

1. 표지

(뒷면) (옆면)

(앞면)

<p>3 cm</p>	<p>11-1543 000-002 114-01</p>	<p>4cm</p>	<p>발 간 등 록 번 호 11-1543000-002114-01</p> <p>(건고딕31p) 5cm</p> <p>기능성 천연 색소소재를 활용한 떡류 등 관련 가공제품 개발 및 사업화 최종보고서</p> <hr/> <p>(0.1cm)</p> <p>2018. 02. 23. (건고딕15p)</p> <p>0.15cm (별색바탕 : C50, M20, Y59, K0)</p> <p>주관연구기관 / ㈜ 창 익 협동연구기관 / 한약진흥재단 협동연구기관 / 전남대학교 2cm (건고딕 15.5p)</p> <p>(백색바탕)</p> <p>농림축산식품부 (건고딕 20p)</p>
<p>5cm</p>	<p>기능성 천연 색소소재를 활용한 떡류 등 관련 가공제품 개발 및 사업화 최종보고서 (건고딕 14p)</p> <p>2018 (건고딕13p)</p>	<p>기술사업화지원사업 R&D Report</p>	
<p>3 cm</p>	<p>농림축산식품부 (건고딕 17p)</p>	<p>(건 고 딕 25p)</p>	

2. 제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “기능성 천연 색소소재를 활용한 떡류 등 관련 가공제품 개발 및 사업화”(개발기간 : 2014. 10. 15 ~ 2017. 10. 14)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 12. 31.

주관연구기관명 : (주) 창 익

(대표자) 임 철 한



협동연구기관명 : 한약진흥재단

(대표자) 이 응 세



협동연구기관명 : 전남대학교 산학협력단 (대표자) 송 진 규



주관연구책임자 : 유 승 진

협동연구책임자 : 정 원 석

협동연구책임자 : 신 말 식

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

3. 보고서 요약서

보고서 요약서

과제고유번호	814002	해 당 단 계 연 구 기 간	2014.10.15.~ 2017.10.14	단 계 구 분	3 / 3
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	기술사업화지원사업			
연구과제명	대 과 제 명	기능성 천연 색소소재를 활용한 떡류 등 관련 가공제품 개발 및 사업화			
	세 부 과 제 명	세부 : 기능성 천연색소소재를 활용한 떡류 등 관련 가공제품 개발 및 사업화 협동1: 천연색소 소재 기능성 평가 협동2: 천연색소 소재 안정화 기술 개발			
연구책임자		해당단계 참 여 연구원 수	총: 25 명 내부: 21 명 외부: 4 명	해당단계 연 구 개 발 비	정부:300,000천원 민간:100,000천원 계:400,000천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 60 명 내부: 53 명 외부: 7 명	총 연구개발비	정부:900,000천원 민간:300,000천원 계:1,200,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주) 창 역 한약진흥재단 전남대학교 산학협력단			참여기업명 (주) 창 역	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자: 유 승 진	
○ 천연색소 소재의 안정화 기술 확보 및 기능성 검정을 통한 기술력을 확보 ○ 주관기관의 천연발효 증편 개발제품과 접목하여 사업화 단계를 이룸 ○ 떡류 이외의 쌀가공상품 개발로 인한 출시 가능제품 제품 다변화 ○ 유통역량강화를 통한 공정개선에 따른 기존제품 품질개선을 이루었으며 유통루트 다변화를 통해 매출증대 및 고용창출				보고서 면수 350	

4. 국문 요약문

		코드번호	D-01
<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>○ 기능성 천연색소 소재를 활용하여 클로로필, 카로틴, 안토시아닌류 천연색소 안정화 기술과 체지방 감소, 인지능 개선, 면역증진 효과 등의 기능성이 확보된 제품에 주관기관의 시장 개발 역량과 제품개발 역량을 적극 활용하여 다양한 제품군을 개발하여 과제 후 매출 100억 달성을 목표로 함</p> <p>○ 천연색소를 이용한 제품개발 - 천연색소소재를 활용한 친환경 제품 생산 (떡류제품과 쌀 가공제품, 음료를 개발) 기능성 천연색소소재를 활용한 기능성 식품 생산 (쌀가공제품 및 음료 개발) 천연색소소재의 상품화</p> <p>○ 천연색소 제품의 유통 중 품질 개선 천연색소 제품의 애로사항을 해결을 위한 색소 안정화 기술연구 천연색소 제품의 포장방법 및 유통방법을 개선하여 제품의 품질을 개선 기능성 천연색소소재를 활용한 유통기한 증대방법에 대한 연구</p> <p>○ 천연색소 소재의 기능성 연구 - 원료단계의 기능성 연구 - 최종 제품의 기능성 확인 - 최종 제품의 기능성 재고를 위한 방안 연구</p>		
<p>연구개발성과</p>	<p>○ 천연색소 소재 안정화 - 새싹보리의 클로로필의 마그네슘(Mg)을 아연(Zn)으로 치환하였을 때 녹색이 안정화되었고, 떡으로 제조하였을 때도 색 변화가 최소화되며, 색소를 함유하고 있는 소재가 가지고 있는 고유의 기능성이 사라지지 않는 특성을 지님 - 쌀 전분을 이용한 OSA 변성 전분 제조 기술을 확보하였고, 이들 OSA 변성 전분을 이용한 카로티노이드 캡슐화 기술 개발을 통하여 백진주 전분이 가장 좋은 캡슐화 소재였고, 동결 건조 시킨 안정화 색소는 산소나 빛, 열에 안정하여 카로티노이드 색소가 조리 중에 안정할 것임을 확인하였음 - 안토시아닌 색소를 말토텍스트린(DE 1~ DE20)을 이용하여 캡슐화하여 색소를 안정화 시켰고, 이들 떡의 제조 후의 색 안정성을 확인하여 말토텍스트린으로 색소의 조리 안정성을 확인하였음</p> <p>○ 천연색소 소재의 기능성 연구 떡류에 적용할 기능성으로 기억력 개선을 위한 연구를 실시하여 초식잠과 경육고의 기억력 개선 실험을 실시하여 관련 제품에 적용함 새싹보리, 식방풍, 홍국 등 천연색소 소재를 활용하여 고지혈증 및 체지방 감소 효능을 평가하여 그 결과를 학회와 논문으로 발표하였으며 이를 활용한 제품 개발에 적용함 건강한 떡 제품 개발을 위해 떡 제품 베이스를 활용하여 면역증진 기능성을 평가하여 건강한 떡 제품개발에 활용함</p>		

	<p>○ 천연색소 소재와 토종 효모 및 김치유산균을 활용한 천연발효 증편 개발 및 사업화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국내 과실 중 표면에 서식하는 효모들을 분리하여 기정떡 발효력에 효과적인 균주를 분리 선발하였으며 선발된 균주의 균주등록과 특허등록을 마친 상태임. - GABA변환 김치유래 유산균을 분리 동정하였으며 기정떡 생산공정에 적용하여 기능성 떡류 개발에 활용하였으며 균주 등록을 마친 상태임. - 기정떡에서는 처음으로 제빵에서 활용하는 액중 시스템을 적용하였으며 효모와 유산균을 활용하여 기존 12시간 이상 걸리던 기정떡 제품 생산공정을 4시간으로 단축시켰으며 이취는 낮추고 풍미는 향상시켜 고품질 기정떡 개발 - 단순 기정떡에 그치지 않고 다양한 형태의 응용상품과 파생상품을 개발하였으며 1차적으로 기본적인 습식기정(일반기정 또는 증편)으로 본사에서 사업화에 성공하였다. - 2차적으로 화기정(화과자 형태의 미니기정떡), 한입기정과 한입앙금기정등을 개발하였으며 신규로 일일생산량 100kg/일에서 1500kg/일 생산량을 소화할 수 있는 생산공정을 신규 적용하였으며 2018년 1월 중순 방송예정으로 홈쇼핑 출시 일정을 조율 중. <p>○ 기능성 천연색소소재를 활용한 쌀 가공제품 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 한방소재를 활용한 약떡 개발 - 주관기관의 개발원료인 배양쌀을 활용한 선식 및 쌀과자 개발 - 노령화사회 대비를 위하여 영양불균형과 연하장애를 대비한 균형 영양식 떡류 개발과 연하도움 죽류 개발 - 기능성 한방소재를 활용하여 떡 또는 쌀가공식품과 함께 곁드릴 수 있는 한방차 음료 개발 <p>○ 떡류 제품 안전 허들기술 개발에 따른 신제품 적용 및 사업화(공영홈쇼핑 런칭)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 전통식품인 떡은 산업특성상 노동집약적 산업으로 사람들의 손이 많이 닿을 수 밖에 없는 제품이 대부분이다. 이러한 특성으로 인해서 떡류는 대부분 유통기한이 하루로 인해 유통에 가장 큰 걸림돌로 작용하고 있음 - 멸균공정 개발 및 적용하여 기존 제품의 업그레йд 및 신규제품을 개발하여 홈쇼핑 런칭을 진행하였음 - 멸균공정 개발에 따른 가정식 대체식품산업 진출 가능성이 높아 편의점 냉장유통이 가능한 떡류 개발을 진행 중에 있으며 연계사업으로 농림부 과제를 선발되어 진행 중 <p>○ 유통역량강화를 유통루트 다변화(홈쇼핑, 온라인마켓, 수출 경로 다변화)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 유통역량강화를 위한 유통루트 다변화의 일환으로 공영홈쇼핑 런칭 완료 하였음 - 쿠팡, G-market등 온라인 쇼핑몰 진출하여 매출성과 이룸 - 수출 거래처 다변화와 수출실적 향상
연구개발성과의	<기술적 측면>

<p>활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 천연색소 가공 기술 축적 ○ 기능성 천연색소 소재의 새로운 효율적 이용 기술 개발 ○ 학연간, 학제간, 산학연의 협력 연구체제 기반 확립 ○ 원료, 기능성 면에서 국내·외의 기존 판매제품으로부터 경쟁력 극복 <p><경제적 측면></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 새싹보리 소비촉진을 통한 새싹보리 재배농가의 소득 안정성 추구 ○ 관련 기능성 식품 산업의 활성화 ○ 국내산 원료 사용기반 확충 및 식품산업 연계발전 강화 ○ 빵 또는 면류 시장 확대로 쌀 소비 위축되었으나 기능성 천연색소 떡류개발로 떡 매출 증가 기대 ○ 떡류, 가공제품, 음료 생산 및 판매량 증가에 따른 고용 증대 ○ 떡류 유통조건 연구 통해 유통 산업 발전 ○ 수출시장의 안정적 시장진출 및 판매 성장성 확보 ○ 지역산업과 다양한 연계를 통한 신규 시장 창출 <p><정책적 측면></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 쌀 활용 가공식품 개발 및 소비촉진을 통한 한·중 FTA로 인한 쌀시장 개방으로 인한 생산량 감소 완화 ○ 쌀 및 천연색소 소재 활용 제품개발을 통한 융·복합 산업 모델 발굴 				
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>새싹보리</p>	<p>기능성 떡</p>	<p>기능성 음료</p>	<p>쌀 가공제품</p>	<p>친환경</p>

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> ○ Stabilization of natural pigments (Chlorophyll, Carotenoid and Anthocyanin) ○ Functional research of natural pigments <ul style="list-style-type: none"> - Research raw material level and finished product level - Research to enhance the functionality of finished product ○ Product Development and Commercialization of Natural Pigment <ul style="list-style-type: none"> - Eco friendly products and Functional foods (Rice product and beverage form) ○ Quality Improvements of Natural Pigment Products <ul style="list-style-type: none"> - Descriptive research to increase expiration date for difficulties found in product circulation on the market(Packaging and distribution development) 		
Results	<ul style="list-style-type: none"> ○ Stabilization of natural color materials <ul style="list-style-type: none"> - The natural stabilized barley leaf powder treated with zinc citrate maintained green color during cooking and processing at low pH - Properties of octenyl succinylated (OSA) rice starch and its stability of microencapsulated to paprika pigments with OSA starch were analyzed. Baegjinju was good source of encapsulating wall material for carotenoid droplet. Freeze-dried powder made by Baegjinju showed stable in oxidation stability, light stability and heat stability and retained carotenoid color - Microencapsulated to anthocyanin with maltodextrin with different DE, such as 1, 12 and 20-25, showed stability of color during cooking ○ Functional research of natural pigments <ul style="list-style-type: none"> - Functional research on anti-amnesic effects of Stachys japonica Miq. and Kyung-Ok-Ko for product development - Research papers presented in various conferences. (Evaluating the efficacy of Young Barley Leaf, Peucedanum japonicum Thunberg and Red Yeast Rice on Hyperlipidemia and body fat reduction.) - Application of natural herb pigments' immune-enhancing activities to rice product development. ○ Increasing development in natural fermentation using natural pigment, traditional yeast and Kimchi lactobacillus <ul style="list-style-type: none"> - Completed registration of stain and patent for the yeast isolation selection from fruit surface which effects fermentation of Gijung cake(Steamed rice cake) - Isolation and Identification of GABA conversion by Kimchi lactobacillus ○ Rice Product and Beverage Development <ul style="list-style-type: none"> - Rice cracker, Sun-sik and medicinal drinks with Traditional Korean Medicinal herbs and cultured rice - Rice porridge regarding the aging population ○ Application of new products and business development with the safety of 		

	<p>hurdle technology on rice product</p> <ul style="list-style-type: none"> - Development and validation of sterilization processes - Cold storage of processed and packaged food for convenience store sales <p>○ Strengthen distribution system</p> <ul style="list-style-type: none"> - Diversifying distribution networks(Home-shopping, Online market, Exportation) - Successfully launched on public home shopping - Sales achievement by launching on Coupang, G-Market - Enhancement of export performance 				
Expected Contribution	<p><Technological effectt></p> <ul style="list-style-type: none"> - Accumulation of natural pigment processing technology - Development of efficient use of natural pigment materials - Establish cooperation basis between academic and research institutions - Overcome the competitiveness compare to the existing products <p><Economical effect></p> <ul style="list-style-type: none"> - Farm income stabilization by promotion of young barley leaf consumption - Activation of functional food industry - Expanding local material use and cooperation Development of food industry - Creating new market with local industry association <p><Political effect></p> <ul style="list-style-type: none"> - Development Rice Convergence Cluster and Design Conceptual Model - Promotion of domestic rice production decrease under the Korea-China FTA 				
Keywords	young barley leaf powder	functional rice cake	functional beverage	rice product	environmental -friendly

6. 영문목차

CONTENTS

1. Introduction	13
2. Recent Technological Development in the Research	14
3. Contents and Results of the Research	19
4. Achievement of Objectives and Contribution Level	338
5. Future Implication of the Results.....	340
6. Global Science Technology and information about the Research.....	342
7. Security clearance of Research.....	342
8. Status of the Research Facilities and Equipment.....	342
9. Implementation of Security measure in accordance with Project performance....	342
10. Records of Research and Development Projects.....	343
11. Et cetera.....	344
12. Reference.....	344

7. 본문목차

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	13
2. 국내외 기술개발 현황	14
3. 연구수행 내용 및 결과	19
4. 목표달성도 및 관련분야 기여도	338
5. 연구결과의 활용계획 등	340
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	340
7. 연구개발성과의 보안등급	342
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	342
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	342
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	343
11. 기타사항	344
12. 참고문헌	344

8. 뒷면지

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

1. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

1-1. 연구개발 목적

- 새싹보리가 함유하고 있는 엽록소, 폴리코사놀, 플라보노이드, 식이섬유 그 외의 다양한 영양성분들을 이용하여 그들이 가지고 있는 기능성을 연구하고 밝힘에 따라 기능성 떡, 기능성 음료에 활용하고 기존 예다손이 가지고 있는 상품 개발 및 유통 역량을 합쳐 시너지효과를 꾀하고자 함.
- 뿐만 아니라 정부의 보리 수매 중단에 따른 보리 재배농가의 어려움을 해결하는데 기여하고 최종적으로 쌀가공식품 산업뿐만 아니라 보리산업의 동반성장에 기여하고자 함.
- 한방이 갖는 “건강”이라는 긍정적 이미지와 천연색소 소재로서 “오방색”이라는 전통적 색상의 이미지를 떡이나 쌀가공식품 등 예다손에서 판매 중 또는 판매할 예정인 상품에 바로 적용함으로써 소비자 니즈를 충족시키는 기술의 빠른 사업화를 목표로 함
- 천연색소 소재를 활용한 떡류와 쌀 가공제품, 음료를 개발하여 기존 일반제품 시장을 기능성 제품 시장 영역으로 확대하고, 떡과 음료를 패키지화하여 기능성식품 시장에 진입
- 떡류의 품질 및 유통기술을 개선함에 따라 해외 박람회 및 상담회 등의 참여를 통해 떡류와 음료 제품의 수출 기반을 마련하고 향후 100억 이상의 매출 및 수출 신장 목표를 달성하고자 함

1-2. 연구개발의 필요성

- 전통적으로 쌀은 주식으로 사용되어 왔으며, 쌀 산업에 대한 관심은 품질개량 등 수확량 증가에 초점이 있었다. 하지만 쌀 수요량 및 국민 1인당 소비량은 최근 생산량 증가와 함께 소비 감소로 매년 감소 추세에 있으며 또한 한·중 FTA 등으로 쌀 가격 폭락과 생산농가의 타격이 예상된다. 특히 전남은 쌀 생산지역 전국 1위 지역으로 쌀 대체 작물 개발과 떡, 죽, 과자 등 쌀 가공식품 개발을 통한 쌀 원료의 고부가가치화와 소비 증진을 통한 가격 안정화가 필수적임.
- 천연색소는 인공합성 색소보다 안전성이 높아 식품으로 사용하기에 무방하며, 색소의 종류가 많아 다양하게 조합이 가능하다는 장점이 있지만, 착색원료의 제한성과 종류에 따라 가격이 비싸고 구하기 어려우며 색소의 성분에 따라서 pH, 온도, 빛, 다른 물질, 금속이온, 효소, 산소, 아스코르브산, 설탕 등 다양한 물질에 의한 영향으로 갈변이나 퇴색 등이 나타난다는 한계점이 명확함.
- 이에 따라 효능이 입증되어 식약청에서 건강기능식품 소재로 인증되어 있는 천연색소 물질인 폴리코사놀과 엽록소 등을 다량 함유하고 있는 새싹보리, 식방풍잎, 곤드레 등과 함께 안토시아닌 함량이 높아 항산화활성이 높은 소재로 알려져 있는 자색고구마, 복분자, 오디 등의 소재 그리고 카로티노이드 함량이 높아 천연색소 소재로 많은 관심을 받고 있는 소재 굴피, 치자색소 등 다양한 소재를 활용하여 기억력 개선, 아토피 개선, 성인병 예방 효능 등을 타겟으

로 주요 마케팅전략으로 세워 사업화를 추진한다면, 매출 증진을 비롯한 경제적인 효과가 클 것으로 전망되며 또한 이들 소재들의 고부가가치화에 따른 재배면적 증가 및 생산량 증대는 곧 쌀 대체 작물로서의 1차 산업 육성을 통한 농가소득 창출에 기여 할 것임.

○ 그 중에서도 새싹보리는 식량자원인 보리의 대체 소득원이면서 식량자원을 지킬 수 있는 원료로 무농약, 친환경 재배가 이루어져 안전성이 높은 식품소재로 항산화 활성을 나타내는 폴리페놀, SOD, 루테올린 등의 기능성분이 포함되어 있으며, 일반영양성분인 칼슘, 철분, 필수아미노산, 식이섬유 등도 다른 식품에 비해 다량함유 되어 있어 비만예방과 고지혈증 등 각종 성인병에 효과적이다. 따라서 미래 식품산업으로서도 충분한 가치를 가지고 있기 때문에 국내에서 생산되는 새싹보리에 대한 연구를 통해 다양한 소재개발과 기능성을 평가하여 떡을 비롯한 고부가가치식품을 개발할 필요성이 있음.

○ 이와 더불어서 떡이 가진 영양가와 맛 같은 장점에도 불구하고 산업발전에 가장 큰 제한점은 미생물 번식과 노화에 따른 유통기한이 매우 짧다는 것이다. 천연색소를 가진 소재 중 식이섬유가 풍부한 물질을 첨가할 경우 노화 억제 가능성이 있으며 포장방법 등 유통조건을 개선시키면, 유통기한 연장이 가능하며, 내수 유통뿐만 아니라 수출도 가능 할 것으로 예상된다. 따라서 떡 유통기한 개선을 위한 연구가 시급한 실정임.

1-3. 연구개발 범위

○ 천연색소를 이용한 제품개발

- 천연색소소재를 활용한 친환경 제품 생산 (떡류제품과 쌀 가공제품, 음료를 개발)
- 기능성 천연색소소재를 활용한 기능성 식품 생산 (쌀가공제품 및 음료 개발)
- 천연색소소재의 상품화

○ 천연색소 제품의 유통 중 품질 개선

- 천연색소 제품의 애로사항을 해결을 위한 색소 안정화 기술연구
- 천연색소 제품의 포장방법 및 유통방법을 개선하여 제품의 품질을 개선
- 기능성 천연색소소재를 활용한 유통기한 증대방법에 대한 연구

○ 천연색소 소재의 기능성 연구

- 원료단계의 기능성 연구
- 최종 제품의 기능성 확인
- 최종 제품의 기능성 재고를 위한 방안 연구

2. 국내외 기술개발 현황

	코드번호	D-04
2-1. 국내·외 관련분야에 대한 기술개발 현황		
○ 국내 천연색소 시장은 2010년 기준 약 200억원 규모로 추정되며, 사용량은 매년 10% 이상 고속		

성장을 이어가고 있지만 천연색소의 수입의존도가 85%를 넘는 등 국내 고유의 천연색소 자원개발이 절실한 상황이다. 이처럼 다양한 천연색소 관련 국내 연구진의 기술 특허를 확보하고도 85%넘는 수입의존 소비구조는 기술개발과 사업화를 동시에 고려해야하는 기술 사업화사업의 당위성을 설명해주고 있음

○ 천연색소 소재를 이용하여 다양한 색소를 나타낼 수 있는 식품을 제조할 수 있음. 천연색소 소재를 이용한 천연착색료 및 식품은 35건(28%)로 가장 높은 비율을 차지하였으며, 더욱 구체적인 예시를 보이는 천연색소 소재 식품군으로는 과자류가 가장 많았으며, 그 다음으로 면류, 음료류 순으로 나타났으며 가장 많은 천연색소 소재를 이용한 식품군인 과자류에는 떡류 6건, 스낵 5건, 한과 2건 순으로 나타남.

○ 이렇듯 천연색소 소재를 이용한 다양한 제품으로의 개발은 계속 이루어져 왔으나, 이들 색소의 색을 안정화하는 기술의 연구보다는 색소 추출물의 기능성에 대한 연구나 특성 분석에 대한 연구만이 계속해서 이루어져 천연색소 소재에 대한 연구는 앞으로도 지속되어야할 과제로 사료됨

○ 클로로필 색소는 Zn과 Cu 이온을 처리하면 페오피틴과 복합체를 형성하여 재녹색화되었다는 연구 결과가 보고 있고, 이를 이용한 통조림용 완두콩과 시금치 가공 조리 방법이 알려진 바 있음

○ 카로티노이드 색소는 산소나 빛, 가열 등의 조리에 의해서 색이 탈색되기 때문에 이들의 색을 최소화하는 공정으로 주스의 안정화 공정 등을 다루기 위해 가공조리 온도를 변형시키는 연구가 이루어진 바 있으며, 라이코펜이나 베타카로틴의 색 안정화를 위해 젤라틴, 설탕 등을 이용한 캡슐화 연구가 진행된바 있음

○ 안토시아닌 색소의 안정성을 증진시키기 위해 유기산을 첨가하여 pH를 낮추는 방법, 금속염을 첨가하는 방법, co-pigmentation 형성을 위해 단백질, 탄닌, 플라보노이드, 알칼로이드, 아미노산 등을 첨가하여 색소의 안정화를 이루는 방법 등이 보고되었다(Rhim JW & Lee JW 2002). 그러나 co-pigmentation은 일반적으로 사용하기 어렵기 때문에 최근에는 안토시아닌 색소를 안정화시키는 방법으로 encapsulation 방법이 대한 연구가 진행됨

○ 최근 식습관이나 운동습관과 관련이 깊은 비만, 고혈압, 고지혈증 등의 생활습관 병이 해마다 증가되고 또 급속한 고령화도 진행되어 사회적인 문제가 되고 있다. 한편 식품이나 식품 성분이 생체조절 기능을 갖고 질병 예방이나 노화 방지 등의 작용을 갖는 것이 해명되어 감에 따라 식품에 의한 건강 증진 및 질병 예방에 대한 관심이 고조되고 있음 이에 따라 기능성 물질이 함유된 식품을 제조 판매하는 것이 트렌드화 되어 감

○ 색소 중 가장 많이 이용되는 것은 약용식물 및 식량작물 소재로부터 카로티노이드계 색소로 안나토색소, 치자황색소, 베타카로틴, 파프리카 색소 등의 활성산소 발생 억제에 관한 연구와 적양배추, 포도, 자색 고구마 유래 플라보노이드계 색소의 연구를 통한 피부암 및 항산화성 관련 연구와 벼, 콩, 크렌베리 등 유래 안토시아닌계 색소 관련 연구 녹황색 야채 유래의 포르피린계 색소 연구를 통한 돌연변이 억제 효과 연구 코코아, 초콜릿 유래의 플라본계 색소의 활성산소 발생 억제 및 항알러지 작용 연구 등이 활발하게 진행되고 있음

○ 두뇌 관련 건강식품의 붐이 일기 시작한 가운데 업계 역시 앞 다투어 수능생을 위시해 두뇌활동이

많은 현대인들의 기억력 감퇴, 인지력 학습 저하 등 근원적 문제를 위한 구체적이고 특화된 기능성 소재를 활용한 제품들을 개발

○ 세계 기능성 제품 중 홍삼을 주원료로 하는 기억력 증진을 위해 판매되고 있는 것은 독일 제약기업 베링거인겔하임의 자회사 파마톤의 진사나로 세계시장 점유율 30~40% 연간 매출 3억 달러에 달함

○ 최근 식습관이나 운동습관과 관련이 깊은 비만, 고혈압, 고지혈증 등의 생활습관 병이 해마다 증가되고 또 급속한 고령화도 진행되어 사회적인 문제가 되고 있다. 한편 식품이나 식품 성분이 생체조절 기능을 갖고 질병 예방이나 노화 방지 등의 작용을 갖는 것이 해명되어 감에 따라 식품에 의한 건강 증진 및 질병 예방에 대한 관심이 고조되고 있음 이에 따라 기능성 물질이 함유된 식품을 제조 판매하는 것이 트렌드화 되어 감

○ 색소 중 가장 많이 이용되는 것은 약용식물 및 식량작물 소재로부터 카로티노이드계 색소로 안나토색소, 치자황색소, 베타카로틴, 파프리카 색소 등의 활성산소 발생 억제에 관한 연구와 적양배추, 포도, 자색 고구마 유래 플라보노이드계 색소의 연구를 통한 피부암 및 항산화성 관련 연구와 벼, 콩, 크렌베리 등 유래 안토시아닌계 색소 관련 연구 녹황색 야채 유래의 포르필린계 색소 연구를 통한 들연변이 억제 효과 연구 코코아, 초콜릿 유래의 플라본계 색소의 활성산소 발생 억제 및 항알러지 작용 연구 등이 활발하게 진행되고 있음

○ 두뇌 관련 건강식품의 붐이 일기 시작한 가운데 업계 역시 앞 다투어 수능생을 위시해 두뇌활동이 많은 현대인들의 기억력 감퇴, 인지력 학습 저하 등 근원적 문제를 위한 구체적이고 특화된 기능성 소재를 활용한 제품들을 개발

○ 세계 기능성 제품 중 홍삼을 주원료로 하는 기억력 증진을 위해 판매되고 있는 것은 독일 제약기업 베링거인겔하임의 자회사 파마톤의 진사나로 세계시장 점유율 30~40% 연간 매출 3억 달러에 달함

○ 현재 시판되는 기능성 떡은 과학적인 근거가 부족한 것이 현실이며 첨가제에 대한 실험적 근거만으로 떡에 적용하려는 한계가 있음

○ 현재 시판되고 있는 쌀가루를 이용한 기능성 식품들은 그 식품학적, 영양학적 특이성을 100% 활용하지 못하고, 과학적인 근거와 제품품질의 완성도가 떨어져 오히려 소비자들로부터 외면당하는 것들이 상당수임. 또한, 판매된다 하더라도 단순 호기심에 의한 일시소비만이 이루어져 그 지속성이 현저하게 떨어지며 기능성식품에 대한 불신만을 조장하였음

○ 일반적인 저장성 증대를 위한 노력은 α -amylase, β -amylase, hydrocolloids, 유화제, 변성전분(modified starch), 천연항산화제 등과 검류, 식물조직단백, 다당류, 유기산과 올리고당류, 축합인산염, 말티톨 등의 첨가와 surfactants에 의한 떡의 노화억제를 위한 지속적인 연구가 이루어지고 있으나 과학적 근거자료의 제시가 미흡

○ 건강기능성 식품으로서 떡류의 유통 및 저장과정 중 생성될 수 있는 물성학적 변화 및 이화학적 특성변화 특히 탄수화물식품의 노화에 의한 저장성 확보가 미흡

○ 우리나라의 경우 떡가공 제품의 포장재는 대부분 투명하고 얇은 polypropylene계 포장재가 주로 사용되고 심지어 포장이 되지 않은 상태로 자외선 등의 광선에 거의 노출된 채 유통되고 있는 실정으로 장기 저장효과가 있는 포장지 및 포장법의 개발 또한 시급한 실정임

○ 현대 소비자가 선호하는 기능성식품들은 단지 건강만을 위한 것이 아니라 외형, 맛 및 색 등이 모두 조화를 이루고 있는 것을 선호함. 따라서 소비자들의 기호성이 충분히 반영된 고 품질로 그 상품성이 고려되어야 함(상품성을 고려한 배합비 개발이 요구됨)

○ 기존 국내 영세 가공 산업현장에서 사용될 수 있는 쌀의 전처리 조건 및 노화를 예방할 수 있는 포장 기술이 개발되어야 실제 현장에서 제품가공에 접근하기가 용이해질 수 있음

○ 사람의 정신건강에는 먹는 즐거움이 주는 의미가 큼. 따라서 누구나 식품에 대한 안정성 및 건강과 관련한 과학적 근거를 토대로 한 기능성 소재 첨가 제품을 개발할 필요가 있으며, 또한 개발된 제품을 브랜드화하여 안정적 시장진입을 위한 전략이 요구됨

○ 떡류의 제품 품질 및 유통경쟁력이 매우 취약하며 쌀가공 식품은 밀가루 제품에 비하여 품질, 유통 경쟁력이 취약하다. 쌀가공식품은 반죽, 성형 팽화(부풀림)등 가공적성이 밀가루에 비해 떨어져 이러한 가공적성을 높이기 위해 글루텐, 전분 등 다른 원료를 혼합하여 가공하므로 가공과정이 복잡하고 비용이 추가로 소요됨

○ 많은 연구들을 통해서 유통기한 연장 기술을 개발하였으나 실제적인 현장에서는 아직도 유통기한이 1일로 당일 취식 후 냉동 보관해야 함으로 제품의 품질이 매우 빠르게 떨어지는 점이 쌀가공식품 특히 떡류의 시장 확대에 가장 큰 걸림돌로 작용하고 있음

2-2. 연구결과가 국내·외 기술개발에서 차지하는 위치

○ 국내에서 현재 활용되고 있는 천연색소소재를 활용한 제품들의 경우 단순 색소소재 첨가등 단순 첨가물을 추가하는 기술 수준이다. 본 연구결과에서는 떡류 등 쌀가공식품이 갖는 특징을 잘파악하여 안정화 색소소재를 활용하고 이 색소소재의 기능성을 검정하는등 기존 떡류 및 쌀 가공식품 제조 기술발전에 크게 기여할 것으로 생각된다.

○ 새싹보리의 클로로필을 zinc chloride, zinc citrate, zinc lactate를 이용하여 고압열처리하여 마그네슘을 아연(Zn)로 치환하였을 때 녹색이 안정화됨을 연구하였으며 아연의 유기염도 유기염과 같은 효과가 있음을 확인하여, 새싹보리와 댓잎을 이용한 클로로필의 천연색소 안정화 기술 개발을 통해 찌고 익히는 공정에서 녹색이 어두워지거나 색이 변색되는 것을 막을 수 있었고, 떡으로 제조하였을 때도 색 변화가 최소화되며, 색소를 함유하고 있는 소재가 가지고 있는 고유의 기능성이 사라지지 않는 특성을 확인하였음

○ OSA 변성 전분의 제조는 주로 옥수수 전분 등으로 이루어진데 반해, 쌀 전분을 이용하여 아밀로오스 함량에 따른 OSA 변성 전분의 특성 확인을 통한 쌀을 이용한 변성 전분의 제조 기술을 확보하였고, 이들 OSA 변성 전분을 이용한 카로티노이드 캡슐화 기술 개발을 통한 카로티노이드 색소의 제조 가공성에서의 안정성 기술을 확보하였고, 이를 떡으로 제품화 하여 제조하였을 때의 색소 안정성

을 확인하였음

○ 안토시아닌은 수용성인 특성을 가지고 있기 때문에 물이나 수증기 등에 용해되어 빠져나가기 때문에 이들 물질을 보호하고 안정화하는 기술을 개발하였음. 자색고구마와 흑당근을 이용하여 이들의 안토시아닌 색소를 말토텍스트린(DE 1~ DE20)을 이용하여 캡슐화하여 색소를 안정화 시켰고, 이들 떡의 제조 후 색변화 관찰 등을 통해 색소의 장기간 보관했을 시의 색소 안정화에 대한 확인을 하였고 이들 연구는 국외에서 말토텍스트린 DE 12와 단백질 성분으로 진행된 것과 달리 다양한 DE 값을 가진 말토텍스트린을 이용하여 캡슐화 안정화 가능성을 확인했다는 것에 의의가 있음

○ 떡류 제품에 기능성 소재를 활용하여 제품을 개발하여 판매한 경우는 다양하게 있으나 그 기능성을 평가 검증하여 소비자의 신뢰를 확보한 경우는 없었음 본 과제에서는 천연색소인 새싹보리와 홍국, 식방풍, 경옥고 등의 기능성을 검증하여 제품개발 하였고 예다손 떡 제품 개발의 베이스가 되는 동충하초 배양쌀 등의 기능성과 지표성분 함량을 평가하여 떡의 기능성과 표준제조 공정을 위한 기본적인 연구를 시행하여 업계 선도

○ 천연색소 소재 및 천연발효 증편 생산기술 개발 및 사업화를 통해 현재 막걸리나 인스턴트 효모를 이용하여 만들고 있는 시장에서 천연발효라는 긍정적 이미지를 가지고 소비자에게 어필할 수 있음

○ 하루 생산 가능용량 1ton/day라는 생산 가능 공정 개발 및 적용 완료되어 기정떡 제품으로는 처음으로 홈쇼핑 런칭 예약 중임

○ 유통구조 개선을 위한 연구 및포장방법 개발로 인하여 기존 상온 유통이나 냉동유통 뿐만 아니라 냉장 유통까지도 2주이상의 유통기한을 확보할 수 있는 기술력을 확보하여 유통구조 개선에 크게 기여하였으며 국내 업계 최초로 일반떡류의 편의점 냉장유통 시장에 도전이 가능함.

3. 연구수행 내용 및 결과

코드번호	D-05
------	------

제 1절 색소안정화 기술 개발

[제2 협동기관 : 전남대학교 산학협력단 신말식 교수]

1. 클로로필류 천연색소 안정화 기술 개발

가. 미세 댓잎분말의 개발 및 색의 안정화

(1) 재료

댓잎은 (주)대나무 건강나라(담양, 한국)에서 조릿대(*Sasa borealis*) 생잎을 구입하여 사용하였다. 시판되고 있는 녹차 분말인 말차(green tea powder, GTP, Morihan, Kyoto, Japan), 대나무 건강나라에서 일반 댓잎분말(commercial bamboo leaf powder, CBLP)과 미세댓잎분말(commercial fine bamboo leaf powder, CFBLP)을 구입하였고 처리하지 않은 생 댓잎을 건조하여 분쇄한 RBLP(raw bamboo leaf powder)를 실험군과 비교하였다.

(2) 실험방법

(가) 댓잎분말의 제조

Table 1. Sample treatment conditions of bamboo leaf to make fine powder and color stability

After treating of bamboo leaf, bamboo leaves were washed, dried at room temperature,

Samples	1st step	2 nd step	3 rd step	4 th step
BLP4-1	Heating BL in water for 1 h	Adding 2% ZnCl ₂ heating for 1 h, washing	Adding 10% NaHCO ₃ , heating for 1 h, washing	Adding 25% vinegar, heating for 20 min, washing
BLP4-2	Heating BL in water for 1 h	Adding 1% ZnCl ₂ heating for 1 h, washing	Adding 10% NaHCO ₃ , heating 1 h, washing	Adding 20% vinegar, heating for 20 min, washing
BLP4-3	Heating BL in water for 1 h	Adding 1% ZnCl ₂ heating for 1 h, washing	Adding 15% NaHCO ₃ , heating 1 h, washing	Adding 20% vinegar, heating for 20 min, washing
BLP5-1	Heating BL in water for 1 h	Adding 1% ZnCl ₂ heating for 2 h, washing	Adding 5% NaHCO ₃ ,	Adding 25% vinegar, heating for 20 min, washing

1) 레토르트 구입 및 소비 특성에 대한 소비자 조사는 2016년 9월 12일 ~ 9월 21일까지 레토르트에 대한 구매 및 소비 경험이

BLP5-2	Heating BL in water for 1 h	Adding 1% ZnCl ₂ heating for 2 h, washing	heating 1 h, washing Adding 10% NaHCO ₃ , heating 2 h, washing	Adding 25% vinegar, heating for 20 min, washing
BLP6-1	Heating BL in water for 1 h	Adding 1% ZnCl ₂ +10% NaCl heating for 1 h, washing	Adding 5% NaHCO ₃ , heating 0.5 h, washing	Adding 25% vinegar, heating for 20 min, washing
BLP6-2	Heating BL in water for 1 h	Adding 1% ZnCl ₂ + 10% NaCl heating for 1 h, washing	Adding 2.5% NaHCO ₃ , heating 1 h, washing	Adding 20% vinegar, heating for 20 min, washing
GTP	Commercial fine green tea powder			
CBLP	Commercial bamboo leaf powder			
RBLP	Raw (untreated) bamboo leaf powder			
CFBLP	Commercial fine bamboo leaf powder			

ground, and passed through 400 mesh standard sieve.
BLP: bamboo leaf powder

있는 온라인 조사 패널 남녀 600명을 대상으로 조사가 진행되었으며, 성별의 분포는 남성(50%), 여성(50%), 연령별 분포는 20대(30.0%), 30대(35.0%), 40대(35.0%)임

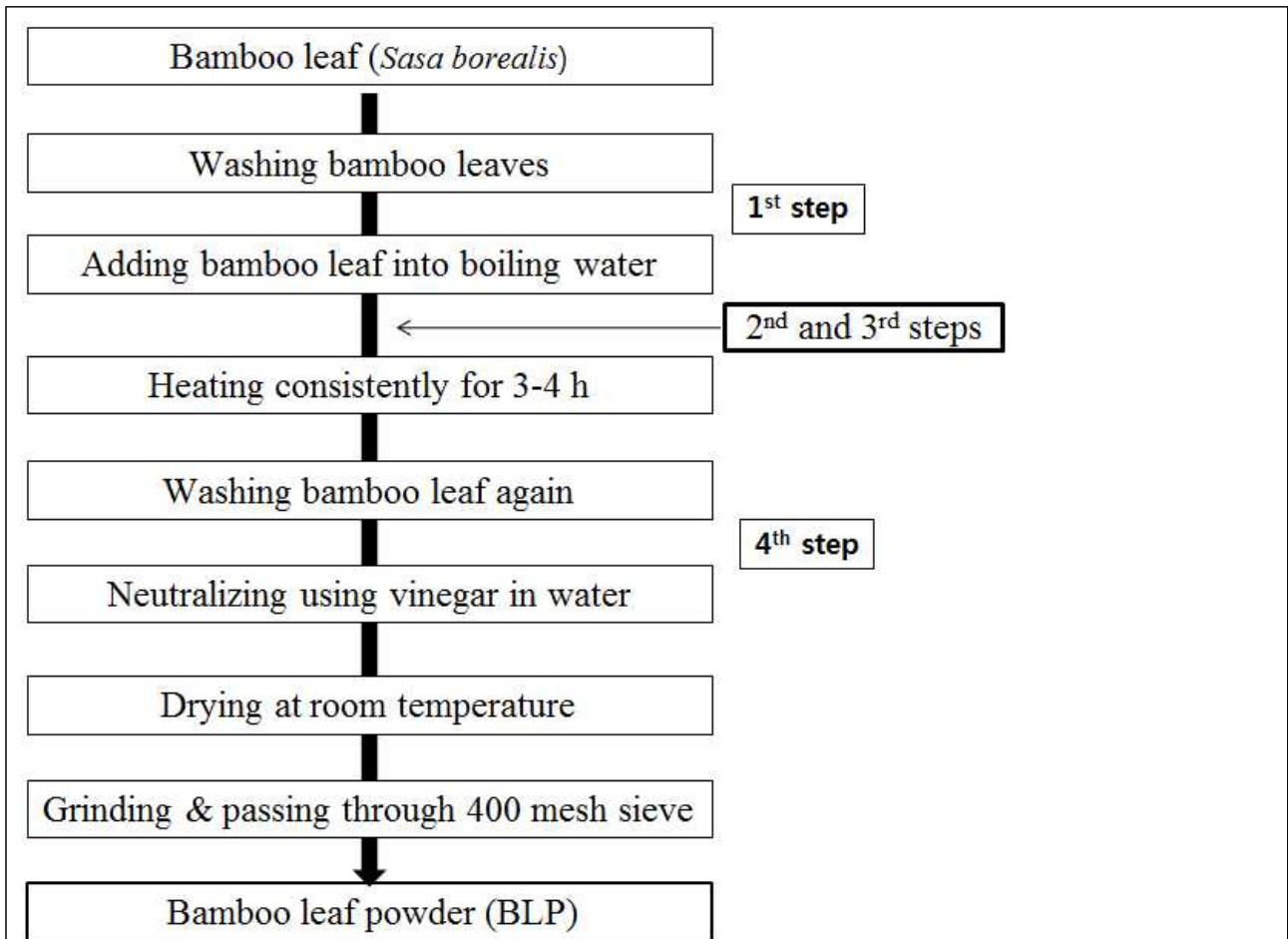


Fig. 1. Flow chart of treating procedure for color stable and fine bamboo leaf powders.

댓잎의 처리는 Tonucci LH와 von Elbe JH (1992)와 LaBorde LF와 von Elbe JH (1994)의 방법을 수정하여 다음과 같이 처리하였다. 시료인 댓잎분말은 댓잎을 구입하여 바로 수세 후 일정량(500 g)씩 나누어 Table 1과 같은 조건으로 처리하였다. 댓잎을 수세 후 1단계로 끓는 물에 가열처리 후 각각의 조건에 따라 2~4단계별로 처리하였고 처리된 댓잎은 식초로 pH를 낮춘 후 상온에서 건조하였고 식품분쇄기(Food mixer, Daesung Artlon, Seoul, Korea)로 분쇄하여 200 (<75 μm) 및 400 (<38 μm) mesh체를 통과시켜 분말 시료로 사용하였다 (Fig. 1). BLP4는 염화아연의 농도와 식소다의 농도를 달리하였고, BLP5는 염화아연의 반응 시간을 BLP4의 1시간보다 1시간을 늘린 2시간으로 식소다 농도와 처리시간을 달리하였다. BLP6는 염화아연에 소금을 첨가하여 가열한 후 식소다 농도와 시간을 달리하여 처리하였다.

(나) 수분과 회분 함량 및 물 결합능력 측정

댓잎분말의 수분과 회분함량은 AOAC(2000) 방법에 따라 실시하였으며 pH는 댓잎분말 0.5 g을 30 mL 증류수에 담가 흔들어 둔 다음 pH meter(AB15 pH meter, Accumet, Fisher Scientific, Leicestershire, England)로 측정하였다.

댓잎분말의 물 결합능력은 Medcalf F와 Gilles KA (1965)와 Park SJ 등(2011) 방법으로 측정하였다. 댓잎분말 0.5 g을 원심분리관에 30 mL 증류수와 함께 넣어 30분간 흔들어 준 다음 원심분리

기(Supra 22K, High Speed Refrigerated Centrifuge, Hanil Sci., Industrial Co., Ltd., Incheon, Korea)로 5000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상정액을 제거하고 남은 residue의 무게를 측정하고 시료의 무게를 뺀 다음 시료의 무게로 나누어 퍼센트로 나타내었다.

(다) 입자크기분포도 측정

처리 후 건조된 덩이를 분쇄한 후 400 mesh체를 통과한 분말로 입자분포도를 측정하였다. 분말입자크기는 CILAS(Model 1064 L, Scinco Co., Ltd, Seoul, Korea)로 실온에서 carrier liquid를 에탄올로 하여 초음파 처리 없이 실시하였다. 모든 시료에 대해 3번 반복 실험하여 평균으로 나타냈으며 입자크기는 누적 퍼센트로 10%, 25%, 50%, 75%, 90%로 나타내었다.

(라) 덩이분말의 형태 특성 관찰

산 처리 전 후의 덩이분말의 형태는 디지털카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)를 이용하여 관찰하였다.

(마) 덩이분말의 색도 측정

덩이분말의 색의 안정성을 비교하기 위하여 덩이분말과 산처리 덩이분말의 색도를 측정하였다. 50 mL 원심분리관에 증류수 10 mL과 식초(Brewed vinegar, Ottogi, Anyang, Gyeonggi-do, Korea) 10 mL에 덩이분말 0.6 g(건물당)을 넣어 끓는 수조에서 1시간 가열하였다. 이를 Büchner funnel을 이용하여 감압여과 시켰으며 여과지에 남은 잔사를 실온에서 건조한 다음 색차계(SpectraMagic™ NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)로 색도를 측정하였다. Hunter의 L(lightness)값, a(+ redness/-greenness)값과 b(+ yellowness/-blueness)값을 3회 반복 측정한 후 평균값을 이용하였다. 기기는 L=96.55, a=0.07, b=1.90 인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였다.

(바) 통계처리

실험 결과는 3번 이상 반복 측정하였으며 평균과 표준편차로 나타내었다. SPSS(version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 ANOVA에 의해 분산분석을 실시하였고, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 처리된 덩이분말의 입자 분포

분말은 입자크기에 따라 그 자체의 물리적 특성은 물론 식품에 첨가하였을 때 물리적 가공특성이 달라지므로 용도에 따른 입자크기를 조절하는 것은 매우 중요하다. 특히 입자크기를 감소하면 입자의 표면적이 증가하여 결합능력이나 점도 등의 물리적 특성이 달라진다고 한다(Protonotariou S 등 2014). 특히 식품가공 중 초콜릿을 제조할 때는 미세 분말이 필요하고(Servais C 등 2002), 쌀가루로 빵이나 케이크를 개발할 때 용도에 따라 입자크기가 달라야 한다고 알려져 있다(Kim JM와 Shin M 2014).

Table 2. Particle size distribution of bamboo leaf powders with various treatments
(unit: μm)

Samples ¹⁾	Cumulative values (%)				
	10	25	50	75	90
BLP4-1	3.98	8.71	19.15	32.96	45.46
BLP4-2	3.98	8.31	16.82	29.24	42.39
CFBLP	4.87	12.21	28.17	51.64	77.28

Data present average of measuring three times.

1) Samples are written the abbreviation in Table 1.

댓잎의 강한 섬유질을 부드럽게 하여 분쇄능을 개선하기 위하여 댓잎의 처리 3단계 과정에서 식소다를 5-15%(댓잎 기준, w/w) 가한 다음 0.5-2 h 가열 처리 후 식초로 처리하고 건조 후 분쇄하여 400 mesh 체를 통과시킨 후에 비교한 입자분포는 Table 2와 같았다. 입자크기분포도는 하나의 피크를 갖는 정규분포곡선을 나타냈으며 분석한 분말의 입자크기분포는 10%, 25%, 50%, 75%와 90% 누적된 입자의 크기를 나타내었다. 댓잎 분말의 10% 누적 후 입자크기는 BLP4-1,2가 가장 작은 입자인 3.98 μm 를 보였으며 BLP6-1, 2, BLP4-3이 구입한 녹차 말차보다 미세한 입자크기를 나타냈다. 누적 50% 입자의 크기는 BLP4-2, BLP6-1, BLP4-3 순이었으며 처리한 모든 조건의 댓잎 분말이 16.82-26.73 μm 로 말차의 27.82 μm 보다 미세한 입자크기를 나타냈다. 생잎을 건조하여 분쇄한 분말인 RBLP는 누적 50% 입자의 직경이 37.03 μm 로 시판되는 말차의 27.82 μm 나 미세 댓잎 분말의 28.17 μm 보다 입자크기가 컸지만 시판되는 일반 댓잎분말의 61.81 μm 보다는 작았다. 누적 90%에 해당되는 댓잎분말 입자크기는 처리된 댓잎이 42.38-53.77 μm 로 말차의 66.00 μm 와 미세 댓잎 분말인 77.28 μm 보다 작아 위와 같은 처리를 통해 댓잎분말은 미세화할 수 있음을 알았다. 또한 같은 처리 댓잎을 터보밀(Turbo-Mill, Korea Energy Technology, Deajeon, Korea)로 초미세로 분쇄하였을 때 10 μm 이하의 입자로 66.9%가 분쇄되었다.

시판되는 댓잎분말은 댓잎을 수세 후 세절하여 녹차와 같은 방법으로 덩음 처리 후 짧은 맛을 줄이기 위해 발효숙정과정을 거쳐 만드는 댓잎차로 가공된 것을 분쇄하고 있다. 미세댓잎분말을 제조하기 위해서는 분쇄가 어렵기 때문에 분쇄기에 많은 비용이 들어 경제성이 낮으며 실험실에서 가공된 댓잎 분말은 최소 40 mesh 체를 통과하여 사용하는 정도로 분쇄가 힘들다는 사실을 확인 할 수 있었다 (Hwang SJ와 Kim DH 2006).

처리조건 중에 염화아연을 댓잎기준 1%를 첨가하여 2시간 가열한 것보다는 1시간 가열한 것이 더 바람직한 결과를 얻을 수 있었다. 3단계 처리할 때 식소다의 농도도 10%가 가장 미세한 입자를 얻었지만 2.5%로 낮추었을 때도 큰 차이가 없었다. 녹차도 분말화할 때 사용 목적에 따라 다르게 하며 말차를 음용이나 초콜릿을 만들 때에는 미세하게 하여야 품질이 좋으나 제과, 제빵이나 국수에 첨가 시에는 125-150 μm 를 통과한 것도 가공성이 좋았다. 댓잎분말도 용도에 따라 입자크기를 조절하면 가공비를 낮출 수 있을 것이다.

(나) 댓잎분말의 이화학적 특성

댓잎분말의 입자크기를 미세하게 하고 클로로필의 산에서의 안정화를 위해 염화아연(소금 혼합), 식소다, 식초를 첨가하여 가열 처리한 후 냉풍 건조하여 분쇄한 분말의 수분함량, 회분함량, pH 및 물

결합능력을 측정 한 결과는 Table 3과 같았다.

Table 3. pH and water binding capacity of treated bamboo leaf powder

Samples ¹⁾	Moisture content (%)	Ash content (%)	pH	Water binding capacity (%)
BLP4-1	8.39±0.13 ^{d2)}	10.01±0.18 ^a	4.46	384.9±6.93 ^{de}
BLP4-2	7.48±0.10 ^e	8.47±0.17 ^{cd}	4.29	437.0±0.92 ^b
BLP4-3	6.56±0.19	9.18±0.20 ^b	4.35	426.0±4.24 ^b
BLP5-1	9.37±0.25 ^c	9.23±0.24 ^b	4.74	380.5±2.55 ^{de}
BLP5-2	8.41±0.06 ^d	9.62±0.23 ^{ab}	5.26	378.9±5.02 ^e
BLP6-1	8.11±0.04 ^d	8.60±0.12 ^c	4.38	395.5±0.21 ^{cd}
BLP6-2	9.99±0.18 ^b	7.73±0.13 ^e	4.28	382.3±7.85 ^{de}
GTP	5.87±0.02 ^g	5.05±0.23 ^f	4.95	452.6±8.84 ^a
CBLP	5.91±0.12 ^g	8.11±0.24 ^{de}	5.38	386.6±1.41 ^{cde}
RBLP	10.85±0.14 ^a	8.42±0.22 ^{cd}	5.34	384.8±6.43 ^{de}
CFBLP	6.71±0.10 ^f	7.88±0.14 ^e	5.34	400.6±12.52 ^c

1) Samples are written the abbreviation in Table 1.

2) presents mean ±SD and values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

처리된 댓잎분말의 수분함량은 6.56-9.99%이었으며 생잎을 건조하여 분쇄한 분말은 10.85%로 높게 나타났다. 시판되는 녹차분말과 댓잎분말은 5.87-6.71%로 처리된 댓잎분말보다 낮은 경향을 보였다. 회분 함량은 염화아연, 식소다 및 소금을 첨가하여 가열하면서 결합된 물질에 영향을 받을 것으로 생각되므로 시판 댓잎분말과 비교하였다. 시판 댓잎분말의 경우 7.88과 8.11%이었으며 처리하지 않은 댓잎 분말의 경우 8.42%이었다. 이에 반해 2% 염화아연을 첨가하여 1시간 처리한 시료인 BLP4-1의 경우 10.01%로 가장 높았으며 1% 염화아연을 2 h 처리하고 10% 식소다를 2 h 처리한 BLP5-2 분말이 9.62%로 두 시료간에는 유의 차이가 없었다.

대체적으로 회분 함량은 처리한 물질의 농도가 높고 처리시간이 길면 높은 경향을 보였다. BLP4-2, BLP6-1이 처리하지 않은 RBLP의 8.42%와 유사하였다. BLP6-2의 댓잎분말은 처리군 중에서 7.73%로 가장 낮은 회분 함량을 보였는데(p<0.05) 이 경우는 시판 미세 댓잎분말에 함유된 회분함량과 유사하였다. 시판 녹차 분말의 경우에는 회분 함량이 5.05%로 댓잎에 비해 낮은 함량을 나타내고 있음을 확인하였다. 본 처리 댓잎은 클로로필의 Mg이 hydrogen으로 치환된 다음 Zn로 치환되어 원자량이 24 g/mol인 Mg이 65.4 g/mol인 Zn로 치환되었기 때문으로 생각되었다. 시판 댓잎분말의 pH는 5.34-5.38이고 생잎을 건조한 댓잎분말도 pH 5.34인데 처리된 댓잎분말의 pH는 4.28-5.26로 마지막 식초로 처리할 때 농도를 줄이거나 시간을 짧게 처리하는 것이 좋을 것으로 생각되었다.

댓잎분말을 식품에 첨가하여 사용할 때 물결합능력은 식품의 리올로지나 텍스처 특성은 물론 가공 적성에도 영향을 줄 수 있기 때문에 측정 한 결과 Table 3과 같이 모든 분말이 378.9-452.6% 범위로 함유된 식이섬유의 물 결합능력에 의해 높은 값을 나타냄을 확인하였다. 대부분 식이섬유소를 함

유한 식품을 분말로 하였을 때 물결합능력이 달라 기능성 소재로 첨가하였을 때 리올로지나 텍스처에 영향을 주게 되는데 이런 품질 변화를 개선하기 위해서는 가가 소재의 물결합능력을 고려하여 가공시 물이 첨가되어야 할 것으로 생각되었다.

시판 댓잎분말의 식이섬유를 측정한 결과 65.57%로(Yoon KH & Kim MK 2009) 높은 식이섬유 함량으로 인해 물결합능력이 378.9-437.0%로 매우 높음을 알 수 있었다. 녹차 분말이 452.6%로 가장 높은 물 결합능력을 보였는데 이는 댓잎분말보다 높은 식이섬유 함량에 기인하는 것으로 생각되었다. 댓잎에는 친수성 섬유가 함유되어 있는데 이들은 수분을 잘 흡수하며, 이는 댓잎에 있는 섬유와 친수성 매트릭스 고분자 간의 약한 결합 때문으로 보고되었다 (Zakikhani P 등 2014). 시판 댓잎분말의 경우에도 입자크기가 작은 경우 더 높은 경향을 보였다. 처리된 댓잎분말의 경우도 입자크기가 상대적으로 컸던 BLP5-1, BLP5-2가 낮은 물결합능력을 보였으며 입자크기가 작은 BLP4-2, BLP4-3이 유의적으로 높은 물결합능력을 나타냈다. 댓잎은 염화아연, 소금, 식소다 및 식초로 처리하였을 때 회분 함량은 약간 증가하였으나 분쇄 후 분말의 입자크기는 시판 미세 댓잎분말이나 말차보다 훨씬 작아졌으나 물결합능력은 크게 영향을 받지 않음을 알 수 있었다.

(다) 산처리 전후의 색의 안정성

녹색 채소의 가공 중의 색변화는 pH에 의한 클로로필이 pheophytin으로 전환되기 때문에 가열이나 산 조건에 놓여지면 밝지 않은 올리브 녹색으로 변화된다(Gunawan MI와 Barringer SA 2000, Koca N 등 2007). 완두콩이나 시금치 등의 채소에 함유된 chlorophyll은 가열이나 동결건조로 색변화가 일어나는데(King VAE 등 2001, Koca N 등 2006) 가열은 함유된 산에 의해 조리수의 pH가 낮아지기 때문이다.

댓잎에 함유된 클로로필의 색이 산에 의해 Mg이 수소로 치환되면서 pheophytin이나 pheophobide로 바뀌어 올리브 녹색으로 변하는 것(Gunawan MI와 Barringer SA 2000)을 방지하기 위하여 Zn-chlorophyll complex를 만들어 안정화시키고자 하였다. Table 1과 같이 처음에 물만 넣고 가열하면 댓잎에 함유된 산이 물에 용출되어 클로로필을 pheophytin이나 pheophobide로 변화시키고 여기에 아연화합물을 첨가하여 가열하면 Zn-chlorophyll 을 형성하여 색이 녹색으로 돌아오게 된다. 또한 소금이나 식소다와 같은 알칼리제를 첨가해도 pH를 상승시켜 녹색의 안정화에 도움을 줄 수 있다(Koca N 등 2007).

Table 4. Changes of color values of bamboo leaf powders after acid treatment

Samples	Color values			Acid treated sample	Color values		
	L	a	b		L	a	b
BLP4-1	57.93±0.11 ^{g2)}	-11.35±0.02 ^c	29.69±0.07 ^b	ABLP4-1	56.82±0.08 ^{e*}	-11.64±0.03 ^{h*}	28.36±0.03 ^{b*}
BLP4-2	59.55±0.33 ^d	-13.59±0.03 ^f	29.30±0.10 ^c	ABLP4-2	56.30±0.04 ^{f*}	-13.21±0.01 ^{k*}	28.37±0.02 ^{b*}
BLP4-3	58.16±0.19 ^f	-13.71±0.03 ^h	29.31±0.10 ^c	ABLP4-3	55.46±0.04 ^{h*}	-12.91±0.02 ^{j*}	28.72±0.02 ^{a*}
BLP5-1	56.50±0.01 ^h	-9.20±0.03 ^a	24.93±0.01 ^g	ABLP5-1	55.58±0.05 ^{g*}	-9.18±0.02 ^e	24.13±0.03 ^{h*}
BLP5-2	55.68±0.04 ^j	-9.21±0.06 ^a	24.80±0.06 ^h	ABLP5-2	53.87±0.01 ^{j*}	-9.55±0.02 ^{f*}	25.40±0.02 ^{f*}
BLP6-1	59.06±0.03 ^c	-11.59±0.02 ^e	26.79±0.06 ^c	ABLP6-1	56.96±0.05 ^{d*}	-11.59±0.02 ^g	26.07±0.01 ^{c*}
BLP6-2	56.79±0.08 ⁱ	-11.49±0.05 ^d	25.48±0.06 ^f	ABLP6-2	55.24±0.06 ^{i*}	-11.68±0.01 ^{i*}	25.97±0.03 ^{d*}
GTP	59.51±0.01 ^d	-11.21±0.03 ^b	31.79±0.02 ^a	AGTP	51.75±0.03 ^{k*}	-3.09±0.02 ^{a*}	25.72±0.02 ^{e*}
CBLP	61.77±0.20 ^b	-13.66±0.04 ^e	24.48±0.05 ⁱ	ACBLP	60.47±0.01 ^{b*}	3.78±0.02 ^{d*}	21.98±0.01 ^{i*}
RBLP	62.03±0.17 ^a	-13.55±0.03 ^f	23.13±0.09 ^j	ARBLP	62.64±0.02 ^{a*}	-3.25±0.01 ^{b*}	19.49±0.01 ^{j*}
CFBLP	60.35±0.01 ^c	-13.67±0.02 ^{gh}	27.00±0.01 ^d	ACFBLP	59.77±0.01 ^{c*}	-3.74±0.02 ^{c*}	24.45±0.02 ^{g*}

1) Samples are written the abbreviation in Table 1.

2)presents mean \pm SD and values with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

땃잎처리2단계에서 땃잎에 Zn-chlorophyll이 형성되였지만 색의 안정화를 돕고 헤미셀룰로오스와 알칼리에 의해 분해되어 섬유질을 약하게 만들어 건조 땃잎의 분쇄능을 높이기 위해 식소다로 3단계 처리를 하였다. 처리된 땃잎을 수세 후 식초를 가하여 분말을 약산으로 만들고자 하였다(Fig. 1). 산에 대한 색소의 안정성을 확인하기 위해 식초액에서 가열하여 산에 의한 반응을 촉진시킨 후 여과하여 건조 후 시판 분말과 처리 분말의 형태를 비교한 결과는 Fig. 2와 같았다. 사진에서와 같이 처리된 땃잎분말의 녹색은 변하지 않았는데 시판 녹차분말, 시판 땃잎분말과 무처리 땃잎분말은 모두 올리브 그린을 나타내면서 누렇게 변하였다.

이를 색차계로 색도인Lab값을 비교한 결과는 Table 4에 나타내었다. 산처리 하지 않은 분말의 L,a,b값은 시료에 따라 유의 적인 차이를 보였따($p < 0.05$). 명도(L, lightness)는 시판 땃잎분말이 60.35-62.03으로 처리 땃잎분말의 55.68-59.55보다 높은 값으로 더 밝음을 알 수 있었다.

적색도(+a, redness)는 모두 음의 값으로 녹색을 띠고 있었고 시판 땃잎분말이 -13.55~-13.67이었으며 BLP4-2, BLP4-3은 -13.59, -13.71로 유사한 값을 보였고 BLP6-1와 BLP6-2는 각각 -11.49와 -11.59, BLP5-1과 BLP5-2는 -9.20, -9.21로 처리조건에 따라 차이를 나타냈다.

황색도(+b, yellowness)는 녹차분말이 가장 높은 값인 31.79이었으며 시판 땃잎분말은 24.48-27.00 이며 BLP4는 29.30-29.69, BLP5는 24.80-24.93, BLP6은 25.48-26.79로 땃잎분말이 모두 녹색을 떠나 처리조건에 따라 차이를 보였고 같은 그룹에서는 유사한 색을 나타냈다. 산 처리 후의 시판 땃잎과 녹차분말의 색은 많은 변화를 보였다.

L값은 큰 차이가 없었으나 -a(greenness) 값은 13.66-13.67에서3.74-3.78로 감소하여 녹색이 감소하였음을 알 수 있었다. 처리한 땃잎분말에서는 -a값이 BLP4는 11.64-13.21, BLP6은 11.59-11.68, BLP5는 9.18-9.55로 거의 산 처리 전과 유사하였다. 시판 땃잎과 녹차분말의 b값은 21.98-24.45와 25.72로 각각 3과 6 정도 감소하였다. 즉 시판 녹차와 땃잎분말, 무처리 땃잎분말은 산에 의해 색이 누렇게 변했고 그 결과 -a값은 약 8과 10 정도, b값은 6과 3정도 감소하였지만 처리한 땃잎분말은 -a값이나 b값 모두 거의 변하지 않아 Fig. 2에서 보듯 녹색을 그대로 유지하고 있음을 확인하였다. 처리 조건 중에서는 BLP4-2, BLP4-3이 분말의 입자나 색의 안정화가 가장 좋았으며 그 다음은 BLP6-1, BLP6-2, BLP4-1이었고 BLP5-1과 BLP5-2가 처리 조건 중에서는 가장 효과가 적었다.

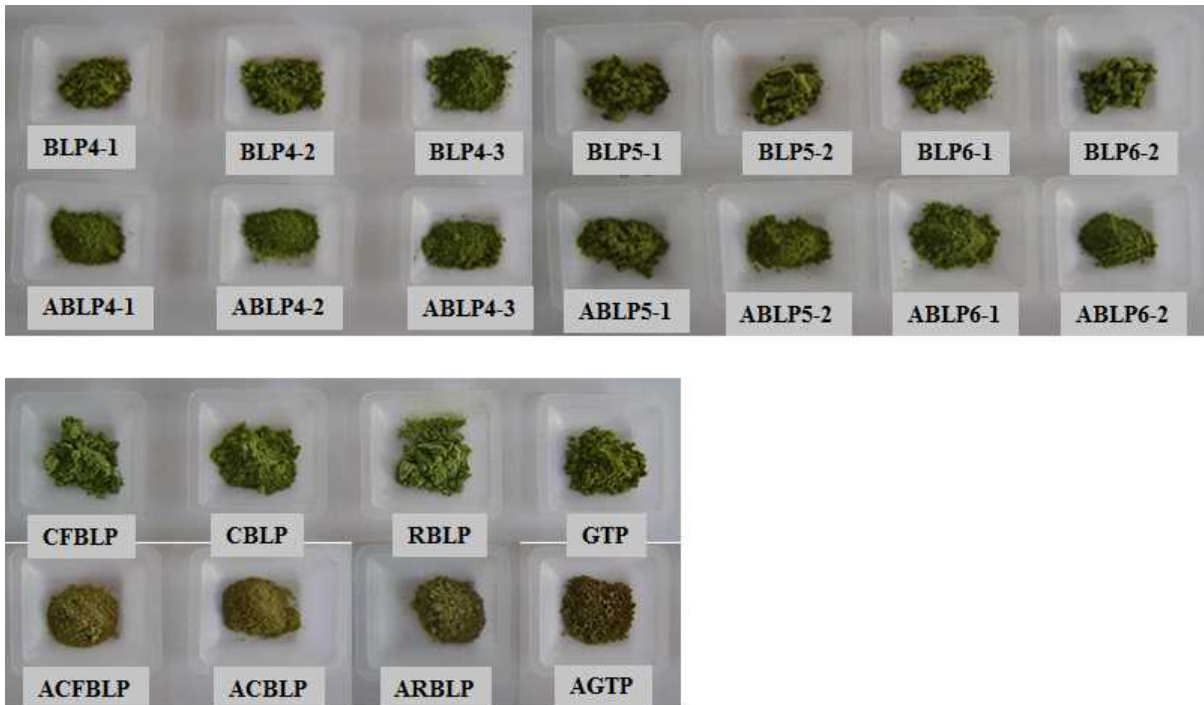


Fig. 2. Comparison of color changes between treated bamboo leaf powders and their powders after heating acidic solution.

The treatment condition of each sample is the same as Table 1.

나. 새싹보리를 이용한 클로로필 색소 안정화 방법 개발

(1) 재료

새싹보리는 (주)새뜸원(영광, 한국)에서 생잎을 구입하여 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 새싹보리 분말의 제조

시료인 새싹보리 분말은 구입한 후 바로 수세하여 일정량(3 kg)씩 나누어 Table 5와 같은 조건에서 처리하였다. 처리 후 건조시킨 시료를 식품분쇄기(Food mixer, Daesung Artlon, Seoul, Korea)로 분쇄하여 120(90 μm) mesh체를 통과시켜 분말 시료로 사용하였다.

Table 5. Sample treatment conditions of young barley leaf to make fine powder and color stability

Samples	1 st step	2 nd step
DYB-1	Drying in room temperature (22±2℃)	-

DYB-2	Drying in room temperature (22±2℃)	Adding 100 ml of 0.01 % ZnCl ₂ , heating for 15 min
DYB-3	Drying in room temperature (22±2℃)	Adding 100 ml of 0.2 % NaCl, heating for 15 min
SYB-1	Drying in room temperature (22±2℃) after steaming	-
SYB-2	Drying in room temperature (22±2℃) after steaming	Adding 100 ml of 0.01 % ZnCl ₂ , heating for 15 min
SYB-3	Drying in room temperature (22±2℃) after steaming	Adding 100 ml of 0.2 % NaCl, heating for 15 min
FYB-1	Drying in room temperature (22±2℃) after freezing and removing water	-
FYB-2	Drying in room temperature (22±2℃) after freezing and removing water	Adding 100 ml of 0.01 % ZnCl ₂ , heating for 30 min
FYB-3	Drying in room temperature (22±2℃) after freezing	Adding 100 ml of 0.2 % NaCl, heating for 15 min

After treating of young barely leaf, young barely leaves were dried at room temperature, ground, and passed through 120 mesh standard sieve.

DYB : dried young barely leaf

SYB : steamed young barely leaf

FYB : frozen young barely leaf

(나) 새싹보리 분말의 색도 측정

새싹보리 분말의 색의 안정성을 비교하기 위해 색차계(SpectraMagic TM NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)로 색도를 측정하였다. Hunter의 L(lightness)값, a(+redness/-greenness)값과 b(+yellowness/-blueness)값을 3회 반복 측정한 후 평균값을 이용하였다. 기기는 L=96.55, a=0.07, b=1.90 인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였다.

(다) 새싹보리 분말의 기호도 조사

새싹보리 분말에 대한 기호도 조사는 색상 및 냄새에 대해 9점 채점법으로 실시하였다. 훈련된 식품영양학과 대학원생 20명을 평가원으로 기호도 조사가 이루어졌으며 가장 좋다를 9점, 가장 나쁘다를 1점으로 하여 색상과 냄새의 기호도를 평가하였다.

(라) 통계처리

SPSS 12.0K (SPSS Inc., USA)를 이용하여 평균값과 표준편차를 구하였으며 각 변수에 대한 유의성은 ANOVA(Analysis of variance)를 이용하여 검정하였다. 또한 Duncan's multiple-range test로 p<0.05 수준에서 사후검증을 실시하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 새싹보리 분말의 색도 측정

Table 6. Hunter L, a, b values of young barley leaf powder

Samples	Color values		
	L ¹⁾	a	b
DYB-1	46.98±0.11 ^{e2}	-9.10±0.02 ^e	30.27±0.17 ^c
DYB-2	48.30±0.07 ^d	-9.08±0.03 ^e	31.17±0.16 ^b
DYB-3	44.51±0.06 ^h	-7.21±0.01 ^a	28.05±0.07 ^d
SYB-1	48.77±0.08 ^c	-8.81±0.08 ^d	27.27±0.17 ^e
SYB-2	50.02±0.21 ^a	-9.53±0.13 ^f	31.72±0.31 ^a
SYB-3	45.40±0.28 ^g	-7.89±0.05 ^b	27.26±0.25 ^e
FYB-1	45.51±0.31 ^g	-8.61±0.07 ^c	23.86±0.24 ^h
FYB-2	49.30±0.13 ^b	-7.87±0.07 ^b	26.70±0.19 ^f
FYB-3	46.42±0.06 ^f	-7.30±0.11 ^a	25.23±0.29 ^g

1) L, ±a, ±b and ΔE respectively mean lightness, redness/greenness, yellowness/blueness and color difference.

2) Data represents mean ± SD.

Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

명도(L, lightness)의 경우 처리 조건에 따라 44.51-50.02 으로 나타났다. SYB-2에서 가장 높은 결과를 보였으며, 가장 밝은 색을 띄는 것을 확인할 수 있었다. FYB-2, SYB-1, DYB-2 순서로 밝은 색을 나타내었으며, DYB-3이 가장 어두운 것으로 측정되었다. 각각의 시료의 처리 방법에 따라 L값이 다르게 나타났으며, 2차 처리 과정에서 ZnCl₂를 첨가하여 가열 후 건조시킨 경우 L값이 가장 높게 나타나 ZnCl₂를 첨가하여 처리한 경우 명도가 높아지는 것을 알 수 있었다.

적색도(+ a, redness)의 경우 모두 음의 값을 나타냈으며, -7.21~-9.53의 범위에서 나타났다. DYB-3와 FYB-3에서 가장 높은 값을 보였으며, SYB-2에서 가장 낮은 값을 보였다. 적색도 또한 각각의 시료의 처리 방법에 따라 값이 다르게 나타났는데 2차 처리과정에서 NaCl을 첨가한 경우 a값이 다른 처리 방법에 비해 높게 나타나 더 옅은 녹색을 나타내었다.

황색도(+ b, yellowness)의 경우 23.86-31.72 범위에서 값이 나타났으며, SYB-2에서 가장 높은 값을 보였으며, FYB-1에서 가장 낮은 값을 보였다. 황색도 값도 명도와 유사한 경향을 나타내었는데, 2차 처리 과정에서 ZnCl₂를 첨가하여 가열 후 건조시킨 경우 황색도가 가장 높게 나타나 ZnCl₂를 첨가하여 처리한 경우 다른 조건으로 처리한 시료에 비해 황색도가 높아지는 것을 알 수 있었다.

(나) 새싹보리 분말의 기호도 특성 측정

Table 7. Scent and colour preference test data of young barley leaf powder with various treatments

Samples	Scent preference	Colour preference
DYB-1	3.75±2.20 ^{c1)}	6.20±2.35 ^{ab}
DYB-2	4.50±1.85 ^{bc}	6.00±1.89 ^{abc}
DYB-3	4.95±2.11 ^{abc}	4.60±1.47 ^{cd}
SYB-1	4.55±2.14 ^{bc}	5.15±1.93 ^{bcd}
SYB-2	6.00±2.20 ^a	6.95±2.01 ^a
SYB-3	6.15±2.08 ^a	4.85±2.39 ^{bcd}
FYB-1	3.90±2.02 ^{bc}	3.80±3.02 ^d
FYB-2	5.30±1.72 ^{ab}	5.10±1.62 ^{bcd}
FYB-3	4.35±2.37 ^{bc}	4.30±2.03 ^d

Data represents mean ± SD

1) a-d Values with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

처리조건을 달리한 새싹보리분말의 냄새 및 색상 선호도 평가 결과는 Table. 2와 같았다. 냄새 선호도의 경우 유사한 값을 나타내는 경향을 보였으나, SYB-2, SYB-3에서 선호도가 가장 높게 나타났으며 DYB-1에서 가장 낮게 나타났다. 즉, Steaming 하여 건조 후 ZnCl₂, NaCl을 첨가하여 처리하고 건조시킨 새싹보리 분말의 선호도가 가장 높은 것을 알 수 있었다.

색상 선호도도 시료 간 유사한 값을 나타내는 경향을 보였으며, SYB-2에서 가장 높은 선호도를 보인 반면 FYB-1와 FYB-3에서 가장 낮은 선호도를 보였다. 색상선호도 또한 SYB-2으로 처리한 시료가 가장 높은 값을 나타내어 Steaming 하여 건조 후 ZnCl₂을 첨가하여 처리 후 건조한 시료가 냄새와 색상 선호도 측면에서 가장 효과적인 것을 확인할 수 있었다.

다. 안정화 클로로필 색소 제조 및 안정화도 측정

(1) 재료

실험에 사용한 새싹보리는 2016년 4월 수확된 것을 (주)새뜸원(영광군, 전남 한국)에서 구입하여 시료로 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 새싹보리 처리

수확한 새싹보리는 수세 후 250 g 씩 분할하여 가위로 1 cm 크기 이내로 잘게 잘라 실험에 사용하였다. 시료는 각 군마다 250 g의 새싹보리를 사용하여 pH 5로 보정된 수용액을 첨가하여 가압멸균기로 처리하여 제조되었다. 아연처리군은 1 L의 pH 5로 보정된 수용액에 0.01% ZnCl₂(BLAZ),

0.01% zinc citrate(BLAC), 0.01% zinc lactate(BLAL)를 각각 첨가하여 제조해 열처리하였다. 처리된 시료는 흐르는 물에 씻어 식품건조기(SW-300, Sehwa Products INC, Gyeonggi-do, Korea)에 넣고 온도 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$, HP 6.3의 조건으로 24시간 건조하였고, 건조된 시료는 100 mesh 체에 내려 분말로 실험에 사용하였다.

(나) 아연 함량 분석

새싹보리 분말의 처리 방법에 따른 Zn 함량을 분석하기 위해 0.5 g의 새싹보리 분말을 마이크로가수분해장치 테프론 용기에 넣고 65% 질산 7 mL와 30% 과산화수소수 각 1 mL를 넣었다. 테프론 용기를 밀봉한 후에 마이크로가수분해장치(ETHOS TC, Milestone, 24010 Sorisole Bergamo, Italy)로 산 분해를 실시하여, 산 분해된 시료를 냉각시킨 후 풀어 0.1% 질산용액을 이용하여 50 mL로 정용한 후 시료로 사용하였다. 처리된 시료는 미량중금속 아연의 분석을 위하여 ICP/MS(NEXION 300X, PerkinElmer, MA, USA)를 사용하였다. ICP/MS의 기기의 조건은 RF power 1,600 watts, Lense voltage 6.75 V, nebulizer gas flow는 0.96 L/min, Auxillary gas flow는 1.4 L/min, sampling interfaces는 Ni로 새싹보리의 Zn 함량을 분석하였다. 아연 표준물질은 10 mg/L의 표준용액을 0.1% 질산으로 5, 10, 50, 100 $\mu\text{g/L}$ 로 희석하여 사용하였고, 아연의 질량 값은 원소의 질량 별 분포비율에 따라 분포도가 가장 높은 질량 값을 설정하여 분석하였다.

(다) 새싹보리 분말의 색소 안정성 확인

① 산화안정성

새싹보리 분말 색소의 산화안정성을 확인하기 위하여 0.5 g의 새싹보리 분말을 petri dish (35 × 10 mm)에 담아 햇빛이 잘 드는 곳에 배치하여 저장 7일 후와 14일 후 색의 변화를 확인하였다.

② pH 안정성

pH에 의한 안정성을 확인하기 위해 새싹보리 분말 0.5 g에 증류수 20 mL를 첨가한 후, 식초와 1% 식소다를 이용하여 수용액상의 pH를 조절하여 pH 3, 5, 7로 조정한 후, 1시간 동안 끓는 물에서 가열하여 여과한 후 잔사를 이용하여 색의 변화를 관찰하였다.

③ 열 안정성

새싹보리 분말의 열 안정성을 확인하기 위해서 0.5 g의 새싹보리를 도가니에 담아 테크오븐(FDO-7104(B), Daeyung Bakery Machinery Co., Ltd, Seoul, Korea)에 $100^{\circ}\text{C}/100^{\circ}\text{C}$ 로 1시간 동안 가열한 후 실온에서 식힌 후 색의 변화를 확인하였다.

(라) 새싹보리 분말의 색 변화 측정

새싹보리 분말의 색의 변화는 디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 촬영하여 관찰하였으며, 색도계(Spectra magicTMNX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, $\pm a$ (redness/greenness)값 및 $\pm b$ (yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정해서 그 평균값으로 나타내었다. 기기는 L=96.83, a=-0.06, b=-0.15인 표준 백색판(standard white plate)으

로 보정하여 사용하였고, 색차(ΔE)는 백색판을 기준으로 $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ 식에 의하여 계산하였다.

(마) 색소 추출물의 제조

새싹보리 분말의 색소 추출물은 새싹보리 분말 2 g(건량 기준)에 50 mL의 80% ethanol을 첨가한 후 암소에서 마그네틱바를 이용하여 4시간 동안 stirring하여 제조하였다. 추출물은 Whatman No.2 여과지를 이용하여 감압여과기(DOA-P704-AC, GAST Manufacturing, INC., MI., USA)를 통해 여과시킨 후 50 mL로 정용하였다.

(바) 클로로필 함량 측정

새싹보리 분말의 클로로필 함량은 Zarco-Tejada PJ 등(2004)의 방법을 수정하여 분석하였다. UV-Vis spectrophotometer(Optizen pop, Mecasys Co., Ltd, Deajeon, Korea)를 이용하여 400-700 nm 범위의 흡광도를 0.5 nm 단위로 측정하여 확인하였다. 새싹보리 분말 추출물의 클로로필 a와 b, a/b 비율은 663.8 nm와 646.8 nm에서 흡광도를 측정한 후, 다음 계산식을 이용하여 클로로필 a와 b 함량을 계산하여 나타내었다.

$$\text{Chlorophylls a} = 12 \times A_{663.8} - 3.11 \times A_{646.8}$$

$$\text{Chlorophylls b} = 20.78 \times A_{646.8} - 4.88 \times A_{663.8}$$

(사) 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량(total flavonoid contents)은 No JH 등(2012)의 방법으로 측정하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 quercetin과 비교하여 시료의 총 플라보노이드 함량을 g 당 quercetin 함량으로 환산하여 표시하였다.

(아) 총 페놀성 화합물함량 측정

총 페놀성 화합물함량(total phenolic compounds)은 Folin-Ciocalteu's reagent 시약을 이용하여 No JH 등(2012)의 방법으로 분석하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 716 nm에서 흡광도를 측정하여, gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선식($Y = 52.063x - 0.0033$ ($R^2 = 0.9998$))을 이용하여 페놀성 화합물 함량을 계산하였다.

(자) ABTs radical 소거능

ABTs(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) 라디칼 소거능은 Re R 등(1999)의 방법에 준하여 실시하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하여, BHT (butylated hydroxytoluene, Kocher)와 비교하여 ABTs 라디칼 소거능을 확인하였다.

(차) 환원력

새싹보리 추출물의 환원력(reducing power)은 No JH 등(2012)의 방법으로 분석하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하여 BHT와 비교하여 환원력을 확인하였다.

(카) 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 측정해서 실험하였으며, 평균과 표준편차로 표기하였다. 모든 실험의 결과는 SPSS 12.0K(SPSS INC., Chicago IL, USA)를 이용하여 ANOVA test를 통하여 통계 처리하였고, Duncan's multiple-range test로 검증하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 클로로필 및 아연 함량

일반적으로 클로로필 분자는 포피린 구조내부의 Mg 이온이 Zn이나 Cu와 같은 2가 양이온과 치환되면서 더 안정한 분자 구조를 가지며, Zn이나 Cu로 치환된 구조는 산과 열에 훨씬 안정하다고 알려져 있다(Canjura FL 등 1999, Senklang P & Anprung P 2010a). Zn과 클로로필 복합체 형성 시에 pH 4-6에서 복합체 형성이 가장 증가하고 그 이상에서는 복합체 형성이 감소하였고, 110°C에서 15분 간 가열하였을 때 가장 적절한 Zn-클로로필 유도체 결합을 형성하였다고 보고된 바 있다(Ngo T & Zhao Y 2005, Senklang P & Anprung P 2010b). 따라서 본 연구에서는 새싹보리의 클로로필 색소와 Zn의 복합체 형성을 위하여 110°C, pH 5에서 반응시켜 새싹보리 분말을 제조하였다.

새싹보리 분말의 Zn 함량과 클로로필 함량을 측정한 결과는 Table 8과 Fig. 3에 나타내었다. 110°C에서 반응시켜 Zn을 결합시킨 BLAZ, BLAC, BLAL의 Zn 함량은 각각 1244.47 ppm, 911.34 ppm, 634.12 ppm으로 Zn 처리하지 않은 BL 86.08 ppm에 비해 현저히 높게 나타났고, BLAZ에서 Zn 함량이 가장 높은 경향을 보였다($p < 0.05$). 이를 통해 zinc chloride나 zinc citrate, zinc lactate가 각각 클로로필 색소의 포피린 링 구조에 Zn을 치환하는 정도가 다르며, 무기태인 zinc chloride의 치환도가 가장 좋음을 알 수 있었다.

클로로필 a와 b의 함량은 BL에서 13.22 µg/mL, 4.06 µg/mL으로 나타났고, BLA에서 5.10 µg/mL, 0.73 µg/mL으로 열처리에 의해 클로로필 a, b가 감소하는 경향을 보였다($p < 0.05$). 반면에 BLAZ와 BLAC, BLAL에서는 클로로필 a 함량이 각각 10.59 µg/mL, 11.78 µg/mL, 9.52 µg/mL로 나타났다. 이는 흡광도를 이용하여 함량을 계산하였기 때문에 Zn 처리 시 생성되는 Zn-pehophytin a과 클로로필 a의 흡광도 값이 유사한 경향을 보이기 때문에 값이 유사하게 나온 것으로 생각된다.

Zn로 처리한 새싹보리의 클로로필 색소의 특성을 알아보기 위하여 400-700 nm로 흡광도를 0.5 nm 단위로 스캔한 결과, BL은 432 nm와 664.5 nm, BLA는 414 nm와 665 nm, BLAZ는 431 nm와 660 nm, BLAC는 430 nm와 660 nm, BLAL은 429.5 nm와 660.5 nm에서 피크를 나타냈다. 이를 통해서 BLAZ와 BLAC, BLAL은 클로로필 구조 내의 Mg이 Zn으로 치환되어 유도체 형성이 잘 이루어졌을 것으로 생각되며, 이들 새싹보리는 열이나 pH 등에 색의 안정성을 유지할 수 있을 것으로 기대된다.

추가적으로 이후 제품에 적용되는 색소소재는 유기아연을 이용하여 색소를 안정화시키는 기술의 효과성을 입증하기 위해 무기아연($ZnCl_2$)은 대조군으로 실험을 진행하였고, 유기아연의 경우 여러 식품 첨가제로 사용하고 있기 때문에 안전할 것으로 생각된다. 따라서 최종적으로 개발한 안정화 색소는 유기아연으로 처리하여 색소를 안정화시켰기 때문에 식품으로 사용하기에 유효할 것으로 사료되며, 식품첨가물 등재 관련해서는 해당 기관에 확인 후 법에 저촉되지 않는 범위 내에서 사용할 계획이다.

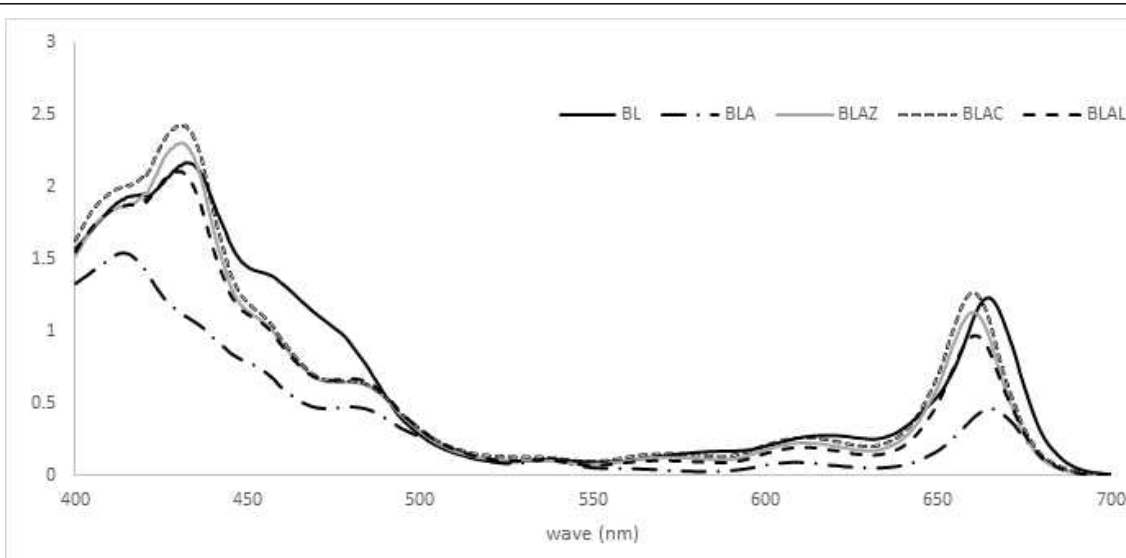


Fig. 3. Absorbance spectrums of chlorophyll in 80% EtOH extracts form different treating young barley leaves.

YBL samples are BL(fresh barley leaf), BLA, BLAZ, BLAC and BLAL were treated by autoclaving at 110°C in pH 5 distilled water, 0.01% zinc chloride solution, 0.01% zinc citrate solution, and 0.01% zinc lactate solution, respectively.

Table 8. Chlorophyll a and b contents and ratio of chlorophyll of young barley leaf

YBL sample ²⁾	Moisture contents (%)	Zn contents (ppm)	Chlorophyll content		
			Chlorophyll a (µg/mL)	Chlorophyll b (µg/mL)	Chl a/b ratio
BL	11.47±0.03 ^{a1)}	86.08±2.08 ^d	13.22±0.01 ^a	4.06±0.01 ^c	3.26±0.00 ^b
BLA	6.38±0.03 ^{bc}	99.04±0.44 ^d	5.10±0.03 ^e	0.73±0.03 ^e	7.01±0.25 ^a
BLAZ	6.01±0.04 ^{cd}	1244.47±11.93 ^a	10.59±0.01 ^c	5.41±0.00 ^b	1.96±0.00 ^d
BLAC	6.67±0.48 ^b	911.34±1.56 ^b	11.78±0.01 ^b	6.01±0.01 ^a	1.96±0.00 ^d
BLAL	5.70±0.04 ^d	634.12±1.39 ^c	9.52±0.00 ^d	3.99±0.00 ^d	2.39±0.00 ^c

Data represents mean±SD.

1)Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

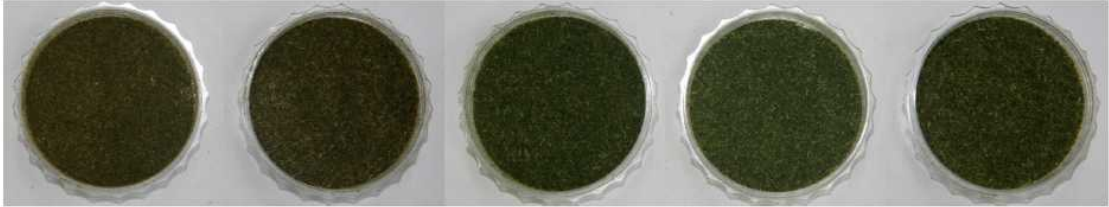
2)YBL samples are BL(fresh barley leaf), BLA, BLAZ, BLAC and BLAL were treated by autoclaving at 110°C in pH 5 distilled water, 0.01% zinc chloride solution, 0.01% zinc citrate solution, and 0.01% zinc lactate solution, respectively.

(나) 새싹보리 분말의 산화 안정성

새싹보리 분말의 산화 안정성을 확인하기 위하여 Zn 처리한 새싹보리와 처리하지 않은 새싹보리 분말을 각각 실온에서 7일, 14일 동안 공기와 햇빛이 통하는 곳에 보관하여 새싹보리 분말의 색의

변화를 확인하여 Fig. 4와 Table 9에 제시하였다. 처리하지 않은 상태인 BL이 가장 선명한 녹색을 나타내며, BLA는 열처리로 인하여 녹색이 소실됨을 확인할 수 있었다. Zn 처리한 BLAZ, BLAC, BLAL은 BL에 비해 다소 진한 녹색을 나타냄을 알 수 있었다(Fig. 4). 실온에서 7일간 저장하였을 때, BL에서 녹색이 탈색되는 현상이 급격하게 나타났고, BLA는 전체가 갈색화됨을 확인할 수 있었으나 Zn 처리한 BLAZ, BLAC, BLAL은 녹색이 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 14일간 저장하였을 때, BL은 대부분이 갈색화 되었으며, BLA는 색이 빠져 하얗게 변하는 현상을 확인할 수 있었다. 저장 기간 동안의 색도 값을 나타낸 결과, 명도 L 값은 모든 샘플에서 증가하는 경향을 보였다 ($p < 0.05$). 이는 금속-클로로로필 유도체가 빛에서 복사 에너지를 흡수하여 흥분상태인 삼중분자로 변화시켜 퀴논이나 페놀 화합물 등과 직접적으로 반응하는 자유라디칼 이온으로 변화될 수 있어 이러한 변화를 통해 포피린의 구조가 붕괴되어 색을 잃을 수 있기 때문으로 생각되었다(Min DB & Boff JM 2002). 따라서 저장 중에 Zn 처리한 BLAZ, BLAC, BLAL도 일부 녹색이 갈색으로 변하지만, 처리하지 않은 생 분말에 비해 녹색의 유지력이 뛰어나므로, Zn 처리한 새싹보리가 산소와 햇빛에 대해서 클로로필 색소를 보다 안정하게 유지함을 알 수 있었다. Zn은 인체에서 필수적인 영양성분으로 zinc lactate 등은 스포츠 음료, 주스, 시리얼, 아기 음식 등에 첨가되어 강화 제품으로 생산되고 있기 때문에(Ngo T & Zhao Y 2005), Zn 처리는 새싹보리의 색에 대한 안정성을 높일 뿐 아니라 건강 기능성에도 기여할 것으로 생각된다.

열안정성

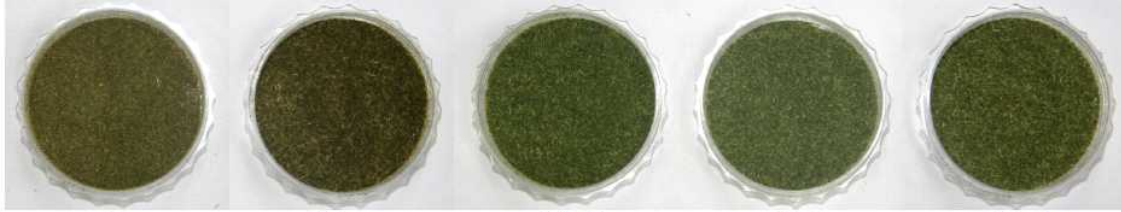


산화안정성-0일자



BL BLA BLAZ BLAC BLAL

산화안정성-7일자



BL

BLA

BLAZ

BLAC

BLAL

산화안정성-14일자



BL

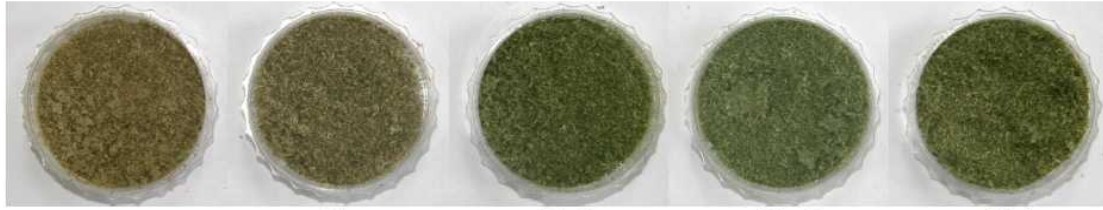
BLA

BLAZ

BLAC

BLAL

pH3



BL

BLA

BLAZ

BLAC

BLAL

pH5



BL

BLA

BLAZ

BLAC

BLAL

pH7



Fig. 4. The colour of young barley leaves treated with various zinc ion solutions at various storage periods, pHs, and heating at 100°C.

YBL samples are BL(fresh barley leaf), BLA, BLAZ, BLAC and BLAL were treated by autoclaving at 110°C in pH 5 distilled water, 0.01% zinc chloride solution, 0.01% zinc citrate solution, and 0.01% zinc lactate solution, respectively.

Table 9. Hunter L, a, and b values of young barley leaves using by different stored methods

YBL sampl e ²⁾	No treat				stored for 7 days				stored for 14 days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
BL	41.75±	-5.7	20.17	58.9	43.22±	-2.47	17.63	56.53	51.56±	-0.29	17.39	48.55
	0.38 ^{c1)C} 2)	3±0. 02 ^{cC}	±0.03 aA	9±0. 36 ^{aA}	0.01 ^{bB}	±0.00 bB	±0.02 ^a B	±0.01 dB	0.01 ^{dA}	±0.01 cA	±0.04 ^a C	±0.01 bC
BLA	44.88±	0.19	20.01	55.7	44.69±	-0.81	15.27	54.37	54.47±	-0.15	15.03	45.00
	0.25 ^{aB}	±0.0 1 ^{aA}	±0.16 aA	2±0. 25 ^{aA}	0.01 ^{aB}	±0.01 aC	±0.01 ^e B	±0.00 eB	0.05 ^{cA}	±0.02 bB	±0.01 ^d C	±0.05 cC
BLAZ	41.95±	-4.7	17.88	57.9	39.78±	-3.51	15.79	59.33	55.14±	-0.36	15.65	44.58
	0.25 ^{cB}	6±0. 02 ^{cC}	±0.25 cA	5±0. 13 ^{bB}	0.01 ^{eC}	±0.01 dB	±0.02 ^d B	±0.01 aA	0.01 ^{bA}	±0.02 dA	±0.02 ^b B	±0.01 dC
BLA C	43.27±	-5.3	19.14	57.1	40.04±	-4.05	16.05	59.19	50.08±	-2.10	14.19	48.95
	0.09 ^{bB}	8±0. 05 ^{dC}	±0.05 bA	8±0. 07 ^c	0.01 ^{dCB}	±0.01 eB	±0.01 ^b B	±0.01 bA	0.01 ^{eA}	±0.01 eA	±0.02 ^e C	±0.01 aC
BLAL	43.61±	-3.6	18.83	56.6	41.37±	-2.78	15.82	57.78	58.14±	0.02±	15.59	41.77
	0.29 ^{bB}	6±0. 05 ^{bC}	±0.16 b	2±0. 22 ^{dB}	0.01 ^{cC}	±0.01 cB	±0.02 ^c cA	±0.00 cA	0.03 ^{aA}	0.01 ^{aA}	±0.01 ^c	±0.03 eC

Data represents mean±SD.

L, ±a, ±b, and ΔE mean lightness, redness/greenness, yellowness/blueness, and color difference, respectively.

1) Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

2) A-C Values with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

3) YBL samples are BL(fresh barley leaf), BLA, BLAZ, BLAC and BLAL were treated by autoclaving at 110°C in pH 5 distilled water, 0.01% zinc chloride solution, 0.01% zinc citrate

solution, and 0.01% zinc lactate solution, respectively.

(다) 새싹보리 분말의 pH 및 열 안정성

본 실험에서는 처리된 새싹보리 분말을 pH 3, 5, 7로 조정하여 1시간 동안 가열 처리하여 조리 중의 새싹보리의 pH 변화에 따른 안정성을 확인하여 Fig. 4와 Table 10에 나타내었다.

pH 3과 5로 처리하여 1시간 동안 가열하여 분말을 관찰하였을 때, BL은 다소 누렇게 변화하는 경향을 보였고, BLA 역시 색이 갈색으로 변화하는 경향을 확인할 수 있었다. 반면 Zn 처리한 BLAZ, BLAC, BLAL은 초기 녹색과 유사한 색으로 색이 유지됨을 확인할 수 있었다(Fig. 2). pH 7에서는 BL에서도 녹색이 일부 유지되는 경향은 보였으나 가열 과정에서의 색 변화로 인해 녹색이 일부 감소함을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 색차계를 이용하여 새싹보리의 L, a, b 값을 확인한 결과, 적색도/녹색도 값인 a 값에서 BL과 BLA가 -0.24-1.38로 Zn 처리한 BLAZ, BLAC, BLAL -5.52—-3.35에 비하여 녹색도 값이 감소하는 경향을 보임을 확인할 수 있었다(p<0.05). 또한 황색도/청색도를 나타내는 b 값도 BLAZ, BLAC, BLAL에서는 거의 유사한 값을 보인 반면, BL에서는 pH 범위에 따라 값이 변화하여 색에 변화가 있음을 알 수 있었다. 따라서 Zn 처리는 조리 가공 시의 pH 변화와 관계없이 새싹보리의 클로로필 색의 변화를 최소화하여 안정성 개선시킴을 알 수 있었다.

새싹보리 분말의 열 안정성을 측정하기 위하여 100/100°C로 1시간 동안 가열한 후 색의 변화를 관찰한 결과는 Fig. 2와 Table 3에 나타내었다. BL은 100/100°C에서 1시간 가열 시 색의 대부분이 갈색으로 변화하였고, BLA에서도 마찬가지로의 형태를 나타냄을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 반면 Zn 처리한 BLAZ, BLAC, BLAL에서는 기존의 녹색과 유사한 색을 나타냄을 확인할 수 있었으나, BLAL은 상대적으로 일부 녹색이 갈색화되는 현상을 보임을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 적색도/녹색도를 나타내는 a값은 BL과 BLA에서 0.70, 0.50으로 적색으로 색이 변한 것과 달리, Zn 처리한 BLAZ, BLAC, BLAL에서 -5.21- -3.50 범위로 값이 나타나 녹색이 보존됨을 확인할 수 있었다. 따라서 Zn-클로로필 유도체 복합체를 형성한 BLAZ, BLAC, BLAL은 열처리에 안정한 경향이 있기 때문에, 떡이나 빵, 쿠키 등의 고온에서 가열하는 가공 제품을 제조 시에 색에 있어 안정성을 유지할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 10. Hunter L, a, and b values of young barley leaves treating by different pH

YBL sample ²⁾	adjusting at pH 3				adjusting at pH 5				adjusting at pH 7				heating at 100°C			
	L	a	b	△ E	L	a	b	△ E	L	a	b	△ E	L	a	b	△ E
BL	44.59 ±0.08 a1A2)	1.38 ±0.0 2 ^{aA}	18.6 5±0. 20 ^{aC}	55.5 4±0. 05 ^{dC}	42.52 ±0.5 6 ^{aC}	0.94 ±0.0 7 ^{aB}	21.77 ±0.1 3 ^{aA}	58.5 8±0. 54 ^{aA}	43.33 ±0.2 4 ^{aB}	-0.80 ±0.0 3 ^{bC}	19.19 ±0.2 9 ^{aB}	56.9 0±0. 13 ^{dB}	37.80 ±0.3 1 ^{ab}	0.70 ±0.0 5 ^a	23.6 3±0. 54 ^a	63.6 5±0. .11 ^a
BLA	39.15 ±0.13 c	0.54 ±0.0 3 ^{bA}	17.3 8±0. 04 ^{bB}	60.2 9±0. 12 ^{bc} A	40.36 ±0.0 5 ^{bB}	0.03 ±0.0 1 ^{bB}	17.66 ±0.0 3 ^{bA}	59.2 2±0. 05 ^{bB}	40.97 ±0.1 8 ^{bA}	-0.24 ±0.0 3 ^{cC}	17.23 ±0.1 2 ^{bcC}	58.5 0±0. 14 ^{cC}	37.24 ±0.8 9 ^{bc}	0.50 ±0.1 0 ^b	20.0 9±0. 16 ^c	62.9 4±0. .80 ^b
BLAZ	38.78 ±0.18 c	-4.47 ±0.0 4 ^{dA}	16.8 3±0. 20 ^d	60.6 5±0. 13 ^{ab} A	40.44 ±0.1 9 ^{bA}	-5.12 ±0.0 6 ^{dB}	17.15 ±0.2 1 ^c	59.2 0±0. 12 ^{bc}	40.10 ±0.1 3 ^b	-5.33 ±0.0 1 ^{dC}	17.04 ±0.2 3 ^{cd}	59.5 1±0. 17 ^{bb}	36.72 ±0.1 3 ^c	-4.4 6±0. 03 ^d	20.4 3±0. 01 ^{bc}	63.6 8±0. .12 ^a
BLAC	38.72 ±0.14 c	-5.14 ±0.0 2 ^{eB}	17.6 3±0. 18 ^{bc} A	60.9 8±0. 09 ^{aA}	38.92 ±0.2 1 ^c	-5.51 ±0.0 3 ^{cC}	17.15 ±0.0 6 ^{cB}	60.6 8±0. 18 ^{dB}	39.08 ±0.0 8 ^d	-4.24 ±0.0 2 ^{cA}	17.44 ±0.0 7 ^{bA}	60.5 1±0. 09 ^{aB}	37.56 ±0.0 6 ^{ab}	-5.2 1±0. 04 ^e	20.9 5±0. 30 ^b	63.1 3±0. .16 ^{ab}
BLAL	39.76 ±0.67 bB	-3.35 ±0.0 4 ^{cA}	17.8 1±0. 04 ^{bA}	59.9 2±0. 63 ^{cA}	40.39 ±0.2 0 ^{bB}	-3.80 ±0.0 6 ^{cB}	17.87 ±0.1 3 ^{bA}	59.3 7±0. 20 ^{bA}	41.24 ±0.1 0 ^{bA}	-5.61 ±0.0 6 ^{cC}	16.70 ±0.2 1 ^{dB}	58.3 6±0. 03 ^{dB}	38.36 ±0.0 6 ^a	-3.5 0±0. 01 ^c	20.3 2±0. 16 ^c	62.0 4±0. .09 ^c

Data represents mean±SD.

L, ±a, ±b, and ΔE mean lightness, redness/greenness, yellowness/blueness, and color difference, respectively.

1) Values with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

2) A-C Values with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

3) YBL samples are BL(fresh barley leaf), BLA, BLAZ, BLAC and BLAL were treated by autoclaving at 110°C in pH 5 distilled water, 0.01% zinc chloride solution, 0.01% zinc citrate solution, and 0.01% zinc lactate solution, respectively.

(라) 새싹보리 분말 추출물의 항산화 활성

① 총 플라보노이드 함량

새싹보리 분말 추출물의 총 플라보노이드 함량 측정 결과는 Fig. 5와 같았다. Zinc chloride를 처리한 BLAZ 실험군에서 8.68 mg quercetin/g young barely leaf로 가장 높은 함량을 보였으며, 새싹보리에 zinc 처리를 하지 않고 가압 열처리를 한 BLA에서 7.94 mg quercetin/g young barely leaves로 가장 낮은 함량을 보였다($p < 0.05$). 본 실험에서 zinc 처리를 한 실험군 BLAZ, BLAC, BLAL에서는 가열 처리하여 추출하였으나 그 함량의 저하가 나타나지 않았다. 이를 통해서 zinc 처리가 총 플라보노이드 함량에 큰 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

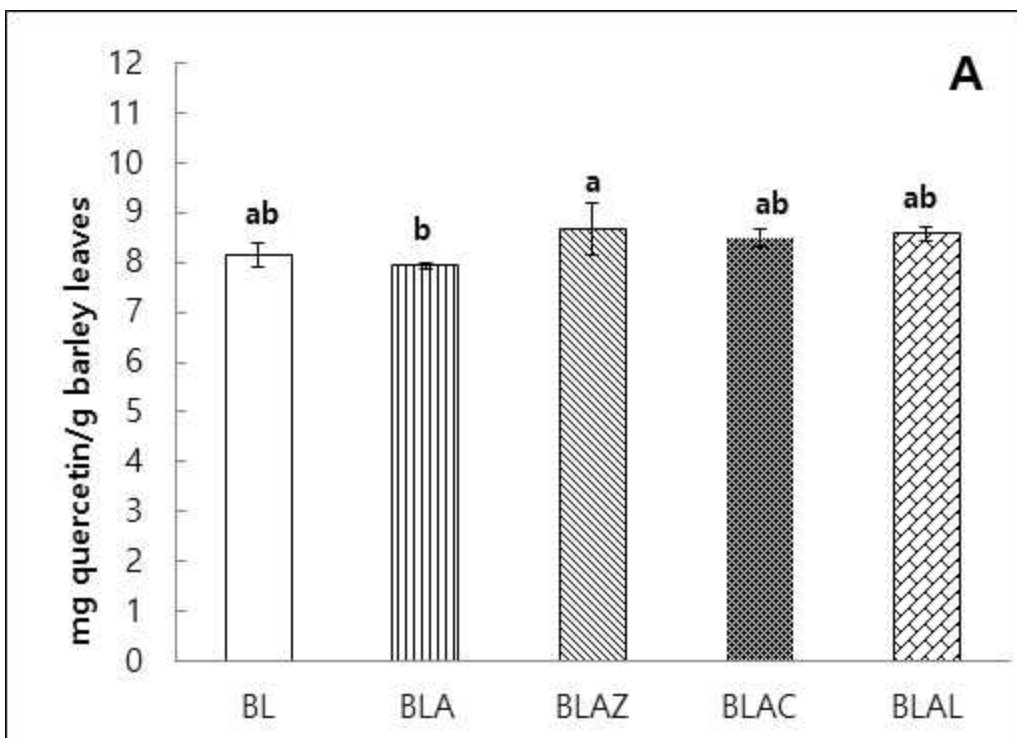


Fig. 5. Total flavonoids contents of young barley leaves.

YBL samples are BL(fresh barley leaf), BLA, BLAZ, BLAC and BLAL were treated by autoclaving at 110°C in pH 5 distilled water, 0.01% zinc chloride solution, 0.01% zinc citrate solution, and 0.01% zinc lactate solution, respectively.

② 총 페놀성 화합물함량

새싹보리 추출물의 처리 조건에 따른 총 페놀성 화합물함량 측정 결과는 Fig. 6과 같았다. 새싹보리는 saponarin, lutoxin, 2'-O-glucosylvitexin과 같은 폴리페놀 화합물을 가지고 있어 활성 라디칼을 잘 소거하는 것으로 알려져 있다(Yu YM 등 2002b, Dudjak J 등 2004). 새싹보리 분말 추출물 BL에서 9.87 mg gallic acid/g YBL로 가장 높은 함량을 보였으며, 110°C에서 가압 열처리를 통해 제조된 BLA, BLAZ, BLAC, BLAL에서는 5.67-6.31 mg gallic acid/g barley leaves로 총 페놀성 화합물함량이 감소함을 확인할 수 있었다($p < 0.05$). 가열 처리하지 않은 새싹보리 분말과 함량의 비교를 통해서 열처리 과정에서 총 페놀성 화합물의 함량이 감소함을 확인할 수 있었다.

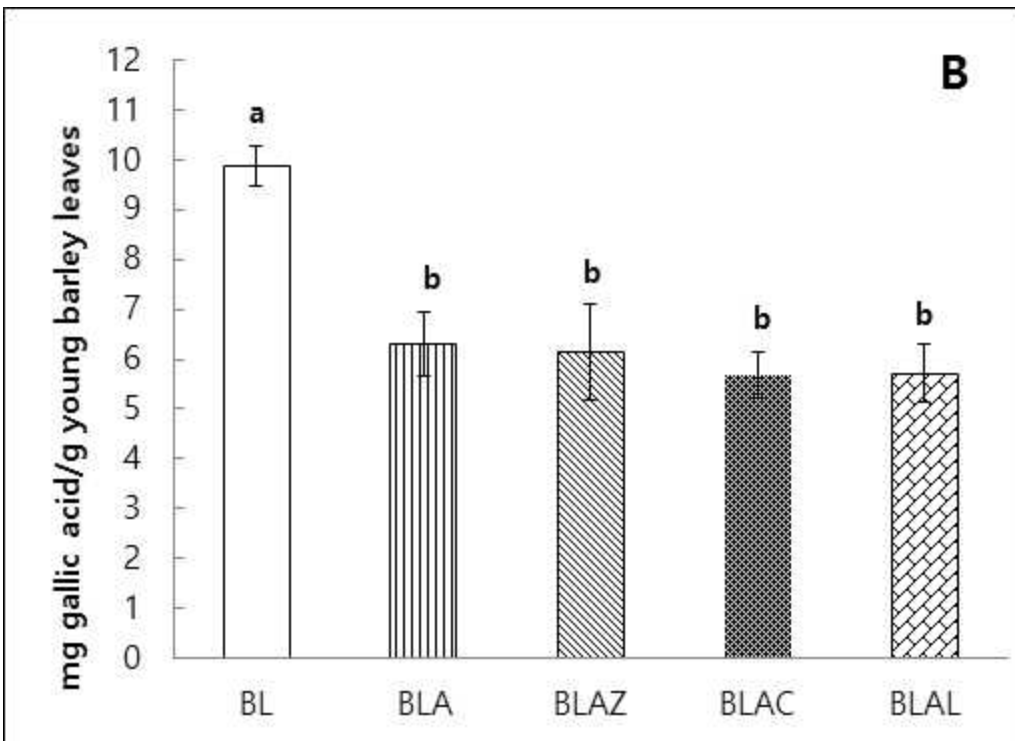


Fig. 6. Total phenolic compounds of young barley leaves.

YBL samples are BL(fresh barley leaf), BLA, BLAZ, BLAC and BLAL were treated by autoclaving at 110°C in pH 5 distilled water, 0.01% zinc chloride solution, 0.01% zinc citrate solution, and 0.01% zinc lactate solution, respectively.

③ ABTs radical 소거능

새싹보리 추출물의 처리 조건에 따른 ABTs radical 소거능 측정 결과는 Fig. 7과 같았다. 생 분말을 이용하여 추출물을 제조한 BL은 65.66%로 가장 높은 라디칼 소거능을 보였고, BLAZ에서 47.11%로 다음으로 높은 소거능을 보였으며 BLA에서 26.30%로 가장 낮은 라디칼 소거능을 보였다($p < 0.05$). BL이 가장 많은 총 페놀성 화합물 함량을 보이고 다른 추출물의 함량이 적은 것으로 미루

어 볼 때, 추출물의 총 페놀성 화합물 함량이 ABTs 라디칼 소거능에 영향을 주었을 것으로 생각해볼 수 있었다. 따라서 Zn-클로로필 복합체의 형성은 색의 안정성을 증진시킬 뿐 아니라 항산화 활성에도 긍정적인 기능을 할 것으로 기대되었다.

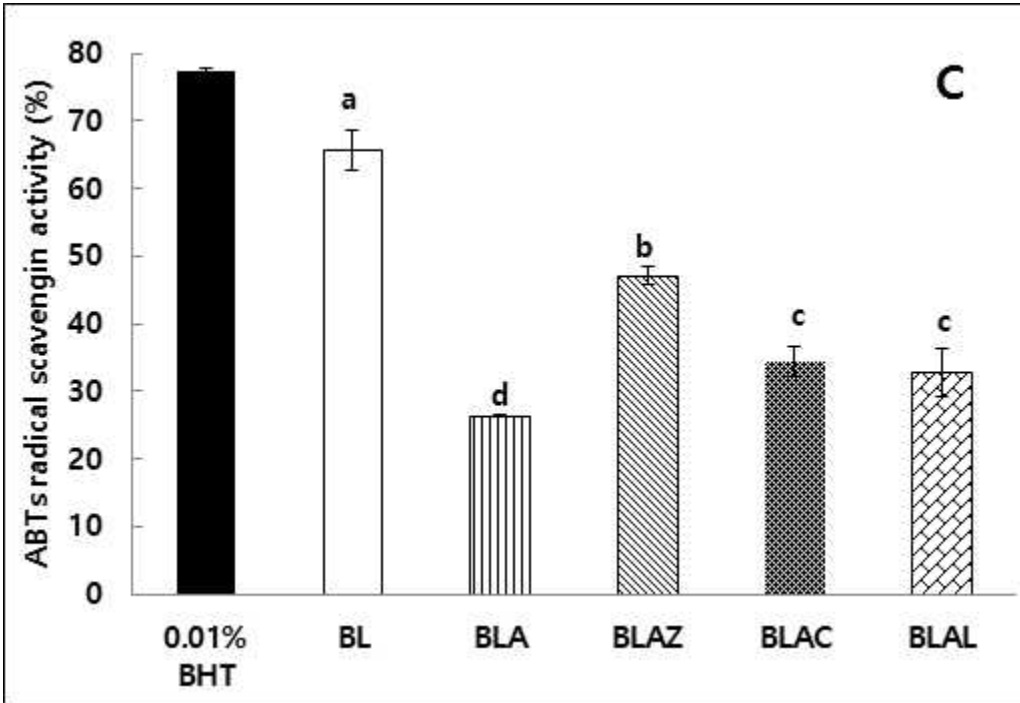


Fig. 7. ABTs radical scavenging activities of young barley leaves.

YBL samples are BL(fresh barley leaf), BLA, BLAZ, BLAC and BLAL were treated by autoclaving at 110°C in pH 5 distilled water, 0.01% zinc chloride solution, 0.01% zinc citrate solution, and 0.01% zinc lactate solution, respectively.

④ 환원력

추출물의 환원력은 노란색의 실험 용액이 녹색이나 파란색으로 변화하는 것을 원리로 활성 정도를 확인한다(No JH 등 2012). 새싹보리 분말 추출물의 처리 조건별 환원력을 측정한 결과는 Fig. 8과 같았다. 새싹보리 추출물인 BL에서 58.38 mg BHT/g YBL로 가장 높은 함량을 보였으며, 감압 열처리한 BLA, BALZ, BLAC, BLAL에서는 36.07-38.79 mg BHT/gYBL로 낮은 경향을 보였다 ($p < 0.05$). 이를 통해서 환원력은 Zn의 처리가 크게 영향을 주지 못함을 알 수 있었다.

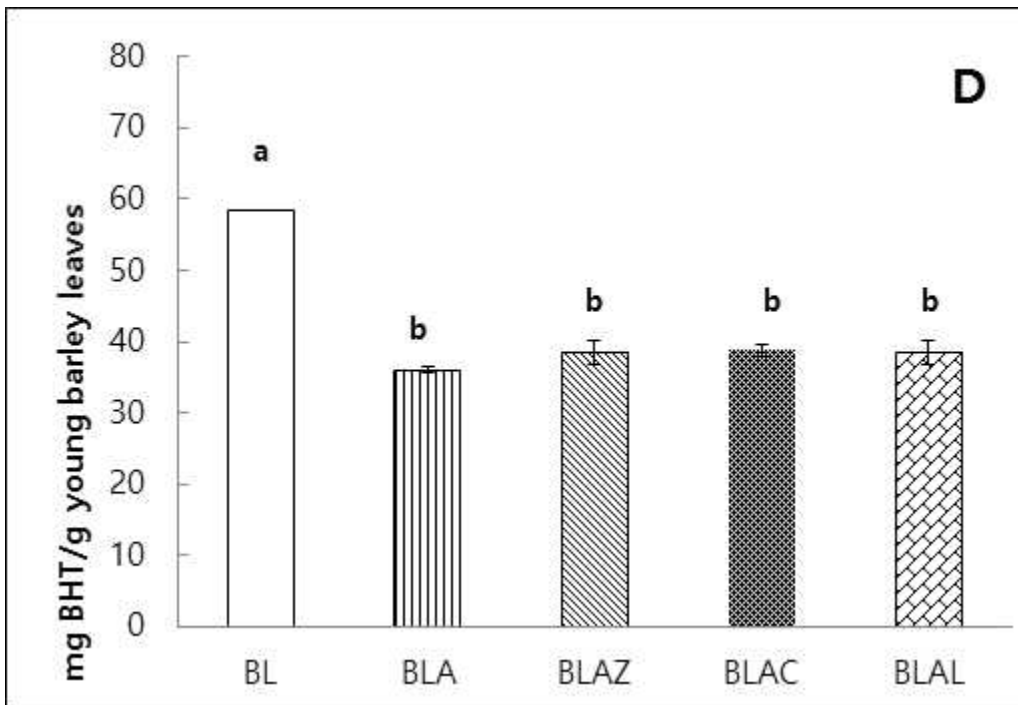


Fig. 8. Reducing power of young barley leaves.

YBL samples are BL(fresh barley leaf), BLA, BLAZ, BLAC and BLAL were treated by autoclaving at 110°C in pH 5 distilled water, 0.01% zinc chloride solution, 0.01% zinc citrate solution, and 0.01% zinc lactate solution, respectively.

라. 안정화 클로로필 색소를 첨가한 떡 제조 시의 색소 안정성 분석

(1) 재료

(㉠)창역에서 기정 반죽을 제공받아 실험에 사용하였고, BLAC를 실험에 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 안정화 클로로필 색소를 첨가한 떡 제조

제공받은 기정 반죽에 안정화 처리한 클로로필 색소 BLAC를 1, 2, 3%를 첨가하여 반죽을 잘 섞어 준 후, 온도 35°C에서 3시간동안 1차 발효하였다. 1차 발효한 반죽은 15 g 단위로 원형으로 성형한 후 다시 35°C에서 1시간 동안 2차 발효를 진행하였다. 발효를 마친 떡 반죽은 100°C에서 30분간 가열하여 떡을 제조하였다. 제조된 떡은 저장성 평가를 위해 4°C와 25°C에 각각 24시간 보관하여 실험에 사용하였다.

(나) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 외관 특성 관찰

떡의 저장 중의 외관 특성 변화를 확인하기 위해 디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 촬영하여 관찰하였으며, 일정한 높이에서 측정하여 관찰하였다.

(다) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 색소 변화 관찰

저장 중의 새싹보리를 첨가한 떡의 색 변화를 관찰하기 위하여 색도계(Spectra magic™NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, ±a(redness/greenness)값 및 ±b(yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정해서 그 평균값으로 나타내었다. 기기는 L=96.82, a=-0.06, b=-0.15인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였고, 색차(ΔE)는 백색판을 기준으로 $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ 식에 의하여 계산하였다.

(라) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 텍스처 특성 측정

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 텍스처는 Texture analyzer (TA-XT plus, England)를 이용하여 반복 압축 시험을 실시하여 TPA (texture profile analysis)를 구하였다. 경도(hardness), 부착성(adhesiveness), 응집성(cohesiveness), 탄성(springiness), 씹힘성(chewiness)과 회복력(resilience)의 특성치를 비교하였다.

(마) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 관능평가

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡에 대한 관능평가는 9점 채점법에 의하여 실시하였다. 각 평가 항목에 대한 관능적 특성 조사는 9점은 대단히 강하다, 1점 대단히 약하다로 평가하였고, 기호도 조사는 9점 가장 좋다에서 1점 가장 나쁘다로 평가하였다. 훈련된 식품영양학과 대학원생을 평가원으로 반복실험을 하여 13가지 특성치에 대해서 관능적 특성 평가를 실시하였다. 관능적 특성은 외관에서는 표면색, 내부색, 기공균일성, 냄새에서는 이취와 향미, 맛에서는 구수한맛, 단맛, 풀맛, 텍스처로는 경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 거칠음을 평가하였다. 기호도 조사는 외관의 품질, 냄새의 품질, 맛의 품질, 텍스처 품질, 전반적인 품질로 평가하였다.

새싹보리 떡 품질 평가

평가일 : 2016. 8. 1. 이름 :

새싹보리 떡에 대한 품질 평가입니다.

먼저 물론 맛을 하신 후 주어진 시표에 대해 천천히 평가하여 주십시오.

평가는 9점 점수 법으로 각 항목에 대해 "가장 큰 값을 9점"으로 "가장 작은 값을 1"로 표시해 주십시오.

sample	외관			냄새			맛				텍스처				기호도조사				전반적품질								
	표면색	내부색	기공균일성	이취	향미	구수한맛	풀맛	경도	부착성	탄력성	촉촉함	거칠음	외관의 품질	냄새의 품질	맛의 품질	텍스처품질	외관	냄새		맛	텍스처						
140																											
572																											
318																											
746																											

(바) 떡의 추출물 제조

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 추출물은 떡 분말 5 g(건량 기준)에 50 mL의 80% ethanol을 첨가한 후 암소에서 마그네틱바를 이용하여 4시간 동안 stirring하여 제조하였다. 추출물은 Whatman No.2 여과지를 이용하여 감압여과기(DOA-P704-AC, GAST Manufacturing, INC., MI., USA)를 통해 여과시킨 후 50 mL로 정용하였다.

(사) 클로로필 함량 측정

떡 추출물의 클로로필 함량은 Zarco-Tejada PJ 등(2004)의 방법을 수정하여 분석하였다. UV-Vis spectrophotometer(Optizen pop, Mecasys Co., Ltd, Deajeon, Korea)를 이용하여 400-700 nm 범위의 흡광도를 0.5 nm 단위로 측정하여 확인하였다. 추출물의 클로로필 a와 b, a/b 비율은 663.8 nm와 646.8 nm에서 흡광도를 측정한 후, 다음 계산식을 이용하여 클로로필 a와 b 함량을 계산하여 나타내었다.

$$\text{Chlorophylls a} = 12 \times A_{663.8} - 3.11 \times A_{646.8}$$

$$\text{Chlorophylls b} = 20.78 \times A_{646.8} - 4.88 \times A_{663.8}$$

(아) 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량(total flavonoid contents)은 No JH 등(2012)의 방법으로 측정하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 quercetin과 비교하여 시료의 총 플라보노이드 함량을 g 당 quercetin 함량으로 환산하여 표시하였다.

(자) 총 페놀성 화합물함량 측정

총 페놀성 화합물함량(total phenolic compounds)은 Folin-Ciocalteu's reagent 시약을 이용하여 No JH 등(2012)의 방법으로 분석하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 716 nm에서 흡광도를 측정하여, gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선식($Y = 52.063x - 0.0033$ ($R^2 = 0.9998$))을 이용하여 페놀성 화합물 함량을 계산하였다.

(차) DPPH radical 소거능

추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능을 확인하기 위하여 Lee KJ 등(2010)과 Oh JH 등(2004)의 실험방법에 준하여 실험을 실시하였다. DPPH 2.1 mL에 80% ethanol 1.3 mL, 추출물 0.6 mL를 섞고 30분간 반응시킨 후에 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 1%의 녹두 껍질 추출물 용액을 기준으로 ascorbic acid와 비교하여 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다.

(카) 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 측정해서 실험하였으며, 평균과 표준편차로 표기하였다. 모든 실험의 결과는 SPSS 12.0K(SPSS INC., Chicago IL, USA)를 이용하여 ANOVA test를 통하여 통계 처리하였고, Duncan's multiple-range test로 검증하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 반죽 제조 중의 외관 특성

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 반죽 제조 중의 외관 특성은 Fig. 9와 Fig. 10에 제시하였다. 떡 반죽에 새싹보리 분말을 1, 2, 3% 첨가한 후 색의 형태를 본 결과는 Fig. 9와 같았다. 반죽에

분말 첨가량을 늘리면 수분 함량이 부족해져서 반죽에 수분을 더 공급해줘야 했다. BL1%와 BLAC1%는 각각 색에 있어서 차이를 나타냈는데, BL1%가 좀 더 밝은 녹색으로 보이고, BLAC1%에서 조금 더 어두운 녹색을 보였다.

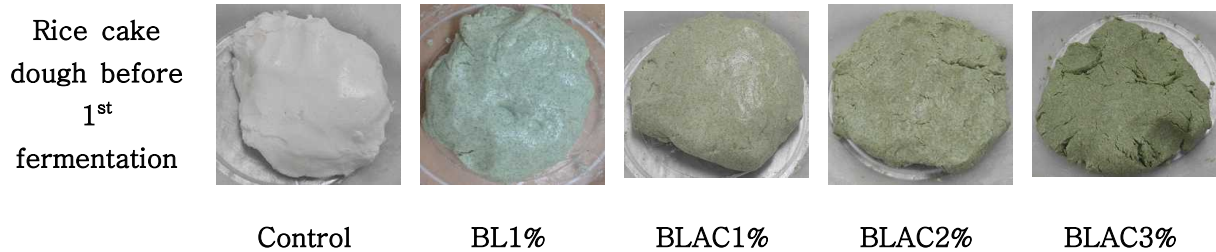


Fig. 9. The shape of young barley rice cake dough before 1st fermentation.

1차 발효를 끝내고 2차 발효에 들어가기 전 성형한 형태를 확인한 결과는 Fig. 10과 같았다. 같은 1%를 첨가하여도 BL1%와 BLAC1%는 색에 있어서 약간 차이를 보였는데, BL1%가 더 녹색으로 보였고, BLAC1%가 좀 더 연두색을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이를 통해 익힌 후의 반죽 상태에 변화가 있을 것을 추측할 수 있었다.

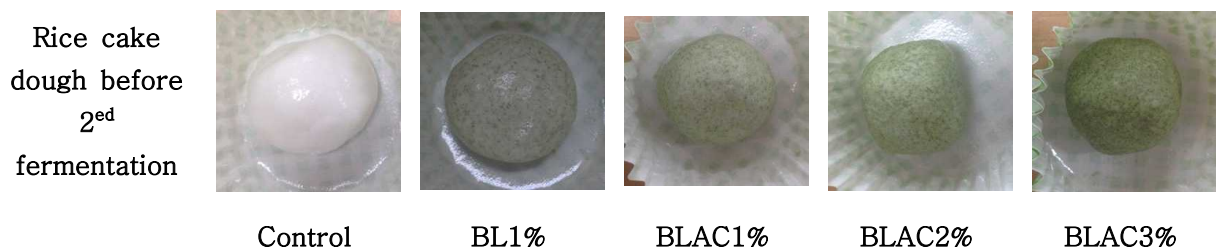


Fig. 10. The shape of young barley rice cake dough before 2ed fermentation.

