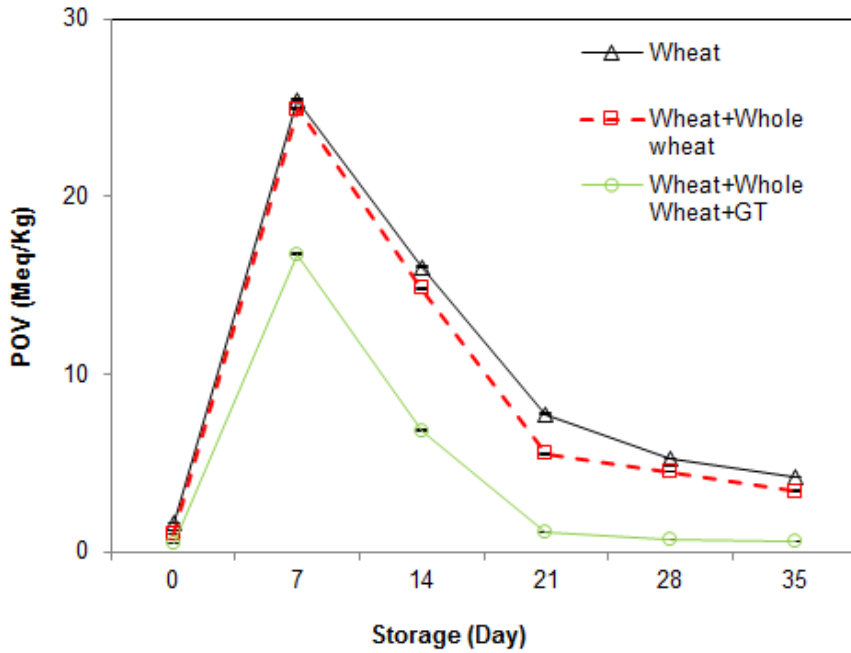


그림 127. 녹차추출물에 의한 유지의 산패 지연 효과.

확연한 차이가 나타나는 것을 확인하였다. 이 결과를 토대로 녹차추출물이 첨가되었을 때 추출물 내의 폴리페놀의 항산화효과에 의한 압연면 내의 유지가 산패 지연됨을 확인할 수 있었으며, 통밀 첨가에 따른 유지 산패지연효과는 미미하다고 판단된다.

(나) 폴리페놀 및 전곡립 함량을 달리한 압연면 제조 및 저장 중 유지 산패도 분석

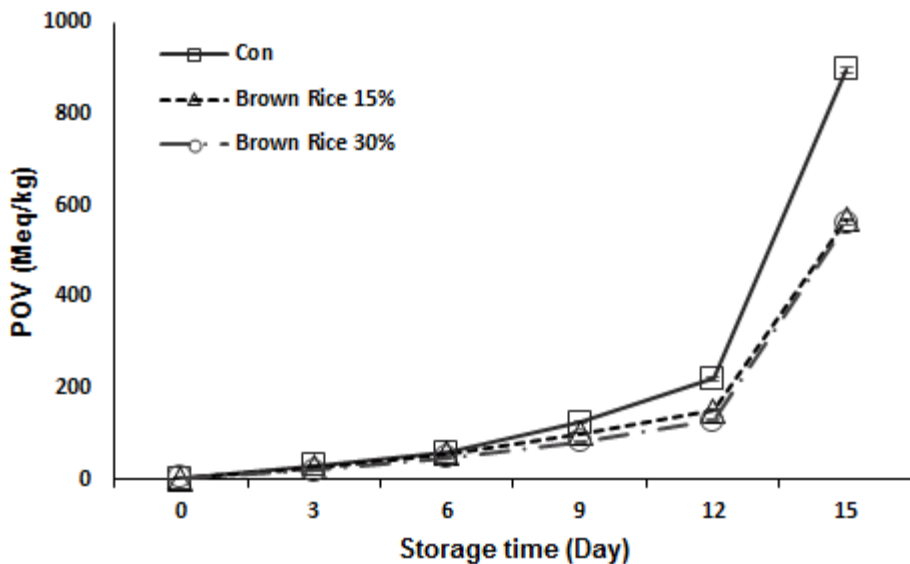


그림 128. 현미 함량에 따른 유지 산패지연 효과.

현미 첨가한 압연면을 제조한 후 이를 대두유를 사용하여 유당을 한 후 60 °C에서 저장을 하며 15 일간 3 일에 한 번씩 과산화물가를 측정하여 전곡립 소재에 따른 유당 제품의 유지 산패지연효과를 확인하였다. 에테르를 이용하여 조지방을 추출하였으며, 추출된 조지방을 이용

하여 과산화물가를 측정하였다.

압연면의 현미 첨가 실험군과 대조군 간의 유지 산패지연효과를 비교하였을 때 저장기간이 지남에 따라 현미를 첨가한 군의 산패가 지연되는 효과를 확인하였다. 하지만 현미 함량 차이 (15%, 30%)에 따른 산패지연효과는 확인할 수 없었다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 연차별 연구개발 목표 대비 달성도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2012)	[제1 세부과제] 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립을 이용한 고부가 제면 공정 확립 및 제품 개발	-곡류 제면 제조 공정 확립을 위한 압출성형 장치의 설비 개선	100%	-압출 성형기 die 구조 개선 -압출 성형기 screw 배열 제어
		-곡류 제면을 위한 전 처리 및 압출 공정 변 수(투입량, 유지 온도, 머무름 시간 등) 제어	100%	-곡류 원료의 수분함량, 소화도, 입도 등 전처리 변수 제어 -압출 성형기의 투입량, 온도, 머 무름 시간 등 공정 변수 제어
	[제1 위탁과제] Metabolomics 기반 폴리페놀 대사체 및 가공 중 변이 분석	-전곡류 품종별, 부위별 기능성 폴리페놀 대사 체의 추출 및 분석법 확립	100%	-밭아보리, 수수, 녹차, 오디, 복분 자를 시료로 하여 Water, 80% Ethanol 추출물에 함유된 폴리페 놀 대사체를 LC-MS/MS로 분석
		-폴리페놀 대사체의 non-targeted profiling	100%	-Metabolomics 기반 분석방법을 사용하여 천연물에 함유된 폴리 페놀 대사체의 non-targeted profiling 수행
	[제1 협동과제] 폴리페놀계 천연소재 및 전곡립을 활용한 곡류 제면 제품의 건강 기능성 개선	-폴리페놀 화합물 추출 조건 탐색 및 추출 최 적화	100%	-추출조건 인자별(pH, 온도, 용매 극성) 추출수율 비교 평가 -추출물의 총페놀 함량 분석 (Folin-Ciocalteu 's 방법)
		-추출물별 지표 폴리페 놀 선정 및 구조 동정	100%	-HPLC 분석을 통한 페놀화합물 프로파일링 및 주요 성분 정량 분석 -LC-MS 분석을 통한 주요 지표 페놀성 화합물 구조 동정
	[제2 협동과제] 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립의 글루텐 기능 구현을 통한 곡류 제면 제품의 가공 유효성 개선	-폴리페놀 및 전곡립 소재별 제면 반죽 형성 능 분석	100%	-폴리페놀 및 전곡립 소재의 반죽 형성을 위한 수화능 및 페이스트 형성능 평가 -Mixolab을 활용한 반죽 형성 특 성 분석, 온도에 따른 반죽 thermo-mechanical 특성 분석 및 밀가루와의 비교 평가
		-물리적/효소적 복합 처 리를 통한 글루텐 기능 구현 가능성 평가	100%	-물리적 처리에 따른 반죽 특성 분석 및 밀가루와의 비교 평가 -효소 처리 (Transglutaminase)에 따른 반죽 특성 분석 및 밀가루 와의 비교 평가
		-다각적 물성법을 통한 제면 형태에 따른 글루 텐 기능 구현 평가	100%	-Kiffer dough rig test를 통한 압 출면의 반죽 물성 평가 -Planar extensional test, stress relaxation test를 통한 압연면의 반죽 물성 분석