(나) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 저장 중의 외관 특성

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 제조 후와 저장 중의 외관 특성을 확인한 결과는 Fig. 11과 같았다. 익히는 과정에서 새싹보리의 함량이 높은 떡의 경우 부피감이 줄어드는 결과를 얻을 수 있었다. 이는 새싹보리 분말을 첨가하면서 수분 요구량이 늘어났기 때문으로 보였다. BL1%는 좀 더 연두색에 가까운 색감을 나타냈으며 이는 가열에 의한 클로로필의 색소 변화에 따른 것으로 생각된다. BLAC1%의 경우 색이 반죽의 색과 유사하게 유지되는 것을 확인할 수 있었으며, 녹색을 나타냄을 확인하였다. 이를 통해 가열 과정 중에 zinc citrate를 첨가한 클로로필의 색소가 더 유지가 잘됨을 확인할 수 있었다. 4℃와 25℃에서 각각 24시간 저장하여 떡의 색의 변화를 확인한 결과 색이 처음에 비해 조금 더 어둡게 보이는 경향은 있었지만 유사하게 나타남을 확인할 수 있었다.

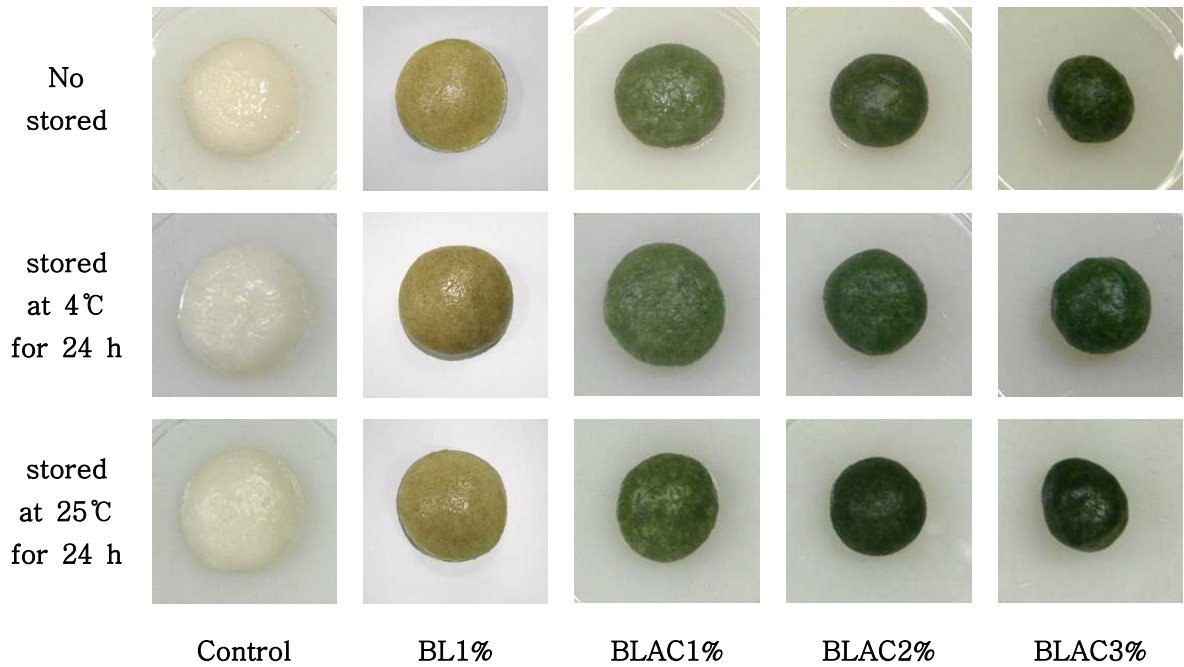


Fig. 11. The shape of young barley rice cake during stored periods.

(다) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 저장 중의 색도 변화

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 저장 중의 색도 변화를 측정된 결과는 Table 11과 같았다. BLAC 첨가량이 증가할수록 명도 L 값이 감소하는 경향을 보였고, BL1%첨가한 떡에서 55.57로 가장 높게 나타나서 BL의 떡의 색이 더 밝게 나타남을 알 수 있었다. 녹색도를 나타내는 a 값도 BLAC를 첨가한 군에서 -5.10~-4.06으로 BL1% 0.09에 비해 더 녹색으로 나타내는 것을 확인할 수 있어, 가열하여 익히는 동안의 색변화가 최소화 될 수 있는 것을 확인하였다. 노란색을 나타내는 b값은 BL1%에서 가장 큰 값을 보이고, BLAC는 첨가량이 늘어날수록 감소하는 경향을 보였다. 25°C에서 24시간 동안 저장하였을 때 a 값은 전체적으로 증가하는 경향을 보였다. 녹색도인 a 값도 좀 더 진해지는 것을 확인할 수 있었고, 이는 Fig. 11과도 일치하는 결과였다. 4°C에서 24시간 동안 저장하였을 때 25°C에서 저장하였을 때와 마찬가지로 색변화가 나타났으나, BLAC를 첨가하였을 때 그 편차가 더 적은 것을 확인할 수 있었다. 저장 중에 떡의 색은 크게 변화하지 않지만, 제조 중의 색 변화로 새싹보리의 녹색이 누렇게 변하는 것을 확인할 수 있었다. 이를 통해 BLAC가 떡 제조에 원하는 색을 유지하기에 더 적합할 것으로 생각되었다.

Table 11. Hunter L, a, and b values of young barley rice cake during stored periods

YBL sampl e ²⁾	No stored				stored at 25°C for 24 h				stored at 4°C for 24 h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
C	68.05 ±0.0 2 ^{aB}	-1.63 ±0.0 8 ^{bA}	4.83 ±0.0 9 ^{eB}	29.25 ±0.0 4 ^{eB}	70.54 ±0.0 1 ^{aA}	-1.87 ±0.0 1 ^{bA}	4.87 ±0.0 1 ^{eB}	26.81 ±0.0 1 ^{eC}	65.47 ±0.0 1 ^{aC}	-0.59 ±2.0 7 ^{aA}	4.99 ±0.0 1 ^{eA}	31.81 ±0.0 1 ^{eA}
BL1%	55.57 ±0.0 1 ^{cB}	0.09 ±0.0 1 ^{dB}	23.00 ±0.0 2 ^{bA}	47.30 ±0.0 2 ^{cA}	59.35 ±0.1 1 ^{cA}	-0.31 ±0.0 2 ^{dC}	21.45 ±0.0 4 ^{bC}	43.24 ±0.1 1 ^{cC}	55.57 ±0.0 0 ^{cB}	0.16 ±0.0 1 ^{bA}	22.29 ±0.0 1 ^{bB}	46.95 ±0.0 0 ^{cB}
BLAC1 %	46.25 ±0.5 7 ^{dA}	-5.10 ±0.0 4 ^{cA}	17.60 ±0.1 1 ^{cA}	53.84 ±0.4 9 ^{bA}	46.75 ±0.5 7 ^{dA}	-5.26 ±0.0 8 ^{cB}	17.66 ±0.0 3 ^{cA}	53.40 ±0.5 3 ^{bA}	46.73 ±0.0 1 ^{dA}	-5.32 ±0.0 1 ^{bB}	17.58 ±0.0 2 ^{cA}	53.39 ±0.0 0 ^{bA}
BLAC2 %	34.31 ±0.1 1 ^{eC}	-4.06 ±0.0 3 ^{cA}	13.78 ±0.0 2 ^{dC}	64.17 ±0.1 1 ^{aA}	39.96 ±0.0 1 ^{eA}	-5.18 ±0.0 1 ^{cC}	16.05 ±0.0 0 ^{dA}	59.34 ±0.0 1 ^{aC}	36.10 ±0.0 1 ^{eB}	-4.48 ±0.0 2 ^{bB}	14.65 ±0.0 1 ^{dB}	62.65 ±0.0 1 ^{aB}
BLAC3 %	33.14 ±0.5 5 ^{bC}	-4.13 ±0.0 3 ^{aA}	12.93 ±0.1 3 ^{aB}	65.14 ±0.5 2 ^{dA}	37.55 ±0.0 1 ^{bA}	-5.14 ±0.0 1 ^{aB}	15.22 ±0.0 2 ^{aA}	61.44 ±0.0 1 ^{dC}	34.65 ±0.0 1 ^{bB}	-4.14 ±0.0 2 ^{aA}	12.87 ±0.0 2 ^{aB}	63.65 ±0.0 0 ^{dB}

Data represents mean±SD.

L, ±a, ±b, and ΔE mean lightness, redness/greenness, yellowness/blueness, and color difference, respectively.

1) a-e Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

2) A-C Values with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

(라) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 저장 중의 텍스처 변화

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 저장 중의 텍스처 변화를 확인한 결과는 Table 12와 같았다. 제조한 후 1시간 실내에서 방치한 후 측정한 결과 경도는 BL1% 4910 g에 비해 BLAC1%를 첨가한 경우 7536.17 g로 훨씬 높게 나타난 경향을 보였다. BLAC의 첨가량이 증가할수록 경도가 커지는 경향을 보였다. 부착성은 아무것도 첨가하지 않은 C에 비해서 전체적으로 조금 더 증가하는 경향을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 또한 새싹보리 분말을 첨가한 경우 탄력성이 저하됨을 확인할 수 있었다. 이는 새싹보리 첨가에 따라 떡의 수분 필요량이 증가하기 때문으로 사료되며, 떡 반죽 제조 시에 충분한 양의 수분을 첨가하면 보정할 수 있으리라 생각된다. 회복력은 BLAC1%를 첨가한 경우 새싹보리를 첨가하지 않은 C와 유사한 특성을 보여, BLAC1%의 첨가가 떡의 특성을 크게 저하지 않을 것으로 사료되었다.

4°C에서 24시간 동안 저장한 후 떡의 텍스처 특성을 확인한 결과, 새싹보리를 첨가하지 않은 C에서 28420.38 g로 경도의 변화가 가장 크게 나타났으며, BL1%에서 14547.60 g로 가장 낮은 경도를 보였다. 이를 통해 새싹보리의 첨가가 떡의 노화를 다소 억제하는 것으로 생각해볼 수 있었다.

25°C에서 24시간 동안 저장한 후 떡의 텍스처 특성을 확인한 결과, 4°C와 마찬가지로 새싹보리를 첨가하지 않은 C에서 21014.44 g로 가장 높은 경도를 보였고, BL1% 첨가한 떡에서 11898.23 g, BLAC3% 12200.39 g로 가장 낮은 경도를 보였다. 전반적으로 부착성은 저장동안 감소하는 경향을 보였는데, BLAC2%, BLAC3%에서 다른 샘플에 비해 상대적으로 높은 부착성을 보여 여전히 떡의 성질을 유지하는 것으로 생각해볼 수 있었다. 전반적으로 보았을 때, 새싹보리의 첨가는 노화를 다소 지연해 텍스처 특성을 유지하는데 도움을 주는 것으로 보이며, 생분말을 그대로 사용하였을 때 더 좋

은 텍스처 특성을 유지하나, 이는 BLAC의 첨가량에 따른 떡에 첨가하는 수분 함량 조절을 통해 텍스처 특성을 개선할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 12. Texture properties of young barley rice cake during stored periods

		Hardness (g)	Adhesivene ss	Springiness	Cohesivene ss	Chewiness	Resilience
no stor ed	C	7807.06±	-1036.68	0.84±0.03	0.70±0.00	4542.68±	0.30±0.01
		193.34 ^{ab}	±187.41 ^a	a	a	101.04 ^a	a
	BL1	4910.42±9	-1350.86±	0.79±0.09 ^a	0.667±0.0	2557.044±	0.25±0.02 ^b
	%	06.01 ^c	538.42 ^a		3 ^b	109.76 ^b	
	BLA	7536.17±	-1498.19	0.88±0.03	0.64±0.01	4243.40±3	0.30±0.00 ^a
	C1%	232.68 ^{ab}	±164.25 ^{ab}	a	a	06.55 ^a	
	BLA	7340.35±	-916.83±	0.46±0.02	0.59±0.03	1985.98±	0.25±0.01 ^b
	C2%	293.14 ^b	158.40 ^a	b	c	159.71 ^c	
	BLA	8291.07±	-1991.81	0.52±0.03	0.62±0.02	2705.42±	0.25±0.01 ^b
C3%	403.08 ^a	±408.05 ^b	b	b	344.11 ^b		
stor ed at 4℃	C	28420.38	-0.78±0.2	0.82±0.00	0.53±0.03	12408.39	0.33±0.02 ^a
		±887.93 ^a	5 ^a	a	a	±1098.67 ^a	
	BL1	14547.60±	-129.94±8	0.82±0.05 ^a	0.52±0.05 ^a	6368.29±2	0.28±0.04 ^b
	%	3280.62 ^c	8.21 ^a			063.10 ^b	
	BLA	25721.38	-2.01±0.8	0.74±0.01	0.43±0.03	8261.67±	0.26±0.01 ^b
	C1%	±1448.21 ^a	2 ^a	b	b	1091.04 ^b	
	BLA	17676.81	-5882.90	0.54±0.05	0.33±0.03	3248.49±	0.18±0.01 ^c
	C2%	±1526.98 ^b	±1078.98 ^b	c	c	781.96 ^c	
	BLA	19066.08	-19539.91	0.47±0.05	0.29±0.02	2618.72±	0.16±0.01 ^c
C3%	±302.51 ^b	±5730.91 ^c	d	c	479.40 ^c		
stor ed at 25℃	C	21014.44	-5.73±2.7	0.85±0.02	0.66±0.02	11806.82	0.43±0.02 ^a
		±560.54 ^a	2 ^a	a	a	±225.74 ^a	
	BL1	11898.23±	-21.22±30	0.85±0.01 ^a	0.59±0.01 ^b	6021.53±1	0.33±0.01 ^b
	%	2886.94 ^c	.97 ^a			456.14 ^b	
	BLA	14899.63	-26.32±1	0.81±0.01	0.56±0.03	6800.72±	0.34±0.02
	C1%	±1498.90 ^b	2.11 ^a	a	b	1017.38 ^b	b
	BLA	15471.18±	-1931.38±	0.56±0.08	0.46±0.03 ^c	3493.06±1	0.23±0.03 ^c
	C2%	1092.86 ^b	237.32 ^b	b		438.72 ^c	
	BLA	12200.39±	-7235.12±	0.55±0.04	0.46±0.02 ^c	3274.57±5	0.21±0.01 ^c
C3%	655.34 ^c	846.32 ^c	b		78.30 ^c		

Data represents mean±SD.

1)a-eValues with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

(마) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 관능평가

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 관능평가 결과는 기호도 평가와 구분하여 Table 13과 14에 제시하였다. 관능평가 결과 내부와 외부색은 새싹보리 첨가량이 증가할수록 높은 평가를 받았고, 생분말인 BL에 비해 BLAC를 더 진하게 인식하였다. 새싹보리 특유의 풀맛에 있어서도 생분말 BL을

첨가한 것에 비해 BLAC를 첨가한 것이 더 낮은 평가를 받아, 관능적으로 보았을 때, BLAC의 첨가가 더 좋은 평가를 받을 것으로 생각되었다. 떡의 텍스처상의 거칠은 정도도 BLAC가 상대적으로 낮은 평가를 받아 관능적으로 좋을 것으로 사료된다.

Table 13. Difference test of young barley rice cake

Difference test													
	surf ace colo r	inte rnal colo r	air cell unif orm ity	off-f lavo r	flavo r	del ica te tas te	Sw eet tast e	gra ss flav or	hard ness	adhe sive ness	sprin gine ss	mois tnes s	roug hnes s
control	1.00 ±0.00 ^c	1.00 ±0.00 ^d	6.25 ±1.71	3.25 ±1.26	4.50 ±1.00	5.50 ±1.73	5.00 ±0.00	1.00 ±0.00 ^c	3.50 ±1.73	4.50 ±2.08	3.75 ±1.50	5.75 ±0.50 ^a	1.50 ±0.58 ^c
BL1%	3.50 ±1.00 ^b	3.25 ±1.26 ^c	5.50 ±1.29	4.75 ±2.06	3.50 ±1.29	4.50 ±0.58	4.50 ±0.58	3.70 ±0.87 ^b	4.25 ±1.26	4.75 ±1.26	4.75 ±0.96	5.00 ±0.82 ^{abc}	2.75 ±0.50 ^{bc}
BLA C1%	3.35 ±0.50 ^b	3.00 ±0.82 ^c	4.50 ±1.73	3.75 ±1.71	4.25 ±1.71	5.70 ±2.22	6.00 ±0.16	3.00 ±0.82 ^b	3.75 ±1.50	4.00 ±1.83	4.50 ±1.29	5.25 ±1.26 ^{ab}	2.50 ±0.58 ^c
BLA C2%	6.25 ±1.26 ^a	5.50 ±0.58 ^b	3.00 ±1.83	5.50 ±2.38	6.00 ±2.16	3.70 ±1.71	5.70 ±0.26	4.50 ±0.58 ^b	4.25 ±0.50	4.75 ±1.71	3.25 ±1.50	3.75 ±1.26 ^{bc}	4.25 ±1.26 ^{ab}
BLA C3%	7.25 ±1.26 ^a	7.25 ±1.26 ^a	4.25 ±1.26	6.50 ±2.65	4.75 ±2.63	3.50 ±1.29	5.00 ±0.41	7.00 ±0.83 ^a	5.00 ±0.82	4.75 ±2.22	2.75 ±1.50	3.50 ±1.26 ^c	5.25 ±1.71 ^a

Data represents mean±SD.

1)a-eValues with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

기호도 평가에서도 BLAC1%를 첨가한 것이 맛과 전반적인 품질 평가에서 가장 높은 점수를 받았다. 이는 생분말보다 BLAC를 제조하는 과정에서 새싹보리의 특유의 풀 맛이 일부 제거되기 때문으로 생각되며, 텍스처적으로 느껴지는 품질도 일부 개선되어지기 때문으로 생각된다. 따라서 BLAC를 이용하여 떡을 제조하면 색의 안정화 뿐 아니라 기호도적인 측면에서도 생 분말에 비하여 긍정적인 것으로 생각된다.

Table 14. Preference test of young barley rice cake

	Preference test				overall quality
	Appearance quality	Flavor quality	Taste quality	Texture quality	
control	4.00±2.94	3.75±3.20	5.50±2.52 ^a	6.25±1.50	6.00±1.41 ^{ab}
BL 1%	4.50±1.73	4.25±1.26	4.25±0.96 ^{ab}	4.75±1.71	5.00±1.41 ^b
BLAC1%	5.50±1.91	4.50±1.73	6.75±1.71 ^a	6.50±1.29	7.25±1.26 ^a
BLAC2%	5.75±1.71	15.25±1.17	4.25±0.50 ^{ab}	4.75±2.06	4.75±0.96 ^b
BLAC3%	5.25±2.63	4.00±0.00	2.75±1.26 ^b	4.00±1.83	2.75±0.96 ^c

Data represents mean±SD.

1)a-eValues with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

(바) 안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 항산화 활성

① 클로로필 함량

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 클로로필 함량을 확인하기 위해 400-700 nm에서 흡광도를 측정된 결과는 Fig. 12와 같았다. BLAC를 첨가한 군은 분말상태와 마찬가지로 피크 흡광도가 BL과 다른 위치에서 나타나는 것으로 확인할 수 있었다. 이는 Zn가 클로로필 색소와 잘 결합하였음을 의미하는 결과로 볼 수 있었다. 또한 떡 자체에서 클로로필이 존재하기 때문에 항산화활성에 긍정적인 영향을 줄 것으로 생각되었다.

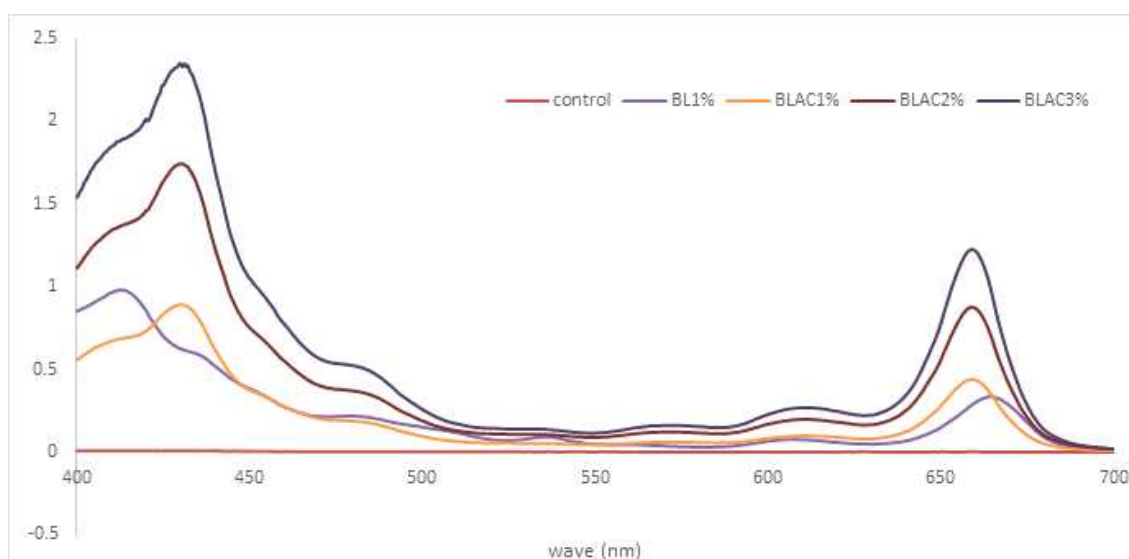


Fig. 12. Absorbance spectrums of chlorophyll in 80% EtOH extracts from young barley rice cake.

② 총 플라보노이드 함량

안정화된 새싹보리를 첨가한 떡의 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Fig. 13과 같았다. 분말상태와 마찬가지로 BL을 첨가한 떡에서 2.71 mg quercetin/g YBL rice cake BLAC를 동량을 첨가

한 떡보다 더 높은 플라보노이드를 확인할 수 있었다. BLAC의 첨가량이 증가할수록 플라보노이드 함량이 증가하는 것도 확인할 수 있었다.

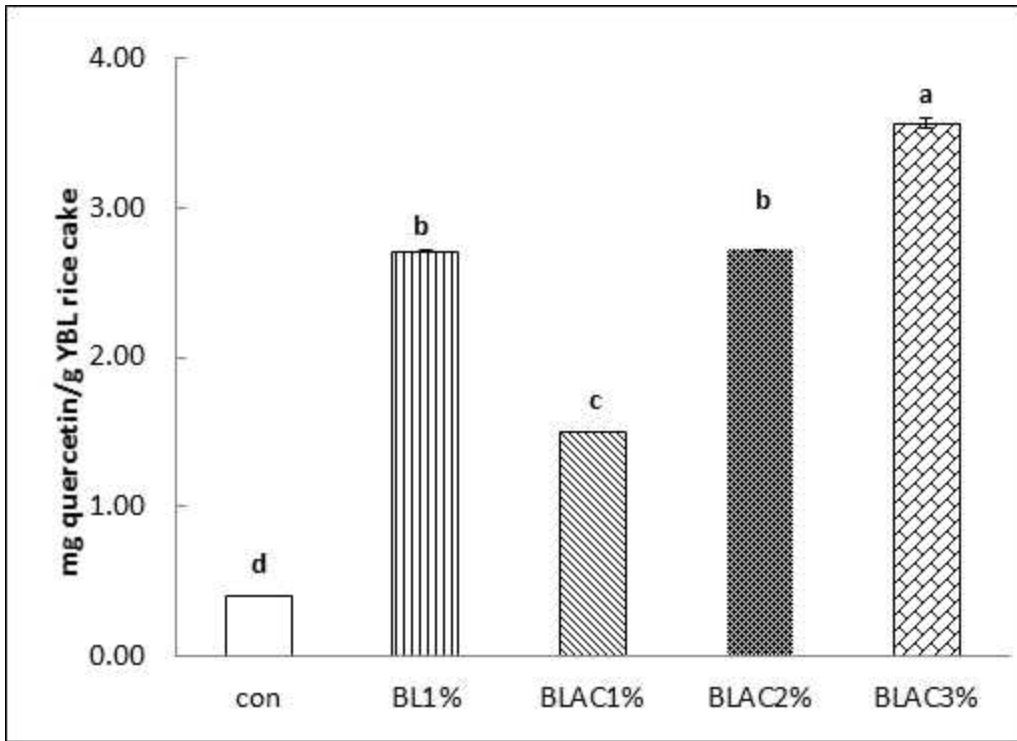


Fig. 13. Absorbance spectrums of chlorophyll in 80% EtOH extracts from young barley rice cake.

③ 총 페놀성 화합물 함량

안정화 처리된 새싹보리 분말을 첨가한 떡의 총 페놀성 화합물 함량은 Fig. 14와 같았다. 총 플라보노이드 함량 결과와 유사하게 안정화 처리하지 않은 BL1%에서도 동량의 BLAC1%를 첨가했을 때 보다 더 높은 페놀성 화합물 함량을 보였다. 이는 BLAC의 처리과정에서 가열과정을 거치면서 일부 페놀성 화합물이 수용액상으로 빠져나와 나온 결과로 사료된다. 새싹보리를 첨가하지 않은 떡에 대비하여 BLAC1%를 첨가한 떡에서 총 페놀성 화합물이 두 배 이상 검출되기 때문에 안정화 처리된 새싹보리 분말이 항산화활성에 긍정적인 기여를 할 것으로 생각된다.

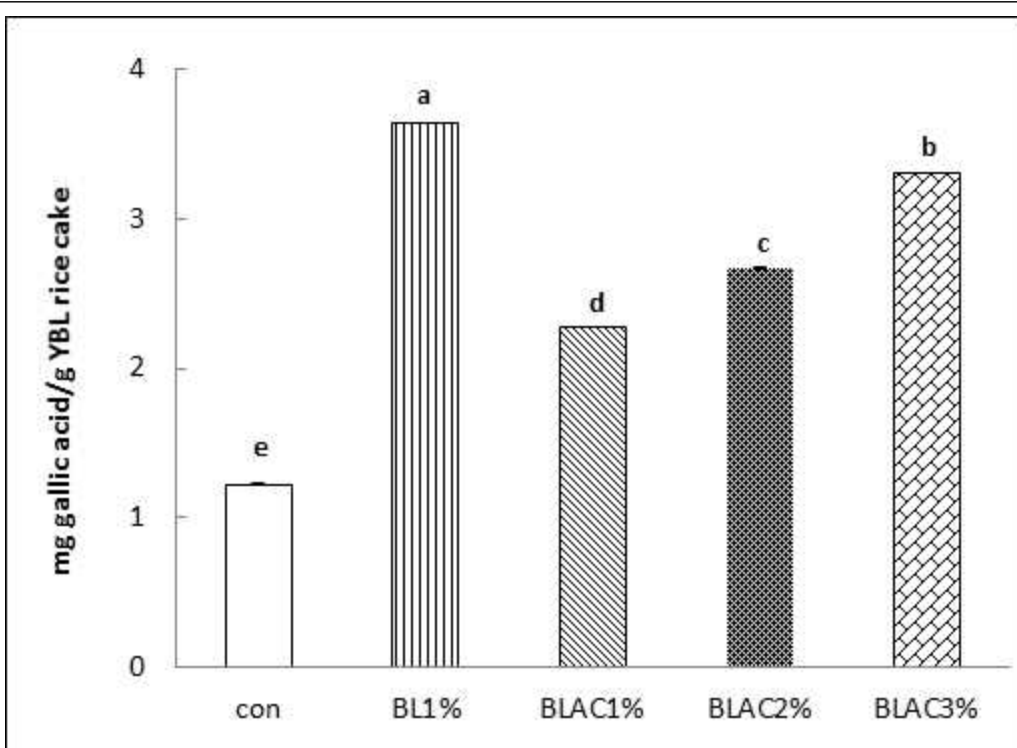


Fig. 14. Absorbance spectrums of chlorophyll in 80% EtOH extracts from young barley rice cake.

④ DPPH radical 소거능

안정화 처리된 새싹보리를 첨가한 떡의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 15와 같았다. 생 분말인 BL을 첨가한 BL1% 떡에서 34.26%로 DPPH radical 소거능이 가장 높게 나타났고, BLAC에서는 12.45-19.02% 범위로 첨가량에 따라서 소거능이 증가하는 경향을 보였다. 이는 떡에 존재하는 페놀성 화합물의 존재가 영향을 준 것으로 생각되고, 본 실험에서의 총 플라보노이드 함량과 총 페놀성 화합물 함량 조사와도 일치하는 결과였다. 떡의 제조에서 색의 변화에 관계없이 기능성 물질의 함유량만을 생각했을 때는 BL이 훨씬 효과적이거나 떡 제조 후의 저장 중의 텍스처 변화와 색의 변화를 고려하면 BLAC가 더 우수할 것으로 생각되며, BLAC도 일정량을 첨가했을 때, BL과 유사한 플라보노이드를 함유하고 있기 때문에 기능성 측면에서도 긍정적일 것으로 생각된다.

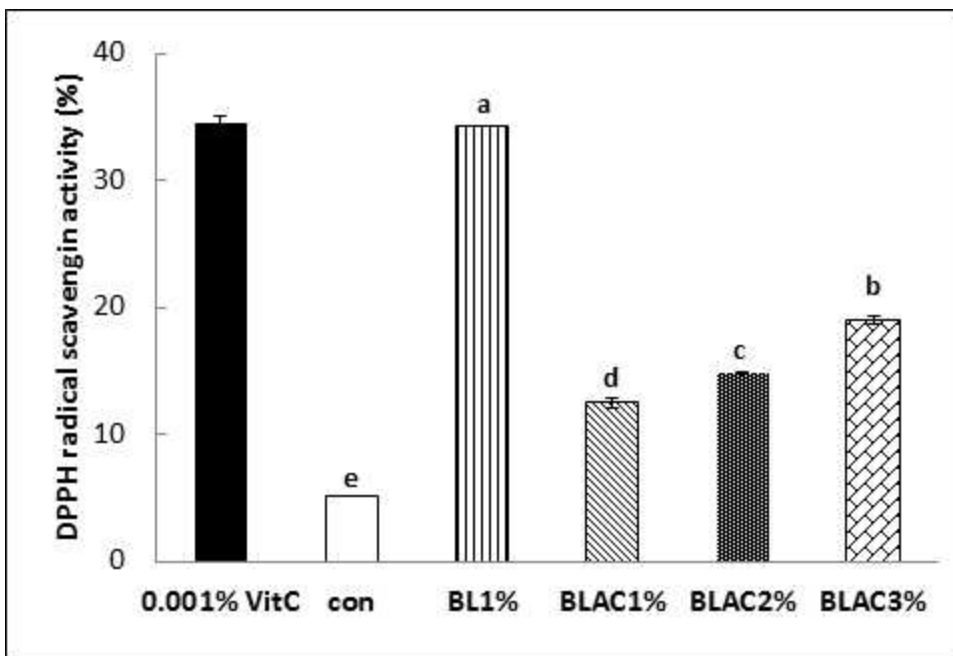


Fig. 15. Absorbance spectrums of chlorophyll in 80% EtOH extracts from young barley rice cake.

2. 베타카로틴 색소의 안정화 기술 개발

가. 베타카로틴 색소 안정화를 위한 전분 소재 코팅제 개발

(1) 재료

시료인 쌀은 농촌진흥청 국립식량과학원 벼 맥류부(익산)에서 육종 개발한 품종인 고아미와 백진주를 사용하여 도정하여 실험에 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 전분의 제조

재료인 쌀전분은 고아미와 백진주로부터 알칼리 침지법(Shin et al, 1993)으로 전분을 분리하여 실온에서 건조시켜 100 mesh 체를 통과시킨 후 분말 시료로 사용하였다.

(나) OSA 전분의 제조

전분을 OSA로 변성시키기 위한 반응은 전분 slurry에 OSA를 넣고 치환도에 따라 반응시간을 달리 하는데 이 때 pH 8.5를 유지하였다. 즉 마그네틱 바와 전분(건량 50 g) 및 증류수를 넣고 1, 2, 3%의 OSA를 넣은 후 pH 8.5를 유지하도록 NaOH용액을 첨가하면서 반응시켰다. 반응시간이 끝난 전분 slurry에 HCl로 pH 7로 조절하고 증류수로 씻어 원심분리를 하여 남은 반응물을 제거하고 실온에서 풍건하였고 분쇄하여 100 mesh 체를 통과하였다.

(다) OSA 전분의 RVA를 이용한 호화 특성 확인

전분의 호화특성은 신속점도 측정기(Rapid Viscosity Analyzer, RVA, model 3D, Newport Scientific Pty, Ltd, Warriwood, Australia)를 이용하여 측정하였다. 시료 2.5 g(수분함량 12% 기준)에 증류수 25 mL을 가하여 0~1분간은 50℃, 1.0~4.45분은 95℃까지 상승, 4.45~7.15분은 95℃로 유지, 7.15~11.06분은 50℃까지 냉각, 11.06~12.30분은 50℃를 유지하면서 점도를 측정하였다. 신속 점도계의 측정치는 초기호화개시온도(initial pasting temperature), 최고점도(peak viscosity, P), trough viscosity(T), 50℃에서의 냉각점도(cold viscosity, C)를 보였고, total setback(C-T)과 breakdown(P-T) viscosity를 계산하였다.

(라) OSA 전분의 DSC를 이용한 열적 특성 확인

시료의 열적 특성은 시차 주사 열량기(DSC-Q1000, Universal V.3.6C TA Instruments, Olivia Gibson, UK)를 이용하여 측정하였다. 온도 보정은 Indium을 이용하였고, 시료 3.0 mg에 증류수 6.0 mg을 가한 후 밀봉하여 overnight 시켜 시료로 이용하였다. 가열온도 범위는 30~130℃, 가열속도는 10℃/min 으로 측정하였다. DSC thermogram으로부터 호화개시온도(T_o), 호화피크온도(T_p), 호화종료온도(T_c), 호화엔탈피(ΔH)를 구하였다.

(마) OSA 전분의 X-선 회절도 측정

x-선 회절기(x-ray diffractometer, D/Max-1200, Rigaku Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 결정형과 결정강도를 측정하였다. 기기조건은 target, Cu-K α : filter, Ni: full scale range, 3000 cps: scanning speed, 8/min: voltage, 40 kV: current, 20 mA로 회절각도(2θ)= 40-5°까지 회절 시켜 비교하였다.

(바) OSA 전분의 FT-IR 분석

FT-IR/NIR spectrometer (PerkinElmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여 OSA 전분의 화학적 구조를 400 to 4000 cm^{-1} 에서 분석하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) OSA 전분의 RVA를 이용한 호화 특성 확인

백진주와 고아미 쌀 전분을 이용하여 제조한 OSA의 호화 특성 측정 결과는 Table 15와 같았다. 호화개시 온도는 OSA의 첨가량을 늘릴수록 감소하는 경향을 보여 생 전분에서 고아미 94.24℃, 백진주 72.57℃에서 OSA 3%일 때는 70.66℃, 67.02℃로 변화를 보였다. peak viscosity는 생전분에서 고아미는 70.83 RVU로 가장 낮았으며, 3%에서 124 RVU로 가장 높은 점도를 보였고, 첨가량이 증가하면 다시 감소하는 경향을 보였다. 특히 백진주에서는 생전분에서도 263.71 RVU로 고아미에 비해 상대적으로 높은 점도를 나타냈으며, OSA 첨가량에 따라서 617.96 RVU까지 점도가 크게 상승함을 확인할 수 있어, 코팅 소재로 사용하기에 적합할 것으로 사료되었다. Trough viscosity와 final viscosity도 OSA 첨가에 따라 점차 증가하는 경향을 보였다. 이를 통해 OSA의 첨가가 전분의 호화

양상에 큰 영향을 주는 것을 알 수 있었다.

Table 15. Pasting characteristics of OSA starches using by Rapid Visco-Analyzer

	Initial pasting temperature (°C)	Viscosity (RVU)				
		Peak	Trough	Final	Breakdown	Setback
Goami0%	94.24±0.44 ^a	75.83±0.94 ^d	65.71±2.42 ^c	141.50±2.4 ^{7c}	10.13±1.47 ^b	75.79±4.89 ^c
Goami1%	81.46±0.39 ^b	104.75±0.9 ^{4c}	84.75±0.24 ^b	186.29±0.0 ^{6b}	20.00±1.18 ^a	101.54±0.2 ^{9a}
Goami2%	72.43±0.00 ^c	120.67±0.3 ^{5b}	100.29±0.65 ^a	196.50±1.3 ^{0a}	20.38±0.29 ^a	96.21±0.65 ^a
Goami3%	70.66±0.04 ^d	124.00±0.9 ^{4a}	103.54±1.36 ^a	189.21±1.8 ^{3b}	20.46±0.41 ^a	85.67±0.47 ^b
Baekjinju0 %	72.57±0.26 ^a	263.71±0.1 ^{8d}	175.04±1.24 ^c	235.00±2.8 ^{3c}	88.67±1.06 ^d	59.96±4.07 ^b
Baekjinju1 %	69.82±0.69 ^b	439.54±1.9 ^{4c}	215.21±1.94 ^b	271.79±4.7 ^{7b}	224.33±3.89 ^c	56.58±6.72 ^b
Baekjinju2 %	68.08±0.07 ^c	549.96±3.0 ^{1b}	216.83±1.53 ^{ab}	269.46±0.8 ^{8b}	333.12±1.47 ^b	52.62±0.65 ^b
Baekjinju3 %	67.02±0.17 ^d	617.96±6.0 ^{7a}	220.54±2.06 ^a	294.21±0.8 ^{8a}	397.42±4.01 ^a	73.67±1.18 ^a

Data represents mean±SD

a-cValues accompanied in the same column statistically differ (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

(나) OSA 전분의 DSC를 이용한 열적 특성 확인

OSA 전분의 DSC 측정을 통한 열적 특성을 확인한 결과는 Table 16과 같았다. 고아미는 생전분에 비하여 onset, peak, conclusion temperature가 모두 OSA 처리량이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였고, ΔH도 2.25 J/g에서 1.33 J/g으로 감소하는 경향을 보였다. 또한 백진주도 onset, peak temperature가 OSA 첨가량에 따라 감소하는 경향을 보였다. OSA의 첨가가 호화 온도에 영향을 주고 열에너지 이동에도 영향을 줌을 확인할 수 있었다.

Table 16. Thermal properties of OSA starches

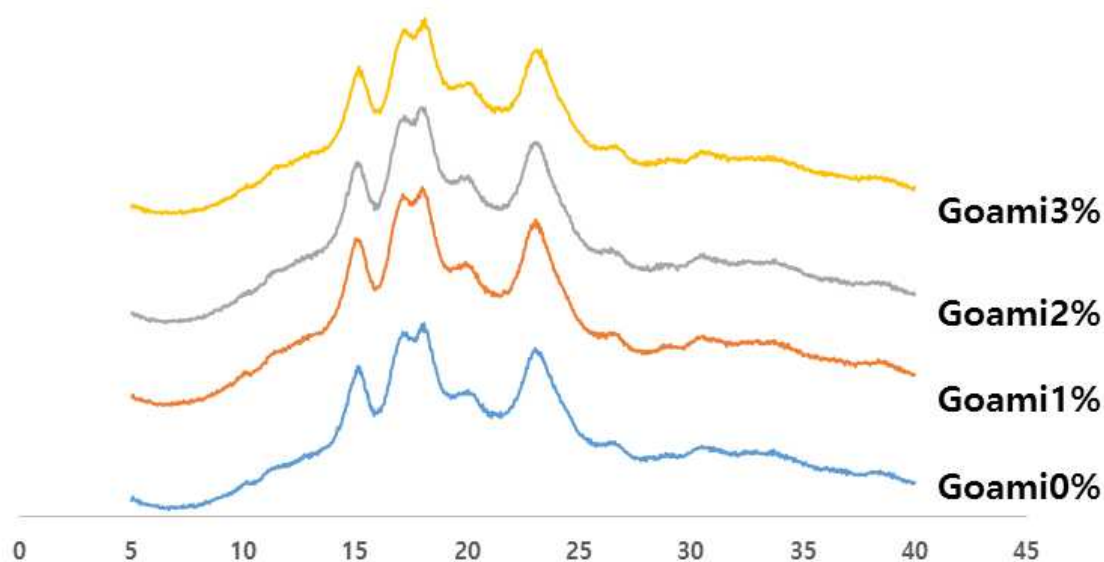
	To(°C)	Tp(°C)	Tc(°C)	$\Delta T(T_c - T_o)(^{\circ}C)$	$\Delta H(J/g)$
Goami0%	60.14±0.16 ^a	65.79±0.34 ^a	71.63±0.21 ^a	11.49±0.05 ^e	2.25±0.13 ^a
Goami1%	58.73±0.08 ^b	64.79±0.35 ^b	70.46±0.04 ^b	11.73±0.04 ^d	2.03±0.39 ^{ab}
Goami2%	57.50±0.08 ^c	64.05±0.51 ^{bc}	69.90±0.06 ^c	12.40±0.02 ^a	1.08±0.06 ^{bc}
Goami3%	57.60±0.02 ^c	63.72±0.01 ^c	69.75±0.04 ^c	12.16±0.06 ^b	1.33±0.40 ^c
Baekjinju0%	60.21±0.17 ^a	66.80±0.33 ^a	72.36±0.96	12.15±1.13 ^c	1.36±0.69
Baekjinju1%	58.78±0.11 ^b	66.37±0.00 ^{ab}	73.87±0.03	15.09±0.08 ^b	2.17±0.06
Baekjinju2%	57.57±0.19 ^c	65.95±0.35 ^{bc}	74.21±0.25	16.64±0.06 ^{ab}	2.47±0.06
Baekjinju3%	56.71±0.06 ^d	65.22±0.25 ^c	74.01±0.15	17.30±0.09 ^a	2.27±0.08

Data represents mean±SD

a-cValues accompanied in the same column statistically differ ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

(다) OSA 전분의 X-선 회절도 측정

OSA 전분의 X-선 회절도를 측정한 결과는 Fig. 16과 같았다. 생전분과 OSA 처리 전분 모두 X-선 회절도의 양상에서 일반적인 A타입 형태를 나타냈으며, OSA 처리에 따른 영향은 나타나지 않은 것을 확인할 수 있었다.



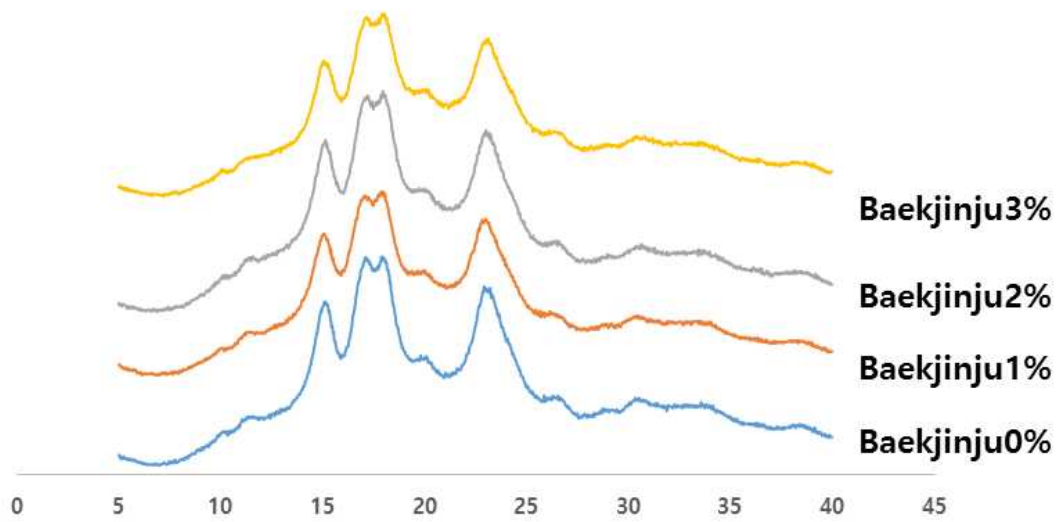
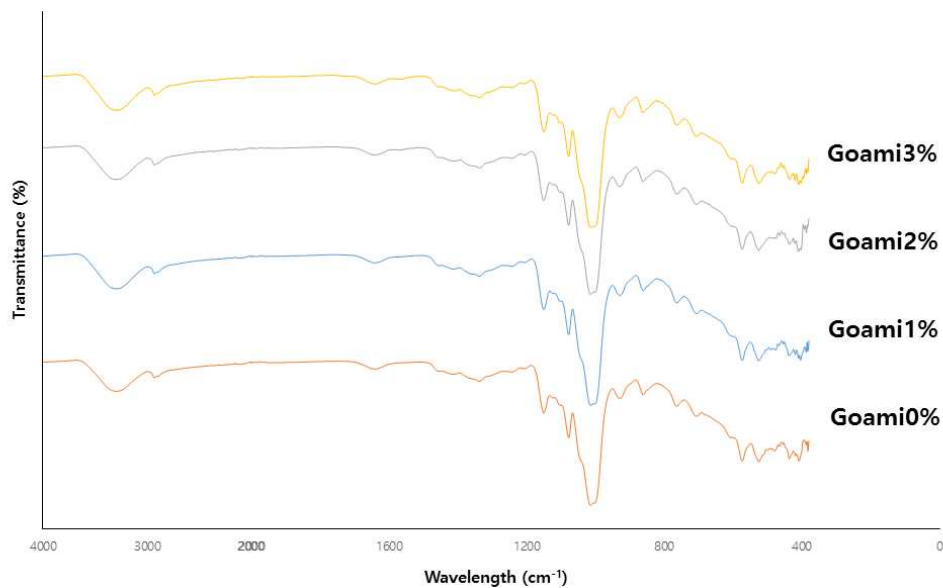


Fig. 16. X-ray diffraction of OSA starches.

(라) OSA 전분의 FT-IR 측정 결과

OSA 전분의 FT-IR 측정 결과는 Fig. 17에 제시하였다. 생전분과 OSA 처리 전분에서 유사한 피크를 나타낸 것을 확인할 수 있었다. OSA 처리 전분에서는 특징적인 피크로 $\nu(\text{O-H})$ 3400 cm^{-1} , $\nu(\text{C-H})$ 2930 cm^{-1} , $\delta(\text{HOH})$ 1640 cm^{-1} , $\delta(\text{C-H})$ 1370 cm^{-1} , $\delta(\text{O-H})$ 1420 cm^{-1} , $\nu(\text{C-O})$, $\nu(\text{C-C})$ 1200-1000 cm^{-1} , $\nu(\text{C-H})$ 1000-700 cm^{-1} (Fan, Y. et al, 2014) 등이 나타날 수 있다고 보고된 바 있었다. 본 연구에서는 OSA 처리 전분에서 1149, 1079 cm^{-1} (C-O bond)로 추정되는 밴드를 확인할 수 있었다.



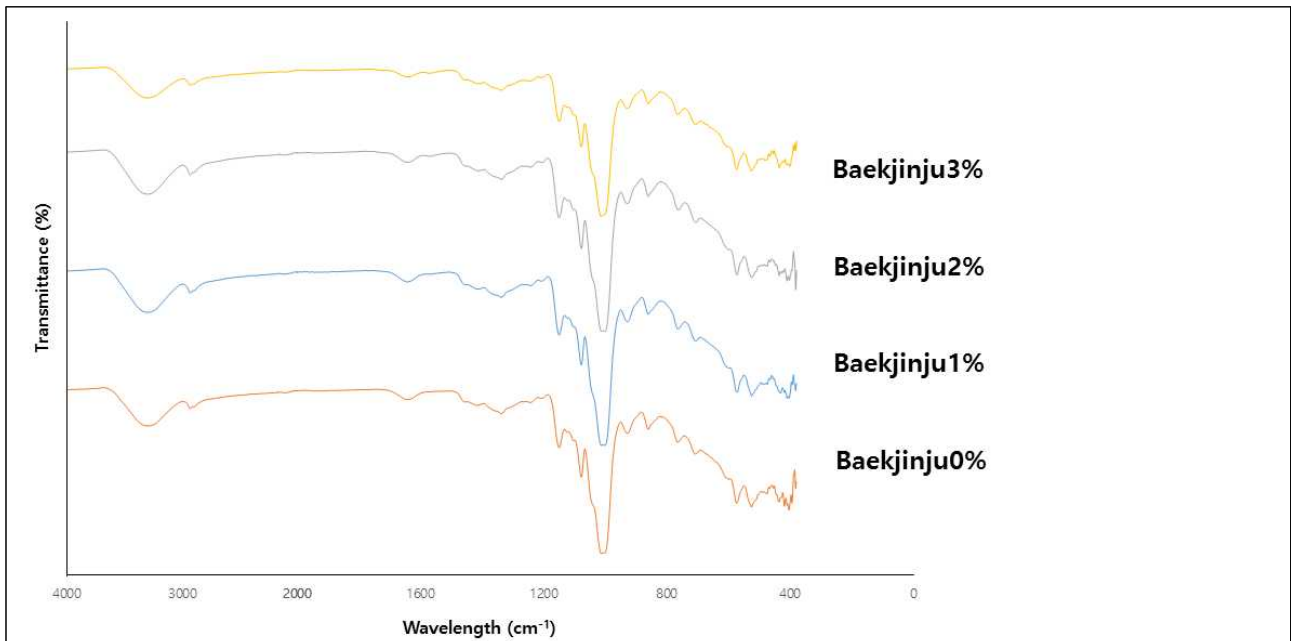


Fig. 17. The FT-IR spectrum of OSA starches.

나. 베타카로틴 색소의 안정화

(1) 재료

빨간색 파프리카를 마트에서 구입하여 실험에 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 파프리카 분말 제조

빨간색 파프리카는 수세하여 씨와 내부의 물질을 제거하여 건조기에 넣어 7일간 건조시킨 후 동결 건조하여 실험에 사용하였다.

(나) 파프리카 색소의 OSA 결합에 비율에 따른 안정화 방법 연구

파프리카 색소를 80% EtOH로 추출한 파프리카 색소 추출물과 제조한 OSA 수용액을 만들어, 각각 일정 비율로 혼합하여 제조하여 혼합물의 안정화 정도를 평가하였다(가). 또한 1:0.5, 1:0.8, 1:1, 1:1.5, 1:2 비율로 섞어서 전분과 파프리카 색소 추출물의 결합 정도를 확인하였다(나). 두 번째 비율로 색소 추출물과 OSA전분의 비율을 다시 설정하여 0.2:0.8, 0.3:0.7, 0.5:0.5 비율로 섞어 결합 정도와 색소의 특성을 확인하였다(다). 색소 추출물의 색 안정성을 최종적으로 확인하기 위하여 0.6:0.4 와 0.7:0.3의 비율로 색소 추출물과 OSA 전분을 혼합하여 안정성과 떡 제조에 시료를 사용하였다.

(다) 파프리카 색소의 OSA 결합에 따른 안정화 정도 확인

저장 중의 파프리카 색소의 색 변화를 관찰하기 위하여 색도계(Spectra magic™NX, Konica

Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, $\pm a$ (redness/greenness)값 및 $\pm b$ (yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정해서 그 평균값으로 나타내었다. 기기는 L=96.82, a=-0.06, b=-0.15인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였고, 색차(ΔE)는 백색판을 기준으로 $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ 식에 의하여 계산하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 파프리카 색소의 OSA 전분 혼합액의 결합 비율에 따른 안정화 방법 연구

① 파프리카 색소 추출물과 OSA 전분 혼합액의 안정화 정도 평가

a. 파프리카 색소 추출물과 OSA 전분 혼합액의 제조 직후 형태

파프리카 색소 추출물에 OSA 전분 혼합액의 결합 비율에 따른 안정화 정도를 확인한 결과는 Fig. 18과 같았다. 7:3 비율로 파프리카 색소 추출물과 OSA 전분 혼합액을 섞고 난 후 일정 시간 방치한 후에 확인하였을 때, 6:4 비율에서는 전분과 색소가 분리되는 양이 극미량으로 거의 존재하지 않았지만, 7:3에서는 색소가 OSA 전분 수용액과 결합하지 않고, 남는 양이 확인되었다. 이를 통해 색소 추출물과 OSA 전분 혼합액의 결합 비율은 약 6:4가 색소와 OSA가 충분히 결합될 양으로 생각해볼 수 있었다.

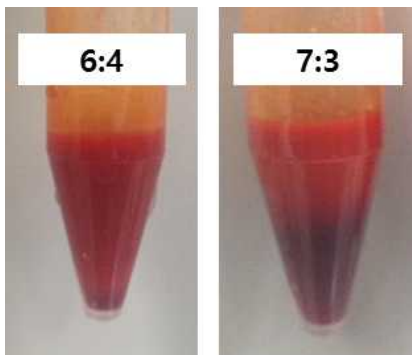


Fig. 18. Paprika extract mixed with different ratios of OSA starches solutions.

6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4), 7:3: ratios of paprika extracts and OSA solutions (7:3).

b. 파프리카 색소 혼합물의 산화안정성

파프리카 색소와 OSA 전분 수용액 혼합물을 3일 동안 실온에서 보관한 결과는 Fig. 19와 같았다. 색소는 전분과 잘 결합된 채로 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 색소추출물과 OSA 전분 수용액이 안정하게 결합을 유지하기 때문에 색소를 분말상으로 제조하여 산업적으로 사용할 때 쉽게 사용할 수 있을 것으로 생각되었다.



Fig. 19. Paprika extract mixed with different ratios of OSA starches solutions stored for 3 days.

(나) 파프리카 색소와 OSA 전분의 비율에 따른 색소 안정화-1

① 처리 분말의 외관상 특성

파프리카 색소의 OSA 전분의 비율에 따른 색소 안정화 정도의 외관상 특성을 알아본 결과는 Fig. 20과 같았다. 파프리카 분말을 OSA 전분 수용액의 비율을 달리하여 잘 섞어준 후 분말로 만들어 상태를 확인한 결과 1:0.5는 전분 수용액의 양이 부족하여 결합이 일부 덜 이뤄짐을 확인할 수 있었고, 1:1의 비율부터는 전분 수용액의 양이 더 많아서 색이 좀 더 하얗게 보임을 확인할 수 있었다. 1:2는 Fig. 18에서 확인할 수 있듯 전분 덩어리가 색소에 비해 더 많이 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 전분 수용액과 색소의 비율은 0:5:0:5 이하로 해야 색소의 전량이 결합할 수 있을 것으로 생각되었다.

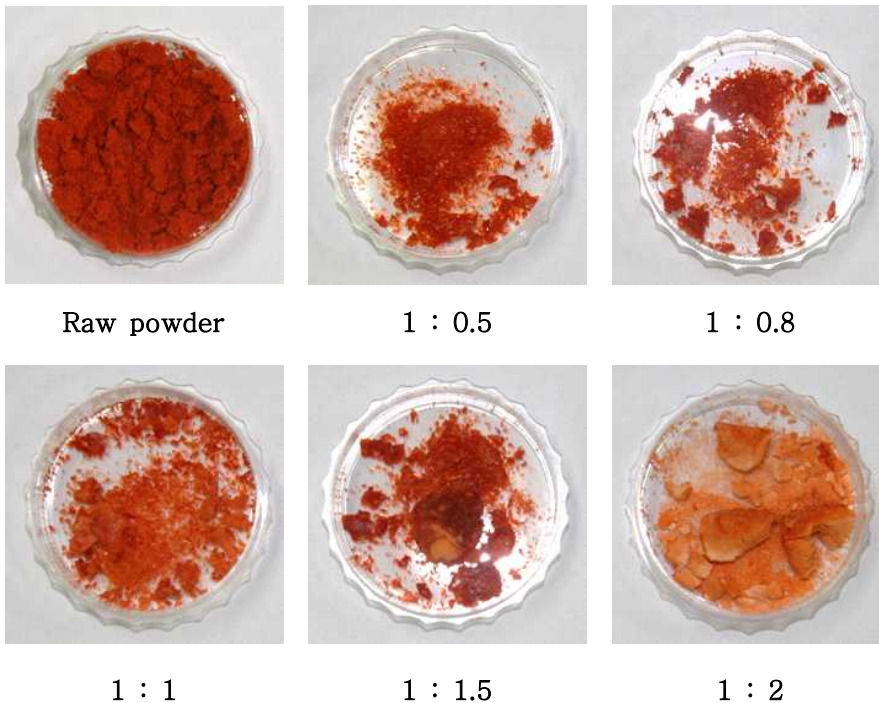


Fig. 20. Paprika powder treated with different ratios of OSA starches solutions.

RP: raw paprika powder, 1:0.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:0.5), 1:0.8: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:0.8), 1:1: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:1), 1:1.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:1.5), 1:2: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:2).

② 처리 분말의 색도 분석

파프리카 처리 분말의 색도 분석 결과는 Table 17과 같았다. 명도 L값은 45.27-66.79 범위로 나타났으며, 1:2에서 66.79로 가장 높은 값을 보였고 1:0.8이 45.27로 가장 낮은 값을 보였다. a값은 29.04-33.23으로 1:1 비율에서 33.23으로 나타나 가장 붉은색을 나타냄을 알 수 있었다. b값은 16.19-34.40으로 나타났고, 1:2 비율에서 34.40으로 가장 높은 값을 보였다. ΔE값은 1:1에서 50.54로 가장 낮은 값을 보였고, 1:0.5 62.63으로 가장 높은 값을 보였다.

Table 17. Hunter L, a, b value of paprika powder treated with different ratios of OSA starches solutions

	L	a	b	ΔE
RP	51.80±0.01 ^c	32.63±0.02 ^b	26.25±0.04 ^b	62.52±0.03 ^b
1:0.5	46.44±0.10 ^e	31.98±0.14 ^c	18.97±0.16 ^e	62.63±0.06 ^a
1:0.8	45.27±0.03 ^f	29.04±0.09 ^e	16.19±0.13 ^f	61.36±0.08 ^c
1:1	53.06±0.24 ^b	33.23±0.09 ^a	25.33±0.17 ^c	50.54±0.20 ^d
1:1.5	49.04±0.06 ^d	30.83±0.37 ^d	20.82±0.37 ^d	60.58±0.28 ^d
1:2	66.79±0.02 ^a	32.72±0.03 ^b	34.40±0.05 ^a	56.23±0.05 ^e

Data represents mean±SD.

1)a-eValues with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

RP: raw paprika powder, 1:0.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:0.5), 1:0.8: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:0.8), 1:1: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:1), 1:1.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:1.5), 1:2: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:2).

③ 처리 분말의 열 안정성

OSA 수용액과 처리한 분말을 100℃의 오븐에서 1시간 동안 구운 결과는 Fig. 21와 같았다. 생분말은 가열 전 밝은 빨간색을 나타냈던 것에 비하여 좀 더 어두운 빨간색을 나타내었다. 가열 중에 카로티노이드 색소 내부에 결합되어 있던 당이 익으면서 색의 변화가 생겼을 것으로 생각된다. OSA 전분 수용액의 함량이 많았던 1:2는 색이 더 밝은 붉은색으로 굽기 전의 색과 거의 유사하게 나타남을 알 수 있었으나, 전분 수용액의 함량이 작은 1:0.5와 1:0.8에서는 색소의 비율이 높아, 색소 추출물이 가지고 있던 수분이 빠져나감으로 인해서 더 짙은 빨간색을 나타냄을 확인할 수 있었다. OSA와 결합한 부분의 카로티노이드 색소는 1:2의 결과를 토대로 생각하면 색이 변하지 않고 안정할 것으로 추정되기 때문에, 적절한 색소추출물과 OSA 전분 수용액의 혼합비를 찾으면 카로티노이드 색소를 안정하게 유지할 수 있을 것으로 생각되었다.

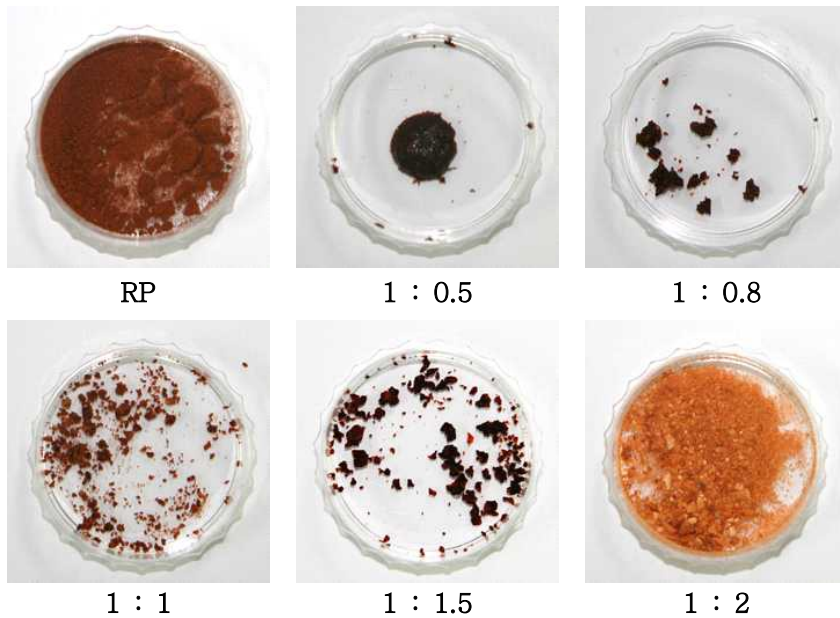


Fig. 21. Paprika powder treated with different ratios of OSA starches solutions heated at 100°C.

RP: raw paprika powder, 1:0.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:0.5), 1:0.8: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:0.8), 1:1: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:1), 1:1.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:1.5), 1:2: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:2).

④ 처리 분말의 산화 안정성

색소 추출물과 OSA 전분 수용액을 혼합하여 제조한 분말을 실온에서 5일간 방치한 후의 산화 안정성을 확인한 결과는 Fig. 22와 같았다. 생분말은 실온에서 3일간 방치 후에 빨간색이 일부 빠져나와 약한 다홍빛을 띠는 것을 확인할 수 있었다. 1:0.5와 1:0.8은 OSA 전분과 결합하지 못한 색소 추출물이 햇빛에 의해 녹으면서 액상으로 되는 것을 관찰할 수 있었으나, 색의 변화는 거의 없었다. 1:1, 1:1.5, 1:2는 OSA 전분과 결합한 색소 추출물이 안정하게 색을 유지하는 것을 확인할 수 있었다.

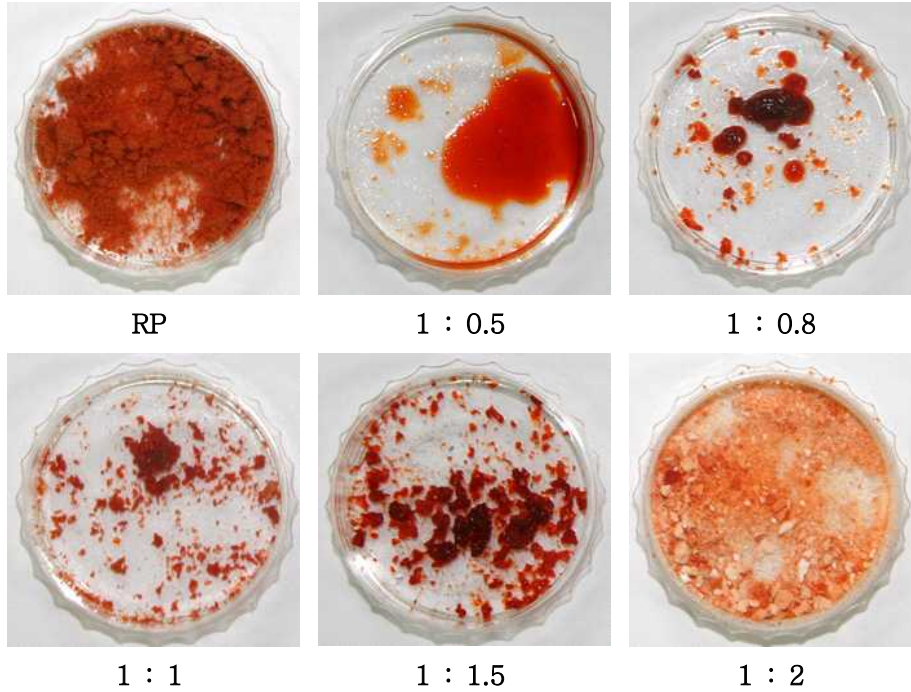


Fig. 22 Paprika powder treated with different ratios of OSA starches solutions stored at room temperature for 5 days.

RP: raw paprika powder, 1:0.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:0.5), 1:0.8: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:0.8), 1:1: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:1), 1:1.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:1.5), 1:2: ratios of paprika extracts and OSA solutions (1:2).

(다) 파프리카 색소 추출물과 OSA 전분 수용액의 혼합 비율에 따른 색소 안정화-2

① 처리 분말의 외관상 특성

파프리카 색소 추출물과 OSA 전분 수용액의 혼합 비율에 따른 색소 안정화를 확인한 결과는 Fig. 23과 같았다. 0.8:0.2은 OSA 전분 수용액의 비율이 색소 추출물에 비해 적어 추출물을 건조시켰을 때 하나의 덩어리로 뭉치는 현상을 보였다. 0.7:0.3은 상대적으로 안정적으로 OSA 전분 수용액과 색소 추출물이 결합했으며, 0.5:0.5에서는 일부 결합되지 않은 OSA 전분 추출물이 하얗게 보여서 0.6:0.4 비율로 색소추출물과 OSA 전분 추출물을 혼합하는 것이 가장 적합할 것으로 생각되었다.

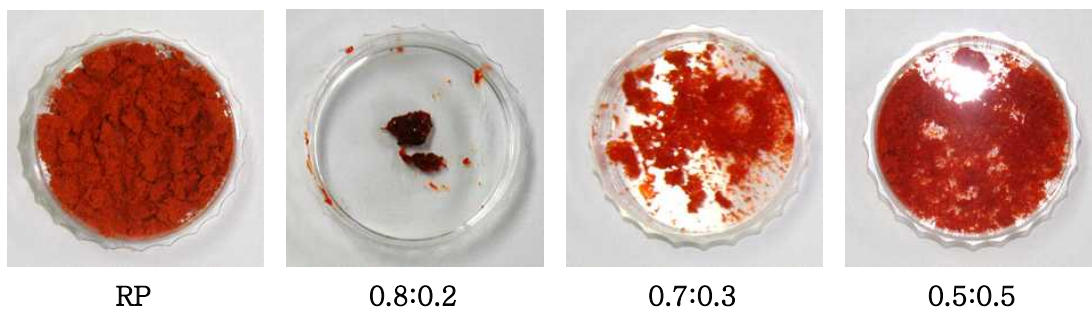


Fig. 23. Paprika powder treated with different ratios of OSA starches solutions
 RP: raw paprika powder, 0.8:0.2: ratios of paprika extracts and OSA solutions (0.8:0.2),

0.7:0.3: ratios of paprika extracts and OSA solutions (0.7:0.3), 0.5:0.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (0.5:0.5)

② 처리 분말의 색도 변화

처리 분말의 색도 변화는 Table 18과 같았다. 명도 L 값은 0.8:0.2에서 19.65로 가장 적은 값을 보였으며 raw powder에서 51.80으로 가장 높은 값을 보였다. a값은 29.48-37.48, b값은 16.42-27.39로 나타났고, ΔE 값은 61.70-90.08 범위로 나타났다. 본 연구에서는 OSA 전분 혼합액과 파프리카 분말의 혼합 방식을 한 가지만 사용하여 평가하였는데, 혼합 방식을 다양하게 설정하여 실험하여 색소 안정화 정도를 추가적으로 평가하면 더 안정적인 색소 분말을 얻을 수 있을 것으로 생각되었다.

Table 18. Hunter L, a, b value of paprika powder treated with different ratios of OSA starches solutions

	L	a	b	ΔE
RP	51.80±0.01 ^a	32.63±0.02 ^c	26.25±0.04 ^b	62.52±0.03 ^d
0.8:0.2	19.65±0.06 ^d	37.48±0.12 ^a	27.39±0.17 ^a	90.08±0.10 ^a
0.7:0.3	45.18±0.12 ^c	29.48±0.06 ^d	16.42±0.14 ^d	61.70±0.16 ^c
0.5:0.5	47.91±0.39 ^b	33.61±0.41 ^b	20.60±0.49 ^c	62.85±0.25 ^b

Data represents mean±SD.

1)a-eValues with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

RP: raw paprika powder, 0.8:0.2: ratios of paprika extracts and OSA solutions (0.8:0.2), 0.7:0.3: ratios of paprika extracts and OSA solutions (0.7:0.3), 0.5:0.5: ratios of paprika extracts and OSA solutions (0.5:0.5)

다. 떡 제조 시의 베타카로틴 소재의 안정성 분석

(1) 재료

(주)창역에서 기정 반죽을 제공받아 실험에 사용하였고, BLAC를 실험에 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 안정화 베타카로틴 색소를 첨가한 떡 제조

제공받은 기정 반죽에 안정화 처리한 베타카로틴 색소를 1%를 첨가하여 반죽을 잘 섞어준 후, 온도 35℃에서 3시간동안 1차 발효하였다. 1차 발효한 반죽은 15 g 단위로 원형으로 성형한 후 다시 35℃에서 1시간 동안 2차 발효를 진행하였다. 발효를 마친 떡 반죽은 100℃에서 30분간 가열하여

떡을 제조하였다. 제조된 떡은 저장성 평가를 위해 4℃와 25℃에 각각 24시간 보관하여 실험에 사용하였다.

(나) 안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 외관 특성 관찰

떡의 저장 중의 외관 특성 변화를 확인하기 위해 디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 촬영하여 관찰하였으며, 일정한 높이에서 측정하여 관찰하였다.

(다) 안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 색소 변화 관찰

저장 중의 파프리카를 첨가한 떡의 색 변화를 관찰하기 위하여 색도계(Spectra magicTMNX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, ±a(redness/greenness)값 및 ±b(yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정해서 그 평균값으로 나타내었다. 기기는 L=96.82, a=-0.06, b=-0.15인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였고, 색차(ΔE)는 백색판을 기준으로 $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ 식에 의하여 계산하였다.

(라) 안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 텍스처 특성 측정

안정화 처리된 파프리카를 첨가한 떡의 텍스처는 Texture analyzer (TA-XT plus, England)를 이용하여 반복 압축 시험을 실시하여 TPA (texture profile analysis)를 구하였다. 경도(hardness), 부착성(adhesiveness), 응집성(cohesiveness), 탄성(springiness), 씹힘성(chewiness)과 회복력(resilience)의 특성치를 비교하였다.

(마) 안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 관능평가

안정화 처리된 파프리카를 첨가한 떡에 대한 관능평가는 9점 채점법에 의하여 실시하였다. 각 평가 항목에 대한 관능적 특성 조사는 9점은 대단히 강하다, 1점 대단히 약하다로 평가하였고, 기호도 조사는 9점 가장 좋다에서 1점 가장 나쁘다로 평가하였다. 훈련된 식품영양학과 대학원생을 평가원으로 반복실험을 하여 13가지 특성치에 대해서 관능적 특성 평가를 실시하였다. 관능적 특성은 외관에서는 표면색, 내부색, 기공균일성, 냄새에서는 이취와 향미, 맛에서는 구수한맛, 단맛, 풀맛, 텍스처로는 경도, 부착성, 탄력성, 촉촉함, 거칠음을 평가하였다. 기호도 조사는 외관의 품질, 냄새의 품질, 맛의 품질, 텍스처 품질, 전반적인 품질로 평가하였다.

파프리카 떡 품질 평가

평가일 : 2016. 8. 1. 이름 :

파프리카 떡에 대한 품질 평가입니다.

먼저 물로 입가심을 하신 후 주어진 시료에 대해 친절히 평가하여 주십시오.

평가는 9점 점수 법으로 각 항목에 대해 "가장 큰 값을 9점"으로 "가장 작은 값을 1"로 표시해 주십시오.

sample	외관		냄새		맛		텍스처				기호도조사				전반 품질	
	표면색	내부색	기공 균일성	이취	향미	구수한맛	풀맛	경도	부착 성	탄력 성	촉촉 함	거칠 음	외관 의 품질	냄새 의 품질		맛의 품질
140																
572																

(바) 떡의 추출물 제조

안정화 처리된 파프리카를 첨가한 떡의 추출물은 떡 분말 10 g(건량 기준)에 50 mL의 80% ethanol을 첨가한 후 압소에서 마그네틱바를 이용하여 4시간 동안 stirring하여 제조하였다. 추출물은 Whatman No.2 여과지를 이용하여 감압여과기(DOA-P704-AC, GAST Manufacturing, INC., MI., USA)를 통해 여과시킨 후 50 mL로 정용하였다.

(사) 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량(total flavonoid contents)은 No JH 등(2012)의 방법으로 측정하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 quercetin과 비교하여 시료의 총 플라보노이드 함량을 g 당 quercetin 함량으로 환산하여 표시하였다.

(아) 총 페놀성 화합물함량 측정

총 페놀성 화합물함량(total phenolic compounds)은 Folin-Ciocalteu's reagent 시약을 이용하여 No JH 등(2012)의 방법으로 분석하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 716 nm에서 흡광도를 측정하여, gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선식($Y = 52.063x - 0.0033$ ($R^2 = 0.9998$))을 이용하여 페놀성 화합물 함량을 계산하였다.

(자) DPPH radical 소거능

추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능을 확인하기 위하여 Lee KJ 등(2010)과 Oh JH 등(2004)의 실험방법에 준하여 실험을 실시하였다. DPPH 2.1 mL에 80% ethanol 1.3 mL, 추출물 0.6 mL를 섞고 30분간 반응시킨 후에 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 1%의 녹두 껍질 추출물 용액을 기준으로 ascorbic acid와 비교하여 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다.

(차) 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 측정해서 실험하였으며, 평균과 표준편차로 표기하였다. 모든 실험의 결과는 SPSS 12.0K(SPSS INC., Chicago IL, USA)를 이용하여 ANOVA test를 통하여 통계 처리하였고, Duncan's multiple-range test로 검증하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 안정화 처리된 파프리카를 첨가한 떡의 반죽 과정 중의 외관 특성

안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 색소와 혼합후의 상태를 관찰한 결과는 Fig. 24와 같았다. 동량을 첨가하였을 때 생분말을 첨가한 반죽이 색이 다소 더 주황색으로 나타났다. 6:4와 7:3 분말은 반죽과 잘 섞이도록 소량의 물을 첨가하여 제조하여 control이나 RP에 비해 상대적으로 반죽이 더 묽게 제조되어, 물량의 조절이 필요할 것으로 생각되었다.

Rice cake
dough before
1st
fermentation



Control



RP



6:4



7:3

Fig. 24. The shape of paprika rice cake dough before 1st fermentation.

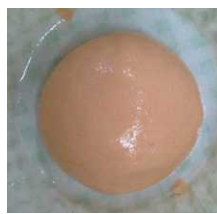
RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4), 7:3: ratios of paprika extracts and OSA solutions (7:3).

1차 발효가 끝난 후의 반죽 상태를 관찰한 결과는 Fig. 25와 같았다. 수분 함량이 조금 더 첨가된 7:3 반죽은 같은 양을 반죽해도 상대적으로 퍼지는 형태를 보였으나, 주황색이 안정하게 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 생분말인 RP도 6:4, 7:3과 비교하여 파프리카 고유색을 안정하게 나타나는 경향을 보였다.

Rice cake
dough before
2^{ed}
fermentation



Control



RP



6:4



7:3

Fig. 25. The shape of paprika rice cake dough before 2ed fermentation.

RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4), 7:3: ratios of paprika extracts and OSA solutions (7:3).

(나) 안정화 처리된 파프리카를 첨가한 떡의 저장 중의 외관 특성

안정화 처리된 파프리카를 첨가한 떡의 저장 중의 외관 특성은 Fig. 26과 같았다. 떡의 파프리카의 카로티노이드 색소는 모두 안정적으로 유지됨을 확인할 수 있었다. 초기 반죽색과 유사한 주황색을 나타냈으면, 파프리카 분말을 증가시켜 첨가하여도 적절할 것으로 생각된다. 4℃에서 24시간 동안 저장한 떡의 색을 비교하였을 때도 초기 반죽과 유사한 색을 나타냄을 알 수 있었다. 좀 더 장기간 저장하였을 때의 색 변화를 추가적으로 확인하거나, 첨가 비율을 높여 제조하는 실험이 이루어진다면, 생 분말과 추출물 사이의 차이를 더 확연히 볼 수 있을 것으로 생각된다.

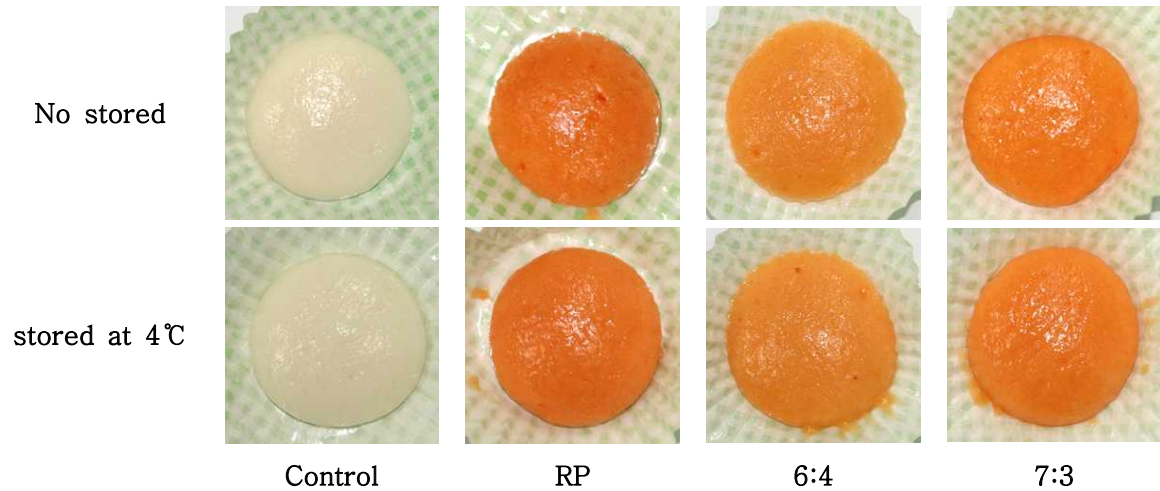


Fig. 26. The shape of paprika rice cake during stored periods.

RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4), 7:3: ratios of paprika extracts and OSA solutions (7:3).

(다) 안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 저장 중의 색도 변화

안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 저장 중의 색도 변화는 Table 19와 같았다. 명도 L값은 51.71-71.19범위로 나타났으며, RP에서 가장 낮은 값을 보였다. a 값은 RP에서 23.05로 가장 높은 값을 보여 동일 양의 파프리카 분말을 떡에 첨가하였을 때 가장 붉은 색을 나타내는 것이 RP로 나타났다. 4°C에서 24시간 동안 저장하여 색 변화를 확인한 결과 파프리카 분말을 첨가하지 않은 control에서 L값, a값, b값에서 차이를 보였으며, 7:3 분말을 첨가한 떡에서 L값, a값에서 차이를 보였다. 저장 기간이 짧았기 때문에 파프리카 색소의 변화가 상대적으로 적었던 것으로 생각되어 더 장기간 실온에서 보관하여 색의 변화를 관찰하여 안정화 색소의 영향을 확인하는 것이 필요할 것으로 생각되었다.

Table 19. Hunter L, a, and b values of paprika rice cake during stored periods

sample	No stored				stored at 4°C for 24 h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Control	71.19±0 .01 ^a	-1.61±0 .01 ^d	5.51±0. 00 ^c	26.29±0 .01 ^d	73.53±0 .07 ^{a*}	-1.65±0 .01 ^{d*}	4.33±0. 42 ^{c*}	23.77±0 .13 ^{d*}
RP	51.71±0 .01 ^d	23.05±0 .01 ^a	33.82±0 .01 ^a	61.03±0 .00 ^a	54.66±0 .33 ^{d*}	23.62±0 .61 ^a	34.39±0 .42 ^a	59.45±0 .25 ^{a*}
6:4	56.61±0 .25 ^b	18.42±1 .02 ^b	32.98±1 .26 ^a	55.30±1 .29 ^b	56.53±0 .21 ^c	20.61±0 .24 ^b	34.53±0 .11 ^a	57.05±0 .16 ^b
7:3	55.35±0 .18 ^c	15.39±0 .34 ^c	29.44±0 .14 ^b	53.25±0 .03 ^c	57.68±0 .14 ^{b*}	16.82±0 .64 ^{c*}	30.98±1 .36 ^b	52.81±0 .89 ^c

E a c h

value represents mean±SD.

1)a-dmeans with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4), 7:3: ratios

of paprika extracts and OSA solutions (7:3)

(라) 안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 저장 중의 텍스처 변화

안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 저장 중의 텍스처 변화를 측정한 결과는 Table 20과 같았다. 경도 값은 RP가 제조 직후에는 4843.03 g로 6:4, 7:3분말을 첨가한 떡 2592.40 g, 2577.17 g보다 상대적으로 높은 경향을 보였다. 4℃에서 24시간 저장하였을 때 경도는 RP에서 21511.91 g에서 5배 이상 높게 나타나는 경향을 보여 6:4와 7:3보다 훨씬 높게 나타나, 안정화 처리된 파프리카 분말의 노화도가 상대적으로 낮을 것으로 생각되었다. 회복력도 6:4, 7:3에서 0.35, 0.34로 가장 높게 나타났다.

Table 20. Texture properties of paprika rice cake during stored periods

	Hardness (g)	Adhesiveness ss	Springiness ess	Cohesiveness ess	Chewiness	Resilience e	
control	C	5511.65±	-1031.60	0.71±0.	0.63±0.0	2453.42±264	0.28±0.
		532.28 ^a	±186.68	04	3 ^b	.85 ^a	00 ^b
	RP	4843.03±	-1278.78	0.83±0.	0.71±0.0	2844.97±334	0.29±0.
		314.13 ^a	±446.56	11	4 ^a	.18 ^a	01 ^b
	6:4	2592.40±	-1374.14	0.80±0.	0.73±0.0	1515.81±207	0.35±0.
		18.28 ^b	±204.39	08	3 ^a	.33 ^b	01 ^a
4℃	7:3	2577.17±	-719.41±	0.73±0.	0.72±0.0	1355.30±207	0.34±0.
		208.70 ^b	30.83	05	0 ^a	.77 ^b	01 ^a
	C	14701.76	-34.48±6.	0.88±0.	0.58±0.0	7473.27±530	0.32±0.
		±125.42 ^b	26 ^b	00 ^b	3	.43 ^b	05
	RP	21511.91	-53.92±1.	0.84±0.	0.57±0.0	10350.52±63	0.34±0.
		±6.74 ^a	46 ^b	02 ^b	2	8.35 ^a	02
4℃	6:4	10282.87	-28.72±1.	0.88±0.	0.61±0.0	5502.57±615	0.36±0.
		±48.42 ^c	53 ^b	04 ^b	4	.44 ^c	03
	7:3	6298.63±	-1.21±0.9	0.95±0.	0.76±0.1	4523.46±881	0.47±0.
		56.86 ^d	4 ^a	01 ^a	4	.81 ^c	10

Each value represents mean±SD.

1)a-dmeans with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4), 7:3: ratios of paprika extracts and OSA solutions (7:3)

(마) 안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 관능평가

안정화 처리된 파프리카를 첨가한 떡의 관능평가 결과는 Table 21과 같았다. 외관색과 내부색, 기공균일성, 매운맛에서 유의적인 차이를 보였다. 사람들은 외부색을 RP와 6:4를 유사하게 평가하였으며, 내부색도 같은 경향을 보였다. 기공균일성은 파프리카 분말을 첨가하지 않았을 때를 6.25로 가장 균일하게 평가했으며, 6:4 분말을 첨가한 떡을 4.75로 높게 평가하였고, RP를 2.25로 가장 균일하지 않다고 평가하였다. 특이적으로 처리하지 않은 파프리카 분말과 안정화 처리된 파프리카 분말에서 매운맛 항목에서 큰 차이를 보였는데, RP를 첨가한 떡에서 특이적으로 매운맛이 높게 나타났다. 이는

색소를 추출하는 과정에서 파프리카의 매운맛 성분이 제외되어 차이를 보인 것으로 생각되었다.

Table 21. Difference test of paprika rice cake

	Difference test											
	surface color	internal color	air cell uniformity	off-flavor	flavor	delicate taste	spicy taste	hardness	adhesiveness	springiness	moistness	roughness
control	1.50±1.00 ^c	1.75±0.96 ^b	6.25±0.96 ^a	2.75±0.96	4.00±1.15	4.75±1.50	2.75±2.06 ^b	4.25±2.36	3.25±1.26	5.75±2.22	5.25±1.50	2.50±1.91
	6.75±2.06 ^a	6.50±2.08 ^a	2.25±0.96 ^c	4.75±2.06	4.00±1.63	3.00±1.15	7.00±1.41 ^a	5.25±0.96	4.25±0.50	4.25±1.50	5.75±1.71	2.75±0.96
6:4	6.75±0.50 ^a	6.50±0.58 ^a	4.75±0.50 ^{ab}	2.75±1.26	4.25±2.22	4.75±0.50	3.25±1.89 ^b	6.00±1.41	3.5±1.00	4.25±0.96	5.75±0.50	2.25±0.50
	3.75±1.71 ^b	3.25±0.96 ^b	3.00±1.83 ^{bc}	3.50±0.58	4.00±1.15	4.75±1.26	3.50±0.58 ^b	5.25±0.96	4.75±0.96	4.25±1.89	5.75±1.71	2.75±0.50

Each value represents mean±SD.

1)a-dmeans with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4), 7:3: ratios of paprika extracts and OSA solutions (7:3)

안정화 처리된 파프리카를 첨가한 떡의 선호도 평가 결과는 Table 22와 같았다. 6:4 비율로 제조한 안정화 파프리카 분말을 첨가한 떡에서 외관, 냄새, 맛, 텍스처, 전반적인 품질에서 높은 값을 받아, 전반적인 색이나 맛이 가장 좋을 것으로 생각되었다. 6:4 비율은 색소 추출물과 OSA 전분 수용액의 결합 비율도 가장 최적이며, 기호도와 관능평가에서도 긍정적인 결과를 얻어, 떡 제조에 있어서 좋을 것으로 생각되었다.

Table 22. Preference test of paprika rice cake

	Preference test				overall quality
	Appearance quality	Flavor quality	Taste quality	Texture quality	
control	5.00±2.45	4.75±2.63	4.00±2.45	5.00±2.45	5.50±0.58
RP	6.00±1.41	2.75±0.50	3.50±0.58	5.00±1.41	4.50±0.58
6:4	6.75±0.50	6.00±1.15	6.00±0.00	5.75±0.50	6.00±1.41
7:3	4.75±0.50	4.50±1.73	4.25±0.50	4.75±0.96	5.5±0.58

Each value represents mean±SD.

1)a-dmeans with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4), 7:3: ratios

of paprika extracts and OSA solutions (7:3)

(바) 안정화 처리된 파프리카 분말을 첨가한 떡의 항산화 활성

① 총 플라보노이드 함량

안정화 처리된 파프리카를 첨가한 떡의 항산화 활성 중 quercetin g당 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 27과 같았다. RP의 총 플라보노이드 함량은 1.91 mg quercetin/g paprika rice cake였고, 6:4는 2.09 mg quercetin/g paprika rice cake로 나타났다. 일정량의 총 플라보노이드 함량이 존재하기 때문에 떡에서 항산화 활성이 있을 것으로 기대되었다.

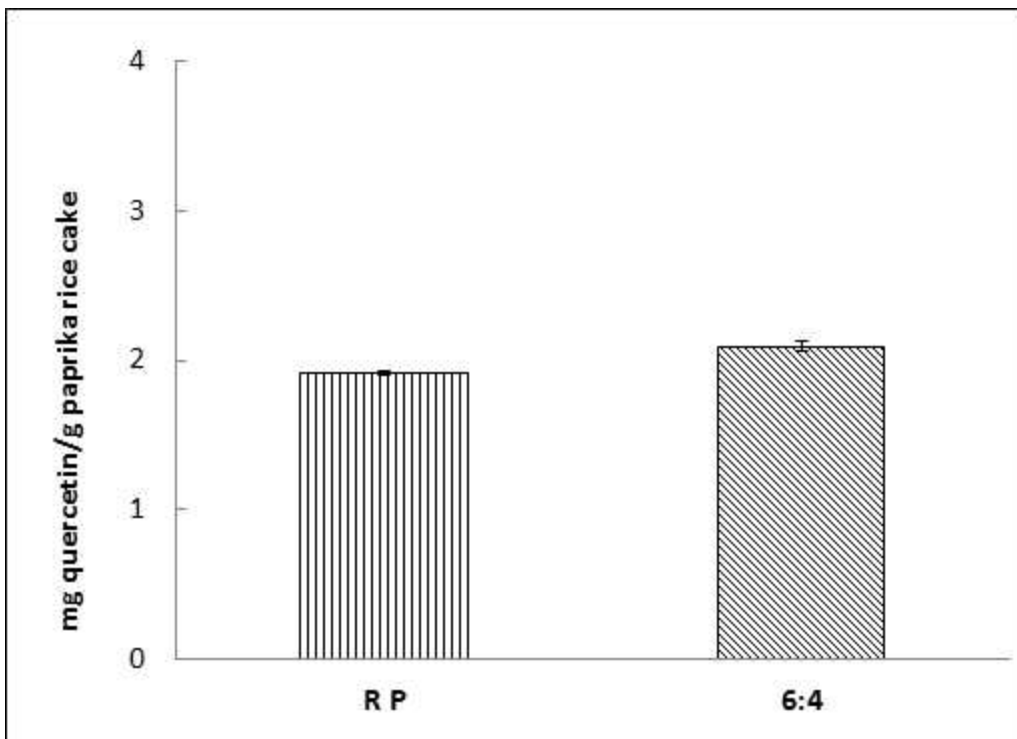


Fig. 27. Total flavonoids contents of paprika rice cake extracts.

1) Significantly different between the RP and 6:4 by t-test (*:p<0.05)

RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4).

② 총 페놀성 화합물 함량

파프리카를 첨가한 떡 추출물의 DPPH 라디칼 소거능으로 나타내는 항산화 활성을 좌우하는 중요한 인자 중의 하나인 총 페놀성 화합물함량의 결과는 Fig. 28에 나타내었다. RP와 6:4에서 거의 비슷한 총 페놀성 화합물 함량을 보여, 80% EtOH로 추출하는 과정에서 대부분의 총 페놀성 화합물이 추출물됨을 알 수 있었다. 또한 떡으로 제조하였을 때도 기능성 성분이 잔존하고 있음을 확인하여, 파프리카를 첨가한 떡이 건강기능성 측면에서도 좀 더 유리할 것으로 생각되었다.

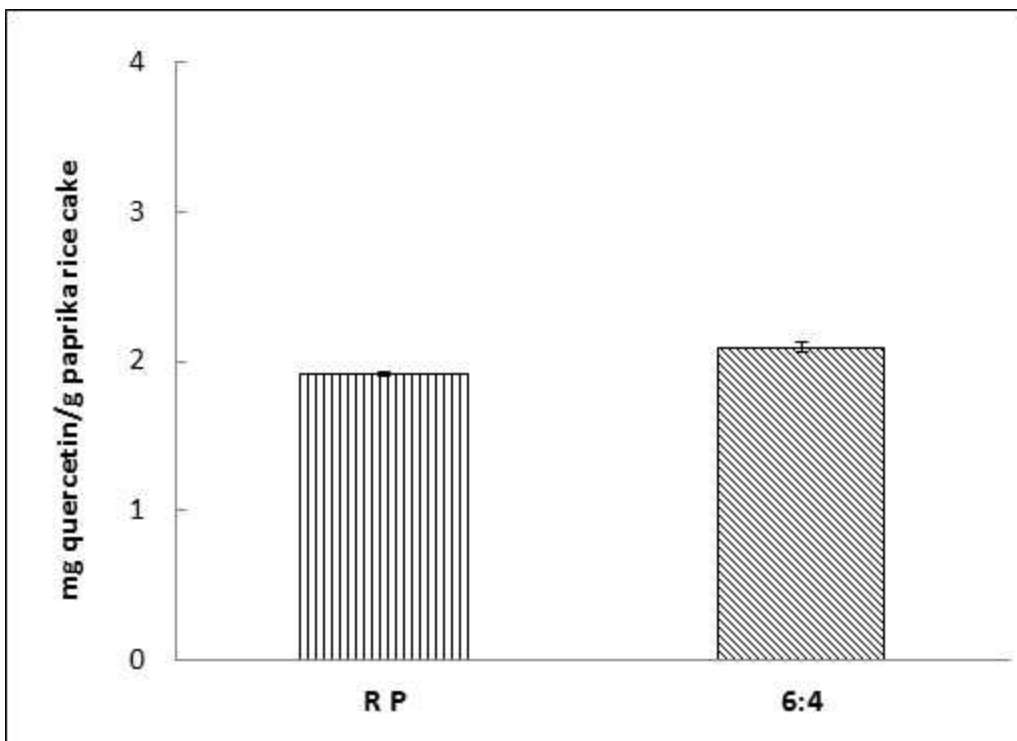


Fig. 28. Total phenolic compounds contents of paprika rice cake extracts.

1) Significantly different between the RP and 6:4 by t-test (*:p<0.05)

RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4).

③ DPPH radical 소거능

DPPH는 안정한 자유라디칼로 자유라디칼 소거 활성을 조사할 때 사용되며, 이 반응에서 항산화제에 의해서 보라색에서 노란색으로 색 변화가 유도된다(Lai F 등2010). 떡 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 비타민C와 비교하여 측정한 RP와 6:4가 각각 32.43%, 34.16%로 6:4를 첨가한 경우 유의적으로 더 높은 소거능을 보였다. 동량의 분말을 떡 반죽에 첨가하였을 때 생분말에 비해 기능성 성분이 더 많고, 장기간 저장 시에도 색이 안정한 OSA 혼합 전분이 더 떡 제조에 적합할 것으로 생각되었다.

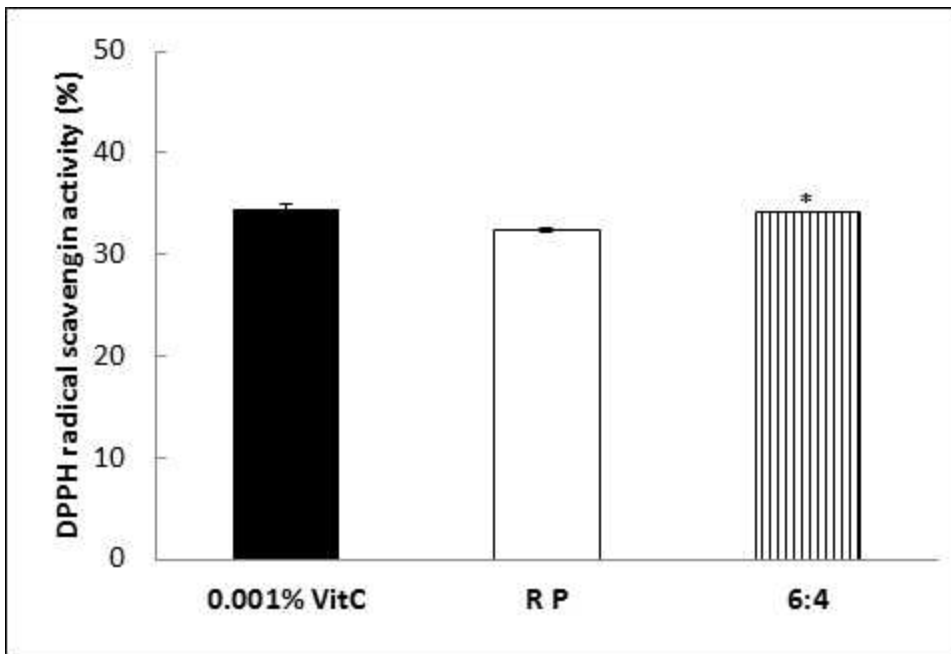


Fig. 29. DPPH radical scavenging activity of paprika rice cake extracts.

1) Significantly different between the RP and 6:4 by t-test (*:p<0.05)

RP: raw paprika powder, 6:4: ratios of paprika extracts and OSA solutions (6:4).

라. OSA 전분을 이용하여 코팅한 파프리카 카로티노이드 색소 안정화

(1) 재료

빨간색 파프리카를 농협 하나로마트에서 구입하여 실험에 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 파프리카 분말 제조

파프리카는 물에 여러차례 씻어 8조각으로 나누고 속에 들어 있는 씨앗을 제거하고 빨간 부분만을 식품건조기를 이용하여 말렸다. 말린 파프리카는 -80°C 에 얼린 후 동결건조기(Freeze dryer, FD 5505, Vision, Seoul, Korea)를 이용하여 건조시킨 후, 100 mesh의 체에 내려 분말을 제조하여 실험에 사용하였다.

(나) 파프리카 색소 추출물 제조

파프리카 분말(100 g)을 1000 mL의 클로로포름 용액에 섞어 5시간동안 stirring하였다. 추출된 파프리카 색소 추출물은 whatman No.2 여과지를 이용하여 여과한 후 추출물은 농축기(Rotary evaporator, SB-1100, Eyela Co. Ltd., Shanghai, China)를 이용하여 농축하여 용매를 완전히 제거하였다. 용매를 제거한 파프리카 카로티노이드 물질은 100 mL의 용액(methyl alcohol:chloroform=3:1)을 이용하여 녹여준 후 실험에 사용하였다.

(다) 파프리카 카로티노이드 추출물과 OSA 전분을 이용한 에멀전 제조

파프리카 추출물(1 mL)을 시험관에 담은 후 65℃의 water bath에서 용액이 전부 제거될 때까지 약 1시간 동안 방치한다. 건조된 파프리카 카로티노이드에 3% OSA 전분 solution (3% OSA rice starch (0.8 g, dry basis) + distilled water (5 mL)을 넣고 섞어준다. 혼합물을 vortex mixer(Vortex genie-2, Scientific Industries Inc., NY, USA)로 30초간 잘 섞어준 후 20시간동안 어두운 곳에서 반응시켰다. 저장 후에 파프리카 카로티노이드 색소와 OSA 전분 혼합물은 sonicator(Power Sonic 520, Hwashin Technology Co., Seoul, Korea) 700 W, 40 KHz에서 10분간 10회 반복하여 소니케이션해주었고, 그 때의 반응온도는 45℃ 혹은 55℃(S45 and S55 emulsions)로 조절해주었다. 소니케이션 후에 S45와 S55 에멀전은 안정성 관찰에 사용하였다. 소니케이션해서 나온 S45를 homogenizer(×520D, Duksan Lab, Seoul, Korea)를 이용하여 15,000 rpm으로 3분간 균질화하여 S45H3를 제조하였다. 이후 모든 에멀전은 동결건조하여 분말로 제조하여 실험에 사용하였다.

(라) 에멀전의 저장 안정성

제조된 에멀전은 실온에서 0, 1, 4, 24시간, 3일, 7일간 저장하여 그 안정성을 확인하였다.

(마) 광학현미경을 이용한 에멀전 관찰

에멀전의 상태를 확인하기 위하여 광학현미경을 이용하여 저장 중의 에멀전을 관찰하였다. 에멀전 입자는 0일과 7일 저장 후 측정하였다. Leica DM 2500 microscope(Leica DM 2500, Wetzlar, Germany)를 이용하여 X1000배로 digital camera system (eXcope X3, DIXI Optics, Daejeon, Korea)를 이용하여 관찰하였다.

(바) OSA 전분을 이용하여 캡슐화한 파프리카 색소 물질의 특성 확인

① 동결건조와 분무건조

제조된 에멀전 S45, S55, S45H3는 동결건조한 후 100 mesh 체에 내려 실험에 사용하였다. Baegjinju-S45H3 에멀전은 분무건조기(DJSD-500, Dongjin spray dryer, Gyeonggi, Korea)를 이용하여 분말을 제조하였다. 0.4 mm 직경 노즐에, inlet air temperatures는 150℃, outlet air temperature는 90℃ 조건으로 제조하여 동결건조한 샘플과 비교하였다.

② 분말 입자 측정

캡슐화된 분말의 입자는 scanning electron microscope (SEM, JEOL JAM-540, Tokyo, Japan)에 의해서 측정되었다. 15 kV로 백금 코팅하였고, ×2000와 ×7000로 관찰하였다.

③ 캡슐화 안정성 측정

캡슐화한 분말(0.05 g, dry basis)을 20 mL의 유리 플라스크에 담고 5 mL의 증류수와 hexane 5 mL을 넣고 1 시간동안 교반하였다. 교반 후 캡슐화한 분말의 안정성을 육안으로 확인하고, hexane 층을 300-600 nm 범위로 흡광도(Optizen pop, Mecasys Co., Ltd, Deajeon, Korea)를 찍어 상태를 비교하였다.

④ 가열 안정성

캡슐화된 파프리카 색소 분말(0.2 g)을 20 mL의 증류수와 섞고 끓는물에 30분동안 넣어 가열하였다. 가열 후 실온에서 식힌 후, 1000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 모았다. 상층액은 300-600 nm구간으로 흡광도를 찍고 생분말과 비교하였다.

⑤ 캡슐화 파프리카 색소를 이용한 송편의 제조 및 색도 측정

호핑 쌀가루에 캡슐화 파프리카 색소를 첨가하여 송편을 제조하여 제품을 만들었다. 파프리카 생분말, 파프리카 색소 추출물, 캡슐화된 파프리카 분말(Baegjinju-S45, Baegjinju-S55, Goami-S45H3, Hopyeong-S45H3, Baegjinju-S45H3, Sinseonchal-S45H3)을 첨가해 각각 제조하여 비교하였다. 멥쌀가루(10 g)에 파프리카 생분말(0.1 g), 파프리카 색소 추출물(0.1 mL), 캡슐화된 파프리카 분말(0.2 g)을 혼합하여주었고 이는 동량의 파프리카 카로티노이드 색소 물질이 들어 있는 것을 기준으로 하였다. 이들 혼합 분말은 체를 쳐서 내렸고, 익반죽하기 위해 따뜻한 물 8 g을 집어넣고 혼합하여 주었다. 여러번 치대어 만든 반죽은 3 g씩 분할하였고, 한국의 전통 송편의 모양으로 빚어 완성하였다. 반죽은 15 분간 쪄고, 쪄 송편은 0, 1, 3일간 23℃의 laboratory refrigerator (laboratory refrigerator, Dahan Labtech Co., Ltd, Gyeonggi-do, Korea)에 넣어 보관한 후 상태를 비교하였다. 송편은 카메라를 이용하여 저장 중의 외관을 관찰하였고, 색도를 측정하였다.

(사) 통계분석

모든 실험은 3회 반복하여 측정해서 실험하였으며, 평균과 표준편차로 표기하였다. 모든 실험의 결과는 SPSS 12.0K(SPSS INC., Chicago IL, USA)를 이용하여 ANOVA test를 통하여 통계 처리하였고, Duncan's multiple-range test로 검증하였다.

(3) 결과

(가) 에멀전의 저장 안정성

OSA 전분을 이용하여 캡슐화한 파프리카 카로티노이드 색소의 에멀전의 저장안정성을 측정한 결과는 Fig. 30과 같았다. 혼합한 후 20시간 안정화 시켰을 때 OSA 전분 층과 색소 층은 분리되어 있는 특징을 보였고, 이들 혼합물을 소니케이션을 45℃, 55℃에서 각각 제조하였을 때(S45 and S55 emulsions), 소니케이션 후 균질화시켜 제조(S45H3 emulsions)하여 각각의 에멀전의 특성을 확인하였다.

캡슐화 처리된 에멀전은 밝은 오렌지 색으로 이는 전분과의 결합때문으로 생각된다. 혼합 에멀전 중 S45는 실온에서 보관하였을 때 점차적으로 분리되는 특성을 보였다. Goami-S45(A-S45)는 파프리카 색소 층과 전분 층이 저장 1시간 만에 점차적으로 분리되는 특성을 보였고, 4시간만에 온전히 분리되었다. Hopyeong-S45(B-S45)와 Sinseonchal-S45(D-S45) 역시 분리되는 것을 확인하였다. 반면에 Baegjinju-S45(C-S45)는 4시간이 지나도 여전히 분리되지 않고 혼합되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 이후 7일간 에멀전을 실온에서 보관하였을 때, C-S45 역시 분리되어 이들 에멀전을 고정하는 방법이 필요함을 알 수 있었다. 일반적으로 소니케이션은 에멀전을 안정화하는데 도움을 주는 것으로 사료된다. 에멀전을 55℃에서 소니케이션했을 때, Baegjinju-S55(C-S55)와

Sinseonchal-S55(D-S55)는 혼합물의 점도가 증가하는 특성을 보였고, 이들 에멀전은 분리되지 않는 특성을 보였다. Goami-S55(A-S55)는 여전히 전분과 파프리카 입자가 분리되는 특성을 보였다. 균질화처리를 추가한 Baegjinju-S45H3(C-S45H3)는 제조 후 4시간까지 그 상태를 유지함을 알 수 있었고, 저장 1일이 지나자 분리되는 특성을 보였다. 균질화는 이들 에멀전의 안정성을 더욱 높이는 특성을 보임을 확인할 수 있었다. 또한 고아미, 호핑, 신선찰 전분에 비하여 백진주가 더 안정하게 에멀전을 형성함을 확인할 수 있어, 백진주 OSA 전분이 에멀전 소스로 적합할 것으로 사료되었다.

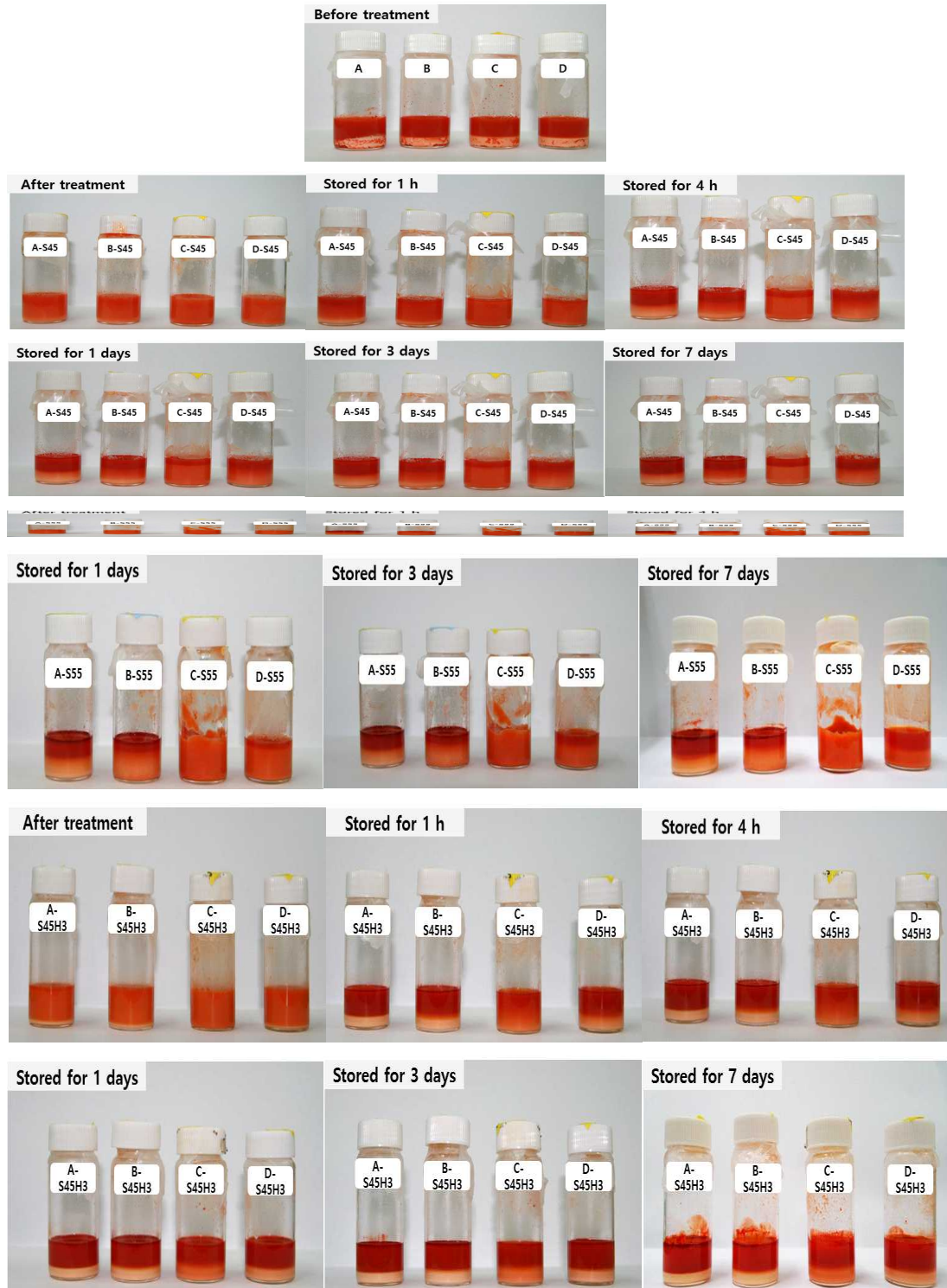


Fig. 30. Storage stability of emulsions.

A is paprika carotenoid and Goami OSA3% emulsions, B is paprika carotenoid and Hopyeong OSA3% emulsions, C is paprika carotenoid and Baegjinju OSA3% emulsions, and D is paprika carotenoid and Sinseonchal OSA3% emulsions.

S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for preparing emulsions, and S45H3 means sonication at 45°C for preparing emulsions and then homogenizing for 3 min.

(나) 광학현미경을 이용한 에멀전 관찰

광학현미경을 이용한 에멀전 관찰 결과는 Fig. 31과 32에 제시하였다. 파프리카 색소 입자는 구형 OSA 전분의 입자는 각이진 형태의 입자로 관찰되었다. Goami-S45, Hopyeong-S45, Sinseonchal-S45는 OSA 전분과 파프리카 입자가 서로 분리되어 있는 것을 확인할 수 있었다. Baegjinju-S45는 백진주 OSA 전분 입자가 파프리카 색소 입자 주변을 둘러싸고 있는 것을 관찰되었고, 보통 커다란 클러스터 구조로 이들 색소를 감싸고 있는 것으로 확인되었다.

S55 에멀전은 OSA 전분이 파프리카 색소 물질과 뭉쳐져 덩어리를 형성하고 있는 것으로 관찰되었다. Goami-S55는 파프리카 색소 물질과 OSA 전분이 흩어져 있었다. S45H3 에멀전은 S55 에멀전과 유사한 경향을 보였다. Baegjinju-S45H3, Sinseonchal-S45H3 에멀전은 색소물질과 전분이 뭉쳐져 덩어리를 형성하고 있었다. 이들 결과를 통해 색소 물질과 OSA 전분이 소니케이션과 균질화를 통해서 결합을 형성할 수 있을 것을 확인하였다.

에멀전의 저장 7일 후, 형광 현미경으로 입자를 관찰한 결과는 Fig. 32와 같았다. S45 에멀전은 Baegjinju-S45를 제외하고 모두 색소물질과 OSA 전분이 분리되는 특성을 보였고, S55에서도 대부분의 에멀전이 분리되는 특성을 보였다. 하지만 Baegjinju-S55는 여전히 OSA 전분과 색소가 결합되어 있는 양상을 보였다. S45H3 에멀전은 Hopyeong-S45H3, Baegjinju-S45H3, Shinseonchal-S45H3에서 모두 색소를 OSA 전분이 감싸고 있는 형태를 보였고, 소수의 입자들이 분리되어 있는 특성을 보였다. 이들 결과를 통해서 OSA 전분과 색소 입자의 결합이 다소 불안정한 시스템이기 때문에 이들 입자의 결합력을 높이기 위한 추가 처리가 필요할 것으로 사료되었다.

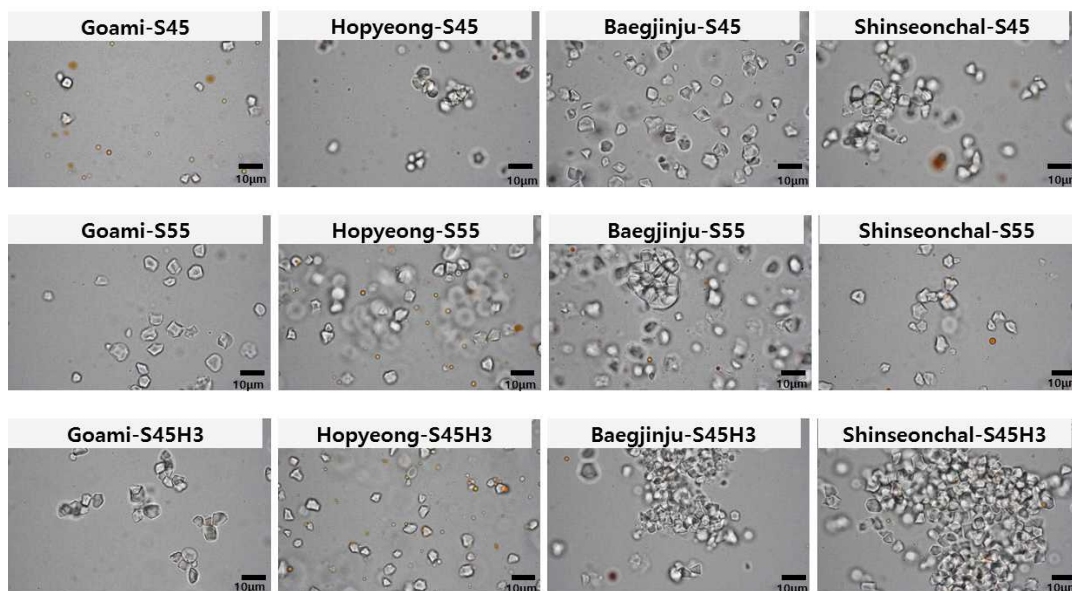


Fig. 31. Light microphotographs of emulsion (no stored).

S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for preparing emulsions, and S45H3 means sonication at 45°C for preparing emulsions and then homogenizing for 3 min.

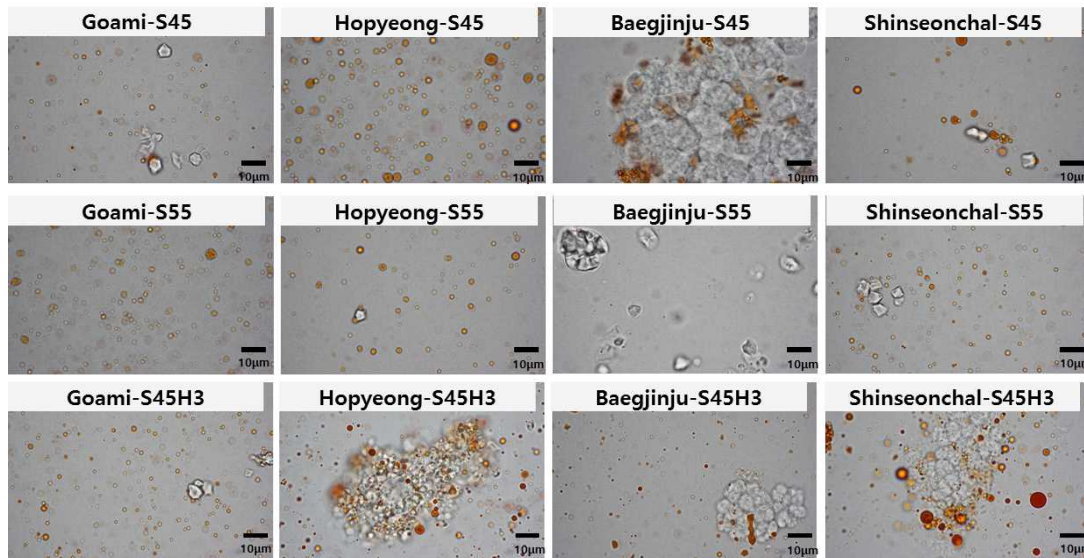


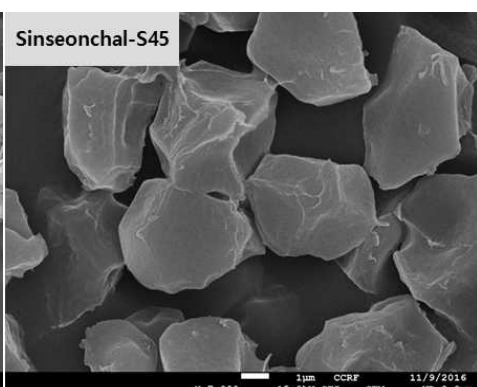
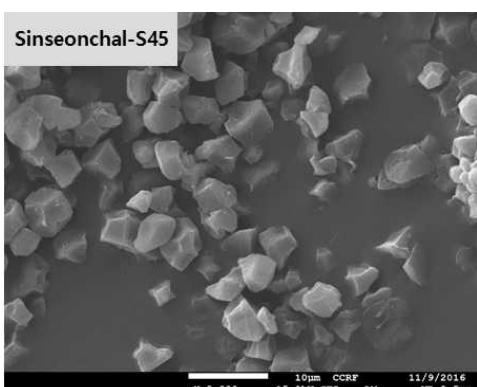
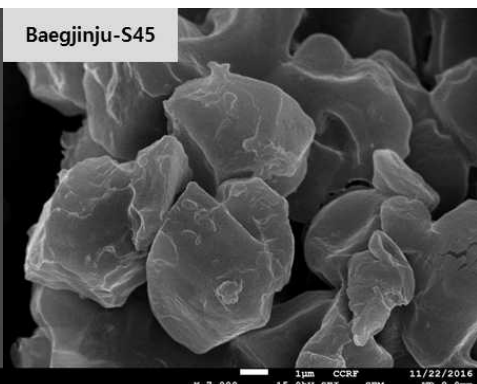
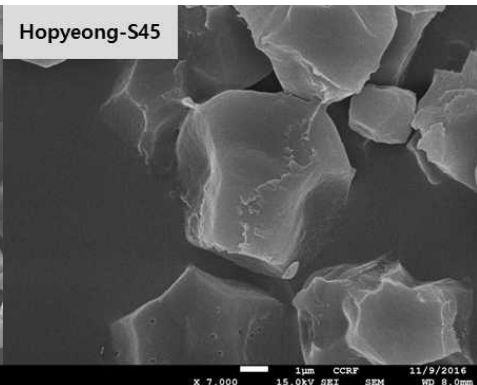
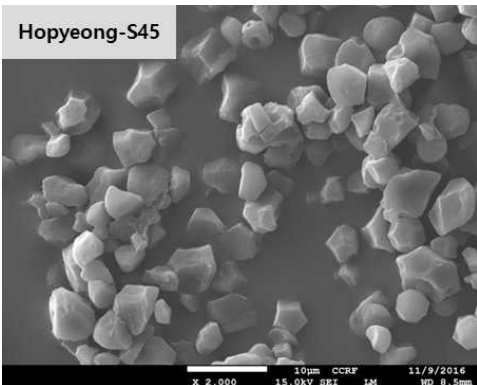
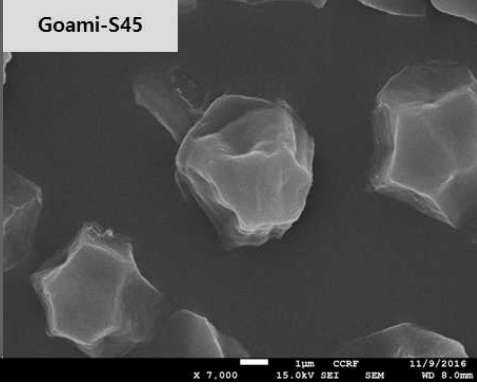
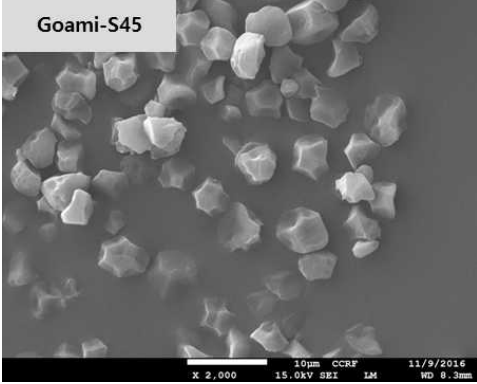
Fig. 32. Light microphotographs of emulsion (Stored for 7 days).

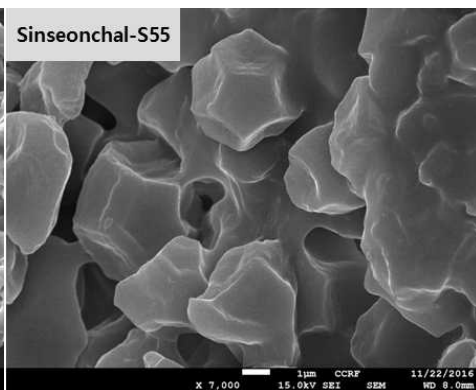
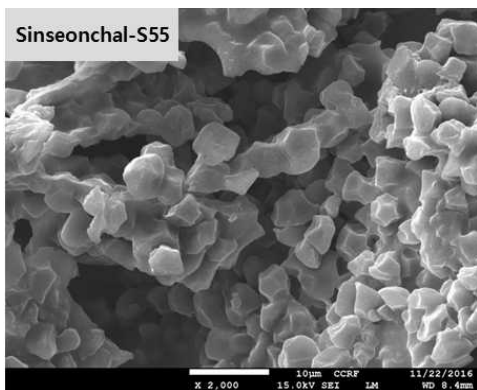
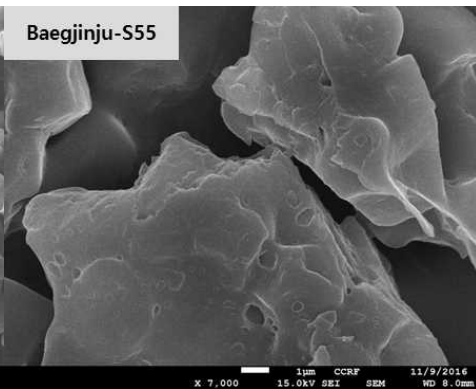
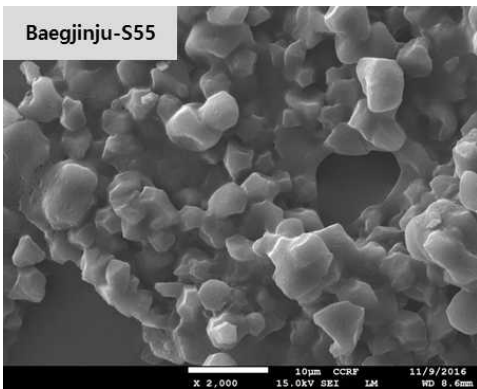
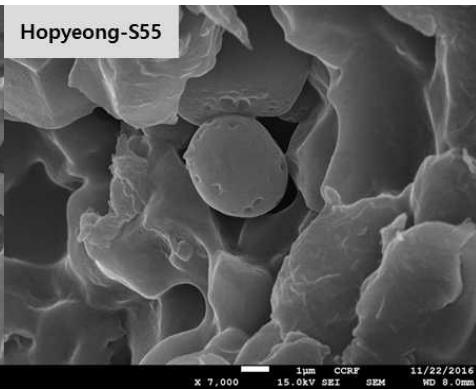
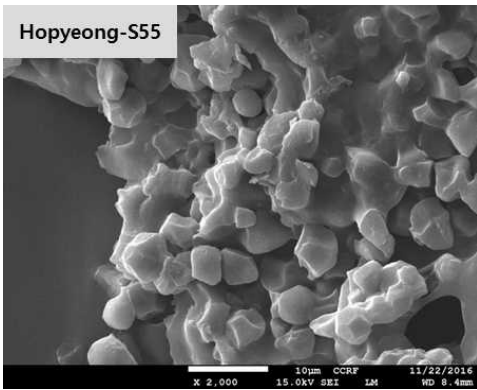
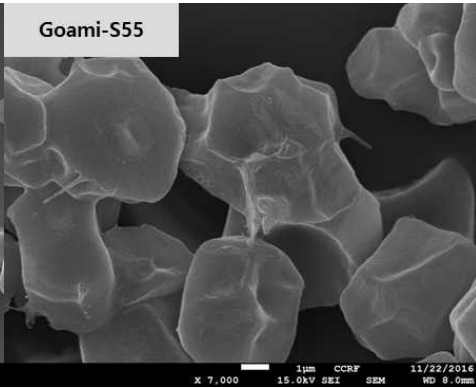
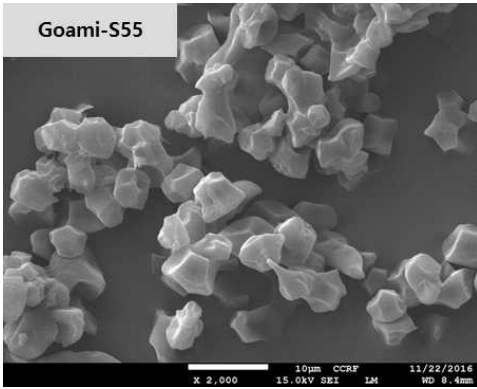
S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for preparing emulsions, and S45H3 means sonication at 45°C for preparing emulsions and then homogenizing for 3 min.

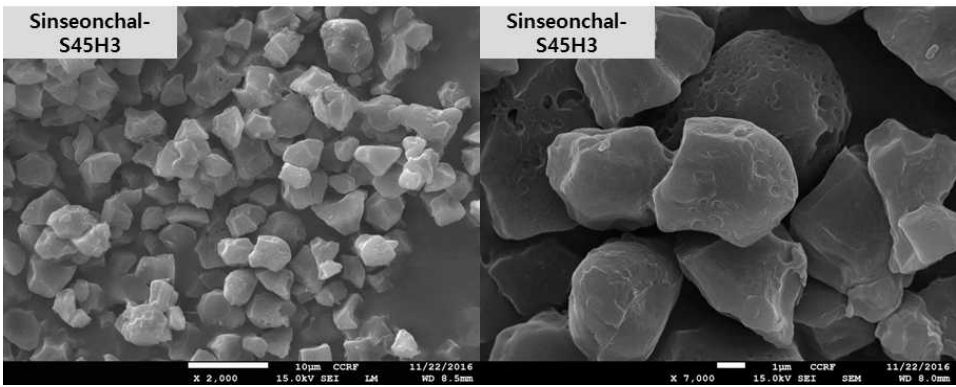
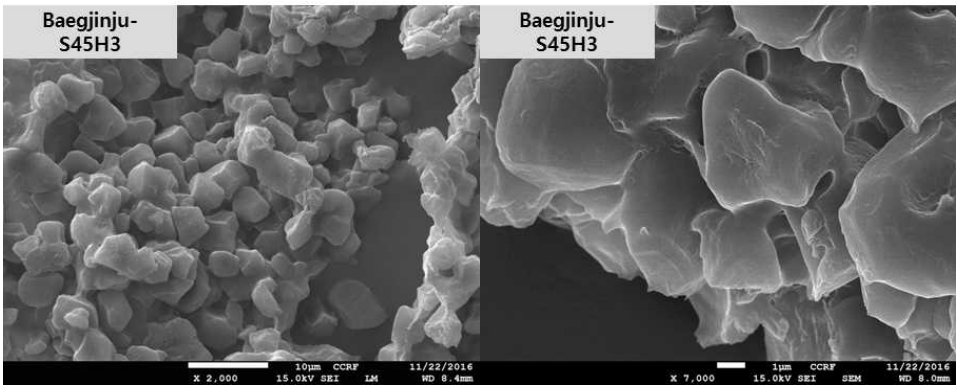
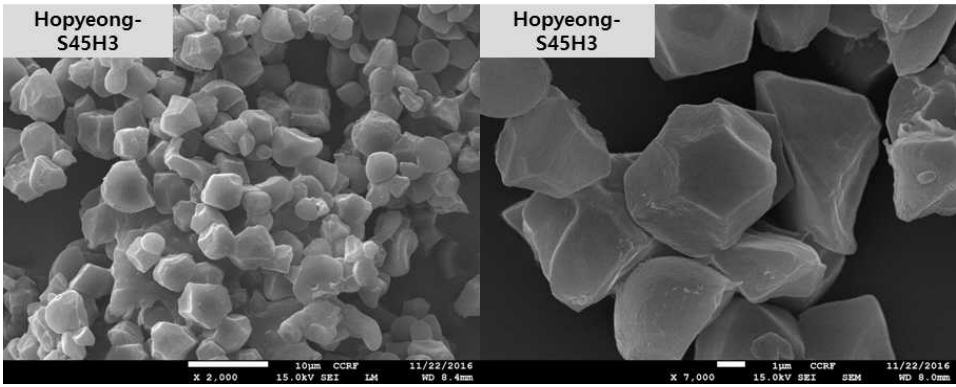
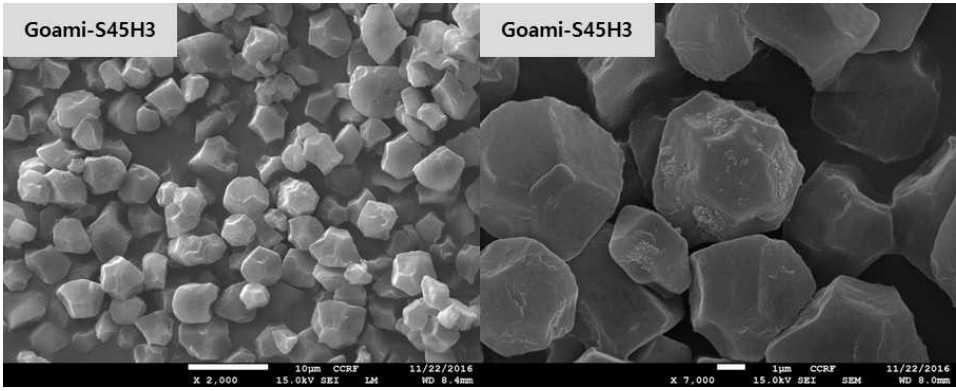
(다) 파프리카 색소 물질의 캡슐화 특성

① 입자형태 측정

캡슐화한 입자는 동결건조와 분무건조 방식으로 캡슐화되었고, 입자형태 측정은 scanning electron microscopy에 의해서 실시되었다(Fig. 33). 동결건조 방법은 열에 약한 물질을 캡슐화할 때 가장 이상적인 방식으로 알려져있다(Heomzelmann & Franke, 1999). 생 OSA 전분에 비하여 캡슐화한 입자는 표면이 조금 더 손상이 많이 나타났음을 알 수 있었다. Baegjinju-S45의 입자는 서로 뭉쳐진 특성을 보였고, Goami-S45는 생 OSA와 비교했을 때 입자의 차이점이 없었다. 동결건조한 S55 분말은 서로 뭉쳐져 있고, 이는 전분의 호화로 인한 뭉쳐짐으로 생각된다. 그러나 입자는 여전히 전분의 각진 모양을 유지하고 있고, 일부 입자만이 열에 의해 녹은 것으로 생각된다. 분무건조한 분말은 동결건조한 분말과 유사한 입자 모양을 보였고, 분무 건조한 분말의 전분 입자는 커다란 구멍이 있었다. 분무 건조한 입자는 동결건조 입자에 비해 작은 크기의 입자를 보였고, 이는 분무 건조 입자의 노출이 영향을 준 것으로 생각된다. 이들 결과를 통해 동결건조와 분무건조 모두 입자의 고정에는 되었으나, 분무 건조의 경우 입자의 색이 붉은 색을 많이 소실하여 동결건조가 더 좋은 캡슐화 고정 방법으로 사료된다.







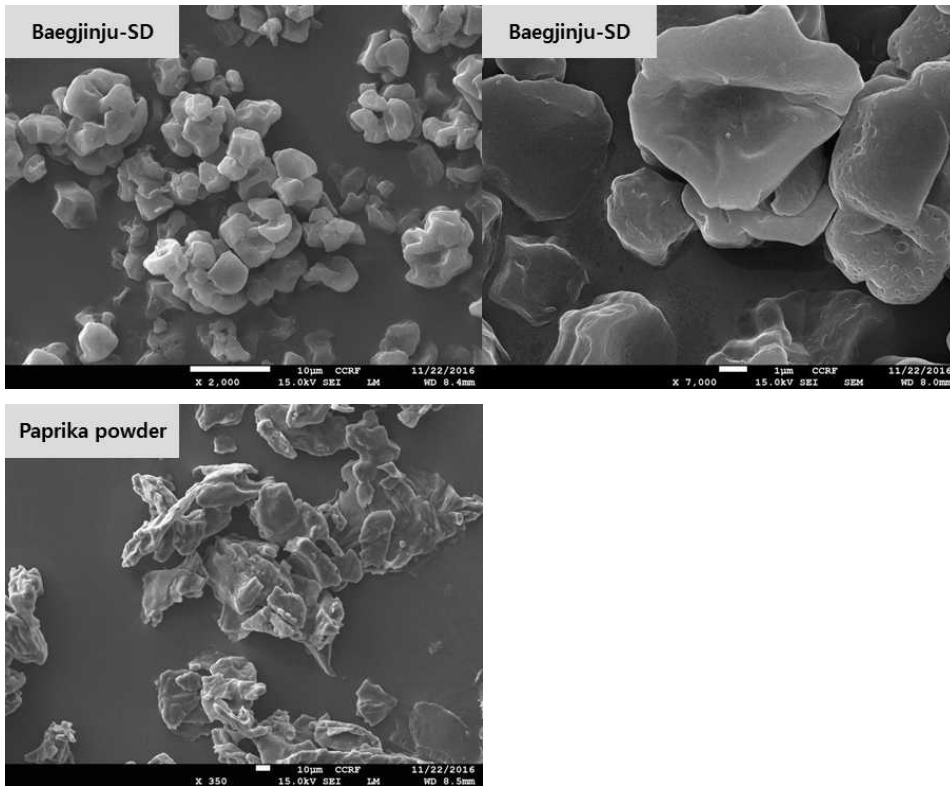


Fig. 33. Scanning electrons microphotographs of encapsulated paprika pigment with different emulsion preparing conditions ($\times 2000$ and $\times 7000$).

S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for preparing emulsions, and S45H3 means sonication at 45°C for preparing emulsions and then homogenizing for 3 min. SD means emulsion was dried using by spray-drying.

② 캡슐화 안정성

동결건조와 분무건조 분말의 캡슐화 안정성을 평가한 결과는 Fig. 34-35와 같았다. 건조 안정성을 평가하기 위하여 분말을 증류수와 헥산이 1:1의 혼합비율로 섞인 용액에 집어넣고 1시간동안 교반하여 헥산 층의 흡광도를 측정하여 분말의 분리 정도를 확인하였다. 일반적으로 라이코펜의 빨강색은 흡광도 측정 시에 λ_{max} 가 444, 470, 502 nm에서 관찰된다(Rodriguez-Amaya, 2001).

캡슐화하지 않은 색소 분말과 색소 추출물은 헥산층에 카로티노이드 층이 녹아 흘러나와 붉은색을 나타내는 특징을 보였으나, 캡슐화한 분말에서는 그러한 현상이 감소하였다. 동결건조한 Goami-S45, Hopyeong-S45, Sinseonchal-S45은 헥산 층에 빨간색이 빠져나오는 특성을 보였지만, 백진주를 이용하였을 때는 색이 관찰되지 않았다. 이 결과는 Goami-S45, Hopyeong-S45, Sinseonchal-S45가 색소 분말과 OSA 전분이 약하게 결합하여 분리가 잘되지만 Baegjinju-S45는 파프리카 색소 물질이 OSA 전분에 잘 결합되어 있음을 의미한다. 분무건조하였을 때는 헥산층에 색소 성분이 빠져나오지 않았다. 이들 결과를 통해 분무건조와 동결건조가 안정한 캡슐화 물질을 형성시킴을 알 수 있었고, 더불어 백진주가 가장 안정한 wall 물질임을 확인할 수 있는 결과였다.

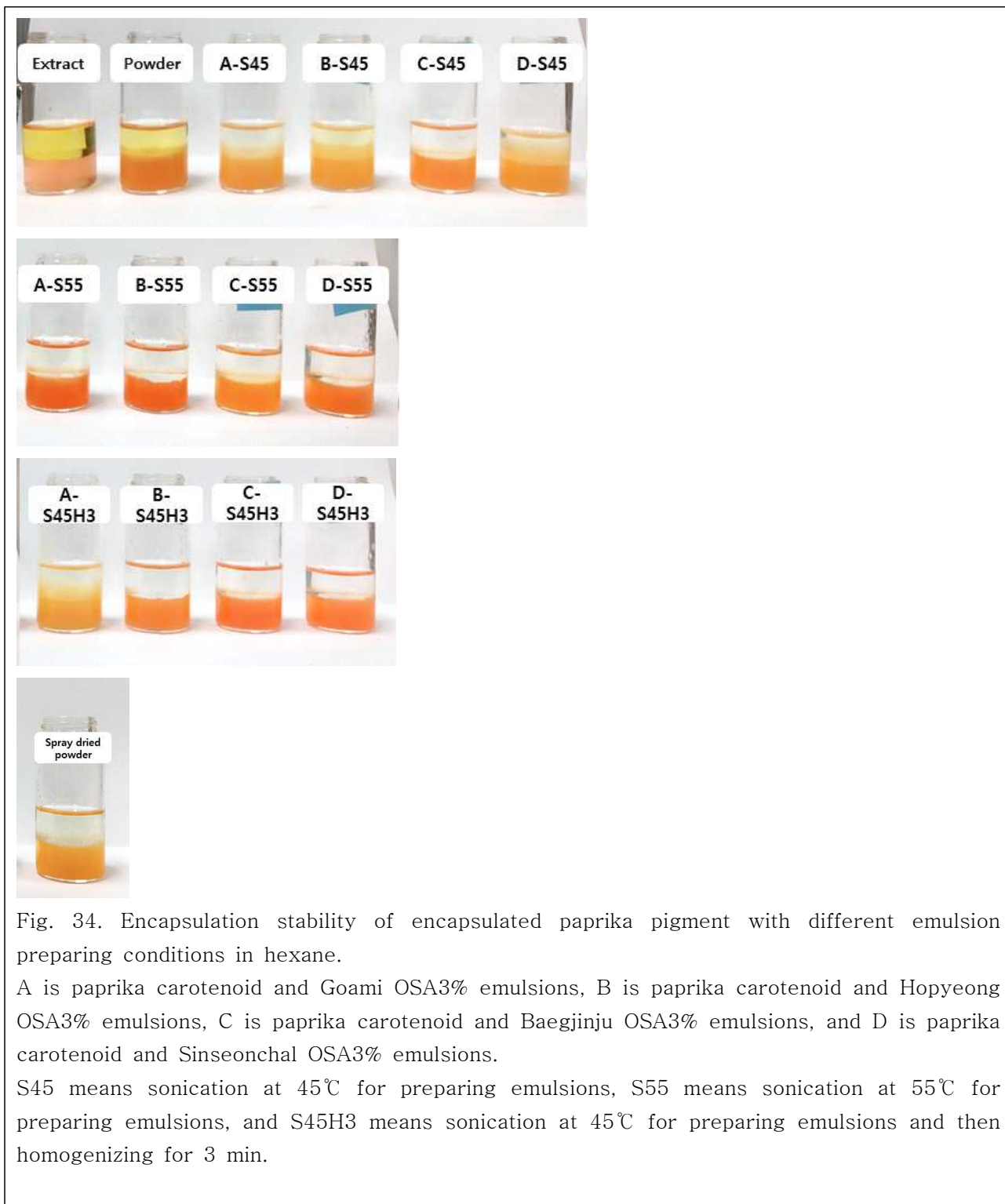


Fig. 34. Encapsulation stability of encapsulated paprika pigment with different emulsion preparing conditions in hexane.

A is paprika carotenoid and Goami OSA3% emulsions, B is paprika carotenoid and Hopyeong OSA3% emulsions, C is paprika carotenoid and Baegjinju OSA3% emulsions, and D is paprika carotenoid and Sinseonchal OSA3% emulsions.

S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for preparing emulsions, and S45H3 means sonication at 45°C for preparing emulsions and then homogenizing for 3 min.

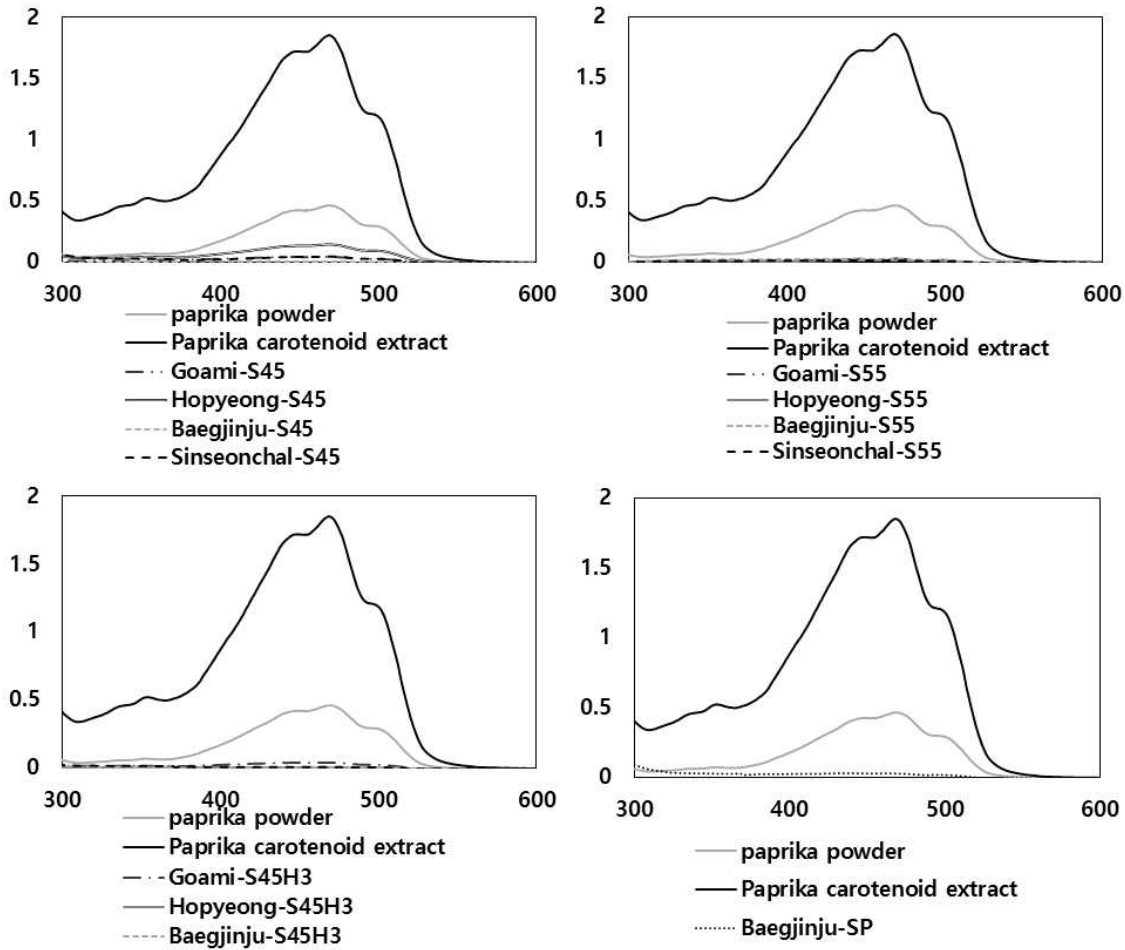


Fig. 35. Absorbance of hexane fraction from encapsulated paprika pigment with different encapsulating conditions in hexane.

S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for preparing emulsions, and S45H3 means sonication at 45°C for preparing emulsions and then homogenizing for 3 min.

③ 열 안정성

동결건조 분말과 분무건조 분말의 열 안정성을 측정한 결과는 Fig. 36-37에 제시하였다. 생 파프리카 분말을 증류수에 혼합하여 가열하였을 때 빨강색은 사라지는 특성을 보였다. Goami-S45, Hopyeong-S45, Sinseonchal-S45 역시 빨강색이 감소하는 특성을 보였지만 Baegjinju-S45는 여전히 빨간색이 남아있었고, S55와 S45H3에서도 같은 경향을 보였다. 흡광도 측정 결과에서도 생 파프리카 분말은 흡광도가 감소하는 반면, 동결건조한 캡슐화 분말에서는 여전히 흡광도에서 일정정도 색을 나타냄을 알 수 있었다. 분무건조하였을 때는 붉은색이 소실되어 흡광도 값이 감소하는 경향을 보였다. 이들 결과를 통해 백진주가 색소물질과 결합이 가장 잘 나타남을 알 수 있었다.

Heat stability of spray-dried decreased red color. Spray-dried powder was decreased absorbance values at 300-700 nm in wave length. Theses results showed emulsions preparation of sonication at 45°C and then homogenizing for 3 min, was not suitable for

spray drying methods.

Oxidation, light and heat stability of freeze-dried powder results showed Baegjinju was best encapsulated material for preventing carotenoid color loss.

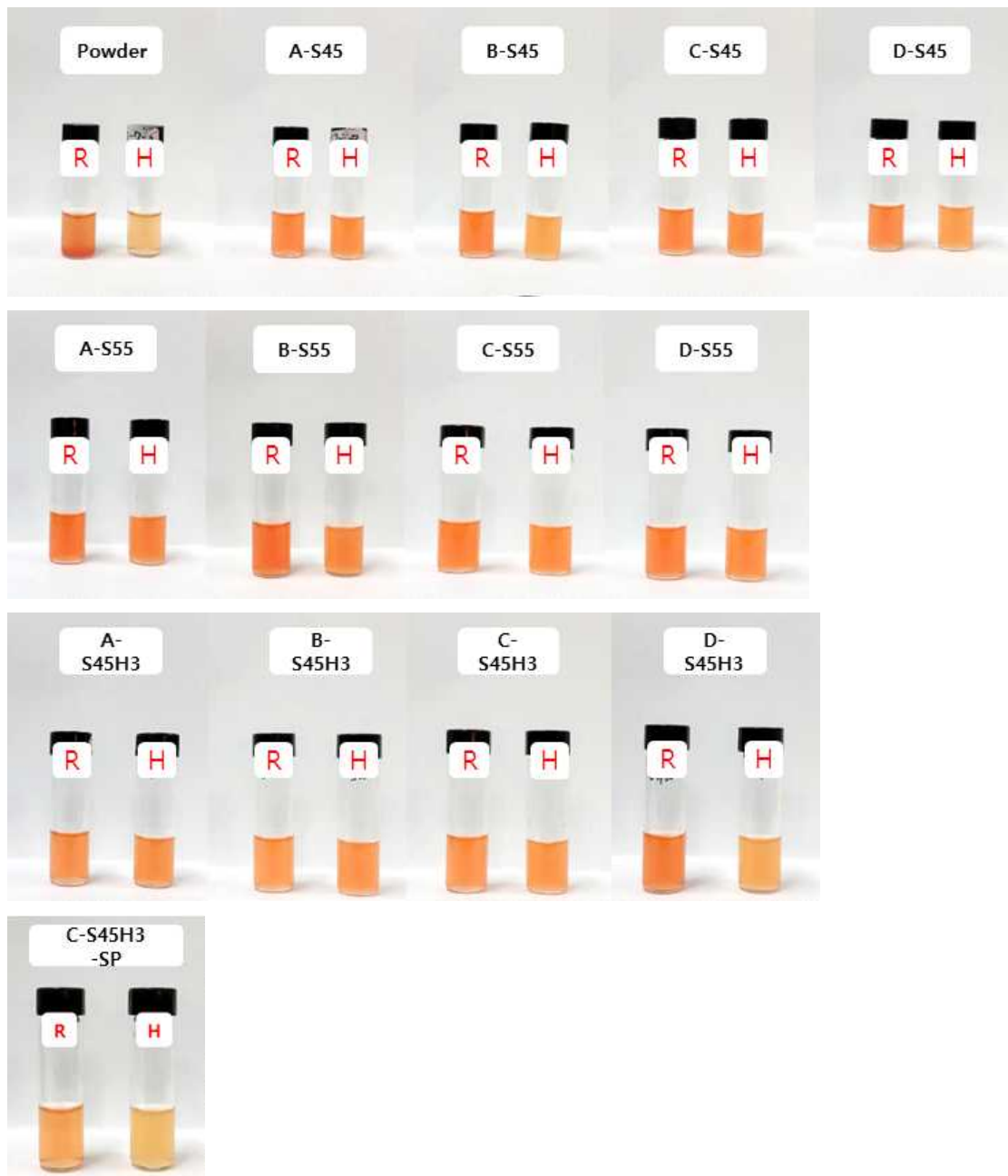


Fig. 36. Heat stability of encapsulated paprika pigment with different encapsulating conditions during storage.

A is paprika carotenoid and Goami OSA3% emulsions, B is paprika carotenoid and Hopyeong OSA3% emulsions, C is paprika carotenoid and Baegjinju OSA3% emulsions, and D is paprika carotenoid and Sinseonchal OSA3% emulsions. S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for preparing emulsions, and S45H3 means sonication at 45°C for preparing emulsions and then homogenizing for 3 min. R means powder was diluted with distilled water and H means powder were diluted with distilled

water and heated at 100°C in the boiling water.

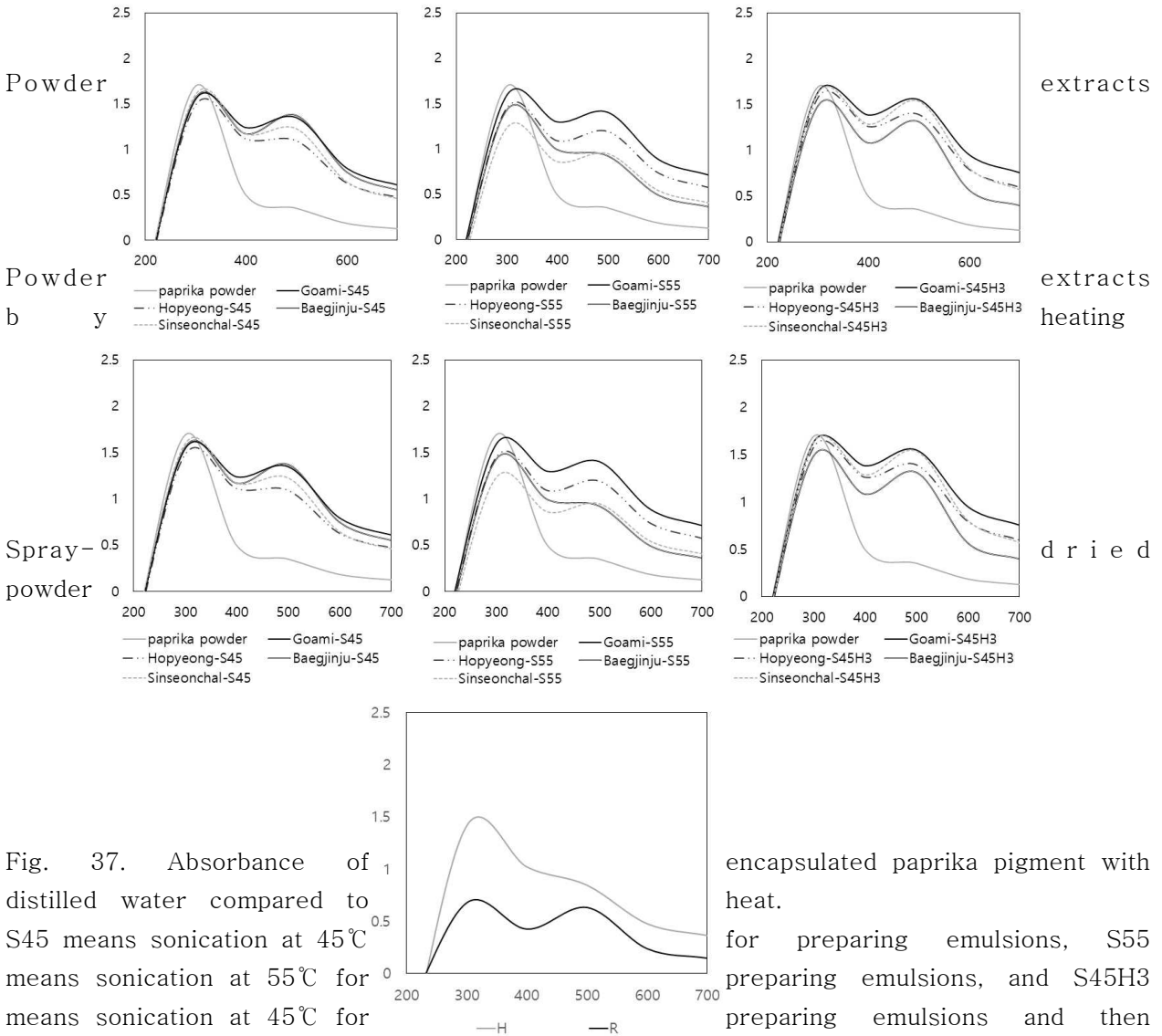


Fig. 37. Absorbance of distilled water compared to S45 means sonication at 45°C means sonication at 55°C for means sonication at 45°C for homogenizing for 3 min. R distilled water and H means powder were diluted with distilled water and heated at 100°C in the boiling water.

encapsulated paprika pigment with heat. for preparing emulsions, S55 preparing emulsions, and S45H3 preparing emulsions and then means powder was diluted with

④ 캡슐화 색소를 이용하여 제조한 송편의 색소 안정성

캡슐화 색소를 이용하여 제조한 송편의 색소 안정성 측정 결과는 Fig. 38, Table 23과 Table 24에 제시하였다. 송편 반죽은 파프리카 색소 색인 밝은 주황색을 나타내었고, 반죽에서는 생분말이 캡슐화 분말에 비하여 더 밝은 색을 나타냈다. 동량의 색소 성분을 가진 추출물을 제조하였을 때, 추출물은 색이 쉽게 사라짐을 알 수 있었고, 이는 익반죽하는 과정에서 사용하는 뜨거운 물이 색소의 색을 약화시키는 것으로 생각된다. 저장 중에 파프리카 색소를 첨가한 송편의 명도 값은 51.02-40.53로 저장할수록 감소하는 특성을 보였다. 생 파프리카 분말을 첨가한 송편은 안정화시킨 분말을 첨가한 송편에 비하여 더 어두운 색을 보였고, 저장 중에 거의 유사한 특성을 보였다. 이 결과를 통해 캡슐화 색소를 이용하여 송편을 제조할 수 있을 것으로 생각되며 캡슐화하면 색이 안정적으로 유지됨을

알 수 있었다.



Fig. 38. Appearance of traditional rice cake during storage.

S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for preparing emulsions, and S45H3 means sonication at 45°C for preparing emulsions and then homogenizing for 3 min.

Table 23. Color of traditional rice cake dough

	Rice cake dough			
	L	a	b	ΔE
Paprika powder	72.72±0.31 ^d	20.38±0.09 ^g	33.42±0.13 ^f	46.14±0.30 ^f
Paprika extract	82.53±0.56 ^a	9.31±0.05 ^h	21.02±0.31 ^g	27.25±0.03 ^g
Baegjinju-S45	71.80±0.01 ^e	23.48±0.01 ^f	34.12±0.01 ^e	48.56±0.01 ^e
Baegjinju-S55	73.84±0.68 ^b	23.61±0.06 ^e	36.34±0.05 ^c	49.23±0.31 ^d
Goami-S45H3	73.54±0.01 ^{bc}	24.78±0.01 ^d	35.56±0.01 ^d	49.38±0.01 ^d
Hopyeong-S45H3	73.08±0.01 ^{cd}	24.98±0.01 ^c	37.15±0.01 ^a	50.85±0.01 ^a
Baegjinju-S45H3	73.55±0.02 ^{bc}	25.46±0.01 ^a	36.74±0.01 ^b	50.57±0.00 ^b
Sinseonchal-S45H3	73.82±0.01 ^b	25.23±0.03 ^b	36.48±0.02 ^c	50.14±0.02 ^c

Data represents mean±SD.

L, ±a, ±b, and ΔE mean lightness, redness/greenness, yellowness/blueness, and color difference, respectively.

1) Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for

preparing emulsions, and S45H3 means sonication at 45°C for preparing emulsions and then homogenizing for 3 min.

Table 24. Color stability of traditional rice cake during storage

	No stored				Stored for 1 days				Stored for 3 days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Paprik a powder	51.02 ±0.01 ^f	14.74 ±0.02 ^f	26.01 ±0.01 ^g	54.8 2±0.02 ^e	51.03 ±0.01 ^h	16.26± 0.01 ^g	27.22 ±0.01 ^f	55.82 ±0.01 ^d	40.53 ±0.00 ^h	15.79± 0.02 ^g	21.72 ±0.04 ^g	62.47 ±0.02 ^e
Paprik extract	55.55 ±0.04 ^a	6.85± 0.01 ^g	16.66 ±0.02 ^h	45.1 3±0.04 ^g	55.69 ±0.02 ^a	7.41±0 .00 ^h	16.13 ±0.01 ^g	44.90 ±0.02 ^g	57.60 ±0.01 ^a	6.70±0 .01 ^h	16.56 ±0.00 ^h	43.20 ±0.01 ^h
Baegji nju-S45	55.53 ±0.01 ^a	17.59 ±0.03 ^c	30.27 ±0.04 ^c	54.2 8±0.01 ^f	51.75 ±0.01 ^g	18.80± 0.01 ^d	29.47 ±0.03 ^d	57.18 ±0.02 ^b	40.93 ±0.04 ^g	18.57± 0.00 ^d	24.41 ±0.04 ^f	63.87 ±0.05 ^b
Baegji nju-S55	54.57 ±0.01 ^b	15.25 ±0.03 ^e	29.07 ±0.01 ^e	53.6 4±0.00	54.38 ±0.01 ^b	17.08± 0.01 ^f	29.81 ±0.01 ^c	54.74 ±0.01 ^f	46.67 ±0.03 ^c	18.38± 0.01 ^e	28.26 ±0.01 ^c	60.56 ±0.03 ^f
Goami -S45 H3	51.36 ±0.03 ^e	17.59 ±0.01 ^c	28.81 ±0.03 ^f	56.7 5±0.03 ^d	52.34 ±0.01 ^f	19.49± 0.01 ^c	29.48 ±0.01 ^d	56.95 ±0.01 ^c	45.23 ±0.01 ^d	20.49± 0.01 ^b	28.91 ±0.02 ^b	62.72 ±0.00 ^d
Hopye ong-S45H3	50.38 ±0.03 ^g	17.28 ±0.03 ^d	29.22 ±0.10 ^d	57.6 6±0.07 ^a	52.88 ±0.05 ^e	17.58± 0.01 ^e	28.05 ±0.03 ^e	55.15 ±0.02 ^e	49.83 ±0.01 ^b	17.90± 0.02 ^f	27.84 ±0.03 ^e	57.60 ±0.01 ^g
Baegji nju-S45H3	52.48 ±0.01 ^c	19.08 ±0.02 ^a	30.35 ±0.01 ^b	57.1 6±0.00 ^c	53.39 ±0.00 ^c	21.02± 0.01 ^a	31.62 ±0.01 ^b	57.83 ±0.01 ^a	43.46 ±0.04 ^e	20.38± 0.02 ^c	27.95 ±0.09 ^d	63.72 ±0.02 ^c
Sinse onchal -S45 H3	52.18 ±0.02 ^d	18.36 ±0.02 ^b	30.97 ±0.04 ^a	57.4 9±0.00 ^b	53.35 ±0.01 ^d	20.24± 0.01 ^b	32.12 ±0.01 ^a	57.86 ±0.02 ^a	43.29 ±0.05 ^f	21.03± 0.02 ^a	29.02 ±0.01 ^a	64.55 ±0.03 ^a

Data represents mean±SD.

L, ±a, ±b, and ΔE mean lightness, redness/greenness, yellowness/blueness, and color difference, respectively.

1) Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

2) A-C Values with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

3) S45 means sonication at 45°C for preparing emulsions, S55 means sonication at 55°C for preparing emulsions,

3. 안토시아닌류 천연색소소재의 안정화 기술 개발

가. 캡슐화를 이용한 안정화 안토시아닌 색소 분말 제조 및 향산화 활성

(1) 재료

안토시아닌 색소를 함유하고 있는 흑색 당근과 자색고구마와 maltodextrin(DE 1, 12, 20-25)을 구입하여 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 자색고구마와 흑당근 처리

자색고구마는 수세한 후 껍질을 벗겨 육면체 모양으로 다이스를 제조하였다. 다이스는 -80°C 에서 동결시켰고, 이후 동결건조기(Freeze dryer, FD 5505, Vision, Seoul, Korea)를 이용하여 건조하였다. 건조된 고구마는 분쇄하여 100 mesh체를 이용하여 통과시켜 실험에 사용하였다.

흑당근은 수세한 후 껍질을 벗겨 껍질만을 모아 저온에서 풍건하였다. 저온 건조된 껍질을 분쇄하여 100 mesh 체를 통과시켜 실험에 사용하였다.

(나) 색소 추출 및 안정화 처리

자색고구마 분말과 흑당근 껍질 분말 1 g에 100 mL(0.2% citric acid+ 80% EtOH)를 이용하여 5 시간 동안 교반한 후 Whatman No. 2 filter 용지와 감압여과기를 이용하여 여과하여 안토시아닌 색소를 추출하였다.

안토시아닌 색소 추출물 20 mL는 evaporator(Rotary evaporator, SB-1100, Eyela Co. Ltd., Shanghai, China)를 이용하여 용매를 모두 제거한 후 20 mL의 증류수를 이용하여 녹인 후, DE값이 다른 maltodextrin(DE 1, DE 12, DE 20-25) 4 g을 각각 섞어주었다. Maltodextrin이 다 녹으면 안토시아닌 색소 추출물과 혼합된 용액을 homogenizer(HG-15D, Daihan Scientific Co., Ltd., Gangwon-do, Korea)를 이용하여 1500×10 g 속도로 1 분간 균질화 시킨 후, sonicator(Power Sonic 520, Hwashin Technology Co., Seoul, Korea)를 이용하여 25°C 에서 10 분간 2회 처리하였다. 처리한 색소 혼합물은 -80°C 에서 동결시켰고, 이후 동결건조기 (Freeze dryer, FD 5505, Vision, Seoul, Korea)를 이용하여 건조하였다. 건조된 분말인 캡슐화된 안토시아닌 색소 분말은 100 mesh 체에 내려 조리, 가공 중의 안정성 실험에 사용하였고, 저장 실험은 제조된 안토시아닌 안정화 색소를 4°C 냉장고에 60일간 저장한 후 실험에 사용하였다.

(다) 색 안정성 측정

안정화 안토시아닌 색소분말의 저장 중의 색소 안정성을 확인하기 위해 안정화 색소분말을 제조 직후와 60일간 저장 후 송편을 제조하여 평가하였다. 안정화 안토시아닌 색소분말을 4°C 의 냉장고에서 60일간 보관한 다음 송편을 제조하여 안토시아닌 색소의 저장 안정성을 확인하였다.

(라) 분말의 항산화 활성

① 분말의 추출물 제조

흑당근과 자색 고구마 분말의 추출물은 분말 5 g(건량 기준)에 50 mL의 80% ethanol을 첨가한 후 암소에서 마그네틱바를 이용하여 4시간 동안 stirring하여 제조하였다. 추출물은 Whatman No.2 여과지를 이용하여 감압여과기(DOA-P704-AC, GAST Manufacturing, INC., MI., USA)를 통해 여과시킨 후 50 mL로 정용하였다.

② 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량(total flavonoid contents)은 No JH 등(2012)의 방법으로 측정하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 quercetin과 비교하여 시료의 총 플라보노이드 함량을 g 당 quercetin 함량으로 환산하여 표시하였다.

③ 총 페놀성 화합물 함량 측정

총 페놀성 화합물함량(total phenolic compounds)은 Folin-Ciocalteu's reagent 시약을 이용하여 No JH 등(2012)의 방법으로 분석하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 716 nm에서 흡광도를 측정하여, gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선식($Y= 52.063x-0.0033$ ($R^2=0.9998$))을 이용하여 페놀성 화합물 함량을 계산하였다.

④ DPPH radical 소거능

추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능을 확인하기 위하여 Lee KJ 등(2010)과 Oh JH 등(2004)의 실험방법에 준하여 실험을 실시하였다. DPPH 2.1 mL에 80% ethanol 1.3 mL, 추출물 0.6 mL를 섞고 30분간 반응시킨 후에 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 1%의 녹두 껍질 추출물 용액을 기준으로 ascorbic acid와 비교하여 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다.

(마) 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복하여 측정해서 실험하였으며, 평균과 표준편차로 표기하였다. 모든 실험의 결과는 SPSS 12.0K(SPSS INC., Chicago IL, USA)를 이용하여 ANOVA test를 통하여 통계 처리하였고, Duncan's multiple-range test로 검증하였다.

(3) 결과

(가) 안정화처리 안토시아닌 색소 분말의 외관 및 색도

안정화 처리한 분말과 생 분말의 외관은 Fig. 39와 같았다. 생고구마의 색은 진한 자색이었고, 흑당근 껍질의 자색은 더 진해 외관상 검은색에 가까운 자색을 지니고 있었다. 자색 고구마와 흑당근 껍질을 생 분말에서 80% EtOH을 이용하여 색소를 뽑아내 텍스트린의 텍스트로스 당량별로 DE 1,

DE 12, DE 20로 각각 안정화 처리하였을 때, 안정화처리 안토시아닌 색소분말은 분홍색에 진한 정도는 차이가 있지만 분홍색이었고, 외관상으로 보았을 때 흑당근 껍질의 색이 더 진하게 나타나 같은 농도의 추출물에서 안토시아닌 색소의 농도가 흑당근 껍질에서 더 높음을 알 수 있었다. 60일 간 4℃에서 저장한 안정화 분말을 관찰하였을 때 외관상의 색은 거의 변함이 없었다.



Fig. 39. The powder of encapsulated anthocyanin pigment with different maltodextrin DE.

색도계를 이용하여 색도를 측정한 결과는 Table 25와 같았다. 흑당근 껍질의 명도 값은 30.2로 처리한 색소 분말에 비해 훨씬 어두운 색을 나타냄을 확인하였다. 60일간 4℃에서 보관했을 때 흑당근 껍질은 46.0으로 색이 분말화 직후에 비하여 밝아지는 경향을 보였고, a 값은 감소하고 b 값은 증가하는 경향을 보였고, 생 자색고구마인 자미도 L 값과 b 값은 증가하고 a 값은 감소하는 경향을 보였다. 이를 통해 생 분말이 저장 중에 색의 변화가 있음을 알 수 있었다. 색소 안정화 처리한 색소는 생 흑당근 껍질, 생 자색고구마 색소에 비해 명도 값이 각각 62.8-63.8, 67.0-70.2로 높게 나타났다. 자색고구마 DE12, 자색고구마 DE20이 높은 명도 값을 가졌다. 안정화 처리한 색소는 산성조건에서 색소 추출하여 붉은색을 나타냈고 maltodextrin을 색소 용량에 대해 4배를 첨가하기 때문에 코팅 후 흰색의 텍스트린으로 인해 분홍색으로 나타났다. 적색도를 나타내는 a 값은 안정화 처리한 분말에서 생 분말에 비해 높게 나타나는 경향을 보였으며, 황색도 b 값은 줄어드는 경향을 보였다. 또한 저장 기간 동안 안정화한 색소분말에서도 생 분말과 마찬가지로 명도 값이 증가하는 경향을 보였으나, 적

색도 값이 유사하게 나타나 저장 시에 색의 감소가 최소화됨을 알 수 있었다. 전반적으로 흑당근 껍질의 색은 진한 자색을 나타내, 안정화처리한 분말에서도 적색도가 더 높게 나타났으며, 자색고구마는 밝은 보라색을 나타내 안정화 처리한 분말도 더 밝은 분홍색이 나타남을 알 수 있었다. 이는 자색고구마와 흑당근 껍질의 안토시아닌 색소의 구성 성분에 따른 차이로 사료된다.

Table 25. The L, a, b value of encapsulated anthocyanin pigment with different maltodextrin DE during storage

	No stored				Stored for 60 days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Purple fleshed sweet potato								
Raw	45.3±0.1 ^f 1)	22.4±0.1 e	-12.3±0.0 0 ^h	57.5±0.0 1 ^b	53.1±0.0 2 ^e	17.6±0.0 0 ^d	-9.1±0.0 1 ^g	48.0±0.0 2 ^b
DE 1²⁾	67.0±0.3 c	27.8±0.3 bc	-5.6±0.1 e	41.2±0.0 4 ^e	73.4±0.0 1 ^b	22.6±0.0 4 ^c	-5.3±0.0 1 ^e	33.0±0.0 2 ^f
DE 12	70.2±0.1 a	26.5±0.5 d	-6.2±0.0 ^f	38.1±0.0 2 ^g	76.7±0.0 4 ^a	23.4±0.0 1 ^b	-5.5±0.0 1 ^e	31.4±0.0 2 ^g
DE 20	68.5±0.1 b	28.3±0.7 b	-6.4±0.1 g	40.6±0.0 4 ^f	76.7±0.0 2 ^a	22.6±0.0 4 ^c	-5.7±0.0 1 ^f	30.8±0.0 2 ^h
Black carrot								
Raw	30.2±0.2 g	8.7±0.0 ^f	4.5±0.0 ^a	67.4±0.0 2 ^a	46.0±0.0 2 ^f	5.4±0.1 ^e	2.5±0.2 ^a	51.2±0.0 2 ^a
DE 1	62.8±0.4 e	27.9±0.1 bc	-2.6±0.1 b	44.1±0.0 2 ^c	68.4±0.0 1 ^d	26.2±0.0 2 ^a	-2.3±0.0 1 ^b	38.7±0.0 2 ^c
DE 12	63.7±0.5 d	27.4±0.7 c	-3.2±0.3 d	43.2±0.0 3 ^d	71.6±0.0 5 ^c	23.3±0.0 4 ^b	-3.2±0.0 2 ^d	34.5±0.0 1 ^e
DE 20	63.8±0.0 d	29.3±0.1 a	-3.0±0.1 c	44.3±0.0 0 ^c	71.7±0.0 2 ^c	25.7±0.0 7 ^a	-2.8±0.0 1 ^c	36.1±0.0 5 ^d

1)Mean±SD

2)DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

(나) 색소의 항산화 활성

① 총 플라보노이드 함량 측정

흑당근 껍질과 자색고구마의 안토시아닌 색소를 추출하여 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 40과 같았다. 자색고구마로 추출한 안토시아닌 색소의 총 플라보노이드 함량이 흑당근 껍질보다 유의적으로 높은 함량을 보였다. 추출물의 외관색상의 경우 흑당근 껍질이 훨씬 진해 안토시아닌 색소가 많을 것으로 예상되어 플라보노이드가 높게 나올 것으로 추측하였지만, 자색고구마에서 더 높은 함량을 보였다. 자색고구마는 안토시아닌 색소를 다량 함유하고 있으며, 색소 분자가 peonidin의 기본구조에 ferulic acid, caffeic acid가 diacylation된 구조를 가지고 있어 다른 소재의 안토시아닌 색

소에 비해 안정성이 우수하다고 알려져 있다(Rhim JW & Lee JW 2002). 흑색당근의 안토시아닌 색소는 주로 cyanidin 3-snapoly-xylosyl-glucosyl-galactoside와 cyanidin 3-feruloyl-xylosyl-glucosyl-galactoside로 알려져 있으며 kg 당 1750 mg 정도가 함유된 것으로 보고된바 있다(Kirca A 등 2007).

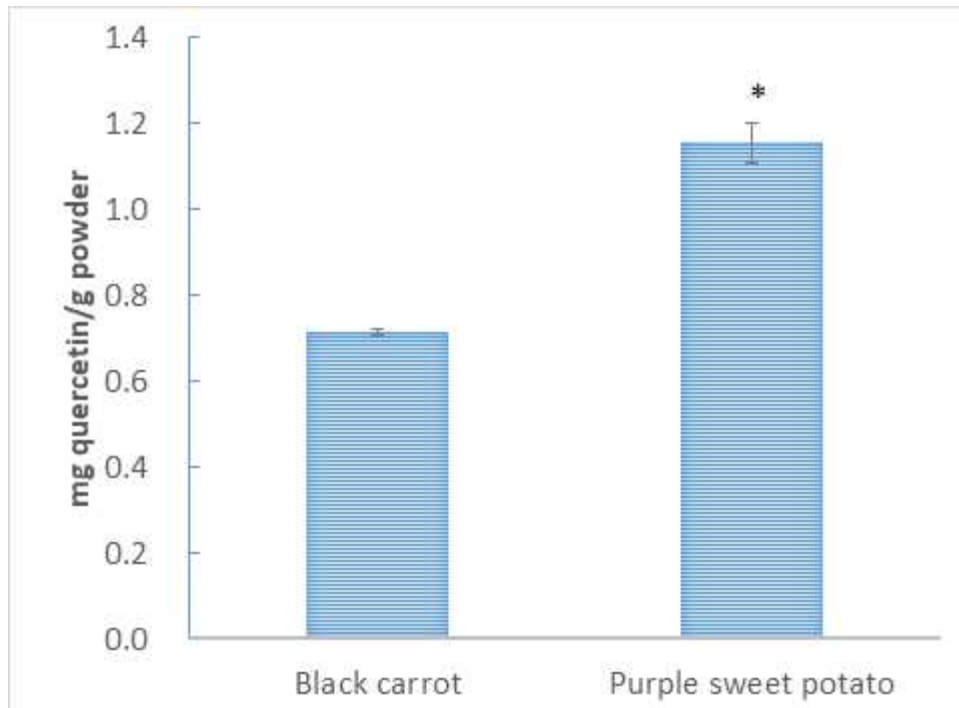


Fig. 40. Total flavonoid contents of black carrot and purple sweet potato powder extract.

② 총 페놀성 화합물 함량 측정

흑당근 껍질과 자색고구마 분말의 총 페놀성 화합물 함량 측정 결과 Fig. 41과 같았다. 흑당근 껍질과 자색고구마 분말의 총 페놀성 화합물은 자색고구마에서 더 많은 양 발견되었다. 이는 아마도 흑당근의 껍질보다 흑당근을 사용하여 비교하였더라면 다른 결과를 야기하였을 수 있었을 것으로 생각된다. 총 플라보노이드 함량과 유사한 결과로 생 분말의 경우 자색고구마에서 더 많은 페놀성 화합물이 존재하여 항산화능이 좋을 것으로 사료되었다.

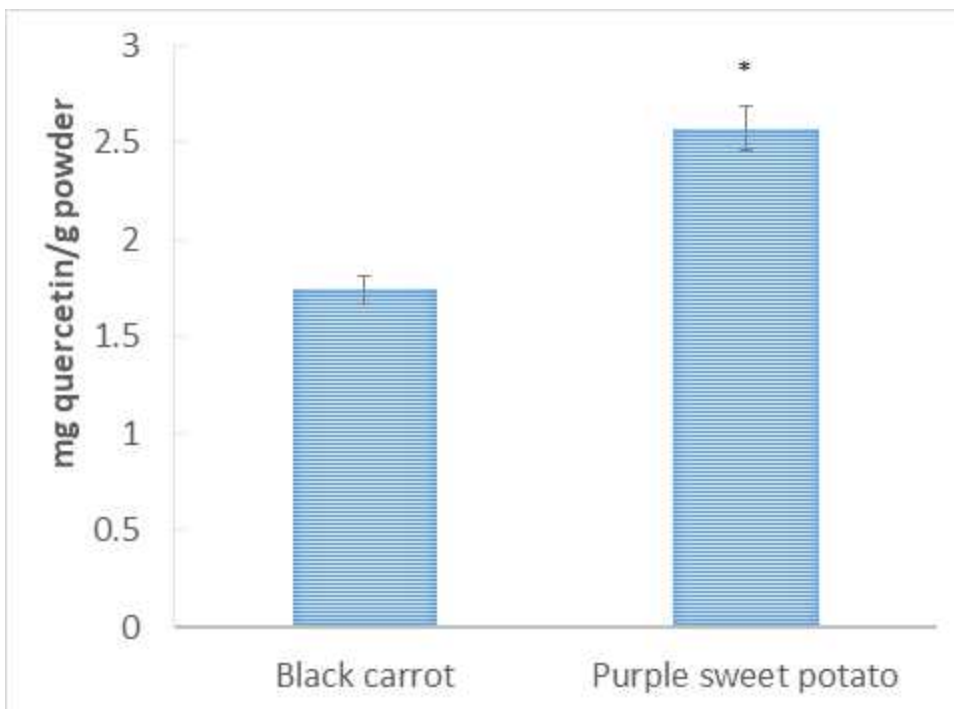


Fig. 41. Total phenolic compounds of black carrot and purple sweet potato powder extract.

③ DPPH radical 소거능

DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 42에 나타내었다. 흑당근 껍질과 자색고구마의 DPPH radical 소거능은 흑당근 껍질이 91.33%, 자색고구마가 84.74%로 흑당근 껍질에서 더 높게 나타났다. 이는 총 플라보노이드 함량과 총 페놀성 화합물의 함량 측정 결과와 다른 결과로 흑당근 껍질이 DPPH radical 소거능이 더 좋은 이유는 흑당근 껍질의 다른 성분이 영향을 주었음을 알 수 있었다.

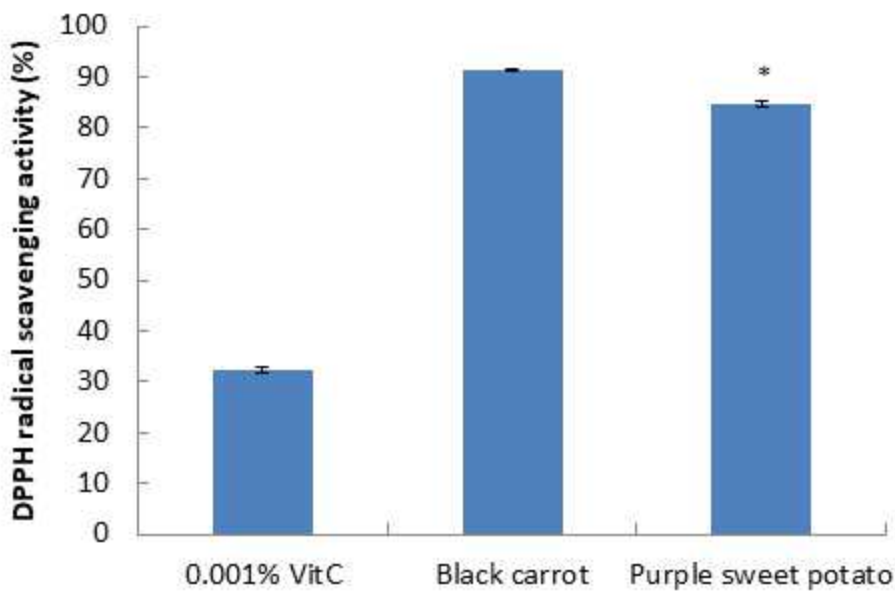


Fig. 42. DPPH radical scavenging of black carrot and purple sweet potato powder extract.

나. 안정화시킨 안토시아닌 분말을 첨가한 떡의 색 안정성 및 항산화 활성

(1) 재료

안토시아닌 색소를 함유하고 있는 흑색 당근과 자색고구마와 maltodextrin(DE 1, 12, 20-25)을 구입하여 사용하였다. 송편 반죽을 위해 사용한 멥쌀가루는 한아름 품종을 사용하였다. 증편의 반죽은 주)창역에서 받아 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 송편 제조 및 안토시아닌 색 안정성 측정

① 송편 제조 및 저장 조건

송편의 제조는 멥쌀가루(한아름 품종)를 10 g에 생 색소분말과 안정화한 색소분말을 각각 0.5 g을 넣고 뜨거운 물 7 g을 함께 넣어 익반죽한 후 반죽을 5 g씩 분할하여 송편모양으로 제조하였고 20분간 찐다. 대조군으로 사용된 생 색소분말은 안정화한 색소분말에 들어있는 안토시아닌 함량을 생 색소분말과 비교하여 동일한 비율로 첨가하였다. 제조된 송편은 저장성 평가를 위해 폴리에틸렌 봉지에 넣어 4℃와 25℃의 냉장고(laboratory refrigerator, Dahan Labtech Co., Ltd, Namyangju, Korea)에 각각 24시간 보관하여 실험에 사용하였다. 4℃에 저장된 송편은 다시 5분간 찌는 방법으로 재가열하여 실험에 사용하였다.

② 저장 조건에 따른 송편의 외관 및 색도 관찰

디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 촬영하여 관찰하였으며, 책상으로부터 30 cm의 일정한 높이로 관찰하였다. 제조 시의 송편의 색 변화를 관찰하기 위하여 색도계(Spectra magic™NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, ±a(redness/greenness)값 및 ±b(yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정해서 그 평균값으로 나타내었다. 기기는 L=96.82, a=-0.06, b=-0.15인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였고, 색차(ΔE)는 백색판을 기준으로 $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ 식에 의하여 계산하였다.

③ 떡의 항산화 활성

a. 떡의 추출물 제조

안정화시킨 분말을 첨가한 송편의 추출물은 떡분말 5 g(건량 기준)에 50 mL의 80% ethanol을 첨가한 후 암소에서 마그네틱바를 이용하여 4시간 동안 stirring하여 제조하였다. 추출물은 Whatman No.2 여과지를 이용하여 감압여과기(DOA-P704-AC, GAST Manufacturing, INC., MI., USA)를 통해 여과시킨 후 50 mL로 정용하였다.

b. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량(total flavonoid contents)은 No JH 등(2012)의 방법으로 측정하였다.

UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 quercetin과 비교하여 시료의 총 플라보노이드 함량을 g 당 quercetin 함량으로 환산하여 표시하였다.

c. 총 페놀성 화합물 함량 측정

총 페놀성 화합물함량(total phenolic compounds)은 Folin-Ciocalteu's reagent 시약을 이용하여 No JH 등(2012)의 방법으로 분석하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 716 nm에서 흡광도를 측정하여, gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선식($Y= 52.063x-0.0033$ ($R^2=0.9998$))을 이용하여 페놀성 화합물 함량을 계산하였다.

d. DPPH radical 소거능

추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능을 확인하기 위하여 Lee KJ 등(2010)과 Oh JH 등(2004)의 실험방법에 준하여 실험을 실시하였다. DPPH 2.1 mL에 80% ethanol 1.3 mL, 추출물 0.6 mL를 섞고 30분간 반응시킨 후에 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 1%의 녹두 껍질 추출물 용액을 기준으로 ascorbic acid와 비교하여 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다.

(나) 증편의 제조 시의 안토시아닌 색 안정성 측정

① 증편 제조 및 저장 조건

증편의 제조를 위해 멥쌀을 5회 흐르는 물에 씻어 상온에서 12시간 이상 수침한 후, 30분동안 체에서 물을 제거하였다. 수분기를 제거한 멥쌀은 롤밀 방식(1단 롤밀, wooil ENG, Gyeonggi-do, Korea)으로 빻은 후 냉동 보관 후 필요할 때 꺼내 사용하였다. 증편 반죽은 재료 비율은 습식멥쌀가루 64.4%, 효모유산균 발효물 16.1%, 설탕 10.2%, 정제수 9.1%, 천일염 0.1%로 한데 혼합하여 반죽하여 제조하였다. 제조된 떡 반죽 100 g에 안정화처리 색소 1 g을 섞어 치대고, 일정한 틀에 동량의 반죽을 넣어 1시간 30분 동안 35℃, 상대습도 70% 조건의 발효기에서 발효하였다(EP-40, Daeyung Bakery Machinery co., Ltd, Seoul, Korea). 발효된 반죽은 40분 동안 썰서 실험에 사용하였다.

② 저장 조건에 따른 증편의 외관 및 색도 관찰

디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 촬영하여 관찰하였으며, 책상으로부터 30 cm의 일정한 높이로 관찰하였다. 제조 시의 증편의 색 변화를 관찰하기 위하여 색도계(Spectra magic™NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, $\pm a$ (redness/greenness)값 및 $\pm b$ (yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정해서 그 평균값으로 나타내었다. 기기는 $L=96.82$, $a=-0.06$, $b=-0.15$ 인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였고, 색차(ΔE)는 백색판을 기준으로 $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ 식에 의하여 계산하였다.

③ 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복하여 측정해서 실험하였으며, 평균과 표준편차로 표기하였다. 모든 실험

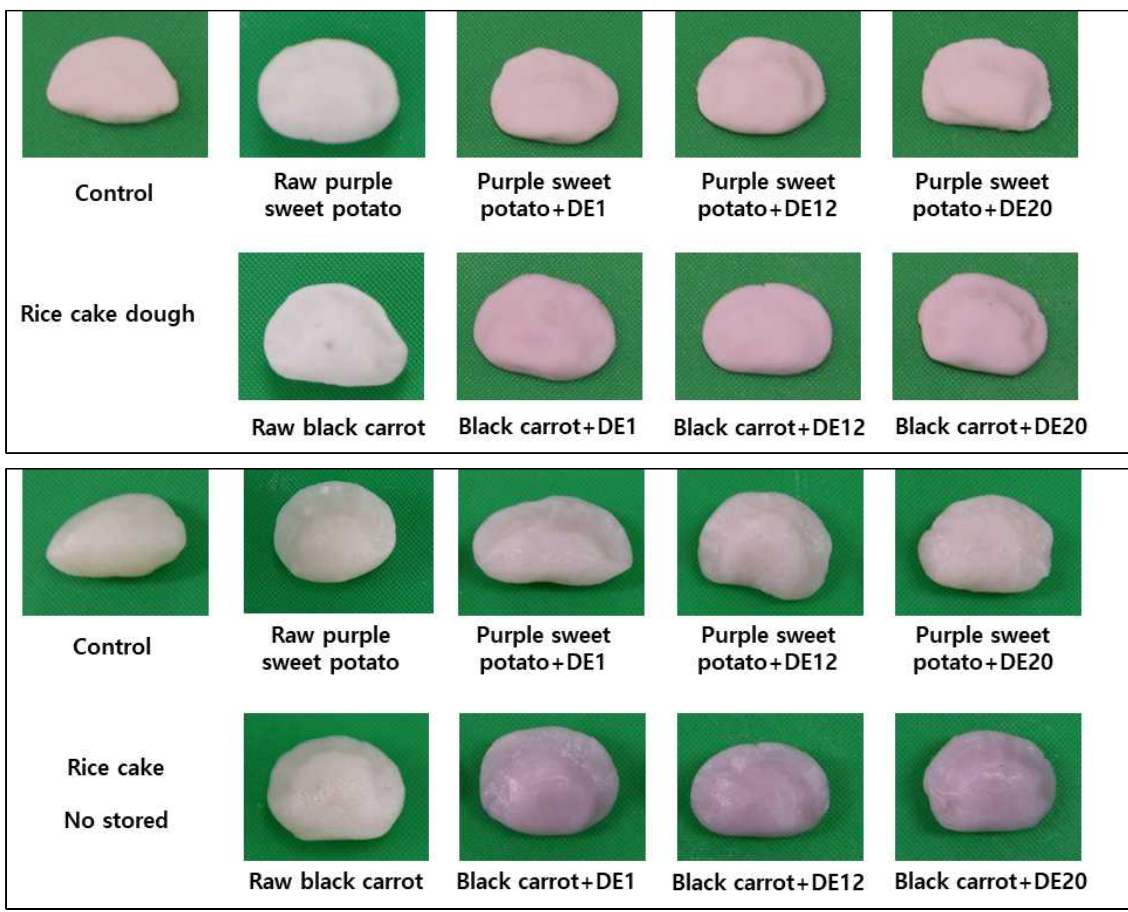
의 결과는 SPSS 12.0K(SPSS INC., Chicago IL, USA)를 이용하여 ANOVA test를 통하여 통계 처리하였고, Duncan's multiple-range test로 검증하였다.

(3) 결과

(가) 송편의 안토시아닌 색 안정화

① 안정화한 안토시아닌 색소분말을 첨가한 송편의 외관 및 색도

안정화한 안토시아닌 색소분말 제조 직 후, 송편을 제조하였을 때의 반죽의 색소와 쥘 다음 송편의 색을 생 분말과 안정화 색소 분말의 차이를 비교한 외관의 특성은 그림 2와 같았다. 반죽의 색은 동량의 안토시아닌 색소를 첨가하였을 때 외관색이 전반적으로 유사하게 나타났으며, 생 분말에서 그 색이 상대적으로 낮음을 알 수 있었다. 반죽을 쥘 다음 송편의 색은 보라색을 유지하였으며, 자색고구마의 경우는 생 분말 색과 유사한 밝은 보라색이었으나, 흑당근은 생 분말이 가지고 있는 자색과 유사하게 진한 보라색으로 나타났다. 반면 생 분말의 경우 자색 고구마 색소는 보라색이 거의 사라져 나타나지 않았으며, 반점처럼 보라색이 남게 됨을 확인할 수 있었다.



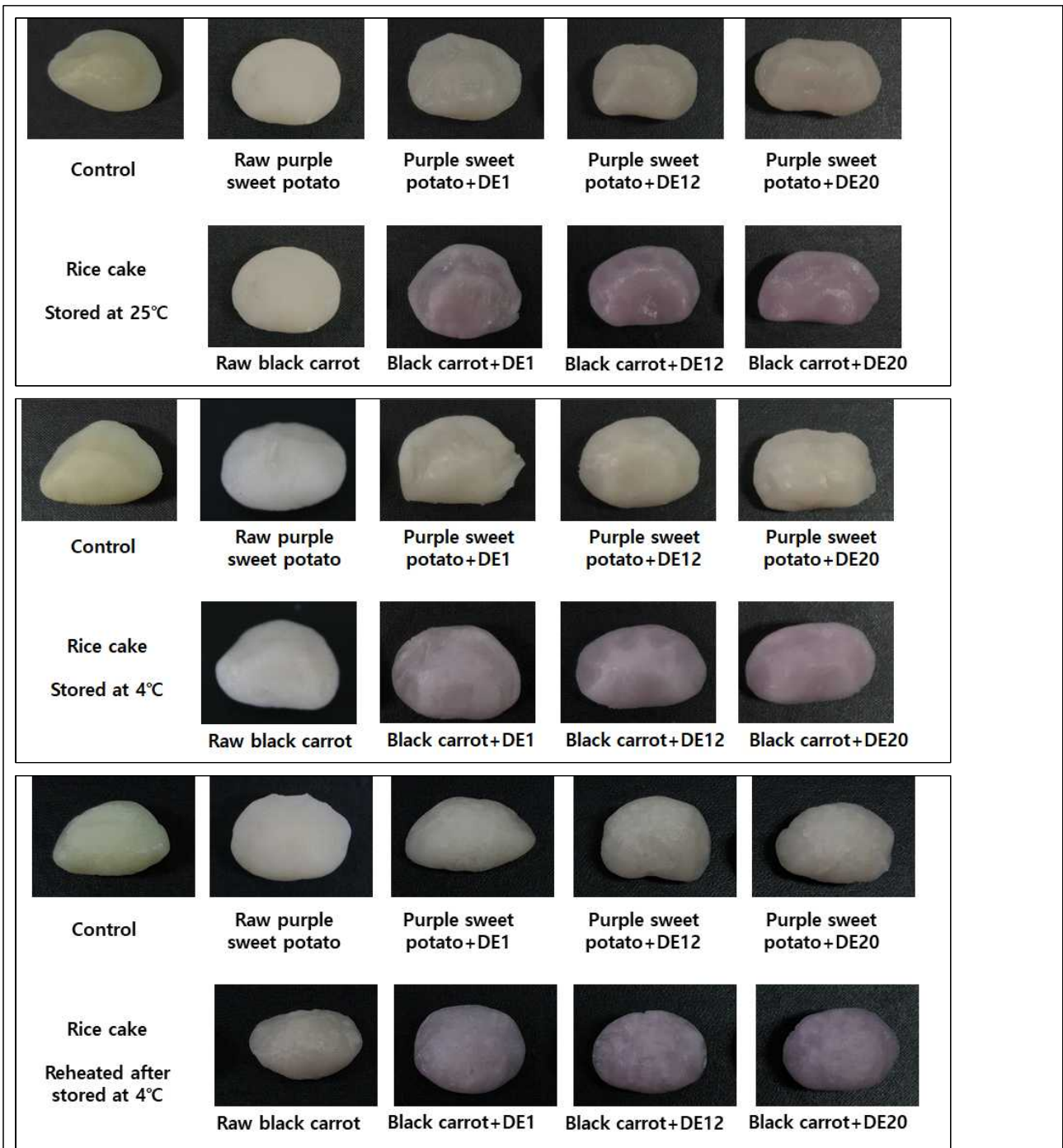


Fig. 43. The appearance of rice cake prepared with stabilized anthocyanin pigment with maltodextrin.

DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

② 안정화한 안토시아닌 색소분말을 첨가한 송편의 색도

색도 측정 결과는 Table 26과 같았다. 제조 직후의 명도 값은 56.6-67.9의 범위로 나타났으며, 자색고구마 색소를 첨가한 송편이 흑당근 색소를 첨가한 송편에 비해서 밝은 경향을 보였다. 특히 생

분말을 첨가한 송편은 송편의 색이 거의 나타나지 않아 명도 값이 안정화 처리한 분말에 비해 높게 나타났으며, 적색도도 같은 경향을 보였다. 적색도는 흑당근 색소를 첨가한 송편에서 2.4-3.0 범위로 다른 송편이 - 값을 나타내는 것에 비해 높게 나타났다. 자색고구마와 흑당근 색소의 경우 실제 분말 양이 반죽에 0.02 g 포함된 것으로 0.2% 수준으로 색소 분말을 첨가한 것이기 때문에 다소 색이 연하게 나타난 것으로 생각되며, 이는 첨가량을 늘리면 보완할 수 있으리라 생각된다. 흑당근 색소의 경우 소량을 첨가했음에도 자색을 나타내기 때문에 다양한 가공 제품 제조에 있어 사용이 용이할 것으로 생각된다. 25℃에서 저장하였을 때 일부 색소의 밝기에서 차이가 나타났으나, DE1, DE20으로 제조하였을 때, 붉은색을 나타내는 a 값의 변화가 거의 없는 것을 확인할 수 있었다. 4℃에서 저장하였을 때도 기존 제조 직후에 비하여 생 흑당근은 a 값이 높아졌다가, 다시 재가열하면 낮아지는 경향을 보였고, 그에 반해 안정화처리한 분말에서는 유사한 경향을 보여 안정화한 안토시아닌 색소는 저장이나 열처리에 의해 더 안정성을 유지함을 확인할 수 있었다.

Table 26. The L, a, and b values of rice cake prepared with stabilized anthocyanin pigment with maltodextrin

	No stored				Stored at 25℃				Stored at 4℃				Reheated after stored at 4℃			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Control	68.0±0.4 ^{ai}	-2.5±0.0 ^f	4.2±0.4 ^a	29.2±0.3 ^e	71.4±0.6 ^a	-2.4±0.0 ^f	3.5±0.1 ^a	25.8±0.6 ^c	70.0±0.8 ^a	-2.5±0.0 ^f	4.7±0.26 ^a	27.4±0.8 ^f	71.3±0.1 ^a	-2.1±0.1 ^e	6.9±0.3 ^a	26.6±0.2 ^e
Purple sweet potato																
Raw	63.6±0.3 ^c	-1.9±0.0 ^e	5.1±0.0 ^b	33.6±6.0 ^d	67.3±3.3 ^{bc}	-1.8±0.0 ^e	0.1±0.1 ^b	30.2±3.2 ^d	63.6±0.3 ^{ef}	-1.9±0.0 ^e	5.1±0.0 ^a	33.6±0.3 ^c	67.2±2.8 ^{bc}	-1.9±0.0 ^e	5.8±0.6 ^b	30.3±2.6 ^{cd}
DE 1²⁾	66.4±0.9 ^{ab}	-0.3±0.0 ^d	7.4±0.3 ^e	30.1±1.9 ^d	69.0±1.1 ^{ab}	-0.2±0.0 ^d	6.4±0.4 ^b	27.8±1.0 ^c	68.7±1.3 ^{ab}	-0.4±0.2 ^d	0.8±0.4 ^b	28.2±1.3 ^e	70.4±0.3 ^a	-0.2±0.1 ^d	2.1±1.4 ^d	26.6±0.3 ^e
DE 12	65.2±0.7 ^b	-0.1±0.1 ^d	0.4±0.3 ^b	31.6±0.6 ^d	66.4±1.9 ^{bc}	-0.1±0.0 ^d	0.6±0.3 ^b	30.4±1.9 ^d	66.0±1.1 ^{cd}	-0.2±0.1 ^d	0.9±0.3 ^b	30.9±1.1 ^d	68.1±0.9 ^b	0.3±0.1 ^c	2.6±0.7 ^d	28.9±1.0 ^d
DE 20	67.9±0.5 ^a	0.0±0.1 ^d	0.8±0.76 ^b	28.9±0.5 ^e	64.7±1.0 ^c	0.0±0.0 ^d	3.0±0.8 ^b	32.2±1.0 ^c	67.7±0.8 ^{bc}	-0.2±0.1 ^d	1.3±0.4 ^b	29.2±0.8 ^{de}	70.6±1.0 ^a	0.2±0.2 ^c	2.4±1.2 ^d	26.4±1.0 ^e
Black carrot																
Raw	64.1±0.6 ^b	-2.4±0.1 ^f	5.7±0.5 ^e	33.4±3.6 ^c	67.5±0.1 ^b	-1.9±0.0 ^e	3.6±0.1 ^d	29.6±1.1 ^d	62.5±0.0 ^f	1.7±0.0 ^c	-1.8±0.0 ^c	34.5±0.0 ^b	64.2±3.9 ^c	-2.4±0.0 ^e	5.4±1.1 ^c	33.2±4.0 ^b
DE 1	60.8±0.5 ^c	2.4±0.5 ^e	-3.5±0.7 ^d	36.3±0.5 ^b	60.5±1.6 ^{de}	3.0±0.1 ^d	-3.6±0.1 ^d	36.6±1.5 ^b	63.5±0.4 ^{ef}	2.0±0.30 ^b	-3.3±0.3 ^d	33.5±0.4 ^{2c}	66.9±0.9 ^{bc}	2.1±0.6 ^b	-2.5±0.7 ^f	30.2±0.8 ^{cd}
DE 12	56.6±0.0 ^d	3.0±0.2 ^{ab}	-3.6±0.2 ^d	40.2±2.0 ^a	61.5±1.2 ^d	2.6±0.3 ^a	-4.0±0.3 ^c	35.7±1.2 ^b	62.0±1.0 ^f	2.2±0.4 ^b	-4.2±0.0 ^e	35.2±1.0 ^b	60.1±0.7 ^d	3.3±0.4 ^a	-1.9±0.1 ^e	36.9±0.8 ^a
DE 20	61.3±0.6 ^c	2.7±0.7 ^b	-3.9±0.9 ^d	35.9±1.6 ^c	58.1±1.3 ^c	2.6±0.0 ^a	-4.5±0.0 ^{2c}	39.1±1.3 ^a	60.0±0.1 ^g	2.8±0.0 ^a	-4.1±0.2 ^e	37.2±0.1 ^a	60.1±0.9 ^d	3.5±0.4 ^a	-1.8±0.2 ^e	37.0±0.8 ^a

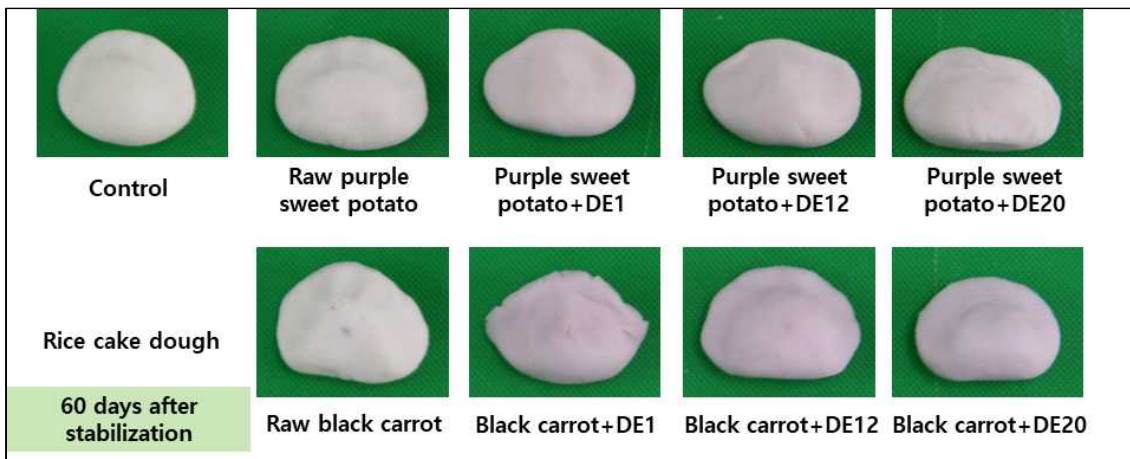
1)Mean±SD

2)DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

③ 안정화한 안토시아닌 색소분말을 60일 저장한 후 제조한 송편의 외관 특성과 색도

안정화한 안토시아닌을 60일 저장한 후 제조한 송편의 외관 특성은 Fig. 44와 같았고 색도는 Table 27과 같았다. 안정화시킨 안토시아닌 색소분말을 첨가한 송편은 안정화시킨 직후 제조한 송편과 마찬가지로 안정화한 색소분말을 첨가한 떡에서 더 고른 보라색을 나타냈으며, 생 분말의 경우는 색소가 뭉쳐서 충분히 색이 안 나타나는 특성을 보였다. 안정화 안토시아닌 색소분말을 첨가하여 송편을 제조하였을 때, 명도 값은 증가하는 경향을 보였으나, 적색도 a 값의 경우 DE 12, DE 20으로 코팅한 경우 수치가 제조 직후에 증가하는 경향을 보였다. DE 12와 DE 20으로 안정화시킨 안토시아닌 색소분말로 제조한 송편이 안토시아닌 색을 더 선명하게 나타내는 경향을 보였고, 저장 중에서 유사한 경향을 나타내었다. 흑당근의 안토시아닌 색소는 낮은 온도에 보관하였을 때 더 안정성을 유지하였다. pH와 온도가 바뀌면 색이 변할 수 있으며 다른 안토시아닌 성분에 비해서 diacylation 되어 있는 구조적 특성으로 비교적 여러 조건에서 안정하다고 보고된바 있다(Kirca A 등 2007). 이러한 이유로 흑 당근 껍질로부터 추출한 색소로 안정화시킨 안토시아닌 색소분말이 자색고구마로 처리한 안정화 색소분말에 비해서 떡 제조 조건에서 더 안정한 특성을 가진 것으로 사료된다.

본 실험에서 사용한 흑당근의 색소는 일반적으로 조리 과정에서 버려지는 흑당근의 껍질에서부터 색을 뽑아냈기 때문에 훨씬 유용가치가 높을 것으로 사료되며, 껍질에서도 충분한 양의 색소가 분리되어 제품의 품질에 긍정적인 영향을 줄 수 확인할 수 있었다. 동량의 농도를 사용할 때 자색고구마는 그 함량을 높여서 제조하는 것이 안토시아닌 색소 확인에 더 유리할 것으로 생각된다.





Control



Raw purple sweet potato



Purple sweet potato+DE1



Purple sweet potato+DE12



Purple sweet potato+DE20

Rice cake
No stored



Raw black carrot



Black carrot+DE1



Black carrot+DE12



Black carrot+DE20

60 days after stabilization



Control



Raw purple sweet potato



Purple sweet potato+DE1



Purple sweet potato+DE12



Purple sweet potato+DE20

Rice cake
Stored at 25°C



Raw black carrot



Black carrot+DE1



Black carrot+DE12



Black carrot+DE20

60 days after stabilization



Control



Raw purple sweet potato



Purple sweet potato+DE1



Purple sweet potato+DE12



Purple sweet potato+DE20

Rice cake
Stored at 4°C



Raw black carrot



Black carrot+DE1



Black carrot+DE12



Black carrot+DE20

60 days after stabilization

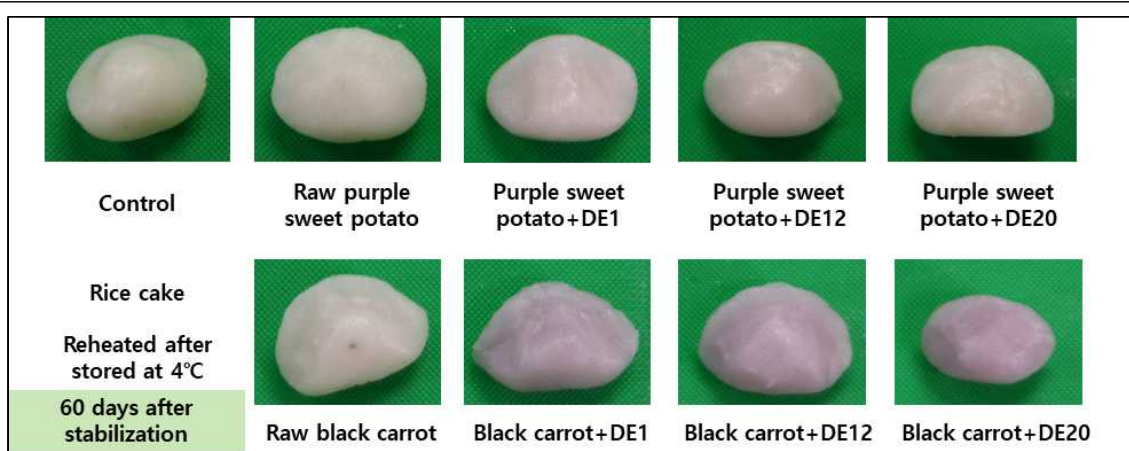


Fig. 44. The dough and appearance of rice cake prepared with stabilized anthocyanin stored for 60 days

DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

Table 27. The color of rice cake prepared with stabilized anthocyanin stored for 60 days

	No stored				Stored at 25°C				Stored at 4°C				Reheated after stored at 4°C			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Control	69	-2	4	28	70.6	-2.2	4.6	26.7	69.6	-2.5	5.5	27.9	74.2	-2.0	4.7	23.2
	.1	.5	8±	.2	±0.	±0.	±0.	±0.	±1.	±0.	±0.	±1.	±0.	±0.	±0.	±0.
	±1	±0	0.	±1	5 ^a	2 ^e	3 ^a	4 ^f	5 ^a	1 ^f	2 ^a	5 ^e	4 ^a	1 ^e	3 ^a	4 ^f
	.2 ^a	.1 ^f	5 ^a	.1 ^e												
Purple sweet potato																
Raw	65	-1	5	32	68.9	-1.7	4.4	28.3	68.6	-1.9	4.7	28.7	68.1	-1.5	3.2	29.0
	.4	.9	4±	.0	±0.	±0.	±0.	±0.	±1.	±0.	±0.	±1.	±0.	±0.	±1.	±0.
	±3	±0	0.	±2	3 ^b	0 ^d	9 ^a	4 ^e	9 ^{ab}	1 ^e	2 ^b	9 ^{de}	9 ^{bc}	1 ^d	5 ^b	7 ^{de}
	.0 ^b	.0 ^e	6 ^a	.8 ^d												
	.0 ^c															
DE 1	64	0.	2.	32	67.0	-0.1	1.2	29.9	65.9	0.0	2.4	31.1	64.5	0.1	1.7	32.4
	.0	2±	5±	±1	±1.	±0.	±0.	±1.	±1.	±0.	±0.	±1.	±2.	±0.	±0.	±2.
	±1	0.	0.	.5 ^c	1 ^{cd}	2 ^c	7 ^c	1 ^{cd}	5 ^{bc}	2 ^{cd}	4 ^d	5 ^{cd}	0 ^d	1 ^c	5 ^{cd}	0 ^c
	.5 ^c	0 ^c	1 ^c	.5 ^c												
	.0 ^d															
DE 12	67	0.	2.	29	66.2	0.0	1.7	30.6	61.8	0.1	1.9	35.1	69.0	0.1	1.6	27.9
	.5	2±	3±	.4	±0.	±0.	±0.	±0.	±1.	±0.	±0.	±1.	±1.	±0.	±0.	±1.
	±1	0.	0.	±1	5 ^d	1 ^c	3 ^c	5 ^c	0 ^d	0 ^c	1 ^d	0 ^b	0 ^b	1 ^c	1 ^d	0 ^e
	.8 ^a	1 ^c	2 ^c	.8 ^e												
	.0 ^b															
DE 20	68	-0	2.	28	68.7	-0.3	1.9	28.2	63.0	-0.2	2.4	33.9	69.5	-0.1	2.6	27.5
	.3	.2	7±	.7	±0.	±0.	±0.	±0.	±1.	±0.	±0.	±1.	±0.	±0.	±0.	±0.
	±0	±0	0.	±0	5 ^b	1 ^c	4 ^c	5 ^e	1 ^{cd}	1 ^d	5 ^d	1 ^{bc}	5 ^b	1 ^c	1 ^{bcd}	5 ^e
	.6 ^a	.0 ^d	6 ^c	.6 ^e												
Black carrot																
Raw	67	-1	3.	29	67.8	-1.5	2.8	29.2	69.1	-1.9	3.1	28.0	66.7	-1.4	2.9	30.3
	.8	.9	5±	.4	±1.	±0.	±0.	±1.	±2.	±0.	±0.	±2.	±1.	±0.	±1.	±1.
	±0	±0	0.	±0	2 ^{bc}	1 ^d	6 ^b	2 ^{de}	1 ^a	1 ^e	5 ^c	1 ^e	0 ^c	1 ^d	1 ^{bc}	0 ^d
	.4 ^a	.0 ^e	2 ^b	.4 ^e												
	.0 ^b															

DE 1	62	1.	-1	34	62.2	1.2	-2.1	34.7	61.2	1.5	-2.0	35.7	59.7	1.5	-1.4	37.2			
	.3	9±	.7	.6		±0.	±0.	±0.		±0.	±1.	±0.		±0.	±1.	±1.	±0.	±0.	±1.
	±0	0.	±0	±0		5 ^e	2 ^b	4 ^d		5 ^b	5 ^d	2 ^b		4 ^e	5 ^b	1 ^f	3 ^b	6 ^e	1 ^a
DE 12	.3 ^d	3 ^b	.2 ^d	.3 ^c	60.6	2.3	-2.8	36.5	57.7	2.6	-3.2	39.4	60.5	2.2	-1.8	36.4			
	58	3.	-2	38		±0.	±0.	±0.		±0.	±2.	±0.		±0.	±2.	±1.	±0.	±0.	±1.
	.8	5±	.7	.3		8 ^f	3 ^a	1 ^d		8 ^a	4 ^e	4 ^a		1 ^f	4 ^a	1 ^f	4 ^a	3 ^e	1 ^a
DE 20	±1	0.	±0	±1	61.3	2.5	-3.1	35.8	58.0	2.4	-3.1	39.0	65.5	2.1	-2.5	34.5			
	.6 ^e	1 ^a	.1 ^e	.6 ^b		±0.	±0.	±0.		±0.	±1.	±0.		±0.	±1.	±0.	±0.	±0.	±0.
	56	3.	-3	41		2 ^{ef}	3 ^a	4 ^e		2 ^{ab}	8 ^e	2 ^a		4 ^f	8 ^a	2 ^e	3 ^a	4 ^e	2 ^b
	.2	7±	.2	.0															
	±1	0.	±0	±1															
	.0 ^f	1 ^a	.2 ^e	.0 ^a															

DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

④ 송편의 항산화활성

a. 총 플라보노이드 함량

송편의 총 플라보노이드 함량 측정 결과는 Fig. 45와 같았다. 안정화한 안토시아닌 분말과 생분말을 첨가하여 안정화 여부에 따른 송편의 항산화 활성을 비교하였다. 총 플라보노이드 함량은 DE 1의 말토덱스트린을 이용하여 안정화한 흑당근에서 가장 높게 나타났고, DE 20의 말토덱스트린을 이용하여 안정화한 흑당근에서 가장 낮게 나타났다. 아마도 DE 20 말토덱스트린의 안토시아닌 색소 고정력이 낮아 조리 중의 안토시아닌 손실이 일어난 것으로 사료된다. 자색고구마는 생분말에서 가장 높은 플라보노이드 함량을 보였고, 말토덱스트린의 DE 값이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 이를 통해 말토덱스트린이 색소 분말의 안토시아닌을 안정하게 가지고 있을 수 있음을 확인하였다.

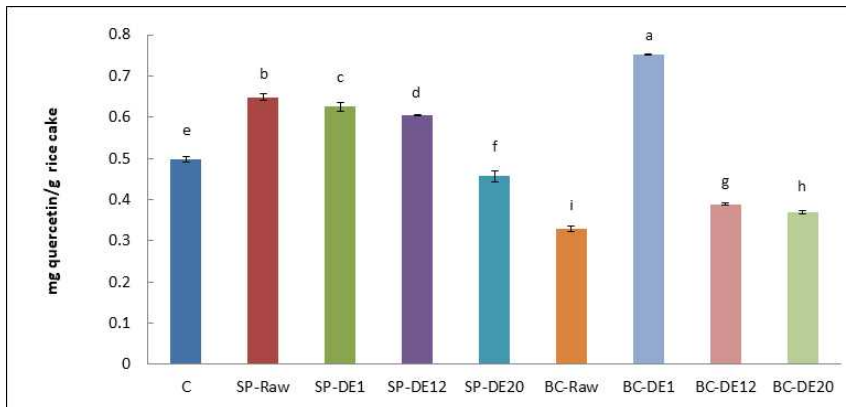


Fig. 45. Total flavonoid contents of rice cake prepared with stabilized anthocyanin pigment with maltodextrin.

SP means sweet potato and BC means black carrot. DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

b. 총 페놀성 화합물 함량

송편의 총 페놀성 화합물 함량을 측정한 결과는 Fig. 46과 같았다. 흑당근의 안토시아닌 색소를 이용하여 제조한 안정화 분말의 총 페놀성 화합물은 자색고구마에 비하여 낮은 값을 보였고, 자색고구마는 상대적으로 높은 값을 보였다. 생분말과 비교하여 DE12의 말토덱스트린을 이용하여 안정화한 자색고구마에서 가장 높은 페놀성 화합물 함량을 보였다.

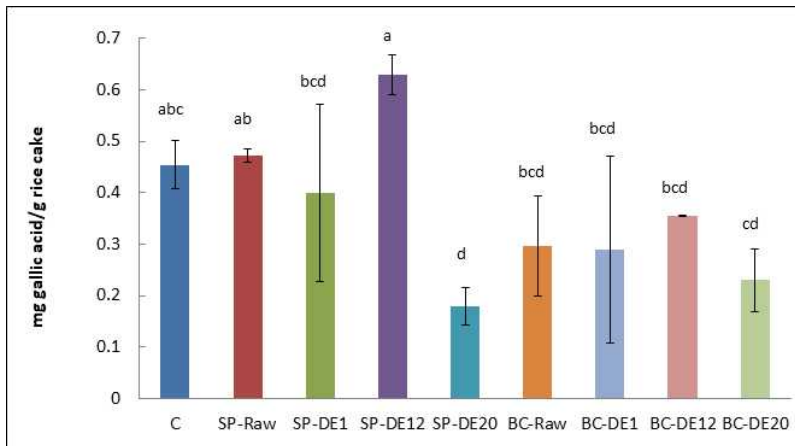


Fig. 46. Total phenolic compounds of rice cake prepared with stabilized anthocyanin pigment with maltodextrin.

SP means sweet potato and BC means black carrot. DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

c. DPPH radical 소거능

DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 47과 같았다. 흑당근 껍질을 DE 1으로 안정화한 BC-DE1의 라디칼 소거능이 가장 높게 나타났으며, 자색고구마가 그 다음으로 높은 경향을 보였다. 흑당근 생분말은 가장 낮은 활성을 나타내 플라보노이드 함량 측정 결과와 유사한 경향을 보였다. 이를 통해 이들 떡에 첨가한 자색분말의 항산화능에 영향을 주는 요소는 플라보노이드 성분으로 아마도 색소 성분인 안토시아닌 성분이 영향을 크게 미침을 예측할 수 있었다. 또한 말토덱스트린을 이용한 안정화에서 자색고구마는 비교적 안정하게 색소성분을 유지하며, 흑당근에서도 생분말에 비하여 안정적으로 색소를 유지함을 확인할 수 있었고, 특히 DE1을 이용하여 안정화시켰을 때 가장 안정적임을 확인하였다.

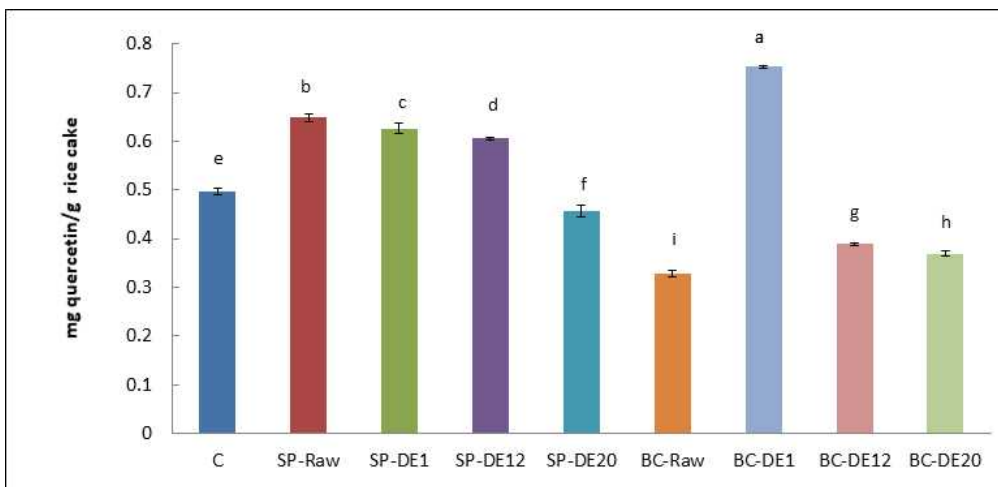


Fig. 47. DPPH radical scavenging of rice cake prepared with stabilized anthocyanin pigment with maltodextrin.

SP means sweet potato and BC means black carrot. DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

(나) 증편의 안토시아닌 색소 안정화

① 증편의 외관 및 색소

안토시아닌 색소를 첨가한 증편의 제조에서 생 흑당근 껍질을 첨가하였을 때, 흑당근이 충분히 반죽에 섞이지 않고 그대로 형태를 유지하는 것을 확인할 수 있었고, 그에 비해 안정화한 분말은 반죽에 색이 잘 녹아 섞임을 확인할 수 있었다. 동일한 양이었을 때 흑당근 껍질의 보라색이 더 잘 나타났으며, 자색고구마의 경우 색이 좀 더 밝게 나타나는 경향을 보였다. 발효과정에서 생 자색고구마의 색은 많이 감소되는 경향을 보였으며, 생 흑당근은 여전히 반죽과 색소가 혼합되지 못하는 양상을 보였다. 반면 안정화한 분말은 고른 연보라색을 나타내는 것을 확인할 수 있었고, 색 자체는 반죽했을 때와 변화가 없음을 알 수 있었다. 익히는 과정 후 컨트롤은 쌀가루의 호화로 인해 노란색으로 변하는 특성을 보였으며, 안정화색소 분말을 첨가한 증편에서는 연한 보라색을 나타내는 특성을 보였다. 생 흑당근 껍질을 첨가하였을 때는 색소가 반죽과 충분히 용화되지 못하고 그대로 점점이 남으면서 좀 더 어두운 보라색을 나타냄을 확인할 수 있어, 증편으로 제품 제조 시에 외관상 기호도를 낮출 것으로 사료되었다. 동일한 함량이었을 때 자색 고구마는 색이 다소 잘 보이지 않아 흑당근 껍질의 발색이 더 좋음을 알 수 있었다. 전반적인 색도 측정 결과 DE12, DE20로 코팅한 분말에서 보라색 유지가 더 효과적일 것으로 생각되지만, 생분말과의 색 발색에 있어서의 차이는 발견되지 않았다.



Fig 48. The dough and appearance of Jeungpyun prepared with stabilized anthocyanin. DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

Table 28. Hunter L, a, and b values of Jeungpyun prepared with stabilized anthocyanin

	L	a	b	△E
Control	71.12±0.29 ^a	-1.60±0.09 ^f	4.66±0.44 ^a	26.20±0.24 ^e
Raw purple sweet potato	66.59±0.19 ^{cd}	-0.34±0.03 ^{bc}	4.31±0.13 ^{abc}	30.56±0.17 ^{bc}
Purple sweet potato+DE1	66.88±1.20 ^{cd}	-0.52±0.06 ^{de}	3.86±0.25 ^c	30.21±1.16 ^{bc}
Purple sweet potato+DE12	67.59±0.39 ^{bc}	-0.59±0.05 ^{de}	3.96±0.29 ^c	29.52±0.43 ^{cd}
Purple sweet potato+DE20	65.98±1.48 ^d	-0.36±0.10 ^c	4.07±0.21 ^{bc}	31.13±1.49 ^b
Raw black carrot	63.70±1.27 ^e	0.30±0.07 ^a	4.17±0.38 ^{abc}	33.41±1.21 ^a
Black carrot+DE1	67.24±0.70 ^{bcd}	-0.61±0.03 ^e	2.34±0.14 ^d	29.69±0.70 ^{bcd}
Black carrot+DE12	68.56±0.38 ^b	-0.49±0.03 ^{de}	2.30±0.11 ^d	28.37±0.37 ^d
Black carrot+DE20	66.47±0.37 ^{cd}	-0.24±0.06 ^b	4.51±0.28 ^{ab}	30.71±0.36 ^{bc}

DE 1: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE1), DE 12: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE11), DE 20: encapsulated anthocyanin extract pigment with maltodextrin (DE20-25).

다. 제조 떡의 항산화 활성

(1) 재료

창역에서 제조된 증편 백미, 흑미, 흑임자, 각각의 떡에 양금이 포함된 떡을 받아 실험에 사용하였다.

(2) 실험방법

(가) 떡의 저장 및 외관 측정

25℃에서 24시간 저장, 냉동 후 재가열 한 떡의 저장 중의 외관 특성 변화를 확인하기 위해 디지털 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)로 촬영하여 관찰하였으며, 일정한 높이에서 측정하여 관찰하였다.

(나) 저장 중의 색도 측정

25℃에서 24시간 저장, 냉동 후 재가열 한 떡의 저장 중의 색 변화를 관찰하기 위하여 색도계 (Spectra magic™NX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, ±a(redness/greenness)값 및 ±b(yellowness/blueness)값을 3회 반복 측정해서 그 평균값으로 나타내었다. 기기는 L=96.82, a=-0.06, b=-0.15인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였고, 색차(ΔE)는 백색판을 기준으로 $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ 식에 의하여 계산하였다.

(다) 텍스처 특성 측정

25℃에서 24시간 저장, 냉동 후 재가열 한 떡의 저장 중의 텍스처를 알아보기 위해 Texture analyzer (TA-XT plus, England)를 이용하여 반복 압축 시험을 실시하여 TPA (texture profile analysis)를 구하였다. 경도(hardness), 부착성(adhesiveness), 응집성(cohesiveness), 탄성(springiness), 씹힘성(chewiness)과 회복력(resilience)의 특성치를 비교하였다.

(라) 떡의 추출물 제조

저장 중의 떡의 추출물은 떡을 동결건조 하여 체에 내린 떡 분말 5 g(건량 기준)에 50 mL의 80% ethanol을 첨가한 후 암소에서 마그네틱바를 이용하여 4시간 동안 stirring하여 제조하였다. 추출물은 Whatman No.2 여과지를 이용하여 감압여과기(DOA-P704-AC, GAST Manufacturing, INC., MI., USA)를 통해 여과시킨 후 50 mL로 정용하였다.

(마) 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량(total flavonoid contents)은 No JH 등(2012)의 방법으로 측정하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 quercetin과 비교하여 시료의 총 플라보노이드 함량을 g 당 quercetin 함량으로 환산하여 표시하였다.

(바) 총 페놀성 화합물함량 측정

총 페놀성 화합물함량(total phenolic compounds)은 Folin-Ciocalteu's reagent 시약을 이용하여 No JH 등(2012)의 방법으로 분석하였다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 716 nm에서 흡광도를 측정하여, gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선식($Y = 52.063x - 0.0033$ ($R^2 = 0.9998$))을 이용하여 페놀성 화합물 함량을 계산하였다.

(사) DPPH radical 소거능

추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능을 확인하기 위하여 Lee KJ 등 (2010)과 Oh JH 등(2004)의 실험방법에 준하여 실험을 실시하였다. DPPH 2.1 mL에 80% ethanol 1.3 mL, 추출물 0.6 mL를 섞고 30분간 반응시킨 후에 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 1%의 녹두 껍질 추출물 용액을 기준으로 ascorbic acid와 비교하여 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다.

(아) 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 측정해서 실험하였으며, 평균과 표준편차로 표기하였다. 모든 실험의 결과는 SPSS 12.0K(SPSS INC., Chicago IL, USA)를 이용하여 ANOVA test를 통하여 통계 처리하였고, Duncan's multiple-range test로 검증하였다.

(3) 결과

(가) 증편의 외관

(㉞)창역에서 제조한 증편의 외관을 측정한 결과는 Fig. 49와 같았다. 흑미를 첨가한 증편은 흑미가 점점이 박혀 외관의 품질을 떨어뜨리는 특성을 보였고, 반면 흑임자를 첨가한 증편은 균일한 색을 보였다. 흑미가 균일하게 분포하기 위해서는 분말을 제조하는 과정에서 입자 사이즈를 더 작은 사이즈로 제조하는 것이 유리할 것으로 사료되었다.

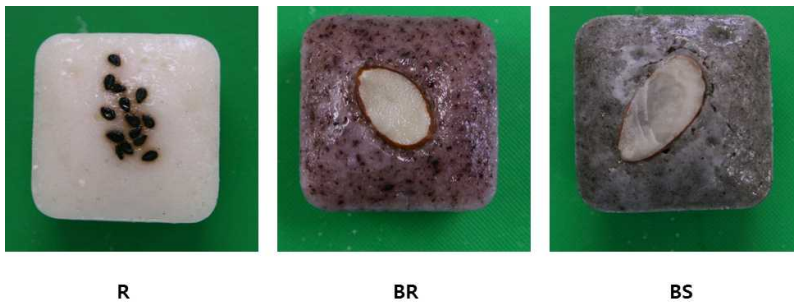


Fig. 49. The appearance of Jeungpyun added with black rice and black sesame.

R means rice Jeungpyun, BR means Jeungpyun added with black rice, and BS means Jeungpyun added with black sesame.

(나) 저장 중의 증편의 색도

25℃의 항온기에서 저장하여 증편의 색도를 측정한 결과는 Table 29와 같았다. 저장동안 명도 값은 아무것도 첨가하지 않은 증편과 흑임자 첨가군에서는 증가하였고, 흑미 첨가군에서는 감소하였다. 흑미 첨가군에서 색차 값이 저장 중에 증가하는 특성을 보였다.

Table 29. Hunter L, a, and b values of Jeungpyun added with black rice and black sesame

	No stored				Stored for 1 days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
R	66.29±0.03 ^a	-1.02±0.19 ^c	2.89±0.36	32.78±0.04 ^c	67.20±0.41 ^a	-1.34±0.07 ^c	3.06±0.33 ^a	31.88±0.44 ^c
BR	49.12±1.05 ^b	5.08±0.11 ^a	2.06±0.25	50.10±1.0 ^b	44.56±0.76 ^c	4.56±0.36 ^a	1.59±0.27 ^b	54.55±0.72 ^a
BS	46.37±0.72 ^c	0.34±0.08 ^b	2.54±0.43	52.60±0.70 ^a	47.44±0.24 ^b	0.32±0.04 ^b	2.83±0.26 ^a	51.54±0.23 ^b

Data represents mean±SD.

1) Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

R means rice Jeungpyun, BR means Jeungpyun added with balck rice, and BS means Jeungpyun added with black sesame.

(다) 저장중의 증편의 텍스처

저장 중의 증편의 텍스처 측정 결과는 Table 30과 같았다. 흑임자 첨가군에서 경도 값이 3982.1 g로 가장 높게 나타났고, 흑미 첨가군에서 1481.3 g로 낮았다. 부착성 역시 흑임자 첨가군에서 낮았고, 흑미에서 높은 특성을 보였다. 흑임자의 첨가는 떡을 더 딱딱하고 입에 잘 안 붙고 부서지는 특성을 지니게 하였고, 흑미의 첨가는 쫄득함을 부여해서 경도는 낮고 부착성이 증가되는 특성을 보였다. 저장 1일 동안 흑미의 경도는 2137.1 g로 증가하는 경향을 보였고, 흑임자는 감소하여 2823.3 g를 나타냈다.

Table 30. Texture properties of Jeungpyun added with black rice and black sesame

	No stored						Stored for 1 day					
	Hardness (g)	Adhesion (g · sec)	Springiness	Cohesiveness	Chewiness	Resilience	Hardness (g)	Adhesiveness (g · sec)	Springiness	Cohesiveness	Chewiness	Resilience
R	2376.4±68.0 ^b	-65.5±8.2 ^b	0.6±0.0 ^b	0.5±0.0 ^b	707.7±58.3	0.2±0.0 ^a	2401.7±112.4 ^b	-75.6±11.8 ^b	0.6±0.1	0.5±0.0 ^b	755.2±70.3	0.2±0.0 ^a
BR	1481.3±30.4 ^c	-95.9±2.3 ^c	0.7±0.1 ^a	0.6±0.0 ^a	638.2±101.9	0.2±0.0 ^a	2137.1±242.9 ^b	-99.1±18.2 ^b	0.7±0.1	0.5±0.0 ^a	744.6±30.7	0.2±0.0 ^a
BS	3982.1±58.5 ^a	-6.9±9.3 ^a	0.5±0.1 ^b	0.4±0.0 ^c	785.4±116.8	0.1±0.0 ^b	2823.3±72.1 ^a	-12.9±7.2 ^a	0.5±0.1	0.4±0.0 ^c	545.1±148.3	0.1±0.0 ^b

Data represents mean±SD.

1) Values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

R means rice Jeungpyun, BR means Jeungpyun added with balck rice, and BS means Jeungpyun added with black sesame.

(라) 증편의 항산화 활성

① 총 플라보노이드 함량

증편의 총 플라보노이드 함량 측정 결과는 Fig. 50에 나타내었다. 모든 증편에서 앙금 첨가 제품의 총 플라보노이드 함량이 높게 나타났으며 이는 앙금에 포함되어 있는 팔성분 등의 여러 기능성 성분 때문으로 사료된다. 흑임자를 첨가하여 제조한 증편이 흑미나 아무것도 첨가하지 않은 것에 비하여 높은 플라보노이드 함량을 보였다. 이를 통해 흑임자가 흑미보다 더 좋은 항산화 활성을 가질 수 있음을 알 수 있었고, 백미로만 제조하는 증편에서도 내부에 첨가하는 앙금의 특성에 따라서 일정정도 이상의 항산화 활성을 가질 수 있을 것을 사료된다.

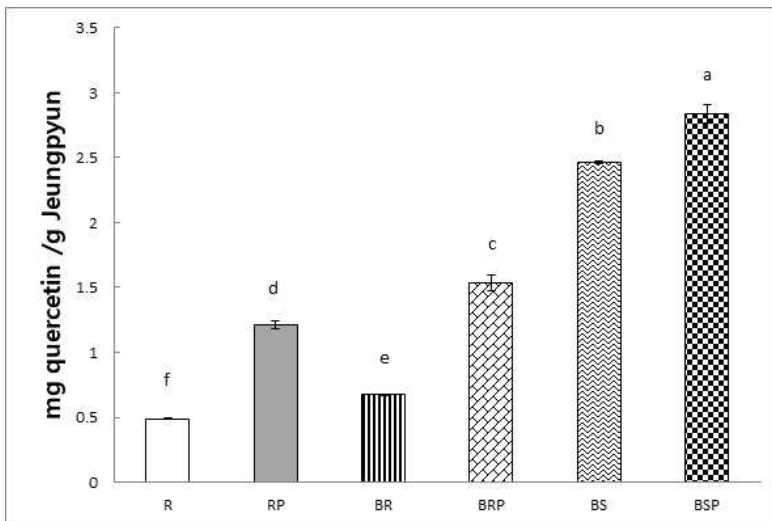


Fig. 50. Total flavonoid contents of Jeungpyun added with black rice and black sesame. R means rice Jeungpyun, BR means Jeungpyun added with black rice, and BS means Jeungpyun added with black sesame. RP means Jeungpyun with paste, BRP means black rice Jeungpyun with paste, and BSP means black sesame Jeungpyun with paste.

② 총 페놀성 화합물 함량

증편의 총 페놀성 화합물 함량을 측정한 결과는 Fig. 51과 같았다. 백미만을 이용하여 제조한 증편에서 총 페놀성 화합물 함량이 가장 낮게 나타났으며, 다른 증편에서는 유사한 페놀성 화합물 함량을 보였다. 이를 통해 흑미와 흑임자를 첨가한 증편이 항산화 능력이 증가할 것으로 예측할 수 있었다. 플라보노이드 함량과 달리 양급에는 총 페놀성 화합물이 나타나지 않아, 유사한 페놀성 화합물 함량을 보임을 알 수 있었다.

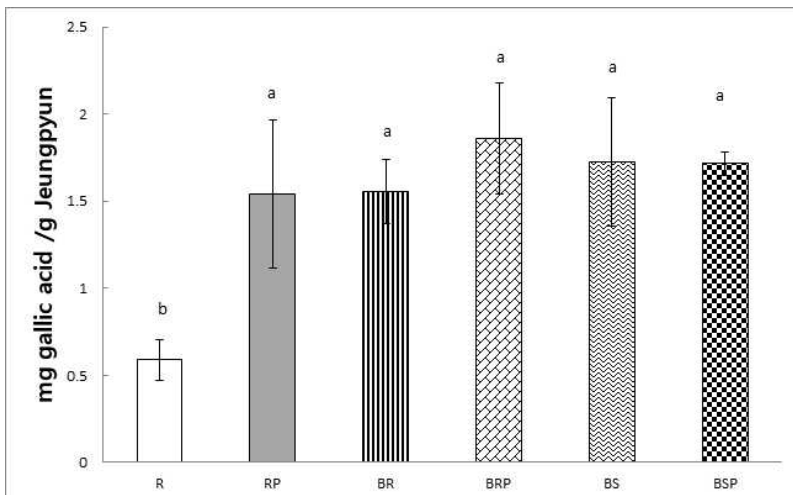


Fig. 51. Total phenolic compounds of Jeungpyun added with black rice and black sesame. R means rice Jeungpyun, BR means Jeungpyun added with black rice, and BS means Jeungpyun added with black sesame. RP means Jeungpyun with paste, BRP means black rice Jeungpyun with paste, and BSP means black sesame Jeungpyun with paste.

③ DPPH radical 소거능

증편의 DPPH radical 소거능 측정 결과는 Fig 52와 같았다. 흑미를 첨가한 증편에서 높은 DPPH radical 소거능을 보였으며, 앙금을 첨가하였을 때가 가장 소거능이 높게 나타났다. 백미로만 제조한 증편이 가장 낮은 라디칼 소거능을 보였지만, 앙금을 첨가하였을 때는 흑미와 유사하게 증가함을 알 수 있었다. 반면에 흑임자는 높은 플라보노이드 함량과 총 페놀성화합물 함량을 보였지만, 흑미와 다르게 DPPH radical 소거능이 낮음을 알 수 있었다. 이를 통해 흑미가 가지고 있는 총 페놀성 화합물이 라디칼 소거능이 더 좋음을 알 수 있었다.

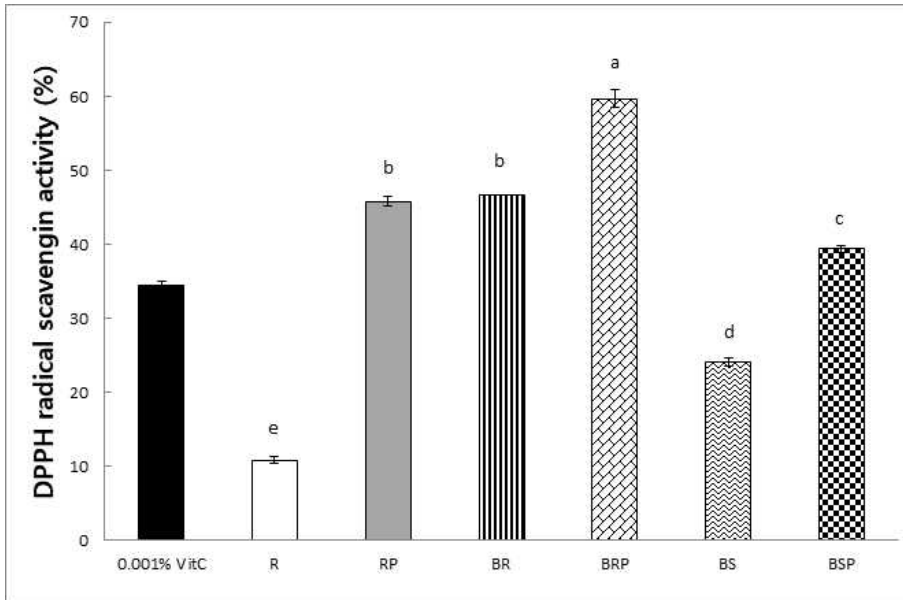


Fig. 52. DPPH radical scavenging of Jeungpyun added with black rice and black sesame. R means rice Jeungpyun, BR means Jeungpyun added with black rice, and BS means Jeungpyun added with black sesame. RP means Jeungpyun with paste, BRP means black rice Jeungpyun with paste, and BSP means black sesame Jeungpyun with paste.

제2절. 천연색소 소재 원료 기능성 평가
 [제1협동 : 한약진흥재단 정원석]

천연색소 소재 원료 기능성 검증

가. 기억력 증진 기능성 검증 (초석잠, 경옥고)

(1) 초석잠 기억력 증진 기능성 검증

(가) 문헌 조사

초석잠은 꿀풀과의 여러해살이풀 석잠풀(*Stachys riederi* Chamisso var. *japonica* Hara)의 지상부이다. 생약명으로 초석잠(草石蠶)이라고 한다. 맛은 달고 쓰며 성질은 서늘하다. 청열이뇨의 효능이 있어 미열이 있으면서 소변을 잘 못 보고 몸이 붓는 증상에 쓰인다. 초석잠의 이명은 감로자(甘露子), 적로(滴露), 감로아(甘露兒), 지잠(地蠶), 지유(地紐), 토용(土踊), 보탑채(寶塔菜) 등으로 불린다.

초석잠의 주성분은 탄수화물로 타 식물과는 다르게 전분이 아니라 대부분 올리고당(糖)이다. 올리고당의 효능은 주로 장(腸)의 기능을 개선 시키는 효능이 있다. 또한 인지능 개선과 관련해서는 쥐에 KCN(청산)칼리를 주사한 실험에 대해서 초석잠 추출물을 3g/kg 투여한 그룹에서는 대조군에 비해 생존시간이 3배 증가하였고 이는 초석잠에 함유되어 있는 페닐에타노이드 배당체 때문이라는 것이 밝혀졌다. 또한 콜린성분이 함유되어 있어 치매예방과 기억력 증진 효과가 있다고 알려져 있다.



Fig. *Stachys riederi* Chamisso var. *japonica* Hara

(나) 재료 및 방법

① 시료추출 및 제조

초석잠을 100g씩 칭량하여 분쇄한 후, 혼합물의 10배 용량의 증류수와 70% 에탄올을 가하여 환류냉각하에서 추출을 3시간, 3회 반복하였다. 열수추출물은 100℃에서, 70% 에탄올 추출물은 75℃에서 각각 환류추출하였다. 이 추출물들을 rotary evaporator 수조 온도 50℃ 감압 농축하고 Freeze dry (PVTFD20R, 일신랩(주), 대한민국)를 사용하여 동결건조(Ilshin, Korea) 시킨 후 실험 시료로 사용하였다.

② 시약준비

아밀로이드 베타 25~35 (A β 25-35)는 Sigma (Saint Louis, USA)에서 구입하였고, DMSO에 용해시킨 후 phosphate buffered saline (PBS)로 희석시켜 사용하였다. A β 25-35를 사용하기 전에 37℃에서 1주일간 배양하여 aggregation시켰다. A β 25-35는 50 μ M로 사용하였다.

③ DPPH 라디칼 소거능

각 시료의 전자공여능은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)의 환원력을 이용하여 측정하였다. 즉 각 시료 100 μ L에 100 μ M DPPH 용액 100 μ L를 첨가하여 상온에서 30분간 반응시킨 후 microplate reader를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

※ DPPH라디칼 소거능(%) = 100 x (Ar-As)/Ar

Ar : 대조군 흡광도

As : 시료군 흡광도

④ ABTS 저해 활성도 측정

ABTS 용액은 7.4 mM ABTS와 2.45 mM K₂S₂O₈를 섞어 16시간 동안 냉암소에 보관하여 준비하였으며, 흡광도값이 0.7-0.8 사이에 도달하게 50 % 에탄올로 희석하여 사용하였다. 96well plate에 ABTS용액 과 농도별 시료를 혼합하여 실온에서 20분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 활성의 크기는 시료를 넣지 않은 경우를 대조군(control)으로 하고 시료를 넣은 것은 실험군(experiment)으로 하여 다음 식에 의해 ABTS의 활성 저해율을 나타내었다.

※ ABTS 소거능(%) = 100 x (Ar-As)/Ar

Ar : 대조군 흡광도

As : 시료군 흡광도

⑤ 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 이용한 비색법을 이용하였다. 시료에 Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 각각 150 µL를 첨가한 뒤 교반 후 3분간 상온에서 반응 시킨 뒤 10 % Na₂CO₃ 용액을 150 µL를 첨가하여 1시간 동안 반응시켰다. 그 뒤 10,000 rpm, 10분 동안 원심분리 하였으며 상등액을 이용하여 750 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질의 검량선 작성을 위해 gallic acid를 이용하였다.

⑥ 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 96 well plate에 농도별 시료 10 uL에 10 % aluminum nitrate 와 1M potassium acetate를 각각 4 µL, Methanol을 82 µL를 첨가 한 뒤 40분간 암소 반응 한 뒤 415 nm 에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질의 검량선 작성을 위해 rutin을 이용하였다.

⑦ Acetylcholinesterase(AChE) 의 활성 억제측정

Acetylcholinesterase(AChE) 의 효소활성은 Ellman 방법에 따라 acetylthiocholine을 기질로 사용하였으며 AChE에 의해 생성되는 thiocholine을 DTNB와 반응시켜 그 결과 생성되는 5-thio-2-nitrobenzoate를 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하여 수행하였다. 96 well plate에 100 µL의 AChE assay buffer(0.1 M Tris-HCl, pH 8.0), 10 µL의 0.5 U/ml AChE(dissolved in assay buffer) 및 10 µL의 적당하게 희석된 시료를 가한 후 shaking하면서 상온에서 10분 동안 incubation 한 후, 10 µL의 10 mM DTNB와 5 µL의 100 mM acetylthiocholine을 가한 후 2분 동안 반응시킨 후 ELISA microplate reader (Infinite 200 pro, TECAN, Austria)를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 효소 대신 동량의 assay buffer를 가한 것을 control로 하였다. AChE inhibitor에 의한 억제 활성은 다음의 수식을 이용하여 계산하였다.

※ 억제율(%) = 100-(As/Ar) x 100

Ar : 대조군 흡광도

As : 시료군 흡광도

⑧ 세포배양

인간유래 SH-SY5Y neuroblastoma 세포를 10% fetal bovine serum (Gibco, Grand Island, NY, USA)과 100 unit/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin (Gibco)을 포함하는 Eagle's Minimum Essential Media (EMEM, ATCC, Manassa, VA, USA) 배지 조성으로, 5% CO₂의 조건 및 37°C 온도 조건으로 유지 배양하였다.

⑨ 세포독성 실험

본 실험에 사용한 초석잠의 열수추출물과 70% 에탄올 추출물이 신경세포에 독성을 나타내는지를 측정하기 위하여 MTS assay를 수행하였다. SH-SY5Y 를 96 well plate에 2.0×10⁴ cells/well로 분주하였으며, 10% FBS가 함유된 EMEM을 넣어 well당 최종 용적을 100 µL로 하였다. 24시간 동안 배양한 후 추출물을 각각의 농도별로(0, 62.5, 125, 250, 500 µg/ml) 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 그 후에 각각 세포 배양액 용량의 1/10배의 MTS 용해액을 첨가한 후 37°C에서 2시간 배양한 후 ELISA microplate reader (Infinite 200 pro, TECAN, Austria)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

⑩ 세포 생존율 측정

SH-SY5Y 세포를 96 well plate에 2.0×10⁴ cells/well로 분주하였으며, 10% FBS가 함유된 EMEM을 넣어 well당 최종 용적을 100 µL로 하였다. 세포가 안정적으로 부착되면 초석잠의 열수추출물과 70% 에탄올 추출물을 다양한 농도로(0, 62.5, 125, 250, 500 µg/ml) 2시간 전처리하며, 이후 Aβ₂₅₋₃₅ (50 µM)를 첨가하였다. 48시간 배양 뒤 각각 세포 배양액 용량의 1/10배의 MTS 용해액을 첨가한 후 37°C에서 2시간 배양한 후 ELISA microplate reader (Infinite 200 pro, TECAN, Austria)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

⑪ 아밀로이드 베타 25~35 (Aβ₂₅₋₃₅) 관련 유전자 발현 Real-Time PCR

Aβ₂₅₋₃₅ 관련 유전자 발현을 확인하기 위해서 SH-SY5Y 세포를 60 mm dish에 1 × 10⁵개씩 분주한 후 24시간 배양한다. 초석잠의 열수추출물과 70% 에탄올 추출물을 다양한 농도로 (0, 125, 250, 500 µg/ml) 2시간 전처리하며, 이후 Aβ₂₅₋₃₅ (50 µM)를 첨가하였다. 48시간동안 배양을 하고 PBS로 2회 세척 후 세포를 수확하였다.

수확한 세포는 Tripure Isolation Reagent (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)를 이용하여 RNA를 분리하였다. 5 µg의 mRNA를 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA)를 이용하여 cDNA로 합성을 하였다. 실험은 제조사 매뉴얼에 따라 수행하였다. 합성된 cDNA 1 µl, taqman primer 1 µl, Taqman Universal Master Mix II (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) 10 µl, 3차 증류수 8 µl를 넣고 Real-time PCR기기 (ABI7500, Applied Biosystem, Foster City, CA, USA)를 이용하여 PCR을 수행하였다. 정량 중합효소 반응에 쓰인 TaqMan gene의 정보는 Table 에서 나타내었다. 또한 Real-time PCR 반응 조건은 50°C에서 2분 95°C에서 10분 동안 1회 수행하고, 변성 온도 95°C에서 15초 어닐링 온도 60°C에서 15초인 사이클을 40회 반복 수행하였다.

Table. Taqman gene-specific probes.

Gene symbol	Gene description	TaqMan gene expression assay number	Reference sequence
APP	amyloid beta (A4) precursor protein	Hs00169098_m1	nm_001136016.3
BACE1	beta-site APP-cleaving enzyme 1	Hs01121195_m1	nm_00127048.1
BDNF	brain-derived neurotrophic factor	Hs02718934_m1	nm_001143805.1
PSEN1	presenilin 1	Hs00997789_m1	nm_000021.3
PSEN2	presenilin 2 (Alzheimer disease 4)	Hs01577197_m1	nm_000447.2

⑫ 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 평균 ± 표준편차(mean ± S.D.)로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS (18.0, Statistical Package for Social Science Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 일원변량 분석(One way ANOVA)을 실시한 후 Student's t-test로 유의성을 p<0.05 수준에서 검증하였다.

(다) 결과 및 고찰

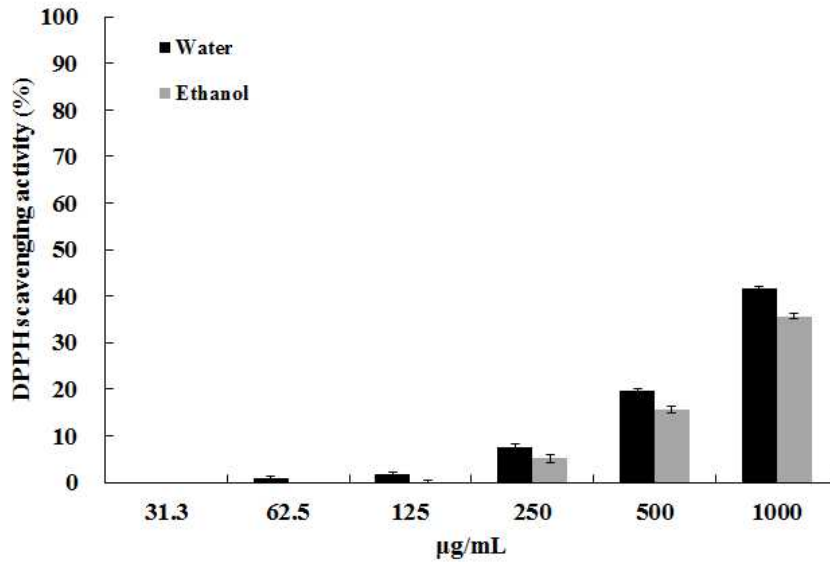
① 초석잠 추출물의 DPPH free radical의 소거활성

자유라디칼은 인체 내에서 지질 또는 단백질 등과 결합하여 노화를 일으키기 쉽다. 그 중 DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 자유라디칼로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되는데 이것은 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다. 초석잠 열수추출물과 70% 에탄올 추출물의 DPPH 소거활성을 농도별로 측정하여 비교한 결과는 그림과 같으며, 70% 에탄올 추출물보다 열수추출물이 더 높은 DPPH 소거활성능을 보였다.

Fig. DPPH scavenging effects of *Stachys sieboldii* Miq water and 70% ethanol extracts.

② 초석잠 추출물의 ABTS free radical의 소거활성

ABTS와 potassium persulfate를 암소에 방치하면 ABTS+· 이 생성되는데 추출물의 항산화력에 의해 ABTS+· 이 소거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색된다. 이와 같이 ABTS+· 탈색 반응은 이미 생성된 free radical의 제거 정도를 흡광도 값으로 나타내어 ABTS+· 의 소거활성능을 측정하는 방법으로 소수성과 친수성 모두에 적용 가능한 실험 방법이다. 구실갯밤나무 열매의 ABTS+ 소거능



을 측정하여 비교한 결과는 그림과 같으며, 70% 에탄올 추출물보다 열수추출물이 더 높은 ABTS+ 소거활성능을 보였다.

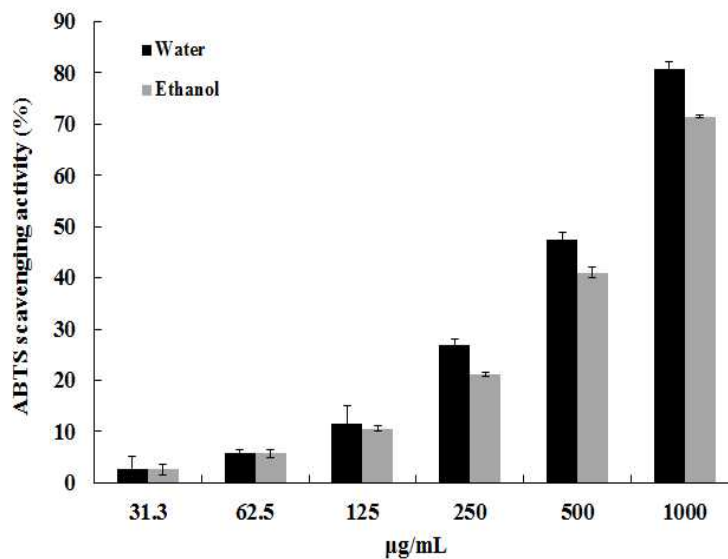
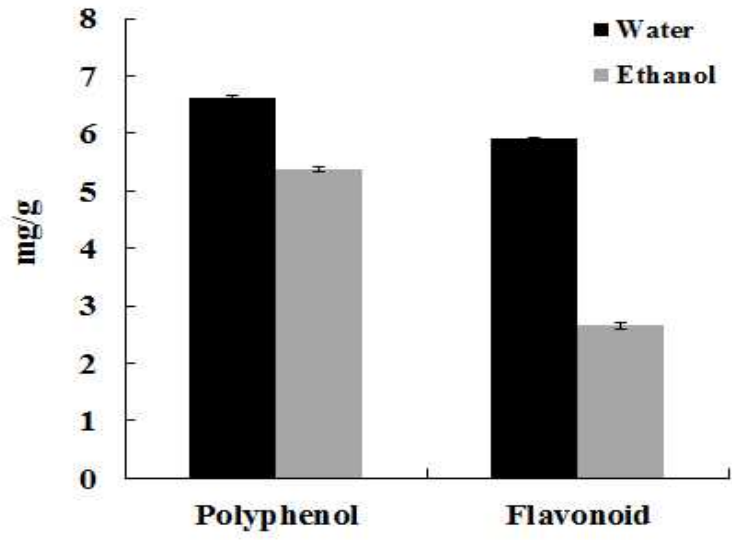


Fig. ABTS+ scavenging effects of *Stachys sieboldii* Miq water and 70% ethanol extracts.

③ 초석잠 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl(OH)기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합하며, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다. 초석잠의 열수추출물 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 (6.62 ± 0.04 mg/g, 5.91 ± 0.03 mg/g) 이며, 70% 에탄올 추출물은 각각 (5.3 ± 0.04 mg/g, 2.66 ± 0.06 mg/g) 으로 나타났다 (Fig.).

Fig. Total polyphenol and flavonoid contents in water and 70% ethanol extracts from *Stachys sieboldii* Miq.



④ 초석잠 추출물의 AChE 억제 활성

Acetylcholinesterase(AChE)는 아세틸콜린을 콜린과 아세테이트로 가수분해하는 효소이며 AChE 억제활성은 알츠하이머병의 치료방법 탐색으로 많이 이용되어져 왔다. 초석잠의 열수추출물과 70% 에탄올 추출물로 AChE 억제 효능을 Ellman 방법으로 조사한 결과는 그림과 같다. 각 추출물의 AChE 억제 활성을 농도별로 측정하여 비교한 결과 열수추출물보다 70% 에탄올 추출물이 더 높은 AChE 억제 활성능을 보였다.

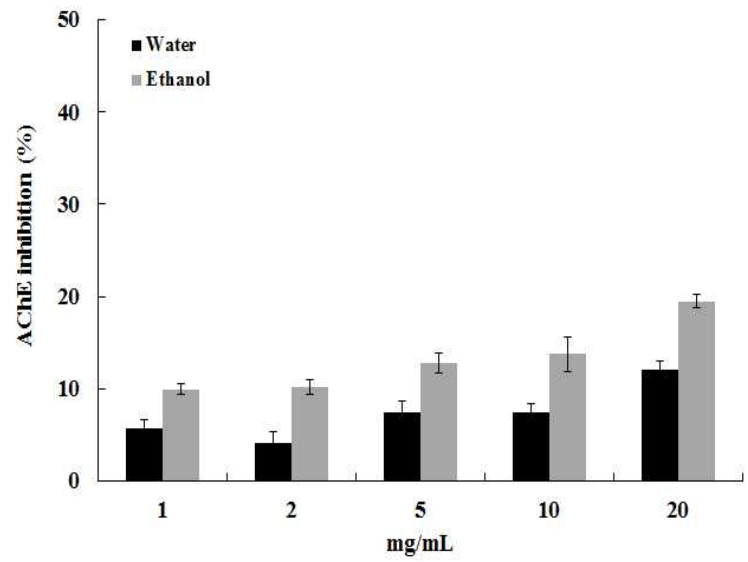


Fig. Inhibitory activity of acetylcholinesterase of the water and 70% ethanol extracts of *Stachys sieboldii* Miq.

⑤ 세포독성에 미치는 초석잠 추출물의 영향

초석잠 추출물의 SH-SY5Y 세포에 대한 세포독성을 알아보고 실험 농도 조건의 설정을 위해 MTS assay를 이용하여 세포생존율을 측정하였다. MTS(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenol)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium)는 살아 있는 세포에 있는 Mitochondrial NADH-dehydrogenase와 반응하여 tetrazolium salt

를 환원시켜 색상을 갖는 formazan을 형성하여 살아있는 세포를 정량화 할 수 있다. 초석잠 추출물을 0, 62.5, 125, 250, 500 µg/ml의 농도로 처리하였을 때 모든 농도에서 세포독성을 나타내지 않았다.

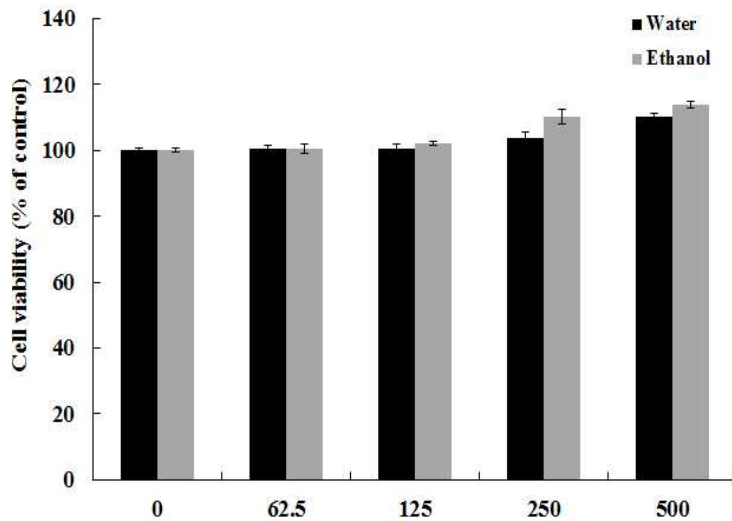


Fig.. Effect of *Stachys sieboldii* Miq water and 70% ethanol extracts treatment on the cell viability of SH-SY5Y.