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성 도 (%)	연구개발 수행내용
2차 년도 (2013)	[제1 세부과제] 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립을 이용한 고부가 제면 공정 확립 및 제품 개발	폴리페놀 및 전곡립 소재의 제면 적용을 위한 배합별 제면 특성 평가	100%	-폴리페놀 배합률에 따른 압출면 특성 분석 -전곡립 배합률에 따른 압출면 특성 분석
		폴리페놀 및 전곡립 원료별 제면 시제품 생산	100%	-폴리페놀 원료별 압출면 및 압연면 제조 -전곡립 원료별(현미, 통밀, 보리 등) 압출면 및 압연면 제조 -글루텐 대체 소재 개발 대상 원료 선정
	[제1 위탁과제] Metabolomics 기반 폴리페놀 대사체 및 가공 중 변이 분석	가공 공정에 따른 기능성 폴리페놀 대사체 변이 분석 (Targeted analysis)	100%	-Metabolomics 기반 분석법을 이 용하여 가공공정에 따른 폴리페 놀 대사체 profiling
		물리 화학적 처리에 따른 기능성 폴리페놀 변이 규명	100%	-Metabolomics 기반하여 물리 화 학적 공정 적용에 따른 주요 폴 리페놀 대사체의 변이 규명
	[제1 협동과제] 폴리페놀계 천연소재 및 전곡립을 활용한 곡류 제면 제품의 건강 기능성 개선	전곡립 유래 폴리페놀류 및 단백질 추출 및 특성 탐색	100%	-전곡립 유래 폴리페놀 (발아보리, 수수) HPLC 분석을 통한 지표 폴리페놀 성분 선정 -곡류별 단백질 아미노산 조성 분석
		폴리페놀 추출물 및 전곡립의 <i>in vitro</i> 항산화 활성 평가	100%	-DPPH 및 ABTS 방법을 병용한 free radical scavenging 활성 측정
		폴리페놀 추출물 및 전곡립의 가공 안정성 평가	100%	-빛, 열 등 가공 중 노출 가능한 인자에 대한 구조 안정성 평가 -빛, 열 등 가공 중 노출 가능한 인자에 대한 항산화 활성능 변화 탐색
	[제2 협동과제] 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립의 글루텐 기능 구현을 통한 곡류 제면 제품의 가공 유효성 개선	폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립을 활용한 가용성물질 용출도 개선	100%	-폴리페놀계 천연 소재 첨가에 따른 가용성 물질 용출도 평가 -전곡립 기반 제면 제품의 가용성 물질 용출도 평가 -제면 형태(압출면/압연면)에 따른 가용성 물질 용출도 평가
		폴리페놀계 및 전곡립 소재의 열/물질 전달 분석을 통한 제면 제품의 복원력 개선	100%	-폴리페놀 및 전곡립 소재별 열전도도 측정 -폴리페놀 및 전곡립 소재별 조리 시간에 따른 수분 전달 특성 분석

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
3차 년도 (2014)	[제1 세부과제] 폴리페놀 천연 소재 및 전곡립을 이용한 고부가 제면 공정 확립 및 제품 개발	폴리페놀 추출물 생산 및 제면 스케일 향상	100%	-폴리페놀 추출물 생산 공정 최적화 -Pilot scale 제면 테스트 진행
		폴리페놀 추출물 적용 시제품 품질 특성 평가	100%	-Pilot 샘플 품질 조리적성 등 품질 특성 평가 -최종 샘플(압연, 압출면) 관능학적 특성 평가
	[제1 위탁과제] Metabolomics 기반 폴리페놀 대사체 및 가공 중 변이 분석	폴리페놀 추출물과 제면 특성의 상관 관계 분석	100%	-Metabolomics 기반 분석법을 이용하여 제면 시 관여하는 주요 대사체 분석
		폴리페놀-단백질 복합체 형성 주요 대사체 분석	100%	-오디 및 녹차 폴리페놀 중 단 백질 복합체 형성 기여 대사 체 분석
	[제1 협동과제] 폴리페놀-단백 질 상호작용 기작 탐색 및 폴리페놀/전곡 립을 활용한 곡류 제면 제품의 특성 평가	폴리페놀-단백질 간 상호작용 특성 탐색	100%	-폴리페놀-단백질 조합별 haze formation을 통한 분광학적 탁 도 비교 -단백질 가수분해효소를 적용하 여 폴리페놀-단백질 상호작용의 저해효과 평가
		제면 시 폴리페놀/단백질 급원 으로서의 기능성 전곡립 첨가 효과 평가	100%	-폴리페놀과 단백질 첨가량에 기준을 맞춰 제면 파우더의 배 합비 확립. -제조된 면 제품의 이화학적 특 성 판별
		폴리페놀-단백질-전이효소처 리 복합공정에 따른 제면특성 에 미치는 영향 탐색	100%	-전이효소처리 복합공정에 따른 제면 파우더의 배합비 확립. -제조된 면 제품의 이화학적 특 성 판별
	[제2 협동과제] 폴리페놀 천연 소재 및 전곡 립을 활용한 제면 가공 신 기능성 부여	폴리페놀 천연 소재 및 전곡립 을 활용한 압연면의 흡유 저감 효과 분석	100%	-폴리페놀 및 전곡립 소재의 식용유지에 대한 유지흡착능 평가 -폴리페놀 및 전곡립 소재별 조리 시간에 따른 수분 전달 특성 분석
		폴리페놀 및 전곡립 소재의 배 합에 따른 압연면 제조와 유탕 처리에 따른 수분 손실도 및 흡유도 분석	100%	-폴리페놀계 천연 소재(녹차, 오디 추출물)를 첨가한 전곡립(현미) 압연면 제조 및 흡유 특성 분석 -폴리페놀 천연 소재 및 전곡립 활용에 따른 압연면의 산패도 지연 효과 분석

제 2절 관련 분야에의 기여도

- 국내 쌀면 시장에서 압출면이 가장 큰 부분을 차지하고 있어, 다양한 회사에서 관련 제품이 제조 출시되고 있다. 하지만, 공통적으로 가용성 물질 용출, 펄집성, 오랜 조리시간과 같은 품질 상의 문제점을 내포하고 있지만, 이를 개선하기 위한 노력은 거의 전무한 실정이다.
- 본 연구를 통하여 얻어진 조리 중 가용성 용출 저감화 방법 및 조리시간 단축 기술은 기존 제품에 적용되어 품질을 개선할 수 있는 방안으로 이용될 수 있다.
- 전곡립을 이용한 제면 제품의 경우 매우 드문 실정이며 특히, 현미를 활용한 쌀 압출면은 국내 시장에서는 전무한 실정이다. 따라서, 본 연구에서 제조된 현미 압출면은 관련 분야의 새로운 시도로서 평가될 수 있다.
- 폴리페놀계 천연 소재 및 전곡립을 압연면에 적용하여 유당 중 흡유 특성을 분석하여 유당 중 지방이 저감화되는 결과를 얻어, 국내의 제면시장에서 가장 큰 시장을 차지하고 있는 압연면에 적용 가능성을 보여주었다.
- 압연면과 같이 기름에 튀긴 유당처리 식품은 저장 중 공기에 의한 산화반응으로 품질 상 문제점을 야기할 수 있다. 따라서, 본 연구를 통하여 얻어진 폴리페놀 및 전곡립 활용에 따른 산패 저감화 결과는 압연면뿐만 아니라 다양한 유당처리 식품에 적용되어 품질 개선에 활용될 수 있을 것이다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1절 연구개발 성과