⑥ Aβ₂₅₋₃₅에 의한 신경세포 독성에 대한 초석잠의 세포 보호효과

Aβ₂₅₋₃₅에 의한 신경세포 사멸에 대한 초석잠의 효과를 알아보기 위해, 세포 생존율 측정 방법으로 MTS assay를 실시하였다. 초석잠 추출물의 AChE 억제 활성을 농도별로 측정하여 비교한 결과 열수 추출물보다 70% 에탄올 추출물이 더 높은 AChE 억제 활성능을 보였다. 특히 500 µg/ml 농도에서는 에탄올 추출물이 열수추출물에 비해 19.93% 더 높은 억제능을 나타내었다.

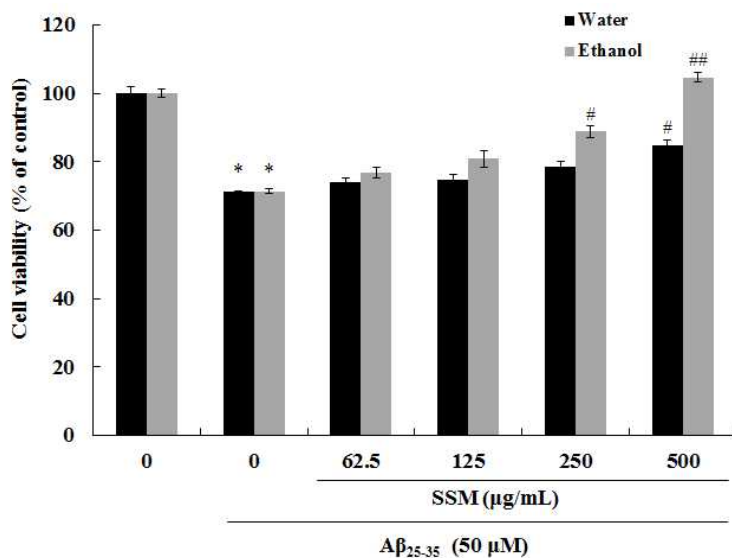
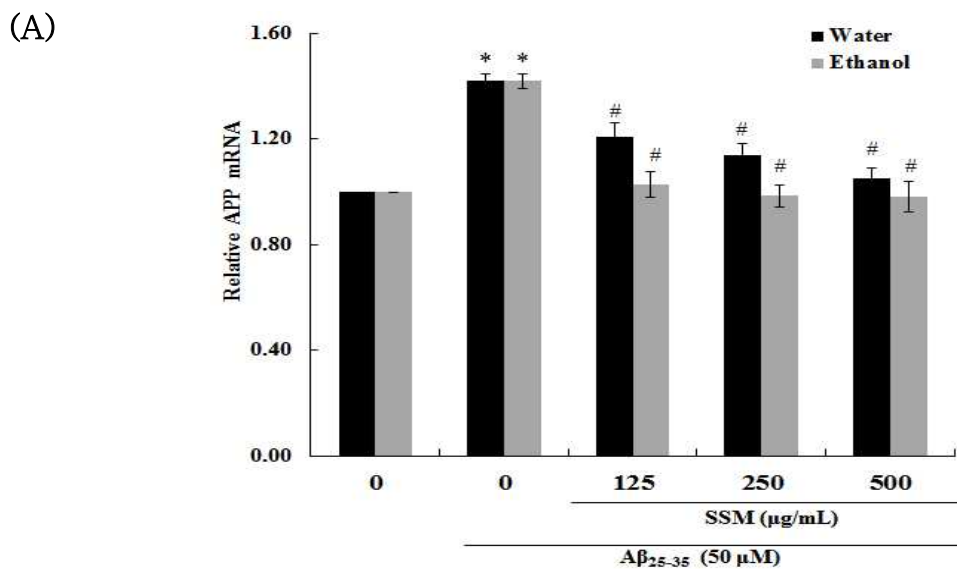


Fig.. Effect of *Stachys sieboldii* Miq water and 70% ethanol extracts pre-treatment on the viability of SH-SY5Y cells exposed to 50 µM Aβ₂₅₋₃₅.

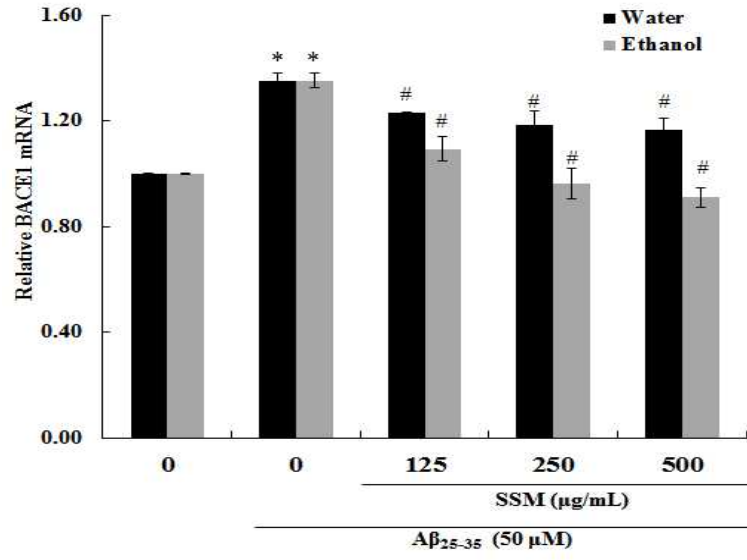
⑦ Aβ₂₅₋₃₅로 유도된 알츠하이머 질환에서 초석잠 추출물이 유전자 발현에 미치는 영향

Aβ₂₅₋₃₅로 유도된 알츠하이머 질환에서 초석잠 추출물이 유전자 발현에 미치는 영향과 어떤 기전에 의해 알츠하이머 예방 효과가 있는지 알아보기 위해 유전자 발현을 탐색하였다. 알츠하이머병의 병인으로 알려진 Amyloid beta precursor protein (APP)는 베타아밀로이드(Aβ)의 전구단백질로서, APP의 생성이 증가할수록 Aβ의 생성이 증가한다. 또한, APP에서 Aβ의 변환을 조절하는 단백질 분해효소인 beta-site APP-cleaving enzyme 1 (BACE1)은 치매환자에서 증가하는 것으로 알려져 있다. 이와는 반대로 Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)의 전구체 및 성숙형 단백질의 유전자 발현은 낮게 관찰되어 기억 손상 정도와 BDNF 발현은 음의 상관관계를 가진다. 베타아밀로이드로 증가된 APP와 BACE1의 유전자 발현은 초석잠 추출물 처리시 농도 의존적으로 발현이 감소하였고, 반대로 BDNF의 발현은 증가하였다.

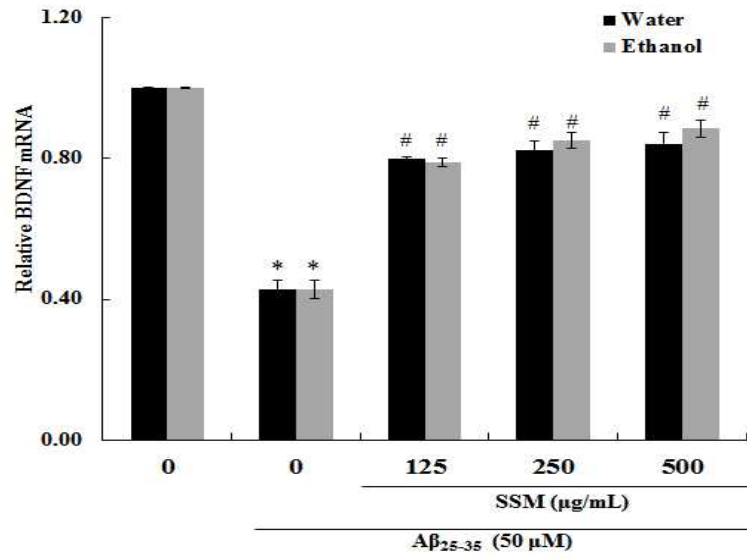
그리고 최근연구에 따르면 PSEN1과 PSEN2 유전자의 이상발현이 Aβ의 생성을 증가시키는 것으로 밝혀졌으며, 본 실험에서는 초석잠 추출물 처리시 두 유전자의 발현이 모두 감소하였다. 또한, 본 실험에서는 열수추출물보다 에탄올 추출물이 더 높은 예방효과를 나타냈으며, 따라서 본 연구에서는 초석잠 추출물이 알츠하이머 관련 유전자 발현을 조절함으로써 알츠하이머 질환의 예방 및 치료효과가 있을 것으로 사료된다.



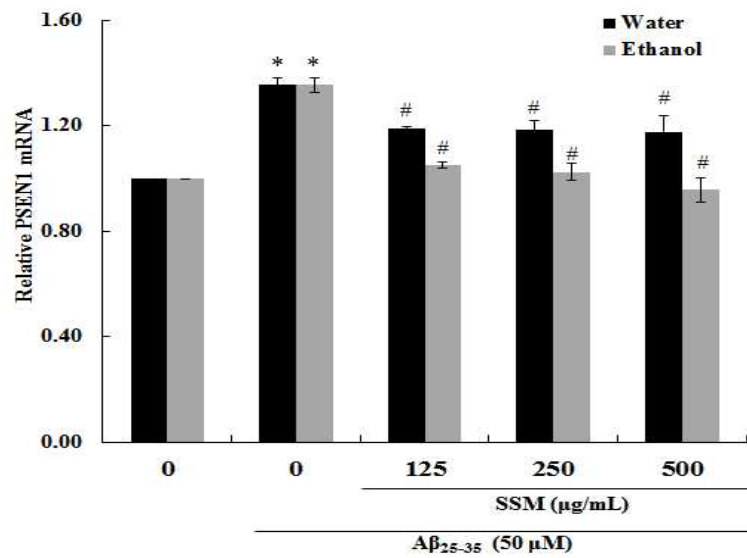
(B)



(C)



(D)



(E)

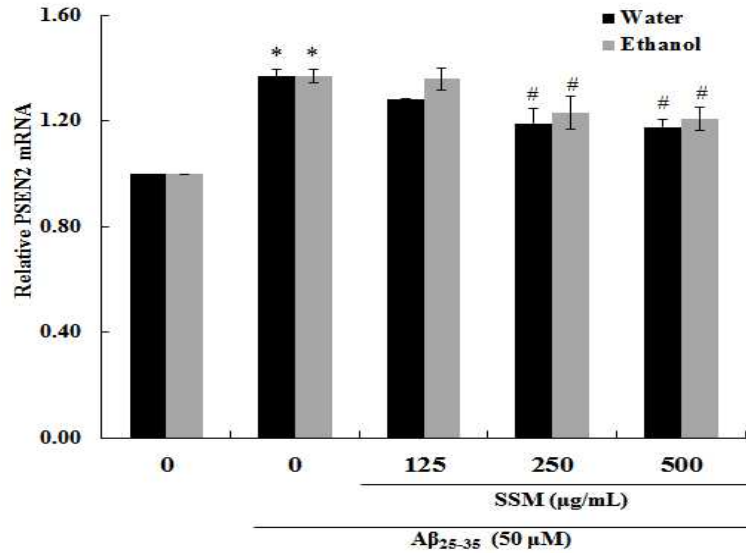


Fig. Effect of *Stachys sieboldii* Miq water and 70% ethanol extracts of APP (A), BACE1 (B), BDNF (C), PSEN1 (D), PSEN2 (E) mRNA in SH-SY5Y cells.

(라) 연구개발 성과

① 학회발표 : Protective Effect of *Stachys sieboldii* Miq Extract against Aβ₂₅₋₃₅-induced Neuronal Cell Death. 한국자원식물학회 초록집 p 221 (2016. 4. 28 제주상호수목원)

1-P-22

베타아밀로이드(Aβ₂₅₋₃₅)로 유도된 신경세포의 사멸에 대한 초석잠 추출물의 보호효과

이효은, 심미옥, 고재형, 강병만, 여준환, 정원석
한약진흥재단 한약자원본부

Protective Effect of *Stachys sieboldii* Miq Extract against Aβ₂₅₋₃₅-induced Neuronal Cell Death

Hyo-Eun Lee, Mi-Ok Sim, Jae-Hyung Ko, Byoung-Man Kang, Jun-Hwan Ye and Won-Suck Jung
National Development Institute of Korean Medicine, Jangheung, 59338, Korea

알츠하이머 질환(Alzheimer's disease, AD)은 사회의 주요한 건강 문제로 대두되고 있으며, 이는 베타 아밀로이드가 침착됨으로써 신경독성을 일으켜 일어나는 것으로 알려져 있다. AD를 치료하기 위한 여러 가지 약물이 개발되었으나 장기간 복용 시 간독성과 같은 심각한 부작용을 일으키기 때문에 안전성이 높은 한약재나 기능성 식품을 통한 치료제 개발이 주목받고 있다.

그러므로 본 연구에서는 뇌경색, 기억력 증진, 노인성 치매 개선효과가 있다고 알려진 초석잠(*Stachys sieboldii* Miq)을 이용하여 베타아밀로이드(Aβ₂₅₋₃₅)에 의한 신경세포 보호효과를 탐색하고자 하였다. Aβ₂₅₋₃₅를 50 µM의 농도로 SH-SY5Y 세포에 처리했을 때 Aβ₂₅₋₃₅를 처리하지 않은 세포에 비해 세포사멸이 유도되었으며, 초석잠의 열수추출물과 70% 에탄올 추출물이 이를 회복시켰다. 이를 통해, 세포사멸에 대한 초석잠의 세포보호효과를 확인할 수 있었다. 또한 70% 에탄올 추출물이 열수추출물에 비해 500 µg/ml 농도에서 19.93 ± 0.14 % 더 높은 세포생존율을 보임으로써 70% 에탄올 추출물이 열수추출물에 비해 효과적으로 신경세포를 보호하는 것을 알 수 있었다. 아세틸콜린 분해효소 활성 억제능 역시 70% 에탄올 추출물이 열수추출물에 비해 더 높은 저해능을 나타냈다. 하지만, 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거능, ABTS 저해 활성도는 열수추출물이 70% 에탄올 추출물보다 우수하였다.

이에 따라, 초석잠 70% 에탄올 추출물이 열수추출물에 비해 신경세포 보호효과가 더 뛰어나다고 할 수 있었으며, 이는 Aβ₂₅₋₃₅에 의해 유도되는 신경세포 손상을 예방 또는 치료물질로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

주요어: 알츠하이머 질환, 베타아밀로이드(Aβ₂₅₋₃₅), 세포사멸, 아세틸콜린 분해효소

본 연구는 농림수산식품부 기술사업화지원사업(IPET, 814002-03-1-HD020)에 의해 수행되었다.

② 한국자원식물학회 우수발표상 수상

제 16-09 호

우수발표상

소속 한약진흥재단
성명 정원석

귀하께서 2016년도 한국자원식물학회
총계 학술발표회에서 발표하신
"에타아밀로이드(Aβ25-35)로 유도된 신경세포의
사멸에 대한
초석잠 추출물의 보호효과"논문이 좋은 발표와
훌륭한 내용이 인정되어 이에 상을 드립니다.

2016년 4월 29일
한국자원식물학회 회장 박석준



③ 특허 : 초석잠라이스 크래커. 국내상표. 40-2016-0060950

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2016.08.10
특기사항
출원번호 40-2016-0060950 (결구번호 1-1-2016-0775909-08)
출원인명칭 한약진흥재단(1-2015-080615-1) 외 1명
대리인성명 정성중(9-2006-000773-3)

특허청장

【상표견본】

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 등록된 법인명수중에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호: 0131(기관코드)+결구번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
※ 특허포(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 특허(당·PCT)마드리드
※ 우선권 인정기간 : 특허-실용신안용 12개월, 상표-디자인용 6개월 이내
※ 미국특허상표청의 선출원용 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTOSB39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 종업원이 직무수행과정에서 개발한 발명을 사용자(기업)가 명확하게 승계하지 않은 경우, 특허법 제62조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허무효사유가 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 등록된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

초석잠

라이스 크래커



④ 보도자료 한국자원식물학회 우수발표상 수상 6건

한약진흥재단, 초석잠 추출물 연구 한국자원식물학회 우수상

등록 : 2016-05-11 09:21 수정 : 2016-05-11 09:21

(경산=포커스뉴스) 한약진흥재단(원장 신홍욱)은 약용작물중자보급센터 정원석 박사 연구팀이 '베타아밀로이드로 유도된 신경세포의 사멸에 대한 초석잠 추출물의 보호효과'로 한국자원식물학회 우수상을 받았다고 11일 밝혔다.

연구팀은 2년간 농림수산식품부 기술사업화지원사업의 지원으로 청소년을 위한 기능성 제품 개발을 위해 신경세포 보호 효과 및 기억력 개선 효능에 대한 연구를 수행했다.

초석잠(草石蠶)은 꿀풀과의 여러해살이풀인 석잠(Stachys Sieboldi Miq.)의 덩이줄기를 지칭하는 생약명이다.

뿌리 끝의 골병이 모양을 닮은 덩이줄기를 식용 및 약용으로 이용하여 치매와 기억력 증진 등의 효과와 면역력 강화에 도움을 준다고 알려져 있다.

연구팀은 초석잠 물추출물과 70% 에탄올 추출물이 신경세포를 보호하는 효과를 나타냄을 입증했고 특히 70% 에탄올 추출물이 더 높은 보호효과가 있는 것을 확인했다.

한약자원본부 관계자는 "연구결과를 활용한 수험생용 제품을 개발하는 등 한의학 산업 대중화에 이바지 할 수 있도록 다양한 연구를 이어나가겠다"고 밝혔다.

김재욱 기자 jukim@focus.kr

<저작권자(c) 포커스뉴스. 무단 전재·재배포 금지>

YBS 뉴스웨이

한약진흥재단 연구팀, 자원식물학회 우수상 수상

2016-05-11 07:34

한약진흥재단(원장 신홍욱)은 지난 4월 28일부터 3일간 제주 상효수목원에서 개최한 '2016 한국 자원식물학회'에서 정원석 박사(약용작물중자보급센터)와 연구팀이 '베타아밀로이드로 유도된 신경세포의 사멸에 대한 초석잠 추출물의 보호효과'로 우수상을 수상했다고 밝혔다.

한약진흥재단 연구팀은 지난 2년간 농림수산식품부 기술사업화지원사업의 지원으로 청소년을 위한 기능성 제품을 개발하기 위해 신경세포 보호 효과 및 기억력 개선 효능에 대한 연구를 수행했다.

연구는 초석잠 물추출물과 70% 에탄올 추출물이 베타아밀로이드에 의해 사멸되는 신경세포를 보호하는 효과를 나타내고 있음을 입증했고, 그 중에서도 70% 에탄올 추출물이 더 높은 보호효과가 있는 것을 확인했다.

한약진흥재단 한약자원본부 조경희 본부장은 "좋은 연구 결과로 한의학 산업의 국민 신뢰 확보를 통한 대중화에 이바지 할 수 있도록 다양한 연구를 이어나가겠다"고 밝혔다.

한편, 한국자원식물학회(회장 박석근)는 1985년부터 자원식물 분야의 생체, 분류, 유전, 육종, 생약공학 기술과 의약학 분야 중 성분과 효능 등에 관한 학술발표 및 지식교류 등을 중심으로 560여 명이 회원으로 참여하고 활동해온 학회이다.

대구 흥석천 기자 newsroad@

Copyright NewsWay Corporation. All rights reserved.

나. 경옥고 기억력 증진 기능성 검증

동의보감 및 논문 등의 자료 검색을 통해 경옥고 원방을 활용하여 기억관련 세포주 및 신경세포를 이용 in vitro에서 인지기능(학습능력)향상을 기능성을 검증함

(가) 실험방법

① 항산화 시험

각 생약초 추출물의 시료를 제조한 후에 96 well plate에 실험군과 blank에 추출물을 농도별(5, 10, 25, 50, 100, 250 µg/mL)로 100 µL씩 각각 6개씩 seeding한 다음 실험군에는 60 µM DPPH 100 µL를 첨가하였다. 또한 control에는 추출물 대신에 MeOH 100 µL를 seeding한 다음 DPPH 100 µL를 첨가하고, blank에는 DPPH 대신에 EtOH 100 µL를 첨가하였다. 실온에서 30분을 방치한 후 540 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하여 DPPH의 환원에 의한 흡광도를 조사하였다. Positive control은 ascorbic acid를 이용하여 비교하였다.

DPPH radical 저해율은 아래 계산식에 따라 나타내었다.

$$\text{Inhibition activity (\%)} = \left\{ 1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광}}{\text{비첨가구의 흡광}} \right\} \times 100$$

② 세포손상억제 효과

㉞ 세포배양

사람 신경모세포종인 SH-SY5Y 세포 및 해마 유래 세포주인 HT22세포는 American Type Culture Collection에서 구입하였다. 이들 세포를 가열로 불활성화 시킨 fetal bovine serum (FBS, Life Technologies)이 10% 첨가된 RPMI 1640 medium (Life Technologies, USA)에서 37°C, 습도

95%, CO₂ 5%를 유지한 상태로 배양하였다.

㉔ 세포 생존율 (MTT assay)

MTT reduction assay는 기존에 보고된 방법 (Kim et al.,2002)을 약간 변형하여 시행하였다. 배양된 세포에 경옥고 추출물 분획별로 처리하고 신경 세포 독성 물질인 beta-amyloid 및 glutamate를 처리한 후 37℃에서 5% CO₂ incubator에서 배양한다. 48시간 후에 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide (MTT; Sigma, USA) 용액을 최종농도가 0.5 mg/mL농도가 되도록 각 well에 첨가한 후에 4시간 30분 동안 더 배양하였다. MTT의 환원에 의해서 형성된 formazan precipitate를 dissolving solution (0.1 N HCl in absolute isopropanol)에 녹인 후에 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 각 sample의 값은 해당되는 용매만을 추가한 control값을 100%로 하고 0.9% Triton X-100에 의해 세포가 완전히 파괴되었을 때의 MTT reduction 정도를 0%로 하여 상대적인 값으로 표시하였다.

㉕ 세포 사멸 관련 단백질 변화 규명을 위한 SDS-PAGE 및 immunoblot analysis.

약물 처리가 된 사람 신경모세포종인 SH-SY5Y 세포 및 해마 유래 세포주인 HT22세포에서 단백질을 분리하여 단백질 시료는 95℃에서 5분간 열을 가한 후 sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)를 이용하여 분석하였다. SDS-PAGE는 8% acrylamide gel에서 실시하여 polyvinylidene difluoride membranes으로 transfer하여 Novex wet transfer unit을 이용하여 100 V에서 2 시간 동안 하였다. 면역검출은 horseradish peroxidase (HRP) 방법을 이용하여 실시하였다. 간략히 요약하면, membrane은 5%(w/v) nonfat dried milk가 함유된 TBS [0.01 % (v/v) Tween 20을 함유한 PBS]로 12시간 차단시켰다. 연속해서 TBS에 1차 항체(1:2,000, ATF-4, PERK, eIF-2 alpha, IRE, p38 MAPK, pJNK)로 2시간 배양한 후 HRP-conjugated 이차항체로 1 시간 배양한 후 enhanced chemiluminescence kit (ECL, Amersham Life Science, Inc.)를 이용하여 현상하였다.

㉖ Hippocampus 유래 세포에서 기억의 long term potentiation 관련 단백질 발현 검사

기억에 관여하는 해마 유래 세포주인 HT22세포에서 long term potentiation에 관련되는 단백질의 발현 변화를 측정하고자 48시간 경옥고 추출물을 농도별로 처리후 단백질을 확보하였다. 아울러 glutamate 처리에 의한 이들 단백질의 발현 변화를 검사하고자 하였다. 단백질 시료는 95℃에서 5분간 열을 가한 후 sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)를 이용하여 분석하였다. SDS-PAGE는 8% acrylamide gel에서 실시하여 polyvinylidene difluoride membranes으로 transfer하여 Novex wet transfer unit을 이용하여 100 V에서 2 시간 동안 하였다. 면역검출은 horseradish peroxidase (HRP) 방법을 이용하여 실시하였다. membrane은 5%(w/v) nonfat dried milk가 함유된 TBS [0.01 % (v/v) Tween 20을 함유한 PBS]로 12시간 차단시켰다. 연속해서 TBS에 1차항체(1:2,000, ER beta, eNOS, Calcium Calmodulin kinase 2, ERK 1/2, JNK, p38 MAPK, NMDA)로 2시간 배양한 후 HRP-conjugated 이차항체로 1 시간 배양한 후 enhanced chemiluminescence kit (ECL, Amersham Life Science, Inc.)를 이용하여 현상하였다.

㉗ Hippocampus 유래 세포에서 기억의 long term potentiation 관련 유전자 발현 검사

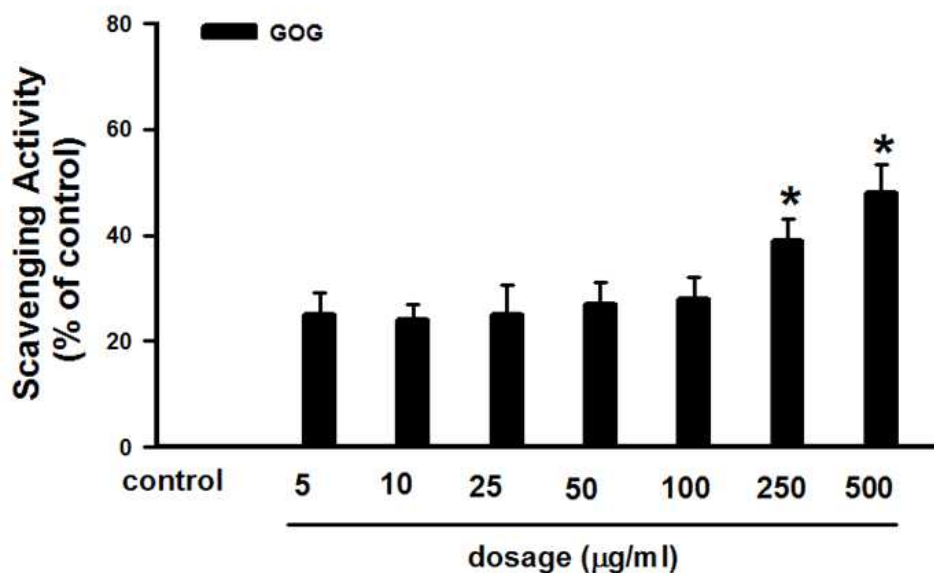
Reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR)에 의한 mRNA 유전자 발현 변화 규명. 전체 RNA는 TRI 시약(Molecular Research Center, Cincinnati, OH, USA)을 이용하여 추출하였다. 역전사는 42℃에서 60분간 4 μg RNA 및 200 U murine leukemia virus transcriptase (GIBCO BRL Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)이 함유된 20 μl를 실시하였다. PCR 증

폭은 5 μ l의 RT 산물, 각각의 primer (10 pmol), 1.25 U Taq polymerase (Promega, Madison, WI, USA) 및 1 mM dNTP을 이용하였다. 95 $^{\circ}$ C에서 3분간 초기 배양후에, 95 $^{\circ}$ C (1분), 55 $^{\circ}$ C (1분) and 72 $^{\circ}$ C (1분)으로 구성된 30 증폭 cycles을 실시하였으며 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 최종 extension을 실시하였다. 산물들은 ethidium bromide를 함유한 2% agarose gel을 1 x TBE buffer에 전기영동 하였다. 특이 primer sets 은 이미 알려진 cDNA 서열로부터 제작되었다 : eNOS (sense : 5'TAC TAC TCC ATC AGC TCC TC; antisense : 5'TCT GGG TGC GGA TGC GGC), ER beta (sense: 5'AAG AGG GAT GCT CAC TTC TG; antisense: CAT GGA GGC CTC GGT GAA GG), BDNF (sense: 5'CTT GGC CTA CCC AGG TGT GCG ; anti-sense: GTC ACA CAC GCT CAG CTC CCC), beta actin (sense: 5'AAC CGC GAG AAG ATG ACC CAG ATC ATG TTT; antisense: 5' AGC AGC CGT GGC CAT CTC TTG CTC GAA GTC)

(나) 결과

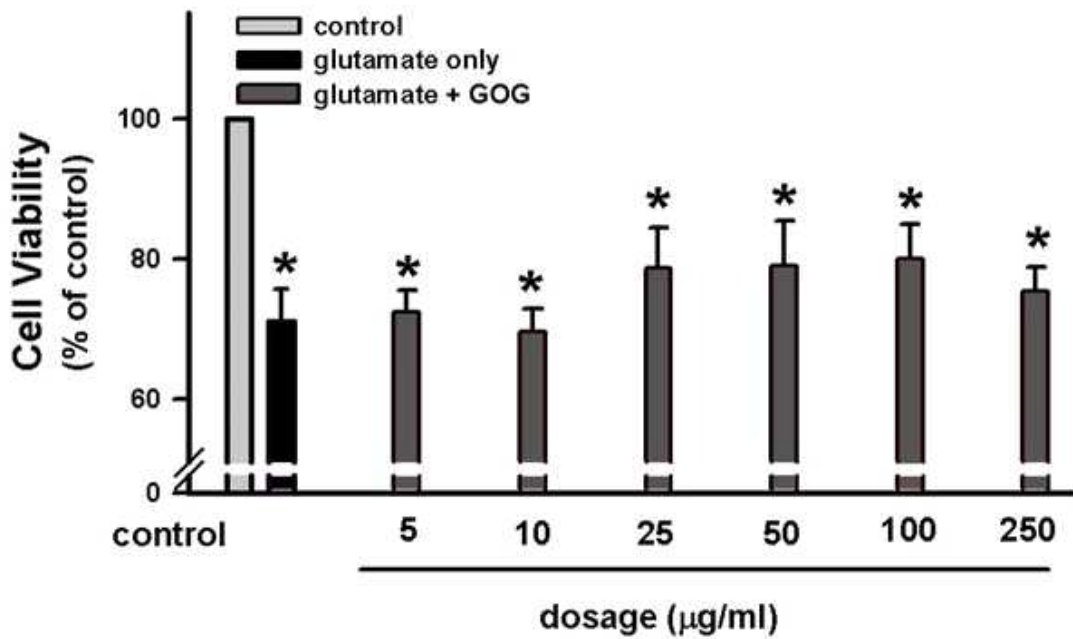
① 항산화 시험

경옥고 추출물 (GOG)을 농도별(5, 10, 25, 50, 100, 250 μ g/mL)로 처리한후 DPPH 활성을 측정하였다. 실험 결과 GOG 용량 (5-100 μ g/mL)에서는 20%대의 Scavenging activity 를 보였으며 500 μ g/mL 에서는 48%의 소거능을 보였다. 이러한 소거능은 vitamin c를 통해서 비교 분석한 결과 500 μ g/mL 농도에서 보였던 소거능은 1 mM의 vitamin C 소거능의 효과와 비슷한 것으로 나타났다.



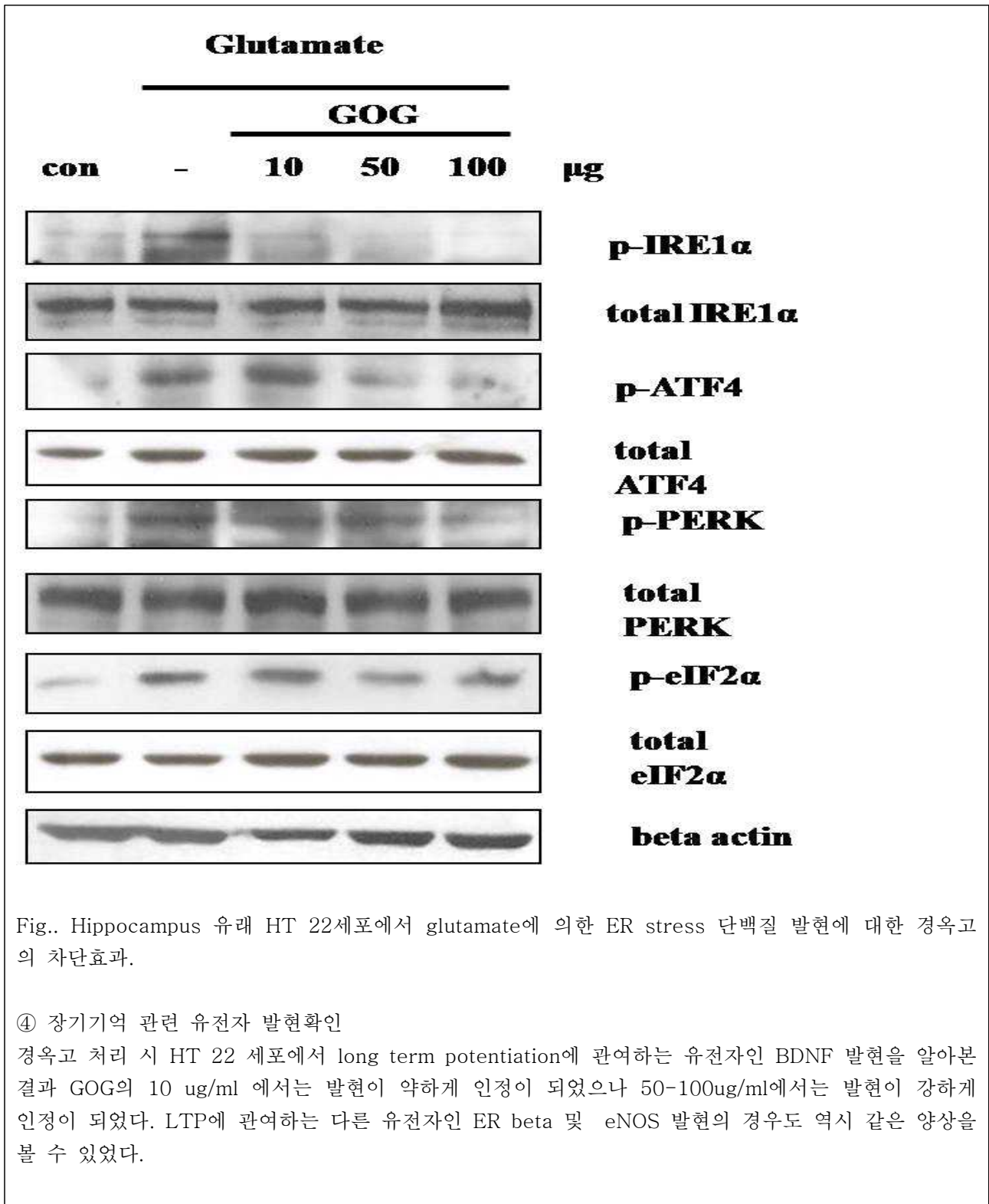
② 세포손상 억제

경옥고 처리 시 HT 22 세포에서 glutamate에 의한 세포 사멸 효과가 차단되는 지를 western immunoblotting을 실시하여 확인하였다. Glutamate 처리 시 신경 세포 손상에 관여하는 단백질로 알려져 있는 p38 MAPK 및 p-JNK 활성화 (인산화)는 증가하였으며 10 μ g/ml GOG 처리 시에는 glutamate에 의한 p38 MAPK 및 pJNK 활성이 차단되지 않았다. 이에 반하여 50 - 100 μ g/ml에서 glutamate에 의한 효과를 차단하는 것으로 나타났다



③ ER stress 단백질 발현 확인

세포 사멸에 밀접히 관련되는 것으로 알려져 있는 ER (endoplasmic reticulum) stress 단백질의 발현 변화를 알아보았다. 실험결과 glutamate 처리 시 세포 사멸 단백질인 IRE-1 alpha, ATF-4, PERK, 및 eIF-2 alpha의 total form에 대한 변화는 인정이 되지 않았으나 인산화 (활성화)는 증가하였다. 이는 ER stress 단백질질의 활성이 glutamate에 의한 세포 사멸에 관여되고 있음을 시사해 주고 있다. 이러한 반응은 10 ug/ml GOG 처리 시에는 glutamate에 의한 IRE-1 alpha, ATF-4, PERK, 및 eIF-2 alpha 활성이 차단되지 않았다. 이에 반해 50 - 100 ug/ml GOG 농도에서 glutamate에 의한 효과를 차단하는 것으로 나타났다.



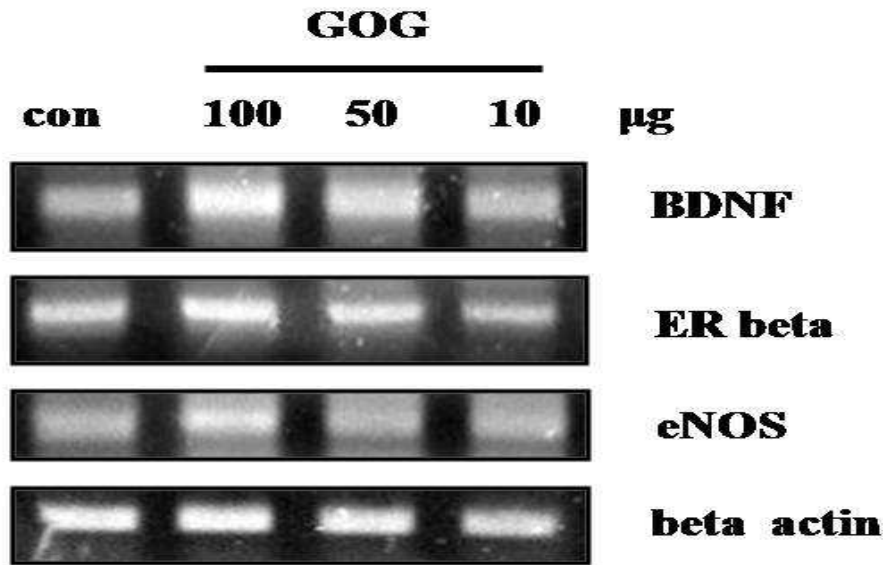


Fig. Hippocampus 유래 HT 22세포에서 GODB 및 GOG의 long term potentiation (장기 기억) 유전자 발현 변화에 미치는 영향.

⑤ 장기기억 관련 단백질 발현확인

경육고 처리 시 HT 22 세포에서 long term potentiation에 관여하는 단백질 발현 변화를 조사하였다. LTP 관련 단백질인 BDNF 발현을 알아본 결과 GOG 처리 시 mRNA 발현의 경우와 비슷하게 10-50 ug/ml 에서는 미약하게 증가하였으나 100 ug/ml 에서는 현저하게 증가하는 양상을 보였다. LTP에 관여하는 다른 단백질인 Ca²⁺/calmodulin kinase II의 발현 역시 GOG (50, 100 ug/ml) 군에서 현저하게 증가되는 것으로 나타났다. LTP의 조건중에 해마세포에서 ERK 1/2의 지속적인 발현이 중요한 역할을 담당하는데 이 역시 GOG (50, 100 ug/ml) 군에서 증가되는 것으로 나타났다. NO 분비를 증가시키는 eNOS 단백질의 경우에서도 GOG (50, 100 ug/ml) 군에서 증가되는 것으로 나타났다. 한편 LTP에 관련되는 단백질인 ER beta의 경우도 GOG (50, 100 ug/ml)처리시 역시 단백질 발현이 증가하여 유전자인 ER beta의 변화와 일치함을 볼 수 있었다.

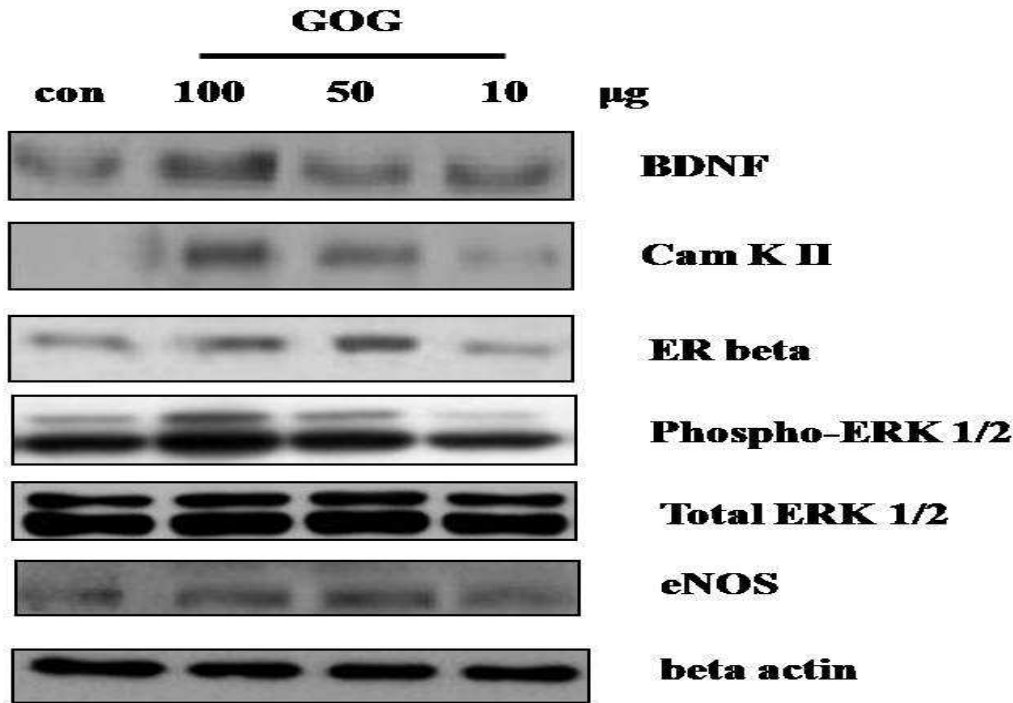


Fig. Hippocampus 유래 HT 22세포에서 GODB 및 GOG의 long term potentiation (장기 기억) 단백질 발현 변화에 미치는 영향.

나. 고지혈증 및 체지방 감소 기능성 검증 (새싹보리, 식방풍엽, 홍국미)

(1) 고지혈증 및 체지방 감소 실험

(가) 재료 및 방법

① 시료추출 및 제조

실험에 사용한 새싹보리는 영광 새뜸원에서 구입하였다. 식방풍은 전남한방산업진흥원 약용작물종자 보급센터 시험포장에서 3월에 과중한 식방풍을 5월 중순경에 수확하여 사용하였다. 홍국미는 예다손에서 배양한 홍국쌀을 이용하여 실험에 사용하였다. 새싹보리, 식방풍잎, 홍국미는 분쇄 한 후 혼합물의 10배 용량의 증류수를 첨가하여 105℃ 3시간 동안 3회 열수추출한 후 여과하여 불순물을 제거하였다. 열수추출한 시료는 Freeze dry(PVTFD20R, 일신랩(주), 대한민국)를 사용하여 동결건조(Ilshin, Korea) 시킨 후 실험 시료로 사용하였다.

② 세포배양 및 분화유도

실험에 사용한 3T3-L1 세포는 마우스 지방전구세포로 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입하였고, 10% new born calf serum(NBCS, Invitrogen, Grand Island, NY, USA)과 100 unit/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin(Gibco/BRL, Grand Island, NY, USA)이 함유된 DMEM(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 배지를 사용하여 37℃, 5% CO₂의 조건에서 배양하였다. 세포가 confluence 상태가 되면 10% FBS-DMEM에 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMx), 0.25 mM dexamethasone, 10 µg/ml insulin 이 첨가된 배지를 처리하여 분화를 2일간 유도 한 뒤 다시 2일간 10% FBS-DMEM에 10 µg/ml insulin이 첨가된 배지로 교체해주었다. 그 후 2일마다 10% FBS-DMEM 배지로 교체하였다. 시료의 처리는 분화유도 배지 첨가 시점부터 같이 처리하였다.

③ 세포독성 실험

본 실험에 사용한 새싹보리 열수추출물이 지방세포에 독성을 나타내는지를 측정하기 위하여 MTS assay를 수행 하였다. 3T3-L1 preadipocyte를 96 well plate에 5×10^3 cells/well로 분주하였으며, 10% NBCS가 함유된 DMEM을 넣어 well당 최종 용적을 100 μ L로 하였다. 24시간 동안 배양한 후 추출물을 각각의 농도별로(0, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 μ g/ml) 처리하여 48시간 동안 배양 하였다. 그 후의 각각 세포 배양액 용량의 1/10배의 MTS 용해액을 첨가한 후 37°C에서 2시간 배양 한 후 ELISA microplate reader(Infinite 200 pro, TECAN, Austria)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

④ Oil-red O 염색

앞의 과정을 거친 다음 배지를 제거해서 pH 7.4 PBS로 세척하고 10% formalin 용액으로 2시간 동안 고정한 이후, 고정액 제거 후 다시 PBS로 3회 세척하였다. 완전히 건조시킨 후 Oil red O 염색액 (Oil red O staining kit, sciencell, CA, USA)을 처리하여 15분간 상온에서 염색하고, 염색액을 제거한 후 물로 3회 세척 한 다음 Microscope(Nikon TS100, Tokyo, Japan)로 관찰하였다. 또한, 흡광도 측정을 위하여 100% isopropyl alcohol로 염색된 지방구를 용출 시켜 ELISA microplate reader(Infinite 200 pro, TECAN, Austria)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

⑤ 지방관련 유전자 Real-time PCR 분석

Total RNA는 배양한 3T3-L1 지방전구세포를 TRI reagent (Molecular Research Center, Cincinnati, OH, USA)를 사용하여 분리하였다. 즉 배양된 세포에서 배지를 제거하고 PBS로 세척하여 TRIzol 1 mL를 가하여 실온에서 교반하였다. 클로로포름 200 μ L를 넣고 다시 교반하여 15,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리한 다음, 상등액 500 μ L에 이소프로판올을 가하여 다시 원심 분리하여 RNA pellet을 얻었다. 5 μ g의 mRNA를 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied biosystem 4368814)를 이용하여 cDNA로 합성을 하였다. 합성된 cDNA 1 μ L, primer 1 μ L, SYBR Master Mix II(Appiled biosystem, California, USA) 10 μ L, 3차 증류수 8 μ L를 넣고 Real-time PCR기기(ABI7500, Applied biosystem, California, USA)를 이용하여 PCR을 수행하였다. 또한 Real-time PCR 반응 조건은 50°C에서 2분 95°C에서 10분 동안 1회 수행하고, 변성 온도 95°C에서 15초 어닐링 온도 60°C에서 15초 신장온도 72°C 15초인 사이클을 40회 반복 수행하였다. 유전자 특이적 primer의 정보는 다음표와 같다.

Table. Primer sequence for Real time RT-PCR

Gene	Sequences of forward and reverse primer 5' - 3'	
PPAR γ	Forward	TTC TGA CAG GAC TGT GTG ACA G
	Reverse	ATA AGG TGG AGA TGC AGG TTC
FAS	Forward	AGA CCC GAA CTC CAA GTT ATT G
	Reverse	GAT ACC ACC AGA GAC CGT TAT G
C/EBP α	Forward	GCG CAA GAG CCG AGA TAA A
	Reverse	GGT GAG GAC ACA GAC TCA AAT C
FABP4	Forward	AGC TCC TCC TCG AAG GTT TA
	Reverse	CTG TCG TCT GCG GTG ATT T
GAPDH	Forward	GGG TGT GAA CCA CGA GAA ATA
	Reverse	GGG TCT GGG ATG GAA ATT GT

⑥ 실험동물 디자인 및 실험식이 조성

실험동물은 6주령 된 C57BL/6 마우스를 샘타코(SAMTAKO, Korea, Osan)로부터 구입하였다. 마우스는 1주간 고형식으로 적응시킨 후 난피법에 의하여 정상군(Normal)과 고지방군으로 나누어서 4주간 사육하였다. 그 뒤, 고지방군은 다시 난피법에 의하여 고지방대조군(HF), 고지방-새싹보리(100mg/kg, 300mg/kg, 500mg/kg)군으로 나누어 6주간 사육하였다. 동물사육실의 환경은 항온(22±2℃), 항습(50±5%), 12시간 간격(08:00~20:00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하고 동물들은 폴리카보네이트 사육상자에 3 마리씩 분리하여 사육하였다.

본 실험에 사용한 60% kcal 고지방 식이는 샘타코(SAMTAKO, Korea, Osan)로부터 구입하여서 제공하였으며, 물과 식이는 제한 없이 섭취하도록 하였고 체중은 매주 1회 일정시각에 측정하였으며, 식이섭취량은 매일 일정시각에 공급량에서 잔량을 감하였다.

⑦ 혈청 및 장기 채취

사육이 끝난 실험동물은 희생 전 12시간 동안 절식시킨 후 안와정맥채혈을 통해 공복혈액을 채취하였다. 혈액은 900xg(4℃)에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 실험동물의 장기조직은 혈액 채취 후 즉시 적출하여 phosphate buffered saline(PBS)용액으로 수차례 헹군 후 표면의 수분을 제거하여 칭량하였으며, 즉시 액체질소로 급냉시켜 -70℃에 보관하였다.

⑧ 혈청 생화학 지표 분석

혈청 중의 total cholesterol(TC), high density lipoprotein cholesterol(HDL-C), triacylglycerol(TG), glucose 를 FUJI DRI-CHEM 4000i를 이용하여 효소법을 통해 생화학분석을 하였다.

⑨ 혈청 adipokine 측정

혈청 adipokine (leptin, adiponectin) 및 혈청 insulin의 함량 측정은 Multiplex detection kit(Bio-Rad, USA) 및 Luminex 200 Labmap system (Bio-Rad, USA)을 사용하였으며 데이터분석은 Bio-Plex manager soft ware version 5.0(Bio-rad)를 이용하여 수행하였다.

⑩ 간조직 및 지방조직 세포의 형태학적 분석

간조직의 형태학적 관찰은 다음과 같이 실시하였다. 동물희생시 적출한 간 조직 및 지방조직 일부를

10% formaldehyde 용액에 24시간 고정한 다음, 수세하고 60% 에탄올에서부터 상승농도로 탈수하고 파라핀에 포맷하고, 이것을 4um 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin(H-E) 염색한 다음 광학현미경에서 간 및 지방조직 세포를 200배 배율로 관찰하였다.

⑪ 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 평균 ± 표준편차(mean ± S.D.)로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS(18.0, Statistical Package for Social Science Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 일원변량 분석(One way ANOVA)을 실시한 후 세포실험은 Student's t-test로 동물실험은 Duncan's multiple range test로 유의성을 p<0.05 수준에서 검증하였다.

(나) 결과

① 새싹보리

㉞ 세포독성에 미치는 영향

각 추출물이 3T3-L1 세포에 대한 세포독성을 알아보고 실험 농도 조건의 설정을 위해 MTS assay 를 실시하였다. 그 결과 새싹보리 추출물은 1000µg/ml 농도까지 세포독성을 나타내지 않았다.

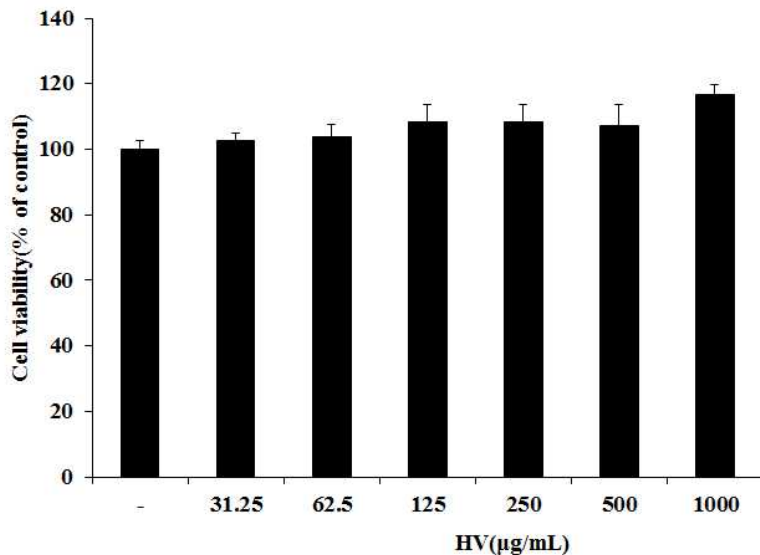


Fig. Effects of cell viability on HV of preadipocyte. The values are expressed as the means ± S.D. HV;Hordeum vulgare L

㉞ Lipid droplet 생성에 미치는 영향

Lipid droplet은 소포체의 이중막 사이에 triglyceride와 cholesterol ester가 축적되어 층이 나누어지기 시작하면서 만들어지며, 지방이 점점 더 축적되면 ‘lens’ 구조가 나타나게 되고 lipid droplet이 소포체에서 떨어져 나오게 된다고 알려져 있다. 이렇게 생성된 lipid droplet은 phospholipid monolayer와 관련 단백질에 둘러싸여 있는 비활성 소낭으로서 precursor fibroblast에서부터 지방세포로의 분화과정에서 나타나며, PPAR γ 와 같은 중요한 adipogenic transcription factors에 의해서 조절되는 것으로 알려져 있다. 이러한 lipid droplet은 비만유발뿐 만 아니라 고지혈증, 동맥경화 및 제2형 당뇨병 등과 같은 대사성 질환에도 관련성이 크다고 보고되고 있다. 따라서 각 추출물이 3T3-L1 preadipocytes 가 adipocytes로 분화되는 과정에 나타나는 lipid droplet 생성에 어떠한 영향을 미치는 지를 확인하기 위하여 Oil red O 염색을 하여 세포 내 lipid droplet의 생성 정도를 도립 현미경으로 관찰하였다.

아래 결과에서 알 수 있듯이 각 추출물을 처리 하지 않고 분화를 유도하였을 경우에 세포질 내 lipid

droplet의 형성이 활발하게 유발되는 것으로 관찰되었으나, 새싹보리 추출물을 처리하였을 경우에는 처리농도 의존적으로 lipid droplet의 형성이 현저하게 농도 의존적으로 감소되었다. 따라서 추출물 모두 3T3-L1 preadipocytes에서 adipocytes로의 분화를 억제한다는 것을 알 수 있었다. 특히 HV를 1000 μ g/mL로 처리한 군에서는 분화 대조군에 비해 40% 이상의 분화 저해율을 나타내었다.

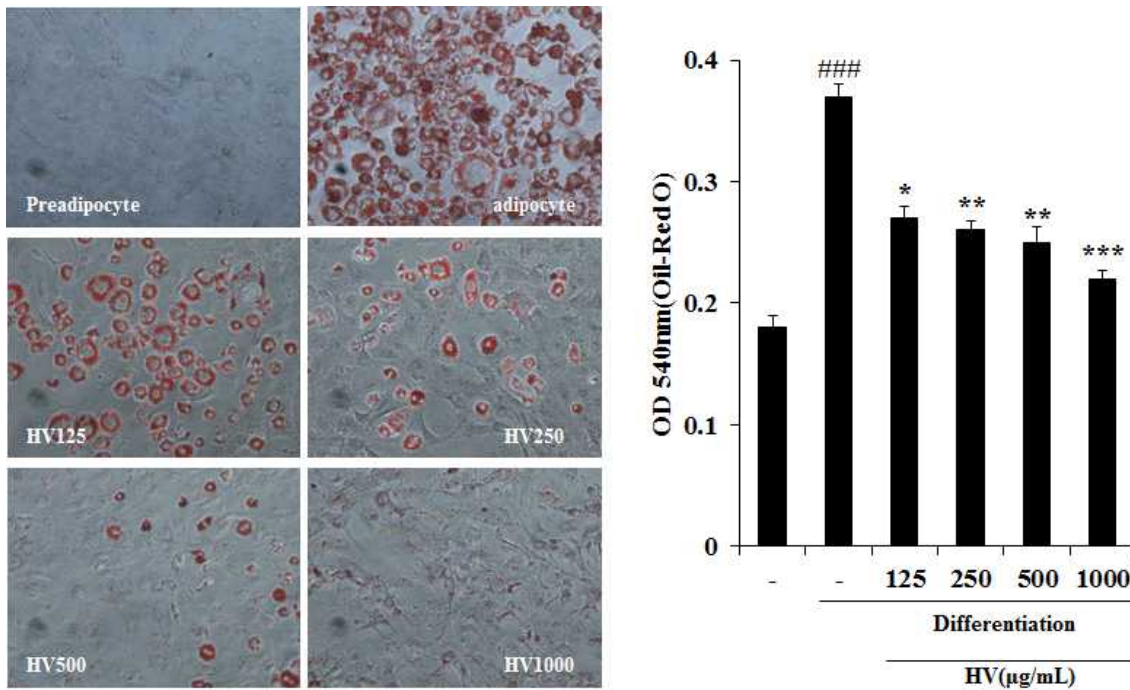
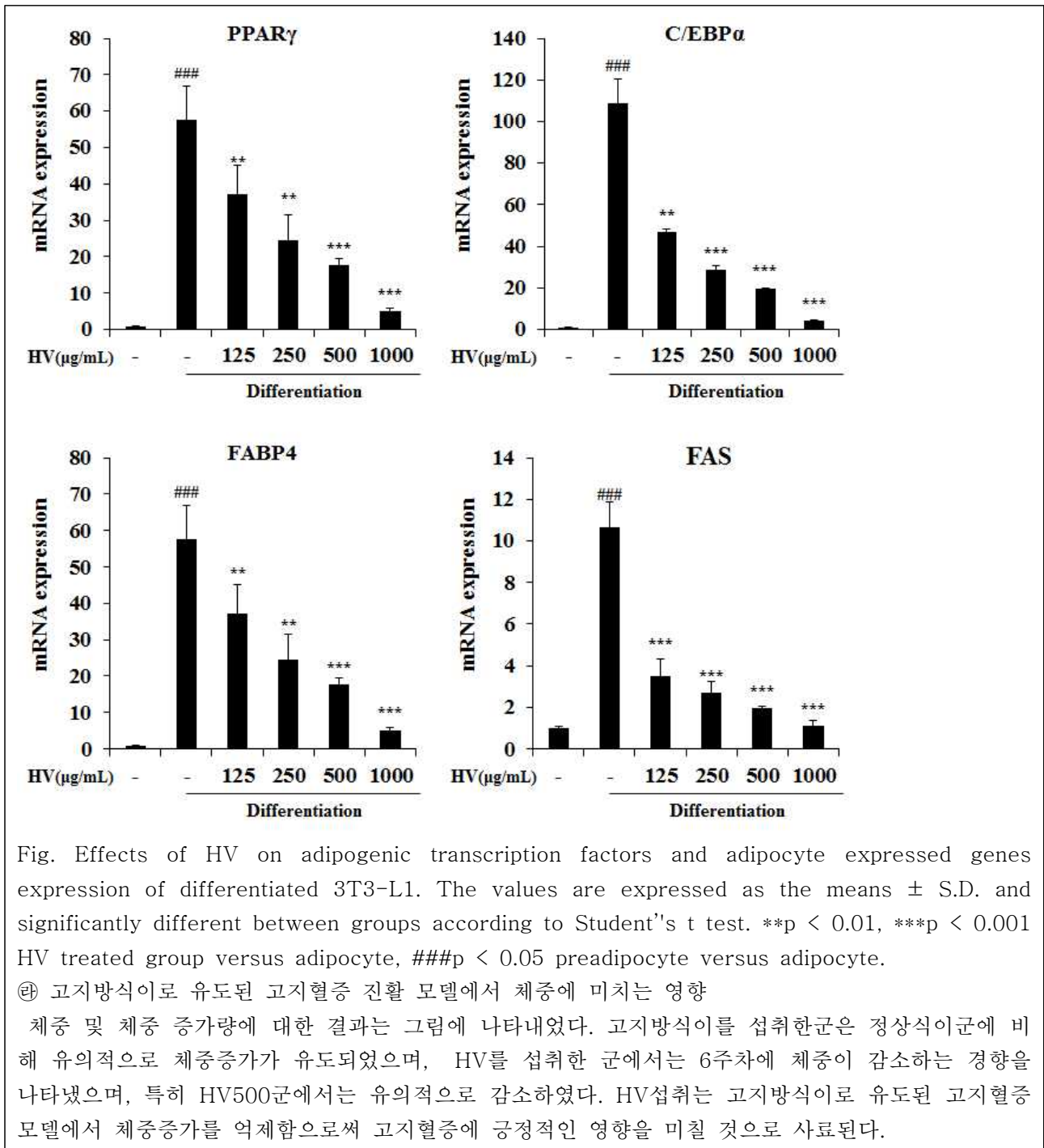


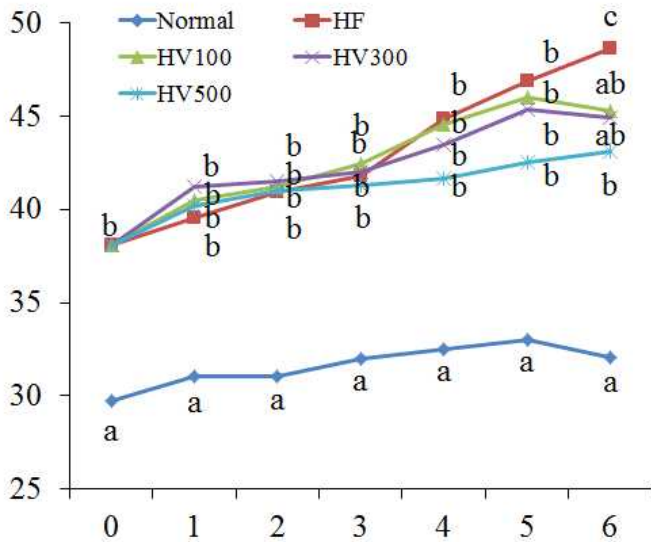
Fig. Effects of HV on lipid droplet accumulation of differentiated 3T3-L1. The values are expressed as the means \pm S.D. and significantly different between groups according to Student's t test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ HV treated group versus adipocyte, ### $p < 0.05$ preadipocyte versus adipocyte.

ⓐ Adipogenic transcription factors 및 adipocyte expressed genes의 발현에 미치는 영향
Adipogenesis의 핵심 조절자로 불리는 C/EBP α 및 PPAR γ 는 서로 상호작용하여 상승 효과를 나타내어 최종적으로 분화과정을 완성하게 되며, 그 결과로 백색지방세포에서 나타나는 lipid droplet 생성 및 triglyceride의 축적과 함께 세포의 크기 증가 등과 같은 형태적 특징과 더불어 FABP4 등과 같은 adipocyte expressed genes의 발현을 유발함으로써 지방세포의 특징을 지니게 된다.

새싹보리 추출물은 먼저 adipogenic transcription factors의 발현 정도를 확인한 결과 Fig. 에 나타난 바와 같이 분화를 유발하였을 경우 PPAR γ , C/EBP α 의 발현이 현저하게 증가하였지만 HV 처리에 의하여 농도 의존적인 감소가 유발되었다. 또한 adipocyte expressed genes인 FABP4 및 FAS 경우에도 그림 에서와 같이 HV 처리에 의하여 현저하게 감소하였음을 확인하였다.



(A)



(B)

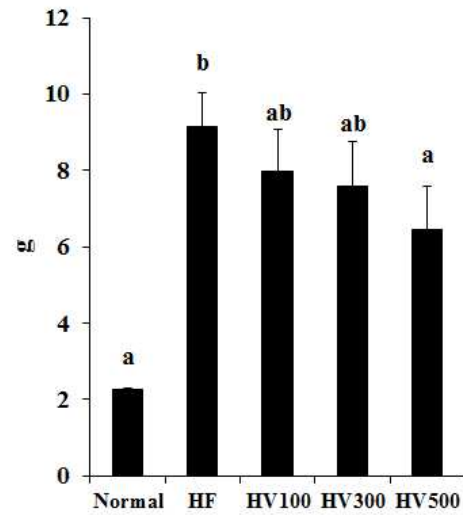


Fig. Effects of HV on body weight (A) and body weight gain (B) in mice fed a high-fat-diet. The values are expressed as the means \pm S.E. abcMeans not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

㉞ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 간 및 부고환지방에 미치는 영향

고지방식이 섭취는 간 및 지방조직에 중성지방 및 콜레스테롤 등의 축적을 일으켜 간 중량을 증가시킨다. 본 실험 결과에서 간 무게 및 부고환 지방의 무게는 고지방 식이의 영향으로 HF군이 Normal군에 비하여 유의적으로 증가하였으며, 이는 고지방식이에 의해 간 및 지방조직내에 콜레스테롤 및 중성지방등이 축적 된 것으로 사료된다. 또한 지방조직의 중량 증가는 지방이 축적되어 그 함량이 증가할수록 대사성 질환 위험 역시 증가 된다고 알려져 있다.

본 실험에서 HV의 섭취는 고지방식이로 인한 간 무게 및 지방조직 무게 증가를 억제하였다. 따라서 HV의 섭취에 의해 간 무게 및 지방조직의 중량이 감소함에 따라 대사성 질환 위험 역시 감소시킬 것으로 사료된다.

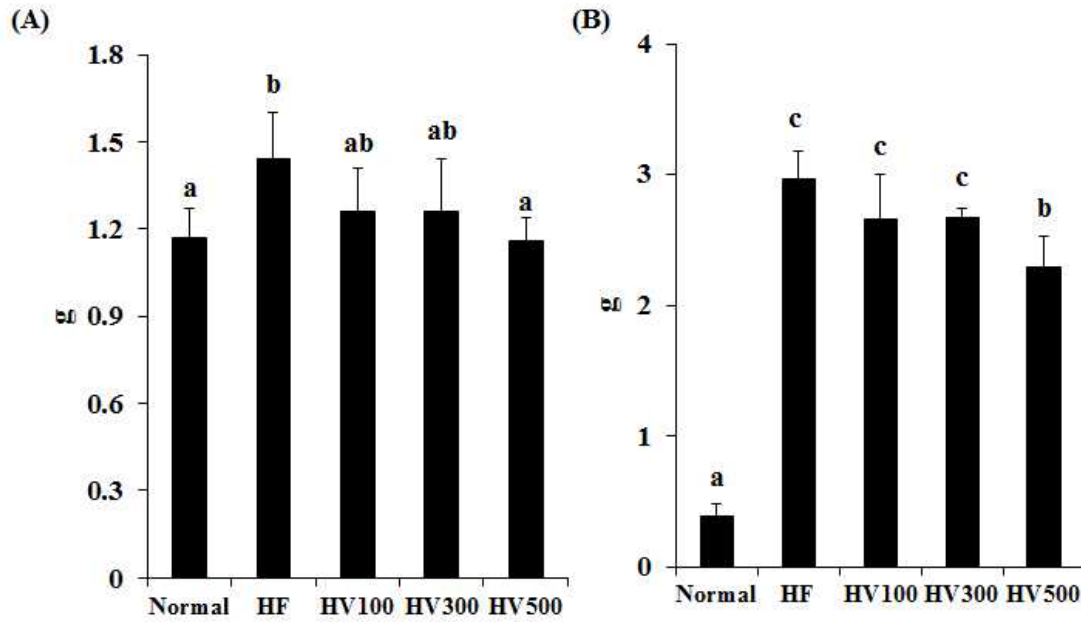


Fig. Effects of HV on liver weight (A) and epididymal white adipose tissue weights (B) in mice fed a high-fat-diet. The values are expressed as the means \pm S.E. abcMeans not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

㉞ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 혈중 지질함량 미치는 영향
 새싹보리의 혈액내의 지질 농도 분석 결과는 Table 에 나타내었다. 혈청 내 TG함량은 고지방식이에 의해 가장 큰 영향을 받는데 고지방식이만을 섭취한 HF군에 비해 HV300, HV500에서 혈청 TG 함량이 유의적으로 감소하였다. HDL 콜레스테롤은 혈액 중의 동맥경화를 일으키는 저분자 콜레스테롤을 제거하여 간으로 이동시키는 역할을 하는 좋은 콜레스테롤로 알려져 있다. 본 연구에서는, HDL-C의 함량은 HF군과 시료 섭취군에서는 유의적인 차이를 보이지는 않았지만, HTR의 경우 물질 섭취군이 정상수준까지 개선됨을 알 수 있었다. 이는 HV섭취가 전체 콜레스테롤 중 HDL-C의 비율을 증가함으로써 HV 추출물 섭취가 혈중 콜레스테롤 농도 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 결과적으로 HV의 섭취는 HTR의 비율을 높이고, TG함량을 낮춤으로서 고지방식이로 유도된 고지혈증에 개선에 효능이 있는 것으로 판단된다.

Table. Effect of HV on serum lipid contents in mice fed a high-fat-diet.1

	Normal	HF	HV100	HV300	HV500
--	--------	----	-------	-------	-------

TG (mg/dL)	147.20±16.15 ^a	172.60±14.67 ^b	155.17±14.99 ^a b	150.25±10.11 ^a	174.33±15.69 ^a
TC (mg/dL)	107.60±7.82 ^a	188.00±24.30 ^b	180.20±13.31 ^b	200.00±24.30 ^b	203.50±9.65 ^b
HDL-C (mg/dL)	53.20±4.32 ^a	74.33±7.86 ^b	94.17±13.04 ^c	99.83±11.86 ^c	102.83±7.60 ^c
HTR (%)	51.66±6.64 ^b	39.33±6.86 ^a	49.53±3.28 ^b	49.20±1.49 ^b	52.56±2.39 ^b

1 Mean ± SD. abc Means not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

$$2 \text{ HTR} = (\text{HDL-cholesterol}/\text{total cholesterol}) \times 100.$$

㉔ 고지방식으로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 혈중 혈당 및 인슐린, 아디포카인(Leptin, adiponectin) 함량에 미치는 영향

장기간의 고지방섭취는 혈당 상승을 유도하여 결국 인슐린 저항성을 일으킨다. 인체는 식사 후에 혈당이 올라가면 췌장에서 인슐린을 분비하여 혈당을 내리게 한다. 그러나 체지방의 과다 축적에 의한 비만증에서는 고혈당과 더불어 인슐린 저항성에 의한 고인슐린증이 장시간 지속되고, 혈중 렙틴 농도를 증가시킨다. 지방조직에서 만들어져 음식섭취 에너지 소비 및 에너지 균형조절 대사호르몬으로서 작용하는 렙틴은 음식물을 통한 지방량의 증가에 따라 대사를 위해 렙틴 농도가 증가하게 된다. 그러나 비만인에게는 대사이상으로 인슐린 저항성뿐만 아니라 렙틴에 대한 저항성이 나타나 렙틴에 대한 감수성이 떨어지게 된다. 아디포넥틴 역시 지방세포에서 분비되는 아디포카인으로, 에너지 대사에 관여하는 인자로 알려져 있다. 아디포넥틴 수치는 정상인에 비해 비만, 인슐린 저항성, 그리고 제 2형 당뇨병 환자에서 감소한다고 알려져 있다. 따라서 고지방식을 제공한 마우스에서 각 추출물의 투여에 의한 혈중 인슐린 및 렙틴, 아디포넥틴 농도에 미치는 영향을 실험하였다.

ND군에 비해 HF군에서 혈당, 렙틴, 인슐린의 함량이 유의적으로 증가했으며, 아디포넥틴의 함량은 유의적으로 감소하였다. HV의 섭취군에서는 인슐린 농도가 농도의존적으로 감소하였으며, 렙틴은 HV 섭취군에서 모두 유의적으로 감소하였다. 이로 인해 혈중 혈당 역시 감소하였다. 반면 아디포넥틴은 HV 섭취에 의해 유의적으로 증가하였다.

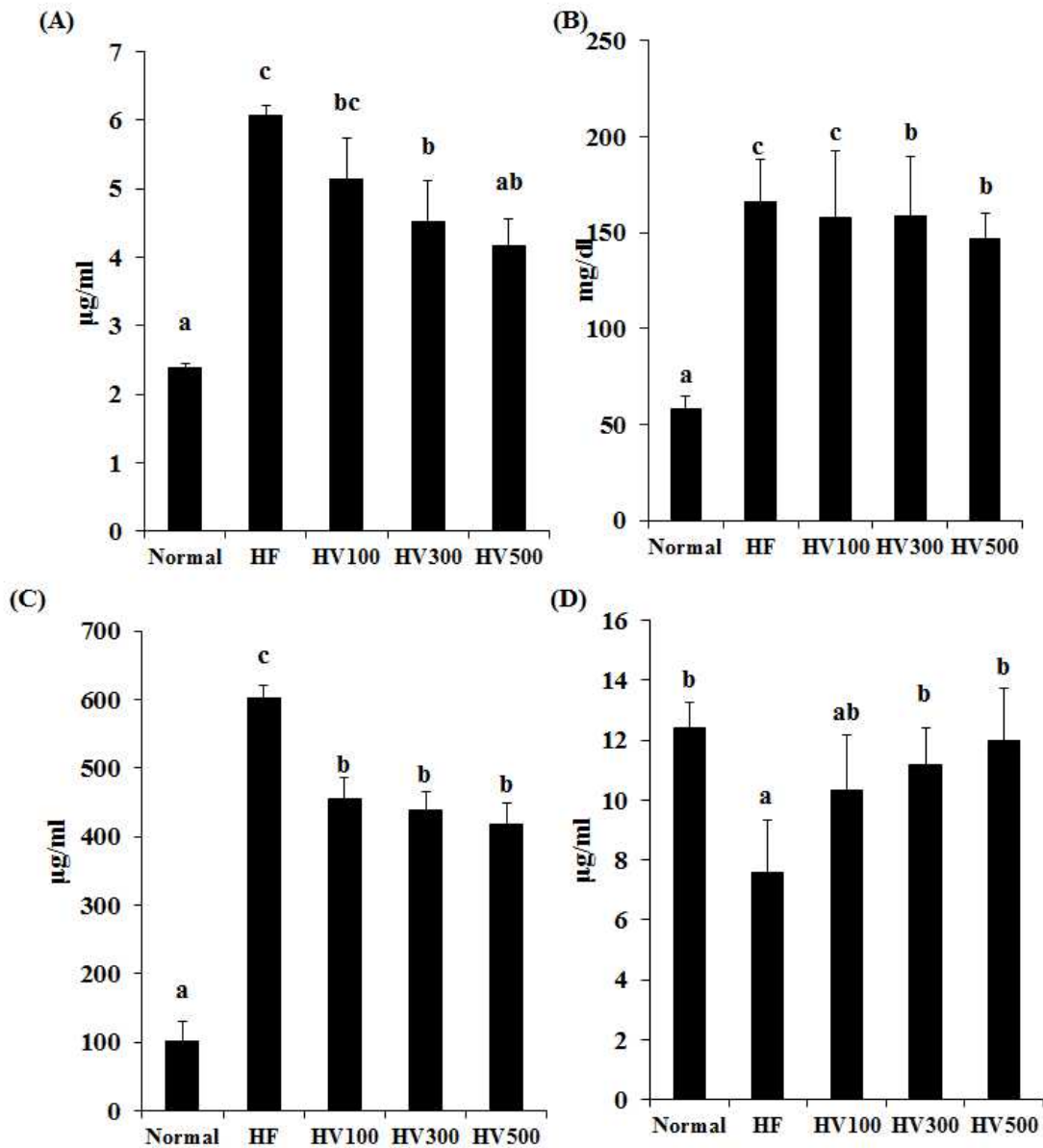


Fig. Effects of HV on serum glucose (A) insulin (B) leptin (C) and adiponectin (D) in mice fed a high-fat-diet. The values are expressed as the means \pm S.E. abcMeans not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

㉠ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 간 및 지방조직의 병리학적 조직검사 H&E 염색을 통하여 간조직 및 white adipose tissue 에 속하는 부고환지방의 형태를 관찰한 결과는 Fig. . 에 나타내었다. Normal 군에 비하여 HF군의 간조직에서는 정상군에 비하여 많은 지방구가 관찰되었으며, 모든 물질 섭취군에서는 지방구가 감소한 것을 볼 수 있었다. 또한, HF군은 Normal 군에 비하여 지방세포의 크기가 커진 반면 물질 섭취군에서는 농도 의존적으로 지방세포의 크기가 감소하였다. 이를 통하여 물추출물의 섭취는 간 조직내의 및 지방조직의 지방축적을 효과적으로 개선할 것으로 사료된다.

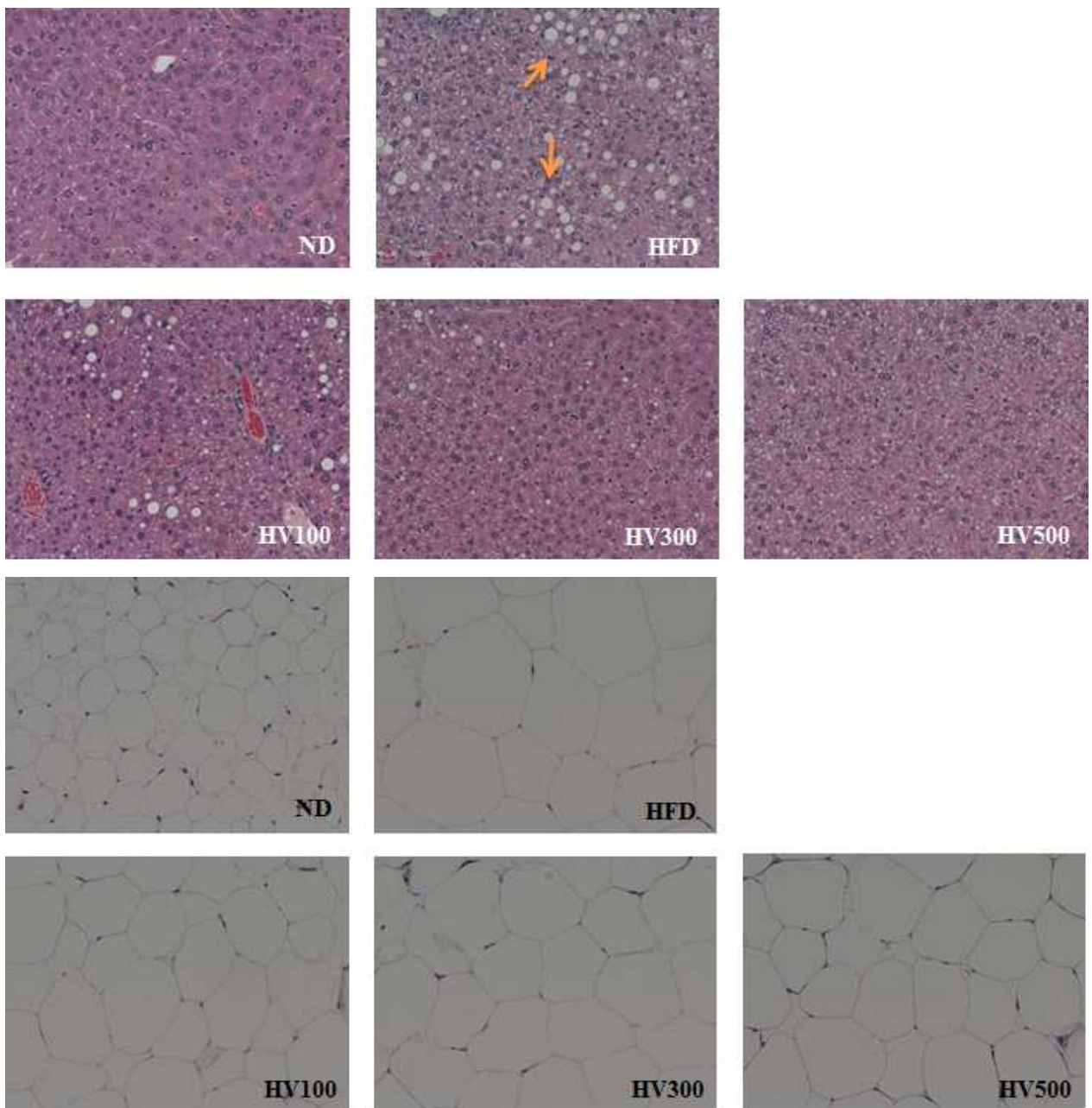


Fig. . Effects of HV on hepatic fat accumulation (upper) and size of adipocyte (bottom) in mice fed a high-fat-diet (200X).

② 식방풍엽

㉞ 세포독성에 미치는 영향

3T3-L1 세포에 대한 세포독성을 알아보고 실험 농도 조건의 설정을 위해 MTS assay를 실시하였다. 그 결과 식방풍엽 추출물은 1000 μ g/ml 농도까지 세포독성을 나타내지 않았다.

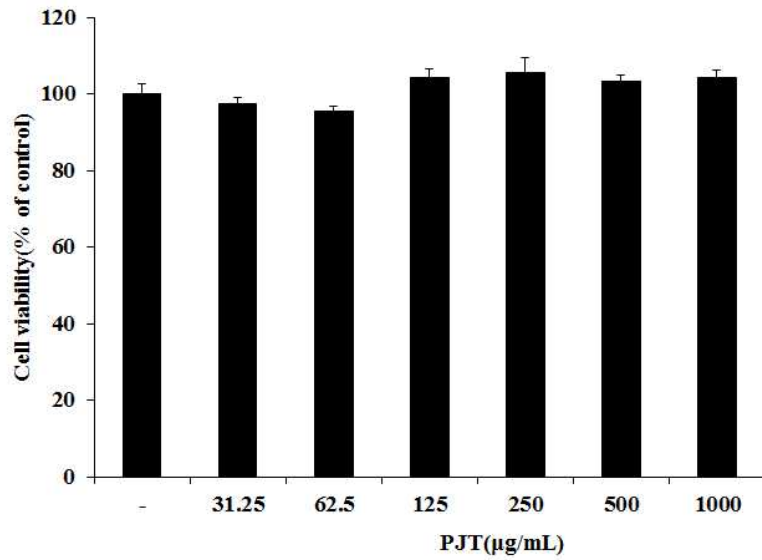


Fig. Effects of cell viability on PJT of preadipocyte. The values are expressed as the means \pm S.D. PJT; Peucedanum japonicum Thunberg

Ⓢ Lipid droplet 생성에 미치는 영향

아래 결과에서 알 수 있듯이 각 추출물을 처리 하지 않고 분화를 유도하였을 경우에 세포질 내 lipid droplet의 형성이 활발하게 유발되는 것으로 관찰되었으나, 식방풍잎 추출물을 처리하였을 경우에는 처리농도 의존적으로 lipid droplet의 형성이 현저하게 농도의존적으로 감소되었다. 따라서 추출물 모두 3T3-L1 preadipocytes에서 adipocytes로의 분화를 억제한다는 것을 알 수 있었다. 특히 PJT를 1000µg/mL로 처리한 군에서는 분화 대조군에 비해 32% 이상의 분화 저해율을 나타내었다.

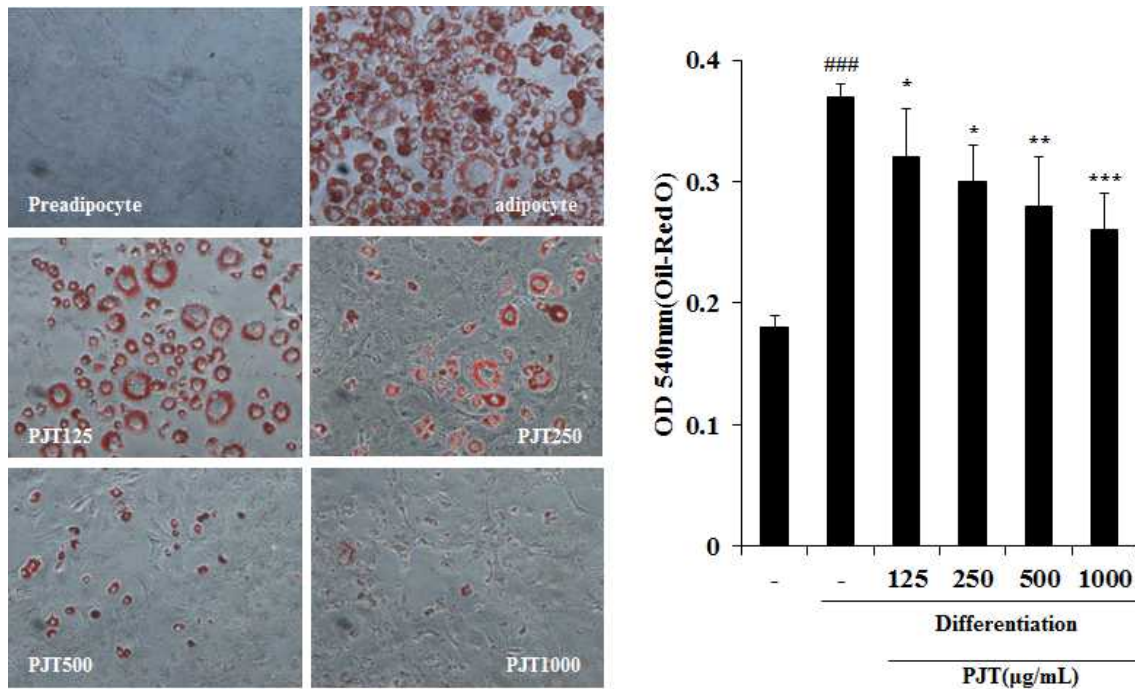


Fig. Effects of PJT on lipid droplet accumulation of differentiated 3T3-L1. The values are expressed as the means \pm S.D. and significantly different between groups according to

Student's t test. *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 PJT treated

Ⓢ Adipogenic transcription factors 및 adipocyte expressed genes의 발현에 미치는 영향
 Adipogenesis의 핵심 조절자로 불리는 C/EBP α 및 PPAR γ 는 서로 상호작용하여 상승 효과를 나타내어 최종적으로 분화과정을 완성하게 되며, 그 결과로 백색지방세포에서 나타나는 lipid droplet 생성 및 triglyceride의 축적과 함께 세포의 크기 증가 등과 같은 형태적 특징과 더불어 FABP4 등과 같은 adipocyte expressed genes의 발현을 유발함으로써 지방세포의 특징을 지니게 된다.
 식지방의 adipogenesis 관련 유전자 발현 정도는 Fig. .에 나타내었다. 분화대조군에 비해 모든 농도에서 농도의존적으로 발현 정도가 감소하였음을 확인하였다.

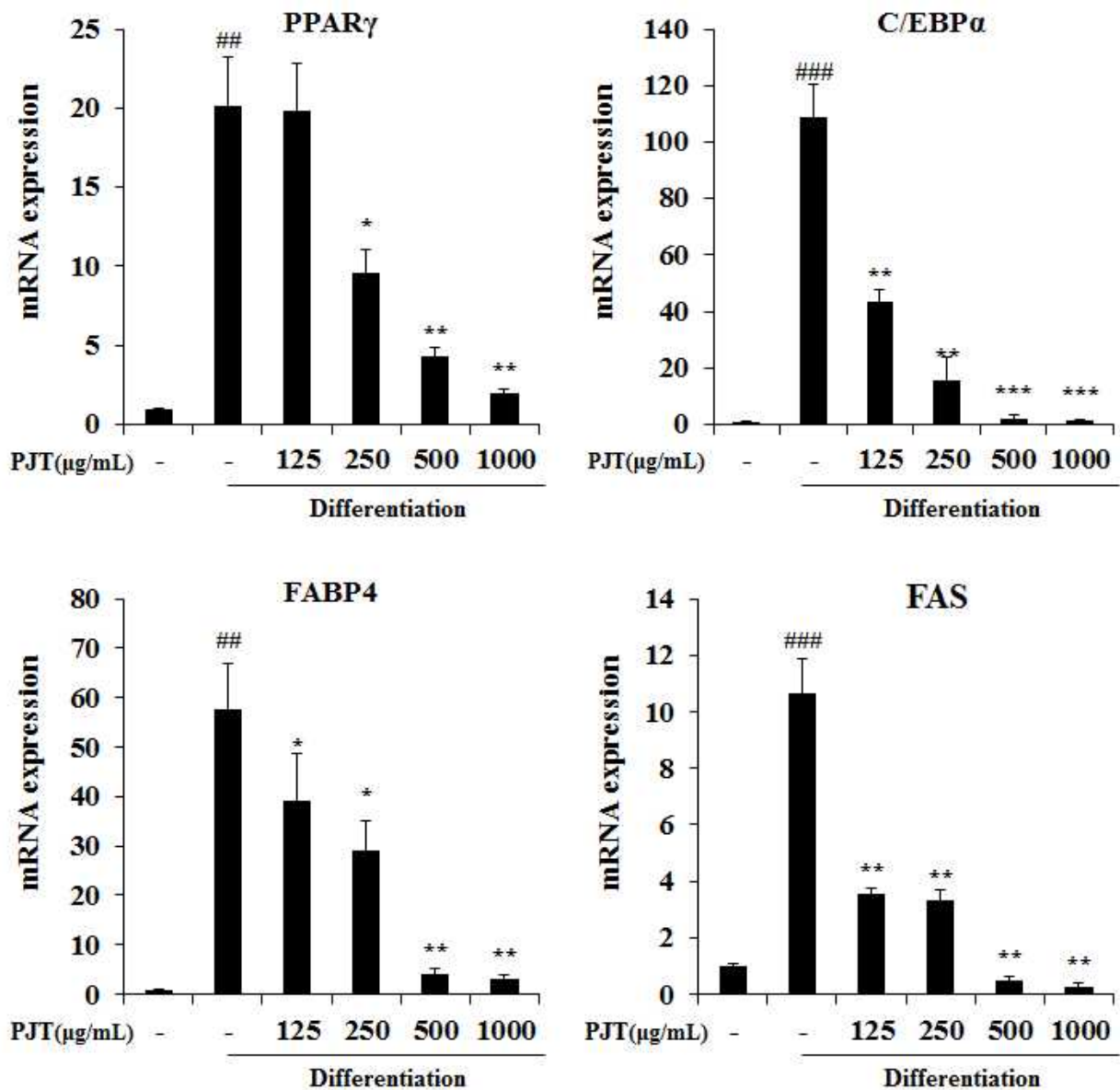


Fig.. Effects of PJT on adipogenic transcription factors and adipocyte expressed genes expression of differentiated 3T3-L1. The values are expressed as the means \pm S.D. and significantly different between groups according to Student's t test. **p < 0.01, ***p < 0.001 PJT treated group versus adipocyte, ###p < 0.05 preadipocyte versus adipocyte.

㉔ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 체중에 미치는 영향

체중 및 체중 증가량에 대한 결과는 Fig. . 에 나타내었다. 고지방식을 섭취한군은 정상식이군에 비해 유의적으로 체중증가가 유도되었으며, PJT 섭취군의 경우에는 섭취 3주차부터 유의적인 차이를 보이며 감소하였으며, PJT는 고지방식이 그룹군에 비하여 체중증가량을 약 30% 가량 감소시켰다.

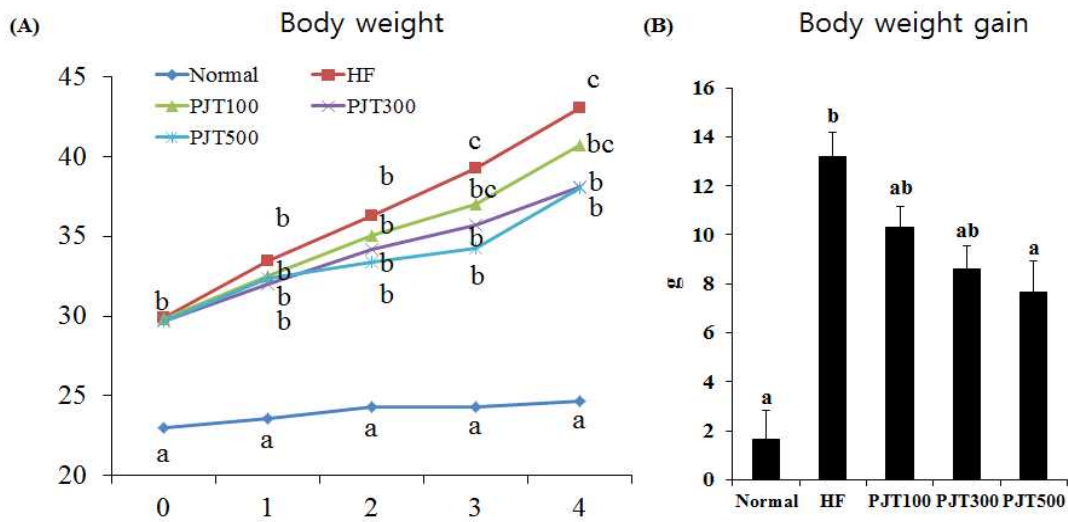


Fig. Effects of HV on body weight (A) and body weight gain (B) in mice fed a high-fat-diet. The values are expressed as the means \pm S.E. abcMeans not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

㉔ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 간 및 부고환지방에 미치는 각 추출물의 영향
 고지방식이 섭취는 간 및 지방조직에 중성지방 및 콜레스테롤 등의 축적을 일으켜 간 중량을 증가시킨다. 본 실험 결과에서 간 무게 및 부고환 지방의 무게는 고지방 식이의 영향으로 HF군이 Normal군에 비하여 유의적으로 증가하였으며, 이는 고지방식이에 의해 간 및 지방조직내에 콜레스테롤 및 중성지방등이 축적 된 것으로 사료된다. 또한 지방조직의 중량 증가는 지방이 축적되어 그 함량이 증가할수록 대사성 질환 위험 역시 증가 된다고 알려져 있다.

본 실험에서 PJT 섭취군은 간 및 부고환 지방 중량을 농도의존적으로 감소시켰으며, 간중량이 정상군 수준으로 개선됨을 확인 할 수 있었다 (Fig.).

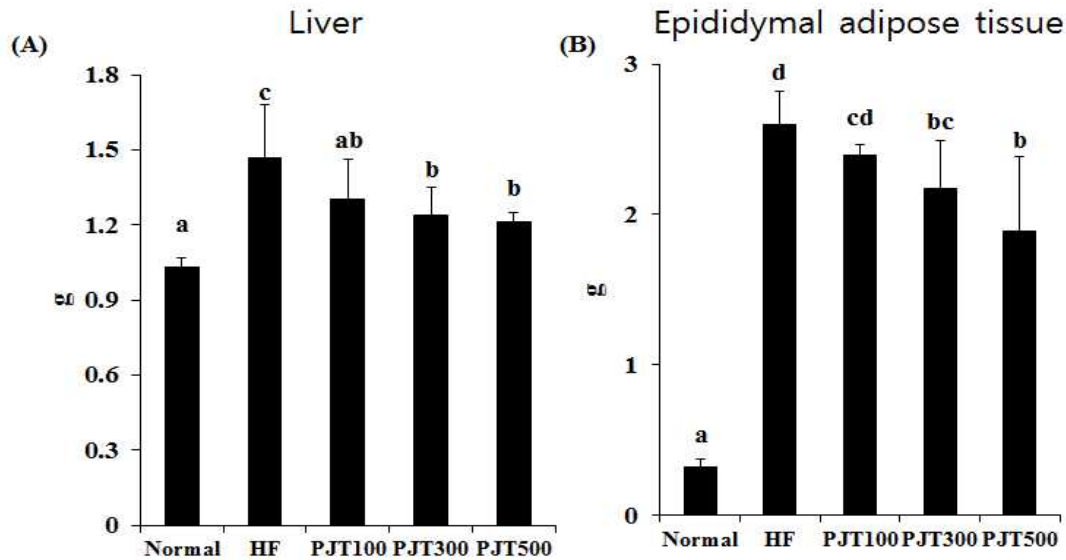


Fig. Effects of PJT on liver weight (A) and epididymal white adipose tissue weights (B) in mice fed a high-fat-diet. The values are expressed as the means \pm S.E. abcdMeans not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

㉕ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 혈중 지질함량 미치는 각 추출물의 영향
 식지방 섭취에 따른 혈액내의 지질 농도 분석 결과는 Table 에 나타내었다. 혈청 내 TG함량은 HF군에 비해 감소하는 경향을 나타내었으며 특히 PJT500군에서는 15% 이상 감소시켰다. HDL-C의 함량은 HF군과 시료 섭취군에서는 유의적인 차이를 보이지는 않았지만, PJT500군에서 유의적으로 증가시켰으며 HTR의 경우 PJT500군에서 50% 이상 증가시켰다. 또한 Total cholesterol(TC)의 함량 또한 HF군에 비해 감소시킴에 따라 식지방은 고지방식이에 따른 지질 이상혈증을 개선시킨 것으로 사료된다.

Table. Effect of PJT on serum lipid contents in mice fed a high-fat-diet.1

	Normal	HF	PJT100	PJT300	PJT500
TG (mg/dL)	130.80±7.10 ^a	169.67±8.29 ^c	162.25±4.78 ^{bc}	160.75±7.02 ^{bc}	143.67±9.35 ^{ab}
TC (mg/dL)	93.00±4.18 ^a	191.33±11.19 ^c	190.00±11.96 ^c	170.80±14.23 ^b _c	148.00±4.84 ^b
HDL-C (mg/dL)	46.40±7.10 ^a	51.92±8.29 ^{ab}	56.20±4.78 ^{bc}	57.40±7.02 ^{bc}	60.05±9.35 ^c
HTR (%)	50.22±5.76 ^c	27.38±2.28 ^a	27.43±2.31 ^a	34.07±5.23 ^a	42.14±4.71 ^b

1 Mean ± SD. abc Means not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at p < 0.05.

2 HTR = (HDL-cholesterol/total cholesterol) × 100.

㉔ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 혈중 혈당 및 인슐린, 아디포카인(Leptin, adiponectin) 함량에 미치는 각 추출물의 영향

장기간의 고지방섭취는 혈당 상승을 유도하여 결국 인슐린 저항성을 일으킨다. 인체는 식사 후에 혈당이 올라가면 췌장에서 인슐린을 분비하여 혈당을 내리게 한다. 그러나 체지방의 과다 축적에 의한 비만증에서는 고혈당과 더불어 인슐린 저항성에 의한 고인슐린증이 장시간 지속되고, 혈중 렙틴 농도를 증가시킨다. 지방조직에서 만들어져 음식섭취 에너지 소비 및 에너지 균형조절 대사호르몬으로서 작용하는 렙틴은 음식을 통한 지방량의 증가에 따라 대사를 위해 렙틴 농도가 증가하게 된다. 그러나 비만인에게는 대사이상으로 인슐린 저항성뿐만 아니라 렙틴에 대한 저항성이 나타나 렙틴에 대한 감수성이 떨어지게 된다. 아디포넥틴 역시 지방세포에서 분비되는 아디포카인으로, 에너지 대사에 관여하는 인자로 알려져 있다. 아디포넥틴 수치는 정상인에 비해 비만, 인슐린 저항성, 그리고 제 2형 당뇨병 환자에서 감소한다고 알려져 있다. 따라서 고지방식을 제공한 마우스에서 각 추출물의 투여에 의한 혈중 인슐린 및 렙틴, 아디포넥틴 농도에 미치는 영향을 실험하였다.

식방풍(PJT)의 섭취는 HF섭취로 인한 아디포넥틴, 렙틴, 인슐린, 혈당 등의 변화를 개선시켰다. 특히 PJT 고농도 섭취군에서는 인슐린과 렙틴, 아디포넥틴의 농도는 정상수준 가까이 개선시킴을 확인할 수 있었다.

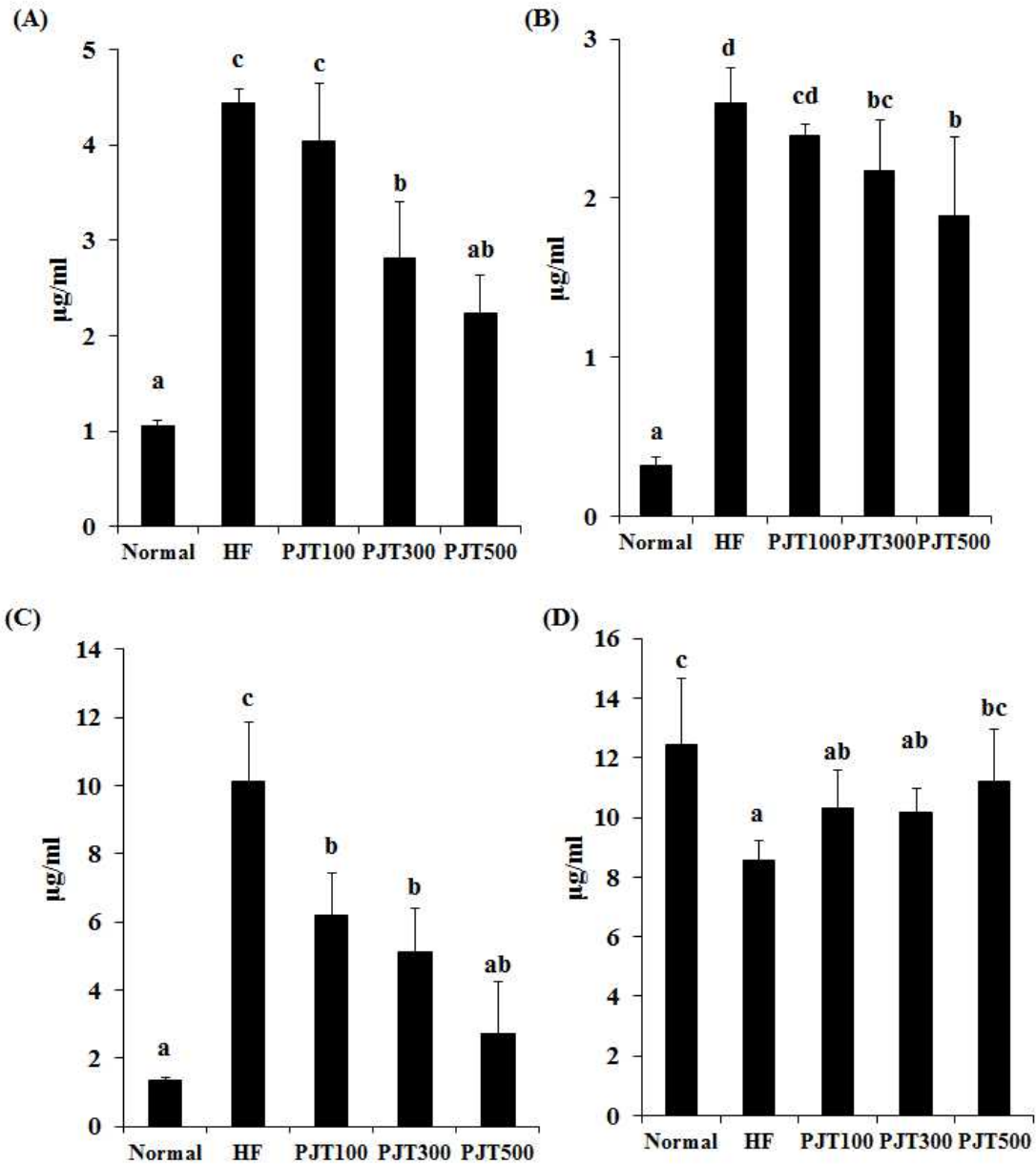


Fig. Effects of PJT on serum glucose (A) insulin (B) leptin (C) and adiponectin (D) in mice fed a high-fat-diet. The values are expressed as the means \pm S.E. abcMeans not sharing a common letter are significantly different between groups

㊦ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 간 및 지방조직의 병리학적 조직검사

H&E 염색을 통하여 간조직 및 white adipose tissue 에 속하는 부고환지방의 형태를 관찰한 결과는 Fig. . 에 나타내었다. Normal 군에 비하여 HF군의 간조직에서는 정상군에 비하여 많은 지방구가 관찰되었으며, 모든 물질 섭취군에서는 지방구가 감소한 것을 볼 수 있었다. 또한, HF군은 Normal 군

에 비하여 지방세포의 크기가 커진 반면 물질 섭취군에서는 농도 의존적으로 지방세포의 크기가 감소하였다. 이를 통하여 물추출물의 섭취는 간 조직내의 및 지방조직의 지방축적을 효과적으로 개선할 것으로 사료된다.

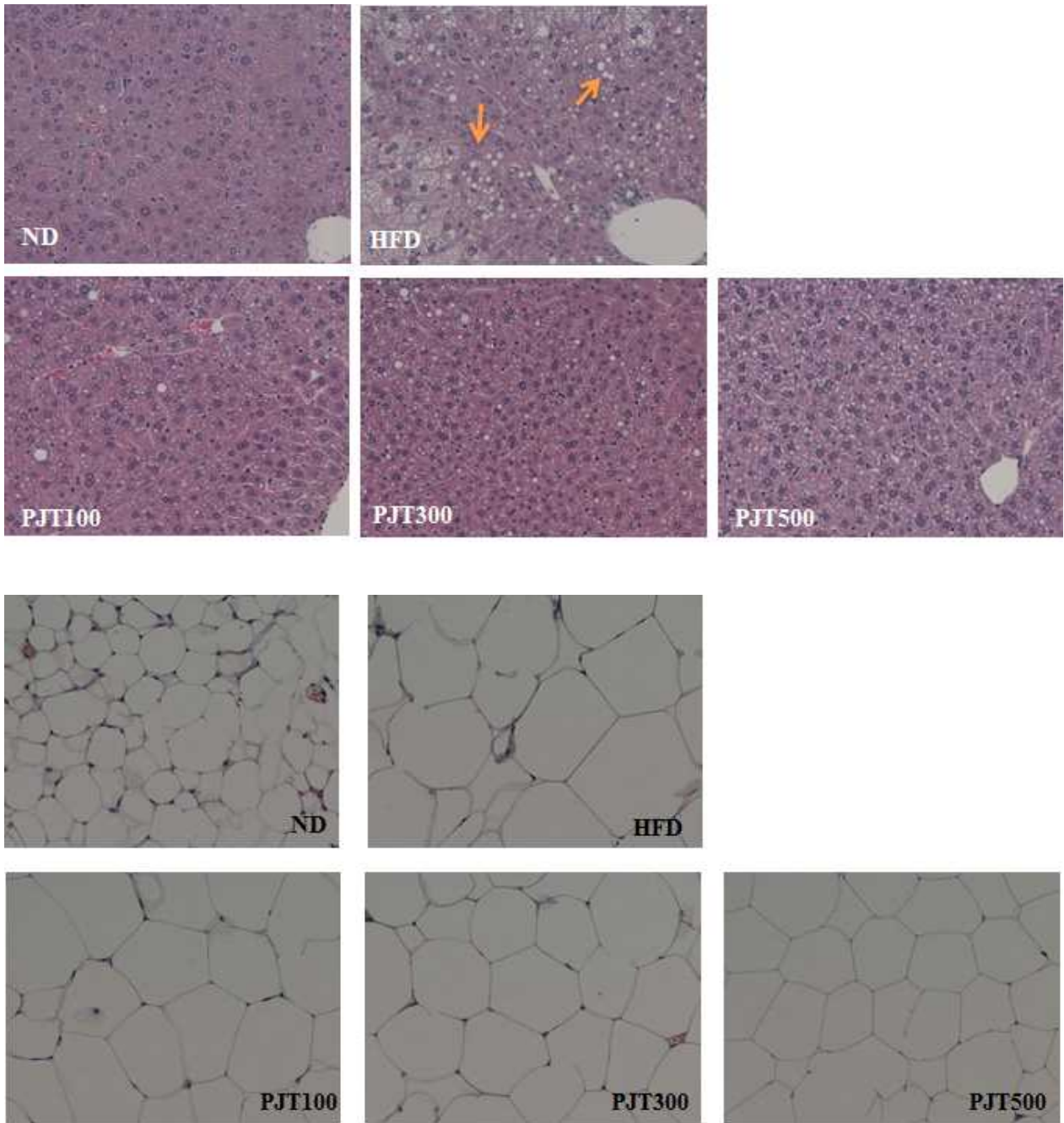


Fig. Effects of PJT on hepatic fat accumulation (upper) and size of adipocyte (bottom) in mice fed a high-fat-diet (200X).

③ 홍국미

㉞ 세포독성에 미치는 영향

3T3-L1 세포에 대한 세포독성을 알아보고 실험 농도 조건의 설정을 위해 MTS assay를 실시하였다. 그 결과 홍국쌀잎 추출물은 1000 μ g/ml 농도까지 세포독성을 나타내지 않았다.

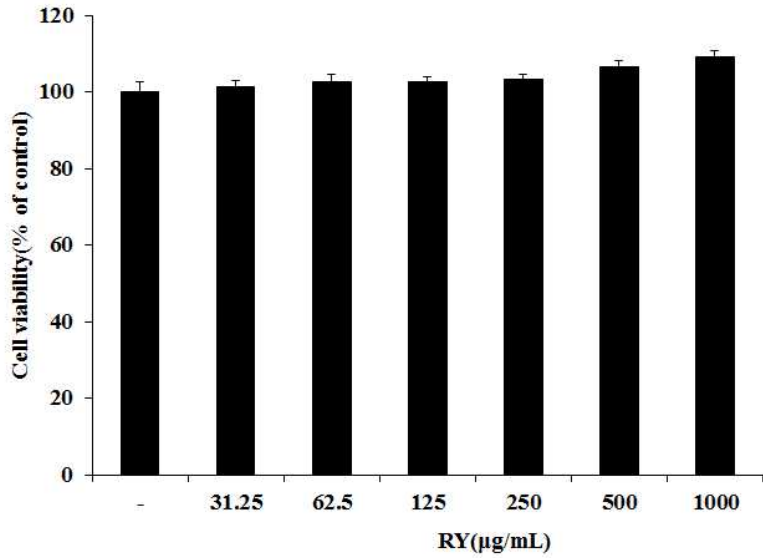


Fig. Effects of cell viability on RY of preadipocyte. The values are expressed as the means \pm S.D. RY;Red Yeast Rice.

Ⓢ Lipid droplet 생성에 미치는 영향

아래 결과에서 알 수 있듯이 각 추출물을 처리 하지 않고 분화를 유도하였을 경우에 세포질 내 lipid droplet의 형성이 활발하게 유발되는 것으로 관찰되었으나, 식방풍잎 추출물을 처리하였을 경우에는 처리농도 의존적으로 lipid droplet의 형성이 현저하게 농도 의존적으로 감소되었다. 따라서 추출물 모두 3T3-L1 preadipocytes에서 adipocytes로의 분화를 억제한다는 것을 알 수 있었다. 특히 RY를 1000µg/mL로 처리한 군에서는 분화 대조군에 비해 32% 이상의 분화 저해율을 나타내었다.

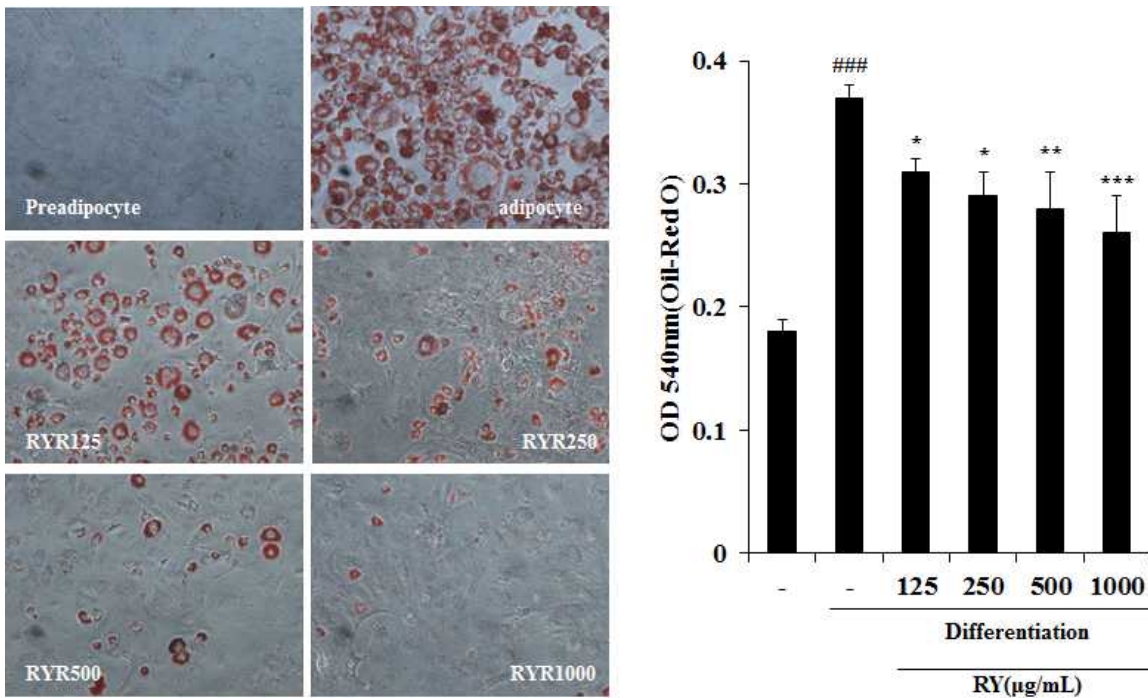


Fig. Effects of RY on lipid droplet accumulation of differentiated 3T3-L1. The values are expressed as the means \pm S.D. and significantly different between groups according to Student's t test. *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 RY treated group versus adipocyte, ###p < 0.05 preadipocyte versus adipocyte.

Ⓢ Adipogenic transcription factors 및 adipocyte expressed genes의 발현에 미치는 영향
Adipogenesis의 핵심 조절자로 불리는 C/EBP α 및 PPAR γ 는 서로 상호작용하여 상승 효과를 나타내어 최종적으로 분화과정을 완성하게 되며, 그 결과로 백색지방세포에서 나타나는 lipid droplet 생성 및 triglyceride의 축적과 함께 세포의 크기 증가 등과 같은 형태적 특징과 더불어 FABP4 등과 같은 adipocyte expressed genes의 발현을 유발함으로써 지방세포의 특징을 지니게 된다.
홍국미 역시 새싹보리와 식방풍과 마찬가지로 분화대조군에 비해 PPAR γ , C/EBP α , FABP4 및 FAS의 발현이 현저하게 감소하였다.

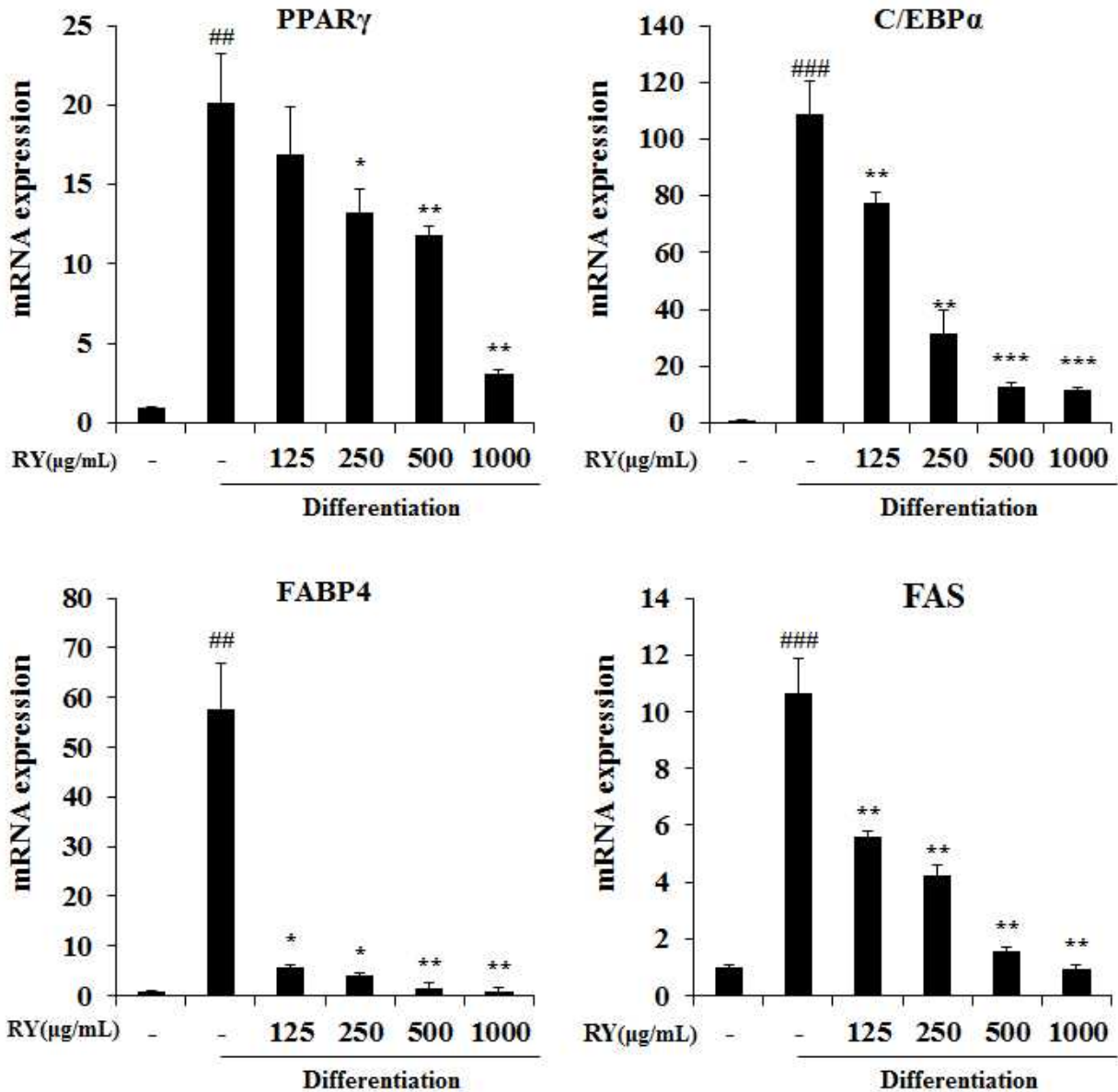


Fig. Effects of RY on adipogenic transcription factors and adipocyte expressed genes expression of differentiated 3T3-L1. The values are expressed as the means \pm S.D. and significantly different between groups according to Student's t test. **p < 0.01, ***p < 0.001 RY treated group versus adipocyte, ###p < 0.05 preadipocyte versus adipocyte.

㉔ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 체중에 미치는 영향
 체중 및 체중 증가량에 대한 결과는 Fig. . 에 나타내었다. 고지방食이를 섭취한군은 정상식이군에 비해 유의적으로 체중증가가 유도되었으며, RY 섭취군의 경우에는 섭취 3주차부터 유의적인 차이를 보이며 감소하였으며, RY는 체중증가량을 약 30% 가량 감소시켰다.

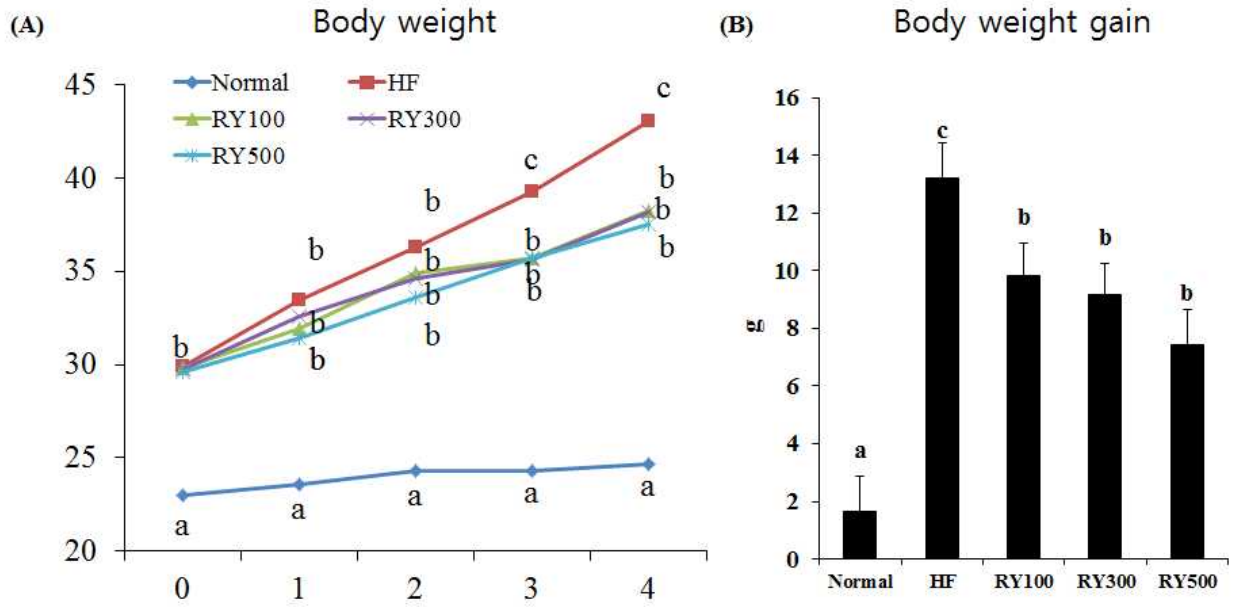


Fig. Effects of RY on body weight (A) and body weight gain (B) in mice fed a high-fat-diet. The values are expressed as the means \pm S.E. abcMeans not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

㊦ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 간 및 부고환지방에 미치는 각 추출물의 영향 고지방식이 섭취는 간 및 지방조직에 중성지방 및 콜레스테롤 등의 축적을 일으켜 간 중량을 증가시킨다. 본 실험 결과에서 간 무게 및 부고환 지방의 무게는 고지방 식이의 영향으로 HF군이 Normal 군에 비하여 유의적으로 증가하였으며, 이는 고지방식이에 의해 간 및 지방조직내에 콜레스테롤 및 중성지방등이 축적 된 것으로 사료된다. 또한 지방조직의 중량 증가는 지방이 축적되어 그 함량이 증가할수록 대사성 질환 위험 역시 증가 된다고 알려져 있다. 본 실험에서 RY 섭취군은 간 및 부고환 지방 중량을 농도의존적으로 감소시켰음을 확인 할 수 있었다.

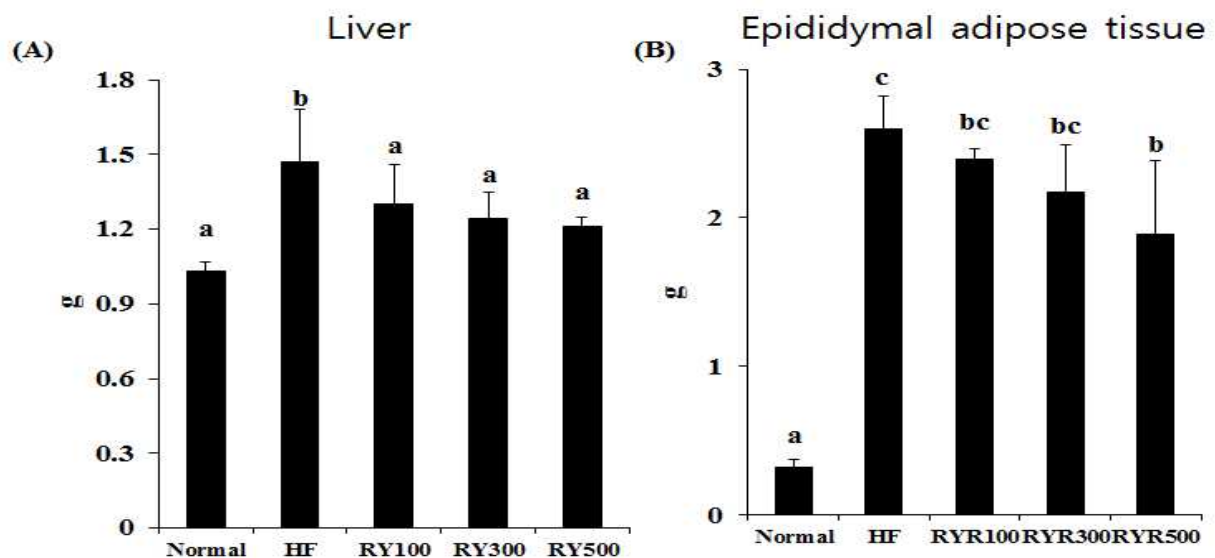


Fig. Effects of RY on liver weight (A) and epididymal white adipose tissue weights (B) in mice fed a high-fat-diet. The values are expressed as the means \pm S.E. abcdMeans not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

㉞ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 혈중 지질함량 미치는 각 추출물의 영향
 홍국미 섭취에 따른 혈액 내 지질 함량을 분석한 결과는 Table . 에 나타내었다. RY섭취는 혈액 내 중성지질 함량은 RY500군에서만 감소하였다. Total Cholesterol(TC) 함량은 RY300군에서부터 유의적으로 감소시켰다. HDL-C의 함량역시 RY300군에서 유의적으로 증가하였으며 특히 RY500군에서는 HTR의 비율이 정상군 수준까지 개선됨을 확인 할 수 있었다. 이 결과에 따라 홍국미의 섭취는 전체 콜레스테롤 중 HDL-C의 비율을 증가시킴으로써 고지방식이에 의한 이상지질혈증을 개선시킬 것으로 사료된다.

Table. Effect of RY on serum lipid contents in mice fed a high-fat-diet.1

	Normal	HF	RY100	RY300	RY500
TG (mg/dL)	130.80 \pm 7.10 ^a	169.67 \pm 8.29 ^b	167.67 \pm 4.40 ^b	159.33 \pm 9.13 ^b	157.67 \pm 3.33 ^{ab}
TC (mg/dL)	93.00 \pm 4.18 ^a	191.33 \pm 11.19 ^c	168.80 \pm 13.32 ^b c	163.25 \pm 13.16 ^b	158.80 \pm 12.15 ^b
HDL-C (mg/dL)	46.40 \pm 7.10 ^a	51.92 \pm 8.29 ^a	54.20 \pm 4.84 ^a	66.67 \pm 13.54 ^b	74.50 \pm 15.84 ^b
HTR (%)	50.22 \pm 5.76 ^c	27.38 \pm 2.28 ^a	31.62 \pm 7.43 ^{ab}	42.28 \pm 7.47 ^{bc}	47.05 \pm 9.45 ^c

1Mean \pm SD. abcMeans not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

$$2 \text{ HTR} = (\text{HDL-cholesterol}/\text{total cholesterol}) \times 100.$$

㉞ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 혈중 혈당 및 인슐린, 아디포카인(Leptin, adiponectin)함량에 미치는 각 추출물의 영향

장기간의 고지방섭취는 혈당 상승을 유도하여 결국 인슐린 저항성을 일으킨다. 인체는 식사 후에 혈당이 올라가면 췌장에서 인슐린을 분비하여 혈당을 내리게 한다. 그러나 체지방의 과다 축적에 의한 비만증에서는 고혈당과 더불어 인슐린 저항성에 의한 고인슐린증이 장시간 지속되고, 혈중 렙틴농도를 증가시킨다. 지방조직에서 만들어져 음식섭취 에너지 소비 및 에너지 균형조절 대사호르몬으로서 작용하는 렙틴은 음식을 통한 지방량의 증가에 따라 대사를 위해 렙틴 농도가 증가하게 된다. 그러나 비만인에게는 대사이상으로 인슐린 저항성뿐만 아니라 렙틴에 대한 저항성이 나타나 렙틴에 대한 감수성이 떨어지게 된다. 아디포넥틴역시 지방세포에서 분비되는 아디포카인으로, 에너지 대사에 관여하는 인자로 알려져 있다. 아디포넥틴 수치는 정상인에 비해 비만, 인슐린 저항성, 그리고 제 2형 당뇨병 환자에서 감소한다고 알려져 있다. 따라서 고지방식이를 제공한 마우스에서 각 추출물의 투여에 의한 혈중 인슐린 및 렙틴, 아디포넥틴 농도에 미치는 영향을 실험하였다.

홍국미의 섭취역시 새싹보리와 식방풍과 마찬가지로 혈중 인슐린 농도, 혈당, 렙틴, 아디포넥틴의 함량을 HF군에 비해 개선시킴을 확인 할 수 있었다. 특히 고농도군에서 인슐린은 HF 군에 비해 약 50% 감소시켰다.

이를 바탕으로 각각 물 추출물의 섭취는 혈중 렙틴 분비를 감소시키고 아디포넥틴의 분비를 증가시킴으로 지방 축적을 개선시키는데 효능이 있는 것으로 판단된다.

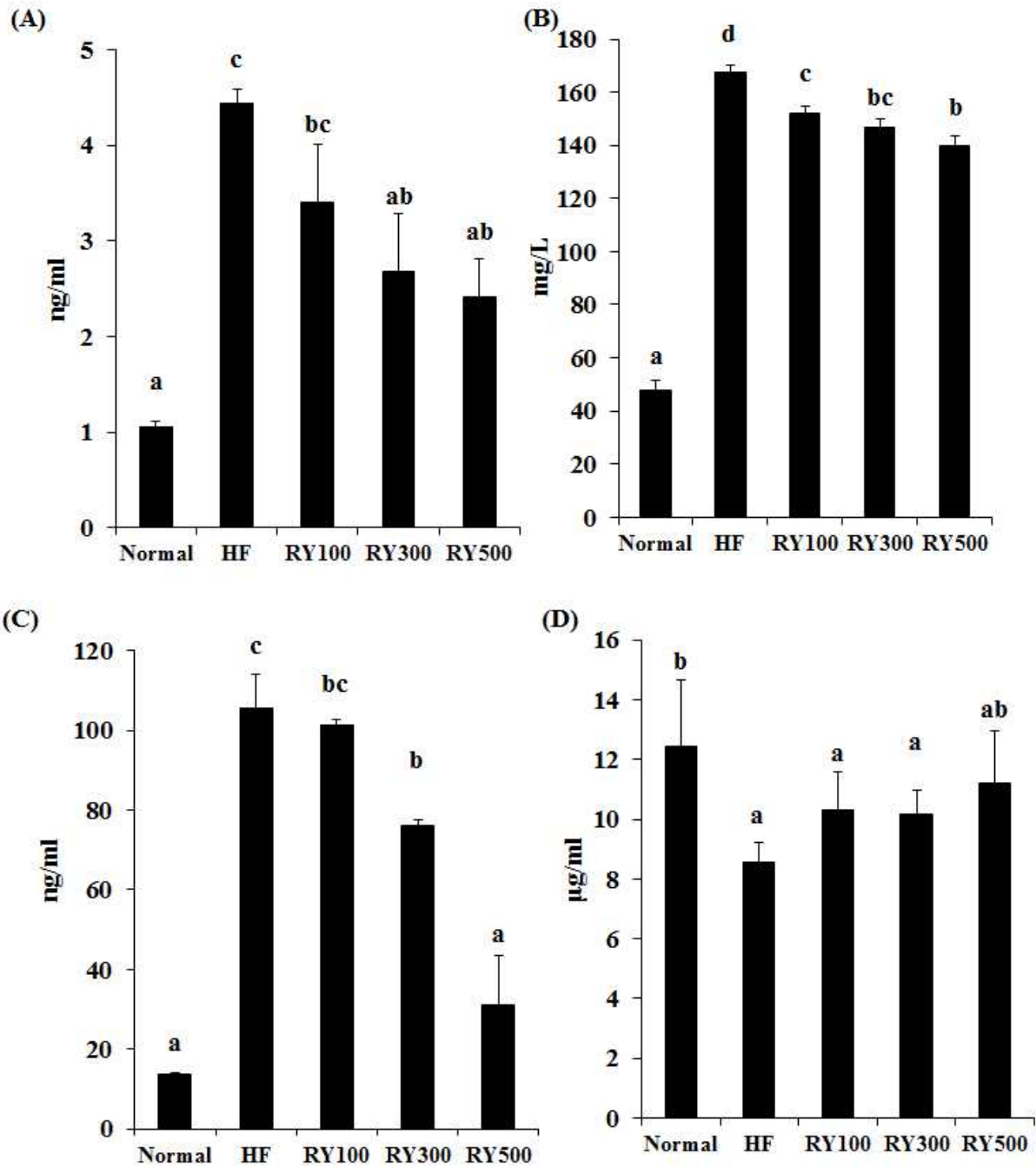


Fig. Effects of RY on serum glucose (A) insulin (B) leptin (C) and adiponectin (D) in mice fed a high-fat-diet. The values are expressed as the means \pm S.E. abcMeans not sharing a common letter are significantly different between groups based on one-way ANOVA with Duncan's multiple-range post hoc test at $p < 0.05$.

㊦ 고지방식이로 유도된 고지혈증 진화 모델에서 간 및 지방조직의 병리학적 조직검사 H&E 염색을 통하여 간조직 및 white adipose tissue 에 속하는 부고환지방의 형태를 관찰한 결과는 Fig. . 에 나타내었다. Normal 군에 비하여 HF군의 간조직에서는 정상군에 비하여 많은 지방구가 관

찰되었으며, 모든 물질 섭취군에서는 지방구가 감소한 것을 볼 수 있었다. 또한, HF군은 Normal 군에 비하여 지방세포의 크기가 커진 반면 물질 섭취군에서는 농도 의존적으로 지방세포의 크기가 감소하였다. 이를 통하여 물추출물의 섭취는 간 조직내의 및 지방조직의 지방축적을 효과적으로 개선할 것으로 사료된다.

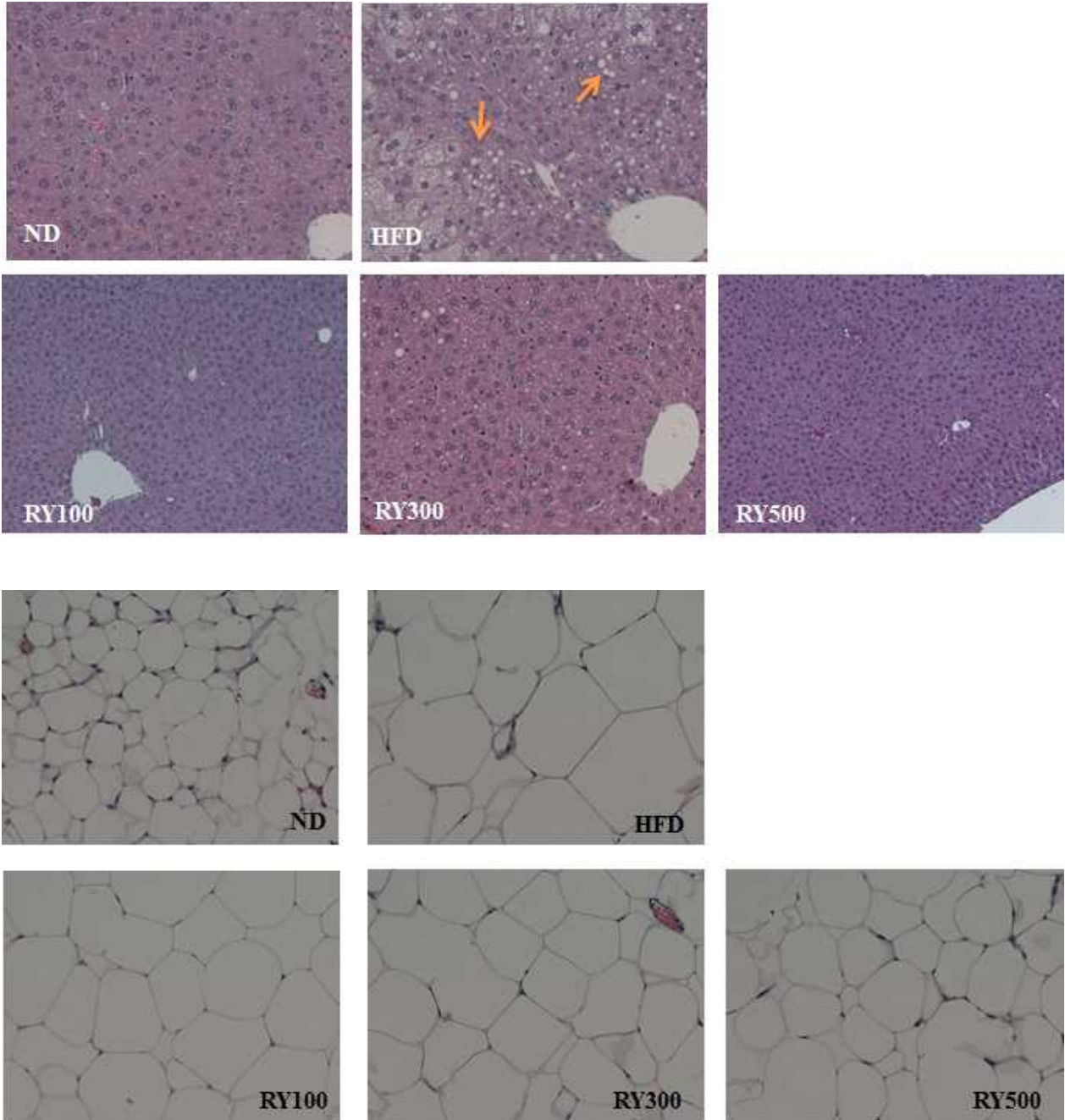


Fig. Effects of RY on hepatic fat accumulation (upper) and size of adipocyte (bottom) in mice fed a high-fat-diet (200X).

(다) 연구개발 성과 및 활용계획

① 논문 : 식방풍잎의 물추출물이 3T3-L1 세포와 고지방식이로 유도된 마우스에서 항비만 효과. 한국자원식물학회지. 29(1):001-010(2016)

Korom J. Plant Res. 29(1):001-010(2016)
http://dx.doi.org/10.7731/kjpr.2016.29.1.001

Print ISSN 1226-3591
Online ISSN 2287-8203

Original Research Article

식방풍잎(*Peucedanum japonicum* Thunberg L.)의 물추출물이 3T3-L1 세포와 고지방식이로 유도된 마우스에서 항비만 효과

정호경, 심미옥, 장지훈, 김태욱, 안병관, 김민석, 정원석*
전남한방산업진흥원

Anti-obesity Effects of *Peucedanum japonicum* Thunberg L. on 3T3-L1 Cells and High-fat Diet-induced Obese Mice

Ho-Kyung Jung, Mi-Ok Sim, Ji-Hun Jang, Tae-Muk Kim, Byeong-Kwan An,
Min-Suk Kim and Won Seok Jung*
Jeollanamdo Development Institute of Korean Traditional Medicine, Jangheung 59338, Korea

Abstract - Obesity is a pro-inflammatory state that contributes to the development of metabolic disorders such as hyperlipidemia, insulin resistance, type 2 diabetes, non-alcoholic fatty liver, and cardiovascular disease. In this study, we evaluated the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 cells and in high-fat diet (HFD)-induced obese mice by *Peucedanum japonicum* Thunberg L. water extract (PJT). Lipid accumulation measurement indicates that PJT markedly inhibited adipogenesis in a dose-dependent manner. RT-PCR results demonstrated that the mRNA expression of adipogenic transcription factors such as peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) and CCAAT/enhancer binding protein- α (C/EBP α) in 3T3-L1 cells were significantly down-regulated by PJT treatment. Oral administration of PJT (100, 300, and 500 mg/kg, b.w./daily for 4 weeks) was conducted in high-fat diet induced obese mice and C57BL/6 mice. The PJT-administered group of HFD-induced mice had a lower body weight gain, along with decreased serum levels of glucose, triglycerides, and total cholesterol compared with the control mice, however, the HDL-cholesterol/total cholesterol ratio was increased. Furthermore, the elevated mRNA expression levels of adipogenesis related genes in the white adipose tissue of obese mice were significantly suppressed by PJT. These results indicate that PJT exhibits anti-obesity effects in obese mice by decreasing in serum lipid levels and lipogenesis related gene.

Key words - Adipogenesis, C/EBP α , Fas, Lipogenesis, PPAR γ , SREBP-1c

서 언

최근 비만인구는 서구화된 생활습관으로 인해 지속적으로 증가 하고 있으며, 특히 2014년에는 전 세계 성인의 19%가 비만 인구가 나타났다(Sim *et al.*, 2015). 비만은 소모하는 열량에 비해 과다한 열량을 섭취함으로써 여분의 열량이 체내에 과도하게 축적되어 제2형 당뇨병, 심혈관계 질환, 각종 암 및 고지혈증과 같은 만성질환의 발병원인으로 간주된다(Sung *et al.*, 2014). 지방축적은 지방세포의 과형성과 지방축적에 의한 지방세포의

비대에 의한 결과라고 할 수 있다. 지방세포의 과형성은 지방전구세포의 증식과 분화에 의해 조절되며, 지방세포의 비대는 지방의 합성과 지방분해의 균형에 의해 조절된다(Yang *et al.*, 2008). 또한, 지방세포의 분화에 따라 중성지방의 합성이 증가하여 지방세포의 크기를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 즉, 지방세포의 과형성, 비대 또는 크기 증가는 식사조절로는 억제할 수 없으므로 비만의 근본적 치료 또는 억제법 제어하기 위해서는 지방세포의 분화과정을 조절하여, 지방축적을 억제하는 것이 중요하다(Nagai *et al.*, 2014).

지방세포 형성(adipogenesis) 과정에 관여하는 중요한 인자로는 peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ), CCAAT-enhancer-binding protein α (C/EBP α)가 있다(Honocari

*교신저자: i0823@nicom.com
Tel. +82-61-860-2812

© 본 학회지의 저작권은 (사)한국자원식물학회지에 있으며, 이의 무단 전재나 복제를 금합니다.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

② 논문 : 지방분화가 유도된 3T3-L1 세포와 고지방식이로 유도된 마우스에서 보리순 물추출물의 항비만 효과 한국약용작물학회지. 25(6):1-8(2017)



지방분화가 유도된 3T3-L1 세포와 고지방식이로 유도된 마우스에서 보리순 추출물의 항비만 효과

강병만* · 심미옥* · 김민석* · 유승진** · 여준환* · 정원석*
*한약진흥재단 한약자원본부, **제대비디온

Anti-obesity Effects of Barley Sprout Young Leaf on 3T3-L1 Cells and High-fat Diet-induced Obese Mice

Byoung Man Kang*, Mi Ok Sim*, Min Suk Kim*, Seung Jin Yoo**, Jun Hwan Yeo* and Won Seok Jung*

*Division of Traditional Korean Medicine Resource, NIKOM, Jangheung 59338, Korea
**Jedason Co., Ltd., Gwangju 61238, Korea.

ABSTRACT

Background: An imbalance in energy intake and expenditure can cause obesity, which is a major risk factor for chronic diseases such as heart disease, type 2 diabetes, insulin resistance, cancers and hyperlipidemia.

Methods and Results: In this study, we evaluated the anti-obesity effects of a water extract from the young leaves of barley sprout (BS) in 3T3-L1 cells and in high-fat diet (HFD)-induced obese mice (HF). Lipid accumulation measurement indicates that BS markedly inhibited adipogenesis by reducing lipid droplet production in a dose-dependent manner. Furthermore, the mRNA expression of adipogenic transcription factors peroxisome proliferator-activated receptor-γ and fatty acid synthetase, CCAAT/enhancer binding protein-α and fatty acid binding protein 4 in 3T3-L1 cells was significantly inhibited by BS treatment. In an *in vivo* test, the BS-administered group of HFD-induced mice showed less body weight gain, and lower liver and epididymal white adipose tissue weights. The BS-treated mice showed decreased serum levels of leptin and lipids compared to untreated HFD mice and the levels of adiponectin and the HDL-cholesterol/total cholesterol ratio increased. These results indicate that BS inhibits body fat accumulation by reducing the mRNA expression of lipogenesis transcription factors and increasing serum adipokine concentration in *in vitro* and *in vivo* tests.

Conclusions: BS reduced high fat diet-induced weight gain and had a positive effect on dyslipidemia.

Key Words: *Hordeum vulgare* L., Adipogenesis, C/EBPα, FAS, Lipogenesis, PPARγ, C/EBPβ

서 언

비만은 에너지 필요한 에너지보다 과다 섭취하거나 섭취된 에너지보다 적게 소비함에 따라 발생하는 인체 내의 에너지 불균형의 상태를 말한다. 비만의 원인은 호르몬의 변화, 유전, 정신 건강 문제, 사회적경제 요인 등이 복합적으로 관여되어 있으며, 고지혈증, 심혈관계 질환, 제 2 형 당뇨병, 각종 암과 같은 만성질환의 발병원인으로 간주된다 (Jung et al., 2014;

Seo et al., 2017).

지방세포의 증식과 분화는 지방세포의 과형성과 지방축적을 초래하며, 이는 지방세포 비대를 유도한다 (Yang et al., 2008). 즉, 단순한 식이조절로는 지방세포의 과형성, 비대를 억제할 수 없으므로 비만의 억제와 증식의 치료를 위해서는 지방세포의 분화를 조절하는 것이 지방축적을 억제할 수 있는 중요한 방법이다 (Nagai et al., 2014).

지방세포 분화 (adipogenesis) 과정에 관여하는 중요한 전사

*Corresponding author: (Phone) +82-61-860-2812 (E-mail) 10823@nikom.ocr
Received 2017 September 12 / 1st Revised 2017 October 11 / 2nd Revised 2017 November 3 / 3rd Revised 2017 November 20 / Accepted 2017 November 22

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

③ 특허 : 식지방 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 또는 고지혈증 예방 또는 치료용 조성물. 국내 실용신안 출원 10-2015-0113096

관인생략 출원번호통지서

출원 일자 2015.08.11
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원 번호 10-2015-0113096 (접수번호 1-1-2015-0776632-90)
출원인 명칭 재단법인 전남생물산업진흥원(2-2006-038590-8)
대리인 성명 정성중(9-2006-000773-3)
발명자 성명 조정희 조현우 정호경 장지훈 안병관 정원석 심미옥 김태욱
발명의 명칭 식지방 추출물을 유효성분으로 포함하는 비만 또는 고지혈증의 예방 또는 치료용 조성물

④ 학회발표 : *Hordeum vulgare* L. Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Cells and Alleviates Hyperlipidemia in High-fat Diet-induced Obese Mice. 2015 한국식품영양과학회 학술대회집. P09-281/p.417

P09-281

Hordeum vulgare L. Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Cells and Alleviates Hyperlipidemia in High-fat Diet-induced Obese Mice.

Ji Hun Jang^{1*}, Ho Kyung Jung¹, Mi OK Sim¹, Ji Yun Byeon¹, Tae Muk Kim¹, Byoung Kwan An, Jung Hee Cho¹ and Won Seok Jung¹. Jeollanamdo Development Institute of Korean Traditional Medicine, Jangheung 529-851, Republic of Korea

Obesity contributes to the development of metabolic disorders such as hyperlipidemia, insulin resistance, type 2 diabetes, non-alcoholic fatty liver, and cardiovascular disease. In this study, the antiobesity effects of a *Hordeum vulgare L.* water extract (HV) was evaluated for inhibitory effects on adipogenesis in 3T3-L1 cells and anti-hyperlipidemia effects in high-fat diet (HFD)-induced obese mice. Lipid accumulation measurement indicated that HV markedly inhibited adipogenesis in a dose-dependent manner. RT-PCR results demonstrated that mRNA expression of adipogenic transcription factors such as peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) and CCAAT/enhancer binding protein- α (C/EBP α) in 3T3-L1 cells were significantly down regulated by HV treatment. In a mouse model, HV was orally administrated (100, 300, and 500 mg/kg, b.w./daily for 6 weeks) with high-fat diet (60% of total calories as fat) to C57BL/6 mice. HV group reduced the HFD-induced increase in body weight. HV administration also decreased serum levels of glucose, triglycerides, and total cholesterol compared to the control mice, whereas HDL-cholesterol/total cholesterol ratio was increased. Furthermore, HV significantly suppressed the elevated mRNA expression levels of adipogenesis related gene expression in the white adipose tissue of obese mice. These results indicate that HV exhibit hypotriglyceremic property in obese mice by decreased serum lipid level and lipogenesis related gene.

⑤ 학회발표 : Antiobesity effects of *Peucedanum japonicum* Thunberg L. Bioactivities in 3T3-L1 Cells and in High-fat Diet-induced Obese Mice. 2015 한국자원식물학회 학술대회집. p 106

Antiobesity effects of *Peucedanum japonicum* Thunberg L. Bioactivities in 3T3-L1 Cells and in High-fat Diet-induced Obese Mice

Ji Hun Jang¹, Ho Kyung Jung, Mi OK Sim, Ji Yun Byeon, Tae Muk Kim, Byoung Kwan An, Jung Hee Cho and Won Seok Jung
Jeollanamdo Development Institute of Korean Traditional Medicine, Jangheung 529-851, Republic of Korea

ABSTRACT

Obesity contributes to the development of metabolic disorders such as hyperlipidemia, insulin resistance, type 2 diabetes, non-alcoholic fatty liver, and cardiovascular disease. In this study, the antiobesity effects of a *Peucedanum japonicum* Thunberg L. water extract (PJT) was evaluated for inhibitory effects on adipogenesis in 3T3-L1 cells and anti-hyperlipidemia effects in high-fat diet (HFD)-induced obese mice. Lipid accumulation measurement indicated that PJT markedly inhibited adipogenesis in a dose-dependent manner. RT-PCR results demonstrated that mRNA expression of adipogenic transcription factors such as peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) and CCAAT/enhancer binding protein- α (C/EBP α) in 3T3-L1 cells were significantly down regulated by PJT treatment. In a mouse model, PJT was orally administrated (100, 300, and 500 mg/kg, b.w./daily for 6 weeks) with high-fat diet (60% of total calories as fat) to C57BL/6 mice. PJT group reduced the HFD-induced increase in body weight. PJT administration also decreased serum levels of glucose, triglycerides, and total cholesterol compared to the control mice, whereas HDL-cholesterol/total cholesterol ratio was increased. Furthermore, PJT significantly suppressed the elevated mRNA expression levels of adipogenesis related gene expression in the white adipose tissue of obese mice. These results indicate that PJT exhibit hypotriglyceremic property in obese mice by decreased serum lipid level and lipogenesis related gene.

RESULTS

INTRODUCTION

MATERIALS AND METHODS

CONCLUSION

In conclusion, PJT may be effective anti-obesity property via suppressed adipogenesis in 3T3-L1 cells. In vivo study, PJT may reduce serum lipid levels and body weight. These results demonstrate that PJT shows potential hypotriglyceremic in high-fat diet induced obese mice. Further study will be used to identify the specific active ingredients involved by PJT in prevent used for lipid obesity or hypotriglyceremic.

This work was supported by Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (PET, B14002-03-1-HD020) tkm

다. 면역증진 효과 기능성 검증 (생맥산, 동충하초배양쌀)

(1) 생맥산 면역증진 효과 검증

항피로효과 및 면역력증강 등의 자양강장 효과를 평가하는 방법으로는 강제유영법이 널리 이용되고 있다. 강제수영부하실험(Forced swimming test, FST)은 항우울제 효과를 관찰하기 위한 설치류에 대한 행동실험에서 시작되었지만 최근에는 항피로 및 지구력 테스트에 사용되고 있다. 수중에서는 비중과 열전도성이 공기중과는 다르기 때문에 체온이 저하하고 열생산이 증가함으로써 많은 열량이 소비되며 근육운동의 대부분은 골격근에서 이루어지게 된다. 이와 같은 근육운동에 따른 근육의 피로는 일시에 다량의 에너지를 소모시키고 근육에 대사산물을 축적시키며 그로 인한 혈액순환과 체온변화 등의 원인이 되는 것으로 알려져 있다(Kim 등, 2009). 관련하여 Glucose(Glc), blood urea nitrogen(BUN), lactate dehydrogenase(LDH) 및 creatine kinase(CK)는 근육의 피로와 연관된 생화학적 지표이다.

따라서 강제수영부하시험은 이와 같은 생화학적 지표물질을 분석함으로써 생체 내 실험 중에서도 항피로, 지구력 증강 및 면역력 증강 등의 효능을 평가할 수 있는 매우 효과적이고도 적합한 실험모델로 널리 이용되고 있는 것이다.

(가) 실험 방법

① 생맥산 시료 제작

실험에 사용한 생맥산 원재료인 오미자, 인삼, 맥문동은 옴니허브에서 구입하였다. 생맥산 배합비율(오미자 2:인삼 3:맥문동 7)로 배합하여 1kg 당 20L용량의 물을 첨가하여 95℃ 3시간 전탕하여 2회 추출한 후 여과하여 불순물을 제거하였다. 추출한 시료는 Freeze dry(PVTFD20R, 일신랩(주), 대한민국)를 사용하여 동결건조(Ilshin, Korea) 시킨 후 실험 시료로 사용하였다.

② 실험동물 및 실험군

실험동물은 체중 16~18g의 수컷 ICR계 마우스를 샘타코에서 구입하여 1주일간 실험실내 사육실 조건에 적응하도록 하였다. 사육실의 온도(22±2℃)와 상대습도(60±5%)는 항상 일정하게 유지하였으며 명암은 12시간 주기를 유지하였다. 실험은 대조군(Control)을 포함하여 생맥산 (SMS) 투여군 0.1, 0.2, 0.3 g/kg 그룹으로 나누어 실시하였으며 실험군의 동물의 수는 각각 6 마리씩 구성하였다. 실험기간 중 고형사료와 물은 자유로이 섭취시켰다.

③ 강제수영부하시험(Forced swimming test, FST)

강제수영부하시험은 Porsolt 등(1977) 방법에 따라 높이 25 cm, 직경 10 cm의 투명한 아크릴 원형실린더 2개를 제작하여 다음과 같이 실시하였다. 온도 23~25℃의 물을 마우스의 꼬리가 바닥에 닿지 않을 정도의 높이인 10cm 내외로 채워 수조로 사용하였고 두개의 실린더 사이에는 불투명한 막을 설치하여 마우스가 서로 보지 못하도록 하였다. 강제수영시험은 마우스를 원형실린더에 각각 한 마리씩 강제로 빠뜨려 수영시키며 6분 동안 관찰하여 실시하였다. 물에 빠진 마우스는 처음에는 빠져나가려 심한 저항을 보이면서 활발히 움직이지만 시간이 흐를수록 서서히 활동이 느려지면서 수면위로 머리만 내미는 부동자세를 취하게 된다. 총 6분 동안 이와 같은 방법을 되풀이하여 관찰시간 6분 중 초기 2분이 경과된 후 나머지 4분 동안 마우스가 부동상태로 있는 시간을 측정하였다. 부동시간은 마우스가 얼굴을 포함한 상체의 일부분만 수면위로 드러낸채 정지상태에서 위쪽을 향해 떠있는 시간을 말한다. 강제부하수영시험은 검액을 투여하면서 3, 7 및 14일이 되는 날에 시행하였다.

④ 혈청분석

강제수영부하 실험 종료 시 마우스의 복강에 ketamine(80 mg/kg) 과 xylazine(4 mg/kg)을 투여하여

마취시켰다. 마취된 마우스에서 심장 채혈을 통해 혈액을 채취한 후 4℃에서 10,000 rpm의 속도로 10분 동안 원심분리하여 혈청을 사용하였다. 분리한 혈청으로 혈장요소태질소(BUN; blood urea nitrogen), Creatine kinase(CK) 효소활성도, Lactate dehydrogenase(LDH) 효소활성도 및 glucose 함량(Glc)을 혈액 생화학 분석기를 이용하여 측정하였다.

(나) 결과

① 부동시간 억제 효과

강제부하수영시험과 같이 마우스를 도피 불가능한 수조에 빠뜨리면 처음에는 출구를 찾아 격렬히 수영을 하다가 결국은 코를 수면위에 내놓기 위한 최소한의 동작과 같은 특징적인 부동자세를 취하게 된다. 이는 결국 수영을 하다 포기하는 일종의 좌절양상을 나타냄을 의미하며 따라서 부동시간이 감소된다는 것은 수영유지를 위한 체력 및 지구력 증진과 관련이 있음을 시사한다. 생맥산이 부동시간 감소효과에 미치는 영향을 Fig. .에 나타내었다. 검액 투여 3일후 마우스의 부동시간은 대조군이 130.8 sec 인 것에 반해 생맥산 투여군이 0.1, 0.2, 및 0.3 g/kg bw 의 농도에 따라 각각 160.8 sec, 125.6 sec 및 149.6 sec 와 같이 대조군과 유사한 것으로 나타났다. 검액 투여 7일 경과후의 강제수영부하시험에서는 생맥산 투여군이 0.1, 0.2, 및 0.3 g/kg bw 의 농도에 따라 부동시간이 유의 성 있게 감소하였으며, 최종 14일 째에는 그 감소폭이 더 현저하게 커졌다. 이는 적작약 등 다른 연구에서 볼 수 있는 것과 유사하게 생맥산이 항피로와 자양강장 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

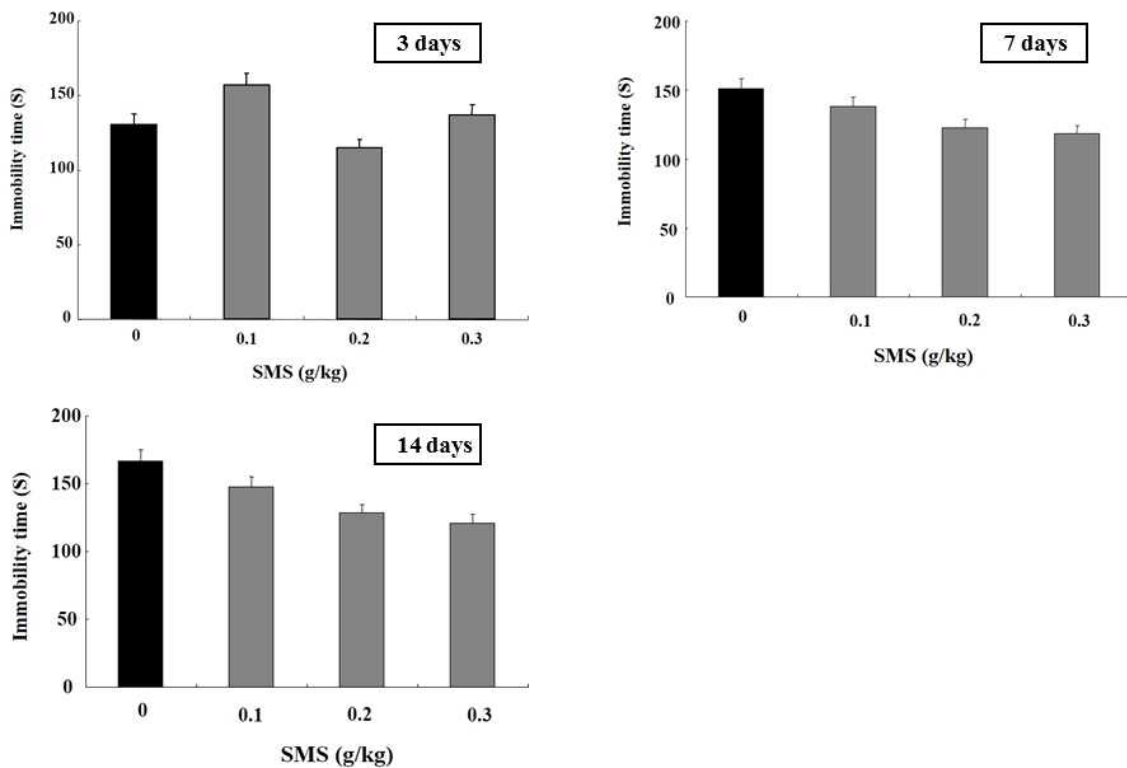


Fig. Effect of SMS on the immobility time induced by the forced swimming test in mice. 0, saline solution; SMS, SeangMekSan

② Blood urea nitrogen 함량변화와 신장기능 향상효과

일반적으로 강제부하수영시험을 실시하면 피로와 관련된 여러 가지 혈중 생화학적 지표물질의 농도가 변화하게 된다(Nakagawasi 등., 2001). 그중에서도 혈장요소태질소(BUN, blood urea nitrogen)은 신장기능을 나타내는 지표로서 강제부하수영시험 후 신기능이 저하되면서 BUN 수치는 증가하는 경

향이 있는 것으로 알려져 있다(Mashiko 등., 2004). 요소는 단백질 대사산물로 간에서 생성되는데 소화중 단백질은 아미노산으로 분해되고 아미노산의 질소는 ammonium ion의 형태로 제거된다.

생맥산이 마우스의 강제부하수영시험 종료 후 혈청 내 BUN 수치변화에 미치는 영향을 그림에 나타내었다. 강제 유영을 시킨 후 BUN level은 대조군의 21.92 ± 4.22 mg/dL에 비해 생맥산투여군 0.1, 0.2 및 0.3 g/kg 에서는 19.8 ± 2.42 , 18.6 ± 2.61 , 17.2 ± 2.22 mg/dL로 농도 유의적으로 감소하였다. 이는 생맥산이 신장기능 향상에 더욱 효과적임을 시사하고 있다.

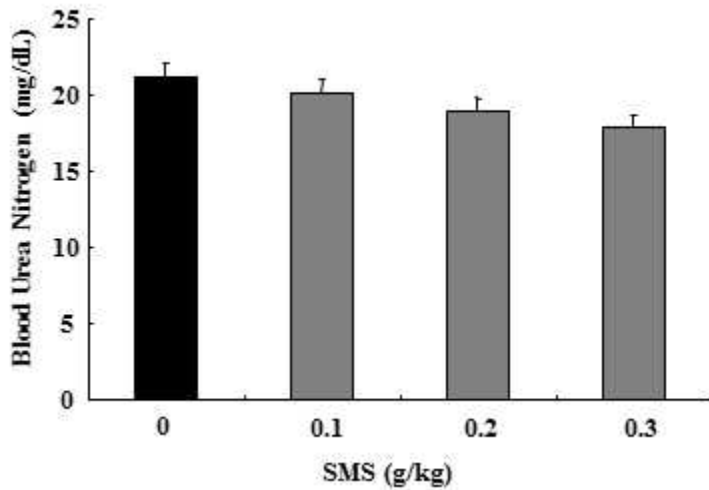


Fig. Effect of SMS on blood urea nitrogen(BUN) level in the forced swimming mice after 14 day's administration.

③ CK 및 LDH 효소활성도 변화와 근육손상 억제효과

creatine kinase(CK) activity 및 Lactate dehydrogenase(LDH) activity 는 근육손상을 나타내는 지표로서((Burr 등. 1997, Coombes & McNaughton 2000) 강제부하수영시험 후 증가하는 경향이 있다(Toshitsugu 등., 1996). 근육은 산소를 이용하여 당분해 작용을 하기 때문에 평소 산소가 충분한 상태에서는 유산소성 당분해가 일어나지만 격렬한 운동에 의해 산소가 부족한 상태가 되면 무산소성 당분해 작용이 일어난다. 이때는 조직과 혈액중에 pyruvate가 과량으로 축적되며 이 pyruvate는 산소부족으로 lactate dehydrogenase(LDH)에 의하여 재산화되어 NAD(nicotinamide adenine dinucleotide)와 젖산(lactic acid)으로 환원된다(Kim 등. 2009). 따라서 혈청 LDH 활성도는 운동 후 상승하게 되며 이는 골격근에 대한 부담을 증가시키게 되므로 근육손상의 지표로 삼을 수 있는 것이다. 강제수영부하시험 후 채취한 마우스 혈청중의 LDH 및 CK 분석결과를 Fig. .에 나타내었다. CK효소 활성도는 대조군의 0.59 ± 0.04 mg/dL에 비해 생맥산 투여군은 농도의존적으로 현저하게 감소하였으며, LDH 효소활성도는 대조군의 2861.04 ± 135.16 IU/L에 비해 생맥산 투여군 0.3 g/kg 에서 2250.74 ± 10.58 IU/L로 유의성 있게 감소한 것으로 나타났다(Fig. .). 따라서 생맥산은 CK와 LDH의 상승억제에 매우 효과적인 것으로 보인다.

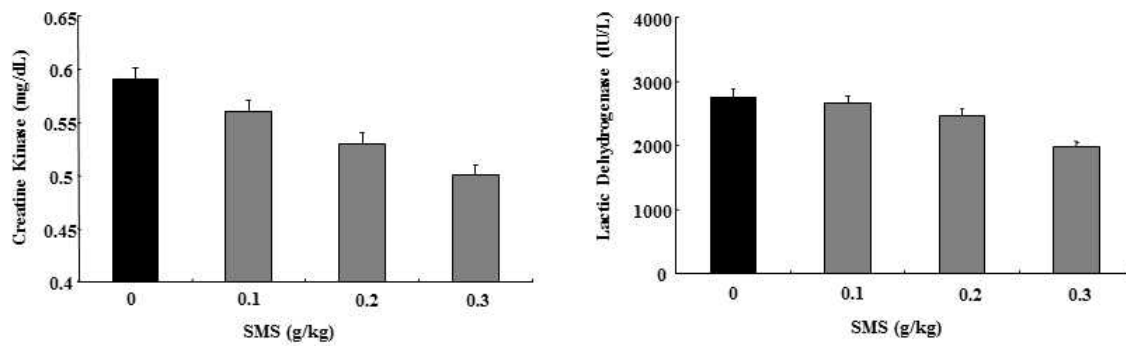


Fig. Effect of SMS on blood creatine(CK) level and lactic acid dehydrogenase(LDH) activity in the forced swimming mice after 14 day's administration.

④ Glucose level과 에너지 대사원으로서의 효과

Glucose는 체내 에너지 대사원으로서 강제부하수영시험 후 근육활동에 따라 감소한다. 즉, 운동중의 근육은 glucose를 lactate로 전환시키고 이 lactate는 혈액을 통해 최종적으로 간에 들어간다. 간에서는 다시 lactate를 glucose로 전환시키고 혈액에 방출하면 이 glucose는 체내의 주요 에너지원으로 이용되게 된다.

대조군의 174.2 ± 4.35 mg/dL 보다 생맥산 투여군은 0.3 g/kg 241 ± 3.4 mg/dL로 유의적으로 높은 것으로 나타났다(Fig.). 이는 생맥산이 체내의 에너지원으로 작용하고 있는 glucose 생성대사에도 간접적으로 관여하고 있음을 시사한다.

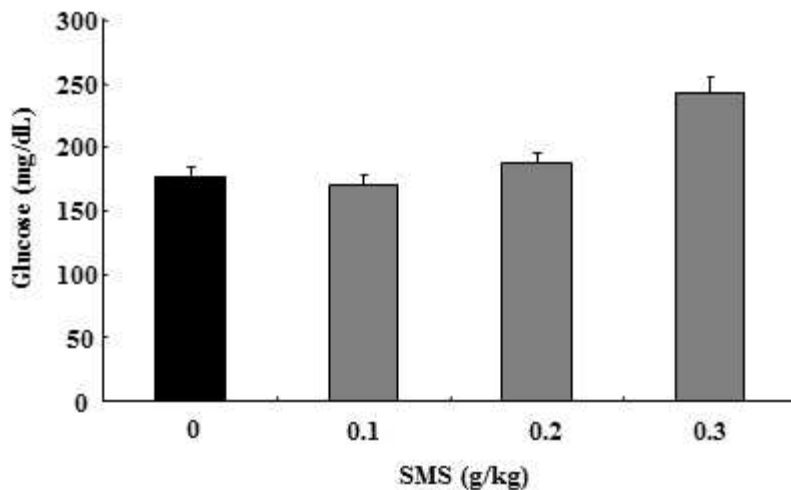


Fig. Effect of SMS on blood Glucose level in the forced swimming mice after 14 day's administration.

(2) 동충하초 배양쌀 면역증진 효과 검증

동충하초는 고대로부터 생물소재 가치를 인정 받아온 고부가가치 생물소재로서 세계적으로 건강기능성 가치가 널리 알려진 약용버섯류이다. 동충하초는 약리학 연구에 의해 면역증강, 항염, 항암, 항노화, 항아토피, 항바이러스, 간기능 및 성기능 개선 등에 효과가 있다고 보고되어 있다. 이에 면역관련 기능성을 평가하여 건강한 떡 제품으로 개발하고자 하였다.

(가) 재료 및 방법

① 시약

Dulbecco' modified eagle' medium (DMEM)과 fetal bovine serum (FBS), penicillin, streptomycin은 Gibco/BRL (Eggenstein, Germany)에서 구입하였고, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2Htetrazolium (MTS, CellTiter 96@Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay), Griess reagent system은 Promega(Madison, USA)에서 구입하였다. Lipopolysaccharide (LPS), dimethyl sulfoxide (DMSO)는 Sigma Chemical Co. (St.Louis, MO, USA)에서 구입하였고, TNF- α , IL-6의 enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) Kit는 R&D systems(DuoSet ELISA Development Systems, MN, USA)에서 구입하였다. iNOS, COX-2, I κ B α , p-I κ B α , β -actin antibodies는 Cell Signaling Technology Inc. (MA, USA)에서 구입하였다.

② 추출물 제조 및 세포 배양

동충하초 배양짚은 주관기관인 예다손에서 직접 배양하여 건조한 원료를 이용하였다. 동충하초 배양짚 500g을 80% 에탄올 (ethanol,w/v) 1 L를 투입하여 2 시간, 세 번 추출한 후, 추출액을 45 $^{\circ}$ C에서 감압농축 하여 에탄올을 증발시키고 동결건조 (Ilshin, Korea)하였다.

한국세포주은행 (KCRB,Seoul, Korea)으로부터 분양받은 마우스 대식세포주인 RAW 264.7 cell은 Penicillin/streptomycin 100 unit/ml과 10%FBS가 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

③ MTS 분석

동충하초배양짚 추출물의 RAW 264.7 cell에 대한 세포 독성 효과를 측정하기 위해 MTS assay를 실시하였다. 96 well plate에 1×10^7 cells/ml로 분주하였고 DMEM FBS 10% 조건에서 동충하초 배양짚 추출물을 농도별로 24시간 처리하였다. 그 후에 각각 세포 배양액 용량의 1/10 배의 MTS 용해액을 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 2 시간 배양한 후 ELISA microplate reader (Infinite 200 pro, TECAN, Austria)를 이용하여 490nm에서 흡광도를 측정하였다.

④ Nitric Oxide (NO) 농도 측정

LPS로 활성화된 RAW 264.7 cell에서 강황 잎 추출물의 NO생성 억제 효과를 측정하기 위해 동충하초배양짚 추출물을 10, 100, 500 μ g/ml 농도로 처리한 실험군과 대조군을 24시간 세포 배양 후 Griess reagent system (G2930, Promega, USA)를 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 세포 배양 상층액과 Griess reagent를 1 : 1로 혼합하여 넣고 10분 동안 반응 시킨후 ELISA microplate reader (Infinite 200 pro, TECAN, Austria)를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

⑤ Cytokine (TNF- α , IL-6) 측정

LPS (500 ng/ml)로 RAW 264.7 cell을 자극하기 전 강황 잎 추출물을 30분 동안 전처리 하였다. Pro-inflammatory cytokine의 염증매개물질의 생성에 미치는 약물의 효과를 검증하기 위해서 LPS로 자극한 후 24 시간 뒤 이들 염증매개와 관련된 cytokine을 세포 상층액에서 ELISA kit의 protocol 대로 ELISA법으로 정량하였다

⑥ 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 평균치 \pm 표준편차(mean \pm S.D.)로 나타내었으며, 대조군과 각 실험군과의 평균의 차이는 Student's t-test로 분석하여 p-value 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

(나) 결과 및 고찰

① 동충하초 배양쌀(CR)이 RAW 264.7의 세포생존율에 미치는 영향

동충하초 배양쌀 Cordyceps from brown rice(CR)의 독성을 조사하기 위해 MTS 실험을 수행하였다 (control군 $100 \pm 7\%$, $10 \mu\text{g/ml}$ CR군 $104 \pm 7\%$, $100 \mu\text{g/ml}$ CR군 $101 \pm 2\%$, $500 \mu\text{g/ml}$ CR군 $101 \pm 4\%$). CR를 각각 세포에 농도별로 처리하고 24시간 후에 MTS를 처리한 결과 처리한 농도에서는 독성이 없는 것으로 나타났다.

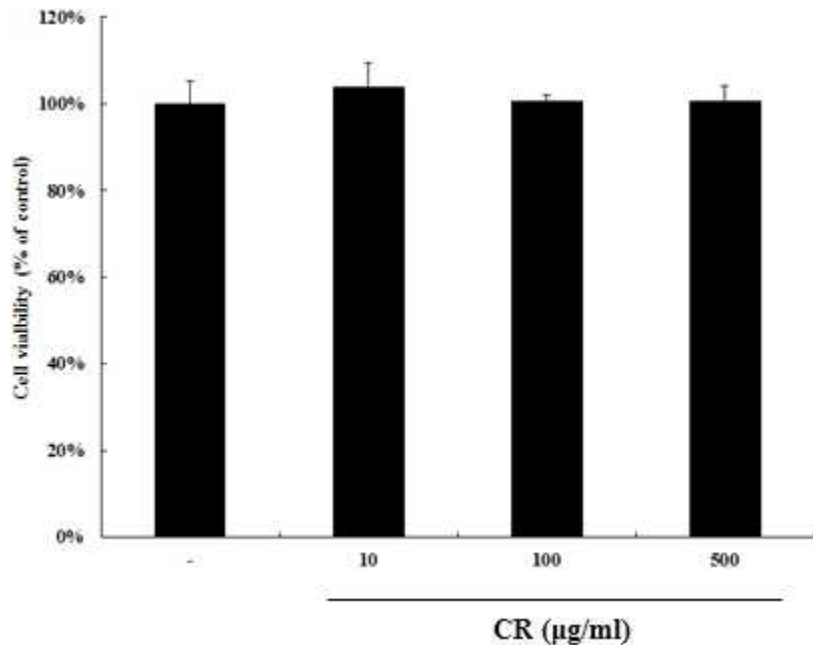


Fig. Effect of CR on cell viability in RAW 264.7 cells. Cell viability was evaluated with the MTS assay. Data represent the mean \pm SD of triplicate determinations from three separate experiments. (* $P < 0.05$ versus control)

② 동충하초 배양쌀(CR)이 RAW 264.7에서 LPS로 유도된 NO 생성에 미치는 영향

CR가 NO 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 CR를 $10, 100, 500 \mu\text{g/ml}$ 의 농도로 세포에 처리하여 생성되는 NO 양을 측정하였다. CR를 전 처리하고 LPS로 자극하여 24시간 후에 세포 상층액에서 NO의 생성을 측정한 결과 LPS만 처리한 군에서는 LPS 자극없이 CR 단독 처리군과 비교하여 NO의 생성량이 현저하게 증가하였으며 (control군 $0.92 \pm 0.037 \text{ uM}$, $10 \mu\text{g/ml}$ CR군 $1.03 \pm 0.141 \text{ uM}$, $100 \mu\text{g/ml}$ CR군 $1.26 \pm 0.517 \text{ uM}$, $500 \mu\text{g/ml}$ CR군 $1.30 \pm 0.162 \text{ uM}$, $1000 \mu\text{g/ml}$ CR군 $1.92 \pm 0.271 \text{ uM}$, LPS군 $24.83 \pm 0.183 \text{ uM}$, LPS + $10 \mu\text{g/ml}$ CR군 $6.62 \pm 0.486 \text{ uM}$, LPS + $100 \mu\text{g/ml}$ CR군 $5.53 \pm 0.010 \text{ uM}$, LPS + $500 \mu\text{g/ml}$ CR군 $1.98 \pm 0.172 \text{ uM}$), CR를 $10, 100, 500 \mu\text{g/ml}$ 농도로 전처리하고 LPS를 처리한 실험군에서는 농도 의존적으로 유의성 있게 NO의 생성을 억제하였다.

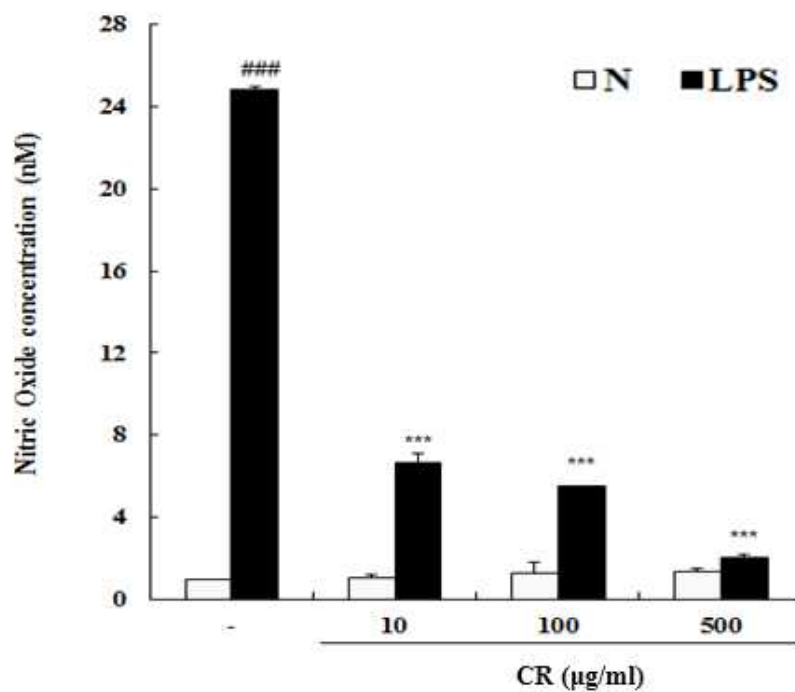


Fig. Effect of CR on LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells.

③ 동충하초 배양쌀(CR)이 RAW 264.7에서 LPS로 유도된 iNOS 발현에 미치는 영향

NO 생성 억제기작에 관한 iNOS 유전자의 관련성을 조사하기 위하여 Real-time PCR 분석을 이용하여 세포질 내에서의 iNOS 유전자 발현량을 조사하였다. 10, 100, 500 µg/ml의 농도로 1시간동안 전처리한 후 LPS(500 µg/ml)를 처리하였으며 LPS에는 iNOS 유전자 발현이 강하게 유도되었으나, LPS에 CR 10 µg/ml 이상 처리한 실험군에서는 LPS에 의한 iNOS의 발현량이 농도의존적으로 현저히 감소되는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. .)

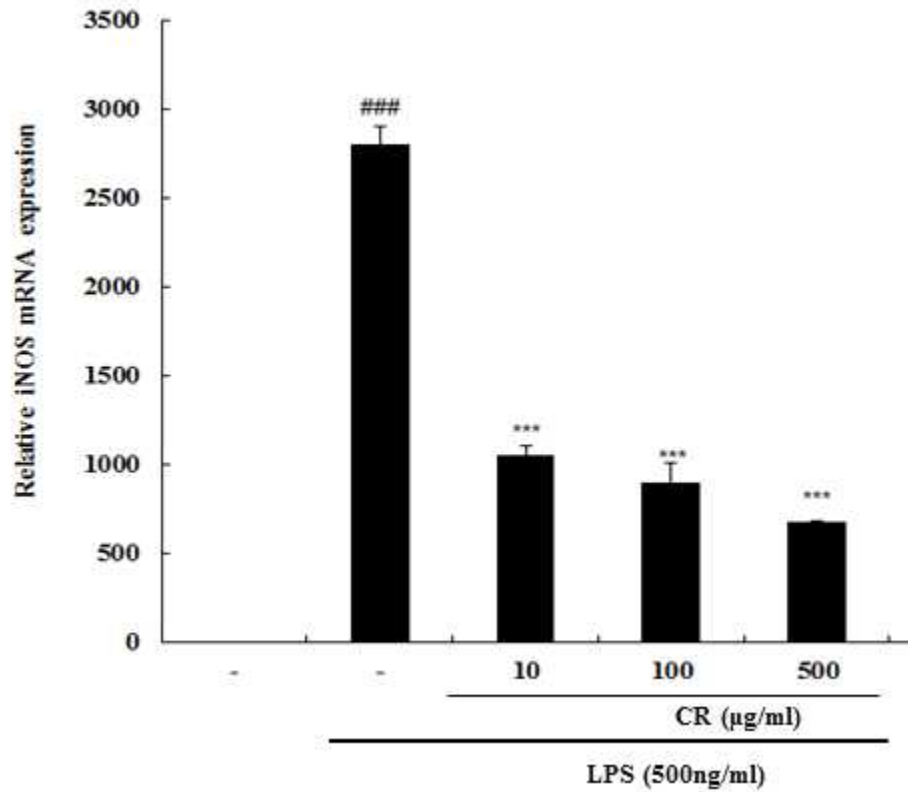


Fig. Inhibitory effect of CR on the LPS-induced iNOS mRNA expression in RAW 264.7 cells.

④ 동충하초 배양쌀(CR)이 RAW 264.7에서 LPS로 유도된 COX-2 유전자 발현에 미치는 영향
 COX-2는 각각 염증의 매개물질인 PGE2를 합성하는데 중요한 역할을 하는 효소이다. CR의 생성 억제 효과가 COX-2 단백질의 발현억제에 기인한것인지 조사하기 위해 Real-Time PCR을 수행하였다. LPS 처리시에는 COX-2 단백질 발현이 강하게 유도되었으나, LPS에 CR 10 µg/ml 이상 처리한 실험군에서는 LPS에 의한 COX-2의 유전자 발현량이 농도의존적으로 현저히 감소되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. .),

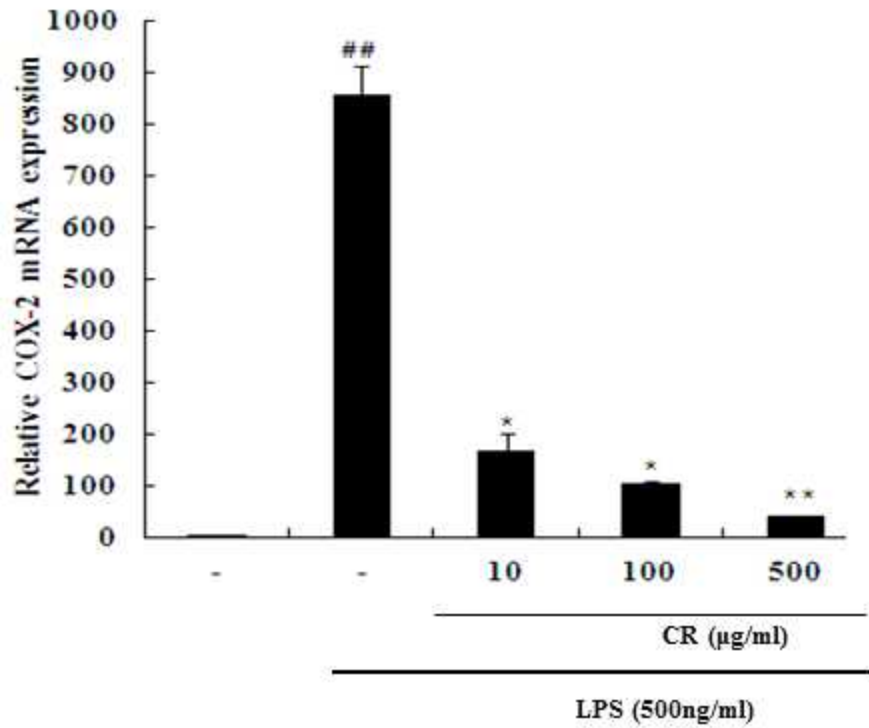


Fig. Inhibitory effect of CR on the LPS-induced COX-2 mRNA expression in RAW 264.7 cells.

⑤ 동충하초 배양쌀(CR)이 RAW 264.7에서 LPS로 유도된 PGE2 생성에 미치는 영향
 대식세포에서는 LPS와 같은 외부 자극등에 의해 염증반응이 일어나면 NO, PGS, 염증성 cytokine과 같은 다양한 물질을 생성하고 염증반응을 조절하는 다양한 병리적인 반응이 유도된다. 따라서 본연구는 CR이 PGE2의 생성에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행하였다. LPS 처리시에는 강하게 유도되었으나 LPS에 CR 10µg/ml 이상 처리한 실험군에서는 PGE2의 생성량이 농도 의존적으로 현저히 감소 되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. .)

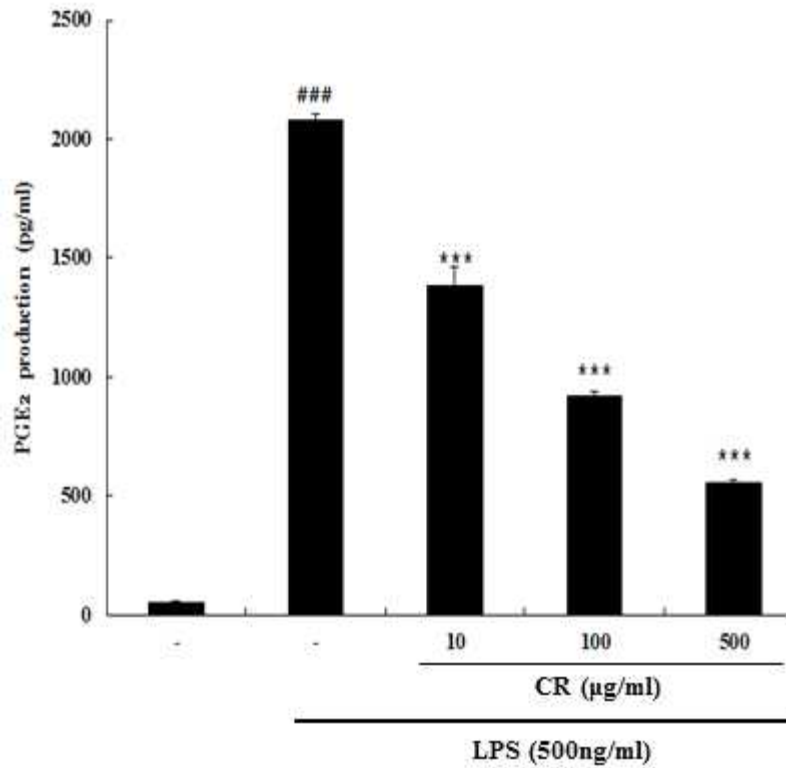



Fig. Inhibitory effect of CR extracts at different concentrations for synthesis of prostaglandin E2 (PGE2).

(다) 연구개발 성과 및 활용계획

① 특허 : 동충하초쌀라이스볼. 국내 상표 출원/등록 40-2016-0060636

관인생략
출원번호통지서

출원일자 2016.08.09
 특기사항
 출원번호 40-2016-0060636 (접수번호 1-1-2016-0771543-08)
 출원인명칭 한약진흥재단(1-2015-080615-1) 외 1명
 대리인성명 정성중(9-2006-000773-3)

동충하초쌀
라이스볼 

② 학회발표 : 뽕나무 심부 액즙이 RAW264.7세포에 미치는 항염증 효과. 2017 한국자원식물학회 학술대회집. p.272연구개발 성과 및 활용계획

뽕나무 심부 액즙이 RAW 264.7 세포에 미치는 항염증 효과

노종현, 정호경, 이호재, 최다솔, 강병만, 여준환, 정원석
한약진흥재단 한약자원본부

Anti-inflammatory Effect of the Central Part of *Morus alba* L. Sap on LPS-stimulated RAW 264.7 Cells

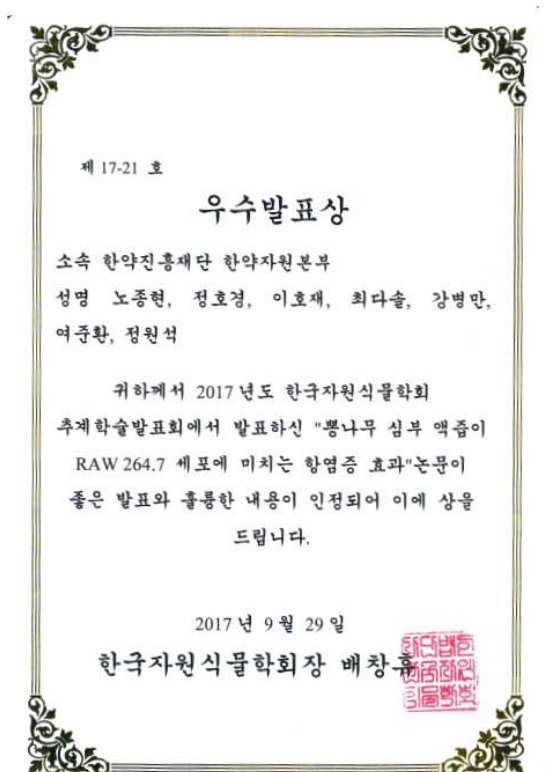
Jong-Hyun Nho, Ho-Kyung Jung, Ho-Jae Lee, Da-Sol Choi,
Byoung-Man Kang and Won-Seok Jung
National Development Institute of Korean Medicine

This study was conducted to compare anti-inflammatory effect of *Morus alba* L. using different extraction methods (water extraction or high temperature extraction). We investigated whether *Morus alba* L. extract (MA1, water extract from central part; MA2, high temperature extract from central part; MA3, water extract from bark; MA4, high temperature extract from bark) reduces lipopolysaccharide (LPS)-stimulated inflammatory responses in RAW 264.7 cell. Cells were treated with various concentrations (12.5, 25, 50, 100 or 200 µg/ml) of water extract or high temperature extract. Cytotoxicity of extracts was not observed in RAW 264.7 cells, LPS-induced NO (nitric oxide), PGE2 (prostaglandin E2), TNF-α, IL-6 or IL-1β production were reduced by MA2 more than MA1. However, M3 and M4 were less than inhibition effect to the NO production of M1 and M2. In conclusion, these results indicated that inflammatory response was improved by M2. Treatment of M2 could be used to natural medicine for improving inflammation. However, further experiment is required to observe how the high temperature extraction influences on the relationship between alteration of active ingredient and anti-inflammatory effect in *Morus alba* L.

Key words: *Morus alba* L., Extraction, Inflammation, RAW 264.7 cells

[본 연구는 농림수산식품부 기술사업화지원사업(IPET, 814002-03-1-HD020)에 의해 수행되었다.]

③ 수상 : 2017 한국자원식물학회 우수발표상 수상



2. 제품 표준화를 위한 성분 함량 평가 및 원료 표준화

가. 새싹보리 온도에 따른 발아조건 확립

새싹보리의 적정 발아온도 조건 확립을 위하여 15~30℃에서 발아율을 조사하였다. 새싹보리 종자는 치상 후 2일차에 발아를 시작하는 것으로 나타났으며, 치상 후 4일차에 발아온도 15~20℃에서 86%의 발아율을 나타냈으며, 25℃이상의 온도에서는 발아율이 현저히 떨어지는 경향을 나타냈다 (Fig.).

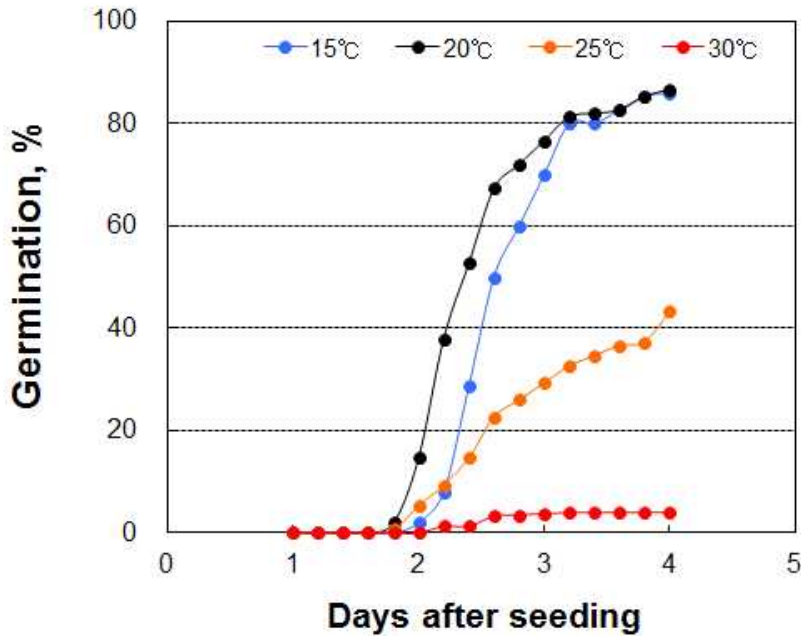


Fig. . Effect of temperatures on seed germination in *Hordeum Vulgare L.*

나. 새싹보리의 실내재배에 따른 생육특성 평가

새싹보리는 생육특성상 3월에서 4월까지 일반노지에서 한시적으로 생산되며, 이후에는 생산이 어려운 작물이다. 따라서 새싹보리의 연중생산을 위하여 실내에서 재배하였으며, 파종 후 7일부터 3일 간격으로 생육조사를 실시하였다. 새싹보리의 초장은 7일차에 5.2cm로 나타났으며, 10일차에는 10.5cm로 나타났다. 또한, 13일차에는 15.5cm로 나타났고, 16일차에는 16.6cm로 큰 차이를 나타나지 않았다. 따라서 파종 후 13일 이후부터 새싹보리의 수확이 가능할 것으로 사료된다(Table.).

Table . Change in growth characteristics by different growth time of *Hordeum Vulgare L.*

DAS ¹⁾	Plant height (cm)	Root length (cm)	Fresh weight (mg/plant)	dry weight (mg/plant)
7	5.2 ^{c2)}	6.8 ^d	144 ^c	7.2 ^c
10	10.5 ^b	10.2 ^c	168 ^b	8.1 ^b
13	15.5 ^a	14.4 ^b	204 ^a	10.3 ^a
16	16.6 ^a	19.2 ^a	212 ^a	10.6 ^a

1)DAS : Days after seeding

2)Same letters are not significantly differently by Duncan's multiple range test at 5% level.



새싹보리 파종 3일차



새싹보리 파종 5일차



새싹보리 파종 7일차



새싹보리 파종 10일차



새싹보리 파종 13일차

Fig. . Change in growth characteristics by different growth time of *Hordeum Vulgare* L.

다. LED 광질에 따른 새싹보리의 생육특성 및 기능성 평가

식물의 생육에서 광의 역할은 매우 중요하다. 식물을 둘러싼 광환경은 광질, 광의 강도, 일장 등 다양한 요소가 있으며, 이들이 상호 관련해서 식물에서 작용한다. 이러한 광환경은 식물의 생육은 물론, 기능성 생리활성에 영향을 미치고 있다. 따라서 LED 광원의 종류를 달리하여 새싹보리의 생육 및 기능성을 조사하였다.

본 실험은 2014년 4월 10일부터 6월 29일까지 한방산업진흥원 약용작물종자보급센터 LED 성장상에서 반복적으로 실시되었으며, LED 성장상은 120cm(L)*52cm(W)*48cm(H)의 크기로 상부에 LED가 부착되어 있고 상단에서 빛이 조사될 수 있는 구조로 되어있다. 또한 외부 광원의 유입을 막기 위하

여 암막 커튼을 설치하여 완전히 차광하였다. 각 성장상내의 LED광질은 백색광(W LED), 적색광(R LED), 청색광(B LED), 혼합광(M LED)으로 하였다(Fig.). 생육조사는 파종 후 13일차에 반복 당 20 개체씩 취하여 초장, 근장, 생체중을 조사하였고, 건물중을 측정하였다.

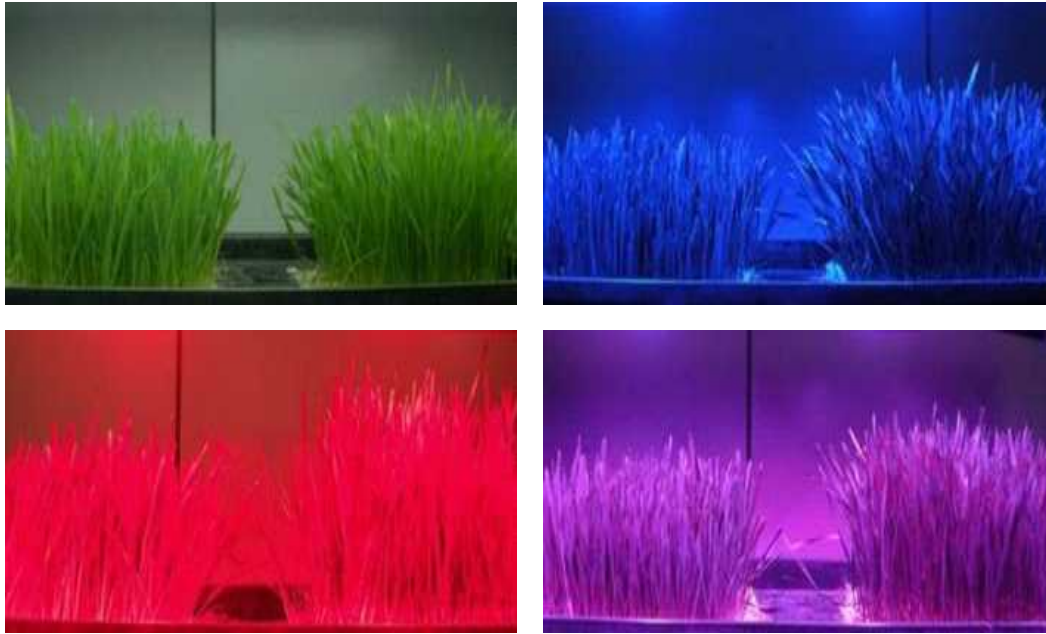


Fig. . Light quality treatment within growth phase.

LED광 처리에 따른 새싹보리의 생육특성은 Table 와 같다. 새싹보리의 초장은 혼합광에서 22.0cm로 가장 높게 나타났으며, 적색광(19.7cm), 백색광(18.3cm), 청색광(17.9cm) 순으로 나타났다. 또한, 근장은 혼합광에서 8.5cm로 가장 높게 나타났으며, 백색광(7.8cm), 적색광(6.8cm), 청색광(5.2cm) 순으로 나타났다. 생체중과 건물중은 혼합광에서 가장 높게 나타났으며, 백색광, 적색광, 청색광에 비하여 각각 34%, 38%, 41% 건물중이 증가하였다. 그러므로 새싹보리의 LED 재배시 혼합광 (W:R:B=3:1:1)을 이용하는 것은 다른 LED 광질에 비하여 수량성을 증대 시킬 수 있을 것으로 판단 된다.

Table 2. Effect of LED as light quality on the growth characteristics of *Hordeum Vulgare* L.

LED quality ¹⁾	Plant height (cm)	Root length (cm)	Fresh weight (mg/plant)	Dry weight (mg/plant)
W LED	18.3 ^{c2)}	7.8 ^b	165 ^b	8.7 ^b
R LED	19.7 ^b	6.8 ^{bc}	153 ^b	8.5 ^b
B LED	17.9 ^c	5.2 ^c	144 ^c	8.3 ^b
M LED	22.0 ^a	8.5 ^a	233 ^a	11.7 ^a

1)LED quality : White LED (W LED), Red LED (R LED), Blue LED (B LED), Mixed white+ red+ blue LED (M LED)

2) Same letters are not significantly differently by Duncan's multiple range test at 5% level.



Fig. . Effect of LED as light quality on the growth characteristics of *Hordeum Vulgare L.*

LED 광질에 따른 새싹보리의 생리활성을 평가하기 위하여 각각의 광조건에서 13일간 재배한 시료를 채취하여 45℃ 열풍건조기에서 24시간 건조한 ethanol로 24시간 동안 추출하여 감압농축한 시료를 사용하였다.

3. 천연색소 소재 지표성분 설정 및 함량 확인

가. 홍국을 첨가한 떡의 Monacolin K 정성분석

(1) 분석방법

(가) 검액 조제

시료 200 mg을 25 ml 용량플라스크에 담아 MeOH를 이용해 정용후 2시간동안 초음파 추출을 진행하였다.

(나) 표준액 조제

제공받은 표준품(Monacolin K) 2 mg 정밀히 칭량한 후 10 ml 용량플라스크에 Water를 이용해 용해시켰다.

(다) 분석조건

조제한 시료와 표준액의 LC-MS 기기분석 조건은 다음과 같다.

* Shimadzu UFLC-ESI-IT-TOF MS system

- LC conditions

· Column: Waters ACQUITY UPLC™ BEH C18 2.1 x 150 mm, 1.7 μm

· UV detector: 254 nm

· injection volume: 0.5 ul

· flow: 0.21 ml/min

- Solvent A: Water in 0.1% formic acid
- Solvent B: Acetonitrile
- MS conditions
- Nebulizing gas flow: 1.5 L/min
- CDL Temperature : 200°C
- Heat Block Temperature : 200°C

Mobile phase condition

Time (min)	Solvent B(%)
0	60
5	60
25	100
30	100
31	60
35	60

(2) Monacolin K 분석 결과

(가) STD 분석 결과

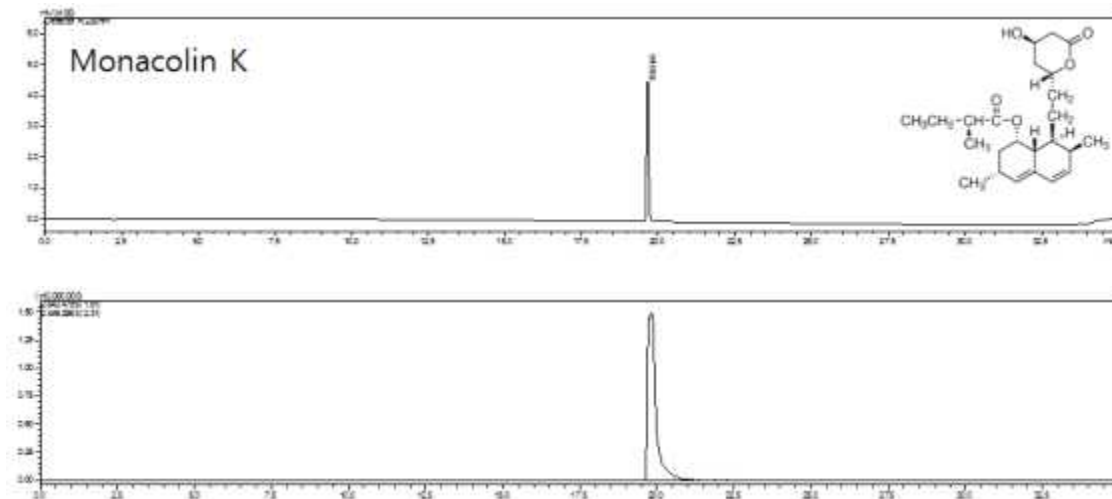


Fig. LC (A: UV) and MS (B: TIC) chromatogram of Monacolin K

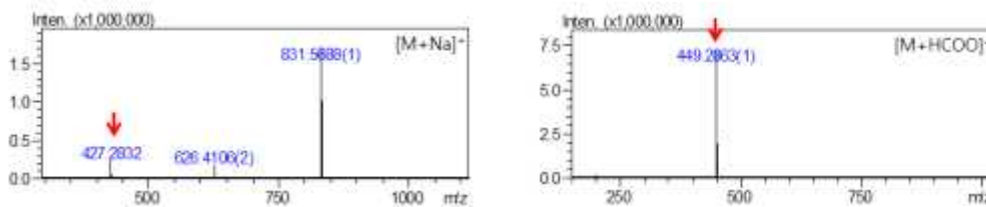


Fig. Spectrum of Monacolin K (A: positive mode, B: negative mode)

(나) 시료 분석 결과

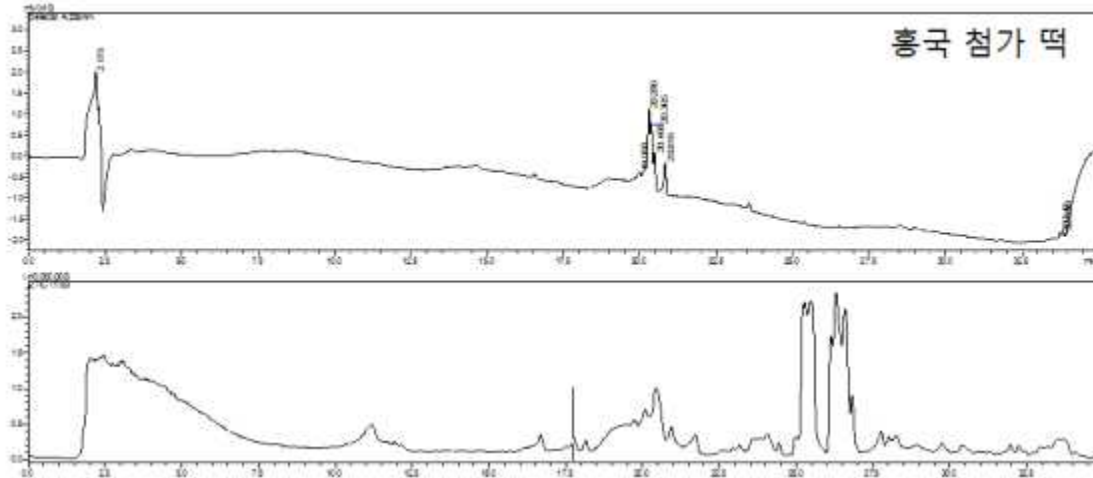
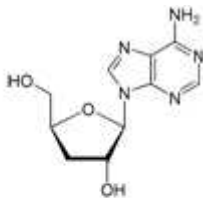


Fig. LC (A: UV) and MS (B: TIC) chromatogram of red yeast rice cakes

홍국을 첨가한 떡에서의 Monacolin K의 함량을 분석하기위해 LC/MS를 분석하였으나 LC 및 TIC (Total Ion Chromatogram)에서 동일 Peak 및 분자량이 검출되지 않았다. 이는 열에 의해 쉽게 파괴되는 Monacolin K의 특성 때문일 것이라 생각되며 떡 제품 제공 공정에서 발생하는 고온 Steaming 과정에서 Monacolin K가 파괴된 것이라 생각된다. 홍국을 이용한 제품 개발시 Monacolin K가 파괴되지 않는 제조 공정을 개발하여야 할 것으로 사료된다.

나. 동충하초 배양쌀의 Cordycepin 정성분석

(1) 분석방법



<u>Chemical formula</u>	$C_{10}H_{13}N_5O_3$
<u>Molar mass</u>	$251.25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Fig. Cordycepin

(가) 검액조제

동충하초 물 추출물 200 mg을 25 ml 용량플라스크에 담아 Water를 이용해 정용후 2시간동안 초음파 추출을 진행하였다.

(나) 표준액 조제

제공받은 표준품(Cordycepin) 2 mg 정밀히 칭량한 후 10 ml 용량플라스크에 Water를 이용해 용해시켰다.

(다) 분석조건

조제한 시료와 표준액의 LC-MS 기기분석 조건은 다음과 같다.

* Shimadzu UFLC-ESI-IT-TOF MS system

- LC conditions
 - Column: Waters ACQUITY UPLC™ BEH C18 2.1 x 150 mm, 1.7 μm
 - UV detector: 254 nm
 - injection volume: 0.5 ul
 - flow: 0.21 ml/min
 - Solvent A: Water in 0.1% formic acid
 - Solvent B: Acetonitrile
- MS conditions
 - Nebulizing gas flow: 1.5 L/min
 - CDL Temperature : 200°C
 - Heat Block Temperature : 200°C

Mobile phase condition

Time (min)	Solvent B(%)
0	0
14	10
14	60
20	60
21	0
26	0

(2) 분석결과

(가) STD 분석 결과

Cordycepin의 분석결과는 다음과 같다.

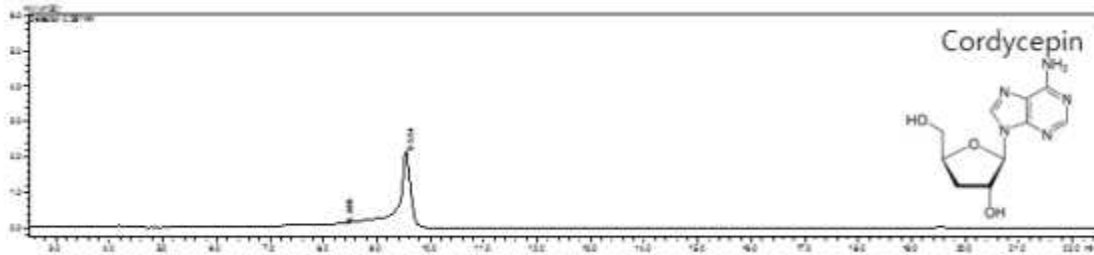
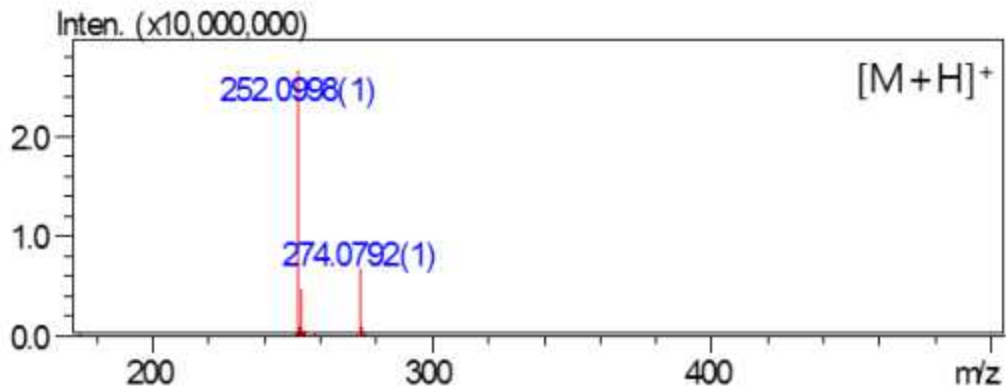


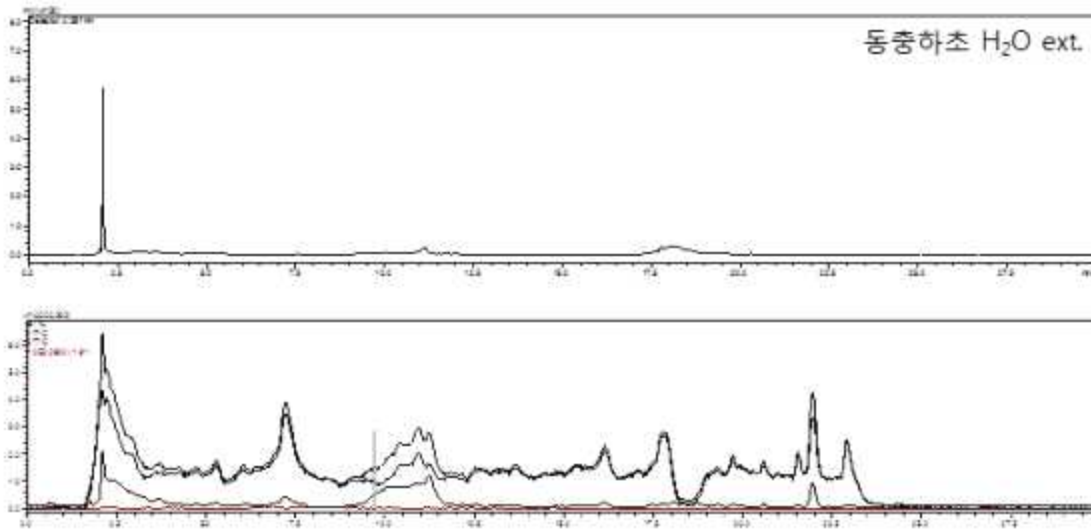
Fig. . MS chromatogram of STD

Cordycepin의 MS spectrum 결과는 다음과 같다.



(나) 시료분석 결과

시료에 대한 LC/MS 분석결과는 다음과 같다.



(3) 결론

동충하초 추출물의 Cordycepin 함량을 분석하기 위한 특이성 검증시험 결과 검체로부터 표준품의 UV peak 및 분자량 (m/z 252.0998 [M+H]⁺)이 검출되지 않았다. 따라서 특이성 검증이 어려우며, 함량분석이 불가한 것으로 보인다.

다. 초석잠 정성분석

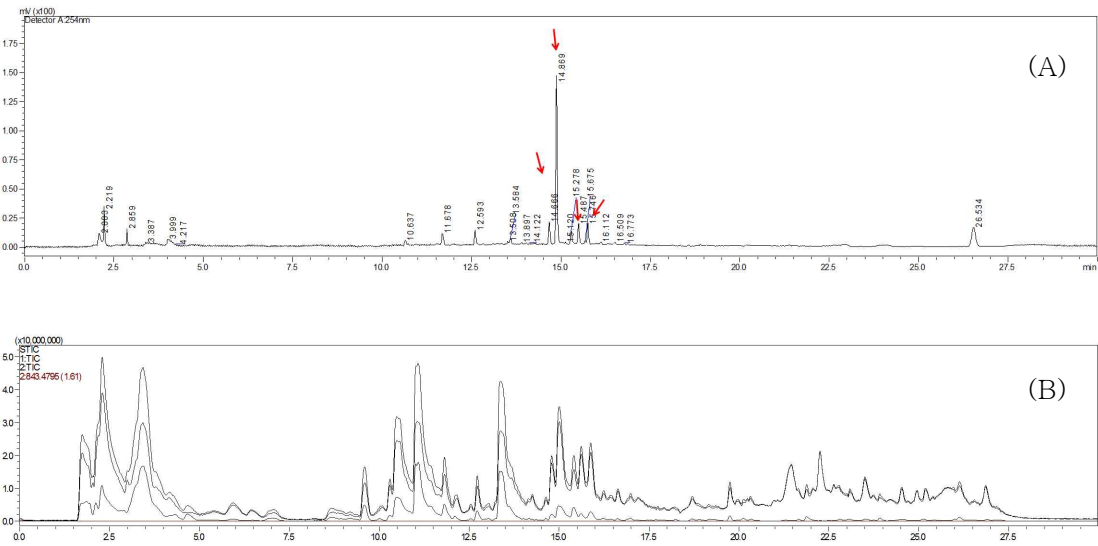
(1) 실험방법

초석잠의 LC/MS 분석을 진행하기 위해 건조시킨 초석잠 분말 5 g을 25 ml의 용량 플라스크에 담아 MeOH를 이용해 2시간 동안 초음파 추출기를 이용해 추출하였다. 추출한 시료는 실린지 필터를 이용해 여과하여 LC용 vial에 담아 LC/MS에 1ul를 주입하여 분석을 진행하였다.

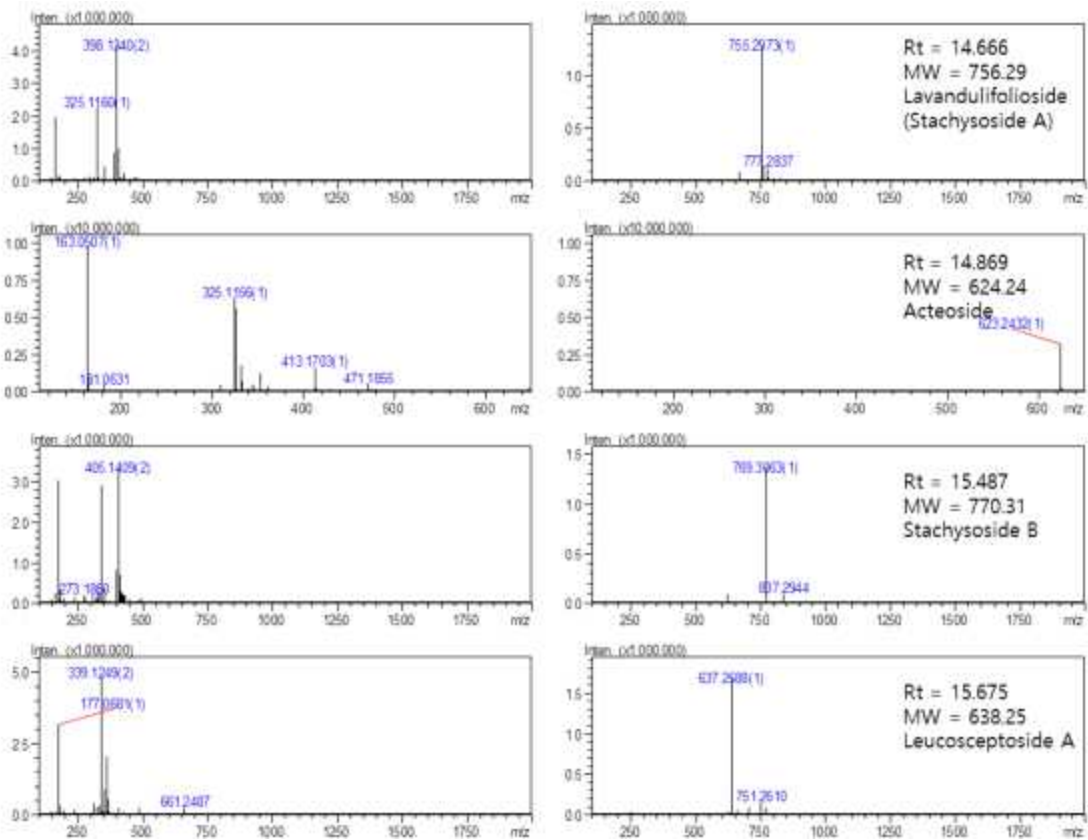
(2) 실험결과

초석잠에 함유되어있는 성분을 확인하기 위해 LC/MS를 이용해 분석을 진행하였으며 그 결과는 다음

과 같다.



- LC (A: UV) and MS (B: TIC) chromatogram of 초석잠



- Spectrum of isolation peaks from LC and Ms chromatogram (Rt= 14.666, 14.869, 15.487, 15.675)

초석잠의 LC/MS 분석결과 머무름시간 14.666분에서 [M-H]⁻ 755.2973 m/z의 Lavandulifolioside 분자량을, 14.869분에서 [M-H]⁻ 623.2432 m/z의 Acteoside 분자량을, 15.487분에서 [M-H]⁻ 769.3063 m/z의 Stachysoside B의 분자량을, 15.675분에서 [M-H]⁻ 637.2588 m/z의

Leucosceptoside A 분자량을 확인하였으며, 이를 통해 LC/MS분석을 진행한 초석잠에는 Lavandulifolioside, Acteoside, Stachyoside B, Leucosceptoside A가 함유되어있음을 확인하였다.
 라. GABA 함량분석

(1) 실험재료

실험에 사용한 시료는 control 원중, 1% 원중, 3% 원중, control 액중, 1% 액중, 3% 액중, 떡 시료를 사용하였으며, 구입한 GABA (Sigma)를 용해시킨 용액을 표준용액으로 설정하여 실험을 진행하였다. 또한 GABA의 HPLC 분석을 위해 일차 아미노산 유도체화 시약인 OPA (o-phthaldialdehyde) 유도체화를 통해 분석하였다. 표준품과 검체는 용량플라스크와 2% Acetic acid를 이용해 정용하였다.

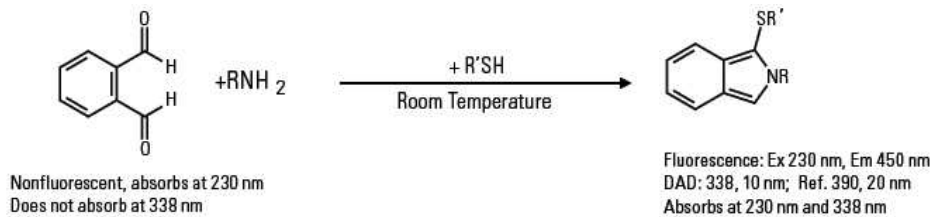


Fig. Derivatization of OPA.

(2) 시약 및 기기

Poly-γ-glutamic acid의 함량분석을 위해 Agilent 1200 series HPLC를 사용하였으며, 검출기는 FLD (Fluorescence detector)와 DAD (diode array detector)를 사용하였다. Sample의 주입은 autosampler를 사용하여 injection program을 이용해 injection 하였다. Column은 Agilent ZORBAX Eclipse AAA (4.6×150 mm, 3 μm)를 사용하였으며, 이동상 (mobile phase)로는 Solvent A (40 mM Sodiumphosphate (Di-basic), 0.1% Phosphoric acid in water), Solvent B (Acetonitrile/Methanol/DW = 45/45/10)를 1.1 ml/min의 유속으로 흘려주었다.

분석 시약으로 유도체화 시약인 OPA와 Borate buffer를 사용하였으며, agilent autosampler의 injection program을 통해 기기 내에서의 시약 반응을 통한 주입을 진행하였다.

(가) HPLC 분석조건

- Flow rate: 1.1 mL/min
- Column: Agilent ZORBAX Eclipse AAA (4.6 × 150 mm, 3 μm)
- Injection volume: 10 μL
- Detector: DAD (338 nm), FLD (Ex 340 nm, Em 450 nm)
- Mobile phase:

Time	Mobile phase	
	A% 40 mM Na ₂ HPO ₄ , 0.1% phosphoric acid	B% ACN/MeOH/DW = 45/45/10
0	100	01.
1.5	100	0
10	82	18
22	72	28
23.5	100	0
27	100	0

(나) Agilent HPLC autosampler의 Injection program 설정

Agilent HPLC Injection program	
Sequence	Action
1	DRAW 2.5 μ L from vial 1
2	DRAW 0.5 μ L from sample
3	MIX 3.0 μ L in air, max. speed, 2 times
4	WAIT 0.50 min
5	DRAW 0.0 μ L from vial 2
6	DRAW 0.5 μ L from vial 3
7	MIX 3.5 μ L in air, max. speed, 6 times
8	DRAW 0.0 μ L from vial 2
9	DRAW 32.0 μ L from vial 4
10	MIX 18.0 μ L in air, max. speed, 2 times
11	INJECT
12	WAIT 0.10 min
13	VALVE bypass

(3) 표준용액 조제

GABA (gamma amino butric acid) 4 mg을 정밀하게 달아 2% acetic acid를 적당히 넣어 표준원액으로 이용하였다. 이 표준액에 2% acetic acid를 넣어 적당히 희석하여 표준용액으로 이용하였다.

(4) 시험용액 조제

시료 0.5 g을 정밀하게 달아 2% acetic acid를 넣어 10 mL가 되게 한 후 1시간 초음파 추출한 다음 원심분리하여 상등액을 실린지 필터를 이용해 여과하여 검액으로 이용하였다. 이때, 딱 시료는 1 g을 실험에 이용하였다. 검액을 Agilent HPLC의 injection program을 이용해 UV (338 nm)와 FLD (Ex 340 nm, Em 450 nm)에서 정량 분석하였다. HPLC를 이용해 분석한 시료의 GABA 함량은 GABA peak의 적분값을 이용해 계산하였다.

(5) 실험결과

GABA 표준용액을 이용하여 검량선을 작성한 결과 상관계수 (R2) 0.9999로 높은 직선성을 보였다.

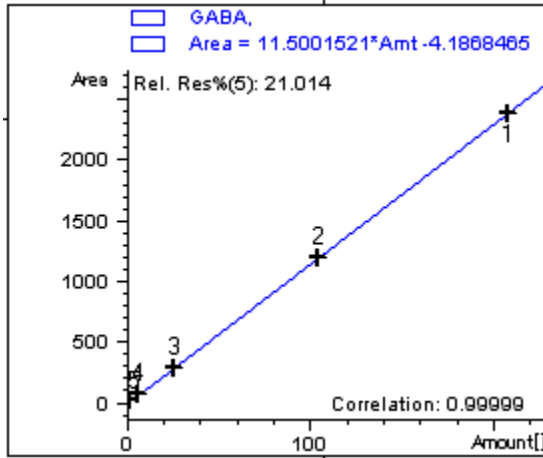


Fig. GABA Standard curve.

각 샘플들의 GABA 함량 분석 결과 GABA 함량은 3% 액중에서 3.151 ± 0.036 (mg/g)으로 가장 높았고, 떡에서는 0.027 ± 0.03 (mg/g)의 함량을 보였다.

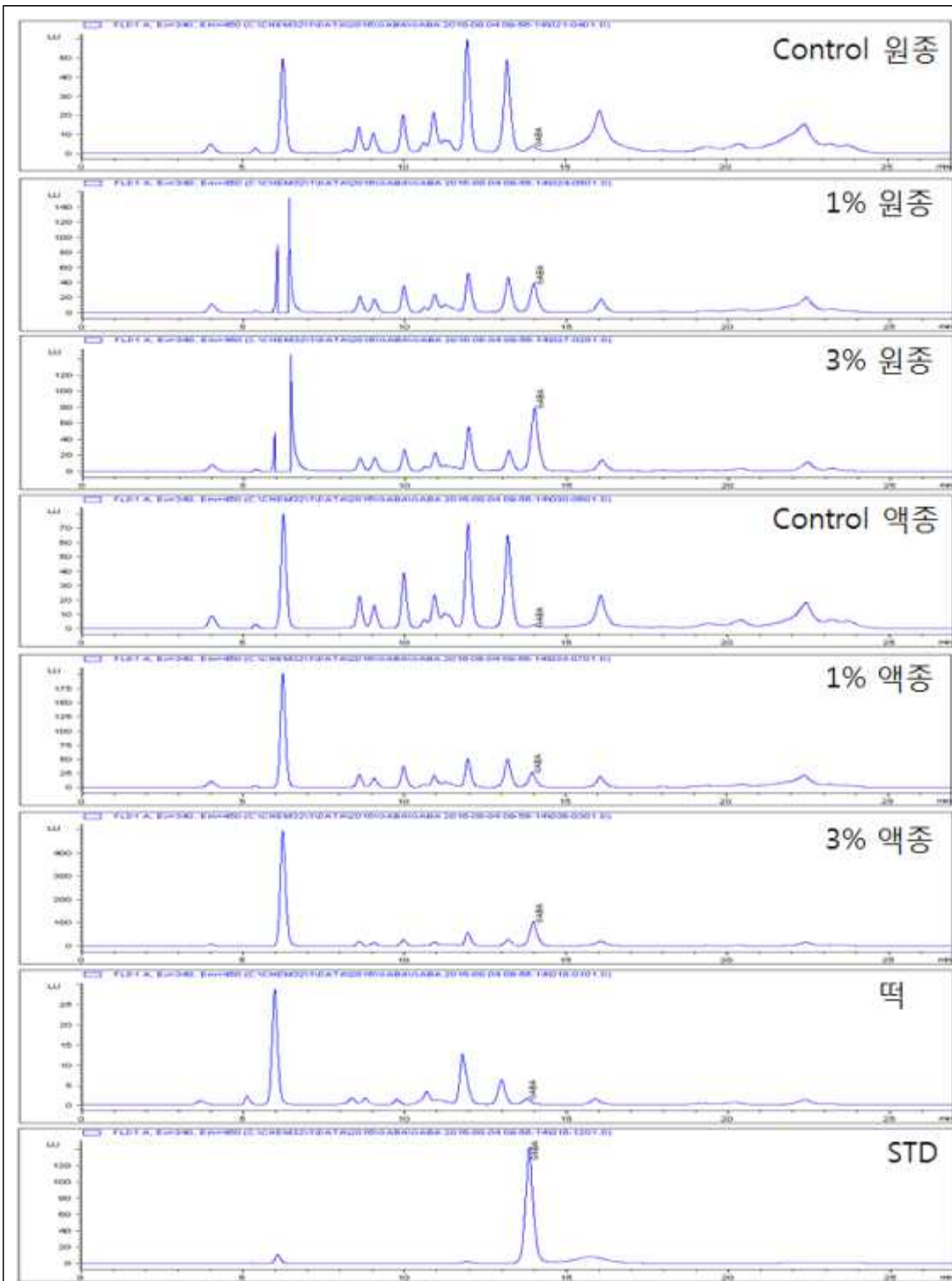


Fig. LC-FLC chromatograms of sample.

Table. GABA content results of sample

Sample	GABA 함량 (mg/g)			Mean (mg/g)	SD	RSD
	1 time	2 time	3 time			
control 원종	0.061	0.063	0.063	0.062	0.001	0.021
1% 원종	1.042	1.011	1.012	1.022	0.001	0.014
3% 원종	2.209	2.253	2.214	2.225	0.018	0.018
control 액종	0.029	0.028	0.027	0.028	0.024	0.011
1% 액종	0.585	0.647	0.648	0.627	0.001	0.036
3% 액종	3.185	3.126	3.141	3.151	0.036	0.058
떡	0.028	0.027	0.027	0.027	0.030	0.010

마. β -glucan 함량 분석

(1) β -Glucan 분석방법

β -Glucan 분석은 mushroom and yeast beta-glucan assay procedure kit(Megazyme Ltd.)를 이용하여 측정하였다. 이 방법은 β -glucanase 역가를 갖는 효소를 사용하여 β -glucan만을 특이적으로 가수분해 한 후 유리된 포도당 함량을 측정하는 방법으로 total-glucan과 α -glucan 함량의 차에 의해 구하였다.

Total-glucan 함량은 0.5 mm 크기의 체를 통과시킨 시료 100 mg에 hydrochloric acid(37% v/v) 1.5 mL를 넣고 30°C에서 45분 동안 반응시킨 후 증류수 10 mL를 가하여 100°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응이 끝난 혼합물은 상온에서 5분 동안 식힌 후 2 N KOH 10 mL를 첨가하고 200 mM sodium acetate buffer(pH 5.0)를 사용하여 100 mL로 정용한 뒤 원심분리(1500×g, 10min)하여 분리된 상등액 0.1 mL에 exo-1,3- β -glucanase(20 U/mL)와 β -glucosidase(4 U/mL)의 혼합용액 0.1 mL를 첨가하여 40°C에서 60분간 반응시켰다.

반응시킨 용액의 glucose 정량을 위해 GOPOD(glucose oxidase/peroxidase) reagent 3 mL를 사용, 20분 동안 반응시킨후 spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. α -Glucan은 시료에 2 N KOH 1 mL를 가하여 20분 동안 낮은 온도에서 교반시켜준 후 1.2 M sodiumacetate buffer(pH 3.8) 4 mL, amyloglucosidase와 invertase 혼합용액을 0.1 mL 첨가하여 40°C에서 30분간 반응시켰다. 이를 원심분리(1500×g, 10 min) 후 상등액 0.05mL를 GOPOD reagent 1.5 mL와 20분 동안 반응시켜spectrophotometer를 사용하여 510 nm에서 흡광도를 측정, α -glucan으로 환산하였다.

(2) β -Glucan 분석결과

Table. Precision of β -glucan analysis.

Groups	Total	Total-glucan	a-glucan	b-glucan
	무게(mg)	(% w/w)	(% w/w)	(% w/w)
CON-현미	100	24.9 ± 0.73	17.7 ± 0.32	7.2 ± 1.04
홍국분말	100	45.9 ± 1.59	19.9 ± 0.26	26.1 ± 1.84
동충현미분말	100	55.4 ± 1.88	20.0 ± 0.16	35.4 ± 2.03
영지현미분말	100	50.9 ± 1.66	20.3 ± 0.26	30.6 ± 1.92
표고현미분말	100	50.1 ± 1.47	20.2 ± 0.36	29.9 ± 1.82
기정떡-동충	100	56.1 ± 3.45	19.3 ± 0.63	36.8 ± 4.08
기정떡-영지	100	56.1 ± 0.82	20.0 ± 0.22	36.1 ± 1.04
기정떡-표고	100	54.8 ± 1.24	18.9 ± 0.33	35.9 ± 1.56
기정떡-홍국	100	55.2 ± 1.78	20.1 ± 0.63	35.1 ± 2.41
백설기-동충	100	56.4 ± 1.47	19.8 ± 0.16	36.5 ± 1.63
백설기-영지	100	57.1 ± 1.32	20.0 ± 0.10	37.1 ± 1.43
백설기-표고	100	59.4 ± 0.78	19.3 ± 0.37	40.1 ± 1.15
백설기-홍국	100	56.2 ± 1.43	19.8 ± 0.40	36.4 ± 1.83
인절미-동충	100	51.1 ± 0.92	19.6 ± 0.47	31.5 ± 1.39
인절미-영지	100	52.2 ± 1.05	20.5 ± 0.06	31.7 ± 1.11
인절미-표고	100	53.9 ± 1.40	19.9 ± 0.03	34.0 ± 1.43
인절미-홍국	100	52.7 ± 0.83	19.4 ± 0.25	33.3 ± 1.08

100mg 기준 함량

현미와 동충하초현미분말, 영지현미분말, 표고현미분말과 홍국분말과 그 원료를 이용하여 기정떡과, 백설기, 인절미를 제작하여 α, β-glucan 함량을 측정하였다. β-glucan 함량 측정은 상용화된 kit - mushroom and yeast beta-glucan assay procedure kit(Megazyme Ltd.)를 이용하였으며 β-glucan 함량 측정 결과는 위 표와 같다. 분말을 이용하여 만든 제품군 중에서는 백설기와 기정떡에서 β-glucan 함량이 높게 나타났으며, 인절미 제품군에서는 상대적으로 낮게 나타났다. β-glucan 함량의 차이는 있었지만 전체적으로 제품 모두에서 함량이 높게 나타남을 알 수 있었다.

4. 유통 기간 연장을 위한 항균활성 재료 탐색

가. 항균활성 검증

(1) 시료제작

본 실험에 시료는 수세한 후 건조하여 물기를 제거하고 열수 추출물 조제에 사용하였으며, 시료를 120 g을 증류수 1.2리터를 첨가하여 2시간 동안 100℃에서 추출하여 최종적으로 열수추출액 1리터를 조제하였다. 열수 추출물은 filterpaper (Whatsman No. 2)로 거른 후 감압 건조하여 분말화 하였다. 추출한 액을 -80℃에서 동결 건조시켜서 분말을 얻었다. 얻어진 분말의 무게를 확인하여 적당한 농도로 희석하여 항균 활성 및 항산화 활성 평가에 이용하였다.

(2) 시험균주

사용 균주명	Catalog	그람
Escherichia coli	KCTC 1682	음성
Pseudomonas aeruginosa	KACC 10186	음성

<i>Proteus vulgaris</i>	KCTC 2433	음성
<i>Salmonella typhimurium</i>	KCTC 1926	음성
<i>Bacillus subtilis</i>	KCTC 1924	양성
<i>Listeria monocytogenes</i>	KACC 10550	양성
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228	양성
<i>Staphylococcus aureus</i>	KCTC 1916	양성

(3) 항균 활성 측정

먼저 항세균 활성평가의 경우 Nutrientbroth(DifcoCo., USA)에 각각의 세균을 접종하여 37℃에서 24시간동안 배양한후 각 균주를 OD값이 0.1이 되도록 조정하여Nutrient agar(DifcoCo.,USA) 배지를 포함하는 멸균 petridish에 100 μL 도말하고 각각의 시료 5 μL를 멸균 disc-paper(지름6.5mm, Whatzman No.2)에 가하여 37℃에서24시간동안 배양하였으며 진균의 경우에는 Sabouraud dextrose배지 (DifcoCo. USA)를 이용하여 동일한 방법으로 30℃에서 24시간동안 배양 후 생육저지환의 크기를 측정하여 항균활성을 평가하였다. 대조군으로는 항세균제인 ampicillin을 각각 1μg/disc 농도로 사용하였으며 생육저지환의 크기는 육안으로 생육이 나타나지 않는 부분의 지름을 mm 단위로 측정하였고 3회이상 평가 후 대표결과로 나타내었다. 한편항균활성이 인정되는 경우 microbroth dilution법을 이용하여MIC (최소생육억제농도를 평가하였다

열수 추출물 및 각각의 분획물의 항균 활성을 평가하기위해 사용한 세균 및 캔디다 진균들은 한국미생물보존센터(KCTC), 일본 Institute for Fermentation, Osaka(IFO) 및 한국농용미생물보존센터(KACC)에서 분양 받아 사용하였다(Table). 한편 *Candida albicans* CCARM 14020 및 14021 균주는 한국 항생제 내성균주은행(CCARM)에서 분양받아 사용하였으며, 특히 14020 균주는 amphotericin B(≤0.5 μg/mL), flucytosine(≤0.5 μg/mL), fluconazole(≤1 μg/mL) 및 itraconazole (≤0.125 μg/mL) 에 대한 다제내성 균주로 알려져 있다. 항세균 및 항진균 활성 평가는 기존의 보고한 방법과 동일하게 이용하였으며, 각각 Nutrient agar(Difco Co., USA) 및 Sabouraud dextrose(Difco Co. USA)배지상에서 다양한 시료 5 μL를 멸균 disc-paper(지름 6.5 mm)에 가한 후 세균의 경우 24시간, 진균의 경우 48시간 배양 후, 생육저지환의 크기를 측정하여 평가하였다[15, 16, 23].

대조구로는 항세균제인 ampicillin과 항진균제인 miconazole 및 amphotericin B(Sigma Co., USA)를 각각 1 μg/disc 농도로 사용하였으며, 육안으로 생육저지환의 지름을 mm 단위로 측정하였고, 3회 이상 평가 후 대표 결과로 나타내었다[9]. 항균 활성이 인정되는 경우, 시료의 최소생육억제농도 (MIC: minimal inhibitory concentration)를 측정하였으며, 0. 0.25, 0.5. 1.0, 및 1.5 mg/mL 농도의 시료들을 처리하여 24~48시간 배양한 후 생육억제를 육안 판정하여 측정하였다[23].

나. 항균활성 평가결과 및 고찰

Table. Antimicrobial activities by disc diffusion method.

Strain	Catalog	Effect			
		12h	12h-auto	18h	18h-auto

		clave		clave	
<i>Bacillus thuringiensis</i>	KCTC 1507	ND	ND	ND	O
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KCTC 2513	ND	ND	ND	O
<i>Salmonella typhimurium</i>	KCTC 2515	ND	ND	ND	ND
<i>Streptococcus mutans</i>	KCTC 3065	ND	ND	ND	ND
<i>Listeria monocytogenes</i>	KCTC 3710	ND	ND	O	O
<i>Bacillus subtilis</i>	KCTC 1021	ND	ND	ND	O
<i>Bacillus cereus</i>	KCTC 1661	ND	ND	ND	ND
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KCTC 1917	ND	ND	ND	ND
<i>Proteus vulgaris</i>	KCTC 2433	O	O	O	O
<i>Escherichia coli</i>	KCTC 2441	ND	ND	ND	O
<i>Staphylococcus aureus</i>	KCTC 3881	ND	ND	ND	ND

*ND : Not detected

항균활성을 테스트 한 결과 12h 배양액에서는 p. vulgaris를 제외한 나머지균주에서는 거의 효과가 나타나지 않았다. 이는 12h 이상 배양을 하여 총균수가 어느 정도 확보된 균주에서 항균펩타이드 물질의 생성이 나타나고 이에 따라 항균활성이 나타난다고 여겨진다. 또한 멸균 유무에 따른 항균활성을 확인한 결과 멸균을 한 배양액에서 멸균하지 않은 배양액에 비해 많은 균주에서 억제 효과를 나타내고 있음을 확인할 수 있었다. 이는 떡 제조과정중에 나타나는 고온 고압의 상황에서도 항균활성이 나타날 수 있음을 나타낸다.

5. 기능성 검증을 통한 제품 개발

가. 청소년 타겟 라이스 칩 제품 개발

(1) 원료소재 : 기억력 개선 기능성 원료 초석잠

최근 민간에서 치매와 관련한 약용식물로서 초석잠에 대한 관심이 증대되고 있는 가운데 재배가 용이하여 재배면적도 증가되는 추세이다. 초석잠(*Stachys sieboldii* Miq)은 꿀풀과(Labiatae)의 석잠풀속(*Stachys* Linne)의 여러해살이 식물이다. 초석잠의 기억과 학습장애에 대한 보호효과는 이미 연구결과로써 보고되었으며, 탄수화물은 올리고당의 일종인 Stachyose 으로 인해 장내 유용균의 생육을 촉진하여 대장의 기능 촉진 및 장내미생물증식작용으로 인한 면역력의 강화, 배변작용개선등의 작용을 가지는 것으로 알려져 있다. 초석잠의 성분인 Acteoside 와 Stachyoside C 와 Phenylethanoid glycoside 등이 KCN으로 유도한 무산소증 동물모델의 치사율을 감소시키는 것으로 보고되어 뇌허혈에 대한 보호작용에 대한 가능성이 있음을 시사하였으며 hyaluronidase 억제활성도 있음이 보고되어

초석잠의 염증억제작용이 있음을 확인한 바 있고 초석잠의 줄기의 항산화활성 및 초석잠 줄기의 hexane 추출물의 항암활성이 있는 것으로 보고 되어지고 있으며 초석잠의 껍질에서 분리된 acetoside 가 신장염 치료에 효과적이라고 보고된 바 있다. 그러나 이를 활용한 제품은 대부분 장아찌나 추출액 등의 단순 가공제품에 그치고 있는 실정이다.

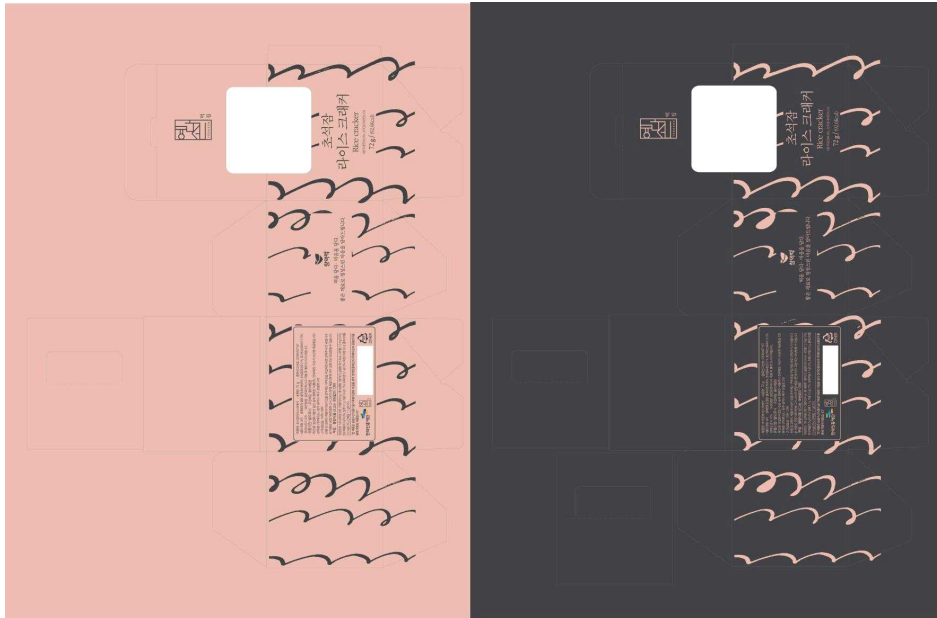


그림. 초석잠 라이스크래커 제품 디자인

표. 초석잠 라이스 크래커 제조방법

공정명	제조방법 설명
입고·보관	원부재료 운송차량이 들어오면 원부재료의 외관상태 등을 확인하고 자사 규격 기준에 따라 검사한후 정상제품만 해당창고에 입고·보관한다.
▼	
검수	육안 검사후 쌀을 준비한다.
▼	
배합	허브천연감미료, 초석잠, 쌀을 혼합한다.
▼	
건조	건조기에 건조한다.
▼	
팝핑	퍼핑조건: 210℃ ±5 로 팝핑한다.
▼	
내포장·금속검출기	포장 후 금속검출기를 통과한다.
▼	
외포장	중량 확인후 외포장된 완제품은 창고에 보관 적재한다.

나. 중장년 타겟 라이스볼 제품 개발

(1) 원료소재 : 면역증진 원료 동충하초 배양쌀

동충하초는 겨울에는 벌레상태로 있다가 여름이 되면 버섯이 된다는 뜻에서 유래한 이름이다. 동충하초의 발생은 동충하초균이 자낭포자나 분생포자의 형태로 분포해 있다가 온·습도가 높은 시기인 7~8 월경에 곤충의 호흡기나 소화기, 마디 등 표피에 부착하면서 시작된다. 동충하초는 면역력 증강, 항피로, 혈당강하, 콜레스테롤 강하, 항노화 및 항암작용 등의 다양한 약리학적 효능이 있는 것으로 알려지고 있으나 과거에는 그 공급이 전량 자연 채취에 의존하고 있고 그 생육 환경이 까다로워 공급이 한정되어 있으므로 매우 고가에 유통되었기 때문에 대중적인 약재는 되지 못하였다. 그러나 최근에 와서 동충하초 재배 기술이 발달하여 쌀에 동충하초 균주를 접종시켜 배양한 동충하초 쌀은 쌀 생산량이 소비량을 앞지르고 있는 현시점에서 쌀의 부가가치를 높임과 동시에 쌀 소비량을 증가시킬 수 있는 좋은 기능성 식품이라고 할 수 있다.

공정명	제조방법 설명
입고·보관	원부재료 운송차량이 들어오면 원부재료의 외관상태 등을 확인하고 자사 규격 기준에 따라 검사한후 정상제품만 해당창고에 입고·보관한다.
▼	
검수	육안 검사후 쌀을 준비한다.
▼	
배합	허브천연감미료, 동충하초쌀, 쌀을 혼합한다.
▼	
건조	건조기에 건조한다.
▼	
팝핑	퍼핑조건:210℃±5 로 팝핑한다.
▼	
내포장·금속검출기	포장 후 금속검출기를 통과한다.
▼	
외포장	중량 확인후 외포장된 완제품은 창고에 보관 적재한다.









6. 선식 제품 개발

가. 동충하초배양쌀 선식 제품 개발

(1) 원료소재 : 면역증진 원료 동충하초 배양쌀, 초식잠

동충하초는 겨울에는 별레상태로 있다가 여름이 되면 버섯이 된다는 뜻에서 유래한 이름이다. 동충하초의 발생은 동충하초균이 자낭포자나 분생포자의 형태로 분포해 있다가 온·습도가 높은 시기인 7~8 월경에 곤충의 호흡기나 소화기, 마디 등 표피에 부착하면서 시작된다. 동충하초는 면역력 증강, 항피로, 혈당강하, 콜레스테롤 강하, 항노화 및 항암작용 등의 다양한 약리학적 효능이 있는 것으로 알려지고 있으나 과거에는 그 공급이 전량 자연 채취에 의존하고 있고 그 생육 환경이 까다로워 공급이 한정되어 있으므로 매우 고가에 유통되었기 때문에 대중적인 약제는 되지 못하였다. 그러나 최근에 와서 동충하초 재배 기술이 발달하여 쌀에 동충하초 균주를 접종시켜 배양한 동충하초 쌀은 쌀 생산량이 소비량을 앞지르고 있는 현시점에서 쌀의 부가가치를 높임과 동시에 쌀 소비량을 증가시킬 수 있는 좋은 기능성 식품이라고 할 수 있다.

(가) 구성

원료명	사진	구성비(%)	비고
동충하초배양쌀		26	면역증진 기능성
초석잠		13	기억력 증진 기능성
현미		13	
찰보리		13	
검정콩		13	
귀리		13	
호두		3	
아몬드		3	

크랜베리		3	
------	---	---	--

(나) 제조 방법

공정명	제조방법 설명
입고·보관	원부재료 구입 후 원부재료의 외관상태 등을 확인하고 자사 규격 기준에 따라 검사한후 정상제품만 해당창고에 입고·보관한다.
▼ 검수	육안 검사후 쌀을 준비한다.
▼ 분쇄	원재료를 분쇄한다
▼ 배합	원재료를 비율별로 배합한다.
▼ 포장	중량 확인후 외포장된 완제품은 창고에 보관 적재한다.

(다) 제품 포장 디자인



(라) 제품 사진



7. 한방 음료 제품 개발

가. 한방 차 제품 선정

(1) 한방 차 제품 후보 5종

한방 차는 주로 건강을 위해 마시는 차로 떡 제품과 어울리고 그 기능성이 많이 알려진 한방차 5종을 선정하였다.

(가) 생맥산(生脈散)



① 구성약재 : 맥문동(麥門冬), 인삼(人參), 오미자(五味子)

② 한의학적 효능 : 심기부족(心氣不足)으로 인한 무기력증, 더위로 땀을 많이 흘리고 입이 마르며 맥(脈)이 약한 증상, 폐허(肺虛)로 인한 마른기침, 식은땀 및 숨이 차는 증상 등에 사용한다.

③ 치료질환 : 일사병, 열사병, 심근염, 만성 기관지염, 폐기종(肺氣腫) 등에 사용한다.

(나) 십전대보탕(十全大補湯)



- ① 구성약재 : 인삼(人參), 백출(白朮), 백복령(白茯苓), 감초(甘草), 숙지황(熟地黃), 당귀(當歸), 백작약(白芍藥), 천궁(川芎), 황기(黃耆), 육계(肉桂), 생강(生薑), 대조(大棗)
- ② 한의학적 효능 : 기혈부족(氣血不足)으로 몸이 허약하고 기운이 없으며, 기침을 하고 땀을 흘리며 식욕부진 및 소화 장애 등에 사용한다.
- ③ 치료질환 : 철부족성 빈혈, 병이 나은 뒤, 만성 소모성 질병, 만성 소화기 질병 등에 사용한다.

(다) 총명탕(聰明湯)



- ① 구성약재 : 복신(茯神), 원지(遠志), 석창포(石菖蒲)
- ② 한의학적 효능 : 심허(心虛)로 인한 건망증.
- ③ 주로 학습 및 기억에 도움을 주려는 목적으로 사용하는 한의학상의 처방이다. 교육열이 높은 우리나라에서는 수험생들에게 대중적으로 알려져 있는 처방이기도 하다.
- ④ 현대에 들어 진행된 총명탕에 대한 연구 결과로 기억력을 감퇴시킨 흰쥐에서 총명탕이 학습과 기억력을 유의성 있게 회복시킨다는 것이 보고된 바 있으며, 치매와 관련한 연구에서도 향후 응용 가능

성이 있는 결과들이 보고되었다.

(라) 쌍화탕(雙和湯)



- ① 구성약재 : 백작약(白芍藥), 숙지황(熟地黃), 황기(黃耆), 당귀(當歸), 천궁(川芎), 계피(桂皮), 감초(甘草), 생강(生薑), 대조(大棗)
- ② 한의학적 효능 : 심적 또는 육체적 피로에 인한 전신의 무기력증, 피로감, 어지럼증 및 가슴의 두근거림과 땀 배출, 허약체질의 잦은 감기에 사용하며 피로 회복약 등으로 많이 쓰인다.
- ③ 현대에 들어 흰쥐를 대상으로 진행된 쌍화탕에 대한 실험의 연구결과 항피로 효과, 간 기능 개선 효과, 항염증 효과 등에서 유의성 있는 결과가 보고 된 바 있다.

(마) 구기자차 (枸杞子茶)



- ① 구성약재 : 가지과 식물인 구기자나무 *Lycium chinense* Mill.의 익은 열매를 말린 것이며 구기(枸杞)·지보(地輔)·양유(羊乳)·각로(却老)·선인장(仙人杖)·서왕모장(西王母杖)·지선(地仙) 등으로도 불린다. 한의학적으로 맛은 달고 성질은 약간 차며 간경(肝經) · 신경(腎經)에 작용한다.
- ② 한의학적 효능 : 음정(陰精)·간신(肝腎) 강화, 정수(精髓) 보충, 시력개선 등의 효능이 있다. 음위(陰痿), 유정(遺精), 허리통증과 무릎의 시림, 영양실조증, 폐결핵, 신경쇠약, 당뇨병, 마른기침 등에 사용한다.
- ③ 치료질환 : 동맥경화증을 예방하고, 혈압 조절 등에 사용한다.
- ④ 약리 실험에서 몸무게를 늘리는 작용, 간(肝) 보호 작용, 콜레스테롤과 인지질 강하 작용, 혈압 강하 작용, 혈당량 강하 작용 등이 밝혀졌다.

(2) 한방차 제품 후보 제조 방법

(가) 생맥산(生脈散)

○ 맥문동 160g, 인삼 80g, 박하 40g을 넣고 95℃로 약탕기를 이용하여 끓인다. 오미자는 오래 끓이면 떼은 맛이 강해지므로, 냉수에 2시간 동안 냉침하여 그 후에 꿀 150g과 함께 1차 달인 물과 혼합한다.

(나) 십전대보탕(十全大補湯)

○ 인삼, 백출, 복령, 감초, 숙지황, 당귀, 천궁, 백작약, 황기, 육계, 생강 60g과 대추, 구기자, 맥아 120g, 진피 400g을 넣고 물 8L를 넣고 95℃로 1시간 30분간 끓인 뒤 그 액을 취한다.

(다) 쌍화탕(雙和茶)

○ 백작약, 대추 150g, 숙지황, 당귀, 황기, 생강 60g, 천궁, 계피 75g, 용안육 225g 을 넣고 물 8L를 넣고 95℃로 1시간 30분간 끓인 뒤 그 액을 취한다.

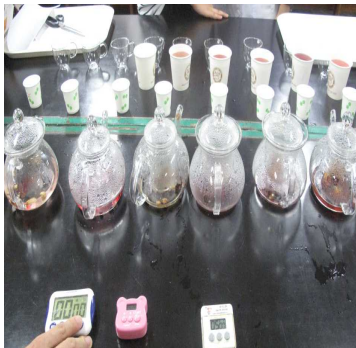
(라) 총명차(聰明茶)

○ 석창포, 원지, 백복신, 감국, 박하 60g, 국기자, 결명자 120g, 용안육 200g, 올리고당 50g을 넣고 물 7L를 넣고 95℃로 1시간 30분간 끓인 뒤 그 액을 취한다.

(마) 구기자차(枸杞子茶)

○ 구기자, 맥아 200g을 넣고 물 5L를 넣고 95℃로 1시간 30분간 끓인 뒤 그 액을 취한뒤 꿀 200g을 넣는다.

(3) 한방차 제품 후보 기호도 평가





한방차 제품 후보의 기호도 평가를 위하여 연구진과 일반 소비자 30명을 대상으로 소비자 검사를 실시하였다. 소비자 검사는 제품의 색(color), 향미(flavor), 목넘김(texture) 및 전체적인 기호도(overall acceptability)로서 대단히 좋아 한다 : 9점, 좋지도 싫지도 않다 : 5점, 대단히 싫어 한다 : 1점으로 나타내었다.

※ 기호도 평가 방법 : Check-all-that-apply(CATA)

CATA이란 2007년 Adams, Williams, Lancaster, 및 Foley 에 의해 사용이 확대된 기법으로 관능 검사에 대해 훈련된 패널이 아닌 소비자가 관능적 특성이 작성되어 있는 설문지에 소비자가 느껴지는 특성을 다지 선택할 수 있는 방식으로 제품에 대한 감각적 특성을 빠르고 쉽게 얻을 수 있으며 묘사 분석에 비해 시간과 비용적 측면이 절약된다는 장점이 있다. 이러한 방법을 사용해 기호도와 특성강도에 관한 의견을 평가하는 추세이다.

Table. Acceptability evaluation of han-bang tea

Sample	Items			
	Color	Flavor	Texture	Overall acceptability
생맥산	6.40±1.59	6.18±1.95	5.63±1.65	6.18±1.77
십전대보탕	4.42±1.62	5.19±1.66	4.11±1.44	5.03±1.56
쌍화탕	4.00±1.56	5.01±1.98	4.04±1.61	4.64±1.72
총명차	5.23±1.82	2.88±1.93	3.39±1.81	3.87±1.92
구기자차	5.51±1.49	4.28±1.58	4.81±1.45	4.28±1.56

한방차의 소비자 기호도 검사 결과 색(Color)은 생맥산이 6.40으로 가장 높았고 그 다음으로 구기자차가 5.51, 총명차가 5.23으로 나타났다. 십전대보탕이나 쌍화탕은 숙지황이 나타내는 특유의 진한 색상으로 낮은 점수가 나타난 것으로 사료되며, 색상이 밝은 계통으로 나타나는 생맥산, 구기자차, 총명차가 색에서 높은 점수를 얻은 것으로 사료된다. 향미(Favor)는 생맥산이 6.18로 가장 높게 나타났고 십전대보탕이 5.19, 쌍화탕이 5.01로 나타났으며, 구기자차는 4.28, 총명차는 2.88로 낮은 수치를 나타냈다. 이는 총명차의 재료가 쓴 맛이 강한 재료로 구성되어 있어 나타난 결과로 사료된다.

목넘김(Texture)는 생맥산이 5.63, 구기자차가 4.81로 나타났으며, 특유의 한약 맛이 강하게 나타나

는 십전대보탕과 쌍화탕, 총명차는 높은 점수를 나타내지 못하였다.

전체적인 기호도 역시 생맥산이 가장 우수하였으며, 그 다음으로 십전대보탕, 쌍화탕, 구기자차 총명차 순으로 나타났다.

기타 한방차에 대한 의견으로는 한약 맛에 대한 기호도의 차이가 있었으며, 좀 더 가벼운 맛으로 대중적인 차를 생산하는 것이 좋겠다라는 의견이 있었다.

(4) 한방차 시제품 제작

(가) 디자인 개발 및 네이밍

- ① 으뜸차 : 쌍화탕 기반 네이밍
- ② 버금차 : 십전대보탕 기반 네이밍
- ③ 9미차 : 생맥산 기반 네이밍

(나) 제품 디자인 개발



(다) 제품 포장

- 휴대와 복용이 편리한 스파우트 파우치 제형으로 제작



(라) 기술이전 및 사업화

- 본 한방음료의 제작 방법 등 노하우 기술을 주관기관인 (주)창역에 기술이전하고 제품을 출시하여 기존 개발제품과 연계상품화하여 출시 계획

제 3절 기능성 천연색소소재를 활용한 떡류 등 관련 가공제품 개발 및 사업화

[제1세부 : 주식회사 창역 유승진]

1. “맛있는 떡”, 천연색소와 천연 발효를 활용한 웰빙 증편 생산 기술 개발 및 상품화

가. 연구 목적

현대 식품산업의 핵심 키워드로 웰빙 전통식품이 크게 부각되고 있다. 웰빙 전통식품이란 기존의 전통식품의 개념을 뛰어 넘는 고부가, 고기능성 유용물질을 생산하는 제품을 의미한다. 사용하는 소재(원료)와 제조방식에 따라 구분하면 식물발효기술, 양조기술, 수산발효기술 및 가공식품 제조기술로 분류되며, 제품군의 범위로는 절임제품, 양조제품, 튀김제품, 발효제품, 가열추출농축제품으로 분류된다. 창역에서는 전통식품인 떡류를 생산 가공하여 전국적인 체인점 유통망을 바탕으로 대한민국 업계 순위 1~2위를 다투는 기업으로 전통식품 중에서 핵심 키워드인 발효식품으로는 증편 또는 기정떡을 생산 가공하여 유통하고 있다. 증편은 술떡이라고도 불리며 막걸리에 포함되어 있는 효모균주를 활용하여 알콜 발효시 발생하는 기포를 이용하여 떡을 부풀린 후 스팀에 쪄내는 제품이다. 기정떡의 특징으로는 일반떡에 비해 부피가 크고 가벼우며 알콜 또는 효모균주의 우점이나 길항작용으로 인해서 여름철에도 쉽게 변질되지 않는 특징을 갖고 있다. 하지만 그 특유의 이취로 인해 소비자들에게 호불호가 갈리는 특징을 보이는 제품이기도 하다. 최근들어 다양한 연구진들에 의해서 발효기술의 발달과 발효효율에 대한 기술들이 개발되어 많은 발전이 되었으나 그 기술은 제빵 기술에 비하면 아직 초기 단계에 머물러있어 증편 발효 종균의 확보와 발효 기술 개발이 절실히 필요하다 할 수 있다. 천연 발효 효모를 스크리닝하고 종균화 하여 발효 효율의 향상, 종균의 특성에 의한 기능성의 추가, 이취 제거 및 향미 증진 등 다양한 연구가 절실히 필요하다고 할 수 있다.