1. 논문게재 성과

가. Effect of dry- and wet-milled rice flours on the quality attributes of gluten-free dough and noodles. 2013. Journal of Food Engineering. 116(213-217)

나. Quality improvement of rice noodle restructured with rice protein isolate and transglutaminase. 2014. Food Chemistry. 145(409-416)

다. Optimizing conditions for extracting polyphenols and antioxidant activities from Korean berries and green tea. 2014. Food Science and Technology. 46(410-417)

라. Utilization of Lentinus edodes mushrooms b-glucan to enhance the functional properties of gluten-free rice noodles. 2014. LWT- Food Science and Technology. 55(627-631)

마. Functional Characterization of Brown Rice Flour in an Extruded Noodle System. 2014. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 57(435-440)

바. Development of a gluten-free rice noodle by utilizing protein-polyphenol interaction between soy protein isolate and extract of Acanthopanax sessiliflorus. 2015. Journal of the Science of Food and Agriculture. (Accepted)

사. Utilization of brown rice flour as a functional ingredient in instant fried noodles. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. (published on-line)

2. 학술발표 성과

가. 한국식품과학회(천안, 한국)

① Optimization of polyphenolextraction from korean berries and green tea and identification of major polyphenol compounds. 2013. 한국식품과학회 (천안, 한국)

② Utilization of brown rice flour as a gluten-free ingredient in extruded noodles. 2013. 한국식품과학회 (천안, 한국)

③ Non-targeted profiling of polyphenol metabolites in various polyphenol-rich food using

LC-ESI-Ion trap-MS/MS. 2013. 한국식품과학회 (천안, 한국)

나. 한국산업식품공학회(전주, 한국)

① Metabolomic profiling of protein precipitating polyphenols in mulberry (*Morus bombycis* var. *rubricaulis* UYEKI) using LC-ESI-Ion trap-MS/MS. 2013. 한국산업식품공학회 (전주, 한국)

다. IFT (Chicago, USA)

① Effect of brown rice flour on the quality attributes of gluten-free extruded noodles. 2013. IFT (Chicago, USA)

② Production of a high quality rice noodle by utilizing polyphenol-protein interaction between ogaja extract and soy protein isolate. 2013. IFT (Chicago, USA)

라. 한국식품과학회 (광주, 한국)

① Development of gluten-free rice noodle by utilizing protein-polyphenol interaction between pea protein isolate and the green tea extract. 2014. 한국식품과학회 (광주, 한국)

② Effect of emulsifiers on the quality attributes of extruded brown rice noodles. 2014. 한국식품과학회 (광주, 한국)

마. 한국산업식품공학회 (서울, 한국)

① Effect of extrusion variables and hydrocolloids on the cooking quality of extruded rice noodles. 2014. 한국산업식품공학회 (서울, 한국)

바. IUFoST (Montreal, Canada)

① Metabolomic profiling of protein precipitating polyphenol in green tea using LC-ESI-Ion trap-MS/MS. 2014. IUFoST (Montreal, Canada)

② Optimizing extraction and identification of polyphenols in Korean mulberry, raspberry and green tea and their relationship with antioxidant activities. 2014. IUFoST (Montreal, Canada)

③ Utilization of brown rice flour as a gluten-free ingredient for health-functional extruded noodles. 2014. IUFoST (Montreal, Canada)

사. 한국식품과학회 (부산, 한국)

① Combined effect of Transglutaminase and Polyphenol Extracts on the Rheological and Noodle-Making Properties of Wheat flour. 2015. 한국식품과학회 (부산, 한국)

② Metabolomic analysis for the contribution of polyphenol extracts in rice noodle preparation. 2015. 한국식품과학회 (부산, 한국)

아. Whole grain summit (Portland, USA)

① Impact of whole-grain flour on the rheology, oil-resisting property, and in vitro starch

digestibility of instant noodles. 2015. Whole grain summit (Portland, USA)

3. 특허 성과

가. 버섯 유래 식이섬유를 포함하는 쌀 반죽 또는 이로부터 제조된 쌀 면
(출원: 10-2013-0060855, 등록: 10-1519606)

나. 현미 압출면의 제조방법
(출원: 10-2013-0064841)

다. 아임계 가속용매추출법을 이용하는 베리류 및 녹차 추출물이 포함된 가공적성이 증진된 면류의 제조방법 및 이를 활용한 면류 제품
(출원: 2014-0066743)

라. 제인을 함유하는 쌀면 및 그 제조방법
(출원:10-2015-0109586)

4. 수상 성과

가. 2013 대학원생 우수논문 선발대회 우수상 수상 (한국식품과학회 80차 학술대회. 2013년 8월 29일)

나. 2013 대학원생 우수포스터 선발대회 우수상 수상 (한국식품과학회 80차 학술대회. 2013년 8월 30일)

제 2절 성과활용 계획

- 제면 식품 산업 분야에 활용이 용이한 다양한 형태의 폴리페놀 천연 신소재 개발함.
- 전곡립을 이용한 기능성 소재 생산 가공기술의 다각화 및 관련분야의 학문 발전에 기여.
- 전곡립에 관한 기초 특성과 가공적성의 자료를 확보하고 전곡립 소재를 다양한 식품에 활용 할 수 있는 기반 마련함.
- 폴리페놀 및 전곡립의 가공적성 평가를 통한 가공적성 향상 기술력 제고.
- 폴리페놀 및 단백질 복합체 활용을 통한 글루텐 대체 소재 가능성 확인 및 적용방안 확대.
- 압연면의 신기능 향상(흡유 저감, 산패 지연 등)을 위한 신규 폴리페놀 소재 적용 방안 탐색.
- 다양한 형태의 폴리페놀 천연 신소재 개발을 통한 식품 산업 분야에서의 활용처 탐색.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

글루텐은 밀 뿐 아니라 보리 등 곡류 및 다양한 식품에 함유된 단백질로서 밀가루를 주 재료로 만들어지는 파스타, 케이크, 빵, 쿠키 등의 다양한 식품에 함유되어 있다. 또한, 밀가루 음식뿐 아니라 소스, 시리얼, 젤리, 시럽, 고추장, 간장 등의 식품에 유화제나 농후제 등의 목적으로 곡류가 자주 사용되므로 이런 식품들에도 글루텐이 포함되어 있을 수 있다.

글루텐프리 시장은 미국의 경우 (2013년 기준) 12.1억 달러 이르는 글루텐 프리 시장을 형성하였는데 2009 -2013년 동안 연 50%의 연간 성장을 기록하고 있다. 특히, 글루텐 프리 시장은 틈새 시장으로서 2012년 2,000 중 이상의 제품이 출시되어 이를 활용하고자 하는 기술 개발이 활발히 진행되고 있다.