추가적으로 최근 기능성 물질을 첨가한 떡에 대한 관심과 수요가 증가하고 있는 가운데 다양한 연구들이 수행되어 보고 되고 있다. 식품에 광범위하게 사용되는 색소에서 천연색소가 소비자의 건강에 대한 관심이 높아지면서 천연물로부터 각종 식용색소를 개발하려는 노력이 계속되고 있다. 본 연구에서는 천연색소를 활용할 뿐만 아니라 전통식품의 화두로 떠오른 발효식품인 증편을 발효 기술을 개발하고 천연색소의 추출 방법 선정 및 쌀가루와 천연색소의 배합 적합성을 위한 물성실험을 통해 건강기능성을 갖으면서 기호도가 높은 천연 발효 증편을 개발하고자 한다.

나. 연구개발 내용 및 방법

(1) 증편 생산용 막걸리 및 상업효모 대체형 한국토종효모자원 개발 및 유전자원 확보

○ 한국 농산물 내 토종 효모균 선발

분리시료인 15종의 과실(메론, 배, 키위, 바나나, 참외, 감, 적포도, 블루베리, 파인애플, 청포도, 오렌지, 사과, 건포도, 산딸기, 딸기)을 잘게 분쇄 후 각 과실 30g에 300ml 증류수와 30g 설탕을 넣고 3~4일 동안 배양(30℃)을 실시함으로써 효모 분리를 위한 발효액을 준비하였고, 각 과실의 발효액 100ul을 취하여 10^{-1} ~ 10^{-5} 까지 멸균수에 십진 희석한 후 PDA배지에 도말하여 배양하였다. 이어서, 형성되는 효모형 콜로니만을 선별 1차 분리한 후 이를 계대순수분리(3세대, PDA)하여 분리과정을 완료하였다.

○ 선발효모동정 및 유전자원 확보 (18S-RNA관정)

계대 순수분리효모균의 동정은, 마크로젠에 의뢰 하였으며, 실험 방법은 Diversilab시스템 및 Kit(Model : Saccharomyces Kit)를 사용하여 권장방법에 따라 분석하였다. PCR 분석 및 18S-RNA 염기서열 분석은, 분리균주 DNA 염기서열 분석을 위하여 200U Lyticase(Sigma, L4025)처리하고 Dneasy Blood & Tissue kit (QIAGEN, 69504)를 이용하여 효모의 genomic DNA를 순수분리 한

후, 18S rRNA and 28S rRNA spacer region 분석 하기 위하여 forward primer로 ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3')를 reverse primer로 ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT G-3') 를 이용하여 First denature(95℃, 2min.), Denaturation(95℃, 45sec), Annealing(55℃, 45sec), Extension(72℃, 45sec , 2 to 4 33 cycles) 그리고 Final extension(72℃,10min)의 조건으로 PCR을 실시하여 밴드패턴을 확인하고, 18s RNA의 염기서열을 CLUSTAL 2.0.11을 이용하여 Multiple sequence alignment를 실시하여 비교한 뒤, 염기서열을 이용한 BLAST tool(NCBI)을 이용하여, 비교 동정을 실시 하였다.(표 1)

표 1. 선발 분리효모의 유전자 분석결과(PCR)

PCR 항목	효모 genomic DNA 분리	DNA 염기서열 분석(동정)분석)
	1. 200U Lyticase(Sigma,L4025) 처리 : 37 ℃, 45분 2. Genomic DNA 순수분리: Dneasy® Bloodpar&Tissue kit(QIAGEN, 69504)적용	1. PCR primers 가. forward primer ; 나. reverse primer ; ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATG-3') 가. First denature:95℃, 2min 나. Denaturation:95℃, 45sec 다. Annealing : 55℃, 45sec (33 cycles) 라. Extension: 72℃, 45sec 마. Final extension:72℃,10min
비교	REFERENCE 1. A Phylogenetic Analysis of Saccharomyces Species by the Sequence of 18S-28S rRNA Spacer Regions., YUJI ODA et al.,YEAST VOL. 13: 1243-1250, 1997 2.	

○ 분리 효모의 발효 특성 측정(부피)

동정된 효모들의 부피 증가 정도를 측정하기 위해서 반죽 후 부풀어 오르는 정도 비교 실험을 실시하였다. 반죽의 조성으로는 멥쌀 100g, 과일효모종 3g, 설탕 17g, 소금 0.22g을 첨가한 후 잘 저어주고 건조를 막기위해 랩으로 커버를 가볍게 막고 30℃에서 발효시킨 후 부피 증가 정도를 확인하였다.

○ 선발효모의 배양 및 배지조건 확립

동정된 효모를 증편 생산에 적용하기 위해서는 일정농도 이상의 효모로 배양이 필요하다. 가장 저렴하고 배양효율이 좋은 배지 선발을 위해서 상품화된 배지들 YM, MRS, 생감자배지에서 배양한 효모를 이용하여 증편의 부피를 측정하였다. 반죽의 조성으로는 멥쌀 100g, 효모배양액 3g, 설탕 17g, 소금 0.22g을 첨가한 후 잘 저어주고 랩을 씌워 30℃에서 발효시킨 후 부피 증가 정도를 확인하였다.

○ 선발효모 지적소유(특허) 확보

- 증편 생산용 상업효모 대체형 효모자원 선발 (특허출원)
- 유전자 자원 확보(특허수탁)

(2) 증편 생산용 한국토종 유산균 개발 및 유전자원 확보

- 한국 장류 및 젓갈류에서 유용 유산균 분리

토속 젓갈 및 김치발효 균주를 분리하기 위해 가정, 음식점, 젓갈 시장등에서 시료 토속젓갈 26종과 국내 가정에서 담근 김치를 시료로 수집하여 사용하였다. 수집된 각 시료 5 g을 시험관에 넣고, 멸균된 증류수 10 ml 를 가한 후 교반하여 충분히 혼합한 뒤 30분간 방치하였다. 방치된 시료의 상등액에 멸균된 증류수를 가하여 $10^{-6} \sim 10^{-7}$ 까지 단계별로 희석하여 유산균을 분리 실험에 사용하였다. 유산균을 분리하기 위한 선택배지로 Bromocresol purple (BCP)을 함유한 BCP agar 배지를 사용하였으며, 준비된 시료를 마쇄한 후 평판희석 도말법을 이용하여 BCP agar배지에 도 말하였다. 시료를 도말한 배지를 25~37°C에서 24~37시간 배양하면서 균체 주변에 형광색환을 형성하는 균주를 1차 선별하였다. 1차 선별된 균주들은 다시 MRS broth (Difco Co., U.S.A) 에 접종하여 25°C 또는 35°C에서 48시간 배양하였다. 배양액을 TLC를 이용하여 γ -Aminobutyric acid(GABA) spot을 확인하였으며, 이들 균주중에서 GABA spot이 크고 진한 균주들을 GABA 생산균주로 최종 선별하였다.

○ GABA 생산균주의 동정

분리균주들의 정확한 동정을 위하여 16S rRNA sequence비교 분석하였다. 염기서열 분석을 통하여 얻어진 분리균주의 부분 염기서열은 Blast network service를 이용하여 GenBank에 등록된 다른 미생물의 염기서열과 비교함으로써 계통분류학적 유연관계를 분석하였다.

○ GABA의 분석

생성된 GABA 및 glutamic acid는 thin layer chromatography (TLC ; Silica gel 60 F254, Merck co.) 검정과 아미노산 분석을 실시하여 확인하였다. GABA 및 glutamic acid의 함량 변화는 배양액을 12,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 0.45 μ m membrane (Milipore Co.)로 여과한 후, 상등액을 분석용 시료로 하였다. 배양액에 함유된 GABA의 TLC 검정에 사용한 전개용매는 n-butanol : acetic acid : water (5:2:2, v/v/v)를 사용하였고, 발색시약으로 1.5% ninhydrin을 용매에 녹여 함께 전개시켰다. 전개 완료 후 105°C에서 5분간 발색시켜 확인하였다.

○ 아미노산 분석

제품의 아미노산 분석을 위하여 모든 제품은 동결건조를 진행하였다. 동결건조된 시료 1.15mg을 취한 후 PICO-tag 방법을 이용하여 hydrolysis 및 PITC labeling을 실시 PITC labeling 된 시료를 400ul의 buffer에 녹여 그 중 10ul 을 취하여 HPLC에 loading 하였으며 결과적으로 HPLC로 분석한 sample amount는 0.02875mg에 해당한다. 분석장비로는 Waters 510 HPLC 를 사용하였으며 Column은 waters Pico-tag column (3.9 X 300mm, 4 μ m)를 사용하였다. 모든 분석의 진행은 한국 기초과학지원연구원 대전분원에서 진행하였다.

○ GABA 생성 최적 미생물 배양 배지 조성 설정 실험

GABA생성 및 유산균 배양 배지로는 영양학적으로 가치가 높은 미강을 활용하였다. 미강을 물에 첨가하고 121°C에서 15분간 고압멸균을 실시하였다. 멸균된 미강배지를 6,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액만을 취하였다. 상등액에 실험에 따라 monosodium glutamate(MSG)를 첨가하거나 당류(설탕, 흑설탕, Sucrose) 또는 Yeast Extract 를 첨가하고 재차 멸균하였다. 멸균된 배지에 유산균을 접종하고 3일동안 30°C 현탁배양하였다. 이후 GABA 함량은 GABA 분석법을 따랐다.

○ 증편 첨가용 실용배지 조성 설정 실험

산업화를 위해서는 원가 절감을 위하여 값비싼 상용 배지를 대체할 수 있는 저렴한 식품첨가물로 등록된 재료를 선별하기위해 유산균을 배양하는 다수의 기존 논문을 참고한 결과 산업용 식용배지 원료로는 효모추출물(Yeast Extract, ㈜아이씨푸드, 대한민국), 포도당(Glucose, ㈜화미제당, 대한민국),

설탕(Sucrose, 제일제당, 대한민국)을 선발하여 이를 이용한 분리 균주의 배양조건에 따른 균수변화를 확인할 필요가 있었다. 통상사용되는 포도당 농도 2%와 Yeast Extract 농도를 다르게(3%, 6%)하여 유산균수를 상용배지인 MRS 배지와 growth curve를 측정하여 비교하였다.

○ 선발유산균 지적소유(특허) 확보

- 풍미 및 부피 팽창력이 우수한 증편 제조용 사카로마이세스 세레비지에 및 락토바실러스 브레비스 균주 혼합물 (특허출원)
- 유전자 자원 확보(특허기탁)

(3) 개발효모 및 유산균을 적용한 대량 증편제조 레시피 확립

○ 발효조를 이용한 효모 및 유산균의 배양 배지조성 설정

발효액종의 시스템 도입을 위해 효모 및 유산균의 영양분공급원 설정실험이 필요였다.

- 호기조건 설정

- 1) 재료 : 발효조 (10L, 바케스), 어항용 공기 펌프
- 2) 배지원료 : 건조쌀가루(습식쌀가루 건조, 수분함량 12%), 효모배양액(PDB에서 1day 배양물), 유산균 배양액(PDB에서 1day 배양물), 설탕
- 3) 배지조성 : 건조쌀가루 18.9%, 설탕 3.8%, 막걸리, 물 75.6%
- 4) 실험조건 : 호기와 혐기조건의 액종 특성을 위하여 각 실험구에 공기펌프 주입 또는 미 주입으로 항온 35℃, 정지배양하였다.

- 당 종류에 따른 발효효율 실험

- 1) 재료 : 발효조 (10L, 바케스), 어항용 공기 펌프
- 2) 배지원료 : 건조쌀가루(습식쌀가루 건조, 수분함량 12%), 막걸리, 당분(설탕, 올리고당, 맥아물엿 중 택일)
- 3) 배지조성

	올리고당 5	올리고당 10	올리고당 15	올리고당 20	올리고당 30	설탕 20	맥아물엿 20
건조쌀가루	200	200	200	200	200	200	200
막걸리	50	50	50	50	50	50	50
물	150	150	150	150	150	150	150
당류	5	10	15	20	30	20	20

4) 실험조건 : 당공급원으로 올리고당 설탕 맥아물엿을 활용하여 당 공급최적 원료 설정함.

- 당공급원으로 분해효소 첨가

- 1) 재료 : 발효조 (10L, 바케스), 어항용 공기 펌프, shaking incubator
- 2) 배지원료 : 건조쌀가루(습식쌀가루 건조, 수분함량 12%), 효모배양액(YM에서 1day 배양물), 유산균 배양액(MRS에서 1day 배양물), 당원(설탕, 엿기름 추출물, 쌀누룩 중 택일)
- 3) 효소제 : 밀누룩(소울곡 누룩, 송학곡자, 대한민국), 쌀누룩(개량 쌀누룩, 소금누룩익는마을, 대한민국), 엿기름(맥아 1: 물 3 혼합 추출물)

단위(g)	밀누룩	쌀누룩	엿기름	엿기름+유산균
전쌀	500	500	500	500

효소원	100	100	100	100
막걸리	50	50	50	50
물	1000	1000	1000	1000

4) 실험조건

- 가) 효소원을 달리하여 액종 혼합한다.
- 나) 효소원을 달리한 실험구를 35℃, 교반기에서 80rpm으로 교반시키며 배양하였다.
- 다) 24시간 발효가 끝난 액종을 활용하여 기정떡 생산에 사용함
- 라) 부피증가 정도는 2배 볼륨까지 도달 시간을 측정하여 비교

○ 생산공정 확정을 위한 액종 생산

개발 효모와 유산균의 산업적으로 활용하기 위하여 경제성과 활용성등을 감안하여 미강, 습식 제분 쌀가루, 건조쌀가루 등을 활용한 액체배지 제조 조건 설정을 위하여 실시하였다. 액종생산에는 기존 기술을 최대한 적용하여 누룩의 양분 공급 원리를 활용한 액종 대량생산 기법을 사용하였다. 접종원으로는 각각 효모와 유산균의 고유배지인 생감자배지와 유산균 GY(glucose+yeast extract)배지를 사용하였다.

- 원종 제조 (Pro-liquid starter)

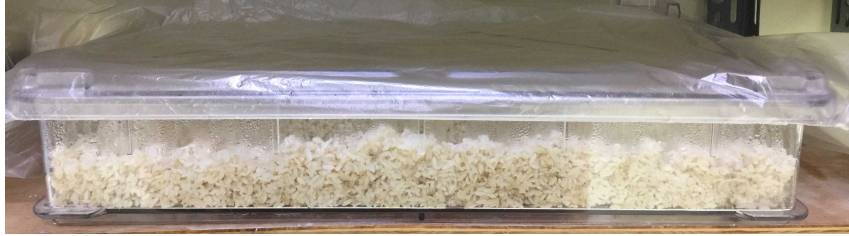
- 1) 재료 : 10L 플라스틱 바케스, 어항용 공기 펌프(LP-40A, (주)고성밸브, 대한민국)
- 2) 배지원료 : 찐쌀(습식찐쌀가루 증숙), 쌀누룩, 효모배양액, 유산균 배양액
- 3) 배지조성 : 찐쌀(백설기) 18.9%, 쌀누룩(백국입국) 3.8%, 효모배양액 1.1%, 유산균 배양액 0.6%, 물 75.6%

4) 찐쌀 제조

- 가) 백미를 씻고 물에 담가 약 12시간 불린다.
- 나) 체에 걸러 30분간 물을 빼준다.
- 다) 소금을 1.3% 첨가 하고 2회 제분 후 냉동보관한다.
- 라) 제분된 습식 쌀가루를 1kg을 스팀으로 약 30분 증숙하다.

5) 누룩 제조

- 가) 백미를 3회 수세하고 12시간 수침한다.
- 나) 체에 걸러 30분간 유지하여 물을 뺀다.
- 다) 보에 담아 스팀에서 약 한시간 증숙하여 고두밥을 만든다.
- 라) 고두밥이 식어 약 30~35℃ 될 때 고두밥 약 1kg 당 백국(충무발효, 대한민국) 10g 을 흩어 뿌려 버무려준 후 플라스틱 도우박스 반죽통(우정, 대한민국)에 분주 후 비닐을 덮고 30℃에서 5일간 배양한다. 단, 국의 경우 산소가 많이 유입되면 국에서 포자가 발생되어 쓴맛의 원인이 될 수 있으므로 보로 감싸거나 다음 사진과 같이 비닐을 덮어 공기 유입을 어느정도 막아주는 것이 중요하다.



<누룩띄우는 방법 : 도우박스를 활용하며 비닐을 덮음>

마) 배양된 개량누룩은 물밀제분기로 2회 제분하고 실험에 사용하였다.

6) 접종 및 배양조건

가) 준비된 배지원료를 플라스틱통에 넣고 잘 저어준다.

나) 다음 그림과 같이 공기주입구와 공기 배출구를 만들어 빠른 공기 공급과 배출이 이루어지도록 한다.

다) 적정 온도 30℃로 배양시간은 16~24시간동안 배양한 후 원종으로 사용함

- 액종 (Pre-liquid starter)

1) 재료 : 20 gallon 배양조, 어항용 공기 펌프(LP-40A, (주)고성밸브, 대한민국)

2) 배지원료 : 건조쌀가루(습식쌀가루 건조, 수분함량 12%), 쌀누룩, 원종, 설탕

3) 배지조성 : 건조쌀가루 23%, 원종 23%, 쌀누룩 4%, 설탕 4%, 물 46%

4) 건조쌀가루 제조

가) 전자의 습식쌀가루(수분함량 46%)를 1.5kg씩 개량하여 농산물건조기(귀뚜라미, 대한민국)의 플레이트에 평평하게 깔아 고르게 해준다.

나) 건조기 세팅값 온도 50℃, 습기 배출 연속, 건조시간 7시간

다) 건조가 완료된 쌀가루 이하 건조쌀가루는 상온 보관한다.

5) 접종 및 배양 조건

가) 준비된 배지원료를 20Gal 배양조에 넣고 잘저어준다.

나) 다음 그림과 같이 공기주입구와 공기 배출구를 만들어 빠른 공기 공급과 배출이 이루어지도록 한다. 다) 적정 온도 27℃로 배양시간은 24시간동안 배양한 후 액종으로 제품 생산에 사용함

○ 텍스처 측정

증편의 물성을 측정하기 위하여 일정 크기로 절단한 다음 직경이 10 mm 인 probe를 이용하여 압착실험을 수행하였다. Texture analysis(Sun Rheo Meter Compac-100 II, Japan)를 이용하여 견고성(Hardness)를 측정하여 경도를 측정하였다. 측정 조건값으로는 Test type - TPA; measuring Type - 2 bite compression test; Distance format - 50% strain; Load cell - 5kg; Plunger diameter - 75mm; Test speed - 1.00 mm/sec; Pre-test speed - 5.00 mm/sec; Post-test speed-1.00 mm/sec; sample size (W*L*H) - 20*20*20 mm 로 측정하였다.

○ 관능평가

증편 제품의 2x2x2 cm로 잘라 흰 접시에 놓고 각 시료의 접시에 난수표를 사용한 세자리 수의 라벨을 붙여 표시하였다. 관능평가는 창억 본점 콜센터 및 점원 8명을 대상으로 훈련하여 실시하였다. 시료는 물과 함께 실온에서 동시에 제시하고 하나의 시료를 평가한 뒤에는 입안을 물로 헹군 후 다른

시료를 평가하도록 하였다. 두부의 외관(appearance), 냄새(aroma), 구강텍스처(texture)에 대해서는 강도 평가를 실시하였고 따로 선호도(preference)에 대한 평가를 15cm 선척도를 이용하여 평가하였다. 관능평가는 2회 반복하여 실시하였다.

바. 연구개발 결과 및 고찰

(1). 증편 생산용 막걸리 및 상업효모 대체형 한국 토종효모자원 개발 및 유전자원 확보

○ 한국 농산물 내 토종 효모균 선발

효모는 전통적으로 전통 주류나 장류 등의 생산에 활용되어왔다. 효모는 값이 저렴한 배지에서도 쉽게 배양할 수 있는 단세포 진핵생물로 단백질을 과량 발현시키는 생물전환 기술에도 널리 활용되고 있다. 우리나라의 자연환경에 서식하고 있는 새로운 효모들을 분리, 동정하여 이들의 자원화하고, 이 들로부터 고부가가치의 의약산업이나 건강 식품산업 등에 활용할 수 있는 신소재 개발 응용연구들이 매우 중요하며 최근 생물전환기술의 발달로 여러 산업현장에서 활용되고 있다. 식물은 효모의 공통적인 서식처로 잘 알려져 있기 때문에, 다양한 효모들이 나무껍질, 잎, 꽃, 또는 과실에서 발견되고 있다. 식물체에 있는 효모의 독특한 발효특성을 활용하여 국내 제빵에 활용하고자 다양한 효모균들을 선발 및 특성조사를 실시하여 산업현장에 적용하고 있다. 천연과일 효모를 활용하여 풍미가 있는 증편을 개발해 보고자 시장에서 판매되고 있는 생과일 총 15종의 액종을 만들었다(그림 1). 3일의 숙성 기간을 거쳐 발효가 된 액종에서 효모를 순수 분리하였으며 균주의 발효특성을 1차적으로 확인하였다(그림 2). 좋은 부피 증가 능력을 보이는 효모 균주를 ITS 검정을 통해서 동정하였으며 동정된 효모의 학명은 표 1과 같으며 2개의 소스에서 동정된 균주에서는 *Wickerhamomyces*로 유해 미생물이 분리되었으며 대부분 *Saccharomyces cerevisiae* 로 중복 종으로 3종류의 Strain들이 분리되었다. 발효 특성 확인결과 배에서 분류된 *Saccharomyces cerevisiae* strain YJM993 균주가 가장 좋은 풍미와 부피팽창을 갖어 다음 실험에는 배에서 분리 동정한 효모를 사용하였다.



그림 1. 과일효모 추출을 위한 과일 발효

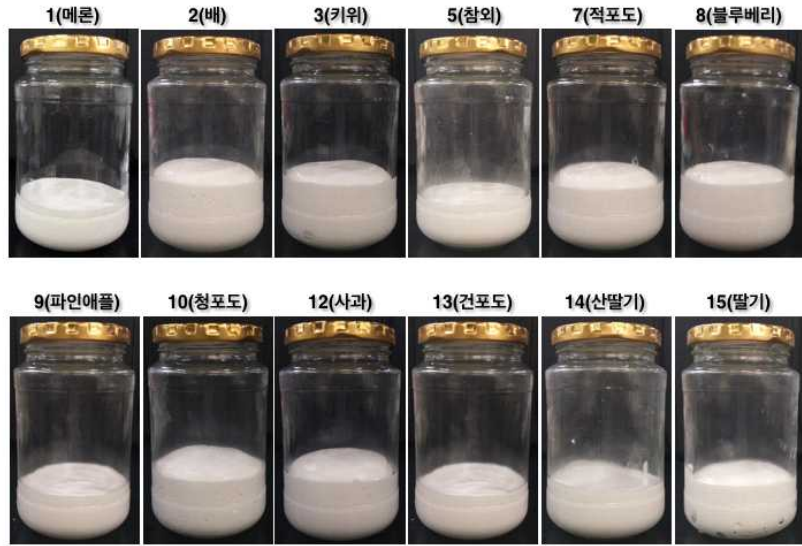


그림 2. 과일액중 유래 분리 효모의 발효 특성

표1. 천연과일 중 및 누룩에서 분리된 효무균

유래 품명	학명	비고
배	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> YJM993	효모
키위	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> YJM993	효모
적포도	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> YJM993	효모
블루베리	<i>Wickerhamomyces</i> EG2(<i>Pichia anomala</i>)	유해효모
청포도	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Sc24	효모
사과	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W46	효모

○ 분리 효모의 발효 특성 측정(부피)

동정 균주의 발효특성과 공정 적용 특이성을 확인하기 위하여 효모의 농도에 따른 반죽의 부피증가 능력(그림 3)과 배양배지에 따른 증편의 부피(그림 4)를 확인하였다. 적정 효모 첨가 농도 설정을 위하여 효모 투입 농도별 부피증가 실험을 실시하였다. 그 결과 예상대로 효모의 농도 증가에 따른 부피 증가 정도는 확연하게 차이를 보였으며 특히 $4 \times 10^{11}/\text{ml}$ 의 효모 농도에서는 400배에 달하는 부피 증가를 보였다. 하지만 경제적인 면과 관능적인 부분을 고려할 때 효모 농도는 $1 \sim 2 \times 10^{11}/\text{ml}$ 의 농도가 가장 적절한 부피와 풍미를 보여 추후 적정 효모의 농도는 $2 \times 10^{11}/\text{ml}$ 의 농도가 가장 적정함을 확인하였다 (그림3).

균주의 대량생산 확보시 필요한 최적 배양배지 선발을 위해 YM배지, MRS 배지, PDA배지, 생감자

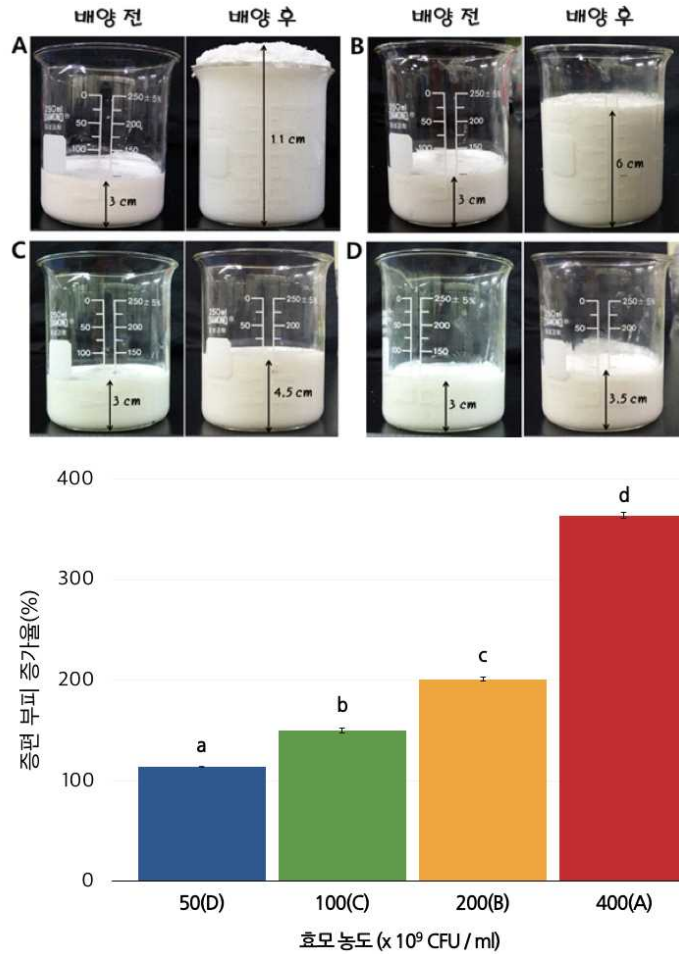


그림 3. 효모 배양 배지에 따른 부피 증가 배지를 가지고 확인하였으며 각 배지에서 배양한 균주를 원심분리한 후 배지를 제거하고 멸균수로 희석하여 접종하였다. 그 결과 YM, MRS 배지에 비해 상대적으로 저렴한 생감자배지에서 자란 효모의 발효특성이 떨어지지 않는 것을 확인하여 추후 생감자 배지를 대량 배양용 배지로 최종 선발하였다 (그림 4).

○ 선발유산균 유전자원 확보(특허기탁)

본 연구 과제를 통해서 분리 및 특성화를 완료한 효모 *Saccharomyces cerevisiae* YJM993을 YDS02로 명명하였다. 다음 균주를 증편 공정에 활용하였으며 증편 공정 특허 진행을 위해 다음 균주의 미생물 특허 기탁을 진행하였으며 기탁 번호는 KCCM11871P이고 기탁일은 2016년 7월 22일이며 기탁증서는 그림 5와 같다.

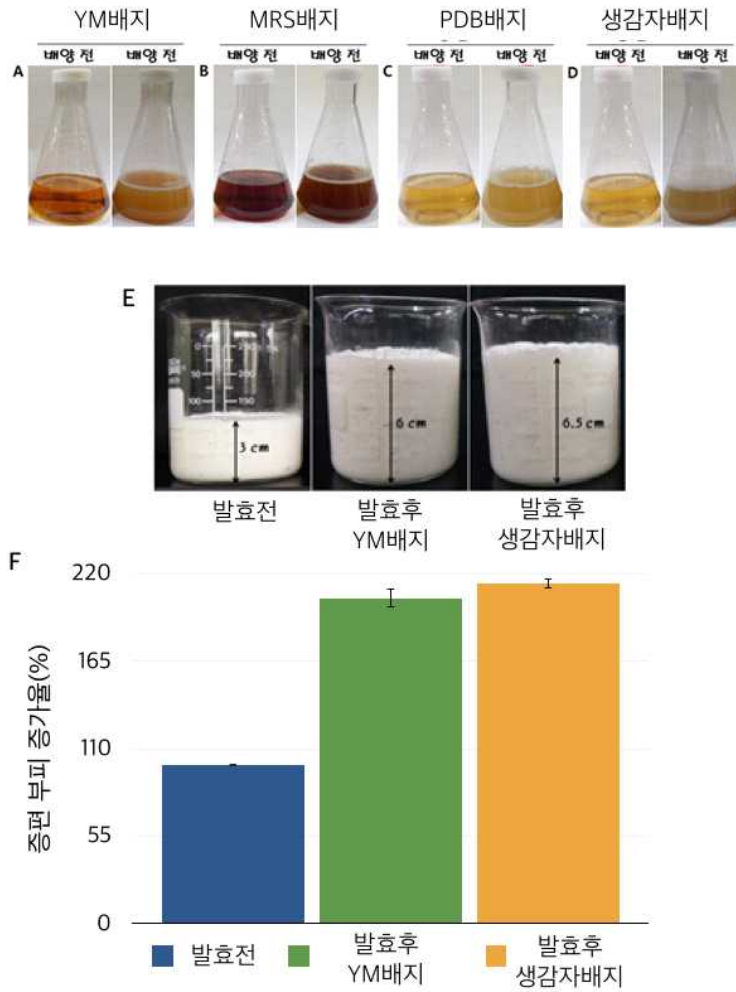


그림 4. 효모 배양 배지에 따른 부피 증가



BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

INTERNATIONAL FORM

To. CHANGEOK CO., LTD.
242, Gyeongyeol-ro,
Buk-gu, Gwangju,
Korea

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR : <i>Saccharomyces cerevisiae</i> YJM993 YDS02	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: KCCM11871P
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I above was accompanied by: <input type="checkbox"/> a scientific description <input type="checkbox"/> a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable)	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depository Authority accepts the microorganism identified under I above, which was received by it on July. 22. 2016. (date of the original deposit) ¹	
IV. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name : Korean Culture Center of Microorganisms Address : Yurim B/D 45, Hongjengae-2ga-gil Seodaemun-gu SEOUL 120-861 Republic of Korea	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depository Authority or of authorized official(s): Date: July. 22. 2016.

¹ Where Rule 6.4(d) applies, such date is the date on which the status of international depository authority was acquired; where a deposit made outside the Budapest Treaty after the acquisition of the status of international depository authority is converted into a deposit under the Budapest Treaty, such date is the date on which the microorganism was received by the international depository authority.

Form BP/4

Sole page

— 한국미생물보존센터 TEL: 02-392-2859
120-861 서울시 서대문구 홍제내2가길 45 유림빌딩 TEL: 02-391-0950, 396-0950 FAX: 02-392-2859
— KOREAN CULTURE CENTER OF MICROORGANISMS KOREAN HERITAGE OF CULTURE COLLECTION
Yoolim Bldg., 45, Hongjengae 2ga-gil, Seodaemun-gu, Seoul, 120-861, Korea TEL: 82-2-391-0950, 396-0950 FAX: 82-2-392-2859

그림 5. 균주균주 기탁증서

(2) 증편 생산용 한국 토종 유산균 개발 및 유전자원 확보

○ 한국 장류 및 젓갈류에서 유용 유산균 분리

분리 동정된 배 유래 효모의 발효 특성과 기존 막걸리를 사용하는 전통적인 방법에 비해 어떠한 차이를 보이는지 확인해보고자 비교실험을 실시하였으나 막걸리 단독에 비해서 특별한 부피 증가는 확인되지 못했다. 증편의 생산공정상 2배까지의 부풀리는 1차발효의 시간은 공정 단축에 매우 중요한 역할을 하므로 2배까지 부풀리는 시간을 단축 시키기 위해서는 효모 단독보다는 유산균을 서로 공생시켜 보다 증가된 제품의 부피와 풍미 향상을 시켰다는 연구결과를 참고하여 증편의 부피증가에 긍정적인 효과를 보이는 상호 보완적 유산균을 선발하고자 하였다. 선행 연구등에서 *Leuconostoc mesenteroides* 균주의 혼합배양이 부피 향상을 확인하였다. 부가적으로 현대인들의 불규칙하고 부적절한 식습관과 환경 오염, 스트레스 증가 및 생활수준이 급속하게 발전하여 다양한 기능성 성분에 대한 관심이 증가되고 있으며 다양한 건강 보조 식품이 활발하게 소비되고 있다. 기능성 성분중에는 γ -Aminobutyric acid(GABA)는 자연계에 널리 분포하는 비단백질 구성 아미노산으로서, 사람에게 있어서는 신경계, 혈액에 함유되어 있으나, 대부분은 뇌의 골수에 존재하여 aetyl choline이라 불리는 신경전달 물질을 증가시키고, 뇌기능을 촉진시키는 등의 생리작용뿐 아니라, 혈압 저하 작용, 이뇨작용, 항산화 작용, 성장 호르몬의 분비 조절에도 관여하며, 통증 완화에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Chang 등 1992; Krogsgaard-Larsen P 1989; Leventhal 등 2003; Park 등 2002; Shelp 등 1999).

본 실험에서는 증편의 발효 초직 기능과 GABA 변환에 따른 기능성 추가라는 두가지 목표를 가지고 유산균 선발에 들어가게 되었으며 1차적으로 GABA 전환 균주를 선발하고 선발된 균주를 활용하여 부피 증가 효과를 추가 조사하여 두가지 항목에 최적 균주를 선발하고자 하였다. 30여종의 젓갈과 김치시료들을 각각 1ml을 취한 후 멸균 생리식염수를 이용하여 단계별로 희석한 다음 BCP배지에 도말하였다. BCP 배지 상에서 균체주변으로 형광색환을 나타내는 61종의 균주를 1차적으로 선별하였다(그림 6 A). 선별된 균주들을 MRS agar배지에 2회 계대배양하여 순수분리된 균주들을 MRS broth에 접종하여 37℃에서 48시간 배양하였다. 배양 후 얻은 배양액을 원심분리하여 상등액을 silica gel TLC상에 점적하여 표준품인 GABA와 Rf 치가 같으며 높은 GABA 변환율을 나타내는 균주들을 2차 선별하였다. 선행연구에서 25와 35℃에서 각기 다른 반응을 나타내는 균주가 많은 것을 확인하고 선발에서도 다음 두가지 배양조건에서 GABA 변환율을 확인하였다(그림 6 B). 다음 결과에서 25℃와 35℃ 조건 모두에서 높은 GABA 변환율을 나타내는 균주들을 추가 비교하였으며 최종적으로 1, 2, 3, 12, 26, 27, 28가 선별되었으며 1은 2-1, 12는 9-10, 26은 7-3으로 GABA 변환 대표균주로 선발되었다. 다음 선별된 유산균의 GABA 전환능력을 확인하고자 Positive control(GABA 변환균주)로 KACC14481과 Negative control(GABA 비변환균주)로 KCTC3105를 사용하여 각각 25℃, 30℃ 그리고 35℃에서 다음 각각의 균들을 2일간 배양하여 배지를 점적하여 TLC를 진행하였다(그림 6 C). 그 결과 7-3 균주가 가장 높은 GABA 전환능력을 보여주었으며 이미 보고된 균주 K1(KACC14481)보다도 오히려 25~35℃로 넓은 범위의 온도조건에서도 활력의 변화 없이 일정한 GABA 변환율을 갖어 추가 하위 실험에 대표균주로 사용하였다.

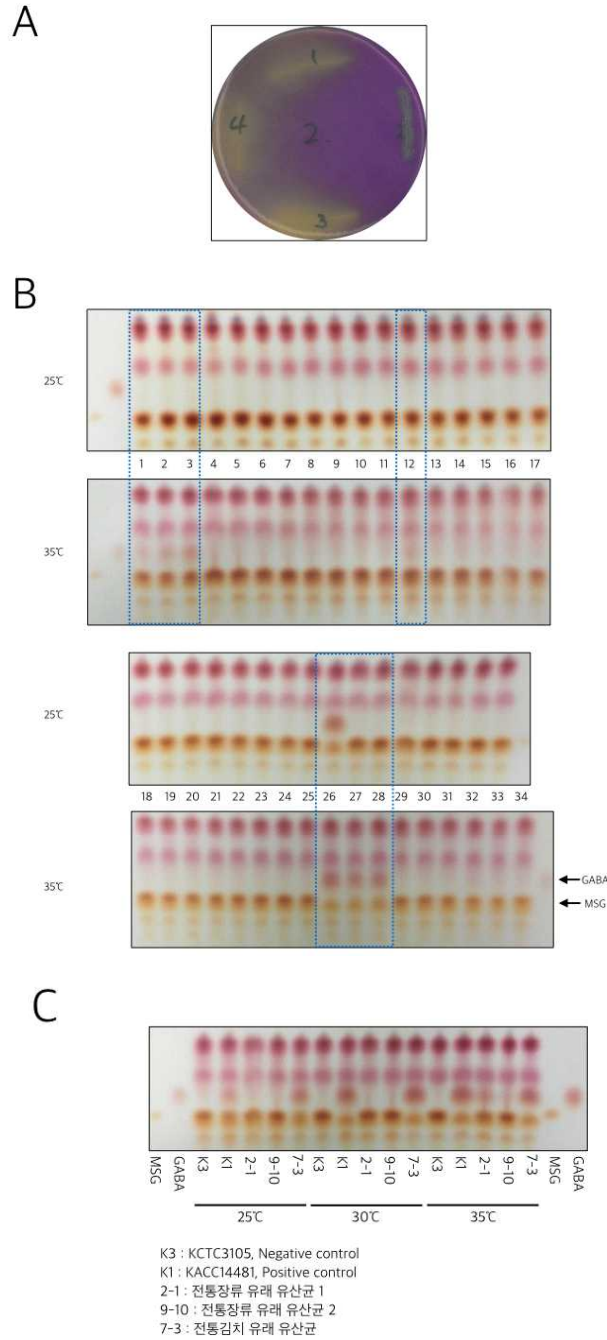


그림 6. GABA 변환 유산균 분리 및 특성 분석 (A) BCP 배지 선발법에 의한 1차 GABA 변환가 능성 높은 박테리아 선발 실험, (B) Thin Layer chromatography(TLC) 검정을 통한 GABA 유산 균 선발, (C) 선발 균주의 온도 변화에 따른 선행연구들에서 제시하는 균주와 분리 대표 균주간의 GABA 변환 비교 분석

○ GABA 생산균주의 동정

GABA 생산균주로 선별된 YDS01의 16S rDNA 부분 염기서열을 분석하여 얻은 450 bp의 염기서열을 NCBI의 Genebank에 등록된 nucleotide data base와 비교하여 본 결과 *Lactobacillus brevis* strain JCM1059 의 동일 영역 염기서열과 99%의 유사도를 나타내었다. 이와 같은 결과를 토대로 YDS01 strain을 *Lactobacillus brevis* strain JCM1059로 동정하였고, *L. brevis* YDS01로 명명하였다.

○ 증편 첨가용 미생물 배양 배지 조성 설정 실험

식품소재로 활용하기 위해서는 식품 원료를 활용한 배지 조성의 구성이 가장 안전하며 효율적이므로 선행연구등에서 제시하고 있는 효율적 배지 조성으로 미강과 기본배지 PDB를 비교하였다. GABA 변환 촉진을 위해 0.5%의 MSG와 추가적인 양분원으로 설탕, 흑설탕 그리고 Sucrose를 사용해 보았으며 비교대상으로 일반 감자전분배지(PDB)를 사용하였다. 그 결과 일반 배지 PDB에 비해 미강추출물 배지의 경우 매우 낮은 GABA 치환율을 나타내었으며 이는 아마 직접 활용할 수 있는 양분의 공급이 제대로 이루어지지 못해 균 생육이 저해되고 이로 인해 GABA변환율도 낮아진 것으로 판단된다. 이 결과로 인해 미강을 활용하는 방안은 추가적인 연구가 더욱더 필요할 것으로 판단되며 추후 실험 및 제품 생산에 기본배지인 PDB를 유산균 초기생육 및 접종 배지로 사용하였다(그림 7 A).

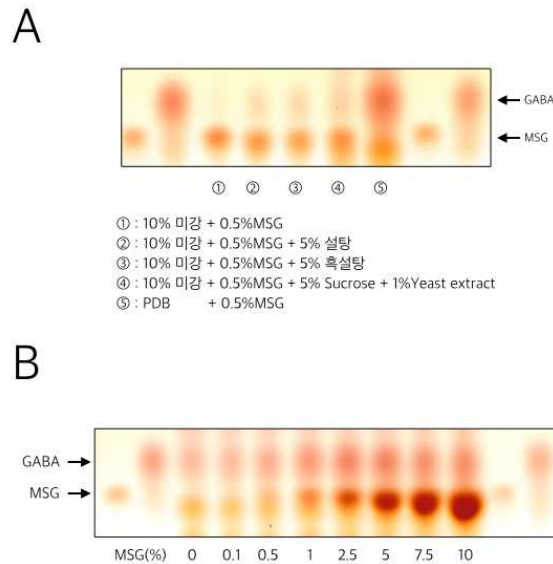


그림 7. 유산균 배양특성 조사 GABA 변환 유산균 배지 특성 다음 유산균의 제품생산에 활용하기 위해 초기 배양 및 접종에 활용될 생육배지 선발을 위해서 미강과 PDB를 활용하여 비교하였다(A). 배양 중 GABA 함량 증진을 목적으로 MSG 첨가량 설정하였다(B)

○ GABA 증진 증편 개발용 미생물 배양 배지 MSG첨가량 결정 실험

GABA 집적 증가를 위해서는 다양한 방법들이 고안되고 있지만 가장 쉽고 이상적인 방법은 아직까지는 glutamate를 인위적으로 넣어주는 방법 또는 glutamate 다량함유 식품을 넣어주는 방법이 있다. 하지만 본 연구에서는 glutamate 대신에 monosodium glutamate(MSG)를 넣어 100% 치환되어

잔량의 MSG가 발생되지 않는 조건을 설정하고자 하였다. 본 연구에서는 미생물 배양 기본배지내에서 미생물의 생육과 MSG 집적량을 TLC를 통해서 확인하였다(그림 7 B). 그 결과 확인한 GABA 증가가 확인되는 첨가량은 1% 이후 첨가구로 2day까지 배양하였을 때 잔존 MSG량이 확인되어 그 이하로의 설정이 필요할 것으로 판단되었다. 이러한 이유에서 잔존 MSG함량과 GABA 함량의 절충안으로 0.1~0.5%대의 MSG 첨가를 허용가능 범위로 설정하였다.

○ GABA 증진 증편 개발용 식용배지 선발 및 배양조건 확립

다음 선발된 유산균 L. brevis YDS01를 활용하여 증편 생산하는 접종 종(Seed)으로 사용하기 위해서는 MRS medium이 아닌 식용배지를 선택할 필요성이 있다.

유산균 배양 식용배지 선발을 위한 실험으로 대조군으로 MRS 배지로 하여 상용배지에 근접하는 배지 조성을 식품용 소재로 대체하고자 하였다. 영양분 구성원으로 탄소원 설탕(Sucrose)과 포도당(Glucose) 그리고 Yeast Extract를 활용하여 상대적으로 경제적인 배지를 선발하여 최적 배양조건을 설정하였다 (그림 8).



	0	3	6	9	12	15	18	21	24
MRS	0.043	0.057	0.139	0.487	0.775	1.317	1.339	2.439	3.017
GY4%	0.087	0.113	0.194	0.478	0.548	1.271	1.314	1.514	1.789
GY6%	0.090	0.108	0.214	0.490	0.589	1.327	1.418	2.017	2.544
SY4%	0.097	0.111	0.189	0.449	0.490	1.101	1.334	1.511	1.771
SY6%	0.090	0.101	0.201	0.444	0.504	1.311	1.401	1.580	1.891

그림 8. Yeast Extract 함량에 따른 유산균 성장곡선 비교

그 결과 유산균 배양에 있어 설탕 보다는 포도당에서 성장이 빠르며 Yeast Extract의 경우 6%가 4%보다 유산균 배양에 긍정적으로 나타났다. 이로서 MRS 상용배지에 1/10의 가격으로 대략 2배정도 낮기는 하지만 유사한 배양효율을 갖는 배지를 최종적으로 선발하였으며 조성은 Glucose 2% 효모 추출물 6%로 설정하여 경제적 유산균 배양 배지로 선정하였다.

○ 선발유산균 유전자원 확보(특허기탁)

효모 균주와 마찬가지로 균주를 증편 공정에 활용하였으며 증편 공정 특허 진행을 위해 다음 균주의 미생물 특허 기탁을 진행하였으며 기탁 번호는 KCCM11870P이고 기탁일은 2016년 7월 22일이다.



BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

INTERNATIONAL FORM

To. CHANGEOK CO., LTD.
242, Gyeongyeol-ro,
Buk-gu, Gwangju,
Korea

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY:
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR : <i>Lactobacillus brevis</i> JCM1059 YDS01	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: KCCM11870P
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I above was accompanied by: <input type="checkbox"/> a scientific description <input type="checkbox"/> a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable)	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depository Authority accepts the microorganism identified under I above, which was received by it on July. 22. 2016. (date of the original deposit) ¹	
IV. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name : Korean Culture Center of Microorganisms Address : Yurim B/D 45, Hongjenae-2ga-gil Seodaemun-gu SEOUL 120-861 Republic of Korea	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depository Authority or of authorized official(s) : Date: July. 22. 2016.

¹ Where Rule 6.4(d) applies, such date is the date on which the status of international depository authority was acquired; where a deposit made outside the Budapest Treaty after the acquisition of the status of international depository authority is converted into a deposit under the Budapest Treaty, such date is the date on which the microorganism was received by the international depository authority.

Form BP/4

Sole page

— 한국미생물보존센터 (KCCM) —
120-861 서울시 서대문구 홍제내2가길 45 유림빌딩 Tel: 02-391-0950, 396-0950 Fax: 02-392-2859
— KOREAN CULTURE CENTER OF MICROORGANISMS (KOREAN FEDERATION OF CULTURE COLLECTIONS) —
Yoolim Bldg., 45, Hongjenae 2ga-gil, Seodaemun-gu, Seoul, 120-861, Korea Tel: 82-2-391-0950, 396-0950 Fax: 82-2-392-2859

그림 9. 균주 기탁증서

(3). 개발효모 및 유산균을 적용한 대량 증편제조 레시피 확립

유산균과 효모가 동시에 접종된 증편 반죽의 경우 유산균이 만들어낸 젖산등에 의해서 반죽의 물성이 바뀌며 이로 인해 제품의 풍미, 향균활성에 의한 미생물 생육 억제, 그리고 노화억제등이 보고되어있어 다음 실험에서 분리동정된 제품의 노화정도를 기존 막걸리를 사용한 증편과 비교해 보았다. 그 결과 발효력차이는 막걸리, 효모, 유산균 그리고 효모+유산균으로 처리하여 증편의 발효 특성으로 2배 까지 도달하는데 걸리는 시간으로 막걸리는 7시간, 효모 단독은 4시간 그리고 효모+유산균의 경우 3시간으로 보다 긍정적인 효과를 나타냈다. 단 유산균 단독은 부풀어오르기는 하였지만 24시간이 소요되었다. 이 결과로 볼 때 효모 단독 보다는 유산균과 같이 발효시킬 때 부피 팽창에 긍정적인 효과를 줄 수 있음을 확인하였다.

막걸리만을 사용한 증편에서는 2day까지가 측정 최대치의 경도 $1646 \pm 202.01g$ 을 나타내었으며 효모와 유산균을 접종한 증편에서는 3day에서 막걸리 단독의 경도 $1646 \pm 202.01g$ 보다 오히려 낮은 $1533.67 \pm 74.8g$ 을 나타내었으며 일원배치 분산분석을 실시해본결과 막걸리 2day와 효모 유산균 3day의 유의성이 있다고 나와 효모와 유산균 동시접종 증편이 막걸리 단독보다 약 하루정도 노화가 지연됨을 확인 할 수 있었다(그림 10).

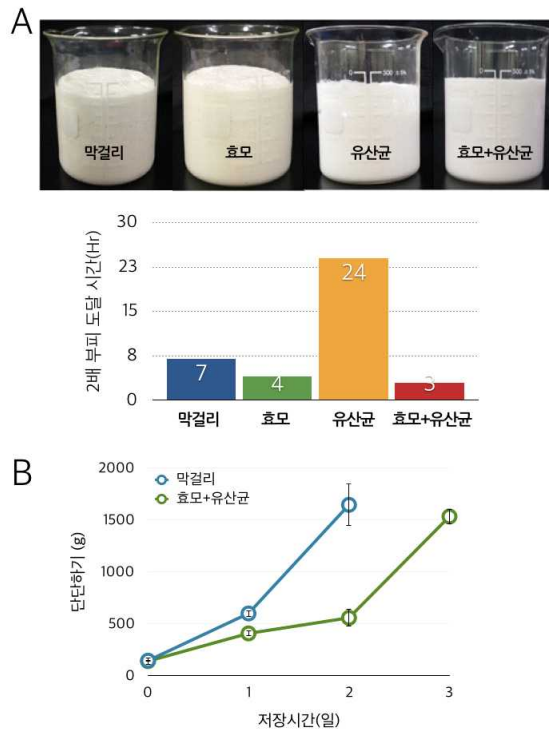


그림 10. 유산균과 효모를 활용한 발효 특성

(A) 유산균 첨가가 발효속도에 미치는 영향과 (B) 증편 노화에 미치는 영향

○ 발효조를 이용한 효모 및 유산균의 배양 배지조성 설정 (배양 방법)

천연발효 빵 및 식품 제조에 있어 여러가지 방법들이 고안되었으며 대표적으로 샤워종 및 액종 시스템이 대표적이다. 본 과제에서는 샤워종(Sour dough) 시스템보다는 액종(Liquid-starter) 시스템을 선택하였다. 그 이유로는 제빵과 증편의 생산 공정상 제품의 풍미 및 품질에 미치는 영향에 기인하는

데 산소공급 없이 배양할 경우 샤워종과 액종의 시스템 모두에서는 알콜발효가 이루어지며 이 제품에서 생산되는 증편에서는 술취가 강하게 남아있는 반면 제빵에서는 술취는 굽는 과정에서 증발되어 사라지게 된다. 이런 이유로 인해서 알콜발효를 억제시킬 수 있는 배양방법이 필요했으며 그 대안으로 액종 발효에 공기주입을 하는 방법이 최적임을 확인하였다. 본 연구에서는 이처럼 액종에서 호기 조건과 혐기 조건으로 생산된 액종이 제품의 풍미 및 품질에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과 일반 습식 쌀가루와 건조 멸균 쌀가루 그리고 호기 배양 조건 과 혐기 배양조건을 서로 비교해 보았다. 발효액은 각각의 조건으로 1day 배양하였으며 발효액 대비 쌀가루양을 얼마까지 첨가하여도 발효속도에 큰 영향을 안주는가 확인하고자 조건별로 액종을 첨가 및 쌀가루를 추가하여 발효가 완료되는 시점인 1.3배까지 부풀어 오르는 정도에 도달하는 시간을 측정하였다. 쌀가루 투입비에 따라서 발효가 늦어지는 경향을 보이지만 건조 멸균쌀가루에 호기적 배양조건의 액종은 8배까지도 1.3배까지 도달하는 시간이 거의 일정하게 유지되었다. 이 결과로 볼 때 부피증가력에 가장 효율적인 배양 조건은 멸균쌀가루 사용과 호기적 배양을 하는 것이 가장 이상적인 것을 확인 할 수 있었다(그림 11 A, B). 추가적으로 각 배양조건, 쌀가루 조건 및 액종과 쌀가루배합조건에 따라서 제품 풍미에 미치는 영향을 확인하고자 최종 제품에서 나타나는 이취 정도를 확인하였다. 그결과 일반쌀가루와 혐기 조건에서 배양한 액종이 가장 이취가 심했으며 이와 반대로 멸균쌀가루와 호기배양 조건의 경우 쌀가루와 액종의 혼합 비율에 관계 없이 이취가 나타나지 않는 것을 확인 할 수 있었다(그림 11 C). 이 결과로 미루어 볼때 액종의 생산에 있어서 배양조건으로는 쌀가루의 멸균이 필요하며 그조건으로는 건조 및 멸균기 사용이 후보로 거론되었으나 최종적으로는 건조가 시간적 장비적으로 효율적이므로 추후 멸균쌀가루는 건조쌀가루로 사용하여 실험에 사용되었다. 그리고 배양조건으로는 혐기배양 보다는 호기배양을 위해 모든 배양에 공기펌프를 사용하여 공기를 주입하였으며 조면 및 실제 적용 사례는 그림 11 D에 제시하였다. 이와 같은 이유는 효모 및 유산균의 혐기적 생육과 호기적 생육에 기인하는 것으로 판단되며 혐기적 배양조건에서의 경우 젖산발효나 알콜발효가 진행되며 호기적 배양 조건에서는 단순 일반 호흡이 촉진되기 때문으로 판단된다.

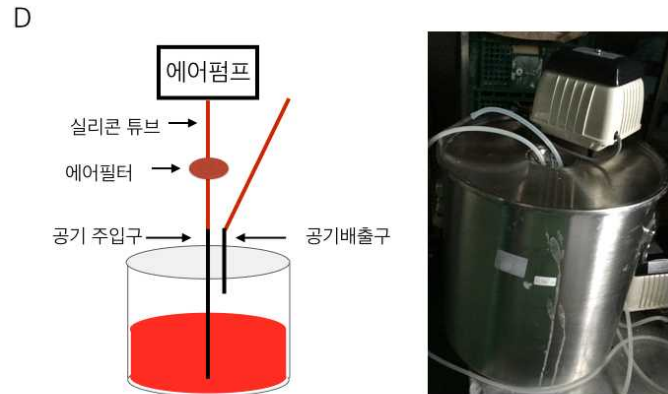
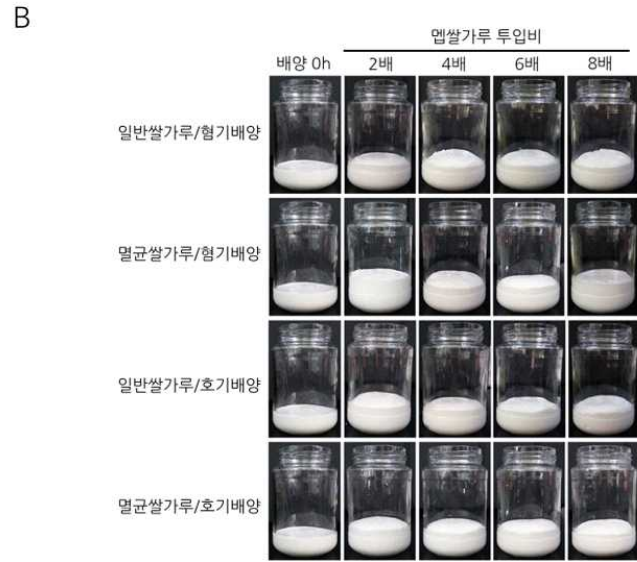
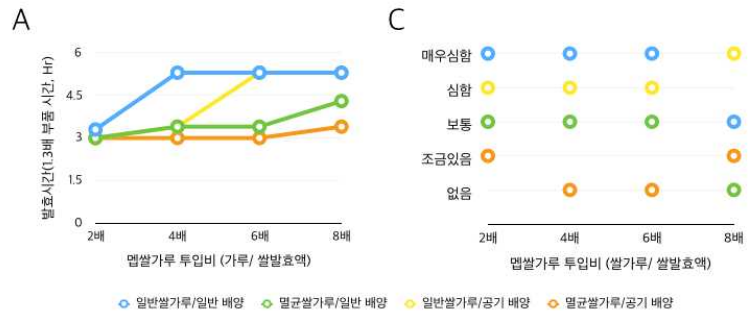


그림 11. 발효조를 이용한 효모 및 유산균의 배양 배지조성 설정
 배양 방법에 따른 부피 증가에 미치는 영향 및 액중대비 쌀가루 혼합비율에 따른 적정 부피에 도달 시간에 미치는 영향(A 와 B), 배양 원료 및 배양 방법에 따른 제품 이취에 미치는 영향(C), 설정 배양 방법을 활용한 발효조를 활용한 액중배양 방법 설계 및 실제 활용사진(D).

○ 발효조를 이용한 효모 및 유산균의 배양 배지조성 설정 (당 공급원)

효모와 유산균을 접종하여 액중을 배양하기 위해서는 원활한 양분 공급이 우선시 되어야한다. 적정 농도 이상의 효모 및 유산균이 확보되어야 최종 제품에서 최적 부피 증가를 확보할 수 있기 때문에 다음 균들의 당분 공급원으로 설탕, 올리고당, 맥아물엿, 흑설탕을 활용하여 배양한 액중을 활용한 제품의 부피 증가를 확인하였다(그림 12). 그 결과 올리고당 30과 설탕 20 첨가구에서 가장 좋은 부

피증가 효율을 나타내었으나 원가 및 부피 증가등 고려하여 설탕이 액종 생산에 가장 적합한 당분 첨가 물로 적합하다는 결론을 내렸다.

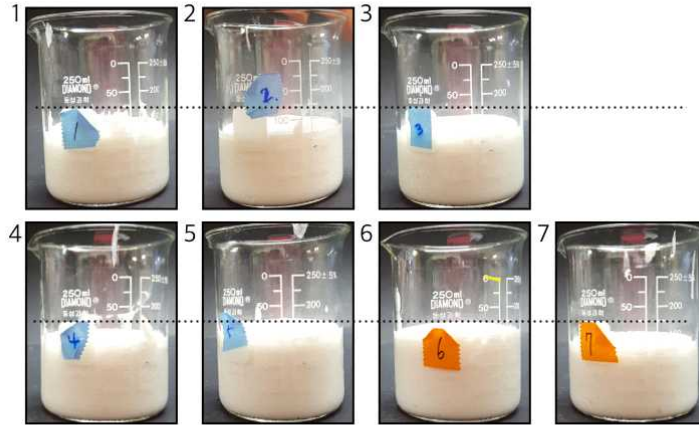


그림 12. 배양배지조성 설정 실험(당 공급원)

1:올리고당 5g, 2:올리고당 10g, 3:올리고당 15g, 4:올리고당 20g, 5:올리고당 30g, 6:설탕 20g, 7:맥아물엿 20g

○ 발효조를 이용한 효모 및 유산균의 배양 배지조성 설정 (전분 분해효소원)

일반적으로 효모의 경우 전분을 당 공급원으로 사용할 수 없다. 이런 이유로 인해서 배양배지에 인위적으로 설탕등을 넣어주거나 맥아를 넣어주어 맥아효소에 의해서 당화가 이루어지게 하는 방법 등이 제빵에서 사용되고 있는 일반적인 방법이다. 한국 전통적인 식품 제조에서는 막걸리 제조시 효모의 에너지 공급원으로 당화를 위해 누룩을 사용하여 효모에 영양분을 공급하여 효모에 의한 발효가 이루어지도록 하고 있다. 본 실험에서는 이러한 영양분 공급원으로서 설탕을 공급할 수 있지만 원가 절감을 꾀하며 추가적으로 액종 배양시 설탕 대량 첨가를 막아 최종 제품에서 단맛의 변화도를 최소화 하고자 하였다. 후보 효소원으로서 밀누룩, 쌀누룩, 엿기름 추출물을 사용하여 최종 제품의 적정 부피 도달 정도를 통해서 효모의 발육정도를 확인해 보았다. 추가적으로 선발 유산균 첨가 유무를 함께 비교함으로써 효모와 유산균 동시 배양이 가능한지도 확인하였다(표 2). 그 결과 최적 부피 증가인 2배까지 도달하는 시간으로는 쌀누룩이 가장 우수하였으며 나머지 처리구도 거의 비슷한 부피와 발효시간을 보였으나 밀 누룩의 경우 밀 특유 갈색 색상으로 인하여 최종 제품에 영향을 미쳐 후보에서 제외되었고 엿기름은 부드러운 식감을 부여해주는 특징이 있으나 엿기름 첨가 함량이 많을수록 제품에 탄성이 없어져 버려 식감을 해치는 정도가 되어 후보에서 제외되었다. 추후 실험에는 개량 쌀누룩을 직접 제조하여 롤밀 제분한 누룩 가루를 첨가하여 사용하였다.

표 2. 당 분해효소원에 따른 증편 발효 시간과 부피증가

	발효시간	부피	이취	특징
밀누룩	72 ± 5.21	1.85 ± 0.02	+++	제품의 변색(갈색화)
쌀누룩	65 ± 3.09	2.00 ± 0.00	+	고유의 흰색 유지
엿기름	74 ± 3.39	1.84 ± 0.04	+	씹힘성 매우 약해짐
엿기름+유산균	73 ± 4.78	1.89 ± 0.09	+	씹힘성 매우 약해짐

* 발효시간 : 처음 부피에 2배 도달하는데 걸린 시간

* 부피 : 모든 실험구 중에 처음으로 2배에 도달하는 시간대의 부피비 (현재부피 / 처음 부피)

*+ : 약, + : 중, ++ : 강

○ 생산공정 확정을 위한 액종 생산

상기 실험결과들을 바탕으로 개발 효모와 유산균의 산업적 활용을 위하여 다음 경제성과 활용성등을 감안하여 미강, 습식 제분 쌀가루, 건조쌀가루 등을 활용한 액체배지 제조 조건 설정 실험을 실시하였다. 액종을 사용하는 액체발효법은 제빵에서 제빵 기계의 발달로 연속적으로 균일한 제품을 대량 생산하기 위하여 1950년대 이후 고안되었다. 액체발효법은 중중법을 간략히 변형시킨 방법으로 액종을 만들어 식빵, 햄버거, 롤빵 등을 생산에 이용되었고 특히 곡물 빵에 응용이 우수하였다. 증편의 경우 예로부터 막걸리를 활용하여 생산하였는데 이는 다른 의미에서 액종을 활용하여 제품을 생산하는 시스템과 유사하다고 할 수 있다. 본 연구에서는 다음 막걸리를 활용하는 액종개념을 바로 적용하여 액종 생산에 선발된 효모와 유산균을 접종하고 배양시켜 기능성과 풍미를 증가시키고자 하였다. 본 연구에서는 총 3번에 걸쳐 액종을 생산하며 첫번째는 동정된 유산균과 효모를 순수배양하는단계, 둘째로 순수배양된 배양액을 활용하여 원종을 생산하는단계, 그리고 세번째로 원종을 활용하여 대량으로 액종을 만들어내는 단계로 구분된다. 각과정의 분리는 각 공정별 중의 오염을 줄이기 위해서 고안되었으며 잡균 오염을 초기단계에서 차단하기 위한 첫번째 단계 순수 배양단계, 술밥으로 찐쌀을 활용하는 두번째 단계, 그리고 제품의 풍미에 영향을 가장 적게 미치며 잡균 오염의 억제가 가능한 건조 쌀가루를 활용하여 대량 배양하는 세번째 단계로 이루어져있다.

개발 효모의 대량배양을 위한 액종 생산에있어 발효시간이 미치는 영향을 분석하여 최적 발효 시간을 설정하고자 하였다. 액종 배양시간은 12시간부터 72시간까지 배양한 후 제품생산에 첨가하였다. 액종 배양시간에 대한 설정을 하고자 배양물과 원종까지는 기존 고정 레시피를 따라 제조하였으며 그 균수는 배양물 1.0×10^7 이었으며 원종의 경우 1.7×10^8 이었다. 다음 효모수는 일반적으로 제빵 반죽에서 제시되는 $1.0 \times 10^9 \sim 1.0 \times 10^{10}$ 의 범위보다 미달되어 있으며 원종을 제품생산에 사용해본결과 발효는 진행되지만 2배이상의 부풀어오르는 정도를 달성하기까지 약 1시간가량이 더 소요되었다. 다음 원종을 활용하여 액종을 제조하였으며 각 배양시간에 따른 효모균수와 제품생산시 발효율을 측정해보았다. 그결과 액종의 효모균수는 12시간에서 24시간까지는 어느정도 증가 곡선을 보이지만 24시간 이후에서도 효모수의 증가는 확인되었으나 뚜렷한 균수 변화는 확인되지 않았다. 반죽과 증숙직전의 효모 농도를 확인해본결과 12시간을 제외한 시간대별 샘플에서 $1.0 \times 10^9 \sim 1.0 \times 10^{10}$ 내 또는 그 이상의 효모균수가 확인되었으며 발효율은 12시간을 100%로 할때 24~72시간에서 시간이 길어질수록 높은 발효율을 보이지만 시간 투자에 비한 증가율은 미미하여 최적 액종 배양시간은 24시간이 가장 적당한 것을 확인하였다.

표 3. 액종 배양 시간에 따른 생산 단계별 효모균수 및 증편 발효율에 미치는 효과조사 결과

액종배양시간	배양물	원종	액종	반죽혼합	증숙 직전	발효율(%)
12	1.0×10^7	1.7×10^8	1.4×10^8	5.8×10^7	4.7×10^9	100%
24	1.0×10^7	1.7×10^8	6.1×10^9	6.7×10^7	1.7×10^{10}	118%
48	1.0×10^7	1.7×10^8	6.0×10^8	2.1×10^8	1.9×10^{10}	122%
72	1.0×10^7	1.7×10^8	7.1×10^8	1.9×10^8	1.8×10^{10}	120%

생산된 액종을 활용하여 제품 개발에 필요한 첨가량을 설정하기 위하여 다음 표 4와 같이 습식쌀가루 750g : 액종 330g 비율에서 액종의 첨가량을 10~70%까지 계속적으로 줄여나가면서 발효시간과 맛의 변화를 관찰하였다. 그 결과 발효시간은 액종 첨가량 감소에 비례하여 발효소요시간은 증가하였으나 전체적인 제품에 대한 기호도는 50%에 맛에 대한 선호도가 가장 높게 나타났다. 이결과를 바탕으로 액종 첨가 비율은 50%감소로 최종 설정 설정하였다.

표 4. 액종 첨가량 설정을 위한 배합 조성표

	100%	10%감소	20%감소	30%감소	40%감소	50%감소	60%감소	70%감소
습식쌀가루	750	750	750	750	750	750	750	750
액종	330	297	264	231	198	165	132	99
설탕	150	150	150	150	150	150	150	150
물	0	26	50	76	101.5	126	198	231
발효시간	61 ± 3.3	62 ± 1.1	66 ± 2.9	69 ± 3.1	78 ± 2.4	90 ± 1.2	105±4.2	131±5.7
맛	4.38±0.25	4.28±0.32	4.17±0.02	4.19±0.11	4.27±0.12	4.38±0.02	3.16±0.11	3.20±0.19

* 발효시간 : 처음 부피에서 2배 부피에 도달하는 시간을 측정

* 맛 : 액종 첨가에 따른 제품의 관능평가에서 매우좋음 5점, 좋음 4점, 보통 3점, 나쁨 2점, 매우나쁨 1점에 대한 평균값

○ 제품 생산 관련 공정 세부 및 상세 설명

증편은 떡류로서 유일한 발효식품군으로 생산과정 전반에 걸쳐 다양한 환경요인에 의해서 영향을 받는 제품으로 생산 표준화에 상당한 어려움이 따른다. 발효 식품의 특성상 다양한 요인을 제거하기 위해 몇 단계에 걸쳐 생산 공정을 설정하였으며 각 공정의 최종 레시피를 설정하였다.

- 부재료 준비 : 기정 생산에 소요되는 부재료로 누룩, 습식쌀가루 그리고 건조쌀가루

- 원종(Pro-liquid starter) : 원종의 최종 레시피 조성은 표 5와 같으며 제조 공정도는 그림 14 D에 제시하였다. 특징으로는 습식쌀가루와 누룩을 사용하며 쌀가루가 가지고있는 잡균의 오염을 막기위해 증숙 단계를 중요 관리점으로두어 제품의 품질검사 미생물 실험등을 실시할 경우 이 지점을 전 후로 판단하고 있다.

- 액종(Pre-liquid starter) : 액종의 최종 레시피 조성은 표 6와 같으며 제조 공정도는 그림 14 E에 제시하였다. 특징으로는 건조쌀가루를 주원료로 활용하며 부원료로 누룩과 원종 그리고 공산품으로 설탕을 활용한다. 본 액종의 경우 중요 관리점으로 들 수 있는 공정이 없는 관계로 원료를 깨끗하게 관리할 수 밖에 없는 공정이다. 그래서 본 과제에서는 액종에 들어가는 쌀가루에 존재하는 잡균을 제거하고 제품의 품질에 영향을 미치지 않게하기 위해서 건조쌀가루를

- 증편 제조 : 새로운 증편의 레시피 조성은 표 7와 같으며 제조 공정도는 그림 14 F에 제시하였다.

특징으로는 그림 15과 같이 기존 공정도에서 발효시간이 처음 배합 이후 최종단계 증숙하여 제품이 생산완료되는 시점까지 약 12시간이 소요되었던 반면 신규 공정의 경우 원종과 액종을 따로 관리하며 공정상 분리시킴으로 인해서 제품 생산시 배합과 증숙에 이르는 제품 최종 생산까지의 시간은 총 3시간으로 단축되었다. 12시간에서 3시간으로의 시간 단축의 의미는 기존 공정에서는 새벽에 반죽을 시작하여야 생산을 일과시간 내에 생산완료를 할 수 있는 반면 신규 공정의 경우 새벽 시간대에 배합이 들어갈 필요성이 없어 새벽근무자 투입이 불필요하여 이는 인건비 단축과 원가절감이 가능하다. 12시간과 3시간의 차이는 생산량과도 직결된다. 예로 급박한 생산주문의 경우 기존 창익 공정은 하루 생산 허용가능 용량은 총 80kg이었으나 기존 공정에서 액종량만 확보해준다면 하루 근무자 일과 시간 기준 3번 정도 연속생산이 가능해 하루 가능생산량은 240kg에 달해 큰 장점을 가지고 있다.

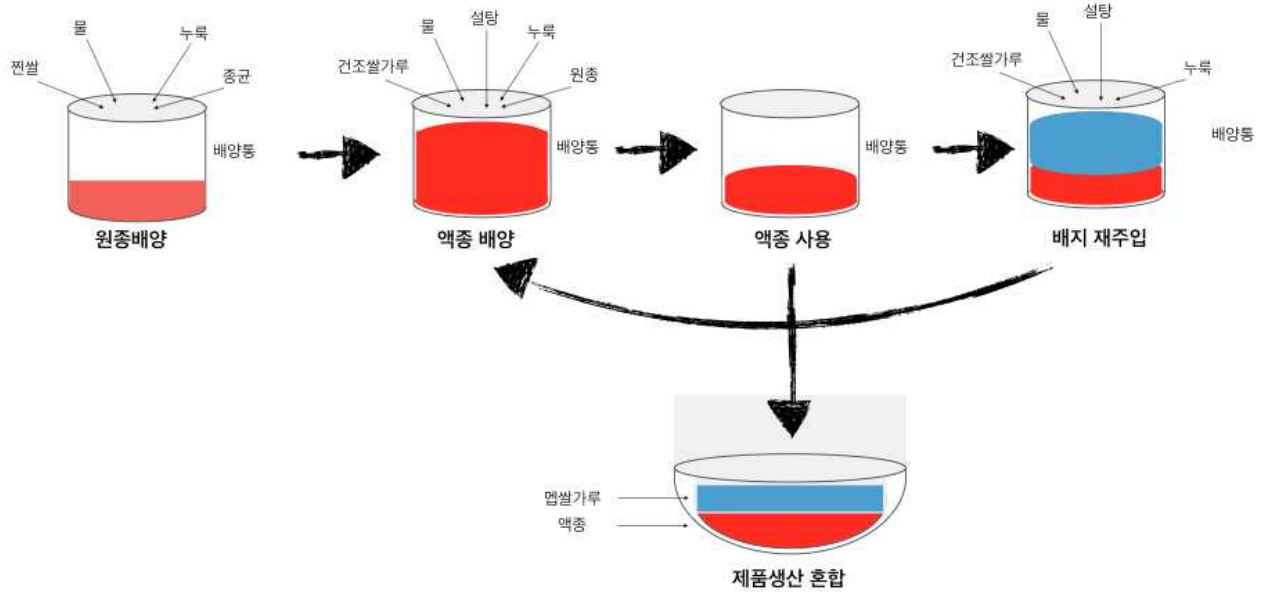


그림 13. 액종 생산 과정 도식화

A



B



C



D



E



F

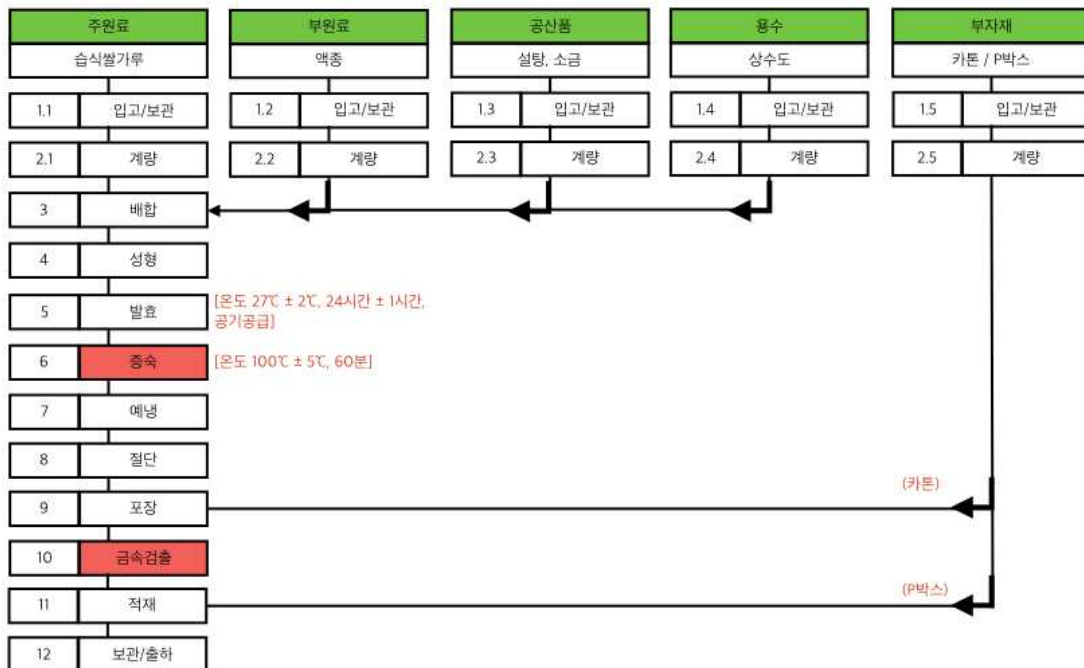
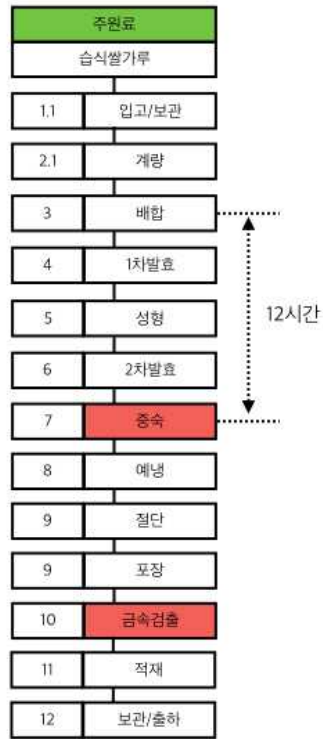


그림 14. 증편 생산 세부 공정도

(A) 누룩 제조 생산 공정도, (B) 습식쌀가루 생산 공정도, (C) 건조 쌀가루 생산 공정도, (D) 원종 생산 공정도, (E) 액종 생산 공정도, (F) 증편 생산 공정도

기존기정



신기정

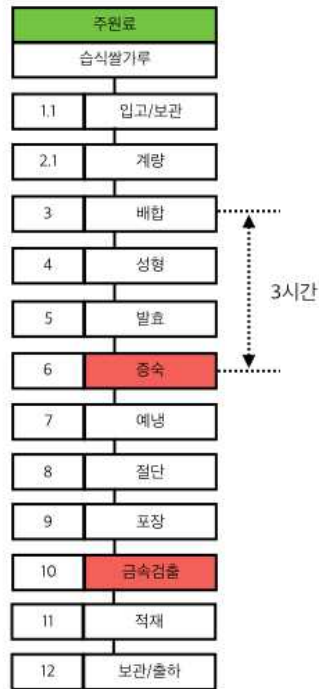


그림 15. 증편 생산 공정도 변경 내용 비교 및 차이점

표 5. 액종활용 증편 생산 공정 정립연구에 적용된 표준 증편 제조 레시피(원종 제조)

재료	중량(g)	배합률(%)
찐쌀	1000.00	18.9
누룩	200.00	3.8
효모	60.00	1.1
유산균	30.00	0.6
물	4000.00	75.6
합계	5290.00	100.0

<제조공정>

1. 습식용 제분쌀가루(수분 46%)를 30분간 증숙하여 찐쌀(술밥)을 만든다..
2. 찐쌀과 물을 넣어 잘 저어준다..
3. 찐쌀이 물에 잘 풀어졌을 때 누룩, 유산균, 효모 배양액을 넣고 잘저어준다..
4. 어항용 공기 펌프를 이용하여 공기를 주입하여 호기적 조건으로 27℃에서 약 18~24시간 배양한다.

표 6. 액중활용 증편 생산 공정 정립연구에 적용된 표준 증편 제조 레시피(액중 제조)

재료	중량(g)	배합률(%)
건조쌀가루	900	23.1
원종	900	23.1
누룩	150	3.8
설탕	150	3.8
물	1800	46.2
합계	3900	100.0

<제조공정>

1. 건조쌀가루, 원종, 누룩, 설탕, 물을 함께 넣고 잘 섞어준다.
2. 어항용 공기 펌프를 이용하여 공기를 주입하여 호기적 조건으로 27℃에서 약 18~24시간 배양한다.

<원종없이 계대배양법>

1. 건조쌀가루, 누룩, 설탕, 물을 함께 넣고 섞어준 후 원종대신 전날 배양한 액중 900g을 넣어준다.
2. 어항용 공기 펌프를 이용하여 공기를 주입하여 호기적 조건으로 27℃에서 약 18~24시간 배양한다.

표 7. 액중활용 증편 생산 공정 정립연구에 적용된 표준 증편 제조 레시피

재료	중량(g)	배합률(%)
습식쌀가루	60000	68.5
액중	10000	11.4
설탕	9500	10.8
물	8000	9.1
소금	100	0.1
합계	87600	100.0

<제조공정>

1. 습식쌀가루를 통에 준비한다..
2. 설탕, 소금, 물을 잘 섞어준 후 쌀가루에 투입 및 혼합한다.
3. 2kg씩 증편 틀에 붓어 고명을 올려준다.
3. 35℃ 습도 100%로 약 90~100분동안 발효시켜준다.
4. 발효가 완료되면 증숙하여 찌낸 후 식혀서 비닐을 덮어준다.
5. 약 12~15시간 뒤에 크기대로 잘라 비닐 포장한 후 출하

○ 천연발효 증편의 최종 제품 및 품질 특성

최종 제품에서의 품질 및 기능성 증진을 목적으로 각 공정 단계별 GABA 함량을 측정하였다. 주요 시료 채취 구간으로 원종 발효 24시간 후, 액종 발효 24시간 후 그리고 제품 증숙 후를 각각 시료채취를 실시하여 시료내의 GABA 함량을 측정하였다(표 8). 원종 제조시 MSG 첨가량 1%와 3% 추가 그리고 무첨가로 비교하였으며 다음 각 원종을 이용하여 만든 액종의 시료를 채취하였고 각각의 샘플로 증편을 생산하였으나 MSG특유의 맛으로 인하여 식미가 떨어져 분석까지는 이루어지지 않았다. 그 결과 원종과 액종에서 MSG 첨가에 따른 GABA는 원종의 경우 0% 대비 16배(1%), 35배(3%)나 증가하였다. 액종에서도 원종과 마찬가지로 0% 대비 1%첨가시에는 22배, 3%에서는 112배나 높게 나타났다. 최종제품에서 2.73mg/100g으로 일반 백설기떡 0.37mg/100g 보다 약 7.4배 높게 나와 일반 제품대비 높은 GABA 함량을 나타내었다. 본 실험에서 확인하였던 결과 1~3%가 제품의 품질에 큰 영향을 미친다는 결과가 나와 제품의 분석을 할 수 없었기에 추가 적인 실험으로 제품의 품질에 영향을 미치지 않는 MSG 첨가량 설정실험이 재수행 되어야할 것으로 판단된다. 그리고 최종적으로 공정이 적용된 MSG 무첨가구의 최종제품은 그림 15 A와 B에 제시하였으며 본 연구결과 얻어진 생물자원과 공정에 대한 특허는 그림 16 C와 D에 제시하였다.

표 8. 각 공정별 시료의 GABA 함량 비교

재료	+ MSG	GABA함량 ¹⁾ (mg/100g)
원종	0%	6.23 ± 0.12 ¹⁾
	1%	102.17 ± 1.76
	3%	222.53 ± 2.41
액종	0%	2.80 ± 0.10
	1%	62.67 ± 3.61
	3%	315.07 ± 22.97
제품	증편	2.73 ± 0.06
	백설기	0.37 ± 0.01

1) 값은 3개의 시료로부터 측정된 값의 평균 ± 표준편차이다.

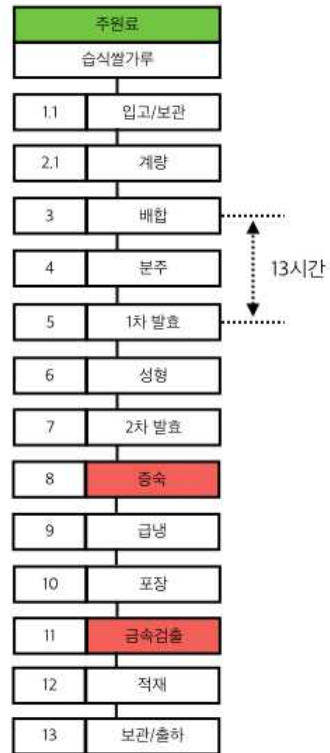
(4) 개발 천연발효 증편 기술을 활용한 응용제품 (미니기정) 및 과생제품 개발

증편 반죽을 활용하여 활용 가능한 제품군으로는 기존 창억 제품 중 미니기정이 판매되고 있다. 미니기정의 경우 시중에는 방울기정 등으로 알려져 있으며 일반 증편 반죽에 수분 함량을 최소로 첨가하여 매우 뒤틀반죽을 만들어 형태를 잡고 그 안에 팥 또는 거피 앙금 등의 소로 넣어 작은 찜빵의 형태를 갖는다. 본 제품의 경우 일반 증편생산에서보다 막걸리 함량이 많이 첨가되는데 그 이유는 반죽 되기로 인하여 일반 반죽보다 부풀리는데 더 많은 힘이 필요하여 그만큼의 충분한 효모 밀도 확보를 위한 것으로 판단된다. 뿐만 아니라 본 제품의 경우 생산시 불량 확률이 매우 높으며 그 원인으로 발효가 너무 많이되어 과발효가 되거나 너무 발효가 부족할 때 주로 발생된다. 본과제의 하부 목표로 다음 기정 공정을 활용하여 제품 생산에 어려움이 따르는 미니기정 제품류에 적용하고 본과제상에서 개발한 원료를 적용함으로써 품질향상 및 공정개선 등을 동시에 추구하고자 한다.

○ 천연발효 기술을 활용한 응용제품 미니기정 제품군 개발

일반 증편 제조용 액종이 개발된 상태로 같은 반죽에서 수분 함량만 조절하게 되면 조금 뒤틀반죽을 활용하여 빵과 같은 형태를 지니는 제품개발이 가능하다. 뿐만 아니라 일반 막걸리를 사용할 때 보다도 액종을 활용할 경우 더 좋은 발효력을 가지고 있어 기존 공정대비 효율적인 제품 생산 관리가 가능하다. 기존 공정대비 신규 공정의 차이로는 그림 17에 제시하였다. 가장 큰 차이로는 배합과 1차발효까지 총 13시간정도가 소요된 반면 신규 공정에서는 배합과 1차발효 분주 휴지 전까지 총 6시간이면 충분하다. 신규 공정의 반죽의 휴지는 0~4℃에 반죽을 보관함으로써 발효가 완료된 반죽의 활성을 일시적으로 중지시켜 보존성을 높혀준다. 데이터에서 제시하지는 않았지만 저장기간은 약 7일까지 제품생산에 아무 문제가 없는 발효력을 유지하였으며 공정상 생산에서는 약 4~5일안에 소진하고 있다. 휴지 공정의 삽입의 이점으로는 반죽의 배합부터 발효 증숙까지 쉬지못하는 공정이라고한다면 신규 공정의 경우 반죽의 생산과 제품의 생산 공정이 완전 독립되어있어 작업의 효율성이 매우 높아졌다. 이는 기존 미니기정의 경우 새벽에 반듯이 성형을 하여야 한다는 시간상 제약을 완전히 벗어나 휴지된 반죽을 언제나 생산이 필요할 때 약 3~4시간전에 휴지반죽을 활용하여 제품생산이 가능하도록 하였다[그림 17].

기존미니기정



신규미니기정

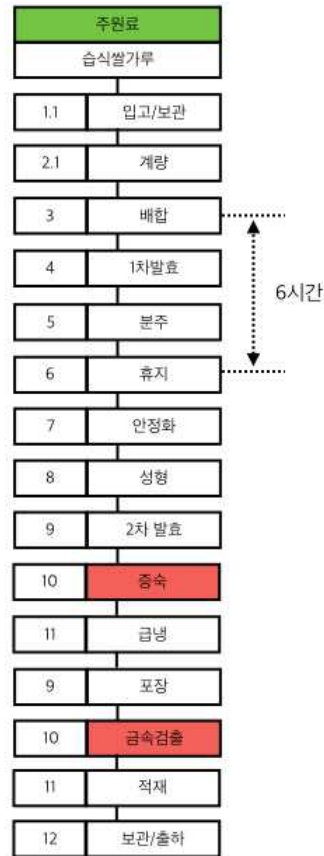


그림 17. 기존 공정(좌)과 신규 액중 적용 공정(우)의 비교

양금 개발

미니기정의 경우 전술에서와 같이 불량률이 상당히 높다. 불량 발생형태로는 두가지가 있으며 하나는 전혀 부풀어 오르지않는 형태와 하나는 양금이 부풀어 오르고 이것에 의해서 갈라지는 현상이 있다. 전자는 발효상태에 원인이 있으며 후자의 경우 양금의 물성과 관련되어있다. 적정발효 표준화는 반죽의 온도, 발효온도 그리고 발효시간으로 조절이 가능하지만 양금의 경우 양금자체의 물성을 바꾸지 않는한 계속적으로 발생할 수 밖에 없다. 극단적인 해결방법으로는 양금의 양을 줄이면 바로 해결이 되기는 하지만 이는 제품의 품질면에서 부정적이므로 이외의 해결책을 강구하고자 하였다. 그 해결 방안으로 양금이 머금고 있는 수분증발에 따른 부피 팽창이 원인이므로 함수량을 줄이는 방법, 수분 보수력을 높여 수분 증발을 최대한 줄이는 방법 그리고 증숙온도를 낮춰 수증기화가 어렵게 만드는 방법이 제안되었으며 첫 번째 해결방안으로 양금의 물성조절을 시도하였다.

양금 베이스로는 대두식품의 통팥양금과 백옥양금을 베이스로하며 식감 개선을 위해서 성근팥을 활용 하였고 물성 조절을 위해서 팥고물을 조절하여 양금 제조 후 제품의 관능적 품질과 불량률을 확인하였다(표 9). 그 결과 팥고물의 함량이 높아질수록 불량률의 발생 빈도는 낮아지는 경향을 보였으나 관능적인 평가는 떨어지는 경향을 보였다. 관능적인 평가와 불량률을 바탕으로 3번 조건 양금 500g, 성근팥 350g, 팥고물 150g, 호두 100g, 밤다이스 100g가 최적 조합임을 확인하였다. 추가적으로 팥양금의 경우 대부분의 소비자들이 좋아하지만 어느정도는 거피양금을 선호하기도 하므로 추가 실험구로 거피양금을 비교해본결과 관능도는 단팥양금과 거의 비슷한 결과를 얻었으며 불량률은 1.87%에 불과해 제품 생산 면에서는 유리하다는 것을 알 수 있었다.

표 9. 기정 앙금 개발 관련 레시피 설정

구분	단팔앙금				백옥앙금
	1	2	3	4	5
앙금 ¹⁾	500	500	500	500	700
성근팔 ²⁾	150	250	350	500	0
팔고물 ³⁾	350	250	150	0	300
호두 ⁴⁾	100	100	100	100	100
밤다이스	100	100	100	100	0
관능도 ⁵⁾	3.52 ± 0.31	3.59 ± 0.13	4.01 ± 0.24	4.00 ± 0.15	3.88 ± 0.31
불량률 ⁶⁾ (%)	2.19%	5.54%	5.42%	12.21%	1.87%

1)앙금 : (주)대두식품의 팔앙금과 백옥앙금을 베이스로 사용

2)성근팔 : 적두를 삶고 소금간을 한 후 롤러에서 성글게 갈아서 보관한 재료

3)팔고물 : 적두를 삶고 곱게 갈고 망으로 걸러낸후 물기를 완전히 제거하여 말린가루에 소금간을 해 둔 재료

4)호두 : 호두를 물로 깨끗하게 씻고 20분간 스팀에 증숙하여 식혀놓은 재료

5)관능도 : 매우좋음(5), 좋음(4), 보통(3), 나쁨(2), 매우나쁨(1)으로 전체적인 기호도를 평가 점수의 평균

$$6)불량률(\%) = \frac{\text{품질 불량 제품 수량}}{\text{성형을 완료한 수량}} \times 100$$

- 개발앙금 최종 레시피 및 생산 적용 공정

본 레시피 개발에 추가적으로 공영홈쇼핑 개발팀장의 의견을 반영하여 대두식품의 앙금을 사용하지 않고 자체적으로 앙금베이스를 만들 것을 권유받아 신규로 팔베이스까지 제작하였고 백옥앙금 베이스의 경우 담당자의 의견을 반영하여 동부콩을 활용하여 동부앙금을 개발하였다(그림 18). 동부앙금의 세부공정도 사진은 통팔앙금과 거의 유사하여 생략하였다.

1차년도 개발 소재(새싹보리) 적용 제품 개발

1차년도 전남대학교 개발 소재로는 새싹보리의 클로로필 안정화 소재가 있다. 연구성과 활용을 위해 창역에서 개발한 미니기정 반죽을 제공하고 전남대학교에서 안정화 색소 적용연구를 진행하였다. 최종 결과는 전남대학교 연구결과 섹션에서 제시하였으며 본 항목에서는 소재의 공정적용 자료 및 문 제점 분석에 대해서만 언급하였다(그림 19).

○ 개발 반죽을 활용한 파생제품 개발 - 화(和)기정

제빵 제과에서 선물용 상품으로 꾸준한 인기를 누리고 있는 제품으로 화과자라는 품목이 존재한다. 화과자란 손으로 정교하게 빚은 와가시는 과거에 궁중에서 신에게 바치는 음식으로 사용하였으며, 왕족과 일부 귀족만 맛볼 수 있었다. 와가시는 첫 맛은 눈으로, 끝 맛은 혀로 즐긴다는 말이 있을 정도로 모양이 화려하다. 보통 녹차를 마실 때 함께 먹는다. 지역마다 전통있는 와가시들이 생산되며, 종류가 매우 다양하고 많다. 와가시의 종류를 크게 나누면 나마가시[生菓子]·한나마가시[半生菓子]·히가



그림 19. 새싹보리 적용 미니기정 및 기존 창역제품에 신규 공정 적용 제품 시[干菓子] 등으로 구별할 수 있다.나마가시는 수분 함량이 가장 많은 과자로, 우리의 떡과 같은 형태이다.

본 연구과제에서는 화과자(우)와 같이 미적 요소를 활용하여 증편의 과생상품을 개발하고자 하였으며 개발 제품의 이름은 화(和)기정으로 하였으며 서로의 원재료와 부재료 그리고 각기 다른 제품들간의 화합이 서로 잘 어울려져 고급스러운 세트상품을 구성하고자 하였다.

후보 재료로는 썩과 카스테라를 혼합한 썩카스테라, 녹차와 카스테라 조합, 흑임자와 카스테라 가루를 곁들인 흑임자 카스테라조합, 카스테라와 유자 조합, 통깨, 거피팥고물, 인절미 콩고물, 계피팥가루와 잣 조합, 양갱, 땅콩, 호두, 밤, 거피팥, 코코넛 등이 1차 후보로 선발되었



었으며 기본적인 관능테스트를 통해서 썩카스테라기정, 카스테라기정, 흑임자기정, 콩가루기정, 팥가루기정, 코코넛 기정, 깨기정, 호두기정, 견과류기정, 양갱기정이 1차후보로 선발되었다. 다음 2차적으로 세트상품구성에 있어 고물형 기정, 단순 엮어서 꾸미기만 진행하는 기정, 색깔조합을 통한 기정 3 항목으로 분류되었으나 공정상 분류는 2가지로 고물형과 엮기형으로 최종 선정되었다. 추후 작업편의 성과 가능성등을 간단 조합등을 통해서 선발하였으며 최종 선발된 항목은 다음 표 10과 같고 이들을 가지고 최종 관능평가를 실시하였으며 전체적인 기호도의 평균을 표시하였다. 그리고 평가 후보 제품의 사진은 그림 20A에 제시하였으며 기호도가 높은 카스테라기정, 콩가루기정, 팥기정, 썩기정등이 전체적인 기호도가 가장 높게 나왔으며 추가적인 수정보완을 통해서 계속적인 단품(그림 20B)와 같이 구성해나가고 있고 이를 세트상품화(그림 20C)하여 제품화를 진행하고 있다.

연구개발 완료 및 시제품 생산되어 품목제조보고(그림 21)까지 완료되었다. 그러나 다음 제품들의 경우 기본적으로 HACCP 공정에 입각하여 제품 생산이 이루어지도록 기획 및 개발이 이루어지고 있으나 현재 개발이 진행되는 화기정의 경우 HACCP 기준에 의거 CCP(중요관리지점)을 잡기가 매우 어려워 현재 HACCP공정에 맞는 공정개발이 추가적으로 선행되어야하며 대량 생산을 위한 좀더 구체적인 공정개발이 필요하다.

표 10. 화기정 후보제품별 주요 부재료 및 관능평가결과

항목	세부품명	주요부재료1	주요부재료2	전체적인기호도
고물형	썩기정	썩가루	카스테라가루	2.8 ± 0.6
	깨기정	깨분말	카스테라가루	1.8 ± 0.8
	카스테라기정	-	카스테라가루	3.7 ± 0.5
	코코넛기정	코코넛분말	-	2.3 ± 0.7

엷기형	콩가루기정	콩가루(인절미용)	-	3.3 ± 0.6
	팥기정	팥고물	-	3.2 ± 0.7
	녹두기정	녹두분태	-	1.9 ± 0.4
	흑임자기정	흑임자분말	카스테라가루	2.5 ± 0.7
	대추	호두	-	1.6 ± 0.7
	아몬드	아몬드	-	2.0 ± 0.4

A



B



C



A

■ 식품위생법 시행규칙 [별지 제43호서식] <개정 2016. 8. 4.>

식품·식품첨가물 품목제조보고서

Form A: Product registration details for wheat flour. Includes fields for applicant, business name, ingredients, and safety information. Includes a red official stamp and handwritten notes.

C

■ 식품위생법 시행규칙 [별지 제43호서식] <개정 2016. 8. 4.>

식품·식품첨가물 품목제조보고서

Form C: Product registration details for buckwheat flour. Includes fields for applicant, business name, ingredients, and safety information. Includes a red official stamp and handwritten notes.

그림 21. 화기정 품목제조보고 4건

(A) 팔가루 기정 (B) 카스테라 기정 (C) 썩카스테라 기정 (D) 콩가루기정

○ 개발 반죽을 활용한 대용량 공정개발 (홈쇼핑 출시 예정 제품)

천연발효 증편의 본격적인 사업화를 위해서 본 과제를 통해 만들어진 원종과 액종을 활용하여 본사에서 생산하던 일 단위 생산 스케일 약 90kg/day에서 1ton/day로 증가 생산을 위해 기존 레시피를 기

B

■ 식품위생법 시행규칙 [별지 제43호서식] <개정 2016. 8. 4.>

식품·식품첨가물 품목제조보고서

Form B: Product registration details for cake. Includes fields for applicant, business name, ingredients, and safety information. Includes a red official stamp and handwritten notes.

D

■ 식품위생법 시행규칙 [별지 제43호서식] <개정 2016. 8. 4.>

식품·식품첨가물 품목제조보고서

Form D: Product registration details for soybean flour. Includes fields for applicant, business name, ingredients, and safety information. Includes a red official stamp and handwritten notes.

본으로 다음 대용량 생산 레시피 개발을 추가로 진행하였다. 공정의 대용량화가 되다 보니 예기치 못한 문제점들이 많이 발견되었으며 여러 가지 조건 변화를 위해 발효공정 최적화를 진행하였다.

(가) 대량생산체제 구축

기능성 천연색소 소재를 활용한 천연발효 증편의 대량생산 공정으로는 크게 액종 제조 공정과 액종을 활용한 제품 발효 공정 제품의 급냉 및 포장으로 이루어진다. 따라서 대량생산을 위해 각 공정을 살펴보고 확립된 최적조건하에서 고품질의 천연발효 증편을 제조하였다.

1)액종 제조 공정

- 신규 공정 개발(원종 회분배양을 통한 원종 생산과 direct 반죽 가능성 확인)

기존 90kg/day 생산 공정의 경우 단순 플라스틱 발효조 배양 시스템을 그대로 확대하여 적용하였으나 제품 품질 표준화가 어렵고 제품의 풍미 또한 흔들리는 현상을 보여 다음 대용량 공정 적용을 위한 신규 공정 개발의 필요했다. 발효실에 의존하던 배양방법을 외부 환경의 영향을 덜받으면서 좀더 안정적이며 균일한 제품 생산을 위해 발효기를 도입하였다. 도입장비는 장비 자체의 가격과 활용성등을 고려하여 국내 천연효모 발효 배양기를 생산 판매하는 HRS사의 Natural leaven Fermentor N+ 60 모델을 적용하였으며 장비 사진은 다음 공정표에 정리하였다.



- 초기 발효조를 이용한 액종 생산 테스트를 진행하였으나 배양시 온도 상승을 위해 하단부 코일 가열부위에서 건조쌀이 익어 눌러붙는 현상으로 도입 자체가 제외되었다. 하지만 원종 배양에서는 그 효과가 인정되어 원종의 균일한 발효 장비로 채택하였다(그림 22). 실험결과 교반이나 산소공급 등 아무런 조취를 취하지 않고 정치시켜서 배양한 액종과 일반 발효실에서 공기들을 넣어사소 공급을 해 준 발효 조건 마지막으로 퍼멘터에서 발효시킨 원종의 효모 총균수 확인결과 3.8×10^8 을 못 넘겼으며 이는 그림 22 B에서 발효 속도로 나타나고 있다. 적정 최소 효모 농도인 1×10^9 이 되어야 원하는 발효공정의 발효속도가 나타남을 재차 확인하였다.

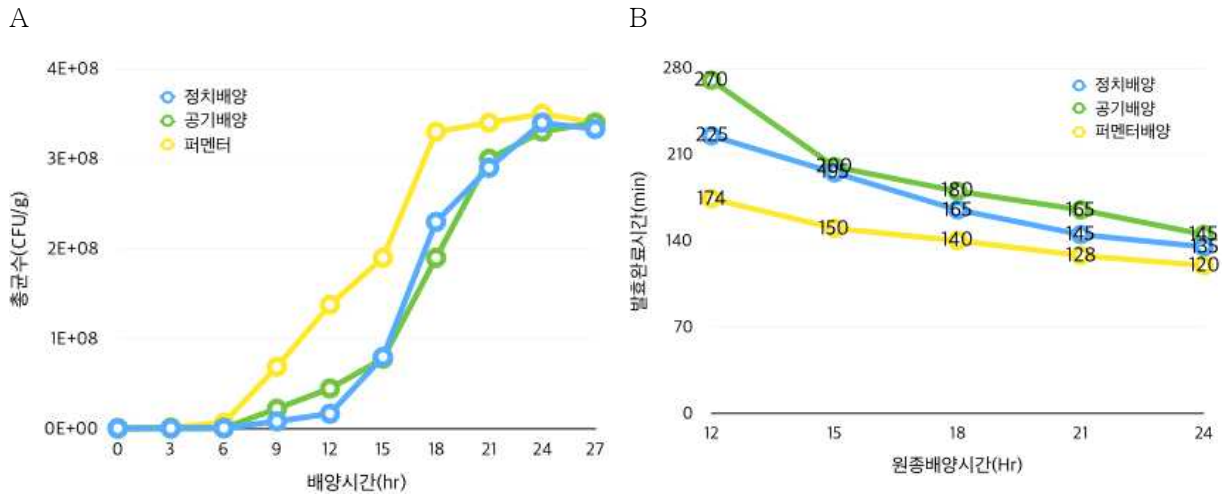


그림 22. 찐쌀 액종 배양 조건에 따른 효모 총균수 및 기정 반죽의 발효속도 비교
 (A) 액종의 발효조건에 따른 효모 수 비교, (B) 배양조건에 따른 액종의 반죽 발효 속도비교

- 기존 효모관련 연구에서 효모의 사전배양은 효모 활성화에 도움을 줄 수 있으며 효모의 도우 적응성을 높인다는 연구결과가 있어 본 연구에서 만든 원종의 활성을 높여 기정 반죽에 바로 활용할 수 있을가에 대해서 검증해보고자 사전배양을 실시하였다(그림 23). 일단 5%와 10% 설탕(Sucrose)를 첨가한 후 공기를 제공하여 호기성 조건에서 활성화를 진행하였으나 기존 예상과는 다르게 효모수는 오히려 감소하였으나 발효력은 상승하는 효과를 나타냈다. 2배까지 올라오는 시간의 단축이 이루어져 이는 효모수와 상관없이 기존 생존한 효모의 도우 적응성을 높이는대는 효과적임을 확인하였으나 전체적인 효모수의 감소는 균일하고 치밀한 기공구조 형성에 좋지않은 영향을 미치므로 보류하였다.

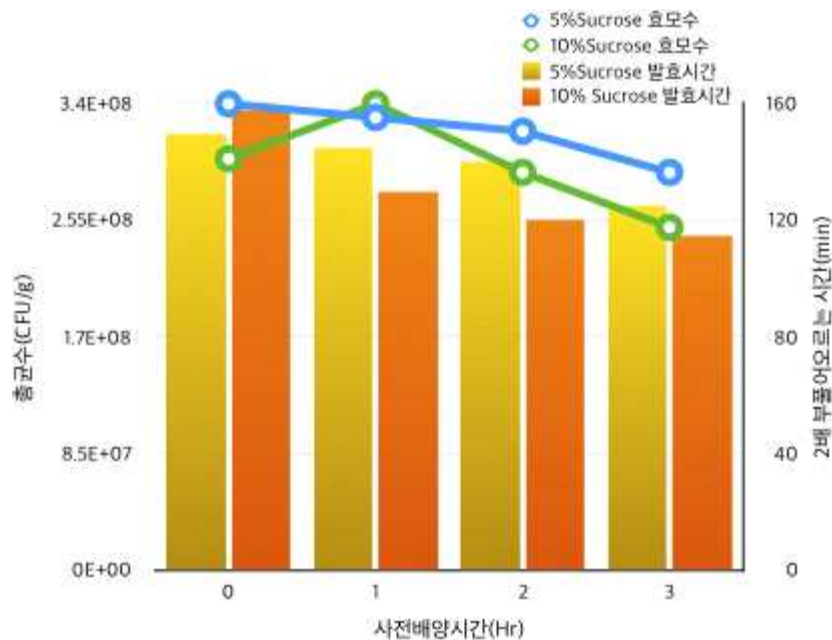


그림 23. 24시간 발효 원종의 Sucrose 사전 추가 활성화에 따른 효모수의 변화와 발효력의 변화

- 찌쌀 유가배양과 건조쌀 유가배양에 따른 효모 수 및 발효 속도의 변화 관찰
 기존 소량공정에서 개선된 공정을 개발하고자 건조쌀가루 유가배양 시스템을 제외하려 하였으나 계속
 적인 실험에도 찌쌀 유가배양으로는 5×10^8 이상의 효모 배양은 실패하였다.

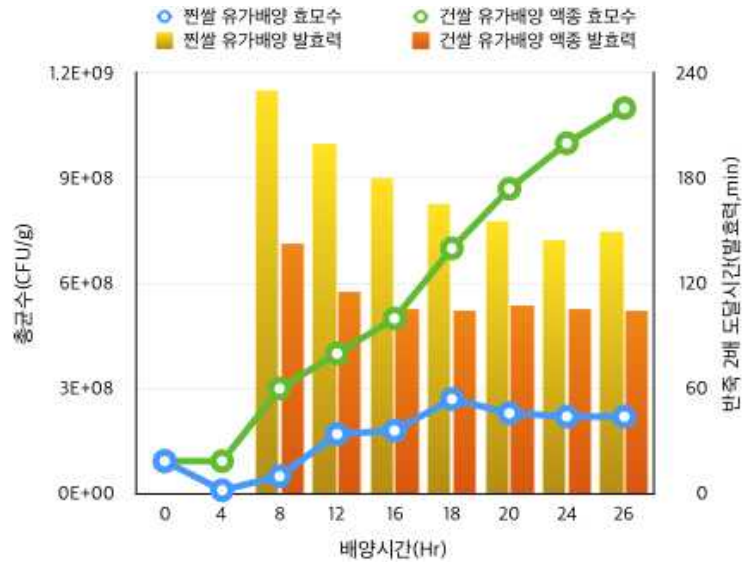


그림 24. 유가배양 영양원에 따른 효모 총균수 및 발효력 변화에 미치는 영향

그래서 다음 기존 건조쌀가루 효모 배양에 착안하여 찌쌀 유가배양과 건조쌀 유가배양을 실시해본결과
 건조쌀가루 유가배양에서 약 12시간부터 5×10^8 이 넘는 효모배양력을 확인할 수 있었다. 효모수 뿐만
 아니라 배양 12시간부터 반죽의 최종 발효속도인 120분 이내의 반죽 발효속도가 확인되어 좀더 편리
 한 공정개발을 위해 찌쌀원종 공정을 포기하고 건조쌀가루 유가배양을 선택하게 되었다. 하지만 기존
 공정 건조쌀 유가배양 24시간은 불필요하며 12시간 이상부터 5×10^8 에 초과되다하여 약 12시간이 세
 포 성장 곡선의 대수기 끝과 정지기 초기에 해당하여 다음 12시간이 가장 이상적인 액종 발효시간임
 을 확인하여 적용하였다.

2) 반죽

반죽 공정은 기존 기정떡 제조 공정을 기본으로 설정되었으며 발효통(반죽통) 크기를 감안하여 쌀가
 루 60kg 기준으로 첨가량을 설정하였다. 반죽 레시피는 다음 표 13과 같다. 기존 레시피와의 차이점
 은 물첨가량만 차이가 있을 뿐 모두 동일하다. 그 이유로는 건조쌀가루가 들어가는 액종 공정에 비해
 찌쌀이 들어가는 원종의 수분함량이 더 높아 상대적으로 동일한 양 10kg이 들어감에도 원종 시스템
 에서는 수분이 더 많이 들어가되어 결론적으로 건조쌀 액종 사용 레시피대비 60kg 쌀가루 기준
 8.5kg에서 5.4kg으로 물 첨가량이 감소되었다.

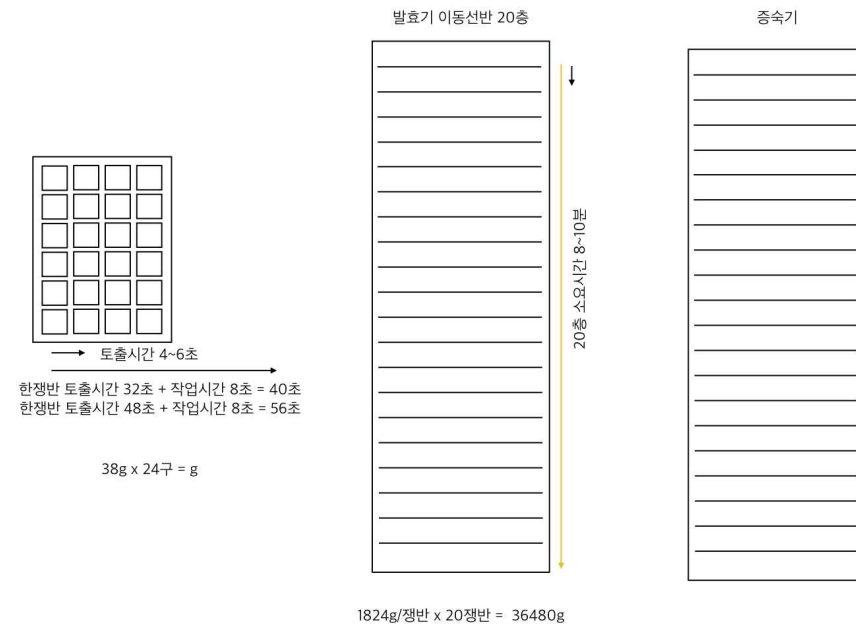
표 13. 대량생산용 기정 레시피

원료	합량	%합량
멥쌀가루(흰)	60,000	70.6
원종	10,000	11.8
설탕	9,500	11.2
물	5,400	6.4
소금	100	0.1
합계	85,000	100

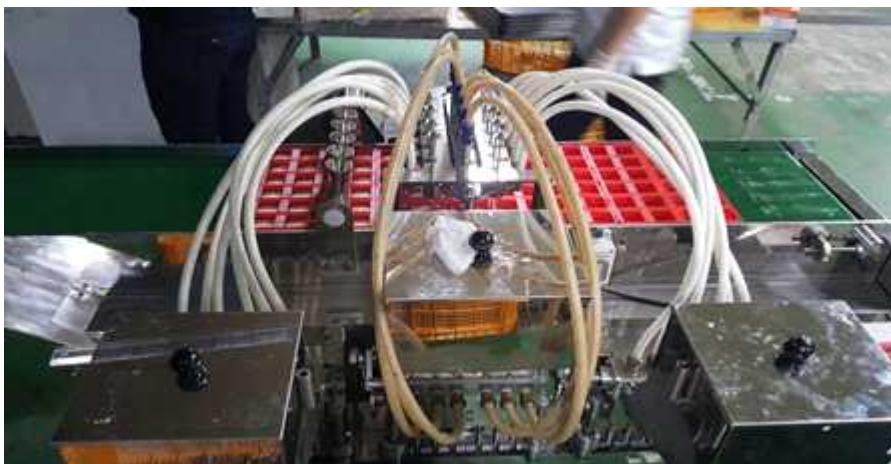
3)성형

기정떡 성형틀은 실리콘으로 주문 제작 하였고 성형 실리콘 틀에 맞추어 반죽 데포지터 또한 KFB 머신 업체를 통해 주문제작 하였다. 성형 테스트와 발효 증숙 테스트를 거쳐 실험결과로 제시하지는 않았지만 한입기정의 경우 38g의 반죽이 가장 이상적인 두께와 식감을 나타냈으며 특별한 성형 단계가 필요하지 않아 제1반죽노출과 제2반죽노출에서 각각 조절하여 최종 38g이 토출되도록 설정하여 성형하였다. 반면 한입 양금기정의 경우 제1반죽 노출에서 12g 양금노출에서 6g 제2반죽 노출에서 20g을 토출할 때 가장 이상적으로 성형이 이루어졌다. 공정 표준화를 위해 다음 데포지터 성형 속도를 측정하였으며 속도에 대한 도식화는 다음 그림 22 A에 제시하였다. 한 개의 쟁반에 2개의 실리콘이 들어가며 2개의 실리콘 성형시간은 대략 40~56초가 소요된다. 성형이 완료된 쟁반은 발효카트 트레이에 적층되며 발효카트는 총 20층으로 한 개의 발효카트를 채우는데 대략 8~10분이 소요되었으나 적정 수준의 안정한 속도를 위해 약 12분까지 늦춰 성형하였다. 한 개의 성형기를 기준으로 작성되었으며 성형기는 두 대를 주문하여 세팅하여 실제 6분이 소요된다. 20층 발효카트 및 20층 증숙기의 생산량은 약 36kg이 생산 가능하다.

A



B



C

D

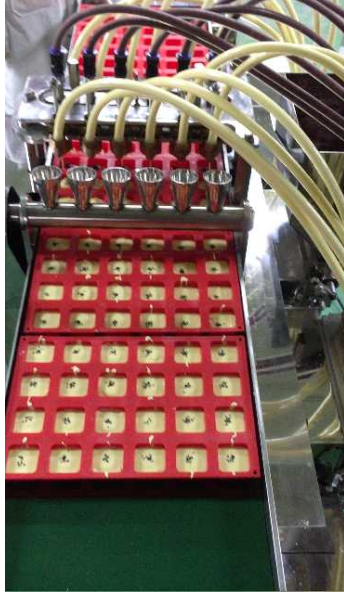


그림 22. 성형 공정

(A) 성형 공정표준화를 위한 작업시간 계산 도식화 (B) 성형기 사진 (C)성형 중 사진 (D) 성형 완료 후 발효카트 트레이 적층 사진

다음 성형틀과 자동성형기(데포지터)사진은 공정 사진에 따로 정리하였으며 전체 공정상 성형기에서 병목현상이 발생되며 약 1ton 이상의 생산이 필요할 시에는 추가적인 데포지터 구매가 필요한 상황이다.

4)발효

20층의 발효카트에 적층된 성형이 완료된 제품은 35℃에 산업용 가습기를 설치한 발효실에서 발효가 진행되며 습도는 약 85%로 설정 하였다. 발효 공정에서 중요한 점은 맨 윗칸의 성형된 제품과 맨 아래칸의 성형 제품의 발효 속도차가 대략 6분 정도 소요되어 미세한 차이가 발생되게 되며 중간에서 상단쪽의 발효 속도에 발효시간을 맞추게되면 발효가 완전히 되지 못한 하단의 제품은 양금이 터져오르는 현상이 발생된다. 때문에 상단의 제품이 조금 과발효 되더라도 하단 제품의 발효 속도에 맞춰 약 50~60분 정도의 발효시간을 갖고 발효를 진행하며 최종적으로는 유관으로 확인하여 발효를 완료 를 결정하였다.

5)증숙

증숙 공정은 스팀을 활용하여 100℃로 쪄내는 공정으로 안정적 증숙 및 최적 식감을 위해 50분으로 설정하였다.



그림 23. 증숙과정

6)급냉

급냉은 터널프리로 한쪽 끝에서 시작하여 다른 한쪽 끝으로 배출되는 시간은 총 25~30분이 소요되는 속도를 유지하여 기정떡 심부까지 냉이 들어갈 수 있도록 충분한 시간을 확보하였다.

7)포장

포장은 3면포장지로 감싸는 형태를 취하여 내포장을 하고 10개를 외포장지로 포장하는 방법을 선택하였으며 사진은 다음 그림 24와 같다.

A



B



그림 24. 기정떡 포장 디자인 (A) 기정떡 내포장지 3면 포장 필름 적용 (B) 외포장 스탠딩 포장

공정별 대량생산 설비

공정	설비	수량	기능
건조쌀가루제	귀뚜라미 농산물건조기	3	액종제조시 필요한 건조쌀가루

조공정	- 10트레이 쟁반 - 처리용량 2.5kg/Hr		제조
양금제조공정	스텐리스스팀열탕기	1	가압 스팀을 통한 양금 졸임 및 혼합
	균질기 - 진홍 6인치 두유기 - JH-6D(1.5마력)	1	멧돌 방식으로 통팔 균질화
원종제조공정	발효통 - 재료 : SUS 원형 - 용량 : 200ℓ	7	원종 배양
	천연효모발효기 N+ 60 - 용량 : 60ℓ	1	원종 배양 및 저장
	기포 발생기 - 모델 : ZP-180D - 180ℓ/min	2	배양액에 산소공급 및 알콜증발
액종제조공정	발효통 - 재료 : SUS 원형 - 용량 : 200ℓ	7	액종배양
	기포 발생기 - 모델 : ZP-180D - 180ℓ/min	2	배양액에 산소공급 및 알콜증발
발효공정	발효실	1	누룩 배양, 원종배양, 제품 성형 후 발효 용도로 사용
	발효트레이카트 자체제작	20	성형, 발효 또는 증숙 과정에 제품의 적층 및 이동
	산업용 초음파 가습기 - 모델명 : MH-106A(6구)	2	발효시 습도 유지
혼합공정	발효통 - 재료 : SUS 원형 - 용량 : 200ℓ	7	반죽통
	믹서드릴 교반기 - 모델명 : 계양 D-23	1	반죽 믹싱
성형공정	반죽 및 양금 자동 성형기 -모델명 : 주문제작 -제조사 : KFB머신	2	양금 자동 분주 및 성형
증숙공정	-증숙기 -트레이수: 17~22	8	발효완료된 제품 증숙
	보일러 - 처리용량 :500kg/Hr	5	증숙기스팀 공급

또한 홈쇼핑 출시를 목적으로 제품 개발이 들어갔으며 홈쇼핑 매니저 및 평가단의 평가와 자문을 거쳐 제품을 개발하여 최종적으로 천연색으로 호박, 흑미, 흑임자를 홈쇼핑에서 자문을 받아 개발에 들어갔으며 제품 목록은 다음 표14 와 같다.

한입 기정	한입기정(흰)	한입기정(호박)	한입기정(흑미)	한입기정(흑임자)

한입앙금기정	한입앙금기정(흰)	한입앙금기정(호박)	한입앙금기정(흑미)	한입앙금기정(흑임자)

제품 디자인



전통의장
YEDASON
since 1965



천연 발효종으로 발효한
한입기정떡





우리쌀로 만든

귀농귀촌 쌀


 100% 우리쌀 |
 
 냉동보관 |
 
 중량 380g



전통의장
YEDASON
since 1965



천연 발효종으로 발효한
한입앙금기정떡





우리쌀로 만든

귀농귀촌 쌀


 100% 우리쌀 |
 
 냉동보관 |
 
 중량 380g

동량고형(동량명금(명(중국산)92%, 심판, 고운꽃소금(9.47%))20.01%, 72g



떡을 담다· 마음을 담다.
좋은 재료로 정성스런 마음을 담아드립니다.

제품명	한입김정떡	·이 제품은 우유, 호두, 대두, 계란 밀을 사용한 제품과 같은 시설에서 제조하고 있습니다.
식품유형	떡류(가열하여 섭취하는 냉동식품)	
업소명 및 소재지	(주)에다손 나주공장 / 전라남도 나주시 세지면 동창로 37	·본 제품은 공정거래위원회 고시 소비자 분쟁 해결기준에 의거 교환 또는 보상받을 수 있습니다.
유통기한	별도표기일 까지	
내용량	380g	·이미 냉동된 바 있으니 해동 후 재 냉동 하지 마시길 바랍니다.
보관방법	냉동보관(-18℃이하)	
원재료명	밀(국산)43.44%, 정제수, 유산균교묘 발효제(정제수 49.3%, 유산균교묘 발효제(정제수 7%, 10%, 발효국산) 12.28%, 당류(당류(국산) 0.6%, 쌀누룩, 쌀겨수(16.5%) 3.62%, 설탕, 효모(정제수 98.8%, 감자(국산), 글리신, 유산균(정제수 92%, 유산균출출액 5%, 보오(국산) 91%, 계란누룩, 천일염(국산) 2.97%, 말린(국산) 1%, 말린(국산) 0.82%, 떡국죽(국산) 16.5%, 3.83%, 설탕, 계란노른자(천일염(국산) 16.62%, 설탕, 말린(국산) 17%, 참깨(국산), 검은깨, 이온도수, 소다아황산염	·부정·불량식품 신고는 국번없이 1399
	용기(포장) 형태	
품목제조번호	20020512164285	·반품 및 교환차: 제조원 및 구입처 (고객상담실 062-620-6000) www.changeok.co.kr



떡을 담다· 마음을 담다.
좋은 재료로 정성스런 마음을 담아드립니다.

제품명	한입김정떡	·이 제품은 우유, 대두, 계란, 밀을 사용한 제품과 같은 시설에서 제조하고 있습니다.
식품유형	떡류(가열하여 섭취하는 냉동식품)	
업소명 및 소재지	(주)에다손 나주공장 / 전라남도 나주시 세지면 동창로 37	·본 제품은 공정거래위원회 고시 소비자 분쟁 해결기준에 의거 교환 또는 보상받을 수 있습니다.
유통기한	별도표기일 까지	
내용량	380g	·이미 냉동된 바 있으니 해동 후 재 냉동 하지 마시길 바랍니다.
보관방법	냉동보관(-18℃이하)	
원재료명	밀(국산)35.8%, 정제수, 유산균교묘 발효제(정제수 48.3%, 유산균교묘 발효제(정제수 7%, 10%, 발효국산) 12.28%, 당류(당류(국산) 0.6%, 쌀누룩, 쌀겨수(16.5%) 3.62%, 설탕, 효모(정제수 98.8%, 감자(국산), 글리신, 유산균(정제수 92%, 유산균출출액 5%, 보오(국산) 91%, 계란누룩, 천일염(국산) 2.97%, 말린(국산) 1%, 말린(국산) 0.82%, 떡국죽(국산) 16.5%, 3.83%, 설탕, 계란노른자(천일염(국산) 16.62%, 설탕, 말린(국산) 17%, 참깨(국산), 검은깨, 이온도수, 소다아황산염	·부정·불량식품 신고는 국번없이 1399
	용기(포장) 형태	
품목제조번호	20020512164286	·반품 및 교환차: 제조원 및 구입처 (고객상담실 062-620-6000) www.changeok.co.kr

발급번호 : 1PRG-38D-LRDS-1H0P-K2EX

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명)	생년월일(법인번호)		
	임원한	7106년 14월 00일		
주소	주소	전화번호		
	전라남도 나주시 세지면 동창로 37(113-1,3,4,5, 362-21,2층)	휴대전화		
영업소	명칭(상호)	영업등록번호		
	(주)에다손 나주공장	20020512164		
소재지	소재지			
	전라남도 나주시 세지면 동창로 37(113-1,3,4,5, 362-21,2층)			
제품정보	식품의 유형	떡류	요청하는 품목제조 신고번호	20020512164285
	제품명	한입김정떡		
	유통기한	제조일로부터 12개월		
	품질유지기한	해당사항없음		
	원재료 또는 성분명, 배합비율	맛장애 기재		
	용도 용법	맛장애 기재		
	보관방법 및 포장재질	맛장애 기재		
	포장방법 및 포장단위	일봉포장, 10g~20kg		
성상	쌀 고유의 맛과 색을 지니고 이미이취가 없음			
품목의 특성	■ 고열량·저열량 식품 해당 여부	[]예 []아니오 [O]해당 없음		
	■ 알러지 유발 식품 해당 여부	[]예 []아니오		
	■ 알러지 유발 식품 해당 여부	[]예 []아니오		
기타				

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2017년 06월 13일 보고인 임원한

전라남도 나주시장 귀하

품목신고번호	20020512164-285	처리과정명	나광철	처리일자	2017년 10월 17일
처리부서	보건소 보건위생과				

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

발급번호 : 1PRG-68B0-JR3S-3H1P-0F88

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명)	생년월일(법인번호)		
	임원한	7106년 14월 00일		
주소	주소	전화번호		
	전라남도 나주시 세지면 동창로 37(113-1,3,4,5, 362-21,2층)	휴대전화		
영업소	명칭(상호)	영업등록번호		
	(주)에다손 나주공장	20020512164		
소재지	소재지			
	전라남도 나주시 세지면 동창로 37(113-1,3,4,5, 362-21,2층)			
제품정보	식품의 유형	떡류	요청하는 품목제조 신고번호	20020512164286
	제품명	한입김정떡		
	유통기한	제조일로부터 12개월		
	품질유지기한	해당사항없음		
	원재료 또는 성분명, 배합비율	맛장애 기재		
	용도 용법	맛장애 기재		
	보관방법 및 포장재질	맛장애 기재		
	포장방법 및 포장단위	일봉포장, 10g~20kg		
성상	쌀 고유의 맛과 색을 지니고 이미이취가 없음			
품목의 특성	■ 고열량·저열량 식품 해당 여부	[]예 []아니오 [O]해당 없음		
	■ 알러지 유발 식품 해당 여부	[]예 []아니오		
	■ 알러지 유발 식품 해당 여부	[]예 []아니오		
기타				

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2017년 06월 13일 보고인 임원한

전라남도 나주시장 귀하

품목신고번호	20020512164-286	처리과정명	나광철	처리일자	2017년 10월 17일
처리부서	보건소 보건위생과				

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

제 17-2-03848 호 발급번호 : 제 R20171130-003 호

시험 성적서

검 체 명	한림기정흑미	제조일자	2017-11-20
제 품 유 형	기준규격외		
의뢰인 주소 및 성명	(주)에다스나주공장 전라남도 나주시 세지면 동창로 37	대 표 자	임철환
접 수 년 월 일	2017년 11월 21일	검사완료일	2017년 11월 30일
시 험 의 외 목 적	참고용		

귀하가 시험 의뢰한 결과 및 판정은 의뢰된 시험항목에 한하며 다음과 같습니다.

결과 :

시험 항목	규격 기준	결과	항목 판정
GABA	-	3.023mg/100g	-

식품위생법시행규칙 제4호의 2 규정에 의하여 위외질이 검사성적서를 발급합니다.
2017년 11월 30일

계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터
대구지방식품의약품안전청 식품등 시험검사기관 제112호
대구지방식품의약품안전청 축산물 시험검사기관 제13호

이 검사결과는 제출된 검체에 한하며 의뢰목적 이외의 상업적인 광고 및
법적인 해결수단으로 사용할 수 없습니다.

제 17-2-03849 호 발급번호 : 제 R20171130-004 호

시험 성적서

검 체 명	한림기정호박	제조일자	2017-11-20
제 품 유 형	기준규격외		
의뢰인 주소 및 성명	(주)에다스나주공장 전라남도 나주시 세지면 동창로 37	대 표 자	임철환
접 수 년 월 일	2017년 11월 21일	검사완료일	2017년 11월 30일
시 험 의 외 목 적	참고용		

귀하가 시험 의뢰한 결과 및 판정은 의뢰된 시험항목에 한하며 다음과 같습니다.

결과 :

시험 항목	규격 기준	결과	항목 판정
GABA	-	3.581mg/100g	-

식품위생법시행규칙 제4호의 2 규정에 의하여 위외질이 검사성적서를 발급합니다.
2017년 11월 30일

계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터
대구지방식품의약품안전청 식품등 시험검사기관 제112호
대구지방식품의약품안전청 축산물 시험검사기관 제13호

이 검사결과는 제출된 검체에 한하며 의뢰목적 이외의 상업적인 광고 및
법적인 해결수단으로 사용할 수 없습니다.

표 14. 홈쇼핑 출시 예정 제품 관련 제품 사진, 제품 포장 디자인 그리고 제품 품목제조보고서 및 GABA 함량 성적서

2. “몸에 좋은 떡” 기능성 소재를 활용한 기능성 제품 개발

가. 연구 목적

창역의 새로운 도약을 위해 내부 경영혁신 및 시설 정비 등 다양한 방면으로 진행되고 있으며 맛과 청결은 이제 소비자에게는 당연한 항목으로 자리잡고 있다. 기존의 창역이 가지고있는 고객층의 한계를 벗어나기 위해서는 건강이라는 이미지 재고가 반드시 필요하다.