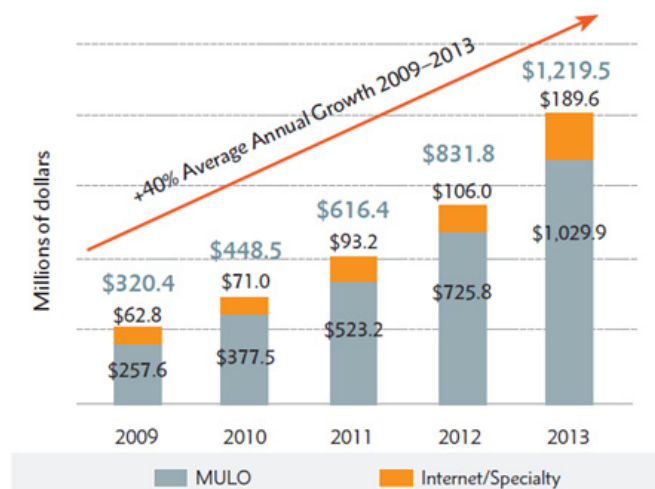


그림 129. 글루텐 프리 시장의 연간 매출 (단위: 백만달러).

미국의 경우 밀을 섭취했을 때 불편함을 호소하는 사람이 약 6%로 추정되고 있으며, 이들은 셀리악병을 포함하여 밀 알레르기(allergy)와 글루텐 과민증(sensitivity)을 가진 사람들로 알려져 있다. 글루텐프리 식품은 이처럼 글루텐이 포함된 음식을 섭취했을 경우 예민한 증상을 일으키는 사람들에게 도움이 되는 식품으로 인식되고 있다.

최근 글루텐프리 식품이 일반인에게 일종의 ‘건강식품’으로 각광받는 분위기로서, 소비자들이 글루텐프리 식품을 선택하는 가장 큰 이유는 셀리악병 등의 글루텐 불내증이 아니라 건강개선 때문이라는 조사 결과가 발표되었다.

2007년 미국 FDA에 의하면 글루텐프리라는 명명을 하기 위해서는 wheat, rye, barley에서 유래한 원료를 포함하지 말아야 하며, 특히 글루텐 함량이 20 ppm 이하이어야 한다.

또한 New Codex Alimentarius Standards 에 의하면 글루텐 프리 식품에는 글루텐이 20mg/kg을 초과하지 말아야 한다고 정의하고 있다.

표 157. 글루텐프리 식품에 적용될 수 있는 식품 원료

Allowed		Not allowed	
Cereals	Corn Rice Sorghum Oat*	Cereals	Wheats (Splt, semolina, durum)
Minor cereals	Fonio Teff Millet Teosinte Job's tears		Rye
Pseudo-cereals	Buckwheat Quinoa Amaranth		Barley
Vegetables			Triticale
Fruits			
Pulses			
Nuts			Kamut
Other plant foods	Tapioca Soybean Potato Root crops		Malt
Vegetable oils			

전곡립(whole grain) 제품에 대한 소비자 선호도 증가하고 있는데, 이에 따라 전 세계 whole grain 시장은 지속적으로 확대되어 2017년도에는 276억 달러에 이를 것으로 예측되고 있다. 특히, 북미 소비자의 경우 제품을 구입 시 구매 요인으로 whole grain 함유가 중요하다는 인식이 증가하고 있는데, 이에 따라 전곡립 제품에 whole grain stamp를 사용하는 제품이 늘어나고 있어, 전 세계적 44개국에서 10,500 종류의 제품에 Whole grain stamp가 사용되고 있다. Whole grain 제품의 다양성이 확대되고 있으며 특히, 2000년 이후부터 급격히 증가하였고, Whole grain을 이용한 빵, 씨리얼, 파스타의 소비가 빠르게 증가하는 경향을 보이고 있다.



그림 130. Whole grain stamp.

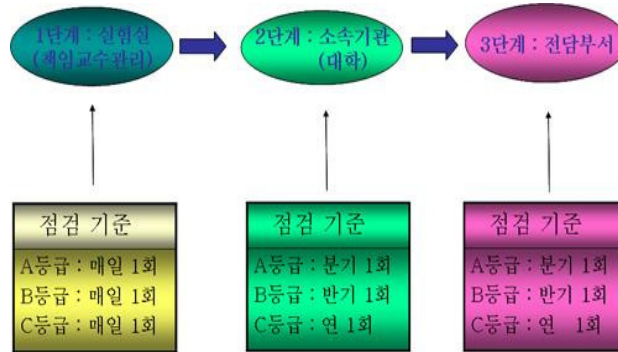
제 7 장 연구시설·장비 현황

-해당사항 없음

제 8 장 연구실 안전관리 이행실적

제 1절 연구실 안전 점검 체계 및 실시

1. 실험실 안전 점검 체계



※ 위험등급별로 환경안전점검을 단계별로 체계화하여 관리

※ 관리위험등급의 지정

- A등급 : 가연성가스, 인화성 시약, 유해화학물질, 다량의 폐액배출, 독극물, 생물 및 동물, 방사성 동위원소, 위험성이 높은 기계장비가 설치된 실험실
- B 등급 : 일반시약, 소규모 인화성 시약, 불연성가스, 소량의 폐수발생실험실
- C 등급 : 이화학실험을 수행하지 않는 전기, 설계, 컴퓨터 관련 실험실

가) 실험실 정밀안전진단 실시

- 대상 : 연구실 안전환경 조성에 관한 법률 제15조(미래창조과학부), 연구개발활동에 유해화학물질 관리법 제2조 7호에 따른 유해화학물질을 취급하는 연구실, 산업안전보건법 제39조에 따른 유해인자를 취급하는 연구실, 과학기술부령이 정하는 독성가스를 취급하는 연구실
- 실험실 정밀안전진단 실시 : 2년마다 1회 실시하여 미래창조과학부에 보고

나) 실험실 정기점검 실시

- 실험실 정기점검 실시 : 1년마다 1회 실시하여 미래창조과학부에 보고

2) 교육 훈련

가) 개요 : 실험실의 안전을 확보하고 종사자의 건강을 보호하여 실험 및 연구활동에 기여하고, 또한 연구실 안전환경조성에 관한 법률에 의거하여 실험실의 환경안전교육이 의무화됨에 따라 이공계열 대학원생 및 연구원 등 관련자 전원은 연구실 안전교육을 의무적으로 수강

나) 교육대상 : 교수, 대학원생, 실험조교, 전문직원, 소속연구원, 실험참여 학부생 및 업체직원 등

다) 단계별 교육 이수과정 :

- 1단계 : 공통이수과목(등록실험실전체)
- 2단계 : 특수실험실

라) 교육구분

- 정기교육 : 온라인 안전교육 또는 집체 안전교육 (6시간) 실시, 신규 등록 시(8시간)
- 비정기 임시교육 :
 - o 대상 : 새로운 실험과정의 신설시, 연구소의 신설시, 교육 미 이수자(신입 대학원생, 전담직원, 연구원, 업체직원, 유해물질 취급자 등)
 - o 방법 : 사이버 교육 환경안전교육 등(홈페이지 개설 동영상교육), 자료/유인물, 외부 온라인상, 외부강사, 전문교육기관의뢰 등
- 특별교육: 해당기관에서 자체 또는 외부의 전문기관에 의뢰하여 위탁교육 실시