최근 사회 고령화로 인해 노인들은 영양 섭취 상태가 좋지 않아 영양위험 집단으로 고려되고 있다. 세계보건기구(WHO)에 의하면 전 세계 노인의 절반 이상이 여러 가지 영양소 섭취가 부족하거나, 식이 및 영양과 관련된 질환을 가지고 있는 것으로 보고하였으며 한국영양학회에 의하면 노인들 중 주요 식품의 권장 섭취 횟수를 절반도 못 채우는 경우가 많다고 보고하였다. 우유 1일 섭취권장량은 노인들의 87%가 섭취하지 못하며 과일(하루 1회)도 65.3%가 권장치를 충족하지 못한다. 고기, 생선, 계란은 충족률 50%를 약간 넘으며 이는 노인들의 결식률이 매우 높음을 의미한다.

노인은 음식 섭취량이 기본적으로 적고 소화·흡수력이 떨어지기 때문에 결식할 경우 어린이나 청소년 결식보다 건강에 더 해롭다. 노인의 결식으로 결핍이 우려되는 영양소는 단백질·칼슘·비타민 A 등이 보고되었다.

노화의 원인은 확실히 규명되지 않았으나 기본적으로 유전적 요인과 환경적 요인이 상호보완하며 전체적으로 노화현상이 나타나는 것으로 생각된다. 유전적 요인에 의한 노화 이론으로는 세포내 유전자에 노화가 프로그램화 되어 있다는 ‘노화시계이론’, ‘텔로머어 소멸이론’이 있으며, 환경적 요인에 의한 노화 이론으로는 기계도 오래 사용하면 소모가 되는 것처럼 인체의 장기와 기관의 구성이 세포가

나이가 들어감에 따라 소모되고 기능이 저하된다는 ‘소모론’, 주어진 생리활성물질을 빨리 소모하게 되면 노화가 촉진된다는 ‘생명에너지론’, 세포는 활성산소에 의해 손상됨으로 노화된다는 ‘활성산소론’이 있다.

근래에 기능성식품분야에서 핵심분야로 선정된 면역, 정신건강 및 뇌기능, 대사증후군 중 면역은 특히 노화와 관련된 것으로 ‘나이’는 감염에 대한 저항을 결정하는 중요한 요인이며 최근에는 나이에 따른 면역력감소보다는 면역기능 조절장애가 있다고 인식하고 있다.

떡은 한국인에게 익숙하고 특히 노인층이 선호하는 식품이기는 하지만 제품의 주원료를 쌀에서 시작한다는 점에서 탄수화물이 주 에너지원인 식품으로 식사대용으로 섭취시 에너지 불균형을 초래할 수 있다. 따라서, 다양한 영양소를 함유하고 있거나 영양균형을 이룰 수 있도록 떡을 소재로 하는 응용 제품 개발이 필요하며 노화나 면역 저하등에 도움이 될 수 있는 소재를 함유한 건강지향형 제품 개발이 필요하다.

통계청에 따르면 50·60대 가구주의 소득증가율(약 7.7%)은 39세이하 가구주 소득증가율(2.7%)보다 매우 높음. 경기가 악화된 상황에서 안정적인 소득원을 갖고 있는 50·60대가 20·30대에 비해 경기의 영향을 덜 받는 결과로 해석되었으며 이처럼 '프리실버' 세대의 구매력이 커지면서 대상, CJ제일제당 등 기업들의 경쟁도 치열해지고 있고 좋은 재료를 사용한 프리미엄 제품들도 다수 출시 되고있다.

식품의약품안전처에 자료에 따르면 면역력의 저하는 잘못된 식습관으로 인한 영양불균형과 필수영양소의 미섭취에 따른 면역력저하와 대기 및 환경오염, 술과 담배 등을 면역력 저하의 원인으로 분석하고 있으며, 특히 이로 인한 면역세포의 기능과 활성저하가 가장 큰 영향을 초래한다. 이에 따라 면역증강을 위한 건강기능식품의 섭취를 권장하기는 하지만 무엇보다 중요한 것은 고른 영양분 섭취라고 할 수 있다.

나. 연구개발 목표 및 내용

인구 고령화에 따른 창익의 제품 출시 전략적으로 균형영양식 개발의 필요성이 매우 높아졌다. 떡이 가지고 있는 한계로 탄수화물 비중이 80%이상을 차지하는 떡들이 매우 많다는 것으로 이는 고른 영양분포 면에서는 당연히 불리할 수 밖에 없다. 본 연구과제에서는 다음과 같은 떡류의 문제점을 해결하기 위해 균형영양식 기준을 특성 및 기준을 설정하였으며 다양한 조합의 레시피를 통해서 최적 관능을 갖는 제품의 레시피를 개발하고 시제품 생산을 목표로 진행하였다. 추가적으로 한약 소재를 활용하여 떡에 적용하고자 하였으나 기본 스크린 과정에서 한약소재가 기본적으로 떡의 색 그리고 향미에 절대적인 영향을 미쳐 두가지 목표를 동시에 충족하는 제품보다는 균형영양식이라는 목적에 중점을 두기위해서 이번 균형 영양식과 한방소재를 활용한 제품개발로 따로 나누어 진행하였다.

다. 연구 결과 및 고찰

(1) 균형영양식 개발

○ 균형 영양량 설정

균형 영양식의 설정은 한국인 영양권장량을 기준으로 하였을 때 영양소의 섭취비율은 다음 표 1과 같다.

표 1. 한국인 영양소 섭취기준 영양량

영양소	19세 이상
탄수화물	55~70%
단백질	7~20%

지방	-
총지방	15~25%
n-6계 지방산	4~8%
n-3계 지방산	1% 내외
포화지방산	4.5~7%
트랜스지방산	1% 미만
콜레스테롤	300 mg/일 미만

균형영양식은 50~64세 성인여성의 1일 영양섭취기준을 기준으로 하였으며 1회 섭취시 1일 에너지 권장 섭취량의 25%를 충족시키면서 에너지 섭취비율이 균형을 이루도록 영양섭취기준에 적정한 범위로 탄수화물, 단백질, 지질에 대해 두 가지(A안, B안) 균형 영양량을 설정하였다.

표 2. 균형영양소 비율 A안

열량	450kcal	E 환산	E 비율
단백질	11.25 g	45 kcal	10%
탄수화물	78.75 g	315 kcal	70%
지질	10 g	90 kcal	20%

표 3. 균형영양소 비율 B안

열량	450kcal	E 환산	E 비율
단백질	16.88 g	67.5 kcal	15%
탄수화물	78.75 g	315 kcal	70%
지질	7.5 g	67.5 kcal	15%

○ 균형영양식 떡에 사용되는 재료의 수분함량 측정

식품성분 분석표의 영양소 함량을 기준으로 레시피를 작성하기 위해 상압가열 건조법으로 균형영양식 떡에 사용되는 재료의 수분함량을 측정한 후 떡의 레시피를 작성하고 재료로 사용하였다.

표 4. 균형영양식 떡 재료의 수분함량

재료	수분함량(%)	재료	수분함량(%)
맷쌀가루	56.36±0.12	호박	18.95±1.65
감	52.68±1.50	완두콩	6.90±0.17
동부	50.76±1.33	아몬드	10.09±0.16
팥	2.93±0.58	땅콩	4.14±0.32
검은깨	10.37±0.23	크린베리	26.79±0.70
호두	2.43±0.15	해바라기씨	1.13±0.42
사과	17.65±1.65	호박씨	2.63±0.46
감(건조)	37.74±3.15	대두	60.69±0.36
강남콩	5.43±0.23	블루베리	23.69±1.65

○ 균형영양식 떡의 조성

식사대용이 가능하도록 균형영양식을 제조하기 위하여 쌀을 포함한 과채 및 견과류 등을 이용하여 균형영양식 떡을 제조 하였다. 떡은 탄수화물위주로 구성된 식품으로 영양 균형을 이루기 위해 단백질 소재인 두류와 지방 소재인 견과류 식이섬유와 비타민 소재인 과일 소재 선정이 필요하였다. 균형영양식 떡을 구성하는 소재를 선정하기 위해 떡의 조성은 다음과 같은 방법으로 결정하였다. 균형영양식 A-1안은 감고지 떡, 사과 떡, 호박 떡, 크린베리 떡, A-2안으로는 울타리콩 떡, 울타리콩 땅콩버터 떡, 울타리 콩두부 떡, 울타리콩 난백 떡, 균형영양소 B안으로는 사과 떡, 크린베리 떡, 블루베리 떡, 울타리콩고물 떡을 제조 하였다.

표 5 균형영양 떡 영양소 비율 A-1의 조성

	감고지 떡(g)	사과 떡 (g)	호박 떡(g)	크린베리 떡(g)
멥쌀가루	97.12	102.31	112.84	111.21
설탕	5.0	4.0	7.49	6.99
동부, 팔	39.45	-	-	-
감, 밤, 호두	39.28	-	-	-
사과, 사과농축액, 감	-	10.17	-	-
강남콩, 밤, 호두	-	65.27	-	-
호박, 아몬드	-	-	19.7	-
완두콩, 땅콩	-	-	28.15	-
크린베리, 해바라기 씨	-	-	-	15.98
팔, 호박씨	-	-	-	29

표 6. 균형영양 떡 영양소 비율 A-2의 조성

	울타리콩(g)	울타리콩 땅콩버터(g)	울타리콩 두부(g)	울타리콩난백(g)
멥쌀가루	126.32	125.44	129.09	128.50
설탕	6.00	4.16	6.00	6.00
크린베리, 호두	17.79	-	-	-
울타리콩	22.30	-	-	-
크린베리, 땅콩버터	-	13.69	-	-
울타리콩, 호두	-	25.91	-	-
크린베리, 건조두부, 콩기름	-	-	10.88	-
울타리콩, 호두	-	-	21.25	-
크린베리, 난백,	-	-	-	8.84

콩기름				
울타리콩, 호두	-	-	-	24.77

표 7. 균형영양 떡 영양소 비율 B의 조성

	사과떡(g)	크랜베리떡(g)	블루베리떡(g)	울타리콩(kg)
멥쌀가루	11.21	105.28	112.84	11.30
설탕	5.1	1.0	6.0	0.70
콩가루, 강남콩	45.17	-	-	-
사과, 사과농축액, 밤	12.78	-	-	-
크랜베리, 아몬드	-	10.61	-	-
팥, 콩가루	-	32.42	-	-
블루베리, 해바라기 씨	-	-	9.97	-
대두, 콩가루	-	-	36.84	-
검은깨(볶음)	-	-	-	1.10
울타리콩, 호두(볶음)	-	-	-	1.20

○ 균형영양식 떡 A안의 관능평가

과일의 떡 적용 가능성을 검토하기 위해 감, 사과 등을 이용한 떡을 제조하고 관능검사를 실시하였다. 균형영양식 떡 A안의 관능평가를 실시한 결과, A-1의 경우 단맛, 담백함, 단단함, 부작성, 항목에서 사과 떡이 높은 수치를 나타냈다. 균형 영양떡의 단백질, 지방 소재를 검토하기 위해 울타리콩, 땅콩버터, 두부, 난백을 사용하여 떡을 제조하였다. 떡의 관능검사를 실시한 결과 A-2 떡의 검사항목 및 전체적인 기호도 면에서 울타리콩 땅콩버터 떡이 높은 수치를 나타냈다.

표 8. 균형영양식 떡 A-1의 관능평가

	감고지떡	사과떡	호박떡
색	4.80±1.92	4.40±2.19	5.00±2.35
내용물형태	4.40±1.67	4.20±1.30	5.00±1.41
단맛	6.00±2.74	5.80±1.79	5.60±2.51
담백함	5.20±1.79	5.60±1.14	5.40±2.07
단단함	4.20±1.48	5.40±1.52	4.60±2.19
부드러움	4.40±0.89	5.00±1.22	5.20±1.92
부작성	4.60±2.30	6.20±1.10	4.80±2.28

표 9. 균형영양식 떡 A-2의 관능평가

	울타리콩	울타리콩 땅콩버터	울타리콩 두부	울타리콩난백
색	5.50±2.38	7.00±1.22	6.33±1.21	6.80±1.10
내용물형태	4.72±0.50	6.20±1.30	5.33±1.37	6.80±1.10
단맛	3.50±1.29	5.60±0.89	4.67±2.07	5.40±1.14
담백함	5.25±0.50	6.00±0.71	6.17±1.47	6.20±1.10

단단함	6.50±0.58	6.40±1.14	5.67±1.37	6.00±0.71
부드러움	4.50±1.00	6.80±0.84	5.33±0.82	6.20±0.84
부착성	6.00±1.15	6.80±1.10	5.67±1.97	6.80±1.10
전체적인 기호도	3.33±2.52	6.40±2.07	4.00±1.90	5.20±1.64

○ 균형영양식 떡 B안의 관능평가

균형영양식 떡 B안의 관능평가를 실시한 결과, 울타리콩고물 떡은 모든 관능검사 항목 및 전체적인 기여도에서 다른 균형영양식 떡에 비해 매우 높은 값을 나타내어 최종 시제품 생산에 적용 하였다.

표 10. 균형영양식 떡 B안의 관능평가

	사과떡	크랜베리떡	블루베리떡	울타리콩
색	2.25±1.50	2.75±1.26	2.75±1.26	7.83±0.75
내용물형태	4.00±1.41	3.75±1.50	3.00±1.41	7.50±0.55
단맛	4.00±1.15	4.50±1.00	3.50±1.91	5.50±1.76
담백함	3.75±0.96	3.75±0.96	3.75±0.76	5.83±1.72
단단함	2.00±0.82	2.00±0.12	2.00±0.82	6.67±0.52
부드러움	3.00±0.00	3.00±0.00	3.00±0.00	5.83±0.75
부착성	3.25±1.71	3.25±1.71	3.25±1.71	7.00±0.89
전체적인 기여도	2.00±0.12	2.75±1.71	2.00±0.82	6.67±1.03

○ 균형영양식 A-1안 떡의 텍스처 측정

균형영양식 떡의 텍스처를 측정한 결과, 단단함은 크랜베리 떡이 가장 높았으며 부착성의 경우 감고지 떡이 가장 높게 나타났다. 탄력성, 응집성의 경우 네 시료 모두 크게 차이를 나타내지 않았으며, 검성의 경우 호박 떡이 가장 높게 나타났다.

표 11. 균형영양식 A-1안 떡의 텍스처

	감고지떡	사과떡	호박떡	크랜베리떡
Hardness	15245.53±747.77	2873.60±639.95	21175.46±214.92	3067.28±214.91
Adhesiveness	-893.96±166.99	-270.00±71.67	-162.58±-21.15	-254.93±0.03
Springiness	0.23±0.04	0.51±0.04	0.29±0.02	0.45±0.01
Cohesiveness	0.26±0.01	0.30±0.04	0.34±0.02	0.29±0.02
Gumminess	3842.77±319.62	840.03±214.91	7080.25±214.91	962.34±214.91
Chewiness	841.22±87.82	382.478±214.92	1980.05±214.91	427.47±214.91
Resilience	0.10±0.00	0.09±214.91	0.15±214.91	0.10±0.02

○ 균형영양식 A-2안 떡의 텍스처 측정

균형영양식 떡의 텍스처를 측정된 결과, 단단함은 울타리콩 땅콩버터 떡이 가장 높았으며 접착성의 경우 울타리콩 떡이 가장 높게 나타났다. 탄력성, 응집성의 경우 네 시료 모두 크게 차이를 나타내지 않았으며, 검성의 경우 다른 시료에 비하여 울타리콩 땅콩버터 시료가 높은 수치를 나타냈다.

표 12. 균형영양식 A-2안 떡의 텍스처

	울타리콩	울타리콩 땅콩버터	울타리콩 두부	울타리콩난백
Hardness	26587.14±2251 .89	32866.84±1958. 79	23647.95±2916. 15	29223.45±2786. 69
Adhesiveness	-674.76±56.23	-234.20±40.69	-103.96±20.43	-88.39±15.55
Springiness	0.29±0.04	0.31±0.03	0.38±0.08	0.34±0.02
Cohesiveness	0.35±0.03	0.37±0.02	0.38±0.05	0.32±0.02
Gumminess	9153.13±38.19	12186.21±1427. 82	7982.06±435.21	7695.94±1878.9 4
Chewiness	2517.15±500.8 9	3847.20±723.12	2723.70±195.36	2888.21±664.95
Resilience	0.16±0.02	0.17±0.01	0.18±0.03	0.15±0.01

○ 균형영양식 B안 떡의 텍스처 측정

혼합 비율을 달리한 균형영양식 B안 떡의 텍스처를 측정된 결과, 단단함은 A-1에서 보는 것과 같이 크랜베리 떡이 가장 높았으며, 부착성, 탄성, 응집성, 검성의 경우 네 시료 모두 크게 차이를 나타내지 않았다

표 13. 균형영양식 B안 떡의 텍스처

	감고지 떡	사과 떡	크랜베리 떡	블루베리 떡
Hardness	3512.63±459.1 3	27973.34±3437. 44	30944.89±498.2 1	28029.73±1247. 60
Adhesiveness	-5.14±1.22	-4.16±1.45	-2.34±0.22	-2.17±1.00
Springiness	0.38±0.01	0.36±0.02	0.31±0.01	0.32±0.01
Cohesiveness	0.39±0.02	0.35±0.02	0.41±0.02	0.41±0.02
Gumminess	13807.28±2567 .32	9722.80±1686.5 6	12729.13±760.2 1	11464.84±845.7 1
Chewiness	5202.78±890.4 8	3509.80±797.75	3984.29±362.01	3660.97±302.64
Resilience	0.19±0.02	0.16±0.01	0.17±0.01	1.19±0.01

○ 균형영양식 울타리콩떡(울타리콩고물)의 시제품 및 품목제조보고

개발된 신제품의 경우 신선떡(200g 비닐포장떡, 1~5kg떡), 세트상품용 각절포장떡, 냉동떡으로 다시 구분되며 신선떡의 경우 매장 직판용 제품(그림 1 A)이며 MA포장기법을 활용한 웰찌 단품사진(그림 1 B) kg 떡 대량 포장떡 구성품으로 들어가며 냉동떡이다(그림 1 C). 제품 생산에 필요한 품목제조보고는 그림 1 D에 제시하였으며 웰찌 상품군들과 묶어 신규 세트상품을 구성할 계획이다.

A



B



C



D

■ 식품위생법 시행규칙 [별지 제43호서식] <가장 2016. 8. 4. >

식품·식품첨가물 품목제조보고서

(일괄)

본 위촉의 유의사항을 읽고 작성하여 주시기 바랍니다. []에는 해당되는 곳에 표를 합니다.

보고인	성명 임철환 주소 광주광역시 서구 중앙동 1차 104-603호	생년월일(주민등록번호) 710624 전화번호 062)520-6035
영입소	명칭(상호) 주식회사 참억 소재지 광주광역시 북구 경일로 242	후대전화 영입등록번호 2008021989

식품의 유형 - 떡류

제품명 - 울타리콩떡(01)

유통기한 제조일부터 1년
품질유지기한 제조일부터 월(월, 년)
판매표명 또는 성분명 및 배합비율 떡 쪽에 기재
윤도 유통기한 및 주석

제품정보

보관방법 및 포장재질 - 냉동보관, 폴리에틸렌(PE), 폴리프로필렌(PP)
포장방법 및 포장단위
성상 - 울타리콩의 고유인 맛과 색을 지니고
이미, 이취가 없음
고열량·저영양 식품 해당 여부 []에 []아니오 []예단 없음
합법인증 식품 해당 여부 []예 []아니오

기타

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제43조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2016년 8월 3일
보고인 임철환 (인)

지방식품의약품안전청장
특별자치시장·특별자치도지사·시장·군수·구청장 귀하

제품서주

1. 제조당일당일서 1부
2. 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」 제68조제3항제1호에 따라 식품의약품안전청장이 지정한 식품안전 시험·검사기관 또는 같은 조 제4항 단서에 따라 승리함으로써 유효한 시험·검사기관이 발급한 식품검역 한시제 기준 및 규격 검토서 1부
3. 식품의약품안전청장이 정하여 고시한 방법에 따라 실정한 유통기한의 설정서류 1부
4. 유통인용 식품 인증서 사본(유통인용 식품의 표시·광고용 하는 경우만 해당합니다.)

210mm×297mm(배상지 80g/㎡(제용유용))
권철환-14559
2016. 8. 12.
임철환

그림 1. 개발 제품 울타리콩떡

(A) 단품 신선떡, (B) 웰저포장떡, (C) 포장 세트상품 구성(계획안), (D) 품목제조보고 증빙서류

(2) 기능성 소재를 활용한 기능성 떡 개발

(가) 연구배경

식품은 비교적 다량으로 지속적 섭취를 하는 특성이 있어 만일 식품 중에 생체 방어 증강물질이 존재할 경우, 건강증진에 중요한 역할을 담당할 것으로 평가될 수 있을 것이다. 식품소재 중에 존재하는 활성성분을 이용 및 연구에 많은 관심이 집중되고 있다. 그러나 이처럼 식품소재 내지는 천연물 중 면역조절성분에 대한 기대와 관심에도 불구하고 의약품 제제의 개발에 비교하여 기능성식품의 개발에서는 큰 진전을 보지 못하고 있는 실정이다. 따라서 식품소재 기원의 면역활성물질로 알려진 꾸지뽕 추출물을 활용하여 기능성이 강화된 식품을 개발함으로써 건강증진에 기여하고자 하였다.

(나) 연구목표

기능성 소재로 보고된 꾸지뽕 주정 추출물이 함유된 기능성 쌀가루를 이용하여 기능성 중에서도 면역

증강식품을 개발하고자 한다.

(다) 연구 개발 범위

- 1) 꾸지뽕주정추출물을 이용한 제품 유형 선정
- 2). 레시피개발
- 3). 제조조건 및 생산공정 확립

(라) 연구개발 내용

- 1). 꾸지뽕주정추출물을 이용한 제품 유형 선정

전래로부터 꾸지뽕 나무는 높은 항암효과와 항염증 치료 개선, 당뇨병예방, 고혈압예방, 항산화효과 등. 그 생리활성의 연구가 매우 활발히 보고되고 있다. 이러한 꾸지뽕나무의 생리활성 물질을 이용하여 식품화 한다면 건강증진에 도움이 될 것이다. 찹쌀떡은 우리나라 고유의 음식으로 그 제조하는 방법이나 첨가물질의 종류에 따라 그 모양과 맛이 다양하게 발전해왔다. 그 역사만큼이나 대중들에게도 매우 친숙한 제품의 형태이다.꾸지뽕주정추출물의 형태로 분말화하여 이를 찹쌀떡에 응용한다면 단순히 맛있는 떡이 아닌, 기능성이 함유된 식품으로써 장기적인 편의식 및 기능식으로 기대될 수 있을 것이다.

2). 레시피개발

가) 재료

- 꾸지뽕나무 잎 10% 에탄올 추출물, 찹쌀가루, 천일염, 설탕, 정제수, 팔앙금

나) 방법

- 실험설정 꾸지뽕은 특유의 역한 냄새가 있고, 쓴맛이 강하므로 이를 제거 및 감소시키기 위하여 찹쌀가루에 혼합하여 꾸지뽕의 효능을 변질시키지 않으면서 꾸지뽕만의 색상을 그대로 구현하는 떡피를 제조하도록 하였다.

- 실험방법

① 당도 측정

앙금의 당도 측정은 시료를 취하여 굴절당도계(PAL-1, 2, Atago Co., Japan)로 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

② 색도 측정

앙금의 색도 측정은 시료를 취하여 색차계(Minolta CR-400, Japan)를 이용하여 명도(L-value, lightness), 적색도(a-value, redness) 및 황색도(b-value, yellowness) 값을 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다. 이때의 표준 백색판65(Y=86.8, X=0.3187, y=0.3363)을 사용하였다.

③ 수분 함량

앙금의 수분함량은 ohaus 수분측정기를 사용하여 시료 1.5g을 105℃에서 auto로 측정하여 값을 표기하였다. 최소 3번 반복하여 수행하였다.

다) 실험결과 및 고찰

- 원료의 품질특성 찹쌀가루에 혼합하여 기능성 쌀가루를 만들기 위해 꾸지뽕주정추출물과 찹쌀가루의 색도와 수분함량을 각각 측정하였다.

표 14. 꾸지뽕 주정추출물 자체 품질 특성

구분		1차	2차	3차	평균	편차	수분함량 (%)	관능특성
색도	L	58.00	58.45	54.01	56.82	2.44	1.4	쓴맛 강함
	a	2.67	3.06	2.28	2.67	0.39		
	b	25.52	26.55	22.52	24.86	2.09		

표 15. 찹쌀가루 자체 품질 특성

구분		1차	2차	3차	평균	편차	수분함량 (%)	관능특성
색도	L	90.68	58.45	54.01	56.82	0.01	36	양호
	a	-0.26	-0.26	-0.27	-0.26	0.01		
	b	25.52	26.55	22.52	24.86	0.01		



그림 2. 꾸지뽕 주정 추출물 및 찹쌀가루 재료

꾸지뽕 찰떡 제조에 필요한 원료의 품질 특성꾸지뽕주정추출물은 진한 녹갈색으로 1.4%의 수분함량을 지니고 있었다. 입자가 매우 곱고 특유의 풀냄새가 있었으며, 맛 또한 쓴맛이 강하게 느껴졌다. 이에 반해 2차분쇄한 찹쌀가루는 36%의 수분함량으로 나타났다.

- 기능성 쌀가루와 떡제형의 품질특성 비교

쓴맛이 강한 꾸지뽕주정추출물의 첨가량을 증가시키는 조건으로 찹쌀가루와 혼합시켜 떡제형으로 만든 후 조건별로 각각 품질특성을 알아보았다.

표 16. 꾸지뽕 찰떡 제조에 필요한 원료의 품질 특성 - 꾸지뽕 주정 추출물 첨가비율 설정 실험 조건

구분	찹쌀가루(g)	꾸지뽕주정추출물(g)	배합비율(%)
조건1	100	0.5	0.05
조건2	100	1	0.1
조건3	100	1.5	0.15

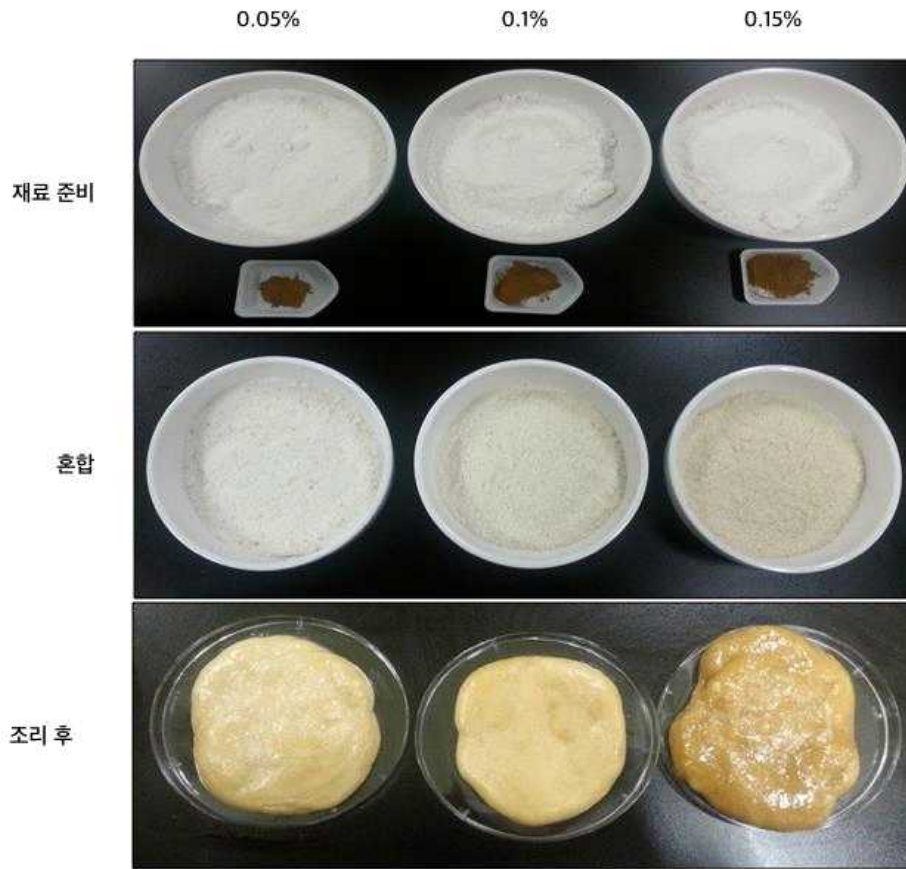


그림 3. 꾸지뽕 주정 추출물을 첨가한 쌀가루와 이를 이용하여 만든 찰떡의 품질 특성 및 관능 특성

표 17. 꾸지뽕 주정추출물 첨가에 따른 찰쌀가루의 품질특성 및 관능특성

구분	색도	1차	2차	3차	평균	편차
조건1	L	87.9	87.88	87.87	87.88	0.02
	a	-0.16	-0.15	-0.15	-0.15	0.01
	b	10.14	10.14	10.15	10.14	0.01
조건2	L	83.86	83.85	83.84	83.85	0.01
	a	0.32	0.31	0.32	0.32	0.01
	b	14.07	14.08	14.08	14.08	0.01
조건3	L	82	82	81.99	82.00	0.01
	a	0.54	0.53	0.53	0.53	0.01
	b	16.44	16.46	16.45	16.45	0.01

표 18. 꾸지뽕주정추출물 첨가에 따른 찰떡의 품질특성 및 관능특성

구분	색도	1차	2차	3차	평균	편차
조건1	L	62.32	66.23	63.14	63.90	2.06
	a	-0.6	-0.13	0.07	-0.22	0.34
	b	19.12	22.01	22.44	21.19	1.81

조건2	L	59.77	60.6	61.04	60.47	0.64
	a	2.54	2.81	2.98	2.78	0.22
	b	25.14	26.13	26.67	25.98	0.78
조건3	L	51.06	54.15	54.61	53.27	1.93
	a	2.62	3.78	4.37	3.59	0.89
	b	26.45	26.05	26.84	26.45	2.34

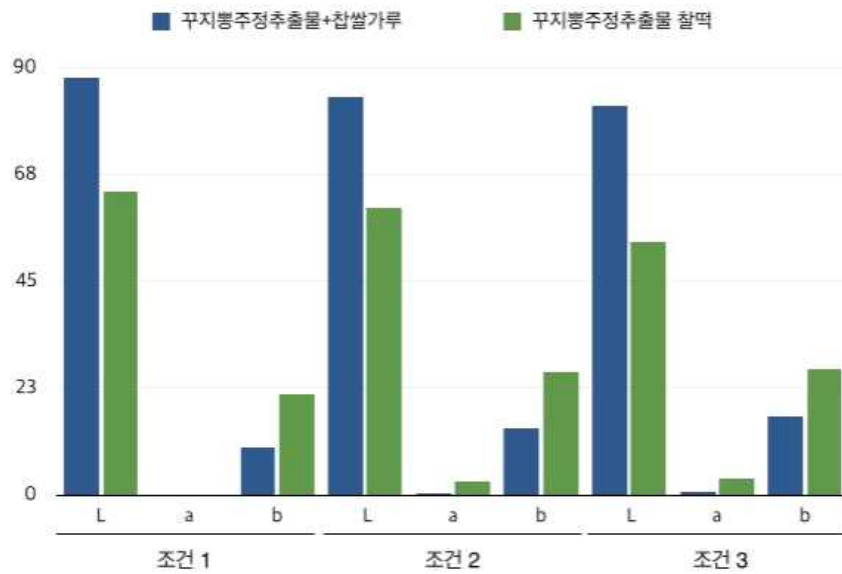


그림 4. 꾸지뽕 주정 추출물 첨가에 따른 쌀가루와 이를 이용하여 만든 찰떡의 품질 특성

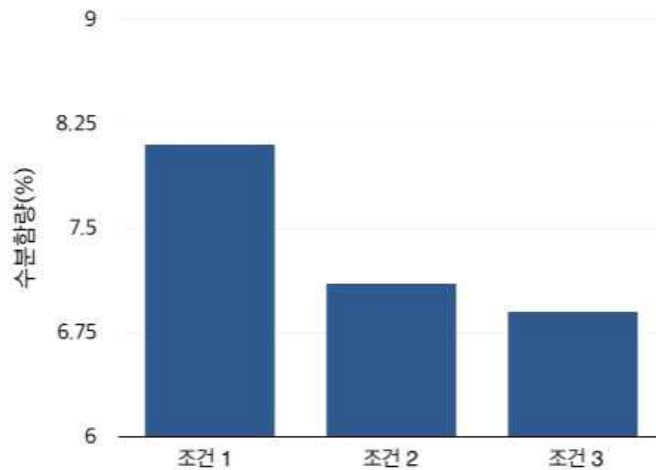


그림 5. 꾸지뽕 주정 추출물 첨가에 따른 쌀가루와 이를 이용하여 만든 찰떡의 수분함량 비교

단순 혼합 및 조리과정 전후의 색도와 수분함량을 비교하여 변화를 관찰하였다 (그림 4). 그 결과 꾸지뽕주정추출물을 첨가한 찰떡과 이를 이용하여 만든 찰떡의 색도를 비교한 결과, 꾸지뽕주정추출물의 양이 증가될수록 찰떡에서의 명도(L-value)는 감소하였고, 적색도(a-value)와 황색도(b-value)는 증가하였다. 꾸지뽕주정추출물이 첨가된 찰떡을 이용하여 찰떡으로 제조하여 본 결과, 꾸지뽕주정추출물의 첨가량이 증가할수록 찰떡의 수분함량은 감소하였다 (그림 5).

- 꾸지뽕주정추출액을 사용한 쌀가루와 찰떡피의 품질특성 비교

꾸지뽕주정추출물을 사용할 경우 분말의 특성으로 찹쌀가루와 혼합시 매우 잘 섞일것으로 예상하였으나, 찹쌀가루의 수분으로 인하여 꾸지뽕주정추출물의 분말 뭉침 현상이 나타나 제대로 섞이지 않음을 확인 할 수 있었다.따라서, 이를 보완하고자 찰떡제조 과정 중에 첨가되는 정제수의 일부에 꾸지뽕주정추출물을 혼합하여 녹임으로써 추출액을 제조하였다. 이를 분말과 추출액의 방법1, 방법2로 구분하여 비교실험을 하였다(그림 6 과 표 18).

표 18. 꾸지뽕 찰떡 제조에 필요한 원료의 품질 특성

	방법1					방법2				
	1차	2차	3차	평균	편차	1차	2차	3차	평균	편차
L	58.00	58.45	54.01	56.82	2.44	53.59	54.80	55.92	54.77	1.17
a	2.67	3.06	2.28	2.67	0.39	1.48	1.58	1.68	1.58	0.10
b	25.52	26.55	22.52	24.86	2.09	20.88	21.65	22.51	21.68	0.82



그림 6. 꾸지뽕 주정 추출물과 쌀가루 혼합에 따른 특성 분석

추출액을 사용한 방법 2에서 가루 멍침 현상이 없이 매우 잘 섞임을 보여주었다. 방법1보다 방법 2에서 좀 더 밝아 보였지만, 실제 색도 측정결과, 방법1에서 명도, 적색도, 황색도 모두 높은 값을 나타냈다.

라) 최종 제조조건 확립

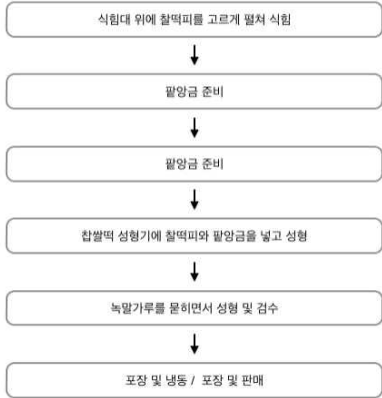
찰쌀떡에 들어가는 양금은 기존에 보고한 팔앙금을 사용하였고, 그 외에도 천일염과 설탕 등의 기본 재료 또한 기존의 찰쌀떡의 레시피를 참고하였다. 최종

[꾸지뽕 찹쌀떡 레시피]

- 찹쌀(국산) 81.58%, 꾸지뽕주정추출물 0.8%, 팔앙금 15.74%, 설탕 0.80%, 천일염 1.08%
- 떡피의 당도 : 6 ± 1 brix, 앙금의 당도 35 ± 2 brixpar
- 떡피의 수분함량 : $42\pm 1\%$

3). 제조조건 및 생산공정 확립

꾸지뽕주정추출물이 함유된 찹쌀떡의 찰떡피는 예다손 찹쌀떡의 기존 제조조건과 꾸지뽕 주정 추출물 함유에 따른 추가 변동사항을 적용한 조건으로 공정도를 최종 확립하였으며 기존 생산시설과 동일한 장비를 활용하여 제품생산이 가능하여 빠르게 공정확립이 가능하였다. 최종 공정은 그림 7 에서 제시하였으며 최종 제품의 형태 및 세트상품구성은 기존 예다손 상품(흑미, 쑥, 딸기, 찹쌀) 4종에 혼합되어 세트상품이 구성되었다.



예다손 찰쌀떡
(흑미, 숙, 말기, 찰쌀)



꾸지뽕찰쌀떡

■ 식품위생법 시행규칙 [별지 제43호서식] <개정 2016. 8. 4.>

식품 식품첨가물 품목제조보고서

* 뒤쪽의 유의사항을 읽고 작성하여 주시기 바라며, []에는 해당되는 곳에 √ 표를 합니다. (앞쪽)

보고인	성명 임철한	생년월일(법인등록번호) 710624
	주소 광주광역시 서구 풍암동 금호1차 104-603호	전화번호 062)520-6035 휴대전화
영업소	명칭(상호) 주식회사 창익	영업등록번호 20080221589
	소재지 광주광역시 북구 경일로 242	
제품정보	식품의 유형 - 떡류	
	제품명 - 꾸지뽕찰쌀떡(예)	
	유통기한	제조일부 1년
	품질유지기한	제조일부 1(월, 년)
	원재료명 또는 성분명 및 배합비율 뒤 쪽에 기재	
	용도 용법 - 간식 및 주식	
	보관방법 및 포장재질 - 냉동보관, 폴리프로필렌(PP)	
	포장방법 및 포장단위	
	성상 - 꾸지뽕과 찰쌀떡 고유의 맛과 색을 지니고 이미, 이취가 없음	
	고열량·저영양 식품 해당 여부 []에 []아니오 [0]해당 없음	
할랄인증 식품 해당 여부 []에 [0]아니오		
기타		

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2016년 8월 12일

보고인

임철한 (인)

지방식품의약품안전청장
특별자치시장·특별자치도지사·시장·군수·구청장

귀하



제출서류	1. 제조방법설명서 1부
	2. 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」 제6조제3항제1호에 따라 식품의약품안전처장이 지정한 식품전문 시험·검사기관 또는 같은 조 제4항 단서에 따라 총리령으로 정하는 시험·검사기관이 발급한 식품등의 한시적 기준 및 규격 검토서 1부
	3. 식품의약품안전처장이 정하여 고시한 방법에 따라 설정한 유통기한의 설정사유서 1부
	4. 할랄인증 식품 인증서 사본(할랄인증 식품의 표시·광고를 하는 경우만 해당합니다)

210mm×297mm[백상지 80g/m²(재활용품)]

우선지 - 14517
(2016.8.12)
임철한

그림 7. 꾸지뽕 찰쌀떡 생산공정 완료 및 제품 생산

(3). 연하도음식 제조조건 및 생산공정 확립

(가) 벤치마킹을 통한 최적 물성 목표 확립

기능성이 좋아도 맛이 없는 제품은 소비자로부터 외면당할 수 밖에 없다. 뿐만 아니라 기존 연하도음식 제품은 대부분 무색 무취의 제품들이 대다수로서 성인의 입맛에 맞지 않아 연하도음식을 찾는 사람이 특별식이 필요한 환자의 경우를 제외하고는 외면당하고 있는게 현실이다. 본 과제를 통해서 개발하게 될 제품의 경우는 연하도음식을 필요로 하는 환자 뿐만 아니라 일반 소비자까지도 타겟팅할 수 있는 제품 개발을 목표로 하고 있기 때문에 환자식 및 일반식의 포괄적인 접근을 필요로 한다.

제품의 품질향상을 위해서 본 제품개발의 전략으로는 벤치마킹을하기로 결정하였으며 벤치마킹의 대상 제품의 경우 서울시 종로구 삼청로에 위치한 매우 유명한 단팔죽 전문점의 제품을 대상으로 하였다.

1) 재료

샘플의 종류는 표 19 과 같고 제품 이미지는 그림 8 와 같다. 서울 출장시 방문하여 포장상태로 구매하였으며 구매 후 바로 냉장하여 변질되지 않게 처리하였다.

제품명	판매처
단팔죽(새알 포함)	서울에서 둘째로 잘하는 집
단팔죽(새알 미포함)	서울에서 둘째로 잘하는 집

표 19. 유동식 벤치마킹을 위한 재료 구입 목록



그림 8. 서울에서 두 번째로 잘하는 집 단팔죽

2) 방법

① 관능평가를 통한 제품 기호도 측정

- 관능적 특성을 평가하기 위하여 냉장된 제품을 상온에 20분간 해동 시킨 것을 평가에 사용하였다.
- 각 제품들의 샘플들은 투명한 플라스틱의 접시에 담아 제시하였으며, 평가 사이에 입을 헹글 수 있도록 정수된 물을 함께 제시하였다.
- 관능검사원은 훈련을 통해 평가방법 및 평가 특성에 익숙해져 식별 능력이 있는 예다손 부설연구소 연구원 4명, 콜센터 직원 5명으로 총 10명이 평가하였다.

② 당도 측정

단팔죽의 당도 측정은 새알을 포함한 제품과 새알을 포함하지 않은 두가지 제품을 가지고 측정하였으며 식은 죽(18℃)과 끓인 죽(60℃) 상태의시료를 취하여 굴절당도계(PAL-1, 2, Atago Co., Japan)로 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

③ 점도 측정

시료를 Brookfield digital viscometer (Model DV-II, USA)로 spindle RV-06을 사용하여 50rpm에서 측정하였다. 100ml의 비이커에 시료를 100g씩 취해 온도 및 조건별로 측정하였다. 측정은 최소한 3번 반복하여 수행하였다.

3) 결과 및 고찰

관능평가를 통한 제품의 기호도 측정

관능평가 항목으로 디자인, 향미, 맛, 질감, 씹힘성, 부착성 및 전체 기호도로 기호적인 점수를 확인한 결과 제품에 대한 기호도는 8점대로 매우 높은 점수를 받았으며 기타 모든 평가항목에서 새알이 있거나 없거나 큰차이를 보이지 않는 것을 확인 할 수 있었다. 이 결과로 볼 때 단팔죽의 포인트로 알려져있는 새알의 유무가 제품의 전체 기호도에는 크게 영향을 미치지 않는 것을 확인 할 수 있었다. 이결과를 활용하여 다음 본 과제를 통해 개발할 제품의 경우 일반식의 경우 죽의 디자인 특성을 고려하여 새알을 첨가하고 연하도음식의 경우 새알을 제외하고 판매하기로 결정하였다.



그림 9. 서울에서 두 번째로 잘하는 집 단팔죽 관능평가

당도 및 점도 측정

당의 경우 저온시 감미가 높은 과당으로 변하며 고온에서는 감미가 낮은 단당으로 존재하여 끓인 죽과 식은죽의 감미의 차이를 가져온다. 이러한 특성의 이유를 확인해보고자 식은 죽(18℃)와 끓인 죽(60℃)를 시료로하여 점도 및 당도를 측정하였다(그림 10). 그 결과 예상과 같이 식은 죽에서는 약 5000cp(새알이 없는 죽)와 약 12000cp(새알이 있는 죽)로 매우 높은 점도를 유지하였으며 끓인 죽의 경우 1800cp(새알이 없는 죽)와 약 5000cp(새알이 있는 죽)의 값을 보였다. 이 결과로 볼때 온도에 따라서 저온(18℃)에서 점도는 증가하며 당도는 감소됨을 확인 할 수 있었고 개발제품의 최적 점도로는 약 2500~5000cp의 점도가 좋으며 당도는 약 23 Brix가 소비자가 선호하는 당도임을 확인 할 수 있었다. 기타 의견에서 전체적으로 당도가 매우 높다고 평가했으나 계피가 첨가되어있어 단맛에 대한 관심을 낮출 수 있어 당도를 높게 형성할 때에는 계피같은 향신료가 크게 도움이되는 것을 확인 할 수 있었다.

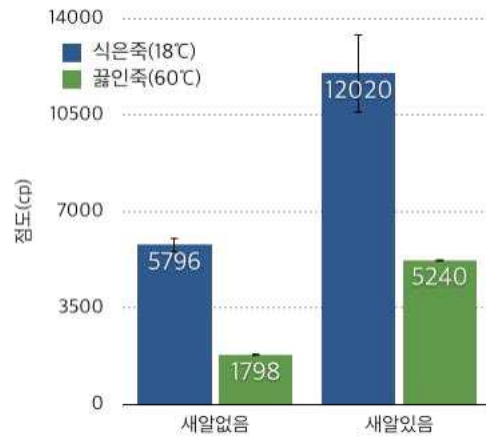


그림 10. 벤치마킹을 위한 물성 변화 측정(점도)

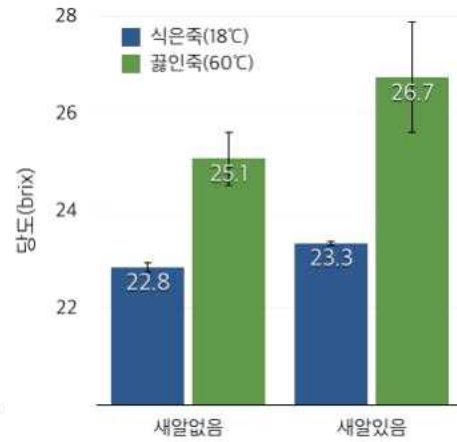


그림 11. 벤치마킹을 위한 물성 변화 측정(당도)

(나) 관능검사를 통한 유동식 최적 배합비 확립

1) 재료

재료는 예다순에서 계속적으로 거래하던 농산물 거래처를 통해서 구입하여 사용하였으며 목록은 표 20 와 같다.

제품명	판매처
흑임자(검은깨)	다미식품
찹쌀	공산농협
멥쌀	동강농협
설탕	에이젯푸드
정제염	국산천일염유통

표 20. 유동식 개발을 위한 재료 구입

2) 방법

죽류 제조 과정 및 공정도는 다음 그림 12, 13, 14에 기술하였으며 세부적인 내용은 다음 과 같다.

○ 단팥죽

재료 준비 - 통팥 세척, 통팥삶기, 채에 거르기 및 거피, 채에 걸러진 통팥액을 보자기에 탈수

부재료 준비 - 찹쌀죽 만들기(설탕, 소금, 찹쌀, 멥쌀 첨가)

재료 혼합 - 양근과 찹쌀죽 혼합

가열 - 목표 점도까지 가열하여 끓인다. 식감증진을 위해 통팔을 으깨 넣는다

재가열 - 새알, 밤 그리고 호두를 넣고 5분간 재가열



그림 12. 단팔죽 제조 공정도

○ 호박죽

재료 준비 - 호박 삶기

분쇄 - 삶은 호박을 믹서기에 넣고 갈기

부재료 준비 - 찹쌀죽 준비

가열 - 재료와 부재료를 함께 넣고 가열



그림 13. 호박죽 제조 공정도

○ 흑임자 죽

재료 준비 - 검은깨를 볶는다.

재료 혼합 - 볶은 검은깨, 멥쌀, 찹쌀, 설탕, 소금을 적량하여 첨가한다.

분쇄 - 믹서기에 물 500g과 혼합된 재료를 넣고 곱게 갈아준다. 입자가 매우 곱게 나올 때까지 갈아준다.

가열 - 목표 점도까지 가열하여 끓인다.



그림 14. 흑임자죽 제조 공정도

3) 결과 및 고찰

다음 선행 실험들로 인해 축적된 제품개발 역량을 활용하여 1~2차년도 개발 제품인 단팔죽과 호박죽 그리고 3차년도 개발 제품인 흑임자죽 개발에 활용하였다. 관능평가 항목으로는 점도 색상 맛 외관 전체적 선호도에 대한 항목으로 관능평가를 실시한 결과는 다음 표 21 과 같으며 도식화한 결과 전체적으로 다양한 면에서 높은 관능평가점수를 받은 조건값을 최종 레시피 조합으로 선발하였으며 단팔죽의 경우 실험 4번 조건이 맛과 전체 기호도에서 가장 높은 점수를 받아 최종 선발되었으며 호박죽의 경우는 4번 실험구가 점도, 색상, 맛, 외관 및 전체기호도에서 다른 실험구에 비해서 높은 점수를 받아 최종 조합으로 선발되었다. 흑임자 죽의 경우 첫 실험에서는 실험구 4번에 최적 레시피 후보로 선발되었으나 전체적으로 조금 묽다는 지적이 다수 있어 수분을 줄여 재평가해본 결과 다른 실험구에 비해서 점도, 맛 그리고 전체 기호도에서 가장 높은 점수를 받아 최종 레시피로 선정되었다 (그림 15). 다음 개발한 죽 레시피 제품 성과목표 달성율을 확인 할 수 있다.

표 21. 단팔죽 레시피 개발을 위한 조합 조건표

구분(g)	팔베이스	멥쌀가루	찹쌀가루	물	설탕	소금	점도(cp)				당도(brix)
							1차	2차	3차	평균	
조건1	300	0	100	600	200	4	3,148	3,092	3,016	3,085	27.3
조건2	300	30	70	600	200	4	3,920	3,844	3,792	3,852	27
조건3	300	50	50	600	200	4	4,144	4,000	3,904	4,016	27.8
조건4	300	70	30	600	200	4	4,024	3,976	3,904	3,968	28
조건5	300	100	0	600	200	4	4,376	4,024	4,024	4,141	30

표 22. 호박죽 레시피 개발을 위한 조합 조건표

구분(g)	호박	멥쌀가루	찹쌀가루	물	설탕	소금	점도(cp)				당도(brix)
							1차	2차	3차	평균	
조건1	500	0	100	600	200	4	4,148	4,092	4,016	4,085	25
조건2	500	30	70	600	200	4	3,920	3,844	3,792	3,852	26
조건3	500	50	50	600	200	4	4,144	4,000	3,904	4,016	25.3
조건4	500	70	30	600	200	4	3,592	3,760	3,836	3,729	24.8
조건5	500	100	0	600	200	4	4,376	4,024	4,024	4,141	28

표 23. 호박죽 레시피 개발을 위한 조합 조건표

구분(g)	흑임자	멥쌀가루	찹쌀가루	물	설탕	소금	점도(cp)				당도(brix)
							1차	2차	3차	평균	
조건1	40	0	50	500	2	2	3,148	3,092	3,016	3,085	7.6
조건2	40	15	35	500	2	2	2,920	2,844	2,792	2,852	7.2
조건3	40	25	25	500	2	2	2,144	2,000	2,904	2,349	7.4
조건4	40	35	15	500	2	2	2,048	2,008	1,960	2,005	7.6
조건5	40	50	0	500	2	2	2,376	2,024	2,024	2,141	7.5

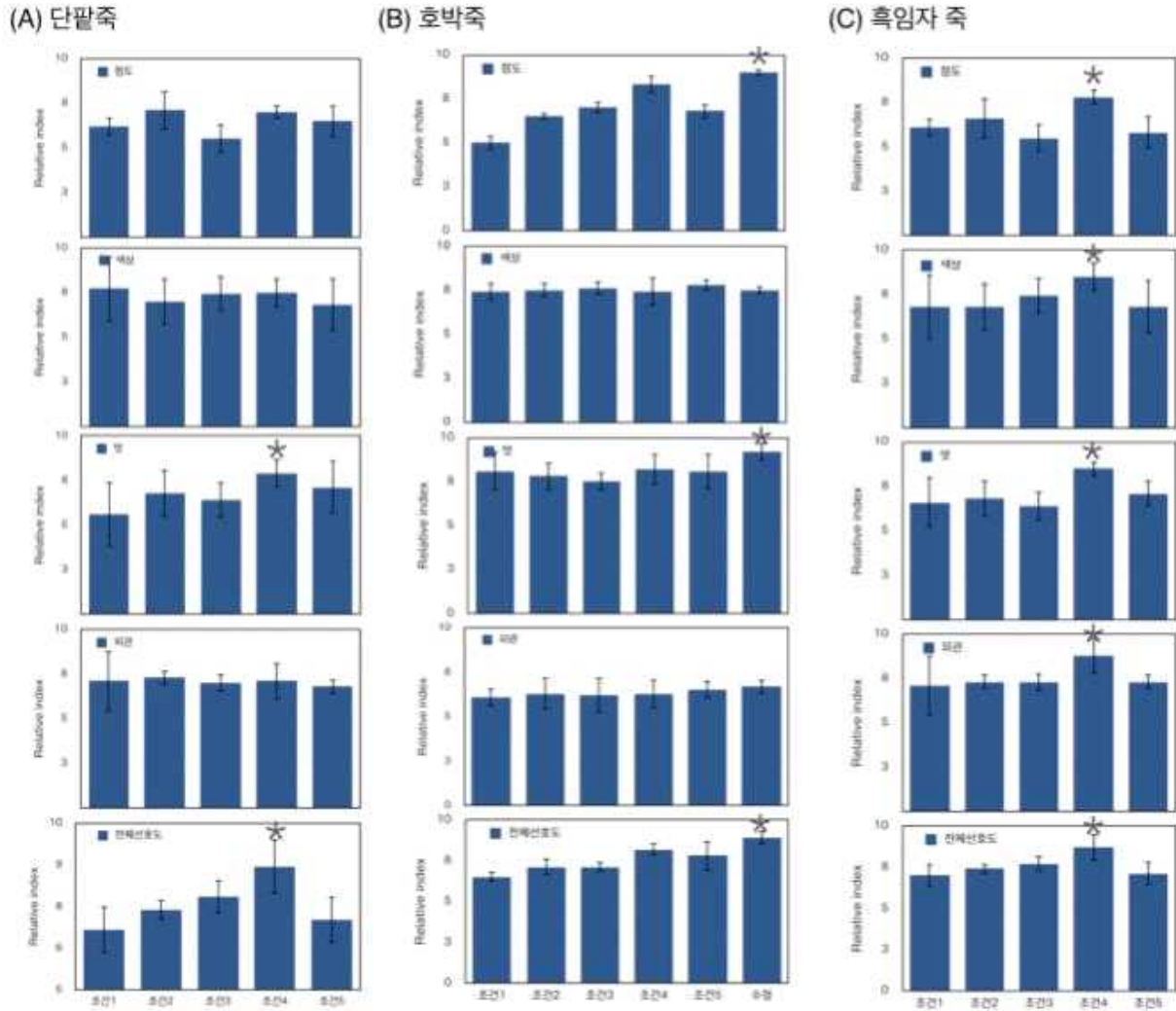


그림 15. 연하도음식 최적 레시피 개발을 위한 조건별 죽류 관능평가

일반식 죽류에서 새알의 일반적인 제작 방법은 3가지가 알려져 있으며 본연구과제에서 사용할 최적 새알의 제작관련 실험조건은 표 24 와 같고 제작 과정은 일반 익반죽과정과 같다. 관능평가결과 실험 2번 조건이 가장 좋은 관능평가 점수를 받아 추후 제품에 사용될 최종 새알 레시피로 고정하였으며 개발된 새알을 이용하여 제품을 개발하였다.

표 24. 새알 개발을 위한 재료 혼합비 및 제조 과정

구분(g)	찰쌀 가루	멥쌀 가루	소금	제조 과정
실험1	200	0	2.4	1. 끓는물을 한순갈씩 넣어가면서 익반죽을 한다.
실험2	100	100	2.4	
실험3	불린찰쌀 500		6	1. 믹서기에 넣고 성글게 갈고 모찌메이커에 넣고 찌서 치댄다.

(다) 유동식 시제품 개발 및 제품규격 확립

다음 선행 연구결과를 바탕으로 시제품을 제작하였으며 판매 전략으로는 프리미엄족으로 매장판매를 시작으로 시장 반응조사에 들어갔다. 시제품 사진 및 품목제조보고는 다음 그림 16 와 같으며 개발제품의 성분표시 사항은 다음 표 25 에 표시하였다.

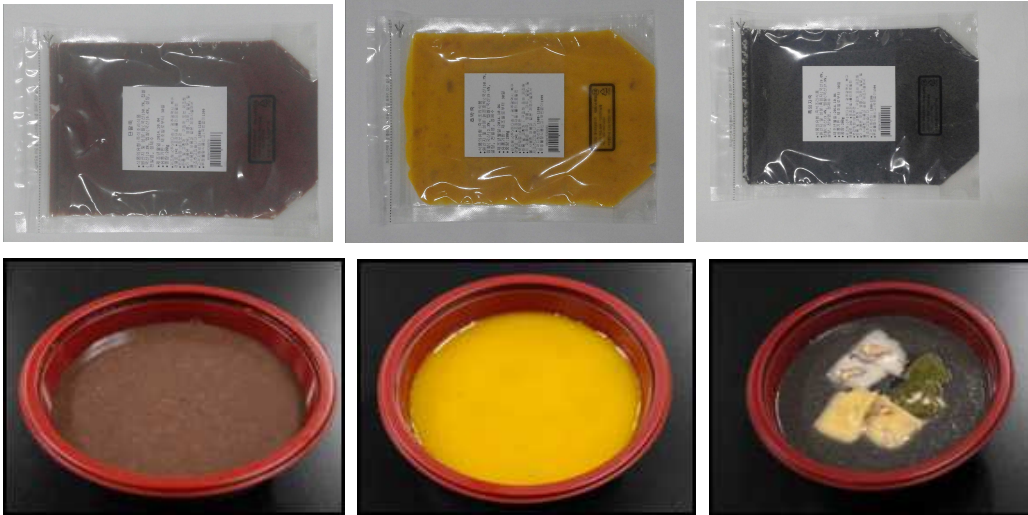


그림 16. 연하도음식 족류 3종 시제품 사진

표 25. 성분 표시사항

사진	특징
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 제품명 : 단팔죽 ○ 식품의 유형 : 즉석조리 식품 (개정) ○ 내용량 : 500g (밀봉포장) ○ 원재료 및 함량 : 정제수 46%, 팥(국산) 30.7%, 찹쌀(국산) 2.3%, 멥쌀(국산) 5.4%, 설탕 15.3%, 천일염 0.3% / 합계 100% ○ 포장재질 : ○ 보관방법 : 냉동보관 ○ 유통기한 : 제조일로부터 30일
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 제품명 : 호박죽 ○ 식품의 유형 : 즉석조리 식품 (개정) ○ 내용량 : 500g (밀봉포장) ○ 원재료 및 함량 : 정제수 46%, 늙은호박(국산) 30.7%, 찹쌀(국산) 2.3%, 멥쌀(국산) 5.4%, 설탕 15.3%, 천일염 0.3% / 합계 100% ○ 포장재질 : ○ 보관방법 : 냉동보관 ○ 유통기한 : 제조일로부터 30일
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 제품명 : 흑임자죽 ○ 식품의 유형 : 즉석조리 식품 (개정) ○ 내용량 : 500g (밀봉포장) ○ 원재료 및 함량 : 정제수 78.8%, 흑임자(국산) 9.0%, 찹쌀(국산) 3.4%, 멥쌀(국산) 7.9%, 설탕 0.7%, 천일염 0.2% / 합계 100%



- 포장재질 :
- 보관방법 : 냉동보관
- 유통기한 : 제조일로부터 30일

3. 유통역량강화를 위한 기술개발

가. 연구 배경

전체적인 연구배경은 연구 1 에서 제시하였으나 간단히 정리하면 다음과 같다. 최근 소비자 니즈로 식품 안전에 대한 불신이 확대되고 있어 보다 안정성이 확보된 식품을 요구하고 있다. 소비자의 식생활은 외식의 증가, 급식의 확대 등 소비패턴의 변화로 인하여 식품의 대량 조리 및 유통이 증가함에 따라 유해물질 오염 및 식품안전사고의 대형화 가능성 증가에 따른 소비자 불안 증대되고 있다.

최근 소비자들은 최소한의 공정을 거친 식품을 선호하며, 화학첨가제가 함유된 식품을 기피하고 있고 전자기 활용, 가스치환과 같은 물리적 처리법과 천연항균물질이 선호되고 있으며, 짧은 시간에 식품의 저하시키지 않으며 안전성과 저장기간을 증대할 수 있는 기술들이 연구되고 있으며 실제 사업적으로 사용될 수 있는 기술은 극히 제한되어 있다.

식품 안전 및 품질관리는 소비자와 국민 보건상 가장 우선시 되고 있는 분야로 우리나라의 식품 안전성 연구에 대한 투자는 보건복지부, 식품의약품안전청 중심으로 진행되고 있으며 식품 안전성 평가 기술 분야에 대한 전세계적 기술발전 단계는 성장기에 위치하고 있다. 최고기술보유국은 미국으로 기초연구 수준, 응용 및 개발 연구 수준, 기술수준 모두 가장 높은 위치하고 있다.

식품위해인자 검출 및 추적기술의 경우, 전통식품의 신뢰성 확보 차원에서 안전관리 중요성 부각되고 있고 전통식품의 과학화, 산업화, 글로벌화를 위해 과학적 표준에 기초한 안전성 확보 필요하며 현재 전통식품과 원료농산물의 안전성은 기존 식품 안전성 관리 체계에 의해 관리되어야 한다. 전통식품의 안전성에 대한 독립적 연구로 식품위해인자 검출 및 추적기술, 식품위해인자 제어 및 평가 방법 등에 대한 요구 필요하다.

전세계적으로 여러 식품 안전사고로 인하여 원료 및 식품에 대한 불신감이 확대되었으며, 아시아의 경우 극도의 불안감 발생되고 있고 국가별/지역별 로컬푸드 및 전통식품에 대한 기능, 안전성에 대한 제조명을 통한 전통발효식품 원료 및 전통식품에 대한 제조 및 소비 증가하고 있다.

나. 연구 목표

시대적 배경 및 소비자 요구도에 따라 창역에서도 식품의 위생에 대한 관심이 고조되고 있으며 최근 대형유통 및 홈쇼핑 등 대형 유통루트 개척을 위해서는 위해요소중점관리기준(HACCP)이 필수로 요구되고 있어 제조 단계에서 안전한 제품 생산을 필요로 한다. 뿐만 아니라 신선떡이 갖는 특징으로 유통기한이 1일로 매우 짧다는 치명적인 단점을 가지고 있다. 특히 떡 산업의 특징상 노동집약적 구조를 가지고 있어 윈스톱 대량생산체계를 구축하기가 힘들며 대부분의 기업들이 영세하여 HACCP 시설 확보나 안전 허들기술 개발 역량이 매우 부족한 실정이다.

다음 이러한 떡 산업의 문제점을 해결하고 창역 떡 제품의 철저한 품질관리를 위해 다음과 같은 안전 허들 기술들을 개발할 계획이며 이번 년차는 HACCP 인증을 통해 제조단계의 개혁과 MAP 공정 개선을 통해 떡보존 향상으로 유통 혁신을 목표로 한다. 추가적으로 유통역량강화를 위해 냉동생지제품

으로 단순 전자렌지 해동만으로 바로 조리가 가능한 간편 조리 식품 개발도 동시에 목표로 하였다.

[기술로드맵 상의 개발 목표]

중분류	핵심요소기술	기술요구사항	개발목표			최종목표
			1차	2차	3차	
유통관리	유통 중 품질 변화 방지 기술	MAP 포장 기술	MAP 공정 설계 및 적용	MAP 치환 조건 설정		MAP 포장 적용
	유통 포장 기술	전자렌지 조리용기	전자렌지 간편조리 용기 개발	전자렌지 조리용 제품 개발		전자렌지조리용 떡류 개발
품질관리	안전 허들 기술	부패방지기술	식품보존제를 활용한 부패 방지 기술	창역 균총 빅데이터 확보 기술	천연보존제를 활용한 허들기술	공정 및 제품 부패 억제 기술 확립
	위해요소 중점관리	위해요소중점관리기준 설정	위해요소중점관리기준 설정	위해요소 중점관리 기준 공정 적용	제품 생산 공정 HACCP 인증	HACCP 인증 및 제품생산

연구1. “맛있는 떡”, 천연색소와 천연 발효를 활용한 웰빙 증편 생산 기술 개발 및 상품화 에서 제시한 기술로드맵 상의 개발목표에 추가적으로 유통관리와 품질관리를 구분하였다. 품질관리는 제품의 생산 과정에서 발생할 수 있는 위해요소 관리기준을 설정하고 품질관리를 함으로서 안전 식품생산의 기틀을 마련하고자 하였다. 다음 제품의 생산 후 유통과정에서 발생될 수 있는 문제점을 극복하고자 MA 포장기법을 적용하여 최적 포장상태를 탐색 및 적용하고 떡 유통에 맞는 전자렌지 간편조리 제품 및 포장용기를 개발하여 유통혁신을 목표로 설정한다.

다. 연구결과 및 고찰

(1) 떡 품질 유지를 위한 MAP 포장 공정 적용 및 최적화

○ MAP 포장 및 적용 가스에 따른 미생물 오염도 측정

떡은 전통식품 중에서도 유통기한이 매우 짧은 제품으로 잘 알려져 있다. 예로 대부분의 소비자들은 경험적으로 떡은 하루가 지날 경우 무조건 냉장 또는 냉동보관 하였다가 다시 찌서 먹는다. 여기서도 볼 수 있듯이 떡은 품질 유지가 매우 어려우며 제품 특성상 다량의 수분을 함유하고 있어 제품 생산 후 품질저하 및 변질이 매우 빠르게 진행되어 유통의 가장 큰 어려움으로 작용하고 있다.

제품의 품질 향상 및 유통중 변질위험을 최소화하기 위해 다양한 방법들이 적용되고 있으나 창역에서 판단하기에 떡류에서는 MA포장기술이 경제성 및 실용성 측면에서 매우 바람직한 것으로 판단된다.

여기서 MA 포장이란 MA 저장 또는 MA 포장 저장을 간이 CA 저장이라고 부르는 경우가 있다. 청과물을 저장할 때 청과물이 놓이는 환경의 가스조건을 공기와는 다른 상태로 유지하여 선도유지를 꾀하는 방법에는 CA 저장, MA 포장저장, 감압저장 등이 있다. 이 중 CA(controlled atmosphere) 저장은 오래 전에는 가스저장이라고 불렸다. MA 포장저장에서는 플라스틱 필름자루로 청과물을 밀봉포장 하면 호흡에 의해 산소가 소비되고 이산화탄소가 발생하는 동시에 플라스틱필름의 가스 투과성에 의해서 일정량의 가스가 투과되므로 자루 내는 CA 환경이 형성되는 간단한 것이기 때문에 간이 가스저장이라고도 불린다. 수정 기체포장(modified atmosphere packaging)이라든가 CAP(controlled atmosphere packaging:제어기체포장)라고 부르는 경우도 있지만 가장 일반적으로는 MA 포장저장이 라든가 단지 MA 또는 MAP라고 한다. 플라스틱필름으로 포장하기 때문에 대량 저장은 곤란하고 또한 포장 내 가스조성은 정밀하게 제어할 수 없기 때문에 유통시에 단기간의 선도유지에 이용되는 포

장방법이다.

창역에서는 다음 MA 포장 장비를 적용하였으며 떡류의 보관에 가장 이상적인 치환 기체의 비율을 설정하고자 한다. 일차적으로 포장 방법을 달리할 때 혐기적 조건으로 내부환경이 변경되어 미생물 제어에 유리하다는 연구결과를 인용하여 포장에 따른 미생물 생육 억제 효과를 검증하였다(그림 1). 그 결과 일반 포장에 비해 CO₂:N₂ 비율 5:5, 7:3, 9:1에서 미생물 생육 억제 효과가 확인되었으며 9:1 조건이 가장 우수한 미생물 생육 억제효과를 보였고 5:5와 7:3의 경우 대조군에 비해 억제되었으나 상호간 차이는 크지 않았다. 추가적으로 제품 포장 24시간 후 제품의 관능평가 결과 9:1 조건에서 일부 수분 함유량이 높은 떡 제품에서 탄소가스 특유의 향미나 나타난다는 관능결과가 있어 5:5와 7:3 비율을 후보로 선발하였다.

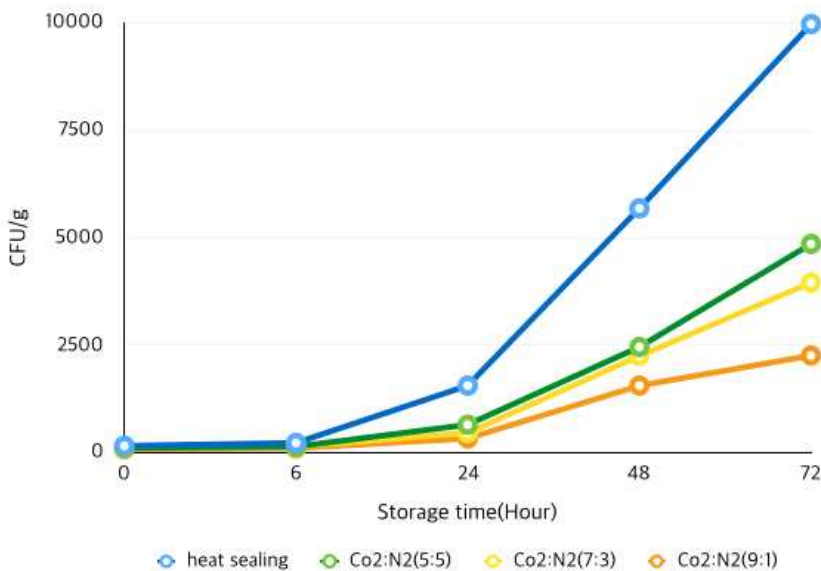


그림 1. 가스 치환에 따른 미생물 증식 억제 효과

○ MA 포장 적용에 따른 설기 저장성 검사

MA 포장 실제 적용 후 저장에 따른 품질 변화를 측정하기 위하여 설기떡 물성변화를 확인하였다(그림 2). 공정 적용 후 저장 기간에 따른 경도(hardness)와 씹힘성(Chewiness)의 경우 7:3과 9:1이 저장일수에 따른 변화가 가장 적었으며그 외의 성질 접착성(Adhesiveness), 탄력성(Springiness), 응집성(Cohesiveness), 회복탄성력(resillience)에서는 실험구간의 큰 차이는 나타나지 않았다. 다음 결과들로 미루어볼 때 7:3 조건이 미생물 억제효과 등과 결과를 취합할 때 가장 효과적인 포장 방법임을 확인 할 수 있었다.

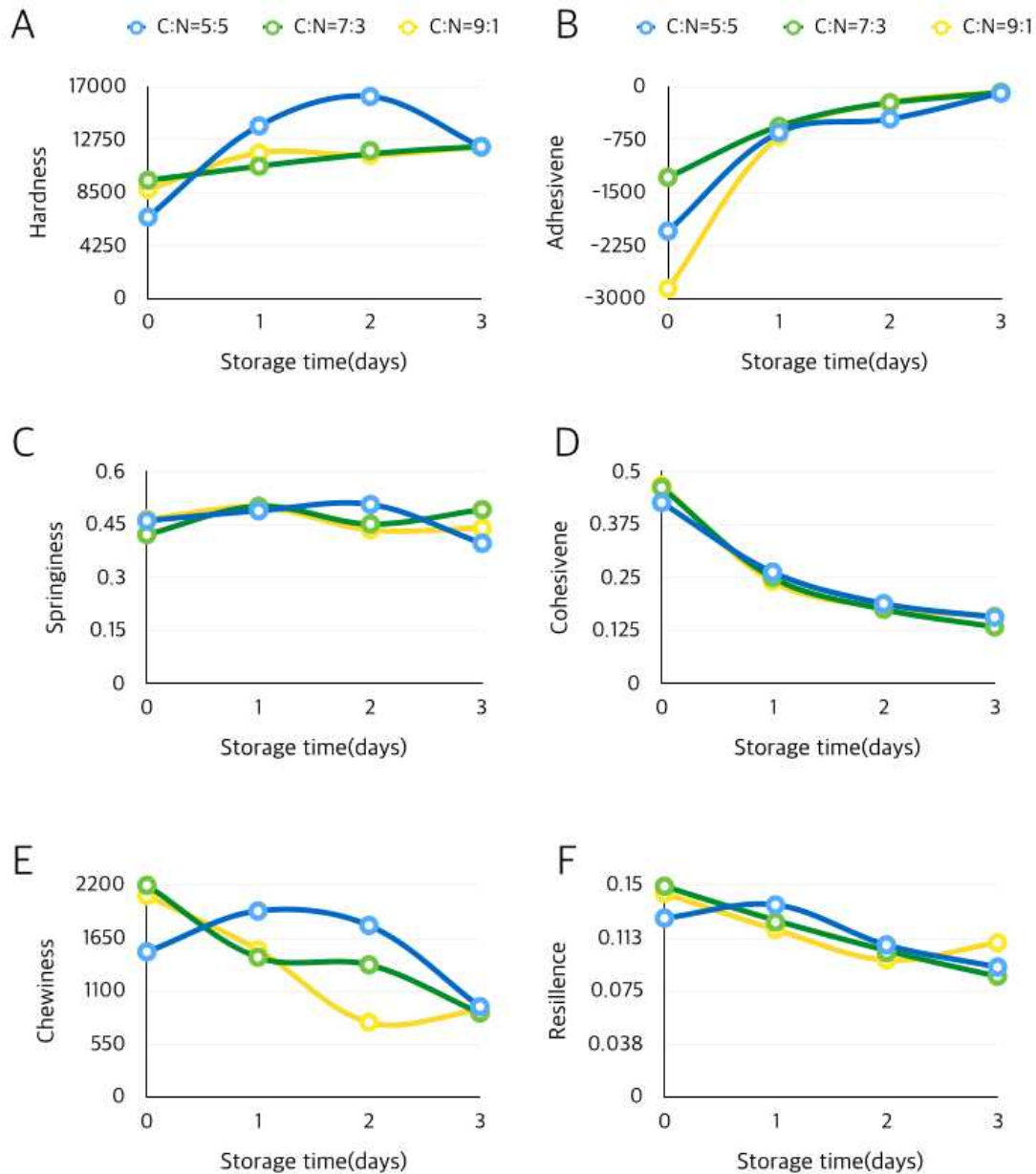


그림 2. MAP 공법을 이용한 설기 저장성 검사

(2) HACCP 시설 인증

(가) 연구배경

최근 식생활의 다양화와 국제 교류의 증가 및 신속화 등으로 인하여 식품의 오염과 변질의 위험이 급증하면서, 식중독의 원인은 더욱 다양화되고 그 발생은 때와 장소를 가리지 않으며, 대규모화 되어 소비자의 건강을 위협하는 가장 큰 원인의 하나로 대두되고 있다.

또한, 식품의 위생과 안전에 관한 소비자의 인식의 향상으로 때때로 발생하는 식품의 오염 및 이물, 유전자재조합식품등과 같은 신중 위해물질의 지속적인 검출과 확산 등 식품의 위생과 안전에 관한 국민의 불안 심리로 인한 사회적 파장은 만만치 않다

식품의 위해요소의 증가와 식중독의 원인은 더욱 다양화되고 식중독 사고는 대형화됨에 따라 식품안전성(food safety)을 확보하는 일은 중요하다 할 수 있다.

식품안전성이란 사람이 어떠한 식품을 섭취했을 때 그 식품이 건강에 어떠한 위해도 끼치지 않는다는 것을 뜻한다. 따라서 안전한 식품이란 섭취한 식품이 위해요소를 전혀 가지고 있지 않다는 것이

아니라 사람이 식품을 통상적인 양과 방법으로 섭취할 때 어떠한 위해도 일으키지 않는다는 것을 의미 한다

식품을 제조가공단계에서는 원료가 입고되었을 때부터, 검수, 보관, 전처리, 제조, 보관까지 여러 단계의 제조공정을 통해 최종적으로 고객에게 제공된다. 제공되는 식품이 품질 적으로 우수하고 안전한 원료를 선택하였다고 하더라도 어떤 한공정의 취급이 잘못되면 식중독 사고가 발생할 수 있다. 특히, 잘못된 온도관리, 부적절한 가공, 개인위생의 불량 및 교차오염등이 큰 원인이라 할 수 있다. 그러므로 식품의 제조단계에서의 다양한 위해요소에 따른 다각적인 위생관리가 필요하다

HACCP 이란 Hazard Analysis Critical Control Point의 약자로 식품의 안전성을 확보하기 위하여 식품원료의 생산에서부터 식품의 제조, 가공, 보존 및 유통단계를 거쳐 최종 소비자에게 이르기까지의 모든 단계에서 발생할 수 있는 위해요소를 분석 및 평가하고 이를 방지 또는 제거하기 위하여 중점적으로 관리해야할 지점을 정하여 관리하는 사전관리 시스템이다.

HACCP의 도입은 1960년대에 최초 미국에서 도입되었으며, HACCP 시스템의 도입으로 위생적이고 안전한 식품을 생산하게 됨에 따라 점차적으로 국제적으로도 공인된 위생관리 시스템으로 발전하게 되었으며, 우리나라 또한 1992년부터 HACCP도입의 연구사업이 진행되었으며 1996년 식품위생법에 위해요소 중점관리기준이 신설됨으로써 본격적인 HACCP의 도입이 시작되었다

HACCP의 도입으로 인하여 기존 위생적이지 못 하다는 소비자의 인식이 점차 위생적이고 안전한 식품으로 인식이 변해감에 따라 의무적으로 HACCP를 적용하는 식품이 점차 증가되고 있다

(나) 연구목표

본 연구에서는 소비자의 식품 위생에 대한 인식이 향상됨에 따라, 식품안전성을 확보하기 위한 방편으로 국제적으로 공인 인증된 HACCP 시스템을 도입하기 위하여 HACCP 시스템 중 가장 중요한 요소라고 할 수 있는 한계기준설정에 따른 병원성 미생물 등의 위해요소를 제거할 수 있는 공정 수립과 최종적으로 HACCP적용업소 인증이라 할 수 있다.

이에 따라, (주)창역 제품의 제조공정중 위해요소를 제거 하거나 한계기준 미만으로 저하 시킬 수 있는 공정은 증숙(가열) 공정으로 가열 온도 및 가열 시간, 최종 공정품의 심부온도를 중요관리점으로 선정 하였으며, 원료 중 가장 큰 비중을 차지하는 곡류가공품(쌀가루)에 대한 가열 온도 및 가열시간에 따른 일반세균 등 병원성 미생물의 추이를 확인 하였다.

(다) 실험방법

1) 증숙(가열)온도 및 시간의 설정

(주)창역은 5kg 시루를 이용하여 개별적으로 스팀 증숙을 하는 공정으로 5분이상 증숙 한 후 증숙된 5kg 시루를 최대 6단으로 다시 겹쳐 2차 뜸 공정을 한다. 중요관리점의 선정은 5kg 개별 증숙을 선정하였으며, 스팀의 온도와, 스팀 시간, 최종 스팀 후 공정품의 심부 온도를 기준으로 하였다

2) 증숙(가열)온도 및 시간에 따른 일반세균의 추이 실험

증숙 된 시료에 따른 일반세균의 실험은 식품기준 및 규격에 제시된 건조필름법을 이용하였다. 즉, 채취한 시료액 1 mL을 9 mL의 희석액에 단계별로 희석 한 후 건조필름에 접종하고, 36±1℃에서 24h~48h 배양한 후 붉은색 집락을 최종 콜로니 수로 하였다

3) 증숙(가열)온도 및 시간에 따른 대장균의 추이 실험

증숙 된 시료에 따른 대장균의 실험은 식품기준 및 규격에 제시된 건조필름법을 이용하였다. 즉, 채취한 시료액 1 mL을 9 mL의 희석액에 단계별로 희석 한 후 건조필름에 접종하고,

35℃~37℃에서 24h~48h 배양한 후 파란색 집락에 기포를 생성하는 최종 콜로니 수로 하였다

4) 증숙(가열)온도 및 시간에 따른 대장균군의 추이 실험

증숙 된 시료에 따른 대장균군의 실험은 식품기준 및 규격에 제시된 건조필름법을 이용하였다. 즉, 채취한 시료액 1 mL을 9 mL의 희석액에 단계별로 희석 한 후 건조필름에 접종하고, 36℃±1℃에서 24h±2h 배양한 후 집락에 기포를 생성하는 최종 콜로니 수로 하였다

5) 증숙(가열)온도 및 시간에 따른 황색포도상구균의 추이 실험

증숙 된 시료에 따른 황색포도상구균의 실험은 건조필름법을 이용하였다. 즉, 채취한 시료액 1 mL을 9 mL의 희석액에 단계별로 희석 한 후 건조필름에 접종하고, 35℃±1℃에서 24h±2h 배양한 후 적자색 집락을 최종 콜로니 수로 하였다

6) 증숙(가열)온도 및 시간에 따른 살모넬라 SSP. 의 추이 실험

증숙 된 시료에 따른 살모넬라의 실험은 Salmonella biosin kit 이용하였다. 즉, 1차 증균배양으로 검액(25mL 또는 25g)에 Peptone water 225mL를 넣어 35~37℃, 24±2시간 증균배양하고 배양액 0.1mL를 취하여 10mL의 Rappaport-Vassiladis(RVS)배지에 접종하여 42±1℃에서 24±2시간 배양하였다. 2차 확인실험으로 증균배양액 2~3방울(110ul)을 Biosign kit에 점적 한 뒤 5~10분 후 결과 판독 하였다

7) 증숙(가열)온도 및 시간에 따른 바실러스 세레우스의 추이 실험

증숙 된 시료에 따른 바실러스 세레우스의 실험은 식품기준 및 규격에 따라 정성실험법을 이용하였다. 즉, 분리배양으로 검체 25 g 또는 25 mL를 취하여 225 mL의 멸균생리식염수에 가하여 균질화한 검액을 MYP한천 배지에 접종하여 30 ℃에서 24시간 배양 후 혼탁한 환을 갖는 분홍색 집락을 선별한다. 이때 명확하지 않을 경우 24시간 더 배양하여 관찰을 하고 확인실험으로는 MYP 한천배지에서 전형적인 집락을 선별하여 보통 한천배지에 접종하고 30 ℃에서 18~24시간 배양 후 그람염색을 실시하여 포자를 갖는 그람양성, 긴 형태의 간균으로 확인된 균은 API Kit(50CHB)로 확인 하였다

(라) 결론 및 고찰

Table 1. 증숙시간 경과에 따른 공정품 검사 결과(단위: 온도-℃ / 미생물-CFU/g)

증숙시간	스팀온도	공정품 품온	성상	일반세균	대장균군	병원성 미생물
0분	-	15.7	불량	1.0×10 ⁵	7.0×100	음성
1분	99.5	27.5	불량	8.9×10 ⁴	0	-
2분	99.5	30.8	불량	8.1×10 ⁴	0	-
3분	99.5	63.3	불량	5.5×10 ⁴	0	-
4분	99.5	99.4	양호	1.1×10 ⁴	0	-
5분	99.5	99.5	양호	0	0	음성
6분	99.6	99.6	양호	0	0	-

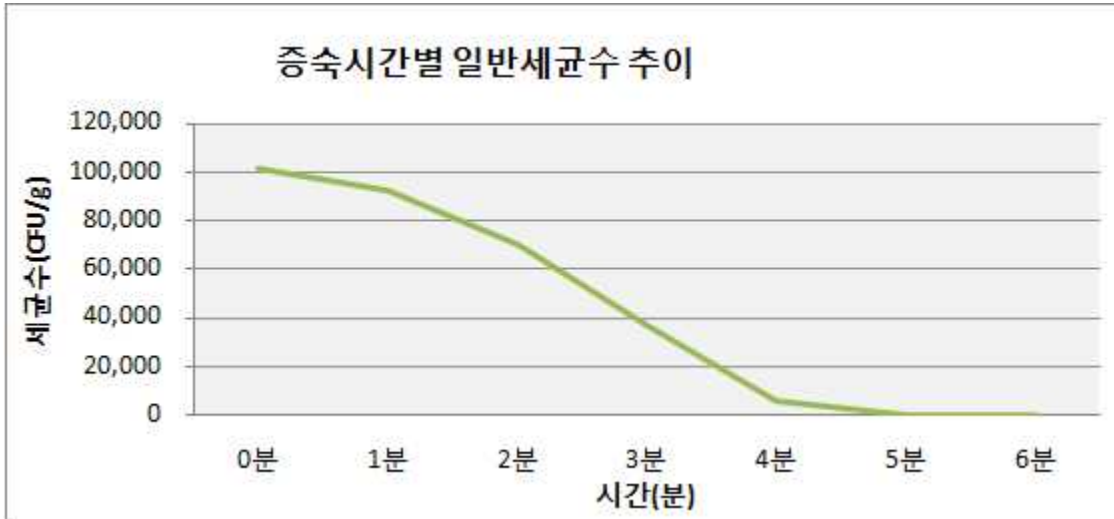


그림3. 증숙시간별 일반세균수 발생 추이

떡류 공정에 대하여 위해요소분석을 실시한 결과, 일반세균, 대장균군 및 병원성 미생물이 위해미생물로 도출되었다. (주)창역에서 생산되는 떡류의 증숙공정에서 위해미생물이 제어될 수 있는 온도(75℃ 이상)로 품온이 나타나는 시점을 확인하였다. 증숙시간이 4분 시점부터 공정품의 품온이 99.4℃~99.6℃로 유지되었다. 또한, 증숙 시간별로 실시한 미생물 검사 결과에서도 병원성 미생물이 검출되지 않았다. 일반세균 5분부터 0의 수준으로 나타났으며, 대장균군은 2분부터 0의 수준으로 나타났다. 결과적으로 증숙시간 5분 시점부터 공정품 품온이 이론적 목표온도인 75℃ 이상에서 60초 이상 유지될 수 있어 (주)창역의 증숙공정은 일반세균, 대장균군 및 병원성 미생물을 제어할 수 있는 공정이라고 판단할 수 있다.



제 2016-922 호

식품안전관리인증기준(HACCP)적용업소 인증서

대 표 자 : 임 철 한 (생년월일 : 1971년 06월 24일)

업 소 명 : (주)에다손 나주공장

소 재 지 : 전라남도 나주시 세지면 동창로 37
(113-1, 3, 4, 5, 362-2(1층))

식 품 종 별 : 떡류

중요관리점 : 뜸공정, X-ray 검출공정

유효기간 : 2016년 08월 04일부터 2019년 08월 03일까지

조 건 : 소규모 HACCP 관리기준 적용

「식품위생법」 제48조제3항, 제48조의2제1항 및 같은 법 시행규칙 제63조제3항에 따라 식품안전관리인증기준적용업소로 인증합니다.

2016 년 08 월 04 일

한국식품안전관리인증원장



그림4. HACCP 인증서 첨부

(3). 편의점 냉장유통(RTH) 제품 개발

(가) 연구배경

떡이란 곡식가루를 찌거나 삶아 익힌 음식으로서, 예로부터 명절이나 경조사 등의 행사에 빠지지 않

는 전통음식이며, 다양한 종류와 제조방법이 알려져 있다. 일반적으로 떡은 주곡류로 찹쌀분 또는 멥쌀분을 끓는 물에 약반죽하여 전분을 일부 호화시킨 후, 필요에 따라 떡의 내부에 떡소를 넣고 증기솥 내에서 스팀을 이용하여 찜으로써 제조된다. 이러한 전통의 떡은 천연의 곡물을 이용하고 트랜스 지방 등이 포함되어 있지 않으므로, 영양성이 풍부하고 바람직한 간식거리를 제공하여 준다.

그러나, 떡은 영양성이 풍부한 간식거리이긴 하지만 쉽게 굳고 시거나 부패하기 때문에 저장성이나 보관성이 취약하여 상품의 유통에 제약이 뒤따랐다. 이는 떡에 함유된 전분의 노화에 기인되기 때문인데, 전분의 노화(retrogradation)란 호화(gelatinization)된 전분을 상온에서 오랜 기간 방치할 경우 전분 분자들이 수소 결합을 통하여 서로 결합함으로써, 부분적으로 결정성 구조를 형성하는 현상을 의미한다. 따라서 전분의 수소 결합 형성으로 인해 전분에 존재하고 있던 물이 밖으로 빠져나가서 제품이 딱딱하게 굳어지게 되고 저장 안전성이 상실되고 전분질 식품의 품질저하가 발생하는 것이다. 전분의 노화에 영향을 미치는 여러 요인 중에는 전분의 종류, 전분 내 아밀로스와 아밀로펙틴의 조성, 저장온도, pH, 수분함량 등의 물리적, 화학적 조건뿐만 아니라 각종 첨가물도 영향을 미친다. 따라서 트레할로스, 계면활성제, 유화제, 올리고당, 생전분 당화형 아밀라제를 첨가하여 노화를 억제하려는 시도가 많이 이루어져 왔다. 그러나 주로 첨가제, 보존제 등에 의한 노화억제 방법이 대부분이어서 식품 첨가물을 전혀 함유하지 않고도 식감이 우수하고, 저장기간이 향상된 떡 개발이 필요한 실정이다.

떡 반죽에 솔비톨, 동부가루 및 당지방산에스테르 중 선택되는 하나 이상의 노화억제제와 효소제제를 첨가하여 전자렌지 조리용 즉석떡 조성물을 제조하는 구성이 개시되어 있으나, 즉석떡의 유통기한을 연장시키기 위해 인위적으로 식품첨가물을 첨가하여 제조한다는 점에서 일부 소비자들이 소비를 꺼리는 문제점이 있다.

이러한 문제점을 해결하기 위해 간편조리에 특화된 제품을 만들고 냉장유통이 가능하도록 후살균 공정을 적용한 제품을 개발하여 가정식대체 식품으로서 떡을 개발하여 유통중심의 제품을 개발하여 냉장유통시장에 진출하고자 한다.

(나) 연구목표

- (주)창억은 침체되는 떡류산업의 새로운 시장 개척을 위해서 새롭게 떠오르고 있는 편의점 진출을 목표로 설정
- 선행연구로 진행하였던 간편 조리식품 부설연구소 자체 프로젝트와 아이시루 생지 제품의 개발 노하우를 활용하여 가정식 대체(HMR)식품 중 Ready to Heat(RTH) 제품을 개발하여 고온냉장유통(8℃)이 가능하게 하고자 함.
- 제품 개발을 위해서 (주)창억은 RTH 전용 멥쌀 및 찹쌀가루의 가공 적성을 테스트하여 최적의 쌀가루 가공기술과 기타 부재료 가공 기술을 확보하여 제품 개발에 활용.
- RTH 전용 용기 및 디자인을 개발하여 금형제조와 시제품을 완성하되 전용 용기의 특징으로는 후살균에 적합하며 전자렌지 가열에 따른 내열성을 확보할 수 있는 소재를 활용.
- 개발된 원료와 제품 가공기술을 활용하여 제품개발 레시피를 확립하고 시제품 및 완제품을 완성하되 추가적으로 납부대 후살균 공정 또는 식품첨가물을 활용한 냉장유통 안정화 기술을 적용하여 최종적으로 냉장유통이 가능한 떡류로 냉장보관(8℃) 14일이 확보될 수 있는 제품군을 출시하여 사업화를 완료.

(다) 결과 및 고찰

○ RTH 및 떡시정 환경 및 소비 특성에 따른 후보 제품군 선정

- 간편식(Home Meal Replacement)은 간편한 식사 대용품으로 식품공전에 따른 품목분류로 보면

즉석섭취, 즉석조리식품 및 신선편의식품류가 이에 해당된다.

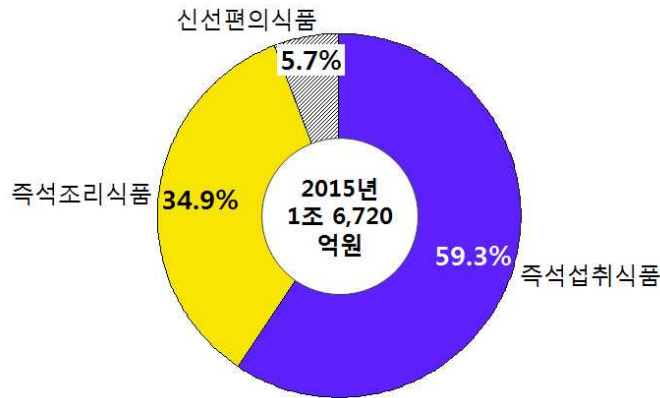
《 식품공전* 체계상 간편식의 범위》

품목분류	주요품목	정 의
① 즉석섭취식품	도시락, 김밥, 샌드위치, 햄버거 등	동·식물성 원료를 식품이나 식품첨가물을 가하여 제조·가공한 것으로서 더 이상의 가열, 조리과정 없이 그대로 섭취 할 수 있는 식품
② 즉석조리식품	가공밥, 국, 탕, 스프, 순대 등	동·식물성 원료를 식품이나 식품첨가물을 가하여 제조·가공한 것으로서 단순가열 등의 조리과정을 거치거나 이와 동등한 방법을 거쳐 섭취 할 수 있는 식품
③ 신선편의 식품	샐러드, 간편과일 등	농·임산물을 세척, 박피, 절단 또는 세절 등의 가공공정을 거치거나 이에 단순히 식품 또는 식품첨가물을 가한 것으로서 그대로 섭취할 수 있는 샐러드, 새싹채소 등의 식품

※ 식품공전 : 「식품위생법」 제7조에 따라 식품의 제조·가공·사용·조리 및 보존방법에 관한 기준과 그 식품 성분에 관한 규격

- 간편식의 국내시장 규모는 '15년 출하액 기준 1조 6,720억원으로, '11년 1조 1,1067억원에서 51.1% 증가한 것으로 나타났다.

《간편식 품목별 비중》



- 소비특성으로는 소비자 조사¹⁾ 결과, 여성보다는 남성, 20~30대 보다 40대, 미혼자 보다 기혼자, 다인가구 보다 1인 가구의 구매빈도가 높고, 구입빈도는 한 달에 2번 정도 구입(28.0%)한다는 응답이 가장 많았다.

《레토르트 식품 구입 빈도》

(단위: %)

구분		사례 수 (명)	한 달에 4번 이상	한 달에 3번 정도	한 달에 2번 정도	한 달에 1번 정도	한 달에 1번 미만
전체		600	9.8	13.3	28.0	24.3	24.5
성별	남성	300	14.0	16.0	29.3	23.0	17.7
	여성	300	5.7	10.7	26.7	25.7	31.3
연령	20대	180	9.4	14.4	25.6	22.8	27.8
	30대	210	7.6	12.4	25.2	27.6	27.1
	40대	210	12.4	13.3	32.9	22.4	19.0
결혼 유무	예(기혼)	265	11.3	12.5	30.9	26.0	19.2
	아니오(미혼)	335	8.7	14.0	25.7	23.0	28.7
가구 구성원	1인 가구	100	21.0	9.0	23.0	19.0	28.0
	2인 가구	83	3.6	13.3	24.1	25.3	33.7
	3인 가구	160	8.8	13.8	33.8	26.3	17.5
	4인 가구 이상	257	8.2	14.8	27.6	24.9	24.5

- 레토르트 식품은 집이나 사무실에서 혼자 먹는 경우가 60.2%로 가장 많았고, 가족끼리 식사할 때 반찬이나 국으로 먹는 경우도 23.0%인 것으로 나타났다.

《레토르트 식품을 섭취하는 경우》

(단위: %)

구분	사례 수 (명)	집이나 사무실에서 혼자	가족끼리 식사 시 반찬이나 국으로	캠핑이나 휴가 등 야외 활동 시에	집에서 술안주로	편의점에서 간단히 먹을 때	기타
전체	600	60.2	23.0	8.0	4.0	3.2	1.7

- 떡의 종류

구분	중분류	소분류
찌는떡	• 설기떡	백설기/반설기/쑥설기/꿀설기
	• 시루떡	관/녹두고물/꿀찬편
	• 증편	상화/증편
	• 두텁떡	두텁/합병/후병
	• 송편	송편/대추송편
치는떡	• 흰떡	흰떡/산병/환병/골무편
	• 절편	절병/쑥절편/수리취절편/송기절편 양색절편
	• 개피떡	개피/절병/쑥개피
	• 인절미	인절미/대추인절미
	• 단자	단자명/수단 쑥단자/석이단자
빚는 떡	• 경단	찹쌀/수수경단
	• 잡과	잡과병/잡과편
지지는 떡	• 부꾸미	
	• 화전	화전/전화법/유전병/웃지피
	• 주악	흰색/각색/대추/밤/메밀

- 떡의 용도

- 명절음식, 선물용, 제사음식 등에 관습적으로 사용
- 세시풍습과도 밀접한 연계
- 오월단오 : 절편, 음력 시월 : 시루떡 등
- 현재 기념(답례)용품으로 널리 사용
- 회갑, 결혼, 백일, 첫돌 등

- 시장환경 및 소비특성

영세업체를 통한 가내수공업 형태를 띄며 약 10~15평 규모의 로드샵 방식으로 운영되는 형태가 대부분이다. 주로 선주문 후 생산으로 당일 유통밖에 되지 않는 유통기한 문제 해결하고 있다. 주 구매처로는 동네 로드샵 동네 로드샵(70%), 재래시장(9%) 그리고 대형마트 (12%)를 차지하고 있으며 상온제품 위주의 판매하고 있어 냉장,냉동떡은 시장에서 도태되고 있다. 하지만 최근 창역 공영 홈쇼핑 런칭으로 볼 때 소비자 인식만 바꿀 수 있다면 충분히 냉장 냉동 유통떡도 통할 수 있다고 본다. (중)대형 할인매장의 경우 유통기한 문제로 당일 입고, 당일 판매하고 있으며 주로 대면 판매 중심이다. 우리가 목표로 하고 있는 편의점은 냉동떡을 제외하고는 유통기한 문제등으로 인하여 미입점된 상태이다.

2000년도 후반 프랜차이즈 등장으로 SPC그룹“빚은”99호점 운영중 (2006년 사업개시) 떡카페 등도 일부 영업중이나 극히 미미한 실정이다. 대용 식품으로서의 기능은 미약하고 선물(답례)용으로 시장형성되어 있다.

- 떡의 인식 및 선호도

좋아하는(긍정적) 요소

- 습관적 요소가 강하게 나타남
- “익숙한 맛”(62.5%), “맛이 좋아서”(27.4%), “건강음식”(5.5%)
- 어릴 때 형성된 식습관, 기호가 성인이 되어서도 선택의 결정 요인

싫어하는(부정적) 요소

- 다양한 형태로 표출

- “소화가 안되서”(39.5%), “예전부터 먹지 않아서”(18.4%),
- “맛이 없어서”(15.8%), “첨가물이 싫어서”(15.8%) 등

- 연령대별 소비행동

구분	선호도	비고
초등학생	• 꿀떡←인절미←송편	단맛, 부드러운 촉감 선호
중고등생	남자 • 인절미←송편←약식	가래떡, 시루팔떡 비호감
	여자 • 백설기←약식←인절미	
대학생	• 인절미←백설기←송편	시루팔떡 비호감

- 인지도와 선호도 상관관계

- 인지도가 높을수록 기호도가 높음

소비자 행동특징

- 섭취빈도 : 여성, 연령이 높을수록 선호

- 식사대용 : “인절미” 가장 선호 (점심←아침←저녁) (식사대용으로 이용 의사는 남, 여 모두 가지고 있음)

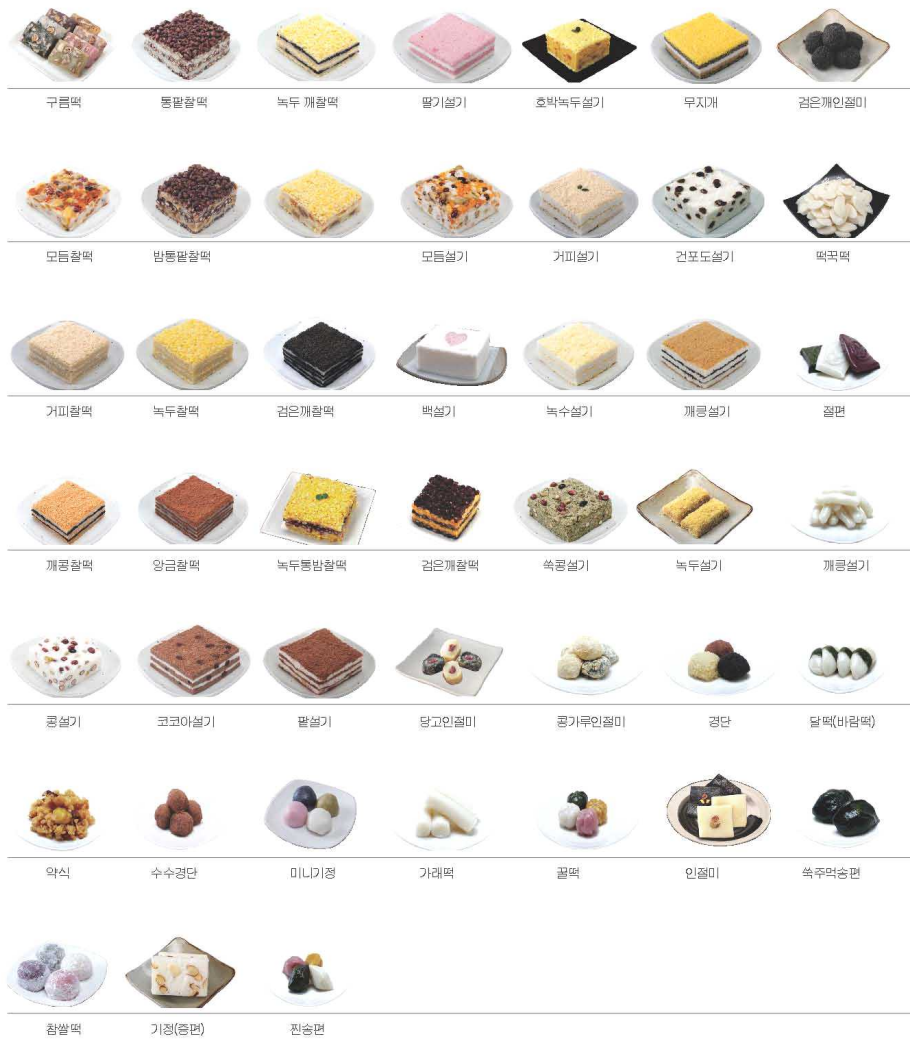
- 중·고등학생부터는 떡은 아무 때나 먹고 싶을 때 먹는 것으로 인식

- 후보제품군 선정에 위해 설문 조사 연구 결과를 바탕으로 즉석조리 식품 RTH 제품으로 적합 제품 선발 진행하였다.

- 다음 표에서 연령대별 선호하는 떡 제품과 특징을 고려하여 선발하였다.

선호도	가공특성	고찰
• 꿀떡	치는 설기떡으로 증숙후 압착공정을 통해 쳐서 떡피를 만들고 성형틀에서 떡피와 설탕고물을 넣어 성형하여 완성한 떡	선호도는 가능 높으나 선행실험에서 후살균 가열공정에서 형태의 틀어짐과 수분발생에 따른 하단 제품 품질 저하가 너무 뚜렷해 냉장제품으로는 부적합 판단
• 인절미	치는 찹쌀떡으로 증숙과 메질을 통해 연질의 떡피를 만들고 다양한 고물등을 섞거나 묻여 만든 떡	제품의 특성상 고온 고압살균시 제품의 형태가 틀어지고 부풀어 끓어오르는 특징으로 제품화는 어려울것으로 1차적 판단을 내림
• 송편	빚는는 멥쌀떡으로 멥쌀 반죽에 설탕고물을 넣어 성형 후 찌내는 떡	꿀떡과 유사한 증상이 많이 발생하여 냉장유통제품으로 부적합 판단
• 약식	찹쌀을 시럽 및 기타 고물과 섞어 찌냄	후살균 공정 및 가공 특성에 매우 적합
• 설기	멥쌀을 쪄를 내어 얹히고 찌내는 떡	후살균 공정 및 가공 특성에 매우 적합
• 찰떡	찹쌀을 쪄를 내어 얹히고 찌내는 떡	후살균 공정 및 가공 특성에 매우 적합

- 제품 가공특성과 냉장유통을 위한 후살균 공정을 고려할 때 적합 후보군으로는 찰떡 > 설기떡 > 약식 순으로 나타났으며 이에 해당하는 떡의 종류는 다음 그림과 같다.



- (주)창역 매출순위 즉, 인기도 및 제품 가공적성 특징에 따른 1차 출시 제품군 선정하였으며 제품군 리스트는 다음 표와 같다.

선택제품군	제품군 및 특징	제품이미지
• 찰떡	녹두깨찰떡 - 쪄 사이와 외곽이 고물로 둘러 쌓여있어 용기에 붙는 등 가공적성이 뛰어남	
	통팔찰떡 - 쪄 사이와 외곽이 고물로 둘러 쌓여있어 용기에 붙는 등 가공적성이 뛰어남	

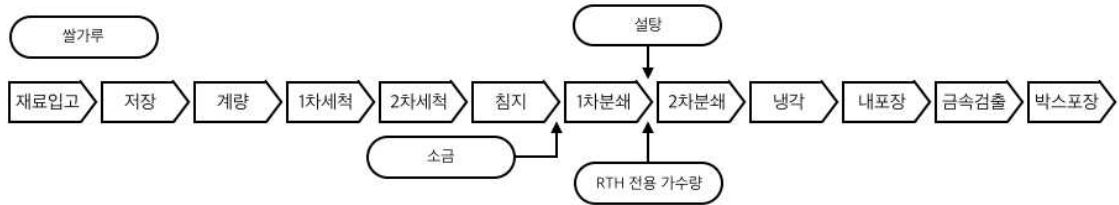
	<p>거피찰떡</p> <p>- 켜 사이와 외곽이 고물로 둘러 쌓여있어 용기에 붙는 등 가공적성이 뛰어남</p>	
	<p>모듬찰떡</p> <p>- 고물의 형태가 불규칙적이며 이로 인해 후살균 공정 및 2차 가열에 따른 형태변화가 적음</p>	
• 설기떡	<p>백설기</p> <p>- 멥쌀 특성상 수분증발 이외에 2차가공에 따른 형태변화가 가장 적음</p>	
	<p>호박녹두설기</p> <p>- 멥쌀 특성과 호박에 의해서 수분증발에도 보슬보슬한 식감이 유지되는 가공특성을 지님</p>	
	<p>무지개설기</p> <p>- 멥쌀 특성상 수분증발 이외에 2차가공에 따른 형태변화가 가장 적으며 소비자 선호도가 가장 높음</p>	
• 약식	약식	

○ 원료 가공기술 개발

- 쌀가루 입도조절을 위한 롤러의 간격 및 분쇄 횟수 설정

<RTH 전용 쌀 제분라인 표준생산 공정도>

본사에서 사용하고 있는 일반적인 쌀 제분라인 표준생산 공정도는 다음 그림과 같으며 쌀가루 입도 조절을 위해 조절이 가능한 공정으로는 1차 분쇄와 2차 분쇄 공정이다. 1차 분쇄의 목적은 통으로된



쌀알을 간단하게 빵아주는데 그 목적을 두고 있어 대체적으로 강하게 조이지 않는 특징을 갖으며 조임의 정도는 두께 측정자 기준으로 약 1차 1.1mm이며 2차 분쇄 0.3mm수준이다. RTH 전용 쌀가루 개발을 위한 입도조절을 위해 1차 분쇄의 롤러는 기존 본사의 세팅값을 활용하였으며 2차분쇄시 롤러 간격 두께를 표준 두께 측정자 기준 두께별 생산되는 쌀가루 입자 크기를 측정하여 표로 제시하였다. 측정 결과 롤러를 완전히 조이고 내린 쌀가루의 입자에서 주로 60mesh를 중심으로 정규분포 곡선을 보였으며 롤링 두께가 증가할수록 40mesh쪽으로 쌀가루 입도가 분산되는 것으로 확인되었다. 따라서 고운 쌀가루를 목표로하는 설기떡의 경우 0~0.1mm 사이의 롤러 간격이 유리한 반면 입자가 거친 쌀가루가 필요한 찰떡에서는 1~2mm의 롤러 간격이 유지되어야 할 것으로 판단된다.



<Swan사의 Thickness gauge NO. 100MX>

<롤러 간격 두께에 따른 쌀가루 입도변화>

롤러간격두께(mm)	입자크기 분포(%)					
	20mesh	40mesh	60mesh	80mesh	100mesh	140mesh
0	0.62	1.56	92.23	3.71	1.73	0.15
0.1	0.81	5.42	89.48	2.41	1.73	0.15
1	0.87	20.3	78.42	0.41	0	0
2	0.84	30.29	68.69	0.18	0	0

1)단위 : %

2)값은 3반복의 평균을 나타내고 있음

3)롤러간격두께(mm)는 일본 Swan사의 Thickness gauge NO. 100MX를 사용하여 롤러를 조여 간격을 조절하였음

쌀가루 입자크기에 따라 제품에 미치는 물리적 특성은 물론 최적 떡의 물리적 가공 특성이 달라지므로 용도에 따른 입자크기를 조절하는 것이 매우 중요하다. 특히 입자크기가 감소하면 입자의 표면적이 증가여 결합능력이나 점도 등의 물리적 특성이 달라진다고 한다(Protonotariou S 등 2014). 특히 RTH제품처럼 1차 가공과 냉동 해동 유통 그리고 재조리까지 최종 소비자까지 도달하는데 여러 단계의 과정이 추가됨에 따라 기존 쌀가루의 입자의 크기는 달라져야 한다. 특히 RTH 제품 특성상 취식 직전 전자레인지에 재가열이 이루어지고 상대적으로 온도가 높을 때 시식을 하게 되므로 입자가 너무

고으면 떡이 너무 찰지게 되어 씹는 식감이 거의 사라져버리는 문제점이 발생한다. 이를 위해서 본 연구에서는 기존 찰떡 제조 쌀가루보다 입자 크기를 상향 조절하여 고온 시식 시에도 씹는 질감을 향상시키고자 하였다.

또한 균일한 쌀가루 입도는 최종 제품에서 식감에 영향을 줄 수 있는 요인으로 고른 입도 분포를 위해 기존 2회 제분 공정의 수정 가능성을 염두에 두고 롤링 횟수별 입도 분포도를 측정해 표에 제시하였다. 그 결과 1회 추가 롤링에 비해 2회 롤링에서 80mesh 이상 쌀가루 입도 분포가 증가하는 결과가 나타났으나 그 차이가 제품에 영향을 줄 정도에 미치지 못해 롤링 횟수의 추가에 따른 입도 변화 정도는 그리 크게 나타나지 않아 경제성을 고려할 때 기존 기본 1회 제분과 1회만 추가하는 공정을 그대로 사용하기로 하였다.

<롤링 횟수에 따른 쌀가루 입도변화>

롤링횟수 ⁴⁾	입자 크기 분포(%)					
	20mesh	40mesh	60mesh	80mesh	100mesh	140mesh
1	0.81	5.42	89.48	2.41	1.73	0.15
2	0.41	4.48	88.43	4.74	1.83	0.11
3	0.44	4.42	86.68	6.41	1.88	0.17
4	0.4	3.97	86.13	7.41	1.94	0.15

1)단위 : %

2)값은 3반복의 평균을 나타내고 있음

3)롤러간격두께(mm)는 일본 Swan사의 Thickness gauge NO. 100MX를 사용하여 롤러를 조여 설정 값 xx/㎜간격으로 롤링 횟수를 달리하여 측정

4)롤링 횟수는 1차 기초 제분 공정을 제외하고 2차부터 롤링 횟수를 1로 적산하였다.

- 제품 용도별 쌀가루 품질기준 설정

제품 용도별 이라함은 멥쌀을 제분하고 쪄내어 얹히고 찌내는 설기떡은 입자가 곱고 고를수록 설기떡을 얹혔을 때 쪄의 부피가 높아지는 특징을 가지고 있다. 그리고 멥쌀을 치대어 성형하는 절편은 멥쌀의 입자가 곱을수록 수분함유량이 높을수록 떡이 질감이 좋고 노화가 지연되어 쫄깃한 식감이 오래간다. 마지막으로 찹쌀을 얹혀 고명을 얹고 찌내는 찰떡의 경우 입자가 곱을수록 쫄깃한 식감은 증가하고 입자가 작을수록 부드러운 식감이 증가한다. 이러한 쌀가루 특성에 의해 떡의 품질에 영향을 미치는 특징에 기인할 때 쌀가루의 제품 용도별 품질기준을 설정하는 것이 중요하며 그러기 위해서 쌀가루 입자별 특징을 조사할 필요성이 있다.

재료인 쌀은 예다순 나주공장에서 사용하는 나주 동강농협에서 납품받는 멥쌀을 2016년도 수확한 것을 0mm, 0.1mm, 1mm, 2mm 두께로 조여진 롤러를 통과시켜 입자 크기별로 쌀가루를 제조하여 실험에 사용하였다.

- 쌀가루의 일반 성분

입자 분포를 다르게 하는 롤러간격 두께 4가지 종류(0mm, 0.1mm, 1mm, 2mm)의 쌀가루로 일반성분을 측정하였다.

롤러간격두께(mm)	수분함량(%)	조회분(%)	조지질	단백질
0	33.54±0.29 ^a	0.57±0.02	0.33±0.01	5.75±0.04
0.1	31.27±0.12 ^b			
1	31.15±0.53 ^b			

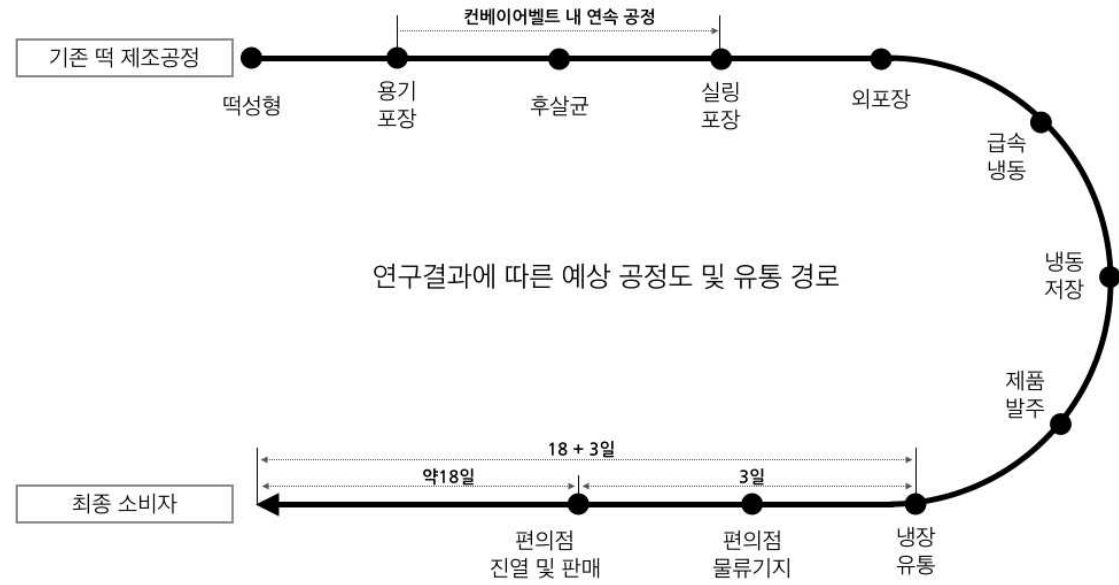
2	30.49±0.22 ^c		
---	-------------------------	--	--

mesh별로 제분한 쌀가루의 일반성분은 다음 표와 같으며 입자 크기별 0mm 33.54, 0.1mm 31.27, 1mm 31.15, 2mm 30.49로 수분함량에 유의적인 차이를 보이는데 이는 제분시의 환경의 영향과 상관성이 있을 것으로 생각되며 조회분은 0.57, 조지질은 0.33 그리고 단백질은 5.75로 일반성분이 측정되었다. 이는 RTH 제품 특성상 전자렌지 가열시 증발되는 수분을 보충 또는 적당히 머금고 있을 수 있는 능력으로 롤러 간격을 달리하여 입자 크기가 달라질수록 수분 함량이 높아지는 경향이 있어 보습력과 연결지어볼 수 있으나 추가 가수에 비해 그 차이가 미미하므로 롤러 간격에 따른 수분함량은 큰 의미를 부여하기는 힘들어 보인다.

- 설기떡의 제조 및 품질 특성 측정

상위에 제시하였듯이 쌀가루 입도는 최종 제품에서 식감에 큰 영향을 줄 수 있는 요인으로 쌀가루의 입도와 고른 입도 분포는 최종 제품의 품질 향상에 큰 영향을 미칠 수 밖에 없다. 본 연구에서 RTH 전용 제품의 특성상 RTH 제품 유통경로를 가정하고 그에 맞추어 최종 소비자가 느끼는 제품의 식감 측정을 위해 다음 그림과 같이 제품 유통경로를 실험실 내에서 축소하여 진행하였다. 기존 떡 제조 공정인 쌀가루제분 → 떡성형 → 용기포장 → 후살균 → 실링포장 → 외포장 → 급속냉동 → 냉동저장 → 제품발주 → 냉장유통 → 판매 및 간편조리 → 시식으로 나타낼 수 있으며 이에 따라 쌀가루 최적 입도 설정은 쌀가루 입도별 떡성형을 하고 용기 포장 후살균 실링포장 급속냉동 냉장저장 전자렌지 조리후 시식에 따른 관능과 물성을 평가하였다.

<RTH 떡류 제품 예상 공정도 및 유통경로>



설기떡으로는 백설기, 무지개설기 그리고 호박녹두설기떡 개발을 목표로 진행하였으며 본 실험에서는 실험특성상 백설기만을 기준으로 실험하였다. 먼저 창익에 판매하는 종이컵 시루(이이시루용 종이컵)의 부피를 측정한 후 체로 내리면서 쌀가루를 채운 후 올라온 부분을 자로 쳐낸 고 중량을 측정하였다. 이로 인해 비체적 부피ml/중량(g)의 비율을 나타낸 결과 다음 표에서와 같이 유의적 차이를 크게 보이지는 않았으나 롤러 간격을 조여서 제분할 수록 설기떡의 부피는 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

롤러간격두께(mm)	백설기떡		
	중량(g)	부피(ml)	비체적
0	78.97	244	3.11
0.1	79.75	244	3.05
1	80.10	244	30.4
2	80.35	244	3.03

롤러 간격 두께에 의해 생산한 쌀가루를 달리하여 제조한 백설기의 텍스처 평가는 본사의 Rheo texture meter를 활용하여 측정하였으며 그 값은 다음 표와 같으며 그 결과 롤러 두께 간격에 따른 최종 제품에서의 텍스처는 Hardness 와 Chewiness(mJ)는 롤러간격이 클수록 높아지는 경향이 있고 Cohesiveness는 롤러 간격이 커질수록 작아지는 경향을 갖는다.

롤러간격두께(mm)	백설기떡		
	Hardness(N)	Cohesiveness(%)	Chewiness(mJ)
0	557.17±35.16 ^a	139.43±0.06 ^c	522.87±47.11 ^a
0.1	535.43±58.18 ^a	140.42±0.04 ^c	521.44±54.51 ^a
1	570.55±24.24 ^{ab}	135.33±0.01 ^b	600.12±10.97 ^b
2	623.32±49.11 ^b	132.30±0.02 ^a	610.87±10.45 ^b

- 1)값은 평균±표준편차이며 반복(n)은 10회측정
 2)다른 알파벳 글자는 유의적인 차이가 있음을 나타낸다.

롤러 각격 두께에 의해 생산한 쌀가루를 달리하여 제조한 백설기의 관능평가는 차이조사나 전반적인 품질에 대한 기호조사를 5점 채점법으로 실시하였다. 각 평가 항목에 대한 차이 조사는 5점은 매우높다 1점은 매우 낮다로 평가하였다. 평가인원은 연구소인원 3명과 매장직원 5명으로 총 8명의 평가원으로 차이조사와 기호도 조사를 진행하였다. 차이조사의 항목은 외관(색깔), 냄새(이취), 텍스처(폭신함, 부드러움, 부착성, 촉촉함)들이었으며, 기호도 조사로 전반적인 품질을 평가하였다.

<롤러간격조절로 쌀가루 입자크기를 달리하여 만든 설기떡의 관능평가 결과>

롤러간격두께(m)	텍스처					
	외관 색	냄새 이취	폭신함	부드러움	부착성	촉촉함
0	4.8±0.76 ^a	4.5±0.06 ^a	4.6±0.56 ^a	3.6±0.14	3.9±0.12	4.4±0.39 ^a
0.1	4.60±0.55 ^b	4.6±0.18 ^a	4.60±0.25 ^a	3.50±0.24	3.7±0.44	4.2±0.38 ^{ab}
1	4.9±0.25 ^a	4.6±0.06 ^a	3.9±0.15 ^b	3.6±0.59	4.0±0.43	3.59±0.21 ^b
2	4.7±0.44 ^{ab}	4.5±0.16 ^a	3.2±0.41 ^c	3.6±0.69	4.0±0.12	3.55±0.22 ^c

롤러 간격 조절로 인하여 쌀가루 입자가 달리하여 만든 설기떡의 관능평가 결과 색은 유의적 차이를 나타내긴 하였으나 전체적으로 높은 점수를 받아 백색에 가까워 차이를 느끼지 못하는 수준인 것으로 판단된다. 이취와 부드러움 정도에서는 유의적 차이를 나타내지 않았고 부착성과 촉촉함은 롤러 간격이 좁을수록 부착성이 높아지는 경향을 보였다. 이는 롤러 간격이 좁아짐으로 입자가 작아지고 유의적인 수분함량 또는 치밀한 구공구조 형성으로 인한 수분보습력의 향상에 기인하는 것으로 판단된다. 다음 관능결과로 볼 때 설기떡 용 적정 쌀가루 제분 방법으로는 롤러두께 간격을 최대한 조여서

0mm 또는 0.1mm에서 제조하는 것이 바람직한 것으로 판단된다.

- 찰떡의 제조 및 품질 특성 측정

설기떡은 포근함을 강조하는 반면 찹쌀을 재료로하는 찰떡의 경우 찰지며 씹히는 식감이 매우 중요하다. 상위에서 설명하였듯이 일반적으로 쌀가루 입도가 커지면 쫄깃한 식감은 증가하지만 빠른 노화로 인해 경도가 빠르게 증가하는 경향을 보인다. 다음 일반적 특성을 관능적으로 확인하고자 찰떡으로 관능평가를 실시하였으며 실험용 떡으로는 고물의 노출이 가장 적어 떡의 식감을 판별하는데 가장 좋은 모든 찰떡을 가지고 평가를 진행하였다. 그 결과 예상과 거의 흡사한 평가결과를 확인할 수 있었으며 외관(색) 냄새(이취)특성은 유의적 차이를 보이지 않는 반면 쫄깃함과 목넘김 부착성 촉촉함 모두에서 어느 정도 유의적인 차이를 보였고 그 결과 찰떡의 경우는 롤러간격 두께 1mm 두께에서 가장 이상적인 식감을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

<롤러간격조절로 쌀가루 입자크기를 달리하여 만든 찰떡의 관능평가 결과>

롤러간격두께(m m)	외관	냄새	텍스처			
	색	이취	쫄깃함	목넘김	부착성	촉촉함
0	4.7±0.44 ^a	4.5±0.16 ^a	3.6±0.47 ^a	4.1±0.11	3.8±0.59	4.30±0.21 ^a
0.1	4.70±0.43 ^b	4.4±0.15 ^a	3.7±0.44 ^a	4.2±0.21	3.6±0.68	4.20±0.59 ^a b
1	4.69±0.13 ^a	4.5±0.12 ^a	4.1±0.23 ^b	4.3±0.24	4.7±1.10	4.01±0.32 ^b
2	4.65±0.23 ^a b	4.5±0.24 ^a	4.4±0.17 ^c	4.2±0.22	4.5±1.05	4.10±0.33 ^c

- 체분 시 가수에 따른 쌀가루 및 제품의 특성

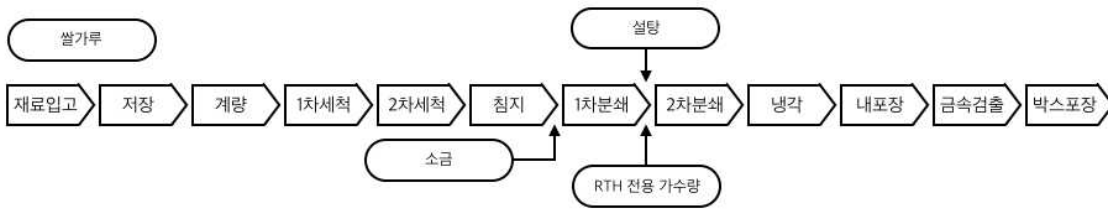
본사에서는 쌀가루의 용도에 따라서 설기용 멥쌀가루, 절편용 멥쌀가루, 꿀떡용 쌀가루, 인절미용 찹쌀가루 그리고 찰떡용 쌀가루 등 용도에 따라서 쌀가루를 달리 생산하고 있다. 용도별 쌀가루의 구분이유는 용도에 따라서 필요한 소금, 수분함량 그리고 기타 원부자재의 첨가에 따라서 구분되고 있다. 본 연구에서 제품개발에 사용할 멥쌀가루와 찹쌀가루의 경우 롤밀체분 방법의 설정 이외에 수분함량을 설정하여 연구 계획서에서 제시하였듯이 소비자 취식시 발생하는 전자렌지 조리 때 따른 증발수분을 고려하여 원료가 가지고 있는 수분함량을 쌀가루 가수에 의해서 잡아보고자 한다.

쌀가루 체분공정상 수분가수에 의한 쌀가루의 일반성분

가수량이 다른 4가지 조건으로 그림과 같이 0g, 50g, 100g 그리고 150g을 다음 RTH 전용 쌀 체분라인 표준생산 공정도상의 1차분쇄 후 가수하여 2차분쇄가 이루어지는데 이때 추가가수 조건으로 4가지에 따라 쌀가루를 생산하여 일반성분을 측정하였다.



<RTH 전용 쌀 제분라인 표준생산 공정도>



가수량(g)	수분함량(%)	조회분(%)	조지방(%)	조단백(%)
0	38.41±0.44 ^a	0.59±0.11 ^a	0.33±0.28 ^a	5.79±0.59 ^b
50	46.16±0.13 ^b	0.51±0.18 ^{ab}	0.31±0.05 ^b	5.18±0.17 ^{ab}
100	48.16±0.13 ^c	0.43±0.04 ^b	0.30±0.19 ^b	4.97±0.64 ^{ab}
150	50.16±0.13 ^d	0.38±0.09 ^c	0.29±0.27 ^c	4.94±0.02 ^a

그 결과 가수량에 따라서 수분함량은 증가한 반면 조회분 조지방 그리고 조단백은 미량 감소하는 경향을 보였다. 이는 상대적으로 가수에 따라 단위 중량당 수분함량이 높아진 것이 원인이라 판단된다.

- 가수량을 달리한 설기떡과 찰쌀떡의 제조 및 품질 측정

가수량을 달리한 쌀가루를 설기떡과 찰쌀떡을 제조하였으며 대표로 통팔찰떡의 성형, 증숙, 예냉 그리고 절단 및 포장준비과정을 다음그림으로 요약하였다.



성형 과정은 통팔으로 고물을 아래에 깔고 그위에 가수량을 달리한쌀가루로 켜를 내고 다음 다시 통팔 고물을 올려 성형을 완료한다. 다음 소형시루를 적층하여 약 30분가량 증숙한다. 다음 떡 성형을 위해 어느정도 떡의 형태유지를 위해 예비냉각을 한다. 다음 절단 및 포장으로 절단된 떡을 웰저 용기에 담고 상단커버에 실링지로 커버를 씌우면 제품화가 완성된다.

다음과 같이 준비된 샘플에 대한 관능평가는 차이조사나 전반적인 품질에 대한 기호조사를 5점 채점법으로 실시하였다. 각 평가 항목에 대한 차이 조사는 5점은 대단히 강하다. 1점은 대단히 약하다로 평가하였다. 훈련된 (주창익 연구원 3명과 매장직원 5명을 총 8명의 평가원으로 차이조사와 기호도 조사가 이루어졌다. 차이조사의 항목은 외관(색), 냄새(이취), 텍스처(쫄깃함, 묵넘김, 부착성, 촉촉함)으로 평가하였으며 결과는 다음 표에 제시하였다.