3. 보험 가입 현황

보 험 명	보 상 내 용	대 상	주관부서
재산종합보험 (종합패키지 보험)	재산종합위험담보 :2조 5천 6백억원 (신체배상책임보험 특별약관포함)	피보험자	관리처 (건설개발과)
	대인대물일괄 : 20억원-사고당	전체	“
	제3자 치료비 보상:1천만원/인당, 8천만원/사고당	제3자 보상	“
	학생교내외치료비:1천5백만원/인당, 8천만원/사고당	학생	“
학생단체 상해보험 (경영자배상책임보험)	상해사망, 후유장해 : 2억원 의사상자 상해위험 : 1억원 상해, 후유정도에 따른 보상 : 약관보상 연구활동종사자보험 포함(특별약관)	학부생, 대학원생	학생지원처 (학생과)
교직원 단체안심보험	사망, 후유장해, 질병사망 : 1억원/인 의료비지원 - 암치료비 : 1천만원/인당 - 입원의료비지원 : 3천만원/인당 - 상해의료실비 : 2백만원/인당	교직원	총무처 (총무과)
상해보험	사망, 후유장해(1급시) : 1억원/인 상해 : 1천만원/인	연구활동 종사자	연구실 안전관리센터

4. 추가 이행 계획

가) 실험종사자 건강검진 및 보험 추가가입	1. 건강검진(특수실험실) 2. 상해보험추가가입검토(특수실험실)
나) 실험실 공기질 관리, 환기	유해물질농도 측정관리, 환기대책수립
다) 실험실 환경개선공사	노후 실험실 개선공사 시행
라) 특수위험 실험실에 별도의 소화설비 설치	위험성이 큰 실험실에 별도의 특수소화 설비를 설치하여 사고 확산을 예방
마) 유기용매 보관시설 설치 및 액체질소 통합관리	1. 보관창고를 설치하여 통합관리 2. 액체질소를 시약센터에서 통합관리
바) 실험실 환경안전지침 작성	보완작성
사) 고압가스 안전관리	안전시설 설치
아) 안전보호장비 시설 보완	안전보호장비와 안전표지 설치

제 9 장 참고문헌

1. Q. Wang, Y. Li, F. Sun, X. Li, P. Wang, J. Sun, J. Zeng, C. Wang, W. Hu, J. Chang, M. Chen, Y. Wang, K. Li, G. Yang and G. HE, (2015), Tannins improve dough mixing properties through affecting physicochemical and structural properties of wheat gluten proteins, *Food Research International* 69, 64-71
2. D.S. Lee, Y. Kim, Y. Song, J.H. Lee, S. Lee and S.H. Yoo, (2015), Development of a gluten-free rice noodle by utilizing protein-polyphenol interaction between soy protein isolate and extract of *Acanthopanax sessiliflorus*, *Journal of science of food and agriculture*
3. Agboola, S., Ng, D., & Mills, D. (2005). Characterisation and functional properties of Australian rice protein isolates. *Journal of cerealscience*, 41(3), 283-290.
4. Ahmedna, M., Prinyawiwatkul, W., & Rao, R. M. (1999). Solubilized wheat protein isolate: functional properties and potential food applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1340-1345.
5. Andjelković, M., Van Camp, J., De Meulenaer, B., Depaemelaere, G., Socaciu, C., Verloo, M., & Verhe, R. (2006). Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food Chemistry*, 98(1), 23-31.
6. Arendt, E., O'Brien, C., Schober, T., Gallagher, E., & Gormley, T. (2002). Development of gluten-free cereal products. *Farm and Food*, 12(2), 21-27.
7. Baxter, N. J., Lilley, T. H., Haslam, E., & Williamson, M. P. (1997). Multiple interactions between polyphenols and a salivary proline-rich protein repeat result in complexation and precipitation. *Biochemistry*, 36(18), 5566-5577.
8. Beecher, G. R. (2003). Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *The Journal of nutrition*, 133(10), 3248S-3254S.
9. Bhattacharya, M., Zee, S., & Corke, H. (1999). Physicochemical properties related to quality of rice noodles. *Cereal Chemistry*, 76(6), 861-867.
10. Biliaderis, C. G. (1983). Differential scanning calorimetry in food research—a review *Food Chemistry*, 10(4), 239-265.
11. Blazek, J., & Copeland, L. (2008). Pasting and swelling properties of wheat flour and starch in

relation to amylose content. *Carbohydrate polymers*, 71(3), 380–387.

12. Bourre, J.-M. (2006). Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the nervous system: update on dietary requirements for brain. Part 1: micronutrients. *Journal of Nutrition Health and Aging*, 10(5), 377.

13. Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317–333.

14. Carvalho, E., Pavoas, M. J., Mateus, N., & De Freitas, V. (2006). Application of flow nephelometry to the analysis of the influence of carbohydrates on protein-tannin interactions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(6), 891–896.

15. Chander, V., Tirkey, N., & Chopra, K. (2005). Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin protects against cyclosporine-induced nephrotoxicity through nitric oxide dependent mechanism. *Toxicology*, 210(1), 55–64.

16. Cherry, J. P. (1990). Peanut protein and product functionality. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(5), 293–301.

17. Choi JM, & JB, A. (2012). Functional Properties of 50% Methanol Extracts from Different Parts of *Acanthopanax sessiliflorus*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 44(3).

18. Chung, K. M., Moon, T. W., & Chun, J. K. (2000). Influence of annealing on gel properties of mung bean starch. *Cereal Chemistry*, 77(5), 567–571.

19. Cosme, F., Ricardo-da-Silva, J., & Laureano, O. (2008). Interactions between protein fining agents and proanthocyanidins in white wine. *Food Chemistry*, 106(2), 536–544.

20. Friedman, M. (1996). Food browning and its prevention: an overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(3), 631–653.

21. Fu, B. X. (2008). Asian noodles: History, classification, raw materials, and processing. *Food Research International*, 41(9), 888–902.

22. Gallagher, E., Gormley, T., & Arendt, E. (2004). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science & Technology*, 15(3), 143–152.

23. Gallus, H., & Jennings, A. (1971). Phenolic compounds in wheat flour and dough. *Australian*

Journal of Biological Sciences, 24(3), 731-746.

24. Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., & Kader, A. A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4976-4982.

25. Gramza, A., Khokhar, S., Yoko, S., Gliszczynska Swiglo, A., Hes, M., & Korczak, J. (2006). Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *European journal of lipid science and technology*, 108(4), 351-362.

26. Haslam, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of natural products*, 59(2),205-215.

27. Hermansson, A. (1978). PHYSICO CHEMICAL ASPECTS OF SOY PROTEINS STRUCTURE FORMATION. *Journal of Texture Studies*, 9(1 2),33-58.

28. Hermansson, A.-M. (1979). Methods of studying functional characteristics of vegetable proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56(3), 272-279.

29. Ji, Y., Zhu, K., Qian, H., & Zhou, H. (2007). Staling of cake prepared from rice flour and sticky rice flour. *Food Chemistry*, 104(1), 53-58.

30. Kim, D.-M., Bae, J.-S., Lee, D.-S., Lee, H., Joo, M. H., & Yoo, S.-H. (2011). Positive effects of glycosylated anthocyanin isolated from an edible berry fruit (*Acanthopanax sessiliflorum*) on its antioxidant activity and color stability. *Food Research International*,44(7), 2258-2263.

31. Kim, D.-O., & Lee, C. Y. (2004). Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(4), 253-273.

32. Kim, S. H., Joo, M., & Yoo, S. H. (2009). Structural identification and antioxidant properties of major anthocyanin extracted from Omija (*Schizandra chinensis*) fruit. *Journal of Food Science*, 74(2),C134-C140.

33. Kinsella, J. E., & Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: a survey. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 7(3),219-280.

34. Korus, J., Witczak, M., Ziobro, R., & Juszczak, L. (2009). The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 988-995.

35. Koyoro, H., & Powers, J. (1987). Functional properties of pea globulin fractions. *Cereal Chem*, 64(2),97.
36. Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., & Abdelly, C. (2008). Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptesrendus biologies*, 331(11),865–873.
37. Le Bourvellec, C., & Renard, C. (2012). Interactions between polyphenols and macromolecules: quantification methods and mechanisms. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(3),213–248.
- Macheix, J.-J., & Fleuriet, A. (1990). *Fruit phenolics*: CRCpress.
38. Makkar, H. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241–256.
39. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., R m sy, C., & Jim nez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727–747.
40. Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacologicalreviews*, 52(4), 673–751.
41. Murray, E., Myers, C., Barker, L., & Maurice, T. (1978). Functional attributes of proteins: a noncovalent approach to processing and utilizing plant proteins. *Utilization of protein resources*.
42. Niewinski, M. M. (2008). Advances in celiac disease and gluten-free diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 108(4), 661–672.
43. Osen, R., Toelstede, S., Wild, F., Eisner, P., & Schweiggert-Weisz, U. (2014). High moisture extrusion cooking of pea protein isolates: Raw material characteristics, extruder responses, and texture properties. *Journal of Food Engineering*, 127, 67–74.
44. Owusu Ansah, Y. J., & McCurdy, S. M. (1991). Pea proteins: a review of chemistry, technology of production, and utilization. *Food Reviews International*, 7(1), 103–134.
45. Patel, S., Shende, S., Arora, S., Singh, R. R. B., Rastogi, S., & Singh Rawat, A. K. (2014). Antioxidant potential of herbs and spices during deep frying of ghee. *International Journal of Dairy Technology*.
46. Petitot, M., Boyer, L., Minier, C., & Micard, V. (2010). Fortification of pasta with split pea and

- faba bean flours: Pasta processing and quality evaluation. *Food Research International*,43(2), 634-641.
47. Porat, Y., Abramowitz, A., & Gazit, E. (2006). Inhibition of amyloid fibril formation by polyphenols: structural similarity and aromatic interactions as a common inhibition mechanism. *Chemical biology & drug design*, 67(1),27-37.
48. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*,26(9), 1231-1237.
49. Reed, J. D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of animal science*, 73(5), 1516-1528.
50. Rho, K., Seib, P., Chung, O., & Chung, D. (1986). Retardation of rancidity in deepfried instant noodles (ramyon). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63(2), 251-256.
51. Robards, K., Kerr, A. F., & Patsalides, E. (1988). Rancidity and its measurement in edible oils and snack foods. A review. *Analyst*, 113(2),213-224.
52. Salunkhe, D. K., Kadam, S., & Chavan, J. (1985). Postharvest biotechnology of food legumes.
53. Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., & Moutounet, M. (1999). Interactions of grape seed tannins with salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 42-47.
54. Sarwar, G., Sosulski, F., & Bell, J. (1977). Availability of amino acids in legumes and legume-wheat blends. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 10(1),31-35.
55. Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1),215S-217S.
56. Shand, P., Ya, H., Pietrasik, Z., & Wanasundara, P. (2007). Physicochemical and textural properties of heat-induced pea protein isolate gels. *Food Chemistry*, 102(4), 1119-1130.
57. Siebert, K. J., Carrasco, A., & Lynn, P. Y. (1996). Formation of protein-polyphenol haze in beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(8), 1997-2005.
58. Sivam, A. S., Sun Waterhouse, D., Waterhouse, G. I., Quek, S., & Perera, C. O. (2011). Physicochemical properties of bread dough and finished bread with added pectin fiber and phenolic antioxidants. *Journal of Food Science*, 76(3), H97-H107.

59. Sosulski, F., & McCurdy, A. (1987). Functionality of flours, protein fractions and isolates from field peas and faba bean. *Journal of Food Science*, 52(4), 1010–1014.
60. Sun–Waterhouse, D., Sivam, A., Cooney, J., Zhou, J., Perera, C., & Waterhouse, G. (2011). Effects of added fruit polyphenols and pectin on the properties of finished breads revealed by HPLC/LC–MS and size–exclusion HPLC. *Food Research International*, 44(9), 3047–3056.
61. Swanson, B. G. (1990). Pea and lentil protein extraction and functionality. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(5), 276–280.
62. Wallerath, T., Deckert, G., Ternes, T., Anderson, H., Li, H., Witte, K., & Förstermann, U. (2002). Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*, 106(13), 1652–1658.
63. Wan, J., Huang, W., Zhong, J., Huang, L., Rayas–Duarte, P., & Liu, B. (2011). Effects of LAB fermentation on physical properties of oat flour and its suitability for noodle making. *Cereal Chemistry*, 88(2), 153–158.
64. Weng, C.–J., & Yen, G.–C. (2012). Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives. *Cancer treatment reviews*, 38(1), 76–87.
65. Wu, Y., Chen, Z., Li, X., & Li, M. (2009). Effect of tea polyphenols on the retrogradation of rice starch. *Food Research International*, 42(2), 221–225.
66. Wu, Y., Lin, Q., Chen, Z., & Xiao, H. (2011). The interaction between tea polyphenols and rice starch during gelatinization. *Food Science and Technology International*, 17(6), 569–577.
67. Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., & Blanchard, C. (2002). Ageing of stored rice: changes in chemical and physical attributes. *Journal of cereal science*, 35(1), 65–78.

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서

특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서

신청과제명	천연 폴리페놀 및 전곡립 활용 글루텐 대체 기능 구현을 통한 건강 기능성 면류 가공기술 개발		
주관연구책임자	민병중	주관기관	(주)농심

1. 본 연구관련 국내외 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라	연구신청팀		
폴리페놀-단백질 상호작용 제면 활용 기술	일본	60%	60%	100%	
글루텐 무 첨가 쌀면 제조 기술	일본	70%	70%	100%	
전곡립면 제조 기술	일본	20%	50%	90%	

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) 현재 기술수준은 선진국 100% 대비 우리나라 및 신청한 연구팀의 기술수준 표시
- 3) 기술개발 목표수준은 당해과제 완료 후 선진국 100% 대비 목표수준 제시
- 4) 부가설명이 필요한 경우 비고란에 작성

2. 특허분석

가. 특허분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr), Aureka DB
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목 및 초록

나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		글루텐 무첨가 쌀면 제조 기술
Keyword		쌀면, 글루텐 무첨가, rice flour, gluten free
검색건수		186
유효특허건수		18
핵심특허 및 관련성	특허명	글루텐 프리면의 제조방법 (Method for manufacturing gluten-free noodle)
	보유국	일본
	등록년도	2014
	관련성(%)	30%
	유사점	글루텐 무첨가 쌀면제조
	차이점	쌀면 제조시 폴리페놀을 사용 안함
핵심특허 및 관련성	특허명	글루텐을 첨가하지 않은 쌀 생면 및 그 제조방법 (Gluten-free rice noodle and method for production thereof)
	보유국	대한민국
	등록년도	2012
	관련성(%)	50%
	유사점	글루텐 첨가없이 쌀면제조
	차이점	압연을 통한 쌀면 제조 및 폴리페놀 사용 안함
핵심특허 및 관련성	특허명	글루텐 무첨가 쌀구움과자 제조용 조성물 및 그 제조방법 (Composition for Manufacturing Gluten-free Rice Madeira Cake and Manufacturing Method Thereof)
	보유국	대한민국
	등록년도	2011
	관련성(%)	30%
	유사점	글루텐 무첨가
	차이점	쌀제품 형태 (과자) 및 폴리페놀 사용 안함