<가수량을 달리한 찰쌀가루로 만든 통팔찰떡의 관능평가 결과>

가수량(g)	외관	냄새	텍스처			
	색	이취	쫄깃함	묵넘김	부착성	촉촉함

0	4.41±1.31 ^a	4.5±0.27 ^a	4.5±0.47 ^a	4.1±0.11 ^a	3.98±0.22 ^a	4.10±0.21 ^a
50	4.26±1.55 ^a	4.4±0.31 ^a	4.1±0.44 ^{ab}	4.2±0.21 ^{ab}	3.6±0.39 ^a	4.10±0.59 ^a
100	4.32±1.13 ^a	4.5±0.32 ^a	3.8±0.23 ^c	4.3±0.24 ^b	4.5±0.54 ^b	4.21±0.32 ^a b
150	4.41±0.88 ^a	4.5±0.57 ^a	4.0±0.17 ^b	4.2±0.22 ^{ab}	4.5±0.98 ^b	4.30±0.33 ^b

그 결과 색과 이취에서는 특별한 유의성있는 경향을 보이지 않았으나 텍스처에서는 본 연구 계획시 생각했던 전자렌지 가열에 따른 증발수분에 대한 가수가 필요할 것이라고 생각했으나 실제적으로 평가결과는 기존 창역에서 사용하는 가수량 100g보다도 더 낮은 0g과 50g에서 오히려 높게 나타났다. 이는 생지제품이 아닌 완제품을 단순 1분 내외로 가열하여 재 호화시키는 방법을 사용하고 있어 실제적으로 증발되는 수분양은 그리 크지 않았던 것이 그 요인인 것 같으며 추가적으로 RTH 식품 특성상 소비자가 시식을 희망할 때 전자렌지 조리 후 거의 바로 시식을 한다는 점에서 상대적으로 떡의 온도가 높아 가수량이 낮은 쪽에서 좀더 즐긴다고 평가한 것으로 사료된다. 본 연구에서 찰떡의 경우 맛은 전체적으로 비슷하였으나 식감에 의해 전체적인 기호도는 가수량 0 또는 50g 에서 설정하기로 하였다.

추가적으로 설기떡의 경우도 찰떡과 마찬가지로 전자렌지 조리에 따른 수분증발이 발생하여 제품 품질에 큰 영향을 줄 것이라는 가정 하에 다음과 같이 가수량에 따른 쌀가루를 준비하였으며 각각의 쌀가루를 활용하여 백설기를 만들어 관능평가에 활용하였다.

가수량을 달리하여 제조한 백설기의 관능평가는 차이조사나 전반적인 품질에 대한 기호조사를 5점 채점법으로 실시하였다. 각 평가 항목에 대한 차이 조사는 5점은 매우 높다 1점은 매우 낮다로 평가하였다. 평가인원은 연구소인원 3명과 매장직원 5명으로 총 8명의 평가원으로 차이조사와 기호도 조사를 진행하였다. 차이조사의 항목은 외관(색), 냄새(이취), 텍스처(폭신함, 부드러움, 부착성, 촉촉함)들이었으며, 기호도 조사로 전반적인 품질을 평가하였다

<가수량을 달리한 멥쌀가루로 만든 백설기의 관능평가 결과>

가수량(g)	외관	냄새	텍스처			
	색	이취	폭신함	부드러움	부착성	촉촉함
0	4.67±1.16 ^a b	4.31±0.32 ^a	3.50±0.56 ^c	3.52±1.10 ^c	3.9±0.39 ^a	3.4±0.37 ^{ab}
50	4.41±0.54 ^a	4.22±0.11 ^a	4.50±0.25 ^b	3.50±0.19 ^b c	3.9±0.47 ^a	3.2±0.27 ^a
100	4.72±0.52 ^b	4.25±0.09 ^a	4.74±0.21 ^a	4.17±0.50 ^a	4.2±0.20 ^{ab}	4.59±0.29 ^c
150	4.50±1.22 ^a	4.31±0.17 ^a	3.22±0.41 ^c	4.21±0.42 ^a b	4.1±0.18 ^a	4.55±1.52 ^c

관능평가 결과 외관과 냄새는 유의적인 큰차이가 나타나지는 않은 반면 폭신함과 부착성 촉촉함에서 가수량 100g 설기떡이 가장 우수했다. 이 결과 또한 예상과는 차이를 보이는 결과로 본사가 사용하는 설기떡의 가수량 100g과 같은 설기가 가장 우수한 텍스처 평가점수를 얻었다. 이 이유는 찰떡과 마찬가지로 간편조리라는 특성으로 인해 증발되는 수분양이 관능에 영향을 줄 정도로 크지 않다는 것을 말해주고 있다. 하지만 설기떡의 특별한 점으로는 떡의 상단과 하단의 경도 차이가 발생했다는 것인데 이는 아마 냉동과 냉장 보관시 상부의 수분이 포장지 내부 공기중으로 어느정도 증발된 것으로 생각된다. 그래서 제품 개발시 상단의 쌀가루와 하단의 쌀가루를 다르게 층을 주는 방법, 성형 완료 후 분무기로 일부 상단만 가수해주는 방법을 고안해야할 것으로 판단된다.

○ RTH 전용 쌀가루 생산 적용 및 시험생산

<RTH 전용 쌀 제분라인 표준생산 공정 적용>

표준생산공정	RTH 맷쌀가루 변경사항	RTH 찰쌀가루 변경사항	비고
1. 재료입고	기존 동일	기존 동일	
2. 저장	기존 동일	기존 동일	
3. 계량	기존 동일	기존 동일	
4. 1차세척	기존 동일	기존 동일	
5. 2차세척	기존 동일	기존 동일	
6. 침지	기존 동일	기존 동일	그림1
7. 1차분쇄	기존 동일	기존 동일	그림2
8. 가수	기존 동일	가수량 0g	그림3
9. 2차분쇄	0.1mm	1~2mm	그림4
10. 냉각	기존 동일	기존 동일	
11. 내포장	기존 동일	기존 동일	
12. 금속검출	기존 동일	기존 동일	그림5
13. 박스포장	기존 동일	기존 동일	

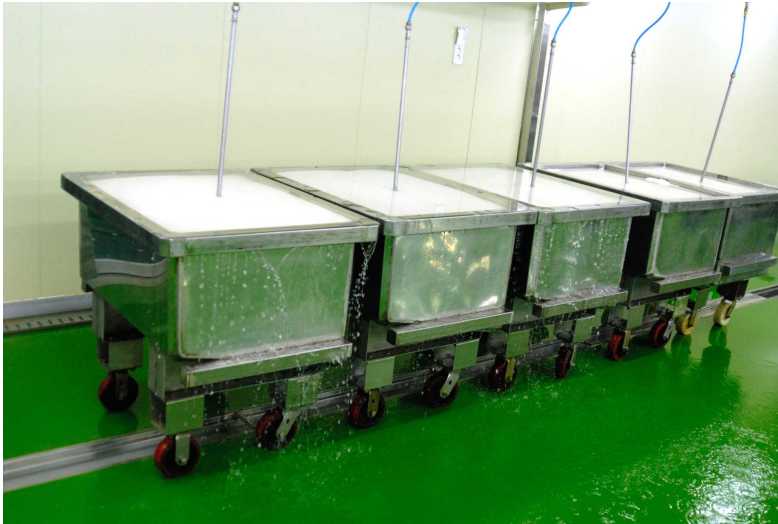


그림 1. 침지



그림 2. 1차분쇄



그림 3. 가수



그림 4. 2차 분쇄



그림 5. 금속검출

○ 후살균 공정에 대한 고찰

- Micro-wave 건조기를 이용한 후살균 공정 개발

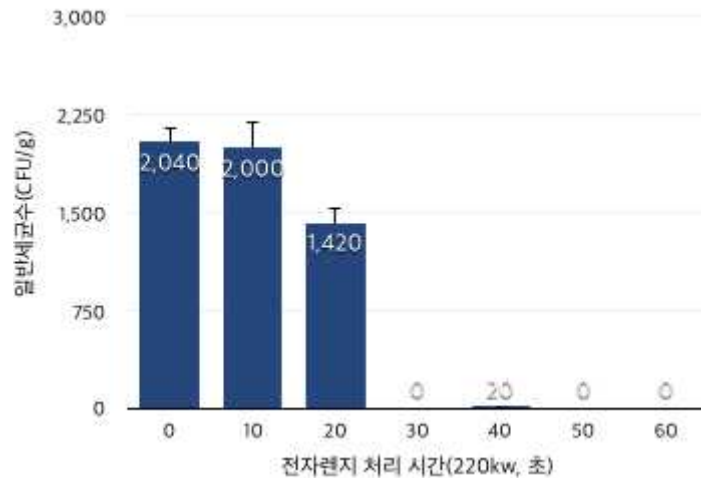
전자파의 원래 명칭은 전기자기파로서 전기 및 자기의 흐름에서 발생하는 일종의 전자기 에너지가 제품 또는 생명체의 물과 반응하여 가열 또는 살균시키는 효과를 가지고 있어 그 활용범위가 매우 넓다. 본 연구이전에 선행적으로 자외선 살균기를 적용하여 살균효과를 검증하였으나 자외선 노출효과가 표면에 한정적이며 장시간 노출에 따른 변색등 문제점이 발생되었다. 하지만 전자파 건조기의 경우 단시간 노출만으로도 살균 효과가 있어 다음 비손테크 제품에 샘플 시험을 통해 그 효과를 검증하였으며 제품의 특징 살균효과등을 검정하였다.

<전자파살균 공정 개발을 위한 테스트 장비>

제조회사 : ㈜비손테크

제품명 : Microwave 건조기

모델명 : PRUNUS-DRY-220kW-60x2W10H-A



<전자과 살균 시간에 따른 일반세균 살균효과>

전자과 노출 시간에 따라 살균효과는 매우 긍정적인 결과를 얻었다 하지만 전자과 노출시간 증가에 따라 발생하는 문제로 30초 이상이 진행될 때 찰떡의 경우 부피 팽창이 발생되어 모양이 틀어지며 30초 이상 노출된 제품에서 제품의 빠른 노화가 진행되는 등 문제점이 발생하였다. 이러한 문제점은 전자과 조사에 따른 물 분자의 여기와 관련된 것으로 판단된다. 또한 선행 연구들에서 제시하는 전자과 조사에 따른 레토르떡이 일반 스팀 증숙의 떡 보다 빠르게 노화된다는 연구결과와 비슷한 결과가 도출되어 전자과 살균 효과로 매우 빠른 시간내에 확실한 살균이 가능하지만 뛰어나지만 제품의 품질적인 면의 변화에 의해서 적용공정으로 전자렌지 살균법은 보류되었다.

- 열원의 종류에 따른 후살균 공정 개발

열원의 종류로는 증기살균법과 건열살균법이 있으며 (주)창역에서 적용가능한 장비 선에서 고려하였을 때 오븐과 스팀살균 두종류로 오븐의 경우 제빵 장비로 장비 적용가능성이 좋고 스팀멸균의 경우 (주)창역 주관기관에서 주로 사용하는 열원으로 예비로 보유하고 있는 증숙기만해도 약 10대 이상을 여유로 보유하고 있어 적용 가능성 및 추가 투자가 불필요하다는 장점을 가지고 있다.

결과 오븐의 경우 5분 이상 처리될 시 제품 건조 현상이 뚜렷하게 나타났으며 이 상황에서의 미생물



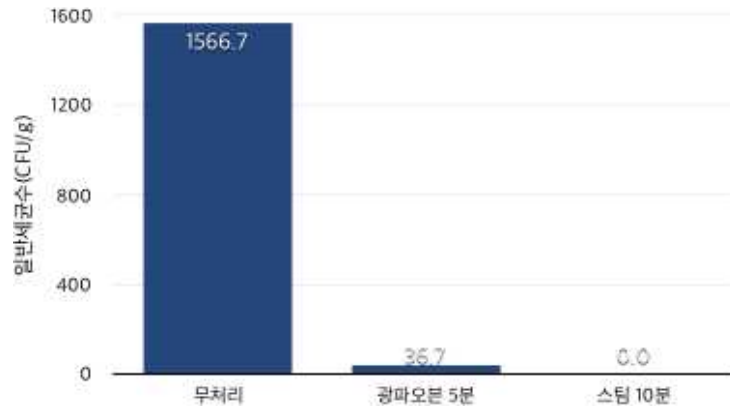
제조회사 : UNOX S.p.A
 제품명 : 제과제빵오븐, 건백션오븐,스팀오븐
 모델명 : XF135-B



제조회사 : ㈜창익 자체제작
 제품명 : 보일러형 스팀 증숙기

일반세균의 균수는 36.7로 완전 살균단계에 이르지 못하였다. 따라서 오븐의 경우 건열에 의한 살균인 오븐은 살균 공정 적용에 부적합하다는 결론을 얻었다.
 스팀살균의 경우 선행실험으로 10분 처리에 따른 멸균효과를 확인한 결과 완전 멸균에 준하는 결과

를 확인할 수 있었으며 시부 실험으로 스팀 살균 처리 시간에 따른 살균 효과를 확인한 결과 스팀 3분부터 확연한 차이를 보였으며 처리 10분 이상에서는 일반세균이 검출되지 않았다. 실험결과론적으로 10분이 가장 이상적인 처리 시간으로 나타났으나 제품 품질에 영향을 주지 않는 조건하에서 30분까지도 문제가 발생되지 않아 경제적 조건인 15~20분까지로 스팀증숙 살균 시간을 Semi-retort 살균 시간으로 최종 설정하였다.



<열원의 종류에 따른 제품의 멸균효과>



<스팀살균 시간에 따른 제품의 멸균효과>



<스팀 후살균 처리에 따른 냉장보관 효과>

○ 후보 제품군 기존 공정도 및 신규 추가예상 공정에 대한 고찰

통팔찰떡은 고사, 생일, 이사, 개업, 중무식, 시무식 등 널리 애용되며, 함을 받을때도 이 팔찰떡을 한다. 귀신을 쫓는다는 의미의 붉은 팔이 들어가는 떡이다보니, 당연히 제사상이나 차례상에는 쓰일 수가 없는데 특히 일부지역에서는 팔찰떡을 올리는 경우가 있다고 한다.

특히 생일이나 고사 때 쓰이는 떡은 칼을 대지 않고, 시루째로 떡을 상에 올리기도 한다. 기존 공정의 특징으로는 쌀가루 제분공정과 제품 생산공정으로 나뉘며 생산공정은 쌀가루해동 → 성형배합 → 증숙 → 뜸 → 식힘 → 절단 → 냉동 → 1차외포장 → X-RAY 검출 → 2차외포장 → 보관출하의 공정에서 뜸(CCP-1B:100℃±2℃ / 시간: 25분)과 X-RAY(CCP-1P: Fe 1.5Φ / SUS 1.5Φ 이상 불검출)검출을 집중관리점으로 설정하여 관리하고 있으며 신규 제품의 적용 공정과 집중 관리점(CCP:Critical Control Point)로 설정하여 실험 진행하였다.

모듬찰떡, 녹두깨찰떡, 거피찰떡은 선행의 통팔찰떡과 대부분의 공정이 비슷하며 공정도는 그림. 모듬찰떡 제조 공정도에 제시하였다. 신규 공정도 또한 통팔찰떡과 동일한 공정과 집중 관리지점을 설정하였다.

<신규제품 공정 및 집중 관리지점>

공정	특징	집중 관리점
쌀가루해동	냉동되었는 쌀가루를 냉장에서 해동하는 단계	
성형배합	쌀가루와 기타 고물등을 섞어 성형하는 단계	
증숙	스팀 찜기에서 찜내는 단계	
뜸	스팀을 유지 하는 단계	CCP-1B:100℃±2℃ / 시간: 25분
식힘	익은 떡을 식히는 단계	
절단	포장에 맞게 성형하는 단계	
1차외포장	포장용기에 담거나 상부를 실링하는 단계	
후살균	포장이 완료된 제품을 멸균하는 단계	CCP-2B:100℃±2℃ / 시간: 15~20분
냉동	멸균이 완료된 제품을 급냉하는 단계	
X-RAY	생산이 완료된 제품을 금속검출하는 단계	CCP-1P: Fe 1.5Φ / SUS 1.5Φ 이상 불검출
보관	냉동 보관하는 단계	
출하	냉장으로 출하하는 단계	

그 이외의 무지개설기와 호박녹두설기 약식의 경우 찰떡의 찹쌀을 쓰는 반면 멥쌀을 사용하는 점 등에서만 차이를 보이고 고물의 양이 상대적으로 적다는 점 이외에는 나타나는 제조 공정상의 차이는 거의 없으며 기존 공정도는 그림. 무지개설기, 그림 호박녹두설기, 그림 약식에 제시하였으며 신규제품의 공정 및 집중 관리지점은 찰떡과 동일하다.

(주)창역에서 가장 베스트 상품에 속하는 호박인절미의 경우 현재 CCP 잡기가 가장 어려운 제품으로 지금상태에서는 포함하였으나 추후 제품 개발시 CCP 문제로 인해 제외될 가능성이 가장 큰 제품이다. 호박인절미의 제조공정도는 그림. 호박인절미의 제조 공정도에 제시하였으며 현재 잡을 수 있는 CCP가 없어 일단 추가 실험을 통해서 CCP설정 예정이다.

신규 공정도에 포함되는 절단과 1차 외포장 후살균 공정에 대한 세부 공정은 다음 후보제품 신규 공정 세부 사진에 제시하였다.

그림. 통팔찰떡 제조공정도

제조공정도

현장확인일자 : 2017년 11월 일
 현장확인자 성명 :
 현장확인자 서명 :

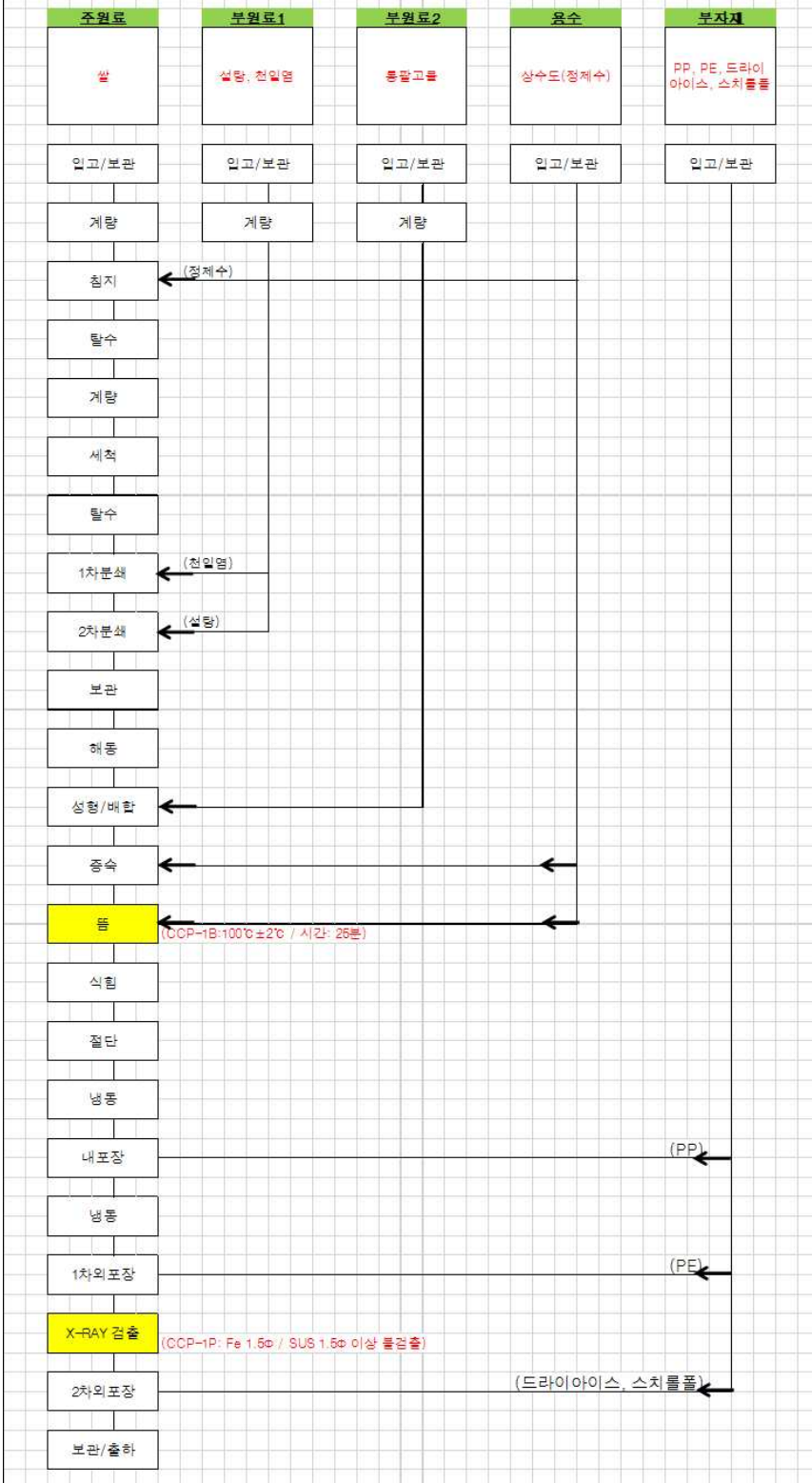


그림. 모듬찰떡 제조공정도

제조공정도

현장확인일자: 2017년 11월 일
 현장확인자 성명: _____
 현장확인자 서명: _____

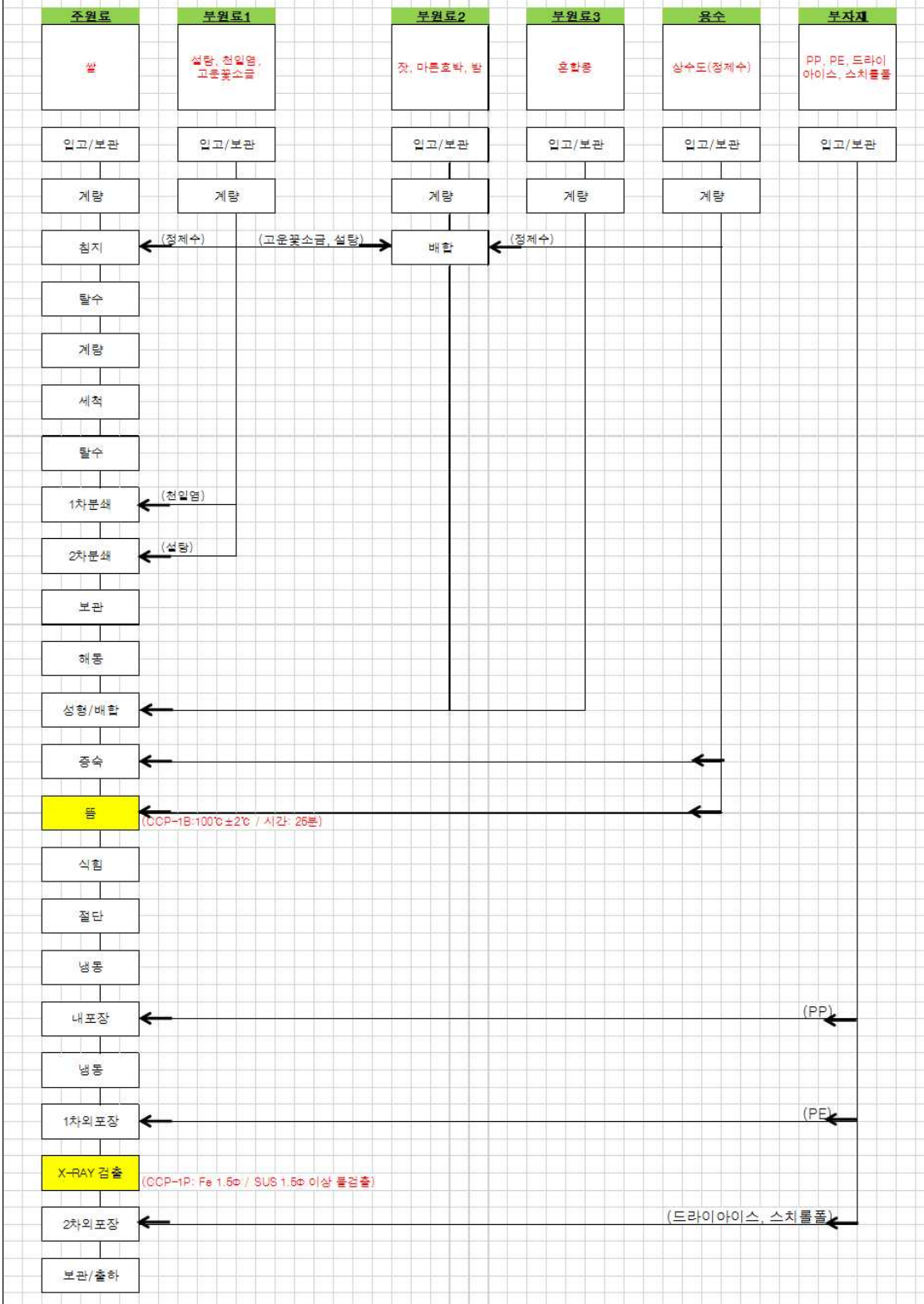


그림. 녹두깨찰떡 제조공정도

제조공정도

현장확인일자 : 2017년 11 월 일
 현장확인자 성명 :
 현장확인자 서명 :

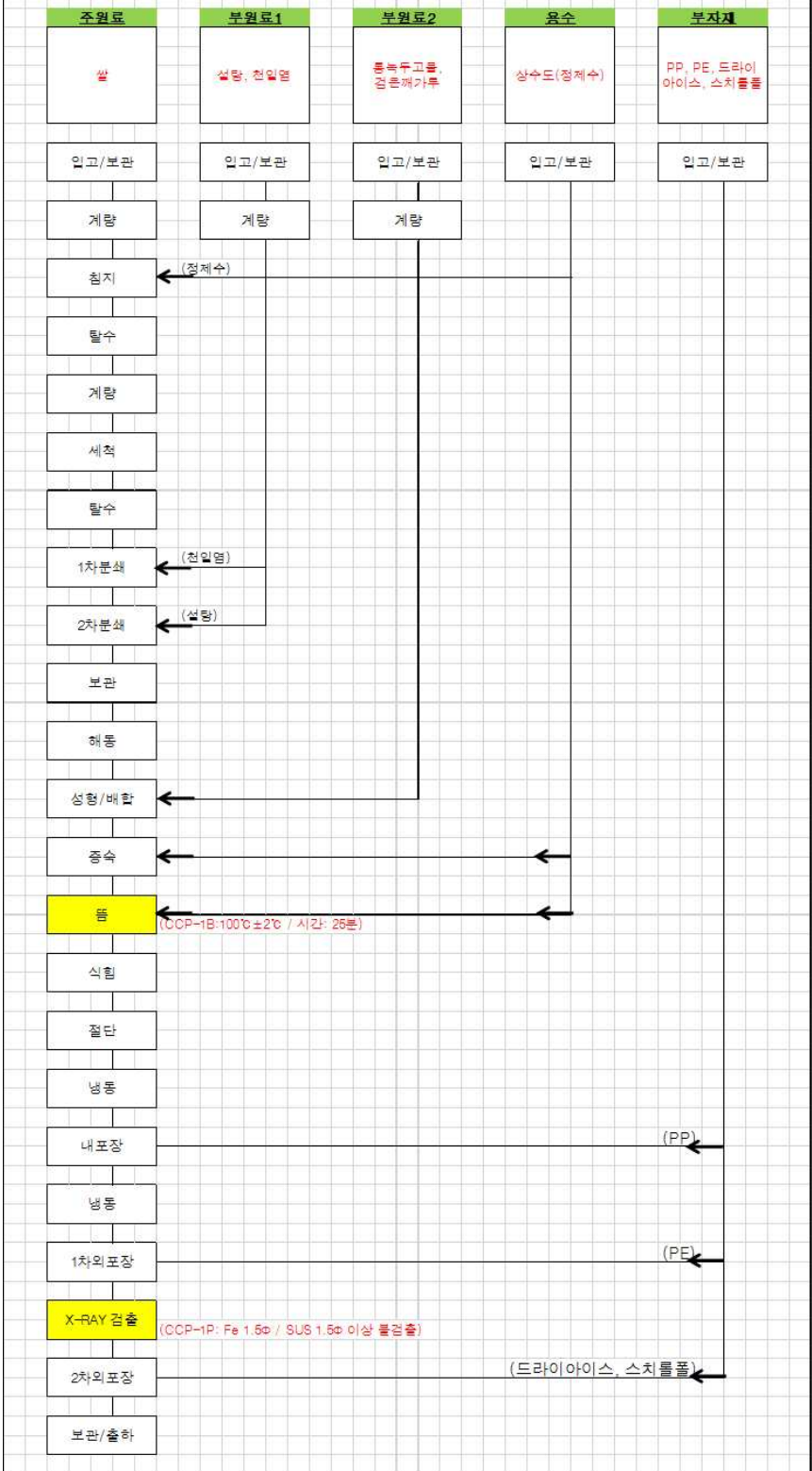


그림. 거피찰떡 제조공정도

제조공정도

현장확인일자 : 2017년 11월 일
 현장확인자 성명 :
 현장확인자 서명 :

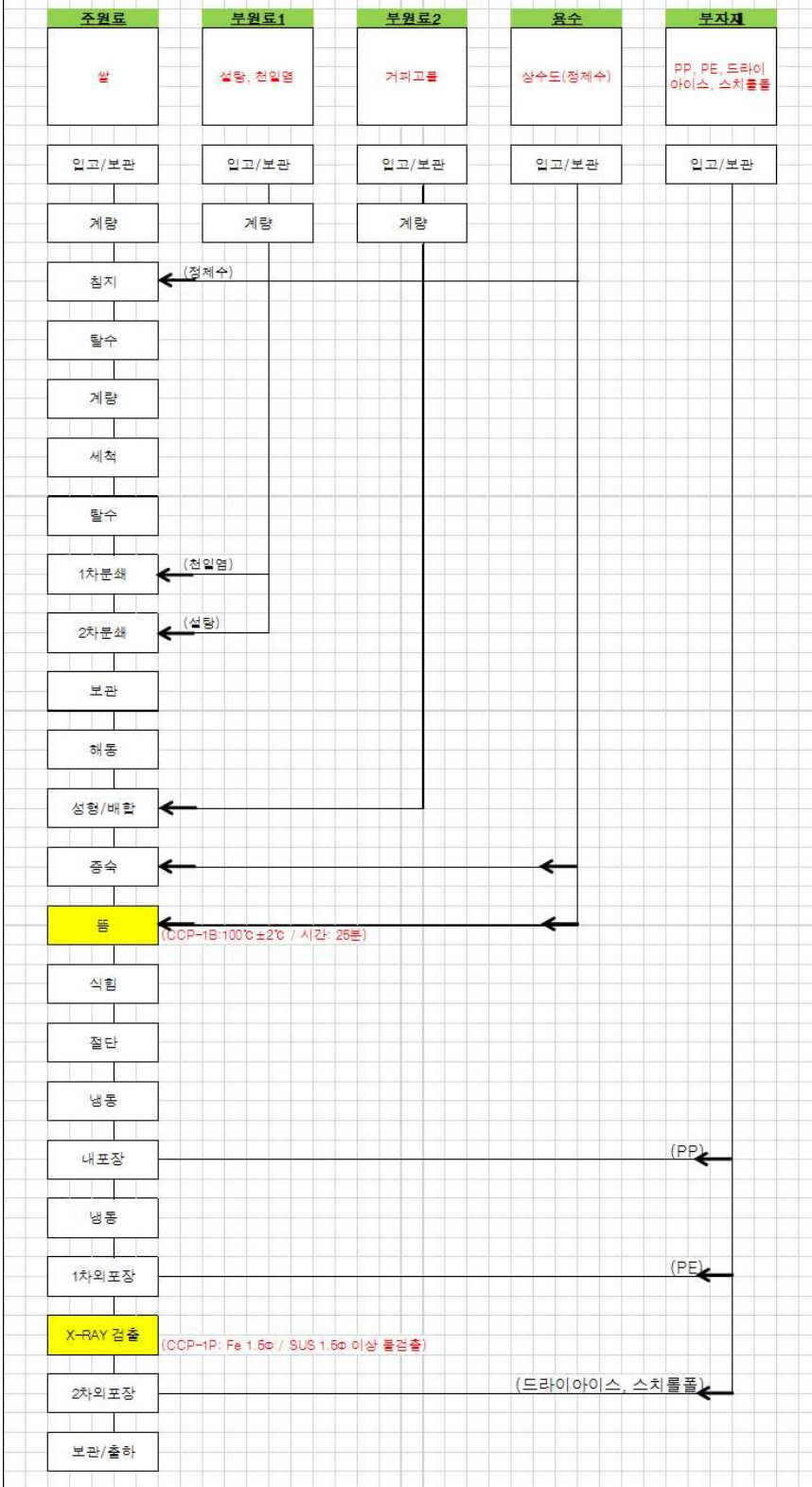


그림. 무지개설기 제조공정도

제조공정도

현장확인일자: 2017년 11월 일
 현장확인자 성명:
 현장확인자 서명:

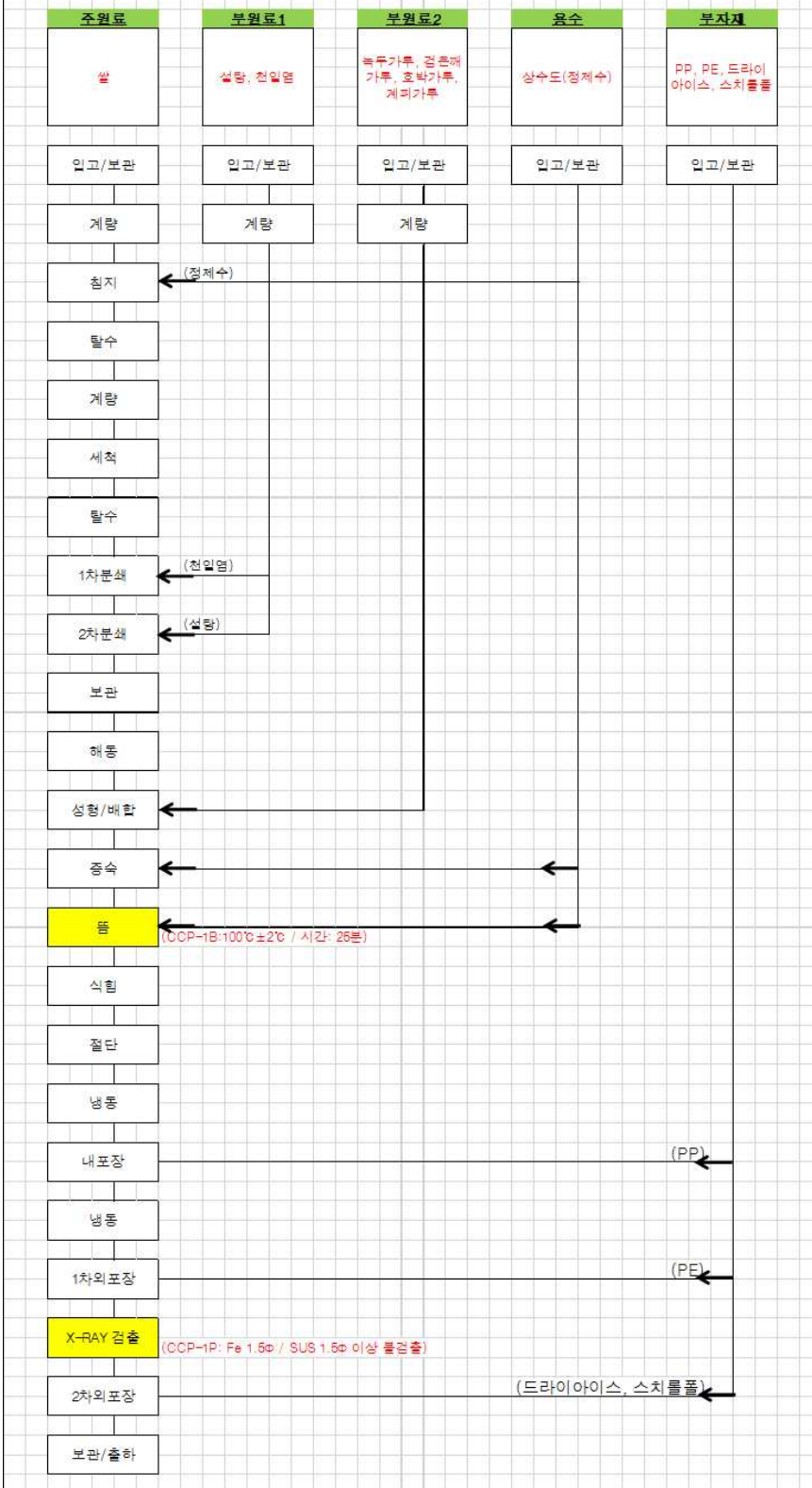


그림. 호박녹두설기 제조공정도

제조공정도

현장확인일자: 2017년 11월 일
 현장확인자 성명:
 현장확인자 서명:

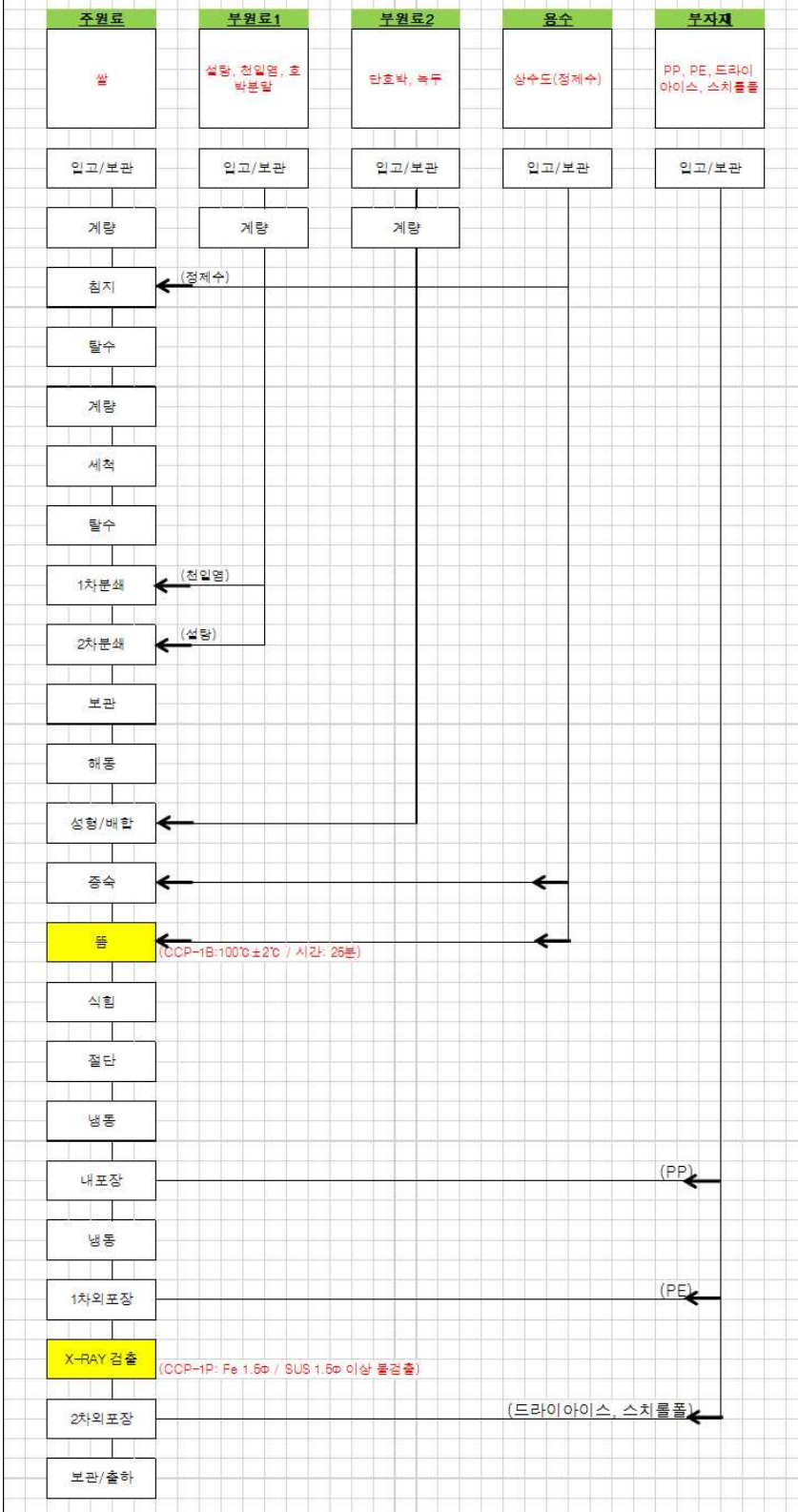


그림. 약식 제조공정도

제조공정도

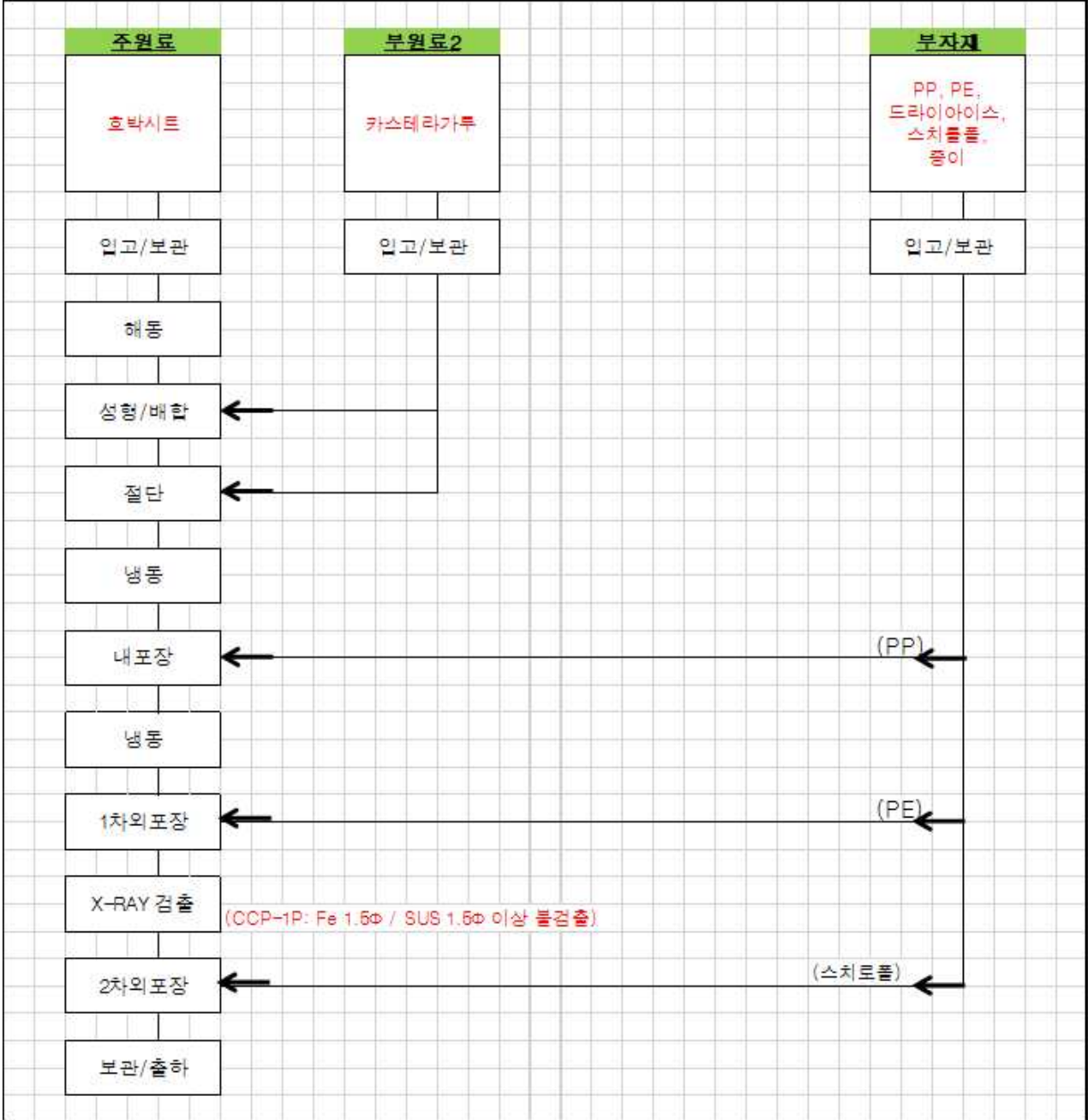


그림. 호박인절미 제조공정도

○ 후보 제품군의 표준 조리법 정립

높은 기호도와 후살균 가능성등을 고려하여 후보 제품들을 선발하였으며 그 제품으로는 찰떡류 3종, 설기류 1종, 기타 약식 1종에 대한 표준 조리법을 정립하였다.

<표준조리법>

분류	떡 종류	원료명	합량	원부재료	합량(%)	실제합량(%))	총합량(%)
찰떡류	통팔찰떡	찰쌀가루	52.59	찰쌀	65	34.1	100
				설탕	10	5.2	
				천일염	1.5	0.7	
				정제수	23.5	12.3	
		통팔고물	47.41	팔	92	43.6	
				설탕	6.5	3.0	
	모듬찰떡	찰쌀가루	62.04	찰쌀	65	40.3	100
				설탕	10	6.2	
				천일염	1.5	0.9	
				정제수	23.5	14.5	
		마른호박	5.58	마른호박		5.5	
		밤	12.67	밤		12.6	
		모듬콩	8.44	울타리콩	53.1	4.4	
				완두콩	15.2	1.2	
				설탕	10	0.8	
				검은콩	9.1	0.7	
				호두	6	0.5	
				대추	5	0.4	
		고운꽃소금	1.6	0.1			
		잣	0.01				
녹두깨찰떡	찰쌀가루	60	찰쌀	65	39	100	
			설탕	10	6		
			천일염	1.5	0.9		
			정제수	23.5	14.1		
	검은깨가루	10	검은깨	72.9	7.2		
			참깨	18	1.8		
			설탕	7.6	0.7		
			고운꽃소금	1.5	0.1		
	통녹두고물	30	녹두	90	9.0		
			설탕	8.5	0.85		
고운꽃소금	1.5	0.15					
설기떡류	호박녹두설기	멥쌀가루 (호박)	49.33	멥쌀	64.6	31.8	100
				정제수	32.2	15.8	
				천일염	1.5	0.7	
				호박가루	1.7	0.8	
	설탕	4.9					
	호박	29.6					

		통녹두고물	16.14	녹두	90	14.5	
				설탕	8.5	1.3	
				고운꽃소금	1.5	0.2	
기타	약식	찰쌀	69.3				100
		대추	1.9				
		건포도	1.1				
		밤	17				
		설탕	5.6				
		고운꽃소금	0.8				
		잣	0.8				
		약식시럽	2.2				
		참기름	1.3				

○ 생산 및 유통 경로 중 제품의 안정성 검사

- 통팔찰떡

제품 생산과 유통 경로 상에서 급냉과 해동 그리고 냉장보관에 따른 제품의 변형 및 변질은 제품의 품질을 떨어뜨리는 가장 큰 원인이다. 미생물에 대한 안전성은 미생물 파트에서 다루기로 하고 본장에서는 미생물을 제외한 제품 증숙 후부터 시작하여 포장 멸균 급냉 냉동보관 냉장보관에 이르기 까지 전 과정 중 발생할 수 있는 제품의 품질변화 가능성에 대하여 추적하였다. 본 결과에서 뜸, 멸균, 냉장보관, 전자렌지 해동 50초, 스템해동 10분 그리고 자연해동 120분으로하여 실제적으로 소비자에게 전달되는 단계상 제품의 색도 변화 및 기계적 품질변화를 확인한 결과 전 과정에서 색상의 변화는 크게 관찰되지 않았으며 Hardness의 경우 뜸과정, 멸균과정 그리고 전자렌지 과정에서 139.4, 135.7 그리고 193.7로 큰 차이를 보이지 않았다. 냉동제품의 물성은 불필요하여 측정은 중단하였으나 저장 중 Hardness의 변화는 노화에 의해서 점점더 굳어지는 특징을 보이기에 추가하였다. 이 결과로 볼 때 기계적 색도와 물성의 변화는 제품이 생산되는 뜸 공정과 멸균공정에서 큰 차이가 없음을 확인 할 수 있었다.

<통팔찰떡의 생산 및 유통경로 과정 중 품질변화>

구분	주요 생산 및 유통 경로	색도			Texture			
		L	a	b	Hardness(Dyne/cm ²)	Cohesiveness(%)	Chewiness(g)	
생산	뜸	37.97 ^a	3.77 ^{ab}	4.89 ^b	139.4 ^a	127.0 ^a	129.1 ^a	
	멸균	32.07 ^a	1.71 ^a	0.74 ^a	135.7 ^a	161.1 ^a	145.0 ^a	
유통	냉장보관	1일	33.29 ^a	3.17 ^{ab}	2.13 ^{ab}	97840.0 ^b		
		7일	32.11 ^a	3.04 ^{ab}	1.70 ^{ab}	1701234.0 ^{bc}		
		14일	32.10 ^a	2.43 ^a	1.94 ^{ab}	2912155.0 ^c		
		21일	30.42 ^a	2.94 ^a	1.59 ^{ab}	312155.0 ^c		
소비자	전자렌지 50초	33.70 ^a	4.76 ^{ab}	4.61 ^b	193.7 ^a	200.9 ^a	261.2 ^a	

	스팀해동 10분	34.1 ^a	2.03 ^a	1.22 ^{ab}	447.2 ^a	121.8 ^a	377.7 ^b
	자연해동 120분	30.42 ^a	3.22 ^a	1.93 ^{ab}	168100. 0	127.5 ^a	6132.7 ^b

- 녹두깨찰떡

녹두 깨찰떡의 경우 통팔에 비해 곱고 노란 녹두고물이 곁에 쪼로 들어가 있어 부드러운 식감을 갖는 떡중에 하나이다 하지만 상대적으로 수분이 적은 녹두고물과 검정깨가 쪼로 들어가기 때문에 실질적인 떡의 식감은 질기다고 느끼는 편이 보편적인 평론이다. 다음 색상의 변화는 그리 크지 않았으나 광도는 증숙과 저장 다시 해동을 하면서 조금씩 변화하기는 하지만 최종적으로 처음 제품과 해동 직후의 제품간의 유의적 차이는 보이지 않았다. 기계적 물성을 측정해본 결과 Hardness는 통팔찰떡과 같게 냉장보관 저장일수가 지속될수록 Hardness는 증가하였는데 이는 제품의 노화로 인한 것으로 판단된다. 그 외에 특징으로는 Hardness가 제조과정 중 139.4와 평균 135.7에 비해 전자렌지와 스팀해동에서 각각 1361.6과 1461.1로 다소 높게 나타났다. 이 이유로는 제품 증숙 당시 머금었던 수분에 의해서 Hardness가 매우 떨어진 반면 제품이 실질적으로 시식할 때에는 이미 제조과정 중 김이 날라가면서 수분 증발이 어느 정도 이루어져 시식하기 좋은 식감이 된 것으로 판단된다. 결론 적으로 처음 제품과 해동 후 제품간의 hardness는 차이를 보이나 관능 식감적으로 오히려 쫄깃한 식감을 부여하므로 큰차이가 발생되어 부정적으로 변한 것은 아니다.

<녹두깨찰떡의 생산 및 유통경로 과정 중 품질변화>

구분	주요 생산 및 유통 경로	색도			Texture			
		L	a	b	Hardness(Dyne/cm ²)	Cohesiveness(%)	Chewiness(g)	
생산	뜸	64.97 ^a	-0.05 ^a	14.14 ^a b	139.4 ^a	138.0 ^a	114.1 ^a	
	평균	68.03 ^a b	-0.72 ^a	14.71 ^a b	135.7 ^a	122.8 ^a	119.0 ^a	
유통	냉장 보관	1일	62.17 ^a	-0.70 ^a	8.14 ^a	97840.0 c		
		7일	63.38 ^a	-0.78 ^a	8.79 ^a	188400. 0 ^c		
		14일	62.41 ^a	-0.71 ^a	8.17 ^a	271480. 0 ^{cd}		
		21일	61.19 ^a	-0.68 ^a	9.43 ^a	303245. 0 ^d		
소비자	전자렌지 50초	61.21 ^a	-0.76 ^a	6.73 ^a	1361.6 ^{ab}	171.2 ^{ab}	212.2 ^a	
	스팀해동 10분	67.48 ^a b	-1.13 ^a	9.55 ^a	1461.1 ^b	99.8 ^a	332.9 ^{ab}	
	자연해동 120분	65.51 ^a	-1.10 ^a	7.48 ^a	164500. 0 ^c	112.3 ^a	8132.1 ^b	

- 호박녹두설기

호박녹두설기의 경우 멥쌀을 활용한 설기떡으로 찰떡과는 완전히 다른 텍스처 특성을 갖는다. 다음 유통 과정 중 설기떡류의 변화를 확인해본결과 색도 차이는 유의성을 갖는 수준의 차이는 나타나지

않았으나 Hardness의 경우 찰떡과 마찬가지로 냉장보관 일수에 따른 경도 변화는 3794.0에서 421870.0으로 계속적으로 증가하는 추세를 보였다. 뿐만 아니라 생산과정인 뜸 과정과 멸균 공정이 해동과 스팀해동과 약 400정도의 경도차이를 보였으나 이는 찰떡과 마찬가지로 실제적으로 증숙 후 바로 나온 떡은 질었다가 김이 어느 정도 날라 가면서 자신의 식감을 찾아가는 것으로 판단된다. 이 결과로 볼 때 생산 및 유통 과정중에 발생하는 품질변화는 없거나 크지 않고 그차이는 미미한 수준으로 판단할 수 있다.

<호박녹두설기의 생산 및 유통경로 과정 중 품질변화>

구분	주요 생산 및 유통 경로	색도			Texture			
		L	a	b	Hardness(Dyne/cm ²)	Cohesiveness(%)	Chewiness(g)	
생산	뜸	73.75 ^a	-2.44 ^a	13.25 ^a	139.4 ^a	138.5 ^a	512.4 ^a	
	멸균	72.01 ^a	-2.24 ^a	14.54 ^a	135.7 ^a	125.1 ^a	500.2 ^a	
유통	냉장 보관	1일	73.17 ^a	-2.38 ^a	12.97 ^a	3794.0 ^c		
		7일	73.39 ^a	-1.97 ^a	13.32 ^a	31711.0 ^c		
		14일	74.38 ^a	-1.99 ^a	15.41 ^a	41590.0 ^c		
		21일	71.11 ^a	-1.98 ^a	14.29 ^a	421870.0 ^{cd}		
소비자	전자렌지 50초 스팀해동 10분 자연해동 120분	전자렌지 50초	71.29 ^a	-2.25 ^a	14.31 ^a	567.2 ^{ab}	129.6 ^a	513.5 ^a
		스팀해동 10분	75.41 ^a	-2.28 ^a	12.17 ^a	547.2 ^{ab}	132.6 ^a	530.5 ^{ab}
		자연해동 120분	73.18 ^a	-3.14 ^a	16.54 ^a	30241.0 ^c	121.8 ^a	567.5 ^{ab}

- 약식

약식의 경우 찹쌀을 불리고 기타 원부재료를 한 대 섞어 찌내는 떡의 일종으로 고두밥 형태의 밥알이 살아 있는 특징이 있다. 생산 유통 소비자를 거치는 동안 제품 색도 값은 생산 시 또는 해동 시 열에 의해 광도 L 값은 증가하는 경향을 보였으나 그리 크지 않으며 다른 색변화는 유의적 차이를 보이지 못했다. 기계적 텍스처의 경우 생산에 해당하는 뜸 공정과 멸균 공정에서 각각 139.4와 135.7이 나왔으며 전자렌지 해동과 스팀해동에서 1361.6으로 다소 경도가 증가하는 경향을 보였으나 전체적인 맛에는 영향을 주지 않는 범위이며 이 원인 또한 찰떡에서와 비슷한 경향을 보였다. 냉장 보관의 일수에 따라 경도는 증가하는 경향을 보였으며 응집력에서는 각 공정상 유의적 차이는 발생되었으나 생산과 소비자경로 간의 유의적 차이를 보이는 경향은 발견되지 않았다.

<약식의 생산 및 유통경로 과정 중 품질변화>

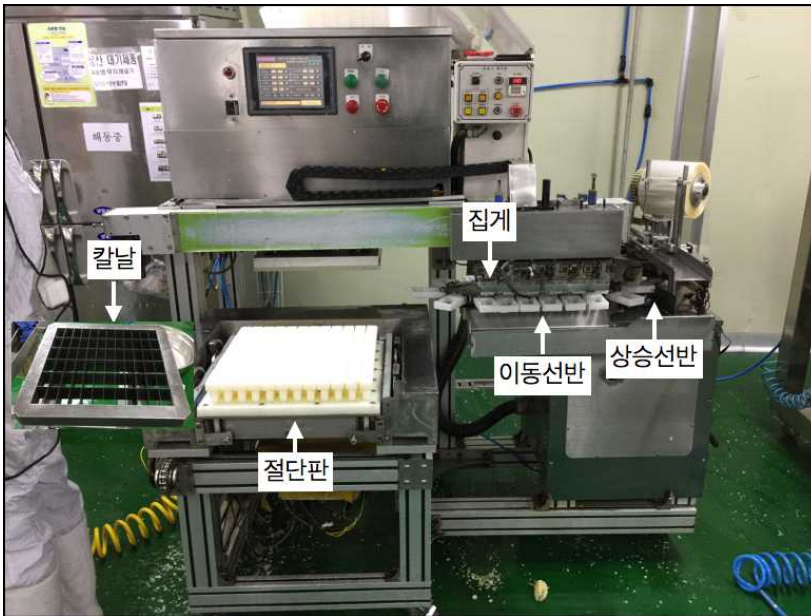
구분	주요 생산 및 유통 경로	색도			Texture		
		L	a	b	Hardness(Dyne/cm ²)	Cohesiveness(%)	Chewiness(g)
생산	뜸	34.71 ^a	1.33 ^a	8.02 ^{ab}	139.4 ^a	138.0 ^b	114.1 ^a
	멸균	35.87 ^a	1.17 ^a	9.44 ^b	135.7 ^a	122.8 ^a	119.0 ^a
유통	냉장 보관	1일	41.78 ^b	1.49 ^a	7.54 ^a	97840.0 ^c	

	7일	42.48 ^b	1.19 ^a	6.59 ^a	188400. 0 ^{cd}		
	14일	42.17 ^b	1.08 ^a	6.55 ^a	271480. 0 ^{cd}		
	21일	44.32 ^b	2.14 ^a	7.18 ^a	303245. 0 ^d		
소비자	전자렌지 50초	36.54 ^a	1.21 ^a	7.47 ^a	1361.6 ^b	171.2 ^b	212.2 ^a
	스팀해동 10분	37.95 ^a	1.91 ^a	6.12 ^a	1461.1 ^b	99.8 ^a	332.9 ^{ab}
	자연해동 120분	40.01 ^a b	1.17 ^a	6.23 ^a	164500. 0 ^{cd}	112.3 ^a	8132.1 ^b

○ 성형기 위생관리를 위한 공정 개선

떡 성형기의 기존 자원을 활용하여 생산된 제품의 소형 성형을 진행하고자 한다. 하지만 현재 활용하고자 하는 성형기가 일반식품 상온유통으로 유통기한이 하루로 나가는 제품을 생산하다 보니 무균상태로 생산설비를 관리하지 못해 각 공정상 오염원에 노출될 수 밖에 없다. 이에 따라 본 자원을 HMR 제품 생산공정에 활용하기 위해서는 위생관리에 대한 추가 보강 조치가 필요한 상황이다.

추가 위험요소 관리를 위한 성형기의 사진 및 각부 명칭을 사진으로 제시하였으며 각부 명칭은 제품이 닿는 부분으로 오염원에 노출될 경우 직접적으로 제품의 오염원으로 작용할 수 있기 때문에 각 포인트의 위험요소 제거 방안에 대한 연구를 진행하였다.

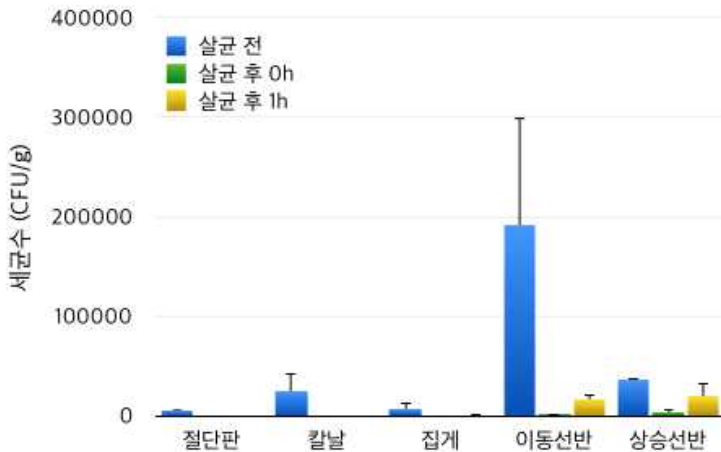


<떡 성형기 사진 및 각 부분 명칭>

- 스팀분사 살균에 의한 살균효과

분리세척이 어렵다는 점을 고려할 때 인위적인 고온 처리에 유리한 것으로는 스팀분사기가 가장효율적인 대안이 될 수 있다. 본 연구에서는 디에스테크(주) 듀얼스팀기 DST 6.0KD 모델을 활용하여 각 주요 포인트를 스팀 분사 살균을 진행하였다. 그 결과는 다음 그림에 제시하였으며 결과로 떡 절단판과 칼날 집게 이동선반 상승선반 모든 포인트에서 살균효과는 나타났으나 살균 후 1시간 뒤 다시 측

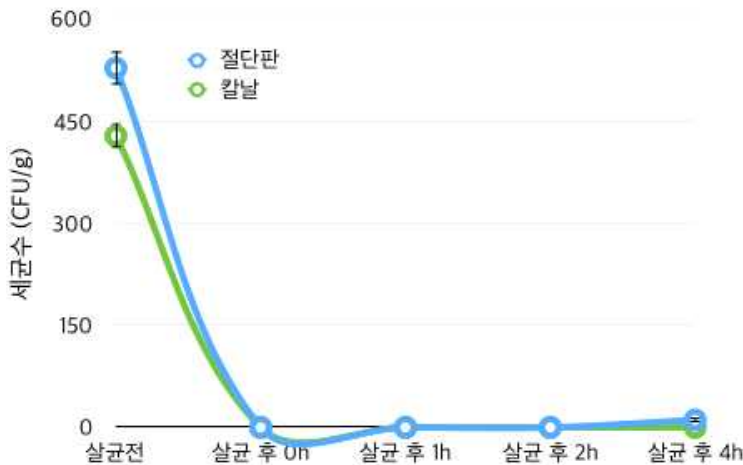
정해본 결과 집계, 이동선반 그리고 상승선반에서는 스팀 멸균 후 미생물 생육이 이루어지는 것을 확인할 수 있었다. 이는 분리 세척이 이루어지는 절단판과 칼날에 비해 고정형으로 되어있어 분리 탈착이 안되어 이물질이 완벽하게 제거하지 못해 세척에 불리한 조건을 가지고 있기 때문으로 생각된다. 지속적인 오염원 관리를 위해서는 시간별 스팀 멸균처리 또는 기존 장비의 수정이 이루어져야 할 것으로 판단된다. 하지만 스팀기를 통한 휴대용성을 고려할 때 듀얼스팀기는 절단판과 칼날의 오염원 관리에 대한 멸균 방법으로는 좋은 대안이 될 수 있을 것으로 판단된다.



<스팀기 살균에 의한 일반세균 멸균효과와 효과 유지>

- 스팀접기를 활용한 절단판 및 칼날의 살균효과


칼날과 절단판은 실제적으로 분리가 되기 때문에 대체적으로 세척이 용이한 편이긴 하지만 절단판은 복잡한 구조적 이유로 인해서 태생적으로 세척이 매우 어려운 구조를 가지고 있다. 열수와 긴 수세미를 활용하여 최대한 관리를 하고 있으나 보이는 부분과 내부의 청결도는 상당한 차이를 보이는 것이 사실이다. 절단판 사이는 실제적으로 칼날이 들어갔다 나오면서 떡과 직접적으로 닿는 부분이기 때문에 절단 성형 과정 중 주요한 오염원이기도 하다. 전 실험의 경우 실제적으로 절단판 사이사이까지 스팀으로 청소하는 것이 불가능하기에 기존 세척에 본사의 최대 자원인 스팀 증숙기를 활용하여 스팀 살균하는 방법을 취해 사용 전 증숙 살균을 진행한 결과 멸균 효과가 뛰어나며 살균 후 유지되는 시간도 매우 긴 것을 확인할 수 있었다. 이 결과로 볼 때 성형기의 주요 오염 요인 지점을 스팀 살균기와 스팀 증숙기를 병행하여 사용한다면 주요지점의 미생물 제어에 큰 효과를 볼 수 있을 것으로 판단된다.



<스팀 증숙기를 활용한 절단판과 칼날의 살균효과 및 유지>

- RTH 제품 자동화 생산 공정 및 생산 설비 적용
- 연구소 또는 소량 포장을 위한 Lab-scale 미니 포장기계

<소량 포장 Lab-scale 미니 포장기계 세부 사진>

공정	특징	사진
쌀가루 제분 공정 > 성형배합 > 증숙 이후 공정		
절단준비	떡을 절단기 판에 올리고 비닐을 덮어준다	

절단압
축

준비된 떡과 칼날이 압축기로
진입하는 단계와 압축기에 의해서
떡이 칼 날 안으로 밀려들어가 절단
되는 단계



배출이
동

배출을 위해서 칼날이 압축기 밖으로
배출되는 단계



<p>배출</p>	<p>떡 밀게가 칼날에서 떡을 밀어올리는 단계</p>	
<p>트레이 포장</p>	<p>절단된 떡을 트레이 용기에 담는 단계</p>	

실링
포장
준비

상단 실링 필름으로 밀봉을 위해
준비대에 떡을 준비시키는 단계



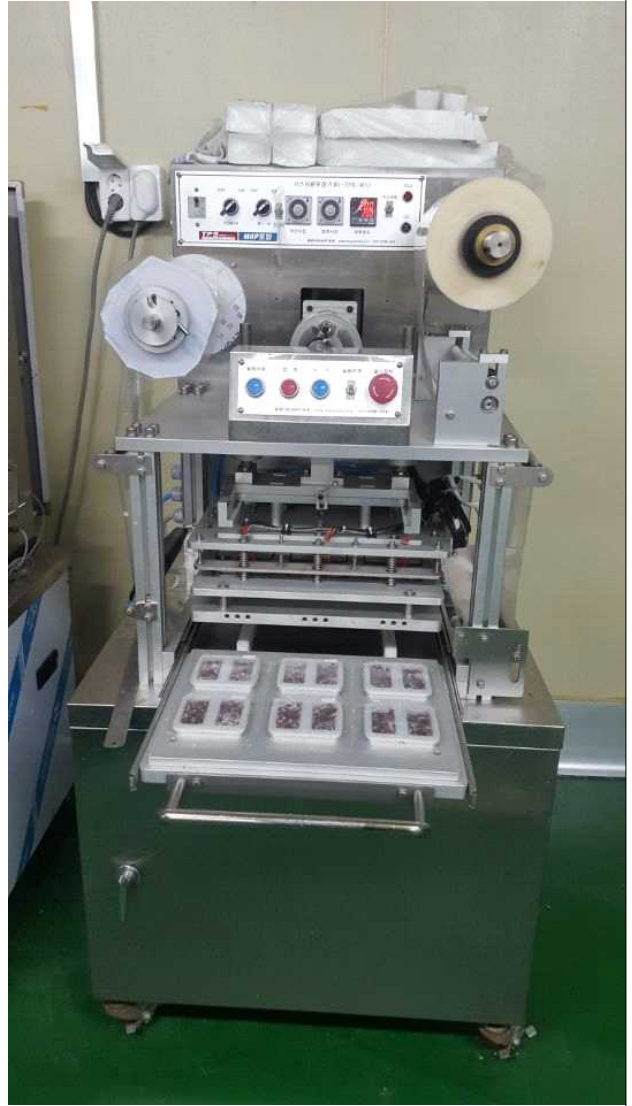
실링
압착

실링필름이 이동되어 깔리고 고온으로
압착 실링하는 단계



실링
완료

실링이 완료되어 밀봉된 떡이
배출되는 단계



멸균기
트레이
적층

스팀멸균기에 준비된 떡 적층



스팀
고온
멸균

스팀으로 일정압력과 고온으로
멸균하는 단계



- 대용량 자동 포장기계 적용

현재는 소량 포장을 위한 Lab-scale 미니 포장기계 적용 시험까지만 진행되었으며 본격적으로 제품 생산에 돌입할 때 적용시험을 진행할 예정이며 실제적인 포장 설비는 다음과 같다. Lab-scale의 생산공정과 모두 동일하며 실링포장준비 → 실링압착 → 실링완료 공정만 다음 MAP 포장설비에 적용하여 자동적으로 포장될 예정이다.

공정	특징	사진
쌀가루 제분 공정 > 성형배합 > 증숙 > 절단준비 > 절단압축 > 배출이동 > 배출 > 트레이포장 까지 동일		

포장준
비
트레이
이동

컨베이어 벨트에 일렬로 떡 공급



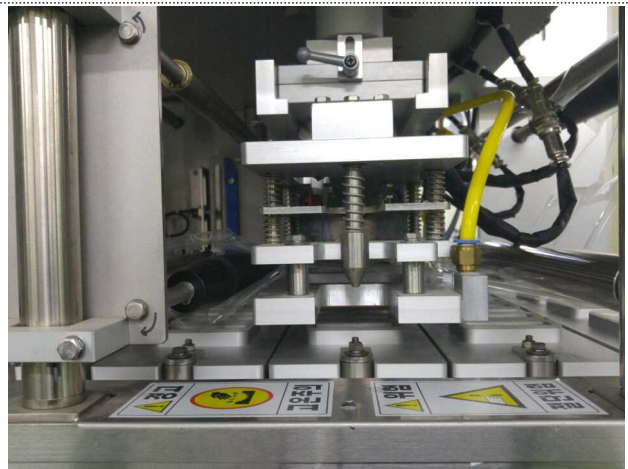
떡공급

자동적으로 3개씩 실링기로 떡 공급됨



질소치
환
밀 리드
접착

질소가스 치환 장치가 있어 포장내
대기 교환 및 자동으로 리드 접착이
이루어짐



<p>떡 배출</p>	<p>접착이 완료된 떡을 빨판을 이용하여 배출 트레이로 옮겨주는 단계</p>	
<p>배출</p>	<p>포장이 완료된 제품이 배출되는 컨베이어</p>	
<p>이후 멸균 공정은 Lab-scale과 동일</p>		

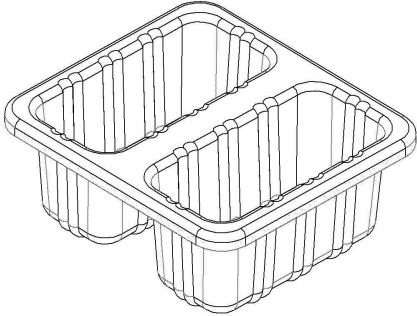
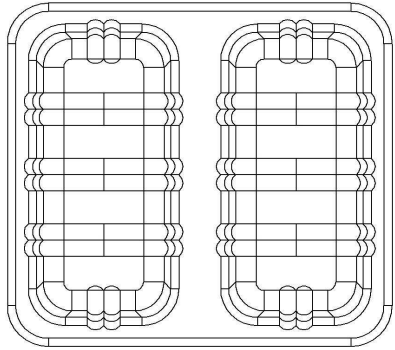
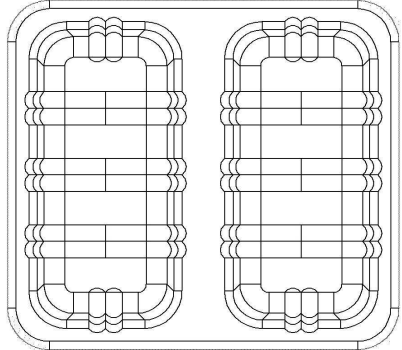
○RTH제품 전용 용기 개발

- RTH 전용 용기 개발

RTH 전용 용기(tray) 재질은 고온 스팀 살균기에서 고온·고압으로 장시간 가열·살균해도 녹거나 형태적인 변화가 발생되지 않아야 하며 경제성이 있는 크기와 두께를 설정해야 한다. 또한 재질은 장기보존이 가능하며 산소차단성이 높은 재질로 선택하였다.

<용기(tray) 개발>

구분	내용	
용도	식사대용, 간식용	
용기 크기	가로 95mm x 세로 85mm x 높이 37mm (내경 가로 80mm x 세로 30mm 2구)	
용기 두께	0.2 mm	
용기 디자인	사시도	좌측면도

		
	<p>평면도</p>	<p>저면도</p>
		
<p>용기 재질</p>	<p>PP(polypropylene)</p>	
<p>용기 재질 특징</p>	<p>환경호르몬의 영향이 없으며 무균포장제로 폴리프로필렌계(PP)로만 구성된 단층필름으로 만들어졌으며 고온에 안정함</p>	
<p>떡 중량</p>	<p>100g</p>	

- RTH 전용 용기의 해동특성(복원 성능 1분 이내)

RTH 전용요기의 상세 스펙을 설정하기 위하여 제품의 적정 크기는 25x25와 35x35 형태의 큐브형 태로 성형을 하였으나 제품의 사이즈 면에서 25x25가 너무 적다는 평가가 매우 높아 제외하고 35x35만 가지고 해동되는 조건 값을 탐색하였다. 바이어가 제시한 조건에 의하면 1구에서 4구까지 제시하고 있기 때문에 용기의 해동 특성은 1구로 단일제품 단독으로 있을 때의 해동, 2구 2개의 떡과 사이 간격 그리고 4구일 때 떡과 사이의 간격 등을 조사하였으며 결과 값은 4구의 해동 값에 대한 조건 값만을 제시하였다. 가정에서 주로 사용하는 700W 출력의 전자레인지에서 1분 내외의 RTH 제품을 개발하기 위해 1분 내외로 해동되는 가장 이상적인 조건을 탐색하였으며 추가로 자연해동 120분 경과 후 실험을 실시하였다. 관능적 평가로 차이조사나 해동 정도에 대한 기호조사를 5점 채점법으로 실시하였다. 해동정도에 대한 평가항목에 차이 조사는 5점은 해동이 잘됨, 1점은 전혀 해동이 안됨으로 평가하였고 평가자의 주관적 견해를 비교에 적었다. 그 결과 다음 표에서와 같이 녹두깨찰떡의 경우 50초 조리시간이 가장 이상적이며 제품들 간의 간격은 10~20mm 간격을 유지하는 것이 제품들간의 간섭 없이 모든 제품들이 고르게 해동이 되는 것을 확인하였다. 통팔찰떡의 경우 50초 20mm 간격과 60초 모든 간격에서 고른 해동이 되었다. 이 결과로 볼 때 전체적으로 50~60초 사이로 해동시간을 설정하고 제품간의 간격은 약 15~20mm 정도의 간격을 확보해야함을 확인하였다.

<녹두깨찰떡과 통팔찰떡의 전자렌지 가열시간과 떡간의 간격에 따른 해동특성>

떡 종류	전자레인지 가열시간(초)	떡간 간격(mm)	관능적 평가	
			해동정도	비고
녹두깨찰떡	40	0	1 ± 0.00	전혀 해동 안됨
		5	1 ± 0.00	
		10	1 ± 0.00	
		15	1 ± 0.00	
		20	1 ± 0.00	
	50	0	1 ± 0.00	내부는 해동 안됨
		5	1 ± 0.00	내부는 해동 안됨
		10	4.1 ± 0.15	미세하게 해동안된 부분 있음
		15	4.8 ± 0.10	전체적으로 해동 잘됨
		20	4.8 ± 0.17	전체적으로 해동 잘됨
	60	0	4.5 ± 1.23	아주 미세하게 심부 해동 안됨
		5	-	떡이 부풀어 오름
		10	-	떡이 부풀어 오름
		15	-	떡이 부풀어 오름
		20	-	떡이 부풀어 오름
	자연해동		1 ± 0.00	노화 되어 매우 딱딱함
통팔찰떡	40	0	1 ± 0.00	전혀 해동 안됨
		5	1 ± 0.00	
		10	1 ± 0.00	
		15	1 ± 0.00	
		20	1 ± 0.00	
	50	0	1 ± 0.00	내부 해동 안됨
		5	1 ± 0.00	
		10	1 ± 0.00	
		15	1 ± 0.00	
		20	4.1 ± 1.45	
	60	0	3.91 ± 1.01	내부 해동 안됨
		5	4.72 ± 0.14	전체적으로 해동 잘됨
		10	4.80 ± 0.17	전체적으로 해동 잘됨
		15	4.91 ± 0.02	전체적으로 해동 잘됨
		20	4.90 ± 0.01	전체적으로 해동 잘됨
	자연해동		1 ± 0.00	노화 되어 매우 딱딱함

○ 포장지 리드 재질 및 리드 디자인

- 리드 재질

용기를 덮게될 리드의 경우 장기보존이 가능하고 보존성을 요하는 RTH 제품 특성상 산소차단성이 높은 다층 PP를 이용하였으며 내부 소재는 방단필름(Anti-fogging film)을 활용하여 제품 특성상 김서림이 많이 발생할 수 있는 점을 보완하였다.

- 포장지 디자인

쇼케이스 냉장고에 진열되는 점을 감안할 때 제품의 이미지가 최대한 많이 노출되어야하며 창익의 전체적 디자인 톤을 계승하여 절제의 고급스러움을 강조하였다.

구분	내용
----	----

대표 디자인 시안
 (주)창억 띠지 형태를
 계승
 웰저 브랜드 이미지
 계승
 좋은 재료의 이미지
 강조
 - 디자인특허출원 -



모듬찰떡



녹두깨찰떡



통팍찰떡



호박녹두설기



제품적용 디자인

약식

디자인 전용 시제품

품목제조보고



발급번호 : 1P93-9B10-Q115-110P-0874

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명) 김영환	생년월일(법인연도) 710515 14월 00일
	주소 전라남도 나주시 새지면 동흥로 37(113-1,3,4,5, 362-21,28)	연락처 061 336 7930
영양소	영양(상표) (주)에다손 나주공장	영양등록번호 20020512164
	소재지 전라남도 나주시 새지면 동흥로 37(113-1,3,4,5, 362-21,28)	
제품정보	식품의 유형	떡볶이
	재질명	원재료 순면, 녹두, 팥, 감자
	유통기한	제조일로부터 14일
	용량유지기준	
	첨가물 함유 여부	첨가물 없음
	유도 성분	첨가물 없음
	포장방법 및 포장형태	첨가물 없음
기타	중량	고유성 맛과 색을 지니며 0.001이하가 없음
	중요성 표시	
	■ 고열량 · 지방량 식용 제한 여부	[]에 [X]나오 [C]해당 없음
	■ 알레르기 식용 제한 여부	[]에 [C]나오

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2017년 12월 25일 보고인 인영환

전라남도 나주시장 귀하

품목제조번호	20020512164-300
제조부서	보안소 포장부서
제조자성명	나영환
제조일자	2017년 12월 26일

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.



발급번호 : 1P93-9B10-Q115-110P-0874

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명) 김영환	생년월일(법인연도) 710515 14월 00일
	주소 전라남도 나주시 새지면 동흥로 37(113-1,3,4,5, 362-21,28)	연락처 061 336 7930
영양소	영양(상표) (주)에다손 나주공장	영양등록번호 20020512164
	소재지 전라남도 나주시 새지면 동흥로 37(113-1,3,4,5, 362-21,28)	
제품정보	식품의 유형	떡볶이
	재질명	원재료 순면, 녹두, 팥, 감자
	유통기한	제조일로부터 14일
	용량유지기준	
	첨가물 함유 여부	첨가물 없음
	유도 성분	첨가물 없음
	포장방법 및 포장형태	첨가물 없음
기타	중량	고유성 맛과 색을 지니며 0.001이하가 없음
	중요성 표시	
	■ 고열량 · 지방량 식용 제한 여부	[]에 [X]나오 [C]해당 없음
	■ 알레르기 식용 제한 여부	[]에 [C]나오

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2017년 12월 25일 보고인 인영환

전라남도 나주시장 귀하

품목제조번호	20020512164-300
제조부서	보안소 포장부서
제조자성명	나영환
제조일자	2017년 12월 26일

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

4. 그 밖의 연구 성과

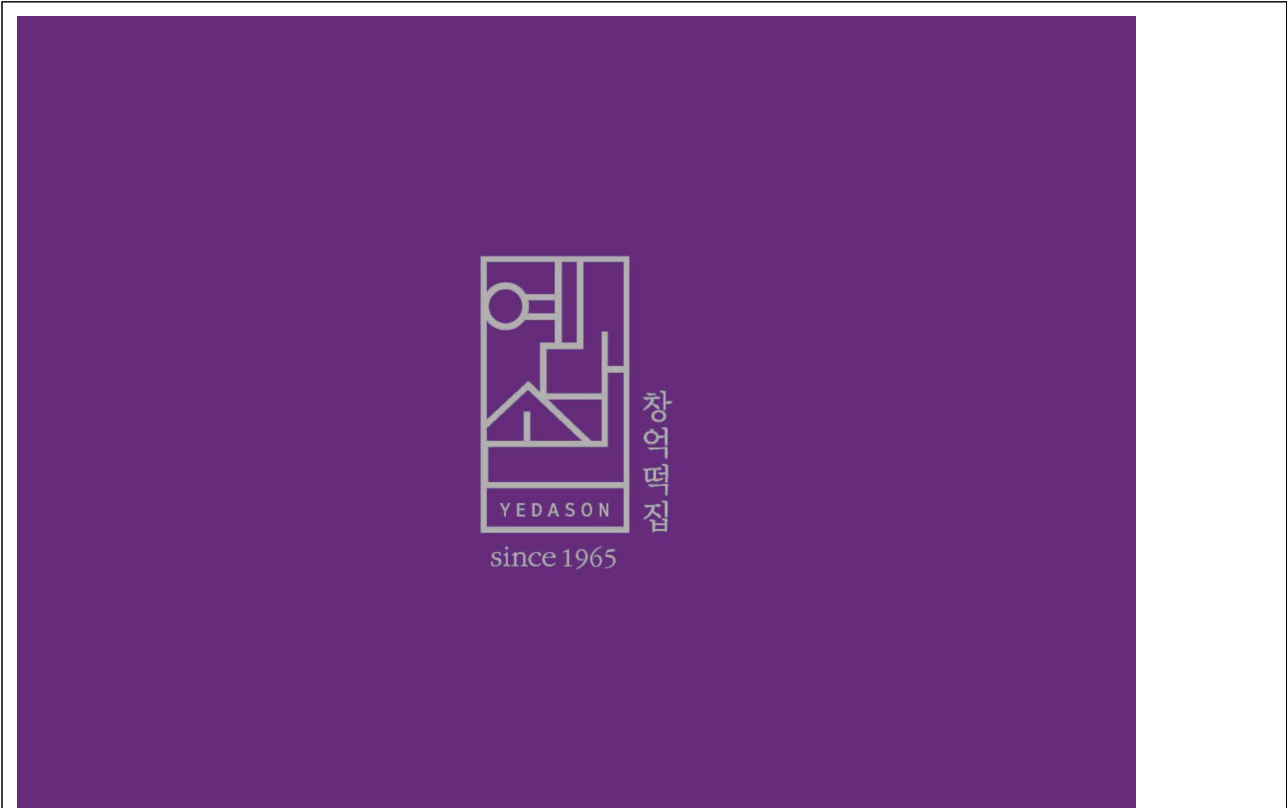
가. 국내시장 개발

○ 신규 가맹사업에 의한 매출 확대 기획

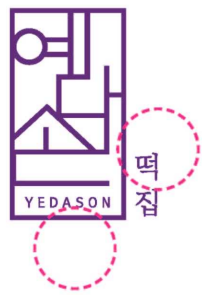
가맹사업이란 가맹사업거래의 공정화에 관한법률(이하 “가맹사업법”) 제 2조(정의) 이하 규정에서 1. 가맹본부와 가맹점사업자는 상호 독립적인 사업자, 2. 가맹본부와 가맹점사업자가 계속적인 거래 관계를 유지, 3. 가맹본부는 가맹점 사업자에게 1)자기의 상표 또는 영업표지(브랜드)를 사용하게하고, 2) 일정한 품질기준이나 영업방식에 따라 상품, 용역을 판매하도록 하고, 3) 경영활동 등에 대한 지원, 교육 및 통제를 하며, 4. 가맹점사업자가 가맹본부에게 가맹금을 지급할 때 이를 가맹사업자로 명하고 있으며 쉽게 프랜차이즈라는 단어로 많이 사용되고 있다. 다음 가맹사업에서 가맹본부(에다손)의 경우 생산과 물류시스템만 갖추면 판로확보가 쉬워진다는 장점이 있으며 가맹사업자는 일정 투자금액만 있어도 에다손에서 갖는 모든 제품과 노하우등으로 사업을 시작할 수 있는 단점이 있어 베이비 붐 세대의 은퇴와 맞물려 다양한 프랜차이즈 업이 성황을 이루고 있다.

예다손에서는 다음 가맹사업을 시작하고 있었으나 내부 역량강화를 위하여 최근 4~5년간 늘리지 않았던 신규 가맹사업자를 새롭게 준비하고 개발한 제품을 가지고 예다손 플러스라는 프로젝트명으로 다시 확장하고자 한다.

그에 수반되는 다양한 기술 개발과 제품개발이 요구되지만 여기서는 단순 예다손 프랜차이즈 관련 프로젝트에 포함되는 새로운 브랜드 디자인, 매장디자인, 집기디자인, 포장디자인등을 함축하여 정리하였다.



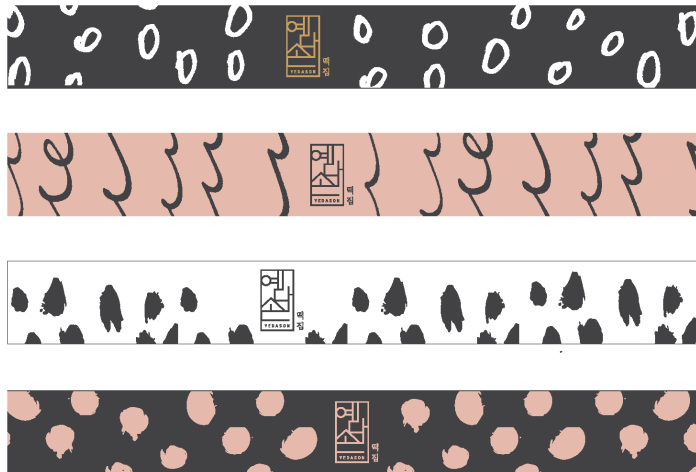
브랜드 리뉴얼



전용패턴 개발



전용패턴 개발

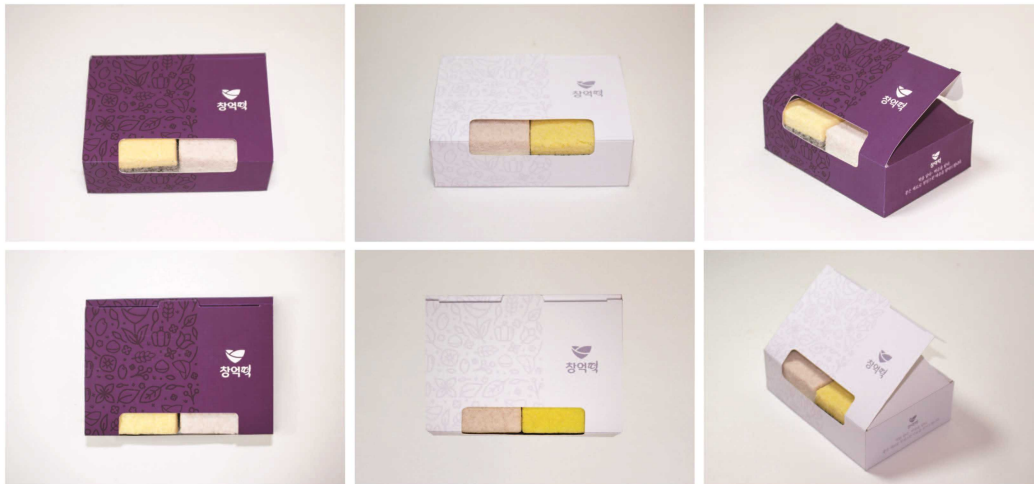


전용패턴 적용



전용패턴 적용

단 레 떡



전용패턴 적용
선물 세트



패키지 리뉴얼
웰씨 실속형

3면포장



스탠딩 포장



패키지 리뉴얼

한 입 기 정

3면포장



스탠딩 포장



패키지 리뉴얼

상품 개발



패키지 리뉴얼

상품 개발



패키지 리뉴얼

웰치 냉장떡



○ 온라인 마켓 활용 매출 증대

인터넷의 발달과 모바일 기기의 생활화는 사람들의 라이프스타일 뿐만 아니라 쇼핑 시장에 크고 작은

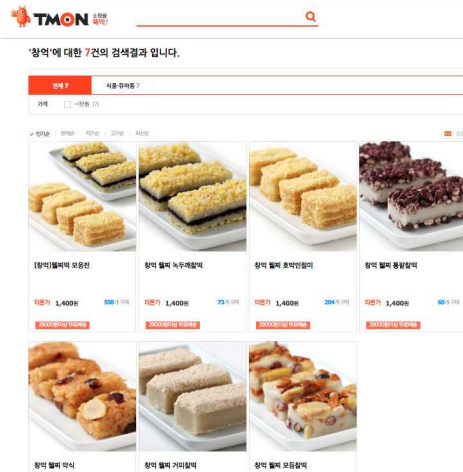
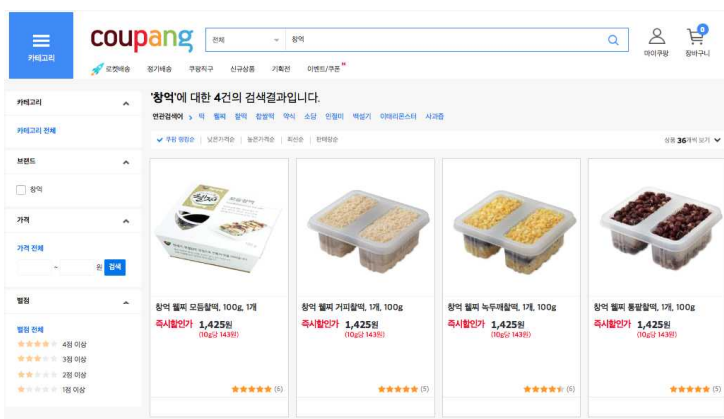
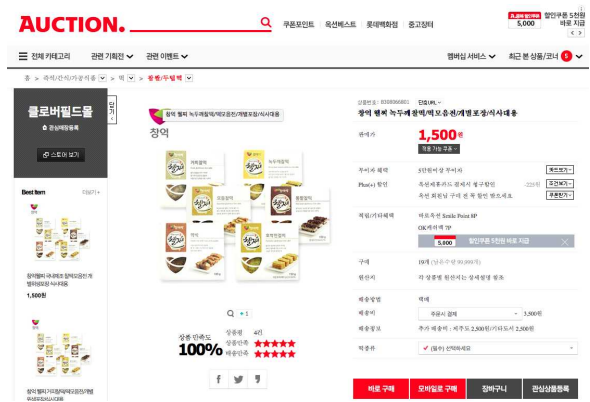
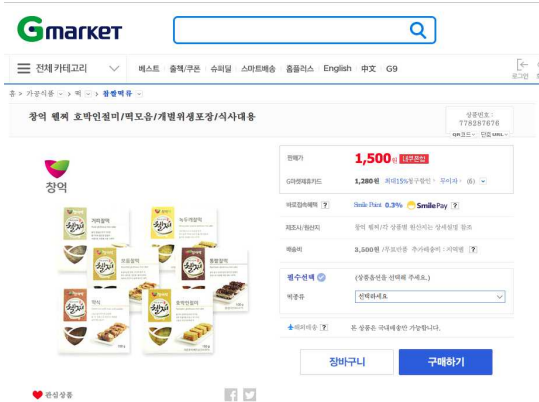
변화를 불러일으켰다. 구매자와 판매자가 직접 대면하던 전통적인 유통 방식은 인터넷을 통해 가상으로 제품 정보를 취합하고 구매할 수 있는 방식으로 확장되었으며, 오프라인 유통 업체의 온라인 시장 진입과 온라인 유통 업체의 사업 확장은 전체 쇼핑 시장의 성장을 가속화시키고 있다.

그 중에서 가장 특징적인 움직임은 모바일의 확산과 사용 증가로 인해 PC 기반의 인터넷 쇼핑 시장이 모바일로 그 중심을 옮겨가고 있다는 것에 있다. 시간과 장소에 구애받지 않는 모바일의 특성으로 인해 소비 트렌드의 변화가 이루어지고 있으며, 오프라인 대비 저렴한 가격, 공격적인 마케팅, 최적화된 쇼핑 환경 제공 등에 힘입어 모바일 쇼핑 시장은 지속적으로 성장할 전망이다.

이러한 변화는 옴니채널(Omni-Channel) 소비 패턴의 활성화로 이어진다. 온·오프라인·모바일 커머스의 경계가 허물어지고 여러 유통 채널이 결합 또는 확장됨에 따라 발생하는 옴니채널 쇼핑 패턴으로 인해 오늘날 창익은 전통적인 매장에서 단순 대면하는 패턴에서 벗어나 소비자 중심의 유통과 마케팅 전략을 수립하기 위해 고군분투하고 있다.

이에 창익에서는 떡업체에서는 처음으로 찰떡류를 MA 포장을 적용하여 쉽게 소비자들에게 다가갈 수 있도록 소셜커스텀 온라인 쇼핑몰등 대형 마켓에 제품 판매를 시작하였으며 지속적인 제품 추가를 통해서 오프라인 마케팅에서 온라인 마케팅 비중을 점차 늘려가기 위해 더욱 많은 제품을 추가 기획하고 있다.

[온라인 쇼핑몰활용 유통판매]



○ 홈쇼핑 및 농협 등 대형 유통업체 활용

창익의 경우 모든 제품이 규격화가 되어있으며 신규제품 또는 모든 제품이 창익 규격에 준하여 개

발된다. 다음 연구개발된 포장법을 활용한 웰찌 상품, 집에서 바로 찌먹는 떡 아이시루, 시원하게 즐기는 떡인 아이스떡등을 구성으로 홈쇼핑 및 농협과 사업이 진행중이며 기획안 및 사업성과를 간단하게 첨부함

[창역 대형유통업체 컨소시엄 기본 기획 제품군]



“ 잘 찌서 건강에 좋은 떡 ”

급속 냉동과 MAP포장 공법으로 만들어 언제 어디서나 고유의 풍미를 온전하게 맛볼 수 있는 떡

“ 집에서 바로 찌먹는 떡 ”

전용 찜기에 간편히 조리하여 갖 짜낸 따끈따끈함을 즐길 수 있는 떡

“ 시원하게 즐기는 떡 ”

몸에 좋은 다양한 재료가 들어간 Bar형태의 영양가득한 떡

[창역 대형유통업체 컨소시엄 웰찌떡류]



웰찌 Package

[창역 대형유통업체 컨소시엄 아이시루 설기떡]

아이시루
i seeroo



전용 찜기



녹두설기



코코아설기



쑥콩설기



치즈설기



무지개설기



거피설기



아이시루 Package

[창역 대형유통업체 컨소시엄 아이스떡 구름떡류]

아이스떡



아이스떡(구름떡) Package

[창역 대형유통업체 아임홈쇼핑 연계 홈쇼핑 진출]



더테라스식물 22:40 더스팅신사화 23:40 홈스타면상발열메트 0:50 스마트라TV(재) 2:00 슈퍼스피루리나(재)

11월 11일 2020년

상생협력 공익정보

15:29

창억떡 총 100개

위생적으로
잘 만들었습니다!
HACCP 인증 시설

개별포장으로
먹기 편하게!

자동주문시
44,900원

주문지역: 비트남산, 삼문리, 청덕, 인도산

11/24 까지 배송

개당 50g

자동주문 080-258-7777 상담원 080-815-7777

TV 하나로 마트

자동주문 상담주문 구매하기

자동 주문 1 창억떡세트 총 100개(5Kg) 44,900원

나. 해외 시장 개발

○ 해외 전시회 참가 및 홍보



중국 베이징 K-Style 부스 참여 및 제품 홍보 전시

○ 수출 미국 H-mart & KHEE 8건, 캐나다 Galleria SM 4건



상해 식품 박람회 참여 및 제품 홍보 전시

거래일	거래처(국가)	거래내용	거래금액(원)	거래금액(불)
2015. 04. 09	Galleria SM(캐나다)	웰찌 떡류 및 구름떡류	2,757,600	2,562
2015. 04. 21	H-mart(미국)	웰찌 찰떡류 및 아이시루 설기떡류	2,164,909	2,011
2015. 09. 11	H-mart(미국)	웰찌 찰떡류 및 아이시루 설기떡류	3,148,320	2,925
2015. 11. 19	H-mart(미국)	웰찌 찰떡류 및 아이시루 설기떡류	7,118,160	6,615
2016. 02. 29	H-mart(미국)	웰찌 찰떡류 및 아이시루 설기떡류	2,324,700	2,160
2016. 04. 06	Galleria SM(캐나다)	웰찌 떡류 및 구름떡류	3,096,000	2,877
2016. 06. 07	Galleria SM(캐나다)	웰찌 떡류 및 구름떡류	3,715,200	3,452
2017. 05. 10	Galleria SM(캐나다)	웰찌 떡류 및 구름떡류	4,644,000	4,315
2017. 05. 11	KHEE TRADING INC.(미국)	웰찌 찰떡류 및 아이시루 설기떡류	1,530,900	1,422
2017. 08. 01	KHEE TRADING INC.(미국)	웰찌 찰떡류 및 아이시루 설기떡류	5,103,000	4,742
2017. 09. 14	KHEE TRADING INC.(미국)	웰찌 찰떡류 및 아이시루 설기떡류	3,321,000	3,086
2017. 10. 12	KHEE TRADING INC.(미국)	웰찌 찰떡류 및 아이시루 설기떡류	1,832,000	1,702
합계			17,513,689	28,339

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

				코드번호	D-06
4-1. 연구목표 달성도					
연도	구분	세부과제명	연구개발 목표 및 내용	가중치 (%)	달성도 (%)
1 차 년 도	제1세부 (주관)	천연색소소재를 활용한 제품개 발	천연색소소재를 활용한 일반떡 제품 개발 및 마케팅 한방 약떡 제품 개발 및 마케팅 기능성 떡 제품 개발 및 홍보 마케팅 한방 약떡 기능성 떡 제품 BI 및 CI 개발 유통구조 개선을 위한 연구 개발 매출달성을 위한 시장 확대	40	100
	제 1 협 동	천연색소 소재 원료 기능성 평가	한방 오방색 천연색소 발굴 한방 약떡 문헌조사 및 제품개발 새싹보리 원료 표준화 새싹보리 제형 표준화 중·장년층 제품 관련 기능성 평가 마케팅 및 홍보 지원	30	100
	제 2 협 동	색소안정화 기 술 개발	클로로필류 천연색소 안정화 기술 개발	20	100
2 차 년 도	제1세부 (주관)	천연색소소재를 활용한 제품개 발	천연발효증편 개발 기능성 떡류 제품 개발 기타 응용제품개발 유통구조 개선을 위한 연구 개발 매출달성을 위한 시장 개발	40	100
	제 1 협 동	천연색소 소재 원료 기능성 평가	한방 오방색 천연색소 지표성분 설정 및 제품 함량 평가 한방 오방색 천연색소 전남대 안정화 기술 적용 성분 함 량 평가 청소년층 관련 기능성 검증 유통구조 개선을 위한 연구 개발 창역 제품 개발 지원 마케팅 및 홍보 지원	30	100
	제 2 협 동	색소안정화 기 술 개발	베타카로틴 색소의 특성 안정화	20	100
3 차 년 도	제1세부 (주관)	천연색소소재를 활용한 제품개 발	기능성 떡 제품 개발 및 홍보 마케팅 한방약떡 제품 개발 및 마케팅 유통구조 개선을 위한 포장방법 개발 기능성 천연색소 이용 제품 개발 매출달성을 위한 시장 확대	40	100
	제 1 협 동	천연색소 소재 원료 기능성 평가	천연색소 안정화 처리 제품 기능성 및 성분함량 분석 천연색소 항균활성 소재 적용 제품 유통기간 평가 중 장년층 대상 기능성 검증 창역 제품 개발 지원 마케팅 및 홍보 지원	30	100

제 2 협 동	색소안정화 기 술 개발	안토시아닌류 천연색소소재의 안정화 기술 개발	20	100
------------	-----------------	--------------------------	----	-----

4-2. 관련분야 기여도

○ 본 연구의 제1세부과제인 (주)창역은 천연색소 소재 및 기능성 소재 적용을 위한 제품개발로 “천연발효 증편 생산 기술 개발 및 사업화”를 진행하였으며 그 과정에서 증편에 적합한 토종 효모 및 유산균을 선발하였으며 이를 활용하여 사업화에 성공하였다. 뿐만 아니라 최근 대량생산 공정 개발을 완료하여 하루 1ton에 달하는 제품 생산이 가능한 생산시설을 갖추고 홈쇼핑 출시를 진행 중에 있어 지역경제 활성화에 크게 이바지 하였음

○ 유통역량강화를 위한 기술개발로 후살균 공정 개발 및 공정개선을 통해 신규 홈쇼핑 제품 런칭을 통해 10회연속 매진이라는 대 기록을 세우는 등 지역경제 활성화에 크게 기여하였다. 뿐만 아니라 후살균 공정 개발로 인해 생산 제품의 유통 안정성 확보는 물론 신규로 가정식 대체 식품군으로 HMR(Home meal replacement) 제품을 개발 진행중에 있으며 이 제품으로 떡류 시장에 도전하지 못한 냉장제품 시장에 진출할 계획을 가지고 있음

○ 본 과제를 통해 신규시장 개척을 위한 국내외 전시회 참가를 통해 신규 바이어를 발굴하였으며 지속적인 매출이 신장되고 있어 지속적인 수출증대가 기대됨

○ 전체 건강기능식품의 총 생산량(12,268,626kg) 중 농산물 유래 건강기능식품의 총 생산량(10,459,308kg)이 85%의 비중을 차지하였으며 높은 비중을 나타내지만 제형이 제한적으로 떡류, 라이스크래커 등 다양한 제형에 적용시켜 소비자 선택권 증대시킴

○ 기능성 떡 소재의 대표적인 기능성분 함량은 위한 베이스 소재로 동충하초 배양쌀, 홍국미, 버섯류, GABA 생성 균주를 사용하여 그에 따른 떡류에 기능성분 함량을 측정하여 제품에 기능성분 함량을 제시함

○ 초석잠 활용 라이스크래커 등 가공제품 개발을 통한 농가소득 증대 및 쌀 소비 촉진

○ 클로로필 안정화 처리 기술 개발을 통한 새싹보리의 가공 조리 과정에서의 클로로필 색소 변색 최소화 공정을 확인하였고, 산업체의 기술 적용 가능성을 확인하였음

○ 카로티노이드 색소뿐 아니라 안토시아닌, 클로로필, 혹은 다른 기능성 물질들을 캡슐화할 수 있는 wall 물질의 개발 및 특성 확인을 통한 OSA 전분의 기초 연구 자료 확보 및 산업에의 활용 가능성을 확인하였음

○ 안토시아닌 색소의 안정화 기술 확인 및 이들 wall 물질을 이용한 다양한 기능성 물질 캡슐화 가능성을 모색할 수 있는 기초 자료를 확보하였음

5. 연구결과의 활용계획

	코드번호	D-07
<p>○ 최근 경제 성장으로 인한 소득 수준 변화와 인구 노령화 그리고 식습관의 서구화를 통해 떡 및 전통식품산업이 크게 위축되고 있는 것이 현실이다. 뿐만 아니라 쌀 산업으로 볼 때 쌀 소비 감소는 언제까지나 관련 업계에서 감내하고 새로운 돌파구를 만들어야할 숙제로 남아있다.</p> <p>○ 국내외 현황을 살펴보면 현재 떡 프랜차이즈 시장은 크게 위축되어 있으며 새로운 돌파구를 만들지 못하고 현상유지만 하고 있는 수준이며 시장에 미치는 과급력 또한 아주 미미한 수준이다. 이처럼 떡산업이 고전을 면치 못하는 이유로는 이유로는 일단 떡이 가지고 있는 유통의 한계점으로 유통기한이 짧다는 것을 들 수 있다.</p> <p>○ 뿐만 아니라 떡은 선물 등 답례 또는 특별한 날에 먹는 다는 고정관념이 일반적으로 자리잡고 있어 이를 극복하기 위해서는 떡에 대한 소비자들의 인식의 변화가 무엇보다 중요할 것으로 판단된다.</p> <p>○ 이러한 노력의 일환으로 좀 더 맛있게, 좀 더 몸에 좋게, 좀 더 예쁘게, 그리고 좀 더 안전하게라는 키워드로 본 연구과제를 진행하였으며 이에 맞추어 다양한 제품군과 기능성 소재 및 제품이 개발하였다.</p> <p>○ 본 과제를 통해 얻은 천연발효 기정떡 제품의 베이스를 활용하여 한입기정과 한입앙금기정을 홈쇼핑에 출시 예정이다. 이와 같은 베이스를 사용하며 앙금이 아닌 잼을 충전하는 잼충진 장비 투자가 완료된 상태로 연속적인 제품 출시가 기대된다.</p> <p>○ 이러한 연구결과를 바탕으로 추가적인 파생상품을 개발할 계획이며 쌀찐빵 그리고 화기정 등을 추가 사업화하여 연속적인 매출증대에 기여하고자 한다.</p> <p>○ 본 과제를 통해서 얻은 유통안전성 확보 기술을 통해 현재 홈쇼핑 등에서 냉동떡도 먹을만하다는 소비자 인식을 변화시키는데 크게 기여하였으며 10회 이상 매진이라는 떡상품 업계의 새로운 기록을 달성하기도 하였다. 본사는 이러한 연구성과에 그치지 않고 추가적으로 연계상품 및 파생상품을 개발하여 유통에 좀 더 집중하여 현 시점의 산업적 문제점을 극복해보고자 한다.</p> <p>○ 이와 더불어 본연구과제를 통해서 얻은 떡 살균 공정으로 지금까지 아무도 성공하지 못했던 일반 떡의 냉장유통을 가능하게 할 수 있다는 가능성을 보여주었으며 C&U와 공동으로 신제품 개발을 진행 중에 있어 본 과제를 통해 일반 떡 제품이 조만간 편의점 쇼케이스 냉장고에 진열될 날이 머지않았다.</p>		

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

	코드번호	D-08
<ul style="list-style-type: none"> - 초석잠은 허혈 뇌 손상과 관련된 학습과 기억 장애에 대한 보호효과가 있다. (Shinichi H 등 2014) - 초석잠의 성분인 PHENYLETHANOID GLYCOSIDES는 기억력 증진에 대한 효과가 있다. (Radev R, 2010) 		

-새싹 보리는 어린 보리 싹(길이가 20 cm 이하)인 새싹보리는 생리활성물질인 lutoarin(isoorientin-7-O-glucoside), saponarin(flavone-C-glycosides) 등 다양한 폴리페놀과 플라보노이드가 함유되어 있다(Park SJ 등 2008, Eun CS 등 2016, No J 등 2016).

- 클로로필 색소의 포피린 링 구조 안에 있는 Mg 이온을 아연(Zn)이나 구리(Cu) 이온으로 대체시켜 Zn- 혹은 Cu-pheophytin 복합체를 만들어 색소를 안정화 시키는 연구가 지속적으로 이루어져 왔다. Zn-pheophytin 복합체는 클로로필 색소와 유사한 색 특성을 나타내며 주로 가열 가공하는 녹색 채소인 녹색콩, 완두콩, 시금치 등의 제조에 많이 이용해왔다(Tonucci LH & Elbe JH, 1992, Ngo T & Zhao Y 2005).

-Zn 이온이 pheophytin a 또는 pheophytin b와 Zn-pheophytin 복합체를 형성하여 색소를 안정화시킨다는 연구 결과와 Zn-pheophytin 복합체는 본래의 클로로필 구조보다 산과 열에 더 안정하다는 연구 결과가 보고되었다(Jones ID 등 1977, Takeuchi Y & Amao Y 2005, Lee IS 등 2008, Senklang P, Anprung P 2010, Nurhayati N & Suendo V 2011).

Freeze-drying is a most suitable technique for dehydration of heat-sensitive materials which are unstable in aqueous solutions (Madene et al., 2006, Ezhilarasi et al., 2013).

-The OSA modified starches were prepared from various starches as, cassava, tapioca, waxy corn, taro, banana, wheat and rice starches to analyse the effect on emulsion stability and their structural properties (Liu et al., 2008, Jung & Youn, 2012, Peng et al., 2015, Hu et al., 2016, Jiang et al., 2016).

-안토시아닌 색소의 안정성을 증진시키기 위해 유기산을 첨가하여 pH를 낮추는 방법, 금속염을 첨가하는 방법, co-pigmentation 형성을 위해 단백질, 탄닌, 플라보노이드, 알칼로이드, 아미노산 등을 첨가하여 색소의 안정화를 이루는 방법 등이 보고되었다(Rhim JW & Lee JW 2002).

-자색고구마는 안토시아닌 색소를 다량 함유하고 있으며, 색소 분자가 peonidin의 기본구조에 ferulic acid, caffeic acid가 diacylation된 구조를 가지고 있어 다른 소재의 안토시아닌 색소에 비해 안정성이 우수하다고 알려져 있다(Rhim JW & Lee JW 2002). 흑색당근의 안토시아닌 색소는 주로 cyanidin 3-snapoly-xylosyl-glucosyl-galactoside와 cyanidin 3-feruloyl-xylosyl-glucosyl-galactoside로 알려져 있으며 kg 당 1750 mg 정도가 함유된 것으로 보고된바 있다(Kirca A 등 2007).

- 코팅 물질(또는 wall material)로 사용될 수 있는 재료는 높은 수용성과 낮은 점성, 낮은 당 함량과 자체적인 색이 없어야 하므로 주로 maltodextrin이나 protein isolate 등이 유리하다고 보고된바 있다(Robert P 등 2010).

-maltodextrin은 다양한 dextrose equivalent(DE)를 가지므로 적당한 DE 범위를 결정하는 것이 중요한데 점성이 낮은 범위로 DE 10-12, DE 20-25 등에 대한 연구가 진행되었다(Desobry SA 등 1997, Idham Z 등 2010, Robert P 등 2010, Ravichandran K 등 2014).

7. 연구개발결과의 보안등급

	코드번호	D-09
○ 일반과제		

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

해당사항 없음

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

	코드번호	D-11
--	------	------

가. 연구실 안전 점검 체계 및 실시

1) 실험실 안전 점검 체계



나. 실험실 안전점검

1) 실험실 일상 점검

- 연구활동 시작 전 각 실험실 책임자가 육안으로 장비 및 시설을 매일 점검

2) 실험실 정기 점검

- 내용 : 과학기술분야 실험실의 일반안전, 산업위생, 전기안전, 소방안전, 화공안전, 가스안전, 기계안전, 생물안전 등의 전문분야 점검
- 실시 : 매월 각 실험실을 주기적으로 점검

3) 실험실 정밀안전진단

- 대상 : 연구개발활동에 유해화학물질 관리법 제2조 7호에 따른 유해화학물질을 취급하는 연구실, 산업안전보건법 제39조에 따른 유해인자를 취급하는 연구실, 과학기술부령이 정하는 독성가스를 취급하는 연구실
- 실시 : 매년 1회 이상 외부 전문기관에 의뢰하여 실시 후 중대결함이 발견될 경우, 보고

※ 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

나. 교육 훈련

- 1) 개요 : 실험실의 안전을 확보하고 종사자의 건강을 보호하여 실험 및 연구활동에 기여하고, 또한 연구실 안전환경조성에 관한 법률에 의거하여 실험실의 환경안전교육이 의무화됨에 따라 연구원 및 관련자 전원은 환경안전교육을 의무적으로 수강
- 2) 교육대상 : 소속연구원, 전문직원 등
- 3) 교육실시
 - 1학기 : 법정 교육시간인 6시간을 온라인 및 집합교육으로 실시
 - 2학기 : 법정 교육시간인 6시간을 온라인 교육으로 실시

다. 건강 검진

- 1) 개요 : 인체에 치명적인 위험물질 및 바이러스 등에 노출될 위험성이 있는 연구활동 종사자의 건강을 보호함
- 2) 대상 : 산업안전보건법 시행령 제29조에 따른 유해물질 및 같은 법 시행규칙 별표 12의2에 다른 유해인자를 취급하는 연구활동 종사자에 대하여 일반건강검진과 특수건강검진을 실시
- 3) 건강검진 실시 : 매년 1회 건강검진 대상자를 선정하여 일반 건강검진 및 특수건강검진 실시

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	특허	열에 안정한 형태유지와 손에 달라붙지 않는 장식용 떡 반죽의 제조방법	(주)창역	출원인	대한민국		20151209	단독사사	
2	특허	풍미 및 부피 팽창력이 우수한 증편 제조용	(주)창역	출원인	대한민국		20170704	단독사사	

		사카로마이세스 세레비지에 및 락토바실러스 브레비스 균주 혼합물							
3	특허	기능성 균주를 이용한 부피 및 풍미가 개선된 증편의 제조방법	(주)창역	출원인	대한민국		20170627	단독사사	
4	논문	새싹보리 클로로필의 색 안정화	전남대학교	교신	대한민국		2016.08.10	단독사사	-
5	특허	고온 가공 처리시 녹색 야채의 클로로필을 안정화시키는 방법	전남대	출원인	대한민국	-	2016.08.11	단독사사	-
6	특허	안토시아닌 복합체	전남대	출원인	대한민국	-	2017.10.13.	단독사사	-
5	논문	식방풍잎(Peucedanum japonicum Thunberg L.)의 물추출물이 3T3-L1 세포와 고지방식으로 유도된 마우스에서 항비만 효과	한약진흥재단	저자	한국자원식물학회지		2016.1.29	단독사사	SCI(E)
6	논문	지방분화가 유도된 3T3-L1 세포와 고지방식으로 유도된 마우스에서 보리순 물추출물의 항비만 효과	한약진흥재단	저자	한국약용작물학회지		2017.12.22	단독사사	

11. 기타사항

	코드번호	D-13
○ 해당사항 없음		

12. 참고문헌

	코드번호	D-14
Ahmadian, M., J.M. Suh, N. Hah, C. Liddle, A.R. Atkins, M. Downes and R.M. Evans. 2013.		

PPAR γ signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nat. Med.* 19:557–566.

Burr JR, Reinhart GA, Swenson RA, Swaim SE, Vaughn DM, Bradley DM .1997. Serum biochemical values in sled dogs before and after competing in long-distance races. *J Am. Vet. Med. Assoc* 211 : 175–179.

Caro, J.F., M.K. Sinha, J.W. Kolaczynski, P.L. Zhang and R.V. Considine. 1996. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes* 45:1455–1462.

Coombes JS, McNaughton LR. 2000. Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise. *J Sports Med Phys Fitness* 40*40 – 46.

Connor TJ, Kelly JP, Leonard BE. 1997. Forced swim test-induced neurochemical endocrine, and immune changes in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 58: 961 – 967.

Dorchy H.2002. Sports and type I diabetes: personal experience. *Rev Med Brux* 23:211 – 217.

Deyama T, Nishibe S, Nakazawa Y. 2001. Constituents and pharmacological effects of *Eucommia* and Siberian ginseng. *Acta Pharmacol Sin* 12:1057 – 1070.

Desobry S, Netto F, Labuz T (1997) Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation 62(6): 1158–1162

Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 628–647.

Hu, H., Liu, W., Shi, J., Huang, Z., Zhang, Y., Huang, A., ... & Shen, F. (2016). Structure and Foretz, M., C. Guichard, P. Guichard and F. Foufelle. 1999. Sterol regulatory element binding protein-1c is a major mediator of insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96:12737–12742.

Fox, K.E., Fankell, D.M. Erickson, P.F. Majka, S.M. J.T. Crossno and D.J. Klemm. 2006. Depletion of cAMP-response element-binding protein/ATF1 inhibits adipogenic conversion of 3T3-L1 cells ectopically expressing CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) alpha, C/EBP beta, or PPAR gamma 2. *J. Biol. Chem.* 281:40341–40351.

Friedman, J.M and J.L. Halaas. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395:763–770.

functional properties of octenyl succinic anhydride modified starch prepared by a non-

conventional technology. *Starch-Stärke*, 68(1-2), 151-159.

Gil, J.H., J.A. Lee, J.Y. Kim and Y.M. Hong. 2008. Leptin, adiponectin, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in obese adolescents. *Korea. J. Pediatrics* 51:597-603.

Goldfine, A.B. and C.R. Kahn. 2003. Adiponectin: linking the fat cell to insulin sensitivity. *Lancet* 362:1431-1432.

Greenberg DA, Jin K. 2006. Neurodegeneration and neurogenesis: focus on Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 3 : 25-28.

Kim YK, Hong SH, Kim HM. 2004. Immune-enhancing effect of the Korean natural medicine *WooKiEum*. *Biol Pharm Bull* 27 : 1521-1526.

Hamm, J.K., B.H. Park and S.R. Farmer. 2001. A role for C/EBP β in regulating peroxisome proliferator-activated receptor γ activity during adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J. Biol. Chem.* 276:18464-18471.

Hayashi K, Nagamatsu T, Ito M, Hattori T, Suzuki Y. 1994. Acteoside, a component of *Stachys sieboldii* Miq, may be a promising antinephritic agent (2): Effect of acteoside on leukocyte accumulation in the glomeruli of nephritic rats. *Jpn J Pharmacol* 66 : 47-52.

Jiang, S., Dai, L., Qin, Y., Xiong, L., & Sun, Q. (2016). Preparation and characterization of octenyl succinic anhydride modified taro starch nanoparticles. *PloS one*, 11(2), e0150043.

Jones ID, White RC, Gibbs E, Butler LS, Nelson LA (1977) Experimental formation of zinc and copper complexes of chlorophyll derivatives in vegetable tissue by thermal processing. *J Agr Food Chem* 25(1): 149-153

Jung, H.A., H.J. Jung, H.Y. Jeong, H.J. Kwon and J.S. Choi. 2014. Phlorotannins isolated from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera* exert anti-adipogenic activity on 3T3-L1 adipocytes by downregulating C/EBP α and PPAR γ . *Fitoterapia* 92:260-269.

Jung, H.J., J.H. Park and M.J. Kim. 2015. Ethanol extract of *Hippophae rhamnoides* L. leaves inhibits adipogenesis through AMP-activated protein kinase (AMPK) activation in 3T3-L1 preadipocytes. *Korean J. Plant Res.* 28: 582-590 (in Korean).

Jung, M. H., & Youn, K. S. (2012). Preparation and physicochemical characteristics of octenyl succinated rice starches based on Amylose content. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 44(5), 577-582.

Kim HH, Park EJ, Kim JY, Joo JC. 2004. Study on the anti-fatigue and immune-enhancing effects of *Garni-Yukmi-Jihwang-Tang*. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 18 : 1762-1768.

Kim, J.Y., M. Shin and Y.R. Heo. 2014. Effects of stabilized rice bran on obesity and antioxidative enzyme activity in high fat diet-induced obese C57BL/6 mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43:1148-1157 (in Korean).

Kim KM, Yu KW, Kang DH, Suh HJ. 2002. Anti-stress and anti-fatigue effect of fermented rice bran. *Phytother Res* 16:700 - 702.

Kim YS, Ryu BH, Kim JS. 2009. Effect of Wongisaengmaek-san extract on antioxidative and anti-fatigue activity. *Korean J Oriental Med.* 30' 94-106.

Kirca, A., Özkan, M., & Cemeroğlu, B. (2007). Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food chemistry.* 101(1): 212-218.

Kitamura E, Hamada J, Kanazawa N, Yonekura J, Masuda R, Sakai F, Mochizuki H. 2010. The effect of orexin-A on the pathological mechanism in the rat focal cerebral ischemia. *Neurosci Res* 68 : 154-157.

Lee IS, Lee HY, Kim HL, Ko KH, Chang HC, Kim IC (2008) Effect of metal Ions on stabilization of codium fragile`s pigments. *Korean J Food Preserv* 15(3): 352-360

Lee SH, Lee SE, Lee SH, Shin JY. 2004. Immune function-enhancing effects of Boj ung ikki tangg ami-bang. *Korean J Oriental Physiol Patho.* 18 : 528-533.

Liu, Z., Li, Y., Cui, F., Ping, L., Song, J., Ravee, Y., Jin L., Xue Y., Xu J, Li G., Wang Y., & Zheong Y. (2008). Production of octenyl succinic anhydride-modified waxy corn starch and its characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(23), 11499-11506.

Luo Y. 2001. Ginkgo biloba neuroprotection: Therapeutic implications in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 3 : 401-407.

Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(1), 1-21.

Mashiko T, Umeda T, Nakaji S, Sugawara K. 2004. Effects of exercise on the physical condition of college rugby players during summer training camp. *Br J Sports Med* 2*186-190.

Min D, Guo F, Zhu S, Xu X, Mao X, Cao Y, Lv X, Gao Q, Wang L, Chen T, Shaw C, Hao L, Cai J. 2013. The alterations of Ca²⁺ /calmodulin/CaMKII/CaV1.2 signaling in experimental models of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurosci Lett* 538 : 60-65.

Min NK, Lee TH. 2010. Effects of Paeoniae Radix Rubra on CRF, c-Fos and TH in the

forced swimming test. *Kor J Herbology* 25:61-67.

Morrison, R.F. and S.R. Farmer. 2000. Hormonal signaling and transcriptional control of adipocyte differentiation. *J. Nutr.* 130:3116S-3121S.

Nagai, H., T. Tanaka, T. Goto, T. Kusudo, N. Takahashi and T. Kawada. 2014. Phenolic compounds from leaves of *Casimiroa edulis* showed adipogenesis activity. *Biosci. Biotech. Bioch.* 78:296-300.

Nakagawasai O, Tadano T, Hozumi S, Taniguchi R, Tan-No K, Esashi A, Nijima F, Kisara K. 2001. Characteristics of depressive behavior induced by feeding thiamine-deficient diet in mice. *Life Sci* 10 : 1181-1191.

Ngo T, Zhao Y (2005) Retaining green pigments on thermally processed peels-on green pears. *J Food Sci* 70(9): C568-C574.

No JH, Kim HS, Lee KA, Shin MS (2012) The antioxidant activities of the Korean variety mung bean hull extracts as dependent on the different extraction methods. *Korean J Food Cook Sci* 28(5): 605-612.

Nurhayati N, Suendo V (2011) Isolation of chlorophyll a from spinach leaves and modification of center ion with zn^{2+} : study on its optical stability. *JMS* 16(2): 65-70

Ozturk N, Husnu Can Baser K, Ay din S, Ozturk Y, Calis I. 2002. Effects of *Gentiana lutea* ssp *symphyandra* on the central nervous system in mice. *Phytother Res T.* 627 - 631.

Park, S.J., Y.J. Jeon, H.J. Kim and J.S. Han. 2013. Anti-obesity effects of *Ishige okamurae* extract in C57BL/6J mice fed high-fat diet. *Korean J. Food.* 45:199-205 (in Korean).

Park, Y.M., J.H. Lim and E.W. Seo. 2015. Anti-obesity effect of by-product from soybean on mouse fed a high fat diet. *Korean J. Plant Res.* 28: 168-177 (in Korean).

Peng, S., Xue, L., Leng, X., Yang, R., Zhang, G., & Hamaker, B. R. (2015). Slow digestion property of octenyl succinic anhydride modified waxy maize starch in the presence of tea polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(10): 2820-2829.

Pireiro, R., M.J. Iglesias, R. Gallego, K. Raghay, S. Eiras, J. Rubio, Y. Matsuzawa, T. Funahashi, S. Kihara and I. Shimomura. 2004. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24:29-33.

Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. 1977. Behavioural despair in mice : a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn* 229:327-336.

Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. 1978. Behavioural despair in rats: a new model

sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol* 47: 379 – 391.

Ravichandran, K., Palaniraj, R., Saw, N. M. M. T., Gabr, A. M., Ahmed, A. R., Knorr, D., & Smetanska, I. (2014) Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *Journal of food science and technology*. 51(9): 2216-2221.

Reagan-Shaw, S., M. Nihal and A. Mihal. 2007. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J*. 22:65-661

Rhim JW, Lee JW (2002) Photostability of anthocyanin extracted from purple-fleshed sweet potato. *Korean Soc Food Sci Technol*. 34(2): 246-249

Robert P, Gorena T, Romero N, Sepulveda E, Chavez J, Saenz C (2010) Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying 45(7): 1386-1394

Roncari, D.A., D.C. Lau and S. Kindler. 1981. Exaggerated replication in culture of adipocyte precursors from massively obese persons. *Metabolism* 30:425-427.

Rosen, E.D. and O.A. Macdougald. 2006. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol*. 7:885-896.

Ryu, H.J., M.Y. Um, J.Y. Ahn, C.H. Jung, D. Huh, T.W. Kim and T.Y. Ha. 2011. Anti-obesity effect of *Hypsizygus marmoreus* in high fat-fed mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 40:1708-1714 (in Korean).

Sahathevan R, Brodtmann A, Donnan GA. 2012. Dementia, stroke, and vascular risk factors; a review. *Int J Stroke* 7 : 61-73.

Saleem S, Zhuang H, Biswal S, Christen Y, Dore S. 2008. Ginkgo biloba extract neuroprotective action is dependent on heme oxygenase 1 in ischemic reperfusion brain injury. *Stroke* 39 : 3389-3396.

Schrffler, A., J. Schrlmerich and C. Bchler. 2005. Mechanisms of disease: adipocytokines and visceral adipose tissue emerging role in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol*. 6:273-280.

Senklang P, Anprung P (2010) Microencapsulation of Zn-chlorophyll pigment from pandan leaf by spray drying and its characteristic. *Int Food Res J* 17(4): 1031-1042.

Sim, M.O., J.R. Ham, H.I. Lee, K.I. Seo and M.K. Lee. 2014. Long-term supplementation of umbelliferone and 4-methylumbelliferone alleviates high-fat diet induced hypertriglyceridemia and hyperglycemia in mice. *Chem. Biol. Interact*. 216:9-16.

Sim, M.O., H.I. Lee, J.R. Ham, K.I. Seo and M.K. Lee. 2015. Long-term supplementation of esculetin ameliorates hepatosteatosis and insulin resistance partly by activating AdipoR2-AMPK pathway in diet-induced obese mice. *J. Funct. Foods* 15:160-171.

Shin HY, Shin TY, Seo SW, Na HJ, Kwon YT, Song BK, Lee EJ, Kim YK, Hong MC, Shin MK, Hong SH, Kim HM. 2004. Decrease of immobility behavior in forced-swimming test and immune system enhancing effect of traditional medicine Gamisipjundaebotang. *Pharmacol Biochem Behav* 79 : 253-259.

Soukas, A., P. Cohen, N.D. Socci and J.M. Friedman. 2000. Leptin specific patterns of gene expression in white adipose tissue. *Genes Dev.* 14:963-980.

Sun X, He G, Qing H, Zhou W, Dobie F, Cai F, Staufenbiel M, Huang LE, Song W. 2006. Hypoxia facilitates Alzheimer's disease pathogenesis by up-regulating BACE1 gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 : 18727-18732.

Suzuki N. 2008. Clinical application of dietary supplements. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 131 : 252-257.

Takeda Y, Fujita T, Satoh T, Kakegawa H. 1985. On the glycosidic constituents of *Stachys sieboldii* Miq. and their effects on hyaluronidase activity. *Yakugaku Zasshi* 105 : 955-959.

Takeuchi Y, Amao Y (2005) Light-harvesting properties of zinc complex of chlorophyll-a from spirulina in surfactant micellar media. *Biometals* 18(1): 15-21.

Tonucci LH, Elbe JH (1992) Kinetics of the formation of zinc complexes of chlorophyll derivatives. *J Agr Food Chem* 40(12): 2341-2344.

Toshitsugu M, Hideaki M, Michinori K. 1996. Anti-fatigue effect of the 50% ethanol extract in acute weight-loaded forced swimming-treated rats. *Biol Pharm Bull* 19:62-66.

Whang WK, Oh IS, Lee SH, Choi SB, Kim IH. 1994. The physiological activities of KyungOkKo(II) Effects on the hyperglycemia, hypertension, anti-fatigue and decrease of body weight. *Kor J Pharmacogn.* 25: 51-58.

Yang, J.Y., M.A. Della-Fera, S. Rayalam, S. Ambati, D.L. Hartzell, J.H. Park and C.A. Baile. 2008. Enhanced inhibition of adipogenesis and induction of apoptosis in 3T3-L1 adipocytes with combinations of resveratrol and quercetin. *Life Sci.* 82:1032-1039.

Yamahara J, Kitani T, Kobayashi H, Kawahara Y. 1990. Studies on *Stachys sieboldii* Miq. II. Anti-anoxia action and the active constituents. *Yakugaku Zasshi* 110 : 932-935.