개발기술명		전곡립면 제조 기술
Keyword		전곡립 제면, whole grain noodle
검색건수		11
유효특허건수		4
핵심특허 및 관련성	특허명	쌀겨가 함유된 쌀면 제조방법 및 쌀면 (Method for producing rice noodle including brown rice powder, and rice noodle by the same)
	보유국	대한민국
	등록년도	2011
	관련성(%)	50%
	유사점	미강을 활용함
	차이점	다른 쌀종류를 혼합 및 급속냉동 사용 여부
핵심특허 및 관련성	특허명	발효현미면의 제조방법 (Manufacturing method of nodule using fermented unpolished rice)
	보유국	대한민국
	등록년도	2013
	관련성(%)	60%
	유사점	현미분말, 녹차를 사용하여 압출면 생산
	차이점	현미분말을 발효하여 사용
핵심특허 및 관련성	특허명	수용성 검류가 첨가된 호밀국수 및 이의 제조방법 (Noodle of rye flour added soluble gums and process for the preparation thereof)
	보유국	대한민국
	등록년도	2013
	관련성(%)	60%
	유사점	호밀을 첨가하여 압연면 생산
	차이점	수용성 검류를 첨가하여 면 생산

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총 검색건수를, 유효특허건수는 검색한 특허 중 핵심(세부)개발기술과 관련성이 있는 특허를 의미
- 3) 핵심특허는 개발기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 특허를 기준으로 분석

개발기술명		폴리페놀-단백질 상호작용 제면 활용 기술(국내)
Keyword		폴리페놀, 단백질, 면
검색건수		2
유효특허건수		1
핵심특허 및 관련성	특허명	초유단백질과 녹차 추출물을 이용한 껌 베이스 및 이의 제조방법
	보유국	대한민국
	등록년도	2013
	관련성(%)	50
	유사점	폴리페놀-단백질 상호작용에 따른 복합체 형성
	차이점	제면 활용이 아닌 껌베이스 제조
핵심특허 및 관련성	특허명	오가자 추출물 및 분리대두단백을 포함하는 쌀 면 (Rice noodle with the extract of Ogaza and soy protein isolate)
	보유국	대한민국
	등록년도	2013
	관련성(%)	100%
	유사점	폴리페놀 추출물과 분리단백을 사용하여 압연면 생산
	차이점	

개발기술명		폴리페놀-단백질 상호작용 제면 활용 기술(국외)
Keyword		polyphenol, protein, noodle
검색건수		0
유효특허건수		
핵심특허 및 관련성	특허명	
	보유국	
	등록년도	
	관련성(%)	
	유사점	
	차이점	

3. 논문분석

가. 논문분석 범위

대상국가	미국, 일본, 유럽
논문 DB	Aureka DB, pubmed DB(www.ncbi.nlm.nih.gov), 국회도서관(www.nanet.go.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목, 초록 및 키워드

나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		글루텐 무첨가 쌀면 제조 기술
Keyword		쌀면, 글루텐 무첨가, rice flour, gluten free
검색건수		15800
유효논문건수		2018
핵심논문 및 관련성	논문명	Cooking properties and sensory acceptability of spaghetti made from rice flour and defatted soy flour
	학술지명	Food Science and Technology
	저 자	Pornpimol Sereewat, Chankavee Suthipinittham, Sirirat Sumathaluk, Chureerat Puttanlek, Dudsadee Uttapap, Vilai Rungsardthong
	게재년도	2015
	관련성(%)	50%
	유사점	글루텐 무첨가 쌀 스파게티 생산
	차이점	전곡립 및 폴리페놀 사용 안함.
핵심논문 및 관련성	논문명	Utilization of sorgjum, rice, corn flours with potato starch for the prepaation of gluten-free
	학술지명	Food Chemistry
	저 자	Sila Mary Rodrigues Ferreira, Ana Paula de Mello, Mônica de Caldas Rosa dos Anjos, Cláudia Carneiro Hecke Krüger, Patrícia Moreira Azoubel, Márcia Aurelina de Oliveira Alves
	게재년도	2015
	관련성(%)	60%
	유사점	전곡립, 쌀가루를 이용한 글루텐 무첨가 면
	차이점	폴리페놀 사용 안 함.
핵심논문 및 관련성	논문명	Effects of transglutaminase on the rheological and noodle-making characteristics of oat dough containing vital wheat gluten or egg albumin
	학술지명	Journal of Cereal Science
	저 자	F. Wang, W. Huang, Y. Kim, R. Liu, M. Tilleyb
	게재년도	2011
	관련성(%)	50%
	유사점	효소처리를 통한 쌀제면 적성 개선
	차이점	전곡립 및 폴리페놀 사용 안 함.

개발기술명		전곡립면 제조 기술
Keyword		전곡립 제면, whole grain noodle
검색건수		1168
유효논문건수		5
핵심논문 및 관련성	논문명	Effects of superfine grinding on the quality characteristics of whole-wheat flour and its raw noodle
	학술지명	Journal of Cereal Science
	저 자	Meng Niu, Gary G. Hou, Li Wang, Zhengxing Chen
	게재년도	2014
	관련성(%)	60%
	유사점	통밀을 첨가한 면의 특성 분석
	차이점	제품 형태 및 폴리페놀 사용 안함.
핵심논문 및 관련성	논문명	Effects of wheat bran with different colors on the qualities of dry noodles
	학술지명	Journal of Cereal Science
	저 자	Xiaoyan Song, Wei Zhu, Yaqiong Pei, Zhilu Ai, Junying Chen
	게재년도	2013
	관련성(%)	50%
	유사점	밀기울을 첨가한 면의 특성 파악
	차이점	제품 형태 및 폴리페놀 사용 안함.

개발기술명		폴리페놀-단백질 상호작용 제면 활용 기술
Keyword		polyphenol, protein, interaction
검색건수		306
유효논문건수		4
핵심논문 및 관련성	논문명	Tannins improve dough mixing properties through affecting physicochemical and structural properties of wheat gluten proteins
	학술지명	Food Research International
	저 자	Qiong Wang, Yin Li, Fusheng Sun, Xiaoyan Li, Pandi Wang, Jiutong Sun, Jian Zeng, Cheng Wang, Wei Hu, Junli Chang, Mingjie Chen, Yuesheng Wang, Kexiu Li, Guangxiao Yang, Guangyuan He
	게재년도	2015
	관련성(%)	50%
	유사점	탄닌과 단백질의 상호작용을 통해 반죽의 품질 향상
	차이점	제면 여부 및 글루텐 대체 아님
핵심논문 및 관련성	논문명	Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins
	학술지명	Journal of pharmaceutical and biomedical analysis
	저 자	Frazier, R.A. ; Deaville, E.R. ; Green, R.J.
	게재년도	2010
	관련성(%)	50%
	유사점	폴리페놀-단백질 상호작용에 의한 복합체 형성기작 규명
차이점	반응기작에 대한 분석법 제시로 활용기술과는 무관함.	
핵심논문 및 관련성	논문명	Development of a gluten-free rice noodle by utilizing protein-polyphenol interaction between soy protein isolate and extract of Acanthopanax sessiliflorus
	학술지명	2015
	저 자	Lee DS, Kim Y, Song Y, Lee JH, Lee S, Yoo SH
	게재년도	2015
	관련성(%)	100%
	유사점	폴리페놀, 분리단백간 상호작용을 이용한 면의 품질 향상
차이점		

4. 제품 및 시장 분석

가. 생산 및 시장현황

1) 국내 제품생산 및 시장 현황

- 현재 중기소기업들과 농심, CJ, 대상 등 대기업들이 쌀 가공식품 생산에 참여하고 새로운 제품들을 시장에 내놓음으로써 쌀 소비 신장율을 견인하는 원동력이 되고 있다. 그리고 이러한 확산기조가 유지돼 쌀 가공식품이 밀가루에 대한 대체 상품으로써 시장에서 자리를 잡기 시작하며 양적성장을 이루고 있다. 최근 들어 면류 회사를 중심으로 쌀 함유 제품의 SKU를 확대하고 있는 추세이며, 또한 스낵류, 빵류 등과 쌀가루를 원료로 한 프리믹스 제품처럼 다양한 스타일의 쌀 가공식품들이 출시되고 있다. (출처:식품세계 2011-05월호, 28-33)

쌀 함유 면류 제품은 상온면과 냉장면 제품류로 구성되어 있으며, 특히 농심의 상온면 제품인 쌀국수 짬뽕, 쌀국수짜장면 등과 CJ 냉장면류의 쌀생면, 라이스스파게티와 같은 신제품들이 개발되고 있다, 대형할인점의 경우에도 자사 PL 상품들을 확대하고 있는 추세로서 쌀 함유 제품의 대부분은 건강지향 컨셉 제품으로 웰빙 이미지를 강조하고 있다. 쌀 가공 식품 시장이 증가하면서, 농심, CJ, SPC는 쌀 가공 공장을 가동하고 있으며, 제품개발 뿐만 아니라 쌀가루 가공 산업에도 진출하고 있다. (출처: 농심, 푸드투데이.)

2) 국외 제품생산 및 시장 현황

- 해외 제품의 경우 쌀을 함유한 제품들은 주로 쌀에 대한 영양, 기능을 적극 활용하고 있으며 Cargill, Gourment, Riviana California Cereal Products 등과 같은 회사들이 쌀을 활용한 Oil, Rice Flour, Cooked Rice, Brown Rice/Flour 제품들을 출시하고 있다. 해외의 쌀을 활용한 제품에는 Gluten-Free, Non-Allergy Claim을 강조한 빵류, 면류, Puffed Rice 제품들이 주로 구성되어 있으며, 이러한 제품들은 쌀 자체를 건강이라는 이미지로 강조하고 있다. (출처:2011 IFT Food Expo)

쌀에 대한 관심이 높아지면서 쌀 소비가 늘어나면서, 파스타 스파게티, 음료등 쌀 가공 식품이 다양화 되고 있다. 특히 이탈리아의 스코티사라는 브랜드는 파스타뿐만 아니라 스파게티, 쌀음료를 생산하고 있으며, 네슬레 역시 동남아시아 및 인도 등지에 공장을 가동하여 Maggi Rice Noodles과 같은 제품을 만들어 현지에 맞는 다양한 제품들을 생산하고 있다. (출처: 2010 Nestle IR report)

나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과

1) 산업화 방향(제품의 특징, 대상 등)

○최근 건강에 대한 소비자가 관심이 높아졌고 국산 쌀 원료에 대한 소비자 니즈가 매우 커져가고 있으며 정부의 쌀 소비 촉진 정책과 같은 장려정책으로 쌀 활용 신제품의 출시가 지속적으로 증가할 것으로 보인다. 특히 쌀국수 및 쌀라면 등의 쌀가공면류가 기존의 밀가루 면류가 차지하는 면류시장의 새로운 축으로 등장할 것으로 예상된다.

그리고 다양한 제품 개발을 위한 용도별 쌀가루 가공기술과 다양한 소비자의 니즈에 충족될 수 있도록 현재의 제품 품질 향상을 위한 가공기술개발 역시 증가할 것으로 보여진다. (출처:

2) 산업화를 통한 기대효과

쌀가공식품은 향후에도 성장세가 지속적으로 유지될 것이라 전망되며, 맛과 제품력만 받쳐 준다면 더욱 많은 쌀 가공식품이 나올 것으로 보인다.

이에 따라 기업들은 생산성 향상 및 공정 최적화에 대한 설비 투자와 가공시스템 개발을 할 것이며, 더불어 밀가루와 같은 물리적 성질을 부여 할 수 있는 원료 가공 기술 개발 또는 이를 대체할 소재 개발 및 제품 가공기술을 개발하여 쌀 관련 제품의 품질 향상에 중점을 둘 것으로 기대된다. (출처:식품세계 2011-05월호, 28-33)

(단위 : 백만원)

항 목 \ 산업화 기준	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
직접 경제효과	6,000	10,000	12,000			28,000
경제적 파급효과	600	1,600	2,400			4,600,
부가가치 창출액	10,000	50,000	100,000			160,000
합 계	16,600	61,600	114,400			188,000

1) 직접 경제효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 제품의 매출액 추정치

2) 경제적 파급효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통한 농가소득효과, 비용절감효과 등 추정치

3) 부가가치 창출액 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 수출효과, 브랜드가치 등 추정치

5. 3P(특허,논문,제품)분석을 통한 연구추진계획

가. 분석결과 향후 연구계획(특허, 논문, 제품 측면에서 연구방향 제시)

1) 특허분석 측면

○ 기존 특허는 글루텐을 첨가하지 않고 쌀만을 활용하여 제면한 특허에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 쌀 이외에 전곡립을 활용하는 방향으로 연구를 추진하여 전곡립 제면 제품 제조 특허 등을 국내 및 국외에 출원할 계획임.

○ 기존 특허에서는 폴리페놀을 단순히 첨가한 제품 제조 특허에 치중되어 있고, 제면에 적용한 특허는 전무하기 때문에, 본 연구과제에서는 폴리페놀을 제면에 활용하여 제면 가공성 및 기능성을 개선시킬 수 있는 기술 특허 등을 국내 및 국외에 출원할 계획임.

2) 논문분석 측면

○ 기존 논문은 폴리페놀 및 전곡립의 생리활성 연구 분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과

제에서는 폴리페놀 및 전곡립의 가공성을 증진시키는 방향으로 연구를 추진하여 국내 및 국외 학술지 등에 게재할 계획임.

○ 전곡립의 가공 응용에 관한 기존 논문은 전곡립을 주로 제빵에 초점을 맞추어 적용한 연구에 치중되어 있으므로, 제면 및 유탕 등의 보다 다양한 식품 응용분야의 연구를 추진하여 국내 및 국외 학술지 등에 게재할 계획임.

3) 제품 및 시장분석 측면

○ 국내 및 국외시장 분석결과 밀가루면 이외에 쌀면 제품 등의 생산 및 판매가 이루어지고 있으나, 현재 전분 용출, 복원력 등의 문제로 인하여 품질 상 개선이 매우 시급하기 때문에, 본 연구과제에서는 이러한 곡류 제면 제품의 품질 문제점을 개선할 수 있는 방향으로 연구를 추진할 계획임.

○ 폴리페놀 제품은 현재 과즙, 주스 등의 음료 형태로 생산 판매가 이루어지고 있기 때문에, 폴리페놀은 곡류 제품에 적용하는 방향으로 연구를 추진하여 폴리페놀이 함유된 곡류 제면 제품을 생산하여 판매를 추진할 계획임.